

第二十三屆旺宏科學獎

成果報告書

參賽編號：SA23-344

隊伍名稱：妮芙努（Nivnu）的祝福

作品名稱：傳承鄒族天生科學家:學習鄒族傳統葛
藤「舊藥新用」醫藥研究

參賽類別：生物科

關鍵字：葛藤(vici)、舊藥新用、抗發炎反應
流體力學

摘要

鄒族三種葛藤在傳說功能為止血，但我們更有興趣葛藤舊藥新用後也有抗發炎功能，本研究以 WOLF 模組（World-view Oriented Learning Framework）為架構進行實體及模擬跨域科學探究(傅麗玉，1999)。結果發現:葛藤葉有較高的抗氧化能力及鈣離子濃度，我們用分光光度計找到最佳藥用方式。在生物活體及西方墨點法實驗中，發現葛藤可以消炎(降低 NLRP3 發炎小體)，並且提高血液黏度。將數據導入流體力學模擬程式後，可以發現:葛藤可以減少流速，增加血壓，減少紊流及剪切力。我們也同時進行鄒族巫醫質性研究，發現鄒族草藥智慧可被西方科學驗證，鄒族傳統醫藥的精神重視身、心、靈整體健康，具傳承推廣價值。

壹、研究動機

去年我們回到鄒族特富野社參加戰祭(Mayasvi)，天氣寒冷中有族人頭痛發炎反應不舒服，讓我們都十分緊張，這時耆老帶我們去採一種植物，熬煮後給患者服下後，逐漸就有緩解的跡象，我們對於這種植物十分有興趣，訪問鄒族耆老後才知道這種植物叫做葛藤 (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi) (鄒語: vici)。

鄒族的文化中，葛藤還可以分為三個種類，分別為:台灣葛藤(vici)、三裂葉葛藤(fcoi)及山葛(ngvocx)，鄒語命名也來自其不同的功效。耆老分享葛藤的醫學功效除了可以讓病患緩解頭痛之外，還有其他的多項醫學功效，像是治療胃痛、消炎，解酒等醫療功效，部落以往也有自己的醫療系統，並且巫師(yoifo)扮演很重要角色，族人對於部落附近的植物，要非常的了解，因為這些都是大自然賜予的天然醫藥箱。

身為鄒族青年，對於鄒族傳統醫學科學相當有興趣，回家查詢文獻後發現，葛藤在不同原住民族群有不同的醫療功效，排灣族的地名還以葛藤的族語最為命名依據，目前較少醫學研究結合傳統民俗植物及醫學知識進行實驗，因此，我們希望分析鄒族葛藤是否具有消炎(diminish inflammation)功效，依據科學分析生化實驗及生物物理流體力學模擬(增加黏滯性)。

貳、研究目的

- 一、探討不同煮沸時間對於葛根素萃取的影響。
- 二、探討不同種類植物(三種葛藤及民俗植物)抗氧化能力(自由基清除能力 DPPH⁺)影響。
- 三、探討不同種類植物(三種葛藤)鈣離子濃度影響。
- 四、探討三裂葉葛藤浸不同鹽酸濃度(胃酸效果)對葛根素影響。

五、利用西方墨點法 (Western Blotting) 腹腔注射進發炎成年大鼠，分析其抗炎之效益及肺部組織觀察。

六、綜合實驗數據，使用流體力學模擬軟體 Computational Fluid Dynamics (C F D) 分析葛根素對血液流動之影響。

參、研究方法

一、檢測抗氧化能力(自由基清除能力 DPPH⁺)方法:

(一)、實驗藥品: 1,1-二苯基-2-三硝基肼自由基，功能為抗氧化實驗的檢測試劑。

(二)、實驗原理: DPPH 分子在有機溶液中顏色為紫色，能在波長 517nm 下有最大吸光值，當 DPPH 被強還原劑 (抗氧化物質) 還原時會使 DPPH 自由基消除，溶液呈現無色。

(三)、實驗步驟:

1.取 0.02gDPPH 配置出 2.5mM 甲醇溶液 (置於冰箱備用)。

2.取 2.5mM DPPH 100 μ l溶液加入一定量 R O 水並加入定量之葛藤溶液，使總量固定。

3.放置避光處反應 10~60 分鐘。

4.以水為空白組。

5.將各自待測定物放入分光光度機中測量，用公式計算 DPPH 清除率。

6.
$$\frac{\text{反應後測試樣的電流值}-\text{反應 0 分鐘時樣品的電流值}}{\text{空白組電流值}-\text{反應 0 分鐘時樣品的電流值}} \times 100\%$$



圖 1: DPPH 甲醇

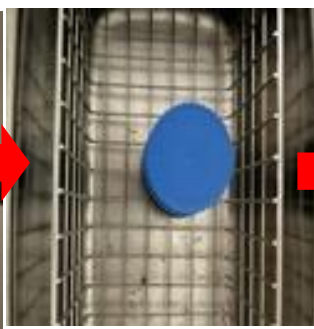


圖 2: 避光靜放



圖 3: 加待測物



圖 4: 分光檢測

(四)、材料取得方式:

1. 葛藤溶液: 根、莖、葉分開配置定量溶液，以水比葛藤 1:2 配置。

2. 將葛藤碾碎後放入果汁機打碎。

3. 放入離心機 10000RPM 轉 30 分鐘。

(五)、環境因素對葛藤去除 DPPH 的影響: 溫度因子: 各取根莖葉 0.1ml 的溶液分為不煮、煮沸 10 分鐘、煮沸 30 分鐘進行檢測

二、WOLF (World-view Oriented Learning Framework 模組研究方法

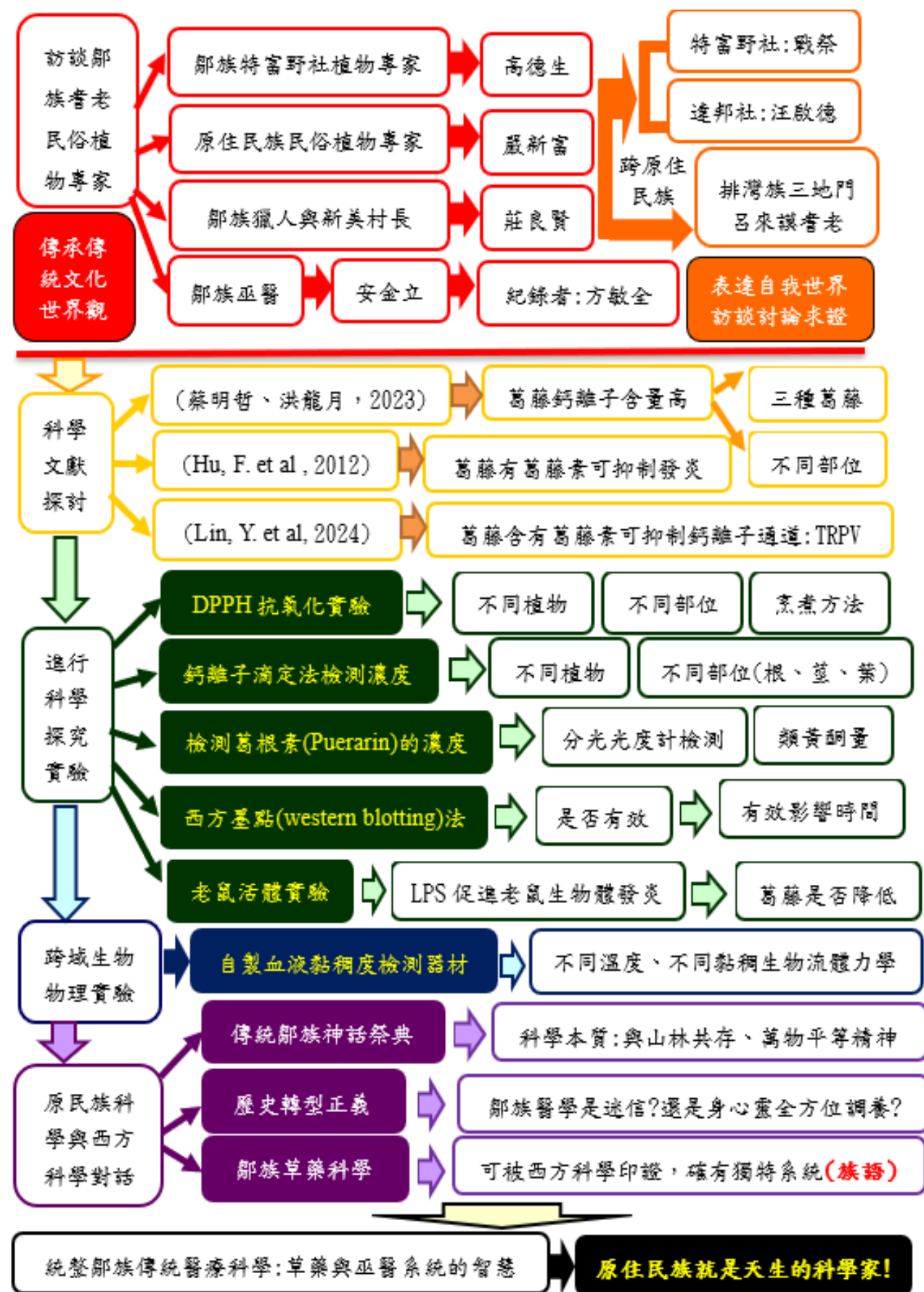


圖 5:傳承鄒族天生科學家:學習鄒族傳統葛藤「舊藥新用」醫藥研究流程圖

三、鄒族葛藤之採集

		葛藤分類(【界】:植物界 (<i>Plantae</i>) 【門】:被子植物 (<i>Angiosperms</i>) 維管束植物(<i>Tracheophyta</i>) 【綱】:真雙子葉植物 (<i>Eudicots</i>) 【目】:豆目 (<i>Fabales</i>) 【科】:豆科 (<i>Fabaceae</i>) 【屬】:葛屬 (<i>Pueraria</i>) 【種】:葛藤(<i>Pueraria montana</i>)
		
圖 6:山葛	圖 7:葛藤	
		
圖 8:三裂葉葛藤、葛根		

四、鄒族葛藤的分類

葛藤名稱(中文俗名)	學名	中文別名	鄒族族語
葛藤	<i>Pueraria lobata</i>	野葛、割藤	vici
台灣葛藤(野生)	<i>Pueraria montana</i>	山葛、山肉豆	ngvocx
熱帶葛藤	<i>Pueraria phaseoloides</i>	三裂葉野葛	fcoi

五、Na₂H₂EDTA·2H₂O (EDTA)鈣鎂離子滴定法檢測濃度。

(一)、實驗藥品配製:

1.取約 0.8g Na₂H₂EDTA·H₂O 在 80℃ 烘 2 小時，倒入樣品瓶中，收存於防潮箱，代用時再取出。

2.配置 EDTA 標準溶液:精秤約 0.6g Na₂H₂EDTA·H₂O，配成 250 毫升。

(二)、實驗步驟:

1. 測定 Ca²⁺和 Mg²⁺總濃度:

- (1). 以 50 毫升量筒取 50 毫升的樣品，再倒入錐形瓶中。
- (2). 加入 3 毫升 pH 10 buffer。
- (3). 加 3 滴 EBT 指示劑。
- (4). 以 EDTA 滴定至顏色由酒紅色變藍色，即為滴定終點。
- (5). 變色後停止滴定，讀取滴定後體積，扣掉滴定前體積，即為滴定體積。



圖 9:五十毫升檢測物

圖 10:加入 3 毫升 buffer

圖 11:滴定至終點

圖 12:終點藍色

六、檢測葛根素（puerarin）濃度

(一)、藥品配置：

1.Slotion A(簡稱 A 液):6.9mg quercetin 溶於 3ml MeOH。

2.Slotion B（簡稱 B 液）:100 μ l solution A 加入 900 μ l MeOH。

3.1mg/ml 葛藤萃取物溶液。

4.2% $AlCl_3$ 500 μ lMeOH。

(二)、實驗濃度配置：

表 1: 檢測葛根素（puerarin）實驗濃度配置

編號	Quercetin(μ l)	MeOH(μ l)	標準品濃度 (mg/ml)
1	20(100)A	900	0.23
2	15(50)A	950	0.115
3	10(30)A	970	0.069
4	5(10)A	990	0.023
5	30(50)B	950	0.0115
6	20(20)B	980	0.0046
7	10(10)B	990	0.0023

(三)、ELISA 葛根素（puerarin）測定

1.取 250 μ l 萃取物溶液+500 μ l 2% $AlCl_3$ 反應 10 分，得溶液 S 取 200 μ l測吸光值。

2.取 250 μ l NO.1~NO.7，各加 500 μ l 2% $AlCl_3$ MeOH，反應 10 分鐘後各取 200 μ l測定吸光值。

3.取 250 μ l葛藤溶液，加入 500 μ l MeOH 混勻取 200 μ l測定吸光值。

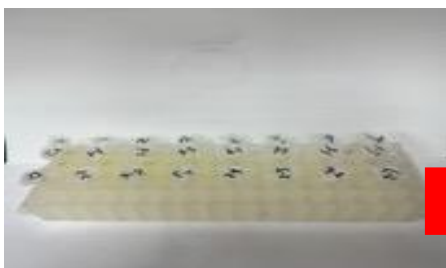


圖 13:製作 AB 液

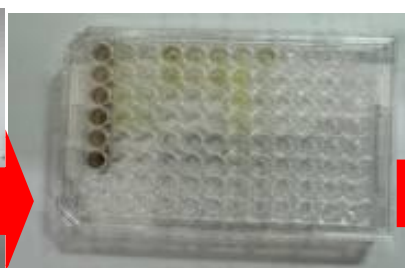


圖 14:依濃度與葛藤混合



圖 15:放入 ELISA 中分析

七、西方墨點法 (Western Blotting)

(一)、實驗基本原理:為利用抗體 (Antibody) 與目標抗原 (antigen) 產生專一結合，再利用二級抗體標記，用以觀察組織中蛋白的表現情形。

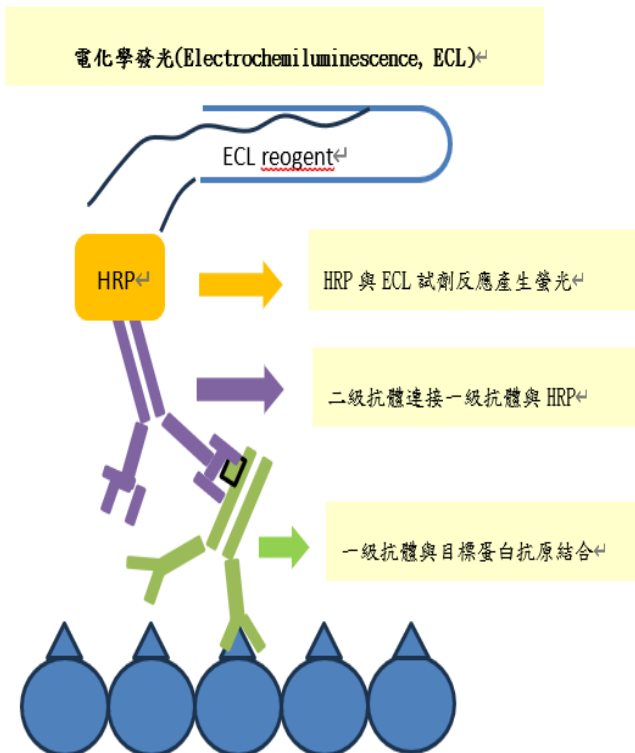


圖 16: 西方墨點法 (western blotting) 原理

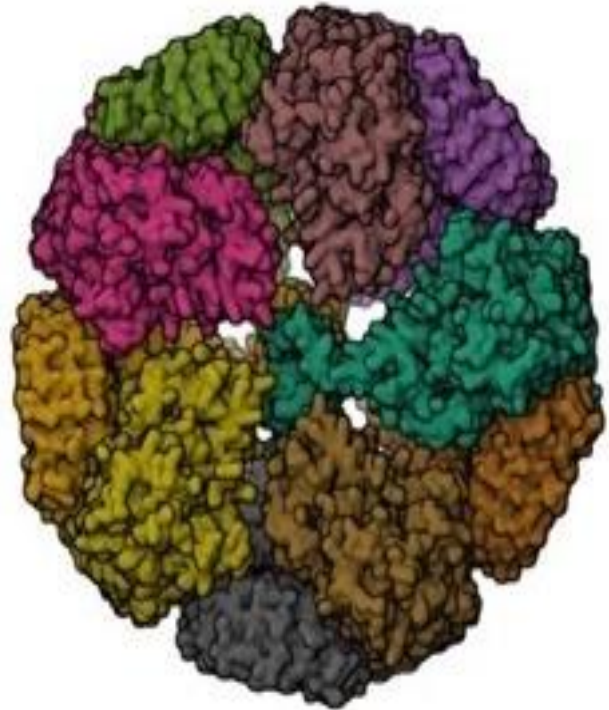


圖 17: NLRP3 立體圖

(二)、NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3, NLRP3

1. 主要大分子結構: LRR、NBD、PYD。
2. 分佈位置: NLRP3 除分佈於免疫系統外也廣泛分佈腦神經、肝臟細胞與肺部組織。
3. 活化原因: 細胞損傷或病原體感染。
4. 誘發發炎方式與位置: FE 可誘發肺部 NLRP3 發炎小體。
5. NLRP3 介紹:

NLR 家族 (NLRP1-14) 是體內免疫反應的一環，NLRP3 會因細胞受到損傷被活化成 NLRP3 發炎小體使 pro caspase 1 活化成 caspase 1 這將近一步刺激 pro-IL-1 β 轉化成發炎因子 IL-1 β ，而 IL-1 β 又會活化免疫細胞並導致發炎使血管通透性增加，而為了分析肺部發炎後葛根素 (puerarin) 是否能有效降低發炎因子的產生，本實驗使用西方墨點法 western blotting 偵測 NLRP3 的表現量。

(三)、肺部組織處理: 大鼠接受 FE 注射四小時後，以 urethane 麻醉後取出肺部組織，存放於攝氏負 80 度的冰箱。



圖 18: 鼠尾靜脈注射



圖 19: 大鼠組織提取

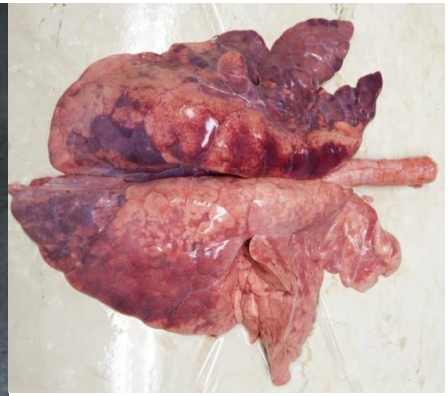


圖 20: 肺部照片拍攝

(四)、製備蛋白質與定量：

1. 取下肺部組織秤重，依照重量加入等比的 Tissue lysis buffer，將組織倒入研磨缸倒入適量液態氮研磨後，在攝氏 4 度下以 12000RPM 45min。
2. 離心後取上層液體 BSA protein assay kit 進行蛋白質標定。



圖 21: 離心樣品



圖 22: 取上層血清

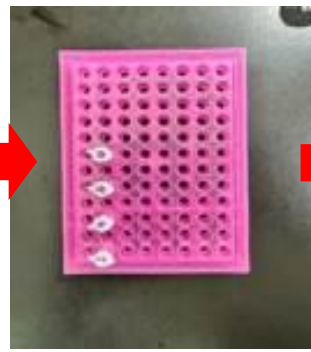


圖 23: 序列稀釋



圖 24: 定量曲線

(五)、蛋白質電泳(SDS-poly acrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)

1. 使用 Laemmli 進行 SDS-PAGE 將蛋白質依照分子量進行分離。
2. 將 10% separating gel 溶液置入凝膠玻璃片中。
3. 將甲醇倒入 separating gel 溶液上層。
4. 凝固後利用去離子水清洗上層甲醇，倒入 stacking gel 並插入齒梳。
5. separating gel 凝固後將齒梳去除，並將膠片放入電泳槽 (Bio-Rad, U. S. A，於電泳槽中注入 running buffer。
6. 再將定量好的蛋白樣本與 5X sample dye 混合。
7. 95 度 5 分鐘進行 denature。
8. 將 sample 注入齒梳所留下凹槽中，以 70V 之電壓進行電泳 1 小時。
9. 電泳結束後，將 gel 從玻璃片中取出，進行轉漬。

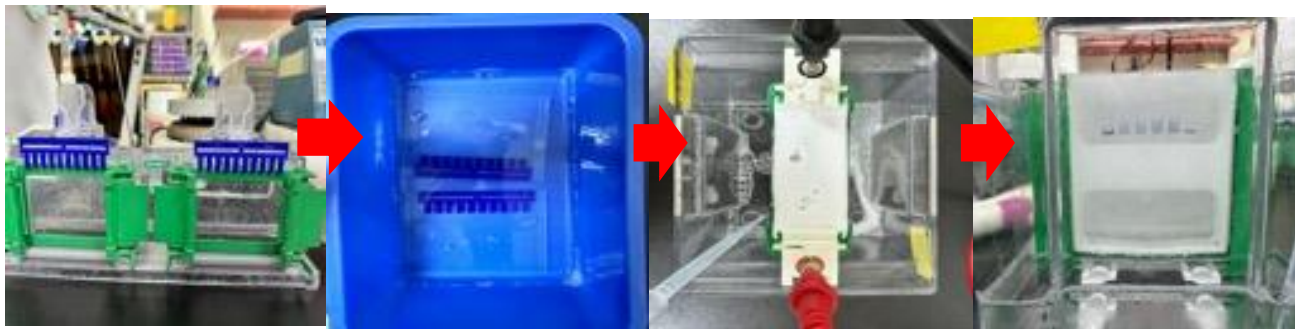


圖 25:製作電泳膠

圖 26:取出靜置

圖 27:樣品滴入

圖 28:進行電泳

(六)、阻斷(Blocking)

1. 將轉漬好的 PVDF membrane，用刀片將待測物取出。
2. 將待測物浸泡於 5%脫脂牛奶中，於室溫下反應 1 小時。



圖 29:三明治法

圖 30:將放入轉漬

圖 31:轉漬

圖 32:泡脫脂牛奶

(七)、免疫呈色法 (Color developing)

1. 用 TBST 清洗 blocking 完的 PVDF membrane 三次 (每次十分鐘)。
2. 將 PVDF membrane 浸泡於以 TBST 配置的一級抗體溶液中存放於 4 度中反應一日，隔日再以 TBST 清洗三次。
3. 將 PVDF membrane 浸泡於以 TBST 配置的二級抗體之溶液，於室溫下 (26 度) 反應 2 小時，再以 TBST 清洗三次。
4. 以 ECL 呈色劑呈色。



圖 33: A/B 液

圖 34:倒入冷光機

圖 35:放入膠片

圖 36:曝光拍照

(八)、機動蛋白(β actin)西方墨點法:

在對 NLRP3 進行西方墨點法實驗之前，我們先進行了 β actin的實驗，作為 NLRP3 的對照組，根據實驗結果能看到四組樣品在 β actin 機動蛋白實驗中均會反應，由此可證實驗樣品均未降解可作為 NLRP3 西方墨點實驗使用。

(九)、NLRP3 西方墨點法

透過西方墨點法實驗中的螢光反應，與組織樣本的照片我們能清楚看到施打 F E 確實能夠誘發老鼠肺部發炎。而根據西方墨點法單純注射葛根素組並沒有螢光反應，也可知腹腔注射葛藤素並不會導致大鼠產生發炎反應。而在注射 F E 誘發大鼠發炎並且腹腔注射葛根素後，進行西方墨點法可發現並無螢光反應，由此可知葛根素能夠降低發炎的產生。

(十)、西方墨點法使用之抗體與稀釋倍率:

1. 一級抗體: Polyclonal rabbit NLRP3 antibody (ABclonal, USA, A5652), 使用濃度 1:3000。
2. 二級抗體: Polyclonal goat anti rabbit IgG antibody (Arigo, Taiwan ARG65351) 使用濃度 1:5000。

八、老鼠實驗方式:

(一)、實驗前提: 進行於光照週期，研究通過國立嘉義大學實驗動物委員會審核與監督。

1. 實驗動物: 選用品系為 Wistar 之成年大鼠，體重控制在 $350\text{g} \pm 50\text{g}$ ，年齡 8~12 週。
2. 實驗動物生長環境控制。

(1). 室內溫度維持在攝氏 24 ± 1 度。

(2). 濕度控制並維持在 $40 \pm 3\%$ 。

(3). 光週期 12 小時。

(4). 單日飲食克重未限制。

3. 發炎誘發模式。

(1). 將選定 $350\text{g} \pm 50\text{g}$ 大鼠用 pentobarbital (45mg/kg) 進行麻醉。

(2). 將麻醉後的大鼠鼠尾放入溫水中 20 分鐘。

(3). 將誘發發炎之藥劑 F E 取 0.2nl 以鼠尾靜脈注射法進行注射。

(4). 依照實驗組的不同進行大鼠犧牲，藥劑皆使用 urethane (1g/kg)。

4. 實驗組

(1). 控制組: 手術，但不注射 F E 與三裂葉葛藤萃取物。

(2). 發炎組: 注射發炎藥劑後 4 小時進行手術。

(3). 治療組：發炎後持續給予萃取物三日後給予手術。

九、奧氏黏度計:

(一)、計算原理:

奧氏黏度計可用於計算液體的黏性係數，透過計算混有葛根素後的血液可以進一步讓我們得出血液黏性係數，以利我們了解葛根素對血液性質的影響。

(二)、計算黏度計常數:

須先計算出K常數才能計算待測液體的黏性係數，透過以下方程式可得出K常數， η = 已知液體黏度 (Pa) ρ = 液體密度 (g/ml) t = 液體由較高刻度 (E) 流到較低刻度 (F) 所需的時間 (S)。

$$k = \frac{\eta}{\rho \times t}$$

(三)、求解運動黏度:

流體運動黏度(v)與牛頓黏度計算—選擇一毛細管黏度計，使其流動時間 t 不得小於200秒，其運動能應校正且應低於1%。若黏度常數 k 已知，按照下列公式由流動時間 t (以秒為單位) 計算運動黏度 v (m^2/s) : $v = k \times t$ 。

(四)、求解牛頓黏度:

若於黏度測定溫度下流體之密度已知，則按照下列公式計算牛頓黏度 η : $\eta = v \times \rho$ 。

(五)、奧氏黏度計算:

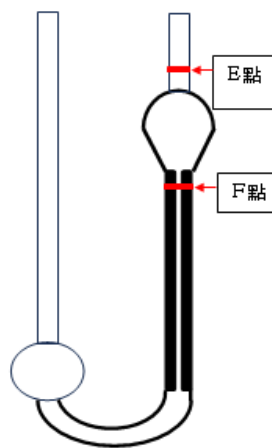


圖 37: 奧氏毛細黏度計

1. 奧氏黏度計算:

表 2: 奧氏黏度計計算結果 (n=3)

牛頓黏性係數(Pa)	第一次	第二次	第三次	平均(大約)
未施打葛根素	0.33	0.36	0.35	0.35
施打葛根素	0.51	0.49	0.50	0.50

2. 計算結果：

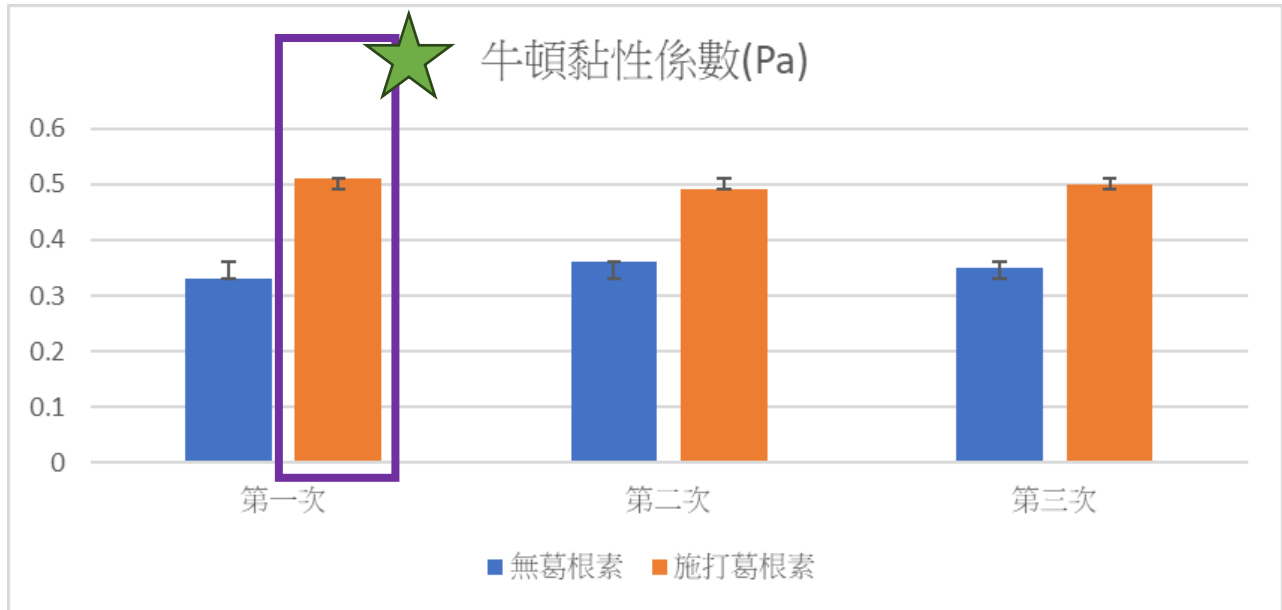


圖 38: 奧氏黏度計計算牛頓黏性係數之長條圖

3. 結果說明：

透過計算牛頓黏性係數我們發現當葛根素存在於血液中時會導致血液的黏稠度上升至 5 Pa，而未施打葛根素的老鼠血液透過計算後比施打葛根素的老鼠血液牛頓年性係數低 1.5Pa，大約為 3.5Pa。

十、計算流體力學 C F D (computational Fluid Dynamics)：

(一)、實驗原理：為了了解葛根素 (puerarin) 在血管中改變血液的黏滯性 (Viscosity) 是否影響了葛根素對抗發炎的效益，因此，我們使用流體力學對血管內紊流模型 (Turbulence Model) 與邊界層 (Boundary Layer) 分離等現象進行模擬實驗以探討其抗發炎的效益。

(二)、流體流態理論。

流體的流動可分為三種：(1)第一種為層流(Laminar flow)所示 $\partial v / \partial t = 0$ 為二維定常且不可壓之流體型態，其中層流的流體運動各部分層流動互不摻混，質點與質點的軌跡線是光滑的，且速度方向不隨時間改變。(2)第二種為紊流(turbulence)所示 $\partial v / \partial t \neq 0$ 紊流運動極不規則，各部分激烈摻混，質點的軌跡雜亂無章，且速度方向會隨時改變，而流體由層流(Laminar flow)變成紊流(turbulence)是一個漸進的過程，(3)第三種為介於層流與紊流之間的流態，稱為轉捩區流 (transition flow)，而本科展的控制場環境因在血管內可假定流體為不可壓縮流，流體由層流轉化為紊流是屬於流體動力穩定性理論(hydro dynamical stability theory)中的條件穩定，即為只考慮

黏滯性情況的臨界雷諾數,而本研究中的血管流場臨界雷諾數值 Re 約= 1×10^5 。

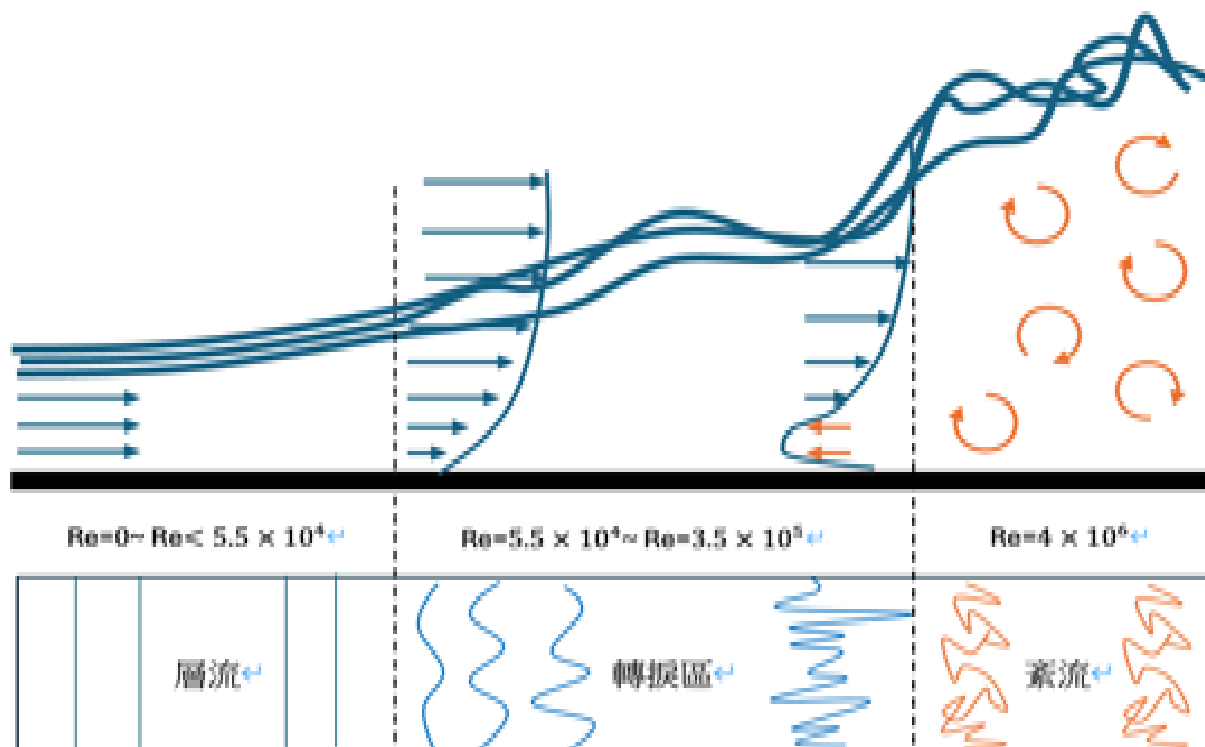


圖39:流體流態變化圖

(三)、擾動對流體產生的影響。

擾動越大越容易發生轉捩,對於邊界層流動來說,擾動來源於兩個方面。一個是來自血壁面的振動和起伏度對流動的擾動。另一個來自邊界層外自由流動的血液,自由流動可以有壓力波 (pressure wave)或速度波動(velocity perturbation) 而本研究中我們著重分析血管壁面的起伏程度與自由流(free flow)的速度波動(既葛根素對血管壁面與血液黏稠度的影響)。

(四)、計算流體力學軟體。

流體運動常常是隨時間做改變的,手算這些數據往往不能夠讓我們有效地知道當下流體的變化量,因此我們透過將西方墨點法 (western blotting) 與老鼠實驗中所收集到的數據帶入模擬軟體計算模擬葛根素對血液流體力學的影響,本實驗使用的計算流體力學軟體為 ANSYS Fluent與Gambit。

(五)、研究公式:

任何流體的流動規律都是以三個定律為基礎,即質量守恆、動量守恆、能量守恆,這些基本定理可以由數學公式進行描述,如以下納維-斯拓柯斯方程 (Navier-Stokes equations) 簡稱N-S方程:

$$\rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + (v \cdot \nabla) v \right) = -\nabla p + \mu \nabla^2 v + f$$

透過計算N-S方程可以求解0.3馬赫以下流體的紊流模型，然而直接求解二階非線性偏微分方程的N-S方程式過於複雜，公式中具有太多的未知數，所以我們透過N-S方程可以進一步推導出便於計算的流體模型

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial p}{\partial t} = \nabla \cdot (\rho v) = 0 \\ \frac{dv}{dt} = f - \frac{1}{\rho} \nabla p + \frac{\mu}{\rho} \nabla^2 v + \frac{1}{3} \frac{\mu}{\rho} \nabla (\nabla \cdot v) \\ \rho \frac{d \left(\mu + \frac{v^2}{2} \right)}{dt} = \rho f p \cdot v + \nabla \cdot (\lambda \nabla T) + \rho q R \\ p = \rho R T \text{ or } \rho = \text{constant} \end{array} \right.$$

雷諾應力與紊流模型(Reynolds stress and turbulence model)

N S 方程可用於直接求解層流與紊流模型，但相對層流，紊流的求解會更加複雜，因此我們在對紊流模型進行求解時會使用Flunet還有CFX附加方程進行求解，兩種方程都是對雷諾方程（Reynolds-averaged Navier-Stokes, RANS）進行時均速與均壓進行求解：

$$\bar{u}(y) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^T u(y, t) dt$$

而這種求解要求雷諾方程的封閉性，設模擬血管為直徑2R管道，求時均 $\bar{u}(y)$ 我們血管模型的雷諾方程(RANS)與邊界條件(Boundary conditions)變為：

$$\begin{array}{l} \text{RANS: } \frac{d\bar{u}'\bar{v}'}{dy} + \frac{1}{\rho} \frac{d\bar{u}}{dx} = \nu \frac{d^2\bar{u}(y)}{dy^2} \\ \text{Boundary conditions } \left\{ \begin{array}{l} \frac{d\bar{u}}{dy} = 0, y = 0 \\ \bar{u} = 0, y = R \end{array} \right. \end{array}$$

(六)、研究軟體:

CFD computational Fluid Dynamics

Gambit



圖 40: Gambit 操作頁面

1. 繪製模型圖樣。
2. 繪製流場網格。
3. 定義控制體狀態與流場參數。

ANSYS Fluent



圖 41: ANSYS 啟動頁面

1. 定義模擬環境參數。
2. 分析量化流場紊流等參數。
3. 繪製出流場變化圖表。

肆、預期結果

一、探討不同煮沸時間對於葛根素萃取的影響。

(一)、實驗結果科學作圖：

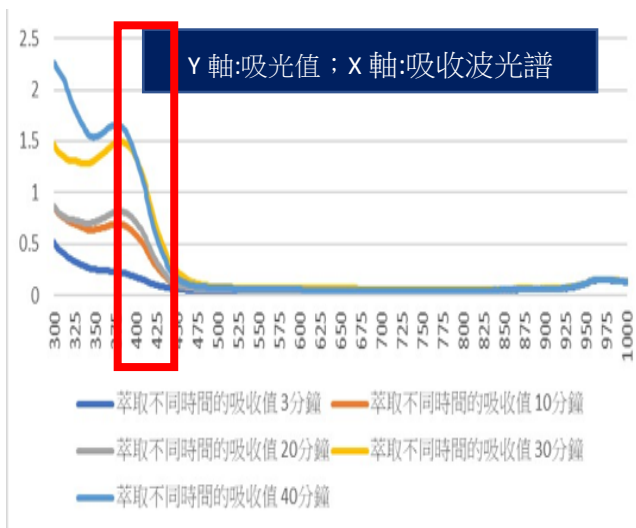


圖 42: 三裂葉葛藤葛根素分光光度計分析

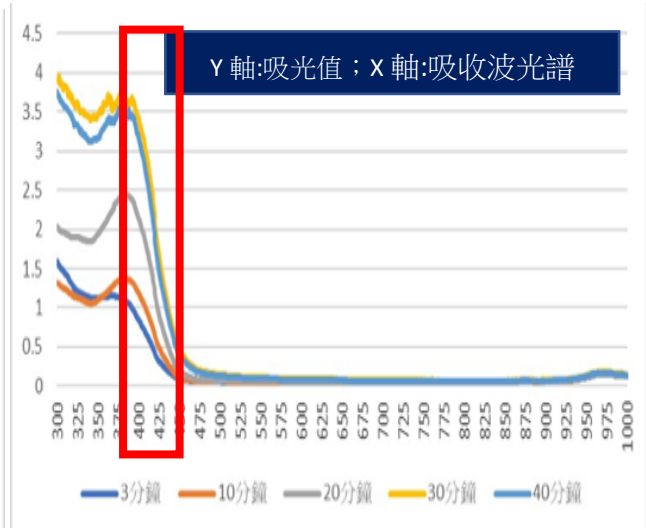


圖 43: 台灣葛(vici)葛根素分光光度計分析

(二)、結果說明：

我們查找文獻發現葛根素的波長位在 415 的位置，而我們為了找出葛根素最佳萃取時間針對不同葛藤植物進行 3、10、20、30、40 分鐘的萃取，再透過分光光度掃描全波長

(300~1000nm)，我們發現萃取至 30、40 分鐘的數值相近，因此我們選用萃取 30 分鐘中的葛藤進行實驗。

二、探討不同種類植物(三種葛藤及民俗植物)抗氧化能力(自由基清除能力 DPPH⁺)影響。

(一)、實驗結果科學作圖：



圖 44: 不同種類植物(三種葛藤)DPPH 抗氧化能力結果

(二)、DPPH 抗氧化能力根、莖、葉作圖：

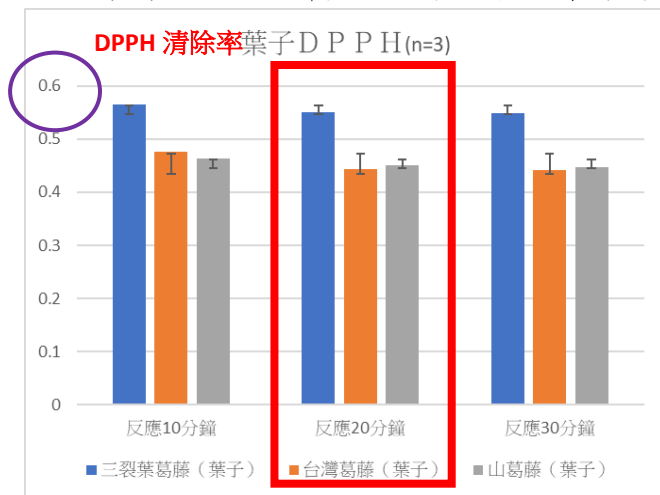


圖 45: 不同葛藤葉抗氧化能力

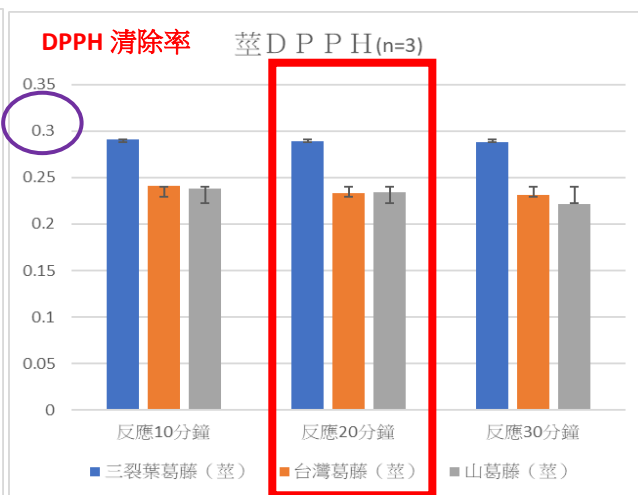


圖 46: 不同葛藤莖抗氧化能力

(三)、結果說明：

1.DPPH 抗氧化能力:三葉裂葛藤>月桃(排灣族民俗植物)>台灣葛>山葛>大花咸豐草>

五節芒(鄒族特殊民俗植物)。

2.三葉裂葛藤抗氧化能力最佳。

3.DPPH 抗氧化能力時間:20 分鐘=30 分鐘>10 分鐘，可知 20 分鐘為反應終點

4.DPPH 清除率:葉>根>莖；品種:三裂葉葛藤>台灣葛=山葛。

5.DPPH 清除率公式:

$$\frac{\text{反應後測試樣的電流值}-\text{反應 0 分鐘時樣品的電流值}}{\text{空白組電流值}-\text{反應 0 分鐘時樣品的電流值}} \times 100\%$$

三、探討不同種類植物(三種葛藤)鈣離子濃度影響。

(一)、實驗結果科學作圖:

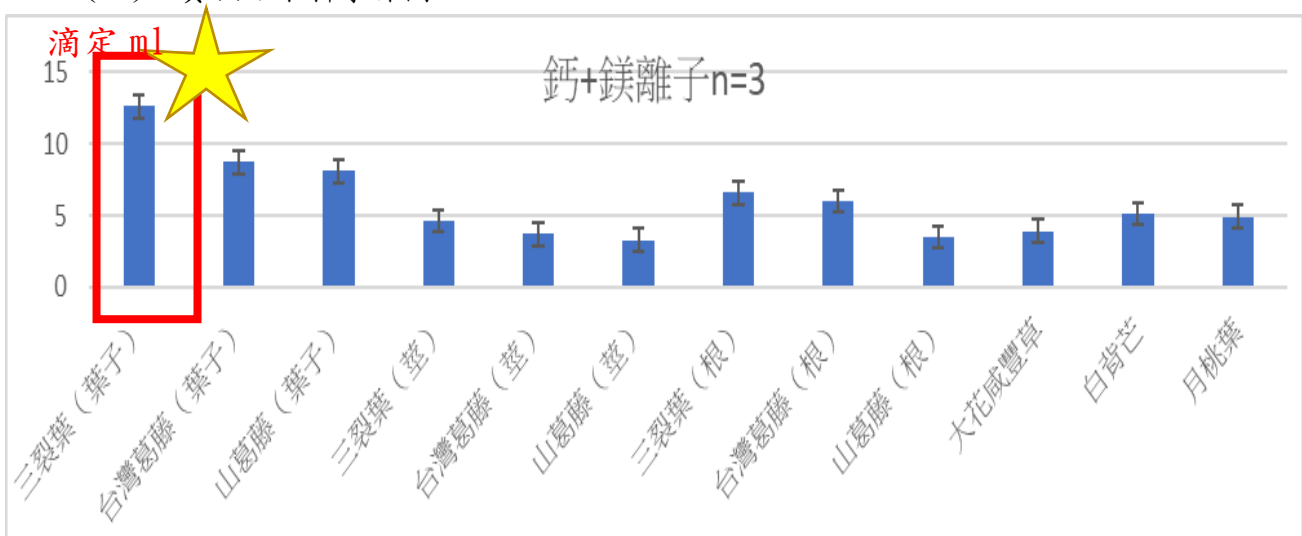


圖 47:不同種類植物(三種葛藤、不同部位)鈣離子滴定消耗溶液量 ml

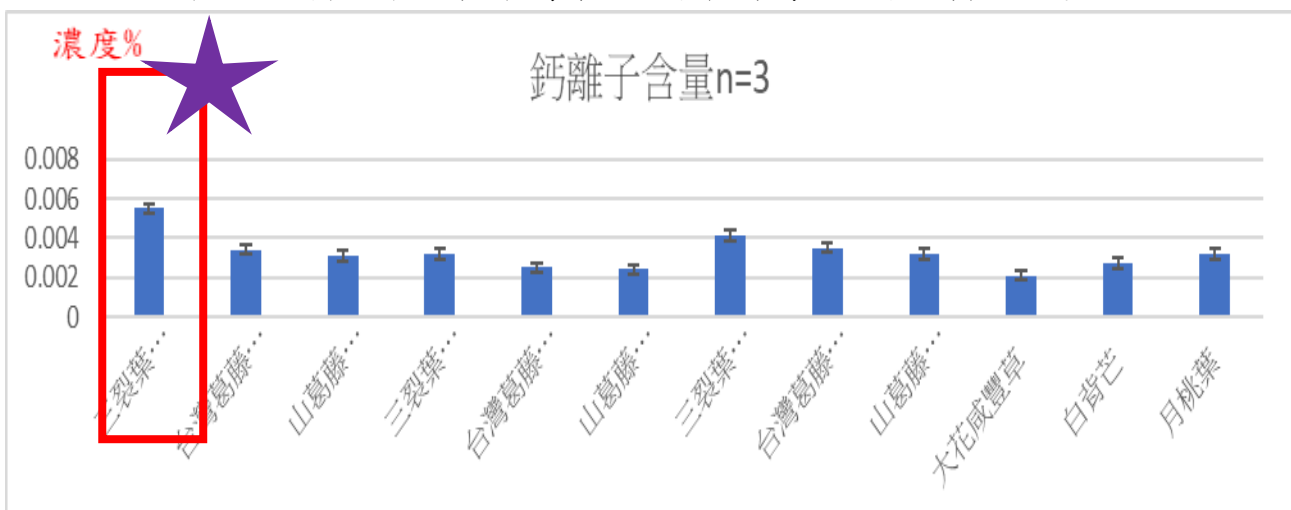


圖 48:不同種類植物(三種葛藤、不同部位)鈣離子濃度

(二)、結果說明:

1. 物種:三裂葉葛藤>月桃>台灣葛>山葛藤>白背芒>大花咸豐草。

2. 部位: 葉>根>莖；種: 三裂葉葛藤>台灣葛=山葛。

四、探討三裂葉葛藤浸不同鹽酸濃度(胃酸效果)對葛根素影響。

(一)、實驗結果科學作圖:

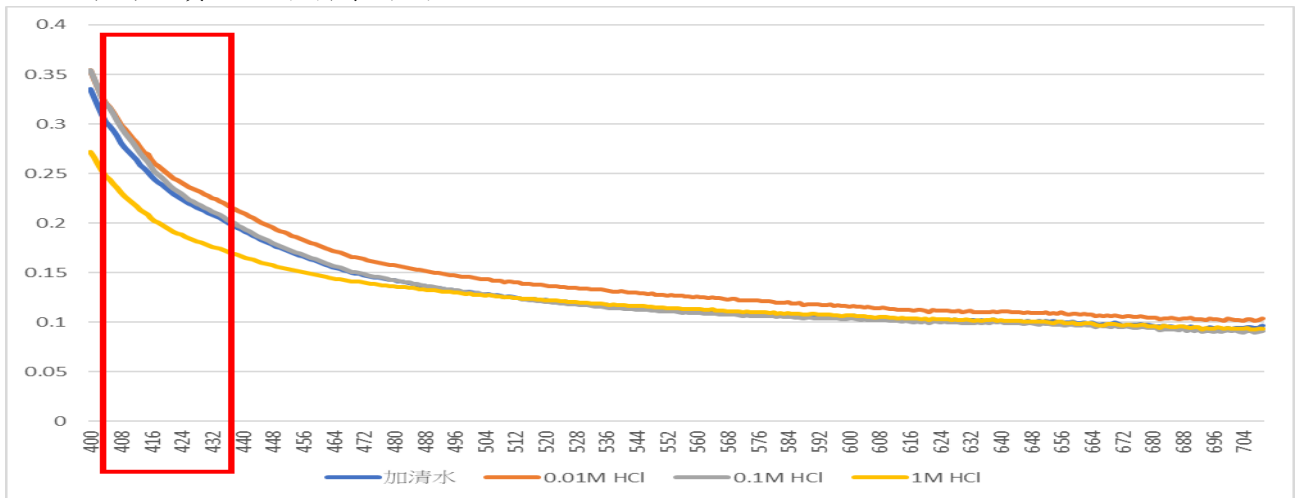


圖 49: 三裂葉葛藤浸不同鹽酸濃度(胃酸效果)葛根素成果

(二)、結果說明: 葛根素在與鹽酸反應 1 小時(1hr)候: 0.01M 與 0.1M 並無差異, 1M 確有明顯下降, 可見使用葛藤需要配水。

五、老鼠組織切片觀察實驗結果

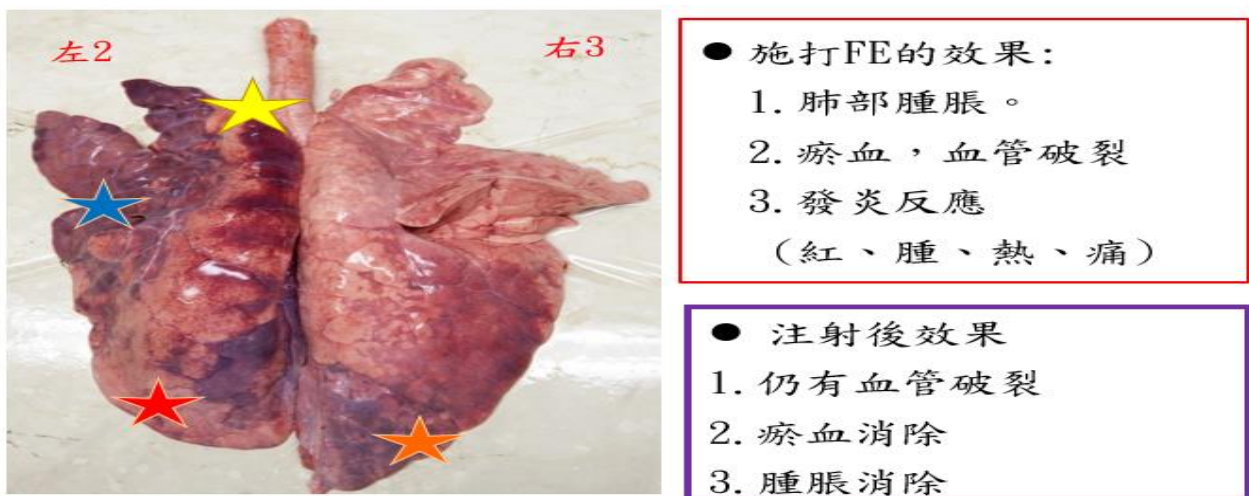


圖 50: 單純施打 FE 的老鼠肺臟

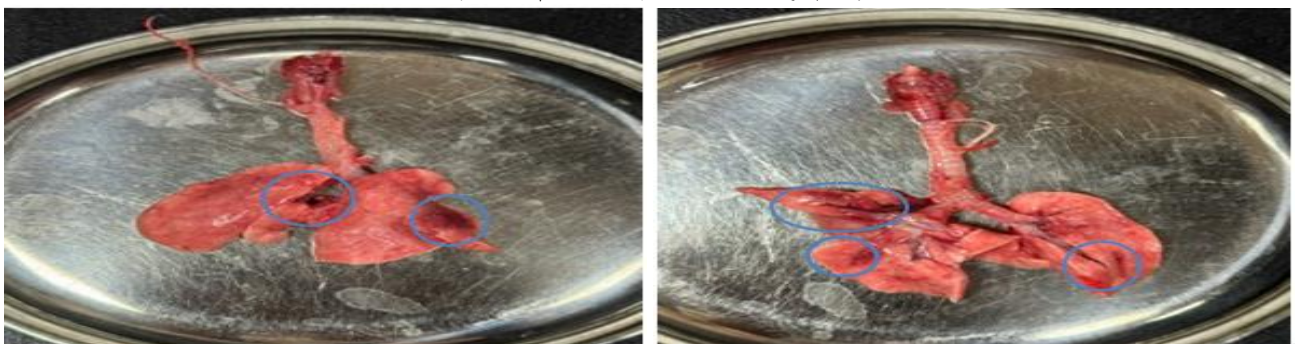


圖 51: 施打三裂葉葛藤萃取液於腹腔後照片((右: 背面; 左: 腹面))

六、利用西方墨點法 (Western Blotting) 腹腔注射進發炎成年大鼠，分析其抗炎之效益及肺部組織觀察。

(一)、實驗結果科學作圖：

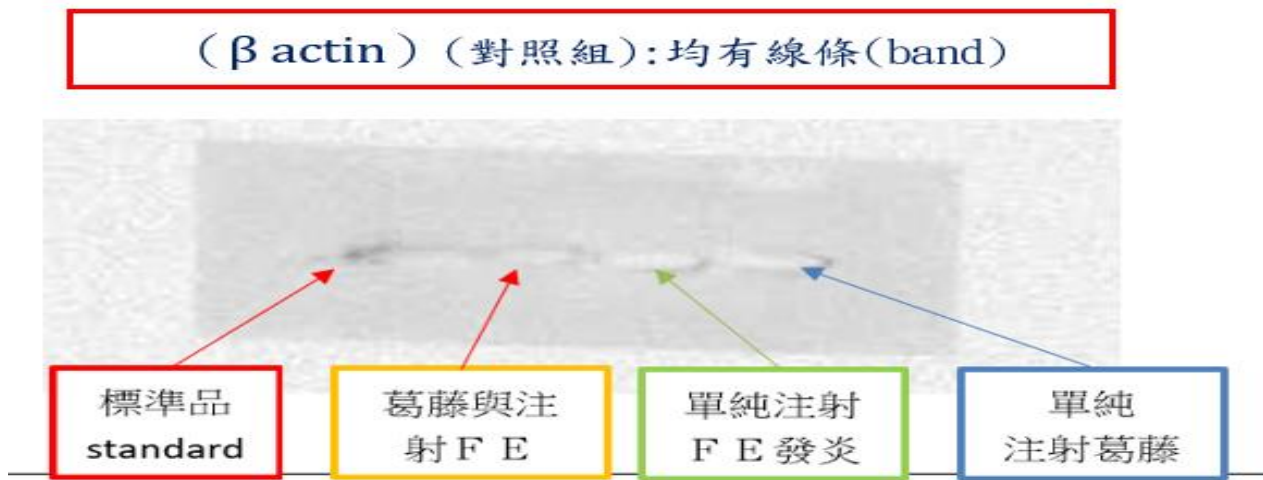


圖 52: 西方墨點法__機動蛋白 (β actin)



圖 53: 西方墨點法__發炎因子 NLRP3(第二次實驗)



圖 52: 西方墨點法__機動蛋白 (β actin) (第二次實驗)

七、綜合實驗數據，使用流體力學模擬軟體 Computational Fluid Dynamics (CFD) 分析葛根素對血液流動之影響。

(一)、導入流體力學相關知識

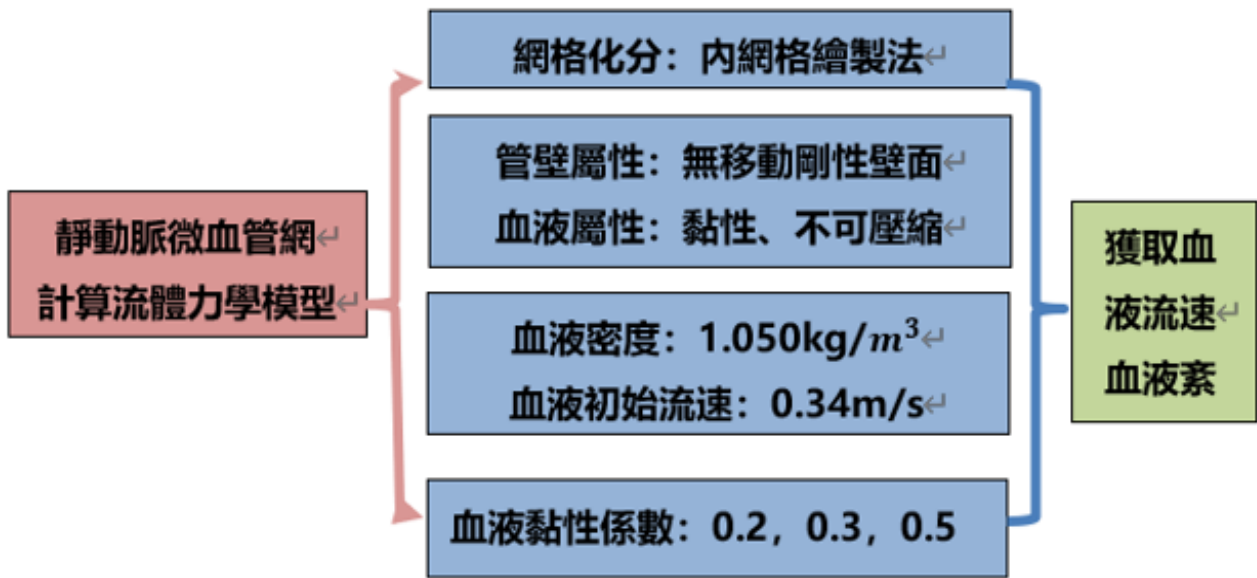


圖 54: 葛藤影響血液黏滯性導入流體力學相關知識

(二)、實體實驗導入流體力學進行模擬策略

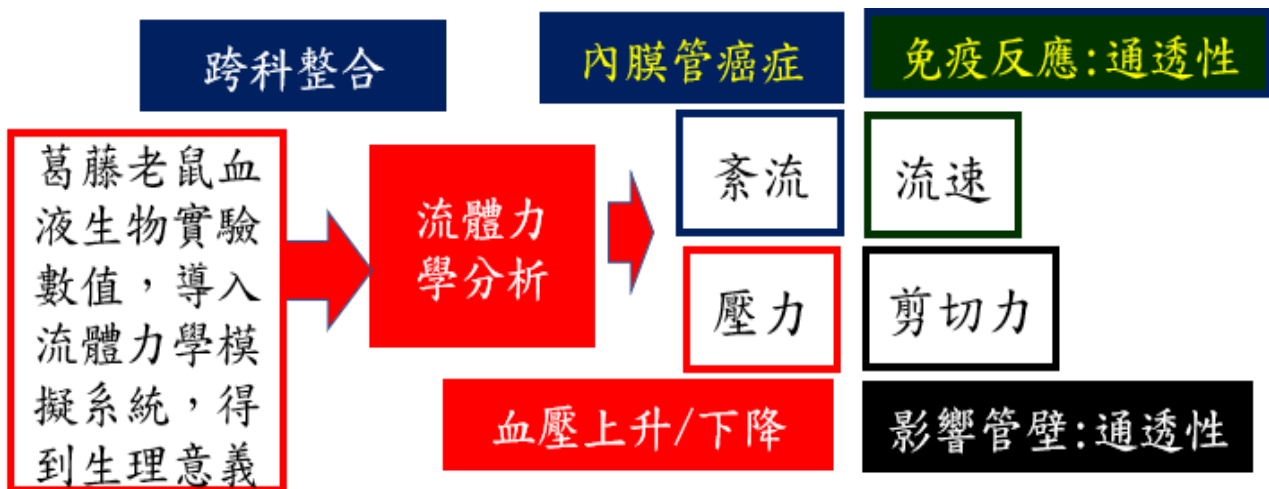


圖 55: 實體實驗導入流體力學進行模擬策略

(三)、葛藤影響老鼠血液內部流體力學:(壓力)反應結果

下列圖表為依據我們實體實驗測量大鼠血液牛頓黏性係數後，進行 0.35Pa 與 0.5Pa 血液黏性模擬分析圖，模擬實驗中我們的血管模型主要是以微血管為控制場，我們將分析分為五區進行數據量化。

1. 實驗作圖：

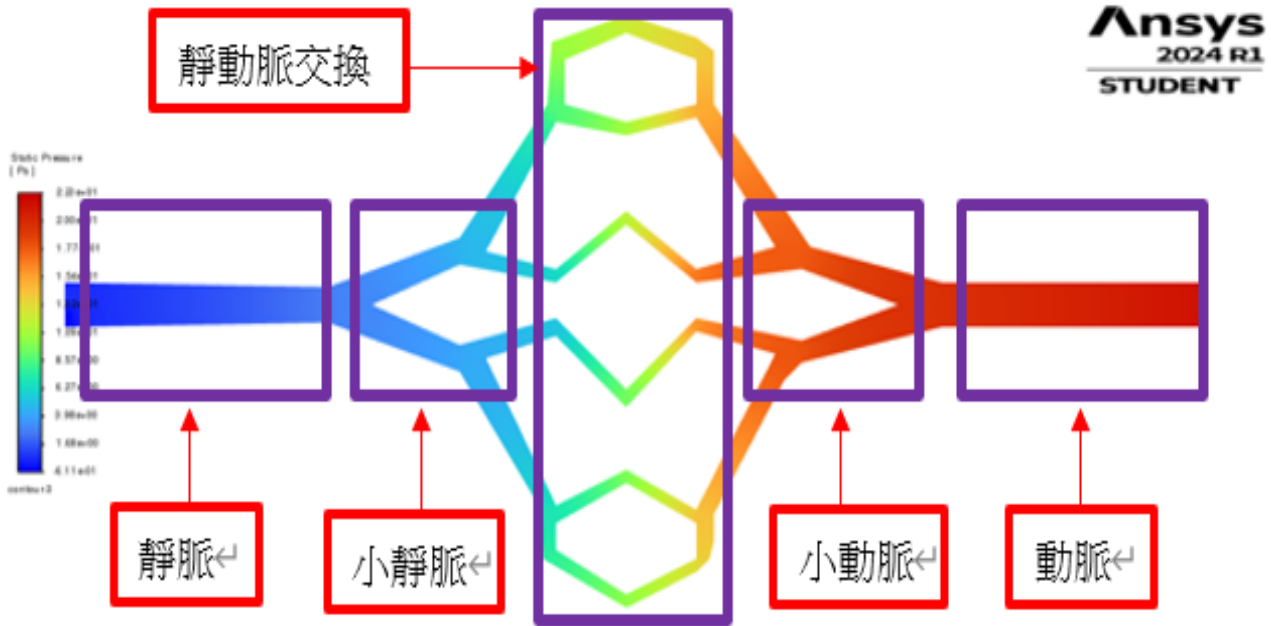


圖 56:未施葛藤萃取液壓力值



圖 57: 施打葛藤萃取液壓力值

【圖 56 比較圖 57 說明】

由微血管內壓力圖分析我們可以發現動脈部分的壓力較靜動脈交換區與靜脈更高，這符合動物內血管壓力的真實分佈，我們也能看到管內在靜動脈交換區有較高的壓力梯度，這對應著在靜動脈區血液在較短的距離與時間內降速。

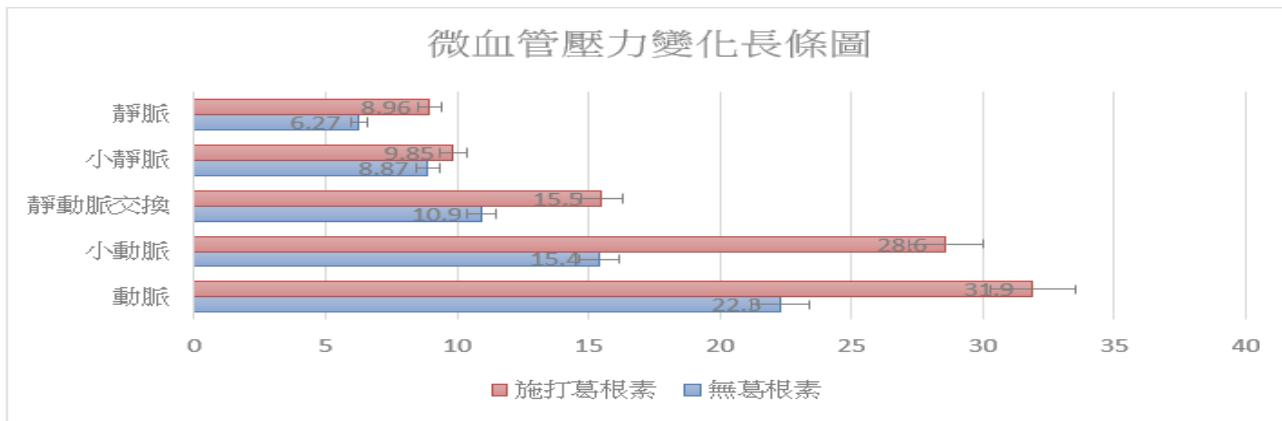


圖 58:施打與未施打葛藤微血管內壓力 (Pa) 長條圖

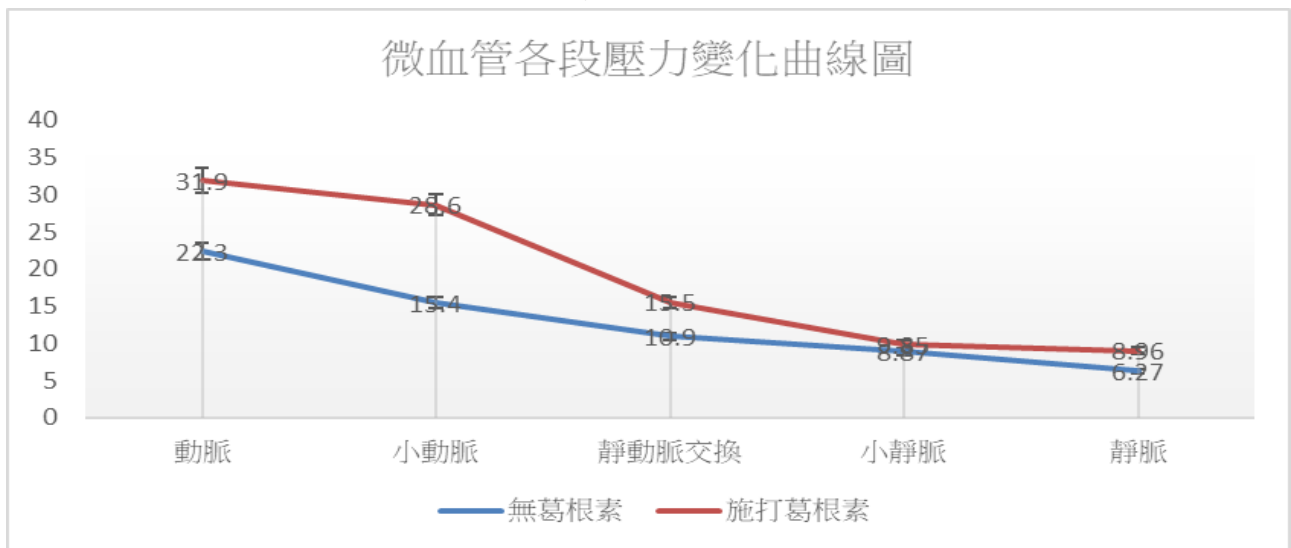


圖 59:施打與未施打葛藤微血管內壓力 (Pa) 折線圖

2. 結果說明:施打葛根素後,於模擬圖讀出數值發現:各種血管(動脈、靜脈、微血管)壓力均上升。

(四)、葛藤影響老鼠血液內部流體力學:紊流反應結果

1. 實驗作圖:



圖 60:未施打葛藤流體力學紊流值

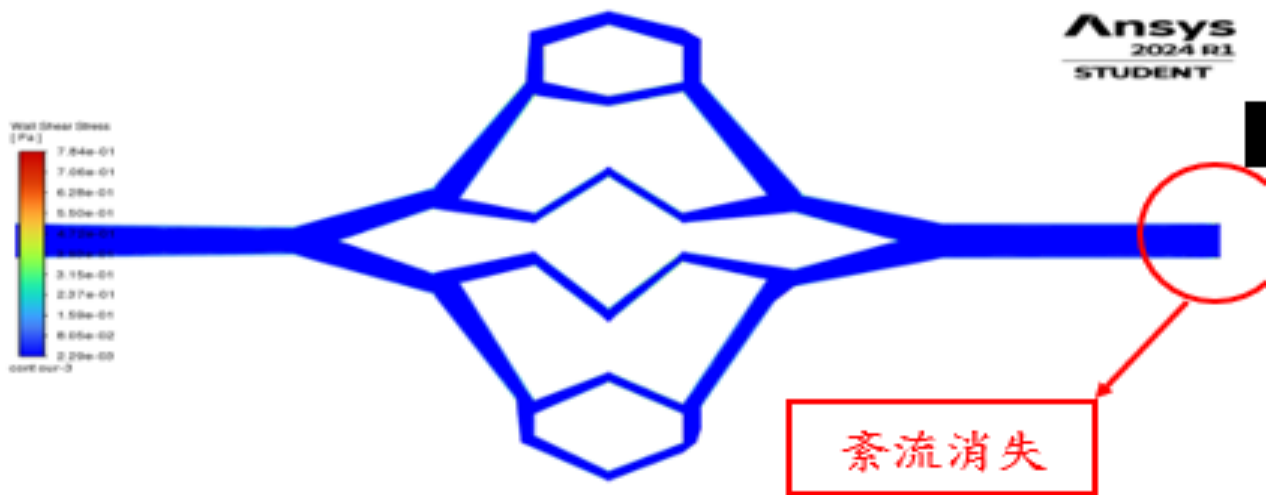


圖 61:施打葛藤流體力學紊流值

【圖 60 比較圖 61 說明】

我們可以透過紊流模擬圖發現不管位於哪部分，紊流數值都是極低的，根據流體穩定性理論設管壁為兩無限延伸之平板，且平板之間空隙足夠狹小則流體趨向層流穩態，但在微血管動脈前段有一小塊紊流產生這會增大血液與血管壁面的摩擦進而增加血管內膜炎症的可能性與嚴重性。

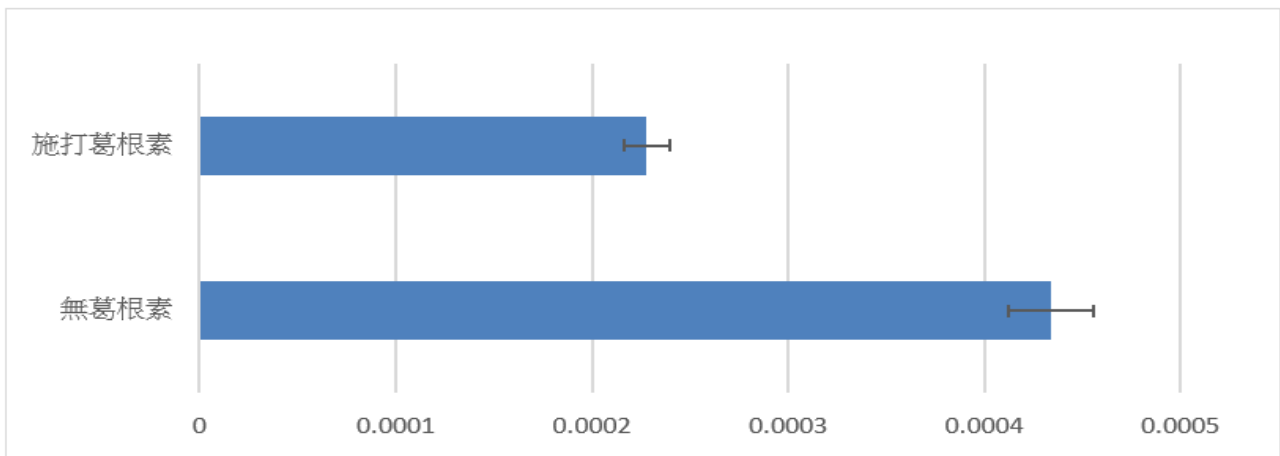


圖 62:施葛藤前後微血管紊流強度 (m^2/s^2) 長條圖

2. 結果說明:

- (1). 施打葛根素後，於模擬圖讀出數值發現:各種血管(動脈、靜脈、微血管)紊流均減少。
- (2). 紊流的降低能減少流體與血管壁面的摩擦，進而減少血管內膜炎症(心血管疾病、心臟病、紅血球的破壞)的發生(嚴仁鴻， 2015)。

(五)、葛藤影響老鼠血液內部流體力學:流速反應結果

1. 實驗作圖:

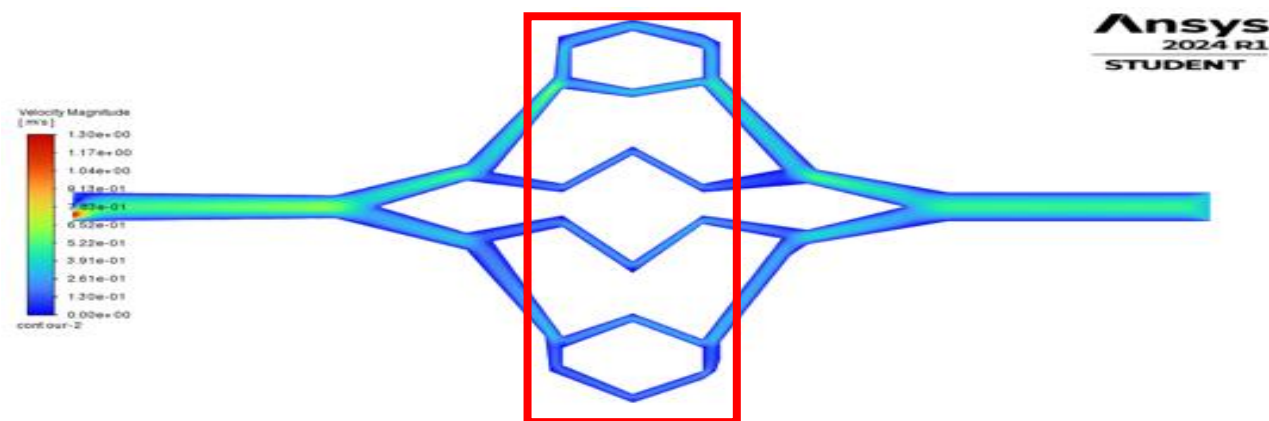


圖 63:未施打三裂葉葛藤萃取液流體力學流速值



圖 64:未施打三裂葉葛藤萃取液流體力學流速值

【圖 63 比較圖 64 說明】

我們可以透過微血管內流速圖發現，靜動脈交換區之血液流體流動速度是相對較慢的，這符合我們前面在壓力圖中看到的結果，及壓力梯度較大，而根據伯努力原理。

$$\frac{1}{2}\rho v^2 + \rho gh + P = \text{constant}$$

當壓力越大時流速因當跟著減小，但我們可以看到在這張模擬圖中壓力減小的同時流速跟著減小，原因是因為這裡的壓力變化不完全來自於血液本身的流速變化，還有管壁不斷縮小，造成血管內控制體面積縮小，導致因連續流理論中的單位時間內通過控制體的流量需保持相同所以流速在此減緩了。

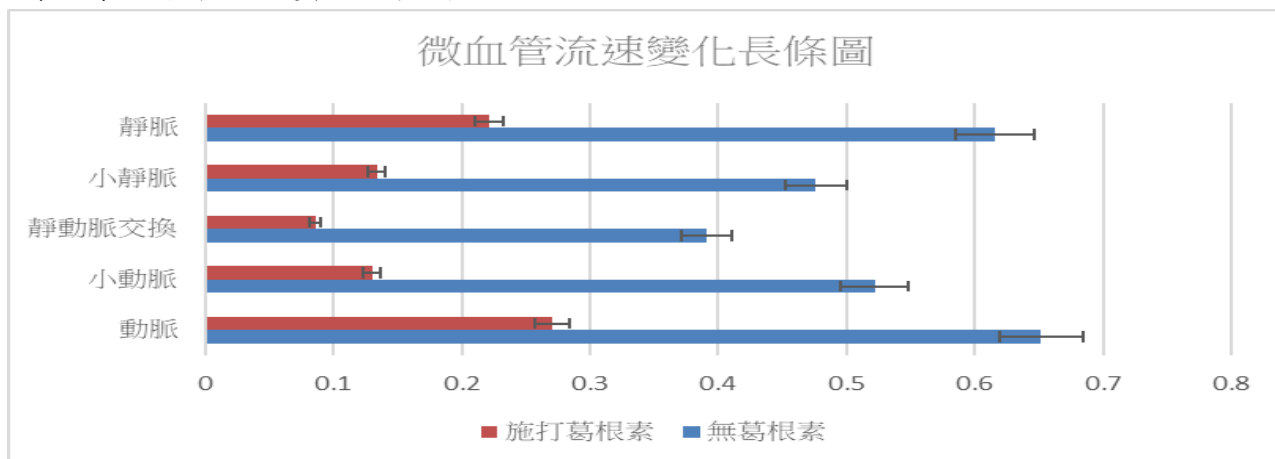


圖 65:施打/施打葛藤之微血管內流速 (m/s) 長條圖

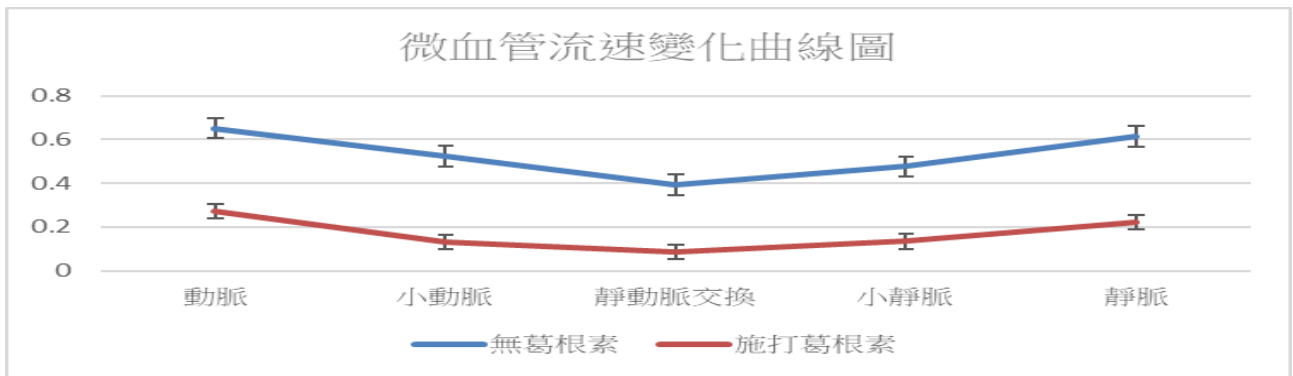


圖 66:施打/施打葛藤之微血管內流速 (m/s) 折線圖

2. 結果說明:施打葛根素後,於模擬圖讀出數值發現:各種血管(動脈、靜脈、微血管)流速均下降。

(六)、葛藤影響老鼠血液內部流體力學:剪切力反應結果

1. 實驗作圖:

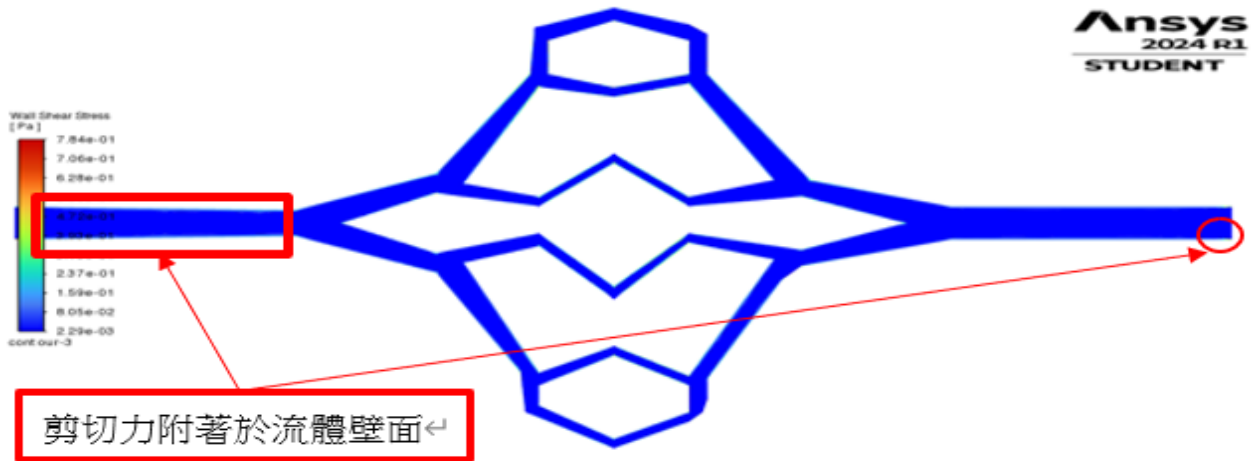


圖 67:未施打三裂葉葛藤萃取液流體力學剪切力值

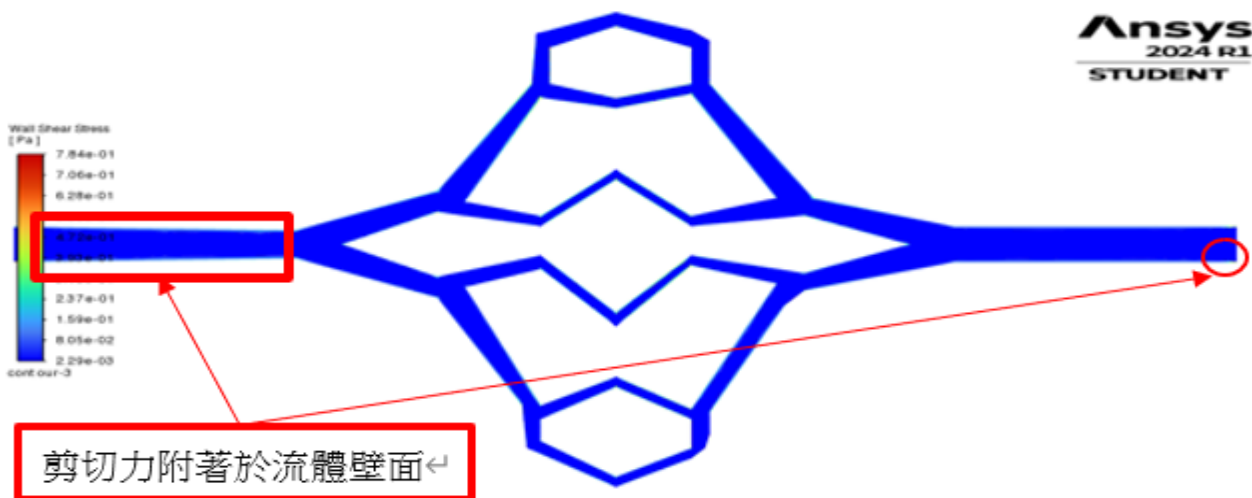


圖 68:施打三裂葉葛藤萃取液流體力學剪切力值

【圖 67 比較圖 68 說明】

我們可以看到因為流體牛頓黏性的增強，血管管壁上的摩擦被有效減少了，代表在垂直法向上血液中不同的層段的流體，因相互碰撞產生的摸擦變小，葛根素能有效減緩血管內的流體速度與摩擦力，幫助抗發炎與減緩發炎的效益。

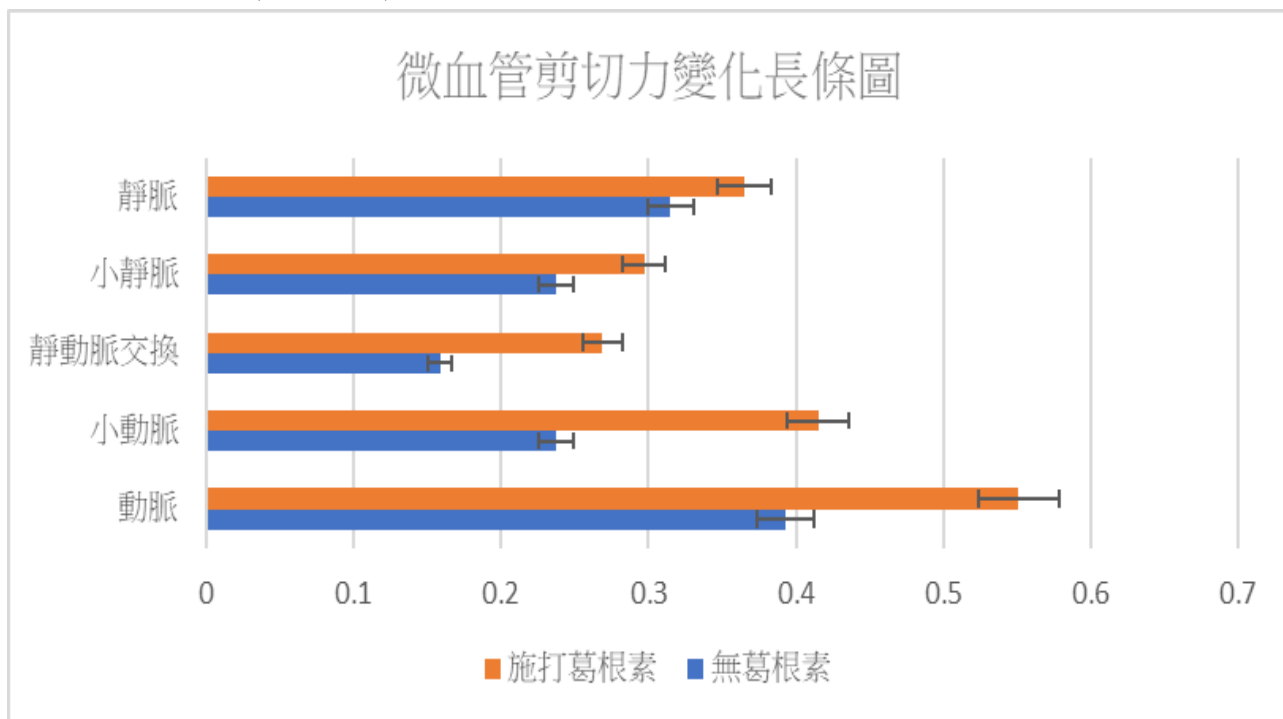


圖 69: 未施打/施打葛藤之微血管內剪切力 (Pa) 長條圖

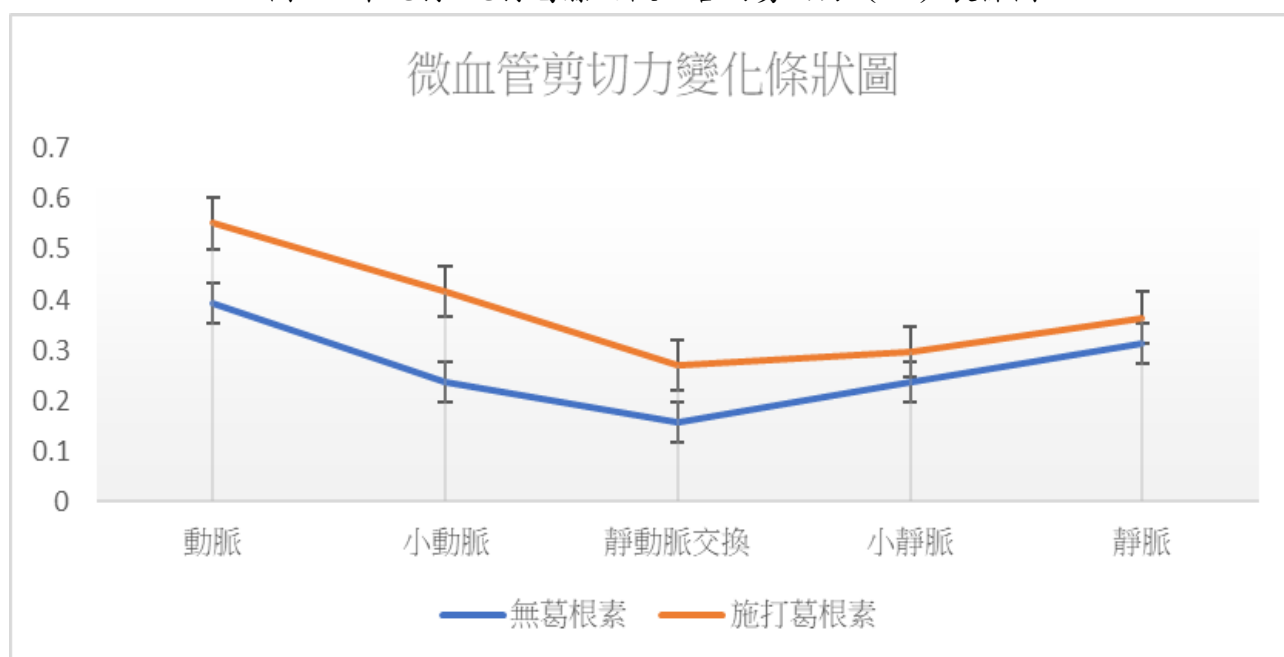


圖 70: 施打葛藤與未施打葛藤之微血管內剪切力 (Pa) 曲線圖

2. 結果說明: 施打葛根素後: 各種血管(動脈、靜脈、微血管)壁面摩擦力均下降。

模擬圖因為有顏色差異分層，代表的數值都是相對強度的關係，因此透過搭配數值分析能更進一步統整並比較，由以上的長條圖與條狀圖我們能更直觀的分析模擬圖中施打葛藤素與未施打葛藤素的血管內變化：

1. 紊流強度分析

- (1). 施打葛根素後能有效降低紊流強度。
- (2). 施打葛根素後能有效減少紊流的分佈。

2. 微血管壓力變化分析

- (1). 施打葛根素後的血液比起未施打葛根素壓力上升。
- (2). 在微血管動脈、小動脈、靜動脈交換處施打葛根素的血流壓力與未施打葛根素的血流有較大的差異。

3. 微血管流速變化分析

- (1). 施打葛根素的微血管流速每段都有所下降尤其在靜動脈將換段，施打葛根素與未葛根素的流速由 0.4m/s 變為 0.09m/s。

4. 微血管剪切力變化分析

- (1). 施打葛根素的剪切力強度有更好的減弱。
- (2). 施打葛根素的剪切力分佈範圍得到更好的減少。

伍、研究結論

一、依據服用鄒族葛藤，進行分光光度計掃描全波長，並利用試劑檢測類黃酮量(波長=415)的最佳配方，統整如下:

1. 煮沸最佳時間為 30 分鐘；葉子克數最佳為 10 克/2400ml 水；使用部位為:葉>莖>根
2. 效果最佳為:三裂葉葛藤>葛藤>山葛，因此最佳使用的為三裂葉葛藤。

二、DPPH 抗氧化實驗檢測，其結果為:

1. 三裂葉葛藤>月桃>葛藤>山葛，最佳部位為:葉>根>莖。
2. 煮沸時間為:40 分鐘=30 分鐘>>20 分鐘>10 分鐘>3 分鐘，與月桃數值類似(排灣族植物)。

三、依據鈣離子檢測，我們發現葛藤跟其他植物的比較，結果如下:

1. 鈣離子比較:三裂葉葛藤>葛藤>山葛>>月桃>大花咸豐草。
2. 鈣離子部位比較:葛藤嫩葉>>葛藤葉>葛藤莖>葛藤根。

四、依據西方墨點法及老鼠活體實驗，可以得到幾下結果:

1.鄒族葛藤真的可以有效降低老鼠肺細胞的發炎反應。

2.葛藤可以降低發炎反應，在肺細胞的組織切片及西方墨點法實驗中，均可以被證實。

五、依據以上實驗，我們發現葛藤真的具有抗發炎的生理意義，因此進行電腦模擬血管內實驗，模擬葛藤從動脈進入微血管，再從微血管流出靜脈的過程，發現以下結果:

1.葛藤汁液實際可以增加血液黏滯性:從 3.5pa 增加到 5pa。

2.從血管的流速、血壓及血液紊流圖中，可以發現:

(1). 葛藤可以減少流速。

(2). 葛藤可以增加血壓。

(3). 葛藤可以減少血液中的紊流。

(4). 葛藤可以減少血管中的剪切力。

陸、研究討論

綜合西方科學實驗與原住民族醫學脈絡，可以發現原住民族的中草藥醫學知識均可以被西方醫學證實，但原住民族的耆老知道口服用法，但西方醫學提供數據加以支持，兩種文化醫學脈絡，應該相符相乘，可以促進台灣醫療升級的效果。

有眾多鈣離子卻抑制鈣離子通道的鄒族葛藤，依據我們的實驗發現，葛藤的葉子內部具有許多鈣離子，同時我們也發現鈣離子可以促進血液物質的交換(圖 71、圖 72)，查詢文獻後發現，葛根素可以抑制細胞內的鈣離子通道，啟動抗發炎反應(Lin, Y et al,2024)(圖 73)，因此可以知道葛藤這種天然化合物(聚合物)，可以啟動生物內部機制是複雜的，而且若無生物或人體實驗是很難被證實具有實際功效的。

一、葛藤促進凝血機制如下:

1.血液物質的交換需要超過 23 種因子，其中主要因子是 I 到 XIII，其中第四種是鈣離子(IV)，對凝血過程至關重要。

2.凝血包含三個主要步驟:(1) 凝血酶原激活物的形成，(2) 凝血酶原轉化為凝血酶，以及(3) 纖維蛋白原轉化為纖維蛋白。這些過程都需要鈣離子的參與。

3.生物體內也有類似抗凝劑的物質，如肝素「Heparin」，它涉及抗凝血的機制，和鈣離子在生物體內的相互作用有關。

從西方科學的方法，我們發現鄒族的科學方法與西方的科學方法脈絡並不相同，鄒族的「試試看」醫學法，卻是用族人 400 多年來的人體測試進行，雖然並無操作變因及應變變因

柒、參考資料及附錄

- 傅麗玉(1999)。從世界觀探討臺灣原住民中小學科學教育。科學教育學刊。7(1):71-90。
- 邦卡兒、海放南、董景生。2009。布農族社群民族植物利用之初步調查。台灣原住民族研究。2: 69-95。
- 浦忠勇、方紅櫻。2022 年。鄒族的植物世界：在花草樹木之間探尋文化軌跡。致出版。台灣。出版日期:2022 年 11 月 30 日。ISBN: 9789865573485。
- 高德生。2021 年。鄒的植物書 Plants book of Cou。行政院農業委員會林務局嘉義林區管理處。台灣。出版日期:2021 年 01 月 13 日。ISBN: 9789865449971。
- 莊溪、綠綠。2012 年。台灣原住民藥用植物文化之旅。葛藤。查詢時間:2023 年 3 月 1 日，查詢網址: <http://kplant.biodiv.tw/aplant/0701> 原住民植物/葛藤/page1.html。
- 陳葦玲。2012。蔬菜作物缺鈣症狀及防治措施。農業知識庫。出版日期:101 年 4 月 12 日。
- 華國媛 (Amuay Roishazen)、華阿財 (Valjeluk.Mavaliw)。2015 年。排灣族的山林智慧與植物知識。科學發展。507 期。
- 董景生、王光玉，森林學，林麗君。2005 年。綠色葛蕾扇：南澳泰雅的民族植物。行政院農業委員會林務局。
- 廖學儀、曾彥學、曾喜育。2012 年。南投縣泰雅族眉原部落民族植物之調查研究。林業研究季刊。34: 1-12。
- 嚴新富。2010 年。山葛與台灣原住民的傳統醫藥。科學月刊。第 491 期。發刊日期:2010 年 11 月 12 日，查詢網址: http://scimonth.blogspot.com/2010/11/blog-post_9645.html。
- 蘇奕彰、衛生福利部國家中醫藥研究所。2008 年。原住民族傳統醫療資料庫，查詢時間:2023 年 3 月 1 日，查詢網址: <http://atmkd-ap.nricm.edu.tw/frontend/index.jsp>。
- 蔡明哲、林佳駱。「提燈照路人，讓愛心萌芽吧!」-探討倒地鈴(*Cardiospermum halicacabum* L.)種子休眠解除及種子生理之研究。國中組生物科。嘉義縣第 62 屆科展作品說明書。
- Hu, F., Koon, C. M., Chan, J. Y. W., Lau, K. M., Kwan, Y. W., & Fung, K. P. (2012). Involvements of calcium channel and potassium channel in Danshen and Gegen decoction induced vasodilation in porcine coronary LAD artery. *Phytomedicine*, 19(12), 1051-1058.
- Lin, Y., Liang, R., Xie, K., Ma, T., Zhang, J., Xu, T., ... & Liu, S. (2024). Puerarin inhibits cisplatin-induced ototoxicity in mice through regulation of TRPV1-dependent calcium overload. *Biochemical Pharmacology*, 220, 115962.