

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

整合型計畫：狼尾草生物活性之探討  
子計畫三：狼尾草之細胞自由基之影響

計畫類別：個別型計畫

整合型計畫

計畫編號：CNFS9502

執行期間：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

整合型總主持：杜平惠

計畫主持人：張瓈文



執行單位：嘉南藥理科技大學

中華民國 96 年 2 月 26 日

## 一、摘要

本研究探討狼尾草水萃取物(WEN)對人類肝癌細胞 HepG2 細胞內自由基之影響。結果顯示，狼尾草水萃取物(WEN)對 xanthine/xanthine oxidase 或 Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-luminol 誘發 superoxide、hydroxyl radical 化學冷光激發強度具減緩之趨勢，顯示其對 superoxide、hydroxyl radical 具有捕捉能力。再者狼尾草水萃取物(WEN)對 t-BHP 誘發 HepG2 所產生之細胞壓力具有明顯之降低作用。

關鍵詞：狼尾草、細胞氧化壓力

## 二、前言

當生物體內經由外來物質或內生性的代謝過程產生的自由基，各式的活性氧(reactive oxygen species, ROS)如 singlet oxygen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)，superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)，hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)，及 hydroxyl radical (•OH) 皆是細胞進行有氧代謝的副產品(Halliwell, 1994)，這些副產物會氧化體內蛋白質和脂質等大分子，進而引起細胞死亡或組織受傷。氧化傷害對人類疾病有相當程度的影響，如：癌症、肺氣腫、腎絲球腎炎、肝硬化、心血管疾病，甚至腦退化疾病等，都曾被報導和氧化傷害有關(Parola and Robino, 2001; Kovacic and Jacintho, 2001; Gibson and Zhang, 2002; Wardle, 2000)。細胞內有各種防禦酵素及非酵素系統，用以抵抗可能的氧化傷害(Halliwell, 1994)。然而即使如此，仍有許多活性氧未能清除，因此造成細胞內累積受氧化傷害的生物分子。因而攝取富含抗氧化能力的食物或服用具抗氧化物質的補充劑，成為現代人膳食的新參考依據。

近年有學者提出天然植物中的成分，例如多酚類、類黃酮，可以防止動物體受到自由基和活性氧的氧化傷害。這些活性成分除了直接與活性氧反應，也可能藉由降低細胞產生活性氧之代謝，以減少細胞內氧化壓力。雖然本研

究室已經證實狼尾草具有抗氧化性，但是關於狼尾草對於細胞內自由基產生之影響仍然未知。因此，本研究擬探討以 HepG2 為細胞模式，探討狼尾草對於細胞內自由基產生之影響。

## 三、結果與討論

狼尾草水萃取液(WEN)對人類肝癌細胞 HepG2 細胞毒性作用

圖一為不同濃度狼尾草水萃取液(WEN)對人類肝癌細胞 HepG2 細胞毒性之作用，將不同濃度(0-500 μg/ml)狼尾草水萃取液加入培養基液中培養肝細胞 24 小時。結果顯示，HepG2 細胞生長均高於 99%以上，因而狼尾草水萃取液對人類肝癌細胞 HepG2 細胞不具有毒性。

狼尾草水萃取液(WEN)對 superoxide radical 的捕捉能力

圖二為狼尾草水萃取液(WEN)對 Xanthine/xanthine oxidase 系統產生 superoxide radical 之作用，以化學冷光激發強度偵測自由基產生，在試管內加入 xanthine/xanthine oxidase 以誘發 superoxide radical，並加入不同量的狼尾草水萃取液，當添加量為 100 μg/ml 時，其 chemiluminescence intensity 下降至 76%，此結果顯示，狼尾草水萃取液具有 superoxide radical 之捕捉能力，可降低化學冷光激發。

狼尾草水萃取液(WEN)對 hydroxyl radical 的捕捉能力

圖三為狼尾草水萃取液(WEN)對以 Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-luminol 產生 hydroxyl radical 化學冷光激發強度之影響，當狼尾草水萃取液添加量為 200 μg/ml 時，對於 Fenton-mediated Hydroxyl radical 產生之化學冷光激發強度降低至 69.79%，結果顯示，狼尾草水萃取液具有 Hydroxyl radical 之捕捉能力。

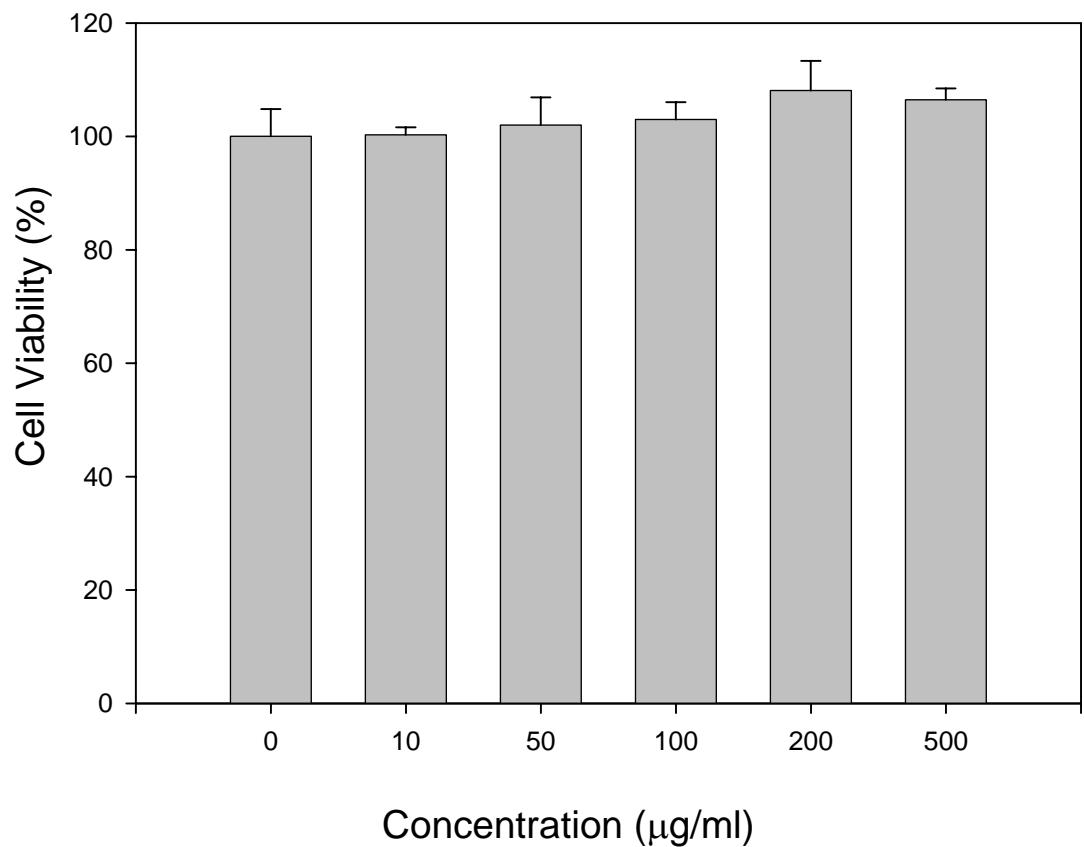
## 狼尾草水萃取液(WEN)對細胞內含氧自由基產生之影響

圖四為狼尾草水萃取液對細胞內含氧自由基生成作用之影響。細胞內含氧自由基產生以 DCF-DA 融光染劑偵測，螢光強度越高，表示細胞內含氧自由基產生量越高。試驗中以 t-BHP 為細胞內氧化劑。由結果可知，細胞單獨處理 t-BHP，細胞內含氧自由基產生量明顯增加。若同時給予 500 µg/ml 狼尾草水萃取液(WEN)，可以降低細胞內含氧自由基產生量。

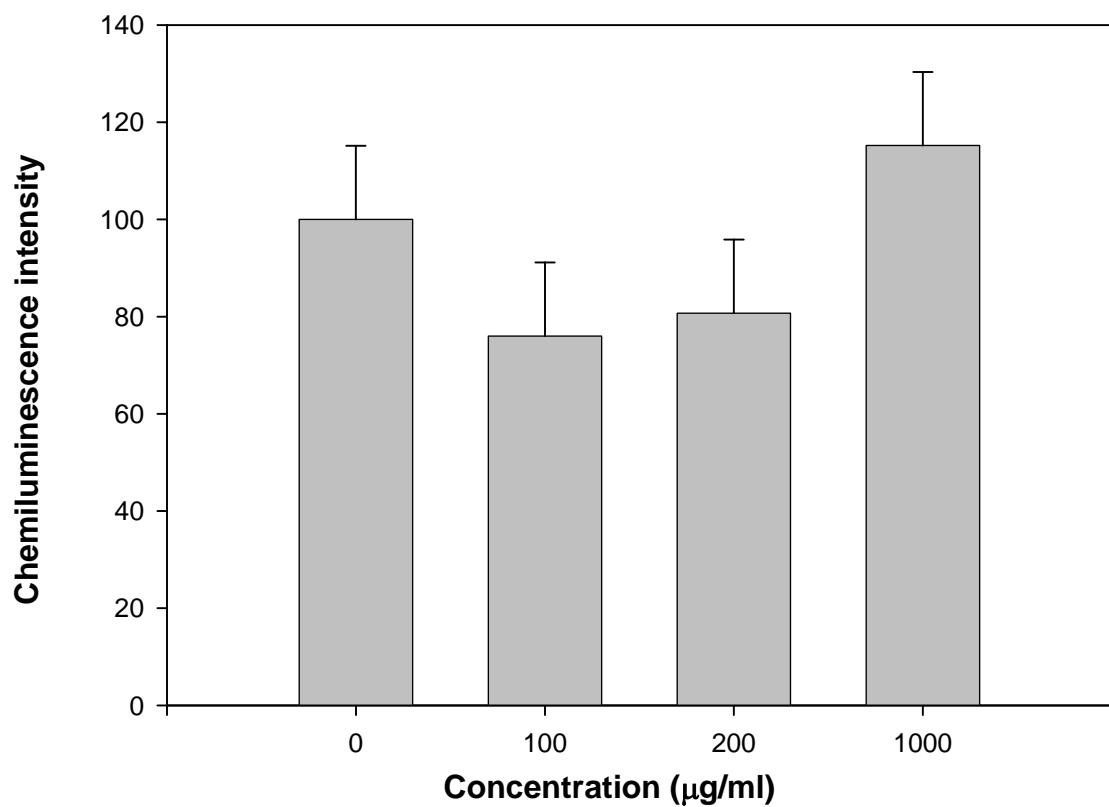
綜合上述結果，可知狼尾草水萃取物(WEN)對人類肝癌細胞 HepG2 不具細胞毒性，惟對 superoxide 、 hydroxyl radical 具有捕捉能力且對細胞內含氧自由基之生成，有顯著降低之能力。

## 四、參考文獻

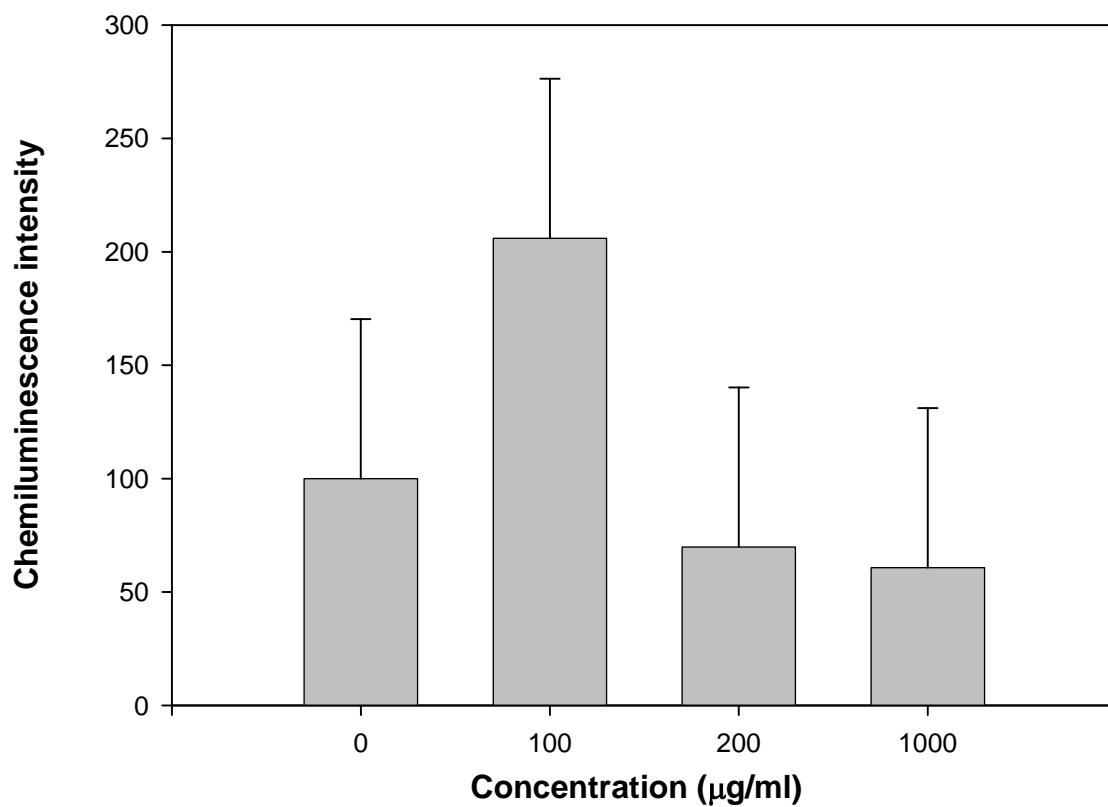
- Alia, M. Mateos, R. Ramos, S. 2006.  
Influence of quercetin and rutin on growth and antioxidant defence system of a human hepatoma cell line (HepG2). Eur Journal Nutrion 45:19-28
- Gibson, G. E. and Zhang, H. 2002.  
Interactions of oxidative stress with thiamine homeostasis promote neurodegeneration. Neurochem Int. 40:493-504.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. 1989.  
“Free Radical in Biology and Medicine”, ed. By B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge. Clarendon Press, Oxford.
- Kovacic, P, Jacintho, J. D. 2001. Mechanisms of carcinogenesis: Focus on oxidativestress and electron transfer. Curr Med Chem. 8:773-796.
- Parola, M, and Robino, G. 2001. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. J.Hepatol; 35:297-306.
- Shen, S. C., Chen, Y. C., Hsu, F. L. and Lee, W. R. 2003 Differential apoptosis- inducing effect of quercetin and its glycosides in human promyeloleukemic HL-60 cells by alternative activation of the caspase 3 cascade. J. Cell Biochem. 89:1044-1055.
- Wardle, E. N. 2000. Oxidative processes in glomerulonephritis: Additional facts. Nephron. 85:103-106.
- Wu M-J, Huang C-J, Lian T, Kou M-C, Wang L 2005. Antioxidant Activity of Glossogyne tenuifolia. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 (16): 6305-6312



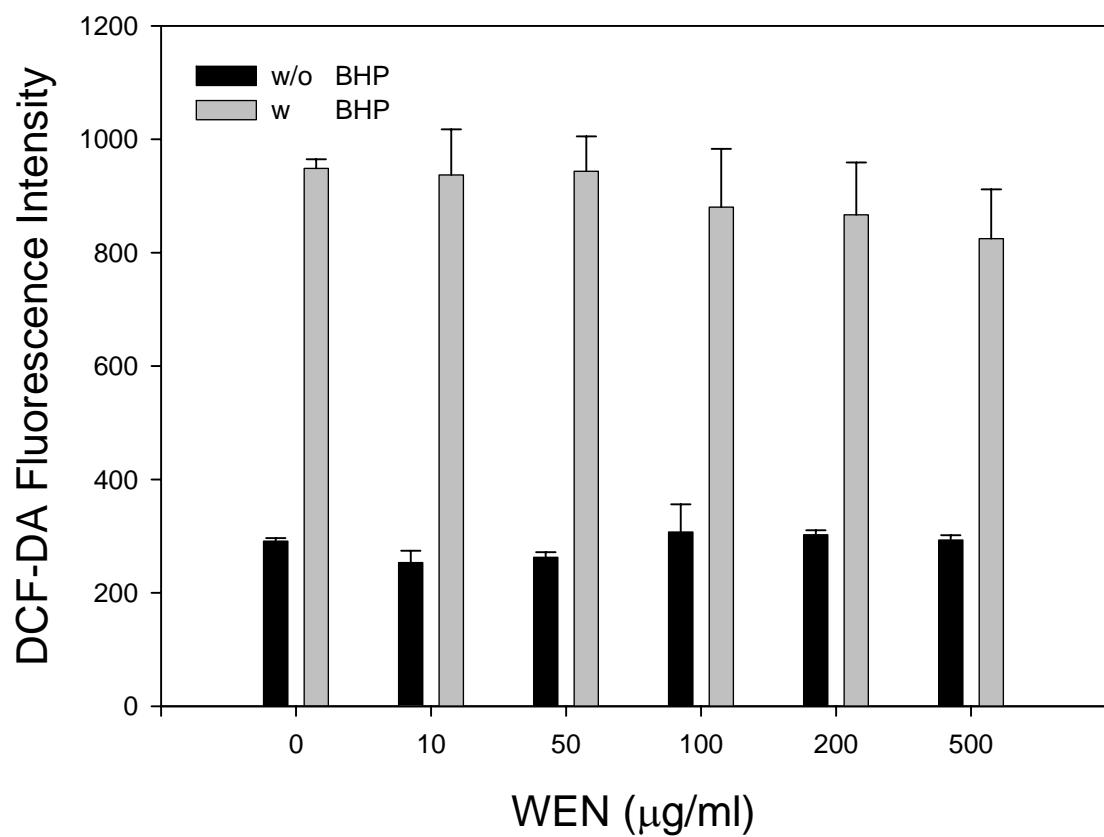
圖一、不同濃度狼尾草水萃取液(WEN)對人類肝癌細胞 HepG2 細胞毒性之作用影響



圖二、狼尾草水萃取液(WEN)對 Xanthine/xanthine oxidase 誘發 Superoxide radical 化學冷光激發強度之影響



圖三、狼尾草水萃取液(WEN)對以  $\text{Fe}(\text{II})-\text{H}_2\text{O}_2$ -luminol 誘發 hydroxyl radical 化學冷光激發強度之影響



圖四、狼尾草水萃取液對細胞內含氧自由基 (ROS) 生成作用之影響