

目 錄

目錄	I
圖目錄	II
光譜目錄	III
表目錄	IV
謝辭	V
中文摘要	VI
英文摘要	VIII
第一章 緒 言	1
第二章 總 論	
第一節 檣藤之本草學考察	2
第二節 檣藤之植物學考察	12
第三節 檣藤之 Napralert 文獻考察	14
第三章 實驗部分	
第一節 實驗材料	28
第二節 實驗藥材來源及其抽提與分離	30
第三節 藥理實驗方法	33
第四章 結 果	
第一節 各層成分之理化性質與光譜	37
第二節 藥理實驗之結果	45
第五章 討 論	
第一節 檣藤化學成分鑑定與討論	50
第二節 檣藤之藥理活性討論	67
第六章 結 論	72
參考文獻	74
圖譜	82

圖目錄

Fig. 2-1	歷代本草所繪榼藤圖.....	10
Fig. 2-2	榼藤之本草系統圖.....	11
Fig. 2-3	榼藤(<i>Entada phaseoloides</i> (L.) MERR.)植物.....	13
Fig. 3-1	榼藤(<i>Entada phaseoloides</i> (L.) MERR.)莖之抽提流程圖...32	
Fig. 4-1	榼藤之 DPPH 自由基清除能力之試驗.....	46
Fig. 4-2	Analgesic effect of methanol extract of <i>Entada phaseoloides</i> (Ep-M) on formalin induced pain response in mice	48
Fig. 4-3	Anti-inflammation actions of methanol extract of <i>Entada phaseoloides</i> (Ep-M) on - carrageenin induced paw swelling in mice.....	49
Fig. 5-1	Spinasterol 在 EI-MS 之可能裂解方式.....	51
Fig. 5-2	5, 4'-Dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone 在 EI-MS 之可能裂解方式.....	54
Fig. 5-3	Triacotanoic acid 在 EI-MS 之可能裂解方式.....	58
Fig. 5-4	quercetin 在 EI-MS 之可能裂解方式.....	63

表目錄

Table 2-1 Napralert 資料庫 - 民俗用法(ethnomedical usage).....	20
Table 2-2 Napralert 資料庫 - 生物活性(biological activities).....	22
Table 2-3 Napralert 資料庫 - 化學成分(presence of compound).....	26
Table 4-1 榿藤之 MTS 細胞毒性試驗.....	45
Table 4-2. 榿藤莖部甲醇出抽(Ep-M)之急性毒性(LD50)及 95% 可信 賴區間.....	47
Table 5-1 化合物 H-1 碳譜數據與文獻碳譜數據比對表.....	52
Table 5-2 化合物 CL-2 碳譜數據與文獻碳譜數據比對表.....	55
Table 5-3 化合物 CL-4 碳譜數據與文獻碳譜數據比對表.....	60
Table 5-3 化合物 CL-4 碳譜數據與文獻碳譜數據比對表(續).....	61
Table 5-4 化合物 EA-2 碳譜數據與文獻碳譜數據比對表.....	64
Table 5-5 EA-S 與 inositol 的 4 個立體異構物之碳譜比較.....	66
Table 5-6 小鼠 LD50 (mg/kg)之毒性分級.....	69

謝 辭

本論文得以順利完成，承蒙恩師張教授永勳博士、何教授禮剛博士以及黃副教授順爵博士三位老師之諄諄教誨以及對論文的批閱斧正，於此僅致上由衷謝忱。

此外，還要感謝邱年永老師協助植物之採集、鑑定與關愛，彭主任文煌博士、何博士玉鈴老師，在藥理實驗方面的指導及協助，謝校長明村博士、陳主任忠川博士、黃教授瑞東博士、謝教授文全博士、林副教授宗平博士、陳副教授甘霖博士、張教授賢哲博士、童副教授承福博士、蔡博士貴花老師及劉博士淑鈴老師之指導與關懷。

特別感謝、詹旭川博士、正賢學長、尚志學長、元照學長、華鑫學長在實驗上的指導及平日生活上的提攜，及江芙美老師、馬蘇珊博士、幼安學姊、國清學長、雅純學姊及志文學長等給予的寶貴意見，和冠宏、峰賓、宏祺、炳賢、文雄、泰昇、琇米、素琴及雯茹等諸位同學平時的相互勉勵，以及榮麒學弟、宗翰學弟、金松學弟、函嫻學妹等在藥理實驗的大力協助，使的本實驗得以順利進行，僅此一並致上誠摯之謝意。

最後，感謝我最親愛的家人及朋友們，謝謝你們的支持與鼓勵，我才能順利的完成學業。

榿藤 (*Entada phaseoloides* (LINNE) MERRILL) 之化學成分研究

陳兆群

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

台灣產藥用植物榿藤 (*Entada phaseoloides* (L.) MERR.) 為豆科 (Leguminosae) 植物，又名鴨腱藤、大血藤、過崗龍等別名。廣泛分部於台灣中部山區原始闊葉林、再生林或雨林地內。具有祛風除濕，活血通絡，通經止痛，消腫解毒之效。治四肢麻木，風濕腰痛，風濕性關節炎，跌打損傷，癰瘡腫毒，為固有之台灣民間藥，其毒性經本研究測得其莖部甲醇提取物之 LD₅₀ 為 170 mg/kg，在藥理活性方面，發現氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層等對 HONE-1 (人類鼻咽癌細胞) 有抑制活性，而乙酸乙酯層和正丁醇層等對 NUGC (人類鼻胃癌細胞) 也有抑制活性。而榿藤甲醇粗抽物，在 DPPH 自由基清除能力之試驗發現正丁醇層、P 層、甲醇粗抽等具有明顯之活性。因民間常用來治療風濕腰痛及風濕性關節炎等，故本研究亦進行其鎮痛、抗炎之藥理活性評估，已確認其莖部甲醇粗抽物在 5mg/kg 時，確實有明顯的抗炎及鎮痛作用。

自榿藤莖部之甲醇抽出物分離出的成分有 spinasterol (H-1)、5, 4'-dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone (CL-2)、triacontanoic acid (CL-3)、spinasterol- β -D-glucoside (CL-4)、quercetin (EA-2)以及 EA-S (仍在解析中)等成分，而上述化合物均為第一次由本植物中分離得的成分。

綜合以上結果可知，榿藤莖部有明顯的細胞毒殺、抗氧化、抗炎與鎮痛等作用。而由本實驗所分離出成分之藥理活性，則有待更進一步之探討與確認。

Studies on the Chemical Constituents of *Entada phaseoloides* (LINNE) MERRILL

Jaw-Chyun Chen

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences

China Medical College

Abstract

Entada phaseoloides (L.) MERR. is a native plant of Taiwan belonging to the Leguminosae family. It is a common folk medicine being used for tetraplegia, rehumatalgia, traumatic injury and ulcerative carbuncle. Our preliminary test showed that the CHCl_3 , EtOAc and *n*-BuOH fractions of *E. phaseoloides* exhibited significant cytotoxic activity against NUGC & HONE-1 cell lines. We also evaluated the DPPH free radical scavenging, anti-inflammatory and analgesic effects of the methanol extract of the stem of *Entada phaseoloides*. The LD_{50} of methanol extract was 170 mg/kg. The methanol extract showed significant anti-inflammation actions by inhibiting rat paw swelling. It also showed analgesic effect by decreasing the frequencies of leg-licking in formalin induced pain in mice. In DPPH free radical scavenge screening test, the methanol extract, *n*-BuOH fraction and precipitate fraction showed significant antioxidant activity.

From its methanolic extracts, six compounds were isolated : spinasterol (H-1), 5, 4'-dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone (CL-2), triacontanoic acid (CL-3), spinasterol- β -D-glucoside (CL-4), quercetin (EA-2) and compound EA-S. These compounds were first isolated from this plant and their structures were determined by spectroscopic methods.

Our result indicated that extract *Entada phaseoloides* exhibited significant cytotoxic activity, antioxidant activity, analgesic effect and anti-inflammatory effect. However, the active constituents responsible for the activities are still under investigation.

第一章 緒 言

榿藤(*Entada phaseoloides* (L.) MERR.) 為鴨脰藤屬(*Entada*)一分布廣泛之豆科(Leguminosae)植物，分布於東半球熱帶地區，而臺灣產之鴨脰藤屬植物依 Flora of Taiwan 所載有 3 種，榿藤(*Entada phaseoloides*)為其中一種⁽¹⁾。民間取其粗莖治風濕腰痛，風濕性關節炎，跌打損傷等⁽²⁾。

依據 2002 年 10 月向美國伊利諾大學 Narpralert 資料庫搜尋結果，榿藤目前有 entadamide A, entadamide C⁽³⁾, entadamide A β -D-glucoside, methyl ester gentisic acid, 2 - hydroxy - 5-butoxy phenylacetic acid, 5-butoxy:2- β -D-glucoside phenylacetic acid⁽⁴⁾等成分之分離報導。民間主要用於治療痙攣、胃痛⁽⁵⁾。藥理活性方面則僅有毒魚作用⁽⁶⁾、殺軟體動物活性⁽⁷⁾、葡萄糖運輸刺激作用⁽⁸⁾、殺甲殼類動物活性⁽⁹⁾之報導，並無明確活性成分之相關研究報告，而且在本實驗之藥理活性的預試驗中可以發現，榿藤確實具有鎮痛、消炎等活性，並試將其甲醇萃取物以不同溶媒分劃後，分成正己烷、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水等五層進行榿藤之成分分離，並期望找出具有高度活性之成分，以確立其藥理上的療效以及安全有效性，以提高其利用價值及開發台灣產藥用植物資源。

第二章 總 論

第一節 榼藤之本草學考察

一、釋名：

榼：康熙字典云：音“克”；義：說文：酒器也。徐曰：榼之為言盍也；…

淮南子：雷水足以溢壺榼，…貯水器。拾遺：榼藤如通草（藤名）⁽¹⁰⁾

榼藤子：

綱目曰：“其子象榼形，故名之”。其為藤本，故名榼藤子，簡稱榼子，

轉音稱合子。象豆者，言其豆大也⁽¹¹⁾。

二、異名：

榼藤子

南方草木狀：一名象豆⁽¹²⁾。 本草拾遺：合子，榼子⁽¹³⁾。

開寶本草：榼藤子⁽¹⁴⁾。 日華子本草：榼子⁽¹⁵⁾。

現代文獻及民間俗名⁽¹⁵⁾：

南方主要有毒植物：眼鏡豆。

海南：眼睛豆、牛眼睛。 廣西：老鴉腎。

榼藤

本草、現代文獻及民間俗名^(12, 16, 17, 18)：

南方草木狀：榼藤。 廣西中草藥：榼子藤、左右扭。

廣西藥物植物名錄：過山楓、大血藤、過山龍。

全國中草藥匯編：過江龍、扁龍、過崗扁龍、脊龍、扭龍、扭骨風。

廣東：牛腸麻。 廣西：過山楓。

內蒙古：木腰子。

三、藥性^(13~15)：

榼藤子

味甘、澀，性平，無(有)毒。入胃、肝、大腸三經。

1. 本草拾遺：味甘，平，無毒。
2. 開寶本草：味澀、甘，平，無毒。
3. 常用中草藥手冊：微苦澀，性涼。
4. 廣西本草選編：有毒。
5. 福建藥物志：微甘、辛，性平，無毒。

榼藤

味微苦、澀，性平，有毒。入腎經。

1. 常用中草藥手冊：微苦澀，微涼。

2. 廣西本草選編：性平，有毒。

3. 福建藥物志：微苦、辛，平。

四、炮製^(15, 19)：

榿藤子

1. 榿藤子

(1) 本草拾遺：取子中仁，碎為粉，為熬。

(2) 聖惠方：以七八重濕紙裹煨，良久脹起，取去殼用肉，細切，碾羅為散。

(3) 普濟方：擘破、炙。

2. 榿藤子炭

(1) 聖惠方：燒、研。

(2) 本草衍義：燒成黑灰，微存性。

榿藤

切片、曬乾或鮮用。

五、附方⁽¹⁵⁾：

1. 聖惠方：治大腸風毒，瀉血不止；榿藤子三枚，以七八重濕紙裹煨，良久脹起，取去殼用肉，細切，碾羅為散。每於食前，以黃耆湯調下一錢。治喉痹腫痛；榿藤子燒研。酒服一錢。

2.經濟總錄榼藤散：治痔漏久不愈；榼藤子不以多少。

上一味，為散。先以蜜調少許，塗痔縷瘡上，次用溫酒調一錢，食前服。

3.普濟方蜀椒榼藤丸：治痔漏不限年月深淺，腫痛穿孔，膿血不止；蜀椒(去目并合口，炒出汗，木杵輕搗，取紅)四兩，榼藤子(大者)一個(擘破，炙)。上為末，棗肉丸，梧桐子大。每服十五丸至二十丸，空心溫酒下。

六、歷代本草原文^(11~27)：

南方草木狀：榼藤依樹蔓生，如通草藤也。其子黑紫色，一名象豆，三年方熟。其殼貯藥，歷年不壞。生南海。解諸藥毒。

本草拾遺：木部中品象豆味甘、平，無毒。主五野雞病，蠱毒，飛尸，喉痺。取子中仁碎為粉，微熬，水服一二匕亦和大豆澡，面出黑干。生嶺南山林，作藤著樹，如通草藤。三年一熟。角如弓，袋子若雞卵。皮紫色。剖中仁用之，一名榼子，一名合子。主野雞病為上。

開寶本草：木部下品榼藤子味澀、甘，平，無毒。主蠱毒，五痔，喉痺及小兒脫肛，血痢，並燒灰服，瀉血宜取一枚以刀剝內瓢，熬研為散，空腹熱酒調二錢，不過三服必效。又宜入澡豆，善除黑干黑曾，其殼用貯丹藥，經載不壞。按廣州記云：生廣南山林間，樹如通草藤也。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今附

嘉祐補註神農本草卷之十四：木部下品-榼藤子味澀甘，平，無毒。主蠱毒五痔喉痹及小兒脫肛血痢，並燒灰服，瀉血宜取一枚以刀剝內瓢熬研為散，空腹熱酒調二錢不過三服必效。宜入澡豆，善除黑干黑曾，其殼用貯丹藥，經載不壞。按廣州記云：生廣南山林間，樹如通草藤也。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今附臣禹錫等謹按日華子云治飛尸入藥灸用。

圖經本草：南藤即丁公藤也生南山山谷今出泉州榮州生依南木故名南藤...又有榼藤子生廣南山林間，木如通草藤。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今醫家並稀用，故但附於其類。

宋.經史證類備急本草：木部下品-南藤味辛溫無毒...圖經曰：南藤即丁公藤也生南山山谷今出泉州、榮州生依南木故名南藤...又有榼藤子生廣南山林間，木如通草藤。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今醫家並稀用，故但附於其類。

宋.經史證類大觀本草：木部下品-榼藤子味澀甘，平，無毒。主蠱毒五痔喉痹及小兒脫肛血痢，並燒灰服，瀉血宜取一枚以刀剝內瓢熬研為散，空腹熱酒調二錢不過三服必效。又宜入澡豆，善除黑干黑曾，其殼用貯丹藥，經載不壞。按廣州記云：生廣南山林間，樹如通草藤也。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今附臣禹錫等謹按日華子云治飛尸入藥灸用。圖經文具南藤條下。

本草衍義：榼藤子紫黑色微光大一二寸圓褊治五痔有功燒成黑灰微存性米飲調服；人多剔去肉作藥瓢，垂於腰間。

重修政和經史證類備用本草：木部下品-南藤味辛溫無毒...圖經曰：南藤即丁公藤也生南山山谷今出泉州榮州生依南木故名南藤...又有榼藤子生廣南山林間，木如通草藤。三年方始熟，紫黑色。一名象豆。今醫家並稀用，故但附於其類。

本草品彙精要卷之二十一：木部下品之下- 木之走：榼藤子無毒，蔓生；榼藤子主蠱毒五痔喉痹及小兒脫肛血痢，並燒灰服，瀉血宜取一枚以刀剝內瓢熬研為散，空腹熱酒調二錢不過三服必效宜入藻豆善除黑干黑曾名

醫別錄

治	製	主	臭	氣	性	味	用	收	時	地	苗	名
療日華子云治飛尸	燒灰或炙用	五痔血痢	腥	氣厚於味陽中陰	平緩	甘澀	子	暴乾	採熟時取子	生春生葉	圖經曰樹如通草藤也三年子始熟紫黑色其殼用貯丹藥經載不壞今醫家亦稀用之衍義曰 <u>榼藤子</u> 紫黑色微光一二寸圓褊人多則去肉作藥瓢垂於腰間	<u>象豆</u>

本草綱目 卷十八 草部蔓草類：榼藤子 宋 開寶。〔校正〕自木部移入此。〔釋名〕象豆開寶。榼子日華。合子拾遺。時珍曰其子象榼形。故名之。

〔集解〕藏器曰按廣州記云：榼藤子生廣南山林間。作藤著樹。如通草藤。其實三年方熟。角如弓袋。子若雞卵。其外紫黑。其殼用貯丹藥。經年不壞。取其中仁入藥。灸用。時珍曰子紫黑色微光。大一二寸。圓而褊。人多剔去肉作藥瓢。垂於腰間也。

仁〔氣味〕澆甘。平無毒。〔主治〕五痔蠱毒。飛尸喉痺。以仁為粉。微熬。水服一二匕。亦和大豆澡面。去黑干黑曾。藏器。治小兒脫肛，血痢，並燒灰服，瀉血宜取一枚以刀剝內瓢，熬研為散，空腹熱酒調二錢，不過三服必效。開寶。解諸藥毒。時珍。草木狀

〔附方〕舊三新一：

喉痹腫痛。榼藤子燒研。酒服一錢。聖惠方

五痔下血。榼藤子燒存性。米飲服二錢。有功。寇氏衍義

腸風下血。華陀中藏經。用榼藤子二個。不蛀阜莢子四十九個。燒存性為末。每服二錢。溫酒下。少頃再飲酒一盞。趁口服。極效。聖惠方用榼藤子三枚，厚重者。濕紙七重包煨，取去殼取肉為末。每服一錢。食前，黃耆湯下。日一服。

〔附錄〕合子草。拾遺(藏器曰)子及葉有小毒。主蠱毒及蛇咬。搗傅瘡上。蔓生岸傍。葉尖花白。子中有兩片如合子。

植物名實圖考：榼藤子即象豆，詳南方草木狀。本草拾遺、開寶本草始著錄。南越筆記云：子炒食，味佳。

雪婁農曰：余至?，未得見斯藤。按記，子可食；膚可為榼以貯藥。何造物憫斯人之勞，而為之代斲也？蓀之實有匏焉，小以酌，大以濟；木之實有椰焉，小以飲，大以掬。古者祭祀器用匏，非僅尚其質，亦以見天地之為人計者，纖悉具備用之，以示報也。彼靡天地之物，而不知天地之心，必以暴殄致天罰。榼藤惜不植於嶺北。近世蜀中，模柚皮為器，以無用為用，且輕而潔。南嶽？大竹為甑，至省工力，若而人也，以嘗巧也，不為病矣。

植物名實圖考長篇：榼藤，其莢有白子數枚，殼扁，狀如榼子。水浸數日，炒食之，味佳。

* 註釋：

1. 五野雞病：即五痔病，指牝痔、牡痔、血痔、? 痔、腸痔。
2. 飛尸：出肘後方：飛尸者，游走皮膚，洞穿臟腑，每發刺痛，變作無常也。
3. **黑干黑曾**：指面部黑暗斑。

Fig. 2-1 歷代本草所繪榼藤圖

Fig. 2-2 榼藤之本草系統圖

第二節 榼藤之植物學考察

一. 榼藤之植物學分類^(28, 29)

豆科 Leguminosae

含羞草亞科 Mimosoideae

鴨脰藤屬 *Entada*

四、台灣產鴨脰藤屬(*Entada*)植物形態^(1, 28, 29)

木質藤本或蔓性灌木。二回羽狀複葉，最先端小葉變形成卷鬚。穗狀花序。花萼鐘形，萼齒 5。花瓣 5，離生或基部癒合。雄蕊 10，離生。莢果下垂，扁平，厚，常超過 1 m 長，分節。台灣有 3 種。

種之檢索表^(1, 29)

- 1. 小葉 2~4.....2. *E. phaseoloides*(榼藤)
- 1. 小葉 6~8。
 - 2. 種子栗色，厚，中央平坦或有微小凸起。
 - 3. 種子盤狀，平坦，非常光滑，邊緣很少有凹槽....3.a *E. pursaetha* var. *pursaetha*
(鴨脰藤)
 - 3. 種子腎形盤狀，有微小皮屑狀鱗片，通常邊緣皆有凹槽....3.b *E. pursaetha* var. *formosana*
(台灣鴨脰藤)
 - 2. 種子黑棕色，較薄，中央有凸起.....1. *E. parvifolia*(恆春鴨脰藤)

五、榼藤子(*Entada phaseoloides*)植物形態⁽²⁾

常綠木質大藤本。莖扭旋，枝無毛。二回羽狀複葉，長 10~25 cm，頂生一對羽片變為卷鬚。葉 1~2 對羽片，每一羽片 3~4 對小葉，革質；小葉歪斜橢圓形，長 3~8 cm，寬 3~4 cm，先端鈍，微凹，無毛。花綠白色，穗狀花序單生或排列成圓錐狀，長 12~25 cm，花序軸密生黃色絨毛。莢果木質，長達 1 m，寬 8~12 cm，成熟時逐節脫落。每節內有一顆種子。種子近圓形，直徑 4~6 cm，暗褐色，彎曲，扁平，成熟後種皮木質，有光澤，具網紋。花期 3~4 月，八月下旬果實成熟。在臺灣分佈於北部低海拔闊葉林中。

Fig. 2-3 榼藤(*Entada phaseoloides* (L.) MERR.)植物

第三節 榿藤之 Napralert 文獻考察

依據 2002 年 10 月在美國伊利諾大學 Napralert 資料庫所查資料, 全世界與鴨腱藤屬植物相關所發表之文獻可分為民俗用法(ethnomedical usage)、生物活性(biological activities)、化學成分(presence of compound)三大類:

一、民俗用法(Ethnomedical usage)(詳見 Table 2-1)

***Entada abyssinica* A. RICH.**

根有治癲癇(epilepsy)⁽³⁰⁾、睡眠病(sleeping sickness)等作用⁽³¹⁾。

***Entada africana* GUILLMIN & PERROTTET**

皮部：可用於當墮胎藥(abortifacient)^(32, 33)、驅蠕蟲藥(vermifuge)⁽³⁴⁾等，並有治支氣管炎(bronchitis)、咳嗽(coughs)、淋病(blennorrhagia)⁽³⁵⁾等作用。

葉：亦可當墮胎藥(abortifacient)⁽³³⁾，具有毒魚(fish poison)⁽³⁶⁾、治療腹瀉(diarrhea)等作用⁽³⁵⁾。

根：有治療創傷(wounds)⁽³⁷⁾、肝病(liver disease)⁽³⁸⁾、眼部發炎(eye inflammations)⁽³⁵⁾等作用。

***Entada gigas* (LINNE) FAWCETT & RENDLE**

果實：有治療疼痛(aches)、燒傷(burns)⁽³⁹⁾等作用。

全草：有治療風濕痛(rheumatism)⁽⁴⁰⁾等作用。

***Entada glandulosa* PIERRE ex GAGNEP.**

種子有抗癌等作用⁽⁴¹⁾。

***Entada monostachya* DC.**

地上部分有治療口腔發炎(inflamed mouth)、創傷(wounds)和挫傷(bruises)等作用⁽⁴²⁾。

***Entada phaseoloides* (L.) MERR. (榼藤)**

全草有治療驚厥(cure convulsions)和胃痛(stomach ache)等作用⁽⁶⁾。

***Entada scandens* BENTH. (攀緣性榼藤)**

皮部：治療婦人產後便秘⁽³³⁾、糖尿病(diabetes)⁽⁴³⁾等作用。

莖及葉：有治療鵝口瘡(thrush)⁽⁴⁴⁾、經痛(menorrhagia)⁽⁴⁵⁾等作用。

果實：具有避孕(contraceptive)⁽⁴⁶⁾等作用。

種子：具有避孕(contraceptive)、幫助分娩(parturition)⁽³²⁾和治療痔瘡(piles)、胃痛(stomachache)⁽⁴⁷⁾、抗蛇毒(antivenin)⁽⁴⁸⁾、治風濕痛(rheumatic pains)、胸痛(chest pain)⁽⁴⁹⁾、抗癌(anticancer)⁽⁴¹⁾、車禍後全身疼痛⁽⁵⁰⁾、毒魚(fish poison)⁽⁵¹⁾等作用。

子葉：有緩解眼睛流淚以及驅蟲(anthelmintic)⁽⁵²⁾等作用。

全草：可當肥皂，並具有毒魚及治療胃痛等作用⁽⁵³⁾。

***Entada spiralis* RIDL.**

種子具有治療胸痛等作用⁽⁴⁹⁾。

***Entada stuhlmannii* (TAUBERT) HARMS**

根據有壯陽(aphrodisiac)⁽⁵⁴⁾及催乳(galactagogue)⁽⁵⁵⁾等作用。

***Entada sudanica* SCHWIENF.**

葉具有毒魚等作用⁽³⁶⁾。

二、生物活性(Biological activities)(詳見 Table 2-2)

Entada abyssinica A. RICH.

1. 抗黴菌活性(Antifungal activity): 對犬小芽胞菌(*Microsporum canis*)有抑制活性(weak activity)(葉)⁽⁵⁶⁾。
2. 抗錐蟲活性(Antitrypanosomal): 對 *Trypanosoma brucei* 有明顯抑制活性(根、莖)⁽³¹⁾。
3. 抑制細胞增生(Cell proliferation inhibition): 對 Cells-WI-38 有抑制活性(weak activity) (根)⁽⁵⁷⁾。
4. 抗菌活性(Antibacterial activity)^(58, 59): 對腸球菌屬(*Enterococcus* species)及綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等菌有明顯抑制活性, 而對金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、沙門桿菌屬 (*Salmonella* species)、克萊勃土桿菌屬 (*Klebsiella* species)等菌也有抑制活性(weak activity)(莖皮)。

Entada africana GUILLMIN & PERROTTET

1. 抗菌活性(Antibacterial activity): 對霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)⁽⁶⁰⁾、白喉桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、變形桿菌(*Proteus vulgaris*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、沙門桿菌屬 (*Salmonella* species)⁽⁶¹⁾、枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、大腸桿菌 (*Escherichia*

coli)、痢疾桿菌 (*Shigella dysenteriae*)、鏈球菌屬 (*Streptococcus* species)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、糞鏈球菌 (*Streptococcus faecalis*)等菌有明顯抑制活性(莖、葉、種子)⁽⁶²⁻⁶⁴⁾。

2. 抗氧化活性 (Antioxidant activity)：有明顯抗氧化活性 (antioxidant capacity=20.4) (葉)⁽⁶⁵⁾。
3. 抗肝毒性 (Antihepatotoxic activity)：對四氯化碳所誘導的肝毒性有明顯抑制的活性，如對其誘發之鹼性磷酸？ (ALP； Alkaline phosphatase)、 glutamate – oxaloacetate – transaminase 以及 glutamate–pyruvate–transaminase 的升高和高三酸甘油脂血症 (hypertriglyceridemia)也有明顯之抑制活性(根)⁽³⁸⁾。
4. 抗病毒活性：對 B 型肝炎表面抗原有抑制活性 (Hepatitis B surface antigen inactivation) (根)⁽³⁸⁾。
5. 毒性：有明顯毒魚活性，且具有毒殺軟體動物活性 (Molluscicidal activity)對 *Biomphalaria pfeifferi* 及 *Bulinus truncates* 有毒殺活性，但對天竺鼠 (guinea pig) 無明顯毒性(葉)^(66, 67)。

***Entada phaseoloides* (L.) MERR.**

1. 降血糖活性：有刺激葡萄糖運輸的活性 (Glucose transport stimulation)⁽⁸⁾。
2. 毒殺軟體動物活性 (Molluscicidal activity)：對 *Oncomelania hupensis* *Quadrasi* 有毒殺活性 (莖、種子)^(5, 7, 68)。

3. 抗甲殼類活性(Anticrustacean activity)⁽⁹⁾：對 *Artemia salina* 有明顯抑制活性 (莖、種子)。

***Entada polystachya* (L.) DC.**

抗菌活性(Antibacterial activity)^(69~71)：對金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、糞鏈球菌(*Streptococcus faecalis*)等菌有明顯抑制活性 (葉)。

***Entada scandens* BENTH.**

1. 抗菌活性 (Antibacterial activity)^(72~73)：對金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 卵黃色八疊菌(*Sarcina lutea*)等菌有明顯抑制活性 (莖、果實)。
2. 抗腫瘤活性(Antitumor activity)：對 Sarcoma-WM256 有抑制活 (種子)^(72, 74)。
3. 其他：有鬆弛子宮作用(Uterine relaxation effect)^(32, 49)及抑制血壓升高素轉換? (Angiotensin-converting enzyme inhibition)等活性 (種子)⁽⁷⁵⁾。
4. 毒性：LD50：ip，小鼠，0.5 g/kg⁽⁷²⁾；具毒魚及毒殺軟體動物(*Tubifex* species)等活性 (果實)⁽⁷⁶⁾。

***Entada spiralis* RIDL.**

有促進人類血球凝集活性(hemagglutinin activity)及降低低血壓(hypotensive)等活性 (種子)^(49, 77)。

***Entada sudanica* SCHWIENF.**

具有毒魚活性，但對天竺鼠(guinea pig)無明顯毒性 (葉)⁽³⁶⁾。

三、化學成分(Presence of Compound)(詳見 Table 2-3)

Diterpene Type^(57, 78): Iso-kolavenol, Trans-communic acid

Triterpene Type^(74, 79, 80, 81, 82, 83): Entada scandens prosapogenin A, Lupeol, Entada saponin II, Entada saponin III, Entada saponin IV, Entanin, Entagenic acid, Entada-saponin

Steroid Type⁽⁷⁹⁾: β -Sitosterol

Lipid Type⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾: Arachidic acid, Behenic acid, Dilinolenin, Diolein, Dioleolinolein, Lauric acid, Linoleic acid, Linolenic acid, Myristic acid, Oleic acid, Oleodilinolein, Oleolinolein, Palmitic acid, Stearic acid, Trilinolein, Triolein

Sulfur compound Type^(3, 4, 87, 88): Entadamide A, Entadamide B, Entadamide C, Entadamide A - β -D-glucoside

Benzenoid Type^(4, 89): Methyl ester - homo - gentisic acid, 2-Hydroxy-5-butoxy - phenylacetic acid, 5 - Butoxy - phenylacetic acid - 2 - β - D - glucoside, Phaseoloidin

Table 2-1 民俗用法(Ethnomedical usage)

學名	用部	地區	運用	文獻
<i>Entada abyssinica</i>	dried root	Tanzania	Used for epilepsy.	(30)
			Used if sickness has been prolonged.	
	dried root	Uganda	Used to treat sleeping sickness.	(31)
<i>Entada africana</i>	bark	Central Africa	Used as an abortifacient	(32)
	bark	Guinea	Used as an abortifacient	(33)
	bark	Niger	Used as a vermifuge	(34)
	bark	West Africa	Used as an abortifacient	(32)
	dried bark	Senegal	Used for bronchitis.	(35)
			Used for coughs.	
Used for blennorrhagia and sores.				
leaf	Guinea	Used to provoke abortion, prepared into paste with soap	(33)	

	leaf	Sudan	Used as a fish poison	(36)
	LEAF	West Africa	Used as an abortifacient	(32)
	dried leaf	Senegal	Used for sores	(35)
			Used for diarrhea.	
	root	Guinea-Bissau	Used to treat wounds.	(37)
	dried root	Mali	Used for liver disease.	(38)
	dried root	Senegal	Used for eye inflammations.	(35)
<i>Entada gigas</i>	fruit	Nicaragua	Used for aches	(39)
			Used for burns.	
	part not specified	Cameroon	Used for rheumatism.	(40)
<i>Entada glandulosa</i>	dried seed	Thailand	Used for cancer	(41)
<i>Entada monostachya</i>	dried bark + leaf	Mexico	Used in baths for children with inflamed mouth, wounds or bruises.	(42)
<i>Entada phaseoloides</i>	dried entire plant	Tonga	Used to cure convulsions	(6)
			Used to treat stomach ache	
<i>Entada scandens</i>	bark	Guinea	Decoction used by women after childbirth, as an enema or bath	(33)
	dried bark	Philippines	Used for diabetes.	(43)
	cotyledons	Nepal	Used as an anthelmintic.	(52)
	entire plant	Panama	Used as a fish poison and soap.	(53)
	fruit	Australia	Eaten raw or roasted as a contraceptive by woman	(46)
	leaf + stem	Cook Islands	Used to treat oral thrush in children.	(44)
	leaf + stem	Vanuatu	Used for menorrhagia.	(45)
	seed	Australia	Used as an aid for difficult parturition	(32)
			Used by the aborigine as a contraceptive	
	seed	India	Used for stomachache.	(47)
			Used for piles.	
			Used as an antivenin.	
	dried seed	India	Used to relieve body pain after accidents.	(50)
Used as a food during famine.				
Used as a fish poison			(51)	
dried seed	Malaysia	Used for chest pain.	(49)	
dried seed	Thailand	Used for cancer	(41)	
<i>Entada spiralis</i>	dried seed	Malaysia	Used for chest pains.	(49)
<i>Entada stuhlmannii</i>	root	Africa	Roots boiled, decoction drunk twice a day as an aphrodisiac	(54)

	root	East Africa	Used as a galactagogue(internal and external)	(55)
<i>Entada sudanica</i>	leaf	Sudan	Used as a fish poison	(36)

Table 2-2 生物活性(Biological activities)

學名	用部(地區)	活性		文獻
<i>Entada abyssinica</i>	dried leaf (Rwanda)	Antifungal activity	Microsporum canis (W)	(56)
		Antiviral activity	1. Virus-measles (E) 2. Virus-coxsackie (I) 3. Virus-herpes (unspec) (I) 4. iVirus-poliovirus(unspec) (I) 5. Virus-semlicki-forest (I)	
	dried root (Uganda)	Antitrypanosomal activity	Trypanosoma brucei (A)	(57)
		Cell proliferation inhibition	Cells-wi-38 (W)	
	dried rootbark (Tanzania)	Antitrypanosomal activity	Trypanosoma brucei rhodesiense (A)	(57)
	dried stembark (Kenya)	Antibacterial activity	1. Enterococcus species (A) 2. Pseudomonas aeruginosa (A) 3. Staphylococcus aureus (W) 4. Escherichia coli (W) 5. Salmonella species (W) 6. Klebsiella species (W)	(58)
		Antimycobacterial activity	Mycobacterium species (I)	
	dried stembark (Kenya)	Antibacterial activity	Helicobacter pylori (I)	(58)
<i>Entada africana</i>	dried bark (Nigeria)	Antibacterial activity	Vibrio cholera (A)	(60)
		Antifungal activity	Vibrio cholera (A)	
	dried bark (Nigeria)	Antibacterial activity	1. Corynebacterium diphtheriae (A) 2. Pseudomonas aeruginos (A) 3. Salmonella species (A) 4. Streptococcus species (A) 5. Nneisseria species (I) 6. Staphylococcus aureus (I) 7. Streptobacillus species (I)	(61)
	sun dried bark (Senegal)	Antibacterial activity	1. Bacillus subtilis (A) 2. Staphylococcus aureus (A)	(62)
		Antifungal activity	Aspergillus niger (I)	
	Leaf (Nigeria)	Antioxidant activity	(A)	(65)
	leaf (Sudan)	Fish poison	(A)	(36)
		Toxic effect(general)	(I)	

	dried leaf + seed (Nigeria)	Antibacterial activity	1. Proteus vulgaris (A) 2. Salmonella species (A) 3. Staphylococcus aureus (A) 4. Streptococcus species (A) 5. Escherichia coli (I) 6. Klebsiella species (I) 7. Pseudomonas aeruginosa (I)	(63)
		Anticrustacean	Artemia salina (I)	
	dried leaf + seed (Nigeria)	Antiyeast activity	Candida albicans (I)	(63)
	dried root (Guinea-Bissau)	Antibacterial activity	1. Staphylococcus aureus (A) 1. Vibrio cholera (A) 3. Escherichia coli (W) 4. Streptococcus faecalis (A) 5. Shigella dysenteriae (A) 6. Pseudomonas aeruginosa (I) 7. Salmonella typhimurium (I)	(37)
		Antiyeast activity	Candida albicans (I)	
	dried root (Mali)	Alkaline phosphatase inhibition	Plasma (A)	(38)
<i>Entada africana</i>	dried root (Mali)	Antibacterial activity	1. Haemophilus influenzae (I) 2. Moraxella catarrhalis (I) 3. Staphylococcus aureus (I) 4. Streptococcus pneumoniae (I) 5. Staphylococcus pyogenes (I) 6. Haemophilus influenzae (I) 7. Moraxella catarrhalis (I) 8. Staphylococcus aureus (I) 9. Staphylococcus pyogenes (I) 10. Streptococcus pneumoniae (I)	(64)
		Antihepatotoxic activity	(A)	(38)
		Antihypertriglyceridemia effect	Liver homogenates (A)	
		Glutamate-oxaloacetate-transaminase inhibition	Plasma (A)	
		Glutamate-pyruvate-transaminase inhibition	Plasma (A)	
		Hepatitis b surface antigen inactivation	(A)	
		Miscellaneous effects	Liver homogenates(A)	
		Nucleotidase induction	Liver homogenates(A)	
	dried stem (Sudan)	Cytotoxic activity	Ca-9kb (I)	(66)

<i>Entada africana</i>	dried stem bark (Sudan)	Molluscicidal activity	1.Iomphalaria pfeifferi (A) 2.Bulinus truncates (A)	(67)
<i>Entada phaseoloides</i>	bark (Philippines)	Glucose transport stimulation	Cells-ehrlich (W)	(8)
	commercial sample of bark (Philippines)	Fish poison	Oryzias latipes (A)	(68)
		Molluscicidal activity	Oncomelania hupensis quadrasi (E)	
		Molluscicidal activity	Oncomelania hupensis quadrasi (A)	(7)
	fresh bark (Malaysia)	Anticrustacean activity	Artemia salina (A)	(9)
seed (Philippines)	Molluscicidal activity	Oncomelania hupensis quadrasi (W)	(68)	
<i>Entada polystachya</i>	dried bark (Trinidad)	Antibacterial activity	1.Staphylococcus aureus (A)	(69)
			2.Streptococcus faecalis (A)	
			3.Salmonella typhimurium (E)	
			4.Escherichia coli (I)	
			5. Pseudomonas aeruginosa (I)	
			6.Staphylococcus epidermidis(I)	
	leaf (Puerto Rico)	Insecticide activity	Ierotoma ruficornis, adults (I)	(70)
	leaf (Puerto Rico)	Larvicidal activity	1.Diaphania hyalinata, larvae(I) 2.Diaphania hyalinata, larvae (I) 3.Laphygma frugiperda, larvae (I) 4.Plutella maculipennis, larvae (I)	(70)
petiole (Puerto Rico)	Insecticide activity	Serotoma ruficornis, adults (I)	(70)	
	Larvicidal activity	1.Diaphania hyalinata,larvae (I) 2.Laphygma frugiperda,larvae (I) 3.Plutella maculipennis, larvae (I)		
	seed (Mexico)	Hemagglutinin activity		Rbc (I)
stem (Puerto Rico)	Trypsin inhibition	(A)		
	Insecticide activity	Serotoma ruficornis, adults (I)	(70)	
	Larvicidal activity	1.Diaphania hyalinata,larvae (I) 2.Laphygma frugiperda,larvae (I) 3.Plutella maculipennis, larvae (I)		
<i>Entada scandens</i>	aerial parts (India)	Analgesic activity	(I)	(72)
		Antibacterial activity	1.Bacillus subtilis (I) 2. Escherichia coli (I) 3.Salmonella typhosa (I) 4.Staphylococcus aureus(I) 5. Agrobacterium tumefaciens (I)	
		Anticonvulsant activity	(I)	

		Antifungal activity	1. Microsporium canis (I) 2. Trichophyton mentagrophytes (I) 3. Aspergillus niger (I)	
		Antiinflammatory activity	(I)	
		Antispasmodic activity(unspecified type)	Ileum (I)	
		Antitumor activity	Leuk-p388 (I)	
		Antiviral activity	Virus-vaccinia (I)	
		Antiyeast activity	Candida albicans (I)	
	aerial parts (India)	Antiyeast activity	Ryptococcus neoformans (I)	
		Barbiturate potentiation	(I)	
		Diuretic activity	(I)	
		Hypoglycemic activity	(I)	
		Hypothermic activity	(I)	
		Semen coagulation	Sperm (I)	
		Spermicidal effect	Sperm (I)	
		Toxicity assessment(quantitative)	ip mouse Ld ₅₀ 0.5 gm/kg	
	dried fruit	Fish poison	(A)	(76)
		Molluscicidal activity	Tubifex species (A)	
	dried rootbark (Nigeria)	Antibacterial activity	1.Sarcina lutea(A) 2.Staphylococcus aureus (I)	(73)
		Antifungal activity(plant pathogens)	Aspergillus niger (I)	
		Antimycobacterial activity	Mycobacterium phlei (I)	
		Antiyeast activity	Saccharomyces cerevisiae (I)	
	seed	Antitumor activity	Sarcoma-wm256(im) (A)	(74)
	seed (Australia)	Uterine relaxation effect	Uterus(unspec.cond) (A)	(32)
	seed (India)	Angiotensin-converting enzyme inhibition	(A)	(75)
	dried seed (Malaysia)	Hypotensive activity	(I)	(49)
		Uterine stimulant effect	Uterus(preg) (I)	
	dried stembark (Nigeria)	Antibacterial activity	1.Sarcina lutea (A) 2.Staphylococcus aureus (A)	(73)
		Antifungal activity(plant pathogens)	Aspergillus niger (I)	
		Antimycobacterial activity	Mycobacterium phlei (I)	
		Antiyeast activity	Saccharomyces cerevisiae (I)	
<i>Entada spiralis</i>	seed (Malaysia)	Hemagglutinin activity	(A)	(77)
	dried seed (Malaysia)	Hypotensive activity	(A)	(49)
		Uterine stimulant effect	(I)	
<i>Entada sudanica</i>	leaf (Sudan)	Fish poison	(W)	(36)

		Toxic effect(general)	(I)
--	--	-----------------------	-----

Table 2-3 化學成分(Presense of Compound)

學名	化合物	主結構	用部	地區	文獻
<i>Entada abyssinica</i>	Trans-communic acid	Diterpene Type	stembark	Ethiopia	(78)
	Iso-kolavenol	Diterpene Type	rootbark	Tanzania	(57)
<i>Entada gigas</i>	Arachidic acid	Lipid Type	seed oil	West africa	(84)
	Behenic acid				
	Linoleic acid				
	Linolenic acid				
	Oleic acid				
	Palmitic acid				
	Stearic acid				
<i>Entada mannii</i>	Behenic acid	Lipid Type	seed oil	West africa	(84)
	Lauric acid				
	Linoleic acid				
	Linolenic acid				
	Oleic acid				
	Palmitic acid				
	Stearic acid				
<i>Entada phaseoloides</i>	Entadamide A	Sulfur compound Type	flowers	Thailand	(88)
	Entadamide C				
	Entadamide	Sulfur compound Type	seed	Indonesia	(4)
	A-β-D-glucoside				
	Methyl ester-homo-gentisic acid				
	2-Hydroxy-5-butoxy-phenylacetic acid				
5-Butoxy-phenylacetic acid-2-β-D-glucoside					
<i>Entada scandens</i>	Arachidic acid	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Behenic acid				
	Dilinolenin				
	Diolein				

	Dioleolinolein				
	Entada saponin II	Triterpene Type	bark	Japan	(80)
	Entada saponin IV	Triterpene Type	bark	Japan	(80)
			bark	Philippines	(81)
	Entada saponin-II	Triterpene Type	bark	Philippines	(81)
	Entada saponin-III	Triterpene Type	bark	Philippines	(81)
	Entada scandens prosapogenin A	Triterpene Type	seed	India	(79)
	Entada-saponin	Triterpene Type	seed	Not stated	(74)
	Entadamide A	Sulfur compound Type	kernel	Thailand	(87)
			kernel	Thailand	(3)
	Entadamide B	Sulfur compound Type	kernel	Thailand	(88)
			kernel	Thailand	(87)
	Entagenic acid	Triterpene Type	seed	India	(89)
			kernel	India	(82)
	Entanin	Triterpene Type	seed	India	(79)
	Linoleic acid	Lipid Type	seed oil	Bangladesh	(86)
			seed oil	India	(85)
	Linolenic acid	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Lupeol	Triterpene Type	seed	India	(79)
	Myristic acid	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Oleic acid	Lipid Type	seed oil	Bangladesh	(86)
			seed oil	India	(85)
	Oleodilinolein	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Oleolinolein	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Palmitic acid	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Phaseoloidin	Benzenoid Type	seed	India	(89)
	β -Sitosterol	Steroid Type	seed	India	(79)
	Stearic acid	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Trilinolein	Lipid Type	seed oil	India	(85)
	Triolein	Lipid Type	seed oil	India	(85)
Phytochemical screening					
學名	化合物	用部	文獻		
<i>Entada africana</i>	Alkaloids absent	bark	(34)		
		leaf			
		bark	(61)		

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 CDCl_3 (Deuterated chloroform), $\text{MeOH-}d_4$ (Deuterated methanol)、 $\text{DMSO-}d_6$ (Dimethyl sulfoxide), D_2O 、 $\text{Acetone-}d_6$ 、 $\text{Pyridine-}d_6$ 等均為光譜級(以上購自 Merck)。

2. 顯色劑

- (1) 10 % Sulfuric acid spray reagent。

3. 薄層層析(Thin Layer Chromatography)

TLC plate : Kieselgel 60 F₂₅₄ silica gel pre-coated aluminum 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(鳥久藥品株式會社)、無水硫酸鈉、氯化鐵、vanillin、醋酸鈉、硼酸、三氯化鋁、氫氧化鈉等 , 均為試藥級。
- (2) 福馬林(formalin)購自日本株式會社。
- (3) -角菜膠(-carrageenin)、Indomethacin 均購自 Sigma。

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 :
 - (i) BANDELIN SONOREX SUPER PK1028BH
 - (ii) AQUUSONIC™ MODEL 150D。
- (7) 玻璃展開槽 120mm x 150mm 及 220mm x 70mm。
- (8) 紫外線燈
CAMAG Universal UV lamp , 波長 254 nm 及 366 nm。

- (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，光譜單位為波數(cm^{-1})(中國醫藥學院)。
- (11) 質譜儀(MS)
(i) VG PLATFORM II Mass Spectrometer, 離子化電壓為 70 eV (中
國醫藥學院)
(ii) JOEL JMS-SX/SX 102A Tandem Mass Spectrometer
(中興大學)。
- (12) 核磁共振光譜儀
(i) Bruker DPX-200 FT-NMR (中國醫藥學院)。
(ii) Bruker DPX-400 FT-NMR(中國醫藥學院)。
Internal standard 為 Tetramethy Silane (TMS), 化學位移
(Chemical shift)以 δ 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(quantet), "m" 表示多重峰(multiplet), "br" 表示寬
峰。
- (13) 浮腫測定儀器(UGO BASILE Plethysmometer 7140)。

二、實驗動物

雄性 Wistar 系大白鼠體重 150~180 g 雄性 ICR 系小鼠體重 20~30 g

均飼養於互助大樓動物中心。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 實驗藥材來源及其提取與分離

一、植物採集及前處理

植物榼藤(*Entada phaseoloides* (L.) MERR.)於民國九十年十月南投縣魚池鄉王德伸先生協助採集。經中國醫藥學院 邱年永老師鑑定，確認為豆科(Leguminosae)之榼藤(*Entada phaseoloides* (L.) MERR.)後，先將種子、莖與葉分開處理後，開始進行成分分離實驗之研究。

二、提取與分離

陰乾後之榼藤約 6.79 公斤。將莖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 4 次；莖的甲醇粗抽物約 678.99 公克(Ep-M)，抽出率約為 10%。再將莖的甲醇粗抽物，加入蒸餾水形成懸浮液。再以正己烷分劃分離正己烷層合併減壓濃縮至乾後得正己烷層(Ep-H)共 42.37 公克，以氯仿層和水層分劃分離出氯仿層(Ep-C)共 7.48 公克，以乙酸乙酯和水層分劃分離出乙酸乙酯層(Ep-E)減壓濃縮後為 19.28 公克，以正丁醇和水層分劃分離出正丁醇層(Ep-B)減壓濃縮後為 530.66 公克，最後剩餘水層(Ep-W)為 79.2 公克。

成分分離：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，以不同濃度溶媒沖提，並利用再結晶所得之化合物。

分離出之成分如下列：

正己烷層分離出之成分有：

Spinasterol

氯仿層分離之成分有：

5, 4'-Dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone

Triacontanoic acid

Spinasterol- β -D-glucoside

乙酸乙酯層分離之成分有：

Quercetin

EA-S(仍在解析中)

Stembark of *Entada phaseoloides* (L.) MERR. (6.79kg)

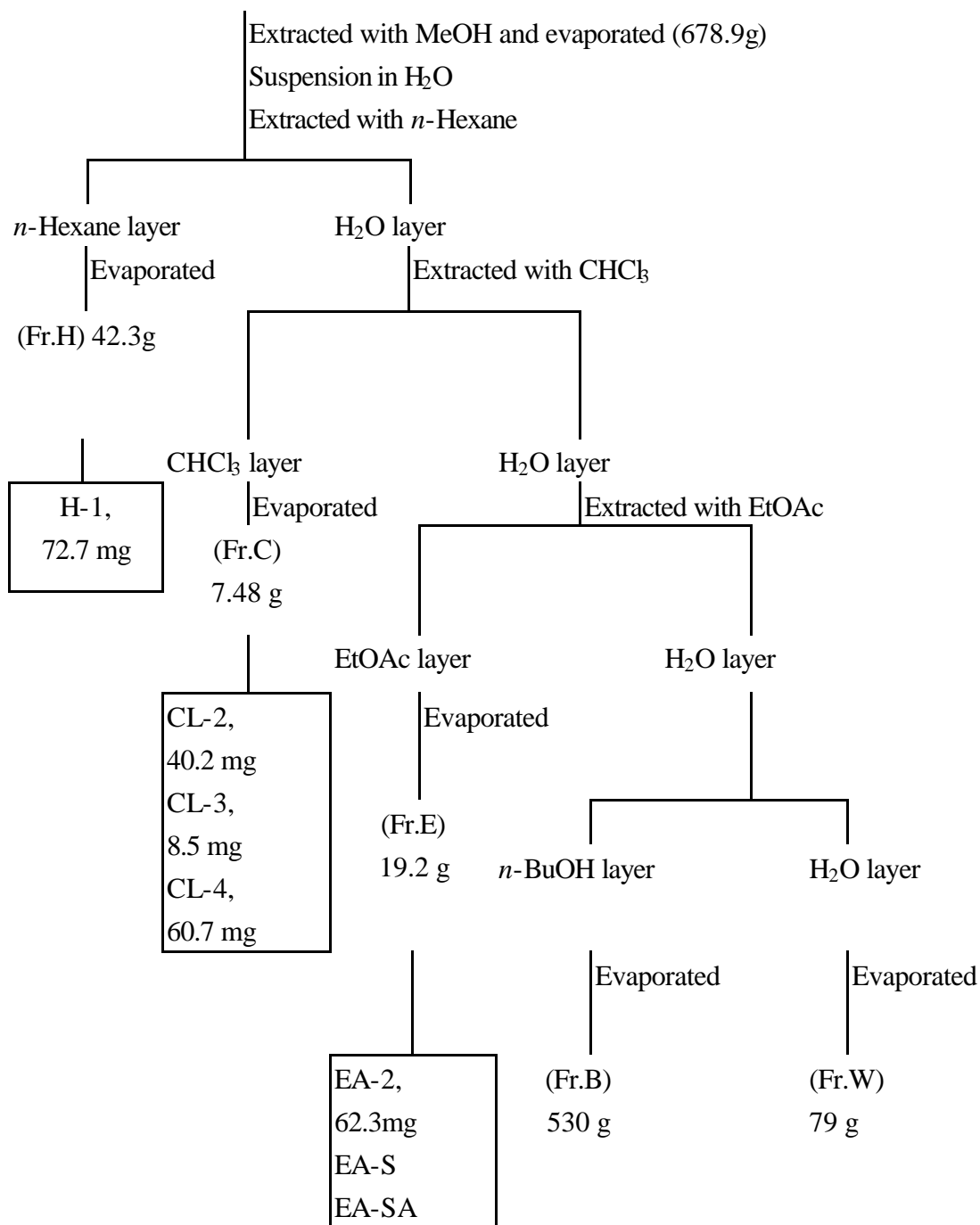


Fig. 3-1 楨藤(*Entada phaseoloides* (L.) MERR.)莖之抽提流程圖

第三節、藥理實驗方法

一、細胞毒殺活性試驗^(90 ~ 92)

此部分實驗為委託國家衛生研究院代為進行細胞毒殺活性測試，利用細胞毒殺活性試驗，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 $\mu\text{g/ml}$ 之待測物。三天後，由 MTS 還原試劑決定細胞存活能力。Actinomycin D 10 μM 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's 培養基培養。(5 % CO_2 濕式培養基，維持在 37 $^{\circ}\text{C}$ ，外加 10 % 胎牛血清和非必需胺基酸)。

二、1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力之試驗

實驗係採用 Blois⁽⁹³⁾及 Shyu YS⁽⁹⁴⁾之方法，在 10 mL 的試管中加入各種不同濃度及不同各層 (Water, *n*-Butanol, Ethylactate, Chloroform, *n*-Hexane) 之萃取物 (50 µg/ml ~ 500 µg/ml) 0.3 ml 再加入 0.2mL 之甲醇。此時將 Sample 分成兩組，一組為空白實驗，一組則加入 2.5 mL 的 DPPH 甲醇溶液至總體積為 3 mL。將兩組溶液置於室溫反應 90 分鐘，之後分別將各組使用 516 nm (A₅₁₆) 吸收波長偵測並記錄。本實驗使用 Quercetin 及 a-tocopherol 作為本實驗的正對照之標準品。

DPPH scavenging effect 計算公試：

$$\text{Scavenging effect (\%)} = \frac{[A_0 - (A - A_b)]}{A_0} \times 100 \%$$

A₀ : A₅₁₆ of DPPH without sample

A : A₅₁₆ of sample and DPPH

A_b: A₅₁₆ of sample without DPPH

DPPH :

free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

三、急性毒性試驗

實驗係採用 Litchfield 和 Wilcoxon⁽⁹⁵⁾之方法，使用體重 20~30 g ICR 雄性小鼠，檜藤經甲醇抽取之粗抽物 (Ep-M)，以腹腔注射給藥後，連續觀察 72 小時，紀錄其中毒及死亡之情形，求得半數之致死劑量 (LD₅₀) 及其 95% 可信度。

四、福馬林誘發舔足實驗

採用 Dubuisson 及 Dennis⁽⁹⁶⁾之實驗方法，選擇 20~25 g ICR 雄性小鼠，隨機分組，每組 8 隻，稱重後以腹腔注射給藥。實驗組則分別腹腔注射給予不同劑量之檜藤甲醇粗抽物，控制組則給予相同體積之 vehicle。30 分鐘後於小鼠右後足背皮下注射 25 μ L 之 1% 福馬林，觀其舔右後足所花時間，每五分鐘記錄一次結果，其中 0~5 分鐘稱前期 (early phase)，15~40 分鐘稱後期 (late phase)，觀察紀錄 40 分鐘。統計比較控制組、給藥組及 indomethacin (4 mg/kg) 對照組之差異。

五、抗炎實驗

依 Winter⁽⁹⁷⁾等人之方法，選用 150~180 g Wistar 系雄性大白鼠，每組 7~8 隻，於右後足跟作記號，並測量拾藥前之體積，而後腹腔給予不同濃度之榿藤甲醇粗抽物，控制組則給予相同體積之 vehicle，半小時後於右後足蹠後皮下注射致炎劑 0.1 mL 1% -carrageenin，誘發足蹠浮腫後，連續以 plethysmometer 測其排水量，每 30 分測一次，連續五小時，比較控制組、給藥組及 indomethacin (4 mg/kg)對照組之差異，其中浮腫率計算如下：浮腫率(edema rate)=(B-A)/A ×100%

A：注射前之排水量

B：給藥後測得之排水量

第四章 結 果

第一節 各層成分之理化性質與光譜

【一】 化合物 H-1:

1. 外觀：白色針晶(氯仿)。
2. mp：166~168 。
3. TLC：R_f = 0.58 (CHCl₃ : EtOAc = 8:1)
4. IR：ν_{max}(KBr) cm⁻¹:(Chart 1)
3397, 2933, 2868, 1719, 1445, 1381, 1219, 1038, 969, 772
5. EI-MS (70 eV) m/z (%)：(Chart 2)

412 (M ⁺ , 15)	397 (5)	369 (4)	302 (2)
272 (9)	271 (36)	255 (14)	248 (1)
233 (2)	219 (1)	147 (19)	107 (38)
81 (56)	55 (100)		
6. ¹H-NMR (in CDCl₃; 200 MHz) ppm：(Chart 3)

5.23	(1H, <i>br</i> , H-7)
5.03~5.15	(2H, <i>m</i> , H-22, 23)
3.62	(1H, <i>m</i> , H-3)
1.01	(3H, H-21)
0.86~0.80	(9H, <i>m</i> , H-26, 27, 29)
0.78	(3H, <i>s</i> , H-19)
0.55	(3H, <i>s</i> , H-18)

7. ^{13}C -NMR (in CDCl_3 ; 50.3 MHz) ppm : (Chart 4)

11.8	(C-29)	12.0	(C-18)	12.8	(C-19)	18.8	(C-27)
20.8	(C-21)	21.1	(C-26)	21.3	(C-11)	22.8	(C-15)
25.2	(C-28)	28.3	(C-16)	29.4	(C-6)	31.2	(C-25)
31.6	(C-2)	34.0	(C-10)	36.9	(C-1)	37.7	(C-4)
39.2	(C-12)	40.0	(C-5)	40.6	(C-20)	43.0	(C-13)
49.2	(C-9)	51.0	(C-24)	54.9	(C-14)	55.7	(C-17)
70.8	(C-3)	117.2	(C-7)	129.1	(C-23)	137.9	(C-22)
139.3	(C-8)						

8. DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) δ : (Chart 5)

CH_3 : 12.0, 12.2, 12.9, 18.9, 21.3, 21.0

CH_2 : 21.5, 23.0, 25.3, 28.5, 29.6, 31.8, 37.1, 37.9, 39.4

CH : 31.4, 40.2, 40.8, 49.4, 51.2, 55.1, 55.8, 71.0, 117.4, 129.4, 138.1

【二】 化合物 CL-2:

1. 外觀：黃色針晶(氯仿&甲醇)。
2. mp：171~172 。
3. TLC：R_f = 0.4 (CHCl₃)
4. IR：ν_{max}(KBr) cm⁻¹：(Chart 6)
3711, 2972, 2864, 1645, 1497, 1017
5. EI-MS (70 eV) m/z (%)：(Chart 7)

344 (M ⁺ , 10)	343 (9)	329 (2)	301 (14)
283 (3)	258 (5)	243 (6)	175 (4)
174 (1)	170 (2)	151 (29)	146 (2)
122 (52)	108 (36)	79 (77)	69 (95)
6. ¹H-NMR (in CDCl₃; 400 MHz) ppm：(Chart 8)

3.87~3.99	(9H, <i>s</i> , 3, 7, 3'-OCH ₃)
6.35	(1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.2 Hz, H-6)
6.44	(1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.2 Hz, H-8)
6.98	(1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 8.3 Hz, H-5')
7.69	(1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2.1, 8.3 Hz, H-6')
7.74	(1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 2.1 Hz, H-2')
12.63	(1H, <i>s</i> , 5-OH)
7. ¹³C-NMR (in CDCl₃; 100 MHz) ppm：(Chart 9)

55.8	(3-OCH ₃)	56.0	(7-OCH ₃)	60.1	(3'-OCH ₃)
92.1	(C-8)	97.9	(C-6)	106.1	(C-10)
110.4	(C-2')	114.3	(C-5')	121.5	(C-1')
123.6	(C-6')	139.2	(C-3)	145.2	(C-3')
148.8	(C-4')	155.6	(C-2)	156.8	(C-5)
162.0	(C-9)	165.5	(C-7)	178.8	(C-4)

【三】 化合物 CL-3:

1. 外觀：白色粉末狀。
2. mp：92~93 。
3. TLC：Rf = 0.5 (CHCl₃)
4. 溶解度：溶於氯仿、乙酸乙酯，難溶於水。
5. IR：ν_{max} (KBr) cm⁻¹：(Chart 10)
2914, 2847, 1701, 1462, 1298, 1219, 772, 728

6. EI-MS (30 eV) m/z (%)：(Chart 11)

452 (M ⁺ , 1)	424 (9)	396 (8)	382 (2)
368 (2)	325 (1)	311 (1)	297 (1)
283 (1)	269 (1)	255 (1)	241 (2)
227 (2)	213 (1)	199 (2)	185 (8)
129 (41)	85 (32)	73 (77)	60 (59)

7. ¹H-NMR (in CDCl₃; 200 MHz) ppm：(Chart 12)

2.35 (2H, *t*, *J*=7.3Hz, H-2)
1.64 (2H, *m*, H-3)
1.26 (*br*, (CH₂)₄₋₂₉)
0.88 (3H, *t*, *J*=6.4Hz, H-30)

8. ¹³C-NMR (in CDCl₃; 50.3 MHz) ppm：(Chart 13)

13.9 (C-30)	22.5 (C-29)	24.5 (C-3)	29.2 (C-4~27)
31.7 (C-28)	33.7 (C-2)	179.1 (C-1)	

【四】 化合物 CL-4:

1. 外觀：白色粉末狀。

2. mp：292~295 。

3. TLC：Rf = 0.45 (CHCl₃ : MeOH = 7:1)

4. IR：ν_{max} (KBr) cm⁻¹：(Chart 14)

3373, 2915, 2848, 1735, 1647, 1463, 1051

5. FAB-MS (m/z)：(Chart 15)

575 (M ⁺ +H)	556	539	520
484	466	448	430
412	397	307	271
154	136		

6. ¹H-NMR (in pyridine-*d*₆; 200 MHz) ppm：(Chart 16)

5.31~4.98	(4H, <i>m</i> , H- 3', 23, 22, 7)
4.60~3.56	(6H, <i>m</i> , H-1', 2', 4', 5', 6'a, 6'b,)
1.22~0.78	(15H, <i>m</i> , H-19, 21, 26, 27, 29)
0.66	(3H, <i>s</i> , H-18)

7. ¹³C-NMR (in pyridine-*d*₆; 50.3 MHz) ppm：(Chart 17)

11.8	(C-29)	12.1	(C-18)	12.6	(C-19)	19.5	(C-27)
20.8	(C-26)	21.2	(C-21)	22.9	(C-15)	22.9	(C-11)
25.2	(C-28)	28.4	(C-16)	29.0	(C-2)	29.6	(C-6)
31.7	(C-25)	34.1	(C-10)	34.1	(C-4)	36.7	(C-1)
39.7	(C-12)	39.7	(C-5)	40.7	(C-20)	43.0	(C-13)
49.9	(C-9)	51.0	(C-24)	54.8	(C-14)	55.6	(C-17)
62.4	(C-6')	71.3	(C-4')	75.4	(C-2')	77.6	(C-3')
78.0	(C-3)	78.2	(C-5')	102.1	(C-1')	117.4	(C-7)
129.2	(C-23)	138.2	(C-22)	139.0	(C-8)		

【五】 化合物 EA-2:

1. 外觀：黃色針晶(甲醇)。
2. mp : 316~317 。
3. TLC : $R_f = 0.7$ (CHCl_3 :Acetone = 10 :1)
4. IR : ν_{max} (KBr) cm^{-1} : (Chart 18)

3349, 2972, 1645, 1454, 1088, 1039, 875

5. EI-MS (30 eV) m/z (%) : (Chart 19)

302 (M^+ , 24)	274 (3)	245 (3)	228 (5)
153 (11)	150 (4)	137 (25)	124 (9)
108 (32)	91 (26)	81 (39)	69 (100)

6. $^1\text{H-NMR}$ (in $\text{MeOH-}d_4$; 200 MHz) ppm : (Chart 20)

7.73	(1H, <i>d</i> , $J=2.0\text{Hz}$, H-2')
7.76	(1H, <i>dd</i> , $J= 8.5, 2.0 \text{ Hz}$, H-6')
6.88	(1H, <i>d</i> , $J= 8.5 \text{ Hz}$, H-5')
6.38	(1H, <i>d</i> , $J= 2.0 \text{ Hz}$, H-8)
6.18	(1H, <i>d</i> , $J= 2.0 \text{ Hz}$, H-6)

7. $^{13}\text{C-NMR}$ (in $\text{MeOH-}d_4$; 50.3 MHz) ppm : (Chart 21)

92.8	(C-8)	97.6	(C-6)	102.9	(C-10)	114.3	(C-2')
114.6	(C-5')	120.1	(C-6')	122.5	(C-1')	135.6	(C-3)
144.6	(C-3')	146.3	(C-2)	147.1	(C-4')	156.6	(C-5)
160.8	(C-9)	163.9	(C-7)	175.7	(C-4)		

【六】 化合物 EA-S

1. 外觀：無色針晶(甲醇)。
2. mp： 216~218 。
3. TLC： $R_f = 0.4$ (CHCl_3 : MeOH = 3 :1)。
4. IR： ν_{max} (KBr) cm^{-1} ： (Chart 22)
3331, 2987, 2900, 1636, 1406, 1250, 1065
5. EI-MS (70 eV) m/z (%)： (Chart 23)
144 (0.14) 102 (2) 73 (100) 60 (33)
55 (6)
6. $^1\text{H-NMR}$ (in D_2O ; 400 MHz) ppm： (Chart 24)
3.98 (1H, *br*)
3.55 (2H, *t*, $J=9.2$)
3.46 (1H, *d*, $J=2.6$)
3.44 (1H, *d*, $J=2.6$)
3.27 (2H, *s*)
3.20 (1H, *t*, $J=9.2$)
7. $^{13}\text{C-NMR}$ (in D_2O ; 100 MHz) ppm： (Chart 25)
74.3 73.6 72.4 72.2 71.1
8. DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) δ ： (Chart 26)
CH₃：
CH₂：
CH： 74.3, 73.6, 72.4, 72.2, 71.1

【七】 化合物 EA-SA

1. 外觀：白色粉末。
2. mp： 218~220 。
3. TLC： R_f = 0.5 (CHCl₃: MeOH = 8 :3)
4. 以鹽酸鎂粉試驗呈現橙紅色。

5. EI-MS (70 eV) m/z (%)： (Chart 27)

304 (M ⁺ , 27)	275 (26)	165 (23)	153 (100)
137 (17)	123 (88)	91 (46)	77 (44)

6. ¹H-NMR (in D₂O; 200 MHz) ppm： (Chart 28)

11.89	(1H, <i>br</i> , C ₅ -OH)
6.94	(1H, <i>br</i> , H-2')
6.74	(2H, <i>m</i> , H-5', 6')
5.90	(1H, <i>s</i> , H-8)
5.85	(1H, <i>s</i> , H-6)
4.97	(1H, <i>m</i> , H-2)
4.49	(1H, <i>m</i> , H-3)

7. ¹³C-NMR (in CDCl₃; 50 MHz) ppm： (Chart 29)

196.7	(C-4)	166.8	(C-7)	163.4	(C-5)
162.7	(C-9)	145.4	(C-4')	144.5	(C-3')
128.2	(C-1')	119.7	(C-6')	114.9	(C-2')
114.6	(C-5')	100.3	(C-10)	96.0	(C-6)
95.0	(C-8)	83.3	(C-3)	71.9	(C-2)

第二節、藥理實驗之結果

一、細胞毒殺活性試驗

將榿藤甲醇萃取物以不同溶媒分別萃取後，分成正己烷層、氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層、水層(W層&P層)等，進行榿藤對細胞毒殺活性試驗，發現氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層等對 HONE-1 (人類鼻咽癌細胞) 有抑制活性，而乙酸乙酯層和正丁醇層等對 NUGC (人類鼻胃癌細胞) 也有抑制活性。(詳見 Table 4-1)

二、1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力之試驗

將榿藤甲醇萃取物分別萃取後，分成正己烷層、正丁醇層、水層(W層& P 層)等，進行榿藤對 DPPH 自由基清除能力試驗，發現正丁醇層、P 層、甲醇粗抽等對 DPPH 自由基清除能力有明顯之活性，且在濃度大於 200 $\mu\text{g/ml}$ 時，其抗氧化效力與 quercetin 和 tocopherol 相近。(詳見 Fig. 4-1)

Fig. 4-1 榿藤之 DPPH 自由基清除能力之試驗

三、急性毒性試驗

如 Table 4-2 所示，榿藤莖部甲醇粗抽物經腹腔注射小鼠後，在 72 小時內之 LD₅₀ 為 170 mg/kg，其 95 % 可信賴區間為 123~237 mg/kg。

中毒症狀：起初小鼠之活動量降低，眼睛變為暗紅色，聚集於角落並有步伐遲緩之現象，死亡前有短暫類痙攣之跳動；當劑量加大時，活動性減低加劇，死亡之時間縮短。

四、福馬林誘發舔足實驗

如 Fig. 4-2 所示，榿藤莖部甲醇粗抽物(Ep-M)在 5、10mg/kg 時，無論前期或後期對小白鼠均有明顯之抑制作用。

Fig. 4-2 Analgesic effect of methanolic extracts of *Entada phaseoloides* (Ep-M) on formalin induced pain response in mice. Ep-M (5 & 10 mg/kg, i.p.) was injected 30 min before formalin (1%) injected. The values are mean \pm S.E. from 8 mice per group. *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, significantly different from corresponding control group values, ANOVA.

五、抗炎實驗

如 Fig. 4-3 所示, 榿藤莖部甲醇粗抽物 (Ep-M) 在 5mg/kg 時即可明顯抑制 λ -carrageenin 所引起之發炎反應, 且到給藥後 5 小時仍有一定的抗炎活性。

Fig. 4-3 Anti-inflammation actions of methanol extracts of *Entada phaseoloides* (Ep-M) on λ -carrageenin induced paw swelling in mice. Ep-M (5 & 10 mg/kg, i.p.) was injected 30 min before 1% λ -carrageenin injected. The values are mean \pm S.E. from 7~8 mice per group. *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, significantly different from corresponding control group values, ANOVA.

第五章 討 論

第一節 榿藤化學成分鑑定與討論

【一】 H-1: Spinasterol

化合物 H-1 以氯仿再結晶後得白色針狀結晶，熔點為 166~168 。 TLC 片經溶媒(CHCl_3 : EtOAc = 8:1)展開後 R_f 值為 0.58。對 Liebermann-Bürchard 試劑呈陽性反應，故推測可能為植物固醇 (Phytosterol)類化合物^(98~100)。

由 EI-MS 圖譜(Chart 2) M^+ (m/z)顯示 412 為分子離子峰，推測其分子式為 $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$ 。推斷其他可能斷裂碎片如 Fig. 5-1^(99~105)。

由 IR 圖譜(Chart 1)顯示：在 3397 cm^{-1} 有 -OH 的吸收帶， 1445 、 1381 cm^{-1} 有 - CH_3 - CH_3 的 H-C-H 的吸收帶， 1038 cm^{-1} 是 C-O 的吸收帶^(106~08)。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Chart 3)顯示在 5.23 (1H, br)為雙鍵上 C-7 之質子訊號； $5.03\sim 5.15$ 為支鏈雙鍵 C-22, C-23 之質子訊號； 3.62 為 C-3 連接 -OH 之次甲基的質子訊號(3-H)； $0.55\sim 1.01$ 為 6 個甲基(C-18, 19, 21, 26, 27, 29)上的質子訊號，綜合以上推測化合物可能為 spinasterol (bessisterol)^(107~109)。

Fig. 5-1 spinasterol 在 EI-MS 之可能裂解方式

^{13}C -NMR 圖譜(Chart 4)顯示 137.9, 129.1 分別為側鏈雙鍵 C-22, C-23 的碳原子訊號; 139.3, 117.2 分別為環內雙鍵 C-8, C-7 之碳原子訊號; 70.8 為帶-OH 基 C-3 的碳原子訊號,^(107~109)。

DEPT 圖譜(Chart 5)顯示 δ 12.0, 12.2, 12.9, 18.9, 21.3, 21.0 為 CH_3 之碳原子訊號; δ 21.5, 23.0, 25.3, 28.5, 29.6, 31.8, 37.1, 37.9, 39.4 為 CH_2 之碳原子訊號; δ 31.4, 40.2, 40.8, 49.4, 51.2, 55.1, 55.8, 71.0, 117.4, 129.4, 138.1 為 CH 之碳原子訊號。本化合物碳譜數據與文獻^(106~109)spinasterol 碳譜數據比對如 Table 5-1 所示:

Table 5-1 化合物 H-1 碳譜數據與文獻^(106~109)碳譜數據比對表

No. of C	δ of H-1 (CDCl_3)	δ of literature data (CDCl_3)
1.	36.9	37.2
2.	31.6	31.7
3.	70.8	71.0
4.	37.7	38.1
5.	40.0	40.3
6.	29.4	29.6
7.	117.2	117.5
8.	139.3	139.6
9.	49.2	49.5
10.	34.0	34.3
11.	21.3	21.6
12.	39.2	39.5
13.	43.0	43.3
14.	54.9	55.2
15.	22.8	23.0
16.	28.3	28.4

17.	55.7	56.0
18.	12.0	12.2
19.	12.8	13.0
20.	40.6	40.7
21.	20.8	21.0
22.	137.9	138.1
23.	129.1	129.5
24.	51.0	51.3
25.	31.2	31.5
26.	21.1	21.3
27.	18.8	19.0
28.	25.2	25.3
29.	11.8	12.0

綜合以上光譜資料與文獻^(106~109)比對，推定此化合物為 spinasterol (bessisterol)。

【二】 CL-2: 5, 4'-Dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone

化合物 CL-2 再結晶(氯仿&甲醇)後得到黃色針晶，其熔點為 171~172 。 TLC 片經溶媒(CHCl_3)展開後 $R_f = 0.4$ ，紫外光(366 nm)下深紫紅色，在以氨氣處理後，在紫外光下轉為黃色，所以推測可能為黃酮醇類(5-OH, 3-OR, 並帶有 4'-OH 或 3', 4'-OH)化合物^(99, 100, 110)。

由 IR 圖譜(Chart 6)顯示：在 3330 cm^{-1} 有 -OH 的吸收帶， 1645 cm^{-1} 為 carbonyl group (C=O) 的吸收帶^(106, 113~115)。

由 EI-MS 圖譜(Chart 7) M^+ (m/z) 顯示 344 為分子離子峰，推測其分子式為 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$ 。推斷其他可能斷裂碎片如 Fig. 5-2^(111, 112)。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Chart 8)顯示在 3.87~3.99 (9H) 分別為 3、7、3' 位上 3 個甲氧基(- OCH_3)的質子訊號； 6.35 (1H, *d*, $J = 2.2 \text{ Hz}$) 6.44 (1H, *d*, $J = 2.2 \text{ Hz}$) 分別為 H-6 8 上的質子訊號, H-6 及 H-8 因彼此間的遠程偶合($J = 2.2 \text{ Hz}$), 故二者表現均為雙峰； 6.98 7.69 7.74 分別為 B 環上 5'、6'、2' 的質子訊號； 12.63 (1H, *s*) 為 C-5-OH 的質子訊號^(109, 113~116)。

Fig. 5-2 5, 4'-Dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone 在 EI-MS 之可能裂解方式

$^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(Chart 9)顯示 55.8 56.0 60.1 別為 3、7、3' 位上 3 個甲氧基(- OCH_3)的碳原子訊號； 178.8 為 C-4 位上 carbonyl group (C=O)

之訊號； 165.5、156.8、148.8、145.2、139.2分別為 C-7、5、4'、3'、3 的吸收訊號是結構上接-OR 基的碳； 162.0、155.6分別為 C-9、2 的吸收訊號是結構上接 1 位“-O-”的碳^(113~117)。

本化合物碳譜數據與文獻^(113~117) 5, 4'-dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone 碳譜數據比對如 Table 5-2 所示：

Table 5-2 化合物 CL-2 碳譜數據與文獻^(113~117)碳譜數據比對表

No. of C	δ_c of CL-2 (CDCl ₃)	δ_c of literature data (CDCl ₃)
2	155.6	155.9
3	139.2	138.9
4	178.8	178.7
5	156.8	156.7
6	97.9	97.8
7	165.5	165.4
8	92.1	92.2
9	162.0	162.1
10	106.1	106.0
B 環上的碳 C1'~C6'		
1'	121.5	122.5
2'	110.4	110.9
3'	145.2	146.3
4'	148.8	148.3
5'	114.3	114.6
6'	123.6	122.7
甲氧基的碳		
3-OCH ₃	55.8	55.8
7-OCH ₃	56.0	56.1
3'-OCH ₃	60.1	60.2

綜合以上光譜資料與文獻^(106, 109, 113~117)比對，推定此化合物為 5,

4'-dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone.

【三】 CL-3: Triacontanoic acid

化合物 CL-3 為白色粉末狀, 熔點為 92~93 。 TLC 片經溶媒(CHCl_3) 展開後 R_f 值為 0.5。 溶於氯仿、 乙酸乙酯, 難溶於水。

由 IR 圖譜(Chart 10)顯示: 在 1701 cm^{-1} 有 $\text{C}=\text{O}$ 的吸收帶, 1462 cm^{-1} 為 CH_3 的吸收帶^(106, 118, 119)。

由 EI-MS 圖譜(Chart 11) M^+ (m/z)顯示分子離子峰為 452, 故推測化合物 CL-3 可能為 triacontanoic acid 的化合物。 推斷其他可能斷裂碎片如 Fig. 5-3^(118~120)。

$^1\text{H-NMR}$ (Chart 12)圖譜顯示在 0.88(3H, *t*)為長鏈末端甲基之質子吸收訊號; 1.26 (br)為長鏈 methylene ($-\text{CH}_2-$)的質子吸收訊號; 1.64 (2H, *m*)、 2.35 (2H, *t*)分別為 H-3、 H-2 的質子吸收訊號^(118, 119)。

$^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(Chart 13)顯示 1.39 為長鏈末端甲基碳的訊號; 22.5~33.7 為長鏈 methylene ($-\text{CH}_2-$)的吸收訊號; 179.1 為 carboxyl carbon ($\text{C}=\text{O}$) 吸收訊號^(118, 119)。

Fig. 5-3 Triacontanoic acid 在 EI-MS 之可能裂解方式

綜合以上光譜並參考文獻^(118~120)推測為 triacontanoic acid 的化合物

【四】CL-4: Spinasterol- β -D-glucoside

化合物 CL-4 為白色粉末狀，熔點為 292~295 $^{\circ}$ C。TLC 片經溶媒 (CHCl₃ : MeOH = 7:1) 展開後 R_f 值為 0.45。對 Liebermann-Bürchard 試劑呈陽性反應，故推測可能為植物固醇(Phytosterol)類化合物^(98~100)。

FAB-MS 圖譜(Chart 15)有 m/z 575 [M+H]⁺ 離子峰，所以分子量為 574。故推測化合物可能為 spinasterol- β -D-glucoside。

由 IR 圖譜(Chart 14)顯示: 在 3373 cm⁻¹ 有 -OH 的吸收帶, 2915、2848, cm⁻¹ 有 -CH 的吸收帶，1051 cm⁻¹ 是 C-O-C 的吸收帶^(106, 121)。

¹H-NMR 圖譜(Chart 16)顯示在 5.31~4.98 (m) 多重峰主要為環內及環外雙鍵上 H-7、H-22、H-23 等之質子訊號；4.60~3.56 (m) 多重峰為糖基上質子的訊號^(99,121)。

¹³C-NMR 圖譜(Chart 17)顯示在 δ 117.4、139.0 及 138.2、129.2 的訊號是雙鍵 C-7、C-8 及 C-22、C-23 之吸收； δ 102.1、78.2、77.6、75.4、71.3、62.4 分別為葡萄糖上 C-1'、C-5'、C-3'、C-2'、C-4'、C-6' 的吸收訊號^(99,121)。

本化合物碳譜數據與文獻^(99,121) spinasterol- β -D-glucoside 碳譜數據比對如 Table 5-3 所示：

Table 5-3 化合物 CL-4 碳譜數據與文獻^(99,121)碳譜數據比對表

No. of C	δ_c of CL-4 (pyridine- d_6)	δ_c of literature data (pyridine- d_6)
1	36.7	37.1
2	29.0	29.0
3	78.0	78.6
4	34.1	34.7
5	39.7	40.2
6	29.6	29.4
7	117.4	117.9
8	139.0	139.6
9	49.9	49.6
10	34.1	34.5
11	22.9	23.4
12	39.7	39.6
13	43.0	43.5
14	54.8	55.3
15	22.9	23.4
16	28.4	29.0
17	55.6	56.0
18	12.1	12.6
19	12.6	13.3
20	40.7	41.2
21	21.2	21.7
22	138.2	138.7
23	129.2	129.6
24	51.0	51.5
25	31.7	32.2
26	20.8	21.4
27	19.5	19.2
28	25.2	25.3
29	11.8	12.3

Table 5-3 化合物 CL-4 碳譜數據與文獻^(99,121)碳譜數據比對表(續)

糖的碳 C1'~C6'		
1'	102.1	102.2
2'	75.4	75.4
3'	77.6	77.1
4'	71.3	71.8
5'	78.2	78.6
6'	62.4	62.9

綜合以上光譜並參考文獻^(99, 121)推測為 spinasterol- β -D-glucoside。

【五】 EA-2:Quercetin

化合物 EA-2 再結晶(甲醇)後得到黃色針晶,其熔點為 316~317 。
TLC 片經溶媒(CHCl_3 : Acetone = 10 :1)展開後 $R_f = 0.7$, 紫外光下呈暗黃色,在以氨氣處理後,在紫外光下轉為亮黃色,所以推測可能為帶有 3-OH、 3', 4'-OH 的黃酮醇類化合物⁽¹¹⁰⁾。

EI-MS 圖譜(Chart 19) M^+ (m/z)顯示 302 為分子離子峰。推斷其他可能斷裂碎片如 Fig. 5-4^(99, 100, 103, 110, 112)。

由 IR 圖譜(Chart 18)顯示:在 3349 cm^{-1} 有 -OH 的吸收帶, 1647 cm^{-1} 為 carbonyl group (C=O)的吸收帶^(122, 123)。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Chart 20)顯示在 6.18 (*d*, $J = 2.0\text{ Hz}$)、 6.38 (*d*, $J = 2.0\text{ Hz}$)分別為 A 環上 H-6、 H-8 的質子訊號,且彼此間相互遠程偶合形成雙峰; 6.88 (*d*, $J = 8.5\text{ Hz}$)、 7.76 (*dd*, $J = 8.5, 2.0\text{ Hz}$)、 7.73 (*d*, $J = 2.0\text{ Hz}$)分別為 B 環上 H-5'、 H-6'、 H-2' 的質子訊號,且彼此間相互偶合,其中 H-6' 分別與 H-5' 有產生鄰位偶合($J = 8.5\text{ Hz}$),而與 H-2' 產生遠程偶合($J = 2.0\text{ Hz}$)^(116, 122~ 124)。

Fig. 5-4 quercetin 在 EI-MS 之可能裂解方式

$^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(Chart 21)顯示在 175.7 為 C-4 位上 carbonyl group

(C=O)之訊號； 163.9 156.6 147.1、 144.6 135.6 分別為 C-7、5、4’、3’、3 的吸收訊號是結構上接-OH 基的碳； 160.8 146.3 分別為 C-9、2 的吸收訊號是結構上接 1 位“-O-” 的碳^(117, 122~124)。

本化合物碳譜數據與文獻^(117, 122~124) quercetin 碳譜數據比對如 Table 5-4 所示：

Table 5-4 化合物 EA-2 碳譜數據與文獻^(117, 122~124) 碳譜數據比對表

No. of C	δ_c of EA-2 (MeOH- d_4)	δ_c of literature data (DMSO- d_6)
2.	146.3	147.2
3.	135.6	135.9
4.	175.7	175.8
5.	156.6	156.0
6.	97.6	98.7
7.	163.9	163.9
8.	92.8	93.8
9.	160.8	161.4
10.	102.9	103.6
B 環上的碳 C1’~C6’		
1’	122.5	121.8
2’	114.3	115.2
3’	144.6	145.0
4’	147.1	147.7
5’	114.6	115.4
6’	120.1	119.9

綜合以上光譜並參考文獻^(117, 122~124) 推測為 quercetin。

【六】 EA-S :

化合物 EA-S 再結晶(甲醇)後得無色針晶, 熔點為 216~218 。片經溶媒展開(CHCl_3 : MeOH = 3 :1)後 R_f 值為 0.4, 在以 10% H_2SO_4 spray 加熱後呈現焦褐色。

由 EI-MS 圖譜(Char 23)顯示 144 或 102 (m/z)可能為分子離子峰, 70 (m/z)為其基峰, 而一般天然物成分中與此化合物質譜裂較相似的主要為糖類 多元醇類等等, 但沒有化合物之分子離子為 102 或 144 (m/z), 所以與文獻⁽¹⁰³⁾比較 inositol、D-ribose、D-fructose、D-glucose 等該類化合物斷裂碎片 m/z 值相似的化合物, 其中與 inositol 之質譜比較相近。Inositol 之斷裂如下: Inositol 的基峰為 73 (m/z), 為分子離子 M^+ (180) 失去 1 個分子的水, 而得到的離子(162 m/z)再進行對半裂解生成的 $[\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2]^+$ 離子。離子 144 (m/z)是分子離子失去 2 個水之產物; 而 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 離子再進行 RDA 裂解, 則得互補離子 102 (m/z , $[\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3]^+$)和 60 (m/z , $[\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^+$)。

由 IR 圖譜(Char 22)顯示: 在 3331 cm^{-1} 有 -OH 的吸收帶, 在 1065 cm^{-1} 有 $> \text{C}-\text{OH}$ 之吸收帶⁽¹⁰⁶⁾。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Char 24)顯示在 3.98 有 1 個寬峰的質子訊號, 3.55 有 2 個質子訊號(t , $J=9.6$); 3.46 及 3.44 各有 1 個雙峰的質子訊號(1 d , $J=2.6$); 3.27 有 2 個質子的訊號; 3.20 有 1 個質子的訊號。

由 ^{13}C -NMR 圖譜(Chart 25)與 DEPT 圖譜顯示此化合物應有 5 個碳, 的化學位移訊號分別在 74.3、73.6、72.4、72.2、71.1, 且碳均為 CH, 跟 inositol 的碳一樣。與文獻⁽¹⁰⁹⁾中 inositol 的 4 個立體異構物之碳譜比較(詳 Table 5-5), 可以發現雖然化學位移相似, 但因為 inositol 的結構有一定的對稱性, 所以至多只有 4 個不同的碳原子吸收訊號, 因此應該不是同一化合物。

EA-S	C	1*	2*	3*	4*
74.3	1.	73.7	72.4	71.6	71.7
73.6	2.	73.7	72.2	70.5	74.5
72.4	3.	73.7	72.4	72.8	70.1
72.2	4.	73.7	71.1	72.8	74.5
71.1	5.	73.7	74.3	70.5	71.7
	6.	73.7	71.1	71.6	66.8

-in D₂O, 100.6 Hz; * in D₂O, 50.3Hz

DEPT 圖譜(Chart 26)顯示 δ 74.3、73.6、72.4、72.2、71.1 的綜合以上光譜與參考文獻^(106, 109)可知, 化合物 EA-S 可能有與 inositol 相似的結構, 但詳細之結構仍在解析中。

第二節 檜藤之藥理活性討論

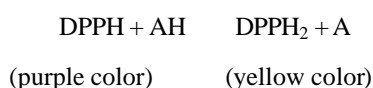
一、細胞毒殺活性試驗

本實驗進行了檜藤甲醇萃取物與其各層對 HONE-1 (人類鼻咽癌細胞) 與 NUGC (人類鼻胃癌細胞) 之體外抗癌作用評估, 結果發現氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層等對 HONE-1 有抑制活性, 而乙酸乙酯層和正丁醇層等對 NUGC 也有抑制活性, 可見檜藤之抗癌活性成分可能為中高極性之物質, 而本實驗在乙酸乙酯層分離到的槲皮素 (EA-2) 在許多的文獻⁽¹²⁵⁾中顯示對各類癌細胞的抑制都有不錯之活性, 且乙酸乙酯層對 HONE-1、NUGC 均有抑制活性, 所以推測槲皮素可能是檜藤抗癌之活性成分之一。

二、1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力之試驗

隨著時代的進步人們對自由基的研究了解亦逐漸深入, 也體認到自由基與許許多多的病理與生理現象密切相關, 如衰老、癌症等等, 故不斷尋求阻斷自由基反應的抗氧化劑。也因此自由基清除能力的篩選也顯的十分重要。一般自由基清除能力的篩選方法⁽¹²⁶⁾主要分為體外抗氧化與體內抗氧化實驗, 而體外抗氧化的特點在於快速、靈敏, 以便進一步再進行體內研究。體外抗氧化之試驗的篩選方法很多, 但其中 DPPH 自由基清除能力實驗方法為最簡便的方法之一, 其不需要用

到太貴重的儀器，且 DPPH 為一相當安定的自由基，靈敏也高，故在抗氧化上的研究，經常使用 DPPH ($C_{18}H_{12}N_6O_5$) 來評估抗氧化劑的供氫能力。原理：DPPH 其甲醇溶液為紫色 (purple color) 在 516 nm (文獻⁽¹²⁷⁾ 515~517 nm) 下有強吸光，當 DPPH 自由基與抗氧化劑反應時，將會降低吸光值。因而藉此判斷抗氧化劑清除 DPPH 自由基的能力，其吸光值愈低，表示試樣清除 DPPH 自由基的能力愈強。



DPPH 自由基的甲醇溶液會隨著 pH 值的不同及時間長短而有所變化，DPPH 自由基甲醇溶液在 pH 5.0~6.5 比較穩定而有適當的吸收，在鹼性時則不穩定。此外，DPPH 自由基的甲醇溶液會隨時間的增長而逐漸劣化，故實驗時需新鮮配置^(93, 94)。而榿藤對 DPPH 自由基清除能力試驗，發現正丁醇層、P 層、甲醇粗抽等對 DPPH 自由基清除能力有明顯之活性，可見榿藤之抗氧化活性成分可能為中高極性之物質，本實驗有分離到的槲皮素，而槲皮素本身就具有很好的抗氧化之活性，同時也是常用的陽性對照試劑之一，所以槲皮素應該是榿藤抗氧化之活性成分之一。

三、急性毒性

榿藤莖部甲醇粗抽物經腹腔注射小鼠後，在 72 小時內之 LD_{50} 為 170 mg/kg。中毒症狀：起初小鼠之活動量降低，眼睛變為暗紅色，聚集於角落並有步伐遲緩之現象，死亡前有短暫類痙攣之跳動；當劑量加大時，活動性減低加劇，死亡之時間縮短。顯示榿藤莖部甲醇粗抽物具有一定的毒性，而且與文獻⁽¹²⁸⁻¹²⁹⁾的依 LD_{50} 之毒性分類比較(詳 Table 5-6)中發現屬於中等毒性，故其在臨床之運用上需謹慎。

四、福馬林誘發舔足實驗

福馬林舔足實驗最早由 Dubuission 和 Dennis⁽⁹⁶⁾於 1977 年提出，對許多鎮痛藥物的篩選為一可靠有效的方法，皮下注射稀釋過的福馬林於大鼠、小鼠、貓或靈長類動物可觀察到兩相痛反應，在小鼠後足掌注入福馬林，因刺激引起疼痛而有舔足或頓足的行為反應，此一動物模式，其所產生之舔蹠反應呈雙向 (biphasic response) 的作用，即其舔足時間有兩個高峰期，在福馬林注入 0~5 分鐘會造成起痛(initial pain)反應而引起小鼠舔足，稱之為前期(early phase)，主要因直接刺激痛覺接受體造成 substance P 或 bradykinin 等致痛物質釋放；而在 15~40 分鐘所表現舔足時間稱之為後期(late phase)，主要因為福馬林溶液引起發炎反應造成化學傳遞物質，如 histamine、prostaglandin 及 kinin 等有關物質由受損組織細胞中釋出所引起⁽¹³⁰⁾。

本實驗結果發現檣藤莖部甲醇粗抽物(Ep-M)在 5、10 mg/kg 時，無論前期或後期均有明顯之抑制作用，且 Ep-M 在劑量 5 mg/kg 時，對於福馬林所誘導的 late phase 其鎮痛療效比 indomethacin 更明顯；其鎮痛作用可能與抑制上述發炎介質釋放相關，而確實具有鎮痛之活性成分則有待進一步探討。

五、抗炎實驗

用於評估抗藥物之眾多篩選方法中，常以注射致炎劑後能產生抑制浮腫的能力為先決條件，最常用的致炎物包括 κ -carrageenin、dextrose、ablumin、yeast⁽⁹⁷⁾等。其中又以 κ -carrageenin 最常用， κ -carrageenin 是由 Irish sea moss (Chondrus crispus)所衍化出來的一種非刺激性多糖體。1962 年 Winter 等人⁽⁹⁷⁾使用 0.05 mL, 1% κ -carrageenin 注射大鼠足蹠，結果引起足蹠腫脹，並於注射後連續測量 3 小時後浮腫體積；與其他誘發水腫之致炎劑相較，優點為在發炎過程中為局部刺激引起和抗原反應無關，且在毒性劑量下反應性佳，無全身性作用，再現性高⁽¹³¹⁾。

事實上， κ -carrageenin 注射足蹠所引起的浮腫是雙向性反應⁽¹³²⁾，注射 κ -carrageenin 後，在不同時間有不同物質釋放而引起發炎，即 0~1.5 小時或 20 分至 1 小時內(first phase) histamine、PAF (platelet activating factor)會游離出來；1.5~2.5 小時(second phase)，kinin 類等物質會釋放；2.5 小時之後(third phase)，prostaglandin、leukotrienes 會釋放出來⁽¹³³⁾。故

本實驗於 λ -carrageenin 誘導前先測量大鼠足蹠體積，並於 λ -carrageenin 誘導後連續觀察 5 小時，每隔半小時測一次排水體積，計算出每小時蹠體積與誘導前之蹠體積差 (ΔV)，由本實驗結果發現，腹腔投予榿藤莖部甲醇粗抽物(Ep-M) 5 mg/kg 在開始的第一個半小時時即可明顯抑制 λ -carrageenin 所引起之發炎反應，且到給藥後 5 小時仍有一定的抗炎活性，由此可知榿藤莖部甲醇粗抽物(Ep-M)確實有抗炎作用，且與其民間用途相符，而確切的抗炎活性成分則有待進一步研究。

第六章 結 論

本實驗由榿藤(*Entada phaseoloides* (LINN.) MERRILL.) 甲醇萃取物之正己烷層中得到 1 個純化合物，氯仿層中得到 3 個純化合物，乙酸乙酯層中得到 2 個純化合物：

1. Steroid:
 - Spinasterol
 - Spinasterol- β -D-glucoside
2. Lipid:
 - triacontanoic acid
3. Flavonol:
 - 5, 4'-dihydroxy-3, 7, 3'-trimethoxyflavone
 - quercetin
4. Flavanonol:
 - taxifolin
5. EA-S (仍在解析中)

上述化合物均為第一次由本植物中分離得的成分。

在藥理活性方面，榿藤甲醇粗抽物，在 MTS 細胞毒殺活性試發現驗氯仿層、乙酸乙酯層、正丁醇層等對 HONE-1 (人類鼻咽癌細胞) 有抑制活性，而乙酸乙酯層和正丁醇層等對 NUGC (人類鼻胃癌細胞) 也有抑制活性。而在 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除能力之試驗發現正丁醇層、P 層、甲醇粗抽等對 DPPH 自由基清除能力有明顯之活性。經由結果可知榿藤莖部之甲醇粗抽物的 LD_{50} 為 170 mg/kg，

而在抗炎與鎮痛實驗結果也顯示有一定的抗發炎與鎮痛作用。

綜合上列所述，台灣民間常用榼藤(*Entada phaseoloides* (LINN.) MERRILL.) 治四肢麻木，風濕腰痛，風濕性關節炎，跌打損傷，癰瘡腫毒等作用，在藥理活性篩選結果顯示，本植物確實有其效用，而由本研究所分離出成分之藥理活性，則有待更進一步之探討與確認。

參考文獻：

1. Editor-in-Chief: Huang TS. Tah Jinn: Flora of Taiwan, Second Edition. Volume III. Editorial Committee of Taiwan, 1998; pp.661-664.
2. 邱年永、張光雄：原色臺灣藥用植物圖鑑(3)，南天書局，台北 1992；pp.91-92。
3. Ikegami F, Sekine T, Duangteraprecha S, et al.: Entadamide C, a sulphur-containing amide from *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1989; 28(3) : 881-882.
4. Dai JR, Kardono LBS, Tsauri S, et al.: Phenylacetic acid derivatives and a thioamide glycoside from *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1991; 30(11) : 3749-3752.
5. Yasuraoka K, Irie Y, Takamura H, et al.: Laboratory and field assessment of the molluscicidal activity of gogo (*Entada phaseoloides*) against the amphibious snail intermediate host of *Schistosoma japonicum*. *Japanese Journal of Experimental Medicine* 1977; 47: 483-487.
6. Croft KD, Tu'ipulotu P: A survey of Tongan medicinal plants. *South Pacific Bulletin* 1980; 1: 45-57.
7. Santos MJ, Yasuraoka K: Molluscicidal effect of "gogo" bark against *Oncomelania quadrasi* in the laboratory. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*.1976; 7(2) 346-347.
8. Yamasaki K: Effect on some saponins on glucose transport system. *Advances in Experimental Medicine & Biology* 1996; 404: 195-206.
9. Mackeen MM, Khan MN, Samadi Z, et al.: Brine shrimp toxicity of fractionated extracts of Malaysian medicinal plants. *Natural Product Report* 2000; 6(3): 131-134.
10. 凌紹雯等? 修，高樹藩重修：新修康熙字典，啟業書局，台北 1998; p.769。
11. 明.李時珍：圖解本草綱目，文光圖書有限公司，台北 1970; p.727。
12. 朱曉光：嶺南本草古籍三種，中國醫藥科技出版社，北京 1999; p.12。
13. 尚志鈞：本草拾遺輯釋，安徽科學技術出版社，合肥 2002; p.150。
14. 那琦、謝文全、林豐定：重輯開寶重定本草，中國醫藥學院中國藥學研究所，台中 1998; p.185。
15. 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.466-467。
16. 徐國鈞、何宏賢、徐珞珊等：中國藥材學，中國醫藥科技出版社，北京 1996; pp.727,1251。
17. 全國中草藥匯編編寫組：全國中草藥匯編 第二版 下冊，人民衛生出版社，北京 1996; pp.366, 456。
18. 謝宗萬、余友苓：全國中草藥名鑑(上冊)，人民衛生出版社，北京 1996；p.457。
19. 田華?、瞿顯友、熊鵬輝：中國民族藥炮製集成，中醫古籍出版社，河北 2000;

- pp.193~194,480-481。
20. 羅漢平：本草衍義重刊，華夏文獻資料出版社，台中 1987；p.5。
 21. 宋.掌禹錫撰，那琦、謝文全、李一宏重輯：重輯嘉祐補註神農本草，中國醫藥學院中國藥學研究所，台中 1989；p.134。
 22. 宋.蘇頌編輯，尚志鈞輯校：本草圖經，安徽科學技術出版社，合肥 1994；pp.405-406。
 23. 宋.唐慎微著，尚志鈞輯校：大觀本草，安徽科學技術出版社，合肥 2002；p.528。
 24. 明.劉文泰等纂修：本草品彙精要，卷 21，南天書局，台北 1983；pp.760~761。
 25. 清.吳其濬：植物名實圖考(下)，世界書局，台北 1974；p.458。
 26. 清.吳其濬：植物名實圖考長篇(下)，世界書局，台北 1974；p.348。
 27. 謝文全：本草學，中國醫藥學院中國藥學研究所，台中 1997；pp.25~26。
 28. 楊春澍：藥用植物學，上海科學技術出版社，上海 2002；pp.230~232。
 29. 劉和義、楊遠波、呂勝由等：臺灣維管束植物簡誌-第三卷，中華民國行政院農委會，台北 2000；pp.48~76。
 30. Mathias ME: Some medicinal plants of the Hehe (Southern Highlands Province, Tanzania) *Taxon* 1982; 31(3): 488-494.
 31. Freiburghaus F, Ogwal EN, Knunya MH, Kaminsky R, Brun R: *In vitro* antitrypanosomal activity of African plants used in traditional medicine in Uganda to treat sleeping sickness. *Tropical Medicine & International Health* 1996; 1(6): 765-771.
 32. Watt JM, Breyer-Brandwijk MG: The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. 2nd ed. Livingstone, Ltd, London. South African 1962.
 33. Conakry, Vasileva B: Plantes medicinales de Guinee. Moscow University, Moscow 1969.
 34. Baoua M, Fayn J, Bassiere J: Preliminary phytochemical testing of some medical plants of Niger. *Planta Medica* 1976; 10: 251-266.
 35. Le Grand A: Anti-infectious phytotherapy of the tree-savannah, senegal (Western Africa) III: A review of the phytochemical substances and anti-microbial activity of 43 species. *Journal of Ethnopharmacology* 1989; 25(3): 315-338.
 36. Gaudin O, Vacherat R: Rotenone and the ichthyotoxic power in some plants of the French Sudan. *Bull Sci Pharmacol* 1938; 45: 385-394.
 37. Silva O, Duarte A, Cabrita J, et al.: Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 1996; 50(1) : 55-59.
 38. Sanogo R, Germano MP, D'angelo V, et al.: Antihepatotoxic properties of *Entada africana* (Mimosaceae). *Phytotherapy Research* 1998; 12(1): s157-s159.
 39. Coee FG, Anderson GJ: Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. *Economic Botany* 1996; 50(1): 71-107.
 40. Kamdem L, Messi HM, Ndongo NA, Mbi C, Njikam AP, Elobo S: Ethnobotanical

investigations carried out in Mouloundou (Eastern Province) and Zoetele (Southern Province). *Health Sciences Serials* 1986; 3(3/4): 59-68.

41. Wasuwat S: A list of Thai medicinal plants, asrct, Bangkok. Report No.1 on Res. Project. 17. *Research Report,Asrct.,No.1 on Research Project 17* 1967; p.22-.
42. Martinez MA: Medicinal plants used in a Totonac community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, Mexico. *Journal of Ethnopharmacology* 1984; 11(2): 203-221.
43. Murakami C, Myoga K, Kasai R, et al.: Screening of plant constituents for effect on glucose transport activity in Ehrlich Ascites tumour cells. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1993; 41(12): 2129-2131.
44. Holdsworth DK: Traditional medicinal plants of Rarotonga, Cook Islands. Part I. *International Journal of Crude Drug Research* 1990; 28(3) : 209-218.
45. Bourdy G, Walter A: Maternity and medicinal plants in Vanuatu I. the cycle of reproduction. *Journal of Ethnopharmacology* 1992; 37(3): 179-196.
46. Thomson DF: The hero cult, initiation and totemism on Cape York. *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1933; 63: 453.
47. Girach RD, Siddioui PA, Khan SA: Traditional plant remedies among the Kondh of district Dhenkanal (Orissa). *International Journal of Pharmacognosy : A Journal of Crude Drug Research* 1994; 32(3): 274-283.
48. Selvanayahgam ZE, Gnanevendhan SG, Balakrishna K, Rao RB: Antisnake venom botanicals from ethnomedicine. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 1994; 2(4): 45-100.
49. Goh SH, Soepadmo E, Chang P, Barnerjee U, Chan KC, Deverre JR, Hadi H, Loke SE, Nasrulhawq A, Oo SL, Taylor CE, Wong WH, Zakaria M: Studies on Malaysian medicinal plants: preliminary results. *Bh Han Ds Han Yn Han and Ws Woo (Eds)* 1984; 5: 473-483.
50. John D: One hundred useful raw drugs of the Kani tribes of Trivandrum Forest Division, Kerala, India. *International Journal of Pharmacognosy : a Journal of Crude Drug Research* 1984; 22(1): 17-39.
51. Nayar SL: Poisonous seeds of India. Part I. *J Bombay Nat Hist Soc* 1954; 52(1): 1-18.
52. Manandhar NP: Medicinal folk-lore about the plants used as anthelmintic agents in Nepal. *Fitoterapia* 1995; 66(2) : 149-155.
53. Duke JA: Ethnobotanical observations on the Cuna Indians. *Economic Botany* 1975; 29: 278.
54. Kokwaro JO: Medicinal plants of East Africa. East Africa Literature Bureau 1976.
55. Bally PRO: Native medicinal and poisonous plants of East Africa. Bulletin of Miscellaneous Information, Royal Botanic Gardens, Kew 1937; 1(1): 10-26.

56. Vlietinck AJ, Van Hoof L, Totte J, Lasure A, Vanden Berghe D, Rwangabo PC, Mvukiyumwami J: Screening of hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. *Journal of Ethnopharmacology* 1995; 46(1) : 31-47.
57. Freiburghaus F, Steck A, Pfander H, Brun R: Bioassay-guided isolation of a diastereoisomer of kolavenol from *Entada abyssinica* active on *Trypanosoma brucei* Rhodesiense. *Journal of Ethnopharmacology* 1998; 61(3) : 179-183.
58. Fabry W, Okemo PO, Ansorg R: Antibacterial activity of East African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 1998; 60(1): 79-84.
59. Fabry W, Okemo P, Ansorg R: Activity of East African medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Chemotherapy* 1996; 42(5) : 315-317.
60. Akinsinde KA, Olukoya DK: Vibriocidal activities of some local herbs. *Journal of Diarrhoeal Disease Research* 1995; 13(2) : 127-129.
61. Hussain HSN, Deeni YY: Plants in Kano ethomedicine; screening for antimicrobial activity and alkaloids. *International Journal of Pharmacognosy : A Journal of Crude Drug Research* 1991; 29(1): 51-56.
62. Le Grand A, Wondergem PA, Verpoorte R, Pousset JL: Anti-infectious phytotherapies of the tree-savannah of Senegal (West-Africa). ii. antimicrobial activity of 33 species. *Journal of Ethnopharmacology* 1988; 22 (1): 25-31.
63. Adoum OA, Dabo NT, Fatope MO: Bioactivities of some Savanna plants in the brine shrimp lethality test and *in vitro* antimicrobial assay. *International Journal of Crude Drug Research* 1997; 35(5) : 334-337.
64. Sanogo R, Crisafi G, Germano MP, De Pasquale R, Bisignano G: Evaluation of Malian traditional medicines: Screening for antimicrobial activity. *Phytotherapy Research* 1998; 12(1): s154-s156.
65. Cook JA, Vanderjag DJ, Dasgupta A, Mounkaila G, Glew RS, Blackwell W: Use of the trolox assay to estimate the antioxidant content of seventeen edible wild plants of Niger. *Life Sciences* 1998; 63(2): 105-110.
66. Hussein Ayoub SM K DGI: Screening of plants used in Sudan folk medicine for anticancer activity (2). *Fitoterapia* 1982; 53: 119-123.
67. Ayoub SMH, Yankov LK: The molluscicidal factor of tannin-bearing plants. *International Journal of Pharmacognosy : A Journal of Crude Drug Research* 1986; 24(1): 16-18.
68. Yasuraoka K, Hashiguchi J, Banez EA: Laboratory assessment of the molluscicidal activity of the plant *Croton tiglium* against *Oncomelania snails*. *Japan Review of International Affairs* 1980; 30: 106-108.
69. Chariandy CM, Seaforth CE, Phelps RH, Pollard GV, Khambay BPS: Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal

- properties. *Journal of Ethnopharmacology* 1999; 64(3): 265-270.
70. Plank HK: Insecticidal properties of mamey and other plants in Puerto Rico. *Journal of Economic Entomology* 1994; 37: 737.
 71. Giral F, Sotelo A, Lucas B, De La Vega A: Chemical composition and toxic factors content in fifteen Leguminosae seeds. *Quarterly Journal of Crude Drug Research* 1978; 16: 143.
 72. Dhawan Bn, Patnaik GK, Rastogi RP, Singh KK, Tandon JS: Screening of Indian plants for biological activity. IV, *Indian J Exp Biol* 1977; 15: 208-219.
 73. Malcolm SA, Sofowora EA: Antimicrobial activity of selected Nigerian folk remedies and their constituent plants. *Lloydia* 1969; 32 (4): 512-517.
 74. Liu WC, Kugelman M, Wilson RA, Rao KV: A crystalline saponin with anti-tumor activity from *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1972; 11: 171.
 75. Hansen K, Nyman U, Smitt UW, Adersen A, Gudiksen L, Rajasekharan S, Pushpangadan P: *In vitro* screening of traditional medicines for anti-hypertensive effect based on inhibition of the angiotensin converting enzyme (ACE). *Journal of Ethnopharmacology* 1995; 48(1): 43-51.
 76. Mc Cullough FS, Gayral PH, Duncan J, Christie JD: Molluscicides in schistosomiasis control. *Bull Who* 1980; 58: 681-689.
 77. Lee DW, Yao VH, Liew FY: Lectins in selected Malaysian legumes. *Malaysian Journal of Library & Information Science* 1975; 3: 89.
 78. Debella A, Kunert O, Schmid MG, Michl G, Bucar F, Abebe D, Haslinger E A diterpene, a flavonol glycoside, and a phytosterol glycoside from *Securidaca longipedunculata* and *Entada abyssinica*. *Monatshefte fuer Chemie* 2000; 131(4): 401-408.
 79. Hariharan V: Prosapogenin-A, an alkaline hydrolytic product of saponins *Entada scandens*. *Indian Journal of Pharmacology* 1975; 37: 67.
 80. Okada Y, Shibata S, Javellana AMJ, et al.: Entada saponins (es) II and IV from the bark of *Entada phaseoloides*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1988; 36(4): 1264-1269.
 81. Okada Y, Shibata S, Ikekawa T, et al.: Entada saponin-III, a saponin isolated from the bark of *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1987; 26(10): 2789-2796.
 82. Barua AK, Chakrabarti P, Basak A, Pal SK, Das BC: The structure and stereochemistry of entagenic acid. *Journal of the Indian Chemical Society* 1983; 60(11): 1080-1083.
 83. Barua AK, Chakrabarti P, Basak A, Pal SK: Further studies on the structure and stereochemistry of entagenic acid. *Journal of the Indian Chemical Society* 1978; 55: 743-744.
 84. Derbesy M, Busson F: The lipids of certain West African species. *Oleagineux* 1968;

- 23: 191.
85. Sengupta A, Basu S: Triglyceride composition of *Entada phaseolides* seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1978; 29: 677-682.
 86. Alam MN, Chowdhury SA, Sayed A, et al.: Studies on oil from *Entada scandens*. *Journal of Scientific and Industrial Research* 1980; 15 (1): 122-124.
 87. Murakoshi I, Sekine T, Ikegami F, Ohmiya S, Aburada M, Fujii Y, Komatsu Y, Ruangrunsi N: Synthesis and biological activity of entadamide-A and -B isolated from the seeds of *Entada phaseoloides*. *Shoyakugaku Zasshi* 1986; 7(8): 53-54.
 88. Ikegami F, Ohmiya S, Ruangrunsi N, Sakai SI, Murakoshi I: Entadamide B, a second new sulphur-containing amide from *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1987; 26(5) : 1525-1526.
 89. Barua AK, Chakrabarty M, Datta PK, Ray S: Phaseoloidin, a homogentisic acid glucoside from *Entada phaseoloides*. *Phytochemistry* 1988; 27(10): 3259-3261.
 90. Gieni RS, Li Y, Hay Glass KT: Comparison of [³H] thymidine incorporation with MTT-and MTS-based bioassays for human and murine IL-2 and IL-4 analysis. Tetrazolium assays provide markedly enhanced sensitivity. *Journal of Immunological Methods* 1995, 187(1): 85-93.
 91. 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.
 92. Barltrop JA: 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2- (4,5-dimethyl- thiazolyl)-3 -(4-sulfophenyl) tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethyl-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans as cell-viability indicators. *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 1991; 1: 611.
 93. Blois MS, Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 26:1199-1200.
 94. 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.
 95. Litchfield JT, Wilcoxon F: A simplified methods of evaluating dose effect experiment. *J Pharmacol Exp Ther* 1949; 9(6): 99~113.
 96. Dubuisson D, Dennis SG.: The formalin test :a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161-174.
 97. Winter CA, Risley EA, Nuss GW: Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Antiinflammatory Assay* 1962; pp. 544-547.
 98. Bernard Fried, Joseph Sherma: Thin-Layer Chromatography. Marcel Decker, Inc. New York 2000.

99. 北京中醫藥大學主編：中藥化學，學院出版社，北京 1995。
100. 蕭崇厚主編：中藥化學，上海科學技術出版社，上海 1997。
101. 譚仁祥主編：植物成分分析，科學出版社，北京 2002。
102. 中國醫學科學院藥物研究所編著：中草藥現代研究(儀器分析卷)，北京醫科大學 & 中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1999。
103. 于德泉、楊峻山、謝晶曦：分析化學手冊-第九冊：質譜分析，化學工業出版社，北京 1989。
104. 曾志、曾隴梅：甾醇及其衍生物的質譜學規律(I)，質譜學報 1993; 15(2): 11-15。
105. 曾志、曾隴梅：甾醇及其衍生物的質譜學規律(II)，質譜學報 1995; 17(3): 25-29。
106. 于德泉、楊峻山、謝晶曦：分析化學手冊-第三冊：光譜分析，化學工業出版社，北京 1989。
107. 田晶、蕭志豔、陳雅研等：夏枯草皂? A 的結構鑑定，藥學學報 2000; 35(1): 29-31。
108. 熊淑玲、方乍浦：絲瓜化學成分的分離與鑑定，中國中藥雜誌 1994; 19(4): 233-234。
109. 于德泉、楊峻山、謝晶曦：分析化學手冊-第五冊：核磁共振波譜分析，化學工業出版社，北京 1989。
110. K. R. Markham 原著，張寶琛、唐崇實 譯：Techniques of Flavonoid Identification，科學出版社 北京 1990。
111. 李海泉、田暄：天然有機化合物的質譜研究，分析測試技術與儀器 1999; 5(2): 120-121。
112. 陳俊杰、李裕林：黃酮類化合物的質譜研究，廈門大學學報(自然科學版) 1994; 33(1): 123-126。
113. 鄭玲、徐麗珍、叢浦珠：廣藿香化學成分的研究，中國中藥雜誌 1994; 19(6): 355-356。
114. . Stevens JF, Wollenweber E, Ivancic M, et al. Leaf surface flavonoids of *Chrysothamnus*. *Phytochemistry* 1999; 51: 771-780.
115. Jakobsen TH., Marcussen HV, Adsersen A, et al. : 3-Methoxyflavones and a novel coumarin from *Psiadia dentata* *Biochemical Systematics and Ecology* 2001; 29: 963-965.
116. 陳俊杰、李裕林：黃酮類化合物的 ^1H NMR 研究，波譜學雜誌 1994; 11(3): 301-305。
117. P. K. Agrawal: Carbon-13 NMR of Flavonoids. Elsevier Science Publishers B.V. The Netherlands 1989.
118. Hosamani KM, H.S. Ramesh: Unusal fatty acids from *Crotalaria striata* Syn. *Crotalaria mucronata* seed oil *Industrial Crops and Products* 2001 14: 223-227.
119. Pande A, Shukla YN, Tripathi AK: Lipid Constituents from *Stellaria media* *Phytochemistry* 1995; 39(3): 709-711.

120. 徐志立、王燕雲：Mass Spectral Fragmentation of Long Chain Carboxide Compounds and Calculation of the Molecular Formula, 質譜學報 1996; 20(1): 57-61。
121. Denise de CFG, Alegrio LV: Acyl steryl glycosides from *Pithecellobium cauliflorum* *Phytochemistry* 1998; 49(5): 1365~1367.
122. 江睿玲：I 臺灣馬桑活性成分之研究, 中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文, 台中 2000; pp.100-102。
123. Ahmed AA, Ali AA, Mabry TJ: Flanonoid Aglycones from *Jasonia montana* *Phytochemistry* 1989; 28(2): 665~667.
124. 鄭芹英、丁叢梅、張維漢：艾納香中黃酮化合物的研究, 波譜學雜誌 1996; 13(5): 447-451。
125. 蕭東、顧振輪、朱壽彭：槲皮素的抗腫瘤作用與相關基因的調控, 中國野生植物資源 1996; 4:5-8。
126. 鄭晶泉：抗氧化劑抗氧化實驗研究進展, 國外醫學衛生學分冊 2000; 27(1): 37-40。
127. 許申鴻、杭瑚：一種篩選自由基清除劑的簡便方法, 中草藥 2000; 31(2): 96~97。
128. 付立杰主編：現代毒理學及其應用, 上海科學技術出版社, 上海 2001; pp.11-120。
129. 李建華：中藥類及性毒性技術方法與 LD₅₀ 值的分級, 中草藥 1994; 25(7): 388-389。
130. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R.: Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38: 347-352.
131. Massino R : Biological properties of carrageenin. *J Pharm Pharmacol* 1972; 224 : 89-102.
132. Vinegar R, Schreiber W, Hugo R: Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1969; 166 (1): 96-103.
133. Holsapple MP, Yim GKW: Therapeutic reduction of ongoing carrageenin induced inflammation by lipo-oxygenase, but not cyclo-oxygenase inhibitors *Inflammation* 1984; 8 (3): 233-230.