

附件：封面格式

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

A decorative horizontal border consisting of a repeating pattern of stylized floral or geometric motifs, possibly a traditional or cultural design.

※ 台灣山橙樹皮活性生物鹼成分研究 ※

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 90-2113-M-041-007-

執行期間：90 年 08 月 01 日至 91 年 07 月 31 日

計畫主持人：陳莉螢

共同主持人： 沈 雅敬

計畫參與人員：黃正芬、陳貫暉

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：嘉南藥理科技大學藥學系

中華民國九十一年九月二十六日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

國科會專題研究計畫成果報告撰寫格式說明

Preparation of NSC Project Reports

計畫編號：NSC 90-2223-M-041-007

執行期限：90年08月01日至91年07月31日

主持人：陳莉螢

嘉南藥理科技大學藥學系

共同主持人：沈雅敬

中山大學海資系

計畫參與人員：黃正芬、陳貫暉 嘉南藥理科技大學藥學系

一、中文摘要

台灣山橙 (*Melodinus angustifolius* Hayata) 又稱山橙、細葉山橙，為台灣唯一山橙屬的植物，分佈甚窄。是一種生長在台灣南部恆春半島的攀緣性灌木。在台灣民間，台灣山橙全草用於解熱鎮痛、行氣除濕、和血散瘀，及消積化痰，在作者大量篩選台灣恆春半島產植物的實驗中，發現台灣山橙莖皮的乙醇粗抽物有毒殺老鼠白血病細胞 (P-388, IC₅₀ 2.25 μg/ml)，人類結腸癌細胞 (HT-29, IC₅₀ 7.47 μg/ml) 及人類鼻咽癌細胞 (KB cell, IC₅₀ 8.26 μg/ml) 的活性。

為了去探討抗腫瘤活性的根源所在，本計畫將先從 *M. angustifolius* 的莖皮開始，目標集中在各種已知和新抗癌活性成份的分離、結構鑑定與抗腫瘤活性的評估。再者，這些新奇化合物的構效關係 (SAR) 與作用機理亦屬重要課題，值得進一步去研究。因此，本計畫將朝下列數點目標去執行：

1. 自 *M. angustifolius* 分離出各種 *Melodinus* 生物鹼化合物。
2. 各種 *Melodinus* 生物鹼化合物及其衍生物的結構解析。
3. 相關 *Melodinus* 生物鹼化合物化學結構之修飾。
4. 抗癌活性的生物檢測評估。
5. 結構與活性關連之建立 (SAR)。

關鍵詞：台灣山橙、夾竹桃科、*Melodinus* 生物鹼

Abstract

Melodinus angustifolius is a climbing shrub growing in the south part of Taiwan. This plant was used in Taiwanese folk medicine for the treatment of rheumatic heart diseases, dyspepsia, and infantile malnutrition. They can also "invigorate the circulation of blood. No chemical investigation of this plant has been reported. Among the tested plants growing in the southern part of Taiwan, the ethanolic extracts of *Melodinus angustifolius* showed cytotoxic activity against P388 leukemia cell (IC₅₀ 2.25 μg/ml), HT-29 colon cell (IC₅₀ 7.47 μg/ml), and KB nasopharyn cell (8.26 μg/ml).

In order to explore the bioactive substances, a phytochemical investigation of the stem bark of this plant will be carried out. The isolation, structural elucidation and biological study of alkaloids from the stem bark of *Melodinus angustifolius* are main goals in this current project. We will aim at the following points.

1. Isolation of *Melodinus* alkaloids from the stem bark of *Melodinus angustifolius*.
2. Structural elucidation of the new and known *Melodinus* alkaloids.
3. Chemical modifications of the *Melodinus* alkaloids.

4. Biological and pharmacological tests of isolated Melodinus alkaloids.
5. Establishment of their structure-activity relationships (SAR).

Keywords: *Melodinus angustifolius*, Apocynaceae, Melodinus alkaloids

二、緣由與目的

癌症是全球的重要疾病，在台灣癌症是十大死因之首，本土性癌症中，如肝炎、肺癌和直腸癌患者最多，但至目前為止，癌症的臨床有效藥非常少，台灣的市場本身亦完全仰賴國外進口，對於抗炎藥物的研發工作應屬迫切。本研究課題根據選擇台灣具有抗癌潛力的植物進行有效成分的萃取、分離與結構決定等。

作者在進行台灣恆春半島產台灣山橙 *Melodinus angustifolius* Hayata 的生物鹼研究時，發現其乙醇萃取物具有癌細胞毒殺作用，另外關於此植物的成分研究及其他種種，在過去尚未有人研究或發表。

台灣山橙是一種生長在台灣南部恆春半島的攀緣性灌木。在台灣民間，台灣山橙全草用於解熱鎮痛、行氣除濕、和血散瘀，及消積化痰，在作者大量篩選台灣恆春半島產植物的實驗中，發現台灣山橙莖皮的乙醇粗抽物有毒殺老鼠白血病細胞 (P-388, IC₅₀ 2.25 µg/ml)，人類結腸癌細胞 (HT-29, IC₅₀ 7.47 µg/ml) 及人類鼻咽癌細胞 (KB cell, IC₅₀ 8.26 µg/ml) 的活性。另外，從乙醇萃取物進行成分分離時，由核磁共振光譜 (¹H-NMR) 的追蹤，發現到許多被認為是新奇構造的訊號 (signals)，再加上細胞毒性活性試驗的結果，用在從事相關的活性成分分析，應是一個研究方向的指標。

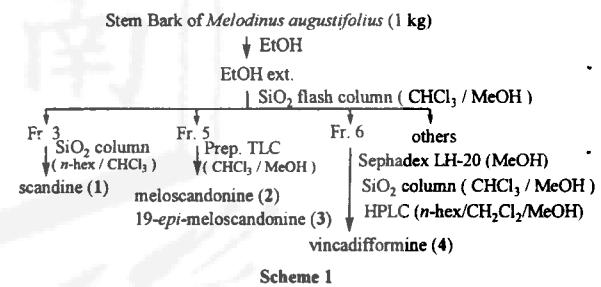
本實驗的研究目的主要是要找尋台灣山橙 *Melodinus angustifolius* Hayata 活性抗癌物質，活性生物鹼，解析各種成分之化學結構。

三、研究報告應含的內容

本計畫將依下列方法進行：

1. 萃取與分離：

台灣山橙的莖皮 (1 Kg)，經乾燥磨成粉後，加 95 % 酒精 5 公升冷浸三次，濾液合併濃縮得粗萃取物。粗萃取物在分別進行各種色層分析。如 Scheme 1 如示，粗萃取物先用 flash column (CHCl₃-MeOH 等) 分離得到，fr.1~7 七個分畫，fr.3 用 *n*-hexane / CHCl₃ 系的 SiO₂ column 分離經製到主成分 scandine (1)，然後取一部份的 fr.4 進行 prep. TLC (CHCl₃-MeOH=20:1) 的經製，得到 c，fr.6 則用 Sephadex LH-20 (MeOH) 再用 SiO₂ column 及順相 HPLC (*n*-hexane-CHCl₃ -MeOH = 5:5:1) 分離經製得到 vincadiformine (4)。(Scheme 1)



Scheme 1

2. 結果與討論

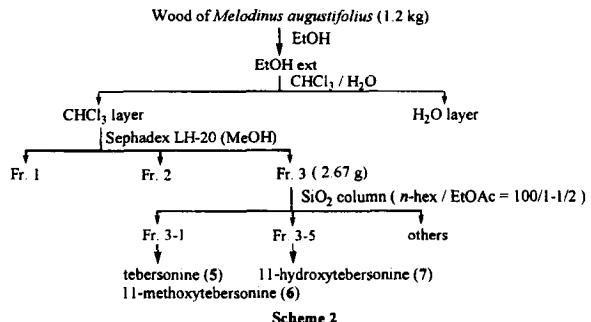
這些化合物的 physical data 與文獻縮發表的結果完全一致，以致推斷這些化合物為已知之 scandine (1), meloscandonine (2), 19-*epi*-meloscandonine (3), 及 vincadiformine (4)。

另外，也分離到數個推測試新規的化合物，這些化合物在 ¹H-NMR data 中，發現被認為是新化合物的有趣訊號 (signals)，但其極不安定：在 HPLC 的精製過程中，幾小時內，便發現 peak 的 pattern 一直在變化，所分離到的純化合物的 TLC pattern 也會在數小時內，由原先的 one spot 變成 two spots，至不成 spot，由此推測其極容易分解；另外，在測定 ¹H-NMR (CDCl₃) 時，同一 sample 在相隔 3 分鐘後，再進行另一次的測定，訊號的 pattern 就發生變化，本來認為是測定溶媒 (CDCl₃) 的問題，

後來發現即使改變溶媒測定，仍然是一樣的結果。在實驗上遇到如此不安定的化合物，為一大挑戰，欲計劃在低溫室內來進行研究，但由於設備的問題，目前暫時無法進行。

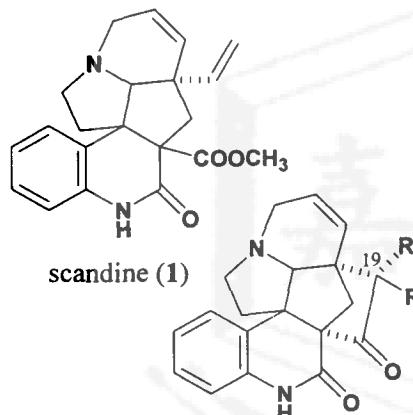
對於以分離到的已知化合物的安定性，作者一並測試，發現將其置於負20度的冰箱中，只能延緩而不能防止其分解，除 scandine (1)之外，這些化合物大約經一個月後，皆分解：其 TLC pattern 均由 one spot tailing 成無法判讀。

另外，作者亦從 *Melodinus angustifolius* Hayata 的木部分離到其他相關的生物鹼 tabersonine (5), 11-methoxytabersonine (6), 及 11-hydroxytabersonine (7)。(Scheme 2)

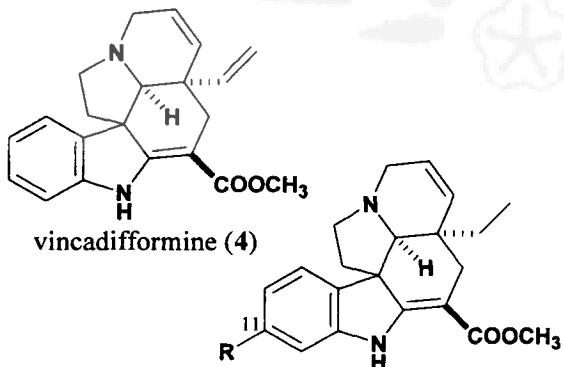


五、參考文獻

- [1] Y. L. Zhon, J. H. Ye, Z. M. Li, and Z. H. Huang, *Planta Med.*, 315-317 (1988).
- [2] Y. L. He, W. M. Chen, and X. Z. Feng, *Phytochemistry*, 34, 563-566 (1993).
- [3] H. Mehri and M. Plat, *J. Nat. Prod.*, 55, 241-244 (1992).
- [4] A. Rabaron, M. H. Mehrt, T. Stevenet, and M. M. Plat, *Phytochemistry*, 17, 1452-1453 (1978).
- [5] G. Hugel and J. Levy, *J. Org. Chem.*, 49, 3275-3277 (1984).
- [6] Y. L. He, W. M. Chen, and X. Z. Feng, *Phytochemistry*, 37, 1055-1057 (1994).
- [7] J. H. Ye, Y. L. Zhou, and F. Picot, *Phytochemistry*, 30, 3168-3170 (1991).
- [8] L. W. Guo and Y. L. Zhou, *Phytochemistry*, 34, 563-566 (1993).
- [9] H. Mehri, A. O. Diallo and M. Plat, *Phytochemistry*, 40, 1005-1006 (1995).



scandine (1)
meloscandonine (2) $R_1 = H, R_2 = CH_3$
19-*epi*-meloscandonine (3) $R_1 = CH_3, R_2 = H$



vincadifformine (4)
tabersonine (5) $R = H$
11-methoxytabersonine (6) $R = OCH_3$
11-hydroxytabersonine (7) $R = OH$