

# 乳藤(*Ecdysanthera utilis* Hayata) 之藥理活性評估

陳啟源<sup>1</sup> 王繼平<sup>2</sup> 何禮剛<sup>3</sup> 張永勳<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 中國醫藥學院 中國藥學研究所

<sup>2</sup> 台中榮民總醫院 教學研究部

台中

<sup>3</sup> 國立陽明大學 藥理學研究所

台北

(2001年1月20日受理, 2001年3月20日收校訂稿, 2001年3月28日接受刊載)

乳藤 (*Ecdysanthera utilis* Hayata) 為夾竹桃科 (Apocynaceae) 植物, 台灣民間用於補腎、壯腰膝及消炎方面。實驗結果顯示其莖及莖皮之甲醇粗抽物對 KB-16、P-388、A-549 及 HT-29 等四種癌細胞均無抑制作用。而對抗發炎作用, 莖及莖皮之甲醇粗抽物及莖之各種有機溶媒萃取層中, 在中性白血球去顆粒作用中對於由 FMLP 所引發之  $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放有明顯抑制作用, 莖甲醇粗抽物的  $IC_{50}$  分別為 11.7  $\mu$ g/ml 及 9.4  $\mu$ g/ml; 莖皮甲醇粗抽物的  $IC_{50}$  分別為 13.1  $\mu$ g/ml 及 9.2  $\mu$ g/ml。在抗過敏作用, 在肥大細胞 (mast cell) 去顆粒作用試驗中, 對於由 Compound 48/80 所引發之  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放有明顯之抑制作用。莖甲醇粗抽物的  $IC_{50}$  分別為 42.0  $\mu$ g/ml 及 39.9  $\mu$ g/ml; 莖皮甲醇粗抽物的  $IC_{50}$  分別為 34.3  $\mu$ g/ml 及 36.6  $\mu$ g/ml。

關鍵詞：乳藤，細胞毒性，抗發炎。

## 前 言

乳藤 (*Ecdysanthera utilis* Hayata) 為夾竹桃科 (Apocynaceae) 酸藤屬 (*Ecdysanthera*) 植物, 酸藤屬在台灣有兩種, 一為酸藤 (*Ecdysanthera rosea* Hook), 另外一種則為乳藤 (*Ecdysanthera utilis* Hayata)<sup>1</sup>。乳藤產於台灣中、北部山麓帶樹林內, 莖中含有白色乳汁, 可做為橡膠原料<sup>2</sup>。又稱為花杜仲藤、花皮膠藤、鹽酸藤。以鮮品搗爛敷患處, 主治小兒膿瘡<sup>3-4</sup>。民間另用於補腎、壯腰膝、止血、消炎。治腰骨酸痛、四

肢麻木等<sup>5</sup>。成分研究方面發現酸藤 (*Ecdysanthera rosea*) 中含有 Saponin 類化合物<sup>6</sup>；在乳藤研究中發現含有 Triterpenoid 類及 Steroid 類化合物<sup>7</sup>，其藥理活性方面發現具有延長 pentobarbital 誘導小鼠睡眠時間之研究報導<sup>8</sup>。本文乃將針對乳藤之莖與莖皮之甲醇粗抽物及莖之各有機溶媒萃取層，進行細胞毒性，抗發炎及抗過敏等活性之探討。

## 材料與方法

### 一、實驗藥材來源及其抽提與分離

#### (一)植物採集及前處理

植物乳藤 (*Ecdysanthera utilis* Hayata) 於民國八十六年十二月在南投縣魚池鄉中採得。經中國醫藥學院技正邱年永技正鑑定，確認為夾竹桃科 (Apocynaceae) 之乳藤 (*Ecdysanthera utilis* Hayata) 後，先將莖與莖皮分開處理後，開始進行藥理活性實驗之研究。

#### (二)抽提與分離

陰乾後之乳藤莖約 12.5 公斤，將莖與莖皮分別使用甲醇於室溫下浸泡一週後，經過濾取濾液減壓濃縮，殘渣再經甲醇浸泡，如此反覆浸泡抽取 3 次，並得到莖的甲醇粗抽物，約 1100 公克 (Eu-M)，抽出率為 8.8%。莖皮的甲醇粗抽物，約 30 公克 (EuC-M)。再將莖的甲醇粗抽物，加入蒸餾水形成懸浮液。再以正己烷分配分離正己烷層合併減壓濃縮至乾後得正己烷層 (Eu-H) 共 128 公克，以乙酸乙酯和水層分配分離出乙酸乙酯層 (Eu-E) 減壓濃縮後為 210 公克，最後剩餘水層 (Eu-W) 為 758 公克。

### 二、實驗動物

雄性 SD 大鼠飼養於台中榮總醫研大樓動物中心，體重 250~300 公克。

### 三、細胞毒性試驗<sup>9</sup>

利用 MTT 分析法，於 96 孔培養皿中加入測試之抽取物 20  $\mu$ l (每孔中最終濃度為 50, 5, 0.5  $\mu$ g/ml 三種，各種濃度重覆三次)，再於每孔中加入 180  $\mu$ l 細胞 (約 100-25000 個細胞)，將此培養二至十天後，將細胞以 PBS 洗二次，再於每孔中加入 MTT 25  $\mu$ l (2 mg/ml)，將此培養皿置於 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培養箱中靜置四小時後，再於每孔中加入 DMSO 溶解藍色沉澱。利用 Multiscan reader 讀取波長 540 nm 之吸光度，並計算其 ED<sub>50</sub>。根據美國 NCI 之準則，粗抽物之 ED<sub>50</sub>  $\leq$  20  $\mu$ g/ml，純物質之 ED<sub>50</sub>  $\leq$  4  $\mu$ g/ml，則視為具有抗腫瘤之活性。本實驗所使用之癌細胞如下：(a) KB-16：人類喉癌細胞以 DMEM (GIBCO) 為培養基，外加 10% 胎牛血清。(b) P-388：老鼠血癌細胞以 Fisger's medium 培養，外加 10% 胎牛血清。(c) A-549：人類肺癌細胞以 RPMI 1640 (GIMCO) 為培養基，外加 10% 胎牛血清，2 mM glutamine, 1 mM sodiumpyruvate 及 50 mM mercaptoethanol。(d) HT-29：人類腸癌細胞以 alpha MEM (GIBCO) 為培養基，外加 10% 胎牛血清。

#### 四、對發炎及抗過敏活性之實驗

##### (一)對嗜中性白血球去顆粒作用試驗

大鼠麻醉後，由腹腔動脈抽血，加入 dextran 混合靜置後，再加入 Ficoll-hypaque 離心，以低張溶液除去紅血球<sup>10</sup>，將細胞清洗並懸浮成  $1 \times 10^7$  細胞/毫升。將中性白血球細胞懸浮液與 FMLP 作用後，離心取上清液，利用分光光度計 550 nm 下測其中所含的  $\beta$ -glucuronidase 量<sup>11</sup>。將中性白血球細胞懸浮液與 FMLP 作用後，離心取上清液，利用 *Micrococcus lysodeikticus* 細胞為受質在分光光度計 450 nm 下測 lysozyme<sup>12</sup>。

##### (二)對肥大細胞去顆粒作用試驗

肥大細胞的製備：大鼠經頸部放血後，將 10 ml 含肝素之 Tyrode's 溶液注入大鼠腹腔內，按摩 1~2 分鐘並取出腹腔溶液，以 38% 牛血清蛋白溶液清洗，離心，沉澱細胞再懸浮成  $1 \sim 1.5 \times 10^6$  細胞/毫升<sup>13</sup>，並測定細胞存活率<sup>14</sup>。將肥大細胞懸浮液與 Compound 48/80 作用後，離心取上清液，測其中所含的組織胺之含量。其定量為利用 *o*-phthalaldehyde 反應後以螢光分光光度計來測量<sup>15</sup>。將肥大細胞懸浮液與 Compound 48/80 作用後，離心取上清液，利用 phosphoglucuronide 作為受質，經由分光光度計測量  $\beta$ -glucuronidase 的活性<sup>10</sup>。

## 結果與討論

### 一、細胞毒性試驗

表 1 結果顯示乳藤莖與莖皮之甲醇粗抽物對 KB-16、P-388、A-549 及 HT-29 等四種癌細胞皆無抑制作用 ( $ED_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$ )。

### 二、對發炎及抗過敏活性之作用

#### (一)對嗜中性白血球去顆粒作用試驗

1. 乳藤莖部 (Eu-M) 甲醇粗抽物及各種有機溶媒萃取層中，在中性白血球去顆粒作用中對於由 FMLP 所引發之  $\beta$ -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放有明顯之抑制作用 ( $p < 0.01$ )。表 2 顯示在對於抑制  $\beta$ -glucuronidase 釋放方面，甲醇粗抽物 (Eu-M)、乙酸乙酯層 (Eu-E) 及水層 (Eu-W) 之半數有效劑量 ( $IC_{50}$ ) 分別為  $11.7 \mu\text{g/ml}$ 、 $13.8 \mu\text{g/ml}$  及  $14.8 \mu\text{g/ml}$ 。此外，對於抑制 lysozyme 釋放方面，甲醇粗抽物、乙酸乙酯層及水層之半數有效劑量分別為  $9.4 \mu\text{g/ml}$ 、 $15.4 \mu\text{g/ml}$  及  $14.7 \mu\text{g/ml}$ ，上述之抑制作用皆與 trifluoperazine 相當。

**Table 1. The  $ED_{50}$  values ( $\mu\text{g/ml}$ ) on the cytotoxic effect of the methanol extract of stem of (Eu-M) and stem cortex of (EuC-M) *Ecdysanthus utilis* against various cell lines.**

Agent	KB-16	P-388	A-549	HT-29
Eu-M	>50	>50	>50	>50
EuC-M	>50	>50	>50	>50

1. data are shown as mean  $\pm$ S.E. (N=3)

2. If  $ED_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ , it has antitumor effect

**Table 2. The inhibitory effects of the methanol extract and fractions of stem of *Ecdysanthus utilis* on the**

release of $\beta$ -glucuronidase and lysozyme on neutrophil degranulation induced by FMLP				
Fractions ( $\mu\text{g/ml}$ )	$\beta$ -Glucuronidase	(%inhibition)	Lysozyme	(%inhibition)
Control	$27.5 \pm 0.4$	--	$59.6 \pm 0.8$	--
Eu-M (30)	$-1.6 \pm 0.5^{**}$	$106.1 \pm 1.9$	$-5.4 \pm 1.7^{**}$	$109.2 \pm 3.0$
(10)	$12.4 \pm 1.2^{**}$	$54.9 \pm 4.9$	$8.7 \pm 3.4^{**}$	$85.4 \pm 5.9$
(3)	$23.3 \pm 0.8^*$	$15.4 \pm 2.4$	$49.8 \pm 2.2^*$	$16.3 \pm 4.6$
$IC_{50}$	$11.7 \pm 0.7$		$9.4 \pm 0.8$	
Eu-H (10)	$15.5 \pm 0.5^{**}$	$43.5 \pm 2.7$	$31.7 \pm 3.0^{**}$	$46.6 \pm 5.8$
(3)	$17.7 \pm 0.5^{**}$	$35.7 \pm 1.0$	$33.3 \pm 4.3^{**}$	$44.1 \pm 7.7$
Eu-E (30)	$-0.4 \pm 0.1^{**}$	$101.5 \pm 0.6$	$-3.1 \pm 1.8^{**}$	$105.3 \pm 3.1$
(10)	$13.4 \pm 1.4^{**}$	$51.3 \pm 5.8$	$40.4 \pm 6.9^*$	$31.9 \pm 12.5$
(3)	$26.7 \pm 1.7$	$3.1 \pm 4.7$	$60.9 \pm 2.7$	$-2.1 \pm 4.1$
$IC_{50}$	$13.8 \pm 0.5$		$15.4 \pm 0.8$	
Eu-W (30)	$0.5 \pm 0.5^{**}$	$98.2 \pm 1.8$	$-6.7 \pm 2.9^{**}$	$111.4 \pm 4.9$
(10)	$15.5 \pm 0.6^{**}$	$43.5 \pm 1.7$	$38.4 \pm 8.1^{**}$	$35.6 \pm 13.6$
(3)	$26.8 \pm 1.5$	$2.3 \pm 5.4$	$61.0 \pm 3.9$	$-2.3 \pm 6.1$
$IC_{50}$	$14.8 \pm 0.8$		$14.7 \pm 1.9$	
TFP (14)	$3.0 \pm 0.7^{**}$	$88.7 \pm 2.7$	$1.8 \pm 2.2^{**}$	$96.9 \pm 4.1$
(4.8)	$14.0 \pm 1.6^{**}$	$44.9 \pm 8.6$	$43.0 \pm 6.8$	$28.0 \pm 6.1$
(1.4)	$21.3 \pm 0.8$	$16.8 \pm 2.2$	$54.5 \pm 5.3$	$8.9 \pm 1.9$
$IC_{50}$	$14.2 \pm 0.7 \mu\text{M}$		$16.0 \pm 0.9 \mu\text{M}$	

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 2. Data are presented as mean  $\pm$ S.E. (N=3)

3.TFP: Trifluoperazine (positive control) ; 4. Eu-H in high conc. will affect the assay system.

2.乳藤莖皮部 (EuC-M) 甲醇粗抽物，在中性白血球去顆粒作用中對於由 FMLP 所引發之 $\beta$  -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放亦有明顯之抑制作用。表 3 顯示對於抑制 $\beta$  -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放方面，其甲醇粗抽物之 ( $IC_{50}$ ) 分別為  $13.1 \mu\text{g/ml}$  及  $9.2 \mu\text{g/ml}$ 。而 trifluoperazine 對於抑制 $\beta$  -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放方面，其 ( $IC_{50}$ ) 分別為  $14.2 \mu\text{M}$  ( $6.8 \mu\text{g/ml}$ ) 及  $16.0 \mu\text{M}$  ( $7.7 \mu\text{g/ml}$ )。故可知乳藤莖皮部甲醇粗抽物在中性白血球去顆粒試驗中對於 $\beta$  -glucuronidase 及 lysozyme 的釋放與參考藥物 (trifluoperazine) 比較後，皆具有顯著之抑制作用。

## (二)對肥大細胞去顆粒作用試驗

1.乳藤莖部 (Eu-M) 甲醇粗抽物及各種有機溶媒萃取層中，在肥大細胞去顆粒作用試驗中，對於由 compound 48/80 所引發之 $\beta$  -glucuronidase 及 histamine 的釋放有明顯之抑制作用 ( $p < 0.01$ )。表 4 顯示對於抑制 $\beta$  -glucuronidase 釋放方面，甲醇粗抽物、乙酸乙酯層及水層之半數有效劑量 ( $IC_{50}$ ) 分別為  $4.2 \mu\text{g/ml}$ ,  $42.7 \mu\text{g/ml}$  及  $46.1 \mu\text{g/ml}$ ，其抑制作用皆與參考藥物 (mepacrine) 相當。此外，對於抑制 h

histamine 釋放方面，甲醇粗抽物、乙酸乙酯層及水層之半數有效劑量分別為 39.9  $\mu\text{g/ml}$ ，42.5 $\mu\text{g/ml}$  及 52.2  $\mu\text{g/ml}$ 。

**Table 3. The inhibitory effects of the methanol extract of stem cortex of *Ecdysanthus utilis* on the release of  $\beta$ -glucuronidase and lysozyme on neutrophil degranulation induced by FMLP**

Fractions ( $\mu\text{g/ml}$ )	$\beta$ -Glucuronidase	(%inhibition)	lysozyme	(%inhibition)
Control	27.5 $\pm$ 0.4	--	59.6 $\pm$ 0.8	--
EuC-M (30)	-1.2 $\pm$ 0.2**	104.2 $\pm$ 1.0	-3.4 $\pm$ 1.1**	105.8 $\pm$ 2.0
(10)	14.9 $\pm$ 0.2**	45.7 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 1.9**	91.8 $\pm$ 3.1
(3)	24.3 $\pm$ 0.9*	11.7 $\pm$ 4.6	49.4 $\pm$ 1.0	17.2 $\pm$ 2.7
IC <sub>50</sub>	13.1 $\pm$ 0.7		9.2 $\pm$ 0.2	
TFP (14)	3.0 $\pm$ 0.7**	88.7 $\pm$ 2.7	1.8 $\pm$ 2.2**	96.9 $\pm$ 4.1
(4.8)	14.0 $\pm$ 1.6**	44.9 $\pm$ 8.6	43.0 $\pm$ 6.8	28.0 $\pm$ 6.1
(1.4)	21.3 $\pm$ 0.8	16.8 $\pm$ 2.2	54.5 $\pm$ 5.3	8.9 $\pm$ 1.9
IC <sub>50</sub>	14.2 $\pm$ 0.7 $\mu\text{M}$		16.0 $\pm$ 0.9 $\mu\text{M}$	

1. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

2. Data are presented as mean  $\pm$  S.E. (N=3)

3. TFP:Trifluoperazine (positive control)

**Table 4. The inhibitory effects of the methanol extract and fractions of stem of *Ecdysanthus utilis* on the release of  $\beta$ -glucuronidase and histamine on mast cell degranulation induced by Compound 48/80**

Fractions ( $\mu\text{g/ml}$ )	$\beta$ -Glucuronidase	(%inhibition)	Histamine	(%inhibition)
Control	43.9 $\pm$ 1.7	--	51.3 $\pm$ 1.3	--
Eu-M (100)	4.4 $\pm$ 0.3**	89.9 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.3**	98.4 $\pm$ 0.6
(30)	22.5 $\pm$ 0.6**	48.8 $\pm$ 0.5	25.3 $\pm$ 1.4**	50.7 $\pm$ 1.9
(10)	34.7 $\pm$ 2.1	20.8 $\pm$ 5.3	42.6 $\pm$ 3.5	16.8 $\pm$ 7.3
IC <sub>50</sub>	42.0 $\pm$ 2.9		39.9 $\pm$ 3.6	
Eu-H (10)	36.5 $\pm$ 2.3	17.1 $\pm$ 2.0	46.5 $\pm$ 2.9	9.5 $\pm$ 5.1
(3)	38.8 $\pm$ 0.5	11.4 $\pm$ 2.6	47.8 $\pm$ 3.3	6.8 $\pm$ 6.6
Eu-E (100)	4.3 $\pm$ 0.4**	90.3 $\pm$ 0.8	1.6 $\pm$ 0.3**	97.0 $\pm$ 0.5
(30)	23.9 $\pm$ 2.7**	45.9 $\pm$ 4.2	26.9 $\pm$ 2.2**	47.7 $\pm$ 3.8
(10)	34.3 $\pm$ 2.4*	21.9 $\pm$ 3.4	43.4 $\pm$ 2.4	15.4 $\pm$ 5.0
IC <sub>50</sub>	42.7 $\pm$ 3.9		42.5 $\pm$ 3.3	
Eu-W (100)	4.6 $\pm$ 1.4**	89.6 $\pm$ 2.9	4.7 $\pm$ 1.1**	90.9 $\pm$ 1.9

	(30)	26.9 ± 2.1**	38.7 ± 4.6	33.3 ± 2.0**	35.2 ± 3.8
	(10)	34.1 ± 2.2*	22.3 ± 4.4	47.1 ± 2.8	8.3 ± 4.8
IC <sub>50</sub>		46.1 ± 4.7		52.2 ± 3.4	
Mepacrine	(47)	2.7 ± 0.7**	93.7 ± 1.9	5.6 ± 1.3**	88.8 ± 2.3
	(14)	24.8 ± 1.1**	42.9 ± 2.9	32.8 ± 3.6**	35.8 ± 6.0
	(4.7)	33.5 ± 1.5*	23.7 ± 3.5	42.9 ± 2.4	16.6 ± 2.9
IC <sub>50</sub>		42.0 ± 3.5 μM		50.2 ± 4.5 μM	

1. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

2. Data are presented as mean ± S.E. (N=3)

3. Mepacrine : positive control

**Table 5. The inhibitory effects of the methanol extract of stem cortex of *Ecdysanthus utilis* on the release of  $\beta$ -glucuronidase and histamine on mast cell degranulation induced by Compound 48/80**

Fractions	( $\mu\text{g/ml}$ )	$\beta$ -Glucuronidase	(%inhibition)	Histamine	(%inhibition)
Control		43.9 ± 1.7	--	51.3 ± 1.3	--
EuC-M	(100)	5.2 ± 0.9**	88.0 ± 2.3	0.2 ± 0.7**	99.6 ± 1.4
	(30)	14.4 ± 2.7**	66.7 ± 6.9	17.4 ± 2.7**	65.9 ± 6.0
	(10)	33.2 ± 1.6	24.5 ± 1.1	43.7 ± 2.3	14.9 ± 2.6
IC <sub>50</sub>		34.3 ± 2.1		36.6 ± 1.5	
Mepacrine	(47)	2.7 ± 0.7**	93.7 ± 1.9	5.6 ± 1.3**	88.8 ± 2.3
	(14)	24.8 ± 1.1**	42.9 ± 2.9	32.8 ± 3.6**	35.8 ± 6.0
	(4.7)	33.5 ± 1.5*	23.7 ± 3.5	42.9 ± 2.4	16.6 ± 2.9
IC <sub>50</sub>		42.0 ± 3.5 μM		50.2 ± 4.5 μM	

1. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

2. Data are presented as mean ± S.E. (N=3)

3. Mepacrine : positive control

2. 乳藤莖皮部 (EuC-M) 甲醇粗抽物，在肥大細胞去顆粒作用試驗中，對於由 compound 48/80 所引發之  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放亦有明顯之抑制作用 ( $p < 0.01$ )，表 5 顯示在對於抑制  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放方面，其甲醇粗抽物之 IC<sub>50</sub> 分別為 34.3  $\mu\text{g/ml}$  及 36.6  $\mu\text{g/ml}$ 。而 mepacrine 對於抑制  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放方面，其 IC<sub>50</sub> 分別為 42.0  $\mu\text{M}$  (19.9  $\mu\text{g/ml}$ ) 及 50.2  $\mu\text{M}$  (23.7  $\mu\text{g/ml}$ )，故可知乳藤莖皮部甲醇粗抽物在肥大細胞去顆粒作用試驗中對於  $\beta$ -glucuronidase 及 histamine 的釋放與參考藥物 (mepacrine) 比較後，皆具有顯著之抑制作用。

本實驗證實乳藤莖與莖皮之甲醇粗抽物對於 KB-16、P-388、A-549 及 HT-29 等四種癌細胞均無抑制作用 ( $\text{ED}_{50} > 50 \mu\text{g/ml}$ )。關於發炎及過敏反應過程中，當嗜中性白血球 (neutrophil) 受到刺激活化後，嗜中性白血球會有  $\beta$ -glucuronidase、lysozyme、PAF 等媒介物質釋出<sup>16</sup>。以上這些物質分別與導致支氣管平滑肌收

縮，血管擴張通透性增加，與發炎性疾病與造成過敏及氣喘的發生有關<sup>17, 18</sup>。嗜中性白血球亦會釋放出過氧化氫 (hydrogen peroxide)、超氧陰離子 (superoxide anion)、氫氧自由基 (hydroxy radical) 等活性物質<sup>19</sup>，這些活性物質已被證實在細胞損傷過程中，扮演著重要的角色，並且與老化及風濕性關節炎有關<sup>20, 21</sup>。而肥大細胞受到刺激活化後，會釋出如 $\beta$ -glucuronidase、histamine、PGD<sub>2</sub>、LTC<sub>4</sub>、platelet-activating-factor (PAF)等媒介物質<sup>22</sup>。如能控制嗜中性白血球及肥大細胞的釋放反應，則對發炎及過敏性疾病的預防與治療將有很大之助益。

本實驗證實乳藤莖與莖皮之甲醇粗抽物分別對於控制嗜中性白血球及肥大細胞的釋放反應上有很好的效果，故可判斷乳藤確實具有抗發炎及抗過敏等活性，其活性成分之純化及其作用機轉之研究上，值得再做進一步的證實與探討。

## 誌 謝

感謝國立中山大學杜昌益教授在細胞毒性試驗之協助與指導。

## 參考資料

1. 台灣植物誌第二版編輯委員會，台灣植物誌(4)，現代關係出版社，台北，p.201-204，1998。
2. 劉崇瑞，臺灣木本植物圖誌，第二卷，國立臺灣大學農學院，台北，p.1084，1961。
3. 全國中草藥匯編編寫組，全國中草藥匯編，人民衛生出版社，北京，p.804，1992。
4. 中國科學院植物研究所，中國高等植物圖鑑，第三冊，科學出版社，北京，p.458，1995。
5. 邱年永、張光雄，原色臺灣藥用植物圖鑑(4)，南天書局，台北，p.176，1995。
6. Luger P, Weber M, Dung NX, The C. L. The new pentacyclic saponine ecdysantherin from *Ecdysanthera rosea* Hook. Acta Crystallogr. Sect. C: Cryst. Struct. Commun. 52: 1574-1576, 1996.
7. 吳靜慧，乳藤莖部之成分研究，靜宜大學碩士論文，靜宜大學，應用化學研究所，台中，1991。
8. Yu S, Chou CJ, Chen YF, Lin LC. Central depressant and toxicological evaluation of *Ecdysanthera utilis* Hayata & Kawakami and *Ecdysanthera rosea* Hooker & Arnott. The Chinese Pharmaceutical Journal 52: 131-138, 2000.
9. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods 65: 55-63, 1983.
10. Wang JP, Raung SL, Kuo YH and Teng CM. Daphnoretin-induced respiratory burst in rat neutrophil is probably mainly through protein kinase C activation. Eur. J. Pharmacol. 288: 341-348, 1995.
11. Barrett AJ. Lysosomes. In: Dingle JT (ED): A Laboratory Handbook, Amsterdam, Elsevier, p.118-120, 1972.
12. Absolom DR. Basic methods for the study of phagocytosis. Methods Enzymol. 132: 92-179, 1986.
13. Wang JP, Hsu MF, Ouyang C and Teng CM. Edematous response caused by [Thi<sup>5,8</sup> D-Phe]bradykinin, a  $\beta_2$  receptor antagonist, is due to mast cell degranulation. Eur. J. Pharmacol. 161: 143-149, 1989.
14. Johnson AR. and Erdos EG. Release of histamine from mast cells by vasoactive peptides. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142: 1252-1256, 1973.
15. Hakanson R. and Ronnberg AL. Improved fluorometric assay of histamine. Analyt Biochem. 60: 560-567, 1974.
16. Weissmann G, Smolen JE and Korchak HM. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. N. Engl. J. Med. 303: 27-34, 1980.
17. Adams GK. and Lichtenstein LM. *In vitro* studies of antigen-induced bronchospasm: effect of antihistamine and SAS-A antagonist on response to sensitized guinea pig and human airways to antigen. J. Immunol. 122: 555-562, 1979.
18. Schwartz LB. and Austen KF. Structural and function of the chemical mediators of mast cells. Prog. Allergy. 34: 271-321, 1984.



19. Semb AG, Vaage J and Mjos OD. Oxygen free radical producing leukocytes cause functional depression of isolated rat hearts: role of leukotrienes. *J. Mol. Cell Cardiol.* 22: 555-563, 1990.
20. Harman D. and Piette LH. Free radical theory of aging: free radical reactions in serum. *J. Gerontol.* 21: 560-565, 1966.
21. Allen RE, Blake DR, Nazhat NB and Jones P. Superoxide radical generation by inflamed human synovium after hypoxia. *Lancet* 2: 282-283, 1989.
22. Ishizaka T, Ishizaka K. and Tomioka H. Release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by IgE-anti-IgE reactions on monkey mast cells. *J. Immunol* 108: 513-520, 1972.

## EVALUATION OF THE PHARMACOLOGICAL EFFECTS ON *ECDYSANTHERA UTILIS* HAYATA

Chi-Yuan Chen<sup>1</sup>, Jih-Pyang Wang<sup>2</sup>, Li-Kang Ho<sup>3</sup> and Yuan-Shiun Chang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College*

<sup>2</sup>*Department of Education and Research, Taichung Veterans General Hospital  
Taichung, Taiwan*

<sup>3</sup>*Institute of Pharmacology, National Yang-Ming University  
Taipei, Taiwan*

(Received 20<sup>th</sup> January 2001, revised MS received 20<sup>th</sup> March 2001, accepted 28<sup>th</sup> March 2001)

*Ecdysanthera utilis* Hayata (Eu) of Apocynaceae family, is a folk medicine in Taiwan. It is used to supplement the kidney, strengthen the knee, and relieve inflammation. The present study showed that the crude methanol extract of the stem and stem cortex (Eu-M, EuC-M, respectively) did not exhibit cytotoxic effects against KB-16, P-388, A-549, and HT-29 cell lines.

Eu-M, EuC-M and fractions of Eu-M showed significant inhibitory effects against  $\beta$ -glucuronidase and lysozyme release on neutrophil degranulation induced by FMLP. IC<sub>50</sub> of Eu-M were 11.7  $\mu$ g/ml and 9.4  $\mu$ g/ml, respectively. IC<sub>50</sub> of EuC-M were 13.1  $\mu$ g/ml and 9.2  $\mu$ g/ml, respectively. In the mast cell degranulation induced by Compound 48/80 experiments, they also showed significant inhibitory effects against  $\beta$ -glucuronidase and histamine release. IC<sub>50</sub> of Eu-M were 42.0  $\mu$ g/ml and 39.9  $\mu$ g/ml, respectively. IC<sub>50</sub> of EuC-M were 34.3  $\mu$ g/ml and 36.6  $\mu$ g/ml, respectively.

**Key Words:** Cytotoxic effect, Anti-inflammatory effect, *Ecdysanthera utilis*.

---

**Correspondence to:** Dr. Yuan-Shiun Chang, Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College, 91, Hsueh Shih Road, Taichung 404, Taiwan. TEL: 886-4-2205-7153, FAX: 886-4-2206-0248,

E-mail: yschang@mail.cmc.edu.tw