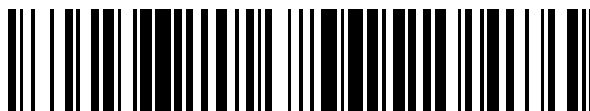


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 820**

51 Int. Cl.:

**C07H 17/04** (2006.01)

**C07H 1/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.11.2010 PCT/CN2010/078597**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2012 WO12061984**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2010 E 10859598 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2650301**

54 Título: **Método para preparar albiflorina y paeoniflorina**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**01.06.2018**

73 Titular/es:  
**ZHANG, ZUOGUANG (100.0%)**  
**Room 405, Jiarun Garden Block B No.19**  
**Guangshun South Street**  
**Chaoyang, Beijing 100102, CN**

72 Inventor/es:  
**ZHANG, ZUOGUANG**

74 Agente/Representante:  
**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 670 820 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Método para preparar albiflorina y paeoniflorina

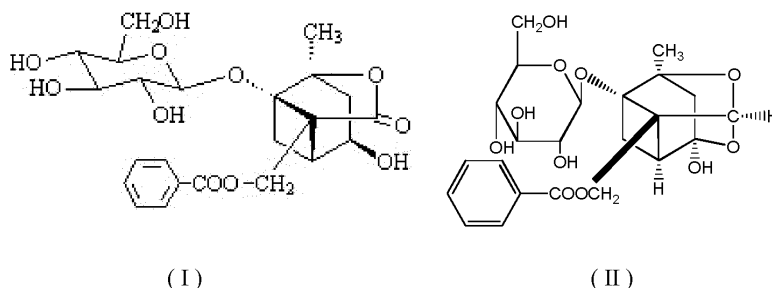
**Campo de la invención**

5 La invención pertenece al campo técnico de los medicamentos y se refiere a un método para separar y extraer compuestos en el campo químico, en particular a un procedimiento de preparación de los materiales activos biológicos naturales de planta paeoniflorina y albiflorina.

**Antecedentes de la invención**

10 *Paeonia Lactiflora*, perteneciente a la planta herbácea perenne ranunculácea paeonioideae hutch, y sus raíces secadas se pueden usar como un medicamento. Dos tipos de peonías se registran en la edición de 2010 de la Farmacopea china, una de las cuales es *Radix Paeoniae Alba*, que es la raíz secada de *Paeoniae Lactiflora* Pall, y la otra es *Radix Paeoniae Rubra*, que es la raíz secada de *Paeonia Veitchii* Lynch. Una pluralidad de preparaciones medicinales chinas tradicionales que contienen *Paeonia Lactiflora* aparece actualmente en el mercado, tales como comprimidos contra la trombosis cerebral, cápsulas beneficiosas para el cerebro y de rehabilitación, comprimidos para tratar parálisis, píldoras de resurrección, píldoras activadoras colaterales y similares, que se usan principalmente para tratar enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, neuralgia, hipertensión, abortos, dismenorrea, etc. La investigación química moderna muestra que la peonía consiste principalmente en paeoniflorina, albiflorina, oxipaeoniflorina, benzoilpaeoniflorina y otros componentes. Debido al alto contenido de paeoniflorina en el material medicinal, y su disponibilidad comparativamente fácil del producto puro, existen más informes e investigaciones sobre la paeoniflorina. La paeoniflorina tiene actividades de alivio del dolor, calmante, protectora del hígado, resistente a la inflamación, regulador inmunitario, dilatación de los vasos sanguíneos, mejora de los comportamiento de aprendizaje y memorización y similares, y se puede usar para tratar artritis reumatoide, hepatitis, enfermedades seniles, etc. Durante mucho tiempo, la mayoría de los estudios consideraron que la paeoniflorina, como un ingrediente activo principal de la peonía, se puede tomar como un índice para medir el medicamento que contiene peonía y para evaluar el comportamiento de calidad del medicamento dependiendo de su contenido.

25 La albiflorina pertenece a los compuestos monoterpénoides, la fórmula molecular es  $C_{23}H_{28}O_{11}$ , el peso molecular es 480,46 y la estructura molecular se muestra como FÓRMULA (I); la paeoniflorina pertenece a los compuestos monoterpénoides, la fórmula molecular es  $C_{23}H_{28}O_{11}$ , el peso molecular es 480,46 y la estructura molecular se muestra como FÓRMULA (II).



30 En los últimos años, la investigación farmacológica moderna encontró que la albiflorina tiene funciones de alivio del dolor, calmar y resistir la convulsión, así como una función sobre el sistema inmunitario, el músculo liso, resistencia a la inflamación y a microorganismos patógenos y protección del hígado. Clínicamente, la albiflorina se usa principalmente para la resistencia a la epilepsia, el alivio del dolor, la rehabilitación de drogas, el alivio del vértigo, el tratamiento de la artritis reumatoide, la disentería bacilar y la enteritis, la hepatitis viral y enfermedades seniles, la resistencia a la floculación de sulfato de bario y la disolución del moco.

35 Por lo tanto, la investigación sobre la albiflorina está incrementando cada vez más la atención. Por ejemplo, una patente de invención de 200510045840.0 divulga una composición extraída y separada de *radix paeoniae alba* (*paeonia lactiflora pall*), que contiene los compuestos activos paeoniflorina y albiflorina, en donde el contenido total de estos dos componentes es 50-95%, y la relación de paeoniflorina a albiflorina en la composición está en 1:10-10:1. La composición se usa para preparar medicamentos para tratar la leucopenia, disminución de plaquetas y hemoglobina provocada por diversas razones. Para otro ejemplo, una patente de invención de 200710132810.2 divulga una composición farmacéutica que contiene paeoniflorina y albiflorina, en donde la relación de paeoniflorina a albiflorina en la composición está en 10:1 - 50:1. Esta composición se puede usar para prevenir y tratar enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Sin embargo, las susodichas investigaciones solo se limitan a los efectos farmacológicos de la paeoniflorina y la albiflorina, y su producto es una composición de la paeoniflorina y la albiflorina.

Debido a las propiedades técnicas de la albiflorina, es difícil preparar albiflorina de alta pureza. No hay una técnica simple y cómoda en la investigación existente para preparar albiflorina de alta pureza con bajo coste y a gran escala.

5 Por ejemplo, una patente de invención de 200910100680.3 divulga un método para preparar albiflorina mediante cromatografía en lecho móvil simulada (SMBC). Este método usaba extracto de glucósidos totales de peonía como una materia prima y prepara la albiflorina para preparar albiflorina mediante SMBC, en donde la fase inmóvil de SMBC es gel de sílice C18, y la fase móvil es una solución mixta de metanol o acetonitrilo y agua, ácido fórmico y alcohol isopropílico. En la solución mixta, en porcentaje en volumen, el metanol o el acetonitrilo supone 10-50%, el agua supone 50-90%, el ácido fórmico supone 0-1% y el alcohol isopropílico supone 0-2%, y el porcentaje en volumen total de los diversos componentes es 100%. La pureza de la albiflorina preparada mediante este método puede ser mayor de 90%, pero esto no es adecuado para la producción en masa, teniendo en cuenta la gran cantidad de gasto en el gel de sílice en fase inversa (RP-C18), el procedimiento complejo, el control estricto de las condiciones y su coste posterior.

10 Por lo tanto, no existe una técnica tal que pueda cumplir la necesidad de la producción industrial y productos de alta pureza de paeoniflorina y albiflorina simultáneamente.

### Compendio de la invención

15 El objetivo de esta invención es proporcionar un método para preparar paeoniflorina y albiflorina simultáneamente, con un procedimiento de funcionamiento simple y un ciclo de producción corto. En un procedimiento, que usa el método de la invención, la paeoniflorina y la albiflorina se pueden obtener a nivel de kilogramos, respectivamente. La paeoniflorina y la albiflorina preparadas tienen un alto contenido y las purezas pueden ser mayores de 90%. Usar este método para preparar paeoniflorina y albiflorina puede reducir notablemente el coste de producción, y es aplicable a la preparación masiva y la producción industrial.

20 Para conseguir el propósito, por una parte, la invención divulga un método para preparar paeoniflorina y albiflorina, que comprende las siguientes etapas secuencialmente:

a) percolar y extraer *Paeonia Lactiflora* mediante un procedimiento de extracción con percolación para obtener extracto de *Paeonia Lactiflora*; y

25 b) llevar a cabo cromatografía de separación en resina macroporosa en el extracto de *Paeonia Lactiflora* para obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa;

c) llevar a cabo cromatografía en columna de alúmina en la mezcla de separación en columna de resina macroporosa, en donde la cromatografía en columna de alúmina comprende:

30 c-1) disolver la mezcla de separación en columna de resina macroporosa; añadir óxido de aluminio a la solución de la mezcla de separación en columna de resina macroporosa, y secar para obtener una muestra de cromatografía en alúmina;

c-2) disponer la muestra de cromatografía en columna en la parte superior de la columna de alúmina; eluir la columna de alúmina con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de alúmina después de eluir; combinar los flujos/el flujo de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido, para obtener líquido de elución de cromatografía en alúmina; y

35 c-3) secar el líquido de elución de cromatografía en alúmina para obtener una mezcla de cromatografía en alúmina;

d) llevar a cabo cromatografía en columna de gel de sílice en la mezcla de cromatografía en alúmina, en donde la cromatografía en columna de gel de sílice comprende:

40 d-1) disolver la mezcla de cromatografía en alúmina, añadir gel de sílice a la solución de la mezcla de cromatografía en alúmina y a continuación secar para obtener una muestra de cromatografía en gel de sílice;

d-2) disponer la muestra de cromatografía en gel de sílice en la parte superior de la columna de gel de sílice; eluir la columna de gel de sílice con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de gel de sílice después de eluir; combinar el flujo de paeoniflorina o albiflorina en el fluido, respectivamente; y

45 d-3) evaporar los flujos que contienen paeoniflorina o albiflorina hasta sequedad, respectivamente, para obtener dos productos separados, paeoniflorina y albiflorina.

En donde, en la etapa a), se adopta agua, etanol o metanol como disolvente de extracción para dicha percolación y extracción, preferiblemente agua.

50 Específicamente, la relación del volumen del disolvente de extracción al peso de la *Paeonia lactiflora* está en 5-20:1, es decir, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 kg, el volumen del disolvente de extracción es 5-20 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el volumen del disolvente de extracción es 5-20 ml.

En particular, en el procedimiento de extracción con percolación, la relación de flujo del disolvente de extracción por hora al peso de la *Paeonia lactiflora* es 0,5-8:1, preferiblemente 1-5:1, es decir cuando el peso (peso seco) de la

*Paeonia lactiflora* es 1 kg, el flujo del disolvente de extracción por hora es 0,5-8 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el flujo del disolvente de extracción por hora es 0,5-8 ml.

5 Específicamente, el método comprende además embeber la *Paeonia lactiflora* en agua, a continuación percolar y extraer, en donde la relación del volumen del agua para imbibición al peso de la *Paeonia lactiflora* está en 2-3:1, es decir, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 kg, el volumen del agua para imbibición es 2-3 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el volumen del agua de imbibición es 2-3 ml.

En donde, en la etapa b), la cromatografía de separación en columna de resina macroporosa comprende la etapa b-1, la etapa b-2 y la etapa b-3:

en donde la etapa b-1 comprende añadir el extracto de *Paeonia lactiflora* a la columna de resina macroporosa;

10 en donde la etapa b-2 comprende eluir la columna de resina macroporosa con agua como eluyente y retirar impurezas; y

en donde la etapa b-3 comprende eluir la columna de resina macroporosa con solución de etanol como eluyente, recoger fluido de la columna de resina macroporosa después de eluir, combinar los flujos/el flujo de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido y secar para obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa.

15 Específicamente, en la etapa b-1), la resina macroporosa se selecciona de una de las resinas de adsorción macroporosas no polares D101, D201, AB-8 y HP-20.

20 En particular, en la columna de resina macroporosa, la relación del volumen de la resina de adsorción macroporosa al peso de la *Paeonia lactiflora* está en 0,5-5:1, es decir cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 kg, el volumen de la resina de adsorción macroporosa es 0,5-5 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el volumen de la resina de adsorción macroporosa es 0,5-5 ml, preferiblemente 1-2:1.

Específicamente, en el procedimiento de separación en columna de resina macroporosa, la velocidad del líquido de elución es 0,5-5 veces superior al volumen del lecho de la columna por hora, es decir, el flujo de eluyente por hora es 0,5-5 veces superior al volumen de la resina de adsorción macroporosa en la columna de resina macroporosa.

25 En particular, en la columna de resina macroporosa, el flujo es, a saber, un flujo de dos componentes, que contiene paeoniflorina y albiflorina; o el flujo es, a saber, flujo de un solo componente, que contiene paeoniflorina o albiflorina.

Específicamente, en la etapa b-2), le relación en volumen del agua a la resina macroporosa está en 3-5:1; en la etapa b-3), el porcentaje en peso de la solución de etanol es 30-70%, preferiblemente 40-60%; y la relación en volumen de la solución de etanol a la resina macroporosa está en 3-5:1.

30 En donde, en la etapa c-1), la relación en peso de la mezcla de separación en columna de resina macroporosa al óxido de aluminio está en 1:0,5-5; en la etapa c-2), las relación en peso del óxido de aluminio en la columna de alúmina a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 5-30:1, preferiblemente en 8-25:1, más preferiblemente en 10-25: 1.

35 En particular, la relación en peso del óxido de aluminio añadido a la solución de mezcla de separación en columna de resina macroporosa a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 1:0,95-1, preferiblemente en 1:1; la relación del diámetro de la columna de alúmina a la altura del óxido de aluminio en la columna está en 1:6-10.

Específicamente, en la etapa c-2), en la columna de alúmina el flujo es, a saber, un flujo de dos componentes, que contiene paeoniflorina y albiflorina; o el flujo es, a saber, un flujo de un solo componente, que contiene paeoniflorina o albiflorina.

40 En donde, en la etapa d-1), la relación en peso de la mezcla de cromatografía en alúmina al gel de sílice está en 1:0,5-5; en la etapa d-2), la relación en peso del gel de sílice en la columna de gel de sílice a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 5-30:1, preferiblemente en 12-30:1.

45 En particular, la relación en peso del gel de sílice añadido a la solución de mezcla de cromatografía en alúmina a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 1:0,95-1, preferiblemente en 1:1; la relación del diámetro de la columna de gel de sílice a la altura del gel de sílice en la columna está en 1:6-10, preferiblemente en 1:8-10. También se describe un método de preparación de paeoniflorina y albiflorina, que comprende las siguientes etapas secuencialmente:

a) extraer *Paeonia lactiflora* al usar una solución de etanol o metanol como un disolvente de extracción con reflujos con calentamiento para obtener extracto de *Paeonia lactiflora*;

50 b) retirar el etanol o metanol al evaporar para concentrar el extracto de *Paeonia lactiflora*, diluir mediante agua para obtener diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora*; y

c) someter sucesivamente a separación en resina macroporosa, cromatografía en columna de alúmina y cromatografía en columna de gel de sílice al diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora*.

En donde, en la etapa a), la concentración en porcentaje en masa de la solución de etanol es 30-100% y la concentración en porcentaje en masa de la solución de metanol es 30-100%.

5 Específicamente, en la etapa a), la relación del volumen del disolvente de extracción al peso (peso seco) del material medicinal de *Paeonia lactiflora* está en 5-12:1, es decir, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 kg, el volumen del disolvente de extracción es 5-12 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el volumen del disolvente de extracción es 5-12 ml; la extracción se realiza 2-3 veces en 2-4 h/vez.

10 Específicamente, en la etapa b), la relación del volumen del diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora* al peso (peso seco) de *Paeonia lactiflora* está en 1-8:1, preferiblemente 2-8:1, es decir, cuando el peso (peso seco) del material medicinal de *Paeonia lactiflora* es 1 kg, el volumen del diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora* es 1-8 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Paeonia lactiflora* es 1 g, el volumen del diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora* es 1-8 ml.

15 Específicamente, en la etapa c), la cromatografía en columna de resina macroporosa comprende la etapa 1, la etapa 2 y la etapa 3:

en donde la etapa 1 comprende añadir diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora* a la columna de resina macroporosa;

en donde la etapa 2 comprende eluir la columna de resina macroporosa con agua como eluyente y retirar impurezas; y

20 en donde la etapa 3 comprende eluir la columna de resina macroporosa con solución de etanol como eluyente, recoger fluido de la columna de resina macroporosa después de eluir, combinar el flujo/los flujos de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido y a continuación obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa.

Específicamente, en la etapa c), la cromatografía en columna de alúmina incluye la etapa 1, la etapa 2 y la etapa 3:

25 en donde la etapa 1 comprende disolver la mezcla de separación en columna de resina macroporosa; añadir óxido de aluminio a la solución de mezcla de separación en columna de resina macroporosa y secar para obtener una muestra de cromatografía en columna;

30 en donde la etapa 2 comprende disponer la muestra de cromatografía en columna en la parte superior de la columna de alúmina; eluir la columna de alúmina al usar acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de alúmina después de eluir; combinar el flujo/los flujos de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido, para obtener un líquido de elución de cromatografía en alúmina; y

en donde la etapa 3 comprende secar el líquido de elución de cromatografía en alúmina al evaporar para obtener una mezcla de cromatografía en alúmina.

35 Específicamente, en la etapa c), la cromatografía en columna de gel de sílice incluye la etapa 1, la etapa 2 y la etapa 3:

en donde la etapa 1 comprende disolver la mezcla de cromatografía en alúmina, añadir gel de sílice a la solución de mezcla de cromatografía en alúmina y a continuación secar para obtener una muestra de cromatografía en gel de sílice;

40 en donde la etapa 2 comprende disponer la muestra de cromatografía en gel de sílice en la parte superior de la columna de gel de sílice; eluir la columna de gel de sílice al usar acetato de etilo como eluyente; recoger el líquido de elución (a saber líquido fluyente o efluente); combinar los flujos/el flujo que contienen paeoniflorina o albiflorina en el líquido de elución; y

en donde la etapa 3 comprende respectivamente evaporar los flujos/el flujo que contienen paeoniflorina o albiflorina hasta sequedad, para obtener paeoniflorina y albiflorina, respectivamente.

45 La invención tiene las siguientes ventajas:

1. El método divulgado por la invención puede preparar paeoniflorina y albiflorina en un mismo procedimiento, y puede preparar, respectivamente, paeoniflorina a nivel de kilogramos y albiflorina a nivel de kilogramos; el método hace un uso completo del valor de uso exhaustivo de la fuente medicinal y es adecuado para la producción industrial.

50 2. La paeoniflorina y la albiflorina preparadas mediante el método divulgado por la invención son de alta pureza y el contenido de paeoniflorina y albiflorina es mayor de 90% después de purificarse mediante cromatografía en columna

de gel de sílice.

3. Tomando el agua como el disolvente de extracción para extraer paeoniflorina y albiflorina en la invención y usando etanol y acetato de etilo atóxicos e inoocuos como disolvente de elución no solo se ahorran costes, sino que el método es ecológico y cumple las demandas de desarrollo de la economía sostenible y la protección medioambiental.

4. El método de preparación divulgado por la invención es de procedimiento simple, de alta eficacia de refinado, de bajo consumo de energía, ecológico, fácil en el control de las condiciones del procedimiento de operación y las calidades.

5. La paeoniflorina y la albiflorina de alta pureza de la invención se pueden usar independientemente para preparar medicamentos y alimentos sanitarios funcionales, o se pueden combinar con otros medicamentos o alimentos tradicionales chinos y occidentales, en particular algunos medicamentos chinos tradicionales capaces de activar la sangre y eliminar la estasis y tratar enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares o medicamentos chinos tradicionales capaces de calmar y resistir la depresión y la ansiedad, para adoptar un efecto cooperativo o sinérgico, para preparar medicamentos o alimentos sanitarios funcionales.

### 15 Descripción de los dibujos

La FIG 1. es un diagrama de flujo de la preparación de paeoniflorina y albiflorina;

la FIG 2. es un cromatograma de HPLC de paeoniflorina preparada mediante la realización 1;

la FIG 3. es un cromatograma de HPLC de albiflorina preparada mediante la realización 1;

la FIG 4. es un cromatograma de HPLC de paeoniflorina preparada mediante la realización 4;

20 la FIG 5. es un cromatograma de HPLC de albiflorina preparada mediante la realización 4;

la FIG 6. es un cromatograma de HPLC de paeoniflorina preparada mediante la realización 5;

la FIG 7. es un cromatograma de HPLC de albiflorina preparada mediante la realización 5.

### Descripción de las realizaciones

25 La invención se describirá adicionalmente mediante las realizaciones posteriores, y las ventajas y las características de la invención se aclararán con la descripción. Pero las realizaciones son solo una demostración y no limitan el alcance de la invención según se define por las reivindicaciones adjuntas. Los técnicos de este campo entenderán que están permitidas modificaciones o sustituciones de los detalles y las formas del esquema técnico sin desviarse del alcance de la invención, pero las modificaciones y las sustituciones se incluirán dentro del alcance de protección de la invención según se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

### 30 Realización 1

#### 1. Extracción de material medicinal

1) triturar 3 kg de *Radix Paeoniae* Alba secada en un polvo grueso, añadir el polvo a un depósito de acero inoxidable (el volumen es 12 L) para percolar un medicamento chino tradicional, y a continuación añadir 6 L de agua purificada al depósito para embeber la *Radix Paeoniae* Alba durante 2 h.

35 2) usar agua purificada para percolar y extraer el polvo grueso, para obtener extracto de *Radix Paeoniae* Alba, en donde la velocidad de flujo de los disolventes en la extracción es 6 L/h, y la relación del volumen del agua purificada al peso del material medicinal *Radix Paeoniae* alba está en 10:1, es decir, cuando el peso (peso seco) de la *Radix Paeoniae* alba es 1 kg, el volumen del agua purificada es 10 L, o, cuando el peso (peso seco) de la *Radix Paeoniae* alba es 1 g, el volumen del agua purificada es 10 ml.

#### 40 2. Cromatografía en columna de resina macroporosa

1) adsorber y separar el extracto de *Radix Paeoniae* Alba mediante una resina macroporosa de absorción, en donde la resina macroporosa de absorción es resina macroporosa D101, el volumen de la columna de la resina macroporosa de absorción D101 en la columna de resina macroporosa de absorción es 4 L (la columna cromatográfica tiene 8 cm de diámetro y 1,5 m de altura), la relación de volumen de resina a peso (peso seco) del material medicinal *Radix Paeoniae* Alba está en 4:3, es decir, cuando el peso (peso seco) de *Radix Paeoniae* Alba es 3 kg, el volumen de la resina macroporosa es 4 L, o, cuando el peso (peso seco) de *Radix Paeoniae* Alba es 30 g, el volumen de la resina macroporosa es 40 ml; después de que el extracto de *Radix Paeoniae* Alba fluya completamente en la columna de resina a una velocidad de 8 L/h, eluyendo mediante 12 L de agua purificada hasta que el fluido (a saber líquido fluyente o efluente, que se está eluyendo de la columna de resina macroporosa de absorción) sea transparente, y descartar el líquido fluyente después de que sea eluido de la

columna de resina mediante agua; eluir mediante 12 L de etanol que está a un porcentaje en peso de 50% a una velocidad de 8 L/h; recoger el líquido fluyente después de que sea eluido de la columna de resina mediante etanol, en donde cada 3 L de líquido fluyente se recogen como una parte de flujo;

5 2) detectar paeoniflorina y albiflorina en el etanol de la columna de resina macroporosa recogido eluyendo las partes de flujo mediante cromatografía en capa fina (TLC), combinar la parte de flujo eluida que contiene paeoniflorina y/o albiflorina, para obtener una emanación de la columna de resina, en donde en la TLC, la placa de gel de sílice G se toma como la placa de capa fina, y el líquido de mezcla de cloroformo y metanol que están mezclados en la relación 4:1 en volumen se toma como disolvente para TLC; después de la cromatografía, pulverizar 5% de solución de sulfato de etanol, calentar durante 5 min a 150°C para el desarrollo del color; y

10 3) condensar la emanación de la columna de resina que contiene paeoniflorina y albiflorina al usar un depósito de condensación a vacío para retirar el disolvente; y evaporar adicionalmente mediante un baño de agua, y triturar el residuo para obtener 210 g de mezcla de separación en columna de resina macroporosa, en donde el procedimiento de condensación se realiza a 70°C, con una presión relativa de -0,09~-0,075 MPa.

### 3. Cromatografía en columna de alúmina

15 1) disolver completamente la mezcla de separación en columna de resina macroporosa mediante una cantidad apropiada de metanol, añadir 210 g de polvo de óxido de aluminio (mallas 100-200), agitar uniformemente, secar y triturar para obtener la muestra de cromatografía en columna de alúmina;

20 2) disponer la muestra de cromatografía en columna de alúmina en la parte superior de la columna de alúmina, y llevar a cabo cromatografía en columna de alúmina al tomar el acetato de etilo como eluyente, en donde la granularidad del óxido de aluminio absorbente en la columna de alúmina es malla 100-200, la relación del diámetro de la columna de alúmina a la altura de óxido de aluminio en la columna está en 1:10, la relación en peso del óxido de aluminio absorbente a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 20:1; el acetato de etilo se toma como eluyente mediante una dosificación de 100 L y cada 1 L de fluido (a saber líquido fluyente o efluente, que se eluye de la columna de alúmina) se recoge como una parte de flujo;

25 3) detectar paeoniflorina y albiflorina en el etanol de la columna de alúmina recogido eluyendo parte del flujo mediante cromatografía en capa fina (TLC), combinar la parte de flujo eluyente que contiene paeoniflorina y/o albiflorina, para obtener una emanación de cromatografía en alúmina, en donde en la TLC, la placa de gel de sílice G se toma como la placa de capa fina, y el líquido de mezcla de cloroformo y metanol que están mezclados en la relación 4:1 en volumen se toma como sistemas disolventes para TLC; después de la cromatografía, pulverizar 5% de solución de sulfato de etanol, calentar durante 5 min a 150°C para el desarrollo del color; y

30 4) condensar la emanación de la cromatografía en alúmina mediante evaporación para obtener 121 g de mezcla de cromatografía en alúmina.

### 4. Cromatografía en columna de gel de sílice

35 1) disolver la mezcla de cromatografía en alúmina mediante etanol de 95% en peso de porcentaje, añadir 120 g de polvo de gel de sílice (malla 200-300), agitar uniformemente, secar y triturar para obtener una muestra de cromatografía en gel de sílice;

40 2) disponer la muestra de cromatografía en gel de sílice en la parte superior de la columna de gel de sílice y llevar a cabo cromatografía en columna de gel de sílice tomando el acetato de etilo como eluyente, en donde el tamaño de partícula del gel de sílice absorbente en la columna de gel de sílice es malla 100-200, la relación del diámetro de la columna de gel de sílice al peso del gel de sílice en la columna está en 1:10, la relación en peso del gel de sílice absorbente a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 24:1 y la velocidad de flujo es 10 L/h; el acetato de etilo se recoge como eluyente mediante la dosificación de 96 L, y cada 1 L de fluido (a saber líquido fluyente o efluente, que está siendo eluido de la columna de gel de sílice) se recoge como una parte de flujo;

45 3) detectar los contenidos de paeoniflorina y albiflorina en la parte de flujo eluyente de la columna de gel de sílice mediante cromatografía en capa fina (TLC), combinar la parte de flujo eluyente que solamente contiene paeoniflorina como la primera parte (a saber, la parte de paeoniflorina) y combinar la parte de flujo eluyente que solo contiene albiflorina como la segunda parte (a saber, parte de albiflorina), en donde, en la TLC, la placa de gel de sílice G se toma como la placa de capa fina y el líquido de mezcla de cloroformo y metanol que están mezclados en la relación 4:1 en volumen se toma como sistemas disolventes para TLC; después de la cromatografía, pulverizar 5% de solución de sulfato de etanol, calentar durante 5 min a 150°C para el desarrollo del color; y

50 4) secar respectivamente las dos partes combinadas mediante evaporación para obtener 83,9 g de paeoniflorina y 25,3 g de albiflorina.

Los contenidos de la paeoniflorina y la albiflorina preparadas se detectan mediante HPLC. Las condiciones de detección son como sigue: instrumento: bomba Water 515, detector 2487; columna para espectro: Hyper ODS2 C18; fase móvil: mezcla de acetonitrilo:0,1% de solución de ácido fosfórico (14:86); longitud de onda de detección: 230 nm; y velocidad de flujo: 1,0 ml/min.

- 5 Después de la determinación de la HPLC, el contenido de paeoniflorina es 96,7%, véase la Fig. 2, y el contenido de albiflorina es 98,6%, véase la Fig. 3.

#### Realización 2

10 En el procedimiento de extracción de material medicinal, excepto por que la relación del volumen del disolvente de extracción de agua purificada al peso del material medicinal *Radix Paeoniae* alba está en 5: 1 y la velocidad de flujo del agua purificada es 4 L/h, los otros son idénticos a la realización 1;

15 En el procedimiento de cromatografía en columna de resina macroporosa, excepto por que la resina macroporosa de absorción es resina macroporosa HP-20, la relación del volumen de resina al peso (peso seco) del material medicinal de *Radix Paeoniae* alba está en 1:1, la concentración en porcentaje en masa del etanol eluyente es 30% y la dosificación es 20 L y se obtienen 189 g de mezcla de separación en columna de resina macroporosa, los otros son iguales que en la realización 1;

20 En el procedimiento de cromatografía en columna de alúmina, excepto por que la relación en peso del óxido de aluminio absorbente a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 10:1, la relación del diámetro de la columna de alúmina a la altura del óxido de aluminio en la columna está en 1:6; la dosificación del acetato de etilo es 53 L, la velocidad del flujo de elución es 8 L/h y se obtienen 105 g de mezcla de cromatografía en alúmina, los otros son idénticos a la realización 1;

25 En el procedimiento de cromatografía en columna de gel de sílice, excepto por que la relación en peso del gel de sílice absorbente a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 15:1, el acetato de etilo se toma como eluyente mediante la dosificación de 62 L, la velocidad del flujo de elución es 6 L/h, la relación del diámetro de columna de la columna de gel de sílice a la altura del gel de sílice en la columna está en 1:10, se obtienen 74,3 g de paeoniflorina y se obtienen 23,6 g de albiflorina, los otros son idénticos a la realización 1.

Después de la determinación por HPLC, el contenido de paeoniflorina es 92,7% y el contenido de albiflorina es 93,6%.

#### Realización 3

30 En el procedimiento de percolación y extracción del material medicinal, excepto por que la relación del volumen del disolvente de extracción de agua purificada al peso del material medicinal *Radix Paeoniae* alba está en 15:1 y la velocidad de flujo del agua purificada es 3 L/h, las otras operaciones son idénticas a las de la realización 1;

35 En el procedimiento de cromatografía en columna de resina macroporosa, excepto por que la resina macroporosa de absorción es resina macroporosa D-201, la relación de volumen de resina a peso (peso seco) del material medicinal de *Radix Paeoniae* alba está en 5:3, la concentración en porcentaje en masa del etanol eluyente es 70% y la dosificación es 12 L, la velocidad del flujo de elución es 4 L/h y se obtienen 243 g de la mezcla de separación en columna de resina macroporosa de la separación en columna de resina macroporosa, los otros son idénticos a la realización 1;

40 En el procedimiento de cromatografía en columna de alúmina, excepto por que la relación en peso del óxido de aluminio absorbente a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 25:1, la dosificación del acetato de etilo es 168 L, la velocidad del flujo de elución es 8 L/h y se obtienen 124 g de mezcla de cromatografía en alúmina, los otros son idénticos a la realización 1;

45 En el procedimiento de cromatografía en columna de gel de sílice, excepto por que la relación en peso del gel de sílice absorbente a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 30:1, el acetato de etilo se toma como eluyente mediante la dosificación de 120 L, la velocidad del flujo de elución es 6 L/h, se obtienen 84,3 g de paeoniflorina y se obtienen 27,9 g de albiflorina, los otros son idénticos a la realización 1.

Después de la determinación por HPLC, el contenido de paeoniflorina es 97,5% y el contenido de albiflorina es 96,7%.

#### Realización 4

##### 1. Extracción de material medicinal

- 50 1) triturar 1 kg de *Radix Paeoniae* alba en un polvo grueso, añadir a un matraz de fondo redondo de 10 L; calentar y someter a reflujo y extraer mediante etanol como disolvente de extracción durante tres veces, en donde la concentración en porcentaje en peso del disolvente de extracción etanol es 50%, las dosificaciones de etanol para las tres veces de extracción son respectivamente 5 L, 5 L y 5 L y las tres veces de extracción duran



respectivamente 3 h, 3 h y 2 h;

2) combinar el líquido de extracción de *Radix Paeoniae* alba de las tres veces; disponer el líquido en un depósito de condensación a vacío (producido por Wuxi Huaxin Pharmaceutical Equipment Co., Ltd.); retirar el etanol, condensar el susodicho líquido al evaporar el etanol hasta que ya no haya etanol para obtener un concentrado de *Radix Paeoniae* alba, en donde el procedimiento de condensación se realiza a 70°C, con un grado de vacío relativo de -0,09~-0,075 MPa;

3) añadir agua purificada al concentrado de *Radix Paeoniae* alba hasta que el volumen total sea 2 L para obtener diluyente de extracción de *Radix Paeoniae* para un uso adicional, en donde la relación del volumen del eluyente de extracción de *Radix Paeoniae* alba al peso de la *Radix Paeoniae* alba está en 2:1.

Además, el disolvente de extracción en el procedimiento de calentamiento, reflujo y extracción es solución de etanol al 50%, las otras soluciones de etanol con un porcentaje en peso que varía de 30% a 100% son aplicables a la invención.

## 2. Cromatografía en columna de resina macroporosa

1) adsorber y separar el diluyente de extracción de *Radix Paeoniae* rubra mediante una resina macroporosa de absorción, en donde la resina macroporosa de absorción es resina macroporosa D-201, el volumen de la columna de resina macroporosa de absorción D-201 en la columna de resina macroporosa de absorción es 1,5 L (la columna cromatográfica tiene 5,5 cm de diámetro y 1.200 cm de altura), la relación de volumen de resina a peso (peso seco) del material medicinal de *Radix Paeoniae* rubra está en 1,5:1, es decir, cuando el peso (peso seco) de *Radix Paeoniae* rubra es 1 kg, el volumen de la resina macroporosa es 1,5 L; después de que el diluyente de extracción de *Radix Paeoniae* fluya completamente a la columna de resina a una velocidad de 1 L/h, eluir mediante 5 L de agua purificada hasta que el fluido (a saber, líquido fluyente o efluente, que se está eluyendo desde la columna de resina macroporosa de absorción) sea transparente y descartar el líquido fluyente después de que sea eluido de la columna de resina mediante agua; eluir mediante 5 L de etanol que tiene un porcentaje en peso de 50% a una velocidad de flujo de 1,5 L/h; recoger el fluido después de que se eluya de la columna de resina mediante etanol; y

2) condensar el eluyente de la columna de resina que contiene paeoniflorina y albiflorina al usar un depósito de condensación a vacío; después de la condensación, evaporar mediante un baño de agua y triturar para obtener 71 g de mezcla de separación en columna de resina macroporosa, en donde el procedimiento de condensación se realiza a 70°C, con una presión relativa de -0,09~-0,075 MPa.

## 3. Cromatografía en columna de alúmina

Excepto por que la relación en peso del óxido de aluminio absorbente a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 8:1, el diámetro de la columna de cromatografía en alúmina es 5,5 cm, la relación del diámetro de la columna de alúmina al peso del óxido de aluminio en la columna está en 1:10; la dosificación del acetato de etilo es 48 L, la velocidad de elución es 4 L/h y se obtienen 41 g de mezcla de cromatografía en columna de alúmina, las otras operaciones son iguales que en la realización 1.

## 4. Cromatografía en columna de gel de sílice

Excepto por que la relación en peso del gel de sílice absorbente a la mezcla de cromatografía en columna de alúmina está en 12:1, el diámetro de la columna de cromatografía en gel de sílice es 7,6 cm, la relación del diámetro de la columna de gel de sílice al peso del gel de sílice en la columna está en 1:10, el acetato de etilo se toma como eluyente mediante la dosificación de 36 L, la velocidad de elución es 3 L/h, se obtienen 26,13 g de paeoniflorina y se obtienen 9,12 g de albiflorina, las otras operaciones son iguales que en la realización 1.

Después de la determinación mediante HPLC, el contenido de paeoniflorina es 94,05%, véase la Fig. 4, y el contenido de albiflorina es 92,25%, véase la Fig. 5.

## Realización 5

En el procedimiento de extracción del material medicinal, excepto por que el disolvente de extracción es solución de etanol de 70% de concentración en porcentaje en peso, el procedimiento de reflujo y extracción se realiza dos veces mediante la dosificación del disolvente de extracción etanol como 12 L y 10 L durante 4 h y 3 h, el líquido de extracción de *Radix Paeoniae* rubra se condensa y el etanol se recupera, y el agua purificada se añade al concentrado de *Radix Paeoniae* rubra para obtener diluyente de extracción de *Radix Paeoniae* rubra cuyo volumen total es 8 L, otras operaciones son idénticas a la realización 4;

En el procedimiento de cromatografía en columna de resina macroporosa, excepto por que la resina macroporosa de absorción es resina macroporosa AB-8, la relación del volumen de resina al peso (peso seco) de la *Radix Paeoniae* rubra está en 2:1; el diluyente de extracción de *Radix Paeoniae* rubra fluye completamente en la columna de resina a 2 L/h y se eluye mediante 8 L de agua purificada; la concentración en porcentaje en peso de la solución de etanol

## ES 2 670 820 T3

es 70% y la dosificación es 6 L, la velocidad para la elución es 2 L/h y se obtienen 83 g de mezcla de separación en columna de resina macroporosa, otras operaciones son idénticas a la realización 1;

5 En el procedimiento de cromatografía en columna de alúmina, excepto por que la relación en peso del óxido de aluminio absorbente a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 20:1, el diámetro de la columna de cromatografía en alúmina es 7,6 cm, la relación del diámetro de columna a la altura del óxido de aluminio en la columna de alúmina está en 1:10; la dosificación del acetato de etilo es 66 L, la velocidad del flujo de elución es 4 L/h y se obtienen 37,2 g de mezcla de cromatografía en alúmina, los otros son idénticos a la realización 1;

10 En el procedimiento de cromatografía en columna de gel de sílice, excepto por que la relación en peso del gel de sílice absorbente a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 28:1, el diámetro de la columna cromatográfica de gel de sílice es 10 cm, la relación del diámetro de columna a la altura del gel de sílice en la columna está en 1:10, el acetato de etilo se toma como eluyente mediante la dosificación de 86 L, la velocidad del flujo de elución es 3 L/h, se obtienen 25,12 g de paeoniflorina y se obtienen 8,38 g de albiflorina, los otros son idénticos a la realización 1.

15 Después de la determinación por HPLC, el contenido de paeoniflorina es 98,5%, véase la Fig. 6, y el contenido de albiflorina es 94,1%, véase la Fig. 7.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método de preparación de paeoniflorina y albiflorina, que comprende las siguientes etapas:
  - a) percolar y extraer *Paeonia Lactiflora* mediante un procedimiento de extracción con percolación para obtener extracto de *Paeonia Lactiflora*; y
  - 5 b) llevar a cabo cromatografía en columna de resina macroporosa en el extracto de *Paeonia Lactiflora* para obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa;
  - c) llevar a cabo cromatografía en columna de alúmina en la mezcla de separación en columna de resina macroporosa, la cromatografía en columna de alúmina comprende:
    - 10 c-1) disolver la mezcla de separación en columna de resina macroporosa; añadir óxido de aluminio a la solución de la mezcla de separación en columna de resina macroporosa y secar para obtener una muestra de cromatografía en alúmina;
    - c-2) disponer la muestra de cromatografía en columna en la parte superior de la columna de alúmina; eluir la columna de alúmina con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de alúmina después de eluir; combinar los flujos/el flujo de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido, para obtener líquido de elución de cromatografía en alúmina; y
    - 15 c-3) secar el líquido de elución de cromatografía en alúmina para obtener una mezcla de cromatografía en alúmina;
  - d) llevar a cabo cromatografía en columna de gel de sílice en la mezcla de cromatografía en alúmina, en donde la cromatografía en columna de gel de sílice comprende:
    - 20 d-1) disolver la mezcla de cromatografía en alúmina, añadir gel de sílice a la solución de la mezcla de cromatografía en alúmina y a continuación secar para obtener una muestra de cromatografía en gel de sílice;
    - d-2) disponer la muestra de cromatografía en gel de sílice en la parte superior de la columna de gel de sílice; eluir la columna de gel de sílice con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de gel de sílice después de eluir; combinar el flujo de paeoniflorina o albiflorina en el fluido, respectivamente; y
    - 25 d-3) evaporar los flujos que contienen paeoniflorina o albiflorina hasta sequedad, respectivamente, para obtener dos productos separados, paeoniflorina y albiflorina.
2. El método de preparación según la reivindicación 1, en el que en la etapa a) se adopta agua, etanol o metanol como disolvente de extracción para dichas percolación y extracción.
3. El método de preparación según la reivindicación 2, en el que la relación del volumen del disolvente de extracción al peso de la *Paeonia lactiflora* es 5-15:1.
- 30 4. El método de preparación según la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa b), la cromatografía en columna de resina macroporosa comprende:
  - b-1) añadir el extracto de *Paeonia lactiflora* a la columna de resina macroporosa;
  - b-2) eluir la columna de resina macroporosa con agua como eluyente; y
  - 35 b-3) eluir la columna de resina macroporosa con solución de etanol como eluyente, recoger fluido de la columna de resina macroporosa después de eluir, combinar los flujos/el flujo de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido y secar para obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa.
5. El método de preparación según la reivindicación 4, en el que en la etapa b-1), la resina macroporosa se selecciona de una de las resinas de absorción macroporosas no polares D101, D201, AB-8 y HP-20.
- 40 6. El método de preparación según la reivindicación 4 o 5, en el que la relación del volumen de la resina de adsorción macroporosa al peso de la *Paeonia lactiflora* está en 0,5-5:1.
7. El método de preparación según la reivindicación 4 o 5, en el que en la etapa b-3), el porcentaje en peso de la solución de etanol es 30-70%.
8. El método de preparación según la reivindicación 1, en el que en la etapa c-2), la relación en peso del óxido de aluminio en la columna de alúmina a la mezcla de separación en columna de resina macroporosa está en 5-30:1.
- 45 9. El método de preparación según la reivindicación 1, en el que en la etapa d-2), la relación en peso del gel de sílice en la columna de gel de sílice a la mezcla de cromatografía en alúmina está en 5-30:1.

10. Un método de preparación de paeoniflorina y albiflorina, que comprende las siguientes etapas secuencialmente:

- a) extraer *Paeonia lactiflora* al usar etanol o metanol como un disolvente de extracción con reflujo con calentamiento para obtener extracto de *Paeonia lactiflora*;
- 5 b) retirar etanol o metanol al evaporar para concentrar el extracto de *Paeonia lactiflora*, diluir mediante agua para obtener diluyente de extracción de *Paeonia lactiflora*; y
- c) llevar a cabo cromatografía en columna de resina macroporosa en el extracto de *Paeonia lactiflora* para obtener una mezcla de separación en columna de resina macroporosa;
- d) llevar a cabo cromatografía en columna de alúmina en la mezcla de separación en columna de resina macroporosa, en donde la cromatografía en columna de alúmina comprende:
- 10 d-1) disolver la mezcla de separación en columna de resina macroporosa; añadir óxido de aluminio a la solución de la mezcla de separación en columna de resina macroporosa y secar para obtener una muestra de cromatografía en columna;
- d-2) disponer la muestra de cromatografía en columna en la parte superior de la columna de alúmina; eluir la columna de alúmina con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de alúmina después de eluir; combinar los flujos o el flujo de paeoniflorina y/o albiflorina en el fluido, para obtener líquido de elución de cromatografía en alúmina; y
- 15 d-3) secar el líquido de elución de cromatografía en alúmina para obtener una mezcla de cromatografía en alúmina;
- e) llevar a cabo cromatografía en columna de gel de sílice en la mezcla de cromatografía en alúmina, en donde la cromatografía en columna de gel de sílice comprende:
- 20 e-1) disolver la mezcla de cromatografía en alúmina, añadir gel de sílice a la solución de mezcla de cromatografía en alúmina y a continuación secar para obtener una muestra de cromatografía en gel de sílice;
- e-2) disponer la muestra de cromatografía en gel de sílice en la parte superior de la columna de gel de sílice; eluir la columna de gel de sílice con acetato de etilo como eluyente; recoger fluido de la columna de gel de sílice después de eluir; combinar el flujo de paeoniflorina o albiflorina en el fluido, respectivamente; y
- 25 e-3) evaporar los flujos que contienen paeoniflorina o albiflorina hasta sequedad, respectivamente, para obtener dos productos separados, paeoniflorina y albiflorina.

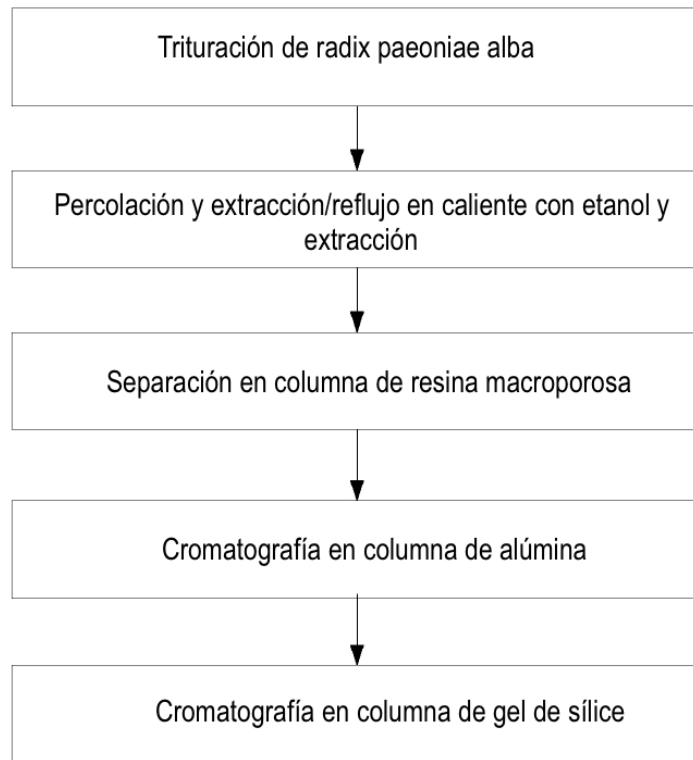


Fig 1

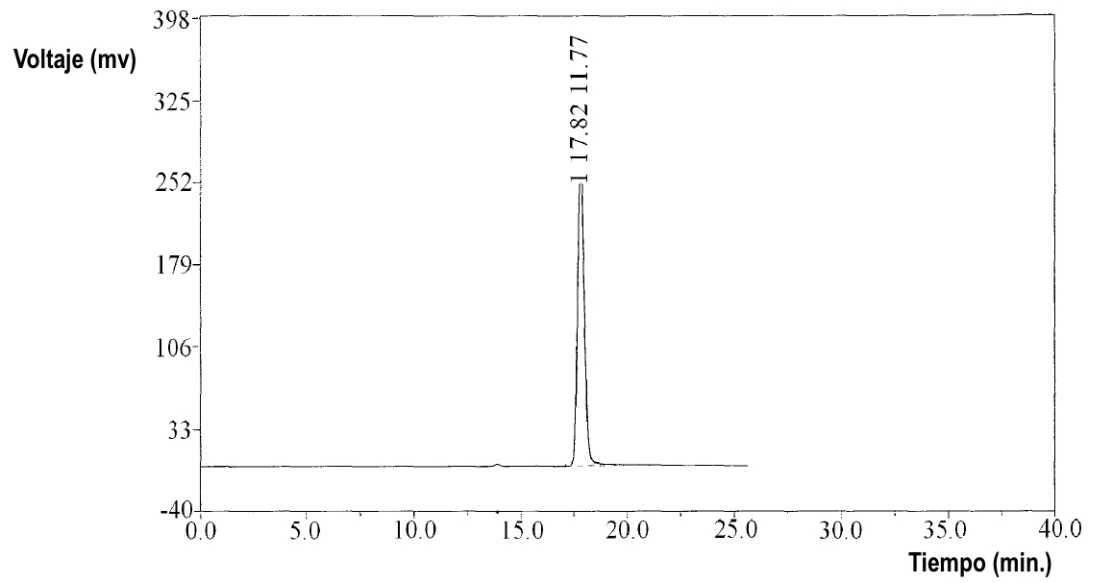


Tabla de componentes

Nº	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	paeoniflorina	17,82	266,04	5886,90	0,0000	0,0000
En total			266,04	5886,90		

Fig. 2

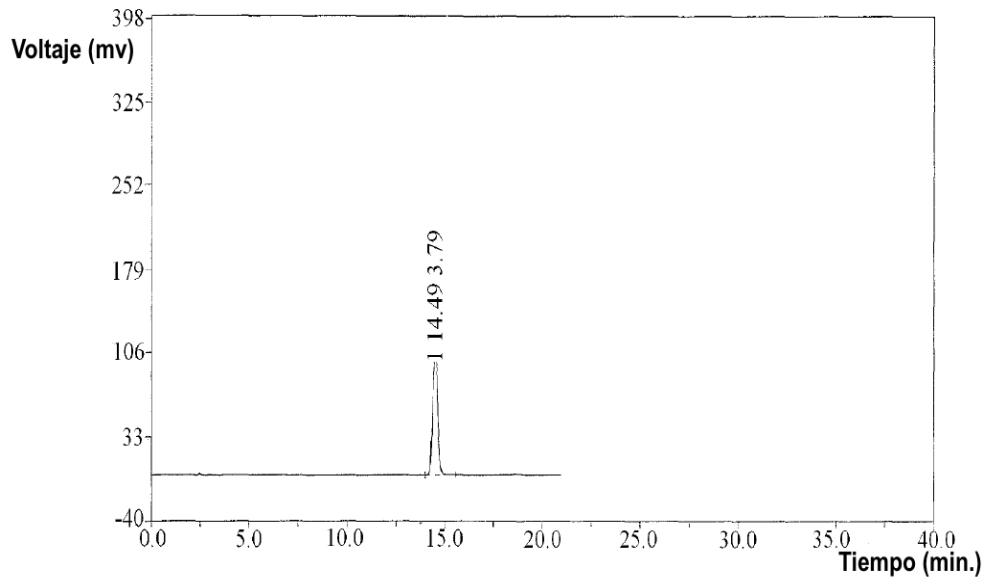


Tabla de componentes

N°	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	albiflorina	14,49	110,66	1895,57	0,0000	0,0000
En total			110,66	1895,57		

Fig. 3

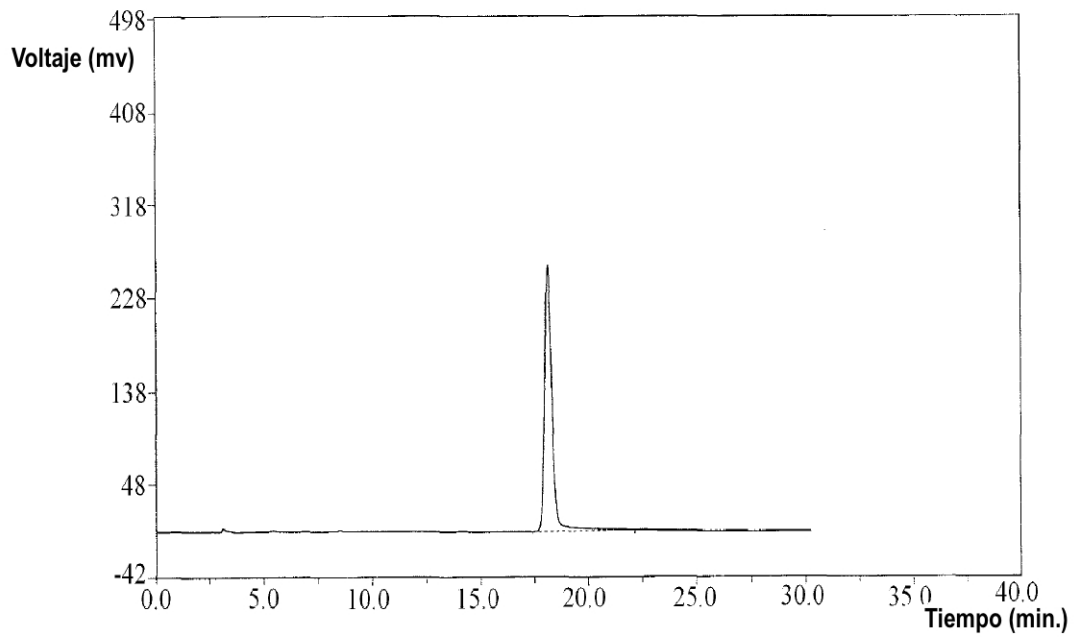


Tabla de componentes

N°	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	paeoniflorina	18,13	256,76	6173,67	0,0000	0,0000
En total			256,76	6173,67		

Fig. 4



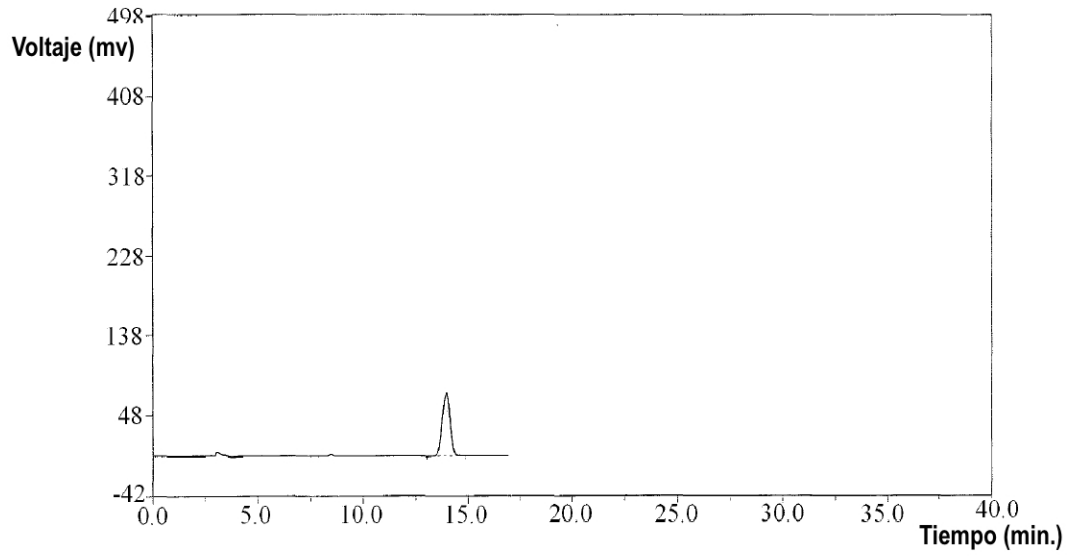


Tabla de componentes

N°	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	albiflorina	13,98	70,39	1820,39	0,0000	0,0000
En total			70,39	1820,39		

Fig. 5

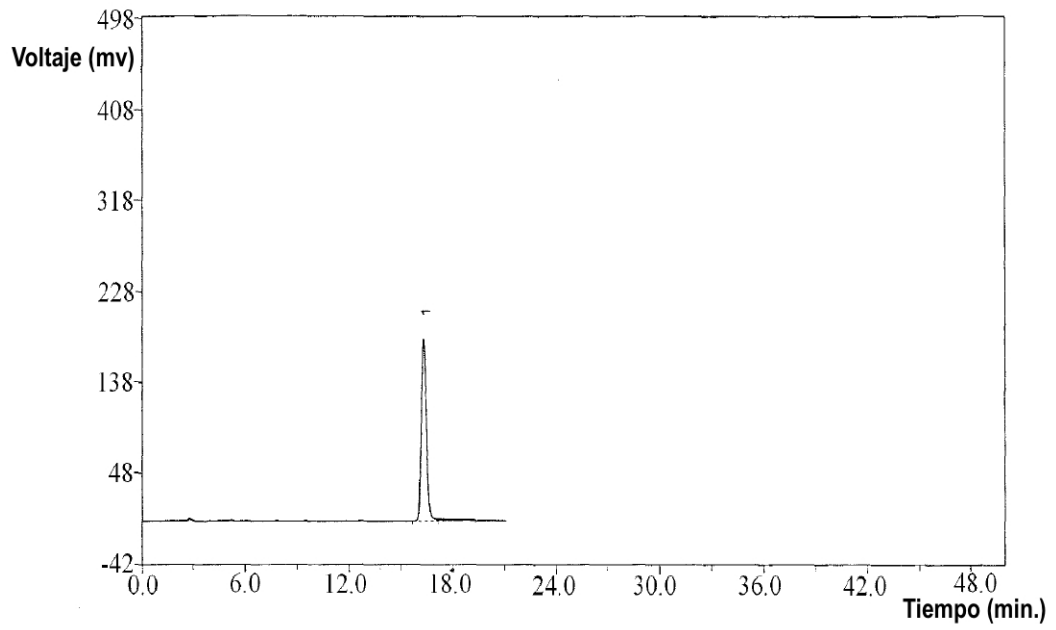


Tabla de componentes

Nº	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	paeoniflorina	16,30	179,98	3687,08	0,0000	0,0000
En total			179,98	3687,08		

Fig. 6

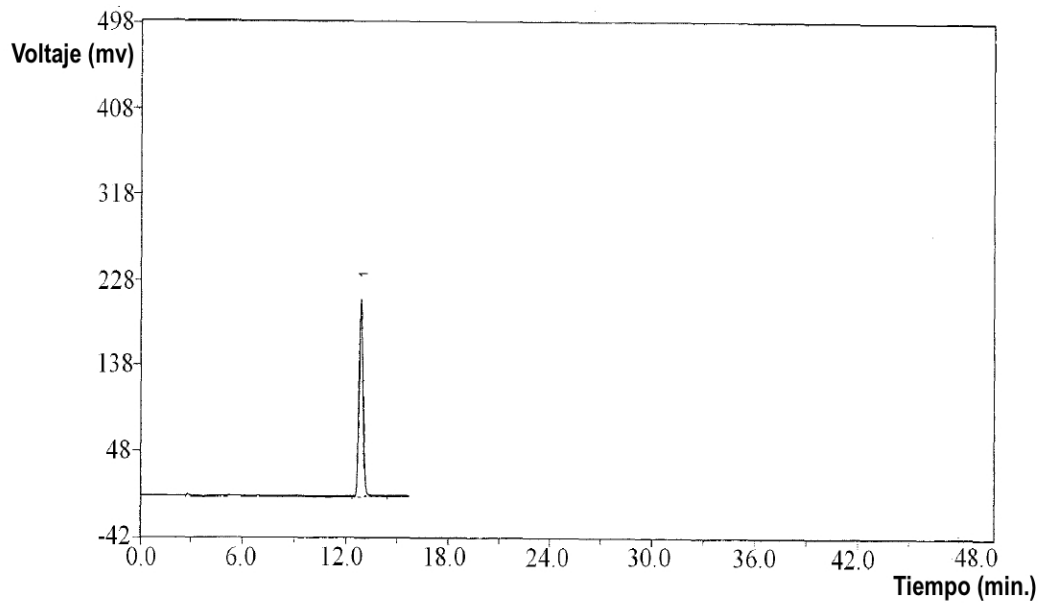


Tabla de componentes

N°	Nombre del componente	Tiempo de retención (min.)	Altura del pico (mv)	Superficie del pico (mv.s)	Concentración	Contenido de la muestra (%)
1	albiflorina	12,89	206,64	3290,11	0,0000	0,0000

En total 206,64 3290,11

Fig. 7