



計畫編號：DOH92-TD-1008

行政院衛生署九十二年度科技研究發展計畫

牛樟芝不同極性區分保肝機能性之研究

研究報告

執行機構：中山醫學大學

計畫主持人：李宗貴

研究人員：吳志忠、陳心慧

執行期間：91年8月1日至92年10月31日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見

目錄

	頁碼
中文摘要	1
英文摘要	3
前言	5
材料與方法	8
結果	14
討論	17
結果與建議	20
參考文獻	21
圖、表	25

表次

- 表一 牛樟芝發酵萃取液以不同極性之溶劑萃取、減壓濃縮、冷凍乾燥後之乾重
- 表二 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠體重及臟器重量之影響
- 表三 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠臟器相對重量之影響
- 表四 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟 glutathione (GSH)濃度之影響
- 表五 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟抗氧化酵素活性之影響
- 表六 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟均質液在氧化劑誘發下脂質過氧化之影響
- 表七 不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟細胞色素 P450 解毒代謝酵素活性之影響

圖次

圖一 肝臟 CYP 1A1、2B1、2E1、3A1 與 PGST 蛋白質含量

中文摘要

牛樟芝 (*Antrodia camphorata*; niu-chang-chih) 又稱樟芝或牛樟菇，為本省特有種真菌，僅生長於老齡牛樟樹 (*Cinnamomum kanehirai* Hay)，為一本土性非常具有經濟效益的保健食品材料，然而，過去之實驗多以牛樟芝之菌絲體、子實體、發酵液或發酵液乾燥物等為實驗材料，對於不同極性區分萃取出物之生理活性之探討相當有限。本實驗利用不同極性之溶劑（包括水、乙醇、乙酸乙酯與乙醚）萃取牛樟芝發酵萃取出液，經減壓濃縮與冷凍乾燥取得牛樟芝發酵萃取出液之不同極性萃取出物為實驗材料，配合大鼠灌食之實驗模式，探討大鼠以不同極性萃取出物灌食七週後對大鼠肝臟抗氧化與藥物代謝能力之影響。由實驗結果發現，當大鼠分別以不同極性萃取出物灌食七週後，大鼠之最終體重或肝臟、腎臟與脾臟對體重之相對重量比與控制組並無顯著性差異。在肝臟之 glutathione (GSH) 濃度與抗氧化酵素活性方面，大鼠以 25 或 100 mg/kg BW 乙醇萃取出物灌食七週後，其肝臟中 GSH 與總 GSH 含量皆顯著則是 25 mg /kg BW 水或乙醇萃取出物或 5 mg /kg BW 乙酸乙酯萃取出物等處理組顯著高於控制組 ($P < 0.05$)。進一步分析肝臟內生性、TBH 或 FeSO_4 誘發之脂質過氧化程度，結果也顯示牛樟芝發酵液不同極性萃取出物處理組皆與控制組無顯著性差異。在肝臟之藥物代謝代謝酵素活性與蛋白表現方面，各組間 ethoxyresorufin O-deethylase (ERD), 7-pentoxyresorufin O-dealkylase (PROD), N-nitrosodimethylamine demethylase (NDMAD), and erythromycin demethylase (EMD) 之活性皆與控制組無顯著性差異，西方免疫墨點法針對 cytochrome P450 (CYP) 2B1, 2E1, and 3A1 所得結果亦與酵素活性相似，各組間並無差異，至於 CYP 1A1 蛋白表現則與前述三種 CYP 酵素不同，各種萃取出物處理組均使得 CYP 1A1 含量較對照組高；除此外，另一藥物代謝酵素— π 型 GSH S-transferase (PGST) 之蛋白表現也與 CYP 1A1 相似，在四種不同極性萃取出物處理後，PGST 表現均較對照組大鼠高。

由上述實驗結果可知以不同極性萃出物灌食大鼠雖減少肝臟 GSH 含量，但適當濃度之水、乙醇與乙酸乙酯抽出物則可增加肝臟 SOD 活性，也不會影響大鼠肝臟中脂質過氧化作用，藥物代謝酵素則只有 CYP 1A1 與 PGST 蛋白表現受到牛樟芝發酵液萃出物的影響，且四種不同極性萃出物均可增加其表現。

關鍵詞：牛樟芝、菌絲體發酵液萃出物、抗氧化、藥物代謝

Abstract

Antrodia camphorata (Niu-chang-chih) is a local fungi specie found in Taiwan. It seems to only grow on elder Niu-chang tree (*Cinnamomum kanehirai* Hay). Based on various reports, *Antrodia camphorata* has been regarded as a function food. In previous studies, the mycelium, fruit body, mycelium fermentative extracts of *Antrodia camphorata* (MFEAC) have been used as experimental materials to investigate whether *Antrodia camphorata* owns health-improved physiological activities. Among those *Antrodia camphorata* products, MFEAC and its possible active components is much less studied as compared with the mycelium and fruit body. In this study, solvents with various polarity including water, ethanol, ethyl acetate and ether were used to extract the MFEAC. Following vacuum-condensation and freeze-dry of these solvent extracts, male Sprague-Dawley rats were orally administered 25 or 100 mg/kg water- and ethanol-extract or 5 or 25 mg/kg ethyl acetate- and ether-extracts four times a week for seven weeks. The control rats received ddH₂O only. At the end of experimentation, the final body weight and the relative weight of liver, kidney and spleen are not affected by the administration of those four different solvent-extracts of MEFAC in either low or high dose. Regarding to the antioxidation system, hepatic SOD activity was significantly higher in rats treated with 25 mg/kg water or ethanol extracts or 5 mg/kg ethyl acetate ($P < 0.05$) as compared to control rats. Hepatic glutathione (GSH) peroxidase and GSH reductase activities were similar between each treated and control groups. GSH and total GSH levels, however, were significantly lower in rats treated with 25 or 100 mg/kg ether extracts, or in rats dosed with 5 mg/kg ethyl acetate or ether extracts as compared to the controls ($P < 0.05$). The endogenous TBARS level or TBH- or FeSO₄-induced TBARS production were not changed by either solvent-extracts. Hepatic ethoxyresorufin O-deethylase, pentoxyresorufin O-depentylase, N-nitrodimethylamine demethylase and erythromycin

demethylase activities and also the expression level of cytochrome P450 (CYP) 2B1, 2E1 and 3A1 were not changed by those solvent extract of MFEAC. In contrast, regardless of the solvents used, CYP 1A1 level was noted to increase in rats treated with either one of the MFEAC extracts as compared to the control rats. Moreover, protein level of the π form of GSH S-transferase was also higher in the MFEAC extract-treated rats than the controls.

These results suggested that the solvent extract of MFEAC may increase hepatic SOD activity but decrease GSH content, and may not change the lipid peroxidation in livers. Moreover, the solvent extracts of MFEAC increase the expression of CYP 1A1 and PGST.

Keywords: *Antrodia camphorata* 、 mycelium fermentative extracts 、
antioxidation 、 drug-metabolism

前言

近年來，利用天然食品及其活性成分進行養生保健、預防疾病之觀念愈來愈受到重視，然而許多體內 (*in vivo*) 及體外 (*in vitro*) 之研究亦證實，許多食物及其活性成分的確具有調節生物體抗氧化與解毒代謝之能力，諸如：迷迭香 (rosemary) (Chang et al., 1977; Offord et al., 1997)、綠茶 (Ho et al., 1994)、芝麻 (Fukuda et al., 1986) 及大蒜 (Chen et al., 2000; Wu et al., 2001) 等。在諸多具有調節生理活性作用之食物中，牛樟芝則為本研究之探討對象。

牛樟芝 (*Antrodia camphorata*; niu-chang-chih) 又稱樟芝或牛樟菇，為本省特有種真菌，僅生長於老齡牛樟樹 (*Cinnamomum kanehirai* Hay)。牛樟芝質硬，帶有牛樟之香味，嚐之其味甚苦，曾有學者指出牛樟芝比靈芝味苦，而且樟芝之甲醇可萃出物較靈芝高達十倍 (30% vs. 3%)。長久以來民間多認為牛樟芝具有解毒、抗癌及止癢作用，為一本土性非常具有經濟效益的保健食品材料，然而，因其諸多醫療保健效用均缺乏營養、藥物及毒理等基礎研究驗證，因此亟待進一步研究。

有關牛樟芝之生理活性相關研究，直至近年來才較為多見，資料顯示不論是以牛樟芝菌絲體、牛樟芝發酵萃取液或以其冷凍乾燥物為實驗材料，在多種模式研究中皆發現其具有相當正面生理效用，不過此間相關證據仍有待強化，也有諸多現象尚待努力，就已發表文獻整理如下：在對調節血脂質方面，牛樟芝菌絲體及其發酵液可降低高血脂倉鼠血中總膽固醇、三酸甘油酯與低密度脂蛋白之濃度 (蔡與劉, 2002)；對於免疫系統之影響方面，牛樟芝原菌液可增加小鼠脾臟細胞 IL-2 與 IFN- γ 之基因表現 (賴等, 2002)，因而具有調節小鼠免疫反應之能力；在解毒功能之影響方面，牛樟芝菌絲體發酵液可降低 C57B16 小鼠因 dacarbazine 所誘發之 DNA 傷害 (以 7-methylguanine 生成作為指標) (江等, 2002)；在調節抗氧化能力方面，牛樟芝菌絲體及其發酵液可提升倉鼠血清總抗氧化能力、降低低密度脂蛋白氧化作用之發生

(蔡與劉, 2002); 郭等 (2002) 與 Hseu 等 (2002) 亦曾指出牛樟芝之菌絲體發酵液投予大鼠後可增加其紅血球內麩甘氨酸 (glutathione, GSH) 之含量, 提昇超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、麩甘氨酸過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPx) 之活性, 在肝臟方面亦可見肝臟中 GSH 濃度增加與觸酶 (catalase) 活性提升; 鐘等人 (2000) 實驗亦發現牛樟芝之菌絲體發酵液會增加大鼠初代肝細胞中 GSH 含量, 提升 GPx 與麩甘氨酸還原酶 (glutathione reductase, GRd) 之活性。在 CCl₄ 誘發化學性肝損傷模式中, Song and Yen (2003)、Hsiao 等人 (2003) 與沈等人 (2002) 亦曾指出牛樟芝之菌絲體發酵液乾燥物或菌絲體發酵液可增加 SD 大鼠肝臟中 GPx 與 GRd 之活性、維持 GSH / GSSG ratio 以降低 CCl₄ 所造成之傷害。

由過去之實驗發現, 目前關於牛樟芝抗氧化生理活性之探討多直接使用牛樟芝之菌絲體子實體、發酵液或發酵液乾燥物等為實驗材料, 仍少測試不同極性區分萃出物之生理活性。雖然, 宋等人 (2000) 曾以不同極性之溶劑 (包括水、乙酸乙酯...等) 萃取牛樟芝之菌絲體發酵液, 且在體外試驗模式下比較其抗氧化力, 發現菌絲體發酵液乾燥物與乙酸乙酯萃取出物之抗氧化能力最佳。但是, 以不同溶劑萃取之牛樟芝菌絲體發酵液之萃取出物餵食大鼠之效應是否與體外實驗相似, 目前還不是很清楚。

因此, 本計劃將利用不同極性之溶劑萃取牛樟芝發酵液, 區分其中具不同極性之可能活性成份, 經減壓濃縮、冷凍乾燥後, 灌食大鼠, 七週後, 分析不同極性之萃出物對大鼠血液及肝臟抗氧化與解毒能力之影響, 除利用高效性液相色層分析儀 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 分析大鼠肝臟組織中抗氧化分子-GSH 濃度外, 更將分析肝臟中 GPx、GRd、GST 與 SOD 等抗氧化酵素及肝臟中屬 phase I 之 7-ethoxyresorufin O-deethylase、7-pentoxylresorufin O-dealkylase、N-nitrosodimethylamine demethylase、erythromycin demethylase 與屬 phase II 之 GST 等解毒酵素之活性, 最後再利

用西方墨點法(Western blot)進一步分析 GST isozymes、CYP 1A1、CYP 2B1、CYP 2E1、CYP 3A1 等解毒酵素之蛋白質表現。期望能藉由不同極性區分之牛樟芝發酵液為實驗材料，瞭解牛樟芝活性成分之特性，有助於進一步發掘牛樟芝發酵液中具生理效用之活性成分，另外亦藉由此一活體內 (in vivo) 實驗模式瞭解不同極性之牛樟芝發酵萃取液之抗氧化與解毒代謝作用及其調控機轉。

材料與方法

實驗材料

購自新竹食工所之牛樟芝發酵液將分別利用水、甲醇、乙酸乙酯或乙醚等不同極性之溶劑萃取 (1/1; V/V)，所得不同極性之萃出物，水、甲醇萃出物先經熱風乾燥 (45°C) 濃縮為 1/100 體積；乙酸乙酯或乙醚萃出物先以減壓濃縮為 1/20 體積，再以熱風乾燥 (45°C) 濃縮為 1/100 體積；所有萃取物再以冷凍乾燥法製備乾物質，貯存於 -20°C，臨用時以去離子水將濃縮液萃出物稀釋成適當濃度。

實驗動物之飼養與實驗樣品之處理

4 週齡雄性 Sprague-Dawley 大鼠購自國科會動物中心，依體重隨機分組飼養於塑膠飼養籠，控制 12 小時晝/夜循環，溫度 25±1°C，自由飲水與進食。每週一、三、五、六經口灌食 (oral intubation)，為期七週，實驗劑量分別如下：水或乙醇萃取物為 25 與 100 mg/kg bw，乙酸乙酯或乙醚萃取物為 5 或 25 mg/kg bw，並以牛樟芝培養所用培養液乾燥物為控制組，共計九組。實驗期間，每週紀錄大鼠體重一次。

實驗動物犧牲前予以隔夜禁食，利用二氧化碳窒息法犧牲，立即取出肝臟稱重後，以 4 倍量 (w/v) 之緩衝液 (含 8 mM KH_2PO_4 , 12 mM K_2HPO_4 , 1.5 % KCl, 0.5 mM butylated hydroxytoluene, pH 7.4) 均質，所得均質液除立刻進行 GSH 分析外，也進一步進行氧化物誘發 TBARS 生成分析，部份肝均質液則作為細胞質液 (cytosol) 與微粒體 (microsome) 製備用，提供後續抗氧化與生物轉換酵素活性及蛋白表現分析。

細胞質液與微粒體樣品之製備

參考 Howard 等 (1967) 之方法，前述所製備之肝臟均質液先於 4°C 下

10,000 g 離心 30 分鐘，所得上清液再以 105,000 g 於 4°C 離心 60 分鐘，所得上清液即為細胞質液，下層沈澱物加入 20 mM 磷酸鉀緩衝液 (potassium phosphate buffer, PPB, 含 8 mM KH_2PO_4 , 12 mM K_2HPO_4 , pH 7.0) 使其再懸浮，則為微粒體樣品，細胞質液與微粒體樣品均貯存於 -80°C 備用。

麩甘氨酸 (glutathione, GSH) 含量之分析

肝臟 GSH 含量分析乃參考 Reed 等 (1980) 之方法。為避免貯存過程中 GSH 發生自氧化，本實驗採用新鮮肝臟均質液進行 GSH 含量之分析。以高效能液相色層分析儀 (high performance liquid chromatograph, HPLC) 分析 GSH 與氧化態 GSH (GSSG) 含量。蛋白質定量分析則採用 Lowry (1951) 之方法。GSH 與 GSSG 含量以 nmol/mg protein 表示之。總 GSH 含量則以 $\text{GSH} + 2\text{XGSSH}$ 計算之。

肝臟脂質過氧化之分析

肝臟脂質過氧化分析將分別在無氧化劑及加入氧化劑誘發氧化壓力下兩種狀況進行，其中氧化劑分別採用 tert-butyl hydroperoxide 與 FeSO_4 兩種，所用劑量與時間分別是 tert-butyl hydroperoxide 為 1.0 mM/30 min，而 FeSO_4 則是 0.05 mM/30 min。肝臟脂質過氧化之分析乃參考 Fraga 等 (1988) 與 Sano 等 (1986) 之方法，以螢光光度計 (F4500, Hitachi, Tokyo, Japan) 在 excitation 515 nm 及 emission 555 nm 下即可測定 thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) 之濃度。利用 1,1,3,3-tetramethoxy propane (TMP) 先配成標準溶液以製作標準曲線進行定量分析。蛋白質定量分析方法乃參考 Lowry (1951) 之方法。脂質過氧化以 nmol TBARS/mg protein 表示之。

GSH 過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPx) 活性分析

GPx 活性之分析乃參考 Lawrence 及 Burk (1976) 之方法，以 H_2O_2 作為反應基質。簡述如下：取 0.8 mL 反應液於石英管中，依次加入 80 μL 磷酸鉀緩衝液(pH 7.0)、20 μL 肝臟細胞質液或 ddH₂O (作為空白組)，室溫下靜置 5 分鐘，隨後加入 0.1 mL 之 2.5 mM H_2O_2 ，迅速混勻，放入分光光度計中，於 340 nm 波長下 (25°C) 掃描 3 分鐘內 NADPH 減少之速率。GPx 之活性以 nmol NADPH oxidized/min/mg protein 表示之。

GSH 還原酶 (glutathione reductase, GRd) 活性分析

參考 Bellomo 等 (1987) 之方法，簡述如下：取 0.9 mL 反應液於石英管中，依次加入 60 μL 磷酸鉀緩衝液(pH 7.0)、40 μL 肝臟細胞質液或 ddH₂O (作為空白組)，混勻後，迅速放入分光光度計中，於 340 nm 波長下 (25°C) 連續掃描 3 分鐘內 NADPH 遞減之速率。GRd 之活性以 nmol NADPH oxidized/min/mg protein 表示之。

GSH 硫轉移酶 (glutathione S-transferase, GST) 活性分析

GST 活性分析之方法乃參考 Habig 等人(1974)發表之方法，利用 CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) 作為反應基質，測定 GSH-CDNB 結合物之生成速率。石英管中依次加入 880 μL 反應液(100 mM PPB 中含 1 mM GSH, pH7.4)、20 μL 50 mM CDNB、90 μL 100 mM PPB，最後加入 10 μL 肝臟細胞質液或 ddH₂O (作為空白組)，迅速混勻，於 340 nm 波長下 (25°C) 測定 5 分鐘內 GSH-CDNB 結合物之生成速率。GST 之活性以 nmol GSH-conjugate formed/min/mg protein 表示之。

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性之分析

SOD 活性之分析乃利用 xanthine 與 xanthine oxidase 作用後生成之 $\text{O}_2^{\cdot -}$

將與 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) 形成於 505 nm 具吸光特性之紅色呈色物。利用測定 SOD 競爭抑制此反應之速率，即可表示 SOD 之活性。本實驗直接採用購自 RANDOX Laboratories (Antrum, UK) 之分析套組 (kit) 進行分析。SOD 之活性以 U/min/mg protein 表示之。

7-ethoxyresorufin *O*-deethylase (EROD) 活性之分析

本實驗以 EROD 活性代表細胞色素 P450 1A 之活性，分析係參考 Pohl 與 Fouts (1980) 之方法。微小體樣本經蛋白質定量後，先將蛋白質濃度調整為 1.5 mg/mL，於試管中依次加入 10 μ L 0.4145 mM ethoxyresorufin 及 0.8 mL 反應液，混勻後，於 37°C 下水浴 1.5 分鐘，加入 200 μ L 微小體均質液，再次於 37°C 下水浴 4 分鐘，最後加入 2 mL methanol 終止反應，7,000 g 離心 10 分鐘，取上清液。利用螢光分光光度計於 excitation 550 nm 及 emission 585 nm 下 (F4500, Hitachi, Tokyo, Japan) 測定 resorufin 生成含量。並利用已知濃度 resorufin 所製作之標準曲線計算 EROD 之活性，並以 pmol resorufin formed/min/mg protein 表示之。

7-pentoxoresorufin *O*-dealkylase (PROD) 活性分析

本實驗以 PROD 活性代表細胞色素 P450 2B 之活性，分析係參考 Lubet 等 (1985) 所發表之方法。微小體樣本經蛋白質定量後，先將蛋白質濃度調整為 1.0 mg/mL，於試管中依次加入 350 μ L 微小體液樣本、50 μ L 500 mM MgCl₂、50 μ L 0.2 mM pentoxoresorufin、50 μ L 10 mM NADPH，於 37°C 下水浴 10 分鐘，分別加入 100 μ L 飽和之 ZnSO₄ 與 Ba(OH)₂ 終止反應，7,000 g 離心 10 分鐘，取上清液，利用螢光分光光度計於 excitation 522 nm 與 emission 586 nm 測量 resorufin 生成量。所得螢光值利用已知濃度 resorufin

製作之標準曲線加以計算 PROD 活性，最後酵素活性則以 pmol resorufin formed/min/mg protein 表示之。

N-nitrosodimethylamine demethylase (NDMAD)活性之分析

本實驗以 NDMAD 活性代表細胞色素 P450 2E1 之活性 (Nash, 1953)。微小體樣本經蛋白質定量後，先將蛋白質濃度調整為 1.0 mg/mL，試管中依次加入 350 μ L 微小體液樣本、50 μ L 500 mM MgCl₂、新鮮配製之 50 μ L 40 mM NDMA、50 μ L 10 mM NADPH，於 37°C 下水浴 10 分鐘，分別加入 100 μ L 飽和之 ZnSO₄ 與 Ba(OH)₂ 終止反應，7,000 g 離心 10 分鐘，取上清液 500 μ L，加入等量 Nash reagent，於 50°C 下水浴 30 分鐘，於 412 nm 波長下測量樣品中甲醛生成濃度，NDMAD 活性則以 pmol formaldehyde formed/min/mg protein 表示之。

erythromycine demethylase (EMD)活性分析

本實驗以 EMD 活性代表細胞色素 P450 3A1 之活性，分析係參考 Nash (1953) 發表之方法。以分光光度計測量 412 nm 下樣品之吸光值。利用已知濃度甲醛製作之標準曲線，計算樣品中生成之甲醛濃度。EMD 之活性以 pmol formaldehyde formed/min/mg protein 表示之。

CYP 酵素及 π 型 GST 異構酶(PGST)蛋白質表現之分析

CYP 1A1、2B1、2E1、3A1 與 PGST 蛋白質表現乃利用 SDS-聚丙烯醯胺板膠電泳法 (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 並配合西方墨點法 (Western blot) 分析。等量蛋白質 (CYP 1A1, 2B1, 2E1, 3A1 and PGST 分別使用 40, 5, 10, 10 and 20 μ g 蛋白質) 先以 10 % SDS-PAGE (Laemmli, 1970) 將微小體與細胞質液蛋白質分離，隨後將膠片上之蛋白質轉印至

polyvinyl diene fluoride(PVDF)膜上(Towbin et al., 1979)。取出轉漬後之 PVDF 膜以含 25 mM Tris-buffer, 150 mM NNaCl 與 0.3% Tween-20 之緩衝液 (pH 7.4) 浸洗三次，再於 5% 脫脂乳溶液中進行封阻反應 (blocking)，1 小時後，依次加入一級與二級抗體，每一次反應時間均為 1 小時，最後以 3,3-diaminobenzidine 與 hydrogen peroxide 為 horese-raddish peroxidase 受質，行呈色反應。並以影像分析系統 (AlphaImagerTM2000, Alpha Innotech Co., San Leandro, CA) 進行蛋白質帶 (band) 之強度分析。

統計分析

上述實驗所得到之實驗數據，將分別由各別溶劑萃出物處理組與對照組相比較，採用 SAS 電腦統計套裝軟中之變異數分析 (analysis of variance，簡稱 ANOVA) 配合 Duncan's test 進行統計分析，以客觀分析驗數據間是否達到顯著性差異之分析 ($P < 0.05$)。

結果

牛樟芝發酵萃取液之水、乙醇、乙酸乙酯與乙醚萃出物之製備率

表一所示為牛樟芝發酵液以不同極性之溶劑萃取後，經減壓濃縮、冷凍乾燥之乾重，其中水、乙醇、乙酸乙酯與乙醚萃出物之產率分別為 1.29、1.06、0.029 與 0.0089 % (W/V)。

牛樟芝發酵液之不同極性溶劑萃出物對大鼠生長特性之影響

牛樟芝發酵液不同極性溶劑萃出物對大鼠體重及臟器重量之影響如表二所示，由表中可見以不同濃度之不同極性牛樟芝發酵液萃出物灌食七週後，對於大鼠之最終體重與控制組比較後並無顯著性之差異；在肝臟重量方面，大鼠以 5 mg/kg 乙酸乙酯灌食七週後其肝臟重量顯著低於控制組 ($P < 0.05$)；在大鼠之腎臟與脾臟之重量方面亦與控制組無顯著性差異。然而，將臟器絕對重量換算為體重比後，不同灌食組之肝臟、腎臟與脾臟對體重之相對重量方面皆與控制組無顯著性差異 (表三)。

牛樟芝發酵液之不同極性溶劑萃出物對大鼠肝臟麩甘氨酸 (glutathione, GSH) 含量之分析

大鼠以 25 或 100 mg/kg 牛樟芝水萃出物灌食七週後，其 GSH、GSSG 與總 GSH 含量與控制組皆無顯著性差異 (表四)。當大鼠以 25 或 100 mg/kg 牛樟芝發酵液乙醇萃出物灌食後，肝臟中 GSH 與總 GSH 含量則是顯著低於控制組 ($P < 0.05$)，且 25 mg/kg 之乙醇萃出物組的 GSSG 含量亦顯著低於控制組 ($P < 0.05$)。至於乙酸乙酯或乙醚萃出物灌食組，雖肝臟中 GSH 與總 GSH 皆低於控制組，但僅低劑量組 (5 mg/kg) 達顯著差異水準 ($P < 0.05$)。牛樟芝發酵液之不同極性溶劑萃出物對大鼠肝臟抗氧化酵素活性之影響

表五顯示大鼠以不同極性牛樟芝發酵液萃出物灌食七週後其肝臟中

GPx、GRd, GST 與 SOD 活性之變化情形。由表中可見大鼠中 GPx、GRd 與 GST 活性與控制組並無顯著性差異。然而，大鼠以水或乙醇萃出物（25 或 100 mg/kg）或 25 mg/kg 乙酸乙酯萃出物灌食後，肝臟中 SOD 活性則顯著高於控制組（ $P<0.05$ ）。

肝臟脂質過氧化作用

本分析分別測量肝臟中內生性（endogenous）與氧化劑誘發下所產生的 TBARS 濃度。當大鼠以牛樟芝不同極性溶劑萃出物灌食後，肝臟中脂質過氧化產物變化情形如表六所示。在內生性脂質過氧化方面，不同極性溶劑萃出物處理組之 TBARS 值與控制組並無顯著性差異。當肝臟均質液分別以 TBH 或 FeSO_4 誘發脂質過氧化下，相較於對照組，亦可見不同極性溶劑萃出物處理組之 TBARS 值與對照組皆無差異。

牛樟芝發酵液之不同極性溶劑萃出物對大鼠肝臟 CYP 酵素活性之影響

牛樟芝發酵液不同極性溶劑萃出物灌食對藥物代謝系統中之 phase I 酵素活性影響如表七所示，由表中可見七週灌時候，肝臟中 PROD、EROD、NDMAD 與 EMD 之活性與控制組並無顯著性差異。

牛樟芝發酵液之不同極性溶劑萃出物對大鼠肝臟 CYP 1A1、2B1、2E1、3A1 與 PGST 蛋白質含量之影響

雖酵素活性分析顯示 GST、EROD、PROD、NDMAD 與 EMD 等酵素活性不受牛樟芝發酵萃取液之不同溶劑萃出物影響，但以西方免疫墨點法分析後，結果顯示（圖一）：當大鼠以牛樟芝發酵萃取液不同萃出物灌食後，對大鼠肝臟中 CYP 2B1、2E1 與 3A1 之蛋白含量在各組間無差異，但是 CYP 1A1 與 PGST 蛋白質含量則會受牛樟芝發酵液不同萃出物之調控，各個萃出

物處理組之 CYP 1A1 與 PGST 含量均較對照組高。

討論

過去有關牛樟芝之生理活性相關研究，多以牛樟芝菌絲體、牛樟子實體為主要材料，相對的，針對牛樟芝發酵液或是根據發酵液之不同極性予以區分之萃出物之生理活性相關研究則較少見。本實驗則利用水、乙醇、乙酸以酯與乙醚四種不同極性之溶劑萃取牛樟芝發酵液，發現，極性較高之水與乙醇有較高之萃出物乾重，而以非極性之乙醚進行萃取後，其萃出物產率最低。在為期七週的實驗時程，所使用的牛樟芝發酵液之不同極性萃出物並不影響實驗大鼠之體重變化，肝臟、腎臟與脾臟對體重之相對重量也與對照組相似，顯示在灌食劑量下，不同極性之萃出物並不影響大鼠之生長，也不會產生明顯毒性。

牛樟芝擁有一些生理活性，就其抗氧化活性而言，研究曾發現，牛樟芝之菌絲體發酵液投予大鼠後可增加其紅血球內麩甘氨酸 (glutathione, GSH) 之含量，提昇超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、麩甘氨酸過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPx) 之活性，在肝臟方面亦可見肝臟中 GSH 濃度增加與觸酶 (catalase) 活性提升。也有學者指出牛樟芝菌絲體萃出物可透過增加紅血球內 GSH 濃度達到抗 AAPH 所誘發之溶血作用 (Hseu et al., 2002)。鐘等人 (2000) 實驗亦發現牛樟芝之菌絲體發酵液會增加大鼠初代肝細胞中 GSH 含量，提升 GPx 與麩甘氨酸還原酶 (glutathione reductase, GRd) 之活性。在 CCl_4 誘發化學性肝損傷模式中，Song 等人 (2003)、Hsiao 等人 (2003) 與沈等人 (2002) 亦曾指出牛樟芝之菌絲體發酵液乾燥物或菌絲體發酵液可增加 SD 大鼠肝臟中 GPx 與 GRd 之活性、維持 GSH / GSSG ratio 以降低 CCl_4 所造成之傷害。然而，本實驗結果卻發現牛樟芝發酵液之乙醇萃出物 (25 or 100 mg/kg) 與 5 mg/kg 之乙酸乙酯或乙醚萃出物會降低肝臟中 GSH 含量，但是內生性脂質過氧化分析或由 TBH 或 FeSO_4 等氧化劑誘發下脂質過氧化程度分析結果，卻顯示，脂質過氧化

現象並不因牛樟芝發酵液之乙醇、乙酸乙酯或乙醚萃出物降低肝臟 GSH 含量而增加。雖然 GSH peroxidase 與 GSH reductase 活性並不受影響，但是牛樟芝發酵液之不同極性萃出物普遍增加肝臟 SOD 活性，其中，水、乙醇與乙酸乙酯之萃出物增加 SOD 活性即達顯著效果，或許牛樟芝發酵液萃出物增加 SOD 之效應可以解釋為何 GSH 含量降低卻不影響 TBARS 之生成。不同灌食組之 GSH/GSSG 比值皆與控制組相似，也可顯示不同灌食組之肝臟中氧化/還原狀態 (redox status) 並無顯著變化。

除了改善肝臟抗氧化能力外，肝臟中藥物代謝能力的高低也與肝功能有很密切關係。細胞色素 P450 (cytochrome P450,) 為 phase I 階段中最重要之酵素系統，主要催化生物體內生性親脂性成分及外來異物之生物轉換作用 (Guengerich, 1988)。在哺乳動物 CYP 家族中，至少已有 14 種基因屬 (gene families) 先後被發現 (Nelson et al., 1993)，而且已知他們脂表現分別受到不同化學分子之選擇性調節。GST 則為 phase II 藥物代謝作用酵素之一，能催化親電性 (electrophil) 之外來異物與 GSH 結合以進行解毒作用，一般認為 GST 表現之高低與其基因多型性與腫瘤發生有關 (Clapper and Szarka, 1998; Strange et al., 1998)。除了是相當重要之 phase II 藥物代謝酵素外，GST 也擁有 GPx 之活性，可將有機氫過氧化物 (organic hydroperoxides) 還原為醇類，減少有機氫過氧化物之傷害 (Jacoby and Ziegler, 1990; Jakoby, 1978)，由於其過氧化酶活性與體內硒元素狀態無關，因此又被稱為硒非依賴麩甘氨酸過氧化酶 (selenium-independent glutathione peroxidase)。本實驗發現，牛樟芝發酵液之不同極性萃出物對於動物肝臟藥物代謝系統酵素之表現有選擇性作用，雖然，CYP 2B1、2E1 與 3A1 活性與蛋白表現並不因牛樟芝發酵液之不同極性萃出物處理而改變，但是，四種牛樟芝發酵液之不同極性萃出物均對 CYP 1A1 與 PGST 之表現有增加之效應，顯示牛樟芝發酵萃液含有調控肝臟藥物代謝之成份，且此種(類)

成份均可存於不同極性區分中。

結論與建議

由本研究之結果可知以不同極性萃出物灌食大鼠雖減少肝臟 GSH 含量，但適當濃度之水、乙醇與乙酸乙酯抽出物則可增加肝臟 SOD 活性，也不會影響大鼠肝臟中脂質過氧化作用；藥物代謝酵素則有 CYP 1A1 與 PGST 蛋白表現受到牛樟芝發酵液萃出物的影響，顯示牛樟芝發酵液含有可改變肝臟藥物代謝能力之活性成份。

參考文獻

- 江素瑛、吳焜裕、王秋萍、魏逸杰、施睿宏、高尚德、謝慶良. (2002) 樟芝之致基因毒性與抗基因毒性評估，中華保健食品學會年會，台北市。
- 宋祖瑩、蔡雁暉、歐陽慧、顏國欽. (2000) 樟芝菌絲體液體培養萃取物芝抗氧化粒評估，中華民國食品科學技術學會年會，彰化縣。
- 沈立言、陳怡欣、林文川. (2002) 牛樟芝菌絲體發酵過濾液對肝臟生理機能之影響，中華保健食品學會年會，台北市。
- 郭淑卿、吳岳文、林文川. (2002) 樟芝菌株發酵液對大鼠紅血球及肝臟抗氧化系統之影響，中華保健食品學會年會，台北市。
- 蔡敬民、劉翠玲. (2002) 樟芝對於血糖及血脂質之影響，中華保健食品學會年會，台北市。
- 賴宏亮、旅美津、陳武元、莊秀琪. (2002) 樟芝免疫調節活性之研究，中華保健食品學會年會，台北市。
- 鐘彩華、吳志忠、蔡順仁、李宗貴、張永賢、沈立言. (2000) 牛樟芝菌絲體發酵萃取液對大白鼠初代肝細胞生存力、抗氧化及解毒代謝能力之影響，中華民國食品科學技術學會年會，彰化縣。
- Bellomo G, Mirabelli F, DiMonte D, Richelmi P, Thor H, Orrenius C, Orrenius S: Formation and reduction of glutathione-protein mixed disulfides during oxidative stress. *Biochem Pharmacol* 1987;36:1313-1320.
- Chang SS, Ostric-Matijasevic B, Hsieh OAL, Huang CL: Natural antioxidants from rosemary and sage. *J Food Sci* 1977;42:1102.
- Chen HW, Yang JJ, Tsai CW, Wu JJ, Sheen LY, Ou CC, Lii CK: Dietary fat and garlic oil independently regulate hepatic cytochrome P450 2B1 and the placental form of glutathione S-transferase expression in rats. *J Nutr* 2000;131:1438-1443.
- Clapper ML, Szarka CE: Glutathione S-transferase-biomarkers of cancer risk

- and chemopreventive response. *Chem-Biol Interact* 1998;111-112:377-388.
- Fraga CG, Leibovitz BE, Tappel AL: Lipid peroxidation measured as thiobarbituric acid-reactive substance in tissue slices: characterization and comparison between homogenates and microsomes. *Free Radic Biol Med* 1988;4:155-161.
- Fukuda Y, Nagata M, Osawa T, Namiki M: Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. *J Am Oil Chem Soc* 1986;63:1027.
- Guengerich FP: Roles of cytochrome P-450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer chemotherapy. *Cancer Res* 1988;48:2946-2954.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB: Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974;249:7130-7139.
- Ho CT, Ferrare T, Chen Q, Rosen RT, Huang MT: Phytochemicals in teas and rosemary and their cancer-preventative properties. In "Food Phytochemicals for Cancer Prevention II. Teas, Spices, and Herbs", (Ho CT, Osawa T, Huang MT, Rosen RT, eds) 1994, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Howard RB, Christensen AK, Gibbs FA, Pesch LA: The enzymatic preparation of isolated, intact parenchymal cells from rat liver. *J Cell Biol* 1967;35:675-684.
- Hseu YC, Chang WC, Hseu YT, Lee CY, Yech YJ, Chen PC, Chen JY, Yang HL: Protection of oxidative damage by aqueous extract from *Antrodia camphorata* mycelia in normal human erythrocytes. *Life Sci* 2002;71:469-482.
- Hsiao G, Shen MY, Lin KH, Lan MH, Wu LY, Chou DS, Lin CH, Su CH, Sheu JR: Antioxidative and hepatoprotective effects of *Antrodia camphorata* extract. *J Agri Food Chem* 2003;51:3302-3308.

- Jacoby WB, Ziegler DM: The enzymes of detoxification. *J Biol Chem* 1990;265:20715-20718.
- Jakoby WB: The glutathione S-transferases: a group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1978;46:383-414.
- Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;277:680-685.
- Lawrence RA, Burk RF: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976;71:952-958.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-275.
- Lubet RA, Mayer RT, Cameron JW, Nims RW, Burke MD, Wolff T, Guengerich FP: Dealkylation of pentoxyresorufin: a rapid and sensitive assay for measuring induction of cytochrome(s) P-450 by phenobarbital and other xenobiotics in the rat. *Arch Biochem Biophys* 1985;238:43-48.
- Nash T: The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem J* 1953;55:416-421.
- Nelson DR, Kamataki T, Waxman DJ, Guengerich FP, Estabrook RW, Feyereisen R, Gonzalez FJ, Coon MJ, Gunsalus IC, Gotoh O: The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes, and nomenclature. *DNA Cell Biol* 1993;12:1-51.
- Offord EA, Guillot F, Aeschbach R, Loiger J, Pfeifer AMA: Antioxidant and biological properties of rosemary composition: implications for food and health. In "Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Application", pp.88, (Shahidi F. ed), 1997. AOCS Press, Champaign, IL.
- Pohl RJ, Fouts JR: A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. *Anal Biochem* 1980;107:150-155.

- Reed DJ, Babson JR, Beatty PW, Brodie AE, Ellis WW, Potter DW: High-performance liquid chromatography analysis of nanomole levels of glutathione, glutathione disulfide, and related thiols and disulfides. *Anal Biochem* 1980;106:55-62.
- Sano M, Motchnik PA, Tapple AL: Halogenated hydrocarbon and hydroperoxide-induced peroxidation in rat tissue slices. *Free Radic Biol Med* 1986;2:41-48.
- Song TY, Yen GC: Protective effects of fermented filtrate from *Antrodia camphorata* in submerged culture against CCl₄-induced hepatic toxicity in rats. *J Agri Food Chem* 2003;51:1571-1577.
- Strange RC, Lear JT, Fryer AA: Glutathione S-transferase polymerisms: influence on susceptibility to cancer. *Chem-Biol Interact* 1998;111-112:351-364.
- Towbin H, Staehelin T, Gordon J: Electrophoretic transfer proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:4350-4356.
- Wu CC, Sheen LY, Chen HW, Tsai SJ, Lii CK: Effects of organosulfur compounds from garlic oil on the antioxidation system in rat liver and red blood cells. *Food Chem Toxicol* 2001;39:563-569.

圖 表

表一、牛樟芝發酵萃取液以不同極性之溶劑萃取、減壓濃縮、冷凍
乾燥後之乾重

不同極性萃取物乾重 (g/L)	
水	12.85
乙醇	10.56
乙醚	0.29
乙酸乙酯	0.089

表二、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠體重及臟器重量之影響

Groups	Dose	IBW	FBW	Liver	Kidney	Spleen
	mg/kg			----- g -----		
Control		106±5	547±26	19.4±2.1 ^a	3.92±0.41	1.04±0.13
H ₂ O	25	105±11	528±39	17.1±1.6	3.66±0.35	1.14±0.26
	100	109±10	542±48	18.0±3.2	3.77±0.37	1.17±0.18
Ethanol	25	106±9	535±61	18.1±3.1	3.59±0.61	1.06±0.15
	100	106±10	525±20	17.2±2.6	3.90±0.37	1.05±0.14
Ethyl acetate	5	105±14	514±28	16.7±1.7 ^b	3.72±0.42	1.08±0.08
	25	107±14	537±25	18.3±1.4 ^{ab}	3.71±0.23	1.12±0.22
Ether	5	106±8	532±32	17.5±3.2	3.78±0.45	1.04±0.2
	25	105±12	513±42	17.5±1.8	3.64±0.26	1.04±0.12

Means±SD, n=6-8.

不同有機溶劑萃出物分別與對照組比較,不具相同字母者(a,b)表示顯著差異,

P<0.05.

表三、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠臟器相對重量之影響

Groups	Dose	Liver	Kidney	Spleen
Relative body wt (%)				
Control		3.54±0.34	0.72±0.07	0.19±0.02
H ₂ O	25	3.23±0.25	0.70±0.07	0.21±0.04
	100	3.31±0.30	0.70±0.06	0.21±0.02
Ethanol	25	3.36±0.22	0.67±0.07	0.20±0.04
	100	3.27±0.42	0.74±0.07	0.20±0.02
Ethyl acetate	5	3.26±0.32	0.72±0.07	0.21±0.02
	25	3.40±0.20	0.69±0.04	0.21±0.03
Ether	5	3.29±0.53	0.71±0.06	0.19±0.03
	25	3.40±0.16	0.71±0.08	0.20±0.03

Means±SD, n=6-8.

表四、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟 glutathione (GSH)濃度之影響

Groups	Dose	GSH	GSSG	Total GSH	GSH/GSSG
	mg/kg	----- nmol/mg protein -----			
Control		41.33±10.2	1.89±0.7 ^a	45.12±10.5 ^a	23.86± 8.9
H ₂ O	25	30.81± 9.1	1.51±0.6	33.82±10.2	22.17± 6.0
	100	37.26± 7.5	1.72±0.5	40.71± 7.6	21.13± 8.4
Ethanol	25	30.28± 6.2 ^b	1.08±0.4 ^b	32.44± 6.3 ^b	31.53±12.4
	100	30.77± 4.1 ^b	1.37±0.5 ^{ab}	33.52± 4.7 ^b	25.01± 9.5
Ethyl acetate	5	30.38± 9.0 ^b	1.36±0.8	33.10±10.4 ^b	25.28± 7.3
	25	33.31± 8.3 ^{ab}	1.46±0.4	36.23± 8.9 ^{ab}	23.53± 5.8
Ether	5	30.51± 5.4 ^b	1.42±0.6	33.36± 6.2 ^b	24.80± 5.8
	25	35.95±10.3 ^{ab}	1.54±0.2	39.03±10.3 ^{ab}	23.67± 7.7

Means±SD, n=6-8.

不同有機溶劑萃出物分別與對照組比較,不具相同字母者(a,b)表示顯著差異,

P<0.05.

Total GSH=GSH + 2 X GSSG.

表五、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟抗氧化酵素活性之影響

Groups	Dose	GPx	GRd	GST	SOD
	mg/kg	----- nmol/min/mg protein -----			U/min/mg protein
Control		423.4±73.5	32.3±5.6	421.7±29.0	0.096±0.045 ^b
H ₂ O	25	445.6±74.2	28.1±7.2	427.1±57.2	0.198±0.073 ^a
	100	399.8±81.1	27.8±10.1	434.7±63.2	0.219±0.068 ^a
Ethanol	25	421.2±37.5	30.7±9.0	418.4±62.4	0.187±0.090 ^a
	100	358.0±65.9	26.6±4.0	396.3±43.2	0.194±0.074 ^a
Ethyl acetate	5	411.5±90.8	29.5±8.3	421.9±84.3	0.181±0.068 ^{ab}
	25	402.3±73.0	27.4±6.1	408.5±51.1	0.214±0.101 ^a
Ether	5	375.0±42.7	27.1±6.1	392.5±44.2	0.170±0.022
	25	421.4±84.0	29.4±4.8	444.0±76.4	0.210±0.171

Means±SD, n=6-8.

不同有機溶劑萃出物分別與對照組比較,不具相同字母者(a,b)表示顯著差異,

P<0.05.

GPx, glutathione peroxidase; GRd, glutathione reductase; GST, glutathione S-transferase; SOD, superoxide dismutase.

表六、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟均質液在氧化劑誘發下脂質過氧化之影響

Groups	Dose	Endogenous	TBH	FeSO ₄
	mg/kg		nmol/protein	
Control	.	0.203±0.04	2.24±0.71 ^{ab}	0.66±0.14
H ₂ O	25	0.182±0.04	2.34±0.67	0.63±0.26
	100	0.178±0.03	2.66±1.08	0.66±0.09
Ethanol	25	0.171±0.03	2.39±1.09	0.77±0.47
	100	0.162±0.06	2.49±0.74	0.83±0.30
Ethyl acetate	5	0.176±0.04	2.90±0.92 ^a	0.80±0.26
	25	0.189±0.04	1.84±0.82 ^b	0.93±0.22
Ether	5	0.186±0.03	3.80±1.30	0.90±0.26
	25	0.199±0.03	3.85±1.96	0.85±0.40

Means±SD, n=6-8

不同有機溶劑萃出物分別與對照組比較，不具相同字母者(a, b)表示顯著差異，P<0.05

肝臟均質液分別在無或有 1.0 mM tert-butyl hydroperoxide (TBH)或 0.05 mM FeSO₄處理下，於 37°C 培養 30 分鐘，測其 thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS)生成濃度。

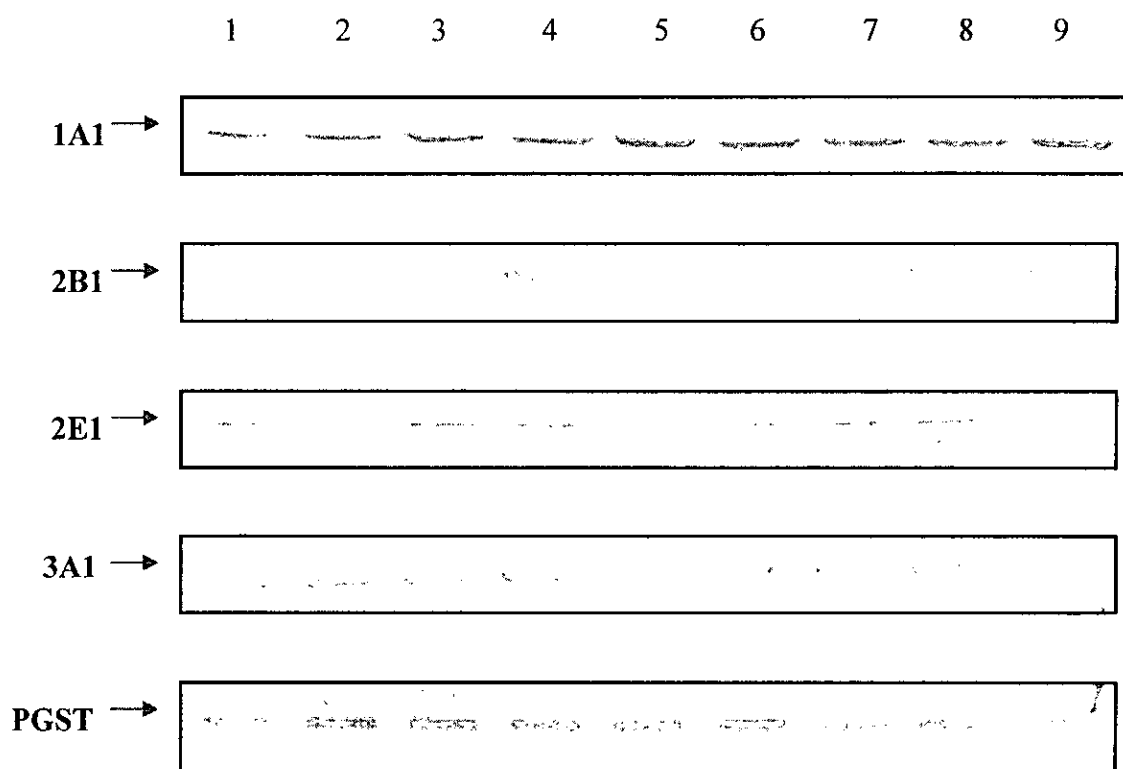
表七、不同極性牛樟芝發酵液萃出物對大鼠肝臟細胞色素 P450 解毒代謝酶素活性之影響

Groups	Dose	PROD	EROD	NDMAD	EMD
	mg/kg	pmol/mg protein			
Control		4.29±2.94	18.1±13.4	118.7±149.6	127.6±354.4
H ₂ O	25	5.34±3.96	20.1±7.3	109.1±156.7	31.6±54.6
	100	5.62±2.36	16.0±11.2	106.3±104.9	92.5±102.0
Ethanol	25	8.82±4.84	22.2±9.0	148.5±108.9	81.4±99.9
	100	8.55±3.63	18.3±14.7	127.8±209.6	127.2±203.4
Ethyl acetate	5	6.38±2.82	16.1±7.1	170.5±207.6	25.3±65.1
	25	6.46±1.64	22.4±5.5	317.7±198.1	178.5±199.1
Ether	5	7.43±1.84	18.9±7.1	337.1±287.3	154.2±239.4
	25	6.37±3.98	20.4±6.8	221.1±303.2	199.6±392.1

Means±SD, n=6-8.

PROD, 7-pentoxoresorufin O-dealkylase; EROD, ethoxyresorufin O-deethylase;
 NDMAD, N-nitrosodimethylamine demethylase; ERD, erythromycin
 demethylase.

圖一、肝臟 CYP 1A1、2B1、2E1、3A1 與 PGST 蛋白質含量



Lane 1: control

Lane 2: 25 mg/kg ddH₂O extract of MFEAC

Lane 3: 100 mg/kg ddH₂O extract of MFEAC

Lane 4: 25 mg/kg ethanol extract of MFEAC

Lane 5: 100 mg/kg ethano, extract of MFEAC

Lane 6: 25 mg/kg ethyl acetate extract of MFEAC

Lane 7: 25 mg/kg ethyl acetate extract of MFEAC

Lane 8: 25 mg/kg ether extract of MFEAC

Lane 9: 25 mg/kg ether extract of MFEAC