

自由基及抗氧化物功能的探討

國軍花蓮總醫院藥劑科藥師 黎孝韻、曾國慶

壹、前言

自由基是帶有一個單獨未配對電子的原子、分子、或離子，因其極具活性及不穩定性，會和體內的細胞組織產生氧化反應，導致組織細胞失去正常功能，甚至破壞DNA，造成損害或突變進而引發癌症。自由基主要伴隨體內新陳代謝所產生，例如：粒線體在進行呼吸作用電子傳遞的過程中即會產生自由基，當有外來病毒細菌進入人體，白血球也會產生自由基去抵抗外來的入侵者。然而，當身體受到外界不當刺激也會促使大量的自由基產生，包括：抽煙（二手煙）、酗酒、輻射、紫外線、電磁波、環境污染、情緒、壓力等因素。1969年McCord和Fridovich發現了超氧化歧化（superoxide dismutase，簡稱SOD），可以還原超氧化物（superoxide, O_2^- ）¹，之後，亦證實體內有一套可以消除自由基的抗氧化系統，會消除過量的自由基，讓體內的自由基維持在一種動態的平衡當中，稱為抗氧化能力。1977年Mittal發現氫氧自由基（hydroxy radical, OH^- ）會刺激細胞內第二傳遞訊息因子（second messenger）的生成²，也近一

步證實了自由基在身體維持正常生理功能上也扮演了重要的角色。1956年，由德罕哈門博士（Denham Harman）提出自由基老化學說³，他認為自由基傷害粒線體是老化的主要原因，近年來亦有許多研究顯示當身體處在較大的氧化壓力（oxidative stress）下，產生過量的自由基與人類的一些疾病如：癌症、心血管疾病、高血壓、糖尿病、神經方面病變（阿茲海默症和巴金森氏症）有密切的關係，因此，維持身體內的氧化還原平衡（redox homeostasis）是很重要的⁴。

貳、自由基的分類

一、活性氧族(reactive oxygen species ; ROS)

(一)、超氧化物(superoxide, O_2^-)

主要是產生於粒線體電子傳遞鏈處，當細胞進行呼吸作用產生ATP時，大約1-3%的電子於一連串的傳遞過程中漏出，並與氧相結合而產生超氧化物⁵。嗜中性白血球受到細菌或病毒的刺激時，亦會經由nicotine adenine dinucleotide phosphate (NAD(P)H) oxidase產生超氧化物。

(二)、氫氧自由基 (hydroxy radical, $\bullet\text{OH}$)

氫氧自由基活性很強，對細胞的傷害性很大，受金屬離子的調控，主要來源是由過氧化氫 (H_2O_2) 經亞鐵離子 (Fe^{2+}) 催化所產生⁶。

(三)、過氧化物自由基 (peroxy radical, $\text{ROO}\bullet$)

主要造成脂肪過氧化反應。

(四)、過氧化氫 (H_2O_2)

屬於活性較小的自由基，主要於細胞內的過氧化氫體 (peroxisomes) 產生，進行細胞內的一些必要氧化反應，而過氧化氫體內含有過氧化氫酶(catalase)可消除過多的過氧化氫⁷。

二、活性氮族 (reactive nitrogen species ; RNS)

(一)、一氧化氮($\text{NO}\bullet$)

經由組織中的一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOSs) 所產生，為帶有未配對電子的氣體，於體內分布廣泛，並具有多項生理作用及防禦、訊息傳遞等功能。

(二)、過氧亞硝基陰離子(ONOO^-)

由一氧化氮 ($\text{NO}\bullet$) 和超氧化物 (superoxide, O_2^-) 反應生成，是一種活性極大、壞力超強的自由基，也是對抗外來病菌的最佳防禦武器⁸。

參、自由基的危害⁴

一、破壞DNA

氫氧自由基($\bullet\text{OH}$) 會破壞DNA的每個部份，造成DNA股的切斷或鹼基結構，導致DNA永久性的損傷^{7,9}。DNA遭到切斷，人體在修補的過程中，可能會因為無法正常修復而產生突變。自由基攻擊鹼基後會衍生一些副產品，這些副產品會使遺傳發生錯誤而有致癌的可能。人體若長期遭受這一連串的傷害，所造成的結果就是各種慢性疾病發生和老化。

二、氧化脂質

體內的多元不飽和脂肪酸受到氧化後會產生有毒的醛類 (malondialdehyde, MDA)，MDA會引起突變及致癌的危險⁸。細胞膜上脂質被氧化，會使細胞膜流通性改變，養分無法進入細胞內造成細胞壞死，若細胞膜被破壞的速度大於細胞再生的速度，組織器官的功能就會受到影響而產生老化。低密度脂蛋白(LDL)被氧化，會增加血小板的凝集、內皮細胞的脫落，而造成動脈粥狀硬化。

三、攻擊蛋白質

自由基攻擊胺基酸的側鏈，令蛋白質失去功能，或形成大分子，甚而斷裂，使細胞無法正常運作¹⁰。發生在皮下之膠原組織，會令皮膚失去彈性、筋骨僵硬等。

肆、自由基所扮演的生理功能

一、NO的生成及其扮演的生理功能

NO亦是自由基的一種，經由細胞內的一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthas-

es, NOSs) 所合成，具有多項的生理功能，包括能調節血管平滑肌舒張作用、擔任細胞的第二訊息傳遞因子、神經傳導物質、防禦作用…等。

二、防禦作用

嗜中性白血球或巨噬細胞受到細菌及病毒的刺激時或發生發炎反應時，亦會經由nicotine adenine dinucleotide phosphate (NAD(P)H)oxidase產生超氧化物(superoxide, O_2^-)，當做身體的防禦武器。

三、調控細胞內的訊息傳遞作用

在一些非噬菌細胞包括：纖維組織母細胞(fibroblasts)、血管平滑肌細胞、心肌細胞、內皮細胞亦含有NAD(P)H oxidase會產生ROS，進而調控細胞內的一些訊息傳遞作用^{4,11}。

四、維持體內氧氣衡定的感應器

高等生物靠調控紅血球的質量及呼吸作用來維持體內氧氣恒定，有些研究顯示當粒線體中ROS的濃度改變會去影響偵測動脈血氧濃度的胞器對氧氣的感應⁴。

五、刺激細胞黏附作用(adhesion)

細胞黏附作用對胚胎形成(embryogenesis)、細胞成長、分化、傷口修復扮演很重要的角色，而細胞黏附作用則是嚴密地受到體內的氧化還原衡定調控。ROS會誘發白血球黏附至內皮細胞^{4,12}。

六、參與正常細胞凋亡(apoptosis)作用

細胞的凋亡作用對細胞的新陳代謝及細胞的發展是很重要的，而ROS是誘發細胞凋亡的主要物質，當ROS破壞細胞的同時也活化的一些啟動細胞凋亡的蛋白質，造成粒線體外膜破洞，進而破壞細胞的粒線體，最終使細胞凋亡^{4,13}。

伍、人類疾病與自由基的關係

一、癌症(cancer)

在癌細胞中發現氧化壓力造成氧化還原失衡的比例遠大於正常細胞，ROS或NOS會去破壞DNA的結構，造成DNA的突變是細胞癌化的最關鍵因素^{4,7}。

二、心血管疾病(cardiovascular disease)

ROS所引起的氧化壓力與心血管疾病的發生有很大的關連性，這些疾病包括了：動脈粥狀硬化(atherosclerosis)、缺血性心臟病(ischemic heart disease)、高血壓(hypertension)、心肌疾病(cardiomyopathies)、心肌肥大(cardiac hypertrophy)及鬱血性心衰竭(congestive heart failure)等¹⁴。LDL很容易被自由基氧化，被氧化的LDL經過一連串的變化促進泡沫細胞的形成而附著在血管壁上，被氧化的LDL亦會抑制HDL的合成、損傷內皮、使單核球黏附至內皮及促使血小板聚集，進而產生動脈粥狀硬

化及血栓，血栓會將血管阻塞，如果發生在供應心臟血管的冠狀動脈造成心肌缺血，就是冠心病；如果發生在腦部，就會造成中風，缺血再灌流的傷害，是因為當血液再度灌流時，會使氧氣突然大增，導致大量的自由基產生，另一方面為了要清理因缺氧而壞死的組織，體內會產生大量的白血球來做善後的工作，而白血球清理的方法就是製造更多的自由基，因而對組織造成更進一步的傷害。自由基也會氧化細胞膜上磷脂質及細胞內的蛋白質，而造成細胞通透性改變及細胞功能受損⁴。

三、糖尿病(diabetes-mellitus)

第二型糖尿病(type 2 diabetes mellitus)為主要的糖尿病類型，約佔所有糖尿病患的90%，其主要導因於胰臟中的 β 細胞分泌胰島素量減少及胰島素阻抗性增加，然而罹病率隨著年齡的增加而增加，意謂著第二型糖尿病和老化在細胞生理學上有些關聯性及相似性，老化常伴隨著葡萄糖代謝異常，造成體內葡萄糖濃度升高及初期代償反應高胰島素現象，研究顯示血糖及胰島素濃度增加時，會直接刺激體內自由基的生成及降低抗氧化的能力，而這些自由基經由不同的途徑產生成不同的自由基，包括經由nicotine adenine dinucleotide phosphate (NAD(P)H) oxidase生成的超氧化物(superoxide, O_2^-)¹⁵、葡萄糖氧化反應產生的氫氧自由基(hydroxy radical, $\cdot OH$)¹⁶及經由一氧化氮合成酶(nitric oxide synthase, NOSs)所產生

的一氧化氮(NO)和過氧亞硝基陰離子($ONOO^-$)¹⁷。胰臟中的 β 細胞抗氧化能力較弱，對自由基相當敏感而容易被破壞進而減少胰島素的分泌，更加重糖尿病的病情⁴，高血糖誘發自由基的生成及降低抗氧化的能力，而自由基破壞 β 細胞分泌胰島素的功能及增加糖尿病併發症發生的機率，因此氧化壓力(oxidative stress)及糖尿病之間是互為因果也是惡性循環。

四、巴金森氏症 (Parkinson's disease)

多巴胺(dopamine)是和運動有關的神經傳導物質，缺乏多巴胺會造成手部不自主顫抖，肌肉麻痺動作遲緩等臨床症狀。自由基破壞腦部黑質(substantia nigra)，使得多巴胺(dopamine)分泌減少所致。

五、阿茲海默症 (Alzheimer's disease)

阿茲海默症就神經病理方面而言與大腦皮質層的老年斑塊(senile plaques)形成及神經纖維纏結(neurofibrillary tangles)有關，老年斑塊主要由澱粉樣 β 胜肽(amyloid- β peptide, $A\beta$)所組成，當腦部氧化壓力增加時，會使得澱粉樣 β 胜肽(amyloid- β peptide, $A\beta$)大量累積，加速阿茲海默症的發展。

六、風濕性關節炎等發炎性疾病

當有病毒或細菌入侵身體時，白血球

會製造大量的自由基來消滅外來的病菌；但是過量的自由基除了吞噬病毒和細菌，也傷害附近的組織細胞，使發炎症狀惡化⁴。

七、老化(Ageing)

身體正常代謝所產生的自由基經年累月的不斷攻擊DNA、蛋白質、脂質，雖然身體有自行修復及抗氧化的功能，但時間一久，這些能力逐漸消失，修補的機能來不及，器官和組織會失去功能、產生病變，呈現老化的現象，最後終死亡^{3,4}。

陸、抗自由基的機制

一、酵素抗氧化系統 (enzymatic antioxidant)⁴

人體內有數種對抗自由基的抗氧化酶，能迅速將體內所產生的自由基利用

氧化還原的方式轉變成毒性較小或無毒的物質，而這些抗氧化酶因為難敵胃酸的破壞，很難經由口服的方式服用，而增加體內抗氧化的能力，然而這些抗氧化酶需要一些輔助因子才能作用，因此，可以藉由補充必須的輔助因子來提高抗氧化酶的抗氧化效能，表一列出人體內的數種抗氧化酶作用方式及所需的輔助因子。¹⁸

(一)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)

SOD是人體內最重要的抗氧化酵素系統，將活性較大的超氧化物 (superoxide, O_2^-) 作用成活性較小的過氧化氫(H_2O_2)，反應式為： $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ ，而SOD需要與金屬離子結合，如： Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 或 Mn^{2+} ，當作電子的傳遞者，才有作用，SOD在體內經氧化還原反應後可循環再利用^{1,4}。

表一 人體自行製造的抗氧化酶¹⁸

抗氧化	存在位置	作用(註一)	輔助因子及其每日建議量(註二)	輔助因子的主要食物來源
超氧化歧化酶 (Superoxide Dismutase, 簡稱SOD)	粒腺體、 細胞質	氧自由基 ↓ 雙氧水+氧	鋅： 女-12毫克 男-15毫克 (最多不超過50毫克) 銅：2毫克	鋅：海產、肉類、肝臟、蛋、黃豆、花生 銅：肝臟、肉、魚、蝦、堅果類
穀胱甘太過氧化酶 (Glutathione Peroxidase, 簡稱GSHP)	血液、肝臟 、粒腺體、 細胞質	雙氧水 ↓ 水+氧	硒： 女-55微克 男-70微克	海產、蔥、洋蔥、蒜
過氧化氫 (Catalase)	人體的各種 組織	氧自由基 ↓ 水+氧	鐵： 女-15毫克 男-10毫克 (成人)	肉、魚

註一：只將作用以簡略的方式列出，並未詳列反應物、產物和莫耳數。

註二：資料來自中華民國每日營養素建議量表(RDNA,82年)、美國每日營養素建議量表(RDA)

(二)、觸酶(catalase,CAT)

CAT主要是將SOD產生的 H_2O_2 作用成無害的氧及水，反應式為： $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ ，但CAT需要 Fe^{3+} 來催化整個反應的進行。

(三)、穀胱甘過氧化酶 (glutathione peroxidase, GPx)

主要是活化glutathione(GSH)，直接將過氧化脂質R-OOH還原成醇R-OH或分解 H_2O_2 ，但GPx也需要硒(Se)的催化¹⁹。

二、非酵素抗氧化系統 (non-enzymatic antioxidant)

(一)、維生素C (Vitamin C)

維生素C是利用分子上的氫氧基(OH)和自由基作用，OH會釋出一個 H^+ 和一個電子，自由基得到電子後，成為較穩定的的化合物，而維生素C上的OH則變成 O^- ，但由於其可產生共振，所以活校較低、較無破壞性。維生素C被氧化後會被GPx系統還原，而可以一再循環重複利用^{9,20,21}。維生素C是水溶性維生素，過多時會排出體外，最好每日分數次服用，不宜一次服用大劑量維生素C，雖然衛生署提出維生素C的每日營養素建議量(RDNA)是每天60毫克，但若達到抗氧化的功效時可能需要1000毫克以上的劑量¹⁸。

(二)、維生素E (Vitamin E)

維生素E有酚的結構，利用其上的OH基釋出一個 H^+ 和一個電子，使自由基變成較穩定的化合物，維生素E上的OH

則變成 O^- ，因旁有苯環可以產生共振，成為較穩定的自由基。作用後的氧化態維生素E，會被維生素C還原，因此可重複再利用²¹。維生素E是脂溶性的維生素，只要維生素C的量足夠就可將氧化的維生素E還原，為了達到抗氧化等保護作用，需要每日250單位的維生素E，若有抽菸者則需增加劑量¹⁸。

(三)、β胡蘿蔔素(β-carotene)²²

β-胡蘿蔔素是維生素A的前驅物質，不過維生素A並不像β-胡蘿蔔素具有良好的抗氧化作用。β-胡蘿蔔素在人體內有二種抗氧化能力：一、可以與脂質過氧化自由基結合而中斷脂質過氧化連鎖反應。二、吸收氧氣因為光線照射(例如在眼睛)而變成的激發氧氣的過多能量，阻止氧化作用的進行。β-胡蘿蔔素的主要食物來源是深綠、黃色的蔬菜和藻類，其中以紅蘿蔔最具代表性。

(四)、穀胱甘(glutathione,GSH)

GSH是由三種胺基酸：甘胺酸(glycine)、穀胺酸(glutamic acid)及半胱胺酸(cysteine)所組成，須經GPx活化後才有作用，GSH會被氧化成GSSG，而GSSG可被NADPH在還原GR(glutathione reductase)的催化下，還原成GSH，因而可以循環重複利用^{4,19}。

(五)、鋅(Zin)、銅(Cu)、硒(Se)、鐵(Fe)

鋅、銅為超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的輔助因子，主要存在於海產、肝臟、肉類、堅果類食物

內；硒是穀胱甘太過氧化酶（glutathione peroxidase, GPx）的輔助因子，主要儲存於海產、蔥、洋蔥、蒜中；鐵則是觸酶（catalase, CAT）的輔助因子，主要儲存於肉類、魚¹⁸。

三、其他抗氧化藥物和食品 (anti-oxidative drugs and foods)

(一)、丹參 (Salvia miltiorrhiza)

丹參是著名的「活血化淤」中藥，廣泛用於心血管及血液類疾病，經研究純化的脂溶性丹參酮具有明顯抑制血小板凝集的功能，而丹參中水溶性的丹參酸（salvianolic acid）則具有明顯的抗氧化作用，實驗結果顯示丹參酸能抑制老鼠肝臟細胞脂質經由（NAD(P)H）oxidase造成的過氧化反應及氫氧自由基破壞紅血球所產生的溶血現象²³。

(二)、厚朴(Magnolia officinalis)

厚朴可純化出厚朴酚（magnolol），亦具有顯著的抗氧化能力，能抑制老鼠肝臟細胞脂質的過氧化反應，減少氧氣的

消耗是生育酚（alpha-tocopherol）470倍，減少MDA的生成是生育酚（alpha-tocopherol）340倍²⁴。

(三)、其他

在天然食物如各類的蔬菜和水果也是最佳的抗氧化選擇，它們含有一些植物化學成分（Phytochemicals），如黃酮類（Flavonoids）、引朵類（Indoles）物質、金雀異黃素（genistein）、蕃茄紅素（Lycopene）等等。表二列出了各種抗氧化物質的成份和它們的來源與效用¹⁸。

柒、結論

人體新陳代謝之運轉會伴隨產生自由基，而身體本身具有抵抗自由基的機轉，維持體內的氧化還原平衡是很重要的，目前對自由基的研究越來越多，也愈來愈重視抗自由基藥物的研究與開發，但目前的研究報告由體外投與大劑量的維生素C、SOD等抗氧化藥物，對於預防動脈硬化、防癌缺乏有利的證據佐證，因為這些病症所關連的層面非常複雜，可能牽涉到

表二 各種抗氧化物質的成份和他們的來源與效用¹⁸

名稱	作用	最佳食物來源
維生素C (Ascorbic Acid)	與羥基自由基作用、還原維生素E自由基	芭樂、奇異果、木瓜、柳橙、葡萄柚、青椒、花椰菜
維生素E (α-Tocopherol)	阻止脂質過氧化連鎖反應	葵花子油、紅花油、玉米油黃豆油、小麥胚芽、杏仁
β-胡蘿蔔素 (β-Carotene)	中斷脂質過氧化連鎖反應、吸收激發氧的過多能量	深綠色蔬果，如胡蘿蔔、甜蕃薯、蕃茄、木瓜、紅肉李
黃酮類 (Flavonoids)	預防動脈硬化	鮮黃色蔬果，如蘋果、香瓜、蔥、紅酒
引朵類 (Indoles)	抵抗肺癌、大腸癌	十字花科蔬菜，如花椰菜、青花菜、大白菜、高麗菜、芽甘藍、芥菜
蕃茄紅素 (Lycopene)	去除氧自由基	蕃茄、西瓜、櫻桃、李子

神經、內分泌、營養代謝及免疫各方面，自由基可能不是唯一致損傷物質，為矯正整個疾病的過程，除抗自由基外尚須與其他類藥物及防治措施同時聯合應用，才能獲得更理想的療效。

參考資料：

- McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
- Mittal CK, Murad F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74: 4360-4.
- Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.
- Kovacic P, Pozos RS, Somanathan R, Shangari N, O'Brien PJ. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Curr Med Chem* 2005; 12: 2601-23.
- Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol* 2000; 304: 55-68.
- Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 37-56.
- Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1716-23.
- Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1976; 73: 3685-9.
- Stadtman ER. Role of oxidant species in aging. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1105-12.
- Jones SA, O'Donnell VB, Wood JD, et al. Expression of phagocyte NADPH oxidase components in human endothelial cells. *Am J Physiol* 1996; 271: H1626-34.
- Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *Faseb J* 1994; 8: 504-12.

13. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770-6.
14. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992; 26: 641-55.
15. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: S221-6.
16. Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 2003; 52: 581-7.
17. Hink U, Li H, Mollnau H, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res* 2001; 88: E14-22.
18. 趙強：自由基（Free Radicals）。美食天下 1997；第64期，1997.3 P116。
19. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta* 2003; 333: 19-39.
20. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *Faseb J* 1999; 13: 1007-24.
21. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 669: 7-20.
22. Burton GW, Ingold KU. beta-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 1984; 224: 569-73.
23. Liu GT, Zhang TM, Wang BE, Wang YW. Protective action of seven natural phenolic compounds against peroxidative damage to biomembranes. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 147-52.
24. Chiu JH, Wang JC, Lui WY, Wu CW, Hong CY. Effect of magnolol on in vitro mitochondrial lipid peroxidation and isolated cold-preserved warm-reperused rat livers. *J Surg Res* 1999; 82: 11-6.

