

含抗癌藥喜樹鹼及10-羥基喜樹鹼之不同植物來源的萃取分析研究

張忠豪、楊博文

E-mail: 9607765@mail.dyu.edu.tw

摘要

喜樹鹼 (Camptothecin, CPT) 最早由Wall等學者於1966年從喜樹中所分離出的化合物。喜樹鹼及其相關類似物，具有抑制抑制DNA拓模異構酶，導致癌細胞DNA無法合成，達到抑制腫瘤之功用。本研究主要目的在於找出喜樹鹼(CPT)與10-羥基喜樹鹼(10-hydroxy-camptothecin)的最適分析及萃取方法，並採集不同含喜樹鹼之植物來源來比較其CPT及10-OH-CPT含量的差異，本實驗包含有台灣種喜樹葉 (Camptotheca acuminata Decaisne)、台灣種青脆枝葉子(Nothapodytes foetida (Wight.) Sleumer)、青脆枝枝幹、湖南長沙喜樹葉、湖南長沙喜樹果實；另將本實驗分為3個萃取系統做探討，分別為熱迴流、超音波輔助萃取、微波輔助萃取。熱迴流部分，以不同溶劑為變因探討最佳萃取效果，結果顯示CPT含量最高為青脆枝葉子部份，以熱迴流萃取3小時重複3次，溶劑為二氯甲烷與水(9:1)，溫度48℃之萃取率為DMSO分析法[超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為二甲基亞砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO含水率20%)]的0.61倍；10-OH-CPT含量最高為台灣喜樹葉，以熱迴流萃取3小時重複3次，溶劑為乙醇95%，溫度78.5℃之萃取率為DMSO分析法(超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為DMSO含水率20%)的0.35倍。超音波應用於提取植物的有效成分，操作簡便快捷、無需加熱、提取率高、速度快、提取物的結構未被破壞、效果好，顯示出明顯的優勢；根據Merck Index顯示DMSO是非常優良的溶劑，因此，加入探討DMSO不同的含水率下萃取的效能，進而訂出一套標準分析法，分別以100%、80%、60%及40%的DMSO來探討，結果顯示DMSO 80%(含水率20%)時萃取率最高，時間上則是以30分鐘最佳，10-OH-CPT含量為5.25g/kg，CPT含量為2.67g/kg；而含喜樹鹼不同植物來源比較，CPT含量最高為青脆枝葉子部份，以超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為二氯甲烷與水(9:1)，溫度48℃之萃取率較DMSO分析法(超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為DMSO含水率20%)高出2.89倍；10-OH-CPT含量最高為台灣喜樹葉，以超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為乙醇與石油醚(9:1)，溫度35℃之萃取率為DMSO分析法(超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為DMSO含水率20%)的0.35倍。超音波所需的時間較熱迴流縮短了18倍。微波輔助萃取的效果，微波萃取技術可以縮短實驗和生產時間、降低能耗、減少溶劑用量以及廢物的產生，同時可以提高回收率和萃取物純度；含喜樹鹼不同植物來源比較CPT含量最高為台灣喜樹葉子部份，以微波輔助萃取1分鐘，溶劑為二氯甲烷與水(9:1)，溫度48℃之萃取率較DMSO分析法(超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為DMSO含水率20%)高出2.79倍；10-OH-CPT最高為青脆枝葉子，以微波輔助萃取1分鐘，溶劑為甲醇與石油醚(9:1)，溫度35.1℃之萃取率為DMSO分析法(超音波輔助萃取30分鐘，溶劑為DMSO含水率20%)的0.31倍。結論是由數據中可發現雖然超音波輔助萃取總含量較微波輔助萃取法為高，但微波輔助萃取法時間上縮短了近30倍，微波輔助萃取法僅1分鐘就可達到較高萃取率，且溶劑消耗少，微波輔助萃取將是未來萃取工業的新趨勢。

關鍵詞：喜樹鹼；10-羥基喜樹鹼；超音波輔助萃取；微波輔助萃取

目錄

目錄封面內頁簽名頁授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	vii	誌謝.....	x	目錄.....	xi	圖目錄.....	xiii	表目錄.....	xvi																																																								
第一章緒言.....	1	第二章文獻回顧.....	2	第一節喜樹之簡介.....	2	第二節青脆枝之簡介.....	4	第三節生物鹼.....	6	第四節喜樹鹼的研究現況.....	7	一、喜樹鹼的物化性質.....	7	二、喜樹鹼在喜樹中的分佈.....	7	三、喜樹鹼萃取、純化方法之概述.....	7	四、目前的分析法.....	8	五、喜樹中的其他化學成分.....	10	六、喜樹鹼的衍生物及其抗癌機制.....	12	第三章材料與方法.....	16	第一節材料.....	16	一、本研究使用含有CPT之植物.....	16	二、化學試藥.....	16	三、儀器設備.....	17	第二節方法.....	17	一、喜樹鹼及10-羥基喜樹鹼標準品備製.....	17	二、熱迴流法.....	18	三、超音波輔助萃取.....	18	四、微波輔助萃取.....	19	五、高效液相層析法操作條件.....	19	六、分析用樣品葉片或枝幹含水率測定.....	19	七、濃度計算.....	20	八、統計分析.....	20	第四章結果與討論.....	21	第一節標準品曲線的繪製.....	21	第二節不同萃取方法萃取CPT及10-OH-CPT結果之比較.....	24	一、熱迴流法.....	24	二、超音波輔助萃取.....	34	三、微波輔助萃取.....	52	第五章結論.....	69	參考文獻.....	71	附錄.....	75

參考文獻

- 1.上海藥物研究所植物室喜樹研究組。1975。喜樹果中的抗癌有效成分喜樹鹼與10-羥基喜樹鹼。中草藥通訊 (5):17-18。
- 2.王自芬和劉文哲。2005。不同產地喜樹果實中喜樹鹼及10-羥基喜樹鹼的差異。中草藥 36(5):762-764。
- 3.江蘇植物研究所編。1993。江蘇植誌。
- 4.李立源、張冬?和白鳳武。2001。喜樹鹼及其衍生物的研究進展。大連民族學院學報3(2):02-0017。
- 5.李國雄和王惠康。1995。喜樹鹼的化學及抗癌構效關係研究之最新發展。The Chinese Chemical Society 53:64-75。
- 6.吳立軍。2006。中藥化學。第29頁。科技圖書股份有限公司。台北。台灣。
- 7.邱年永和張光雄。1992a。原色台灣藥用植物圖鑑(3),南天書局。台北。台灣。
- 8.邱年永和張光雄。1992b。原色台灣藥用植物圖鑑(5),南天書局。台北。台灣。
- 9.范漢欽、黃士佳和蔡宗賢。2000。田口軟體之應用。義守大學工業工程管理學系。
- 10.徐任生和趙志遠。1977。抗癌植物喜樹化學成分的研究II:喜樹果的化學成分。化學學報。35(3,4):193-199。
- 11.商惠芳、陳作琳、林嘉伯和黃昭蓮。1995。作用於DNA拓樸異構?之抗癌藥物。Journal of Food and Drug Analysis 3(3):145-151。
- 12.孫慶磊、梁月榮和陸建良。2006。超聲波在茶葉提取中的應用。Journal of Tea 32(2):79 ~ 82。
- 13.趙東亮。2005。喜樹鹼的萃取、純化工藝研究。貴州大學碩士論文。貴州。
- 14.網路資料來源。2007。山羊百科。喜樹果實網址:
http://plant.climb.com.tw/modules/mediawiki/index.php/%E5%9C%96%E5%83%8F:Camptotheca_acuminata_IMG4069.JPG。青脆枝網址:
http://plant.climb.com.tw/modules/mediawiki/index.php/%E5%9C%96%E5%83%8F:Camptotheca_acuminata_IMG4069.JPG。
- 15.劉業經、呂福原和歐辰雄。1994。台灣樹木誌。第925頁中興大學農學院出版委員會。
- 16.劉川生、王平、王立飛、梅成和陳薇薇。2003。微波萃取技術在天然藥物萃取中的研究進展。中國天然藥物 1(3):187-192。
- 17.羅厚蔚。1975。從喜樹果中分離出一種微量生物鹼。中草藥通訊 17 (1): 25-26。
- 18.蘇朝墩。2002。田口式品質工程。國立清華大學。
- 19.Adamovics J. A., China J. A. 1979. Minor alkaloids of *Camptotheca acuminata*. *Phytochemistry* 18:1085-1086。
- 20.Balandrin M. F., Kinghorn A. D. and Farnsworth N. R. 1993. Plant-derived natural products in drug discovery and development: an overview. *Am Chem Soc Symp Ser.* p2-12. Washington DC. USA.
- 21.Champoax, J. J. 1981. DNA is linked to the rat liver nicking-closing enzyme by a phosphodiester bound to tyrosine. *Journal of Biological Chemistry* 256:4805-4809。
- 22.Devanand, P. F. and Ramesh, K. S. 2005. Distribution of anticancer drug camptothecin in *Nothapodytes foetida*. *Fitoterapia*, 76:643-648。
- 23.Devanand, P. F. and Ramesh, K. S. 2005. Comparison of techniques for the extraction of the anti-cancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*. *Journal of chromatography A*, 1063:9-13。
- 24.Fulzele, D. P., Satdive, R. K. and Pol, B. B. 2001. Growth and production of camptothecin by cell suspension cultures of *Nothapodytes foetida*. *Plant Med.* 67:150-152。
- 25.Giovanella, B. C. 1997. Topoisomerase I inhibitors. *Cancer therapeutics:Experimental and clinical agents* p137-152。
- 26.Giovanella, B. C., Stehlin J. S., Wall, M. E., Wani M. C. Allan W., Nicholas, Liu, L. f., Robert Silber and Milan Potmesil. 1989. DNA topoisomerase I-targeted chemotherapy of human colon cancer in xenografts. *Science* 246:1046-1048。
- 27.Hertzberg, R., Busby, R. W., Caranfa, M. J., Holden, K. G., Johnson, R. K., Hecht, S. and Kingsburg, W. D. 1990. Irreversible trapping of the DNA- topoisomerase I covalent complex. *Journal of Biological Chemistry* 265:19287-19295。
- 28.Hsiang, Y. H., Herizberg, R. and Hecht, S. 1985. Camptothecin induces protein- linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I. *The Journal of Biological Chemistry* 260:14873-14878。
- 29.Hsiang, Y. H., Liu, L. F., Wall, M. E., Wani M. C. and Nicholas, A. W. 1989. DNA Topoisomerase I Mediated DNA Cleavage and Cytotoxicity of Camptothecin Analog. *Cancer Research* 49:4385-4389。
- 30.Kjeldsen E., Svejstrup J. Q., Gromova I., Alsner J. and Westergaard O. 1992. Camptothecin inhibits both the cleavage and relegation reaction of eukaryotic DNA topoisomerase I. *Journal of Molecular Biology* 228:1025-1030。
- 31.Li, Z. and Z. Liu. 2003. Effects of benzyladenine and Naphthalene acetic acid on growth and camptothecin accumulation in *Camptotheca* seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation* 22(3):205-216。
- 32.Muggia, F. M., Creaven, P. J., Hansen, H. H., Cohen, M. H. and Selawry, O. S. 1972. Phase I Clinical Trial of Weekly and Daily Treatment with Camptothecin(NSC-100880); Correlation with Preclinical Studies. *Cancer Chemother. Rep. Part I.* 56:515-521。
- 33.Tsao, Y. P., Russo A., Nyamuswa, G., Silber, R. and Liu, L. F. 1993. Interaction between ReplicationForks and Topoisomerase I- DNA Cleavable Complexes: Studies in a Cell- free SV40 DNA Replication System. *Cancer Research* 53:1-8。
- 34.Wall M. E., Wani M. C. and Cook C. E. 1986. Plant antitumor agents I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukaemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* Dence. *Journal of medicinal chemistry* 29(8):1553-1555。
- 35.Wall M. E. and Wani M.C. 1991. Antitumor and topoisomerase I inhibition activity of camptothecin and its analogues. *Economic and medicinal plant research*, Vol. 5. Plants and traditional medicine. p111-127. London: Academic Press.
- 36.Wall M. E. and Wani M. C. 1996. Camptothecin and taxol:from discovery to clinic. *Journal of Ethnopharmacology* 51:239-254。