
()

040702

--	--

壹、摘要

麻筴為中台灣夏天的傳統食物，屬本土麻類植物。本研究旨在探討麻筴甲醇萃取物之抗氧化能力與誘導癌細胞之凋亡潛力。在氧自由基吸收能力的測定中，葉萃取物比莖或根具有更佳的抗氧化能力，在總多酚含量上也顯現相同的趨勢。此外也發現麻筴的抗氧化能力與其總多酚的含量有很好的相關性。由高效能液相層析儀分析得知，在麻筴葉中可得原兒茶酸、咖啡酸、綠原酸、對-薰草酸、阿魏酸與芸香苷等六種酚類成分。當加入麻筴葉萃取物時，血癌細胞有明顯 DNA 斷裂情形發生，而在凋亡相關之基因表現上，c-Myc 和 Bcl-2 mRNA 隨時間明顯降低，而 Bax mRNA 是稍微增加。因此，麻筴在體外試驗確實具有抗氧化和抗癌的效果，對於抗血癌細胞的化學保護機制是有幫助的。

貳、研究動機

炎炎夏日，來碗清涼退火的「麻苳湯」吧！麻苳是中南部盛產的植物，更是老一輩們眼中的消暑盛品。常隨父母逛菜市場的我們，因此興起了研究麻苳的念頭，是否麻苳具有神奇的功效？剛好我們在生物、化學課學到生物技術、氧化還原反應等知識，於是我們就想要藉此來進一步了解「麻苳」及其功效。

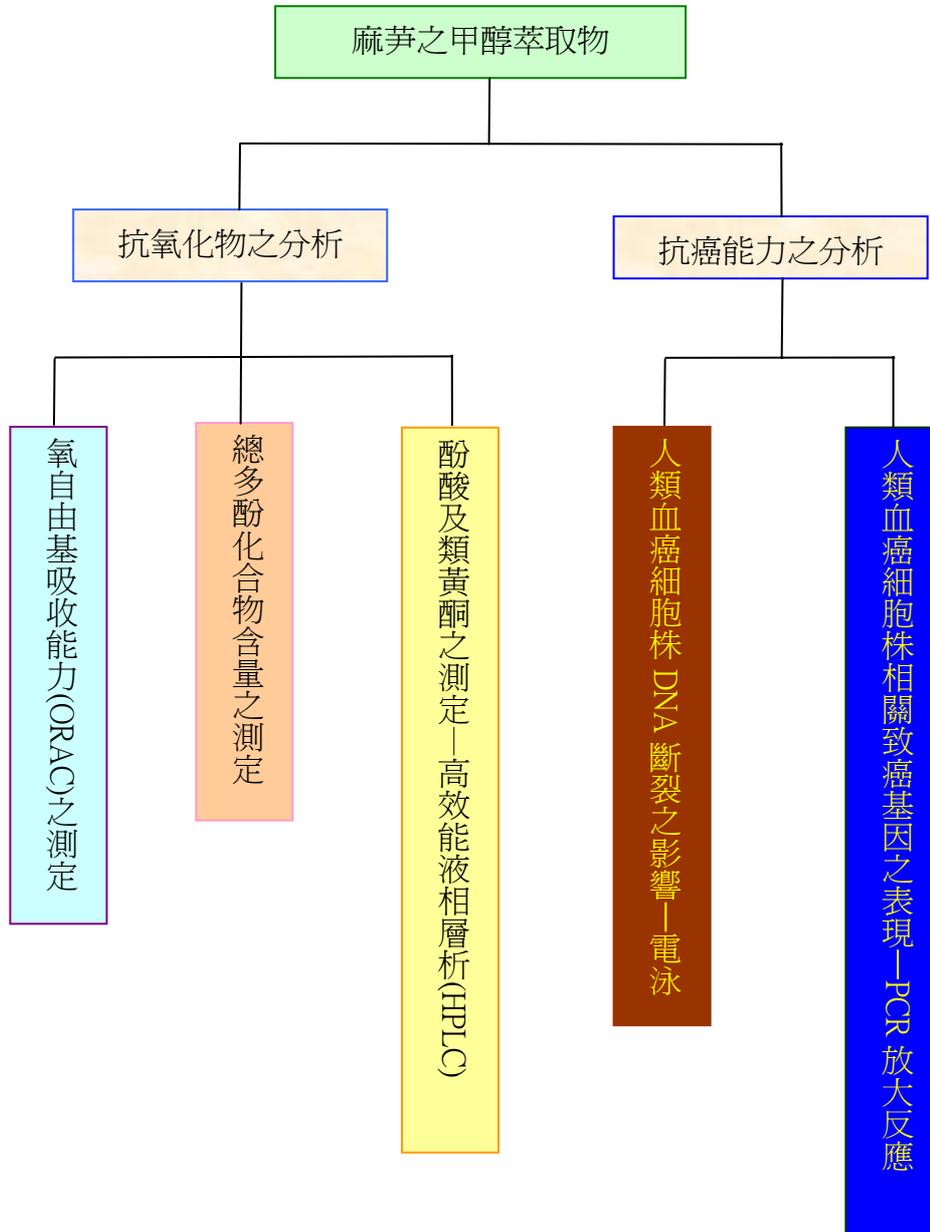
癌症是二十一世紀人類的頭號殺手，也是有史以來醫學界遭受之最嚴酷的挑戰，可謂是世紀病，愈文明、愈工業化、人民飲食習慣不良或營養攝取不平衡的國家，癌症發生率和死亡率也就愈高 (Uauy and Solomons, 2005)。因此，如何有效地降低癌症的發生率及減緩癌症的發展，是近年來醫學界一直努力研究的目標。

癌症的化學預防是期望給予一種或多種自然存在或人工合成物質去阻斷、回復或預防癌症的發展，並減少癌症的發生率。許多流行病學及動物研究也發現，存於飲食、藥草及植物中的微量化學物質具有多樣的藥理特性，對於多種癌症的預防及治療皆有相當大的助益(Smith et al., 2005)。由於傳統的化學療法、放射療法或是外科手術，均面臨相當程度之瓶頸；像是化學療法易產生嚴重的骨髓抑制，外科手術切除又無法完全清除腫瘤。而食材中的特殊成分，攝取容易且安全性佳，因此近年來，透過取材環境中的食材，來降低癌症的發生率受到大眾相當的重視。流行病學研究顯示，日常所食用的蔬菜、水果及穀類中含有豐富的類黃酮、維生素及多酚類等物質，可提供不同機制之抗氧化能力，來降低氧化壓力所造成的傷害(Huang and Ferraro, 1992)。而酚酸(phenolic acids)便是其中一群存在於蔬果中且具有許多優良效應之化合物(Bagchi et al., 1993)。

麻苳(*Corchorus olitorius*)為黃麻的一種，而黃麻是一年生的草本植物，為熱帶及亞熱帶特用作物，韌皮部富含纖維，最初的用途是在紡織織布，也曾大量製成麻袋、麻衣等；更是平地農民製作繩索的主要作物。根據 Azuma 等(1999)研究發現麻苳可阻擋致癌物質自由基生成，效果是維生素 E 的五倍、維生素 C 的七倍。自由基是一種不穩定的物質，一旦生成就會攻擊人類組織、DNA 等，導致發炎和致癌。有一些已知抗癌藥物的治病機轉是經由促使癌細胞發生凋亡與抑制 DNA 拓樸酶 II (topoisomerase II)；而細胞凋亡的特徵有細胞皺縮、發生 DNA 斷裂、產生凋亡小體與快速被鄰近吞噬細胞吞噬，但是麻苳萃取物誘發人類血癌細胞(HL-60)凋亡的機轉依然沒有足夠資料，因此本研究報告將針對麻苳萃取物是否能誘發人類血癌細胞產生凋亡現象進行研究。

參、研究目的

本研究係針對麻苧萃取物的抗氧化及抗癌活性來加以探討，期望藉此研究能進一步瞭解食用麻苧可能對身體造成之益處：麻苧之抗氧化能力與抗癌活性。



圖一 實驗架構圖

肆、研究設備及器材

一、實驗樣品

麻芋 (*Corchorus olitorius*) 植株之根、莖及葉脈。



圖二 麻芋植物及其葉、莖、根構造

二、實驗器材

減壓濃縮設備購於瑞士 BÜCHI 公司；人類血癌細胞株 (HL-60 細胞) 是購於食品工業發展研究所生資中心，生資中心之編號為 BCRC 60027；細胞培養箱購於美國 SHELLAB 公司；螢光光度計 (Fluorescence spectrophotometer; F-2500)、分光光度計 (U-3000) 與離心機 (himac CF15D) 購於日本 Hitachi 公司；高效能液相層析儀：包括 Model L-6200 intelligent pump、Model D-6000 interface、Model D-2500 Chromatointegrator 與 L-7455 Photo Diode array Detector 是購於日本 Hitachi 公司。使用之分析管柱為 Lichrospher RP-18 逆相分析管柱 (管柱大小 250 mm × 10 mm，填充物之粒徑 5 μ m) 是購於德國 E. Merck 公司；電泳分析設備購於美國 Bio-Rad 公司；電泳膠分析照像儀購於美國 UVP 公司；細胞培養皿購於美國 Corning 公司；0.45 μ m 濾膜購於美國 Millipore 公司。

三、實驗藥品

RPMI-1640 細胞培養基內含 10 % 胎牛血清及 1 % 青黴素-鏈黴素 (10,000 U/ml 青黴素和 10 mg/mL 鏈黴素)、五倍子酸 (Gallic acid) 與碳酸鈉購自於美國 Gibco 公司；藻紅素

(β -phycoerythrin) 購自於美國 Sigma 公司；磷酸鹽緩衝劑(pH 7.0)與水溶性維生素 E (Trolox)購自於美國 Aldrich 公司；AAPH 購自於和光純藥株式會社；鹽酸購自於台灣聯工化學股份有限公司；甲醇、醋酸(acetic acid)與乙腈(acetonitrile)購自於美國 TEDIA 公司；Folin-Ciocalteu reagent 購自於和光純藥株式會社；TRIzol 套組購自於美國 Life Technologies 公司。其它所使用之試藥均為試藥級以上之藥品。

伍、研究過程或方法

一、樣品製備

(一)麻荊(*Corchorus olitorius*)萃取物之製備

麻荊採新鮮品，取其根、莖、葉等不同部位，以甲醇萃取，再經真空減壓濃縮得粗抽物，以進行爾後的各項實驗。

(二)人類血癌細胞株(human promyelocytic leukemia line, HL-60)之培養

HL-60 cells 取 $2\sim 5 \times 10^5$ 細胞/mL 置於 75 cm^2 培養皿，加入 10 mL RPMI-1640 培養基，於 37°C 、5% CO_2 的培養箱中培養，培養基一至兩天更換一次以維持 HL-60 細胞正常的繁殖及增生。

二、ORAC 方法 (Oxygen-Radical Absorbance Capacity Assay)

依 Cao 等(1997)之測定方法並稍做修飾，進一步評估麻荊不同部位萃取物之總抗氧化活性。以 Trolox 作為標準溶液，做出標準曲線比對。(表示方式：樣品之 ORAC 以 Trolox equivalent 表示，單位為 μM)

三、總多酚化合物含量之測定

總多酚化合物之測定是參考 Tsao 等(2005)的方法加以修飾，以五倍子酸(gallic acid)當標準品，計算麻荊不同部位之甲醇萃取物之總多酚化合物之含量。

四、酚酸、類黃酮化合物含量之測定

(一)樣本前處理

取麻荊各部位甲醇萃取物以去離子水定量成 10 mg/mL，經 $0.45 \mu\text{m}$ 濾膜過濾後，取上澄液經過 $0.45 \mu\text{m}$ 濾膜過濾，隨即以 HPLC 進行分析。

(二)HPLC 分析條件 (High performance liquid chromatography)

高效能液相層析儀之移動相係採用兩種溶劑，A 液為 2% (v/v) 乙酸水溶液，B 液為 0.5% 乙酸水溶液和乙腈(50:50, v/v)。在 0-10 分鐘時 B 液由 5% 增加至 10%，10-40 分鐘時增加至 40%，40-55 分鐘時增加至 55%，55-60 分鐘時增加至 80%，60-65 分鐘時增加至 100%，65-70 分鐘時下降至 50%，70-75 分鐘時下降至 30%，75-80 分鐘時下降至 10%，流速皆設定為 1.0 mL/min，紫外可見光偵測器偵測在 280 nm 波長之吸收，而樣品注射量為 $15 \mu\text{l}$ 。

五、麻荊萃取物對人類血癌細胞株 DNA 斷裂上之影響

(一)DNA 的萃取

取 1×10^5 HL-60 細胞株放入 6 孔培養皿(6 well plate)，置於 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 培養箱中培養 24 小時後，分別加入不同部位的麻荊萃取物($200 \mu\text{g/mL}$ ，每毫升的培養基中加入 $10 \mu\text{l}$)，對照組加入溶媒。24 小時後進行細胞 DNA 之抽取。

(二)電泳跑膠法

製作 1.8% 之膠片，將膠片置於電泳槽內，以 $1 \times \text{TBE}$ 緩衝液溶液覆蓋過膠片。取 $18 \mu\text{l}$ 萃取之 DNA 樣品加入 $2 \mu\text{l}$ 注入液置於 1.5mL 之小玻璃瓶中混合均勻，接著用量吸管依序將各不同處理後之樣品加入到凝膠片的小孔，並以 100 伏特電壓作用一小時後，以電泳膠分析照相儀分析觀察。

六、麻荊萃取物對於人類血癌細胞株(HL-60)相關致癌基因的表現

(一)人類血癌細胞株(HL-60) RNA 的萃取

利用 TRIzol 套組進行細胞 RNA 的萃取。

(二)使用 Supere Script II 來合成 cDNA

(三)聚合酵素鏈鎖反應 (PCR reaction)

將 PCR 反應試劑加入已滅菌之 PCR 反應試管，接著執行 PCR $15 \sim 40$ 循環的反應。樣品依上述電泳跑膠法，將膠片置於電泳膠分析照相儀，觀察麻荊萃取物對於人類血癌細胞株(HL-60)相關細胞凋亡基因表現的影響。

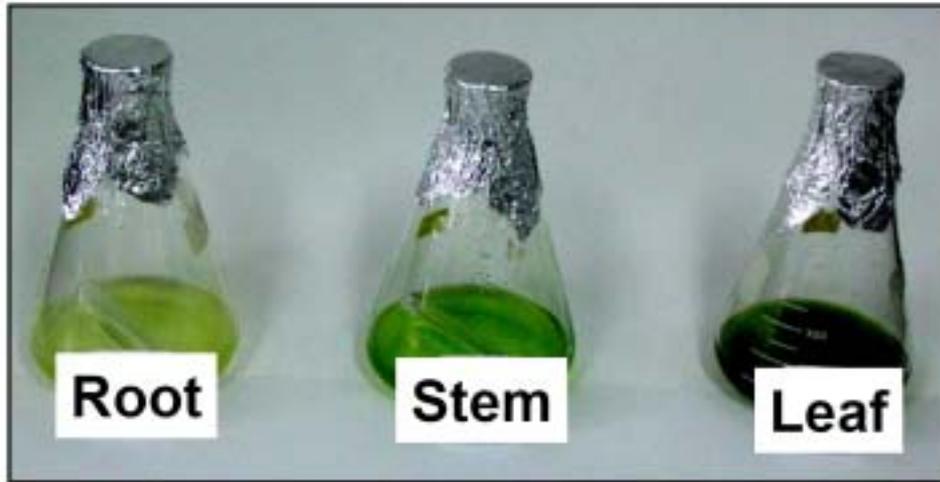
七、數據統計分析

實驗數據使用 Microsoft Excel 7.0 及教育部工作站之統計分析系統(Statistical Analysis System, SAS)，以 ANOVA 程序做變異分析，及 Duncan's Multiple Range test 進行顯著性差異比較，三次重覆試驗之結果以平均值 \pm 標準偏差來表示。

陸、研究結果

一、麻芋甲醇萃取液之顏色觀察

圖三得知，麻芋葉部之甲醇萃取液的顏色最深，其次是莖部之甲醇萃取液，而以根部之甲醇萃取液之色澤最淡。



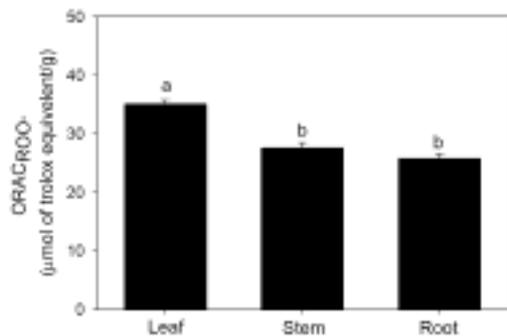
圖三 麻芋甲醇萃取液之顏色變化

二、麻芋甲醇萃取物之抗氧化能力

表一得知麻芋葉部之甲醇萃取物的抗氧化能力最佳，至於莖部與根部之抗氧化能力差異不大。

表一 麻芋甲醇萃取物之抗氧化能力指標

部位	相當於標準液 Trolox 含量
葉	$36 \pm 1\mu\text{M/g}$
莖	$28 \pm 1\mu\text{M/g}$
根	$27 \pm 1\mu\text{M/g}$



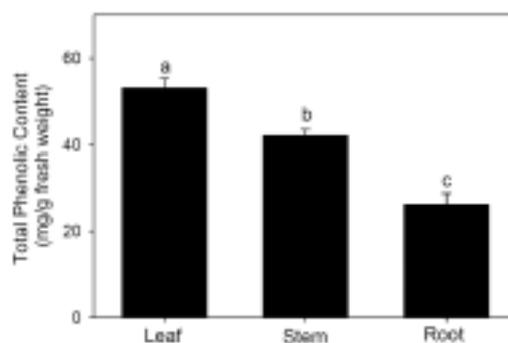
圖四 麻芋甲醇萃取物之抗氧化能力

三、麻芋甲醇萃取物之總多酚含量

表二得知麻芋葉部之甲醇萃取物的總多酚含量最多，其次是莖部，而以根部之總多酚含量最少。

表二 麻芋甲醇萃取物之總多酚含量

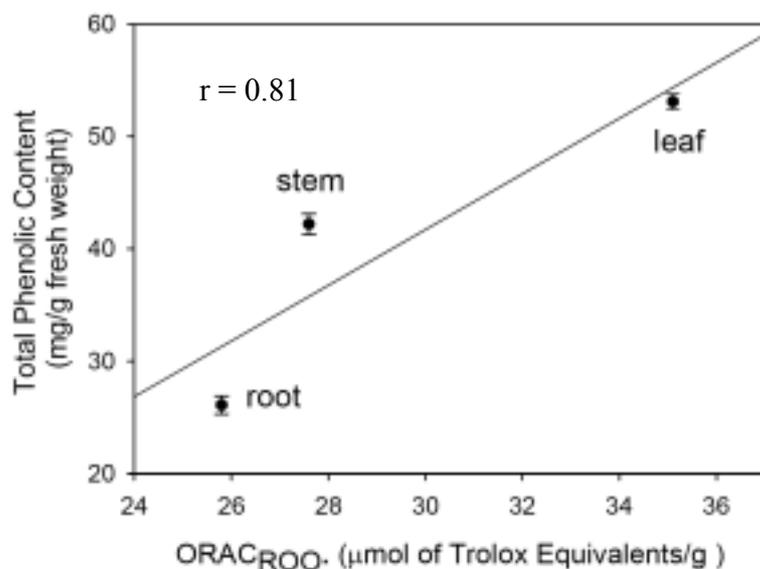
部位	總多酚含量
葉	53.1 ± 2.2 mg/g
莖	42.2 ± 1.3 mg/g
根	26.1 ± 2.6 mg/g



圖五 麻芋甲醇萃取物之總多酚含量

四、麻芋甲醇萃取物之總多酚含量與抗氧化能力的相關圖

從總多酚含量與抗氧化能力的相關性研究發現，麻芋甲醇萃取物在總多酚含量與抗氧化能力的作圖中，顯現很好的相關性，如圖六。

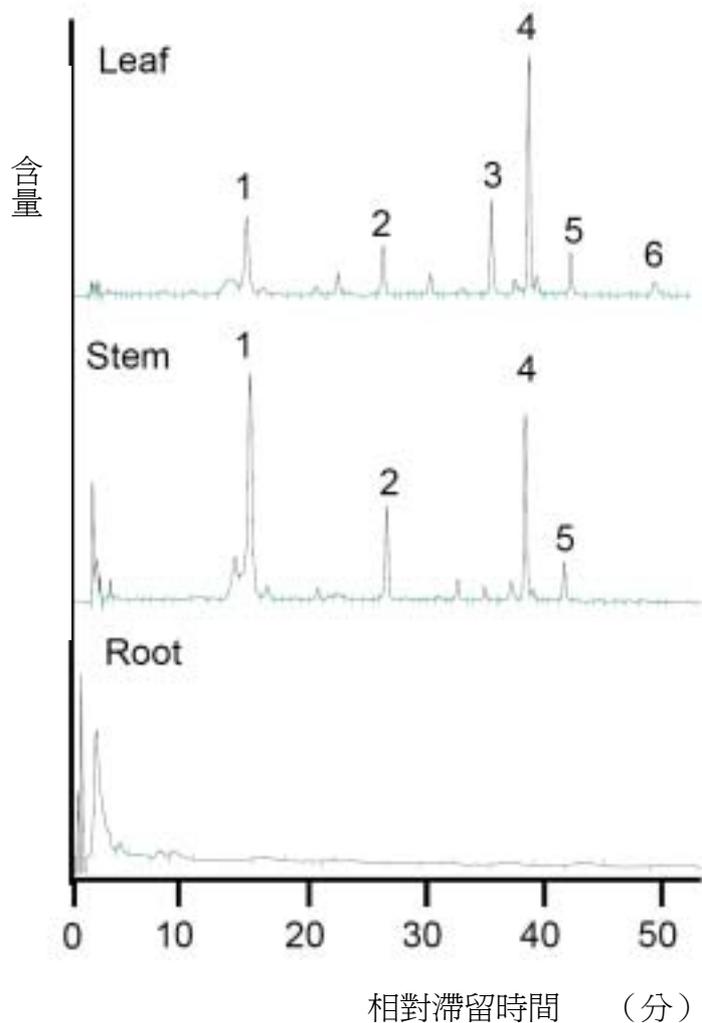


圖六 麻芋甲醇萃取物之總多酚含量與抗氧化能力之相關性

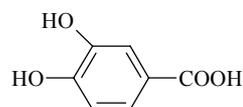
五、高效能液相層析儀分析麻芋甲醇萃取物

由圖七結果得知，高效能液相層析儀分析不同部位之麻芋甲醇萃取物，發現葉子部分含有六種機能性成分，分別為(1)原兒茶酸(protocatechuic acid)、(2)咖啡酸(caffeic acid)、(3)綠原酸(chlorogenic acid)、(4)對-薰草酸(*p*-coumaric acid)、(5)阿魏酸(ferulic acid)與(6)芸香苷(rutin)；在麻芋莖甲醇萃取物中可分析出 4 種機能性成分，分別為(1)原兒茶酸、(2)咖啡酸、(4)對-薰草酸與(5)阿魏酸；而麻芋根甲醇萃取物經分析後，發現其所含之機能性成分

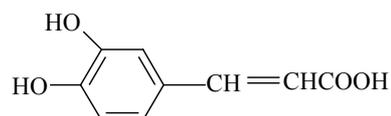
極少。



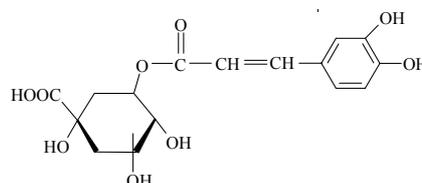
(1) 原兒茶酸(protocatechuic acid)



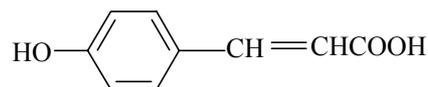
(2) 咖啡酸(caffeic acid)



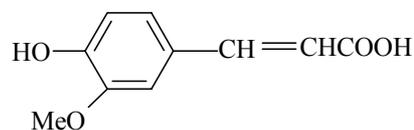
(3) 綠原酸(chlorogenic acid)



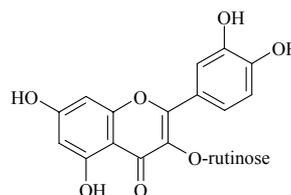
(4) 對-薰草酸(*p*-coumaric acid)



(5) 阿魏酸(ferulic acid)



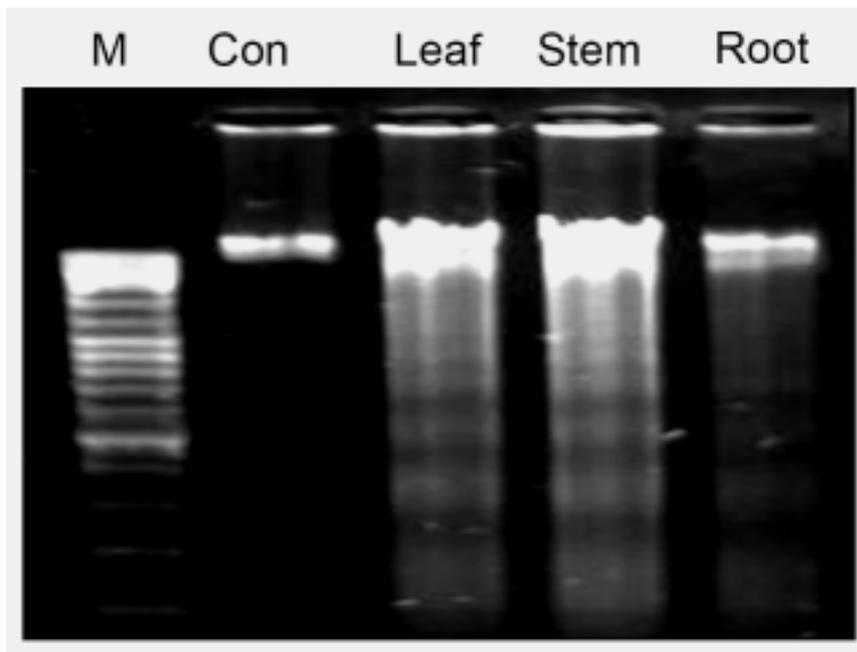
(6) 芸香苷(rutin)



圖七 麻笋甲醇萃取物中機能性成分之測定

六、麻笋甲醇萃取物對 HL-60 人類血癌細胞株的影響

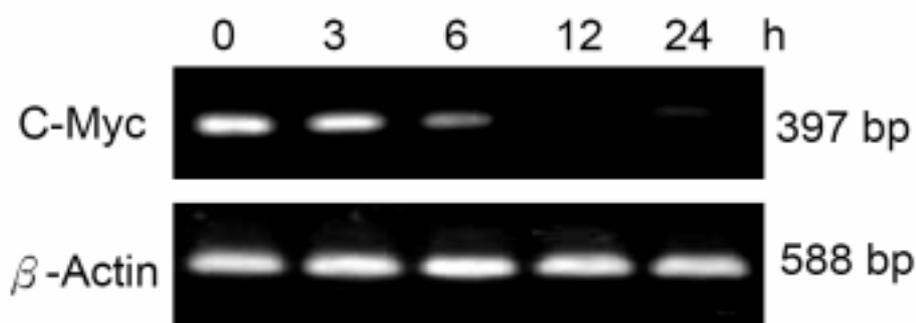
由結果得知，麻笋葉與莖甲醇萃取物會使 DNA 有明顯的斷裂現象，但麻笋根甲醇萃取物之 DNA 斷裂較不明顯。



圖八 麻芋甲醇萃取物對 HL-60 細胞 DNA 斷裂之影響
(M：標記分子量 DNA、Con：不加萃取物的對照組)

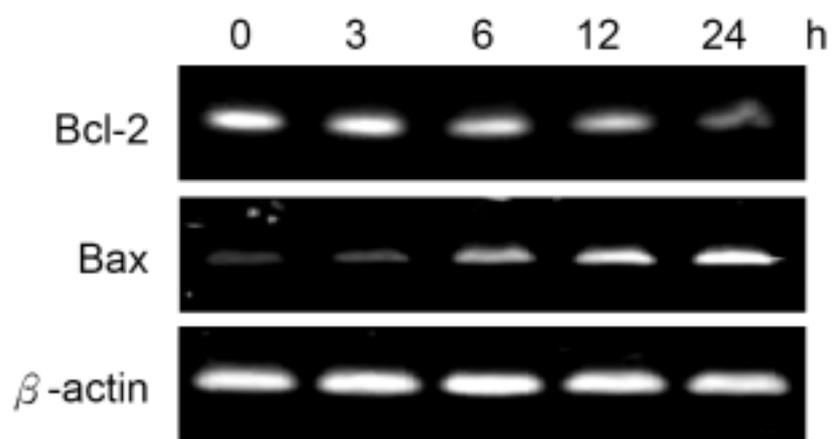
七、麻芋甲醇萃取物對 HL-60 細胞之 c-Myc、Bcl-2 與 Bax 基因表現之影響

由圖九結果得知，麻芋葉甲醇萃取物處理六小時後對 c-Myc 基因有顯著的影響，若麻芋葉甲醇萃取物處理時間增長，則 c-Myc 基因的表現降低。



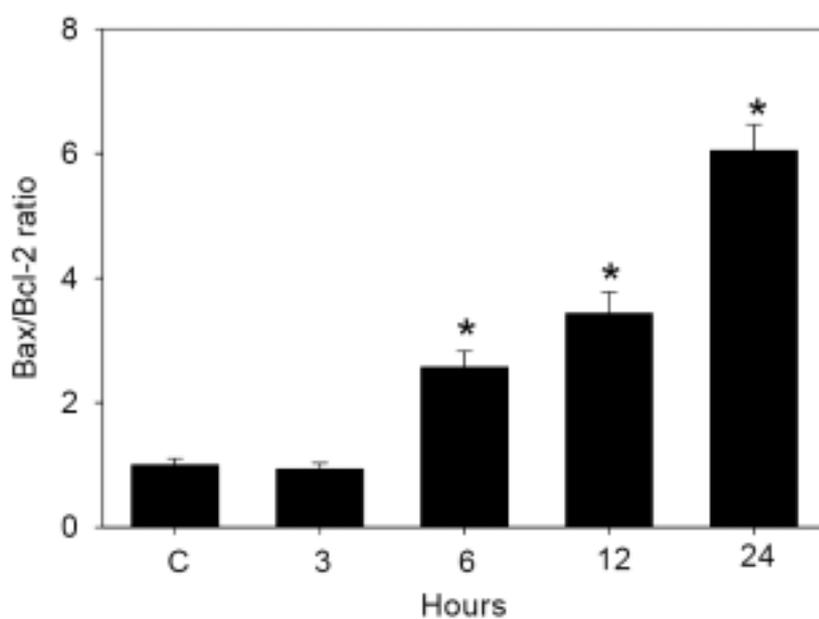
圖九 麻芋甲醇萃取物對 HL-60 細胞 c-Myc 基因表現之影響 (β -Actin 為細胞內表現量恆定之蛋白質，在此作為對照基準以茲比較)

由圖十結果得知，麻芋葉甲醇萃取物對 Bcl-2 與 Bax 基因有顯著影響，當處理樣品數小時後，Bcl-2 的表現隨時間增長而降低，但 Bax 的表現卻隨之增加。



圖十 麻荳甲醇萃取物對 HL-60 細胞 Bcl-2 與 Bax 基因表現之影響

由 Bax 與 Bcl-2 基因之比率得知，HL-60 細胞株與麻荳葉甲醇萃取物處理時間越長，則 Bax/Bcl-2 之比率越為增加。



圖十一 Bax 與 Bcl-2 基因之比率和處理時間之相關性
(C：對照組)

柒、討論

一、麻芋甲醇萃取物之顏色

在本研究中所使用之麻芋植物，分別以麻芋之葉、莖與根三部份作探討。由圖三可知不同部位之麻芋甲醇萃取物有不同顏色，由深至淺順序為：葉>莖>根。因此本研究所要探討的重點有二：(一)色澤深淺與其抗氧化活性及機能性成分多寡的關係與(二)色澤深淺對 HL-60 細胞株凋亡的影響。

二、麻芋甲醇萃取物之抗氧化能力

本研究利用一種國際公認之抗氧化能力評估方法 (Prior et al., 2005)，來評估不同部位麻芋甲醇萃取物之抗氧化能力。由圖四結果得知，麻芋甲醇萃取物中，氧自由基吸收能力強弱：葉>>莖≐根，但其莖部與根部甲醇萃取物之氧自由基吸收能力並沒有統計上的差異。

三、麻芋甲醇萃取物之總多酚含量

植物之多酚化合物(polyphenol)對於抗氧化性與其生物活性亦扮演著相當重要之角色 (Scalbert et al., 1995)。多酚類化合物可以清除活性氧(ROS) (例如 OH^- 、 H_2O_2 、 O_2 、 HOCl) 以及螯合金屬離子(尤其是鐵及銅離子) (Raza and John, 2005)，因此具有良好的抗氧化能力、抗致突變性及抗癌性(Lin et al, 1999)。麻芋甲醇萃取物的多酚類可能為酚酸及類黃酮化合物等。因此麻芋甲醇萃取物的抗氧化性可能有部份來自於這些酚類的貢獻。隨後將會進一步分析麻芋甲醇萃取物之酚酸及類黃酮化合物之含量。

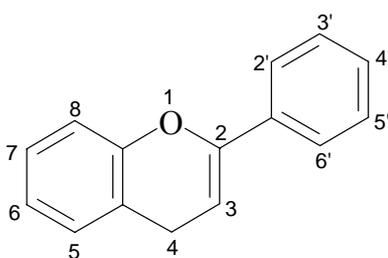
四、麻芋甲醇萃取物之總多酚含量與抗氧化能力之相關性

由上述結果得知，不同部位麻芋甲醇萃取物中以葉子具有最多之總多酚含量，且其抗氧化能力也是各部位中最佳。但抗氧化能力是否僅由各麻芋甲醇萃取物之總多酚含量決定？我們從麻芋葉、莖與根之總多酚含量和其抗氧化能力，可以得到其之間具有很好的相關性 ($r=0.81$ ， $p<0.1$)。

五、利用高效能液相層析儀分析不同部位麻芋甲醇萃取物之機能性成分

近年來人們對於植物性食品之防癌效應相當感興趣，而酚酸及類黃酮化合物，為目前相當具有潛力及前景之膳食抗癌劑 (Surh et al., 2005)。高效能液相層析儀 (High performance liquid chromatography, HPLC)恰是廣泛被應用於分析植物之機能性成分的工具之一。由圖七的實驗結果得知，利用高效能液相層析儀可分析出麻芋葉子甲醇萃取物有六種機能性成分，在麻芋莖甲醇萃取物中可分析出 4 種機能性成分，而麻芋根甲醇萃取物經分析後，發現其所含之機能性成分極少。

酚類化合物主要化學結構為芳香環(aromatic ring)，環上接有一至多個羥或羥衍生物，依其結構可區分為簡單酚類(simple phenol)、酚酸(phenolic acid)、類黃酮素(flavonoids)等(Karakaya, 2004)。類黃酮化合物是植物多酚化合物(polyphenolic compounds)之一大類，為植物的二級代謝產物。由麻芋萃取物之酚酸及類黃酮化合物分析結果顯示，麻芋以甲醇溶劑萃取所得之萃取物，其多酚化合物含量亦有所差異，比較此三種部位麻芋萃取物之抗氧化性，其中以麻芋葉萃取物之表現較佳，而其所含之多酚類亦較高，因此推測麻芋萃取物多酚化合物之含量與抗氧化性之間有密切的關係，且在抗氧化性應扮演著重要的角色。



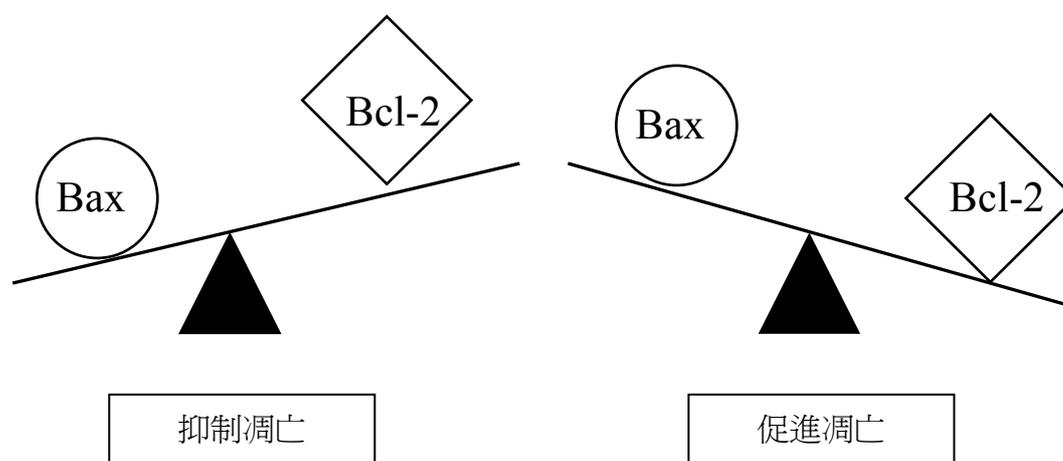
圖十二 類黃酮基本結構

六、麻芋甲醇萃取物對 HL-60 細胞之 DNA 斷裂影響

細胞凋亡的典型特徵是一種內源性之 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 依賴性核酸內切酶被啟動，此時染色體 DNA 雙鏈在核小體間區降解、斷裂，形成寡聚核小體，而致使細胞 DNA 產生 180 bp 或 180 bp 倍數之片段(Matassov et al., 2004)。從實驗結果得知，麻芋葉與莖之甲醇萃取物對 HL-60 細胞具有明顯的 DNA 斷裂現象，但是在麻芋根甲醇萃取物中斷裂並不明顯。

七、麻荊甲醇萃取物對 HL-60 細胞之 c-Myc、Bcl-2 與 Bax 基因表現之影響

由前述結果得知，麻荊甲醇萃取物能促使血癌細胞走向凋亡，可能會以調控細胞凋亡相關基因之表現，來誘發細胞走向凋亡。因此本研究選擇了 c-Myc、Bcl-2 與 Bax 等細胞凋亡相關基因作探討，其中 c-Myc 為致癌基因家族的一員(包含 c-myc, N-myc, 與 L-myc)，其參與了細胞的生長、分化與腫瘤的發展，且 c-Myc 基因還扮演著其他關鍵性角色；至於存在於粒線體中的 Bcl-2 家族蛋白質，則在抑制或促進細胞凋亡之調控過程中扮演相當重要的角色，Bcl-2 家族是由一些構造類似，但分子量及功能相異的蛋白質所組成，可分為促進細胞凋亡的分子(pro-apoptotic factors: Bax、Bad、Bid、Bcl-Xs、Bak、Bok、Diva、Hrk、Nip3、Nix 等)及抑制細胞凋亡的分子(anti-apoptotic factors: Bcl-2、Bcl-XL、Bcl-w、Mcl-1、Nrl3、Al/Bfl-1 等) (van Delft and Huang 2006.)。正常情況下，Bcl-2 蛋白與 Bax 蛋白是互相結合且以相對量為 1:1 的方式存在，若 Bax 的表現量高於 Bcl-2 時，細胞會走向凋亡；反之，Bcl-2 大量表現時則細胞凋亡會受到抑制(Bettaieb et al., 2003)。由此可知 Bax/Bcl-2 之比率增加，正是細胞走向凋亡的指標之一。



圖十三 Bax 與 Bcl-2 基因之比率與細胞凋亡之相關性

八、未來研究方向

(一)進一步萃取單一有效成分，作個別的測定

如原兒茶酸(protocatechuic acid)、咖啡酸(caffeic acid)、綠原酸(chlorogenic acid)、對-薰草酸(*p*-coumaric acid)、阿魏酸(ferulic acid)與芸香苷(rutin)等，分別作個別的抗氧化力和

抗癌活性測定，並探討其是否對血癌細胞株有相乘或拮抗作用。

(二)臨床試驗

因為本實驗經費、技術和時間不足，無法做進階的動物實驗，可考慮用老鼠或小白兔進行長時間的試驗，給予餵食麻茅，再抽取其血液作測定。

(三)改採用其他製備有效成分的方法

現代人講求省時迅速，而食用新鮮麻茅尚須將其烹煮，較不方便，若能將其萃取物製成丸錠（麻茅健康錠），不但容易攝取，而且攜帶方便，還能大量製造，實屬一大助益。而本實驗是採用甲醇來做萃取，恐怕會有溶劑殘留，將來可考慮改用 CO₂超臨界流體萃取法或冷凍乾燥等方法，以萃取得到健康食品。

捌、結論

由本研究結果，在不同部位麻筴萃取物中，以麻筴葉萃取物具最佳的抗氧化效力，麻筴萃取物之抗氧化能力與其總多酚類含量呈現正相關性，因此推測麻筴萃取物中總多酚類含量可能是提供其抗氧化能力的成分之一。其次，麻筴萃取物亦具誘發人類血癌細胞 HL-60 DNA 斷裂，進而導致細胞凋亡之能力。探討其誘導 HL-60 細胞凋亡的途徑，推測麻筴可能經由抑制原致癌基因 c-Myc 之表現，進而影響細胞內 Bax 及 Bcl-2 恆質比例之提升，最後引發細胞凋亡。綜合以上研究結果可知，麻筴萃取物具有抗氧化及誘導人類血癌細胞凋亡之能力，因此在自由基誘發相關疾病的預防及抗腫瘤之輔助醫療上應具有潛在的助益。

玖、參考資料

施河, 高中物質科學生命科學篇, 龍騰文化事業股份有限公司, 115-131, 2005

楊寶旺, 高中物質科學化學篇, 龍騰文化事業股份有限公司, 50-72, 2005

王郁雯, 麻荊多元酚粗萃物抗氧化性及調控發炎反應能力之研究, 中山醫學大學營養科學研究所, 2004

Azuma, K., Nakayama, M., Koshioka, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H., Higashio, H. 1999. Phenolic Antioxidants from the Leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3963-3966.

Bagchi, D., Hassoun, E., Bagchi, M. and Stohs, S. 1993. Protective effects of antioxidants against Endrin-induced hepatic lipid peroxidation, DNA damage and excretion of urinary lipid metabolites. *Free Radic. Biol. Med.* 15: 271-222.

Bettaieb, A., Dubrez-Daloz, L., Launay, S., Plenchette, S., Rebe, C., Cathelin, S., Solary, E. 2003. Bcl-2 proteins: targets and tools for chemosensitisation of tumor cells. *Curr Med Chem Anticancer Agents.* 3(4):307-18.

Cao, G., Sofic, E. and Prior RL. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med.* 22(5):749-60.

Huang, N. T. and Ferraro, T. 1992. Phenolic compounds in food and cancer prevention". In *Phenolic compounds in food and their effect on health II: antioxidant and cancer prevention*, pp.8-34. American Chemical Society. Washington, DC.

Karakaya, S. 2004. Bioavailability of phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 44(6):453-64.

Lin, J. K., Liang, Y. C. and Lin-Shiau, S. Y. 1999. Cancer chemoprevention by tea polyphenols through mitotic signal transduction blockade. *Biochem Pharmacol.* 58(6):911-5.

Matassov, D., Kagan, T., Leblanc, J., Sikorska, M., and Zakeri, Z. 2004. Measurement of apoptosis by DNA fragmentation. *Methods Mol Biol.* 282:1-17.

Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53: 4290-4302.

Raza, H. and John, A. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates

oxidative stress in PC12 cell compartments. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005, 207(3):212-20.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez, L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 45:287-306.

Smith, J. J., Tully, P. and Padberg, R. M. Chemoprevention: a primary cancer prevention strategy. *Semin Oncol Nurs.* 2005, 21(4):243-51.

Surh, Y. J., Kundu, J. K., Na, H. K. and Lee, J. S. 2005. Redox-sensitive transcription factors as prime targets for chemoprevention with anti-inflammatory and antioxidative phytochemicals. *J Nutr.* 135:2993S-3001S.

Tsao, R., Yang, R., Xie, S., Sockovie, E. and Khanizadeh, S. 2005. Which polyphenolic compounds contribute to the total antioxidant activities of apple? *J Agric Food Chem.* 53(12):4989-95. Uauy, R. and Solomons, N. 2005. Diet, nutrition, and the life-course approach to cancer prevention. *J Nutr.* 135:2934S-2945S.

Van Delft, M. F. and Huang, D. C. 2006. How the Bcl-2 family of proteins interact to regulate apoptosis. *Cell Res.* 16(2):203-13.

