

新引進藥用植物之活性分析初步研究¹

郭肇凱²、張隆仁²、楊豐旭³、許輔³、陳榮五²

摘 要

本研究配合推動藥用植物之GAP栽培技術整體計畫，針對奶薊子(*Silybum marianum* L., SM)、香蜂草(*Melissa officinalis* L., MO)、紫錐菊(*Echinacea purpurea* L., EP)、小白菊(*Tanacetum parthenium* L., TM)、紅花三葉草(*Trifolium pratense* L., TE)與琴葉鼠尾草(*Salvia lyrata* L., SL)等六項新引進藥用植物進行抗氧化、體外免疫調節、抑制腫瘤細胞等生理活性試驗。在抗氧化分析方面，各植物水萃物之凍乾樣品在清除DPPH自由基能力、ORAC當量數、TEAC值測定等之比較結果，皆為香蜂草>琴葉鼠尾草>紫錐菊>紅花三葉草>小白菊>奶薊子，與樣品總酚類含量有正相關，其中又以香蜂草之抗氧化力最佳。在體外免疫調節試驗方面，以紫錐菊、紅花三葉草及奶薊子三種草藥水萃物之活化巨噬細胞RAW 264.7產生NO效果最佳，刺激巨噬細胞RAW 264.7產生TNF- α 則以香蜂草、琴葉鼠尾草及小白菊效果最為顯著。在抑制肝腫瘤細胞株之活性分析方面，對肝癌細胞Hep 3B及Hep G2之毒殺能力皆不顯著。

關鍵字：藥用植物、奶薊子、香蜂草、紫錐菊、小白菊、紅花三葉草、琴葉鼠尾草、抗氧化、免疫調節、抑癌。

前 言

人類自古而來即常使用植物於預防疾病或醫療保健等用途，由於其藥用功效多為民間經驗積累而成而缺乏科學性的驗效，因此這些植物所宣稱的保健性在講求證據的現代社會中便受到了相當的質疑。近年來養生之道大為盛行，於日常生活中攝取具有保健機能的天然食品遂成為現代人的需求，開發天然來源的藥用植物亦成了興起的風潮，因此民間流傳的藥用植物又漸漸受到重視。台灣農業過去對於藥用植物栽培模式建立之研究鮮少報告，亟需經由可行性之研究建立基礎，以因應台灣和國際間新興的保健或健康食品之發展。本研究自新引進藥用植物中篩選出具有發展潛力的藥用植物，包括奶薊子、香蜂草、紫錐菊、小白菊、紅花三葉草與琴葉鼠尾草等六項藥用植物，對於動物細胞生理活性進行試驗分析，包括抗氧化、體外免疫調節以及腫瘤細胞之影響等方面，以了解其實際的機能性，並促進具潛力之藥用植

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0653 號。

² 行政院農業委員會臺中區農業改良場國防訓儲研究助理、副研究員、場長。

³ 國立臺灣大學園藝學研究所碩士班研究生、副教授。

物的資源開發與永續利用，提供國人健康與農業經濟的利益。茲將試驗材料部分背景簡介如後：

1. 奶薊子(學名：*Silybum marianum* L., SM)已有兩千多年的醫療歷史，常被用做治療肝病或解毒之用，相關研究發現奶薊萃取物可清除自由基與避免脂質氧化等⁽⁶⁾。
2. 香蜂草(學名：*Melissa officinalis* L., MO)為唇形花科多年生草本植物，原產溫帶的中東地區，隨後迅速遍及亞洲及地中海國家，常用為發汗劑、鎮定劑或是抗菌劑。相關研究指出其萃取物可抑制病毒於人體的複製、降血脂以及護肝的功效⁽⁴⁾。
3. 紫錐菊(學名：*Echinacea purpurea* L., EP)為北美原生之菊科多年生植物，20世紀初期即開始被廣泛作為藥用。外用治療如蛇蟲咬傷、皮膚外傷，內用如喉嚨痛、扁桃腺炎及牙痛等。近年也有研究指出紫錐菊萃取物可提高免疫調節活性與活化巨噬細胞等功能⁽³⁾。
4. 小白菊(學名：*Tanacetum parthenium* L., TM)又名解熱菊，原產於歐洲之矮性多年生草本植物，早於公元前即被用作藥草材料。小白菊在希臘醫學文獻的記載中是用來治療炎症和經痛的藥物。英國的傳統草藥醫生用來治療發燒、關節炎和其他痛楚。相關研究指出其萃取物具有清除自由基的能力以及抗發炎的功用⁽¹³⁾。
5. 紅花三葉草(學名：*Trifolium pratense* L., TE)為豆科植物，在東方與歐洲常當作藥物使用，如治療支氣管炎、濕疹、牛皮癬或當作利尿劑與解毒劑，相關的研究發現其具有多酚氧化酵素之基因，可能具有抗氧化能力之表現⁽¹¹⁾。
6. 琴葉鼠尾草(學名：*Salvia lyrata* L., SL)為唇形花科多年生草本植物，相關的生理活性研究並不多。

材料與方法

一、樣品萃取及製備

試驗材料選取包括奶薊子之地上部(包括種子)、香蜂草之地上部、紫錐菊之地上部(包括種子)、小白菊之地上部、紅花三葉草之花與琴葉鼠尾草之地上部。分別以70°C的一次水(1:10, w/v)浸泡8 hr後，再煮沸2 hr以獲得初萃液，過濾收集濾液，並將殘留物再加一次蒸餾水(1:6, w/v)煮沸2 hr後過濾，收集並混合所有濾液，於55°C減壓濃縮至固形物約10% (w/v)，於-85°C冷凍後以真空冷凍乾燥法獲得水萃物冷凍乾燥粉劑。

二、抗氧化力測定之相關分析

(一)總酚類含量測定

總酚量(total phenolic contents)之測定係採Folin-Ciocalteu法⁽⁸⁾，以沒食子酸(gallic acid)為標準品進行檢測。將0.5 mL的Folin-Ciocalteu試劑(1 N)與0.05 mL不同濃度樣品或標準品於微量離心管中混合均勻，而後加入1 mL 7.5%之 Na_2CO_3 溶液於室溫反應30 min後，以分光光度計測量波長730 nm吸光值，並根據吸光值與沒食子酸濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式。將樣品吸光值代入即可算出每克樣品於沒食子酸相對量(gallic acid equivalent, GAE)，並以此表示各水萃物之凍乾樣品中酚類化合物的總量。

(二)清除1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)自由基能力之測定

參考Gyamfi等人之試驗方法⁽⁷⁾，取1,000 μL DPPH乙醇溶液(0.2 mM)與50 μL 樣品混合均勻，避光反應30 min，之後以分光光度計測量517 nm吸光值。當DPPH自由基被清除愈多時，其吸光值則會下降愈多，利用相對於空白對照組的吸光值減少百分比，可判斷各樣品清除DPPH自由基能力之強弱。

(三)Trolox當量的抗氧化能力(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC)測定

參考Arnao等人的方法⁽²⁾，將0.25 mL peroxidase (4.4 U/mL), 0.25 mL 2, 2-azino-bis[3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS, 100 μM), 0.25 mL H_2O_2 (50 μM)以及1.5 mL去離子水混合均勻，反應10 min產生安定藍綠色之陽離子自由基，將0.1 mL之樣品液或標準品(Trolox)與0.9 mL之TEAC試劑混合後，於室溫反應10 min，以分光光度計測量734 nm之吸光值，根據吸光值與Trolox濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式，將樣品吸光值代入即可獲得樣品之TEAC值。

(四)活氧指數(Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)測定

參考Ou等人的方法⁽¹⁰⁾，5 μL 樣品或標準品Trolox，加入50 μL 螢光劑(48 nM fluorescein in 75 mM phosphate buffer, pH 7.0)，最後加入200 μL 反應液(2, 2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), 12.8 mM)，於室溫下以螢光光度計測量激發光波長/發散光波長=485 / 535 nm之值。反應係測定反應溶液之反應時間對螢光衰退面積與空白組面積之差，再與標準溶液做比較，根據標準曲線迴歸之公式換算樣品液的ORAC值。

三、體外免疫調節活性分析

(一)一氧化氮(Nitric Oxide, NO)之分析測定

將巨噬細胞株RAW 264.7以 5×10^5 cell/well之密度接種於96 well ELISA盤中，加入各樣品之PBS回溶液，濃度分別稀釋為300、150、75、37.5與0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，於37°C，5% CO_2 培養24 hr後，分別取細胞培養液以及一氧化氮標準品與Griess試劑反應，反應形成紫紅色產物於540 nm處具有最大吸光值，故以540 nm吸光值計算樣品亞硝酸根濃度，藉以測得樣品濃度計算其生成量⁽¹⁾。

(二)腫瘤壞死因子(Tumor Necrosis Factor alpha, TNF- α)之分析測定

將巨噬細胞株RAW 264.7以 5×10^5 cell/well之密度接種於96 well ELISA盤中，加入各樣品之PBS回溶液，濃度分別稀釋為300、150、75、37.5與0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，於37°C，5% CO_2 培養約24 hr後取細胞培養液以BD Pharmingen TNF- α OptEIA™ set套組進行定量分析。預先在96 well ELISA軟盤被覆(coating) 100 μL 之捕獲抗體(capture antibody)後，存放4°C靜置12 hr，而後以進行填塞作用(blocking) 1 hr以降低非特異性的干擾，清洗後加入不同樣品刺激後所取得之細胞培養液與標準品反應2 hr，經清洗後再加入偵測抗體(detection antibody)及酵素試劑(avidin-HRP)作用1 hr，清洗後以ABTS呈色系統呈色，最後測量405 nm之吸光值，藉以測得樣品濃度計算其生成量⁽¹⁾。

四、抑制肝腫瘤細胞株之活性分析

將肝癌細胞株Hep G2及Hep 3B分別以 1×10^4 cell/well之密度接種於96 well ELISA盤中，並加入不同濃度樣品之PBS回溶液，於37°C，5% CO₂之培養箱共同培養72 hr後，遂加入20 μL之3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)溶液試劑，繼續培養5 hr後，離心並移除培養基，等量補回DMSO放置5 min，以分光光度計測量540 nm之吸光值，而以僅加入培養基之控制組吸光值為100%活性表示，計算其他處理組之細胞活性百分比。

五、統計分析

每一處理進行三重複(triplicate, n=3)分析，所有試驗至少重複兩次(duplicate)，所得試驗數據以one-way ANOVA進行組間差異分析(Least Significant Difference, LSD)，若各處理組與對照組間兩組相符之機率 $p < 0.05$ ，則視為顯著差異。

結果與討論

一、各樣品抗氧化力之相關分析結果

(一)各樣品總酚類含量之比較

多酚類化合物普遍存於植物中，主要為植物的二級代謝產物，常被當作植物抗氧化力的指標⁽⁵⁾，各樣品總酚類含量比較結果如表一所示，含量最高者為香蜂草(170.1 mg/g)，其次為琴葉鼠尾草(76.3 mg/g)，再其次為紫錐菊(35.0 mg/g)，次少者為小白菊及紅花三葉草(22.0 mg/g)，含量最少者為奶薊子(15.6 mg/g)。

表一、各藥用植物學名與縮寫對照表以及其水萃物凍乾樣品之總酚類化合物含量分析

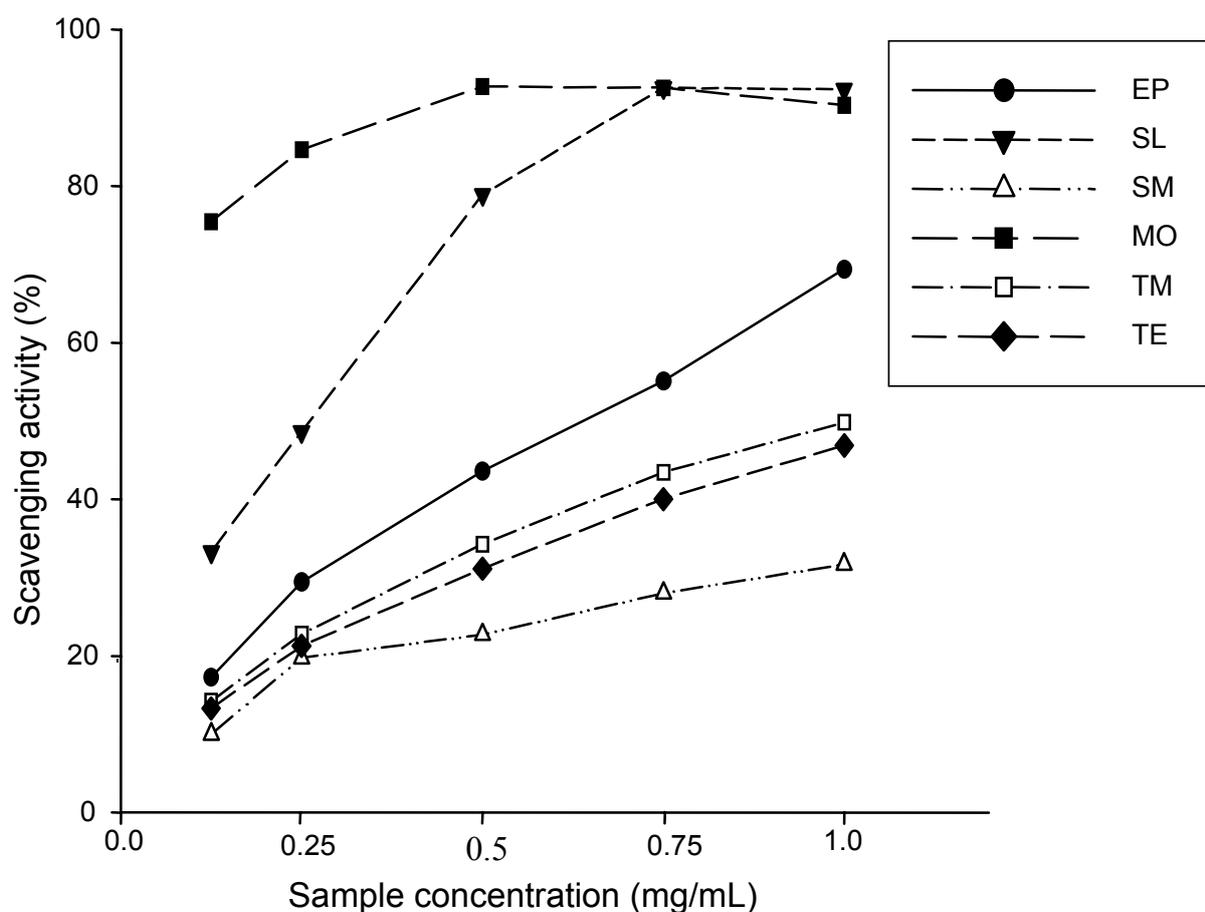
Table 1. Analysis of the total phenolic contents of different freeze-dried herbal water-extracts and their scientific names and abbreviations

Sample	Scientific name	Abbreviation	Total phenolics (mg of GAE/g)
紫錐菊	<i>Echinacea purpurea</i> L.	EP	35.0±2.12
香蜂草	<i>Melissa officinalis</i> L.	MO	170.1±1.69
琴葉鼠尾草	<i>Salvia lyrata</i> L.	SL	76.3±1.41
奶薊子	<i>Silybum marianum</i> L.	SM	15.6±3.53
小白菊	<i>Tanacetum parthenium</i> L.	TM	22.0±1.41
紅花三葉草	<i>Trifolium pratense</i> L.	TE	22.0±2.12

(二)各樣品清除DPPH自由基能力之比較

DPPH是一種較穩定的自由基，DDPH自由基的甲醇溶液在波長517 nm下有最強吸收值，當被還原時其吸光值則會下降。反應機制如後： $DPPH + AH \rightarrow DPPH : H + A \cdot$ 。藉由測定517 nm的吸光值可判斷樣品抗氧化能力之強弱。由圖一所示，各種樣品對自由基清除能力隨著濃度提升而有所增加，其清除能力由高至低分別是香蜂草 > 琴葉鼠尾草 > 紫錐菊 > 小白菊 > 紅花三葉草 > 奶薊子。清除力最強者為香蜂草，其水萃物之凍乾樣品在濃度達0.5 mg/mL時，即可達到92.7%之清除率。琴葉鼠尾草水萃物之凍乾樣品在濃度達0.75 mg/mL，

其清除率可達到92.6%。紫錐菊水萃物之凍乾樣品在濃度1 mg/mL時，其清除率為69.4%；小白菊及紅花三葉草其清除率雖較弱，但在水萃物之凍乾樣品濃度1 mg/mL時，其清除率仍可達49.8%及46.9%；奶薊子之清除能力最差，濃度1 mg/mL時其清除率為31.7%。此試驗結果與總酚類含量測定作比較發現，當樣品總酚類含量較多時，其清除DPPH自由基之能力也較佳。

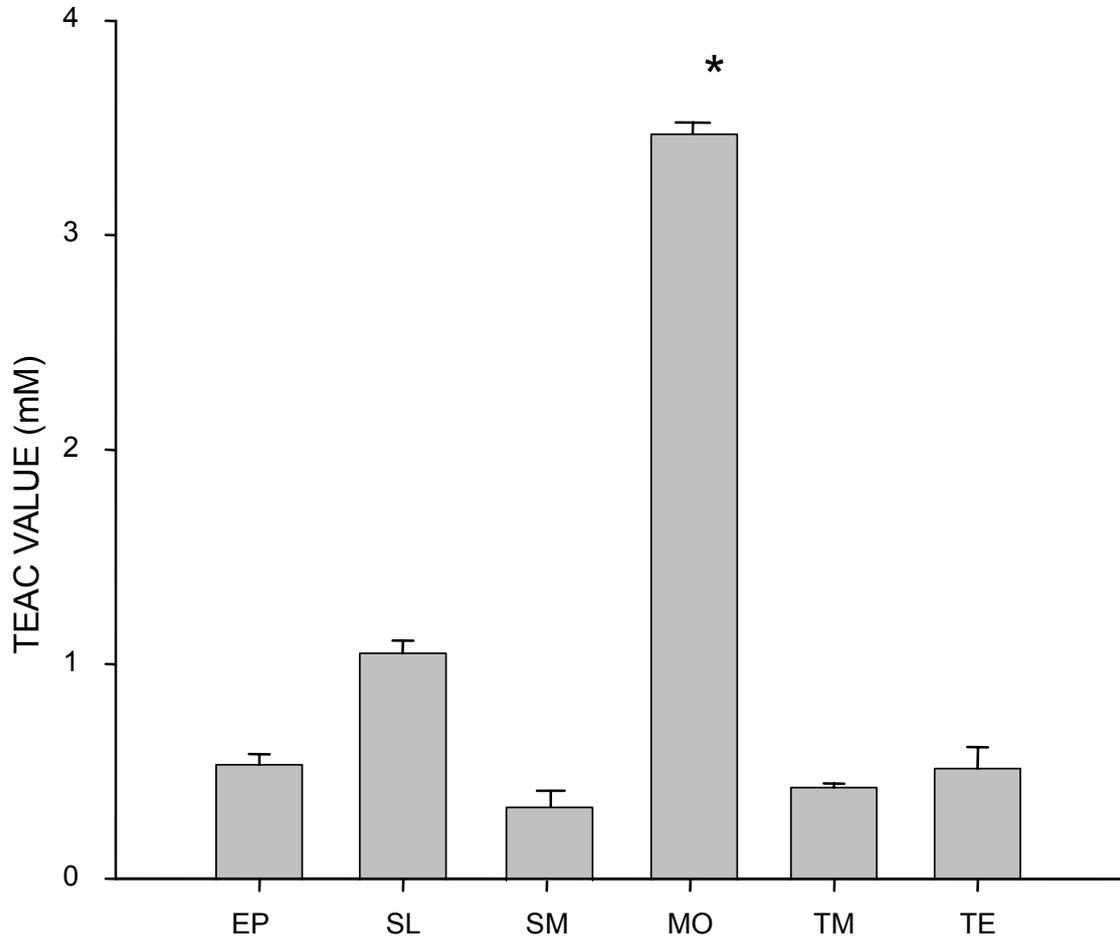


圖一、不同水萃凍乾樣品之 DPPH 自由基清除能力分析。

Fig. 1. Analysis of the DPPH scavenging activity of different freeze-dried herbal water-extracts.

(三)各樣品Trolox當量的抗氧化能力(TEAC)之比較

TEAC試驗原理是利用ABTS化合物，經由過氧化氫等物質催化後形成 $ABTS^+$ 自由基，在液體中呈現顏色變化，抗氧化物質會將 $ABTS^+$ 還原成ABTS，藉由測量吸光值變化即可了解物質清除 $ABTS^+$ 自由基能力。由圖二結果所示，香蜂草具有最高的TEAC當量數(3.5 mM)，其次為琴葉鼠尾草(1.06 mM)，再其次分別為紫錐菊(0.52 mM)、紅花三葉草(0.50 mM)、小白菊(0.43 mM)，最後是奶薊子(0.35 mM)。各樣品的TEAC當量數，亦隨著酚類含量的增加有著正相關的現象。



圖二、不同水萃凍乾樣品 TEAC 之分析。

Fig. 2. Analysis of the TEAC value of different freeze-dried herbal water-extracts.

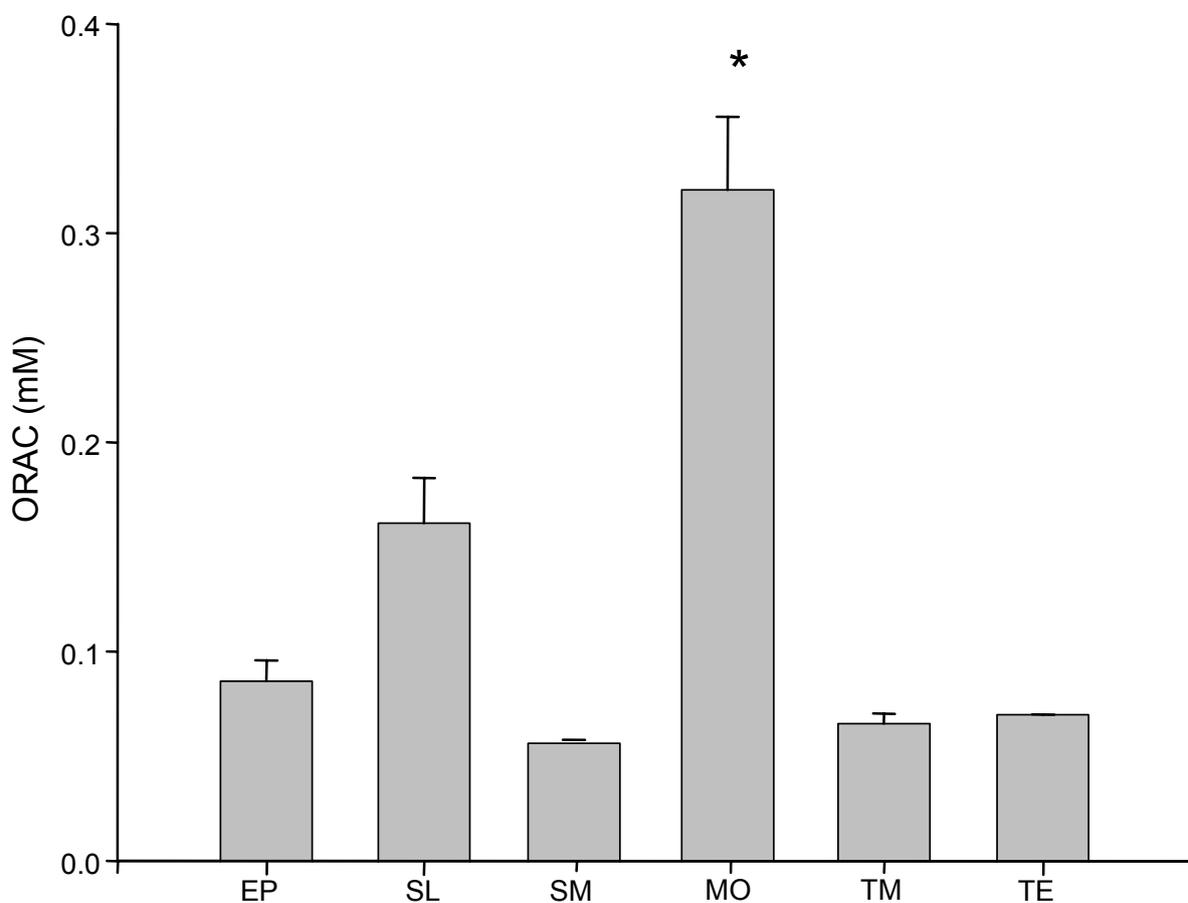
* Data are significantly different from the control ($p < 0.05$).

(四)各樣品活氧指數(ORAC)之比較

ORAC試驗原理主要是在觀察自由基在與螢光物質結合後，螢光值之下降情形；樣品中若含有抗氧化物質，則會使自由基失去攻擊能力，而使螢光值下降速率及數值降低，通常是以Trolox作為標準品，計算螢光衰退面積與空白組面積之差後，再將樣品之數值換算成當量數。由圖三的結果顯示，香蜂草之ORAC值約為0.32 mM，其次為琴葉鼠尾草(0.16 mM)，再其次分別為紫錐菊(0.09 mM)、紅花三葉草(0.07 mM)、小白菊(0.07 mM)，最後是奶薊子(0.06 mM)。所得結果與TEAC當量數測定的試驗結果有相同趨勢。

(五)各樣品抗氧化力之比較

各水萃物之凍乾樣品在清除DPPH自由基能力、TEAC當量數與ORAC值等之比較結果，皆為香蜂草 > 琴葉鼠尾草 > 紫錐菊 > 紅花三葉草 > 小白菊 > 奶薊子，且與樣品總酚類含量有正相關，所以總酚類物質的多寡可能直接導致水萃物之凍乾樣品具有不同程度之抗氧化能力，其中以香蜂草之抗氧化力有最佳的表現，與前人研究之結果相似⁽⁹⁾，值得進一步研究。



圖三、不同水萃凍乾樣品 ORAC 之分析。

Fig. 3. Analysis of the ORAC value of different freeze-dried herbal water-extracts.

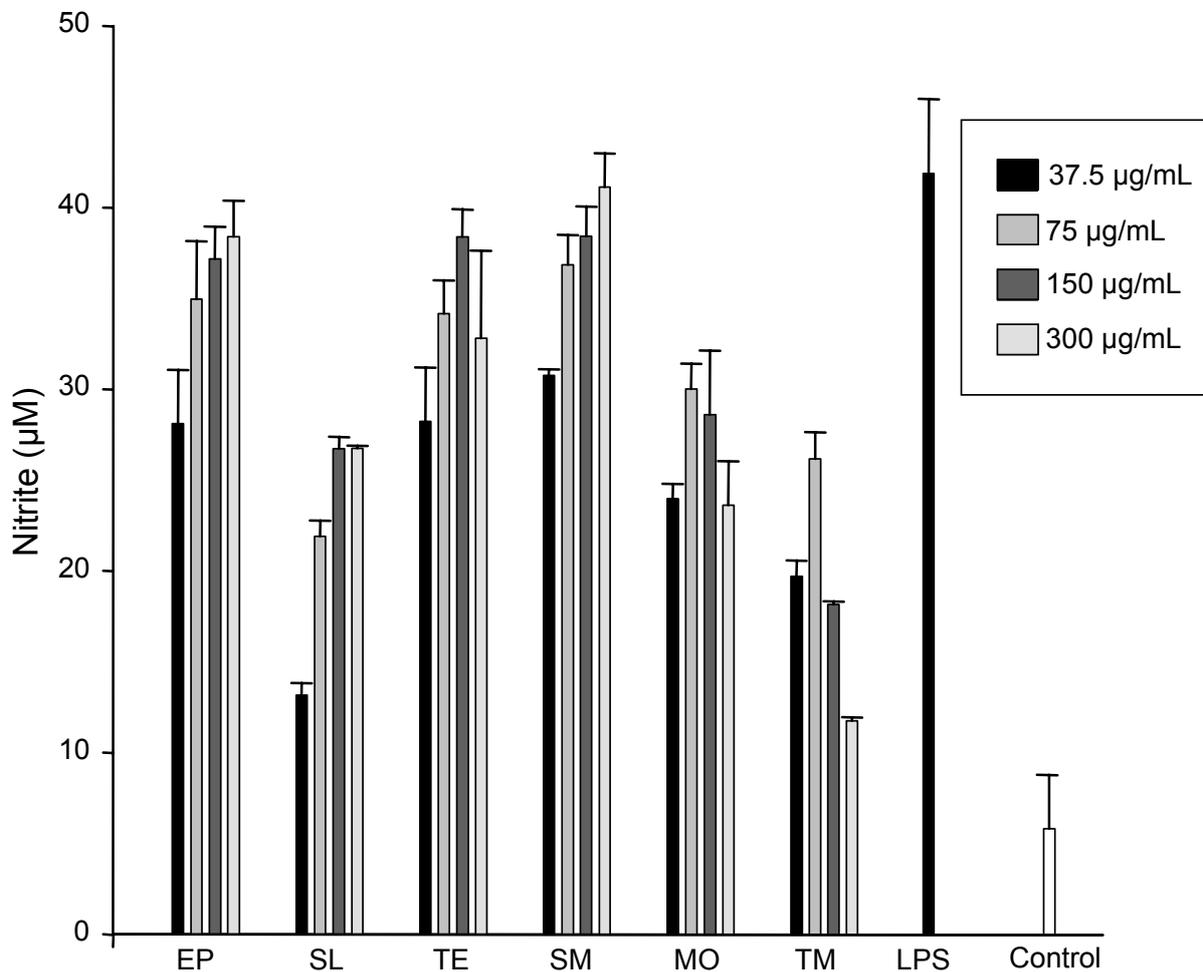
* Data are significantly different from the control ($p < 0.05$).

二、各樣品體外免疫調節活性之比較

(一)各樣品刺激小鼠巨噬細胞產生一氧化氮之影響

細胞內所產生之一氧化氮主要經由一氧化氮合成酶(NO synthase, NOS)所合成，所產生之NO與活性氧物質結合後會形成攻擊性極強之氮氧自由基，是巨噬細胞狙殺病原菌之重要武器，因此測定NO產生量為評估巨噬細胞受活化之重要指標之一⁽¹²⁾。

以各水萃物樣品刺激活化巨噬細胞株RAW 264.7，之後測定細胞培養液中亞硝酸根濃度以估算NO之產生量，試驗結果如圖四所示，發現各樣品於37.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之濃度時即會刺激巨噬細胞產生不同程度之NO，且隨著樣品濃度提高，細胞培養液中nitrite之濃度亦隨之提高，但若是相較於正對照組(LPS)則沒有顯著性($p>0.05$)差異。其中，紅花三葉草樣品濃度超過150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 時，nitrite產生量則會下降，香蜂草及小白菊則在樣品濃度超過75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 時，細胞培養液nitrite濃度會下降。各水萃物之凍乾樣品皆能直接激活巨噬細胞產生NO，其中又以紫錐菊、紅花三葉草及奶薊子等三種樣品之活化效果最佳。



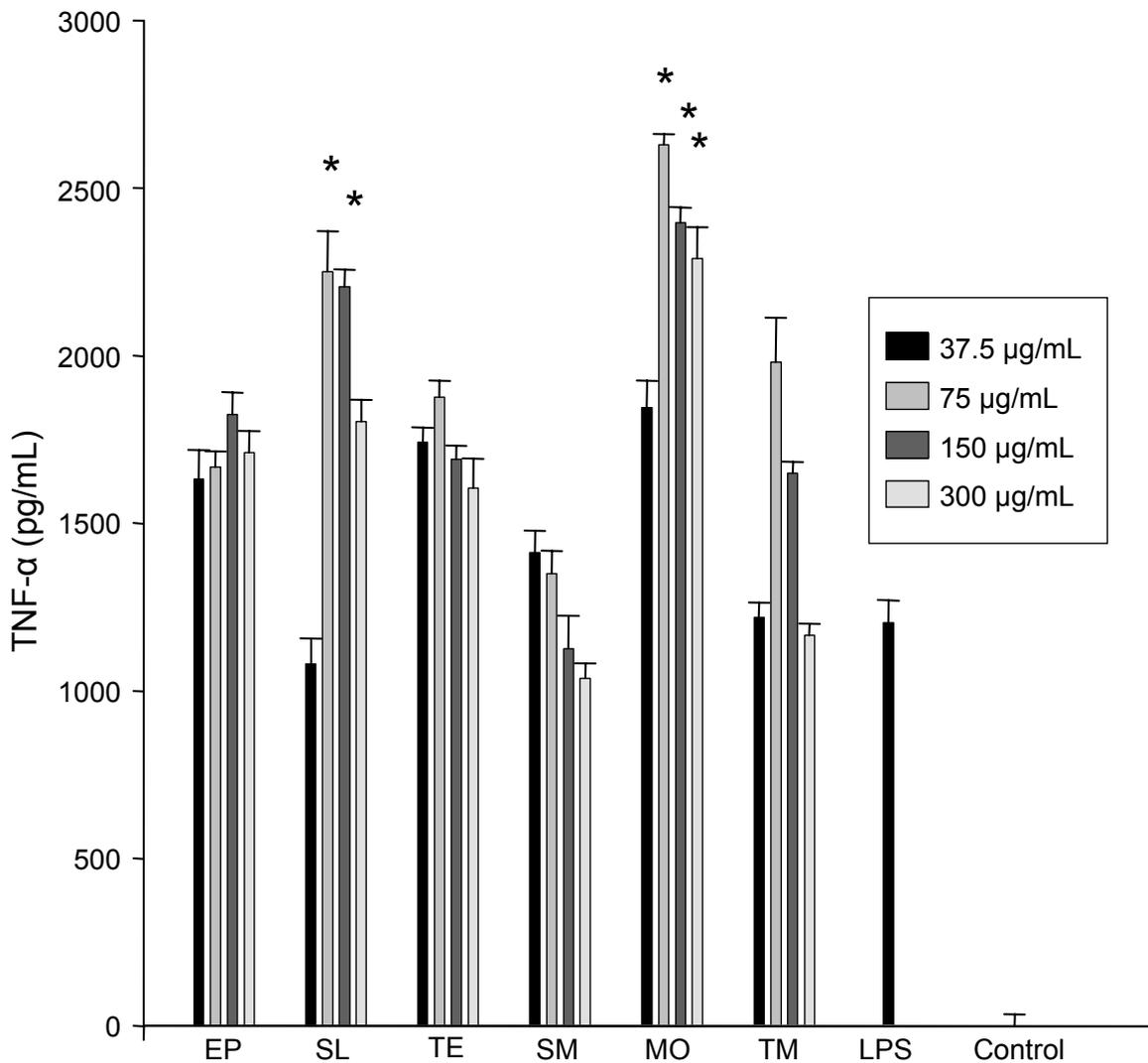
圖四、不同水萃凍乾樣品對 RAW 264.7 巨噬細胞產生 NO 之影響。

Fig. 4. Effects of different freeze-dried herbal water-extracts on nitrite production of RAW 264.7 macrophages.

(二)各樣品刺激小鼠巨噬細胞產生細胞激素TNF- α 之影響

腫瘤壞死因子- α (TNF- α)為152個胺基酸所組成之聚合勝肽，可透過介導免疫反應監視及殺滅腫瘤細胞，並可誘生免疫調節介質以活化巨噬細胞並增強吞噬作用。

以各樣品刺激活化巨噬細胞株 RAW 264.7，之後測定細胞培養液中TNF- α 之產生量。試驗結果如圖五所示，顯示各水萃物之凍乾樣品能直接激活巨噬細胞產生TNF- α 。其中，琴葉鼠尾草、紅花三葉草、香蜂草與小白菊在樣品濃度超過75 $\mu\text{g/mL}$ 時，TNF- α 產生量會有下降趨勢。奶薊子樣品濃度提高時，TNF- α 則會稍微下降。由於TNF- α 之測定係採用酵素連結免疫分析法(ELISA)，因此可有效避免樣品本身色澤之干擾現象，所得結果應較NO之測定更為準確。各樣品刺激巨噬細胞產生TNF- α 之能力相較於正對照組(LPS)，則發現以琴葉鼠尾草(75~150 $\mu\text{g/mL}$)與香蜂草(75~300 $\mu\text{g/mL}$)之效果最為顯著($p<0.05$)。



圖五、不同水萃凍乾樣品對 RAW 264.7 巨噬細胞產生 NO 之影響。

Fig. 5. Effects of different freeze-dried herbal water-extracts on TNF- α production of RAW 264.7 macrophages.

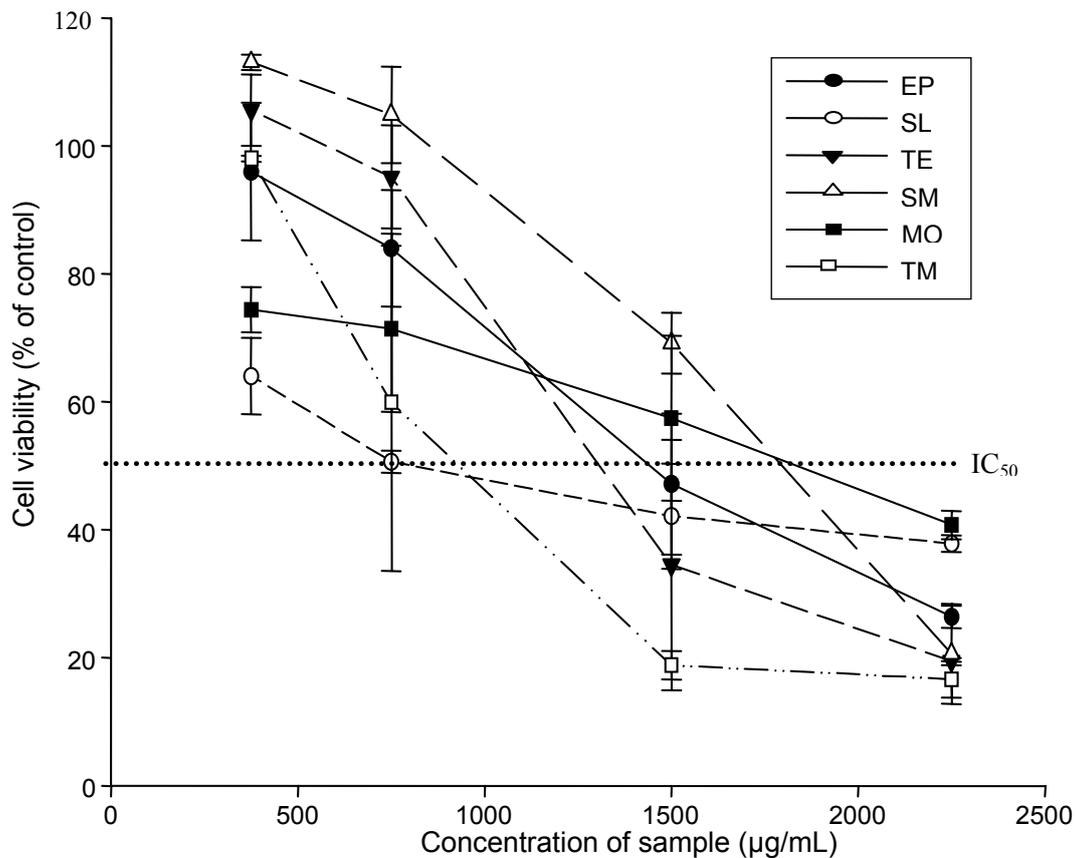
* Data are significantly different from the positive control ($p<0.05$).

三、各樣品抑制肝腫瘤細胞株之活性分析

試驗使用MTT測定細胞活性，MTT法是一種microculture tetrazolium assays (MTAs)之細胞增生分析方法，可應用分析細胞存活、生長及分化特性。MTT法主要利用酵素作用將MTT tetrazolium salt 轉為藍色之產物MTT formazan化合物，而MTT之轉變僅在存活細胞中進行並堆積在細胞內，且formazan形成量會與數目成正比，所以加入DMSO溶解後，可以測量波長約540 nm時之最大吸光值。又由於細胞還原MTT的能力代表細胞粒線體之活性，因此可做為細胞存活率之指標，所以可運用來測定各樣品對於癌細胞之抑制能力。

(一)各樣品對Hep 3B肝癌細胞之抑制作用

將人類肝癌細胞Hep 3B分別與六種藥用植物水萃物之凍乾樣品共同培養48 hr，之後以MTT法探討各樣品對肝癌細胞Hep 3B毒殺之能力。結果如圖六所示，隨著樣品濃度的增加，Hep 3B之存活率亦隨之下降，以 IC_{50} 表示由高至低分別為香蜂草1,850 $\mu\text{g/mL}$ 、奶薊子1,800 $\mu\text{g/mL}$ 、紫錐菊1,450 $\mu\text{g/mL}$ 、紅花三葉草1,350 $\mu\text{g/mL}$ 、小白菊900 $\mu\text{g/mL}$ 及琴葉鼠尾草750 $\mu\text{g/mL}$ 。 IC_{50} 代表可將細胞殺死一半之樣品濃度劑量，因此可得知琴葉鼠尾草對肝癌細胞Hep 3B毒殺能力最佳，約為其他樣品之 IC_{50} 的一半。



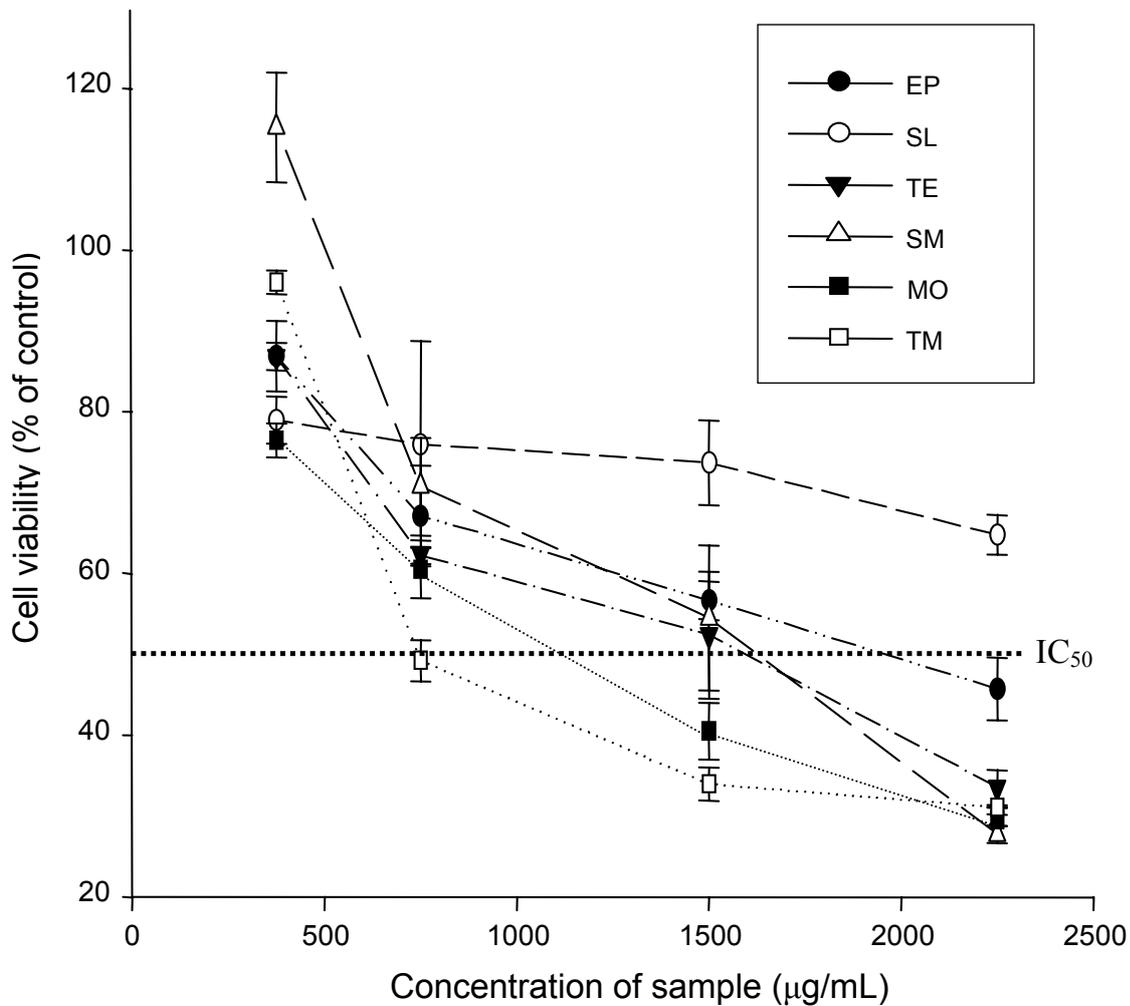
圖六、不同水萃凍乾樣品對肝癌細胞 Hep 3B 生存力之影響。

Fig. 6. Effects of different freeze-dried herbal water-extracts on cell viability of Hep 3B cells.

(二)各樣品對Hep G2肝癌細胞之抑制作用

將人類肝癌細胞Hep G2分別與六種藥用植物水萃物之凍乾樣品共同培養48 hr，之後以MTT法探討各樣品對肝癌細胞Hep G2毒殺之能力。結果如圖七所示，隨著樣品濃度增加，Hep G2癌細胞之存活率亦隨之下降。以 IC_{50} 表示由高至低分別為紫錐菊1,900 $\mu\text{g/mL}$ 、奶薊子1,700 $\mu\text{g/mL}$ 、紅花三葉草1,650 $\mu\text{g/mL}$ 、香蜂草1,150 $\mu\text{g/mL}$ 及小白菊750 $\mu\text{g/mL}$ ，而琴葉鼠尾草在試驗濃度最高(2,250 $\mu\text{g/mL}$)時仍無法殺死50%之Hep G2癌細胞，因此無法計算其 IC_{50} 之濃度，結果顯示各樣品中以小白菊對肝癌細胞Hep G2毒殺能力最佳。

由於一般藥用抗癌藥劑對腫瘤細胞之直接抑制濃度約為20 $\mu\text{g/mL}$ 以下，而一般抑癌萃取物對腫瘤細胞之直接抑制濃度約為100 $\mu\text{g/mL}$ 以下，因此由本研究中各樣品對肝癌細胞株Hep G2與Hep 3B的結果判斷，各水萃凍乾樣品抑制腫瘤之開發潛力可能較弱。



圖七、不同水萃凍乾樣品對肝癌細胞 Hep G2 生存力之影響。

Fig. 7. Effects of different freeze-dried herbal water-extracts on cell viability of Hep G2 cells.

結 論

綜合本研究之結果，以奶薊子、香蜂草、紫錐菊、小白菊、紅花三葉草與琴葉鼠尾草等六項藥用植物進行抗氧化、體外調節免疫與抑制腫瘤細胞等生理活性試驗，所獲初步結果如下：香蜂草在清除DPPH、TEAC當量數與ORAC值分析等結果中具有最佳的抗氧化力，未來可以嘗試不同的品種及萃取方法再作分析比較；體外免疫調節方面，琴葉鼠尾草與香蜂草等水萃物的凍乾樣品可以刺激小鼠巨噬細胞產生細胞激素TNF- α ，亦值得再深入研究；最後在抑制腫瘤細胞方面，各藥用植物之水萃凍乾樣品則是無顯著性的表現。

誌 謝

樣品製備感謝台中區農業改良場曹淑娟小姐協助完成，並感謝台灣大學園藝學系加工館第一研究室提供實驗相關指導操作，俾使本研究能順利完成，特申謝忱。

參考文獻

1. 郭肇凱、許輔 2005 保健植物山防風免疫調節之研究 臺中區農業改良場研究彙報 88: 61-69。
2. Arnao, M. B., A. Cano, J. Hernandez-Ruiz, F. Garcia-Canovas and M. Acosta. 1996. Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. *Anal. Biochem.* 236(2): 255-261.
3. Barrett, B. 2003. Medicinal properties of Echinacea: a critical review. *Phytomed.* 10(1): 66-86.
4. Bolkent, S., R. Yanardag, O. Karabulut-Bulan and B. Yesilyaprak. 2005. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. *J. Ethnopharmacol.* 99(3): 391-398.
5. Castelluccio, C., G. Paganga, N. Melikian, G. bolwell, J. Pridham, J. Sampson and C. A. Rice-Evans 1995. Antioxidant potential of intermediates in phenylpropanoid metabolism in higher plants. *FEBS Lett.* 368: 188-192.
6. Flora, K., M. Hahn, H. Rosen and K. Benner. 1998. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am. J. Gastroenterol.* 93(2): 139-143.
7. Gyamfi, M. A., M. Yonamine and Y. Aniya. 1999. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana *Thonningia sanguinea* on experimentally-induce liver injuries. *Gen. Pharmacol.* 32: 661-667.

8. Kujala, T. S., J. M. Loponen, 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.
9. Mimica-Dukic, N., B. Bozin, M. Sokovic and N. Simin. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2485-2489.
10. Ou, B., M. Hampsch-Woodill and R. L. Prior. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4619-4626.
11. Sullivan, M. L. and K. H. Quesenberry. 2006. Red clover (*Trifolium pratense*). *Methods Mol. Biol.* 343: 369-383.
12. Sheu, F., H. H. Lai and G. C. Yen. 2001. Suppression effect of soy isoflavones on nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem.* 49(4): 1767-1772.
13. Williams, C. A., J. B. Harborne, H. Geiger and J. R. Houtt. 1999. The flavonoids of *Tanacetum parthenium* and *T. vulgare* and their anti-inflammatory properties. *Phytochem.* 51(3): 417-423.

Preliminary Analysis on Biological Activities of Newly Introduced Medicinal Plants¹

Xhao-Kai Kuo², Long-Zen Chang², Feng-Hsu Yang³, Fuu Sheu³ and Yung-Wu Chen²

ABSTRACT

The present study for meeting the core goal of the parent project “The study of GAP for health care and medicinal herbs” were to investigate the functionality of six medicinal plants including *Silybum marianum* L. (SM), *Melissa officinalis* L. (MO), *Echinacea purpurea* L. (EP), *Tanacetum parthenium* L. (TM), *Trifolium pratense* L. (TE) and *Salvia lyrata* L. (SL) by evaluating their antioxidative properties and capabilities to activate the immune cells of mouse and to inhibit hepatoma growth. In the evaluation of antioxidative properties, assays such as DPPH scavenging activity, TEAC and ORAC were carried out. The results of DPPH scavenging activity, TEAC and ORAC assays which were in an order of : MO>SL>EP>TM>TE>SM, were related to their total phenolic contents. Moreover, MO showed marked antioxidant capacity and could be used for further utilization. In the immune activation capability, EP, TE and SM had the capability of activating murine macrophages RAW 264.7 to produce nitric oxide. MO, SL and TM possessed a comparable ability in increasing TNF- α production by RAW 264.7 macrophages. In evaluation of hepatoma inhibitory activity, the concentration of each sample causing 50% cytotoxicity (IC₅₀) was determined, whereas no significant results of the cytotoxicity with Hep 3B and Hep G2 hepatoma were obtained.

Key words: medicinal plant, *Silybum marianum* L., *Melissa officinalis* L., *Echinacea purpurea* L., *Tanacetum parthenium* L., *Trifolium pratense* L., *Salvia lyrata* L., antioxidation, immunomodulation, anti-tumor.

¹ Contribution No. 0653 from Taichung DARES, COA.

² DIRDS Research Assistant, Associate Agronomist and Director of Taichung DARES, COA.

³ Graduate Student and Associate Professor, Department of Horticulture, National Taiwan University.