

鹅 去 氧 胆 酸 的 制 备

江苏省泰州市生物制药厂

云南省动物研究所四室

胆石症是一种常见病、多发病,临床治疗历来主要是通过外科手术除去胆石,但复发率较高。无产阶级文化大革命以来,我国医务工作者继承和发扬祖国医学遗产,采用内服各种中草药“排石汤”治疗胆石症,收到了较好的疗效,能将较小的胆石经胆管排出。近年来,国内外正在研究试用一种新的胆石溶解剂——鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid),以治疗胆固醇胆石症患者。它能改变胆汁的组成,使胆汁内的胆固醇不饱和,增加胆固醇的溶解性,将胆石逐渐溶解,在治疗剂量下未发现毒性作用,从而可望成为药物治疗胆石症的一条新途径^[1-3]。

我们遵照毛主席关于“独立自主、自力更生”的伟大教导,积极开展动物资源的综合利用,从家禽胆汁中直接分离制备鹅去氧胆酸。经过一系列分离纯化、分析鉴定,获得了鹅去氧胆酸纯品。通过几种制备方法的试验比较,找出了一种简便可靠的生产制备方法。现在进行毒性及药理试验,并将与有关医院协作进行临床观察研究。

一、鹅去氧胆酸的提取法

1. 总胆酸的制备

取新鲜鸡(或鹅)胆汁,按胆汁体积的 1/10 量(W/V)加入工业氢氧化钠,补加适量水,加热使其完全溶解后,煮沸 16 小时以上,冷却后以 1:1 (V/V) 工业盐酸调节 pH 为 2—3,有黑色粘稠状物质生成;继续冷却至 10℃ 以下(或加入冰块),粘稠物变硬;取出粘稠物,用水洗涤,洗至洗涤液 pH 值近中性,得总胆酸。

2. 鹅去氧胆酸钡盐的制备

将上述总胆酸以乙醇搅拌溶解,过滤,弃去醇不溶物。浓缩滤液回收乙醇,或向滤液加入适量的水,使乙醇浓度达 65% 左右,按 1:1 (V/V) 加入汽油,分两次萃取脱脂,弃去汽油层(供回收),然后将乙醇层以 4N 氨水调 pH 使呈弱碱性,除去乙醇,加水至原体积。加入 10% 氯化钡水溶液,此时有大量黑色沉淀物生成,待沉淀完全后,倾去水,再用水反复洗涤沉淀物,至水洗液近无色,得鹅去氧胆酸钡盐。

3. 鹅去氧胆酸粗品的制备

钡盐中加入 10% 碳酸钠水溶液,加热使其充分

迴流溶解,趁热过滤,冷却后再过滤一次;滤渣以少量 10% 碳酸钠水溶液洗涤,过滤,合并滤液,用 1:1 (V/V) 盐酸调节 pH 为 2—3,析出沉淀,用水洗涤沉淀物直至水洗液近中性。将沉淀物晾干或真空干燥后,得鹅去氧胆酸粗品。

4. 鹅去氧胆酸精品及纯品的制备

将上述粗品以 10 倍量 (V/W) 的醋酸乙酯加热迴流使其溶解,溶解后加 10% 活性炭继续迴流一小时,冷却至室温,过滤,滤液呈黄色(必要时再重复脱色一次),蒸馏回收醋酸乙酯,最后抽干得白色或微黄色物质,即为鹅去氧胆酸精品。

上述精制品以硅胶层析,或从热醋酸乙酯-庚烷结晶,制得鹅去氧胆酸纯品。

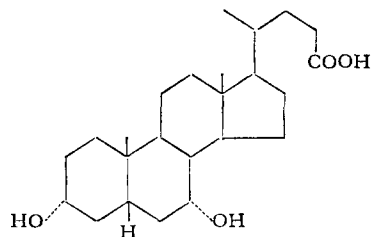
从鸡胆汁制备总胆酸及鹅去氧胆酸粗品的得率,分别为 8—9% 和 4—5%。

二、鹅去氧胆酸的分析鉴定

1. 一般性状

鹅去氧胆酸又名 3 α , 7 α -二羟基-5 β -胆烷酸(3 α , 7 α -dihydroxy-5 β -cholan-ic acid), $C_{24}H_{40}O_4 = 392.58$, 为白色针状结晶(从醋酸乙酯中结晶);熔点 143℃ (有的报道为 119℃, 或 141℃, 或 143℃)^[4], 旋光率 $[\alpha]_D^{25} + 11.1^\circ$; 可溶于甲醇、乙醇、丙酮和冰醋酸, 不溶于水、石油醚和苯。

其化学结构式为:



2. 红外光谱和核磁共振谱

红外光谱^[1]和核磁共振谱^[2]的测定结果,见图 1 和图 2。

1) 承南京药物研究所协助测定

2) 承上海药物研究所协助测定

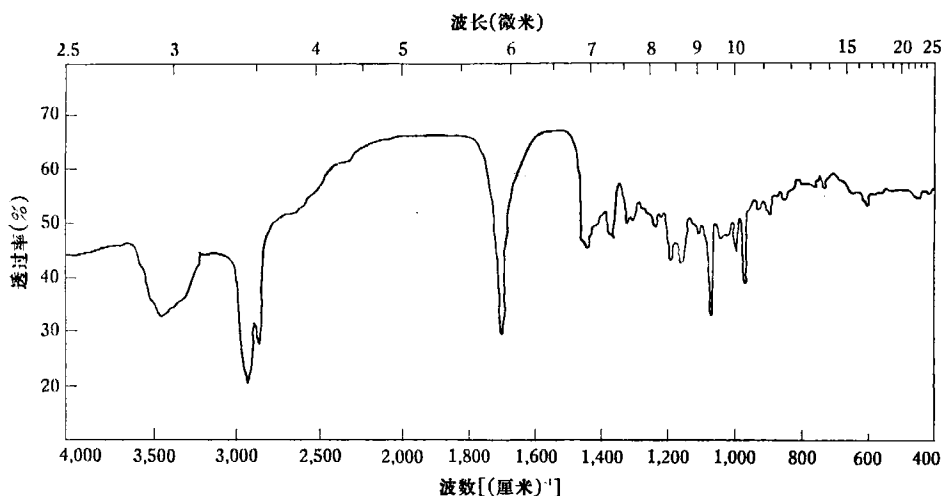


图1 鹅去氧胆酸的红外光谱(溴化钾片)

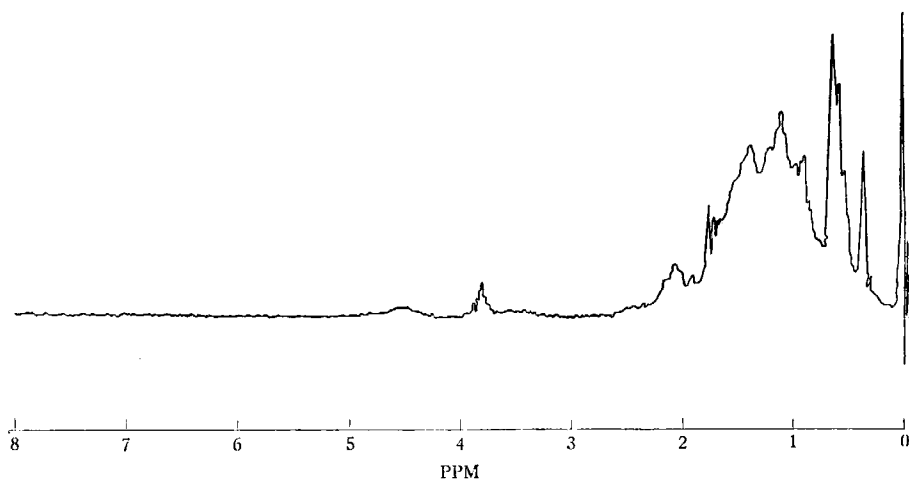


图2 鹅去氧胆酸的核磁共振谱
CF₃COOH, HMS 外标准, 100 兆赫

Hofmann 和 Small 报道的鹅去氧胆酸的红外光谱和核磁共振谱, 分别见参考资料 [6] 和 [7]。

3. 薄层层析

取 5 克薄层层析用硅胶 G, 加 10 毫升蒸馏水迅速调匀以防止产生气泡, 用倾注法涂于 7 × 15 (厘米) 之干净玻璃板上使成薄层, 轻轻振动玻板使涂层厚度均匀, 待自然干燥 30 分钟后于 110℃ 活化一小时。距一端约 2 厘米处点上样品之甲醇溶液 (鹅去氧胆酸纯品浓度为 1 微升 = 1 微克, 试样液的浓度与此相当)。在一密闭之玻璃层析缸内, 用 80:20 (V/V) 的苯:冰醋酸或 50:25:25 (V/V) 的异辛烷:异丙醚:醋酸作展开剂, 展开至 12 厘米处; 取出, 以茴香醛试剂 (茴香醛 0.5 毫升, 浓硫酸 1 毫升, 冰醋酸 50 毫升) 显色, 将板置于 125℃ 下加热 10 分钟, 取出后在紫外光下观察或直接观察斑点, 其主要斑点应与标准对照品在同一位置上 (图 3)。也可将板置于 160℃ 加热烘干, 然后喷 10%

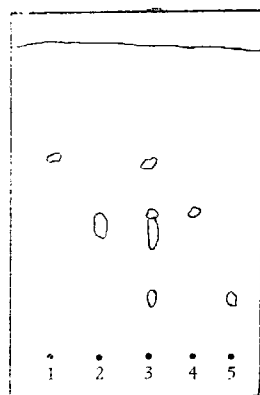


图3 各种胆酸之薄层层析图谱
硅胶 G, 苯:冰醋酸(80:20, V/V)展开, 茴香醛试剂显色
1——石胆酸; 2——鹅去氧胆酸; 3——1, 2, 4, 5 之混合物; 4——去氧胆酸; 5——胆酸

钼酸乙醇溶液显色。

4. 含量测定

薄层层析定量分析用 5 × 15 (厘米) 的玻璃板, 点样采用“滤纸移样法”, 以微量注射器将鹅去氧胆酸的标准溶液、稀释液、试样液定量地滴加于同一块板上。展开剂层离到 10 厘米, 烘干后用 10% 磷钼酸醇溶液作为显色剂, 然后采用斑点面积测量法, 按已加改进的 Purdy 的公式计算, 测定含量^[1]。

计算式为:

$$\log W_s = \log W - \frac{\sqrt{A} - \sqrt{A_s}}{\sqrt{Ad} - \sqrt{A}} \cdot \log d$$

式中: W_s ——未知试样量;

W ——标准鹅去氧胆酸量;

A ——标准鹅去氧胆酸展开后的斑点面积数;

Ad ——标准鹅去氧胆酸稀释液展开后的斑点面积数;

A_s ——试样展开后的斑点面积数;

d ——标准鹅去氧胆酸稀释液倍数的倒数;

面积数的单位是自制测微方格板的小方格数。

表 1 从鸡胆汁制备之鹅去氧胆酸的含量

未经醋酸乙酯及活性炭处理的粗品			经醋酸乙酯及活性炭处理的粗品		
测定序号	求得数(微克)	平均数及百分率	测定序号	求得数(微克)	平均数及百分率
1	2.50	2.39微克 60%	1	3.23	3.02微克 76%
2	2.51		2	2.91	
3	2.27		3	3.05	
4	2.01		4	3.12	
5	2.30		5	3.32	
6	3.16				
7	2.79				
8	2.20				
9	2.50				
10	2.33				
11	2.24				
12	2.43				
13	2.38				
14	1.84				

从鸡、鹅胆汁中分离制备之鹅去氧胆酸, 用薄层层析法测定的含量结果见表 1 及表 2。

表 2 从鹅胆汁制备鹅去氧胆酸的含量

测定序号	求得数(微克)	平均数及百分率
1	2.83	3.13 微克 78%
2	3.25	
3	3.01	
4	3.30	
5	2.70	

用本法制备的鹅去氧胆酸粗品, 经醋酸乙酯及活性炭处理后, 用薄层层析定量法测定, 含量一般为 70—80%。

小 结

1. 本法从鸡、鹅胆汁直接分离制备鹅去氧胆酸, 设备简单、操作方便, 适宜于家禽加工厂采用, 使废弃的家禽胆汁得到综合利用。与目前国外从胆酸合成制备鹅去氧胆酸的方法相比, 本法的生产成本较低。

2. 薄层层析法用于鹅去氧胆酸的鉴定, 简单、迅速、灵敏, 专一性也强; 用于定量测定, 经采用“滤纸移样法”, 虽有所改进, 但影响层析结果的因素仍较多, 有待继续改进。

参 考 资 料

- [1] 江苏泰州市生物制药厂: 鹅去氧胆酸及其在治疗胆石症研究上的进展, 泰州科技, 1974 年第 4 期。
- [2] Higuchi, I. H. et al.: *Science*, **178**, 633, 1972.
- [3] Danzinger, R. G. et al.: *New Eng. J. Med.*, **268**, 1, 1972.
- [4] Dowling, R. H. et al.: *Lancet*, **2**, 1213, 1972.
- [5] Lahana, D. A. et al.: *Surg. Clin. N. Amer.*, **53**, (5), 1053, 1973.
- [6] Hofmann, A. F.: *Acta Chem. Scand.*, **17**, 173, 1963.
- [7] Small, D. M. et al.: *Biochem. Biophys. Acta*, **176**, 178, 1969.
- [8] 上海昆虫研究所: 农药残留量分析测定(1973), 第 24 页。

[本文于 1974 年 12 月 17 日收到]