

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

麻荊多元酚抗氧化機制及其對訊號傳遞之調控於癌症化學
預防之研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2313-B-040-002-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：中山醫學大學營養學系

計畫主持人：王進崑

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 10 月 6 日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

麻荳多元酚抗氧化機制及其對訊號傳遞之調控於癌症化學預防之研究
Study on the antioxidant mechanism and the role on the signal modulating
transduction in cancer chemoprevention by the polyphenols of *Corchorus olitorius* L.

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：92-2313-B-040-002

執行期間：92年8月1日至93年7月31日

個別型計畫：計畫主持人：王進崑
 共同主持人：

整合型計畫：總計畫主持人：
 子共同主持人：

註：整合型計畫總報告與子計畫成果報告請分開編印各成一冊，彙整一起繳送國科會。

處理方式： 可立即對外提供參考
 一年後可對外提供參考
 兩年後可對外提供參考
 (必要時，本會得展開發表時限)

執行單位：中山醫學大學營養學系

中華民國 九十三年十月六日

摘要

麻芋(*Corchorus olitorius*)為黃麻之嫩葉，夏季時盛產於中台灣。一般食用方法乃捨棄植株之莖及葉脈，只取嫩葉部份，將嫩葉以流水搓揉直至黏稠苦味物質洗去，煮成羹湯食用。本研究探討不同部位麻芋之多元酚含量及其多元酚粗萃物的抗氧化力和調控發炎反應之能力。

本研究取得完整麻芋、麻芋葉、麻芋莖、水洗麻芋葉多元酚粗萃物及其水洗液冷凍乾燥物等五部分。總酚類含量以水洗液為最高(762.09±11.80 mg/g dry wt.)，類黃酮含量以葉為最多(169.34 ± 11.96 mg/g dry wt.)，縮合單寧則主要在莖(211.29±10.30 mg/g dry wt.)。還原力、螯合亞鐵離子能力方面均以莖及完整麻芋之多元酚粗萃物效果最佳，而清除過氧化氫能力則以水洗液的效果最好；清除 DPPH 自由基能力則是莖、葉以及完整麻芋顯著地優於水洗葉及水洗液。亞麻油酸乳化系統中，抑制致氧化之能力，各種多元酚粗萃物均高於同濃度的維生素 E。

對於抑制由脂多醣誘發巨噬細胞生成一氧化氮的能力方面，以完整麻芋多元酚粗萃物的效果最佳，當濃度達 200µg/ml，可抑制 65.2%一氧化氮的生成，而葉的多元酚粗萃物又較莖及水洗葉者佳，其中完整、葉及水洗葉之多元酚粗萃物對抑制一氧化氮生成的效果皆隨劑量提高而增強，然而水洗液則幾乎沒有效果。而抑制由脂多醣誘發巨噬細胞生成前列腺素 E₂ 的能力方面，以麻芋葉多元酚粗萃物的效果最佳，當濃度達 200µg/ml，可抑制 52.6% 前列腺素 E₂ 的生成；然後是完整麻芋與麻芋莖的多元酚粗萃物，其中完整麻芋、麻芋葉及麻芋莖之多元酚粗萃物對抑制前列腺素 E₂ 生成的效果皆隨劑量提高而增強，然而麻芋水洗葉及水洗液則沒有效果。另外，抑制由脂多醣誘發巨噬細胞生成介白素-1β 的能力方面，也是以麻芋葉多元酚粗萃物的效果最佳，當濃度達 200µg/ml，可抑制 79.5% 介白素-1β 的生成，麻芋葉、麻芋莖及麻芋水洗液之多元酚粗萃物對抑制介白素-1β 生成的效果皆隨劑量提高而增強，完整麻芋則在高濃度下始有抑制作用，然而麻芋水洗葉則沒有效果。

抑制由脂多醣誘發巨噬細胞一氧化氮合成酶表現的能力方面，以麻芋葉多元酚粗萃物的效果最佳，當濃度達 200µg/ml，可抑制一氧化氮合成酶的表現與無脂多醣誘發的組別沒有差異，五組試驗樣品多元酚粗萃物抑制能力皆隨劑量提高而增強。另外，在抑制由脂多醣誘發巨噬細胞第二型環氧化酶表現的能力方面，麻芋葉多元酚粗萃物的效果最佳，然後是完整麻芋，麻芋莖，麻芋水洗葉，麻芋水洗液。當麻芋葉多元酚粗萃物濃度達 100µg/ml 以上時及麻芋水洗液在濃度 200µg/ml 下，可抑制第二型環氧化酶表現與無脂多醣誘發的組別沒有差異。由所獲知的結果得知，完整麻芋及麻芋葉在調控發炎反應之效能較麻芋莖，麻芋水洗葉，麻芋水洗液顯著。

關鍵詞：麻芋、酚類化合物、抗氧化性、一氧化氮、前列腺素 E₂、
誘導型一氧化氮合成酶、第二型環氧化酶

Abstract

Corchorus olitorius is the tender leaf of jute, and well-grown in middle Taiwan during summer. The general edible method is to remove stem and the leaf vein of the plant, only use the tender leaf. Tender leaf was kneading by running water until the bitter taste was washed off. And is always boiled to eat as stew form. This study was to discuss the polyphenol contents of different parts of *Corchorus olitorius*, and their antioxidant activity and the ability on inflammatory regulation.

Crude polyphenol extracts of whole *Corchorus olitorius*, *Corchorus olitorius* leaf, stem, the laundering *Corchorus olitorius* leaf and its washing dried material were used in this study. Results showed that total phenolic content of *Corchorus olitorius* was the highest in washing dried material (762.09 ± 11.80 mg/g dry wt.), the total flavanoid contents were the most abundant in the leaf (169.34 ± 11.96 mg/g dry wt.), and the condensed tannin contents were mainly in stem (211.29 ± 10.30 mg/g dry wt.). The reducing activity and the chelating activity on ferrous ion were greatly exhibited by the *Corchorus olitorius* stem and whole *Corchorus olitorius*. However, the scavenging activity on hydrogen peroxide were greatly by the washing dried material, and the scavenging activity on DPPH radical were by stem, leaf and whole *Corchorus olitorius* better than that of the laundering *Corchorus olitorius* leaf and its washing dried material. All polyphenol extracts of *Corchorus olitorius* showed higher inhibition than VitE on linoleic acid autooxidation.

The suppression on LPS-induced nitrite production of J774A.1 macrophage cell clearly showed that polyphenol extract of whole *Corchorus olitorius* had the best suppression (65.2%) at 200 μ g/ml. Washing dried material had no effect on nitrite production. Except for washing dried material, the other polyphenol extracts inhibited nitrite production in a dose-dependent manner. The effect on LPS-induced PGE₂ production of J774A.1 macrophage cell showed that polyphenol extracts of leaf had the best suppression (52.6%) at 200 μ g/ml, followed by whole *Corchorus olitorius* and stem. However, the laundering leaf and washing dried material almost had no effect on PGE₂ production. Furthermore, the suppression on LPS-induced IL-1 production of J774A.1 macrophage cell, also showed that polyphenol extracts of leaf had the best suppression (79.5%) at 200 μ g/ml. The polyphenol extracts of *Corchorus olitorius* leaf, *Corchorus olitorius* stem and washing dried material inhibited IL-1 production in a dose-dependent manner. And whole *Corchorus olitorius* had suppression only at 200 μ g/ml, the laundering leaf almost had no effect on IL-1 production.

Effect on LPS-induced iNOS expression of J774A.1 macrophage cell showed that the polyphenol extracts of *Corchorus olitorius* leaf had the best suppression on iNOS expression. All polyphenol samples inhibited iNOS expression and showed dose-dependent manner. In addition, suppression on LPS-induced COX-2 expression of J774A.1 macrophage cell showed that leaf was the best, followed by whole *Corchorus olitorius*, stem, laundering leaf and washing dried material. In conclusion, the effect of polyphenol extracts on inflammatory regulation showed that whole *Corchorus olitorius* and *Corchorus olitorius* leaf were better than those of stem, laundering *Corchorus olitorius* leaf and its washing dried material.

Keywords: *Corchorus olitorius*, polyphenol, antioxidant activity, nitric oxide, prostaglandins E₂, inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2

計劃緣由與目的

惡性腫瘤已連續蟬連國人十大死因之首數年，92 年度更高達全國死因的 27.1%(行政院衛生署，2004)。癌症發生的原因與生活型態有關，包括抽煙、飲食習慣或長期暴露於危險環境如慢性發炎反應等，體內過多發炎物質如：一氧化氮、前列腺素與細胞激素等的生成，造成發炎反應持續的進行，進而增加癌症的發生率 (Goodwin and Ceuppens, 1983)。發炎組織及癌化組織均有誘發型一氧化氮合成酶 (iNOS) 及第二型環氧合酶 (COX-2) 的表現，且抑制 COX-2 表現與抗癌作用有關 (Zimmermann et al., 1999; Masferrer et al., 2000; Bing et al., 2001; Shirahama et al., 2001)。

麻芋為中台灣夏季盛產的蔬菜，一般被民眾食用以清熱解暑及消腫等用途。由於其具有獨特苦味，所以食用時捨棄莖及葉脈，只取嫩葉部份，將嫩葉以流水搓揉直至黏稠苦味物質洗去，煮成羹湯食用。而麻芋中酚類化合物顯著地高於數種蔬果與穀類 (Velioglu et al., 1998)，且這些酚類化合物均具有良好的抗氧化活性 (Azuma et al., 1999)。

本研究擬針對麻芋不同部位中多元酚含量及其抗氧化性進行探討。同時利用細胞培養模式，探討麻芋多元酚粗萃物對巨噬細胞中一氧化氮、前列腺素及細胞激素等發炎相關因子之影響，並研究其對 iNOS 及 COX-2 的作用，以了解不同部位麻芋多元酚粗萃物在發炎反應的調控機制，進一步發展麻芋作為預防及治療慢性發炎與降低癌症發生的機能性蔬菜。

結果與討論

一、麻芋酚類化合物之分析

酚類化合物廣泛存在於天然植物中，為瞭解麻芋植株中酚類化合物的含量及分佈的情形，分別針對完整麻芋、麻芋葉、麻芋莖、麻芋水洗葉多元酚粗萃物及麻芋水洗液之冷凍乾燥物等五部份進行分析。

各類酚類化合物於麻芋之分佈情形。總酚類化合物含量主要在麻芋莖 (62.0%)，僅 38.0% 存於麻芋葉。總類黃酮則主要在麻芋葉 (73.9%)，其中絕大多數又在水洗葉中，麻芋莖中僅有 26.1%。縮合單寧則主要分佈於麻芋莖 (74.2%) 中。

二、抗氧化性

本試驗以亞麻油酸自氧化為模式系統，所有麻芋試驗樣品皆具有抗氧化活性，且抗氧化力皆隨著使用劑量的增加而提升，若比較亞麻油酸之氧化抑制性時，以水洗葉具有最佳之效果，莖次之，且所有試驗樣品之抗氧化能力均較維生素 E 佳。同樣地，各種試驗樣品之還原力皆隨著使用劑量的增加而提高，當濃度達 10mg/mL 時，麻芋莖的多元酚粗萃物具有最佳之還原力，其次為完整麻芋、麻芋葉、水洗葉、水洗液。而有關螯合亞鐵離子之能力方面，不同部位麻芋酚類化合物粗萃物皆具有螯合亞鐵離子之能力，且螯合力會與劑量成正相關，以完整麻芋、水洗葉與麻芋莖，較麻芋葉及水洗液具有較佳之螯合效果。

在清除活性氧方面，五種試驗樣品皆具有清除氫氧自由基之效果，且效力隨著劑量的上升而增加。水洗液具有最佳之清除效果。此可能是水洗液中含量較多之總酚類化合物及縮合單寧之功用所致。DPPH 自由基之清除能力方面，五種試驗樣品對 DPPH 皆具有清除能力，其清除力皆隨著劑量的增加而升高。又以完整麻芋、麻芋莖及麻芋葉三組顯

著優於水洗液與水洗葉。

三、麻筴多元酚粗萃物對巨噬細胞J774A.1發炎物質生成之影響

加入完整麻筴、麻筴葉及莖的組別在各種濃度下均能減少 LPS 誘發巨噬細胞 J774 A.1 之 NO 生成，以完整麻筴抑制 NO 生成之能力最好，然後是麻筴葉。麻筴莖雖有抑制效果，但並不隨濃度增加而提升效能；

此外加入完整麻筴、麻筴葉及莖的組別在各種濃度下均能減少 LPS 誘發巨噬細胞 J774 A.1 之 PGE₂ 生成，各組試驗樣品抑制 PGE₂ 生成的能力不及抑制 NO 生成的能力。其中以麻筴葉抑制 PGE₂ 生成之能力最好，然後是完整麻筴及麻筴莖。完整麻筴、麻筴葉及麻筴水洗液的抑制 PGE₂ 生成與抑制 NO 生成之趨勢是一致的。

在介白素-1 β (Interleukin-1 β ; IL-1 β) 生成方面，各組試驗樣品抑制 IL-1 β 生成的能力不及抑制 NO 生成的能力。其中以麻筴葉抑制 IL-1 β 生成之能力最好，然後是麻筴水洗液及麻筴莖。麻筴葉及麻筴莖抑制 IL-1 β 生成與抑制 NO 及 PGE₂ 生成之趨勢是一致的。完整麻筴在抑制 NO 及 PGE₂ 生成能力方面均與劑量成一正相關，但只在最高濃度下始有抑制 IL-1 β 生成的作用。而麻筴水洗液具有抑制 NO 生成之能力，卻無抑制 PGE₂ 生成之效果，同時，對抑制 IL-1 β 生成亦無效益。IL-1 β 、NO 與 PGE₂ 在訊息傳遞上具有相互調節之作用 (Salvemini et al., 1993; Beauregard et al., 2003)，且其生成受到許多複雜的因素調控，所以麻筴樣品抑制 LPS 誘發之 IL-1 β 、NO 與 PGE₂ 生成有不同的結果可能是尚有其他的影响因素，這方面仍待探討。

四、iNOS 與 COX-2 表現

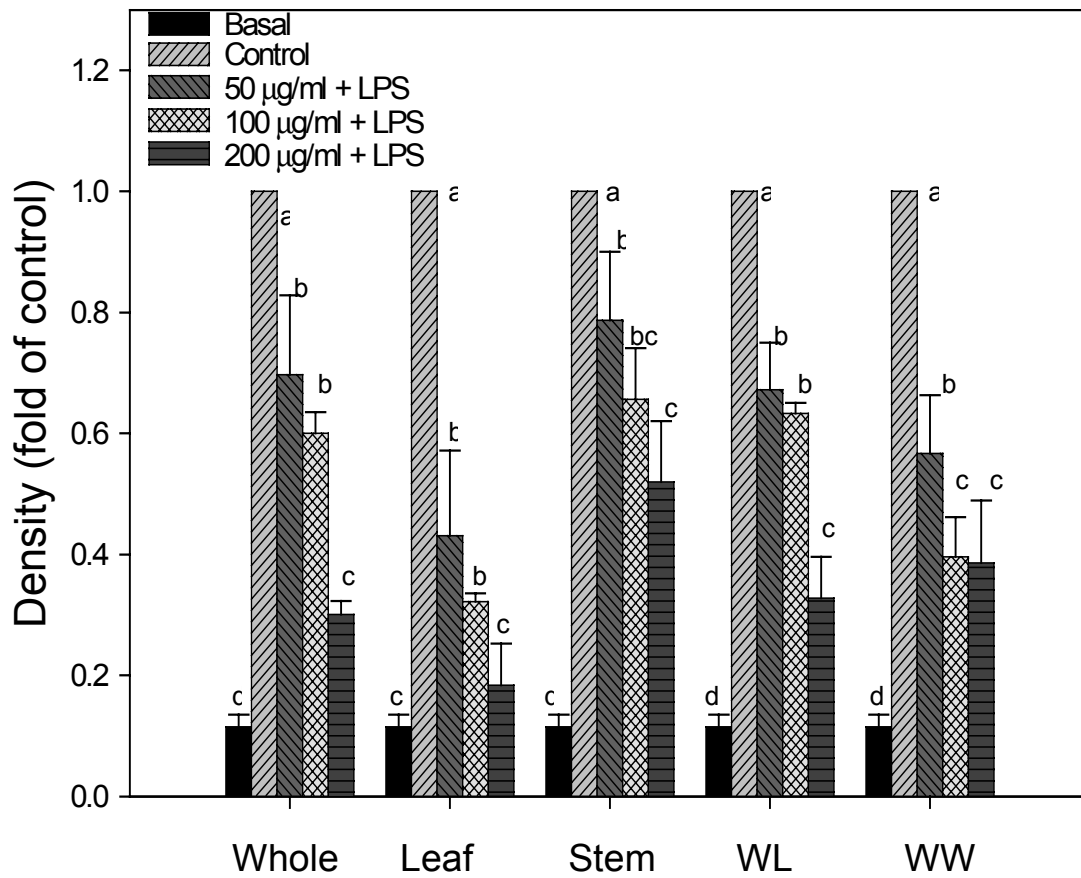
在抑制 LPS 誘發巨噬細胞 J774 A.1 之 iNOS 表現方面，完整麻筴與麻筴葉抑制 iNOS 表現與 NO 生成之能力均呈正相關。

COX-2 與急性和慢性發炎之病理發生有密切關係，COX-2 在一般生理情況下不存在，只有在受到促發炎性媒介物質如 LPS、細胞激素、生長因子等的刺激活化才會表現，此時過多的 PGE₂ 生成促進發炎的反應 (Smith et al., 2000)。五種試驗樣品在各種濃度下均能抑制 LPS 誘發巨噬細胞 J774 A.1 之 COX-2 表現 (麻筴水洗液組別在濃度低於 100 μ g/mL 時與控制組沒有顯著差異)。整體而言，完整麻筴、麻筴葉及麻筴莖抑制 COX-2 表現與 PGE₂ 生成之能力均與濃度成正相關；

五組試驗樣品在抑制 iNOS 及 COX-2 表現方面，麻筴莖二者的抑制率是相似的，其他四組對 iNOS 的抑制效果均高於 COX-2，但其趨勢是一致的。由於本研究中，沒有以 LPS 誘發的情形下，COX-2 表現即達控制組的 0.32，較於 iNOS (0.12) 來的高，故其抑制 COX-2 表現的效果雖沒有 iNOS 顯著，但是仍有良好抑制 COX-2 表現的能力。

研究中各試驗樣品對各發炎物質之作用表現雖然不盡相同，但其效果之趨勢是一致的。因為發炎物質 (如 NO、PGE₂、IL-1 β 、iNOS 及 COX-2 等) 間具有相互調控之機制 (Miyasaka and Hirata, 1997; Beauregard et al., 2003)，又試驗樣品中成份複雜，其中有效成份及作用機轉仍有待研究。

本研究發現，在抗氧化性及調控發炎方面，各部位麻筴之多元酚萃取物都具有其功效，但又以完整麻筴及麻筴葉具有較佳之效果。目前食用麻筴的方法捨棄大部分的莖、葉脈及水洗液，如能調整食用方法，食用整株植株、不經水洗搓揉或利用其他食品加工方式整理，或許能進一步發展麻筴作為預防及治療慢性發炎與降低癌症發生的機能性蔬菜。



圖二十七、不同部位麻苧多元酚萃取物對脂多醣誘發巨噬細胞J774A.1
誘發型一氧化氮合成酶表現之影響 (續)

Fig.27 Effect of polyphenol extracts from various parts of *Corchorus olerius* on LPS-induced iNOS expression of J774A.1 macrophage cell (Continued)

WL : Washed Leaf, WW : Washed Water

Values are means±SD

Bar within the same group sharing different superscript letters were significantly different ($p < 0.05$)

参考文献

- Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio H. (1999) Phenolic Antioxidants from the Leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47:3963-3966.
- Bing, R. J., Miyataka, M., Rich, K. A., Hanson, N., Wang, X., Slosser, H. D. and Shi, S. R. (2001) Nitric oxide, prostanoids, cyclooxygenase, and angiogenesis in colon and breast cancer. *Clin Cancer Res* 7(11):3385-3392.
- Beauregard, C., Brandt, P. C. and Chiou, G. C. Y. (2003) Induction of nitric oxide synthase and over-production of nitric oxide by interleukin-1 β in cultured lacrimal gland acinar cells. *Experimental Eye Res* 77:109-114.
- Goodwin, J. S. and Ceuppens, J. (1983) Regulation of immune response by prostaglandins. *J Clin Immunol* 3:295-314.
- Groenemveld, P. H. P., Kwappenberg, K. M. C., Langermans, J. A. M., Nibbering, P. H. and Curtis, L. (1997) Relation between pro- and anti-inflammatory cytokines and the production of nitric oxide(NO) in severe sepsis. *Cytokine* 2(9):138-142.
- Masferrer, J. L., Leahy, K. M., Koki, A.T., Zweifel, B. S., Settle, S. L., Edwards, D. A., Flickinger, A. G., Moore, R. J. and Seibert, K. (2000) Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res* 60:1306-1311.
- Miyasaka, N. and Hirata, Y. (1997) Nitric oxide and inflammatory arthritides. *Life Sci* 61(21):2073-2081.
- Salvemini, D., Misko, T. P., Masferrer, J. L., Seibert, K., Currie, M. G. and Needleman, P. (1993) Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Proc Natl Acad Sci* 90:7240-7244.
- Shirahama, T., Arima, J., Akiba, S. and Sakakura, C. (2001) Overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *Clin Cancer Res* 7:558-561.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46(10); 4113-4117.
- Zimmermann, K. C., Sarbia, M., Weber, A-A., Morchard, F., Gabbert, H.E. and Schror K. (1999) Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma.