

b. 在白血球細胞 ( intact leukocytes ) 中的影響

在加入或不加入 350  $\mu\text{g}/\text{ml}$  絞股藍皂? 的大白鼠的白血球細胞中，再加入不同濃度的 AF ( 15、30、60 和 90  $\mu\text{M}$  ) 後，分析 NAT 代謝的產物。結果顯示，隨著 AF 濃度的增加，產生 AAF 的量也隨著增加。當加入絞股藍皂? ( 350  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ) 時，都有明顯的減少，且達到統計學上的顯著。(圖 4.14)

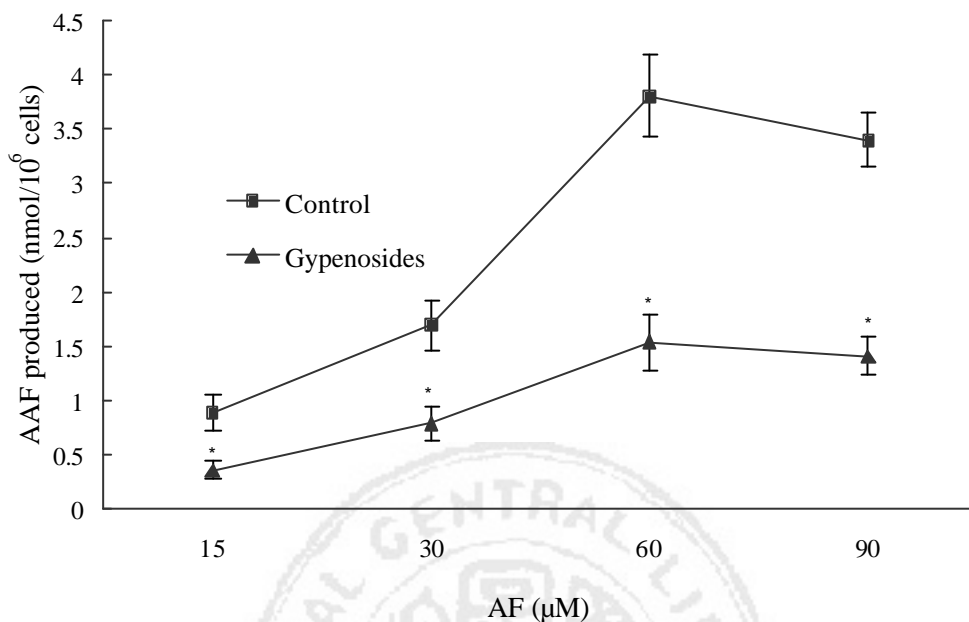


圖 4.14 Effects of gypenosides on the production of AAF by rat leukocytes in various concentrations of AF. Each point represents the mean of triplicate assays of 3 incubations of cells (mean  $\pm$  SD; n = 3). \*  $p < 0.05$

c. 在各器官 (cytosol) 中，對 Km 與 Vmax 的影響

將大白鼠以乙醚麻醉後，再從心臟抽血，並取出其肺臟、肝臟、膀胱、子宮與大腸，以組織均質機將組織磨成細胞質液(Cytosol)，加入 Gypenosides (350 µg/ml)，檢測各器官胞質液內 NAT 的 Km 與 Vmax。結果顯示，在加入 350 µg/ml 絞股藍皂? 的實驗組中，除了血液外，Vmax 都有明顯的減少，達統計學上的顯著。(表 4.7)

表 4.7 Michaelis-Menten parameters for NAT activity in various organs from control and Gypenosides treated rats.

Organ	Treatment	Km (µM)	Vmax (nmol/min/mg protein)
Blood	Saline	425 ± 56	0.95 ± 0.20
	Gypenosides	400 ± 44	0.84 ± 0.14
Liver	Saline	184 ± 30	14.84 ± 2.4
	Gypenosides	188 ± 32	6.04 ± 1.14*
Lung	Saline	274 ± 44	2.54 ± 0.48
	Gypenosides	280 ± 46	1.44 ± 0.20*
Colon	Saline	344 ± 47	3.14 ± 0.54
	Gypenosides	340 ± 40	1.76 ± 0.22*
Bladder	Saline	395 ± 51	1.36 ± 0.19
	Gypenosides	399 ± 52	0.57 ± 0.10*
Cervix	Saline	296 ± 47	3.94 ± 0.54
	Gypenosides	284 ± 40	1.57 ± 0.29*

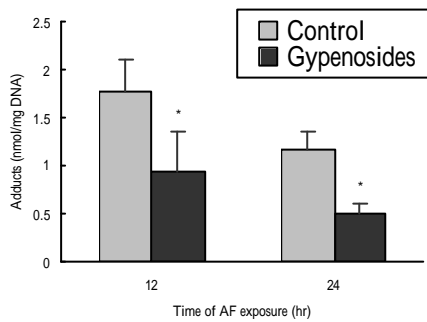
Values are mean ± SD; n = 6. The kinetic constants were calculated from the modified HYPER Program of Cleland (1967).

\* Significant difference between Gypenosides and control ( $p < 0.05$ ) by Student's *t*-test.

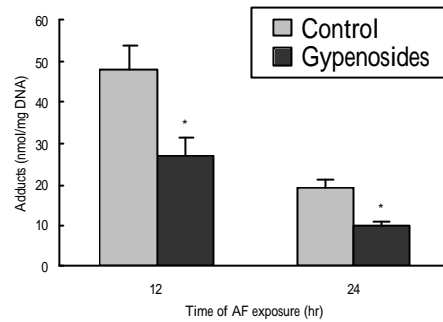
d. 檢測各器官中 DNA-adducts 的含量

在餵食絞股藍皂? 與 AF 的大白鼠，或只餵食 AF 的大白鼠，分別於 12 與 24 小時後，取其白血球、肝臟、肺臟、膀胱、子宮和大腸，檢測其 DNA-adduct。結果顯示，在白血球與肝臟中，隨著時間增加，DNA-adducts 隨著減少，但在肺臟、膀胱、子宮與大腸中則增加，而在餵食絞股藍皂? 的實驗組，除了在大腸與子宮的 12 小時時間點外，都能有效減少 DNA-adducts 的產生，達統計學上顯著。(圖 4.15 a-f)

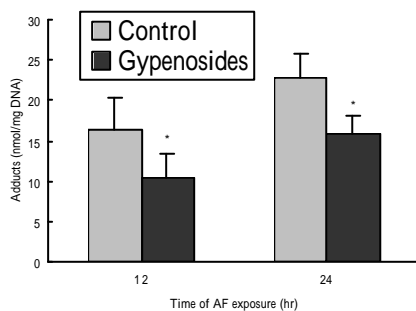
a) Leukocytes



b) Liver



c) Lung



d) Bladder

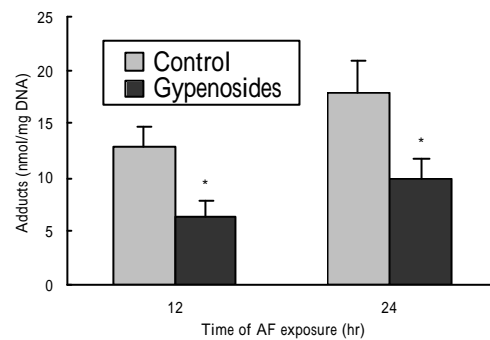
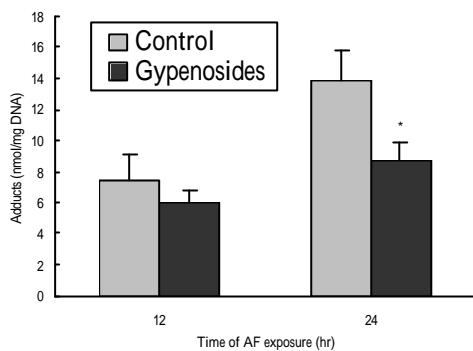


圖 4.15 a-f DNA-adducts levels in leukocytes, liver, lung, bladder, colon and uterus of SD rats with gastric intubation of AF and co-treated with or without gypenosides after 12 and 24 hours. Values are mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$

### e) Colon



### f) Uterus

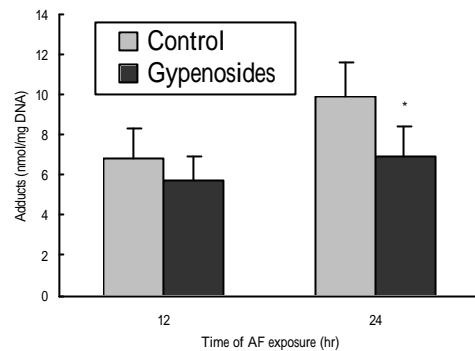


圖 4.15 (續)

## B. 生物體內實驗：AF 與 AF 代謝產物的檢測

### a. 絞股藍皂？對血清中 AF 與 AAF 量的影響

180-200 公克重的雌大白鼠，經餵食絞股藍皂？ 3.5 mg 或 1% DMSO (控制組) 24 小時後，在 halothane 麻醉之下，再從鎖骨下靜脈打入 60 mM AF 3ml，於不等的時間 (5、10、20、40、80、120、160 和 320 分鐘)，抽血檢測其血清中 AF 與 AAF 的量。結果顯示，血清中 AF 的濃度，在實驗組與控制組，都是隨著時間增加而減少，且在各時間點，實驗組高於控制組；血清中 AAF 的濃度，在控制組是隨著時間增加而慢慢增加，至 80 分鐘時濃度達到最高，之後再隨著時間增加而減少，而在實驗組，則是在 10 分鐘後，隨著時間增加而減少，且在各時間點，實驗組低於控制組。(圖 4.16、圖 4.17)

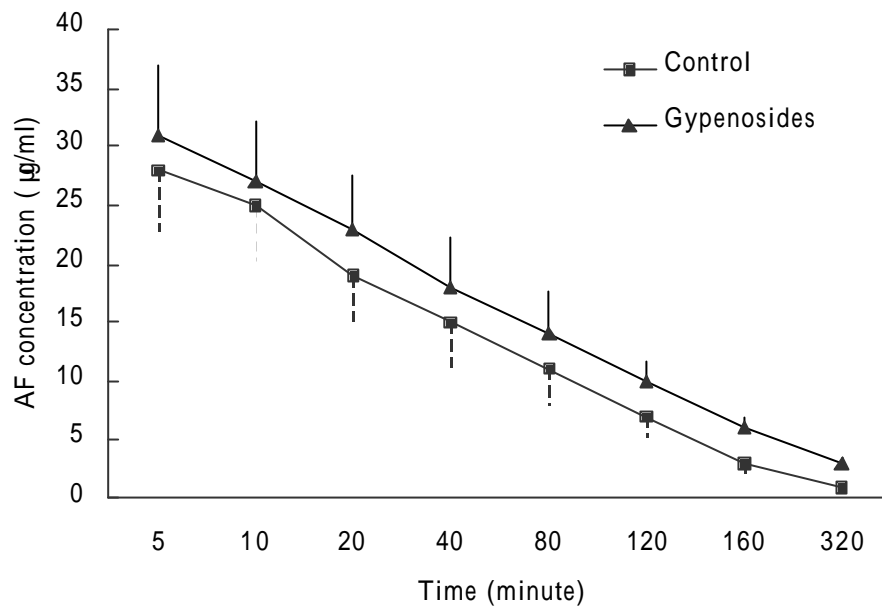


圖 4.16 Mean plasma AF concentration versus time profile in gypenosides pretreated and control animals. Values are mean  $\pm$  SD; n = 6.

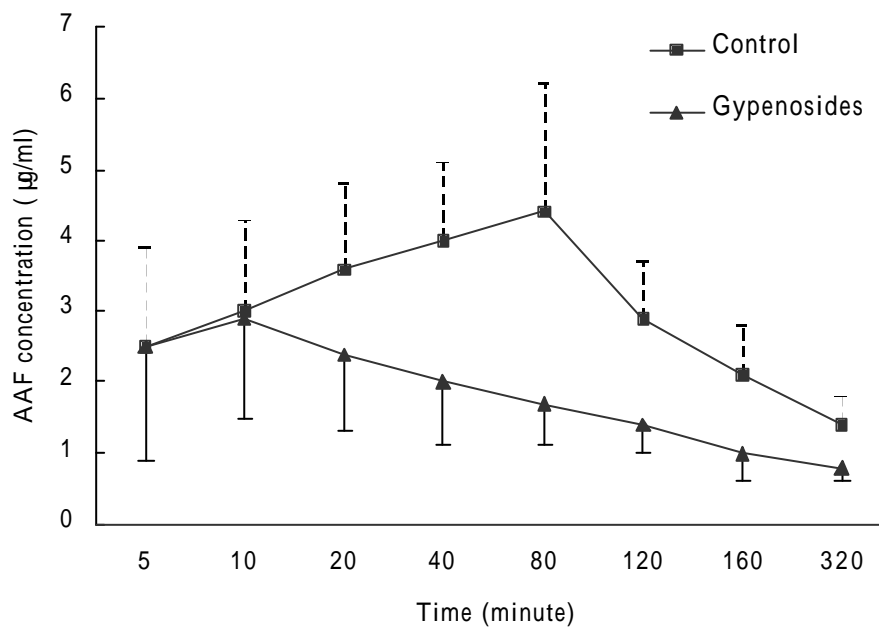


圖 4.17 Mean plasma AAF concentration versus time profile in gypenosides pretreated and control animals. Values are mean  $\pm$  SD; n = 6.

b. 絞股藍皂？對各器官中 AAF 代謝物之量與分佈的影響

將三組各 6 隻的大白鼠，(第一組只灌食 AF 作為控制組，第二組同時灌食 Gypenosides 和 AF，第三組先灌食 Gypenosides，經過 24 小時後再灌食 AF)，飼養於代謝籠內，持續收集 24 小時尿液與糞便後，再將其血液、肝臟、腎臟、胃、膀胱、子宮和大腸取出，加入 Lysis buffer，以組織均質機打成細胞質液(cytosol)，以 HPLC 分析 2-AF 代謝產物的量。三組大白鼠各器官與其排泄物中，所檢測到的 AF 與 AAF 及其他代謝產物詳列於表 4.8 至表 4.17 與圖 4.18、圖 4.19。從圖 4.18 與圖 4.19 的結果顯示，大部份的 AF 與 AF 代謝物是從尿液與糞便中排出。