

半天筍之亞急毒性及基因毒性評估

郭智宏¹ 陳素容² 施美份² 劉淑芬² 陳秋蘭^{2*}

¹ 國立陽明大學
² 嘉南藥理科技大學

摘要

半天筍為檳榔樹頂端的生長點，可做為食材，為台灣獨特的食用方式。但有關半天筍食用後的生理作用之研究並不多。已知單一大劑量灌食半天筍的丙酮萃取液後，雌性 SD 大鼠的心跳明顯加快。而半天筍的醋酸及丙酮萃取液則均使雌性 SD 大鼠的平均血壓明顯增加。由此結果可知，若短時間內攝取大量的半天筍可能會影響心跳及血壓。但若長時間食用少量的半天筍，對身體產生的影響如何？則不得而知。因此本研究欲評估半天筍的亞急毒性及基因毒性。以胃管餵食 SD 大鼠，連續灌食不同劑量的半天筍萃取物 28 天後，偵測其體重與心血管參數及生化值。動物體內的基因毒性則是以微核試驗進行分析，人體體外的基因毒性則是以彗星試驗進行分析。在亞急毒性方面，連續 28 天灌食不同劑量的半天筍萃取液後，SD 大鼠之體重、心血管參數及大多數的生化值與對照組相比較，並無明顯差異。在基因毒性方面，連續灌食 5 天的半天筍醋酸萃取液雖然稍微增加雄性 ICR 小鼠微核的數目，但也不具差異性。而半天筍丙酮萃取液則造成人類白血球細胞彗星托尾長度增加的現象，但因個體白血球間的差異性過大，因此不具統計上的差異。由以上結果可知，半天筍對 SD 大鼠及 ICR 小鼠並不具亞急毒性及基因毒性，但對人類白血球細胞的影響，則需更進一步的研究。

關鍵詞：半天筍、亞急毒性、基因毒性

*通訊作者:嘉南藥理科技大學藥學系

Tel: +886-6-2664911Ext2222

Fax: +886-6-2667318

E-mail: betelan@mail.chna.edu.tw

壹、前言

半天筍〈*Areca tender shoot*〉為台灣特有的食材，是檳榔樹頂端的生長點。檳榔〈*Areca catechu* Linn.〉為棕櫚科多年生熱帶性植物，適宜栽種在高溫、雨量充沛、濕潤的環境，在台灣以屏東、嘉義、南投、花蓮及台東等地栽種面積最廣。由於檳榔的果實及其種子—檳榔子〈*Areca nut*〉與口腔癌之間有極密切的關係，而檳榔嚼塊中〈*Betel quid*〉的檳榔鹼〈*Arecoline*〉、檳榔多酚〈*Polyphenols*〉、銅離子、檳榔相關的亞硝酸胺化合物〈*Nitrosamines*〉及咀嚼時產生的活性氧化物〈*Reactive oxygen*

species〉等都被認為與口腔癌的發生有關〈Awang 1988, IARC 2004, Sharma 2003, Wang et al. 1997〉，因此食用半天筍的安全性值得注意。

基於維護國民健康、減少口腔癌的發生，國民健康局由減少或戒除嚼食檳榔嚼塊；農業委員會則由降低檳榔植被；鼓勵檳榔廢園轉作等各方面著手。按農業委員會〈2008年〉的資料，全臺檳榔栽培面積 50,167 公頃，農戶數約 3 萬餘戶，產值近新台幣壹百億元。由於檳榔對國民健康、環境整潔及水土保持均有不良影響，因此，農業委員會訂

定「檳榔園廢園、轉作作業規範」，逐年輔導廢園、轉作，預定自民國 97 年至 101 年，每年輔導轉作面積 100 公頃，民國 102 年後每年輔導 200 公頃。但由於績效不如預期，而於民國 98 年初停辦。

由於檳榔是屬於高經濟作物，許多農會為減少檳榔農民的損失，就推出以檳榔來入菜。通常在農民欲汰換多年的老檳榔樹後，會將檳榔樹幹頂端生長點部位之外皮剝除後，得到所謂的「檳榔心」，由於檳榔樹的頂端長在半天高，故「檳榔心」又稱為「半天筍」。剝去外皮後的半天筍，呈現類似象牙棒的純白嫩莖，每株檳榔樹只能截取一段，僅約五、六十公分長可以食用。一般餐廳或民間是將半天筍與排骨一起煮湯食用，其口感類似竹筍，清脆爽口，坊間有清涼降火氣的食療說法。雖然將半天筍做為一般食材，民眾的接受度頗高，但由於檳榔子與口腔癌間的密切相關性，因此，也有人質疑將半天筍作為料理食材之適合性。

由於半天筍是台灣本土特有的食用食材，相關的文獻報告並不多。農業委員委託國立屏東科技大學農園系賴宏量教授的分析結果發現，每克半天筍中檳榔鹼〈Arecoline〉的含量只有 1 微克，且烹調加熱後，已幾乎沒有檳榔鹼，因此認為可安心使用〈張朝榮 2009〉。而中山醫學大學營養系王進崑教授的研究則發現，半天筍內含有少量的多酚類〈0.58 毫克/克〉，濃縮單寧酸〈0.58 毫克/克〉，及總生物鹼含量有 2.38 毫克/克。總生物鹼包括 arecoline、arecaidine、guvacine、guvacoline 等四種，其中以檳榔鹼〈Arecoline〉含量最多〈Wang et al. 1997〉。而從本實驗室之前的研究得知每克半天筍中約含有 1.29 毫克的檳榔鹼及 0.4 毫克的總多酚〈郭智宏等人 2010〉。此結果與王進崑等人的分析較相近，但與屏東科技大學的分析差異太大，可能與分析方法及產地有關，因此有需要做進一步的研究分析。

另外，也有醫學報告食用大量半天筍而引發流口水、噁心、嘔吐、盜汗、心跳加快及腹瀉等急性中毒的案例〈Huang et al. 2008〉。本實驗室之前的研究也證實單一大劑量灌食 SD 大鼠半天筍萃取液後，皆有軟便或輕微腹瀉的現象，也會影響心跳及

血壓〈郭智宏等人 2010〉。此結果與臨床案例之中毒徵狀相似，表示大量半天筍中所含的檳榔鹼足以引發這些急性的生理反應。但若長時間食用較低劑量的半天筍，對身體產生的慢性影響如何？則不得而知。因此本研究欲評估半天筍的亞急毒性及基因毒性。在亞急毒性方面，以胃管餵食 SD 大鼠，連續灌食不同劑量的半天筍萃取物 28 天後，偵測其體重與心血管參數及生化值。動物體內的基因毒性則是以微核試驗〈Micronuclei assay〉進行分析，人體體外的基因毒性則是以彗星試驗〈Comet assay〉進行分析。

貳、材料及方法

一、半天筍萃取物之製備

從台北市環南市場購買 15 支已處理好的半天筍〈剝皮後可食用的嫩莖〉，將其切成小碎塊後，分成兩等分，其中一半以 0.1% 的醋酸水浸泡後加熱至沸騰，煮 20 分鐘後，轉為小火，持續煮 2 小時，關火後放冷。以 1# 濾紙過濾將纖維殘渣去除，濾液放入 -80°C 冰箱冷凍，之後置於冷凍乾燥機乾燥之〈此步驟乃模擬民間食用方式，而加入醋酸則是希望盡量萃取出半天筍中所含之生物鹼〉。另一等份以 80% 的丙酮浸泡後，攪拌 2 小時，以 1# 濾紙過濾後，再重複以 80% 的丙酮攪拌 2 小時過濾兩次，收集三次的濾液以真空濃縮機，濃縮去除丙酮後，將殘餘液冷凍後置於冷凍乾燥機乾燥之〈此步驟則是希望盡量萃取出半天筍中所含之多酚類化合物〉。冷凍乾燥後的粉末以二次水配製成半天筍的醋酸或丙酮萃取物，以胃管餵食實驗動物，進行亞急性及基因毒性評估。

二、SD 大鼠之亞急毒性評估

將購自於樂斯科生物科技之 6 至 7 週大的雌性及雄性 Sprague Dawley 〈SD〉大鼠飼養於台北榮民總醫院教學研究部之動物房，適應環境一週後，進行亞急性之測試。雌性及雄性大鼠各 30 隻，每組 6 隻，分成 5 組，分別灌食每公斤體重 10 ml 二次水的控制組；1.135 mg 檳榔鹼〈相當

於 1g 半天筍萃取物中所含之生物鹼) 的正對照組; 0.25g、0.5g 或 1g 之半天筍醋酸萃取物的實驗組。先於每日上午 9~10 時移除飼料, 再於每日下午 2~4 時以胃管進行灌食, 待灌食後再恢復飼料供應。連續灌食 28 天, 於灌食前及灌食後第 7、第 14 天及第 28 天時進行體重、心跳及血壓量測記錄, 並觀察大鼠生理反應及是否於餵養過程中有大鼠死亡之狀況。在第 28 天實驗結束時, 以心臟採血方式, 收集血清以進行各種生化值的檢測。此動物實驗經嘉南藥理科技大學實驗動物管理小組審查通過 (編號: CN-IACUC-970013)。

三、ICR 小鼠周邊血液之微核分析

將購自樂斯科技生技公司 6 至 7 週大雌性及雄性的 ICR 小鼠分開, 各分成二次水對照組; 檳榔鹼對照組; mitomycin C 正對照組; 半天筍醋酸萃取物及丙酮萃取物兩組實驗組, 每組 6 隻, 共五組 30 隻。適應一星期後, 每隻記錄其實驗前體重, 再以胃管餵食對照組及正對照組二次水, 檳榔鹼對照組則餵食相當於 1000 mg/kg 的半天筍丙酮萃取物內所含的檳榔鹼量, 實驗組則是灌食 2000 mg/kg 半天筍的醋酸或丙酮萃取物懸浮液。餵食後, 仍給予足夠的飲用水及飼料。連續 4 天後, 正對照組則腹腔注射 1 mg/kg 的 mitomycin C 以誘導微核 (Micronuclei) 的產生。各組別的小鼠在連續灌食 5 天後, 分別於第 24 小時、48 小時及 72 小時, 以毛細管採取眼窩血, 滴入預處理好 1 mg/ml acridine orange 的載玻片中, 蓋上蓋玻片後放置於螢光顯微鏡中, 記數 1000 個正常網狀細胞 (Reticulocyte) 中有多少細胞有微核 (Hayashi et al. 1990), 來評估半天筍是否具有基因毒性。此動物實驗經嘉南藥理科技大學實驗動物管理小組審查通過 (編號: CN-IACUC-970013)。

四、人類白血球細胞之彗星試驗

將 10 ml 健康志願者的血液加入 10 ml 的緩衝溶液 (PBS) 混合均勻後, 放入含 Ficoll-Paque 的離心管中, 在室溫下, 經轉速 800xg 離心 30 分鐘

後, 收集含白血球的 buffy coat 層, 再以 10 ml 的 PBS 洗兩次 (轉速 250xg 下離心 10 分鐘), 將清洗後的白血球細胞懸浮於 RPMI1640 的培養液中, 以血球計數儀計數細胞後, 將細胞數目調整成 2×10^5 細胞/ml。將不同濃度的半天筍萃取液與 1×10^5 顆白血球細胞分別培養 18 小時後, 進行彗星試驗 (Comet assay)。此人體實驗通過國立陽明大學人體試驗暨倫理委員會審查核可 (IRB 編號: 980023)。

先將 1% normal melting agarose (NMA) 加熱至液體狀 (約 65°C), 取 100 μl 滴在磨砂玻片上, 蓋上蓋玻片後置於乾淨的平台上, 等待膠凝後, 剝除蓋玻片, 此為第一層。接著將 10000 個細胞加入 100 μl 1.5% low melting agarose (LMA), 混合均勻, 取出 100 μl 含有細胞的 1.5% LMA 滴在第一層上, 同樣蓋上蓋玻片, 待膠凝後剝去蓋玻片, 此為第二層。再加上 100 μl 的 1% NMA 作為第三層。之後, 將蓋玻片剝除後, 把有包埋細胞的磨砂玻片置於溶離液之中 (lysis solution, 2.5M NaCl、100mM Na_2EDTA 、0.01M Tris、1% Triton X-100、1% sodium N-laurylsarcosine、10%DMSO, pH=10), 放置於 4°C 冰箱中, 浸泡至少 24 小時, 使細胞膜破裂產生孔洞。將玻片取出後以二次水浸洗三次, 每次約三分鐘, 之後再浸於 Tris-HCl 緩衝溶液 (0.4 M Trizma base, pH=7.5) 中 10 分鐘, 再將玻片取出放置於電泳槽中排好, 方向要一致, 倒入電泳液 (1 mM Na_2EDTA 、300 mM NaOH, pH=13), 使電泳液有完全覆蓋住玻片, 開始解旋 20 分鐘後, 使雙股 DNA 解開成單股 DNA, 再以 30 伏特、300 毫安培進行電泳 30 分鐘。電泳完畢後, 以 ethidium bromide 染色後置於螢光顯微鏡下觀察。利用 Comet V2.2.1 軟體進行數據分析, 並以 Olive tail moment (% DNA \times distance of center of gravity of DNA) 來表示 DNA 受傷害的程度 (Singh et al. 1988)。

五、統計方法

本研究在亞急性毒實驗所得之數據均以平均值加減標準差 (Mean \pm SD) 來表示。使用單維變

異數分析 (one-way ANOVA) 評估在各組別之間體重、生化值、微核等數據的變化，互相比較其差異性。並且使用 Student's t-test 來比較同一組別在餵食前、後之間心血管參數的差異性。當 P 值小於 0.05 時，則表示具有顯著的差異性。

參、結果及討論

一、SD 大鼠之亞急毒性評估

人類暴露於各種化學物質中，其濃度常常遠低於致死劑量 (大劑量)，但低劑量暴露的時間卻都是很長。為了評估在這些情況下，低劑量的化學物質長時間暴露是否會產生累積作用，而引發毒性，因而需要進行長期毒性測試 (慢性毒性) 研究。用大鼠做長期毒性測試約需 2 年的時間，通常長期毒性測試是要評估化學物質是否具有致突變性或致癌性。但長期試驗除了所需要的時間很長外，動物飼養的花費及測試化學物質的消耗量也是非常的龐大。本研究受限於經費及時間，因此只能進行 28 天連續灌食的亞急性毒性試驗。

已知檳榔鹼為檳榔嚼塊中導致口腔癌的主要成分之一 (Awang 1988, IARC 2004, Wang et al. 1997)，而從我們之前的研究中得知每克的半天筍醋酸萃取物中含有 1.135 mg 的檳榔鹼 (郭智宏等人 2010)，因此以 1.135 mg/kg 的檳榔鹼做為正對照組。28 天連續灌食期間，在對照組、分別灌食不同劑量 (0.25g/kg, 0.5g/kg, 1g/kg) 半天筍醋酸萃取物的實驗組及 1.135 mg/kg 檳榔鹼的正對照組，無論是在雄性或雌性 SD 大鼠，皆無影響其健康狀況，且未發生實驗動物死亡之狀況。在 28 天灌食期間，各組大鼠之平均體重變化也都沒有顯著的差異 (圖 1)，顯示低劑量的半天筍長時間 (連續 28 天) 餵食並不會影響 SD 大鼠之食慾、體重及生長。

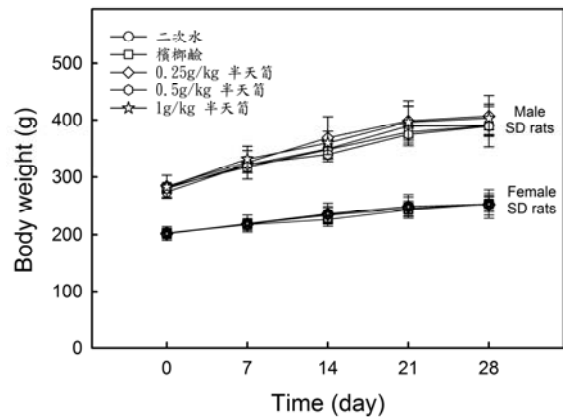


圖 1、連續 28 天灌食半天筍醋酸萃取物對於雄性及雌性 SD 大鼠體重之影響

至於灌食雄性或雌性 SD 大鼠不同劑量的半天筍醋酸萃取物連續 28 天，在第 14 天及第 28 天測量其對 SD 大鼠的心跳速率、收縮壓、舒張壓、以及平均血壓的影響，與灌食前 (第 0 天) 比較，均沒有明顯的統計上差異。同樣地，檳榔鹼正對照組，連續灌食 28 天，對心跳速率及血壓也是沒有明顯的影響 (因數據繁多且沒有差異故未呈現)。已知檳榔鹼為毒蕈鹼受體 (Muscarinic receptor) 的作用劑 (Tripathi 1983)，對心臟有減慢心跳速率的作用，當心跳速率降低，使心輸出量減少，則血壓會降低。若血壓降低太多，則會引發感壓反射 (Baroreceptor reflex)，進而使交感神經活化，而造成心跳速率增加，同時血管收縮，因而使血壓上升至正常值 (Katzung 2010)。從我們之前的實驗發現大劑量的半天筍會影響 SD 大鼠的心跳速率及血壓 (郭智宏等人 2010)，但本實驗中低劑量連續餵食半天筍，對其心跳速率及血壓並無影響，可能是因檳榔鹼含量較低，其對心跳的影響很快經由感壓反射作用而恢復正常所致。

表一、連續 28 天灌食半天筍醋酸萃取物對於雄性 SD 大鼠血液生化值之影響

生化值	二次水	檳榔鹼	半天筍 0.5g/kg	半天筍 1g/kg
ALT	65±14	69±14	70±10	61±4
AST	91±16	93±16	105±24	87±9
BUN	19±4	16±4	19±3	19±1
CREA	0.5±0.1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.4±0.1
TG	100±26	98±23	87±22	118±9
CHOL	75±12	68±8	75±10	78±6

ALT：麩丙酮酸轉胺酶；AST：麩草醋酸轉胺酶；
BUN：尿素氮；CREA：肌酸酐；CHOL：膽固醇；
TG：三酸甘油酯

表二、連續 28 天灌食半天筍醋酸萃取物對於雌性 SD 大鼠血液生化值之影響

生化值	二次水	檳榔鹼	半天筍 0.5g/kg	半天筍 1g/kg
ALT	69±44	64±16	53±8	58±16
AST	154±91	137±50	109±22	156±60
BUN	17±1	21±2	21±1	21±3
CREA	0.6±0.1	0.7±0.1	0.7±0.2	0.7±0.1
TG	123±54	210±68*	232±89*	191±66
CHOL	90±13	84±12	97±11	89±18

ALT：麩丙酮酸轉胺酶；AST：麩草醋酸轉胺酶；
BUN：尿素氮；CREA：肌酸酐；CHOL：膽固醇；
TG：三酸甘油酯

在血液生化數值部份，灌食不同劑量的半天筍醋酸萃取物或是檳榔鹼正對照組，連續 28 天後，在雄性 SD 大鼠，與對照組相比較，並沒有明顯的差異（表一）。但是在雌性 SD 大鼠方面（表二），灌食不同劑量的半天筍醋酸萃取物或檳榔鹼正對照組，連續 28 天後，在三酸甘油酯（TG）部分，則只有 0.5g/kg 的半天筍醋酸萃取物灌食組及檳榔鹼正對照組較對照組來得高，且有統計上顯著的差異（ $p < 0.05$ ），但此增加的趨勢與劑量不相關，其他各組之生化值則與對照組間沒有顯著差異。因此，其所代表的意義為何仍有待更進一步的討論。

由以上實驗結果可知，低劑量的檳榔鹼慢性給予一段時間後，並不影響 SD 大鼠的生長。同樣地，

半天筍醋酸萃取物中所含的檳榔鹼及其他未知之混合物慢性給予 SD 大鼠後，也並不影響其食慾、體重、生長、心跳速率及血壓等生理狀況。因此，對 SD 大鼠而言，半天筍並不具亞急性毒性。而本實驗中所使用最大劑量達 1g/kg 的半天筍醋酸萃取物，相當於每公斤體重的 SD 大鼠攝取 13.16 克的半天筍；1g/kg 的半天筍丙酮萃取物則相當於每公斤體重的 SD 大鼠攝取 43.29 克的半天筍（郭智宏等人 2010）。對於一個 70 公斤體重的健康成年人而言，相當於攝取 3030 公克的半天筍。但平時一碗湯中約只有 20~30 克的半天筍，因此認為半天筍為一種低毒性物質。

二、ICR 小鼠周邊血液之微核分析

微核主要是由於斷裂的染色體片段，在細胞分裂之際，未能附著於紡錘絲分向兩極，因此在子細胞形成時，斷裂的染色體片段未能被包含於正常之細胞核膜內，而游離於細胞質中形成微核（Heddle et al. 1981）。正常情況下，核質 DNA 只存在於細胞核及粒線體中，細胞質中若出現微核，通常代表著染色體受損斷裂。雖然微核的發生與致癌之間並無直接之相關證據，但以鼠類之骨髓細胞為材料的微核測試方法，已可偵測出將近七成的致癌劑。因此，此系統已是被認可使用來偵測化學物質是否具有基因毒性的方法之一（Morita et al. 1997）。

欲觀察微核，可利用螢光染劑染核質 DNA，在螢光顯微鏡下可形成黃綠色螢光，同時螢光染劑會將 RNA 染成紅色。但若細胞核太大，細胞質太少，會不易觀察到細胞質中的微核。由於血液中紅血球的數目最多，且最容易取得，適合作為實驗的材料，但正常成熟紅血球不具細胞核，也沒有其他的胞器，因此不易看到微核的出現。但其未成熟的前驅細胞—網狀細胞—雖也不具有細胞核，但仍有 RNA，且具有合成蛋白質的功能。而網狀細胞一般存在骨髓中，只有極少數會釋出至血液循環中，特別是在紅血球大量生成時。因此，以大鼠作實驗時，只能收集其股骨的網狀細胞來觀察，非常不方便。但小鼠的週邊血液中存在較多的網狀細胞，

因此，可以採小鼠週邊血液的方式來記數網狀細胞中微核的數目。若以螢光染劑處理網狀細胞，則可看見細胞中的 RNA 被染成紅色螢光，若在紅色螢光中出現 DNA 被染成的黃綠色螢光，即代表有微核〈Hayashi et al. 1990〉。

Mitomycin C 為已知的抗癌藥物，同時具有基因毒性，在本試驗中作為誘導微核產生的正對照組試劑〈Pawar et al. 2007〉。結果如表三，在灌食二次水的控制組，不管是公鼠還是母鼠，採集小鼠的眼窩血，可測到每 1000 個網狀細胞中，大約只有 1~8 個左右的微核。但在每公斤體重腹腔注射 1 mg 之 mitomycin C 的正對照組，小鼠眼窩血中微小核的數量在注射後 24 小時顯著增加〈雄鼠每 1000 個網狀細胞有 22± 3 個微核；雌鼠有 12± 3 個微核〉，到第 48 小時後又比第一天增加三到六倍，第 72 小時則回到跟第一天相當的微核數量，這可能是因損傷的網狀細胞轉變為成熟紅血球而不能被觀測到所致。從此結果可知 mitomycin C 確實可以誘導微核，且本微核試驗分析確實可行。

但在灌食每公斤體重 2g 的半天筍醋酸或丙酮萃取物實驗組，連續灌食 5 天後，採集三天眼窩血並分析其微核數量，不管是在雄鼠或是雌鼠，可測到每 1000 個網狀細胞中，大約只有 1~17 個左右的微核。與對照組〈1~8 個〉及等同 1g 半天筍丙酮萃取物內含量的檳榔鹼對照組〈2~10 個〉相比較，皆未有明顯的微核表現增加的現象〈表三〉。

表三、半天筍萃取物對 ICR 小鼠染色體的影響

微核數目/1000 個網狀細胞			
雄性 ICR 小鼠	24h	48h	72h
二次水	5± 3	4± 1	6± 2
Mitomycin C	22± 3*	64± 16*	27± 5*
檳榔鹼	5± 2	5± 1	8± 2
半天筍丙酮萃取物	5± 1	5± 3	9± 1
半天筍醋酸萃取物	6± 2	7± 2	9± 8

雌性 ICR 小鼠	24h	48h	72h
二次水	4± 1	3± 2	5± 1
Mitomycin C	12± 3*	78± 28*	15± 2*
檳榔鹼	3± 1	4± 2	3± 1
半天筍丙酮萃取物	6± 3	6± 1	3± 1
半天筍醋酸萃取物	4± 1	2± 1	3± 1

Mitomycin C 為一個已知的抗癌藥，具有很強的基因毒性，在本實驗中，也確定其具有誘導微核的作用，表示此實驗方法確實可偵測物質是否具有基因毒性，而連續餵食 2g/kg 的半天筍萃取物 5 天後與對照組相比，並沒有差異，表示不具有基因毒性。而檳榔鹼與口腔癌的發生具有密切相關性，在此實驗中也不具基因毒性，這可能是因其基因毒性較弱，需長時間累積才能顯現。綜言之，從我們的實驗結果得知，半天筍萃取物在 ICR 小鼠短時間暴露並不具有基因毒性。

三、人類白血球細胞之慧星試驗

將人類的白血球細胞與半天筍丙酮萃取物一起培養 18 小時後，利用慧星試驗評估其是否對白血球的 DNA 造成斷裂損傷。結果如圖 2，檳榔鹼的正對照組及半天筍醋酸萃取物組與對照組之間並沒有明顯差異。但在處理過半天筍丙酮萃取物後，白血球細胞核之 Olive tail moment 平均數值高出其他處理組別，但因為數據變異性過大，並未達顯著差異。此數據變異性大之問題可能與所收集之白血球捐贈者自身個體差異所致，擬重新進行篩選測試後，再做進一步的研究。

已知檳榔鹼在動物體內會被代謝成亞硝酸胺化合物，具有致突變性〈IARC 2004〉。在此體外培養的實驗模式中，可能因檳榔鹼不能被代謝而不會造成白血球 DNA 的損傷。至於半天筍丙酮萃取物造成白血球細胞核之 Olive tail moment 平均數值較高，可能是因含有多酚類化合物，經氧化作用產生自由基而造成 DNA 損傷，仍需作更進一步的研究。

綜合以上實驗結果，半天筍對 SD 大鼠及 ICR 小鼠並不具亞急毒性及基因毒性，但對人類白血球

細胞的影響，則需更進一步的研究。

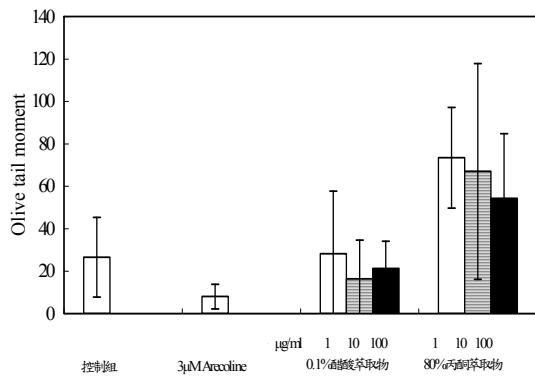


圖 2、人體體外基因毒性試驗：半天筍萃取物對人類白血球細胞 DNA 之傷害性程度評估。

肆、謝辭

本研究得以完成，非常感謝行政院衛生署國民健康局的經費補助〈計畫編號：SC970511〉。另外，也非常感謝國立陽明大學環境與職業衛生研究所所長劉宗榮教授提供動物飼養環境及螢光顯微鏡等儀器設備的協助。

伍、參考文獻

張朝榮〈2009〉· 檳榔及咖啡品質之評價，屏東科技大學農園生產所碩士論文。

郭智宏、劉宗榮、施美份、劉淑芬、陳秋蘭〈2010〉· 半天筍之成分分析及急毒性評估· *嘉南學報*，36，15-22。

Awang, M.N. (1988). Fate of betel nut chemical constituents following nut treatment prior to chewing and its relation to oral precancerous & cancerous lesion. *Dent. J. Malays*, 10: 33-37.

Hedde, J. A. and Salamone, M.F. (1981). Chromosomal aberrations and bone marrow toxicity. *Environ. Health Perspect.*, 39: 23-27.

Hayashi, M., Sofuni, T., Ishidate, M. Jr. (1983). An application of acridine orange fluorescent staining to the micronucleus test. *Mutat. Res.*, 120: 241-247.

Hayashi, M., Morita, T., Kijodama, Y., Sofuni, T., Ishidate, M. Jr. (1990). The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat. Res.*, 245:235-249.

Huang, C.F., Yang, C.C., Liu, T.Y. (2008). Arecoline poisoning after the consumption of tender shoot and flowers of areca catechu. *2008 Congress of Asia-Pacific Association of Medical Toxicology*, Chandigarh, India.

IARC (2004). Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut-derived nitrosamines-summary of data reported and evaluation. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Hum.*, 85: 39-52.

Katzung, B.G. (2007). *Basic and clinical pharmacology*. 10th edition, McGraw Hill Inc., pp. 159-161.

Morita, T., Asano, N., Awogi, T., Sasaki, Y. F., Sato, S., Shimada, H., Sutou, S., Suzuki, T., Wakata, A., Sofuni, T., Hayashi, M. (1997). Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) the summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. *Mutat Res.*, 391: 259-267.

Pawar, A. A., Tripathi, D. N., Ramarao, P., Jena, G. (2007). Protective effects of American ginseng (*Panax quinquefolium*) against mitomycin C induced micronuclei in mice. *Phytother Res.* 21: 1221-1227.

Sharma, D.C. (2003). Betel quid and areca nut are carcinogenic without tobacco. *Lancet Oncol.*, 4: 587.

Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. (1988). A simple technique for quantization of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, 175:184-191.

Tripathi, O.N. (1983). Arecoline induced nicotinic and muscarinic stimulation of the superior cervical ganglion of cat. *Biomed. Biochem. Ascta.*, 42: 275-282.

Wang, C.K. and Peng, C.H. (1996). The mutagenicities of alkaloids and N-nitrosoguvacoline from betel quid. *Mutat. Res.*, 360: 165-171.

Wang, C.K., Lee, W.H., Peng, C.H. (1997). Contents of phenolics and alkaloids in *Areca Catechu* Linn. during maturation. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1185-1188.

The subacute toxicity and genotoxicity evaluations of areca tender shoot

Chih Hung Kuo¹ Su Jong Chen² Mei Fein Shih² Shu Fen Liou² Chiu Lan Chen^{2*}

¹Institute of Pharmacology, National Yang Ming University

²Department of Pharmacy,

Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Abstract

The tender shoot is the terminal part of the young stem of *Areca catechu*, which is locally consumed as vegetables in Taiwan. There are a few of studies about the physiological effects after consumption of this edible part of *Areca catechu*. In a single high dose oral gavage, acetone tender shoot extracts increased the heart rate in female SD rats. Acetate and acetone tender shoot extracts also increased the mean blood pressure in female SD rats. These results suggest that ingestion of large amount of tender shoot may affect the heart rate and blood pressure. However, the physiological effects after ingestion of low amount of tender shoot for a long time have not been reported. The object of this study was to estimate the subacute toxicity and genotoxicity in animals and human leukocytes. The body weight, cardiovascular parameters and biomarkers were estimated when oral gavage the extracts with multiple doses for continued 28 days in SD rats. The genotoxicity of the extracts in mice were estimate by using a micronuclei test and in human leukocyte by using a Comet assay. In a continued 28 days treatment, there are not significant differences in body weight, heart rate, blood pressure and various biomarkers between control and tender shoot extracts treatment. In the genotoxicity, acetate and acetone tender shoot extracts did not induced significantly micronuclei in ICR mice. But acetone tender shoot extracts slightly increased the Olive tail moment in human leukocytes. These results suggest that there is no subacute toxicity and genotoxicity after ingestion of low amount of tender shoot in SD rats and in ICR mice. However, the effects of tender shoot in human leukocytes are needed further study.

Key words: areca tender shoot; subacute toxicity; genotoxicity

*Correspondence: Development of Pharmacy, Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Tel: +886-6-2664911Et2222

Fax: +886-6-2667318

E-mail: betelan@mail.chna.edu.tw