

行政院農業委員會林務局委託研究計畫

楓香滲出物居家保健產品之開發



委託機關:行政院農業委員會林務局南投林區管理處

執行機關:國立中興大學森林學系

中華民國100年4月

一、計畫緣由

楓香 (*Liquidambar formosana* Hance)，樹名最早的記載是在西元304年中國晉朝嵇含所撰之《南方草木狀》中，『樹似白楊，葉圓而歧分，有脂而香。其子大如鴨卵，二月華發，乃著實。八九月熟，曝乾可燒。惟九真郡有之。』，楓香又有許多別名，如聶聶（爾雅），楓木（說文），楓樹（爾雅》郭虞），香楓、楓宸（綱目），楓仔樹（植物名匯），三角楓、三角尖（嶺南採藥錄），雞楓樹、雞爪楓、大葉楓等。形態上為落葉喬木，樹高20到40公尺；樹皮幼時灰白，平滑。老時褐色、粗糙。葉互生；葉柄長3到7公分；幼時及萌發枝上的葉多為掌狀5裂，長6到12公分，寬8到15公分，裂片卵狀三角形或卵形，先端長漸尖，基部心形或截形，邊緣有細鋸齒。分類學上屬於金縷梅科 (Hamamelidaceae)、楓香屬(Liquidambar)，其樹幹可作為培育香菇良好的斷木材料，樹皮所含樹脂可供作藥材，且由於其葉子具有的美麗及特殊形狀及色調，在台灣為重要的景觀植物。

綜合古籍來看，楓香全株均可入藥，其樹皮、葉子及根部味辛、微苦、氣香，具有去風濕、行氣、解毒之活性。民俗藥物學中用於治療風濕、感冒、急性腸炎與消化不良等問題。此外，許多木本富含豐富的油性樹脂成分，大部分以倍半萜類及二萜類為主，並存在於樹脂溝及樹皮皮孔中(Hillis, 1987; Byun-McKay et al., 2006)。楓香的樹幹在受到外力損傷時會自然分泌出一種帶有芳香

氣味的楓香樹脂，這種油性樹脂對林木而言具有自然及化學性的驅散昆蟲及抗病原體的使用途(Trapp and Croteau, 2001; Martin and Bohlmann, 2005)。即當樹木遭昆蟲攻擊時，樹木便會釋出油性樹脂來驅散昆蟲或阻礙昆蟲的啃食。另外，樹木中揮發性的成分，如單萜類及倍半萜類，則是利用間接的方式以防禦草食類動物；而二萜類成分則是利用物理性的阻礙來防範昆蟲。(Martin et al., 2003; Miller et al., 2005; Arimura et al., 2005)。滲出物除了樹皮的自然產生外，當樹木遭遇外在生物因子(如：昆蟲攻擊疾病原蟲侵襲)及非生物因子(如：機械創傷)因素作用時，也會促進油性樹脂合成或誘發傷癒樹脂溝形成(Tomlin et al., 1998; Boucher et al., 2001; Byun-McKay et al., 2003)。植物樹皮滲出物及揮發性萜類成分皆在限制昆蟲及破壞病原體中扮演了重要的角色。在另一方面，樹木製造樹脂也產生了顯著的氣味及芬芳氣息，如龍腦香樹脂之於龍腦香科，樹脂及松節油之於松科(Rijkers et al., 2006)。因此，樹皮分泌物對於香料、香水及藥物應是具有相當高的經濟價值用途。而楓香的樹脂在香料工業上是一種品質良好的定香劑，傳統中藥學上認為具有解毒、鎮痛、止血、生肌等功效。

林務局南投林區管理處所屬之奧萬大森林遊樂區位於南投縣仁愛鄉，為國內著名之森林遊樂區，特別是每年秋冬交際，楓紅滿山，為國人所喜愛並樂於造訪之旅遊聖地。同時亦有報導，奧萬大森林遊樂區所瀰漫之負離子濃度為國內森林遊樂區中含量極豐的森林遊樂區之一，然而由於在台灣夏季風災之影響，會造成許多珍貴楓香風倒木的產生，因此，若能進一步將林區內珍貴代表

樹種之風倒木加以分析及利用，對遊樂推廣與學術研究，均有相當的意義與價值。因此，本計畫以一年之計畫執行期限，並完成奧萬大國家森林遊樂區內代表樹種楓香及其風倒木滲出物成分之分析，並探討其可能之生物活性。

二、材料與方法

(一)實驗材料及儀器

1. 楓香

本試驗在活性評估方面所使用之材料主要以楓香樹脂為主，係由南投林區管理處所提供，所採集之楓香試驗材料經由中興大學森林學系曾彥學博士鑑定。

2. 分析儀器

高效能液相層析儀為FLOM Model 240 duel pistons 幫浦，並結合折射率檢器(Shodex MODEL RI-101 RI detector)，層析管柱則使用Cosmogel column (Comosil Co., 250 mm × 10 mm)。紅外線光譜儀使用Bio-rad MODEL 3100分光光度計。MS為Finnigan MAT-958 Mass光譜儀。核磁共振光譜儀為Bruker Avance-500 MHz FT-NMR。

3. 細胞株

試驗所用之細胞株分別為RAW 264.7老鼠巨噬細胞珠 (Murine macrophage

cell line, ATCC TIB-71)及小鼠黑色素細胞瘤 (mouse melanoma B16-F1 cell, B16-F1)，由財團法人食品工業發展研究所取得，原株由美國ATCC購得。細胞培養於DMEM培養液中，含有10%胎牛血清(fetal bovine serum, Gibco Co.)及1% Antibiotic (Penicillin / Streptomycin)，pH 7.2~7.4。細胞培養於37°C及5% CO₂培養箱中，每隔2-3天，待細胞長滿瓶底，再以1× Trypsin處理，收集細胞作次培養(subculture)或進行實驗。

4. 腐朽菌

本試驗所使用的腐朽菌有白腐菌*Lenzites betulina* (L. b.) 及褐腐菌*Laetiporus sulphureus* (L. s.)，上述兩種菌種皆購自食品工業發展研究所菌種保存及研究中心。

(二)實驗方法

1. 楓香滲出物之萃取分離與收集

(1) 楓香滲出物收集及定量

將楓香樹幹以刀具剝皮，將外層樹皮剝去，直至露出白色韌皮部外層，作長5公分寬1.5公分之機械傷口，並以為期一周計算每日滲出物產量。

(2) 楓香滲出物之萃取及分離

將楓香滲出物以乙酸乙酯回溶，經觀察後確認可完全溶解於乙酸乙酯溶液

中後，進行過濾後配製適當濃度進行成分分離，共得21種成分，經光譜分析鑑定化合物之結構，並進行生物活性試驗。

2. 以氣相層析儀結合衍生化法進行楓香滲出物成分定性及定量分析

經萃取分離滲出物成分後，得到成分多為三萜類成分，且部份成分為高極性成分，故以衍生化法來改善其揮發性質。衍生物製備程序如下，取滲出物樹脂4.0 mg各標準成分1 mg後以50 μ L Pyridine溶解，加入25 μ L MSTFA (N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide)並置於50°C水浴下1小時，衍生完成後，以氮氣乾燥並以乙酸乙酯配置適當濃度作為待測備用。氣相層析之條件為，升溫條件為初始溫度為50°C，以每分鐘8°C升溫至260°C，再以每分鐘0.5°C升溫至280°C，注射口溫度為250°C，質譜儀採用離子阱(Ion trap Mass)，每種標準品進行三重複試驗。

3. 抗發炎活性分析

一氧化氮自由基抑制試驗為評估抗發炎性之主要方法之一，其分析原理主要是利用老鼠之巨嗜細胞RAW 246.7經Lipopolysaccharide (LPS)刺激，模擬發炎反應時iNOS (Inducible nitric oxide synthase)會產生大量NO自由基，並評估木材抽出成分之清除NO (Nitric oxide)自由基的能力。參照Hwang等人(2002)方法，取RAW264.7小鼠巨噬細胞，種入96 wells (面積為75 cm²)組織培養盤中，細胞密度為2 \times 10⁵ cell/well，貼附之細胞添加LPS (1 μ g/mL)進行培養24 hr，

然後加入不同濃度之楓香滲出物(分別為0、5、25及50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，之後進行NO測定試驗。NO的測定試驗以Griess法進行，將上述反應後之上清液取100 μL ，加入等量之Griess 試劑（1：1之0.1% *n*-(1-Naphthyl)ethylenediamine in H₂O與1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid混合溶液），測其540 nm之吸光值。再對照標準品即可求得nitrite 的含量。由於NO 的半衰期很短，迅速會被氧化成nitrite，再進一步才會被氧化成nitrate，因此在短時間內，可使用Griess reagent 測定nitrite的量，來間接地表示NO的釋放量(Paul et al., 1994)。

4. MTT細胞毒性試驗

先將含有 1×10^5 cell/mL之B16-F1細胞液加入96-well中，每孔注入100 μL ，培養24 hr後，將細胞利用不同濃度之滲出物處理（只加DMSO為對照組），培養在5% CO₂ 之37°C恆溫培養箱下生長，作用24 hr後抽掉上清液，加入100 μL 含有MTT (3-(4,5-dimethylthiazol- 2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 之DMEM培養液，置於37°C，5% CO₂之培養箱中4 hr後，抽掉上清液並加入100 μL DMSO劇烈振盪，以分光光度計測波長570 nm的吸光值。此方法是以呈色法來測定細胞粒腺體之去氫酵素活性，由於活細胞的粒腺體仍具有活性，能將黃色MTT還原呈藍紫色formazon結晶，再以DMSO劇烈振盪，使結晶均勻溶解，因此藍紫色愈深可表示活細胞愈多，則可測得之酵素活性相對較高(Chang et al., 2000)。

5. 酪胺酸酶活性之分析

測定楓香滲出物成分對由蕈菇萃取出之酪胺酸酶活性之影響，初步評估其美白功效。於96孔培養盤內加入120 μl 之5 mM多巴溶液（溶於67 mM磷酸緩衝溶液，pH 6.8）和40 μl 相同之緩衝溶液或不同濃度之滲出物成分，然後再加入40 μl 酪胺酸酶溶液（2單位），混合均勻，於37°C反應30分鐘後，測定OD470 nm吸光值，並計算酪胺酸酶抑制率。（Shono, 1981）。

6. 黑色素含量之分析

黑色素含量之分析乃依照Bilodeau等人之方法改進，以半徑為6 cm之培養皿種入B16-F1細胞(5×10^4 cells/ mL)於含100 nM α -MSH之培養基中，放置37°C、5% CO₂培養箱中培養24小時後，將黑色素細胞以滲出物成分處理24小時後，每孔洞以PBS清洗兩次，再加入100 μl 2 N氫氧化鈉溶液後放置於60°C、1小時後，將80 μl 溶解出之黑色素取到96孔盤之孔洞中，測定波長405 nm吸光值，計算出樣品組之黑色素含量(Bilodeau, 2001)，並以MTT細胞毒性試驗比較最後結果。

7. 抗腐朽菌試驗

將試樣以1% 丙酮溶劑溶解，並以固態平版試驗法評估（Chang et al., 1999），將馬鈴薯葡萄糖瓊脂（Potato dextrose agar, PDA）加入蒸餾水調製成濃度為39 g/L之培養基。各培養皿接種試菌後，置入27 \pm 2°C、相對濕度 70% 之

恆溫恆濕生長箱中，逐日記錄菌種的生長直徑，待對照組的菌絲長滿培養皿後，測量實驗組之菌絲生長直徑，並計算抗菌指數（**Antifungal index, %**），試驗重複數3。指數數值越大，表示抗菌活性越強，抑制效果越好（張上鎮等，2000）。抗菌指數的公式如下， $\text{抗菌指數}(\%) = [1 - (\text{實驗組菌絲生長直徑} / \text{對照組菌絲生長直徑})] \times 100$ 。

三、結果與討論

1. 楓香滲出物之萃取分離與收集

將分離滲出物樣本進行各項生物活性評估試驗，進而以篩選出具有醫療或保健潛力之活性成分，所進行的試驗包括抗發炎及抗腐朽菌活性等評估。

(1) 楓香滲出物收集及定量

以機械性傷害的方式使楓香滲出樹脂，每日收集並計量後如圖1所示，平均值為133.7 mg/day。

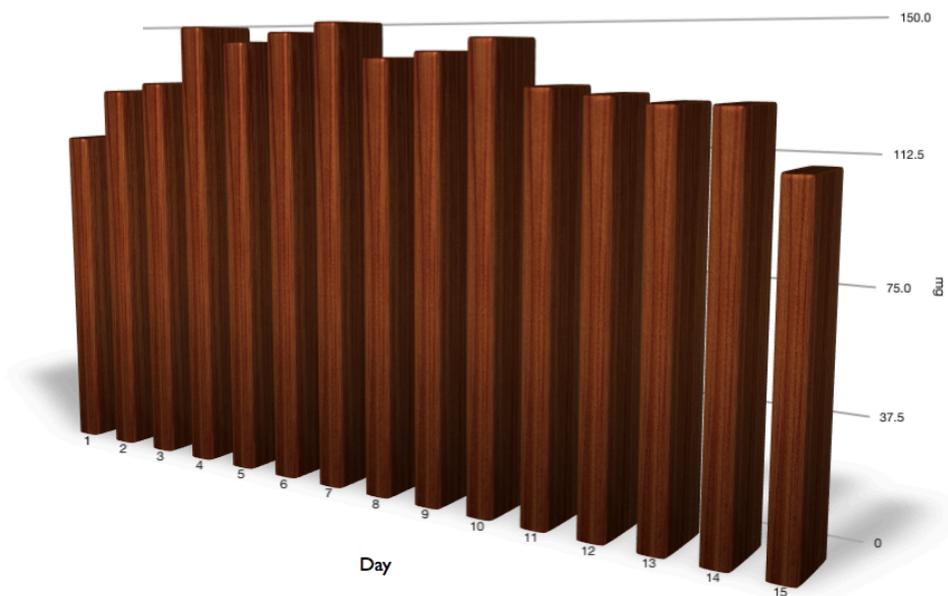


圖1. 楓香滲出物於機械傷害後每日滲出量。

楓香的樹脂為油性樹脂（oleoresin），有一些報告指出其主要的成分包括桂皮醇、桂皮酸及酯類衍生物、五環三萜類等；精油部分則是以單萜及倍半萜類化

合物為及主要組成。由於楓香脂之成分與著名香料『蘇合香 (*Liquidambar orientalis* Mill.)』之組成相類似，因此可作為蘇合香的替代品。蘇合香原產於非洲、伊朗、印度、土耳其等地，在聖經中所指之『拿他弗』即是指蘇合香，除了是一種珍貴的香料外，亦具有『開竅辟穢，散寒止痛』之活性，於本草綱目名列上品藥，『蘇合香氣竄，能通諸竅臟腑，故其功能辟一切不正之氣』。除此之外，楓香脂尚具有止血、止痛的功效，可用作收斂劑、解鬱劑及治療疥癬之膏劑，為外傷良藥。由於楓香脂具有穩定的定香力，因此由楓香脂所製成的浸膏在香料工業上是相當重要的定香劑，應用於調配香精之用塗。經由本計畫證實，台灣產之楓香樹可生產出豐富的楓香脂，值得未來進一步地來生產具高經濟價值之楓香脂原料。

本計畫續對楓香樹脂的組成分進行純化與鑑定的工作，將楓香樹皮滲出物刮下收集後溶於乙酸乙酯(EA)，經過固相萃取器(SPE)過濾後，一部分先以 GCMS (Trace GC ultra, ITQ 900 MS)進行成分分析，另一部分以高效能液相層析儀(HPLC)進行分離純化，並以核磁共振光譜儀(NMR)進行結構鑑定。結果在非揮發性成分方面共鑑定出18個化合物，包括，3,28-Dioxobetulin (1)，3-Oxobetulin (2)，Betulonic acid (3)，28-O-acetyl-3-oxobetulin (4)，Oleanonic aldehyde (5)，28-Hydroxy- β -amyrome (6)，3-Oxoolean-12-en-28-oic acid (7)，3-Oxoolean-12-en-28-yl acetate (8)，3 β -Hydroxyolean-12-en-28-al (9)，3,28-Dihydroxyolean (10)，3 β ,25-Dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid (11)，3-

oxoursa-12-en-28-al (12), Trihydroxyolean-12-en-28-al (13), Junenol (14), trans-Bornyl cinnamate (15), cis-Bornyl cinnamate (16), Cinnamyl cinnamate (17), 3-Phenylpropyl cinnamate (18), 結構如圖2所示。

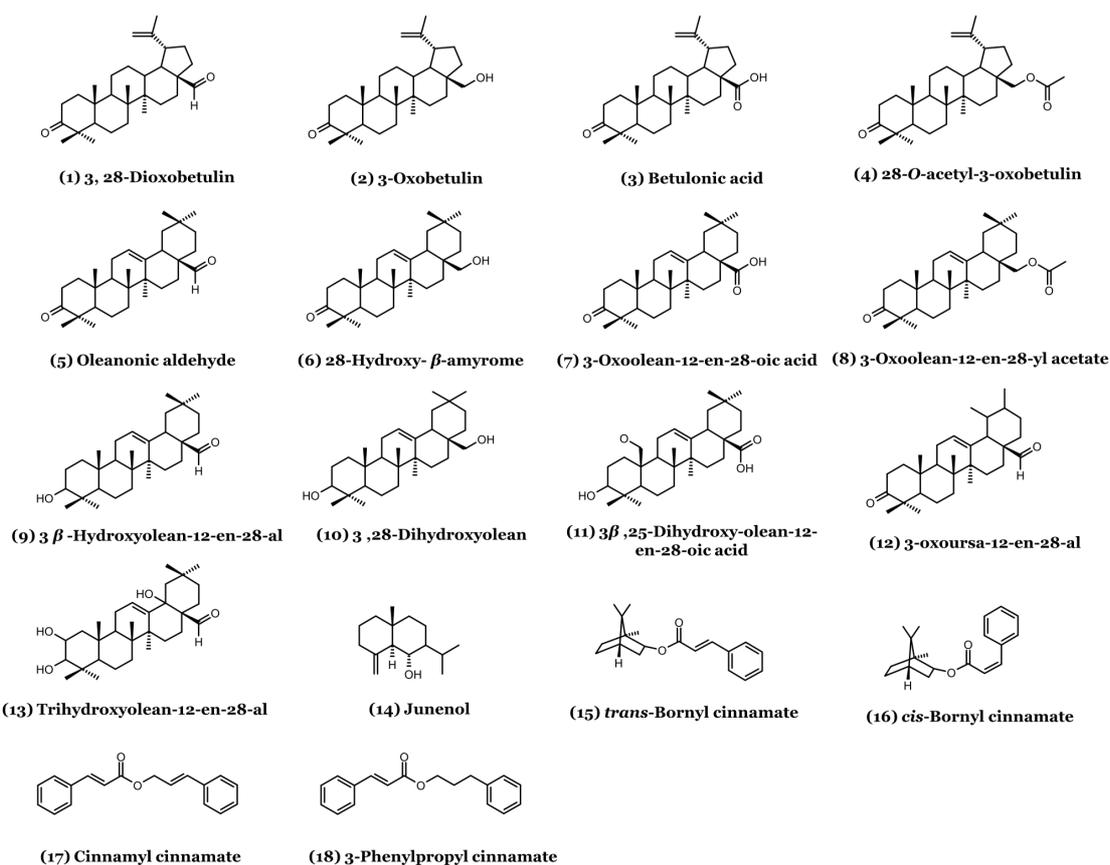


圖2. 楓香滲出物之成分。

為定量出這些成分在滲出物中之確切含量，本研究乃進一步利用氣相層析質譜儀結合衍生化法進行楓香滲出物成分定性及定量分析，分析結果如表1所示，滲出物中是以3β,25-Dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid、Oleanonic aldehyde及Betulonic acid三種成分含量最為豐富，含量分別為19.12%、13.96%及13.41%，依據此定量結果，採取含量2%以上者進行抗腐朽菌試驗。

表1. 楓香滲出物成分之定量分析

Compound	RT (min)	%
Junenol	14.96	1.2
Bornyl cinnamate	25.43	8.87
Cinnamyl cinnamate	27.33	1.09
3,28-Dihydroxyolean	40.22	1.13
3-Oxoolean-12-en-28-oic acid	47.23	6.27
3-oxoursa-12-en-28-al	50.21	3.75
3-Oxoolean-12-en-28-yl acetate	50.67	1.92
3,28-Dioxobetulin	51.99	2.52
Oleanonic aldehyde	52.68	13.96
28-Hydroxy- β -amyrome	53.75	6.71
Trihydroxyolean-12-en-28-al	54.76	1.36
3 β ,25-Dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid	56.13	19.12
Betulonic acid	57.35	13.41
3-Oxobetulin	58.71	3.74
		85.05

至於在揮發性成分方面，本計畫乃直接利用氣相層析質譜儀進行分析，結果如表2所示，其中含量較高的主要成分分別為Bornyl cinnamate (24.39%)、 α -Pinene (19.30%)、Sabinene(11.98%)及Cinnamyl cinnamate(11.79%)等。

2. 楓香滲出物之抗發炎活性分析

自天然物尋找非類固醇之抗發炎藥(NSAID)，為目前醫藥界相當受重視的研究主題之一。對於所有的生物試驗都存在一相同的問題，即如何選擇一種快速、便宜並可信的篩選平台。因為生物體於發炎反應時會產生大量的NO自由基，

因此利用LPS來誘發巨噬細胞來產生NO自由基，並配合Griese試劑來評估木材成分之抗發炎活性為一簡單且可信的生物活性試驗方法。

表2. 楓香滲出物之揮發性成分分析

NO	Compound	RT (min)	Peak Area (%)	KI
1	α -pinene	7.55	19.30	940
2	camphene	7.95	11.02	946
3	sabinene	8.80	11.98	978
4	β -pinene	9.14	2.11	985
5	p-cymene	10.20	2.99	1021
6	<i>d</i> -limonene	10.36	3.40	1029
7	camphor	14.31	2.79	1138
8	α -cubebene	22.00	0.84	1372
9	copaene	22.32	1.10	1383
10	α -bourbonene	22.46	0.67	1388
11	caryophyllene	23.42	1.54	1411
12	germacrene D	25.33	1.91	1476
13	cubenol	29.45	4.18	1642
14	bornyl cinnamate	40.36	24.39	2058
15	cinnamyl cinnamate	42.45	11.79	2147

圖3為楓香滲出物對NO自由基的補捉能力評估。由試驗結果顯示出楓香滲出成分中以Cinnamyl cinnamate對NO的抑制能力中以滲出物表現最好，其EC₅₀ = 12.42 μ g/mL。以MTT法檢驗細胞存活率證明在此劑量仍有87.92%的細胞存活率，而Bornyl cinnamate雖然具有最佳半數抑制濃度(7.02 μ g/mL)，但是在該濃度下細胞的存活率也有部分影響(存活率68.29 μ g/mL)因此考慮細胞毒性後NO自由基的補捉能力應是Cinnamyl cinnamate具有最佳表現，除以上二種成分外，其餘成分在NO自由基的補捉能力評估下仍具有一定效果。但值得一提的是，試驗中無論Oleanane或是Lupane架構皆是以28碳上有醛基取代時有最高抗發炎活

性及最低毒殺性(Oleanane: Oleanonic aldehyde ; Lupane: 3, 28-Dioxobetulin) ，值得進行進一步的分析。

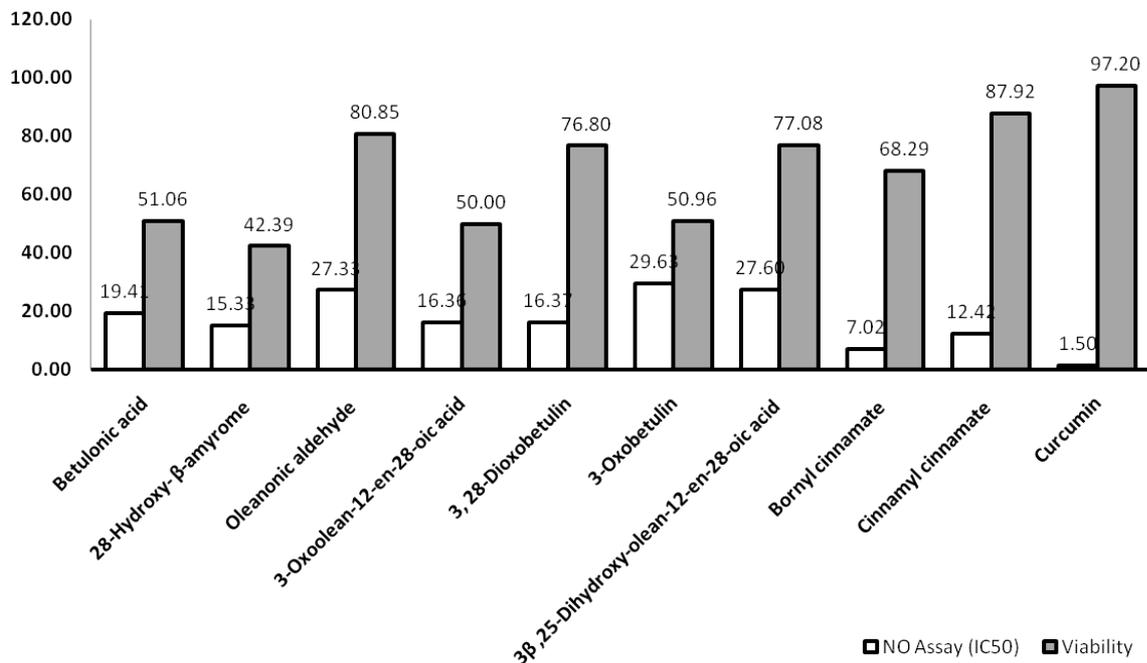


圖3. 楓香滲出物成分對NO自由基抑制活性。

3. 酪胺酸酶抑制活性之分析

在黑色素生成路徑中，主要有Eumelanin及Pheomelanin兩種，其中Eumelanin路徑產生主要的黑色外觀；在Eumelanin合成路徑上游Tyrosinase扮演著催化Tyrosin成L-Dopa，以及催化L-Dopa成為Dopaquinone此二重要步驟的酵素(圖4。Kim and Uyama, 2005)，以蕈菇萃取出的酪胺酸酶，可初步評估滲出物成分的美白功效。

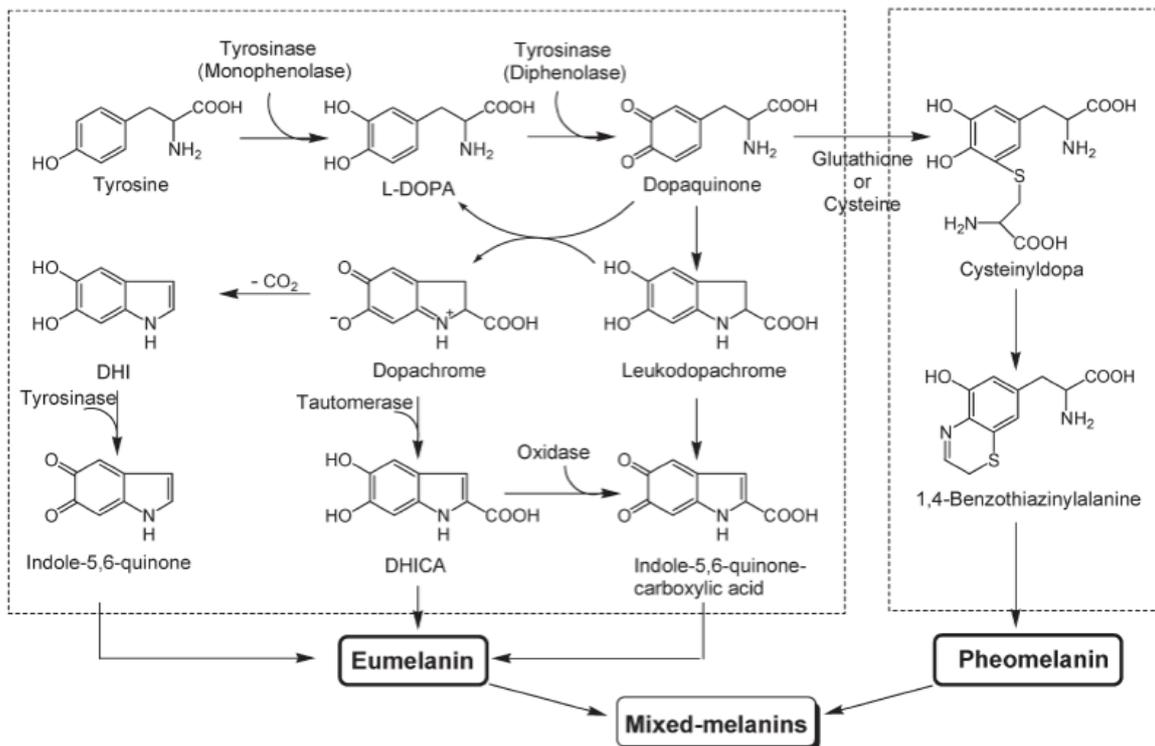


圖4. 黑色素生成路徑(Kim and Uyama, 2005)

於酪胺酸酶活性分析中，以3-Oxobutulin具有最佳抑制L-Dopa效果，在劑量為40 $\mu\text{g/mL}$ 下，已具有56%的抑制生成效果，另外相同濃度下，Bornyl cinnamate及 Bornyl cinnamate也具有相當的抑制效果，為40%及47% (圖5)。

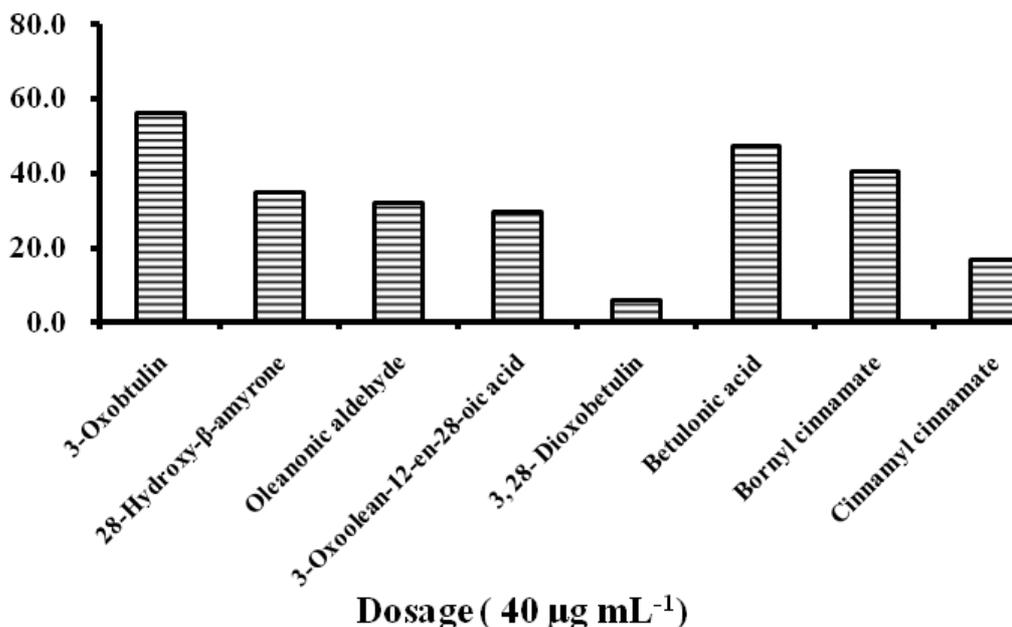


圖5. 楓香滲出成分物對酪胺酸酶活性之分析

4. 黑色素含量之分析及細胞毒性評估

以小鼠黑色素細胞瘤細胞培養後，加入 α -MSH可刺激黑色素的生成量。將先前已經過酪胺酸酶活性試驗分析具潛力的成分進行體外試驗，進一步評估滲出物成分的的美白活性。最後，滲出物成分3-Oxobtulin在黑色素生成抑制中結果較為顯著。比較B16-F1的細胞毒殺結果，發現細胞存活率與黑色素生成抑制率呈現相同的趨勢性(圖6)，且在濃度為40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 即達到60%的毒殺效果，推測3-Oxobtulin在黑色素生成抑制的結果是由於3-Oxobtulin本身具有黑色素細胞瘤毒殺性所導致的結果。比較3-Oxobtulin對於黑色素細胞瘤的毒殺效果，在於相同濃度下(40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 3-Oxobtulin對小鼠巨噬細胞RAW264.7無任何毒殺效果(存活率95%)，顯示3-Oxobtulin或許具有選擇性的腫瘤毒殺活性，並藉由此活性達到黑色素抑制的目標。

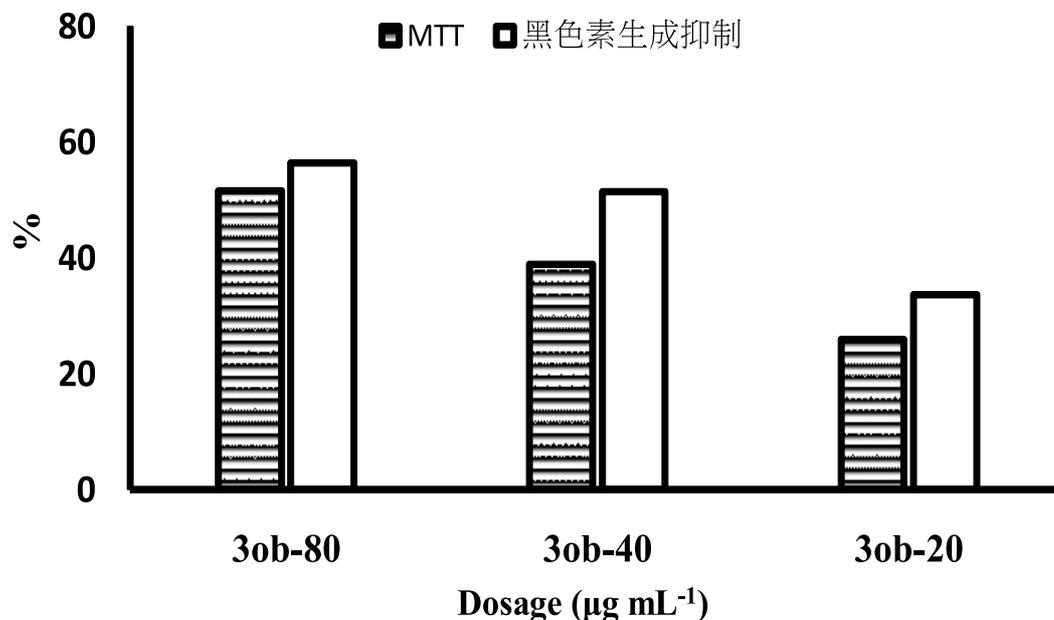


圖6. 楓香滲出成分物對黑色素細胞瘤之毒殺及黑色素生成抑制

5. 抗腐朽菌活性之分析

木材之天然抗腐朽性依樹種不同而有很大的差別，在同一樹種中又以心材的抗腐朽性較佳，這是因為木材的天然抗腐朽性與抽出成分有極大的關係。一般而言，抽出成分的種類、含量和生物活性(Bioactivity)等深深影響著木材之抗腐朽性，而抽出成分會依樹種不同而有很大的差別，即使在同一樹種中也會因存在部位不同而有所差異。Hawley等人的研究(Hawley et al., 1924)首先證實心材的天然抗腐朽性大於邊材，並由研究結果證明，心材中微量的抽出成分對於真菌及其他微生物等的生長具有抑制效果。又根據Da Costa和Rudman研究顯示，利用不同溶劑萃取木材所獲得之各種抽出物，以甲醇抽出物最具毒性，對許多腐朽菌都有抑制效果(Eaton and Hale, 1993)。Hart的研究(Hart, 1989)指出，心材的抗腐朽性可歸因於心材具較多的抽出成分、或是由於各成分聚合後具有較高的生物活性，但亦可能是心材本身即具有高生物活性之抽出成分所致。大部分的樹種只要心材中含有1到2種毒性成分時，即可使木材獲得極佳之抗腐朽性(如*Maclura pomifera*)，此外，木材含有許多種微毒性成分(如*Libocedrus decurrens*)或是特殊成分(如*Eucalyptus sideroxylon*中含有Stilbenes和Ellagitannins)，都可使木材具有抗腐朽性。因此，若能由木材分離精製出這些具抗菌活性之物質並善以利用，除可抑制微生物的危害之外，更合乎自然環保的原則。

本計畫嘗試瞭解楓香滲出物中是否具有天然的抗菌成分，乃利用滲出物進行抗真菌試驗，結果發現其抑菌指數為對LB之IC₅₀值為159.7 µg/mL，對LS之

IC₅₀值為181.1(圖7)，參考定性定量結果後，進一步對楓香滲出物中的主要成分進行抗腐朽菌的分析(圖8)，得到成分3 β ,25-Dihydroxy-olean-12-en-28-oic acid及Bornyl cinnamate在劑量為30 μ g/mL時抑制率各為41 %及50%的抑制率，而總體來看，楓香滲出成分對於菌種LB的抑菌率大於對LS的抑菌率，此一結果也與楓香滲出物抑菌試驗結果相同。

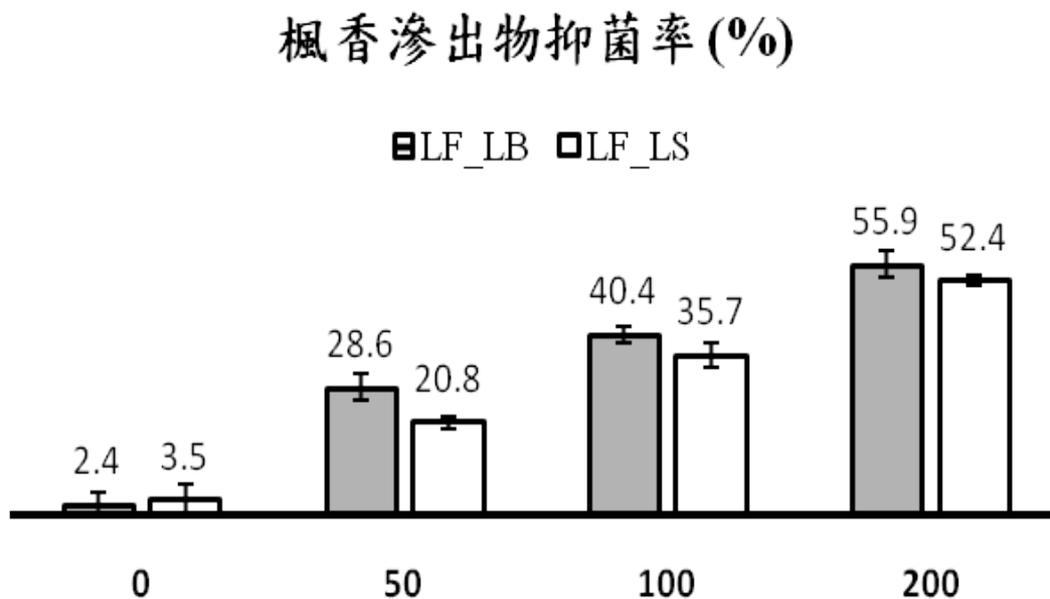


圖7. 楓香滲出物之抑菌指數

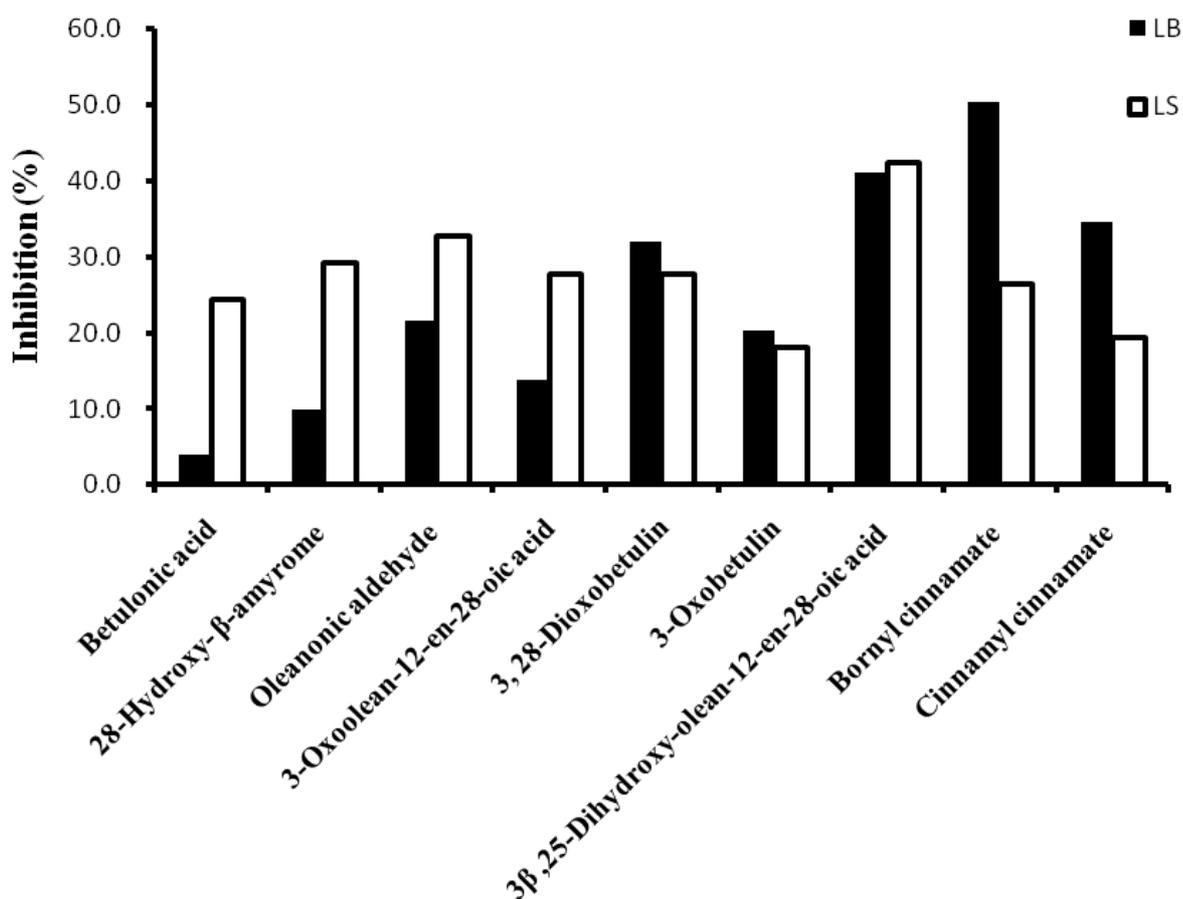


圖8. 楓香滲出物之主成分之抗真菌活性

四、結論

本研究共自楓香脂中分離鑑定出超過40種之化合物，為目前對於楓香滲出物成分研究成果中最豐碩之報告。又由活性分析結果得知，楓香樹皮滲出物具有顯著的生物活性，對一氧化氮的生成抑制及小鼠黑色素細胞瘤(B16-F1)的黑色素生成活性皆具有顯著表現，但是在黑色素生成活性方面具有細胞上的毒殺現象值得進一步的研究分析。同時，對於腐宿菌抑具有相當不錯之抑制生長活性。綜合這些結果，我們可以期待楓香滲出物於醫療保健及之開發上將具有很

大的潛力。由於楓香樹脂又具有特殊之香味，於經驗方中又得知其可服食於塗抹於皮膚表面，因此開發居家用品如沐浴乳、香皂、牙膏等將是立即可行之產品。認為本次研究結果可提供各森林遊樂區對森林資源永續利用上的方向及應用並作為各林區對主要代表樹種疏伐或風倒木在利用與研究上的推廣依據。

五、重要參考文獻

- 劉業經、呂福原、歐辰雄(1994) 台灣樹木誌。國立中興大學農學院出版委員會。第144~145頁。
- Arimura, G., C. Kost and W. Boland (2005) Herbivore-induced, indirect plant defense. *Biochem. Biophys. Acta.* 1734: 91-111.
- Bilodeau, M. L., J. D. Greulich, R. L. Hullinger, C. Bertolotto, R. Ballotti and O. M. Andrisani (2001). Andrisani, BMP-2 stimulates tyrosinase gene expression and melanogenesis in differentiated melanocytes. *Pigment Cell Research*, 14, 328-336.
- Boucher, D., R. Lavalley and Y. Mauffette (2001) Biological performance of the white pine weevil in relation to the anatomy of the resin canal system of four different host species. *Canadian J. Forest Res.* 31: 2035-2041.
- Byun-McKay, A., K. A. Godard, M. Toudefallah, D. M. Martin, R. Alfaro, J. King, J. Bohlmann and A. L. Plant (2006) Wound-induced terpene synthase gene expression in Sitka spruce that exhibit resistance or susceptibility to attack by

the white pine weevil. *Plant Physiology* 140: 1009-1021.

- Byun-McKay, S. A. B., W. L. Hunter, K. A. Godard, S. X. Wang, D. M. Martin, J. Bohlmann and A. L. Plant (2003) Insect attack and wounding induce traumatic resin duct development and gene expression of (-)-pinene synthase in Sitka spruce. *Plant Physiol.* 133: 368–378.
- Chang, S. T., 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: 227–232.
- Hillis, W. E. (1987) *Heartwood and Tree Exudates*. Springer-Verlag. 268pp.
- Kim, Y.J and H. Uyama (2005) Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci.* 62(15):1707-23.
- Martin, D. M. and Bohlmann, J. (2005) Molecular biochemistry and genomics of terpenoid defenses in conifers. *Recent Adv. Phytochem.* 39: 29–56.
- Martin, D. M., J. Gershenzon and J. Bohlmann (2003) Induction of volatile terpene biosynthesis and diurnal emission by methyl jasmonate in foliage of Norway spruce. *Plant Physiol.* 132: 1586–1599.
- Miller, B., L. L. Madilao, S. Ralph and J. Bohlmann (2005) Insect-induced conifer defense: White pine weevil and methyl jasmonate induce traumatic resinosis, de novo formed volatile emissions, and accumulation of terpenoid synthase and putative octadecanoid pathway transcript in Sitka spruce. *Plant*

Physiol. 137: 369–382.

- Paul, A., R. H. Pendreigh, N. Ito and T. Suzuki (1994) Protein kinase C and tyrosine kinase pathway regulate lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase activity in RAW 264.7 murine macrophage. *Br. J. Pharmacol.* 114: 482-488.
- Rijkers, T., W. Ogbazghi, M. Wessel and F. Bongers (2006) The effect of tapping for frankincense on sexual reproduction in *Boswellia papyrifera*. *J. of Appl. Eco.* 43: 1188–1195.
- Shono, S., and K. Toda, (1981). Phenotypic expression in pigment cells. In *Pigment Cell*, M. Seiji, ed. (Tokyo, Japan: University of Tokyo Press), pp. 263–268.
- Tomlin, E. S., R. I. Alfaro., J. H. Borden and F. He (1998) Histological response of resistant and susceptible white spruce to simulated white pine weevil damage. *Tree Physiol.* 18: 21–28.
- Trapp, S. and R. Croteau (2001) Defensive resin biosynthesis in conifers. *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 689–724.