

(18.23), 161(17.05), 152(5.05), 135(100.0), 131(17.74), 103(14.79), 98(7.62), 70(1.12)。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 1.82~2.00(4H, m, H-2'', 3''), 2.30~2.48(4H, m, H-4, 5), 3.45~3.58(4H, m, H-1'', 4''), 5.91(2H, s), 6.09(1H, dt,  $J$ =15.6, 8.4 Hz, H-6), 6.18(1H, d,  $J$ =15.0 Hz, H-2), 6.33(1H, d,  $J$ =15.6 Hz, H-7), 6.58~6.75(3H, m, H-2', 5', 6'), 6.89(1H, brd,  $J$ =15.0 Hz, H-3)。<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ : 24.2, 26.0(C-2'', 3''), 31.6, 32.2(C-4, 5), 100.8(-OCH<sub>2</sub>O-), 105.4(C-2'), 108.1(C-5'), 120.3(C-6'), 122.3(C-2), 127.4(C-7), 130.3(C-6), 132.1(C-1'), 144.3(C-3), 146.7, 147.9(C-3', 4'), 164.7(C-1)。综合以上数据并结合文献[12,15], 推定化合物V为sarmentosine。

#### References:

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Angendae Academiae Sinicae Edits. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 20. Beijing: Science Press, 1982.
- [2] Zhang K, Ni W, Chen C X. The constituents of *Piper boehmeriaefolium* var. *tonkinense* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 11(1): 44-47.
- [3] Parmar V S, Jain S C, Bisht K S, et al. Phytochemistry of the genus *Piper* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46: 597-673.
- [4] Chia Y C, Chang F R, Teng C M, et al. Aristolactam and dioxaporphines from *Fissistigma balansae* and *F. oldhamii* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(8): 1160-1163.
- [5] Singh S K, Prasad A K, Olesen C E, et al. Neolignans and alkaloids from *Piper argyrophyllum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(6): 1355-1360.
- [6] Yoshihara T, Takamatsu S, Sakamura S. Three new phenolic amides from the roots of eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. *Agric Biol Chem*, 1978, 42(3): 623-627.
- [7] Zhao G X, Hui Y H, Rupprecht J K. Additional bioactive compounds and trilobacin, a new highly cytotoxic acetogenin, from the bark of *Asimina triloba* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(3): 347-356.
- [8] Desai S J, Prabhu B R, Mulchandani N B. Aristolactams and 4, 5-dioxaporphines from *Piper longum* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(5): 1511-1515.
- [9] Desai S J, Chaturvedi R N, Badheka L P, et al. Aristolactams and 4, 5-dioxaporphines from Indian *Piper* species [J]. *Indian J Chem*, 1989, 28B: 775-777.
- [10] Desai S J, Chaturvedi R N, Mulchandani N B. Piperolactam D, a new aristolactam from Indian *Piper* species [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(2): 496-497.
- [11] Olsen C E, Tyagi O D, Boll P M, et al. An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of piperolactam B and D [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(2): 518-520.
- [12] Kiuchi F, Nakayama I, Yoshioka H, et al. Studies on crude drugs effective on visceral larva migrans. IV. Isolation and identification of larvicidal principles in pepper [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(7): 2452-2465.
- [13] Singh J, Santani D D, Dhar K L. Structure of tricholein, a new pyrrolidine alkaloid from *Piper trichostachyon* [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 2018-2019.
- [14] Koul S K, Taneja S C, Agarwal V K, et al. Minor amides of *Piper* species [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(11): 3523-3527.
- [15] Likhitwitayawuid K, Ruangrungsi N, Lange G L, et al. Structural elucidation and synthesis of new components isolated from *Piper sarmentosine* (Piperaceae) [J]. *Tetrahedron*, 1987, 43(16): 3689-3694.

## 牛耳朵化学成分的研究

蔡祥海, 邓德山, 马云保, 罗晓东\*

(中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204)

牛耳朵 *Chirita eburnea* Hance 为苦苣苔科唇柱苣苔属植物, 根或全草入药, 多年生草本, 根粗壮; 生长丘陵、山地溪边或林中石上, 分布于湖南、湖北, 广西、广东及四川贵州等地; 性味甘、平, 有补虚、止咳、止血、除湿的功效<sup>[1]</sup>。为了研究其活性化合物, 我们对其醋酸乙酯提取物进行分离得到7个甾体类和一个三萜化合物, 分别是: 豆甾-5-烯-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -二醇(stigmast-5-en-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -diol, I), 豆甾-4-烯-6 $\beta$ -醇-3-酮(stigmast-4-en-6 $\beta$ -ol-3-one, II), 豆甾-4-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮(stigmast-4-en-3 $\beta$ -ol-7-one, III), 环阿尔廷-23-

烯-3 $\beta$ , 25-二醇(cyloart-23-en-3 $\beta$ , 25-diol, IV), 麦角甾-4-烯-3-酮(ergosta-4-en-3-one, V), 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -表二氧化麦角甾-6, 22-二烯(3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -epidioxysterosta-6, 22-diene, VI), 麦角甾-5, 22-双烯-3 $\beta$ , 7 $\beta$ -二醇(ergost-5, 22-dien-3 $\beta$ , 7 $\beta$ -diol, VII),  $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -stosterol, VIII)。

#### 1 仪器和材料

XRC-1 显微熔点测定仪; VG Autospec-3000 质谱仪; Bruker AM-400、500 超导核磁共振仪, TMS 内标; 色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产,

收稿日期: 2004-06-16

作者简介: 蔡祥海(1976-), 男, 硕士研究生, 主要从事天然产物研究。 E-mail: xhcai@mail.kib.ac.cn

\* 通讯作者

所用溶剂均为工业重蒸;对照品为本室提供;牛耳朵采自广西,由本所邓德山博士鉴定。

## 2 提取与分离

样品 4 kg,粉碎,95%工业乙醇冷浸 3 次,每次 2 d,合并提取液减压浓缩,用醋酸乙酯萃取,得醋酸乙酯层 90 g,用氯仿-丙酮粗分;再用石油醚-氯仿、石油醚-醋酸乙酯、石油醚-丙酮进一步分离,得到化合物 I (28 mg)、II (30 mg)、III (10 mg)、IV (12 mg)、V (15 mg)、VI (20 mg)、VII (3 mg)、VIII (3 g)。

## 3 结构鉴定

化合物 I:  $C_{29}H_{50}O_2$ , 白色方晶(丙酮), mp 132~133 °C, EI-MS  $m/z$ : 430  $[M]^+$  (25), 412 (100), 398 (35), 55 (35),  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.59 (1H, dd, H-6), 3.83 (1H, brs, H-7), 3.55 (1H, m, H-3), 和文献报道一致<sup>[2]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 确定化合物 I 为豆甾-5-烯-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -二醇。

化合物 II:  $C_{29}H_{48}O_2$ , 白色方晶(丙酮), mp 211~214 °C, EI-MS  $m/z$ : 428  $[M]^+$ ,  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.79 (1H, s, H-4), 4.32 (1H, t, H-6), 和文献报道一致<sup>[3,4]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 II 为豆甾-4-烯-6 $\beta$ -醇-3-酮。

化合物 III:  $C_{29}H_{48}O_2$ , 白色针晶(丙酮), mp 215~217 °C, EI-MS  $m/z$ : 428  $[M]^+$ , 414 (60), 396 (50), 329 (52), 255 (70), 213 (97), 145 (100),  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.32 (1H, d, H-4), 3.50 (1H, m, H-3), 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 III 为豆甾-4-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮。

化合物 IV:  $C_{30}H_{50}O_2$ , 白色方晶(丙酮), mp 204~206 °C,  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.58 (1H, m, H-24), 5.57 (1H, m, H-23), 3.26 (1H, m, H-3), 和文献报道一致<sup>[5]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 IV 为环阿尔廷-23-烯-3 $\beta$ , 25-二醇。

化合物 V:  $C_{28}H_{46}O$ , 白色方晶(丙酮), mp 77~80 °C, EI-MS  $m/z$ : 398  $[M]^+$ ,  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.70 (1H, s, H-4), 和文献报道一致<sup>[6]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 V 为麦角甾-4-烯-3-酮。

化合物 VI:  $C_{28}H_{44}O_3$ , 白色方晶(丙酮), mp 152~155 °C, EI-MS  $m/z$ : 428  $[M]^+$  (4), 396 (100), 363 (17),  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 6.48 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-7), 6.22 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H-6), 5.19 (1H, dd,  $J=15.2, 7.4$  Hz, H-23), 5.10 (1H, dd,  $J=15.2, 7.4$  Hz, H-22), 3.94 (1H, m, H-

3), 和文献报道一致<sup>[7]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 VI 为 3 $\beta$ -羟基-5 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -表二氧化麦角甾-6, 22-二烯。

表 1 化合物 I~VII 的 $^{13}C$ -NMR 数据( $CDCl_3$ )

Table 1  $^{13}C$ -NMR data of compounds I—VII ( $CDCl_3$ )

碳序号	I	II	III	IV	V	VI	VII
1	37.0(t)	37.0(t)	37.2(t)	32.0(t)	36.1(t)	34.6(t)	38.8(t)
2	31.3(t)	34.2(t)	31.6(t)	30.4(t)	34.0(t)	30.1(t)	30.3(t)
3	71.3(d)	200.4(s)	71.8(d)	78.8(d)	199.7(s)	66.4(d)	73.0(d)
4	42.0(t)	126.3(d)	140.8(d)	40.5(s)	123.7(d)	36.9(t)	42.6(t)
5	146.2(s)	168.5(s)	121.7(s)	47.1(d)	171.8(s)	82.1(s)	143.3(s)
6	123.8(d)	73.2(d)	42.3(t)	21.1(t)	32.9(t)	135.4(d)	117.3(d)
7	65.3(d)	38.7(t)	207.1(s)	28.0(t)	32.0(t)	130.8(d)	67.2(t)
8	37.5(d)	29.8(d)	34.2(d)	47.9(d)	35.6(d)	79.4(s)	39.1(d)
9	42.2(d)	53.7(d)	50.1(d)	20.0(s)	53.8(d)	51.0(d)	43.0(d)
10	37.5(s)	38.0(s)	37.0(s)	26.1(s)	38.7(s)	37.0(s)	36.9(s)
11	20.7(t)	21.0(t)	21.0(t)	26.0(t)	21.0(t)	23.4(t)	21.8(t)
12	39.2(t)	39.7(t)	39.7(t)	35.6(t)	39.6(t)	39.3(t)	40.3(t)
13	42.2(s)	42.5(s)	42.1(s)	45.3(s)	42.4(s)	44.5(s)	43.0(s)
14	49.4(d)	56.1(d)	56.0(d)	48.8(s)	55.8(d)	51.6(d)	49.4(d)
15	24.3(t)	24.2(t)	24.3(t)	32.8(t)	24.2(t)	20.6(t)	22.7(t)
16	28.5(t)	28.1(t)	28.2(t)	26.4(t)	28.2(t)	28.6(t)	29.8(t)
17	55.7(d)	56.2(d)	56.7(d)	52.0(d)	56.0(d)	56.2(d)	56.0(d)
18	11.6(q)	11.9(q)	11.8(q)	18.0(q)	11.9(q)	12.9(q)	12.1(q)
19	19.0(q)	19.5(q)	19.4(q)	29.9(t)	17.4(q)	18.2(q)	18.5(q)
20	36.1(d)	36.1(d)	36.2(d)	18.3(q)	36.1(d)	39.7(d)	40.3(d)
21	18.2(q)	19.1(q)	19.0(q)	25.4(q)	18.6(q)	20.9(q)	20.9(q)
22	33.9(t)	34.0(t)	33.9(t)	39.0(d)	33.8(t)	135.2(d)	135.3(t)
23	25.9(t)	26.3(t)	26.0(t)	125.6(d)	23.0(t)	132.3(d)	131.9(t)
24	45.8(d)	45.8(d)	46.1(d)	139.3(d)	45.8(d)	42.7(d)	42.7(d)
25	29.1(d)	29.3(d)	29.0(d)	70.7(d)	29.3(d)	33.0(d)	33.0(d)
26	18.8(q)	18.8(q)	18.7(q)	30.0(q)	19.8(q)	19.8(q)	19.8(t)
27	19.8(q)	19.8(q)	19.8(q)	30.9(q)	18.8(q)	19.6(q)	19.5(t)
28	23.0(t)	23.1(t)	23.0(t)	19.3(q)	17.4(q)	17.5(q)	17.4(q)
29	12.0(q)	12.0(q)	12.0(q)	15.4(q)	11.9(q)		
30				14.0(q)			

化合物 VII:  $C_{28}H_{46}O_2$ , 无色粉末(丙酮), mp 154~157 °C, EI-MS  $m/z$ : 414  $[M]^+$ ,  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 5.26 (1H, H-6), 5.18 (2H, m, H-22, 23), 3.94 (1H, m, H-7), 3.51 (1H, H-3), 和文献报道一致<sup>[8]</sup>, 其 $^{13}C$ -NMR 数据见表 1, 故确定化合物 VII 为麦角甾 5, 22-双烯-3 $\beta$ , 7 $\beta$ -二醇。

化合物 VIII: mp 136~138 °C, 与  $\beta$ -谷甾醇对照品有相同的 Rf 值, 混合后熔点不下降, 故确定化合物 VIII 为  $\beta$ -谷甾醇。

## References.

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [2] Yoshiyasu F, Yoshinori N, Geng P W, et al. *In vitro* fibrolytic phyterols isolated from the roots of *Spatholobus suberectus* [J]. *Planta Med*, 1988, 54(1): 34-36.
- [3] Lou F C, Peng G P, Wang Y, et al. Chemical studies on *Aristolochia manshuriensis* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(8): 588-593.

(下转第 544 页)

吸光度值,经计算得回归方程:  $A = 0.0159C - 0.0101$ ,  $r = 0.9991$ 。

2.5 换算因素的测定:精密称取 60℃干燥至恒重的淫羊藿多糖 30 mg,置 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取此溶液 2 mL 于具塞试管中,按标准曲线的绘制项下方法操作,测定吸光度,根据回归方程计算多糖溶液中葡萄糖的质量浓度,按下式计算换算因素  $f$ ,测得  $f = 1.09$  ( $n = 6$ )。

$$f = W / (CD)$$

式中  $W$  为多糖的质量 (mg),  $C$  为溶液中葡萄糖的质量浓度 (mg/mL),  $D$  为稀释因素

2.6 供试品溶液的制备:精密称取淫羊藿生品及 6 种炮制品粉末 (40 目) 各 1.5 g,按 2.2 项下方法脱脂、除单糖,所得多糖置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,即得。

2.7 精密度试验:分别精密吸取生品供试品溶液 2 mL,按标准曲线的绘制项下方法测定 5 次,计算得多糖的质量分数为 2.042%,RSD 为 0.18%。

2.8 重现性试验:称取生品 5 份,每份 1.5 g,制备供试品溶液,测定,计算得多糖的质量分数为 2.039%,RSD 为 0.24%。

2.9 稳定性试验:取供试品溶液每 30 min 测定 1 次吸光度,结果 2 h 内测定结果稳定,RSD 为 1.20%。

2.10 加样回收率试验:精密称取生品 0.75 g,共 6 份,加入约 15 mg 葡萄糖对照品,制备供试品溶液,测定吸光度,计算得平均回收率为 99.78%,RSD 为 1.10%。

2.11 样品的测定:精密吸取供试品溶液 2 mL 于 10 mL 带塞试管中,按标准曲线的绘制项下的方法操作,测定供试品溶液中葡萄糖的质量浓度,按下式计算样品中的多糖,结果见表 1。

$$\text{多糖的质量分数} = (CDf/W) \times 100\%$$

表 1 粗毛淫羊藿生品及各炮制品中多糖的测定结果 ( $n = 5$ )

Table 1 Determination of polysaccharide in *E. acuminatum* and its different processed products ( $n = 5$ )

样 品	多糖/%	RSD/%	显著性
生 品	2.043±1.65	0.81	
炒 制	2.432±0.24	0.10	$P < 0.001$
羊脂炙	2.459±0.27	0.11	$P < 0.001$
盐 炒	2.101±0.37	0.18	$P < 0.05$
酒 制	2.124±0.13	0.06	$P < 0.05$
烘 制	2.172±0.26	0.12	$P < 0.01$
酥油制	2.128±0.23	0.11	$P < 0.05$

从测定结果看,淫羊藿及其炮制品中多糖的质量分数依次为:羊脂炙>炒制>烘制>酥油制>酒制>盐制>生品。统计分析结果表明,各炮制品中多糖的量较生品有显著性增加。

### 3 讨论

多糖为淫羊藿药效成分之一,在一定范围内多糖的量与药效作用成正相关<sup>[4]</sup>。淫羊藿经炮制后,其细胞大量破壁,促进了多糖的溶出,本实验证明,淫羊藿经过炮制后人药较好。

《中华人民共和国药典》2000 年版采用羊脂炙入药。从淫羊藿多糖的药理作用的角度和本实验结果看,采用传统的羊脂炙,其多糖得量较生品显著增加 ( $P < 0.001$ ),符合其炮制理论和临床用药规律。因此本实验结果与淫羊藿临床用药一致。

### References:

- [1] Han B, Yang J S. Advances in pharmacological studies on the effects of *Epimedium* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (11): 873.
- [2] Ran M X, Guo J M. *Modern Processing Handbook of Chinese Materia Medica* (现代中药炮制手册) [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2002.
- [3] Yang H, Jia X. Determination of polysaccharide in root of Tibetan medicine *Potentilla anserine* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (1): 30.
- [4] Wang B X. *Modern Pharmacology of Chinese Materia Medica* (现代中药药理学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1997.

(上接第 511 页)

- [4] Nair M G, Chang F C. 6 $\beta$ -Hydroxy-4-stigmasten-3-one and 6 $\beta$ -hydroxy-4-capesten-3-one [J]. *Phytochemistry*, 1973, 12 (4): 903-906.
- [5] Pascua J T, Urones J G, Maro I S, et al. Triterpenes from *Euphorbia broteri* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(6): 1767-1776.
- [6] Gaspar E M M, Dasneves H J C. Steriodal constituents from mature wheat straw [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(2): 523-

527.

- [7] Findlay J A, Patil A D. A novel sterol peroides from the sea anemone *metridium senile* [J]. *Steroids*, 1984, 44(3): 261-265.
- [8] Notaro G, Piccialla V, Sica D. New steroidal hydroxyketones and closely related Doils from the marine sponge *cliona copiosa* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(11): 1588-1594.