

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 血藤(*Mucuna macrocarpa* Wall.)之活性成分研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC94-2320-B-039-023-

執行期間：94年08月01日至95年07月31日

執行單位：中國醫藥大學中國藥學研究所

計畫主持人：張永勳

共同主持人：何玉鈴

計畫參與人員：盧冠宏、陳亭亭

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 95 年 10 月 31 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  
 期中進度報告

血藤(*Mucuna macrocarpa* Wall.)之活性成研究

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC 94-2320-B-039-023

執行期間：94年8月1日至95年7月31日

計畫主持人：張永勳

共同主持人：何玉鈴

計畫參與人員：盧冠宏、陳亭亭

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：中國醫藥大學 中國藥學研究所

中華民國九十五年十月三十一日

## 一、中文摘要

血藤(*Mucuna macrocarpa* Wallich)為豆科(Leguminosae)植物，一名長莢油麻藤。其藤莖具有補血活血，清肺潤燥，通經活絡。主治貧血，月經不調，肺熱燥咳，咳血，腰膝酸痛，風濕痺痛，手足麻木，癱瘓。為常見之台灣民間藥。在預試驗中發現，血藤莖部之甲醇抽出物、乙酸乙酯層、水層及沉澱物對胃癌細胞(NUGC)具有明顯的抑制作用；而以 DPPH 所測試之抗氧化活性試驗中，發現血藤莖部甲醇抽出物、乙酸乙酯層、正丁醇層、水層及沉澱物具有顯著的抗氧化活性。

血藤之乾燥莖部及葉部之甲醇抽出物經分離純化及結構鑑定，在化學成分部分，自血藤莖部分離出之成分有 tetracosanoic acid (H-1), friedelin (H-2), mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), medicarpin (C-2), afrormosin (E-1), genistein (E-2), calycosin (E-3),  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside (E-4), tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (E-5), sucrose (B-1), D-pinitol (B-2)，自血藤葉部分離出 mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), betulin (L-1)及 medicarpin (C-2)。其中 medicarpin, afrormosin, calycosin 等異黃酮類化合物為血藤屬植物首次發現之成分。另血藤中 genistein 含量經 HPLC 分析，其含量為 0.001%。

**關鍵詞：**血藤、細胞毒性、抗氧化、活性成分、HPLC

## Abstract

*Mucuna macrocarpa* Wallich is a native Leguminosae plant of Taiwan. In Folk medicine, it is used to activate blood circulation, release stagnated lung-energy and to moisten dryness, activating meridians and collaterals. It is a common folk medicine in Taiwan for anemia, hamoptysis, numbness of hand and feet, dysmenorrhea. Our preliminary tests showed that the methanolic total extract, ethyl acetate fraction, water fraction and precipitates of *M. macrocarpa* exhibited cytotoxicity against NUGC cell line. The methanolic total extract, ethyl acetate fraction, n-butanol fraction, water fraction and precipitates also exhibited antioxidant activities.

The methanolic extract of the dry stem and leaves were partitioned and separated by chromatographic methods. Eleven chemical components were isolated from the stem extract, three compounds were isolated from the leaves extract. Their structures were determined on the basis of spectral evidence as well as direct comparison with authentic samples. Eleven components from the stem included tetracosanoic acid (H-1), friedelin (H-2), mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), medicarpin (C-2), afrormosin (E-1), genistein (E-2), and calycosin (E-3),  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside (E-4) tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (E-5), sucrose (B-1), D-pinitol (B-2)，three compounds from the leaves include mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), betulin (L-1), and medicarpin (C-2). Among them, medicarpin, afrormosin, and calycosin are isoflavonoids, and were first isolated from *Mucuna* species. The genistein content of *Mucuna macrocarpa* was analyzed as 0.001% by HPLC method.

**Keywords:** *Mucuna macrocarpa*, cytotoxicity, antioxidation, active constituents, HPLC

## 二、緣由與目的

台灣產藥用植物血藤(*Mucuna macrocarpa* WALLICH)，為豆科(Leguminosae)血藤屬(*Mucuna*)植物。分布於台灣全境中低海拔山區濕生空曠處、林緣及溪邊等處<sup>[1]</sup>。

血藤屬(*Mucuna*)，豆科(Leguminosae)植物，廣泛分佈於中國大陸南部(廣東、海南、廣西、貴州、雲南等地)，台灣、印度、琉球等處，而台灣產之血藤屬植物依台灣植物誌(Flora of Taiwan)之刊載，有大血藤(*M. gigantea*)、血藤(*M. macrocarpa*)、蘭嶼血藤(*M. membranacea*)及虎爪豆(*M. pruriens*)四種<sup>[2]</sup>。民間取其藤莖，主治貧血，月經不調，肺熱燥咳，咳血，腰膝酸痛，風濕痺痛，手足麻木，癱瘓<sup>[3]</sup>。

根據美國伊利諾大學 Napralet 資料庫至 2004 年 12 月統計資料，及相關文獻之結果，有關血藤之成分研究，目前已被分離得到之成分有 l-dopa<sup>[4]</sup>，lupenone, friedelin,  $\Delta^5,22$ -stigmasten-3 $\beta$ -ol,  $\beta$ -sitolsterol, pentacosanoic acid 2-3-dihydroxy-propyl ester, hexacosanoic acid 2-3-dihydroxy-propyl ester<sup>[5]</sup>等。在生物活性方面，具有抗乳癌細胞增生作用<sup>[6]</sup>、及利尿及抗痙攣<sup>[7]</sup>等活性，而本屬其他植物則具有抗血液凝集、解痙、降血糖及性能力改善作用...等之報導，值得進一步分離追蹤其活性成分。

在 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 自由基清除能力試驗中，發現血藤莖部甲醇粗抽物、水層、水不溶層、正丁醇層及乙酸乙酯層均具有顯著的抗氧化活性。因此本研究以 DPPH 自由基清除能力作為活性指標，進行血藤化學成分之分離。將血藤的乾燥莖部及葉部，以甲醇浸泡抽取後，取甲醇抽出物以不同極性的溶媒萃取，經減壓濃縮至乾後，將各萃取層成分分別以管柱層析法分離，以再結晶法純化，再利用核磁共振、紅外光譜、質譜及紫外光譜等光譜分析法，進行結構鑑定。

根據相關文獻指出，血藤和在其已被分離出之異黃酮化合物 genistein 皆具有殺菌、治療癌症、抗乳癌細胞增生及具類雌激素作用等功用，所以藉由 HPLC (High Performance Liquid Chromatography) 定量分析血藤之 genistein 含量，了解血藤之成分與其功效之相關性。

希望藉由植物血藤的化學成分研究，來瞭解其相關成分種類，進而探討血藤在醫療上可能之功效及民間用途使用的吻合與否，以提高台灣本土藥用植物之利用價值。並期望本研究所分離的化合物，能對本藥用植物往後之研究，提供一些具有價值的參考。

## 三、結果與討論

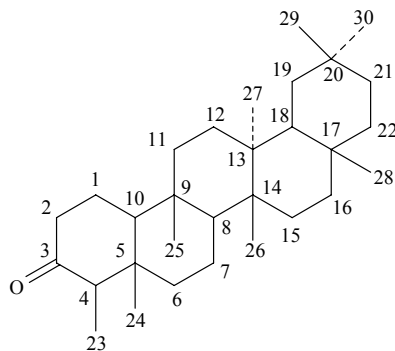
### 1. 血藤莖部化學成分之結構鑑定

#### (1)H-1:tetracosanoic acid



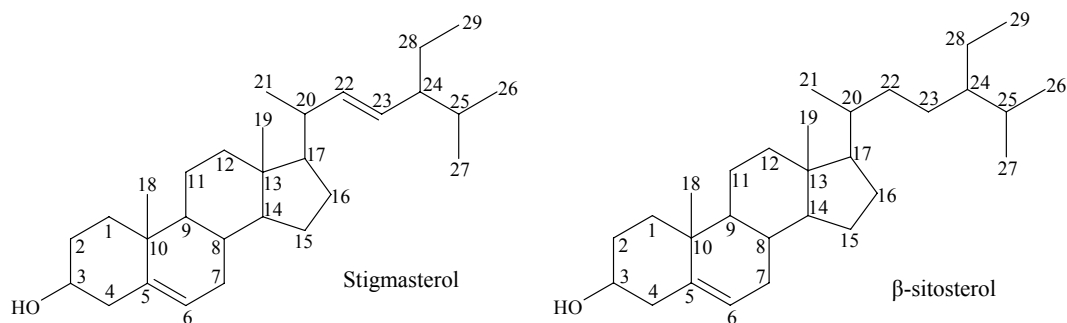
與文獻值<sup>[8-9]</sup>比對，確認此化合物之結構為 tetracosanoic acid。

(2)H-2:friedelin



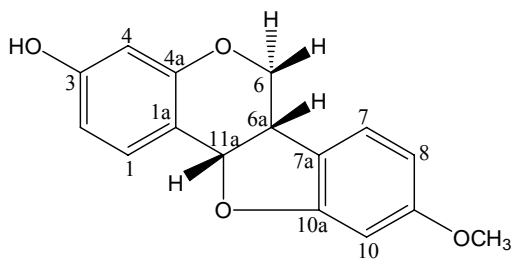
與文獻<sup>[10-12]</sup>比對，推定此化合物為 friedelin。

(3)C-1:mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol



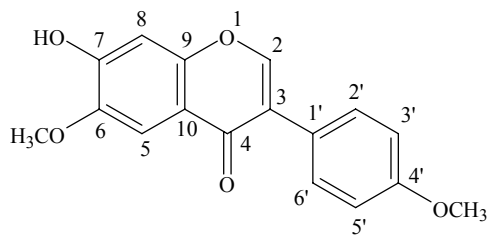
與文獻<sup>[13-17]</sup>比對，推定此化合物為  $\beta$ -sitosterol 及 stigmasterol 的混合物。

(4)C-2:medicarpin



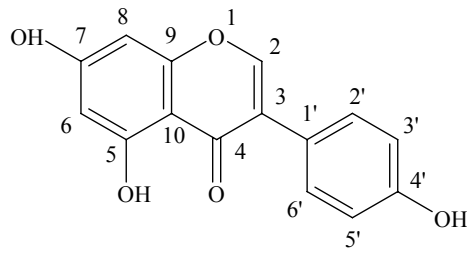
與文獻<sup>[18-21]</sup>比對，推定此化合物之結構為 medicarpin。

(5)E-1:afromosin



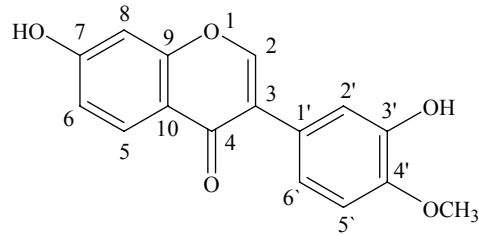
與文獻<sup>[19-20, 22]</sup>比對，確認此化合物之結構為 afromosin。

(6)E-2:genistein



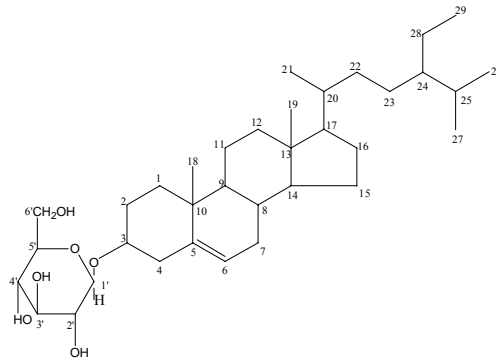
與文獻<sup>[21,23]</sup>比對，確認此化合物之結構為 genistein。

(7)E-3:calycosin



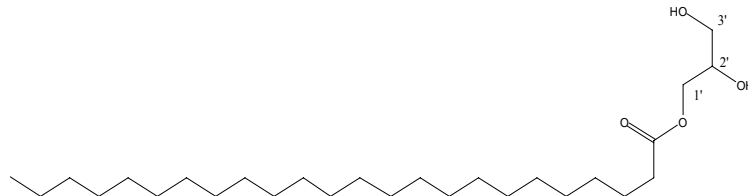
與文獻<sup>[21, 24-26]</sup>比對，確認此化合物之結構為 calycosin。

(8)E-4: $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside



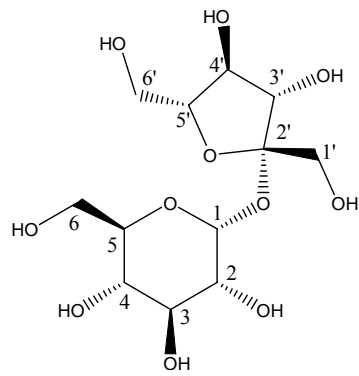
與文獻值<sup>[17, 27-28]</sup>比對，推定此化合物之結構應為 $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside。

(9)E-5:tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester



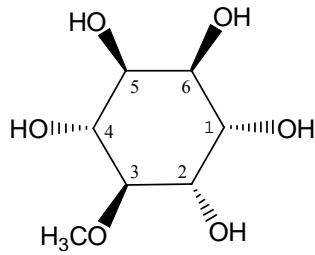
與文獻值<sup>[5, 29-30]</sup>比對，推定此化合物之結構為 tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester。

(10)B-1:sucrose



與文獻<sup>[31-35]</sup>比對，推定此化合物之結構為 sucrose。

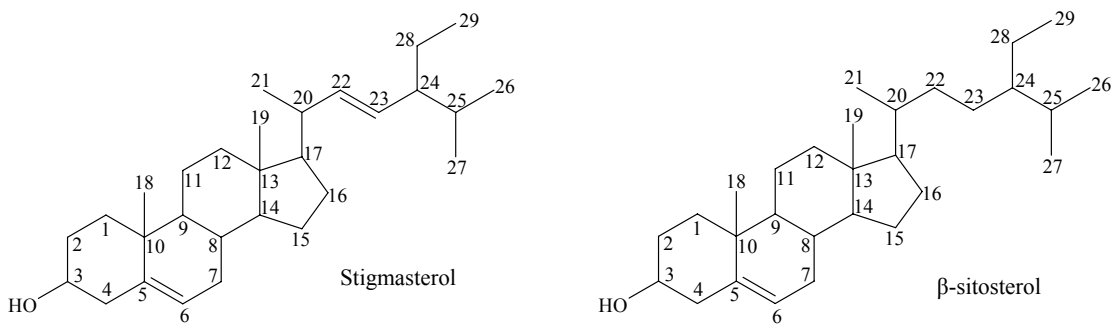
(11)B-2:D-pinitol



與文獻<sup>[31, 36-39]</sup>比對，推測定化合物之結構為 D-pinitol 【D-3-O-methyl-chiro-inositol】。

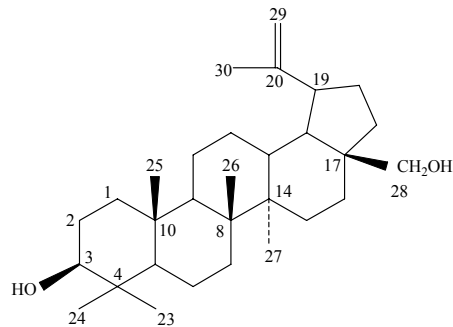
2. 血藤葉部化學成分之結構鑑定

(1)C-1: mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol



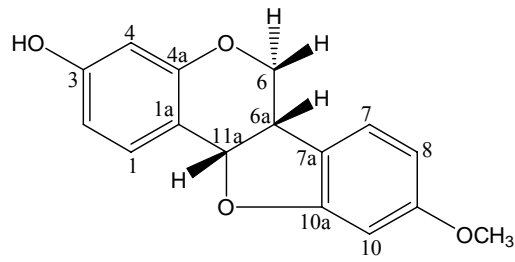
與文獻<sup>[15-17]</sup>比對，推定此化合物為  $\beta$ -sitosterol 及 stigmasterol 的混合物。

(2)L-1:betulin



與文獻<sup>[40-41]</sup>比對，推定此化合物為 betulin 【lup-20(29)-ene-3 $\beta$ , 28 $\beta$ -diol】。

### (3)C-2:medicarpin



與文獻<sup>[18-21]</sup>比對，推定此化合物之結構為 medicarpin。

### 3.血藤自由基清除能力

血藤之甲醇萃取層、水層、正丁醇層、乙酸乙酯層及沉澱物具有較顯著的自由基清除能力，顯示血藤之化學成分中含有具自由基清除能力之活性成分。本實驗在血藤分離出的成分中，betulin (C-1)為具有自由基清除能力的三萜類化合物<sup>[42]</sup>，而其他具有活性之成分仍有待進一步追蹤。

Table 1 The IC<sub>50</sub> of the methanolic crude extract and its fractions from *M. macrocarpa* in scavenging DPPH radical. (n=4)

sample	IC <sub>50</sub>	R <sup>2</sup>
Fr. M	109.92 ± 2.59	0.994
Fr. P	171.55 ± 2.65	0.999
Fr. W	266.24 ± 4.75	0.995
Fr. B	192.81 ± 4.70	0.996
Fr. E	100.12 ± 0.93	0.995
Fr. C	905.56 ± 10.69	0.990
Fr. H	568.39 ± 60.16	0.994
Quercetin	8.78 ± 0.07	0.999

### 4.血藤中 Genistein 定量分析

將藥材檢品經由高效液相層析之定量結果得知，檢品之 genistein 含量約為 10.69 ppm，換算得到每克血藤藥材之含量百分比為 0.001%。

結果顯示 genistein 在血藤中含量百分比為 0.001%，所以推測 genistein 為血藤許多活性成分的其中之一，血藤顯示之療效可能為其含有之多種黃酮及其他種類之成分所共同作用帶來的效果。



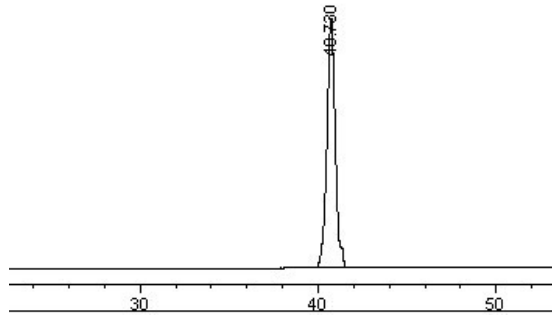


Fig.1 Genistein 高效液相層析圖

#### 四、計畫成果自評

以血藤(*Mucuna macrocarpa* WALLICH)之葉部及莖部經乾燥和萃取後，以 DPPH 自由基清除能力試驗作為活性指標，再利用管柱層析方法，將化合物分離並再結晶純化後，由血藤莖萃出之各分層中得到 11 個化合物：tetracosanoic acid (H-1), friedelin (H-2), mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), medicarpin (C-2), afrormosin (E-1), genistein (E-2), and calycosin (E-3).  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D-glucoside (E-4) tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (E-5), sucrose (B-1), D-pinitol (B-2)。由血藤葉萃出之各分層中得到 3 個化合物：mixture of  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol (C-1), betulin(L-1),及 medicarpin (C-2)。

其中 medicarpin, afrormosin, calycosin 等異黃酮類化合物為血藤屬植物首次發現之成分。

據文獻記載異黃酮化合物 medicarpin 具有抗菌作用<sup>[43]</sup>；三萜類化合物 betulin 具有抗發炎活性及抗氧化的活性<sup>[42]</sup>；而 D-pinitol 在文獻報導中具有顯著的抗發炎活性，並有類似胰島素的作用可以調節血糖的平衡<sup>[44, 45]</sup>。由以上的結果顯示，分離所得到成分之活性與血藤記載之功效及民間用法皆有符合之處，因此可作為血藤使用上較具科學性的參考依據。

藉由 HPLC 定量分析血藤之 genistein 含量，以了解血藤之成分與其功效的相關性。定量結果 genistein 在血藤中含量百分比為 0.001%，所以推測 genistein 為血藤許多活性成分的其中之一，血藤顯示之種種療效可能為許多成分所共同合作之效果。

血藤為台灣之常見民間藥，主治貧血，月經不調，肺熱燥咳，咳血，腰膝酸痛，風濕痺痛，手足麻木，癱瘓，台灣民間取其莖部治療糖尿病。而本研究分離所得之活性成分，針對固有民間用法，再進一步進行藥理活性確認，將使血藤的使用上更具意義，並有助於本土藥用植物的開發。

#### 五、參考文獻

1. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Second Edition. Volume Three. Editor-in-Chief: Huang TS. Tah Jinn Printing Company, Ltd. Taipei 1993; pp.341-343.
2. 劉和義、楊遠波、呂勝由、施炳霖：台灣維管束植物簡誌，行政院農業委員會，台北

- 2000; pp.48, 90.
3. 國家中醫藥管理局（中華本草）編委會：中華本草（4），上海科學技術出版社，上海 1999；pp.576-577.
  4. Lin CC: Crude drugs used for the treatment of Diabetes mellitus. *Amer J Chinese Med* 1992; 20:269-279.
  5. 胡旺云、羅士德、蔡建勛：大果油麻藤化學成分研究。中草藥 1994; 25(2):59-60, 63.
  6. Cherdshewasart W, Cheewasopit W, Picha P: The differential anti-proliferation effect of white (*Pueraria mirifica*), red (*Butea superba*), and black (*Mucuna collettii*) Kwao Krua plants on the growth of MCF-7 cells. *J Ethnopharmacol* 2004; 93:255-60
  7. Bhakuni DS, Goel AK, Jain S: Screening of Indian plants for biological activity (part XIII). *Indian J Exp Biol* 1988; 26: 883-904.
  8. Shyu YS, Hwang LS. Antioxidant activity of the crude extract of lignan glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Research International* 2002; 35: 357-365
  9. Williams WB, Cuvelier ME, Berset C: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebens-Wiss Technol* 1995; 28 (1): 25-30.
  10. Blois MS: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 26:1199-1200.
  11. Sasaki SI, Handbook of Proton-NMR Spectra and Data, Academic Press 1985-1986; Vol. 5: 190.
  12. Lin YT, Kuo YH, Chang BH: Studies on the extractive constituents of the bark of *Libocedrus formosana* Florin. II. *J Chinese Chem Soc* 1975; 22: 331-334.
  13. Kuo YH, Yen YF: Constituents of *Erythrina variegata*. *Chin Pharm J* 1997; 49: 21-29.
  14. 于德泉、楊峻山：分析化學手冊(第七分冊)：核磁共振波譜分析，化學工業出版社，北京 1995: pp.898-899.
  15. Kuo YH, Yeh MH: Chemical constituents of heartwood of *Bauhinia purpurea*. *J Chin Chem Soc.* 1997; 44:379-383.
  16. Huang KF, Yen YF: Constituents of *Erythrina variegata*. *Chin. Pharm. J.* 1997; 49:21-29.
  17. 林雅婷；銳葉忍冬(*Lonicera acuminata* WALLICH)之化學成分研究。中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文，台中 1998。
  18. Demuner AJ, Barbosa LCA, Chagas DO, Nascimento J, Vieira JJ, Amelia dos santos M: Isolation and evaluation of nematocidal activity of chemical constituents of *Mucuna cinerea* against meloidogyne incognita and heterodera glycines. *Quim Nova* 2003; 26:335-339.
  19. Herath HMTB, Dassanayake RS, Priyadarshani AMA: Isoflavonoids and a pterocarpan from *Gliricidia sepium*. *Phytochemistry* 1998; 47:117-119.

20. 高東英、張如意：雲南甘草化學成分的研究，中草藥 1994; 25 (10): 507-508.
21. 李偉東、關毓銘：刺果甘草化學成分的研究，中國藥學雜誌 1999; 34:11-13.
22. Kao KC, Ho YL, Ho LK, Chang YS: 2-Benzoxazolinone, 2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one form the root of *Strobilanthes cusia*. *J Chin Med* 2001; 12: 41-49.
23. Lin YL, Tsai WJ, Chen IS: Chemical Constituents from *Mucuna membranacea*. *Journal of the Chinese Chemical Society* 1998; 45: 213-217.
24. Toshio M, Seigo F, Yoshihiko A: Studies on the Constituents of *Hedysarum polybotrys* HAND.-MAZZ. *Chem Pharm Bull* 1984; 32 (8): 3267-3270.
25. 黃文哲、段金廠、李正亮：懷槐的化學成分研究 I。中國藥科大學學報 2000; 31 (1): 8-10。
26. Akira Kananubo, Kazushi Koga, Minoru Isobe: First finding of Daidzein 7-*O*-phosphate and Genistein 7-*O*-phosphate that are hydrolyzed by sulfatase. *Tetrahedron* 2001; 57: 8801-8805.
27. Huang KF, Yen YF: Constituents of *Erythrina variegata*. *Chin. Pharm. J.* 1997; 49:21-29.
28. Ho LD, Chang CR, Chang YS: Chemical components from *Triumfetta bartramia*. *J Chin Chem Soc* 1995; 42:93-95.
29. 孫燕榮，董俊興，吳曙光：杜仲化學成分研究。中藥材 2004; 27: 341-343.
30. Wei Y, Yang XS, Hao XJ: Studies on chemical constituents from the Root of *Mirabilis jalapa*. *China Journal of Chinese Materia Medica* 2003; 28:1151-1152.
31. Breitmaier E, Voelter W: Carbon-13 NMR Spectroscopy (Third completely revised edition), VCH publishers, New York 1987: p.394-397, 400-401.
32. Gu XY, Zhang HQ, Wang NH: The chemical constituents of root of *Angelica laxifoliata* Diels. *J Plant Resour & Environ* 1999; 8:1-5.
33. Song ZH, Wang BD, Ba H, Tong XT, Zhu DY, Jiang FX: Studies on chemical constituents in root of *Paeonia sinjiangensis*. *China Journal of Chinese Materia Medica* 2004; 29:749-751.
34. Xu ZY, Yan Y, Chen ZD, Chen ZL, Zhang K: Studies on the Chemical Constituents of *Cibotium barometz* (III). *Pharm J Chin PLA* 2005; 20:337-339.
35. 關放，王軍憲，楊雲：美觀馬先蒿化學成分的研究。中藥材 2004; 27:920-921.
36. 叢浦珠，蘇克曼：分析化學手冊-第九冊：質譜分析，化學工業出版社，北京 2000。
37. Yang XW, Jiang YM, Li JS: A new flavonol glucoside from aerial parts of Manaplant *Alhagi (Alhagi pseudoalhangi)*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 1996; 27:707-711.
38. Shang MY, Cai SQ, Lin WH, Wang MC, Park JH: Studies on chemical constituents form the seed of *Trigonella foneum-graecum*. *China Journal of Chinese Materia Medica* 2002; 27:277-279.
39. Zhu YJ, Hong YF, Guo XM, Yang GJ, Sun LN: Studies on the chemical constituents of *Lens*

*culinaris Medic. Acad J Sec Mil Med Univ* 1998; 19:146-149.

40. Wu SH, Ma YB, Luo XD, Hao XJ, Wu DG: Studies on chemical constituents in root bark of *Paeonia suffruticosa*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 2002; 33:679-680.
41. Tinto WF, Blair LC, Ali A: Lupan triterpenoids of *Salacia cordat*. *Nat Prod* 1992; 55:393-395.
42. Yamashita K, Lu H, Lu J, Chen G, Yokoyama T, Sagara Y, Manabe M, Kodama H: Effect of three triterpenoids, lupeol, betulin, and betulinic acid on the stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation of proteins in human neutrophils. *Clin Chim Acta* 2002; 325:91-96.
43. Dixon RA, Sumner LW: Legume natural products: Understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiol* 2003; 131:878-85.
44. Singh RK, Pandey BL, Tripathi M, Pandey VB: Anti-inflammatory effect of (+)-pinitol. *Fitoterapia* 2001; 72:168-170.
45. Bates SH, Jones RB, Bailey CJ: Insulin-like effect of pinitol. *Br J Pharmacol* 2000; 130:1944-1948.