

# 中華民國第 65 屆中小學科學展覽會

## 作品說明書

---

高級中等學校組 植物學科

探究精神獎

052104

開發大腸癌抑制劑，從魚腥草萃取物開始

學校名稱：嘉義市私立嘉華高級中學

作者：  高一 郭昱彤  高一 陳宥翔  高一 劉議鎂	指導老師：  鍾慧容
---	------------------

關鍵詞：抑制劑、魚腥草

## 摘要

魚腥草為一種多年生的根莖草本植物，在傳統醫藥具有良好的藥用價值。本研究開發新型魚腥草萃取物，抑制人類大腸癌細胞。首先將魚腥草葉磨成粉末，並以甲醇萃取(HCE)，再以高效液相層析方式，分離魚腥草分段萃取樣品(HCF)，來進行總酚試驗抗氧化力；進行癌細胞毒殺試驗、誘導癌細胞凋亡、粒線體膜電位試驗及運用載體 TNFRSF6B-GFP 綠色螢光蛋白轉殖癌細胞大量表現。試驗結果顯示魚腥草粗萃物(HCE)及其中第三段萃取物(HCF03)，總酚含量與 ABTS 抗氧化力，HCF03 皆優於 HCE；另癌細胞半數毒殺濃度  $IC_{50}$  與細胞凋亡試驗凋亡以及粒線體膜電位受損率，HCF03 抑制大腸癌細胞效果皆優於 HCE；HCF03 抑制 TNFRSF6B-GFP 綠色螢光蛋白表現濃度  $IC_{50}$  為 0.4 mg/ml。綜合上述試驗結果，證實 HCF03 能作為 TNFRSF6B 抑制劑，具有抑制大腸癌細胞之潛能。

## 壹、前言

### 一、研究動機

大腸癌近年來都是國人前幾大死因之一，根據我國衛生福利部 111 年癌症登記資料統計，大腸癌位居我國罹癌人數前兩名已超過十年，且罹患大腸癌的人數及因大腸癌死亡的人數逐年增加，並且在臺灣每約半小時就有 1 人被診斷為大腸癌（衛生福利部國民健康署，2025）。有此可知大腸癌的致命性及嚴重性。因此我們針對抑制大腸癌細胞方面研究，尋找是否有合適的抑制劑藥物可以解決此問題。透過相關資料的查詢後，我們發現魚腥草在醫藥方面的廣泛用途，並且我們也開始好奇魚腥草葉有無抑制癌細胞相關的功能，於是將魚腥草葉作為實驗樣品，檢測它的抗氧化功能，並檢測它是否能抑制癌細胞，特別開發腫瘤壞死因子受體(TNFRSF6B)抑制劑進行研究，以達到治療大腸癌的效果。

### 二、研究目的

- (一)運用總酚及 ABTS 試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)以及分段萃取物(HCF)的抗氧化能力。
- (二)透過 MTT 人類大腸癌細胞毒殺試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)抑制癌細胞能力。
- (三)透過細胞凋亡試驗及粒線體膜電位試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)之誘導細胞凋亡率、粒線體受損率。

(四)運用 TNFRSF6B-GFP 綠色螢光蛋白轉殖癌細胞，探討第三段萃取物(HCF03)之抑制濃度 IC<sub>50</sub>。

### 三、文獻回顧

#### (一)魚腥草簡介：

魚腥草（*Houttuynia cordata*）在亞洲地區廣泛分布，是一種多年生的根莖草本植物，並在傳統中醫藥中佔有重要地位。其藥理作用包括抗菌、抗發炎、抗氧化及抗病毒等多重功效，因此成為現代保健與醫療領域的研究重點。

化學成分分析顯示，魚腥草全株含有多種生物活性成分，主要分為以下幾類：

1. 揮發油類化合物：魚腥草的特殊氣味主要來自於其揮發油成分，包括癸醯乙醛（又稱魚腥草素）和月桂醛。癸醯乙醛因其不穩定性，易降解為無臭的甲基正壬酮，因此現代製劑中多使用人工合成的魚腥草素鈉以確保藥效穩定。
2. 黃酮類化合物：魚腥草含有豐富的黃酮類化合物，如 Afzelin、Hyperin、Rutin、Quercitrin 及 Isoquercitrin。這些成分是魚腥草抗氧化作用的主要活性成分，已通過 DPPH 自由基清除實驗得到證實。
3. 酚酸類、生物鹼及多醣體等：魚腥草還含有多種酚酸類化合物和生物鹼，包括 Cordarine、Chlorogenic acid、 $\beta$ -sitosterol、Stearic acid、Oleic acid 及 Linoleic acid (Ahn et al., 2017)。

近期研究在魚腥草地上部分中發現了三種新型生物鹼：Houttuynoside A、7-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-3,4-dihydroisoquinoline 及其 8-O- $\beta$ -d-glucopyranoside。這些新化合物的發現為深入了解魚腥草的藥理作用機制提供了新的研究方向。

#### (二)抗大腸直腸癌能力：

研究顯示魚腥草也具有抗大腸直腸癌之功效，可以誘導大腸癌細胞凋亡、抑制細胞週期，特別讓細胞週期停留於 G0/G1 使細胞減少進入 S 期，也促進線粒體膜電位下降，細胞色素 c 釋放，增加 caspase-9 和 caspase-3 表現促使大腸癌細胞走向細胞凋亡。魚腥草可以有效促使人類原發性結腸直腸癌初代培養細胞凋亡，在處理魚腥草後會造成 ROS 上升、粒線體膜電位改變，細胞色素 c、Apaf-1 表現增加後，BAX/BCL-2 上升，促使 caspase-3、-9 活化，具有對抗大腸直腸癌之潛能。目前尚無其他研究文獻發表魚腥草葉甲醇萃取物，進行抗大腸癌之功能性開發 (Lai, et al., 2010)。

### (三)腸道保護作用：

魚腥草多醣體 (HCP)在近期研究中被證實對病毒感染具有顯著的療效，根據 H1N1 感染小鼠的實驗結果，給予治療後不僅顯著提高了小鼠的存活率，並通過增強腸道屏障功能及降低炎症反應，減少腸道損傷風險 (Zhu et al., 2018)。

### (四)腫瘤壞死因子受體或稱誘餌受體 3 (TNFRSF6B,DcR3)表達在癌症惡化的關係：

腫瘤壞死因子受體 (TNFRSF6B,DcR3)，是一種可溶的誘餌受體。腫瘤壞死因子受體在各種癌細胞和幾種發炎組織中過度表現，被認為是預測發炎性疾病發展和癌症轉移的潛在生物標誌物，而腫瘤細胞拮抗腫瘤壞死因子受體來阻止細胞凋亡並促進腫瘤的生長和侵襲。因此，開發腫瘤壞死因子受體抑制劑可能有助於阻止癌症擴散，並抑制腫瘤細胞生長 (Hsieh & Lin 2017)。

### (五)抗大腸癌藥物 Oxaliplatin 及 5-Fluorouracil 簡介：


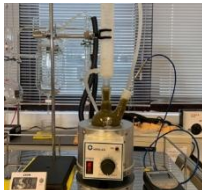

Oxaliplatin (奧沙利鉑) 屬於細胞生長抑制劑，可抑制 DNA 的複製、轉錄，抑制癌細胞分裂與增生，以達到抗腫瘤效果，但會發生骨髓抑制、胃腸炎、周邊神經病變等副作用(中國醫藥大學附設醫院，2025)。






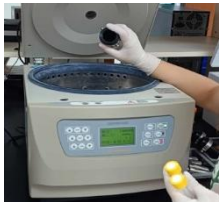



5-Fluorouracil (5-FU，5-氟尿嘧啶) 屬於一種氟有機化合物，5-FU 在體內轉化為活性代謝物後，可阻斷酵素胸苷酸合成酶，抑制 RNA 合成中尿嘧啶的引用，進而抑制癌細胞生長與分裂，但常見副作用包括腹瀉、噁心、掉髮及皮膚炎等(中國醫藥大學附設醫院，2025)。

## 貳、 研究設備及器材

### 一、實驗設備

熱迴流儀器、冷凝機、加熱包、溫度計、迴流冷凝管、熱迴流用圓底燒瓶、抽氣幫浦、燒杯、秤藥匙、紗布、漏斗、三角錐瓶、抽氣漏斗、濾紙、10 ml 針筒、針筒過濾器等、減壓濃縮機、水浴鍋、離心機、研磨機、96 孔盤、定量滴管、分光光度計、顯微鏡、流式細胞儀

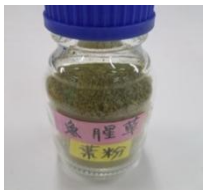
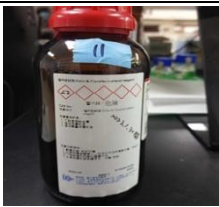
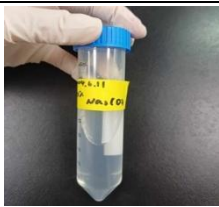



		
研磨機	熱迴流裝置	減壓濃縮機

		
96 孔盤	分光光度計	高效液相層析儀
		
顯微鏡	定量滴管	離心機
		
流式細胞儀	針筒、過濾器	微量離心管

▲圖 1.研究設備(設備器材由作者自行拍攝)

## 二、實驗藥品

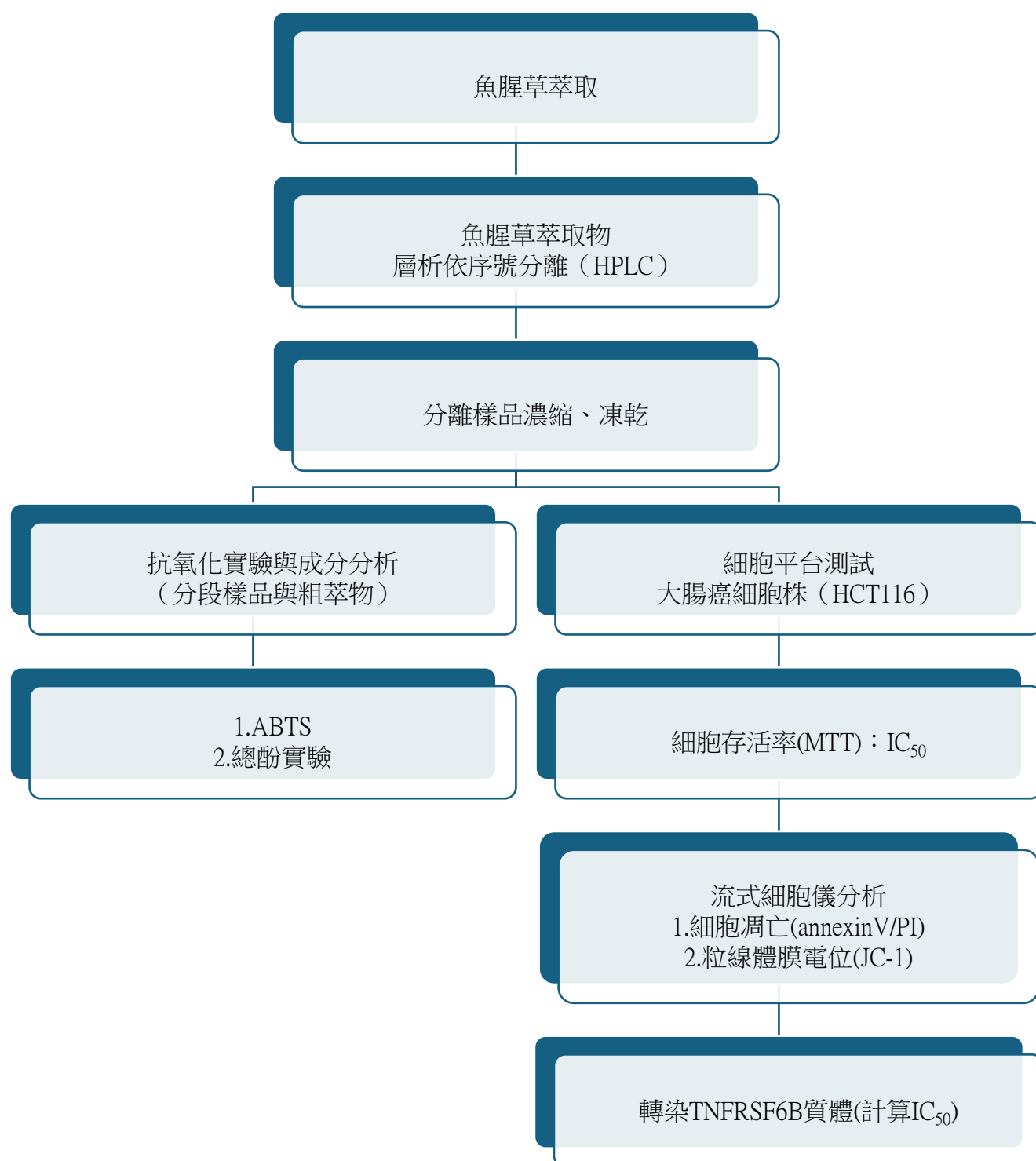
魚腥草粉末、甲醇、ABTS、K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> 過硫酸鉀、水、福林酚試劑、碳酸鈉、沒食子酸、胎牛血清、培養基

		
魚腥草粉末	福林酚試劑	碳酸鈉
		
ABTS	沒食子酸	胎牛血清

▲圖 2.實驗藥品(作者自行拍攝)

## 參、研究過程及方法

### 一、研究流程規劃



▲圖 3.研究流程圖(作者繪製)

## 二、研究方法

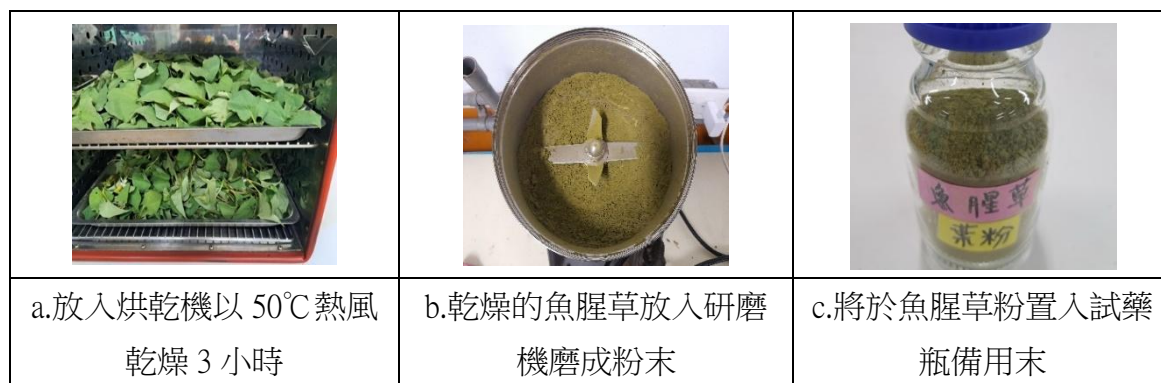
### (一) 魚腥草萃取液製備

#### 1. 魚腥草葉粉末製備步驟(圖 4)

(1) 將魚腥草葉放入烘乾機中，以 50℃ 熱風乾燥 3 小時。

(2) 取出乾燥的魚腥草葉，使用研磨機研磨成粉末。

(3) 將粉末置入試藥瓶備用。



▲圖 4.粉末製備情形(作者拍攝)

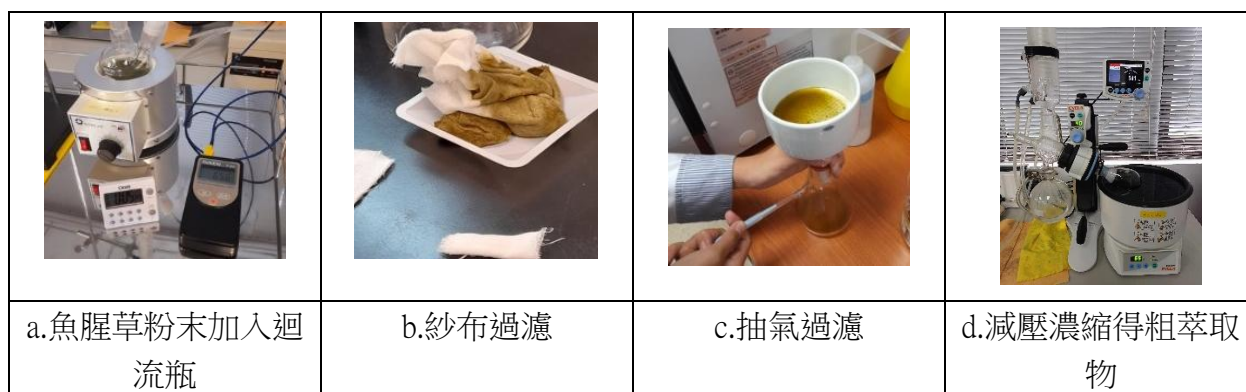
#### 2. 魚腥草熱迴流萃取步驟(圖 5)

(1) 取 1g 魚腥草葉粉末，加入 100 ml 的二次水，置於三角瓶中混合均勻，將兩者倒入熱迴流瓶。

(2) 待加熱至沸騰後，加熱迴流萃取 1 小時。

(3) 以紗布進行初步過濾，再以 90 mm(6 號)濾紙抽氣過濾，最後以 0.22  $\mu\text{m}$  針筒過濾器過濾。

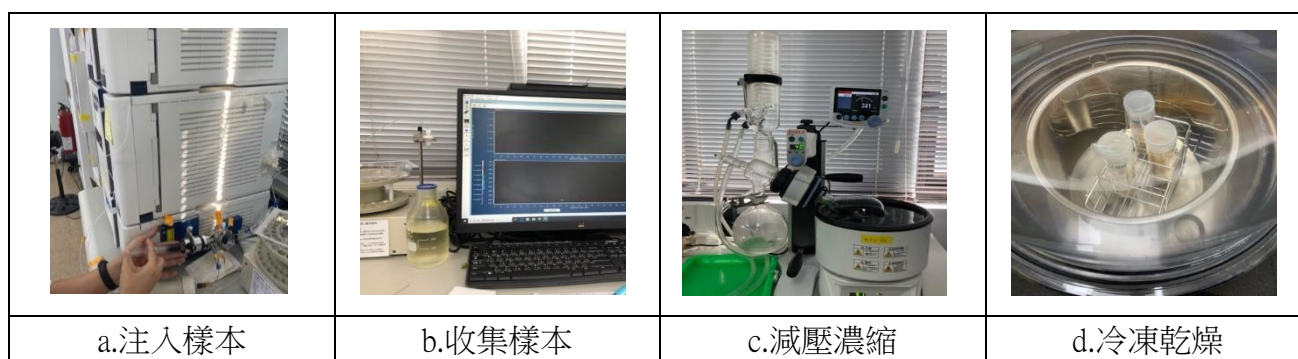
(4) 將過濾後萃取液減壓濃縮後得魚腥草粗萃取物。



▲圖 5.熱迴流萃取情形(作者拍攝)

## (二) 魚腥草分段萃取流程(圖 6)

1. 將魚腥草粗萃取物注入 HPLC 儀器中，不同移動相條件將樣品沖洗帶入 75-ml silica 管柱，隨時間將樣品沖提出來。
2. 依照沖提時間及樣品不同會電腦分析出的不同訊號，觀察訊號分別分成 4 區塊收集樣品。
3. 分別將不同區塊減壓濃縮至 20 ml 左右，放進-80°C (至少一天)，進行冷凍乾燥。



▲ 圖 6.分段萃取情形(作者拍攝)

## (三) 魚腥草萃取液總酚試驗

### 1. 試劑準備

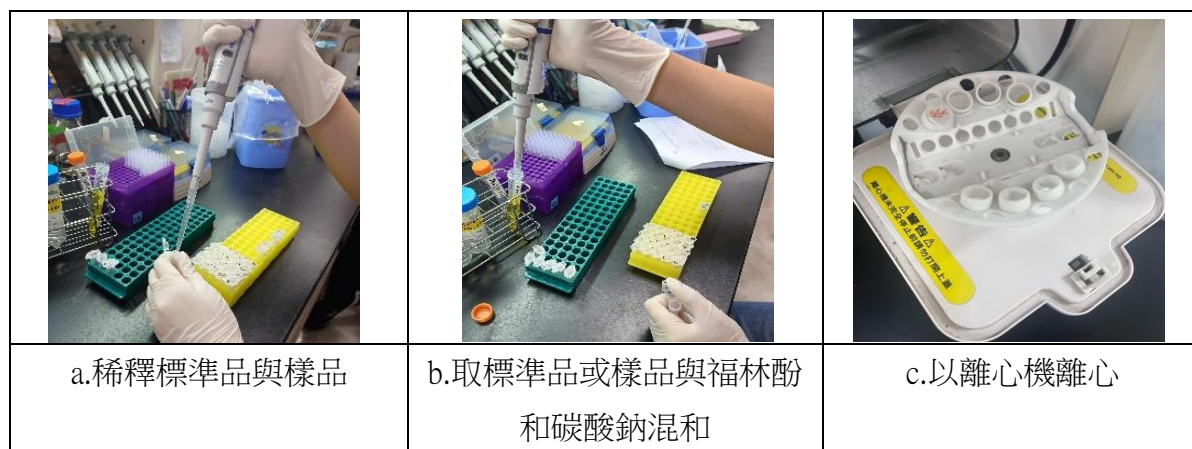
- (1) 使用二次水配置 10%碳酸鈉。
- (2) 取 100  $\mu\text{g/ml}$  標準品(沒食子酸)，以二次水稀釋成 50、25、12.5、6.25、0  $\mu\text{g/ml}$ 。
- (3) 取甲醇萃取物、以甲醇稀釋成 2.5、1、0.5、0.25  $\mu\text{g/ml}$ 。
- (4) 取各段萃取物、以甲醇或 50%甲醇稀釋成 0.5、0.2、0.1、0.05  $\mu\text{g/ml}$ 。

### 2. 試驗步驟(圖 7)

- (1) 在 1.5 ml 離心管中，將 250  $\mu\text{l}$  的福林酚試劑加入至 250  $\mu\text{l}$  的標準品(GA)或樣品中。
- (2) 混合均勻，置於室溫下反應 3 分鐘。
- (3) 緩慢加入 500  $\mu\text{l}$  的 10% 碳酸鈉，並混合均勻。
- (4) 打開離心管蓋子，室溫下避光反應 60 分鐘。

(5) 放入微量離心機離心 30 秒後，從離心管中各取 200  $\mu$ l 至 96 孔盤，每支離心管重複 3 次

(6) 將 96 孔盤放入分光光度計中，測 735 nm 之吸光值。



▲圖 7.總酚試驗操作情形(作者拍攝)

#### (四) 魚腥草萃取液 ABTS 試驗

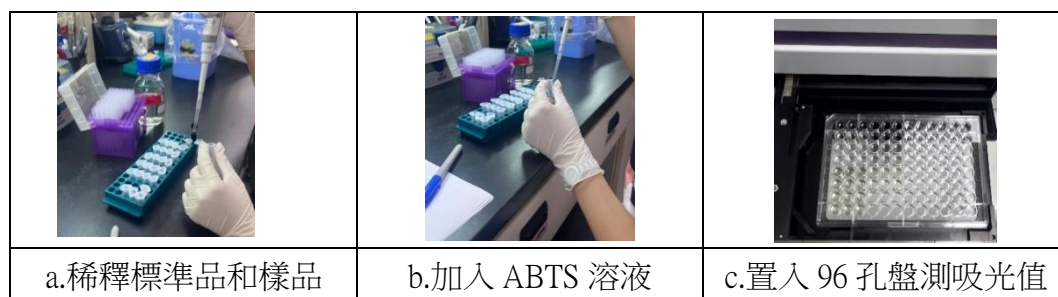
##### 1. 試劑準備

- (1) 實驗前一天配置 ABTS 溶液：5 ml 7 mM ABTS+5 ml 2.45 mM  $K_2S_8O_2$  並混和均勻。
- (2) 取 100 mg/ml 標準品(水溶性維生素 E)，以乙醇稀釋成 80、60、40、20、10、0  $\mu$ g/ml。
- (3) 取甲醇粗萃取物，以甲醇稀釋成 2.5、1、0.5、0.25  $\mu$ g/ml。
- (4) 取各段萃取物，以 50%甲醇或 99%甲醇稀釋成 0.5、0.2、0.1、0.05  $\mu$ g/ml。

##### 2. 試驗步驟 (圖 8)

- (1) 用二次水稀釋前一天配置的 ABTS 溶液，校正吸光值 734 nm 為  $0.7 \pm 0.02$  作用的 ABTS 溶液。
- (2) 在 1.5ml 離心管中，將 900  $\mu$ l ABTS 溶液加入 100  $\mu$ l 的標準品或樣品。
- (3) 上下翻轉 1.5 ml 離心管，混合均勻。
- (4) 室溫下避光 6 分鐘。
- (5) 放入微量離心機中離心 30 秒，每次從各離心管中取 200  $\mu$ l 至 96 孔盤，每支離心管重複三次。

(6) 將 96 孔盤放入分光光度計中，測 734 nm 之吸光值。

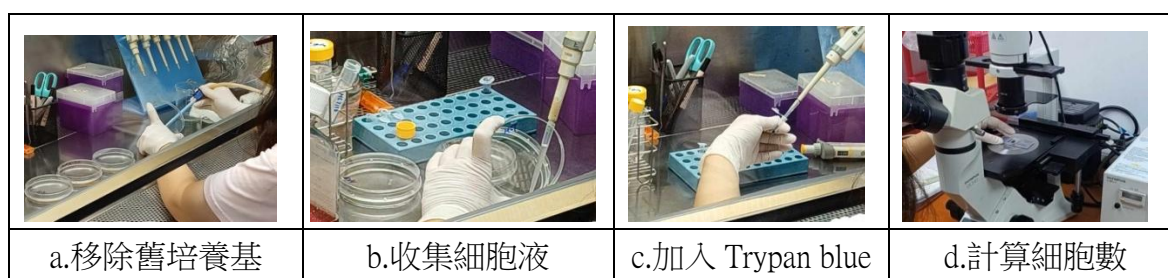


▲圖 8.ABTS 試驗操作情形(作者拍攝)

## (五) HCT-116 (人類結腸癌細胞)實驗

### 1. 細胞培養步驟 (圖 9)

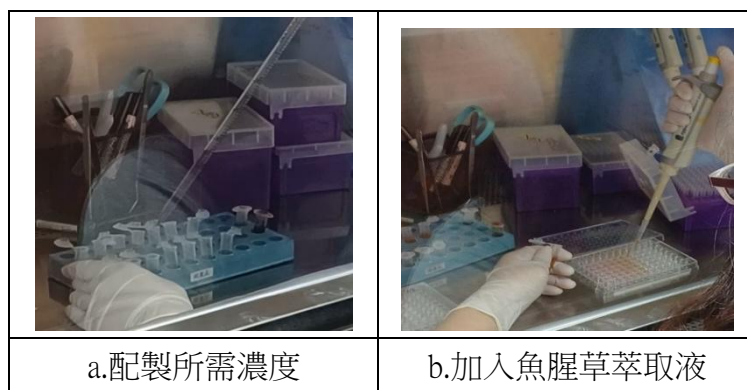
- (1) 準備 PBS (磷酸鹽緩衝生理食鹽水)、Trypsin (胰蛋白酶)、RPMI(羅斯威爾帕克紀念研究所培養基)、Trypan blue (台盼藍)。
- (2) 將細胞取出去除舊的 RPMI，用 PBS 移除雜質。
- (3) 加入 1 ml Trypsin，放入培養箱 (37°C) 中作用 5 分鐘後加入 1 ml RPMI 中和 Trypsin。
- (4) 收集細胞液，加入 15 ml 試管並離心 (轉速 1300 rpm、5 分鐘)，收集細胞的沉澱物。
- (5) 去除上清液 (培養基、Trypsin)，加入 1 ml 培養基回溶，混合均勻後製成細胞液。
- (6) 將 20  $\mu$ l 細胞液加入 180  $\mu$ l PBS 稀釋，取其中 20  $\mu$ l 再加入 20  $\mu$ l Trypan blue 染色。
- (7) 取 10  $\mu$ l 染色混合液加入細胞計數盤中，計算細胞數。
- (8) 將細胞液加入 96 孔盤 (每孔加入  $1 \times 10^4$  顆細胞)
- (9) 置於細胞培養箱，培養 24 小時。



▲圖 9.細胞培養操作情形(作者拍攝)

## 2. 樣品製備(圖 10)

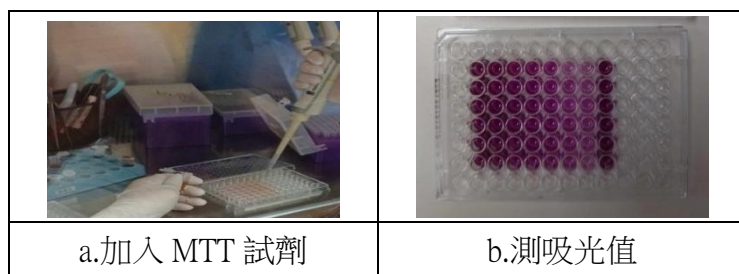
- (1) 實驗組為魚腥草粗萃取物和魚腥草第三段萃取物，依濃度分為 Control (0 mg/ml)、0.1 mg/ml、0.3 mg/ml、0.5 mg/ml、0.7 mg/ml、1 mg/ml、1.2 mg/ml、1.5 mg/ml。
- (2) 計算不同魚腥草萃取物濃度。
- (3) 移除舊的培養基，加入新培養基（每孔 100  $\mu$ l）。
- (4) 依不同濃度的待測物加入各自所需的萃取液。
- (5) 將 96 孔盤放入培養箱培養 24 小時。



▲ 圖 10.樣品製備操作情形(作者拍攝)

## 3. HCT-116 細胞存活率實驗(圖 11)

- (1) 關閉燈源。
- (2) 去除 96 孔盤中的混合液。
- (3) 加入每孔 100  $\mu$ l 濃度 0.5 mg/ml 的 MTT 試劑。
- (4) 置於細胞培養箱(37°C)，反應 4 小時。
- (5) 去除上清液，每孔加入 100  $\mu$ l DMSO 回溶，搖晃至紫色結晶溶解。
- (6) 測量 560 nm 之吸光值。
- (7) 計算方式:存活率(%)=(樣品組吸光值/控制組吸光值) $\times$ 100%



▲ 圖 11. MTT 試驗操作情形(作者拍攝)

#### 4. 流式細胞儀

##### (1) 細胞凋亡分析

- A. 培養細胞 24 小時。
- B. 將培養基收集至 15 ml 離心管，以 PBS 沖洗一次，加入 1 ml Trypsin，放入 37°C 培養箱 5 分鐘。
- C. 加入 1 ml 培養基中和，將細胞收集至上述 15 ml 離心管中。
- D. 以 1300 rpm 離心 5 分鐘，去除上清液，加入 PBS，離心 5 分鐘後去除上清液。
- E. 加入染劑，避光反應作用 15 分鐘。
- F. 儀器分析。

##### (2) 粒線體膜電位

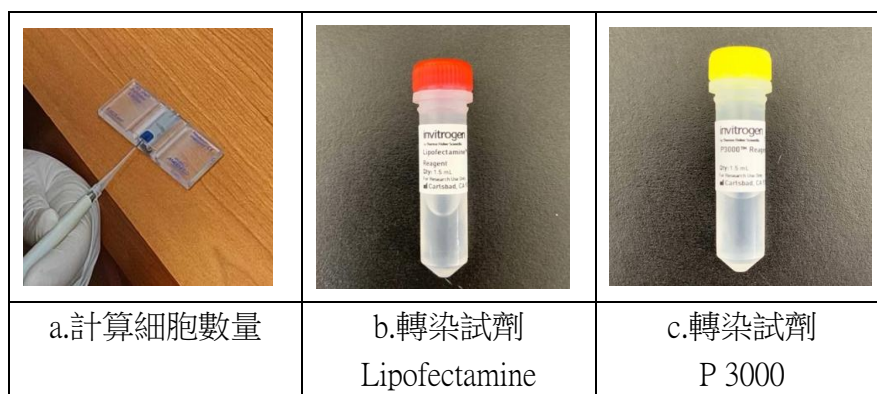
- A. 培養細胞 24 小時。
- B. 移除舊的培養基，並加入染劑混和新培養基，放入培養箱反應 1 小時。
- C. 將培養基收集至 15 ml 離心管，加入 1 ml Trypsin 放入 37°C 培養箱 5 分鐘。
- D. 加入 1 ml 培養基中和，將細胞收集至上述 15 ml 離心管中。
- E. 以 1300 rpm 離心 5 分鐘，去除上清液，加入 1 ml PBS。
- F. 儀器分析。

#### 5. TNFRSF6B 質體轉染步驟

- (1) 配置 RPMI、PBS、Trypsin、Trypan blue。
- (2) 去除舊的 RPMI，用 4 ml PBS 清洗。
- (3) 加入 1 ml Trypsin 作用 5 分鐘。
- (4) 加入 1 ml RPMI 中和反應倒入 15 ml 試管離心(轉速為 1300 rpm、時長為 5 分鐘)。
- (5) 去除上清液 (Trypsin 和培養基)，再加入 1 ml 培養基回溶，混合均勻製成細胞液。
- (6) 將 20  $\mu$ l 細胞液加入 180 ml PBS 稀釋，取其中 20  $\mu$ l 再加入 20  $\mu$ l Trypan blue 中。
- (7) 取 10  $\mu$ l 混合液加入細胞計數盤中，計算細胞數。
- (8) 將細胞加進 6 孔盤中，置於細胞培養箱 24 小時。

#### 6. 轉染細胞(圖 12)

- (1) 將質體 TNFRSF6B 加入轉染試劑 Lipofectamine 3000 試劑中，反覆吸取混合均勻。
- (2) 依比例加入轉染試劑 Lipofectamine 3000，反覆吸取混合均勻。
- (3) 在每個孔盤中加入 250  $\mu$ l 的轉染混合液。
- (4) 放置培養箱至隔日，進行拍攝。



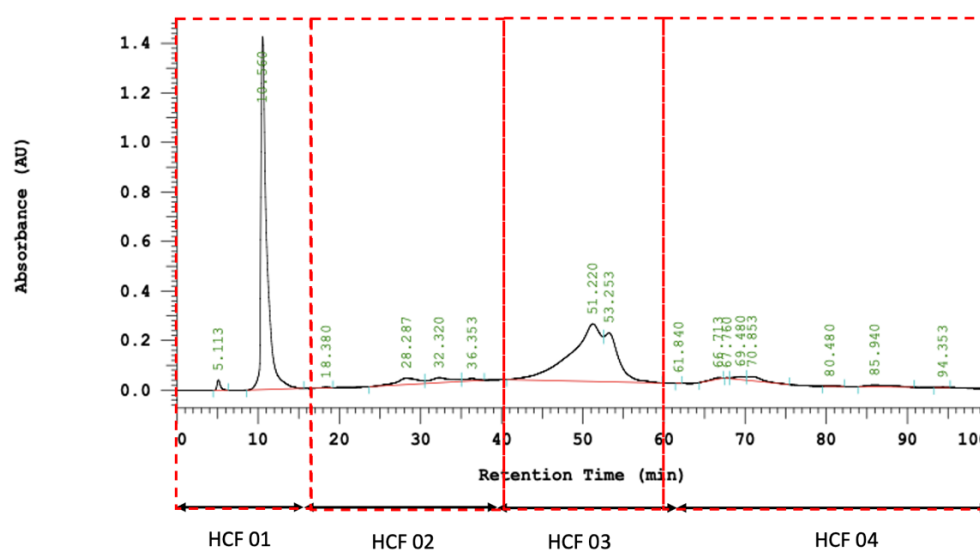
▲ 圖 12.質體轉染試驗操作情形(作者拍攝)

## 7. 統計方法

所有數據均以平均值 SD 表示，並使用以下方法在組間進行比較：t 檢定 (Student' s t-test) 或單向變異數分析(one-way analysis)。在所有情況下，p 值小於 0.05(\*  $p < 0.05$ )認為具有統計顯著性

## 肆、研究結果

### 一、魚腥草甲醇萃取物 HPLC 分析圖譜結果



▲圖 13.魚腥草甲醇萃取物高效液相層析分析圖(作者繪製)

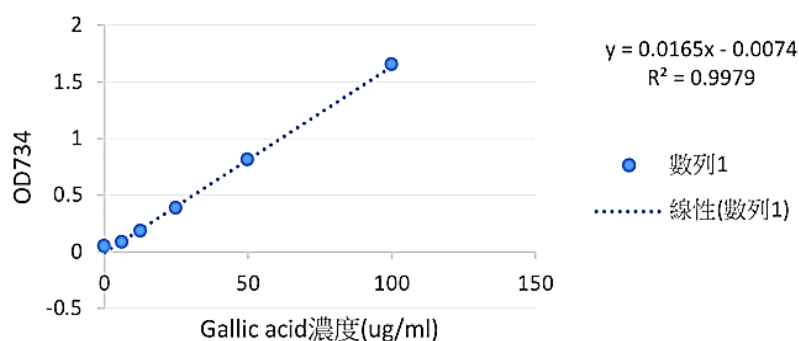
### 二、總酚試驗結果

#### (一) 數據結果

GA 濃度 (μg/ml)	100	50	25	12.5	6.25	0
OD735 平均	1.65	0.80	0.381	0.178	0.08	0.045

▲表 1.標準品 GA 總酚試驗數據(作者製表)

#### 總酚標準檢量線測定(甲醇粗萃取物)



▲圖 14.標準品 GA 總酚試驗之檢量線(作者繪製)

稀釋倍數	Blank	2.5	1	0.5	0.2
OD735 平均	0.0367	1.252	0.544	0.296	0.132
樣品所含 GA 濃度		74.1	31.2	16.2	6.2
μg of GA/mg extract		29.6	31.2	32.3	31.1
平均 μg of GA/mg extract ± 標準差	31.1 ± 1.1				

▲表 2.魚腥草甲醇粗萃總酚試驗數據(作者製表)

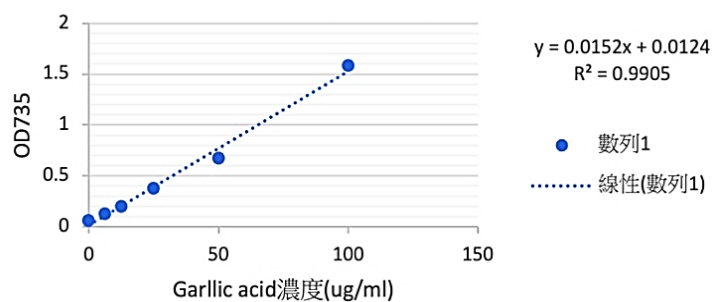
稀釋倍數	Blank	0.5	0.2	0.1	0.05
OD735 平均	0.037	1.054	0.539	0.284	0.155
樣品所含 GA 濃度		62.1	30.9	15.4	7.6
μg of GA/mg extract		124.2	154.4	154.2	152
平均 μg of GA/mg extract ± 標準差	146.2 ± 14.7				

▲表 3.魚腥草第一段萃取物總酚試驗數據(作者製表)

GA 濃度 (μg/ml)	100	50	25	12.5	6.25	0
OD735 平均	1.581	0.67	0.378	0.197	0.126	0.059

▲表 4.標準品 GA 總酚試驗數據(作者製表)

總酚標準檢量線測定(第二、三、四段)



▲圖 15.標準品 GA 總酚試驗之檢量線(作者製表)

稀釋倍數	Blank	0.5	0.2	0.1	0.05
OD735 平均	0.037	1.395	0.576	0.252	0.149
樣品所含 GA 濃度		88.5	34.6	13.3	6.6
μg of GA/mg extract		177.1	173.2	133.3	131.1
平均 μg of GA/mg extract ± 標準差	153.7 ± 24.9				

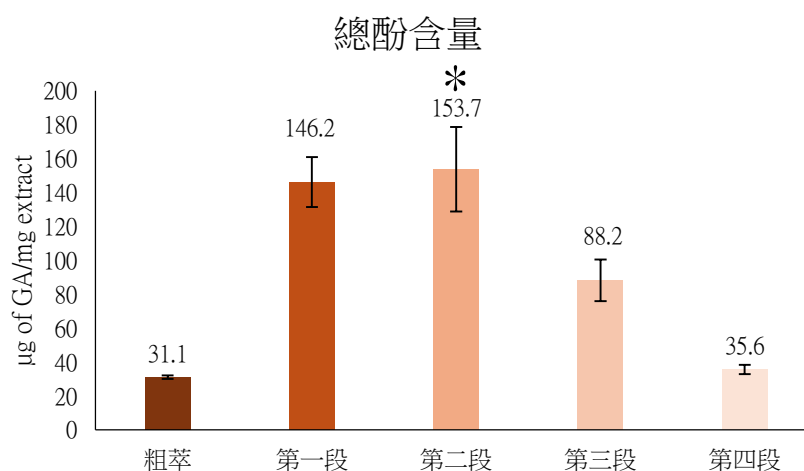
▲表 5.魚腥草第二段萃取物總酚試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank	0.5	0.2	0.1	0.05
OD735 平均	0.0367	0.75	0.306	0.205	0.105
樣品所含 GA 濃度		46.1	16.9	10.3	3.7
µg of GA/mg extract		92.2	84.5	102.6	73.6
平均 µg of GA/mg extract ± 標準差	88.2 ± 12.3				

▲表 6.魚腥草第三段萃取物總酚試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank	0.5	0.2	0.1	0.05
OD735 平均	0.0367	0.293	0.155	0.106	0.078
樣品所含 GA 濃度		16.0	6.9	3.7	1.9
µg of GA/mg extract		32.1	34.8	37.4	38
平均 µg of GA/mg extract ± 標準差	35.6 ± 2.7				

▲表 7.魚腥草第四段萃取物總酚試驗數據(作者製表)



▲圖 16.魚腥草萃取物總酚含量長條圖(作者製表)

## (二) 結果說明:

在總酚實驗中，我們使用 Gallic acid (沒食子酸)作為標準品，將各沒食子酸濃度及其吸光值畫出檢量線，再將樣品所測得吸光值帶入檢量線之迴歸方程式，得出樣品所含的相對總酚含量。結果顯示魚腥草甲醇粗萃物總酚含量為 31.1 µg GA/mg，魚腥草第一段萃取物總酚含量為 146.2 µg GA/mg，魚腥草第二段萃取物總酚含量為 153.7 µg

GA/mg，魚腥草第三段萃取物總酚含量為 88.2  $\mu\text{g}$  GA/mg，魚腥草第四段萃取物總酚含量為 35.6  $\mu\text{g}$  GA/mg。可知第二段總酚含量最高。 $* p < 0.05$ ，與對照組比較，具有統計顯著性。

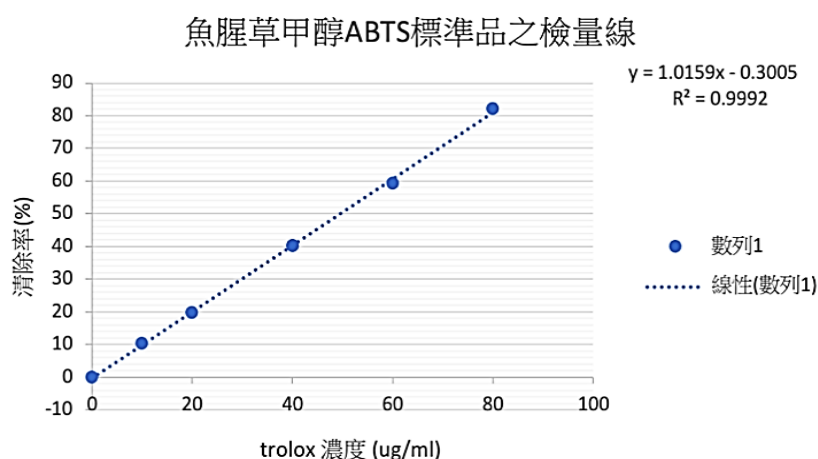
### 三、抗氧化 ABTS 試驗結果

#### (一) 數據結果

##### 1. 魚腥草甲醇萃取液

Trolox 濃度( $\mu\text{g/ml}$ )	80	60	40	20	10	0
OD735 平均	0.113	0.260	0.382	0.511	0.572	0.638
清除率%	82.183	59.195	40.125	19.801	10.24	0

▲ 表 9.標準品 Trolox ABTS 試驗數據(作者製表)



▲ 圖 17.標準品 Trolox ABTS 試驗之減量線(作者製表)

稀釋倍數	Blank 甲醇	2.5	1	0.5	0.2
OD734 平均	0.653	0.111	0.331	0.483	0.569
清除率(%)		82.9	49.2	25.9	12.8
相對 Trolox 濃度		81.9	48.7	25.9	12.9
TEAC ( $\mu\text{g/mg}$ )		32.8	48.7	51.7	64.5
平均 TEAC ( $\mu\text{g/mg}$ ) $\pm$ 標準差	49.4 $\pm$ 13.1				

▲ 表 10.魚腥草粗萃取液 ABTS 試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank 50%甲醇	0.5	0.2	0.1	0.05
OD734 平均	0.649	0.356	0.518	0.577	0.602
清除率(%)		45.1	20.2	11.1	7.2
相對 Trolox 濃度		44.7	20.2	11.2	7.4
TEAC (μg/mg)		89.3	100.8	112.1	147.4
平均 TEAC (μg/mg) ± 標準差	112.4 ± 25.1				

▲表 11.魚腥草第一段萃取液 ABTS 試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank 50%甲醇	0.5	0.2	0.1	0.05
OD734 平均	0.649	0.113	0.325	0.476	0.555
清除率(%)		82.6	49.9	26.6	14.5
相對 Trolox 濃度		81.6	49.5	26.5	14.6
TEAC (μg/mg)		163.2	247.3	264.7	291.9
平均 TEAC (μg/mg) ± 標準差	241.8 ± 55.5				

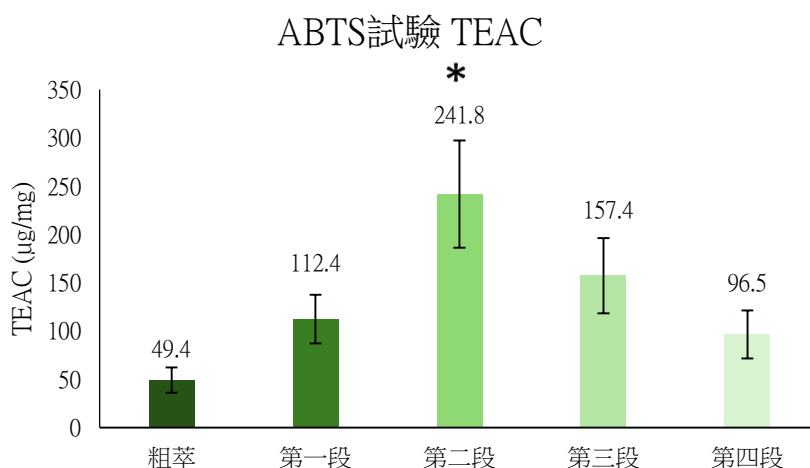
▲表 12.魚腥草第二段萃取液 ABTS 試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank 50%甲醇	0.5	0.2	0.1	0.05
OD734 平均	0.649	0.292	0.466	0.531	0.591
清除率(%)		55.3	28.5	18.6	9.4
相對 Trolox 濃度		54.7	28.4	18.6	9.6
TEAC (μg/mg)		109.4	141.9	186.4	191.8
平均 TEAC (μg/mg) ± 標準差	157.4 ± 39				

▲表 13.魚腥草第二段萃取液 ABTS 試驗數據(作者製表)

稀釋倍數	Blank 50%甲醇	0.5	0.2	0.1	0.05
OD734 平均	0.649	0.41	0.541	0.592	0.611
清除率(%)		37.2	17.2	9.3	6.4
相對 Trolox 濃度		36.9	17.2	9.5	6.6
TEAC ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )		73.8	85.9	94.9	131.5
平均 TEAC ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) $\pm$ 標準差	96.5 $\pm$ 24.9				

▲表 14.魚腥草第二段萃取液 ABTS 試驗數據(作者製表)



▲圖 18.魚腥草萃取物 ABTS 試驗 TEAC 長條圖(作者製圖)

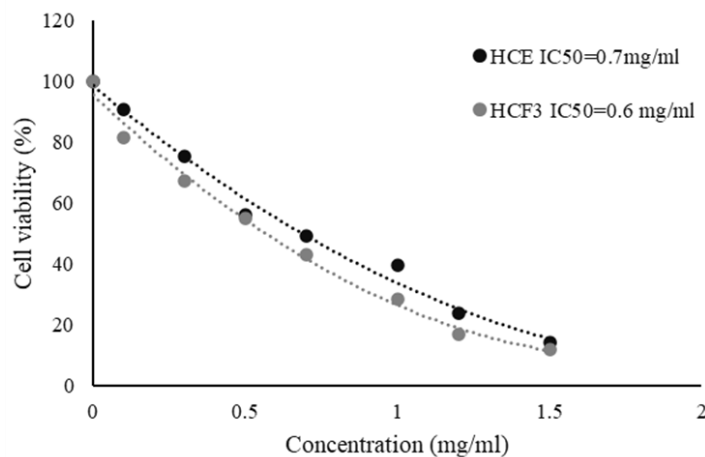
## (二) 結果說明:

先以 Trolox(水溶性維生素 E)作為標準品，將其數據輸入 Excel 製作出檢量線，再將各段魚腥草甲醇溶液的試驗數據代入檢量線，藉此推出其相對抗氧化能力(TEAC)。根據數據結果，粗萃魚腥草甲醇萃取溶液為 49.4  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，第一段魚腥草甲醇萃取溶液為 112.4  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，第二段魚腥草甲醇萃取溶液為 241.8  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，第三段魚腥草甲醇萃取溶液為 157.4  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，第四段魚腥草甲醇萃取物為 96.5  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ，可知第二段魚腥草甲醇萃取物的相對抗氧化能力最好。\*  $p < 0.05$ ，與對照組比較，具有統計顯著性。

#### 四、HCT-116 細胞試驗結果

##### (一) MTT 實驗

##### 1. 魚腥草粗萃與第三段 IC<sub>50</sub> 濃度比較



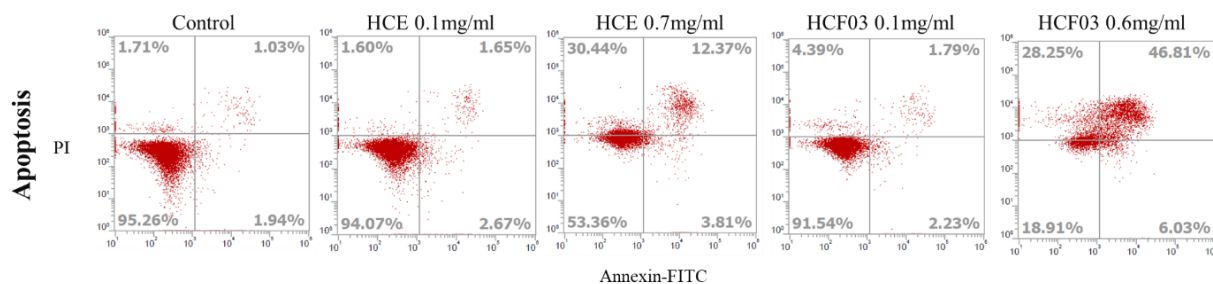
▲圖 19.魚腥草粗萃取物與第三段萃取物的 IC<sub>50</sub> 濃度曲線(作者製圖)

##### 2. 結果說明:

以魚腥草粗萃取物、魚腥草第三段萃取物作為實驗組，各取濃度 0.1、0.3、0.5、0.7、1、1.2、1.5 mg/ml 進行 MTT 實驗，檢驗該濃度對細胞的存活率之影響。由結果圖表可得知，粗萃取物 0.7mg/ml、第三段萃取物 0.6mg/ml 的細胞存活率達到 50%以下，並且以第三段萃取物整體效果較佳，因此最後選擇第三段萃取物 0.6mg/ml 作為實驗組，進行後續實驗。

##### (二) 細胞凋亡實驗

##### 1. 對照組(Control)、粗萃取物(HCE)0.1、0.7 mg/ml、第三段萃取物(HCF03)0.1、0.6 mg/ml 細胞凋亡結果之比較



▲圖 20. 不同濃度魚腥草粗萃取物與第三段萃取物誘導大腸癌細胞的凋亡率(作者製圖)

	Control	HCE 0.1 mg/ml	HCE 0.7 mg/ml	HCF03 0.1 mg/ml	HCF03 0.6 mg/ml
凋亡率 (%)	2.97	4.32	16.18	4.02	52.84

▲表 15. 魚腥草粗萃取物與第三段萃取物的凋亡率(作者製表)

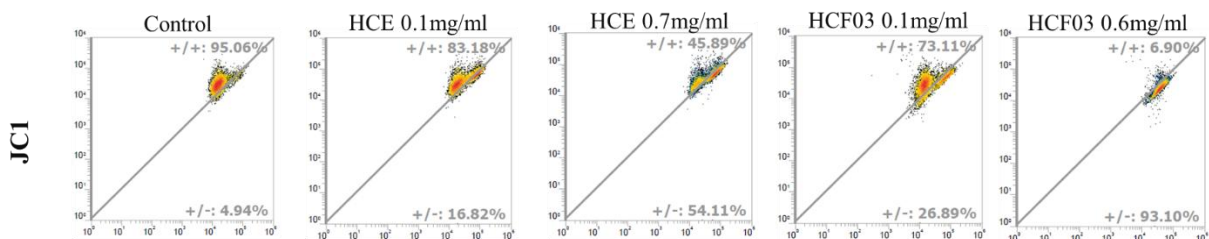
## 2. 結果說明

以魚腥草粗萃取物 0.1、0.7 mg/ml、魚腥草第三段萃取物 0.1、0.6 mg/ml 作為實驗組進行細胞凋亡實驗，對照之細胞凋亡率為 2.97%、HCE 0.1 mg/ml 為 4.32%、HCE 0.7 mg/ml 為 16.18%、HCF03 0.1 mg/ml 為 4.02%、HCF03 0.6 mg/ml 為 52.84%。由以上結果可得知，魚腥草第三段萃取物 0.6mg/ml 細胞凋亡之效果最佳。

### (三) 粒線體膜電位實驗

#### 1. 對照組(Control)、粗萃取物(HCE)0.1、0.7 mg/ml、第三段萃取物(HCF03)0.1、0.6 mg/ml

粒線體膜電位結果之比較



▲圖 21. 不同濃度魚腥草粗萃取物與第三段萃取物誘導大腸癌細胞的粒線體膜電位受損率  
(作者製圖)

	Control	HCE 0.1 mg/ml	HCE 0.7 mg/ml	HCF03 0.1 mg/ml	HCF03 0.6 mg/ml
受損率 (%)	4.94	16.82	54.11	26.89	93.1
完整粒線體除受損粒線體之比值	19.24	4.95	0.85	2.72	0.07

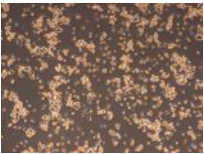
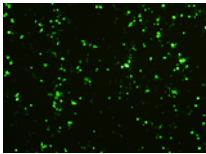
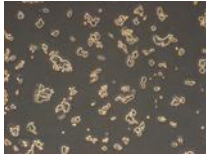
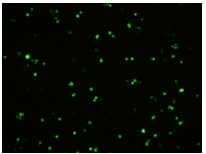
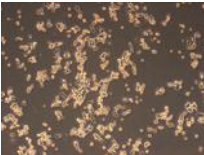
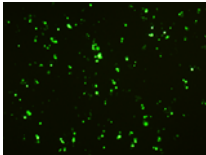
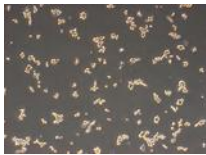
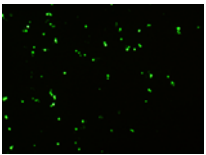
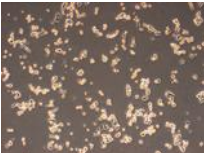
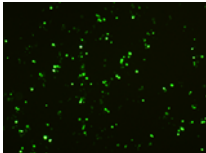
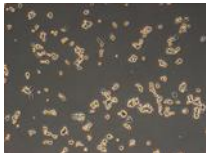
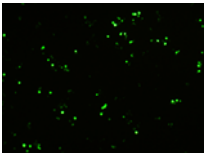
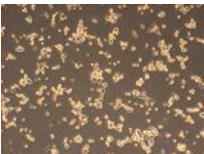
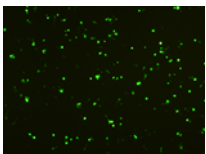
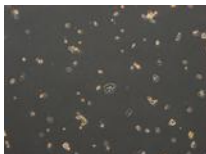
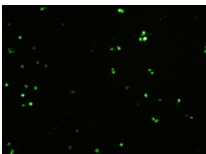
▲表 16. 魚腥草粗萃取物與第三段萃取物的粒線體膜電位(作者製表)

## 2. 結果說明:

以魚腥草粗萃取物 0.1、0.7 mg/ml、魚腥草第三段萃取物 0.1、0.6 mg/ml 作為實驗組進行粒線體膜電位實驗，對照組之粒線體受損率為 4.94%、HCE 0.1 mg/ml 為 16.82%、HCE 0.7 mg/ml 為 54.11%、HCF03 0.1 mg/ml 為 26.89%、HCF03 0.6 mg/ml 為 93.1%，以完整粒線體除受損粒線體之比值對照組約為 19.24、HCE 0.1 mg/ml 約為 4.95、HCE 0.7 mg/ml 約為 0.85、HCF03 0.1 mg/ml 約為 2.72、HCF03 0.6 mg/ml 約為 0.07。由以上結果可得知，魚腥草第三段萃取物 0.6 mg/ml 降低細胞粒線體活性的能力較粗萃取物佳。

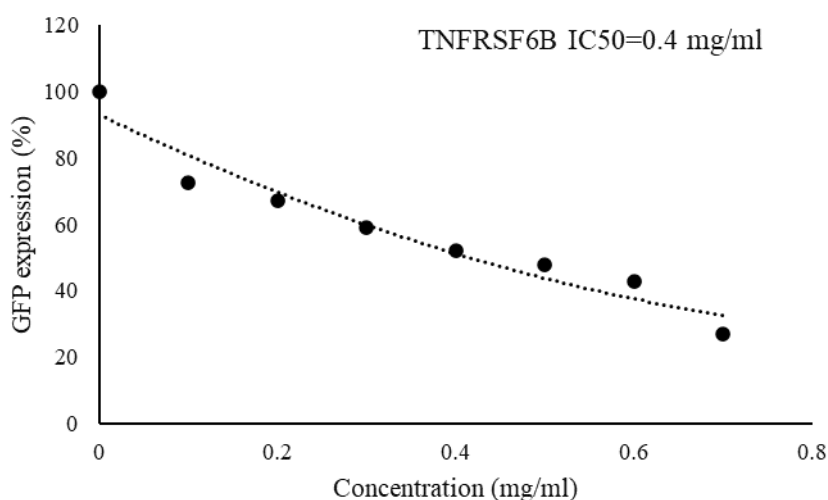
### (四) TNFRSF6B 質體轉染實驗

#### 1. 魚腥草第三段萃取物 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml 質體轉染實驗之結果對照圖

濃度 (mg/ml)	明光	螢光	濃度 (mg/ml)	明光	螢光
0			0.4		
0.1			0.5		
0.2			0.6		
0.3			0.7		

▲圖 21. TNFRSF6B-GFP 綠色螢光蛋白表現(作者拍攝)

2. 魚腥草第三段萃取物 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml 質體轉染 IC<sub>50</sub> 之曲線圖



▲圖 22.第三段萃取物抑制 TNFRSF6B 的 IC<sub>50</sub> 濃度曲線(作者製圖)

### 3. 結果說明

魚腥草第三段萃取物 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml 進行 TNFRSF6B 質體轉染實驗，檢驗綠色螢光蛋白(GFP)在各濃度下的表現。由結果圖表可得知，綠色螢光蛋白的表現隨著魚腥草第三段萃取物濃度增加呈現下降趨勢，並且自濃度 0.4 mg/ml 以後螢光蛋白表現低於 50%。

## 伍、討論

### 一、魚腥草萃取及抗氧化能力試驗

(一) 高效層析魚腥草粗萃取物後，我們觀察分析後的訊號圖譜(圖 13)，發現圖譜中的魚腥草萃取物第一段(HCF01)和第三段(HCF03)的訊號較為突出。然而，我們推斷 HCF01 突出的訊號是因為樣品中含有較多水溶性物質，而水溶性物質較脂溶性物質不利於進行細胞毒殺試驗，因此我們最後決定使用第三段萃取物進行後續的抑制癌細胞實驗。

(二) 藉由總酚試驗和 ABTS 試驗的數據結果可得知(圖 6、圖 18)，魚腥草第二段萃取物(HCF02)的抗氧化能力最佳，然而抗氧化力與抗癌力並非直接相關。抗氧化能力最佳的 HCF02 在層析的圖譜訊號較不突出，圖譜訊號的不突出代表著脂溶性物質較少，

脂溶性物質較少者毒殺能力較差，於是我們最終選擇使用脂溶性物質較多的 HCF03 進行後續的抑制大腸癌細胞實驗。

(三) 由於總酚實驗需要加入碳酸鈉而容易產生沉澱，導致數據誤差值大。為了確保結果的準確性，我們進行了多次總酚試驗，因此我們得出兩條檢量線(圖 14，圖 15)，以便更精確地計算總抗氧化能力。

(四) 未來，我們期望能對 HCF03 進行更加全面且詳細的鑑定，運用 LC-MS 或 HPLC 分析標準品，尋找能夠有效抑制大腸癌細胞的成分。

## 二、HCT-116 人類大腸癌細胞實驗

(一) 在 MTT 人類大腸癌細胞毒殺試驗中(圖 19)，我們選擇魚腥草粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)來做比較，發現 HCF03 的細胞存活率整體較 HCE 低，也代表 HCF03 毒殺癌細胞的效果較佳。原因可能為分段萃取物(HCF)所含的有效成分較 HCE 更多，進而導致效果更為突出。

(二) 在細胞凋亡實驗及粒線體膜電位實驗中(圖 20、圖 21)，我們選擇了 HCE 的 0.1、0.7 mg/ml 及 HCF03 0.1、0.6 mg/ml 作為實驗組，選擇 0.1 mg/ml 是為了方便比較兩種樣品的效果差異，而 0.7、0.6 mg/ml 由為 MTT 試驗所得知的兩種樣品 IC<sub>50</sub> 濃度。結果顯示 HCF03 較 HCE 能夠更好的誘導細胞凋亡及降低粒線體活性，也證實了 HCF03 抑制大腸癌細胞的效果。

(三) 在 TNFRSF6B 質體轉染試驗中(圖 22、圖 23)，我們則是選擇了 HCF03 作為樣品，觀察 HCF03 是否能夠有效的抑制癌細胞中的 TNFRSF6B 質體，為了方便觀察，我們在 TNFRSF6B 質體中轉殖了綠色螢光蛋白(GFP)。最後我們得出結論，HCF03 抑制 TNFRSF6B-GFP 綠色螢光蛋白表現濃度 IC<sub>50</sub> 為 0.4 mg/ml。以達到降低癌細胞活性的目的，但仍考慮日後應用在人體上時，必須降低至適當的濃度，以能夠有效抑制癌細胞又不傷到人體。

(四) 根據細胞凋亡試驗與粒線體膜電位實驗，我們計算出細胞凋亡率及粒線體受損率，藉此得知 HCF03 具有抑制大腸癌細胞的功能性。未來我們能夠進一步探討 HCF03 是否可開發專一抑制劑並製作標靶藥物。

(五) 根據文獻，我們發現目前治療大腸癌的藥物主要為 Oxaliplatin 及 5-Fluorouracil，未來可以針對魚腥草萃取物營養品作為癌症輔助療法的有效性和安全性的潛力，進行協同化療藥物 5-Fluorouracil 及 Oxaliplatin 抗大腸癌作用。

## 陸、 結論

- 一、本研究透過總酚試驗及 ABTS 試驗證明各段魚腥草甲醇萃取物(HCF)的抗氧化能力，其中第二段魚腥草甲醇萃取物(HCF02)的抗氧化力效果最佳。
- 二、進行 MTT 試驗測試大腸癌細胞加入不同濃度的魚腥草粗萃取物(HCE)或魚腥草萃取物第三段(HCF03)的存活率，證明魚腥草萃取物對癌細胞的抑制性，其中 HCE 於 0.7 mg/ml 而 HCF03 在 0.6 mg/ml 時，便可使癌細胞的存活率低於 50%。
- 三、藉由細胞凋亡實驗及粒線體膜電位試驗，得知 HCF03 0.6 mg/ml 的細胞凋亡率和粒線體受損率最高，使細胞凋亡及降低粒線體活性的效果最佳。
- 四、透過 TNFRSF6B 質體轉染實驗可了解，當 HCF03 濃度為 0.4 mg/ml 時，半數 TNFRSF6B 質體便會失去效用。

## 柒、 參考資料

- 中國醫藥大學附設醫院 (2025, 3 月 28 日)。認識化療藥品 *Fluorouracil*。中國醫藥大學附設醫院。 <https://www.cmuh.cmu.edu.tw/HealthEdus/Detail?no=5034>
- 中國醫藥大學附設醫院 (2025, 3 月 28 日)。認識化療藥品 *Oxaliplatin*。中國醫藥大學附設醫院。 <https://www.cmuh.cmu.edu.tw/HealthEdus/Detail?no=5054>
- 衛生福利部國民健康署 (2025, 1 月 6 日)。大腸癌防治概況。衛生福利部國民健康署。 <https://www.hpa.gov.tw/Pages/Detail.aspx?nodeid=615&pid=1126>
- Ahn, J., Chae, H. S., Chin, Y. W., & Kim, J. (2017). Alkaloids from aerial parts of *Houttuynia cordata* and their anti-inflammatory activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 27(12), 2807-2811. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.072>

- Chang, J. S., Chiang, L. C., Chen, C. C., Liu, L. T., Wang, K. C., & Lin, C. C. (2001). Antileukemic activity of *Bidens pilosa* L. var. *minor* (Blume) Sherff and *Houttuynia cordata* Thunb. *The American journal of Chinese medicine*, 29(2), 303-312. <https://doi.org/10.1142/S0192415X01000320>
- Hsieh, S. L., & Lin, W. W. (2017). Decoy receptor 3: an endogenous immunomodulator in cancer growth and inflammatory reactions. *Journal of biomedical science*, 24(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12929-017-0347-7>
- Lai, K. C., Chiu, Y. J., Tang, Y. J., Lin, K. L., Chiang, J. H., Jiang, Y. L., Jen, H. F., Kuo, Y. H., Agamaya, S., Chung, J. G., & Yang, J. S. (2010). *Houttuynia cordata* Thunb extract inhibits cell growth and induces apoptosis in human primary colorectal cancer cells. *Anticancer research*, 30(9), 3549-3556.
- Li, G. Z., Chai, O. H., Lee, M. S., Han, E. H., Kim, H. T., & Song, C. H. (2005). Inhibitory effects of *Houttuynia cordata* water extracts on anaphylactic reaction and mast cell activation. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 28(10), 1864-1868. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1864>
- Nuengchamnong, N., Krittasilp, K., & Ingkaninan, K. (2009). Rapid screening and identification of antioxidants in aqueous extracts of *Houttuynia cordata* using LC – ESI – MS coupled with DPPH assay. *Food Chemistry*, 117(4), 750-756. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.071>
- Tang, Y. J., Yang, J. S., Lin, C. F., Shyu, W. C., Tsuzuki, M., Lu, C. C., Chen, Y. F., & Lai, K. C. (2009). *Houttuynia cordata* Thunb extract induces apoptosis through mitochondrial-dependent pathway in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Oncology reports*, 22(5), 1051-1056. [https://doi.org/10.3892/or\\_00000535](https://doi.org/10.3892/or_00000535)
- Zhang, L., Lv, H., Li, Y., Dong, N., Bi, C., Shan, A., Wu, Z., & Shi, B. (2020). Sodium houttuynate enhances the intestinal barrier and attenuates inflammation induced by *Salmonella typhimurium* through the NF- $\kappa$ B pathway in mice. *International immunopharmacology*, 89(Pt A), 107058. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.107058>

Zhu, H., Lu, X., Ling, L., Li, H., Ou, Y., Shi, X., Lu, Y., Zhang, Y., & Chen, D. (2018). Houttuynia cordata polysaccharides ameliorate pneumonia severity and intestinal injury in mice with influenza virus infection. *Journal of ethnopharmacology*, 218, 90-99. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.02.016>

**[作品內圖表、照片說明]**

本作品(開發大腸癌抑制劑，從魚腥草萃取物開始)內，所有照片、圖片、圖表，皆由作者自行拍攝、繪製。

## 【評語】 052104

1. 本研究在研究開發新型魚腥草萃取物，以作為抑制人類大腸癌細胞。結果顯示其中第三段萃取物(HCF03)之總酚含量 與 ABTS 抗氧化力，皆優於魚腥草粗萃物(HCE)。此外 HCF03 抑制大腸癌細胞效果亦皆優於 HCE，結果推論 HCF03 能作為 TNFRSF6B 抑制劑，具有抑制大腸癌細胞之潛能。
2. 本研究具應用價值，結果顯示第三段萃取物 HCF03 具良好抑癌活性與作為 TNFRSF6B 抑制劑的潛力。惟仍屬體外試驗階段，後續應進一步探討其成分組成與機制，並進行動物實驗驗證。
3. 此研究有提及目前治療大腸癌的藥物主要為 Oxaliplatin 及 5-Fluorouracil；如可加以比較魚腥草粗萃取物與已知藥物之效果，可進一步說明此發現之重要性。

作品海報

開發大腸癌抑制劑，  
從魚腥草萃取物開始



## 摘要

魚腥草為一種多年生的根莖草本植物，在傳統醫藥具有良好的藥用價值。本研究開發新型魚腥草萃取物，抑制人類大腸癌細胞。首先將魚腥草葉磨成粉末，並以甲醇萃取(HCE)，再以高效液相層析方式，分離魚腥草分段萃取樣品(HCF)，來進行總酚試驗抗氧化力；進行癌細胞毒殺試驗、誘導癌細胞凋亡、粒線體膜電位試驗及運用載體TNFRSF6B-GFP綠色螢光蛋白轉殖癌細胞大量表現。試驗結果顯示魚腥草粗萃物(HCE)及其中第三段萃取物(HCF03)，總酚含量與ABTS抗氧化力，HCF03皆優於HCE；另癌細胞半數毒殺濃度IC<sub>50</sub>與細胞凋亡試驗凋亡以及粒線體膜電位受損率，HCF03抑制大腸癌細胞效果皆優於 HCE；HCF03抑制TNFRSF6B-GFP綠色螢光蛋白表現濃度IC<sub>50</sub>為0.4 mg/ml。綜合上述試驗結果，證實HCF03能作為TNFRSF6B抑制劑，具有抑制大腸癌細胞之潛能。

## 壹、前言

### 一、研究動機

大腸癌近年來都是國人前幾大死因之一，根據我國衛生福利部111年癌症登記資料統計，大腸癌位居我國罹癌人數前兩名已超過十年，且罹患大腸癌的人數及因大腸癌死亡的人數逐年增加，並且在臺灣每約半小時就有1人被診斷為大腸癌 (衛生福利部國民健康署，2025)。由此可知大腸癌的致命性及嚴重性。因此我們針對抑制大腸癌細胞方面研究，尋找是否有合適的抑制劑藥物可以解決此問題。透過相關資料的查詢後，我們發現魚腥草在醫藥方面的廣泛用途，並且我們也開始好奇魚腥草葉有無抑制癌細胞相關的功能，於是將魚腥草葉作為實驗樣品，檢測它的抗氧化功能，並檢測它是否能抑制癌細胞，特別開發腫瘤壞死因子受體 (TNFRSF6B)抑制劑進行研究，以達到治療大腸癌的效果。

### 二、研究目的

- (一)運用總酚及ABTS試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)以及分段萃取物(HCF)的抗氧化能力。
- (二)透過MTT人類大腸癌細胞毒殺試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)抑制癌細胞能力。
- (三)透過細胞凋亡試驗及粒線體膜電位試驗，探討魚腥草甲醇粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)之誘導細胞凋亡率、粒線體受損率。
- (四)運用TNFRSF6B-GFP綠色螢光蛋白轉殖癌細胞，探討第三段萃取物(HCF03)之抑制濃度IC<sub>50</sub>。

### 三、文獻回顧

#### (一)魚腥草簡介：

魚腥草 ( *Houttuynia cordata* ) 在亞洲地區廣泛分布，是一種多年生的根莖草本植物，並在傳統中醫藥中佔有重要地位。其藥理作用包括抗菌、抗發炎、抗氧化及抗病毒等多重功效，因此成為現代保健與醫療領域的研究重點。

化學成分分析顯示，魚腥草全株含有多種生物活性成分，主要分為以下幾類：

- 1.揮發油類化合物：魚腥草的特殊氣味主要來自於其揮發油成分，包括癸醯乙醛 ( 又稱魚腥草素 ) 和月桂醛。癸醯乙醛因其不穩定性，易降解為無臭的甲基正壬酮，因此現代製劑中多使用人工合成的魚腥草素鈉以確保藥效穩定。
- 2.黃酮類化合物：魚腥草含有豐富的黃酮類化合物，如 Afzelin、Hyperin、Rutin、Quercitrin及 Isoquercitrin。這些成分是魚腥草抗氧化作用的主要活性成分，已通過DPPH自由基清除實驗得到證實。
- 3.酚酸類、生物鹼及多醣體等：魚腥草還含有多種酚酸類化合物和生物鹼，包括Cordarine、Chlorogenic acid、β-sitosterol、Stearic acid、Oleic acid及 Linoleic acid (Ahn et al., 2017)。

近期研究在魚腥草地上部分中發現了三種新型生物鹼：Houttuynoside A、7-hydroxy-6-methoxy-1-methyl-3,4-dihydroisoquinoline及其8-O-β-d-glucopyranoside。這些新化合物的發現為深入了解魚腥草的藥理作用機制提供了新的研究方向。

#### (二)抗大腸直腸癌能力：

研究顯示魚腥草也具有抗大腸直腸癌之功效，可以誘導大腸癌細胞凋亡、抑制細胞週期，特別讓細胞週期停留於G0/G1使細胞減少進入S期，也促進線粒體膜電位下降，細胞色素c釋放，增加caspase-9和caspase-3表現促使大腸癌細胞走向細胞凋亡。魚腥草可以有效促使人類原發性結腸直腸癌初代培養細胞凋亡，在處理魚腥草後會造成ROS上升、粒線體膜電位改變，細胞色素c、Apaf-1表現增加後，BAX/BCL-2上升，促使caspase-3、-9活化，具有對抗大腸直腸癌之潛能。目前尚無其他研究文獻發表魚腥草葉甲醇萃取物，進行抗大腸癌之功能性開發 (Lai, et al., 2010)。

#### (三)腸道保護作用：

魚腥草多醣體 (HCP)在近期研究中被證實對病毒感染具有顯著的療效，根據H1N1感染小鼠的實驗結果，給予治療後不僅顯著提高了小鼠的存活率，並通過增強腸道屏障功能及降低炎症反應，減少腸道損傷風險 (Zhu et al., 2018)。

#### (四)腫瘤壞死因子受體表達在癌症惡化的關係：

腫瘤壞死因子受體 (TNFRSF6B,DcR3)，是一種可溶的誘餌受體。腫瘤壞死因子受體在各種癌細胞和幾種發炎組織中過度表現，被認為是預測發炎性疾病發展和癌症轉移的潛在生物標誌物，而腫瘤細胞拮抗腫瘤壞死因子受體來阻止細胞凋亡並促進腫瘤的生長和侵襲。因此，開發腫瘤壞死因子受體抑制劑可能有助於阻止癌症擴散，並抑制腫瘤細胞生長 (Hsieh & Lin 2017)。

#### (五)抗大腸癌藥物Oxaliplatin及5-Fluorouracil簡介：

Oxaliplatin (奧沙利鉑) 屬於細胞生長抑制劑，可抑制DNA的複製、轉錄，抑制癌細胞分裂與增生，以達到抗腫瘤效果，但會發生骨髓抑制、胃腸炎、周邊神經病變等副作用(中國醫藥大學附設醫院，2025)。

5-Fluorouracil (5-FU，5-氟尿嘧啶) 屬於一種氟有機化合物，5-FU 在體內轉化為活性代謝物後，可阻斷酵素胸苷酸合成酶，抑制RNA合成中尿嘧啶的引用，進而抑制癌細胞生長與分裂，但常見副作用包括腹瀉、噁心、掉髮及皮膚炎等(中國醫藥大學附設醫院，2025)。

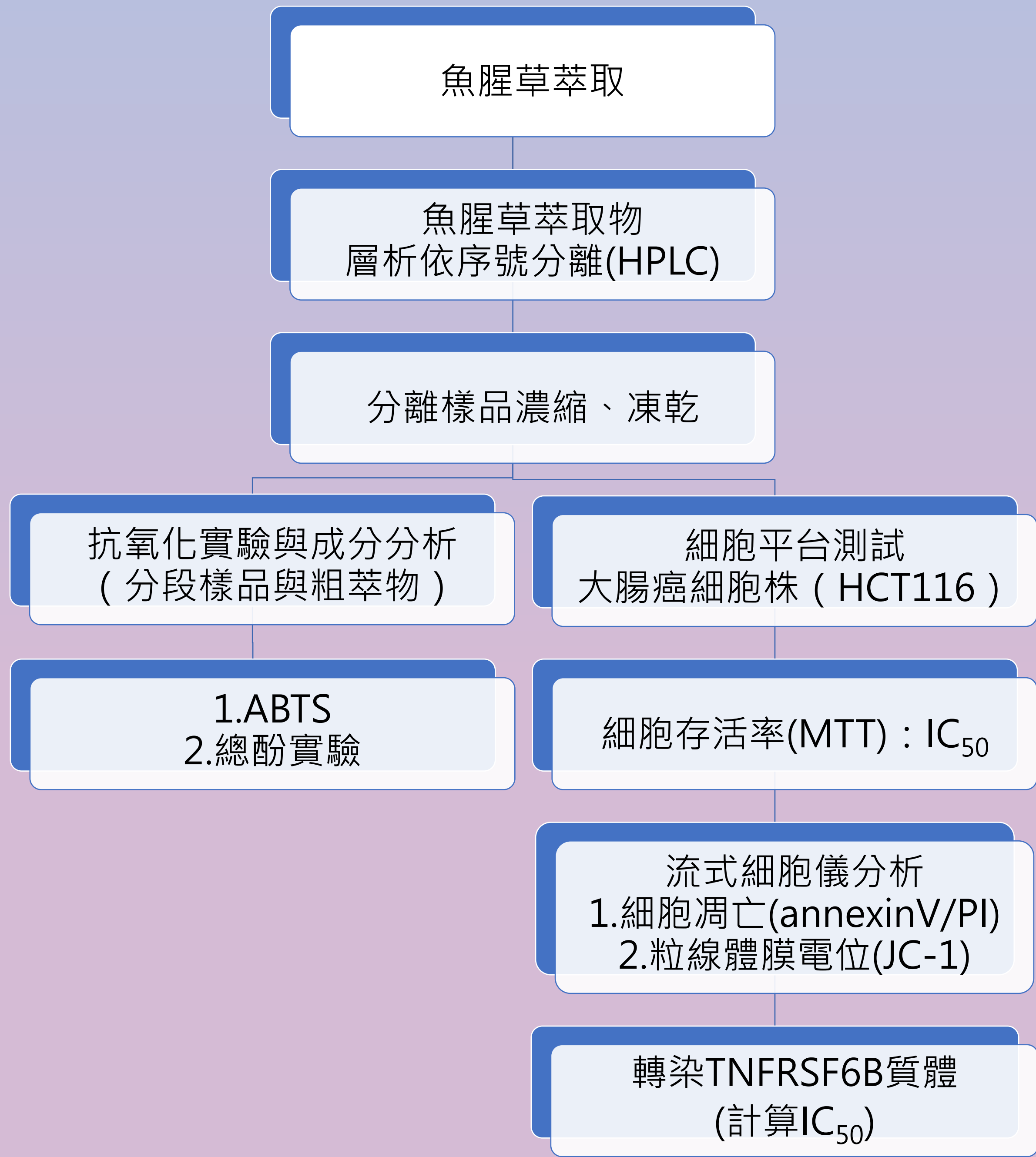
## 貳、研究設備與器材

			
a.魚腥草粉末	b.研磨機	c.熱迴流裝置	d.減壓濃縮機
			
e.分光光度計	f.高效液相層析儀	g.顯微鏡	h.流式細胞儀
			
i.福林酚試劑	j. ABTS	k.轉染試劑 Lipofectamine	l.轉染試劑 P 3000

(照片由作者親自拍攝)

## 參、研究過程及方法

### 一、研究流程規劃



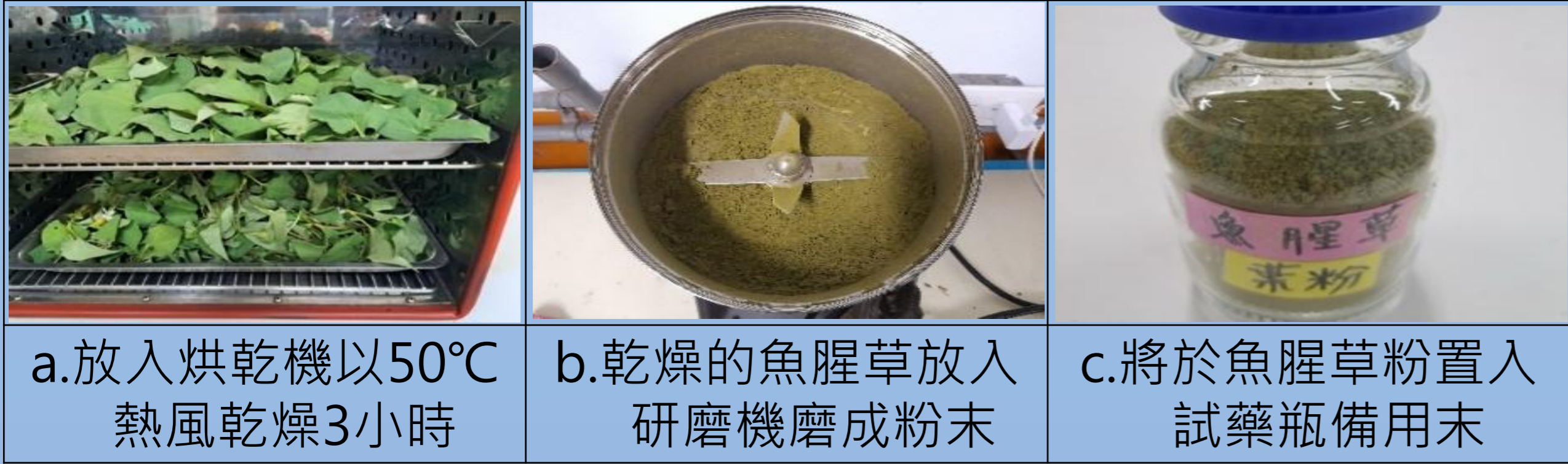
(流程圖由作者親自繪製)

二、研究方法

魚腥草萃取製備：

(一)粉末製備步驟：

- 1.將魚腥草葉放入烘乾機中，以50℃熱風乾燥3小時。
- 2.取出乾燥的魚腥草葉，使用研磨機研磨成粉末。
- 3.將粉末置入試藥瓶備用。



(照片由作者親自拍攝)

(二)魚腥草熱回流萃取步驟：

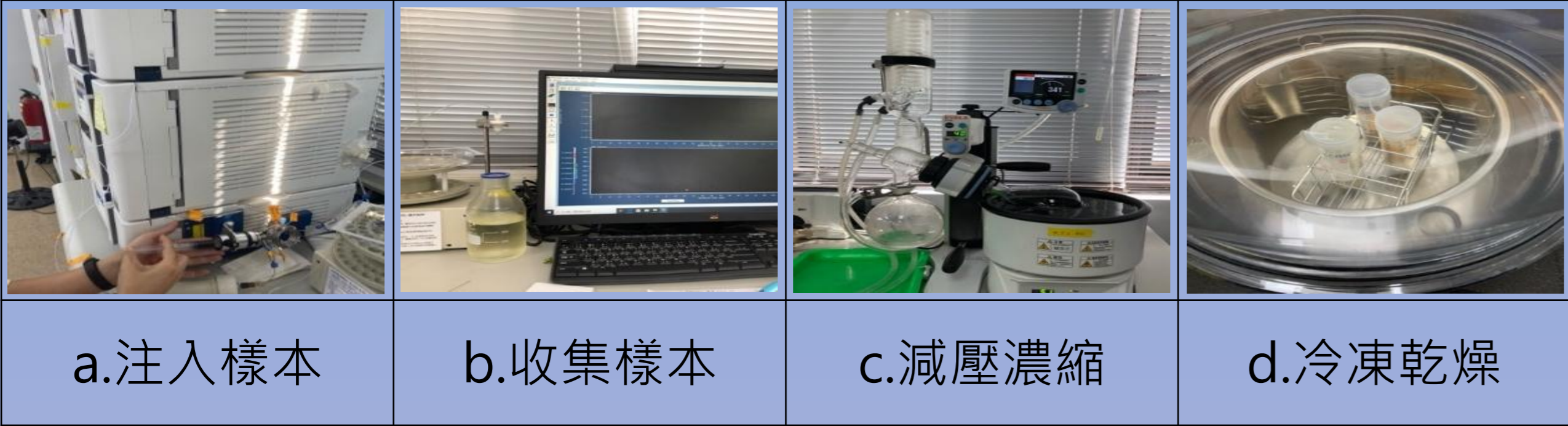
- 1.取1 g魚腥草葉粉末，加入100 ml的二次水，置於三角瓶中混合均勻，將兩者倒入熱迴流瓶。
- 2.待加熱至沸騰後，加熱迴流萃取1小時。
- 3.以紗布進行初步過濾，再以90 mm(6號)濾紙抽氣過濾，最後以0.22 μm針筒過濾器過濾。
- 4.將過濾後萃取液減壓濃縮後得魚腥草粗萃取物。



(照片由作者親自拍攝)

(三)魚腥草分段萃取流程

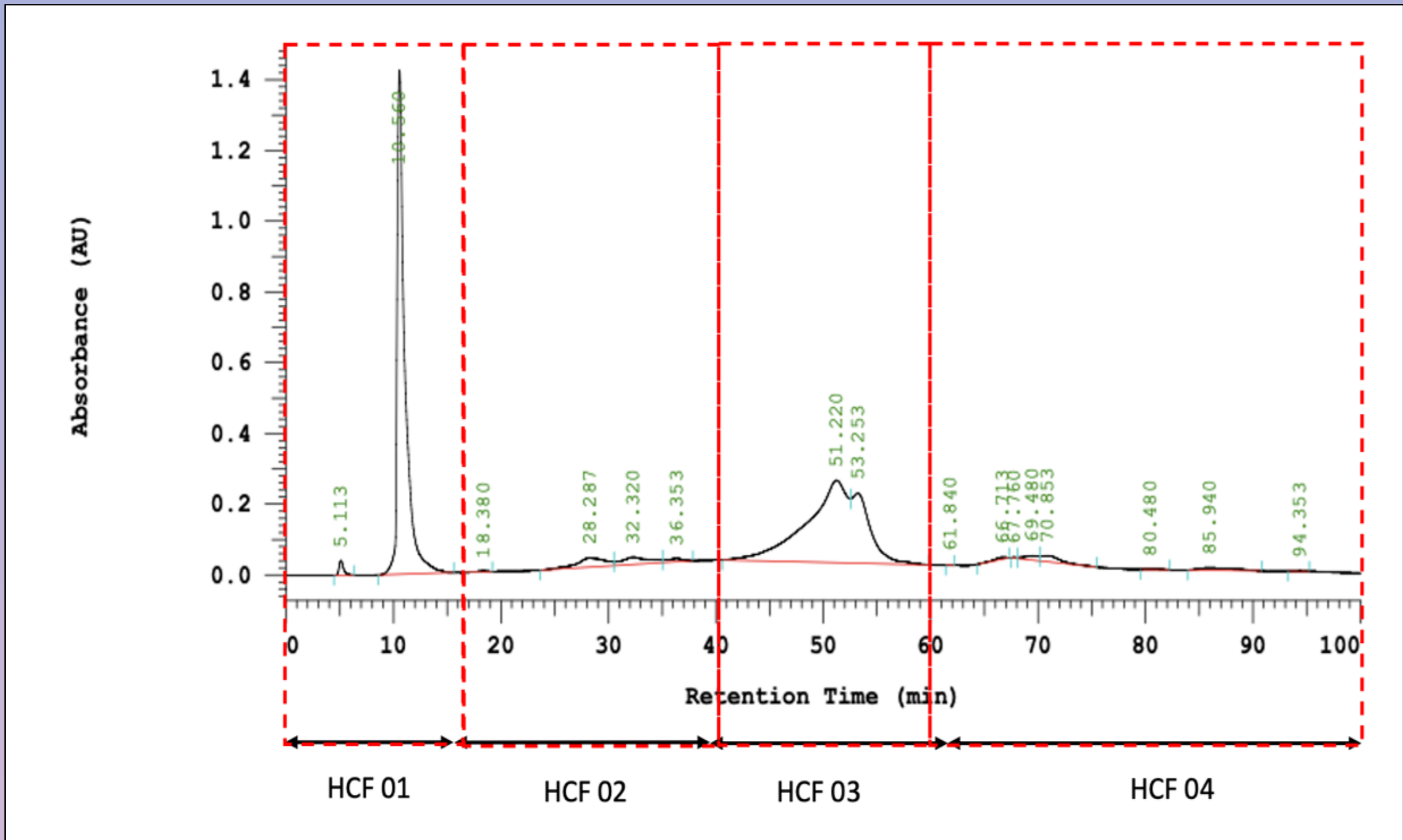
- 1.將魚腥草粗萃取物注入HPLC儀器中，不同移動相條件將樣品沖洗帶入75-ml silica管柱，隨時間將樣品沖提出來。
- 2.依照沖提時間及樣品不同會電腦分析出的不同訊號，觀察訊號分別分成4區塊收集樣品。
- 3.分別將不同區塊減壓濃縮至20 ml 左右，放進-80℃ (至少一天)，進行冷凍乾燥。



(照片由作者親自拍攝)

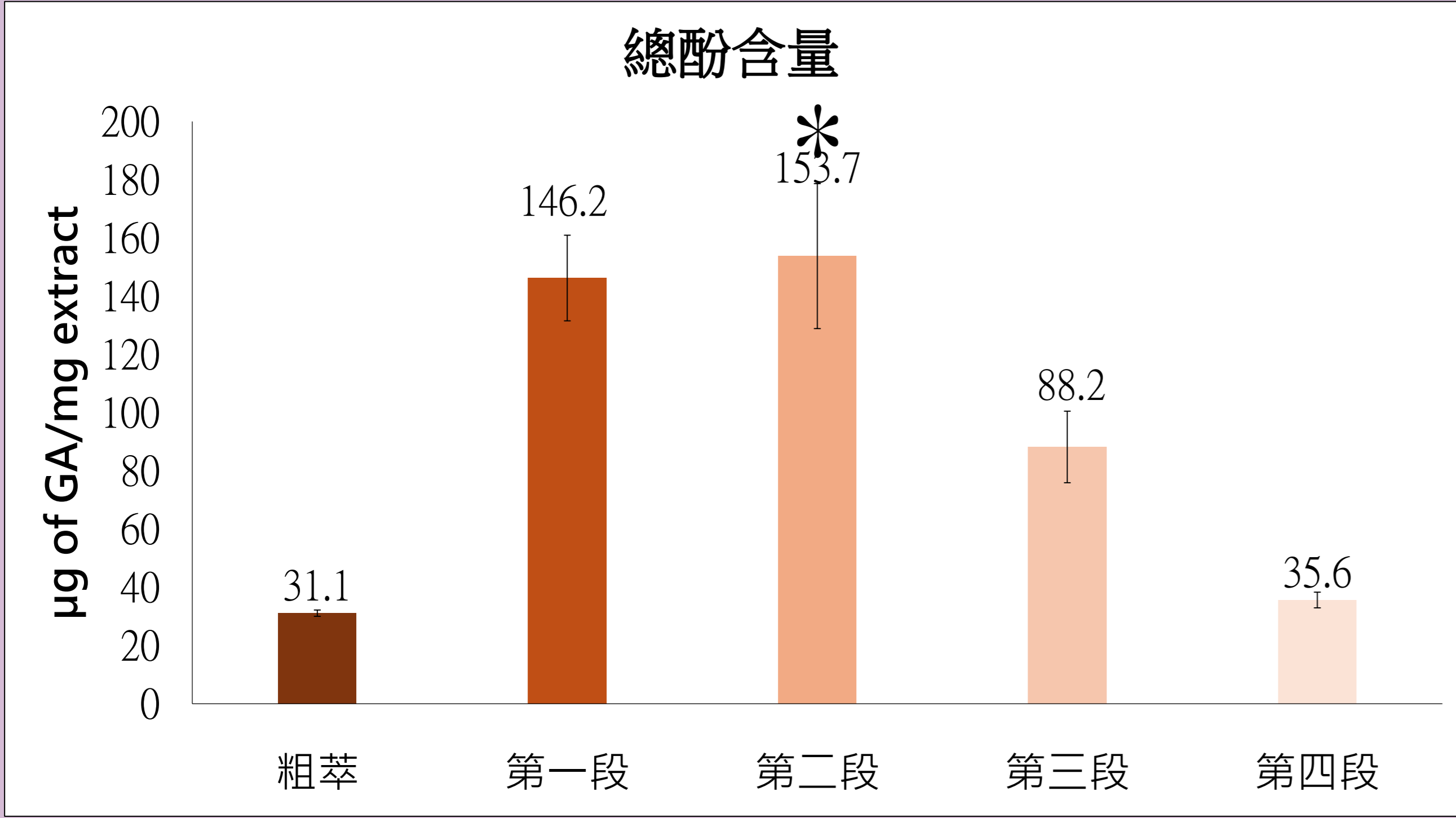
肆、研究結果

一、魚腥草甲醇萃取物HPLC分析圖譜結果



(圖表由作者親自繪製)

二、魚腥草萃取液總酚試驗結果

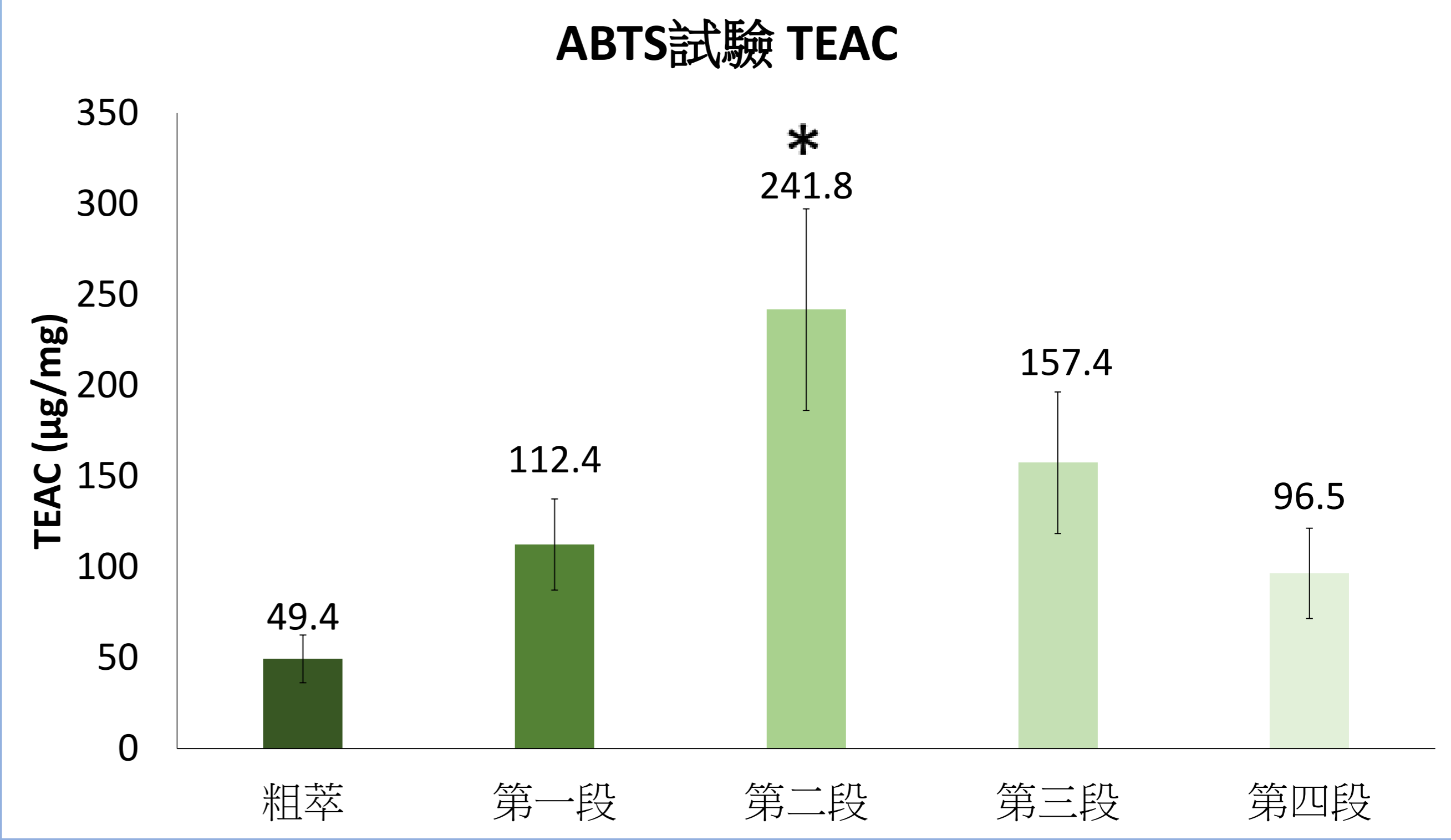


(圖表由作者親自繪製)

結果說明：

在總酚實驗中，我們使用Gallic acid (沒食子酸)作為標準品，將各沒食子酸濃度及其吸光值畫出檢量線，再將樣品所測得吸光值帶入檢量線之迴歸方程式，得出樣品所含的相對總酚含量。結果顯示魚腥草甲醇粗萃物總酚含量為31.1 μg GA/mg，魚腥草第一段萃取物總酚含量為146.2 μg GA/mg，第二段萃取物總酚含量為153.7 μg GA/mg，第三段萃取物總酚含量為88.2 μg GA/mg，第四段萃取物總酚含量為35.6 μg GA/mg。可知第二段總酚含量最高。 \* p<0.05，與對照組比較，具有統計顯著性。

三、魚腥草萃取液ABTS試驗結果



(圖表由作者親自繪製)

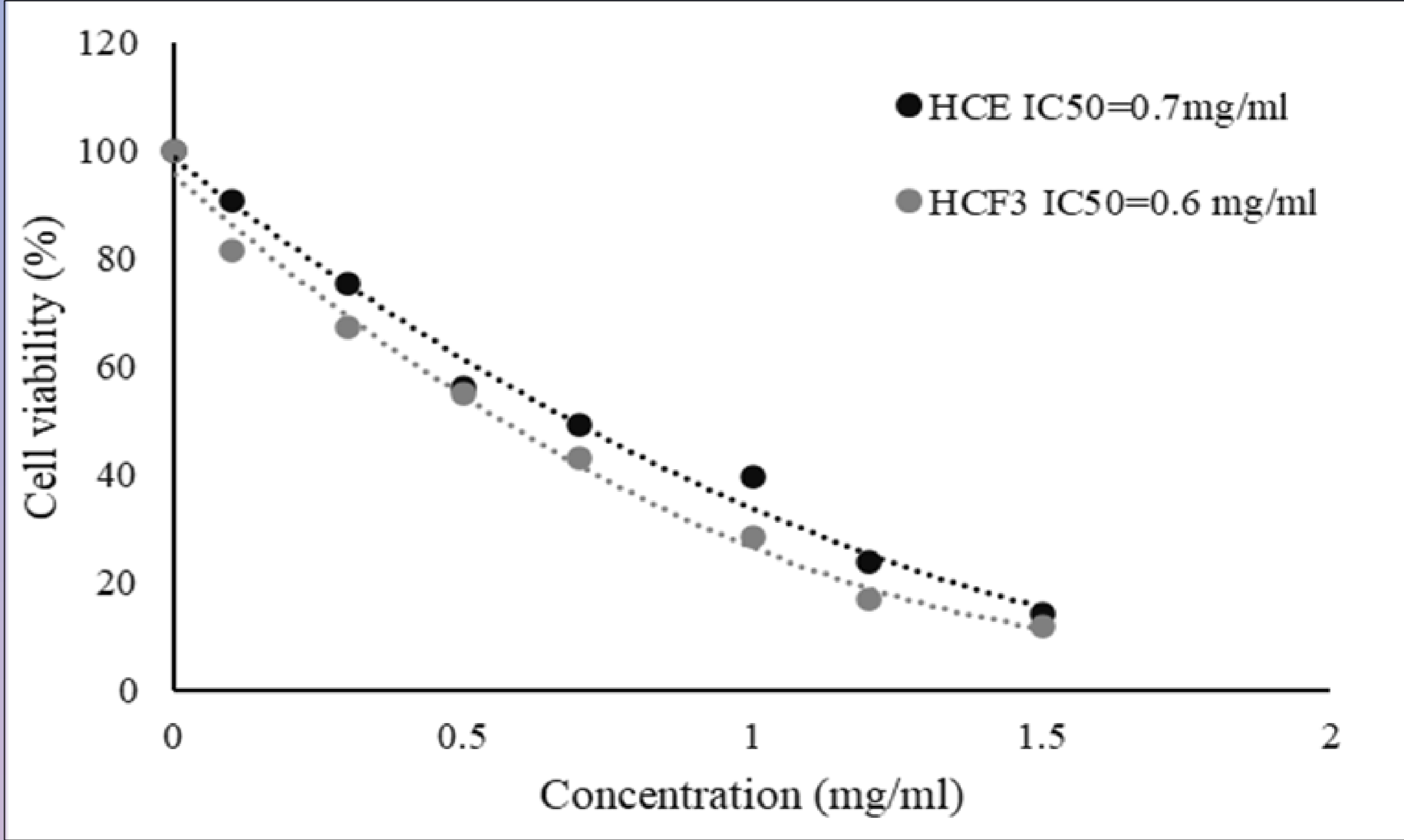
結果說明：

先以Trolox(水溶性維生素E)作為標準品，將其數據輸入Excel製作出檢量線，再將各段魚腥草甲醇溶液的試驗數據代入檢量線，藉此推出其相對抗氧化能力(TEAC)。根據數據結果，粗萃魚腥草甲醇萃取溶液為49.4 μg/mg，第一段魚腥草甲醇萃取溶液為112.4 μg/mg，第二段魚腥草甲醇萃取溶液為241.8 μg/mg，第三段魚腥草甲醇萃取溶液為157.4 μg/mg，第四段魚腥草甲醇萃取物為96.5 μg/mg，可知第二段魚腥草甲醇萃取物的相對抗氧化能力最好。 \* p<0.05，與對照組比較，具有統計顯著性。

四、HCT-116細胞試驗結果

(一)MTT實驗

魚腥草粗萃與第三段IC<sub>50</sub>濃度比較



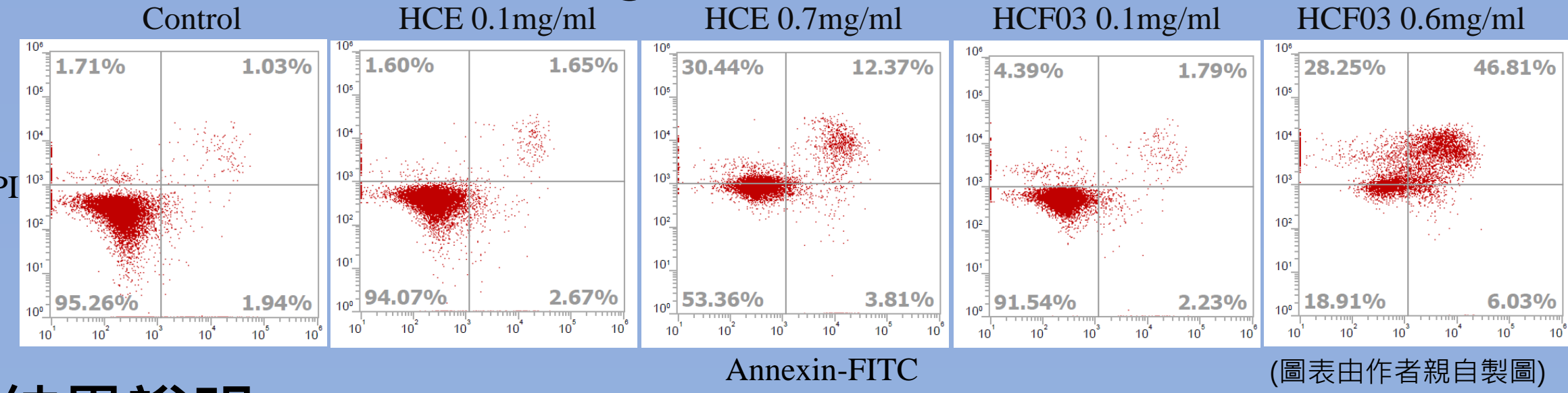
(圖表由作者親自繪製)

結果說明：

以魚腥草粗萃取物、魚腥草第三段萃取物作為實驗組，各取濃度0.1、0.3、0.5、0.7、1、1.2、1.5 mg/ml進行MTT實驗，檢驗該濃度對細胞的存活率之影響。由結果圖表可得知，粗萃取物0.7 mg/ml、第三段萃取物0.6 mg/ml的細胞存活率達到50%以下，並且以第三段萃取物整體效果較佳，因此最後選擇第三段萃取物0.6 mg/ml作為實驗組，進行後續實驗。

(二)細胞凋亡實驗

對照組(Control)、粗萃取物(HCE)0.1、0.7 mg/ml、第三段萃取物(HCF03)0.1、0.6 mg/ml細胞凋亡結果之比較：

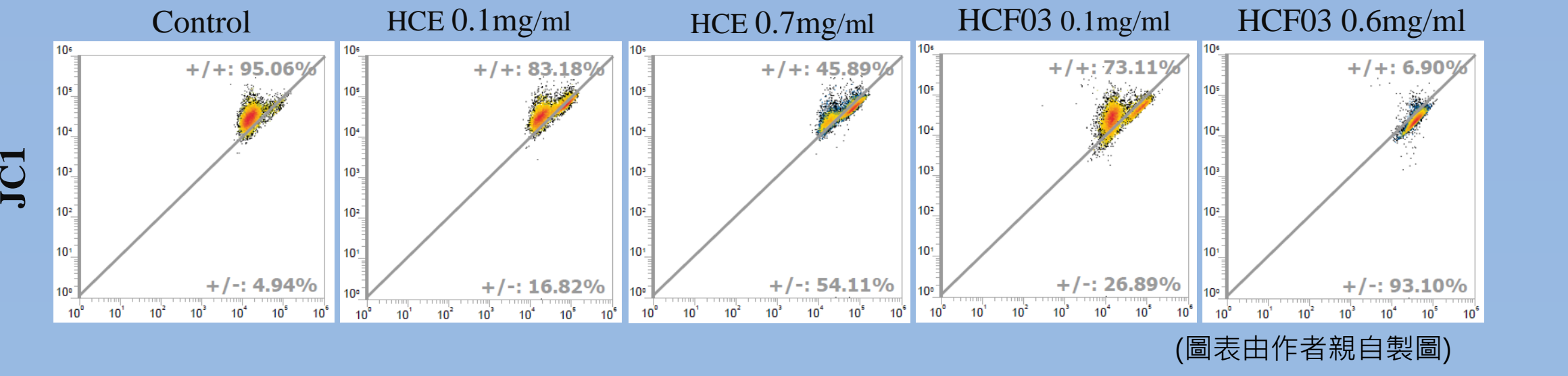


結果說明：

以魚腥草粗萃取物0.1、0.7 mg/ml、魚腥草第三段萃取物0.1、0.6 mg/ml作為實驗組進行細胞凋亡實驗，對照之細胞凋亡率為2.97%、HCE 0.1 mg/ml為4.32%、HCE 0.7 mg/ml為16.18%、HCF03 0.1 mg/ml為4.02%、HCF03 0.6 mg/ml為52.84%。由以上結果可得知，魚腥草第三段萃取物0.6mg/ml細胞凋亡之效果最佳。

(三)粒腺體膜電位實驗

對照組(Control)、粗萃取物(HCE)0.1、0.7 mg/ml、第三段萃取物(HCF03)0.1、0.6 mg/ml粒線體膜電位結果之比較：



結果說明：

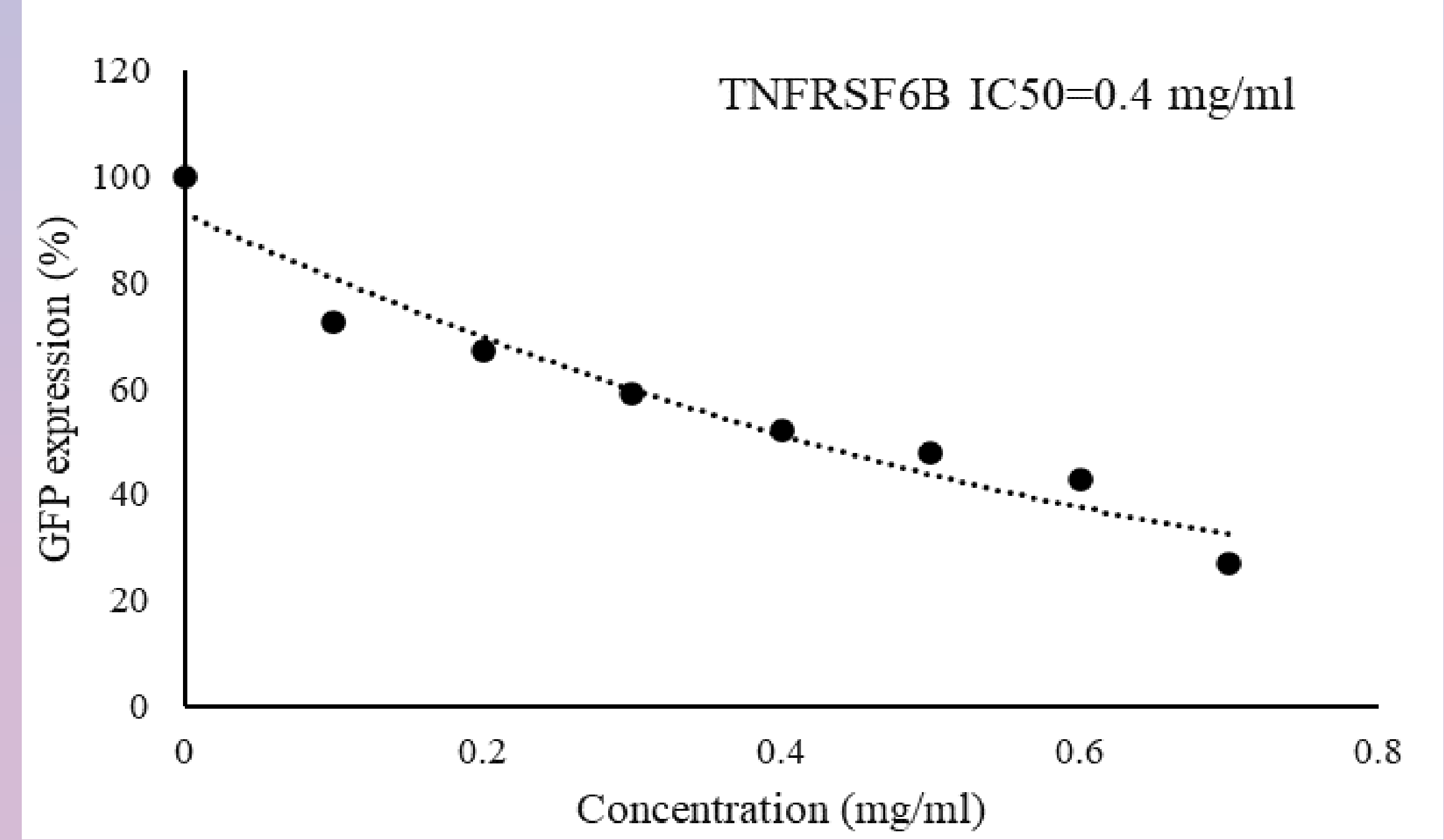
以魚腥草粗萃取物0.1、0.7 mg/ml、魚腥草第三段萃取物0.1、0.6 mg/ml作為實驗組進行粒線體膜電位實驗，對照組之粒線體受損率為4.94%、HCE 0.1mg/ml為16.82%、HCE 0.7 mg/ml為54.11%、HCF03 0.1mg/ml為26.89%、HCF03 0.6 mg/ml為93.1%，以完整粒線體除受損粒線體之比值對照組約為19.24、HCE 0.1 mg/ml約為4.95、HCE 0.7 mg/ml約為0.85、HCF03 0.1 mg/ml約為2.72、HCF03 0.6 mg/ml約為0.07。由以上結果可得知，魚腥草第三段萃取物0.6 mg/ml降低細胞粒線體活性的能力較粗萃取物佳。

(四)TNFRSF6B質體轉染實驗

1.魚腥草第三段萃取物0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml質體轉染實驗之結果對照圖

濃度 (mg/ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
質體轉染實驗之結果對照圖								

2.魚腥草第三段萃取物0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml質體轉染IC<sub>50</sub>之曲線圖



結果說明：

魚腥草第三段萃取物0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/ml進行TNFRSF6B質體轉染實驗，檢驗綠色螢光蛋白(GFP)在各濃度下的表現。由結果圖表可得知，綠色螢光蛋白的表現隨著魚腥草第三段萃取物濃度增加呈現下降趨勢，並且自濃度0.4 mg/ml以後螢光蛋白表現低於50%。

伍、討論

一、魚腥草萃取及抗氧化能力試驗

(一)高效層析魚腥草粗萃取物後，我們觀察分析後的訊號圖譜(wj6)，發現圖譜中的魚腥草萃取物第一段(HCF01)和第三段(HCF03)的訊號較為突出。然而，我們推斷HCF01突出的訊號是因為樣品中含有較多水溶性物質，而水溶性物質較脂溶性物質不利於進行細胞毒殺試驗，因此我們最後決定使用第三段萃取物進行後續的抑制癌細胞實驗。

(二)藉由總酚試驗和ABTS試驗的數據結果可得知，魚腥草第二段萃取物(HCF02)的抗氧化能力最佳，然而抗氧化力與抗癌力並非直接相關。抗氧化能力最佳的HCF02在層析的圖譜訊號較不突出，圖譜訊號的不突出代表著脂溶性物質較少，脂溶性物質較少者毒殺能力較差，於是我們最終選擇使用脂溶性物質較多的HCF03進行後續的抑制大腸癌細胞

(三)由於總酚實驗需要加入碳酸鈉而容易產生沉澱，導致數據誤差值大。為了確保結果的準確性，我們進行了多次總酚試驗，因此我們得出兩條檢量線，以便更精確地計算總抗氧化能力。

(四)未來，我們期望能對HCF03進行更加全面且詳細的鑑定，運用LC-MS或HPLC分析標準品，尋找能夠有效抑制大腸癌細胞的成分。

二、HCT-116人類大腸癌細胞實驗

(一)在 MTT人類大腸癌細胞毒殺試驗中，我們選擇魚腥草粗萃取物(HCE)及第三段萃取物(HCF03)來做比較，發現HCF03的細胞存活率整體較HCE低，也代表HCF03毒殺癌細胞的效果較佳。原因可能為分段萃取物(HCF)所含的有效成分較HCE更多，進而導致效果更為突出。

(二)在細胞凋亡實驗及粒線體膜電位實驗中，我們選擇了HCE的0.1、0.7 mg/ml及HCF03 0.1、0.6 mg/ml作為實驗組，選擇0.1 mg/ml是為了方便比較兩種樣品的效果差異，而0.7、0.6 mg/ml由為MTT試驗所得知的兩種樣品IC<sub>50</sub>濃度。結果顯示HCF03較HCE能夠更好的誘導細胞凋亡及降低粒線體活性，也證實了HCF03抑制大腸癌細胞的效果。

(三)在TNFRSF6B質體轉染試驗中，我們則是選擇了HCF03作為樣品，觀察HCF03是否能夠有效的抑制癌細胞中的TNFRSF6B質體，為了方便觀察，我們在TNFRSF6B質體中轉殖了綠色螢光蛋白(GFP)。最後我們得出結論，HCF03抑制TNFRSF6B-GFP綠色螢光蛋白表現濃度IC<sub>50</sub>為0.4 mg/ml。以達到降低癌細胞活性的目的，但仍考慮日後應用在人體上時，必須降低至適當的濃度，以能夠有效抑制癌細胞又不傷到人體。

(四)根據細胞凋亡試驗與粒線體膜電位實驗，我們計算出細胞凋亡率及粒線體受損率，藉此得知HCF03具有抑制大腸癌細胞的功能性。未來我們能夠進一步探討HCF03是否可開發專一抑制劑並製作標靶藥物。

(五)根據文獻，我們發現目前治療大腸癌的藥物主要為Oxaliplatin及5-Fluorouracil，未來可以針對魚腥草萃取物營養品作為癌症輔助療法的有效性和安全性的潛力，進行協同化療藥物5-Fluorouracil及Oxaliplatin抗大腸癌作用。

陸、結論

一、本研究透過總酚試驗及ABTS試驗證明各段魚腥草甲醇萃取物(HCF)的抗氧化能力，其中第二段魚腥草甲醇萃取物(HCF02)的抗氧化力效果最佳。

二、進行MTT試驗測試大腸癌細胞加入不同濃度的魚腥草粗萃取物(HCE)或魚腥草萃取物第三段(HCF03)的存活率，證明魚腥草萃取物對癌細胞的抑制性，其中HCE於0.7 mg/ml而HCF03在0.6 mg/ml時，便可使癌細胞的存活率低於50%。

三、藉由細胞凋亡實驗及粒線體膜電位試驗，得知HCF03 0.6 mg/ml的細胞凋亡率和粒線體受損率最高，使細胞凋亡及降低粒線體活性的效果最佳。

四、透過TNFRSF6B質體轉染實驗可了解，當HCF03濃度為0.4 mg/ml時，半數TNFRSF6B質體便會失去效用。

柒、參考資料

詳說明書