(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2024 年 3 月 21 日 (21.03.2024)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2024/055459 A1

(51) 国际专利分类号:
C07D 491/22 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/139271

(22) 国际申请日: 2022 年 12 月 15 日 (15.12.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202211117274.X 2022年9月14日 (14.09.2022) CN

(71) 申请人: 河北省药品医疗器械检验研究院（河北省化妆品检验研究中心）**(HEBEI INSTITUTE FOR DRUG AND MEDICAL DEVICE CONTROL (HEBEI INSTITUTE FOR COSMETICS CONTROL))** [CN/CN]; 中国河北省石家庄市鹿泉区玉泉路 219 号周丽, Hebei 050227 (CN)。

(72) 发明人: 李挥 **(LI, Hui)**; 中国河北省石家庄市鹿泉区玉泉路 219 号, Hebei 050227 (CN)。 王洪宇 **(WANG, Hongyu)**; 中国河北省石家庄市鹿泉区玉泉路 219 号, Hebei 050227 (CN)。 王俊帅 **(WANG, Junshuai)**; 中国河北省石家庄市鹿泉区玉泉路 219 号, Hebei 050227 (CN)。 王雪仪 **(WANG, Xueyi)**; 中国河北省石家庄市鹿泉区玉泉路219号, Hebei 050227 (CN)。

(74) 代理人: 石家庄君联专利代理事务所（特殊普通合伙） **(SHIJIAZHUANG JUNLIAN PATENT AGENCY (SPECIAL GENERAL PARTNERSHIP))**; 中国河北省石家庄市长安区建设北大街 261 号新浩城 3-2-701, Hebei 050227 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE,

(54) **Title:** METHOD FOR SEPARATING HIGH-PURITY CEPHARANTHINE

(54) 发明名称: 一种高纯千金藤素的分离方法

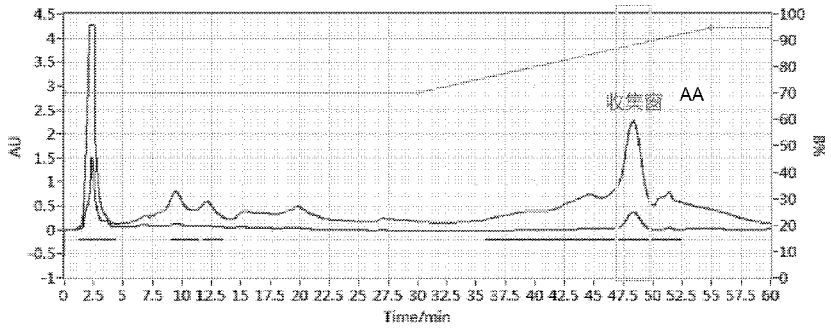


图 1

AA COLLECTION WINDOW

(57) **Abstract:** The present invention relates to the technical field of separation and purification, and particularly, to a method for separating high-purity cepharanthine. The method comprises the following steps: A, grinding a Stephania erecta slice, Stephania delavayi, or a cepharanthine-containing Menispermaceae herb as raw materials into a powder by using a mortar, adding an extracting agent, extracting by 20 minutes of ultrasonication, and concentrating at a reduced pressure by rotary evaporation to remove the extracting agent; B, loading the extract obtained in step A on a silica gel column for chromatography, and eluting to obtain a crude cepharanthine product; C, filtering the crude cepharanthine product through a 0.45 μm membrane and purifying by preparative liquid chromatography; and D, concentrating the fraction obtained in step C at a reduced pressure by rotary evaporation at 35 ° C to remove methanol, and lyophilizing to give a white solid, i.e., purified cepharanthine. The method features high cepharanthine purity, a simple and controllable separation process, and suitability for automation in industrial production.

WO 2024/055459 A1

[见续页]

PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(57) 摘要: 本发明属于分离纯化技术领域，提供了一种高纯千金藤素的分离方法，包括以下步骤：A、将山乌龟片、地不容或含有千金藤素的防己科中药材为原料用研钵捣碎至粉末，加入提取剂超声提取20min后减压旋蒸浓缩除去提取剂；B、将步骤A中得到的提取液过硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；C、将千金藤素粗品，通过0.45μm的膜后，经制备液相色谱进行纯化；D、将步骤C中得到的馏分经35℃下减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得白色固体，即纯化千金藤素。本发明的方法千金藤素纯度高，分离工艺简单可控，非常易于工业化生产的自动化。

一种高纯千金藤素的分离方法

技术领域

本发明属于分离纯化技术领域，具体是一种高纯千金藤素的分离方法。

背景技术

千金藤素（Cepharanthine），白细胞增生药，能促进骨髓组织增生，从而升高白细胞。用于白细胞减少症。可使外周血白细胞增多，动物实验发现，可明显预防丝裂霉素引起的白细胞减少，但不抑制丝裂霉素的抗癌作用。其作用机制是促进骨髓组织增生，从而产生升高白细胞作用。用于因肿瘤化疗、放疗引起的粒细胞缺乏症和其他原因引起的白细胞减少症。现有技术中，千金藤素主的分离纯化方法工艺复杂，不易于工业化生产的自动化。

发明内容

本发明针对以上问题，提供了一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，以山乌龟片、地不容或含有千金藤素的防己科中药材为原料，用提取剂提取，提取液过硅胶柱层析、洗脱，制备液相色谱分离，得到纯化千金藤素；

所述层析材料装填在吸附柱中，层析材料为有机烃类键合硅胶或含有极性有机官能团的有机烃类键合硅胶；吸附柱材料为两种以上键合硅胶的物理混合或两种以上有机烃类键合硅胶；

所述极性有机官能团选自酯基、氨基、酰胺基、脲基。

优选的，包括以下步骤：

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，加入提取剂超声提取后减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

C、将千金藤素粗品过滤后，经制备液相色谱进行纯化；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得白色固体，即纯化千金藤素。

优选的，提取剂为甲醇、乙醇、正丙醇或异丙醇的一种或一种以上的混合液。

优选的，所述层析材料的粒径为5-100um，孔径为30-300Å。

优选的，所述步骤 B 中，洗脱流速为 5-30 倍柱体积/小时。

优选的，所述步骤 B 中，洗脱液选自有机溶剂甲醇、乙腈、丙酮、四氢呋喃、乙醇、异丙醇、二氧六环的任意一种，或一种以上有机溶剂的混合液与水混合，或一种以上有机溶剂的混合液与添加改性剂的水溶液混合。

优选的，所述洗脱液中水或水溶液粘的比例为 10%-60%。

优选的，所述改性剂为甲酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、磷酸、碳酸氢铵、氨水、三乙胺、二乙胺、乙酸铵或甲酸铵中的一种或一种以上的混合。

本发明的有益效果在于：

本发明公开了一种高纯千金藤素的分离方法，包括千金藤素的提取，色谱分离，收集和色谱纯度检测。取山乌龟、地不容或含有千金

藤素的防己科中药材，捣碎，经甲醇提取后，过键合硅胶层析柱，所得馏分浓缩后，结晶，可得纯度达到98%的千金藤素纯品。采用本发明所述的方法，千金藤素纯度高，分离工艺简单可控，非常易于工业化生产的自动化。

附图说明

图 1 为典型千金藤素提取液层析分离在线检测图；

图 2 为千金藤素提取液质联用检测图；

图 3 为纯化千金藤素液质联用检测图。

具体实施方式

为让本发明的上述特征和优点能更明显易懂，下文特举实施例，并配合附图，作详细说明如下，但本发明并不限于此。

在本发明的说明书中，提及“一个实施例”时均意指在该实施例中描述的具体特征、结构或者参数、步骤等至少包含在根据本发明的一个实施例中。因而，在本发明的说明书中，若采用了诸如“根据本发明的一个实施例”、“在一个实施例中”等用语并不用于特指在同一个实施例中，若采用了诸如“在另外的实施例中”、“根据本发明的不同实施例”、“根据本发明另外的实施例”等用语，也并不用于特指提及的特征只能包含在特定的不同的实施例中。本领域的技术人员应该理解，在本发明说明书的一个或者多个实施例中公开的各具体特征、结构或者参数、步骤等可以以任何合适的方式组合。

实施例 1

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 甲醇，超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过键合硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

其中，层析材料为十八烷基键合硅胶（有机烷烃键合硅胶）装填在吸附柱中；洗脱液为甲醇；

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C18, 20-45μm，100Å；

填装规格：30 倍柱体积/小时；

进样体积：500ml

洗脱液：1）甲醇：水=85:15（V/V）保持 30min，2）25min 内，比例线性调整为甲醇：水=95:5（V/V）；3）保持步骤 2）的比例 5min.

洗脱流速：6 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.5mg 白色固体，即纯化千金藤素。

色谱分析：将提取液用甲醇稀释 2 倍后，过 0.45um 膜，进液质联用仪进行色谱分析，色谱条件如下：

色谱柱：Bioseps AQ C18, 2.1*100mm, 3um, 100Å;

流动相：甲醇：0.1%TEA=80:20(V/V)

检测波长：282nm

流速：0.3ml/min；

柱温：35℃

进样量：1ul

质谱电压：3000V，扫描范围 150~1500m/z，Pos-TIC 模式

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 98.5%。

纯化千金藤素采用液相色谱质谱联用检测，液相色谱柱为十八烷基键合硅胶基质，2.1×100mm，孔径为 100Å，粒径为 3μm，流动相为甲醇与 0.1 磷酸三乙胺水溶液以 70：30 体积比的混合液，检测波长为 282nm，质谱采用正模式全扫描方式下检测到 607.7 的准分子离子峰对应的峰即为千金藤素。

实施例 2

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 甲醇，超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过键合硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

其中，层析材料为辛烷基键合硅胶装填在吸附柱中；洗脱液为甲醇；

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C8，20-45μm，100Å；

填装规格：50×250mm；

进样体积：500ml

洗脱液：四氢呋喃：水=78:22（V/V）

洗脱流速：10 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.4mg 白色固体，即纯化千金藤素。

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 98.3%。

实施例 3

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 甲醇，超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过键合硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

其中，层析材料为有 NH_2-修饰的十八烷基键合硅胶装填在吸附柱中；洗脱液为甲醇；

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C18-N, 20-45μm，100Å；

填装规格：50×250mm；

进样体积：500ml

洗脱液：乙腈：水=85:15（V/V）

洗脱流速：15 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.5mg 白色固体，即纯化千金藤素。

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 97.1%。

实施例 4

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 提取剂（体积比为 20:80 的丙酮/甲醇混合液），超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过键合硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

其中，层析材料为有酰胺基修饰的十八烷基键合硅胶装填在吸附柱中；洗脱液为体积比为 20:80 的丙酮/甲醇混合液；

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C18-NC, 20-45μm，100Å；

填装规格：50×250mm；

进样体积：500ml

洗脱液：丙酮：甲醇：水（含 0.05%三氟乙酸和 0.01%三乙胺）=10:50:40（V/V）

洗脱流速：25 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.2mg 白色固体，即纯化千金藤素。

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 97.8%。

实施例 5

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 甲醇，超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过键合硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

其中，层析材料为有 NH_2-修饰的十八烷基键合硅胶装填在吸附柱中；洗脱液为甲醇：水=85：15（V/V）

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C18-N, 20-45μm，100Å；

填装规格：50×250mm；

进样体积：500ml

洗脱液：甲醇：乙醇：水（含 0.1%甲酸）=68:17:15（V/V）

洗脱流速：5 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.3mg 白色固体，即纯化千金藤素。

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 98.1%。

实施例 6

A、将中药材山乌龟片用研钵捣碎至粉末，用研钵捣碎至粉末，称取 50g 于具塞锥形瓶中，加入 1000ml 甲醇，超声提取 20min 后，静置冷却减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过硅胶柱进行层析，经洗脱后得到

千金藤素粗品；

其中，层析材料为有丙酯基修饰的十八烷基键合硅胶装填在吸附柱中；洗脱液为甲醇和添加甲酸的水溶液，其中添加甲酸的水溶液占的体积比例为 10%。

C、将千金藤素粗品过 0.45μm 的膜后，经制备液相色谱进行纯化；

其中填料：Bioseps-Flash C18, 20-45μm，100Å；

填装规格：50×250mm；

进样体积：500ml

洗脱液：甲醇：水=85:15（V/V）

洗脱流速：20 倍柱体积/小时；

收集方式：紫外检测 282nm；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得 37.4mg 白色固体，即纯化千金藤素。

纯化检测，经 LCMS 检测，纯化千金藤素样品纯度为 98.5%。

综上所述，本发明分离的千金藤素纯度高，分离工艺简单可控，非常易于工业化生产的自动化。

权利要求书

1、一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，以山乌龟片、地不容或含有千金藤素的防己科中药材为原料，用提取剂提取，提取液过硅胶柱层析、洗脱，制备液相色谱分离，得到纯化千金藤素；

所述层析材料装填在吸附柱中，层析材料为有机烃类键合硅胶或含有极性有机官能团的有机烃类键合硅胶；吸附柱材料为两种以上键合硅胶的物理混合或两种以上有机烃类键合硅胶；

所述极性有机官能团选自酯基、氨基、酰胺基、脲基。

2、根据权利要求 1 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，包括以下步骤：

A、将山乌龟片、地不容或含有千金藤素的防己科中药材为原料用研钵捣碎至粉末，加入提取剂超声提取后减压旋蒸浓缩除去提取剂；

B、将步骤 A 中得到的提取液过硅胶柱进行层析，经洗脱后得到千金藤素粗品；

C、将千金藤素粗品过滤后，经制备液相色谱进行纯化；

D、将步骤 C 中得到的馏分经减压旋蒸除去甲醇，冷冻干燥，得白色固体，即纯化千金藤素。

3、根据权利要求 1 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，提取剂为甲醇、乙醇、正丙醇或异丙醇的一种或一种以上的混合液。

4、根据权利要求 1 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，所述层析材料的粒径为5-100um，孔径为30-300Å。

5、根据权利要求 2 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特

征在于，所述步骤 B 中，洗脱流速为 5-30 倍柱体积/小时。

6、根据权利要求 2 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，所述步骤 B 中，洗脱液选自有机溶剂甲醇、乙腈、丙酮、四氢呋喃、乙醇、异丙醇、二氧六环的任意一种，或一种以上有机溶剂的混合液与水混合，或一种以上有机溶剂的混合液与添加改性剂的水溶液混合。

7、根据权利要求 6 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，所述洗脱液中水或添加改性剂的水溶液占的比例为 10%-60%。

8、根据权利要求 6 所述的一种高纯千金藤素的分离方法，其特征在于，所述改性剂为甲酸、乙酸、三氟乙酸、三氯乙酸、磷酸、碳酸氢铵、氨水、三乙胺、二乙胺、乙酸铵或甲酸铵中的一种或一种以上的混合。

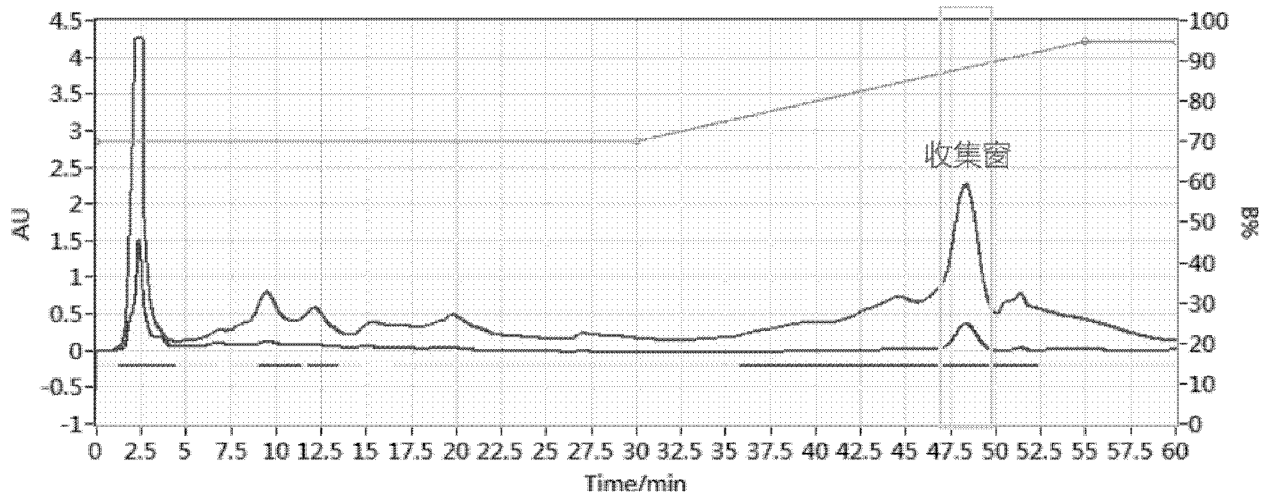

收集窗
AU
B%
Time/min

图 1

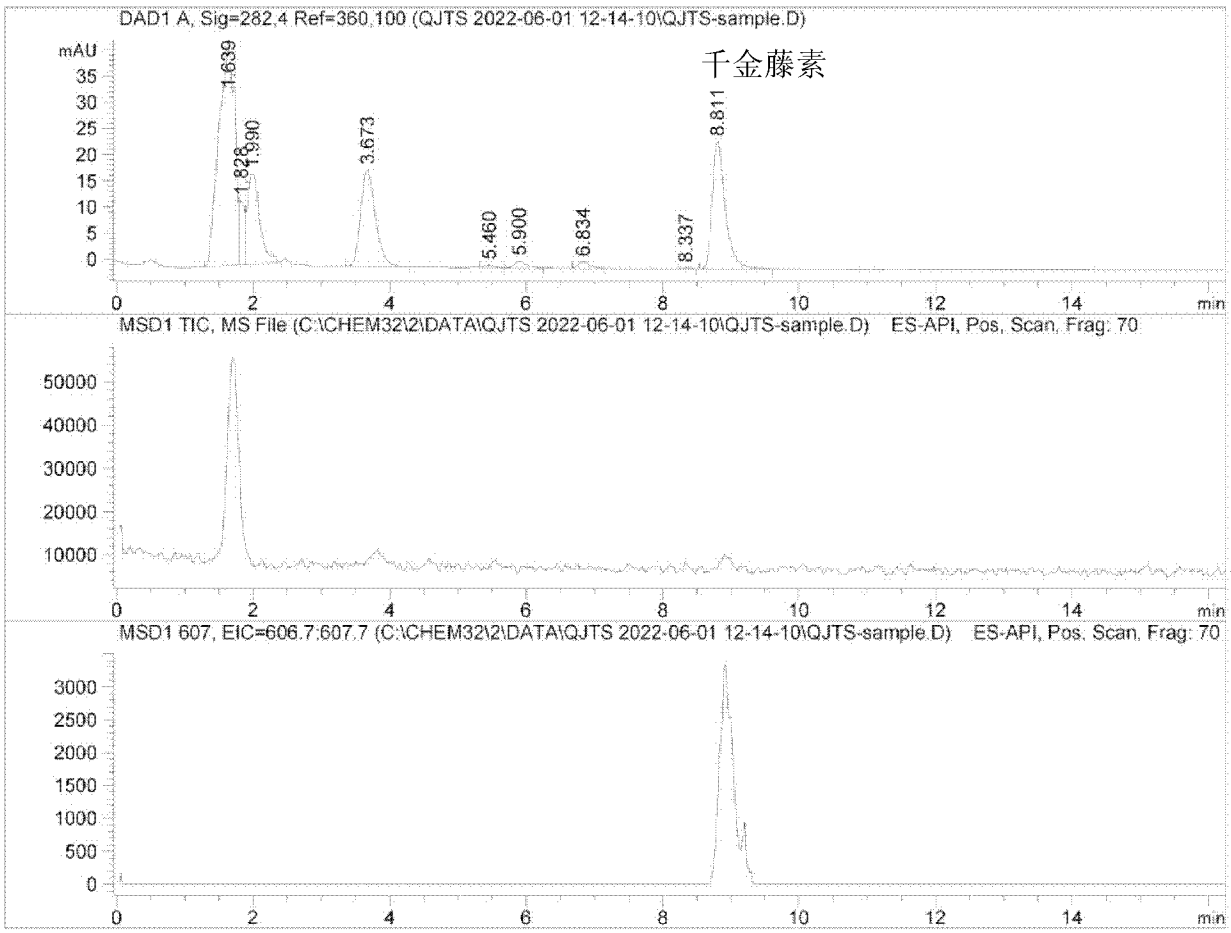

DAD1 A, Sig=282,4 Ref=360,100 (QJTS 2022-06-01 12-14-10\QJTS-sample.D)
千金藤素
1.639
1.828
1.990
3.673
5.460
5.900
6.834
8.337
8.811
MSD1 TIC, MS File (C:\CHEM32\2\DATA\QJTS 2022-06-01 12-14-10\QJTS-sample.D) ES-API, Pos, Scan, Frag: 70
MSD1 607, EIC=606.7:607.7 (C:\CHEM32\2\DATA\QJTS 2022-06-01 12-14-10\QJTS-sample.D) ES-API, Pos, Scan, Frag: 70
min

图 2

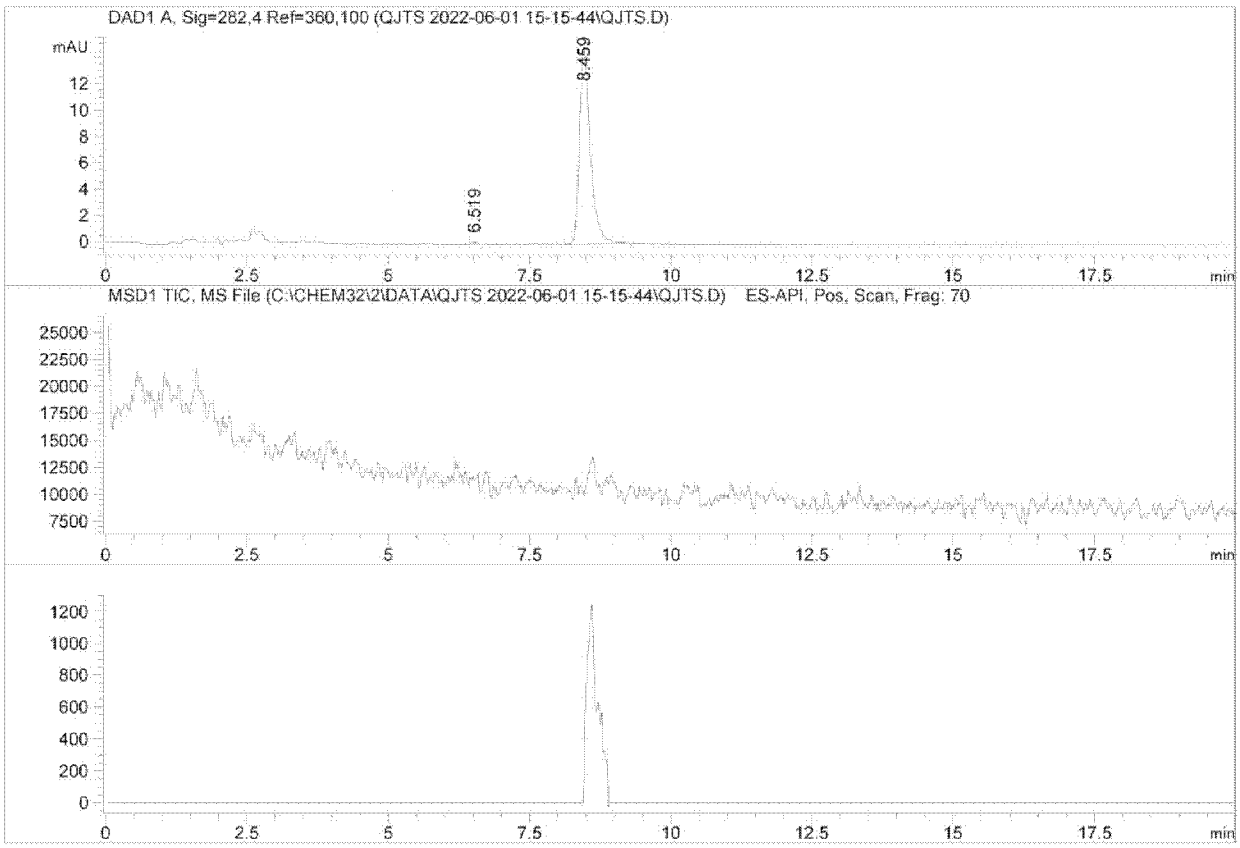

DAD1 A, Sig=282,4 Ref=360,100 (QJTS 2022-06-01 15-15-44\QJTS.D)
mAU
8.459
6.519
min
MSD1 TIC, MS File (C:\CHEM32\2\DATA\QJTS 2022-06-01 15-15-44\QJTS.D) ES-API, Pos, Scan, Frag: 70
min

图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/139271

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 491/22(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS; CNTXT; ENTXTC; VEN; ENTXT; CNKI; ISI-Web of science; 超星, CHAOXING; 万方, WANFANG; PATENTICS: 河北省药品医疗器械检验研究院, 河北省化妆品检验研究中心, 千金藤素, 千金藤碱, 山乌龟, 吊乌龟, 地不容, 防己科, 提取, 硅胶, 柱层析, 十八烷, 有机烃, 键合, 制备液相, 色谱, MPLC, ODS, cepharanthine, stephania, extra+, silica gel, column, column chromatography, preparative liquid, chromatography

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 114989185 A (SICHUAN JIANTENG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 02 September 2022 (2022-09-02) description, paragraphs [0008]-[0012]	1-8
A	CN 102146083 A (YUNNAN HANDE BIOLOG TECHNOLOGY CO., LTD.) 10 August 2011 (2011-08-10) entire document	1-8
A	CN 102838573 A (NANJING ZELANG AGRICULTURAL DEVELOPMENT CO., LTD.) 26 December 2012 (2012-12-26) entire document	1-8
A	CN 103183658 A (FUDAN UNIVERSITY) 03 July 2013 (2013-07-03) entire document	1-8
A	CN 103626644 A (SHANGHAI UNIVERSITY OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE) 12 March 2014 (2014-03-12) entire document	1-8

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 May 2023	**03 June 2023**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 104710501 A (DALIAN INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) 17 June 2015 (2015-06-17) entire document	1-8
A	CN 106167493 A (HEBEI UNIVERSITY) 30 November 2016 (2016-11-30) entire document	1-8
A	CN 106831891 A (SHANGHAI YIGU MEDICINE INVESMENT DEVELOPMENT CO., LTD.) 13 June 2017 (2017-06-13) entire document	1-8
A	CN 110526891 A (INSTITUTE OF CHINESE HERBAL MEDICINES HUBEI ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES) 03 December 2019 (2019-12-03) entire document	1-8
A	KR 950003297 A (SAMJIN PHARM CO., LTD.) 16 February 1995 (1995-02-16) entire document	1-8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/139271

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 114989185 A	02 September 2022	None	
CN 102146083 A	10 August 2011	CN 102146083 B	02 January 2013
CN 102838573 A	26 December 2012	None	
CN 103183658 A	03 July 2013	None	
CN 103626644 A	12 March 2014	CN 103626644 B	20 May 2015
CN 104710501 A	17 June 2015	None	
CN 106167493 A	30 November 2016	CN 106167493 B	05 June 2018
CN 106831891 A	13 June 2017	None	
CN 110526891 A	03 December 2019	None	
KR 950003297 A	16 February 1995	KR 960015968 B1	25 November 1996

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/139271

A. 主题的分类

C07D 491/22(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07D

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNABS;CNTXT;ENTXTC;VEN;ENTXT;CNKI;ISI-Web of science;超星;万方;PATENTICS: 河北省药品医疗器械检验研究院，河北省化妆品检验研究中心，千金藤素，千金藤碱，山乌龟，吊乌龟，地不容，防己科，提取，硅胶，柱层析，十八烷，有机烃，键合，制备液相，色谱，MPLC，ODS，cepharanthine，stephania，extra+，silica gel，column，column chromatography，preparative liquid，chromatography

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 114989185 A (四川健腾药业有限公司) 2022年9月2日 (2022-09-02) 说明书第[0008]-[0012]段	1-8
A	CN 102146083 A (云南汉德生物技术有限公司) 2011年8月10日 (2011-08-10) 全文	1-8
A	CN 102838573 A (南京泽朗农业发展有限公司) 2012年12月26日 (2012-12-26) 全文	1-8
A	CN 103183658 A (复旦大学) 2013年7月3日 (2013-07-03) 全文	1-8
A	CN 103626644 A (上海中医药大学) 2014年3月12日 (2014-03-12) 全文	1-8
A	CN 104710501 A (中国科学院大连化学物理研究所) 2015年6月17日 (2015-06-17) 全文	1-8

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"D" 申请人在国际申请中引证的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年5月18日	2023年6月3日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 潘成玉 电话号码 (+86) 0512-88996845

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 106167493 A (河北大学) 2016年11月30日 (2016 - 11 - 30) 全文	1-8
A	CN 106831891 A (上海亿谷医药投资发展有限公司) 2017年6月13日 (2017 - 06 - 13) 全文	1-8
A	CN 110526891 A (湖北省农业科学院中药材研究所) 2019年12月3日 (2019 - 12 - 03) 全文	1-8
A	KR 950003297 A (SAMJIN PHARM CO LTD) 1995年2月16日 (1995 - 02 - 16) 全文	1-8

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/139271

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	114989185	A	2022年9月2日		无		
CN	102146083	A	2011年8月10日	CN	102146083	B	2013年1月2日
CN	102838573	A	2012年12月26日		无		
CN	103183658	A	2013年7月3日		无		
CN	103626644	A	2014年3月12日	CN	103626644	B	2015年5月20日
CN	104710501	A	2015年6月17日		无		
CN	106167493	A	2016年11月30日	CN	106167493	B	2018年6月5日
CN	106831891	A	2017年6月13日		无		
CN	110526891	A	2019年12月3日		无		
KR	950003297	A	1995年2月16日	KR	960015968	B1	1996年11月25日