

鸭胆膏中鹅去氧胆酸的提取工艺

刘雁红, 胡祥正

(天津科技大学理学院, 天津 300457)

摘要: 为了有效利用禽产品加工企业的鸭胆膏, 研究应用沉淀法和萃取法从鸭胆膏中分离纯化鹅去氧胆酸(CDCA)的操作与工艺流程. 结果显示, 两种方法都能够有效地从鸭胆膏中提取得到鹅去氧胆酸.

关键词: 鸭胆膏; 提取; 鹅去氧胆酸

中图分类号: O629.22 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2009)03-0043-03

Extraction Technique of Chenodeoxycholic Acid from Duck Bile Paste

LIU Yan-hong, HU Xiang-zheng

(College of Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: To enhance the effective utilization of duck bile paste from the waste of poultry product processing enterprise, the operation and process of precipitation and extraction technology were studied in order to get CDCA from duck bile paste. The results show that both of technologies are effective for the extraction of CDCA from duck bile paste.

Keywords: duck bile paste; extraction; chenodeoxycholic acid

鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid, 简称 CDCA)具有溶解胆结石的功效和其他药学性能, 在临床上被用作溶胆结石的药物^[1]. 近年研究发现, 在溶解胆结石方面, 鹅去氧胆酸的同分异构体熊去氧胆酸的临床应用效果更好, 且没有副作用. 因此, 作为溶解胆结石药物的鹅去氧胆酸逐渐被熊去氧胆酸所取代^[2-3].

天然熊去氧胆酸来源于熊胆汁, 而杀熊取胆和通过导流术从熊体内抽提熊胆汁的做法已经被国家明令禁止. 熊去氧胆酸目前只能通过化学方法合成获得. 最初, 人们以猪、牛及羊胆汁中的胆酸、去氧胆酸等为原料, 合成熊去氧胆酸, 但此种方法反应步骤多, 工艺复杂, 产率低, 很难进行大规模生产^[4-5]. 近年, 研究者们发现, 以鸡、鸭、鹅等禽胆汁中提取的鹅去氧胆酸为原料, 合成熊去氧胆酸工艺过程相对简单、产率较高, 不易造成环境污染. 目前, 市场销售的熊去氧胆酸主要是以此种方法合成^[6].

传统的从鸡、鸭与鹅等的胆汁中提取鹅去氧胆酸

工艺包括胆汁皂化、酸化、除醇不溶物、除脂、生成钡盐、脱钡等步骤, 工艺过程复杂, 收率低, 产业化应用困难^[7]. 家禽胆囊小, 难以手工破胆取胆汁. 随着禽产品加工企业生产规模不断增大, 苦胆产量剧增, 将苦胆作废物弃掉, 一方面会造成资源浪费, 另一方面会引起环境问题. 为了解决这一问题, 目前一些禽产品加工企业, 开始将苦胆进行预处理, 得到油脂和苦胆膏, 油脂被用于食品及化工行业, 苦胆膏没有成熟的应用途径, 但相对于苦胆, 苦胆膏易于保存与运输.

鹅去氧胆酸是鸡、鸭与鹅等胆膏中的主要有机成分, 若将鹅去氧胆酸从中提取出来, 将会产生可观的经济效益. 同时作为合成熊去氧胆酸的原料, 可以创造明显的社会价值. 目前没有文献报道从鸭、鹅与鸡胆膏中提取鹅去氧胆酸的方法. 本文报道两种从鸭胆膏中提取鹅去氧胆酸的方法, 并对它们的工艺进行探讨.

收稿日期: 2008-11-13; 修回日期: 2009-03-30

基金项目: 天津市科技型中小企业创新基金资助项目(08ZXCXSH05300)

作者简介: 刘雁红(1966—), 女, 山西大同人, 副教授, liuyh@tust.edu.cn.

1 材料与方法

1.1 原料试剂

鸭胆膏,山东省莱芜市畜牧局提供,收集于当地禽产品加工厂;鹅去氧胆酸标准品(纯度 98%),Sigma 公司;氢氧化钠、盐酸、氯化钙、氯仿、乙醇、乙酸乙酯,分析纯,天津化学试剂公司。

1.2 仪器

X-4 型熔点仪;Bio-RAD FTS 135 型傅里叶变换红外光谱仪;Varian Unity Plus-400 核磁共振仪,CDCl₃ 为溶剂,TMS 为内标;Trace DSQ 型质谱仪。

1.3 实验方法

1.3.1 沉淀法^[8-9]

取鸭胆膏 100 g,加入质量分数 20% 的 NaOH 水溶液 120 mL,搅拌全溶后,加热回流 20 h。冷却到室温,向其中滴加浓 H₂SO₄ 至 pH=6,析出固体,过滤。将所得固体溶于 200 mL 乙醇中,向其中加入 100 mL 汽油萃取,分层后,分液。在乙醇相中加入 CaCl₂ 饱和溶液 100 mL,搅匀后加入 200 mL 乙酸乙酯,分液,旋蒸除去乙酸乙酯,得鹅去氧胆酸粗品。干燥后,用乙腈重结晶,得鹅去氧胆酸纯品。

1.3.2 萃取法^[10]

取鸭胆膏 50 g,加入质量分数 20% 的 NaOH 水溶液 100 mL,搅拌全溶后,加热回流 20 h。冷却到室温,向其中加入氯仿与乙醇的体积比为 2:1 的混合液 180 mL。加热回流 1.5 h,冷却分液,得有机相。旋蒸有机相,回收溶剂,固体用乙腈重结晶,得鹅去氧胆酸纯品。

2 结果与讨论

2.1 收率与回收率

2.1.1 收率

两种方法制备产品的收率如表 1 所示。

表 1 沉淀法和萃取法提取鹅去氧胆酸的收率比较
Tab.1 Yield of chenodeoxycholic acid by precipitation and extraction technology

组号	沉淀法		萃取法	
	产品质量/g	收率/%	产品质量/g	收率/%
1	26.3	26.3	15.1	30.2
2	25.6	25.6	14.4	28.8
3	26.0	26.0	14.8	29.6
4	24.9	24.9	15.0	30.0
平均值	25.7	25.7	14.8	29.7

为了考察结果的准确性,实验过程中每个步骤都重复 4 次。表 1 显示,沉淀法和萃取法两种工艺都可

以将鹅去氧胆酸从鸭胆膏中提取出来。对于同一种提取方法,平行实验的收率接近,说明该方法可重复性强,具有实际推广应用价值。但沉淀法的产品收率略低于萃取法。

2.1.2 回收率

采用加样实验法精密称取纯品鹅去氧胆酸 4 份,分别依据沉淀法和萃取法的工艺过程,重复实验,作回收率测定。结果如表 2 所示。

表 2 沉淀法和萃取法回收率测定结果

Tab.2 Recovery fraction of chenodeoxycholic acid by precipitation and extraction technology

方法	CDCA 质量/g	回收量/g	回收率/%	平均回收率/%
沉淀法	0.114 5	0.092 1	80.4	82.2
	0.187 4	0.157 4	84.0	
萃取法	0.121 3	0.116 4	96.0	97.0
	0.109 2	0.107 0	98.0	

表 2 的实验结果显示,沉淀法和萃取法两种工艺均可用于鹅去氧胆酸的提取,但两种方法得到产品的回收率是有一定的差别。萃取法的回收率要高于沉淀法。

2.2 定性检测

2.2.1 层析结果与熔点

以鹅去氧胆酸标准品做对照,常温下用硅胶 G 硬板作为固定相,乙酸乙酯与乙醇的体积比为 4:1 的混合液为展开剂进行展开,干燥后,以碘为显色剂显色。结果表明,两种方法得到产品的斑点与标准鹅去氧胆酸完全相同。

对两种工艺所得产品的熔点进行了测定,结果显示,两种工艺所得样品的熔点均为 169~170 °C,与鹅去氧胆酸标准样品的熔点相同,说明两种工艺所得产品是同一种物质。

由层析结果和熔点测定的结果可初步确定通过沉淀法和萃取法所获得的样品均为鹅去氧胆酸,故在下文只对沉淀法所得产品进行讨论。

2.2.2 分子光谱分析

为进一步确认所得产品是鹅去氧胆酸,实验过程中测定了产品红外光谱(IR)、核磁共振氢谱(¹HNMR)和质谱(MS),并与标准品及文献数据相比较。图 1 是沉淀法产品与鹅去氧胆酸标准品的红外吸收谱图。图 2 是沉淀法所得产品的 ¹HNMR 谱图。

图 1 显示,沉淀法所得鹅去氧胆酸产品的红外光谱与鹅去氧胆酸标准品的基本相同(3 410 cm⁻¹(r OH), 2 940 cm⁻¹(r CH), 1 720 cm⁻¹(r C=O), 1 450 cm⁻¹(δ OH), 1 378 cm⁻¹(δ CH), 1 250 cm⁻¹(δ

COOH)),只是沉淀法所得产品在 $3\ 250\sim 3\ 300\text{ cm}^{-1}$ 有一个小的吸收峰,此峰是由未完全挥发的溶剂引起的.由此说明沉淀法所得产品纯度接近对照品.

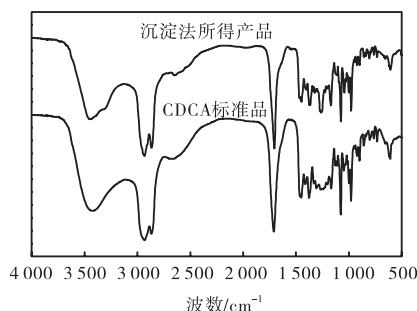


图1 鹅去氧胆酸的红外吸收谱图

Fig.1 FTIR spectrum of CDCA

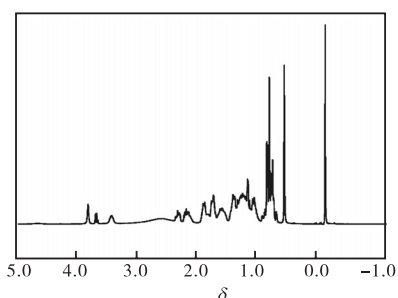


图2 鹅去氧胆酸产品的¹H NMR谱图

Fig.2 ¹H NMR spectroscopy of CDCA

图2的¹H NMR谱图可以确认(¹H NMR: δ H 0.66 (3H, s, C13-CH₃), 0.90 (3H, s, C10-CH₃), 0.92 (3H, d, C20-CH₃), 3.48 (1H, br, C3-H), 3.85 (H, br, C7-H)),由此可知沉淀法所得的产品是纯度较高的鹅去氧胆酸.

通过质谱结果中的最大质荷比,可以得到所测产品的相对分子质量.质谱测试结果显示,沉淀法所得产品的最大质荷比为391.3,这与鹅去氧胆酸相对分子质量的理论计算值相一致.

综合红外光谱、核磁共振氢谱和质谱的结果可以进一步确定所得产品是鹅去氧胆酸.

3 结 语

沉淀法和萃取法两种工艺均可用于鸭胆膏中鹅

去氧胆酸的提取,两种方法各具特色.与沉淀法相比,萃取法工艺流程更简单、快捷,但操作过程中应用的氯仿价格昂贵、易造成环境污染.沉淀法操作过程中应用的有机溶剂不会产生环境污染,而生产操作中应用皂化、酸化、萃取等操作会增加生产周期与成本,同时操作步骤较多,必然会降低产品收率.具体到企业规模化生产应用,还要根据实际情况而定.应用沉淀法和萃取法两种工艺从鸭胆膏中提取鹅去氧胆酸,可以采用有机溶剂循环应用技术,使生产过程中有机溶剂的用量降低到最低水平.要进行产业化实际应用,两种提取工艺的最佳工艺条件有待于进一步探讨和比较.

参考文献:

- [1] 刘光泽,柳增善,刘明远,等.鸡胆汁中鹅去氧胆酸转化为熊去氧胆酸的研究[J].中国兽医学报,1998,18(1):74-76.
- [2] 杨大明,孟宪镛.熊去氧胆酸临床应用近况[J].国外医学:内科学分册,1993,20(4):152-155.
- [3] 刘妮妮,沈锡中.熊去氧胆酸临床应用进展[J].世界临床药物,2003,24(4):213-216.
- [4] Saksena S, Tandon R K. Ursodeoxycholic acid in the treatment of liver diseases [J]. Postgraduate Medical Journal, 1997, 73 (856): 75-80.
- [5] 杨世琼,卓超,吴达俊.熊去氧胆酸的化学合成方法新进展[J].中国现代应用药学,1999,16(4):6-8.
- [6] Oreste M A P, Antonio A. Preparation of 7 β -hydroxy substituted bile acids by stereo selective hydrogenation of the 7-Keto group in bile acids using nickel catalysts. EP 230085[P]. 1987-07-01.
- [7] 王国英,张保田.从鸭鹅胆汁中提取鹅去氧胆酸[J].基层中药杂志,1996,10(4):28.
- [8] 陆进,杜守颖,赵丽瑞,等.猪去氧胆酸提取工艺研究[J].中国中药杂志,2004,29(5):414-417.
- [9] 张涛,余蓉,曾蓉,等.猪胆酸和胆红素快速联产工艺的研究[J].广东药学,2004,14(1):25-27.
- [10] 瞿频,张振华,沈幼章.兔胆酸提取工艺的探讨[J].中国养兔杂志,1997(6):4-6.