



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102304028 B

(45) 授权公告日 2013. 10. 30

(21) 申请号 201110183680. 1

审查员 吴昊

(22) 申请日 2011. 07. 01

(73) 专利权人 中山大学

地址 510275 广东省广州市新港西路 135 号

(72) 发明人 王军 向玲丽 尹胜 李春燕  
姚美村 杨润潮 兰晶 周少耿  
郑晶

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限公司 44102

代理人 陈卫

(51) Int. Cl.

*C07C 39/21* (2006. 01)

*C07C 37/70* (2006. 01)

(56) 对比文件

JP 特开 2005-281179 A, 2005. 10. 13,

CN 1566349 A, 2005. 01. 19,

CN 101338327 A, 2009. 01. 07,

CN 101698634 A, 2010. 04. 28,

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法。本发明通过构建碱性三元两相液-液萃取系统纯化虎杖中的白藜芦醇,整个过程由提取、一次萃取和一次结晶等简单的操作组成,具有操作简单、成本低廉、纯化周期短等优点,无需繁琐昂贵的色谱分离装置。而且本发明方法制得的白藜芦醇产品纯度高,不含酸性蒽醌类共存组分,纯化过程中无白藜芦醇损失,提取率较传统方法高。

1. 一种分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于所述方法包括如下步骤:
  - S1. 提取:将干燥虎杖药材粉碎,用丙酮-水作为提取溶剂进行超声提取;
  - S2. 纯化:在步骤 S1 所得的提取液中加入亲脂性溶剂,构成丙酮-水-亲脂性溶剂组成的三元两相液-液萃取系统,萃取完毕、静置分层后,白藜芦醇在亲脂性溶剂富集相中富集浓缩;
  - S3. 结晶:将富集了白藜芦醇的亲脂性溶剂减压浓缩,放置吸出白藜芦醇;  
其中,步骤 S2 中所述丙酮-水-亲脂性溶剂的体积比为 5:5:3~7:3:6。
2. 根据权利要求 1 所述分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于步骤 S1 中所述丙酮-水的体积比为 1:1~7:3。
3. 根据权利要求 1 所述分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于步骤 S1 中所述虎杖和丙酮-水的用量比为 1:10 (g/v)。
4. 根据权利要求 1 所述分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于步骤 S2 中所述亲脂性溶剂为乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、乙醚中的任意一种。
5. 根据权利要求 1 所述分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于步骤 S2 中所述三元两相液-液萃取系统的 pH 值为弱碱性,为 7.5~9。
6. 根据权利要求 1 所述分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法,其特征在于步骤 S2 中所述静置分层的温度为 25~35℃,时间为 40~80min。

## 一种分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及药物分离纯化技术领域,具体涉及一种分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法。

### 背景技术

[0002] 白藜芦醇被喻为继紫杉醇之后的又一新的绿色抗癌药物,有显著的抑制癌细胞、降低血脂、防治心血管疾病、抗氧化、增强免疫力、延缓衰老等作用。在制药、食品、保健品和化妆品等行业中有及广泛的应用。

[0003] 近年来,以白藜芦醇为活性成分的保健食品层出不穷:日本将白藜芦醇作为食品添加剂加到各种酒中,配制出对心血管疾病有良好预防作用的低醇,高白藜芦醇的新型保健佐餐酒;Paradise her Resveratrol 及加拿大的 Natrol resveratrol,天津天狮集团的天狮活力康,上海纳贝生物制品有限公司的益生胶囊均为含白藜芦醇的保健品。

[0004] 白藜芦醇分子结构中富含羟基,具有捕获自由基,抗氧化能力,其分子中的二苯烯结构有吸收紫外光的能力,这些特性被化妆品行业充分应用。Lauder 的白金级极致赋活精华及世界十五大护肤品 Aveda(肯梦)的新作-晶彩 INNER LIGHT 新底妆系列美容产品中均含白藜芦醇。

[0005] 白藜芦醇已广泛用于治疗心血管疾病,动脉硬化和高血脂等疾病,在治疗阿尔茨海默病、认知功能损害及其他 predementia 综合征方面的效果已被医学界证实并得到重视。据统计,现已批准上市的含白藜芦醇高端药物制剂已近 1000 种,全球使用者约 2 亿人,并且以平均每年 5000 万人的速度增长。白藜芦醇制剂在未来 8 年内将形成巨大的产业,销售额将达到 5-8 亿美元。

[0006] 白藜芦醇在许多植物中都有分布,但蓼科植物虎杖中白藜芦醇含量是最高的,达 0.1-0.4%,是获得天然白藜芦醇的最理想资源。鉴于白藜芦醇在医药,保健品、化妆品市场有越来越广泛的应用,构建操作简单,成本低廉,易于大批量获得白藜芦醇纯品的分离纯化技术,有广泛的应用前景和重要意义。

[0007] 目前,制备白藜芦醇的方法主要有 3 种途径:(1)植物提取法;(2)生物发酵法;(3)化学合成法。其中提取方法主要有两种:一种是醇提,另一种是乙酸乙酯提取。上述现有技术操作繁琐,所用设备多,成本高且产品收率低。

### 发明内容

[0008] 本发明的目的在于根据现有技术中存在的上述不足,提供一种从虎杖中分离纯化白藜芦醇的方法,该方法操作简单,成本低廉,易于大批量获得白藜芦醇纯品。

[0009] 本发明上述目的通过以下技术方案予以实现:

[0010] 本发明的核心内容是根据虎杖的化学成份及白藜芦醇的溶解特性,设计发明了对白藜芦醇具有高选择性的含丙酮-水-亲脂性溶剂组成的碱性三元两相液-液萃取系统,用该系统对虎杖中白藜芦醇进行萃取分离纯化,通过一步萃取操作,可使虎杖中白藜芦醇

得到定量富集,与其他非白藜芦醇成分分开,再经结晶操作,得到纯度大于 85% 白藜芦醇产品。

[0011] 本发明分离纯化虎杖中白藜芦醇的方法具体包括如下步骤:

[0012] (1) 提取:将干燥虎杖药材粉碎,用丙酮-水作为提取溶剂进行提取;

[0013] (2) 纯化:在步骤(1)所得的提取液中加入亲脂性溶剂,构成丙酮-水-亲脂性溶剂组成的三元两相液-液萃取系统,萃取完毕、静置分层后,白藜芦醇在亲脂性溶剂富集相中富集浓缩;

[0014] (3) 结晶:将富集了白藜芦醇的亲脂性溶剂减压浓缩,放置析出白藜芦醇。

[0015] 作为一种优选方案,上述方法中,步骤(1)中所述丙酮-水的体积比为 1:1~7:3;所述虎杖和丙酮-水的用量比为 1:10 (g/v);鉴于白藜芦醇的不稳定性,为了加速提取过程,缩短提取周期,所述提取过程采用超声波辅助完成。

[0016] 作为一种优选方案,上述方法中,步骤(2)中所述亲脂性溶剂为乙酸乙酯、二氯甲烷、氯仿、乙醚中的任意一种;所述丙酮-水-亲脂性溶剂的体积比为 5:5:3~7:3:6;所述三元两相液-液萃取系统的 pH 值为弱碱性,为 7.5~9;所述静置分层的温度为 25~35℃,时间为 40~80min。弱碱性萃取条件的设计有如下优点:虎杖中共存的大黄素、大黄酚等蒽醌类化合物的酸性比白藜芦醇的酸性要强,在系统所设的弱碱性条件下,共存蒽醌类成份呈离子状态,不被亲脂性溶剂富集相萃取,只有白藜芦醇被选择性萃取,使选择性大幅度提高。

[0017] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0018] (1) 本发明所述丙酮-水-亲脂性溶剂组成的三元两相碱性溶剂系统对白藜芦醇有很高的萃取选择性,在纯化步骤中白藜芦醇几乎不损失,仅需一次液-液萃取,便可定量萃取虎杖提取液中白藜芦醇,方法的提取产率极高,根据天然虎杖中白藜芦醇的含量(通常为 0.1~0.4%),可得相应的定量提取率,产率最高可达 1%(按虎杖药材干重计算),超过酶解、酸水解技术的提取率。

[0019] (2) 本发明所述丙酮-水-亲脂性溶剂组成的三元两相碱性溶剂系统对虎杖中与白藜芦醇共存的酸性蒽醌类及大极性组分没有亲合力,这些组分通过一次萃取几乎可定量除去,萃取系统对虎杖中酸性及大极性的物质具有很强的除杂能力,因此不需柱层析技术,结合结晶技术,就能获得纯度理想的白藜芦醇产品。所得的白藜芦醇产品用核磁共振氢谱技术测定,不含醌类成分吸收信号。

[0020] (3) 本发明所述纯化技术操作极其简单:主要为下述几个部分,超声辅助溶剂提取→碱性条件下三元两相溶剂系统液液萃取进行白藜芦醇分离除杂→富集白藜芦醇后的溶液浓缩至小体积,进行结晶,便可得到产率高,纯度理想的白藜芦醇产品。这些操作易掌握、无危险、周期短,适合批量制备。

[0021] (4) 本发明所述方法成本低廉:因操作极其简单,所用的所有试剂耗费极低,实验中的各种损耗极小,且发明技术得到的产率极高,故有成本极低廉的优点。

## 具体实施方式

[0022] 以下结合实施例来进一步解释本发明,但实施例并不对本发明做任何形式的限定。

[0023] 实施例 1

[0024] 将虎杖干燥药材 500g 粉碎,用丙酮 / 水为 6/4 (v/v) 的溶液作为提取溶剂,提取液用量按料 / 液为 1:10(g/v),分 2 次超声提取,每次 35min,过滤,收集滤液,用苛性碱溶液调节滤液 pH 为弱碱性(pH 7.5-9),加入一定体积的乙酸乙酯,使体系中乙酸乙酯 / 丙酮 / 水的比例为 5/6/4(v/v/v),充分振摇,35℃下静置分层 40min,收集上相溶液,减压浓缩回收溶剂,至小体积(约剩余 5ml 左右),静置,析出固体,得白藜芦醇产品;产品采用单标定点法,用薄层扫描技术分析鉴定,白藜芦醇纯度在 85% 以上;提取率由虎杖中白藜芦醇含量决定,可定量提出虎杖中的白藜芦醇(即,若原料虎杖中白藜芦醇含量在 0.4%,便可得到 2g 白藜芦醇产品,若原料虎杖中白藜芦醇含量在 0.6%,便可得到 3g 白藜芦醇产品)。

[0025] 实施例 2

[0026] 将虎杖干燥药材 500g 粉碎,用丙酮 / 水为 7:3 (v/v) 的溶液作为提取溶剂,提取液用量料 / 液为 1:10(g/v),分 2 次超声提取,每次 35min,过滤,收集滤液,用苛性碱溶液调节滤液 pH 为弱碱性(pH7.5-9),加入一定体积的二氯甲烷,使体系中二氯甲烷 / 丙酮 / 水的比例为 5/7/3(v/v/v),充分振摇,35℃下静置分层 40min,收集下相溶液,减压浓缩回收溶剂至小体积(约剩余 5ml 左右),静置,析出固体,得白藜芦醇产品;产品采用单标定点法,用薄层扫描技术分析鉴定,白藜芦醇纯度在 85% 以上,提取率由虎杖中白藜芦醇含量决定,可定量提出虎杖中的白藜芦醇(即,若原料虎杖中白藜芦醇含量在 0.4%,便可得到 2g 白藜芦醇产品,若原料虎杖中白藜芦醇含量在 0.6%,便可得到 3g 白藜芦醇产品)。