

科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

探討柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性細胞葡萄糖
吸收之分子機制

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：NSC 102-2320-B-276-001-
執行期間：102年08月01日至103年07月31日
執行單位：美和學校財團法人美和科技大學生物科技系

計畫主持人：林昀生
共同主持人：黃瑞齡
計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理人員：陳尚鴻
碩士班研究生-兼任助理人員：陳泓吉
碩士班研究生-兼任助理人員：簡彰佑
大專生-兼任助理人員：張雅麟
大專生-兼任助理人員：宋佳蓉

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：

1. 公開資訊：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢
2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否
3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考：否

中華民國 103 年 10 月 24 日

中文摘要： 綜所皆知，中草藥內含二次代謝物被應用在人類生活機能上，其扮演著功能性的調節作用，目前醫藥界使用的處方藥中，有許多藥物其根源性是來自於天然先導物的發現，並結合藥理作用、結構修飾、化學合成及臨床試驗而成為藥物，因此，天然物不斷的被發現及小分子藥物的多樣性功能，提供了在藥物研發上極為龐大且新穎的藥物資源。為了找尋和發展新藥，本研究將以生物活性為導向，針對台灣特有種植物柿葉茶茛萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 的種子進行分離純化，鑑定其活性成分。根據預試驗結果，柿葉茶茛萸種子的乙酸乙酯粗萃物，針對小鼠肝臟 FL83B 細胞株以發炎因子 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 處理 4 小時，誘導細胞產生胰島素抗性 (insulin resistance) 作為治療糖尿病 (diabetic mellitus, DM) 之活性物質篩選平台，推測該植物內含之二次代謝物具有增強葡萄糖吸收的作用。本計畫從台灣產柿葉茶茛萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 中分離出一系列新的天然物，其中有四個是新的植物天然物，分別為 Gonocarin A (1)、Epi-gonocarin A (2)、Gonocarin B (5)、Gonocarin C (6)，並製備出兩個新衍生物為 Gonocarin A monoacetate (3)、Epi-gonocarin A monoacetate (4)，以及兩個已知的木質素天然物 Pinoresinol (7) 與 Paulownin (8)。未來第二年計劃將會針對每個化合物再做進一步的活性測試與機轉。

中文關鍵詞： 柿葉茶茛萸、胰島素抗性、糖尿病

英文摘要： Everybody know, secondary metabolites is applied in the human life of the Chinese herbal medicine. Many drugs are originally extracted from natural product with combination of pharmaceutical and chemical studies. However, the new drugs is a combination of the new natural product and small molecular drugs as well. The purpose of this studies, is extracted and investigated the compound activity of Taiwan endemic plant of seed from *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. In preliminary result the ethyl acetate extracted from *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. which the anti-insulin demonstrated the induced of FL83B cells in mouse liver. Therefore, the screening compound can be potentially as the substance in

induction of treating cells with TNF- α diabetes mellitus. In this study, successfully isolate a series of new natural products, including four new natural products Gonocarin A (1), Epi-gonocarin A (2), Gonocarin B (5), Gonocarin C (6), and two new derivatives Gonocarin A monoacetate (3), Epi-gonocarin A monoacetate (4) and two known compounds Pinoresinol (7) and Paulownin (8) were isolated from the Taiwan endemic plant *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc.

英文關鍵詞： *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 、 TNF- α 、 diabetic mellitus, DM

科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

探討柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性

細胞葡萄糖吸收之分子機制

102/08/01 ~ 103/07/31

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：MOST 102-2320-B-276-001

執行期間：102年08月01日至103年07月31日

執行機構及系所：美和學校財團法人美和科技大學

計畫主持人：林昀生

共同主持人：黃瑞齡

計畫參與人員：曾宇慈、陳尚鴻、陳泓吉、宋佳蓉、張雅麟

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共1份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

期末報告處理方式：

1. 公開方式：

非列管計畫亦不具下列情形，立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

2. 「本研究」是否已有嚴重損及公共利益之發現：否 是

3. 「本報告」是否建議提供政府單位施政參考 否 是，____（請列舉提供之單位；本部不經審議，依勾選逕予轉送）

中 華 民 國 103 年 09 月 30 日

目 錄

中文摘要	II
Abstract	III
第一章 研究背景與動機	
1.1 分析柿葉茶茛菪種子之乙酸乙酯萃取物 (B-EA) 對於 小鼠肝臟細胞之毒性試驗	1
1.2 分析柿葉茶茛菪種子之乙酸乙酯萃取物 (B-EA) 對胰 島素阻抗性細胞中葡萄糖濃度	2
第二章 材料與方法	
2.1 樣品的採集	4
2.2 分離與純化	4
第三章 結果與討論	
3.1 Gonocarin A (1) 的結構解析	7
3.2 Epi-gonocarin A (2) 的結構解析	14
3.3 Gonocarin A monoacetate (3) 的結構解析	17
3.4 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 的結構解析	21
3.5 Gonocarin B (5) 的結構解析	24
3.6 Gonocarin C (6) 的結構解析	30
3.7 Pinoresinol (7) 的結構解析	36
3.8 Paulownin (8) 的結構解析	39
第四章 結論	42
第五章 參考文獻	43

中文摘要

綜所皆知，中草藥內含二次代謝物被應用在人類生活機能上，其扮演著功能性的調節作用，目前醫藥界使用的處方藥中，有許多藥物其根源性是來自於天然先導物的發現，並結合藥理作用、結構修飾、化學合成及臨床試驗而成為藥物，因此，天然物不斷的被發現及小分子藥物的多樣性功能，提供了在藥物研發上極為龐大且新穎的藥物資源。

為了找尋和發展新藥，本研究將以生物活性為導向，針對台灣特有種植物柿葉茶茱萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 的種子進行分離純化，鑑定其活性成分。

根據預試驗結果，柿葉茶茱萸種子的乙酸乙酯粗萃物，針對小鼠肝臟 FL83B 細胞株以發炎因子 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 處理 4 小時，誘導細胞產生胰島素抗性 (insulin resistance) 作為治療糖尿病 (diabetic mellitus, DM) 之活性物質篩選平台，推測該植物內含之二次代謝物具有增強葡萄糖吸收的作用。

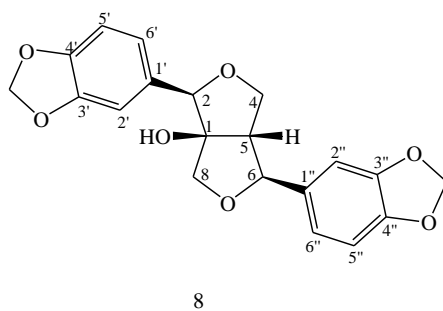
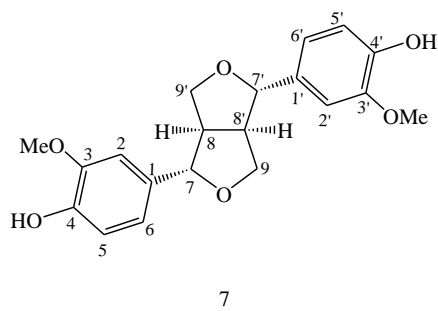
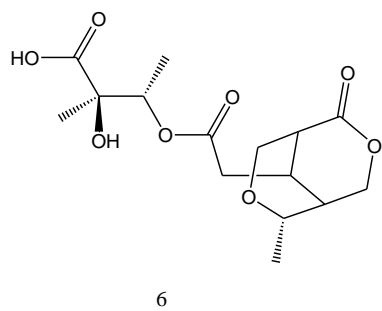
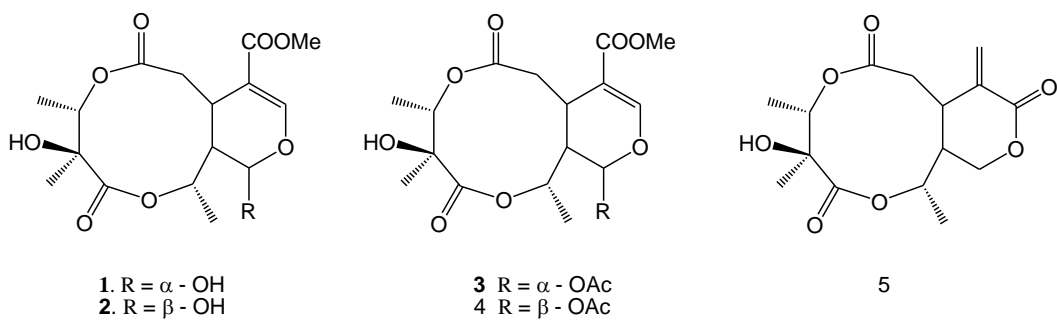
本計畫從台灣產柿葉茶茱萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 中分離出一系列新的天然物，其中有四個是新的植物天然物，分別為 Gonocarin A (1)、Epi-gonocarin A (2)、Gonocarin B (5)、Gonocarin C (6)，並製備出兩個新衍生物為 Gonocarin A monoacetate (3)、Epi-gonocarin A monoacetate (4)，以及兩個已知的木質素天然物 Pinoresinol (7) 與 Paulownin (8)。未來第二年計劃將會針對每個化合物再做進一步的活性測試與機轉。

關鍵詞：柿葉茶茱萸、胰島素抗性、糖尿病

Abstract

Everybody know, secondary metabolites is applied in the human life of the Chinese herbal medicine. Many drugs are originally extracted from natural product with combination of pharmaceutical and chemical studies. However, the new drugs is a combination of the new natural product and small molecular drugs as well. The purpose of this studies, is extracted and investigated the compound activity of Taiwan endemic plant of seed from *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. In preliminary result the ethyl acetate extracted from *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. which the anti-insulin demonstrated the induced of FL83B cells in mouse liver. Therefore, the screening compound can be potentially as the substance in induction of treating cells with TNF- α diabetes mellitus. In this study, successfully isolate a series of new natural products, including four new natural products Gonocarin A (1), Epi-gonocarin A (2), Gonocarin B (5), Gonocarin C (6), and two new derivatives Gonocarin A monoacetate (3), Epi-gonocarin A monoacetate (4) and two known compounds Pinoresinol (7) and Paulownin (8) were isolated from the Taiwan endemic plant *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc.

Key words : *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 、 TNF- α 、
diabetic mellitus, DM



圖一、柿葉茶茛菪 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 中分離得到之化合物結構圖

第一章 研究背景與動機

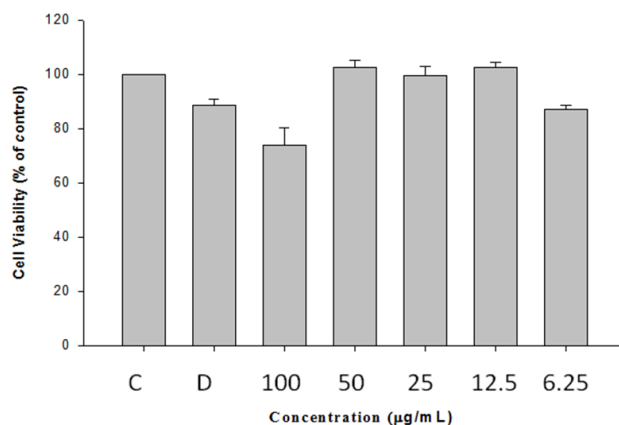
101 年，糖尿病為我國國人十大死因排名第五名，由於沒有建立良好飲食習慣、適當的運動及遺傳等，進而誘發第二型糖尿病的產生。然而目前口服的第二型糖尿病藥物常見副作用分別為：腸胃不適、乳酸中毒、體重上升、低血糖、水腫、心肝功能異常、上呼吸道感染、頭痛等。因此期望從天然物研究中，尋找及開發新天然藥物來取代現有的化學合成藥物，使之能減少其副作用，並以低劑量即可達到高成效。¹

美國 FDA 於 2004 年公佈的「植物藥品審查準則」，帶動全世界對中草藥研發的熱潮，使得許多製藥及生技公司對於植物新藥開始進行研究，所以本預試驗主要針對第二型糖尿病，並以發炎因子 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 處理小鼠肝臟細胞株 (FL83B)，使其產生胰島素抗性，再添加胰島素刺激後，發現細胞對於葡萄糖的吸收能力，與正常細胞添加胰島素刺激相比較有明顯的降低，並且以此作為篩選平台，用於篩選具能力克服胰島素抗性，促進細胞葡萄糖吸收之天然物。因此本預試驗以柿葉茶茱萸種子之乙酸乙酯粗萃物測試是否有效減緩胰島素抗性及改善糖尿病之能力。本試驗先用酒精萃取柿葉茶茱萸種子，得到萃取物後，以 TNF- α 對細胞處理 4 小時後，探討該植物種子之萃取層對肝細胞攝取葡萄糖能力之影響。結果發現，經萃取物加藥處理後，由圖三顯示，4 小時後可提升 FL83B 肝細胞葡萄糖代謝之能力。其增敏強度顯示比目前第二型糖尿病臨床治療藥物中的胰島素增敏劑 thiazolidinediones (TZD; glitazone) 之葡萄糖代謝能力更佳。由此預試驗可推測柿葉茶茱萸之乙酸乙酯粗萃物可能改善肝細胞之胰島素抗性，具開發成治療糖尿病藥物之潛力。

1.1 分析柿葉茶茱萸種子之乙酸乙酯萃取物 (B-EA) 對於小鼠肝臟細胞之毒性試驗

該萃取物 (B-EA) 雖已有對其他癌症細胞進行過活性試驗結果為無毒性，為了再次證實該藥物對細胞無毒殺性而再進行一次細胞毒性試驗；分析該萃取物對於小鼠肝臟細胞 FL83B 是否具毒性，先分別以不同濃度進行給藥處理培養 48 小時後，再以 MTT 進行 4 小時處理，最後加入 DMSO 震盪 5 分鐘後於

ELISA 以吸光值 540 nm 進行測定。結果如圖二所示，可以發現該萃取物對於 FL83B 細胞無毒殺效果。



圖二、 B-EA 萃取物對於小鼠肝臟細胞之毒性試驗

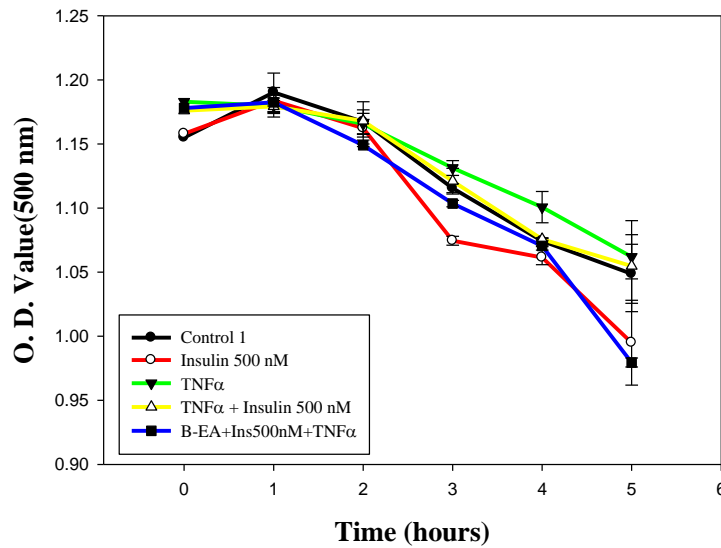
將 B-EA 萃取物依照不同濃度進行細胞毒性試驗，濃度為 C:Control 組、D:DMSO 組、100、50、25、12.5、6.25 µg/mL；培養 48 小時後加入 MTT 培養 4 小時，將 MTT 倒棄後加入 DMSO 震盪 5 分鐘，置於酵素免疫分析儀 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 上以 540 nm 吸光值進行判讀。

1.2 分析柿葉茶茱萸種子之乙酸乙酯萃取物 (B-EA) 對胰島素阻抗性細胞中葡萄糖濃度

首先將需產生胰島素阻抗之組別先以 TNF- α 進行處理，使其產生胰島素阻抗之後，再分別給予 B-EA 萃取物及增敏劑 troglitazone (TZD) 進行處理後置於培養箱內培養，於 1、2、3、4、5 小時進行蒐集，再加入葡萄糖試劑放於 ELISA 以吸光值 500 nm 進行測定。

測定結果圖四所示，柿葉茶茱萸種子之乙酸乙酯粗萃物對於細胞葡萄糖吸收的效果，Control 組為未經任何處理之正常細胞，葡萄糖濃度雖有降低但無明顯下降，而由胰島素 500 nM 刺激後經時間作用，可看見葡萄糖濃度有顯著的下降，而經 TNF- α 處理過之後，可看見即使添加了胰島素刺激葡萄糖濃度也未能有顯著的下降，顯示已產生了胰島素阻抗，最後添加了種子乙酸乙酯粗萃物 (B-EA) 之組別，即使細胞產了胰島素阻抗，卻可看見葡萄糖濃度有顯著的下降。

降，顯示該粗萃物具有改善細胞胰島素之阻抗進而提升葡萄糖的吸收。



圖三、 B-EA 萃取物對胰島素阻抗性細胞中葡萄糖濃度之影響

● 為正常細胞組； ○ 為胰島素添加組； ▼ 為 TNF- α 處理組；
△ 為 TNF- α 處理及胰島素添加組； ■ 為 B-EA 萃取物給藥組。結果顯示為 3 次重複實驗之平均值 \pm 標準誤差。

由於柿葉茶茛菪 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 的研究文獻非常的少，因此本研究計畫案針對柿葉茶茛菪種子部分的研究目的有下列幾項：

- 一、純化台灣稀有植物-柿葉茶茛菪的天然物。
- 二、建立此類化合物的分離流程與方法。
- 三、建立化合物之各種圖譜與結構資料。
- 四、生物活性篩選。
- 五、尋找治療糖尿病新藥。

第二章 材料與方法

2.1 樣品的採集

本次實驗所使用的柿葉茶茱萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc.，是由本人於南台灣墾丁所採集的，採集的時間為 2011 年 7 月。

2.2 分離與純化

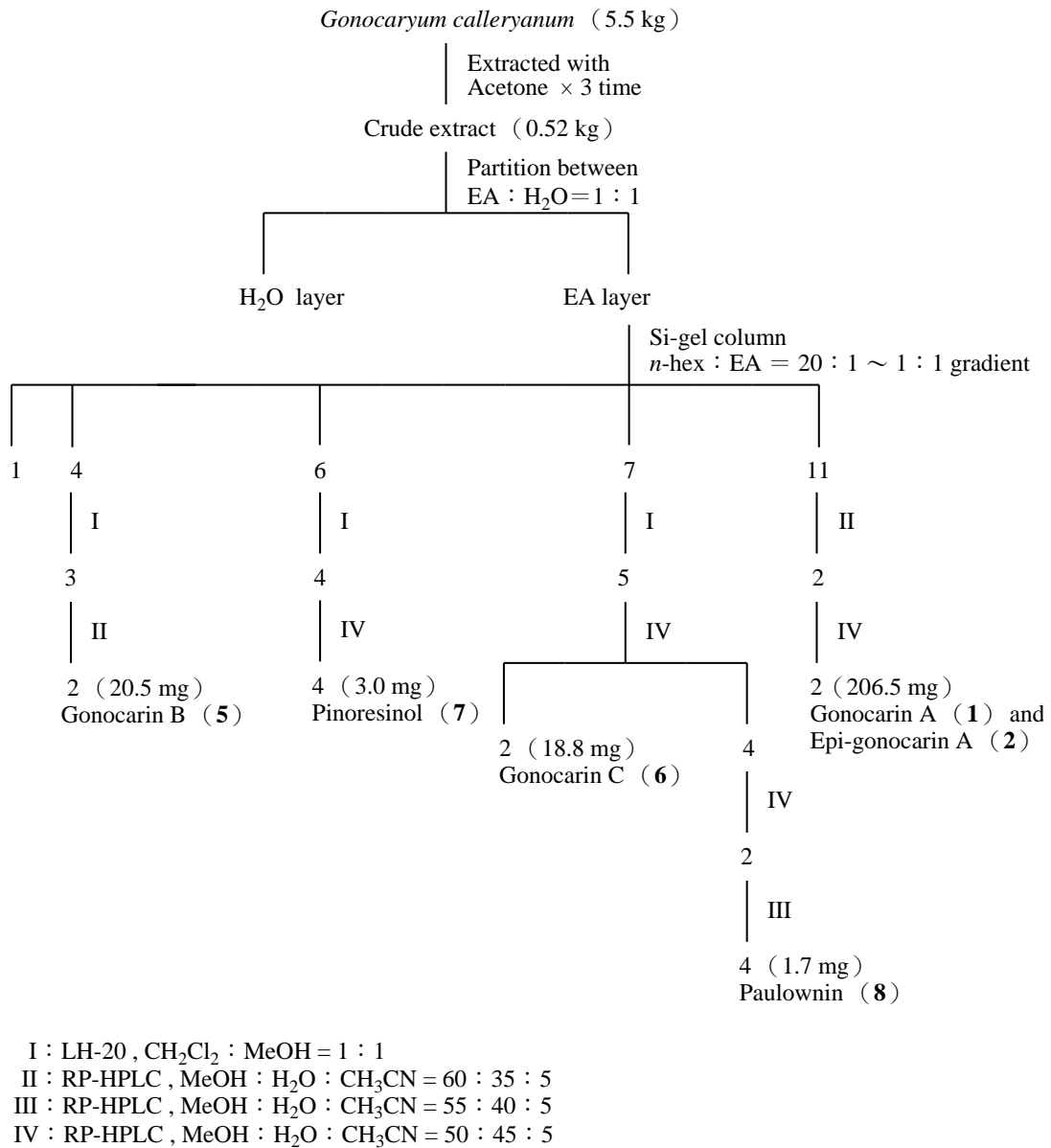
將採集到的柿葉茶茱萸種子烘乾後攪碎，得乾重約 5.50 公斤，用乙酸乙酯在室溫下浸泡萃取三次，將浸液合併，經由過濾、減壓濃縮後得到深褐色的膏狀粗萃物（520 公克），之後用乙酸乙酯與水作液液分配萃取，將乙酸乙酯層經減壓濃縮後得到深綠色的膏狀萃物（220 公克），將此萃物以矽膠管柱色層分析做初步分離，以正己烷和乙酸乙酯進行梯度沖提，共得到十一個分離層，編號分別是 B1 ~ B11。

透過核磁共振儀（Nuclear Magnetic Resonance, NMR）圖譜分析後，先取 B4 分離層經由 LH-20 管柱色層分析，以二氯甲烷和甲醇進行沖提後得到五個分離層，再以第三個分離層進行高效能液相層析（High performance liquid chromatography, HPLC）逆相管柱分離純化，得到 Gonocarin B（5）。

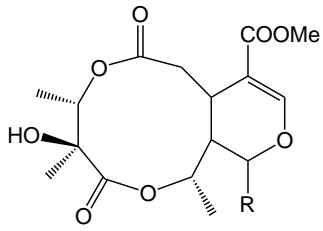
再取 B6 分離層經由 LH-20 管柱色層分析，以二氯甲烷和甲醇進行沖提後得到五個分離層，再以第四個分離層進行 HPLC 逆相管柱分離純化，得到 Pinoresinol（7）。

取 B7 分離層經由 LH-20 管柱色層分析，以二氯甲烷和甲醇進行沖提後得到五個分離層，以第五個分離層進行 HPLC 逆相管柱分離，共得到八個分離層，其中第二個分離層是經 NMR 圖譜鑑定後，確定為 Gonocarin C（6），再以第四個分離層進行 HPLC 逆相管柱分離，而得到兩個分離層，以第二個分離層進行 HPLC 逆相管柱分離純化，經 NMR 圖譜鑑定後，確定為 Paulownin（8）。

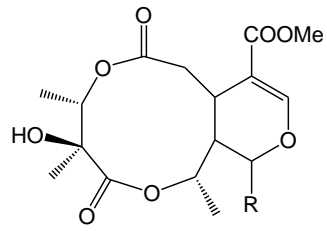
最後取 B11 分離層進行 HPLC 逆相管柱分離後得到兩個分離層，以第二個分離層進行 HPLC 逆相管柱分離純化，得到 Gonocarin A（1）和 Epi-gonocarin A（2）。其詳細分離流程如下圖五所示。



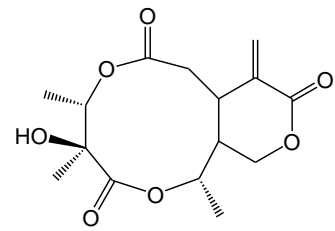
圖四、柿葉茶茱萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc.之分離流程



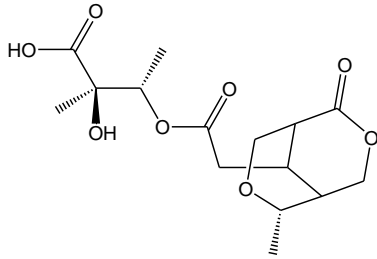
1. R = α - OH
2. R = β - OH



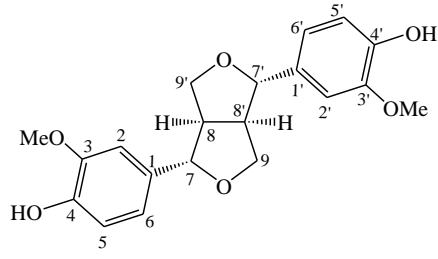
3 R = α - OAc
4 R = β - OAc



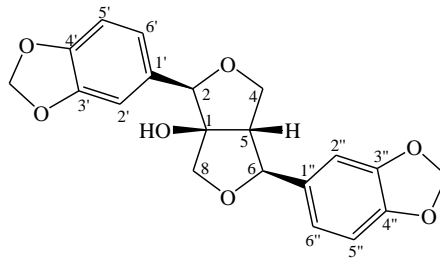
5



6



7



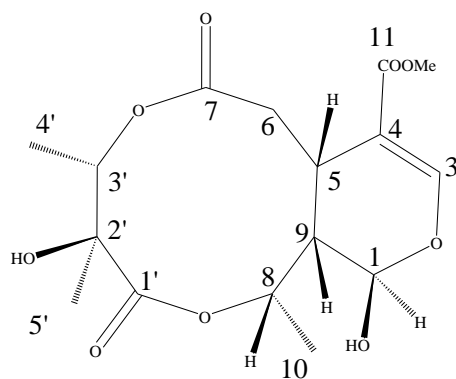
8

第三章 結果與討論

3.1 Gonocarin A (1) 的結構解析

Gonocarin A (1) 的外觀為無色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{26}$ 為 +299.4 (c 0.3, CH_2Cl_2)。在高解析電灑式質譜 (HRESIMS) 上可觀察到一擬分子峰 m/z 為 381.1159 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，推測其分子式為 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_9$ ，具有 6 個不飽和度。UV λ_{max} (MeOH) 在 242 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3456、1738、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、ester group 和 double bond。綜合以下圖譜訊號確定化合物 1 的結構，並命名為 Gonocarin A (1)，是首度從自然界中分離之新化合物。² 其詳細的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 數據見表一。

表一、 Gonocarin A (1) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	5.88 (s)	92.5 (d)
3	7.52 (s)	151.9 (d)
4		109.7 (s)
5	3.39 (m)	30.6 (d)
6	2.60 (t, 15.2) 3.10(dd, 12.0, 12.0)	35.4 (t)
7		173.6 (s)
8	4.87 (d, 6.8)	76.7 (d)
9	1.98 (m)	43.9 (d)
10	1.46 (d, 6.8)	18.3 (q)
11		166.7 (s)
OMe	3.74 (s)	51.5 (q)
1'		175.7 (s)
2'		74.5 (s)
3'	5.05 (m)	73.2 (d)
4'	1.33 (m)	12.8 (q)
5'	1.35 (s)	16.4 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz



圖 3-1-1 、 Gonocarin A (1) 之 ^1H NMR 圖譜

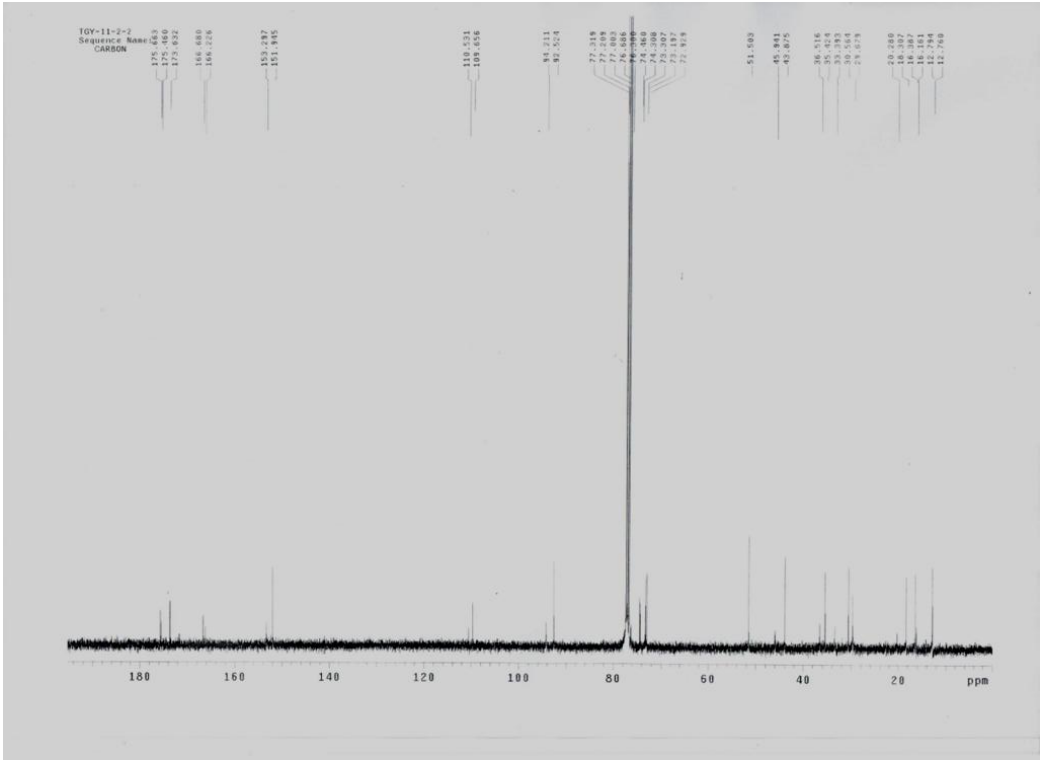


圖 3-1-2 、 Gonocarin A (1) 之 ¹³C NMR 圖譜

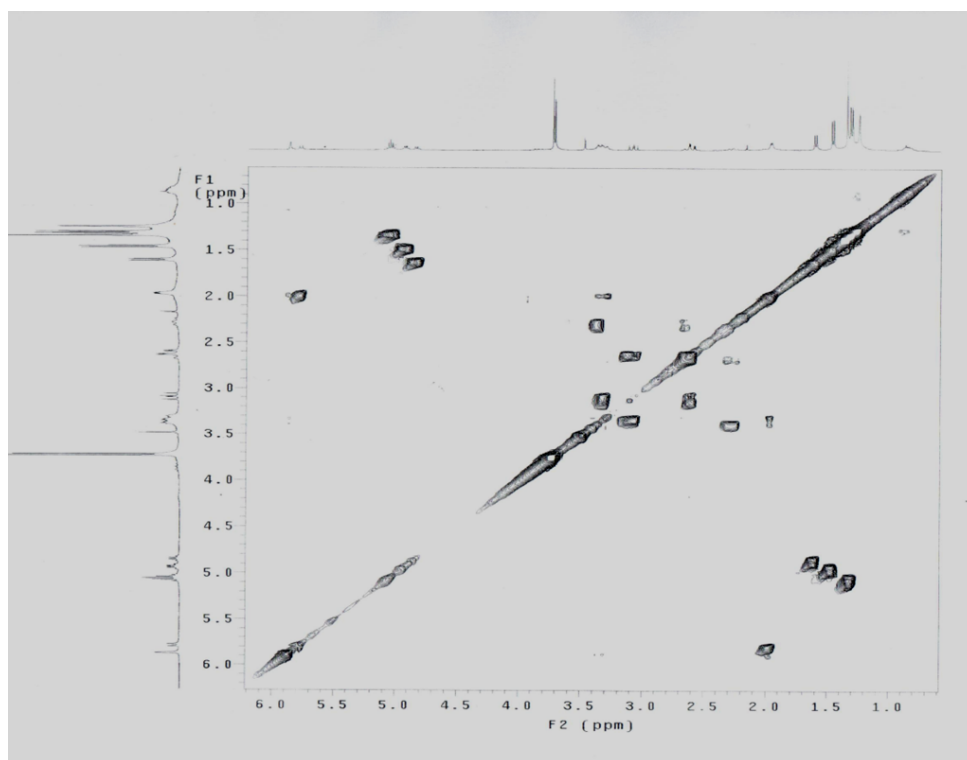


圖 3-1-3 、 Gonocarin A (1) 之 COSY 圖譜

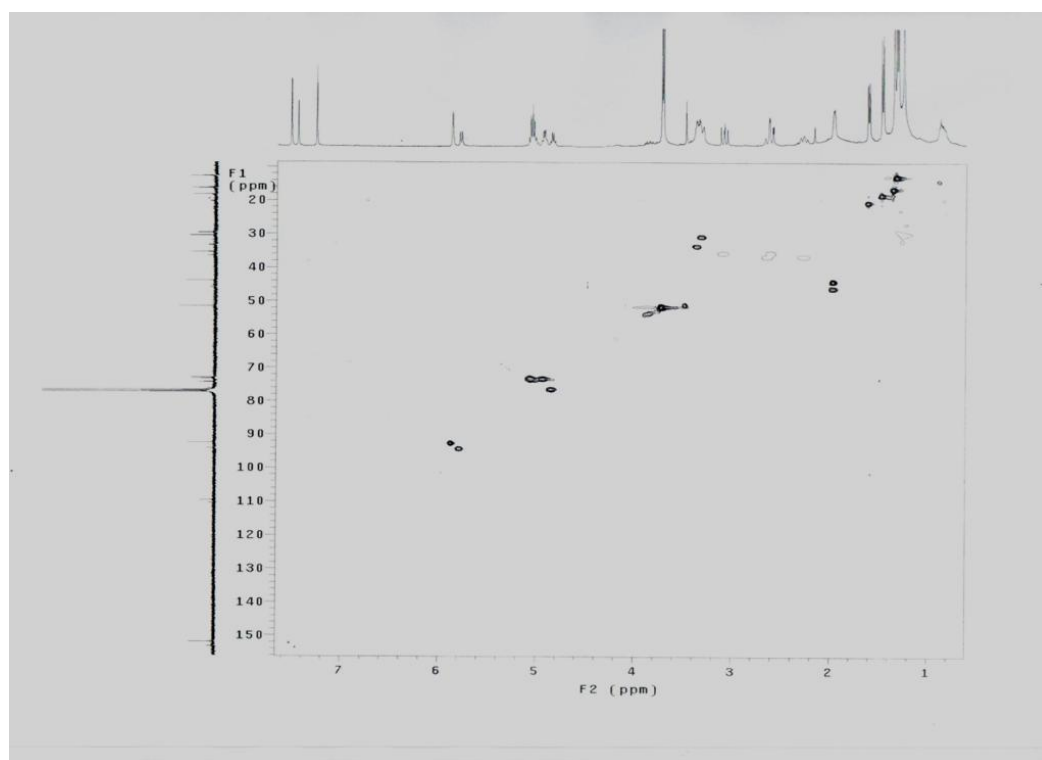


圖 3-1-4 、 Gonocarin A (1) 之 HMQC 圖譜

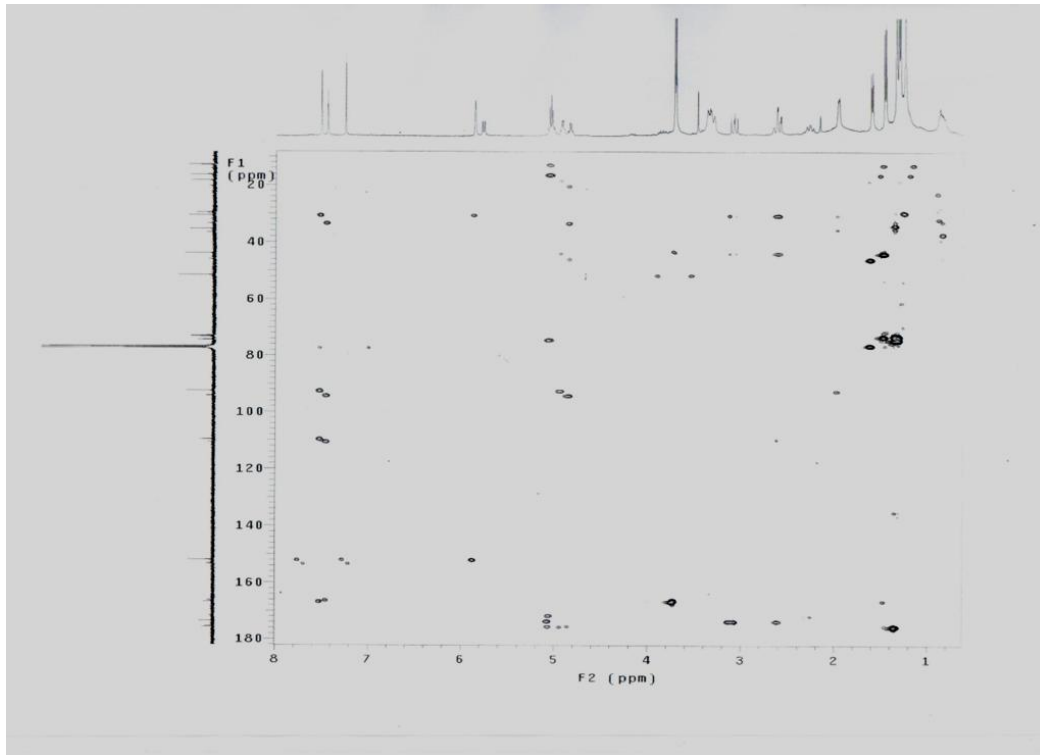


圖 3-1-5 、 Gonocarin A (1) 之 HMBC 圖譜

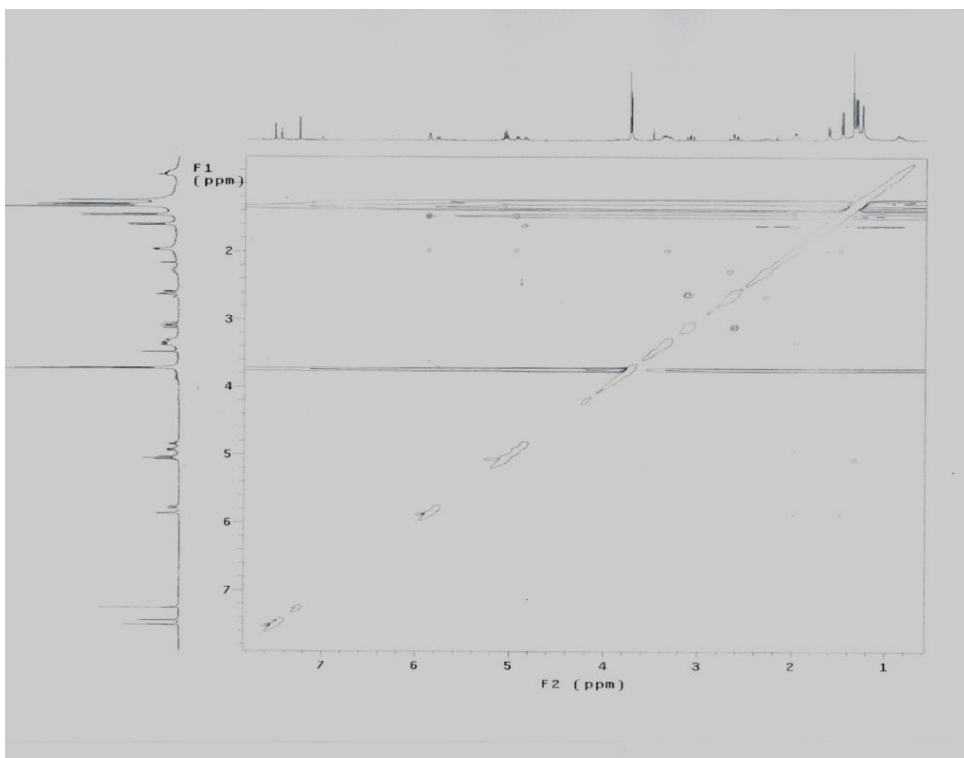


圖 3-1-6 、 Gonocarin A (1) 之 NOESY 圖譜

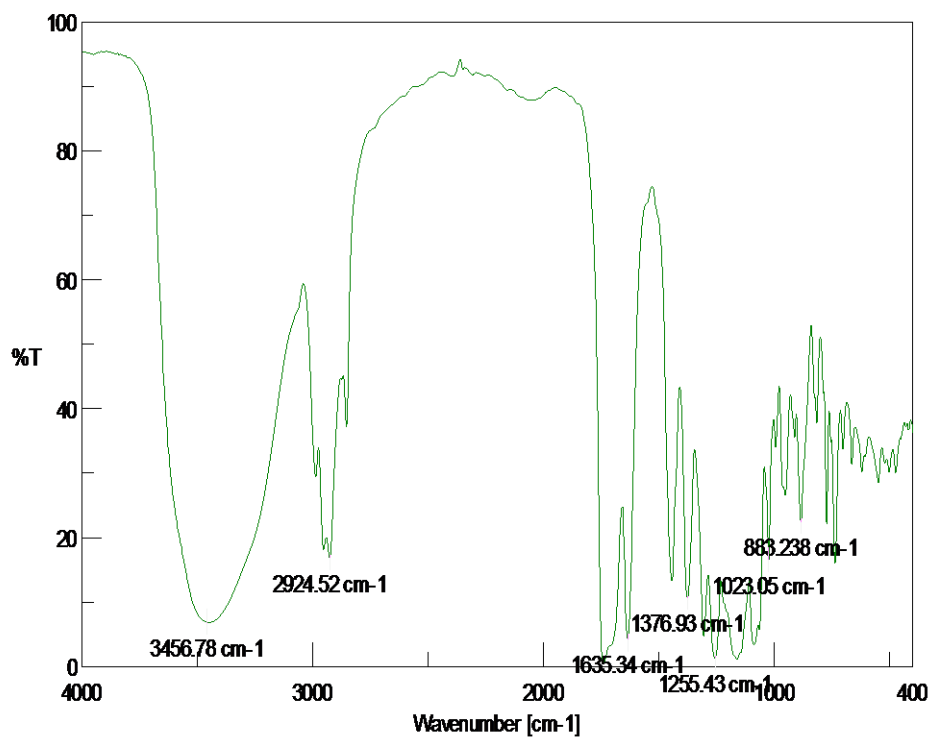


圖 3-1-7 、 Gonocarin A (1) 之 IR 圖譜

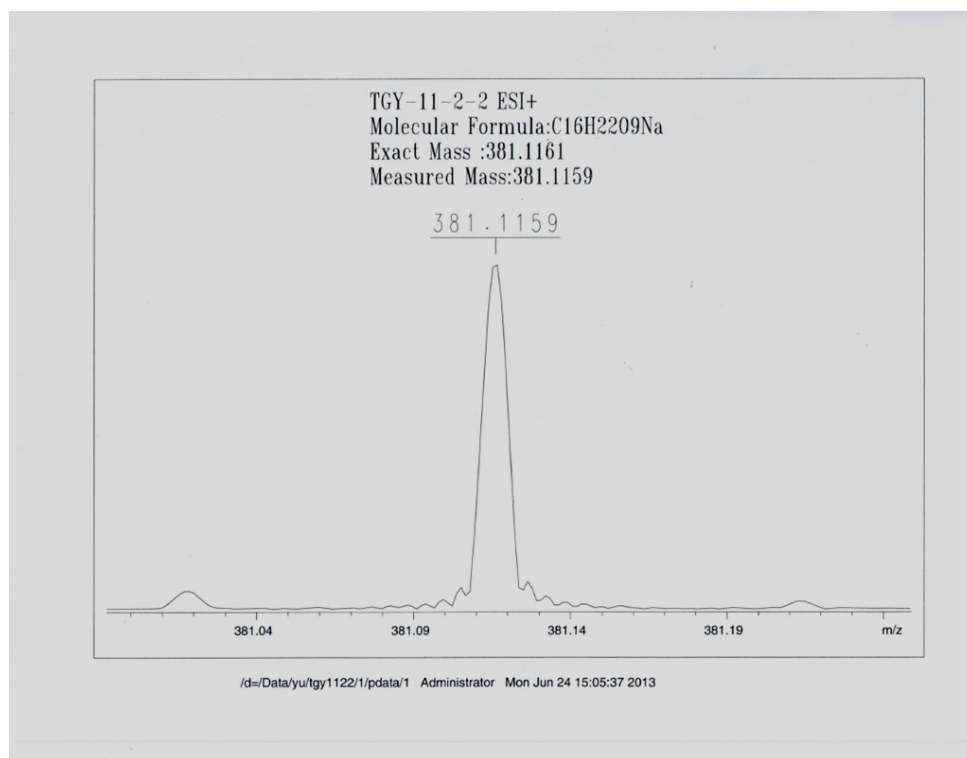
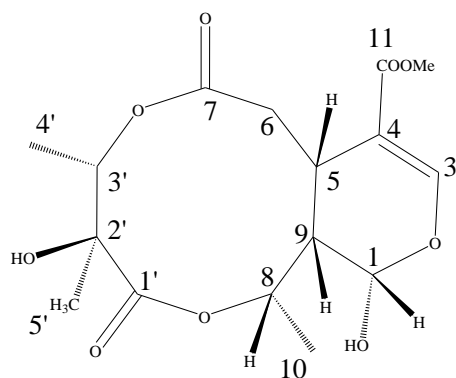


圖 3-1-8 、 Gonocarin A (1) 之 HRESIMS 圖譜

3.2 Epi-gonocarin A (2) 的結構解析

Epi-gonocarin A (2) 是夾雜在 Gonocarin A (1) 的微量分子，由於其極性極為相近，無法經由薄層色層分析片 (Thin Layer Chromatography, TLC) 及高效率液相層析儀 (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC) 分離純化之，推測該化合物為 Gonocarin A (1) 之 epimer 化合物，其主要差別在於 C-1 號位所接的 hydroxy group (OH) 立體位向不同於 Gonocarin A (1)，因此化合物 2 的結構命名為 Epi-gonocarin A (2)，其亦是首度從天然界中分離之新化合物²。其詳細的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 數據見表二。

表二、 Epi-gonocarin A (2) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	5.78 (d, 9.2)	94.2 (d)
3	7.46 (s)	153.3 (d)
4		110.5 (s)
5	3.39 (m)	33.4 (d)
6	2.29 (m)	36.5 (t)
	2.64 (m)	
7		171.8 (s)
8	4.85 (m)	76.3 (d)
9	1.97 (m)	45.9 (d)
10	1.61 (d, 6.8)	20.1 (q)
11		166.2 (s)
OMe	3.73 (s)	51.5 (q)
1'		175.5 (s)
2'		74.3 (s)
3'	4.95 (q, 6.8)	73.3 (d)
4'	1.31 (d, 6.8)	12.8 (q)
5'	1.35 (s)	16.2 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

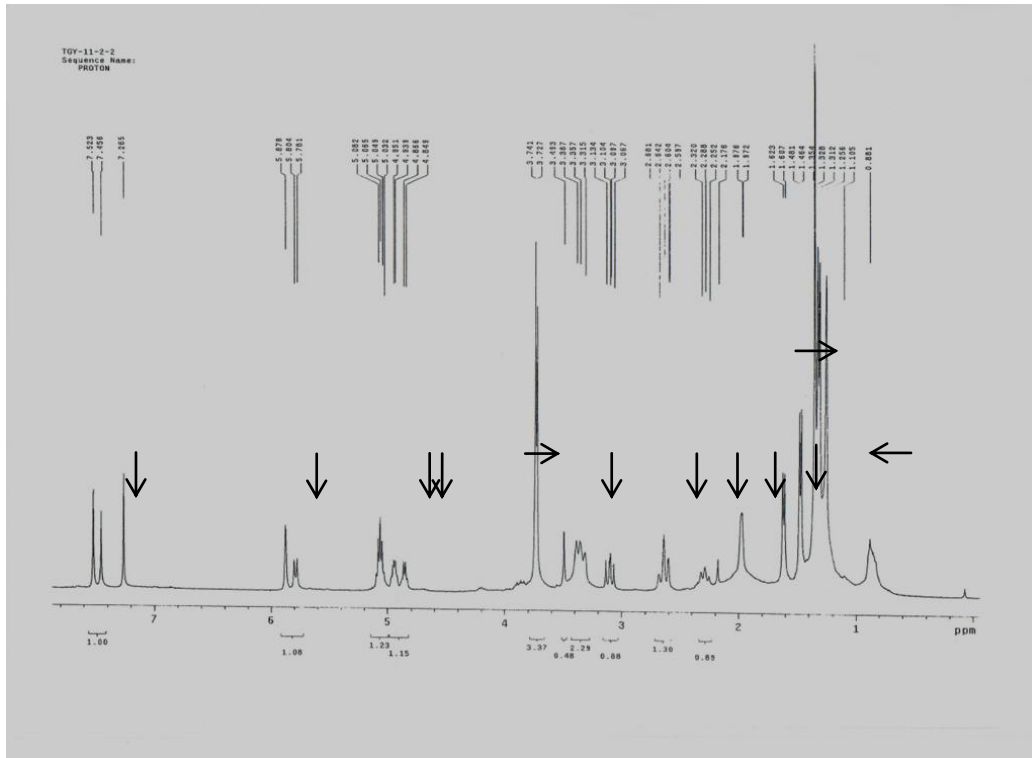


圖 3-2-1 、 Epi-gonocarin A (2) 之 ^1H NMR 圖譜

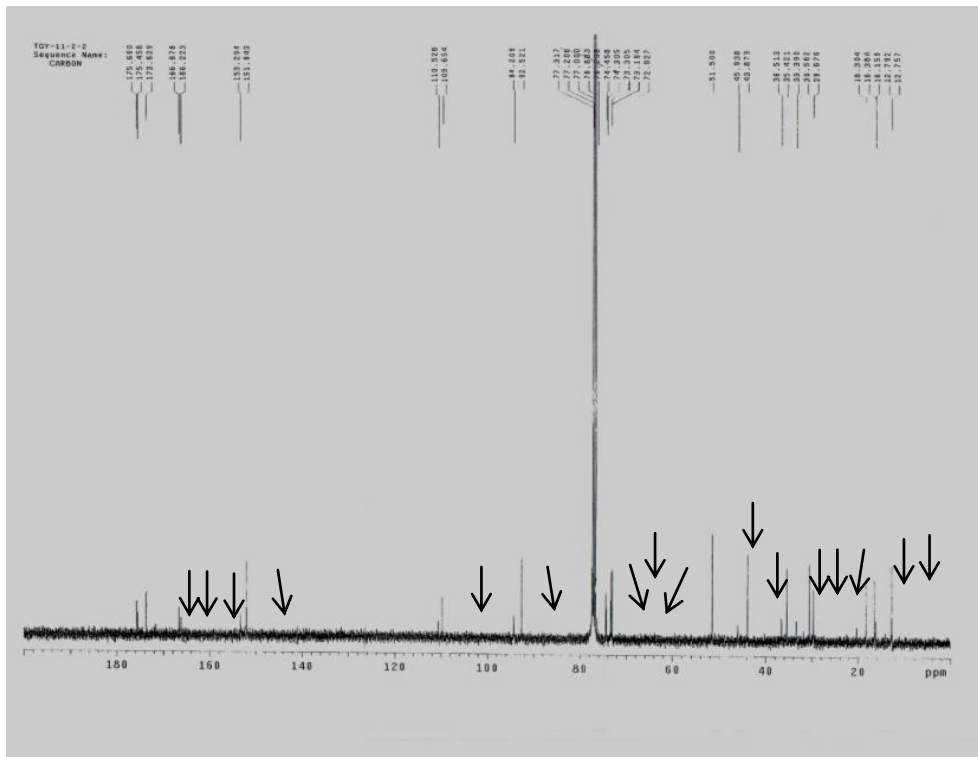


圖 3-2-2 、 Epi-gonocarin A (2) 之 ^{13}C NMR 圖譜

3.3 Gonocarin A monoacetate (3) 的結構解析

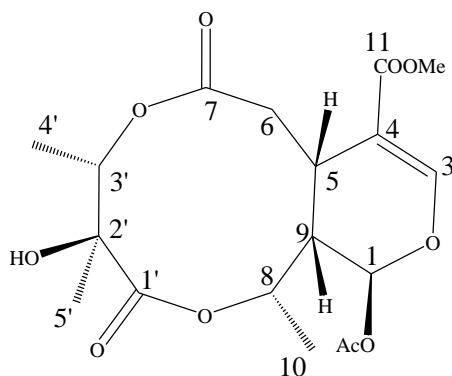
Gonocarin A monoacetate (3) 的外觀為無色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{26}$ 為 -319.0 (c 0.1, CH_2Cl_2)。在高解析電灑式質譜 (HRESIMS) 上有一擬分子峰 m/z 為 465.1184 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，推測其分子式為 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ ，具有 7 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 241 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3456、1738、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、ester group 和 double bond。

此化合物是經由 Gonocarin A (1) 加入醋酸酐等試劑反應而成的，在化合物 1 反應後，原本 C-1 的羥基被酯化成乙醯基，由 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜上可發現 H-1 的化學位移從化合物 1 的 (δ_{H} 5.88) 改變至 (δ_{H} 6.67)，且於氫圖上可以很明顯看出有一組乙醯基訊號 (δ_{H} 2.16)，由此表示酯化反應成功，本化合物的所有氫值數據指定與立體結構，皆比對反應起始物 Gonocarin A (1) NMR 圖譜所訂定的，並命名為 Gonocarin A monoacetate (3) 和 Epi-gonocarin A monoacetate (4)。其兩個化合物為新化合物。

製備方法

取 Gonocarin A (1) 內含約 10% 之 Epi-gonocarin A (2) 共 100 mg，加入 pyridine 0.8 mL 及乙酸酐 (acetic anhydride) 2 滴後混和，置室溫下旋轉攪拌反應 12 小時，而後加入冰水終止反應，與乙酸乙酯作液液分配萃取，將乙酸乙酯層經減壓濃縮後再以 HPLC 正相管柱分離純化，得到 Gonocarin A monoacetate (3) 61 mg 和 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 0.8 mg。由此可以反推證明 Gonocarin A (1) 確實內含 Epi-gonocarin A (2)。

表三、 Gonocarin A monoacetate (3) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	6.67 (d, 10.0)	90.1 (d)
3	7.38 (s)	152.6 (d)
4		111.2 (s)
5	3.4 (dt, 3.6, 5.2)	33.2 (d)
6	2.38 (m)	36.1 (t)
	2.71 (m)	
7		171.3 (s)
8	4.83 (q, 6.8)	75.2 (d)
9	2.14 (m)	43.7 (d)
10	1.50 (d, 6.8)	20.3 (q)
11		165.7 (s)
OMe	3.70 (s)	51.5 (q)
OAc	2.16 (s)	21.0 (q)
		168.5 (s)
1'		175.3 (s)
2'		74.3 (s)
3'	5.02 (q, 6.8)	73.3 (d)
4'	1.30 (d, 6.8)	12.7 (q)
5'	1.28 (m)	16.0 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

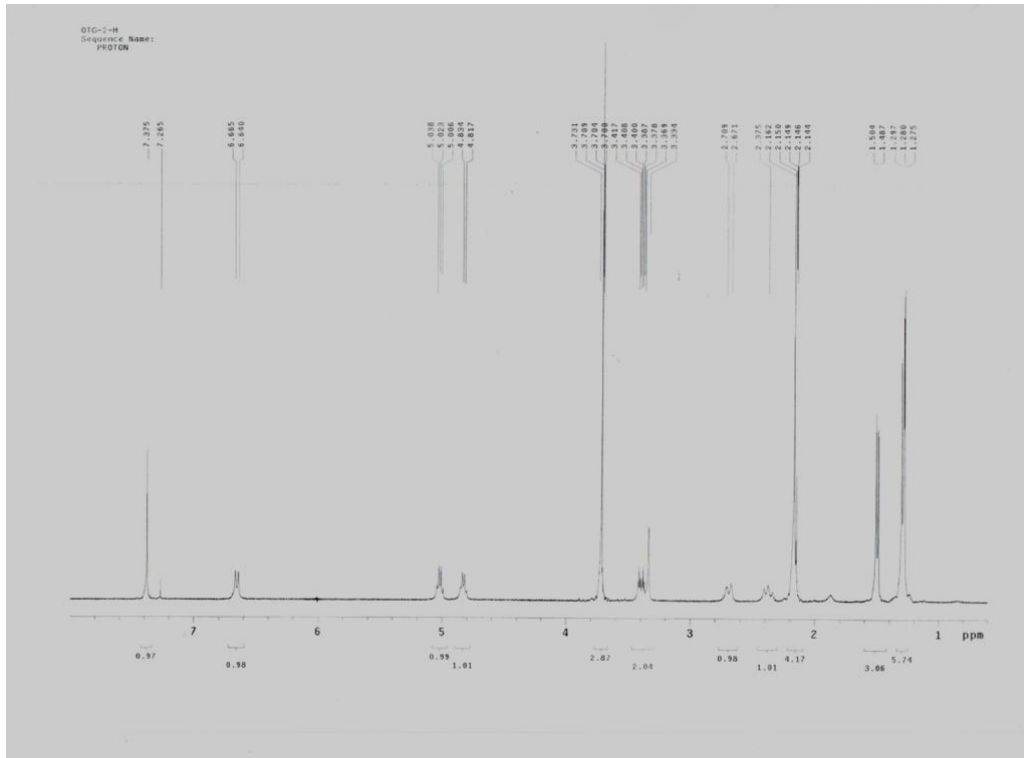


圖 3-3-1 、 Gonocarin A monoacetate (3) 之 ^1H NMR 圖譜

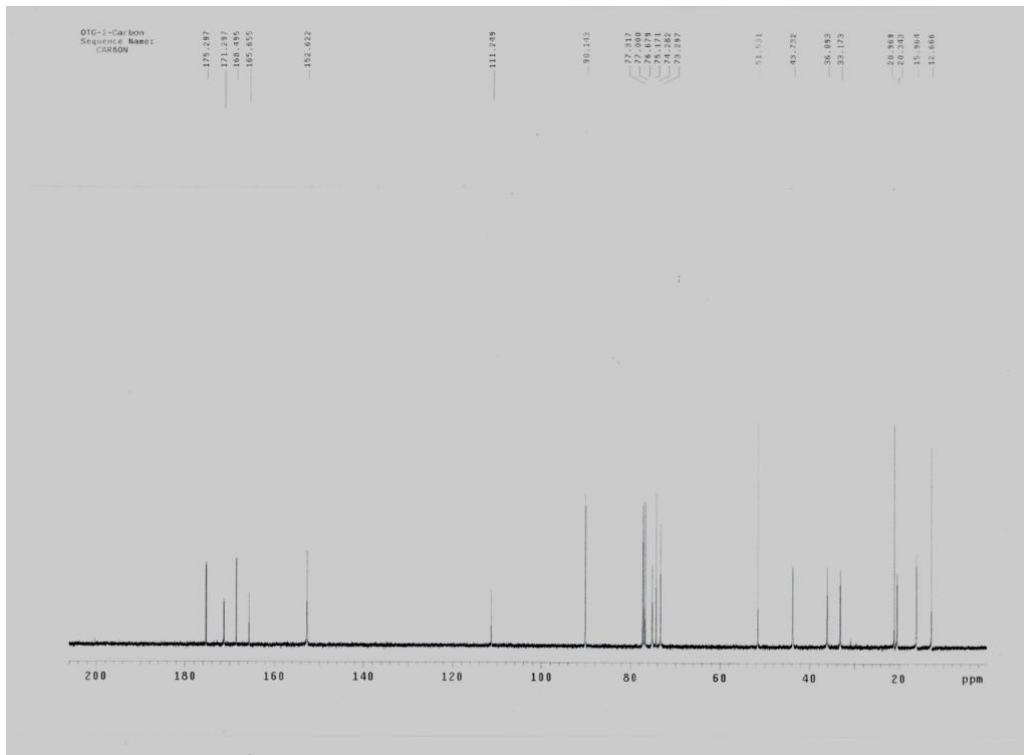


圖 3-3-2 、 Gonocarin A monoacetate (3) 之 ^{13}C NMR 圖譜

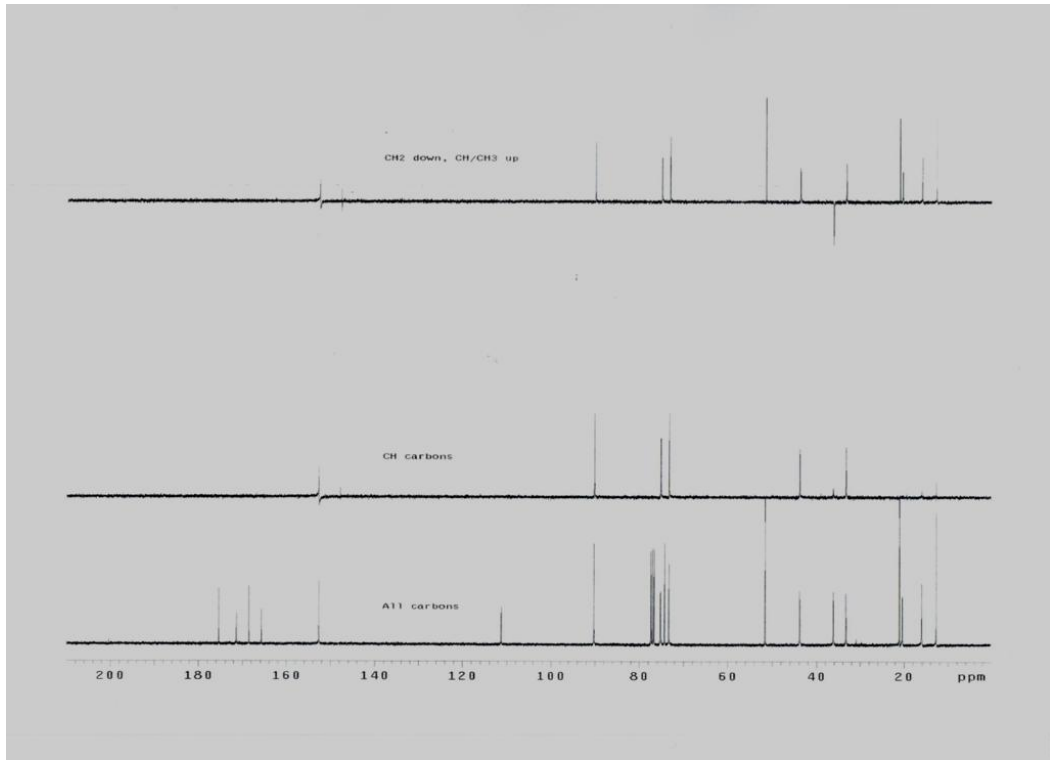


圖 3-3-3 、 Gonocarin A monoacetate (3) 之 DEPT 圖譜

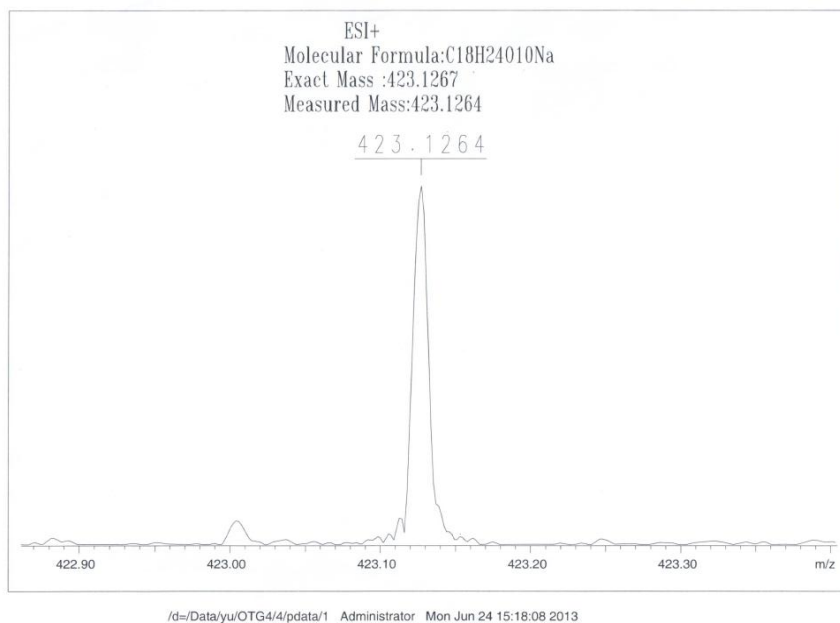
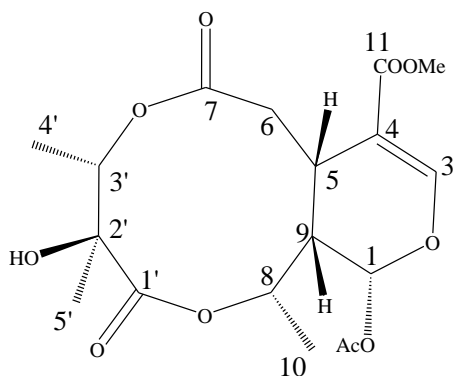


圖 3-3-3 、Gonocarin A monoacetate (3) 之 HRESIMS 圖譜

3.4 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 的結構解析

Epi-gonocarin A monoacetate (4) 的外觀為無色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{26}$ 為 -303.0 (c 0.1, CH_2Cl_2)。在高解析電灑式質譜 (HRESIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 423.1264 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ ，具有 7 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 241 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3456、1738、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、ester group 和 double bond。

表四、 Epi-gonocarin A monoacetate (4) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	6.67 (d, 10)	90.3 (d)
3	7.40 (s)	152.3 (d)
4		110.0 (s)
5	3.43 (m)	35.0 (d)
6	2.40 (m)	37.5 (t)
	2.74 (m)	
7		171.8 (s)
8	4.90 (q, 7.2)	74.1 (d)
9	2.19 (m)	43.2 (d)
10	1.48 (m)	14.8 (q)
11		169.2 (s)
OMe	3.74 (s)	51.6 (q)
OAc	2.20 (s)	21.1 (q)
		170.0 (s)
1'		171.5 (s)
2'		79.3 (s)
3'	5.35 (q, 6.8)	73.3 (d)
4'	1.31 (m)	14.1 (q)
5'	0.90 (m)	14.7 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

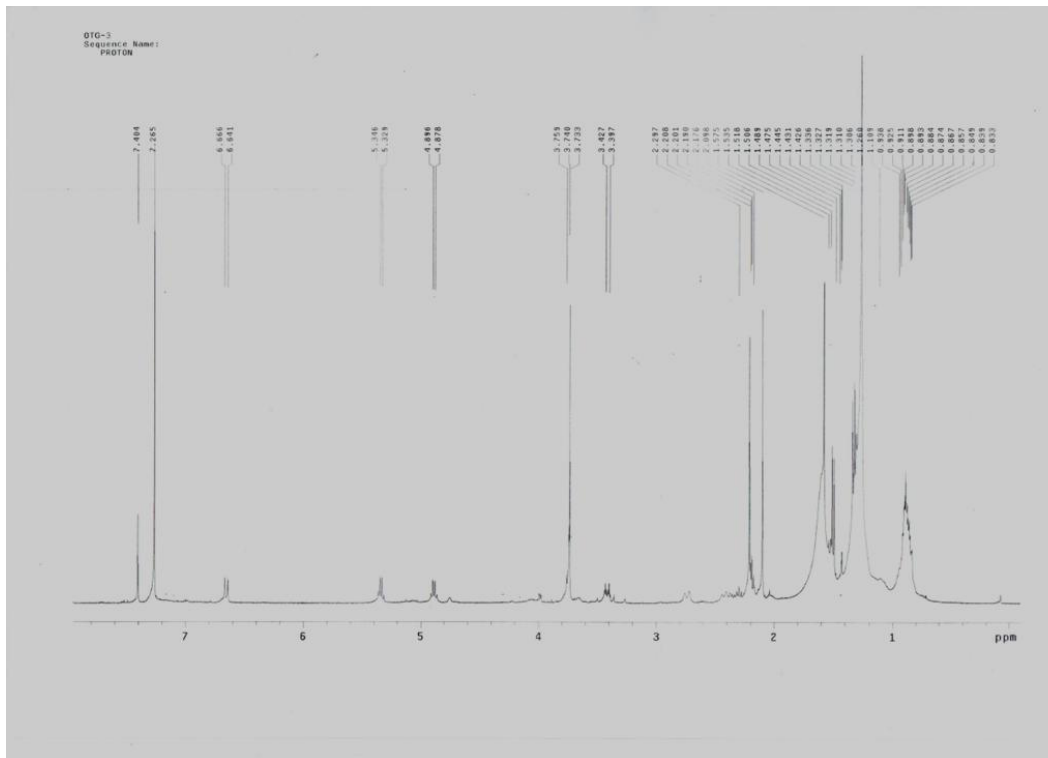


圖 3-4-1 、 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 之 ^1H NMR 圖譜

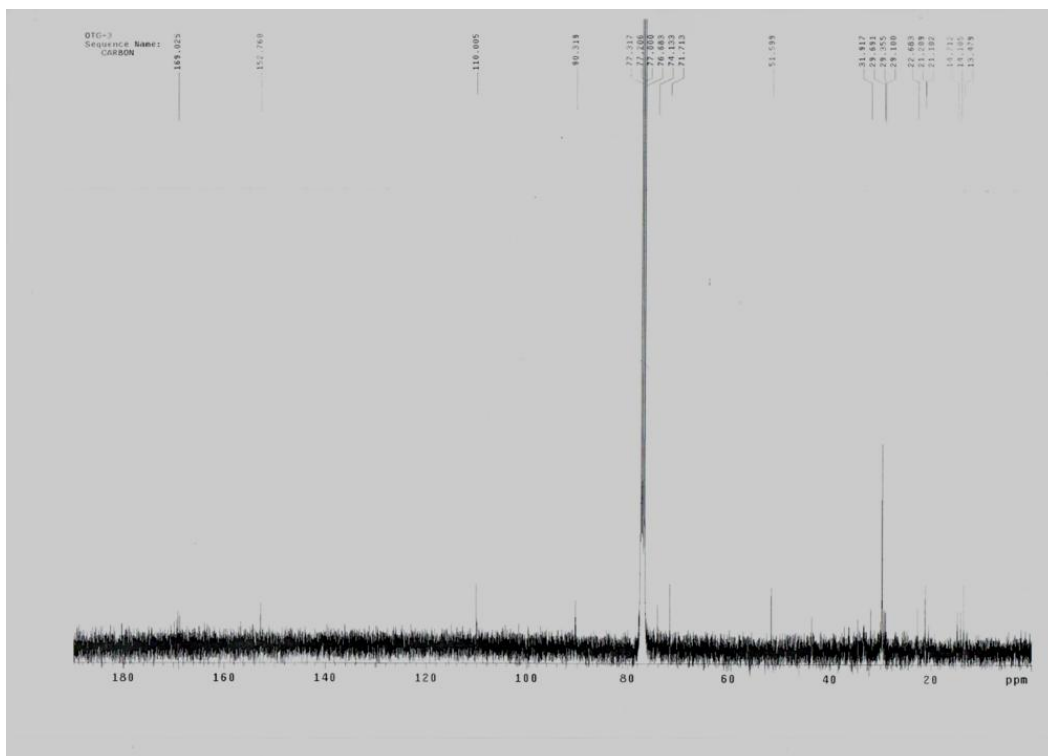


圖 3-4-2 、 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 之 ^{13}C NMR 圖譜

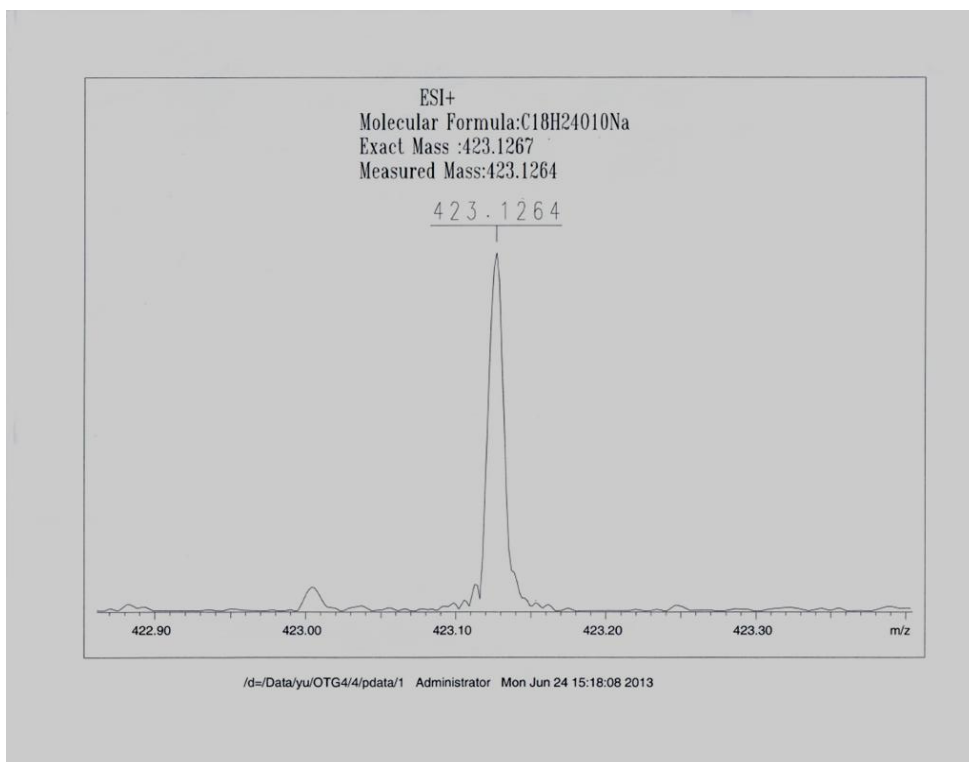
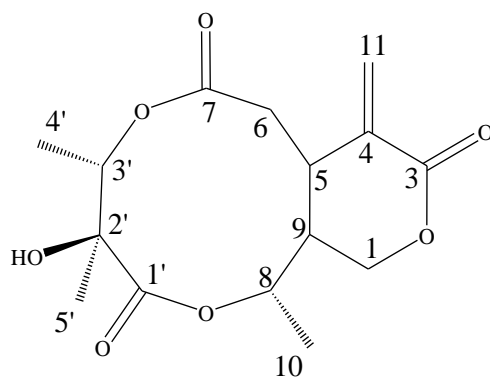


圖 3-4-3 、 Epi-gonocarin A monoacetate (4) 之 HRESIMS 圖譜

3.5 Gonocarin B (5) 的結構解析

Gonocarin B (5) 的外觀為黃色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_{D26}$ 為 -51.1 (c 0.4, CH_2Cl_2)。在高解析電灑式質譜 (HRESIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 335.1105 $[M + Na]^+$ ，得知其分子式為 $C_{15}H_{20}O_7$ ，具有 6 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 230 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3456、1734 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、ester group 和 double bond。由以下光譜訊號解析出其化合物結構，並發現其為天然物界之新化合物。²

表五、 Gonocarin B (5) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	4.64 (m)	64.5 (t)
3		163.7 (s)
4		138.4 (s)
5	3.48 (m)	40.4 (d)
6	2.33 (m)	36.0 (t)
	2.70 (m)	
7		171.6 (s)
8	4.82 (m)	73.8 (d)
9	2.30 (m)	41.6 (d)
10	1.38 (d, 6.8)	18.6 (q)
11	5.68 (s)	128.8 (t)
	6.40 (s)	
1'		174.9 (s)
2'		74.3 (s)
3'	5.06 (q, 6.4)	73.5 (d)
4'	1.31 (d, 6.4)	12.7 (q)
5'	1.23 (s)	16.7 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

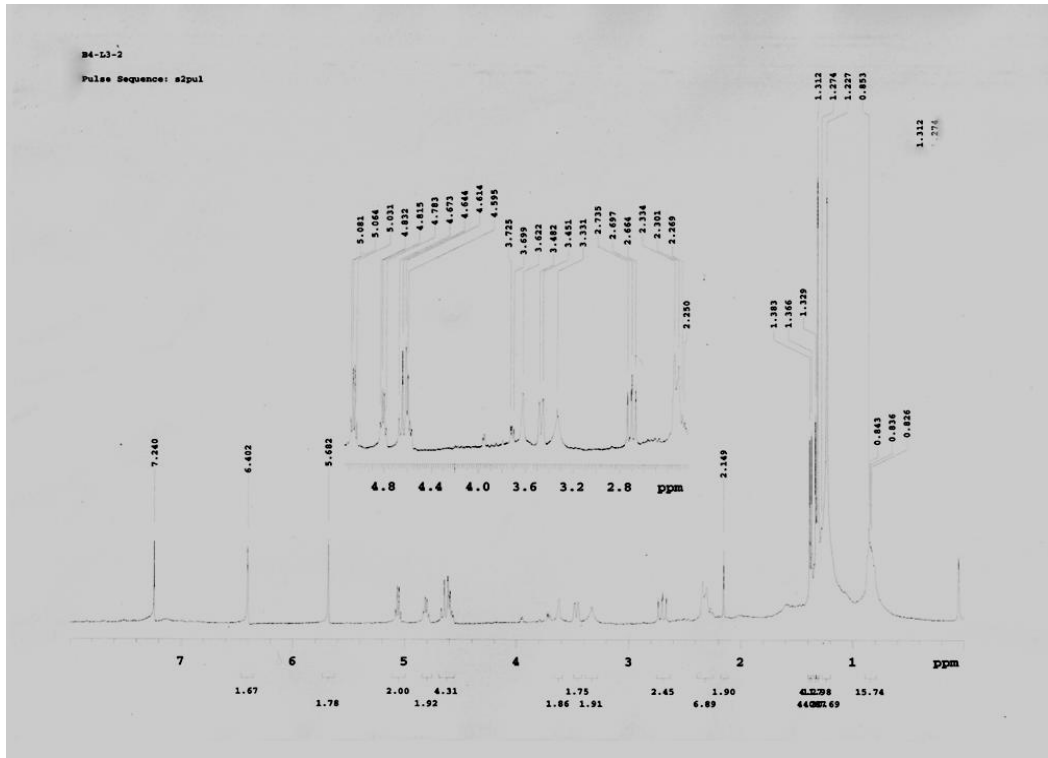


圖 3-5-1 、 Gonocarin B (5) 之 1H NMR 圖譜

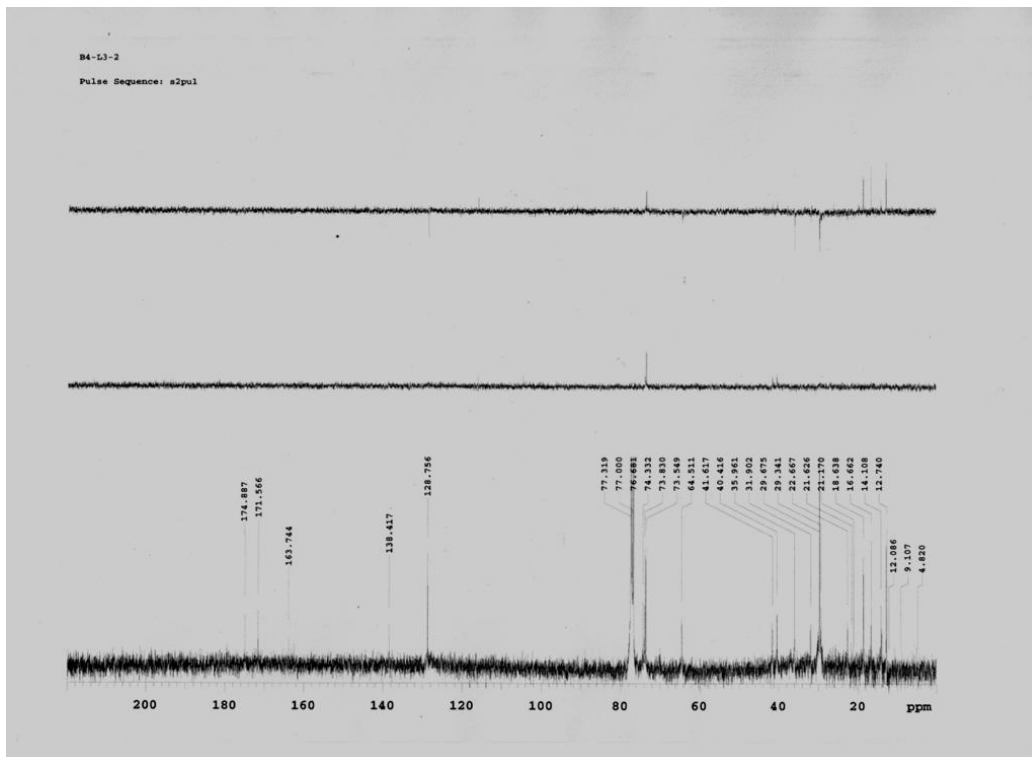


圖 3-5-2 、 Gonocarin B (5) 之 13C NMR 與 DEPT 圖譜

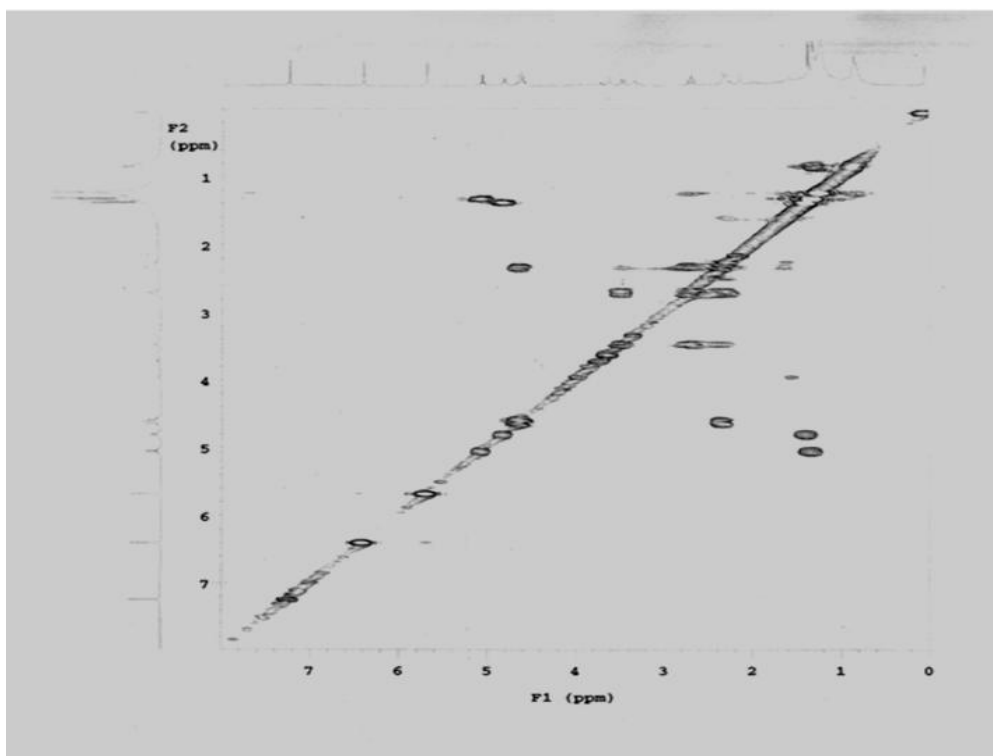


圖 3-5-3 、 Gonocarin B (5) 之 COSY 圖譜

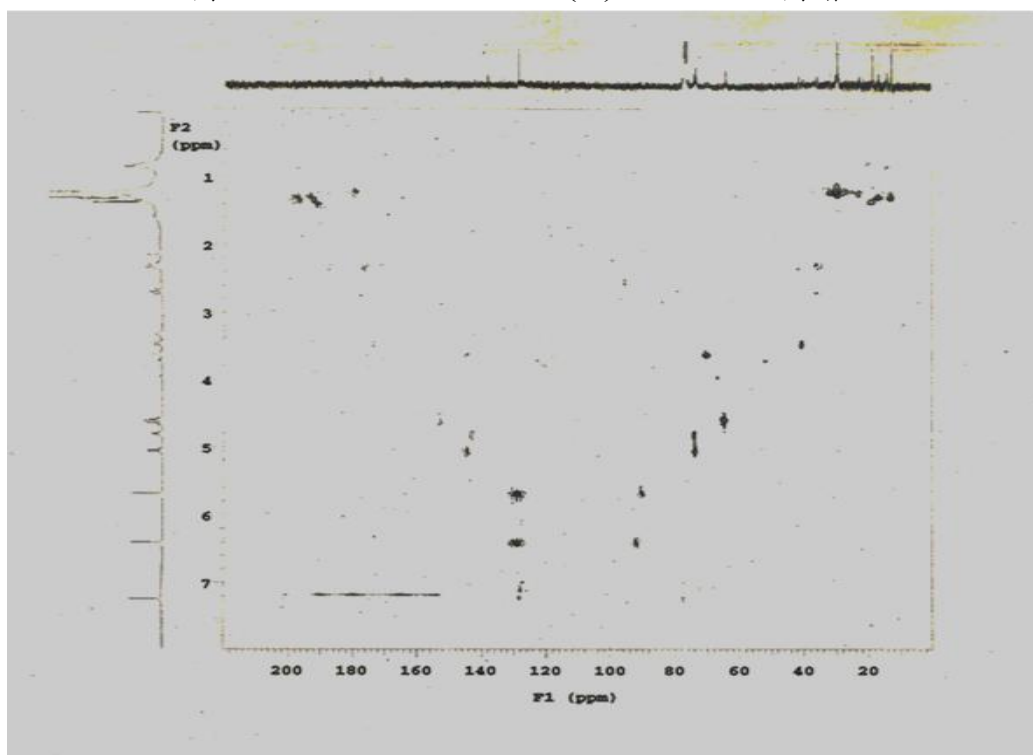


圖 3-5-4 、 Gonocarin B (5) 之 HMQC 圖譜

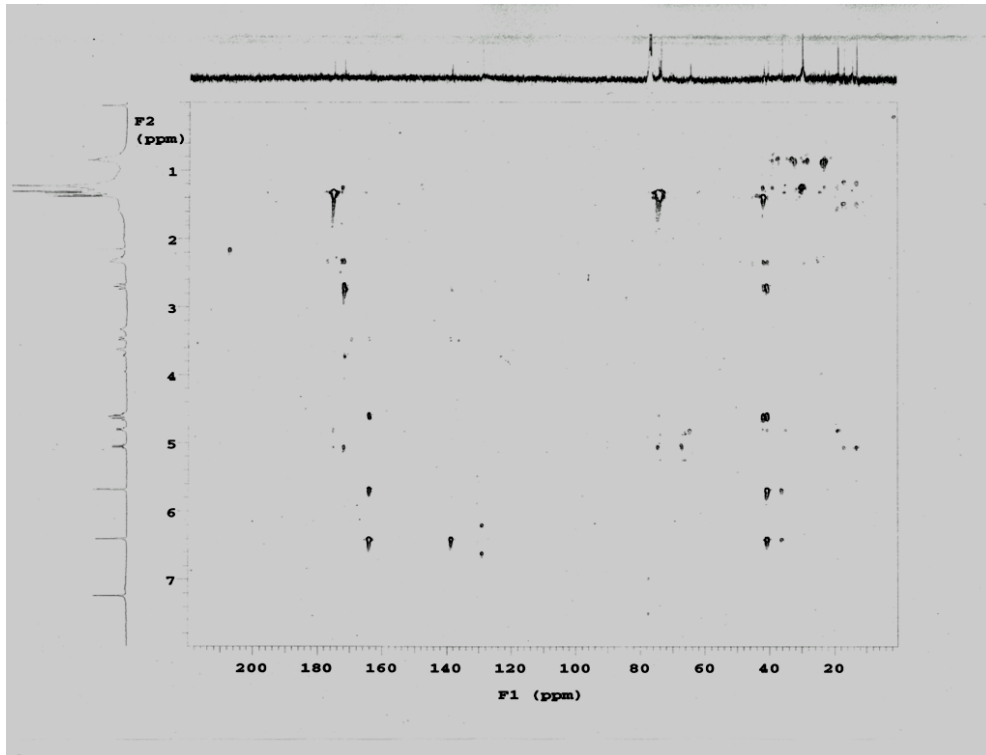


圖 3-5-5 、 Gonocarin B (5) 之 HMBC 圖譜

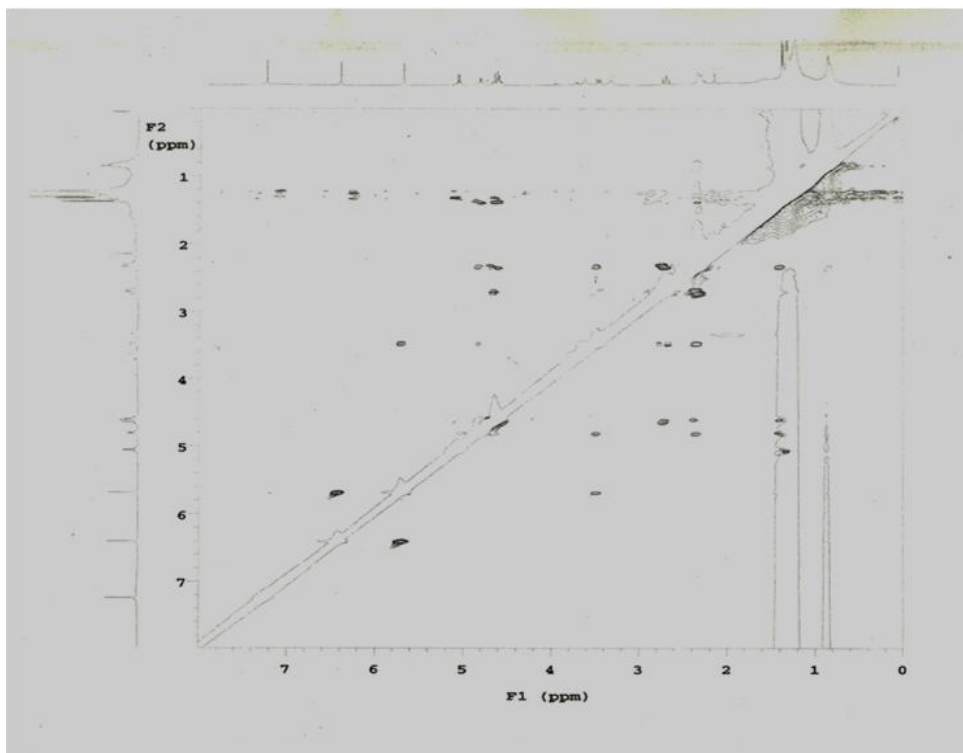


圖 3-5-6 、 Gonocarin B (5) 之 NOESY 圖譜

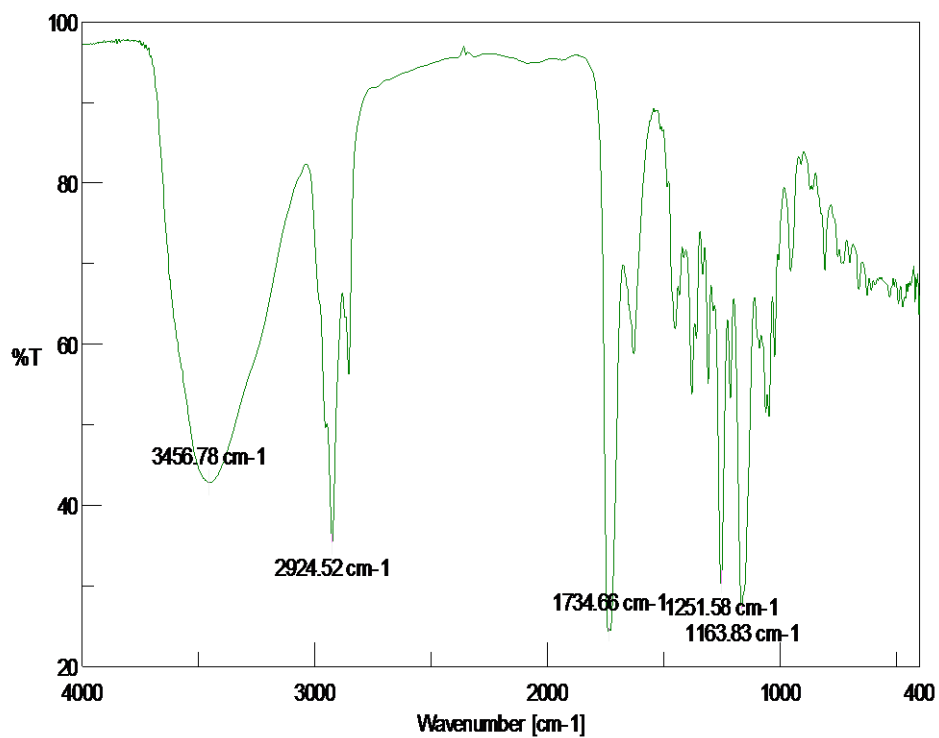


圖 3-5-7 、 Gonocarin B (5) 之 IR 圖譜

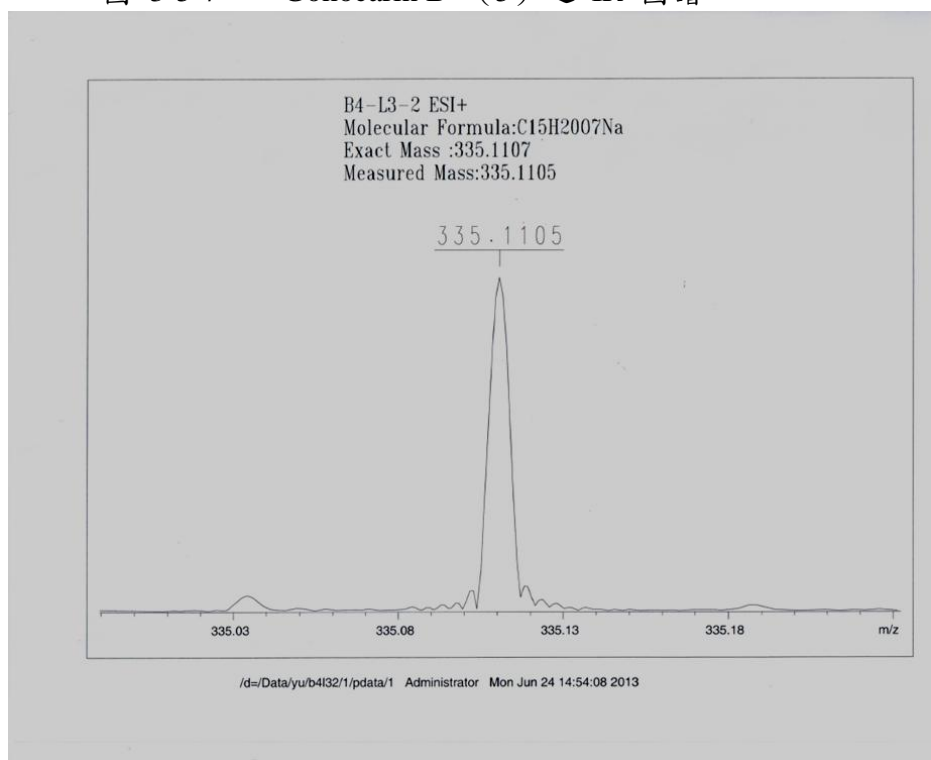
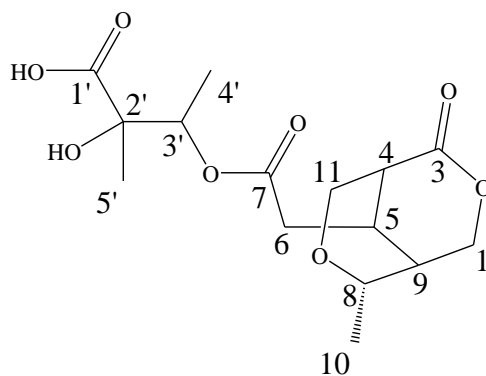


圖 3-5-8 、 Gonocarin B (5) 之 HRESIMS 圖譜

3.6 Gonocarin C (6) 的結構解析

Gonocarin C (6) 的外觀為黃色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{25}$ 為 $+100.5$ (c 0.1, CH_2Cl_2)。在高解析電灑式質譜 (HRESIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 353.1209 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_8$ ，具有 5 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 227 nm 有吸收。IR 圖譜在 ν_{max} 3433、1738、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、內酯 (lactone)。綜合以上圖譜訊號以及分子模型間的角張力作用進而確定化合物 6 的結構，命名為 Gonocarin C (6)，是首度從天然界中分離之新化合物。² 其詳細的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 數據見表六。

表六、 Gonocarín C (6) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^{\text{a}}$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^{\text{b}}$
1	4.61 (d, 6.4)	65.1 (t)
3		172.3 (s)
4	2.70 (d, 11.6)	48.9 (d)
5	2.88 (m)	35.5 (d)
6	2.50 (m)	30.5 (t)
7		171.8 (s)
8	4.81 (d, 6.4)	74.2 (d)
9	2.32 (m)	43.1 (d)
10	1.38 (m)	18.7 (q)
11	3.75 (m)	61.1 (t)
	3.93 (m)	
1'		173.0 (s)
2'		76.7 (s)
3'	5.05 (d, 6.4)	74.1 (d)
4'	1.35 (m)	12.7 (q)
5'	1.31 (m)	16.7 (q)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

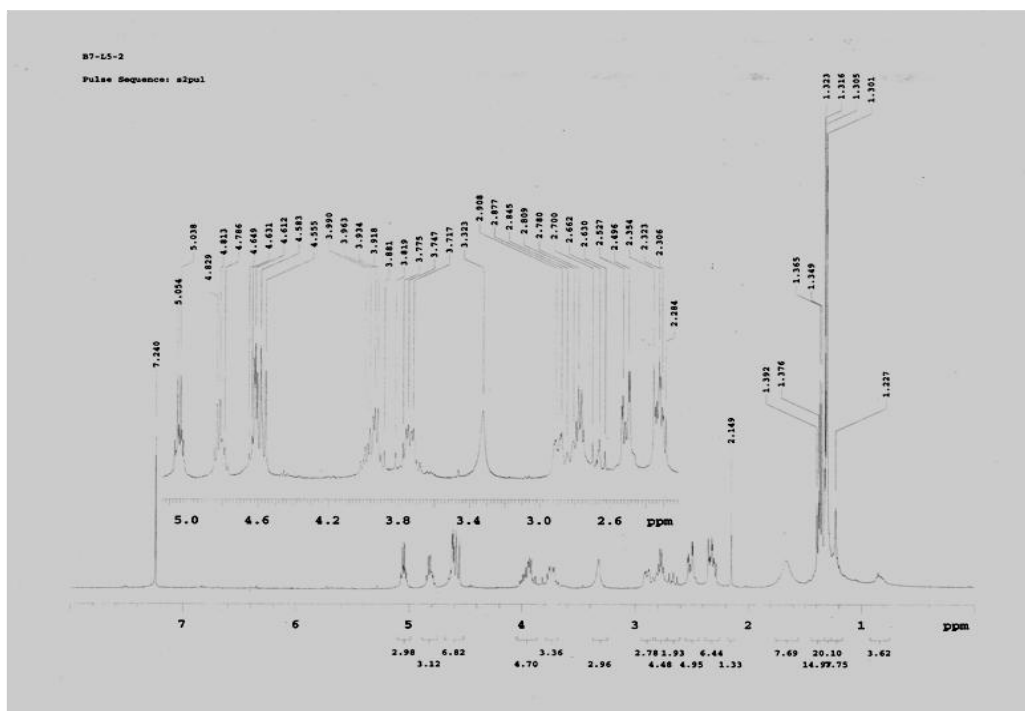


圖 3-6-1 、 Gonocarin C (6) 之 ^1H NMR 圖譜

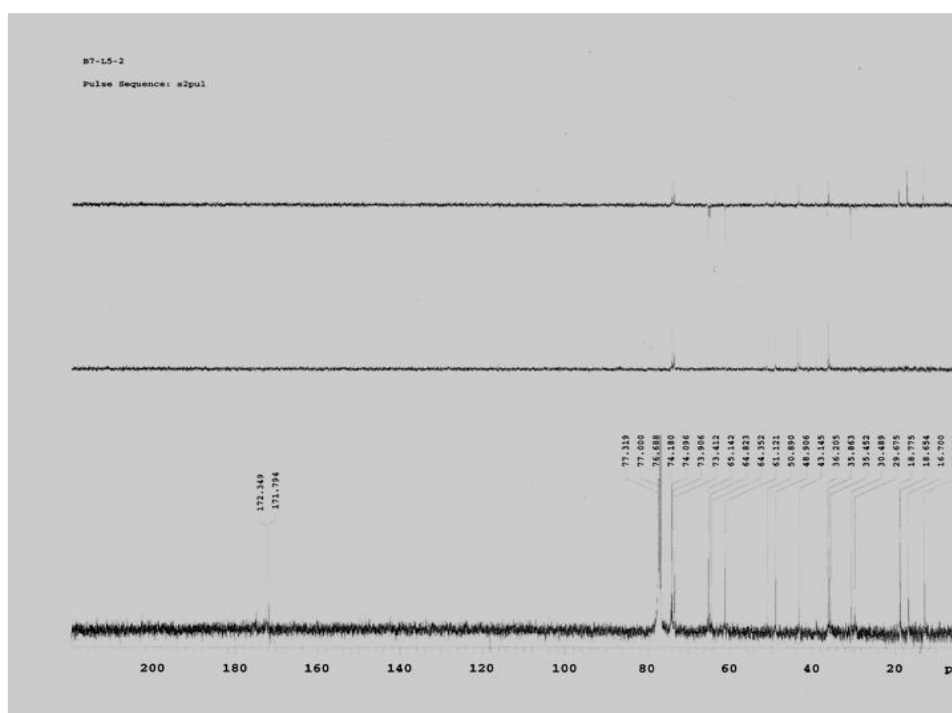


圖 3-6-2 、 Gonocarin C (6) 之 ^{13}C NMR 與 DEPT 圖譜

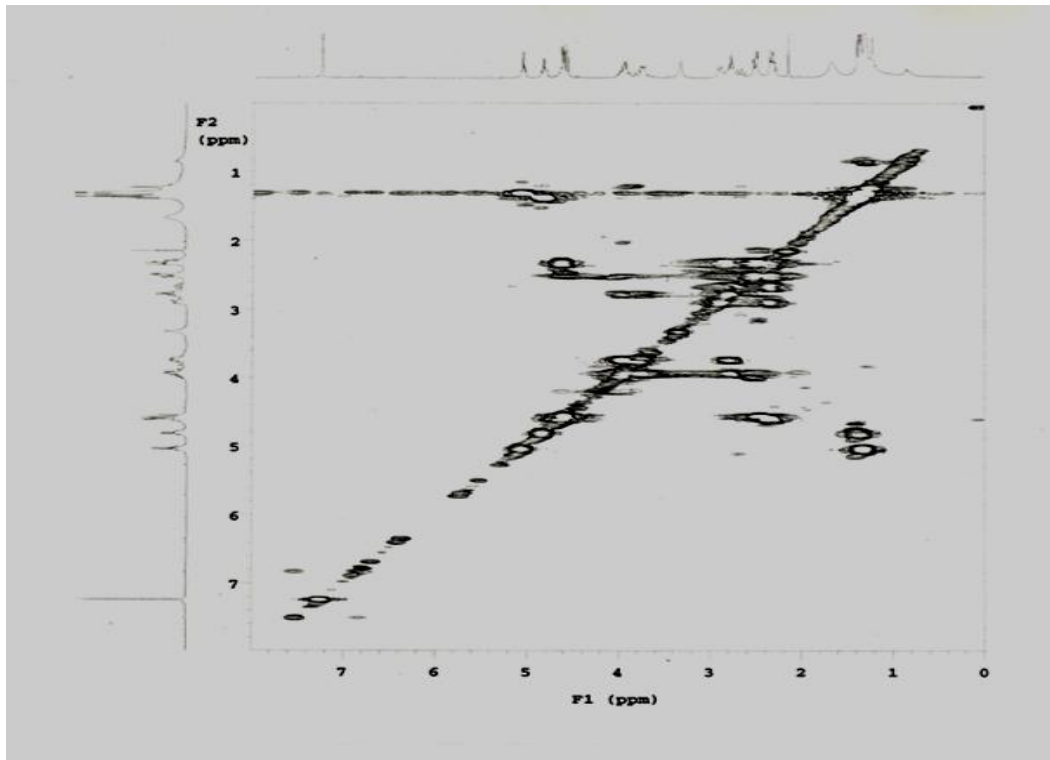


圖 3-6-3 、 Gonocarin C (6) 之 COSY 圖譜

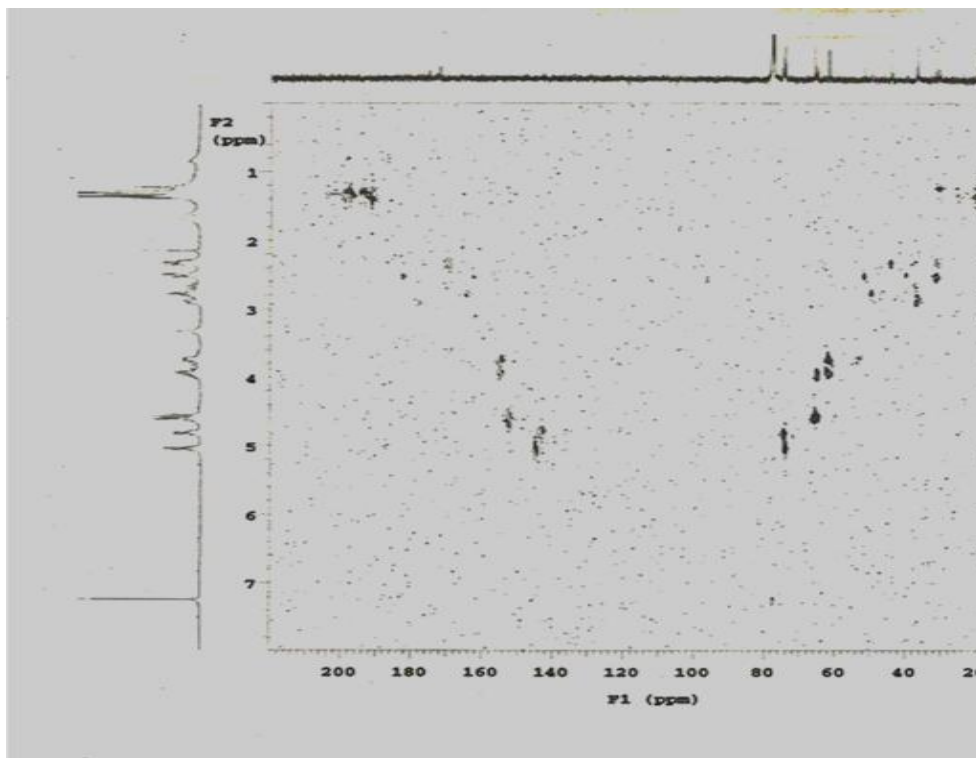


圖 3-6-4 、 Gonocarin C (6) 之 HMBC 圖譜

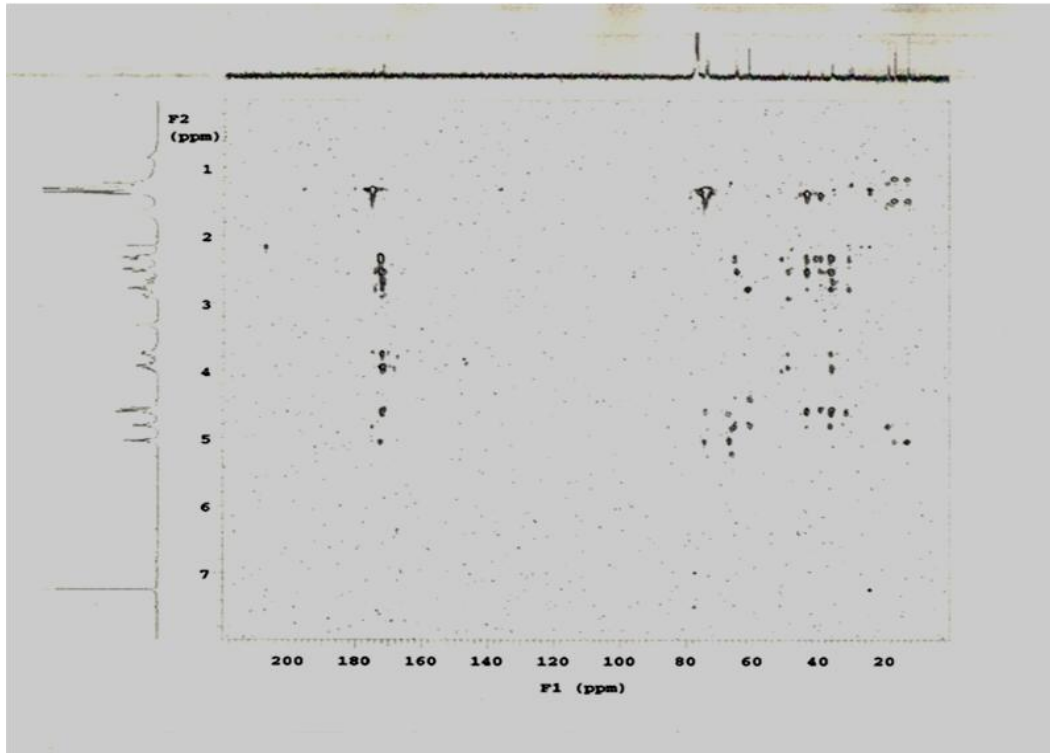


圖 3-6-5 、 Gonocarin C (6) 之 HMBC 圖譜

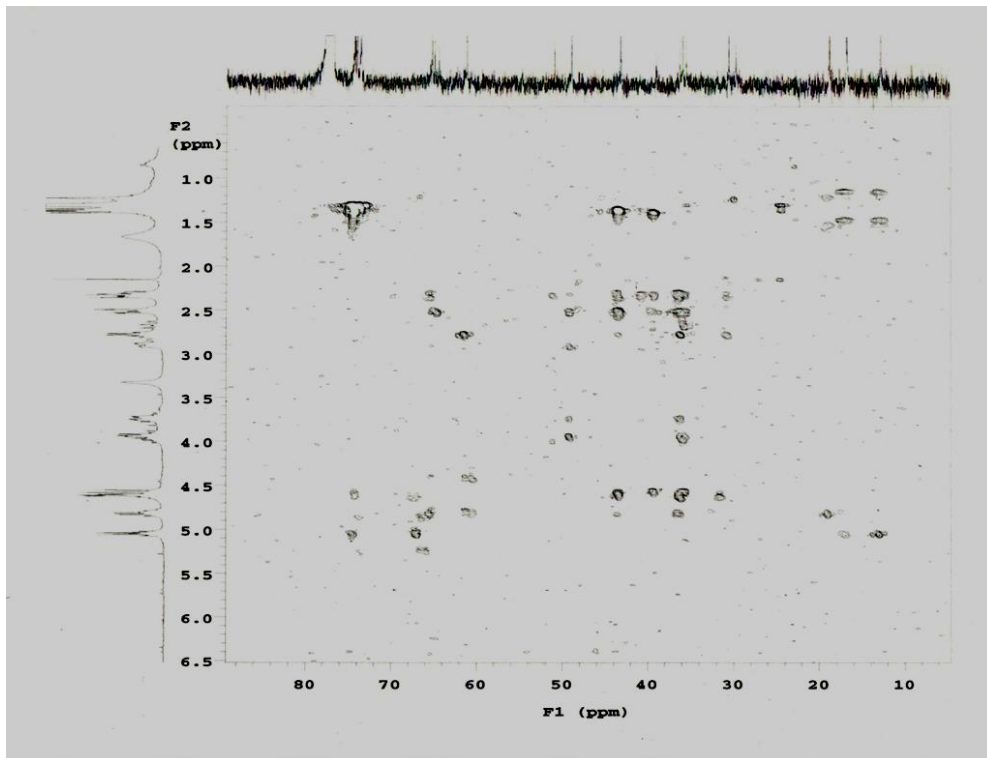


圖 3-6-6 、 Gonocarin C (6) 之 NOESY 圖譜

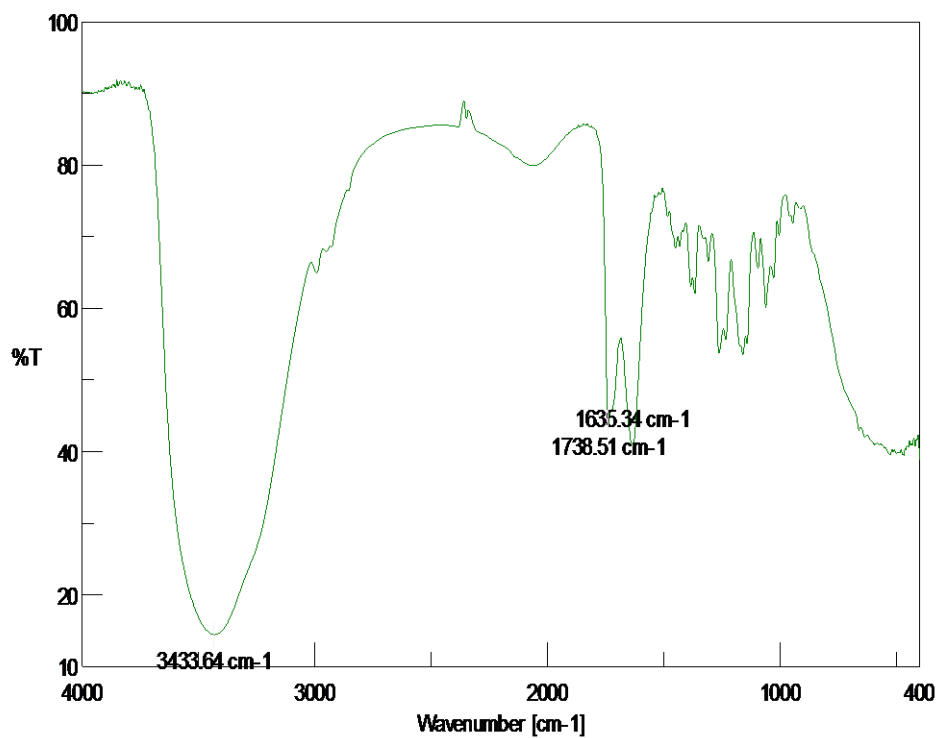


圖 3-6-7 、 Gonocarin C (6) 之 IR 圖譜

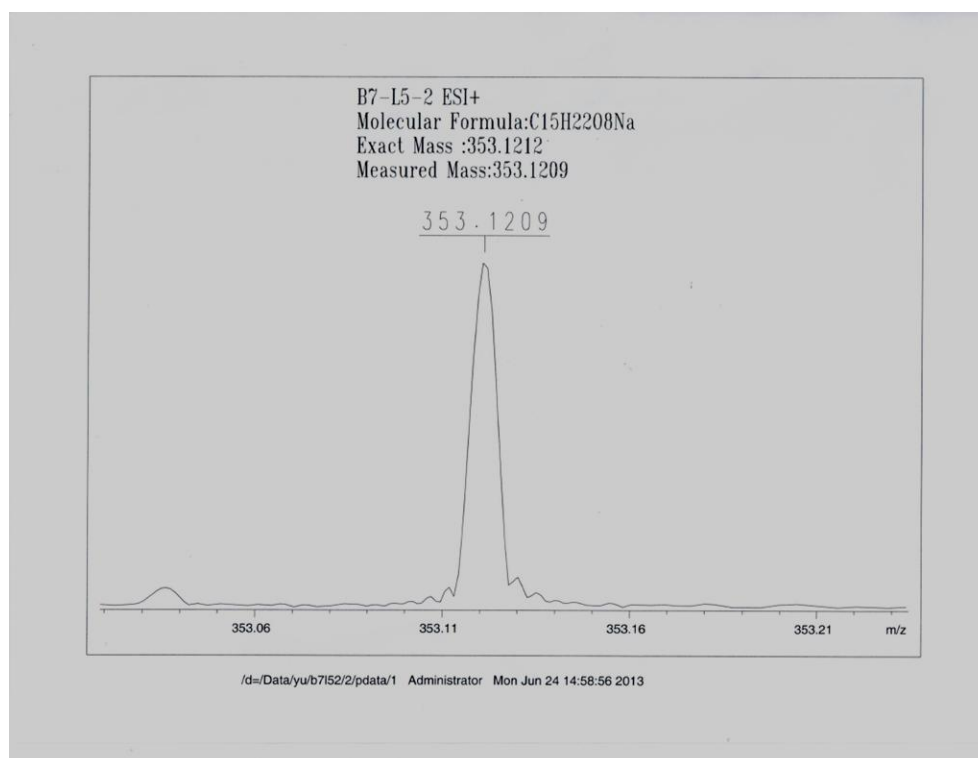


圖 3-6-8 、 Gonocarin C (6) 之 HRESIMS 圖譜

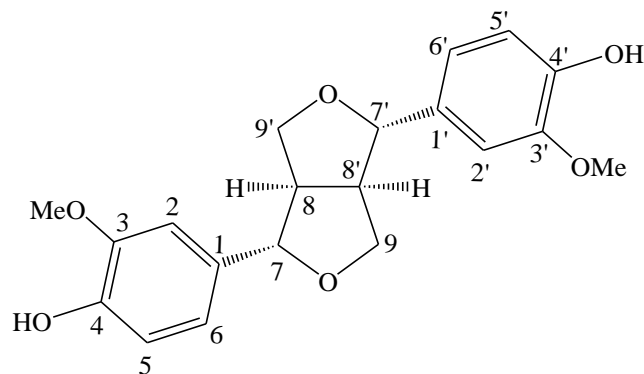
3.7 Pinoresinol (7) 的結構解析

Pinoresinol (7) 的外觀為粉紅色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{25}$ 為 -79.2 (c 0.3, CH_2Cl_2)。在低解析度電子游離法質譜 (LREIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 381.13 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ ，具有 10 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 240、279 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3437、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、double bond。

但是由 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜中發現的訊號，比對低解析度電子游離法質譜 (LREIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 381.13 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ ，發現化合物 7 為對稱化合物。

此化合物 7 經由比對早期文獻之 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT 圖譜數據，可以確定其為 Pinoresinol (7)^{3,4}，其詳細的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 數據見表七。

表七、 Pinoresinol (7) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^a$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^b$
1		132.9 (s)
2	6.87 (m)	108.6 (d)
3		145.2 (s)
4-OH	5.58 (s)	146.7 (s)
5	6.81 (m)	114.2 (d)
6	6.88 (m)	119.0 (d)
7	4.72 (d, 4.4)	85.9 (d)
8	3.10 (m)	54.2 (d)
9	3.90 (m)	71.7 (t)
	4.24 (m)	
OMe	3.89 (s)	56.0 (q)
1'		132.9 (s)
2'	6.87 (m)	108.6 (d)
3'		145.2 (s)
4'	5.58 (s)	146.7 (s)
5'	6.81 (m)	114.2 (d)
6'	6.88 (m)	119.0 (d)
7'	4.72 (d, 4.4)	85.9 (d)
8'	3.10 (m)	54.2 (d)
9'	3.90 (m)	71.7 (t)
	4.24 (m)	

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

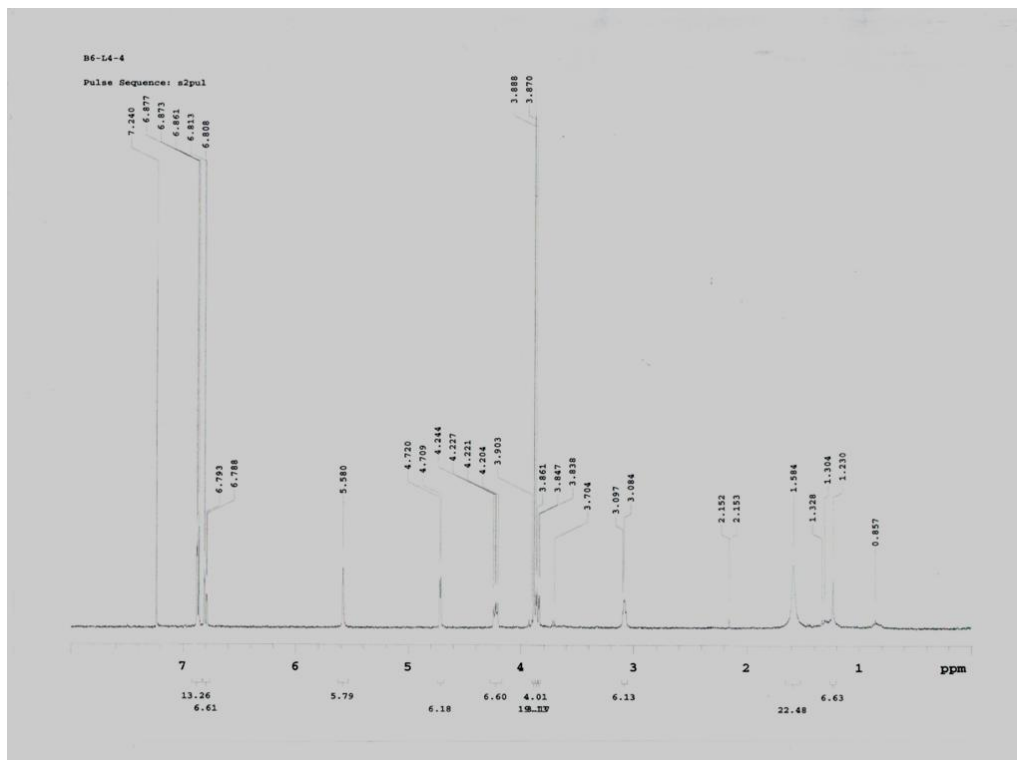


圖 3-7-1 、 Pinoresinol (7) 之 ^1H NMR 圖譜

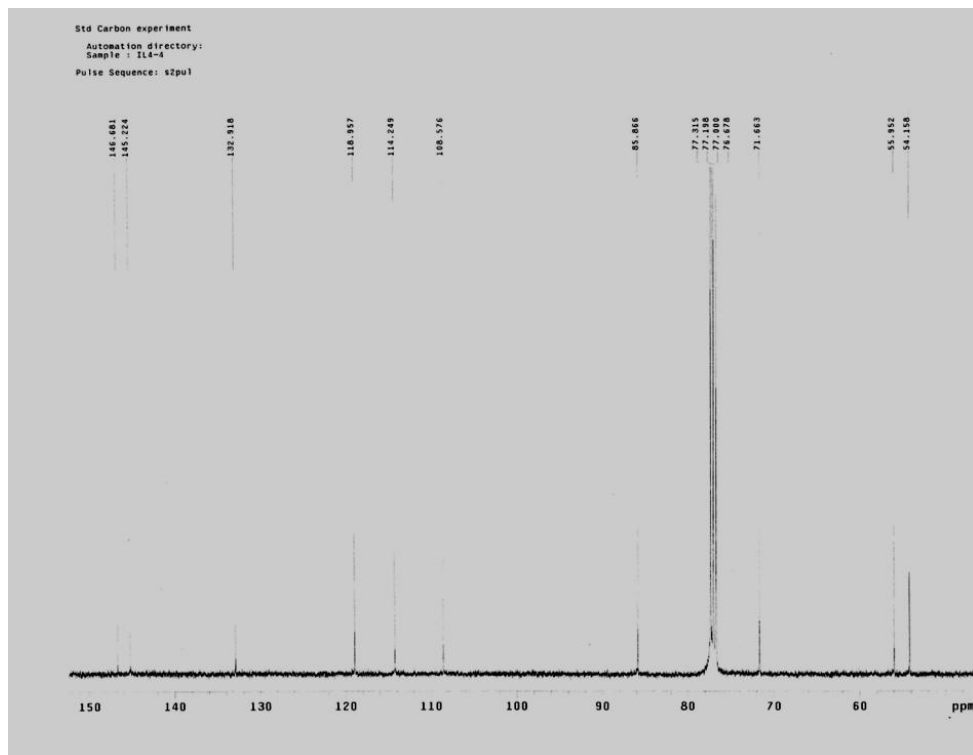


圖 3-7-2 、 Pinoresinol (7) 之 ^{13}C NMR 圖譜

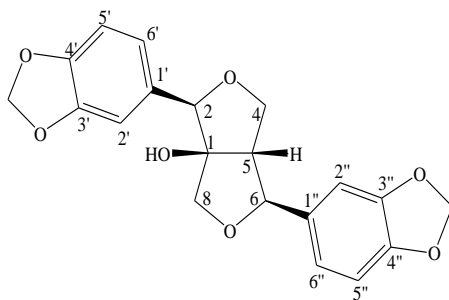
3.8 Paulownin (8) 的結構解析

Paulownin (8) 的外觀為無色油狀，其比旋光度 (specific rotation) $[\alpha]_D^{24}$ 為 -93.6 (c 0.1, CH_2Cl_2)。在低解析度電子游離法質譜 (LREIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 393.17 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ，具有 12 個不飽和度。而 UV λ_{max} (MeOH) 在 241、285 nm 有吸收，表示結構中有共軛系統。IR 圖譜在 ν_{max} 3437、1635 cm^{-1} 有吸收，推測此化合物含有 hydroxy group (OH)、ester group 和 double bond。

由 $^1\text{H-NMR}$ 圖譜中發現的訊號，比對低解析度電子游離法質譜 (LREIMS) 上觀察到有一擬分子峰 m/z 為 393.17 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ，得知其分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ，發現化合物 8 為對稱化合物。

此化合物 8 經由比對早期文獻之 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT 圖譜數據，可以確定其為 Paulownin (8)。⁵

表八、 Paulownin (8) ^1H 和 ^{13}C NMR 光譜資料



No.	$^1\text{H}^a$ (mult, J , Hz)	$^{13}\text{C}^b$
1		91.6 (s)
2	4.84 (m)	87.5 (d)
4	3.86 (t, 6, 6)	71.6 (t)
	4.54 (t, 8.4, 8.4)	
5	3.06 (m)	60.3 (d)
6	4.85 (m)	85.8 (d)
8	3.92 (d, 10)	74.7 (t)
	4.05 (d, 9.6)	
OCH ₂ O	5.96 (d, 10.4)	101.2 (t)
	5.98 (d, 10.4)	
1'		129.1 (s)
2'	6.92 (m)	107.4 (d)
3'		147.9 (s)
4'		148.1 (s)
5'	6.79 (m)	108.6 (d)
6'	6.86 (m)	120.1 (d)
OCH ₂ O	5.96 (d, 10.4)	101.1 (t)
	5.98 (d, 10.4)	
1''		134.5 (s)
2''	7.00 (m)	106.9 (d)
3''		147.3 (s)
4''		148.0 (s)
5''	6.81 (m)	108.2 (d)
6''	6.87 (m)	119.8 (d)

^a Measured at 400 MHz

^b Measured at 100 MHz

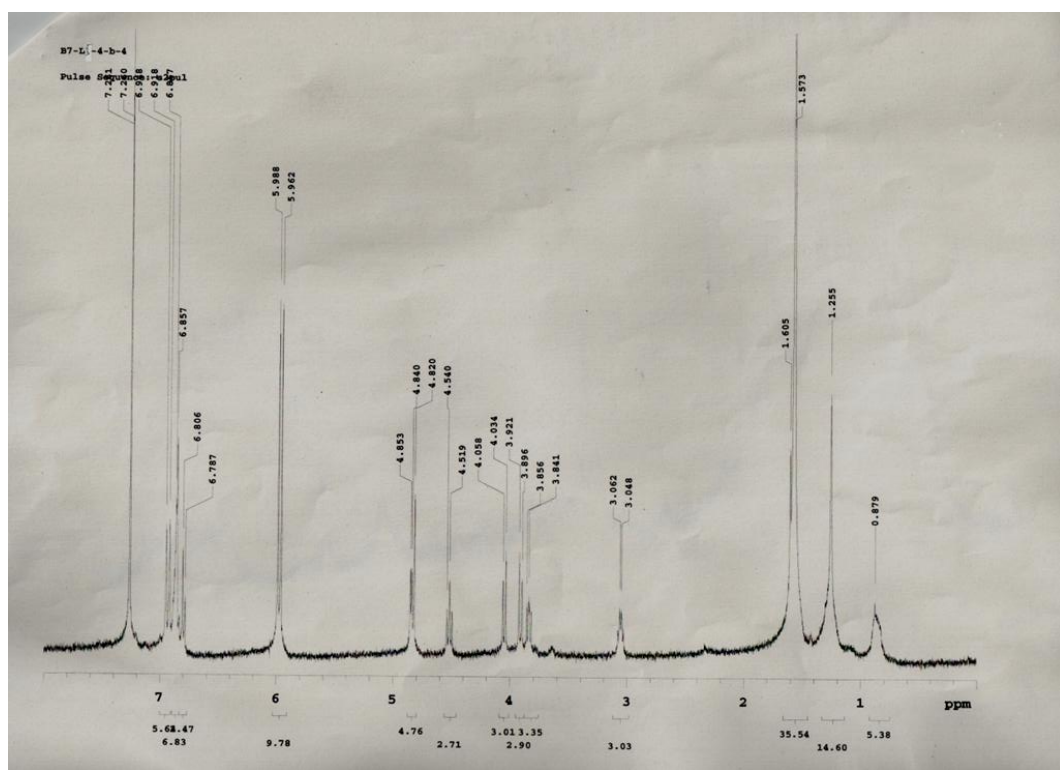


圖 3-8-1 、 Paulownin (8) 之 ^1H MNR 圖譜

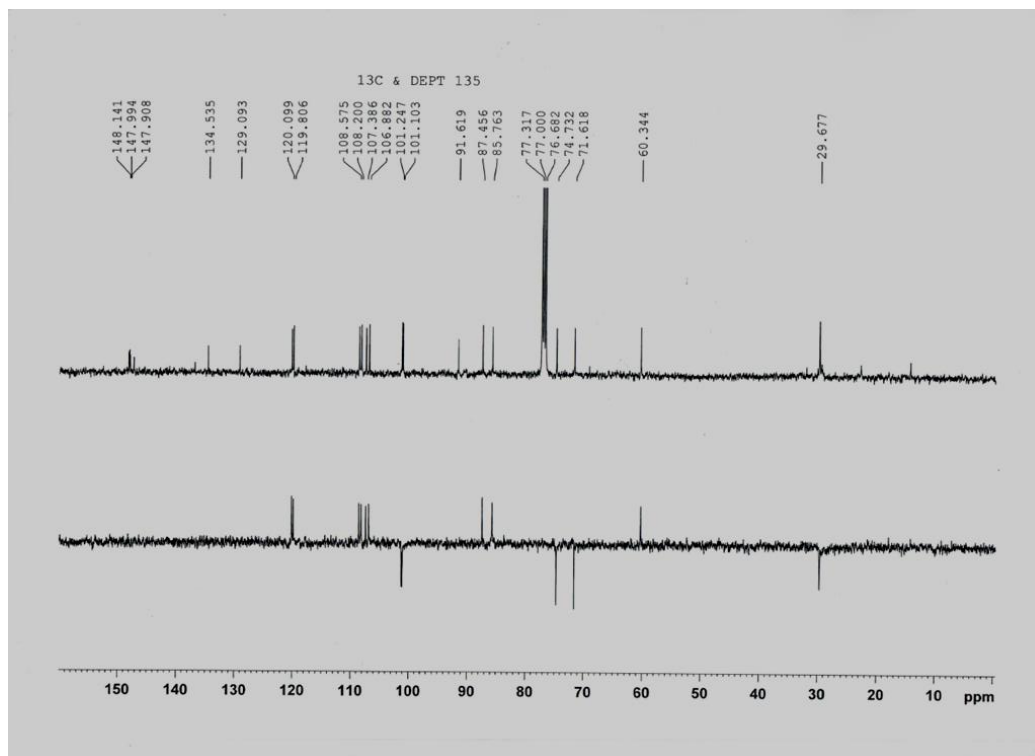


圖 3-8-2 、 Paulownin (8) 之 ^{13}C MNR 與 DEPT 圖譜

第四章 結論

- 一、本篇從台灣產柿葉茶茛萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 中分離出一系列新的天然物，其中有四個是植物界之新天然物，分別為 Gonocarin A (1)、Epi-gonocarin A (2)、Gonocarin B (5)、Gonocarin C (6)，並製備出兩個新衍生物為 Gonocarin A monoacetate (3)、Epi-gonocarin A monoacetate (4)，以及兩個已知的木質素天然物 Pinoresinol (7) 與 Paulownin (8)。
- 二、在活性試驗中，發現台灣產柿葉茶茛萸種子之乙酸乙酯粗萃物，針對小鼠肝臟 FL83B 細胞株，以發炎因子 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 處理 4 小時誘導其細胞產生胰島素抗性 (insulin resistance)，再添加胰島素刺激後，

發現細胞對於葡萄糖的吸收能力，比正常細胞添加胰島素刺激相比較有明顯降低，因此以誘導細胞株產生胰島素抗性作為治療糖尿病（diabetic mellitus, DM）之活性物質篩選平台。

三、由以上試驗可得知，柿葉茶茱萸種子之乙酸乙酯粗萃物能改善肝細胞之胰島素抗性，具有開發治療糖尿病藥物之潛力，未來期望能夠將本次研究中所分離到的四個新天然物、兩個新衍生物及兩個已知木質素天然物，繼續探討誘導小鼠肝臟 FL83B 細胞株產生胰島素抗性之作用機轉。

第五章 參考文獻

1. Zhu, Xiaoyun, Huang, Wenglong, & Qi, Hai. (2013). Gpr119 agonists: A novel strategy for type 2 diabetes treatment. *Diabetes mellitus—insights and perspectives*.
2. Tetsuo Kaneko, Mayumi Sakamoto, Kazuhiro Ohtani, Aiko Ito, Ryoji Kasai, Kazuo Yamasaki, & Padorina, William G. (1995). Secoiridoid and flavonoid glycosides from gonocaryum calleryanum. *Phytochemistry*, 39(1), 115-120.
3. Mitsuhashi, S., Kishimoto, T., Uraki, Y., Okamoto, T., & Ubukata, M. (2008). Low molecular weight lignin suppresses activation of nf-kappab and hiv-1 promoter. *Bioorg Med Chem*, 16(5), 2645-2650.
4. Silvestre, Armando J. D., Evtuguin, Dmitry V., Mendes Sousa, António P., & Silva, Artur M. S. (2005). Lignans from a hybrid paulownia wood. *Biochemical systematics and ecology*, 33(12), 1298-1302.
5. Steven R. Angle, Inchang Choi, & Tham, Fook S. (2008). Stereoselective synthesis of 3-alkyl-2-aryltetrahydrofuran-4-ols: Total synthesis of (±)-paulownin. *J. Org. Chem.*, 73(16), 6268–6278.

科技部補助專題研究計畫出席國際學術會議

心得報告

日期：102年09月09日

計畫編號	MOST 102-2320-B-276-001		
計畫名稱	探討柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性 細胞葡萄糖吸收之分子機制		
出國人員姓名	林昀生	服務機構及職稱	美和學校財團法人美和 科技大學
會議時間	102年08月 26日至 102年08月 29日	會議地點	Graz, Austria
會議名稱	(中文) 第十二屆中藥全球化聯盟國際研討會 (英文) 12th Meeting of the Consortium for Globalization of Chinese Medicine		
發表題目	(中文) 柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性 細胞葡萄糖吸收之分子機制研究 (英文) Study for the mechanism of natural products isolated from the seed of <i>Gonocaryum calleryanum</i> (Baill.) Becc. on promoting glucose uptake of insulin-resistant cells		

一、參加會議經過

2013/08/25 23:30 於台灣桃園國際機場出發

2013/08/26 06:50 抵達 法蘭克福國際機場

2013/08/26 12:25 於法蘭克福國際機場轉機

2013/08/26 13:40 抵達 格拉茨(GRZ) 格拉茲機場

一、08/26

17:00

至格拉茨大學 CGCM 會議現場註冊並參加歡迎雞尾酒會。

二、08/27

10:00~11:00

大會開幕式，會議中首先由 CGCM 主席暨上海中醫藥創新研發中心惠永正教授及副主席 譚廣亨教授主持，接著致詞的是由本次主辦單位格拉茨大學校長 (Christa Neuper 博士、Rudolf Bauer 博士、格拉茨市長、中藥全球化聯盟 (CGCM) 主席鄭永齊院士等。致詞中除了歡迎詞外，亦向本次參與的學者專家陳述 CGCM 之緣起、創辦理念與未來發展合作趨勢。並強調於透過該研討會之平台，強化國際交流與合作關係，使中醫藥科學化與全球化，使中醫藥未來可以成為安定、安全性的

醫療資源。

本次研討會內容：

1. Regional Reports
2. Education
3. Inter-regional Collaborations in Industry and Academia
4. Herbal Resources I (Cultivation and Herbal quality)
5. Herbal Resources II(Identification, formulation, manufacturing)
6. Natural product I (I, biological activity)
7. Natural product II(cancer, virus, inflammation)
8. Natural product III(identification, bio-transformation ,and metabolism)
9. Polychemical Activities and Mechanism Study I (Cancer, Immunomodulation, & Inflammation)
10. Polychemical Activities and Mechanism Study II(Metabolic , Neural Diseases and Aging Process)
11. Polychemical Activities and Mechanism Study III (Metabolism and Drug Interaction)
12. Clinical Investigation I(Cancer, Liver Disease and Inflammation)
13. Clinical Investigation II(Other Diseases and Safety)
14. Bioinformatics and Database
15. Acupuncture
16. Bioinformatics: Application of "Omics" in TCM Research

8/27

11 : 00~12 : 30 Regional Reports

首先，由本次帶團參與 CGCM 的台灣分會 馬以南執行長代表台灣上台報告目前台灣在中醫藥研究的現況與本次與會的發表成果。

14:00-16:00 Interregional Collaborations in Industry and

Academia

本小組會議，由美國 NIH Paul Coates 教授、馬以南執行長當小組會議主持人及副主持人，中國醫藥研究所黃怡超所長為與談人。

16:00–18:45 Natural products I (Biological Activity)

本小組會議由台大藥學系沈雅敬教授擔任共同與談人

Polychemical activities and mechanism study I (Cancer, immunomodulation and inflammation)

本小組會議由中醫大吳永昌副校長為主持人，劍橋大學范台平教授會副主持人。

8/28

8:30–11:00 Natural products II (Cancer, Virus, and inflammation)

本小組會議由香港蕭教授(Wen-luan Wendy Hsiao) 為主持人，中研院楊寧蓀為副主持人，中研院徐麗芬教授為與談人。

Polychemical Activities and Mechanism Study II (Metabolic, Neural Diseases and Aging Process and Others)

本小組會議中，由中醫所黃怡超所長擔任主持人。

13:30–16:00

Natural products III (Identification, biotransformation

and metabolism)

本小組會議由台大沈雅敬教授擔任共同與談人。本人所投稿之壁報論文也在此小組會議公開簡單發表陳述。

Herbal resources II (identification, formulation, manufacturing)

本小組會議由格拉茨大學 Rudolf Bauer 教授擔任主持人，香港浸信會大學中醫學院副院長趙中振教授擔任副主持人。

8/29

9 : 30–12 : 00

Bioinformatics: Application of "Omics" in TCM Research

本小組會議由林口長庚醫院張恆鴻副院長為主持人，中醫所黃怡超所長擔任副主持人。會議中香港與台灣學者，對中藥的複方效果優於中藥單方之療效之其生理機轉進行討論。並言及未來可將複方量化優化，使其各中藥比率能達到最有效之配方，已達到增強免疫的
功效治療病症。

2013/08/31 0600 於格拉茲機場

2013/08/31 07:25 抵達法蘭克福國際機場

2013/08/31 11:20 於法蘭克福國際機場

2013/09/01 06:10 抵達台灣桃園國際機場



12th Meeting of the Consortium for Globalization of Chinese Medicine

University of Graz

Graz, Austria, August 27-29, 2013

Program-at-a-glance (Tentative)

August 26, 2013 (Monday)			
08:00 – 20:00	Registration		
09:30 – 17:00	Excursion "Chocolate and castle" (optional)		
18:00 – 20:00	Get Together Party		
August 27, 2013 (Tuesday)			
09:00 – 10:00	Registration		
10:00 – 11:00	Opening Ceremony		
11:00 – 12:30	Regional Reports		
12:30 – 14:00	Delegate Lunch and Working Lunch for Joint Meeting of Executive Council Members and Advisory Board Members		
14:00 – 16:00	Education	Interregional Collaborations in Industry and Academia	
16:00 – 16:15	Break		
16:15 – 18:45	Natural Products I (Biological Activity)	Polychemical Activities and Mechanism Study I (Cancer and Immunomodulation Inflammation)	Bioinformatics and Database
19:00 – 21:00	Reception		
August 28, 2013 (Wednesday)			
09:30 – 12:00	Natural Products II (Cancer, Virus and Inflammation)	Polychemical Activities and Mechanism Study II (Metabolic, Neural Diseases, Aging Process and Others)	Herbal Resources I (Cultivation and Herbal Quality)
12:00 – 13:30	Delegate Lunch and Working Lunch for Joint Meeting of Executive Council Members and Advisory Board Members		
13:30 – 16:00	Natural Products III (Identification, Bio-transformation and Metabolism)	Herbal Resources II (Identification, Formulation and Manufacturing)	Clinical Investigation I (Cancer, Liver Disease and Inflammation)
16:00 – 16:15	Break		
16:15 – 18:45	Polychemical Activities and Mechanism Study III (Metabolism, Drug Interaction and Toxicity)	Clinical Investigation II (Other Diseases and Safety)	
19:30 – 22:00	Gala Dinner (Styrian Evening)		
August 29, 2013 (Thursday)			
09:30 – 12:00	Acupuncture	Bioinformatics: Application of "Omics" in TCM Research	
12:00 – 13:00	Lunch		
13:00 – 15:00	Summary Reports of Discussion Sessions		
15:00 – 15:15	Break		
15:15 – 16:15	Close-door Meeting		
16:15 – 18:00	City Tours (optional)		

二、與會心得

本次為本人第三次參與「中草藥全球化聯盟」(Consortium for Globalization of Chinese Medicine, CGCM)，該組織為 2003 年 11 月由耶魯大學藥理系講座教授鄭永齊院士發起成立，本次亦有參與會議，該組織是由 16 個國際研究機構分別來自上海、北京、香港與台灣。CGCM 總部設於香港大學，目前共有 51 個會員機構（澳洲 4 個、北京 4 個、加拿大 2 個、英國 2 個、香港 6 個、美國 3 個、新加坡 1 個、廣東 9 個、杭州 1 個、澳門 1 個、南京 1 個、上海 10 個及台灣 7 個）。CGCM 設立目的在集結國際眾多知名研究機構之力，推動並促進全球中草藥之研究發展。為推動並促進全球中醫研究發展，本次 CGCM 會議於 2013 年 8 月 26 至 29 日，假奧地利格拉茨大學(Graz University, Austria)舉辦第十二次國際研討會，本次會議由格拉茨大學負責籌畫主辦，會議主要針對目前國際中草藥研究發展進行深入之探討。

本次研討會共分成有 16 個專題論壇進行小組報告與研討，以及會場共發表 271 篇壁報論文。本次第十二屆 CGCM 會議中，其中台灣學者，包括有台灣大學、陽明大學、台北醫學院、中國醫藥研究所、高雄醫學大學、長庚醫學院、美和科大等學者共發表 31 篇論文。此次會議中可發現，投稿論文中，中國大陸含上海、香港、澳門、北京等區域之大學投稿數量較多，顯示中國在中醫藥方面之研究投入甚多，台灣學者成果亦有不錯之表現，較著重於中醫藥轉譯研究工作、中醫實証研究、臨床試驗與中草藥活性成分分析等方面。

本次會議 CGCM 會議是第二次在歐洲舉辦，了解到格拉茨大學之藥學部、藥學研究所，對於中草藥與針灸之研究與教育亦有投入相當的資源與開發。顯示歐洲國家對於中草藥的認知與接受度逐漸開化，未來可透過國際交流與該研討會之平台建立學術上之交流與產業技術上的合作與開發。參加本次研討會議，由各國學者之口頭報告與論文發表得知其中醫藥之廣泛的研究，包含針灸，生物信息學和數據庫管理，應用(omics)”技術在中醫藥研究，臨床研究，癌症治療，代謝和肝臟疾病，病毒和神經疾病，炎症，教育，中草藥資源，培育和草藥的質量，標識，配方和生產，分離，鑑定，生物轉化和生物活性天然產品，多元化學活性與作用機轉，藥物代謝和相互作用和毒理學研究等多樣性之中藥的研究。了解未來在台灣的中醫藥發展應更朝向 1. 以生物科技技術與檢驗分析技術控管中藥產品之質化與量化；2. 建立中草藥之指紋圖譜資料庫及基本生物訊息研究和臨床研究資訊；3. 整合國內臨床劑量

與國際接受的標準；4. 加速與歐美各地的政府機構、產業界之合作開發與資源整合，強化中醫藥科學化，以多元化與專業化的角度進行研究與開發，才能使中醫藥成為全球具安全與安定性之醫療資源。

三、發表論文全文或摘要

摘要：

Chemical investigation of Taiwan endemic plant of seed from *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. resulted in isolation of four new compounds, designated as Gonocarins A-D (1-4), in addition to two known lignins pinoresinol and paulownin. Their chemical structures were determined through extensive spectroscopic analyses (^1H - and ^{13}C -NMR, ^1H , ^1H -COSY, HMBC, and NOESY).

According to the pre-test results, this study investigated the anti-insulin resistance of the ethyl acetate extracts of the seeds in inflammatory factor (tumor necrosis factor- α ; TNF- α) induced mouse normal liver FL83B cells. Insulin resistance was induced by treating cells with TNF- α as screening platform for selecting active compounds. With RT-PCR method, we aim at the particular gene test, and found that GLUT 4 (glucose transporter 4) increases expression volume, suggesting that something activates the signaling pathway where the insulin does.

The crude extracts promote GLUT 4 is transferred to the cell membrane from intracellular, thus increasing the

intracellular glucose sent from cellular outside. In the model where the Alloxan induced diabetes mouse, we study the crude extract of alcohol from seeds in hypoglycemic capability. Alloxan induced diabetic mouse gave alcohol crude extract of the seeds, the results show significantly in hypoglycemic glucose oral tolerance test. We predict the seed of this plant will help develop treatments for diabetes drugs.

研討會發表之壁報

四、攜回資料名稱及內容

1. 第十二屆中藥全球化聯盟研討會摘要一本
2. 第十二屆中藥全球化聯盟研討會議程 一本

五、附錄



圖一



圖二



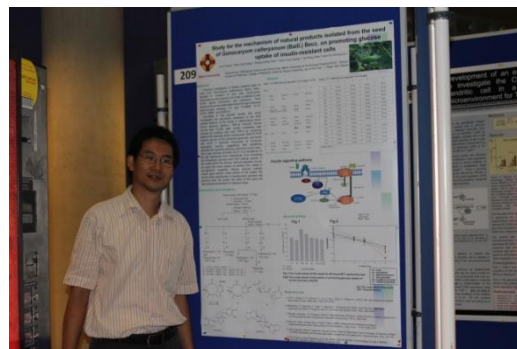
圖三



圖四



圖五



圖六



圖七

圖一~二：行前於桃園機場和台灣學者等待班機

圖三：奧地利格拉茨大學會場

圖四：與台灣億陞智生技公司研發經理合影

圖五：與中醫大副校長吳永昌合影

圖六：本人投稿之壁報

圖七：開幕會場

科技部補助計畫衍生研發成果推廣資料表

日期:2014/10/23

科技部補助計畫	計畫名稱: 探討柿葉茶株黃種子之天然物促進胰島素抗性細胞葡萄糖吸收之分子機制
	計畫主持人: 林昀生
	計畫編號: 102-2320-B-276-001- 學門領域: 中醫藥
無研發成果推廣資料	

102 年度專題研究計畫研究成果彙整表

計畫主持人：林昀生		計畫編號：102-2320-B-276-001-				計畫名稱：探討柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性細胞葡萄糖吸收之分子機制	
成果項目		量化			單位	備註（質化說明：如數個計畫共同成果、成果列為該期刊之封面故事...等）	
		實際已達成數（被接受或已發表）	預期總達成數（含實際已達成數）	本計畫實際貢獻百分比			
國內	論文著作	期刊論文	0	0	0%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	0%		
		研討會論文	0	0	0%		
		專書	0	0	0%		
	專利	申請中件數	0	0	0%	件	
		已獲得件數	0	0	0%		
	技術移轉	件數	0	0	0%	件	
		權利金	0	0	0%	千元	
	參與計畫人力 （本國籍）	碩士生	0	0	0%	人次	
		博士生	0	0	0%		
博士後研究員		0	0	0%			
專任助理		0	0	0%			
國外	論文著作	期刊論文	0	0	0%	篇	
		研究報告/技術報告	0	0	0%		
		研討會論文	1	1	100%		本篇部分初步成果已發表於 12th Meeting of the Consortium for Globalization of Chinese Medicine 第十二屆中藥全球化聯盟國際研討會
	專書	0	0	0%	章/本		
	專利	申請中件數	0	0	0%	件	
		已獲得件數	0	0	0%		
	技術移轉	件數	0	0	0%	件	
		權利金	0	0	0%	千元	
	參與計畫人力 （外國籍）	碩士生	2	2	100%	人次	
		博士生	0	0	0%		
博士後研究員		0	0	0%			
專任助理		0	0	0%			

<p>其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)</p>	<p>根據世界衛生組織(WHO)資料顯示，目前全球糖尿病患者已超過 3.47 億，估計在 2005 至 2030 年間，死於糖尿病的人數會高達現今的兩倍。行政院衛生署資料公布民國 102 年國人十大死因，糖尿病已躍居第五名並有逐年上升趨勢，每年花費在糖尿病併發症的健保費用也日益加重。反應出罹患糖尿病的人口正不斷的在增加當中，也因糖尿病容易引起許多心血管疾病而耗損人類的生命。本研究論文'''柿葉茶株莢種子之天然物促進胰島素抗性細胞葡萄糖吸收之分子機制研究''''，利用台灣特有種植物柿葉茶株莢種子，經由預實驗推測具活性成分，本研究發表該植物具促進胰島素抗性細胞葡萄糖吸收之活性尚未有先例，希望能再進一步進行其內含之天然物之作用機轉，找出真正具活性之分子，對中醫藥發展治療糖尿病更進一步。</p>
--	--

	成果項目	量化	名稱或內容性質簡述
科 教 處 計 畫 加 填 項 目	測驗工具(含質性與量性)	0	
	課程/模組	0	
	電腦及網路系統或工具	0	
	教材	0	
	舉辦之活動/競賽	0	
	研討會/工作坊	0	
	電子報、網站	0	
	計畫成果推廣之參與(閱聽)人數	0	

科技部補助專題研究計畫成果報告自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形：

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以 100 字為限）

目前已將初步成果發表於 12th Meeting of the Consortium for Globalization of Chinese Medicine

University of Graz Graz, Austria, August 27-29, 2013

期刊論文待第二年研究其機轉後再行發表

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）（以 500 字為限）

本研究將以生物活性為導向，針對台灣特有種植物柿葉茶茛萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 的種子進行分離純化，鑑定其活性成分。

根據預試驗結果，柿葉茶茛萸種子的乙酸乙酯粗萃物，針對小鼠肝臟 FL83B 細胞株以發炎因子 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 處理 4 小時，誘導細胞產生胰島素抗性 (insulin resistance) 作為治療糖尿病 (diabetic mellitus, DM) 之活性物質篩選平台，推測該植物內含之二次代謝物具有增強葡萄糖吸收的作用。

本計畫從台灣產柿葉茶茛萸 *Gonocaryum calleryanum* (Baill.) Becc. 中分離出一系列新的天然物，其中有四個是新的植物天然物，分別為 Gonocarin A (1)、Epi-gonocarin A (2)、Gonocarin B (5)、Gonocarin C (6)，並製備出兩個新衍生物為 Gonocarin A monoacetate (3)、Epi-gonocarin A monoacetate (4)，以及兩個已知的木質素天然物 Pinoresinol (7) 與 Paulownin (8)。未來第二年計劃將會針對每個化合物再做進一步的活性測試與機轉。希望透過研究能清楚了解其作用機轉，對中醫藥發展抗糖尿病

更有幫助。