

臺灣產五加科植物生物活性成分探索

◎國立中興大學森林學系·王升陽 (taiwanfir@dragon.nchu.edu.tw)、曾彥學
◎國立臺灣大學森林環境暨資源學系·曲芳華

現代分類學之父卡爾林耐(Carl Linnaeus; 1707~1778)曾說,「Herbs and plants are medical jewels gracing the woods, fields and lanes, which few eyes see, and few minds understand. Through this want of observation and knowledge the world suffers immense loss」。隱藏在森林、田野及田間小徑中的藥草與各型態的植物是珍貴的醫藥原料,但人們對這些大自然的「珍寶」瞭解仍是不足的,這的確是很可惜的損失。因此,從自然中尋找健康的解答也一直是自古到今人們重要的探索主題。由第四次的森林資源調查結果,我國(含金門、連江縣)森林總面積達219.7萬公頃,森林覆蓋率為60.71%,這近六成的森林覆蓋面積由於地理環境、地形與氣候得天獨厚,蘊育了豐富且多樣化的森林資源,其中更有不少世界著名的珍貴本土樹種與非木本植物,這些本土植物資源含有十分豐富且珍貴的特殊成分,其各種功效非常值得我們重視而予以研究開發。五加科植物在民俗及藥用植物中具有相當重要的地位,臺灣原生五加科植物,如三葉五加、食用土當歸、鵝掌楸、臺灣樹參、臺灣八角金盤等,除具獨特的芳香氣味而廣被利用為香料之外,在民俗療法中亦可常見被當成提神補氣的藥材,但到目前為止五加科植物在種源收集、成分分析以及活性探討等問題上,仍缺乏完整的資料。

五加科包括有灌木、喬木或草本,常具刺,有時攀緣狀,莖常具大髓。葉互生,全緣,分裂或為複葉,常被星狀毛茸。約84屬

920種以上,分布南北兩半球熱帶及溫帶。本科之多種植物在民俗及藥用植物中具有相當重要的地位,除具獨特的芳香氣味而廣被利用為香料之外,在民俗療法中亦可常見被當成提神補氣的藥材,如人參(*Panax schinseng* Nees)即本科之草本植物。刺五加(*Eleutherococcus senticosus*)亦是本科植物中廣為被研究及利用之著名藥用植物,民俗療法中認為刺五加能夠益氣健脾,補腎安神,治風濕,壯筋骨,目前已知刺五加富含多種配醣體,稱為刺五加苷(Eletherosid),其中紫丁香苷(Elletheroside B, 又稱Syringin)是刺五加的酚類化合物主要成分之一,為主要強壯成分,具與人蔘皂素相似的生理活性。另一方面Syringin亦被證實具調節免疫之活性,從體外與體內實驗得知Syringin對於免疫的調節主要透過抑制腫瘤壞死因子(tumour necrosis factor, TNF- α)與毒殺T細胞(cytotoxic T cell)所產生。另外,刺五加根部的抽出物及刺五加總苷對多種疲勞動物實驗模式均顯示出抗疲勞的作用,目前市面上亦能取得多種法令許可之保健食品,以刺五加為原料,強調增強體力及提神的功效。

臺灣產木本五加科植物共10屬,其中如五加屬(*Acanthopanax*)的三葉五加(*Acanthopanax trifoliatum* var. *trifoliatum*)、楸木屬(*Aralia*)的裡白楸木(*Aralia bipinnata* Blanco)、樹參屬(*Dendropanax*)的臺灣樹參(*Dendropanax pellucidopunctata*)、八角金盤屬(*Fatsia*)的臺灣八角金盤(*Fatsia polycarpa*)等,除具芳香氣味外,亦被利用於藥用或香料。目

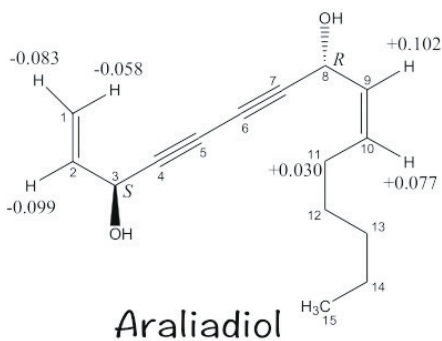


三葉五加中分離出一木酚素Taiwanin E，並證實Taiwanin E亦可透過抑制網膜細胞瘤調控蛋白的磷酸化抑制乳癌細胞的生長。(曾彥學 攝)

前已有一些初步的研究成果證實，臺灣產五加科木本植物的確具有特殊的藥用活性。舉例來說，三葉五加被認為具有與刺五加相似的生物活性，因而具高度研究開發價值，目前已在動物實驗中證實，三葉五加中的多醣類具有調節免疫系統功能進而抑制腫瘤細胞發展。另外，在脂多醣(Lipopolysaccharide, LPS)誘發之猛爆性肝衰竭老鼠模式中，三葉五加的水可溶部多醣類也表現出良好的減緩肝臟發炎的效果，由這些實驗結果可知，三葉五加的確具有增強免疫功能之成份，若能進一步深入研究其活性機制將能更有效利用於治療上。其它五加科植物例如食用土當歸(*Aralia cordata*)，其根部成份ent-pimara-8(14),15-dien-19-oic acid 已被證實能藉由阻斷NF- κ B的活化進而抑制發炎反應，另一方面，此成份及其它三種根部抽出化合物(ent-pimara-8(14),15-dien-18-oic acid ; 16 α -hydrogen-17-isovaleryloxy-ent-kauran-19-oic acid ; dehydrofalcariindiol-8-acetate)亦被證實能夠抑制DNA拓樸異構酶(DNA topoisomerases)的活性，因此，除了民俗療法中強調的補氣、抗發炎、調節免疫系統之功能外，五加科植物中的二次代謝物更具有開發成抗癌藥物的潛力。雖然臺灣產五加科植物已有一些研究研究成

果，到目前為止五加科植物在種源收集、成分分析以及活性探討等問題上，仍缺乏完整的資料。因此，我們的研究團隊乃以臺灣產五加科植物為研究主題，進行三大方向的生物活性之篩選，包括細胞毒性測試，抗發炎活性測試以及代謝症候群(Syndron X)，包括降血脂及膽固醇活性之測定，並進一步純化、鑑定具生物活性成分之確切結構，同時就分子生物層面，解析這些特殊成分之作用機制，並進行其應用與開發。除此之外，我們並嘗試選殖臺灣本土五加科植物中有效成分生成等之相關基因，進行生化分析，以提供未來從事品系鑑定、保育、演化、及藥用成分開發等研究時之重要參考資料，期能為林業研究及生技產業開創新的契機，開發臺灣原生五加科植物特殊成分為原料之保健醫療產品，如此一來不但可符合政府之林業永續經營政策，並可創造出無限之商機。

我們共完成了14種臺灣原生五加科植物採集的工作，包括三葉五加、臺灣土當歸、裡白榕木、臺灣八角金盤、鵝掌藤等，鑑定其基源製成標本保存於中興大學樹木標本館。由文獻搜集可知虎刺榕木之功效可治療肝炎，腎炎、前列腺炎、急性關節炎、胃痛、腹痛、痢疾、白帶、高血壓頭痛。外用於跌打腫痛、風溼痺痛。食用土當歸之主要功效為風寒濕痺、腰膝酸痛。根治婦科疾患、治肺結核、腸炎、氣喘。在臺灣所採集到的食用土當歸，依形態分類上大陸、日本等地的略有差異，由劉業經及呂福原兩位教授於1976年命名發表為臺灣特有種臺灣土當歸。鵝不踏其根部治風濕腰痛、肝炎、腎炎水腫、風熱感冒頭痛、咳嗽、濕熱黃疸、水



Inhibitory Effect of Human Breast Cancer Cell Proliferation via P21-Mediated G₁ Cell Cycle Arrest by Araliadiol Isolated from *Aralia cordata* Thunb.

Authors Wen-Ling Cheng¹, Ting-Yu Lin¹, Yen-Hsiang Tseng¹, Fang-Hua Chu¹, Pin-Ju Chieh¹, Yueh-Hsiang Kuo¹, Sheng-Yang Wang¹

Affiliations The affiliations are listed at the end of the article

Key words
 ◻ araliadiol
 ◻ cytotoxicity
 ◻ cell cycle
 ◻ G₁ arrest
 ◻ *Aralia cordata*
 ◻ Araliaceae

Abstract

A new polyacetylenic compound, araliadiol, was isolated from the leaves of *Aralia cordata* Thunb. (Araliaceae). The structure of araliadiol was determined to be 3S,13R-pentadeca-1,5Z-diene-4,6-diene-1,8-diol by MS, NMR, IR, and UV spectroscopic analysis as well as Mosher ester reaction. Araliadiol displayed a significant inhibitory effect on the growth of a human breast adenocarcinoma cell line (MCF-7), with an IC₅₀ value for cytotoxicity of 6.41 μg/mL. Cell cycle analysis revealed that the proportion of cells in the G₁ phase

However, the expression of phosphorylated p53 (Ser15) and Chk2 was not altered in MCF-7 cells. These findings indicate that araliadiol exhibits its growth-inhibitory effects on MCF-7 cells through downregulation of cdk4 and cyclin D₁, and upregulation of p21^{CIP1} via a p53-independent mechanism.

Abbreviations

◻ MCF-7 human breast adenocarcinoma cell line

自臺灣食用土當歸分離出之具毒殺癌細胞活性之Araliadiol。(曾彥學 攝)

腫、淋濁、帶下、閉經、產後風痛、跌打腫、胃腕痛、咽喉腫痛、牙齦腫痛。三葉五加民間用藥極為普遍，釀酒飲用療效更勝刺五加，其根或根皮可治風濕、跌打。嫩枝葉可治胃炎疼痛、疔瘡。樹皮可治神經痛及胃疾。引進栽培的八角金盤的有效成分已開發為祛痰鎮咳劑，臺灣八角金盤為臺灣原生種，民間用法為以樹皮、葉治風濕性關節炎、感冒咳嗽。鵝掌柴葉治酒病，洗爛腳，敷跌打；根及幹皮可清熱解毒、發汗解表、驅風除濕、舒筋活絡。通脫木其功效於《本草備要》中記載「治五淋水腫，目昏耳聾，鼻塞失音，退熱催生」；《本草求真》中記載「通草，蔓草，清肺通乳利水。」「功同入肺，引熱下降，及利小便，通淋治腫」。在以上的背景下，我們針對臺灣產五加科植物的乙醇抽出物進行活性探索。首先我們利

用前脂肪細胞(preadipocyte) 3T3-L1細胞，活化其三條主要的訊息傳遞途徑(包括cAMP-PKA途徑、固醇類激素的核受體途徑以及insulin受體的磷酸化途徑)，誘導前脂肪細胞分化成為堆積大量三酸甘油酯之成熟脂肪細胞(adipocyte)，並同時處理植物萃出物以分析其對於抑制脂肪堆積的功效。結果發現裡白櫛木與臺灣八角金盤之葉子萃取物具有不錯的抑制效果，將可進一步加以開發利用。並且自臺灣長春藤葉子萃取物中鑑定出具抗發炎活性之三萜類化合物Uvaol；同時另一具抗發炎活性之三葉五加的莖部中分離鑑定出Taiwanin E，並證實了其作用機制。另一方面，嘌呤核苷酸於黃嘌呤氧化酶(Xanthine oxidase, XOD)的催化下會氧化成尿酸(Uric acid)，人體的肝、腸黏膜及乳液中含有大量的黃嘌呤氧化酶，一旦作用則將與嘌呤、吡啶及

乙醛等生成過氧化氫及尿酸。尿酸及尿酸鹽的含量若超過飽和點即以針狀晶體的狀態析出而沉積於關節，引起高尿酸血症(Hyperuricemia)，臨床症狀上，高尿酸血症常伴隨著痛風的發生。因此，使用XOD的抑制劑可有效阻斷尿酸在人體中的生合成機制，是當前有效治療高尿酸血症的方法之一，由我們的研究成果可知，臺灣產五加科植物中以三葉五加葉子的乙純抽出物之乙酸乙脂可溶部對於XOD的抑制活性最佳。至於在抗氧化活性的表現方面則是以三葉五加的葉子、裡白榕木葉子以及通脫木葉子抽出物的活性表現最為出色。

在所有被研究的五加科植物中，食用土當歸表現出對乳癌細胞MCF-7與肝癌細胞HepG 2最佳的細胞毒性，我們並從食用土當歸的葉子中得到一個多炔類新化合物，將其命名為Araliadiol，經光學活性衍生物的合成及光譜分析後，決定其絕對結構為3(S),8(R)-Pentadeca-1,9(Z)-diene-4,6-diyne-3,8-diol。MCF-7細胞經Araliadiol處理後其細胞生長周期被抑制在G₁期，MCF-7之網膜細胞瘤調控蛋白(retinoblastoma protein, Rb)之磷酸化會被抑制，伴隨著降解細胞周期素D3(Cyclin-D3)和週期素依賴性激酶(4 cyclin-dependent kinase 4, cdk4)以及增加p21^{WAF-1/Cip1}蛋白的表現。同時，我們也自三葉五加中分離出一木酚素Taiwanin E，並證實Taiwanin E亦可透過抑制網膜細胞瘤調控蛋白的磷酸化抑制乳癌細胞的生長。而自天然物尋找非類固醇之抗發炎藥(NSAID)，為目前醫藥界相當受重視的研究主題之一。發炎會引起紅、腫、熱、痛等生理作用，在發炎期間，巨噬細胞會產生過量的中間產物，如一氧化氮、



臺灣樹參中所分離出之HODA成分可藉由Nrf-2的表現增加，進而提高第二期解毒酵素HO-1的表現，達到降低因酒精所造成的氧化傷害。(曾彥學 攝)

前列腺素及細胞激素等。臺灣產五加科植物中臺灣樹參，表現出顯著的抗發炎活性，因此，我們乃利用生物活性為導向的分離測略，對臺灣樹參的成分進行分離、鑑定，並探討活性化合物之作用機制。經生物活性為導向的分離策略下，自臺灣樹參中分離出一具有抗發炎活性的化合物(9Z,16S)-16-hydroxy-9,17-octadecadiene-12,14-diynoic acid (HODA)，並解析該化合物的抗發炎機制。由抗發炎試驗得知HODA能有效的抑制經LPS誘導產生的NO，並隨濃度增加，活性越強；其半抑制濃度(IC₅₀)為4.28 μ M。而在mRNA和蛋白的表現上，HODA能藉由抑制核內NF- κ B mRNA以及蛋白的表現，進而抑制下游iNOS的表現量，最終降低NO自由基的生成，減緩發炎造成的傷害。另外在抗氧化的部分，HODA則是藉由Nrf-2的表現增加，進而提高第二期解毒酵素HO-1的表現，達到降低因酒精所造成的氧化傷害

含三萜類化合物的植物常被用來作為中草藥使用，近年來藥理上也證實其具有抗膽固醇生成、抗癌及促進免疫能力的活性。三葉五加是分布於低至中海拔之森林邊緣，攀

緣灌木或藤本，在五加屬中僅有此種為臺灣原生種。已有部分三萜類化合物從三葉五加被鑑定出來，但有關生合成機制未有報告出版，本研究以三葉五加為主題，利用目前基因體學、蛋白質體學進行三萜類相關合成酶選殖與定性，了解不同三萜類化合物對細胞生長及植物防禦之作用，期望在植物逆境探討以及植物二次代謝物的研究上能有所參考價值。我們成功自三葉五加選殖出三個Oxidosqualene cyclases(OSCs)基因以及上游Squalene Epoxidase基因，分別命名為*EtOSC2*、*EtOSC3*、*EtOSC12*及*EtSE*。OSCs核酸序列長度位於2,271~2,289 bp範圍內，胺基酸全長利用ExPASy預測蛋白質之大小為86~87 kDa，而*EtSE*序列大小有1,611 bp，共537個胺基酸，蛋白質大小為59 kDa。OSCs基因皆有受質結合處DCTAE以及四個QW保守序列以穩定結構。三者序列相似度高於80%。*EtOSC2*轉殖於酵母菌經過TLC與GC-MS分析，與載體轉植株比較下，多了一個產物Lupeol，證實*EtOSC2*為lupeol synthase，從親緣關係來看*EtOSC2*比起大多數的beta-amyrin更靠近lupeol群，說明了此基因可能正處於演化過程中，也再次證實了活性區域是造成OSCs功能歧異的主因。以RT-PCR分析部位基因表現，除了OSC3之外，其他基因皆在葉部表現最多，其他部位則是呈現不一致的變化，尤其在根部的表現，提供前驅物的*EtSE*基因表現微弱，而*EtOSC12*表現並不受其影響，表示前驅物可被運送到根部與*EtOSC12*進行反應。從變化中，可看出三萜類化合物並不一定都在同一部位進行生合成，而其中機制尚需進一步的探討。本實驗進一步使用

MeJA作逆境誘導，結果*EtSE*表現量在處理後24小時有明顯增加，而下游OSCs中僅有*EtOSC2*同樣變化，且在處理後6小時即有大幅度增加，直到48小時仍持續增加，表示基因表現被逆境誘發，產物Lupeol可能扮演協助植物渡過逆境的角色，類似結果在苜蓿中的beta-amyrin synthase已證明過。

美麗之島，福爾摩沙。臺灣豐富的自然資源正等待我們去發掘。正如我們在這篇文章所簡述的臺灣產五加科植物研究的故事般，如此的研究工作是要整合不同專長的研究人員，包括天然物化學、藥理活性研究團隊、功能性基因體專長，當然最重要的還是要有自然資源調查與植物分類學家的引領。「森林是我們的答案(Tress are the answer)」，林業研究同仁應責無旁貸擔負起開發森林資源的責任，除整合不同專長之研究團隊外，我們認為對於人才的培育更是重要的關鍵，因此面對林業發展方向的調整，各森林學相關的科系所開授的課程乃至於未來教師專長的需求的確應該審慎的考慮與規劃。就如各大學中「木材化學」領域之課程設計為例，目前仍是以製漿造紙的角度為主軸，即是偏重與教授纖維素、半纖維素與木質素等主成分為主題，至於林木的特殊成分的相關知識相對而言是不足的，因此實在有必要重新審視目前研林業高等教育中的課程設計。最後，我們也要對臺灣最重要的林業研究重鎮提出期許，相對於各大學的研究資源與人力，林試所在主、客觀的條件下都應當擔負起火車頭的角色，整合研究團隊並擬定對於臺灣特有藥用森林植物研究目標，共同與大學培育人才，相信這樣的整合將可有效率地發展臺灣自然資源。♻️