



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101891750 B

(45) 授权公告日 2013.04.17

(21) 申请号 201010164411.6

陈正庆等. 地不容的非酚性生物碱. 《南京医学院学报》. 1985, 第 5 卷 (第 3 期), 203-208.

(22) 申请日 2010.05.06

审查员 刘杰

(73) 专利权人 中国科学院昆明植物研究所

地址 650204 云南省昆明市蓝黑路 132 号

(72) 发明人 杨崇仁 张颖君 许敏 曾恕芬

张潇元 陈江 王东 朱宏涛

(74) 专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务

所 (普通合伙) 53108

代理人 谢嘉

(51) Int. Cl.

C07D 491/22 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 101507725 A, 2009.08.19,

JP 200080039 A, 2000.03.21,

黄加鑫等. 地不容中生物碱的分离与鉴定. 《药学学报》. 1979, 第 14 卷 (第 10 期), 612-616.

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

千金藤碱及其盐的制备方法

(57) 摘要

提供一种从植物中提取分离纯化制备千金藤碱及其盐的新方法。植物防己科原料的酸水提取液经过碱化,沉淀,过滤,得到总生物碱提取物;总生物碱提取物用低级醇或丙酮回流提取,过滤,浓缩,乙醇提取物经柱层析纯化,得到千金藤粗碱;千金藤粗碱进一步重结晶,得到纯度大于 98% 的千金藤碱;千金藤碱溶解酸化,得到盐酸千金藤碱,纯度大于 98%。该方法所得盐酸千金藤碱色泽好,纯度高,无有机溶剂残留,不需要反复柱层析,制备过程简单安全易行,成本较低,生产周期短,易于批量制备和工业化生产。

1. 1、千金藤碱及其盐的制备方法,取防己科千金藤属植物,烘干、粉碎,用盐酸水溶液或醋酸水溶液冷浸提取,提取液经 KOH 或 NaOH 碱化,沉淀,过滤沉淀,干燥,得总生物碱提取物;总生物碱提取物经甲醇或乙醇或丙酮加热回流提取,过滤,浓缩,提取物经硅胶柱或氧化铝柱柱层析分离,用含水甲醇或乙醇或乙酸乙酯 / 丙酮梯度洗脱,收集富含千金藤碱的洗脱液,浓缩干燥,得千金藤碱粗品;将千金藤碱粗品用丙酮 / 水重结晶,得纯度大于 98% 的千金藤碱,再进一步溶解用盐酸酸化,得纯度大于 98% 的盐酸千金藤碱。

2. 2、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于使用的防己科千金藤属植物部位包括植物的根茎、茎、叶、芽、枝、花、果实、种子或全草。

3. 3、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于用浓度为 1-2% 的酸水溶液冷浸提取 3-4 次,每次提取时间为 2-5 天。

4. 4、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于碱化时调 pH 至 9-10。

5. 5、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于加热回流总生物碱提

6. 取物时使用甲醇或乙醇或丙酮,提取 2-3 次,每次 2-3 小时。

7. 6、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于柱层析分离用的填充剂为硅胶、氧化铝。

8. 7、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于氧化铝柱柱层析的洗脱溶液为含水乙醇或甲醇。

9. 8、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于硅胶柱柱层析的洗脱溶液为乙酸乙酯 / 丙酮。

10. 9、根据权利要求 1 所述的方法,用于检测和指导柱层析的薄层层析法是以 10 : 1 的氯仿-甲醇为展开剂,碘为显色剂。

11. 10、根据权利要求 1 所述的方法,重结晶步骤是将千金藤粗品用适量含水丙酮加热充分溶解后,室温或 4-10℃ 低温下放置过夜,将析出的结晶或沉淀用水反复洗涤,或再次进行重结晶,过滤,干燥。

12. 11、根据权利要求 1 所述的方法,千金藤碱成盐是将千金藤纯品用适量含水丙酮或含水甲醇或乙醇加热充分溶解后,缓缓加入盐酸,边加边搅拌,室温或 4-10℃ 低温下放置过夜,直到析出结晶,将析出的结晶水反复洗涤,或再次进行重结晶,过滤,干燥,得纯度大于 98% 的盐酸千金藤碱。

13. 12、根据权利要求 1 或 11 所述的方法,千金藤碱成盐所加盐酸量按照反应机理确定,公式为 $\text{盐酸分子量} \times 2 \times \text{千金藤碱的质量} / \text{千金藤碱分子量} 606.171 / \text{盐酸浓度} 37\% = \text{所需盐酸的量}$,计算。

14. 13、根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于盐酸千金藤碱的干燥方法可采用加热干燥、冷冻干燥、喷雾干燥或微波干燥。

千金藤碱及其盐的制备方法

技术领域：

[0001] 本发明属于化学化工领域，具体地，涉及植物天然生理活性物质千金藤碱的提取分离及其半合成产物盐酸千金藤碱的制备。

背景技术：

[0002] 千金藤碱，又称为千金藤素、头花千金藤碱、金线吊乌碱、豆花藤碱。英文名 Cepharanthine，音译名为西法安生。化学名为：6',12'-dimethoxy-2,2'-dimethyl-6,7-[methylenebis(oxy)]oxyacanthan。千金藤碱最早于 1934 年日本人迈藤平三郎从防己科植物头花千金藤 (*Stephania cepharantha*) 中发现，后又从佐佐木千金藤 (*S. sasakii*)、地不容 (*S. epigaea*) 等植物中相继分离到该化合物。我国尤其是西南地区，拥有丰富的该类植物资源。千金藤碱属天然存在的双苄基异喹啉型叔胺 (bisbenzylisoquinolines, BBI) 生物碱，分子呈碱性，易溶于氯仿、甲醇、乙醇，可溶于苯、丙酮、乙醚；在石油醚微溶，不溶于水，但可溶于稀酸溶液，并可与苯形成结合物而不容于丙酮。千金藤碱具有抗菌，解毒，抗癌，免疫调节作用，促进网状内皮系统的作用，调节神经和血液循环的作用等广泛的生理活性。在日本，将千金藤碱经半合成制成盐酸千金藤碱 (Cepharanthine hydrochloride)，用于临床放疗，化疗所致白细胞减少症。已经有大剂量用药的经验而未发现毒副作用的报道。盐酸千金藤碱具有明显的治疗由环磷酰胺所致的白细胞减少及逆转多药耐药性的作用。然而，千金藤碱及其盐存在分离纯化制备过程繁琐，得率低，纯化过程中因为使用苯试剂带来苯含量超标等问题，迄今没有工业化批量生产的制备工艺。

发明内容：

[0003] 本发明的目的旨在提供一种成本低、得率高、纯度高、制备过程简单易行、生产周期短，易于批量制备和工业化生产千金藤碱及其盐的制备方法。

[0004] 为了实现本发明的上述目的，本发明提供了如下的技术方案：

[0005] 千金藤碱及其盐的制备方法，取防己科植物，烘干、粉碎，用酸水冷浸提取，提取液经碱化，沉淀，过滤沉淀，干燥，得总生物碱提取物；总生物碱提取物经甲醇或乙醇或丙酮加热回流提取，过滤，浓缩，提取物经硅胶柱或氧化铝柱柱层析分离，用含水甲醇或乙醇或乙酸乙酯 / 丙酮梯度洗脱，收集富含千金藤碱的洗脱液，浓缩干燥，得千金藤碱粗品；将千金藤碱粗品用丙酮 / 水重结晶，得纯度大于 98% 的千金藤碱，再进一步溶解用盐酸酸化，得纯度大于 98% 的盐酸千金藤碱。

[0006] 所述的植物是防己科 (Menispermaceae) 千金藤属 (*Stephania*) 植物、防己科木防己属 (*Cocculus*) 植物、防己科轮环藤属 (*Cyclea*) 植物、防己科锡生藤属 (*Cissampelos*) 植物、防己科印度防己属 (*Anamirta*) 植物、或防己科谷树属 (*Chondodendron*) 植物；使用的植物部位包括上述植物的根茎、茎、叶、芽、枝、花、果实、种子或全草。

[0007] 所述的方法，用浓度为 1-2% 的酸水溶液冷浸提取 3-4 次，每次提取时间为 2-5 天。

[0008] 所述的方法，酸水溶液包括但不限于盐酸水溶液、硫酸水溶液、草酸水溶液、冰醋

酸水溶液。

[0009] 所述的方法,碱化时调 pH 至 9-10。

[0010] 所述的方法,用于碱化的碱包括但不限于氢氧化钠、氢氧化钾。

[0011] 所述的方法,加热回流总生物碱提取物时使用甲醇或乙醇或丙酮,提取 2-3 次,每次 2-3 小时。

[0012] 所述的方法,柱层析分离用的填充剂为硅胶或氧化铝,包括但不限于硅胶(100-200 目)、硅胶(200-300 目)、氧化铝。

[0013] 所述的方法,氧化铝柱层析的洗脱溶液为含水乙醇或甲醇。

[0014] 所述的方法,硅胶柱层析的洗脱溶液为乙酸乙酯 / 丙酮。

[0015] 所述的方法,用于检测和指导柱层析的薄层层析法是以 10 : 1 的氯仿—甲醇为展开剂,碘为显色剂。

[0016] 所述的方法,重结晶步骤是将千金藤粗品用适量含水丙酮或含水甲醇或乙醇加热充分溶解后,室温或 4-10℃ 低温下放置过夜,将析出的结晶或沉淀用水反复洗涤,或再次进行重结晶,过滤,干燥。

[0017] 所述的方法,千金藤碱成盐是将千金藤纯品用适量含水丙酮或含水甲醇或乙醇加热充分溶解后,缓缓加入盐酸,边加边搅拌,室温或 4-10℃ 低温下放置过夜,直到析出结晶,将析出的结晶水反复洗涤,或再次进行重结晶,过滤,干燥,得纯度大于 98% 的盐酸千金藤碱。

[0018] 所述的方法,千金藤碱成盐所加盐酸量按照反应机理确定,公式为盐酸分子量 $36.5 \times 2 \times$ 千金藤碱的质量 / 千金藤碱分子量 606.171 / 盐酸浓度 37% = 所需盐酸的量,计算。

[0019] 所述的方法,盐酸千金藤碱的干燥方法可采用加热干燥、冷冻干燥、喷雾干燥或微波干燥。

[0020] 经过上述制备工艺提取分离制备的千金藤碱及其盐,操作简单可行,产品收率高,纯度均大于 98%,无有机溶剂的残留,可直接作为制药原料。

[0021] 本发明制备千金藤碱及其盐的具体步骤如下:

[0022] (1) 植物原料去杂、洗净、烘干、粉碎成粗粉(过 20-40 目筛)。

[0023] (2) 将该植物粗粉用 1-2% 酸水(可以是盐酸或冰醋酸)冷浸提取 3-4 次,每次提取时间为 2-5 天,过滤、合并滤液,浓缩、回收溶剂。

[0024] (3) 残留水溶液加氢氧化钠(NaOH)调节提取液的酸碱度,将 pH 调至 9-10,至生物碱沉淀析出,过滤,得总生物碱提取物。

[0025] (4) 总生物碱提取用低级醇(可以是甲醇或乙醇)或丙酮加热回流提取 2-3 次,每次提取时间为 2-3 小时,过滤,浓缩。

[0026] (5) 上述提取物用小体积溶剂溶解后缓缓倾入硅胶柱或氧化铝柱层析柱的上端。层析柱的柱径高比为 1 : 20-50。以不同浓度乙酸乙酯 / 丙酮或低级醇(可以是甲醇或乙醇)梯度洗脱,以 10 : 1 的氯仿—甲醇为展开剂,碘为显色剂,采用薄层层析法检测,收集富含千金藤碱的部位。

[0027] (6) 将千金藤碱粗品用适量丙酮 / 水加热溶解后,室温(或 4-10℃ 低温)下放置过夜,析出结晶或沉淀。将结晶或沉淀用水反复洗涤,或再次进行重结晶后,过滤,干燥,得

到千金藤碱纯品。

[0028] (7) 将千金藤碱纯品用适量丙酮或低级醇(可以是甲醇或乙醇)溶解后,按照公式
盐酸分子量(36.5)×2× 金藤碱的质量 /606.171/37%=所需盐酸的量,缓缓加入盐酸,边
加边搅拌,室温(或4-10℃低温)下放置过夜,析出结晶,用水反复洗涤,或重结晶,过滤,干
燥,得到盐酸千金藤碱纯品。

[0029] (8) 千金藤碱纯品的干燥,可用加热干燥、冷冻干燥、喷雾干燥或微波干燥等。

[0030] (9) 千金藤碱的高压液相色谱(HPLC)定量分析。

具体实施方式:

[0031] 下面以本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容,但本发明的内容并不
局限于此。

[0032] 实施例 1:

[0033] 从地不容植物(*Stephaniaepigaea*)中提取分离纯化制备千金藤碱及盐酸千金藤
碱。

[0034] (1) 250.0Kg 地不容根茎去杂、洗净、烘干、粉碎成粗粉(过 20-40 目筛);

[0035] (2) 上述粗粉用 1-2% 盐酸水溶液,冷浸提取 34 次,每次提取时间为 4 天,过滤、合
并滤液,浓缩、回收溶剂;

[0036] (3) 残留水溶液加氢氧化钠(NaOH),将 pH 调至 9,至生物碱沉淀析出,过滤,得总生
物碱提取物 52.0Kg;

[0037] (4) 总生物碱提取用乙醇加热回流提取 2 次,每次提取时间为 3 小时,过滤,浓缩,
得千金藤碱总碱 1.30Kg;

[0038] (5) 上述提取物用小体积乙酸乙酯溶解后缓缓倾入硅胶柱(100-200 目)的上端。
层析柱的柱径高比为 1 : 20。以乙酸乙酯 / 丙酮(20 : 1-1 : 1) 梯度洗脱,以 10 : 1 的
氯仿-甲醇为展开剂,碘为显色剂,薄层层析法检测,收集富含千金藤碱的部位,得千金藤
碱粗碱 980.0g;

[0039] (6) 将千金藤碱粗品用丙酮(1450mL)加热溶解后,待烧杯中溶液冷却后,缓缓加
入 30ml 蒸馏水,边加边搅拌。室温放置约 2 天,直到结晶出现。过滤结晶,放置干燥。最终
得到千金藤碱 443.0g;

[0040] (7) 用高压液相色谱(HPLC)分析,千金藤碱的含量为 98.14%;

[0041] (8) 将上述千金藤碱纯品加入 800mL 丙酮于 70℃水浴溶解,待溶液冷却后,缓缓加
入盐酸 144mL,边加边搅拌。室温放置约 1 天,直到结晶完全析出。过滤结晶,得到盐酸千金
藤碱 578.0g;

[0042] (9) 将上述盐酸千金藤碱加入 1200mL 的甲醇,置于 70℃水浴中溶解。室温放置,
直到结晶出现。过滤结晶,得到白色盐酸千金藤碱 476g;

[0043] (10) 加热干燥,得盐酸千金藤碱,纯度大于 98%。

[0044] 实施例 2:

[0045] 从地不容植物(*Stephaniaepigaea*)中提取分离纯化制备千金藤碱及盐酸千金藤
碱:

[0046] (1) 20Kg 地不容根茎去杂、洗净、烘干、粉碎成粗粉(过 20-40 目筛);

[0047] (2) 上述粗粉用 1-2% 醋酸水溶液, 冷浸提取 4 次, 每次提取时间为 5 天, 过滤、合并滤液, 浓缩、回收溶剂;

[0048] (3) 残留水溶液加氢氧化钾 (KOH), 将 pH 调至 9, 至生物碱沉淀析出, 过滤, 得总生物碱提取物 4.9Kg;

[0049] (4) 总生物碱提取用乙醇加热回流提取 2 次, 每次提取时间为 2 小时, 过滤, 浓缩, 得千金藤碱总碱 127g;

[0050] (5) 上述提取物用小体积甲醇溶解后缓缓倾入氧化铝层析柱的上端。层析柱的柱径高比为 1 : 35。以含水甲醇梯度洗脱, 以 10 : 1 的氯仿—甲醇为展开剂, 碘为显色剂, 薄层层析法检测, 收集富含千金藤碱的部位, 得千金藤碱粗碱 98.0g;

[0051] (6) 将千金藤碱粗品用丙酮 (140mL) 加热溶解后, 待烧杯中溶液冷却后, 缓缓加入 5.0mL 蒸馏水, 边加边搅拌。室温放置约 1 天, 直到结晶出现。过滤结晶, 放置干燥。最终得到千金藤碱 45.9g;

[0052] (7) 用高压液相色谱 (HPLC) 分析, 千金藤碱的含量为 98.40%。

[0053] (8) 将上述千金藤碱纯品加入 100mL 丙酮于 70℃ 水浴溶解, 待溶液冷却后, 缓缓加入盐酸 13.2mL, 边加边搅拌。室温放置约 1 天, 直到结晶完全析出。过滤结晶, 得到盐酸千金藤碱 56.3g;

[0054] (9) 将上述盐酸千金藤碱加入 125mL 的甲醇, 置于 70℃ 水浴中溶解。室温放置, 直到结晶出现。过滤结晶, 得白色盐酸千金藤碱 46.2g;

[0055] (10) 加热干燥, 得盐酸千金藤碱, 纯度大于 98%。

[0056] 实施例 3:

[0057] 从植物头花千金藤 (*S. cepharantha*) 中提取分离纯化制备千金藤碱及盐酸千金藤碱:

[0058] (1) 100.0Kg 头花千金藤去杂、洗净、烘干、粉碎成粗粉 (过 20-40 目筛);

[0059] (2) 上述粗粉用 1-2% 盐酸水溶液, 冷浸提取 3 次, 每次提取时间为 2 天, 过滤、合并滤液, 浓缩、回收溶剂;

[0060] (3) 残留水溶液加氢氧化钠 (NaOH), 将 pH 调至 10, 至生物碱沉淀析出, 过滤, 得总生物碱提取物 18.6Kg。

[0061] (4) 总生物碱提取用乙醇加热回流提取 3 次, 每次提取时间为 2.5 小时, 过滤, 浓缩, 得千金藤碱总碱 680g;

[0062] (5) 上述提取物用小体积乙酸乙酯溶解后缓缓倾入硅胶柱 (100-200 目) 的上端。层析柱的柱径高比为 1 : 20。以乙酸乙酯 / 丙酮 (20 : 1-1 : 1) 梯度洗脱, 以 10 : 1 的氯仿—甲醇为展开剂, 碘为显色剂, 薄层层析法检测, 收集富含千金藤碱的部位, 得千金藤碱粗碱 478.0g;

[0063] (6) 将千金藤碱粗品用丙酮 (1450mL) 加热溶解后, 待烧杯中溶液冷却后, 缓缓加入 30ml 蒸馏水, 边加边搅拌。室温放置约 2 天, 直到结晶出现。过滤结晶, 放置干燥。最终得到千金藤碱 221.5g;

[0064] (7) 用高压液相色谱 (HPLC) 分析, 千金藤碱的含量为 98.71%;

[0065] (8) 将上述千金藤碱纯品加入 400mL 丙酮于 70℃ 水浴溶解, 待溶液冷却后, 缓缓加入盐酸 72mL, 边加边搅拌。室温放置约 1 天, 直到结晶完全析出。过滤结晶, 得到盐酸千金

藤碱 187.0g；

[0066] (9) 将上述盐酸千金藤碱加入 600mL 的甲醇,置于 70℃水浴中溶解。室温放置,直到结晶出现。过滤结晶,得到白色盐酸千金藤碱 169g；

[0067] (10) 加热干燥,得盐酸千金藤碱,纯度大于 98%。

[0068] 实施例 4：

[0069] 从植物佐佐木千金藤 (*S. sasakii*) 中提取分离纯化制备千金藤碱及盐酸千金藤碱：

[0070] (1) 80.0Kg 头花千金藤去杂、洗净、烘干、粉碎成粗粉(过 20-40 目筛)；

[0071] (2) 上述粗粉用 1-2% 盐酸水溶液,冷浸提取 3 次,每次提取时间为 3 天,过滤、合并滤液,浓缩、回收溶剂；

[0072] (3) 残留水溶液加氢氧化钠 (NaOH),将 pH 调至 9,至生物碱沉淀析出,过滤,得总生物碱提取物 13.6Kg；

[0073] (4) 总生物碱提取用乙醇加热回流提取 3 次,每次提取时间为 2 小时,过滤,浓缩,得千金藤碱总碱 560g；

[0074] (5) 上述提取物用小体积乙酸乙酯溶解后缓缓倾入硅胶柱(100-200 目)的上端。层析柱的柱径高比为 1 : 20。以乙酸乙酯 / 丙酮 (20 : 1-1 : 1) 梯度洗脱,以 10 : 1 的氯仿-甲醇为展开剂,碘为显色剂,薄层层析法检测,收集富含千金藤碱的部位,得千金藤碱粗碱 389.0g；

[0075] (6) 将千金藤碱粗品用丙酮 (1450mL) 加热溶解后,待烧杯中溶液冷却后,缓缓加入 30ml 蒸馏水,边加边搅拌。室温放置约 2 天,直到结晶出现。过滤结晶,放置干燥。最终得到千金藤碱 219.5g；

[0076] (7) 用高压液相色谱 (HPLC) 分析,千金藤碱的含量为 98.89%；

[0077] (8) 将上述千金藤碱纯品加入 350mL 丙酮于 70℃水浴溶解,待溶液冷却后,缓缓加入盐酸 68mL,边加边搅拌。室温放置约 1 天,直到结晶完全析出。过滤结晶,得到盐酸千金藤碱 168.0g；

[0078] (9) 将上述盐酸千金藤碱加入 450mL 的甲醇,置于 70℃水浴中溶解。室温放置,直到结晶出现。过滤结晶,得到白色盐酸千金藤碱 146g；

[0079] (10) 加热干燥,得盐酸千金藤碱,纯度大于 98%。

[0080] 本发明千金藤碱的薄层层析法 (TLC) 按以下的方法进行

[0081] 仪器与试剂:薄层层析用预制硅胶板 H(0.20-0.25 μm, 青岛海洋化工厂),所有溶剂均为分析纯,水为超纯水。

[0082] 色谱条件及显色剂的选择:参考文献并经试验选用 10 : 1 的氯仿-甲醇为展开剂,碘为显色剂。在此条件下对千金藤碱进行检测,灵敏度高,结果较为理想。

[0083] 本发明千金藤碱的高压液相色谱 (HPLC) 定量分析按以下的方法进行：

[0084] 仪器与试剂:HPLC 仪器为 Alliance 高效液相色谱仪,自动进样器,PDA 二级管阵列可变波长检测器。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余溶剂均为分析纯。

[0085] 色谱条件及检测波长的选择:参考文献并经试验选用 SHIMADZU Shim-pack CLC-CN(M) 柱,5 μm,4.6mm×250mm;甲醇-8%氨水 (9 : 1) 为流动相。检测波长为 282nm。柱温:25℃。在此条件下对千金藤碱供试品溶液进行测定,结果较为理想;实验中理论板数

不低于 2000。

[0086] 实验材料:精密称取经五氧化二磷减压干燥致恒重的千金藤碱对照品 10mg,置 10ml 量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1ml 中含千金藤碱 1.0mg)。

[0087] 供试品溶液的制备条件选择:精密称取本品 5.0mg,置 5ml 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液。

[0088] 色谱条件与系统适用性试验:

[0089] 1、线性关系考察:分别精密吸取对照品溶液 8、12、16、20、24 μ l 按上述色谱条件测定峰面积,结果见表 1,以峰面积积分值对进样量进行回归处理,千金藤碱在 8.8 μ g ~ 26.4 μ g 范围内呈现良好的线性关系。回归方程为 $Y = 851531.48X + 3415631.20R^2 = 1.00$ 。

[0090] 表 1 线性关系考察结果

	对照品进样体积 μ l	μ g	峰面积积分值
	8	8.8	10882034
[0091]	12	13.2	14740433
	16	17.6	18380653
	20	22	22047726
	24	26.4	25962080

[0092] 2. 精密度试验:取同一千金藤碱对照品溶液,按上述色谱条件,连续测定 5 次(进样量 10 μ l),测得峰面积积分值分别为 13925269、13440586、13790865、13697470、13291016、RSD = 1.90%。

[0093] 3. 稳定性试验:取同一供试品溶液,按上述色谱条件测定 6 次,每次间隔约 2 小时,测得峰面积积分值分别为 9387693、9133477、9045518、9143471、9081768、9097646、RSD = 1.34%,表明供试品溶液在 12 小时内稳定。

[0094] 4. 重现性试验:取同一千金藤碱原料,按供试品溶液制备方法制备,按上述液相色谱条件测定,结果见表 2,证明此方法重现性良好。

[0095] 表 2 千金藤碱重现性实验结果

[0096]

样品取样量 (mg)	样品峰面积积 分值	对照品浓度(mg)	对照品峰面积积 分值	样品含量(%)	RSD (%)
9.80	9091883			97.907227	
11.36	10607886			98.545660	
12.66	11781748			98.211651	
11.56	10831570	0.9820	9305174	98.882757	0.37
11.37	10597289			98.360630	
12.38	11625135			99.097877	

[0097] 分别取三个批号的经过上述制备工艺提取分离得到千金藤碱原料按上述方法进行含量测定（见表 3），千金藤碱含量大于 98%。

[0098] 表 3 千金藤碱含量测定结果

对照品浓度 (mg/ml)		0.9820			
对照品峰面积积分值		9307959			
批号	样品取样量 (mg)	样品浓度 (mg/ml)	样品峰面积积分值	样品含量 (%)	平均值 (%)
[0099] 1	4.75	0.950	8861197	98.4069593	98.40
	5.57	1.114	10390020	98.3984413	
2	5.59	1.118	10391301	98.0584779	98.14
	5.85	1.170	10893365	98.2275292	
3	5.80	1.160	10850679	98.6860924	98.71
	5.77	1.154	10799452	98.7308636	

[0100] 与现有技术相比，本发明的方法具有下述的优点：

[0101] 1、本发明是从防己科 (Menispermaceae) 千金藤属 (Stephania)、木防己属 (Cocculus)、轮环藤属 (Cyclea)、锡生藤属 (Cissampelos)、印度防己属 (Anamirta) 或谷树属 (Chondodendron) 植物中的任何一种含千金藤碱的植物或上述植物的根茎、茎、叶、芽、枝、花、果实、种子或全草任一含有千金藤碱的部位中提取千金藤碱；

[0102] 2、本发明采用酸水为溶剂从植物原料中提取千金藤碱，得率高，成本低；

[0103] 3、本发明主要用含水低级醇（甲醇或乙醇），丙酮，少量使用乙酸乙酯为溶剂，成本低，易于批量化生产；

[0104] 4、本发明使用的柱层析填充剂为硅胶或氧化铝，价格便宜，简单易行，成本低；

[0105] 5、本发明采用重结晶的方法纯化制备千金藤碱及其盐，不仅产品形状好，颜色白，纯度高，溶剂残留少，而且简单易行，成本低；

[0106] 6、本发明采用薄层层析法作为检测手段，指导柱层析的分离纯化，方法简单易行，灵敏，所得产品的得率高，纯度高。