

穗花蛇菰抽出物抗氧化活性之探討

鄭凱中¹ 何尚哲¹ 陳載永² 吳志鴻³

(收件日期：民國 97 年 4 月 25 日、接受日期：民國 97 年 8 月 13 日)

【摘要】本研究主要探討穗花蛇菰(蛇菰科)甲醇粗萃物及其各可溶部之抗氧化活性差異。試驗結果顯示, 甲醇粗萃物與各可溶部之 DPPH 自由基清除試驗以乙酸乙酯可溶部與正丁醇可溶部具有最佳抑制效果, 其 IC₅₀ 分別為 5.6 µg/mL 與 5.7 µg/mL。此外, 超氧自由基清除試驗亦以乙酸乙酯可溶部與正丁醇可溶部具有最佳抑制效果, 其 IC₅₀ 分別為 4.3 µg/mL 與 2.3 µg/mL, 而亞鐵離子螯合能力則以水可溶部具有最佳抑制效果, 其 IC₅₀ 為 842.7 µg/mL。另外, 乙酸乙酯可溶部具有最高還原力與總酚類含量, 其值分別為 796 mg CE/g 與 380.5 mg GAE/g。綜合上述結果可以得知, 穗花蛇菰之總酚類含量除與 DPPH 自由基清除能力成正比之外, 亦與還原能力成正相關。

【關鍵詞】 穗花蛇菰、抗氧化、亞鐵離子螯合能力、還原力、總酚含量

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS FROM *BALANOPHORA LAXIFLORA* HEMSL.

Kai-Chung Cheng¹ Shang-Tse Ho¹ Tsai-Yung Chen² Jyh-Horng Wu³

(Received: April 25, 2008; Accepted: August 13, 2008)

【Abstract】 The objective of this study is to evaluate antioxidant activities of methanolic extract and its derived soluble fractions from *Balanophora laxiflora* Hemsl. (Balanophoraceae). Various *in vitro* assays including DPPH radical scavenging activity, superoxide radical scavenging activity, ferrous ion chelating ability, reducing power, and total phenolic content were carried out in this study. Results revealed that, among all the tested extracts, EtOAc and BuOH fractions of *B. laxiflora* exhibited the strongest DPPH radical scavenging activity with IC₅₀ values of 5.6 and 5.7 µg/mL, respectively. Both fractions also exhibited the strongest superoxide radical scavenging activity with IC₅₀ values of 4.3 and 2.3 µg/mL, respectively. Additionally, the EtOAc fraction exhibited the highest reducing power (796 mg CE/g) and total phenolic content (380.5 mg GAE/g). However, for the ferrous chelating abil-

¹ 國立中興大學森林學系研究生及大學生。

Graduate Student and Undergraduate Student, Department of Forestry, National Chung-Hsing University.

² 國立中興大學森林學系名譽教授、中州技術學院景觀設計學系講座教授。

Emeritus Professor, Department of Forestry, National Chung-Hsing University. Chair Professor, Department of Landscape Architecture, Chung-Chou Institute of Technology.

³ 國立中興大學森林學系助理教授, 通訊作者。

Assistant Professor, Department of Forestry, National Chung-Hsing University. Corresponding Author. E-mail:eric@nchu.edu.tw.

ity, water fraction of *B. laxiflora* was the highest one ($IC_{50} = 842.7 \mu\text{g/mL}$). These results conclude that the DPPH radical scavenging activity and the reducing power of extracts from *B. laxiflora* exhibit a positive correlation with their total phenolic contents.

【Key words】 *Balanophora laxiflora*, Antioxidant activity, Ferrous ion chelating ability, Reducing power, Total phenolic content

I、前言

台灣位屬熱帶及亞熱帶季風氣候區，具得天獨厚的氣候與多變的地理環境，因此孕育了多樣化的植物資源，而成為天然藥物的寶庫。許多中、西學者普遍認為，藥用及保健植物是台灣最具國際競爭力的生技產業之一（王升陽等，2003）。在台灣，大多數的中草藥廠商對其產品所訴求的功效中，抗氧化、抗發炎與抗癌的訴求就佔了 50%（黃秋香，2003），可見中草藥在抗氧化方面的潛力與未來的發展確實銳不可當。然而，目前我國在藥用植物科學化的過程中，成績仍然有限，雖然我們擁有如此豐富的藥用植物資源，卻沒有現代化科學的研究數據佐證並支持這些具醫療潛力的藥用植物。因此，自傳統中草藥中篩選並研發具醫療潛力之有效成分並找出其作用機制，不但是我國未來中草藥進軍國際市場的重要方向，更是醫學界極具挑戰性及前瞻性的研究領域。而在眾多的中草藥研發中，穗花蛇菰（*Balanophora laxiflora* Hemsl. ; Balanophoraceae）即是一極具發展潛能的醫療保健食品之一。

穗花蛇菰（蛇菰科）為台灣藥用植物，其外型呈鮮紅色，主要分布於全島中低海拔針闊葉林中，民間常用來治療肺熱、咳嗽、吐血、血崩、風熱斑疹、痔瘡腫痛、小兒陰莖腫及指生蛇頭疔等疾病（邱年永、張光雄，1986）。而根據 Gyamfi 等人

（1999）的研究發現，疾病的發生不外乎由於人體產生過多的活性氧（Reactive oxygen species, ROS），包括超氧自由基（Superoxide radical）、氫氧自由基（Hydroxyl radical）、單峰氧（Singlet oxygen）、過氧化氫（Hydrogen peroxide）以及脂質過氧化物（Lipid peroxide）等，均會造成人體中細胞組成物質的損害。此外，人體存在過多的過渡金屬離子，如：鐵離子或銅離子，亦會造成活性氧的產生，並造成脂質過氧化、DNA 損壞以及消耗生物體中的抗氧化酵素（Hsu and Guo, 2002）。雖然，人體可藉由超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase, SOD）、過氧化氫酶（Catalase, CAT）及麩胱甘肽過氧化酶（Glutathione peroxidase, GPx）等酵素調節機制或是藉由維生素 C、E 等外來物質，清除部分活性氧與脂質過氧化物以維持人體正常生理機能（Halliwell and Gutteridge, 1989）。但隨著人體老化、免疫機能降低以及外在環境的影響，會直接或間接影響到體內自由基清除以及抗氧化酵素的正常運作（許元勳，1999）。因此，若能適時地補充抗氧化劑，將有助於預防因自由基所引發的各種疾病。本研究主要針對台灣本島穗花蛇菰為研究對象，探討其甲醇粗萃物及各可溶部之抗氧化效果，藉以評估穗花蛇菰之抗氧化能力，並作為未來開發成為相關保健食品之參考。

II、材料與方法

(I) 試驗材料

本試驗所使用之試材為野外所採集並經中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟老師鑑定之穗花蛇菰 (標本存放編號 4672)，所得試材經氣乾後以刨花機切成片狀以供試驗之用。

(II) 試驗方法

1. 穗花蛇菰抽出成分的萃取

穗花蛇菰 (9.76 kg) 以 100% 甲醇冷浸萃取浸泡 7 天後，萃取液以 Whatman #1 濾紙過濾去除雜質。一次萃取後的試材續以上述方式重複萃取一次，之後將過濾所得到的萃取液經減壓濃縮機 (Rotary vacuum evaporator) 濃縮以獲得甲醇粗萃物 (1291.4 g)。此外，所得之甲醇粗萃物進一步以不同極性的溶劑進行液相-液相分配 (Liquid-liquid partition)，其中所使用之溶劑包括：乙酸乙酯 (Ethyl acetate, EtOAc)、正丁醇 (*n*-Butanol, BuOH) 及水。經分劃 (Fractionation) 後，可得乙酸乙酯可溶部 (536.8 g)、正丁醇可溶部 (490.6 g) 以及水可溶部 (149.0 g) 共三個分離部。

2. DPPH 自由基清除試驗

參考 Gyamfi 等人 (1999) 之試驗方法：取 1000 μ L DPPH 乙醇溶液 (0.1 mM)、450 μ L Tris-HCl 緩衝液 (50 mM, pH 7.4) 以及 50 μ L 不同濃度 (1、5、10、50、100 μ g/mL) 之甲醇粗萃物或其各可溶部加入 96 well 的微量平盤，混合均勻後於室溫下避光靜置 30 min，之後再以酵素免疫分析儀 (ELISA reader) 測量 517 nm 吸光值。

當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值會下降的愈多，利用相對於對照組的吸光值減少百分比，可得知各試驗樣品清除 DPPH 自由基之能力。

$$\text{DPPH 自由基抑制率 (\%)} = (1 - \text{實驗組吸收值} / \text{對照組吸收值}) \times 100$$

3. 超氧自由基捕捉試驗

本試驗參考 Kirby 及 Schmidt (1997) 試驗方法：取 20 μ L 15 mM Na₂EDTA (以 50 mM KH₂PO₄/KOH 緩衝溶液配製)、50 μ L 0.6 mM NBT (Nitroblue tetrazolium chloride) (以 50 mM KH₂PO₄/KOH 緩衝液配製)、30 μ L 3 mM Hypoxanthine (以 50 mM KOH 配製)、5 μ L 不同濃度 (1、5、10、50、100 μ g/mL) 之甲醇粗萃物或其各可溶部以及 145 μ L 緩衝液 (50 mM KH₂PO₄/KOH, pH 7.4) 於 96 well 的微量平盤均勻混合。之後隨即添加 50 μ L Xanthine oxidase (0.1 U/mL)，並利用酵素免疫分析儀每 1 min 測量 570 nm 之吸光值，並持續測量 9 min。之後，計算其反應速率，並依下列式子計算試驗樣品之超氧自由基抑制率 (%)。

$$\text{超氧自由基抑制率 (\%)} = (1 - \text{實驗組反應速率} / \text{對照組反應速率}) \times 100$$

4. 亞鐵離子螯合之測定

本試驗參考 Dinis 等人 (1994) 之試驗方法：取 200 μ L 不同濃度 (125、250、500、1000、2000 μ g/mL) 之甲醇粗萃物或其各可溶部、740 μ L 甲醇溶液及 20 μ L 2 mM FeCl₂，均勻混合 30 s 後，加入 40 μ L 5 mM Ferrozine 反應 10 min，並測量其 562 nm 吸光值，同時依下列式子計算其亞鐵離子螯

合能力。

亞鐵離子螯合能力 (%) = (1 - 實驗組吸收值/對照組吸收值) × 100

5. 還原力試驗

參考 Oyaizu (1986) 之試驗方法，以兒茶素 (Catechin) 作為標準品進行檢測。測試時，將 500 μL 不同濃度 (1、5、10、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 之兒茶素與 500 μL 之 0.2 M 磷酸緩衝液 (pH 6.6) 以及 500 μL 之 1% 赤血鹽 (Potassium ferricyanide) 混和後，於 50°C 水浴反應 20 min，再以冰塊快速冷卻。之後加入 500 μL 之 10% 三氯醋酸 (Trichloroacetic acid)，經 3000 rpm 離心 10 min 後，取上層液 500 μL ，再加入 500 μL 蒸餾水以及 100 μL 0.1% 氯化鐵 (Ferric chloride)，混合 10 min 後，以酵素免疫分析儀檢測波長 700 nm 之吸光值，並根據此吸光值與兒茶素濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。至於樣品分析，則以甲醇粗萃物或其各可溶部取代標準品 (兒茶素)，並依照相同方式進行反應與吸收值測量。同時，依吸光值與甲醇粗萃物或其各可溶部濃度之關係求出標準曲線迴歸式，將甲醇粗萃物或其各可溶部標準迴歸式斜率除以兒茶素標準迴歸式斜率，即可算出每克甲醇粗萃物及其各可溶部中所含兒茶素相對量 (Catechin equivalent, CE)，並以此表示樣品之還原力。

6. 抽出物總酚含量測定

本試驗參考 Kujala 等 (2000) 之試驗方法，以五倍子酸 (Gallic acid) 作為標準品進行檢測。試驗時，取 500 μL Folin-Ciocalteu 試劑 (1 N) 加入 500 μL 不同

濃度 (0.05、0.025、0.0125、0.00625 mg/mL) 之五倍子酸於微量離心管中，均勻混合並靜置 5 min 後，添加 1 mL 20% Na_2CO_3 繼續靜置 10 min。之後利用離心方式 (12000 g, 8 min)，取上清液以酵素免疫分析儀測量波長 730 nm 之吸光值，並根據此吸光值與五倍子酸濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。至於樣品分析，則以甲醇粗萃物或其各可溶部取代標準品 (五倍子酸)，並依照相同方式進行反應與吸收值測量。將甲醇粗萃物或其各可溶部吸光值代入上述迴歸式即可算出每克抽出物中所含五倍子酸相對量 (Gallic acid equivalent, GAE)，並以此表示甲醇粗萃物及其各可溶部之總酚含量 (Total phenolic content)。

7. 統計分析

利用 SAS 系統之 Scheffe 統計方法，檢驗穗花蛇菰甲醇粗萃物及各可溶部之抗氧化活性及總酚含量是否具顯著差異，分析時所使用之信賴區間為 95%。

III、結果與討論

(I) 穗花蛇菰粗萃物及各可溶部清除 DPPH 自由基之能力

DPPH 自由基常用於評估天然物之供氫能力，且 DPPH 自由基在可見光下有特定吸收，當 DPPH 自由基減少時，吸光值會有所改變。因此，DPPH 自由基廣泛的應用於測定多元醇芳香類 (Polyhydroxy aromatic compound) 與芳香胺類 (Aromatic amine) 等化合物之供氫能力 (Blois, 1958)。而為進一步探討穗花蛇菰抗氧化之能力，本試驗亦採 DPPH 自由基清除試

驗以評估其抗氧化活性。穗花蛇菰甲醇粗萃物以及各可溶部之 DPPH 自由基清除效應如表 1 所示。穗花蛇菰甲醇粗萃物以及各個可溶部抑制 DPPH 自由基能力，以乙酸乙酯可溶部及正丁醇可溶部具有最佳抑制效果 ($IC_{50} = 5.6 \mu\text{g/mL}$ 及 $5.7 \mu\text{g/mL}$)，其次為甲醇粗萃物 ($IC_{50} = 6.4 \mu\text{g/mL}$)，而水可溶部抑制效果則最差 ($IC_{50} = 14.0 \mu\text{g/mL}$)。此外，與常見的抗氧化劑—兒茶素 (Catechin) 相較，兒茶素抑制 DPPH 自由基之 IC_{50} 為 $2.8 \mu\text{g/mL}$ ，而穗花蛇菰除了水可溶部之外，其餘各可溶部抑制 DPPH 自由基之活性均與兒茶素相當，顯示具有極佳清除 DPPH 自由基能力。至於穗花蛇菰甲醇粗萃物及各可溶部之收率，由表 1 可以明顯看出，以乙酸乙酯之收率最高 (9.2%)，其次為正丁醇可溶部 (8.4%)，而以水可溶部最低，其收率僅為 2.5%。由上述結果可以得知，穗花蛇菰乙酸乙酯可溶部除具有極佳清除 DPPH 自由基之能力，亦具有高收率。因此，推論穗花蛇菰乙酸乙酯可溶部應具有高含量之抗氧化成

分。

(II) 穗花蛇菰粗萃物及各可溶部捕捉超氧自由基之能力

超氧自由基為生物體中最常見的活性氧之一，所有的需氧生物體均會藉由粒腺體 (Mitochondrial) 中的電子傳遞系統 (Electron transport system) 而產生超氧自由基 (Siddhuraju and Becker, 2007)。一般而言，生物體中之超氧自由基，會進一步轉變為過氧化氫、氫氧自由基以及單峰氧，因此，超氧自由基在生物體中之過氧化連鎖反應中扮演一極為重要的角色 (Lee *et al.*, 2004)。當次黃嘌呤 (Hypoxanthine) 與黃嘌呤氧化酶 (Xanthine oxidase) 反應時會生成超氧自由基，若在反應過程中添加 NBT 進行反應，則會呈現藍紫色。將穗花蛇菰甲醇粗萃物及其各可溶部加入上述反應中，則可藉由抑制超氧自由基之生成速率計算其抑制活性。由表 1 穗花蛇菰甲醇粗萃物及各可溶部清除超氧自由基之結果可得知，正丁醇可溶部具有最佳抑制效

表 1 穗花蛇菰甲醇粗萃物及其各可溶部之收率與 DPPH 自由基清除效應、超氧自由基清除效應和亞鐵離子螯合能力之半數抑制濃度

Table 1 Yields and IC_{50} values of methanolic crude extract and its derived soluble fractions from *Balanophora laxiflora* for scavenging DPPH radical, superoxide radical, and ferrous ion chelating abilities

Extracts	Extract yields (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)		
		DPPH radical	Superoxide radical	Ferrous ion chelating
Crude extract ^a	22.1	6.4	23.6	>2000
EtOAc fraction	9.2	5.6	4.3	>2000
BuOH fraction	8.4	5.7	2.5	>2000
Water fraction	2.5	14.0	17.0	842.7
(+)-Catechin ^b	-	2.8	11.7	-
EDTA ^b	-	-	-	13.2

^a Methanolic extract from *Balanophora laxiflora*

^b Positive control

果，其 IC_{50} 為 $2.5 \mu\text{g/mL}$ ，其次為乙酸乙酯可溶部 ($IC_{50} = 4.3 \mu\text{g/mL}$) 與水可溶部 ($IC_{50} = 17.0 \mu\text{g/mL}$)，而甲醇粗萃物抑制超氧自由基之效果則最差 ($IC_{50} = 23.6 \mu\text{g/mL}$)。至於已知之抗氧化劑—兒茶素，其 IC_{50} 僅為 $11.7 \mu\text{g/mL}$ 。此外，Sato 等人 (1996) 分析 31 種酒類中多酚類與超氧自由基的抑制關係時發現，超氧自由基的清除能力與多酚類含量成正比。而 Robak 和 Gryglewski (1988) 以及 Hanasaki 等人 (1994) 的研究亦發現，植物體中所含之黃酮類化合物，如：Quercetin、Myricetin、Rutin、Kaempferol、Baicalein 以及 7,8-Dihydroxyflavone 等，其抗氧化活性主要為抑制超氧自由基。因此，從上述前人的研究及穗花蛇菰抽出物對超氧自由基具有良好的清除效果來看，穗花蛇菰中應含有大量多酚類化合物，實值得進一步分析與探討。

(III) 穗花蛇菰粗萃物及各可溶部之亞鐵離子螯合能力

人體中含有約 4.5 g 的鐵，其中約 65% 存在於血紅蛋白 (Haemoglobin)，10% 存在於肌紅蛋白 (Myoglobin)、細胞色素 (Cytochrome) 及酵素中，其餘的 20-30% 則存在於蛋白質、儲鐵蛋白 (Ferritin) 及血鐵質 (Hemosiderin) 之中 (Fraga and Oteiza, 2002)。當人攝取過多的鐵時，會造成肝臟與心血管疾病 (Rasmussen *et al.*, 2001; Milman *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 1998)、癌症 (Beckman *et al.*, 1999; Parkkila *et al.*, 2001) 以及免疫系統異常 (Li *et al.*, 2000; Walker and Walker, 2000) 等疾病。此外，生物體內鐵離子過多時，會進一步反應產生超氧自由基、過氧化氫及氫氧自由基等

(Fraga and Oteiza, 2002)。因此，本試驗藉 Ferrozine 與 Fe^{2+} 螯合，產生 Ferrozine- Fe^{2+} 紫紅色錯化合物，在 562 nm 下有強的吸光值，若 Fe^{2+} 與試樣結合，則會減少 Ferrozine- Fe^{2+} 的生成，並導致吸光值的降低。而藉由此吸光值的變化，則可判斷試樣之亞鐵離子螯合能力。由表 1 穗花蛇菰甲醇粗萃物及其各可溶部之亞鐵離子螯合試驗結果得知，穗花蛇菰之甲醇粗萃物與各可溶部中，以水可溶部具有最佳亞鐵離子螯合能力，其 IC_{50} 為 $842.7 \mu\text{g/mL}$ ，而其餘各可溶部與甲醇粗萃物均無明顯亞鐵離子螯合能力，其 IC_{50} 均大於 $2000 \mu\text{g/mL}$ 。與已知之金屬螯合劑 EDTA ($IC_{50} = 13.2 \mu\text{g/mL}$) 及中草藥枸杞子乙醇抽出物 (濃度為 $2000 \mu\text{g/mL}$ 時，亞鐵離子螯合能力約為 60%) 相較 (Le *et al.*, 2007)，穗花蛇菰甲醇粗萃物及各可溶部雖不如 EDTA 具有極佳亞鐵離子螯合能力，但其水可溶部之亞鐵離子螯合能力則與一般常見的中草藥枸杞子相當，其濃度為 $2000 \mu\text{g/mL}$ 時，亞鐵離子螯合能力約為 65%。

(IV) 穗花蛇菰粗萃物及各可溶部之還原能力

愈來愈多研究指出，抗氧化能力與還原力有著極大的關係，並且可有效的反映出抗氧化物質之活性 (Chang *et al.*, 2002; Yen and Duh, 1993)。一般認為，具有還原能力之還原劑 (Reductones) 均可破壞自由基的連鎖反應 (Duh *et al.*, 1998)，並且，亦具有供氫能力可清除自由基 (Gordon, 1990)。此外，還原劑若與過氧化之前驅物質反應，則可有效的抑制過氧化反應的形成 (Kumaran and Karunakaran, 2006)。

本試驗主要是利用赤血鹽 ($K_3Fe(CN)_6$) 還原成黃血鹽 ($K_4Fe(CN)_6$)，黃血鹽再與 Fe^{3+} 作用生成普魯士藍。在 700 nm 波長下測定其吸光值，以檢測普魯士藍之生成量，藉以評估試驗樣品於該系統之還原能力。分析時，以兒茶素作為標準品，並計算出每克萃取物中所含兒茶素相對量 (Catechin equivalent, CE)，並以此表示樣品還原力。試驗結果如圖 1 所示，穗花蛇菰之乙酸乙酯可溶部具有最佳還原力 (796 mg CE/g)，其次為正丁醇可溶部 (493 mg CE/g) 以及甲醇粗萃物 (387 mg CE/g)；同樣地，以水可溶部之還原力表現最差 (210 mg CE/g)。此試驗結果與先前 DPPH 自由基清除試驗及超氧自由基清除試驗結果相似，穗花蛇菰各萃取物均以乙酸乙酯可溶部與正丁醇可溶部具有較佳抗氧化活性。

(V) 穗花蛇菰粗萃物及各可溶部之總酚含量

酚類化合物 (Phenolic compounds) 為植物體中常見的二次代謝物，其種類繁多，如：酚酸、原花青素 (Proanthocyanidins)、黃酮類化合物及單寧等均屬於此類化合物 (Tagliacozzi *et al.*, 2005)。此外，部分黃酮類化合物還具有特定的生理功能及醫療效果，現已證實其具有抗癌、抗突變、抗氧化、增加免疫力、抑制脂質過氧化、抑制低密度脂蛋白 (Low-density lipoprotein, LDL) 氧化及螯合過渡金屬等活性 (Tagliacozzi *et al.*, 2005)。另外，某些異黃酮 (Isoflavone) 或木酚素 (Lignan) 化合物則具有類雌激素活性以及部分殺蟲效果 (唐傳核, 2004)。穗花蛇菰之甲醇粗萃物以及各可溶部之總酚含量經由福林

—西歐卡都法所測得的結果如圖 1 所示，甲醇粗萃物與各可溶部中，總酚含量最高者為乙酸乙酯可溶部，其值為 380.5 mg GAE/g，其次為正丁醇可溶部 (272.0 mg GAE/g) 與甲醇粗萃物 (200.0 mg GAE/g)，而水可溶部之總酚含量 (104.9 mg GAE/g) 則最少。此外，與日常生活中常見的穀、豆類，如：大麥種子 (1.3-2.0 mg/g)、玉米 (0.3 mg/g)、高粱 (1.7-102 mg/g)、黑豆 (5.4-12 mg/g)、綠豆 (4.4-8.0 mg/g) 及葡萄籽 (18.2 mg/g) 相較 (Bravo, 1998; Janisch *et al.*, 2006; Liu and Yao, 2007)，其含量高出十倍甚至百倍。而根據 Wu 等人 (2005) 之研究亦發現，酚類化合物含量越高，其抗氧化效果越好；同樣的，穗花蛇菰不論甲醇粗萃物與各可溶部均富含酚類化合物，且由上述結果得知，其酚類化合物含量與穗花蛇菰之抗氧化活性成正相關。

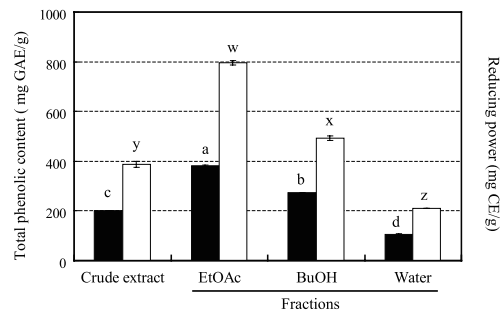


圖 1 穗花蛇菰甲醇粗萃物及其各可溶部之還原力與總酚含量

Fig. 1 Reducing power (white bar) and total phenolic content (black bar) of methanolic extract and its derived soluble fractions from *Balanophora laxiflora*. Results are mean \pm SD ($n = 3$). Different letters indicate significant difference

IV、結論

近年來，由於社會型態由早期的農業社會轉變為工商社會，導致環境污染日漸增加、酒精消耗量增加、生活壓力以及藥物濫用等問題日趨嚴重，導致許多疾病叢生，其主要原因為人體存在過多的自由基所造成的危害。一般認為在細胞代謝過程中，自由基是必然的產物，包括超氧自由基、氫氧自由基以及亞鐵離子等源自生物生理反應或外生因子的活性氧，大都具有極高的危險性。因此，如何找尋一天然藥物可有效清除體內過多的自由基為近年來醫藥界的研究主流之一。本研究之試驗結果發現，穗花蛇菰之乙酸乙酯可溶部與正丁醇可溶部具有較佳的抗氧化活性，在 DPPH 自由基與超氧自由基清除試驗中，其 IC_{50} 分別為 5.6 $\mu\text{g/mL}$ 與 5.7 $\mu\text{g/mL}$ 以及 4.3 $\mu\text{g/mL}$ 與 2.3 $\mu\text{g/mL}$ ，而亞鐵離子螯合能力則以水可溶部具有最佳的螯合能力，其 IC_{50} 為 842.7 $\mu\text{g/mL}$ 。此外，穗花蛇菰乙酸乙酯可溶部具有最高含量之還原力與總酚含量，其值分別為 796.0 mg CE/g 與 380.5 mg GAE/g。由此顯示自由基清除能力、亞鐵離子螯合能力與總酚含量成正相關。綜合上述試驗結果可以得知，穗花蛇菰之抽出成分富含酚類化合物與抗氧化物質。因此，其抽出物在抗氧化或癌症的化學預防 (Chemoprevention) 等醫療保健方面的應用與發展極具潛力，實值得進一步的進行相關的藥理與動物試驗。

V、致謝

本研究承蒙國立中興大學提供研究經

費 (CC96313-I)，以及中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟老師提供試驗材料及基原鑑定，使得本研究順利完成，特此致謝。

VI、引用文獻

- 王升陽、徐麗芬、楊寧蓀 (2003) 傳統與科技結合－藥用及保健植物新發展。科學發展 364: 50-55。
- 邱年永、張光雄 (1986) 原色台灣藥用植物圖鑑。台北南天書局。35 頁。
- 唐傳核 (2004) 植物生物活性物質。化學工業出版社。351 頁。
- 許元勳 (1999) 微生物來源天然抗氧化劑之篩選研究(上)。生物產業 10: 12-18。
- 黃秋香 (2003) 中草藥在食品加工之市場概況。食品市場資訊 92: 1-6。
- Beckman, L. E., G. F. V. Landeghem, C. Sikstrom, A. Wahlin, B. Markevarn, G. Hallmans, P. Lenner, L. Athlin, R. Stenling and L. Beckman (1999) Interaction between haemochromatosis and transferrin receptor genes in different neoplastic disorders. *Carcinogenesis* 20: 1231-1233.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Bravo, L. (1998) Polyphenolics: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317-333.
- Chang, L. W., W. J. Yen, S. C. Huang and P. D. Duh (2002) Antioxidant activity of sesame coat. *Food Chemistry* 78: 347-354.

- Dinis, T. C. P., V. M. C. Maderia and L. M. Almeida (1994) Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitor of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 315: 161-169.
- Duh, P. D. (1998) Antioxidant activity of burdock (*Arctium lalla* Linne): its scavenging effect on free-radical and active oxygen. *Journal of the American Oil Chemists Society* 75: 455-461.
- Fraga, C. G. and P. I. Oteiza (2002) Iron toxicity and antioxidant nutrients. *Toxicology* 180: 23-32.
- Gordon, M. H. (1990) The mechanism of antioxidant action *in vitro*. pp.1-18. In B. J. F. Hudson, ed. *Food antioxidants*. London: Elsevier Applied Science. 317 pp.
- Gyamfi, M. A., M. Yonamine and Y. Aniya (1999) Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacology* 32: 661-667.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (1989) Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of oxygen toxicity. pp.86-123. In B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, eds. *Free Radical in Biology and Medicine*. Clarendon Press. Oxford. 543 pp.
- Hanasaki, Y., S. Ogawa and S. Fukui (1994) The correlation between action oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine* 16: 845-850.
- Hsu, P. C. and Y. L. Guo (2002) Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 180: 33-44.
- Janisch, K. M., C. O. Lschlager, D. Treutter and E. F. Elstner (2006) Simulated digestion of *Vitis vinifera* seed powder: polyphenolic content and antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4839-4848.
- Kumaran, A. and R. J. Karunakaran (2006) Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry* 97: 109-114.
- Kujala, T. S., J. M. Lojonen, K. D. Klika and K. Pihlaja (2000) Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5338-5342.
- Kirby, A. J. and R. J. Schmidt (1997) The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-1. *Journal of Ethnopharmacology* 56: 103-108.
- Le, K., F. Chiu and K. Ng (2007) Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry* 105: 353-363.
- Lee, J., N. Koo and D. B. Min (2004) Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3:

- 21-33.
- Li, J., Y. Zhu and D. P. Singal (2000) HFE gene mutations in patients with rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology* 27: 2074-2077.
- Liu, Q. and H. Yao (2007) Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chemistry* 102: 732-737.
- Milman, N., P. Pedersen, T. Steig, K. E. Byg, N. Graudal and K. Fenger (2001) Clinically overt hereditary hemochromatosis in Denmark 1948-1985: epidemiology, factors of significance for long-term survival, and causes of death in 179 patients. *Annals of Hematology* 80: 737-744.
- Oyaizu, M. (1986) Antioxidative activity of browning products of glucosamine fractionated by organic solvent and thin-layer chromatography. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 35: 771-775.
- Parkkila, S., O. Niemela, E. R. Savolainen and P. Koistinen (2001) HFE mutations do not account for transfusional iron overload in patients with acute myeloid leukemia. *Transfusion* 41: 828-831.
- Rasmussen, M., A. R. Folsom, D. J. Catellier, M. Y. Tsai, U. Garg and J. H. Eckfeldt (2001) A prospective study of coronary heart disease and the hemochromatosis gene (HFE) C282Y mutation: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 154: 739-746.
- Robak, J. and I. R. Gryglewski (1988) Flavonoids are scavenging of superoxide anions. *Biochemical Pharmacology* 37: 837-841.
- Sato, M., N. Ramarathnam, Y. Suzuki, T. Ohkubo, M. Takeuchi and H. Ochi (1996) Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 37-41.
- Siddhuraju, P. and K. Becker (2007) The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts. *Food Chemistry* 101: 10-19.
- Tagliacruzchi, D., E. Verzelloni and A. Conte (2005) Effect of some phenolic compounds and beverages on pepsin activity during simulated gastric digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 8076-8713.
- Walker, E. M. J. and S. M. Walker (2000) Effects of iron overload on the immune system. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 30: 354-365.
- Wu, J. H., Y. T. Tung, S. Y. Wang, L. F. Shyur, Y. H. Kuo and S. T. Cang (2005) Phenolic and antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5917-5921.
- Yang, Q., S. M. McDonnell, M. J. Khoury, J. Cono and R. G. Parrish (1998) Hemochromatosis-associated mortality in the United States from 1979 to 1992: an analysis of multiple-cause mortality data. *Annals of Internal Medicine* 129: 946-953.

Yen, G. C. and P. D. Duh (1993) Antioxidative properties of methanolic extracts from

peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists Society* 70: 383-386.

