

嘉南藥理科技大學 98 年度教師專題研究計畫成果報告

高多酚類含量之原生種蔬菜的生物活性評估之二

高多酚類原生種蔬菜之抗致突變性以及對於鐵誘導之肝臟氧化傷害
的保護及 GST 酵素活性的影響(子計畫)

執行期間：98 年 1 月 1 日 至 98 年 12 月 31 日

重點研究總計畫主持人：保健營養系 蕭慧美副教授

子計畫二主持人：保健營養系 蕭慧美副教授

子計畫二協同主持人：保健營養系 康志強助理教授

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

嘉南藥理科技大學 98 年度教師專題研究計畫成果報告

第一部份：高多酚類蔬菜之致突變性及抗致突變性之研究

執行期間：98 年 1 月 1 日 至 98 年 12 月 31 日

計畫主持人：康志強

執行單位：嘉南藥理科技大學保健營養系

一、中文摘要

本研究使用安氏試驗法 (Ames test)，探討獼猴木及香蓼水萃取物對鼠傷寒沙門氏菌 (*S. typhimurium*) TA100 基因毒性的影響。結果顯示，在所選取的劑量範圍 (1~250 μ g/plate) 內，獼猴木及香蓼水萃取物對 *S. typhimurium* TA100 均不具毒性及致突變性。由此可知，獼猴木及香蓼水萃取物之成份中並無直接型之致突變性物質存在。獼猴木及香蓼水萃取物在所選取之濃度下 (0.1~50 μ g/plate) 對 4-NQO 誘導沙門氏菌 TA100 致突變性均有抑制作用，其抑制百分比分別為 30.6~60.7 % 及 7.4~44.6%。

關鍵詞：獼猴木、香蓼、安氏試驗法、基因毒性

Abstract

In the present study, water extracts from *Adansonia digitata* and Vietnamese coriander were evaluated for their genotoxicity characteristics by Ames test using *S. typhimurium* TA100. The results showed that at 1~250 μ g/plate, water extracts of *Adansonia digitata* and Vietnamese coriander had no toxicity and mutagenicity to *Salmonella typhimurium* TA100. Furthermore, it could suppress the base pair-substitution mutations generated by 4-quinoline 1-oxide (4-NQO).

Key words: *Adansonia digitata*, Vietnamese coriander, Ames test, genotoxicity

二、緣由與目的

根據流行病學研究顯示，癌症已是國人十大死亡原因的第一位，平均每 8 分 15 秒就新增一名癌症病患。癌症之病因多為長期接觸致癌因子如香菸、

病毒、食物及環境因素所發展出來的一種慢性病。預防癌症的發生可以經由減少接觸致癌物及增加飲食中有助於癌症發生之活性成分。近年來流行病學研究指出多食用水果和蔬菜與減低癌症之發生率有關。蔬菜、水果及許多天然植物中含有許多具有增進身體機能的有效物質，這些有效成分或許在預防癌症的發生過程中扮演重要角色。因此，從天然物中尋求具有預防或控制癌症之有效物質與探討其相關作用機制就更具有重要意義。

多酚類具有抗氧化能力，植物所含之多酚類含量越高其體外試驗之抗氧化能力包括 DPPH 清除力、還原能力等也越高。許多文獻皆指出植物多酚類具有提升動物抗氧化力與調節抗氧化酵素活性包括 SOD, GPX 與 catalase 等。有些多酚類具有抗基因毒性 (antigenotoxic)，有時也會影響解毒酵素系統之酵素活性 (Szaefer et al. 2008, Rodeiro et al. 2008, Krajka-Kuzniak et al. 2004) 進而導致其化學保護效應。由於本實驗選用數種已知含有高量多酚類且具有高抗氧化活性的原生種蔬菜 (Yang et al. 2006, 2008)，然而這些原生種蔬菜中亦含有許多未知功能的生物鹼，而生物鹼為植物界廣泛存在的二次代謝產物，具有強大的生理活性，常是許多蔬果及中草藥的有效或

有毒成分。因此，本研究主要是以安氏試驗法 (Ames test) 為模式系統，進行富含多酚類的特定原生種蔬菜之致突變性及抗致突變性之安全評估，以期能進一步提供富含多酚類的特定原生種蔬菜在抗致突變或癌症化學預防上之進一步學理基礎研究。

三、材料與方法

(一) 研究材料:

獼猴木及香蓼水萃取物由亞蔬楊瑞玉博士提供。

(二) 致突變物標準品:

4-NQO 由 Sigma 公司購得。

(三) 測定致突變性之菌種：

本實驗使用 histidine 需求(His⁻)之 *Salmonella typhimurium* TA100 菌種，由霧峰農藥毒物試驗所游碧瑋博士提供。每隔兩個月測定一次基因標記以確定菌種的正常性。其它藥品 NADP⁺, G-6-P 其它進行致突變性分析的藥品和萃取純化分析之有機溶劑均購自美國 Sigma 公司。

(四) 致突變性試驗

致突變性之測定係以安氏檢定法進行 (Maron 和 Ames, 1983)，在 2ml

的上層瓊脂 (top agar) 中依序加入適當濃度之樣品 0.1ml、經隔夜培養於營養肉汁之新鮮沙門氏菌變異株 0.1ml 及添加或不添加鼠肝 S9 混合液 0.5ml，均勻混合後倒入最低葡萄糖瓊脂培養皿 (minimal glucose agar plate) 中搖勻，待凝固後置於 37°C 的培養箱中，48 小時後計算回復突變菌落數 (revertants)，回復突變菌落數愈高表示致突變性愈強。每一試驗並使用已知致突變劑 4-NQO 作為正控制組，並使用 0.1ml DMSO 作為負控制組。致突變性之判斷是試驗組(添加樣品)之菌落數為對照組兩倍以上，並有劑量反應之關係。

(五) 抗致突變性試驗

抗致突變性試驗是由安氏試驗法衍生而來，步驟如下：取一試管加入 2ml 已溶解之頂層洋菜(含 0.05mM 組胺酸；0.005 mM 生物素及 0.09M 氯化鈉)，再依序加入試驗樣品、0.1 ml 經隔夜培養於營養肉汁之新鮮沙門氏菌變異株、0.1 ml 致突變標準品，將上述物質混合均勻後，倒入最低葡萄

糖瓊脂培養皿中搖勻，在 37°C 下培養 48 小時後計算回復突變菌落數。

抗突變性以抑制百分比 (percent inhibition) 表示，計算方式如下：

$$\text{抗突變性百分比(\%)} = 1 - [(B-C) / (A-C)] \times 100$$

A：添加致突變物標準品之回復突變菌落數

B：添加致突變物標準品及樣品之回復突變菌落數

C：自然回復突變菌落數

四、結果與討論

(一) 獼猴木及香蓼水萃取物之致突變性

以安氏試驗法利用 *S. typhimurium* TA98 和 TA100 測試獼猴木及香蓼水萃取物之毒性試驗。結果顯示，在所選取的劑量範圍 (1~250 μ g/plate) 內，獼猴木及香蓼水萃取物對 *S. typhimurium* TA100 菌數均維持在對照組之 90% 以上 (如表一所示)。由此可知，獼猴木及香蓼水萃取物之成份中並無直接型之致突變性物質存在。一般而言，*Salmonella typhimurium* 之反突變菌落數若維持在對照組之

80%以上，則可判定該試驗樣品對 *S. typhimurium* 沒有毒性，因此獼猴木及香蓼水萃取物在測試之劑量範圍內並無毒性現象，不致影響致突變性之分析試驗。

獼猴木及香蓼水萃取物在測試之劑量範圍內(1~250 μ g/plate)，對 *S. typhimurium* TA100 菌株之致突變性試驗，其致突變性比例 (mutagenicity ratio) 皆在 0.85~1.26 的範圍內(表一)，並沒有超過自發性反突變菌落數 (spontaneous revertants) 兩倍以上，根據 Ames 等人所提出的標準，在測試之劑量範圍內，獼猴木及香蓼水萃取物應不具致突變性。

綜合以上初步結果，本試驗獼猴木及香蓼水萃取物在所選取之劑量範圍內，對 *S. typhimurium* TA100 均不具毒性及致突變性。由此可知，獼猴木及香蓼水萃取物之成份中並無直接型致突變性物質存在，至於間接型致突變成分之存在與否，此部分仍待進一步研究。

(二) 獼猴木及香蓼水萃取物之抗致突變性

不同濃度之獼猴木及香蓼水萃取物對 4-NQO 誘導沙門氏菌 TA100 致突變性之影響，結果如表二及表三所示。獼猴木及香蓼水萃取物在所選取

之濃度下(0.1~50 μ g/plate) 對 4-NQO 誘導沙門氏菌 TA100 致突變性均有抑制作用，其抑制百分比分別為 30.6~60.7 % 及 7.4~44.6%。

五、參考文獻

- Ames B.N.(1979).Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science*, 204: 587-593.
- Ames B. N. (1983). Dietary carcinogens and anticarcinogens. *Science*. 21: 1256- 1263.
- Kada T., Morita K. and Inoue T. (1978). Anti-mutagenic action of vegetable factor (s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutat.Res.*, 53:351-353.
- Kada T., Inoue T. and Namiki M. (1981). Environmental desmutagens and antimutagens. In "Environmental mutagenesis, carcinogenesis, and plant biology", vol 1, Klelewski,E.J. eds. pp.134-148.
- Kang, Z.-C., Wang, Y.-C. and Chiou, S.-Y. (2009) Antibacterial and antimutagenic properties of extract from Lily Bulb. *Taiwanese J. of Agric and Food Sci.* 47(5): 221-227.

- Krajka-Kizniak V, Szaefer H, Baer-Dubowska W (2004) Modulation of 3-methylcholanthrene-induced rat hepatic and renal cytochrome P450 and phase II enzymes by plant phenols:protocatechuic and tannic acids. *Toxicol Lett* 152:117-126.
- Marnewick JL, Gelderblom WCA and Joubert E(2000) An investigation on the antimutagenic properties of south African herbal teas. *Mutat. Res.* 471:157-166.
- Maron D.M. and Ames B.N.(1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.* 113: 173-215.
- Ramel C., Alekperov U.K., Ames B.N., Kada T. and Wattenberg L.W. (1986). Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. *Mutat. Res.* 168:47-65.
- Rodeiro I, Donato MT, Lahoza A, Gonzalez-Lavaut JA, Laguna A, Castell JV, Delgado R, Gomez-Lechon MJ (2008) Modulation of P450 enzymes by Cuban natural products rich in polyphenolic compounds in rat hepatocytes. *Chem Biol Interact.* 172:1-10.
- Szaefer H, Krajka-Kuzniak V, Baer-Dubowska W (2008) The effect of initiating doses of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on the expression of PAH activating enzymes and its modulation by plant phenols. *Toxicology* 251:28-34.
- Tadi P.P., Teel R.W. and Lau B.H.S. (1991). Organosulfur compounds of garlic modulate mutagenesis, metabolism, and DNA binding of aflatoxin B1. *Nutrition and Cancer*, 15:87-95.
- Yang R.Y., Tsou S.C.S., Lee, T.C., Wu, W.J., Hanson, P.M., Kuo, G., Engle, L.M. and Lai, P.U. (2006) Distribution of 127 edible plant species for antioxidant activities by two assays. *J. Sci. Food Agric.* 86: 2395-2403.
- Yang R.Y., Lin, S. and Kuo, G. (2008) Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 17(1): 275-279.
- Yen G.C. and Duh PD (1996) Antimutagenic effect of methanolic extracts from Peanut Hulls. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60:1698-1700.

表一 糊獼木及香蓼水萃取物對 *Salmonella typhimurium* TA100 之致突變性

Extract (μ g/plate)	糊獼木		香蓼	
	Revertants ¹ (CFU/plate)	Response	Revertants ¹ (CFU/plate)	Response
1	117 \pm 6	Negative	109 \pm 20	Negative
10	126 \pm 17	Negative	130 \pm 4	Negative
50	111 \pm 12	Negative	90 \pm 5	Negative
250	132 \pm 15	Negative	97 \pm 9	Negative
Negative control	105 \pm 2			
Positive control ²	413 \pm 32			

1. Data are means \pm SD of three plates.

2. 0.1 μ g of 4-NQO was served as the positive.

表二 糊獼木水萃取物對 4-nitroquinoline 1-oxide 誘導 *Salmonella typhimurium*

TA100 致突變性之抑制效果

Extract (μ g/plate)	Revertants ¹ (CFU/plate)	Inhibition (%)
0.1	348 \pm 15	30.6
1	290 \pm 8	47.9
10	247 \pm 20	60.7
Negative control	115 \pm 11	
Positive control ²	451 \pm 35	

1. Data are means \pm SD of three plates.

2. 0.1 μ g of 4-NQO was served as the positive.

表三 香蓼水萃取物對 4-nitroquinoline 1-oxide 誘導 *Salmonella typhimurium* TA100 致突變性之抑制效果

Extract (μ g/plate)	Revertants ¹ (CFU/plate)	Inhibition (%)
1	426 \pm 31	7.4
10	318 \pm 18	30.6
50	301 \pm 13	44.6
Negative control	115 \pm 11	
Positive control ²	451 \pm 35	

1. Data are means \pm SD of three plates.

2. 0.1 μ g of 4-NQO was served as the positive.

嘉南藥理科技大學 98 年度教師專題研究計畫成果報告

第二部份：高多酚類原生種蔬菜(辣木)對於鐵誘導之肝臟氧化傷害的保護及 GST 酵素活性的影響之研究

執行期間：98 年 1 月 1 日 至 98 年 12 月 31 日

計畫主持人：蕭慧美

執行單位：嘉南藥理科技大學 保健營養系

一、 中文摘要

多酚類常作為蔬果之抗氧化成分指標，因其含量與體外試驗之抗氧化能力包括 DPPH 清除力、還原能力等有正相關；然而動物體對於不同食材之生體可利用率則未可知。本實驗選用含有高量多酚類的乾燥辣木(*Moringa Oleifera*, MO) 粉末餵食動物，並且以鐵誘導組織之氧化傷害以探討 MO 是否能發揮其抗氧化能力而具有保護組織的效應。**方法：**將 C57BL/6J 小鼠分為三大組分別為對照組(CC 組，不含辣木)、0.5%辣木組(LM 組) 和 2.5%辣木組(HM 組)。餵食三週後，各組再次分兩組，其中一組於動物犧牲當天進行 Fe-NTA (10mg Fe/kg/d) 腹腔注射以造成肝腎之氧化傷害，分別稱為 C+Fe 組、L+Fe 和 H+Fe 組；其他則注射生理食鹽水作為對照 (CS 組、LS 和 HS 組)。測定項目主要包含肝臟、腎臟的脂質過氧化程度(以 TBARS 表示)、還原態麩胱甘肽 (glutathione)與維生素 E 含量。

結果：肝腎之 TBARS 含量在注射生理時鹽水於三組間並顯著差異，鐵劑注射顯著提高了脂質過氧化情形，此時肝臟 LM+Fe 組顯著低於其餘兩組。血漿膽固醇以 LS、HS 兩組顯著低於 CS 組。腎臟 GSH 濃度則以 HS 組顯著高於 CS 和 LS 組；維生素 E 以 HS 組顯著低於 CS 組及 LS 組，但是不管是肝或腎，注射鐵劑後的三組間 GSH、維生素 E 濃度皆無顯著差異。鐵劑注射顯著影響了肝腎 TBARS、GSH 濃度，表示此實驗模式確實達到組織氧化之目的。**結論：**雖然

MO 之餵食具有降低血膽固醇並提升腎臟 GSH 濃度之情形，但是對於鐵劑所誘導之組織傷害並未出現明顯的保護效果。因此對於高多酚類食材之攝取對於動物體在不同的氧化模式下所能發揮的抗氧化效應可能有所不同。

關鍵字：辣木、抗氧化、GSH

二、前言與目的

多酚類具有抗氧化能力，植物所含之多酚類含量越高其體外試驗之抗氧化能力包括 DPPH 清除力、還原能力等也越高。許多文獻皆指出植物多酚類具有提升動物抗氧化力與調節抗氧化酵素活性包括 SOD, GPX 與 catalase 等。有些多酚類具有抗基因毒性 (antigenotoxic)，有時也會影響解毒酵素系統之酵素活性 (Szafer et al. 2008, Rodeiro et al. 2008, Krajka-Kuzniak et al. 2004) 進而導致其化學保護效應。

解毒酵素系統之酵素參與生物轉型(biotransformation)、藥物代謝，因此具有保護身體對抗環境潛在的各種傷害。該系統包含 Phase I 與 Phase II 兩大類；藥物代謝系統之活化可促進外來物的分解與清除，但同時會促進「細胞壓力」並增加活性氧分子 (reactive oxygen species, ROS) 之生成，身體又必須清除此 ROS，所以身體需努力維持恆定反應 (Rushmore & Kong 2002)。Glutathione S-transferase (GST) 家族是解毒酵素系統 Phase II 最主要的一群，本身除了具有清除致癌化學物之功能，同時還有 GPX 酵素之活性，可將有機過氧化物還原 (Hayes and Pulford 1995)。

文獻指出綠茶多酚具誘導 Phase II 酵素之作用 (Maliakal et al. 2001, Sohn et al. 1994)。大鼠餵與 10% 藍莓粉末或藍莓多酚萃出物三週後皆可使肝臟 GST 活性增加 (Dulebohn et al. 2008)。小鼠灌食兩週的薑黃素可顯著增加肝臟 GST 酵素活性 (Valentine et al. 2006)；富含多酚類果汁攝取兩週後會提升人類白血球 GST P1 基因的表現 (Hofmann et al. 2006)。

反之，亦有文獻指出，丹寧酸之注射會降低大鼠肝臟 GSTalpha 蛋白質量 (Krajka-Kuzniak et al. 2008)。體外試驗發現薑黃素、槲皮素等其他天然植物多酚類會抑制人類重組 GST 的表現 (Hayeshi et al. 2007)。Rodeiro et al. (2009) 從一些

古巴與墨西哥常用藥草分別萃取出富含多酚類或生物鹼區分物，結果兩者皆具有抑制藥物代謝酵素活性之作用。上述結果說明多酚具有調節 GST 活性之作用，但可能因多酚類種類而異，而此點則暗示草藥或富含多酚類的植物可能會具有干擾藥物代謝或與藥物產生交互作用。

辣木介紹：辣木，屬於熱帶植物起源於印度及非洲，由於營養價值高又稱「窮人的牛奶樹」。辣木的生長快速且經濟價值很高，嫩葉採集期每年長達 10 個月，樹齡可達 20 年所以又稱為「奇蹟之樹」。



辣木富含多酚類以及豐富的維生素 A、B、C 與 E 等，還有高量的鈣、鉀和鐵等礦物質，因此備受研究者矚目。

辣木的功能：根據 Yang et al. (2008) 的報告，辣木葉含有豐富的 quercetin、kaempferol 等黃酮類，總黃酮類的值是研究 115 種植物中的第二高。因此應有很強的抗氧化能力。Singh et al (2009) 以辣木葉、果實、種子為材料，結果指出葉子含最高量的總酚類、維生素 C，也具有較強的抗氧化活性與還原力並具有抑制 DNA 氧化傷害的效果。辣木葉還具有保護新機梗塞所造成的氧化傷害 Nandave et al.(2009)、保護肝臟損傷 (Fakurazi et al. 2008, Pari & Kumar 2002)、降血脂與抗動脈硬化 (Chumark et al. 2008, Ghasi et al. 2000)、促進傷口癒合 (Rathi et al. 2006)、抗游離輻射 (Rao et al. 2001)、調節甲狀腺荷爾蒙 (Tahiliani & Kar A. 2000)。以辣木種子管餵小鼠十天後，可以改善因為砷中毒所導致的過氧化傷害，例如血液 GSH 之減少、TBARS 之提高 (Gupta et al. 2007, Mishra et al. 2009)。Ndong et al.(2007) 發現餵與大鼠辣木具有改善葡萄糖不耐的問題。

本實驗採用含有極高量多酚類的辣木以餵食動物，來探討辣木在小鼠經鐵誘導下是否能發揮抗氧化作用外亦同時測定肝腎臟 GST 酵素活性之變化以瞭解其對藥物代謝系統是否具有誘導或抑制作用。

三、 材料與方法

1. 動物分組與飼養：

採用小鼠，實驗前先適應三至七天後依體重分為三組分別為基礎飼料組。飼養三週後，各組再次分兩組，其中一組於動物犧牲當天進行 Fe-NTA (10mg Fe/kg/d) 腹腔注射以造成肝腎之氧化傷害，分別稱為 C+Fe 組、L+Fe 和 H+Fe 組；其他則注射生理食鹽水作為對照 (CS 組、LS 和 HS 組)。三小時之後，即以 CO₂ 窒息，下腔靜脈採血並分離血清。取下肝、腎臟冷凍貯存供日後分析。所有小鼠皆餵養於溫度及日照時間控制的環境中，任其自由攝食及飲水，每週記錄體重及飼料攝取。

2. 樣品處理與分析：

- ◎ 脂質過氧化指標測定：MDA 為脂質過氧化指標，肝臟之 MDA 則以 Thiobarbiturate method 進行測定 (Shimizu et al. 1999)。
- ◎ GSH 之測定：取 1mL 肝臟均質液加入 5%TCA 溶液，製得 TCA 上清液後與 DTNB 反應測定 412nm 之吸光值(Sedlak and Lindsay 1968)，與標準曲線對照換算。
- ◎ 肝臟維生素 E 濃度測定
取得血漿或肝臟均質液加入酒精後再以 n-hexane 萃取，以 HPLC 分析維生素 E 含量。

四、 結果

不同劑量的辣木餵食量，並未影響小鼠終體重飼料攝取量 (Table 1)；各器官重量與器官相對重量百分比也不受影響 (Table 2-3)。血漿膽固醇以 LS、HS 兩組顯著低於 CS 組 (Table 4)。

肝腎之 TBARS 含量在注射生理時鹽水於三組間並顯著差異，鐵劑注射顯著提高了脂質過氧化情形，此時肝臟 LM+Fe 組顯著低於其餘兩組 (Table 5)。腎臟 GSH 濃度則以 HS 組顯著高於 CS 和 LS 組 (Table 6)；維生素 E 以 HS 組顯著低

於 CS 組及 LS 組，但是不管是肝或腎，注射鐵劑後的三組間 GSH、維生素 E 濃度皆無顯著差異 (Table 6-7)。鐵劑注射則顯著影響了肝腎 TBARS、GSH 濃度，表示此實驗模式確實達到組織氧化之目的。

Table 1 辣木餵食對小鼠體重及飼料攝取量之影響

	Group		
	CC	LM	HM
		(g)	
Initial body weight	23.33±1.64 ^a	23.32±1.75 ^a	23.33±1.41 ^a
Final body weight	23.44±1.58 ^a	23.97±1.95 ^a	24.10±2.37 ^a
		(g/d)	
Food intake	3.63±0.395 ^a	3.64±0.27 ^a	3.50±0.40 ^a

註：CC 組不含辣木，LM 組和 HM 組分別含有 0.5% 和 2.5% 辣木。

Table 2 辣木餵食對小鼠各組織器官重量之影響

	Group		
	CC	LM	HM
Liver	6.56±1.49 ^a	6.1±0.44 ^a	6.2±0.60 ^a
Kidney	3.09±1.62 ^a	1.53±0.10 ^a	1.51±0.09 ^a
Lung	0.77±0.13 ^a	0.72±0.07 ^a	0.72±0.12 ^a
Spleen	0.23±0.03 ^a	0.23±0.03 ^a	0.23±0.04 ^a
Heart	0.56±0.08 ^a	0.56±0.04 ^a	0.58±0.06 ^a
Testis	0.80±0.08 ^a	0.75±0.16 ^a	0.82±0.08 ^a
EP	1.57±0.45 ^a	1.51±0.35 ^a	1.30±0.46 ^a
RE	0.32±0.12 ^a	0.29±0.12 ^a	0.25±0.15 ^a

Table 3 辣木餵食對小鼠各組織器官相對體重百分比之影響

	Group		
	CC	LM(含 0.5%)	HM(含 2.5%)
Liver.	1.41±0.37 ^a	1.32±0.09 ^a	1.33±0.07 ^a
Kidney	0.68±0.39 ^a	0.33±0.03 ^a	0.33±0.05 ^a
Lung	0.17±0.03 ^a	0.15±0.02 ^a	0.15±0.02 ^a
Spleen	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a	0.05±0.01 ^a
Heart.	0.12±0.02 ^a	0.12±0.01 ^a	0.13±0.02 ^a
Testis.	0.17±0.02 ^a	0.16±0.03 ^a	0.18±0.02 ^a
EP	0.34±0.12 ^a	0.33±0.09 ^a	0.29±0.12 ^a
RE	0.07±0.03 ^a	0.06±0.03 ^a	0.06±0.04 ^a

Table 4 餵食辣木與鐵誘發氧化傷害小鼠之血漿三酸甘油酯、膽固醇和維生素 E 濃度

	Saline			Fe		
	C	L	H	C	L	H
Triglyceride (mg/dl)	12.47±1.84 ^{ab}	10.59±1.27 ^b	11.01±2.09 ^b	14.27±3.68 ^{ab}	14.81±6.69 ^{ab}	15.35±3.20 ^a
Cholesterol (mg/dl)	104.0±8.1 ^a	89.8±16.5 ^b	81.2±9.2 ^b	55.1±4.9 ^c	62.61±11.4 ^c	49.6±10.0 ^c
α-Tocopherol (mmol/L)	9.37±1.77 ^a	7.83±2.62 ^{ab}	5.79±1.06 ^{bc}	6.43±0.90 ^{bc}	5.01±2.25 ^c	4.79±0.67 ^c

Table 5 小鼠餵食辣木與鐵誘發氧化傷害小鼠之各器官 TBARS 濃度

	Saline			Fe		
	C	L	H	C	L	H
	μmol/g					
Liver	11.08±1.25 ^c	11.77±1.17 ^c	11.72±1.01 ^c	36.12±14.33 ^a	20.60±6.61 ^b	43.46±15.79 ^a
Kidney	12.46±2.31 ^b	11.65±1.53 ^b	15.08±3.68 ^b	77.87±15.46 ^a	80.32±17.79 ^a	85.04±19.46 ^a
Lung	6.00±1.67 ^d	7.51±1.48 ^{cd}	8.69±2.02 ^{cb}	10.94±3.54 ^{ab}	10.66±2.23 ^{ab}	12.20±1.26 ^a
Spleen	13.77±5.17 ^b	11.73±1.05 ^b	14.75±5.38 ^b	21.59±10.68 ^{ab}	28.85±14.33 ^a	31.73±8.14 ^a
Heart	9.12±1.88 ^b	9.78±2.23 ^b	8.89±0.68 ^b	13.03±2.88 ^a	13.30±2.23 ^a	14.48±2.38 ^a
Testis	1.06±0.41 ^b	1.12±1.00 ^b	0.82±0.57 ^b	3.31±1.57 ^a	3.12±1.64 ^a	2.04±0.55 ^{ab}
EP	2.43±3.44 ^b	3.31±2.01 ^b	3.08±2.82 ^b	11.30±4.58 ^a	11.91±3.81 ^a	14.45±5.79 ^a

Table 6 小鼠餵食辣木與鐵誘發氧化傷害小鼠之各器官 GSH 濃度

	Saline			Fe		
	C	L	H	C	L	H
	(nmol/g)					
Liver	2158±318 ^{ab}	2662±757 ^a	1887±539 ^{bc}	1444±523 ^c	1613±349 ^{bc}	1664±537 ^c
Kidney	3085±424 ^b	3152±340 ^b	3671±326 ^a	705±286 ^c	1029±446 ^c	898±176 ^c
Lung	619±242 ^a	499±214 ^a	483±236 ^a	625±255 ^a	772±314 ^a	740±236 ^a
Spleen	3028±807 ^a	3037±370 ^a	2907±262 ^a	2769±777 ^a	2792±646 ^a	3217±959 ^a
Heart	1765±181 ^a	1564±168 ^a	1808±165 ^a	1638±520 ^a	1452±256 ^a	1434±699 ^a
Testis	4112±500 ^a	4197±353 ^a	4191±368 ^a	5197±1541 ^a	4513±570 ^a	4583±620 ^a
EP	1336±625 ^a	1193±611 ^a	1153±562 ^a	621±303 ^a	2141±835 ^a	1812±813 ^a



Table 7 小鼠餵食辣木與鐵誘發氧化傷害小鼠之各器官維生素 E 濃度

	Saline			Fe		
	C	L	H	C	L	H
	(μ mol/g tissue)					
Liver	14.55±9.91 ^{ab}	18.49±7.75 ^a	13.88±4.49 ^{ab}	13.43±6.31 ^{ab}	11.92±7.99 ^{ab}	7.26±1.52 ^b
Kidney	31.42±4.34 ^a	28.36±2.95 ^{ab}	21.34±7.78 ^c	25.88±5.49 ^{abc}	24.33±3.77 ^{bc}	22.62±3.83 ^{bc}
Lung	17.99±22.08 ^a	12.60±4.18 ^a	14.54±4.68 ^a	11.12±5.44 ^a	15.16±5.62 ^a	15.07±5.46 ^a
Spleen	21.62±3.87 ^a	21.41±5.23 ^a	19.03±3.45 ^a	27.86±16.86 ^a	18.77±5.62 ^a	18.23±9.11 ^a
Heart	33.29±3.73 ^a	26.70±9.59 ^a	27.76±9.91 ^a	31.09±3.82 ^a	29.07±5.42 ^a	23.08±10.41 ^a
Testis	17.01±4.39 ^b	23.20 ±4.05 ^a	20.55±1.81 ^{ab}	21.94±6.62 ^{ab}	20.84±4.64 ^{ab}	20.34±2.77 ^{ab}
EP	37.05 17.91 ^a	46.52±42.81 ^a	53.48±36.31 ^a	31.67±37.81 ^a	50.08±44.18 ^a	52.53±24.97 ^a
RE	51.01±45.41 ^a	32.37±20.94 ^a	34.35±32.20 ^a	28.84±30.05 ^a	26.08±13.47 ^a	27.78±14.98 ^a

五、 討論

辣木富含多酚類，具有抗氧化潛力。有文獻指出辣木葉具有保護心肌梗塞所造成的氧化傷害 Nandave et al.(2009)、保護肝臟損傷 (Fakurazi et al. 2008, Pari & Kumar 2002)、降血脂與抗動脈硬化 (Chumark et al. 2008, Ghasi et al. 2000)等作用。本實驗則以 Fe 劑進行氧化傷害之模式來觀察辣木的保護效果如何。由於肝臟和腎臟為該鐵劑最主要的氧化傷害器官，所以在結果中也觀察到上述兩組織的 TBARS 在鐵劑注射後顯著增加，而 GSH 濃度則顯著下降之現象。但是有無餵食 MO 皆未見有顯著的逆向效應。也就是說看不出辣木之餵食具有提升抗氧化能力之效果。

本實驗在鐵劑注射後三小時即進行犧牲並收集樣本，屬於急性傷害之觀察，此點與上述相關研究的模式有所不同。可能 MO 之抗氧化效應較適於在長期氧化壓力下或是在傷害後的長期修復過程才容易顯現出來，此點則有待進一步探討。

結論：雖然 MO 之餵食具有降低血膽固醇並提升腎臟 GSH 濃度之情形，但

是對於鐵劑所誘導之組織傷害並未出現明顯的保護效果。因此對於高多酚類食材之攝取對於動物體在不同的氧化模式下所能發揮的抗氧化效應可能有所不同。

六、 致謝

感謝亞洲蔬菜研究發展中心營養組提供辣木葉乾燥粉末作為實驗材料，在此致謝。

七、 參考文獻

- Ajith TA, Abhishek G, Roshnv D, Sudheesh NP (2009) Co-supplementation of single and multi doses of vitamins C and E ameliorates cisplatin-induced acute renal failure in mice. *Exp Toxicol Pathol*, on line.
- Behling EB, Sendao MC, Francescato HDC (2006) Comparative study of multiple dosage of quercetin against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rat kidneys. *Pharmacol Report* 58:526-532.
- Capizzi RL (1999) Amifostine reduces the incidence of cumulative nephrotoxicity from cisplatin: laboratory and clinical aspects. *Semin Oncol* 26(2 S 7):72-81.
- Cetin R, Devrim E, Kilicoglu B, Avci A, Candir O, Durak I (2006) Cisplatin impairs antioxidant system and causes oxidation in rat kidney tissues: possible protective roles of natural antioxidant foods. *J Appl Toxicol* 26:42-46.
- Chumark P, Khunawat P, Sanvarinda Y, et al. (2008) The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* lam leaves. *J Ethnopharmacol*. 116:439-446.
- Fakurazi S, Hairuszah I, Nanthini U (2008) *Moringa oleifera* lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food Chem Toxicol* 46:2611-2615
- Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO (2000) Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* lam in high-fat diet fed wistar rats. *J Ethnopharmacol* 69:21-25.
- Gupta R, Dubey DK, Kannan GM, Flora SJ (2007) Concomitant administration of *Moringa oleifera* seed powder in the remediation of arsenic-induced oxidative stress in mouse. *Cell Biol Int* 31:44-56.
- Mishra D, Gupta R, Pant SC, Kushwah P, Satish HT, Flora SJ (2009) Co-administration of monoisoamyl dimercaptosuccinic acid and *Moringa oleifera* seed powder protects arsenic-induced oxidative stress and metal distribution in mice. *Toxicol Mech Methods*. 19:169-182.
- Nakagawa T, Yokozawa T, Sano M (2004) Activity of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate against oxidative stress in rats with adenine-induced renal failure. *J Agric Food Chem* 52:2103-2107.
- Nandave M, Ojha SK, Joshi S, Kumari S, Arya DS (2009) *Moringa oleifera* leaf extract prevents isoproterenol-induced myocardial damage in rats: evidence for an antioxidant, antiperoxidative, and cardioprotective intervention. *J Med Food* 12:47-55.

- Ndong M, Uehara M, Katsumata Si, and Suzuki K (2007) Effects of oral administration of *Moringa oleifera* Lam on glucose tolerance in Goto-Kakizaki and Wistar rats. *J Clin Biochem Nutr* 40:229-233.
- Pari L, Kumar NA (2002) Hepatoprotective activity of *Moringa oleifera* on antitubercular drug-induced liver damage in rats. *J Med Food* 5:171-177.
- Rao AV, Devi PU, Kamath R (2001) In vivo radioprotective effect of *Moringa oleifera* leaves. *Indian J Exp Biol* 39:858-863.
- Rathi BS, Bodhankar SL, Baheti AM (2006) Evaluation of aqueous leaves extract of *Moringa oleifera* Linn for wound healing in albino rats. *Indian J Exp Biol* 44:898-901
- Singh BN, Singh BR, Singh RL, Prakash D, Dhakarey R, Upadhyay G, Singh HB (2009) Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol*, PubMed on line.
- Tahiliani P, Kar A (2000) Role of *Moringa oleifera* leaf extract in the regulation of thyroid hormone status in adult male and female rats. *Pharmacol Res* 41:319-323
- Tarladacalisir YT, Kanter M, Uygun M (2008) Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study. *Renal Failure* 30:1-8.
- Dulebohn RV, Yi W, Srivastava A, Ajoh CC, Krewer G, Fischer JG (2008) Effects of blueberry on DNA damage, lipid peroxidation, and phase II enzyme activities in rats. *J Agric Food Chem* 56:11700-11706.
- Hayeshi R, Mutingwende I, Mavengere W, Masiyanise V, Mukanganyama S (2007) The inhibition of human glutathione S-transferase activity by plant polyphenolic compounds ellagic acid and curcumin. *Food Chem Toxicol* 45:286-295.
- Hayes J, Pulford D (1995) The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isozymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 30:445-600.
- Hofmann T, Lieqibel U, Winterhalter P, Bub A, Rechkemmer G, Pool-Zobel BL (2006) Intervention with polyphenol-rich fruit juices results in an elevation of glutathione S-transferase P1 protein expression in human leukocytes of healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res* 50:1191-1200.
- Krajka-Kizniak V, Szaefer H, Baer-Dubowska W (2004) Modulation of 3-methylcholanthrene-induced rat hepatic and renal cytochrome P450 and phase II enzymes by plant phenols: protocatechuic and tannic acids. *Toxicol Lett* 152:117-126.
- Krajka-Kuzniak V, Kaczmarek J, Baer-Dubowska W (2008) Effect of naturally

occurring phenolic acids on the expression of glutathione S-transferase isozymes in the rat. *Food Chem Toxicol* 46:1097-1102.

Rodeiro I, Donato MT, Jimenez N, Garrido G, Molina-Torres J, Menendez R, Castell JV, Gomez-Lechon MJ (2009) Inhibition of human P450 enzymes by natural extracts used in traditional medicine. *Phytother Res* 23:279-282.

Rodeiro I, Donato MT, Lahoza A, Gonzalez-Lavaut JA, Laguna A, Castell JV, Delgado R, Gomez-Lechon MJ (2008) Modulation of P450 enzymes by Cuban natural products rich in polyphenolic compounds in rat hepatocytes. *Chem Biol Interact.* 172:1-10.

Sohn OS, Surace A, Fiala ES, et al. (1994) Effects of green and black tea on hepatic xenobiotic metabolizing systems in the male F344 rat. *Xenobiotica* 24:119-127.

Szaefer H, Krajka-Kuzniak V, Baer-Dubowska W (2008) The effect of initiating doses of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on the expression of PAH activating enzymes and its modulation by plant phenols. *Toxicology* 251:28-34.

Maliakal PP, Coville PF, Wanwimolruk S (2001) Tea consumption modulates hepatic drug metabolizing enzymes in Wistar rats. *J Pharm Pharmacol* 53:569-577.

Valentine SP, Le Nedelec MJ, Menzies AR, Scandlyn MJ, Goodin MG, Rosengren RJ (2006) Curcumin modulates drug metabolizing enzymes in the female Swiss Webster mouse. *Life Sci* 78:2391-2398.