

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：狼尾草之對蛋白氧化反應之探討

計畫類別：☐個別型計畫

☒整合型計畫

計畫編號：CNAL9504

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：王柏森



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)對大鼠肝細胞 Clone9 細胞之蛋白氧化之影響。結果顯示，狼尾草水萃取物(WEN)對大鼠肝細胞 Clone9 細胞之蛋白氧化具有良好的抗氧化力，惟其保護蛋白抗氧化未隨著添加濃度的增加而增加。此結果顯示狼尾草水萃取物(WEN)含有天然抗氧化活性成分具有 primary antioxidants 的角色，可以保護蛋白質免於氧化修飾。

關鍵詞：狼尾草、蛋白氧化

二、前言

在正常生理代謝過程中，會伴隨具有氧化傷害能力之自由基的產生。其中，含氧及含氮自由基（如 O_2^- , NO , $ONOO^-$ ）在體內具有生理調節與組織傷害的角色 (Jessup et al, 1992)。許多研究證實體內若有過多含氧及含氮自由基之產生，會傷害及破壞修飾體內蛋白，造成蛋白氧化作用，並進而引發組織病變及加速疾病惡化 (Radi, 1991; Leeuwenburgh, 1997)。在動脈硬化症發展的早期，位於動脈血管壁上的蛋白質會出現氧化的現象 (Berliner et al, 1995)。另外根據先前研究指出，血漿裡的膽固醇的主要運送者，低密度脂蛋白，在受到外來氧化壓力及氧化修飾後，是脂肪沈滯性動脈硬化症發展的主要危險因子 (Ross, 1999)。由此可推知，為避免心血管疾病及動脈硬化症的產生，如何有效的減少血漿中低密度脂蛋白及血管壁蛋白質受到氧化傷害，便成為相當重要的研究目標。目前已經知道經常食用保健飲食與降低慢性疾

病的發生有密切因果關係。飲食中的蔬果類食物，可以有效的減少心血管疾病與癌症發生的風險 (Hertog et al, 1993)。狼尾草 [napier grasses (NG); *Pennisetum purpureum*] 民間俗稱為牧草。是國內生機飲食之常用食材之一，但是國內有關狼尾草抑制蛋白質氧化的研究報告相當少見，因此，本研究擬探討狼尾草對細胞蛋白氧化作用之影響。

三、結果與討論

本實驗以免疫蛋白反應方式，進行大鼠肝細胞 Clone9 蛋白氧化之分析測試，藉以評估狼尾草水萃取物(WEN)是否具有保護蛋白氧化的抗氧化作用。將細胞以狼尾草水萃取物(WEN)與氧化劑共同培養四小時，再將細胞培養盤中之培養液吸乾，再以細胞專用刮勺將細胞刮下並收集到微量離心管，將細胞溶解，接著利用 10% SDS-polyacrylamide gel 進行電泳，將蛋白質依分子量大小不同分離。之後再利用半乾式轉移器將分離後之蛋白轉移至硝化纖維膜上。由於蛋白氧化後，會產生 carbonyl group，本試驗中再將纖維膜與 2,4-dinitrophenyl hydrazone (DNP- hydrazone) 溶液進行反應，使 DNP 與氧化蛋白結合。反應結束後，洗去多餘的 DNP，再以抗體偵測纖維膜上結合的 DNP 濃度，即可判斷不同分子量蛋白氧化的程度。

由圖一結果顯示，狼尾草水萃取物 (WEN) 在不同濃度，對氫氧自由基所造成

之大鼠肝細胞蛋白質氧化具有保護之效果高，在狼尾草水萃取物 10ppm 時，具有高達 45% 之保護率，但是其保護效果並未隨狼尾草水萃取物濃度上升而增加，反而在狼尾草水萃取物 500ppm 時，其保護效力下降。綜合上述，可知狼尾草水萃取物具有抗氧化性，對蛋白質氧化具有保護效力，但是在高濃度下，可能會增加反應中氧化劑效果，造成其保護作用下降。

四、文獻參考

Berliner, J.A. *et al.* 1995.

Atherosclerosis: basic mechanisms.
Oxidation, inflammation, and genetics.
Circulation. 91:2488-2496.

Hertog MGL, Feskens EJM, Hollman PCH,
Katan MB, Kornhout D. 1993 Dietary
antioxidant flavonoids and risk of coronary
heart disease: the Zutphen Elderly Study.
Lancet.;342:1007-1011

Jessup, W., Mohr, D., Gieseg,
S.P., Dean, R.T., and Stocker, R. 1992.

The participation of nitric oxide in cell
free- and its restriction of
macrophage-mediated oxidation of
low-density lipoprotein. Biochem.
Biophys. Acta. 1180:73-82

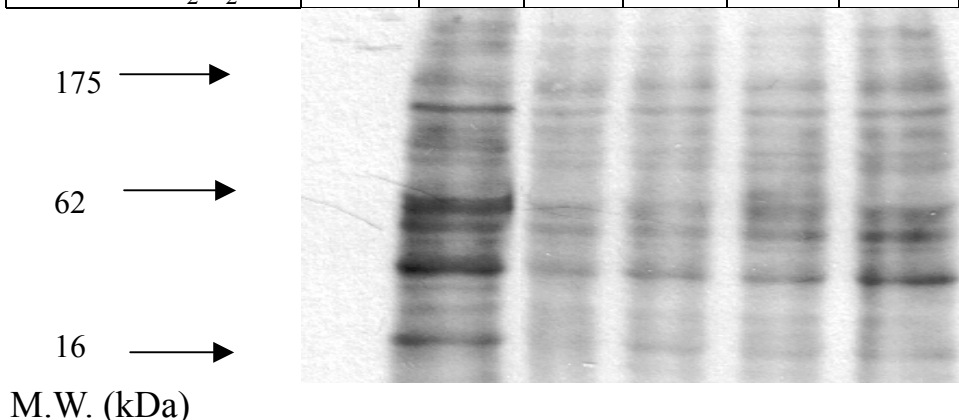
Leeuwenburgh, C. *et al.* 1997. Reactive
nitrogen intermediates promote low
density lipoprotein oxidation in human
atherosclerotic intima. J. Biol. Chem.
272:1433-1436.

Radi, R., Beckman, J.S., Bush, K.M.,
and Freeman, B.A. 1991.

Peroxynitrite-induced membrane lipid
peroxidation: the cytotoxic potential of
superoxide and nitric oxide. Arch.
Biochem. Biophys. 288:481-487

Ross, R.. 1999. Atherosclerosis—an
inflammatory disease. *New Eng. J. Med.*
340:115.

WEN (ppm)	0	0	10	50	100	500
VitC+Fe+H ₂ O ₂	0	+	+	+	+	+



圖一、狼尾草水萃取物(WEN)在不同濃度，對氫氧自由基所造成之大鼠肝細胞蛋白質氧化之影響