

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNPH94-01

計畫名稱：中草藥研究與應用開發（1）-台灣民間藥之研究與應用開發

子計畫 1：抗骨質疏鬆活性評估及作用機構研究

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

<input checked="" type="checkbox"/> 整合型計畫	<input type="checkbox"/> 個別型計畫
計畫總主持人：張建雄	計畫主持人：
子計畫主持人：張建雄	

中華民國 95 年 02 月 28 日

## 【抗骨質疏鬆活性評估及作用機構研究】：子計畫 1

### 一. 摘要

我們本著最嚴謹的態度執行計畫並積極以台灣產中草藥為資源尋求有效的抗骨質疏鬆藥物。首先評估三十五種台灣產民間藥的水抽物和酒精提取物對 MG-63 成骨細胞的細胞增生影響，發現 CC、ZN、Fraxinus-1 和秦皮的水抽物，以及 ZN、Fraxinus-1、DR、LC、ZN 的酒精提取物有較高的細胞毒作用，即會對成骨細胞有增生抑制作用，因此不適合作為開發藥物。進一步分析這些提取物對於 MG-63 細胞成熟分化指標 ALP 後，結果中代號 (*Artocarpus incisus*) 水抽物有較佳的效果。因此進一步的偵測不同劑量之 AI 對成骨細胞早期成熟活性(ALP)及晚期分化指標(osteocalcin)的影響，AI 可以有效的增加 ALP 的活性和 osteocalcin 的分泌，並且有劑量-效果的從屬效應(dose-dependent)。因此，我們推斷 *Artocarpus incisus* 具有促進成骨細胞成熟和分化的能力，可能可作為開發成骨質疏鬆的藥物。

### 二. 材料與實驗方法

#### 1. 材料：

1). 三十五種台灣產民間藥的水抽物和酒精提取物

2). 人類的成骨細胞株 MG-63(ATCC CRL-1427)及 hFOB(ATCC

CRL-11372)向 American Type Culture Collection (Rockville, MD)購

買；Fetal calf serum (FCS)、Dulbecco's modified Eagle's medium

(DMEM)、penicillin G、streptomycin 與 amphotericin B 向 GIBCO BRL

(Gaithersburg, MD)購買；Bio-Rad protein assay reagent 向 Bio-Rad

Lab 購買；Hybond-polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane 與 enhanced chemiluminescent-based detection system 向 Amersham Pharmacia Biotech 購買；Ribonuclease (RNase)及 propidium iodide (PI)等其他化學藥品向 Sigma Chemical (St. Louis, MO, USA)購買；Cell proliferation Kit (XTT)向 Roche Diagnostics GmbH (Germany)購買；p38、JNK、ERK1/2、phospho-JNK、phospho-p38、phospho-ERK1/2 抗體向 Calbiochem (Cambridge, MA)購買。MAPK siRNA 向 Upstate Biotechnology Inc (NY, USA) 購買、BMP-ELISA kit、BMP-2 protein、noggin 向 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA) 購買、osteocalcin ELISA kit 向 Biosource Technology (Nivelles, Belgium) 購買。

## 2 實驗方法：

- 1) 細胞培養
- 2) 細胞增生抑制作用分析

## 三. 結果與討論

(1)各種中草藥抽出物對 MG-63 細胞的細胞增生作用

水抽物 (100µg/ml)					
民間藥	Cell proliferation inhibition (%)	民間藥	Cell proliferation inhibition (%)	民間藥	Cell proliferation inhibition (%)
<b>AI</b>	<b>-0.37</b>	DR	7.32	RT	5.78
AS	8.22	<b>FA</b>	<b>-2.09</b>	SS	6.09
BC	9.26	(FH)FEB	4.92	TB	9.36
BM	4.75	(FEB)FF	5.95	UM	7.79
CA	2.69	GJ	0.66	ZN	11.37
CC	12.77	HT	2.45	CAT	10.39
Cajan	6.05	<b>MR</b>	<b>-1.62</b>	Fraxinus-1	16.06

CD	0.54	<b>PC</b>	<b>-8.31</b>	AE	0.64
CF	8.01	PGM	11.50	秦皮	13.29
CKW	10.73	PI	3.57	LC	2.78
DLW	2.37	POS	10.79	<b>BL</b>	<b>-0.83</b>
DP	5.33	RSR	-3.02		
酒精提取物(100µg/ml)					
民間藥	Cell proliferation inhibition (%)	民間藥	Cell proliferation inhibition (%)	民間藥	Cell proliferation inhibition (%)
BC	9.35	(FH)FEB	5.84	RT	16.01
CA	1.78	HT	9.05	SS	6.51
CC	18.85	KJ	10.59	TB	-1.21
Cajan	-1.17	MM	2.34	ZN	39.03
CD	6.01	PC	5.24	Fraxinus-1	20.8
CF	9.34	PGM	4.03	Fraxinus-2	16.45
CKW	1.17	PI	19.79	LC	20.34
DR	26.38	POS	12.31	BL	-3.326
FA	0.10				

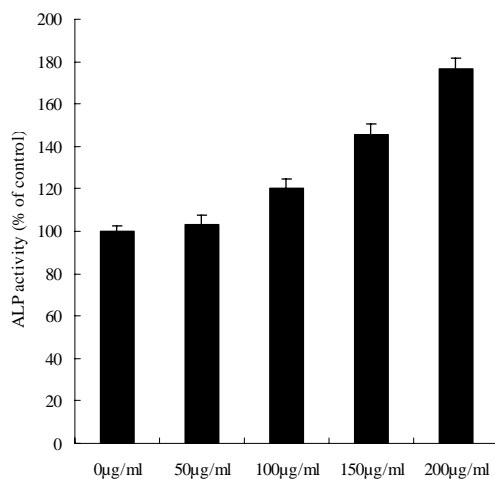
(2)各種中草藥抽出物對 MG-63 細胞 ALP 活性影響

水抽物(100µg/ml)					
民間藥	ALP activity (% of control)	民間藥	ALP activity (% of control)	民間藥	ALP activity (% of control)
<b>AI</b>	<b>126.78</b>	GJ	70.99	SS	94.63
AS	63.04	HR	-	TB	72.69
BC	63.33	HT	104.67	TT	-
BM	87.67	KJ	-	UM	80.16
CA	69.93	MM	-	ZN	96.89
CC	46.88	MP	-	CAT	65.45
Cajan	54.41	MR	50.64	<b>Fraxinus-1</b>	<b>102.33</b>

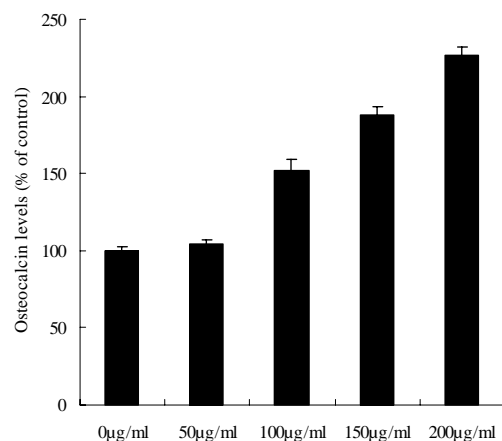
<b>CD</b>	<b>104.4</b>	PC	58.04	Fraxinus-2	-
CF	85.64	<b>PGM</b>	<b>101.23</b>	RN	-
CKW	94.67	PI	63.78	AE	69.53
DLW	75.87	PMH	-	CCG	-
DP	70.5	PN	-	<b>Fraxinus-1</b>	<b>100.56</b>
DR	94.8	POS	98.56	LC	88.91
FA	64.42	POA	-	BL	54.62
(FH)FEB	64.13	RSR	79.37		
(FEB)FF	54.68	RT	62.25		

酒精抽(100µg/ml)					
民間藥	ALP activity	民間藥	ALP activity (%)	民間藥	ALP activity (%)
BC	102.59	(FH)FEB	83.34	RT	71.21
CA	61.79	HT	64.62	SS	74.69
CC	77.78	KJ	99.89	TB	87.81
Cajan	60.03	MM	63.78	ZN	68.09
CD	79.39	PC	59.23	Fraxinus-1	81.57
CF	48.65	PGM	49.53	Fraxinus-2	87.95
CKW	70.75	PI	67.28	LC	99.45
DR	65.45	POS	99.56	BL	58.57
FA	63.32				

(3) AI 水抽出物對 MG-63 細胞 ALP 的影響



(4) AI 水抽出物對 MG-63 細胞 osteocalcin 分泌的影響



### 參考文獻

1. 中華民國行政院衛生署網站: <http://www.doh.gov.tw/>
2. Dempster DW, Lindsay R. Pathogenesis of osteoporosis. Lancet. 1993 Mar 27;341(8848):797-801.
3. Allen MR, Hock JM, Burr DB. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. Bone. 2004 Nov;35(5):1003-12.

4. 林興中：骨質疏鬆症之最近進展.台灣醫界 1994;37 卷第三期:209-212.
5. Marom R, Shur I, Solomon R, Benayahu D. Characterization of adhesion and differentiation markers of osteogenic marrow stromal cells. J Cell Physiol. 2005 Jan;202(1):41-8.
6. D'Alonzo RC, Kowalski AJ, Denhardt DT, Nickols GA, Partridge NC. Regulation of collagenase-3 and osteocalcin gene expression by collagen and osteopontin in differentiating MC3T3-E1 cells. J Biol Chem. 2002 Jul 5;277(27):24788-98.

1)

