

# 阿里山五味子果實之天然成分和生物活性

- ◎國立台灣大學醫學院藥學系·沈雅敬、鄭源斌、張孟亭  
 ◎輔仁大學理工學院生命科學系·郭育綺 ◎國立中國醫藥研究所·郭曜豪  
 ◎林業試驗所育林組·陳舜英、簡慶德

## 前言

台灣產五味子科(Schisandraceae)植物，木質藤本，分為南五味子屬(*Kadsura*)和五味子屬(*Schisandra*)。南五味子屬台灣有二種，即南五味子(*Kadsura japonica*)和菲律賓南五味子(*Kadsura philippinensis*)。五味子屬台灣有一種，即阿里山五味子(*Schisandra arisanensis*)，特有種，木質莖粗大，俗稱大號紅骨蛇。果實穗狀，懸垂，成熟時紅色，每個果實有2粒種子(圖1)；主要分布於海拔1200~2500公尺濕度高之森林中，依不同海拔高度和位置，果實成熟期7~10月。

五味子科植物為傳統著名的民間用藥，過去研究報告指出，其化學成分有木質酚素(lignans)、三萜類(triterpenes)、降三萜類(nortriterpenes)、有機酸(organic acids)、揮發油(essential oil)和多醣類(polysaccharides)等成分。其中木質酚素具有許多功效，應用範圍十分廣泛，例如用來治療肝炎的藥物聯苯雙酯(dimethyl diphenyl bicarboxylate, DDB)，即是以schisandrin C為起始物來合成出一系列衍生物，再從中篩選出的化合物。過去有關五味子的活性成分研究指出，五味子的藥理作用包括抗肝炎、抗氧化、抗愛滋病及抗癌症等功效。五味子確實對化學毒物如carbon tetrachloride ( $CCl_4$ )所引起的動物肝細胞損傷有明顯的保護作用，這是因為五味子具有降低羧胺酸丙酮酸轉胺酶(glutamic pyruvic transaminase, GPT)的能力。許多木質酚素，



圖1. 阿里山五味子果實(簡慶德 攝)

如schisandrin B、schisandrin C、gomisin B、gomisin C等，都可降低血清中GPT含量。五味子還可活化穀胱甘肽(Glutathione, GSH)，因為GSH是一種強力的解毒劑，它大量存在肝臟中，可幫助排除體內毒素。此外，GSH亦是一種強力的抗氧化劑，可以直接捕捉自由基(free radical)，有效防止細胞受到氧化傷害，此抗氧化效果比維他命E好。由抗愛滋病研究方面發現，gomisin G具有抑制人類反轉錄病毒的活性。抗癌研究方面發現，schisandrin B、schisandrin C都可增加動物實驗老鼠肝臟中的cytochrome P-450酵素濃度，而cytochrome P-450是可將致癌物質多環芳香烴(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)在體內轉換成水溶性代謝物的相關酵素之一。此外，還發現gomisin G對於宮頸癌細胞(Hela)有細胞毒殺和造成DNA裂解的作用。因此，五味子是一種應用價值極高，開發前景十分看好的藥用植物。

本文針對台灣特有種「阿里山五味子」果實進行一連串天然成分分析，確定有效成分之化學結構，並尋找生物活性高的成分，希望能讓傳統中藥使用者更了解五味子的成分，且有助於未來新藥物開發的可能性。

### 天然物萃取、分離和鑑定

利用台灣特有種阿里山五味子果實，包括綠色、淡黃色至紅色之混合果，冷凍乾燥後重量460公克為材料(含種子和果梗)，藉由丙酮浸泡萃取，接著利用乙酸乙酯和水以1:1進行液液分配萃取，並以薄層色層分析片分得九個分離片段。選擇其中的分離片段，以100%甲醇進行Sephadex™ LH-20管柱分離，再分離八個片段。接著利用高效能液相層析儀(HPLC)搭配C-18管柱，以甲醇和水65:35的比例進行沖提分離。化合物結構是利用各種物理數據，包括比旋光度、紅外光、紫外光、CD光譜、質譜儀及配合一維、

二維核磁共振圖譜，並參考相關文獻確定之。結果共獲得17個化合物，其中包括木質酚素類之4個新的aryltetralone-type lignans，命名為arisantetralones A-D(圖2)和7個新的C<sub>18</sub>-dibenzocyclooctadiene-type lignans，命名為arisanschinins F-L(圖3)。另外，6個已知的化合物，分別是(-)-holostyligone、pre-gomisin、gomisin F、gomisin G、epigomisin O和(+)-gomisin K<sub>3</sub>等。化合物arisantetralones A是柱狀結晶物質，透過單晶繞射實驗來偵測其晶體，更能確定其骨架與相對立體結構。

### 生物活性檢測

利用人類周邊血液單核球細胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)，進行化合物arisantetralones A-D、arisanschinins F-L、(-)-holostyligone、pre-gomisin、gomisin F、gomisin G、epigomisin O、(+)-gomisin K<sub>3</sub>等免疫調節功能評估試驗，並以免疫抑制劑

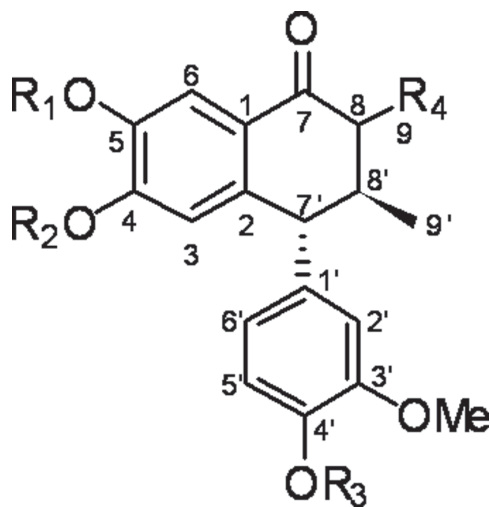


圖2. Aryltetralone-type lignans，如arisantetralone A (R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Me, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = β-CH<sub>3</sub>)

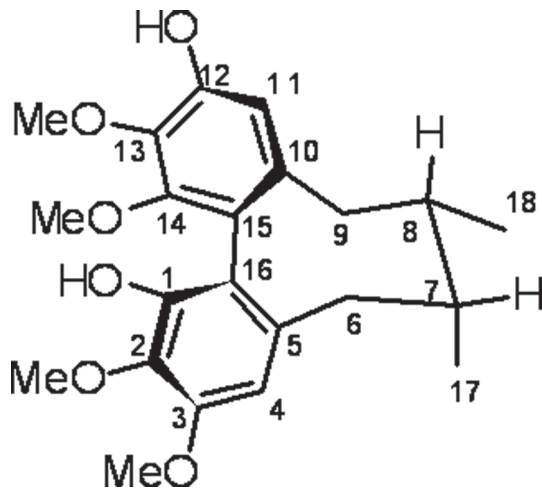


圖3. C<sub>18</sub>-dibenzocyclooctadiene-type lignans，如arisanschinin F

cyclosporine A (5 μM)作為正對照組 (positive control)，測試結果如表1：

表1結果顯示，arisanetralone D效果與正對照組cyclosporine A最為接近，在細胞毒性較小的情況下，對PBMC增殖具有明顯的抑制作用，表示在免疫調節功能評估中是有意義的。雖然arisanschinin F、(-)-holostyligone、pre-gomisin等對人類周邊血液單核球細胞的效應，數值愈大，抑制作用愈大，但Resting cells欄arisanschinin F、(-)-holostyligone、pre-gomisin對單核球細胞毒性也較強。因此，arisanetralone D具有進一步研究的價值。

另外，利用人類癌細胞株human laryngeal carcinoma (HEp-2, 人類鼻咽癌細胞)、human

medulloblastoma (Daoy, 人類骨髓癌細胞)、human breast adenocarcinoma (MCF-7, 人類乳癌細胞)、human colon adenocarcinoma (WiDr, 人類直腸癌細胞)，進行化合物arisanetralones A-D、arisanschinins F-L、(-)-holostyligone、pre-gomisin、gomisin F、gomisin G、epigomisin O、(+)-gomisin K<sub>3</sub>的細胞毒殺測試，並以抗腫瘤藥物mitomycin C作為對照組，其結果如表2：

由表2數據得知arisanschinin F和gomisin F具有癌細胞毒殺活性，其中又以arisanschinin F的效果最佳，對HEp-2、Daoy、MCF-7和WiDr的ED<sub>50</sub>值分別為4.12、6.23、4.09和6.08 μg/ml，具有進一步研究的價值。

表1. 阿里山五味子果實內17個化合物對人類周邊血液單核球細胞增殖的效應

化合物 (100 μM)	抑制作用(%)		
	Resting cells	PHA (0.2 μg/ml)	PHA (5 μg/ml)
arisanetralone A	59.7 ± 0.8	78.1 ± 2.1	91.9 ± 0.9
arisanetralone B	56.9 ± 0.7	75.3 ± 4.5	90.8 ± 1.1
arisanetralone C	54.1 ± 3.0	76.3 ± 2.4	89.3 ± 1.1
arisanetralone D	34.1 ± 1.6	70.1 ± 6.0	83.9 ± 0.9
arisanschinin F	58.5 ± 2.8	81.7 ± 2.1	92.9 ± 1.2
arisanschinin G	54.7 ± 3.2	76.3 ± 1.6	92.5 ± 1.5
arisanschinin H	12.7 ± 3.6	16.4 ± 2.0	14.6 ± 7.9
arisanschinin I	47.0 ± 6.7	74.0 ± 2.4	66.6 ± 1.7
arisanschinin J	44.5 ± 4.4	67.0 ± 2.2	44.3 ± 2.9
arisanschinin K	33.3 ± 2.5	57.1 ± 2.1	25.3 ± 7.3
arisanschinin L	47.4 ± 2.4	70.0 ± 1.0	37.8 ± 0.2
(-)-holostyligone	61.0 ± 2.9	82.7 ± 1.9	95.6 ± 1.0
pre-gomisin	63.9 ± 4.6	83.0 ± 2.2	95.6 ± 0.8
gomisin F	36.1 ± 4.5	75.2 ± 3.3	58.9 ± 2.1
gomisin G	46.2 ± 1.1	75.8 ± 1.1	88.6 ± 0.7
epigomisin O	61.3 ± 1.5	81.3 ± 2.9	86.6 ± 0.6
(+)-gomisin K <sub>3</sub>	60.8 ± 2.3	80.1 ± 1.6	76.0 ± 0.9
Cyclosporine A (5 μM)正對照組	25.5 ± 7.3	68.0 ± 8.5	89.9 ± 4.5

註：Resting cells欄表示化合物對細胞毒性強弱，數值愈小表示化合物對細胞毒性較弱。PHA(phytohemagglutinin)是用來刺激細胞增生的物質，其二欄的數值愈大，表示化合物具有抑制細胞增生的功能。

表2. 阿里山五味子果實內17個化合物對人類癌細胞株的效應

化合物	癌細胞半數致死量[ED50(μg/mL)]			
	HEp-2	Daoy	MCF-7	WiDr
arisantetralone A	-	-	-	-
arisantetralone B	-	-	-	-
arisantetralone C	-	-	-	-
arisantetralone D	-	-	-	-
arisanschinin F	4.12	6.23	4.09	6.08
arisanschinin G	-	-	-	-
arisanschinin H	-	-	-	-
arisanschinin I	-	-	-	-
arisanschinin J	-	-	-	-
arisanschinin K	-	-	-	-
arisanschinin L	-	-	-	-
(-)-holostyligone	-	-	-	-
pre-gomisin	-	-	-	-
gomisin F	10.68	-	15.66	-
gomisin G	-	-	-	-
epigomisin O	-	-	-	-
(+)-gomisin K <sub>3</sub>	-	-	-	-
Mitomycin C對照組	0.07	0.11	0.14	0.10

註：「-」表示ED<sub>50</sub> >40μg/mL；Mitomycin C(絲裂黴素C)，屬抗生素類的抗腫瘤藥，用以治療癌症，如胃及胰臟的腺癌和膀胱癌，作用於減緩或停止體內癌細胞的增殖。

## 結論

- 一、阿里山五味子果實，經萃取、分離純化和結構解析，一共獲得17個木質酚素化合物，其中11個為新發現的化合物，分別命名為arisantetralones A-D、arisanschinins F-L，而其他6個已在文獻上發表的化合物，分別為(-)-holostyligone、pre-gomisin、gomisin F、gomisin G、epigomisin O、(+)-gomisin K<sub>3</sub>。
- 二、在過去的文獻中，五味子科植物之木質酚素化合物骨架大多數為dibenzocyclooctadiene-type，本研究得到的化合物骨架有dibenzocyclooctadiene-type和aryltetralone-type二種。

三、生物活性測試方面，五味子木質酚素主要的藥理活性是抗肝炎與抗氧化等效用。本研究進行17個化合物之免疫調節功能評估試驗和癌細胞毒殺測試，發現arisantetralone D在對細胞毒性較小的情況下，對PBMC增生具有明顯的抑制作用，而化合物arisanschinin F則具有最佳的癌細胞毒殺效果。⊗

備註：阿里山五味子為台灣特有種植物，生長在中高海拔山區，民間已有採摘藤莖當作藥用，未來需求量有可能增加，本科其他植物如南五味子(*Kadsura japonica*)也是常被用為中藥。五味子科植物可以利用種子繁殖，也可以進行無性扦插繁殖。阿里山五味子種子有休眠性，即形態生理的休眠，需要在25°C以下溫度發芽。研究顯示發芽溫度以變溫20/10°C和15/6°C最佳，6~7星期後開始發芽；25/15°C發芽率次之，30/20°C發芽率低。低溫5°C層積處理3個月亦可促進種子發芽。阿里山五味子栽種地點需要在海拔1000公尺以上，而南五味子可栽種低海拔地區。