

昆蟲脫皮激素 (I)

土牛膝根部成份 Ecdysterone 的分離¹⁾

Insect's Molting Hormone (I)

The Isolation of Ecdysterone from the radix of

Achyranthes obtusifolia LAM.²⁾



◆◆◆◆◆ 生藥化學科 ◆◆◆◆◆

◆◆◆◆◆ 教授 顏 焜 熒 ◆◆◆◆◆

以往，對於土牛膝 (*Achyranthes Obtusifolia* LAM.) 成份方面之研究甚少見；作者之一竹本常松教授曾研究日本牛膝 (*Achyranthes Fauriei* LEV. et Van) 成份，而發現兩種新成份，即 Inokosterone 及 Isoinokosterone；其中 Isoinokosterone 與 Hoffmeister 等氏由蠶的蛹 (Pupa) 所分離得的 ecdysterone 是屬同一成份物質。

筆者與竹本等最近共同由與日本牛膝同屬的臺灣產土牛膝的根部分離出 Isoinokosterone (即 Ecdysterone)，並已確定其化學結構式。

民國五十三年四月從恒春墾丁公園採集土牛膝之根，待風乾後，以甲醇抽取液 (Methanol extract)，如表 I 所示分離後，以醋酸乙酯 (Ethyl acetate) 抽出，然後再以柱狀層析法 (Column chromatography) 分次精製，而得到一種 Liebermann-Burchard 反應為陽性的無色板狀結晶 (I)，MP. 251.9°C (decomposition,)， $C_{27}H_{44}O_7$ ， $[\alpha]_D^{19} + 61.0$ (C=0.1, MeOH)；其 IR spectrum，於 3425 cm^{-1} 處為 Hydroxyl group (-OH)， 1650 cm^{-1} 處為 α, β -unsaturated ketone group (酮基)， 1612 cm^{-1} 處有三個置換二重結合之吸收示出；這種吸收與 ecdysterone 者完全一致。其 UV spectrum 所示者在 $224\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.1089$) 為極大吸收；若加以 HCl (5N)，加熱回流 30 分鐘，則其極大吸收由 $224\text{ m}\mu$ 移至 $232\text{ m}\mu$ 而有 $293\text{ m}\mu$ 的新吸收呈現，此種事實與 Hoffmeister 氏用酸分解之結果一致。(I) 的 NMR spectrum 與竹本氏由日本牛膝所得的 Ecdysterone (Isoinokosterone) 之 spectrum 以及 Hoffmeister 氏所得者完全一致。

以上之結果，乃以土牛膝的 Ecdysterone (約 0.013% 之淨得率) 作新的確認所得。但日本牛膝之

另一成份 Inokosterone 於土牛膝中則無，這種原因或可能實驗所用之原料量少 (2.7 Kg) 所致，或者是本植物於四月時不存有 Inokosterone 之成份 (須考慮到成份隨季節而變化)，這點以後再以不同採集時期的本植物加以研對之。

除 Ecdysterone 結晶之外，當由 MeOH 抽出加，十倍量水稀釋後，再以乙醚振出之際，水溶液中則含有 Ecdysterone，而乙醚層與水液層之間的浮游析出液，可得 mp. 為 248.2°C (decomposition) (II)，及 mp. 230°C (decomposition) (III) 的二種微量結晶，此兩種結晶擬於下次再研對之。

— 實驗部份 —

I. Ecdysterone 的單離：

土牛膝之根 (民國五十三年四月於墾丁公園所採集，得 2.7Kg)，風乾後，以熱甲醇抽取，得抽取液 400 ml，濃縮之，析出物以遠心機分離之，上層液以十倍量水液懸濁之，經充分的振盪後，再以乙醚抽出，分離乙醚層及水液層，至於沉澱部份以 hot water 抽出，冷卻後，再次乙醚抽出，然後分離二層液，各于上層液分離得的水層液，乙醚層液合併；水層液以減壓濃縮，再用熱的醋酸乙酯 (Hot Ethyl acetate) 抽出，所得之醋酸乙酯層，減壓濃縮之，約得 5gm 之濃縮液，然後利用 Alumina Column Chromatography，以 n-Hexane，及 Benzene: Ethyl alcohol = 4:1 順次溶出之。Fraction I 的 n-Hexane 溶出部再以 pet. benzene 之 Alumina Column Chromatography 溶出，而得無色油狀物質，UV spectrum, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ : 229, 258 Fraction II 的 Benzene: Ethyl alcohol = 4:1 的溶出部，去掉溶媒後，即得無色結晶，Liebermann-Bur-

chard reaction 爲赤色。再順次加 H₂O 及 n-Hexane 和 Ethyl alcohol 之 mixture solution 再結晶之，而得約350 mg. 的無色板狀結晶，淨收率爲 0.013%，mp. 251.9°C(decomposition)， $[\alpha]_D^{25} + 61.0$ (C=0.1, MeOH)， $UV_{\lambda_{max}^{EtOH}} m\mu = 244$ (4.1089)；IR spectrum $\lambda_{max}^{KBr} cm^{-1} = 3400, 1650, 1612$ ；與 Ecdysterone 完全一致。

C₂₇H₄₄O₇ · 2H₂O 之 elemental analysis:

Anal. Calcd: C=67.47 H=9.23

Found: C=67.38 H=9.28

以 5N-HCl 之 EtOH 溶液 0.034ml. 溶解 0.3 mg. 的 ecdysterone，加熱回流 30 分鐘冷後測定 UV

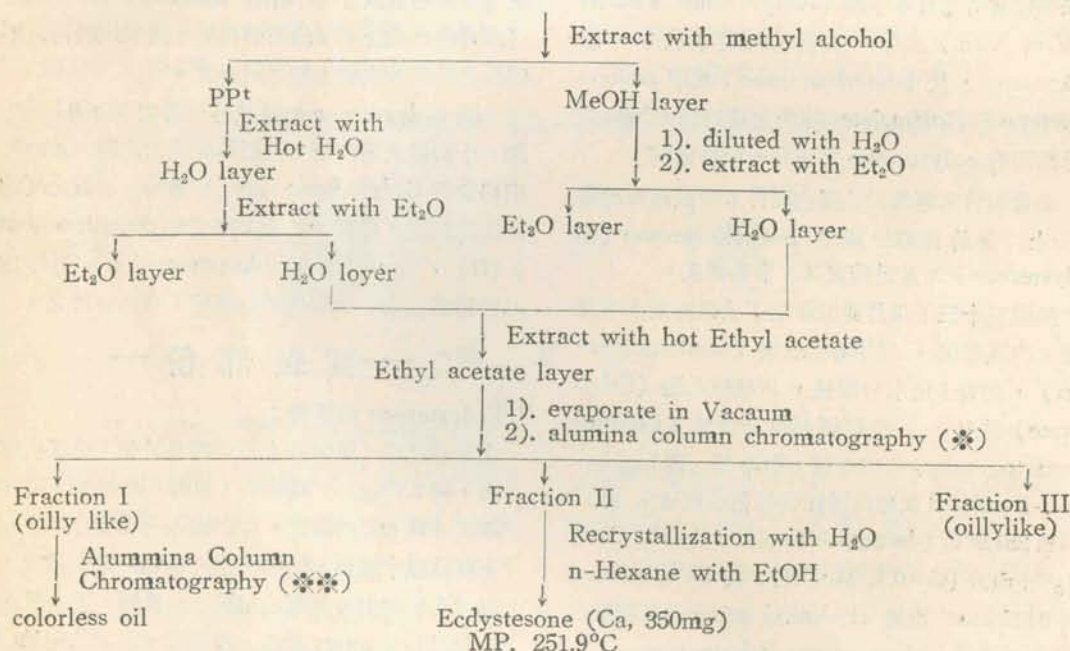
III. 表 I：

spectrum 得 $UV_{\lambda_{max}^{EtOH}} m\mu = 232, 296$ ；Fraction 3 爲由 Fraction 2 繼續溶出之部份，是褐色油狀物質，微量精檢而得， $UV_{\lambda_{max}^{EtOH}} m\mu = 240, 280$ 。

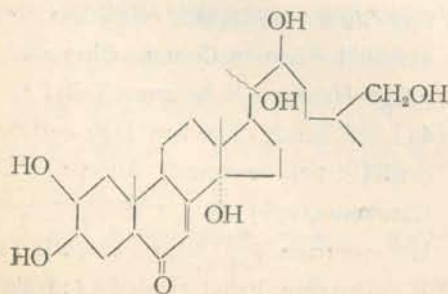
II 中間層液之檢索：

甲醇抽取液，加十倍量水稀釋後，以乙醚抽出之際，可集得乙醚與水兩層之間之浮游析出物 220 mg 再次熱乙醇分得可液部與不液部；於熱乙醇部可得白色結晶 20mg，mp. 248.2°C Liebermann-Burchard reaction 爲藍色到灰色；乙醇不溶部以 Pyridine 及 EtOH 之 mixture solution 再結晶，而得 20mg 的白色結晶，mp 230°C，Liebermann-Burchard reaction 爲赤紫色。

Radix of *A. obtusifolia* (2.7Kg)



- (*) Solvent: Fr. I n-Hexane
Fr. II, III, Benzene: EtOH=4:1
- (**) Solvent: Pet. Benzine



Structure of Ecdysterone

所抽出之成份 Isoinokosterone 爲一種 Insect hormone，對昆蟲 Hormone 之 Calliphora test 呈陽性反應。

謹謝林業試驗所恆春分所黃魏梯先生供應研究材料，林業試驗所技正甘偉松先生鑑定原植物，並向徐院長千田博士對本研究之全誠贊助深表謝忱。

註 I：本稿爲筆者與日本東北大學竹本常松教授，東北藥科大學橋三雄教授共同研究之報告。(1967年日本藥學雜誌投稿中)。

註 II：土牛膝的學名爲 *Achyranthes obtusifolia* LAM.；臺灣土名爲撥鼻草，到繼草；日名爲シマキノコツチ。