

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200310112538.3

[51] Int. Cl.

C07H 15/203 (2006.01)

C07H 1/08 (2006.01)

C07C 39/21 (2006.01)

C07C 37/68 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 8 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 1269831C

[22] 申请日 2003.12.12

[21] 申请号 200310112538.3

[71] 专利权人 深圳海王药业有限公司

地址 518054 广东省深圳市南山区南油大道海王大厦 A 座 25 层

[72] 发明人 赵金华 康 晖 姚光辉 曾伟珍

李 勇 李 靖 于 琳

审查员 杨 轶

[74] 专利代理机构 深圳市金阳行专利商标事务所

代理人 杨大庆 邢 涛

权利要求书 1 页 说明书 8 页

[54] 发明名称

虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法

[57] 摘要

本发明涉及一种虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法，它包括用已知的常规技术流程自含虎杖苷和域白藜芦醇的植物和/或其提取物中提取，层析分离、纯化，其特征在于用聚酰胺层析法分离纯化虎杖苷和/或白藜芦醇。该工艺过程安全、经济、操作简便，并且易于实现从所有含有虎杖苷和/或白藜芦醇的植物和/或其提取物中规模化生产制备虎杖苷和/或白藜芦醇。

1. 一种虎杖苷和/或白藜芦醇的新制备方法，其特征在于将聚酰胺层析技术应用于虎杖苷和/或白藜芦醇的分离纯化，其聚酰胺层析步骤包括：

- (1) 将含虎杖苷和/或白藜芦醇的上样样品上样于层析柱，上样样品可以是含虎杖苷和/或白藜芦醇的溶液，也可以是该溶液经聚酰胺拌样后的固体样品；
- (2) 采用浓度递增的乙醇作为洗脱溶剂进行梯度洗脱；
- (3) 收集或分别收集含虎杖苷和/或白藜芦醇的洗脱流份。

2. 根据权利要求1所述的方法，其特征在于：所收集的含虎杖苷和/或白藜芦醇的洗脱流份，进一步采用下列一种或一种以上的处理工艺处理：(1) 将所收集的流份浓缩、析晶；或(2) 将所收集的流份进行二次层析；或(3) 采用活性炭将所收集的流份脱色、浓缩、重结晶。

3. 根据权利要求1所述的制备方法，其特征在于：递增浓度梯度的乙醇水溶液中所指的梯度浓度依次为：0~30%、30~60%、60~95%。

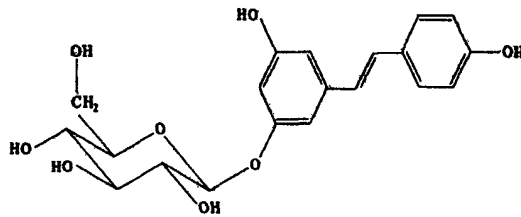
4. 根据权利要求1所述的制备方法，其特征在于所述的聚酰胺柱层析步骤包括：聚酰胺粉以本领域内已知的常规技术流程装柱；将上样溶液上样至备用聚酰胺柱上，再依次以0~30%乙醇水，30~60%乙醇水常压或加压层析梯度洗脱，收集30~60%乙醇水洗脱部分，减压浓缩至原体积的1/3~1/50，室温静置0.5~4小时，过滤或离心，不溶物减压干燥，得到黄色结晶性粉末虎杖苷；层析柱再生后备用。

5. 根据权利要求1或4所述的制备方法，其特征在于所述的聚酰胺柱层析步骤包括：将上样溶液上样至备用聚酰胺柱上，当溶液吸附至第一条色带移至层析柱近低端1/2~4/5处停止上样；依次以0~30%乙醇水、30~60%乙醇水、60~95%乙醇水，常压或加压层析洗脱，分别收集30~60%、60~95%乙醇水洗脱部分，其中30~60%乙醇水洗脱部分减压浓缩至原体积的1/3~1/50，抽滤或离心，得产物虎杖苷，60~95%乙醇水洗脱部分减压浓缩至原体积的1/3~1/50，抽滤或离心，得产物白藜芦醇；层析柱再生后备用。

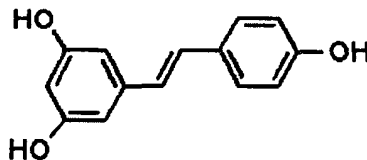
虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法

技术领域 本发明涉及一种自含虎杖苷及白藜芦醇的物质中分离制备虎杖苷及白藜芦醇的方法，特别涉及从植物提取物中分离制备虎杖苷及白藜芦醇的方法。通过本发明方法可以实现虎杖苷及白藜芦醇的工业化制备。

背景技术 虎杖苷(甙)(又名白藜芦醇苷 polydatin, 云杉苷 peicin)。化学结构为 3,4',5-三羟基芪-3-β-单-D-葡萄糖苷 (3,4',5-trihydroxy-stilbene-3-β-D- glucoside)。其结构如下：



白藜芦醇(resveratrol), 化学结构为 3,4',5-三羟基芪, 为反式二苯乙烯类 (即芪, stilbene) 化合物。其结构如下：



虎杖苷以及白藜芦醇具有多样的生物学活性，例如抗氧化、抑制肿瘤的形成和发展、改善微循环以及对休克的治疗作用等。

见载于文献的虎杖苷及白藜芦醇的分离纯化方法主要包括溶剂(如乙酸乙酯、乙醚)萃取法、硅胶柱层析等(例如, 杨云, 冯卫生, 中药化学成分提取分离手册, 中国中药出版社, 1998: 205-207; 孙文基, 天然药物成分提取分离与制备, 中国医药科技出版社, 第二版, 1999: 315-317)。近年来还出现了一些与虎杖苷及其苷元的制备有关的专利文献。例如, 《白藜芦醇和白藜芦醇甙的制备方法》(中国专利, 申请号 01118461.2), 其方法是将柱层析和高速逆流色谱层析结合在一起, 即通过硅胶柱层析实现对白藜芦醇和白藜芦醇甙的第一步分离(层析流动相选用卤代烃(如氯仿、二氯甲烷、四氯化碳), 脂肪醇或酮(如甲醇、乙醇、丙醇、丙酮)), 再将此第一步分离产物通过逆流色谱层析进行第二次分离而得到目标产物。另一中国专利《白藜芦醇和白藜芦醇甙分离方法及其应用》(申请号 00121100.5), 其方法涉及对初提物进行乙酸乙酯萃取, 进而采用氯仿-甲醇(或乙醇)或乙酸乙酯-乙醇作为层析洗脱液进行硅胶柱层析, 再以甲醇-氯仿为结晶溶剂进行重结晶得到白藜芦醇苷, 并通过二次层析(洗脱液: 氯仿-乙酸乙酯)以及重结晶(结晶溶剂: 丙酮-氯仿)得到白藜芦醇。显然,

该方法也涉及对有机溶剂的大量、重复使用。从虎杖中提取白藜芦醇及白藜芦醇苷的报道还见于日本专利昭 60-9455(1985)。该专利方法是采用乙醚作为萃取溶剂而获得目标产物，其工艺方法较为繁杂，而乙醚的挥发性、易燃性、毒性较乙酸乙酯、甲醇等溶剂更强。

上述这些已公开的方法，多适合于实验室规模下的少量制备，对于规模化的工业生产，其应用价值有限。首先从分离方法看，上述方法均不同程度采用硅胶柱层析作为必需分离手段。硅胶柱存在样品分离量小、填料用量大的缺点，而且填料硅胶难以再生利用，因此生产规模受到限制，工业生产成本较高。而高速逆流层析的应用，如中国专利 01118461.2 所述，是对硅胶柱层析得到的纯度分别高于 70%和 90%的产物进行二次逆流层析分离，整个工艺过程涉及多步环节、多种设备。一般说来，与硅胶柱层析相比，逆流层析技术的样品处理量更小，更难满足工业生产要求。

此外，从所用溶媒看，上述文献所用溶剂系统均不同程度使用一、二类溶剂如卤代烃类（氯仿等）或甲醇等，保证规模生产条件下的生产安全相对困难，而且溶剂使用成本较高，最终产品不可避免会涉及有害溶剂残留问题。

发明内容 本发明提供一种从含虎杖苷及白藜芦醇的植物或植物初提物中分离纯化虎杖苷及白藜芦醇的方法。该方法操作简便，易于实现规模化工业生产。

本发明的主要特征在于首次将聚酰胺层析有机结合应用于虎杖苷和/或白藜芦醇的分离纯化制备中。

采用本发明方法提取纯化虎杖苷及白藜芦醇的原料包括一种或一种以上的含虎杖苷和/或白藜芦醇化学成分的植物全植株或植株之一部分，如根和/或茎和/或叶和/或花和/或果。例如虎杖(*Polygonum cuspidatum*)、何首乌(*Polygonum multiflorum*)，库叶云杉(*Picea glehnii*)，枫叶藤(*Cissus assamica*)、葡萄(*Vitis Vinifera*)、花生(*Arachis hypogaea*)、掌叶大黄(*Rheum palmatum*)、唐古特大黄(*Rheum tenguticum*)、药用大黄(*Rheum officinale*)等植物的全植株或其某一部分植物基原。

采用本发明方法提取纯化虎杖苷及白藜芦醇的原料也可以是上述植物或其一部分基原之初提物，这些初提物包括上述植物的提取物，例如水提取物、醇提取物、乙酸乙酯提取物等，也可以是提取物经萃取等处理后所得的萃取物等。

当以植物或其部分基原作为原料时，则在采用聚酰胺层析之前，采用含水或不含水有机溶剂，例如乙醇等，以本领域内已知的常规技术流程在一定的温度下提取，以获得含虎杖苷

和/或白藜芦醇的提取物。这些提取物在进行聚酰胺层析之前可以进行适当处理，例如，澄清、萃取、浓缩、干燥等。

本发明之聚酰胺层析过程包括：

(1) 将含有虎杖苷和/或白藜芦醇的初提物进行上样吸附：上样方法可以采用以合适的溶剂溶解初提物，这些溶剂包括含水或不含水甲醇、乙醇、丙酮或其类似溶剂，其中优选含水乙醇作为溶剂；该上样样品可以是含虎杖苷和/或白藜芦醇的溶液，也可以是该溶液经聚酰胺拌样后的固体样品。其中含虎杖苷和/或白藜芦醇的溶液可以是采用常规技术方法从含虎杖苷和/或白藜芦醇的植物原料中获得的含虎杖苷和/或白藜芦醇的提取液，也可以是提取溶液经适当预处理（如澄清、浓缩、萃取等）后所得溶液。

(2) 层析洗脱：提取物上样后以含水乙醇系统作为流动相进行层析洗脱。该洗脱系统可以是某一特定浓度的含水乙醇，也可以是梯度浓度的乙醇水溶液。收集洗脱流出液，得到含虎杖苷和/或白藜芦醇流份。

(3) 收集或分别收集含虎杖苷和/或白藜芦醇的洗脱流份。

(4) 处理含虎杖苷和/或白藜芦醇的流份：所收集的含虎杖苷和/或白藜芦醇的洗脱流份，进一步采用下列一种或一种以上的处理工艺处理：(1) 将所收集的流份浓缩、析晶；或 (2) 将所收集的流份进行二次层析；或 (3) 采用活性炭将所收集的流份脱色、浓缩、重结晶。由此获得目标成分虎杖苷和/或白藜芦醇。

本发明的积极效果是：本发明首次将聚酰胺层析技术应用于虎杖苷（及白藜芦醇）的分离纯化，通过与目标物性质的有机结合，充分发挥了该技术在虎杖苷规模化制备中的特有优势。本发明方法的突出特点体现在：聚酰胺层析柱可以再生利用，各批生产之间无须更换填料及重新装柱；工业化生产条件的控制容易实现，其所需设备简单，操作简便、安全，生产成本低，易于实现不同生产规模下的工艺条件的转换及交接。在采用聚酰胺层析的基础上，可以在水-乙醇系统下完成全部的生产过程，溶剂系统更安全，显著降低生产过程中所用溶剂对生产人员以及对环境的潜在影响，更适合规模化工业生产。

具体实施方式 下列具体实施例是对本发明过程的描述，不对本发明的范围构成任何限制。

实施例 1.1 虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法

1. 提取 植物虎杖的干燥根茎(中药饮片)100g, 在 77-85℃ 的温度下, 以 800ml 的 50% 乙醇水回流提取 2 遍, 每次提取 2 小时。合并提取液, 减压浓缩(60℃, 0.07 - 0.1 Mpa) 至总体积 300ml, 浓缩液以 2N 氢氧化钠溶液调 pH 至 9-10, 室温下静置约 2 小时, 离心(4000 r/min × 5min), 去残渣, 上清液作为上样溶液备用。

2. 分离 将上样溶液上样至备用聚酰胺柱上 (柱体积约 500ml), 流速约 100ml/hr, 上样吸附至第一条色带移至近柱底 1/2 处停止上样。依次以 300ml 20%乙醇水, 1000ml 60%乙醇水、1000ml 90%乙醇水, 常压或加压层析梯度洗脱, 洗脱速度约 300ml/hr。分别收集 60%、90%乙醇水洗脱部分, 并减压浓缩至原体积的 1/20(60℃, 0.07 - 0.1 Mpa), 抽滤, 分别得产物 I、产物 II。(抽滤滤液并入下次上样溶液中)。

产物 I 约 1.6g, 以 95-100%乙醇溶解后加水至溶液醇终浓度为 30%, 上样于备用聚酰胺柱上(柱体积 100ml)进行二次层析分离, 分别以 100ml 25%乙醇水、400ml 60%乙醇水梯度洗脱, 洗脱速度约 50ml/min。收集 60%乙醇水洗脱液, 减压浓缩(55℃, 0.07 - 0.1 Mpa)至 30ml, 4℃ 条件静置 1 小时析晶, 过滤, 不溶物真空干燥 12-72 小时(40℃, 0.08-0.1Mpa, 五氧化二磷干燥剂), 得终产物虎杖苷 1.2g。经 HPLC 检测含虎杖苷 99.1%。

产物 I (虎杖苷) 检测: $^1\text{H-NMR}(\text{actone-d}_6) \delta$: 8.35 (2H, s, C3,4'-OH), 7.43(2H, d, C2', 6'-H), 7.08 (1H, d, J=16, α -H), 6.89 (1H, d, J=16, β -H), 6.83 (2H, d, J=8, C3', 5'-H), 6.76 (2H, d, C2', 6'-H), 6.47(1H, t, C4-H), 4.93(1H, d, 1''-H), 4.46-3.91 (4H, C2'', 3'', 4'', 6''-OH), 3.3-3.73(6H, C2'', 3'', 4'', 5'', 6''-H)。

产物 II 约 0.5g, 以 95-100%乙醇溶解后, 加水至溶液含醇终浓度 50%, 上样于备用聚酰胺柱上(柱体积 50ml)进行二次层析分离, 分别以 100ml 60%乙醇水、150ml 95%乙醇水梯度洗脱, 洗脱速度约 20ml/min。收集 95%乙醇水洗脱液, 减压浓缩(50℃, 0.07 - 0.1 Mpa)至 20ml, 4℃ 条件静置 1 小时析晶, 过滤, 不溶物真空干燥 24 小时(40℃, 0.08-0.1Mpa, 五氧化二磷干燥剂), 得终产物白藜芦醇 0.2 g。经 HPLC 检测含白藜芦醇 97.5%。

产物 II (白藜芦醇) 检测: EI-MS(m/z): 228(100%)。 $^1\text{HNMR}(\text{Acetone-d}_6)$: 8.45(1H, s, C4-OH), 8.18(2H, s, C3', 5'-OH), 7.40(2H, d, J=8.7, C2, 6-H), 7.00(1H, d, J=16.2, α -H), 6.86(1H, d, J=16.2, β -H), 6.81(2H, d, J=8.7, C3, 5-H), 6.52(2H, d, J=2.1, C2', 6'-H), 6.25(1H, t, J=2.1, C4'-H)。

层析柱依次以 90-95%乙醇水、水洗脱再生后, 备用。

实施例 1.2 虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法

实施例中，常压或加压层析梯度洗脱后。分别收集 60%、90%乙醇水洗脱部分，并减压浓缩至原体积的 1/3(60°C, 0.07 - 0.1 Mpa)，其他步骤同实施例 1.1。

实施例 1.3 虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法

实施例中，常压或加压层析梯度洗脱后。分别收集 60%、90%乙醇水洗脱部分，并减压浓缩至原体积的 1/50(60°C, 0.07 - 0.1 Mpa)，其他步骤同实施例 1.1。

实施例 2 虎杖苷的制备方法

1. 虎杖根茎 100g，适当粉碎，以 800 ml 乙醇渗滤提取，过滤，减压浓缩 (50°C, 0.07 - 0.1 Mpa) 至终体积 50ml，加入 100 ml 水，并以 200ml 乙酸乙酯萃取 3 次，萃取液减压浓缩 (50°C, 0.07 - 0.1 Mpa) 至 150ml，聚酰胺粉拌样，减压挥干溶剂，作为上样样品备用。

2. 上样样品采用干法上样于备用聚酰胺柱上 (柱体积约 600ml)，依次以 1000 ml 水、3000ml 30%乙醇水为流动相进行层析洗脱，流速 600ml/hr。收集 30%乙醇水洗脱流出液，并将其中含虎杖苷流份合并，减压浓缩至 100ml (60°C, 0.07 - 0.1 Mpa)，抽滤，得初产物 2g，其中虎杖苷含量为 84%。

3. 初产物以 95-100%乙醇溶解，过滤，滤液加水至含醇终浓度 30%，加入 1% (ml/ml) 药用活性炭粉煮沸 3 分钟，趁热过滤，滤液减压浓缩至 50ml，4°C 下静置 0.5 小时析晶，过滤，所得晶体真空干燥 4 小时(100°C, 0.08-0.1Mpa, 五氧化二磷干燥剂)，得终产物虎杖苷 1.5g。经 HPLC 检测含虎杖苷 99.82%。

实施例 3.1 虎杖苷大规模工业化制备方法

1. 虎杖药材饮片 500kg，经逆流提取、减压浓缩(60°C, 0.07 - 0.1 Mpa) 得提取浓缩液 1200L，以 2N 氢氧化钠溶液调浓缩液 pH 至 10，室温下静置约 2 小时，离心去残渣，上清液作为上样溶液备用。

2. 将聚酰胺粉(100-200 目)，以本领域内已知的常规技术流程装柱(柱体积约 800L)，共装 2 根柱，装好后备用。

3. 上样溶液分别上样吸附至备用的 2 根聚酰胺柱上，上样流速约 6L/hr.，当上样溶液吸附至第一条色带移至近柱底 4/5 处停止上样。依次以 800L 30%乙醇水，2000L 60%乙醇水加压层析洗脱，洗脱压力 10Bar.，收集 2 根层析柱的 60%乙醇水洗脱部分，合并后减压浓缩至

100L (60°C, 0.07- 0.1 Mpa), 即原体积的 1/20, 室温静置 0.5 小时, 离心, 得到黄白色粉末 7300g, 经 HPLC 检测含虎杖苷 82.2%。经减压浓缩回收的乙醇溶液分别作为提取溶液或低浓度洗脱溶液备用。

4. 层析柱分别以 5% 氢氧化钠溶液浸泡, 每天更换一次溶剂, 连续浸泡 3 天后, 以水洗脱至流出液 pH 值 8~9, 再以 10% 醋酸 2000L 洗脱, 最后以水洗至中性, 层析柱恢复备用状态。

5. 重结晶纯化: 上述层析分离产物 7300g, 以 80L 95% 乙醇溶解, 过滤, 滤液加水至含醇终浓度 30%, 加入 0.3% (ml/ml) 药用活性炭粉煮沸 3 分钟, 趁热过滤, 滤液减压浓缩至 50L, 室温静置 3 小时, 离心, 得近白色结晶性粉末, 减压, 真空干燥 12 小时 (60°C, 0.08-0.1Mpa, 五氧化二磷干燥剂), 得终产物虎杖苷 5500g。

实施例 3.2 虎杖苷的制备方法

在实施例 3.1 中也可以采用依次用 800L 30% 乙醇水, 2000L 60% 乙醇水常压层析洗脱。收集 2 根层析柱的 60% 乙醇水洗脱部分, 合并后减压浓缩至原体积的 1/5, 室温静置 0.5 小时, 其他步骤同实施例 3.1。

实施例 3.3 虎杖苷的制备方法

在实施例 3.1 中收集 2 根层析柱的 60% 乙醇水洗脱部分, 合并后减压浓缩至原体积的 1/10, 也可以乙醇水加压层析洗脱以 800L 30% 乙醇水, 2000L 60% 乙醇水加压层析洗脱, 室温静置 4 小时。其他步骤同实施例 3.1。

在具体实施过程中, 递增浓度梯度的乙醇水溶液还可选水、10~30% 乙醇水、30~60% 乙醇水; 0~20% 乙醇水, 20%~95% 乙醇水; 30~60% 乙醇水, 60~95% 乙醇水。

虎杖苷检测:

含量: 本品经 HPLC 检测, 含虎杖苷 99.93%。

炽灼残渣: 0.1% (符合中国药典 2000 年版二部附录项下有关规定)。

重金属: 符合中国药典 2000 年版二部附录项下有关规定。

溶剂残留: (未使用一、二类溶剂)。

微生物限度检查: 按照中国药典 2000 年版二部附录检查, 符合规定。

IR (KBr, cm^{-1}): 3373(酚羟基 $\nu_{\text{O-H}}$), 3026 (苯环 $\nu_{\text{C-H}}$), 1605, 1591, 1514, 1448 (苯环骨架振动), 1341(酚-OH, $\nu_{\text{C-OH}}$), 1263 (不饱和醚 C-O-C, $\nu_{\text{C-O-C}}$), 1172 (亚甲基和饱和环的 C-H 伸展振动, $\nu_{\text{C-H}}$), 1075 (六元环仲醇的伸展振动, $\nu_{\text{C-OH}}$), 1019, 996, 961 (苯环上的 C-H 弯曲振动, $\delta_{\text{C-H}}$), 839(对位取代苯环上 C-H 弯曲振动, $\delta_{\text{C-H}}$), 680(间位取代苯环上 C-H 弯曲振动, $\delta_{\text{C-H}}$).

UV: 样品的紫外吸收及解析 (如表 1 所示)。

表 1 样品的紫外吸收及解析

溶剂	λ (nm)	解析
甲醇溶液	217	取代苯酚的 E 吸收谱带
	307, 320	有生色团取代的苯环的 K 吸收谱带

高分辨质谱: 测定值 $(\text{M}+\text{H})^+=391.1378$, 理论值 $(\text{M}+\text{H})^+=391.1387$, 测定值与理论值之间的误差在测量要求范围之内, 符合样品分子式: $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8$ 。质谱数据库中误差范围化学式 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_8$ 为 $(\text{M}+\text{H})^+$, 与样品分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_8$ 相符。

实施例结果讨论与分析:

一. 层析分离方法选择的依据 首先, 从目标物虎杖苷的性质看: 其易溶于甲醇、乙醇、热水, 可溶于乙酸乙酯、碳酸氢钠和氢氧化钠水溶液, 稍溶于冷水、难溶于乙醚。其次, 从生产可行性及成本核算的需要看: 生产工艺首先应具备可行性, 工艺路线越单纯、简单、无交叉, 其大生产的可行性越大; 其次应具可操作性、安全性; 同时兼顾消耗少、成本低的原则。

本发明将聚酰胺层析技术应用于虎杖苷 (及白藜芦醇) 的分离纯化, 通过与目标物性质的有机结合, 充分发挥了该技术在虎杖苷规模化制备中的特有优势。

二. 层析分离技术确定的依据及目的 实施例采用澄清步骤, 对上样样品进行适当的预处理, 目的是减少杂质干扰, 因为虎杖药材提取液, 不仅含有效成份, 而且还含有大量的无效成份如蒽醌、鞣质、多糖以及黄酮类成份等, 所以采用柱层析分离之前, 可以通过对上柱样品进行适当的预处理, 以简化分离工作, 同时还可减轻层析柱污染, 提高柱利用率。上样样品的预处理还可以通过其他技术方法实现, 如对提取液进行萃取等方法。

在本发明方法中, 含有虎杖苷及白藜芦醇的初提物可以采用湿法或干法上样。层析洗脱优选乙醇-水作为洗脱溶剂, 乙醇是三类有机溶剂, 其生产成本低、使用安全, 并且层析洗脱

采用系列梯度浓度的乙醇-水作为溶剂梯度洗脱系统,通过0~30%乙醇水→30~60%乙醇水,达到富集有效成分(虎杖苷)、除去杂质干扰的目的,30~60%乙醇水洗脱后的层析柱,可以以更高浓度的乙醇水继续洗脱,得到含有白藜芦醇的洗脱流分。本发明方法实现了在同一根层析柱上,通过改变溶剂梯度系统进行洗脱而使有效成分分离并富集的目的,而且层析所用洗脱溶剂体积小,后处理量小。层析柱在洗脱白藜芦醇组分的同时已完成了层析柱的初步再生,再进行适当洗脱后换水洗,层析柱基本可达到备用状态。工艺过程操作简单、经济安全、产品制备量大。

三、实施例的突出特点体现在:

1. 溶剂系统: 本发明方法可以实现在水-乙醇系统下完成虎杖苷和白藜芦醇的提取、分离、纯化。在已经公开的虎杖苷和白藜芦醇分离技术中,均不同程度地涉及采用一、二类有机溶剂如乙醚、氯仿、甲醇以及乙酸乙酯等作为萃取溶剂或色谱层析的洗脱溶剂。显然,在实验操作及生产制备过程中,本发明方法之溶剂系统更安全,显著降低生产过程中所用溶剂对生产人员以及对环境的潜在影响。

2. 工业化、规模化的生产: 在已公开的虎杖苷和白藜芦醇的分离制备文献中,采用硅胶柱层析、有机溶剂萃取、逆流色谱层析等方法。显然,在这些方法中,其制备规模和制备量的放大必然受到自身技术条件的限制。例如,实现硅胶柱层析的工业化生产时,由于(1)作为层析填料的硅胶的再生步骤过于复杂而一般难以再生,而且硅胶柱的装柱条件以及层析条件的要求非常严格;(2)硅胶柱层析之洗脱溶剂一般为不能含有水的有机溶剂,如氯仿、乙酸乙酯等,这些溶剂不仅成本高,其使用及处理的条件也更为严格;因此,实现硅胶柱层析的工业化生产必然存在技术难度的限制以及生产成本的大幅度上升。而采用乙醚等溶剂进行萃取时,溶剂的使用与处理也存在类似的问题。至于高速逆流色谱层析,在现有技术条件下,其每批制备量一般只能以毫克计,难以实现该技术条件下的工业化生产。相比之下,在本发明方法中,由于(1)可以在水-乙醇系统下完成全部的生产过程;(2)聚酰胺层析柱可以再生利用,各批生产之间无须更换填料及重新装柱;(3)工业化生产条件的控制容易实现,其所需设备简单,操作简便、安全,生产成本低,易于实现不同生产规模下的工艺条件的转换及交接,因此在应用方面,本发明方法的突出优势是现有技术方法所不能比拟的。