

## 壹、前言

人類壽命隨著文明進步及現代醫學的發達而延長，保持健康是保有生活品質的不二法門。年紀的增長造成的老化、空氣及飲食接觸不可避免的有害物質，都是妨害健康的因素。從飲食改善健康是最容易的方式，故人們常食用具療效之天然植物。天然植物含某些具療效之化合物，然此種食品之療效尚需科學驗證，方能釐清治療的機制。

檫樹的果實(*Morinda citrifolia*)俗稱諾麗果(noni)，台灣是原產地之一但少被栽種。南太平洋島民利用檫樹之果實、葉、莖與根熬煮服用，據稱能醫百病(cure all)之民俗藥品。近年來國人健康意識增加與接受廣告影響，除了開始販賣進口諾麗果汁，亦於各地相繼栽植檫樹並以傳統方式生產諾麗果汁。然而諾麗果汁所著稱之高度抗氧化效果與其他療效少有科學證實有效成份及機制探討。

本研究應用商業化果膠酵素生產新鮮諾麗果汁，探討生產果汁時間、果汁產率與功能性物質之影響。並於不同儲藏條件下，分析諾麗果汁抗氧化性與顏色之變化。另外為探究傳統熟成諾麗果汁可能之抗癌活性，選用兩種消化道癌細胞，食道癌細胞及結腸癌細胞，觀察商業化諾麗果汁及其酒精萃取物對細胞增生、凋亡與 DNA 損傷之影響；亦針測定 scopoletin、總酚與縮合單寧含量與抗氧化性質。

## 貳、文獻回顧

### 一、簡介

檄樹學名爲 *Morinda citrifolia* 又名海巴戟天，分佈於太平洋諸島，臺灣的恆春、蘭嶼亦是原產地之一。檄樹的果實(圖一)即諾麗果(noni)，熟果的汁液被運用爲植物藥物(phytochemical)治療疾病。現今台灣所種植之諾麗果樹分佈於新竹、雲林、台南等地區，其中台南學甲鎮農會有自產自銷的諾麗果汁。相較於國產諾麗果汁，進口諾麗果汁品牌多元且以直銷方式推廣販賣。



圖一、諾麗果實

Fig. 1. Noni fruit

諾麗果實與果汁性質與部分如表一所示(Chan-Blanco et al., 2006)，較重要的酚類化合物如圖二所示(Chan-Blanco et al., 2006)。其中在樹根中發現的 damnacanthol 已知具抗癌(Hiramatsu et al., 1993)以及抗病毒(Kamata et al., 2006)作用，果汁中富含之 scopoletin 具抗

菌、抗氧化等功效(Chong et al.,2002)。諾麗果汁於 2003 年五月被歐盟(European Union)公告(European Commission, 2003)為新興食品 (novel food)，於此之前早已有多家諾麗果汁廠商將果汁販賣到世界各地。成熟的果實及果汁具有特殊腐臭味。一般多以添加葡萄汁或藍莓汁混合，使消費者更能夠接受諾麗果汁。經混合他種果汁稀釋雖能掩飾原有風味，諾麗果汁中有效成份反而被稀釋，且無規定強制標明諾麗果汁含量百分比。選擇某化合物(如 scopoletin)為評量果汁品質或純度指標，可避免上述問題。

表一、諾麗果汁物化性質

Table 1. Physico-chemical composition of noni juice

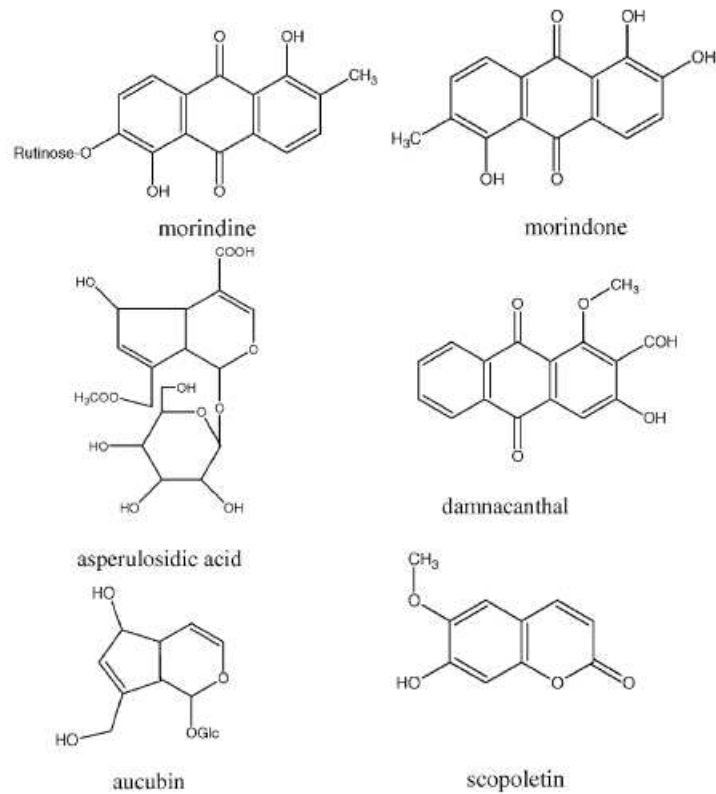
Characteristics	noni fruit <sup>1</sup>	noni fruit <sup>2</sup>	commercial juice <sup>a</sup>
pH	3.72	-	3.4-3.6
Dry matter	9.8±0.4 %	-	10-11 %
Total soluble solids (°Brix)	8	-	-
Protein content	2.5 %	0.4 g/100 g	0.2-0.5 %
Lipid	0.15 %	0.30 g/100 g	0.1-0.2 %
Glucose	11.9±0.2 g/L	-	3.0-4.0 g/100 g
Fructose	8.2±0.2 g/L	-	3.0-4.0 g/100 g
Potassium	3900 mg/L	188 mg/100 g	30-150 mg/100 g
Sodium	214 mg/L	21 mg/100 g	15-40 mg/100 g
Magnesium	14 mg/L	14.5 mg/100 g	3-12 mg/100 g
Calcium	28 mg/L	41.7 mg/100 g	2-25 mg/100 g
Vitamin C	-	155 mg/100 g	3-25 mg/100 g

noni fruit<sup>1</sup> and noni fruit<sup>2</sup> were published by individual authors.

<sup>a</sup> Tahitian Noni™ Juice contain 89 % noni juice and 11 % common grape and blueberry juice concentrates.

-Means no determination

(From: Chan-Blanco et al., 2006)



圖二、諾麗果汁中重要之酚類化合物

Fig. 2. Phenolic compounds isolated from noni juice

(From: Chan-Blanco et al., 2006)

## 二、諾麗果汁之加工製造

諾麗果實似釋迦般內含許多種籽，無法直接擠壓得到果汁。傳統諾麗果汁製造為果實採集後置入桶中，將密封桶放置室外熟成 (fermentation) 兩個月，此法相當曠日費時。另法為將果實加熱沸騰以取出果汁，然此法雖耗時短卻易破壞機能性物質 (Yang et al., 2007)。若能於非高溫下縮短果汁生產時間，除了降低生產成本外亦能夠保留果汁中抗氧化能力。

果膠酵素常用於製造果汁，例如：蘋果汁、桃子汁、葡萄汁及橘子等(Kashyap et al., 2001)。果膠酵素除了能夠軟化果實、澄清果汁外亦能提高果汁產率(Alkorta et al., 1997)。諾麗果汁為一高單價商品，因此本實驗應用商業化果膠與纖維酵素，希冀減少諾麗果汁製造之時間並提高其產率。生產完成的諾麗果汁經不同儲藏條件(4 °C、室溫避光、室溫無避光)儲存，再進行總抗氧化能力(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC)試驗分析抗氧化能力之變化；以及分析顏色之改變。

### 三、生理功效

癌症是目前最棘手之疾病，醫學及藥學界治療的方針主要有：手術切除、放射性治療、投與抗癌藥物抑制癌細胞生長；其中又以抗癌藥物的發展受到各藥廠之重視。從現有已知的化合物，以電腦軟體模擬抗癌效果為開發抗癌藥物的策略。而從天然植物中分離提取各種具有潛在功能性的化學物質(phytochemicals)，再依序進行試驗篩選，亦是另一條途徑。

諾麗果汁已知功效有：抗菌(anti-microbial)、抗癌(anti-cancer)、抗氧化(anti-oxidant)、抗發炎(anti-inflammatory)、止痛作用(analgesic)以及保護心血管(cardiovascular)等(Chan-Blanco et al., 2006)。日本學者

Yamaguchi 等人(Yamaguchi et al., 2002)亦有發表抑制 Angiotensin I Converting Enzyme (ACE)酵素活性且降低自發性高血壓大鼠 (spontaneously hypertensive rat, SHR)血管收縮壓之功能。文獻上曾報導諾麗果汁中的酒精沉澱多醣具抗癌效果(Furusawa et al., 2003; Hirazumi et al., 1999)；酒精沉澱的多醣組成業已被發表(Bui et al., 2006)，其結果摘錄於表二。諾麗果汁中含有 scopoletin，植物能利用 scopoletin 抵抗病毒(Chong et al.,2002)。於哺乳動物細胞模式中 scopoletin 能活化轉錄因子 nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) 與 cysteine aspartic acid specific proteases-3 (caspase-3)，進而導致血癌細胞 HL-60 凋亡(Kim et al., 2005)。Scopoletin 可使用高效液相層析分離，故 scopoletin 可成爲評量果汁品質的標的物。

表二、諾麗果汁酒精沉澱多醣之鍵結與組成

Table 2. Monosaccharide linkage and monosaccharide composition of Noni-ppt

(from: Anhet et al., 2006)

Sugar	Deduced linkage <sup>a</sup>	Linkage composition (mol%) <sup>b</sup>	Monosaccharide composition (mol%)	Sugar	Deduced linkage <sup>a</sup>	Linkage composition (mol%) <sup>b</sup>	Monosaccharide composition (mol%)
<i>Rhap</i>	Terminal	0.6	9.5	<i>Glc<sub>p</sub></i>	Terminal	0.5	2.2
	2-	3.3			4-	1.9	
	2,4-	2.1			4,6-	0.3	
<i>Fuc<sub>f</sub></i>	Terminal	0.3	0.3	<i>GlcA<sub>p</sub></i>	Terminal	0.9	1.1
<i>Araf</i>	Terminal	7.7	13.6	<i>Gal<sub>p</sub></i>	Terminal	4.3	17.9
	2-	tr			3-	0.5	
	3-	0.1			4-	10.7	
	5-	4.8			6-	1.1	
	3,5-	2.1			2,4-	0.2	
<i>xyl<sub>p</sub></i>	Terminal	0.6	1.2	2,6-	tr		
	2-	0.3		3,4-	0.6		
	4-	0.3		3,6-	1.9		
<i>Man<sub>p</sub></i>	Terminal	0.2	0.7	<i>GalA<sub>p</sub></i>	Terminal	2.8 (10)	53.6 (60)
					4-	52.1 (68)	

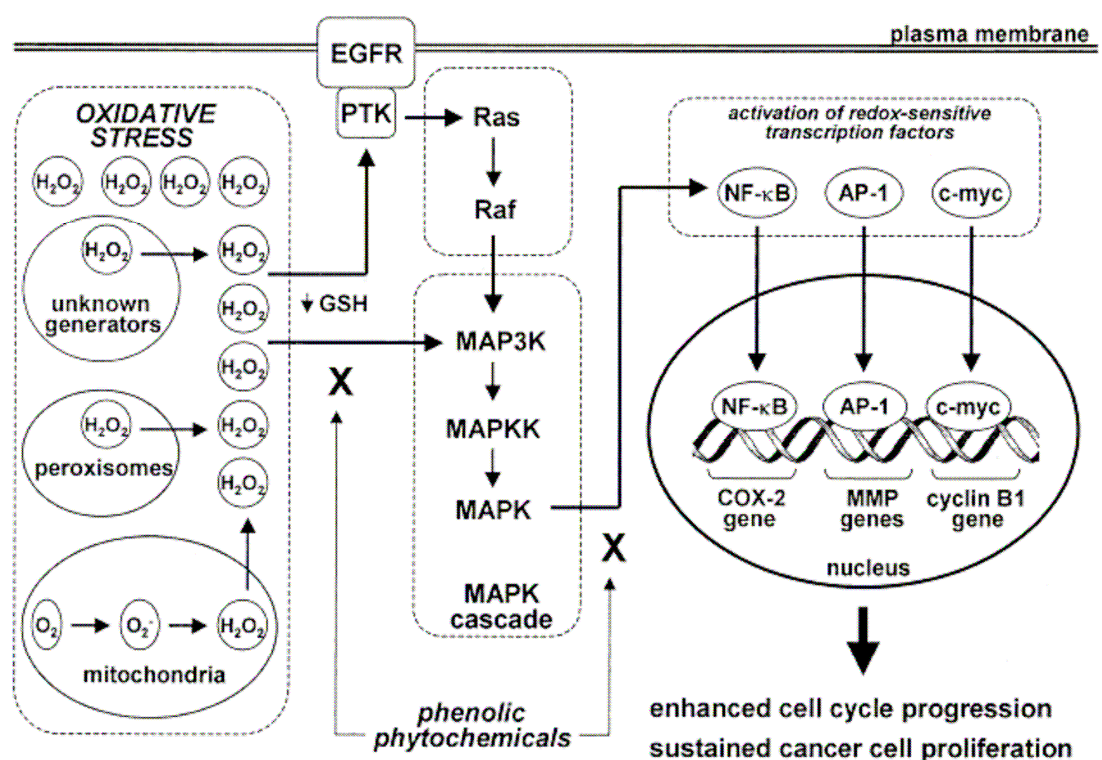
<sup>a</sup> Terminal *Araf* is deduced from 1,4-di-*O*-acetyl-2,3,5-tri-*O*-methylara-binitol, etc.

<sup>b</sup> Average of duplicate determination; ( ), % methyl esterification; tr, trace (<0.2 %).

*Abbreviation:* Rha, rhamnose; Fuc, fructose; Ara, arabinose; Xyl, xylose; Man mannose; Glc, glucose; GlcA, glucuronic acid; Gal, galactose; GalA.

過氧化氫為訊息傳遞分子之一，癌細胞中的過氧化氫含量亦較普通細胞高。Phytochemical 的抑制癌細胞生長說法有二，一是能夠清除過氧化能力減少過氧化氫而降低癌細胞中的訊息傳遞，使細胞停滯生長(Loo, 2003)如圖三示；另一種則為體外試驗中抗氧化劑會增加培養基中的過氧化氫(Long et al., 2000)，癌細胞中的過氧化氫濃度已接近接受值(threshold)，多餘的過氧化氫會擾亂癌細胞的氧化還原系統。過多的活性氧自由基除了直接破壞 DNA 也可能活化氧化還原敏感性轉錄因子(redox-sensitive transcription factors 如 AP-1, Oct-1, p53)，造成細胞週期停滯或是凋亡，此時 phytochemicals 為一促氧化劑的角色(Loo, 2003)如圖四示。

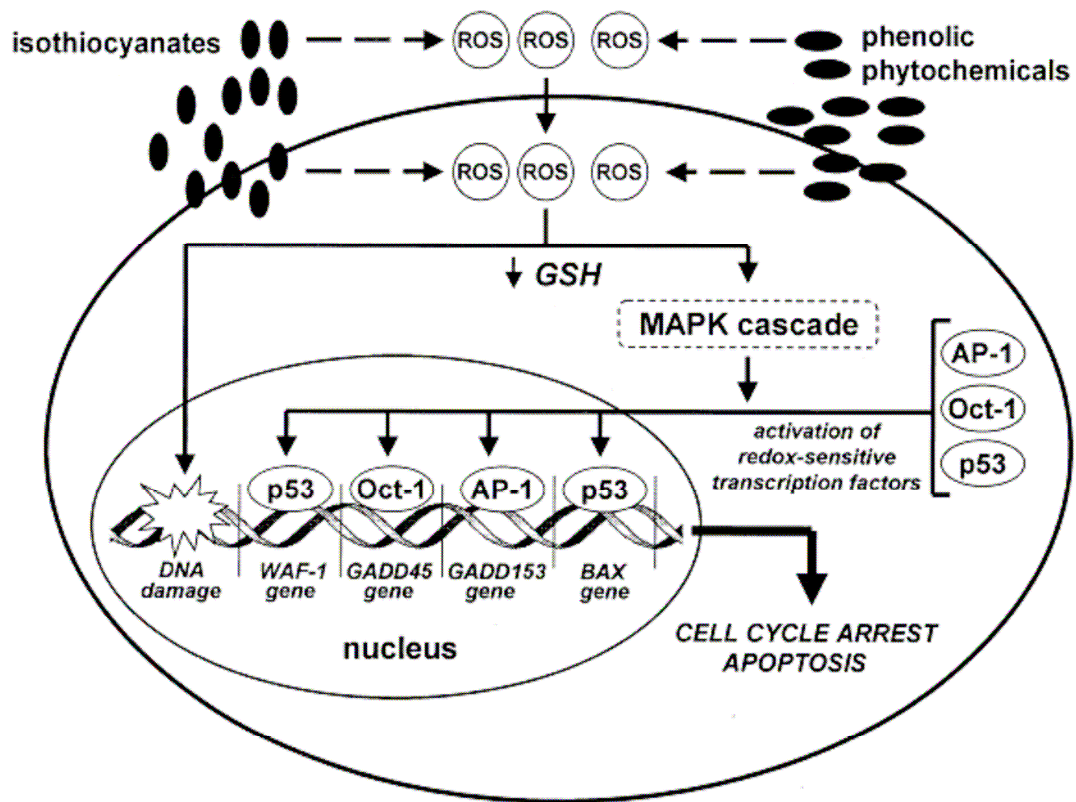




圖三、過氧化氫對癌細胞增生所扮演的推測，及酚類化合物之影響。癌細胞的氧化壓力來自於生產可耐受的過氧化氫，影響 MAPK 傳訊途徑而活化轉錄因子，進而使細胞增生。酚類化合物清除過氧化氫或抑制蛋白質磷酸化，干擾一連串傳訊途徑與影響癌細胞生長。

Fig. 3. Putative role of hydrogen peroxide in the proliferation of cancer cells and potential impact of phenolic phytochemicals. Oxidative stress in cancer cells due to constitutive high production of tolerable amounts of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> overactivate the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway, resulting in constant activation of redox-sensitive transcription factors and responsive genes that promote cancer cell viability. Phenolic phytochemicals scavenge the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or inhibit protein phosphorylation, thereby disrupting the flow of events leading to cell cycle progression and cancer cell proliferation.

(From: Loo, 2003)



圖四、酚類化合物與硫氰酸鹽類生成過多的過活性氧，因癌細胞無法耐受而生長受抑制之示意圖。活性氧造成 DNA 不可回復的傷害，或者活化氧化還原轉錄基因導致細胞停滯生長或凋亡。

Fig. 4. Concept of how phenolic phytochemicals and isothiocyanates inhibit cancer cell proliferation by inducing the formation of intolerable amounts of reactive oxygen species (ROS). ROS cause irreparable DNA damage as well as activation of stress/survival/death genes that result in cell cycle arrest and/or apoptosis. See text for further details.

(From: Loo, 2003)

諾麗果汁中富含酚類化合物，自然界中存在的酚具有抗氧化性外也具有抑制癌細胞生長的功能。B14 Chinese hamster cells 培養時添加 tannic、ellagic 及 gallic acids 並存在 Cu(II)或過氧化氫，此三類抗氧化性的酚類則變成具促氧化效果(Labieniec et al., 2006)。

Single cell gel electrophoresis(SCGE)是由 Singh(Singh et al., 1988)提出，因其電泳後的形態類似彗星故亦稱為 Comet assay。它能夠測量不同種類細胞的 DNA 傷害程度，由於方法較簡便、快速且靈敏，常被用於檢測生物毒性或是監測人類受環境毒物之 DNA 傷害(Faust et al., 2004)。Comet assay 也被開發使用酵素偵測 DNA 受氧化之鹼基(ESCODD et al., 2004)與評估 DNA 自動修補效率(Collins et al., 2001)。

先前諾麗果汁抗癌試驗(Hirazumi et al., 1999; Furusawa et al., 2003)均使用體外培養之癌細胞注射小鼠引發腫瘤的實驗模式。結論為注射諾麗果汁能促進免疫、活化巨噬細胞(macrophages)、T 細胞或自然殺手(natural killer, NK)細胞；進而殺滅癌細胞增加小鼠存活天數。消化道為人體接觸日常飲食之首要系統，若能減少消化道氧化壓力自然較無健康疑慮。從飲食攝取之天然多酚由於結構複雜且龐大，不易消化吸收後進入血液產生抗氧化(Lotito et al., 2006)，故本實驗探討商業化熟成諾麗果汁對於消化道癌細胞之影響，分別為食道癌細胞

(CE-81T/VGH, Biosource Collection and Research Center, BCRC, Taiwan)與結腸癌細胞(HTB-37, American Type culture collection, ATCC, USA)。藉此兩種細胞經諾麗果汁培養後其增生(proliferation)、凋亡(apoptosis)與 DNA 損傷(DNA breakage)狀況，探究諾麗果汁對癌細胞之作用途徑。並且分析各式抗氧化能力、總酚、縮合單寧與 scopoletin 之含量。