

术要求, 选择以延胡索乙素为参照物较合适。

3.6 相关峰成分的确

通过供试品溶液色谱中色谱峰的保留时间、光谱与相应对照品色谱峰保留时间、光谱比较, 确证保留时间为 20 min 的峰为脱氢延胡索乙素、37 min 的峰为延胡索乙素。

REFERENCES

[1] 卢赣鹏. 常用中药材传统鉴别[M]. 北京: 人民军医出版社,

2005.

- [2] 段好刚, 魏玉辉, 李波霞, 等. 疏乳消块胶囊的质量考察[J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(14): 1193-1194.
- [3] YANG Y, SUN Y M, XU J Z, et al. Comparison of analgesic effect of *Corydalis yanhusuo* decoction pieces by processing integration and traditional processing [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(10): 1074-1077.
- [4] 王红, 田明, 王淼, 等. 延胡索现代药理及临床研究进展[J]. 中医学报, 2010, 38(6): 108-111.
- [5] 贺凯, 高建莉, 赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(12): 1909-1912.

收稿日期: 2014-07-08

黄姜有效成分薯蓣皂素结晶工艺研究

张艳, 吴永江, 王龙虎, 杜文俊, 刘雪松* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 研究并确定黄姜提取液中薯蓣皂素的最佳结晶工艺参数。方法 以晶体纯度和析出率为指标, 采用单因素实验法考察结晶温度、结晶时间、降温速度和搅拌速度 4 个因素对产品的影响。结果 最佳的工艺条件为: 结晶温度为 30 ℃、静置时间为 2 h、降温速度为 33~50 ℃·h⁻¹、搅拌速度为 60 r·min⁻¹ 时, 该工艺条件使产品纯度达到 98% 以上, 析出率为 75%~80%。结论 该方法可靠、稳定, 可为工业生产提供参考数据。

关键词: 黄姜; 薯蓣皂素; 结晶

中图分类号: R284.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0301-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.011

Research on Crystallization Technique of Diosgenin

ZHANG Yan, WU Yongjiang, WANG Longhu, DU Wenjun, LIU Xuesong* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the different parameters influenced on the process of crystallization of dioscorea and determine the optimal conditions. **METHODS** Based on the crystal purity and precipitation rate, the influences of crystallization temperature, crystallization time, cooling rate and stirring rate on product were investigated by single factor experiment. **RESULTS** When the crystallization temperature was 30 ℃, the holding time was 2 h, cooling rate was 33~50 ℃·h⁻¹ and the stirring speed was 60 r·min⁻¹, the product purity could achieve more than 98% and the precipitation rate was 75%~80%. **CONCLUSION** The method is reliable and stable, and can provide reference data for industrial production.

KEY WORDS: dioscorea; diosgenin; crystallization

盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright) 为薯蓣科薯蓣属多年生藤本植物, 俗称黄姜, 以根状茎入药, 是我国传统常用中药材, 具有清肺止咳、利湿通淋、通络止痛、解毒消肿的功能, 同时具有治疗皮肤急性化脓性感染、软组织损伤、降血脂等功效, 也有降低胆固醇、抗炎抗菌、抗肿瘤等药理作用^[1]。其根茎中的薯蓣皂素含量达 2%

以上, 是目前世界上薯蓣皂素含量最高的薯蓣种。

薯蓣皂素, 又称薯蓣皂苷元, 是薯蓣属植物薯蓣皂苷的水解产物, 是合成甾体激素药物的基础原料和起始中间体^[2]。应用薯蓣皂素可以合成生产肾上腺皮质激素、性激素、蛋白同化激素共 200 多种药物, 以薯蓣皂素为基础几乎可以合成所有的甾体激素药物, 故有“激素之母”之称^[3]。20

作者简介: 张艳, 女, 硕士生 Tel: 13588482036
(0571)88208621 E-mail: liuxuesong@zju.edu.cn

E-mail: zywdxf@163.com

*通信作者: 刘雪松, 男, 博士, 博导

Tel:

世纪 30 年代,日本学者 Tsukamoto 从 *D. tokoro* 中分离出薯蓣皂素, Marker 等用微生物法在甾核 11 位引入羟基,使薯蓣皂素成为合成甾体激素类药物的重要原料,真正揭开了薯蓣皂素研究的新篇章,被誉为 20 世纪医药工业取得的 2 大突破性进展之一^[4]。近年来的研究表明,薯蓣皂素也具有一定的临床价值,应用于糖尿病^[5]、高胆固醇血症^[6]、胃肠道疾病^[7]、癌症^[8]等疾病的治疗中。

结晶过程作为最古老的化学工艺过程之一,在很多生产中被用来作为纯化回收固体物质的重要手段。结晶是一种分离固态和液态物质的技术,是溶质由溶液中转移至纯净的晶体里的过程^[9]。目前工业结晶方式主要有蒸发结晶、冷却结晶、真空结晶和盐析结晶等。关于薯蓣皂素的工艺研究主要是关于提取工艺的优化,有关结晶工艺中的研究还未见报道。薯蓣皂素的溶解度随温度升高而增加,且在 120#溶剂汽油中的溶解度对温度非常敏感,故本研究采用冷却结晶的方式。为了获得高质量的薯蓣皂素晶体,并提高结晶效率,在冷却结晶的过程中对晶体形成的一些特性做了系统的研究。薯蓣皂素的结晶受多因素影响,如初始提取液浓度、结晶的温度、结晶的方式(自然或者人工控制冷却)、结晶冷却速率等。本实验主要考察结晶温度、结晶时间、降温速度和搅拌速度 4 个因素对产品纯度及析出率的影响。

1 材料与仪器

黄姜水解物(自制,批号:120806);120#溶剂汽油(苏州腾益润滑油有限公司);薯蓣皂素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111539-200001,纯度 $\geq 98\%$);甲醇(Merck 公司,色谱纯);Millipore 超纯水。

循环水式多用真空泵(南京欧捷仪器设备有限公司);水浴锅(上海精宏实验设备有限责任公司);电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限责任公司);旋转蒸发器(南京惠恒科学仪器有限公司);熔点仪(上海精密科学仪器有限公司);Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent)。

2 方法

2.1 提取工艺

准确称取 100 g 已烘干水解物入 2 L 三口烧瓶,加入 10 倍量 120#汽油,用电热套加热回流,提取 1 h,趁热抽滤得提取液。共提取 4 次,分别用于结晶温度对比实验、降温时间对比实验、结

晶时间对比实验以及搅拌对比实验。

2.2 结晶工艺

在保温条件下快速量取一定体积提取液至圆底烧瓶中进行结晶温度对比实验,冷却结晶前先将量取好的提取液置 80 °C 水浴锅中,保温约 30 min,待皂素重新全部溶解后,设定不同的搅拌速度,再冷却介质缓慢开始降温,降温速度为 17~150 °C·h⁻¹ 不等,分别降至 20, 30, 40, 50 °C,然后静置保温结晶 1~3 h;在保温条件下过滤,晶体用适量溶剂洗涤,除去表面的杂质。

所得实验产品放入 80 °C 烘箱内干燥,烘干 2~5 h 至恒重,称重,并按下式计算结晶析出率:

$$\eta = \frac{m \times p}{C \times V} \times 100\%$$

式中, η 为析出率(%); m 为结晶的晶体质量(g); p 为结晶的晶体纯度(%); C 为提取液的浓度(g·L⁻¹); V 为提取液体积(L)。

2.3 样品分析方法

色谱条件:色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(90:10);柱温:30 °C;流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:209 nm;进样量:10 μL。

精密称取 105 °C 干燥至恒重的薯蓣皂素对照品 8.52 mg,用甲醇配制浓度为 0.340 8 g·L⁻¹ 的溶液,用 0.45 μm 有机滤膜抽滤,所得滤液作为对照品溶液。

准确量取一定体积的薯蓣皂素提取物溶液,浓缩干燥,用甲醇溶解,转移入 50 mL 量瓶,稀释并定容,摇匀,作为供试品溶液。采用上述的高效液相色谱法测定薯蓣皂素的浓度,用外标法计算即得。

如果是皂素晶体,直接用甲醇溶解,同上操作相同。

薯蓣皂素样品熔点测定采用药典标准。取各批样品适量,研成细粉,按照各药品项下干燥失重的条件进行干燥。取经过干燥的样品适量,用显微熔点仪测其熔点,重复 3 次,取其平均值即得。

3 结果与讨论

3.1 结晶温度的影响

温度对薯蓣皂素结晶工艺的影响体现在产品质量和收率,结果见表 1。结果表明,结晶终点温度降低有利于提高产品收率,但薯蓣皂素含量纯度随之下降,且产品色泽偏黄。在 30 °C 下结晶获

得的一次析出率达到 75.0%，对应的产品的纯度可达 99.9%，熔点>195 °C 均符合要求，初步表明 30 °C 为最佳结晶温度。

表 1 结晶温度对薯蓣皂素结晶的影响

Tab. 1 Effect of temperature on the crystallization of diosgenin

温度/°C	晶体熔程/°C	晶体纯度/%	析出率/%
20	180.1~208.3	96.1	90.6
30	204.2~207.1	99.9	74.9
40	205.3~208.8	98.5	60.9
50	208.0~209.8	99.8	37.6

3.2 降温速度对结晶过程影响

根据初步试验结果，本实验探究 3 种不同的降温速率，结果见表 2。结晶过程溶液起始和终点温度分别是 80 °C 和 30 °C。研究表明，降温速率提高有利有弊。其利在于晶体析出速度提高，设备单位时间产能提升，其弊在于晶体附带同的色素油脂等杂质也随之递增，导致产品纯度降低。由表 2 可看出，三者的析出率相差不大，但是纯度就有明显差异。降温速率为 33~50 °C·h⁻¹ 时，降温结晶所形成的晶体具有良好的晶型，其产品纯度可达到 98.8%，显然优于快速冷却的所得晶体纯度。当降温速度降至 17~25 °C·h⁻¹ 时，晶体的形态与降温速率为 33~50 °C·h⁻¹ 时相似，析出率降低，纯度虽有少许的提高，但整个结晶时间却延长了 1~1.5 h，比较耗时。因此，综合考虑，降温速率选择 33~50 °C·h⁻¹。

表 2 降温速度对薯蓣皂素结晶的影响

Tab. 2 Effect of cooling rate on crystallization of diosgenin

降温速度/°C·h ⁻¹	晶体熔程/°C	晶体纯度/%	析出率/%
100~150	176.1~208.5	93.5	75.4
33~50	205.3~208.8	98.8	76.8
17~25	204.2~207.1	99.9	74.9

3.3 静置时间对薯蓣皂素结晶影响

30 °C 和 40 °C 下静置 1~3 h 使晶体生长，所得产品获得的纯度均在 98% 以上，符合质量要求，结果见表 3。不同的是，40 °C 下静置时间延长可小幅提高析出率，而 30 °C 下没有效果。30 °C 和 40 °C 两个结晶温度下，前者明显高于后者晶体的析出率，因此选择 30 °C 的结晶温度。在 30 °C 的结晶温度下，静置 2 h 时，析出率和纯度均高于 1 h 的静置时间，与静置 3 h 相比，析出率虽有所降低，但节约时间，纯度高。为了提高工业生产效率，选择了 30 °C 静置结晶 2 h 的工艺条件。

表 3 静置时间对薯蓣皂素结晶的影响

Tab. 3 Effect of holding time on crystallization of diosgenin

降温终点/°C	静置时间/h	晶体熔程/°C	晶体纯度/%	析出率/%
30	1	204.0~209.1	99.3	75.6
	2	206.1~209.3	99.9	77.2
	3	203.9~210.7	98.0	78.6
40	1	209.0~209.5	98.2	50.5
	2	207.0~209.6	98.6	61.9
	3	204.1~209.4	100	59.7

3.4 搅拌对薯蓣皂素结晶影响

不同程度搅拌的实验结果见表 4。实验发现，不停止搅拌时晶体形成速度较慢，缓慢的搅拌可加快体系质量传递，有利于成核和晶体增长。但是，过快搅拌使流体剧烈湍动，产生大量的多余的晶核，从而形成细微晶体，易吸附更多的杂质。根据表 4 的结果，确定搅拌以 60 r·min⁻¹ 为宜。

表 4 搅拌对薯蓣皂素结晶的影响

Tab. 4 Effect of stirring speed on crystallization of diosgenin

搅拌速度/r·min ⁻¹	晶体熔程/°C	晶体纯度/%	析出率/%
0	206.1~209.3	99.9	77.2
60	206.1~209.1	98.0	77.6
180	174.1~210.2	92.4	78.5

3.5 结晶工艺验证

根据上述实验结果，确定优化工艺条件为：结晶温度为 30 °C、降温速度为 33~50 °C·h⁻¹、静置时间为 2 h、搅拌速度为 60 r·min⁻¹。按照此工艺条件进行 3 批结晶重复实验，结果见表 5，其结晶形态见图 1。实验结果表明，结晶工艺能够兼顾得产品纯度和析出率，具有工业化应用前景。

表 5 优化工艺的实验结果

Tab. 5 The results of the optimization process

平行实验	晶体熔程/°C	晶体纯度/%	析出率/%
A	207.2~210.7	99.5	80.4
B	204.7~209.6	99.8	77.9
C	205.0~210.9	98.9	78.2



图 1 薯蓣皂素的晶体形态

Fig. 1 Crystal morphology diosgenin

4 结论

本实验以产品纯度和析出率为指标,考察了结晶终点温度、降温速度、静置时间和搅拌速度等因素,确定薯蓣皂素结晶的优化工艺条件为:结晶终点温度为 30 °C、降温速度为 33~50 °C·h⁻¹、静置时间为 2 h、搅拌速度为 60 r·min⁻¹时,得到的产品纯度和析出率较高。3 次结晶验证实验获得产品的晶型良好,纯度达到 98%以上,符合产品质量标准要求,同时,析出率超过 75%。优化的结晶工艺能够兼顾产品纯度和析出率,具有良好工业化应用前景。

REFERENCES

- [1] DING Y. Natural steroidal saponins, an exploitable field in new drug development [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2000, 9(8): 521-524.
- [2] 郑良永, 罗文扬, 林家丽, 等. 我国黄姜生产现状及其可持续发展对策[J]. 广西热带农业, 2006(4): 35-36.
- [3] CHEN J Y, HAN Z H, LIU G J, et al. Study on extracting of

- diosgenin from *Dioscorea zingiberensis* [J]. Acad Period Farm Prod Proc(农产品加工. 学刊), 2005(1): 22-24.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 4344.
- [5] DAISY P, ELIZA J, IGNACIMUTHU S. Influence of *Costus speciosus* (Koen.) Sm. rhizome extracts on biochemical parameters in streptozotocin induced diabetic rats [J]. J Health Sci, 2008, 54(6): 675-681.
- [6] RAJU J, BIRD R P. Diosgenin, a naturally occurring furostanol saponin suppresses 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase expression and induces apoptosis in HCT-116 human colon carcinoma cells [J]. Cancer Lett, 2007, 255(2): 194-204.
- [7] JEON J R, LEE J S, LEE C H, et al. Effect of ethanol extract of dried Chinese yam (*Dioscorea batatas*) flour containing dioscin on gastrointestinal function in rat mode [J]. Arch Pharm Res, 2006, 29(5): 348-353.
- [8] WANG S L, CAI B, CUI C B, et al. Apoptosis of human chronic myeloid leukemia K562 cell induced by prosapogenin B of dioscin(P.B) *in vitro* [J]. Cancer(癌症), 2003, 22(8): 795-800.
- [9] 徐春霞, 钟开龙. 无机及分析化学[M]. 北京: 科学出版社, 2010.

收稿日期: 2014-04-28

盐酸氯普鲁卡因的合成

王卫芳, 王丽娅, 胡璞(浙江仙琚制药股份有限公司, 浙江 仙居 317300)

摘要: 目的 合成盐酸氯普鲁卡因并改进工艺。方法 以 2-氯-4-硝基苯甲酸为起始物料, 经过还原、酯化、成盐 3 步反应制得盐酸氯普鲁卡因。结果 目标物经 IR、¹H-NMR、¹³C-NMR 和 MS 确证结构, 反应总收率达到 73.9%, 纯度为 99.76%。结论 该合成路线操作简便、反应条件温和, 适于工业化生产。

关键词: 氯普鲁卡因; 2-氯-4-硝基苯甲酸; 合成

中图分类号: R914.4

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)03-0304-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.03.012

Synthesis of Chlorprocaine Hydrochloride

WANG Weifang, WANG Liya, HU Pu(Zhejiang Xianju Pharmaceutical Co., Ltd., Xianju 317300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To synthesis chlorprocaine hydrochloride and optimize the reaction conditions. **METHODS** The chlorprocaine hydrochloride was synthesized from 2-chloro-4-nitrobenzoic acid via reduction, esterification and salification. **RESULTS** The structure of product was identified by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS, the total yield was 73.9% and the HPLC purity was 99.76%. **CONCLUSION** The synthetic process is simple, easy to control and suitable for industrial production.

KEY WORDS: chlorprocaine; 2-chloro-4-nitrobenzoic acid; synthesis

盐酸氯普鲁卡因(chlorprocaine hydrochloride, 1), 化学名为 4-氨基-2-氯苯甲酸-2-(二乙氨基)乙酯

盐酸盐, 是由普鲁卡因发展而来的高效局部麻醉药, 一般作用时间为 45~60 min。与普鲁卡因相比,

作者简介: 王卫芳, 女, 工程师

Tel: (0571)88900917

E-mail: xj_wangwf@163.com