

双相酸水解法提取薯蓣皂苷元的研究

杨欢,杨克迪,陈钧(江苏大学生物与环境工程学院,江苏 镇江 212013)

摘要:目的 建立双相酸水解法提取薯蓣皂苷元的最佳条件。方法 以薯蓣皂苷元得率为指标,采用单因素法建立双相酸水解法从穿山龙中提取薯蓣皂苷元的最佳条件。结果 按照穿山龙样品:浓盐酸:甲醇:水:石油醚(10:21:60:19:100)的比例加入反应体系,在沸水浴中加热回流提取 6h,获得比传统方法更高的得率。结论 双相酸水解法提取薯蓣皂苷元简便易行,周期短,提取率高。

关键词:薯蓣皂苷元;穿山龙;双相酸水解法

中图分类号: TQ467; R977.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)04-0270-03

The research on two-phase acid hydrolysis of extracting diosgenin

YANG Huan, YANG Ke-di, CHEN Jun (School of Biological and Environmental Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the optimum conditions of two-phase acid hydrolysis to extract diosgenin. **METHOD** Using single-factor method, with the yield of diosgenin as the index, we established the optimum conditions. **RESULTS** Rhizoma *Dioscoreae nipponicae* extracted with two-phase system (sample: HCl: MeOH: H₂O: petroleum ether=10: 21: 60: 19: 100) under the boiling water bath for 6h could get higher recovery of diosgenin than that of traditional methods. **CONCLUSION** This method is convenient, time saving and higher.

KEY WORD: diosgenin; Rhizoma *Dioscoreae nipponicae*; two-phase acid hydrolysis

薯蓣皂苷元(diosgenin)是合成甾体激素的主要中间体原料,传统提取方法分为两种,一种是先提取出薯蓣皂苷,再用酸水解皂苷,最后萃取出苷元^[1-3]。另一种是将植物置于酸液中反应,再提取干燥后的滤渣^[4-5]。这两种方法操作复杂,周期长,提取率低。

Rozanski^[6]用盐酸与二甲苯的混合体系对薯蓣皂苷元提取工艺进行简化,利用皂苷极性大,易溶于极性溶剂,而苷元

易溶于非极性溶剂的性质,使水解获得的薯蓣皂苷元快速地从水相转移至二甲苯相,减少了不良反应的发生,此后,Weissenberg^[7]将该法用于提取甾体生物碱。笔者以穿山龙为原料,对反应温度、酸和甲醇的浓度、反应时间等因素进行了考察,并与传统方法相比较。

1 仪器与材料

Büchi Rotavapor R-200 型旋转蒸发器(瑞士 Büchi 公

司), UV-2102 PCS型紫外可见分光光度计(UNICO公司)。薯蓣皂苷元标准品(美国Sigma公司)。浓盐酸、无水甲醇、无水乙醇、石油醚(90~120℃)、醋酸乙酯、高氯酸,均为分析纯;双蒸水,试验室自制。

穿山龙,当年生,采于吉林省,经欧阳臻高级工程师鉴定为 *Dioscorea nipponica* Makino 的根茎,烘干后粉碎过 36 目筛,备用。

2 实验方法

2.1 双相酸水解法

准确称取 10.00 g 样品置于圆底烧瓶中,加入 100 mL 含一定浓度盐酸的甲醇水溶液和 100 mL 石油醚,沸水浴中加热回流提取一定时间。反应完毕后,过滤反应物,滤液收集于分液漏斗中,静置分层,收集上层液,下层再用石油醚萃取,至萃取液用 TLC 检测,无薯蓣皂苷元特征点。合并石油醚液,回收至干,无水乙醇定容后测定薯蓣皂苷元得率。

2.2 传统 1 法^[1-3]

准确称取样品 10.00 g 置索氏提取器中,用无水甲醇提取 8 h 回收甲醇至干,加入 2.0 mol/L 的硫酸溶液 100 mL,沸水浴中加热回流水解 4 h 倾出,冷却后用石油醚萃取多次,至萃取液用 TLC 检测,无薯蓣皂苷元特征点。合并萃取液,回收至干,无水乙醇定容,待测。

2.3 传统 2 法^[4,5]

准确称取样品 10.00 g 置圆底烧瓶中,加入 2.0 mol/L 的硫酸溶液 80 mL,沸水浴中加热回流水解 4 h 倾出,用饱和石灰水中和,真空抽滤,蒸馏水洗滤渣三次,80℃干燥后,用滤纸包裹滤渣,置索氏提取器中,在提取器底部烧瓶中加入 200 mL 石油醚,水浴 90℃加热回流 8 h 回收石油醚至干,无水乙醇定容,待测。

3 实验结果

3.1 标准曲线的绘制

准确称取薯蓣皂苷元标准品 4.20 mg 无水乙醇定容至 25 mL,作为 0.168 mg/mL 标准品溶液。准确吸取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 mL 溶液,挥干溶剂,加入 5 mL 高氯酸,置 25℃水浴保温 25 min,以高氯酸为空白,在 410 nm 处测定吸光度,得回归方程 $A = 9.7662X + 0.0029$, $r = 0.9994$ 薯蓣皂苷元含量在 3.36 ~ 23.52 μg/mL 内,与吸光度呈良好线性关系^[8]。

3.2 最佳提取条件的确定

3.2.1 酸的选择 一般来说,无氧化性酸的催化水解效果好于氧化性酸(如磷酸、硝酸)^[9],国内外文献报道常采用盐酸或硫酸,本实验采用盐酸作为催化剂。

3.2.2 有机溶剂的选择 双相酸水解法提取薯蓣皂苷元必须选择合适的轻相和重相溶剂,它要求重相溶剂可以最大程度地从药材中提取薯蓣皂苷类化合物,并使得反应达到一定的温度,以实现薯蓣皂苷的提取和水解完全;同时,对于薯蓣皂苷元,轻相溶剂与重相溶剂应有较大的分配系数,保证其转移完全。薯蓣皂苷类化合物易溶于含水的甲醇溶液,工业上常用石油醚-氯仿萃取薯蓣皂苷元^[10]。预实验中发现,使

用石油醚(60~90℃)作为萃取相,则水浴温度较高时,反应过程中产生的泡沫时常冲出冷凝管,导致反应中断,且反应体系温度不易提高,不利于薯蓣皂苷元的提取。换用石油醚(90~120℃)后,没有出现上述现象。因此,本实验采用了含水甲醇和石油醚(90~120℃)混合体系提取薯蓣皂苷元。

3.2.3 酸的浓度 作为催化剂,盐酸浓度对于水解效果影响很大。本实验比较了含约 1, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6 mol/L 等不同盐酸浓度的 60% 甲醇水溶液在沸水浴下反应 5 h 的水解效果。1~2.5 mol/L 时薯蓣皂苷元得率变化明显,2.5 mol/L 时效果最佳,5~6 mol/L 时,药材已炭化。故盐酸浓度控制在约 2.5 mol/L。见图 1。

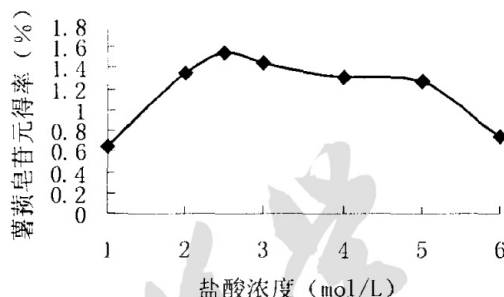


图 1 盐酸的浓度对薯蓣皂苷元收率的影响

Fig 1 Influence of hydrochloric acid concentration

3.2.4 甲醇浓度 甲醇浓度与薯蓣皂苷的提取效果及皂苷的水解完全性密切相关,合适的浓度可以最大程度地提取和水解薯蓣皂苷并使皂苷元转移完全。实验比较了含 75%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% 甲醇的 2.5 mol/L 盐酸溶液在沸水浴下反应 5 h 的提取效果,结果发现,甲醇浓度为 60% 时,得率最高。见图 2。

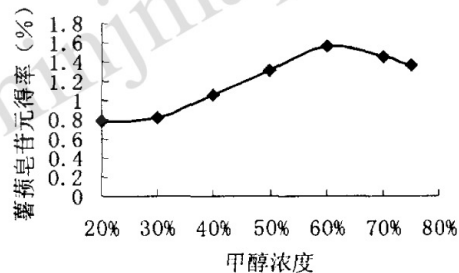


图 2 甲醇浓度对薯蓣皂苷元收率的影响

Fig 2 Influence of methanol concentration

3.2.5 反应温度 根据文献报道,温度越高越有利于薯蓣皂苷元的提取。本实验以反应体系浸入的水浴温度表示反应条件,以含约 2.5 mol/L 盐酸的 60% 甲醇水溶液和石油醚为反应体系,在不同温度下反应 5 h 结果表明沸水浴时效果最佳。见图 3。

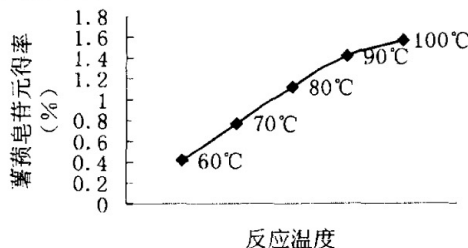


图 3 反应温度对薯蓣皂苷元收率的影响

Fig 3 Influence of reaction temperature

3.2.6 反应时间 实验中准确称取 10.00 g 样品,分别加入含 2.5 mol/L 的 60% 甲醇水溶液和石油醚各 100 mL,考察了沸水浴下,反应 2~10 h 薯蓣皂苷元的提取效果。结果表明,提取 6 h 最佳。见图 4。

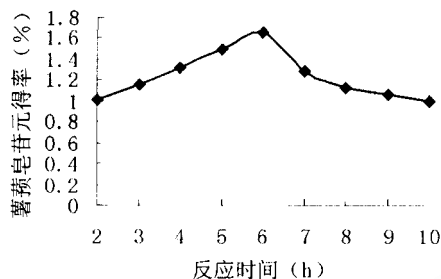


图 4 反应时间对薯蓣皂苷元收率的影响

Fig 4 Influence of reaction time

确定最佳提取工艺为:将 10 g 穿山龙置于浓盐酸:甲醇:水:石油醚 (21:60:19:100, 体积比) 混合体系,在沸水浴中加热回流提取 6 h,过滤,重相采用石油醚进行多次液-液萃取,直至萃取完全。薯蓣皂苷元得率可达 1.629%。

3.3 精密度

按最佳提取工艺条件,对样品进行 5 次测定,薯蓣皂苷元提取率 (%) 分别为 1.613, 1.648, 1.609, 1.620, 1.654, 平均提取率为 1.629%, RSD 为 1.274%。

3.4 双相酸水解法与传统工艺的比较

用双相酸水解法的最佳提取工艺和传统提取方法进行比较,结果显示比传统方法有更高的得率、精密度高,重现性好。

表 1 传统方法提取穿山龙中薯蓣皂苷元的分析结果

Tab 1 Traditional methods for diosgenin extraction

传统方法	薯蓣皂苷元提取率 /%	RSD /%	双相酸水解增收率 /%
1	1.351	1.178	20.58
2	1.324	1.663	23.04

4 讨论

双相酸水解法的提取条件温和,工艺简单易行,无需高

温高压设备,生产周期大大缩短,薯蓣皂苷元提取率较高。为解决目前我国薯蓣皂苷元生产工艺所带来的能耗高、周期长、维护高温高压设备投资大等一系列问题找到了一个新的思路,对可行性及工艺参数作了初步研究,有待开展更为细致的研究,其大规模的工业化应用也是今后值得研究和探索的问题。

参考文献

- [1] 韦建荣,董汛. 重楼中薯蓣皂苷元的反相高效液相色谱测定 [J]. 色谱, 1999, 17(5): 498.
- [2] 郑慧丽,竺叶青,戎皓青. 七叶一枝花酊剂薄层层析及其薯蓣皂苷元定量 [J]. 上海医科大学学报, 1995, 22(1): 65.
- [3] 李忠琼,傅文,林瑞超,等. 高效液相色谱法测定闭鞘姜属 3 种植物中总薯蓣皂苷元的含量 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(4): 312.
- [4] 赵慧婵,郭治安,成小飞,等. 穿龙薯蓣中薯蓣皂苷元的高效液相色谱法测定 [J]. 药物分析杂志, 2000, 20(1): 27.
- [5] 王慕邹,周同惠. 薯蓣属植物中薯蓣皂苷元的定量测定 [J]. 药学学报, 1964, 11(4): 235.
- [6] Rozanski A. A simplified method of extraction of diosgenin from Dioscorea tubers and its determination by gas-liquid chromatography [J]. Analyst, 1972, 97(161): 968.
- [7] Weissenberg M. Isolation of solasodine and other steroidal alkaloids and sapogenins by direct hydrolysis-extraction of Solanum plants or glycosides therefrom [J]. Phytochemistry, 2001, 58(3): 501.
- [8] 王俊. 薯蓣皂苷元的分离技术研究 [D]. 镇江:江苏大学生药学研究所, 2003.
- [9] Rothrock J W, Hammes P A, Mcleer W J, et al. Isolation of diosgenin by acid hydrolysis of sapogenin [J]. Ind Eng Chem, 1957, 49(2): 186.
- [10] José A C C. Evaluation of edible Yams of Dioscorea species as potential sources of diosgenin [D]. San Juan: University of Puerto Rico, 2000.

收稿日期: 2003-05-23