

國立臺灣大學生物資源暨農學院森林環境暨資源學系

碩士論文

School of Forestry and Resource Conservation

National Taiwan University

Master Thesis

抗氧化及抑制黃嘌呤氧化酶成分在相思樹木材

之縱徑向分布

Longitudinal and Radial Distribution of Antioxidant and Xanthine

Oxidase Inhibitory Compounds in *Acacia confusa* Wood



黃于庭

Yu-Ting Huang

指導教授：張上鎮 博士

Advisor: Shang-Tzen Chang, Ph.D.

中華民國101年7月

July, 2012

謝誌

回想起剛踏入實驗室的情景，內心滿懷著期待和對學習的熱誠，過程中，充滿鼓勵和歡笑，也經歷過許多挫折、壓力與失敗，更因為堅持自己的目標，並大步向前邁進，最終的也嚐到甜美的果實，並收穫許多寶貴的經驗。

這一路走來，最感謝的是恩師 張上鎮 教授，凡舉研究上遇到的問題，不論是實驗的架構或論文方向等，老師都不厭其煩的教導我，並給予指正；除了學術方面外，老師常教導我們要用對的”態度”面對每一事，這種待人處事的態度，更令我受益良多，且至今仍謹記在心，在此致上最高敬意及衷心感謝。

論文初稿承蒙王升陽特聘教授、蘇裕昌教授、張惠婷副教授及葉汀峰助理教授之悉心批閱斧正，使論文內容更加完善，並於口試時提供精闢的意見；另外，特別感謝臺灣大學貴重儀器中心黃守齡術員，及林業試驗所林振榮副研究員提供試驗儀器及協助，還有實驗林的閔傑學長和木工曹師傅協助裁切試材，特此感謝。修業期間，感謝實驗室程阿姨和 maggie 阿姨的照顧，並感謝群雅、資正、佩翎、品昇、育涵等學長姐及博士後研究煥祐學長的指導，還有研究室的好夥伴：啟元、信甫、菀蓉、秉和、懋如、心慈、怡秀、思親、宮民、榮文、安田、伯誠、嘉紘及銀玗等，謝謝你們的協助及鼓勵。

最後，要感謝我的家人和晉章，你們總是給我最大的支持、陪伴與包容。謹以此論文獻給我愛的父母親、師長及所有關心與協助我的人。

黃于庭 謹致

于臺灣大學生物材料化學實驗室

July 6, 2012

目錄

目錄.....	I
表目錄.....	IV
圖目錄.....	V
摘要.....	IX
Abstract.....	XI
壹、前言.....	1
貳、文獻回顧.....	3
一、臺灣常見木本植物之生物活性.....	3
(一) 臺灣紅豆杉.....	3
(二) 土肉桂.....	3
(三) 臺灣杉.....	4
(四) 青脆枝.....	5
二、相思屬植物.....	6
(一) 臺灣相思樹成分及生物活性研究.....	6
(二) 其他相思屬成分及生物活性研究.....	8
三、心材形成.....	9
(一) 心材化現象.....	9
(二) 心材形成.....	10
四、林木縱徑向之成分與性質研究.....	11
(一) 心、邊材主成分含量之差異.....	12
(二) 徑向之抽出成分含量之差異.....	13
(三) 徑向之耐腐朽性差異.....	14
(四) 徑向之萜類含量差異.....	15

五、黃酮類化合物.....	16
(一) 黃酮類化合物種類.....	16
(二) 黃酮類化合物生成.....	17
參、材料與方法.....	20
一、試驗材料.....	20
二、藥品與溶劑.....	20
三、試驗方法.....	20
(一) 年輪測量.....	20
(二) 相思樹材部之區分及製備.....	21
(三) 相思樹試材製備與抽出物萃取.....	23
(四) 相思樹材部抽出物之分離與純化.....	23
1. 高效能液相層析.....	23
2. 黃酮類化合物定量.....	24
(五) 化合物結構鑑定.....	24
1. 質譜鑑定.....	24
2. 核磁共振光譜圖譜鑑定.....	24
(六) 相思樹材部抽出物之抗氧化活性試驗.....	25
1. DPPH 自由基清除試驗.....	25
2. 超氧自由基清除試驗.....	25
3. 總抗氧化能力試驗.....	26
(七) 相思樹材部抽出物之酚類化合物含量測定.....	26
1. 總酚類含量測定.....	26
2. 總黃酮類含量測定.....	27
(八) 相思樹材部抽出物抑制黃嘌呤氧化酶之活性試驗.....	27
(九) 統計分析.....	27

肆、結果與討論.....	29
一、相思樹不同高度之年輪數.....	29
二、相思樹抽出物之收率.....	29
三、相思樹材部之酚類含量.....	30
(一) 總酚類含量.....	30
(二) 總黃酮類含量.....	32
四、相思樹材部抽出物之抗氧化活性.....	34
(一) 清除 DPPH 自由基能力.....	34
(二) 清除超氧自由基能力.....	36
(三) 總抗氧化能力.....	38
五、相思樹材部抽出物部抑制黃嘌呤氧化酶之活性.....	40
六、相思樹材部生物活性成分之鑑定.....	43
七、相思樹抽出物活性成分含量之差異.....	60
(一) 相思樹抽出物 Melacacidin (10) 含量之差異.....	60
(二) 相思樹抽出物 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 含量之差異.....	62
(三) 相思樹抽出物 Transilitin (13) 含量之差異.....	64
(四) 相思樹抽出物 Okanin (7) 含量之差異.....	66
八、相思樹黃酮類化合物之生合成與酵素關係.....	69
伍、結論.....	74
陸、參考文獻.....	76

表目錄

表 1 相思樹不同部位抽出物之抗氧化活性	
Table 1 Antioxidant activity of different plant parts from <i>A. confusa</i> extract.....	7
表 2 相思樹及臺灣二葉松木材之化學組成(%)	
Table 2 Chemical composition of <i>P. taiwensis</i> and <i>A. confusa</i> wood	13
表 3 火炬松之徑向萜類化合物含量 (%)	
Table 3 Radial terpene contents of <i>P. taeda</i>	16
表 4 相思樹不同高度之年輪數	
Table 4 Tree ring numbers of different heights in <i>A. confusa</i>	29
表 5 相思樹抽出物之收率	
Table 5 Yield of extracts in <i>A. confusa</i>	30
表 6 Melacacidin (10) 的氫譜與碳譜資料	
Table 6 ¹ H- and ¹³ C-NMR data of melacacidin (10)	48
表 7 Okanin (7) 的氫譜與碳譜資料	
Table 7 ¹ H- and ¹³ C-NMR data of okanin (7).....	59

圖目錄

圖 1 心材形成之流程圖	
Fig. 1 Diagram of heartwood formation	10
圖 2 心、邊材抽出成分含量分布之差異	
Fig. 2 Different distributions of extractive content between heartwood and sapwood	12
圖 3 <i>C. versicolor</i> 與 <i>Antrodia</i> sp. 之樹內木塊耐腐朽試驗之重量損失率 (%)	
Fig. 3 Intra-tree decay tests on mass loss (%) (<i>C. versicolor</i> and <i>Antrodia</i> sp).....	15
圖 4 黃酮類化合物結構	
Fig. 4 Structure of flavonoids	17
圖 5 黃酮類化合物生合成路徑	
Fig. 5 Flavonoids biosynthesis pathway	19
圖 6 相思樹試材縱向取樣	
Fig. 6 Longitudinal sampling of <i>A. confusa</i>	22
圖 7 相思樹試材徑向取樣	
Fig. 7 Radial sampling of <i>A. confusa</i>	23
圖 8 相思樹木材總酚類含量之縱徑向分布	
Fig. 8 Longitudinal and radial distribution of total phenolic content in <i>A. confusa</i> wood.....	31
圖 9 相思樹總黃酮類含量之縱徑向分布	
Fig. 9 Longitudinal and radial distribution of total flavonoid content in <i>A. confusa</i> wood.....	33
圖 10 相思樹清除 DPPH 自由基能力之縱徑向分布	
Fig. 10 Longitudinal and radial distribution of DPPH free-radical scavenging activity in <i>A. confusa</i>	35

圖 11 相思樹清除超氧自由基能力之縱徑向分布	
Fig. 11 Longitudinal and radial distribution of superoxide radical scavenging activity in <i>A. confusa</i>	37
圖 12 相思樹總抗氧化能力之縱徑向分布	
Fig. 12 Longitudinal and radial distribution of trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in <i>A. confusa</i>	39
圖 13 相思樹抑制黃嘌呤氧化酶活性之縱徑向分布	
Fig. 13 Longitudinal and radial distribution of xanthine oxidase inhibitory effect (XOD) in <i>A. confusa</i> . Extracts were tested at 100 μ g/mL.....	42
圖 14 Melacacidin (10) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 14 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of melacacidin (10) (500 MHz, CD_3OD).....	44
圖 15 Melacacidin (10) 的 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 15 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ spectrum of melacacidin (10) (500 MHz)	45
圖 16 Melacacidin (10) 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)	
Fig. 16 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of melacacidin (10) (125 MHz, CD_3OD).....	45
圖 17 Melacacidin (10) 的 HSQC 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 17 HSQC spectrum of melacacidin (10) (500 MHz)	47
圖 18 Melacacidin (10) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 18 HMBC spectrum of melacacidin(10) (500 MHz).....	47
圖 19 4'- <i>O</i> -Methyl-melacacidin (11) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 19 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 4'- <i>O</i> -methyl-melacacidin (11) (500 MHz, CD_3OD)....	50
圖 20 4'- <i>O</i> -Methyl-melacacidin (11) 的 NOESY 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 20 NOESY spectrum of 4'- <i>O</i> -methyl-melacacidin (11) (500 MHz).....	51
圖 21 Transilitin (13) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 21 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of transilitin (13) (500 MHz, CD_3OD).....	53

圖 22 Transilitin (13) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)	
Fig. 22 ^{13}C -NMR spectrum of transilitin (13) (125 MHz, CD_3OD).....	54
圖 23 Transilitin (13) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 23 HMBC spectrum of transilitin (13) (500 MHz, CD_3OD).....	54
圖 24 Okanin (7) 的 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)	
Fig. 24 ^1H -NMR spectrum of okanin (7) (500 MHz, CD_3OD)	56
圖 25 Okanin (7) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)	
Fig. 25 ^{13}C -NMR spectrum of okanin (7) (125 MHz, CD_3OD)	56
圖 26 Okanin (7) 的 HSQC 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 26 HSQC spectrum of okanin (7) (500 MHz).....	57
圖 27 Okanin (7) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz)	
Fig. 27 HMBC spectrum of okanin (7) (500 MHz).....	58
圖 28 相思樹木材 Melacacidin (10) 含量之縱徑向分布	
Fig. 28 Longitudinal and radial distribution of melacacidin (10) content from <i>A. confusa</i> wood..	61
圖 29 相思樹木材 4'- <i>O</i> -Methyl-melacacidin (11) 含量之縱徑向分布	
Fig. 29 Longitudinal and radial distribution of 4'- <i>O</i> -Methyl-melacacidin (11) content from <i>A. confusa</i> wood.	63
圖 30 相思樹木材 Transilitin (13) 含量之縱徑向分布	
Fig. 30 Longitudinal and radial distribution of transilitin (13) content from <i>A. confusa</i> wood.	65
圖 31 相思樹木材 Okanin (7) 含量之縱徑向分布	
Fig. 31 Longitudinal and radial distribution of okanin (7) content from <i>A. confusa</i> wood.....	67

圖 32 臺灣相思樹黃酮類可能之生合成路徑

Fig. 32 Possible flavonoids biosynthesis pathway of *A. confusa*71



摘要

相思樹 (*Acacia confusa*) 為臺灣本土樹種，其心材、樹皮、葉子、枝條、花及花苞已被證實具有良好之抗氧化活性。為了解相思樹縱向及徑向之活性成分分布及生物活性差異，本研究將單株相思樹由樹幹基部至樹頂依高度分為 4 區段，而各區段再由髓心往邊材以每 7 個年輪數分為 5 個區塊，以乙醇萃取其抽出物，並分別測定總酚類含量和總黃酮類含量，再評估清除 DPPH 自由基、清除超氧自由基、總抗氧化能力及抑制黃嘌呤氧化酶之生物活性。

試驗結果顯示，靠近基部心材之總酚類含量最高，其值介於 43.4—44.8 mg GAE/g of wood，縱向之含量以樹木中段心材最多；而總黃酮類含量由邊材往髓心遞增，縱向之含量以樹木中段心材最多。心材各區塊清除 DPPH 及超氧自由基之評估結果，顯示不論縱向或徑向皆無顯著差異；基部之內層心材抑制黃嘌呤氧化酶之活性最佳，上述 3 種活性皆與總酚類及總黃酮類含量成正相關，其中又以抑制黃嘌呤氧化酶之活性與總黃酮類含量具有高度相關性。總抗氧化能力之徑向分布皆以邊材為佳，並呈現向髓心遞減趨勢，顯示邊材水溶性總抗氧化能力較佳。

進一步定量相思樹心材之 4 個活性成分：Melacacidin、4'-*O*-Methyl-melacacidin、Transilitin 及 Okanin；由定量結果得知 Melacacidin 和 4'-*O*-Methyl-melacacidin 為主要抽出成分。相思樹心材清除 DPPH、超氧自由基及抑制黃嘌呤氧化酶之活性與上述 4 種化合物含量皆呈正相關，其中，又以清除 DPPH 自由基與 Melacacidin 和 4'-*O*-Methyl-melacacidin 具有高度相關性；而抑制黃嘌呤氧化酶之活性則與 Transilitin 和 Okanin 具有高度相關性，由此可知不同活性源自於不同化合物；且清除 DPPH、超氧自由基及抑制黃嘌呤氧化酶之活性亦與 4 種化合物總量呈高度相關性。另外，相思樹活性成分定量結果得知，相較於邊材，4 種黃酮類含量於移形材處大量產生，並由移形材向心材內累積。

【關鍵詞】相思樹、抗氧化活性、縱向分布、徑向分布、移行材、黃嘌呤氧化酶



Abstract

Acacia confusa Merr. is an indigenous tree species that grows in Taiwan. It has been proven that their extractives of heartwood, bark, leaves, branch, flower and bud exhibited excellent antioxidant activities. The objectives of this study are to understand the difference of bioactivities between radial and longitudinal wood, and to analyze the distribution of bioactive constituents in *A. confusa*. Four sections were taken based on four different heights from the base to the top of trunk. Each section was divided into five blocks by every seven tree rings from pith to sapwood. All samples were extracted with ethanol, and their bioactivities were evaluated by DPPH radical scavenging (DPPH), superoxide radical scavenging assays (NBT), trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay and xanthine oxidase (XOD) inhibitory activity. In addition, total phenolic contents (TPC) and total flavonoids contents (TFC) were also examined.

The results from TPC measurement showed that the TPC of heartwood at the tree base had the highest values (43.4–44.8 mg GAE/g of wood), and longitudinal distribution of TPC were higher in the middle trunk. Radial distribution of TFC gradually increased from sapwood toward pith, and longitudinal distribution of TFC were was higher in the middle trunk. Blocks of heartwood showed no significantly statistical difference on DPPH and NBT regardless of radial or longitudinal direction. Inner heartwood at the tree base possessed the best XOD inhibitory activity. The three above-mentioned activities have positive correlation with TPC and TFC, especially, XOD inhibitory activity has a high positive correlation with TPC and TFC. TEAC represents the inhibitory capability of water-soluble free radicals. TEAC was higher in sapwood, and radial distribution of TEAC decreased from the sapwood toward the

pith of tree, revealing that extractives of sapwood had better water-soluble antioxidant activity.

Furthermore, four main bioactive constituents, melacacidin, 4'-*O*-methyl-melacacidin, transilitin and okanin, of heartwood extract were quantified using HPLC. Results showed that melacacidin and 4'-*O*-methyl-melacacidin were two major compounds of the ethanolic extract. Based on statistical analyses, each content of four compounds showed positive correlation with DPPH, NBT and XOD inhibitory activity. Melacacidin and 4'-*O*-methyl-melacacidin has a high positive correlation with DPPH, transilitin and okanin has a high positive correlation with XOD inhibitory activity, especially. In addition, the total contents of four compounds showed strongly positive correlation with DPPH, NBT and XOD inhibitory activity.

Besides, quantitative results obtained in this study showed that four main bioactive constituents were higher in TZ than in sapwood, then gradual accumulation to the other parts of heartwood.

【key word】 *Acacia confusa*, antioxidant activity, longitudinal distribution, radial distribution, transition zone, xanthine oxidase

壹、前言

目前有些有關心材形成或抽出物形成之研究指出，抽出物在心材形成過程扮演著重要的角色，且許多抽出物亦具有特殊的生物活性；而此類研究從最早的心材形成，心材物質的累積，移行材的作用機制，至移行材酚類生合成之重要酵素等研究，並找出活性成分之前驅物或主要酵素，以上研究皆為了解心材物質緣起與累積的謎底，且探討生物活性之來源，或解開木材機械性質或物理性質的相關性。

最早以徑向或縱向為研究主題的是細胞型態學 (Cell morphology) 及木材三大主成分為主，大多研究為年輪之水分含量、寬度、密度和微纖維角度等，主要為了瞭解上述對樹木生長或探討環境對樹木之影響，其研究結果可供育林參考；另一部分研究則為了瞭解木材機械性質或物理性質，部分研究著探討心材與耐腐朽間的關係，並證實心材之耐腐朽性源自於抽出成分，不過，大部分研究都著重於徑向研究，較少有縱向相關的研究。

臺灣相思樹 (*Acacia confusa*) 為豆科 (Fabaceae) 植物，又可分為 3 個亞屬，總計約有 1350 種 (Seigler, 2003)，而澳洲境內就有近 1000 種。相思屬是種分布性很廣的植物，從沿海到亞高山地區、從高降雨地區到內陸乾旱地區都可看見他們的蹤影，尤其是乾旱和半乾旱的亞熱帶國家，如非洲、中亞洲、美洲及澳洲。事實上，相思樹屬植物早已被其所在地的原住民加以應用，其醫療功效包含治療頭痛、喉病及皮膚炎，並用於抗發炎及收斂劑 (Seigler, 2003)；而臺灣相思樹因含有高比例之酚類，早已被用作單寧膠之開發與製造。

近年來，許多科學家紛紛證實，多酚類物質包括黃酮類 (Flavonoid)、單寧 (Tannin) 及木質素 (Lignin) 等化合物皆為良好之抗氧化劑 (Pietta, 2000)，並提倡以天然植物製成天然藥物，不僅提高藥用植物之利用性，更提高其經濟價值，並促使更多專家學著致力於投入生物活性之研究。

眾多研究皆顯示相思屬植物之心材、葉子、果實、種子及樹皮，皆具有良好之生物活性，包括抗氧化活性 (Antioxidant activity) (Singh *et al.*, 2009)、抗發炎活性 (Anti-inflammatory activity) (Adedapo *et al.*, 2008; Dongmo *et al.*, 2005)、鎮痛 (Analgesic activity) (Adedapo *et al.*, 2008; Dongmo *et al.*, 2005)、驅蟲 (Anthelmintic activity) (Bachaya *et al.*, 2009)、抗菌 (Antimicrobial activity) (Mutai *et al.*, 2009a; 2009b)、抗瘧原蟲 (Antiplasmodial activity) (El-Tahir *et al.*, 1999) 等活性。

本研究室先前之研究結果顯示，相思樹心材、樹皮、枝條、細枝、葉子、花及花苞之抽出物具有抗氧化活性 (張上鎮, 2009a; 林修賢, 2008; Chang *et al.*, 2001a; Hsieh and Chang, 2010; Tung *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2005) 及抑制黃嘌呤氧化酶活性 (Xanthine oxidase inhibitory effect) (Tung *et al.*, 2010a, 2010b; Hsieh and Chang, 2010)，比較各部位之抗氧化活性，得知心材及樹皮具有極佳之活性，且更進一步研究結果顯示，心材抽出物 Melanoxetin (3,7,8,3',4'-Pentahydroxyflavone)、Transilitin (7,8,3',4'-Tetrahydroxy-3-O-methylflavone) 及 Okanin (3,4,2',3',4'-Pentahydroxy-trans-chalcone) 清除 DPPH 自由基之能力最佳；另外，相思樹心材抽出物亦具有抗發炎活性 (Anti-inflammatory activity) (Wu *et al.*, 2008) 及減緩光劣化 (Photodegradation) 和光氧化 (Photo-oxidation) 之功效 (Chang *et al.*, 2010a; 2010b)。

由於，相思樹心材具有良好的抗氧化活性及抑制黃嘌呤氧化酶活性，因此本研究更進一步探討單一相思樹材部縱向及徑向之活性差異。本研究針對相思樹材部之抽出物，進行抗氧化及抑制黃嘌呤氧化酶活性之縱、徑向分布差異分析，再經由定量活性成分，探討相思樹活性成分縱、徑向分布之差異，進而推測相思樹活性成分之生合成路徑及活性成分含量與酵素之關係。

貳、文獻回顧

一、臺灣常見木本植物之生物活性

臺灣因氣候、海拔、地理環境及溫度，孕育出得天獨厚之生態，植被的分布也很廣泛，從亞寒帶至熱帶皆有，根據第三次森林資源調查成果顯示，臺灣的森林面積占國土面積的 58.5%（李培芬，2007），而第 2 版《臺灣植物誌》，統計顯示臺灣共有 235 科 1,419 屬 4,077 分類群維管束植物，將近 7000 種，其中大約 4 分之 1 種類是特有種；目前，已被研究證實或坊間流傳具有保健或醫藥用之植物，估計超過 2000 種，臺灣可說是天然藥用植物的寶庫（王升陽等，2003）。

（一）臺灣紅豆杉

近年來，隨著不斷推層出新的研究，發現許多本土樹種具有藥用成分，例如臺灣紅豆杉（*Taxus sumatrana*），臺灣地區植物紅皮書將臺灣紅豆杉列為稀有樹種之一（賴明洲，1991），研究指出臺灣紅豆杉枝葉含有與太平洋紫杉（*Taxus brevifolis*）樹皮相同的抽出物，也就是具有抗卵巢癌及乳癌的紫杉醇（Taxol）（何政坤，2003），另外，Shen 等人（2002）研究指出臺灣紅豆杉枝葉中的雙萜類（Diterpenoids），具有毒殺人類肝癌細胞（Human liver carcinoma, Hepa 59T/VGH）及口腔上皮細胞（Oral epidermoid carcinoma, KB cells）之活性。

（二）土肉桂

土肉桂（*Cinnamomum osmophloeum*）為臺灣中低海拔之常綠中喬木，早期發現不同地區所採集之土肉桂葉精油收率在於 0.7%-1.3%，精油中肉桂醛（Cinnamaldehyde）的含量也不一（張上鎮等，2009a），經胡大維等人（1985）及李漢中等人（2003）之研究結果，得知將土肉桂葉精油依其主成分可分為不同化學品系。後續研究結果顯示不同的化學品系的生物活性亦不同，像是肉桂醛型（Cinnamaldehyde type）及肉桂醛—桂皮乙酸酯型（Cinnamaldehyde-cinnamyl acetate type）。土肉桂葉子精油對白線斑蚊幼蟲（*Aedes albopictus*）、熱帶家蚊

幼蟲 (*Culex quinquefasciatus*) 及白腹叢蚊幼蟲 (*Armigeres subalbatus*) 有良好的抑制效果 (Cheng *et al.*, 2009)。另外，土肉桂葉精油也具抗菌活性 (Antifungal activity)，對常見之褐腐菌 (*Laetiporus sulphureus*) 及白腐菌 (*Lenzites betulina* 和 *Trametes versicolor*) 具有優良之抗菌活性 (Wang *et al.*, 2005; Cheng *et al.*, 2006)，亦具有抗細菌活性 (Anti-bacterial) (Chang *et al.*, 2001b) 及抗紅火蟻 (Red imported fire ant, *Solenopsis invicta* Buren) 活性 (Cheng *et al.*, 2008)，且從精油分離出最有效之抗紅火蟻成分為 *trans*-Cinnamaldehyde。

土肉桂葉精油對常見之蟎類 (歐洲室塵蟎 (*Dermatophagoides pteronyssinus*) 及美洲室塵蟎 (*Dermatophagoides farine*)) 具有極佳的抑制效果 (陳品方等, 2002)，土肉桂葉精油的活性還不只如此，還具有良好的抑制黃嘌呤氧化酵素 (Xanthine Oxidase, XOD)，也就是可以減少尿酸 (Uric acid) 之形成 (Wang *et al.*, 2008)；除了精油外，土肉桂枝條的抽出物也具有好的抗氧化活性 (Chua *et al.*, 2008)；綜合上述可知，土肉桂具有極佳經濟價值的本土樹種，且可不需砍伐即可利用，更符合了森林永續經營利用之原則。

(三) 臺灣杉

臺灣杉 (*Taiwania cryptomerioides*) 為臺灣特有種，於 6000-7000 萬年以前就已存在的活化石植物，又稱為古地質史子遺的樹種 (李培芬, 2007)，臺灣杉不僅是良好的家具用材，也具有許多生物活性，臺灣杉心材含有許多木酚素 (Lignans)，其中 Savinin、Taiwanin A 及 Taiwanin E 具有抗腫瘤細胞活性 (張上鎮等, 2000a)，另外，Dimethylmatairesinol、Taiwanin A 與 Taiwanin E 具有良好的毒殺腫瘤細胞的活性，又以 Taiwanin A 效果最佳 (Chang *et al.*, 2000)，Ho 等人 (2007) 更深入探討，發現 Taiwanin A 會活化在 HepG2 細胞裡的 Tumor suppressor protein p53，然後造成細胞凋亡 (Apoptosis)。此外，由臺灣杉心材所分離 9 個二萜類 (Diterpenes) 化合物，以 Ferruginol 的抗氧化活性最佳 (Wang *et al.*, 2002)，而不論是臺灣杉心材精油或心材粉末，皆對硃砂根基腐病的病原

真菌 (*Fusarium solani*) 有良好的抑制效果 (許立昇等, 2009), Chang (2000) 的研究也指出臺灣杉心材的抽出成分具有抗腐朽菌、抗白蟻 (Antitermitic activity) 及抗蟎 (Antimite activity) 活性。

(四) 青脆枝

青脆枝 (*Nothapadytes foetida*) 為臺灣蘭嶼特有原生樹種, 其抽出成分含有抗癌功效的喜樹鹼 (Camptothecin, CPT), 喜樹鹼是由Wall等人 (1966) 於喜樹 (*Camptotheca acuminata*) 中首度分離出之抗癌藥劑, 且青脆枝目前被國際公認含喜樹鹼成分最高的植物 (李興進, 2004), 因喜樹鹼的毒性較高, 不適合作為藥用, 目前有兩種普遍用於治療癌症之喜樹鹼衍生物, 分別為Topotecan和Irinotecan (CPT-11), 兩者毒性皆比喜樹鹼低, Topotecan用於治療子宮頸癌、乳癌及卵巢癌, 而Irinotecan主要治療大腸癌及肺癌, 其皆為抑制Topoisomerase I (Topo I), 進而導致去氧核糖核酸無法複製, 造成細胞死亡 (楊玲玲, 2004; 吳永昌和蘇燦隆, 2004; 楊士平和李慶國, 2009), Kawato等人 (1991) 及Nadkarni等人 (1953) 的研究更指出Irinotecan在體內會經Carboxylesterases代謝成SN-38 (7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin), 其抑制Topo I的活性為Irinotecan的1000倍, 且毒性較低。

學者們也致力於育種、選殖青脆枝, 以癒合組織 (Callus cultures) 及細胞懸浮培養 (Cell suspension cultures) 青脆枝, 研究指出喜樹鹼及其天然衍生物9-Methoxycamptothecin (MCPT) 之含量約為原植物的1%至0.1% (Roja *et al.*, 1994; Ciddi *et al.*, 2000; Fulzele *et al.*, 2001)。國內學者何政坤和張淑華 (2007) 利用枝葉生產喜樹鹼; 後續, 更利用青脆枝毛狀根來生產喜樹鹼, 結果顯示青脆枝毛狀根含有0.17%的喜樹鹼, 為目前研究中以毛狀根或正常根所得之喜樹鹼含量最高者 (張淑華和何政坤, 2008)。

二、相思屬植物

相思樹為常見之本土樹種，因相思樹之木炭耐燒且發熱量大，早期作為薪炭材用，俗稱”相思仔炭”，長久以來與”龍眼仔炭”並列品質最佳之薪炭材，相思木炭亦可作為乾電池內之炭粉及濾水器中濾心等；也因它質地堅硬，可作為建築用具、農具、枕木及礦坑道等。另外，早期也用不同部位之相思樹作為天然染料，稱為”相思染”（陳正和，2002）。

在慶典應用上，每逢聖誕節時，澳洲常以 *A. dealbata* 作為聖誕樹。在食物方面，緬甸、寮國及泰國常用 *A. pennata* 的葉子煮湯、炒菜或煎蛋；*A. colei* 和 *A. tumida* 的種子所製成的油，比傳統的花生油含有較多的酚類及不飽和脂肪酸，因此在健康及營養的觀點上，更適合作為食用油，且因高溫產生的油煙較少，也較適合油炸用(Falade *et al.*, 2008)；另外，*A. arabica* 及 *A. senegal* 的樹膠(Gum)，可製成口香糖或食品的調味劑、乳化劑、穩定劑等（21 CFR 184.1330）；還有 *A. farnesiana* 常用作香水之原料。

（一）臺灣相思樹成分及生物活性研究

相思樹為臺灣本土樹種，不僅生長快速、繁殖容易，先前的研究指出其具有天然耐腐朽性，屬於天然耐腐朽材，且丙酮、甲醇及熱水抽出物較其他溶劑抽出物之耐腐朽性高（林勝傑和謝堂州，1991）。Lee 等人（2011）的研究顯示相思樹材部抽出物具有抑制 C 型肝炎病毒（HCV）複製；Lam 與 Ng（2010a, 2010b）的研究指出相思樹種子抽出物具有抑制 HIV-1 反轉錄酶及乳癌細胞（MCF-7）之活性。

本研究室已對相思樹之心材、樹皮、枝條、細枝、葉子、花及花苞的抽出物，進行 DPPH 自由基清除試驗（DPPH assay）、超氧自由基清除試驗（NBT assay）（林修賢，2008；張上鎮，2009b；Chang *et al.*, 2001a; Hsieh and Chang, 2010; Tung *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2005）、抑制黃嘌呤氧化酶（Xanthine oxidase, XOD）（Hsieh and Chang, 2010; Tung *et al.*, 2010a）及細胞抗發炎活性（Wu *et al.*,

2008) 等生物活性評估，顯示各部位抽出物皆具有極佳的抗氧化活性(如表 1)，清除 DPPH 自由基及超氧自由基之能力與總酚類含量為皆以心材和樹皮最佳，更進一步研究顯示，心材抽出物 Melanoxetin、Transilitin 及 Okanin 清除 DPPH 自由基之能力最佳，皆優於已知抗氧化劑 (Quercetin)，另外，花苞及花之總黃酮類含量較其他部位高。

表 1 相思樹不同部位抽出物之抗氧化活性

Table 1 Antioxidant activity of different plant parts from *A. confusa* extract

Specimen	IC ₅₀ (µg/mL)		TPC* (mg of GAE/g)	TFC** (mg of QE/g)	References
	DPPH radical	Superoxide radical			
Heartwood	2.2	1.8	529.7	–	張上鎮，2009b； Chang <i>et al.</i> , 2001a
Bark	4.0	3.5	466.8	–	張上鎮，2009b
Leaf	7.9	7.7	281.0	48.9	林修賢等，2008
Branch-bark (5 cm)	7.4	5.8	416.9	0.9	Hsieh and Chang, 2010
Twig	24.0	31.8	121.4	7.7	Hsieh and Chang, 2010
Flower	30.8	33.4	105.1	62.6	Tung <i>et al.</i> , 2011
Bud	13.1	8.5	173.3	96.3	Tung <i>et al.</i> , 2011

TPC* : Total phenolic contents, TFC** : Total flavonoids contents

另一項研究指出，相思樹不同部位之抽出成分具有抑制 XOD (Xanthine oxidase)，能降低尿酸生成，研究結果顯示抽出成分之使用濃度為 100 µg/mL 時，心材、樹皮、葉子、細枝及花之 XOD 抑制率分別為 80、59、45、39 及 46%，而心材抽出成分最能抑制 XOD 之化合物為 Okanin 及 Melanoxetin，其 IC₅₀ 值分別為 0.076 µM 及 0.274 µM，皆優於藥用之降尿酸藥—安樂普利諾 (Allopurinol)

(4.784 μM) (Hsieh and Chang, 2010; Tung *et al.*, 2010a), Tung 等人 (2010b) 進一步以急性高尿酸症小鼠進行抑制 XOD 之動物實驗, 結果顯示在餵食 100 mmol/kg 下, Melanoxetin 活性最佳, 抑制率為 75%, 以(-)-2,3-*cis*-3,4-*cis*-4'-Methoxy-3,3',4,7,8-pentahydroxyflavan 次之, 抑制率為 72%, 再者為 Okanin、(-)-2,3-*cis*-3,4-*cis*-3,3',4,4',7,8-Hexa-hydroxyflavan 及 Transilitin。

Wu 等人 (2008) 的研究指出相思樹心材抽出成分亦具有良好抗發炎活性, 也以 Melanoxetin 之活性最佳, 同時可抑制 iNOS 及 COX-2, 且對細胞無毒殺效果; 另外, 相思樹心材抽出成分具有保護 DNA, 避免其遭受氫氧自由基之攻擊 (Chang *et al.*, 2001a)。除了上述之生物活性外, 相思樹心材抽出成分還可減緩光劣化 (Photodegradation) 和光氧化 (Photo-oxidation) 之程度, 可達到光安定之效果, 並具有保護木材之作用 (Chang *et al.*, 2010a; 2010b)。

相思樹樹皮抽出成分除了具有抗氧化活性外, Tung 等人 (2009a) 利用四氯化碳誘導大鼠慢性肝損傷模式, 評估相思樹樹皮抽出成分之護肝功效, 結果顯示相思樹樹皮能有效增加肝損傷大鼠紅血球中超氧化物歧化酶活性 (Superoxide dismutase, SOD)、麩胱甘肽過氧化酶活性 (Glutathione peroxidase, GPX) 及過氧化氫酶活性 (Catalase, CAT), 由大鼠肝臟病理切片亦得知相思樹樹皮抽出物能降低誘發肝損傷, 由上述研究結果顯示相思樹樹皮抽出物亦具有保肝功效。綜合臺灣相思樹生物活性研究得知, 相思樹可全株利用, 十分具有開發成為天然保健食品的潛力之樹種。

(二) 其他相思屬成分及生物活性研究

Chou 等人 (1998) 研究結果顯示, 相思樹植物具有相剋作用 (Allelopathic potential), 因葉子中含有許多植物毒素, 使得下層植物不易生長, 可供作天然除草劑; 另外, 一些研究結果顯示, *A. catechu*、*A. tortilis* 和 *A. arabica* 具有減低血糖的功效 (Ray *et al.*, 2006; Agrawal *et al.*, 2008; Sharma *et al.*, 1985); 還有學者對澳洲墨水樹 (*Acacia melanoxylon* R.Br., Blackwood) 之材色進行量化的研究

(Bradbury *et al.*, 2010)，研究結果顯示 *A. melanoxylon* R.Br. 的心材顏色變化較多，有淡奶油色、金褐色、紅棕色及胡桃色，但邊材只有一種顏色為淡奶油色，學者希望找出邊材與心材之顏色相關性，結果顯示色差計可量化心、邊材顏色，但心材顏色無法由測量邊材顏色而得知；有一些學者對 *A. angustissima* 進行諸多抗營養因子 (Anti-nutritional factor) 的研究，Odenyo 等人 (1997; 2003) 及 McSweeney 等人 (2005) 之研究結果顯示 *A. angustissima* 添加於單胃動物 (Mono-gastric animal) 及反芻動物 (Ruminant) 飼料中，因縮合單寧 (Condensed tannins) 和生物鹼 (Alkaloids) 而產生毒性，推測為縮合單寧在胃中使蛋白質沉澱，造成動物消化不良，引起動物的不適。

三、心材形成

(一) 心材化現象

以肉眼直接觀察木材之橫切面，可明顯看出顏色不同，顏色較淺者為邊材，顏色較深者稱為心材，產生顏色差異之原因為樹木生長過程會產生心材化現象。最初，只能觀察心材化現象產生及細胞型態發生改變，卻無法了解形成之機制，而心材化的定義為在細胞死亡之際，移行材代謝活動異常旺盛，同時澱粉被消耗掉，並向髓心 (Pith) 累積填充體 (Tyloses) 或樹脂 (Resin) 及單寧 (Tannin) (王松永和丁昭義, 1984)。有關心材形成的過程，各派說法不一，有學者認為心材所累積之成分是在形成層內合成，經由木質線 (Ray) 運送，經過邊材，累積至心材；另一派說法與其相對，心材之成分大多為大分子之聚酚類 (Polyphenols)，無法在組織內運送，因此不會在形成層時就合成 (王松永、丁昭義, 1984)。

當木材直徑達某限度時，樹木會出現「心材化」。Carrodus (1972) 的研究結果指出，樹木生長速率與邊材的寬度具有高度相關，為維持邊材體積在樹木中的比例，使樹木有最佳的生長速率，當樹木之邊材往徑向與縱向生長達一定程

度，為了調控邊材的比例，會促使心材化開始產生，也就是說心材形成(Heartwood formation)是由於邊材的累積。

(二) 心材形成

心材形成會產生許多不同的現象，包括樹木生理性、化學性及物理性的改變，其中，又以抽出物的產生及累積為心材形成的重要改變 (Imai, 2012)。最早的理论為邊材轉換成心材是始於邊材的薄壁細胞 (Parenchyma cells)，藉由心材誘導物質 (Heartwood inducing substance, HIS) 而開始形成心材，此物質功能類似荷爾蒙，但只能由形成層運送至心材開始形成之起始處，此區稱為轉移區 (Transition zone)。因為 HIS 無法向被填塞的心材及髓心運輸，且 HIS 會分泌出有毒之多酚類，當此多酚類達一定濃度時，細胞死亡，心材形成 (Bamber, 1976)，所以薄壁細胞死亡並不是心材化的原因，而是心材形成的結果，心材形成之流程如圖 1 所示。Höll 及 Lenzian (1973) 的研究結果亦指出，位於內部邊材 (Inner sapwood) 及轉移區之薄壁細胞活動特別旺盛，如：邊、心材交界處呼吸速率會增加，此研究證實心材化是由薄壁細胞開始進行。

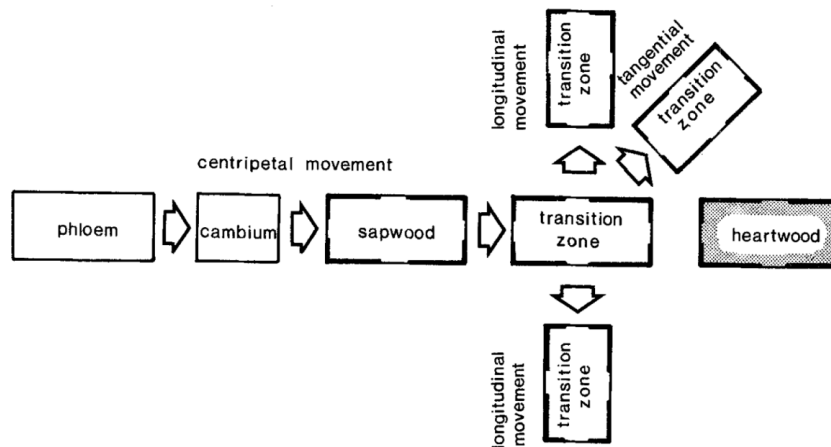


圖 1 心材形成之流程圖

Fig. 1 Diagram of heartwood formation (Bamber, 1976)

若以細胞生合成的角度來看，細胞會經由不同階段而形成心材；首先是細胞分裂（Cell division），開始形成初生細胞壁（Primary cell walls），接著，細胞擴張（Cell expansion），開始產生次級細胞壁（Secondary cell walls），然後，進行細胞壁增厚（Cell wall thickening），細胞壁生長完成後，木質部細胞會進行計畫性死亡（Programmed cell death, PCD），液胞（Vacuole）會釋出特別之水解酶（如：Poteases、Nucleases 及 RNase 等），使細胞成分被降解進而死亡，即為心材形成（Gray, 2004）。

近年來的有關心材形成研究以分子生物為主，Yang 等人（2003）以刺槐（*Robinia pseudoacacia*）為研究對象，研究結果顯示黃酮類生合成結構基因之表現量皆於移行材（TZ）上調（Yang *et al.*, 2003）；而 Beritognolo 等人（2002）以黑胡桃木（*Juglans nigra* L.）為研究對象，研究結果指出 *F3H* 及 *CHS* 之表現量於移行材及內層邊材處上調；黃烷醇含量出現於正在分化之木質部，且會大量產生於移行材（TZ），其分布差異可能因不同黃酮類及樹種而異；另外，此學者亦推測酚類累積主要受 *CHS*、*F3H* 及 *DFR* 基因表現的轉錄階段（Transcriptional level）影響。

Yoshida 等人（2012）以柳杉（*Cryptomeria japonica*）為研究對象，研究結果顯示，11 月時移行材處糖解酵素（Glycolysis）、蔗糖轉移酶（Invertase）和穀胱甘肽轉移酶（Glutathione transferase）等酵素之表現量較 6 月高，且這些酵素可能扮演著維持移行材功能或心材形成的重要角色，但目前對於心材形成之機制尚未明確（Imai, 2012; Yoshida *et al.*, 2012）。

四、林木縱徑向之成分與性質研究

初期對於樹木徑向變異之研究，主要針對細胞型態學（Cell morphology）及木材三大主成分，例如：纖維寬度離髓心距離愈遠而愈小，而纖維壁的厚度則增加。而後，部分樹木徑向成分研究是為了解心材與耐腐朽間的關係，因心材化後

之木材，其耐腐朽性較邊材佳，猜測與其在轉移區開始累積抽出成分有關，研究結果證實，心材耐腐朽能力確實受抽出成分影響，且心材愈靠近轉移區部分，耐腐朽性愈佳（Amusant *et al.*, 2004; DeBell *et al.*, 1999; Taylor *et al.*, 2002; Venalainen *et al.*, 2003），樹木抽出成分分布差異如圖 2（丁昭義，1983），與耐腐朽趨勢相似。心材化使樹木之耐腐朽能力提高，且影響心、邊材的化學成分組成；除此之外，心材化也影響樹木之物理及化學性質，而主要產生結構或化學成分變化皆位於樹木之轉移區（Taylor *et al.*, 2002）。

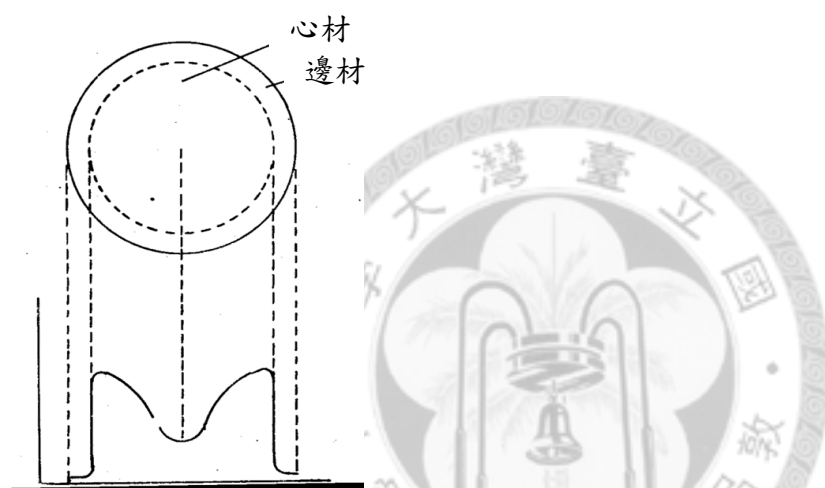


圖 2 心、邊材抽出成分含量分布之差異(丁昭義，1983)

Fig. 2 Different distributions of extractive content between heartwood and sapwood

(一) 心、邊材主成分含量之差異

張豐吉和杜明宏（1988）以臺灣常見樹種相思樹及臺灣二葉松（*Pinus taiwensis*）進行心、邊材之主成分分析，結果如表 2。由表 2 可知，相思樹和臺灣二葉松心材之醇苯抽出物皆為高於邊材，且為邊材的 8—11 倍；不論樹種，邊材之全纖維素、 α -Cellulose 及聚戊糖皆高於心材，而邊材之木質素略高於心材，灰分則反之，皆為心材大於邊材。另外，不論心、邊材，兩樹種之全纖維素及 α -Cellulose 的含量相近，聚戊糖含量則以相思樹較高。

表 2 相思樹及臺灣二葉松木材之化學組成(%)

Table 2 Chemical composition of *P. taiwensis* and *A. confusa* wood(張豐吉和杜明宏，1988)

Specimen	Wood specimen	E-t*	Ash	Holocellulose	α -Cellulose	Lignin	Pentose
<i>A. confusa</i>	Sapwood	1.64	0.60	73.1	47.6	26.4	18.98
	Heartwood	8.43	0.90	68.3	40.7	25.8	15.63
<i>P. taiwensis</i>	Sapwood	1.39	0.24	63.7	45.5	28.2	6.5
	Heartwood	11.77	0.44	61.2	40.5	25.9	8.4

E-t* : Ethanol-toluene extractives

(二) 徑向之抽出成分含量之差異

Bergström (2003) 將同一生長季節不同採集時間點之蘇格蘭松 (*Pinus sylvestris* L.) 由邊材至心材分為 7 個部分 (I—VII)，I 至 III 為邊材 (Zone A)，IV 至 V 為移行帶 (Transition zone) (Zone B)，VI 至 VII 為心材 (Zone C)，再以氣相層析儀 (Gas chromatography, GC) 分析其 Pinosylvins、Resin acids、Free fatty acids 和 Triglycerides 之含量。研究結果顯示 Pinosylvins、Resin acids 及 Free fatty acids 於 Zone B 會大量累積，至 Zone C 有些微的下降，而 Triglycerides 於 Zone A 最多，向心材遞減，Zone C 含量只剩 Zone A 之 1/10。

學者又以光學顯微鏡觀察到 Zone B 之 Ray parenchyma cells 加厚，顯示木質化開始，並透過染色法得知 Zone A 及 Zone B 有 Starch 存在，但 Zone C 卻無 Starch 存在，此分布之趨勢與 Triglycerides 相似，Starch 水解之物質與 Triglycerides 為合成二次產物之基質，例如：Lignin、Polyphenols 及 Amino acid 等，推測此即為 Starch 及 Triglycerides 減少的原因。Magel 等人 (1993) 的研究結果也類似，研究結果指出 Starch 在心邊材交界處被水解，同時 Phenylalanine ammonia lyase

(PAL) 和 Chalcone synthase (CHS) 大量表現，上述兩者為參與合成多種酚類物質之重要酵素。

由此研究結果得知，抽出成分呈不均質 (Heterogeneous) 分布，心材化主要發生於轉移區，並使樹木結構與化學成分改變，且此區僅約 1 個年輪寬，但卻有如此明顯的化學成分改變，可見此區是心材化的關鍵區域。

(三) 徑向之耐腐朽性差異

Amusant 等人(2004)將雙柱蘇木(*Dicorynia guianensis*)進行樹內(Intra-tree) (徑向分析)之木塊耐腐朽(Decay resistance)試驗，以重量損失率(Weight loss, %) 評估試驗結果。

樹內木塊耐腐朽試驗是取同棵樹不同高度(3 及 15 m)之徑向進行耐腐朽試驗，試驗所採用之白腐菌為 *Coriolus versicolor*，褐腐菌為 *Antrodia* sp.，先將試材分為 3 分，分別再裁切為 Outer heartwood (Z1)、Intermediate heartwood (Z2) 及 Inner heartwood (Z3)。

樹內木塊耐腐朽試驗結果如圖 3 所示，不論是白腐菌或褐腐菌皆為 Outer heartwood 的耐腐朽性較佳，且雙柱蘇木 Outer heartwood 對白腐菌之重量損失率甚至小於 1%，褐腐菌有愈往髓心耐腐朽性愈差的趨勢；另外離地高度愈高，雙柱蘇木對褐腐菌的耐腐朽性愈佳，白腐菌除了 Inner heartwood，也與褐腐菌之耐腐朽性有相同之趨勢；整體來看，雙柱蘇木愈高及愈靠邊材之心材耐腐朽性愈佳，又以對白腐菌之耐腐朽性較佳，重量損失率皆小於 5%，與 Scheffer 等人(1996)的試驗結果相似，愈接近頂部及愈往外之心材的耐腐朽性較佳。

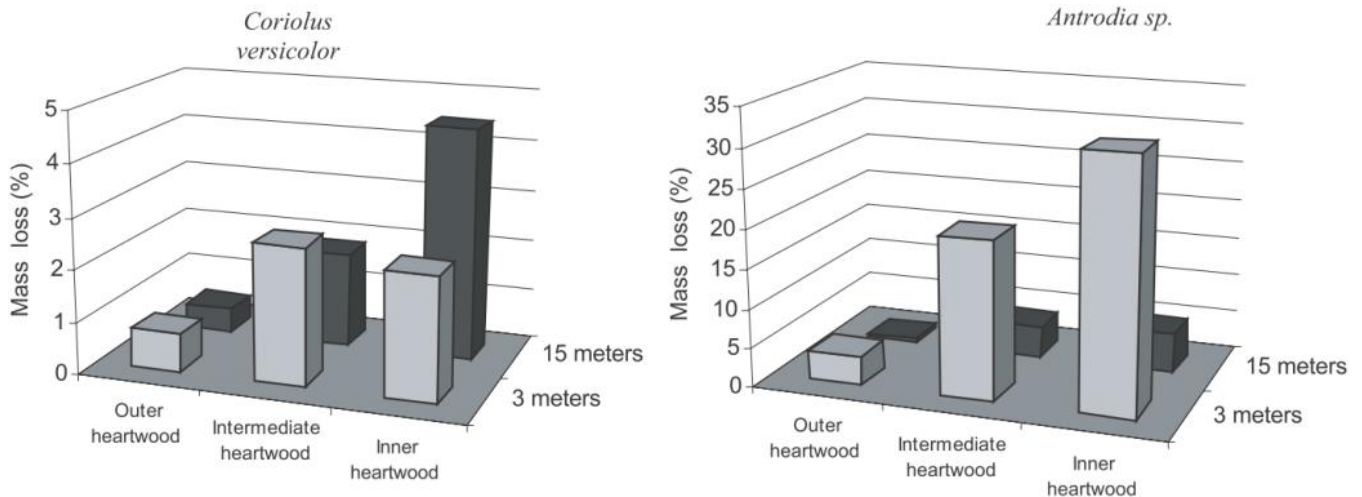


圖 3 *C. versicolor* 與 *Antrodia sp.* 之樹內木塊耐腐朽試驗之重量損失率 (%)

Fig. 3 Intra-tree decay tests on mass loss (%) (*C. versicolor* and *Antrodia sp.*) (Amusant *et al.*, 2004)

(四) 徑向之萜類含量差異

研究指出火炬松 (*Pinus taeda*, Loblolly pine) 含有許多揮發性有機化合物 (Volatile organic compounds, VOCs) 如：萜類 (Terpenes) 的 α -Pinene、Camphene、 β -Pinene、Myrcene、Limonene 及 4-Allylanisole (Ingram *et al.*, 2000)，而 VOCs 於木材乾燥時會散發出來。Thompson 等人 (2006) 曾對火炬松 (*Pinus taeda*, Loblolly pine) 抽出物之萜類化合物進行徑向分布之研究，依徑向分為 Heartwood、Inner sapwood 及 Outer sapwood，共 3 個區塊，並利用 GC 測定其含量 (表 3)，以了解心邊材之 VOCs 含量差異，藉此找出火炬松 VOCs 主要來源。

研究結果顯示如表 3，明顯得知心材之總萜類含量最高 (2.3%)，其含量為邊材的 3-6 倍；且愈往邊材，萜類化合物含量愈低，與 Ingram 等人 (2000) 的研究結果趨勢相同，由此可知 VOCs 最主要之來源為心材。

表 3 火炬松之徑向萜類化合物含量 (%)

Table 3 Radial terpene contents of *P. taeda* (Thompson *et al.*, 2006)

Location	Average percent terpenes	T-grouping ^b
Heartwood	2.3 (0.42)	A
Inner sapwood	0.77 (0.31)	B
Outer sapwood	0.35 (0.16)	C

^b : Different letters indicate different t-groupings at a 95 percent confidence interval.

Values in parentheses are standard deviations.

五、黃酮類化合物

(一) 黃酮類化合物種類

黃酮類化合物為植物二次代謝性產物 (Secondary metabolites) 之一，常存在於蔬果中 (Manach *et al.*, 2004)；研究結果顯示植物之二次代謝產物具有抵抗病原菌或微生物 (Barz *et al.*, 1990)，也具有抗氧化、抗癌、抑制血小板聚集等活性 (Asami *et al.*, 2003)，而相思樹之抽出物含有大量的黃酮類化合物，且一些研究結果已證實它們具有多種活性。

黃酮類化合物依結構不同可分為 6 種，分別為黃酮類 (Flavones)、黃酮醇 (Flavonols)、黃烷酮 (Flavanones)、黃烷醇 (Flavanols)、異黃酮 (Isoflavones) 和花青素 (Anthocyanidins)，如圖 4 所示；黃酮類 (Flavones) 為最基本結構，其衍生物有芸香苷 (Rutin)、木犀草素 (Luteolin) 及次黃芩素 (Wogonin)。黃酮醇 (Flavonols) 為在 C 環 C-3 上有羥基 (-OH)，其衍生物有鼠李素 (Rhamnetin)、山柰酚 (Kaempferol)、楊梅黃素 (Myricetin) 及具極佳抗氧化活性的槲皮素 (Quercetin)。黃烷酮 (Flavanones) 於 C 環 C-2、3 間為單鍵，其衍生物有柚皮素 (Naringenin)、橙皮素 (Hesperetin) 及松屬素 (Pinocembrin)。黃烷醇 (Flavanols) 於 C 環 C-2、3 間為單鍵且 C-3 有羥基 (-OH)，C 環 C-4

沒有羰基，其衍生物有兒茶素 (Catechin)、表兒茶素 (Epicatechin)、表沒食子兒茶素沒食子酸 (Epigallocatechin gallate) 及非瑟酮醇 (Fisetinidol)。異黃酮 (Isoflavones) 的 B 環皆在 C 環的 C-3 上，其衍生物有染料木素 (Genistein)、大豆黃酮 (Daidzein) 及野靛苷 (Pseudobaptigenin)。花青素 (Anthocyanidins) 於 C 環上 C-1、2 和 C-3、4 間皆為雙鍵，其衍生物有飛燕草素 (Delphinidin)、天竺葵素 (Pelargonidin)、矢車菊 (Cyanidin) 及錦葵花素 (Malvidin)。

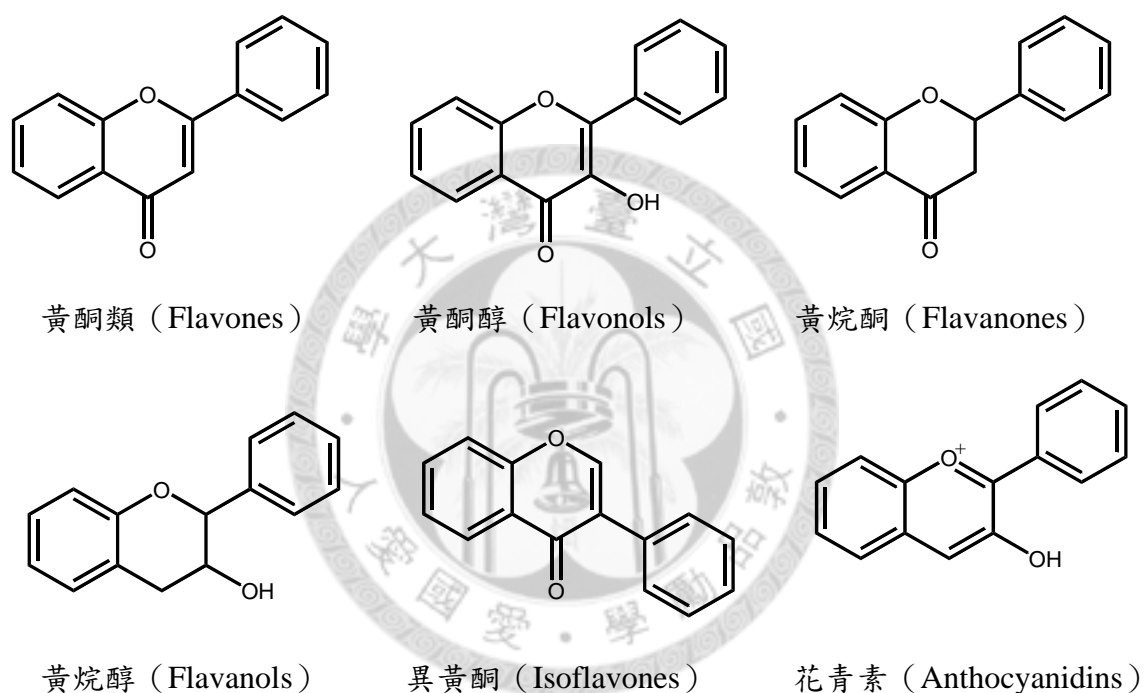


圖 4 黃酮類化合物結構

Fig. 4 Structure of flavonoids

(二) 黃酮類化合物生合成

根據 Dewick (2009) 的研究推測相思樹黃酮類化合物 (Flavonoids) 生合成路徑如圖 5。黃酮類化合物 (Flavonoids) 生合成路徑，藉由酵素 Chalcone synthase 合成，而 Chalcone synthase 幾乎存在於所有植物中。

黃酮類化合物 (Flavonoids) 生合成路徑 (如圖 5) 之起始單元 (Starter unit)

為 Cinnamoyl-CoA (1) 及 3 個 Malonyl-CoA (2) , 以 Chalcone synthase 產生一個聚酮類化合物 (Polyketide) (3) , 經由折疊 (Folding) 轉換為化合物 (4) , 接著, 再一次經由 Chalcone synthase 及 Chalcone reductase , 形成化合物 (5) , 化合物 (5) 經脫氫 (Dehydration) 及烯醇化作用 (Enolization) 產生 Chalcone (6) , Chalcone (6) 再經由 2-Oxoglutarate (Flavone synthase I) 形成 Okanin (7) , 再經由 Chalcone isomerase 轉變成 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavaone (8) , 其為一種 Flavanones , 接著, 由 2-Oxoglutarate 或 NADPH (Flavone synthase II) 形成 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavone (Flavones) (8a) , 另外, 化合物 (8) 亦可經由 Flavanone 3-hydroxylase 形成 (-)-2,3-*trans*-7,8,3',4'-Tetrahydroxydihydroflavonol (Dihydroflavonols) (9) , 再行一次 2-Oxoglutarate 會形成 Melanoxetin (12) , 然後, 經由 3-*O*-Methylation 形成 Transilitin(13) , 如果是 4'-*O*-Methylation 則形成 3,7,8,3',-Tetrahydroxy-4'-methoxyflavone (14) , 另外, 化合物 (9) 經由 NADPH 轉變成 Melacacidin (10) , 再經由 4'-*O*-Methylation 轉變成 4'-*O*-Methyl-melacacidin (11) 。

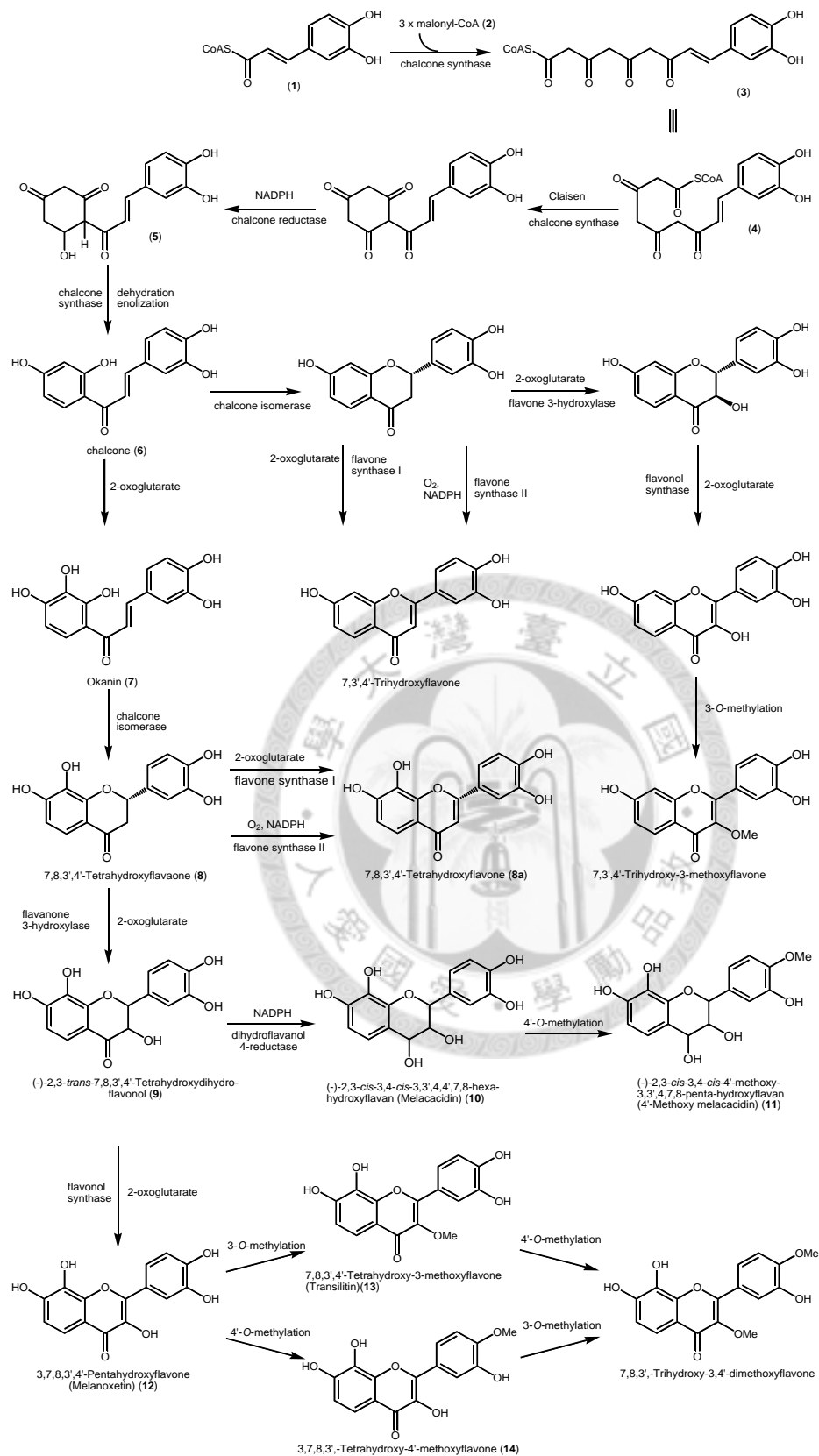


圖 5 黃酮類化合物合成路徑

Fig. 5 Flavonoids biosynthesis pathway (Dewick, 2009)

參、材料與方法

一、試驗材料

本試驗所使用之試材為 35 年生相思樹材部，於 2009 年 10 月伐採自水里營林區 16 林班，地號 94-2，為天然更新木，樹高約 12.7 m。樹種已由林業試驗所呂勝由先生鑑定，證據標本(AC004)存放於國立臺灣大學森林暨資源環境學系。

二、藥品與溶劑

Allopurinol、Ethyl acetate、Gallic acid、Quercetin、Potassium hydroxide、Potassium ferricyanide、Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$)、Sodium carbonate 購自 Acros organics，2,2'-Azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS)、Aluminium chloride ($AlCl_3$)、Dimethyl sulfoxide (DMSO)，Methanol 及 Methanol- d_4 購自 Merck Chemical Co. (Germany)，(+)-Catechin、1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、Folin-Ciocalteu reagent、Hypoxanthine、Nitroblue tetrazolium (NBT)、Potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4) 及 Xanthine oxidase 購自 Sigma(USA)。其他溶劑及藥品包括 Ethanol (Mallinckrodt, USA)、Tris (Bio-rad, USA)、Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl chroman-2-carboxylic acid) (Calbiochem, Germany)。

三、試驗方法

(一) 年輪測量

取一經過髓心之木薄片 (厚度約 2 mm)，為避免影響年輪測量結果，先將抽出物移除，因此將木薄片浸漬於甲醇中，並定時更換甲醇萃取液變透明為止，木薄片置於室溫下乾燥。將上述前處理完之木薄片以 Soft X-ray (QMS Tree Ring Analyzer, QTRS - 01x, USA) 掃描，可得到分析年輪密度量變曲線 (Wood density

profile)，藉由春秋材密度不同之特性，可界定年輪之寬度，即可得知試材每年輪寬。

(二) 相思樹材部之區分及製備

為了解縱向及徑向抽出成分及活性之差異，試材之區分先依樹高將相思樹由樹頂至基部分段，取材時避開枝條、節及無心材的部分，得到 4 個不同高度 (3.3 m、6.2 m、8.5 m 及 11 m) 部位之試材，分別以 Part 5 (P5)、Part 4 (P4)、Part 3 (P3) 及 Part 2 (P2) 表示 (如圖 6)；而每個部分再依年輪數作為徑向區分依據，由髓心往邊材分別為 HI (Heartwood-inner, 第 1—7 個年輪)、HM (Heartwood-medium, 第 8-14 個年輪)、HO (Heartwood-outer, 第 15 個年輪至 TZ 邊界)、TZ (Transition zone, 為心邊材交界顏色明顯處向髓心及邊材各 0.5 cm 之區域) 及 S (Sapwood) (如圖 7)，P2 因年輪數較少的關係，只劃分為 HI、TZ 及 S；P1 則因無心材，所以不納入本次研究中。



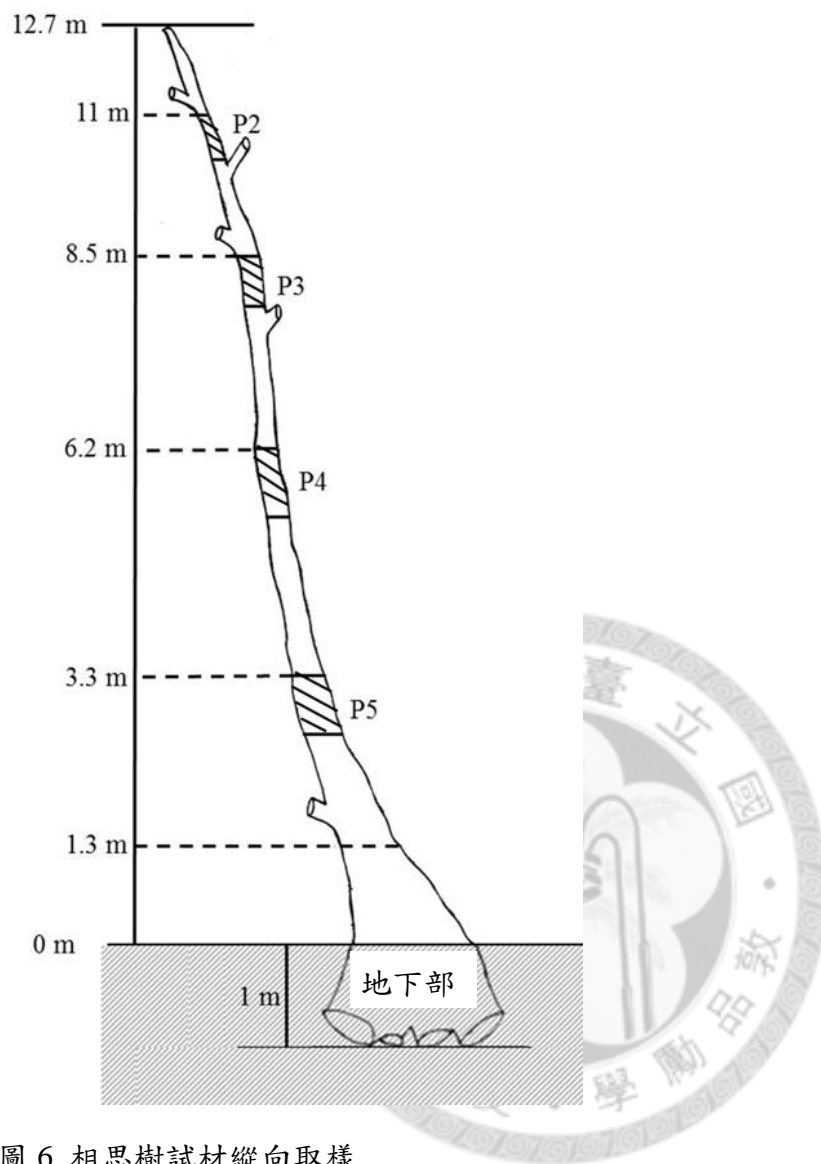


圖 6 相思樹試材縱向取樣

Fig. 6 Longitudinal sampling of *A. confusa*

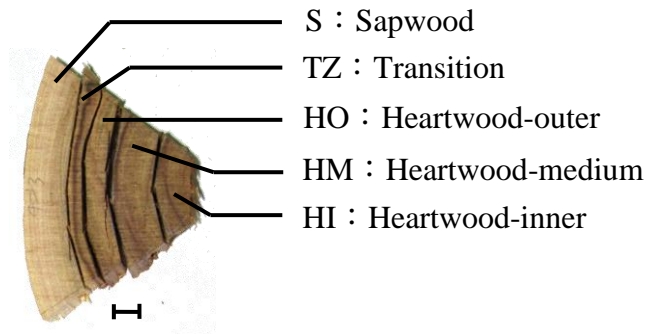


圖 7 相思樹試材徑向取樣

Fig. 7 Radial sampling of *A. confusa*

(三) 相思樹試材製備與抽出物萃取

將上述之試材以打粉機 (FOSS 1090 sample mill, Sweden) 打粉過篩後，取 40-60 mesh 之木粉備用。試材先浸泡於乙醇中，並置於超音波振盪機 (CREST 230D, USA)，振盪 10 min 後，再靜置 30 min，重複 12 個循環，將萃取液以 90 mm #1 濾紙 (ADVANTEC, Japan) 抽氣過濾去除雜質，將濾液以減壓濃縮機 (Rotatory vacuum evaporator) 濃縮後，最後以真空冷凍乾燥機 (Vacuum freeze dryer) 使之完全乾燥，於常溫下避光儲存以供後續純化及活性試驗分析用。

(四) 相思樹材部抽出物之分離與純化

1. 高效能液相層析

檢測並篩選相思樹粗抽出物中具有抗氧化活性之化合物，並進一步以高效能液相層析儀 (High performance liquid chromatography, HPLC) 分離純化活性成分。以 Phenomenex (Torrance, CA) C-18 膠體之半製備級管柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm) 搭配 Agilent 1200 及 PDA (Photodiode array detector, USA) 光二極體陣列式檢測器。沖提液採用 A 溶劑為水，B 溶劑為甲醇，採用梯度移動相條件沖提。粗萃取物之分離條件起始階段 (0 min) A : B 混合比 90 : 10，25 min (A : B = 65 : 35)，55 min (A : B = 55 : 45)，60 min (A : B = 0 : 100)，流速 4 mL/min。

2. 黃酮類化合物定量

黃酮類化合物定量以 Chromolith (Merck, Germany) RP-18e 膠體之分析級管柱 RP-18e (250 mm × 10 mm, 5 μm)，搭配 Hitachi L-2130 高壓幫浦、Hitachi L-2200 自動注射器 (Hitachi High-Technologies Corporation., Japan) 及 Jasco UV-975 (Japan) 單波長紫外/可見光檢測器。定量條件起始階段 (0 min) A : B 混合比 90 : 10，25 min (A : B = 65 : 35)，45 min (A : B = 55 : 45)，50 min (A : B = 0 : 100)，流速 1 mL/min，並以 Quercetin 作為內標準品。

(五) 化合物結構鑑定

本研究所使用之分析儀器包括質譜儀 (Mass spectrometer) 及核磁共振分析儀 (Nuclear magnetic resonance spectrometer) 鑑定化合物結構。

1. 質譜鑑定

樣品以質譜儀 (Finnigan MAT-958) 之電子撞擊游離法質譜 (Electron impact ionization mass spectrum, EIMS) 或電子噴灑游離法質譜 (Electro-spray ionization mass spectrum, ESIMS) 以測定樣品分子離子峰，並根據斷裂峰推測其結構與分子量。

2. 核磁共振光譜圖譜鑑定

採用核磁共振分析儀 (Nuclear magnetic resonance spectrometer, Bruker Avance-500 MHz) 鑑定化合物之結構，將化合物以 Methanol-d₄ 或 DMSO-d₆ 溶解後，置於 NMR 測管中，測定氫核或碳核磁場吸收相對位置，鑑定化合物之結構，樣品結構以 δ (ppm) 表示化學位移 (Chemical shift)，使用之參考標準：Methanol-d₄ (δ_{H} 3.3 ppm, δ_{C} 49.1 ppm)、DMSO-d₆ (δ_{H} 2.5 ppm, δ_{C} 39.5 ppm)。符號分別以 s、d、t、q、m、dd 及 brs 等縮寫代表單峰 (Singlet)、雙重峰 (Doublet)、三重峰 (Triplet)、四重峰 (Quartet)、多重峰 (Multiplet)、兩組雙重峰 (Double doublets) 及寬單峰 (Broad singlet)。

(六) 相思樹材部抽出物之抗氧化活性試驗

1. DPPH 自由基清除試驗

本試驗參考 Chang 等人(2001a)之試驗方法：取 200 μL DPPH 乙醇溶液(0.3 mM)、90 μL Tris-HCl 緩衝液(50 mM, pH 7.4)及 10 μL 不同濃度(1、5、10、50 及 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)之試驗樣品於 96 孔微量孔盤(96 well microplate)中混合均勻後，於室溫下避光靜置 30 min，之後利用酵素免疫分析儀(SPECTRA MAX 190, Molecular Devices, USA)測量位於 530 nm 吸收峰之吸光值，試驗重複數 3 次。當 DPPH 自由基被清除愈多時，其吸光值會下降愈多，利用相對於空白對照組吸光值之減少百分比，可判斷各試驗樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱。

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

2. 超氧自由基清除試驗

本試驗參考 Kirby 和 Schmidt (1997) 之試驗方法，並做小幅修飾：取 20 μL 15 mM EDTA(以 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ 緩衝液配製)、50 μL 0.6 mM NBT(以 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$ 緩衝液配製)、30 μL 3 mM Hypoxanthine(以 50 mM KOH 配製)、5 μL 不同濃度之試驗樣品及 145 μL 緩衝液(以 50 mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{KOH}$, pH 7.4)於 96 孔微量孔盤中均勻混合，之後再迅速添加 50 μL Xanthine oxidase(0.1 U/mL)，反應後，利用酵素免疫分析儀(SPECTRA MAX 190, Molecular Devices, USA)測量位於 570 nm 吸收峰之吸光值，每 25 sec 測量一次，並持續測量 5 min。依下列式子計算試驗樣品之超氧自由基抑制率(%)，試驗重複數 3 次。

$$\text{超氧自由基抑制率 (\%)} = (1 - \text{實驗組吸光值} / \text{對照組吸光值}) \times 100$$

3. 總抗氧化能力試驗

總抗氧化能力試驗 (Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) 係參考 Re 等人 (1999) 之試驗方法，以水溶性維他命 E (Trolox) 為標準品進行檢測。試驗時以 2.45 mM 過硫酸鉀 (Potassium persulfate) 溶液配製濃度 7 mM 之 ABTS^{•+} 反應液，於室溫下避光靜置 12-16 hr。使用前先稀釋 ABTS^{•+} 溶液至吸光值為 0.70 ± 0.02 後，取 3 μL 抽出物或不同濃度 (0.9375、1.875、3.7、7.5 及 15 μM) Trolox 加入 297 μL 之 ABTS^{•+} 溶液於 96 孔微量孔盤中，靜置 6 min 後，測量波長位於 734 nm 吸收峰之吸光值，試驗重複數 3 次。根據抽出物吸光值對應 Trolox 之迴歸檢量線，可求得相對含量，以每 0.5 mg/mL 抽出物相當於多少 mM 的 Trolox 清除 ABTS^{•+} 的能力。

(七) 相思樹材部抽出物之酚類化合物含量測定

1. 總酚類含量測定

總酚含量 (Total phenolic contents, TPC) 之測定係採 Folin-Ciocalteu 法 (Kujala *et al.*, 2000)，以五倍子酸 (Gallic acid) 為標準品進行檢測。試驗時，取 300 μL Folin-Ciocalte 試劑 (1 N) 加入 300 μL 不同濃度五倍子酸於微量離心管中。混合均勻，靜置 5 min 後，添加 600 μL 20% Na₂CO₃，靜置 10 min 之後，以離心方式 (12000 rpm, 10 min) 使沉澱物沈澱，取 300 μL 上清液以酵素免疫分析儀 (SPECTRA MAX 190, Molecular Devices, USA) 測量位於 730 nm 吸收峰之吸光值，根據吸光值對應五倍子酸相對濃度之關係求出標準曲線之迴歸式。分析則以不同濃度之抽出物取代標準品 (五倍子酸)，並依照相同方式進行上述步驟及吸光值測量。將樣品吸光值代入五倍子酸標準迴歸式即可算出每克抽出物中所含五倍子酸當量 (Gallic acid equivalent, GAE)，並以 mg GAE/g of wood 作為相思樹材部酚類化合物含量單位，試驗重複數 3 次。

2. 總黃酮類含量測定

本試驗參考 Quettier-Deleu 等人 (2000) 之試驗方法，以槲皮素 (Quercetin) 為標準品進行檢測。試驗時取 150 μL 2% AlCl_3 加入 150 μL 抽出物或不同濃度之槲皮素 (6.25、12.5、25 及 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 溶液，於 96 孔微量孔盤中混合均勻後，在室溫下避光靜置 10 min，利用酵素免疫分析儀 (SPECTRA MAX 190, Molecular Devices, USA) 測量波長位於 450 nm 吸收峰之吸光值。根據抽出物吸光值對應槲皮素之迴歸檢量線，可求得每 g 抽出物中所含槲皮素相對含量 (Quercetin equivalent, QE)，並以 mg QE/g of wood 表示相思樹材部總黃酮類含量，試驗重複數為 3 次。

(八) 相思樹材部抽出物抑制黃嘌呤氧化酶之活性試驗

參考 Kong 等人 (2000) 之試驗方法，並作小幅修飾：取 798 μL 緩衝液 (200 mM $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7/\text{KOH}$, pH 7.5) 含有 0.1 U 之黃嘌呤氧化酶 (Xanthine oxidase) 和 2 μL 不同濃度之試驗樣品 (以 DMSO 配製)，上述總體積共 800 μL 均勻混合在微量離心管中，於 37°C 避光反應 5 min，取 50 μL 加入 96 孔微量盤中，最後加入 200 μL 0.6 mM Xanthine (以二次蒸餾水配製)，迅速以酵素免疫分析儀 (SPECTRA MAX 190, Molecular Devices, USA) 測量波長位於 295 nm 吸收峰之吸光值，每 30 sec 測一次，並持續測量 5 min，依下列公式計算試驗樣品之黃嘌呤氧化酶活性抑制率 (%)。試驗以 Allopurinol 為正對照組，試驗重複數 3 次。

黃嘌呤氧化酶抑制率 (%) = $(1 - \text{實驗組吸光值} / \text{對照組吸光值}) \times 100$

(九) 統計分析

利用 SAS 系統 (Version 8.2; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 中 Duncan 統計方法，檢驗相思樹抽出物之間抗氧化活性、總酚類含量及總黃酮類含量是否具顯著差異，分析時所使用之信賴區間為 95%。此外，利用 Pearson 相關性檢定

法，檢驗定相思樹抽出物抗氧化活性與總酚含量之間是否具顯著相關性，分析時所使用之信賴區間為 95%。



肆、結果與討論

一、相思樹不同高度之年輪數

相思樹不同高度之年輪數如表 4 所示，因為 TZ 之取材為心邊材交界顏色明顯處向髓心及邊材各 0.5 cm 之區域，所以 TZ 處以 TZ_n 表示其年輪數；P5 之總年輪樹為 30，P4 之總年輪樹為 29，且兩者心材年輪數一致，而心材寬分別約為 12.4 和 13.3 cm，邊材寬皆為 4.6 cm；P3 之總年輪樹為 28，心材寬約為 12.0 cm，邊材寬為 6.1 cm；P2 之總年輪樹為 20，心材寬約為 4.6 cm，較其他高度小，邊材寬則為 6.8 cm，較其他高度大。

表 4 相思樹不同高度之年輪數

Table 4 Tree ring numbers of different heights in *A. confusa*

	HI	HM	HO	TZ	S
P2	1-7			8-TZ ₂	TZ ₂ -20
P3	1-7	8-14	15-20	21-TZ ₃	TZ ₃ -28
P4	1-7	8-14	15-21	22-TZ ₄	TZ ₄ -29
P5	1-7	8-14	15-21	22-TZ ₅	TZ ₅ -30

二、相思樹抽出物之收率

相思樹抽出物之收率如表 5 所示，心材收率介於 5.1—8.8%，移行材 (TZ) 收率介於 3.6—7.5%，邊材收率介於 2.5—4.8%，邊材收率較心材及移行材 (TZ) 少，而 P3—TZ 之心邊材交界處顏色差異較其他高度之移行材不明顯，造成其收率較低。徑向差異之統計結果顯示，中段 (P3 及 P4) 和基部皆以內層心材 (HI) 收率最高，頂部 (P2) 則以移行材 (TZ) 較高；縱向差異之統計結果顯示，心材及移行材 (TZ) 皆以中段 (P4) 收率最高，其次為基部 (P5) 的收率，而中段 (P3) 的收率則更低。

表 5 相思樹抽出物之收率

Table 5 Yield of extracts in *A. confusa*. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Table are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

Yield (%)	HI	HM	HO	TZ	S
P2	5.2 \pm 0.1 ^{b,D}			6.7 \pm 0.4 ^{a,B}	3.3 \pm 0.1 ^{c,B}
P3	5.9 \pm 0.2 ^{a,C}	5.9 \pm 0.4 ^{a,C}	5.1 \pm 0.2 ^{b,C}	3.6 \pm 0.2 ^{c,C}	4.8 \pm 0.1 ^{b,A}
P4	8.8 \pm 0.5 ^{a,A}	8.2 \pm 0.5 ^{b,A}	7.4 \pm 0.1 ^{c,A}	7.5 \pm 0.2 ^{c,A}	3.2 \pm 0.0 ^{d,B}
P5	6.7 \pm 0.1 ^{ab,B}	7.1 \pm 0.1 ^{a,B}	6.5 \pm 0.3 ^{b,B}	6.8 \pm 0.2 ^{ab,B}	2.5 \pm 0.2 ^{c,C}

三、相思樹材部之酚類含量

(一) 總酚類含量

總酚類含量以每 g 木材含有相對五倍子酸當量 (GAE) 表示 (圖 8)，相思樹心材含有大量酚類化合物，其總酚類含量介於 14.5–46.8 mg GAE/g of wood，移行材 (TZ) 之總酚類含量介於 15.4–47.9 mg GAE/g of wood，而邊材總酚類含量約為 5.4–12.0 mg GAE/g of wood，僅為心材含量的 1/4 至 1/3。

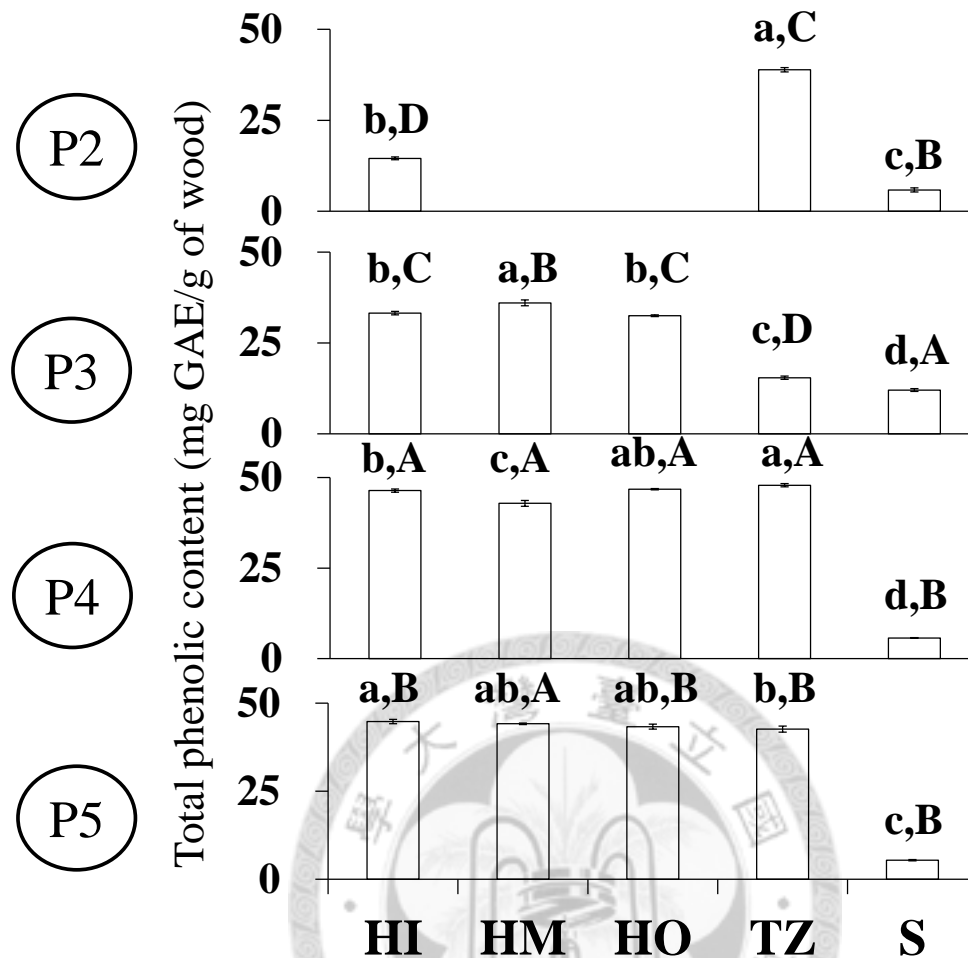


圖 8 相思樹木材總酚類含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 8 Longitudinal and radial distribution of total phenolic content in *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

徑向差異之統計結果顯示，基部(P5)心材及移行材之總酚類含量差異不大；中段(P3)之中層心材(HM)的總酚類含量最多，並由中層心材(HM)分別向髓心及邊材遞減；中段(P4)則以外層心材(HO)及移行材(TZ)總酚類含量最多；頂部(P2)則以移行材(TZ)之總酚類含量最多，至內層心材(HI)

少於移行材 (TZ) 的一半；且不論樹高皆以邊材 (S) 含量則最低；縱向差異之統計結果顯示，心材及移行材 (TZ) 皆以中段 (P4) 之總酚類含量最多；中段 (P3) 移行材 (TZ) 之顏色差異較其他高度之移行材不明顯，導致 P3—TZ 含量較低。

早期許多學者 (Hillis, 1962, 1971; Shigo *et al.*, 1973; Shah *et al.*, 1981) 指出心材抽出物會高於邊材，且會於心邊材交界處 (移行材) 產生大量抽出物；Thompson 等人 (2006) 與 Ingram 等人 (2000) 也指出，心材抽出物萜類含量較邊材高，上述與相思樹材部之總酚類含量變化有相似的結果。另外，Albert 等人 (2003) 的研究結果指出，不含心材之山毛櫸 (*Beech, Fagus sylvatica* L.) 不具有上述現象，而含有紅色心材之山毛櫸，心邊材交界處靠邊材測的總酚類含量較高，推測此區為活細胞，具有生成酚類化合物之功能，而其邊材之總酚類含量較心材為高，此趨勢與相思樹不同，相思樹趨勢為心材高於邊材，可能與樹種有關。Nobuchi 和 Hasegawa (1994) 指出日本赤松 (*Pinus densiflora*) 的邊材抽出物含量極少，而抽出物含量於心邊材交界處突然增加，心材處含量較高，但其抽出物含量並無規律性變化。

(二) 總黃酮類含量

總黃酮類含量以每 g 木材中相對含有 Quercetin 的量表示 (圖 9)，相思樹心材之總黃酮類含量介於 0.9—2.2 mg QE/g of wood，除 P3 外，移行材 (TZ) 之總黃酮類含量介於 1.0—1.1 mg QE/g of wood，邊材之總黃酮類含量約小於 1.0 mg QE/g of wood，總黃酮類含量為心材 > 移行材 > 邊材。

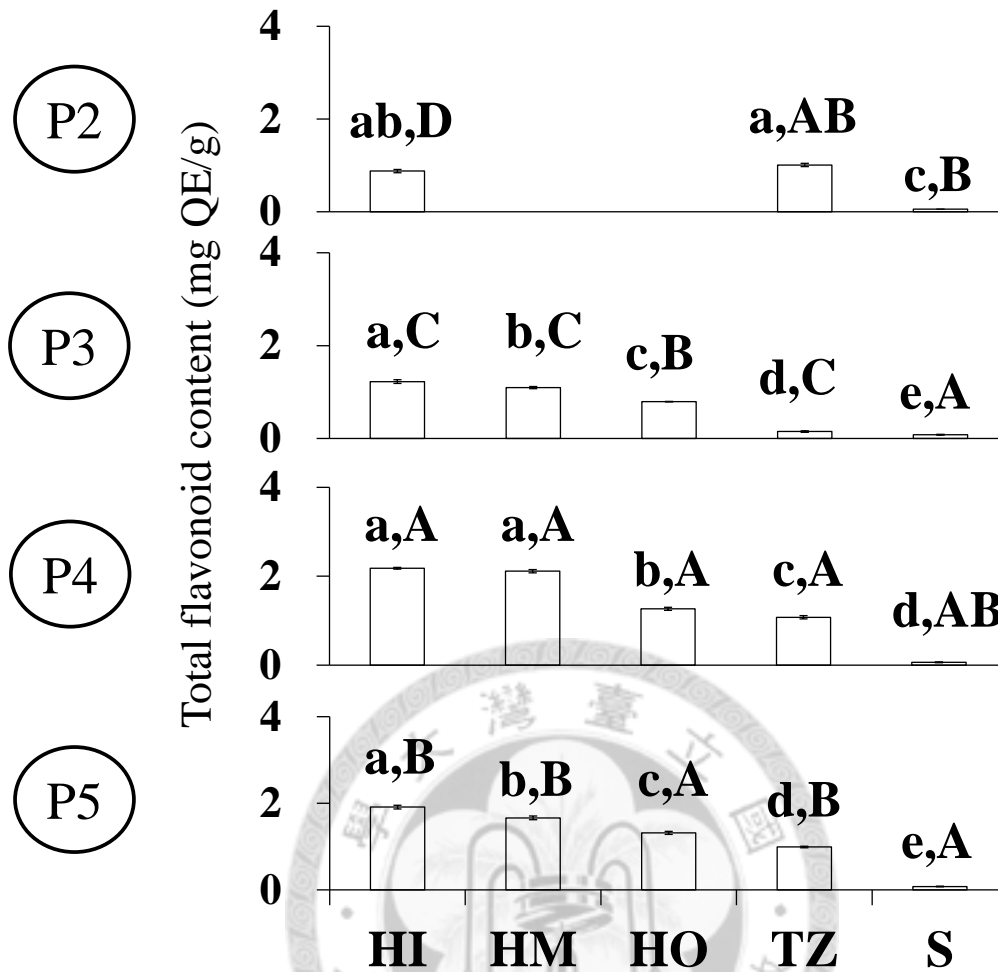


圖 9 相思樹總黃酮類含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 9 Longitudinal and radial distribution of total flavonoid content in *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

徑向差異之統計結果顯示，不論高度，皆以內層心材 (HI) 總黃酮類含量最多，且含量由髓心向邊材遞減。縱向差異之統計結果顯示，心材及移行材皆以中段 (P4) 較高，整體而言，中段 (P4) 之髓心心材的總黃酮類含量愈高，其值為 2.2 mg QE/g of wood。由酚類含量結果得知，總酚類與總黃酮類含量以中段

(P4) 較高。

四、相思樹材部抽出物之抗氧化活性

(一) 清除 DPPH 自由基能力

相思樹材部清除 DPPH 自由基能力以 IC_{50} 值表示， IC_{50} 值越小表示清除能力越佳，參照 Chang 等人 (2001a) 清除 DPPH 自由基能力之試驗方法，其 DPPH 之使用濃度為 0.1 mM，試驗結果得知心材 (HI-HO) 和移行材 (TZ) 之 IC_{50} 值介於 3.5–4.0 $\mu\text{g/mL}$ ，統計結果顯示並無顯著差異。為了顯現心材抗氧化活性之差異，所以本研究特別將 DPPH 使用濃度由 0.1 mM 提高至 0.3 mM，試驗結果如圖 10 所示，心材清除 DPPH 自由基之 IC_{50} 值約為 6.5–13.5 $\mu\text{g/mL}$ ，除 P3 外，移行材 (TZ) 清除 DPPH 自由基之為 6 $\mu\text{g/mL}$ 左右，而邊材 (S) 清除 DPPH 自由基之 IC_{50} 值約為 29.4–40.5 $\mu\text{g/mL}$ ，為心材的 2 至 7 倍，由此可知，心材之抗氧化活性明顯優於邊材。另外，相思樹心材及移行材之抗氧化活性較艾草 (114 $\mu\text{g/mL}$) (Nikolova *et al.*, 2010)、*Meyna laxiflora* (84.2 $\mu\text{g/mL}$) (Ganesh *et al.*, 2010)、*Mitragyna speciosa* (37.08 $\mu\text{g/mL}$) (Parthasarathy *et al.*, 2009) 及輪葉鼠尾草的花 (23.53 $\mu\text{g/mL}$) (Nickavar *et al.*, 2007) 優，與荖葉 (12 $\mu\text{g/mL}$) (Manigauha *et al.*, 2009) 之抗氧化活性相當，而薑 (0.64 $\mu\text{g/mL}$) (Stoilova *et al.*, 2007) 則較相思樹材部之抗氧化活性佳。

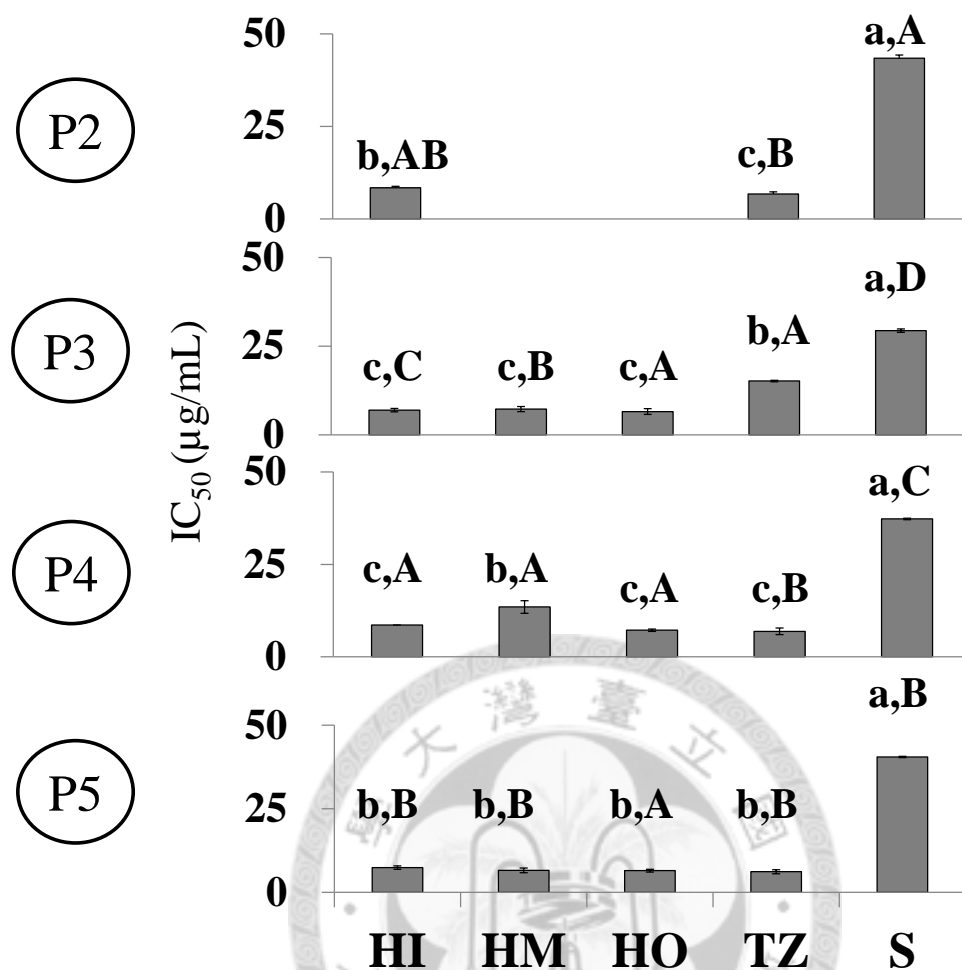


圖 10 相思樹清除 DPPH 自由基能力之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 10 Longitudinal and radial distribution of DPPH free-radical scavenging activity in *A. confusa*. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD ($n = 3$). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

徑向差異之統計結果顯示，基部 (P5) 心材各區塊抽出物清除 DPPH 自由基能力無明顯差異，而中段 (P3 及 P4) 皆以內層心材 (HI) 清除 DPPH 自由基之能力最佳，頂部 (P2) 則以移行材 (TZ) 處較佳。縱向差異之統計結果顯示，心材清除 DPPH 自由基之能力以中段 (P4) 最佳，並分別向頂部及基部遞減，

除 P3 外，移行材 (TZ) 清除 DPPH 自由基之能力無明顯差異，邊材 (S) 則以中段 (P3) 較佳。整體而言，位於中段 (P3) 之內層心材 (HI) 清除 DPPH 自由基之能力較佳。

(二) 清除超氧自由基能力

相思樹材部清除超氧自由基之能力以 IC_{50} 值表示，試驗結果如圖 11 所示，心邊材活性差異與清除 DPPH 自由基之能力相同，皆為心材優於邊材，心材清除超氧自由基之 IC_{50} 值為 0.9–2.2 $\mu\text{g/mL}$ ，邊材清除超氧自由基之 IC_{50} 值約為 24–40 $\mu\text{g/mL}$ ，除 P3 外，移行材 (TZ) 清除超氧自由基之 IC_{50} 值為 0.5–2.6 $\mu\text{g/mL}$ ，而 P3–TZ 為 6.8 $\mu\text{g/mL}$ 。另外，相思樹材部清除超氧自由基之能力優於綠茶 (145 $\mu\text{g/mL}$) (Chen *et al.*, 2005)，而常用於治療癌症的小蘗鹼 (Berberin) (35.9 $\mu\text{g/mL}$) (Shirwaikar *et al.*, 2006) 及金銀花枝條 (34.9 $\mu\text{g/mL}$) (Dung *et al.*, 2011) 與相思樹邊材清除超氧自由基之能力相當，而相思樹心材清除超氧自由基之能力皆優於金銀花 (16.6 $\mu\text{g/mL}$) (Dung *et al.*, 2011)、蕎麥殼 (11.4 $\mu\text{g/mL}$) (Mukoda *et al.*, 2001)、紅石榴皮 (4.01 $\mu\text{g/mL}$) (Guo *et al.*, 2007) 及臺灣肖楠心材 (3 $\mu\text{g/mL}$) 和樹皮 (4 $\mu\text{g/mL}$) (Wang *et al.*, 2004)。

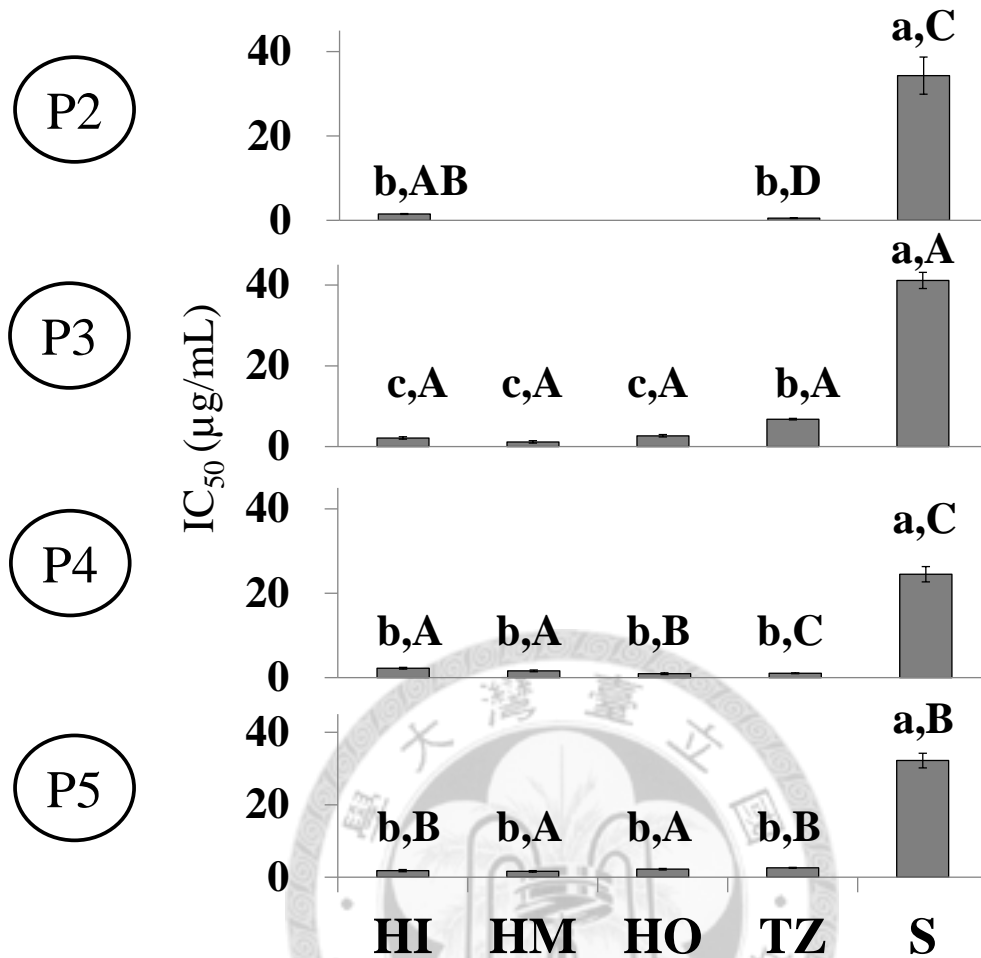


圖 11 相思樹清除超氧自由基能力之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 11 Longitudinal and radial distribution of superoxide radical scavenging activity in *A. confusa*. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

徑向差異之統計結果顯示，除中段 (P3) 外，心材及移行材 (TZ) 清除超氧自由基之能力無明顯差異。縱向差異之統計結果顯示，不論樹高，內層 (HI) 及中層心材 (HM) 皆無明顯差異，而外層心材 (HO) 及移行材 (TZ) 則以中段 (P4) 清除超氧自由基之能力較佳。

許多研究結果 (Amusant *et al.*, 2004; Anagnost and Smith, 1997; DeBell *et al.*, 1999; Taylor *et al.*, 2002; Venalainen *et al.*, 2003) 顯示，抽出成分會影響心材耐腐朽活性，且外層心材愈靠近移行材，則耐腐朽性愈佳，另外，Amusant 等人(2004) 以雙柱蘇木 (*Dicorynia guianensis*) 心材進行耐腐朽 (Decay resistance) 試驗，結果顯示，樹木離地高度愈高，雙柱蘇木對褐腐菌 (*Antrodia sp.*) 的耐腐朽性愈佳，且外層心材耐腐朽性較佳，愈靠近髓心則耐腐朽性愈差，而由本研究可知，總酚類及總黃酮類含量與清除 DPPH 自由基及超氧自由基之能力成正相關(相關係數為 0.40—0.83)，顯示酚類含量與抗氧化活性有密切的相關性，臺灣肖楠的研究結果 (Wang *et al.*, 2004) 亦顯示相似的結果，除木本植物外，包括大豆 (Malencic *et al.*, 2008)、土耳其初榨橄欖油 (Karaosmanoglu *et al.*, 2010)、早熟馬鈴薯 (Early potatoes) (Leo *et al.*, 2008) 及紅酒 (Sato *et al.*, 1996) 的研究結果亦顯示具有相同之相關性。

(三) 總抗氧化能力

總抗氧化能力近年來被廣泛應用於檢測食品及天然的水溶性酚類物質之抗氧化活性測定，本研究以相思樹材部總抗氧化能力之能力以每 0.5 mg/mL 之抽出物相當於多少 mM 的 Trolox 清除 ABTS^{•+} 的能力表示，值越大表示總抗氧化能力越佳，試驗結果如圖 12 所示，心材之總抗氧化能力為 1.2—2.3 mM，移行材 (TZ) 之總抗氧化能力為 1.1—2.0 mM，而邊材之總抗氧化能力為 3.3—5.5 mM，邊材之總抗氧化能力優於心材及移行材 (TZ)，與相思樹其他部位相比，亦優於樹皮 (1.8 mM) (Tung *et al.*, 2009b) 及葉子 (0.85 mM)，另外，臺灣野薄荷之總抗氧化能力 (5.87 mM) (Ivanova *et al.*, 2005) 則優於相思樹各部位，香蜂草葉 (4.06 mM) 及金絲桃 (3.75 mM) (Ivanova *et al.*, 2005) 與相思樹邊材之總抗氧化能力相當，而香青蘭 (2.275 mM) (Dastmalchi *et al.*, 2007) 之總抗氧化能力較相思樹心材及移行材佳，常見具抗氧化水果如：柿子 (406 μ mol Trolox/g)、黑莓 (192 μ mol

Trolox /g)及藍莓(187 μmol Trolox /g)(經過換算後, TEAC 值分別相當於 0.203、0.096 及 0.0935 mM Trolox) 之總抗氧化能力則比思樹各部位差。

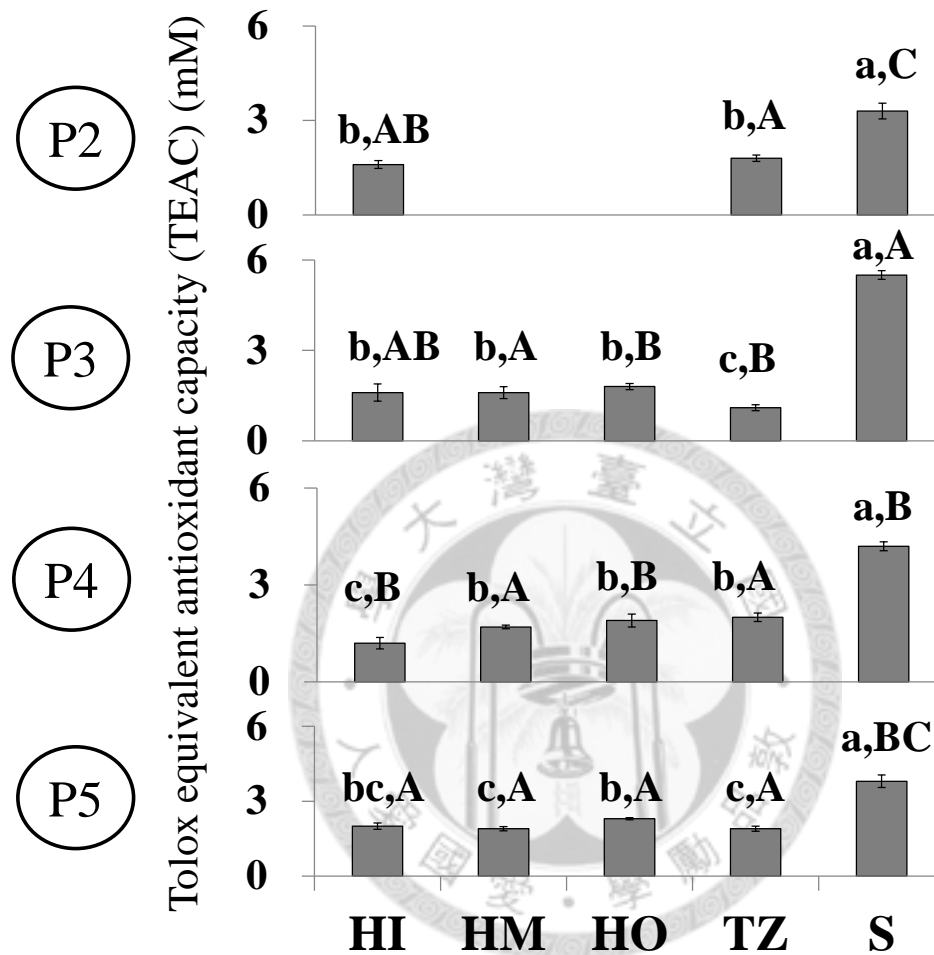


圖 12 相思樹總抗氧化能力之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 12 Longitudinal and radial distribution of trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) in *A. confusa*. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

徑向差異之統計結果顯示，以邊材 (S) 為最佳，除中段 (P3) 外，心材及移行材 (TZ) 之總抗氧化能力皆無明顯差異，P3 則以移行材 (TZ) 之總抗氧化能力較差，其值為 1.1 mM。縱向差異之統計結果顯示，心材以基部 (P5) 之總抗氧化能力較佳 (1.9–2.3 mM)，但內層 (HI) 及中層心材 (HM) 之總抗氧化能力不因樹高有明顯差異，而外層心材 (HO) 及移行材 (TZ) 於中段 (P3) 之總抗氧化能力較差，其值分別為 1.8 mM 及 1.1 mM。相思樹材部之總抗氧化能力與清除超氧自由基及 DPPH 自由基之結果不盡相同，總抗氧化能力為邊材優於心材，清除超氧及 DPPH 自由基則相反，表示邊材水溶性抗氧化能力較佳。

五、相思樹材部抽出物部抑制黃嘌呤氧化酶之活性

黃嘌呤氧化酶 (Xanthine oxidase, XOD) 常見於生物體內，它會將黃嘌呤經黃嘌呤氧化酶轉換成尿酸，且在轉換過程中產生活性氧，使體內發生氧化性損傷、類風濕性關節炎及痛風等，目前醫學研究亦指出，高尿酸血症會伴隨影響高血壓、鬱血性心臟衰竭、糖尿病及腎臟等疾病，且尿酸值與心血管疾病的併發症如中風、心肌梗塞等死亡率之關聯性高 (鍾德生和蔡崇煌，2006)，而目前臨床上用於治療高尿酸血症的藥物為 Allopurinol，其作用為抑制黃嘌呤氧化酶，減少尿酸生成，它雖可大幅改善高尿酸血症之症狀，但會產生許多副作用肝炎、病腎變及過敏性皮膚炎等症狀 (王升陽，2007)。

本研究以抽出物濃度為 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 時之抑制率 (%) 表示相思樹材部抑制黃嘌呤氧化酶之活性，其結果如圖 13 所示，心材抑制黃嘌呤氧化酶之抑制率為 26.4–51.9%，移行材 (TZ) 抑制黃嘌呤氧化酶之抑制率為 21.3–27.4%，邊材抑制黃嘌呤氧化酶之抑制率為 3.6–15.8%，心材及移行材 (TZ) 之抑制黃嘌呤氧化酶活性優於邊材，而 39 年生相思樹心材在同一濃度下，抑制黃嘌呤氧化酶之活性 (80%) 優於本實驗所使用之 35 年生相思樹心材 (26–52%) (Tung and Chang, 2010)，39 年生相思樹樹皮抑制黃嘌呤氧化酶之活性 (59%) 也略優於 35 年生

相思樹心材，39 年生相思樹的花及葉抑制黃嘌呤氧化酶之活性（46%及 45%）比 35 年生相思樹移行材（21—27%）佳，而相思樹心材及移行材皆較 5 cm 枝條皮部和細枝抑制黃嘌呤氧化酶之活性佳，其 IC_{50} 值分別為 110 及 113 $\mu\text{g/mL}$ （Hsieh *et al.*, 2010）；裡白忍冬葉部抑制黃嘌呤氧化酶之 IC_{50} 值為 48.8 $\mu\text{g/mL}$ （Chien *et al.*, 2009），與心材抑制黃嘌呤氧化酶之活性相差甚大，而在相同濃度下，狹葉白蠟樹樹皮抑制黃嘌呤氧化酶之活性（49.24%）（Berboucha *et al.*, 2010）亦優於相思樹材部，另外，銀邊義大利鼠李葉抽出物在濃度為 150 $\mu\text{g/mL}$ 下，抑制黃嘌呤氧化酶之抑制率為 43.4%（Ammar *et al.*, 2008），較相思樹之活性差。



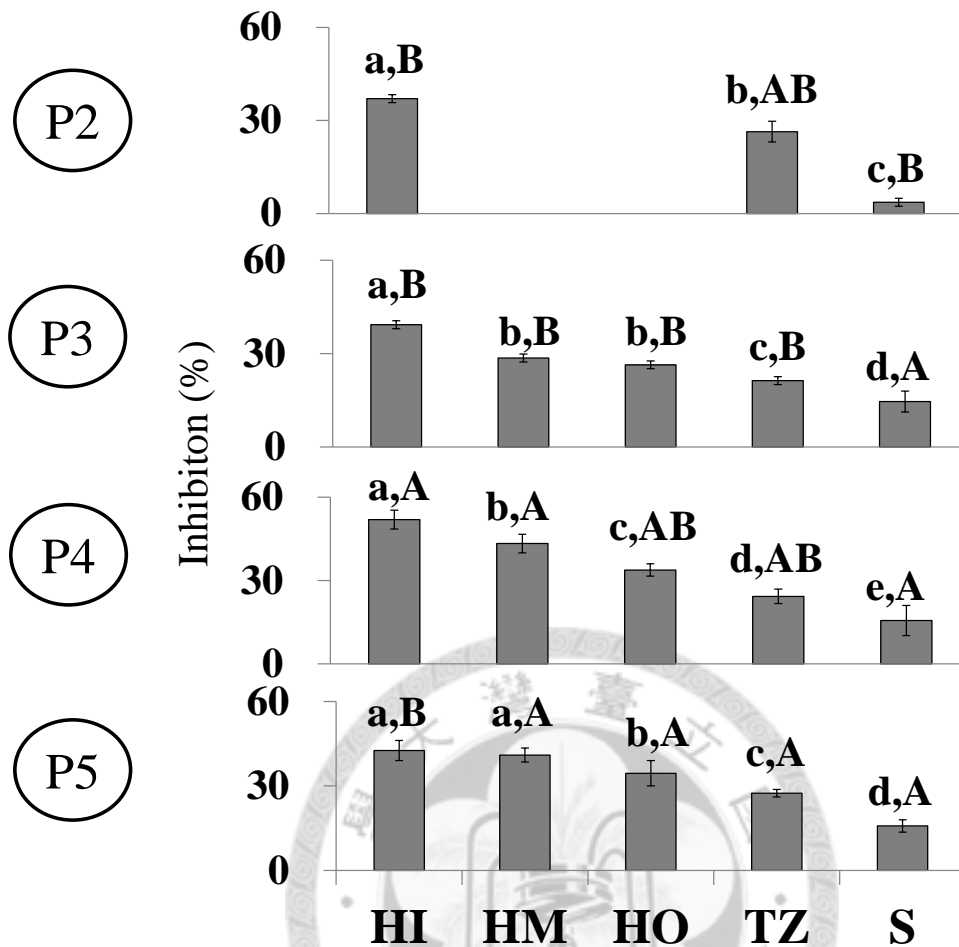


圖 13 相思樹抑制黃嘌呤氧化酶活性之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 13 Longitudinal and radial distribution of xanthine oxidase inhibitory effect (XOD) in *A. confusa*. Extracts were tested at 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD ($n = 3$). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

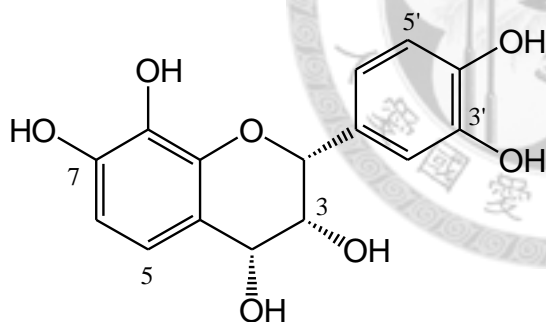
徑向差異之統計結果顯示，不論樹高，皆以內層心材 (HI) 抑制黃嘌呤氧化酶之活性最佳 (37.0–51.9%)，且活性由髓心向邊材遞減，至邊材活性最差 (3.6–15.8%)。縱向差異之統計結果顯示，內層心材 (HI) 以中段 (P4) 最佳 (51.9%)，中層 (HM) (41.0%) 及外層心材 (HO) (34.5%) 皆以基部 (P5) 抑制黃嘌呤

呤氧化酶之活性最佳，以中段 (P3) 之活性最差 (26.4–27.8%)，移行材 (TZ) 抑制黃嘌呤氧化酶之活性差異不大，邊材 (S) 抑制黃嘌呤氧化酶之活性以頂部 (P2) 較差 (3.6%)，其他皆無差異；相思樹總黃酮類含量與抑制黃嘌呤氧化酶之活性整體趨勢相似，且兩者成正相關 (相關係數為 0.92)。

六、相思樹材部生物活性成分之鑑定

相思樹材部抽出物經由分離及純化，並鑑定其具有生物活性之成分為 Melacacidin (2,3-*cis*-3,4-*cis*-3,3',4,4',7,8-Hexahydroxyflavan) (10)、4'-*O*-Methyl-melacacidin (2,3-*cis*-3,4-*cis*-4'-*O*-Methyl-3,3',4,7,8-pentahydroxyflavan) (11)、Transilitin (7,8,3',4'-Tetrahydroxy-3-*O*-methylflavon) (13) 及 Okanin (3,4,2',3',4'-Pentahydroxy-*trans*-chalcone) (7)。

化合物 10：Melacacidin (2,3-*cis*-3,4-*cis*-3,3',4,4',7,8-Hexahydroxyflavan)



相思樹抽出物 HPLC 進行純化及分離於滯留時間 5.7 min 時沖提出化合物 10，其為一淡黃色粉末狀化合物，經質譜分析 ESIMS 測得其分子式為 $C_{15}H_{14}O_7$ (ESIMS(-): 611 [2M-H]⁻)。根據 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) (圖 14)，分析的結果得知，兩組苯環上氫吸收訊號，分別為第一組 (A-ring) δ6.84 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5)、δ6.44 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6) 以及第二組 (B-ring) 具 ABX 特性吸收之 δ7.10 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2')、δ6.91 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, H-6')

和 $\delta 6.77$ (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5')。而由 ^1H - ^1H COSY 圖譜 (圖 15) 可以清楚判斷，在 $\delta 5.02$ (1H, s, H-2)、 $\delta 4.93$ (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-4) 以及 $\delta 3.96$ (1H, d, $J = 3.9$ Hz, H-3) 為另一組氫吸收訊號。根據 ^{13}C -NMR (圖 16) 進一步得知，該化合物除具有二組苯環結構之外 ($\delta 110$ - $\delta 150$)，並無羰基 (C=O) 吸收訊號；因此，推論該化合物應為 Flavanol 類化合物。

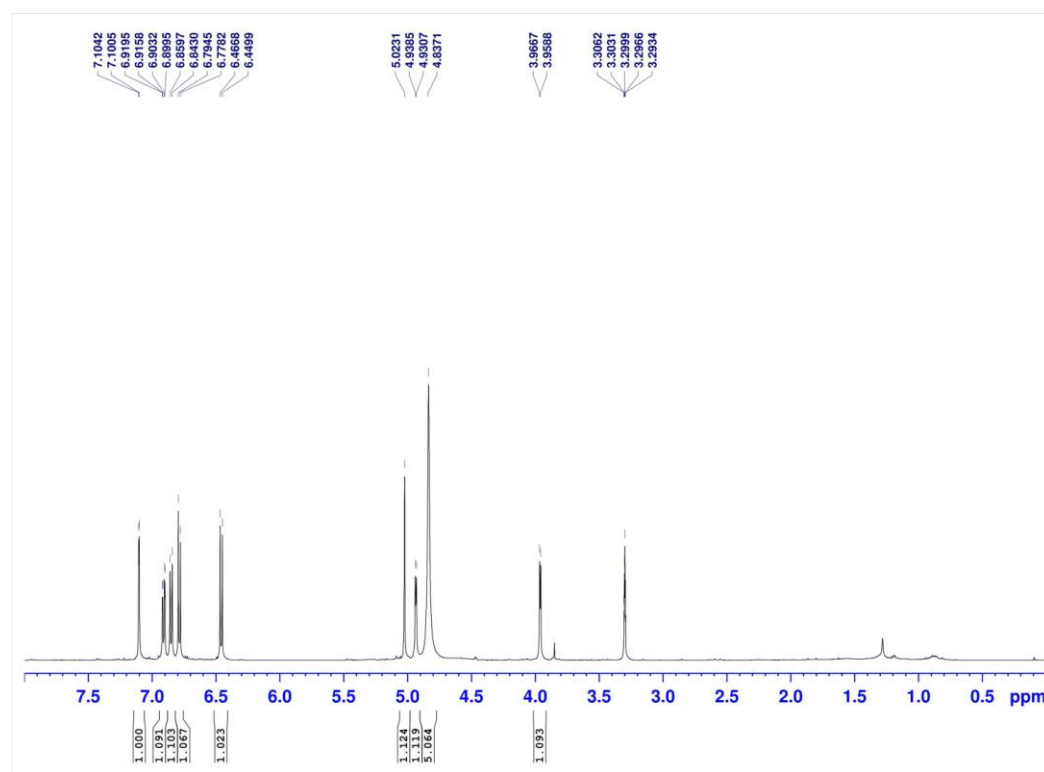


圖 14 Melacacidin (**10**) 的 ^1H -NMR 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 14 ^1H -NMR spectrum of melacacidin (**10**) (500 MHz, CD_3OD)

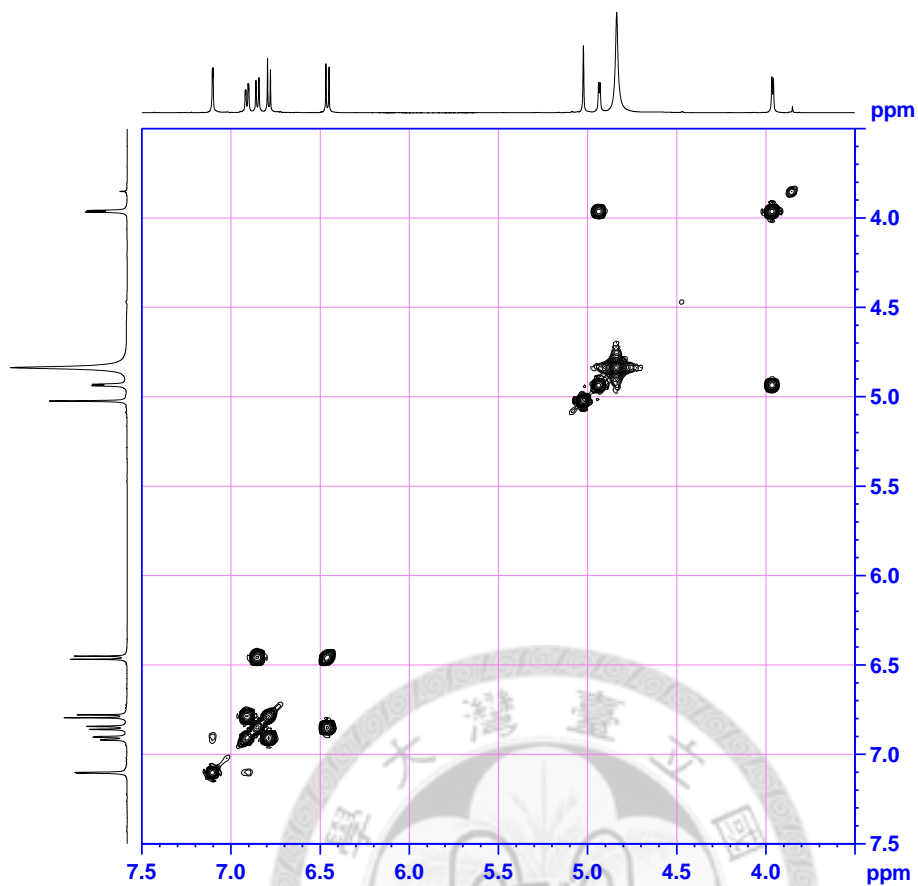


圖 15 Melacacidin (10) 的 ^1H - ^1H COSY 圖譜 (500 MHz)

Fig. 15 ^1H - ^1H COSY spectrum of melacacidin (10) (500 MHz)

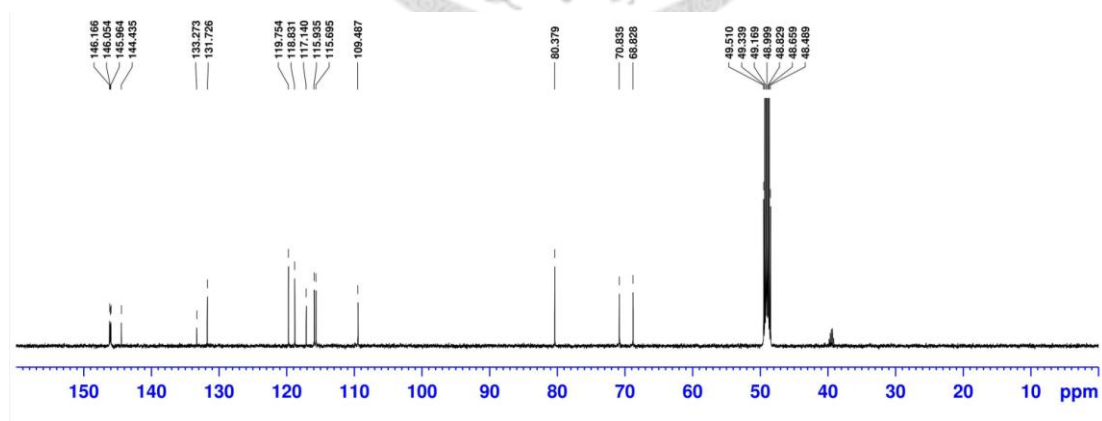


圖 16 Melacacidin (10) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

Fig. 16 ^{13}C -NMR spectrum of melacacidin (10) (125 MHz, CD_3OD)

並藉由二維核磁共振進一步確認該化合物碳-氫聯結關係，藉由圖 17 HSQC 的結果可知，第一組 (A-ring) $\delta 6.84$ 和 $\delta 6.44$ 之氫分別與 $\delta 118.8$ (C-5) 和 $\delta 109.5$ (C-6) 的碳相聯結，第二組 (B-ring) $\delta 7.10$ 、 $\delta 6.91$ 和 $\delta 6.77$ 之氫分別與 $\delta 115.7$ (C-2')、 $\delta 119.8$ (C-6') 和 $\delta 116.0$ (C-5') 的碳相聯結，而第三組 (C-ring) $\delta 5.02$ 、 $\delta 4.93$ 和 $\delta 3.96$ 之氫分別與 $\delta 80.4$ (C-2)、 $\delta 68.8$ (C-4) 和 $\delta 70.8$ (C-3) 的碳相聯結。此外，再藉由圖 18 HMBC 更確認每個氫與碳之耦合關係，如：第一組 $\delta 6.84$ 和 $\delta 6.44$ 之氫分別與 $\delta 68.8$ 、 $\delta 133.2$ 、 $\delta 144.4$ 及 $\delta 146.0$ 以及 $\delta 117.1$ 、 $\delta 133.2$ 及 $\delta 146.0$ 的碳具有長距離耦合關聯；表 6 為化合物 **7** 碳-氫相對之化學位移及 HMBC 關聯。綜合上述結果判斷，化合物 **10** 為 Melacacidin。



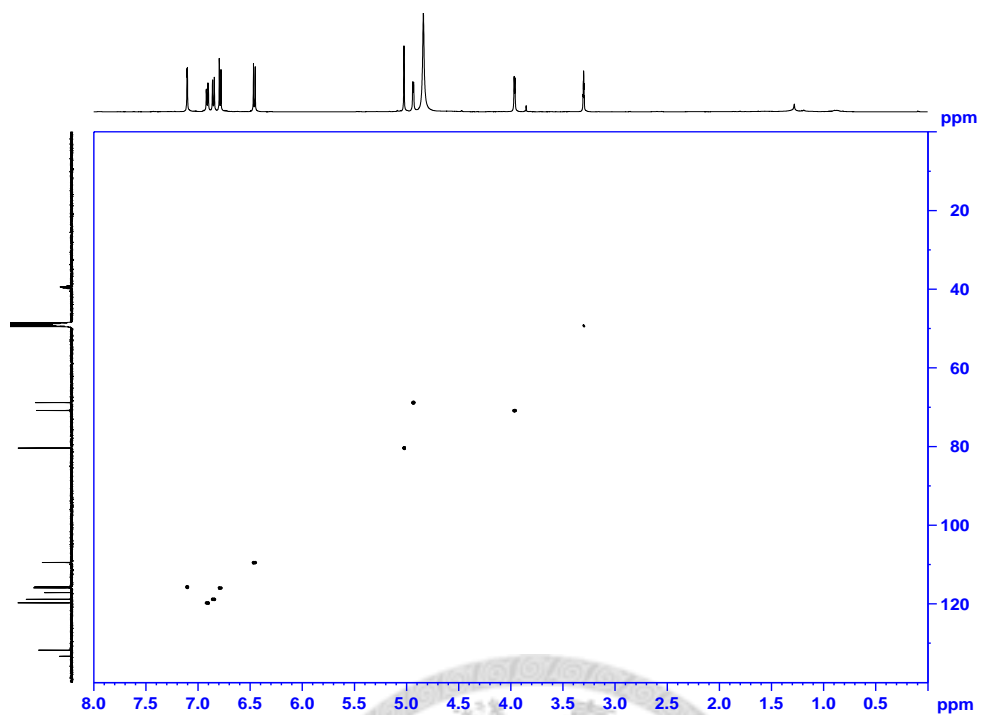


圖 17 Melacacidin (**10**) 的 HSQC 圖譜 (500 MHz)

Fig. 17 HSQC spectrum of melacacidin (**10**) (500 MHz)

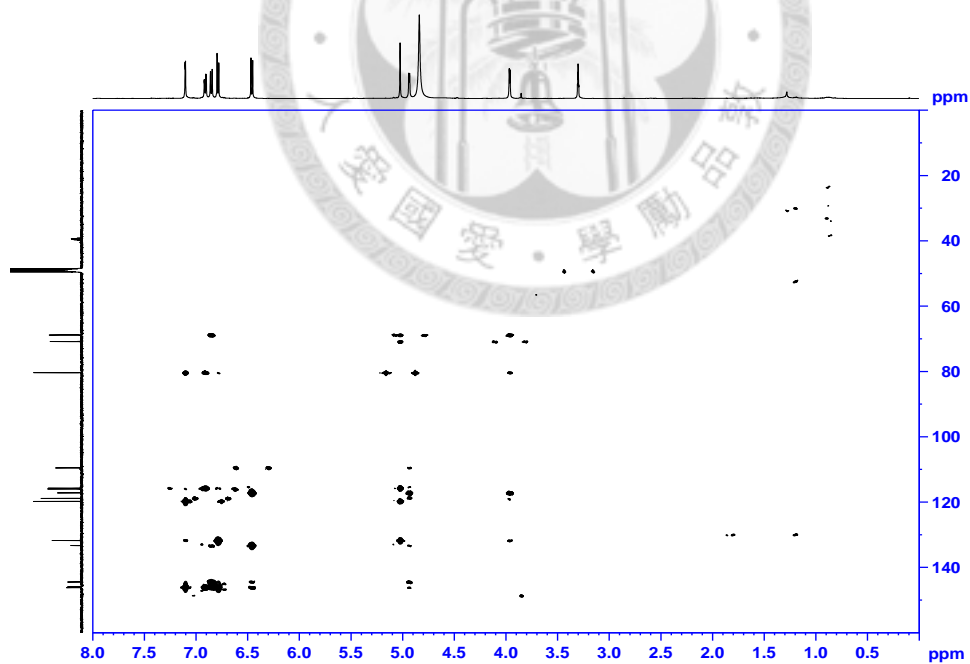


圖 18 Melacacidin (**10**) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz)

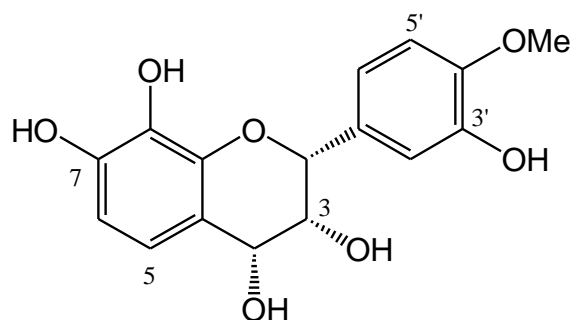
Fig. 18 HMBC spectrum of melacacidin(**10**) (500 MHz)

表 6 Melacacidin (**10**) 的氫譜與碳譜資料

Table 6 ^1H - and ^{13}C -NMR data of melacacidin (**10**)

Positions	δ_{C}	δ_{H}	HMBC
2	80.4	5.02 (s)	H-2', H-6', H-3
3	70.8	3.96 (d, $J = 3.9$ Hz)	H-2
4	68.8	4.93 (d, $J = 3.9$ Hz)	H-2, H-3, H-5
5	118.8	6.84 (d, $J = 8.4$ Hz)	H-3
6	109.5	6.44 (d, $J = 8.4$ Hz)	-
7	144.4	-	H-5
8	146.0	-	H-4, H-5, H-6
9	133.3	-	H-4, H-5, H-6
10	117.1	-	H-3, H-4, H-6
1'	131.7	-	H-2', H-5', H-2, H-3
2'	115.7	7.10 (d, $J = 1.9$ Hz)	H-6', H-2
3'	146.2	-	H-2', H-5', H-6'
4'	146.1	-	H-2', H-5', H-6'
5'	116.0	6.77 (d, $J = 8.2$ Hz,)	-
6'	119.8	6.91 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz)	H-2', H-2

化合物 **11** : 4'-*O*-Methyl-melacacidin (2,3-*cis*-3,4-*cis*-4'-*O*-Methyl-3,3',4,7,8-pentahydroxyflavan)



相思樹抽出物 HPLC 進行純化及分離於滯留時間 13.0 min 時沖提出化合物 **11**，其為一淡黃色粉末狀化合物，經質譜分析 ESIMS 測得其分子式為 $C_{16}H_{16}O_7$ (ESIMS(-): 319 [M-H]⁻)。該化合物之氫譜與化合物 **10** 極為相似，根據 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) (圖 19)，分析的結果得知，分別為第一組 (A-ring) δ6.85 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5)、δ6.45 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6) 以及第二組 (B-ring) 具 ABX 特性吸收之 δ7.13 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2')、δ7.03 (1H, dd, $J = 8.4, 1.9$ Hz, H-6') 和 δ6.92 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5')，在 δ5.07 (s, H-2)、δ4.94 (d, $J = 4.0$ Hz, H-4) 以及 δ3.97 (d, $J = 4.0$ Hz, H-3) 為另一組氫吸收訊號 (C-ring)；該化合物不同於化合物 **10** 處，該化合物於 δ3.85 (3H, s, 4'-OCH₃) 有一個甲氧基吸收訊號。化合物之碳譜亦與化合物 **10** 極為相似，該化合物除具有二組苯環結構之外 (δ110-δ150)，在 δ56.5 有一個甲氧基 (-OCH₃) 吸收訊號；因此，推論該化合物應為 Flavanol 類化合物。

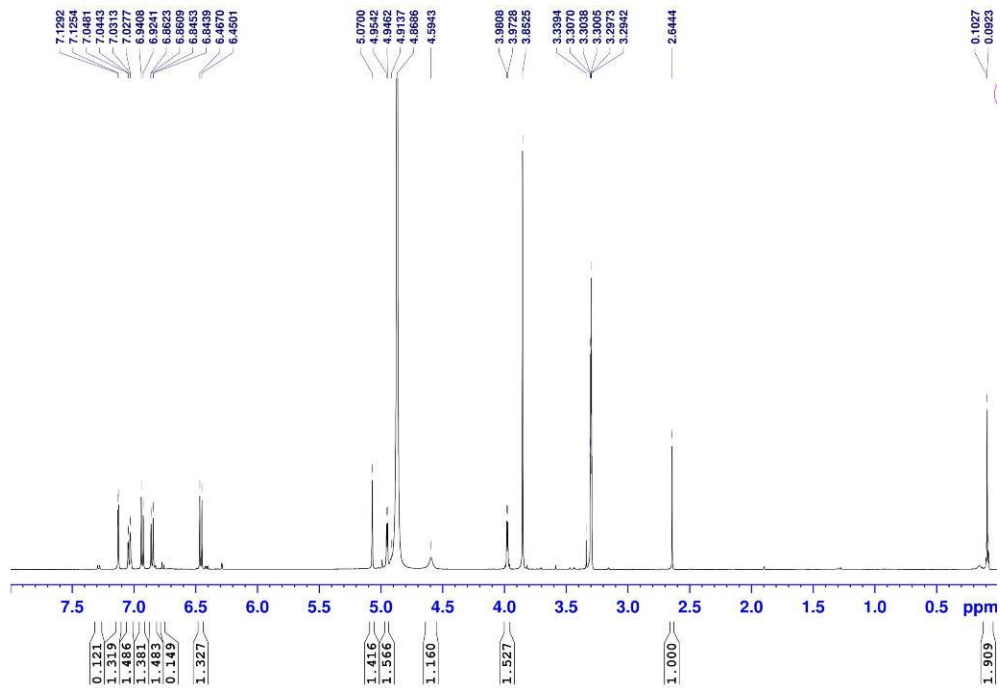


圖 19 4'-*O*-Methyl-melacacidin (**11**) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 19 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of 4'-*O*-methyl-melacacidin (**11**) (500 MHz, CD_3OD)

藉由二維核磁共振進一步確認該化合物碳-氫聯結關係，由圖 20 NOESY 的結果可知，甲氧基質子 ($\delta 3.85$) 和 H-5' ($\delta 6.92$) 有相關性。綜合上述結果判斷並與文獻資料比對，化合物 **11** 為 4'-*O*-Methyl-melacacidin(**11**)，而相思樹根部亦含有化合物 **10** 與化合物 **11** (Lee and Chou, 2000)。

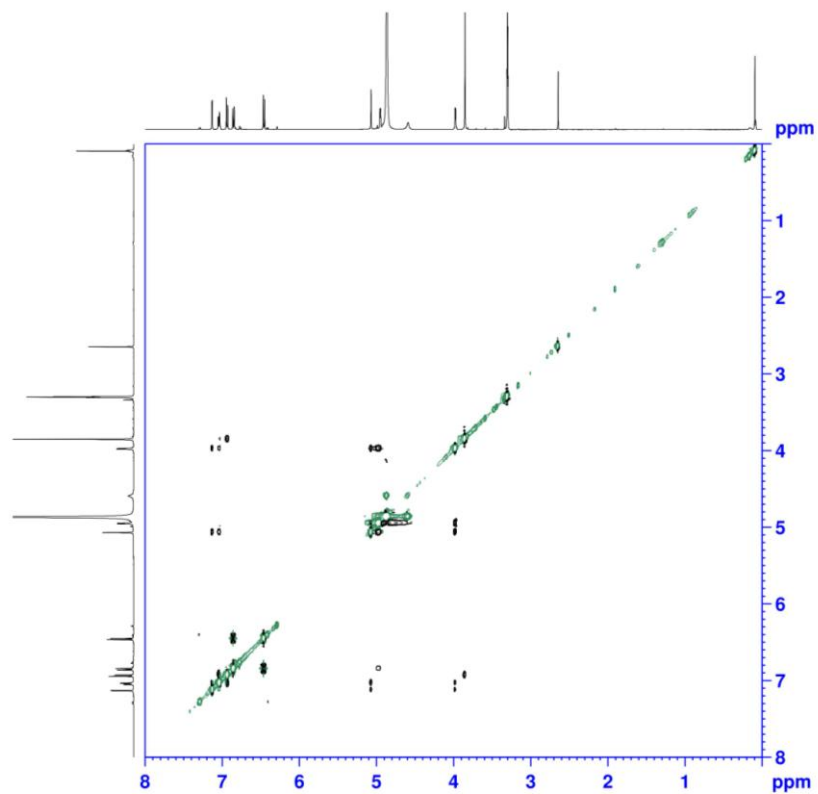
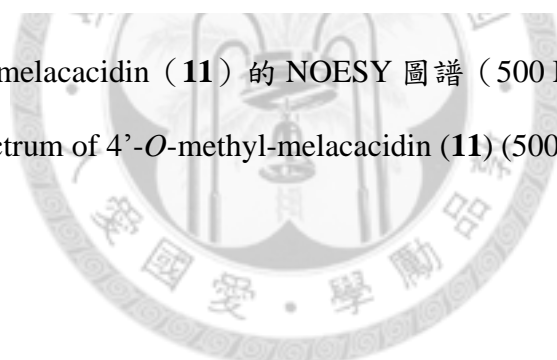
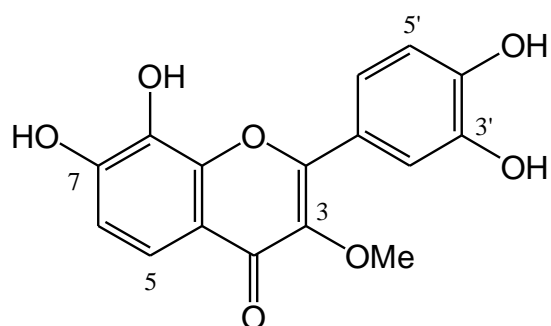


圖 20 4'-*O*-Methyl-melacacidin (**11**) 的 NOESY 圖譜 (500 MHz)

Fig. 20 NOESY spectrum of 4'-*O*-methyl-melacacidin (**11**) (500 MHz)



化合物 **13** : Transilitin (7,8,3',4'-Tetrahydroxy-3-*O*-methylflavone)



相思樹抽出物 HPLC 進行純化及分離於滯留時間 22.3 min 時沖提出化合物 **13**，其為一乳白色粉末狀化合物，經質譜分析 ESIMS 測得其分子式為 $C_{16}H_{12}O_7$ (ESIMS(-): 315 $[M-H]^-$)。根據 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) (圖 21)，分析的結果得知，兩組苯環上氫吸收訊號，分別為第一組具 AB 特性吸收之 (A-ring) $\delta 7.52$ (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5)、 $\delta 6.92$ (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6) 以及第二組 (B-ring) 具 ABX 特性吸收之 $\delta 7.74$ (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2')、 $\delta 7.66$ (1H, dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, H-6') 和 $\delta 6.90$ (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5')；化合物 **13** 於 $\delta 3.76$ (3H, s, 4'- OCH_3) 有一組甲氧基，可藉由上述推論化合物 **13** 應屬 C-3 取代之 Flavone 類化合物。

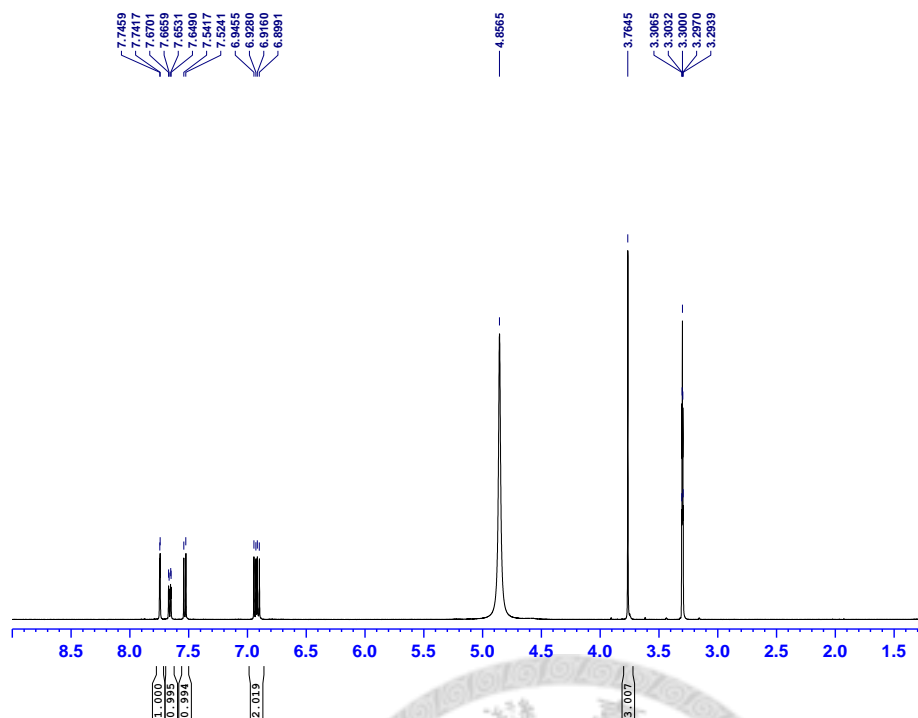


圖 21 Transilitin (**13**) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 21 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of transilitin (**13**) (500 MHz, CD_3OD)

由 $^{13}\text{C-NMR}$ (圖 22)結果可知,化合物 **13** 共有 $\delta 177.0(\text{C-4})$ 、 $\delta 157.9(\text{C-4}')$ 、 $\delta 151.8(\text{C-7})$ 、 $\delta 149.7(\text{C-2})$ 、 $\delta 147.6(\text{C-9})$ 、 $\delta 146.4(\text{C-3}')$ 、 $\delta 140.9(\text{C-3})$ 、 $\delta 134.3(\text{C-8})$ 、 $\delta 123.5(\text{C-1}')$ 、 $\delta 122.6(\text{C-6}')$ 、 $\delta 118.6(\text{C-10})$ 、 $\delta 116.8(\text{C-2}'$ 、 $\text{C-5})$ 、 $\delta 116.3(\text{C-5}')$ 、 $\delta 115.1(\text{C-6})$ 以及 $\delta 60.3(\text{OCH}_3)$ 十六個碳吸收訊號。並利用二維核磁共振分析化合物 **13** 甲氧基所接之位置,由 HMBC 圖譜(圖 23)可知該化合物甲氧基中之氫 ($\delta 3.76$) 與 C-3 ($\delta 140.9$) 具有偶合關聯,因此,綜合上述結果,並與文獻資料 (Malan, 1993) 比對,推論化合物 **13** 為 Transilitin。

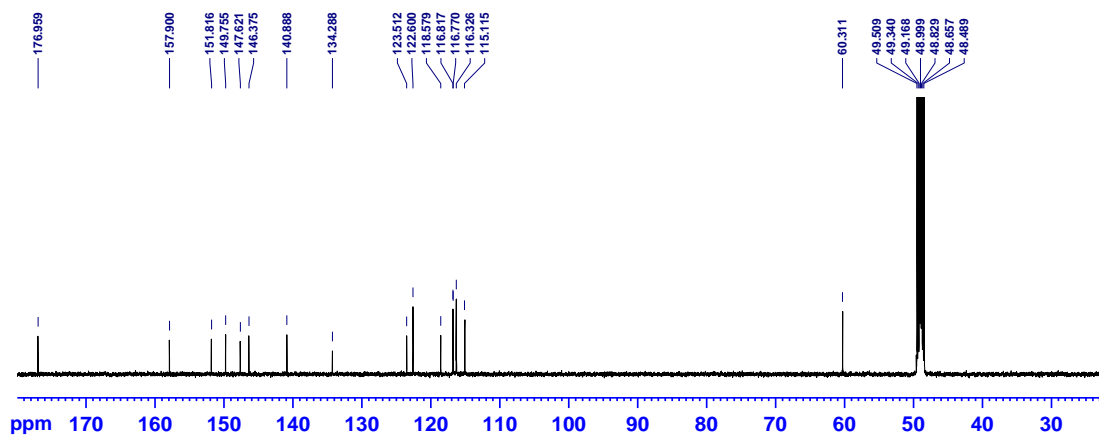


圖 22 Transilitin (**13**) 的 ^{13}C -NMR 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

Fig. 22 ^{13}C -NMR spectrum of transilitin (**13**) (125 MHz, CD_3OD)

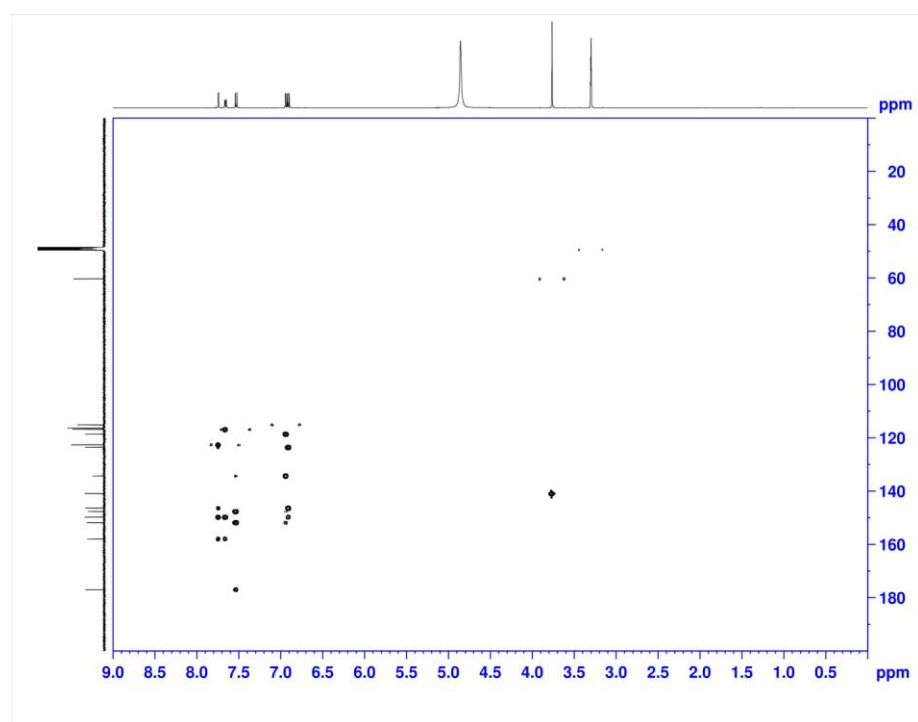
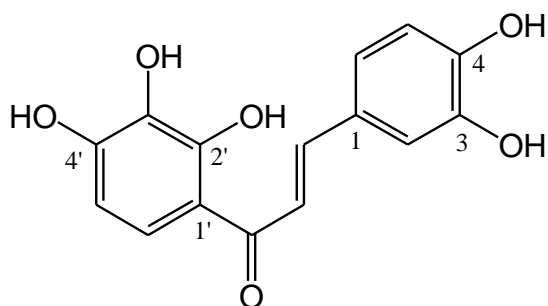


圖 23 Transilitin (**13**) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 23 HMBC spectrum of transilitin (**13**) (500 MHz, CD_3OD)

化合物 7：Okanin (3,4,2',3',4'-Pentahydroxy-*trans*-chalcone)



相思樹抽出物 HPLC 進行純化及分離於滯留時間 25.7 min 時沖提出化合物 7，其為一銘黃色粉末狀化合物，經質譜分析 ESIMS 測得其分子式為 $C_{15}H_{12}O_6$ (ESIMS(-): 287 $[M-H]^-$)。根據 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) (圖 24)，分析的結果得知，兩組苯環上氫吸收訊號，分別為第一組具 AB 特性吸收之 $\delta 7.52$ (d, $J = 9.1$ Hz, H-6') 和 $\delta 6.46$ (d, $J = 9.1$ Hz, H-5') 以及第二組具 ABX 特性吸收之 $\delta 7.17$ (d, $J = 1.9$ Hz, H-2)、 $\delta 7.10$ (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz, H-6) 和 $\delta 6.81$ (d, $J = 8.3$ Hz, H-5)；此外，另有一組反式 (*trans*) 乙烯基 (-HC=CH-) 吸收訊號 $\delta 7.70$ (d, $J = 15.2$ Hz, H- β) 及 $\delta 7.53$ (d, $J = 15.2$ Hz, H- α)。再進一步分析 ^{13}C -NMR (圖 25) 之圖譜可知，化合物 7 具有 2 組苯環結構 ($\delta 100$ - $\delta 160$)，還具有一個共軛羰基 (C=O) 的吸收訊號 ($\delta 194.06$)，因此可推測此化合物為 Chalcone 類。

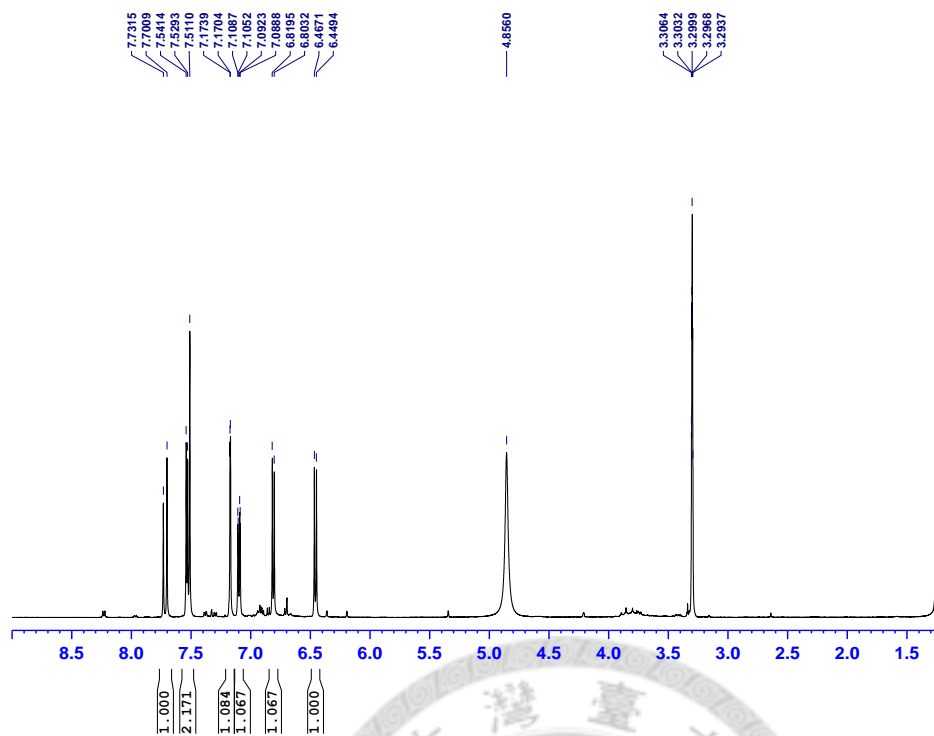


圖 24 Okanin (7) 的 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜 (500 MHz, CD_3OD)

Fig. 24 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of okanin (7) (500 MHz, CD_3OD)

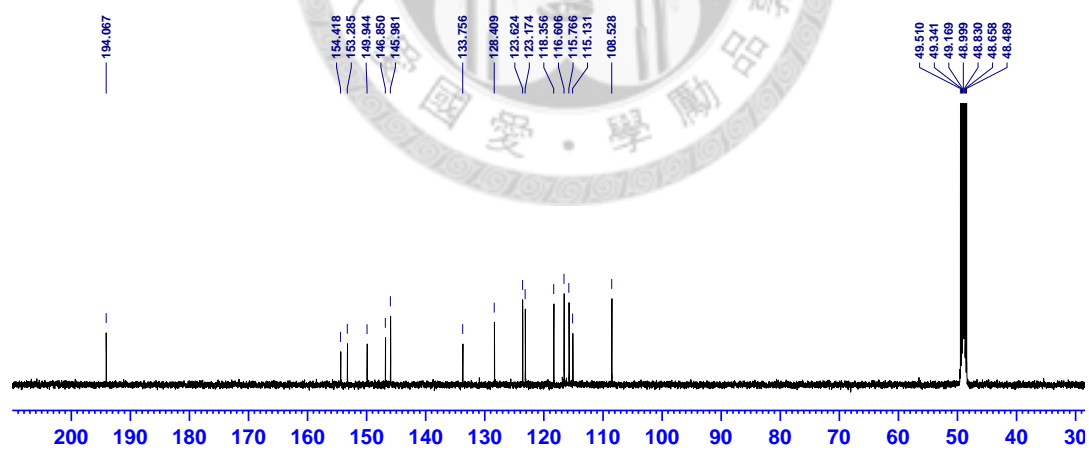


圖 25 Okanin (7) 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜 (125 MHz, CD_3OD)

Fig. 25 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of okanin (7) (125 MHz, CD_3OD)

並藉由圖 26 HSQC 的結果進一步確認該化合物之碳-氫聯結關係，由分析結果發現，第一組 $\delta 7.52$ 及 $\delta 6.46$ 之氫分別與 $\delta 123.2$ (C-6') 及 $\delta 108.5$ (C-5') 碳相聯結；而第二組 $\delta 7.17$ 、 $\delta 7.10$ 及 $\delta 6.81$ (ABX) 之氫則分別與 $\delta 115.8$ (C-2)、 $\delta 123.6$ (C-6) 以及 $\delta 116.7$ (C-5) 之碳聯結。至於 $\delta 7.70$ 及 $\delta 7.53$ 乙烯基之氫，則分別與 $\delta 146.0$ (C- β) 及 $\delta 118.4$ (C- α) 之碳聯結。此外，再藉由圖 27 HMBC 更確認每個氫與碳之耦合關係，如： $\delta 7.52$ 與 $\delta 153.3$ (C-4')、 $\delta 154.4$ (C-2') 及 $\delta 194.1$ (C=O) 的碳具有長距離耦合關聯，而 $\delta 6.46$ 之氫則與 $\delta 115.1$ (C-3') 及 $\delta 133.8$ (C-1') 的碳具有長距離耦合關聯；表 7 為化合物 7 碳-氫相對之化學位移及 HMBC 關聯。綜合上述結果判斷，化合物 7 為 Okanin。

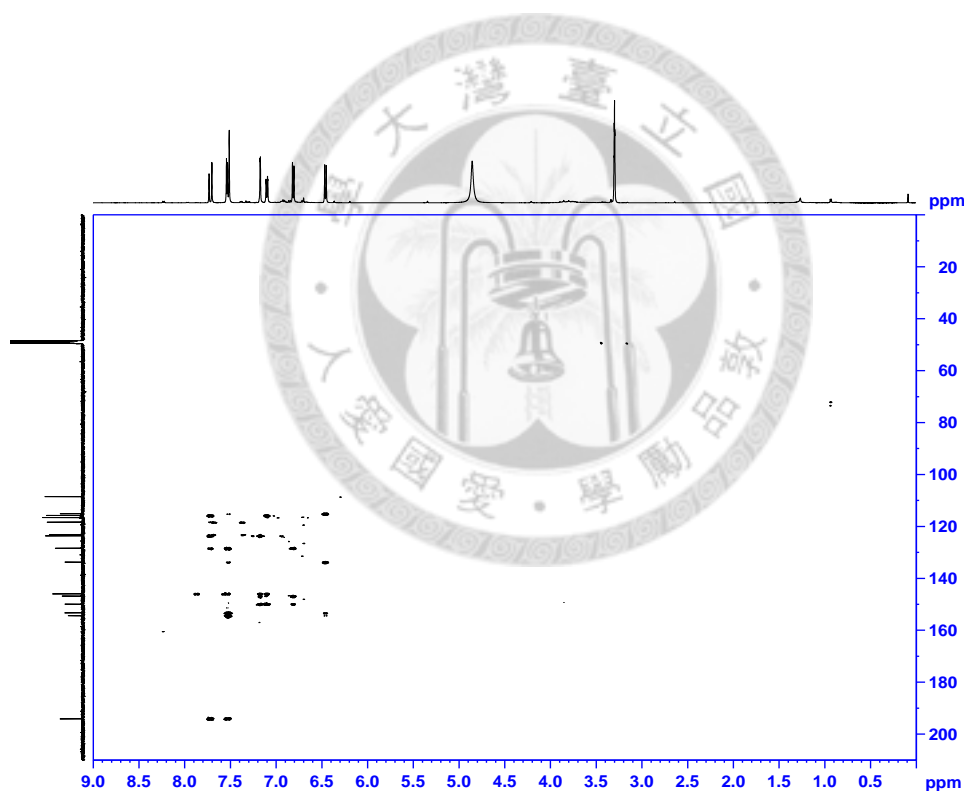


圖 26 Okanin (7) 的 HSQC 圖譜 (500 MHz)

Fig. 26 HSQC spectrum of okanin (7) (500 MHz)

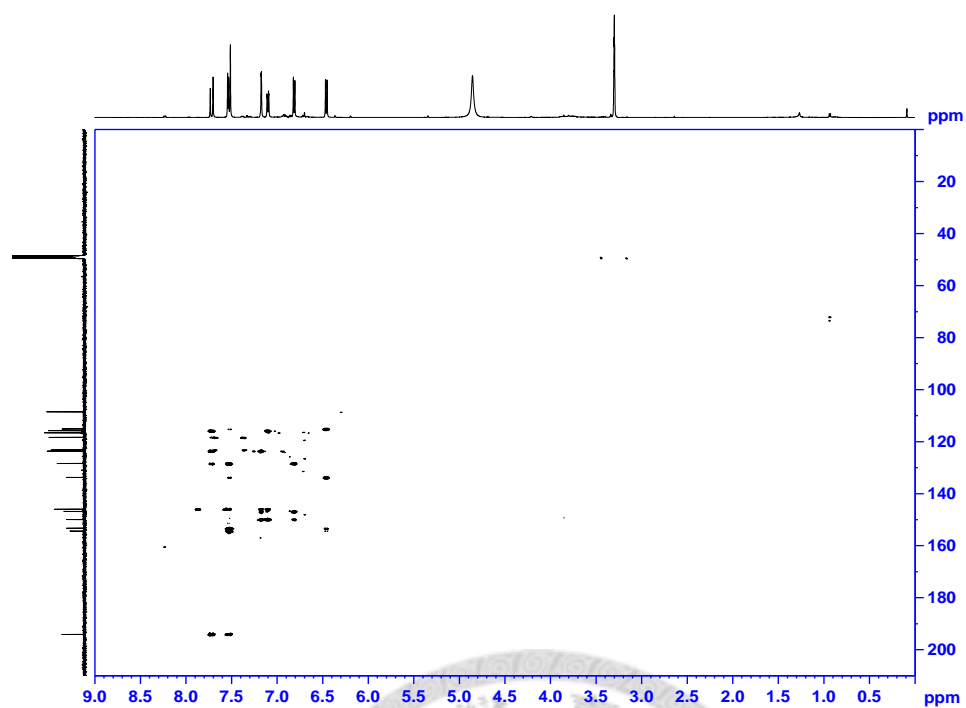


圖 27 Okanin (7) 的 HMBC 圖譜 (500 MHz)

Fig. 27 HMBC spectrum of okanin (7) (500 MHz)

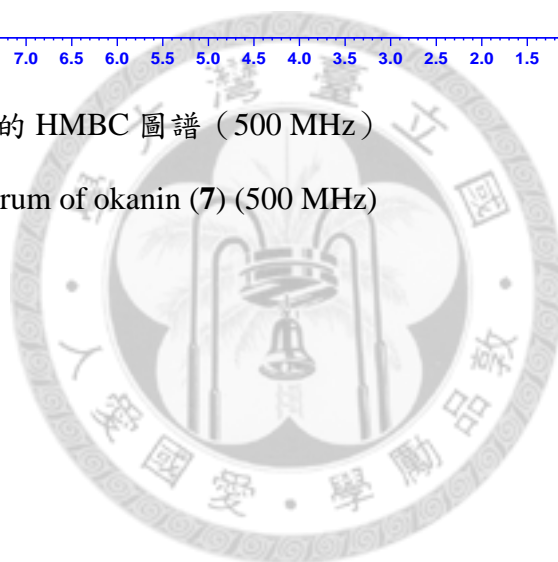


表 7 Okanin (7) 的氫譜與碳譜資料

Table 7 ^1H - and ^{13}C -NMR data of okanin (7)

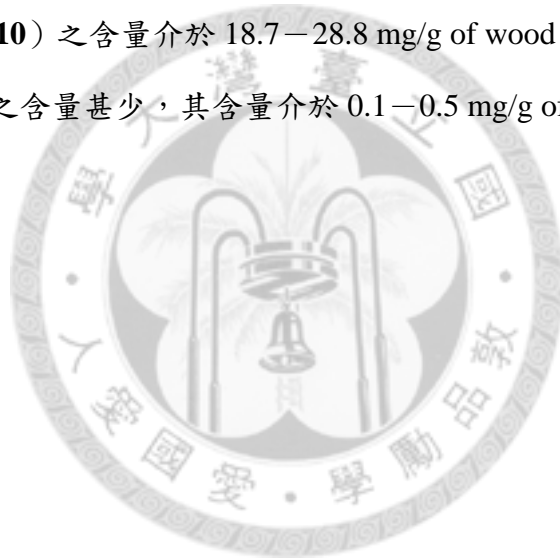
Positions	δ_{C}	δ_{H}	HMBC
1	128.4	-	H- α , H- β , H-5
2	115.8	7.17 (d, $J = 1.9$ Hz)	H- β , H-6
3	146.9	-	H-5
4	150.0	-	H-2, H-5, H-6
5	116.7	6.81 (d, $J = 8.3$ Hz)	-
6	123.6	7.10 (dd, $J = 8.3, 1.9$ Hz)	H- β , H-2
1'	133.8	-	H- α , H-5'
2'	154.4	-	H-6'
3'	115.1	-	-
4'	153.3	-	-
5'	108.5	6.46 (d, $J = 9.1$ Hz)	-
6'	123.2	7.52 (d, $J = 9.1$ Hz)	-
α	118.4	7.53 (d, $J = 15.2$ Hz)	-
β	146.0	7.70 (d, $J = 15.2$ Hz)	H-2, H-6
C=O	194.1	-	H- β , H-6'

七、相思樹抽出物活性成分含量之差異

為了瞭解相思樹生物活性與抽出成分含量之關係，對不同部位及高度之相思樹抽出物進行具抗氧化活性成分定量，經由高效能液相層析儀分離與純化得到下列四個化合物：Melacacidin (10)、4'-*O*-Methyl-melacacidin (11)、Transilitin (13) 及 Okanin (7)。

(一) 相思樹抽出物 Melacacidin (10) 含量之差異

化合物 Melacacidin (10) 為相思樹心材抽出物的主要成分之一，其含量約占抽出物 1/3–1/4 (Data not shown)，其在相思樹各部位含量差異之結果如圖 28 所示。相思樹心材 Melacacidin (10) 之含量介於 15.9–28.4 mg/g of wood，移行材 Melacacidin (10) 之含量介於 18.7–28.8 mg/g of wood，與心材相當；邊材 Melacacidin (10) 之含量甚少，其含量介於 0.1–0.5 mg/g of wood。



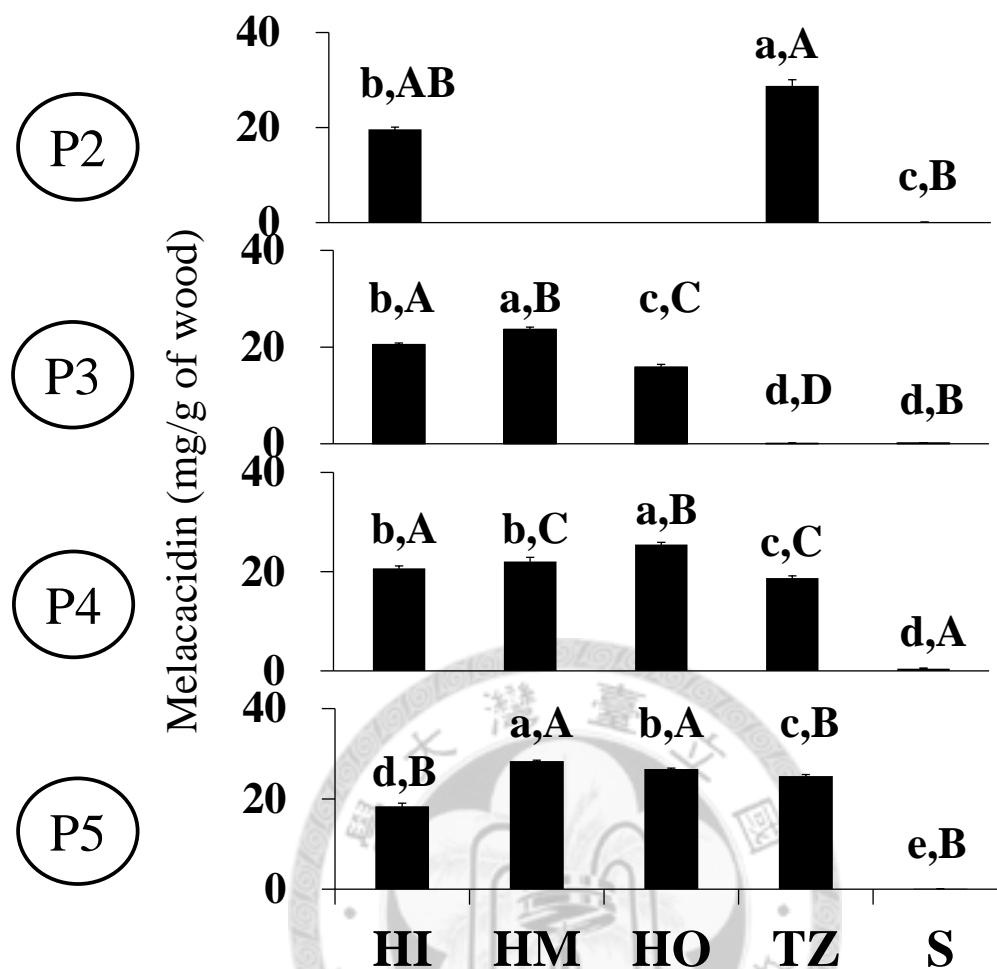


圖 28 相思樹木材 Melacacidin (10) 含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 28 Longitudinal and radial distribution of melacacidin (10) content from *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

Melacacidin(10)徑向分布差異之統計結果顯示，中段(P4)以外層心材(HO) Melacacidin (10) 的含量最多，其含量為 25.5 mg/g of wood；基部 (P5) 及中段 (P3) 以中層心材 (HM) Melacacidin (10) 的含量最多，其含量分別為 26.6 和 23.7 mg/g of wood，且基部 (P5) 及中段 (P3 及 P4) 皆由含量最多處往髓心和

邊材方向遞減，至邊材 (S) 含量為最低；頂部 (P2) 以移行材 (TZ) Melacacidin (10) 的含量最高，內層心材 (HI) 次之，邊材 (S) 含量最低。

Melacacidin (10) 縱向分布差異之統計結果顯示，內層心材 (HI) Melacacidin (10) 含量無明顯差異；中層 (HM) 及外層心材 (HO) 以基部 (P5) 之 Melacacidin (10) 含量較多，其含量分別為 28.4 和 26.6 mg/g of wood；而移行材 (TZ) 以頂部 (P2) 之 Melacacidin (10) 含量最多，其含量為 28.8 mg/g of wood。

(二) 相思樹抽出物 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 含量之差異

化合物 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 亦為相思樹心材抽出物的主要成分之一 (Data not shown)，其在相思樹各部位含量差異之結果如圖 29 所示。相思樹心材 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 之含量介於 11.6–19.1 mg/g of wood；除 P3 外，移行材 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 之含量介於 12.6–17.4 mg/g of wood，略低於心材；邊材 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 之含量甚少，其含量介於 0.1–0.2 mg/g of wood。

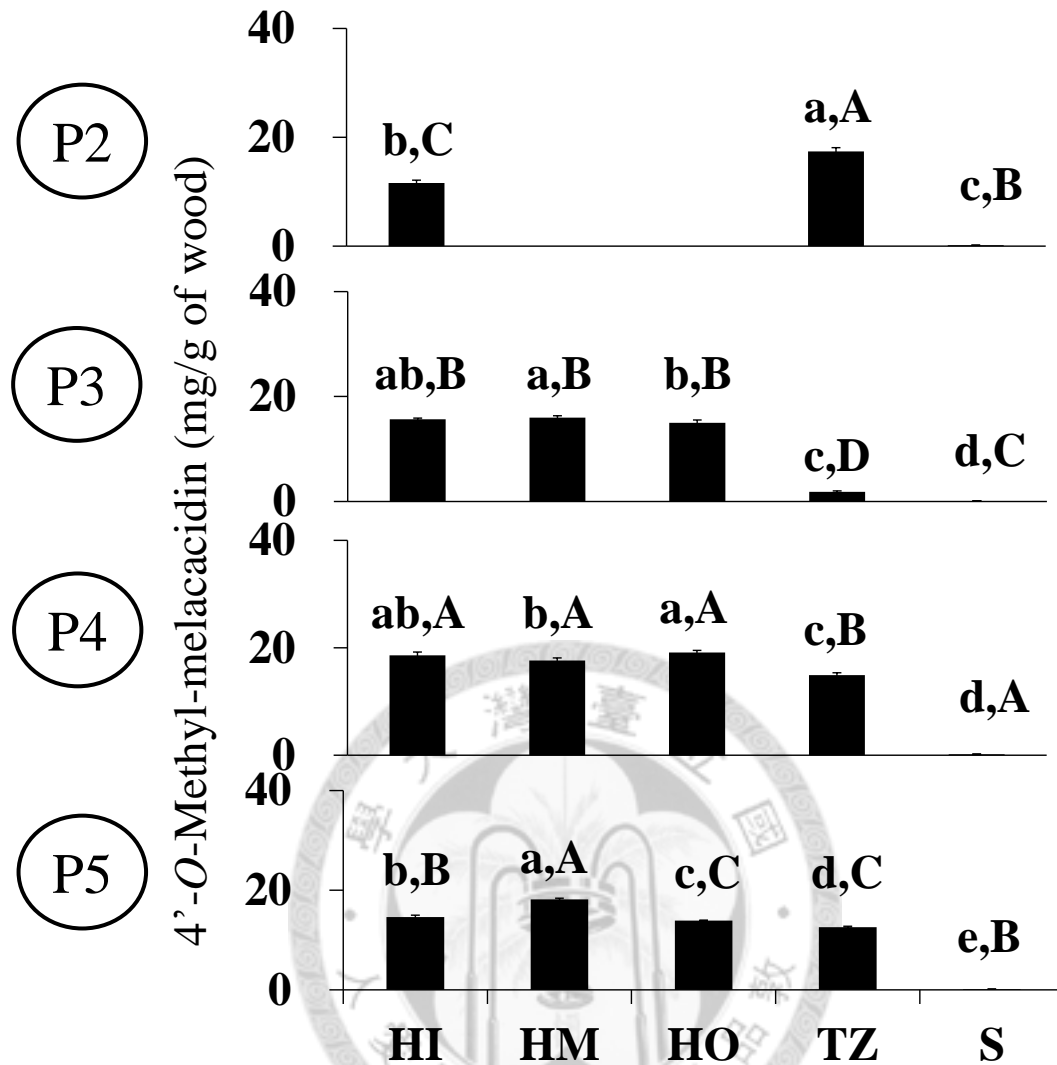


圖 29 相思樹木材 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 29 Longitudinal and radial distribution of 4'-O-Methyl-melacacidin (11) content from *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD ($n = 3$). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

4'-O-Methyl-melacacidin (11) 徑向分布差異之統計結果顯示，中段 (P4) 以外層心材 (HO) 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 的含量最多，其含量為 19.1 mg/g

of wood，而心材間無明顯差異；基部（P5）及中段（P3）以中層心材（HM）4'-*O*-Methyl-melacacidin（**11**）的含量最多，其含量分別為 18.2 和 16.0 mg/g of wood；頂部（P2）以移行材（TZ）Melacacidin（**10**）的含量最高，內層心材（HI）次之，邊材（S）含量最低。

4'-*O*-Methyl-melacacidin（**11**）縱向分布差異之統計結果顯示，心材（HI、HM 和 HO）皆以中段（P4）之 4'-*O*-Methoxy melacacidin（**11**）含量最多，其含量分別為 18.6、17.6 和 19.1 mg/g of wood；移行材（TZ）則以頂部（P2）之 4'-*O*-Methyl-melacacidin（**11**）含量最多，其含量為 17.4 mg/g of wood。

（三）相思樹抽出物 Transilitin（**13**）含量之差異

Transilitin（**13**）在相思樹各部位含量差異之結果如圖 30 所示。相思樹心材 Transilitin（**13**）之含量介於 3.6—11.4 mg/g of wood；除 P3 外，移行材 Transilitin（**13**）之含量介於 6.0—9.8 mg/g of wood；邊材 Transilitin（**13**）之含量甚少，其含量約為 0.1 mg/g of wood。

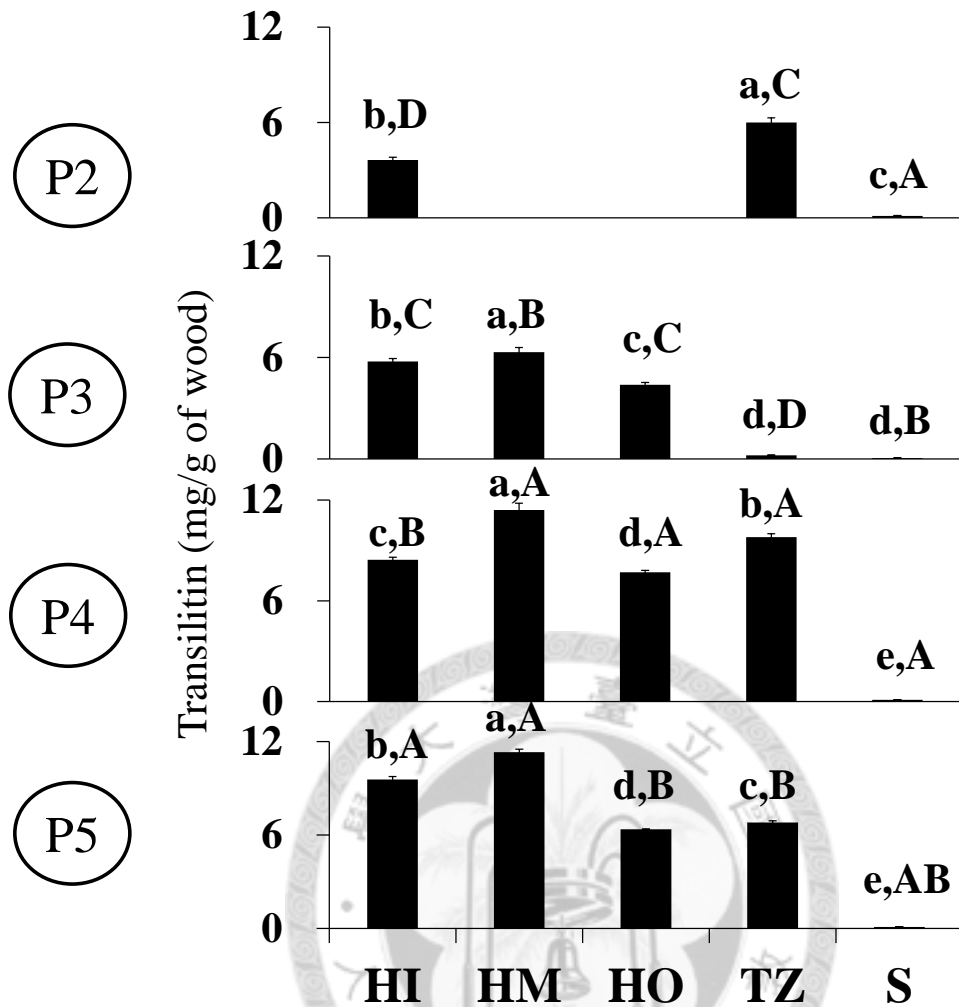


圖 30 相思樹木材 Transilitin (13) 含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 30 Longitudinal and radial distribution of transilitin (13) content from *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

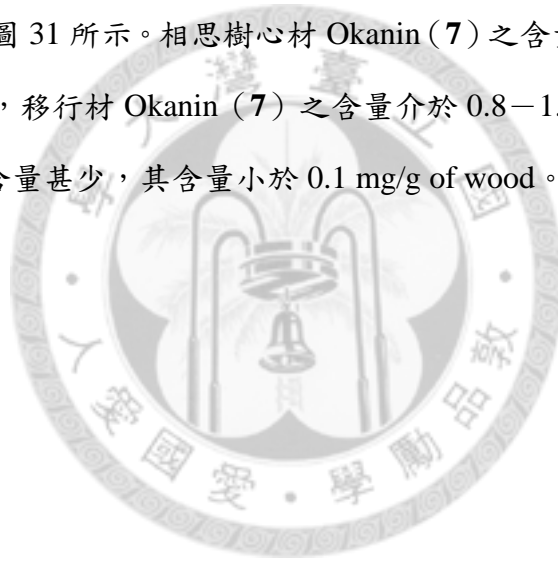
Transilitin (13) 徑向分布差異之統計結果顯示，基部 (P5) 及中段 (P4 及 P3) 皆以中層心材 (HM) 之 Transilitin (13) 含量最多，其含量分別為 11.3、11.4 和 6.3 mg/g of wood；頂部 (P2) 以移行材 (TZ) 之 Transilitin (13) 含量最高，

其含量為 6.0 mg/g of wood。

Transilitin (13) 縱向分布差異之統計結果顯示，內層 (HI) 及中層心材 (HM) 皆以基部 (P5) 之 Transilitin (13) 含量最高，其含量分別為 9.6 和 11.3 mg/g of wood，並隨著增加而遞減；外層心材 (HO) 及移行材 (TZ) 以中段 (P4) 之 Transilitin (13) 含量最高，其含量分別為 7.7 和 9.8 mg/g of wood；邊材 (S) 以中段 (P3) 之 Transilitin (13) 含量略低於其他樹高。

(四) 相思樹抽出物 Okanin (7) 含量之差異

化合物 Okanin (7) 為 4 個化合物中含量最少者，相思樹各部位 Okanin (7) 含量差異之結果如圖 31 所示。相思樹心材 Okanin (7) 之含量介於 0.6–3.0 mg/g of wood；除 P3 外，移行材 Okanin (7) 之含量介於 0.8–1.3 mg/g of wood；邊材 Okanin (7) 之含量甚少，其含量小於 0.1 mg/g of wood。



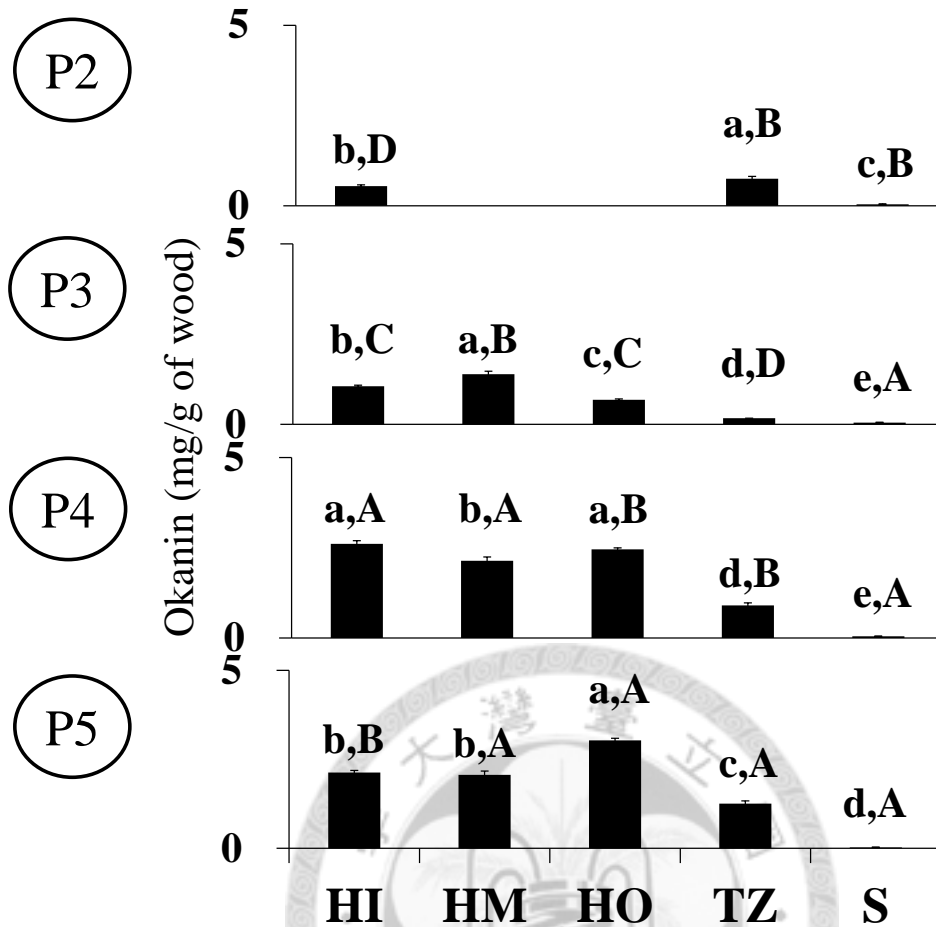


圖 31 相思樹木材 Okanin (7) 含量之縱徑向分布 (HI : Heartwood-inner、HM : Heartwood-medium、HO : Heartwood-outer、TZ : Transition zone 及 S : Sapwood)

Fig. 31 Longitudinal and radial distribution of okanin (7) content from *A. confusa* wood. Each experiment was performed in triplicate and the results are mean \pm SD (n = 3). Different letters (lower case: radial direction, upper case: longitudinal direction) in the Figure are significantly different at the level of $p < 0.05$ according to the Duncan's test.

Okanin (7) 徑向分布差異之統計結果顯示，基部 (P5) 及中段 (P4) 以外層心材 (HO) 之 Okanin (7) 含量最多，其含量分別為 3.0 及 2.5 mg/g of wood；中段 (P3) 則以中層心材 (HM) 最多，其含量為 1.4 mg/g of wood，且 Okanin (7) 含量以中層心材 (HM) 往髓心和邊材方向遞減，邊材 (S) 為含量最低；

頂部 (P2) 以移行材 (TZ) 之 Okanin (7) 含量最高，內層心材 (HI) 次之，邊材最少。

Okanin (7) 縱向分布差異之統計結果顯示，內層心材 (HI) 以中段 (P4) 之 Okanin (7) 含量最多，其含量為 2.6 mg/g of wood；中層 (HM)、外層心材 (HO) 及移行材 (TZ) 皆以基部 (P5) 之 Okanin (7) 含量最多，其含量分別為 2.1、3.0 和 1.3 mg/g of wood。總體趨勢為愈靠近基部及外層心材之 Okanin (7) 含量較多。

總結上述定量結果可知 P3 移行材含有活性成分較少，導致 P3 移行材之生物活性皆較各部位之心材或移行材差。另外，且經由相關性統計分析結果顯示，Melacacidin(10)、4'-O-Methyl-melacacidin (11)、Transilitin (13) 及 Okanin (7) 含量與清除超氧自由基能力、清除 DPPH 自由基能力及抑制黃嘌呤氧化酶活性皆呈正相關，又以清除 DPPH 自由基能力與 Melacacidin (10) 和 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 具有高度相關性，其相關係數分別為 0.89 和 0.85，上述兩者清除 DPPH 自由基之能力與已知抗氧化劑-Quercetin 相當，且上述兩者亦為相思樹抽出物之主要成分，總結上述可知 Melacacidin(10) 和 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 為相思樹之抗氧化活性主要來源；抑制抑制黃嘌呤氧化酶活性以 Transilitin (13) 和 Okanin (7) 較其他兩者優，且優於藥用之降尿酸藥—安樂普利諾 (Allopurinol)，上述兩者與抑制黃嘌呤氧化酶活性之相關係數皆為 0.78；而上述 4 種化合物總量與生物活性亦呈高度正相關，其與清除 DPPH 自由基活性及抑制黃嘌呤氧化酶活性之相關係數分別為 0.87 及 0.79，並證實上述 4 種酚類化合物為相思樹生物活性之主要來源。

目前較少文獻著墨於單株樹木不同高度 (縱向) 或心材部位 (徑向) 之化合物含量差異分析，大部分著重於徑向木材物理性質 (木材比重、纖維長度、年輪寬和微纖維角等) 或木材化學性質 (纖維素、半纖維素、木質素、灰分和抽出物總含量等) 之差異分析。

學者 Nobuchi 和 Hasegawa (1994) 指出日本赤松 (*Pinus densiflora*) 中 Pinosylvin 及 Pinosylvin monomethyl ether 之含量於心邊材交界處大量產生，其分布差異呈不規律性由邊材至心材遞增，但兩種化合物分布差異趨勢一致，而本研究結果為不論樹高 4 種化合物分布差異趨勢皆相似；另外，學者 Niamké 等人 (2011) 以柚木 (*Tectona grandis* L. f.) 進行 5 種 Quinone 類化合物徑向分布差異之研究，其試材區分方式與本研究類似，共分 4 個區塊，分別為邊材、外層心材、中層心材及內層心材（並非以年輪區分），其研究結果顯示，柚木邊材之抽出物可偵測出少量的 Tectoquinone，而 2-(Hydroxymethyl) anthraquinone、Anthraquinone-2-carboxylic acid、Lapachol 和 1,4-Naphthoquinone 則未測得，而心材內部 Lapachol 和 1,4-Naphthoquinone 之含量無明顯差異，Tectoquinone、2-(Hydroxymethyl)anthraquinone 和 Anthraquinone-2-carboxylic acid 之含量以外層心材較多，愈往心材內部，含量隨之遞減。

總結成分定量可知，生物活性及成分分布差異有極大的相關性，並由上述文獻及本研究結果得知，生物活性成分於樹內的分布差異因樹木而異，且同一樹木不同化合物分布差異亦不同，唯一相同的是皆會大量出現在移行材處，並往心材累積。

八、相思樹黃酮類化合物之生合成與酵素關係

根據 Dewick (2009) 推測臺灣相思樹黃酮類化合物 (Flavonoids) 之生合成路徑如圖 32 所示，由 Cinnamoyl-CoA (1) 及 3 個 Malonyl-CoA (2) 以 Chalcone synthase (CHS) 產生一個聚酮類化合物 (Polyketide) (3)，經由折疊 (Folding) 轉換為化合物 (4)，再經由一次 CHS 及 Chalcone reductase (CHR) 作用，形成化合物 (5)，化合物 (5) 經脫氫 (Dehydration) 及烯醇化作用 (Enolization) 產生 Chalcone (6)，Chalcone (6) 經由 2-Oxoglutarate 形成 Okanin (7)，再經由 Chalcone isomerase 轉變成 7,8,3',4'-Tetrahydroxyflavaone (8)，化合物 (8)

經由 Flavanone 3-hydroxylase (F3H) 形成化合物 (9)，接著，從化合物 (9) 分成兩條路徑，其中，一條路徑由化合物 (9) 經 Dihydroflavonol reductase (DFR) 產生 Melacacidin (10)，再經 Methylation 形成 4'-O-Methyl-melacacidin (11)；另外，一條路徑則由化合物 (9) 經 Flavonol synthase (FLS) 產生化合物 (12)，再經 Methylation 形成 Transilitin (13)。



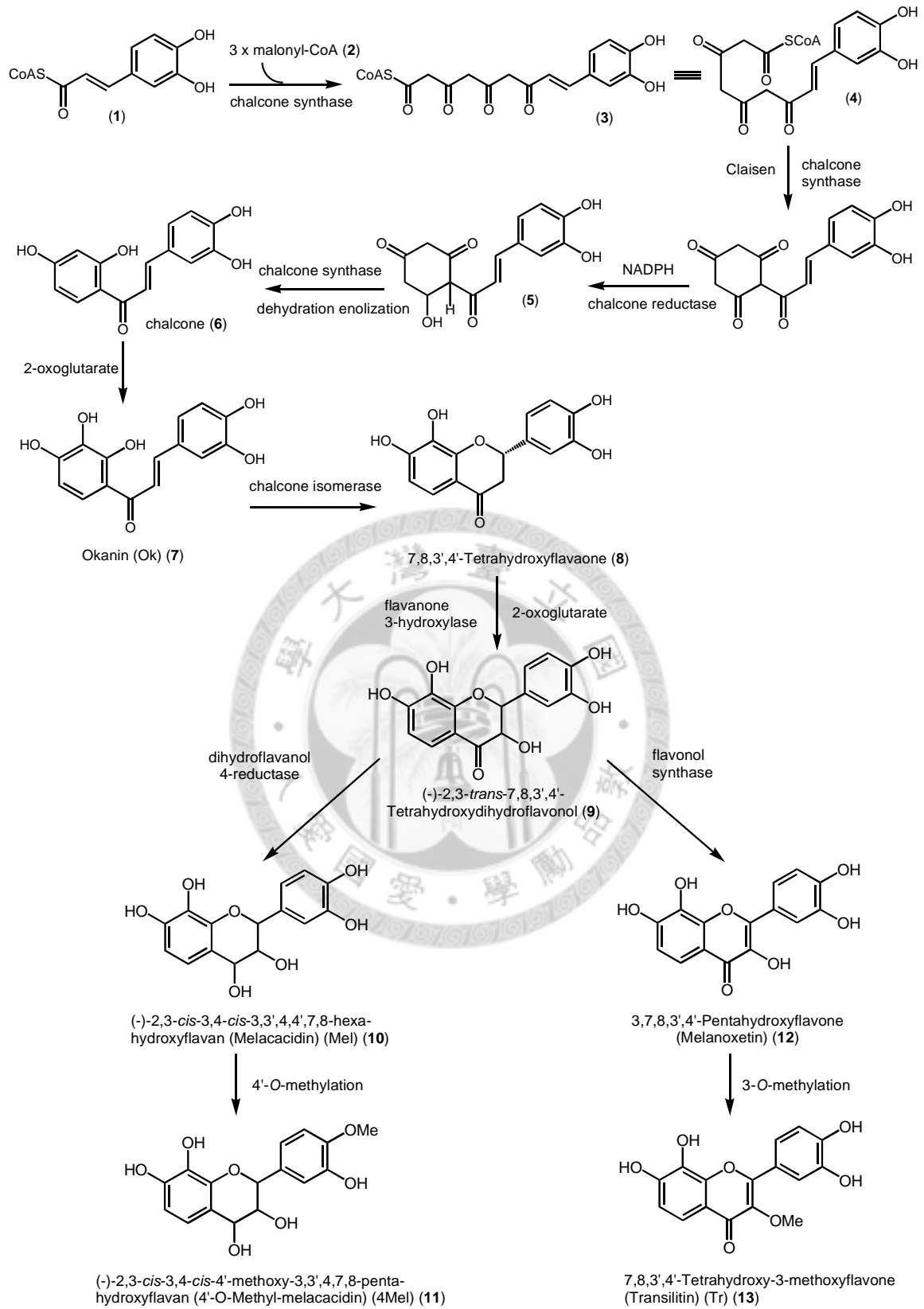


圖 32 臺灣相思樹黃酮類可能之生合成路徑

Fig. 32 Possible flavonoids biosynthesis pathway of *A. confusa*

根據本研究黃酮類定量之結果可知，Melacacidin (10) 和 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 為相思樹抽出物之主成分，推測相思樹黃酮類生合成路徑以生成上述兩化合物為主，由圖 32 可知相思樹黃酮類生合成路徑中有許多參與合成之重要酵素，如：CHS、CHR、F3H、DFR 和 FLS，進而推測化合物 (9) 分別經由酵素 DFR 和 FLS 作用而分成兩條生合成路徑，由本研究黃酮類定量之結果推測相思樹中酵素 DFR 的活性 > FLS 的活性，因此形成 Melacacidin (10) 和 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 的含量大於 Transilitin (13)；而 Okanin (7) 為黃酮類生合成路徑之中間產物 (Intermedium)，且位於生合成路徑之前端，推測大部分 Okanin (7) 皆轉變為其他黃酮類化合物，所以其含量甚少。

抽出物於移行材 (TZ) 生成，因此移行材會產生大量的酚類物質；並隨著移行材不斷分裂出新細胞，較老舊的細胞死亡後，則形成所謂的木材，並往樹木內部堆積，心材就此形成，同時抽出物也開始堆積，因此心材各部位抽出物含量不同。根據黃酮類定量之結果顯示，邊材中上述 4 種化合物含量明顯少於心材或移行材 (TZ)，最多可差 50 倍；相較於邊材，上述 4 種化合物含量皆於移行材 (TZ) 突然大量產生，並向心材內累積，且本研究結果與 Niamké 等人 (2011) 研究結果相似；靠髓心之心材抽出物較外層心材少，或儲存時間及儲存環境等因素，造成內部心材之抽出物減少，確切原因尚須進一步研究。

學者亦對黃酮類生合成路徑進行生化相關之研究，而酚類生合成路徑中重要的酵素有 Cinnamate 4-hydroxylase (C4H)、4-Coumarate CoA ligase (4CL)、CHS、F3H 和 DFR 等，並探討重要酵素之結構基因 (Structural genes) 的表現量，由 Yang 等人 (2003) 對刺槐 (*R. pseudoacacia*) 的研究結果得知，黃酮類生合成結構基因之表現量皆於移行材 (TZ) 上調。

Yang 等人 (2003) 的研究結果指出移行材 (TZ) CHS 的表現量較樹皮 (形成層) 及邊材高，分別高出約 5 及 4 倍，F3H 的表現量也各高出 3 倍，DFR 的

表現量分別高出 7 及 6 倍，*F3'5'H* 的表現量各高出約 5 倍；而基因表現量又與酵素活性及抽出物含量有緊密之相關性，根據本研究黃酮類定量之結果顯示，移行材之黃酮類含量皆明顯高於邊材含量之數倍，藉由 Yang 等人（2003）研究結果可證實移行材與邊材抽出物含量差異之原因。而 Flavonoid 3',5'-hydroxylase (*F3'5'H*) 可使 Dihydroflavonols 產生 3',5'-Hydroxylation，並生成一紫色原花青之前驅物，由此可知，移行材 (TZ) 處此基因表現量上調與心材顏色加深具有相關性。

綜合上述研究，由抽出物分布差異或基因表現量分析，皆可佐證抽出物於移行材大量產生，並開始向心材內累積，造成心材不同位置之累積量不同，且不同樹種皆同；但目前累積的機制尚未明確，且隨樹種及調控抽出物之酵素不同而有不同的機制，這些皆值得未來更進一步分析探討。



伍、結論

本研究探討相思樹抽出物抗氧化活性及抑制黃嘌呤氧化酶活性之徑、縱向分布差異，以利了解相思樹抽出物酚類化合物與生物活性之相關性。由本研究結果顯示，相思樹心材之總酚類含量介於 14.5–46.8 mg GAE/g of wood，且總酚類含量皆為愈靠近基部處最多，縱向分布隨高度增加而遞減；相思樹心材之總黃酮類含量介於 0.8–2.2 mg QE/g of wood，總黃酮類含量則由邊材往髓心遞增，而縱向分布差異為中段 (P4) 較高；相思樹心材抽出物清除 DPPH 及超氧自由基之 IC₅₀ 值分別為 6.5–13.5 µg/mL 及 0.9–2.2 µg/mL，亦證實相思樹心材具有極佳之抗氧化活性；經由統計結果顯示，總酚類含量及總黃酮類含量皆與抗氧化活性呈正相關。抑制黃嘌呤氧化酶活性愈往邊材愈差，活性差異與總黃酮類分布差異趨勢相似，且兩者具有高度正相關性。

相思樹抽出物具有生物活性之酚類化合物有 Melacacidin (10)、4'-O-Methyl-melacacidin (11)、Transilitin (13) 及 Okanin (7)，前兩者為相思樹心材抽出物之主要成分，相思樹心材 Melacacidin (10) 與 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 之含量分別介於 15.9–28.4 mg/g of wood 及 11.6–19.1 mg/g of wood，且總體趨勢為愈靠近頂部及心材外層則含量越多，Transilitin (13) 及 Okanin (7) 含量分別介於 3.6–11.4 mg/g of wood 及 0.6–3.0 mg/g of wood，而整體趨勢為愈靠近基部較多。而相思樹徑縱向及向抽出物清除 DPPH 自由基之能力與上述 4 種化合物分布具有高度正相關，又以 DPPH 與 Melacacidin (10) 和 4'-O-Methyl-melacacidin (11) 具有高度相關性，其相關係數分別為 0.89 和 0.85；抑制 XOD 活性與 Transilitin (13) 和 Okanin (7) 具有高度相關性，其相關係數皆為 0.78；4 種化合物含量加總與生物活性亦呈高度正相關，並證實上述 4 種酚類化合物為相思樹生物活性之主要來源。

成分定量之結果得知，相較於邊材，抽出物皆於移行材大量產生，並往心材

內累積，而相思樹中 4 種黃酮類化合物含量最多處皆不一致，Melacacidin (10) 於 P5-HM 含量最多，4'-O-Methyl-melacacidin (11) 於 P4-HO 含量最多，Transilitin (13) 於 P4-HM 含量最多，Okanin (7) 於 P4-HI 含量最多，可能與累積機制或速度有關，而目前抽出物累積機制亦是許多專家學者研究的目標，所以此部分仍尚待進一步研究。



陸、參考文獻

- 丁昭義 (1983) 木材化學。國立編譯館。308 頁。
- 王松永、丁昭義 (1984) 林產學上冊。臺灣商務印書館。639 頁。
- 王升陽、徐麗芬、楊寧蓀 (2003) 傳統與科技結合—藥用與保健植物新發展。科學發展 364：50-55。
- 王升陽 (2007) 躲在香料裡的精靈。科學發展 418：6-9。
- 林修賢、蕭英倫、張上鎮 (2008) 相思樹葉子抽出物抗氧化活性之初探。中華林學季刊 41 (2)：249-263。
- 李漢中、鄭森松、劉如芸、張上鎮 (2003) 不同地理品系土肉桂葉子精油之化學多態性。中華林學季刊 36 (4)：411-422。
- 李興進 (2004) 青脆枝栽培簡介。國立嘉義大學中草藥研發中心。嘉義，臺灣。pp. 11-12。
- 李培芬 (2007) 臺灣的自然資源與生態資料庫 III 農林漁牧。行政院農業委員會林務局。215 頁。
- 吳永昌、蘇燦隆 (2004) 抗癌天然藥物的研發。化學 62 (2)：173-186。
- 何政坤 (2003) 臺灣紅豆杉—抗癌藥物紫杉醇的另一個家。科學發展 364：22-29。
- 何政坤、張淑華 (2007) 利用青脆枝優良種苗枝葉生產喜樹鹼。林業研究專訊 14 (1)：35。
- 林勝傑，謝堂州 (1991) 溶劑萃取後之木塊對香菇菌生長之影響。林業試驗所研究報告季刊 6 (3)：329-337。
- 張豐吉、杜明宏 (1988) 臺灣重要樹種化學性質之研究 (1) 正常材與反應材性值之比較。中華林學季刊 21 (1)：77-85。
- 張上鎮、王升陽、吳季玲 (2000) 臺灣杉木酚素之抗腫瘤潛力評估。中華林學季

- 刊 33 (2) : 277-282。
- 張上鎮、鄭森松、王升陽 (2009a) 土肉桂飄香—葉子的神奇功效及應用。臺灣林業 35 (1) : 116-122。
- 張上鎮 (2009b) 相思樹心材之新用途—抗氧化與抗發炎功效。林業研究專訊 6 (16) : 1-4。
- 張淑華、何政坤 (2008) 利用毛狀根生產喜樹鹼。林業研究專訊 15 (3) : 50。
- 胡大維、林耀堂、何政坤 (1985) 臺灣土肉桂葉部精油化學成分之天然變異。臺灣省林業試驗所抽印本 78 : 296-313。
- 陳品方、張上鎮、吳懷慧 (2002) 土肉桂葉部精油及其成分之抗蟎活性。中華林學季刊 35 (4) : 397-403。
- 陳正和 (2002) 臺灣最普遍的森林喬木之一—相思樹。臺灣林業 28 : 59-61。
- 許立昇、古惠菁、張惠婷、張上鎮 (2009) 臺灣杉心材與土肉桂葉子應用於植物病原真菌防治之評估。中華林學季刊 42 (3) : 411-420。
- 楊玲玲 (2004) 青脆枝之天然物成分研究。國立嘉義大學中草藥研發中心。嘉義，臺灣。pp. 5-6。
- 楊士平、李慶國 (2009) 喜樹鹼及其衍生物的歷史回顧及展望。化學 67 (1) : 45-60。
- 賴明洲 (1991) 臺灣地區植物紅皮書—稀有及瀕危植物種類之認定與保護等級之評定。台北市行政院農委會。113 頁。
- 鍾德生，蔡崇煌 (2006) 尿酸：在心血管疾病中的角色。基層醫學 21 (10) : 268-272。
- Agrawal, N. K., S. Kumar, S. P. Singh, S. Singh and I. P. Jain (2008) Hypoglycemic activity of dried seeds of *Acacia tortilis*. Indian J. Pharmacol. 40: 182-182.
- Ammar, R. B., M. B. Sghaier, J. Boubaker, W. Bhourri, A. Naffeti, I. Skandrani, I.

- Bouhleb, S. Kilani, K. Ghedira and L. Chekir-Ghedira (2008) Antioxidant activity and inhibition of aflatoxin B₁-, nifuroxazide-, and sodium azide-induced mutagenicity by extracts from *Rhamnus alaternus* L. Chem.-Biol. Interact. 174(1): 1-10.
- Amusant, N., J. Beauchene, M. Fournier, G. Janin and M.F. Thevenon (2004) Decay resistance in *Dicorynia guianensis* Amsh.: analysis of inter-tree and intra-tree variability and relations with wood colour. Ann. For. Sci. 61: 373-380.
- Anagnost, S. E. and W. B. Smith. (1997) Comparative decay sapwood and heartwood of red maple. Wood and Fiber Sci. 29(2): 189-194.
- Asami, D. K., Y. J. Hong, D. M. Barrett and A. E. Mitchell (2003) Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. J. Agric. Food Chem. 51(5): 1237-1241.
- Albert, L., T. Hofmann, Z. I. Nemeth, T. Retfalvi, J. Koloszar, S. Varga and I. Csepregi (2003) Radial variation of total phenol content in beech (*Fagus sylvatica* L.) wood with and without red heartwood. Holz Als Roh-und Werkst. 61(3): 227-230.
- Bamber, R. K. (1976) Heartwood, its function and formation. Wood Sci. Technol. 10(1):1-8.
- Barz, W., W. Bless, G. Borger-Papendorf, W. Gunia, U. Mackenbrock, D. Meier, C. Otto and E. Super (1990) Phytoalexins as part of induced defence reactions in plants: their elicitation, function and metabolism. Ciba Found. Symp. 154: 140-156.
- Berboucha, M., K. Ayouni, D. Atmani and M. Benboubetra (2010) Kinetic study on the inhibition of xanthine oxidase by extracts from two selected Algerian plants

- traditionally used for the treatment of inflammatory diseases. *J. Med. Food* 13(4): 896-904.
- Bradbury, G. J., B. M. Potts and C. L. Beadle (2010) Quantifying phenotypic variation in wood colour in *Acacia melanoxylon* R.Br. *Forestry* 83:153-162.
- Bergström, B. (2003) Chemical and structural changes during heartwood formation in *Pinus sylvestris*. *Forestry* 76: 45-53.
- Beritognolo, I., E. Magel, A. Abdel-Latif, J. P. Charpentier, C. Jay-Allemand and C. Breton (2002) Expression of genes encoding chalcone synthase, flavanone 3-hydroxylase and dihydroflavonol 4-reductase correlates with flavanol accumulation during heartwood formation in *Juglans nigra*. *Tree Physiol.* 22(5): 291-300.
- Chang, S. T., D. S. Y. Wang, C. L. Wu, S. G. Shiah, Y. H. Kuo and C. J. Chang (2000) Cytotoxicity of extractives from *Taiwania cryptomerioides* heartwood. *Phytochemistry* 55(3): 227-232.
- Chang, S. T., J. H. Wu, S. Y. Wang, P. L. Kang, N. S. Yang and L. F. Shyur (2001a) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *J. Agric. Food Chem.* 49(7): 3420-3423.
- Chang, S. T., P. F. Chen and S. C. Chang (2001b) Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmac.* 77(1): 123-127.
- Chang, T. C., H. T. Chang, C. L. Wu and S. T. Chang (2010a) Influences of extractives on the photodegradation of wood. *Polym. Degrad. Stabil.* 95(4): 516-521.
- Chang, T. C., H. T. Chang, C. L. Wu, H. Y. Lin and S. T. Chang (2010b) Stabilizing effect of extractives on the photo-oxidation of *Acacia confusa* wood. *Polym.*

- Degrad. Stabil. 95(9): 1518-1522.
- Carrodus, B. B. (1972) Variability in the proportion of heartwood formed in woody stems. *New Phytol.* 71: 713-718.
- Chen, H., M. Zhang and B. Xie (2005) Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea. *Food Chem.* 90(1-2): 17-21.
- Chien, S. C., C. W. Yang, Y. H. Tseng, H. S. Tsay, Y. H. Kuo and S. Y. Wang (2009) *Lonicera hypoglauca* inhibits xanthine oxidase and reduces serum uric acid in mice. *Planta Med.* 75(4): 302-306.
- Cheng, S. S., J. Y. Lin, Y. R. Hsui and S. T. Chang (2006) Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). *Bioresour. Technol.* 97: 306-312.
- Cheng, S. S., J. Y. Liu, C. Y. Lin, Y. R. Hsui, M. C. Lu, W. J. Wu and S. T. Chang (2008) Terminating red imported fire ants using *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil. *Bioresour. Technol.* 99(4): 889-893
- Cheng, S. S., J. Y. Liu, C. G. Huang, Y. R. Hsui, W. J. Chen and S. T. Chang (2009) Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three *mosquito* species. *Bioresour. Technol.* 100(1): 457-464.
- Chou, C. H., C. Y. Fu, S. Y. Li and Y. F. Wang (1998) Allelopathic potential of *Acacia confusa* and related species in taiwan. *J. Chem. Ecol.* 24: 2131-2150.
- Chua, M. T., Y. T. Tung and S. T. Chang (2008) Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. *Bioresour. Technol.* 99(6): 1918-1925.
- Ciddi, V. and M. L. Shuler (2000) Camptothecine from callus cultures of *Nothapodytes foetida*. *Biotechnol. Lett.* 22(2): 129-132.

- Dastmalchi, K., H. J. Damien Dorman, M. Kosar and R. Hiltunen (2007) Chemical composition and *in vitro* antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. LWT - Food Sci. Technol. 40(2): 239-248.
- DeBell, J., J. J. Morrell and B. L. Gartner (1999) Within-stem variation in tropolone content and decay resistance of second-growth western red-cedar. Forest Sci. 45(2): 101-107.
- Dewick, P. M. (2009) Medicinal natural products-A biosynthetic approach. pp.168-171. John Wiley and Sons, Ltd., United Kingdom.
- Dung, N. T., V. K. Bajpai, A. Rahman, J. I. Yoon and S. C. Kang (2011) Phenolic contents, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of *Lonicera japonica* thumb. J. Food Biochem. 35(1): 148-160.
- Falade, O. S., A. S. Adekunle, M. A. Aderogba, S. O. Atanda, C. Harwood and S. R. Adewusi (2008) Physicochemical properties, total phenol and tocopherol of some *Acacia* seed oils. J. Sci. Food Agric. 88: 263-268.
- Fulzele, D. P., R. K. Satdive and B. B. Pol (2001) Growth and production of camptothecin by cell suspension cultures of *Nothapodytes foetida*. Planta Med. 67(1): 150-152.
- Ganesh, T., S. Saikat, C. Raja, K. S. V. Suresh, H. G. Raghavendra, M. Sevukarajan, M. Joydeb and D. Biplab (2010) *In vitro* antioxidant activity of *Meyna laxiflora* seeds. International Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences 1(1): 5-8.
- Gray, J (2004). Programmed cell death in plants. CRC press., Boca Raton CRC Press., Florida. 306 pp.
- Guo, S., Q. Deng, J. Xiao, B. Xie and Z. Sun (2007) Evaluation of antioxidant activity and preventing DNA damage effect of pomegranate extracts by

- chemiluminescence method. *J. Agric. Food Chem.* 55(8): 3134-3140.
- Hsieh, C. Y. and S. T. Chang (2010) Antioxidant activities and xanthine oxidase inhibitory effects of phenolic phytochemicals from *Acacia confusa* twigs and branches. *J. Agric. Food Chem.* 58(3):1578-1583.
- Höll, W. and K. Lenzian (1973) Respiration in the sapwood and heartwood of *Robinia pseudoacacia*. *Phytochemistry* 12: 975-977.
- Ho, P. J., C. K. Chou, Y. H. Kuo, L. C. Tu and S. F. Yeh (2007) Taiwanin A induced cell cycle arrest and p53-dependent apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Life Sci.* 80(5): 493-503.
- Hillis, W. E. (1962) Wood extractives and their significance to the pulp and paper industries, pp.67-71. Academic Press, New York. 513 pp.
- Hillis, W. E. (1971) Distribution, properties and formation of some wood extractives. *Wood Sci. Technol.* 5(4): 272-289.
- Huang, Z. L., C. J. Tsai, S. A. Harding, R. Meilan and K. Woeste (2010) A cross-species transcriptional profile analysis of heartwood formation in black walnut. *Plant Mol. Biol. Rep.* 28(2): 222-230.
- Imai, T. (2012) Chemistry of Heartwood Formation. *Mokuzai Gakkaishi.* 58(1): 11-22.
- Ingram, L., R. Shmulsky, A. Dalton, F. W. Taylor and M. C. Templeton (2000) The measurement of volatile organic emissions from drying southern pine lumber in a laboratory-scale kiln. *Forest Prod. J.* 50(4): 91-94.
- Ivanova, D., D. Gerova, T. Chervenkov and T. Yankova (2005) Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 96(1-2): 145-150.
- Karaosmanoglu, H., F. Soyer, B. Ozen and F. Tokatli (2010) Antimicrobial and

- antioxidant activities of Turkish extra virgin olive oils. *J. Agric. Food Chem.* 58(14): 8238-8245.
- Kawato, Y., M. Aonuma, Y. Hirota, H. Kuga and K. Sato (1991) Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. *Cancer Res.* 51(16): 4187-4191.
- Kirby, A. J. and R. J. Chmidt (1997) The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs-1. *J. Ethnopharmacol.* 56: 103-108.
- Kong, L. D., Y. Caia, W. W. Huang, H. K. C. Christopher and R. X. Tan (2000) Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *J. Ethnopharmacol.* 73: 199-207.
- 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. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5338-5342.
- Lam, S. K. and T. B. Ng (2010a) A dimeric high-molecular-weight chymotrypsin inhibitor with antitumor and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from seeds of *Acacia confusa*. *Phytomedicine* 17(8-9): 621-625.
- Lam, S. K. and T. B. Ng (2010b) Acaconin, a chitinase-like antifungal protein with cytotoxic and anti-HIV-1 reverse transcriptase activities from *Acacia confusa* seeds. *Acta Biochim. Pol.* 57(3): 299-304.
- Lee, T. H. and C. H. Chou (2000) Flavonoid aglycones and indole alkaloids from the roots of *Acacia confusa*. *J. Chin. Chem. Soc.* 47(6): 1287-1290.
- Lee, J. C., W. C. Chen, S. F. Wu, C. K. Tseng, C. Y. Chiou, F. R. Chang, S. H. Hsu and Y. C. Wu (2011) Anti-hepatitis C virus activity of *Acacia confusa* extract via suppressing cyclooxygenase-2. *Antiviral Res.* 89(1): 35-42.

- Leo, L., A. Leone, C. Longo, D. A. Lombardi, F. Raimo and G. Zacheo (2008) Antioxidant compounds and antioxidant activity in “early potatoes”. *J. Agric. Food Chem.* 56(11): 4154-4163.
- Magel, E., C. Jayallemand and H. Ziegler (1993) Formation of heartwood substances in the stemwood of *Robinia pseudoacacia* L. II. Distribution of nonstructural carbohydrates and wood extractives across the trunk. *Trees* 8: 165-171.
- Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy and L. Jimenez (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79(5): 727-747.
- Manigauha, A., H. Ali and M. U. Maheshwari (2009) Antioxidant activity of ethanolic extract of *Piper betel* leaves. *J. Pharm. Res.* 2(3): 491-494.
- Malan, E. (1993) 7,8,4'-Trihydroxy-3,3'-dimethoxyflavone from the heartwood of *Acacia nigrescens*. *Phytochemistry* 33(3): 733-734.
- McSweeney, C. S., J. Gough, L. L. Conlan, M. P. Hegarty, B. Palmer and D. O. Krause (2005) Nutritive value assessment of the tropical shrub legume *Acacia angustissima*: anti-nutritional compounds and *in vitro* digestibility. *Anim. Feed Sci. Technol.* 121: 175-190.
- Mukoda, T., B. X. Sun and A. Ishiguro (2001) Antioxidant activities of buckwheat hull extract toward various oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Pharm. Bull.* 24(3): 209-213.
- Nadkarni, M. V., J. L. Hartwell, P. B. Maury and J. Leiter (1953) Components of podophyllin. XI. isolation of two new compounds from *Podophyllum emodi* Wall. *J. Am. Chem. Soc.* 75(6): 1308-1312.
- Niamké, F., N. Amusant, J. P. Charpentier, G. Chaix, Y. Baissac, N. Boutahar, A. Adima, S. Kati-Coulibaly and C. Jay-Allemand (2011) Relationships between biochemical attributes (non-structural carbohydrates and phenolics) and natural

- durability against fungi in dry teak wood (*Tectona grandis* L. f.). Ann. Forest Sci. 68(1): 201-211.
- Nickavar, B., M. Kamalinejad and H. Izadpanah (2007) *In vitro* free radical scavenging activity of five *Salvia* species. Pak. J. Pharm. Sci. 20(4): 291-294.
- Nikolova, M., C. Gussev and T. Nguyen (2010) Evaluation of the antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. Biotechnol. Biotechnol. Equip. 24(2): 101-103.
- Nobuchi, T. and J. Hasegawa (1994) Radial distribution of heartwood phenols and the cytological changes of ray parenchyma cells associated with heartwood formation in Japanese red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.). Bull. Kyoto Univ. For. 66: 132-142.
- Odenyo, A. A., P.O. Osuji, O. Karanfil and K. Adinew (1997) Microbiological evaluation of *Acacia angustissima* as a protein supplement for sheep. Anim. Feed Sci. Tech. 65: 99-112.
- Odenyo, A. A., P. O. Osuji, J. D. Reed, A. H. Smith, R. I. Mackie, C. S. McSweeney and J. Hanson (2003) *Acacia angustissima*: its anti-nutrients constituents, toxicity and possible mechanisms to alleviate the toxicity - a short review. Agroforest Syst. 59: 141-147.
- Parthasarathy, S., J. Bin Azizi, S. Ramanathan, S. Ismail, S. Sasidharan, M. I. Said and S. Mansor (2009) Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. Molecules 14(10): 3964-3974.
- Ray, D., Kh. Sharatchandra and I. S. Thokcham (2006) Antipyretic, antidiarrhoeal, hypoglycaemic and hepatoprotective activities of ethyl acetate extract of *Acacia catechu* Willd. in albino rats. Indian J. Pharmacol. 38: 408-413.

- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26:1231-1237.
- Roja, G. and M. R. Heble (1994) The quinoline alkaloids camptothecin and 9-methoxycamptothecin from tissue cultures and mature trees of *Nothapodytes foetida*. *Phytochemistry* 36(1):65-66.
- 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. *J. Agric. Food Chem.* 44(1): 37-41.
- Scheffer, T. C. and E. B. Cowling (1966) Natural resistance of wood to microbial deterioration. *Annu. Rev. Phytopathol.* 4: 147-170.
- Stoilova, I., A. Krastanov, A. Stoyanova, P. Denev and S. Gargova (2007) Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chem.* 102: 764-770.
- Sharma, R. D. (1985) Hypoglycemic effect of gum *Acacia* in healthy human subjects. *Nutr. Res.* 5: 1437-1441.
- Shah, J. J., S. Baqui, R. C. Pandalai and K. R. Patel (1981) Histochemical changes in *Acacia nilotica* L. during transition from sapwood to heartwood. *Iawa Bulletin* 2(1): 31-36.
- Shen, Y. C., S. S. Wang, Y. L. Pan, K. L. Lo, R. Chakraborty, C. T. Chien, Y. H. Kuo and Y. C. Lin (2002) New taxane diterpenoids from the leaves and twigs of *Taxus sumatrana*. *J. Nat. Prod.* 65(12): 1848-1852.
- Shigo, A. L. and W. E. Hillis (1973) Heartwood, discolored wood, and microorganisms in living trees. *Annu. Rev. Phytopathol.* 11: 197-222.
- Shirwaikar, A., K. Rajendran and I. S. R. Punitha (2006) *In vitro* antioxidant studies

- on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biol. Pharm. Bull.* 29(9): 1906-1910.
- Taylor, A. M., B. L. Gartner and J. J. Morrell (2002) Heartwood formation and natural durability: a review. *Wood Fiber Sci.* 34 (4): 587-611.
- Thompson, A., J. Cooper and L. Ingram (2006) Distribution of terpenes in heartwood and sapwood of loblolly pine. *Forest Prod. J.* 56(7/8): 46-48.
- Tung, Y. T., J. H. Wu, C. C. Huang, H. C. Peng, Y. L. Chen, S. C. Yang and S. T. Chang (2009a) Protective effect of *Acacia confusa* bark extract and its active compound gallic acid against carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats. *Food Chem. Toxicol.* 47(6): 1385-1392.
- Tung, Y. T., J. H. Wu, C. Y. Huang, Y. H. Kuo and S. T. Chang (2009b) Antioxidant activities and phytochemical characteristics of extracts from *Acacia confusa* bark. *Bioresour. Technol.* 100(1): 509-514.
- Tung, Y. T. and S. T. Chang (2010a) Inhibition of xanthine oxidase by *Acacia confusa* extracts and their phytochemicals. *J. Agric. Food Chem.* 58(2): 781-786.
- Tung, Y. T., C. A. Hsu, C. S. Chen, S. C. Yang, C. C. Huang and S. T. Chang (2010b) Phytochemicals from *Acacia confusa* heartwood extracts reduce serum uric acid levels in oxonate-induced mice: their potential use as xanthine oxidase inhibitors. *J. Agric. Food Chem.* 58(18):9936-9941.
- Tung, Y. T., W. C. Chang, P. S. Chen, T. C. Chang and S. T. Chang (2011) Ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Acacia confusa* flowers and buds. *J. Sep. Science* 34: 844-851.
- Quettier-Deleu, C., B. Gressier, J. Vasseur, T. Dine, C. Brunet, M. Luyckx, M. Cazin, J. C. Cazin, F. Bailleul and F. Trotin (2000) Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J.*

Ethnopharmacol. 72:35-42.

- Venalainen, M., A. M. Harju, P. Kainulainen, H. Viitanen and H. Nikulainen (2003) Variation in the decay resistance and its relationship with other wood characteristics in old Scots pines. *Ann. Forest Sci.* 60: 409-417.
- Wang, S. Y., J. H. Wu, L. F. Shyur, Y. H. Kuo and S. T. Chang (2002) Antioxidant activity of abietane-type diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Holzforschung* 56(5): 487-492.
- Wang, S. Y., J. H. Wu, S. S. Cheng, C. P. Lo, H. N. Chang, L. F. Shyur and S. T. Chang (2004) Antioxidant activity of extracts from *Calocedrus formosana* leaf, bark, and heartwood. *J. Wood Sci.* 50(5): 422-426.
- Wang, S. Y., P. F. Chen and S. T. Chang (2005) Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresour. Technol.* 96(7): 813-818.
- Wang, S. Y., C. W. Yang, J. W. Liao, W. W. Zhen, F. H. Chu and S. T. Chang (2008) Essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* acts as a xanthine oxidase inhibitor and reduces the serum uric acid levels in oxonate-induced mice. *Phytomedicine* 15(11): 940-945.
- Wall, M. E., M. C. Wani, C. E. Cook, K. H. Palmer, A. T. McPhail and G. A. Sim (1966) Plant antitumor agents. I. The isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.* 88(16): 3888-3890.
- Wu, J. H., Y. T. Tung, S. Y. Wang, L. F. Shyur, Y. H. Kuo and S. T. Chang (2005) Phenolic antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *J. Agric. Food Chem.* 53: 5917-5921.
- Wu, J. H., Y. T. Tung, S. C. Chien, S. Y. Wang, Y. H. Kuo, L. F. Shyur and S. T.

- Chang (2008) Effect of phytochemicals from the heartwood of *Acacia confusa* on inflammatory mediator production. *J. Agric. Food Chem.* 56(5): 1567-1573.
- Yang, J. M., S. Park, D. P. Kamdem, D. E. Keathley, E. Retzel, C. Paule, V. Kapur and K. H. Han (2003) Novel gene expression profiles define the metabolic and physiological processes characteristic of wood and its extractive formation in a hardwood tree species, *Robinia pseudoacacia*. *Plant Mol. Biol.* 52(5): 935-956.
- Yoshida, K., N. Futamura, M. Nishiguchi (2012) Collection of expressed genes from the transition zone of *Cryptomeria japonica* in the dormant season. *J. Wood Sci.* 58(2): 89-103.

