[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int.Cl[7]
C07D305/14
B01D 15/04

[12]发明专利说明书

[21] ZL 专利号 93120553.0

[45]授权公告日 2000 年 6 月 28 日

[11]授权公告号 CN 1053900C

[22]申请日 1993.11.27 [24]颁证日 2000.4.14
[21]申请号 93120553.0
[30]优先权
[32]1992.11.27 [33]US [31]07/982,391
[73]专利权人 拿坡罗生物治疗股份有限公司
地址 美国科罗拉多州
[72]发明人 D·卡弗 T·R·普劳特
D·L·亨德森 C·T·沃克曼
C·L·休斯
[56]参考文献
J. OF NATURAL PRODUCTS VOL. 47, NO. 1 1984. 1. 1 SENILH 等人
TETRAHEDRON LETTERS NO. 35 1977. 1. 1 B. SAHA 等人
审查员 李 越

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所
代理人 林蕴和

权利要求书 2 页 说明书 14 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 使用离子交换介质提高红豆杉烷产率的方法

[57]摘要

本发明涉及使用吸附柱来裂解并回收通常检测不是游离的红豆杉烷的红豆杉烷 的方法，该方法包括处理含标准可检测红豆杉烷和其它无法检测红豆杉烷化合 物的第一溶液以获得含量比第一溶液更高可检测标准红豆杉烷百分数的第二溶 液。本发明溶液的离子交换介质为离子交换树脂。离子交换树脂可为阴离子交 换树脂和阳离子交换树脂的混合物，阴离子交换树脂为 OH^- 型，阳离子交 换树脂为 H^+，离子交换树脂较好地为氧化铝。

ISSN1008-4274

权 利 要 求 书

1.一种处理含可检测标准的红豆杉烷和非标准红豆杉烷化合物的第一溶液以产生含比所述第一溶液更高百分数的可检测标准红豆杉烷的第二溶液的方法，包括如下步骤:

用离子交换树脂或氧化铝装填含第一开口和第二开口的柱;

将所述第一溶液放入所述柱的第一开口中，使所述第一溶液通过所述离子交换树脂或氧化铝到达所述开口，由此通过离子交换反应使所述红豆杉烷化合物转变成标准红豆杉烷，在其中形成了第二溶液;

从所述柱的第二开口中收集所述第二溶液; 和

从所述第二溶液中回收比在所述第一溶液中检测到的更高百分数的标准红豆杉烷。

2.如权利要求 1 的方法，其特征在于，用离子交换树脂装填柱。

3.如权利要求 2 的方法，其特征在于，所述离子交换树脂为阴离子交换树脂和阳离子交换树脂的混合物。

4.如权利要求 3 的方法，其特征在于，所述阴离子交换树脂为 OH^-型。

5.如权利要求 4 的方法，其特征在于，所述阳离子交换树脂为 H^+型。

6.如权利要求 1 所述的方法，其特征在于，用氧化铝装填柱。

7.如权利要求 6 的方法，其特征在于，将所述氧化铝加热至高于 50 ℃，由此第二溶液主要含浆果赤霉素Ⅲ类型的红豆杉烷。

8.如权利要求 1 的方法，其特征在于，所述离子交换树脂或氧化铝在 25 ℃。

9.如权利要求 1 的方法，其特征在于，所述第一溶液含所述可检测标准红豆杉烷，非标准红豆杉烷化合物，残余物和溶剂。

10. 如权利要求 9 的方法，其特征在于，所述溶剂为一种醇。

11. 如权利要求 1 的方法，其特征在于，在所述第二溶液中的所

述标准红豆杉烷是红豆杉醇类型。

12. 如权利要求 1 的方法，其特征在于，在所述第二溶液中的所述标准红豆杉烷是浆果赤霉素III类型。

13. 一种处理含基准量游离标准红豆杉烷和一定量结合的红豆杉烷的提取液以获得含超过基准的某一量游离标准红豆杉烷的第二溶液的方法，包括以下步骤:

提供离子交换树脂或氧化铝胶;

将所述离子交换树脂或氧化铝胶填充入所述柱;

在所述柱中使所述提取液与所述离子交换树脂或氧化铝胶接触，所述提取液流过所述柱，所述结合的红豆杉烷转变成所述游离标准红豆杉烷; 和

从所述柱中收集含超过提取液中红豆杉烷基量的某一量的游离标准红豆杉烷的第二溶液。

14. 如权利要求 13 的方法，其特征在于，所述标准红豆杉烷的基产率为 100%产率，所述第二溶液中游离标准红豆杉烷的量超过 115%红豆杉烷产率。

15. 如权利要求 13 的方法，其特征在于，用离子交换树脂填充入柱。

16. 如权利要求 13 的方法，其特征在于，用氧化铝胶填充入柱。

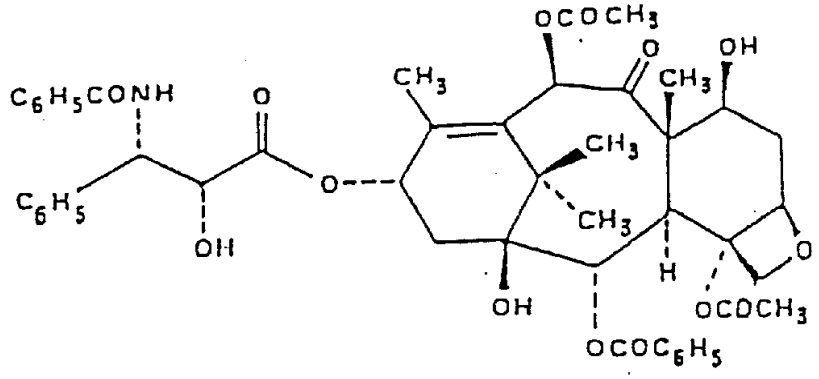
17. 如权利要求 13 的方法，其特征在于，将所述离子交换树脂或氧化铝胶升温至高于 125 ℃，且在所述第二溶液中的所述游离标准红豆杉烷成为浆果赤霉素III类型。

说　明　书

使用离子交换介质提高红豆杉烷产率的方法

本发明涉及从天然植物提取液中回收并裂解红豆杉烷的方法，尤其是，本发明涉及从含可检测和不可检测红豆杉烷的提取物中分离出不可检测红豆杉烷的方法。本发明的方法尤其是涉及将吸附柱用于裂解并回收结合的红豆杉烷，使该通常是检测不到的结合红豆杉烷至可检测的游离红豆杉烷。

在实验研究中，发现红豆杉醇对许多癌性肿瘤具有抗肿瘤活性。红豆杉醇是一种天然产物，然而不幸的是它只以少量浓度存在于短叶紫杉(Taxus brevifolia)物种如短叶紫杉树中。考虑到有限地供应红豆杉烷和大量商业上需求红豆杉烷，化学家化费大量的精力研究了各种提高从紫杉树提取红豆杉烷产率的方法。特别地，红豆杉醇，浆果赤霉素Ⅲ，10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅴ，7—表红豆杉醇，10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ和 cephalomannina(标准红豆杉烷）和其它双萜类红豆杉烷族成员引起了抗癌研究者的兴趣。红豆杉醇的结构如下：



上述结构由高压液相色谱法(HPLC)确认是红豆杉醇。然而，一

些含红豆杉醇或红豆杉醇核，即20碳原子环结构的化合物（不是标准红豆杉烷）由HPLC确认不是红豆杉醇。这些化合物无法确认的原因是由于红豆杉烷可能已结合至其它大分子上，使得所得分子无法由标准实验确认是标准红豆杉烷。例如，结合糖的红豆杉醇由HPLC无法很快确认是标准红豆杉烷。

在文献中已分离并鉴定了一些结合糖的红豆杉醇，例如7—木糖基红豆杉醇和7—木糖基—10—脱乙酰基红豆杉醇。参见V. Senilh et al.，自然产品杂志(Journal of Natural products)，47，131—137（1984）。不可溶的红豆杉醇在紫杉树中极有可能以一种可溶的结合体形式输送。希望在红豆杉醇中加入糖分子，使红豆杉醇更易溶解，这样使之更易通过活紫杉树的针叶和枝条传送出来。

在与上述相同的文献中指出了将氧化铝吸附柱用于纯化含红豆杉烷的萃取液。在由Senilh et al.，著的自然产品杂志论文(Vol. 47，No. 1 131页，1月—2月(1984)）中揭示了把比较纯的红豆杉烷样品通过氧化铝柱。此文献报导了粗混合油(miscelle)，即由乙醇从短叶紫杉生物量中提取的粗红豆杉烷样品。然后蒸发该粗提取液，再用H_2O/CH_2Cl_2进行液/液分布，然后，丢弃分离出来的水相，分离的有机相与各种溶剂合并。此后，将比较纯的红豆杉烷物质通过硅胶柱再通过氧化铝柱。

该论文并未报告指明提高从提取液中回收红豆杉醇。未指出提高极有可能是由于丢弃了液/液分离的水相。假定不可检测红豆杉烷是水溶性的，这些水溶红豆杉烷可能与H_2O/CH_2Cl_2液/液分离步骤的水相一起丢弃。这样，由于丢弃了水溶性红豆杉烷如结合糖的红豆杉烷，因而就未指明其产率有所提高。留下的问题是需要有一种分离，纯化并裂解存在于提取液中但又不易检测出来的红豆杉烷的方法。

本发明的一个优点是分离存在于未纯化红豆杉烷混合物中的红

豆杉烷。

本发明的另一个优点是加工提取液中的红豆杉烷，大部分这些红豆杉烷转变成浆果赤霉素Ⅲ。

本发明的又一个优点是提高提取液中红豆杉烷的产率，使之高于所期望的基本产率。

本发明的再一个优点是将结合的红豆杉烷物转变成游离的红豆杉醇或游离的浆果赤霉素Ⅲ或其它游离标准红豆杉烷。

本发明概括地包括制备含某一百分浓度可检测出来的标准红豆杉烷的第一溶液，以产生含更高百分数的可检测的标准红豆杉烷的第二溶液的方法，该方法包括如下步骤：装填一柱，该柱含由吸附剂填充介质填充的第一个开口和第二个开口；将第一溶液放入柱的第一开口中，得到第一溶液通过填充介质到达第二开口，形成第二溶液；收集柱第二开口中的第二溶液；从第二溶液中回收比第一溶液可检测的更高百分深度的标准红豆杉烷。

概括地讲，本发明是涉及从天然植物中回收红豆杉烷物质的方法。尤其是，本发明涉及使用离子交换介质不仅回收第一溶液中的可检测红豆杉烷，而且回收一些不可检测的红豆杉烷的方法。在本发明的较佳实施例中，粗溶剂混合物是由将溶剂如甲醇或乙醇流动通过生物量的含红豆杉烷物质的短叶紫杉物种的树皮或针叶而获得的。此溶剂混合物中含大量的溶剂和低浓度的红豆杉烷物质。设定包含于溶剂混合物或第一溶液中的红豆杉烷含量为100%用于生物量的红豆杉烷化合物，若使用针叶提取液可获得更高产率，假定针叶需要大量结合糖的红豆杉烷（即，水溶性红豆杉烷）以从树中的红豆杉烷中转移出来。

对由生物量提取的第一溶液通过高压液相色谱法（HPLC）使用外或内标准进行标准红豆杉烷如红豆杉醇，浆果赤霉素Ⅲ，10—脱乙酰基红豆杉醇和10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的分析，将

HPLC结果转换成每克在原来的生物量中红豆杉烷量的微克数。以第一溶液中红豆杉烷的微克量作为基准量，该基产率在原来的生物量中被认为是100%标准红豆杉烷如红豆杉醇，浆果赤霉素Ⅲ，10—脱乙酰基红豆杉醇和10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的产率。按本发明对第一溶液的进一步加工会导致意想不到的经常超过理论100%的这些标准红豆杉烷的高产率。

本发明所达到的超过第一溶液基产率的结果的可能性包含两个方面。第一，必须有物质存在于第一溶液中，该物质含在最初的粗溶剂混合提取液中无法检测是标准红豆杉烷的红豆杉烷。第二，本发明必须从这些不可检测的红豆杉烷物质中获得红豆杉醇或浆果赤霉素Ⅲ或10—脱乙酰基红豆杉醇或10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ。这种不可检测红豆杉烷物质大概是衍生自红豆杉烷化合物，该化合物含由于其它化合物结合三核上而不易确认是标准红豆杉烷的红豆杉烷环。这种类型的不可检测红豆杉烷物质的例子可为如前所述的7—木糖基红豆杉醇。

通常结合的红豆杉烷分子含红豆杉醇核，即20个碳原子的环结构，但含特殊化学结构的这种分子将无法检测是标准红豆杉烷。另一方面，游离的红豆杉烷是那些由HPLC通过红豆杉烷（如红豆杉醇，10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ，浆果赤霉素Ⅲ，10—脱乙酰基红豆杉醇等）标准在各种滞留时间用外标检测出来的各种红豆杉烷。

目前，通过使用本发明，第一溶液中结合的红豆杉烷会导致无法分离的游离标准红豆杉烷。然而，已发现了将结合的红豆杉烷转化成游离的标准红豆杉烷的方法。

处理第一溶液以将结合的红豆杉烷转变成含游离红豆杉烷使进入第二溶液的方法中使用一种离子交换介质。氧化铝和离子交换树脂，此两种离子交换介质已成功地用于提高粗溶剂混合油提取液的

红豆杉烷产率. 可以将氧化铝加热至高于 50 ℃. 也可以将离子交换树脂或氧化铝胶升温至高于 125 ℃.

氧化铝柱

在试图纯化含红豆杉烷提取液的过程中, 可使用各种氧化铝柱. 红豆杉烷产率结果会有令人惊奇的变化. 一些可商品购得的氧化铝显示出低产率, 而其它氧化铝则显示出高于红豆杉烷理论基产率的产率, 逐渐显示的事实是, 当小心地在氧化铝生产中具有所须的碱性能时可获得更高的产率. 另外, 还发现可调节第一溶液与氧化铝接触的温度和时间长度以获得所需的结果.

通常, 若在室温 (25° － 27 ℃) 下将第一溶液通过氧化铝柱, 将结合的红豆杉醇转变成游离红豆杉醇的必要接触时间为 1-4 小时. 然而, 若将氧化铝胶的温度升至 30° － 70° , 如少至 10 － 600 秒的更短接触时间就可充分地达到提高红豆杉烷的产率. 通常使用文献中的方法来缩短接触时间. 例如, 可使用真空快速地吸引液体通过柱, 或使用高压流动液体以加快液体通过柱的速率.

在实验过程中, 将氧化铝的温度升至高于 70 ℃. 这些温度会显示出令人惊奇的意料不到的结果. 分析从柱中流出的第二溶液, 结果不再显示出游离红豆杉醇的高产率. 替换的热氧化铝基本上使所有的红豆杉醇转变成游离的浆果赤霉素 III, 10- 脱乙酰基红豆杉醇转变成游离的 10- 脱乙酰基浆果赤霉素 III, 令人惊奇的是只有游离浆果赤霉素 III 有轻微的表异构化. 这些红豆杉烷产率是通过最初具有一种活性为一级的氧化铝物质而得到提高的.

当使用具有一种称为 “优于一级活性(super one activity)” 的活性的第二氧化铝时; 该第二氧化铝 (可商品购得) 甚至可显示出比第一氧化铝更具令人惊奇的结果. 只在 50 ℃时, 第二溶液在通过第二氧化铝后获得 449%的游离浆果赤霉素 III 的产率. 在实验过程的后期, 发现不必要再附加热量就可快速地将结合的红豆杉烷转变成游离标准红豆杉烷如浆果赤霉素 III. 若氧化铝柱在使用前不调节到

正常状态，第一溶液与氧化铝的接触会发生放热反应。尽管这种放热反应不受控制，它有效地提供充足的热使红豆杉烷转变成游离红豆杉醇形成。

通过将第一溶液小心地通过制好的离子交换树脂，同样可获得意想不到的游离红豆杉醇和游离浆果赤霉素Ⅲ的高率率。通过离子交换树脂的从树皮提取的第一溶液的产率通常为基准产率的115%，从针叶提取的第一溶液的产率通常为基产率的150%。

由离子交换树脂将结合的红豆杉醇转变成游离红豆杉醇的机理认为与由氧化铝将结合的红豆杉醇转变成游离红豆杉醇的机理是相同的。该机理可能是碱催化裂解大分子上的红豆杉烷核，即该机理可能是裂解红豆杉烷7一位上的糖分子。木糖键已知是难以这样裂解的，离子交换树脂大概在此机理中是催化剂。

最常用于阴离子和阳离子交换树脂的离子交换介质的树脂类型为聚苯乙烯聚合物并用二乙烯苯交联。阳离子交换树脂由磺酸衍生，阴离子交换树脂由季铵基衍生。阳离子交换树脂和阴离子交换树脂可与任何需要的阴离子和阳离子一起装填。例如，典型的去离子水纯化体系包含去离子筒的混合床，该筒包含预处理阴离子和阳离子成交换H^+和OH^-。

已假设阴离子交换树脂是用于将结合的红豆杉醇转变成游离红豆杉醇的催化剂。这个假设进一步地由使用阴离子交换树脂本身能提高游离红豆杉烷产率的事实得到支持。然而，为避免红豆杉烷物质的表异构化，预处理阴离子和阳离子成交换H^+和OH^-的混合床，类似于去离子水的纯化是较好的。

曾预期若将比OH^-弱的阴离子交换剂如OAc^-（乙酸盐型）装填在阴离子树脂柱中，可排除阳离子交换(H^+)的存在。当将更弱的阴离子树脂用作OAc^-（乙酸盐型）阴离子交换剂时，可使红豆杉烷的产率有所提高，然而，这些产率不如由含OH^-和H^+交换树脂

混合床获得的产率高。

若阳离子和阴离子交换树脂分开且不混合，可使离子交换材料，的再生简化，实验是使第一溶液分别通过阴离子树脂和阳离子树脂，将阴离子交换树脂(OA^-)和阳离子交换树脂(H^+)装填在两个分开的柱上，并使提取液分别通过。令人惊奇的是，不管提取液通过的顺序如何，未能看到如树脂混合床所显示的红豆杉烷物质产率的大幅度提高。事实上，在第一次通过后，溶液每一次通过分开的材料都会减少游离红豆杉烷。

除了另有说明，此处属于本发明的专业和科学术语的含义与通常文献中技术熟练者所理解的是相同的，与本文描述相似或相同的方法和物质被认为都在本发明的范围中。下面提供不是限制性的实施例。

实施例 I

将 65ml 从含 0.05g/ml 残余物的短叶紫杉树皮中提取的甲醇提取液作为样品物质（样品 1）。该样品由 HPLC 检测为 6085 微克红豆杉醇。在此样品中检测不到浆果赤霉素Ⅲ。将该样品通过氧化铝加热柱。在将 West 冷凝器隔层的 15mm×30cm 柱中填入 25 克氧化铝（可商品购得）。该氧化铝具有活性 1 级。活性指数越低，氧化铝的结合力就越强。该氧化铝的表面积为 150—200 平方米/克，筛目大小为 50—200 微米，pH 在 7.4—9.0 的范围内。氧化铝由重循环热浴加热至 55°—60℃，然后经用 50ml 纯甲醇通过柱的处理。由于当溶剂与干吸附剂介质接触时会发热，因而必须控制处理时的温度。氧化铝处理完毕后，将样品在 5—15 分钟内通过柱。而后用 20ml 甲醇淋洗柱。收集总合并溶液（溶液 I）并由 HPLC 分析。

	样品 I	溶液 I
红豆杉醇	6105 微克	7363 微克

红豆杉醇百分数	100%	121%
浆果赤霉素Ⅲ	0 微克	0 微克
浆果赤霉素Ⅲ的百分数	0%	0%
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ	3908 微克	3727 微克
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的百分数	100%	95%

游离红豆杉醇的附加产率高于红豆杉醇的基准产率，此结果由HPLC检测出并设想是由于氧化铝裂解红豆杉烷环上的分子形成第二溶液中的游离红豆杉醇。游离红豆杉醇提高得比较小是由于使用生物量形成样品提取液。短叶紫杉的树皮可能含比短叶紫杉针叶更低量的结合的红豆杉醇，特别是结合糖的红豆杉醇。

实施例Ⅱ

将从短叶紫杉针叶中提取的三种甲醇提取液作为样品物质。第一样品为65ml，含250微克红豆杉醇和334微克浆果赤霉素Ⅲ（样品1）。第二样品为20ml，含由HPLC检测的144.2微克红豆杉醇和25.5微克浆果赤霉素Ⅲ（样品2）。第三样品含由HPLC检测的5.04克红豆杉醇和1.23克浆果赤霉素Ⅲ（样品3）。将各样品通过氧在铝柱，15mm×30cm柱由25克氧化铝（可商品购得）装填。

反应条件	样品1
温度	60—70℃
接触时间	1分钟
真空压力	15—20Psi

	样品 1	溶液 1
红豆杉醇的微克数	250 微克	220 微克
红豆杉醇的百分数	100%	88%
浆果赤霉素Ⅲ的微克数	334.3 微克	1501 微克
浆果赤霉素Ⅲ的百分数	100%	449%
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的微克数	0 微克	0 微克
10—脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的百分数	0%	0%

氧化铝由重循环热浴加热，然后经 50ml 纯甲醇通过柱的处理，氧化铝处理后，将样品 1 在 15—20Psi 的真空压力下经 1 分钟通过柱。在较佳实施例中，短时间接触可使加压样品(20—40psi)通过柱。然后，用 20ml 甲醇淋洗柱。由 HPLC 分析总合并溶液（溶液 1)。结果显示出超过 1000 微克在初样品 1 中检测不到的游离浆果赤霉素Ⅲ。

反应条件	样品 2
温度	25℃
接触时间	30 分钟

	样品 2	溶液 2
红豆杉醇的微克数	144.2 微克	225 微克
红豆杉醇百分数	100%	156%
浆果赤霉素Ⅲ的微克数	27 微克	46 微克
浆果赤霉素Ⅲ百分数	100%	170%
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的微克数	123 微克	126 微克
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ百分数	100%	102%

将氧化铝置于室温下，并经 20ml 纯甲醇通过柱的处理，氧化铝经处理后，将样品 2 通过柱，随后在室温下用 20ml 甲醇淋洗柱，由 HPLC 分析总合并溶液（溶液 2）。HPLC 结果表明附加 8 微克游离红豆杉醇和附加 21 微克游离浆果赤霉素Ⅲ。

反应条件	样品 3
温度	25℃
接触时间	1—2 小时

	样品 3	溶液 3
红豆杉醇的克数	1.23 克	5.04 克
红豆杉醇的百分数	100%	410%
浆果赤霉素Ⅲ的克数	0 克	0 克

浆果赤霉素Ⅲ的百分数	0%	0%
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的克数	0 克	0 克
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的百分数	0%	0%

氧化铝柱不经加热，然而，本实验不经任何处理。因此，本实验是在无法控制热的条件下进行的，样品3冲击氧化铝是一放热反应。此无法控制的热会导致令人惊奇的游离红豆杉醇的产率，它表明该热不够足以裂解红豆杉烷环上的红豆杉醇侧链，但能足以裂解红豆杉醇环上结合的大分子。淋洗溶液和流出溶液（溶液3）的HPLC分析显示出几乎附加了4克游离红豆杉醇。

实施例Ⅲ

将从短叶紫杉针叶中提取的一种甲醇提取液样品作为样品物质。该样品通过氧化铝的加热柱，15mm×30cm柱含装填于柱中支持25克氧化铝（可商品购得）的棉花塞。将该氧化铝经重循环热浴加热至50℃，然后将50ml含10%H_2O和90%甲醇的溶液通过作预处理柱。氧化铝经处理后，使样品在短时间，约10—600秒内通过柱。随后，用20ml甲醇淋洗柱。由HPLC分析总合并溶液，结果表明与初第一溶液100%基产率相比，浆果赤霉素Ⅲ有400%的提高，它表明所有的游离红豆杉醇都转变成浆果赤霉素Ⅲ。这就是由含红豆杉醇和可能其它红豆杉烷的粗红豆杉烷提取液转化成浆果赤霉素Ⅲ的方法。

实施例Ⅳ

将可商品购得名称为Dowex－1X8的阴离子交换树脂处理成OH^-型。即将200ml 2M的氢氧化钠通过树脂来使阴离子交换树脂转变成OH^-型。然后将去离子水通过树脂至洗液的pH值低于8而

使残余的碱液从树脂中淋洗掉。

将可商品购得的名称为 Dowex－50X8 的阳离子交换树脂处理成 H^+型，将大量 1M－3M 盐酸通过树脂来使阳离子交换树脂转变成 H^+型。然后将去离子水通过树脂至洗液的pH 值高于 6 而使残余的酸液从树脂中淋洗掉。

接着，将 2 克 Dowex－50X8(H^+)与 3 克 Dowex－1X8(OH^-)混合成均匀混合树脂床，室温下使 25ml 由 HPLC 分析含 433mg 游离红豆杉醇的短叶紫杉树皮甲醇提取液（溶液Ⅳ）通过树脂的混合床渗透 5 分钟。然后用 25ml 纯甲醇淋洗树脂，由 HPLC 分析所得合并溶液（溶液Ⅳ）。

	样品Ⅳ	溶液Ⅳ
红豆杉醇	357	443
的微克数	微克	微克
红豆杉醇的百分数	100%	124%
浆果赤霉素Ⅲ的	463.96	1545
微克数	微克	微克
浆果赤霉素Ⅲ的		
百分数	100%	333%

通过离子交换树脂获得的游离浆果赤霉素Ⅲ和游离红豆杉醇产率的提高与使用氧化铝柱而获得的产率提高是相类似的。

实施例Ⅴ

将可商品购得的名称为 Dowex－1X8 阴离子交换树脂处理成 OAc^-（乙酸盐）型，先将 200ml 2M 的氢氧化钠溶液通过树脂使阴离子交换树脂转变成 OH^-型，然后将去离子水通过树脂至洗液的pH 值低于 8 而使残余的碱液从树脂中淋洗掉，将乙酸的稀溶液(0.5－2m)通过树脂使阴离子交换树脂转变成 OAc^-型，并用去离子水

淋洗掉残余的酸液。

将可商品购得的名称为 Dowex－50X8 的阳离子交换树脂处理成 H^+型。将大量 1M－3M 盐酸通过树脂来使阳离子交换树脂转交成 H^+型。然后将去离子水通过树脂至洗液的 pH 值高于 6 而使残余的酸液从树脂中淋洗掉。

将 4 克 Dowex－50X8 (H^+) 和 4 克 Dowex－1X8(OAc^-) 制成两个分开的树脂床，室温下使 76ml 由 HPLC 分析含 2149 微克游离红豆杉醇，218 微克游离浆果赤霉素Ⅲ和 1200 微克游离 10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的短叶紫杉树皮甲醇提取液（样品 V）通过阴离子树脂床渗透，渗透时间约为 5 分钟，用 25ml 纯甲醇淋洗树脂，并由 HPLC 分析所得合并的溶液，所得溶液作为溶液 V_1。然后在室温下将溶液 V_1 通过阳离子树脂床，用 25ml 纯甲醇淋洗，由 HPLC 分析所得合并溶液（溶液 V_2），然后将溶液 V_2 再次通过阴离子床，而后再通过阳离子床。最初通过阴离子床就会提高游离浆果赤霉素。然而，在第一次通过阴离子床后，结果表明对游离红豆杉醇，游离浆果赤霉素Ⅲ和游离 10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的降低与每次通过各柱是相同的。

	样品 V	溶液 V_1	溶液 V_2
红豆杉醇	2149	2120	1787
微克	微克	微克	微克
红豆杉醇	100%	98.6%	83%
百分数			
浆果赤	218	330	284
霉素Ⅲ的微克数	微克	微克	微克
浆果赤霉素Ⅲ	100%	150%	130%
的百分数			
10— 脱乙酰基	1200	1223	951

浆果赤霉素Ⅲ	微克	微克	微克
10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ的百分数	100%	120%	79%

在第一次通过时，阴离子 OAc^- 交换树脂对游离红豆杉烷显示出有所提高，当通过阳离子 H^+ 交换剂时，游离浆果赤霉素Ⅲ和 10— 脱乙酰基浆果赤霉素Ⅲ红豆杉醇开始下降，第一次通过阴离子床对产率的提高基本上低于树脂混合床或氧化铝实验所显示的产率。

因此，本发明已在某种程度上特别是直接对本发明的较佳实施例作了描述。应该理解的是尽管本发明由下述权利要求限定，按已有文献解释，使对本发明较佳实施例所作的改进或改变不偏离包含于其中的发明内容。