2011 年臺灣國際科學展覽會

優勝作品專輯

編號：090015

作品名稱

誘發肺癌細胞產生細胞凋亡之天然物篩選及其機轉探討

得獎獎項

三等獎

作者姓名：方怡雯、陳妤

就讀學校：臺北市立第一女子高級中學

指導教師：楊家榮、吳雅嵐

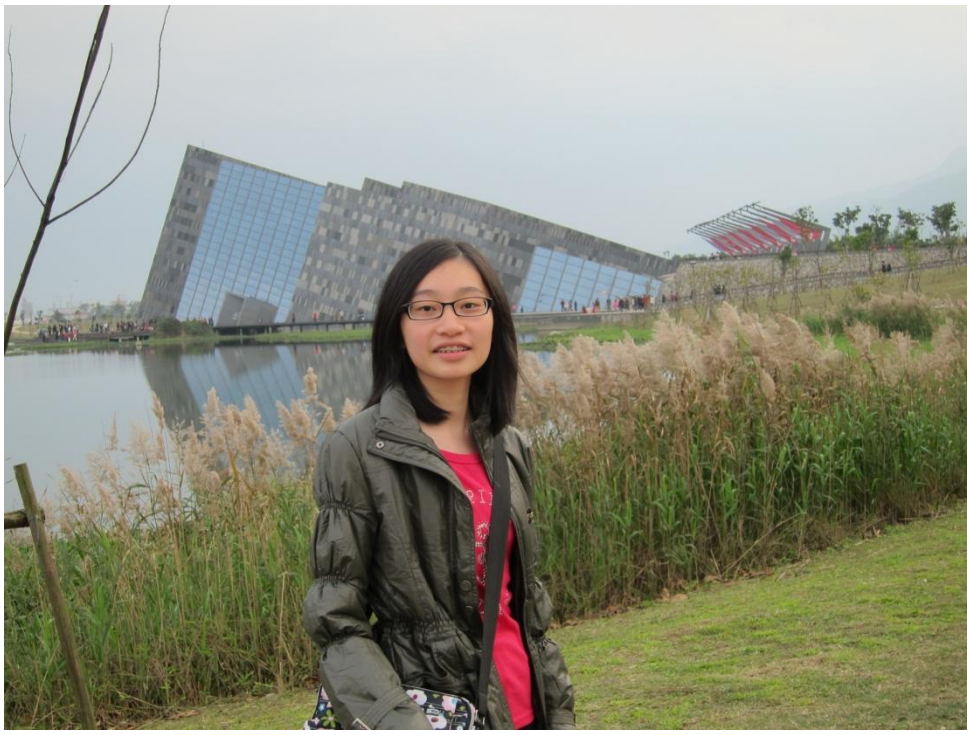
關鍵字：細胞凋亡、肺癌細胞、竹節草

作者簡介



我是方怡雯，目前就讀於北一女中二年級，總是喜歡參與各式各樣不同類型的活動，實驗更是我生活中的一大重心，它教了我細心、耐心，和永不放棄的精神。從來沒有想過，自己的研究可以進入複審。一直把專題研究當成是生活的調劑，在課業繁忙的時候，到實驗室就可以暫時將學業等等的事情擱置一邊，有時候實驗室對於我們來說，就像一個避風港。

感謝有機會參與這場科學的盛會，感謝一直以來指導我們的師長，也謝謝我的夥伴和總是為我們加油打氣的助理姊姊，還要謝謝為我們提供數據的 A549！如今有幸能和各位分享我和與我患難與共的朋友陳妤的實驗結果，我們一定會加倍努力，在未來也繼續互相扶持，讓我們的實驗更加茁壯。



我是陳妤，北一女中二年級生。很高興能有機會將自己微小的專題研究發表出來。

我從小就喜愛觀察小動物，還陸續養了好幾隻鸚鵡、一隻兔子、一隻狗、一隻貓。由於對自然的熱誠，不管是校內或校外，只要有關於自然科學的活動，我都主動參與，上山下海都在所不辭。音樂也是我的最愛。

做科展的過程中充滿歡笑，有時反而像是在繁重課業下的加油站，圖個休息；另一方面，做研究的這條路說也漫長，也要花心思如何在課業、家人、社團、休閒娛樂取得適當的平衡。

做實驗時，常常突槌，能進入國際科展複審，真令人意外。感謝教授不辭辛勞教導幼稚又健忘的我們，感謝一路相扶相持、伴我歡笑的同伴──怡雯，感謝願意與我們分享心情的助理姊姊，還有支持我的爸媽，謝謝你們。

摘要

癌症多年來為台灣地區十大死亡原因之首，因此，開發治療癌症的藥物有迫切的需要。本實驗先以 SRB assay 篩選許多天然化合物，並找到天然物「禾本科竹節草(*Chrysopogon aciculatus*)成分 CA-C」對肺癌細胞 A549 有抑制作用；利用流式細胞儀分析細胞週期，顯示 DNA 片段化，此為細胞凋亡一大特色；並以 Western blot 評估其對肺癌細胞造成的細胞凋亡之機轉。

Abstract

Over the years cancer has been the leading cause of death in Taiwan. Therefore, there is an urgent need to develop new medicine to treat cancer. With experiments using SRB assay and MTT assay, we found that the compound CA-C found in the plant *Chrysopogon aciculatus* can contain lung cancer cells A549. Based on results from MTT assay and SRB assay we conclude that this compound is effective in containing cancer cells. Using the flow cytometer, we can analyze the cell cycle. We sow the compound can split DNA into pieces. Nuclear fragmentation is one of the mean features of apoptosis. Furthermore with Western blot we assess the mechanism that apoptosis of the lung cancer cells.

研究動機

癌症多年來為台灣地區十大原因死亡之首，而肺癌又為癌症死亡人數第一名的癌症。本實驗嘗試從數個天然物成分評估其對肺癌細胞增生之抑制作用及其誘發肺癌細胞凋亡，並了解其機轉。

目前治療肺癌常用的化學治療藥物包含doxorubicin(Adriamycin)、paclitaxel (Taxol)、cisplatin（platinex）阿樂癌/鉑帝爾、carboplatin（paraplatin）克本瘤、gemcitabine（Gemzar）健擇、docetaxel（Taxotere）剋癌易、etoposide（Vepesid）雷得治、vinorelbine（Navelbine）溫諾平、pemetrexed（Alimta）愛寧達、paclitaxel（Phyxol）輝克癒蘇。口服的抗癌藥物包含有vinorelbine 溫諾平 及UFUR 友復。常用的標靶治療藥物： Iressa 艾瑞莎、Tarceva 得舒緩、Erbitux 爾必得舒、Avastin 癌思停。

抗癌藥物常有會抑制造血功能（如紅、白血球及血小板數目降低，造成貧血、感染及出血）及損傷其他器官，噁心、嘔吐、掉髮、食慾不振、疲倦無力、口腔潰瘍等的明顯副作用，嚴重時甚至會危害到生命的安全。

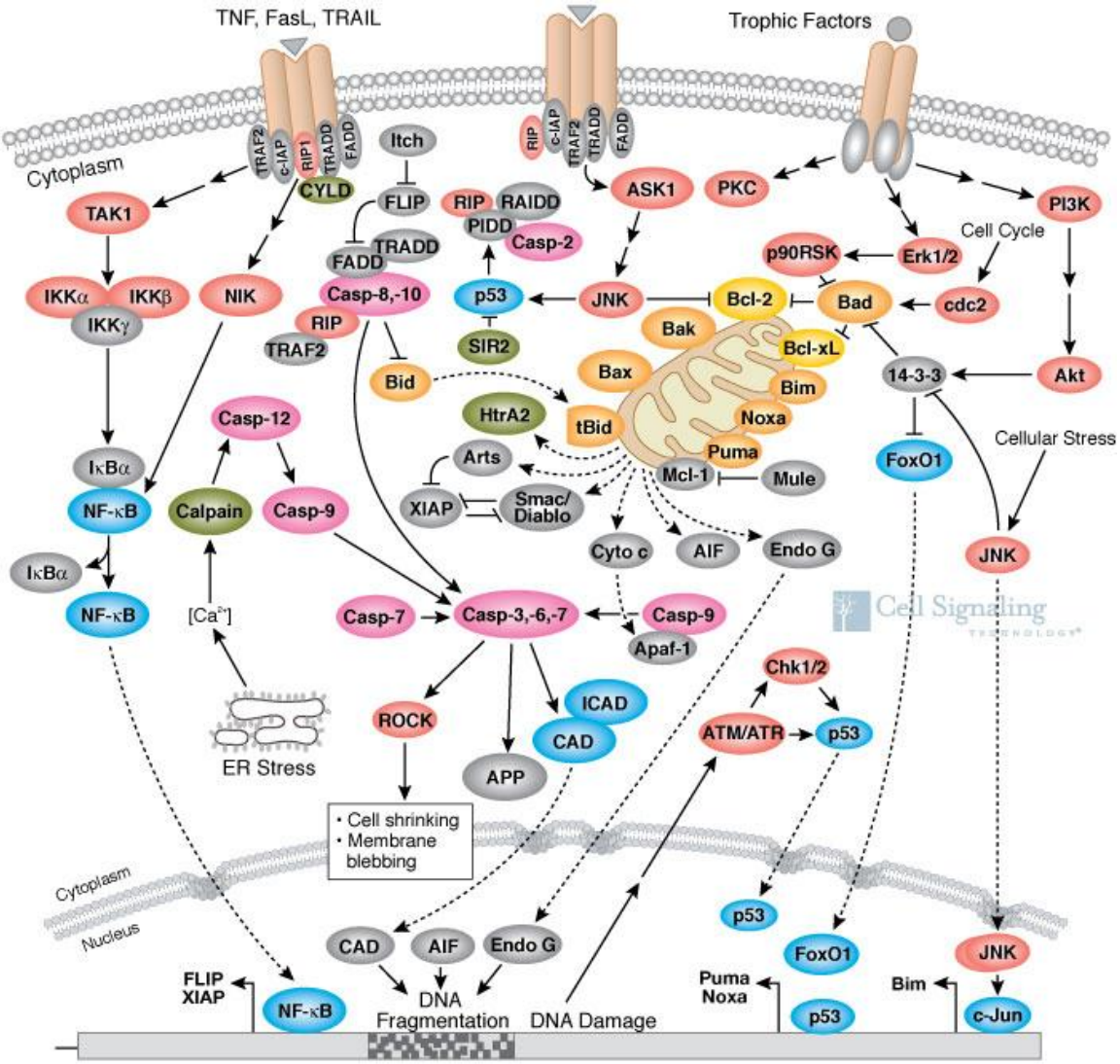
研究目的

本實驗要找出一種藥物不僅能夠抑制癌細胞生長，還能使之凋亡，但最好不具毒殺性。抑制細胞生長，是延緩細胞的生長、繁殖；而要引起細胞凋亡，使細胞釋放出 death receptor，則會將一連串 caspase 予以活化，傳遞細胞凋亡訊息，白血球前來吞噬細胞，引發自發性死亡(見圖)；至於毒殺細胞，是用毒性將細胞殺死，是一種他殺，對細胞傷害大。

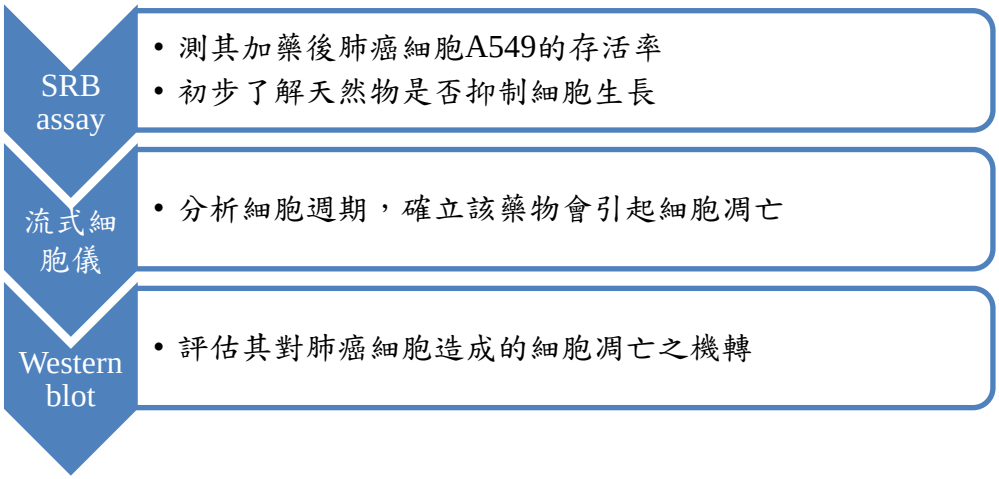
本實驗嘗試從數個天然物成分評估其對肺癌細胞增生之抑制作用並探討其機轉是

否在於誘發肺癌細胞的凋亡。期望能找到能抑制肺癌細胞，副作用低的新藥。

從自然界找尋靈感，是取之不盡，用之不竭的，從天然物篩選出新藥的優點是，可以省去合成化合物的步驟，化合物結構及其來源也較為穩定。對於人類來說，可能可以藉由直接食用植物體達到藥效。人最早的藥就是從大自然尋得，如吃柳樹能治感冒頭痛拉肚子，是因為柳樹樹皮含有阿斯匹林。從大自然這個寶藏庫尋找新藥，勢在必行。



研究方法或過程



壹、SRB assay 細胞存活率測定

將 5000cells/well 的數目種在 96-well 的培養盤中，培養 24 小時，待細胞完全貼附後，加入藥物，置於 37℃、5%CO_2 反應 48 小時之後，用 10%TCA 清洗，待乾燥後即可進行染色。加入 100λSRB(0.4%w/v 溶於 1%醋酸)，室溫下染色 10 分鐘，待反應終止後，移除染色劑，再加入 1%醋酸清洗殘留染色液。清洗後待乾燥，再加入 Tris 溶解和細胞蛋白質附著之染劑，用 ELISA 讀值機測其 515nm 之吸光值。

SRB 染劑染的是細胞中的鹼性胺基酸，因此透過這個染色，我們就可以知道這個盤中曾經存在多少細胞。以電腦測定吸光值，SRB 染劑為紫紅色，在 515nm 波長處較明顯。將結果量化，而不是以主觀認定的顏色深淺來判斷結果。若數值偏高代表顏色較深，細胞較多。

細胞存活率 Growth Inhibition Rate(%)=(Ti-Tz)/(C-Tz)*100%，當細胞存活率小於 100%，表示有抑制效果；超過 100%，表示助長

貳、流式細胞儀的原理

利用螢光染劑染細胞內的 DNA，使其發出螢光。流式細胞儀的光線打在每一顆細胞上，透過螢光反射的量，可分析細胞內含 DNA 的量，進而分析細胞週期。G0 或是 G1 時，細胞內 DNA 含量為 2N；G2 期 DNA 含量為 4N；S 期 DNA 含量介於 2N~4N 之間；而 sub G1 即表示 DNA 含量小於 2N。而之所以會小於 2N，是因為細胞凋亡造成細胞核內的 DNA 片段化，造成螢光染色不完全，進而造成螢光量減少，顯示出 DNA 小於 2N。從處於 Sub G1 的細胞占固定數量細胞的比例，便可顯示出其藥物引起細胞凋亡的程度。

參、西方點墨法 western blot

western blot 功能是根據蛋白質分子量的大小，分離不同分子量的物質，進而顯示出有沒有我們希望找尋的蛋白質。我們藉此分析藥物是否可以活化caspase-3。caspase-3 未被活化時分子量是 34，被活化的分子量是 14~21。從 western blot 壓片之後分析被活化 caspase-3 的量，可更深入探究其引發細胞凋亡的機制，看出其引發細胞凋亡的程度以及機轉。

研究結果

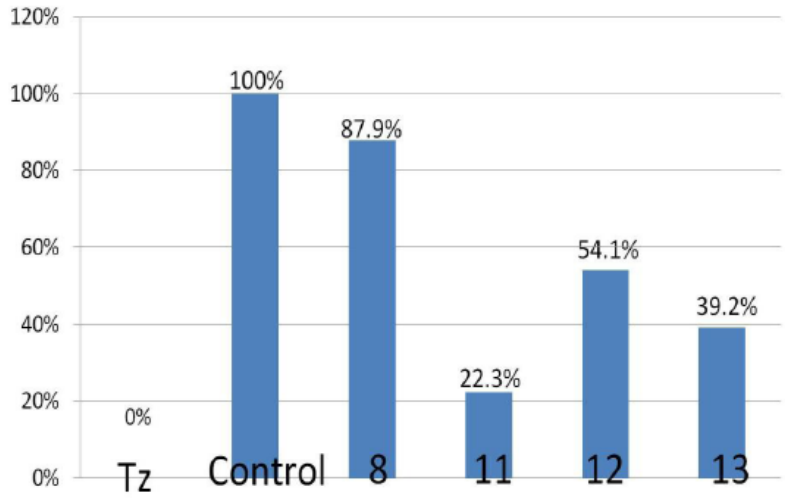
藥物代碼為 98008.98011.98012.98013(表格簡稱後兩位).紅 1~紅 8；

Ti 為加藥後的吸光值；Tz 為零時間的吸光值；C (control) 為未加藥的吸光值

(此處放圖表，原始數據放在附錄)

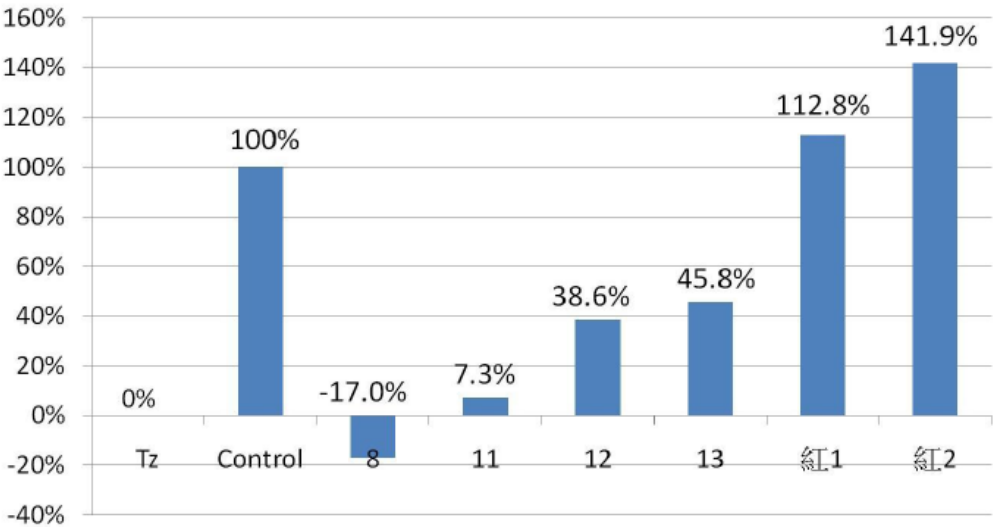
壹、SRB assay(N 種藥物萃取物)

一、(10000cell 藥物濃度 30μM 作用 24 hr)



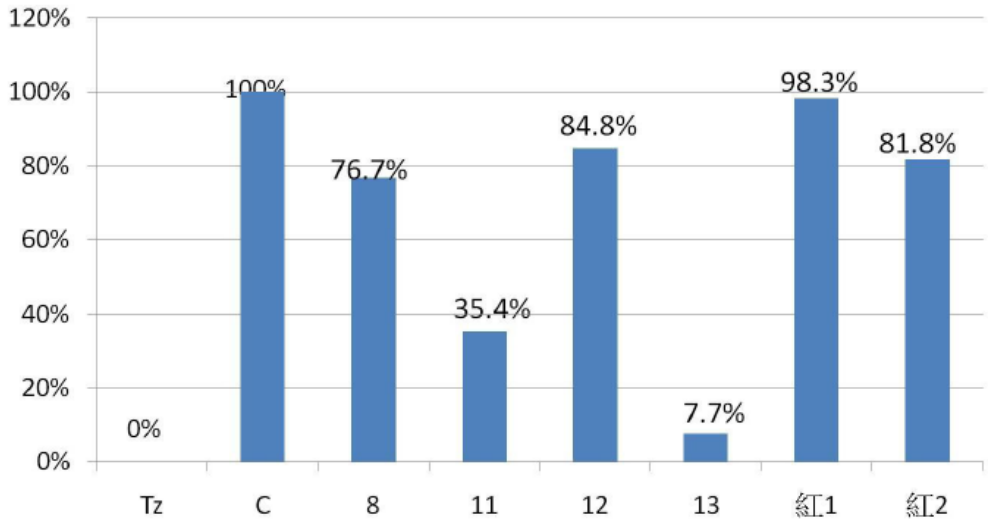
顯示 11 號藥及 13 號藥的抑制作用最明顯

二、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

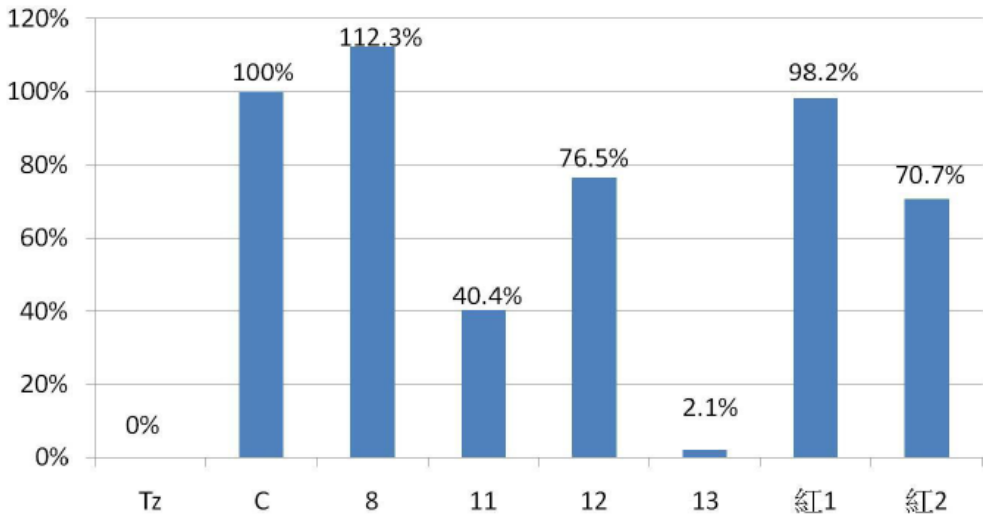


顯示紅 1、紅 2 抑制效果不明顯

三、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

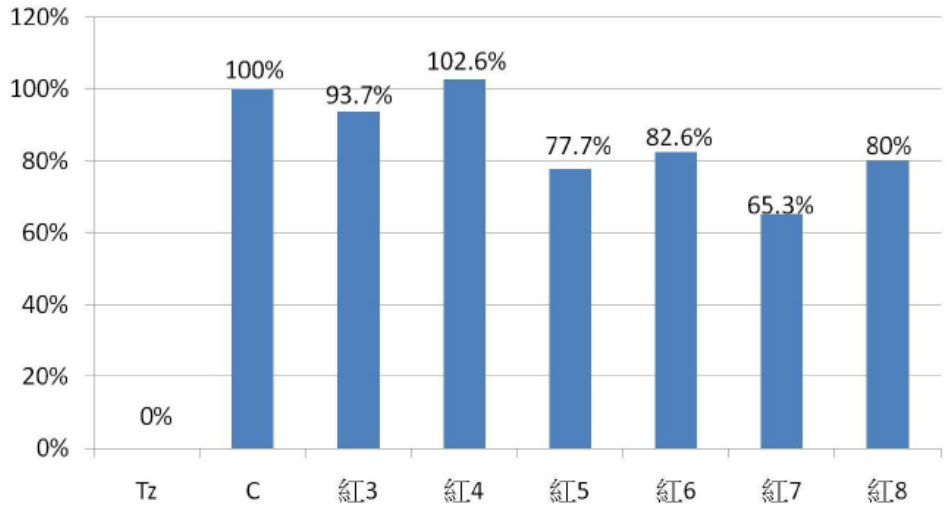


四、 (5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

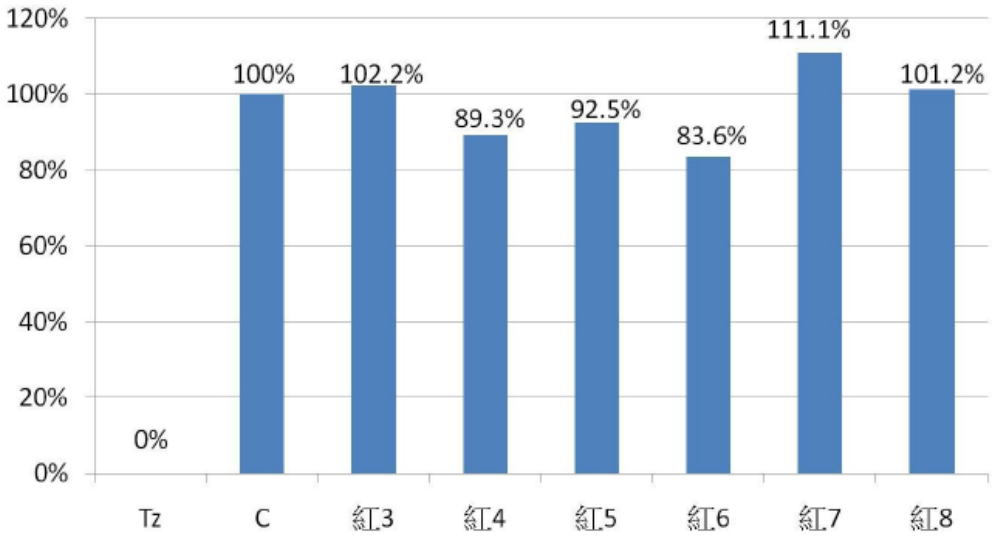


實驗三、實驗四顯示 13 號藥的抑制效果最好

五、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)



六、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)



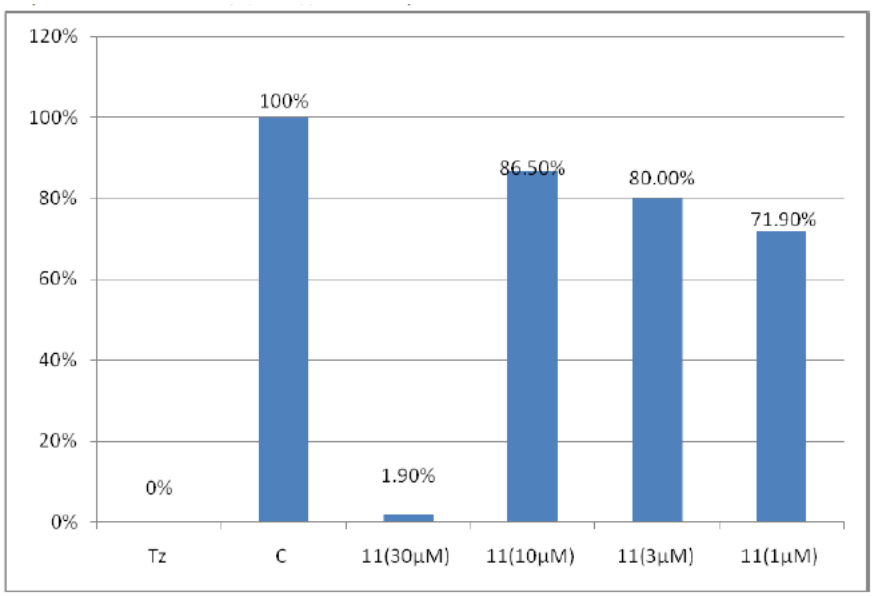
實驗五、實驗六顯示紅 3、紅 4、紅 5、紅 6、紅 7、紅 8 抑制效果都不明顯

從實驗一到六，我們可知 98011 和 98013 的細胞抑制效果最佳

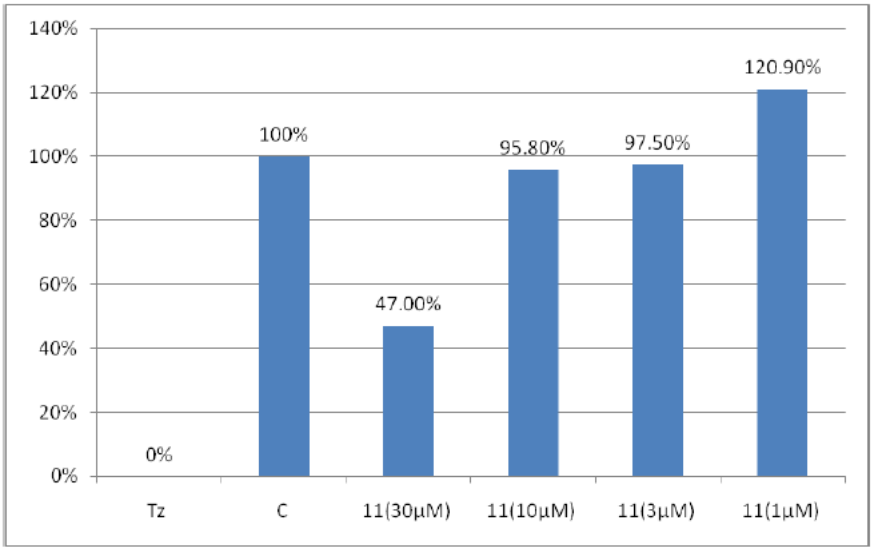
貳、SRB assay (針對不同濃度的 98011. 98013)

由前面 6 次 SRB assay 我們得到有最好的抑制效果是 98013 其次是 98011，所以我們繼續針對這兩種藥進行不同濃度的 SRB assay

一、(5000cell 98011 藥物 作用 48 hr)

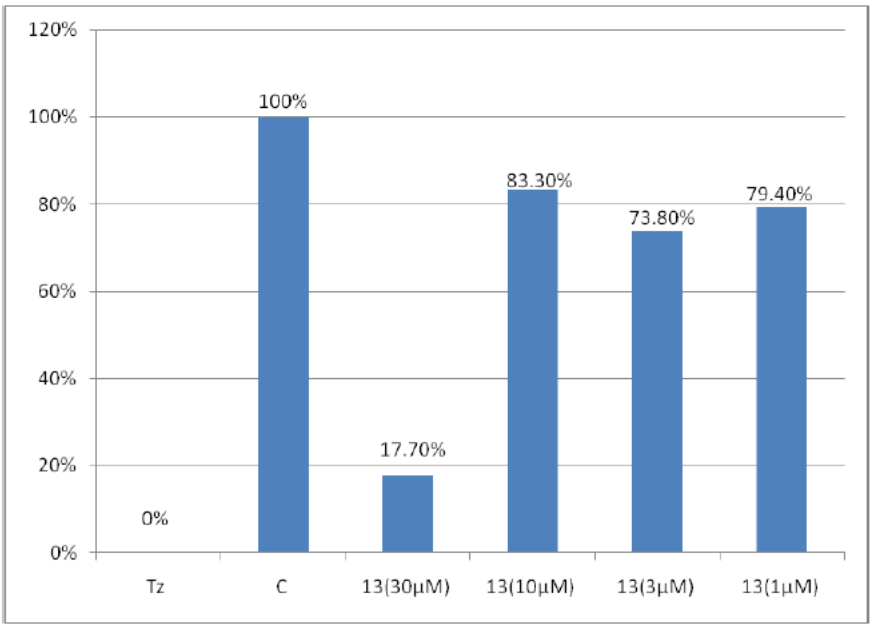


二、(5000cell 98011 藥物 作用 48 hr)

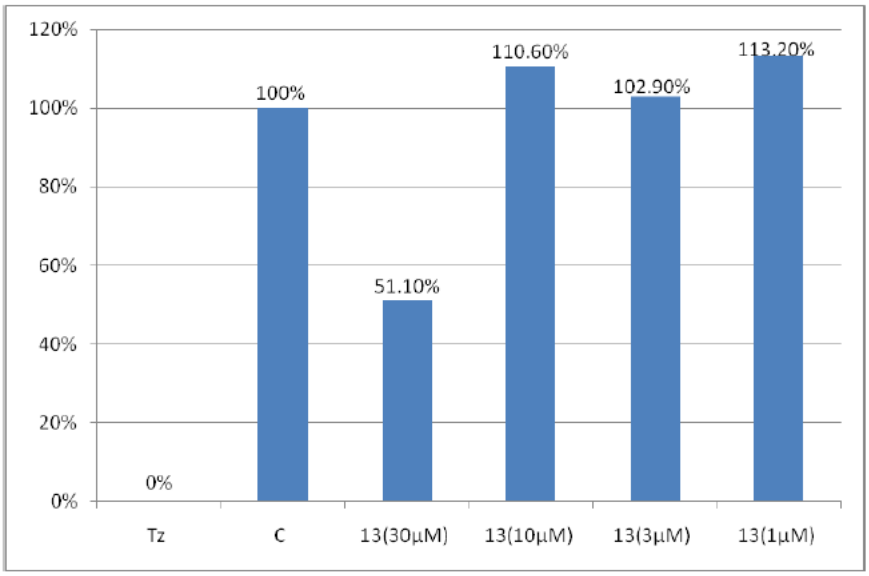


兩次實驗的趨勢一樣，顯示 98011 在 30uM 時對細胞的生長抑制作用最明顯

三、(5000cell　98013 藥物　　作用 48 hr)



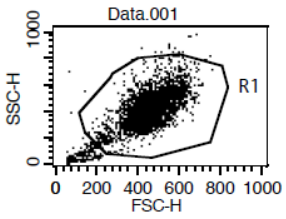
四、(5000cell　98013 藥物　　作用 48 hr)

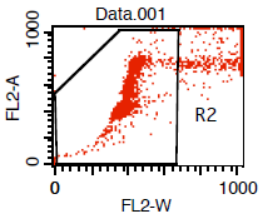


兩次實驗的趨勢一樣，顯示 98013 在 30uM 時對細胞的生長抑制作用最明顯

參、細胞週期分析(流式細胞儀)

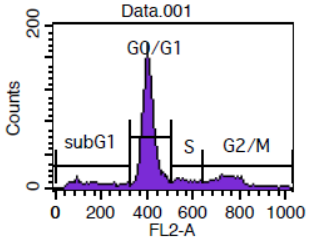
20101209
24hr compound13
10, 30uM

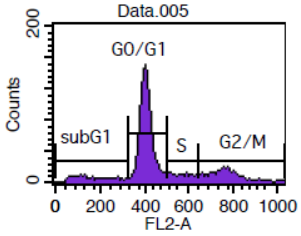




File: Data.001
Sample ID: CTL-1

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	6.04
G0/G1	75.55
S	7.07
G2/M	11.43



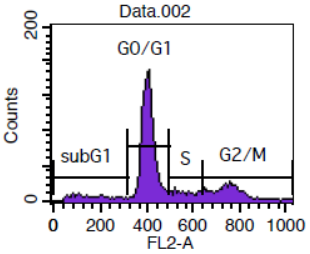


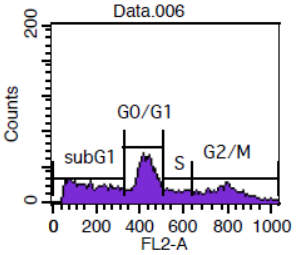
File: Data.005
Sample ID: 13-10uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	5.66
G0/G1	72.71
S	6.76
G2/M	15.02

File: Data.002
Sample ID: CTL-2

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	5.05
G0/G1	73.04
S	6.76
G2/M	15.31



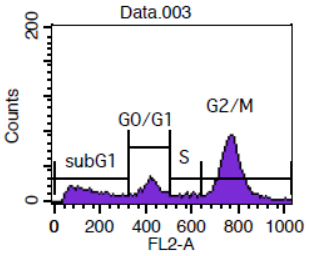


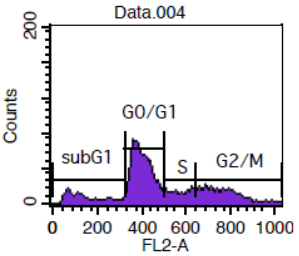
File: Data.006
Sample ID: 13-30uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	31.93
G0/G1	38.78
S	9.76
G2/M	19.73

File: Data.003
Sample ID: Taxol-0.1uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	17.50
G0/G1	15.18
S	4.44
G2/M	62.93

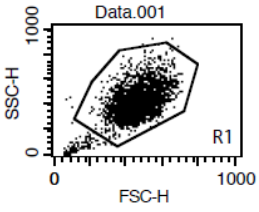


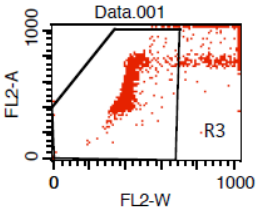


File: Data.004
Sample ID: Doxorubicin 100uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	9.80
G0/G1	57.18
S	11.32
G2/M	21.96

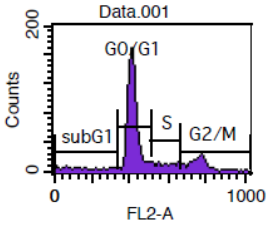
20101216
24hr compound13
10, 30uM

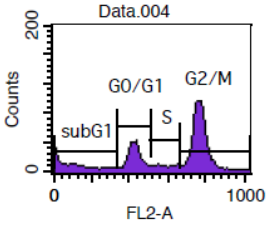




File: Data.001
Sample ID: control

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	3.75
G0/G1	75.98
S	7.84
G2/M	12.60



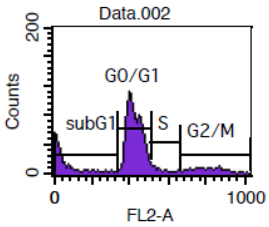


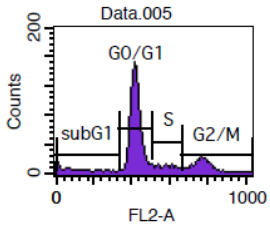
File: Data.004
Sample ID: taxol_0.1uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	13.03
G0/G1	21.18
S	5.43
G2/M	60.47

File: Data.002
Sample ID: doxo_100uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	15.98
G0/G1	75.01
S	2.38
G2/M	6.72



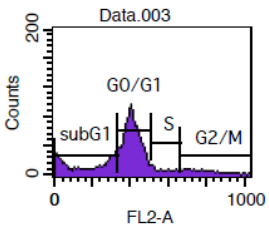


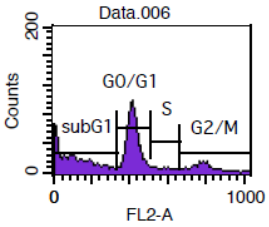
File: Data.005
Sample ID: 13_10uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	5.64
G0/G1	71.46
S	7.90
G2/M	15.08

File: Data.003
Sample ID: doxo_500uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	26.54
G0/G1	65.94
S	3.58
G2/M	4.24



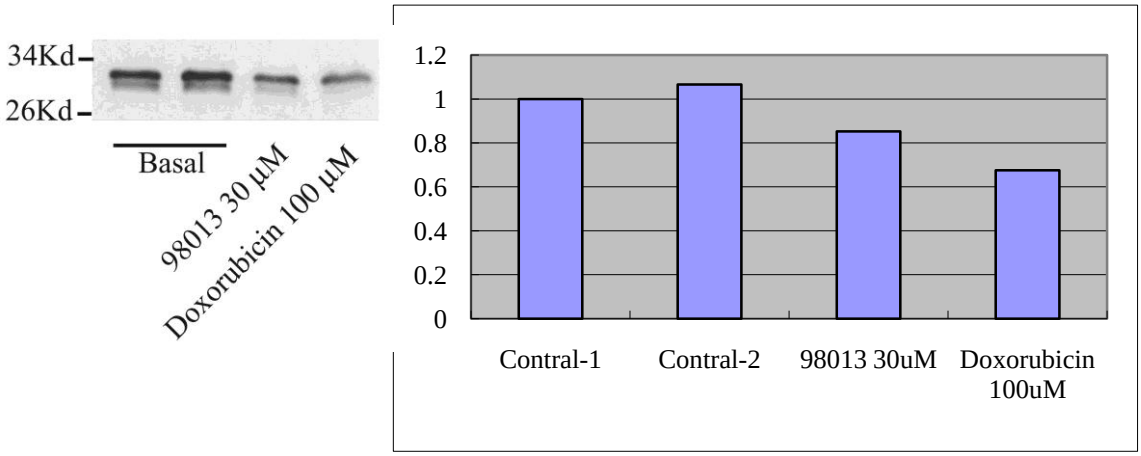


File: Data.006
Sample ID: 13_30uM

Marker	% Gated
All	100.00
subG1	35.27
G0/G1	51.18
S	4.03
G2/M	9.58

兩次分析皆可得出 98013 的確有造成細胞凋亡的結果。Doxorubicin、Taxol 皆為 Positive control，會影響到細胞的細胞週期。

肆、western blot



Doxorubicin 為 Positive control，右側為量化後結果製圖。32Kd 為 Pro-Caspase-3 由圖可知，加藥的細胞因受到藥物作用，而誘發 Caspase-3 產生活性，造成 Pro-Caspase-3 減少。

討論

細胞死亡的形式分成兩大類，一類是細胞壞死(necrosis)，另一類是細胞凋亡(apoptosis)。因壞死細胞到最後會破掉使液體流出，造成免疫反應，並危害其他細胞；而細胞凋亡到最後只會形成凋亡小體，並被巨噬細胞清除，因此細胞凋亡對人體是較為無害的。也因為這樣，我們希望找出以細胞凋亡造成癌細胞死亡的天然物。凋亡細胞的特徵為：染色質聚集(因 DNA 發生裂解)，喪失微絨毛、偽足等胞膜結構，細胞變圓、皺縮，胞質濃縮，最後形成凋亡小體。因此我們將藉由以上特徵來判別細胞死亡是因為壞死亦或是因為凋亡造成。

SRB assay 可以表示細胞存活率。SRB assay 染的是細胞中的胺基酸、而胺基酸即使在細胞死亡後依然可以被染色顯現，可顯現細胞抑制效果；因此，由 SRB assay 的結果(98011 及 98013 的細胞存活率皆明顯小於一百)，我們可以得知 98011 及 98013 對細胞的抑制效果最好。

將 98011 及 98013 分別做不同濃度的 SRB assay 後可知,除了本來使用的 30uM 濃度之下有作用之外，其餘在稀釋過後的濃度(10uM、3uM、1uM)抑制效果皆不明顯，因此得到 30uM 為較佳濃度的結論。

健康細胞的細胞週期分為 G0/G1(2N)、S(2N~4N)、G2(4N)、M(4N)四期，而流式細胞儀可由螢光的量判別每一顆細胞 DNA 的量，由此便可看出細胞現在到哪一期。凋亡細胞的其中一個特徵是 DNA 雙鍊發生裂解，造成螢光會比正常 G0/G1 少，因此可判定藥物是否造成細胞凋亡。藉由流式細胞儀顯示正常細胞的 G0/G1 峰應該要最明顯,Doxorubicin 會造成細胞凋亡,造成 Sub G1 區細胞變多；而 Taxol 會使細胞骨架增生，使細胞無法分裂停滯於 G2/M 期，使 G2/M 期細胞數變多，因此 Doxorubicin、Taxol 可做為 Positive control；而比對 98013 後可以發現，10uM 的 98013 對細胞的確沒有顯著作用。而 30uM 的 98013 的確使 Sub G1 區間的比例增加了，因此可以判定 98013 的確對細胞造成細胞凋亡，且 30uM 為較佳濃度。

透過 Western blot 的壓片結果我們可以發現，98013 和 Doxorubicin 在 32Kd 的範圍內光強度較弱，表示 Pro-Casepase-3 的含量較少。正常情況下，細胞內 Pro-Casepase-3 的含量是差不多的，98013 和 Doxorubicin 的 Pro-Casepase-3 的含量較少，是因為他們將 Pro-Caspase-3 活化造成分子量改變。

編號 98013 號藥即是竹節草(*Chrysopogon aciculatus*)中的成分 CA-C。竹節草屬禾本科，多年生草本，生長於拔 700m 以下向陽乾燥之地，廣分布於亞洲熱帶地區的山麓與平原、台灣平原及丘陵地、草原及河堤等地區，屬本地草種。植株具地下莖及匍匐莖；株高 5~10 公分，節間短簇，鋪地性極佳，易形成緻密草皮。花為直立之圓錐花序，長 5~10 公分，每年 5 月至 10 月抽出紫紅色的花穗。性喜高溫，低溫下生長亦佳，但溫度降至 25^0C 以下，則逐漸呈現葉稍枯黃的休眠期，休眠期長，春天恢復生長較慢，故早春種植不利與其他雜草競爭。耐旱性和耐酸性強，在貧瘠的土壤及清灰岩地區亦可生長，因此亦稱為"窮人草"。因竹節草皮耐踐

踏，多為運動場、社區公園、庭院等草坪草皮材料，但因種子無法購得且採種不易，推廣受限制。目前竹節草並未用於藥草食用。我們所使用的此化合物正在申請專利。

做 flow 跟 western blot 時，我們使用 doxorubicin 做為 positive control。此藥為已經使用多年的化療藥物，但從我們的實驗中顯示：100uM doxorubicin 效果卻比 30uM CA-C 差。

Doxorubicin 是一種廣泛使用及對多種癌症均有治療效果的抗癌舊藥，其主要作用 機制是經由螯合 DNA、抑制 Topoisomerase II 和產生氫氧自由基等作用來毒殺細胞。因此除了一般常見的化療副作用：如嘔吐、噁心、黏模組織發炎和脫髮外，由於心肌對氫氧自由基的傷害特別敏感，使 Doxorubicin 容易對心臟產生累積性的傷害而致命。

由目前實驗推測，我們篩出的這種藥物，將是非常有潛力治療癌症的藥物。

結論

由 SRB assay，發現禾本科竹節草中萃取的單一成分化合物，對肺癌細胞最具抑制效果，且在 MTT assay 中顯示抑制細胞生長並非由於細胞毒性。並在不同濃度之下測其對肺癌細胞 A549 的抑制作用，得知於 30uM 之下的效果最好。利用流式細胞儀，確認我們的藥物的確會引起細胞凋亡。Western blot 實驗顯示出：CA-C 造成細胞凋亡的途徑，的確有一部分是透過活化死亡訊息 Caspase-3。因為做 Flow 時 CA-C 造成細胞凋亡的比例比 Doxorubicin 高，但是 Western blot 顯示出 Doxorubicin 活化的 Caspase-3 較多，可證明 CA-C 有其他的途徑造成細胞凋亡，未來我們也將朝這方面進一步做實驗。

將來將對人類正常細胞做實驗，確定此藥對正常細胞的影響，並檢驗此藥會不會有其他副作用。若對人類的副作用較低或較無傷害性，又可以抑制癌症細胞，

相信對癌症病患將是一大福音。

參考文獻

一、王錫崗。中醫藥年報第 27 期(共七冊)98/10，第三冊，蟾蜍靈及華膽經抑制人肺前列腺癌細胞生長之作用機轉。台灣調適科學會。2007 年 10 月 01 號

二、洪婷芝。1995。雷公藤內脂醇及放射線誘發肝癌細胞凋亡之作用機制。慈濟大學藥理暨毒理學研究所

三、鄒尚勳。1996。白鶴靈芝抗癌活性成份研究。國立嘉義大學生命科學院生物醫學科學研究所

四、台灣癌症基金會網站 http://www.canceraway.org.tw

五、奇美醫院網站 http://www.chimei.org.tw

六、維基百科網站 http://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page

七、細胞生物學教程 http://www.cella.cn/book/15/03.htm

八、CELL SIGNAL　http://www.cellsignal.com

附錄

壹、SRB assay (N 種藥物萃取物)

一、(10000 cell 藥物濃度 30μM　作用 24 hr)

	Tz	**C**	**98008**	**98011**	**98012**	**98013**
OD	0.4678	1.0425	1.0346	0.4677	0.9483	0.6685
	0.3945	1.1019	1.2474	0.6728	0.8328	0.6246
	0.3866	1.1765	0.9396	0.5645	0.6769	0.6378
	0.4026	1.0135	0.7887	0.5446	0.6435	0.7722
OD AVG	0.4129	1.0836	1.0026	0.5624	0.7754	0.6758
GIR(%)	0.08%	93.9%	92.7%	8.1%	79.8%	38.1%
	-0.03%	102.7%	124.4%	39.2%	62.6%	31.6%
	-0.04%	113.8%	78.5%	22.6%	39.4%	33.5%
	-0.01%	89.5%	56%	19.6%	34.4%	53.6%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**87.9%**	**22.3%**	**54.1%**	**39.2%**

二、(5000cell 藥物濃度 30μM　作用 48 hr)

	Tz	**C**	**98008**	**98011**	**98012**	**98013**	**紅 1**	**紅 2**
OD	0.1941	0.4568	0.1212	0.1971	0.3699	0.5228	0.6151	0.6891
	0.1403	0.6620	0.0652	0.1940	0.3148	0.3624	0.6364	0.6825
	0.1343	0.5880	0.0278	0.1683	0.2618	0.1506	0.7372	0.8539
OD AVG	**0.1562**	**0.5689**	**0.0714**	**0.1865**	**0.3155**	**0.3453**	**0.6629**	**0.7418**
GIR(%)	9.2%	72.8%	-8.5%	9.9%	51.8%	88.8%	111.2%	129.1%
	-3.9%	122.6%	-22.1%	9.2%	38.4%	49.9%	116.4%	127.5%
	-5.3%	104.6%	-20.5%	2.9%	25.6%	-1.4%	140.8%	169.1%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**-17.0%**	**7.3%**	**38.6%**	**45.8%**	**122.8%**	**141.9%**

三、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

	Tz	C	98008	98011	98012	98013	紅 1	紅 2
OD	0.0994	0.4301	0.3554	0.2140	0.4557	0.1238	0.4757	0.4378
	0.1169	0.4574	0.4011	0.2481	0.3846	0.1491	0.4381	0.3621
	0.0986	0.4601	0.3509	0.2189	0.3501	0.1221	0.4162	0.3600
OD AVG	**0.1050**	**0.4492**	**0.3691**	**0.2270**	**0.3968**	**0.1317**	**0.4433**	**0.3866**
GIR(%)	-1.6%	94.5%	72.7%	31.7%	101.9%	5.5%	107.7%	96.7%
	3.5%	102.4%	86.0%	41.6%	81.2%	12.8%	96.8%	74.7%
	-1.9%	103.2%	71.4%	33.1%	71.2%	5.0%	90.4%	74.1%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**76.7%**	**35.4%**	**84.8%**	**7.7%**	**98.3%**	**81.8%**

四、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

	Tz	C	98008	98011	98012	98013	紅 1	紅 2
OD	0.1521	0.8794	0.9562	0.4474	0.7333	0.1900	0.9576	0.7079
	0.1728	0.8668	1.0188	0.4710	0.7435	0.1890	0.8336	0.6394
	0.1735	0.8407	0.8680	0.4247	0.6184	0.1633	0.7577	0.6285
OD AVG	**0.1661**	**0.8623**	**0.9477**	**0.4477**	**0.6984**	**0.1808**	**0.8496**	**0.6586**
GIR(%)	-2.0%	102.5%	113.5%	40.4%	81.5%	3.4%	113.7%	77.8%
	1.0%	100.6%	122.5%	43.8%	82.9%	3.3%	95.9%	68.0%
	1.0%	96.9%	100.8%	37.1%	65.0%	-0.4%	85.0%	66.4%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**112.3%**	**40.4%**	**76.5%**	**2.1%**	**98.2%**	**70.7%**

五、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

	Tz	C	紅 3	紅 4	紅 5	紅 6	紅 7	紅 8
OD	0.1194	0.3864	0.3051	0.3586	0.3062	0.2935	0.3604	0.2874
	0.1134	0.3091	0.3294	0.3112	0.2735	0.2901	0.2533	0.2863
	0.1089	0.2921	0.3125	0.2367	0.2641	0.1544	0.2554	0.2846
OD AVG	**0.1139**	**0.3292**	**0.3157**	**0.3349**	**0.2812**	**0.2918**	**0.2544**	**0.2861**
GIR(%)	2.6%	126.6%	88.8%	113.7%	89.3%	83.4%	114.5%	80.6%
	-0.2%	90.7%	100%	91.6%	74.1%	81.8%	64.8%	80.1%
	-2.3%	82.8%	92.2%	57%	69.8%	18.8%	65.7%	79.3%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**93.7%**	**102.6%**	**77.7%**	**82.6%**	**65.3%**	**80.0%**

六、(5000cell 藥物濃度 30μM 作用 48 hr)

	Tz	**C**	**紅 3**	**紅 4**	**紅 5**	**紅 6**	**紅 7**	**紅 8**
OD	0.1708	0.8917	0.8342	0.7478	0.8141	0.7668	0.9326	0.8334
	0.1790	0.8109	0.8492	0.7652	0.7910	0.7445	0.8658	0.8188
	0.2110	0.7532	0.8318	0.7410	0.7084	0.7434	0.8675	0.8257
OD AVG	**0.1869**	**0.8186**	**0.8324**	**0.7513**	**0.7711**	**0.7153**	**0.8886**	**0.8260**
GIR(%)	-2.5%	111.6%	102.5%	88.8%	99.3%	91.8%	118.0%	102.3%
	-1.3%	98.8%	104.8%	91.5%	95.6%	88.3%	107.5%	100.0%
	3.8%	89.6%	102.1%	87.7%	82.6%	88.1%	107.7%	101.1%
GIR AVG	**0%**	**100%**	**102.2%**	**89.3%**	**92.5%**	**83.6%**	**111.1%**	**101.2%**

貳、SRB assay (針對不同濃度的 98011.98013)

一、(5000cell　98011 藥物　　作用 48 hr)

	Tz	**C**	**11(30μM)**	**11(10μM)**	**11(3μM)**	**11(1μM)**
OD	0.1002	0.2879	0.1027	0.3118	0.2987	0.2589
	0.0877	0.3317	0.0990	0.2703	0.2607	0.2590
	0.0899	0.3337	0.0890	0.2812	0.2594	0.2460
OD AVG	**0.0926**	**0.3178**	**0.0969**	**0.2875**	**0.2729**	**0.2546**
GIR AVG	**0%**	**100%**	**1.9%**	**86.5%**	**80.0%**	**71.9%**

二、(5000cell　98011 藥物　　作用 48 hr)

	Tz	**C**	**11(30μM)**	**11(10μM)**	**11(3μM)**	**11(1μM)**
OD	0.0716	0.1555	0.1059	0.1533	0.1396	0.1825
	0.0780	0.1448	0.1060	0.1426	0.1602	0.1608
	0.0733	0.1498	0.1178	0.1445	0.1445	0.1542
OD AVG	**0.0743**	**0.1500**	**0.1099**	**0.1468**	**0.1481**	**0.1658**
GIR AVG	**0%**	**100%**	**47.0%**	**95.8%**	**97.5%**	**120.9%**

三、(5000cell　98013 藥物　　作用 48 hr)

	Tz	**C**	**13(30μM)**	**13(10μM)**	**13(3μM)**	**13(1μM)**
OD	0.1002	0.2879	0.1412	0.2789	0.2676	0.2763
	0.0877	0.3317	0.1289	0.2906	0.2554	0.2677
	0.0899	0.3337	0.1272	0.2710	0.2530	0.2701
OD AVG	**0.0926**	**0.3178**	**0.1324**	**0.2802**	**0.2587**	**0.2714**
GIR AVG	**0%**	**100%**	**17.7%**	**83.3%**	**73.8%**	**79.4%**

四、(5000cell　98013 藥物　　作用 48 hr)

	Tz	**C**	**13(30μM)**	**13(10μM)**	**13(3μM)**	**13(1μM)**
OD	0.0716	0.1555	0.1018	0.1641	0.1522	0.1642
	0.0780	0.1448	0.1243	0.1492	0.1446	0.1508
	0.0733	0.1498	0.1130	0.1608	0.1599	0.1649
OD AVG	**0.0743**	**0.1500**	**0.1130**	**0.1580**	**0.1522**	**0.1600**
GIR AVG	**0%**	**100%**	**51.1%**	**110.6%**	**102.9%**	**113.2%**

評語

1. 本研究將天然物的抽取物加入肺癌細胞來證實其對癌細胞生長的抑制作用，並以純化來知道其結構，此乃相當好的結果。

2. 需在計量上做更多的探討以延伸到體內的探討。

3. 應該用適當的動物模型做體內毒性及功能研究。