

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

台灣產植物之抗癌與抗病毒活性成分研究 - 曲莖蘭嵌馬藍葉部之抗癌與抗病毒活性成分研究

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫
計畫編號：NSC89 - 2323 - B - 039 - 001
執行期間：89 年 1 月 1 日至 89 年 12 月 31 日

計畫主持人：張永勳
共同主持人：

本成果報告包括以下應繳交之附件：
赴國外出差或研習心得報告一份
赴大陸地區出差或研習心得報告一份
出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：中國醫藥學院藥學系

中 華 民 國 九 十 年 三 月 三 十 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC89 - 2323 - B - 039 - 001

執行期限：89 年 1 月 1 日至 89 年 12 月 31 日

主持人：張永勳 中國醫藥學院藥學系

一、中文摘要

曲莖蘭嵌馬藍 (*Strobilanthes filixicaulis* (Hayata) Hsieh et Huang) 為爵床科(Acanthaceae)植物，台灣民間用其全草，具有清熱，解毒，消腫，止痛之效。用於治風熱感冒，口腔炎，咽喉腫爛，乙型腦炎，腮腺炎，肝炎等，為固有之台灣民間藥。其葉部之甲醇粗抽物在預試驗中對鼻咽癌細胞(HONE-1)、肝癌細胞(HA-59T)、胃腺癌細胞(SCM-1)及結腸癌細胞(DLD-1)具有明顯的抑制作用，但在大量抽取時，甲醇抽出物及用各種不同極性溶媒進行萃取之各個分割，對胃癌細胞(NUGC)並無明顯之抑制作用，於是將研究材料更改為在預試驗中對胃癌細胞(NUGC)有明顯抑制作用之旋花科(Convolvaceae)植物亨利氏伊立基藤(*Erycibe hnryi* Prain)，然而在進一步大量抽取追蹤活性成分時，出現與前一材料相同情況，並無抗癌活性，最後從甲醇抽出物中分離出 β -sitosterol (1)、sitosterol-3- β -D-glucose (2)、scopoletin (3)、methyl 3,4-dihydroxycinnamate (4) 及 *p*-hydroxyphenethyl *trans*-ferulate (5)。其中化合物 4 及 5 為本植物首次發現之化合物。抗癌活性方面，化合物 4 在 50 μ M 的濃度下對鼻咽癌細胞(HONE-1)有 42% 之抑制活性。

關鍵詞：曲莖蘭嵌馬藍、亨利氏伊立基藤

Abstract

In a preliminary screening, the methanol extract of the leaves of *Strobilanthes filixicaulis* (Hayata) Hsieh et Huang, showed significant cytotoxicity against HONE-1, HA59T, SCM-1 and DLD-1 cancer cell lines.

But in our later studies, the methanol extract and the other fractions which partition with different polarity solvent showed no cytotoxicity activity against NUGC cell line. So we altered the research material to be the *Erycibe hnryi* Prain that showed significant cytotoxicity against NUGC cancer cell line in a preliminary test. Unfortunately, in our further study it exhibited no efficacy on anticancer effect. From the methanol extract, we separated five components: β -sitosterol (1), sitosterol-3- β -D-glucose (2), scopoletin (3), methyl 3,4-dihydroxycinnamate (4) and *p*-hydroxyphenethyl *trans*-ferulate (5). The compound 4 and 5 were first isolated from this plant. Compound 4 showed 42% inhibition on the growth of HONE-1 cancer cell line at 50 μ M.

Keywords: Acanthaceae., *Strobilanthes filixicaulis*, cytotoxicity, scopoletin, methyl 3,4-dihydroxycinnamate, *p*-hydroxyphenethyl *trans*-ferulate

二、緣由與目的

世界衛生組織預測二十一世紀癌症將是人類第一殺手，也是每一個國家最嚴重的挑戰。在國內，癌症是十大死因之首，肝癌、肺癌、直腸癌、三種癌症更是佔一半左右。依據衛生署的調查統計 87 年度台灣地區癌症十大死因中肝癌佔第一位，其中死於肝癌者佔癌症死亡率 20%^[1]。癌症種類多，而國內研究人力有限，要在短時間內獲得成果，必須選擇幾項與本土性息息相關的疾病，且為國外藥廠不列為首要開發目標之治療藥作為開發的物。本計畫為「台灣產植物之抗癌與

抗病毒活性成分研究」之子計畫之一，擬將經由國家衛生院進行篩選之有效台灣產植物，在經檢討評估選定後進行分離工作。本計畫選擇在抗癌及抗病毒活性篩選中具有活性之本產藥用植物曲莖蘭嵌馬藍 (*Strobilanthes filixicaulis* (Hayata) Hsieh et Huang)、台灣山桂花 (*Mesa perularia* (Lour.) Merr. var. *formosana* (Mez)) 及三葉山香圓 (*Turpinia ternata* Nakai) 進行活性成分之分離與構造鑑定，冀望分離出具有活性之化合物，以提供合成化學家與藥物化學家作為新藥開發之先導藥物，並發展成具有臨床應用價值的抗癌與抗病毒新藥。

曲莖蘭嵌馬藍 (*S. filixicaulis*) 在台灣民間用其全草，具有清熱，解毒，消腫，止痛之效。用於治風熱感冒，口腔炎，咽喉腫爛，乙型腦炎，腮腺炎，肝炎，為固有之台灣民間藥^[2]。其葉部之甲醇粗抽物在預試驗中對鼻咽癌細胞(HONE-1)、肝癌細胞(HA-59T)、胃腺癌細胞(SCM-1)及結腸癌細胞(DLD-1)具有明顯的抑制作用。經溶媒分層萃取後其正己烷層及乙酸乙酯層對此四種癌細胞亦具有顯著之抑制作用，值得進一步分離追蹤其活性成分。

經查美國伊利諾大學 Napralert 資料庫，曲莖蘭嵌馬藍尚未見化學成分之報導，而其同屬(*Strobilanthes*)植物則有抗病毒、抗腫瘤活性^[3,4]之報告。根據曲莖蘭嵌馬藍預試驗之結果，此植物可針對其抗癌活性及抗病毒活性進行成分引導分離，找出具有活性之成分。

第一年除進行曲莖蘭嵌馬藍 (*S. filixicaulis*) 活性成分分離外，並於研究期間選送 100 種樣品送至國家衛生研究院進行活性篩選，第一年擬送篩選神農本草經下品藥物。神農本草經是一部總結了漢代以前應用藥物知識的重要著作，書中收載藥物 365 種，其中植物藥 237 種，動物藥 65 種，礦物藥 43 種，其它 20 種，按性能和功效分為上、中、下三品；上品 120 種，能補養而無毒，可以長服、久服；中品 120 種，能治病補虛，無毒或有小毒；下品 125 種，專攻大病，多為有毒，不可多服和久

服^[5]。第一年則以毒性較大之下品作為活性篩選之材料，第二、三年則以其他毒性較大大草藥作為篩選藥物，希望對開發本產藥用植物及中草藥有所助益，也對於新藥之研究更具有發展之空間。

三、結果與討論

民國八十八年八月二十七日於南投縣杉林溪留龍頭採得曲莖蘭嵌馬藍三公斤，經中國醫藥學院中國藥學研究所邱年永技正鑑定，確定為曲莖蘭嵌馬藍 (*Strobilanthes filixicaulis* Hayata) 後，分為根、莖、葉三部分以甲醇萃取濃縮，檢送樣品請國家衛生研究院生物技術與藥物研究組高速藥物篩選中心代為測試細胞毒性。另外，針對神農本草經下品藥進行活性評估，神農本草經上所記載之藥品年代久遠，考證不易，其中多數為動物類或礦物類藥品，因此首先選定台灣市面上易購得且基原確定之五十一種藥材 (表一) 進行抗癌活性篩選。

在一月下旬得到篩選結果，出乎意料曲莖蘭嵌馬藍並無抗癌活性，與第一次篩選結果差異很大；而神農本草經下品藥中蛤蟆皮、棟實、露蜂房、雄黃則有明顯抑制胃癌細胞生長活性 (表二)。

針對曲莖蘭嵌馬藍抗癌活性結果如此大之差異，懷疑也許是季節、氣候、產地等因素所造成，於是將民國八十八年十一月十日於南投縣杉林溪馬灣所採得之曲莖蘭嵌馬藍葉部 (2.33kg) 以甲醇抽取五次，經減壓濃縮後得甲醇抽出物共 270 克，懸浮於水中，分別以正己烷、氯仿、正丁醇進行萃取，共得四個 fractions，各為 52 克、3.5 克、19 克及 190 克 (水層)，除了氯仿層外，其餘分劃皆再做一次活性之篩選 (包括先前之其他馬藍屬植物)，但仍無抗癌活性 (表三、表四)。

反覆測試之結果仍然無活性，經與本計劃之總主持人吳天賞教授討論後，從「製藥與生物技術國家型計劃」天然與化學合成藥物組研究分組第二次會議中之篩選名單中決定將研究主題更換為亨利氏伊立基藤 (*Erycibe henryi* Prain)。

根據文獻考察，亨利氏伊立基藤 (*Erycibe henryi* Prain) 未曾進行過抗癌或

是細胞毒活性之研究，且在我們的預試驗中發現其對 NUGC 有明顯之抑制作用，是值得我們進一步深入研究。

確定更換研究主題後，隨即進行植物之採集，此外為更確定第二年及第三年所選之植物之抗癌活性，亦一同採集，八十九年六月二十日於龍潭崑崙藥用植物園採集台灣山桂花 (*Maesa perularia* (Lour.) var. *formosana*) 及山香圓 (*Turpinia formosa*)；八十九年七月二日於南投魚池採集三葉山香圓 (*Turpinia ternata*)；八十九年七月五日於台中大坑山區採集亨利氏伊立基藤 (*Erycibe henryi* Prain)，進行活性篩選。所有植物皆經中國醫藥學院中國藥學研究所邱年永技正鑑定，並與台灣植物誌做比對，確定其基原後，才進行粗抽物之製備。藥材粉碎後，以甲醇反覆抽取五次，經減壓濃縮後，於七月十四日送國家衛生研究院進行抗癌活性篩選。

並於八十九年七月十七日於南投魚池採集亨利氏伊立基藤 (*Erycibe henryi* Prain) 莖部共 27 公斤，進行活性成分分離；將亨利氏伊立基藤莖部切片後，以足量甲醇抽提五次，經減壓濃縮後得萃取物共 1.5 公斤，懸浮於水中，分別以正己烷、氯仿、正丁醇進行萃取，共得四個分劃，各為 69.7 克、25.3 克、344 克及 827 克 (水層)，將此四個分劃與甲醇粗抽物一併於八月二十八日送 NHRI 篩選活性。但藥理活性篩選結果 (表五) 顯示，除了台灣山桂花具有抑制胃癌細胞生長外，其餘皆無抗癌活性。

從亨利氏伊立基藤之甲醇抽出物中分離得五個化合物經結構鑑定及與文獻比對後確定其結構為 β -sitosterol (1)^[6]、sitosterol-3- β -D-glucose (2)^[7]、scopoletin (3)^[8]、methyl 3,4-dihydroxycinnamate (4)^[9] 及 *p*-hydroxyphenethyl *trans*-ferulate (5)^[10]。其中化合物 3 及 5 對胃癌細胞 (NUGC) 及鼻咽癌細胞 (HONE-1) 並無抑制活性，化合物 4 在 50 μ M 的濃度下對鼻咽癌細胞 (HONE-1) 有 42% 之抑制活性 (表六)。

四、計劃成果自評

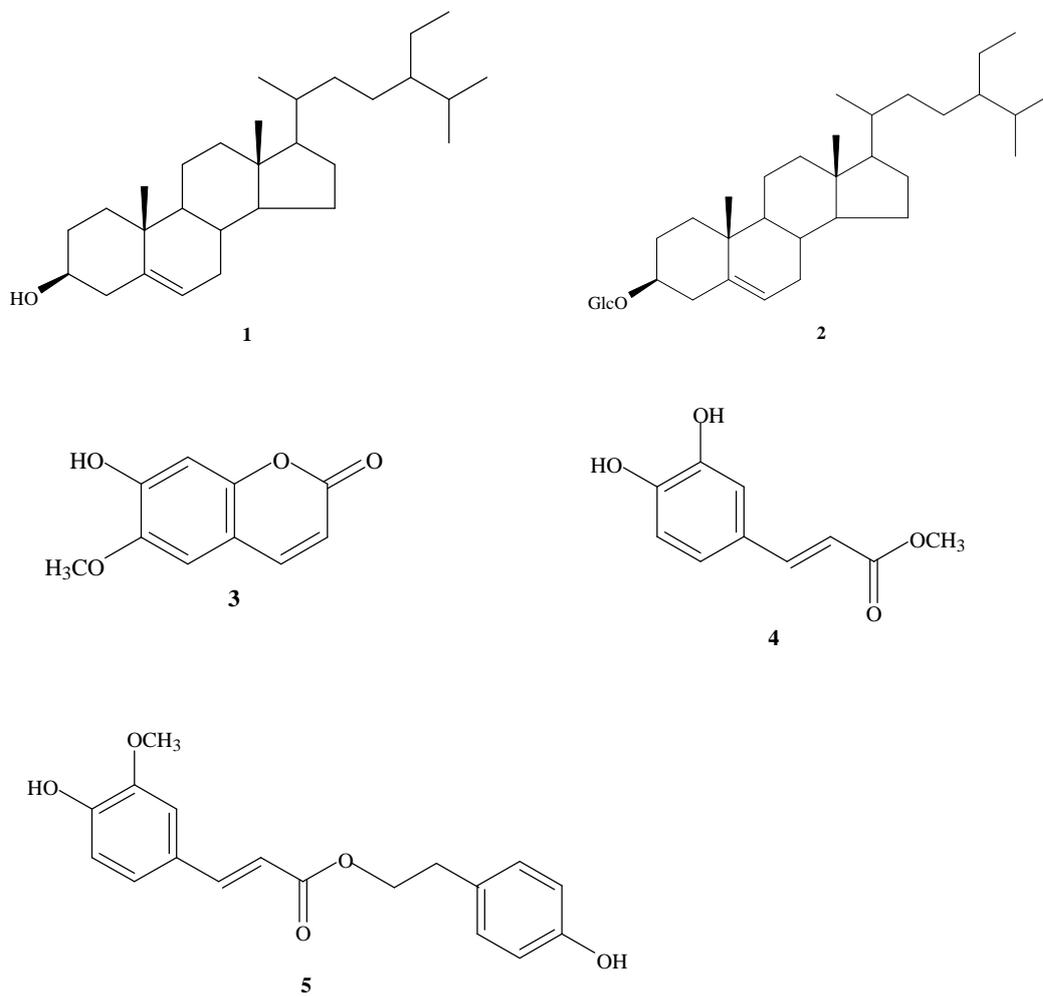
共完成五十一種農本草經下品藥之活性篩選，其中以蛤蟆皮、棟實、露蜂房與雄黃對胃癌細胞 (NUGC) 有明顯之抑制活性；由於曲莖蘭嵌馬藍再大量抽取時，無論是在甲醇粗抽物或是以不同極性萃取之各個分劃，皆不具明顯之抗癌活性，於是在七月時將研究主題更換為亨利氏伊立基藤，然而與前一材料一樣，由其它實驗室提供之樣品具有抗癌活性，但是到大量進行有效成分分離時，卻無抗癌活性，在此同時為避免重蹈覆轍，我們將第二年及第三年所擬定之研究材料再一次進行活性評估，其中台灣山桂花與預試驗結果相符，三葉山香圓卻不如預期。

從亨利氏伊立基藤之甲醇抽出物中分離得五個化合物經結構鑑定及與文獻比對後確定其結構為 β -sitosterol (1)、sitosterol-3- β -D-glucose (2)、scopoletin (3)、methyl 3,4-dihydroxycinnamate (4) 及 *p*-hydroxyphenethyl *trans*-ferulate (5)。其中化合物 3 及 5 對胃癌細胞 (NUGC) 及鼻咽癌細胞 (HONE-1) 並無抑制活性，化合物 4 在 50 μ M 的濃度下對鼻咽癌細胞 (HONE-1) 有 42% 之抑制活性。

五、參考文獻

- [1] 行政院衛生署：中華民國台灣地區公共衛生概況，1999。
- [2] 邱年永、張光雄：原色台灣藥用植物圖鑑(5)，南天書局出版，台北 1998；208。
- [3] Yu J.; Chen K.J., Clinical observations of AIDS treated with herbal formulas. *Int J Orient Med* 14 (4): 189-193, 1989.
- [4] Hsu B: Recent progress in antineoplastic drug research in China (Review). *Cancer research in the People's Republic of China and the United States of America-epidemiology, causation and approaches to therapy*. P. A. Marks (ED.) 235-250, 1980.
- [5] 清·黃奭：神農本草經，中醫古籍出版社，北京 1987。
- [6] Lai, J. S.; Liou, H. S.; Huang, K. F.; Constituents of the roots of *Melanolepis multiglandulosa*, *Chin. Pharm. J.*, 177-

- 183, 48, 1996.
- [7] Huang, K. F.; Yen, Y. F., Constituents of *Erythrina variegata*. 21-29, 49, 1997.
- [8] 葉惠珍、范椰新、劉植蔚。金怡順等，
丁公藤抗風濕有效成分的研究，*中草藥*，197-199, 12(5), 1981.
- [9] Tschesche, Rudolf; Diederich, Anton; Jha, Hem Chandra; Caffeic acid 4-rutinoside from *Leonurus cardiaca*, *Phytochemistry*, 2783, 19, 1980.
- [10] Nakata, Hiroyuki; Sashida, Yutaka; Shimomura, Hiroko; A new phenolic compound from *Heracleum lanatum* MICHX. Var. *nippinicum* HARA II *Chem.Pharm.Bull.*; 4554-4556, 30(12), 1982.



圖一、化合物 1 5 之化學結構

表一、神農本草經下品藥抗癌活性篩選之藥材

編號	藥 品	重量 mg	編號	藥 品	重量 mg
300	鱉 甲	20.70	334	葫 蘆 巴	19.80
301	蜈 蚣	22.00	335	白 頭 翁	21.00
302	朱 砂	15.20	336	女 青	24.60
303	淫 洋 霍	21.30	337	連 翹	22.02
311	刺 蝟 皮	20.40	338	澤 蘭	20.30
312	蛤 蟆 皮	19.50	339	佛 桃 仁	20.11
313	五 加 皮	20.30	340	巴 戟 天	20.00
314	八 角 蓮	20.90	341	杏 仁	23.20
315	地 榆	21.10	342	郁 李 仁	20.80
316	棟 實	19.80	343	蛤 蟆 骨	20.30
317	白 欵	20.93	344	芫 花	25.97
318	款 冬 花	20.00	345	甘 遂	22.20
319	紫 參	21.00	346	大 戟	22.50
320	旋 覆 花	19.90	347	敗 醬	28.94
321	巴 豆	20.00	348	青 箱 子	22.90
322	皂 夾	20.50	349	穿 山 甲	21.20
323	夏 枯 草	21.10	350	半 夏	26.60
324	貫 眾	21.50	351	天 雄	27.00
325	扁 蓄	20.30	352	烏 頭	21.80
326	射 干	21.30	353	防 己	23.10
327	露 蜂 房	21.40	363	水 蛭	20.50
328	芫 花	21.30	367	赤 小 豆	25.06
329	商 陸	21.30	370	雄 黃	20.15
330	蛇 退	21.30	376	鉛 丹	21.74
331	白 及	22.60	380	戎 鹽	20.30
332	牡 丹 皮	21.90	391	龜 甲	21.00
333	蜀 椒	19.10			

表二、神農本草經下品藥活性篩選結果

藥品	濃度	Total	n-Hexane	EtOAc	MeOH
蛤蟆皮	12.5µg/ml	2%	40%	4%	6%
	25µg/ml	2%	23%	3%	4%
	50 µg/ml	2%	16%	3%	3%
五加皮	12.5µg/ml	90%	104%	88%	67%
	25µg/ml	78%	113%	61%	42%
	50 µg/ml	63%	108%	32%	28%
八角蓮	12.5µg/ml	91%	104%	105%	98%
	25µg/ml	57%	117%	97%	14%
	50 µg/ml	0%	109%	56%	0%
棟實	12.5µg/ml	4%	103%	11%	11%
	25µg/ml	4%	116%	5%	6%
	50 µg/ml	3%	107%	3%	3%
款冬花	12.5µg/ml	103%	110%	109%	108%
	25µg/ml	106%	0%	107%	106%
	50 µg/ml	81%	0%	103%	80%
旋覆花	12.5µg/ml	106%	113%	112%	111%
	25µg/ml	89%	115%	97%	98%
	50 µg/ml	38%	31%	37%	63%
露蜂房	12.5µg/ml	100%	101%	40%	103%
	25µg/ml	92%	106%	7%	100%
	50 µg/ml	11%	20%	13%	91%
蛇退	12.5µg/ml	102%	99%	103%	101%
	25µg/ml	109%	77%	104%	110%
	50 µg/ml	96%	23%	70%	119%
葫蘆巴	12.5µg/ml	100%	101%	103%	105%
	25µg/ml	92%	104%	106%	12%
	50 µg/ml	2%	102%	109%	1%
雄黃	12.5µg/ml	4%	103%	98%	27%
	25µg/ml	1%	87%	38%	5%
	50 µg/ml	0%	63%	11%	1%

} 10 out of 91 extracts picked for 2° assay, NUGC most active :

蛤蟆皮、棟實、露風房、雄黃。

} All extract from 馬藍 : negative.

表三、馬蘭屬植物抗癌活性篩選結果

編號	植物	T	N	E	M
400	曲莖藍嵌馬藍葉部*	33%	1%	2%	58%
304	長穗馬藍莖部	96%	99%	102%	99%
305	長穗馬藍葉部	97%	98%	102%	98%
306	曲莖藍嵌馬藍根部	96%	96%	100%	97%
307	曲莖藍嵌馬藍莖部	98%	95%	99%	99%
308	曲莖藍嵌馬藍葉部	96%	96%	101%	99%
309	台灣馬藍葉部	97%	97%	100%	98%
310	台灣馬藍根部	96%	94%	96%	96%
354	台灣馬藍莖部	95%	88%	89%	96%

* : 吳天賞教授第一次送樣之 sample

T: total extract; N: n-hexane; E: ethyl acetate, M: Meyhanol
Cell line: NUGC

Sample conc.: 50 µg/mL

表四、曲莖藍嵌馬藍葉部分劃之抗癌活性篩選結果

	Fr.M ¹	Fr.H ²	Fr.B ³	Fr.W ⁴
曲莖藍嵌馬藍葉部	96%	97%	100%	95%

¹ : methanol fraction, ² : n-hexane fraction, ³ : n-butanol fraction, ⁴ : water fraction

Cell line: NUGC

Sample conc.: 50 µg/mL

表五、台灣山桂花、山香圓、亨利氏伊立基藤及三葉山香圓之抗癌活性篩選結果

Plant	Cell line	T	N	E	M
台灣山桂花(stem & leaf)	HONE-1	6%	41%	85%	18%
	NUGC	6%	18%	68%	19%
山香圓(stem & leaf)	HONE-1	91%	97%	96%	91%
	NUGC	87%	83%	86%	88%
亨利氏伊立基藤(stem)	HONE-1	87%	100%	98%	99%
	NUGC	97%	104%	103%	102%
三葉山香圓(stem & leaf)	HONE-1	90%	99%	52%	96%
	NUGC	98%	103%	56%	101%

T: total extract; N: n-hexane; E: ethyl acetate, M: Methanol

Sample conc.: 50 µg/mL

表八、化合物 3、4 及 5 抗癌活性測試結果

Compound	NUGC		HONE-1	
	10µM	50µM	10µM	50µM
3	115%	113%	110%	113%
4	109%	99%	98%	42%
5	109%	107%	99%	87%