

第貳章 文獻探討

第一節 自由基與氧化壓力

一、自由基的定義

構成物質的原子，其所帶的電子通常都是成對的，當原子或分子因某些原因失去成對電子，而形成不成對電子(unpaired electron)，就是所謂的自由基(free radicals)。換言之，自由基是指原子或分子的最外層價電子軌域，具有一個或一個以上未配對電子(Halliwell and Gutterige, 1991; Olanow, 1993; Yu, 1994)。自由基本身因具有未配對電子的原子或分子，所以極不穩定，具有很高的活性，易與鄰近的原子或分子互相碰撞，擷取周遭分子的電子，以穩定自身的結構，而失去電子的分子又繼續搶奪別分子的電子，而產生連鎖反應(chain reaction)，直到終止反應發生為止(Beakman and Ames, 1997; 蔡素宜, 2000; 賴郁君, 2001)。

二、自由基的產生

人體細胞內自由基產生的方式有兩種：一種是受外界不正當的影響，例如：紫外線、抽菸、空氣污染物(如磺化工廠排放之廢氣、汽機車廢氣)、有機溶劑、麻醉劑、離子輻射、高氧環境及農藥等，另有些化合物及藥物可代謝或產生自由基中間產物(Machlin and Bendjch, 1987)。另一種則為細胞內生性自由基，可由小分子如：還原態黃素(navin)及硫醇類物在自動氧化過程中產生自由基，而黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)、脂氧化酶(lipid oxygenase)、去氫酶(dehydrogenase)及過氧化酶(peroxidase)等在作用過程中也可產生自由基。

一般氧化酵素及電子傳遞鏈是細胞內主要連續產生氧自由基的來源。氧自由基包括：超氧化自由基(superoxide radical, O_2^-)、羥自由基(hydroxyl radical, $OH\cdot$)、過氧自由基(peroxy radical)、次氯酸(hypochlorous acid, $HOCl$)、烷氧自由基(alkoxy radical)、過氧化氫(hydrogen peroxide, H_2O_2)及單態氧分子(singlet oxygen, 1O_2)等(Machlin and Bendich, 1987)。

人類的一切活動，都需要氧的氧化作用來推動，因此人體細胞產生自由基，可說是無所不在，如粒線體(mitochondria)、溶小體(lysosome)、過氧化物體(peroxisome)、細胞膜磷脂質(phospholipid)、內質網(endoplasmic reticulum)等處都可產生自由基(Freeman and Crapo, 1982; Halliwell 等人, 1995)。如圖 2-1。

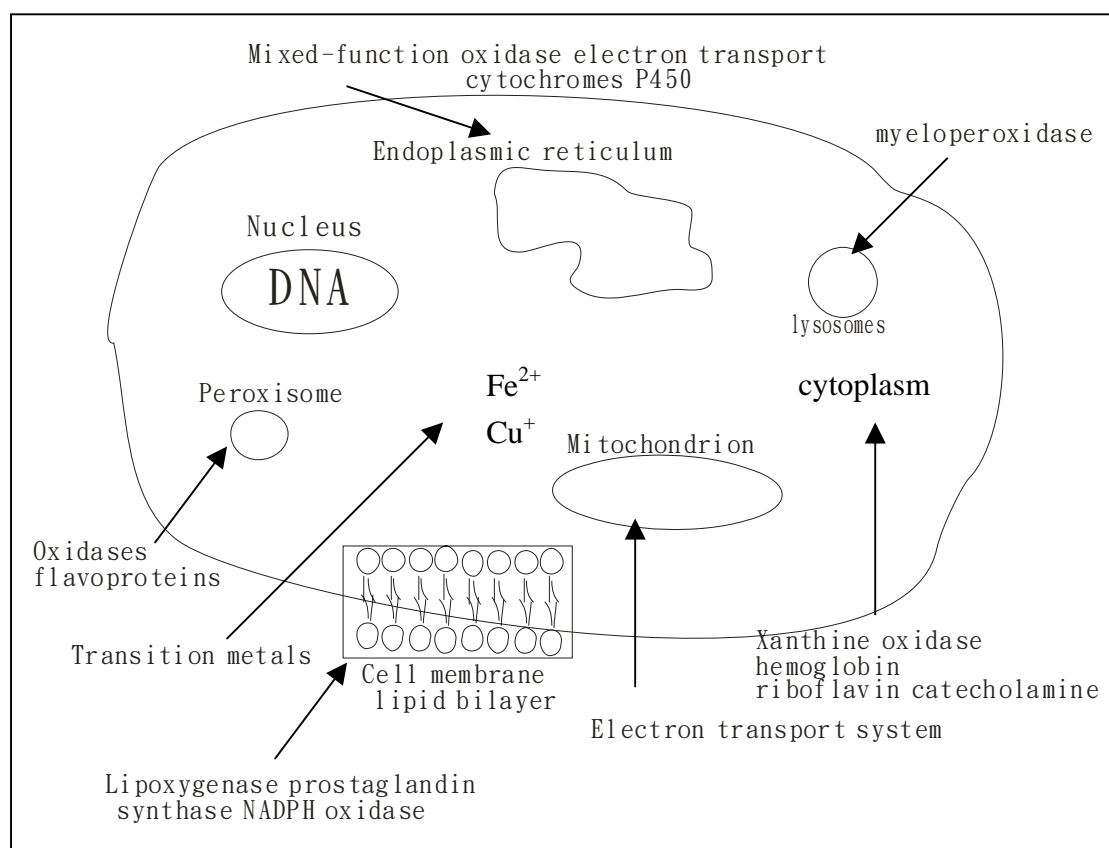


圖 2-1 細胞內自由基的來源

適量的自由基，在人體的免疫系統上，佔有相當重要的地位，如一氧化氮(NO)、吞噬細胞(macrophage)利用自由基來殺菌(Machlin and Bendich, 1987)，它有抑制外來細菌代謝及消滅細菌細胞的功效。一旦體內自由基的數量超過人體的天然防禦範圍，自由基便因此形成，之後會形成一連串的反應，促使細胞質的氧化破壞，造成過氧化脂質的堆積進而破壞體內的細胞膜、核酸，使得人體的各項功能失去作用，各種疾病接踵而至(Wiseman, 1997)，其中例如：高血壓、糖尿病、基因突變、心臟病等各種病變(Jenkins, 1988; Paffenbarger 等人, 1986)。

三、自由基的種類

自由基的種類可從它的產生過程，區分為二大類：內生性和外在性的自由基，而一般所提的自由基大都是指氧自由基(oxygen free radical)。氧自由基包括：超氧化自由基(superoxide radical, $O_2\cdot$)、羥自由基(hydroxyl radical, $OH\cdot$)、過氧自由基(peroxy radical)、次氯酸(hypochlorous acid, $HOCl$)、烷氧自由基(alkoxy radical)、過氧化氫(hydrogen peroxide, H_2O_2)及單態氧分子(singlet oxygen, 1O_2)等(Machlin and Bendich, 1987)。

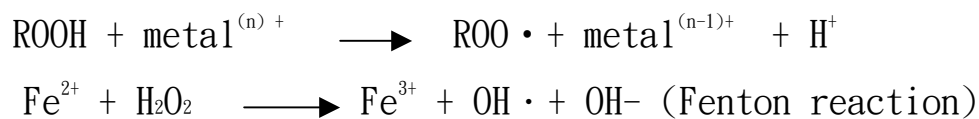
四、自由基的機轉和脂質過氧化(lipid peroxidation)過程

(一) 自由基的代謝過程

在正常狀態下，氧自由基的產生量與體內的抗氧化防禦系統(SOD、CAT 或 GPx)趨於平衡，當這個平衡被打破時，各種傷害就會因應而生。氧自由基的反應區分為三階段：

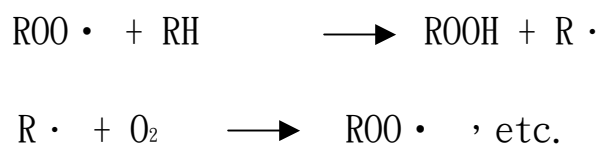
1. 起始期(initiation phase)

由前驅物形成自由基 $R\cdot$ ，此反應由光或金屬離子($metal(n)^+$)所引發。



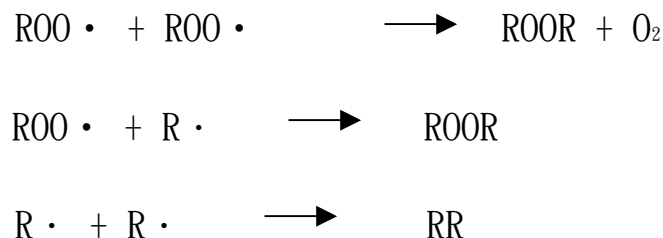
2. 連鎖期(propagation phase)：

在此過程中大量的氫過氧化物產生，並進行一連串的連鎖反應。



3. 終止期(termination)：

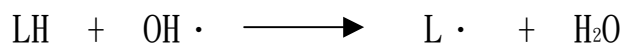
此過氧化過程，可因下列作用而終止。兩個自由基相互作用，產生非自由基產物，反應終止。



(二)脂質過氧化(lipid peroxidation, LPO)過程

人體在安靜狀態下，也會有自由基的產生和排除，一旦氧化和抗氧化失去平衡時，就會有過多的自由基。細胞膜是維持生物體重要的構造，它主要由脂質和蛋白質所建構而成，具有保護細胞及胞器的功能。脂質是由一分子的甘油(glycerol)和三分子的脂肪酸組成(fatty acid)，其中又可細分為極性(親水性)和非極性(疏水性)兩類，極性脂質大多含有不飽和脂肪酸，非極性脂質則含有飽和脂肪酸。

脂質過氧化反應的發生是指生物體內的多元不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 受到氧化(即 $\text{OH}\cdot$) 傷害，不飽和脂肪酸的雙鍵與 $\text{OH}\cdot$ 作用後，會失去一個氫原子而變成脂自由基($\text{L}\cdot$)，而 $\text{OH}\cdot$ 則得到氫原子變成水分子：



接著一連串的連鎖反應，促使脂自由基($\text{L}\cdot$)和氧分子作用而轉變成過氧化脂自由基($\text{LOO}\cdot$)，而過氧化脂自由基會去擷取細胞膜上脂質的氫原子，最後變成過氧化氫脂質(lipid hydroperoxide, 簡稱 LOOH)(圖 2-2)，繼之引發聚合作用，這樣一連串的連鎖反應使得細胞膜脂質硬化，因此改變細胞膜的通透性，促使膜電位、氫離子的增加，造成細胞內外離子不平衡，最後使得細胞膜破壞、細胞死亡(Sjodin, 1990; Aikens and Dix, 1991; Kanter, 1988; Lovlin, 1987; Maughan, 1989)。

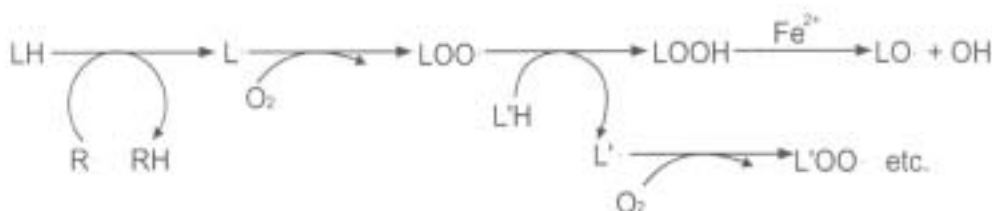


圖 2-2 脂質過氧化反應(Zwart 等人, 1999)

五、氧化壓力的傷害和疾病的生成

氧是細胞生存必需的分子，經由細胞代謝及電子傳遞作用後，人體自然而然的產生氧自由基，但在正常的狀態下這種情形會達成平衡，也就是說經由人體的防衛系統，可將氧自由基代謝成無害的物

質，但此種平衡會因疾病或營養不良而受到破壞，傾向於氧化的那一邊，此種不平衡狀態稱為氧化壓力 (oxidative stress) (Sies, 1991)。過量的氧自由基會對人體造成不可逆的氧化傷害，進而引發細胞變異與傷害，甚至使得細胞死亡。如：動脈粥狀性硬化 (atherosclerosis)、腦中風、白內障、心臟病等 (Esterbauer 等人, 1992; Sims and Zaidan, 1995; Zwart 等人, 1999) (圖 2-3)。

當體內的氧化物累積過多時，會導致體內的平衡失調，易形成各種疾病，例如癌症、帕金森氏症、高血壓、動脈硬化症、DNA 損傷、內皮性官能障礙、血栓形成、血小板凝集等情形產生。自由基所造成的傷害與疾病，主要是和細胞膜上脂質的不飽和鍵產生反應，導致細胞膜的通透性降低，進而使細胞萎縮、瓦解，甚至死亡 (Warner 等人, 1994; Freeman and Crapo, 1982)。

另外自由基也會損害含硫蛋白及其它蛋白，造成離子運輸系統受損，促使細胞內離子分佈不均，進而使酵素系統活化或去活化，導致細胞受到傷害，造成蛋白分解及結構的改變等 (Davies, 1987; Starke 等人, 1987; Tamarit 等人, 1998; Grune 等人, 1998)。在核酸方面，自由基會造成鹼基受損，促使 DNA 斷裂、突變，細胞週期改變，甚至產生癌症 (Freeman and Crapo, 1982; Breen and Murphy, 1995)。

大量的氧自由基會對人體造成傷害，藉由電子自旋共振光譜儀 (electron spin resonance, 簡稱 ESR) 的偵測分析，可清楚的知道人體體內自由基的含量，但由於氧自由基的半衰期短暫，不易測得。故研究人員大多以間接的方法來測量氧自由基，如脂肪酸分解所產生的碳氫化合物氣體 (hydrocarbon gases) 及乙醛 (aldehydes) 等物質，其中以丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 或戊烷 (pentane) 最常作為脂質氧化傷害的評估標準。綜合各文獻仍以丙二醛為判斷氧化壓力和脂質過氧化作用指標者居多。

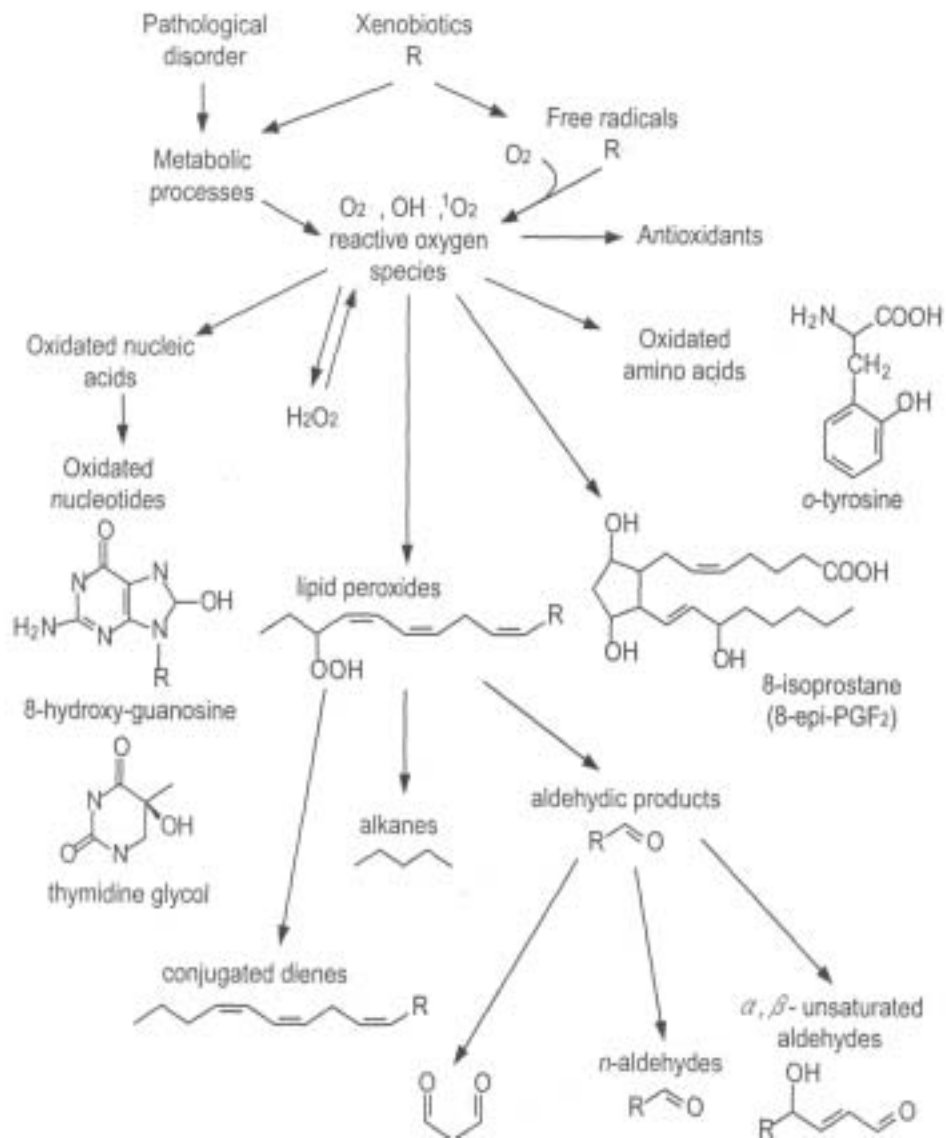


圖 2-3 自由基所造成的傷害及其衍生物(Zwart 等人, 1999)

綜合各項氧自由基的來源及其所引發的疾病，簡列於表 2-1(Gutteridge, 1993)：

表 2-1 自由基的來源及引起的疾病

來 源	疾 病
由活化吞噬細胞所引發的過量氧自由 基、 H_2O_2 、 $HOCl$	阿滋海默症、痛風、哮喘 等
由藥物或病毒引發的過量氧自由基	酒精中毒、糖尿病、巴金 森氏症等
受過渡金屬 (transition metals) 如銅、 鐵把電子轉移給氧自由基	大腸癌、鐵中毒、貧血等
由不正常的氧化作用或氧氣濃度變化 (缺血或高壓)：氧自由基	凍傷、流行性感冒、氧重 灌、休克
由免疫系統失調而產生過多或過少的氧 自由基與一氧化氮自由基	動脈粥狀硬化、唐氏症、 器官移植等
細胞結構的變化	重金屬中毒如：鋁、鎘、 鉛等、肌肉萎縮
輻射線照射 (紫外線、X 射線)	皮膚癌、白內障、膀胱發 炎等
基因缺陷	免疫系統失調、鐮形血球 貧血

第二節 抗氧化系統與功能

一、抗氧化系統

在生物體內，凡是能將自由基清除的物質，都屬於抗氧化防禦系

統(antioxidant defense system)，包括酵素和一些小分子物質，有些身體會自己製造，有些則需從食物中獲得。人體在正常的細胞代謝及對抗外來病菌的侵襲時，會自然而然的產生自由基來預防或降低氧化性傷害，也因此發展出一套完整的抗氧化系統，來平衡體內的自由基(Cotgreave 等人，1988)。依其性質的不同，抗氧化系統可區分為二大部分：一為非抗氧化酵素系統的抗氧化物，其中可細分為脂溶性的維生素 E(vitamin E)、 β -胡蘿蔔素(β -carotene)、水溶性的維生素 C(ascorbate, vitamin C)、尿酸(uric acid)及兒茶素(catechin)，另一則是和抗氧化酵素系統有關的抗氧化酶，氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、觸酶(catalase, CAT)及麩胱苷肽過氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)。總而言之，不管這抗氧化物質是自己本身所製造或是從食物攝取而來，只要這些物質能在體內相輔相成，互相協調就能達到最佳的保護效果(Carmia, 1997; Schaefer 等人，1995)。

二、抗氧化劑的種類和功能

(一) 酵素性抗氧化酶

酵素性抗氧化酶是人體抗氧化的第一道防線(圖 2-4)，其包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、觸酶(catalase, CAT)及麩胱苷肽過氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)。

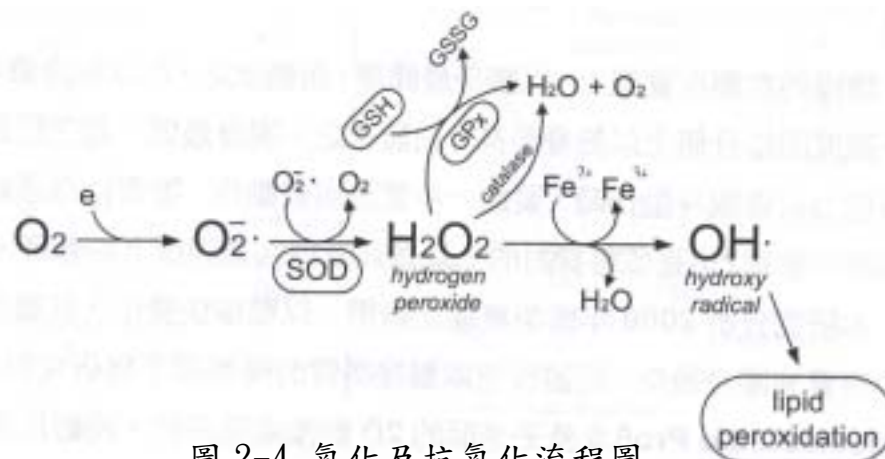
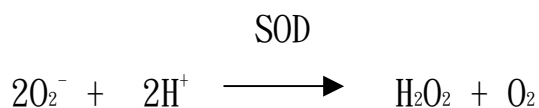


圖 2-4 氧化及抗氧化流程圖

1. 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)

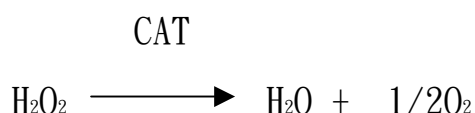
SOD 是一種需要結合金屬離子為反應中心的酵素，可經由催化反應而消除氧自由基。它普遍存在於好氧性的生物體內，依其所含金屬離子的不同可分成兩種：存在細胞質的 Cu/Zn SOD 以及存在粒線體的 Mn SOD(Weisiger and Fridovich, 1972; Halliwell and Gutteridge, 1991)。Cu/Zn SOD 結構中的二價銅離子具催化效果，而鋅離子有助於維持此酵素的結構；MnSOD 結構中的錳離子與其催化作用有關(Halliwell and Gutteridge, 1991)。此外，Cu/Zn SOD 是屬於結構性的(constitutive)酵素，在氰化物存在下容易失去活性；而 Mn SOD 是屬於可誘發性的(inducible)酵素，其活性不受氰化物影響(Warner, 1994; Hsu 等人, 1996; Weisiger and Fridovich, 1972)。SOD 的作用方式主要是可催化超氧化物之歧化作用，將氧自由基轉變成氧氣及過氧化氫，其反應式如下：



此反應式在 SOD 的催化下，能加速其反應。

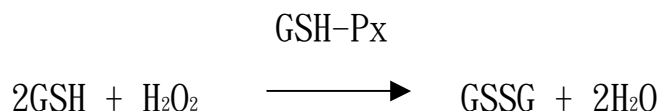
2. 觸酶(catalase; CAT)

觸酶最主要存在於肝臟和紅血球內，而大腦、心臟、肺和骨骼肌等部位的 CAT 活性則普遍較低(Schonbaum 等人, 1976)。CAT 的功能是將細胞所產生的 H_2O_2 催化成水和氧氣，其反應式如下：



3. 麩胱苷肽過氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)

此酵素必須含有硒(Se)當作 cofactor，才能完整的發揮效用，它可藉由還原態之麩胱苷肽(GSH)來還原過氧化物。主要分布於細胞質和粒線體的基質，含量最豐富的部位是肝臟。它亦是過氧化氫的清除者，其清除過氧化氫的能力比 CAT 更具效力，其反應式如下：



以上三種抗氧化酶都能在體內自行合成，但仍需從體外補充原料，尤其是一些稀有元素，如銅、鋅、錳、硒。

(二) 非酵素性抗氧化劑

非酵素性抗氧化劑，包括維生素 C(ascorbate, vitamin C)、維生素 E(vitamin E)、 β -胡蘿蔔素(β -carotene)、GSH 和兒茶素等。當人體的抗氧化酶失調時，體內便需要非酵素性抗氧化物，來充當人體的第二道防線。

1. 脂溶性維生素 E：是一個很重要的自由基接受者，主要參與細胞膜的抗氧化作用。它主要位於細胞膜的內側，可以有效的捉住脂質或胞膜上的自由基($\text{LOO}\cdot$ 和 $\text{LO}\cdot$)，並且提供氫原子給它們，因而阻斷自由基的連鎖反應，所以可以抑制脂質過氧化作用。
2. 水溶性維生素 C：它參與體內氧化還原反應，使氫離子互相傳遞。除了是 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 $\text{OH}\cdot$ 的清除劑，它也可以藉由還原維生素 E 所帶的自由基而保持維生素 E 的抗氧化作用。如圖 2-5 中所示，當維生素 E 在抗氧化作用的過程中轉變成維生素 E 自由基，而維生素 C 能與維生素 E 自由基起作用，將它轉化成維生

素 E，這是一個回收作用。而維生素 C 則變成半脫氫抗壞血酸 (semidehydro ascorbic acid, 簡稱 SAA) 自由基排出體外，如此就不會對人體造成損害。

另外，維生素 E 也會幫助胡蘿蔔素轉化為維生素 A，而維生素 A 則是 1O_2 (singlet oxygen) 的清除者 (Carmia, 1997)。

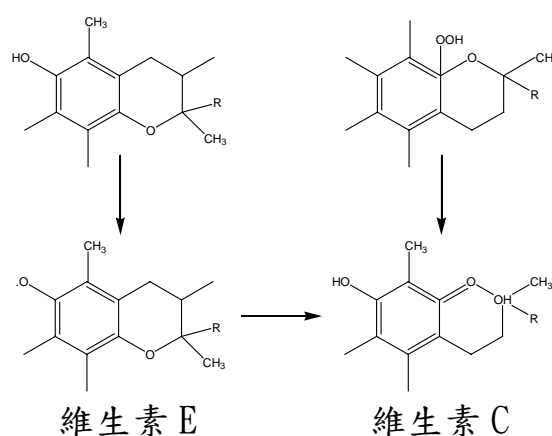


圖 2-5 維生素 E 與維生素 C 的抗脂質過氧化作用

3. 麩胱甘肽 (glutathione, GSH)：麩胱甘肽是人體非常重要的一個抗氧化物，它可經由 GSH-Px 反應轉變成氧化態的 GSSG，而 GSSG 則可由麩胱甘肽還原酶 (glutathione reductase, GR) 還原成 GSH。它可清除自由基、脂質過氧化物，維持蛋白質的原狀並修護已受損害的氧化物。

4. 兒茶素 (Catechins)：普遍存在茶葉中，是多酚類 (polyphenol) 的一種，其成份是 (+)-catechin、(-)-epicatechin (EC)、(-)-gallocatechin (GC)、(-)-epigallocatechin (EGC)、(-)-catechin gallate (CG)、(-)-gallocatechin gallate (GCG)、(-)-epicatechin

gallate (EGC) 及 (-)-epigallocatechin gallate(EGCG) 等八種 (Dalluge and Nelson, 2000)。能防止細胞膜氧化，使細胞膜保持其生理功能，具有抑制癌症發生(Yang and Wang, 1993)與抗老化效果。

非酵素性抗氧化劑常見於食品中，除了上述外，還包括有維生素 B1、類黃酮、維生素 B2、生物鹼、葉綠素衍生物、酚類化合物、皂甘類化合物(saponins)、多醣類化合物、胺基酸、鞣質類化合物(tannins)、胺類化合物(amines)及微量元素(minerals)等。

第三節 綠茶萃取物兒茶素與其抗氧化作用

一、茶的簡介和分類

(一)茶的歷史淵源

飲茶是中國飲食與古老文化生活的組成。早在公元前 350 年的中國古書爾雅對茶已有可靠的記載。而茶經中也道：『茶之為飲，發乎神農氏 .』，早在神農時代，中國人早已開始喝茶，到了公元六世紀茶才從我國傳到日本，發展成為今日的日本所盛行的「茶道」。隨後又傳到印尼，並經由印尼傳到了歐洲。

茶不僅是最古老的飲料，它的藥用價值在我國也有幾千年的文字記錄歷史。據考察統計，我國至少有 16 種古醫藥書記載了茶的醫藥療效。漢朝藥書神農本草經中有這樣的記載：「神農嘗百草之滋味，水泉之甘苦，令民知所避就，當此之時，日遇七十二毒，得茶而解」。另外唐代本草拾遺稱：「諸藥為各病之藥，茶為萬病之藥」，不僅如此，歷代許多有名的醫書如本草綱目、皇帝內經等都有記載關於茶的功

效。雖然其中不免有些誇張，但是以現代科學研究，確實證明茶有廣泛的醫藥價值。

(二) 茶的分類

茶可依製造過程及發酵程度分為不發酵茶、半發酵茶及全發酵茶三種。綠茶則為不發酵茶；半發酵茶中較常見的有烏龍茶、鐵觀音、包種茶、香片、青茶等；全發酵茶則以紅茶為代表。

不發酵茶（綠茶）的製造步驟為殺菁、揉捻和乾燥等。殺菁係以高溫制止茶葉中氧化酵素的作用，由於未經發酵，能完整的保留茶葉中豐富的葉綠素、兒茶素、維生素 A 及維生素 C 等營養成份，對各種現代文明病具有預防的功效(周君蘭，1998)。

半發酵茶的製造過程則為日光萎凋、室內萎凋、殺菁、揉捻和乾燥。不同茶種在製茶過程中，隨著發酵程度之提高與製茶程序之進行，兒茶素類成份含量隨之減少，茶黃質類(theanavins)及茶紅質類(theambigins)含量則隨之增加（陳清泉，1997）。

全發酵茶（紅茶）的製作過程則為萎凋、揉捻、發酵和乾燥。在發酵的過程中，其主要的化學變化為多元酚類受到多酚氧化酵素之作用，產生茶黃質及茶紅質等高分子可溶性氧化生成物(Haslmm, 1989)。

綜合上述，茶的分類，依其發酵程度的不同而有所區別，發酵愈完全，也愈會破壞茶葉中有益人體的化合物（如維生素 C 等）；相反的，不發酵茶較能保持茶葉中有益成份，因此屬不發酵類的綠茶，保留了原茶葉中絕大部分健康因子，其衍生的保健功效，也較為養生保健者所喜愛。

二、茶的主要成分

(一) 茶葉的化學組成

茶的可溶性成分約佔茶葉總重量之 30-40%左右，依品種、產地、氣候、發酵及焙火程度的不同，其化學組成也會有所差異。而其內容可分成：多元酚類、咖啡因、蛋白質與游離胺基酸、維生素、礦物質、揮發性香氣成分、色素成分、碳水化合物、脂質、有機酸等。其中僅以多酚類加以敘述：

1. 多酚類(polyphenol)

茶中多酚類之含量非常高，佔茶湯中可溶性成分的 40-50%，更重要的是它在製茶過程中的轉變對茶的香氣、滋味、水色和色澤等特性具有極大的影響力。茶多酚依其結構差異可分成五類：分別為黃烷醇類 (flavanols)、黃酮醇類 (flavonols)、無色花青素 (leucoanthocyanins)、酚酸 (phenolic acid) 和氧化態綜合酚類 (施明智, 1998)。其中黃烷醇類又稱為兒茶素類 (catechins)，是茶葉中含量最高的多元酚類，約佔總量的 75-80%，主要成份為兒茶素 (catechin, CAT)、表兒茶素 (epicatechin, EC)、EGC (epigallocatechin)、EGCG (epicatechingallate) 及 EGCG (epigallocatechin gallate)，其結構如圖 2-6 所示 (Bors and Michel, 1999)。

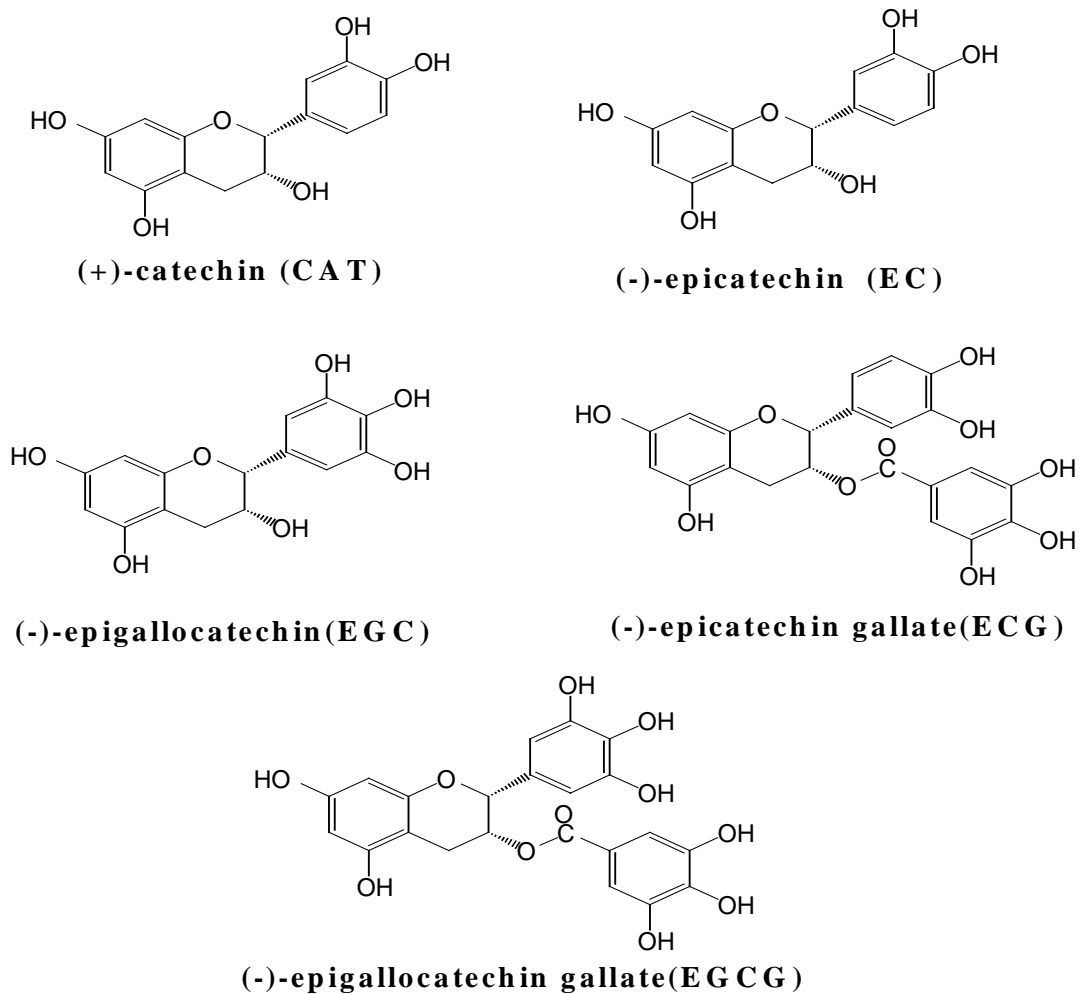


圖 2-6 兒茶素的結構(Bors and Michel, 1999)

2. 兒茶素的介紹

兒茶素(Catechin)是多酚類的一種，屬於黃烷醇類，其主要成份為 (+)-catechin(C)、(-)-epicatechin(EC)、(-)-gallocatechin(GC)，(-)-epigallocatechin(EGC)、(-)-catechin gallate(CG)、(-)-gallocatechin gallate(GCG)、(-)-epicatechin gallate(ECG) 及 (-)-epigallocatechin gallate(EGCG)等八種(Dalluge and Nelson, 2000)(圖2-7)。兒茶素最初由綠茶中萃取出為無色結晶形固體，能溶於水；經實驗證明得知，

其化學結構式中含有氫氧基(OH·)愈多者，愈能阻止自由基在生物系統中所造成的傷害(Bors and Michel, 1999)。換言之，兒茶素能阻止細胞膜氧化，使細胞膜保持其生理功能，具有抑制癌症發生與抗老化效果。

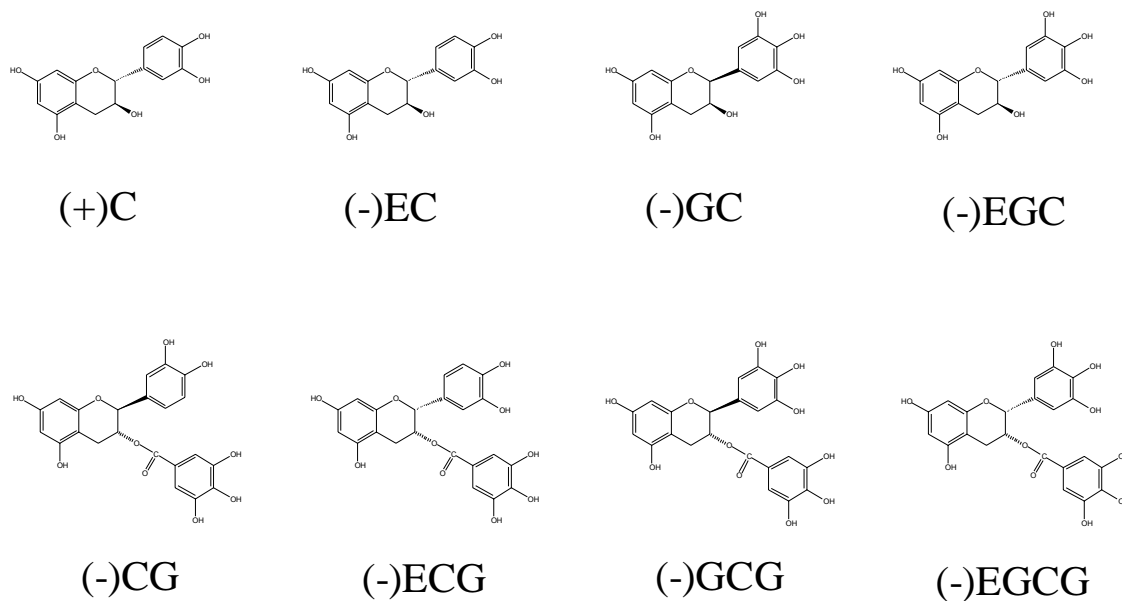


圖 2-7 綠茶中八種兒茶素結構(Dalluge and Nelson, 2000)

茶中含有多酚，是很好的抗氧化物，在這些茶多酚當中以 EGCG 含量最多，生物活性最高，因此許多文獻報告都以 EGCG 為代表，研究綠茶的生物活性與保健作用。在許多動物和人類疾病的實驗模式中，兒茶素及其他抗氧化劑，如維生素 A、E 及 C 等都具有強效的抗誘變性，可預防許多疾病的產生，如癌症、高膽固醇血症、糖尿病等，對於 T 淋巴球和 B 淋巴球、自然殺手細胞的增生，也有所助益。甚至可以降低血中三酸甘油酯與膽固醇的量，避免脂蛋白 LDL 的氧化與動脈粥狀硬化的發生(Guo 等人, 1996)。

(二) 兒茶素的作用及功效

一個好的抗氧化物或自由基清除者，其所需具備的條件不外乎在化學活性上同時具有一個容易捨得或提供電子的特性；在結構上要有好的位移(delocalization)能力，以藉此穩定未配對電子，另外也要具備有和其他抗氧化物、氧分子相互活化的能力(Wiseman 等人，1997)。兒茶素之所以能夠防止氧化傷害的產生，主要在於它的抗氧化化學結構式(圖 2-8)(郭智宏，1999)；兒茶素它的化學架構之 B 環上的 3'、4' 位置，有兩個相鄰的氫氧基(orthodihydroxycatechol, 3',4'-OH)，這個結構提供了其自身氧化電子移位時，形成較穩定的酚自由基(phenoxy radical) 型態，其反應機制如圖 2-9 所示(Guo 等人，1996)。另兒茶素結構式的特色是其可以透過 B 環將游離的金屬離子螯合，以減少藉由金屬離子所活化(metal-catalyzed)的活性氧分子之產生(Guo 等人，1996)。

根據研究報告指出，兒茶素能有效地清除體內自由基，而清除效率決定於兒茶素結構中氫氧基(OH·)數量(圖 2-10)(郭智宏，1999)，EC、EGC、ECG 及 EGCG 分別有 5、6、7 及 8 個氫氧基，氫氧基愈多，效率就愈高。因為 EGCG 含 8 個氫氧基，研究人員經常以 EGCG 含量來判別兒茶素的品質，EGCG 佔兒茶素 10~50%，抗氧化能力比維生素 C 及 E 大上 50-100 倍。因此兒茶素中的 EGCG 對於阻止氧自由基的傷害，有很大的幫助(Hatano 等人，1989)。

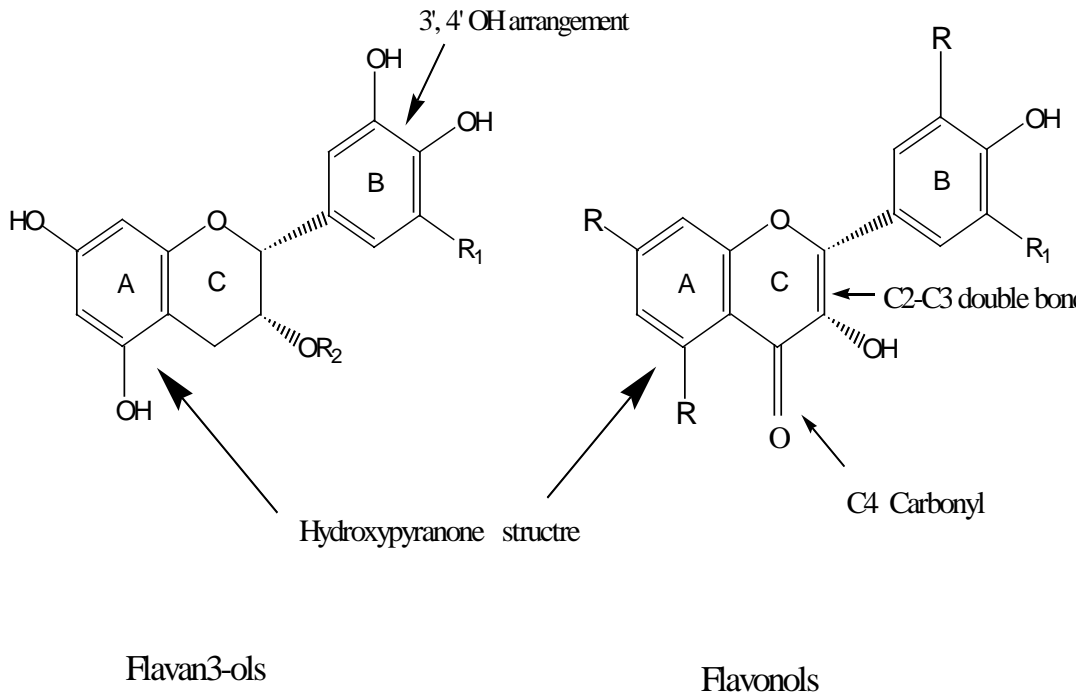


圖 2-8 兒茶素的抗氧化化學結構特性 (郭智宏, 1999)

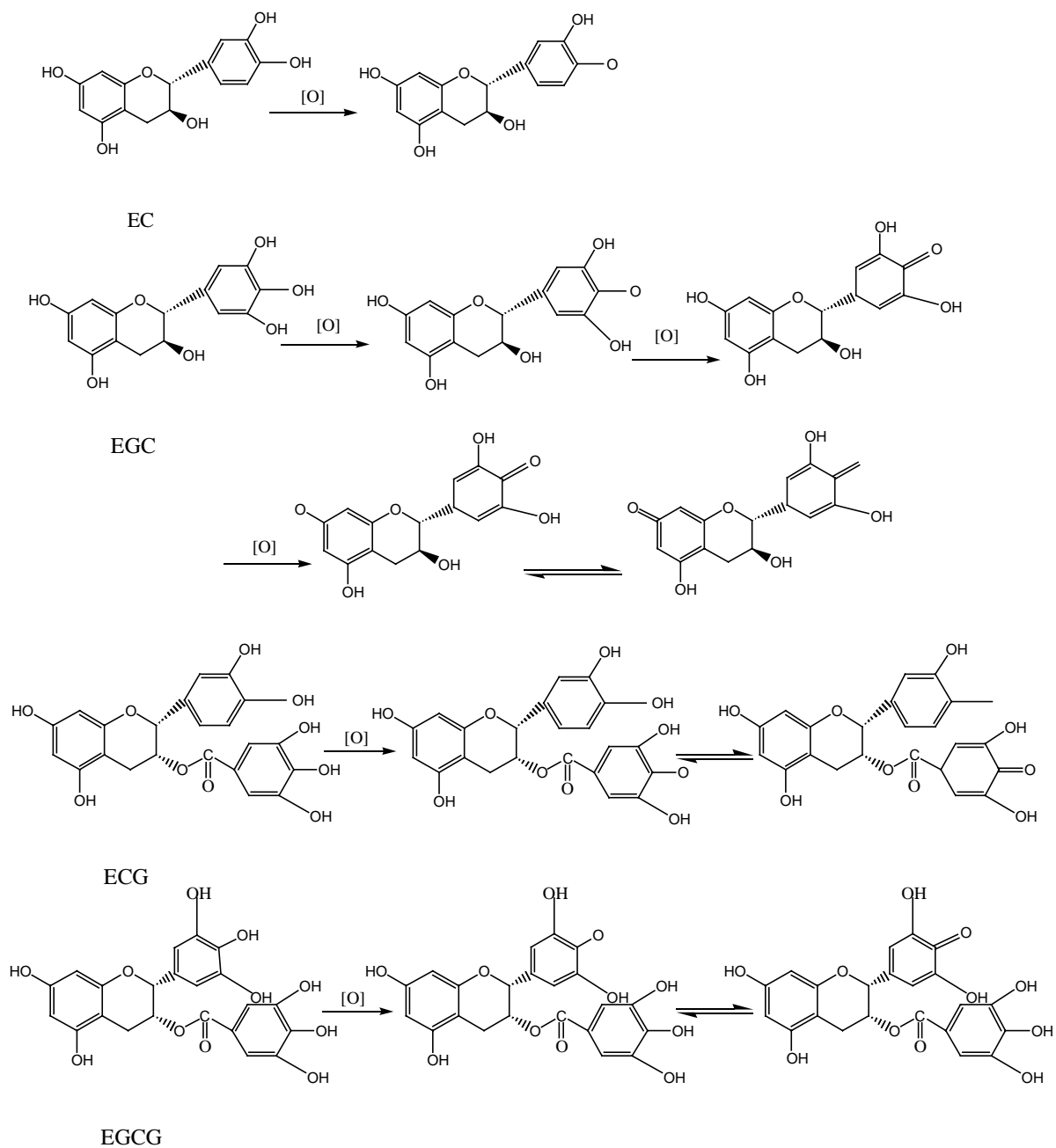


圖 2-9 兒茶素類抗氧化反應機制 (Guo, 1996)

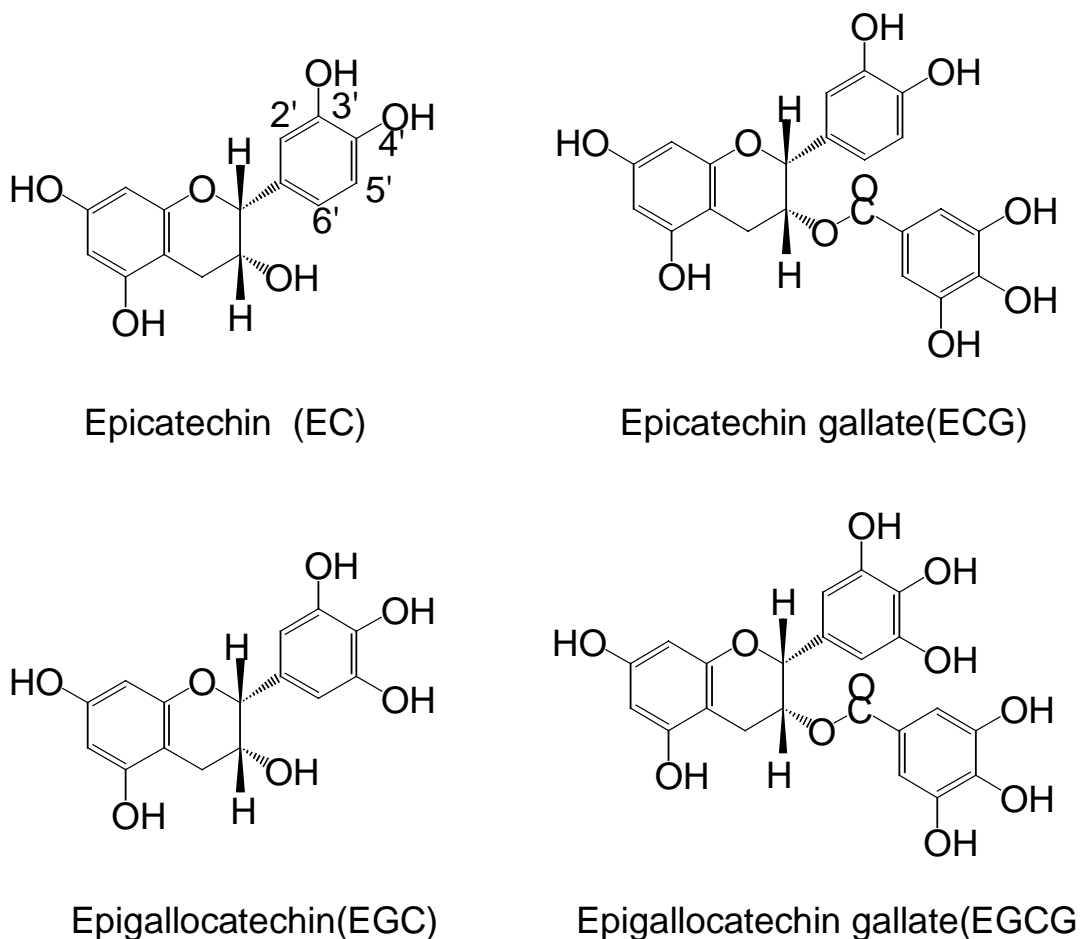


圖 2-10 兒茶素結構中氫氧基(OH·)的數量 (郭智宏, 1999)

兒茶素對於氫氧自由基及過氧化自由基都有很強的抗氧化能力 (Cao 等人, 1996), 另外, 兒茶素中的 ECG 及 EGCG 都是很好的氧自由基及過氧化氫的清除者, 而且比維生素 C 及 E 來得強 (Hatano 等人, 1989)。而兒茶素對單電子氧(1O_2 , singlet oxygen)也具有很強的清除效果 (Tournaire 等人, 1993)。

第四節 運動、氧化傷害與抗氧化物的補充

一、運動與氧化性傷害

1983 年 Quintanilha 與 Packer 在動物實驗發現，經過長期的訓練，在老鼠的心肌和骨骼肌，會增加 SOD、CAT 等抗氧化酶的作用。

1991 年 Mena 等人，測量坐式生活的健康人 20 名和 45 名腳踏車選手。坐式生活的人不從事長期的身體活動（控制組），將腳踏車選手又分為業餘組、專業組。實驗結果，在休息的狀態下，腳踏車選手的 SOD 含量，高於控制組 ($P < .01$)。而 CAT 和 GSH-Px 的含量方面，在休息狀態下專業組分別高於坐式控制組 ($P < .05$) 和業餘組 ($P < .01$)。在 MDA 方面坐式控制組明顯上昇 ($P < .001$)。

1993 年 Criswell 等人，以 36 隻成年的雌鼠，分成間歇訓練組 ($6 \times 5 \text{min}$, $80-95\%V_{O_2\text{max}}$)、連續訓練組 (45min , $70\%V_{O_2\text{max}}$) 和控制組，間歇訓練組和連續訓練組，進行 12 週跑步訓練 (Treadmill)；之後，比較間歇訓練和連續訓練後 SOD 的活性，測量結果間歇訓練、連續訓練組的 SOD 含量高於控制組。間歇訓練和連續訓練兩組的 SOD 量，沒有明顯差別 (但兩組都有微量上昇)。在比目魚肌上，間歇訓練組 GPX 量高於連續訓練組。

1994 年 Leeuwenburgh 等人，以老鼠為對象，以 $75\%V_{O_2\text{max}}$ 的運動強度，每天訓練 1 小時，每週 5 天，共持續 10 週的訓練。之後，取老鼠的股外側肌，測量 SOD 的活性，結果 SOD 明顯上升。

1995 年 Tessier 等人，以 $65\%V_{O_2\text{max}}$ 的運動強度下，每週訓練 3 天，共持續訓練 10 週。之後，測量紅血球的活性，結果 GPX 上升，而 GRd 下降。

1996 年 Tiidus 等人，以 7 名男性和 6 名女性為對象，在測功器上以 70%VO₂max 練習，每次 35 分鐘，每週 3 次，持續 8 週。之後，測量股外側肌的抗氧化酶的狀態。結果 SOD、GPX 的活性並沒有顯著性的改變。男性和女性之間的 SOD、CAT、GPX 沒有明顯的不同。作者解釋認為中強度有規律的有氧運動，能促進抗氧化能力，增進克勞伯循環和電子傳遞鏈，換句話說，也就是能夠充分有效的運用氧，減少氧自由基的產生。

1996 年 Hellsten 等人，以 11 位男性為實驗對象，做短時間的跑步衝刺練習，並將實驗分為兩階段，第一階段：每週訓練 3 次(10sec x15)，共訓練 6 週；第二階段：接著在第 7 週時，每天訓練 2 次，強度和第一階段相同，共計 7 天。於訓練前做活體切片，並於訓練 6 週完畢後 24 小時抽取肌肉樣本測量，在第二階段訓練完畢後測量 3、24、72 小時的肌肉來分析，結果第一階段，SOD、GPX、GR 沒有顯著性變化；在第二階段，GPX、GR 則有明顯的上升，但在 SOD 方面，則沒有明顯的變化。作者解釋可能 6 週的訓練過程，增進了 SOD 的活動能力，也就是能有效的利用氧，那麼自由基的產生就大為下降，使得 GPX、GR 的活性沒有上升；而在第二階段後的 24 小時測驗，GPX、GRd 顯著上升，SOD 沒有上升，表示短時間的訓練，使自由基大量的產生。

1997 年，Ortenblad 等人，測量 8 名男排球選手，每週訓練 5-8 次，平均每週 12±5 小時和 8 名男性未訓練者，在短時間跳躍(30secx6)測驗，中間休息 2 分鐘；測量結果排球選手，骨骼肌上的 SOD、GPX、GR 含量都明顯高於未訓練者。

1997 年，謝錦城，以 6 名男性和 2 名女性，以 70%VO₂max 的運動強度，騎腳踏車 1 小時；採耐力訓練前、後股外側的骨骼肌。結果發現運動前、後 SOD、GPX 和 GRd 沒有明顯差異。作者認為中強度的耐力訓練，對於人體骨骼肌不會造成壓力。

1998 年 Ohno 等人，測量 7 位健康男性（平均年齡為 18-19），施予每週 6 次，每次超過 5 公里的跑步，持續 10 週。實驗測量結果，在他們的最大攝氧量及 12 分鐘跑走在訓練過後，都有明顯的進步。在抗氧化的系統上，CAT 及 GRd 都有明顯的上升。作者認為經過長期的有氧訓練會增加核黃素的需求和抗氧化過程的作用。

綜合本小節，大部分的研究報告指出，經由適度規律的有氧運動可增強其抗氧化能力，也就是增強抗氧化酶 SOD、GSH-Px 的能力。

二、運動與脂質過氧化傷害

1986 年 Kanter 等人，在測量超馬拉松選手跑完 50 公里後，血中 MDA 的濃度，結果跑完 50 公里後血中 MDA 濃度，較休息狀態下明顯上升。

1987 年 Lovlin 等人，測量未受運動訓練者，在完成衰竭性運動後採血，血中 MDA 也明顯上昇。

1995 年 Zhang 等人，測量老鼠在衰竭性游泳後，肌肉組織中脂質過氧化物（MDA）及血清 CK、LDH 的活性，將 16 隻老鼠隨機分成對照組及實驗組，每組 8 隻。對照組不進行任何運動訓練，實驗組則在流動的水槽中進行游泳訓練 12 天。實驗組在訓練當中 1 至 4 天，水流速為 0.78m/s，持續 30 分鐘；在 5 至 8 天，則水流速增加至 1.17m/s，持續時間為 40 分鐘；到 9 至 12 天，水流速為 1.4m/s，持續 40 分鐘。在實驗採血當天，則在尾部負重相當於體重 4% 的重物，游泳至衰竭為止。結果指出實驗組的骨骼肌 MDA 含量明顯升高（ $P < .05$ ）。在血清 CK、LDH 活性方面，有顯著的升高（ $P < .05$ ）。肌肉和血清 CK、LDH 活性的比較，則肌肉中略為下降，原因為正常情況下，細胞膜完整使得 CK、LDH 很少透出，當在衰竭運動後，使肌肉組織損傷，肌細胞膜的通透性增加，則血清中 CK、LDH 的活性提高。

1996 年 Gu 等人，測量 30 隻 Winstar 雄性老鼠的脂質過氧化物 (MDA)，隨機分成控制組與對照組，每組各 15 隻老鼠。控制組為正常生活型態，對照組則在跑步機上進行一次衰竭性跑步，並利用電刺激法，刺激老鼠到衰竭不再跑為止。隨即採取老鼠的股四頭肌紅肌，分析對照組與控制組 MDA 的含量。結果顯示在控制組的一次衰竭後，紅肌中 MDA 的含量明顯上升 ($P < .05$)，在 SOD 的增加方面則不顯著 ($P > .05$)。作者認為 SOD 的含量，沒有明顯增加，在於自由基的不斷產生，導致自由基的清除能力不足。反之，使脂質過氧化物的大量產生。在 CK 方面也有明顯提高，且與股四頭肌紅肌自由基作用的加強具有顯著相關性 ($r = .88$)，這說明衰竭運動導致細胞膜多元不飽和脂肪酸發生損傷，引起氧化反應，使得細胞膜的通透性增加，一方面使細胞內的物質流出，破壞細胞內外的穩定性。另一方面則由於細胞膜的損傷，造成膜內外正常離子的濃度差，影響肌細胞膜系統的正常功能。

1996 年 Eston 等人，測量 5 名男性在上、下坡跑時，血清中 MDA 及 CK 的變化。對這 5 名受試者施以 2 週的上 (上昇 10 度)、下 (下降 10 度) 坡跑步訓練。每次跑步以上、下坡為 1 組，共跑 5 組，每組 8 分鐘，組與組之間休息 2 分鐘。強度為最大心跳率的 65%-80%。在採血方面，則於實驗前、實驗後立即、實驗後第 1、2、4 天採血。測量結果，在下坡跑時的 CK 在實驗後持續升高，並於第四天達到最高點 ($P < .01$)，而在上坡跑，於第 4 天時下降至實驗前的狀態。MDA 在下坡跑方面，於實驗後第四天有明顯的上昇 ($P < .01$)，而在上坡跑則無明顯改變，另外在血清 CK 和 MDA 值方面，在下坡跑時有明顯的交互作用。

1997 年 Goodman 等人，針對 20 名男性，完成 21 公里跑 (以最快的速度)，並於運動前 10 分鐘、跑步後立即、跑步後 24 小時，利用

靜脈穿刺得到血液樣本。結果得知 CK 值，在運動後立即抽血並無明顯上升，在運動後 24 小時後則明顯高於運動前。在 MDA 方面則在運動後立即有明顯地增加，在 24 小時後立即回到基準點。比起運動前 MDA 的值，在運動後立即測量接近有顯著性($p=0.06$)。

1999 年徐台閣等人，以 12 名長跑選手為受試者，在田徑場跑步，每次 60 分鐘，為期 7 天，運動強度為 60%最大心跳率，在第 1、3、7 天的跑步前、後及跑步後 1 小時抽血，結果發現受試者血中 MDA 濃度，並沒有明顯高於第 1 天跑步前的濃度，作者認為中等強度運動並不會造成運動者的氧化傷害。

2000 年 Toshinai 等人，以 6 名坐式生活的大學生為受試對象，以腳踏車進行測驗，在不同強度與持續時間下運動(40% VO_2max ，45 分鐘；60% VO_2max ，30 分鐘；80% VO_2max ，22.5 分鐘)，測驗 MDA 反應，結果發現 60% VO_2max ，80% VO_2max 強度下，MDA 明顯增加。

2001 年 Miyazaki 等人，以 9 名未受過訓練的健康男性為受試對象，進行 12 週的高強度的腳踏車測力計訓練，在訓練前後均進行單次衰竭運動，並測量血液中 MDA 濃度。結果發現訓練前、後產生氧自由基及 MDA 均較安靜時明顯的增加。

綜合上述的文獻可以發現，運動後人體血液中氧自由基明顯增加。研究證實，這些大量的氧自由基會對周遭的組織產生氧化傷害(Sjodin, 1990; Aikens and Dix, 1991)。Gu 等人(1996)研究指出，衰竭運動導致細胞膜多元不飽和脂肪酸發生損傷，引起氧化反應，使得細胞膜的功能被破壞。在研究結果中發現，雖然檢測方法及受試對象都不同，但在結果的趨勢上，對於適度的運動會增加 SOD 的含量是一致的，而 MDA 也會隨著運動強度而明顯上昇。

三、運動與抗氧化物的補充

(一)維生素 E

1995 年謝錦城，進行動物實驗，探討激烈運動(2 km/hr, 坡度 15 度)至衰竭時，維生素 E 的補充，是否會減緩氧化傷害？結果發現激烈運動對於心肌黃嘌呤氧化酶含量有提升作用，而於運動時，每天補充 20 毫克/公斤維生素 E 能促使心肌過氧化氫酶含量提高，有助於排除過氧化物，避免氧化傷害的發生。

1998 年 McBride 等人，研究受阻抗訓練課程（重量訓練）經驗 1 年以上的 12 位男性，分成 2 組補充組和安慰組，補充組給予維生素 E，另一組則給予安慰劑。在補充組方面，每天給予 1200IU(3×400IU/d) 為期二週，測量血中的 MDA，結果安慰組的 MDA 明顯上升。表示維生素 E，能夠保護細胞，防止氧化傷害。

(二)兒茶素

1997 年 Kumari 等人研究指出，以 SAM-P8 型的老鼠（一種老衰早熟的老鼠品種）為實驗對象，飼養環境控制於 25°C、濕度 55% 及明暗各 12 小時的環境中，等待適應後隨機分配成 2 組，控制組為 8 隻雄性 8 隻雌性，實驗組則 9 隻雄性 10 隻雌性，均為 10 週大。實驗方式為控制組給予一般飲用水，實驗組則在飲水中加入 β -catechin(1 ml/kg. B.W)，其餘則正常生活定期稱重，直至自然死去。結果控制組(雄鼠)和實驗組(雄鼠)平均存活率 50%，則分別為 40 週、47.5 週；而在雌鼠方面則分別為 51 週、59 週。此研究結果，提供了 β -catechin 可以減緩老化的支持證據，並強調每日補充自然抗氧化劑的重要性，以達到延長生命的效果。

1999 年 Nicolosi 等人的研究指出，兒茶素中 EGCG 能降低血漿中總膽固醇、游離膽固醇、LDL 膽固醇及三酸甘油酯的含量，同時增加 HDL 膽固醇含量。而其作用機制包括有：降低飲食膽固醇的吸收、抑制膽固醇合成之關鍵酵素 (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase) 的活性、減少膽酸之再吸收及增加糞便膽固醇的排泄量。此外，兒茶素具有抑制血小板凝集的功效，可使血液黏稠度下降，因而可預防血栓的形成並降低粥狀動脈硬化的發生。

1999 年 Nakagawa 等人的研究發現，以 18 名健康的男性自願者為對象，進行兒茶素抗氧化的實驗，受試者體重 52-81 公斤 (BMI 為 $21.4 \pm 2.3 \text{ kg/m}^2$)，受試者於實驗前 12 小時禁食，並避免喝茶及和茶有關的飲料；之後，以口服的方式吃下 254mg 的兒茶素。在給予兒茶素補充前及 1 小時後抽血，結果發現，過氧化物有下降的趨勢。

朱志偉(2000)的研究發現，綠茶、烏龍茶、紅茶等茶葉萃取物及 epicatechin (EC)、epicatechin gallate (ECG)、epigallocatechin gallate (EGCG)、epigallocatechin (EGC) 及茶黃素 (theaflavins) 等五種茶葉中多酚類純品化合物之抗氧化力，並以 TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) 評估三種茶葉萃取物之抗氧化力結果顯示，其抗氧化力 (TEAC 值) 依序為綠茶 (3.6) > 烏龍茶 (3.3) > 紅茶 (2.3)。另外，五種兒茶素化合物之 TEAC 測定結果發現在 C 環接有 gallate 基的兒茶素化合物如 ECG (4.9) 及 EGCG (4.0) 之抗氧化力顯著高於未接 gallate 基的 EGC (3.1) 及 EC (2.5)，而 theaflavins 之 TEAC 值為 3.6。另外，綠茶、烏龍茶及紅茶萃取物之總多酚類化合物分別佔茶葉萃取物的 32%、28.1% 及 22.8%，其中總兒茶素化合物含量各佔茶葉萃取物的 25.8%、21.2% 及 8.7%，顯示當茶葉發酵的程度愈高，總多酚類與總兒茶素含量愈低，其 TEAC 值也較低。

上述研究結果顯示，於相同測試條件下此三種茶葉水萃取物外加氧化型傷害劑 H_2O_2 誘發細胞 DNA 損傷時，結果顯示，綠茶、烏龍茶及紅茶具有清除 H_2O_2 的能力，分別達到 56%、60% 及 52% 的清除效應，顯示茶葉萃取物抑制 H_2O_2 所誘發淋巴球細胞 DNA 損傷來自於清除 H_2O_2 所致，因此，茶葉中的兒茶素及茶黃素化合物應為貢獻茶葉抑制細胞 DNA 損傷的重要因子。

總結運動與抗氧化物補充的文獻可以發現，在抗氧化劑的補充上，大多以維生素 E 和維生素 C 為主，在相關的文獻中也指出，兩者對抗氧化效果均有顯著的效果。以綠茶為抗氧化補充劑的研究報告，大多強調兒茶素對於排除自由基，有相當大的效果。然而，這些研究成果大多著重於動物實驗和醫學的臨床成效，對於運動介入的範疇，則付之闕如。所以本研究希望透過運動與抗氧化劑補充的觀點，來瞭解兒茶素對於人體在運動過程當中，所扮演的角色。