

# 臺灣原生絞股藍之總絞股藍皂苷含量分析 暨其試製產品之毒理試驗研究<sup>1</sup>

秦昊宸<sup>2</sup>、陳盈君<sup>2</sup>、張隆仁<sup>2</sup>

## 摘 要

本研究主要目的，在於調查臺灣原生絞股藍植株，其總絞股藍皂苷之含量，以期能篩選得一生長快速，且含高量絞股藍皂苷之絞股藍植株，以做為未來進一步進行組織培養，大量生產瓶苗，及開發含絞股藍成份保健產品之基礎。本研究同時也確立了1套以分光光度計法施作，可符合美國藥典(USP)確效標準之總絞股藍皂苷含量分析方法；期能透過該品管方法之建立，俾能在未來，有利於絞股藍此一素材在保健產業之應用。同時，鑑於絞股藍相關之保健食品在坊間較少以膠囊劑型存在，本研究亦針對一個由本場自行開發，含絞股藍萃取物之膠囊產品，進行急毒性及Ames試驗，結果均呈現陰性反應。

**關鍵詞：**絞股藍、絞股藍皂苷、毒性。

## 前 言

絞股藍為葫蘆科(*Cucurbitaceae*)植物絞股藍(*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino.)之根狀莖或全草。分佈於中國大陸南部地區及陝西、甘肅等省，日本九州及北海道，以及韓國、東南亞一帶，臺灣亦有生產。絞股藍的保健功效自古即有記載<sup>(1,18)</sup>，其能清熱解毒，生津止嗽，潤肺，祛痰化癥，消炎鎮痛，滋補強壯。而晚近的科學研究亦發現，絞股藍在抗氧化<sup>(3,30,40)</sup>、抗癌<sup>(5,6,9,12,14,20,22,27,33,34,46)</sup>、抗衰老<sup>(4)</sup>、抗疲勞<sup>(8)</sup>、保肝<sup>(7,13,15,16,17,21,23,31,32)</sup>、降血脂<sup>(2,35,36,41)</sup>、增強免疫力<sup>(11,26,27,39,42,44)</sup>、過敏體質調節<sup>(28)</sup>、心血管疾病預防<sup>(24)</sup>、保護胃黏膜<sup>(38)</sup>，與降血糖<sup>(19,25,37,43,45)</sup>等方面，均有相當不錯的成效。

雖已經長期且大量使用，但至今對於臺灣地區採集之絞股藍材料中，主要功效成份，總絞股藍皂苷(gypenosides)之含量，卻尚未有相關之調查研究報告。為篩選一生長快速，且含高量總絞股藍皂苷之絞股藍植株，以做為未來大量生產瓶苗之基礎，本研究針對不同之臺灣原生絞股藍品系，進行總絞股藍皂苷含量之分析。此外，為使有「南方人參」美譽之稱的絞股藍，在保健產業上能有更廣泛的應用，本研究亦嘗試確立一套供絞股藍原料品管之方法，並針對本場所開發之一個含絞股藍原料之保健產品，進行相關之毒性試驗。

<sup>1</sup>行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0722 號。

<sup>2</sup>行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員、助理研究員、副研究員。

## 材料與方法

### 種原收集與樣品處理

絞股藍種原係由國立自然科學博物館嚴新富博士提供。蒐集之種原以泥炭土為介質，盆栽方式栽培繁殖於本場溫室。選取生長良好植株(栽植年齡1.5個月，於二月份採收)之地上部，以熱風烘箱55°C乾燥後，作為測定絞股藍總皂苷含量之材料。

### 總絞股藍皂苷含量分析方法

本試驗以人參皂苷Rg 1為比對標準品。取10 mg/ml之標準品溶液500  $\mu$ l，以甲醇稀釋至2 ml，得濃度約為2,500  $\mu$ g/ml，此為標準品儲備溶液。再分別取不同體積之分析標準品溶液至10 ml有蓋試管中，吹乾溶劑，再加入5%香草醛冰醋酸溶液0.2 ml，過氯酸0.8 ml，加蓋搖晃均勻，以60°C水浴加熱15分鐘，冷卻至室溫後加入5 ml冰醋酸，依序製備成最終濃度分別為50、100、150、200、250及300  $\mu$ g/ml之檢量線分析溶液。

精確秤取1.5 g之絞股藍乾品，裝入濾筒，放置於索氏萃取器中，加入40 ml氯仿，加熱回流至萃取液呈無色。移除氯仿萃取液，並使殘留之氯仿揮發至乾後，將樣品殘渣連同濾筒放入有蓋之錐形瓶中，加入50 ml正丁醇後秤重，以超音波震盪30分鐘，冷卻至室溫後再次秤重，並以正丁醇補足散失的重量。量取20 ml正丁醇萃取液蒸發至乾，以甲醇溶洗殘渣並移至10 ml定量瓶中，以甲醇定量至10 ml，此為分析樣品儲備溶液。然後取樣品儲備溶液120  $\mu$ l至10 ml有蓋試管中，吹乾溶劑，再加入5%香草醛冰醋酸溶液0.2 ml，過氯酸0.8 ml，加蓋搖晃均勻，以60°C水浴加熱15分鐘，冷卻至室溫後加入5 ml冰醋酸，作為樣品分析溶液。於550 nm波長下，分析樣品中之總絞股藍皂苷含量。

### 總絞股藍皂苷含量分析確效指標及執行方法

配製六種不同濃度的Rg 1標準品溶液，由低至高各檢測三次，以濃度為x軸，吸光度為y軸，做線性迴歸，得最佳線性程式 $y = ax + b$ 及其相關係數 $r^2$ 。相關係數 $r^2$ 應大於0.995以上。接著配製三種不同濃度之標準品溶液，各重複分析2次，以線性迴歸算出結果，求得濃度，並計算回收率。

另進行精密度試驗。1.注入重複性：配製一已知濃度之標準品，重複注入七次。所得吸光度之CV% 應小於2%；2.分析重複性：配製三種不同濃度，但在檢量線線性範圍內之標準品溶液，各重複分析2次，所得吸光度之CV% 應小於2%；3.中間性精密度：執行試驗時，以不同批號之試劑，各進行2次分析，以比較兩組不同人員之分析差異。最後進行穩定性試驗，取已知濃度之標準品，分別於指定的時間內，進行處理後分析，以比較儲備溶液之穩定性。此六個時間點所得吸光度之CV%應小於5%。

### 急毒性大鼠口服投予試驗(極限)

本試驗目的，是在觀察由本場自行開發含絞股藍萃取物之膠囊產品，經口服投予單一劑量(5,000 mg/kg)至大鼠後所可能引發之急毒性變化。本試驗以Sprague-Dawley (SD)大鼠(雌雄各6隻)為供試動物，飼料與飲水均為自由攝取。

試驗開始前，動物需禁食8小時以上，試驗開始當日口服投予一次。試驗物質以注射用蒸餾水，配製成500 mg/ml 後進行投予；對照組則投予注射用蒸餾水。試驗期間每日進行臨床觀察，並記錄動物是否有其他臨床症狀或死亡。試驗結束時，所有存活的動物，經麻醉後犧牲進行剖檢，以肉眼檢查外觀、口腔、顱腔及胸、腹腔內所有組織器官並做成紀錄。

#### 沙門氏菌回復突變試驗

本試驗依據OECD guideline 471進行，試驗使用之沙門氏菌株學名分別為TA97a、TA98、TA100、TA102及TA1535，此五菌株皆為組氨酸之營養缺陷株，菌株購自Discovery Partners International, SanDiego, CA, U.S.A；菌株鑑定方式以菌株對於組氨酸之需求性，抗生素ampicillin、tetracyclin的敏感性，以及紫外光、結晶紫對於菌株的生長抑制性來做判定。本試驗之肝臟活化酵素使用Moltox公司之S-9，酵素混合液，配方如下：每毫升S-9混合液含 $\beta$ -NADP (4 mM)、glucose-6-phosphate (5 mM)、MgCl<sub>2</sub> (8 mM)、KCl (33 mM)、sodium phosphate buffer (100 mM)、S9 fraction (40  $\mu$ l/ml)。

本試驗之測試組別為7組，分為不加S-9混合液，及加S-9混合液兩大類，共為14組。各劑量組及正、負對照組皆三重覆試驗。待確認供試菌株後，以無菌水調整供試物質濃度，使最終劑量為5、2.5、1.25、0.625、0.3125 ml/plate，將供試物質添加於培養基上預放之無菌紙錠(直徑0.6 cm之濾紙)，經培養24至48小時後，觀察紙錠周圍是否有產生抑菌環(細胞毒性)或大量菌落形成之環帶(致變性)，並計算每個劑量組以及正、負對照組之回復突變菌落，並取其三重覆培養皿之菌落平均數及標準差。

## 結果與討論

### 分析確效測試結果

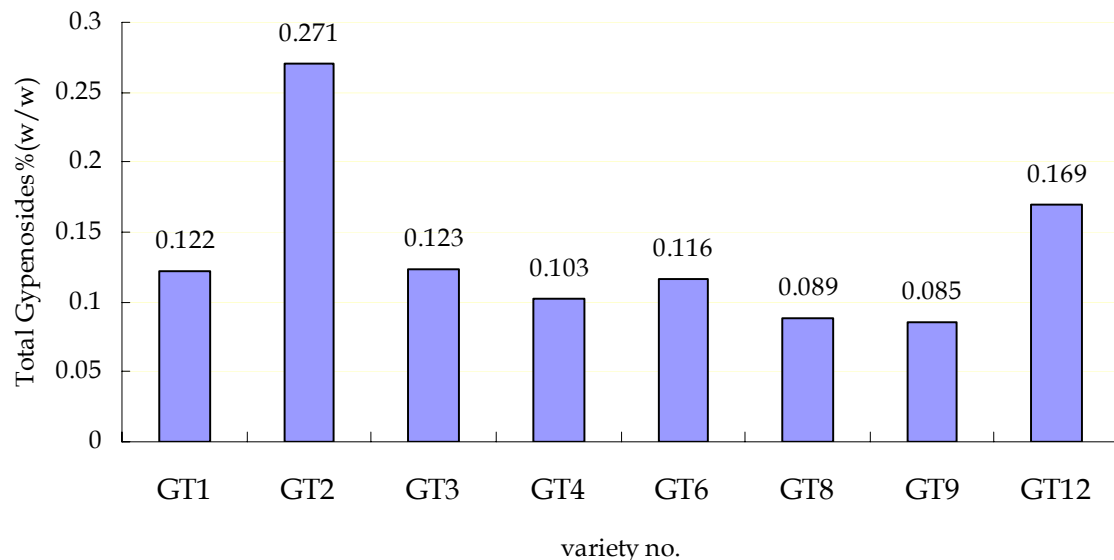
本試驗結果可得最佳線性程式 $y = 0.0035x - 0.0219$ ，及其相關係數 $r^2 = 0.9988$ ，此符合先前對於「線性及其範圍」條件之設定 $r^2 > 0.995$ 。在準確度方面，三次試驗之回收率分別為102.7%、99.1%、98.5%，可得平均回收率為100.1%，合於回收率須介於90%~110%之要求。

精密度測試部分，注入重複性之CV%值為0.04%；分析重複性則不論在低、中、或高濃度下，其CV%值均小於2.0%，合於規範，中間精密度為1.87%，亦符合相關規範的要求。穩定性試驗可求得CV%值為4.07%，亦可達到小於5.0%的要求。由試驗結果可知，本次使用於總絞股藍皂苷含量測定所使用之方法，能符合美國藥典(USP)之確效標準。

### 臺灣原生絞股藍之總絞股藍皂苷含量分析結果

以經過確效的總絞股藍皂苷含量測定方法，針對不同品系之臺灣原生絞股藍，進行總絞股藍皂苷含量之分析，分別得如下表結果(圖一)。

由試驗結果得知，以於GT2品系能測得最高的總絞股藍皂苷含量值，可考慮日後做為進一步進行組織培養，大量生產瓶苗所使用之植株。



圖一、不同品系臺灣原生絞股藍總絞股藍皂苷含量之分析結果。

Fig. 1. Gypenosides content in different lines of Taiwan native *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino.

#### 急毒性大鼠口服投予試驗結果

試驗結果顯示，試驗期間各劑量組與對照組皆無發現任何臨床症狀。而在死亡率方面，試驗期間各劑量組與對照組皆無發現大鼠死亡的情形；同時，在體重與飼料攝取量方面，各劑量組之大鼠體重與對照組相較，亦無顯著差異。而各劑量組與對照組於試驗結束後，均無發現任何肉眼可觀察之病變。因此，根據本試驗結果，此一由本場自行開發，含絞股藍萃取物之膠囊產品，在劑量5,000 mg/kg 時，對大鼠並未產生相關之毒性反應。

#### 沙門氏菌回復突變試驗結果

試驗結果顯示，本試驗所使用的5個菌株*S. typhimurium* TA97a、TA98、TA100、TA102及TA1535，其基因型皆符合本試驗所需(表一)。

表一、沙門氏菌回復突變試驗菌株之基因型鑑定結果

Table 1. Genotyping results of bacterial strains for Ames test

	Histidine requirement	$\Delta uvr B$ mutation	<i>rfa</i> mutation	ampicillin resistance	tetracycline resistance
TA97a	+	+	+	+	-
TA98	+	+	+	+	-
TA100	+	+	+	+	-
TA102	+	-	+	+	+
TA1535	+	+	+	-	-

+: Yes; -: No.

本次試驗所有組別之負對照組其自發性突變菌落平均數，均落在有效範圍內；而正對照組所引起的回復突變菌落數也均符合試驗要求，所以本次試驗之數據皆為有效數據。同時，本試驗中各濃度之供試物質於添加S-9或未添加S-9活化處理後，觀察TA97a、TA98、TA100、TA102及TA1535五株試驗菌株所產生的回復突變菌落數結果顯示：TA97a、TA98、TA100及TA102之回復突變菌落數未達負對照組之2倍以上，而TA1535亦未達3倍以上(表二)。這意謂劑量濃度為5、2.5、1.25、0.625、0.3125 ml/plate之供試物質(含絞股藍萃取物之膠囊產品)，無論有無經過大鼠肝臟酵素活化過程，五株試驗菌株TA97a、TA98、TA100、TA102及TA1535之回復突變菌落數與負對照組相比較，皆未達陽性反應判定標準。所以在本試驗條件下，本場自行開發之含絞股藍萃取物膠囊產品，於沙門氏菌回復突變試驗之結果判定為陰性反應。

表二、沙門氏菌菌株回復突變試驗結果

Table 2. Results of Ames test for Jiao Gu Lan extract contained health product

Test material (mg/plate)	TA97a	TA98a	TA100	TA102	TA1535
5	152 ± 7	25 ± 8	142 ± 15	480 ± 22	12 ± 2
2.5	153 ± 14	19 ± 4	148 ± 4	469 ± 22	12 ± 4
1.25	142 ± 4	29 ± 1	155 ± 16	458 ± 14	10 ± 1
S9 - 0.625	154 ± 14	19 ± 1	132 ± 15	429 ± 23	8 ± 3
0.3125	152 ± 7	21 ± 2	133 ± 15	464 ± 3	12 ± 2
Negative control <sup>1</sup>	144 ± 10	19 ± 6	165 ± 20	416 ± 36	9 ± 2
Postive control <sup>2,3</sup>	899 ± 49	411 ± 27	540 ± 3	1371 ± 56	314 ± 27
5	185 ± 5	24 ± 5	177 ± 9	545 ± 28	18 ± 4
2.5	189 ± 17	30 ± 5	174 ± 7	521 ± 30	16 ± 6
1.25	195 ± 13	30 ± 9	183 ± 16	510 ± 11	16 ± 4
S9 + 0.625	182 ± 21	32 ± 3	177 ± 27	522 ± 16	11 ± 1
0.3125	201 ± 7	29 ± 6	157 ± 12	531 ± 4	17 ± 6
Negative control <sup>1</sup>	184 ± 2	35 ± 8	189 ± 8	485 ± 20	17 ± 3
Postive control <sup>2,3</sup>	388 ± 28	139 ± 18	405 ± 49	1332 ± 86	135 ± 25

<sup>1</sup> The negative control reference substance was 20% DMSO solution

<sup>2</sup> The positive control reference substances were selected on the basis of the type of bacterial strains used. The following chemicals were used as positive control substances for assays without or with metabolic activation.

<sup>3</sup> The positive control articles caused more than two-fold increase in revertant colonies on TA 97a, TA98a, TA100 and TA102 ; more than three-fold increase in revertant colonies on TA1535.

本研究以絞股藍為試驗材料，已初步開發出一個含絞股藍原料且安全可供食用之膠囊型保健食品，與一個可供前述產品品管並經確效完成之總絞股藍皂苷含量分析方法。

## 誌 謝

感謝國立自然科學博物館嚴新富博士協助採集與提供材料，並感謝臺中區農業改良場張嫻君小姐協助樣品之處理，俾使本研究能順利完成，特申謝忱。

## 參考文獻

1. 王貴芳、陳榮洲、曾麗娟 2002 絞股藍之藥理學與臨床應用文獻綜述 中西整合醫學雜誌 4(1): 17-26。
2. 王樹桂、潘瑩 2005 複方絞股藍膠囊對高脂血症小鼠血脂的影響 廣西中醫藥 28(3): 54-55。
3. 王曉聞、章華平、陳峰 2009 絞股藍粗提物抗氧化活性研究 河北農業科學13(5): 31-32。
4. 安麗霞、趙俊 2007 絞股藍總皂甙對衰老小鼠DNA損傷的影響 中獸醫醫藥雜誌 26(6): 16-20。
5. 呂旭峰、陳宜珊 2008 絞股藍皂苷活化創蛋白3與9造成A-549人類肺癌細胞於G0/G1期凋零 傳統醫學雜誌 19(2): 103-121。
6. 宋淑亮、肖增平、吉愛國、梁浩、王偉莉、王允山 2008 絞股藍多糖對HepG2細胞酒精性損傷的保護作用 中國生化藥物雜誌 29(5): 302-305。
7. 肖增平、吉愛國、宋淑亮、梁浩、劉瑩瑩 2008 絞股藍多糖對小鼠四氯化碳肝損傷的保護作用 中國生化藥物雜誌 29(3): 186-188。
8. 李雅晶、茹建甫 2009 絞股藍複合液對小鼠抗運動疲勞能力的影響 安徽農業科學 37(29): 14200-14201。
9. 吳景東、李德新 2006 絞股藍延緩大鼠皮膚衰老作用的實驗研究 中華中醫藥學刊 24(7): 1226-1227。
10. 洪培修 2001 絞股藍總皂甙誘導肝癌細胞株細胞凋亡之研究 中國醫藥大學中國醫學研究所 碩士論文。
11. 柳玉萍、于淼、李琳、尹祥敏 2009 絞股藍總皂甙鎮咳祛痰及免疫增強作用研究 遼寧中醫藥大學學報 11(5): 199-200。
12. 徐卉瑩 2007 絞股藍皂甙藉由粒線體活化路徑誘導人類血癌細胞株(HL-60)和小鼠血癌細胞株(WEHI-3)產生細胞凋亡 臺中中國醫藥大學生物科技學系 碩士論文。
13. 陳明和 1997 絞股藍皂甙複方對四氯化碳誘發大白鼠慢性肝損傷及抗氧化作用的研究 中國醫藥大學中國醫學研究所 碩士論文。
14. 陳貴珠 1998 絞股藍總皂甙及柴胡皂甙-A對乳癌細胞株作用機轉探討 中國醫藥大學中國醫學研究所 碩士論文。
15. 陳榮洲、王穩創、蔡金川、陳立德 1999 絞股藍皂甙複方對四氯化碳和半乳糖氨誘發大白鼠急性肝中毒之治療效果 中醫藥雜誌 10(4): 231-247。
16. 陳榮洲、陳明和 2004 絞股藍皂甙合聯苯雙脂對四氯化碳誘導大白鼠慢性肝損傷的保肝抗肝纖維化及抗氧化作用 中西整合醫學雜誌 6(1): 69-88。
17. 陳明和、王貴芳、徐士蘭、許令宜、謝小燕、王穩創、劉怡文、陳淑幸、陳榮洲 2007 絞股藍皂甙對培養大白鼠肝星狀細胞的抑制增生作用 中西整合醫學雜誌 9(1):1-10。

18. 潘一紅 2001 中草藥與肝病之治療系列(9)：窮人吃的人參--絞股藍 化工資訊月刊 15(7): 80-82。
19. 譚華炳、賀琴 2008 絞股藍防治代謝綜合征研究進展 遼寧中醫雜誌 35(7): 1115-1116。
20. Chen, J. C., J. G. Chung and L. D. Chen. 1999. Gypenoside induces apoptosis in human Hep3B and HA22T tumour cells. *Cytobios.* 100(393): 37-48.
21. Chen, J. C., C. C. Tsai, L. D. Chen, H. H. Chen and W. C. Wang. 2000. Therapeutic effect of gypenoside on chronic liver injury and fibrosis induced by CCl<sub>4</sub> in rats. *Am. J. Chin. Med.* 28(2): 175-185.
22. Chen, Z. L., Y. Q. Guan, X. Chen, X. L. Chen and J. C. Chen. 2004. Effect of Chinese herbal medicine 1023 Recipe in blocking cancer transformation of experimental precancerous lesion and its mechanism. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao.* 2(4): 281-284.
23. Chou, S. C., K. W. Chen, J. S. Hwang, W. T. Lu, Y. Y. Chu, J. D. Lin, H. J. Chang and L. C. See. 2006. The add-on effects of *Gynostemma pentaphyllum* on nonalcoholic fatty liver disease. *Altern. Ther. Health Med.* 12(3): 34-39.
24. Circosta, C., P. R. De and F. Occhiuto. 2005. Cardiovascular effects of the aqueous extract of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomedicine.* 12(9): 638-643.
25. Hoa, N. K., D. V. Phan, N. D. Thuan and C. G. Ostenson. 2009. Screening of the hypoglycemic effect of eight vietnamese herbal drugs. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 31(3): 165-169.
26. Hou, J., S. Liu, Z. Ma, X. Lang, J. Wang, J. Wang and Z. Liang, 1991. Effects of *Gynostemma pentaphyllum* Makino on the immunological function of cancer patients. *J. Tradit. Chin. Med.* 11(1): 47-52.
27. Huang, W. C., M. L. Kuo, M. L. Li, R. C. Yang, C. J. Liou and J. J. Shen. 2007. Extract of *Gynostemma pentaphyllum* enhanced the production of antibodies and cytokines in mice. *Yakugaku Zasshi.* 127(5): 889-896.
28. Huang, W. C., M. L. Kuo, M. L. Li, R. C. Yang, C. J. Liou and J. J. Shen. 2008. *Gynostemma pentaphyllum* decreases allergic reactions in a murine asthmatic model. *Am. J. Chin. Med.* 36(3): 579-592.
29. Kulwat, C., N. Lertprasertsuke, P. Leechanachai, P. Kongtawelert and U. Vinitketkumnien. 2005. Antimutagenicity and DT-diaphorase inducing activity of *Gynostemma pentaphyllum* Makino extract. *J. Med. Invest.* 52(3-4): 145-150.
30. Li, L., L. Jiao and B. H. Lau. 1993. Protective effect of gypenosides against oxidative stress in phagocytes, vascular endothelial cells and liver microsomes. *Cancer Biother.* 8(3): 263-272.

31. Lin, J. M., C. C. Lin, H. F. Chiu, J. J. Yang and S. G. Lee. 1993. Evaluation of the anti-inflammatory and liver-protective effects of *Anoectochilus formosanus*, *Ganoderma lucidum* and *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *Am. J. Chin. Med.* 21(1): 59-69.
32. Lin, C. C., P. C. Huang and J. M. Lin. 2000. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Anoectochilus formosanus* and *Gynostemma pentaphyllum*. *Am. J. Chin. Med.* 28(1): 87-96.
33. Lu, H. F., Y. S. Chen, J. S. Yang, J. C. Chen, K. W. Lu, T. H. Chiu, K. C. Liu, C. C. Yeh, G. W. Chen, H. J. Lin and J. G. Chung. 2008. Gypenosides induced G0/G1 arrest via inhibition of cyclin E and induction of apoptosis via activation of caspases-3 and -9 in human lung cancer A-549 cells. *In Vivo.* 22(2): 215-221.
34. Lu, K. W., M. L. Tsai, J. C. Chen, S. C. Hsu, T. C. Hsia, M. W. Lin, A. C. Huang, Y. H. Chang, S. W. Ip, H. F. Lu and J. G. Chung. 2008. Gypenosides inhibited invasion and migration of human tongue cancer SCC4 cells through down-regulation of NFkappaB and matrix metalloproteinase-9. *Anticancer Res.* 28(2A): 1093-1099.
35. Megalli, S., F. Aktan, N. M. Davies and B. D. Roufogalis. 2005. Phytopreventative anti-hyperlipidemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *J. Pharm. Sci.* 8(3): 507-515.
36. Megalli, S., N. M. Davies and B. D. Roufogalis. 2006. Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in the Zucker fatty rat. *J. Pharm. Sci.* 9(3): 281-291.
37. Norberg, A., N. K. Hoa, E. Liepinsh, Phan. D. Van, N. D. Thuan, H. Jörnvall, R. Sillard and C. G. Ostenson. 2004. A novel insulin-releasing substance, phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum*. *J. Biol. Chem.* 279(40): 41361-41367.
38. Rujjanawate, C., D. Kanjanapothi and D. Amornlerdpison. 2004. The anti-gastric ulcer effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomedicine.* 11(5): 431-435.
39. Suntararuks, S., N. Yoopan, N. Rangkadilok, L. Worasuttayangkurn, S. Nookabkaew and J. Satayavivad. 2008. Immunomodulatory effects of cadmium and *Gynostemma pentaphyllum* herbal tea on rat splenocyte proliferation. *J. Agric. Food Chem.* 56(19): 9305-9311.
40. Wang, M., J. R. Liu, J. M. Gao, J. W. Parry and Y. M. Wei. 2009. Antioxidant activity of Tartary buckwheat bran extract and its effect on the lipid profile of hyperlipidemic rats. *J. Agric. Food Chem.* 57(11): 5106-5112.
41. Wu, Q. H., Y. H. Xing, X. L. Rong and P. Huang. 2007. Influence of FPS on the expression of LDL-R mRNA in the liver tissues of hyperlipidemic rats. *Zhong Yao Cai.* 30(8): 968-970.
42. Yang, X., Y. Zhao, Y. Yang and Y. Ruan. 2008. Isolation and characterization of immunostimulatory polysaccharide from an herb tea, *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *J. Agric. Food Chem.* 56(16): 6905-6909.



43. Yeo, J., Y. J. Kang, S. M. Jeon, U. J. Jung, M. K. Lee, H. Song and M. S. Choi. 2008. Potential hypoglycemic effect of an ethanol extract of *Gynostemma pentaphyllum* in C57BL/KsJ-db/db mice. *J. Med. Food*. 11(4): 709-716.
44. Zhang, C., X. Yang and L. Xu. 1990. Immunomodulatory action of the total saponin of *Gynostemma pentaphylla*. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 10(2): 96-98, 69-70.
45. Zhang, H. J., B. P. Ji, G. Chen, F. Zhou, Y. C. Luo, H. Q. Yu, F. Y. Gao, Z. P. Zhang and H. Y. Li. 2009. A combination of grape seed-derived procyanidins and gypenosides alleviates insulin resistance in mice and HepG2 cells. *J. Food Sci*. 74(1): H1-7.
46. Zhou, Z., G. Tang and W. Zhong. 2000. Experimental study on the influence of *Gynostemma pentaphyllam* Mak upon point mutation of Ha-ras oncogene in blocking leukoplakia from canceration. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 35(2): 91-94.

# Analysis of Gypenoside Content in Taiwan native *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino and Toxicity Test of a Health Product Use Thereof<sup>1</sup>

Hao-Chen Chin<sup>2</sup>, Ying-Chun Chen<sup>2</sup> and Long-Zen Chang<sup>2</sup>

## ABSTRACT

Jiao Gu Lan (*Gynostemma pentaphyllum*) has a distinguished historical use in Chinese medicine and is ascribed to a number of medicinal properties and functional support as a dietary supplement. In this study, we investigated the gypenoside content of locally collected *Gynostemma pentaphyllum* to screen for a high-gypenoside content plant as a model plant for developing an in vitro cultural system for mass production of plantlets, and to develop health products thereof. We have also verified a method of analysis for quantifying gypenoside content of *Gynostemma pentaphyllum* by USP standard. Furthermore, we evaluated the acute toxicity and genotoxicity of a health product containing *Gynostemma pentaphyllum* extract made by our lab. The results of animal and Ames tests show that the formula is safe to further develop the prototype into a dietary supplement product.

**Key words:** *Gynostemma pentaphyllum*, gypenoside, toxicity.

---

<sup>1</sup>Contribution No. 0722 from Taichung DARES, COA.

<sup>2</sup>Assistant Researcher, Assistant Researcher and Associate Agronomist of Taichung DARES, COA.