

細葉金午時花 (Sida acuta) 萃取物之成份分析

鄭佩宜、黃啟瑞、黃信綸、楊繼江*

摘要

來自於臺灣臺東平地至低海拔山區摘取細葉金午時花(Sida acuta)全株植物，並廣泛生長於臺灣全境平野低海拔山地自生(泛世界各個熱帶地區)，以經濟產物層面來說，時被當作影響農作物的雜草看待，但是在許多東南亞與非洲國家卻是用於傳統治療疾病的中草藥之一，許多的文獻都指出細葉金午時花(Sida acuta)具有保肝、抗瘡、抗發炎和傷口癒合等特性，因此本研究針對摘取自臺灣平地的細葉金午時花(Sida acuta)全株植物做成份分析，利用 95%酒精與純水的特性來提取出細葉金午時花(Sida acuta)的成份，並利用高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS) 分析出多酚與類黃酮物質，發現細葉金午時花(Sida acuta)具有異槲皮素、木犀草素 7-O-葡萄糖苷、肉桂酸、阿魏酸、原兒茶酸-己糖苷和綠原酸，並針對主要化合物進行文獻探討。

關鍵字：金午時花、異槲皮素、綠原酸

鄭佩宜，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程研究生、臺東馬偕紀念醫院醫事檢驗科血庫組醫檢師。
E-mail: chubby1314@yahoo.com.tw

黃啟瑞，國立臺東大學生醫農食研究中心助理研究員、國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組研究員、經濟部東部深層海水創新研發中心研究員。Email: crhuang.ksn@gmail.com

黃信綸，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、國立臺東大學食品生物技術應用二年制在職學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組專案經理、經濟部東部深層海水創新研發中心特色原料分析實驗室經理。Email: tom1203@srdc.org.tw

楊繼江(通訊作者)，國立臺東大學生物醫學碩士學位學程教授兼執行長、國立臺東大學生醫農食研究中心主任。Email: cyang@nttu.edu.tw

Composition analysis of *Sida acuta* extract

Pei-I Cheng, Chi-Ruei Huang, Hsin-Lun Haung, Chi-Chiang Yang*

Abstract

Sida acuta whole plant is harvested from the plains of Taitung, Taiwan to low-altitude mountainous areas, and grows widely in the plains and low-altitude mountainous areas of Taiwan (pan tropical regions around the world), in terms of economic products. Usually regarded as weeds that affect crops, but in many Southeast Asian and African countries. it is one of the traditional Chinese herbal medicines used to treat diseases. Many literatures point out that *Sida acuta* has liver-protective and anti-hepatic properties. Anti-malaria, anti-inflammatory and wound healing properties. Therefore, this study focused on the composition analysis of the whole plant of *Sida acuta* taken from the flat land in Taiwan, and used the 95% alcohol and DI water to extract. The composition of *Sida acuta* was analyzed by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometer (LC/MS/MS) to analyze polyphenols and flavonoids. It was found that *Sida acuta* had different Quercetin, luteolin 7-O-glucoside, cinnamic acid, ferulic acid, protocatechuic acid-hexosides and chlorogenic acid, and the main compounds are discussed in the literature.

Keywords: *sida*, isoquercitrin, chlorogenic acid

Pei-I Cheng, Master Student, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Medical Technologist, Taitung MacKay Memorial Hospital. E-mail: chubby1314@yahoo.com.tw

Chi-Ruei Huang, Adjunct Assistant Researcher, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center; Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Researcher, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center; Researcher, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs. Email: crhuang.ksn@gmail.com

Hsin-Lun Huang, Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine; On-Job Degree Program of Food Biotechnology Application, College of Science and Engineering, National Taitung University; Manager, Functional Ingredients and Food Inspection Integration Laboratory, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs; Project Manager, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center. Email: tom1203@srdc.org.tw

Chi-Chiang Yang (Corresponding Author), Professor and Executive Director, Master Program in Biomedicine; Professor and Director, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center, College of Science and Engineering, National Taitung University. Email: cyang@nttu.edu.tw

壹、前言

細葉金午時花(*Sida acuta* Burme f.)為錦葵科((*Malvaceae*)金午時花屬(*Sida*)，廣泛生長於臺灣全境平野低海拔山地自生(泛世界各個熱帶地區)，因開花時間在午間或午後，且呈金黃色，故稱金午時花。直立亞灌木，略被毛或光滑。葉披針形，長 3-5 cm，寬 0.5-1.5 cm，粗鋸齒緣，兩面近光滑；葉柄長 4-5 mm。花萼光滑；心皮 6-7，成熟心皮頂端具 2 芒刺(臺灣野生植物資料庫)。以經濟產物層面來說，時被當作影響農作物的雜草看待。在臺灣於夏、秋間採全草，曬乾後又稱四米仔草、白索子、茶索仔草。具有敷腫毒、清涼解毒、活血散瘀、退火止痛等功效(臺灣野生植物資料庫)，主要運用在治感冒、乳腺炎、尿道炎、腸炎、痢疾、肝臟腫大、黃疸、小兒消化不良、胃潰瘍、疳積、癰瘡癰腫、濃泡瘡、腫毒、痔瘡、生肌、跌打損傷、骨折、外傷出血、蛇咬傷、纏身蛇、降血糖等作用。

貳、文獻回顧

細葉金午時花(*Sida acuta* Burme f.)在非洲(Simplice Damintoti Karou et al., 2007)與東南亞國家(Abat et al., 2017)用於傳統治療的中草藥之一，並展開一連串的成分分析、研究與探討(Olivier Tene Tcheghebe et al., 2017)。臺灣學者分別在 2005 年和 2007 年針對細葉金午時花(*Sida acuta* Burme f.)的 Tocopherols and Triterpenoids 成份進一步分析(Chiy-Rong Chena et al., 2007; Lie-Fen Shyur et al., 2005)。細葉金午時花(*Sida acuta* Burme f.) 是屬於印度錦葵科的印度藥用植物之一，利用於流產，驅蟲，止吐，緩和，利尿，壯陽藥，胃藥，發汗，退熱和傷口癒合特性(Perumalsamy Muneeswari et al., 2016)。在瘧疾流行的非洲國家發現原生種細葉金午時花萃取物所含有的生物鹼對惡性瘧原蟲有很好的抑制活性(IC₅₀ < 5 g / ml)(Karou et al., 2003)。對於肝臟疾病的研究是利用製造 paracetamol 誘導大鼠肝細胞毒性來測定細葉金午時花提取物酚類所含有的阿魏酸(Ferulic acid)活性，與臨床用藥 Silymarin 做比較，這 2 種中草藥在同等濃度(100mg/kg)治療下發現具有相同保肝功能，並透過病理切片來證實(Sreedevi et al., 2009)。另外還有治療胃潰瘍的效應，使用 Aspirin plus 及幽門結紮的大鼠製造胃潰瘍模式來測定細葉金午時花提取物，並與 Famotidine (20mg/kg)藥物做比較，發現在細葉金午時花提取物(200mg/kg)的劑量下也產生相同的抗潰瘍效應，但很可惜地並未進一步分析出該植物含有哪一種化合物具有其功效(S.Akilandeswari et al., 2010)。針對抑菌效果來分析細葉金午時花提取物所含化合物，並與傷口常見致病菌(革蘭氏陽性細菌及革蘭氏陰性細菌)做抗菌測試，發現提取物對革蘭氏陽性和革蘭氏陰性菌的最低殺菌濃度分別為：

12.5 mg/ml 和 25 mg/ml，發現革蘭氏陽性細菌比革蘭氏陰性細菌更具抗菌性(Abat et al., 2017; Akinnibosun et al., 2015; Chinelo A. Ezeabara1 & Egenti1, 2018)。利用酵母和哺乳動物的 Glucosidase 來測試金午時花提取物(p-hydroxyphenethyl trans-ferulate 與 β -sitosteryl glucopyranoside)的抑制性與 Quercetin 做比較，發現抑制程度相似，具有抑制血糖的效用(Amira Arciniegas et al., 2017)。分析細葉金午時花提取物所含生物鹼 cryptolepine，發現透過激活 caspase-3 / 7 可使 AGS 細胞去誘導 Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)的細胞凋亡機制(Ahmed et al., 2011)。

參、研究方法

一、植物的製備與萃取

於臺灣臺東平地至低海拔山區摘取細葉金午時花(*Sida acuta* Burm. F.)全株植物以清水沖洗後陰乾，全株剪 1 公分段狀，總重 2.7Kg，再以 60°C 烘乾箱乾燥，乾燥後總重剩 900g，全部磨粉備用。將植物粉末分別以 95% 乙醇 (AE) 與純水 (WE) 配置 (V : W=1g : 5ml)，放置在設定 200 rpm 迴轉式震盪器上，24 小時之後離心取上清液，並用 0.45 μ m filter 過濾。放置於 40°C 烘乾箱乾燥，30g 酒精萃取液或純水萃取物，可取得 0.2g 乾燥萃取物，產出率約 4%，乾燥後以 -20°C 冷凍設備保存備用。



圖1. 細葉金午時花(*Sida acuta*)。

二、成份分析

由東部深層海水創新研發中心提供 AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System

以高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS) (圖 2、圖 3) 進行細葉金午時花 (Sida acuta Burm. F.) 進行細葉金午時花(Sida acuta Burm. F.)功效成份評估，包含多酚類等非揮發性功能成份檢測。將過濾之原汁、濃縮液稀釋 100 至 10,000 倍，並以 0.2 μm 之過濾膜過濾，使用 C18 管柱進行梯度分析試驗，移動相為乙晴與 2.5%之甲酸溶液，並以梯度之形式做洗滌，有效分離出其內之多酚與類黃酮物質。



圖2. 液相層析串聯質譜儀 (LC/MS/MS) :含Shimadzu LC-30A與Ab SCIEX Triple Quad 4500 System設備。



圖3. 層析管 Dikmatech HPLC，C18(2)，5 μm ，內徑 4.6 mm \times 150 mm。

肆、結果與討論

細葉金午時花 (*Sida acuta* Burm. F.) 使用高效能液相層析串連質譜儀(LC/MS/MS) 進行測定分析出多酚與類黃酮為主，並以相對應之標準品進行標準曲線繪製，訂定其內之含量，以作為相關試驗之品質管控與條件測試。(圖 4、圖 5)

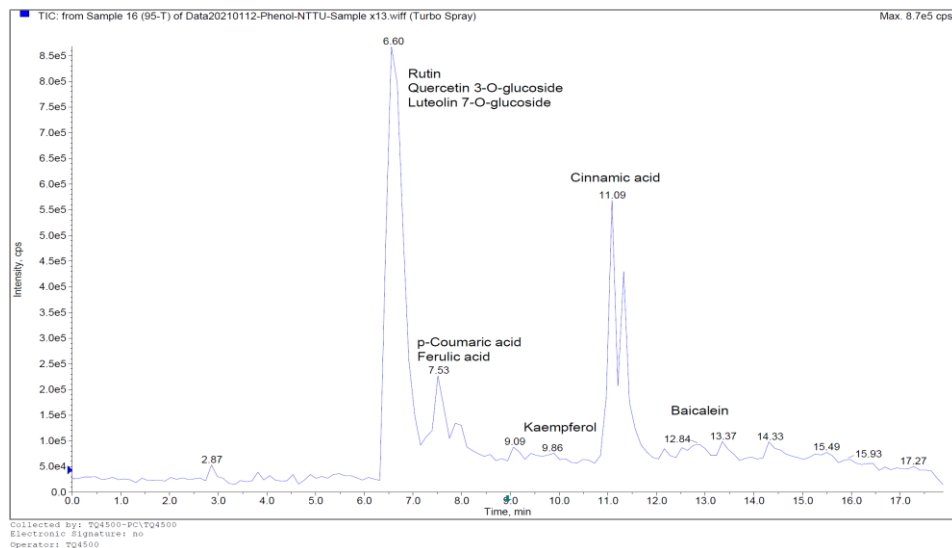


圖 4. AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System 以高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS)95%乙醇萃取物分析圖。

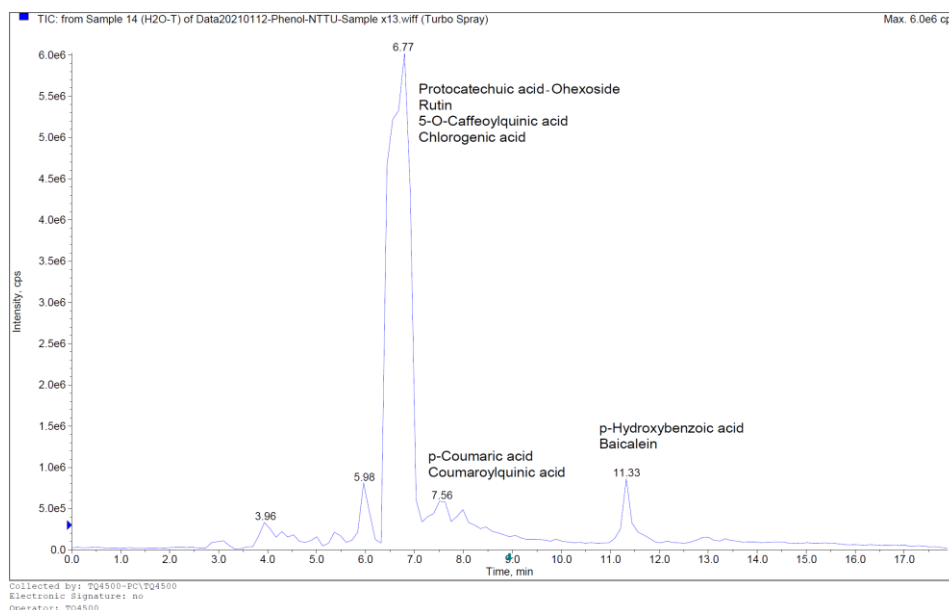


圖5. AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System以高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS)純水萃取物分析圖。

一、95%酒精提取物成分：(類黃酮與酚類)

(一)、Isoquercitrin (ISO; quercetin-3-O-glucoside)異槲皮素：(圖6)

為類黃酮化合物。2020年的論文中提到在楊梅和其他植物物種中存在的天然類黃酮異槲皮苷 (ISO) 對腫瘤細胞的增殖具有顯著的抑制作用，儘管其機理尚不清楚。但在研究中，將HepG2和Huh7人肝惡性腫瘤細胞暴露於ISO，並研究了自噬和凋亡在ISO介導的細胞死亡中的作用，暴露在ISO 24-72 h處理後，抑制了HepG2細胞 (IC₅₀ = 307.3-478.2μM) 和Huh7細胞 (IC₅₀ = 317.1- 634.4μM) 的增殖。發現ISO暴露通過激活AMPK /mTOR /p70S6K途徑抑制細胞活力和集落生長，激活凋亡途徑，並觸發自噬失調。使用3-甲基腺嘌呤 (3-MA) 或Atg5靶向的siRNA的自噬抑制作用可降低Bax /Bcl-2比率，caspase-3激活和PARP裂解，並保護細胞免受ISO誘導的細胞凋亡。而且，自噬抑制逆轉了由ISO引起的AMPK磷酸化的上調和mTOR和p70S6K磷酸化的下調。相比之下，broad-spectrum caspase inhibitor的應用未能抑制經ISO處理的細胞中的自噬。這些數據表明，ISO同時誘導細胞凋亡和自噬，而自噬通量的異常誘導則促成ISO觸發的caspase-3依賴性細胞凋亡。ISO通過AMPK激活和mTOR / p70S6K信號傳導的抑制同時誘導凋亡和自噬，從而觸發HCC細胞死亡。這些數據闡明了ISO抗腫瘤作用的潛在機制，並暗示了其作為HCC自噬和細胞凋亡誘導劑的潛在治療價值。(Shui et al., 2020)

2015年發表非洲國家的辣木科的Moringa oleifera常用作蔬菜和草藥的來源，並研究從此植物的粗提物之化學分析及生物活性 (包含抗氧化劑，細胞毒性和引發體外凋

亡)。從植物的葉子和種子中分離出來的化合物是quercetin-3-O-glucoside (1), 4-(β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isothiocyanate(2), lutein(3) 和sitosterol (4)。當與對照相比時, quercetin-3-O-glucoside (1) 的抗氧化活性是顯著的, 而4-(β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isothiocyanate (2) 顯示出中等的活性, 並在三種細胞系中測試quercetin-3-O-glucoside (1) 和4-(β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isothiocyanate (2) 的細胞毒性。使用MTT細胞生存力測定法, 將肝細胞癌 (HepG2), 結腸癌 (Caco-2) 和非惡性腫瘤細胞係人胚腎 (HEK293) 與標準抗癌藥5-fluorouracil進行比較。使用acridine orange/ethidium bromide dual staining方法進行細胞凋亡研究。分離出的化合物分別顯示出針對人類惡性腫瘤和非惡性腫瘤細胞系的選擇性體外細胞毒性和凋亡活性。quercetin-3-O-glucoside (1) 對Caco-2細胞系具有顯著的細胞毒性, IC₅₀為79 μ g/mL, 對HepG2細胞系具有適度的細胞毒性, 其IC₅₀為150 μ g/mL, 而4-(β -D-glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-rhamnopyranosyloxy)-benzyl isothiocyanate (2) 對Caco-2細胞系具有顯著的細胞毒性。Caco-2和HepG2細胞系的IC₅₀分別為45 μ g/mL和60 μ g/mL。比較而言, 這兩種化合物對HEK293細胞系的細胞毒性都低得多, IC₅₀值分別為186 μ g/mL和224 μ g/mL。(Maiyo et al., 2016)

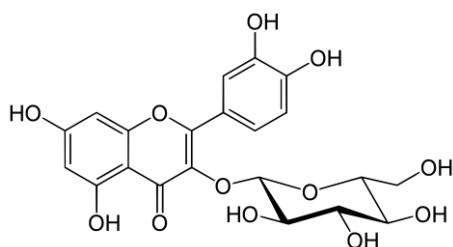


圖6. Isoquercitrin (ISO; quercetin-3-O-glucoside)異槲皮素結構式。

(二)、Luteolin 7-O-glucoside(木犀草素 7-O-葡萄糖苷) : (圖 7)

為黃酮類化合物。像所有的黃酮類物質, 它有一個黃色結晶的外觀。木犀草素最常在葉中發現的, 臨床前研究表明, 木犀草素可能具有的藥理作用, 包括抗氧化、抗炎、抗菌和抗癌(Jang et al., 2008)。初步研究發現, 木犀草素能夠抑制血管新生誘導細胞凋亡, 影響動物模型腫瘤的發展, 降低腫瘤的生長速度, 並提高某些抗癌藥物對腫瘤細胞的細胞毒性, 這表明木犀草素可能是潛在的惡性腫瘤化學預防藥物和化療藥物。木犀草素生物活性的機制可能為調節 ROS 的水平, 抑制拓撲異構酶 I 和拓撲異構酶 II、降低 NF- κ B 和 AP-1 轉錄因子的活性, 穩定 p53 及抑制磷酸肌

醇 3-激酶、信號轉導和轉錄激活子 3 (STAT3)、胰島素樣生長因子 1 受體 (IGF1R) 和人類表皮生長因子受體 II 的活性。(López-Lázaro, 2009)

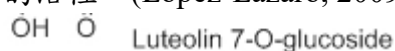


圖7. Luteolin 7-O-glucoside(木犀草素7-O-葡萄糖苷)結構式。

(三)、Cinnamic acid(肉桂酸)：(圖 8)

2016 年發表的論文就表示了肉桂酸屬於多酚的酚酸類，是植物中最豐富的次生代謝產物之一。這些物質由於其生物活性過多而被廣泛研究。特別地，它們對蛋白激酶的抑制有助於細胞中的多效性作用。蛋白激酶在控制細胞信號網絡中至關重要。致癌蛋白激酶的選擇性靶向增加了臨床抗癌功效。在過去的三十年中，肉桂酸和其相關化合物在設計許多合成和半合成的致癌蛋白激酶抑製劑方面啟發了研究人員。近年來，恢復人們對於 cinnamoyl-scaffold-containing 化合物的興趣了，這受到現代藥物設計和發現方法（例如體外和 silico HTS）的刺激。這篇綜述介紹了肉桂酸衍生物和類似物，可以直接抑制蛋白激酶。還總結了上述蛋白激酶家族的重要性-抗癌療法的有效靶標或有希望的靶標。抑制模式可以透過 ATP 競爭，bisubstrate-competitive and mixedcompetitive。激酶的選擇性通常與微妙的化學修飾有關，也可以由抑製劑的 non-competitive 片段控制。特定的肉桂酸同源物可以通過更廣泛的活性，影響相同的信號傳導途徑（例如 JAK2 / STAT），來協同發揮其在細胞中的作用。肉桂酸，由於其生物學和物理化學特性，提供了自然界啟發的想法，從而導致了能夠靶向多種惡性腫瘤細胞的致癌蛋白激酶和相關酶的新型抑製劑。(Abat et al., 2017)

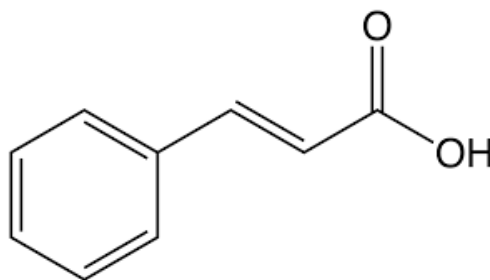


圖8. Cinnamic acid(肉桂酸)結構式。

(四)、Ferulic acid(阿魏酸)：(圖 9)

在各種酚類代謝產物中，Ferulic acid 被認為是有希望的緩解、修復和抗氧化劑。阿魏酸是在蔬菜中最常見的天然產物之一，例如，西紅柿，甜玉米和大米中。

植物化學物質被用於人類疾病的治療，這些化學物質來源於飲食化合物。已知 Ferulic acid 會逆向管理與感染運動有關的各種細胞外和胞內分子靶標。自 2018 年以來，已經獲得了各種有關阿魏酸基部分的專利。Ferulic acid 對各種感染（如惡性生長，糖尿病，心血管疾病和神經退行性疾病）具有廣泛的影響。當前的綜述涉及阿魏酸的抗氧化特性，並且最近的專利描述了阿魏酸對人類疾病的作用。(Chaudhary et al., 2019)。2018 年發表的論文證明了 Ferulic acid 通過抑制 TGF- β 1/Smad 途徑在體內和體外有效改善肝纖維化。(Mu et al., 2018)

在印度傳統醫學中 *Sida acuta* Burm F（錦葵科）用於治療肝臟疾病，可用於治療神經和泌尿系統疾病以及血液和膽汁疾病。本實驗評估 *Sida acuta*（SA）根部甲醇提取物的保肝性能，並對 SA 進行植物化學分析。採用對乙酰氨基酚誘導的 Wistar 大鼠肝毒性模型，肝組織病理學觀察，己巴比妥誘導的麻醉和體外抗脂質過氧化研究來評估 SA 的肝保護功效。按照標準方案進行 SA 的植物化學測定。與對照組相比，SA 治療組（50、100、200mg/kg）的血清中的 GPT，GOT，ALP 和 bilirubin 水平降低，證明了對乙酰氨基酚過量引起的肝損傷具有顯著的肝保護作用。醉酒的對照。肝臟的組織病理學進一步證實了其對肝臟的保護作用。用 *Sida acuta* 提取物進行預處理可顯著縮短小鼠中己巴比妥誘導的麻醉的持續時間，這表明它具有保肝作用。植物化學研究證實，在 *Sida acuta* 的根中存在酚類化合物阿魏酸，這說明在本研究中觀察到了顯著的保肝作用。此篇論文因此為該植物在肝臟疾病管理中的傳統應用提供了科學依據。(Sreedevi et al., 2009)

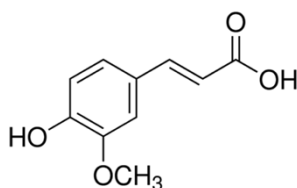


圖9. Ferulic acid(阿魏酸)結構式。

二、DI water 提取物成分：(酚類)

(一)、Protocatechuic acid-Ohexoside(原兒茶酸-己糖苷)：(圖 10)

原兒茶酸（3,4-二羥基苯甲酸，PCA）是一種簡單的酚酸。它存在於多種食用植物中，並具有多種藥理活性。在文章中回顧植物和其他自然資源中植物化學成分分

離和 PCA 提取的現代趨勢。此外，還涵蓋了 PCA 的藥理和生物學活性。眾所周知，它具有抗炎，抗氧化劑，抗高血糖症，抗菌，抗癌，抗衰老，抗致暈作用，抗腫瘤，抗哮喘，抗潰瘍，抗痙攣和神經功能，原兒茶酸 (PCA) 具有抗氧化劑和抗炎作用 (Khan et al., 2015)。從芙蓉中提取的 PCA 可以防止化學誘導的肝臟體內毒性。體外測試證明了 PCA 的抗氧化和抗炎活性，而體內的肝臟保護作用則通過化學標記和組織學評估來衡量。(Liu et al., 2002)。PCA 已經報導以誘導細胞凋亡的人類的白血病細胞，以及從人口腔採取惡性細胞 HSG1 (Babich et al., 2002)，但 PCA 被發現具有混合效應對 TPA 誘導的小鼠皮膚的腫瘤。(Nakamura et al., 2000)。根據 PCA 的量和施用前的時間，PCA 可以減少或增強腫瘤的生長。同樣，據報導 PCA 可增加神經幹細胞的增殖並抑制其凋亡。在使用 HL-60 白血病細胞的體外模型中，原兒茶酸顯示出抗原毒性作用和殺腫瘤活性。(Anter et al., 2011)。在兩項臨床前研究中，來自芙蓉的原兒茶酸顯示出出色的能力，可以有效抑制 II 型單純皰疹病毒的複製，並有效地滅活脲酶的催化活性。細胞培養和飲食研究中關於類黃酮對肝細胞脂肪變性等疾病的保護作用的一個問題是影響是否可能是酚類分解/消化產物引起的。在 HepG2 肝細胞中，用槲皮素，花青素或其酚類分解/消化產物 (原兒茶酸，2,4,6-三羥基苯甲醛和咖啡酸) 處理，在油酸之前 2 小時開始 24 小時，同樣可防止其增加細胞內脂質和活性氧和線粒體膜電位降低。氰胺或酚類產物還可以防止線粒體含量降低。預溫育僅 1 小時 (以限制自發降解) 並在加入油酸之前將其除去後，只有酚類產物才能防止線粒體含量降低，並且不添加油酸，僅原兒茶酸和咖啡酸，而花青素則較少，因此可誘導線粒體含量。結果表明，花青素和槲皮素的酚類分解/消化產物在體外，甚至在體內都可能起到保護作用。(Rafiei et al., 2019)

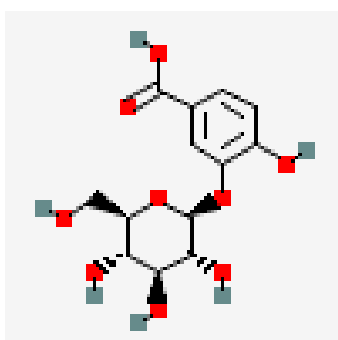


圖10. Protocatechuic acid-O-hexoside(原兒茶酸-己糖苷)結構式。

(二)、Chlorogenic acid(綠原酸)& 5-O-Caffeoylquinic acid(5-O-咖啡酰奎尼酸)：
(圖 11)

綠原酸的異構體包括奎尼酸其它位置羥基酯化的產物，如 4-O-咖啡醯奎尼酸 (cryptochlorogenic acid 或簡稱 4-CQA) 和 5-O-咖啡醯奎尼酸 (neochlorogenic acid 或稱 5-CQA, 新綠原酸)，兩個羥基被酯化則稱異綠原酸 (isochlorogenic acid)，存在於咖啡中。(Clifford et al., 2003)，Chlorogenic acid(綠原酸)是一種重要的具有生物活性的膳食多酚，具有多種重要的治療作用，例如抗氧化，抗菌，保肝，保護心臟，抗炎，退熱，神經保護，抗肥胖，抗病毒，抗微生物，抗高血壓，免費的自由基清除劑和中樞神經系統刺激劑。綠原酸已被研究作為一種可能的化學敏化劑參與呼吸道變態反應某些植物材料。綠原酸作為膳食補充劑或在咖啡中服用，可稍微降低血壓。

丁等人發表的一篇文章中提到，富含綠原酸 (CHA) 的忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb) 用於治療由流感病毒，副流感病毒和呼吸道合胞病毒等引起的病毒性上呼吸道感染。據報導，CHA 降低了血清乙型肝炎病毒水平和流感病毒感染小鼠的死亡率。但是，CHA 對抗甲型流感病毒的潛在機制尚未完全闡明。在這裡，CHA 對甲型流感病毒的抗病毒作用及其潛在機制進行了研究。CHA 揭示抑制打擊 A / PuertoRico / 1934 分之 8 (H1N1) ($EC_{50} = 44.87 \mu M$)，A / 北京 / 32/92 (H3N2) ($EC_{50} = 62.33 \mu M$) 和耐奧司他韋的菌株。時程分析表明，CHA 在感染週期後期抑制了流感病毒。間接免疫熒光測定表明 CHA 下調了 NP 蛋白的表達。對神經氨酸酶活性的抑制證實 CHA 阻止了新形成的病毒顆粒從受感染細胞中的釋放。靜脈注射 100 mg/kg/d CHA 對小鼠具有有效的抗病毒活性，可提供 60% 和 50% 的抗 H1N1 和 H3N2 死亡保護，降低病毒滴度並有效緩解肺部炎症。這些結果證明，CHA 在細胞和動物模型中均起神經氨酸酶阻滯劑的作用，以抑制甲型流感病毒。因此，CHA 在治療流感病毒感染方面具有潛在的實用性。

2006 年文獻在巴西對於黃花稔屬 (*Sida*) 下的 *Sida cordifolia* 進行研究，發現將所有大鼠分別口服給予蒸餾水，100、200 和 400mg / kg 的 *Sida cordifolia* 水提取物。接著於二十四小時後，牠們立即接受了 67% 的部分肝切除。使用 PC-10 單克隆抗體通過免疫組織化學染色評估增殖細胞核抗原 (PCNA) 的肝再生。結果：100 和 200 組的肝臟再生指數高於對照組 (分別為 $p < 0.001$ 和 $p < 0.05$)。結論：*Sida cordifolia* 水提取物可在大鼠部分肝切除 67% 後刺激肝臟再生 (Silva et al., 2006)，接著，在 2013、2014 年有 2 篇文獻分別再次提到再生的可能，印度發表的文獻研究 *Sida cordifolia* Linn. 乙醇提取物的傷口癒合潛力，當中提到利用大鼠每組六隻，分成割

傷、切開和燒傷三組。第一組被分配為對照組（純基本膏體不含任何藥性）。第二組用 10% 乙醇提取物軟膏處理。第三組用標準臨床用藥 silver sulfadiazine (0.01%) 乳膏治療。觀察到與對照組相比，在所有傷口模型中，*Sida cordifolia* Linn. 乙醇提取物軟膏產生的效果均顯示出顯著的 ($P < 0.01$) 癒合 (Pawar et al., 2013)。另一篇非洲的文獻，研究黃花稔屬 (*Sida*) 下的 *Sida corymbosa* R. E. Fries 在使用乙醇誘導和雙氯芬酸誘導的潰瘍，傷口切除模型和白蛋白誘導的炎症，測定水提取物對胃潰瘍，傷口癒合速率和炎症的作用，發現到 *Sida corymbosa* 水提取物 (250、500 和 1000 mg/kg) 對於乙醇和雙氯芬酸誘導的胃潰瘍之潰瘍指數呈劑量依賴性，顯著 ($P < 0.05$) 降低，因此推論，*Sida corymbosa* 具有抗潰瘍活性。在手術產生的切口上局部施用用 *Sida corymbosa* 提取物製備的製劑可增加傷口的癒合速度。*Sida corymbosa* 提取物在新鮮雞蛋清蛋白誘導的炎症中顯示出顯著 ($P < 0.05$) 劑量依賴性的減少。這項研究表明，*Sida corymbosa* 甚至可能具有降低胃出血的嚴重程度，促進傷口癒合和減少炎症的能力 (John-Africa et al., 2014)。這 3 篇的論述與本論文所使用之同屬不同種的植物細葉金午時花 (*Sida acuta*) 有某部分相似，本論文使用純水與 95% 酒精這 2 種方法分別來提取細葉金午時花 (*Sida acuta*) 之萃取物，無論使用純水或 95% 酒精所提取的萃取物在低濃度 1000 $\mu\text{g/ml}$ 以下，對於正常細胞或腫瘤細胞都沒有抑制的效果，反而證實有促進生長之功效。

2003 年有文獻提到利用乙酸乙酯提取細葉金午時花 (*Sida acuta*) 之萃取物，在前 10 項活性化合物當中有表現出最強 Quinone reductase (QR) 的成分，並利用 mouse mammary organ culture assay 發現到這幾種含有 QR 高成分的化合物可以抑制 7,12-dimethylbenz[a]anthracene 誘導腫瘤前的病變 (Jang et al., 2003)。除了有可能抑制腫瘤前的誘發外，在 2009 年的文獻也指出 *Sida acuta* Burm. F 具有保肝的成分，取用細葉金午時花 (*Sida acuta*) 的根部以甲醇提取的方式取得萃取物來做植物化學分析及研究肝臟保護的可能性，文獻中採用對乙酰氨基酚誘導的 Wistar 大鼠肝毒性模型，肝組織病理學觀察，己巴比妥誘導的麻醉作用和體外抗脂質過氧化研究，以評估細葉金午時花 (*Sida acuta*) 的肝保護功效並進行細葉金午時花 (*Sida acuta*) 的植物化學測定。結果發現證明了對乙酰氨基酚過量引起的肝損害具有明顯的肝保護作用。肝臟的組織病理學也進一步證實了其對肝臟的保護作用。用 *Sida acuta* 提取物進行預處理可顯著縮短小鼠中以巴比妥誘導的麻醉的持續時間，這也表明它具有保肝作用。植物化學分析證實，在 *Sida acuta* 的根中存在酚類化合物阿魏酸，這說明在本研究中觀察到了

顯著的保肝作用。(Sreedevi et al., 2009)。還可能減輕高脂飲食/脂肪酸誘導的非酒精性脂肪性肝炎，在 2012 的文獻指出，從 *Sida rhomboides*.Roxb 提取的化合物，在高脂飲食飼養的 C57BL/6J 小鼠中，評估了 SR 提取物對血漿中肝損害，血漿和肝脂質，線粒體氧化應激，酶和非酶抗氧化劑的狀態以及肝臟組織病理變化標誌物水平的影響，可防止高脂飲食誘導的肝損傷，血漿和肝脂質血漿標誌物酶升高，線粒體的氧化應激和受損的酶和非酶抗氧化劑狀態。此外，向體外 HepG2 細胞中添加 SR 提取物可最大程度地減少油酸誘導的脂質積累，較高的脂質過氧化作用，細胞毒性和降低的細胞活力。(Thounaojam et al., 2012)

2013 年發表 *Sida cordata* 提取物對 CCl₄ (4) 誘導的大鼠急性肝毒性的保護作用，來驗證傳統用藥的主張，利用 Wister 白化病大鼠分為 6 組：第一組為對照組；第二組為肝毒性（經 CCl₄ (4) 處理）組；III, IV 和 V 組分別為 *Sida cordata* 提取物（100、200 和 400 mg / kg bw）處理的組；第六組作為陽性對照（水飛薊素）治療組。測量並比較了肝臟指標 GOT、GPT，胰酶抗氧化劑超氧化物歧化酶（SOD），脂質過氧化，過氧化氫酶（CAT），還原型穀胱甘肽（GSH），並與組織病理學研究進行了比較。結果發現 *Sida cordata* 提取物治療顯著（ $P < 0.05$ - < 0.001 ）和劑量依賴性降低的 CCl₄ 引起肝酶血清水平升高。此外，*Sida cordata* 提取物顯著（高達 $P < 0.001$ ）減少了肝臟組織中的脂質過氧化作用，並使防禦性抗氧化酶 GSH，SOD 和 CAT 的活性恢復到正常水平，這也在病理組織研究中得到證實。(Mistry et al., 2013)

2021 年的巴西發表的文獻中指出 *Sida planicaulis* 是一種雜草，被認為起源於巴西，會產生神經毒性，對牲畜繁殖造成不利影響，造成牲畜損失慘重，並因此對巴西經濟產生負面影響。此篇文章的目的是使用冬季（葉提取物）和夏季（葉提取物和葉+花提取物）收集的 *Sida planicaulis* 乙醇提取物在體外研究化學特徵，細胞毒性和遺傳毒性作用。利用神經母細胞瘤細胞系 SH-SY5Y 的模型，植物化學分析顯示出存在的生物鹼，有類黃酮和非極性化合物。並通過 HPLC 和 GC/MS 分別檢測出含有 Rutin、Quercetin 和 Swainsonine 成分，以 MTT 法證明提取物在所有測試濃度下（7-4,000 μ g/ml）對細胞均產生細胞毒性。Alkaline comet assay 發現提取物在 0.437 至 7 μ g/ml 的濃度範圍內可引起遺傳毒性。提取物產生的 DNA 損傷可以通過使用修飾過的 alkaline comet assay（Endo III 和 FPG 酶）以濃度依賴性的方式得到證實。酶修飾過的 alkaline comet assay 顯示了氧化的嘌呤和嘧啶，因此氧化反應與基因組的不穩定和細胞死亡有關係。數據表明低濃度的乙醇提取物 *Sida planicaulis*（不同季節）誘

導與氧化反應和化合物成分，與 DNA 損傷增加是有關聯的。(Selbach et al., 2021)

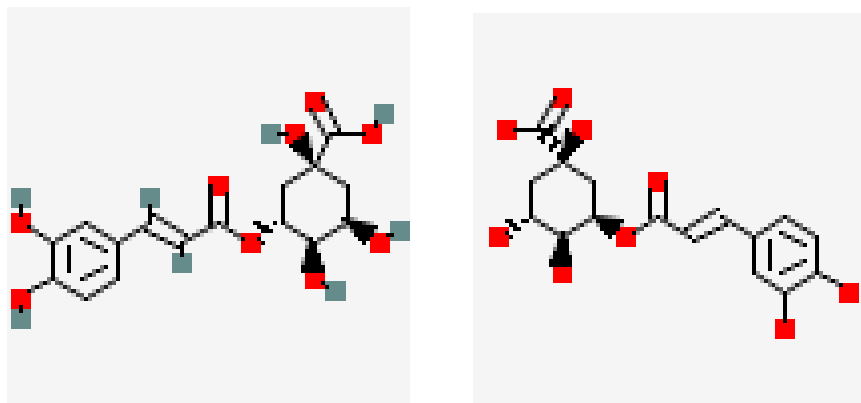


圖 11. Chlorogenic acid(綠原酸)和5-O-Caffeoylquinic acid(5-O-咖啡酰奎尼酸;新綠原酸)結構式。

伍、結論

黃花稔屬 (學名: Sida) 是錦葵科下的一個屬，為草本或亞灌木植物。該屬共有 90 種，分布於全球溫暖地區。本篇論文所探討的物種為其中的細葉金午時花 (Sida acuta) 如圖十七。從高效能液相層析串連質譜儀 (LC/MS/MS) 分析結果中發現細葉金午時花 (Sida acuta) 所含有之成分與抗腫瘤息息相關，其成分在不同種的植物中也得到相關性的功效驗證。

綜合以上幾篇文獻的論述，發現到錦葵科下的黃花稔屬 (學名: Sida)，具有藥理性與毒性，因此，本論文研究細葉金午時花(Sida acuta)是否具有抗腫瘤之效應下，因為在 2021 年(Selbach et al., 2021)發表的文章中提到所研究的植物對動物具有一定量的毒性，所以本篇論文將以體外測時評估細葉金午時花(Sida acuta)對正常細胞株 CCD966SK 是否具有細胞毒性，結果因發現低濃度對正常細胞株 CCD966SK 與腫瘤細胞株 Huh-7 來說無明顯抑制作用，所以提高濃度加以測試評估，在水提取物下的 CCD966sk 正常細胞株於探討之濃度下未出現毒性，但是 95%乙醇提取的萃取物對 CCD966sk 正常細胞株具有毒性 (IC₅₀: 7524.32±9.16µg/ml)，相對地在 Huh-7 腫瘤細胞中水提取物對其毒性較低 (IC₅₀: 15322.47±447.15µg/ml) 反而 95%乙醇提取物對其毒性較高 (IC₅₀: 8580.19±117.70µg/ml)。另外我們發現在細胞培養中 Huh-7 腫瘤細胞型態出現疑似凋亡的現象，細胞變圓，隨即與鄰近細胞脫離，細胞質收縮，內質網擴張呈泡狀並與胞膜融合細胞縮小。以凋亡形態學來說，從細葉金午時花 (Sida acuta) 提取的萃取物很有可能具有誘導細胞凋亡的效應，所以實驗進一步進行 caspase-3 assay 來證實我們的推論。

結論

感謝臺灣基督長老教會馬偕醫療財團法人臺東馬偕紀念醫院給予機會支持這項研究計畫 (TTMMH-108-04)。

參考文獻

- Abat, J. K., Kumar, S., & Mohanty, A. (2017). Ethnomedicinal, Phytochemical and Ethnopharmacological Aspects of Four Medicinal Plants of Malvaceae Used in Indian Traditional Medicines: A Review. *Medicines (Basel)*, 4(4).
<https://doi.org/10.3390/medicines4040075>
- Ahmed, F., Toume, K., Ohtsuki, T., Rahman, M., Sadhu, S. K., & Ishibashi, M. (2011). Cryptolepine, isolated from *Sida acuta*, sensitizes human gastric adenocarcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis. *Phytother Res*, 25(1), 147-150.
<https://doi.org/10.1002/ptr.3219>
- Akinnibosun, I. F., & Pela, B. (2015). Evaluation of the Phytochemicals and the Antibacterial Properties of *Sida Acuta* Leaf Extract and their Effects on Wound Bacterial Isolates. *ChemSearch Journal*, 6(2), 70 – 76.
- Amira Arciniegas, Ana L. Pérez-Castorena, Antonio Nieto-Camacho, Kita, Y., & Vivar, A. R. d. (2017). ANTI-HYPERGLYCEMIC, ANTIOXIDANT, AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITIES OF EXTRACTS AND METABOLITES FROM *Sida acuta* AND *Sida rhombifolia*. *Quim. Nova*, 40(2), 176-181.
- Anter, J., Romero-Jiménez, M., Fernández-Bedmar, Z., Villatoro-Pulido, M., Analla, M., Alonso-Moraga, A., & Muñoz-Serrano, A. (2011). Antigenotoxicity, cytotoxicity, and apoptosis induction by apigenin, bisabolol, and protocatechuic acid. *J Med Food*, 14(3), 276-283. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0139>
- Babich, H., Sedletcaia, A., & Kenigsberg, B. (2002). In vitro cytotoxicity of protocatechuic acid to cultured human cells from oral tissue: involvement in oxidative stress. *Pharmacol Toxicol*, 91(5), 245-253. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2002.910505.x>
- Chaudhary, A., Jaswal, V. S., Choudhary, S., Sonika, Sharma, A., Beniwal, V., Tuli, H. S., & Sharma, S. (2019). Ferulic Acid: A Promising Therapeutic Phytochemical and Recent Patents Advances. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, 13(2), 115-123.
<https://doi.org/10.2174/1872213x13666190621125048>

- Chinelo A. Ezeabara¹, & Egenti¹, M. O. (2018). Phytochemical and antimicrobial investigations on various parts of *Sida acuta* Burm. f. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, 4(2), 71-75.
- Chiy-Rong Chena, Chao, L.-H., Pan, M.-H., Liao, Y.-W., & Chang, C.-I. (2007). Tocopherols and Triterpenoids from *Sida acuta*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 54, 41-45.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *J Agric Food Chem*, 51(10), 2900-2911. <https://doi.org/10.1021/jf026187q>
- Jang, D. S., Park, E. J., Kang, Y. H., Su, B. N., Hawthorne, M. E., Vigo, J. S., Graham, J. G., Cabieses, F., Fong, H. H., Mehta, R. G., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D. (2003). Compounds obtained from *sida acuta* with the potential to induce quinone reductase and to inhibit 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced preneoplastic lesions in a mouse mammary organ culture model. *Arch Pharm Res*, 26(8), 585-590. <https://doi.org/10.1007/bf02976704>
- Jang, S., Kelley, K. W., & Johnson, R. W. (2008). Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(21), 7534-7539. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802865105>
- John-Africa, L. B., Yahaya, T. A., & Isimi, C. Y. (2014). Anti-ulcer and wound healing activities of *Sida corymbosa* in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 11(1), 87-92.
- Karou, D., Dicko, M. H., Sanon, S., Simporé, J., & Traore, A. S. (2003). Antimalarial activity of *Sida acuta* Burm. f. (Malvaceae) and *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae). *J Ethnopharmacol*, 89(2-3), 291-294. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.010>
- Khan, A. K., Rashid, R., Fatima, N., Mahmood, S., Mir, S., Khan, S., Jabeen, N., & Murtaza, G. (2015). PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF PROTOCATECHUIC ACID. *Acta Pol Pharm*, 72(4), 643-650.
- Lie-Fen Shyur, Jieh-Hen Tsung, Je-Hsin Chen, Chih-Yang Chiu, & Lo, C.-P. (2005). Antioxidant Properties of Extracts from Medicinal Plants Popularly Used in Taiwan. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 3(3), 195-202.

- Liu, C. L., Wang, J. M., Chu, C. Y., Cheng, M. T., & Tseng, T. H. (2002). In vivo protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food Chem Toxicol*, 40(5), 635-641. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(02\)00002-9](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(02)00002-9)
- López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev Med Chem*, 9(1), 31-59. <https://doi.org/10.2174/138955709787001712>
- Maiyo, F. C., Moodley, R., & Singh, M. (2016). Cytotoxicity, Antioxidant and Apoptosis Studies of Quercetin-3-O Glucoside and 4-(β -D-Glucopyranosyl-1 \rightarrow 4- α -L-Rhamnopyranosyloxy)-Benzyl Isothiocyanate from *Moringa oleifera*. *Anticancer Agents Med Chem*, 16(5), 648-656. <https://doi.org/10.2174/1871520615666151002110424>
- Mistry, S., Dutt, K. R., & Jena, J. (2013). Protective effect of *Sida cordata* leaf extract against CCl₄ induced acute liver toxicity in rats. *Asian Pac J Trop Med*, 6(4), 280-284. [https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(13\)60057-7](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(13)60057-7)
- Mu, M., Zuo, S., Wu, R. M., Deng, K. S., Lu, S., Zhu, J. J., Zou, G. L., Yang, J., Cheng, M. L., & Zhao, X. K. (2018). Ferulic acid attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation via inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway. *Drug Des Devel Ther*, 12, 4107-4115. <https://doi.org/10.2147/dddt.S186726>
- Nakamura, Y., Torikai, K., Ohto, Y., Murakami, A., Tanaka, T., & Ohigashi, H. (2000). A simple phenolic antioxidant protocatechuic acid enhances tumor promotion and oxidative stress in female ICR mouse skin: dose-and timing-dependent enhancement and involvement of bioactivation by tyrosinase. *Carcinogenesis*, 21(10), 1899-1907. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.10.1899>
- Olivier Tene Tcheghebe, Seukep, A. J., & Tatong, F. N. (2017). Ethnomedicinal uses, phytochemical and pharmacological profiles, and toxicity of *Sida acuta* Burm. f. : A review article. *The Pharma Innovation Journal* 6(6), 01-06.
- Pawar, R. S., Chaurasiya, P. K., Rajak, H., Singour, P. K., Toppo, F. A., & Jain, A. (2013). Wound healing activity of *Sida cordifolia* Linn. in rats. *Indian J Pharmacol*, 45(5), 474-478. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.117759>
- Perumalsamy Muneeswari, Subburaj Deepika, Palanisamy Chella Perumal, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, & Poornima, K. (2016). Phytochemical Screening and Free Radical Scavenging Activity of Chloroform Extract of *Sida acuta* Burm. F. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(4), 663-667.

- Rafiei, H., Omidian, K., & Bandy, B. (2019). Phenolic Breakdown Products of Cyanidin and Quercetin Contribute to Protection against Mitochondrial Impairment and Reactive Oxygen Species Generation in an In Vitro Model of Hepatocyte Steatosis. *J Agric Food Chem*, 67(22), 6241-6247. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02367>
- S.Akilandeswari, R.Senthamarai, R.Valarmathi, S.Shanthi, & S.Prema. (2010). Screening of Gastric Antiulcer Activity of Sida acuta Burm. *International Journal of PharmTech Research*, Vol.2, No.2, pp 1644-1648.
- Selbach, M. T., Scotti, A. S., Feistel, C. C., Nicolau, C. C., Dalberto, D., Dos Santos, N. G., Borsoi, G., Ferraz, A. B. F., Grivicich, I., de Souza, G. M. S., Chytry, P., Dias, J. F., Corrêa, D. S., & da Silva, J. (2021). Evaluation of the cytotoxic and genotoxic effects of Sida planicaulis Cav extract using human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *J Toxicol Environ Health A*, 84(8), 345-355. <https://doi.org/10.1080/15287394.2020.1871144>
- Shui, L., Wang, W., Xie, M., Ye, B., Li, X., Liu, Y., & Zheng, M. (2020). Isoquercitrin induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells via AMPK/mTOR/p70S6K signaling pathway. *Aging (Albany NY)*, 12(23), 24318-24332. <https://doi.org/10.18632/aging.202237>
- Silva, R. L., Melo, G. B., Melo, V. A., Antonioli, A. R., Michellone, P. R., Zucoloto, S., Picinato, M. A., Franco, C. F., Mota Gde, A., & Silva Ode, C. (2006). Effect of the aqueous extract of Sida cordifolia on liver regeneration after partial hepatectomy. *Acta Cir Bras*, 21 Suppl 1, 37-39. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502006000700009>
- Simplice Damintoti Karou, Wendyam MC Nadembega, Denise P Ilboudo, Djeneba Ouermi, Messanvi Gbeassor, Comlan De Souza, & Simpore, J. (2007). Sida acuta Burm. f.: a medicinal plant with numerous potencies. *African Journal of Biotechnology Vol. 6* (25), 2953-2959.
- Sreedevi, C. D., Latha, P. G., Ancy, P., Suja, S. R., Shyamal, S., Shine, V. J., Sini, S., Anuja, G. I., & Rajasekharan, S. (2009). Hepatoprotective studies on Sida acuta Burm. f. *J Ethnopharmacol*, 124(2), 171-175. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.04.055>
- Thounaojam, M. C., Jadeja, R. N., Dandekar, D. S., Devkar, R. V., & Ramachandran, A. V. (2012). Sida rhomboidea. Roxb extract alleviates pathophysiological changes in experimental in vivo and in vitro models of high fat diet/fatty acid induced non-alcoholic steatohepatitis. *Exp Toxicol Pathol*, 64(3), 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.08.009>