

大本山葡萄抗腸病毒 71 型之研究

摘要

一、緣起：

腸病毒 71 型及克沙奇 B3 型的感染，於 1998 年以來在台灣造成重大的流行及死亡，依衛生署報告統計，約有九萬個報告病例，其中有 320 例為重症病患，其臨床表現以併發腦膜炎及腦炎為主，其中至少有 55 例為死亡病例。腸病毒 71 型及克沙奇 B3 型的感染，目前並無有效治療的藥物，本研究為探討大本山葡萄抗腸病毒 71 型及克沙奇 B3 型之活性及其作用模式。

二、研究目的：

本研究擬探討大本山葡萄抗腸病毒 71 型之活性、作用模式及機制、並對萃取物之有效成分進行初步純化。以大本山葡萄之乾燥根莖作為材料來源，試驗項目包括有最佳萃取溶劑、50%細胞毒性濃度(50% cytotoxic concentration, CC_{50})、50%抑制濃度(50% inhibitory concentration, IC_{50})、選擇指數(selection index, SI)、萃取物對病毒感染時間效應(time course)、介質 pH 對萃取物活性之影響，萃取物對 pH 之穩定性以及萃取物有效成分之初步純化等。以期經由本研究，建立大本山葡萄抗腸病毒 71 型作用之完整科學驗證，以作為開發成為保健食品之重要依據。

三、預期成果：

得到大本山葡萄對抗腸病毒 71 型之最佳萃取物、大本山葡萄萃取物抑制腸病毒 71 型之作用模式及機制

四、結論：

大本山葡萄不同溶劑(水、丙酮、95%乙醇、乙酸乙酯及正己烷)萃取物對橫紋肌肉瘤細胞及綠猴腎上細胞之 50%細胞毒性濃度範圍，分別為 $128.89 \pm 5.50 - 304.64 \pm 16.35 \mu\text{g/ml}$ 及 $107.38 \pm 6.00 - 767.86 \pm 3.03 \mu\text{g/ml}$ 。除正己烷外之四種萃取物均顯示出高度抗腸病毒 71 型及克沙奇 B3 型之活性，其中丙酮萃取物具有最大之活性，對 3 株腸病毒 71 型及 4 株克沙奇 B3 型之 50%抑制濃度範圍(IC50)為 $18.52 \pm 0.42 - 62.81 \pm 4.34 \mu\text{g/ml}$ ，其次為 95%乙醇及乙酸乙酯萃取物，對 3 株腸病毒 71 型及 4 株克沙奇 B3 型之 IC50 範圍分別為 $30.53 \pm 1.01 - 68.35 \pm 3.19 \mu\text{g/ml}$ 及 $39.85 \pm 2.57 - 119.42 \pm 0.96 \mu\text{g/ml}$ 。丙酮萃取物有最高之選擇指數(SI)，對 3 株腸病毒 71 型及 4 株克沙奇 B3 型 SI 範圍為 3.00-6.96，95%乙醇及乙酸乙酯萃取物次之。於腸病毒 71 型 VR784 感染細胞前 2 h 至感染細胞後 4 h 加入丙酮萃取物， $62.5 \mu\text{g/ml}$ 之抑制率為 $77.89 \pm 3.15 - 61.18 \pm 11.87\%$ ，具有預防、抑制病毒感染及早期複製之作用。於克沙奇 B3 型 KMH-92225 感染細胞後 1-12 h 加入萃取物($62.5 \mu\text{g/ml}$)，抑

制率為 $92.79 \pm 5.62 - 65.39 \pm 4.84\%$ ，具有高度抑制病毒之複製作用。萃取物對腸病毒 71 型 VR784 及克沙奇 B3 型 KMUH-92225 之作用均為劑量依賴型。大本山葡萄丙酮萃取物於 pH 7-8 之環境中對 EV71 VR784 及 CVB3 KMUH-92225 之活性不受影響，pH 6 時則稍降低。萃取物之穩定性隨處理之 pH 降低而下降，對腸病毒之抑制率分別由 pH 8 處理之 $77.08 \pm 4.12\%$ (EV71 VR784) 及 $90.36 \pm 6.51\%$ (CVB3 KMUH-92225) 降低至 pH 2 之 $50.47 \pm 3.22\%$ (EV71 VR784) 及 $55.22 \pm 1.15\%$ (CVB3 KMUH-92225)。甲醇及正己烷區分物未顯示出較區分前更好之抑制腸病毒活性。