

科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

以代謝體學探討山苦瓜的投予對運動選手引起之代謝改變

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：MOST 103-2313-B-028-001-
執行期間：103年08月01日至104年10月31日
執行單位：國立臺灣體育運動大學運動健康科學學系

計畫主持人：徐?
共同主持人：張振崗、黃青真
計畫參與人員：學士級-專任助理人員：陳怡穎

處理方式：

1. 公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢
2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否
3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考：否

中華民國 105 年 01 月 29 日

中文摘要：代謝體學為近年來生命科學研究之新興領域，利用高靈敏、可快速大量分析之小分子精密分析儀器，藉由全圖譜之呈現，而可以進行生命體內各種小分子代謝化合物之全面性偵測分析，藉此推測代謝途徑的變化。苦瓜 (*Momordica charantia*) 為熱帶地區常見之蔬菜，許多研究已証實山苦瓜具有調控血糖與血脂恆定的效果，並發現山苦瓜可降低小鼠之體脂肪含量、提高小鼠氧氣消耗量及能量代謝相關基因的表現。本計畫目的在以代謝體學為研究工具，探討山苦瓜的投予對中長跑選手造成之代謝變化，並評估其做為運動增能劑之潛力。本計畫以隨機雙盲之實驗設計，進行兩週的山苦瓜膠囊或安慰劑補充試驗。於實驗前後分別測量身體組成與耐力運動表現，並於休息與運動狀態分別進行呼吸氣體分析與收集血液樣品供 LCMS 分析。在代謝體學分析結果中，本研究發現山苦瓜補充組血液中雙肽類化合物濃度增加，長鏈脂肪酸、長鏈酰基脂肪酸酯的肉鹼衍生物、固醇類化合物、磷脂質類化合物與脂質氧化產物則顯著較少，顯示山苦瓜補充可能具有促進各能量營養素分解以提升供能之效率，並減少氧化產物堆積之效果。雖山苦瓜補充並未造成運動表現成績顯著增加，對身體組成也未見顯著影響，但本研究提供了山苦瓜可能促進運動選手能量利用之初步證據。

中文關鍵詞：苦瓜、代謝體學、跑步選手、能量利用

英文摘要：Metabolomics is an emerging field in recently life science research. By the reveal of full-range spectrums of high sensitive and fast instruments, it can be applied in the overall detection of variable small metabolic molecules in all organic body. Then the changed metabolic pathway will be detected. Wild bitter gourd (*Momordica charantia*, BG) is a common tropical vegetable. The hypoglycemic and hypolipidemic effect of various preparations of BG has been reported. It has been shown that wild bitter gourd increased O₂ consumption and mRNA expression of genes related to mitochondria biogenesis and energy metabolism of mice. The purpose of this study is to explore the metabolic change in the middle- and long-distance runners by using metabolomics as study model and to elucidate the potential of being a kind of ergogenic aid. According a randomized and double-blinded design, we provided the capsules of bitter gourd powder (BGP) or placebo for the middle- and long-distance runners for two weeks. We analyzed the body composition, performance of endurance exercise, respiration gas and blood samples in the beginning and the end. From the LCMS metabolomics data, we found the dipeptides contents in the serum samples were higher in the BGP group. The long-chain fatty acids, its carnitine derivatives, steroids, phosphatidylserine, and oxidized lipids were lower. It indicated the efficiency of energy provision from each energy nutrient were increased, and the accumulation of oxidized products were decreased through the bitter

gourd supplement. Although the exercise performance and body composition were not changed, this study provided tentative evidence of promoting energy utilization of the wild bitter gourd in the athletes.

英文關鍵詞： bitter gourd, metabolomics, runners, energy utilization

科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

以代謝體學探討山苦瓜果的投予對運動選手引起之代謝改變

Exploration of metabolic changes in athletes induced by wild bitter gourd (*Momordica Charantia*) supplementation using metabolomic study

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：MOST 103-2313-B-028-001-

執行期間：103年8月1日至104年10月31日

執行機構及系所：國立臺灣體育運動大學運動健康科學學系

計畫主持人：徐璿

共同主持人：黃青真、張振崗

計畫參與人員：林孟諭、陽尹瑄、林珈安、涂擇信、陳怡穎

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 ____ 份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

期末報告處理方式：

1. 公開方式：

非列管計畫亦不具下列情形，立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否 是

3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考 否 是，____ (請列舉提供之單位；本部不經審議，依勾選逕予轉送)

中 華 民 國 105 年 1 月 29 日

中文摘要

代謝體學為近年來生命科學研究之新興領域，利用高靈敏、可快速大量分析之小分子精密分析儀器，藉由全圖譜之呈現，而可以進行生命體內各種小分子代謝化合物之全面性偵測分析，藉此推測代謝途徑的變化。苦瓜 (*Momordica charantia*) 為熱帶地區常見之蔬菜，許多研究已証實山苦瓜具有調控血糖與血脂恆定的效果，並發現山苦瓜可降低小鼠之體脂肪含量、提高小鼠氧氣消耗量及能量代謝相關基因的表現。本計畫目的在以代謝體學為研究工具，探討山苦瓜的投予對中長跑選手造成之代謝變化，並評估其做為運動增能劑之潛力。本計畫以隨機雙盲之實驗設計，進行兩週的山苦瓜膠囊或安慰劑補充試驗。於實驗前後分別測量身體組成與耐力運動表現，並於休息與運動狀態分別進行呼吸氣體分析與收集血液樣品供 LCMS 分析。在代謝體學分析結果中，本研究發現山苦瓜補充組血液中雙肽類化合物濃度增加，長鏈脂肪酸、長鏈酰基脂肪酸酯的肉鹼衍生物、固醇類化合物、磷脂質類化合物與脂質氧化產物則顯著較少，顯示山苦瓜補充可能具有促進各能量營養素分解以提升供能之效率，並減少氧化產物堆積之效果。雖山苦瓜補充並未造成運動表現成績顯著增加，對身體組成也未見顯著影響，但本研究提供了山苦瓜可能促進運動選手能量利用之初步證據。

關鍵字: 苦瓜、代謝體學、跑步選手、能量利用

Abstract

Metabolomics is an emerging field in recently life science research. By the reveal of full-range spectrums of high sensitive and fast instruments, it can be applied in the overall detection of variable small metabolic molecules in all organic body. Then the changed metabolic pathway will be detected. Wild bitter gourd (*Momordica charantia*, BG) is a common tropical vegetable. The hypoglycemic and hypolipidemic effect of various preparations of BG has been reported. It has been shown that wild bitter gourd increased O₂ consumption and mRNA expression of genes related to mitochondria biogenesis and energy metabolism of mice. The purpose of this study is to explore the metabolic change in the middle- and long-distance runners by using metabolomics as study model and to elucidate the potential of being a kind of ergogenic aid. According a randomized and double-blinded design, we provided the capsules of bitter gourd powder (BGP) or placebo for the middle- and long-distance runners for two weeks. We analyzed the body composition, performance of endurance exercise, respiration gas and blood samples in the beginning and the end. From the LCMS metabolomics data, we found the dipeptides contents in the serum samples were higher in the BGP group. The long-chain fatty acids, its carnitine derivatives, steroids, phosphatidylserine, and oxidized lipids were lower. It indicated the efficiency of energy provision from each energy nutrient were increased, and the accumulation of oxidized products were decreased through the bitter gourd supplement. Although the exercise performance and body composition were not changed, this study provided tentative evidence of promoting energy utilization of the wild bitter gourd in the athletes.

Key words: bitter gourd, metabolomics, runners, energy utilization

一、前言

對運動選手而言，為了在比賽中能獲得勝利，除了運動技巧之外，積極控制體重與身體組成，往往是提升其體能與運動表現的關鍵因素。若能搭配具有促進脂肪氧化與能量利用的營養補充品，當更具事半功倍之效果。已有研究指出對中長距離類專業賽跑選手，若可維持低脂肪及高肌肉量的身體組成，可促進其在比賽中的耐力運動表現；例如分析馬拉松選手的體脂肪比例與其完成比賽的時間，發現具有顯著正相關的關聯性，且較低體脂肪比例的選手可以較快的速度及較短的時間完成比賽 (Zillmann 2013)。故在平常訓練期間若能搭配可改善身體組成的營養補充品，則可發揮促進選手運動表現之潛力。

苦瓜是亞熱帶地區常見蔬菜，在印度傳統醫療中已被用於治療糖尿病，而亦屬於傳統中草藥之材料之一。近來研究顯示苦瓜在動物實驗中對於體重與身體組成控制、促進能量代謝都有其功效。在先前參與之研究中，餵食小鼠含 5% 山苦瓜為期 22 週，發現山苦瓜具有降低體重及腹部脂肪堆積的效果，可能機制則包括增加 lipolysis 及促進能量利用 (Lu et al 2013)。

代謝體學為生命科學研究中一新興領域，利用高靈敏、可快速大量分析之液相或氣相層析耦合串聯質譜或核磁共振分析 (LC-MS/MS、GC-MS/MS/MS、LC-NMR) 等關鍵技術，進行人體或實驗動物血液、尿液、組織、細胞及植物組織等檢體中代謝化合物之全面性偵測分析。代謝體學藉由呈現所有生化反應過程中的小分子代謝物 (MW<1000) 表現量的變化，即可反應生化代謝途徑的活化或抑制，研判疾病之進展或食品藥物之介入是否造成代謝物表現量之差異，進一步推測造成之代謝變化。(Nicholson 1999 & 2008)。

二、研究目的

本研究假設為透過山苦瓜的補充，可促進運動選手的能量利用效率及加強脂質或醣類之代謝作用，而達到調控身體組成、體重控制並增進運動表現的效果。本研究計畫目的擬提供運動選手具有調控血糖與脂質代謝與活化粒線體功能潛力的山苦瓜粉末，以代謝體學為研究方法，分析比較山苦瓜補充與否，選手血液中的代謝物組成變化。利用代謝體學研究之優點特性，可於短時間內偵測大量代謝物，並藉由資料處理分析，推導出山苦瓜的介入造成能量代謝途徑之改變。同時觀察選手的身體組成與運動表現，以開發山苦瓜作為營養補充品與增能劑的潛力。

三、文獻探討

1. 運動員的身體組成與能量代謝

不同項目的運動員除了其專業的技巧訓練之外，各需維持其最適合的身材大小、身體結構與組成，方能促成最理想的運動表現。像美式足球等接觸性運動項目中，較高的體脂肪通常比較具有優勢。而像健美選手，則期望增加瘦肉重量與體重，但不增加體脂肪。因過多的脂肪會增加身體的負荷，卻不會增加產力的能力，而在施力時減慢速度與方向的改變，又增加移動體重所需要的能量消耗，而妨礙了相關運動項目的改變。因此，在涉及移動的運動項目上，較低的體脂肪百分比會有代謝上與運動表現上的優勢。過去研究亦曾利用補充品的介入，包括魚油、共軛亞麻油酸(conjugated linoleic acid, CLA)、DHEA (dehydroepiandrosterone)等，期望能達到降低體重與調節身體組成的目的，但目前效果均不明確 (Tapsell 2013)(Kreider 2002)(Ostojic 2010)。因此，若能從食材中開發具有促進能量代謝、調整身體組成與體重控制潛力的補充品，將對運動員相當重要。

近年來許多研究則注意到與能量代謝相關的基因研究。因除了短時間爆發力型的運動以磷酸肌酸為主要能量來源外，持續 3 分鐘以上的運動均需運用到體內氧化磷酸化的能量代謝系統；而此系統需在細胞粒腺體內進行。因此粒線體的數量與活性即為研究能量代謝上相當重要的指標，而 PGC-1 α 即為一重要的相關基因。目前研究證據均指出運動、能量限制與藥物介入等途徑皆可促進粒線體功能 (Wu 2002) (Fu 2005)。運動本身可促進骨骼肌中粒線體的數量與活性，能量限制可透過增加粒線體相關基因的表現 (如 PGC-1 α 、NRF 1 與 Tfam) 而促進粒線體生成。因此對運動員而言，若是能再透過「粒線體營養素」的概念 (Liu 2009)，

補充能活化粒線體功能的補充品，將更有潛力發揮有利於運動表現的能量代謝效果。

2. 山苦瓜

2.1 調控血糖與脂質代謝之能力

過去已有許多研究指出，苦瓜能夠效調節血糖及血脂，因此具備治療糖尿病的潛力。Khanna 等學者自苦瓜中純化出類似胰島素之 polypeptide-p，在動物實驗與人體實驗的模式下，發現將其打入體內，其血糖濃度於三十分鐘內顯著下降，且血糖調節效果可長達 72 小時 (Khanna 1981)。而以從苦瓜純化出之 oleanolic acid 3-O-glucuronide 與 momordin Ic 餵食大鼠，則果發現口服葡萄糖的大鼠之血糖顯著下降，且分析得其可能藉由減緩胃排空與抑制小腸對葡萄糖之吸收而達到降血糖之功效 (Matsuda 1998)。Ali 等學者將苦瓜甲醇萃取物去除皂素後餵食大鼠，發現其可改善正常鼠與患有第二型糖尿病大鼠體內葡萄糖不耐現象，並推測此萃取物可能透過促進 β -cell 分泌胰島素或增加胰島素活性而降低血糖 (Ali 1993)。Shibib 則餵食糖尿病大鼠苦瓜酒精萃取物，發現可顯著降低其血糖，且大鼠體內負責糖值新生的酵素 glucose-6-phosphatase 與 fructose-1,6-biphosphatase 之活性顯著下降，而推測其降血糖功效可能藉由減少葡萄糖生成所致 (Shibib 1993)。Huang 的腸道內分泌細胞模式與動物實驗模式，則指出山苦瓜中的三萜類化合物具有刺激 GLP-1 分泌，而發揮增加胰島素分泌及葡萄糖耐受性等降血糖的潛力 (Huang 2013)。

早期 Anila 之研究自苦瓜中分離出 flavonoids 餵食大鼠，發現其血糖及血漿、心臟中三酸甘油酯含量顯著降低，肝臟及心臟游離脂肪酸濃度顯著降低，因此推論苦瓜中含有的 flavonoids 可降低血脂與部分組織中脂質 (Anila 2000)。Jayasooriya 的研究則發現飲食中添加苦瓜粉，正常鼠之血糖、肝臟三酸甘油酯與膽固醇濃度均顯著下降，而肥胖鼠卻無此現象。然而無論是正常鼠或肥胖鼠，食用苦瓜粉後其血漿 HDL-C 均有增加的趨勢 (Jayasooriya 2000)。Nerurkar 等人以苦瓜汁處理 HepG2 細胞，發現其會降低三酸甘油酯的分泌與 MTP (microsomal triglyceride transfer protein) mRNA 之表現量，且會降低 apoB 的分泌，而推論苦瓜汁具有抑制 apoB 分泌的潛力，同時可抑制三酸甘油酯的合成與分泌 (Nerurkar 2005)。又從苦瓜中分離出 9cis, 11trans, 13trans - conjugated linolenic acid (9c, 11t, 13 t-CLN)，發現其具活化 PPAR α 與 PPAR γ 之能力，而具有與同樣以 PPAR α 和 PPAR γ 為標的分子的 Fibrate 類及 TZD 類藥物相同的促進脂肪酸氧化與葡萄糖代謝的功效 (Chuang 2006)。Tan 等學者從苦瓜純化出數種三萜類化合物，並藉由細胞實驗證實這些化合物可刺激 GLUT4 (glucose transporter 4) 移轉至細胞膜上，增加細胞的葡萄糖汲取能力並提升 AMPK (AMP-activated protein kinase) 活性，以促進脂肪酸氧化與葡萄糖利用的效果 (Tan 2008)。綜之，諸多從山苦瓜中分離出的活性分子及研究，均提供山苦瓜具調控血糖與脂質代謝能力之有力證據。

2.2 影響能量代謝與粒線體功能

在一篇關於苦瓜醱酵產物的研究中，觀察到特定品系的大鼠 (LETO strain) 在攝取苦瓜醱酵產物 12 週後，每日食物攝取量增加，但能量消耗 (energy expenditure, EE, kJ/kg BW) 亦增加，呼吸熵 (respiratory quotient, RQ) 則有顯著較低的現象。反應苦瓜醱酵產物的攝取不僅促使大鼠體內對脂質的能量消耗增加，並減少其對醣類的能量消耗 (Ichikawa 2003)。然而在一項先前參與過的研究中，餵食小鼠含 5% 山苦瓜粉末的高糖飼料為期 22 週，亦發現山苦瓜的攝取會使小鼠有較多之總能量消耗 (total energy expenditure, TEE, kJ/day)，且有較多之氧氣攝入 (VO₂) 及二氧化碳排出量 (VCO₂) 的狀況。但飼養黑暗期 (小鼠活動時期) 的呼吸熵 (RQ) 則呈現較高的現象，顯示山苦瓜促進醣類能量利用的效率增加 (Lu 2013)。推測主要可能是因不同動物實驗飼食的飼料熱量組成及動物品系不同的原因所致，造成山苦瓜對呼吸熵的影響在不同研究中有不同的效果。此外在該研究中，意外發現餵食山苦瓜小鼠的肌肉及脂肪組織中有較高之粒線體生成相關基因的表現 (PGC-1 α 、Nrf1 與 tfam)，且在白色脂肪組織中更發現驅動化學能以熱能散失的 UCP-1 (uncoupling protein-1) mRNA 表現亦有增加。而這些現象伴隨著餵食山苦瓜小鼠有較輕的體重與脂肪組織重量，故顯示山苦瓜的投予可伴隨著能量代謝增加、粒線體功能活化及不易肥胖之效果。

2.3 影響荷爾蒙分泌

先前參與的研究初步以 HPLC 分析苦瓜水萃物，並以 caffeine 標準品比對，發現其中含有與 caffeine 相同 retention time 的 peak (data unpublished)，故苦瓜可能具有刺激交感神經分泌正腎上腺素並影響相關訊息傳遞路徑的潛力。兒茶酚胺 (catecholamines) 主要包含腎上腺素 (epinephrine)、正腎上腺素 (norepinephrine) 和多巴胺 (Dopamine)，均是從苯丙氨酸 (Phe) 和酪氨酸 (Tyr) 合成而來。其生理作用包括增加心肌及血管的收縮能力，促進骨骼肌內葡萄糖的分解以提供能量，並增加肌肉內的鈣離子濃度以幫助肌肉收縮，以加強醣類及脂肪的代謝。而苦瓜對體內能量代謝反應與荷爾蒙分泌的影響，在 2005 年的一篇研究，即指出對餵食高油飼料的大鼠補充凍乾的苦瓜汁四週及七週，可觀察到較低的體重、較少的內臟脂肪、較低的能量利用率 (g gain/MJ intake) 與較低的肝臟三酸甘油酯含量，但呈現較高濃度的血漿游離脂肪酸及兒茶酚素 (epinephrine and norepinephrine) (Chen 2005)。又補充苦瓜的大鼠其棕色脂肪組織及紅腓腸肌中分別有較高的 UCP1 及 UCP3 蛋白質表現，PGC-1 alpha 的表現量亦顯著較高 (Chan 2005)。以上結果顯示苦瓜的投予可透過加強交感神經活性、脂質分解作用及粒線體的去耦合 (uncoupling)，而達到慢性的降低組織中脂肪堆積的效果，並發揮具有控制體重的潛力。

3. 代謝體學在運動項目與飲食介入上之研究

在不同的運動類型中，以力量持久型之運動型態，最能顯著刺激運動者體內代謝程度的改變。Yan 等學者以力量持久型之運動項目「划船」為研究標的，比較不同資歷之運動員在進行兩週之訓練後對體內代謝影響變化。該研究選擇資歷較淺 (3 年訓練) 及資深 (7 年國手經驗) 之划船選手為研究對象，在訓練前、訓練期間及訓練完成後之休息狀態時抽取槳手之靜脈血，以 GC/TOF-MS 分析血清中代謝化合物的組成，以期可描述專業運動員在長期訓練下之代謝概況，並監控訓練過程及不同資歷運動員之代謝變化。結果與一般人相較，專業運動員血清中之涉及葡萄糖代謝、氧化壓力及胺基酸代謝之化合物 (Lactate, Ala, Cys, Glu, Val, Gln. etc) 濃度顯著較高，而涉及脂質代謝之脂肪酸 (C16:0, C18:1, C18:2) 濃度則顯著較低。而在不同資歷之運動員間，常見之血液生化指標 (如 hemoglobin、testosterone 及 creatine kinase) 在各組間並沒有顯著差異。唯 GC/TOF-MS 對血清代謝物之分析結果，始能觀察到訓練過程確實會造成代謝化合物組成改變，其中包括涉及葡萄糖代謝、氧化壓力、能量、脂質及胺基酸代謝之代謝化合物 (Yan 2009)。

Pechlivanis 則以 80 公尺衝刺為研究項目，使運動員進行兩次 80 公尺全力衝刺為一輪，共進行三輪。而兩次衝刺間之休息間隔分為 10 秒鐘或 1 分鐘兩組。在運動前及三輪運動完成後，收集運動員之尿液，以 ¹H-NMR 分析其代謝化合物組成。結果顯示尿液中 lactate、pyruvate、alanine、Crebs cycle 代謝物及支鏈胺基酸 (BCAA) 代謝產物在運動後均顯著增加，其中又以休息間隔較短者，增加程度更為明顯 (Pechlivanis 2010)。這些短期運動訓練對代謝之影響，以傳統生化指標分析往往看不出顯著差異，但藉由分析能力強大之代謝體學研究工具，可更明確的觀察到特定訓練計劃所造成之運動員代謝改變，而得以對運動生化學有更進一步之實驗證據與驗證。

Lehmann 設計使健康成年人在跑步機上以 75% VO₂ max 速度持續運動 60 分鐘，使用高解析能力之 LC-QTOF-MS 分析運動員在運動前後之血樣，並進行統計運算後，發現運動所誘發代謝物組成改變，主要來自於中長鏈 carnitine 濃度顯著增加。此研究指出適當的劇烈運動，會促使血液中的中鏈 carnitine 成為主要生化指標，進一步發揮促進脂質氧化以做為能量來源之效果 (Lehmann 2010)。

Miccheli 等學者則以 44 位划船選手為研究對象，探討運動後補充含綠茶的運動飲料對專業運動員之影響。實驗設計為交叉雙盲實驗，不同試驗間設計一週間隔期間。使選手在划船肌力器上進行激烈運動前、運動後及給予含綠茶運動飲料與否之恢復期間 (rehydration period)，分別收集運動員之血液及尿液，以 ¹H-NMR 分析其代謝化合物組成。結果發現運動後之恢復期間若給予含綠茶成份之運動飲料，一則可藉由飲料中所含果糖成分而促進肝臟合成葡萄糖，而反應在運動後血漿葡萄糖濃度恢復升高。此結果符合以果糖做為能量來

源時，不會刺激胰島素分泌，亦不會抑制 beta-oxidation 之結果。再則運動後攝取運動飲料者之尿液中 acetone、acetate 及 3-OH butyrate 濃度較未喝運動飲料者來的高，則顯示該含綠茶運動飲料的攝取促進了肝臟中進行酮體生成，以做為運動訓練後之能量來源。而此可能來自於綠茶成分可透過延長腎上腺素作用，而發會增加 lipolysis 及脂肪酸氧化之效果 (Miccheli 2009)。而像含綠茶成運動飲料此類多重組成之營養補充劑對於運動員之影響，唯有透過代謝體學之全面性分析，方能歸納出其最終之協同效果。

2012 年 Nieman 以 GC-MS 為分析平台，以香蕉作為能量補充來源，對 14 位專業自行車選手進行代謝體學研究。結果觀察到在 75 公里的測試中，每 15 分鐘補充香蕉為能量來源的受試者 (0.2 g/kg 體重)，其運動表現成績，以及促進肝臟產生 glutathione、促進糖解作用、脂肪分解等能量代謝反應的效果，均與補充 6% 碳水化合物飲料相當，唯補充香蕉之受試者的血清 dopamine 濃度較補充碳水化合物飲料者顯著較高 (Nieman 2012)。2013 年 Knab 等學者亦以代謝體學為研究模式 (GC-MS 分析平台)，以 9 位短距離及中長距離游泳選手為對象，以隨機、交叉之實驗設計，研究補充含 230 mg flavonoid 之蔬果汁對選手進行 10 天訓練後對代謝反應之影響。經代謝體學分析可觀察到 10 天訓練前後有顯著的代謝物組成變化，包括與能量基質消耗相關之代謝物，而 10 天的蔬果汁的補充與否並未造成與發炎反應、免疫反應、氧化壓力相關之代謝物反應變化 (Knab 2013)。

而抗氧化之多酚類補充品對減少氧化傷害、改善運動能力的功效也吸引許多研究關注。2013 年一篇研究亦以代謝體學研究模式探討補充多酚類合併蛋白質或安慰劑，在三天增強式訓練後，14 天補充品與安慰劑對血液中一般免液與生化指標的影響並沒有顯著差異。但透過 LC-MS 與 GC-MS 分析，則可看到血液中所辨識到 377 個代謝物，其中 40 個是有組間差異的。包括補充品組中偵測到較高濃度的多酚類腸道衍生物 (hippurate、methylcatechol sulfate、cinnamoylglycine 等) 與酮體 (包括 3-hydroxybutyrate、acetoacetate)。透過代謝體學之證據，顯示此補充品確實會造成體內代謝變化，短期補充即反應在脂質代謝能力有改善之效果上。若僅透過一般血液指標分析，往往會忽略此補充品之潛力 (Nieman et al, 2013)。

由此顯示膳食補充品造成之生理反應往往不如藥品的功效來的明顯，若只進行人體測量學與一般血液生化指標的分析，往往看不出其生理效應。故更需要也更適合以代謝體學研究工具，如 LC-MS、GC-MS、NMR 等，對組織樣品進行之全面性與細部掃描分析，以探討其所造成體內細部之生理變化，更開發其他有潛力之生化分析指標。

四、研究方法

1. 實驗設計

本實驗招募國立台灣體育運動大學田徑隊中長跑男性選手為受試者，並依據受試者體重、體脂肪百分比、VO₂max 與 5000 公尺運動成績隨機分為山苦瓜組 (BGP group) 及安慰劑組 (Con group)。共投予 14 天，每日早餐時提供受試者含山苦瓜凍乾粉末或安慰劑之膠囊，一日之計量約 5 g。在實驗開始前與投予結束後，均會分析身體組成、進行 5000 公尺與 10000 公尺之耐力運動表現測試、分析休息狀態與運動後之呼吸氣體組成、以及收集休息狀態與運動後之血樣以供一般血液生化值與代謝體學分析。

2. 受試者:

本實驗招募之受試者為國立台灣體育運動大學之田徑隊中長跑男性選手，共 16 人。年齡為 20-25 歲，規律參與其常規訓練至少 2 年，健康情況良好，無明顯重大疾病，並排除有抽菸、喝酒習慣者。實驗期間要求受試者維持規律的生活及其正常飲食習慣，避免攝取酒類、咖啡及禁止吸煙活動。

3. 最大攝氧量 (VO₂max) 測量

在正式實驗開始前，需先依 Bruce protocol 在跑步機上測試每位受試者的最大攝氧量 (VO₂max) (Williams 1993)。氣體分析儀將分析受試者之呼吸氣體組成。所有受試者必須運動至耗竭，或是呼吸交換率

(respiratory exchange ratio, RER) 超過 1.2。而儀器將分析記錄受試者在每階段運動的氧氣消耗量、呼吸交換率與心跳率。本研究將依測量計算出之每位受試者之最大攝氧量進行隨機分組。

4. 山苦瓜粉末與安慰劑膠囊材料

本研究所需之苦瓜材料，為購自寰宇生物科技股份有限公司之花蓮 4 號苦瓜冷凍乾燥粉末，並委託食品廠商昱沅企業股份有限公司進行膠囊裝填。每顆膠囊中實際所含苦瓜粉末之劑量為 423 mg。而安慰劑膠囊內則含等量之食用澱粉。為確保受試者確實服用補充膠囊，每日於早餐時提供受試者 12 顆膠囊使其服下。

5. 耐力運動表現測試

本研究設計之運動表現測試分為 5000 公尺與 10000 公尺。5000 公尺跑步測試是在跑步機上進行，使受試者自行控制速度，並鼓勵其全力衝刺，以記錄其跑步成績。在測試前先進行 10 分鐘休息狀態之呼吸氣體分析。在跑步中亦全程分析其運動時之呼吸氣體。在測試前與測試後分別進行靜脈採血 5 mL。

10000 公尺跑步測試則安排所有受試者同時在標準田徑場中進行，全程紀錄每位受試者每圈 400 公尺之秒數及其完成時間。以最接近實際比賽狀態來進行運動表現測試。

6. 身體組成分析

以具有良好再現性的排氣體箱計 (BOD POD 儀器) 進行身體組成分析，取代雖測量方便但較不準確的 Inbody 儀器。使受試者著泳衣及泳帽坐進 750 L 的 BOD POD 儀器艙室內，由艙室內的氣體排出量，再扣除受試者呼吸至空氣循環器內的肺部氣體量，而獲得真實的身體體積，進而運算出身體密度，以換算出脂肪與瘦肉組織之重量與百分比。

7. 呼吸氣體分析

以氣體分析儀分析受試者 10 分鐘休息狀態下及 5000 公尺跑步運動狀態下之氧氣消耗及二氧化碳呼出量，以計算兩種狀態下之呼吸熵 RQ 值。

8. 血樣收集與生化值分析

在實驗開始前與投予結束後，由合格之醫檢師於受試者於休息狀態與運動後，自手臂靜脈以含有 EDTA 之採血管進行採血，各約 5 mL。經 12,000 rpm, 4°C 離心 20 分鐘得到上清血漿樣品，分裝保存於 -80°C。除了欲進行代謝體學分析之血漿樣品外，剩餘樣品以自動生化分析儀進行三酸甘油酯、游離脂肪酸、高密度脂蛋白膽固醇、甘油、3-羥基丁酸、尿酸、CK(creatine kinase) 等濃度分析。

9. 血液代謝體學分析前處理

器具前處理: 將玻璃試管以丙酮、甲醇、一次水、二次水依序超音波震盪、洗淨 (勿以清潔劑刷洗); 其含鐵氟龍墊片之蓋子則泡在甲醇中，再以超音波震盪洗淨後放在乾淨容器內自然晾乾。

血漿中水溶性代謝物萃取: 採用 Folch 等學者所發表之萃取方法 (Folch 1957)。先取 200 μ L 血漿樣本至有蓋的玻璃試管中，再依序加入 6 mL CHCl_3 :MeOH (v/v=2:1) 混合液及 1.5 mL 二次水，經均勻混和震盪 30 秒/次，共 4 次後，置於超音波震盪機內冰浴震盪 10 分鐘，再以 2500 rpm 離心 20 分鐘。離心後樣品分成上層為甲醇/水層及下層之有機層，中間介面會出現蛋白質雲狀物，則再震盪攪散以提高萃取率後，再次以 2500 rpm 離心 20 分鐘。以 10 mL 玻璃針筒抽取 3 mL 上層水溶液至新的有蓋玻璃試管分裝。欲與取下個樣品之水層分層時，以甲醇、二次水進行洗針，取下層有機層時，則以甲醇、氯仿依序洗針。以氮氣吹乾分裝之水溶液萃取層至其體積剩約 1 mL，再用玻璃滴管將剩餘溶液取至 Gilson 之 1.5 mL 微量離心管，置於吹氣濃縮套件之樣品槽中以氮氣吹乾。將吹乾之樣品儲存於 -80°C，在進行 LC-MS 分析前再以 150

μL 之 LC-grade water 震盪 90 秒以回溶沉澱，並以 14,000 g，4 °C 離心 30 分鐘後，取清澈上清液進行 LC-MS 分析。

10. 以 LC-Q Orbitrap MS 進行代謝體學分析

本研究之 UPLC-Q-orbitrap MS 操作為委託設有 GLP 等級實驗室之廠商進行分析。以液相層析法 (Liquid chromatographic) 分離樣本中化合物。使用 ACQUITY UPLC HSST3 column (2.1*100 mm)，維持溫度 45°C、mobile phase 流速 0.4 mL/分鐘以進行層析分離。Mobile phase 為 0.1% formic acid in water (solvent A) 與 0.1% formic acid in acetonitrile (solvent B)，以 1% 至 98% H₂O 之梯度條件對樣品進行流洗層析後 (0-0.5 min: 1% solvent B; 0.5-6.5 min: gradient from 1% to 60% solvent B; 6.5-7 min: gradient from 60% to 90% solvent B; 7-8.5 min: 90% solvent B; 8.5-9 min: gradient from 90% to 1% solvent B; 9-15 min: 1% solvent B for re-equilibration)，即注入質譜儀進行分析。各質譜數據以 profile mode 收集，記錄 m/z 100 到之 m/z 1000 數值，再利用軟體分析辨別樣品中之代謝物組成。

將分析所得原始數據檔轉檔成 mzXML 檔，再使用中研院合作團隊開發之 Metab-Q 及 Metab-ID 軟體分別進行代謝物 peak 定量與分子量辨認分析。先利用 MetaboAnalyst 3.0 網站進行主成份分析 (principal component analysis, PCA)，並找出與安慰劑組樣品中之 peak 強度有達顯著性差異的代謝物。再利用 HMDB (Human Metabolome Database)、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 等線上資料庫查詢各代謝物詳細資訊及可能參與的代謝途徑，以供後續討論苦瓜投予對受試者所引發之代謝反應。

11. 統計分析

實驗數據皆以平均值 \pm 標準偏差 (mean \pm S.D.) 表示。各分析結果先確認為常態分佈後，以 Student's T test 進行差異性之統計分析。若實驗數據不符合常態分佈，則使用 Non-parametric Statistics (無母數分析) 分析組間差異。# 表示補充兩週前後測之結果有差異之趨勢 ($p < 0.1$)。\$ 表示兩組間有差異之趨勢 ($p < 0.1$)。* 表示兩組間有顯著差異 ($p < 0.05$)。

五、結果與討論

1. 山苦瓜補充兩週對中長跑選手身體組成狀態與運動表現之影響 (表 1)

本研究招募到 16 為中長跑選手為受試者，其 VO₂max 為 72.3 \pm 7.2 mL/kg/min，體重為 57.5 \pm 3.7 kg，體脂肪百分比為 13.6 \pm 3.0%，5000 公尺跑步成績為 1094.4 \pm 81.8 sec。依上述指標將受試者隨機分為山苦瓜膠囊與安慰劑組，使兩組間沒有顯著差異後，即開始進行 14 天之補充試驗。經兩週山苦瓜補充後，分別與控制組及補充前相比，可見受試者之身體組成 (體重、體脂肪百分比與瘦肉組織重量) 並沒有顯著影響。又分析其於休息狀態下之氣體組成，山苦瓜與安慰劑組之休息時 RQ 亦沒有顯著差異。

然而在運動狀態下 (5000 公尺跑步)，觀察到山苦瓜組經兩週補充後，其 RQ 值之變化率有較控制組稍高的趨勢 (增加 3%， $p < 0.1$)。雖其 5000 公尺之跑步成績並未因苦瓜補充而有顯著差異，但 RQ 增加的現象可能暗示山苦瓜補充有增加運動時醣類功能效率的潛力。此結果亦與過去研究指出苦瓜補充會促進實驗小鼠在黑暗活動時期之氧氣消耗量與二氧化碳排出量提升，並使呼吸熵有提升之現象有相似之趨勢 (Lu et al, 2013)。

又在戶外田徑場進行之 10000 公尺跑步測試中，山苦瓜組與控制組之運動表現成績並沒有顯著差異。然而在專業中長跑比賽中，不同階段的速度分配策略亦為影響運動表現的因素之一，若選手之配速策略未調整至最適狀態，便有可能影響全程完成時間。但選手必定於最後數圈內盡全力衝刺。而在分圈紀錄之結果中，觀察到山苦瓜組之最後 800 公尺花費時間有較控制組來得短的趨勢 ($p < 0.1$)。此結果可能暗示山苦瓜組在決定衝刺之階段有較強衝刺之能力，並呼應山苦瓜組在運動時有較高之 RQ 值，故山苦瓜補充可能有促進運動時醣類代謝提供能量之潛力，

2. 山苦瓜補充兩週對中長跑選手一般血液生化值之影響 (表 2)

在血漿一般血液生化值分析的結果中，觀察到山苦瓜補充對於休息狀態下之脂質代謝、氧化壓力類指標並沒有顯著影響。唯在 5000 公尺跑步後，血液中 NEFA 之濃度與控制組相比有較低之趨勢 ($p < 0.1$)，暗示山苦瓜補充有促進運動時消耗血液中脂質以提供能量之潛力。而山苦瓜補充組在運動後之血漿 creatine kinase 有較高的趨勢 ($p < 0.1$)，可能反應其在運動中發揮了較強之衝刺。此耐力運動後 CK 的增加可能也反應了體內氧化壓力的狀態 (Rahnama et al, 2015)。而血漿三酸甘油酯、酮體、高密度脂蛋白膽固醇濃、尿酸、甘油濃度無論在休息狀態或運動後，山苦瓜補充均未造成顯著影響。

3. 山苦瓜補充兩週對中長跑選手之血液代謝體學研究 (圖 1-3、表 3-6)

血液之 LCMS 代謝體學分析數據先經由主成分分析後，可觀察到山苦瓜補充兩週前後之血液代謝物組成有顯著分群之現象 (圖 1)，然而安慰劑組於實驗前後之血液代謝組成亦有分群之現象 (圖 2)。這表示在代謝體學研究平台下，可見血液組成變化之時間效應相當明顯。

進一步比較補充山苦瓜或安慰劑兩週後之血液組成，則由 2D 與 3D 之 PLSDA 圖譜中可觀察到兩組血樣組成有分群之趨勢。雖分群現象不如時間效應明顯，但此結果提供了山苦瓜補充確實有成體內代謝變化之證據。根據所有 LCMS 峰值強度，篩選出山苦瓜組與控制組差異超過 2 倍 ($p < 0.05$) 之 peak，根據其 m/z 值自 HMDB 資料庫中比對出可能之化合物，結果整理於表 3-6。結果可發現無論在休息狀態或是運動後，山苦瓜補充均造成血液中雙肽類化合物之濃度顯著增加，又長鏈脂肪酸與長鏈酰基脂肪酸酯的肉鹼衍生物之濃度則顯著減少。又山苦瓜補充組在運動後，血液中固醇類化合物 (Tetrahydrocortisol、Canrenone 等)、磷脂質類化合物 (phosphatidylserine)、脂質氧化產物 (如 HOTE 或 EpoODE 等) 則顯著較少。

血液中雙肽類化合物為蛋白質分解之不完全產物，初步推測山苦瓜組蛋白質分解產物較多，可能暗示體內蛋白質新陳代謝作用旺盛，亦不排除可能少量增加體內由蛋白質供能的比例，而反應體內能量營養素供能之效率增加。而長鏈脂肪酸類化合物、固醇類化合物與磷脂質的減少，可能為脂質氧化分解作用增加之效果。故可能反應山苦瓜補充可促進脂肪分解以提供能量之效率增加。然而體內氧化壓力可能造成之脂質過氧化產物在山苦瓜補充組顯著較少，則反應山苦瓜具有抗氧化壓力之潛力，補充時可減少氧化產物的堆積。

六、結論

綜之，本研究以隨機雙盲之實驗設計，使中長跑選手補充山苦瓜粉末膠囊兩週，並以代謝體學之 LCMS 分析做為研究工具，以評估山苦瓜補充造成運動選手之代謝變化。因運動選手之賀爾蒙反應較一般人來得平穩，故此類天然食材的補充對一般生理指標的影響往往看不出差異。然而經本代謝體學研究，初步發現山苦瓜補充可能具有促進各能量營養素分解以提升供能之效率，並具有抗氧化之效果。雖此兩週的短期補充對中長跑選手之運動表現成績並未有顯著增加的效果，對身體組成也未見顯著影響，但仍提供了其具有促進運動選手能量利用之初步證據。未來可考慮增高劑量或延長時間，並應用於體內生賀爾蒙反應較為靈敏之未經訓練過的受試者，以期得到更顯著之補充效益。

表 1 山苦瓜補充兩週對中長跑選手身體組成狀態與運動表現之影響

| | <i>Pre</i> | | | | <i>Post</i> | | | |
|------------------------------------|------------|-------|----------|-------|-------------|-------|----------|--------|
| | Con | | BGP | | Con | | BGP | |
| VO2max | 71.1 ± | 6.3 | 72.5 ± | 7.9 | | | | |
| BMI | 19.7 ± | 0.8 | 20.3 ± | 1.5 | 19.4 ± | 0.9 | 19.4 ± | 1.2 |
| Weight (kg) | 56.8 ± | 2.7 | 58.3 ± | 4.6 | 55.9 ± | 2.2 | 57.8 ± | 3.9 |
| 瘦肉重 (kg) | 45.8 ± | 2.5 | 46.8 ± | 4.2 | 46.0 ± | 2.1 | 46.8 ± | 3.7 |
| Body fat (%) | 13.5 ± | 2.4 | 13.7 ± | 3.7 | 11.9 ± | 2.3 | 13.2 ± | 3.5 |
| <i>At rest</i> | | | | | | | | |
| RQ | 0.83 ± | 0.05 | 0.83 ± | 0.06 | 0.86 ± | 0.06 | 0.84 ± | 0.04 |
| RQ 變化率 (%) | | | | | 3.6 ± | 8.2 | 1.8 ± | 9.5 |
| Lactate (mM) | 0.99 ± | 0.22 | 1.18 ± | 0.22 | 1.14 ± | 0.18 | 1.20 ± | 0.35 |
| <i>After 5000m exercise</i> | | | | | | | | |
| RQ | 0.97 ± | 0.06 | 0.94 ± | 0.04 | 0.96 ± | 0.05 | 0.97 ± | 0.03 |
| RQ 變化率 (%) | | | | | -0.6 ± | 2.0 | 3.0 ± | 5.2 \$ |
| Lactate (mM) | 7.38 ± | 2.43 | 8.13 ± | 2.44 | 7.73 ± | 2.65 | 8.50 ± | 2.91 |
| <i>Exercise performance</i> | | | | | | | | |
| 5000 m (sec) | 1111.5 ± | 83.8 | 1094.3 ± | 81.2 | 1094.3 ± | 71.1 | 1054.9 ± | 115.8 |
| 10K m (sec) | 2443.9 ± | 173.8 | 2305.9 ± | 165.2 | 2473.9 ± | 257.2 | 2303.9 ± | 179.0 |
| final 800m (s) | 188.5 ± | 17.9 | 181.7 ± | 26.9 | 199.6 ± | 37.8 | 171.3 ± | 8.8 # |
| final 400m (s) | 88.6 ± | 11.0 | 86.0 ± | 16.9 | 96.2 ± | 20.4 | 81.4 ± | 4.8 |

\$: BGP versus Control, p<0.1.

#: Post versus Pre, p <0.1.

表 2 一般血液生化值分析

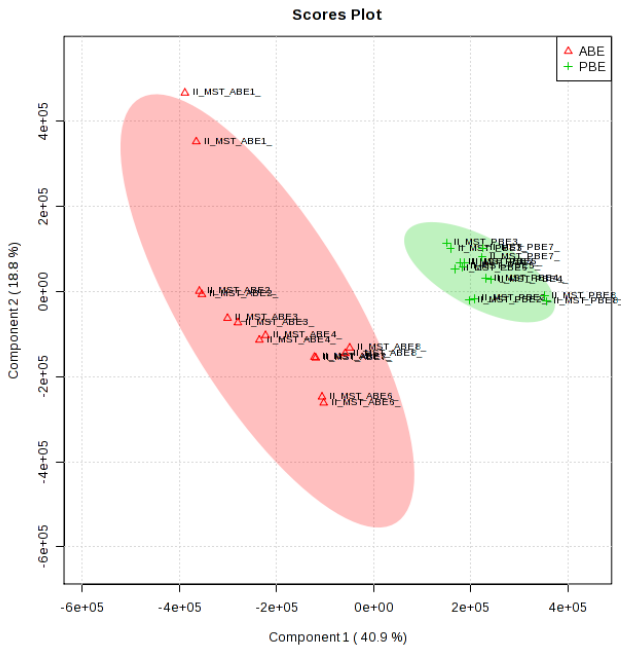
| | <i>Pre</i> | | <i>Post</i> | |
|-----------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| | Con | BGP | Con | BGP |
| <i>At rest</i> | | | | |
| TG(mmol/L) | 0.65 ± 0.21 | 0.77 ± 0.36 | 0.89 ± 0.31 [#] | 0.86 ± 0.39 |
| NEFA(mmol/L) | 0.27 ± 0.11 | 0.24 ± 0.20 | 0.37 ± 0.27 | 0.34 ± 0.20 |
| D-HYD(mmol/l) | 0.02 ± 0.01 | 0.02 ± 0.02 | 0.06 ± 0.06 | 0.03 ± 0.03 |
| UA(mmol/L) | 0.37 ± 0.10 | 0.40 ± 0.08 | 0.36 ± 0.06 | 0.36 ± 0.10 [#] |
| HDL-C(mmol/L) | 2.5 ± 0.5 | 2.4 ± 0.5 | 2.4 ± 0.2 | 2.4 ± 0.4 |
| CK(U/L) | 19.0 ± 4.2 | 23.1 ± 12.4 | 18.0 ± 4.1 | 30.1 ± 31.5 |
| GLY(μmol/l) | 19.0 ± 8.8 | 17.6 ± 6.9 | 27.4 ± 23.6 | 22.3 ± 13.3 |
| <i>After exercise</i> | | | | |
| TG(mmol/L) | 0.77 ± 0.24 | 0.96 ± 0.59 | 0.95 ± 0.33 [#] | 0.90 ± 0.33 |
| NEFA(mmol/L) | 0.63 ± 0.26 | 0.42 ± 0.16 ^{\$} | 0.49 ± 0.18 | 0.36 ± 0.12^{#\$} |
| D-HYD(mmol/l) | 0.07 ± 0.03 | 0.06 ± 0.01 | 0.08 ± 0.05 | 0.05 ± 0.02 |
| UA(mmol/L) | 0.42 ± 0.11 | 0.46 ± 0.09 | 0.37 ± 0.04 | 0.42 ± 0.10 [#] |
| HDL-C(mmol/L) | 2.8 ± 0.4 | 2.7 ± 0.4 | 2.7 ± 0.2 | 2.7 ± 0.4 |
| CK(U/L) | 23.3 ± 8.8 | 26.9 ± 12.8 | 22.6 ± 6.4 | 39.0 ± 35.7^{#\$} |
| GLY(μmol/l) | 145.1 ± 74.1 | 102.1 ± 35.4 | 107.3 ± 51.9 | 93.4 ± 49.1 |

TG:triglyceride, NEFA: nonesterified fatty acid, D-HYD: D-3- hydroxybutyrate, UA: uric acid, HDL-C: HDL-Cholesterol, CK: creatine kinase, GLY: glycerol.

\$: BGP versus Control, p<0.1.

#: Post versus Pre, p <0.1.

(A) After exercise

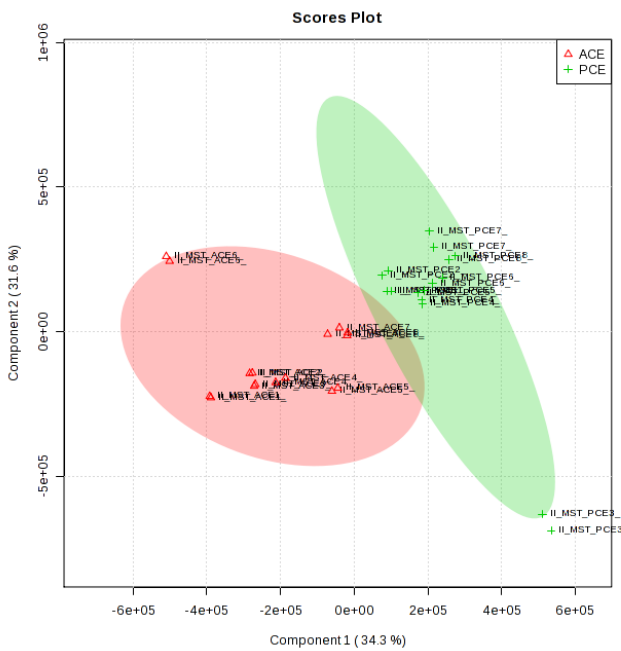


(B) At Rest



圖 1 中長跑選手在山苦瓜投予前及投予兩週後，在 (A) 運動後與 (B) 休息狀態下之血漿代謝物組成之主成分分析 (PLSDA) 2D 圖譜。結果顯示山苦瓜投予前後之代謝物組成有明顯分群之現象。紅點為投予兩週後，綠點為投予前。

(A) After exercise



(B) At Rest

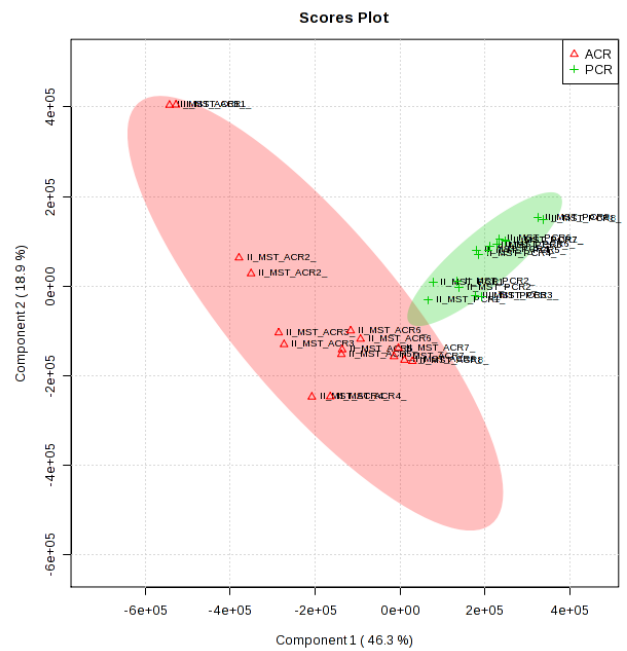
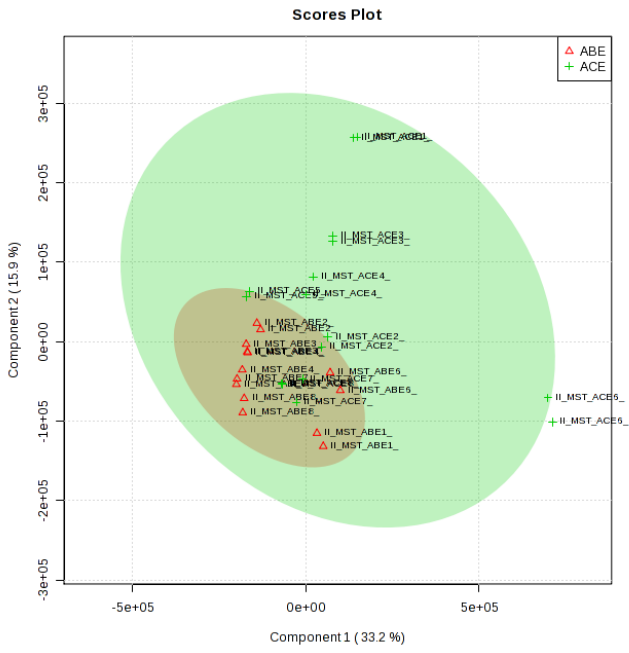


圖 2 中長跑選手在安慰劑投予前及投予兩週後，在 (A) 運動後與 (B) 休息狀態下之血漿代謝物組成之主成分分析 (PLSDA) 2D 圖譜。結果顯示相隔兩週收集之血漿中代謝物組成即有分群之現象。紅點為投予兩週後，綠點為投予前。

(A) After exercise



(B) At Rest

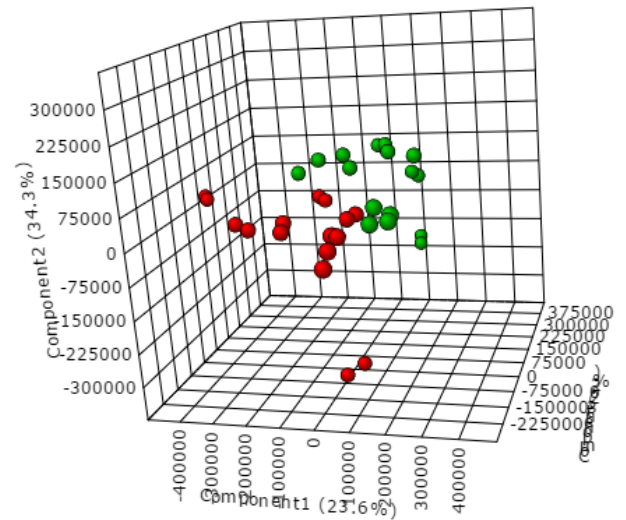
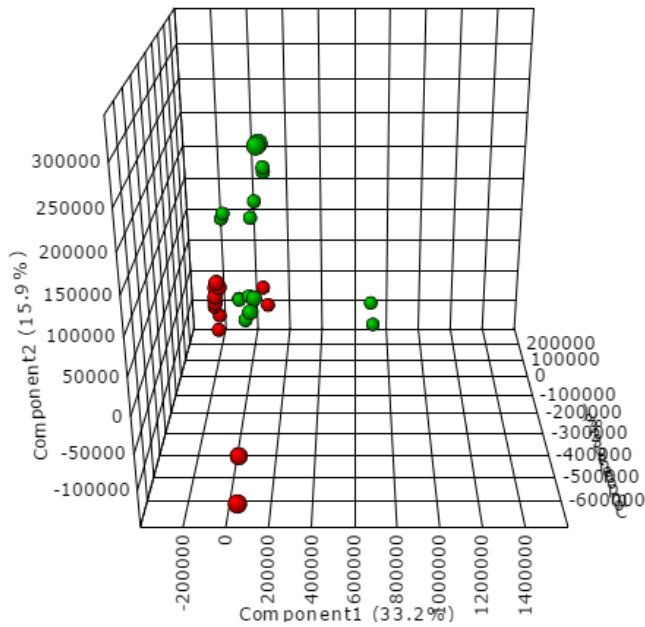
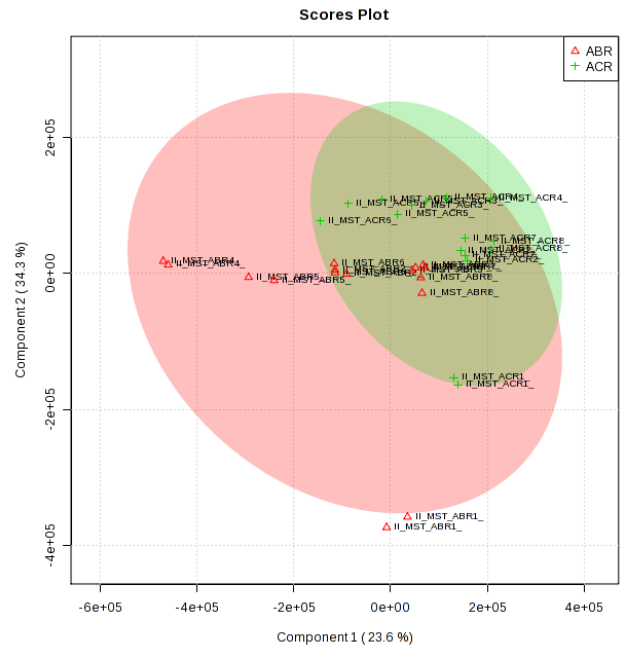


圖 3 中長跑選手投予山苦瓜或安慰劑兩週後，在 (A) 運動後與 (B) 休息狀態下之血漿代謝物組成之主成分分析 (PLSDA) 2D 與 3D 圖譜。結果顯示兩組之代謝物組成均有分群之趨勢。紅點為山苦瓜組(BGP)，綠點為控制組 (Control)。

表 3 Tentative assignment of **post-exercise** plasma metabolites with **higher abundance in BGP group** compared to Control group ($p<0.05$)

| No. | m/z | RT (min) | Tentative adduct | Theoretical MW | Chemical Formula | Regulation Fold | Tentative identification | Proposed compound description |
|-----|----------|-------------|---------------------|-------------------|---|--------------------|--------------------------|-------------------------------|
| 1 | 275.1710 | 0.70 | M+H | 274.1641 | C ₁₁ H ₂₂ N ₄ O ₄ | 3.5 | Glu-Lys dipeptide | 蛋白質的不完全分解產物 |
| 2 | 294.1539 | 1.87 | M+Na | 271.1644 | C ₁₁ H ₂₁ N ₅ O ₃ | 2.1 | Pro-Arg dipeptide | 蛋白質的不完全分解產物 |

表 4 Tentative assignment of **post-exercise** plasma metabolites with **lower abundance in BGP group** compared to Control group ($p<0.05$)

| No. | m/z | RT (min) | Tentative adduct | Theoretical MW | Chemical Formula | Regulation Fold | Tentative identification | Proposed compound description |
|-----|----------|-------------|---------------------|-------------------|---|--------------------|--|-------------------------------|
| 1 | 703.6234 | 6.19 | M+H | 702.6162 | C ₄₅ H ₈₂ O ₅ | 0.5 | DG(22:0/0:0/20:3n9)... | |
| | | | M+Na | 680.6319 | C ₄₃ H ₈₄ O ₅ | | DG(18:0/22:0/0:0)... | |
| 2 | 754.4622 | 6.20 | M+Na | 731.4737 | C ₃₈ H ₇₀ NO ₁₀ P | 0.5 | PS(14:0/18:2)... | phosphatidylserine |
| | | | M+H | 753.4581 | C ₄₀ H ₆₈ NO ₁₀ P | | PS(14:1/20:4)... | |
| 3 | 718.4026 | 6.22 | M+K | 679.4424 | C ₃₄ H ₆₆ NO ₁₀ P | 0.5 | PS(14:0/14:0) | |
| 4 | 669.4956 | 6.22 | M+Na | 646.5050 | C ₃₅ H ₇₁ N ₂ O ₆ P | 0.5 | SM(d18:1/12:0) | 鞘磷脂有機化合物 |
| 5 | 827.6674 | 6.22 | M+Na | 804.6784 | C ₅₇ H ₈₈ O ₂ | 0.5 | 2-Decaprenyl-6-methoxyphenol | Polyprenylphenols |
| 6 | 719.3785 | 6.22 | 2M+Na | 348.1937 | C ₂₀ H ₂₈ O ₅ | 0.5 | 12,20-Dioxo-leukotriene B4 | 白三烯的有機化合物 |
| 7 | 386.2899 | 8.26 | M+H | 385.2828 | C ₂₁ H ₃₉ NO ₅ | 0.3 | 3-Hydroxy-cis-5-tetradecenoylcarnitine | hydroxy fatty acids |
| 8 | 383.2192 | 8.44 | M+Na | 360.2301 | C ₂₂ H ₃₂ O ₄ | 0.3 | Resolvin or Neuroprotectin | metabolites of DHA |
| 9 | 367.2453 | 8.44 | M+H | 366.2406 | C ₂₁ H ₃₄ O ₅ | 0.3 | 5a-Tetrahydrocortisol | |
| 10 | 444.3681 | 8.45 | M+H | 443.3611 | C ₂₅ H ₄₉ NO ₅ | 0.3 | 12-Hydroxy-12-octadecanoylcarnitine | acyl carnitines |
| 11 | 342.2638 | 8.65 | M+H | 341.2566 | C ₁₉ H ₃₅ NO ₄ | 0.2 | trans-2-Dodecenoylcarnitine | |
| 12 | 363.1931 | 8.65 | M+Na | 340.2038 | C ₂₂ H ₂₈ O ₃ | 0.2 | Canrenone | 一種競爭性醛固酮受體拮抗劑 |
| 13 | 424.3419 | 8.65 | M+H | 423.3349 | C ₂₅ H ₄₅ NO ₄ | 0.2 | Linoelaidyl carnitine | 酰基肉鹼 |
| | | | M+H | 423.3349 | C ₂₅ H ₄₅ NO ₄ | | Linoleyl carnitine | 肉鹼的長鏈酰基脂肪酸酯衍生物 |
| 14 | 370.2951 | 8.65 | M+H | 369.2879 | C ₂₁ H ₃₉ NO ₄ | 0.2 | cis-5-Tetradecenoylcarnitine | acyl carnitines |

| | | | | | | | | |
|----|----------|-------|-----|----------|---|------|--|-----------------------------|
| 15 | 344.2794 | 9 | M+H | 343.2723 | C ₁₉ H ₃₇ NO ₄ | 0.2 | Dodecanoylcarnitine | 酰基肉鹼有機化合物 |
| 16 | 400.3419 | 9 | M+H | 399.3349 | C ₂₃ H ₄₅ NO ₄ | 0.2 | L-Palmitoylcarnitine | 肉鹼的長鏈酰基脂肪酸酯衍生物 |
| 17 | 372.3105 | 9 | M+H | 371.3036 | C ₂₁ H ₄₁ NO ₄ | 0.2 | Tetradecanoylcarnitine | carnitine |
| 18 | 426.3573 | 9 | M+H | 425.3505 | C ₂₅ H ₄₇ NO ₄ | 0.3 | Oleoylcarnitine | 長鏈酰基肉鹼· |
| 19 | 368.2794 | 9.04 | M+H | 367.2723 | C ₂₁ H ₃₇ NO ₄ | 0.2 | 3, 5-Tetradecadiencarnitine | 脂肪酸酯有機化合物 |
| 20 | 309.2422 | 9.04 | M+H | 308.2351 | C ₁₉ H ₃₂ O ₃ | 0.2 | 12,15-epoxy-13-methyleicosa-12,14-dienoic acid | 呋喃脂肪酸 |
| 21 | 291.2316 | 9.04 | M+H | 290.2246 | C ₁₉ H ₃₀ O ₂ | 0.2 | 5b-Dihydrotestosterone | an intermediate in Androgen |
| 22 | 295.2266 | 9.04 | M+H | 294.2195 | C ₁₈ H ₃₀ O ₃ | 0.4 | HOTE or EpoODE | an oxygenated lipid |
| 23 | 335.2554 | 10.88 | M+H | 334.2508 | C ₂₁ H ₃₄ O ₃ | 0.1 | Tetrahydrodeoxycorticosterone | 一種 GABA 的受體調節劑 |
| 24 | 330.3000 | 10.89 | M+H | 329.2930 | C ₁₉ H ₃₉ NO ₃ | 0.02 | Palmitoyl Serinol | C-16 神經酰胺的類似物 |
| | | | M+H | 329.2930 | C ₁₉ H ₃₉ NO ₃ | | Dihydroceramide | 鞘脂代謝的中間產物 |
| 25 | 295.2629 | 10.89 | M+H | 294.2559 | C ₁₉ H ₃₄ O ₂ | 0.03 | Methyl linolelaidate | |

表 5 Tentative assignment of plasma metabolites in **rest state** with **higher abundance in BGP group** compared to Control group ($p < 0.05$)

| No. | m/z | RT (min) | Tentative adduct | Theoretical MW | Chemical Formula | Regulation Fold | Tentative identification | Proposed compound description |
|-----|----------|-------------|---------------------|-------------------|---|--------------------|------------------------------|--|
| 1 | 263.1461 | 0.69 | 2M+H | 131.0695 | C ₄ H ₉ N ₃ O ₂ | 2.7 | Creatine | an amino acid |
| 2 | 365.1052 | 0.70 | M+Na | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | 43.8 | Galactinol | 半乳糖代謝的中間產物 |
| | | | M+Na | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | | 3-b-Galactopyranosyl glucose | organic compounds known as fatty acyl glycosides |
| | | | M+Na | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | | Turanose | organic compounds known as fatty acyl glycosides |
| | | | M+Na | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | | Epimelibiose | involved in galactose metabolism |
| 3 | 217.1545 | 0.72 | M+H | 216.1474 | C ₁₀ H ₂₀ N ₂ O ₃ | 2.0 | Valyl-Valine | 蛋白質消化或分解的不完全分解產物 |
| 4 | 286.1404 | 0.72 | M+H | 285.1325 | C ₁₂ H ₁₉ N ₃ O ₅ | 6.1 | Glycylprolylhydroxyproline | 肽有機化合物(在尿和血清被發現) |
| 5 | 366.1086 | 0.72 | M+K | 327.1471 | C ₁₉ H ₂₁ NO ₄ | 89.4 | 6-Acetylmorphine | 嗎啡喃有機化合物 |
| 6 | 381.0791 | 0.74 | M+K | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | 64.4 | Turanose | organic compounds known as fatty acyl glycosides |
| | | | M+K | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | | Epimelibiose | involved in galactose metabolism |
| | | | M+K | 342.1162 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | | Galactinol | 半乳糖代謝的中間產物 |
| 7 | 215.1373 | 0.89 | M+H | 214.1317 | C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₃ | 2.4 | Valyl-Proline | 蛋白質消化或分解的不完全分解產物 |
| | | | M+H | 214.1317 | C ₁₀ H ₁₈ N ₂ O ₃ | | Prolyl-Valine | 蛋白質消化或分解的不完全分解產物 |

表 6 Tentative assignment of plasma metabolites in **rest state** with **lower abundance in BGP group** compared to Control group ($p < 0.05$)

| No. | m/z | RT (min) | Tentative adduct | Theoretical MW | Chemical Formula | Regulation Fold | Tentative identification | Proposed compound description |
|-----|----------|-------------|---------------------|-------------------|---|--------------------|--------------------------|--|
| 1 | 400.3419 | 8.99 | M+H | 399.3349 | C ₂₃ H ₄₅ NO ₄ | 0.4 | L-Palmitoylcarnitine | a long-chain acyl fatty acid derivative ester of carnitine |
| 2 | 373.2741 | 7.52 | M+H | 372.2664 | C ₂₄ H ₃₆ O ₃ | 0.5 | Cervonoyl ethanolamide | 脂肪酸酯有機化合物，是鞘脂信號傳導途徑的抑制劑 |

References

- Ali L, Khan AK, Mamun MI, Mosihuzzaman M, Nahar N, Nur-e-Alam M & Rokeya B. Studies on hypoglycemic effects of fruit pulp, seed, and whole plant of *Momordica charantia* on normal and diabetic model rats. *Planta medica*. 1993. 59: 408-12.
- Anila L & Vijayalakshmi NR. Beneficial effects of flavonoids from *Sesamum indicum*, *Embllica officinalis* and *Momordica charantia*. *Phytother Res*. 2000. 14: 592-5.
- Chan LL, Chen Q, Go AG, Lam EK, Li ET. Reduced adiposity in bitter melon (*Momordica charantia*)-fed rats is associated with increased lipid oxidative enzyme activities and uncoupling protein expression. *J Nutr*. 2005. 135(11):2517-23.
- Chen Q, Li ET. Reduced adiposity in bitter melon (*Momordica charantia*) fed rats is associated with lower tissue triglyceride and higher plasma catecholamines. *Br J Nutr*. 2005. 93(5):747-54.
- Chuang CY, Hsu C, Chao CY, Wein YS, Kuo YH, Huang CJ. Fractionation and identification of 9c, 11t, 13t-conjugated linolenic acid as an activator of PPARalpha in bitter melon (*Momordica charantia* L.). *J Biomed Sci*. 2006. 13(6):763-72.
- Fu WJ, Haynes TE, Kohli R, Hu J, Shi W, Spencer TE, Carroll RJ, Meininger CJ, Wu G: Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr*. 2005. 135:714-721.
- Huang TN, Lu KN, Pai YP, Hsu C, Huang CJ. Role of GLP-1 in the Hypoglycemic Effects of Wild Bitter Gourd. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013. 2013:625892
- Ichikawa M, Ohta M, Kanai S, Yoshida Y, Takano S, Ueoka T, Takahashi T, Kimoto K, Funakoshi A, Miyasaka K. Bitter melon malt vinegar increases daily energy turnover in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2003. 49(6):428-33.
- Jayasooriya AP, Sakono M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K & Fukuda N. Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *Journal of ethnopharmacology*. 2000. 72: 331-6.
- Khanna P, Jain, S.C., Panangariya, A., Dixit, V.P. Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source. *J Nat Prod*. 1981. 44(6):648-55.
- Knab AM, Nieman DC, Gillitt ND, Shanely RA, Cialdella-Kam L, Henson DA, Sha W. Effects of a flavonoid-rich juice on inflammation, oxidative stress, and immunity in elite swimmers: a metabolomics-based approach. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013. 23(2):150-60.
- Kreider RB, Ferreira MP, Greenwood M, Wilson M, Almada AL. Effects of conjugated linoleic acid supplementation during resistance training on body composition, bone density, strength, and selected hematological markers. *J Strength Cond Res*. 2002 Aug;16(3):325-34.
- Lehmann R, Zhao X, Weigert C, Simon P, Fehrenbach E, Fritsche J, Machann J, Schick F, Wang J, Hoene M, Schleicher ED, Häring HU, Xu G, Niess AM. Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support lipid oxidation. *PLoS One*. 2010; 5(7):e11519.
- Liu J, Shen W, Zhao B, Wang Y, Wertz K, Weber P, Zhang P. Targeting mitochondrial biogenesis for preventing and treating insulin resistance in diabetes and obesity: Hope from natural mitochondrial nutrients. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009. 61(14):1343-52.
- Lu KN, Hsu C, Chang ML, Huang Cj. Wild bitter melon increased metabolic rate and up-regulated genes related to mitochondria biogenesis and UCP-1 in mice. *Journal of Functional Foods*. 2013. 5(2): 668–678.

- Matsuda H, Li Y, Murakami T, Matsumura N, Yamahara J & Yoshikawa M. Antidiabetic principles of natural medicines. III. Structure-related inhibitory activity and action mode of oleanolic acid glycosides on hypoglycemic activity. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 1998. 46: 1399-403.
- Miccheli A, Marini F, Capuani G, Miccheli AT, Delfini M, Di Cocco ME, Puccetti C, Paci M, Rizzo M, Spataro A. The influence of a sports drink on the postexercise metabolism of elite athletes as investigated by NMR-based metabolomics. *J Am Coll Nutr*. **2009**. 28(5):553-64.
- Nerurkar PV, Pearson L, Efird JT, Adeli K, Theriault AG & Nerurkar VR. Microsomal triglyceride transfer protein gene expression and ApoB secretion are inhibited by bitter melon in HepG2 cells. *The Journal of nutrition*. 2005. 135:702-6.
- Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*. **1999**; 29:1181-9.
- Nicholson JK, Lindon JC. Systems biology: Metabonomics. *Nature*. **2008**; 455(7216):1054-6.
- Nieman DC, Gillitt ND, Henson DA, Sha W, Shanely RA, Knab AM, Cialdella-Kam L, Jin F. Bananas as an energy source during exercise: a metabolomics approach. *PLoS One*. 2012. 7(5):e37479.
- Nieman DC, Gillitt ND, Knab AM, Shanely RA, Pappan KL, Jin F, Lila MA. Influence of a polyphenol-enriched protein powder on exercise-induced inflammation and oxidative stress in athletes: a randomized trial using a metabolomics approach. *PLoS One*. **2013**; 8(8):e72215.
- Ostojic SM, Calleja J, Jourkesh M. Effects of short-term dehydroepiandrosterone supplementation on body composition in young athletes. *Chin J Physiol*. 2010. 53(1):19-25.
- Pechlivanis A, Kostidis S, Saraslanidis P, Petridou A, Tsalis G, Mougios V, Gika HG, Mikros E, Theodoridis GA. 1H NMR-based metabonomic investigation of the effect of two different exercise sessions on the metabolic fingerprint of human urine. *J Proteome Res*. 2010;9(12):6405-16.
- Rahnama N, Gaeini AA, Hamedinia MR. Oxidative stress responses in physical education students during 8 weeks aerobic training. *J Sports Med Phys Fitness*. 2007. 47(1):119-23.
- Shibib BA, Khan LA & Rahman R. Hypoglycaemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *The Biochemical journal*. 1993. 292 (Pt 1): 267-70.
- Tan MJ, Ye JM, Turner N, Hohnen-Behrens C, Ke CQ, Tang CP, Chen T, Weiss HC, Gesing ER, Rowland A, James DE & Ye Y. Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. *Chem. Biol*. 2008. 15: 263-73.
- Tapsell LC, Batterham MJ, Charlton KE, Neale EP, Probst YC, O'Shea JE, Thorne RL, Zhang Q, Louie JC. Foods, nutrients or whole diets: effects of targeting fish and LCn3PUFA consumption in a 12mo weight loss trial. *BMC Public Health*. 2013. 13(1):1231.
- Too BW, Cicai S, Hockett KR, Applegate E, Davis BA, Casazza GA. Natural versus commercial carbohydrate supplementation and endurance running performance. *J Int Soc Sports Nutr*. 2012. 15;9(1):27.
- Wu H, Kanatous SB, Thurmond FA, Gallardo T, Isotani E, Bassel-Duby R, Williams RS: Regulation of mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by CaMK. *Science*. 2002. 296:349-352.

- Yan B, A J, Wang G, Lu H, Huang X, Liu Y, Zha W, Hao H, Zhang Y, Liu L, Gu S, Huang Q, Zheng Y, Sun J. Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength-endurance training. *J Appl Physiol.* **2009.** 106(2):531-8.
- Zillmann T, Knechtle B, Rüst CA, Knechtle P, Rosemann T, Lepers R. Comparison of training and anthropometric characteristics between recreational male half-marathoners and marathoners. *Chin J Physiol.* 2013. 56(3):138-46.

科技部補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2016/01/29

| | |
|-----------|---------------------------------------|
| 科技部補助計畫 | 計畫名稱: 以代謝體學探討山苦瓜的投予對運動選手引起之代謝改變 |
| | 計畫主持人: 徐璿 |
| | 計畫編號: 103-2313-B-028-001- 學門領域: 食品及農化 |
| 無研發成果推廣資料 | |

103年度專題研究計畫研究成果彙整表

| 計畫主持人：徐? | | 計畫編號：103-2313-B-028-001- | | | | 計畫名稱：以代謝體學探討山苦瓜的投予對運動選手引起之代謝改變 | |
|--|-------------|--------------------------|-----------------|------------|------|---|--|
| 成果項目 | | 量化 | | | 單位 | 備註（質化說明： 如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等） | |
| | | 實際已達成數（被接受或已發表） | 預期總達成數（含實際已達成數） | 本計畫實際貢獻百分比 | | | |
| 國內 | 論文著作 | 期刊論文 | 0 | 0 | 100% | 篇 | |
| | | 研究報告/技術報告 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 研討會論文 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 專書 | 0 | 0 | 100% | 章/本 | |
| | 專利 | 申請中件數 | 0 | 0 | 100% | 件 | |
| | | 已獲得件數 | 0 | 0 | 100% | | |
| | 技術移轉 | 件數 | 0 | 0 | 100% | 件 | |
| | | 權利金 | 0 | 0 | 100% | 千元 | |
| | 參與計畫人力（本國籍） | 碩士生 | 1 | 1 | 100% | 人次 | |
| | | 博士生 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 博士後研究員 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 專任助理 | 1 | 1 | 100% | | |
| 國外 | 論文著作 | 期刊論文 | 0 | 1 | 100% | 篇 | |
| | | 研究報告/技術報告 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 研討會論文 | 0 | 1 | 100% | | |
| | | 專書 | 0 | 0 | 100% | 章/本 | |
| | 專利 | 申請中件數 | 0 | 0 | 100% | 件 | |
| | | 已獲得件數 | 0 | 0 | 100% | | |
| | 技術移轉 | 件數 | 0 | 0 | 100% | 件 | |
| | | 權利金 | 0 | 0 | 100% | 千元 | |
| | 參與計畫人力（外國籍） | 碩士生 | 0 | 0 | 100% | 人次 | |
| | | 博士生 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 博士後研究員 | 0 | 0 | 100% | | |
| | | 專任助理 | 0 | 0 | 100% | | |
| 其他成果 （無法以量化表達之 成果如辦理學術活動 、獲得獎項、重要國 際合作、研究成果國 際影響力及其他協助 產業技術發展之具體 效益事項等，請以文 字敘述填列。） | | 無 | | | | | |

| | 成果項目 | 量化 | 名稱或內容性質簡述 |
|-----------|-----------------|----|-----------|
| 科教處計畫加填項目 | 測驗工具(含質性與量性) | 0 | |
| | 課程/模組 | 0 | |
| | 電腦及網路系統或工具 | 0 | |
| | 教材 | 0 | |
| | 舉辦之活動/競賽 | 0 | |
| | 研討會/工作坊 | 0 | |
| | 電子報、網站 | 0 | |
| | 計畫成果推廣之參與(閱聽)人數 | 0 | |

科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以100字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以100字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以500字為限）

本研究以隨機雙盲之實驗設計，使中長跑選手補充山苦瓜粉末膠囊兩週，並以代謝體學之LCMS 分析做為研究工具，以評估山苦瓜補充造成運動選手之代謝變化。經本代謝體學研究，初步發現山苦瓜補充可能具有促進各能量營養素分解以提升供能之效率，並具有抗氧化之效果。本研究提供了山苦瓜可能促進運動選手能量利用之初步證據，及其具有做為運動增能劑之潛力。具有發表於SCI 期刊之學術價值。