

五味子中 Schizandrin 及 Gomisin A 定量及抗肝損傷之研究

江睿玲¹ 謝明村¹ 周泰廷³ 郭槐秋³ 張永勳^{1,2}

¹ 中國醫藥學院 中國藥學研究所

² 中國醫藥學院 附設醫院中藥局

³ 統仁藥品股份有限公司

台中

(1997年4月16日受理，1997年9月10日收校訂稿，1997年9月11日接受刊載)

五味子為中醫常用藥材，其成分與藥理作用均被廣泛研究。本研究以水、50%酒精及95%酒精三種不同溶媒分別抽取五味子並以高效液相層析分析，比較得知以95%酒精抽取五味子其中 schizandrin 及 gomisin A 含量最高，50%酒精抽取液次之，以水抽取者含量最低。由抗肝損傷藥理試驗顯示95%酒精抽取物亦具有較高的生物活性，水抽出物活性低，可提供五味子萃取及入藥時的參考。

此外，急性毒性試驗結果亦發現五味子水、50%酒精及95%酒精三種抽取物對小鼠之半數致死劑量(LD₅₀)分別為1.60 g/kg, 1.75 g/kg 及 1.00 g/kg，可見五味子具有一定的毒性，使用時應注意其劑量之控制。

關鍵詞：五味子，Schizandrin，Gomisin A，定量分析，抗肝損傷。

前 言

五味子在神農本草經中列為本經上品¹。具斂肺生津，補腎養心，收斂固澀之作用；主治肺虛喘咳、津虧，自古以來即為中醫常用之收斂固澀藥。市售五味子藥材多為五味子科 (Schisandraceae) 植物，北五味子 (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill) 之成熟果實²⁻⁴。近代藥理學研究發現五味子具中樞抑制、降血壓、抗胃潰瘍作用、增強細胞免疫力與祛痰等作用⁵⁻⁸；此外，對病毒性肝炎患者亦具有降低 sGPT 及症狀改善等效果⁹⁻¹¹。

連絡人：張永勳，台中市學士路 91 號，中國醫藥學院中國藥學研究所，電話：(04)205-4326

傳真：(04)203-5557

近年來，由五味子中分離及鑑定出一系列木脂素 (lignans) 成分，如 Schizandrin、Schizandrin A、Gomisin A ~ G 等¹²⁻¹⁴，其中 Schizandrin、Wuweizisu C、Gomisin A 等具中樞抑制作用，而 Schizandrin、Deoxyschizandrin、Schizandronol、Wuweizisu C、Gomisin A、B、C 等均具有降低 sGPT 之作用，為保肝之有效成分⁵⁻⁸。惜五味子之保肝成分在水中溶解度較低，因此本研究擬利用高效液相層析儀 (HPLC) 分析五味子 schizandrine 及 gomisin A 二保肝成分，在水、50% 酒精及 95% 酒精等不同極性溶媒中之含量，並探討其對鼯鼠之半數致死劑量。

五味子對四氯化碳 (CCl₄) 引起肝細胞壞死之急性肝損傷具有保護作用¹⁵。目前研究發現 D-galactosamin (D-GaIN) 所導致肝功能和形態組織變化與臨床上病毒性肝炎有許多相同特點¹⁶⁻¹⁹，另 Acetaminophen 過量投與時，會造成人與實驗動物的猛暴性肝炎及腎小管壞死而死亡²⁰⁻²¹，更接近臨床肝炎模式，因此本研究進一步利用 D-GaIN 及 Acetaminophen 誘發鼯鼠急性肝細胞毒性實驗，進行五味子水、50% 酒精及 95% 酒精等不同抽取物保肝作用之療效評估。

五味子因有生津保肝的作用，具開發為日常飲料之潛力，因此進一步探討五味子之保肝作用及毒性，尋找適合之萃取方法，作為日後劑型設計及入藥時之參考。

材料與方法

一、實驗材料與儀器

(一)化學方法之抽取與定性、定量試驗

1. 五味子藥材來源：

台中市——欣隆中藥行

2. 藥品與試劑：

(1)標準品：

Schizandrin (由北京中國醫學科學院藥物研究所黎蓮娘教授提供)；Gomisin A (由國立中國醫藥研究所陳建志研究員提供)。

(2)試劑：

①一般試藥：酒精 (台灣省煙酒公賣局)。

② HPLC 級試藥：

Methanol (E. Merck)

H₂O：去離子水，並經 Purite-limited 公司之 Purite C-330，C-340 超純水過濾裝置過濾。

(3)儀器設備及色層分析：

①紫外線燈：

CAMAG Uiversal UV lamp，波長 254 nm 及 366 nm。

②高效液相層析儀設備：

幫浦：Solvent Delivery Module LC-6A for the SHIMADZU High Performance Liquid Chromatograph；層析管：Waters μ BondapakTM C₁₈ 27324 (10 μ m, 3.9 \times 300 mm)；紫外線偵測器：WatersTM 996 Photodiode Array Detector。資料處理：Computing Integrator。

(二)藥理學實驗材料

1. 實驗動物：ICR 雄性鼯鼠

2. 實驗試藥：

D-galactosamin hydrochloride (Grade I), Acetaminophen. (Sigma Chemical Co.)

二、實驗方法：

(一)五味子成分定量分析

1. 五味子藥材之抽取：

將 3 kg 五味子粉碎後，分成三等分，每分 1 kg，分別用蒸餾水、50% 酒精及 95% 酒精，每次 5 l 冷浸抽取，抽取三次共用三種溶劑各 15 l，將萃取液減壓濃縮，備用。

2. 檢液之調製：

將五味子之三種不同抽取物，各取相當於 1 g 五味子的藥材溶於 10 ml 甲醇中，供作檢液。

3. 高效液相層析法 (HPLC) 定量試驗：

(1) 對照標準品溶液之調製：

取對照標準品 Schizandrin、Gomisin A 溶於甲醇，Schizandrin 配製成 80、40、20 及 10 mg/ml，Gomisin A 配製成 0.1、0.2、0.5 及 1 mg/ml 供作對照藥材溶液，並製作標準品之檢量線。

(2) 檢液之調製：

將五味子以水、50% 酒精及 95% 酒精抽取三次，將三種不同抽取物，各取相當於 1 g 五味子的藥材溶於 10 ml 甲醇中，過 0.45 μ m 之微孔過濾器過濾，備用。

(3) 高效液相層析法之分析條件²²：

① 層析管柱：Waters μ BondapakTM C₁₈ (10 μ m, 3.9 \times 300 mm) 層析管柱。

② 移動相：MeOH : H₂O = 63 : 37%

③ 流速：0.9 ml/min

④ UV 檢測器：WatersTM 996 Photodiode Array Detector

⑤ 檢測波長：254 nm

⑥ 樣品量：10 μ l

⑦ 檢測時間：30 min

(二)藥理試驗

1. 急性毒性試驗²³：

本試驗將五味子水、50% 酒精、95% 酒精抽取物，分別口服給予雄性鼯鼠（每組 10 隻），

連續觀察 72 小時，記錄其中毒及死亡情形依 Litchfield 及 Wilcoxon 方法，求得使實驗動物一半死亡之劑量及其 95% 可信限。

2. 抗肝損傷試驗

(1) D-半乳糖胺 (D-GaIN) 誘發鼯鼠急性肝細胞毒性之實驗¹⁶⁻¹⁹：

將鼯鼠隨機分組，每組六隻分成控制組、毒藥組 (D-GaIN)、五味子之水、50% 酒精及 95% 酒精提取物共五組。控制組及 D-GaIN 組由腹腔注射生理食鹽水 (Normal Saline, 10 ml/kg)，五味子之水、50% 酒精及 95% 酒精提取物 (0.5 g/kg)，注射完後兩小時，控制組仍由腹腔注射生理食鹽水，其他五組動物由腹腔投與 D-GaIN (400 mg/kg)，於 D-GaIN 投與 24 小時後，將實驗動物以乙醚麻醉，由心臟採血，然後進行解剖取肝。

(2) Acetaminophen (APAP) 誘發鼯鼠急性肝細胞毒性之實驗²⁰⁻²¹：

鼯鼠六隻一組，分成控制組、毒藥組 (APAP)、五味子水、50% 酒精、95% 酒精共五組，在實驗前動物先行禁食十六小時 (over night)，然後，生藥治療組由腹腔投與五味子三種不同溶劑抽出物 (0.5 g/kg)，再過二小時，控制組投與 2% CMC (10 ml/kg)，其餘五組動物皆由腹腔投與 APAP (600 mg/kg in 2% CMC)，APAP 注射完後二十四小時，將實驗動物以乙醚麻醉，由心臟採血，然後解剖取肝。

結 果

(一) 五味子之抽出率：

結果如表 1 所示，五味子分以蒸餾水、50% 酒精及 95% 酒精三種不同極性溶媒萃取之抽出率以 50% 酒精萃取之抽出率最高 (37%)，蒸餾水萃取次之 (34%)，95% 酒精萃取最低 (31%)。

表1 五味子各種溶劑抽出率

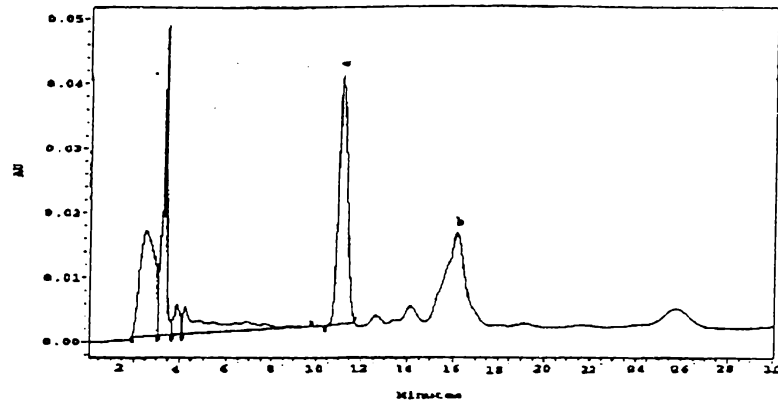
五味子	抽出率
水抽取	34 %
50% 酒精抽取	37 %
95% 酒精抽取	31 %

(二) 五味子之高效液相層析定量分析：

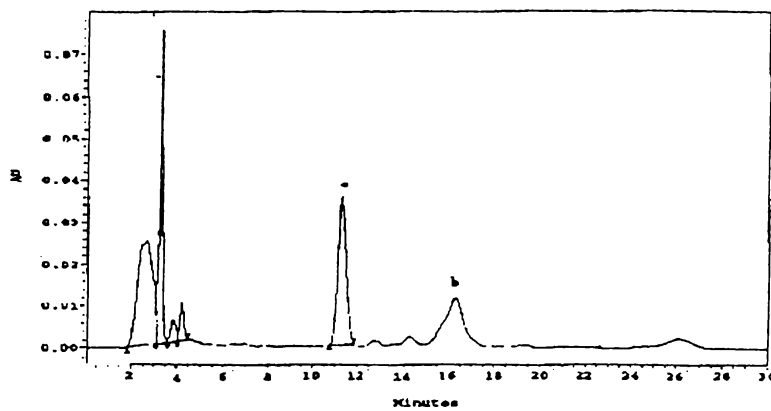
由高效液相層析圖 (Fig. 1) 和表 2 實驗結果顯示五味子三種萃取物中以 95% 酒精及 50% 酒精提取物，所含抽出物種類及 Schizandrin、Gomisin A 含量均較水抽出物為多。

(三) 五味子之藥理實驗結果：

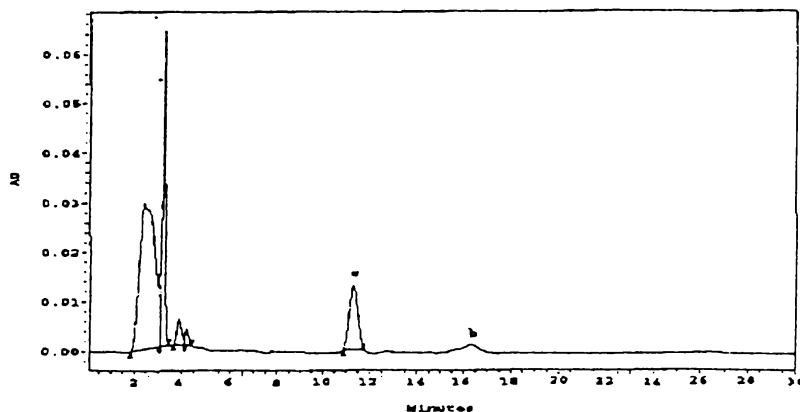
1. 急性毒性試驗：



A. 五味子 95% 酒精提取物高效液相層析圖



B. 五味子 50% 酒精提取物高效液相層析圖



C. 五味子水提取物高效液相層析圖

Fig. 1. 五味子提取物高效液相層析圖

(圖中在 11.4 分鐘出現的 peak a 為 schizandrin，在 16.2 分鐘出現的 peak b 為 gomisins A)

如表 3 所示，五味子水、50% 酒精及 95% 酒精提取物口服給予小鼠其急性毒性半數致死劑量 (LD₅₀) 分別為 1.60 g/kg, 1.75 g/kg 及 1.00 g/kg，可見五味子具有一定的毒性。

2. 五味子抗肝損傷試驗

(1) 如表 4 所示，五味子水、50% 酒精及 95% 酒精提取物口服給予對 D-半乳糖胺 (D-GaIN)

表2 每克五味子藥材所含Schizandrin及Gomisin A

五味子	Schizandrin (mg/g)	Gomisin A (mg/g)
水抽取	1.4	0.8
50% 酒精抽取	4.1	3.0
95% 酒精抽取	4.7	3.7

Schizandrin及Gomisin A為對照標準品，波峰面積為X軸，標準品濃度為Y軸，作圖求出檢量線。線性迴歸程式及鄉相關係數(r)分別為：

Schizandrin $Y=2.27e+0.4X$ ($r=0.9999$)

Gomisin A $Y=5.22e+0.8X$ ($r=0.9999$)

表3 五味子之急急性毒性試驗

五味子	LD ₅₀ 劑量(g/Kg)	95% 可信限(g/Kg)
水抽取	1.60	1.05~2.43
50% 酒精抽取	1.75	1.28~2.40
95% 酒精抽取	1.00	0.67~1.50

表4 五味子對D-半乳糖胺(D-GaIN)誘發小鼠急性肝細胞毒性之影響

Group	Dose (mg/kg)	sGOP (IU/L) 平均值±標準差	sGPT (IU/L) 平均值±標準差
Control	0	110.3 ± 25.8	26.0 ± 9.9
D-GaIN	400	396.5 ± 38.2	106.7 ± 30.3
五味子抽出物			
水抽出物	500	67.0 ± 19.1**	35.3 ± 12.9**
	250	131.7 ± 29.9**	48.3 ± 18.9**
	100	350.3 ± 24.0	89.9 ± 22.4
50% 酒精抽出物	500	60.2 ± 33.5**	52.7 ± 20.4**
	250	137.0 ± 22.6**	72.5 ± 17.3*
	100	322.3 ± 32.7**	121.0 ± 24.5
95% 酒精抽出物	500	26.0 ± 15.1**	24.0 ± 14.8**
	250	71.2 ± 21.7**	31.2 ± 17.1**
	100	147.7 ± 31.7**	56.8 ± 20.6**
	50	372.7 ± 41.9**	107.8 ± 26.0

**P<0.01, as compared with control group by Duncan's multiple range test.

表5 五味子對Acetaminophen (APAP)誘發鼯鼠急性肝細胞毒性之影響

Group	Dose (mg/kg)	sG0P (IU/L) 平均值±標準差	sGPT (IU/L) 平均值±標準差
Control	0	110.3± 25.8	26.0± 9.9
APAP	600	512.7± 159.2	171.5± 39.4
五味子抽出物			
水抽出物	500	573.2± 136.1	414.8± 172.5
50% 酒精抽出物	500	543.8± 190.9	351.0± 80.3
95% 酒精抽出物	500	398.0± 130.4	163.8± 68.2

誘發鼯鼠急性肝細胞毒性均具有明顯之抑制的作用。

(2)如表 5 所示，五味子水、50% 酒精及 95% 酒精抽取物口服給予對 Acetaminophen (APAP) 誘發鼯鼠急性肝細胞毒性則不具明顯之抑制作用。

討 論

五味子為中醫常用收斂固澀的藥物，大陸文獻指出五味子之毒性不大²，但本研究發現五味子 95% 酒精抽出物口服 LD₅₀ 為 1.00 g/kg，屬於中等毒性²⁴，故在使用時仍應注意其劑量，以避免中毒或不良副作用產生。

由 HPLC 分析得知，每克五味子以水抽取所得之 Schizandrin 和 Gomisins A 標準品含量為 1.4 及 0.8 mg，50% 酒精抽取物 Schizandrin 和 Gomisins A 含量為 4.1 及 3 mg 及 95% 酒精抽取物 Schizandrin 和 Gomisins A 含量為 4.7 及 3.7 mg，且抽取物之種類以酒精抽取較多，水抽出物最少；由此可知五味子仍以有機溶媒抽取其成分較佳。

D-GaIN 對肝細胞的毒性主要是限制胞器及酵素生成和補充，胞器受損、胞膜損害，鈣離子內流，造成肝細胞急性損傷。在投與 D-GaIN 後很快補充 UDPG (Uridine diphosphate glucose) 或肝臟出現不可逆性損傷前，任何能增加 UDPG 合成機轉皆會有顯著保肝效果；Hikino 等人研究發現 Gomisins A、C，Wuweizisu C 具有防止 D-GaIN 引起肝細胞損傷¹³，且 Gomisins A 具肝實質細胞膜的穩定作用及抗氧化作用，本實驗結果亦發現五味子 95% 酒精、50% 酒精及水抽取物對 D-GaIN 誘發急性肝細胞毒性均具明顯之抑制作用，且以 95% 酒精抽取物效果最好；其作用機轉可能與肝細胞的蛋白質合成代謝有關。

Acetaminophen 投與吸收後大部分經由結合成 Glucuronate 和 Sulfate 而排出體外，一部分則經由 Cytochrome P-450 酵素系統代謝，氧化成中間代謝物 N-acetyl-P-benzoquinoneimine (NAPQI)，當 NAPQI 量大於 Glutathione (GSH) 飽和結合量而無法形成 Mercapturic acid 排出

體外時，多餘的 NAPQI 便與組織之大分子共價鍵結，或氧化脂質，改變鈣離子恆定，最後造成細胞之損傷與壞死；因此 Acetaminophen 所引起的肝毒性與體內 Sulfation 和 Glucuronidation 之活性、Cytochrome P-450 酵素活性系統及體內 GSH 之可用量有關。雖然 1983 年劉耕陶指出五味子對 P-450 的生成有誘導作用¹⁵，但實驗結果顯示五味子 95% 酒精、50% 酒精及水抽取物對 Acetaminophen 所引起的肝損傷均不具保護作用。

綜合上述，五味子以有機溶媒萃取所得之成分種類較多、含量較高，並具較佳之保護肝臟活性。由此可知傳統中藥以水煎煮之服用法無法發揮五味子保肝之最佳療效，但若用高濃度酒精抽取，則失去其飲料服用之意義；因此臨床上可考慮將五味子直接研粉或作成丸劑入藥，或作成濃稠之懸浮口服型態，以達到其保肝之目的。

誌 謝

感謝北京中國醫學科學院藥物研究所黎蓮娘教授提供 Schizandrin，國立中國醫藥研究所陳建志研究員提供 Gomisin A 標準品。中國醫藥學院附設醫院醫檢部趙家幸先生代測 sGOP 及 sGPT。

參考文獻

1. 劉耕陶，從五味子的研究到聯苯雙脂的發現，藥學學報，714-720，1983。
2. 江蘇新醫學院，中藥大辭典，上海人民出版社，386-389，1977。
3. 江蘇省植物研究所等，新華本草綱要（第一冊），上海科學技術出版社，64-69，1988。
4. 國家醫藥管理局中草藥情報中心站，植物藥有效成分手冊，人民衛生出版社，927-935，1986。
5. 龐俊忠，臨床中藥學，中國醫藥科技出版社，385-387，1989。
6. S. S. Handa, Anupam Sharma, K. K. Chakraborti, Natural products and plants as liver protecting drugs, Fitoterapia, 21(5): 307-345, 1988.
7. Hiroshi Hikino, Yoshinobu Kiso, Heihachiro Taguchi and Yukinobu Ikeya, Antihepatotoxic actions of lignoids from Schizandra chinensis Fruits, Planta Medica, 213-218, 1984.
8. Yoshinobu Kiso, Masabiro Tohkin, Hiroshi Hikino, Yukinobu Ikeya and Heihachiro Taguchi, Mechanism of antihepatotoxic Activity of Wuweizisu C and Gomisin A, Planta Medica, 331-334, 1985.
9. 高木敬次郎，和漢藥物學，國立中國醫藥研究所，226-229，1992。
10. 陳榮福，中藥藥理學，國立中國醫藥研究所，299-303，1991。
11. 宋萬志，五味子科植物的木脂素類成分及生物活性與國內資源，天然產物研究與發展，3(1)：

68-80, 1991。

12. 中國醫學科學院藥物研究所, 中藥志第三冊, 人民衛生出版社, 227-241, 1988。
13. 宋萬志、肖培根, 中國五味子科藥用植物及其木酯素成分, 中草藥, 13(1): 40-48, 1982。
14. 肖崇厚、陳蘊如, 中藥化學, 上海科學技術出版社, 177-190, 1990。
15. 劉耕陶, 五味子有效成分對動物肝臟藥理作用近況, 中西醫結合雜誌, 3(3): 182-185, 1983。
16. 李儀奎、王欽茂, 中藥藥理實驗方法學, 上海科技出版社, 458-468, 1992。
17. Shinozuka H., Martin J. T. and Farber J. L., The Induction of fibrillar nucleoli in rat liver cells by D-Galactosamine and their subsequent reformation into normal nucleoli, J. Ultrastr. Res., 44, 279-292, 1973.
18. 周金黃、劉干中, 中藥藥理與臨床研究進展, 中國科學技術出版社, 第一冊, 240, 1992。
19. Decker K. and Keppler D, Galactosamine Induced liver Injury. In, Progress in liver disease (Popper H. and Schaffner F. eds.), 183-199, 1972.
20. Poble Muriel, Tania Garciapina, Victor Perez-Alvarez and Marisabel Mourelle, Silymarin protects against paracetamol-Induced lipid peroxidation and liver damage, J. App.Toxi., 12(6):439-442, 1992.
21. 蔡金川、林俊清, 台灣產生藥燈豎朽之抗炎症及保肝作用的研究, 高雄醫學院天然藥物研究所, 1994。
22. 童玉懿、宋萬志, 五味子(南、北)的高效液相層析圖譜及木脂素成分含量測定, 中國中藥雜誌, 14(10), 35-38, 1993。
23. Litchfield J. T., Wilcoxon F., A Simplified method of evaluating dose effect experiment, J. Pharmac. Exp. Ther. 96:99-111, 1949.
24. 溫玉麟, 藥物與化學物質毒性數據, 天津科學技術出版社, 概說 VII ~ XIII, 1989。

QUANTITATIVE ANALYSIS OF SCHIZANDRIN AND GOMISIN A AND LIVER PROTECTIVE ACTIVITY OF SCHISANDRAE FRUCTUS

Ruey-Ling Jiang¹, Ming-Tsuen Hsieh¹, Tai-Ting Chou³, Huai-Chiu Kuo³ and Yuan-Shiun Chang^{1,2}

¹*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College,*

²*Chinese Crude Drug Pharmacy, China Medical College Hospital, Taichung, Taiwan*

³*Ton-Jen Pharmaceutical Co. Ltd., Taipei, Taiwan*

(Received 16th April 1997, revised Ms received 10th September 1997, accepted 11th September 1997)

Schisandrae Fructus, the fruit of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill is a traditional Chinese medicine. Its constituents and pharmacological activities had been extensively studied. Schisandrae Fructus was extracted by water, 50% alcohol and 95% alcohol respectively and were quantitatively analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The content of schizandrin and gomisin A in 95% alcohol extracts was highest followed by 50% alcohol extract and water extract. The 95% alcohol extracts also showed higher liver protective activity.

The acute toxicity LD₅₀ was 1.0~1.6 g/kg (oral; 95% confidence 0.67~2.43 g/kg) of Schisandrae Fructus extract.

Key Words: Schsandrae Fructus, Schizandrin, Gomisin A, HPLC, Liver protection.