

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫名稱

半枝蓮中保肝成份之萃取研究

計畫類別： 個別型計畫

整合型計畫

計畫編號：CNPH-91-12

執行期間：91 年 1 月 1 日至 91 年 12 月 31 日

計畫主持人：魏明治

共同主持人：

計畫參與人員：魏明治

執行單位：嘉南藥理科技大學藥學系

中華民國 92 年 2 月 26 日

## 一、前言

依據衛生署歷年的統計資料顯示[1]，台灣地區歷年來（70-89年）十大死亡原因中，慢性肝病與肝硬化位居第六位，每10萬人口中死亡率為23.32%（89年），換算每天有25人因此而死亡；同時，在癌症死亡原因中，肝癌更是常年來（80-89年）高居男性癌症中的首位，每10萬人口中死亡率為40.21%（89年）。因此，肝病可以說是台灣地區最常見之本土化疾病，也可以說是我國之國病。故肝病醫療方法的研發，一直是我國醫藥界所共同致力之目標。

在醫療體系中，目前是以西醫藥為主，中醫藥為輔。依據多位醫藥先進之研究，發現中草藥確實對人類疾病具有特殊療效，例如日本學者研究出小柴胡湯具有治療肝炎之效用，美國之研究者亦發現相同的結果。其他諸如心臟病、腎臟病、高血壓及糖尿病等西藥難以治療，或用西藥治療會有嚴重副作用之疾病，均可用中草藥加以治療，故有很多的美國醫院已開始使用中草藥以彌補西藥之不足[2-7]。

中國傳統使用之中草藥，以數千年之臨床應用經驗，已經建立其特有的效用與理論價值。在傳統使用之中草藥中相傳具有保肝作用者，包括柴胡、茵陳、山豆根、山葡萄、薑黃、三白草、羊蹄甲、金線蓮、枸杞、山防風、山芋麻、欖人葉、地耳草、苦菜、酸藤、蝴蝶花、石上柏、土丁桂、龍葵、百花蛇舌草、半枝蓮……等等。其中百花蛇舌草常與半枝蓮配伍同用，以治療肝癌、肺癌、結腸癌等。半枝蓮是唇形科黃芩屬植物狹葉韓信草(*Scutellaria barbata* Don)之乾燥全草，別名為狹葉韓信草或牙刷草。半枝蓮為草本植物，莖方形；單葉對生，長卵形，邊緣有疏齒；花冠唇形，藍紫色；於莖枝上部的葉腋內生許多花，排列於花梗之一側，狀似牙刷。半枝蓮具有治療吐血、血淋、赤痢、黃疸、腫毒、毒蛇咬傷、肝炎、肝腫、肝硬化腹

水、肺膿腫及胃潰瘍出血等功效[8-11]。此外，近代的臨床研究顯示[12-13]，半枝蓮之水萃取物於大白鼠受 D- 半乳糖胺(D-galactosamine)、對位乙醯胺酚 (Acetaminophen) 以及四氯化碳等三種不同作用機轉之肝毒化物，所誘發之肝細胞損傷具有顯著的抑制作用。同時，由詹等人[14]之研究中發現，半枝蓮之萃取物於小白鼠腹水癌也有抑制作用。另外，據 Chou [15] 以及後續多位學者[16-22]之研究發現，半枝蓮具有保肝作用之主要成份為 Baicalein、Baicalin 及 Wogonin 等。至於有關單一成份藥理學之研究方面，Kimuya 等人[23] 於小白鼠先投與過氧化脂質(lipid peroxidation)，形成高脂血症，再分別經口投與 Baicalein、Baicalin 及 Wogonin，發現此三成份均具有抗氧化能力，以預防肝細胞障礙作用；蔡等人[24] 亦發現，Baicalein 對於 tert-butyl hydroperoxide 所誘發大白鼠肝細胞氧化損傷具有保護作用；Abe 等人[25] 則發現，Baicalein 與 Baicalin 有促進大白鼠膽汁分泌作用；Lin 與 Shieh[26,27] 亦使用 D- 半乳糖胺(D-galactosamine)、對位乙醯胺酚 (Acetaminophen) 以及四氯化碳等三種不同作用機轉之肝毒化物，以誘發大白鼠產生肝細胞障礙，再分別評估 Baicalein、Baicalin 及 Wogonin 等三成份各別之抗炎症與保肝作用，結果發現此三成份均具有抗炎症與保肝之作用，其中以 Baicalin 呈現最佳之抗炎作用，而以 Wogonin 具有較好之保肝效用。

此外，在抗腫瘤(anti-tumor)藥理學的研究方面，蔡等人[24]研究發現，Baicalein 對於 12-O-tertadecanoylphorbol-13-acetate 所誘導的磷脂質(phospholipid)合成有抑制作用，可間接因改變磷脂質代謝而影響腫瘤的生成；陳與呂[28]則以 Baicalein、Baicalin 及 Wogonin 等成份，進行人類肝癌 Hep G2 (hepatoblastoma G2) 細胞株之抗腫瘤作用評估，結果顯示此三成份皆具有抗腫瘤的活性，其中以 Baicalein 的效

果最佳；同樣地，王與黃[29]亦發現 Baicalein 能有效抑制接種性腫瘤的生長(人類肝癌 Hep G2 細胞株)；高與呂[30]研究顯示，Baicalein 尚可抑制 T 淋巴腫瘤細胞株的生長。

中草藥之抽取物（湯劑）因具有內服吸收快、療效迅速之優點，故在臨床應用上最為常見。但據 1976 年，野口衛[31]於半夏厚卜湯抽取實驗顯示，於實際煎劑中之油性成分含量只有 3.5%，而殘渣中仍存有油性成分 49.8%，其餘有 46.7% 是在煎熬過程中揮發掉的；所以如何有效地抽取藥材中所含之成分，亦是中草藥製程研發的一大關鍵。

本人過去多年來一直致力於無機薄膜之製備與其氣體分離[32-36]，以及超臨界流體萃取等學術領域之研究，均有良好之成果；同時也有機會協助科學中藥廠之製程規畫與設計，以及實際生產製程的改進與技術提昇。因此對於科學中藥之製程，特別是中草藥之精油萃取槽的設計具有獨特的見解與貢獻。基於過去之研究基礎，本研究以溶劑中草藥半枝蓮中保肝活性成份 Baicalin 及 Wogonin 等，探討萃取條件對此二成份萃取量之影響，並比較各種方法的適用性，以期獲得半枝蓮之最佳萃取條件。

## 二、研究方法

本研究計畫以溶劑萃取中草藥半枝蓮之保肝活性成份 Baicalin 及 Wogonin 等，探討萃取條件對此二成份萃取量之影響。實驗內容分述如下：

### (一)、半枝蓮之前處理

將半枝蓮之全草以以磨粉機打粹至 200mesh，儲存於冰箱中備用。

### (二)、水份測定

#### 1、熱乾燥法

稱得一定重量之半枝蓮置於甘鍋中，於 105°C 下烘乾 2 小時後，

置於乾燥器中回溫，稱重。

## 2、冷凍乾燥法

稱取一定重量之半枝蓮置於夾鏈袋中，於-80°C冰箱中冷凍後，再以冷凍乾燥進行乾燥，稱重。

## (三)、溶劑萃取

分別以水與不同重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑，並逐一探討不同的萃取條件，如樣品顆粒、溫度、與萃取時間等變因，對於半枝蓮中二種成份萃取量之影響，以期獲得最適之萃取條件。其中各成份是以 HPLC 加以分析，必要時並作成份鑑定，以確定萃取物為目標成份。

## 三、結果與討論

### (一)、水份測定

#### 1、熱乾燥法

三次平均測得之水份含量為 11.3%

#### 2、冷凍乾燥法

三次平均測得之水份含量為 12.1%

### (二)、時間對於 Wogonin 萃取量之影響

以 40% 重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑，在 50°C 下，分別萃取半枝蓮 10、20、30、40、50、60、90、120 分鐘，結果如圖 1 所示。圖中顯示，Wogonin 的萃取量隨著時間增加而增多，在時間為 1 小時，可達到一最大萃取量，但之後隨著下降，這應該是 Wogonin 被熱分解所致。

### (三)、不同重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑對於半枝蓮中各成份萃取量之影響

#### 1、對於 Wogonin 萃取量之影響

分別以 50°C，0、5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100% 等不同重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑，進行半枝蓮萃取 1 小時之研究，結果如圖 2 所示。圖中顯示，當乙醇之重量百分比在 40-80% 間，可得到較佳之 Wogonin 萃取量。

## 2、對於 Baicalin 萃取量之影響

亦分別以 50°C, 0、5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100% 等不同重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑，進行半枝蓮萃取 1 小時之研究，結果如圖 3 所示。圖中亦發現，當乙醇之重量百分比在 40-80% 間，可得到最佳之 Baicalin 萃取量。

### (四)、溫度對於半枝蓮中各成份萃取量之影響

#### 1、對於 Wogonin 萃取量之影響

分別以 30、40、50、60、70、80°C, 40 % 之乙醇-水溶液作為萃取劑，進行半枝蓮 1 小時之萃取研究，結果如圖 4 所示。圖中亦發現，當溫度在 45-60°C 間，可得到最佳之 Wogonin 萃取量。

#### 2、對於 Baicalin 萃取量之影響

亦分別以 30、40、50、60、70、80°C, 40 % 之乙醇-水溶液作為萃取劑，進行半枝蓮 1 小時之萃取研究，結果如圖 5 所示。圖中發現，當溫度在 40-80°C 間，可得到最佳之 Baicalin 萃取量。

## 四、結論

本研究以水與不同重量百分比之乙醇-水溶液作為萃取劑，自半枝蓮中萃取 Baicalin 及 Wogonin 等二種保肝活性成份，得知各萃取條件，如乙醇濃度、溫度、與萃取時間等變因，對於二種成份萃取量之影響。本研究計畫之研究成果，不僅於學術上極具參考價值，除了可提供後續之保肝藥理學研究外，同時對於科學中藥製程中萃取技術的改進與提昇亦將有所貢獻。此外，參與本計畫之研究人員，更可從中獲得中草藥知識、科學中藥濃縮製劑製程、溶劑萃取、儀器分析、相平衡與基本的藥理學等相關領域之訓練。

## 五、參考文獻

1. 衛生署(<http://www.doh.gov.tw/>) 衛生資料統計。
2. Tzeng B. k., Chinese medicine in the United States and it perspective, *Bioindustry*, 7(1), 1-5 (1996).
3. Hosokawa, Y., Radioprotective effects of Chinese medicinal prescriptions in mice, *J. Med. Pharma. Soci.*, WAKAN-YAKU, 3 164-169 (1086).
4. Takeda, A., Yonezawa, M. and Katoh, N., Restoration of radiation injury by ginseng, I. Responses of x-irradiated mice to ginseng

- extract, *J. Radiat. Res.*, 22, 323-333 (1981).
- 5. Yonezawa, A., Katoh, N. and Takeda, A., Restoration of radiation injury by ginseng, II . Some properties of the radioprotective substances, *J. Radiat. Res.*, 22, 336-343 (1981).
  - 6. Takeda, A , Katoh, N. and Yonezawa, A., Restoration of radiation injury by ginseng, III. Radioprotective effects of the thermostable fraction of ginseng extract on mice, rats and guinea pigs, *J. Radiat. Res.*, 23, 150-167 (1982).
  - 7. Yonezawa, A., Katoh, N. and Takeda, A., Restoration of radiation injury by ginseng, IV. Stimulation of recoveries in CFUs and megakaryocyte count related to the prevention of occult blood appearance in x-irradiated mice, *J. Radiat. Res.*, 26, 436-442 (1985).
  - 8. 中藥大辭典，上海學技術出版社，上海，中國，738 (1978)。
  - 9. Hsu, H. Y., Illustrations of Chinese herb medicine of Taiwan, Chinese Herb Medicine Committee National Health Administration, R. O. C., P. 133 (1972).
  - 10. Kan, W. S., Pharmaceutical Botany. National Research Institute of Chinese Medicine, Taiwan, R. O. C., P. 487 (1975).
  - 11. Chiu, N. Y. and Chang, K. H., The illustrated medicinal plants of Taiwan Vol. (1), Southern Materials Center Inc., Taipei, R. O. C., P. 188 (1983).
  - 12. Chiu, F. H., Lin, C. C., Yen, M. H., Wu, P. S. and Yang C. Y., The pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (V): The effects of Bombax malabrica and Scutellaria rivularis, *Am. J. Chin. Med.*, 4, 257-264 (1992).
  - 13. Lin, S. C., Lin, C. C., Lin, Y. H. and Chen, C. H., protective and therapeutic effects of Ban-Zhi-lian on hepatotoxin-induced liver injuries, *Am. J. Chin. Med.*, 22, 29-42(1994).
  - 14. 詹鎮遠，指導教授林進丁，郝道猛，朱康初及莊榮豐，百花蛇舌草與半枝蓮抗實驗性腹水癌及肉瘤 180 效應之研究，中國醫藥學院，中國藥學研究所碩士論文，73 學年度。
  - 15. Chou, C. J., Anew flavone from *Scutellaria rivularis*, *J. Taiwan Parm. Assoc.*, 30, 36-43 (1978).
  - 16. Miyaichi, Y. and Tomimori, T., Studies on the constituents of *Scutellaria* species XVI. On the phenol glycosides of the root of *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Natural Med.*, 48, 215-218 (1994).
  - 17. Chou C. J. and Lin, S. Y., Studies on the constituents of *Scutellaria rivularis* roots(III ), *J. Taiwan Parm. Assoc.*, 37, 186-209 (1985).
  - 18. Tomimori, T., Miyaichi Y., Imoto, Y. and Kizu, H., Studies on the constituents of *Scutellaria* species X. On the flavonoid constituents of Ban Zhi Lian the whole herb of *Scutellaria rivularis* Wall(I),

- Shoyakugaku Zasshi, 38, 249-252 (1984).
- 19. Tomimori, T., Lin, H., Miyaichi, Y., Toyofuku, S. and Namba, T., Studies on the constituents of Scutellaria species VI, On the flavonoid constituents of the root of *Scutellaria baicalensis* Georgi (5), Quantitative analysis of flavonoids in *Scutellaria* roots by high-performance liquid chromatography, *Yakugaku Zasshi*, 105, 148-155 (1985).
  - 20. Tomimori, T., Miyaichi, Y., Imoto, Y. and Kizu, H., Studies on the constituents of *Scutellaria* species VII, On the flavonoid constituents of Ban Zhi Lian, the whole herb of *Scutellaria rivularis* Wall(2), *Shoyakugaku Zasshi*, 40, 432-433 (1986).
  - 21. Tomimori, T., Imoto, Y. and Miyaichi, Y., Studies on the constituents of *Scutellaria* species XII, On the flavonoid constituents of root of *Scutellaria rivularis* Wall, *Chem. Pharm. Bull.*, 38(12), 3488-3490 (1990).
  - 22. Kizu, H., Imoto, Y., Omimori, T., Tsubono, K., Kadota, S. and Kikuchi, T., Structure of Scuterivulactone D determined by two-dimensional NMR spectroscopy, Anewditerpenoid from a Chinese crude drug Ban Zhi Lian, *Chem. Pharm. Bull.*, 35, 1656-1659 (1987).
  - 23. Kimuya, Y., Kubo, M., Tani, T., Arichi, S. and Okuda, H., Studies on *Scutellaria Radix* IV, Effects on lipid peroxidation in rat liver, *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 2610-2617 (1981).
  - 24. 蔡玉英，指導教授朱嘉一及曾翠華，part I : Baicalein 抗氧化及抗癌作用之研究(一) Baicalein 對 tert-Butyl Hydroperoxide 誘發大白鼠肝細胞氧化損傷之保護作用機制探討(二) Baicalein 抗 TPA 促癌作用及機制研究 Part II : Esculetin 誘發人類白血癌細胞(HL-60)凋亡及其機制之探討，中山醫學院，生物化學研究所碩士論文，86 學年度。
  - 25. Abe, K., Inoue, O. and Yumioka, E., Biliary excretion of metabolites of baicalin and baicalein in rats, *Chem. Pharm. Bull.*, 38(1), 208-211 (1990).
  - 26. Lin, C. C. and Shieh, D. E., The anti-inflammatory activity of *Scutellaria rivularis* extractions and its active components, baicalin, baicalein and wogonin, The 10<sup>th</sup> Symposium on Natural Products, Kaohsiung, Taiwan, R.O.C., P94-95 (1995).
  - 27. Lin, C. C. and Shieh, D. E., In Vivo hepatoprotective effect of baicalin, baicalein and wogonin from *Scutellaria rivularis*, *The Bull. Of Society of Pharmacognosy*, R.O.C., NO. IV, P 69-70 (1996).
  - 28. 陳俊憲，指導教授呂鋒洲，第一篇: Baicalein 引發人類肝癌細胞計畫性死亡作用機轉的研究第二篇: Shikonin 引發人類肝癌細胞計畫性死亡作用機轉的研究，臺灣大學，生物化學研究所博士論

文，89 學年度。

29. 王惠蓉，指導教授黃慧貞，植物成份對人類肝癌細胞 Hep G2 cells 及血管平滑肌細胞之作用及其機轉之研究，臺灣大學，藥理學研究所碩士論文，82 學年度。
30. 高榮駿，指導教授呂鋒洲，(1)腐植酸對內皮細胞的作用；(2) Baicalein 抗癌機轉探討，臺灣大學，生物化學研究所博士論文，89 學年度。
31. 野口衛，漢方製劑分析的技法，五十一年度厚生科學研究報告，大阪生藥學會，(1976)。
32. Huang, T. C., M. C. Wei, and H. I. Chen, 2001, "Permeation of Hydrogen Palladium/Alumina Composite Membranes" , *Separation Science and Technology*, 36(2), 199-222.
33. Huang, T. C, M. C. Wei, and H. I. Chen, 2000, "Analysis and Modeling of Hydrogen Permeation through Alumina Membranes with Finely Dispersed Palladium" , *J. of the Chem. Inst. Of Chem. Engineers*, 31(4), 339-349.
34. Huang, T. C, M. C. Wei, and H. I. Chen, 2002, "A Study of the Hydrogen Transport Properties of Palladium/Alumina Composite Membranes" , *Chem. Eng. Comm.*, *Chem. Eng. Comm.*, 189, 1340-1359.
35. Huang, T. C, M. C. Wei, and H. I. Chen, 2002, "Preparation Palladium-Silver Alloy Composite Membranes for Hydrogen Permeation" , *Chem. Eng. Comm.*, 189, 1262-1282.
36. Huang, T. C, M. C. Wei, and H. I. Chen, Preparation of Hydrogen-permselective Palladium-Silver Alloy Composite Membranes by Electroless Co-deposition, *Separation and Purification Technology*, (Accepted: April, 12, 2002 ).

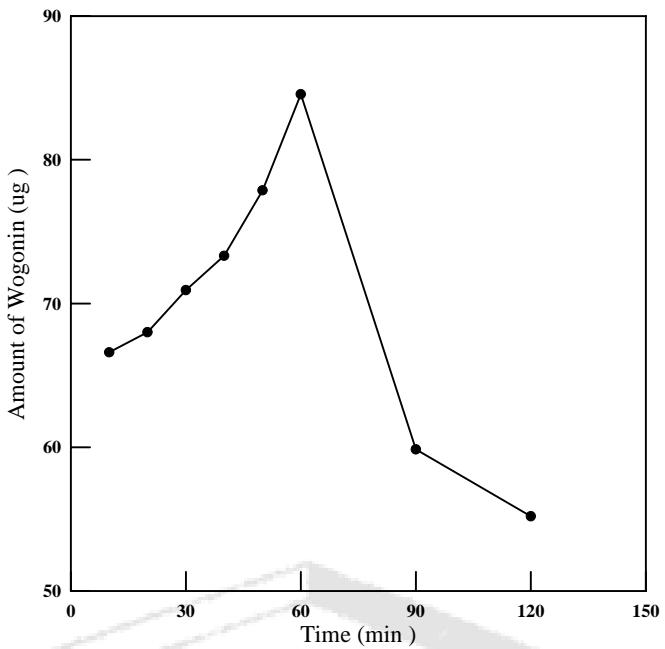


Fig. 1 The effect of extraction time on the amount of Wogonin

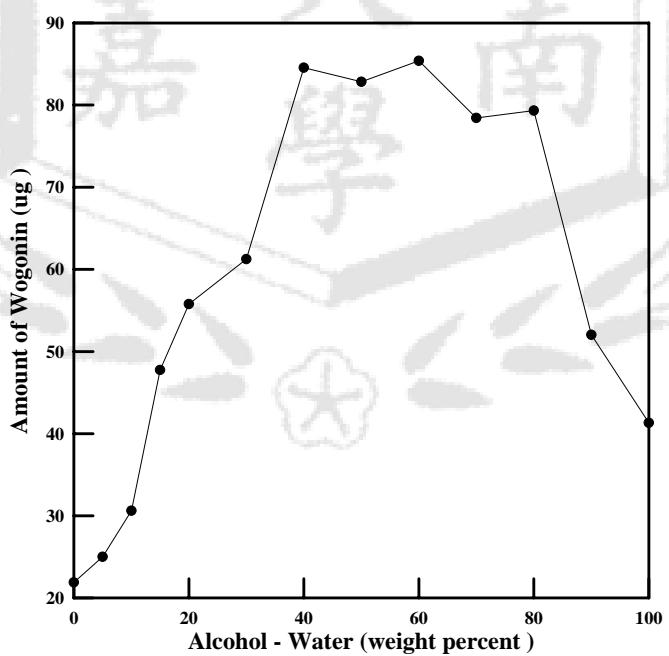


Fig. 2 The effect of concentration of alcohol on the amount of Wogonin

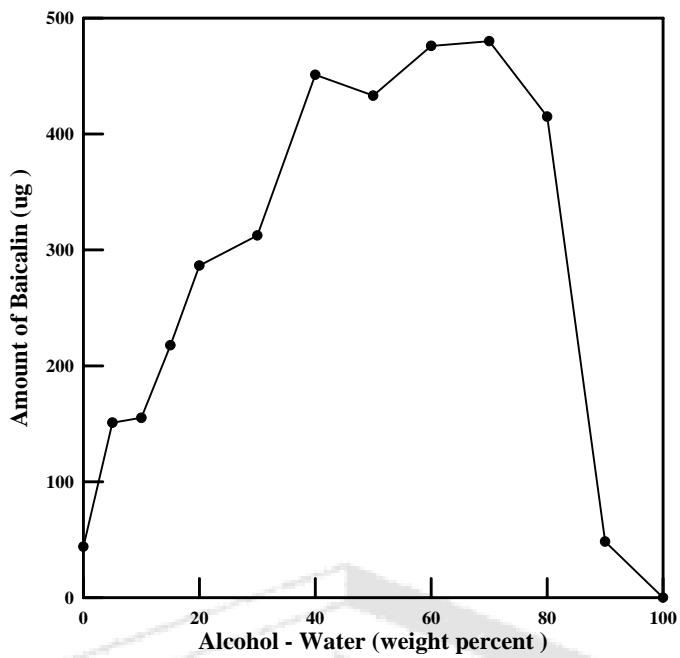


Fig. 3 The effect of concentration of alcohol on the amount of Baicalin

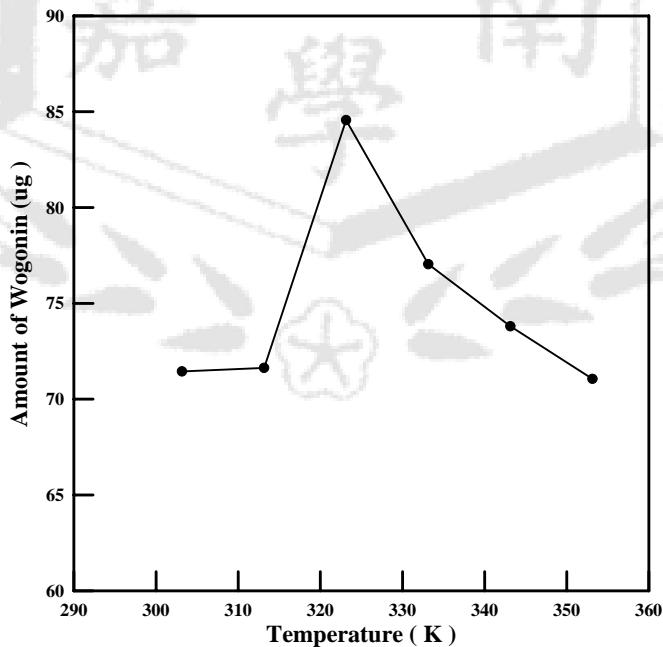


Fig. 4 The effect of Temperature on the amount of Wogonin

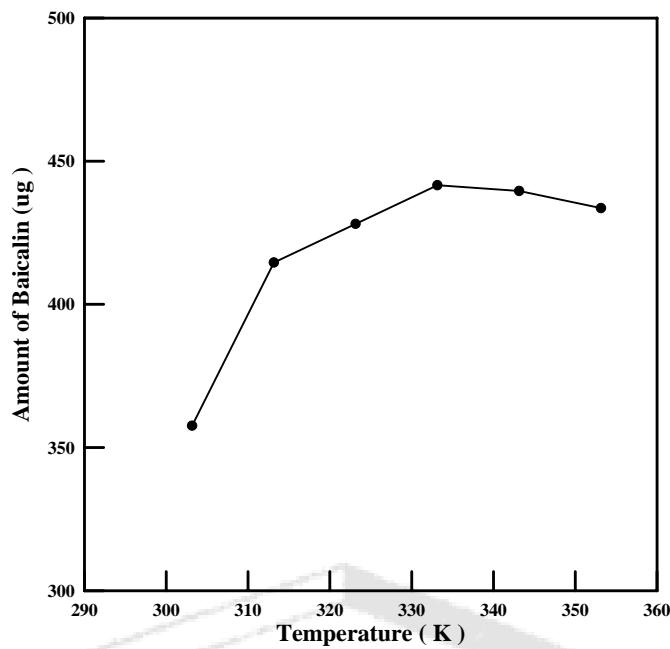


Fig. 5 The effect of Temperature on the amount of Baicalin

