

# 第一章 緒 言

台灣產藥用植物猿尾藤(*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ)，為黃褥花科(Malpighiaceae)猿尾藤屬(*Hiptage*)植物。分布於海拔 1500 公尺以下，在臺灣全境山麓至低海拔山地森林內及矮林內自生<sup>(1)</sup>。

猿尾藤屬(*Hiptage*)為一分布廣泛之黃褥花科(Malpighiaceae)植物，分布於亞洲南部(中國南部、馬來西亞、印度)，熱帶美洲及非洲，而臺灣產之猿尾藤屬植物依台灣植物誌(Flora of Taiwan)所載為猿尾藤(*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ)一種<sup>(2,3)</sup>。而民間割取其粗莖治久傷痠痛、骨折疼痛、接骨復原、風濕疼痛等<sup>(1)</sup>。

根據美國伊利諾大學 Napralet 資料庫在 1999 年 1 月份所統計，在印度民間則用於治療慢性關節<sup>(4,5)</sup>，猿尾藤具有降壓活性<sup>(6)</sup>等。由於猿尾藤在本屬植物文獻中的資料，在化學成分及藥理活性方面的相關報告均十分缺乏。因此，本研究首先著手進行化學成分的分離，再將純化合物送篩藥理活性。

盼望藉由台灣產藥用植物猿尾藤的化學研究，來確定台灣產之猿尾藤的成分種類，配合藥理活性篩選及研究，以確定猿尾藤在醫療上的功效，及民間用途使用的正確性，能對往後研究本藥用植物者，提供一些具有價值的參考。

## 第二章 總論

### 第一節 猿尾藤屬植物成分及藥理文獻之考察

有關猿尾藤屬植物成分及藥理之文獻，據 1999 年美國伊利諾大學 Narpralert 資料庫依民間用途，抽出物之生物活性及分離之成分等三項歸類整理如下：

猿尾藤屬植物之民間用途報導方面，猿尾藤乾燥之葉子，在印度地區口服用於治療慢性關節炎<sup>(4)</sup>。而新鮮的葉子在印度則是外用治療慢性關節炎<sup>(5)</sup>。(詳見 Table 2.1)

猿尾藤屬植物之生物活研究方面，猿尾藤乙醇與水抽出物主要有降血壓活性，以 IV 對狗給藥及 IP 對小鼠給藥顯示具有降壓及解熱活性，而在細胞毒殺方面則不具活性<sup>(6)</sup>。(詳見 Table 2.2)

猿尾藤屬植物之成分研究方面，在 1968 年分離出 Xanthone 類化合物 magiferin<sup>(7)</sup>，在 1973 年又分離出 Xanthone 類化合物<sup>(8)</sup>；在 1989 年從猿尾藤莖皮分離出三萜、固醇及烷類等成分<sup>(9)</sup>。(詳見 Table 2.3)

由上述整理發現，台灣產藥用植物猿尾藤之民間用途、生物活性及成分研究方面相當有限，具有值得進一步研究及開發的潛力。

Table 2.1 Ethnomedical information on *Hiptage benghalensis*

Species	Used part	Area	Ethnomedical usage	Ref
<i>H. benghalensis</i>	Dried leaf	India	Oral used for chronic rheumatism	(4)
<i>H. benghalensis</i>	Fresh leaf	India	External used for chronic rheumatism	(5)

Table 2.2 Biological activities for extracts of *Hiptage benghalensis*

Species	Used part	Area	Biological activities	Ref
<i>H. benghalensis</i>	Aerial parts	India	Cytotoxic activity (I), cell culture ED <sub>50</sub> > 20.0 mcg/ml	(6)
			Hypotensive activity, iv, dog, 50.0mg/kg (A)	(6)
			Hypothermic activity, ip, mouse, 750.0 mg/kg (A)	(6)
			Toxicity assessment, ip, mouse, LD <sub>50</sub> 750.0 mg/kg	(6)

A: active I: inactive

Table 2.3 Presence of compounds in *Hiptage benghalensis*

Species	Used part	Area	Presence of compound	Type	Ref
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	α-Amyrin	triterpene	(9)
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	daucosterol	steroid	(9)
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	friedelin	triterpene	(9)
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	friedelinol	triterpene	(9)
<i>H. madablota</i>	Rootbark	India	mangiferin	xanthone	(7)
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	octacosan-1-ol	alkane	(9)
<i>H. madablota</i>	Stembark	India	β-sitosterol	steroid	(9)
<i>H. madablota</i>	Part not specified	Not stated	xanthone, 1-3-8-trihydroxyl	xanthone	(8)
<i>H. benghalensis</i>	Leaf Root			alkaloids absent	(10)

## 第二節 猿尾藤之藥用植物學考察

### 一. 猿尾藤之植物學分類<sup>(2)</sup>

被子植物綱 Angiospermae

雙子葉植物亞綱 Dicotyledoneae

離瓣花群 Polypetalae

週位花亞群 Flower Perigynous Group

香葉草目 Geraniales

黃褥花科 Malpighiaceae

猿尾藤屬 *Hiptage*

### 二、黃褥花科(Malpighiaceae)植物之特徵<sup>(2)</sup>

黃褥花科植物分布於熱帶、亞熱帶(美洲、亞洲、非洲)地區，全世界約 55 屬 650 種。為木本攀緣性灌木；葉對生，全緣，托葉缺或很少，常具有兩腺點於基部；兩性，花整齊至不整齊，腋生或頂生，花梗有節，通常具 2 片苞片，總狀花序；花萼 5 枚、瓣裂或覆瓦狀，常具一大腺點；花瓣 5 枚，常具爪，並呈鬚狀；花盤不明顯；雄蕊 10 枚，花絲離生或基部合生，花藥 2 室；雄蕊 3 枚合生心皮，花柱 1 至 3 枚，柱頭為頭狀，子房上位，3 室，中軸胎座。翅果。

### 三、台灣黃褥花科各屬之檢索表<sup>(3)</sup>

1.花柱 1 枚；無花絲

2.無托葉.....*Hiptage* 猿尾藤屬

2.托葉與葉柄基部相.....*Tristellateria* 三星果藤屬

1.花柱 3 枚；花絲與基部相連

3.果實為核果；喬木或灌木.....*Malpighia* 黃禱花屬

3.果實為翅果；木質藤.....*Ryssopterys* 翅實藤屬

#### 四、台灣產猿尾藤屬(*Hiptage*)植物形態<sup>(11)</sup>

木質藤本或灌木。葉全緣，革質，橢圓至長橢圓，一般近基部下面具 2 腺體，邊緣下面常散生小腺體；托葉小，腺體狀。花序頂生或腋生，總狀。雄蕊中 1 枚明顯較長。翅果，有 3 革質翼，中央者較大。

台灣有 1 種。

##### 1. *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ 猿尾藤

小枝明顯具多數皮孔。葉亞革質至革質，長橢圓至長橢圓披針形或卵狀長橢圓形，長 7-15 cm，寬 3-7 cm，先端漸尖至銳尖。萼 5 深裂，基部 5 腺體。

#### 五、猿尾藤之藥用植物學考察

1.學名：*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ

2.科名：黃禱花科 Malpighiaceae

3.別名：虎尾藤、牛牽藤(台灣)<sup>(1)</sup>，風車藤(草藥圖鑑)Fengcheteng(常用中草藥彩色圖譜)、紅龍、狗角藤(全國中草藥匯編)、黃牛葉(海南植物志)、風箏果(雲南種子植物名錄)<sup>(12)</sup>。

4.分布：中國西南至東南部，海南島，印度尼西亞，馬來西亞<sup>(1)</sup>等熱帶、亞熱帶地區。

5.藥性：味澀、微苦，性溫。<sup>(12)</sup>

6.效用：莖有溫腎益氣，活血祛瘀之效；治滑精，遺精，體弱虛汗，久傷痠痛，骨折疼痛，風濕疼痛；葉治哮喘，慢性風濕症；外敷疥瘡；葉汁有殺蟲之效<sup>(1)</sup>。小兒盜汗，風寒濕痺<sup>(12)</sup>。

7.方例：治久年傷痠痛，骨折疼痛，接骨復原，風濕疼痛:紅龍頭根及莖浸酒服或研粉內服<sup>(1)</sup>。

## 第三章 實驗部分

### 第一節 實驗材料

#### 一、實驗試藥及儀器

##### 1. 溶媒

- (1) 正己烷、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、苯、乙醚、正丁醇等溶媒(以上購自 Merck)。
- (2) 乙醇為台灣省菸酒公賣局之 95% 酒精。
- (3) 測核磁共振 (NMR) 光譜所用之溶媒  $\text{CDCl}_3$  ( Deuterated chloroform )、MeOD (Deuterated methanol)、DMSO ( Dimethyl-sulfoxide ) Acetone- $\text{d}_6$  Pyridine- $\text{d}_6$  等均為光譜級(以上購自 Merck)。

##### 2. 顯色劑

- (1) 10 % Sulfuric acid spray reagent.
- (2) Anisaldehyde sulfuric acid spray reagent
- (3) Vanillin sulfuric acid spray reagent

##### 3. 薄層層析(Thin Layer Chromatography)

TLC plate : Kieselgel 60 F<sub>254</sub> silica gel pre-coated aluminium plate , 厚度 0.2 mm (Merck)。

##### 4. 管柱色層層析(Column Chromatography)

以 Pyrex 或 Merck 公司生產之不同型號管柱

填充物質 : Kieselgel 60 70~230 mesh (Merck) , Kieselgel 60 230~400 mesh (Merck)。

##### 5. 試藥

- (1) 醋酸 硫酸 硝酸(島久藥品株式會社) 無水硫酸鈉 氯化鐵 vanillin 等 , 均為試藥級。

## 二、實驗儀器

1. 迴轉式濃縮機：Rotavapor R-114(Büchi)。
2. 烘箱：CHANEL Drying Oven OV602。
3. 電子乾燥箱：用於保存 TLC 片、NMR 溶媒及紅外線譜用之 KBr。
4. 電子天平：Mettler AJ100 and Metter Toledo PB 602。
5. 電熱板：CORONING MODEL PC-320。
6. 超音波震盪器：
  - (1) BANDELIN SONOREX SUPER PK1028BH
  - (2) AQUUSONIC™ MODEL 150D。
7. 玻璃展開槽 120mmx150mm 及 220mmx70mm。
8. 紫外線燈  
CAMAG Universal UV lamp , 波長 254nm 及 366nm。
9. 微量熔點測定器  
Electrothermal's Series IA 9100 and IA9200 Digital Melting point , 測定範圍 50.00-500.0 之間, 其溫度未經校正。
10. 紅外線分光光譜儀 (Infared Spectrophotometer)  
使用 Nicolet Impact 400 FT-IR Spectrophotometer 測定, 固體以乾的 KBr 粉末混合均勻, 在真空下加壓成透明薄片測定之, 光譜單位為波數( $\text{cm}^{-1}$ )(中國醫藥學院)。
11. 質譜儀(MS)
  - (1) VG PLATFORM II Mass Spectrometer , 離子化電壓為 70eV (中國醫藥學院)
  - (2) JOEL JMS-SX/SX 102A Tandem Mass Spectrometer (中興大學)。



## 12.核磁共振光譜儀

(1) Bruker DPX-200 FT-NMR (中國醫藥學院)。

Internal standard 為 Tetramethy Silane (TMS), 化學位(Cheical shift)以  $\delta$  表示, 單位 ppm, 以 J 表示偶合常數(coupling constant), 單位 Hz 峰線訊號以”s”表示單峰(singlet), ”d”表示雙重峰(doublet), ”t”表示三重峰(triplet), ”q”表示四重峰, ”m”表示多重峰(multiplet), ”br”表示寬峰。

## 二、實驗動物

雄性 SD 大鼠飼養於台中榮總醫研大樓動物中心, 體重 250~300 公克。動物來源: 購自行政院國科會國家實驗動物繁殖及研究中心。

## 第二節 實驗藥材來源及其抽提與分離

### 一、植物採集及前處理

植物猿尾藤( *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ)於民國八十九年九月在南投縣魚池鄉中採得。經中國醫藥學院技正邱年永老師鑑定，確認為黃耆花科(Malpigiaceae)之猿尾藤(*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ)後，先將莖與莖皮分開處理後，開始進行藥理活性實驗之研究。本論文針對猿尾藤莖皮之甲醇粗抽物及莖皮之各有機溶媒萃取層，進行細胞毒性，抗發炎及抗過敏等活性之探討。

### 二、抽提與分離

陰乾後之猿尾藤約 30 公斤。將莖與莖皮分別使用甲醇於室溫下浸泡一週後，經過濾取濾液減壓濃縮，殘渣再經甲醇浸泡，如此反覆浸泡抽取 3 次；取莖的部分約 600 公克，莖的甲醇粗抽物約 36 公克(Hbh-M)，抽出率約為 6%。並得到莖皮的甲醇粗抽物約 1650 公克(Hb-M)，抽出率約為 15%。再將莖皮的甲醇粗抽物，加入蒸餾水形成懸浮液。再以正己烷分配分離正己烷層合併減壓濃縮至乾後得正己烷層(Hb-H)共 85.4 公克，以氯仿層和水層分配分離出氯仿層(Hb-C)共 52.62g，以乙酸乙酯和水層分配分離出乙酸乙酯層(Hb-E)減壓濃縮後為 36.8 公克，以正丁醇和水層分配分離出正丁醇層(Hb-B)減壓濃縮後為 207.3 公克，最後剩餘水層(Hb-W)為 1099.4 公克。

利用管柱色層層析法(Column Chromatography)，以 Silica gel (70-230 mesh 及 230-400 mesh)充填在玻璃管柱內為固定相，以不同濃度沖提，並利用再結晶純化所得之化合物。目前由正己烷層及氯仿層

分離出之成分如下列：

正己烷層分離出之成分有

friedelin : 22.26 mg

3-epi-friedelinol : 91.27 mg

phytosterol ( $\beta$ -sitosterol, stigmasterol, and campesterol) : 60 mg

氯仿層分離之成分有

betulinic acid : 70 mg

$\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside 及 stigmasterol-3-O- $\beta$ -glucoside : 13.2 mg

### 三、抽提流程圖

Stembark of *Hiptage benghalensis* ( L.) KURZ (10.93kg)

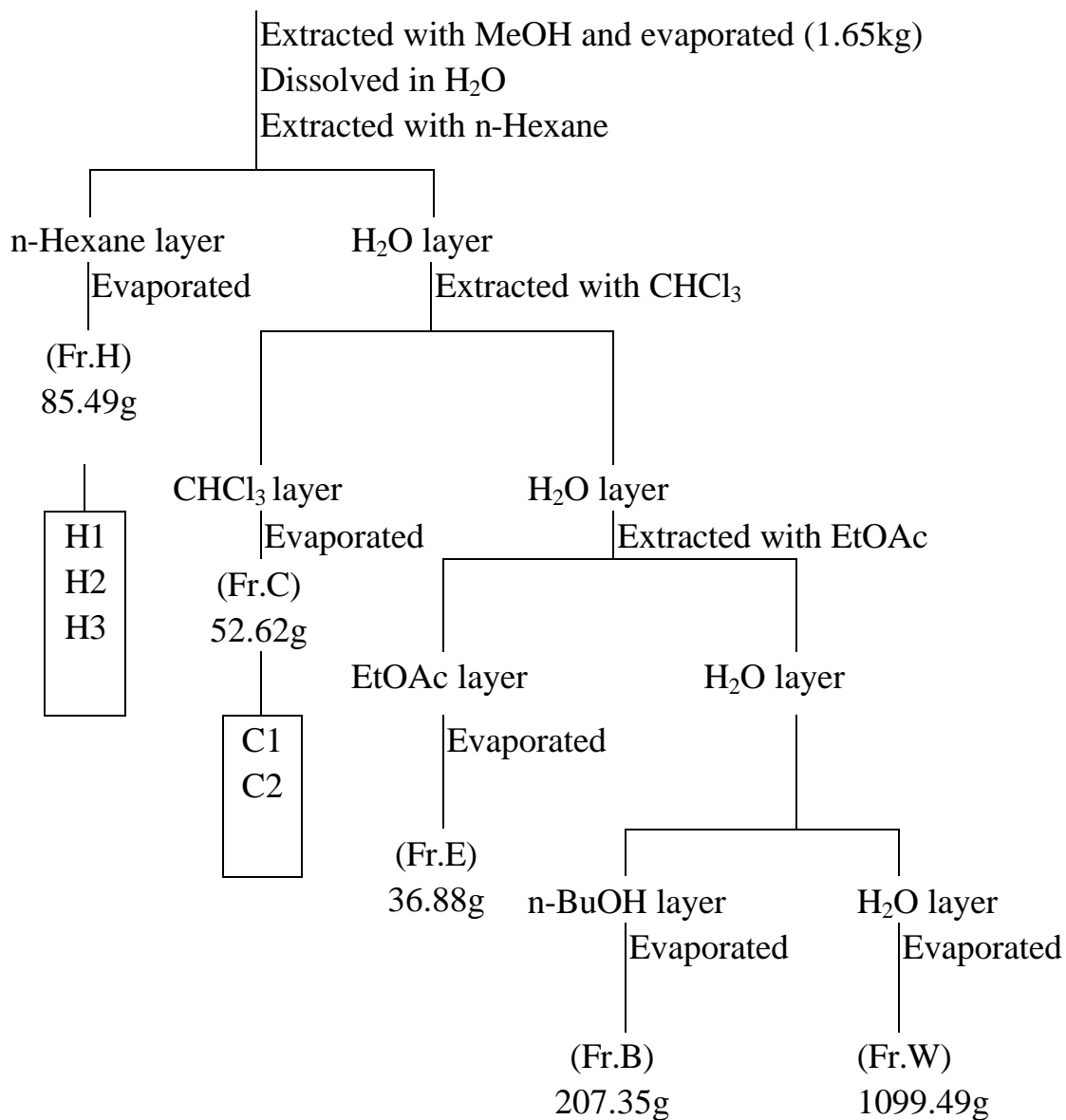


Figure 3-1 猿尾藤(*Hiptage benghalensis* ( L.) KURZ )莖皮之之抽提流程圖

### 第三節、藥理實驗方法

#### 一、MTS 細胞毒殺活性試驗<sup>(14,15,16)</sup>

此部分實驗為委託國家衛生研究院代為進行 MTS 細胞毒殺活性測試，利用 MTS 細胞毒殺活性試驗，將人類癌細胞植入 96 孔培養皿中。經過一夜的適應，在每孔中加入置於無胎牛血清、最終濃度為 50  $\mu$ g/ml 之待測物。三天後，由 MTS 還原試劑決定細胞存活能力。Actinomycin D 10  $\mu$ M 及 0.1 % DMSO 為正對照組及控制組，其結果與 DMSO 相比，換算成百分比。

MTS：

5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethyl-thiazolyl)-3-(4-sulfophenyl) tetrazolium

培養人類腫瘤細胞：

NUGC(胃癌細胞)、HONE-1(鼻咽癌細胞)在 Dulbecco's modified Eagle' 培養基培養 (5 % CO<sub>2</sub> 濕式培養基, 維持在 37 °C, 外加 10 % 胎牛血清和非必需胺基酸)。

## 二、對發炎及抗過敏活性之實驗

### (一)對嗜中性白血球去顆粒作用試驗

- (1) 大鼠麻醉後，由腹腔動脈抽血，加入 dextran 混合靜置後，再加入 Ficoll-hypaque 離心，以低張溶液除去紅血球<sup>(17,18)</sup>，將細胞清洗並懸浮成  $1 \times 10^7$  細胞/ml。
- (2)  $\beta$ -glucuronidase 的測定：將中性白血球細胞懸浮液與 FMLP 作用後，離心取上清液，利用分光光度計 550nm 下測其中所含的  $\beta$ -glucuronidase 量<sup>(19)</sup>。
- (3) lysozyme 的測定：將中性白血球細胞懸浮液與 FMLP 作用後，離心取上清液，利用 *Micrococcus lysodeikticus* 細胞為受質在分光光度計 450nm 下測 lysozyme<sup>(20)</sup>。

### (二)對肥大細胞去顆粒作用試驗

- (1) 肥大細胞的製備：大鼠經頸部放血後，將 10ml 含肝素之 Tyrode's 溶液注入大鼠腹腔內，按摩 1~2 分鐘並取出腹腔溶液，以 38 % 牛血清蛋白溶液清洗，離心，沉澱細胞再懸浮成  $1 \sim 1.5 \times 10^6$  細胞/毫升<sup>(21,22)</sup>，並測定細胞存活率<sup>(23)</sup>。
- (2) Histamin 的測定：將肥大細胞懸浮液與 Compound 48/80 (Condensation product N-methyl-p-methoxy phenethylamine with formaldehyde)作用後，離心取上清液，測其中所含的組織胺之含量。其定量為利用 *o*-phthaldialdehyde 反應後以螢光分光光度計來測量<sup>(24)</sup>。
- (3)  $\beta$ -glucuronidase 的測定：將肥大細胞懸浮液與 Compound 48/80 作用後，離心取上清液，利用 phosphoglucuronide 作為受質，經由分光光度計測量  $\beta$ -glucuronidase 的活性<sup>(19)</sup>。

## 第四章 結果

### 第一節 猿尾藤之化學成分鑑定

#### 一、化合物 H-1 : Friedelin

1. 白色針狀結晶 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

2. mp : 247.5-251

3. TLC : R<sub>f</sub>=0.6 (n-Hexane : CHCl<sub>3</sub>=2:1)

4. 10 %H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray : 藍紫色 (110 )

5. IR :  $\nu_{\max}$ (KBr)cm<sup>-1</sup> : (Chart 1)

2863, 1713(C=O), 1459, 1389, 1266, 1104, 803

6. EI-MS (70eV) m/z (%) : (Chart 2)

426(M <sup>+</sup> , 16)	411(5)	302(11)	273(21)
205(18)	191(13)	123(60)	109(61)
95(87)	81(71)	69(100)	

7. <sup>1</sup>H-NMR (in CDCl<sub>3</sub>) ppm : (Chart 3)

0.73 (3H, s, H-24)

0.86 (3H, s, H-25)

0.89 (3H, d, J=6.6Hz H-23)

0.95 (3H, s, H-29)

1.00 (6H, s, H-26, 30)

1.05 (3H, s, H-27)

1.18 (3H, s, H-28)

8.  $^{13}\text{C}$ -NMR(in  $\text{CDCl}_3$ ) ppm : (Chart 4)

6.6	(C-23)	14.4	(C-24)	17.7	(C-25)	18.0	(C-7)
18.4	(C-27)	20.0	(C-26)	22.0	(C-1)	28.0	(C-20)
29.8	(C-17)	30.3	(C-12)	31.5	(C-28)	42.5	(C-18)
32.2	(C-21)	32.5	(C-15)	34.8	(C-30)	35.1	(C-19)
35.4	(C-11)	35.8	(C-16)	37.2	(C-9)	38.1	(C-14)
39.0	(C-22)	39.4	(C-13)	41.0	(C-6)	41.3	(C-2)
41.9	(C-5)	42.5	(C-18)	52.9	(C-8)	58.0	(C-4)
59.2	(C-10)	213.1	(C-3)				

9. DEPT ( $\pi/4$ ,  $2\pi$ ,  $3\pi/4$ )  $\delta$  : (Chart 5)

$\text{CH}_3$  : 6.7, 14.1, 17.9, 18.6, 20.2, 31.7, 32.0, 34.9

$\text{CH}_2$  : 18.1, 22.2, 30.4, 32.3, 32.7, 35.2, 35.5, 35.9, 39.2, 41.2, 41.4

$\text{CH}$  : 42.7, 53.0, 58.1, 59.4



## 二、化合物 H-2 : Phytosterol

1. 白色針狀結晶 (n-Hexane-EA)

2. mp : 160-163

3. TLC : Rf=0.6 (n-Hexane : EA=2:1)

4. 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray : 藍紫色 (110 )

5. IR :  $\nu_{\max}$ (KBr)cm<sup>-1</sup> : (Chart 6)

2963,1458,1373,1057,964,810

6. EI-MS (70eV) m/z (%) : (Chart 7)

414(M <sup>+</sup> , 39)	412(M <sup>+</sup> , 5)	400(M <sup>+</sup> , 6)	396(15)
329(16)	303(14)	303(14)	273(10)
255(16)	213(19)	159(25)	145(40)
81(68)	69(72)		

7. <sup>1</sup>H-NMR (in CDCl<sub>3</sub>) ppm : (Chart 8)

5.36 (1H, d, H-6)

4.9~5.3 (2H, m, H-22, 23)

3.45 (1H, m, H-3)

1.00 (3H, H-19)

0.93 (3H, H-21)

0.84 (6H, H-26, 27)

0.67 (3H, H-18)

8.  $^{13}\text{C}$ -NMR(in  $\text{CDCl}_3$ ) ppm : (Chart 9)

11.6 (C-18)	11.7 (C-29)	18.5 (C-21)	18.7 (C-27)
19.1 (C-19)	19.5 (C-26)	20.8 (C-11)	22.8 (C-28)
24.0 (C-15)	25.7 (C-22)	28.0 (C-23)	28.7 (C-16)
28.8 (C-25)	31.4 (C-2)	31.6 (C-8)	33.6 (C-7)
35.9 (C-20)	36.2 (C-10)	37.0 (C-1)	39.5 (C-12)
40.2 (C-13)	42.0 (C-4)	45.5 (C-24)	49.8 (C-9)
55.7 (C-17)	56.5 (C-14)	71.5 (C-3)	121.4 (C-6)
129.0 (C-23)	138.1 (C-22)	140.5 (C-5)	

9. DEPT ( $\pi/4$ ,  $2\pi$ ,  $3\pi/4$ ) $\delta$  : (Chart 10)

$\text{CH}_3$  : 11.8, 11.9, 18.7, 18.9, 19.3, 19.7

$\text{CH}_2$  : 21.0, 23.0, 24.2, 25.9, 28.2, 29.0, 31.6, 33.8, 37.2, 39.7, 42.2

$\text{CH}$  : 28.9, 31.8, 36.1, 45.7, 50.6, 55.9, 56.7, 71.7, 121.6, 138.2

### 三、化合物 H-3 : Friedelinol

1. 白色片狀結晶 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

2. mp : 270.5-272.5

3. TLC : Rf=0.6 (n-Hexane : CHCl<sub>3</sub>=2:1)

4. Anisaldehyde spray : 藍紫色 (110 )

5. EI-MS (70eV) m/z(%) : (Chart 11)

428(M <sup>+</sup> ,4)	395(1)	413(9)	304(0.83)
275(9)	257(3)	207(4)	165(22)
125(41)	109(54)	95(82)	81(70)
69(100)			

6. <sup>1</sup>H-NMR (in CDCl<sub>3</sub>) ppm : (Chart 12)

0.86 (3H, s)

0.92 (3H, s)

0.96 (3H, s)

0.97 (3H, s)

1.00 (6H, s)

1.05 (6H, s)

1.17 (3H, s)

3.73 (3H, m, H-3, -OH)

7.  $^{13}\text{C}$ -NMR(in  $\text{CDCl}_3$ ) ppm : (Chart 13)

11.6	(C-23)	15.7	(C-1)	16.4	(C-24)	17.5	(C-7)
18.2	(C-25)	18.6	(C-26)	20.1	(C-27)	28.1	(C-20)
30.0	(C-17)	30.6	(C-12)	31.7	(C-29)	32.0	(C-28)
32.3	(C-15)	32.7	(C-21)	35.0	(C-30)	35.3	(C-19)
35.3	(C-2)	36.0	(C-16)	36.0	(C-11)	37.0	(C-9)
37.8	(C-5)	38.3	(C-14)	39.2	(C-23)	39.7	(C-13)
41.7	(C-6)	42.7	(C-18)	49.1	(C-4)	53.1	(C-8)
61.3	(C-10)	72.7	(C-3)				

8. DEPT( $\pi/4, 2\pi, 3\pi/4$ ) $\delta$  : (Chart 14)

$\text{CH}_3$  : 11.6, 16.4, 18.2, 18.6, 20.1, 31.7, 32.0, 35.0

$\text{CH}_2$  : 15.7, 17.6, 30.6, 32.3, 32.7, 35.3, 35.4, 35.5, 35.9, 39.2, 41.6

$\text{CH}$  : 42.7, 49.1, 53.1, 61.3, 72.7

#### 四、化合物 C-1 : Betulinic acid

1. 白色片狀結晶(CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

2. mp : 283-285

3. TLC : R<sub>f</sub>=0.5 (CHCl<sub>3</sub>:EA=10:1)

4. 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray : 藍紫色(110 )

5. IR :  $\nu_{\max}$ (KBr)cm<sup>-1</sup> : (Chart 15)

3280,2932,2562,1713,1458,1373,1034

6. EI-MS (70eV)m/z(%) : (Chart 16)

456 (M <sup>+</sup> , 30)	438 (M <sup>+</sup> , -H <sup>2</sup> O, 16)	248 (60)	220 (25)
207 (63)	189 (100)	175 (37)	135 (61)
121 (57)	107 (54)	81 (65)	67 (55)
55 (69)			

7. <sup>1</sup>H-NMR (in d-pyridine)ppm : (Chart 17)

4.91 (1H, br, H-29)

3.45 (1H, m, H-3)

1.76 (3H, s, H-30)

0.78, 0.98, 1.02, 1.03, 1.20, 1.76 (3H, s, -CH<sub>3</sub>)

8. <sup>13</sup>C-NMR(in d-pyridine)ppm : (Chart 18)

14.4 (C-27)	15.9 (C-24-26)	18.2 (C-6)	18.9 (C-6)
20.7 (C-11)	25.6 (C-12)	27.7 (C-2)	28.1 (C-23)
29.7 (C-21)	30.7 (C-15)	32.3 (C-16)	34.3 (C-7)
37.0 (C-10,22)	38.1 (C-13)	38.8 (C-1)	39.0 (C-4)
40.6 (C-8)	42.3 (C-14)	47.2 (C-18)	49.2 (C-19)
50.4 (C-9)	55.4 (C-5)	56.1 (C-17)	77.6 (C-3)

109.5 (C-29)      150.8 (C-20)      178.4 (C-28)

9. DEPT ( $\pi/4, 2\pi, 3\pi/4$ ) $\delta$  : (Chart 19)

CH<sub>3</sub> : 14.6, 16.1, 19.1, 28.3

CH<sub>2</sub> : 18.4, 20.8, 25.8, 27.9, 29.9, 30.8, 32.5, 34.5, 37.2, 38.9

CH : 38.2, 47.4, 49.4, 50.6, 55.6, 77.8

## 五、化合物 C-2 :

1. 白色顆粒結晶 (CHCl<sub>3</sub>-MeOH)

2. mp : 290-293

3. TLC : R<sub>f</sub>=0.5 (CHCl<sub>3</sub> : MeOH =7:1)

4. 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray : 紫紅色(110 )

5. IR :  $\nu_{\max}$ (KBr)cm<sup>-1</sup> : (Chart 20)

3418,2932,1466,1373,1077,1026

5. FAB-MS m/z (%) : (Chart 21)

599(M+Na)<sup>+</sup>      597                      397                      395

6. <sup>1</sup>H-NMR (in CDCl<sub>3</sub>) ppm : (Chart 22)

0.63      (3H, s)

0.65      (3H, s)

0.81-1.92 (m)

5.02-5.33 (2H, m, H-22, 23)

7. <sup>13</sup>C-NMR(in CDCl<sub>3</sub>) ppm : (Chart 23)

11.5 (C-29)	11.7 (C-18)	18.5 (C-26)	18.8 (C-21)
19.0 (C-19)	19.0 (C-26)	19.5 (C-27)	20.8 (C-11)
23.0 (C-23)	24.0 (C-15)	26.0 (C-23)	28.1 (C-16)
29.0 (C-25)	31.6 (C-2)	31.6 (C-7)	31.6 (C-8)
33.8 (C-22)	35.9 (C-20)	36.5 (C-10)	37.0 (C-1)
38.9 (C-4)	39.5 (C-12)	42.0 (C-13)	45.6 (C-24)
49.9 (C-9)	55.8 (C-14)	56.4 (C-17)	62.4 (C-6')
71.3 (C-4')	74.9 (C-2')	77.7 (C-3)	78.1 (C-3')
78.1 (C-5')	102.1 (C-1')	121.5 (C-6)	128.8 (C-23)
131.0 (C-22)	140.5 (C-5)		

## 第二節 猿尾藤之藥理活性實驗結果

### 一、MTS 細胞毒殺活性試驗

將猿尾藤甲醇萃取物以不同溶媒萃取後，分成正己烷層、氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇、水層及水層沈澱物，進行猿尾藤對 MTS 細胞毒殺活性試驗，結果顯示猿尾藤之甲醇粗抽物及各層中以不溶性沈澱物層對於 NUGC 有明顯活性。此部分結果，為委託國家衛生研究院代為測試。（詳見 Table 4.1）

Table 4.1 猿尾藤各層對 MTS 細胞毒殺活性測試

	Cell Line	
	NUGC	HONE-1
	50 $\mu$ g/mL	50 $\mu$ g/mL
Hb-methanol	72%	94%
Hb-hexane	103%	100%
Hb-chloroform	93%	108%
Hb-ethyl acetate	71%	101%
Hb-butanol	68%	92%
Hb-water	78%	87%
Hb-precipitate	43%	87%

Sample conc.: 50  $\mu$  g/mL

以%表 cell 之存活率



將自猿尾藤分離得到之三種三類成分：friedelin, friedelinol, betulinic acid 化合物，進行對 MTS 細胞毒性試驗，結果顯示此三種化合物不具明顯活性。此部分結果，為委託國家衛生研究院代為測試。(詳見 Table 4.2)

Table 4.2 猿尾藤純化合物對 MTS 細胞毒殺活性測試

	Cell line			
	HONE-1		NUGC-3	
	50 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml	50 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
Friedelin	110%	96%	119%	110%
Friedelinol	113%	100%	111%	107%
Betulinic acid	81%	72%	87%	107%

Negative control: DMSO 0.1 %

Positive control: Actinomycin D

## 二、對抗發炎及抗過敏活性試驗

將猿尾藤甲醇萃取物(Hb-M)以不同溶媒萃取後，分成正己烷層(Hb-H)、氯仿層(Hb-C)、乙酸乙酯層(Hb-E)、正丁醇(Hb-B)及水層(Hb-W)，再取猿尾藤之莖部及莖皮甲醇萃取物，物進行猿尾藤抗發炎及抗過敏活性試驗。此部分實驗為委託台中榮總教研部王繼平老師，進行抗發炎及抗過敏活性之實驗。

### 1. 肥胖細胞的去顆粒作用試驗

Table 4.3 顯示，猿尾藤甲醇粗抽物之正己烷萃取層(Hb-H)在 10-30  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 compound 48/80 誘發肥胖細胞的去顆粒作用所釋出 $\beta$ -glucuronidase 有抑制作用。乙酸乙酯萃取層(Hb-E)在 30  $\mu\text{g/ml}$ ，正丁醇層(Hb-B)及水萃取層(Hb-W)在 30-100  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 compound 48/80 誘發肥胖細胞的去顆粒作用所釋放 $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 有抑制作用。

Table 4.4 顯示，猿尾藤莖部(Hbh-M)及莖皮(Hbb-M)之甲醇粗抽物在 100  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 compound 48/80 誘發肥胖細胞的去顆粒作用所釋放 $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 有抑制作用。而莖部(Hbh-M)甲醇粗抽物在 30  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 compound 48/80 誘發肥胖細胞的去顆粒作用所釋放 $\beta$ -glucuronidase 有抑制作用。

### 2. 嗜中性白血球去顆作用試驗

Table 4.5 顯示，猿尾藤甲醇粗抽物(Hb-M)及乙酸乙酯萃取層(Hb-E)在 10-100  $\mu\text{g/ml}$ ，正丁醇萃取層(Hb-B)在 30-100  $\mu\text{g/ml}$ ，正己烷(Hb-H)及氯仿萃取層(Hb-C)在 3-30  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 fMLP 誘發

中性白血球的去顆粒作用所釋出 $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 有顯著抑制作用( $p < 0.01$ )。

Table 4.6 顯示，猿尾藤莖部(Hbh-M)及莖皮(Hbb-M)之甲醇粗抽物，分別在 3-30  $\mu\text{g/ml}$  及 3-100  $\mu\text{g/ml}$  之濃度時，對 fMLP 誘發中性白血球的去顆粒作用所釋出 $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 有顯著抑制作用( $p < 0.01$ )。

Table 4.3 The inhibitory activity of the methanolic extract and fractions of *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ. against the release of  $\beta$ -glucuronidase and histamine on mast cell degranulation (in vitro) induced by compound 48/80.

Drugs	( $\mu$ g/ml)	Percent Release			
		$\beta$ -Glucuronidase	(%inh)	Histamine	(%inh)
Control		49.4 $\pm$ 0.3	--	67.3 $\pm$ 1.8	--
Hb-M	(30)	46.8 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.8	62.6 $\pm$ 2.4	6.9 $\pm$ 2.2
	(100)	45.2 $\pm$ 1.2 <sup>*</sup>	8.5 $\pm$ 1.9	60.7 $\pm$ 2.3	9.6 $\pm$ 1.7
Hb-H	(10)	46.0 $\pm$ 0.6 <sup>*</sup>	6.7 $\pm$ 1.4	66.9 $\pm$ 3.1	0.5 $\pm$ 4.1
	(30)	35.4 $\pm$ 1.4 <sup>**</sup>	28.3 $\pm$ 3.3	63.6 $\pm$ 3.2	5.4 $\pm$ 3.1
Hb-C	(10)	50.1 $\pm$ 1.4	-1.3 $\pm$ 2.3	67.1 $\pm$ 2.0	0.1 $\pm$ 3.5
	(30)	49.8 $\pm$ 1.8	-0.8 $\pm$ 3.4	64.3 $\pm$ 3.4	4.3 $\pm$ 5.7
Hb-E	(10)	46.0 $\pm$ 1.8	6.7 $\pm$ 3.6	60.1 $\pm$ 5.6	10.9 $\pm$ 6.1
	(30)	42.1 $\pm$ 2.0 <sup>**</sup>	14.8 $\pm$ 4.2	48.4 $\pm$ 8.2 <sup>*</sup>	28.6 $\pm$ 10.6
Hb-B	(10)	47.1 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 1.1	61.3 $\pm$ 3.4	9.0 $\pm$ 3.1
	(30)	42.6 $\pm$ 1.0 <sup>**</sup>	13.6 $\pm$ 2.5	52.6 $\pm$ 5.8 <sup>*</sup>	22.1 $\pm$ 6.9
	(100)	23.3 $\pm$ 2.7 <sup>**</sup>	52.8 $\pm$ 5.7	24.8 $\pm$ 8.5 <sup>**</sup>	63.8 $\pm$ 11.9
IC <sub>50</sub>		97.4 $\pm$ 11.5		82.3 $\pm$ 16.3	
Hb-W	(10)	49.6 $\pm$ 0.5	-0.6 $\pm$ 0.9	61.1 $\pm$ 1.2	9.1 $\pm$ 0.6
	(30)	39.8 $\pm$ 3.3 <sup>**</sup>	19.3 $\pm$ 6.6	50.1 $\pm$ 4.2 <sup>*</sup>	25.5 $\pm$ 5.3
	(100)	7.7 $\pm$ 3.0 <sup>**</sup>	84.4 $\pm$ 6.0	4.6 $\pm$ 1.7 <sup>**</sup>	93.2 $\pm$ 2.5
IC <sub>50</sub>		63.6 $\pm$ 4.7		54.5 $\pm$ 2.8	

M: Methanol

H: Hexane

C: Chloroform

E: Ethyl acetate

B: Butanol

W: Water

1. Data are presented as mean  $\pm$  S.D. (n=3)

2. Inducer: compound 48/80 (10 $\mu$ g/ml)

3. <sup>\*</sup> P<0.05, <sup>\*\*</sup> P<0.01

Table 4.4 The inhibitory activity of the methanolic extract and fractions of *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ. against the release of  $\beta$ -glucuronidase and histamine on mast cell degranulation (in vitro) induced by compound 48/80.

Drugs	( $\mu$ g/ml)	Percent Release			
		$\beta$ -Glucuronidase	(%inh)	Histamine	(%inh)
Control		49.4 $\pm$ 0.3	--	67.3 $\pm$ 1.8	--
Hbb-M	(30)	48.9 $\pm$ 0.8	0.9 $\pm$ 2.3	57.2 $\pm$ 4.0	15.1 $\pm$ 3.7
	(100)	34.7 $\pm$ 5.0 <sup>**</sup>	29.7 $\pm$ 10.6	39.6 $\pm$ 10.8 <sup>**</sup>	41.9 $\pm$ 14.7
Hbh-M	(30)	45.9 $\pm$ 1.9 <sup>*</sup>	6.8 $\pm$ 4.6	61.0 $\pm$ 1.1	9.1 $\pm$ 2.3
	(100)	29.6 $\pm$ 3.3 <sup>**</sup>	39.9 $\pm$ 6.9	40.0 $\pm$ 4.9 <sup>**</sup>	40.8 $\pm$ 5.8
Mepacrine	(10 $\mu$ M)	33.6 $\pm$ 0.7 <sup>**</sup>	31.9 $\pm$ 2.1	50.7 $\pm$ 3.0 <sup>*</sup>	24.6 $\pm$ 4.1
	(30 $\mu$ M)	20.8 $\pm$ 1.3 <sup>**</sup>	57.8 $\pm$ 2.9	38.1 $\pm$ 3.7 <sup>**</sup>	43.5 $\pm$ 4.2
	(100 $\mu$ M)	6.9 $\pm$ 1.0 <sup>**</sup>	86.0 $\pm$ 2.1	14.7 $\pm$ 1.3 <sup>**</sup>	78.2 $\pm$ 1.4
IC <sub>50</sub>		32.2 $\pm$ 3.6 $\mu$ M		48.5 $\pm$ 3.8 $\mu$ M	

M: Methanol

Hbb-M: methanol extract of bark

Hbh-M: methanol extract of heart wood

1. Data are presented as mean  $\pm$  S.D. (n=3)

2. Inducer: compound 48/80 (10 $\mu$ g/ml)

3. \* P<0.05, \*\* P<0.01

4. Mepacrine: positive control

Table 4.5 The inhibitory activity of the methanolic extract and fractions of *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ. against the release of  $\beta$ -glucuronidase and histamine on mast cell degranulation (in vitro) induced by fMLP.

Drugs	( $\mu$ g/ml)	Percent Release			
		$\beta$ -Glucuronidase	(%inh)	Lysozyme	(%inh)
Control		49.9 $\pm$ 1.5	--	33.2 $\pm$ 0.8	--
Hb-M	(10)	36.5 $\pm$ 3.6 <sup>**</sup>	27.1 $\pm$ 5.7	26.7 $\pm$ 2.2 <sup>**</sup>	19.6 $\pm$ 6.1
	(30)	30.2 $\pm$ 1.3 <sup>**</sup>	39.6 $\pm$ 1.1	21.8 $\pm$ 2.3 <sup>**</sup>	34.2 $\pm$ 7.5
	(100)	16.5 $\pm$ 1.6 <sup>**</sup>	66.9 $\pm$ 3.5	10.9 $\pm$ 2.5 <sup>**</sup>	66.9 $\pm$ 7.7
IC <sub>50</sub>			58.3 $\pm$ 6.6		66.4 $\pm$ 14.7
Hb-H	(3)	34.4 $\pm$ 2.4 <sup>**</sup>	31.1 $\pm$ 3.8	24.1 $\pm$ 1.4 <sup>**</sup>	27.4 $\pm$ 4.9
	(10)	22.9 $\pm$ 0.8 <sup>**</sup>	54.1 $\pm$ 1.6	20.5 $\pm$ 2.1 <sup>**</sup>	38.1 $\pm$ 7.2
	(100)	-1.2 $\pm$ 1.4 <sup>**</sup>	102.4 $\pm$ 2.9	4.9 $\pm$ 3.0 <sup>**</sup>	84.9 $\pm$ 9.4
IC <sub>50</sub>			19.5 $\pm$ 1.4		39.1 $\pm$ 12.6
Hb-C	(3)	36.2 $\pm$ 2.3 <sup>**</sup>	27.4 $\pm$ 3.0	23.1 $\pm$ 1.2 <sup>**</sup>	30.4 $\pm$ 2.1
	(10)	29.2 $\pm$ 2.3 <sup>**</sup>	41.5 $\pm$ 3.9	15.9 $\pm$ 1.2 <sup>**</sup>	52.1 $\pm$ 3.7
	(30)	5.3 $\pm$ 1.7 <sup>**</sup>	89.5 $\pm$ 3.5	-0.2 $\pm$ 4.0 <sup>**</sup>	-100.4 $\pm$ 12.3
IC <sub>50</sub>			13.1 $\pm$ 1.4		10.6 $\pm$ 1.9
Hb-E	(10)	37.1 $\pm$ 2.1 <sup>**</sup>	25.7 $\pm$ 3.8	24.7 $\pm$ 1.5 <sup>**</sup>	25.9 $\pm$ 2.8
	(30)	27.5 $\pm$ 2.0 <sup>**</sup>	44.9 $\pm$ 2.8	20.7 $\pm$ 0.9 <sup>**</sup>	37.7 $\pm$ 1.1
	(100)	16.5 $\pm$ 1.8 <sup>**</sup>	66.9 $\pm$ 3.3	9.4 $\pm$ 2.1 <sup>**</sup>	71.8 $\pm$ 5.8
IC <sub>50</sub>			17.1 $\pm$ 2.0		17.5 $\pm$ 1.9
Hb-B	(10)	45.1 $\pm$ 2.5	9.6 $\pm$ 2.2	33.3 $\pm$ 3.4	0.08 $\pm$ 7.8
	(30)	19.8 $\pm$ 1.9 <sup>**</sup>	60.4 $\pm$ 2.5	8.1 $\pm$ 0.8 <sup>**</sup>	75.5 $\pm$ 3.0
	(100)	1.6 $\pm$ 0.4 <sup>**</sup>	96.8 $\pm$ 0.9	-5.4 $\pm$ 1.1 <sup>**</sup>	116.3 $\pm$ 3.0
IC <sub>50</sub>			41.1 $\pm$ 1.4		36.4 $\pm$ 2.0

1.Data are presented as mean  $\pm$  S.D. (n=3)

2.Inducer: 1 $\mu$ M fMLP / 5  $\mu$ g/ml cytochalasin B

3. \* P<0.05, \*\* P<0.01

Table 4.6 The inhibitory activity of the methanolic extract and fractions of *Hiptage benghalensis* (L.) KURZ. against the release of  $\beta$ -glucuronidase and lysozyme on neutrophil degranulation (in vitro) induced by fMLP.

Drugs	( $\mu$ g/ml)	Percent Release			
		$\beta$ -Glucuronidase	(%inh)	Lysozyme	(%inh)
Control		49.9 $\pm$ 1.5	--	33.2 $\pm$ 0.8	--
Hbb-M	(3)	39.2 $\pm$ 3.3 <sup>**</sup>	21.6 $\pm$ 4.3	26.9 $\pm$ 1.1 <sup>**</sup>	19.0 $\pm$ 1.9
	(30)	21.7 $\pm$ 1.6 <sup>**</sup>	56.4 $\pm$ 2.6	1.2 $\pm$ 0.8 <sup>**</sup>	96.1 $\pm$ 2.5
	(100)	-0.3 $\pm$ 1.1 <sup>**</sup>	100.7 $\pm$ 2.3	-4.9 $\pm$ 1.6 <sup>**</sup>	115.2 $\pm$ 5.3
IC <sub>50</sub>			28.4 $\pm$ 4.6		14.7 $\pm$ 0.7
HbH-M	(3)	35.6 $\pm$ 3.3 <sup>**</sup>	28.9 $\pm$ 4.3	23.6 $\pm$ 2.8 <sup>**</sup>	28.9 $\pm$ 8.3
	(10)	28.0 $\pm$ 3.8 <sup>**</sup>	44.2 $\pm$ 5.8	14.8 $\pm$ 3.0 <sup>**</sup>	55.4 $\pm$ 9.5
	(30)	4.1 $\pm$ 1.9 <sup>**</sup>	91.9 $\pm$ 3.6	-2.7 $\pm$ 1.9 <sup>**</sup>	108.3 $\pm$ 6.1
IC <sub>50</sub>			12.1 $\pm$ 1.9		9.2 $\pm$ 2.8
TFP	(3 $\mu$ M)	56.9 $\pm$ 4.1	-14.6 $\pm$ 12.7	39.1 $\pm$ 4.0	-17.6 $\pm$ 11.5
	(10 $\mu$ M)	38.9 $\pm$ 4.1 <sup>**</sup>	21.3 $\pm$ 11.4	27.3 $\pm$ 1.9	17.5 $\pm$ 3.1
	(30 $\mu$ M)	5.9 $\pm$ 1.3 <sup>**</sup>	87.8 $\pm$ 3.4	0.8 $\pm$ 1.6 <sup>**</sup>	97.3 $\pm$ 4.9
IC <sub>50</sub>			18.9 $\pm$ 2.1 $\mu$ M		18.3 $\pm$ 0.9 $\mu$ M

M: Methanol

Hbb-M: methanol extract of bark

HbH-M: methanol extract of heart wood

1. Data are presented as mean  $\pm$  S.D. (n=3)

2. Inducer: 1 $\mu$ M fMLP / 5 $\mu$ M/ml cytochalasin B

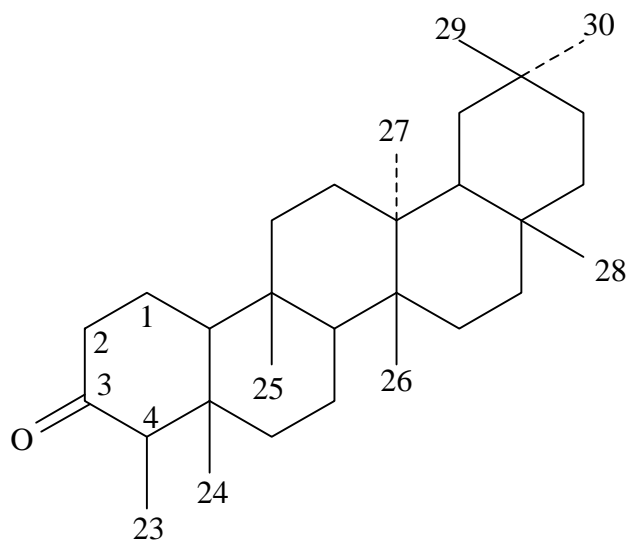
3. \* P<0.05, \*\* P<0.01

4. TFP: Trifluoperazine (positive control)

## 第五章 討論

### 第一節 猿尾藤之成分鑑定

#### 一、化合物 H-1



friedelin

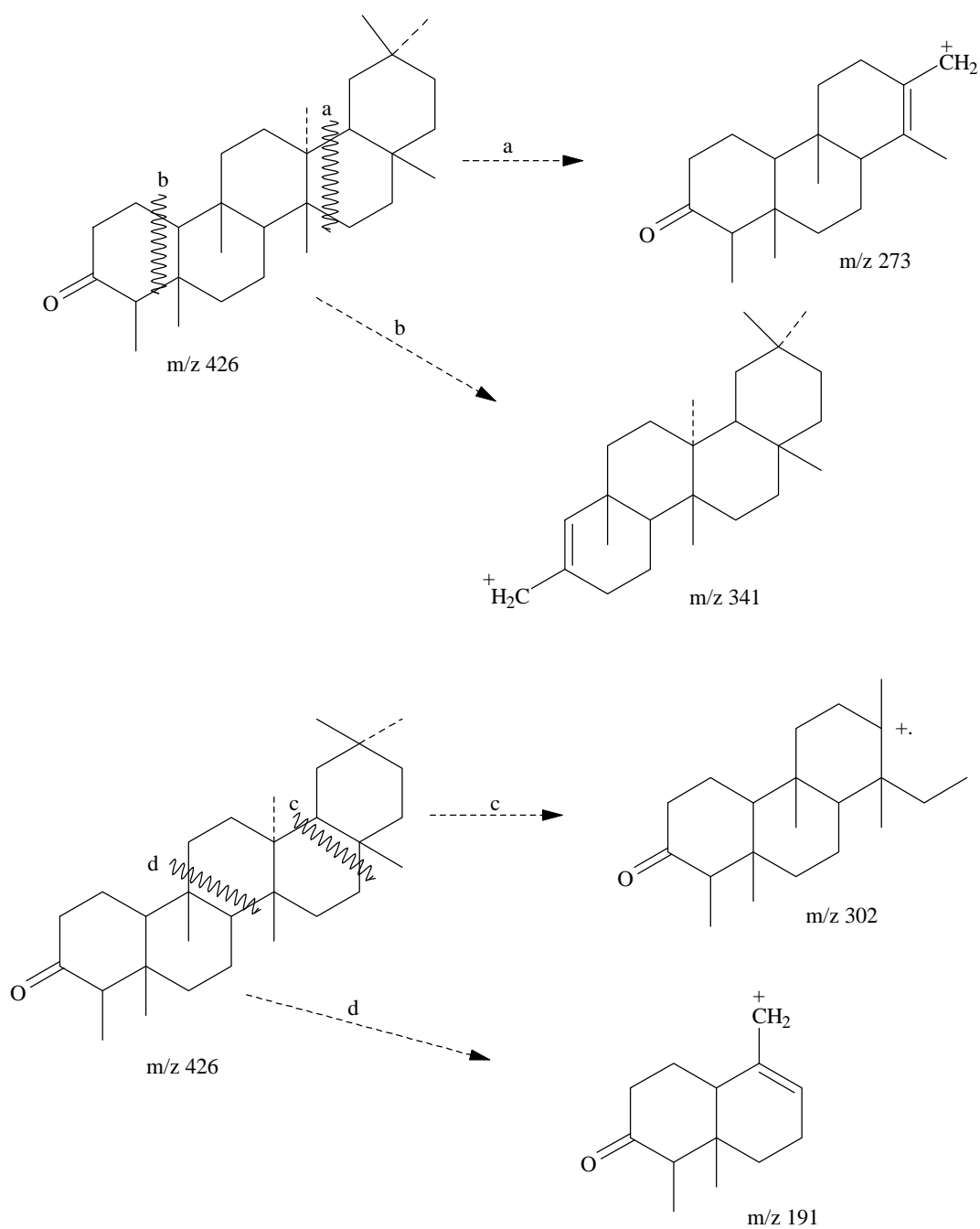
化合物 H-1 經氯仿及正己烷再結晶後得白色針狀結晶，熔點 247-252 。TLC 片經溶媒(chloroform:n-hexane=1:2)展開後 R<sub>f</sub> 值為 0.6，噴 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 加熱後呈紫色。對 Liebermann-Büchard 試劑呈陽性反應(由紅色轉成紫色最後轉成褐黃色)，故初步推定化合物 H-1 為植物固醇或三萜類化合物。

紅外光光譜 (Chart 1) 顯示，在 1713cm<sup>-1</sup> 有 C=O 官能基的吸收峰，也有一般三萜類含有的吸收峰(1459, 1389, 1266, 1104, 803 cm<sup>-1</sup>)，



無不飽和 C-H 伸縮振動的吸收。

由 EI-MS 圖譜 (Chart 2) 顯示  $m/z$  426  $[M^+]$  為分子離子峰，即分子量為 426。由碎片  $m/z$  411, 341, 302, 273, 246, 205, 191 的斷裂式如下，推測化合物可能為 friedelin<sup>(25,26)</sup>。



$^1\text{H-NMR}$  圖譜 ( Chart 3 ) 顯示 0.73 (3H, s, H-24)、0.86 (3H, s, H-25)、0.89 (3H, d,  $J=6.6\text{Hz}$  H-23)、0.95 (3H, s, H-29)、1.00 (6H, s, H-26, 30)、1.05 (3H, s, H-27)、1.18 (3H, s, H-28) 有八個甲基吸收訊號, 八個甲基分別為 C-24、C-25、C-23、C-29、C-30、C-26、C-27、C-28 的甲基訊號, 配合 EI-MS 質譜的斷裂方式, 推測應為 friedelin 類化合物 (27-29)。

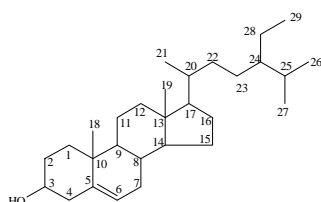
$^{13}\text{C-NMR}$  圖譜 ( Chart 4 ) 顯示其共有三十個碳原子吸收訊號, 其中  $\delta$  213.0 為 C=O 基之吸收訊號 另外有八個碳原子訊號是屬於  $\text{CH}_3$ , 分別為  $\delta$ 34.9 (C-30)、32.0 (C-28)、31.7 (C-29)、20.2 (C-26)、18.6 (C-27)、17.9 (C-25)、14.1 (C-24)、6.7 (C-23)。有十一個碳原子訊號屬於  $\text{CH}_2$ , 分別為  $\delta$ 18.1 (C-7)、22.2 (C-1)、30.4 (C-12)、32.3 (C-21)、32.7 (C-15)、35.2 (C-19)、35.5 (C-11)、35.9 (C-16)、39.2 (C-22)、41.2 (C-6)、41.4 (C-2)。有四個碳原子屬於 CH, 分別為  $\delta$  59.4 (C-10)、58.1 (C-4)、53.0 (C-8)、42.7 (C-18)。其餘的六個碳原子訊號屬於四級碳, 在最低磁場出現的  $\delta$  213.2 是來自於 C-3 的 C=O, 剩下的訊號分別為  $\delta$ 28.0 (C-20)、29.8 (C-17)、37.2 (C-9)、38.1 (C-14)、39.4 (C-13)、41.9 (C-5)。

Table 5.1 化合物 H-1 碳譜數據與文獻<sup>(27-29)</sup>碳譜數據比對表

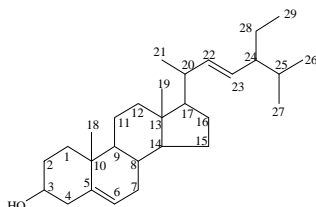
No. of C	$\delta_c$ of H-1	$\delta_c$ of literature data
C-1	22.0	22.3
C-2	41.3	41.5
C-3	213.1	213.2
C-4	58.0	58.2
C-5	41.9	42.3
C-6	41.0	41.3
C-7	18.0	18.2
C-8	52.9	53.1
C-9	37.2	37.4
C-10	59.2	59.5
C-11	35.4	35.6
C-12	30.3	30.5
C-13	39.4	39.7
C-14	38.1	38.3
C-15	32.5	32.8
C-16	35.8	36.0
C-17	29.8	29.9
C-18	42.5	42.8
C-19	35.1	35.3
C-20	28.0	28.2
C-21	32.2	32.4
C-22	39.0	39.2
C-23	6.6	6.8
C-24	14.4	14.7
C-25	17.7	17.9
C-26	20.0	20.3
C-27	18.4	18.7
C-28	31.9	32.1
C-29	31.5	31.8
C-30	34.8	35.0

綜合以上光譜資料與文獻<sup>(27-29)</sup>比對，推定此化合物為 Friedelin。

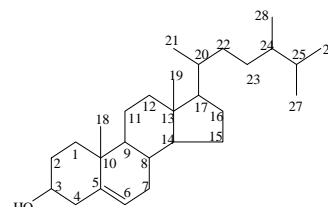
## 二、化合物 H-2



â-sitosterol



stigmasterol



campesterol

化合物 H-2 為白色片狀結晶，熔點 161-163 。其 TLC 片經溶媒 (n-hexane:ethyl acetate=2:1) 展開後 Rf 值為 0.5, 噴 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 加熱後呈紫紅色。對 Liebermann-Bürchard 試劑呈陽性反應(紫紅色轉藍紫色), 故初步推測化合物為植物固醇。

紅外光光譜 (Chart 6) 顯示, 在 3200-3600cm<sup>-1</sup>(br) 為 -OH group 的吸收帶, 2955 cm<sup>-1</sup> 為 CH<sub>2</sub> 的特性吸收帶, 1466 cm<sup>-1</sup> 為 -CH<sub>2</sub> 的特性吸收帶, 1373 cm<sup>-1</sup> 是 -CH<sub>3</sub> 的吸收帶, 1057 cm<sup>-1</sup> 有 C-O 基伸縮振動的吸收訊號。

由 EI-MS 圖譜 (Chart 7) 顯示其 m/z 414(39) [M<sup>+</sup>] 為主要的分子離子峰, 412 (5) 及 400 (6) 為次要化合物之分子離子峰, 即分量為 414、412、400, 故推測化合物 H-2 可能為 â-sitosterol、stigmasterol、campesterol 的混合物。

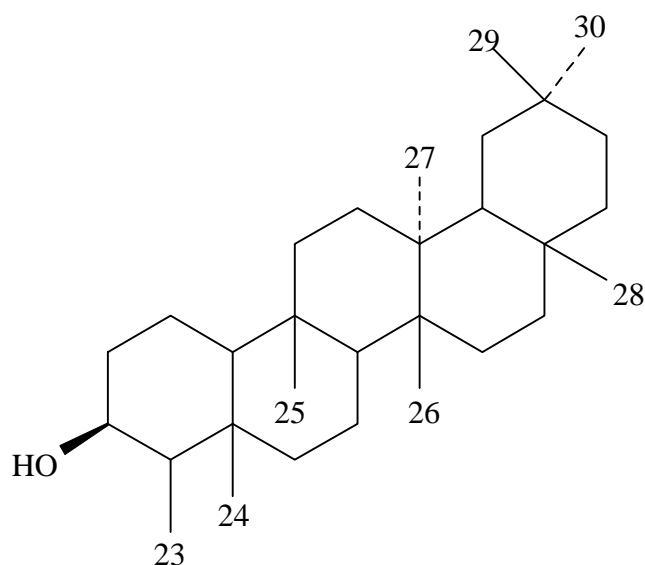
$^1\text{H-NMR}$  圖譜 (Chart 8) 顯示在 $\delta$  5.36 (1H, d)為雙鍵上 H-6 之質子訊號;  $\delta$  4.90~5.34 為支鏈雙鍵 H-22, H-23 之質子訊號;  $\delta$  3.53 (1H, m)為 C-3 連接-OH 之次甲基的質子訊號;  $\delta$  0.75~2.30 (m)為植物固醇特有訊號。

$^{13}\text{C-NMR}$  圖譜 (Chart 9) 顯示 $\delta$  140.5、121.5 別為環上雙鍵 C-5 及 C-6 之碳原子訊號;  $\delta$  138.1 及 129.0 則為支鏈雙鍵 C-22 及 C-23 之碳原子訊號,  $\delta$  71.56 為帶有-OH 基的 C-3 之碳原子訊號。

DEPT 圖譜 (Chart 10)顯示 $\delta$  19.7, 19.3, 18.9, 18.7, 11.9, 11.8 為  $\text{CH}_3$  之碳原子訊號;  $\delta$  42.2, 39.7, 37.2, 33.8, 31.6, 29.0, 28.2, 25.9, 24.2, 23.0, 21.0 為  $\text{CH}_2$  之碳原子訊號;  $\delta$  138.2, 121.6, 71.7, 56.7, 55.9, 50.6, 45.7, 36.1, 31.8, 28.9 為 CH 之碳原子訊號。

綜合以上光譜資料與文獻<sup>(30-36)</sup>比對, 推定此化合物為  $\beta$ -sitosterol、Stigmasterol 及 campesterol 混合物。

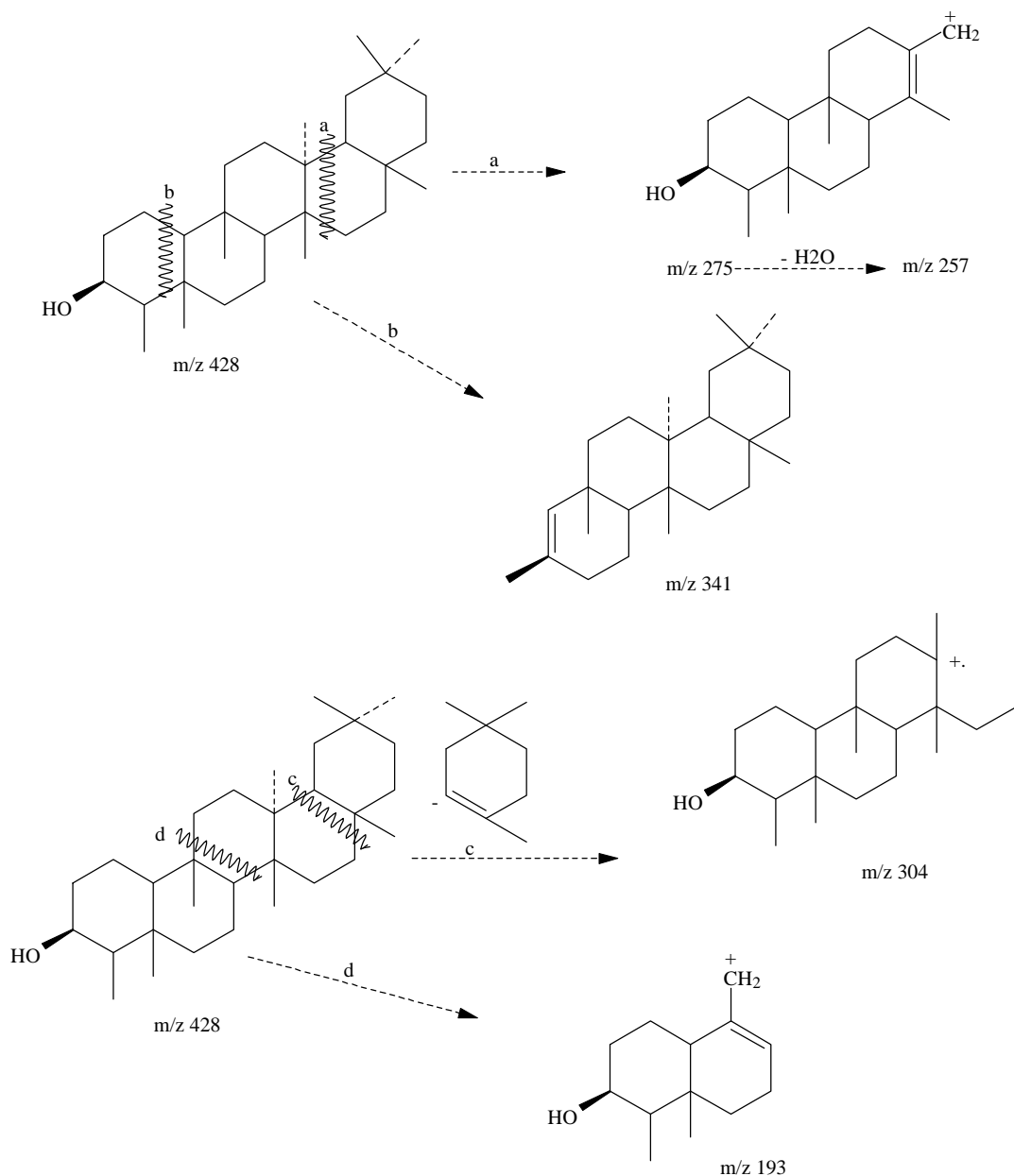
### 三、化合物 H-3



Friedelinol

化合物 H-3 以甲醇、氯仿再結晶得白色片狀結晶，270-273 其 TLC 片經溶媒(Choloroform)展開後呈紫色。對 Liebermann-Büchard 試劑呈陽性反應(紅色轉成褐色)，初步推測化合物為植物固醇或三類化合物。

由 EI-MS(Chart 11)圖譜顯示  $m/z$  428( $M^+$ )為子離子峰，即分子量為 428。其碎片離子峰在  $m/z$  413( $M^+$ )、395( $M^+-15-18$ )、304、275、257、207、165，推測此化合物 H-3 可能為 3-epi-friedelinol<sup>(25,26)</sup>，其質譜的斷裂方式推測如下：



由 <sup>1</sup>H-NMR 圖譜(Chart 12)可看出在高磁場部分 ä 0.86(3H,s) 0.92 (3H,s)、0.96(3H,s)、0.97(3H,s)、1.00(6H,s)、1.05(3H,s)、1.17(3H,s) 有八個甲基的訊號 , ä3.73(3H, m, H-3)為-OH 質子的訊號。

<sup>13</sup>C-NMR 圖譜(Chart 13)顯示共有三十碳原子訊號。有八個碳原子訊號屬於 CH<sub>3</sub> , 分別為 ä 11.6(C-23)、16.4(C-24)、18.2(C-25)、18.6(C-26)、20.1 (C-27)、31.7(C-29)、32.0(C-28)、35.0(C-30)。有十

一個碳原子訊號屬於  $\text{CH}_2$ ，分別為  $\delta$  15.7(C-1)、17.6(C-7)、30.6(C-12)、32.3 (C-15)、32.7(C-21)、35.3(C-19)、35.4(C-2)、35.5(C-19)、35.9(C-16)、39.2(C-22)、41.6(C-6)。有五個碳原子訊號屬於  $\text{CH}$ ，其中在最低磁場  $\delta$  72.7 是來自 C-3，其它的訊號分別為  $\delta$  42.7(C-18)、49.1(C-4)、53.1(C-8)、61.3(C-10)。四級碳原子訊號分別為  $\delta$  39.7(C-13)、38.3(C-14)、37.8(C-5)、37.0(C-9)、30.0(C-17)、28.1(C-20)。將本化合物的碳譜數據與文獻<sup>(37-39)</sup>上 3-epi-friedelinol 的碳譜數據做比較如 Table 5.3 所示。

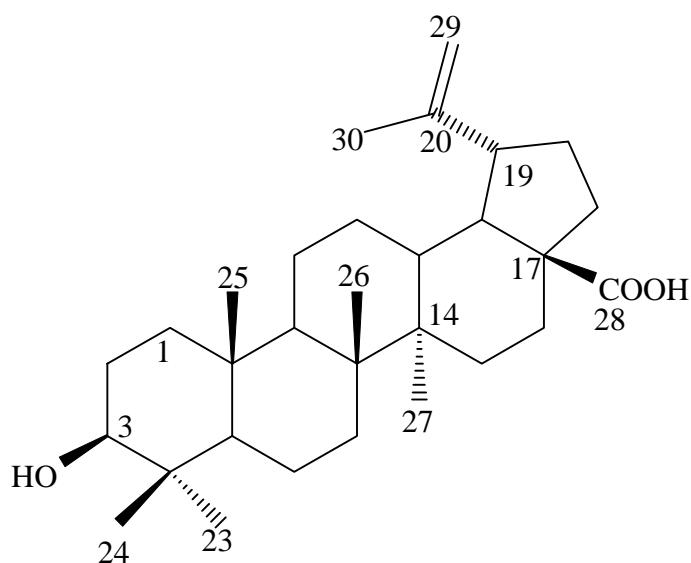


Table 5.2 化合物 H-3 碳譜數據與文獻<sup>(37-39)</sup>碳譜數據比對表

No. of C	$\delta_c$ of H-3	$\delta_c$ of literature data
C-1	15.7	15.8
C-2	35.3	35.2
C-3	72.7	72.8
C-4	49.1	49.2
C-5	37.8	37.8
C-6	41.7	41.7
C-7	17.5	17.6
C-8	53.1	53.2
C-9	37.0	37.1
C-10	61.3	61.4
C-11	36.0	35.6
C-12	30.6	30.6
C-13	39.7	39.7
C-14	38.3	38.3
C-15	32.3	32.3
C-16	36.0	36.1
C-17	30.0	30.0
C-18	42.7	42.8
C-19	35.3	35.4
C-20	28.1	28.2
C-21	32.7	32.8
C-22	39.2	39.3
C-23	11.6	11.6
C-24	16.4	16.4
C-25	18.2	18.2
C-26	18.6	18.6
C-27	20.1	20.1
C-28	32.0	32.1
C-29	31.7	31.8
C-30	35.0	35.0

綜合以上光譜資料與文獻<sup>(37-39)</sup>比對，推定此化合物為 friedelinol。

#### 四、化合物 C-1

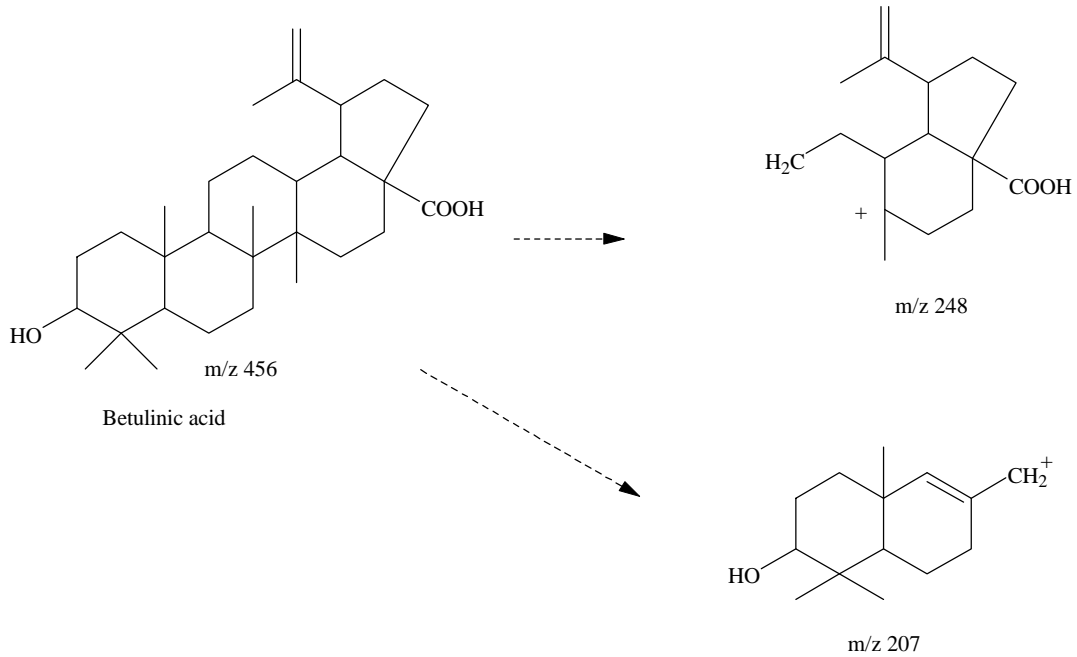


betulinic acid

化合物 C-1 於氯仿層中得到，為白色片狀結晶，以氯仿-甲醇再結晶，溶點 283~285 °C，可溶於 Pyridine，其 TLC 片以氯仿：乙酸乙酯 = 7：1 展開後， $R_f$  值為 0.5，噴 vanillin/硫酸乙醇溶液，加熱後呈色變化為紅色 紫紅色 褐色，推測可能為三類化合物。

IR 圖譜 (Chart 15) 顯示  $\nu_{\max}^{KBr}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 在 3280 (br.)  $\text{cm}^{-1}$  為 OH 的特性吸收帶，2932  $\text{cm}^{-1}$  為  $\text{CH}_2$  的特性吸收帶，1713  $\text{cm}^{-1}$  為  $\text{C} = \text{O}$  的特性吸收帶，1458  $\text{cm}^{-1}$  為  $\text{CH}_2$  的特性吸收帶，1373  $\text{cm}^{-1}$  為  $\text{CH}_3$  的特性吸收帶。

MS 圖譜 (Chart 16)  $M^+$  ( $m/z$ ) 顯示分子量為 456，推測分子式為  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ 。其他斷裂碎片如下：



$^1\text{H-NMR}$  圖譜 (Chart 17) 顯示 0.82、1.02、1.04、1.09、1.20、1.89 (s) 分別為六個四級碳上甲基之質子訊號； 4.75、4.91 (2H, br. s), 為雙鍵上 H-29 之質子訊號； 3.49 (1H, m) 為 C-3 連接-OH 之次甲基的質子訊號。

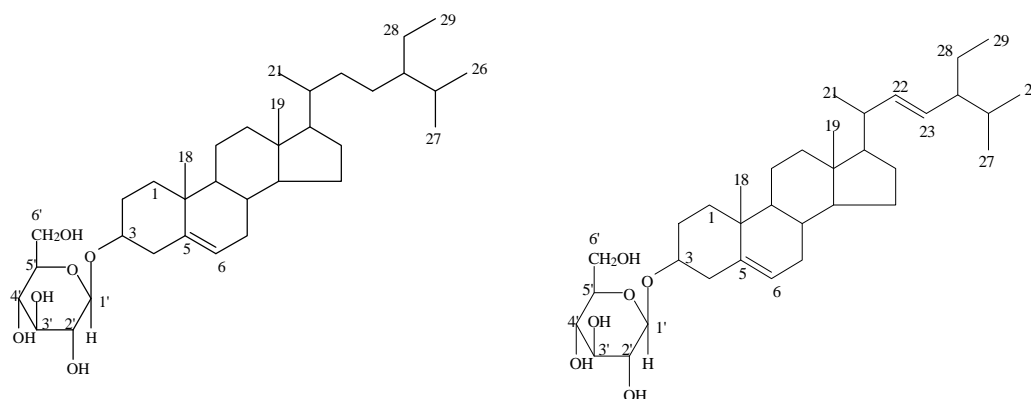
$^{13}\text{C-NMR}$  圖譜 (chart 18) 顯示 150.8、109.5 分別為外環雙鍵 C-20、C-29 之碳原子訊號； 77.6 為接-OH 基 C-3 之碳原子訊號。 178.4 為 COOH 上 C-28 之碳原子訊號。

Table 5.3 化合物 C-1 碳譜數據與文獻<sup>(41)</sup>碳譜數據比對表

No. of C	$\delta_c$ of C-1	$\delta_c$ of literature data
C-1	38.8	39.3
C-2	27.7	28.3
C-3	77.7	78.1
C-4	39.0	39.5
C-5	55.4	55.9
C-6	18.3	18.8
C-7	34.3	34.8
C-8	40.6	41.1
C-9	50.5	50.9
C-10	37.0	37.5
C-11	20.7	21.2
C-12	25.6	26.1
C-13	38.1	38.6
C-14	42.4	42.8
C-15	30.7	31.2
C-16	32.4	32.9
C-17	56.1	56.6
C-18	47.3	47.8
C-19	49.3	49.8
C-20	150.8	151.3
C-21	29.8	30.2
C-22	37.0	37.6
C-23	28.2	28.6
C-24	15.9	16.3
C-25	15.9	16.4
C-26	15.9	16.4
C-27	14.4	14.9
C-28	178.4	178.9
C-29	109.5	109.9
C-30	19.0	19.4

綜合以上光譜資料與文獻<sup>(41)</sup>比對，推定此化合物為 betulinic acid。

## 五、化合物 C-2



$\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside 及 stigmasterol-3-O- $\beta$ -glucoside

化合物 H-4 以氯仿-甲醇再結晶，得到白色顆粒狀結晶，熔點 290-293 。其 TLC 片經溶媒( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=7:1$ )展開後  $R_f$  值為 0.55，噴 10 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$  加熱後呈紫色。對 Libermann-Bürchard 試劑呈陽性反應(紫紅色轉藍色)，故初步推測化合物為植物固醇。

紅外光光譜(Chart 20)顯示，在  $3418\text{cm}^{-1}$ -OH 基的吸收帶很強， $1466$ 、 $1373\text{cm}^{-1}$  有  $\text{CH}_2$ 、及  $\text{CH}_3$  變角動量的吸收， $1077$  及  $1026\text{cm}^{-1}$  有 C-O-C 基伸縮振動的吸收訊號。

FAB-MS 圖譜(Chart 21)有  $m/z$  599 $[\text{M}+\text{Na}]^+$  分子離子峰，所以分子量為 576。故推測化合物可能為  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside 及 stigmasterol-3-O- $\beta$ -glucoside 的混合物。

氫譜(Chart 22)顯示  $\delta$  5.32(1H, br)是 C-6 上之烯基氫的吸收訊號；H-22 H-23 的吸收訊號在  $\delta$ 5.00-5.30(m)的多重峰中； $\delta$ 3.95-4.53(m) 為糖基上質子的吸收訊號。

碳譜(Char 23)顯示在  $\delta$  140.5、121.4 及 131.0、128.8 的訊號是雙鍵 C-5、C-6 及 C-22、C-23 之吸收； $\delta$ 102.1、78.0、77.7、74.8、71.2、62.4 分別為葡萄糖上 C-1'、C-3'、C-5'、C-2'、C-4'、C-6' 的吸收訊號，經與文獻<sup>(41-43)</sup>比對得知為  $\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside 及 stigmasterol-3-O- $\beta$ -glucoside 的混合物。

## 第二節 猿尾藤之藥理活性實驗討論

### 一、MTS 細胞毒殺活性測試

Table 4.1 顯示猿尾藤莖皮之甲醇抽出物及各種有機溶媒萃取層中,對NUGC及HONE-1兩種癌細胞皆無明顯抑制作用(sample conc. : 50 $\mu$ g/ml),水層沈澱物則對NUGC有明顯活性。

Table 4.2 結果顯示化合物 friedelin、friedelinol 及 betulinic acid 對 HONE-1 及 NUGC-3 兩種癌細胞皆無抑制作用。此部分實驗為委託國家衛生研究院代為進行 MTS 細胞毒殺活性測試

### 二、對發炎及抗過敏活性之作用

#### 1. 對肥大細胞去顆粒作用試驗

猿尾藤莖皮部(Hb-M)甲醇粗抽物及各種有機溶媒層萃取層中,除了氯仿層(Hb-C)外,其它有機溶媒萃取層在肥大細胞去顆粒作用試驗中,乙酸乙酯萃取層(Hb-E)在 30  $\mu$ g/ml,正丁醇層(Hb-B)及水萃取層(Hb-W)在 30-100  $\mu$ g/ml 之濃度時,猿尾藤莖部(Hbh-M)及莖皮(Hbb-M)之甲醇粗抽物在 100  $\mu$ g/ml 之濃度時,對於由 compound 48/80 所引發之 $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放有抑制作用。

#### 2. 對嗜中性白血球去顆粒作用試驗

猿尾藤之甲醇粗抽物,經各種有機溶媒萃取後,其正己烷層(Hb-H)、氯仿層(Hb-C)、乙酸乙酯層(Hb-E)及正己烷層(Hb-B)在中性

白血球去顆粒作用中，對於由 fMLP 所引發之 $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放有明顯之抑制作用。

猿尾藤莖部(Hbh-M) 及莖皮部(Hbb-M)甲醇粗抽物，在中性白血球去顆粒作用中對於由 fMLP 所引發之 $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放有明顯抑制作用。

Drugs 之最高濃度若小於 100 $\mu$ g/ml 者，皆為於高濃度會影響 assay。此部分實驗為委託台中榮總教研部王繼平老師，進行抗發炎及抗過敏活性之實驗。



## 第六章 結論

本實驗由猿尾藤(*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ.) 甲醇萃取物之正己烷、氯仿層中得到 2 個混合物，3 個純化合物：

1. Triterpene:

friedelin (H-1)

3-epi-friedelinol (H-3)

betulinic acid (C-1)

2. Steroid:

phytosterol ( $\beta$ -sitosterol、stigmasterol、campesterol) (H-2)

$\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -glucoside 及 stigmasterol-3-O- $\beta$ -glucoside (C-2)

上述化合物中 betulinic acid 為第一次由本植物中分離得的成分。

在藥理活性篩選方面，猿尾藤甲醇粗抽物及分離出的化合物，在 MTS 細胞毒殺活性試驗不具抗癌活性，但是在抗發炎及抗過敏活性試驗方面，則顯示具有相當不錯的抗發炎及抗過敏活性，本植物還含有其他有效成分尚待進一步評估討論。

綜合上列所述，台灣民間常用猿尾藤(*Hiptage benghalensis* (L.) KURZ.) 治久傷痠痛、骨折疼痛、接骨復原、風濕疼痛，在藥理活性篩選結果顯示，本植物確實有其效用。本研究所分離出成分之藥理活性，則有待進一步之探討與確認。

## 參考文獻

1. 邱年永 張光雄:原色臺灣藥用植物圖鑑(1),南天書局,台北 1998 ; p.115。
2. 黃增泉:植物分類學,國立編譯館,台北 1993; pp.379-380。
3. Editorial Committee of the Flora of Taiwan, Second Edition. Volumn Three. Editor-in-Chief: Huang TS. Tah Jinn Printing Company, Ltd. Taiwan 1998; pp.661-664.
4. Sebastian MK, Bhandari MM. Medico-ethno botany of Mount Abu, Rajasthan, India. J Ethnopharmacol 1984; 12 (2): 223-230.
5. Reddy MB, Reddy KR, Reddy MN. A survey of medical plants of Chenchu tribes of *Andhra Pradesh*. Journal of Crude Drug Research 1988; 26 (4): 189-196.
6. Bhakuni DS, Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Gupta B, Srimali Rc. Screening of Indian plants for biological activity. Part III. India J Exp Boil. 1971 ; 9 (1): 91-102.
7. Finnegan RA, Stephani RA, Ganguli G, Ganguly SN, Bhattacharya AK. Occurrence of mangiferin in *Hiptage madablota* Gaertn. J Pharm Sci 1968; 57 (6): 1039-1040.
8. Finnegan RA, Merkel KE, Patel JK. Constituents of *Mammea americana* L. XII. Biological data for xanthenes and benzophenones. J Pharm Sci 1973; 62 (3): 483-485.
9. Natarajan RK, Veluchamy G, Ragothaman P, Balakrishna K, Rao RB: Chemical constituents of *Hiptage madablota* Gaertn. Arogya 1989; 15 (2): 165-167.
10. Gunatilaka RK, Sultanbawa MUS, Balasubramaniam S: Chemical investigation of Sri Lankan plants. part 42. A survey of plants of Sri Lanka for alkaloids II. Int. J Natural Sci Counc Sri Lanka. 1980; 8 (2): 187-207.

- 11.謝宗萬、余友琴：全國中草藥名鑑(上冊)，人民衛生出版社，北京 1996；p.367
- 12.國家中醫藥管理局(中華本草)編委會：中華本草(5)，上海科學技術出版社，上海 1999；pp.3883~3884。
- 13.劉和義，楊遠波，施炳霖，呂勝由：臺灣維管束植物簡誌第參卷，行政院農業委員會，台北 2001；p.149
- 14.Gieni RS, Li Y, HayGlass KT: Comparison of [<sup>3</sup>H] thymidine incorporation with MTT-and MTS-based bioassays for human and murine IL-2 and IL-4 analysis. Tetrazolium assays provide markedly enhanced sensitivity. J Immunological Methods 1995, 187(1): 85-93.
- 15.Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the *in vitro* cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. Toxicology 1997, 124(3): 179-192.
- 16.Barltrop JA et al: 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethylthiazolyl)-3-(4-sulfophenyl) tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans as cell-viability indicators. Bioorg. & Med. Chem. Lett. 1991; 1: 611.
- 17.Litchfield JT, Wilcoxon FA: Simplified method of evaluating dose effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1949; 96: 99-113.
- 18.Newby AC. Role of adenosine deaminase, ecto-(5'-nucleotidase) and ecto-(non-specific phosphatase) in cyanide-induced adenosine monophosphate catabolism in rat polymorphonuclear leucocytes. Biochemical Journal 1980; 186(3): 907-918.
- 19.Barrett AJ: Lysosome. In: Dingle JT (Ed.): A laboratory handbook, Amsterdam, Elsevier, 1972; pp. 118-120.
- 20.Absolom DR. Basic methods for the study of phagocytosis. Methods in Enzymology 1986; 132: 95-180.

21. McClain DE, Donlon MA, Chock S, Catravas GN. The effect of calmodulin on histamine release in the rat peritoneal mast cell. *Biochem. Biophys. Acta.* 1983; 763 (4): 419-425.
22. Wang JP, Hsu MF, Ouyang C, Teng CM. Edematous response caused by [Thi5,8,D-Phe7]bradykinin, a  $\beta_2$  receptor antagonist, is due to mast cell degranulation. *Eur J Pharmacol.* 1989; 161: 143-149
23. Johnson AR, Erdos, EG. Release of histamine from mast cells by vasoactive peptides. *Proc Soc Exp. Biol. Med.* 1973; 142 (4): 1252-1256.
24. Hakanson R, Ronnberg AL: Improved fluorometric assay of histamine: Condensation with *O*-phthalaldehyde at 20 degrees C. *Analyt Biochem.* 1974; 60: 560-567.
25. Hirota H, Moriyama Y, Tauyuki T, Tanahashi Y: The high resolution mass spectra of shionane and friedelane derivatives. *Bull. Chem. Soc. Japan* 1975; 48: 1884-1888.
26. Shannon JS, Macdonald CG. Studies in mass spectrometry triterpenoids: structure assignment to friedelan-y-one (y-al) and derivatives. *Tetrahedron Letters* 1963; 4: 173-179.
27. Betancor C, Freire R: Three triterpenes and other terpenoids from *Catha cassnoids*. *Phytochemistry* 1980; 19: 1989-1993.
28. Akihisa T, Yamamoto K, Tamura T, Kimura Y, Iida T, Nambbara T. Triterpenoid ketones from *Lingnania chungii* Mc Clure.: arborinone, friedelin and glutinone. *Chem. Pharm. Bull.* 1992; 40:789-791.
29. Mahato SB, Kundu AP.  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of pentacyclic triterpenoid-a compilation and some salient features. *Phytochemistry* 1994; 37: 1517-1575.
30. 黃滢璇：野木藍活性成分之研究，中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文，台中 1996。

31. Eric Lichtfouse, Pierre Albrecht. Synthesis of triaromatic steroid hydrocarbons methylated at position 2, 3 or 6: molecular fossils of yet unknown biological origin. *Tetrahedron* 1994; 56(5): 1731-1744.
32. 于東房、胡邦豪、沙懷、鄭國華、周立潮：扶桑花中扶桑固醇的分離和結構鑑定，*中草藥*，22 (1)：3-5，1991。
33. 林美昭、林宗旦編著：最新植物化學，明哲出版社，台中 1985；pp. 573-583。
34. 肖崇厚、陳蘊如：中藥化學，上海科學技術出版社，上海 1992；pp. 354-360。
35. Lai JS, Liou HS, Huang KF. constituents of the roots of *Melanolepis multiglandulosa*. *Chin Pharm J* 1996; 48: 177-183.
36. Huang KF, Yen YF. Constituents of *Erythrina variegata*. *Chin Pharm J* 1997; 49: 21-29.
37. Betancor C, Freire R. Three triterpenes and other terpenoids from *Catha cassnoides*. *Phytochemistry* 1980; 19 : 1989-1993.
38. Dominguez XA, Rojaas P, Wiarco MC, Escarria S. Epi-friedelinol and taraxasterol acetate from *Eupatorium azureum*. *Phytochemistry* 1973; 12 : 224.
39. Kao YHI, Li SY. Cytotoxic Constituents from the fruit of *Diospyros ferred*. *Chin. Pharm. J.* 1997; 49: 207-216.
40. Kohei Kamiya, Kazuko Yoshioka, Yasuhisa Saiki, Akira Ikuta, Toshiko Satake. Triterpenoids and flavonoids from *Paeonia lactiflora*. *Phytochemistry*. 1997; 44: 141-144.
41. Huang KF, Yen Y F. Constituents of *Erythrina variegata*. *Chin. Pharm. J.* 1997; 49: 21-29.
42. Ho LD, Chang CR, Chang YS: Chemical components from *Triumfetta bartramia*. *J Chin Chem Soc* 1995; 42: 93-95.
43. Kuo YH, Li YC. Constituents of the bark of *Ficus microcarpa* L.F. *J*

Chin Chem Soc 1997; 44: 321-325.