



臺灣杉Cadinane類倍半萜之生物活性

文 ■ 張上鎮 ■ 國立臺灣大學森林環境暨資源學研究所

■ 王升陽 ■ 國立中興大學森林學研究所

■ 吳季玲 ■ 國立臺灣大學森林環境暨資源學研究所

臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides* Hayata) 隸屬於松柏目 (*Coniferae*)、杉科 (*Taxodiaceae*)、台灣杉屬 (*Taiwania*)，1906年日本植物學家早田文藏 (Hayata Bunzo) 發現而命名之新種，其屬名“*Taiwania*”代表「台灣」，而種名“*cryptomerioides*”表示為「似柳杉的」，意指台灣杉的型態與柳杉 (*Cryptomeria japonica* D. Don) 相近。台灣杉不但是台灣特產之珍貴本土樹種，亦為臺灣重要經濟造林樹種之一，再加上臺灣杉的木理通直，木肌細緻美麗，材質輕軟，加工性質極為良好，且其心材具有美麗的黃紅色或橘紅色紋理，頗具特色，故頗受研究人員的重視。眾所周知，木材之抽出成分多與木材之特性如顏色、氣味、耐久性、加工性質…等有著密切的關係，因此，欲探究樹種之性質，實有必要了解其所含抽出成分之種類與結構。雖然臺灣杉抽出成分分離及鑑定的研究工作已進行了數十年，且從木材、樹皮、根、針葉等部位分離出上百種的成分，包括：單萜類 (monoterpenes)、倍半萜類 (sesquiter-

penes)、二萜類 (diterpenes)、木酚素 (lignans)、黃酮類 (flavonoids) 及類固醇 (steroids) 等，但是對於這些由臺灣杉所分離出之成分與木材性質相關性的研究，甚至這些成分是否具有生物活性 (bioactivity) 或於保健醫藥上應用之可行性的研究則相當有限。有鑑於此，最近幾年筆者在國科會經費之資助下，積極從事臺灣杉心材抽出成分生物活性之評估，包括抗真菌 (抗腐朽菌)、抗白蟻、抗細菌、抗蟎及抗腫瘤功效，由系列的研究結果證實，臺灣杉心材中萜類 (terpenoids) 的cadinane骨架化合物具有很好的生物活性。以下係將臺灣杉心材中之cadinane倍半萜類化合物生物活性的研究成果整理後作一簡單介紹，以供有興趣之人士參考。

木材之天然耐腐朽性依樹種不同而有很大的差別，這是因為木材的天然耐腐朽性與抽出成分有極大的關係。一般而言，抽出成分的種類、含量與生物活性等深深影響著木材之耐腐朽性，而抽出成分隨樹種不同而有很大的差別，即使在同一樹種中也會因存在部位不同而有所差異。之前，許多研究人員

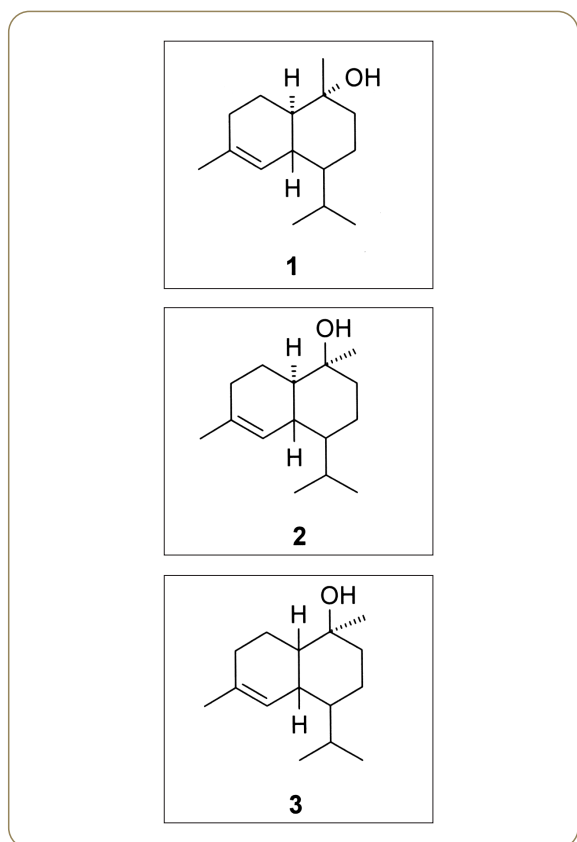
均證實臺灣杉具有極優異的耐腐朽性，可與檜木類木材相媲美。為了瞭解台灣杉之抽出成分與其耐腐朽性的相關性，筆者將台灣杉心材甲醇抽出物以不同極性溶劑初步分離成正己烷可溶部（Hex）、氯仿可溶部（Chl）、乙酸乙酯可溶部（EA）及甲醇可溶部（MeOH），再將各分離部之抽出成分經由矽膠管柱層析、高效能液相層析（high performance liquid chromatography, HPLC）等技術反覆予以分離、純化，然後將抽出物之正己烷可溶部（Hex）、氯仿可溶部（Chl）、乙酸乙酯可溶部（EA）、甲醇可溶部（MeOH）及分離所得之純化合物，以標準菌種：*Laetiporus sulphureus* 褐腐菌與 *Coriolus versicolor*（亦稱為 *Trametes versicolor*）白腐菌進行耐腐朽性試驗，試驗結果以抗菌指數（antifungal index）和抑制50%生長的濃度值（50% inhibition concentration, IC₅₀）表示之。抗菌指數愈大，表示抗菌活性愈強（即抗菌效果愈好）；而抗菌活性愈強，則抑制50%生長的濃度值會愈小。

耐腐朽性試驗結果證實，台灣杉心材甲醇抽出物所分離出 α -cadinol, ferruginol, taiwanin C, savinin, cedrol, helioxanthin, hinokiol 及 sugiol 等對白腐菌（*C. versicolor*）及褐腐菌（*L. sulphureus*）的生長會產生抑制作用；其中， α -cadinol 具有極強之抗腐朽菌活性，於100 μ g/ml 的濃度下可完全抑制 *C. versicolor* 白腐菌及 *L. sulphureus* 褐腐菌的生長。進一步試驗得知， α -cadinol 對 *C. versicolor* 白腐菌和 *L. sulphureus* 褐腐

菌的IC₅₀值分別為30與10 μ g/ml。由此試驗結果推斷，臺灣杉心材中之 α -cadinol 在抵禦腐朽菌的侵略過程中扮演了極重要的角色。事實上，臺灣杉仍有其他cadinane-骨架之倍半萜化合物，如：T-muurolol 及 T-cadinol 等，而這些異構物是否亦同樣具有相同的活性呢？為了釐清不同結構之cadinane類化合物的耐腐朽性，乃分離收集純度高且足夠量之化合物以進行耐腐朽性試驗。在早期如要獲得這些結構極為相似的化合物，因受限於分離技術，較難獲得足量之純化合物供作進一步的測試。所幸，目前HPLC分離技術相當成熟，我們利用半製備級HPLC，以Si-60管柱配合適宜的分離條件，順利收集得 α -cadinol、T-muurolol 及 T-cadinol 等三種同分異構物（圖1）。此cadinane類化合物之耐腐朽性試驗結果如表1所示，由此顯示無論是 *C. versicolor* 白腐菌或 *L. sulphureus* 褐腐菌， α -cadinol 均顯現最佳之抗菌性。進一步分析其立體結構與耐腐朽性之關係，發現cadinane-骨架的兩個六圓環之環狀接合（ring junction）如為反式（*trans*）結合，且C-10位置之羥基（hydroxyl group）位於赤道向（equatorial）之異構物- α -cadinol，無論對 *C. versicolor* 白腐菌或 *L. sulphureus* 褐腐菌均顯現出最佳之耐腐朽性。然而，對 *L. sulphureus* 褐腐菌而言，C-10位置之立體結構就不如環狀接合之組態（configuration）重要，反式結合之 α -cadinol 及 T-cadinol（C-10 hydroxyl group 位於軸向）均表現出良好之抑菌性。既然cadinane類倍半萜具有良好

表1 T-cadinol, T-muurolol和 α -cadinol之抗腐朽菌指數

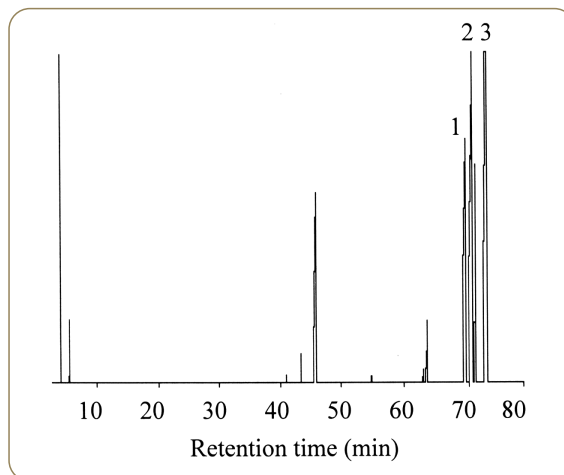
Fungi	T-Cadinol	T-Muurolol	α -Cadinol
<i>Coriolus versicolor</i>	47.1	38.8	100
<i>Laetiporus sulphureus</i>	100	82	100

圖1 台灣杉分離出之 α -cadinol (1), T-cadinol (2)和 T-muurolol (3)的結構式。

之耐腐朽性，我們便進一步利用氣相層析儀 (gas chromatography, GC) 分析並定量臺

表2 3種cadinane類化合物於不同部位台灣杉之相對含量(%)

Extracts	T-Cadinol	T-Muurolol	α -Cadinol	Total cadinane
Essential oils, leaves	3.3	1.2	1.6	6.1
Essential oils, sapwood	8.0	11.7	17.4	37.1
Essential oils, heartwood	12.8	17.1	36.8	66.7
Hexane extractives, heartwood	5.0	7.6	14.8	27.4

圖2 臺灣杉心材精油的GC層析圖。(1) T-cadinol, (2) T-muurolol及(3) α -cadinol。

灣杉不同部位之精油，包括：葉子、邊材和心材以及心材正己烷抽出物之cadinane類倍半萜。圖2為臺灣杉心材精油的GC層析圖，配合積分儀計算而得到3種cadinane類化合物之相對含量 (表2)，結果顯示除了葉子精油外，均是以 α -cadinol的含量最高，T-muurolol次之，T-cadinol最少。在心材中，這些cadinane類化合物之總含量高達66.7%，如換算為相對木材重量百分率，每公斤心材約含有6.49 mg的cadinane類倍半萜。

既然臺灣杉之揮發性成分主要是cadinane骨架之倍半萜，而這些成分具有很好的抗腐朽菌活性，或許亦可能具有其他生物活性。若將臺灣杉木材運用於內裝用材時，是

否可使過敏體質者產生過敏性哮喘、過敏性鼻炎、遺傳過敏性皮膚炎和慢性蕁麻疹等疾病之室塵蟎 (mites) 的生長與活動產生抑制的活性，為一值得探討的主題。於是為了瞭解3個cadinane骨架化合物之同分異構物對常見的歐洲室塵蟎 (*Dermatophagoides pteronyssinus*, 簡稱 *D. p.*) 及美洲室塵蟎 (*Dermatophagoides farinae*, 簡稱 *D. f.*) 之生長與活動是否具有抑制效能，乃進行抗蟎活性 (antimite activity) 之評估。試驗結果顯示，台灣杉心材精油對歐洲室塵蟎 (*D. p.*) 及美洲室塵蟎 (*D. f.*) 均具有致死力，當濃度為 $12.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 時，經過48h試驗，歐洲室塵蟎及美洲室塵蟎的死亡率分別為67.0%及36.7%。台灣杉心材中3個cadinane骨架化合物之同分異構物對歐洲室塵蟎及美洲室塵蟎的死亡率分析結果 (表3) 顯示，其抗蟎活性大小為 α -cadinol > T-muurolol > T-cadinol，由此結果證實 α -cadinol 具最強的抗蟎活性，甚至在濃度低至 $6.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 時，無論對歐洲室塵蟎或美洲室塵蟎均有100%的死亡率。

至於3個cadinane骨架化合物同分異構物之抗細菌活性 (antibacterial activity) 評

估，則以醫藥界廣泛使用的肉湯稀釋法進行抗細菌試驗，所測試之菌種包括大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)、金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 及MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*)。抗細菌試驗結果顯示，此3種化合物對 *E. faecalis* 及 *S. aureus* 2種格蘭氏陽性菌具抑菌效果 (表4)，故再挑選另2種格蘭氏陽性菌 *S. epidermidis* 及MRSA 進行試驗，結果顯示亦具抑菌效果 (表4)。表5為3個cadinane骨架化合物同分異構物之抗細菌活性MIC值， α -cadinol、T-cadinol 及 T-muurolol 對 *E. faecalis*、*S. aureus* 及MRSA 3種格蘭氏陽性菌的抑菌效果均相同，MIC值皆為 $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ ；而對 *S. epidermidis* 的抑菌效果稍差，MIC值為 $500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。此項試驗結果顯示 α -cadinol、T-cadinol 及 T-muurolol 這3個同分異構物的MIC值均落在同一範圍之內，由此顯示三者的抑菌效果差異不大，亦即表示立體結構對抗菌活性的影響不大。

表3 台灣杉心材3種cadinane類化合物對歐洲室塵蟎及美洲室塵蟎的死亡率 (%)

Samples	<i>D. p.</i>				<i>D. f.</i>			
	$12.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$		$6.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$		$12.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$		$6.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
α -Cadinol	100	100	100	100	100	100	100	100
T-Cadinol	50.0	70.0	27.0	27.0	13.3	20.4	13.3	14.1
T-Muurolol	93.3	100	73.3	80.0	80.0	83.3	40.0	56.7



表4 台灣杉精油及3種cadinane類化合物之抑菌性

Bact. / Sample (1000 μ g/ml)	Taiwania heartwood essential oil	α -Cadinol	T-Cadinol	T-Muurolol
<i>E. coli</i>	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-
MRSA	-	-	-	-

註：+表示菌生長良好，無抑菌效果；-表示菌完全無生長，有抑菌效果

表5 台灣杉精油及3種cadinane類化合物抗細菌活性MIC值 (μ g/ml)

Bact. / Sample	Taiwania heartwood essential oil	α -Cadinol	T-Cadinol	T-Muurolol
<i>E. faecalis</i>	250	250	250	250
<i>S. aureus</i>	250	250	250	250
<i>S. epidermidis</i>	1000	500	500	500
MRSA	500	250	250	250

另外，在研究臺灣杉抽出成分的分離過程中，我們發現低極性的抽出成分（正己烷可溶部）與臺灣杉木材香味類似。因此，乃利用矽膠管柱層析將正己烷分離成H1-H41等41個分離部，其中，H12-H24等13個分離部，可直接利用嗅覺感受其香味與臺灣杉木材之特殊香味相似，接者，為了分離及收集之方便，乃選擇含量較高之H13及H20兩個分離部以HPLC作進一步的分離與純化，得到3個具有臺灣杉特殊香味的化合物，再經由質譜、紅外線光譜及核磁共振光譜分析作結構鑑定證實3個化合物分別為T-cadinol、T-muurolol與 α -cadinol，換言之，此3個cadinane倍半萜類化合物所揮發出之氣味即賦予臺灣杉特殊的香味。又誠如前述，這些cadinane類化合物為臺灣杉中含量最豐富的倍半

萜，再加上抗蟻活性與抗細菌活性試驗結果可以證明，若以臺灣杉作為室內裝潢材料，或是使用台灣杉精油作為室內薰香，甚至休閒時沐浴於台灣杉林中，除可享受令人歡愉之芳香氣味外，亦可以抑制有害細菌的孳長及降低引起過敏之室塵蟎的生長與活動，營造更舒適之生活居家環境，有利於人體的身心健康。

除了抗蟻與抗菌效果的研究外，筆者亦進行抗腫瘤活性之評估。首先，先以一種操作簡單、試驗快速、試驗結果具可信度且成本便宜的預先篩選試驗—海蝦致死試驗（brine shrimp lethality test, BST）進行評估。以往的研究結果顯示，抽出成分經海蝦致死試驗結果的LC₅₀值若小於500 μ g/ml時，表示具有抗腫瘤潛力，值得進行後續的

表6 臺灣杉心材3種cadinane類化合物的細胞毒性

Compounds	Cell-line		
	A-549	MCF-7	HT-29
α -Cadinol	3.1 (14.4)	2.5 (11.1)	0.7 (3.0)
T-Cadinol	5.4 (24.5)	2.5 (11.2)	7.9 (35.7)
T-Muurolol	3.2 (14.7)	0.6 (2.7)	1.8 (8.0)
Adriamycin	0.01 (0.02)	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)

^a(): ED₅₀ values in μ g/ml

腫瘤細胞毒性試驗。海蝦致死試驗結果顯示，3種cadinane倍半萜化合物均有繼續進行人類腫瘤細胞毒性試驗 (cytotoxicity test) 的可行性，其LC₅₀值均小於83 μ g/ml，其中，又以 α -cadinol的LC₅₀值最小 (29.7 μ g/ml)。筆者於是更進一步將臺灣杉心材之3種cadinane倍半萜化合物對人類肺癌、乳癌、直腸癌的3種腫瘤細胞株 (即A-549 lung carcinoma, MCF-7 breast adenocarcinoma and HT-29 colon adenocarcinoma) 進行毒性試驗，試驗結果如表6所示。一般而言，純化合物的ED₅₀小於4 μ g/ml 即被視為具有抗腫瘤活性，由表6結果得知，臺灣杉心材成分中之 α -cadinol對HT-29直腸癌腫瘤細胞有顯著的

毒殺活性，而T-muurolol對MCF-7乳癌腫瘤細胞有顯著的毒殺活性。以上研究成果顯示臺灣杉心材中之 α -cadinol與T-muurolol顯現優越之抗腫瘤活性，極具臨床的醫療潛力，值得進行更進一步的試驗與探討，並作結構的修飾 (modification)，使其活性更為顯著。

以上研究成果顯示臺灣杉心材中cadinane倍半萜類化合物具有很好的抗真菌 (抗腐朽菌)、抗細菌、抗蟎及抗腫瘤功效，由此顯示台灣杉抽出成分有潛力供作製造食品添加劑或保健醫藥用品等，至於如何加以開發利用則有待進一步的研究與探討。此外，對於臺灣杉心材中其他抽出成分的生物活性，甚至其他臺灣特有本土樹種如台灣扁柏、臺灣肖楠、土肉桂、相思樹等更值得我們林業研究人員予以重視並積極研究。如能開發臺灣原產重要本土樹種的利用潛能，特別與人類健康、生理機能有關之藥用成分，不但能符合永續經營利用森林的原則，並能賦予林木新的利用方向與價值。▲

參考文獻 (請逕洽作者)