莪朮的生藥學及抗增生成分研究

侯鈺琪　陳忠川　邱年永　黃慧貞*　李珮端
中國醫藥學院中國藥學研究所　*臺灣大學醫學院藥理學科

摘　要

莪朮是薑科薑黃屬植物Curcuma aeruginosa Roxb.之乾燥根莖，爲常用之中藥。具有行氣破血，消積止痛之功效。用於治一切氣，消瘀血，心腹疼痛等症。近年來，臨床上用於治療早期的子宮頸癌及心血管疾病。以現代藥學觀點來看，其行氣通積聚之功，應爲值得開發的抗腫瘤藥物來源。

本研究之生藥學部分，以莪朮來源植物之一Curcuma aeruginosa Roxb.的主根莖，建立生藥組織圖，作爲以後莪朮類藥材基原植物鑑別研究之參考。而在化學活性成分之分析中，乃是以對人類的淋巴胚癌細胞(T-lymph-oid leukemia cell)之抗增生活性爲指標，藥理活性試驗發現莪朮的乙酸乙酯層抽出物中之莪朮烯醇(curcumenol)，異莪朮烯醇(isocurcumenol)，莪朮環氧酮(zederone)及薑黃素(curcumin)，對T-lymphoid leukemia cell皆具抗增生活性，因此莪朮有進一步探究其抗癌活性之價值。

關鍵詞：莪朮，組織鑑定，成分

前　言

莪朮，始收載於開寶本草，列爲草部中品，以後諸家本草皆有收錄與增補。嘉祐本草曰：「味苦辛溫，無毒。主心腹疼痛、中惡、痃忤鬼氣、霍亂冷氣、吐酸水、解毒、飲食不消。酒研服之又療婦人血氣、丈夫奔豚。」(1)，「入肝經血分，破氣中之血。」(2)，今常用於癥瘕積聚、飲食積滯、瘀血經閉、傷損作痛諸証。在臨床上用於治療早期子宮頸癌、抗早孕、心血管疾病等(3,4)。藥理學上之研究亦指出莪朮揮發油具抗癌(5)、抗發炎(6)、抗孕(7)及升高白細胞(8)等藥理活性。在一系列針對人類淋巴胚癌細胞(T-lymph -oid leukemia cells)增生活性藥物的篩選中，其中以莪朮的乙酸乙酯層抽提物顯示對人類淋巴胚癌細胞增生具抑制作用，據此再進一步以此生物活性爲導向，分離乙酸乙酯層抽提物，期望能單離出具活性之有效成分，並決定結構式，以作爲新藥開發之參考。

莪朮是薑科(Zingiberaceae)薑黃屬(Curcuma)植物，因莪朮藥材之來源相當複雜，據中國藥典中藥彩色圖集中所收載的即有三種(9)。臺灣現今使用之莪朮藥材，部份來自大陸進口，部份爲臺灣所自產。爲確定臺產莪朮之基原植物，和開發省產藥材資源，遂進行原產地植物採集調查與生藥學上的研究。

材料與方法

*1.*材料

本研究使用之組織切片材料，係民國83年3月13日、6月12日、9月11日、12月11日。採自嘉義縣竹崎鄉山區，莪朮的主根莖。

成分分析乃採用乾燥之C.aeruginosa Roxb.主根莖切片6公斤，經粉碎機打成粗粉。

*2.*方法

⑴植物形態鑑別

五官鑑別法

⑵主根莖外部形態鑑別

五官鑑別法

⑶主根莖內部組織鑑別

取莪朮直徑約2-3cm，長約4-9cm之新鮮主根莖爲材料。利用徒手切片法進行橫切、放射性縱切、切線性縱切等，並置檢體於載玻片上，先以chloral hydrate solution 清除細胞內含物後，再滴加各種不同化學染色劑如phloroglucinol-alcohol與conc.HCl 進行木化反應，或滴加Sudan III進行木栓化反應等，最後以glycerin ： water = 1 : 1 混合溶液將檢品封鎖，蓋上蓋玻片，後置於顯微鏡(Nikon,Photograph T-2)下，先用低倍鏡頭檢查檢品輪廓，再以高倍鏡頭觀察內部組織之特徵，並利用顯微攝影拍攝下各個組織。另以顯微測微器測量各組織及細胞的大小，並記錄之。

⑷主根莖之粉末鑑別

取莪朮直徑約2-3cm，長約4-9cm之新鮮主根莖爲材料，以刀片切碎，並置於通風處陰乾後，以研缽磨碎成粉末或以化學試劑解離各個組織，加入各種試劑後，再進行顯微鏡檢。

⑸化學成分分析

取打成粗粉後之莪朮藥材，用正己烷，乙酸乙酯，甲醇三種有機溶媒，以滲漉法各重複抽提6次。分別合併各層提取液，減壓濃縮後成油膏狀物。再取EtOAc 層之油膏狀抽提物，進行管柱色層分析，以silica gel(70-230mesh)充填於玻璃管柱內，再分別以正己烷，乙酸乙酯，甲醇等溶媒爲移動相，用梯度沖提的方式沖提管柱，並利用再結晶之技術，純化沖提所得之化合物。最後利用NMR、Mass 等光譜技術決定其結構式。

⑹化學成分抗增生活性試驗

人類之T-lymphoid leukemia cell line CEM (ATCC，Rockville，MD)以RPMI- 1640爲

培養基，於37℃，5 % CO2的培養箱中培養。將試驗藥物加到培養好的細胞中(5 × 103 cells/well)，在5 % CO2的培養箱中培養30分鐘後再加入1 μ Ci 〔 H3 〕 thymidine，於四小時後測定細胞uptake之3H-radioactivity。將所測得之結果與對照組做比較。

結　果

1. C.aeruginosa Roxb. 植物形態

多年生草本植物。全株高約1-1.5m。短鬚根系，末端膨大成大形肉質儲藏根，長卵圓形，斷面近白色，長0.5-6cm不等。富含揮發油之大型肉質根莖，主根莖呈長陀螺狀，側根莖發達，圓柱狀，橫切面呈黃綠、淡藍至灰藍色(Fig.1)。大形葉，長橢圓形，長約30-40 cm，寬約15-25cm，兩面皆光滑無毛，葉呈束狀，約4-6葉。葉柄長約60-90cm。葉鞘下端常爲紫褐色。葉沿中脈兩側有寬約1-2cm的紅棕至紫色條紋(Fig.2)。穗狀花序先葉或與葉同時從根莖上抽出，圓柱狀，高約15-23cm。中下部花苞綠色、淡綠色至近白色，長卵形，尖端帶淡紅棕色斑，約2-4cm長。頂生苞片長橢圓形，尖端帶粉紅色至紅紫色斑，約3-4.5 cm長。花淡黃色，萼片紅色，略短於苞片。花期三月到五月。

2. 莪朮藥材(C.aeruginosa Roxb. 之主根莖)外部形態

長圓錐形、長卵圓形或紡錘形，陀螺形。頂端尖長，底部鈍圓，長5-12cm，直徑約2-4.5cm。表面灰黃至土黃色，有毛茸狀物，有明顯的環形節，上稀下疏。上半部常包圍殘留之乾枯葉柄，下半部則常見下陷點狀的鬚根痕或有殘留之鬚根。隨處可見芽痕，及側生根莖痕。質硬而重，有特殊香氣(Fig.3)。新鮮切斷面呈黃綠、淡藍甚至灰藍色，乾燥時多呈淡黃色。維管束環明顯，呈淡藍色，愈近中心柱，藍色愈淡而漸成淡黃色。黃白色略透明的維管束呈點狀散佈(Fig.4)。

3. 主根莖之內部組織

主根莖直徑約2-3cm之橫切面，扁長方形，表皮細胞一層，長50-80 μ m，寬10-35 μ m。其下有2-3層皮下細胞，不規則圓形，徑約40-90 μ m不等。木栓細胞5-6 層，長方形，排列整齊，長60-85 μ m，寬20-45 μ m。表皮細胞常附生厚壁之毛茸，單細胞，長約1-0.6 mm。皮層約佔半徑的1/5，爲充滿澱粉粒之等徑性之薄壁柔細胞，徑約65-100 μ m不等。皮層中維管束散生，有限外韌型維管束，弱木化，直徑約40-50 μ m。導管以螺紋、環紋爲主，階紋亦可見。內皮層爲一細小之長方形薄膜細胞，不甚明顯。內皮層旁密生許多橫向生長之維管束，形成中柱與皮層間明顯之維管束環帶，其導管弱木化，直徑約30-40 μ m，多見網紋與環紋。中柱寬，爲廣闊的薄壁柔細胞帶，等徑性，大小約等同於皮層之薄壁柔細胞，維管束之分布與皮層中之分布相類似。維管束走向複雜且不規則，有時縱向，有時橫向出現，徑約40-50 μ m，導管弱木化，可見螺紋、環紋。中柱薄壁細胞內亦含大量澱粉粒(Fig.5)。

油細胞散生在皮層和中柱內，長橢圓形，內有橘黃色或黃綠色油滴，徑約60-90 μ m。皮層與中柱之薄壁柔細胞內密生澱粉粒，幾乎全爲單粒，長卵形或短桿狀。薄壁細胞中可見草酸

鈣結晶，爲長約30-50 μm，寬約20-30 μm之短柱狀單晶。

*4.*主根莖之粉末特徵

粉末呈淡黃綠色。非腺毛之毛茸，易察見，頂端銳尖，單細胞。澱粉粒米粒狀、卵形，徑約20-30 μm，短桿形，長約30-50 μm，層紋不甚明顯，偏心性臍點，位於澱粉粒之狹窄部位。導管網紋、螺紋、階紋、環紋均可見，弱木化。直徑約40-50 μm。薄壁細胞爲類似圓形之不規則形，可見其中充滿澱粉粒。

*5.*化學成分分析

針對EtoAc層進行的管柱色層分析(Fig.6)，截至目前爲止，已分離出四種化合物：

Compound Ⅰ：白色針狀結晶(正己烷)。mp 108-110℃。EIMS(m/e，%)：234(M+，13)，191(69)，173(21)，147(29)，121(66)，105(100)，93(38)，79(30)，67(47)，55(34)。1H-NMR (300 MHz，CDCl3) δ (ppm)：1.01(3H，d，J=6.3Hz)，1.63(3H，s)，1.80(3H，m)，4.73(1H，t，J=2.1Hz)，4.78(1H，t，J=2.1Hz)。

Compound Ⅱ：白色透明塊狀結晶(正己烷/乙酸乙酯)。mp 128-129℃。EIMS(m/e，%)：246(M+，63)，188(29)，176(31)，175(100)，161(43)，147(25)，119(73)，91(43)，65(29)。UV λ max(EtOH)nm：204、232、284。1H-NMR (300 MHz，CDCl3) δ (ppm)：1.35(3H，s)，1.61(3H，s)，2.11(3H，d，J=1.3Hz)，3.68(1H，d，J=16.2Hz)，3.77(1H，d，J=16.2Hz)，3.82(1H，s)，5.49(1H，m)，7.09(1H，m)。

Compound Ⅲ：白色細針狀結晶(正己烷/乙酸乙酯)。mp 96-99℃。EIMS(m/e，%)：234(M+，48)，191(34)，189(53)，147(53)，133(60)，105(100)，91(38)，55(26)。1H-NMR (300 MHz，CDCl3) δ (ppm)：1.02(3H，d，J=6.3Hz)，1.59(3H，s)，1.66(3H，d，J=1.5Hz)，1.81(3H，m)，5.77(1H，m)。

Compound Ⅳ：深橘黃色針狀結晶(甲醇)。mp 174-177℃。EIMS(m/e，%)：368(M+，48)，350(44)，272(25)，217(36)，191(53)，190(77)，177(100)，145(52)，137(79)，91(23)，43(40)。UV λ max(EtOH)nm：204、264、426、428。1H-NMR (300 MHz，CDCl3) δ (ppm)：3.91(3H，s)，5.96(1/2H，s)，6.69(1H，d，J=15.8Hz)，6.88(1H，d，J=8.2Hz)，7.17(1H，dd，J=1.9, 8.2Hz)，7.31(1H，d，J=1.9Hz)，7.59(1H，d，J=15.8Hz)。

*6.*化學成分抗增生活性試驗

化學成分之抗增生活性試驗中，將所測得之數據與對照組做比較後，結果如Tab.1 所示。

討　論

在現有的文獻記載中，認爲臺灣莪朮之來源植物爲C.zedoaria Rosc.(10)，但在本研究於產地的原植物實地採集中發現，該植物花的形態特徵與文獻中記載的C.zedoaria Rosc.的花不同(11,12)。本植物花黃色，萼片紅色，頂生苞片前端帶粉紅色至紅紫色斑，與C.zedoaria Rosc.的花爲白色，頂生苞片全呈亮紅色有極顯著之差異。根莖斷面黃綠、淡藍甚至灰藍色，和C.zedoaria Rosc.的淡黃色而邊緣略白亦有差距。其各項植物外部型態特徵，經比對文獻上之記載後，認爲近似C.aeruginosa Roxb. (11,13)。另外在組織切片顯微鏡檢視中，表皮一層，而其下有2-3層皮下細胞。木栓細胞5-6層。可見網紋、螺紋、階紋、環紋四種導管，且可觀察到草酸鈣方晶。都與文獻記載中(14)C.zedoaria Rosc.之描述不符。因此我們認爲此植物應爲C.aeruginosa Roxb.。所以臺灣之莪朮來源植物除了原有記載的C.zedoaria Rosc.之外，應還有C.aeruginosa Roxb.。

在成分分析部份，Compound I經n-Hexane再結晶後，爲一白色針狀結晶物。mp 139-141 ℃。Mass，NMR等光譜數值，經比對文獻後(15)，證明此化合物爲異莪朮烯醇(isocurcumenol)。

Compound II經n-Hexane與EtOAc混合溶媒再結晶後，爲一白色透明塊狀結晶物。mp 152-154 ℃。Mass，NMR等光譜數值，經比對文獻後(16)，證明此化合物爲莪朮環氧酮(zederone)。

Compound III經n-Hexane與EtOAc混合溶媒再結晶後，爲一白色細針狀結晶物。mp 117-119 ℃。Mass，NMR等光譜數值，經比對文獻後(17)，證明此化合物爲莪朮烯醇(curcumenol)。

Compound IV經MeOH再結晶後，爲一深橘黃色針狀結晶物。mp 182-184 ℃。Mass，NMR等光譜數值，經比對文獻(18)與標準品後，證明此化合物爲薑黃素(curcumin) (Fig.7)。

另外在化學成分之藥理活性試驗中，將所測得之數據與對照組做比較後，結果如Tab.1所示。此初步藥理試驗結果顯示：isocurcumenol，zederone，curcumenol，curcumin等四個化合物皆對T-lymphoid leukemia cell有抗增生之活性，因此莪朮有進一步探究其抗癌活性之價值。

謝辭：本研究承蒙張明賢先生、侯鴻榮醫師協助原植物採集；張瓊文、張美齡、經總、蔡佩凌四位在實驗過程中的各項協助，謹此誌謝。

參考文獻

1. 那琦，謝文全，李一宏。1989。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。P.94。

2. 清 汪昂。1988。本草備要。世一書局。台北。P.179。

3. 安一心，孫治等。1985。複方莪朮油抗早孕臨床試用38例效果觀察。中草藥。16(10)：30-32。

4. 徐國鈞等。1994。常用中藥材品種整理和質量研究。福建科學技術出版社。福建。P.385-398。

5. 錢振超，魏文儀等。1981。莪朮瘤苗的主動免疫保護效應-莪朮抗癌作用原理的探討。藥學學報。16(12)：892-896。

6. 李成章，時繼慧。1985。莪朮油抗炎作用的研究。中藥通報。10(3)：38-40。

7. 陳梓樟，肖銘玉等。1981。莪朮對小白鼠卵巢、宮內膜及胚胎的作用。中草藥。12(3)：26，29。

8. 時繼慧，李成章。1984。莪朮油升高白細胞的作用研究。中藥通報。6(2)：32-34。

9. 中國藥典委員會。1991。中國藥典中藥彩色圖集。旺文出版社。臺北。p.304。

10. 魏應利。1972。臺灣產 Zingiberaceae 藥材之生藥學研究。文化大學實業計劃研究所碩士論文。P.1-2。

11. J.D.Hooker，C.B.，K. C. S. I., 1890, Flora of British India Vol. VI, India。p.210-212。

12. 台灣植物誌編輯委員會。1978。Flora of Taiwan。臺北。p.845-848。

13. 熱帶植物研究會。1984。熱帶植物要覽。大日本山林社。p.546-548。

14. . 中國醫學科學院藥物研究所。1982。中藥志。人民衛生出版社。北京。p.123-131。

15. Hiroshi Hikino, Kvnio Agatsuma and Tsonematso Takemoto, 1969, Structure of Isocurcumenol, Chem. Pharm. Bull.,17(5),959-960。

16. Hiroshi Hikino,Shoji Takahashi;Yojiro Sakurai,Tsonematso Takemoto and Norman S. Bhacca, 1968, Structure of Zederone, Chem. Pharm. Bull., 16(6),1081-1087。

17. Hiroshi Hikino, Yojiro Sakurai,Seiichiro Numabe and Tsonematso Takemoto,1968,Structure of Curcumenol,Chem. Pharm. Bull., 16(1),39-42。

18. Hanne Hjorth Tonnesen, Jan Karlsen and Arvid Mostad, 1982, Structural studies of

curcuminoids I, The crystal structure of curcumin, Acta. Chem. Scand. Ser.B., B(36)7: 475-479 。

Table 1. Antiproliferative activities of four compounds on lymphoid leukemia cells

	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M
	% of control	% of control	% of control
isocurcumenol	99.2±7.6	95.7±3.0	27.0±9.5
zederone	82.8±10.0	80.1±5.6	12.9±4.7
curcumenol	98.6±8.5	90.0±2.1	12.0±3.1
curcumin	78.4±12.3	61.3±10.7	15.9±5.5



Fig.1 Rhizome and Tuberous root of *C. aeruginosa*

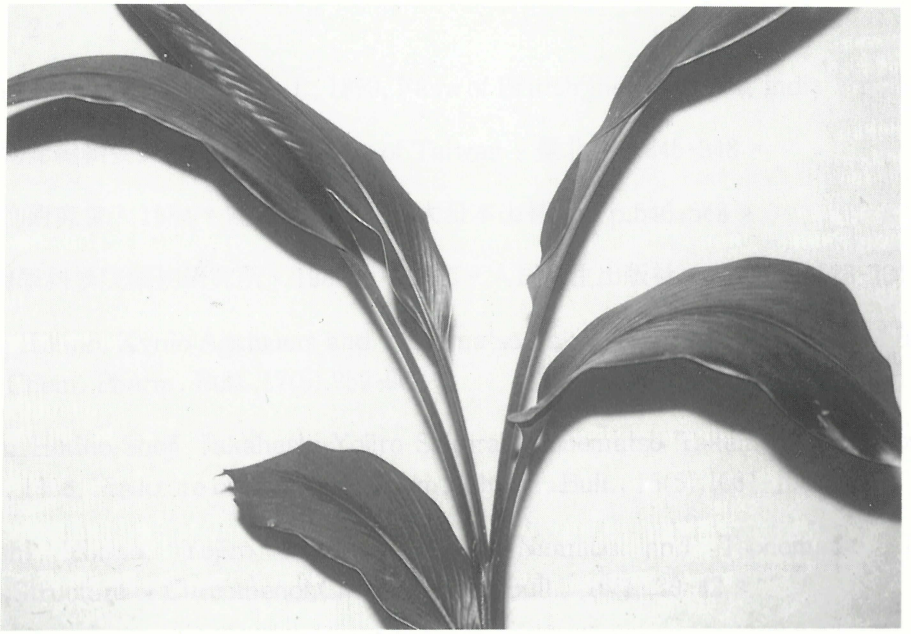


Fig.2 Plant of *C. aeruginosa*

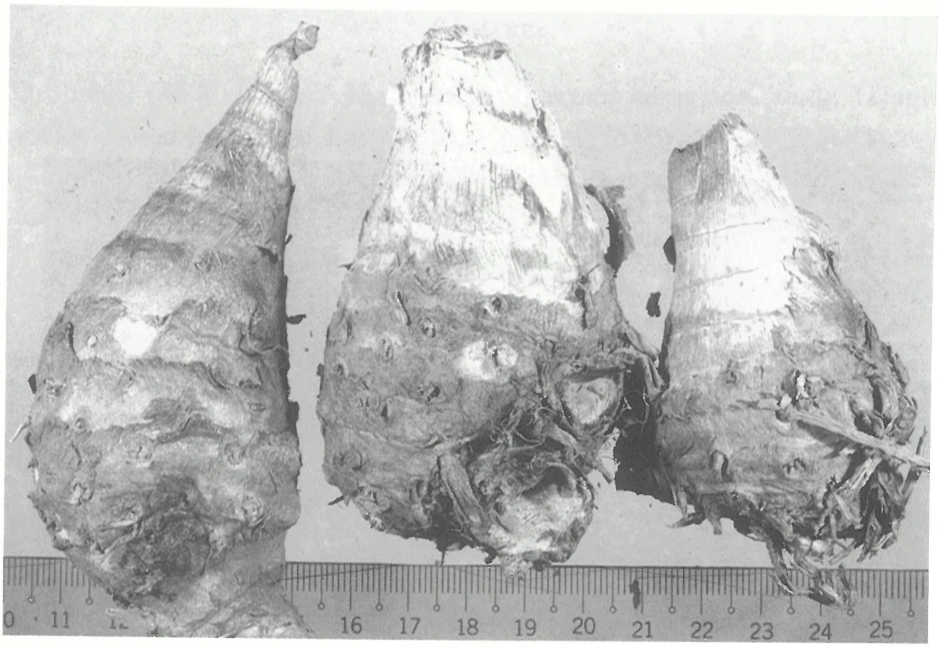


Fig.3 Dry Rhizome of *C. aeruginosa*

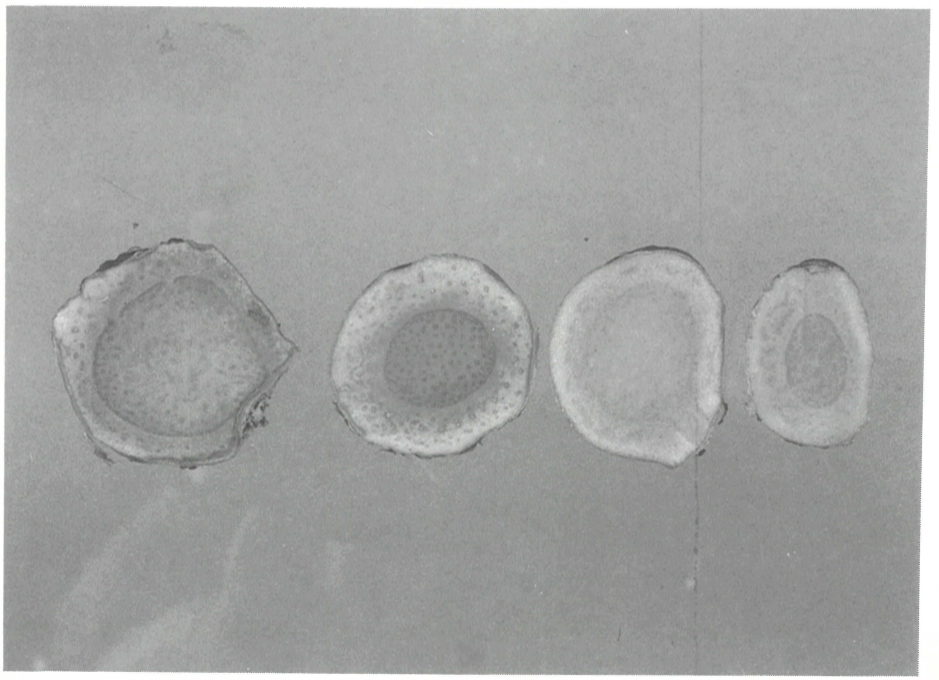


Fig.4 Cross Section of the Rhizome of *C. aeruginosa*

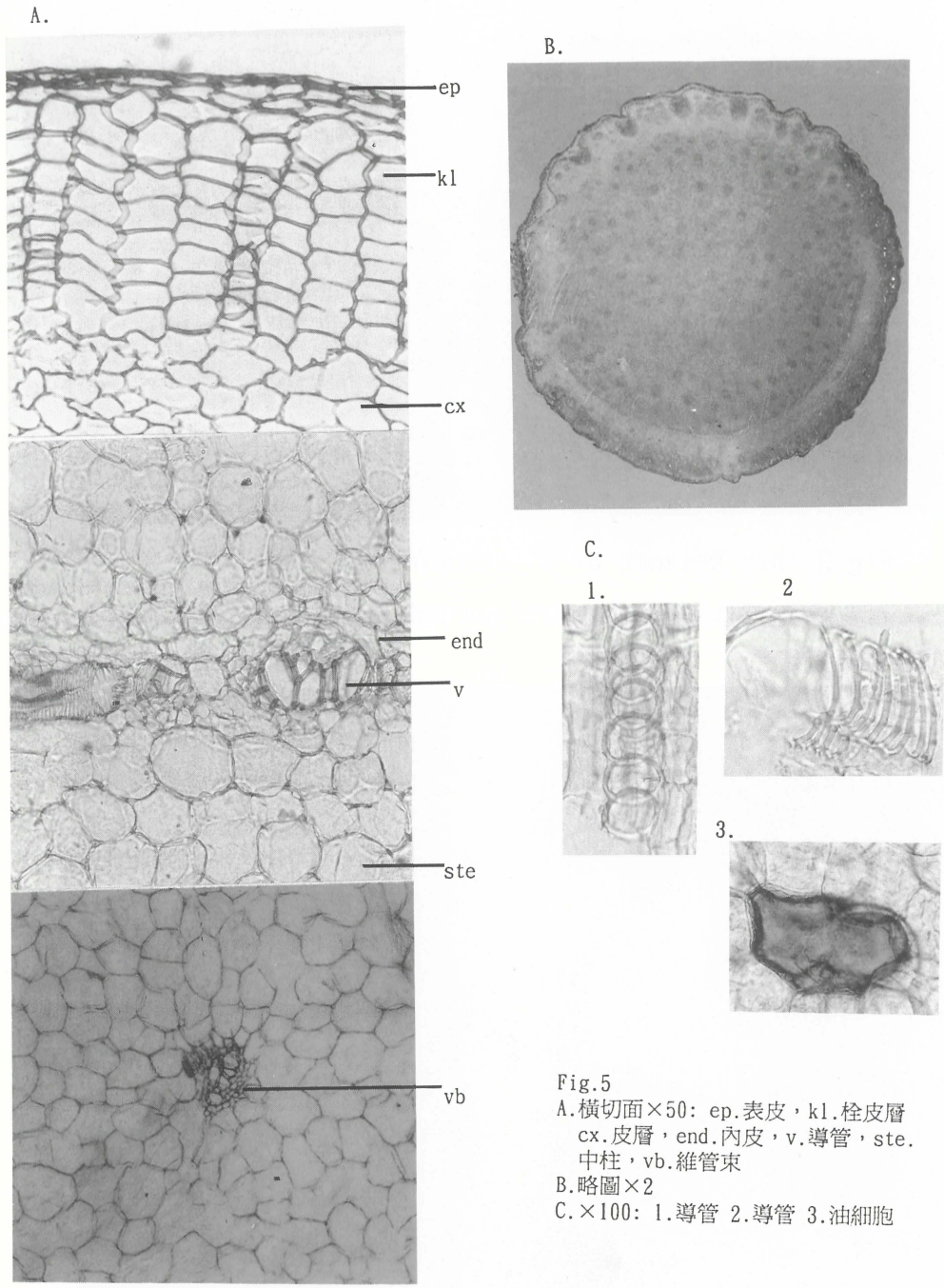


Fig.5
A.橫切面×50: ep.表皮，kl.栓皮層 cx.皮層，end.內皮，v.導管，ste.中柱，vb.維管束
B.略圖×2
C.×100: 1.導管 2.導管 3.油細胞

Abstract

" O-Shuh "（莪朮）is the dired rhizome of Curcuma aeruginosa Roxb. (Zingiberaceae) . It was widely used to remove blood stasis , promote circulation of qi and relieve pain in clinical Chinese medicine. In recent years , it is also used to treat carcinoma of uterine cervix and angiocardiopathy.

The EtOAc fraction of " O-Shuh " was found to show antiproliferative activity on human T-lymphoid leukemia cells. Chemical investigation of this fraction was then conducted to result in the isolation of four known compounds : curcumenol 、 isocurcumenol 、 zederone and curcumin. Among the isolates , curcumenol was the richest constituent. Pharmacological study indicated that these four compounds all showed antiproliferative effect on human T-lymphoid leukemia cells.

Key word : Curcuma aeruginosa , anatomy , constituent