編號：CCMP99-RD-029

台灣特有種蒲公英保肝飲品之開發與其安全性及功能性評估

溫曉薇
國立中興大學 食品暨應用生物科技學系

摘　要

台灣蒲公英(Taraxacum formosanum Kitamura)為台灣的特有種蒲公英，可食用亦可藥用，具清熱、解毒等功效。本計畫目的是以台灣蒲公英為主，加入其他藥材製備出為大眾所接受的保肝飲品，並確定其安定性與安全性以提高台灣特有種蒲公英的經濟價值。由於市售的台灣蒲公英不易大量取得與鑑定，故計畫中以組培的台灣蒲公英作為實驗的樣品。然而在長期食用組培台灣蒲公英萃取物上有安全性之疑慮，因此以 SD 大鼠進行口服急毒性試驗及 28 天亞急毒性試驗。口服急毒性試驗使用的蒲公英水萃物凍乾粉劑量為 5 g/kg bw，而 28 天亞急毒性試驗所使用的劑量為 2、1 及 0.5 g/kg bw 台灣蒲公英水萃物凍乾粉。結果證實蒲公英水萃物凍乾粉在及毒與亞急毒性試驗中皆未造成大鼠中毒與死亡，實驗組大鼠體重、飼料利用率、血液學變化、尿液學變化、凝血時間、血清生化值、臟器重量變化百分比與控制組無顯著性差異。大鼠肉眼病變圖、組織切片的結果在高劑量組皆無病變。採用安姆氏試驗法(Ames test)測試台灣蒲公英水萃液對兩種標準之沙門氏菌(Salmonella typhimurium TA98 及 TA100) 菌株的致突變性。結果顯示，台灣蒲公英水萃液在不同處理濃度(5, 2.5, 1.25,0.625 及 0.3125 mg/plate)下對於沙門氏菌的回復突變菌落數皆與陰性對照組無顯著差異，表示蒲公英之水萃取物在沙門菌回復突變之 Ames test 並不具有致變異性。將組培台灣蒲公英加入金銀花、薄荷、甘草、羅漢果和紅棗以及冰糖與蜂蜜(飲品 A336)或是加入紅棗、甘草與冰糖和檸檬濃縮汁(飲品 B275)，製成兩種不同口味的飲品。飲品 A336 均質 1000 bar、10 分鐘後加入 0.05%三仙膠以及飲品 B275 均質 1000 bar、15 分鐘後同樣加入 0.05%三仙膠，其飲品在儲藏期間穩定度最佳。100℃滅菌 20 分鐘可使飲品 A336 總生菌數由 2.08±0.12 log CFU/mL 下降至 0.71±0.03 log CFU/mL，儲藏第一週結束滅菌前後飲品總生菌數分別為 5.23±0.72 和 0.92±0.03 log CFU/mL；飲品 B275 總生菌數則由未滅菌前 1.69±0.01 log CFU/mL 降至 0.31±0.27 log CFU/mL，一周後未滅菌樣品總生菌數為 1.56±0.10 log CFU/mL，滅菌後樣品則是 0..20±0.09 log CFU/mL，皆符合飲品規範 105 log CFU/mL。在 121℃滅菌 15 分鐘總生菌數

都比 100℃滅菌 20 分鐘低，但 100℃滅菌 20 分鐘會降低飲品的亮度(L 值)且飲品中粒徑經儲藏後有明顯的上升，使飲品產生不穩定之變化。故綜合上述結果，100℃滅菌 20 分鐘為飲品最適滅菌條件的選擇。

關鍵詞：台灣蒲公英、口服急毒性、28 天亞急毒性、Ames 試驗、蒲公英飲品

Number: CCMP99-RD-029

Development of a Hepatoprotective Beverage from Taraxacum Formosanum Kitamur with the Evaluations of Its Safety and Functionality

Hsiao-Wei Wen
Department of Food Science and Biotechnology, National Chung-Hsing University

ABSTRACT

Taraxacum formosanum Kitamura is a special plant in Taiwain and can be use as food or medicine. It has been used as a folk medicine to treat lactation and liver disease. The objective of this research project is to utilize T. formosanum Kitamura and other medicines to manufacture a hepatoprotective beverage with the evaluatioin of safty and stability, in oreder to elevate its commercial value. Because of the commercial dandelions were not easy to get and confirm its specis, we used tissue cultured T. formosanum Kitamura as experimental sample. In this study, acute oral toxicity test and 28-days feeding toxicity on SD rats are applied to measure the safety of the extract of plant tissue culture of T. formosanum Kitamura. The dose of 5 g/kg of body weight of freeze-dried T. formosanum Kitamura extract powder was used in acute oral toxicity test, and the dosage of 2, 1, and 0.5 g/kg of bw were used in 28-day feeding test. The results showed that no poison symptoms or death were observed in the control and treated rats. No significant differences of body weight, organ weight, food consumption, urine analysis, thrombin time, hematological parameters, and serum biochemistry between the control and treated groups were observed. No gross and histopathological change of rats was found. In the Ames test, the result showed that various dosage of T. formosanum Kitam extraction had no significant difference in colony forming unit compared with negative group, so the extract of T. formosanum Kitamura had no mutagenic properties. Moreover, T. formosanum Kitamura extraction

was added with different Chinese medicines to make two kinds of drinks. We used T. formosanum Kitamura with honeysuckle, mint, licorice root, momordica grosvenori, Chinese red date, sugar and honey to make beverage A336. We also used Chinese red date, licorice root, surgar and lemon concentration juice with T. formosanum Kitamura to make beverage B275. After the beverage A336 homogenized 1000 bar for 10 min and the beverage B275 homogenized 1000 bar for 15 min, both of them were added 0.05% xanthan gum. Then two beverages were most stable in this condition at storage. When using 100℃ to sterile beverage A336 for 20 min, total plate count of it was decreased from 2.08±0.12 log CFU/mL to 0.71±0.03 log CFU/mL. After one week of storage, total plate count of beverage without sterilization was 5.23±0.72 log CFU/mL and 0.92±0.03 log CFU/mL with sterilization. Total plate count of beverage B275 without sterilization was decreased form 1.69±0.01 log CFU/mL to 0.31±0.27 log CFU/mL. After one week, total plate count of beverage without sterilization was 1.56±0.10 log CFU/mL and 0.20±0.09 log CFU/mL with sterilization. The results of total plate count were lower than the leagal regulation, 105 CFU/mL. When using 121℃ to sterilize beverage 15 min, the total plate count was lower than the condition of 100℃ for 20 min. However, the color of L value was lower than the sterilized condition of 100℃ for 20 min. Hence, the optimized condition of sterilization was selected as processing at 100℃ for 20 min.

Keywords: Taraxacum formosanum Kitamura, acute oral toxicity test, 28-days feeding toxicity, Ames test, dandelion beverage

壹、前言

蒲公英又名黃花地丁、黃花三七、婆婆丁和奶汁草，蒲公英(*Taraxacum*)屬菊科多年生草本植物，在全世界約有 2000 多種，生長區域廣泛分佈在北半球溫帶至亞熱帶中部地區，為一種常見的野菜與草藥(劉海林，2009；李喜風，2008)。蒲公英富含維生素 A，在春季到夏季開花時可連根挖取，洗淨後可用開水直接燙過做涼拌菜使用。除了當食材外，亦為中國傳統中藥之一，其用於治療疾病的歷史，最早可追朔至唐代，在唐本草、證類本草、新修本草、圖經本草、本草衍義及本草綱目等文獻都有蒲公英做為藥用之記載，甚至在本草綱目中被編入藥部，而在新修本草書中蒲公英又稱蒲公草，書中記載「人皆食之」，可見在古代蒲公英即為兼具食用與藥用的植物(許鴻源，1972)。蒲公英藥用部位有全草及根，蒲公英味苦、甘、性寒；歸肝、胃經；具清熱解毒、消腫散結、利濕通淋等功效；主治疔瘡腫毒、乳癰腸癰、目赤咽痛、胃腕脹痛等。此外和銀花、紫花地丁和野菊草共用可用於治療疔瘡腫毒；治目赤咽痛可配決明子、白菊花和龍膽草；治腸炎及痢疾可配黃連和黃柏磨成粉末服用(傅世垣，2002)；或是與茵陳蒿、才胡、山梔子、鬱金、茯苓、金銀花以水煎服對肝炎有不錯的療效(張憲昌，2007)。

本計畫所探討的是台灣蒲公英(*Taraxacum formosanum* Kitamura)，為台灣所獨有，其主要分布於台灣，葉叢生根際上，多數，其葉片披針狀長橢圓形，倒向羽狀缺科或深裂。花根生，單一或多出，頭狀花序其徑約 3 cm，小花為舌狀花，黃色，5 齒緣。瘦果呈紡綞形，上部具白色冠毛(張憲昌，2007)。台灣蒲公英成分經台灣學者研究指出地上部份具有 taraxacine-A、taraxacine-B、taraxafolin 等 25 種已知成分(Leu，2003)，而在根部有 taraxafolide、taraxafolide-B 等 18 種已知成分(Leu，2005)。蒲公英屬植物之化學成分經學者分析後，根部中萜含,倍半 eudesmanolides tetrahydroridentin B、taraxacolide-O- β-glucopyranoside、vernoflexuoside、guaianolide glycosides 和 sonchuside；三萜類及植物甾醇，像 taraxasterol 及 β-amyrin、β-sitosterol；酚類化合物，如 chicoric acid、monocaffeoyltartaric、4-caffeoylquinic、chlorogenic、caffeic、p-coumaric、ferulic 及 phydroxybenzoic acids 等成分。葉內則是多酚類化合物居多，以 hydroxycinnamic acid derivatives 的 caffeic acid esters 為多，有 chlorogenic、dicaffeoyltartaric (chicoric acid)及 monocaffeoyltartaric acids (Williams，1996；Budzianowski，1997)。

研究指出西洋蒲公英的藥理作用有十種，分別為利尿(Grases，1994)、利膽(Pirtkien，1960)、抗發炎(Seo，2005)、抗氧化(Hu，2005)、抗癌(Ko，2004)、抗過敏(Ho，1998)、鎮痛(Tita，1993)、抗高血壓(Onal，2005)、抗

凝血(Yun，2002)和益菌功效(Trojanova，2004)。本研究計劃著重於中藥保肝作用，而保肝功能之表現則主要和抗發炎及抗氧化能力有關，抗發炎方面有研究指出西洋蒲公英和關東蒲公英(*Taraxacum platycarpum*)的花經由甲醇萃取，其萃液對於由 tetradecanoylphorbol-13-acetate 誘導耳朵水腫的小鼠，前者有 95%而後者有 87% 抑制老鼠耳朵水腫的功效(Yasukawa，1996)；用西洋蒲公英的葉子部位的萃取物，在濃度 100 和 1000 ug/mL 能有效抑制 interleukin-1 (IL-1)的生成，進而降低 tumor necrosis factor alpha (TNF-α)的產生量(Kim，2000)。此外，抗氧化方面，西洋蒲公英的花萃取物，在乙酸乙酯萃取層中，能清除 reactive oxygen species (ROS)並保護 DNA 免於受到 ROS 誘導而產生傷害(Hu，2003)，而其他文獻顯示花之部位由乙酸乙酯萃取和水萃取、莖之部位的水萃取、葉之部位由氯仿萃取和乙酸乙酯萃取及根之部位的乙醚或正丁醇萃取，所得之萃出物具有清除自由基之功效(Kaurinovic，2003)。

TNF-α 與 IL-1α 是產生發炎時的指標產物，當人體處於急性發炎反應期，過多的 RNS(reactive nitrogen species)、ROS(reactive oxygen spesies)產生，會導致巨噬細胞產生過多有活性的非自由基物質(non-radical species)，包含一氧化氮(nitric oxide，NO)與超氧化物(superoxide) 及 TNF-α 與 IL-1α 等物質，會造成自體免疫失調、腫瘤的形成及發炎相關疾病的產生(Hu，2004；Gordan，2002)。因此，在發炎反應的 in vitro 模式研究中，最常被使用的細胞是 RAW264.7 細胞株，老鼠的巨噬細胞;而有研究指出西洋蒲公英(Taraxacum officinale)花朵萃取物中的 luteolin 和 luteolin 7-O-glucoside 成分，具抑制經 lipopolysaccharide (LPS)誘導之 RAW264.7 細胞中 inducible nitric oxide synthase (iNOS)及 cyclooxygenase-2 (COX-2)的蛋白質表現量(Hu and Kitts，2004)。

而在動物模式(*in vivo*)的實驗中，最常使用的動物發炎模式是以強迫灌食的方式給予大鼠四氯化碳(CCl_4)，誘導大鼠的肝臟產生發炎；四氯化碳為工業上的溶劑，會導致人體內及動物體內自由基的形成；當四氯化碳進入生物體內後，會被存在細胞內質網中的肝臟酵素 cytochrome P450 代謝為 trichloromethyl radical ($\cdot CCl_3$)；此物質容易與體內的重要成分反應，包括核酸、蛋白質或脂肪酸，在有氧的條件下 trichloromethyl radical 容易形成 trichloromethylperoxy radical ($\cdot CCl_3OO$)，而 trichloromethylperoxy radical 比 trichloromethyl radical 更容易與細胞膜上的多元不飽和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids，PUFA)反應產生脂質過氧化的情形，傷害細胞的細胞膜(Rechnagel and Glende，1973；Packer，1981；Weber，2003)。給予大鼠 CCl_4 也會造成大鼠體內丙氨酸轉胺酶 (alanine aminotransferase，ALT)、天門冬酸轉氨基胺 (aspartate aminotransferase，AST)、乳酸脫氫酶

(lactate dehydrogenase，LDH)的酵素活性增高以及肝臟脂質過氧化的情形上升，Park 等人給予 SD 大鼠 0.5 g/kg of body weight (0.5 g/kg bw)與 2 g/kg bw 的西洋蒲公英具有增加肝臟中細胞色素 P450 的 CYP2E1 之活性，具有改善因給予 CCl_4 導致的 ALT、AST、LDH 酵素活性增加的現象，且會增加血清中三酸甘油脂(triglyceride，TG)與膽固醇的形成，而降低肝臟脂質過氧化的情形(Park，2010)。

近年來，國人生活飲食習慣改變，罹患肝臟疾病人口居高不下，是國人十大死因中的第八位，根據衛生署民國 99 年統計因罹患肝臟疾病而死亡的人數有 4,912 人，因此預防或治療肝臟疾病刻不容緩。因化學合成藥劑對生物體具副作用，故研究天然中草藥預防或治療肝病日益增多，且自古便有記載肝病治療的方劑，深具開發潛力。且在許多與西洋蒲公英相關的文獻中證實西洋蒲公英對於在抑制發炎反應的功效，加上較少研究組培台灣蒲公英的功效，為提升台灣蒲公英的經濟價值，本研究將利用組培台灣蒲公英做成飲品，並以動物模式評估蒲公英萃取物是否具有毒性，以確保飲品的安全性。

貳、材料與方法

一、市售蒲公英與組培台灣蒲公英樣品的製備

市售蒲公英取自分布在北、中、南的中草藥店，各草藥店資料如表 2.1 所示。組培台灣蒲公英則是由朝陽科技大學張宏祺老師所提供。將採集到的新鮮組培蒲公英植株洗淨後以 45℃的烘箱烘乾，接著放入粉碎機中進行粉碎，粉末以 50 mesh 的篩網過篩，收集過篩後的粉末，保存於乾燥箱內備用。萃取條件與萃取比例參考 2004 年 Koo 等人與 2005 年 Hu 等人的實驗方法，蒲公英水萃液為取 1 g 的蒲公英粉末加入 100 mL 逆滲透(reverse osmosis，RO)水，在 100℃水浴加熱 2 小時，之後用 1 號濾紙進行抽氣過濾去除殘渣，收集濾液並保存於 4℃ 冰箱備用；蒲公英酒萃液為取相同重量(1 g)的蒲公英粉末加入 100 mL 之 70%酒精，在 38℃水浴加熱 2 小時後過濾，將濾液經減壓濃縮去除酒精，最後將蒲公英水萃取液和酒萃取液進行冷凍乾燥後保存於乾燥箱中備用(Koo，2004；Hu，2005)。

二、蒲公英總多酚含量的分析

總多酚的測定是參照 Hu 等人的方法，將冷凍乾燥後的蒲公英水萃物或酒萃物的粉末溶解於 RO 水後，取 50 μL 的樣品加入 250 μL 的 Folin-Ciocalteu reagent，與 200 μL 之 7.5% Na_2CO_3 反應 10 分鐘後測定在 765 nm 波長下的吸光值(NanoQuant infinteM200，TECAN)，另以不同濃度的沒食子酸(gallic acid)做為對照標準品(Hu，2005)。

三、蒲公英類黃酮含量的分析

類黃酮含量測定參照 2009 年李等人的研究方法測試樣品，取 200 μL 的測試樣品加入 200 μL 之 2% $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 反應 10 分鐘後，測定 420 nm 波長的吸光值，另外以不同濃度的芸香素(rutin)繪製標準曲線，換算試樣品中芸香素之含量 (李，2009)。

四、蒲公英咖啡酸含量的分析

以高效能液相層析儀分析蒲公英萃取物(包含水萃取物和酒萃取物)中的咖啡酸含量。分析條件參照謝等人的方法(謝，2009)，使用 C18 逆相層析管柱(PurospherR®STAR RP-18 endcapped 250-4，5 μm)，管柱溫度為 35℃，移動相有 A 溶劑：10%乙腈(含 0.1%H3PO4)與 B 溶劑：25%乙腈(含 0.1% H3PO4)以流速 1 mL/min 進行梯度沖提，0 分鐘時移動相 100%的 A 溶劑，24 分鐘後 A 溶劑比例開始降低，至 30 分鐘時降至 20%，B 溶劑則升為 80%，此後維持此溶劑比例 5 分鐘，35-40 分鐘後移動相比例逐漸回到 100%的 A 溶劑，每個樣品數的分析時間為 40 分鐘，分析波長為 350 nm，測試樣品分析體積為 20 μL。

五、急毒性試驗

本研究採用 SD 大鼠進行實驗，大鼠購自樂斯科生物科技公司(Taipei，Taiwan)。動物飼養環境溫度維持於 25±2oC，空氣濕度為 50-70％及 12 小時光/12 小時暗之光照週期。實驗正式開始前動物在動物房適應 1-2 週，期間給予充足的食物及飲水。實驗開始前將動物秤重同時依體重分組，使得各組的體重平均值趨於一致。試驗動物分為兩組，每組 10 隻大鼠，雌雄各半，控制組給予 RO 水，實驗組的試驗樣品以凍乾的蒲公英水萃取物粉末配製成 0.5 g/mL 的蒲公英水萃取物溶液，餵食劑量為 5 g/kg bw，實驗當天依動物體重強迫管餵 10 mL/kg bw 試驗樣品。餵食後，每天至少兩次觀察並記錄動物有無出現各種中毒的臨床症狀，例如抽搐、流涎、淚眼、呼吸困難、水腫或是脫水的現象，同時記錄動物房的溫度及相對濕度之變化，避免試驗期間飼養環境變化對試驗動物產生不良影響。在灌食後第十四天，測定其犧牲前的體重。大鼠麻醉後後採集其血液，再進行犧牲解剖，記錄臟器重量與分析血液相關項目包含血清生化值尿素氮(blood urea nitrogen ，BUN)，肌酸酐(creatinine)、AST、ALT、血球含量分析(Complete blood count，CBC)、組織切片與染色(H&E stain)以及利用血液抹片計算血液中白血球種類之分布。

六、亞急毒性試驗

參照衛生署公告的「健康食品安全性評估方法」，根據法規公告字號 88037803 第 1.8.2 項第二類：「產品之原料為傳統食用，但非以現階段被一般認為應該是安全無慮之較特殊加工方法」，選擇做 28 天的亞急毒性動物試驗，40 隻 SD 大鼠雌雄各半並分成四組(控制組、低劑量組、中劑量組、高劑量組)，每個劑量組有 5 隻雄鼠與 5 隻雌鼠。高劑量組的大鼠給予 2 g/kg bw 蒲公英水萃液，中劑量組為 1 g/kg bw，低劑量組是 0.5 g/kg bw，控制組則以 RO 水取代萃液。試驗前 5 週齡的大鼠飼養於動物房適應 1-2 週，於實驗開始前一週給予粉狀飼料。實驗前將大鼠秤重後進行分組，使各組老鼠體重的平均值一致。以胃管連續灌食 28 天，每天管餵開始前將大鼠秤重，並依當天體重給予試驗樣品，灌食的量不超過 10 mL/kg bw。每日實驗結束後需至動物房觀察與記錄大鼠有無中毒的狀況、症狀。28 天的管餵結束後，大鼠禁水、禁食 16 小時並放置尿盤收集大鼠的尿液，預備後續分析。犧牲當天除秤重外，各組隨機選一隻老鼠，檢查大鼠的眼睛並拍照。大鼠解剖後，摘取腦、胸腺、肝臟、脾臟、腎臟、腎上腺、睪丸或卵巢進行臟器檢查。

(一)體重與飼料消耗量、飼料利用率：

每週測量大鼠的體重(g)並記錄。同時每週更換飼料，記錄上一周飼料的殘餘量，體重與飼料消耗量、飼料利用率計算公式如下：

每日飼料消耗量=(飼料添加量-剩餘飼料量)/7

飼料利用率(%)=每日體重增重(g)/每日飼料消耗量(g)

(二)血液學檢查：

犧牲前，大鼠以 isoflurane 進行麻醉，從腹主動脈放血後收集至採血管。利用血球計數儀檢驗 WBC (white blood cell)、RBC (red blood cell)、Hct (hematocrit)、MCV (mean corpuscular hemoglobin volume)、MCH (mean corpuscular hemoglobin)、Hb (hemoglobin)及 PLT (platelet)。檢測完畢後，以載玻片做血液抹片後染色，並用 xylene 和封片膠封片，再利用光學顯微鏡計數血液中各類白血球：嗜中性血球 (eosinophile)、嗜酸性白血球 (neutrophile)、嗜鹼性白血球(basophile)、淋巴球 (lymphocyte)、單核球(monocyte)在白血球所佔的比率(%)。

(三)血清生化值：

將全血以 3000 rpm 離心 10 分鐘後，取上清液，測定血清中的 AST、ALT、TG、cholesterol、白蛋白 albumin、BUN、creatinine、LDH、澱粉酶(amylase)、葡萄糖(glucose)、Na^+、K^+、Cl^- 、麩氨基轉氨酶(Gamma-glutamyl transpeptidase，GGT)、肌酸激酶(creatine kinase)與總蛋白(total protein)的濃度。

(四)血液凝固指標項目檢察：

將血液放入含檸檬酸鈉(sodium citrate)的採血管，3000 rpm 離心 10 分鐘後取上清液，測定血清中活化部份前凝血酵素原時間(activated partial thromboplastin time，APTT)、前凝血酵素時間(prothrombin time，PT)與纖維蛋白原(fibrinogen，Fbg)的濃度。

(五)尿液學檢查：

記錄當天採集到的尿液檢體體積並拍照，取條狀試紙沾濕尿液後以尿液分析儀測定尿液中 pH、蛋白質(protein)、膽紅素(bilirubin)、尿膽紅素原(urobilirubin、ketones)、硝基鹽(nitrite)、潛血反應(occult blood)與尿液比重(specific gravity)。將測定好的尿液以 3000 rpm 離心 15 分鐘，將尿液定量至 0.5 mL 後混合均勻，取 20 μL 置入血球計數盤。計算尿中 WBC、RBC、上上皮細胞(epithelial cell)、圓柱體(cast)與結晶體(crystal)的含量。Crystal 的計數若佔計數盤之 0-25%記為+、25-50%記為++、50-75%記為+++、75-100%記為++++。

(六)肉眼病變與臟器重之觀察：

大鼠犧牲後，採集鼠隻的腦、胸腺、肺、心、脾、消化系統、睪丸或卵巢，秤重及記錄各器官重(g)。將臟器秤重後觀察有無病

變並從各組別取一隻老鼠的臟器拍照。將取出臟器固定在 10%福馬林三天後經組織修片與石蠟包覆，利用組織切片機切成 4-6 μm 厚度，以 HE 組織染色後，用光學顯微鏡觀察組織切片。

七、致突變性實驗

本實驗所使用之沙門菌(*Salmonella typhimurium*)突變菌系 TA 98 及 TA 100 組胺酸營養需求變異菌株 (His^-) 購自新竹食品工業研究所生物資源保存及研究中心。

(一)細菌毒性試驗

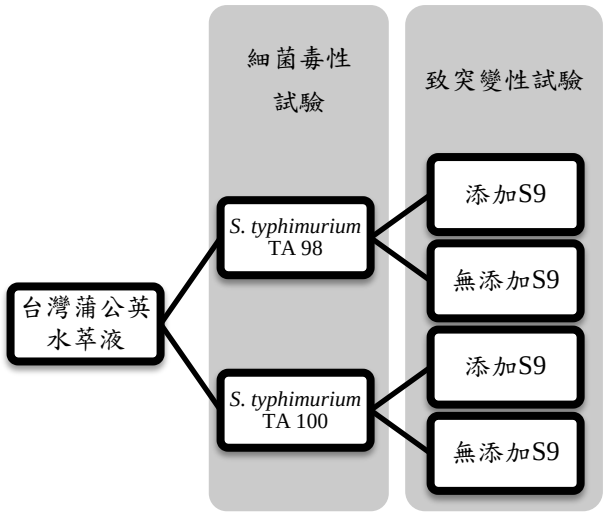


圖 2.1 實驗流程圖

實驗流程如圖 2.1 所示。本實驗在進入 Ames test 之前須先評估台灣蒲公英水萃液是否對沙門氏測試菌種產生抑菌作用，並確定不抑制沙門氏 TA 98 及 TA 100 生長之最高濃度，作為 Ames test 測試的最高濃度。首先，為減少測試菌種之自然回復突變發生率，實驗時應避免陽光或強光直接照射。取營養瓊脂培養基(nutrient agar plates，NA plate) 上培養之 TA 98 和 TA 100 之單菌落，連同 agar 一起挑起，置於 5 mL 營養瓊脂培養液(nutrient broth，NB)中，在 37°C 下搖晃培養 18 小時完成 TA 98 與 TA 100 增菌。接著，以無菌水將菌液 10 倍序列稀釋成 10^6 與 10^7 CFU/mL 後取 100 μL 稀釋菌液與 100 μL 台灣蒲公英萃液(5、2.5 和 1.25 mg/mL)，加入 200 μL 置於 50°C 下保持液體狀態的 soft agar，每個測試樣本均做三重覆。樣本混合均勻後，平鋪於 NA plate 上於 37°C 下培養 24 小時後觀察菌落。

(二) Ames test

受致突變物質刺激時，由需要組胺酸之營養缺失型回復突變為能自行合成組胺酸之特性，藉缺乏組胺酸之選擇培養基檢定，以測知化合物之致突變性。TA 98 與 TA 100 不加肝臟活化酵素(S9)直接處理試驗菌株之陽性對照組分別為 2.5 μg/plate 4-nitroquinoline- N-oxide (4-NQO) 與 5 μg/plate sodium azide (SAZ)；經 S9 活化代謝之陽性對照組皆為 5 μg/plate 2-AA。取 100 μL 之台灣蒲公英水萃液，濃度各為 5、2.5、1.25、0.625 及 0.3125 mg/mL，分別加入 0.2 mL 之 0.5 mM histidine 與 0.5mM biotin 混合液及 100 μL 菌液 (加肝臟活化酵素處理者，再另加 100 μL S9 混合液)，混入 45°C 之 2 mL 的 soft agar 中，混合後倒入最低營養需求培養基(minimal glucose agar plates，MA plate)待室溫凝固後，倒置於 37°C 培養箱中培養 48 小時。計算培養皿之回復突變菌落數，各劑量組 3 個重覆數。

八、飲品的製備：

製備兩種不同的飲料，以樣品 A 及樣品 B 來表示。以不同比例之蒲公英、金銀花、薄荷、甘草、或是紅棗、茯苓，置於鍋中與水一起煮沸，過濾後再加入冰糖、蜂蜜或是檸檬酸等調配而出五種不同比例的樣品 A (表 2.2)。以不同比例的蒲公英萃取液、紅棗萃取液、甘草萃取液、冰糖溶液以及經過稀釋的檸檬濃縮汁製備成六種不同口味做為樣品 B。飲品製備完成後利用醣度計測其含醣量，另外以 pH 測定計測定其 pH 值。

九、均質條件及穩定劑的選擇：

飲品以 500、1000、1500 bar 均質 5、10、15、20、25 或 30 分鐘，利用粒徑分析儀測其粒徑大小與不同儲藏時間粒徑大小的變化，以 mean±SD 來表達粒徑大小。選擇最適合的均質條件後，加入不同種類及比例的穩定劑 (0.05%三仙膠、0.1%三仙膠、0.05%果膠、0.1%果膠、0.05%甲基纖維素與 0.1%甲基纖維素)，經過飲品的最適均質條件經高壓均質機均質後進行粒徑的儲藏性試驗，以穩定性最高者做為最佳穩定劑的選擇。

十、滅菌條件的選定：

將 121°C 滅菌 15 分鐘、100°C 滅菌 20 分鐘、85°C 滅菌 30 分鐘和未滅菌的飲品檢測其總生菌數、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、大腸桿菌群(Coliform)，並做儲藏性試驗，觀察不同天數細菌含量的情形，進而去選擇出最佳滅菌條件。以培養皿計數培養基(plate count agar，PCA)測定總生菌數及衛生署公告的標準方法去測定 *E. coli* 及 Coliform (衛署公告，2009)；在儲藏期間，將飲品利用粒徑分析儀及色澤分析儀測定不同天數飲品的粒徑大小及顏色變化。

十一、統計分析：

數據分析以平均值與 mean±SD 表示，實驗組與控制組利用 SAS 進行統計分析，當 $p<0.05$ 代表有顯著性的差異。

參、結果

一、市售與組培樣品總多酚、類黃酮、咖啡酸含量之比較

組培台灣蒲公英與北中南不同店家之市售蒲公英之總多酚、咖啡酸含量比較，結果發現不論水萃及酒萃之組培台灣蒲公英咖啡酸含量皆比 K 店家(244.41±3.62 μg/mL)的蒲公英高，但低於其他店家(表 3.1)。組培蒲公英水萃液總多酚含量則是與 K 店家(10.15±1.11 μg/mL)之蒲公英總多酚含量相等，酒萃總多酚含量(22.13±0.17 mg/mL)則是比 B 店家(20.24±0.39 mg/mL)、F 店家(9.55±7.21 mg/mL)、I 店家(16.30±0.71 mg/mL)、J 店家(13.05±0.39 mg/mL)、K 店家(2.95±0.38 mg/mL)高。組培蒲公英水萃液之類黃酮皆比其他店家高。除了 G 店家(8.69±0.23 mg/mL)之外，組培酒萃液之類黃酮含量則皆比其他市售店家高。組培台灣蒲公英之水萃液與酒萃液之比較，類黃酮及咖啡酸的含量皆是酒萃高於水萃，而在類黃酮含量發現酒萃的含量較水萃高出一倍。從實驗結果可知，在市售的 11 間草藥店中，經弘光科技大學何玉鈴老師實驗室(江瑩真，2011)鑑定，只有 A 和 I 兩家店的蒲公英是台灣的蒲公英，其餘 9 間草藥店所賣的蒲公英均非台灣種的蒲公英，由此可知台灣種的蒲公英在取得上並不容易，另外，以 PCR 的方法鑑定蒲公英時，僅能確定採樣的樣品中確實有台灣蒲公英，但是若樣品內混雜了台灣蒲公英與非台灣蒲公英的植株，鑑定尚無法完全反應出樣品的實際狀況，而且，本計畫所需使用的台灣蒲公英量十分龐大，無法針對每一顆植株進行鑑定，故後續實驗將使用朝陽科技大學張宏祺老師所栽培的組培台灣蒲公英來進行實驗，確保實驗所使用的每一顆植株都是台灣蒲公英，避免有其他種蒲公英甚至是蒲公英誤用品─兔兒菜的汙染(張永勳，2004)。

二、口服急毒性試驗

以胃管灌食大鼠高劑量5 g/kg bw蒲公英水萃物凍乾粉，實驗期間只灌食一次之後觀察14天，大鼠的外觀無明顯的中毒症狀出現。此劑量依據健康食品安全性評估方法公告中的方法進行劑量換算，大鼠的攝食劑量相當於人體建議攝取量(/kg bw/day)的6.2倍(衛生署，2010a)，故大鼠灌食5 g/kg bw蒲公英萃液相當於人體攝取806 mg/kg bw，比衛生署在「可供食品使用原料彙整一覽表」中建議蒲公英攝取量：「每日最高食用量限100 mg以下；若為乾燥研粉使用者，每日最高食用限量則為10 mg以下。」高 (衛生署，2010b)。觀察7天後，雄鼠之實驗組與控制組體重分別為325±19 g與313±24 g (圖3.1)；增重百分比實驗組為32±2%而控制組為30±3%。雌鼠之實驗組體重為206±20 g而控制組為221±11 g；增重百分比分別為21±6%與24±1%。實驗組之體重變化與控制組比較皆無明顯差異，且都有增重的趨勢。在第14天，控制組與試驗組之雄鼠平均體重分別為329±28 g與347±21 g，雌鼠平均體重

分別為221±11 g與205±18 g；增重百分比分24±2%與21±5%，第14天的體重與控制組相比經統計分析結果皆無明顯差異，顯示蒲公英水萃物凍乾粉並不會使老鼠的體重有顯著的減輕或是增加的情形，而在14天的觀察中，試驗動物也沒有出現任何不良的臨床症狀。

(一)血液學變化

犧牲後採其大鼠血液，測量血液中白血球(WBC)、紅血球(RBC)、血紅素(HGB)、血球容積比(HCT)、平均紅血球容積(MCV)、平均紅血球血紅素含量(MCH)、平均血紅素濃度(MCHC)、血小板(PLT)、淋巴球(LYM)，如表 3.2 所示，紅血球以 10^6/μL 為單位，實驗組雄鼠為 7.6±0.4 單位、控制組 7.2±0.6 單位；雌鼠控制組為 7.4±0.2 單位、實驗組 7.5±0.3 單位，雄鼠與雌鼠的控制組與實驗組皆無明顯差異。實驗組雄鼠血紅素為 14.6±1.0 g/dL、控制組 13.9±1.2 g/dL；雌鼠控制組與實驗組血紅素分別為 14.1±0.2 與 14.2±0.1 g/dL，兩組數值皆在在正常範圍(雄鼠 7.6-13.7 g/dL，雌鼠 13.7-16.8 g/dL；Giknis，2008)內，且彼此無顯著差異。雄鼠控制組平均紅血球容積為 61.3±1.3 fL、實驗組 60.6±0.9 fL；雌鼠控制組與實驗組平均紅血球容積分別為 59.4±1.1 fL 與 58.8±1.2 fL，兩者並無顯著差異。而平均紅血球血紅素濃度、血小板、淋巴球的結果在實驗組與控制組之間皆無明顯差異。大鼠血液中白血球的含量，以 10^3/μL 為單位，雄鼠控制組白血球有 4.9±1.2 單位、實驗組則有 5.9±0.7 單位；雌鼠控制組有 4.9±0.3 單位、實驗組則為 5.0±0.9 單位。

另外從血液抹片去觀察試驗動物血液中白血球的分類情形。如表 3.3 所示，控制組雄鼠的淋巴球比例為 78.8±7.5%，實驗組為 85.6±7.0%，控制組雌鼠則為 81.2±7.8%，實驗組雌鼠 87.2±8.4%，都在參考的標準值內(Giknis，2008)。在蒲公英水萃物凍乾粉口服急毒性試驗中控制組雄鼠單核球比例是 1.4±2.6%，實驗組是 0.2±0.4%，雌鼠方面，控制組是 0.0±0.0%，實驗組為 0.2±0.4%，兩組間無顯著差異。嗜中性白血球(neutrophil)分為帶狀核球(band)與分葉核球(segment)，控制組與實驗組之雄鼠的 band 在白血球中所佔的比例皆為 0.2±0.4%，segment 範圍分別是在 19.6±8.0%和 13.4±6.4%，雌鼠的 band 比例同樣兩組皆是 0.2±0.4%，segment 則分別是在 17.0±7.2%和 11.2±7.9%。另外，單核球(monocyte)、嗜鹼性白血球(basophil)、嗜酸性白血球(eosinophil)含量在 0-2%之間，實驗組與控制組也沒無出現顯著差異。試驗動物血中的白血球比例與種類分布都正常，故蒲公英水萃物凍乾粉並不會使試驗動物

白血球或免疫細胞有異常增生的情形，推測蒲公英水萃物不影響身體的防禦能力。

(二)血清生化檢查

大鼠血清肝腎指數結果雄鼠控制組的 AST 值為 83.60±12.62 μ/L (表 3.4)、實驗組為 79.40±5.86 μ/L；雌鼠控制組與實驗組分別為 77.00±4.74 μ/L、80.25±5.56 μ/L。控制組雄鼠 ALT 為 36.20±5.22 μ/L、實驗組為 34.20±2.77 μ/L。雌鼠控制組與實驗組則分別 27.60±3.85 μ/L 和 28.75±4.99 μ/L。尿素氮雌鼠控制組為 19.6±4.83 mg/dL、實驗組為 22.00±3.46 mg/dL；雄鼠分別為 13.80±4.97 mg/dL 與 13.80±2.28 mg/dL。實驗組雌鼠及雄鼠的 AST、ALT、尿素氮與控制組經統計分析並無明顯的差異且都落在正常範圍內(Giknis，2008)。雄鼠肌氨酸實驗組與控制組皆介於 0.60-0.70 mg/dL 之間；而雌鼠則介於 0.70-0.90 mg/dL 之間，互相比較後皆無差異。代表給予 5 g/kg bw 蒲公英水萃物凍乾粉並不會造成大鼠肝、腎損傷。

(三)臟器病理檢查

圖 3.2 為大鼠臟器重量與體重百分比，實驗組雄鼠腦部為 0.57±0.03%，控制組為 0.60±0.04%，雌鼠實驗組腦部重量百分比為 0.94±0.05%，控制組為 0.87±0.10%。雄鼠控制組與實驗組之心臟重量百分比範圍在 0.33-0.43%、胸腺 0.12-0.22%、肝臟 2.59-3.16%、腎臟 0.63-0.73%、腎上腺為 0.01-0.02%、脾臟 0.16-0.25%、睪丸 0.84-0.99 %，統計分析實驗組與控制組比較皆無差異。雌鼠腦之重量百分比為 0.79-1.03 %、心臟範圍 0.35-0.44 %、胸腺為 0.17-0.30 %、肝臟範圍 2.46-2.96 %、腎臟 0.62-0.77%、腎上腺 0.02-0.03 %、脾臟 0.20-0.27 %、卵巢範圍為 0.03-0.04 %，經統計比較之後，實驗組與控制組在器官的重量百分比皆無明顯差異。與控制組互相比較(圖 3.4)，圖 3.3 與圖 3.5 分別為實驗組肉眼病變與組織切片的結果，皆未發現有任何的病變與傷害。綜合血液學結果的檢察，口服高劑量 5 g/kg bw 的蒲公英水萃物凍乾粉的口服急毒性試驗，並不會造成大鼠臟器或組織上的病變，對試驗動物不具毒性作用。

三、亞急毒性試驗

在試驗期間，每週雄鼠與雌鼠的低劑量組、中劑量組和高劑量組之體重與對照組每週體重比較(圖 3.6)，四組試驗動物的體重皆穩定增加，對照組雄鼠在試驗結束後體重平均值由 264.6 g 增為 425.8 g，低劑量組、中劑量組和高劑量組分別由 265.0 g、262.6 g 與 274.2 g 增為 428.4 g、437.6 g 和 400.2 g，四組雄鼠的體重在統計上均無顯著的差異。雌鼠的對照組、低劑量組、

中劑量組和高劑量組的平均體重則由試驗開始前的 186.4 g、186.0 g、186.2 g 和 197.2 g 變為 260.2 g、252.8 g、252.6 g 與 263.8 g，統計結果同樣四組之間沒有顯著差異。由結果可推論胃管餵食蒲公英水萃物凍乾物，並不會造成體重減輕或增加。

(一)飼料消耗量

28 天亞急毒試驗期間餵食不同劑量的蒲公英萃液實驗組均無中毒症狀或因中毒而引起死亡的情形發生。雖然在第一週雄鼠低劑量組，每日飼料消耗量為 24.5±2.1 g 與控制組(29.6±3.6 g)相比有下降的現象，但是隨著實驗持續進行，第二週後三組實驗組與對照組之間飼料消耗量並未出現顯著差異，另外高、中及低劑量的實驗組飼料利用率與控制組經統計分析均無顯著性差異(表 3.5)，故表示蒲公英萃取液並不會影響大鼠的食慾。

(二)血液學變化

血液學分析結果方面(表 3.6)，低、中及高劑量的實驗組與對照組雄鼠血液中的白血球含量分別為 3.8±1.2、5.9±1.4、3.7±0.5 和 5.1±2.1 $\times 10^3/\mu L$，各劑量實驗組與對照組比較無顯著差異；雌鼠的白血球含量則分別為 3.5±0.9、4.3±2.4、3.7±1.9 和 6.4±1.7 $\times 10^6/\mu L$，其中低劑量實驗組與高劑量實驗組血球數目較低，而且與對照組之間有顯著差異，但是兩組實驗組的白血球的數目仍在標準參考值 1130,000-7490,000/μL 內(Giknis，2008)，故推測此差異可能是試驗動物的個體差異，而非是餵食蒲公英水萃物凍乾粉造成的影響。而血液中的紅血球含量在低、中及高劑量的實驗組雄鼠分別為 8.2±0.3、8.2±0.3 和 8.5±0.6$\times 10^6/\mu L$，對照組為 8.3±0.2 $\times 10^6/\mu L$；雌鼠紅血球含量在低、中及高劑量的實驗組與對照組中分別是 7.9±0.2、7.8±0.4、7.5±0.2 和 7.9±0.4$\times 10^6/\mu L$，統計後四組並無顯著差異。在血小板含量方面，在低、中及高劑量的實驗組與對照組中，雄鼠血液中的含量分別是 1058.2±76.2、1090.6±210.7、1200.0±107.5 和 1151.3±201.7 $\times 10^3/\mu L$，雌鼠則是 1198.6±224.8、1114.6±353.4、1209.6±134.0 和 1229.4±171.2 $\times 10^3/\mu L$，統計上皆無顯著差異。另外實驗組之平均紅血球血紅素濃度的結果雖然略低於標準值 33.2-37.9 g/dL (Giknis，2008)，但是與控制組相比並無差異，推測並非蒲公英水萃物凍乾粉的影響。雌鼠高劑量血球容積比與控制組相比雖有明顯的降低，但仍在正常範圍 37.9-49.9% (Giknis，2008)。其餘血液學參數如血紅素、平均紅血球容積和平均血紅素濃度與控制組均無明顯的差異。故蒲公英水萃物凍乾粉並不影響大鼠血液學變化。

在試驗動物血液中白血球的分類情形方面(表 3.7)，控制組雄鼠的淋巴球比例為 89.2±6.2%，低、中及高劑量實驗組分別為 88.8±6.2%、84.2±8.6%與 85.8±5.2%，控制組雌鼠則為 84.6±7.4%，餵食劑量由低到高三組實驗組雌鼠的淋巴球比例分別是 78.6±9.1%、75.4±19.3%與 83.8±11.4%，都在參考的標準值內(雄鼠 66.6-90.3%，雌鼠 62.2-90.0%；Giknis，2008)。在白血球的種類分布上，含量最高的是淋巴球，其次是嗜中性白血球中的分葉核球，控制組雄鼠為 9.2±5.5%，低、中及高劑量實驗組分別為 9.0±4.8%、14.2±8.2% 與 12.8±5.1%；控制組雌鼠分葉核球的比例是 13.6±6.7%，實驗組劑量由低至高分別為 20.2±8.5%、22.8±19.7% 與 15.0±10.5%，在統計上，控制組與實驗組都沒有顯著差異，因此在蒲公英水萃物凍乾粉的 28 天亞急毒試驗中，試驗動物血中的白血球比例與種類分布都是正常的情形，故蒲公英水萃物凍乾粉在持續食用上也不會使試驗動物白血球或免疫細胞有異常增生的情形，推測蒲公英水萃物連續使用時不會影響身體的防禦能力。

(三)血清生化值影響

不論雄鼠或雌鼠的實驗組，其 AST、ALT 和尿素氮的數值與控制組經統計學分析並無明顯差異(表 3.8)。各組試驗動物的肌酸酐的含量都超過標準值(雄鼠 0.20-0.50 mg/dL，雌鼠 0.20-0.60 mg/dL；Giknis，2008)，但是雌鼠三組實驗組與控制組相比並無顯著的差異；而雄鼠高劑量組較控制組有顯著降低的情形但無劑量效應，此情形推估並非蒲公英萃取物導致肌酸酐超過標準值。另外，實驗組雄鼠之血清中三酸甘油脂(triglyceride)與膽固醇(cholesterol)與控制組相比皆無明顯差異；而中劑量雌鼠(65.70±10.55 mg/dL)與控制組(79.90±6.72 mg/dL)在膽固醇有明顯差異，但在標準範圍 24-73 mg/dL 內(Giknis，2008)。低劑量雌鼠血清三酸甘油脂(44.80±4.32 mg/dL)與控制組(57.40±5.22 mg/dL)有顯著差異但是也在標準範圍 14-46 mg/dL 內，而其他實驗組的雌鼠與控制組無差異，因此在蒲公英萃取物對血液中膽固醇與三酸甘油脂的影響上並不具有劑量效應，故推測造成此種差異的原因並不是蒲公英萃取物的影響。

實驗組之肌酸激酶(creatine kinase)、乳酸去氫酶 (latate dehydrogenase)、總蛋白質(T-prorein)、白蛋白(albumin)、澱粉酶(amylase)、磷(phosphorus) 、鎂(magnesium) 以及麩氨基轉氨酶(GGT)與控制組相比並沒有明顯的差異 (表 3.9)。雄鼠實驗組的葡萄糖(glucose)與控制組相比並無明顯的差異；雌鼠中劑量組的葡萄

糖與控制組雖有差異且略低於控制組，但仍在正常範圍 76-175 mg/dL 內。實驗組低劑量雄鼠 Na^+離子和雌鼠中劑量，與控制組相比有明顯的降低且比正常範圍(雄鼠 141-148 mmol，雌鼠 140-147 mmol)低，約比正常值低 1-2%，但仍在可接受範圍(Giknis，2006；Dekkers，2006)。雄鼠血清中低劑量之 Cl^-離子與控制組相比偏低但仍在正常參考範圍 100-106 mmol/L；雌鼠血清 Cl^-離子的濃度與控制組相比並無差異且都在正常參考範圍 100-107 mmol/L 內，整體而言，蒲公英萃取物對試驗動物的各項血清生化值並沒有劑量依賴性的影響，故推測蒲公英萃取物在 2 g/kg bw 的劑量以下，無毒性作用。

前凝血酵素時間(prothrombin time，PT)、活化部分前凝血酵素原時間(activated partial thromboplastin time，APTT)、纖維蛋白原(Fibrinogen，Fbg)以及血小板(platelet，PLT)為參與凝血相關的因子，參考衛生署公布之健康食品法規所訂的檢驗項目而檢測。給予 28 天不同劑量蒲公英萃液之實驗組與控制組相比，其結果皆無明顯差異(表 3.10)。

(四)尿液學影響

28 天的蒲公英胃管餵食蒲公英，犧牲前收取尿液的結果可發現實驗組尿液的體積、外觀顏色、酸鹼值 (pH)、尿液的比重(specific gravity)、尿膽紅素原(urobilinogen)與控制組相比皆無明顯差異(表 3.11)。實驗組之雄鼠尿中的蛋白質與控制組並無差異；實驗組低劑量及高劑量之雌鼠與控制組相比有差異且含量較低，但無劑量效應，故不能推論蒲公英萃取物有降低尿中蛋白質的效果。實驗組尿中葡萄糖與潛血反應皆未檢出，其中控制組有一隻大鼠尿中紅血球高達 150/μL，推論可能因為飼養期間大鼠指甲受傷血液滴入尿中所造成而非身體有異常外傷所造成。實驗組與控制組皆檢測出酮尿的產生，可能是因為收尿前禁食而導致此現象發生，禁食時動物體內的熱量來源轉由脂質提供，經過代謝後即會產生酮體，因此尿液中會驗出有酮體的出現，此為正常生理現象(Fox，2006)，並非由蒲公英萃取物造成的不良影響。實驗組與控制組尿中皆有亞硝酸鹽(nitrite)的檢出，未呈劑量與毒性相關性。而尿中膽紅素的含量，實驗組老鼠檢出的含量較控制組少，由尿液學的變化可知萃液並不會造成大鼠肝腎損傷。尿液沉渣中的紅血球、白血球、上皮細胞(epithelial cell)也不會因投予萃液而有增加的現象(表 3.12)，雖然在血球計數盤上可發現少數的上皮細胞，但實驗組與控制組的上皮細胞的總量統計上並無差異。尿中結晶(crystal)

並沒有因為給藥劑量增加而有劑量效應，可證實蒲公英水萃物凍乾粉並不會影響尿液沉渣變化。

(五)臟器重量

蒲公英水萃物凍乾粉給予 2 g/kg bw (高劑量組)、1 g/kg bw (中劑量組)和 0.5 g/kg bw (低劑量組)，連續灌食 28 天後，發現各臟器(腦、心臟、胸腺、脾臟、肝臟、腎臟、睪丸或卵巢)重量百分比在控制組與實驗組相比皆無顯著差異(表 3.13)。而雄鼠中劑量之心臟重量百分比與控制組相比有顯著降低的現象，推測是因為中劑量組之大鼠體重較重所導致的。

(六)肉眼病變及組織病理觀察圖

連續給予蒲公英水萃物凍乾粉 28 天之肉眼病變圖，控制組(圖 3.7)與高劑量組(圖 3.8)在肉眼外觀上並無病變，在組織切片上除了控制組雌鼠編號 111 腎臟小管內出現局部、輕微、礦物質沉積以及控制組編號 114 腎臟腎小管出現局部、極微、腎囊腔、單核炎症細胞浸潤之外，其雄鼠與雌鼠之控制組(圖 3.9)與高劑量組(圖 3.10)，組織切片的結果皆未發現任何異常狀況。

四、致突變性試驗

(一)細菌毒性試驗

將台灣蒲公英水萃液 50 mg/mL 以無菌水稀釋至最終濃度為 5、2.5 及 1.25 mg/plate，與 TA 98 和 TA 100 作用培養 18 小時。結果如表 3.14 所示，台灣蒲公英水萃液在 5 mg/plate 以下之濃度對 TA 98 與 TA 100 的 T test 結果皆大於 0.05，表示台灣蒲公英水萃液在 5 mg/plate 濃度以下對沙門氏菌細菌毒性。

(二)安姆氏試驗 (Ames test)

接著以台灣蒲公英水萃液 5 mg/plate 作為最高濃度劑量對 TA98 與 TA100 做致突變性實驗，結果顯示如表 3.15。TA98 之直接細菌回復突變試驗中，陽性藥劑為 4-NQO (2.5 μg/plate)，其細菌回復突變菌數為 97.7±9.3 CFU/plate；間接細菌回復突變試驗中，陽性藥劑為 2-AA (5 μg/plate)，其細菌回復突變菌數為 1741.7±30.0 CFU/plate。而台灣蒲公英水萃液在各濃度下之 TA98 回復突變菌株，皆與對照組無顯著性差異。在 TA100 之直接細菌回復突變試驗中，陽性藥劑為 SAZ (5 μg/plate)，其細菌回復突變菌數為 1507.0±34.1 CFU/plate；間接細菌回復突變試驗中，陽性藥劑為 2-AA (5 μg/plate)，其細菌回復突變菌數為 2384.0±63.7 CFU/plate。而台灣蒲公英水萃液在各濃度下之 TA100 回復突變菌株，也與對照組無顯著性差異，表示台灣蒲公英水萃液對 TA98

及 100 菌株無致突變性。

五、不同配比之糖酸比值

以兩種不同配方下的條件去做不同比例的調配(表 3.16)，A 樣本是將各內容物，包含蒲公英、金銀花、薄荷、甘草、羅漢果或是紅棗、茯苓等分別秤重後洗淨，置於鍋中與水一起煮沸，過濾後再加入冰糖、蜂蜜或是檸檬酸等調配而成，依比例不同，分別製備出 A336、A876、A184、A345 及 A119 五種樣品；B 樣品則是各內容物分別將煮出蒲公英萃取液、紅棗萃取液、甘草萃取液、冰糖溶液以及經過稀釋的檸檬濃縮汁，再以不同的比例混合而成，共有 B645、B492、B426、B275、B654 以及 B866 六種樣品。樣品 A 由冰糖、蜂蜜與檸檬酸調味，測其糖度含量及 pH 值。在飲品的選擇，可以糖度高、pH 不偏低的條件來做選擇，較能被大眾所接受。樣品 A 的 pH 值測得的範圍在 4.7-5.3。而糖度以樣品 336 (4.5 $Brix^{o}$)為最高，因此選擇樣品 336。樣品 B 由冰糖和檸檬酸去調味，糖度以 866 (8.2$Brix^{o}$)、492 (8.2 $Brix^{o}$)與 275 (8.0 $Brix^{o}$)為高，在 PH 值則分別是 3.23、3.2、3.67；雖然樣本 866、492 的糖度都較樣本 275 高，但是都偏酸，所以在樣本 B 的選擇，則是選擇樣本 275 為佳。

六、均質時間與壓力條件選擇

均質可使飲品的中粒子的大小，當粒子變小時，有助於提高樣品的穩定度，減少沉澱的現象。因此將 A336 及 B275 兩種樣品分別進行不同時間及不同壓力的高壓均質，觀察均質前後以及經過儲藏後飲品粒子大小的變化情形來決定最佳的均質條件。圖 3.8 指出，樣品 A336 在 500、1000 或是 1500 bar 下均質不同時間後在儲藏期間的粒徑變化情形，樣品 A336 起始粒徑為 291.4±17.7 nm，經過 500 bar，5 分鐘的均質後，粒徑降為 211.4±16.1 nm，然而隨著均質時間增加，粒徑並無顯著的持續下降，均質至 30 分鐘後，粒徑為 201.1±6.3 nm；但是當均質壓力提高後，同樣進行 5 分鐘的均質，1000 bar 的均質壓力可使粒徑降為 196.6±14.7 nm，若是更高的 1500 bar，粒徑為 184.5±7.7 nm，但是儘管提高均質壓力，在 1000 bar 和 1500 bar 下，更長的均質時間依然其粒徑大小皆與 5 分鐘的結果相近，顯示在 A336 樣品在高壓均質時，壓力對粒子大小的影響力較大。樣品 B275 在未均質的條件下，其粒徑的大小為 278±5.5 nm (圖 3.9)，1000 bar 均質 5、10、15、20、25 和 30 分鐘後粒徑依序變化成 222.7±8.9、212.2±19.5、194.0±9.4、195.7±3.2、197.9±4.1 以及 196.1±11.8 nm，在前 15 分鐘，粒徑變化具有時間依賴性，而在壓力的影響上，同樣以 5 分鐘來看，500 bar 是 221.0±7.8 nm，1500 bar 則是 218.2±18.6 nm；經過 30 分鐘後，500、1000 及 1500 bar 下的粒徑分別是 208.7±3.5、196.1±11.8 以及 195.2±13.5 nm，因此可知短時間的均質時，壓力對樣品 B275 影響不大，而均質時間拉長，1000 bar 和 1500 bar 作用下

的粒徑變化依然相近，所以對樣品 B275 而言，均質效果部分取決於時間，壓力的影響較小。

在穩定度的觀察方面，當樣本儲存到第九天時發現，500 bar 下均質五分鐘的樣品下，其粒徑增加至 250.0±13.3 nm；1000 bar 均質 5 分鐘的樣品也由第 0 天的 196.6±14.7 nm 上升到 217.3±10.8，其餘的均質條件在儲藏期間粒徑並未隨著時間有變化。而在第 0 天時，發現以 1000 bar 均質 10 分鐘(186.9±5.7 nm)粒徑與 1500 bar 均質 5 分鐘 (185.2±7.7 nm)相差不多，故飲品 A336 均質條件則會選擇 1000 bar 均質 10 分鐘(圖 3.11)。樣本 B275 在第 0 天未均質的條件下，其粒徑的大小 278±5.5 nm 較均質過的樣品粒徑大。而隨著儲藏的時間增加，經 500 bar 均質過的樣品，其粒徑與未經均質樣品粒徑皆有增加的現象。在第 0 天樣本 B275 雖然在 1500 bar 均質 10 分鐘之粒徑有變小的現象(188.6±4.2 nm)，但是在 1500 bar 均質條件下，因壓力高會產熱故可能會造成樣品中有效成分的熱破壞，所以樣本 B275 的均質條件則選擇均質 1000 bar、15 分鐘(圖 3.12)。

七、穩定劑的選擇與儲存性試驗

樣本 A336 加入三仙膠後飲品中的粒子會變大，加入 0.05%三仙膠時粒徑變為 248.6±17.0 nm，當三仙膠比例提高(0.1%)，粒徑也有增大的趨勢(307.3±12.0 nm)，其他穩定劑也有類似的現象，加入 0.05% 果膠(pectin)，粒徑增為 207.1±12.0 nm，0.01%的果膠粒徑增大為 244.8±4.0 nm；若以羧甲基纖維素(carboxymethyl cellulose，CMC)作為穩定劑，加入 0.05%時粒徑為 184.1±9.0 nm，0.1%則是 197.1±15.0 nm。然而經過 8 天的冷藏儲存，樣本 A336 以加入 0.05%三仙膠及 0.1%三仙膠粒徑的變化最穩定，在第 0、1 (0.05%，264.9±19.0 nm；0.1%，300.9±25.0 nm)、4 (0.05%，269.3±8.0 nm；0.1%，282.0±18.0 nm)及 8 (0.05%，278.0±25.0 nm；0.1%，289.7±17.0 nm)天粒徑的大小在統計上並沒有差異(圖 3.13)，其他的穩定劑隨著儲藏時間粒徑有增大的趨勢，如 0.05%果膠在儲藏 1 天後 (241.8±20.0 nm)或是加入 0.05%羧甲基纖維素在第 4 天(248.4±8.0 nm)粒徑大小會有增加的現象，所以在樣本 A336 的製備上則是選擇加入 0.05%三仙膠。

而樣本 B275 以加入 0.05 %三仙膠、0.05%羧甲基纖維素、及 0.05%果膠其粒徑的變化在第 0、1、4、8 天最穩定，其中以加入 0.05 %三仙膠，測得的粒徑大小較其他穩定劑大。儲藏 8 天後，含 0.05 %三仙膠的 B275 飲品粒徑為 308.9±16 nm，含 0.05 %羧甲基纖維素者為 240.0±13 nm，而加入 0.05%果膠粒徑則是 226.3±10 nm，在統計上並沒有差異(圖 3.14)。雖然在第八天，0.05 %三仙膠比 0.05 %果膠及 0.05 %羧甲基纖維素粒徑大，但最後飲品 B 穩定劑的選擇仍是選擇 0.05%三仙膠。因為由於三仙膠具有良好的安定性，在低濃度即可形成高黏度溶液。三仙膠可溶於冷水或熱水，溫度、

pH 值對三仙膠黏度影響不大；且三仙膠常被使用在飲料中以提高口感及風味，常被使用在柳橙汁使果汁形成混濁穩定態 (張為憲，1995)。

八、飲品滅菌條件選擇

(一)滅菌後飲品在不同儲存時間其微生物生長的情形

A336、B275 樣品製備後，利用三種不同的滅菌條件(85℃，30 分鐘、100℃，20 分鐘和 121℃，15 分鐘)進行滅菌條件的測試，觀察經過不同的滅菌步驟之後，飲品的顏色、粒徑以及飲品中微生物的存活情形之改變狀況，選出最佳的滅菌條件。其結果為三種滅菌條件不會造成飲品顏色的改變。將滅菌後的樣品做儲藏性試驗，探討何者滅菌條件效果較佳。樣品 A336 與 B275 在未滅菌前總生菌數含量分別為 2.08±0.12 以及 1.69±0.01 log CFU/mL (圖 3.15)，經過 1 周的儲藏之後，樣品 A336 因含有高比例的糖水，在未滅菌的條件下，第一週較第零週高出三個 log 值，總生菌數上升至 5.23±0.72 log CFU/mL；樣品 B275 因為有加入檸檬酸，未滅菌條件下的飲品在第一週(1.56±0.10 log CFU/mL)與第零週菌量無明顯差異。

A336 樣品經三種滅菌處理之後，隨著滅菌處理的不同，總生菌數也有不同的表現，121℃滅菌 15 分鐘可以達到完全的滅菌，100℃滅菌 20 分鐘可使菌數降至 0.71±0.03 log CFU/mL，85℃加熱 30 分鐘後菌數只能下降至 1.24±0.01 log CFU/mL。儲藏 1 周後，100℃、20 分鐘滅菌下，總生菌數升高為 0.92±0.03 log CFU/mL，而 85℃加熱 30 分鐘的處理總生菌數則維持在 1.21±0.01 log CFU/mL，而不論是何種滅菌條件，飲品的總生菌數皆小於 5 log CFU/mL 符合衛生署公告之「中藥材及中藥製劑含有害物質限量標準及其適用範圍」草案(衛生署，2010c)的規範，故三種滅菌方法皆能使 A336 飲品達到有效的滅菌。

利用 121℃滅菌 15 分鐘，同樣可以使 B275 樣品達到完全的滅菌，100℃滅菌 20 分鐘後則使總生菌數由 1.69±0.01 log CFU/mL 下降到 0.31±0.27 log CFU/mL，85℃、30 分鐘的處理滅菌效果不彰，總生菌數為 1.38±0.05 log CFU/mL；而經過 1 周的儲藏之後，在 100℃、20 分鐘的條件下，B275 樣品的總生菌數不因時間有明顯的增加，總生菌數是 0.20±0.09 log CFU/mL；但是在 85℃、30 分鐘的滅菌條件下，菌數有顯著性的增加，總生菌數為 1.54±0.06 log CFU/mL。而飲品 B275 的總生菌數不論滅菌與否，總生菌數皆小於「中藥材及中藥製劑含有害物質限量標準及其適用範圍」草案中規範的 5 log CFU/mL(衛生署，2010c)，故三種滅菌方法皆能

選擇作為 B275 飲品的滅菌方法。

另外，在 *E.coli* 和 Coliform 的檢測結果方面，樣品 A336 與樣品 B275 均未檢測出 *E.coli* 和 Coliform。

(二)滅菌後飲品粒徑儲藏性試驗

圖 3.16 為不同滅菌條件飲品儲存性試驗之粒徑變化，樣品 A336 未滅菌之粒徑在第零週與儲藏第一週分別為 359.25±1.06 nm 與 398.95±3.32 nm，統計上有明顯差異。在 121℃滅菌 15 分鐘粒徑在儲藏第一週及第零週大小為 417.25±25.1 nm 與 529.00±20.36 nm，粒徑有增加的現象且具有顯著性差異，其他兩種滅菌條件：100℃、20 分鐘和 85℃、30 分鐘在經過一周的儲藏之後，飲品中的粒徑大小並以顯著的變化。樣品 B275 在 121℃滅菌 15 分鐘的條件下，第零週與第一週粒徑大小分別為 415.6±13.29 nm 與 515.1±17.82 nm，兩者相比粒徑有顯著增加。而樣品 B 在其他滅菌條件以及未滅菌的樣品於第零週與儲藏第一週的粒徑相比並無顯著差異。故由粒徑變化的情形來看，樣品 A336 和 B275 較合適的滅菌條件為 100℃、20 分鐘或 85℃、30 分鐘。

(三)滅菌後飲品色澤儲藏性試驗

未滅菌的樣品 A336 在第零週與儲藏第一週 L 值分別為 1.09±0.02 與 1.30±0.02 (圖 3.17)。而在 100℃滅菌 20 分鐘的條件下，滅菌完後 L 值為 1.05±0.03，儲藏一周後 1.11±0.00，有上升的趨勢，而 121℃滅菌 15 分鐘和 85℃、30 分鐘滅菌後與儲藏後相比，L 值沒有顯著的變化。另一方面，在 B275 樣品中，在相同滅菌條件之不同儲藏時間，兩者 L 值相比皆有顯著差異，B275 樣品各滅菌條件均會使 L 值在保存第一週後出現下降的情形。樣品 B275 在第零週以 121℃滅菌 15 分鐘，100℃滅菌 20 分鐘，85℃滅菌 30 分鐘和未滅菌的 L 值分別為 1.79±0.39、2.20±0.02、2.18±0.02、2.45±0.02；儲存第一週分別為 1.52±0.02、1.81±0.02、1.84±0.00、1.96±0.00，兩者相比皆有顯著差異，推測樣品 B275 亮度會隨著儲存時間而變暗。

彩度的計算是 $Chroma=(a^2+b^2)^{1/2}$ 所計算出來的數值。色澤中 a 值是代表紅色度與綠色度，b 值是代表黃色度與藍色度。樣品 A336 在三種滅菌條件下，儲藏前後彩度都無明顯差異(圖 3.18)。而在未滅菌條件下，第零週與第一週彩度分別為 1.89±0.08 與 2.28±0.08，彩度有明顯增加的趨勢。樣品 B275 在未滅菌的第零週與儲藏第一週，彩度分別為 2.03±0.13 與 1.59±0.05；在第零週滅菌條件為 121℃滅菌 15 分鐘、100℃滅菌 20 分鐘、85℃滅菌 30

分鐘彩度的分別為 1.73±0.20、1.95±0.05、1.88±0.04；儲藏第一週後三項滅菌條件下的彩度分別為 1.52±0.08、1.54±0.11、1.54±0.05，儲藏前後相比彩度皆有明顯下降的情形。樣品 A336 與樣品 B275 在未滅菌條件下，彩度的結果相反，可能與飲品組成與調配方法不同有關。

肆、討論

平均紅血球容積(MCV)與平均紅血球血紅素含量(MCH)皆是判別貧血的指標，如平均紅血球血紅素含量(MCH)可判別因缺鐵而導致的小球性貧血；而平均紅血球容積(MCV)可判別因阻礙核酸合成而抑制細胞分裂導致巨球性貧血(沈永紹，1982)。貧血的判讀也可由血紅素濃度(Hb)、紅血球總數(RBC)來判讀，若有此情形發生，則此兩個指標皆會有下降的現象產生。白血球包含嗜中性球(neutrophil)、嗜酸性球(eosiphile)、嗜鹼性球(basophile)、單核球(monocyte)與淋巴球(lymphocyte)皆是參與身體的防禦機制，嗜中性球(neutrophil)有殺菌作用、嗜鹼性球(basophile)有殺死寄生蟲的能力、單核球(monocyte)會形成巨噬細胞參與身體的免疫反應、淋巴球(lymphocyte)則會分裂及轉變抗體參與免疫反應(沈永紹,1982)。GOT 與 GPT 分別存在於肝臟的細胞質與粒線體內，當肝細胞受損，此兩種酵素則會釋放至血清中。尿素的產生主要是由飲食中的蛋白質經過肝臟代謝所產生的，而腎臟是排除尿素的器官，若腎臟之腎小體的濾過性作用有問題時，就會導致血清中的尿素氮 BUN 的增加。肌酸酐 creatinine 大部分是由 creatine 轉變而來的，此物質可經腎臟排泄出去，在臨床上可用來當判讀腎病的指標。不論在急毒性試驗或是亞急毒試驗，血液學變化、血清生化值的檢測皆沒有異常的現象。Alkaline phosphotase(鹼性磷酸酶)是評估肝臟指標之一，若有肝細胞腫脹導致膽汁淤積情形發生，血清中鹼性磷酸酶的含量會增加。雄鼠之實驗組與控制組有明顯的差異，但仍在參考範圍 62-230 μ/L 且較正常細胞受損較少(Giknis,2008);而雌鼠的血清磷酸酶的含量實驗組與控制組並無顯著的差異，且隨著給藥劑量增加而下降的現象。Na^+、K^+、Cl^-離子為評估體液平衡的參考值，與血漿的水分含量有關。血清 K^+離子在實驗組雌鼠與雄鼠都比控制組低，且有隨著劑量的增加而降低的現象。在 2006 年 Schutz 等人整理出蒲公英的藥理特性，1974 年 Kotilla 等人證實給予 8 g/kg 蒲公英會使大鼠出現利尿的情形而使體重降低 30%，出現利尿的情形會使血鉀降低。本實驗雖無明顯的利尿情形且給藥組與控制組尿量雖無顯著差異但有增加趨勢，推論可能是因為此現象導致大鼠血清鈉與鉀離子降低的原因。在亞急毒之病理切片，發現控制組有兩隻雌鼠分別出現腎臟腎小管出現局部、極微、腎囊腔、單核炎症細胞浸潤與腎小管出現局部、輕微、礦物質沉積。文獻指出雌鼠腎臟發生鈣鹽沉積現象於 Sprague-Dawley、Wistar 及 F344 雌鼠之發生率高，推測可能與雌性荷爾蒙(estrogen)作用有關(Reeves ，1993)有關。另飼料中含鈣(Ca^{++})與磷(P^-)比率小於 1、缺鎂(Mg^{++})或缺氯(Cl^-)及尿中 pH 值太高，均可能誘發高發生率之鈣鹽沉積(Schoenmakers， 1989)，此為非特異性組織病變而非蒲公英萃液影響。雌

鼠控制組 114 出現局部肝臟脂肪浸潤，推測與飼料太油且攝食過多導致血清三酸甘油脂(TG)含量過高，造成局部肝臟脂肪浸潤而非蒲公英萃液所影響。

致突變性試驗結果發現蒲公英萃取液皆對沙門菌(*S. typhimurium*)突變菌系 TA 98 及 TA 100 皆無致突變性。飲品製備後滅菌做儲藏性試驗，發現不論是在第零週或第一週，樣品 A 總生菌數含量皆比樣品 B 高。推測是因為樣品 B 有加入檸檬酸而抑制細菌生長,加上樣品 A 中含糖量比樣品 B 多，較易滋生細菌。L 值是代表明亮度的一種指標，若此數值越高，代表亮度愈亮。樣品 A 與樣品 B 在不同滅菌條件下，其 L 值皆較未滅菌低。樣品 A 之 L 值有稍微增加的趨勢，代表樣品 A 的亮度有隨著儲存時間增加而增加；樣品 B 則是隨儲藏時間增加，L 值有下降的現象。推測樣品 A 與樣品 B 的結果有差異，可能的原因為樣品 A 與樣品 B 的飲品組成的物質與調配方法不同而有不同的結果產生。在第零週與第一週樣品 A 與樣品 B 在 121℃滅菌 20 分鐘條件下,粒徑有明顯增加,推測此滅菌條件較易使飲品發生沉澱。

伍、結論與建議

衛生福利部公告可供食品使用原料囊整一覽表之木本植物類，法規建議台灣蒲公英乾燥研粉使用量，每日最高建議食用量 10 mg/kg。綜合動物實驗急毒與 28 天亞急毒性的結果，28 天亞急毒性試驗中最高餵食劑量為 2 g/kg bw，經過 28 天連續餵食，試驗動物均未有不良的臨床反應，血清生化試驗、血液學、尿液學並以及病理切片等分析一無臟器受損之情形，顯示台灣蒲公英水萃物的安全性高，可以做為飲品之原料。在飲品滅菌條件的選擇上，從菌數的影響來評估，121℃滅菌 15 分鐘在第零週及第一週菌數都是零，此滅菌條件相較於 100℃滅菌 20 分鐘佳。但經過 121℃滅菌的 B275 飲品，其亮度經儲藏後會稍微降低；在粒徑的變化方面，121℃滅菌後 A336 及 B275 兩種樣品的粒徑大小會隨儲藏時間增加而變大。故綜合儲藏前後樣品 A336 與樣品 B275 的菌數變化、粒徑大小的變化以及色澤變化的結果來看，以 100℃、20 分鐘為佳。

故綜合儲藏前後樣品 A336 與樣品 B275 的菌數變化、粒徑大小的變化以及色澤變化的結果來看，以 100℃、20 分鐘的滅菌條件為佳。結果指出若選擇 100℃、20 分鐘的滅菌條件，建議飲品的儲藏時間為一個星期並儲藏於在 4℃冰箱保存。接下來會做更長時間飲品保存時間的試驗，偵測其總生菌數、色澤、粒徑大小的變化，選擇更適合飲品的滅菌條件，為食用者做更嚴謹的把關。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-029 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Ahmad VU, Yasmeen S, Ali Z, Khan MA, Choudhary MI, Akhtar F, Miana GA, Zahid M: Taraxacin, a new guaianolide from *Taraxacum wallichii*. J Nat Prod 2000; 63: 1010-1011.
2. Budzianowski J: Coumarins, caffeoyltartaric acids and their artifactual methyl esters from *Taraxacum officinale* leaves. Planta Med 1997; 63: 288.
3. Dekkers S, Telman J, Rennen MAJ, Appel MJ, Heer CD: Within-animal variation as an indication of the minimal magnitude of the critical effects size for continuous toxicological parameters applicable in the benchmark Dose Approach. Risk Anal 2006; 26: 867-880.
4. Fox SI: Human physiology 9th edition. New York, McGraw-Hill, 2006: 117-118.
5. Giknis MLA, Clifford CB: Clinical laboratory parameters for Crl: Wl(Han)rats. Charles river 2008; 1-14.
6. Grases F, Melero G, Costa-Bauza A, Prieto R, March JG: Urolithiasis and phytotherapy. Int Urol Nephrol 1994; 26: 507-511.
7. Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY: Desacetylmatricarin, an anti-allergic component from *Taraxacum* platycarpum. Planta Medica 1998; 64: 577-578.
8. Hu C, Kitts DD: Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts *in vitro*. J Agric Food Chem 2003; 51: 301-310.
9. Hu C, Kitts DD: Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. Phytomedicine 2005; 12: 588-597.
10. Hu C, Kitts DD: Luteolin and luteolin-7-O-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264.7 cells. Mol Cell Biochem 2004; 265:107-113.
11. Jeon HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kang YS, Lim CJ, Kim YM, Park EH: Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. J Ethnopharmacol 2008; 115: 82-88.
12. Kaurinovic B, Popovic M, Cebovic T, Mimica-Dukic N: Effects of *Calendula officinalis* L. and *Taraxacum officinale* WEBER (Asteraceae) extracts on the production of OH• radicals. Fresenius Environ Bull 2003; 12: 250-253.

13. Kim HM, Shin HY, Lim KH, Ryu ST, Shin TY, Chae HJ, Kim HR, Lyu YS, An NH, Lim KS: *Taraxacum officinale* inhibits tumor necrosis factor alpha production from rat asterocytes. Immunopharmacol Immunotoxicol 2000; 22: 519-530.
14. Kisel W, Barszcz B: Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. Fitoterapia 2000; 71: 269-273.
15. Ko SG, Koh SH, Jun CY, Nam CG, Bae HS, Shin MK: Induction of apoptosis by Saussurea lappa and Pharbitis nil on AGS gastric cancer cells. Biol Pharm Bull 2004; 27: 1604-1610.
16. Koo HN, Hong SH, Song BK, Kim CH, Yoo YH, and Kim HM: *Taraxacum officinale* induces cytotoxicity through TNF-α and IL-1α secretion in Hep G2 cells. Life Sci 2004; 74: 1149-1157.
17. Katrin Scűhtz, Reinhold Carle, Andreas Schieber: Taraxacum-A review on its phytochemical and pharmacological profile. J.Ethnopharmacol 2006; 107: 313-323.
18. Leu YL, Shi LS, and Damu AG: Chemical constituents of *Taraxacum formosanum*. Chem Pharm Bull 2003; 51: 599-601.
19. Leu YL, Wang YL, Huang SC, and Shi LS: Chemical constituents from roots of *Taraxacum formosanum*. Chem Pharm Bull 2005; 53: 853-855.
20. Norman I. Krinsky: Carotenoids as chemopreventive agents**.** Biochem Biophys Res Commun 1981; 98: 901-906.
21. Onal S, Timur S, Okutucu B, Zihnioğlu F: Inhibition of α-glucosidase by aqueous extract of some potent antidiabetic medicinal herbs. Prep Biochem Biotechnol 2005; 35: 29-36.
22. Ovadje P, Chatterjee S, Griffin C, Tran C, Hamm C, Pandey S: Selective induction of apoptosis through activation of caspase-8 in human leukemia cells (Jurkat) by dandelion root extract. J Ethnopharmacol 2010; 133: 86-91.
23. Owen RA, Heywood R: Age-related variations in renal structure and function in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol 1986; 14: 158-167.
24. Packer JE, Mahood JS, Mora-Arellano VO, Slater TF, Willson RL, Wolfenden BS: Free radicals and singlet oxygen scavengers: reaction of a peroxy-radical with beta-carotene, diphenyl furan and 1,4-diazobicyclo (2,2,2)-octane. Biochem Biophys Res Commun 1981; 98: 901-906.
25. Park CM, Cha YS, Youn HJ, Cho CW, Song YS: Amelioration of oxidative stress by dandelion extract through CYP2E1 suppression against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in sprague-dawley rats. Phytother

Res 2010; 24: 1347-1353.
26. Pirtkien R, Surke E, Seybold G: Comparative studies on the choleretic effects of various drugs in rats. Med Welt 1960; 26: 1417-1422.
27. Rao G N: Diet and kidney diseases in rats. Toxicol Pathol 2002; 30: 651-656.
28. Rechnagel RO, Glende EA: Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of lethal cleavage. CRC Crit Rev Toxicol 1973; 2: 263-297.
29. Reeves PG, Rossw KL, Lndlauf J: Development and testing of the AIN-93 purified diets for rodents: results on growth, kidney calcification and bone mineralization in rats and mice. J Nutr 1993; 123: 1023-1031.
30. Schoenmakers ACM, Ritskes-Horringa J, Lemmens AG, Beynen AC: Influence of dietary phosphorus restriction on calcium and phosphorus metabolism in rats. Internat J Vi Res 1989; 59: 200-206.
31. Seo SW, Koo HN, An HJ, Kwon KB, Lim BC, Seo EA, Ryu DG, Moon G, Kim HY, Kim HM, Hong SH: *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. World J Gastroenterol 2005; 11: 597-599.
32. Tita B, Bello U, Faccendini P, Bartolini R, P Bolle: *Taraxacum officinale* W: pharmacological effect of ethanol extract. Pharmacol Res 1992; 27: 23-24.
33. Trojanová I, Rada V, Kokoska L, Vlková E: The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root. Fitoterapia 2004; 75: 760-763.
34. Weber LW, Boll M, Stampfl A: Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. Crit Rev Toxicol 2003; 33: 105-136.
35. Williams CA, Goldstone F, Greenham J: Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. Phytochemistry 1996; 42: 121-127.
36. Yasukawa K, Akihisa T, Oinuma H, Kasahara Y, Kimura Y, Yamanouchi S, Kumaki K, Tamura T, Takido M: Inhibitory effect of Di- and trihydroxy triterpenes from the flowers of compositae on 12-O-tetradecanoylphorbol -13-acetate-induced inflammation in mice. Biol Pharm Bull 1996; 19: 1329-1331.
37. Yun SI, Cho HR, Choi HS: Anticoagulant from *Taraxacum platycarpum*. Biosci Biotechnol Biochem 2002; 66: 1859-1864.
38. 李喜風，孟璐。蒲公英現代分析方法研究進展。中華中醫藥學刊 2008；120-122。

39. 李喜風，杜云鋒。蒲公英中總黃銅的含量測定。中華中醫藥學刊 2009；1219-1220。
40. 張憲昌。台灣常用藥用植物圖鑑。台中市，晨星出版有限公司 2007；372-373。
41. 許鴻源。臺灣地區出產中藥藥材圖鑑。台北市，行政院衛生署中醫藥委員會 1972；312。
42. 傅世垣。中醫大百科全書。北京，中國大百科全書出版社 2002；234-235。
43. 劉海林。蒲公英生物學特性與栽培方式探討。農業科技通訊 2009；179-180。
44. 謝宗禧。台灣蒲公英大量繁殖、毛狀根誘導與咖啡酸含量分析之研究。朝陽科技大學碩士論文 2009。
45. 沈永紹。獸醫實驗診斷學提要 增訂二版。台北市，華香園出版社 1987；101-123。
46. 江瑩真。台灣蒲公英及其誤用品之分子鑑定研究/中藥材何首烏之輻射滅菌劑量研究。中國醫藥大學博士論文 2011。
47. 張永勳。台灣市售 易誤用、混用中藥材之鑑別。國際藥用植物產業發展研討會專刊2004；185-198。
48. 張為憲。食品化學。華香園出版社 1995;65-67。
49. 行政院衛生署：署授食字第0981800288，公告修正指定中華民國國家標準(CNS)總號4090 類號N6097 食品中黃麴毒素檢驗法等16種中華民國國家標準得為食品衛生檢驗方法。臺北：衛生署，2009。
50. 行政院衛生署：署授食字第 88037803，健康食品安全性評估方法。臺北：衛生署，2010a。
51. 行政院衛生署：可供食品使用原料彙整一覽表。食品藥物消費者知識服務網，10 月 05 日查詢，2010b。
52. 行政院衛生署：衛生署法規草案，中藥材及中藥製劑含有害物質限量標準及其適用範圍。行政院衛生署網站衛生法規資料檢索系統，10 月 05 日查詢，2010c。

柒、圖表

表 2.1、不同店家經 RT-PCR 鑑定後的蒲公英種類

Table 2.1 The categories of dandelion at different Chinese medicine stores were identified by RT-PCR .

青草店名	地區	台灣蒲公英	其他種蒲公英
A	台中	V	
B	台中		V
C	台中		V
D	高雄		V
E	高雄		V
F	高雄		V
G	台北		V
H	台北		V
I	台北	V	
J	台北		V
K	台中		V

註:上述店家之蒲公英為江瑩真博士所鑑定之(江瑩真，2011)。

表 2.2、飲品內容物組成比例表

Table 2.2 Beverages composition of the contents.

SampleA	內容物組成 (g/50mL)									
樣品編號	蒲公英	金銀花	薄荷	甘草	羅漢果	紅棗	冰糖	蜂蜜	檸檬酸	茯苓
336	0.5	0.5	0.25	0.15	0.75	1g	0.68	0.66	-	-
876	0.5	0.5	0.25	0.625	0.75	-	-	-	-	-
184	0.5	0.5	0.25	0.15	0.75	1g	-	-	-	0.5
345	0.5	0.5	0.25	0.15	0.75	1g	1.18	-	1.5mL(稀釋兩倍)	-
119	0.5	0.5	0.25	0.15	0.75	1g	-	-	-	-

SampleB	蒲公英	紅棗	甘草	冰糖	檸檬酸	總體積(mL)
樣品編號	1g/100mL	30顆/300mL (85g)	10g/300mL	20g/100mL		
645	3	1	0.5	2	0.5(稀釋兩倍)	7
492	3	1	0.3	2	0.5	6.8
426	3	2	0.3	1	0.5(稀釋兩倍)	6.8
275	3	1	0.4	2	0.5(稀釋兩倍)	6.9
654	3	2	0.4	1	0.5(稀釋兩倍)	6.9
866	3	1	0.5	2	0.5	7

表 3.1、市售與組培蒲公英樣品總多酚、類黃酮、咖啡酸含量之比較。

Table 3.1 The diference content of total phenolic, flavonoid and caffeic acid between the commercial and tissue cultured of dandelion.

	來源	水萃			70%乙醇萃		
		總多酚 (mg/g)	類黃酮 (mg/g)	咖啡酸 (μg/ml)	總多酚 (mg/g)	類黃酮 (mg/g)	咖啡酸 (μg/ml)
組培	朝陽科技大學*	10.15 ± 1.11	3.18 ± 0.05	244.41 ± 3.62	22.13 ± 0.17	6.34 ± 0.32	275.5 ± 3.34
市售	A*	21.52 ± 0.53	1.45 ± 0.03	2077.59 ± 2.38	39.32 ± 0.46	3.73 ± 0.12	1862.42 ± 3.23
	B	15.78 ± 0.19	1.28 ± 0.02	675.62 ± 7.92	20.24 ± 0.39	1.29 ± 0.02	664.82 ± 17.23
	C	24.16 ± 0.48	1.91 ± 0.09	861.99 ± 14.68	98.55 ± 0.68	1.55 ± 0.13	927.38 ± 1.07
	D	30.53 ± 0.27	1.97 ± 0.03	1534.03 ± 6.99	126.65 ± 3.62	3.08 ± 0.04	1405.16 ± 1.24
	E	21.19 ± 0.45	1.39 ± 0.18	463.54 ± 2.05	103.53 ± 1.87	1.92 ± 0.14	481.39 ± 4.41
	F	19.72 ± 0.28	1.57 ± 0.05	865.92 ± 0.99	9.55 ± 7.21	2.34 ± 0.11	1379.86 ± 26.62
	G	20.65 ± 0.19	2.04 ± 0.11	944.37 ± 3.49	42.33 ± 0.36	8.69 ± 0.23	1416.91 ± 6.52
	H	24.33 ± 0.64	0.91 ± 0.06	543.83 ± 1.59	33.38 ± 1.70	2.27 ± 0.10	1437.43 ± 34.83
	I*	28.61 ± 0.23	2.37 ± 0.12	1357.26 ± 14.96	16.30 ± 0.71	1.72 ± 0.09	1777.80 ± 24.00
	J	20.18 ± 0.16	1.79 ± 0.10	327.01 ± 0.62	13.05 ± 0.39	2.08 ± 0.10	339.50 ± 0.51
	K	10.15 ± 1.11	1.82 ± 0.04	61.35 ± 0.45	2.95 ± 0.38	1.02 ± 0.03	45.70 ± 1.12

＊代表台灣蒲公英

表 3.2、蒲公英水萃物凍乾粉口服急毒性試驗之大鼠血液學變化。

Table 3.2 Changes in hematological parameters of rats after orally administered by gavage with lyophilized dandelion extract powder in the acute oral toxicity test.

Dose (mg/kg)	WBC (10^3/μL)	RBC (10^6/μL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10^3/μL)	LYM (10^3/μL)
Male									
Control	4.9 ± 1.2	7.2 ± 0.6	13.9 ± 1.2	44.1 ± 3.3	61.3 ± 1.3	19.3 ± 0.3	31.5 ± 0.6	1144.8 ± 76.6	3.7 ± 1.0
DE5000	5.9 ± 0.7	7.6 ± 0.4	14.6 ± 1.0	46.1 ± 2.0	60.6 ± 0.9	19.2 ± 0.9	31.7 ± 1.5	1085.2 ± 177.0	4.7 ± 0.5
Female									
Control	4.9 ± 0.3	7.4 ± 0.2	14.1 ± 0.2	43.7 ± 0.8	59.4 ± 1.1	19.1 ± 0.5	32.2 ± 0.6	1214.2 ± 230.9	3.9 ± 0.4
DE5000	5.0 ± 0.9	7.5 ± 0.3	14.2 ± 0.1	43.9 ± 0.9	58.8 ± 1.2	19.0 ± 0.6	32.3 ± 0.5	1285.5 ± 180.7	3.8 ± 0.4

DE: dandelion extract

WBC: white blood cell, RBC: red blood cell, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration, PLT: platelet, LYM: lymph

Data are expressed as the mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.3、蒲公英水萃物凍乾粉口服急毒性試驗之大鼠白血球分類變化。

Table 3.3 Changes in white blood cells of rats after orally administered by gavage with lyophilized dandelion extract powder in the acute oral toxicity test.

Dose (mg/kg)	WBC (10^3/μL)	Lymph (%)	Neutrophil (%)		Monocyte (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)
			Band	Segment			
Male							
Control	4.9 ± 1.2	78.8 ± 7.5	0.2 ± 0.4	19.6 ± 8.0	1.4 ± 2.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
DE5000	5.9 ± 0.7	85.6 ± 7.0	0.2 ± 0.4	13.4 ± 6.4	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.4
Female							
Control	4.9 ± 0.3	81.2 ± 7.8	0.2 ± 0.4	17.0 ± 7.2	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.1	0.2 ± 0.4
DE5000	5.0 ± 0.9	87.2 ± 8.4	0.2 ± 0.4	11.2 ± 7.9	0.2 ± 0.4	0.6 ± 0.9	0.6 ± 0.9

DE: dandelion extract

WBC: white blood cell

Data are expressed as the mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.4、蒲公英水萃物凍乾粉口服急毒性試驗之大鼠血清肝及腎臟指數變化

Table 3.4 Serum biochemistry changes in liver and renal function of rats after orally administered by gavage with lyophilized dandelion extract powder in the acute oral toxicity test.

Dose (mg/kg)	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
Male				
Control	83.60 ± 12.62	36.20 ± 5.22	13.80 ± 4.97	0.68 ± 0.04
DE5000	79.40 ± 5.86	34.20 ± 2.77	13.80 ± 2.28	0.66 ± 0.05
Female				
Control	77.00 ± 4.74	27.60 ± 3.85	19.60 ± 4.83	0.83 ± 0.10
DE5000	80.25 ± 5.56	28.75 ± 4.99	22.00 ± 3.46	0.76 ± 0.05

DE: dandelion extract

GOT: aspartate aminotransferase, GPT: alanine aminotransferase , BUN: blood urea nitrogen

Data are expressed mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.5、28 天胃管餵食大鼠蒲公英水萃物凍乾粉之每日飼料消耗量及飼料利用率

Table 3.5 Change in feed comsumption and effeiciency of rats treated with lyophilized dandelion extract powder by dalily gavage in 28- days feeding toxicity.

Dose (mg/kg)	Feed comsumption (g)				Feed efficiency(%)
	1	2	3	4 week	
Male					
Control	29.6 ± 3.6	25.5 ± 3.3	25.9 ± 2.7	26.7 ± 3.1	21.2 ± 6.7
DE500	24.5 ± 2.1*	26.2 ± 1.5	25.5 ± 1.9	25.7 ± 1.63	23.0 ± 10.7
DE1000	28.0 ± 3.5	28.7 ± 4.0	28.1 ± 2.8	29.5 ± 3.5	22.2 ± 8.0
DE2000	24.4 ± 6.8	23.7 ± 2.2	24.7 ± 1.2	25.1 ± 2.8	18.9 ± 9.9
Female					
Control	18.3 ± 1.5	18.3 ± 2.1	19.7 ± 3.0	19.6 ± 2.7	14.1 ± 6.4
DE500	18.3 ± 2.7	18.3 ± 1.6	18.8 ± 2.5	19.8 ± 1.79	17.3 ± 11.7
DE1000	17.9 ± 2.3	18.3 ± 2.4	19.9 ± 2.0	19.9 ± 1.61	12.6 ± 4.6
DE2000	19.8 ± 4.7	21.4 ± 3.5	20.7 ± 3.4	22.7 ± 4.4	11.5 ± 5.8

DE: Dandelion extract

Feed efficiency: (daily weight gain (g)/ daily food intake (g))×100

Data are express mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control group and treated group.

表 3.6、經胃管餵食 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之血液學變化

Table 3.6 Changes in hematological parameters of rats treated with lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	WBC (10^3/μL)	RBC (10^6/μL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10^3/μL)
Male								
Control	5.1 ± 2.1	8.3 ± 0.2	15.9 ± 0.5	50.3 ± 1.7	60.6 ± 1.2	19.2 ± 0.7	31.7 ± 1.0	1151.3 ± 201.7
DE500	3.8 ± 1.2	8.2 ± 0.3	15.4 ± 0.3	48.8 ± 1.1	59.3 ± 2.1	18.8 ± 0.9	31.6 ± 0.5	1058.2 ± 76.2
DE1000	5.9 ± 1.4	8.2 ± 0.3	15.5 ± 0.4	48.8 ± 1.8	59.7 ± 1.8	19.0 ± 0.8	31.8 ± 0.8	1090.6 ± 210.7
DE2000	3.7 ± 0.5	8.5 ± 0.6	15.5 ± 0.4	50.0 ± 2.2	59.1 ± 2.2	18.3 ± 1.0	31.1 ± 1.0	1200.0 ± 107.5
Female								
Control	6.4 ± 1.7	7.9 ± 0.4	15.0 ± 0.5	46.8 ± 2.3	58.9 ± 1.3	18.9 ± 0.6	32.0 ± 0.6	1229.4 ± 171.2
DE500	3.5 ± 0.9*	7.9 ± 0.2	14.7 ± 0.5	45.8 ± 1.5	58.3 ± 1.1	18.7 ± 0.4	32.1 ± 0.4	1198.6 ± 224.8
DE1000	4.3 ± 2.4	7.8 ± 0.4	14.8 ± 0.7	46.7 ± 2.5	59.8 ± 0.9	19.0 ± 0.2	31.8 ± 0.4	1114.6 ± 353.4
DE2000	3.7 ± 1.9*	7.5 ± 0.2	14.4 ± 0.4	43.8 ± 0.7*	58.6 ± 1.3	19.2 ± 0.7	31.1 ± 1.0	1209.6 ± 134.0

DE: dandelion extract

RBC: red blood cell, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit, MCV: mean corpuscular volume, MCH: mean corpuscular hemoglobin, MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration

＊Significant difference between the control group and treated group.

表 3.7、經胃管餵食 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之白血球分類變化

Table 3.7 Changes in white blood cells of rats treated with lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	WBC (10^3/μL)	Lymph (%)	Neutrophil (%)		Monocyte (%)	Eosophile (%)	Basophile (%)
			Band	Segment			
Male							
Control	5.1 ± 2.1	89.2 ± 6.2	0.2 ± 0.4	9.2 ± 5.5	0.0 ± 0.0	1.4 ± 1.1	0.0 ± 0.0
DE500	3.8 ± 1.2	88.8 ± 6.2	0.0 ± 0.0	9.0 ± 4.8	0.0 ± 0.0	2.2 ± 2.4	0.0 ± 0.0
DE1000	5.9 ± 1.4	84.2 ± 8.6	0.0 ± 0.0	14.2 ± 8.2	0.6 ± 0.9	1.0 ± 1.4	0.0 ± 0.0
DE2000	3.7 ± 0.5	85.8 ± 5.2	0.0 ± 0.0	12.8 ± 5.1	0.2 ± 0.4	1.2 ± 1.1	0.0 ± 0.0
Female							
Control	6.4 ± 1.7	84.6 ± 7.4	0.0 ± 0.0	13.6 ± 6.7	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.9	0.2 ± 0.4
DE500	3.5 ± 0.9*	78.6 ± 9.1	0.0 ± 0.0	20.2 ± 8.5	0.2 ± 0.4	1.0 ± 1.2	0.0 ± 0.0
DE1000	4.3 ± 2.4	75.4 ± 19.3	0.2 ± 0.4	22.8 ± 19.7	0.2 ± 0.4	1.4 ± 1.5	0.0 ± 0.0
DE2000	3.7 ± 1.9*	83.8 ± 11.4	0.2 ± 0.4	15.0 ± 10.5	0.2 ± 0.4	0.8 ± 1.3	0.0 ± 0.0

DE: dandelion extract

WBC: white blood cell

Data are expressed as the mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.8、28 天胃管餵食大鼠蒲公英萃物凍乾粉之血清肝與腎臟功能變化

Table 3.8 Serum biochemistry changes in liver and renal function of rats after orally administered by gavage with lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	AST (U/L)	ALT (U/L)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	T.bilirubin (mg/dL)	Cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Male							
Control	77.50 ± 13.20	23.00 ± 5.30	25.50 ± 8.23	0.80 ± 0.14	0.96 ± 0.07	72.33 ± 15.47	49.50 ± 16.13
DE500	65.00 ± 7.18	22.20 ± 3.96	24.40 ± 4.62	0.74 ± 0.21	0.61 ± 0.16*	63.06 ± 7.81	46.60 ± 10.69
DE1000	82.20 ± 14.92	23.00 ± 2.92	20.60 ± 4.83	0.72 ± 0.08	0.68 ± 0.30	76.30 ± 12.51	53.40 ± 13.50
DE2000	87.40 ± 5.59	25.80 ± 5.81	22.60 ± 7.44	0.60 ± 0.07*	0.72 ± 0.17*	56.40 ± 9.81	48.20 ± 15.32
Female							
Control	75.40 ± 9.89	22.60 ± 2.30	21.40 ± 2.88	0.70 ± 0.12	0.63 ± 0.04	79.90 ± 6.72	57.40 ± 5.22
DE500	78.80 ± 21.68	20.00 ± 4.85	19.20 ± 2.86	0.70 ± 0.12	0.92 ± 0.06*	80.00 ± 12.52	44.80 ± 4.32*
DE1000	84.40 ± 32.53	19.40 ± 4.56	23.20 ± 8.01	0.68 ± 0.04	0.75 ± 0.36	65.70 ± 10.55*	49.80 ± 13.24
DE2000	86.60 ± 24.61	21.40 ± 7.13	18.80 ± 1.79	0.72 ± 0.13	0.63 ± 0.36	86.94 ± 13.31	48.80 ± 10.18

DE: dandelion extract

AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, T. bilirubin: total bilirubin, BUN: blood urea nitrogen

Data are expressed mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.9、給予大鼠 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之其他血清生化值變化

Table 3.9 Changes in serum biochemistry of rats treated with lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose(mg/kg)	Creatine kinase (U/L)	LDH (U/L)	T. protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	ALP (U/L)	GGT (U/L)	Glucose (mg/dL)
Male							
Control	139.75 ± 73.11	233.25 ± 318.68	6.03 ± 0.51	3.50 ± 0.24	137.50 ± 28.10	0.00 ± 0.00	212.25 ± 59.38
DE500	75.80 ± 17.41	57.00 ± 16.64	5.86 ± 0.35	3.34 ± 0.24	112.80 ± 16.08*	0.20 ± 0.40	210.00 ± 52.84
DE1000	175.40 ± 124.78	218.60 ± 235.00	6.24 ± 0.43	3.60 ± 0.28	108.00 ± 18.83	0.85 ± 0.21	215.40 ± 75.16
DE2000	149.40 ± 90.47	283.40 ± 290.10	5.82 ± 0.49	3.40 ± 0.29	123.20 ± 30.06	0.20 ± 0.00	162.00 ± 24.39
Female							
Control	71.60 ± 10.36	43.80 ± 15.29	6.52 ± 0.43	3.96 ± 0.40	76.40 ± 18.84	0.50 ± 0.90	157.00 ± 19.99
DE500	74.20 ± 22.81	78.20 ± 29.16	6.34 ± 0.76	3.74 ± 0.45	63.20 ± 14.60	0.00 ± 0.10	139.60 ± 7.67
DE1000	186.40 ± 297.77	64.60 ± 60.04	6.10 ± 0.40	3.60 ± 0.10	67.20 ± 20.04	0.30 ± 0.30	122.20 ± 5.81
DE2000	138.80 ± 103.18	329.20 ± 357.74	6.70 ± 0.25	3.73 ± 0.49	56.60 ± 9.91	1.45 ± 1.63	147.80 ± 19.21

	Amylase (U/L)	P^{3-} (mg/dL)	Ca^{2+} (mg/dL)	Mg^{2+} (mg/L)	Na^{+} (mmol/L)	K^{+} (mmol/L)	Cl^{-} (mmol/L)
Male							
Control	910.00 ± 62.71	8.93 ± 1.00	9.95 ± 0.733	2.24 ± 0.24	149.50 ± 8.10	7.35 ± 1.52	112.25 ± 4.19
DE500	969.60 ± 89.46	8.38 ± 1.02	9.62 ± 0.918	1.83 ± 0.31	137.00 ± 4.53*	6.64 ± 0.64	102.20 ± 4.32*
DE1000	909.67 ± 125.01	8.58 ± 1.99	10.28 ± 1.057	2.48 ± 0.58	146.40 ± 0.70	6.34 ± 0.23	106.80 ± 3.56
DE2000	920.80 ± 188.80	7.54 ± 0.73*	9.36 ± 0.555	1.91 ± 0.19	141.60 ± 4.28	5.56 ± 0.48*	107.00 ± 3.67
Female							
Control	755.40 ± 161.12	8.44 ± 0.86	11.06 ± 0.86	2.16 ± 0.33	145.60 ± 1.82	6.10 ± 0.60	108.20 ± 3.35
DE500	650.40 ± 79.81	8.38 ± 1.06	10.00 ± 0.56	2.02 ± 0.21	145.20 ± 14.46	5.78 ± 0.65	112.80 ± 13.01
DE1000	580.40 ± 59.08	8.04 ± 0.80	9.36 ± 0.40*	2.04 ± 0.27	138.20 ± 1.30*	5.24 ± 0.13*	103.60 ± 0.89
DE2000	704.80 ± 68.68	8.10 ± 1.46	10.44 ± 0.71	2.29 ± 0.72	147.60 ± 12.36	5.18 ± 0.37*	110.40 ± 9.58

DE: dandelion extract

GGT: gamma gluttamyl-transferase, LDH: latate dehydrogenase, T.protein: total protein, ALP: alkaline phosphatase

Data are expressed mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control groups and treated groups.

表 3.10、經胃管餵食蒲公英水萃物凍乾粉 28 天之血液凝固變化

Table 3.10 Changes in blood coagulation parameters at rats after gavaging lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/ml)	PLT (10^3/uL)	Fbg (mg/uL)	PT (s)	APTT (s)
Male				
Control	1151.30 ± 201.70	195.68 ± 15.67	11.13 ± 0.34	18.08 ± 1.58
DE500	1058.20 ± 76.16	203.48 ± 13.79	11.28 ± 0.58	17.44 ± 1.64
DE1000	1090.60 ± 210.70	179.82 ± 37.99	11.30 ± 0.56	17.78 ± 1.81
DE2000	1200.00 ± 107.50	221.08 ± 28.34	11.42 ± 0.74	17.60 ± 1.99
Female				
Control	1229.40 ± 171.15	167.40 ± 17.72	10.28 ± 0.31	16.76 ± 1.10
DE500	1198.60 ± 224.78	168.32 ± 7.49	10.00 ± 0.12	15.00 ± 0.00
DE1000	1114.60 ± 353.43	168.20 ± 14.00	10.06 ± 0.18	16.60 ± 1.66
DE2000	1209.60 ± 134.00	161.20 ± 14.32	9.86 ± 0.30	18.42 ± 5.86

DE: dandelion extract

PLT: platelets, PT: prothrombin time, APTT: activated partial thromboplastin time, Fbg: fibrinogen

Data are expressed as mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control groups and treated groups.

表 3.11、經胃管餵食 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之尿液學變化

Table3.11 Change in urinary analyses in rats after gavaging lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	Volume (mL)	Appear.	Specificity gravity	pH	Protein (mg/dL)	Urobilinogen (mg/dL)	Glucose		Bilirubin		Ketone			Nitrite		Occult blood		
							-	±	-	±	-	±	+	-	+	-	±	+
Male																		
Control	4.40 ± 0.76	PY	1.01 ± 0.00	7.20 ± 0.45	65.00 ± 22.361	0.00 ± 0.00	5	0	2	3	0	1	4	1	4	5	0	0
DE500	5.16 ± 1.94	PY	1.02 ± 0.00	6.70 ± 0.45	55.00 ± 27.39	0.00 ± 0.00	5	0	5	0	0	1	4	1	4	5	0	0
DE1000	6.38 ± 2.53	PY-Y	1.01 ± 0.00	7.20 ± 0.45	55.00 ± 27.39	0.00 ± 0.00	5	0	4	1	1	0	4	0	5	4	1	0
DE2000	6.70 ± 3.29	PY-Y	1.02 ± 0.00	7.40 ± 0.55	45.00 ± 27.39	0.00 ± 0.00	5	0	5	0	0	3	2	0	5	5	0	0
Female																		
Control	2.70 ± 0.62	PY-Y	1.02 ± 0.00	6.50 ± 0.35	75.00 ± 0.00	0.20 ± 0.45	5	0	1	4	0	1	4	0	5	3	1	1
DE500	2.22 ± 1.02	PY-Y	1.02 ± 0.00	6.10 ± 0.22	45.00 ± 27.39*	0.40 ± 0.55	5	0	3	2	0	3	2	0	5	4	1	0
DE1000	2.81 ± 1.20	PY-Y	1.02 ± 0.00	6.30 ± 0.27	80.00 ± 44.72	1.20 ± 1.64	5	0	4	1	0	2	3	0	5	5	0	0
DE2000	3.60 ± 0.84	PY-Y	1.02 ± 0.00	6.30 ± 0.45	35.00 ± 22.36*	0.20 ± 0.45	5	0	4	1	0	3	2	0	3	5	0	0

DE: dandelion extract

PY: pale yellow; Y: yellow; Grades for each value. Glucose (mg/dL):-, nil; ±, 0.1; bilirubin (mg/dL)-, nil; ±0.4; ketone (mg/dL):-, nil; ±, 5;＋,15; nitrite: - , normal; + :positive; occult blood : -10; ±:100; +:150/uL

Data are expressed as the mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated groups.

表 3.12、經胃管餵食 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之尿液沉渣變化。

Table3.12 Change in urinary sediment after gavaging lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	urinary sediments (10^3)				Crystal				
	RBC	WBC	Epithelial cells	Cast	-	±	+	++	+++
Male									
Control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.50 ± 1.12	0.00 ± 0.00	0	0	1	4	0
DE500	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.50 ± 1.12	0.00 ± 0.00	0	0	3	1	1
DE1000	0.20 ± 0.45	0.00 ± 0.00	0.20 ± 0.45	0.00 ± 0.00	0	0	2	3	0
DE2000	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0	0	4	1	0
Female									
Control	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0	0	4	1	0
DE500	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.50 ± 2.24	0.00 ± 0.00	0	0	5	0	0
DE1000	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0	0	4	1	0
DE2000	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0	0	4	1	0

DE: dandelion extract

Urinary sediment: RBC: red blood cell; WBC: white blood cell. Grades for observation: Crystal: -,nill; ±, a few in a few fields examined (0-25%); +: a few in some fields examined (25-50%); ++: a few in all fields examined (50-75%); +++: many in all fields examined (75-100%)

Data are expressed as mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated groups.

表 3.13、經胃管餵食 28 天蒲公英水萃物凍乾粉之臟器重量的變化

Table 3.13 Change in organ weight of rat after gavaging lyophilized dandelion extract powder in the 28-days feeding toxicity test.

Dose (mg/kg)	Brain (%)	Heart (%)	Thymus (%)	Spleen (%)	Liver (%)	Kidney (%)	Testis (%)	Ovary (%)
Male								
Control	0.514 ± 0.037	0.367 ± 0.024	0.123 ± 0.025	0.166 ± 0.025	2.733 ± 0.227	0.711 ± 0.059	0.814 ± 0.036	-
DE500	0.480 ± 0.088	0.359 ± 0.100	0.118 ± 0.019	0.155 ± 0.022	2.623 ± 0.096	0.681 ± 0.022	0.803 ± 0.080	-
DE1000	0.504 ± 0.062	0.332 ± 0.020*	0.114 ± 0.026	0.179 ± 0.039	2.728 ± 0.274	0.682 ± 0.036	0.784 ± 0.053	-
DE2000	0.554 ± 0.041	0.326 ± 0.037	0.105 ± 0.020	0.163 ± 0.011	2.562 ± 0.155	0.717 ± 0.114	0.794 ± 0.120	-
Female								
Control	0.816 ± 0.068	0.355 ± 0.029	0.188 ± 0.046	0.186 ± 0.037	2.609 ± 0.105	0.727 ± 0.073	-	0.029 ± 0.034
DE500	0.831 ± 0.056	0.359 ± 0.100	0.158 ± 0.029	0.197 ± 0.037	2.623 ± 0.096	0.681 ± 0.022	-	0.034 ± 0.003
DE1000	0.817 ± 0.082	0.383 ± 0.011	0.164 ± 0.037	0.193 ± 0.020	2.721 ± 0.092	0.706 ± 0.045	-	0.039 ± 0.005
DE2000	0.778 ± 0.080	0.366 ± 0.035	0.165 ± 0.055	0.164 ± 0.027	2.744 ± 0.140	0.755 ± 0.058	-	0.032 ± 0.005

DE: dandelion extract

Organ weight (%) =〔organ weight (g) /final weight (g)〕×100

Data are expressed as the mean±SD (n=5).

＊Significant difference between the control and treated group.

表 3.14、台灣蒲公英水萃物凍乾粉對沙門氏菌之細菌毒性試驗

Table 3.14 The *Salmonella typhimurium* of toxicity test by lyophilized dandelion extract powder.

Tester strains	Bacterial concentration	TP Conc. (mg/plate) / No. of revertanted (colony, CFU/plate)			
		0	1.25	2.5	5
TA98	10^{-6}	241.7 ± 6.0	239.7 ± 5.5	233.3 ± 8.1	237.0 ± 5.0
	10^{-7}	22.3 ± 5.7	23.3 ± 3.5	30.0 ± 7.9	17.0 ± 6.0
TA100	10^{-6}	127.3 ± 5.5	132.0 ± 1.0	115.7 ± 8.1	118.0 ± 7.0
	10^{-7}	13.7 ± 2.1	12.0 ± 1.0	14.3 ± 1.5	14.0 ± 1.0

Data are expressed as mean±SD (n=3).

表 3.15、台灣蒲公英水萃物凍乾粉對沙門氏菌之致突變性

Table 3.15 The *Salmonella typhimurium* of mutagenicity test by lyophilized dandelion extract powder

Tester strains	Liver microsomal enzyme	TP Conc. (mg/plate) No. of revertanted (colony, CFU/plate)						
		NC	PC	0.3125	0.625	1.25	2.5	5
TA98	-S9	26.7 ± 6.0	97.7 ± 9.3*	26.0 ± 8.5	31.0 ± 5.3	20.3 ± 5.5	20.7 ± 1.2	25.0 ± 3.5
	+S9	24.7 ± 0.6	1741.7 ± 30.0*	23.3 ± 2.3	26.0 ± 2.0	24.7 ± 2.1	27.3 ± 2.1	23.3 ± 1.5
TA100	-S9	129.3 ± 6.8	1507.0 ± 34.1*	126.3 ± 3.8	130.0 ± 7.0	142.0 ± 6.6	146.3 ± 9.0	144.7 ± 8.4
	+S9	108.7 ± 1.5	2384.0 ± 63.7*	117.7 ± 6.5	120.7 ± 8.0	119.3 ± 8.0	117.3 ± 8.6	112.0 ± 7.0

Data are expressed as mean±SD (n=3).

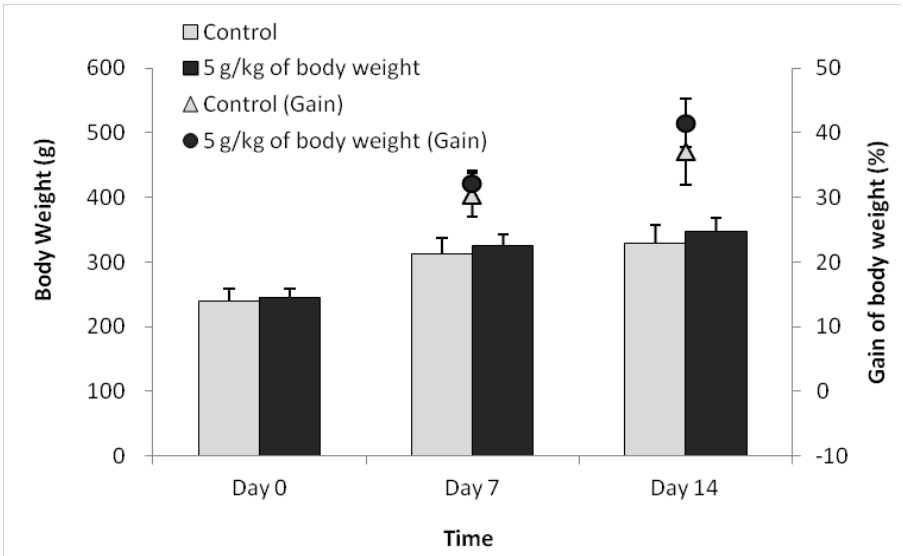
＊Significant between the control groups and treated groups.

表 3.16、不同飲品之糖度、pH 值

Table 3.16 The sugar content and pH value of different kinds of beverages.

SampleA 樣品編號	糖度($Brix^0$)	pH
336	4.5	5.1 ± 0.5
876	1.8	5.2 ± 2.4
184	2.2	5.2 ± 2.1
345	4.4	4.7 ± 0.2
119	2.2	5.3 ± 2.2
SampleB 樣品編號	糖度($Brix^0$)	pH
645	7.8	3.6 ± 0.1
492	8.2	3.2 ± 0.0
426	6.7	3.8 ± 0.0
275	8.0	3.7 ± 0.0
654	6.7	3.7 ± 0.0
866	8.2	3.2 ± 0.1

(A)



(B)

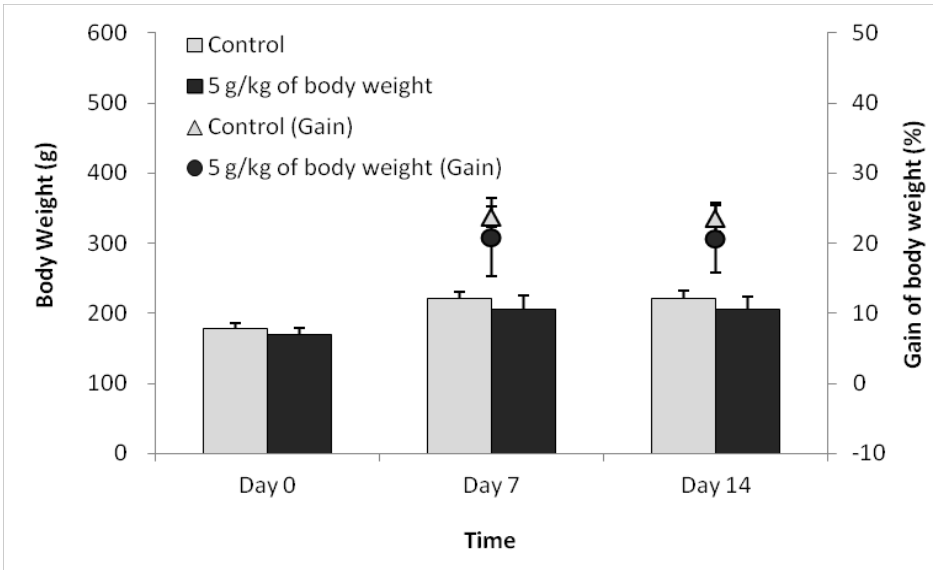
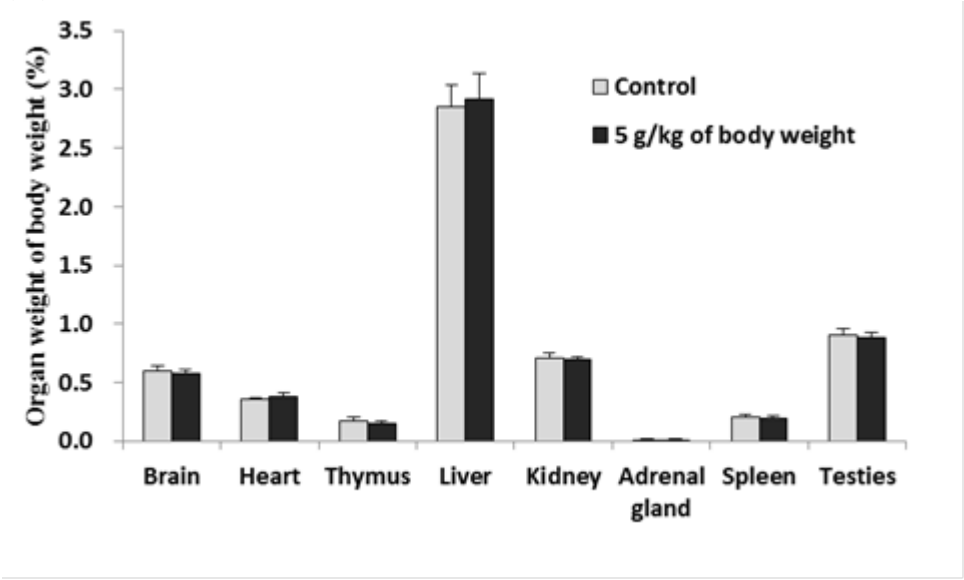


圖 3.1、蒲公英水萃物凍乾粉口服急毒性試驗之雄鼠(A)和雌鼠(B)體重變化。

Figure 3.1 Body weight changes of male (A) and female (B) rats treated lyophilized dandelion extract powder in acute toxicity test.

(A)



(B)

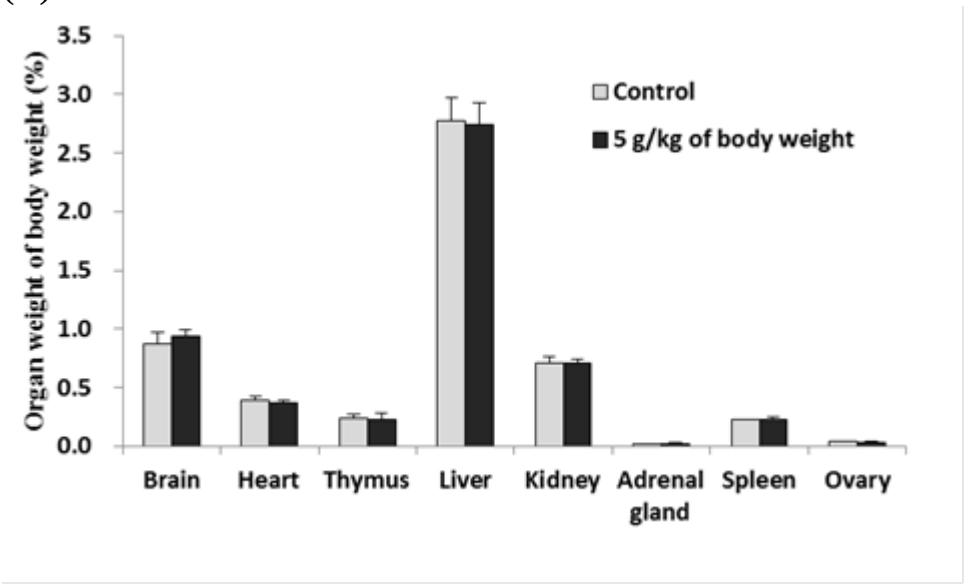


圖 3.2、蒲公英水萃物凍乾粉急毒性試驗雄鼠(A)和雌鼠(B)臟器重量百分比變化圖

Figure 3.2 Organ weight changes of male(A) and female (B) rats treated the lyophilized dandelion extract powder in acute toxicity test.

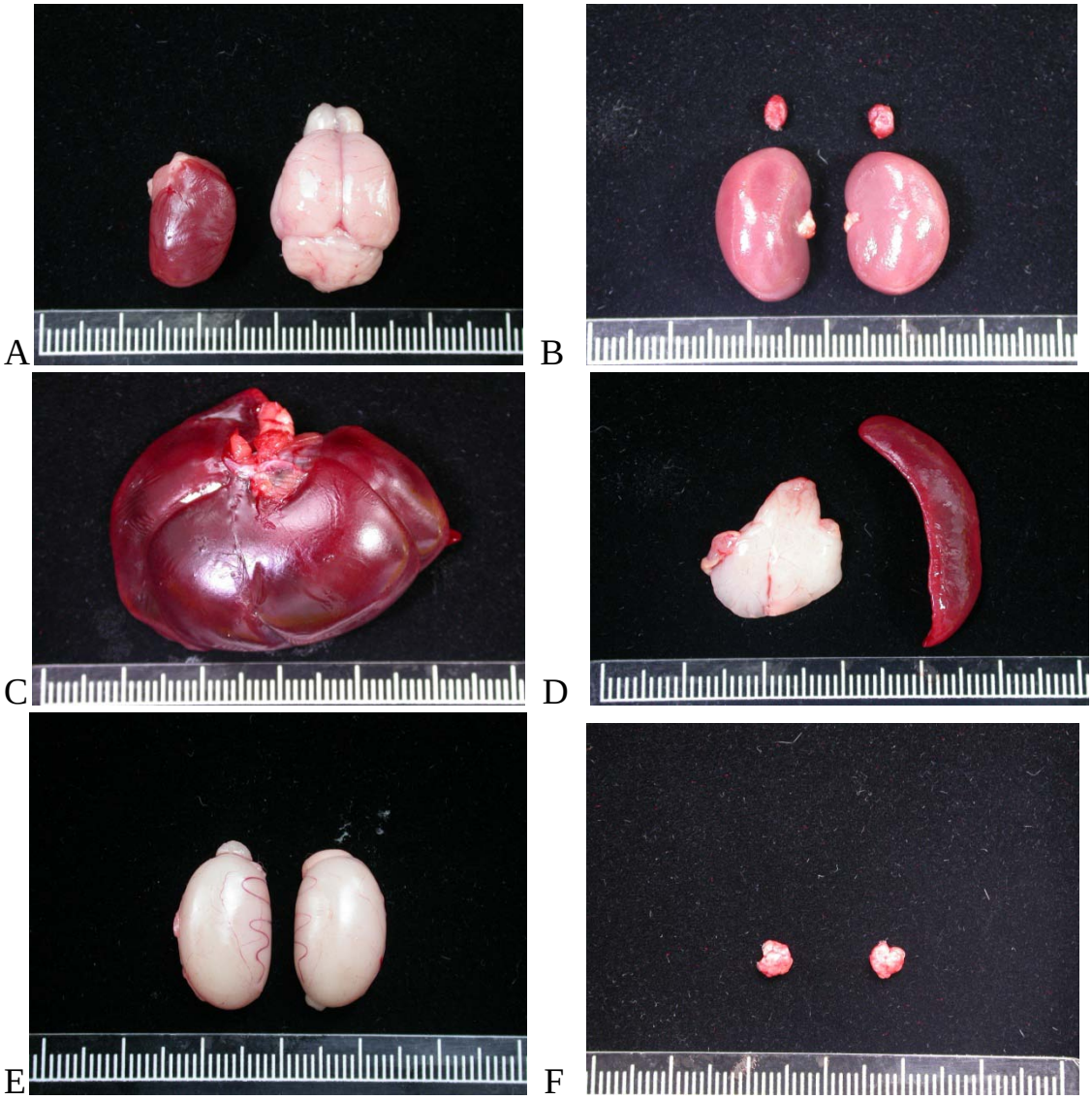


圖 3.3、蒲公英萃取液凍乾粉大鼠口服急毒性試驗實驗組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察。實驗組大鼠之腦及心臟(A)、腎上腺及腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟及胸腺(D)、睪丸(E) (動物編號：101)及卵巢(F) (動物編號：202)等臟器均無明顯肉眼病理變化。

Figure 3.3 Gross findings of high dose lyophilized dandelion flower powder treated rats in the acute toxicity test. No significant gross findings of brain and heart (A),adrenal and kidney (B), liver (C), spleen, and thymus, testes (E) (animal no.: 101) and ovary (F) (animal no.: 202) of high dose treated rats were noted in experimental group.

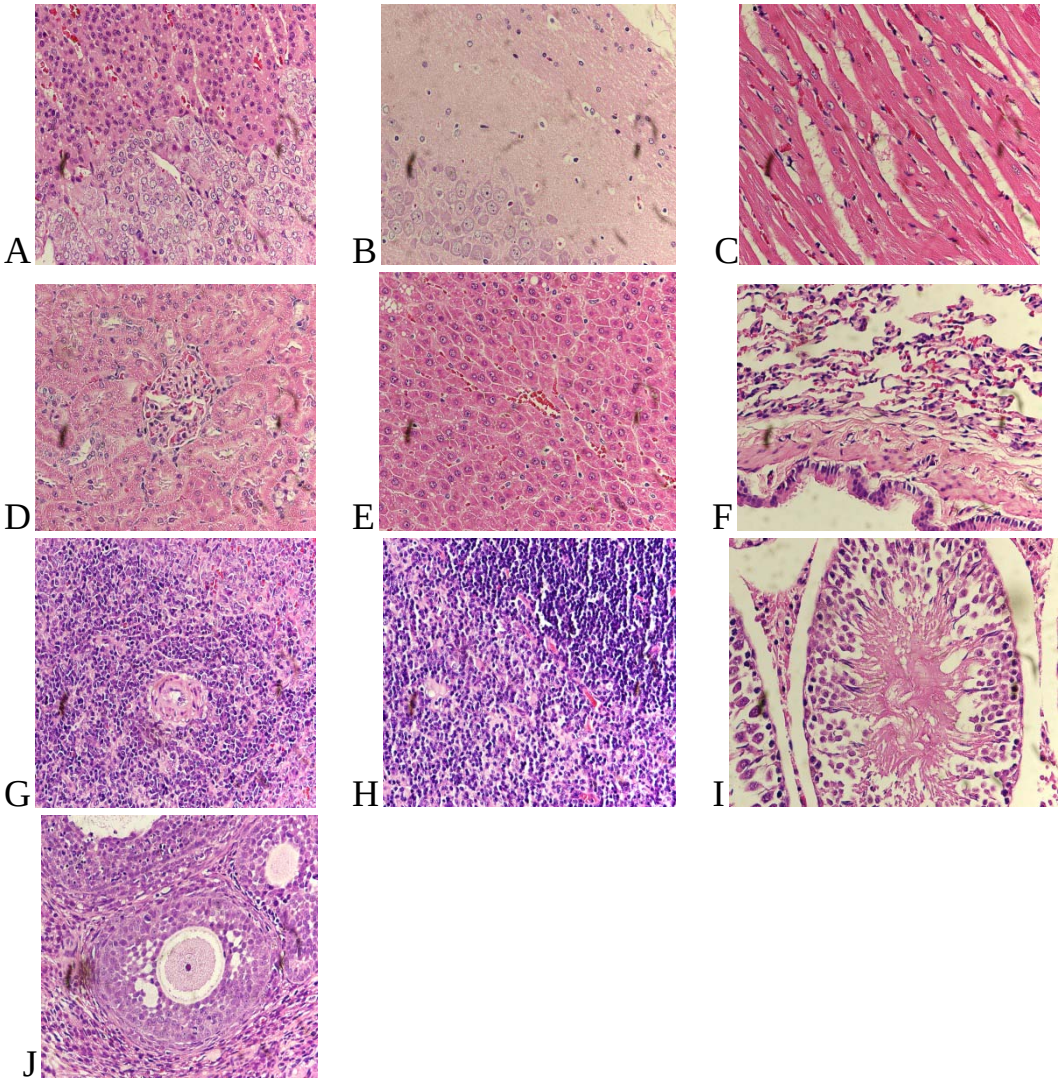


圖 3.4、蒲公英萃取液凍乾粉對大鼠口服急毒性試驗對照組大鼠體內臟器之組織病理觀察。對照組大鼠腎上腺(A)、腦 (B)、心臟(C)、腎臟(D)、肝臟(E)、肺臟(F)、脾臟(G)、胸腺(H)、睪丸(I) (動物編號：106)及卵巢(J) (動物編號：206)等重要臟器均無明顯組織病理變化(H&E stain, 400×)。

Figure 3.4 Histopathological findings of experimental group of rats in the acute toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), brain (B), heart (C), kidney (D), liver (E), lung (F), spleen (G), thymus (H), testes (I) (animal No.:106) and ovary (J) (animal No.:206) were found in the experimental group (H&E stain, 400×).

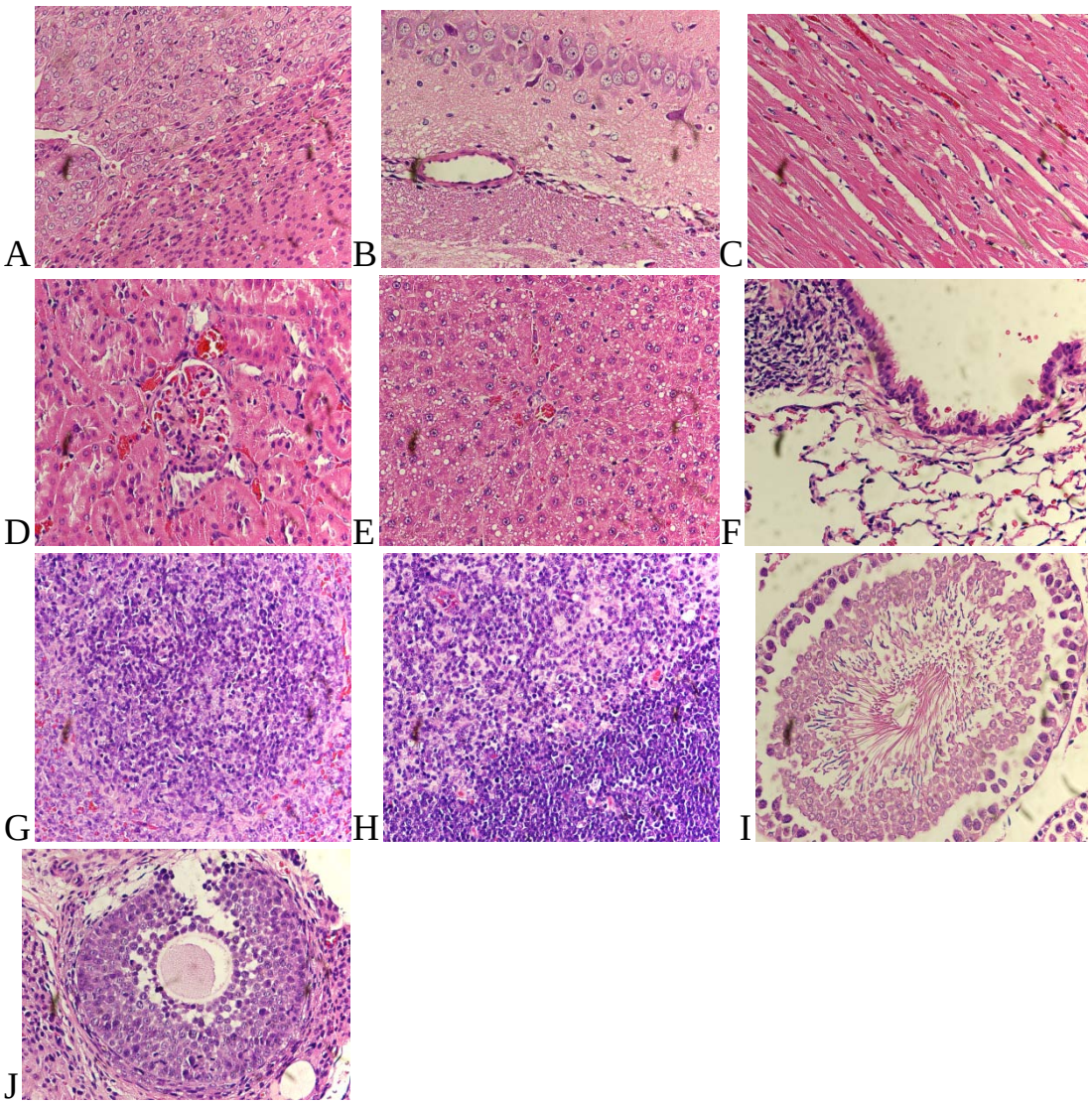
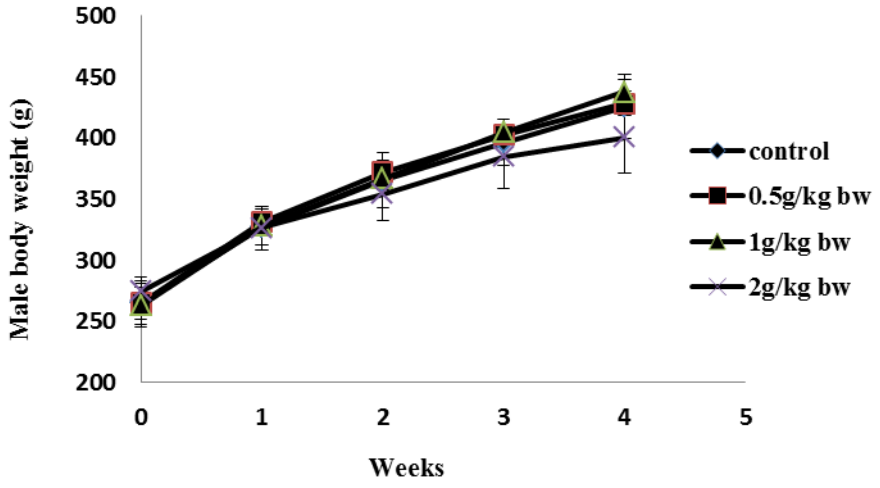


圖 3.5、蒲公英萃取物凍乾粉對大鼠急毒性試驗實驗組大鼠體內臟器之組織病理觀察。實驗組大鼠腎上腺(A)、腦 (B)、心臟(C)、腎臟(D)、肝臟(E)、肺臟(F)、脾臟(G)、胸腺(H)、睪丸(I) (動物編號：101)及卵巢(J) (動物編號：202)等重要臟器均無明顯組織病理變化(H&E stain, 400×)。

Figure 3.5 Histopathological findings of experimental group of rats in the acute toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), brain (B), heart (C), kidney (D), liver (E), lung (F), spleen (G), thymus (H), testes (I) (animal No.:101) and ovary (J) (animal No.:202) were found in the experimental group (H&E stain, 400×).

(A)



(B)

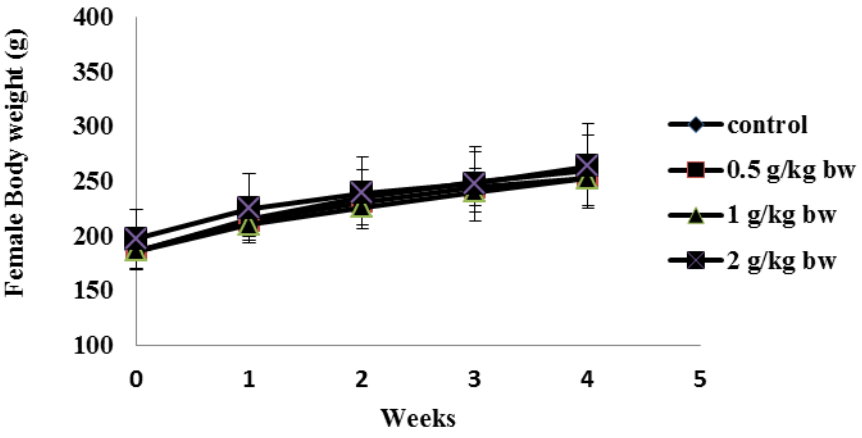


圖 3.6、蒲公英凍乾粉萃取液經胃管給予 28 天雄鼠(A)和雌鼠(B)之體重變化。

Figure 3.5 Body weight changes of male (A) andfemale (B) rats treated lyophilized dandelion extract powder in 28-days feeding toxicity test.



圖 3.7、蒲公英萃取物凍乾粉對大鼠 28 天亞急毒性試驗對照組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察。對照組大鼠之腦及心臟(A)、腎上腺及腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟及胸腺(D)、睪丸(E) (動物編號：101)及卵巢(F) (動物編號：111)等臟器均無明顯肉眼病理變化。

Figure 3.7 Gross findings of high dose treated rats in the 28-days feeding toxicity test. No significant gross findings of brain and heart (A), adrenal and kidney (B), liver (C), spleen, and thymus, testes (E) (animal No.: 101) and ovary (F) (animal No.: 111) of high dose treated rats were noted in the high dose treated group.

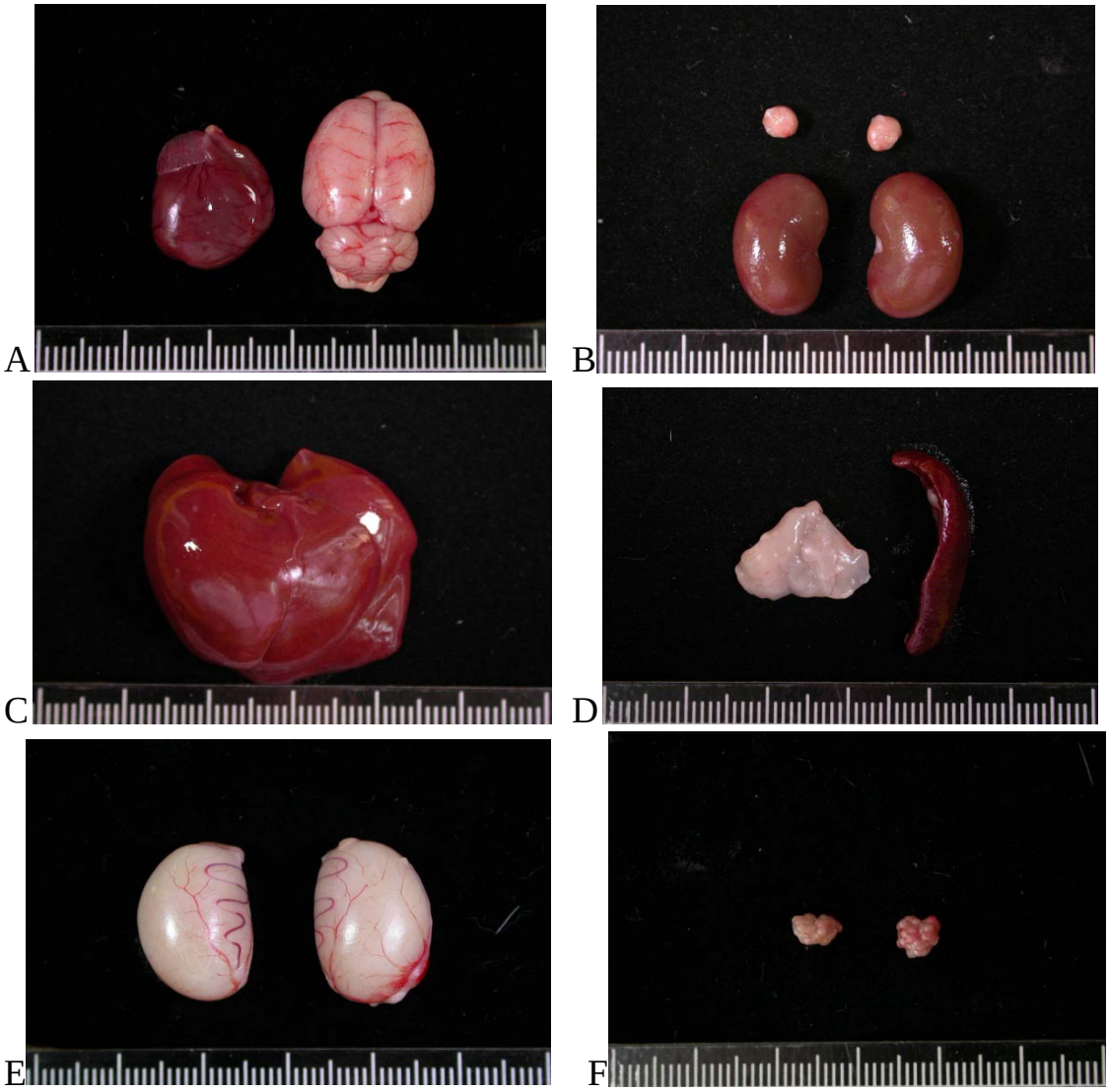


圖 3.8、蒲公英萃取液物凍乾粉對大鼠 28 天亞急毒性試驗高劑量組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察。蒲公英萃液凍乾粉處理組大鼠之腦及心臟(A)、腎上腺及腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟及胸腺(D)、睪丸(E)(動物編號：401)及卵巢(F) (動物編號：411)等臟器均無明顯肉眼病理變化。

Figure 3.8 Gross findings of high dose treated rats in the 28-days feeding toxicity test. No significant gross findings of brain and heart (A), adrenal and kidney (B), liver (C), spleen, and thymus, testes (E) (animal no.: 401) and ovary (F) (animal no.: 411) of high dose treated rats were noted in the high dose treated group.

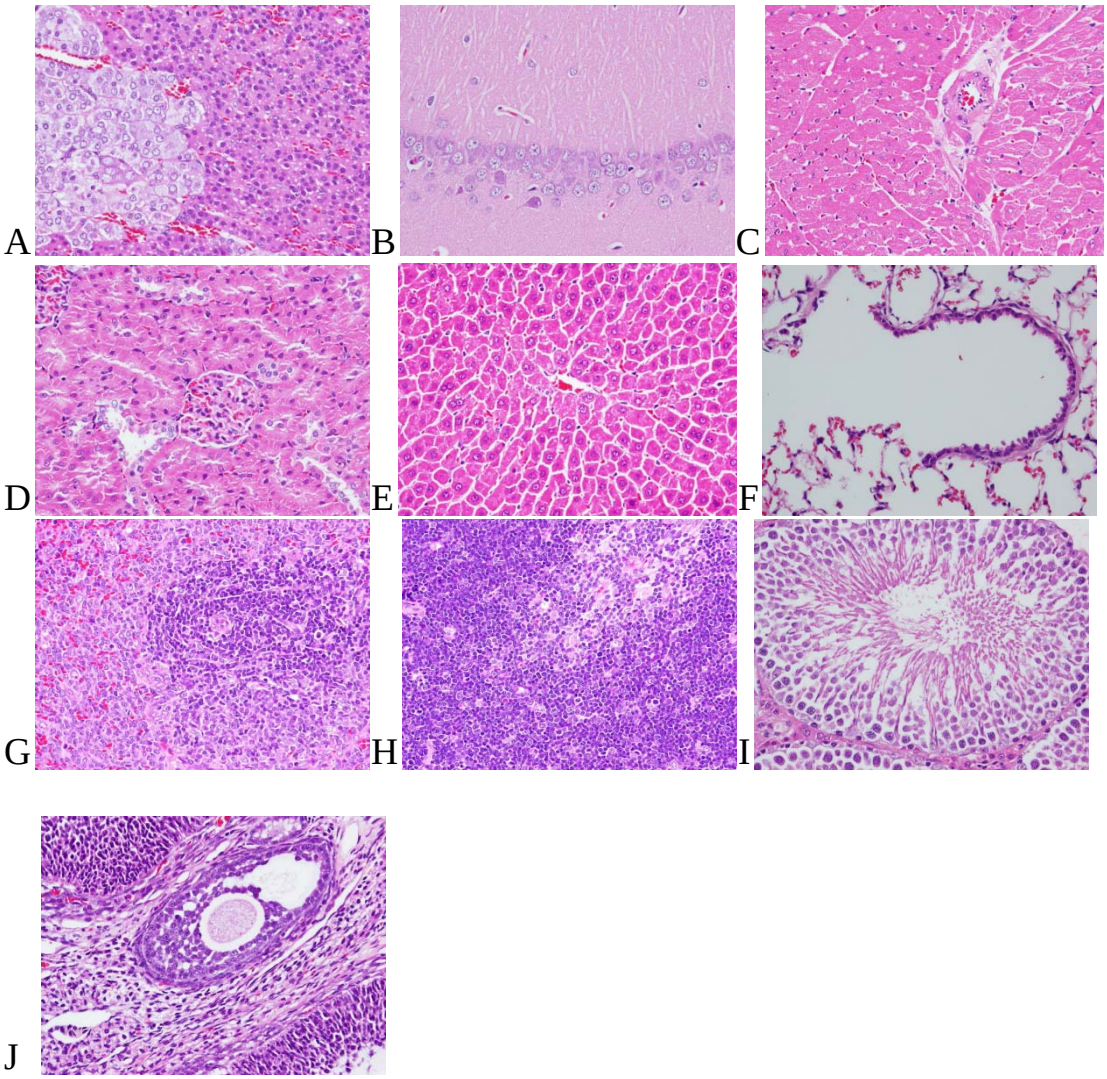


圖 3.9、蒲公英萃取物凍乾粉對大鼠 28 天餵食亞急毒性試驗對照組大鼠體內臟器之組織病理觀察。對照組大鼠腎上腺(A)、腦 (B)、心臟(C)、腎臟(D)、肝臟(E)、肺臟(F)、脾臟(G)、胸腺(H)、睪丸(I) (動物編號：101)及卵巢(J) (動物編號：111)等重要臟器均無明顯組織病理變化 (H&E stain, 400×)。

Figure 3.9 Histopathological findings of high dose treated of rats in the 28-days feeding toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), brain (B), heart (C), kidney (D), liver (E), lung (F), spleen (G), thymus (H), testes (I) (animal No. 101) and ovary (J) (animal No. 111) were found in the high dose group (H&E stain, 400×).

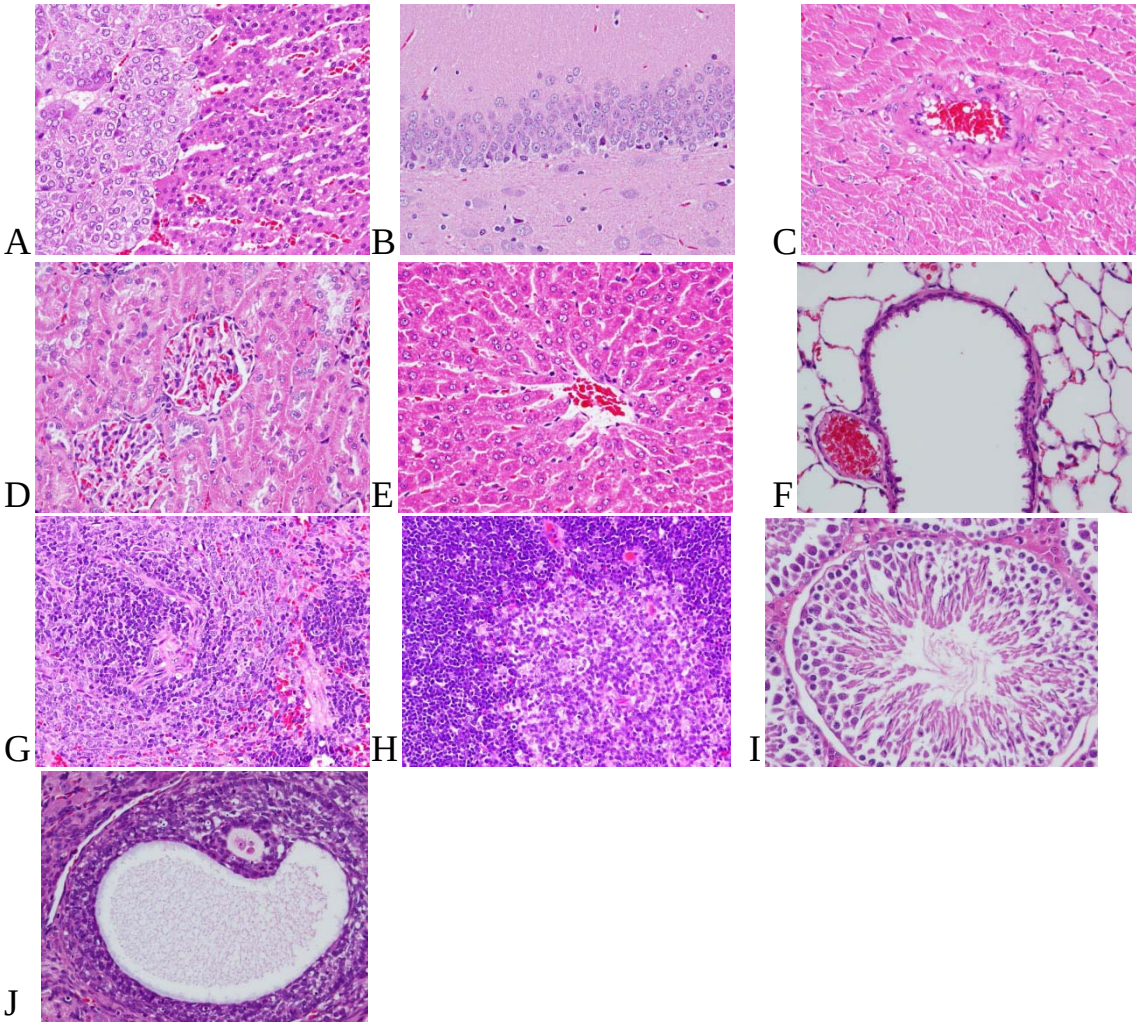
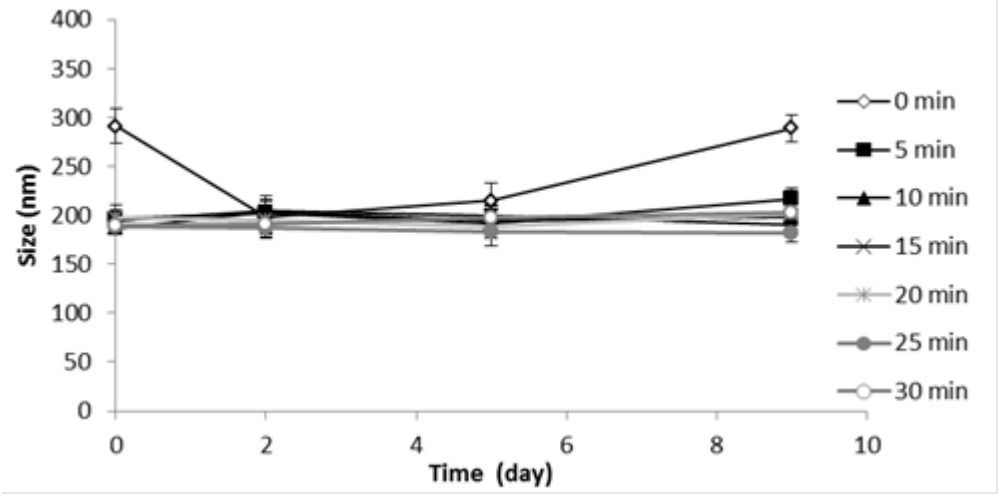


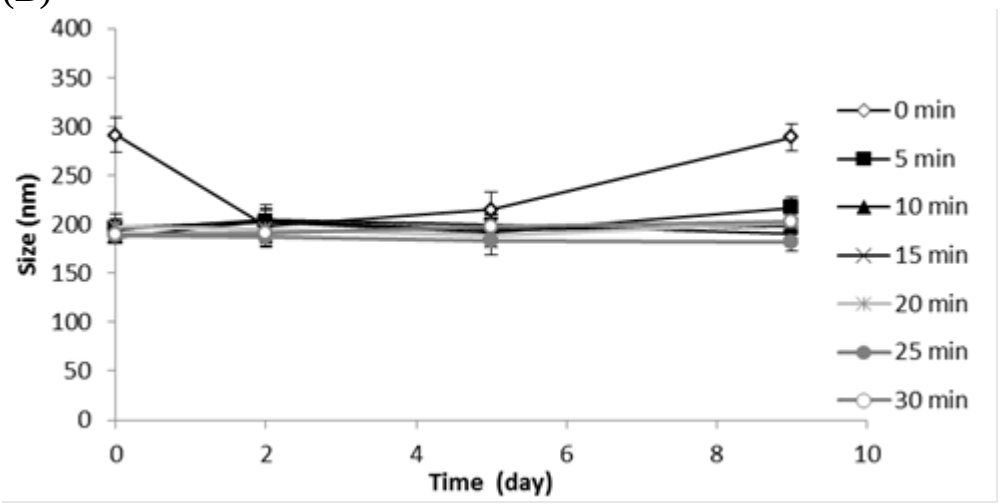
圖 3.10、蒲公英萃取液凍乾粉對大鼠 28 天餵食亞急毒性試驗高劑量組大鼠體內臟器之組織病理觀察。高劑量組大鼠腎上腺(A)、腦(B)、心臟(C)、腎臟(D)、肝臟(E)、肺臟(F)、脾臟(G)、胸腺(H)、睪丸(I) (動物編號：401)及卵巢(J) (動物編號：411)等重要臟器均無明顯組織病理變化(H&E stain, 400×)。

Figure 3.10 Histopathological findings of high dose treated of rats in the 28-days feeding toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), brain (B), heart (C), kidney (D), liver (E), lung (F), spleen (G), thymus (H), testes (I) (animal No. 401) and ovary (J) (animal No. 411) were found in the high dose group (H&E stain, 400×).

(A)



(B)



(C)

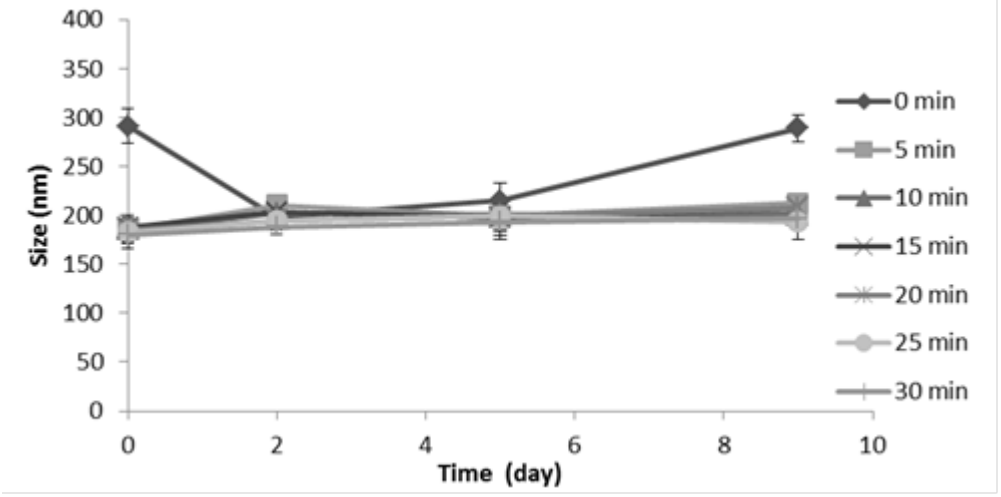
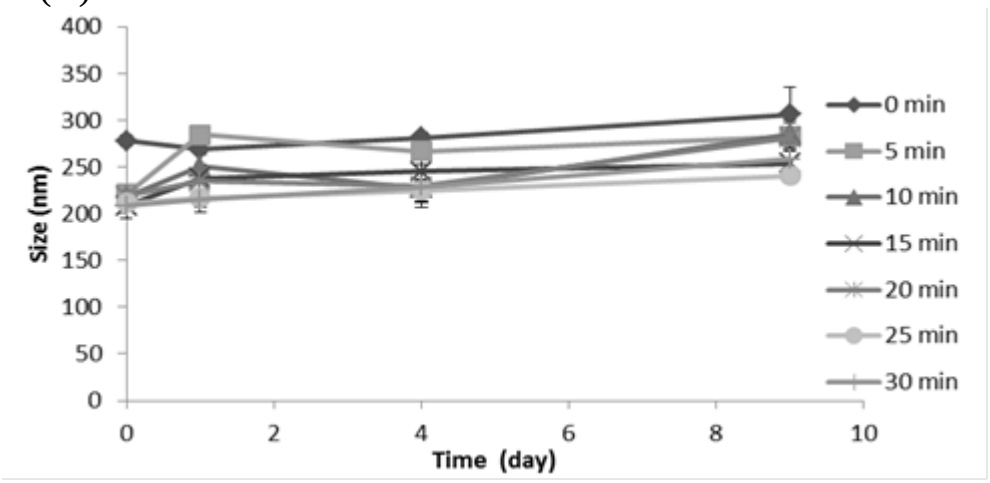


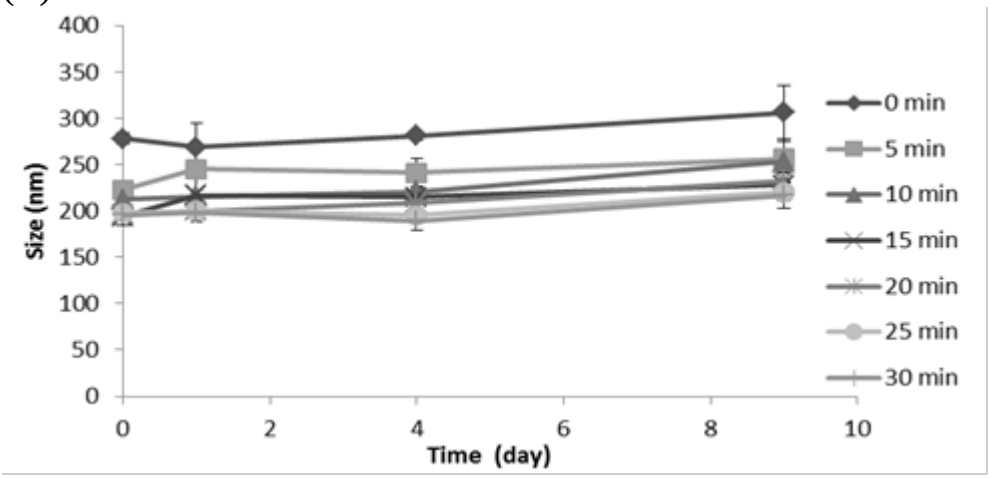
圖 3.11、樣本 A336 經不同均質條件下粒徑在不同儲存時間下的變化。均值壓力分別為 (A) 500 bar (B) 1000 bar (C) 1500 bar。

Figure 3.11 Partical sizes of different homogenized sample A336 changed at different storage time.The homogenized pressure were 500 bar (A) 1000 bar, (B) and 1500 bar, (C) 1500 bar.

(A)



(B)



(C)

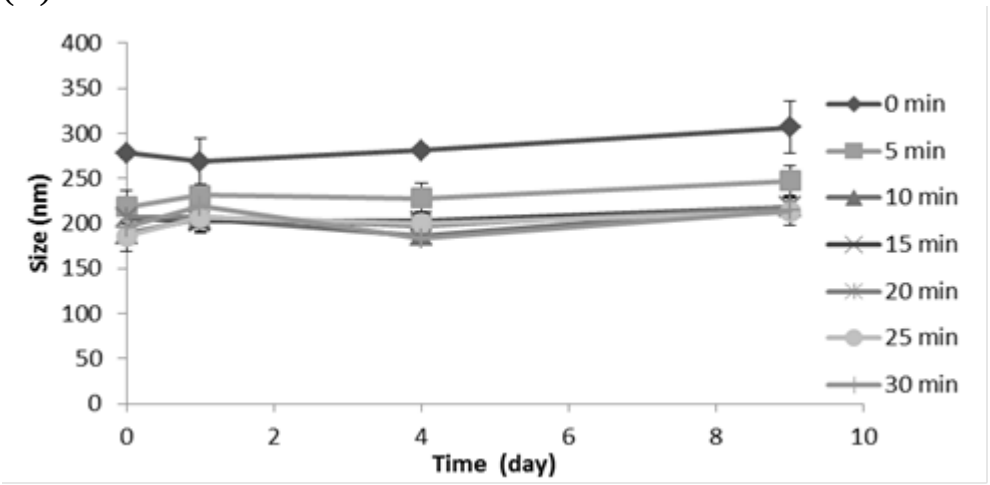


圖 3.12、樣本 B275 經不同均質條件下粒徑在不同儲存時間下的變化情形。均值壓力分別為(A) 500 bar (B) 1000 bar (C) 1500 bar。

Figure 3.12 Partical sizes of different homogenized sample B275 changed at different storage time.The homogenized pressure were 500 bar (A) 1000 bar, (B) and 1500 bar, (C) 1500 bar.

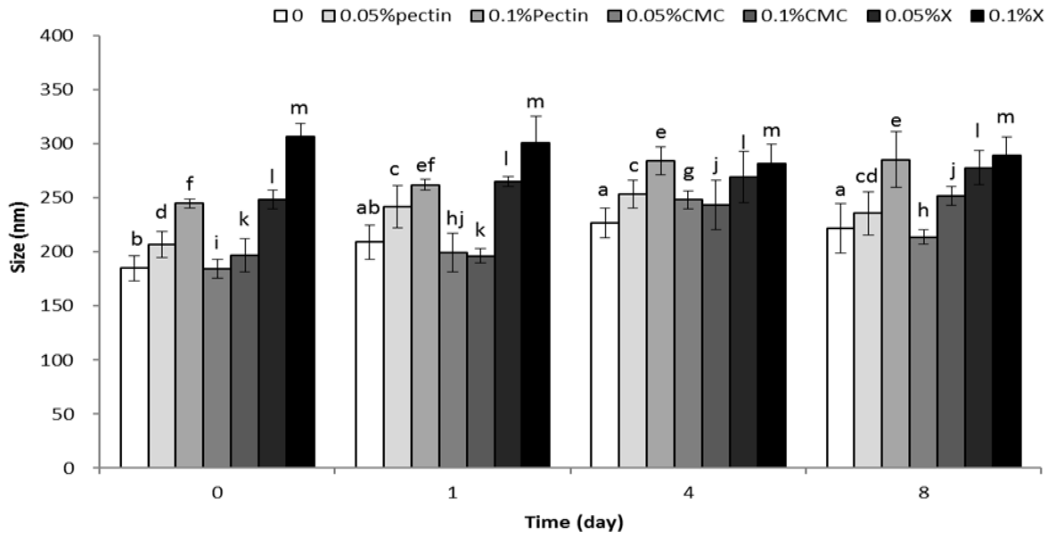


圖 3.13、樣本 A336 在不同穩定劑添加的儲存時間粒徑的變化情形(CMC: carboxymethyl cellulose；X: xanthan gum)。相同穩定劑添加及相同添加比率經不同儲藏時間之粒徑大小進行統計上比較。

Figure 3.13 Adding different stabilizer of sample A336 changed its partical sizes at different storage time. (CMC: carboxymethyl cellulose；X: xanthan gum) Different storage day of partical size with the same stabilizers and the same ratio of stabilizers statistically compared to each other.

a,b:未加入穩定劑經不同時間粒徑比較

a,b: Compared to different days of partical size without adding stabilizer

c,d:加入 0.05% pectin 經不同時間粒徑比較

c,d: Compared to different days of partical size by adding 0.05% pectin

e,f:加入 0.1% pectin 經不同時間粒徑比較

e,f: Compared to different days of partical size by adding 0.1% pectin

g,h,i: 加入 0.05% CMC 經不同時間粒徑比較

g,h,i: Compared to different days of partical size by adding 0.05% CMC

k,j: 加入 0.1% CMC 經不同時間粒徑比較

k,j: Compared to different days of partical size by adding 0.1% CMC

l: 加入 0.05% xanthan gum 經不同時間粒徑比較

l: Compared to different days of partical size by adding 0.05% xanthan gum

m: 加入 0.1% xanthan gum 經不同時間粒徑比較

m: Compared to different days of partical size by adding 0.1% xanthan gum

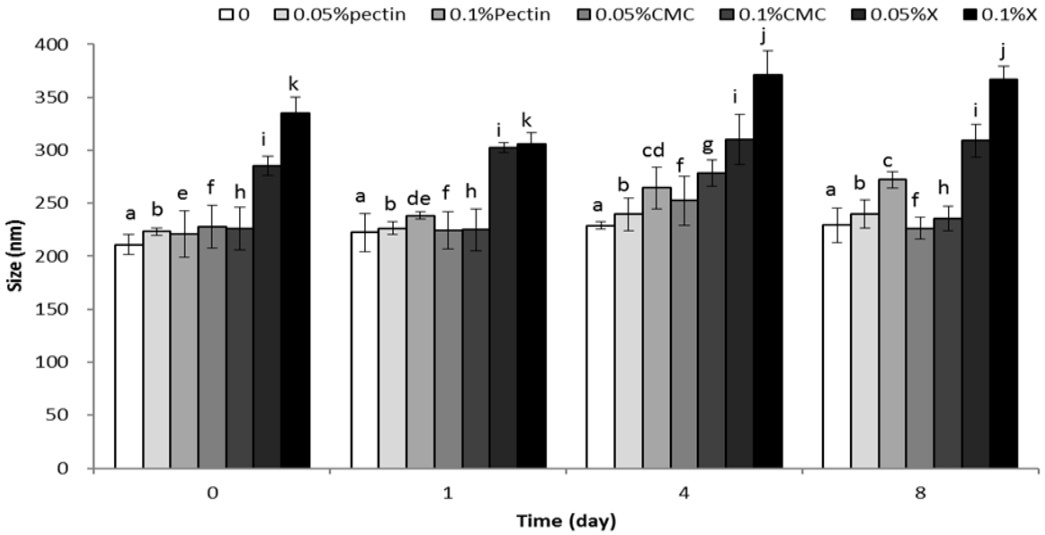


圖 3.14、樣本 B275 在不同穩定劑添加的儲存時間粒徑的變化情形。(CMC: carboxymethyl cellulose；X:xanthan gum) 相同穩定劑添加及相同添加比率經不同儲藏時間之粒徑大小進行統計上比較。

Figure 3.14 Adding different stabilizer of sample B275 changed its partical sizes at different storage time. (CMC: carboxymethyl cellulose ; X: xanthan gum) Different storage day of partical size with the same stabilizers and the same ratio of stabilizers statistically compared to each other.

a: 未加入穩定劑經不同時間粒徑比較

a: Compared to different days of partical size without adding stabilizer

b: 加入 0.05% pectin 經不同時間粒徑比較

b: Compared to different days of partical size by adding 0.05% pectin

c,d,e: 加入 0.1% pectin 經不同時間粒徑比較

c,d,e: Compared to different days of partical size by adding 0.1% pectin

f: 加入 0.05% CMC 經不同時間粒徑比較

f: Compared to different days of partical size by adding 0.05% CMC

g,h: 加入 0.1% CMC 經不同時間粒徑比較

g,h: Compared to different days of partical size by adding 0.1% CMC

i: 加入 0.05% xanthan gum 經不同時間粒徑比較

i: Compared to different days of partical size by adding 0.05% xanthan gum

j,k: 加入 0.1% xanthan gum 經不同時間粒徑比較

j,k: Compared to different days of partical size by adding 0.1% xanthan gum

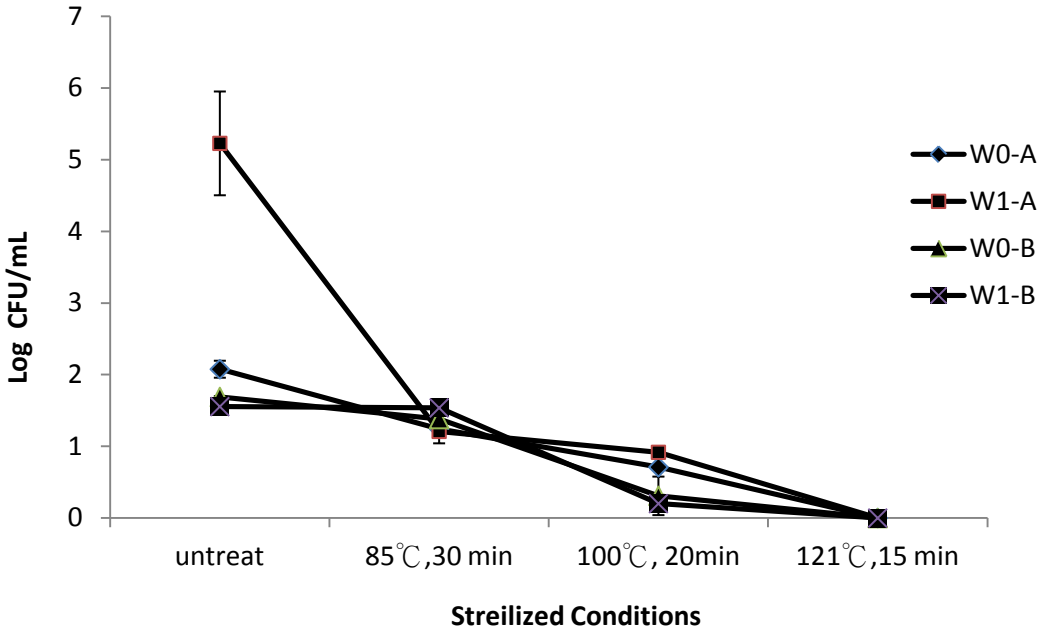


圖 3.15、不同滅菌條件(1)未滅菌、(2) 85℃滅菌 30 分鐘、(3) 100℃滅菌 15 分鐘與(4) 121℃滅菌 15 分鐘之飲品總生菌數在儲存第 0 週及第 1 週之變化。(W0-A: 樣品 A336 第零週之總生菌數；W0-B: 樣品 B275 第零週之總生菌數；W1-A: 樣品 A336 第一週之總生菌數；W1-B: 樣品 B275 第一週之總生菌數)

Figure 3.15 Total plate count changed of sample A336 and sample B275 with week 0 and week 1 by different sterilized condition of (1) no sterilization (2) 85℃ sterilized 30 min (3) 100℃ sterilized 20 min (4) 121℃ sterilized 15 min. (W0-A: Total plate count of sample A336 at week 0, W0-B: Total plate count of sample B275 at week 0, W1-A: Total plate count of sample A336 at week 1, W1-B: Total plate count of sample B275 at week 1).

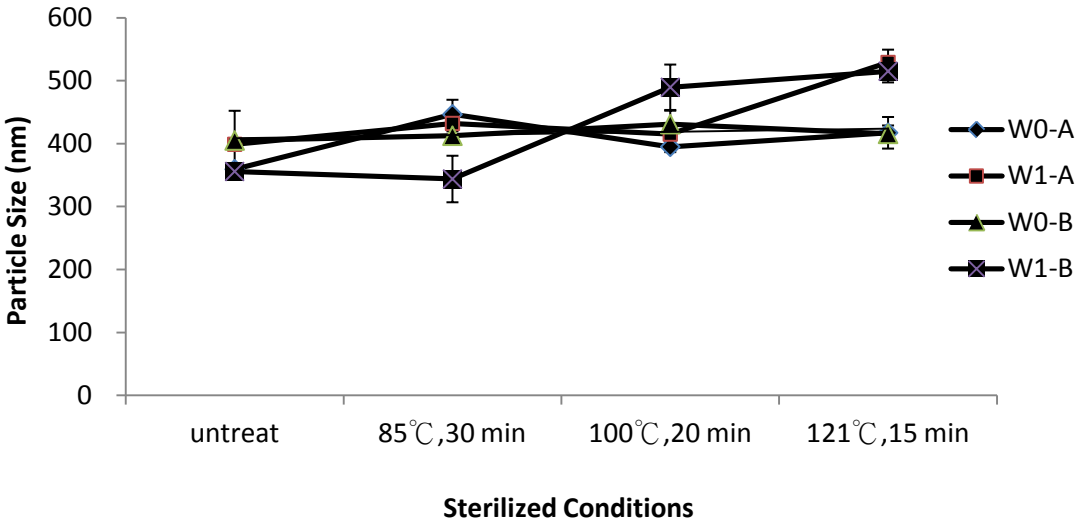


圖 3.16、不同滅菌條件(1)未滅菌、(2) 85℃滅菌 30 分鐘、(3) 100℃滅菌 15 分鐘與(4) 121℃滅菌 15 分鐘飲品儲存性試驗之粒徑變化。(W0-A: 樣品 A336 第零週之粒徑大小；W0-B: 樣品 B275 第零週之粒徑大小；W1-A: 樣品 A336 第一週之粒徑大小;W1-B: 樣品 B275 第一週之粒徑大小)

Figure 3.16 Partical size changed of sample A336 and sample B275 with different sterilized conditions of (1) no sterilization (2) 85℃ sterilized 30 min (3) 100℃ sterilized 20 min (4) 121℃ sterilized 15 min at storage time. (W0-A: Total plate count of sample A336 at week 0, W0-B: Total plate count of sample B275 at week 0, W1-A: Total plate count of sample A336 at week 1, W1-B: Total plate count of sample B275 at week 1)

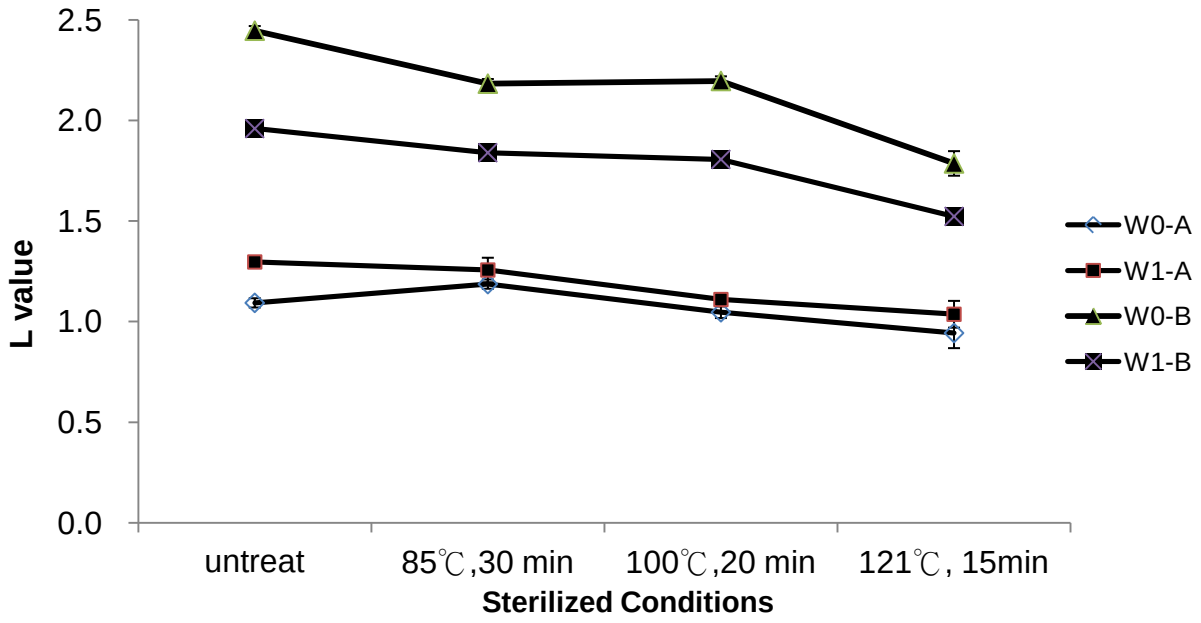


圖 3.17、兩種不同飲品在不同儲存時間與滅菌條件(1)未滅菌、(2) 85℃滅菌 30 分鐘、(3) 100℃滅菌 15 分鐘與(4) 121℃滅菌 15 分鐘色澤 L 值之變化。(W0-A: 樣品 A 第零週之 L 值;W0-B: 樣品 B 第零週之 L 值;W1-A: 樣品 A 第一週之 L 值;W1-B: 樣品 B 第一週之 L 值)

Figure 3.17 Lvalue changed of Ssample A336 and sample B275 with different sterilized conditions of (1) no sterilization (2) 85℃ sterilized 30 min (3) 100℃ sterilized 20 min (4) 121℃ sterilized 15 min at storage time. (W0-A: Total plate count of sample A336 at week 0, W0-B: Total plate count of sample B275 at week 0, W1-A: Total plate count of sample A336 at week 1, W1-B: Total plate count of sample B275 at week 1)

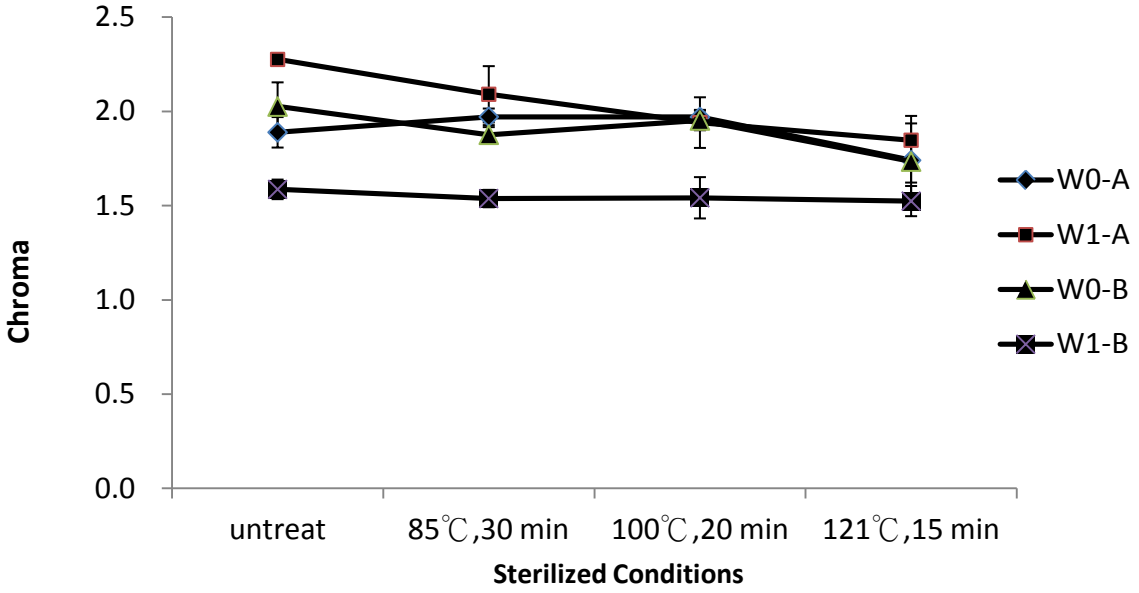
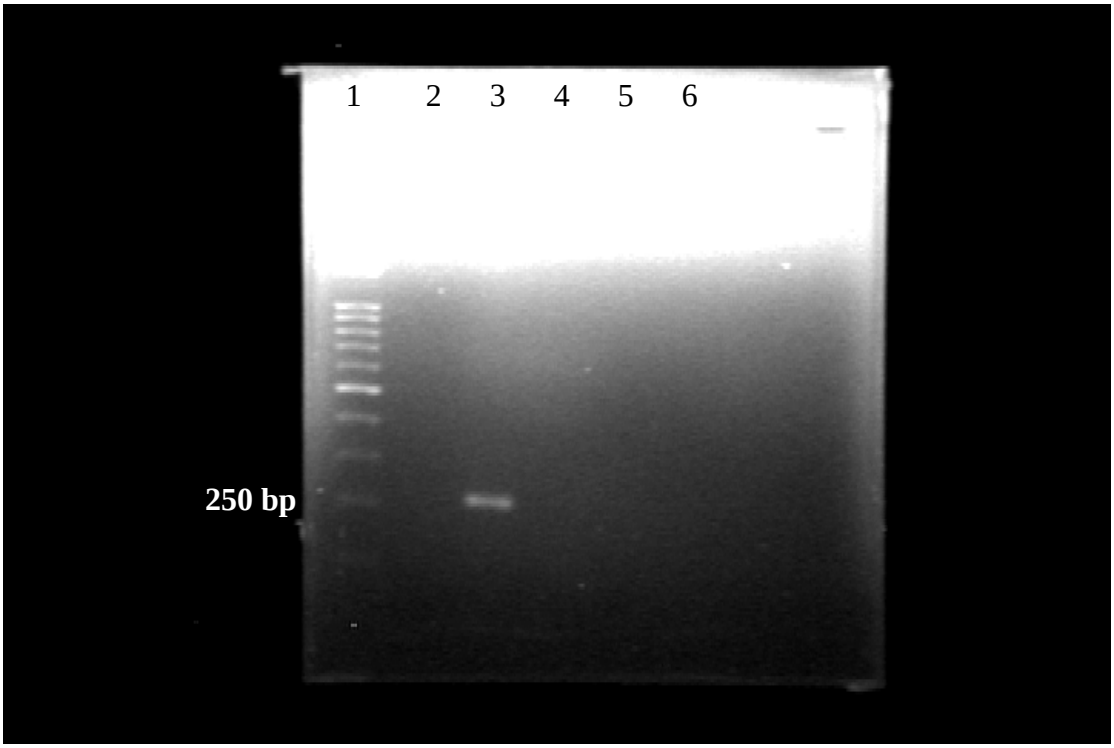


圖 3.18、兩種不同飲品在不同儲存時間與滅菌條件(1)未滅菌、(2) 85℃滅菌 30 分鐘、(3) 100℃滅菌 15 分鐘與(4) 121℃滅菌 15 分鐘彩度(chroma)的變化。(W0-A: 樣品 A 第零週之彩度;W0-B: 樣品 B 第零週之彩度;W1-A: 樣品 A 第一週之彩度;W1-B: 樣品 B 第一週之彩度)

Figure 3.18 Chroma changed of sample A336 and sample B275 with different sterilized conditions of (1) no sterilization (2) 85℃ sterilized 30 min (3) 100℃ sterilized 20 min (4) 121℃ sterilized 15 min at storage time. (W0-A: Total plate count of sample A336 at week 0, W0-B: Total plate count of sample B275 at week 0, W1-A: Total plate count of sample A336 at week 1, W1-B: Total plate count of sample B275 at week 1)

捌、附錄

基原鑑定：

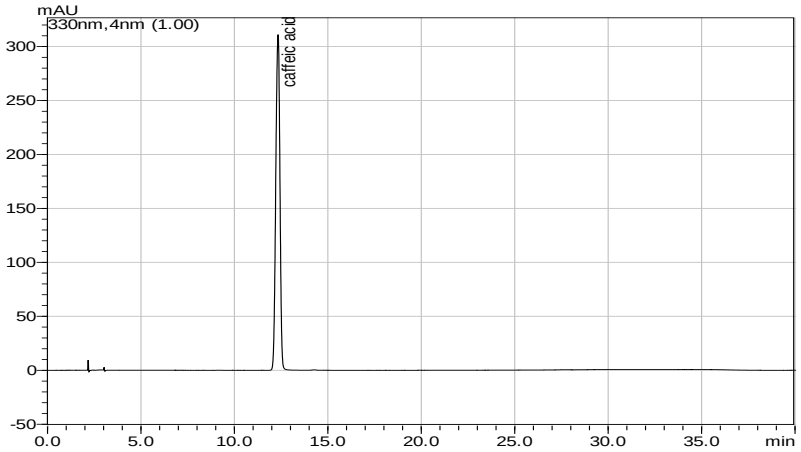


Lane1　Marker；Lane2　青山中草藥園；Lane3　新屋；Lane4　太源中藥店；Lane5　聯合中西藥局；Lane6　聯合中西藥局。

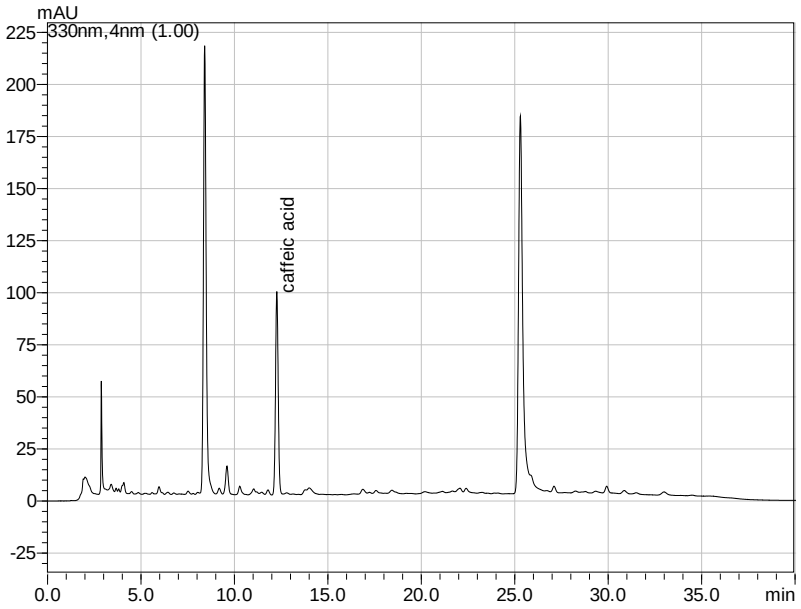
Lane3 為新屋採的蒲公英，經果鑑定發現此蒲公英為台灣蒲公英。表 3.1 之上述店家為引用中國醫藥大學江瑩真博士論文，文中已分別做過表中所提及之店家所賣的台灣蒲公英的基源鑑定。附錄一為江盈貞博士未做過的店家，店內所賣的台灣蒲公英之基源鑑定。結果證實新屋賣的蒲公英確定是台灣蒲公英。

咖啡酸 HPLC 圖譜與 standard curve：

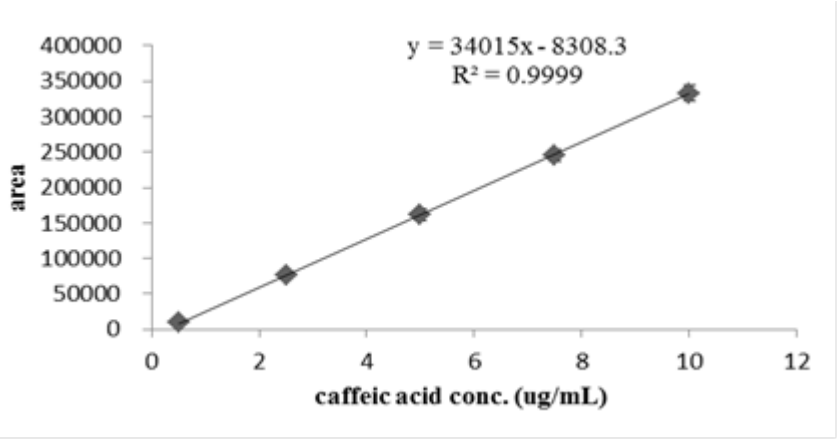
Standard 圖譜 (caffeic acid)：



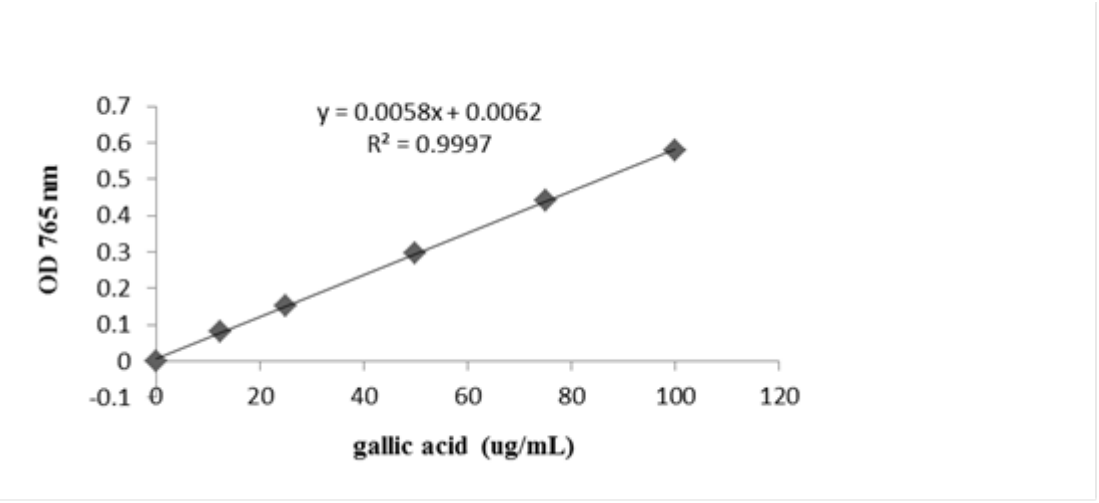
蒲公英水萃液之 HPLC 圖譜：



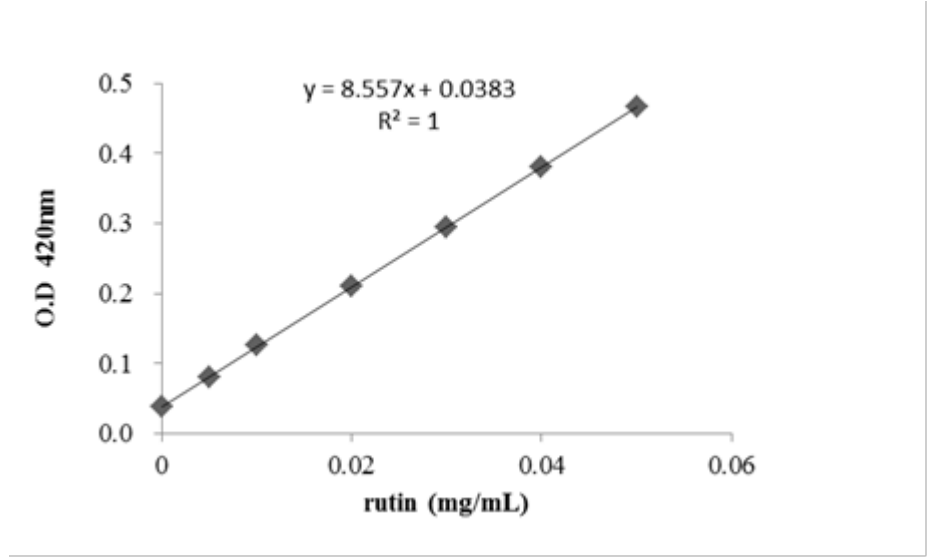
蒲公英之咖啡酸的檢量線：



蒲公英之總多酚檢量線：



蒲公英之類黃酮檢量線：



編號：CCMP99-RD-030

建立鮮藥材現代炮製技術及炮製規範，提升台灣本土農業產業價值-以台灣本土自產之中藥材狗尾草為研究範例

周志中
國防醫學院

摘　要

台灣本土自產狗尾草為豆科植物，為民間普遍食用的中藥材。本研究以台灣自產的狗尾草為試驗藥材，針對不同採收部位、儲藏方式、烘乾炮製加工及萃取方式進行研究分析。本研究計畫已建立三種兔尾草屬(Uraria)植物之 ITS 序列，分別為台灣產狗尾草(Uraria crinita)、台灣產大葉兔尾草(Uraria lagopodoides)及台灣產羽葉兔尾草(Uraria picta)，其核酸序列將陸續登錄至 NCBI GenBank。就 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 當量的抗氧化能力結果可知，藥材萃取方面，以半酒水萃取物的抗氧化能力優於水煎液；對採收部位而言，以莖部抗氧化能力最佳；對加工方式而言，以烘乾的抗氧化能力最佳。結果顯示其抗氧化活性與多酚類的含量有正相關之趨勢，但與類黃酮的含量並無明顯相關性，故推論狗尾草萃取物的抗氧化能力可能來自於多酚類。狗尾草儲藏試驗，以儲藏六個月之抗氧化活性高於儲存零月，而冷藏或室溫儲藏無明顯差異。低溫(40℃)乾燥為最佳的乾燥加工方式，能使抗氧化活性保留最大程度。60℃、60%酒精及萃取 5 小時為最佳的萃取方法，所獲得的萃取物具有較佳的抗氧化活性。

關鍵詞：狗尾草、炮製加工、品質管制

Number: CCMP99-RD-030

Modern Processing Technology of Chinese Materia Medica Based on Fresh Herbs - Uraria crinita - an Important Herbal Medicine in Taiwan

Tz-Chong Chou
National Defense Medical Center

ABSTRACT

Uraria crinita, a member of the Leguminosae, is indigenous to Taiwan and was popular used as folk herbal plant for food and medicinal application.

In this study, the commercial medicinal plants of Uraria crinita were purchased from Taiwan and the investigation of processing Chinese material media were performed for quality control. According to different parts of plant, different conditions of storage, drying and extraction used in this study, the antioxidant activities and phytochemical constitute including total flavonoid contents and polyphenolic compounds were investigated for reaching the optimized processing. The result of genetic relationship revealed that the sequence of internal transcribed spacer (ITS1/ITS2) of Uraria crinita showed lower intraspecies variation between Uraria lagopodoides (4%/3.7%) and Uraria picta (0.4%/2.3%), respectively. Antioxidant activity of extracts, determined by 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) scavenging assay and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), showed higher activities which extracted in the ethanolic solvent than in the aqueous condition. The antioxidant activity in harvested stem from plants revealed higher DPPH scavenging activity than in root part of plants. As to the drying methods, the antioxidant activities were maintained higher under oven drying at 40℃ than in the exposure under sun light. The content of polyphenolic compounds are highly related to the level of antioxidant activity of Uraria crinita. In addition, the antioxidant activity demonstrated significant higher in long-term storage (six months). However, there is no significant difference to the antioxidant activity between 25℃ and 4℃ of storage temperature. Above among, the optimized processing condition to Uraria crinita for antioxidant activity, the

extraction temperature is 60℃ using 60% of ethanol as solvent for 5 hours of processing time.

Keywords: Uraria crinita, Processing Chinese material media, quality control

壹、前言

中藥分為中藥材、中藥飲片和中成藥三種商品形式[1]，中藥材不可直接入藥，必須經過炮製成中藥飲片後才能入藥，這是中醫藥學的一大特色，也是中藥和天然藥物的顯著區別之一[1-2]。目前中藥炮製的研究，以闡明瞭許多藥物發揮臨床治療作用的物質基礎，對比研究了許多藥物在炮製前後主要有效成分的變化情況，對於深入研究中藥炮製作用和原理產生了重要的影響。但目前炮製問題的核心，是傳統的中藥炮製，使用的原料一般是在產地採摘 (挖) 後，經曬、陰乾後的乾性藥材，而此時的乾性藥材與新鮮的原生藥材有很大區別，事實上還未進行炮製藥材品質就已經受到了影響，而炮製後的藥材與乾性藥材也有一定的差異，這樣就使鮮藥材與中藥飲片在化學成分種類、所含成分的量和治療效果方面的差異就更大了，然而這方面的研究工作才開始起步，此方面研究對於產地加工炮製有相當重要，所以對於本土產中藥材加工具有重大意義[1-4]。

狗尾草，拉丁學名 *Uraria crinita* (L.) Desv. ex DC. (= *Uraria macrostachya* Wall.)，科名為豆科 (Leguminosae) 兔尾草屬 (Uraria)，別名又稱：狗尾草、狗尾帶、狗尾射、狐狸尾、山貓尾、通天草、虎尾輪、兔尾草、大本山青、貓尾草、牛春花、貓仔尾，民間泛稱『狗尾草』。狗尾草是多年生，直立性亞灌木或草本。高 50~180 公分，莖單株或多株叢生，單莖被剪切後，即發芽長出多莖，呈叢生狀。全株被短茸毛。葉互生，奇數羽狀複葉，具長柄，小葉 5~7 片，對生，葉片長卵形，鈍頭，有時呈長橢圓披針形或略長橢圓形，長 6~12 公分，最長可達 15 公分，寬 2~6 公分，先端具短尖，基部略圓鈍，葉全緣，質厚而粗糙，表面光滑，背面被毛，對生葉柄極短，末端葉柄 1~5 公分。夏~秋閣開花，頂生，長穗形總狀花序，序長 20~60 公分，呈淡紫至紅紫色，相當漂亮鮮艷，因此亦可見種於盆栽而觀賞者。花穗像極了狗尾，因而有狗尾草、山狗尾、紅狗尾、狐狸尾兔尾草、貓尾草等別稱。狗尾草的蝶形花密生如紅星，花瓣具細爪，呈圓形，萼管甚短，呈淺杯形，5 裂，上側裂片較短，下側裂片稍長，皆披長毛；苞片披針形略三角狀，末端漸尖，早落性；雄蕊 2 體共 10 枚，花柱略呈線形，子房上位。莢果被有短毛，3~6 節；種子黑褐色，具光澤，腎形。

在台灣的主要分佈地方有台中、南投、嘉義、台南、高雄、屏東、台東乾燥之荒地有種植。中部大肚山山區和南投山區有大量種植。狗尾草的根、莖或全草，其鮮品或乾燥品，自古以來台灣民間即習用於作為小兒疳積、發育不良的轉骨藥材，以及作為跌打損傷的傷科食療藥材。根據民間的食療經驗，狗尾草除用於開脾，除疳積，治小兒發育不良外，尚有利尿、健胃、通絡、化瘀等效能，此外還有止咳潤喉的功能，民間甚至把它煮水

當茶飲用，其味芳香、甘醇，有如人參茶，而有「台灣人參」之稱。狗尾草作為一項民間藥膳的藥材，盛行已有多年，由於口味芬芳，加上確有某些保健的效能，因此在台灣的許多鄉、鎮農會已推廣多年，已成為國內農業的主力作物之一，對強化農村及農業經濟的結構有正面的意義。以本地的氣候、水土，頗適合狗尾草生長，是值得農政單位推廣栽培的農作物。

狗尾草符合中藥鮮品炮製中最好的研究題目，台灣本地種植、加工、炮製處理皆在產地附近。狗尾草為台灣本土常用自產民間藥膳的藥材，為台灣常用民間用藥，年產量約 15600 公噸，年產值逾 4 億元，是南投縣最重要的高經濟作物之一。但目前並無良好的炮製加工規範，品質管控並不穩定。本研究團隊選擇此藥材為題目，期望對中草藥鮮品研究及狗尾草產業價值提升有立即的成效。本計畫對狗尾草民間藥材中化學成分的研究及活性分析，確定藥材最佳採收部位 (狗尾草最佳藥用部位的確定)、狗尾草儲存方法對於化學成分的影響，以及確定狗尾草鮮品處理的最佳炮製方法(不同烘乾加工方法對於化學成分的影響)，並提出運用創新方法基於狗尾草鮮品的民間藥材炮製思路。

有鑑於此，為確保民眾用藥安全，提升台灣農業產業價值，中醫藥委員會研究重點 2-4：中藥材炮製安全性研究，其研究目的：以科學規格系統化炮製製程，生產品質穩定、均一及安全之中藥材。我們此計劃的內容，符合此項目之需求，且更進一步地對推動中草藥本土產業價值的提升，有著實質的幫助。若沒有標準化 (SOP) 的鮮品炮製方法，規範台灣本土產中草藥，相信對台灣本土產中草藥發展是不利的。因此我們認為，推行台灣本土產鮮品炮製方法規範，對產業有立即性產值提升。目前中醫藥委員會多數炮製研究題目，皆為中國進口之藥材，大部分炮製工作也由進口貿易商於中國原產地附近炮製及加工，並無法達到對台灣農業之產業價值提升。本計畫由國防醫學院周志中研究團隊與中國醫藥大學黃太鴻教授、李孟修教授和南投民間鄉公所鄉長陳聰鑑先生、農業課課長翁志成及課員呂文鈴共同組成研究團隊，整合產、官、學界間各界力量，共同努力，以期能夠提升台灣農業附加價值。

貳、材料與方法

一、台灣產狗尾草屬植物分子鑒定方法建立

(一) 藥材處理

臺灣植物誌第二版中，依形態特徵，臺灣狗尾草屬植物之正確名稱為：*Uraria crinita* (L.) Desv. ex DC. (兔尾草)、*U. lagopodioides* (L.) Desv. (大葉兔尾草)、*U. neglecta* Prain (圓葉兔尾草) 以及 *U. picta* (Jacq.) Desv. ex DC. (羽葉兔尾草)[5]。本實驗收集三種台灣產狗尾草近緣種藥材，分別為 *Uraria crinita*、*Uraria lagopodoides*、*Uraria picta*，採收後，去除雜質、洗淨、磨粉。

(二) 植物材料之基因體 DNA 的萃取

秤取 100 mg 粉末進行植物 Genomic DNA 的抽取。植物 Genomic DNA 的抽取則根據 GeneMark Plant Genomic DNA Purification kit (GeneMark, Taiwan) 手冊之操作步驟進行。最後，將管柱沖出之 Genomic DNA，於-20℃的冰櫃中保存。

(三) ITS 基因片段的選殖

秤取 50 ng 的藥材 Genomic DNA，進行 PCR 反應將 ITS 基因片段擴增出。PCR 反應總體積 50 μL，反應液包含 1 μL 的 template DNA、1 μL 的 10 μM PCR primers (Ca18SF、Ca26SR1 或 TCM-4)、1 μL 的 10 mM dNTP、5 μL 的 PCR buffer、40 μL 的去離子水及 1 μL 的 Taq DNA polymerase。反應溫度由循環溫控儀 (Thermocycler) 控制，流程為起始變性溫度 95℃ 5 分鐘，一個循環後，變性溫度 95℃ 1 分鐘，鍵合溫度 55.3℃ 1 分鐘，延展溫度 72℃ 2 分鐘 30 秒，循環 35 個週期，最後展延溫度 72℃ 10 分鐘，結束循環後將溫度降回 4℃。之後取 PCR 反應產物 5 μL，以 1%瓊脂膠於 100V 電壓條件下進行 30 分鐘電泳，隨後以 Ethidium Bromide 染色，再以純水洗淨脫色後置於紫外光燈箱上觀察結果。之後，利用 pGEM®-T Easy Vector System I 進行 ITS 基因片段的基因選殖。其步驟如下：將 PCR 產物加入 pGEM T-vector、Ligase、Lig. buffer 及無菌水，將反應溶液確實混勻，置於室溫反應 1 小時，以完成 DNA 的接合反應。之後再轉型入大腸桿菌中 (E. coli Top 10F')，並再次對 ITS 基因組做定序，以確認其序列的正確性。序列比對則以美國國家衛生研究院 NCBI Genbank 中的 BLAST 功能進行比對。

(四) LAMP 引子之設計

LAMP 引子的設計則根據本實驗所選殖的藥材之 ITS 序列，

進行專一性引子設計。專一性引子以引子開拓者 V3 軟體 (The primer Explorer V3 software, Eiken Chemical Co. Ltd. Tokyo, Japan) 進行分析與設計。

我們選取 ITS1/ITS2 序列的位置來設計恆溫環式核酸增幅反應所需的兩條外 (F3、B3)、兩條內 (FIP、BIP) 及兩條環狀 (loop F、loop B) 共六條引子，其中 FIP 為 F1c (c 表互補序列) 與 F2 兩條引子以 4 個 T 連結在一起，而 BIP 則為 B1c 與 B2 兩條引子以 4 個 T 連結在一起。所有引子的核酸序列並以美國國家衛生研究院 (NCBI) 基因庫網站內之序列比對軟體 (Blast program) 與其基因庫進行比對分析，確保所使用之引子不會與其他核酸或基因有非特異結合。

(五) LAMP 反應之進行

恆溫圈環式核酸增幅法 (LAMP) 的試驗中，先加入已萃取的植物 Genomic DNA 置於 0.2 mL PCR 反應管中，隨後分別加入 inner primers- FIP 與 BIP (10 pmol/each)、及 outer primers- F3 與 B3 (10 pmol/each)、dNTP (2.5 mM/each)、0.8 M betaine、0.1% Tween 20、10 mM $(NH_4)_2SO_4$、8 mM $MgSO_4$、10 mM KCl、20 mM Tris-HCl pH 8.8，最後加入 8 U BstDNA polymerase (New England Biolabs, U.S.A.)。將反應管置於 63℃下反應 50 分鐘後，以 80℃作用 5 分鐘終止反應。反應結果以 1.2%瓊脂膠於 100V 電壓條件下進行 30 分鐘電泳，隨後以 Ethidium Bromide 染色 30 秒，再以純水洗淨脫色後置於紫外光燈箱上觀察結果。

二、狗尾草藥材之最佳加工炮製條件及採收部位研究

(一) 藥材處理

狗尾草購自於南投民間鄉，觀察植物外觀形態及進行植物分子鑑定，鑑定結果為 *Uraria crinita* (L.) Desv. ex DC.。將鮮藥材採收後，去除雜質，洗淨，依照藥用部位分開，進行不同加工炮製條件如曬乾、陰乾及烘乾 (置於 40℃烘箱) 使藥材乾燥，藥材皆打成粗粉。將曬乾 (Su)、陰乾 (Sh) 及烘乾 (O) 的藥用部位分為地下部 (R)、地上部 (S) 和地上部及地下部混雜使用 (M)，每個試驗組別各取一百克，重複三次，以進行三重複實驗。

因民間使用狗尾草皆為「水煮」或是「半酒水」服用，故本次實驗使用之溶媒為「二次水」及「50%酒精」。「水煎液」部分製作方式，則取一百克藥材加入十倍量二次水，以武火煎至水滾，轉至文火，待十倍量水煎至二倍水量，過濾後進行冷凍乾燥，秤重，並進行萃取率計算。而「半酒水」部分製作方式，則取一

百克藥材加入五倍量 50%酒精，浸泡一周，過濾後減壓濃縮，重複三次以上萃取步驟，合併三次萃取液，進行冷凍乾燥，秤重，並進行萃取率計算。

(二) 抗氧化活性分析

將所有處理的水及半酒水萃取物以去離子復溶，配製濃度約為 1 mg/mL。若有不溶現象需再經離心 (3000 rpm, 10 min)，使樣品呈澄清狀態的測試液。進行抗氧化活性分析，包括總多酚類含量、類黃酮含量、DPPH 自由基清除力測定和 TEAC 總抗氧化能力測定。

1. 總多酚類含量

參考 Julkunen-Titto (1985) 的方法測定[6]。取 0.1 mL 之萃取液(1 mg/mL)，加入 0.1 mL 之 Folin-Ciocalteu's phenol reagent，均勻混合，靜置 3 分鐘後，再加入 0.01 mL 10% Na_2CO_3 均勻混合，於室溫下靜置 2 小時 (每隔 10 分鐘振盪一次)。再以分光光度計測 735 nm 之吸光值。

利用沒食子酸 (gallic acid) 製作之檢量線計算樣品中之總酚類含量，並以沒食子酸當量 (gallic acid equivalents, GAE) 表示樣品之總酚類含量。其單位為每克樣品含 gallic acid 之當量毫克數 (mg GAE / g Sample)。

2. 類黃酮含量

參考 Christel 等人(2000)的方法[7]。取 0.1 mL 萃取液 (10 mg/mL)，加入 0.1 mL 的 2% $AlCl_3$•$6H_2O$ 甲醇溶液，均勻混合，室溫靜置 10 分鐘後，於 430 nm 下測其吸光值。

利用槲皮素 (quercetin) 製作之檢量線計算樣品中之總黃酮含量，並以槲皮素當量 (quercetin equivalents, GE) 表示樣品之總黃酮含量。其單位為每百克樣品含 quercetin 之當量毫克數 (mg quercetin equivalents / 100 g sample)。

3. DPPH 自由基清除力測定

參考 Shimada 等人(1992)的方法測定[8]。取 0.1 mL 萃取液 (1 mg/mL)，加入 0.1 mL 新鮮配置之 0.2 mM DPPH 甲醇溶液，混合均勻後，避光於室溫下靜置 30 分鐘，於 517 nm 測其吸光值。控制組(control)以甲醇取代樣品，以不添加 DPPH 之試驗作為空白對照組 (blank)。計算公式如下：

Scavenging effect (%) = [1-($A_{\text{sample at 517 nm}}$-$A_{\text{blank at 517 nm}}$ / $A_{\text{control at 517 nm}}$-$A_{\text{blank at 517 nm}}$)] x 100。

4. TEAC 總抗氧化能力測定

參考 Arnao 等人 (1996)的方法測定[9]。依序加入 0.75 mL 去離子水、0.125 mL 1000 μM ABTS 溶液、0.125 mL 500 μM H_2O_2 及 0.125 mL peroxidase (44 unit/mL) 均勻混合，於暗室下靜置 1 小時產生穩定藍綠色 ABTS+·陽離子自由基後，再加入 0.25 mL 之不同濃度 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-2-carboxylic acid (Trolox)，靜置 10 分鐘再以分光光度計測 734 nm 之吸光值，做成 Trolox 之檢量線，樣品的檢測同上，測得後再由 Trolox 的檢量線，換算出萃取物清除的能力相當於多少 μg/mL 濃度的 Trolox 清除能力，此即為樣品的 TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)。TEAC 愈高，代表化合物的抗氧化性愈高。

(三) 統計分析

實驗數據使用 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 12.0 版套裝軟體進行統計分析，三次重複試驗之結果以平均值 ± 標準偏差 (mean ± SD) 表示，利用單因子變異數分析 (one-way ANOVA) 做變異分析，及鄧式新多變域試驗法 (Duncan's Multiple Range test) 進行顯著性差異 ($p < 0.05$) 比較。

三、烘乾溫度對於其抗氧化活性的變化

(一) 藥材處理

狗尾草地下部 (R) 採收後，去除雜質，洗淨，進行烘乾 (於 40℃、55℃或 70℃烘箱) 使藥材乾燥，藥材打成粗粉。每個試驗組別各取一百克，重複三次，進行水煎或半酒水萃取 (同材料與方法中「藥材最佳採收部位研究」中所述)，冷凍乾燥秤重。

(二) 抗氧化活性分析

同材料與方法中「藥材最佳採收部位研究」中所述。

四、藥材儲存時間對於其化學成分的變化及生物活性分析變化

(一) 儲存方式及藥材處理

狗尾草地下部 (R) 採收後，去除雜質，洗淨，進行烘乾 (置於 40℃烘箱) 使藥材乾燥，藥材打成粗粉。於 4℃或室溫下進行儲存，月份以零月、六月及十二月為主。每個試驗組別各取一百克，重複三次，進行水煎或半酒水萃取 (同材料與方法中「藥材最佳採收部位研究」中所述)，冷凍乾燥，秤重。

(二) 抗氧化活性分析

同材料與方法中「藥材最佳採收部位研究」中所述。

五、不同萃取方法對烘乾狗尾草地下部之抗氧化活性的影響

(一) 在 60℃、6 小時下不同酒精濃度對其抗氧化活性之影響

取 20 g 烘乾狗尾草地下部，三重複，加入 400 mL 不同濃度

之酒精溶液 (20%、40%、50%、60%及 80% EtOH)，於 60℃水浴下，加熱 6 小時，冷卻至室溫後，進行減壓濃縮及冷凍乾燥，再分析其萃取液之 DPPH 自由基清除力和 TEAC 總抗氧化能力。

(二) 在 60℃、60%酒精下不同萃取時間對其抗氧化活性之影響

取 20 g 烘乾狗尾草地下部，三重複，加入 400 mL 之 60%酒精溶液，於 60℃水浴下，不同的加熱時間 (1、3、5、7 及 9 小時)，取出並冷卻至室溫，進行減壓濃縮及冷凍乾燥，再分析其萃取液之 DPPH 自由基清除力和 TEAC 總抗氧化能力。

(三) 在 60%酒精、5 小時下不同萃取溫度對其抗氧化活性之影響

取 20 g 烘乾狗尾草地下部，三重複，加入 400 mL 之 60%酒精溶液，於不同的溫度 (30℃、50℃、70℃及 90℃) 下，加熱 5 小時，冷卻至室溫，進行減壓濃縮及冷凍乾燥，再分析其萃取液之 DPPH 自由基清除力和 TEAC 總抗氧化能力。

(四) 代謝體學輪廓分析 [10-11]

取冷凍乾燥之萃取物，移入 15 mL 的離心管內，加入 2 mL MeOH 以及 2 mL 50% H_2O。震動 3 分鐘，超音波 30 分鐘，然後以 3000 rpm 離心 30 分鐘。取上清液移入 HPLC 樣品瓶試管中，分別進行測試。

HPLC 的層析波峰資料將依內標準品比例調整選擇，選取至少 50 之波峰底下面積數據作為分析用資料。所得之資料輸入 Microsoft Excel 加入符號標記，然後再以 SIMCA-P v.11.0 (Umetrics, Umeå, Sweden) 作主成分分析 (PCA) 統計。

參、結果

一、台灣產狗尾草屬植物分子鑒定方法建立

(一) Uraria 屬植物之 ITS 基因片段

目前已知的 Uraria 屬有狗尾草(*Uraria crinita*)、大葉兔尾草(*Uraria lagopodoides*)、羽葉兔尾草(*Uraria picta*)和圓葉兔尾草(*Uraria neglecta*)。於 NCBI GenBank 資料庫搜尋已登錄之 ITS 基因序列，僅可得知大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides*)：JF970604 及羽葉兔尾草 (*Uraria picta*)：JF769488 之序列訊息。可提供為共同驗證之依據。

本實驗已收集到三種 Uraria 屬植物，命名為台灣產狗尾草(*Uraria crinita* voucher CMU-UC001)、台灣產大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides* voucher CMU-UL001) 及台灣產羽葉兔尾草 (*Uraria picta* voucher CMU-UP002)。此三種植物經 PCR 反應增幅後，核酸片段約為 1500 bp，經由核酸解序，其序列見圖一、圖二和圖三。以 NCBI GenBank 中的序列比對後，確證核酸片段皆為豆科 (Leguminosae) 兔尾草屬 (Uraria) 之序列。圖四和圖五為 Uraria 屬植物之 ITS 1 和 ITS 2 核酸序列之比較，Uraria 屬植物之核酸序列彼此間有些許差異，ITS 1 和 ITS 2 的種間差異性(interspecies variation) 範圍約為 96%至 99%。

目前已將台灣產狗尾草 (*Uraria crinita* voucher CMU-UC001) 核酸序列登錄於 NCBI GenBank，其 accession number 為 JN189714；而台灣產大葉兔尾草及台灣產羽葉兔尾草之核酸序列將陸續登錄至 NCBI GenBank。

(二) 台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*)之 LAMP 引子特異性 (Specificity) 分析

取我們設計完成之台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*; UC) 的 LAMP 引子，進行引子特異性分析(如圖六)，顯示此組 UC 的 LAMP 引子，特異性佳，如圖六之 Lane 1 的 Ladder-like pattern 所示，當標的台灣產狗尾草之 Genomic DNA 存在時，其核酸可被增幅出。而當非標的之 Genomic DNA 存在時如台灣產大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides*; UL) 及台灣產羽葉兔尾草 (*Uraria picta*; UP)，並不會有 LAMP 的 Ladder-like pattern 產生，如圖六之 Lane 2-6。

(三) 台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*)之 LAMP 引子靈敏性 (Sensitivity) 分析

使用台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*) 之 LAMP 引子，進行引子

靈敏性分析(如圖七)，顯示此 UC 的 LAMP 引子，可在 60 分鐘內，進行 LAMP 之擴增反應，並可知標的之台灣產狗尾草 Genomic DNA，其核酸擴增的最少核酸需求量為 10 fg (如圖七之 lane 8)。

二、狗尾草藥材之最佳加工炮製條件及採收部位研究

狗尾草購自於南投民間鄉，經植物形態及植物分子鑑定方法，鑑定為 *Uraria crinita* (L.) Desv. ex DC.。本試驗依照藥用部位分開，分成三部分，包括地下部 (R)、地上部 (S) 及地下部與地上部混雜使用 (M) ，進行不同加工炮製條件如曬乾 (Su)、陰乾 (Sh) 及烘乾 (O) 使藥材乾燥，藥材打成粗粉。每個試驗組別各取一百克，重複三次，進行水煎或半酒水萃取。

(一) 狗尾草水煎液及半酒水萃取液之萃取率

圖八為狗尾草之水煎及半酒水萃取液之萃取率。結果顯示，水煎液的萃取率介於 4.10%至 8.27%之間，而半酒水萃取液的萃取率介於 7.82%至 9.99%之間。圖八 (a)、圖八 (b)、圖八 (c) 各別為曬乾、陰乾及烘乾狗尾草對其地下部、地上部及兩者混用之萃取率。結果顯示，對水煎液而言，曬乾及陰乾的狗尾草，以地下部的萃取率(8.27%及 6.16%) 顯著高於地上部及兩者混用，然而烘乾的狗尾草，其不同的部位彼此間無顯著差異；對半酒水萃取液而言，曬乾的狗尾草，以地下部的萃取率(9.99%) 顯著高於其他部位，然而陰乾及烘乾的狗尾草，不同的部位無顯著差異。圖八 (d)、圖八 (e)、圖八 (f) 各別為地下部、地上部及兩者混用對不同加工方式如曬乾、陰乾及烘乾之萃取率。圖八 (d) 為地下部之結果，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥藥材後，此三種加工方式的水煎液及半酒水萃取液，其水煎液萃取率為 6.08%-8.27%，半酒水萃取率為 9.55%-9.99%，三種加工方式彼此間無顯著差異。圖八 (e) 為地上部之結果，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥藥材後，此三種加工方式的水煎液，其萃取率為 4.1%-4.86%，無顯著差異；但曬乾及烘乾之半酒水萃取液(9.49%及 9.79%) 顯著高於陰乾(7.82%)。圖八 (f) 為兩者混用之結果，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥藥材後，此三種加工方式的水煎液，以曬乾及烘乾之萃取液(9.71%及 10.07%) 顯著高於陰乾(8.48%)；而半酒水萃取率也有相同趨勢。

綜觀以上之結果，不同溶劑萃取率之比較，以半酒水萃取液的萃取率高於水煎液；不同採收部位萃取率之比較，不論水煎或半酒水萃取，皆以地下部的萃取率為最高，地上部為最低；不同加工方式萃取率之比較，以曬乾的萃取率為最高，其次為烘乾，而陰乾最低。

(二) 比較不同採收部位與加工方式對狗尾草水煎液及半酒水萃取液抗

氧化能力之影響

將所有處理的水及半酒水萃取物以去離子復溶，配製濃度約為 1 mg/mL。進行抗氧化活性分析，包括總多酚類含量、類黃酮含量、DPPH 自由基清除力測定和 TEAC 總抗氧化能力測定。

1. 狗尾草水煎及半酒水萃取液之總酚類化合物含量

圖九為狗尾草之水煎及半酒水萃取液之總酚類化合物含量。由圖中可得知，半酒水萃取液之總酚類含量皆高於水煎液。圖九 (a)、圖九 (b)、圖九 (c) 各別為曬乾、陰乾及烘乾狗尾草對其地下部、地上部及兩者混用之總酚類化合物含量。結果顯示，對水煎液而言，曬乾狗尾草各部位的總酚類化合物含量，以地上部較高 (35±2.35 mg GAE/g)，其次為兩者混用 (21.77±12.77 mg GAE/g)，而地下部最低 (28.42±5.37 mg GAE/g)，陰乾及烘乾亦有相同的趨勢；對半酒水萃取液而言，此三種加工方法中各部位的總酚類化合物含量，介於 32.99-40.31 mg GAE/g，彼此間無顯著差異。圖九 (d)、圖九 (e)、圖九 (f) 各別為地下部、地上部及兩者混用對不同加工方式如曬乾、陰乾及烘乾之總酚類化合物含量。圖九 (d) 為地下部之結果，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥藥材後，此三種加工方式的水煎液，狗尾草地下部的總酚類化合物含量為 26.32-28.58 mg GAE/g，以烘乾為最高，但彼此間無顯著差異；而半酒水萃取液之總酚類化合物含量為 32.99-39.02 mg GAE/g，以烘乾為最高，但彼此間無顯著差異。圖九 (e)、圖九 (f) 為地上部、兩者混用之結果，亦有相同的趨勢，不同的加工方式對其總酚類化合物含量無顯著差異。

綜合以上之結果，不同溶劑萃取之比較，以半酒水萃取液的總酚類化合物含量高於水煎液；不同採收部位之比較，對水煎液而言，各部位的總酚類化合物含量，以地上部較高，其次為兩者混用，而地下部最低，對半酒水萃取液而言，狗尾草各部位的總酚類化合物含量無顯著差異；不同加工方式之比較，不論水煎或半酒水萃取，此三種加工方式的狗尾草之總酚類化合物含量無顯著差異。

2. 狗尾草水煎及半酒水萃取液之類黃酮含量

圖十為狗尾草之水煎及半酒水萃取液之類黃酮含量。由圖中可得知，半酒水萃取液之類黃酮含量皆高於水煎液。圖十 (a)、圖十 (b)、圖十 (c) 各別為曬乾、陰乾及烘乾狗尾草對其地下部、地上部及兩者混用之類黃酮含量。結果顯示，對水煎液而言，曬乾、陰乾及烘乾狗尾草中各部位的類黃酮含量，皆

以地上部較高 (39.46、38.35 及 32.28 mg quercetin equivalent (GE) /100 g)，其次為地下部 (29.78、28.15 及 27.48 mg GE/100 g)，而兩者混用最低 (25.35、25.58 及 24.83 mg GE/100 g)；但對半酒水萃取液而言，此三種加工方法曬乾、陰乾及烘乾中各部位的類黃酮含量，與水煎液不同，以地下部較高 (90.06、90.58 及 89.10 mg GE/100 g)，其次為兩者混用 (83.95、81.85 及 89.91 mg GE/100 g)，而地上部最低 (74.20、58.44 及 60.91 mg GE/100 g)。圖十 (d)、圖十 (e)、圖十 (f) 各別為地下部、地上部及兩者混用對不同加工方式如曬乾、陰乾及烘乾之類黃酮含量。對狗尾草地下部及兩者混用之部位而言，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥後，此三種加工方式的水煎液及半酒水萃取液，對其部位的類黃酮含量無顯著差異。對狗尾草地上部而言，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥後，此三種加工方式的水煎液之類黃酮含量無顯著差異，但半酒水萃取液中，以曬乾的類黃酮含量為最高 (74.20 mg GE/100 g)，其次為烘乾 (60.91 mg GE/100 g)，而陰乾最低 (58.44 mg GE/100 g)。

由圖十結果可知，比較不同溶劑萃取，以半酒水萃取液的類黃酮含量高於水煎液；比較不同採收部位，對水煎液而言，以地上部為最高，但對半酒水萃取液而言，卻以地下部為最高；不同加工方式之比較，不論水煎或半酒水萃取，此三種加工方式的狗尾草之類黃酮含量於統計上無顯著差異。

3. 狗尾草水煎及半酒水萃取液之 DPPH 自由基清除能力

圖十一為狗尾草之水煎及半酒水萃取液之 DPPH 自由基清除能力。用以評估抗氧化劑的供氫能力，清除百分比愈高表示測試樣品之供氫能力愈佳。由圖中可得知，大多數的半酒水萃取液之 DPPH 自由基清除能力皆高於水煎液。圖十一 (a)、圖十一 (b)、圖十一 (c) 各別為曬乾、陰乾及烘乾狗尾草對其地下部、地上部及兩者混用之 DPPH 自由基清除能力。結果顯示，對水煎液而言，曬乾、陰乾及烘乾狗尾草中各部位的 DPPH 自由基清除能力，皆以地上部最高 (55.24%、50.33%及 50.32%)，其次為兩者混用 (21.17%、22.84%及 27.64%)，而地下部最低 (11.91%、3.07%及 19.37%)。對半酒水萃取液而言，也有相同趨勢，皆以地上部最高 (56.46%、51.92%及 56.51%)，其次為兩者混用 (41.34%、42.38%及 44.45%)，而地下部最低 (24.49%、28.61%及 32.05%)。圖十一 (d)、圖十一 (e)、圖十一 (f) 各別為地下部、地上部及兩者混用對不同加工方式如曬乾、陰乾及

烘乾之 DPPH 自由基清除能力。對狗尾草地上部及兩者混用之部位而言，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥後，此三種加工方式的水煎液及半酒水萃取液，對其部位的 DPPH 自由基清除能力無顯著差異。然而，對狗尾草地下部而言，經曬乾、陰乾或烘乾乾燥後，此三種加工方式的水煎液，以烘乾的清除能力最高 (13.37%)，其次為曬乾 (11.91%)，而陰乾最低 (3.07%)，於半酒水萃取液中，此三種加工無顯著差異。

綜觀以上之結果，不同溶劑萃取之比較，以半酒水萃取液的 DPPH 自由基清除能力高於水煎液；不同採收部位之比較，對水煎液或半酒水萃取液而言，皆以地上部為最高，其次為兩者混用，而地下部最低；不同加工方式之比較，不論水煎或半酒水萃取，此三種加工方式於統計上無顯著差異。

4. 狗尾草水煎及半酒水萃取液之 Trolox 當量的抗氧化能力

圖十二為狗尾草之水煎及半酒水萃取液之 Trolox 當量的抗氧化能力。TEAC 愈高，代表樣品的抗氧化性愈高。由圖中可得知，大多數的半酒水萃取液之 Trolox 當量抗氧化能力皆高於水煎液。圖十二 (a)、圖十二 (b)、圖十二 (c) 各別為曬乾、陰乾及烘乾狗尾草對其地下部、地上部及兩者混用之 Trolox 當量抗氧化能力。結果顯示，對水煎液而言，曬乾、陰乾及烘乾狗尾草中各部位的 Trolox 當量抗氧化能力，皆以地上部最高 (74.05、64.7 及 63.54 μg TEAC/mL)，而地下部最低 (32.95、35.3 及 44.41 μg TEAC/mL)；對半酒水萃取液而言，亦是以地上部最高 (66.98、71.89 及 77.13 μg TEAC/mL)，而地下部最低 (45.29、60.76 及 67.61 μg TEAC/mL)。圖十二 (d)、圖十二 (e)、圖十二 (f) 各別為地下部、地上部及兩者混用對不同加工方式如曬乾、陰乾及烘乾之 Trolox 當量抗氧化能力。對水煎液而言，狗尾草地下部則以烘乾的抗氧化能力為最高 (67.61 μg TEAC/mL)，而狗尾草地上部則亦以烘乾的抗氧化能力為最高 (77.13 μg TEAC/mL)；對半酒水萃取液而言，狗尾草各部位皆以烘乾的抗氧化能力為最高。

由圖十二結果顯示，比較不同溶劑萃取，以半酒水萃取液的 Trolox 當量抗氧化能力高於水煎液；比較不同採收部位，對水煎液或半酒水萃取液而言，皆以地上部為最高，而地下部最低；比較不同加工方式，不論水煎或半酒水萃取液，皆以烘乾的狗尾草之抗氧化能力高於曬乾與陰乾。

三、烘乾溫度對於其抗氧化活性的變化

由前述不同加工方式的水和半酒水萃取液之 DPPH 及 TEAC 結果可發現，烘乾的狗尾草萃取液之抗氧化能力高於曬乾與陰乾。(烘乾的溫度為 40℃)。因此，本研究進一步探討不同的烘乾溫度對其抗氧化活性的變化。圖十三為不同烘乾溫度 (40℃、55℃或 70℃) 對台灣產狗尾草地下部之水及半酒水萃取物的抗氧化能力。圖十三 (a) 為總多酚類含量；(b) 為類黃酮含量；(c) 為 DPPH 自由基清除能力；(d) 為 Trolox 當量的抗氧化能力。結果顯示，於 40℃烘乾的狗尾草地下部水煎液其總多酚類含量、DPPH 及 ABTS 自由基清除能力 (22.11 mg GAE/g、25%及 55.06 μg TEAC/mL) 皆高於其他烘乾溫度，但 40℃烘乾的狗尾草地下部水煎液其類黃酮含量 (27.48 mg GE/100 g) 低於其他烘乾溫度 55 及 70℃ (47.16 及 28.07 mg GE/100 g)。對狗尾草地下部半酒水萃取液而言，也有相同趨勢，40℃烘乾的半酒水萃取液其總多酚類含量、DPPH 及 ABTS 自由基清除能力 (24.12 mg GAE/g、25%及 55.06 μg TEAC/mL) 高於其他烘乾溫度，而 40℃烘乾的半酒水萃取液其類黃酮含量(89.10 mg GE/100 g) 低於其他烘乾溫度 55 及 70℃ (106.59 及 103.44 mg GE/100g)。

四、藥材儲存時間對於其化學成分的變化及生物活性分析變化

大多數藥材以儲存時間短為好，藥材儲存時間越短所含有效物質損失越少做為解釋。但有些藥材古人認為卻是越陳越好。舊的、時間久的謂之陳。中藥六陳首載梁·陶弘景的《本草經集注》，謂「凡狼毒、枳實、橘皮、半夏、麻黃、吳茱萸皆須陳久者良，其餘須精新也」。古人的六陳論認為傳統所謂的中藥「六陳」，以陳久為良。此理論在台灣民間也甚為流傳。台灣民間多味中藥，皆有所謂「越陳價越高」的情況。而韓國正官庄人參在台灣民間使用上認為儲存越久，療效越高的情況。杭菊和狗尾草儲存上也有此種問題，但目前儲存方式尚缺乏科學數據佐證。本計劃則以古代六陳論為借鏡，釐清狗尾草最佳儲藏時間與化學成分及療效關係。

圖十四為不同儲存方式對台灣產狗尾草地下部之水及半酒水萃取物的抗氧化能力。(a) 總多酚類含量；(b) 類黃酮含量；(c) DPPH 自由基清除能力；(d) Trolox 當量的抗氧化能力。圖十四 (a)、(b) 結果顯示，半酒水萃取液之總酚類含量和類黃酮含量皆高於水煎液，當台灣產狗尾草地下部水煎液於冷藏或室溫儲存六個月後其萃取物總酚類含量 (25.77 mg GAE/g 及 26.83 mg GAE/g) 與零月 (28.58 mg GAE /g) 比較，儲存六個月的水煎液總酚類含量明顯降低，而冷藏或室溫儲存六個月後其半酒水萃取物類黃酮含量 (101.98 mg GE/100 g 及 125.74 mg GE/100 g) 與零月(27.48 mg GE/100 g) 比較，儲存六個月的半酒水萃取物類黃酮含量明顯增加。圖十四 (c)、(d) 結果顯示，於冷藏或室溫儲放六個月的水煎液之 DPPH 自由基清除能力 (45.88%或 48.71%) 皆高於零月(30.12%)，而冷藏或室溫儲放六個月的半酒

水萃取液之 DPPH 自由基清除能力 (45.24%或 47.31%) 亦高於零月 (41.28%)；於冷藏或室溫儲放六個月的水煎液之 Trolox 當量總抗氧化能力 (91.24 μg TEAC/mL 或 92.26 μg TEAC/mL) 亦皆高於零月 (50.06 μg TEAC/mL)，而冷藏或室溫儲放六個月的半酒水萃取液之 Trolox 當量總抗氧化能力 (81.03 μg TEAC/mL 或 82.99 μg TEAC/mL) 高於零月 (76.63 μg TEAC/mL)。由此可知，台灣產狗尾草烘乾地下部於冷藏或室溫儲存六個月後，其 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 當量總抗氧化能力皆有提升，尤其是儲放六個月的乾藥材與零月比較，前者的水煎液之抗氧化活性顯著高於後者。

綜合上述結果，乾燥狗尾草藥材儲存時間六個月較佳，而冷藏或室溫儲藏無明顯差異。由此推測可能是儲放六個月後類黃酮含量增加，使其抗氧化活性增加。

五、不同萃取方法對烘乾狗尾草地下部之抗氧化活性的影響

為規範狗尾草的萃取方法提供較佳技術參數。本研究以狗尾草烘乾地下部藥材之 DPPH 自由基清除力變化及 Trolox 當量總抗氧化能力為考察指標，分別探討提取酒精濃度、萃取時間及萃取溫度，對狗尾草萃取方法進行研究，結果如圖十五。圖十五 (a)、(b) 為在 60℃與 6 小時下不同酒精濃度對其 DPPH 自由基清除力及 Trolox 當量總抗氧化能力之影響；(c)、(d) 在 60℃與 60%酒精下不同萃取時間對其 DPPH 自由基清除力及 Trolox 當量總抗氧化能力之影響； (e)、(f) 在 60%酒精與 5 小時下不同萃取溫度對其 DPPH 自由基清除力及 Trolox 當量總抗氧化能力之影響。圖十五 (a)、(b) 結果顯示，固定 60℃與加熱 6 小時，隨著提取酒精濃度的增加其抗氧化能力先增後減，以 60%酒精濃度提取的萃取物之 DPPH、ABTS 自由基清除能力 (49.38%、99.24 μg TEAC/mL) 明顯高於其他酒精濃度，因此後續以 60℃、60%酒精探討最佳萃取所需時間；由圖十五 (c)、(d) 結果可知，於 60℃、60%酒精下，經不同萃取時間 (1、3、5、7 及 9 小時) 所獲得萃取物間其抗氧化能力無顯著的差異，其中以萃取 5 小時之抗氧化活性為最高，DPPH、ABTS 自由基清除能力為 30.16%、72.22 μg TEAC/mL，因此後續將以 60%酒精、萃取 5 小時探討最佳萃取溫度；結果如圖十五 (e)、(f)，於 60%酒精、萃取 5 小時下，不同萃取溫度 (30℃、50℃、70℃及 90℃) 所獲得萃取物間其抗氧化能力無顯著的差異。綜合以上結果可知，60℃、60%酒精及萃取 5 小時為最佳的萃取方法，所獲得的萃取物具有較佳的抗氧化活性。

六、不同萃取方式之狗尾草萃取物 PCA 分析

不同酒精濃度萃取的狗尾草萃取物 PCA 分析，可以看出狗尾草在萃取過程的代謝物變化趨勢 (如圖十六)，40%酒精和 50%酒精的標準落點圖 (Standard plot) 非常接近，而 80%酒精萃取的萃取物與其他酒精濃度比較有

明顯差異，其代表的意義為這些酒精濃度所萃取出的化合物彼此間有差異。

不同萃取時間之狗尾草萃取物 PCA 分析圖 (如圖十七)，於 60℃、60% 酒精萃取 5 小時狗尾草萃取物與其他萃取時間在 PCA 的標準落點圖差距相當遠，但由先前結果所提的 DPPH、ABTS 自由基清除能力變化不大，跟 PCA 結果不一致，其中萃取 5 小時所含的未知成分，值得進一步去探討。

不同萃取溫度之狗尾草萃取物，依同樣的方法萃取與測定，所得的 PCA 分析圖如圖十八顯示，其萃取溫度之間並無規則性的變化，所得的落點圖非常凌亂，表示萃取溫度之間的萃取物成分有必要再進一步的確定與探討。

七、建立狗尾草鮮品最適化之標準作業流程 (SOP)

將狗尾草 (*Uraria crinita*) 鮮品採收洗淨後

↓

依照藥用部位分為地下部 (R)、地上部 (S)

↓

以切藥機切成約長 3 cm，寬 1.5 cm，厚 1 cm 之片狀

↓

置於 40℃烘箱使藥材乾燥，以磨粉機打成粗粉

↓

將狗尾草地下部粗粉置於室溫下儲放六個月

↓

取乾藥材加入二十倍量之 60%酒精

↓

於 60℃水浴鍋中，萃取 5 小時，經減壓濃縮及冷凍乾燥

↓

狗尾草地下部酒精萃取物

肆、討論

一、台灣產狗尾草屬植物分子鑒定方法建立

生物體內用於核醣體轉譯時所需的 5.8S rRNA，是由 5.8S rDNA 基因轉錄而來，而分佈於該基因上游與下游之 ITS 1 及 ITS 2 基因，其序列具重複性、多分歧性及共演化之特性，因此常被用於物種之分類及親源分析。本實驗已收集到三種 Uraria 屬植物的核酸序列，命名為台灣產狗尾草 (*Uraria crinita* voucher CMU-UC001)、台灣產大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides* voucher CMU-UL001) 及台灣產羽葉兔尾草 (*Uraria picta* voucher CMU-UP002)。

以美國國家衛生研究院 NCBI Genbank 中的 BLAST 功能進行比對，比對結果皆為豆科 (Leguminosae) 兔尾草屬 (Uraria)。雖然發現此三種兔尾草屬的近緣物種內的 ITS 1 與 ITS 2 核酸序列無太大的差異，狗尾草與大葉兔尾草和羽葉兔尾草比較，狗尾草 ITS 1/ ITS 2 種間差異性 (interspecies variation) 分別為 4% / 3.7% 和 0.4% / 2.3%。以 ITS 2 的序列變化較 ITS 1 大，因此便可進一步針對 ITS 2 與其他近緣物種藥材之 ITS 2 加以比對，設計出高特異性之台灣狗尾草引子對，進行恆溫圈環式核酸增幅法 (LAMP) 的試驗。其引子如下，

F3: CACTGTTACCCTCACGCAA

B3: ACCTGAGGTCTCGCTAGA

FIP: ACCAACCACGAGACACCGCAGGTCCACCCGTTGGCCG

BIP: AGTGCGCCGTGATAAAATGAGGGGTCCGAGGGTCACAT

此組 UC 的 LAMP 引子，特異性佳，靈敏度高。當台灣產狗尾草核酸濃度於 10 fg 時，LAMP 反應依然可不受影響進行，傳統 PCR 反應，如 PCR-RFLP、RAPD 或 ARMS，則無法達到與 LAMP 反應的靈敏度，於核酸濃度低於 1 ng 時，便無法順利進行反應，顯見 LAMP 反應之靈敏度遠勝傳統 PCR 法，十分具有作為快速物種鑑定方法的潛力。

二、狗尾草藥材之最佳加工炮製條件及採收部位研究

由於許多的成分如多酚類、類黃酮等都具有抗氧化性，這些成分含量的多寡皆會影響抗氧化的效果，而其含量多寡會因植物的種類、部位、萃取方式及萃取溶劑不同而有所差異。因此本實驗中則分別測定不同加工炮製條件及採收部位之狗尾草水及半酒水萃取物中總多酚類含量、類黃酮含量、DPPH 自由基清除力測定和 TEAC 總抗氧化能力。

一般中藥材的利用大多是以曬乾的材料販售，而此種加工過程及方式是否對植物本身的抗氧化特性會有所改變這點，尚無科學數據佐證，故本計畫利用不同乾燥處理，比較台灣本土自產的狗尾草經不同炮製後抗氧化

物質特性之變化。結果顯示，三種加工方式 (曬乾、陰乾或烘乾) 之萃取物對其總多酚類含量、類黃酮含量、DPPH 自由基清除力於統計上無顯著差異。但 TEAC 結果顯示，烘乾的狗尾草水煎和半酒水萃取液之抗氧化能力高於曬乾與陰乾。因此，後續將探討不同烘乾溫度對抗氧化活性的影響。

狗尾草根 (地下部) 常使用在民間藥膳中，而狗尾草莖 (地上部) 則為農產品廢棄物，期許未來能開發出具抗氧化活性的產品，提升狗尾草經濟價值及解決農產品廢棄物處理問題。實驗結果顯示，對於狗尾草水煎液及半酒水萃取液而言，皆以地上部的抗氧化活性為最高，值得作為進一步純化抗氧化物質的材料來源。但狗尾草地上部不易購得，因狗尾草地上部被視為農產廢棄物而當作有機肥料使用，故之後的狗尾草最佳萃取方法研究仍以狗尾草地下部來探討。

提供狗尾草萃取液之 DPPH、ABTS 自由基清除能力的化學物質可能為多酚類化合物，數據顯示其自由基清除能力與多酚類的含量有正相關之趨勢，但與類黃酮的含量並無明顯相關性，故可推論 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 當量的抗氧化能力是與類黃酮之外的多酚類含量相互影響。

三、烘乾溫度對於其抗氧化活性的變化

由前述結果得知，對鮮藥材進行炮製以烘乾為最適當，因此繼續探討最佳的烘乾溫度。結果顯示隨著烘乾溫度的增加，其總多酚類含量跟著減少，且 DPPH、ABTS 自由基清除能力亦降低，推測當烘乾溫度高於 40℃時，會部份破壞提供萃取物具有抗氧化能力的酚類化合物，使得 DPPH、ABTS 自由基清除能力降低。因此，低溫度乾燥 (40℃) 為最適當的鮮品炮製加工方法。

四、藥材儲存時間對於其化學成分的變化及生物活性分析變化

乾燥狗尾草藥材儲存時間六個月較佳，而冷藏或室溫儲藏無明顯差異推測，可能是儲放六個月後類黃酮含量增加，使其抗氧化活性增加。

五、不同萃取方法對烘乾狗尾草地下部之抗氧化活性的影響

由結果可知，於 60℃下以 60%酒精萃取 5 小時為較佳的萃取方法，所獲得的萃取物具有較佳的抗氧化活性。但不同萃取方法其抗氧化活性差異不大，若繼續以抗氧化活性作為測定指標來考慮各因子間交互影響，可能無法獲得預期之結果，因此本實驗不再以多指標正交試驗法來建立最佳化之狗尾草萃取方式。而 PCA 結果顯示，不同萃取條件之狗尾草萃取物在 PCA 的標準落點圖（Standard plot）差距很大，其代表的意義為狗尾草經過不同萃取處理，確實會萃取出不同的成分，但該未知成分有何功能性，值得進一步去探討。因此，未來將持續進行狗尾草其他應用性的探討，如抗癌、促進免疫力等功效。

六、狗尾草飲片品質管制監測

利用代謝體學輪廓結合多變數統計的方法，應用於狗尾草藥材萃取加工監測。除了以往常用的主要化學成分（Major compounds）的監測與定量，並搭配分析不同萃取方法藥材中全部的代謝化學成份，即使是非常微小微量的成分，以 HPLC 和全光譜資料，利用主成分分析統計法（PCA），以代謝體學的觀點分析所有測得的資料數據。建立狗尾草最佳萃取方法的標準落點（Standard plot），可作為狗尾草最佳萃取方法品管規範訂定的依據。若未來找到狗尾草其他應用性，將可搭配化學指紋圖譜分析及偵測指標成份變化，來建立狗尾草萃取程序的科學規範。

伍、結論與建議

本研究計畫已建立三種兔尾草屬 (Uraria) 植物之 ITS 序列，分別為台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*)、台灣產大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides*) 及台灣產羽葉兔尾草 (*Uraria picta*)，其核酸序列將陸續登錄 NCBI Genbank。

台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*) 藥材萃取方面，結果顯示 DPPH 自由基清除能力及 Trolox 當量的抗氧化能力以半酒水萃取的方式優於水煎；對採收部位而言，以地上部的抗氧化能力最佳；對炮製加工方式而言，以烘乾的抗氧化能力最佳，且低溫 (40℃) 乾燥為目前得知的最佳炮製條件。

狗尾草儲藏試驗，以儲藏六個月之抗氧化活性高於儲存零月，而冷藏或室溫儲藏並無明顯差異。

狗尾草萃取方面，以 60℃、60%酒精及萃取 5 小時，所獲得的萃取物具有較佳的抗氧化活性。但因其差異性不大，故不建議再以抗氧化活性作為評估指標。

根據實驗的結果，於 40℃下乾燥狗尾草，再以 60℃、60%酒精及萃取 5 小時，作為藥膳的配方，有較佳的抗氧化活性。然而抗氧化活性只是其中一項評估指標，建議未來可持續針對狗尾草民間用的效用，如小兒驅蟲、抗菌、開脾、除疳積、健胃等，做進一步的研究。而狗尾草有人稱之為「台灣人參」，將其烘乾泡茶當作人參茶食用，或許也可研究是否有與人參相關的成分可開發利用，以期能夠完全發揮狗尾草本身的價值，達到最高的經濟效益。期許後續的研究能夠促進台灣的本土中草藥的國際化發展，提升本土中草藥在國際間的競爭力。

有關於狗尾草長期藥用及食用安全性的部分，其藥理、毒理變化值得進一步探討釐清，而本計畫為一年計畫，時間較為匆促，希望未來類似的計畫能有較長的執行時間使之更加完整。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-030 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 張永勳：台灣市售易誤用、混用中藥材之鑑別。*國際藥用植物產業發展研討會專刊*，2004，185-198 頁。
2. 康廷國：中藥鑑定學。*中國中醫藥出版社*，北京，2003。
3. 萬德光、裴瑾：論中藥品種鑒定在中藥品質控制中的地位和作用。*成都中醫藥大學學報*，2000，23: 1-3, 12, 64 頁。
4. 張賢哲、蔡貴花：中藥炮製學。*中國醫藥學院*，台中，1993 年第二修正版。
5. Ohashi H, and Iokawa Y: A revision of Uraria (Leguminosae) in Taiwan. *Taiwania* 2007; 52(2): 177-183.
6. Julkunen-Titto R: Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 1985; 33: 213-217.
7. Christel QD, Bernard G, Jacques V, Thierry D, Claude B, Michel L, Micheline C, Jean-Cluade C, Francois B, and Francis T: Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (Fagopyrum esculentum Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacology* 2000; 72: 35-42.
8. Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, and NaKamura T: Antioxidative properties of xanthan on the Autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food. Chem.* 1992; 40: 945-948.
9. Arnao MB, Cano A, Hernandez-Ruiz J, Garcia-Canovas F, and Acosta M: Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2’-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. *Anal. Biochem.* 1996; 236: 255-261.
10. Wang Y, Tang H, Nicholson JK, Hylands P, Sampson J, Whitcombe I, Stewart CG, Caiger S, Oru I, Holmes E: Metabolomic strategy for the classification and quality control of phytomedicine: A case study of Chamomile flower (Matricaria recutita L.). *Planta Med.* 2004; 70(3): 250-255.
11. Choi YH, Kim HK, Hazekamp A, Erkelens C, Lefeber AWM, and Verpoorte R: Metabolomic Differentiation of Cannabis sativa Cultivars Using 1H NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis. *J. Nat. Prod.* 2004; 67: 953-957.

柒、圖表

Uraria crinita voucher CMU-UC001

(GenBank: JN189714)

18S rRNA

GTAAGGATTGACAGACTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGCGATTTGTCTG
GTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGCTATGTGGAGGTAACCCTCCACGGCCAGCTTCTTAGAGGGACTA
TGGCCGTTTAGGCCACGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTACACTGAT
GTATTCAACGAGTCTATAGCCTTGGCCGACAGGCCCGGGTAATCTTTGAAATTTCATCGTGATGGGGATAGATCATTGCAATTGTT
GGTCTTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCGAGTCATCAGCTCGCGTTGACTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGC
TCCTACCGATTGAATGGTCCGGTGAAGTGTTCGGATTGCGGCGACGTGGGCGGTCCGCTGCCCGCGACGTTGTGAGAAGTCCAC
TGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGT

ITS 1

CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCATGATCTCATCCTCCCCGCGTCGAGGG
GTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAAACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATCCCAAAAATTGTTGA
GTGCGGCCCCCCGGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCCCGTCACCACACACGAAA

5.8S rRNA

AAGAAATGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGA
ATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCATGCCTGCCTGGGTGTCACA

ITS 2

CACTGTTACCCTCACGCAAAGGTCCACCCGTTGGCCGGCGCGTGGCGGTGTACGCTGACCTCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTT
GGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGAGTGCGCCGTGATAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCT
GTCCGATGTGACCCTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTTCTAGCG

26S rRNA

AGACCTCAGGTCAGGCGGGGCTACCCGCTGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTAACAAGGATTCCCTTAGT
AACGGCGAGCGAACCGGGAAGAGCCCACTGTGAGAATCGGTCGCGTTGCGCGTCCGAATTGTAGTCTGGAGAAGCGTCCTCAG
TGGCGGACCGGTCCCAAGTCCCCTGGAAGGGGGCGCCAGAGAGGGTGAGAGCCCCGTTGTGACCGGACCCTGTCGCACCATG
AGGCGCTGTCAGCGAGTCGGGTTGTTTGGGAATGCAGCCCCAATCGGGCGGTAAATTCCGTCCAAGGCTAAATACTGGCGAGA
GACCGATAGCAAACAAGTAATC

圖一、台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*, CMU-UC001) 之分子鑑定

Uraria lagopodoides voucher CMU-UL001

18S rRNA

GTAAGGATTGACAGACTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGCGATTTGTC
TGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGCTATGTGGAGGTAACCCTCCACGGCCAGCTTCTTAGAGGG
ACTATGGCCGTTTAGGCCACGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCGCTA
CACTGATGTATTCAACGAGTCTATAGCCTTGGCCGACAGGCCCGGGTAATCTTTGAAATTTCATCGTGATGGGGATAGATCATT
GCAATTGTTGGTCTTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCGAGTCATCAGCTCGCGTTGACTACGTCCCTGCCCTTTGTACACA
CCGCCCGTCGCTCCTACCGATTGAATGGTCCGGTGAAGTGTTCGGATTGCGGCGACGTGGGCGGTCCGCTGCCCGCGACGTT
GTGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCA
TTGT

ITS 1

CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCATGATCTCATCCTCCCCGAGTCGAG
GGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCCTCCCCTCGACAAACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATACAAAAAATTG
TTGAGTGCGGCCCCGCGGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCTTGTCACCACACACGAAA

5.8S rRNA

AAGAATGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAG
AATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCATGCCTGCCTGGGTGTCACA

ITS 2

CACTGTTACCCTCACGCCTAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGCGTGGCGGTGTACGCTGACCTCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGG
TTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGAGTGCGCCGTGATAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGA
CGCTGTCCGGTGTGACCCTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCTTAGCG

26S rRNA

AGACCTCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGA

圖二、台灣產大葉兔尾草 (*Uraria lagopodoides*, CMU-UL001) 之分子鑑定

Uraria picta voucher CMU-UP002

18S rRNA

GTAAGGATTGACAGACTGAGAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGCGAT
TTGTCTGGTTAATTCCGTTAACGAACGAGACCTCAGCCTGCTAAATAGCTATGTGGAGGTAACCCTCCACGGCCAGCT
TCTTAGAGGGACTATGGCCGTTTAGGCCACGGAAGTTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGG
GCCGCACGCGCGCTACACTGATGTATTCAACGAGTCTATAGCCTTGGCCGACAGGCCCGGGTAATCTTTGAAATTTCAT
CGTGATGGGGATAGATCATTGCAATTGTTGGTCTTCAACGAGGAATTCCTAGTAAGCGCGAGTCATCAGCTCGCGTTG
ACTACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTCCTACCGATTGAATGGTCCGGTGAAGTGTTCGGATTGCGGC
GACGTGGGCGGTCCGCTGCCCGCGACGTTGTGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCGTA
ACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGT

ITS 1

CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCATGATCTCATCCTCCCCGCGT
CGAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAAACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATCC
CAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCCCGGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCCCGTCACCACACACGAAA

5.8S rRNA

GAGAAATGACTCTCGGCAATGGATATCTCGGCTCTTGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAA
TTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCATGCCTGCCT
GGGTGTCACA

ITS 2

CACTGTTACCCTCACGCAAAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGAGTGGCGGTGTACGCTGACCTCCCGCGAGCGGTGTCT
CGTGGTTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGGGTGCGCCGTGATAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGA
TCACGCGCGACGCTGTCCGGTGTGACCCTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCCTAGCG

28S rRNA

AGACCTCAGGT

圖三、台灣產羽葉兔尾草 (*Uraria picta*, CMU-UP002) 之分子鑑定

ITS 1

```
CMU-UC001       CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCAT
UL-JF970604     CGATATCTCGCA-TCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGCTTGGCAT
CMU-UL001       CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCAT
UP-JF769488     CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCAT
CMU-UP002       CGATATCTCGCAATCAGTTTGACCGGCGAACATGTTTATCTGACCCGGCGGGGTTGGCAT
                *********** ************************************ *******

CMU-UC001       GATCTCATCCTCCCCGCGTCGAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAA
UL-JF970604     GATCTCATCCTCCCCGCGTCCAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAA
CMU-UL001       GATCTCATCCTCCCCGAGTCGAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCCTCCCCTCGACAA
UP-JF769488     GATCTCATCCTCCCCGCGTCGAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAA
CMU-UP002       GATCTCATCCTCCCCGCGTCGAGGGGTTGGCACGTGTGCGGCGCGGCTTCCCCTCGACAA
                *************** *** ************************* ************

CMU-UC001       ACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATCCCAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCCC
UL-JF970604     ACACAAACCCCGGCACCTCGTGCGCCAAGGAATACAAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCGC
CMU-UL001       ACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATACAAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCGC
UP-JF769488     ACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATCCCAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCCC
CMU-UP002       ACACAAACCCCGGCGCCTCGTGCGCCAAGGAATCCCAAAAATTGTTGAGTGCGGCCCCCC
                ************** ***************** * ********************** *

CMU-UC001       GGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCCCGTCACCACACACGAAA
UL-JF970604     GGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCTTGTCACCACACACGAAA
CMU-UL001       GGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCTTGTCACCACACACGAAA
UP-JF769488     GGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCCCGTCACCACACACGAA-
CMU-UP002       GGGAGTTGGAGACAACGTCCCGCGGGTCCCGTCACCACACACGAAA
                **************************  **************
```

圖四、Uraria 屬植物之 ITS 1 核酸序列之比較

CMU-UC001：台灣產狗尾草(JN189714)；

UL-JF970604：大葉兔尾草(JF970604)；

CMU-UL001：台灣產大葉兔尾草；

UP-JF769488：羽葉兔尾草(JF769488)；

CMU-UP002：台灣產羽葉兔尾草。

ITS 2

```
CMU-UC001       CACTGTTACCCTCACGCAAAGGTCCACCCGTTGGCCGGCGCGTGGCGGTGTACGCTGACC
UL-JF970604     CACTGTTACCCTCACGCCTAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGCGTGGCGGTGTACGCTGACC
CMU-UL001       CACTGTTACCCTCACGCCTAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGCGTGGCGGTGTACGCTGACC
UP-JF769488     CACTGTTACCCTCACGCAAAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGAGTGGCGGTGTACGCTGACC
CMU-UP002       CACTGTTACCCTCACGCAAAGGTCCACCCGTTGGCCAGCGAGTGGCGGTGTACGCTGACC
                ********** ********** *** **********

CMU-UC001       TCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGAGTGCGCCGTGA
UL-JF970604     TCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTTGGATGAAAATCGAGTTCACGGTCGAGTGCGCCGTGA
CMU-UL001       TCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGAGTGCGCCGTGA
UP-JF769488     TCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGGGTGCGCCGTGA
CMU-UP002       TCCCGCGAGCGGTGTCTCGTGGTTGGTTGAAAATCGAGTTCACGGTCGGGTGCGCCGTGA
                ********** ********** **********

CMU-UC001       TAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCTGTCCGATGTGACC
UL-JF970604     TAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCTGTCCGGTGTGACC
CMU-UL001       TAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCTGTCCGGTGTGACC
UP-JF769488     TAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCTGTCCGGTGTGACC
CMU-UP002       TAAAATGGTGGACGGGCAGATGCCCGAGACCGATCACGCGCGACGCTGTCCGGTGTGACC
                ********** *******

CMU-UC001       CTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTTCTAGCG
UL-JF970604     CTCAGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCTTAGCG
CMU-UL001       CTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCTTAGCG
UP-JF769488     CTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCCTAGCG
CMU-UP002       CTCGGACCCCTGCGGCGTCTTCGGATGCCCTCCTAGCG
                *** ********** *****
```

圖五、Uraria 屬植物之 ITS 2 核酸序列之比較

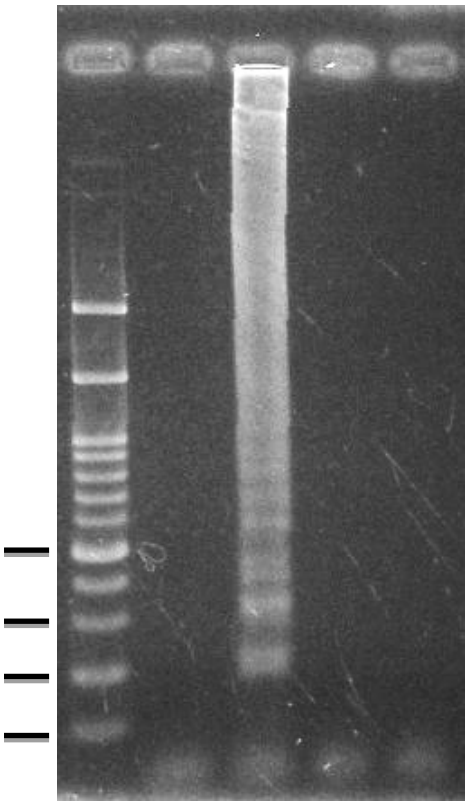
CMU-UC001：台灣產狗尾草(JN189714)；

UL-JF970604：大葉兔尾草(JF970604)；

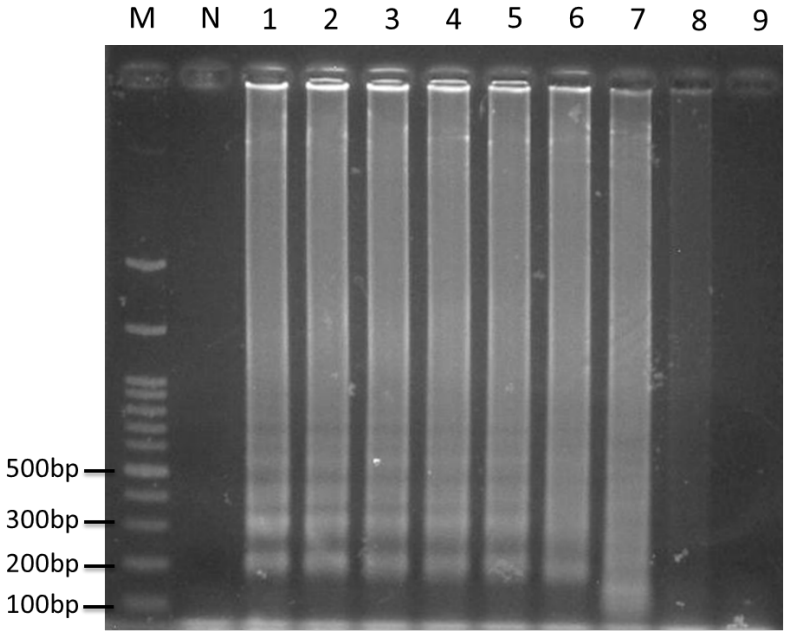
CMU-UL001：台灣產大葉兔尾草；

UP-JF769488：羽葉兔尾草(JF769488)；

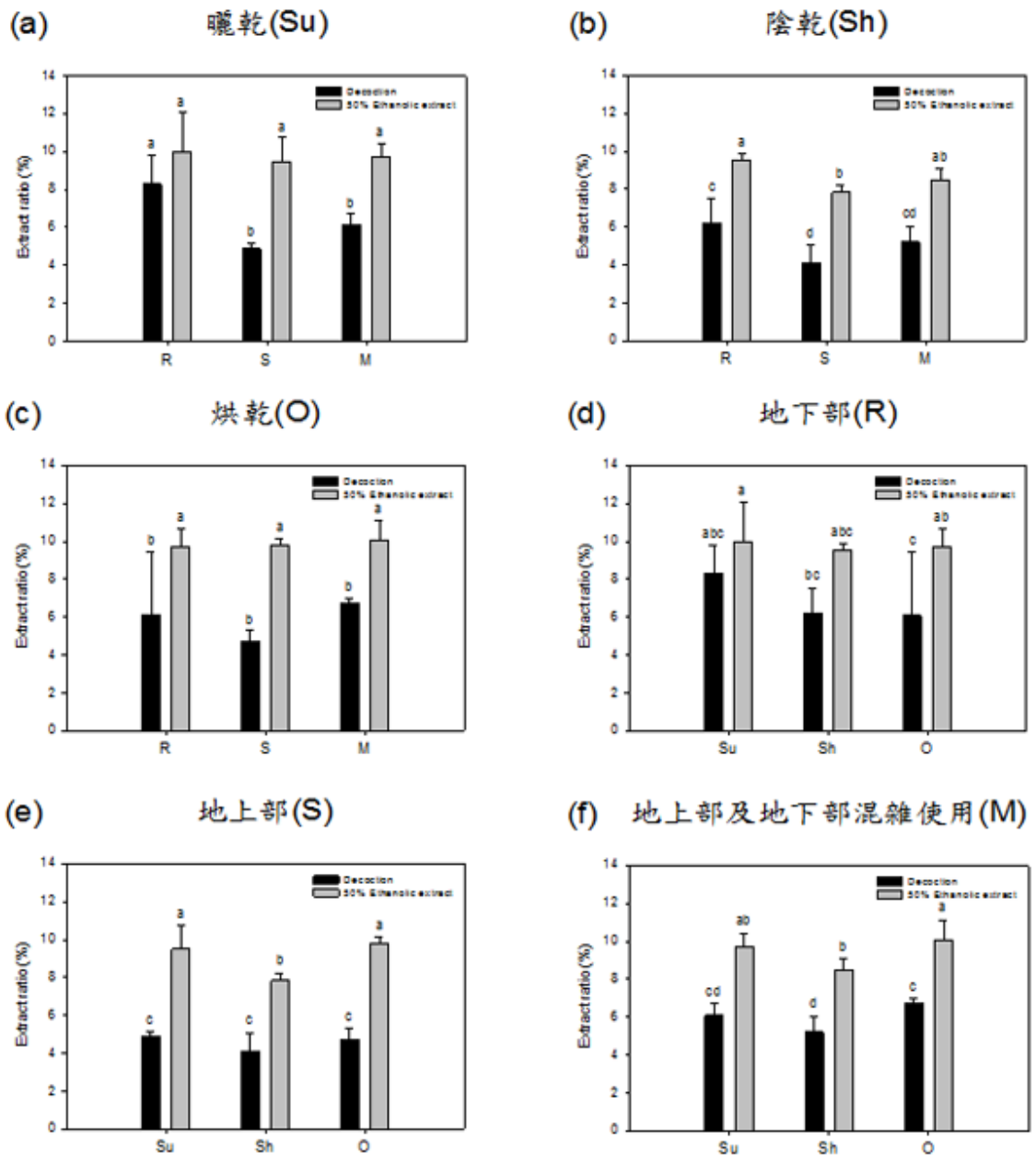
CMU-UP002：台灣產羽葉兔尾草。



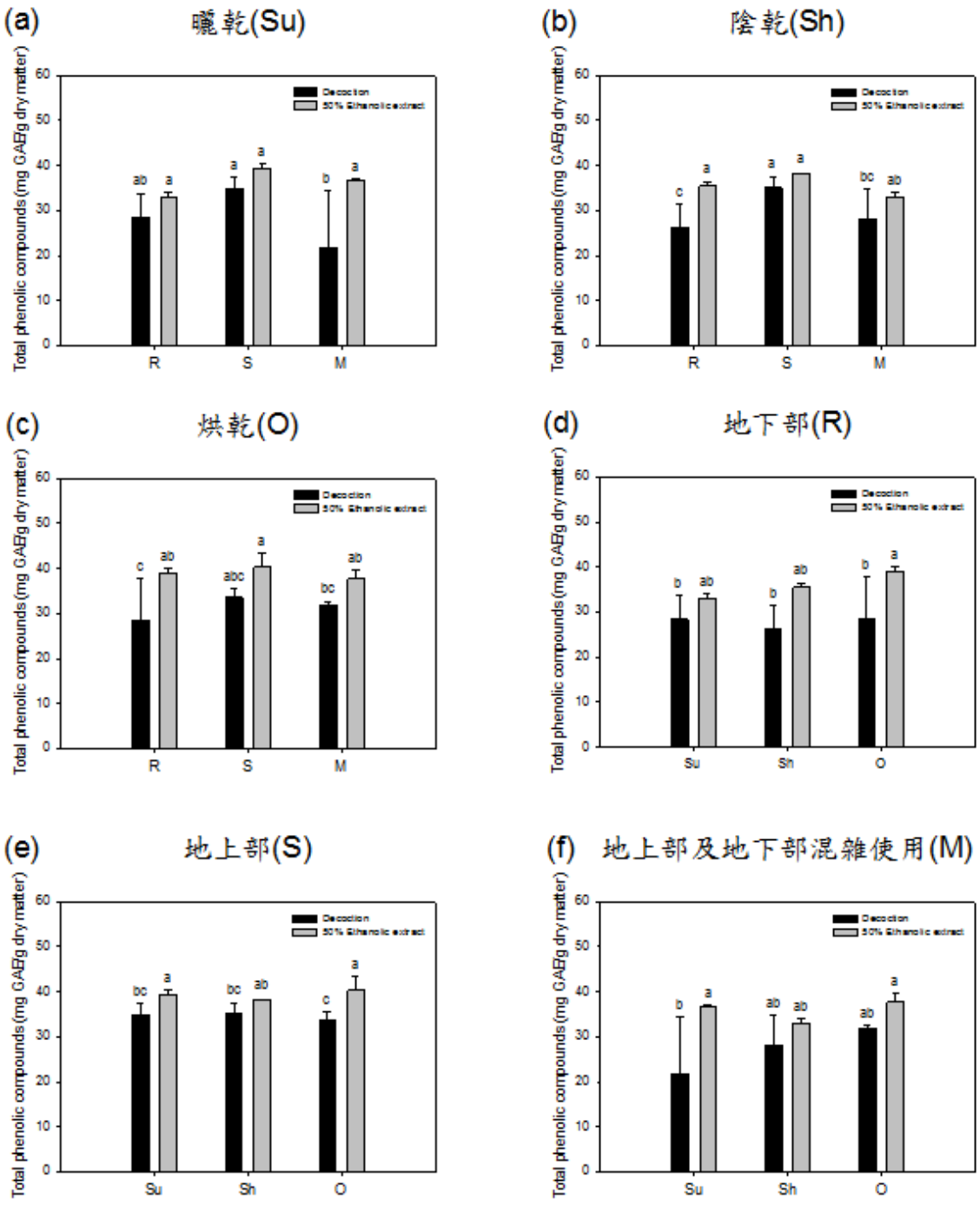
圖六、台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*) 之 LAMP 引子特異性 (Specificity) 分析。M: Marker；N: water control；Lane1: *Uraria crinita* 狗尾草；Lane2: *Uraria lagopodioides* 大葉兔尾草；Lane3: *Uraria picta* 羽葉兔尾草。



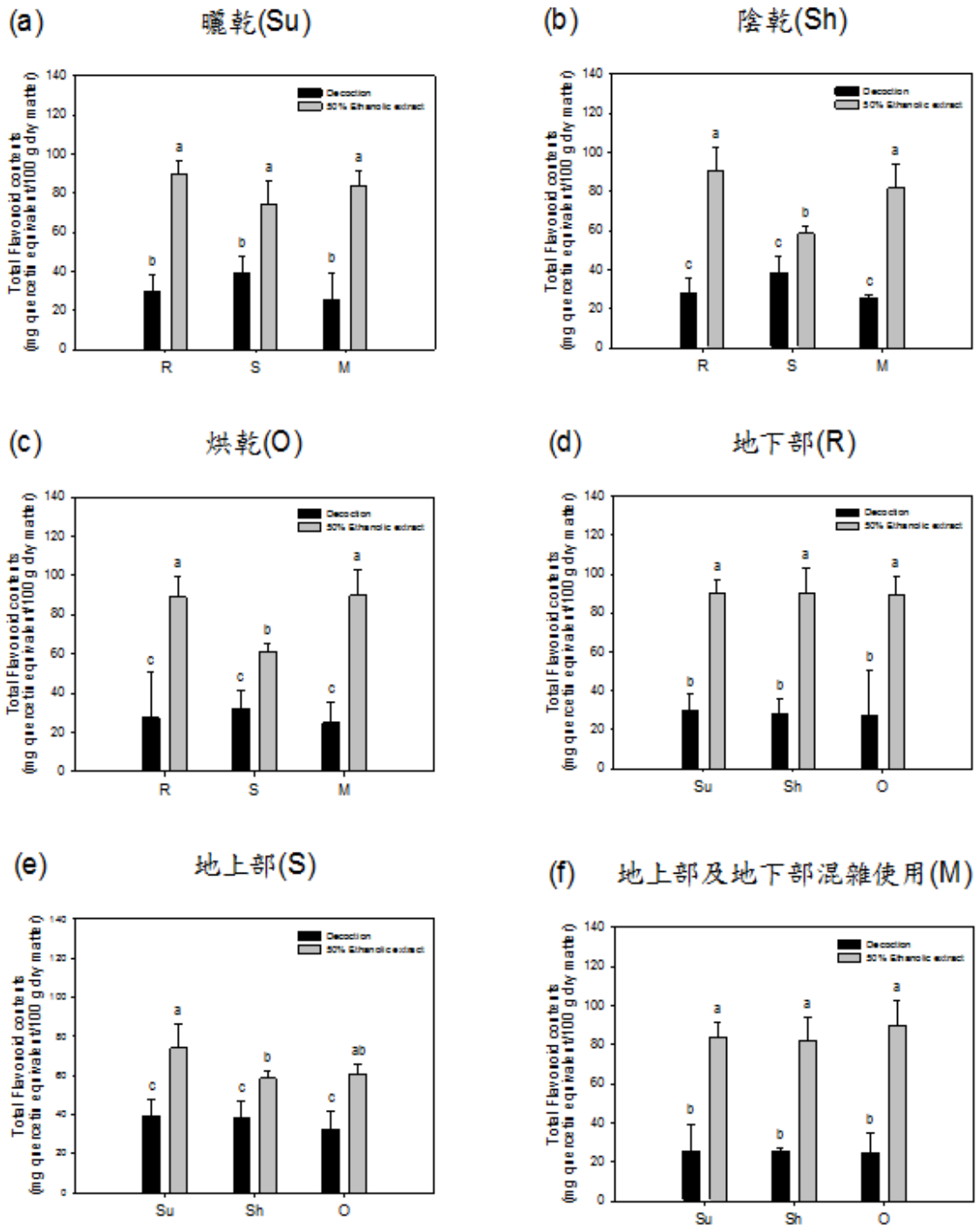
圖七、台灣產狗尾草 (*Uraria crinita*) 之 LAMP 引子靈敏性 (Sensitivity) 分析。M: 1 kb DNA ladder Marker；N: water control；Lane 1-9: 為 *Uraria crinita* 之 Genomic DNA 的加入量，各別為 50 ng、10 ng、1 ng、100 pg、10 pg、1 pg、100 fg、10 fg 和 1 fg。



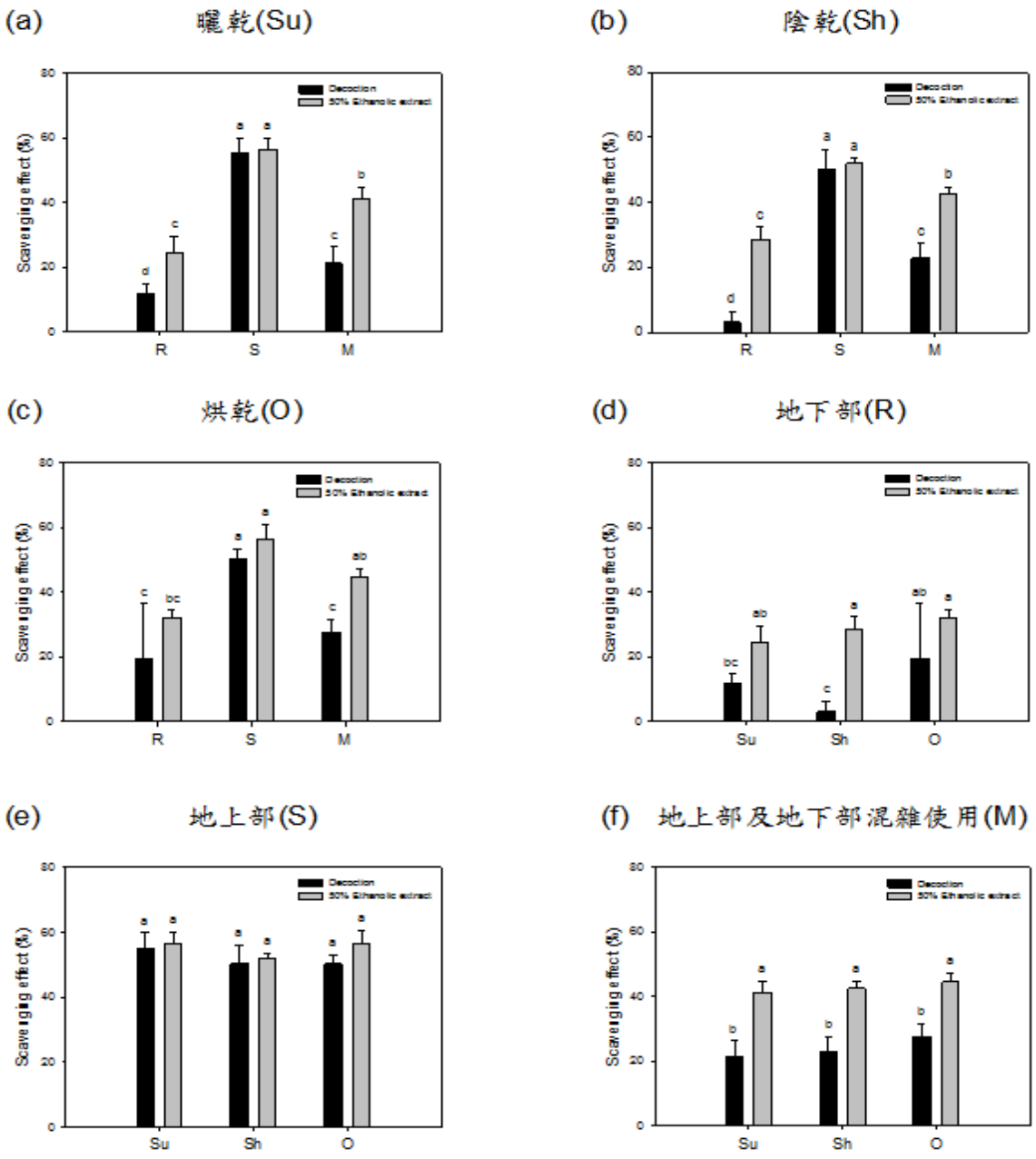
圖八、台灣產狗尾草不同加工炮製條件與採收部位之水及半酒水萃取物之萃取率。Means with different letters are significant differences (P<0.05) by the Duncan's multiple range test.



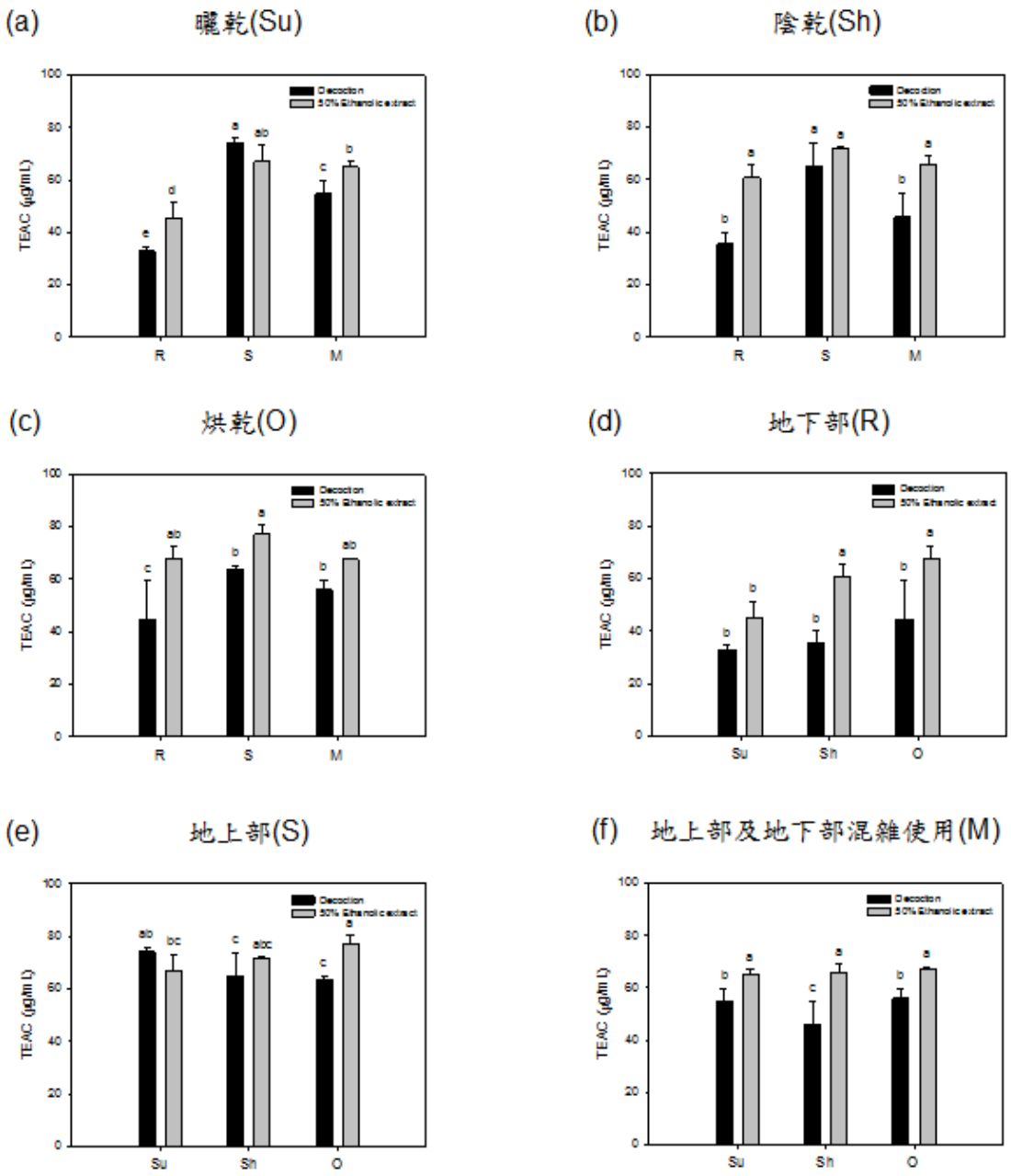
圖九、台灣產狗尾草不同加工炮製條件與採收部位之水及半酒水萃取物中總多酚類之含量。Means with different letters are significant differences ($P<0.05$) by the Duncan's multiple range test.



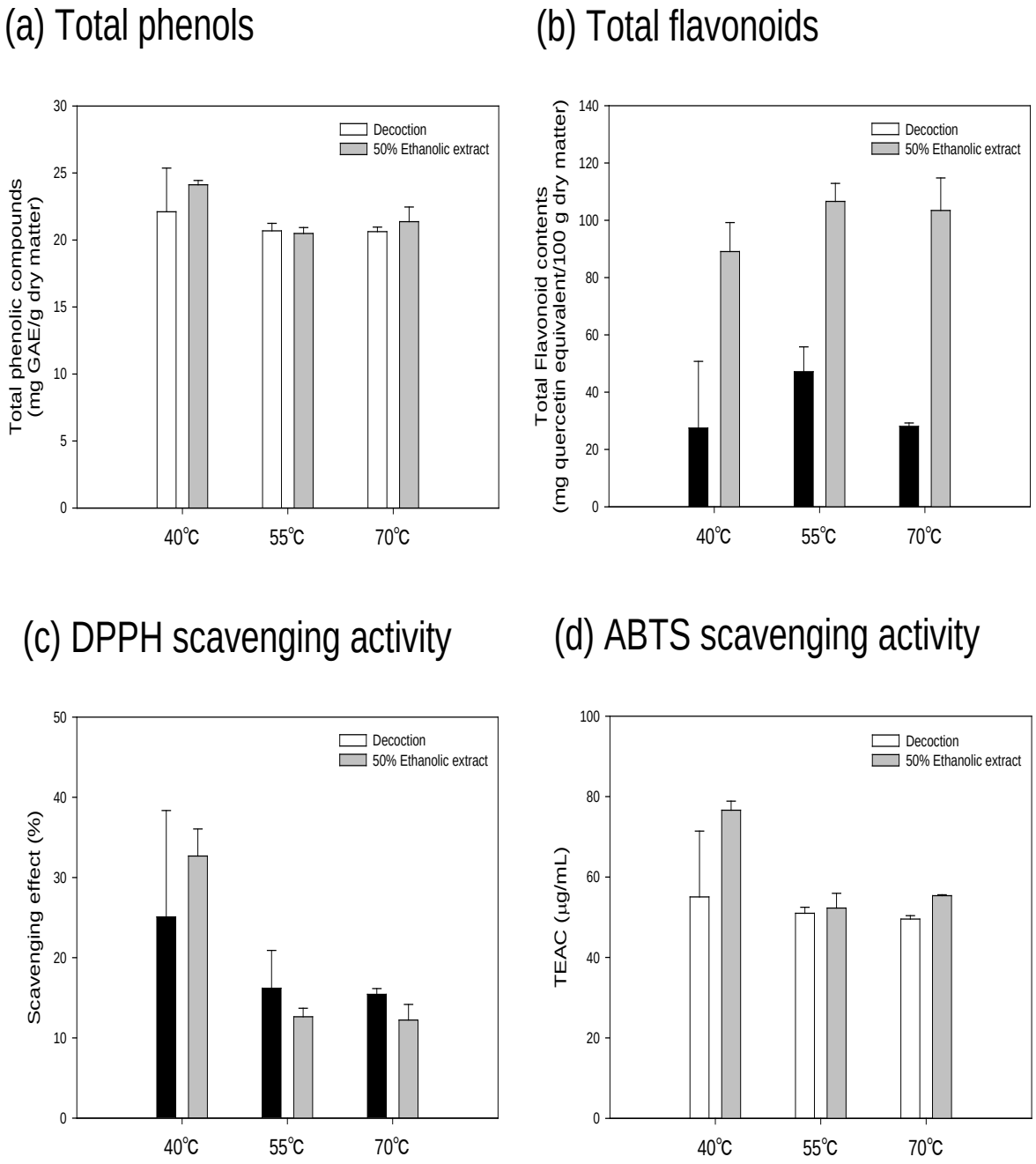
圖十、台灣產狗尾草不同加工炮製條件與採收部位之水及半酒水萃取物中類黃酮之含量。Means with different letters are significant differences ($P<0.05$) by the Duncan's multiple range test.



圖十一、台灣產狗尾草不同加工炮製條件與採收部位之水及半酒水萃取物之DPPH自由基清除能力。Means with different letters are significant differences ($P<0.05$) by the Duncan's multiple range test.

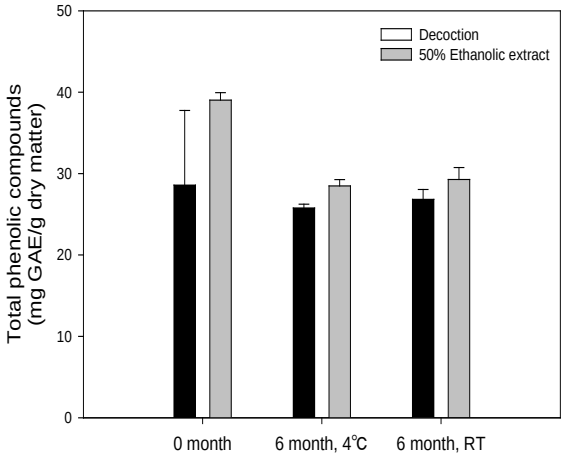


圖十二、台灣產狗尾草不同加工炮製條件與採收部位之水及半酒水萃取物之 Trolox 當量的抗氧化能力。Means with different letters are significant differences (P<0.05) by the Duncan's multiple range test.

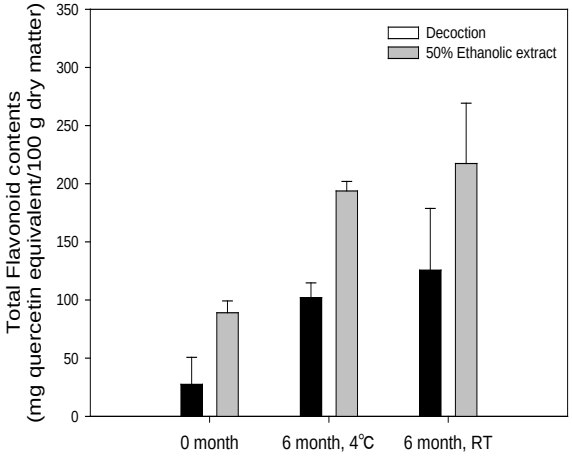


圖十三、不同烘乾溫度對台灣產狗尾草地下部之水及半酒水萃取物的抗氧化能力。(a) 總多酚類含量；(b) 類黃酮含量；(c) DPPH 自由基清除能力；(d) Trolox 當量的抗氧化能力。

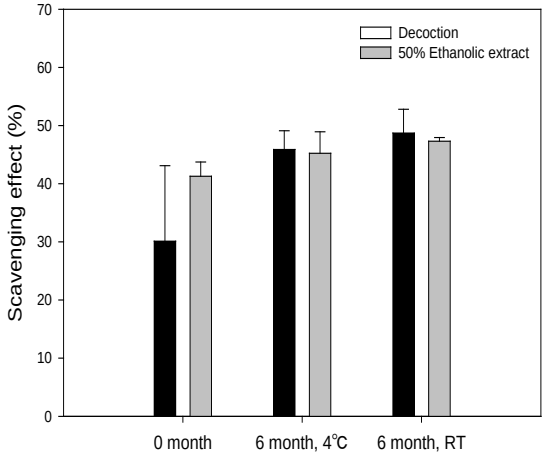
(a) Total phenols



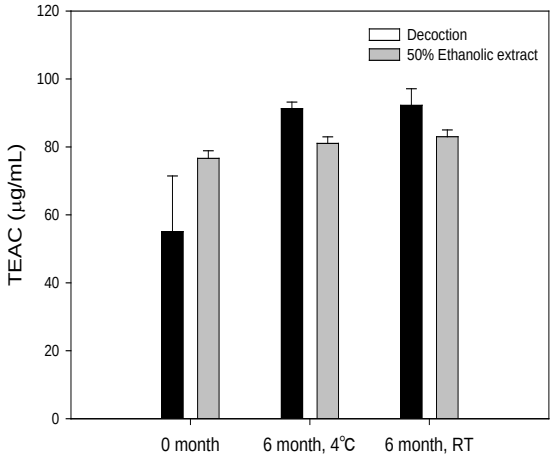
(b) Total flavonoids



(c) DPPH scavenging activity

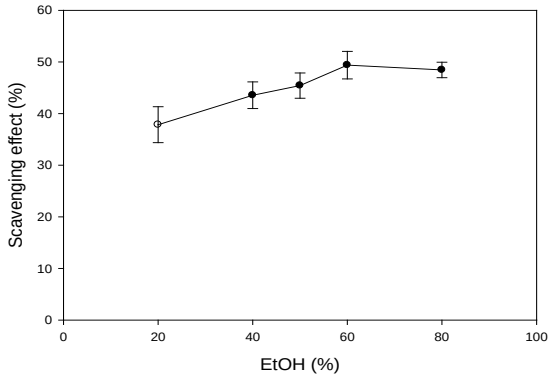


(d) ABTS scavenging activity

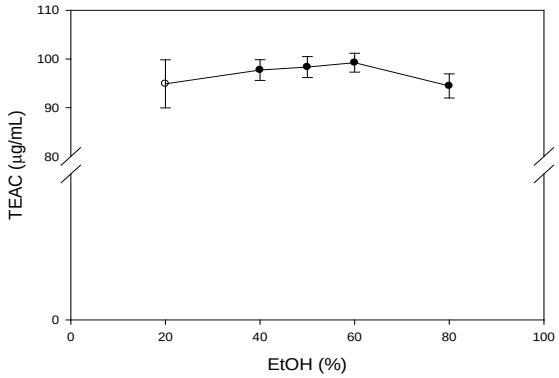


圖十四、不同儲存方式對台灣產狗尾草地下部之水及半酒水萃取物的抗氧化能力。(a) 總多酚類含量；(b) 類黃酮含量；(c) DPPH 自由基清除能力；(d) Trolox 當量的抗氧化能力。

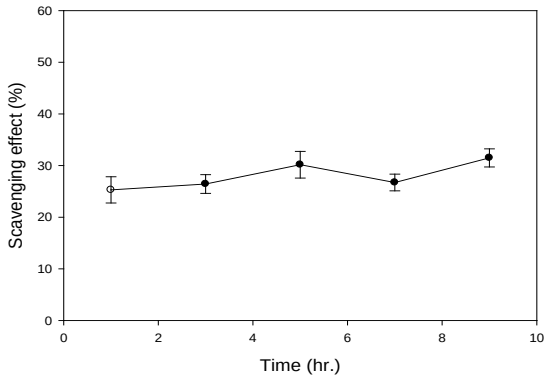
(a) DPPH scavenging activity_60°C, 6h



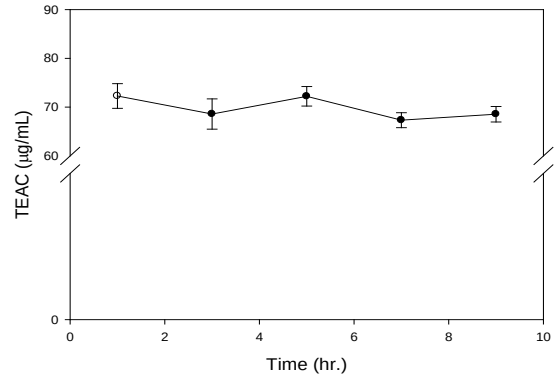
(b) ABTS scavenging activity_60°C, 6h



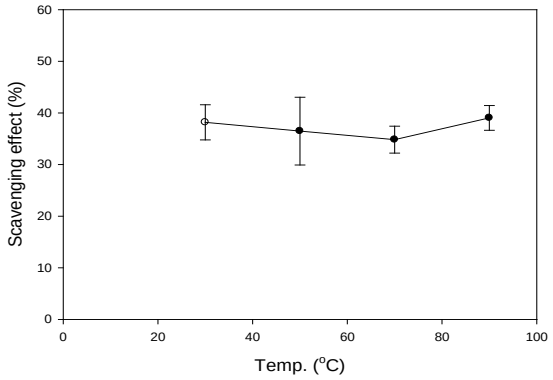
(c) DPPH scavenging activity_60°C, 60% EtOH



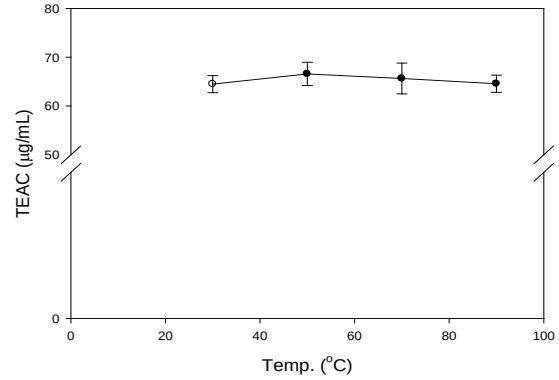
(d) ABTS scavenging activity_60°C, 60% EtOH



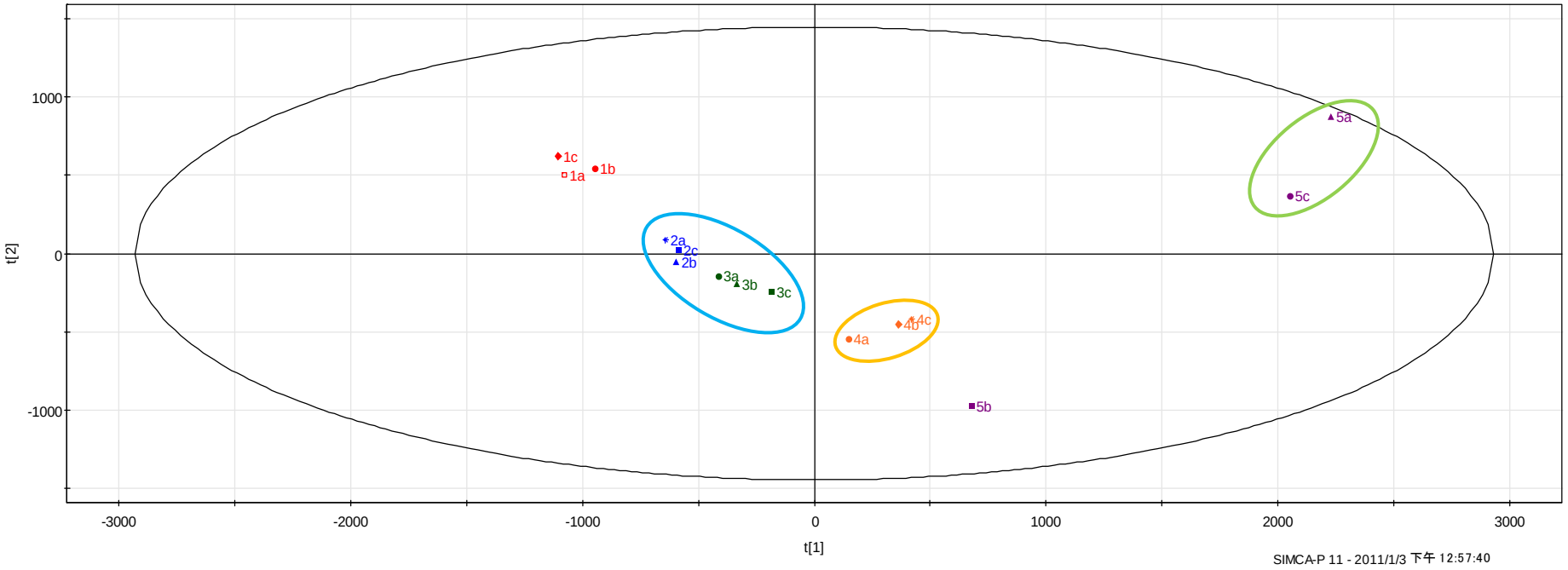
(e) DPPH scavenging activity_60% EtOH, 5h



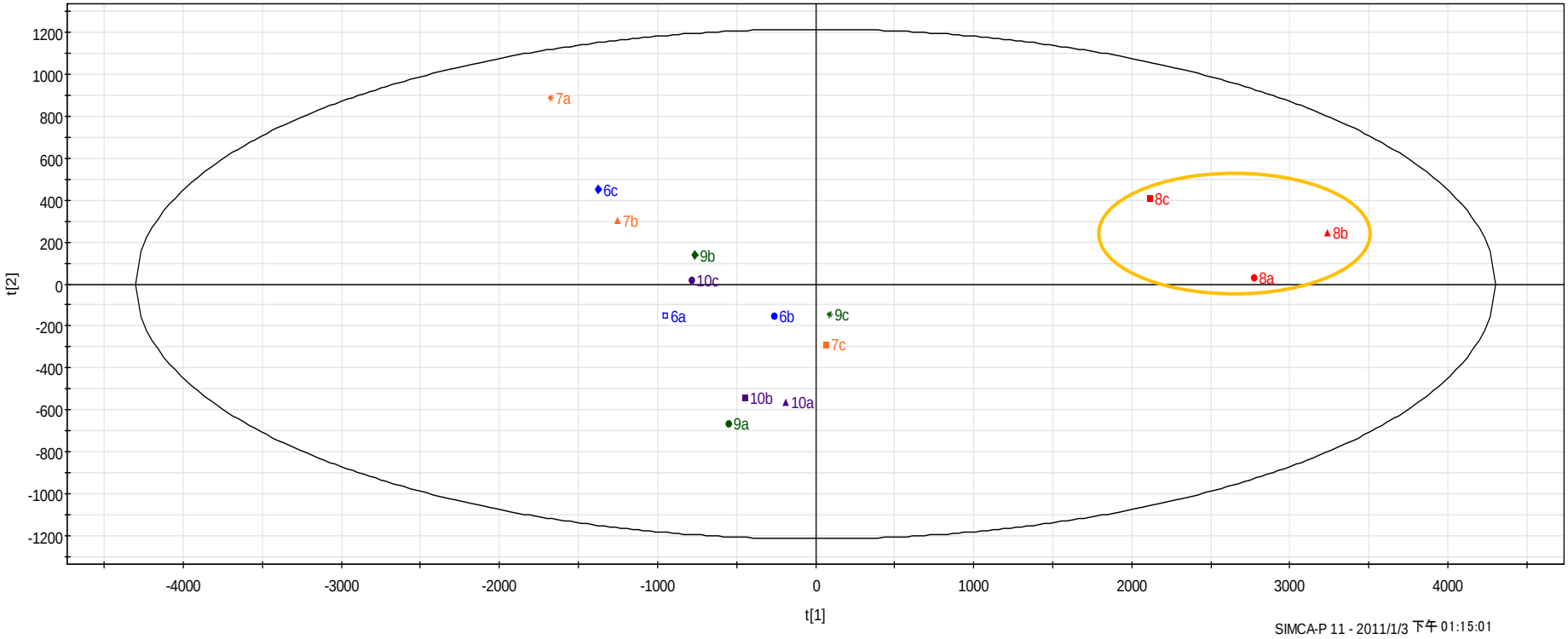
(f) ABTS scavenging activity_60% EtOH, 5h



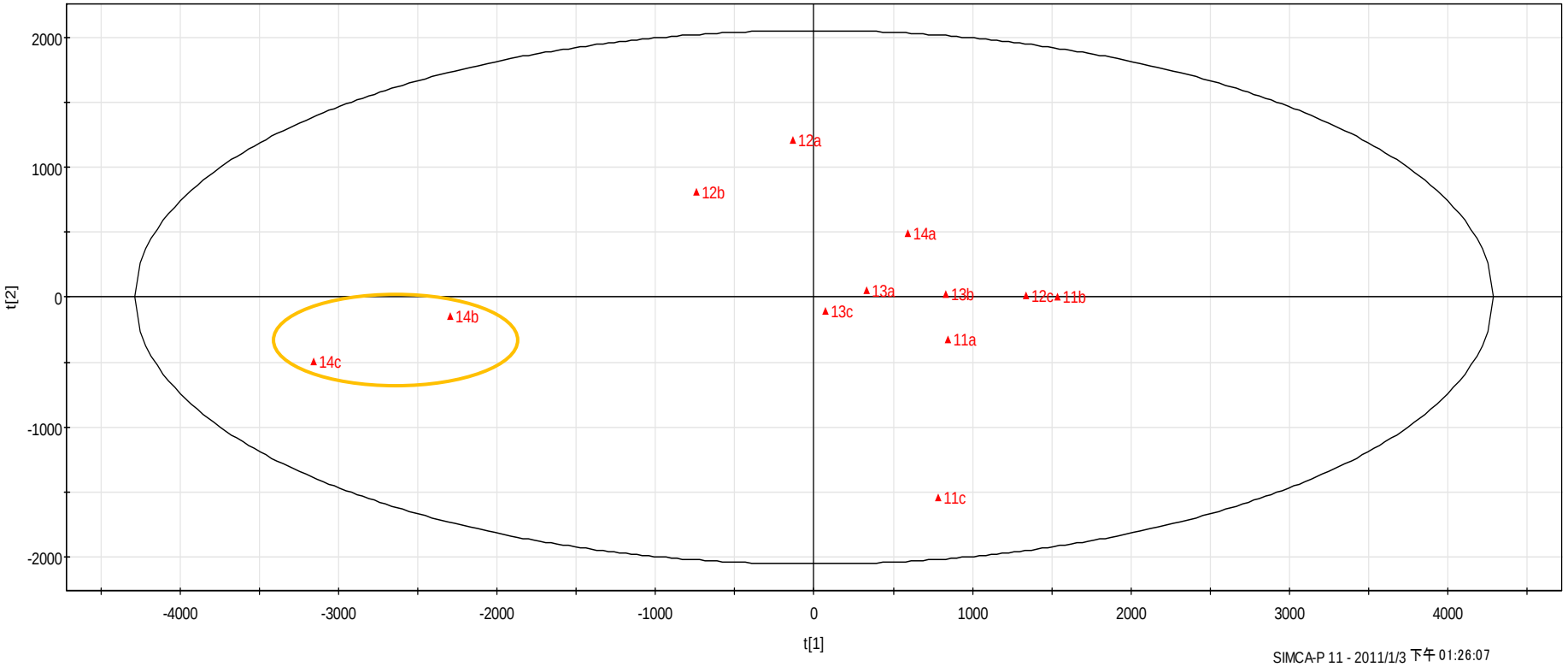
圖十五、不同萃取方法對台灣產狗尾草地下部之 DPPH、ABTS 自由基清除能力的影響。(a), (b) 固定 60℃及加熱 6 小時； (c), (d) 固定 60℃及 60%酒精溶液； (e), (f) 固定 60%酒精溶液及加熱 5 小時。



圖十六、在 60℃、6 小時下不同酒精濃度萃取之狗尾草萃取物 PCA 分析圖。1: 20% EtOH；2: 40% EtOH；3: 50% EtOH；4: 60% EtOH；5: 80% EtOH。每一樣品為三重複。



圖十七、在 60℃、60%酒精下不同萃取時間之狗尾草萃取物 PCA 分析圖。6: 1 小時；7: 3 小時；8: 5 小時；9: 7 小時；10: 9 小時。每一樣品為三重複。



圖十八、在 60%酒精、5 小時下不同萃取溫度之狗尾草萃取物 PCA 分析圖。11: 30℃；12: 50℃；13: 70℃；14: 90℃。每一樣品為三重複。

編號：CCMP99-RD-031

建立電腦虛擬中藥篩選系統及其相關應用研究

曾宇鳳
國立臺灣大學

摘　要

有鑑於過去藥物開發過程須耗費大量的時間、物力以及財力，近年來有越來越多透過電腦模擬技術和演算能力的方法來加速藥物開發的流程。然而，由於此類化學合成的西藥常具有毒性與嚴重的副作用，使得人類對於服用化學藥品產生疑慮，尋找回歸自然具有療效的天然藥物將是目前藥物開發的重要研究趨向。中草藥在世界各國的使用已日趨廣泛，隨著有越來越多中草藥資料庫的建置，如何在種類眾多的中草藥裡進行電腦模擬找出先導化合物，並進一步執行結構優化開發原自於天然結構且具有更強抑制活性的分子已是一件刻不容緩的事情。本研究針對阿茲海默症與糖尿病兩大方向開發中草藥之抑制劑。

本研究針對可用來治療第二型糖尿病的甲型葡萄糖水解酶抑制物與可用於治療阿茲海默症之免疫親和素 FK506 結合蛋白 12(FKBP12)為標靶來發展其抑制劑。藉由從文獻中蒐集的 80 組具甲型葡萄糖酶有抑制力的自然有機化合物及由共同合作者所提供經實驗證實具抑制效果之九種樟科楨楠屬植物葉部萃取物作為訓練集合，以他們的四維結構指紋建立其定量構效關係模型，並使用該模型對天然產物檢索資料庫(DNP)、ZINC 自然產物資料庫以及 TCMD 傳統中藥資料庫進行快速高通量模擬篩選，找出對於甲型葡萄糖水解酶有效之中草藥先導化合物，並利用其蛋白質結構進行模擬嵌合運算，了解其可能之藥物基團(Pharmacophore)位置，最後利用分子動態模擬之結果，建立受體相關之四維定量構效模型進行結構優化以開發出新藥。就開發阿茲海默症藥物的部分，我們利用蛋白質嵌合和分子動態模擬的方法尋找 AICD 在 FK506 結合蛋白 12 的結合位置，接著針對這個位置收集會結合上去的九個分子，其後的計算方法與開發甲型葡萄糖水解酶抑制物類似，並已篩選出可供後續實驗發展之候選中草藥結構。

關鍵詞：中藥、甲型葡萄糖水解酶、FK506 結合蛋白 12、DNP 天然產物檢索資料庫、ZINC 自然產物資料庫、TCMD 傳統中藥資料庫、高通量模擬篩選、四維結構指紋、四維定量構效模型

Number: CCMP99-RD-031

Establishment of Chinese Herbal Virtual Highthroughput Screening System and Its Application

Yufeng Jane Tseng
National Taiwan University

ABSTRACT

In the past, the drug development process costed a lot of time and expenditures. Recently, more and more computational modeling and calculation methods were applyed in the process of drug development and thus made it more efficiency. Because many chemical synthesized compounds have serious toxicity and side-effect, people are afraid to take these western medicines. Searching natural and therapeutic products is a significant trend for drug development. With more and more establishment of the natural product libries, exploring the lead compounds from the high-throughput herbal medicines by in-silico simulation methodology and lead optimization to highly increase inhibition activities of molecules is urgent need. In this study, we will focus on the development of inhibitors for Alzheimer's disease and Type II Diabetes mellitus.

The target in our study focuses on α-Glucosidase in type II diabetes and FKBP12, an immunophilin, in Alzheimer's disease. From the literatures, there are 80 natural organic compounds with the inhibition of α-Glucosidase and the leaves of 9 Machilus philippinensis with the proven inhibition efficiency for training set. Furthermore, 9 compounds with inhibition of FKBP12 inhibitors were also collected. We have constructed their QSAR models using 4D fingerprints and random forest techniques. The features identified by the QSAR models were applied to perform high throughput screening for the DNP, ZINC, and TCMD database. We found out the lead compound candidates of Chinese herbs that work with α-Glucosidase, and simulate their docking with protein structures, and understand the possible position of the pharmacophore. And finally according to the results of molecular dynamic simulation, we built receptor-based 4D-QSAR models to perform lead optimization for new drug exploration. In the part of Alzheimer drug development, we found out the binding site

of FKBP12 with AICD by protein docking and molecular dynamic simulation. The compounds which interact with the binding position were collected using the similar techniques applied to the α-Glucosidase.

Keywords: chinese herbal medicine, α-Glucosidase, FKBP12, DNP, ZINC, TCMD, high throughput screening, 4D-Fingerpints, 4D-QSAR

壹、前言

本計畫目的在建立適合中藥新藥開發之電腦藥物篩選系統，以加速中藥新藥開發。本研究中藥篩選的兩大受體目標為(一)針對可用來治療第二型糖尿病的甲型葡萄糖水解酶抑制物(二)可用於治療阿茲海默症之免疫親和素 FK506 結合蛋白 12(FKBP12)為標靶來發展其抑制劑。

阿茲海默症(Alzheimer's disease，簡稱 AD)為一種神經退化性疾病（neurodegenerative disorder），病徵從早期記憶力的逐漸衰退，到後來連語言、認知等一般必需具備的生活能力都將逐漸喪失[1]。在相關研究中指出，AICD 和免役親和素(immunophilin)FKBP12 有交互作用，而 FKBP12 可能會影響 APP 往增加類澱粉蛋白的方向代謝[2]，在之前的研究中顯示，FKBP12 亦會和 FK506[3] 及 rapamycin[4] 等分子有交互作用。在本計畫中，我們透過二維結構特徵參數(2D-descriptors)的計算對於中草藥的資料庫進行初步篩選，選出可能具有能夠抑制 FKBP12 的化合物，並對於初篩後的化合物進行嵌合(docking)及分子動態模擬(molecular dynamic simulation)等計算，進一步選出其結合力較佳的化合物，做為後續實驗的候選化合物。

本計畫第二大項在探討甲型葡萄糖酶抑制劑 (α-Glucosidase inhibitor)的研發，甲型葡萄糖 酶抑制劑為臨床上一類口服降且糖藥物，用於治療第二型糖尿病[5]，α-Glucosidase inhibitors 代表藥物為 Acarbose[6]，但常有伴有副作用如腹痛、腹瀉、為脹氣等等，目前我們仍需要再開發具有更高活性且不會產生副作用之抑制劑[7]。目前只有少數文獻是利用電腦計算模型來進行甲型葡萄糖酶抑制劑的開發[8-10]。其中最新一篇研究[8]是採用 43 個氧二苯甲酮的衍生物，計算其 38 種各式不同的物理化學參數，利用複線性迴歸(multiple linear regression)方法來建立定量構效關係模型，但迴歸模型去除離均值(outlier)後僅使用 33 個樣本為訓練集合，其分子間結構相似度過高，仍不足以進行廣泛的高通量篩選，這樣篩選出來的結構所具有的一般性較低，我們擬從文獻中大量搜集所有可用具高活性之甲型葡萄糖酶抑制劑重新開發一套定量構效關係模型，以找尋具有開發潛力的新抑制劑。

貳、材料與方法

一、材料

本計畫，我們已搜集了三大中草藥資料庫用來進行高通量虛擬篩選，而目前最大可取得之天然化學結構資料庫是來自於 Chapman &Hall/CRC 的天然產物檢索資料庫(DNP, Dictionary of Nature Products)[11]。此資料庫經下載共包含有 203615 個天然化學結構，其資源包含化學名、俗名、結構、CAS 編號及其它物理化學性質。另外，我們也已從 ZINC 所提供的資料庫中下載了 89425 個自然有機化合物 [12]。第三項資料庫為傳統中藥資料庫(TCMD, Traditional Chinese Medicine Database)[13]，是從 1800 多篇中英文書籍與研究論文中所收集，一共 3897 筆從中草藥分離出來的化合物。

(一)阿茲海默症：

另外，針對阿茲海默症中的 FKBP12 這個標的，我們從相關的文獻中 [14-16]，收集九個已知會和 FKBP12 有良好的抑制或結合力的化合物(如圖一所示)。

針對這九個 FKBP12 的抑制劑及上述三個中草藥資料庫中的所有化合物用 PaDEL-Descriptor 這套軟體 [17] 做二維結構特徵參數(2D-descriptors)的計算，每個化合物會得到 663 個特徵參數值用以代表該化合物的結構或物化性質，這九個 FKBP12 的抑制劑的每一個都和資料庫中的每筆化合物兩兩的的計算其相關係數，相關係數的公式如下：

$$\rho_{X,Y} = \operatorname{corr}(X,Y) = \frac{\operatorname{cov}(X,Y)}{\sigma_X \sigma_Y} = \frac{E[(X-\mu_X)(Y-\mu_Y)]}{\sigma_X \sigma_Y}$$

也就是我們將一個 FKBP12 抑制劑的特徵參數值的集合視為一個 X 母體，中草藥資料庫中的任一化合物的特徵參數值的集合視為一個 Y 母體，若兩者間的相關係數值越高，表示兩者間應該具有較為相近的結構或是物化性質，也就是越可能具有和 FKBP12 結合能力。

針對每個 FKBP12 抑制劑，我們都從中草藥資料庫中選出和其相關係數最高的 200 個化合物，所以經過這樣的篩選後我們可以得到 1800 個(200*9 = 1800)初篩的化合物，接著再針對這 1800 個化合物透過其重複出現的次數及其相關係數進行排名，得到分數較高的化合物，做為初篩結果之候選化合物。

(二)甲型葡萄糖水解酶抑制劑：

我們從文獻中已蒐集了九大類已由實驗證實具甲型葡萄糖水解酶有抑制潛力的自然產物，作為我們後續要用來進行定量構效

關係法的資料來源，其中包括:薑黃萃取物(curcuminoids)及其類似物(curcumin analogs)[6]、來自克利巴椰子(*Syagrus romanzoffiana*)種子萃取物[18]、海棉生物 (marine sponges)的萃取結構[19]、刺桑萃取之氧二苯甲酮(xanthone)衍生物[8]、構樹(Broussonetia papyrifera)萃取物[20]、穿心蓮(andrographis paniculata)萃取物及其衍生物[21]、山藥(Chinese Yam)萃取物[22]、枇杷(loquat)與綠茶葉混合之萃取物[23]、豆渣(okara)萃取物[24]。薑黃(*Curcuma longa Linn.*, turmeric)是一種廣泛被種植在熱帶亞洲的藥用植物，蒐集到的相關結構包括:(1)自然薑黃的主結構 (2)demethoxycurcumin 和 bisdemethoxycurcumin，分別為來自薑黃的次要結構 (3)其它 27 種合成出來的衍生物，其中有 17 種結構實驗出為具有潛力的甲型葡萄糖 酶抑制劑作為我們的訓練集合。克利巴椰子為棕櫚科，別名為女王椰子，是一種相當常見被種植在街道和花園裡的植物，我們採用此植物分離出來的七種 stilbenoids 結構,經實驗測試皆具有高度甲型葡萄糖 酶的抑制活性(IC_{50}<25.0μM)。第三類配體資料為 1,4-dideoxy-1,4-imino-D-arabinitol，此化合物是來自於海棉生物的萃取結構，在 2007 年被研究出具有高強度的甲型葡萄糖 酶抑制效果。第四類氧二苯甲酮衍生物，此結構被證實為廣泛來自於自然界中的有機化合物，其中一種為刺桑(*Cudrania tricuspidata*)，我們蒐集了來自於文獻中 50 種針對甲型葡萄糖酶已有抑制活性資料(IC_{50})的結構進行定量構效關係計算。第五類為來自構樹之萃取物，構樹是一種著名具有多酚(polyphenol)的植物，經實驗證實其中 12 種被分離出來的結構具有甲型葡萄糖酶抑制效果。第六類為常用之中藥材穿心蓮，其萃取物已被得知具有廣泛的生物活性，如抗菌性、抗發炎性、肝臟保護性、抗癌能力等，其中 13 種分離物具有甲型葡萄糖酶抑制活性。第七類為來自山藥根莖萃取物，三種具有甲型葡萄糖酶抑制活性的結構亦作為我們的訓練集合。第八類是從枇杷和綠茶葉混合之萃取結構，我們採用了四個經實驗具有高度甲型葡萄糖酶抑制活性的結構。最後一類為來自於豆渣分離出來的 1-deoxynojirimycin(DNJ)結構，亦具有高度的活性。除從文獻中所取得之資料外，本計畫另外採取由共同合作實驗室所提供之二種樟科楨楠屬植物之葉部萃取物進行降血糖活性試驗的篩選，以甲型葡萄糖水解酶之抑制活性測試結果初步發現，菲律賓楠(*Machilus philippinensis*)之乙醇萃取物經由溶劑分配萃取後，具有抑制甲型葡萄糖活性之成分，部分活性成分已發現為 acylrhamnosyl flavonol，此可作為一組重要的配體結構資訊。以上

共 110 種具有高度甲型葡萄糖酶抑制活性的結構作為我們的訓練集合，我們將以此集合來建立定量構效關係模型。

二、方法

(一)配體結構為主的快速篩選

我們採用以配體結構為主的快速篩選方式作為新中草藥開發的第一步。定量構效關係法一般都是藉由分類和迴歸兩大方法來針對已知有活性和沒活性的分子來進行建置，而過去這些系統都是建立在以二維或三維結構的特徵基礎上。雖然三維定量構效關係比二維定量構效關係法提供了更有力的資訊，此方法仍有存在一些侷限性，主要是對化合物活性構形的確認，任何細小的誤差皆可能產生不同的結果。我們將導入四維結構指紋(4D-Fingerprints)的資訊來建構一個經由迴歸方法計算出來之定量構效關係模型，作為虛擬高通量篩選的機制。

1. 四維結構指紋

四維結構指紋技術的核心概念是產生一系列具有分子構形變化的資訊、藥效基團資訊、大小和化學結構資訊集合而成的分子指紋[25]。利用分子動態模擬的技術來搜集出在不同時間上各式具有不同型態的構形，再依據影響藥物作用的官能基團，可將每個分子的基團分類成以下的屬性，稱之為交互作用藥效基團原素(IPEs ,interaction pharmacophore elements)，其中包含任意型態的原子(All)、非極性的原子(NP)、帶正或負電的極性原子(PP/PN)、氫鍵受體(HBA)、氫鍵施體(HBD)、芳香族的原子(A)以及非氫原子(HS)，共七種型態。接著對分子結構中每一種可以配對之藥效基團原素計算出距離，再綜合了熱力學觀點對出現機率高的分子給予較高的數值統計以及計算了每一對原子間的距離數值，使得此計算隱含了分子結構穩定時的結構大小、外型與構形的柔韌度(flexibility)等特性。最後將距離矩陣進行對角化並計算出所有特徵向量的特徵值，以這些特徵值作為該分子的四維結構指紋。因此我們可以用分子的特徵值比較分子之間的相似度，進而分析分子結構與活性之間的關係，其計算流程如圖二所示。

2. 虛擬高通量篩選法-利用四維結構指紋

以四維結構指紋，建立一套量化構效模型來進行虛擬篩選，經由電腦模擬分析一系列來自於天然界的化學結構，已知具有不同程度與甲型葡萄糖酶具結合能力，找出其共通性來決定與受體間的構效關系，以進行化合物結構與活性的預測。我們採

用很常用來建立構定量構效模型的隨機森林(Random Forest, RF)演算法[26]，對四維結構指紋及抑制百分之五十之濃度值(IC_{50})來進行資料擬合(fitting)，此方法是以決策樹(Decision Tree, DT)為計算基礎，能夠有效於應用在大量的資料變數上，且可估計其各變數的重要性，因此建立後的模組可以對每一顆決策樹進行詮釋以找出後續欲進行之高通量篩選規則。在構效關係模式建置後，即可辨識出有用之結構特徵規則來查詢大量的天然中草藥資料庫，尋找符合這些藥效集團具有抑制活性潛力的其它天然草藥結構。此外，四維結構指紋的每一項特徵值皆可易於關聯至結構特徵上的來進行解釋和討論，我們可利用構效關係模式所計算出來的各項重要指紋歸納出具有抑制能力的結構該有哪些重要結構特徵，以提供日後其它實驗室在設計合成抑制劑時進行優化的一項參考依據。

(二)配體及受體之結合作用模擬

在經過了虛擬高通量篩選之後，為了更進一步確認所篩選出的化合物是否和受體具有結合活性，也為了了解配體在結合時的位置以及可能的藥效基團(Pharmacophore)，我們利用了蛋白質嵌合(Protein Docking)和分子動態模擬(Molecular Dynamics Simulation)的方式來進行配體受體之結合作用模擬。

1. 蛋白質嵌合(Protein Docking)

蛋白質嵌合的目的為預測當小分子和大分子結合時，其可能之結合位(Binding Site)。主要做法是利用基因演算法來尋找配體-受體間能量達到最小的位置。我們使用的軟體為 Autodock Vina[27]。Autodock Vina 可以快速的去尋找配體在受體附近可能的結合位置以及結合姿勢(Docking Pose)，以大致了解結合位置及可能藥物基團(Pharmacophore)。

2. 分子動態模擬(Molecular Dynamic Simulation, MDS)

分子動態模擬為模擬分子在一段時間之內其構形和能量的動態變化。我們所使用的分子動態模擬軟體為 Gromacs[28]。Gromacs 藉由原子間的庫侖靜電力、凡德瓦力的計算，可以算出原子在特定時間應受的力以及能量和速度，而計算出在連續的時間中結構和能量的變化情形。而分子動態模擬除了可以更準確的了解受體配體間的結合型式和受體的藥物基團外。在之後的受體相關之四維定量構效模型(RD-4D-QSAR)建立之時，也利用了分子動態模擬來形成三維構型的取樣。

3. 受體相關之四維定量構效模型(RD-4D-QSAR)

了解相關抑制劑和蛋白質之間是如何結合而產生交互作用是藥物設計中重要的一環。抑制劑分子雖然結構上各有不同，但皆會和蛋白質存在某些程度的結合模式，我們利用受體相關之四維定量構效模型(4D-QSAR)的方法[29, 30]，評估一系列抑制劑分子的結構與目標蛋白質之間結合的相似特徵，並藉由分析相關抑制劑分子結構組成的骨架與抑制劑分子重要的官能基團，可以歸納出抑制劑分子結構的組成以及相關抑制劑與目標蛋白質之間結合的關係。在 4D-QSAR 的演算法中，可以求出配體空間上的構形和相對於受體的空間位置分析。以下是 RD-4D-QSAR 演算法的流程簡介。

(1)分子嵌合和動態模擬。利用前述的分子嵌合和動態模擬方式，取得在一段時間之內的受體配體結合物的構形動態。

(2)分子座標排比。在得到構形動態後，因為我們需要所有的分子構形在同一個座標系中，才有辦法進行後續格點分析的比較。因為我們會手動在每個分子中選擇三個原子，分別代表(A)原點(B)X軸方向(C)Y軸方向(Z軸方向則由XY軸的外積決定)，來進行座標線性轉換，以達到座標系統的統一。

(3)元素屬性的指配。將蛋白質與配體中的所有原子加上 IPEs (Interaction Pharmacophore Element, IPE) 的屬性描述。其描述的定義如下：(a)任意原子(*any*)；(b)非極性原子(*np*)；(c)帶正電的極性原子(p^+)；(d)帶負電的極性原子(p^-)；(e)氫鍵施體(*hba*)；(f)氫鍵受體(*hbd*)；(g) 芳香烴原子(*ar*)。透過 IPEs 屬性的描述，可以將蛋白質受體和配體交互作用的屬性進行分類。

(4)格點分析法，在圖三中，根據步驟 2 的排比結果，將每個配體與蛋白質受體的構形置於解析度為 1 Å 的格子中，一系列排比構形的集合對應至同一網格空間後，針對每一種 IPE 屬性在每個格子點上被佔據到空間的數值經過正規化，這些數值被採用為 RD-4D-QSAR 的自變量，稱之為 GCODs (grid cell occupancy descriptors)

(5)局部格子點的產生與子區域的分割。以圖四為例，網格中以 GCOD 對應到配位基與受體的構形，透過選出顯著具代表性的 GCOD，我們可以建立出四維活性結構的關係模型。然而，可能因為配體或蛋白質受體交互作用而誘導所產生的構形變化或受體可能有異位調控的效應，使得系統可能得到許多高度相關的 GCODs 造成產生數量眾多且具有相似重要性的

QSAR 模型，而提高了驗證和解釋上的複雜度。為了解決此問題，一開始須將範圍縮小在局部的格子點上，也就是受體結合位置的中心，而非對於整個複體，如此可提供探討在局部結合位置上的可能性。這種產生局部網格的方式和之前受體的修飾過程是相似的，即定義各式的立方體範圍在所要的局部網格點上來建置相對應的 RD-4D-QSAR 模型，並將這些經不同立方體限制產生出來不同的模型彼此依照其相對的重要性分析來進行排序。

(6)部分最小平方(Partial Least-Square,PLS)迴歸分析。透過 PLS 的方法，從整個立方體範圍內的網格所計算出來的 GCODs 篩選出權重較高的 GCOD 值。在 RD-4D-QSAR 的方法中利用 PLS 來進行資料簡化的作法如同在 RI-4D-QSAR 的分析中一樣。

(7)RD-4D-QSAR 模型的建置/GFA-MLR-GFA。在一個特定立方體中，經過 PLS 分析得到的 GCOD 描述值排序最優先的前 N 名將被選取出來，集合成一試驗特徵值組合，再將這組特徵值作為基底，利用 GFA 作最佳化。在 GFA 進行最佳化時，將會結合活性的量測值與函數，使用相關係數 r^2 和逐一剔除交叉相關系數 q^2(leave-one-out cross-validatoin)，進而分析建立出來的 QSAR 模型。並藉由 MLR backward elimination 排除步驟，刪除經過 GFA 最佳化後卻較不相關的 GCOD 特徵值。此方法特別常應用在排除訓練集合中自變數與應變數間假的關係。然而 MLR backward elimination 排除步驟的一大缺點為容易產生過度適配(overfit)的模型。為了得到正確的模型，接著引用 MLR backward elimination 得到的 GCODs 再進行 GFA 一次。經過第二次 GFA 最佳化，可得到新的 q^2 與新的 CGOD 數目，若是增加 GCOD 的數目而 q^2 卻維持穩定不變值的時候，則可視為最佳模型。這種多重步驟最佳化的以達到最佳化模型的建立，我們稱之為 GFA-MLR-GFA model building.

(8)活性構形。在 RD-4D-QSAR 分析的最後一步驟，須假設存在一個有活性且能量最低的的配體和蛋白質結合的構形。各構形在全域最低點的能量定為 ΔE，設 ΔE 的值為 2 kcal/mol。對所有配位基與蛋白質的構形進行採樣，若構形的能量 ΔE 小於 2 kcal/mol 範圍內，則形成的構形集合也就作為化合物

的最優能量的構形集合。在此構形集合中，挑選出預測活性能力最高的構形，做為此化合物與受體結合時作用的構形。

參、結果與討論

一、阿茲海默症

經由二維結構特徵參數值計算其與 FKBP12 之抑制劑相關係數等步驟後，我們已經得到排名較高的中草藥化合物，圖五列舉 6 個候選化合物做為初篩結果的例子。

從圖五所列舉的分子結構中，我們發現他們多半具有帶負電的氧原子和由多個環（或經由雙鍵與單鍵交錯摺疊出類似構形，如圖五(4)和(5))所構成，這樣的特性和圖一所列之 FKBP12 的抑制劑具有雷同的性質，另外，由於 FK506(圖一(8))和 rapamycin(圖一(9)）為巨環分子，經由這樣電腦輔助的初篩過程後，我們發現有些中草藥也會形成類似的結構(如圖五(4)，而後針對這些中草藥的候選化合物我們也進行更進一步篩選和確認工作。

(一)蛋白質嵌合及分子動態模擬技術進行結合力估算

為了從初篩的化合物中找出與 FKBP12 結合力較佳的化合物，我們針對初篩後的化合物進行蛋白質嵌合(docking)及分子動態模擬(molecular dynamic simulation)的計算，圖六為 FKBP12 和 FK506 之結晶結構，從過去的文獻 [31] 中得知，FK506 會和 FKBP12 上的 Tyr26、Phe36、Asp37、Arg42、Phe46、Phe48、Glu54、Ile56、Trp59、Tyr82、His87 和 Phe99 有交互作用力。

接著，我們針對 FK506 在 FKBP12 結合的相對位置進行其他初篩分子結合的蛋白質嵌合計算，得到進行分子動態模擬前的結合位置與構形，對於 FKBP12 與這些分子形成的化合物於水溶液中進行 500 ns 的模擬計算，以達到最後能量的穩定，圖七列出四個估算出結合能量較低的四個化合物，其與 FKBP12 之間的相對的位置與構形和具有相關作用力的胺基酸。從圖七中我們可觀察到，原本和 FK506 有作用力的胺基酸，對於這些化合物都有一定比例會和該化合物有交互作用，其中又以 Tyr82 及 His87 兩個胺基酸所提供的氫鍵作用力猶為顯著，其他如：Glu54 和 Asp37 等胺基酸對於這些中草藥化合物的結合也提供一定程度的貢獻。

我們亦將不同的化合物進行局部的組裝與修飾，如圖八所示，我們分別取出部分的 LCL737 和 752，而後重新組裝，再將分子進行如同上述的實驗步驟，包括：蛋白值嵌合及分子動態模擬等過程，從結果可發現，該分子對於 FKBP12 仍有一定的結合力，相較於之前分子的結合位置，該分子結合的位置更深入 FKBP12 的結合位置(binding site)，因此從胺基酸的所提供的作用力來分析，雖然沒有發現之前常見的 Tyr82 和 His87 所提供的氫鍵，但較深層

的胺基酸，如：Trp59 及 Glu54 亦提供類似的作用力，而維持該分子與 FKBP12 結合的作用力。

二、甲型葡萄糖水解酶抑制劑

(一)搜集甲型葡萄糖水解酶抑制劑訓練集合

我們已經從大量的文獻中，取得最新經實驗證實具有高度甲型葡萄糖水解酶抑制活性的自然產物結構，總計有 110 個分子結構，來自於九種不同的來源，包括: 薑黃萃取物及其類似物、來自克利巴椰子種子萃取物、海棉生物的萃取結構、刺桑萃取之氧二苯甲酮衍生物、構樹萃取物、穿心蓮萃取物及其衍生物、山藥萃取物、枇杷與綠茶葉混合之萃取物、豆渣萃取物。其抑制活性(IC_{50})介於 0.16~770μM，其平均抑制活性值為 67μM，為了觀察訓練集合的結構差異程度，我們計算了二維的 chi0 敘述子對 110 個分子統計其分佈，如圖九所示，x 軸為 chi0 值，y 軸為相對應的 chi0 值具有的分子數目，結果顯示在各個不同的區間皆座落 10 至 40 不等的數目，110 個分子在結構上具有一定的差異性，因此以這群結構差異較大，具有不同結構特徵的訓練集合建立出來之構效關係模型較能廣泛的針對大型資料庫進行篩選。

(二)以蛋白質嵌合確認結合模式

為了建立準確的定量構效關係模型，我們需先確認在訓練集合中每個分子是否對於甲型葡萄糖水解酶都具有類似的結合模式。我們挑選目前文獻中實驗證實最具活性之甲型葡萄糖水解酶抑制分子且可從 RCSB 資料庫中取得與蛋白質結晶結構之複合體(complex)作為基底，以進行蛋白質嵌合，此複合體之 PDB ID 為 3L4U，配體為 de-O-Sulfonated kotalanol，抑制活性 IC_{50} 值為 0.03μM。我們計算複合體中 de-O-Sulfonated kotalanol 結構之幾何平均中心作為嵌合的中心點，利用 Autodock Vina 軟體，依序將訓練集合中每個分子取代 de-O-Sulfonated kotalanol，並進行嵌合至受體蛋白質結構。經模擬計算後，110 組與受體蛋白結合之平均結合強度(binding affinity)為-7.5(kcal/mol)，範圍介於-9.4~-4.8(kcal/mol)，經觀察，所有的分子的嵌合位置皆與 de-O-Sulfonated kotalanol 原結合的位置相近，以結合強度最高來自於薑黃萃取物的分子為例，圖十左邊展示此分子與甲型葡萄糖水解酶嵌合後的巨觀結果，其中薑黃萃取物以青色表示，而對照的 de-O-Sulfonated kotalanol 以黃色表示，圖十右半部則為相對應的微觀結果，顯示此薑黃萃取物確實與 de-O-Sulfonated kotalanol 結合在相近之位置上。另外，de-O-Sulfonated kotalanol 也同樣的再進行一次蛋白質嵌合模擬計

算，其結合強度為-5.6(kcal/mol)，我們則以-5.6(kcal/mol)設定為門鑑值(threshold)，因為所有高於此能量的訓練集合分子可能與甲型葡萄糖水解酶具有較不穩定和較低的結合力，其中一個來自海棉生物之結構(-4.8kcal/mol)則被我們去除，剩下的 109 個訓練分子，將用來建立接下來的定量構效關係模型。

(三)以四維結構指紋建立之定量構效關係模型

本研究其中一項重要目的是希望能辨識出一個分子結構具有哪些物理化學性質或結構特徵，並分析出是否會影響抑制甲型葡萄糖水解酶的活性，提供未來設計或修飾化學結構上作為有力之依據。我們首先計算出所有訓練集合分子的四維結構指紋和包括有一維至三維資訊之 MOE(Molecular Operating Environment)述敘子，四維結構指紋共有 451 組，MOE 述敘子共有 297 組，總計 748 組特徵變數。為了能細部的辨識出結構特徵與活性間的關係，我們採用隨機森林演算法來建立構效關係模型。因為隨機森林演算法具有不需要對輸入之特徵變數進行先行篩選之特性且在數學上被證明不易造成過度適應現象(overfitting)，我們直接將 109 個化學結構之 748 組特徵變數全數利用軟體 R 2.12.2 執行隨機森林演算法，此系統含有兩個由使用者輸入之參數來進行計算: 1.要使用多少的決策樹來建立隨機森林(ntree)；2.在建立決策樹的過程中，每一個樹的節點(node)要隨機選取多少的特徵變數來進行篩選(mtry)。首先我們採用預設值 ntree 等於 500 和 mtry 等於 249 來執行，初步建立出來的隨機森林模型其決定係數(coefficient determination, r^2)為 0.90，交插驗證之相關係數(cross-validated correlation coefficient, q^2)為 0.35，由於建立出來的模型具有明顯的過度適應現象，一個解決此問題的方法是進行離群值偵測(outlier detection)，將離群值去除後可有效去除訓練集合中可能具有的雜訊以增加系統效能。我們直接利用留一交插驗證法(leave-one-out cross validation, LOOCV)，從 109 個訓練分子中依續去除每一個分子，將剩下的 108 個結構重新建立隨機森林模型去預測被去除分子之 IC_{50} 值，當預測之 IC_{50} 值與實際之 IC_{50} 值差異超過 50μM 時，我們將這些分子當作是離群值並去除掉，最後總計共有 29 個化合物被刪除，剩於之 80 組訓練分子經重新進行隨機森林演算法後，r^2 升高至 0.94，q^2 升高至 0.68，大大降低了過度適應現象。

為了再提高系統之準確度，我們對於演算法的兩個參數(mtry 和 ntree)進行最佳化。首先將 mtry 範圍從 1 依序增加至最多 748 組變數，並執行隨機森林演算法，依據所得之 q^2，將結果顯示於

圖十一中，x 軸是 mtry 值，y 軸則為對應的 q^2 值，當 mtry 等於 151 時具有最高之預測力(q^2 等於 0.69)。接著，我們固定住 mtry 等於 151，將 ntree 範圍從 1 依序增加至 1000 個決策樹建立隨機森林模型，結果如圖十二所示，x 軸為 ntree 值，y 軸為對應的 q^2 值，當 ntree 等於 292 時，系統有最高整預測力(q^2 等於 0.70)，此模型之 r^2 升高至 95%，並作為我們建立之最佳化隨機森林模型。於附件一中，我們列出了 80 組訓練分子的細詳資料包括編號、二維結構、實驗之 IC_{50}、預測之 IC_{50} 與嵌合之結合力。

(四)以隨機森林之四維定量構效關係模型偵測重要活性特徵

在建立最佳化之隨機森林模型後，我們先將本模型中，主要影響活性值之重要變數特徵辨識出來。在 748 個特徵變數中，依序改變每一組變數在 80 組訓練集合分子的分佈，利用隨機改變其分佈情形，重新建立模組來觀察均方差值(Mean Squared Error，MSE)之改變比例，結果如圖十三所示，y 軸列出最具影響力之 30 個特徵變數，x 軸為相對應變數經隨機改變分佈後計算之均方差值增加比例(%IncMSE)，比例增加的越多表示對應的特徵變數在模型中佔有越重要的影響力。因為我們只有 80 組訓練集合，依據經驗法則，我們取六分之一的數量，因此採用最重要的前 13 個特徵變數來進行後續觀察並分析它們與活性值之間的關係。

隨機森林模型是由一群決策樹所構成，決策樹的每一個節點都代表著一個特徵變數，當其數值高於或低於某個門鑑值時，所要預測的分子結構將傾向於高活性或低活性值之分支，我們利用這項隨機森林模型之重要特性，經由統計分析的方法，對我們所建立的最佳模型中，以最具代表性的 13 個特徵變數計算其在所有決策樹中之平均門鑑值和平均造成抑制活性趨近較高或較低之走向法則，結果如表一所示，其中具有明顯趨向之十個變數相對應的物理意義說明如表二所示，以表一第一列為例，當一個分子結構具有較多的正極性原子配對(值高於 0.0504)，且其距離介於 5~7Å 之間時，分子將會頃向對甲型葡萄糖水解 酶具有高度的抑制活性。另外，有三項變數，eAllPP6、eNPPP6 和 vsurf_Wp5，經統計沒有造成特別的活性偏向則不予討論。從剩下的九組變數之規則和意義我們可以大略歸納出三個特性: (1)當一個分子具有較多兩兩帶有正電的極性原子，或帶正電的極性原子與非氫原子介於 5~7Å 時，可能使得分子結構具有較高的甲型葡萄糖水解 酶抑制活性。(2)當一個分子有越少的氫鍵受體原子，將使得分子結構具有較高的甲型葡萄糖水解酶抑制活性；(3)當一個分子有越大的親水

性面積時，將提升甲型葡萄糖水解酶抑制活性。

(五)以偵測之重要活性特徵進行資料庫高通量篩選

利用表一中由隨機森林模型分析出的 10 個特徵法則，針對我們所搜集的三大資料庫進行高通量篩選，以預測出可能具有抑制活性的結構。由於目前的 ZINC 資料庫與 TCMD 資料庫已合併，我們則只針對合併後的 TCMD 資料庫與 DNP 資料庫進行篩選。

1. TCMD-ZINC 資料庫高通量篩選

TCMD 資料庫在 2011 年三月中更新後，資料檔案有大幅變動，本計畫先後針對舊、新的資料庫進行篩選，接下來將分別敘述。首先我們針對舊的 TCMD 資料庫中 3842 個化合物，利用表一中 10 個具有高低活性趨向之特徵法則，將 3842 個中草藥中完全符合 10 個會趨向高活性趨勢之結構篩選出來，總計有 108 個中草藥結構全部符合這 10 個標準，被篩選的 108 個中草藥結構平均分子量為 964(Da)。由於中草藥結構的分支上常帶有大量的醣類長鏈，作為幫助生物體吸收之用，我們無從得知這些分子在反應後，醣類支鏈會從哪些地方分解而無法確認分子之核心反應結構，造成在藥物發展上之困難。因此，我們從篩選出來的結構中再去除掉所有分子量高於 500 的化合物，總計剩下 15 個中草藥，其平均分子量為 439(Da)。為了更進一步確認這些中草藥是否會與甲型葡萄糖水解酶結合反應，我們將這 15 組結構由 Autodock Vina 與 PDB ID 為 3L4U 的甲型葡萄糖水解酶受體進行嵌合模擬，其計算出來的平均結合力(binding affinity)為-6.2(kcal/mol)，先前已提過 3L4U 原本所提供之 de-O-sulfonated kotalanol 配體結構與受體之結合力為-5.6(kcal/mol)，顯示這 15 組被篩選出來的中草藥大部分具有潛力成為甲型葡萄糖水解酶抑制劑，可再進行更進一步之發展，其中結合力最高的中草藥為 paederosidic acid(雞矢藤苷酸)，與甲型葡萄糖水解酶之嵌合結果顯示如圖十四所示，paederosidic acid 標示為紫色，原本與 de-O-sulfonated kotalanol 有交互作用的殘基標示成綠色，D203、D327、D542、H600 皆與 paederosidic acid 有氫鍵結合力。paederosidic acid 是來自於茜草科(Rubiaceae)植物雞矢藤(Paederia scandens)，已為中醫臨床用藥。

我們另外針對 TCMD-ZINC 更新後的合併資料庫進行篩選，一共含有 87500 個分子，同樣利用表一中 10 個具有高低活性趨向之特徵法則，再加上里賓斯基五規則(Lipinski Rule of

Five)來剔除不合標準的化合物，其中我們設定分子量不得高於600，經篩選後一共留下 47 個化合物，再去除具有醣類支鏈的結構後，最後剩下 31 個中草藥結構。為了更進一步確認這些中草藥是否會與甲型葡萄糖水解酶結合反應，我們同樣將這些結構由 Autodock Vina 與 PDB ID 為 3L4U 的甲型葡萄糖水解酶受體進行蛋白質嵌合模擬，我們以先前 3L4U 所提供之 de-O-sulfonated kotalanol 配體結構與受體嵌合模擬計算後之結合力-5.6(kcal/mol)作為標準，將 31 個結構中，其結合力高於-5.6 者剔除掉，一共剩下 11 個結構符合結合力標準，其平均的結合力為-7.6(kcal/mol)，顯示這 11 個被篩選出來的中草藥皆具有潛力成為甲型葡萄糖水解酶抑制劑，可再進行更進一步之發展。表三中顯示最後經高通量篩選後的中草藥相關資訊，欄位包括:化合物名稱、二維結構、分子量、油水分佈系數(AlogP)、中草藥名稱，十一個化合物中有三個中草藥結構在資料庫中沒有標示所屬之中草藥來源名稱而未列於表三。其中具有最高結合能力的中草藥為唐古特大黃(Rheum tanguticum Maxim. ex Balf)，屬於為蓼科多年生草本植物，是中醫臨床常用的重要藥物，主要功效為清熱瀉火，止血，解毒，活血祛瘀等，Sennidin C 是唐古特大黃的萃取物之一，與它結構相近且同為唐古特大黃的另一個萃取物 Sennidin A，過去已有文獻發表[32]經實驗證實可作為發展第二型糖尿病的潛力結構。此外，與沙生蠟菊類似的蠟菊屬植物” Helichrysum plicatum ssp. plicatum”亦有文獻記載可有效抑制糖尿病人的症狀[33]，由這兩項驗證可顯示我們的高通量篩選機制有其可信度。

2. DNP 資料庫高通量篩選

DNP 資料庫一共含有 203615 筆天然化合物結構資料，同樣利用表一中 10 個具有高低活性趨向之特徵法則，再加上里賓斯基五規則(Lipinski Rule of Five)來剔除不合標準的化合物，經篩選後一共留下 684 個化合物。為了更進一步確認這些中草藥是否會與甲型葡萄糖水解酶結合反應，我們同樣以先前 3L4U 所提供之 de-O-sulfonated kotalanol 配體結構與受體嵌合模擬計算後之結合力-5.6(kcal/mol)作為標準，低於-5.6(kcal/mol)者一共有 238 筆天然物，其平均結合力為-6.2(kcal/mol)，顯示這238個被篩選出來的中草藥皆具有潛力成為甲型葡萄糖水解酶抑制劑，可再進行更進一步之發展。表四中顯示前十名與甲型葡萄糖水解酶嵌合最高的天然物，欄位包括:化合物名稱、二

維結構、分子量、油水分佈系數(AlogP)與天然物來源名稱，這些化合物皆可作為未來發展成為甲型葡萄糖水解酶抑制劑 的候選分子。

(六)建立受體相關之四維定量構效模型提供結構優化方向

為了更進一步了解抑制劑與蛋白質之間是如何結合而產生交互作用，我們利用受體相關之四維定量構效模型(4D-QSAR)的方法來歸納抑制劑分子結構的組成以及相關抑制劑與目標蛋白質之間結合的模式，提供後續可作為結構優化的方向。首先我們從所搜集之甲型葡萄糖水解酶抑制劑訓練集合中，挑出具有類似核心結構的分子來進行建構，因為具類似核心結構的分子在排比後所進行的空間位置分析才會合理，本計畫挑選了兩大組較具有高活性且核心結構類似之甲型葡萄糖水解酶抑制劑來進行分析，第一組是含有 14 個分子之薑黃衍生物，第二組則是含有 8 個分子之穿心蓮萃取物。建立模型的第一步是分別針對每一組抑制劑與蛋白質結構進行分子動態模擬，接下來將依序說明薑黃與穿心蓮系列抑制劑之分子動態模擬分析與建置模型之結果分析。

1. 薑黃衍生物之分子動態模擬

此階段的中草藥計畫薑黃類(Curcuminoids)的小分子共有 30 個，我們將這些小分子以 Protein Data Bank (www.pdb.org) 中編號 3L4U 的合成物為模板(包含蛋白質與已知的抑制小分子)，將其中已知小分子的部份拿掉，以薑黃的 30 個小分子替換作接下來的嵌合(docking)和分子動態模擬(Molecular Dynamic Simulation)，觀察蛋白質與薑黃小分子的結合(binding)狀態。

嵌合的目的為找出多個小分子和蛋白質較有可能的結合方式，以能量的絕對值作為排序的依據，能量絕對值越大者為計算出來較有可能之嵌合方式。對於每一個薑黃類中的小分子，我們皆以原本已知的抑制小分子的中心作為訓練薑黃小分子的中心，並以此中心設定邊長為 15 埃(angstrom)的正立方體為其搜尋可能嵌合位置的範圍；執行嵌合的軟體為 AutoDock Vina 1.1.1(linux)。

在找出模板蛋白質與薑黃類小分子最有可能的初始嵌合位置後，接著我們進行分子動態模擬，進一步觀察此小分子和模板蛋白質在模擬環境中的互動結合關係。蛋白質和訓練薑黃小分子的系統設置如下：我們將嵌合後的合成物置於一 10 埃的模擬盒子中央，並將盒子的真空部份填滿水分子，所使用之

水分子模型為 SPC(simple point charge)；接著我們加入負電離子以使整個系統呈電中性，完成系統的建置。在進行分子動態模擬前，我們對於每個系統都會進行三個步驟以使之穩定且更接近真實的狀態，分別是能量最小化模擬、定溫定體積模擬、定溫定壓模擬。能量最小化模擬所使用的演算法為最陡下降演算法(steepest descent minimization)；定溫定體積模擬與定溫定壓模擬皆分別模擬 50000 步、每一步 0.002 皮秒(picoseconds)，因此各自皆模擬 100 皮秒(1 皮秒=10^{-12} 秒)。至此整個系統理論上已達初步的平衡與穩定，最後我們進行分子動態模擬，對於每個訓練小分子和蛋白質的模擬時間為 1 奈秒(1 奈秒=1000 皮秒)；執行分子動態模擬的軟體為 GROMACS 4.5.2(linux)。

執行完分子動態模擬後，我們以系統能量和系統方均根偏差來驗證系統有達到收斂穩定的狀態，並且直觀上我們以模擬輸出檔來確定蛋白質與訓練小分子有成功結合，如圖十五為某一結合穩定的薑黃訓練小分子和蛋白質最後之截圖。

2. 以薑黃萃取物建立受體相關之四維定量構效模型

從之前的文獻中，我們找到了 14 個對於甲型葡萄糖水解酶具有抑制活性之薑黃萃取物，接下來我們將以此資料集合建構受體相關之四維定量構效模型。這 14 個萃取物對於甲型葡萄糖水解酶的 50%抑制濃度(IC_{50})位於 2.6μM 至 61.3μM 之間，而其平均值則為 33.43μM。在進行了蛋白質配體嵌合和分子動態模擬的計算之後，有一個化合物(IC_{50}=32.5μM)因無法嵌入原本之葡萄糖結合位而被剔除。

為了提升計算速度以及將構效模型之結果往結合位集中，我們僅將複體的動態模擬結果切下配體附近部份進行構效模型之建立。其範圍為以距離配體的最短距離在 1Å 之內的所有胺基酸。其所切下之胺基酸數目因分子大小而有差異，約在 25 至 54 個左右。

在建立四維構效之模型時，分子間的疊合是最先的步驟。藉由分子疊合才可以比較分子間在結構上之差異，進而推測其對活性之影響。在疊合之時，需先選擇三個具有代表性的原子做為座標轉換之疊合點，在本四維構效模型中，所使用的疊合點如圖十六所示。

接著藉由結構和活性值的比較，利用遺傳函式逼進法(Genetic Function Approximation, GFA)，計算出 50%抑制濃度之負對數值(pIC_{50})和結構之可能方程式，其方程式如下。其中

該方程式和實際值之迴歸係數(r^2)為 0.93，逐一剔除交叉相關系數(q^2)為 0.78。

$pIC_{50}(\mu M)$ = 4.40
+ 589.46 * GCOD1 (-17,-1,0,3)
- 457.87 * GCOD2 (-17,2,1,0)
+ 345.14 * GCOD3(-17,3,-2,0)
(R^2: 0.93, Q^2: 0.78, n = 13)

公式一、薑黃衍生物受體相關之四維定量構效模型

上述的構效關係所挑選的重要 GCOD 雖然皆無落在配體上，並無法直接對配體的設計進行改善建議。但是藉由 GCOD 所在的胺基酸仍可以看出此組抑制化合物對於哪些胺基酸直接或間接造成影響時，會對活性有顯著的差異。在圖十七中，GCOD1 和 GCOD2 的位置落在 334Arg 附近，雖然這兩個 GCOD 的係數為一正一負，但此亦表示位於第 334 個胺基酸的位置改變有可能對活性造成影響。此外，GCOD3 位在 449Asn 附近亦表示對於此胺基酸直接或間接的影響可能會造成活性改變。

在以上的構效關係模型中，所構成的係數約為活性值的數百倍左右。這代表在所選出來的 GCOD 中，僅有非常少的時間（在 500 幅的取樣中，僅有 1 至 2 幅）有原子佔據。因此這也代表了這些模型有可能對於訓練組產生了過度適應現象(over-fitting)。該模型有可能在對訓練組以外的化合物進行預測時有較大的失準現象。會造成此種現象，最主要的原因是訓練組的個數過少，而整個結構空間所提供的特徵變數過多，而使建模過程進入一個區域最小化(local minimization)的區間。

雖然目前此構效模型仍無法準確的預測出未知化合物的活性，但這樣的構效關係分析仍然可以提供我們可能會影響活性的立體位置，進而提供我們下一步設計可能的方向。在這一個構效模型當中，我們提出了二個可能影響活性的胺基酸部位—334Arg 和 449Asn 做為抑制劑的設計方向。不過這二個胺基酸是否會對甲型葡萄糖水解酶的抑制活性造成影響，仍需更多的資料計算或實驗驗證才可得知。

3. 穿心蓮萃取物之分子動態模擬

除了薑黃萃取物資料集合外，我們也對穿心蓮(Andrographis paniculate)系列化合物進行嵌合和執行分子動態模擬(Molecular Dynamic Simulation)，這些化合物來自多篇論

文上的結構經軟體(Marvin Sketch)手繪平面結構建檔，再利用已寫好的程式將這些平面結構轉成空間中真正的分子立體結構，並計算他們的電荷。

首先我們進行嵌合，找出化合物和蛋白質多個較有可能的結合位置，以能量的高低為判斷的依據，能量越低越有可能為適合的結合位置。蛋白質的部份我們利用 www.pdb.org 下載下來編號為 3L4U 的 複合物為模板(包涵蛋白質和 ligand)，將其中 ligand 的部份拿掉，以剩下的部份作為我們的蛋白質，和穿心蓮(Andrographis paniculate)的化合物跑嵌合。當我們將複合物的配體替換掉時，我們同時也找出了他的結合中心，因為跑嵌合時需提供兩個參數，一個是結合中心、另一為跑嵌合時的 box size(這部份我們取 15 angstrom)；跑嵌合的軟體為 Autodock vina(linux 版本)。針對每一個化合物跑完嵌合後，皆會產生紀錄檔和對應的結構檔，紀錄檔中列出了若干的推薦結構，以嵌合能量(單位為 kcal/mol)的大小排序，因此對於每個化合物的若干結構檔，我們直接取其能量最小的結構檔跑接下來的分子動態模擬。

對於以上複合物，我們將每個複合物都依以下的流程進行分子動態模擬，模擬軟體為 Gromacs (linux)。首先將複合物置入一邊長為 10 angstrom 的 box 中，而後將 box 填滿水分子(the simple point charge (SPC) water model)並加入負電離子讓整個系統達電中性，接著依序對整個系統跑 energy minimization(使用的演算法為 steepest descent minimization) 和 NVT equilibration(100 ps)，最後進行分子動態模擬，模擬時間為 1 ns 且 time step 為 2 fs。以上的模擬過程一個複合物約需要一台 16-core 主機半天的時間(視化合物的大小有所差異)，模擬完後我們檢驗了蛋白質和化合物的位置，和一開始的結構檔案比較，確認化合物確實結合在正確的結合位置；對於整個系統，我們則是以系統的 rmsd 來驗證整個系統是否達到收斂。以下為跑完模擬之後，穿心蓮化合物與蛋白質穩定結合的截圖。

4. 以穿心蓮萃取物建立受體相關之四維定量構效模型

執行完穿心蓮系列萃取物分子動態模擬後，將以分子動態模擬結果來建置受體相關之四維定量構效模型。為了加速模型之建置，我們將分子動態模擬的結果以抑制劑為中心，3Å 為半徑，切割出包含在此範圍內之蛋白質殘基與穿心蓮萃取物來建構受體相關之四維定量構效模型。首先將分子動態模擬之複

合結構進行結構排比後，以網格分析法計算出 419240 個 GCOD 值，再利用部分最小平方迴歸分析法挑選出 1000 組最具代表性之 GCOD 作為構效模型之結構特徵值，最後以基因演算法建構出最佳化模型。公式二則為穿心蓮系列萃取物最後所建立的最佳化受體相關之四維定量構效模型，等號左邊的 pIC_{50} 代表這個公式的輸出值，也就是我們所要預測甲型葡萄糖水解酶的抑制活性，等號右邊分別包括一個常數項和四個決定抑制活性的重要特徵變數(GCOD)，每一個 GCOD 描述值分別以相對應在空間座標中的 X,Y,Z 座標位置與 IPE 屬性來代表，在公式二中每一個 GCOD 描述值前方的數字代表這個特徵貢獻給抑制活性的權重，正值代表此特徵會使得分子結構偏向於高活性，而負值代表此特徵會使得分子結構偏向於低活性，以 81.88 *GCOD (-29,-2,1,P+)為例，代表在抑制劑與目標蛋白質的複合結構中，於 X,Y,Z 空間座標(-29,-2,1)的位置佔據著具有帶正電的極性原子,使得抑制劑結構偏向具有高活性。在我們所建立之穿心蓮系列萃取物受體相關之四維定量構效模型中，一共有兩項與活性為正相關之 GCOD 值，分別為帶正電的極性原子與氫鍵受體之原子型態，另外包含兩個具有活性負相關之 GCOD 值，分別為帶有任意原子與氫鍵受體之原子型態。本模型對原資料集合的量測相關係數 r^2 值為 0.99，逐一剔除交叉相關系數 q^2 值為 0.74，顯示此模型具有很高的預測能力，雖然有過度適應現象(overfitting)，但所選擇出來的 GCOD 特徵值仍可能與甲型葡萄糖水解酶的抑制活性具有高度相關性，接下來我們將進行分析。

$pIC_{50}(\mu M) = 4.44$
$+ 118.07 * GCOD1 (-31,-1,-3,HBD)$
$+ 81.88 * GCOD2 (-29,-2,1,P+)$
$- 47.83 * GCOD3 (-30,-6,-5,HBD)$
$- 0.04 * GCOD 4(-30,-1,-3,Any)$
(R^2: 0.99, Q^2: 0.74, n = 6)

公式二、穿心蓮萃取物受體相關之四維定量構效模型

以這組穿心蓮萃取物中具有最高活性的分子(如附件一編號 71)與具有最低活性的分子(附件一編號 65)為例，將公式二中的四項 GCOD 位置顯示於這兩個分子分別與蛋白質複合物之前執行分子動態模擬後的穩定結構中，如圖十九所示。圖中

青色的部分為穿心蓮萃取化合物(圖 A 為編號 71，圖 B 為編號 65)，以卡通狀顯示的粉紅色圖案代表在配體 3Å 範圍內的蛋白質殘基，蛋白質其餘的部分則以粉紅色的表面狀態來顯示，另外，紫色、黃色、藍色與紅色球狀圖示分別代表 GCOD1 (-31,-1,-3,HBD)、GCOD2 (-29,-2,1,P+)、GCOD3 (-30,-6,-5,HBD)和 GCOD4 (-30,-1,-3,Any)的所在位置，圖中每一個 GCOD 後面的數字代表在公式二中的對應權重，綠色柱狀圖示代表這四個 GCOD 位置所屬於的蛋白質殘基。由圖中可觀察到公式二中兩項與活性正相關的 GCOD 所在的殘基(於圖中上方)皆與穿心蓮萃取物距離相近，且編號 71 的穿心蓮萃取物有一個氮原子靠近甲型葡萄糖水解酶的 凹穴(cavity)處，此原子與 GCOD1 (-31,-1,-3,HBD)間的距離為 9.0Å，而編號 65 的穿心蓮萃取物在靠近甲型葡萄糖水解酶的凹穴也有另一氮原子，其氮原子與 GCOD1 (-31,-1,-3,HBD)間的距離則為 9.2Å，兩者距離比較上幾乎相等。此外，兩項與活性正相關的 GCOD 所在位置剛好都座落於甲型葡萄糖水解酶與抑制劑交互作用的凹穴(cavity)附近，由此可更進一步驗證 GCOD1 (-31,-1,-3,HBD)、GCOD 2(-29,-2,1,P+)位置的重要性，未來在結構優化上，我們可以修飾抑制劑結構在插入凹穴端加入更多可與帶正電的極性原子(P+)或與氫鍵受體原子(HBD)有交互作用的基團。

相反的，由圖中也可以觀察到兩項與活性負相關的 GCOD 所屬之殘基位置(於圖中左下方)與穿心蓮萃取物間的距離相較於兩個與活性正相關的 GCOD 所屬之殘基與化合物間的距離還遠，編號 71 的穿心蓮萃取物於圖 A 中左下方的氧原子與 GCOD3 (-30,-6,-5,HBD)間的距離為 17.0Å，編號 65 的穿心蓮萃取化合物於圖 B 中左下方的氧原子與 GCOD3 (-30,-6,-5,HBD)間的距離則為 11.4Å。此外這兩個與活性正相關的 GCOD 位置皆座落於甲型葡萄糖水解酶與抑制劑交互作用的凹穴之外，由此可得知，編號 65 的分子與活性負相關的兩個 GCOD 特徵因為位置較近而造成它的活性比編號 71 分子低了七倍。因此，未來在結構優化上，我們可以修飾抑制劑結構要減少會與這兩個殘基直接或間接產生交互作用的基團。

肆、結論與建議

我們利用四維結構指紋(4D-Fingerprint)、蛋白質對接(docking)和分子模擬 (molecular dynamic simulation)等運算技術，對於三大中草藥資料庫進行高通量篩選，並在 FKBP12 和甲型葡萄糖水解酶上尋找其適當的結合位置及構形，亦針對蛋白質和化合物之間的作用力進行分析，以檢視和文獻中提及的 FKBP12 與甲型葡萄糖水解酶抑制劑所提供的作用力及相關的胺基酸之間有何異同，由分析可知這一些化合物對於 FKBP12 與甲型葡萄糖水解酶抑制劑應該具有一定程度的結合力，這些候選化合物應可提供未來實驗的一個半合成方向，但若需有明顯的抑制能力，仍得經過修飾及最佳化等過程，而關於甲型葡萄糖水解酶抑制劑的部分我們已建構與受體相關之四維構效關係模型，提供了一些可作為未來進行結構修飾之依據。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-031 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

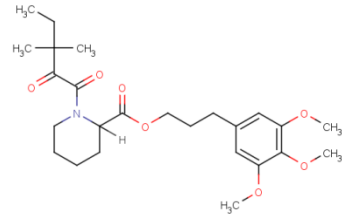
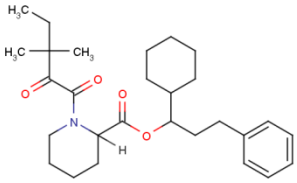
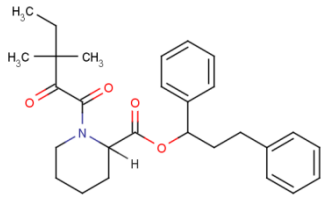
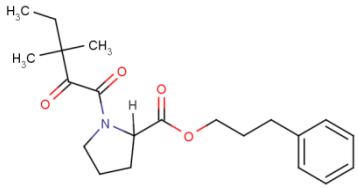
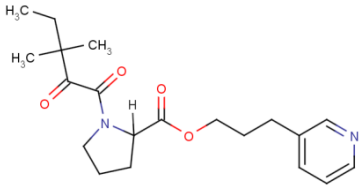
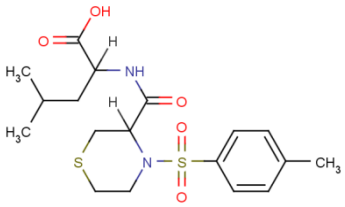
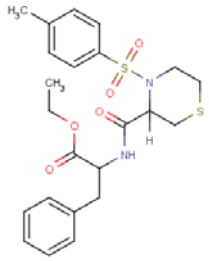
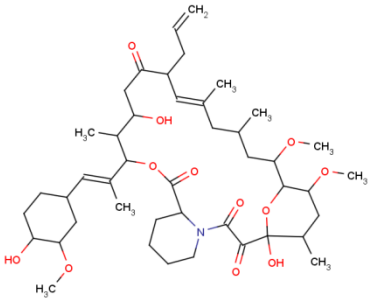
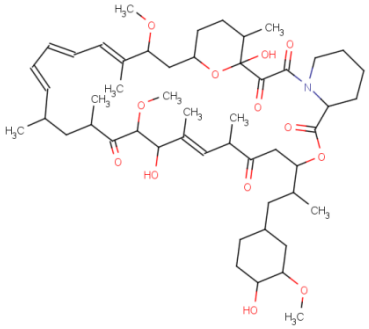
伍、參考文獻

1. Scheuner D, Eckman C, Jensen M, et al: Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med* 1996;2:864-70.
2. Liu YGray NS: Rational design of inhibitors that bind to inactive kinase conformations. *Nat Chem Biol* 2006;2:358-64.
3. Vanduyne GD, Standaert RF, Karplus PA, et al: Atomic-Structure of Fkbp-Fk506, an Immunophilin-Immunosuppressant Complex. *Science* 1991;252:839-42.
4. Choi JW, Chen J, Schreiber SL, et al: Structure of the FKBP12-rapamycin complex interacting with the binding domain of human FRAP. *Science* 1996;273:239-42.
5. Bischoff H: Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition. *European Journal of Clinical Investigation* 1994;24:3-10.
6. Du Z-y, Liu R-r, Shao W-y, et al: α-Glucosidase inhibition of natural curcuminoids and curcumin analogs. *Eur J Med Chem* 2006;41:213-8.
7. Asano N: Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use. *Glycobiology* 2003;13:93-104.
8. Liu Y, Ke Z, Cui J, et al: Synthesis, inhibitory activities, and QSAR study of xanthone derivatives as α-glucosidase inhibitors *Bioorg Med Chem* 2008;16:7185-92.
9. Saqib USiddiqi MI: 3D-QSAR studies of xanthone derivatives as human alpha glucosidase inhibitors. *IJIB* 2009;5:13-9.
10. Park H, Hwang KY, Oh KH, et al: Discovery of novel α-glucosidase inhibitors based on the virtual screening with the homology-modeled protein structure *Bioorg Med Chem*, 2008;16:284-92.
11. Dictionary of Natural Products. http://dnp.chemnetbase.com/dictionary-search.do;jsessionid=19271525DCB1FD7EF15C1306553F9F2B?method=view&id=32583&si=
12. ZINC natural products database. http://zinc.docking.org/vendor0/index_meta.shtml
13. He M, Yan X, Zhou J, et al: Traditional Chinese Medicine Database and Application on the Web. *J Chem Inf Comput Sci* 2001;41:273-7.
14. Xu YWang R: A computational analysis of the binding affinities of FKBP12

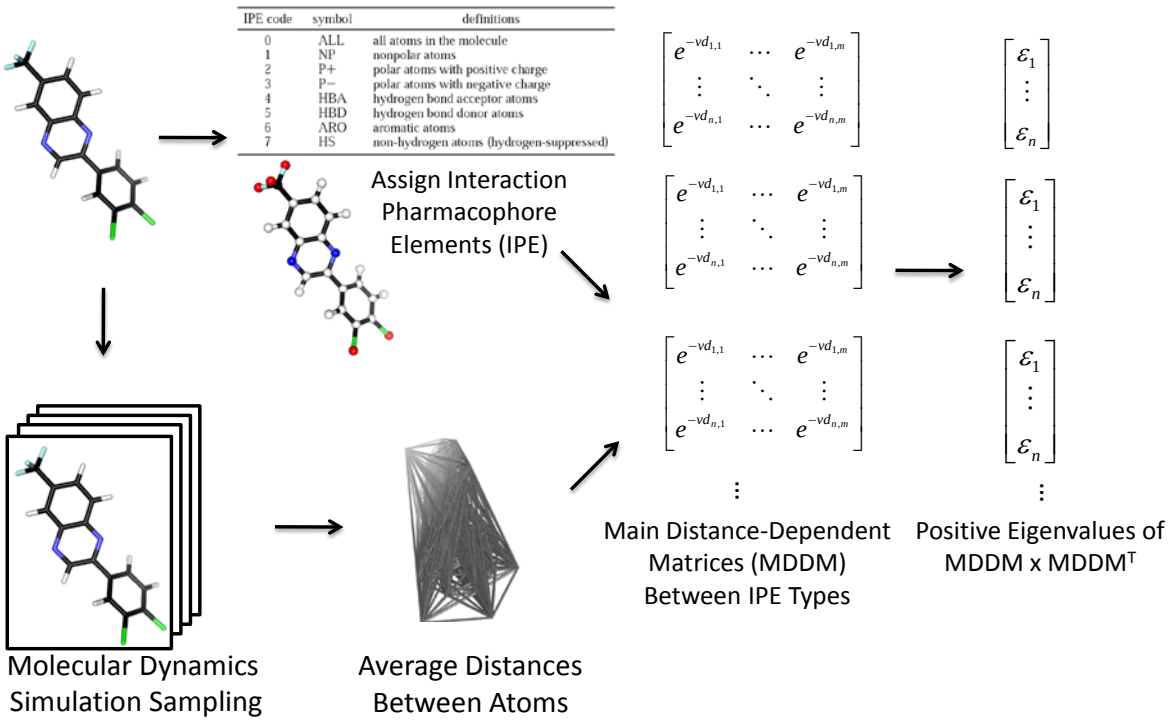
inhibitors using the MM-PB/SA method. *Proteins* 2006;64:1058-68.
15. Lamb ML, Tirado-Rives JJorgensen WL: Estimation of the binding affinities of FKBP12 inhibitors using a linear response method. *Bioorg Med Chem* 1999;7:851-60.
16. Sun F, Li P, Ding Y, et al: Design and structure-based study of new potential FKBP12 inhibitors. *Biophys J* 2003;85:3194-201.
17. Yap CW: PaDEL-Descriptor: An Open Source Software to Calculate Molecular Descriptors and Fingerprints. *J Comput Chem* 2011;32:1466-74.
18. Lama S-H, Chena J-M, Kangb C-J, et al: α-Glucosidase inhibitors from the seeds of Syagrus romanzoffiana. *Phytochemistry* 2008;69:1173-8.
19. Saludes JP, Lievens SCMolinski TF: Occurrence of the alpha-glucosidase inhibitor 1,4-Dideoxy-1,4-imino-D-arabinitol and related iminopentitols in marine sponges. *J Nat Prod* 2007;70:436-8.
20. Ryu HW, Lee BW, Curtis-Long MJ, et al: Polyphenols from Broussonetia papyrifera Displaying Potent α-Glucosidase Inhibition. *J Agric Food Chem* 2010;58:202-8.
21. Xu HW, Dai GF, Liu GZ, et al: Synthesis of andrographolide derivatives: a new family of alpha-glucosidase inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2007;15:4247-55.
22. Zhang L, Bai B, Liu X, et al: α-Glucosidase inhibitors from Chinese Yam (Dioscorea opposita Thunb.). *Food Chemistry* 2011;126:203-6.
23. Toshima A, Matsui T, Noguchi M, et al: Identification of alpha-glucosidase inhibitors from a new fermented tea obtained by tea-rolling processing of loquat (Eriobotrya japonica) and green tea leaves. *J Sci Food Agric* 2010;90:1545-50.
24. Zhu YP, Yamaki K, Yoshihashi T, et al: Purification and identification of 1-deoxynojirimycin (DNJ) in okara fermented by Bacillus subtilis B2 from Chinese traditional food (Meitaoza). *J Agric Food Chem* 2010;58:4097-103.
25. Senese CL, Duca J, Pan D, et al: 4D-Fingerprints, Universal QSAR and QSPR Descriptors. *J Chem Inf Comput Sci* 2004;44:1526-39.
26. Breiman L: Random Forests. *Machine Learning* 2001;45:5-42.
27. Trott OOlson AJ: AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* 2010;31:455-61.
28. Hess B, Kutzner C, van der Spoel D, et al: GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation.

Journal of Chemical Theory and Computation 2008;4:435-47.
29. Pan DH, Liu JZ, Senese C, et al: Characterization of a ligand-receptor binding event using receptor-dependent four-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis. *J Med Chem* 2004;47:3075-88.
30. Pan DH, Tseng YFHopfinger AJ: Quantitative structure-based design: Formalism and application of receptor-dependent RD-4D-QSAR analysis to a set of glucose analogue inhibitors of glycogen phosphorylase. *J Chem Inf Comp Sci* 2003;43:1591-607.
31. DeCenzo MT, Park ST, Jarrett BP, et al: FK506-binding protein mutational analysis: defining the active-site residue contributions to catalysis and the stability of ligand complexes. *Protein Eng* 1996;9:173-80.
32. Abe D, Saito TSekiya K: Sennidin stimulates glucose incorporation in rat adipocytes. *Life Sciences* 2006;79:1027-33.
33. Aslan M, Orhan DD, Orhan N, et al: In vivo antidiabetic and antioxidant potential of Helichrysum plicatum ssp. plicatum capitulums in streptozotocin-induced-diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2007;109:54-9.

陸、圖、表

(1)	(2)	(3)
		
(4)	(5)	(6)
		
(7)	(8)	(9)
		

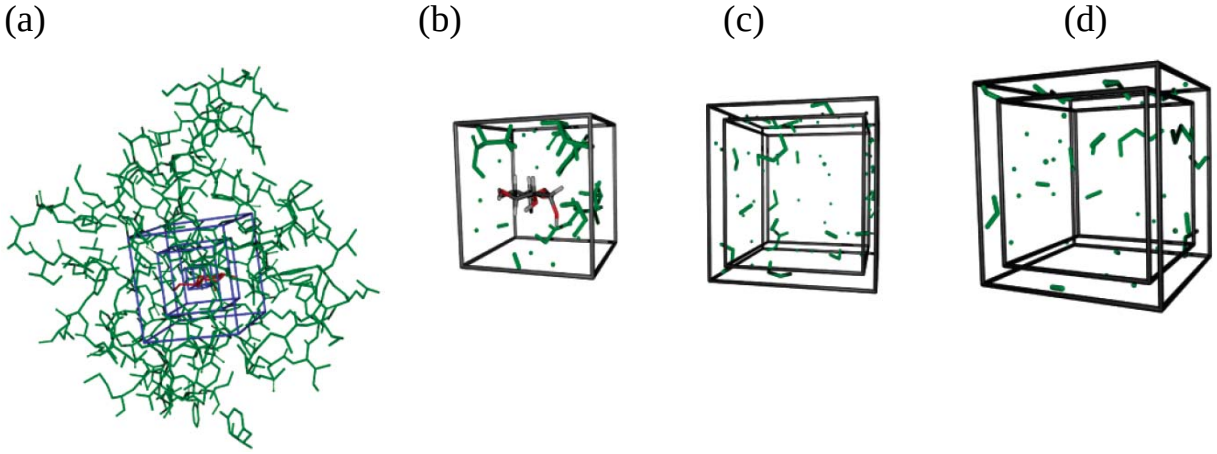
圖一、具有 FKBP12 抑制活性的化合物



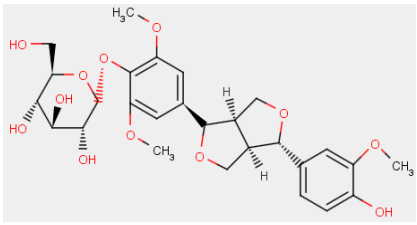
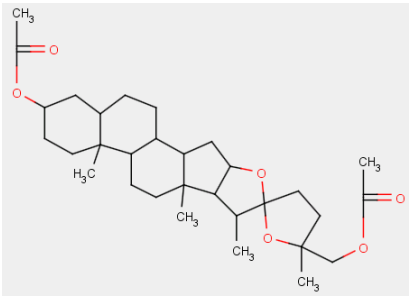
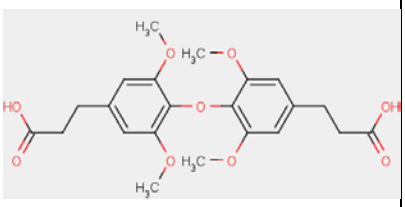
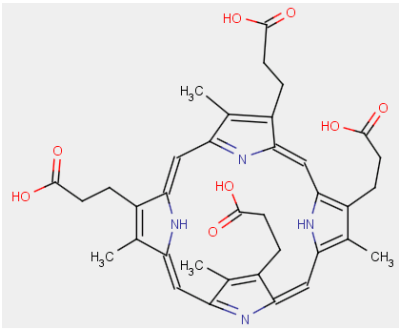
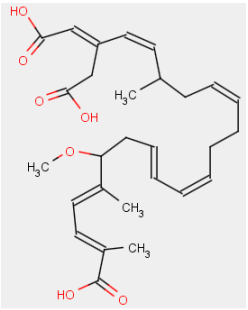
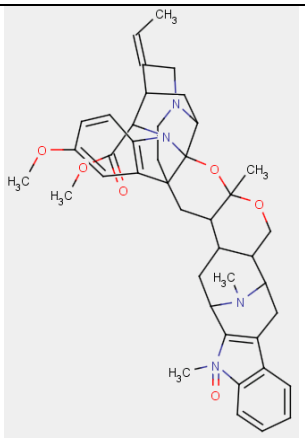
圖二、四維結構指紋技術流程圖



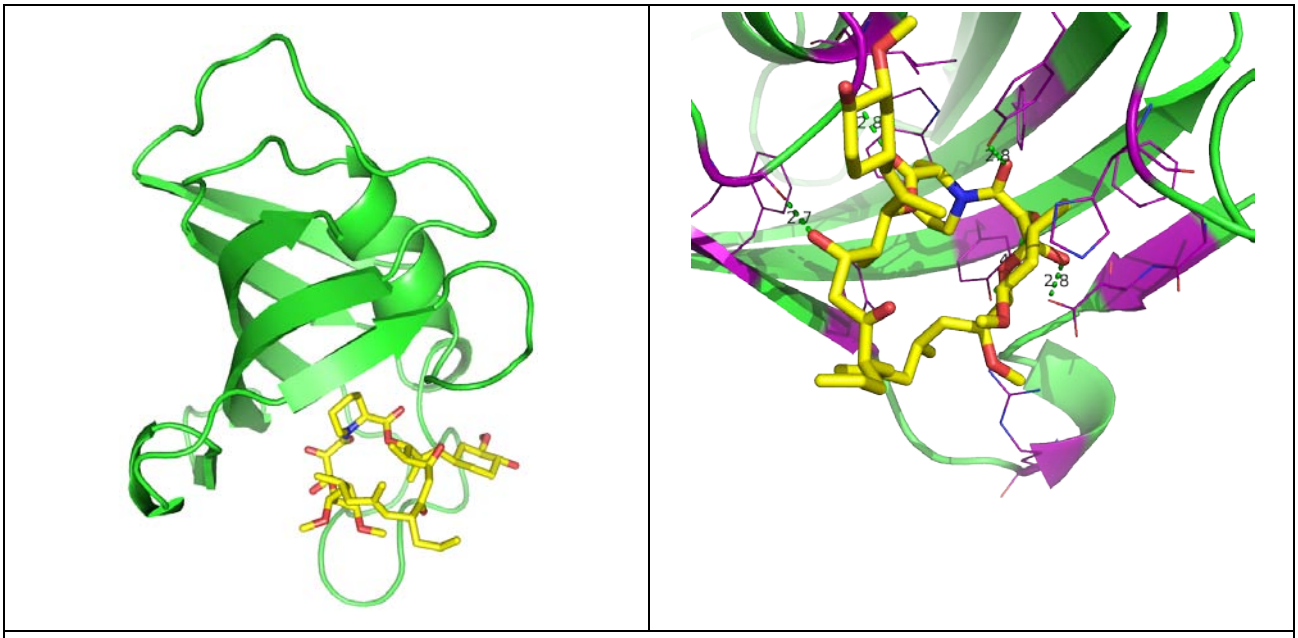
圖三、以 GCOD 網格分析的示意圖。每個隔點間的距離是 1 Å.。此示意圖中只顯示單一構形。在 RD-4D-QSAR 的計算，每個構形皆會以這種網格方式轉換，而所有 CEP 的構形皆是經過 GCOD 正規化後的值。



圖四、(a)局部網格的示意圖。網格的的選取範圍將會包括蛋白質受體與配體的座標上。(b) 與蛋白質產生作用的區域 (c) 第一層活動的區域 (d) 第二層活動的區域。化合物以慣用的顏色代表不同的元素；蛋白質片段以綠色呈現

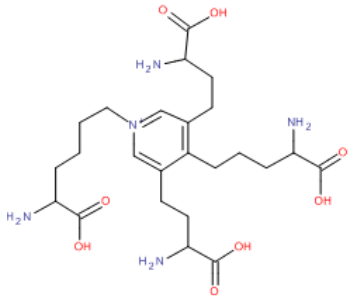
(1)	(2)	(3)
		
(4)	(5)	(6)
		

圖五、搜尋中草藥資料庫後，列舉六個候選化合物

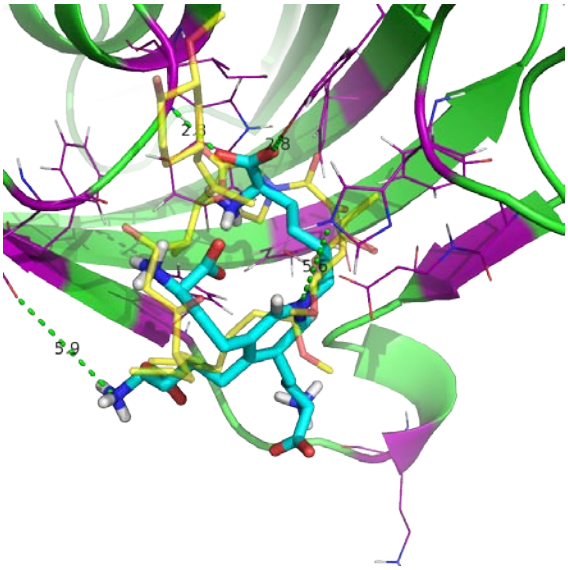


圖六、FKBP12(綠色或紫色彩帶)和 FK506(黃色柱狀)之結晶結構，選自 PDB 號碼：1FKJ。左圖為兩者相對的位置及構形，右圖為 FK506 與結合位置中的胺基酸的作用力分佈狀態，虛線為具有氫鍵作用力之位置

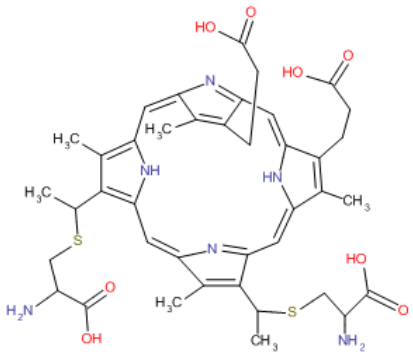
(1)



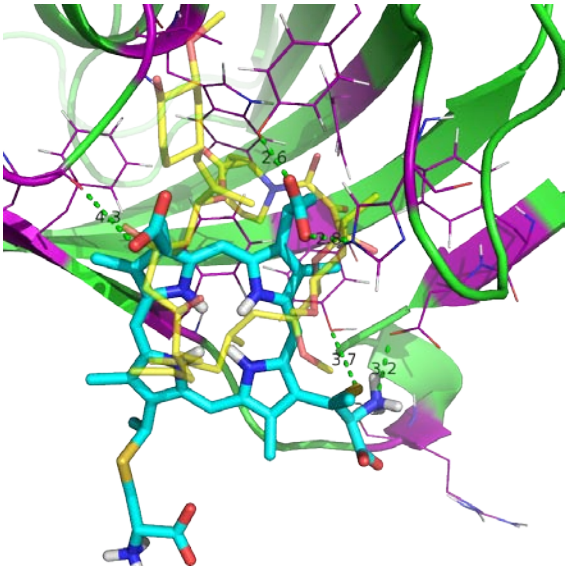
Tyr	Phe	Asp	Arg	Phe	Phe	Glu	Ile	Trp	Tyr	His	Phe
26	36	37	42	46	48	54	56	59	82	87	99
						●	●		●	●	



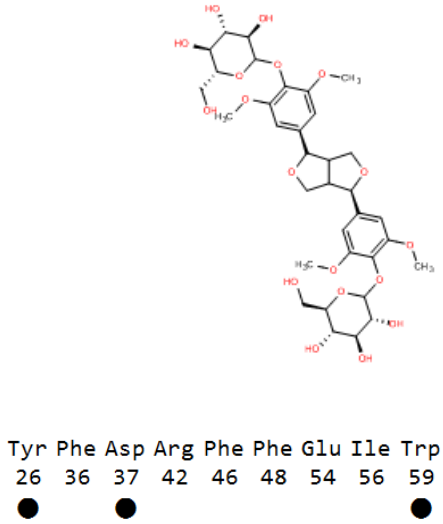
(2)



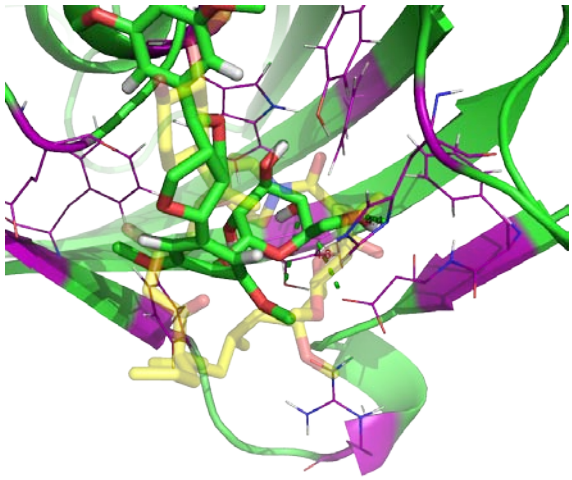
Tyr	Phe	Asp	Arg	Phe	Phe	Glu	Ile	Trp	Tyr	His	Phe
26	36	37	42	46	48	54	56	59	82	87	99
●		●	●	●		●			●	●	



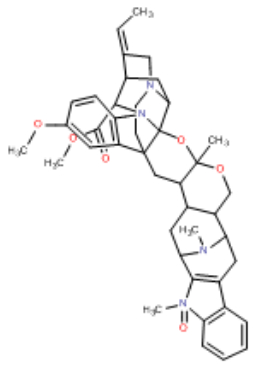
(3)



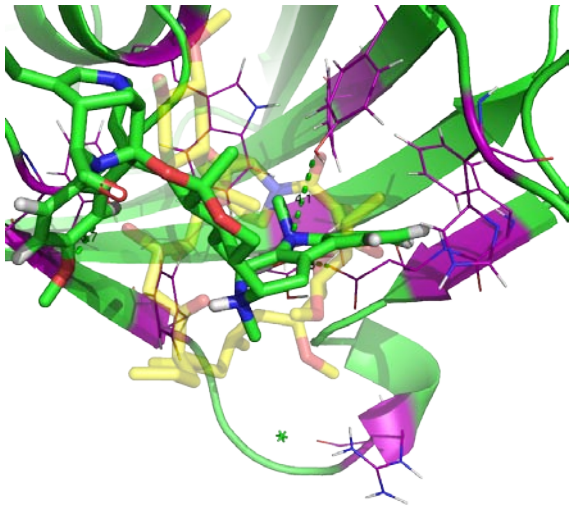
Tyr	Phe	Asp	Arg	Phe	Phe	Glu	Ile	Trp	Tyr	His	Phe
26	36	37	42	46	48	54	56	59	82	87	99
●		●						●	●	●	●



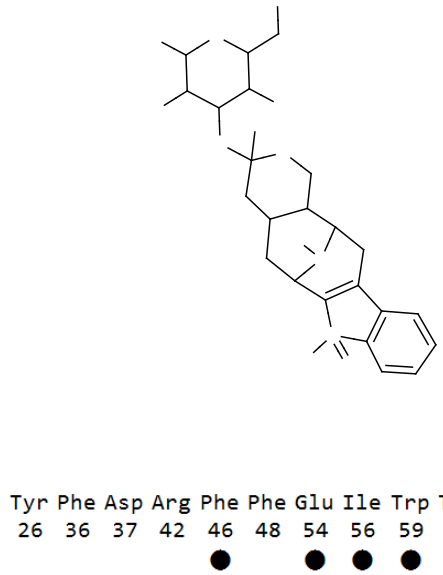
(4)

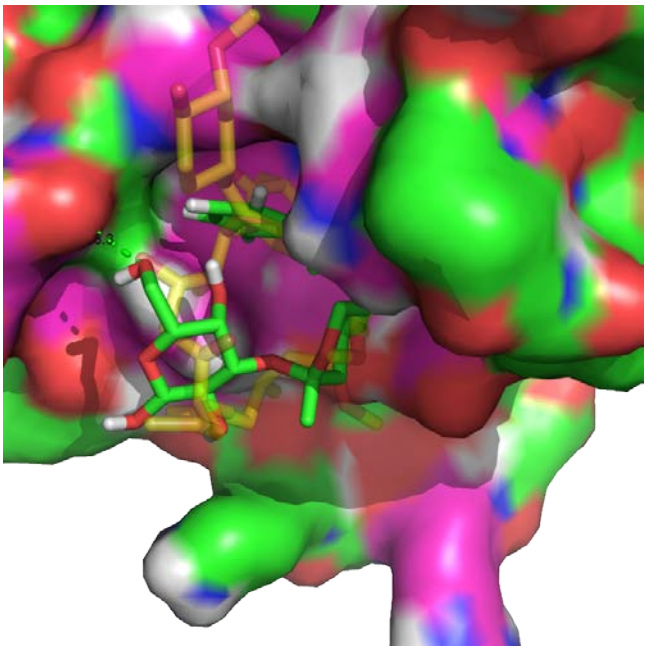


Tyr	Phe	Asp	Arg	Phe	Phe	Glu	Ile	Trp	Tyr	His	Phe
26	36	37	42	46	48	54	56	59	82	87	99
●	●					●			●	●	

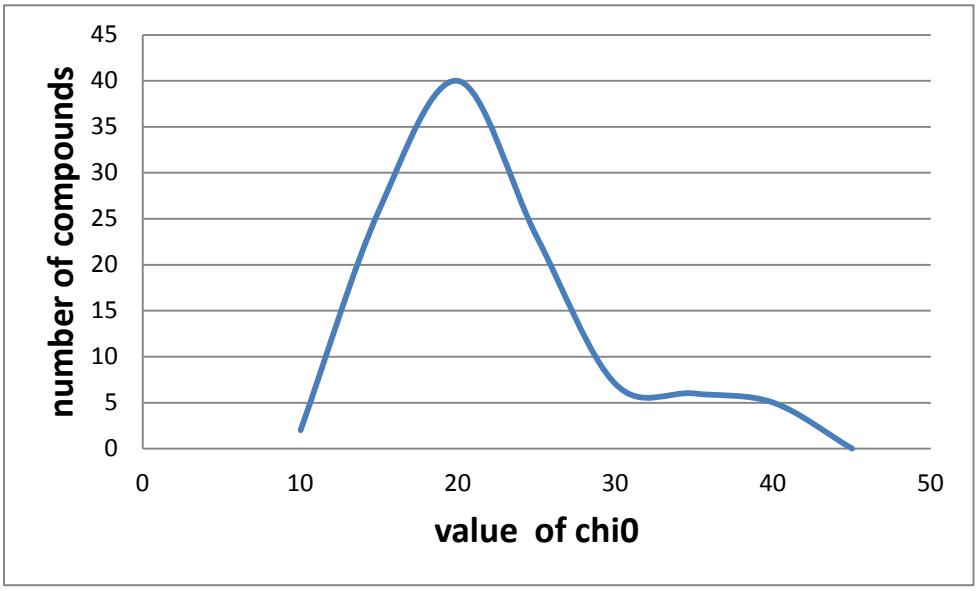


圖七、由蛋白質嵌合及分子動態模擬之能量計算得出結合後能量較低的分子，左為 2D 的分子結構，結合到 FKBP12 後有交互作用的胺基酸以原點表示之，右圖為該分子與 FKBP12 進行嵌合後的位置與構形，綠色或紫色彩帶為 FKBP12，黃色柱狀為原 FK506 結合的相對位置，綠色及藍色柱狀為該分子，虛線表氫鍵作用力。(1) BDC57 (2) CRS80 (3) 752 (4) LCL737

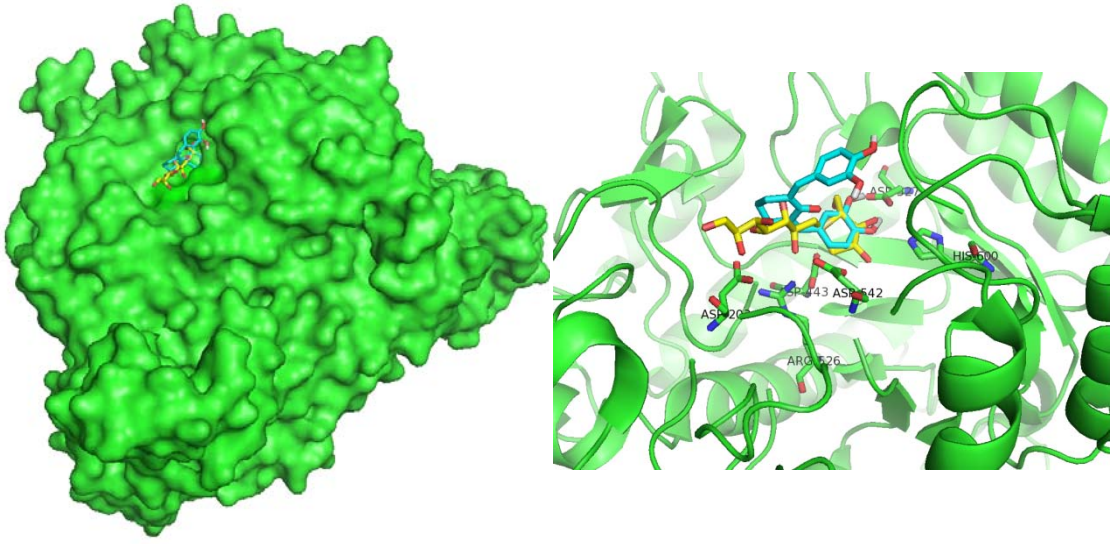




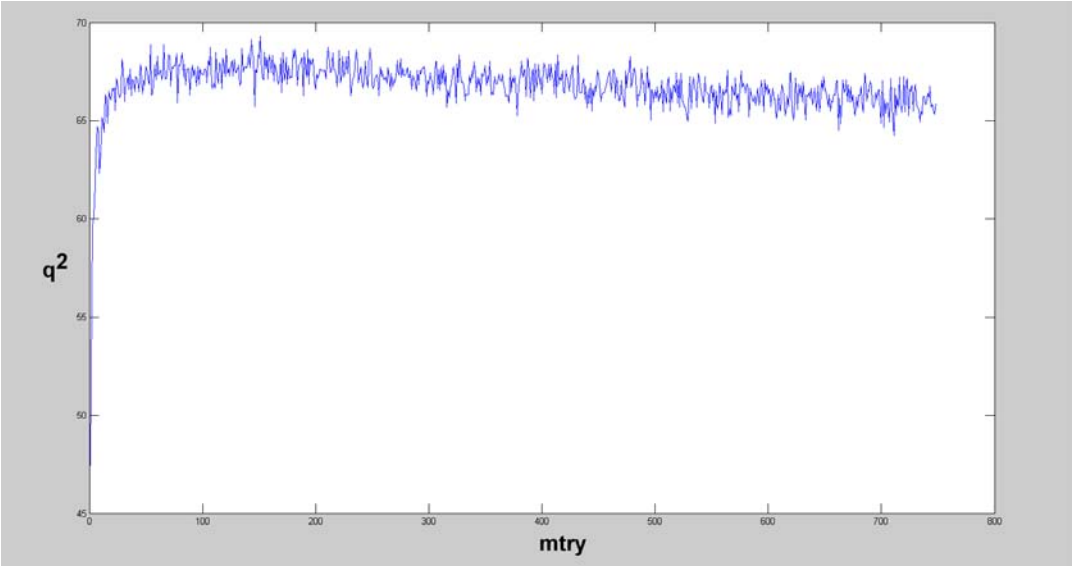
圖八、由 LCL737 和 752 兩個分子進行重組，而後進行蛋白質嵌合及分子動態模擬後所得的相對構形，左為 2D 的分子結構，結合到 FKBP12 後有交互作用的胺基酸以圓點表示之，右圖為該分子與 FKBP12 進行嵌合後的位置與構形，綠色或紫色蛋白表面為 FKBP12，綠色柱狀為該分子，黃色柱狀為 FK506，虛線表氫鍵作用力。



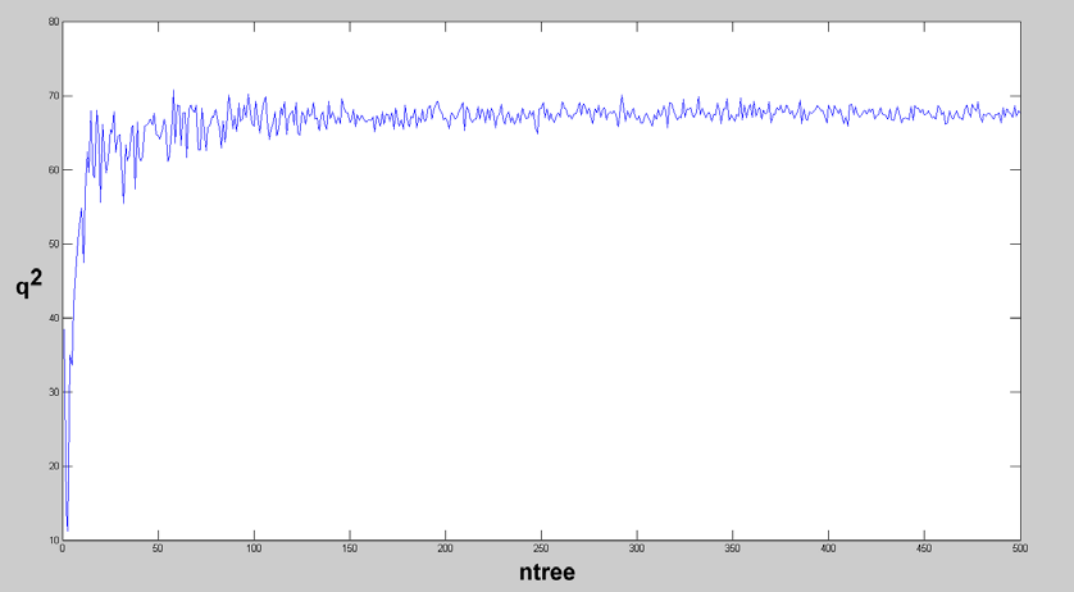
圖九、110 組訓練集合在二維的 chi0 敘述子上之分佈圖



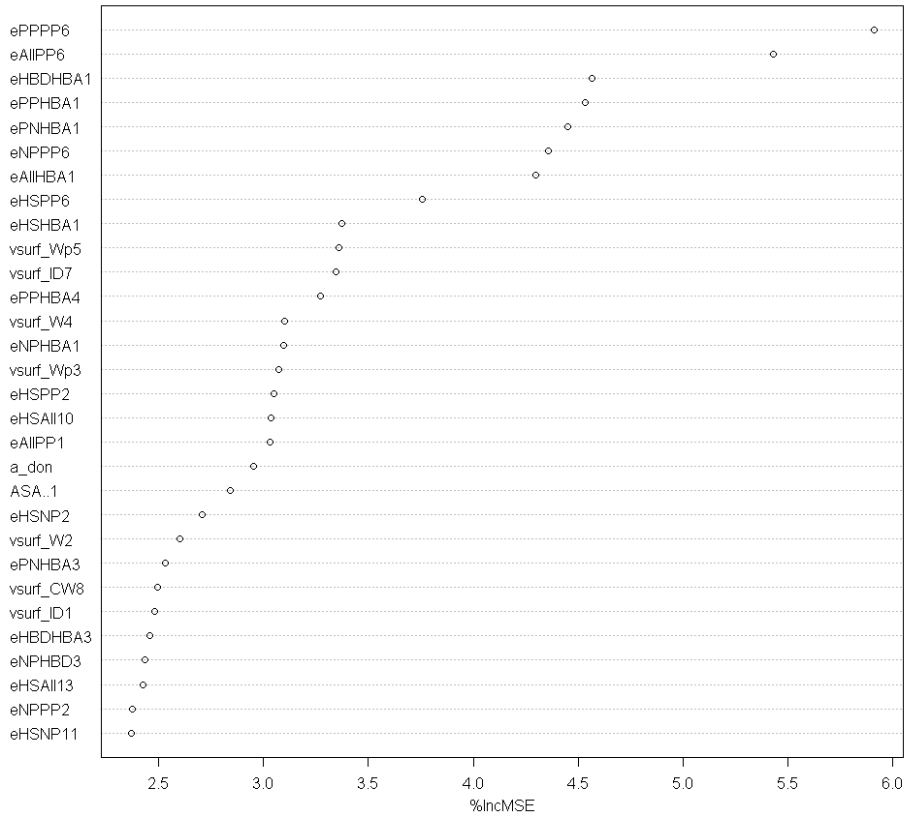
圖十、薑黃萃取物(青色)與 de-O-Sulfonated kotalanol(黃色)結合至甲型葡萄糖水解酶之嵌合模擬結果。左圖為巨觀展示，右圖為微觀展示。並顯示 de-O-sulfonated kotalanol (黃)原本和甲型葡萄糖水解酶有作用之殘基。



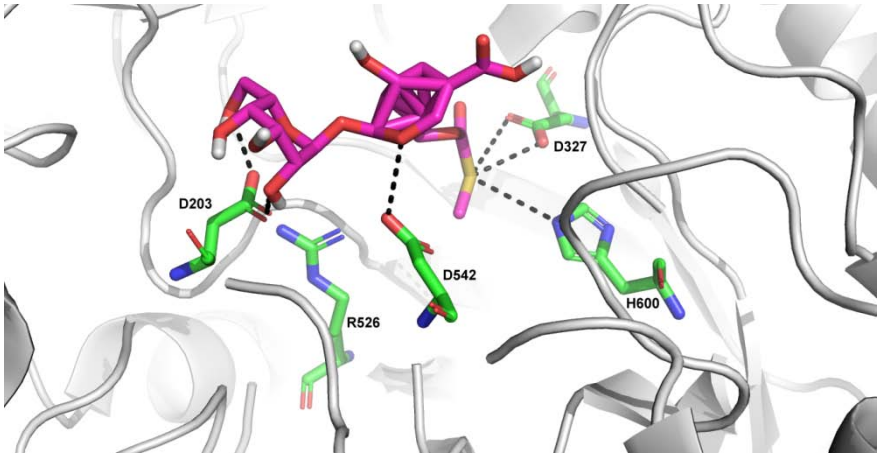
圖十一、決策樹節點隨機選取的特徵變數數目值與對應建立模組之 q^2 值分佈圖



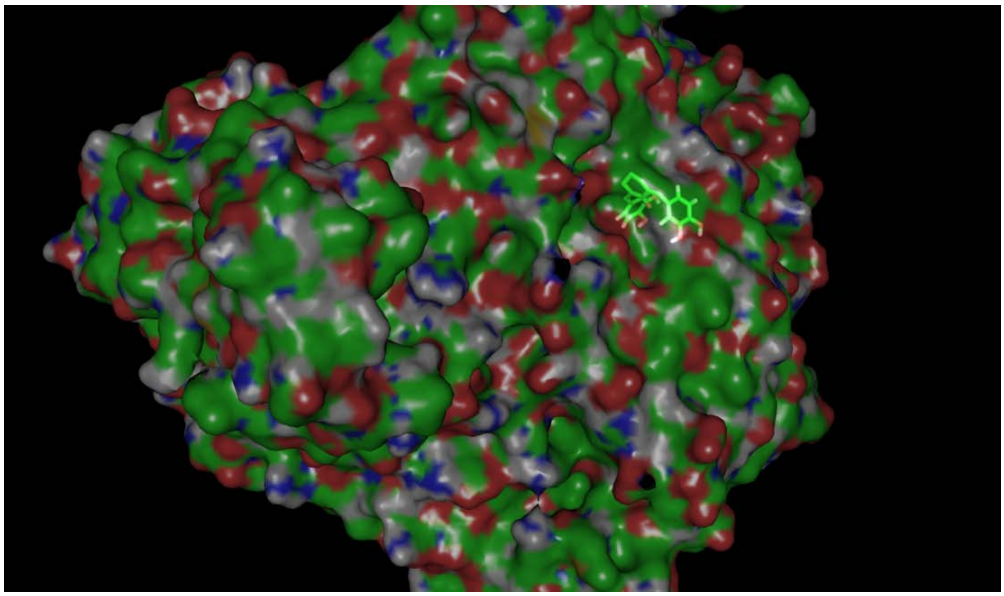
圖十二、決策樹數目值與對應建立模組之 q^2 值分佈圖



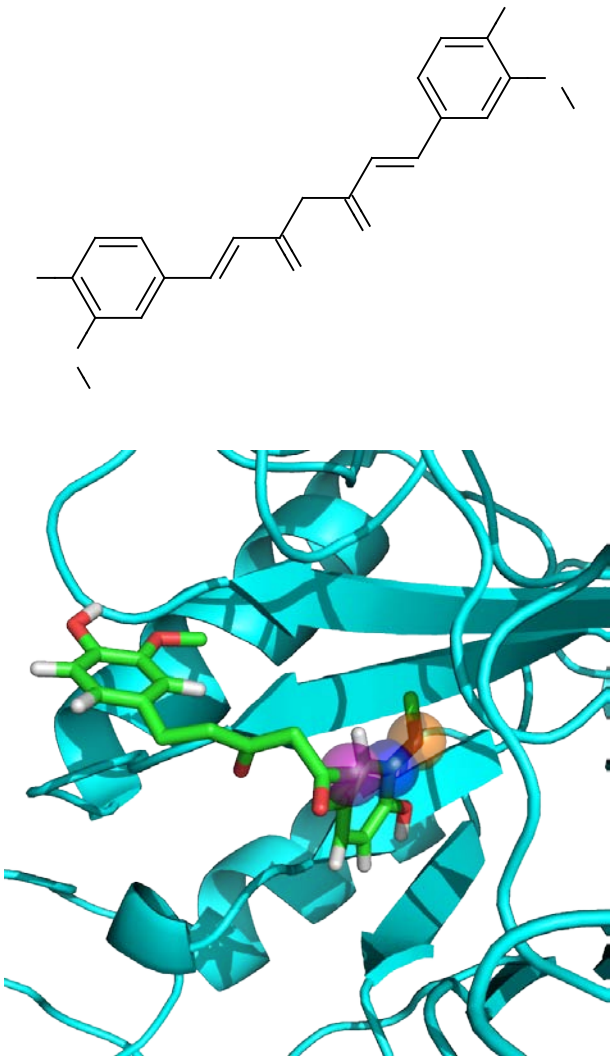
圖十三、最具影響力之 30 個特徵變數，隨機改變數值分佈後均方差值增加比例(%IncMSE)



圖十四、篩選出來最具結合力之 paederosidic acid 結構(紫色)與甲型葡萄糖水解酶的嵌合結果，周邊綠色的部分代表有交互作用的殘基

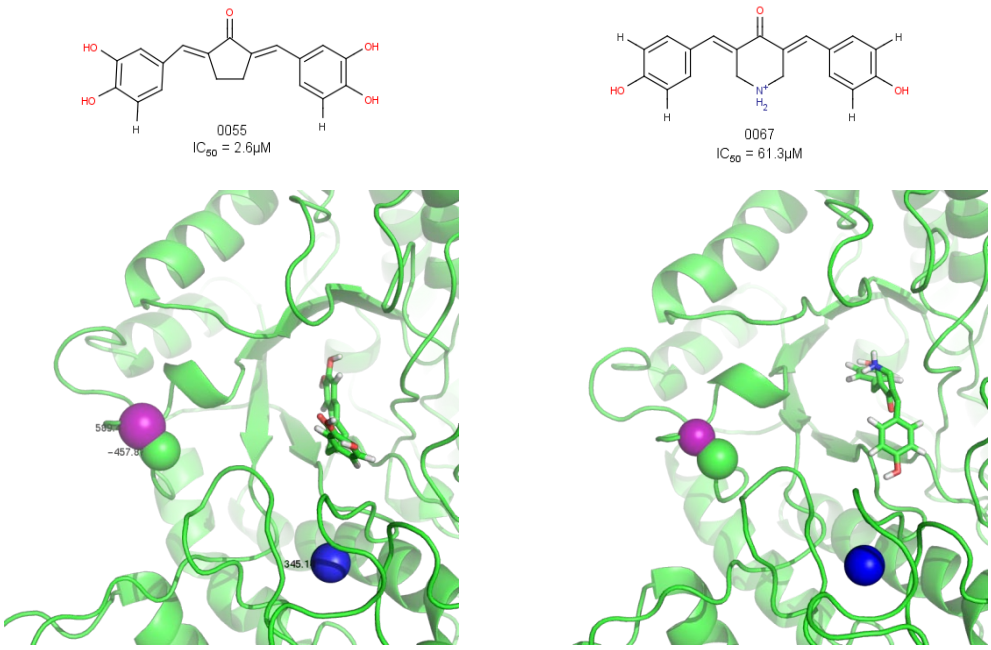


圖十五、薑黃萃取物與蛋白質經分子動態模後之穩定結構

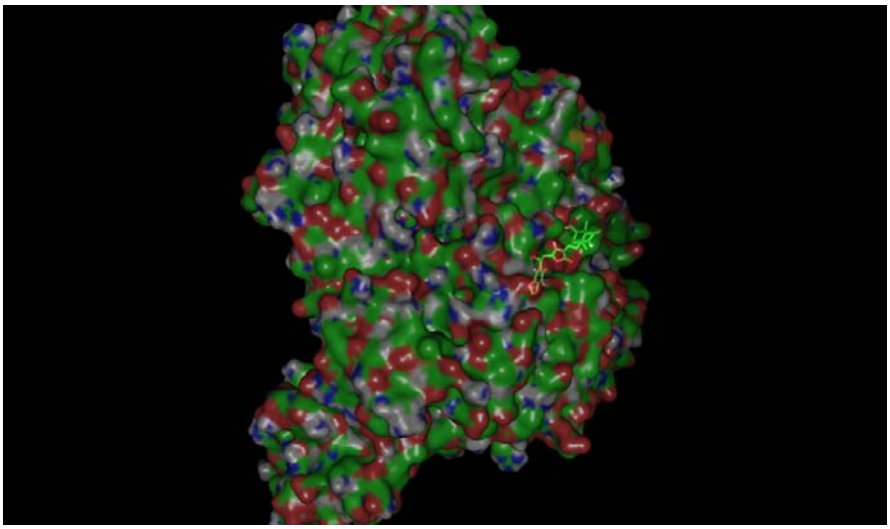


圖十六、本四維構效模型所指定之疊合點。其中 1（藍色）代表座標軸之原點、2（橙色）代表 x 軸之方向、3（紫色）代表 yz 平面之方向

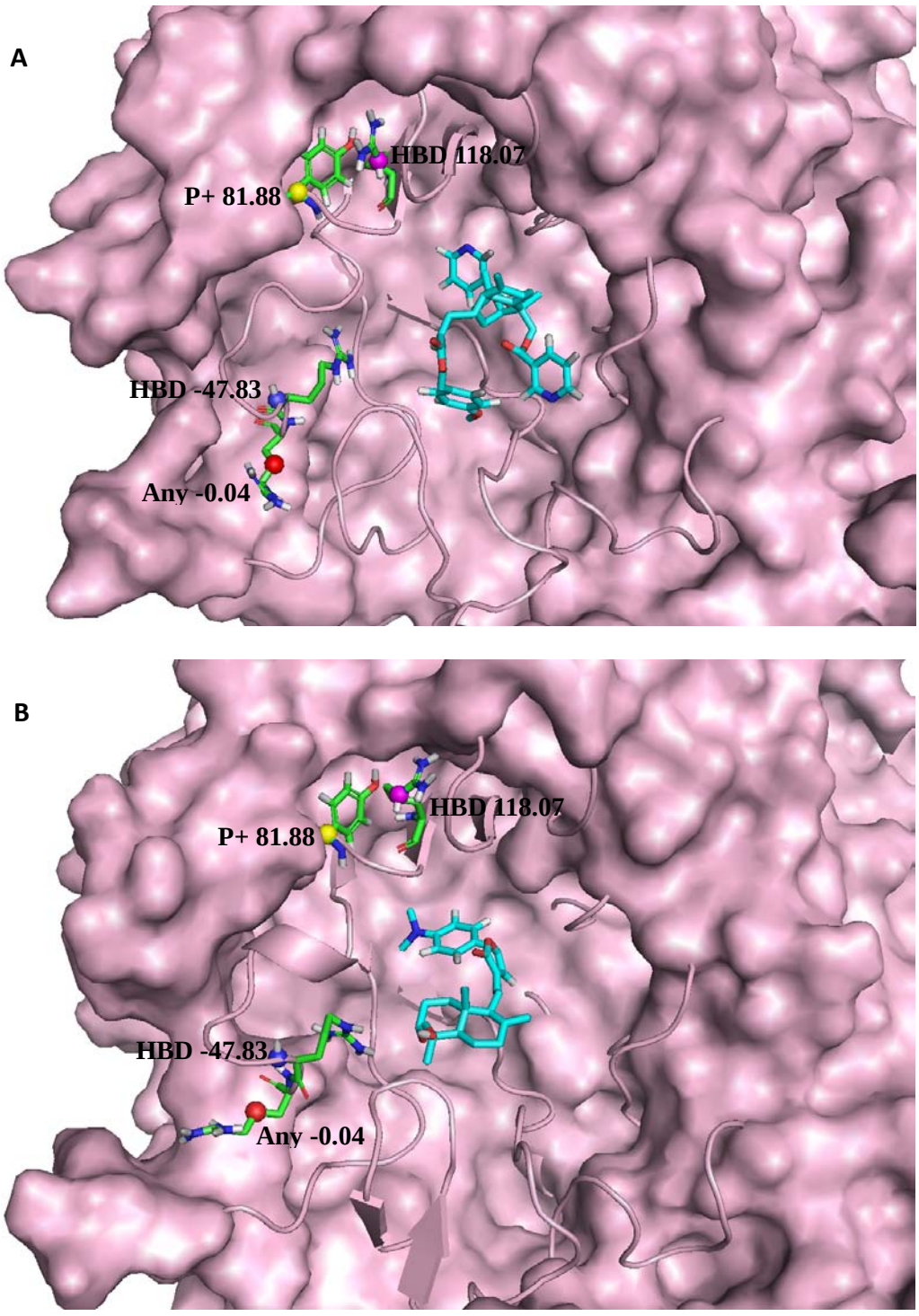
a. b.



圖十七、構效關係方程式之位置示意圖，其中 a 部份為活性最佳之分子(IC_{50}: 2.6μM)，而 b 部份為活性最弱之分子(IC_{50}: 61.3μM)。而方程式中的 GCOD 位置則分別以紫色(GCOD1)、綠色(GCOD2)、以及藍色(GCOD3)表示。



圖十八、穿心蓮化合物與蛋白質穩定結合之結構



圖十九、構效關係方程式之位置示意圖，其中 A 部份為活性最佳編號 71 之分子(IC_{50}: 11μM)，而 B 部份為活性最弱編號 65 之分子(IC_{50}: 70μM)。而方程式中的 GCOD 位置則分別以紫色(GCOD1)、黃色(GCOD2)、以及藍色(GCOD3)與紅色(GCOD4)表示

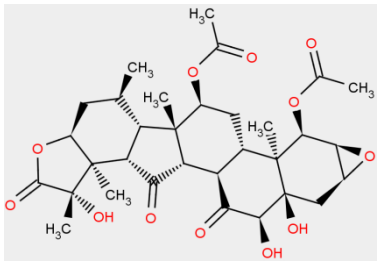
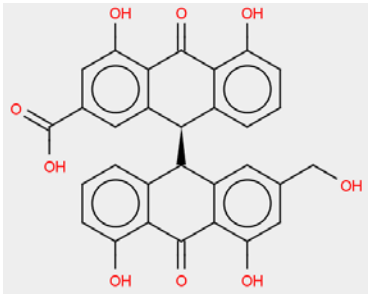
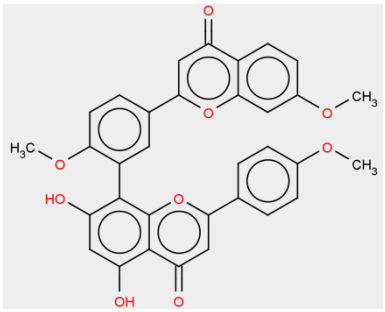
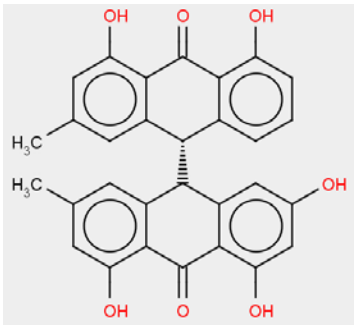
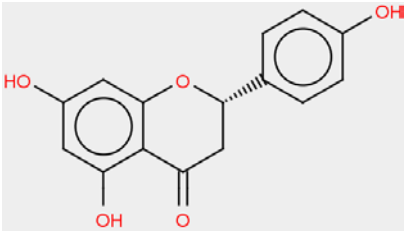
表一、由隨機森林模型辨識出之最具代表性的 13 個特徵變數及其趨向

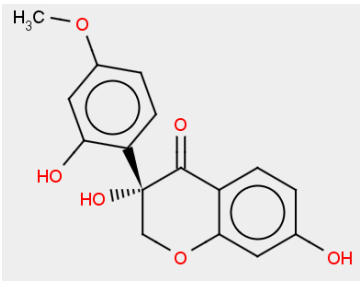
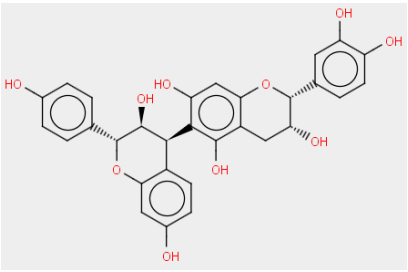
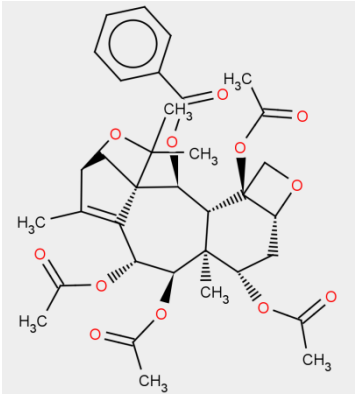
特徵變數	門鑑值	趨向
ePPPP6	<0.0504	低活性
	>0.0504	高活性
eAllPP6	無	無明顯趨向
eHBDHBA1	<0.76	高活性
	>0.76	低活性
ePPHBA1	<0.757	高活性
	>0.757	低活性
ePNHBA1	<0.703	高活性
	>0.703	低活性
eNPPP6	無	無明顯趨向
eAllHBA1	<0.731	高活性
	>0.731	低活性
eHSPP6	<0.019	低活性
	>0.019	高活性
eHSHBA1	<0.753	高活性
	>0.753	低活性
vsurf_Wp5	無	無明顯趨向
vsurf_ID7	<0.997	低活性
	>0.997	高活性
ePPHBA4	<0.0561	低活性
	>0.0561	高活性
vsurf_W4	<105	低活性
	>105	高活性

表二、最具代表性之特徵變數與各變數的物理定義

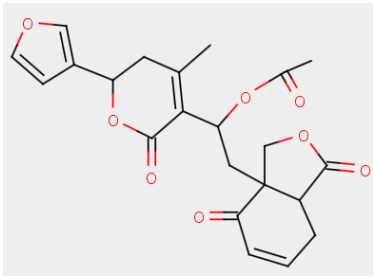
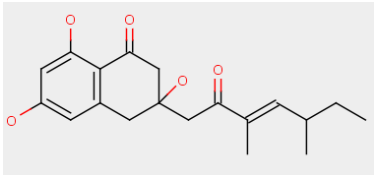
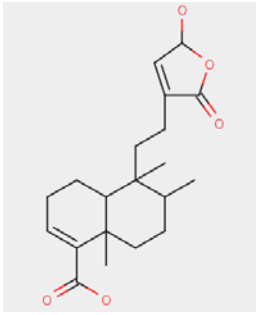
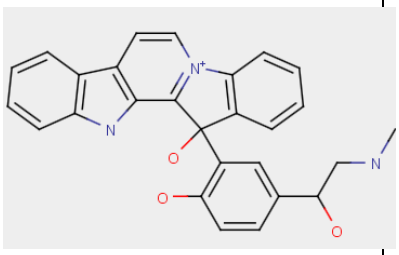
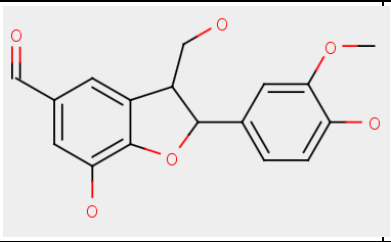
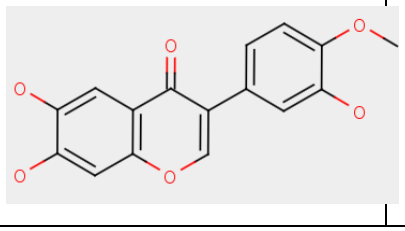
特徵變數	定義
ePPPP6	具有兩個帶正電的極性原子，其距離介於 5~7Å 間。
eHBDHBA1	具有相鄰一氫鍵施體原子與另一氫鍵受體之原子對。
ePPHBA1	具有相鄰一帶有正電的極性原子與另一氫鍵受體之原子對。
ePNHBA1	具有相鄰一帶有負電的極性原子與另一氫鍵受體之原子對。
eAllHBA1	具有相鄰一為任意型態之原子與另一氫鍵受體之原子對。
eHSPP6	一個為非氫原子與另一帶正電的極性原子，其距離介於 5~7Å 間。
eHSHBA1	具有相鄰一為非氫原子與另一氫鍵受體之原子對。
vsurf_ID7	代表一個分子的質量中心與具有極性位置間的距離。
ePPHBA4	一個帶有正電的極性原子與另一氫鍵受體原子，其距離介於 3~5Å 間。
vsurf_W4	一個分子表面能被水分子接觸的表面積(hydrophilic volume)

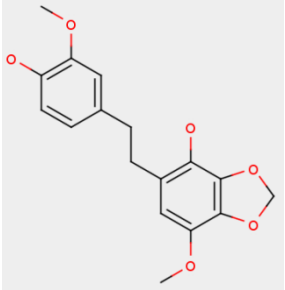
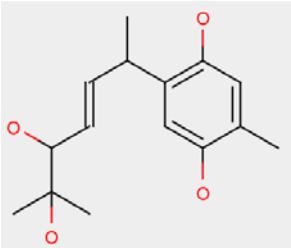
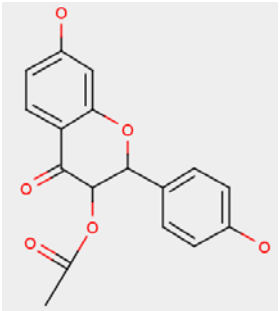
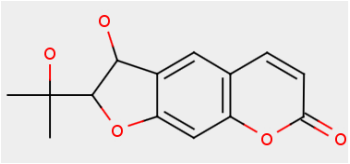
表三、TCMD-ZINC 合併資料庫高通量篩選後之中草藥

化合物名稱	二維結構	分子量(Da)	AlogP	中草藥來源
Taccalonolide M		619	-0.65	裂果薯
Sennidin C		524	4.03	唐古特大黃
Sciadopitysin		564	5.42	紫杉
Palmidin C		494	5.74	掌葉大黃
Naringenin		272	2.37	沙生蠟菊

化合物名稱	二維結構	分子量(Da)	AlogP	中草藥來源
(3R)-4'-Methoxy-2',3,7-trihydroxyisoflavanone		302	1.89	降香
Guibourtinidol-(4alpha6)-catechin		546	4.05	勒氏金合歡
13-Deacetoxy-13,15-epoxy-11(15-1)-abeo-13-epi-baccatinVI		655	1.84	紅豆杉

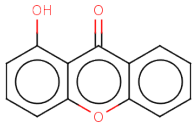
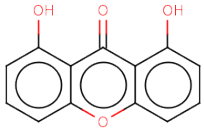
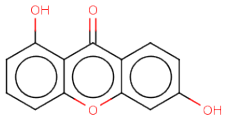
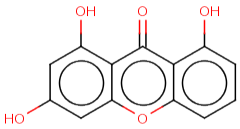
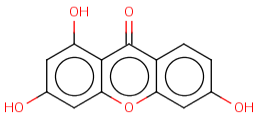
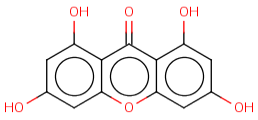
表四、DNP 資料庫高通量篩選後前十名具有最強結合力之天然化合物

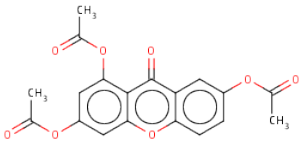
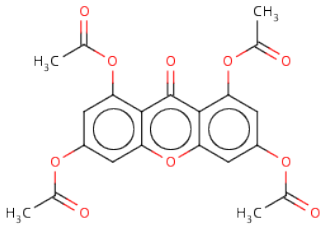
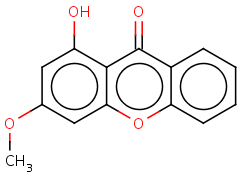
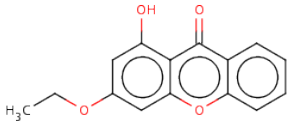
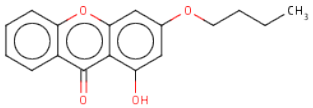
化合物名稱	二維結構	分子量(Da)	AlogP	天然物來源
Salvianduline A.		414	1.95	薰衣草
Keisstetralone		332	2.64	海洋真菌
15-Hydroxy-3,13-clerodadien-16,15-olid-18-oic acid		348	3.82	線球菊
Thorectandramine		439	3.82	海棉生物
Hierochin C.		316	1.71	含生草
3’,6,7-Trihydroxy-4’-methoxyisoflavone		300	3.09	蜂膠(尼泊爾)

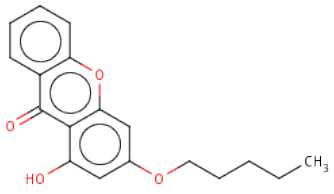
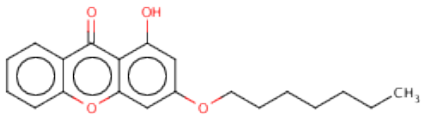
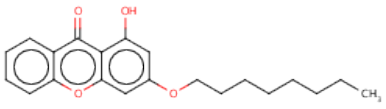
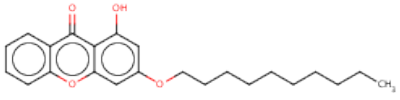
化合物名稱	二維結構	分子量(Da)	AlogP	天然物來源
4′-Hydroxy-3′,5-dimethoxy-3,4-methylenedioxybibenzyl		318	2.67	密花石豆蘭
Helibisabonol B		266	1.76	向日葵
3-Acetoxy-4′,7-dihydroxyflavanone. 3-*O*-Acetylgarbanzol		314	2.84	旋覆花
Xanthoarnol		262	1.3	懸鈴木

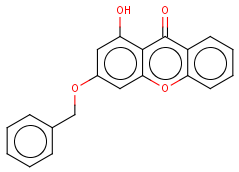
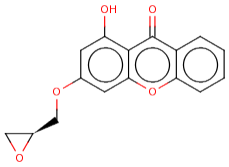
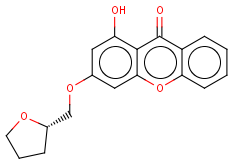
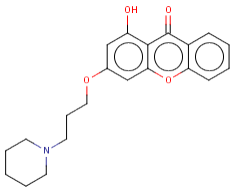
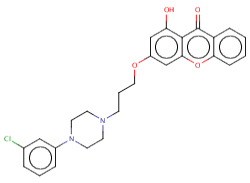
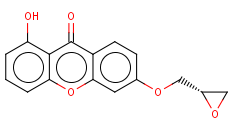
附錄

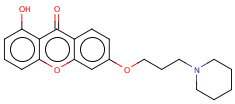
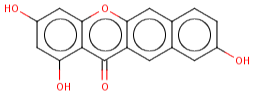
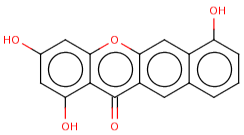
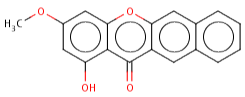
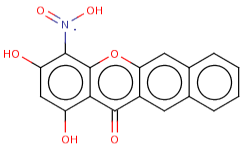
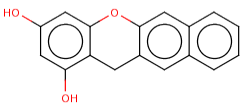
附表一、文獻搜集之甲型葡萄糖水解酶抑制劑(80 組訓練集合對照表)

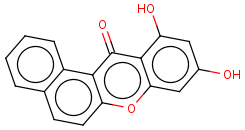
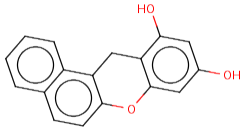
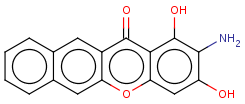
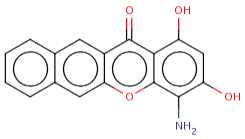
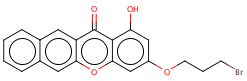
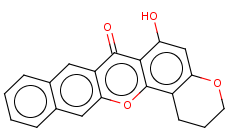
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
1		177.4	126.2	-6	拓樹
2		91.5	79.2	-6.2	拓樹
3		131.4	91.7	-6.4	拓樹
4		81.8	53.3	-6.1	拓樹
5		41.5	37.3	-6. 4	拓樹
6		17.1	15.0	-5.7	拓樹

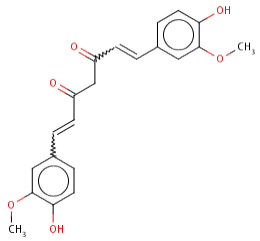
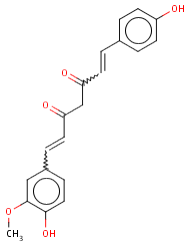
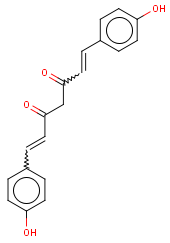
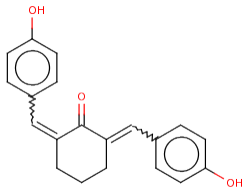
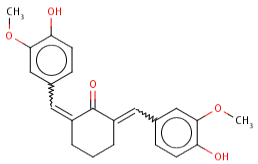
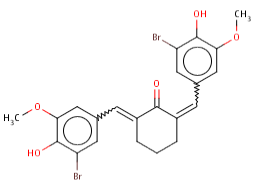
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
7		46.5	45.2	-6.8	拓樹
8		49.7	41.9	-7	拓樹
9		172.9	124.5	-6.1	拓樹
10		110.8	104.4	-6.3	拓樹
11		130.1	118.6	-6.9	拓樹

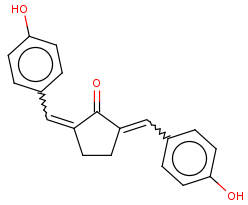
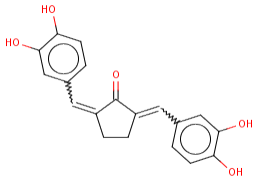
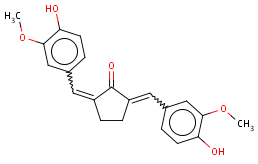
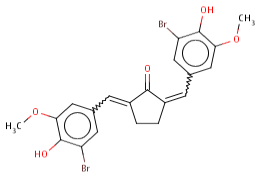
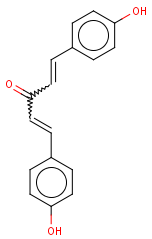
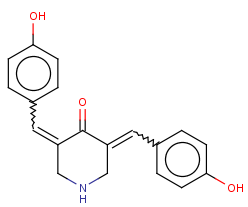
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
12		120.9	110.2	-7.2	拓樹
13		113.8	112.3	-7.5	拓樹
14		123.7	118.0	-7.4	拓樹
15		115.6	101.5	-7.4	拓樹

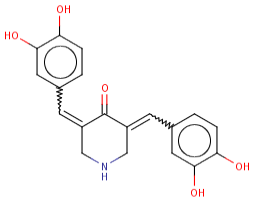
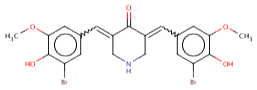
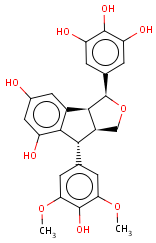
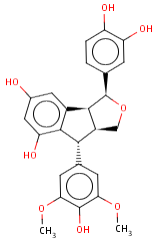
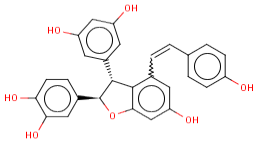
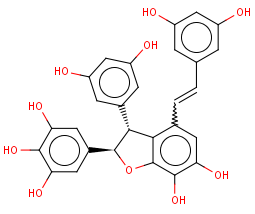
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
16		98.2	82.2	-8.5	拓樹
17		66.6	66.9	-6.6	拓樹
18		53	60.2	-7.7	拓樹
19		115.4	103.2	-8.1	拓樹
20		61.8	58.3	-7.4	拓樹
21		63.5	63.8	-6.6	拓樹

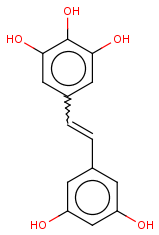
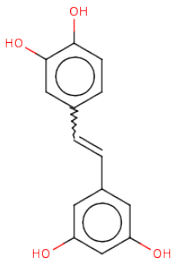
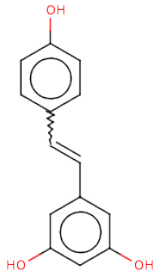
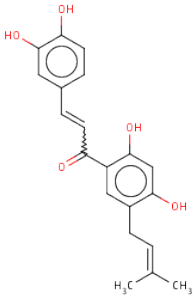
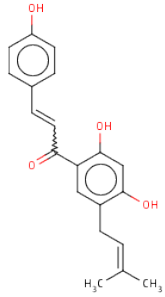
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
22		132.7	104.6	-7.9	拓樹
23		5.8	8.6	-7.3	拓樹
24		8	9.7	-7.5	拓樹
25		31.3	45.2	-7.5	拓樹
26		20.1	20.2	-7.5	拓樹
27		27.8	33.7	-7.4	拓樹

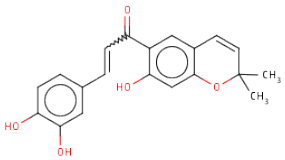
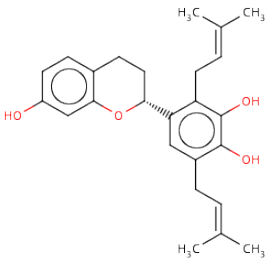
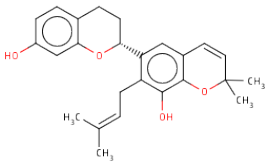
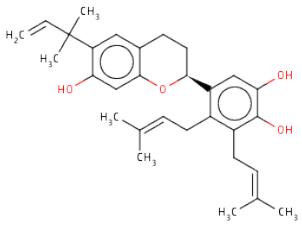
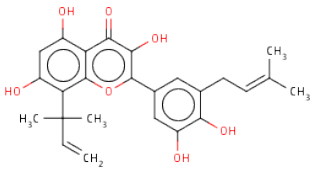
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
28		39.9	38.1	-7.4	拓樹
29		34.9	40.2	-7.3	拓樹
30		6.3	7.2	-7.7	拓樹
31		8.3	8.6	-7.6	拓樹
32		29.7	40.7	-7.6	拓樹
33		67.3	64.6	-8.4	拓樹

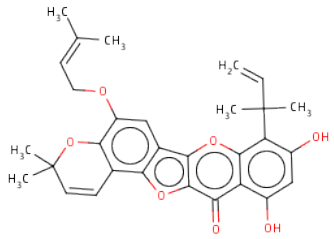
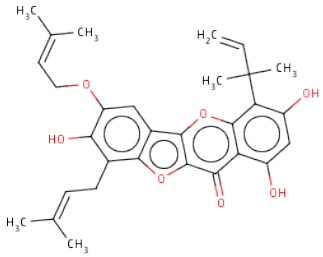
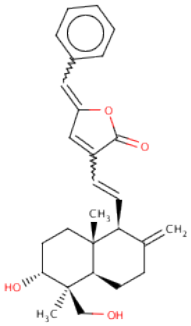
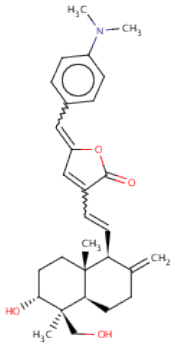
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
34		37.2	35.8	-7.6	薑黃
35		42.7	40.2	-7.7	薑黃
36		23	27.4	-7.6	薑黃
37		37.6	38.7	-9.1	薑黃
38		47	41.8	-8.5	薑黃
39		29.3	32.7	-7.2	薑黃

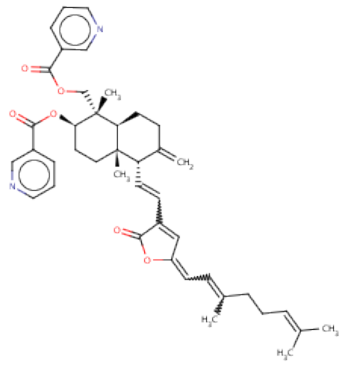
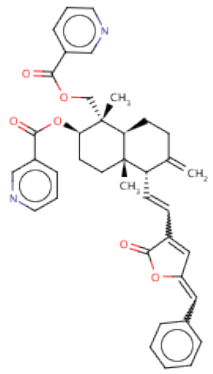
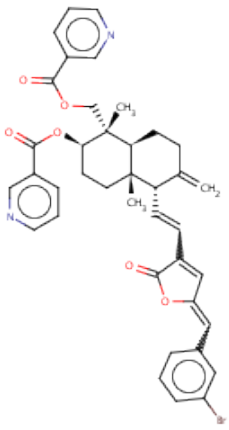
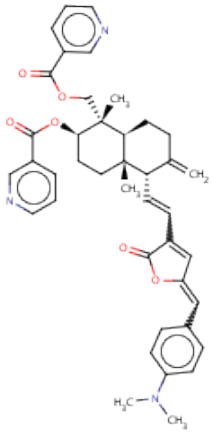
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
40		32.5	35.6	-8.1	薑黃
41		2.6	4.4	-8.3	薑黃
42		52.8	45.3	-8.4	薑黃
43		33.9	35.5	-8.3	薑黃
44		21.8	23.0	-7.8	薑黃
45		61.3	40.8	-8.2	薑黃

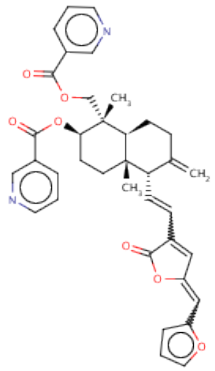
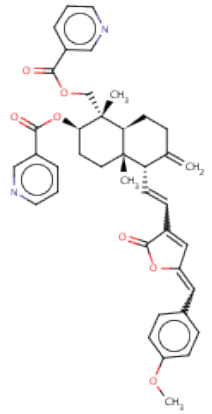
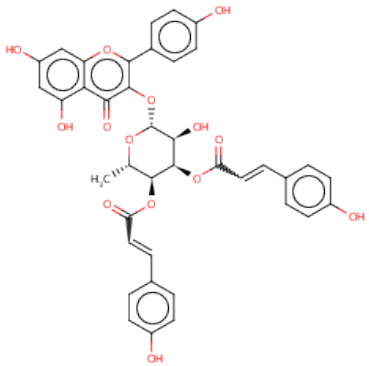
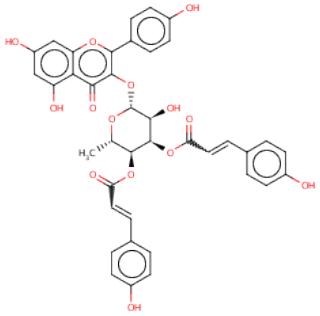
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
46		8.2	7.2	-8.6	薑黃
47		38.1	34.3	-8	薑黃
48		6.5	6.2	-7.6	皇后葵
49		11.2	12.4	-7.7	皇后葵
50		8.3	7.8	-8.7	皇后葵
51		4.9	5.3	-8.9	皇后葵

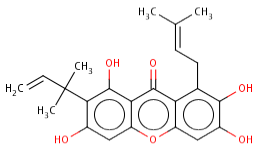
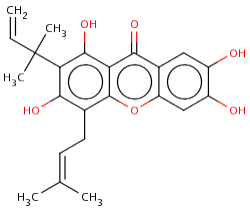
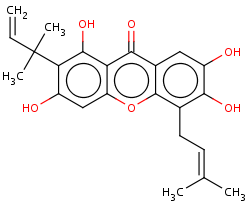
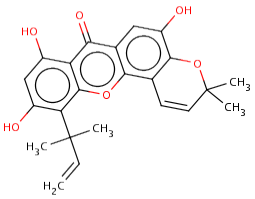
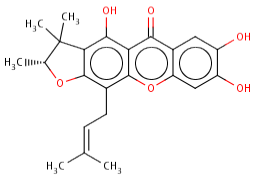
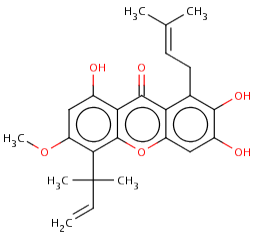
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
52		19.2	17.1	-8	皇后葵
53		23.2	19.9	-7.8	皇后葵
54		23.9	23.5	-7.6	皇后葵
55		5.3	6.3	-7.9	構樹
56		11.1	17.1	-7.7	構樹

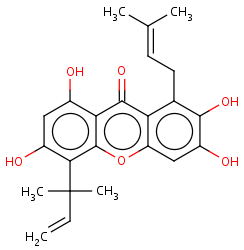
編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
57		19.1	19.5	-8.8	構樹
58		12	17.3	-8.5	構樹
59		26.3	30.6	-7.8	構樹
60		10.6	14.2	-8.5	構樹
61		3.6	5.5	-8.1	構樹

編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
62		27.6	34.3	-7.4	構樹
63		33.3	27.5	-7.7	構樹
64		58	47.7	-8.6	穿心蓮
65		70	50.0	-8	穿心蓮

編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
66		28	23.7	-8.4	穿心蓮
67		16	17.6	-9.3	穿心蓮
68		14	15.3	-8.4	穿心蓮
69		25	22.2	-8.4	穿心蓮

編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
70		36	28.9	-8.7	穿心蓮
71		11	14.6	-8.4	穿心蓮
72		6.1	4.7	-8.5	菲律賓楠
73		1	2.5	-9.4	菲律賓楠

編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
74		35.8	31.1	-7	拓樹
75		38.2	35.4	-7.3	拓樹
76		52.9	42.7	-7.1	拓樹
77		24.9	26.5	-7.1	拓樹
78		32	30.3	-8.7	拓樹
79		16.2	20.8	-7	拓樹

編號	二維結構	實驗 IC_{50} (μM)	預測 IC_{50} (μM)	嵌合之結合力 (kcal/mol)	來源
80		37.7	30.9	-7	拓樹

編號：CCMP99-RD-033

建立中藥抗流感病毒之篩選平臺－藥效及作用機制之評估(2-1)

陳志豪
中山醫學大學

摘　要

研究目的：

利用雞胚胎蛋為平臺，從中藥萃取物中直接篩選可能具有抗流感病毒的候選中藥，再測定其藥效。

研究方法：

首先，從 333 種中藥以接種雞胚胎後再感染流感病毒的方式及血球凝集的方法作初步篩選。具抗流感之候選中藥再以細胞培養方式測定其細胞毒性(CC50)及針對 A 型及 B 型流感病毒定出 50%抑制濃度(IC50)。

結果與討論：

從中藥接種雞胚胎及血球凝集等實驗顯示，從 333 種中藥中，計有山楂(Crataegus pinnatifida Bge. var. major N. E. Br.)等 22 種中藥萃取物可能具有抗流感病毒之功效。在細胞毒性(CC50)試驗中，除了木香(Aucklandia lappa Decne.)具有較高之細胞毒性外，其他 21 種中藥萃取物對細胞毒性極低。針對 A 型及 B 型流感測定 50%抑制濃度(IC50)，結果顯示，22 種中藥萃取物中，其中有 5 種（山楂、山茱萸、木香、荊芥及紫蘇葉）同時對 A 型及 B 型流感病毒病毒有效，未來則針對該 5 種中藥預估其抗流感之成份及進一步分析其抗流感之效果及機制。

關鍵詞：流感病毒、傳統中藥、雞胚胎蛋

Number: CCMP99-RD-033

Establishment of Screening Platform of Chinese Herbal Medicine for Anti-influenza: Evaluation of the Effect and Mechanism

Chan Chi-Ho
Chung Shan Medical University

ABSTRACT

Aim:

To screen and to evaluate the effect of traditional Chinese medicine (TCM) against influenza viruses.

Method:

Three hundred and thirty-three TCMs were screened by using embryonated chicken egg (ECE) inoculation and hemagglutination (HA) test. Those TCMs, which showed protection to ECE against influenza virus, would be determined their cytotoxicity (CC50) and 50% inhibition concentration (IC50) against influenza A and B viruses.

Results & Discussion:

By using ECE inoculation and HA test, twenty-two out of 333 tested TCMs (included Crataegus pinnatifida Bge. var. major N. E. Br.) showed anti-influenza activity. Besides Aucklandia lappa Decne., other 21 TCMs showed low cytotoxicity. Among 22 TCMs, five TCMs (Crataegus pinnatifida Bge. var. major N. E. Br.,Cornus officinalis Sieb. et Zucc., Aucklandia lappa Decne., Schizonepeta tenuifolia Briq.andPerilla frutescens (L.) Britt.) showed anti-viral activity against both influenza A and B viruses. Next, we will try to separate and to analyze the active compound from these five candidate TCMs and evaluate their anti-influenza activity.

Keywords: influenza virus, traditional Chinese medicine, embryonated chicken egg

壹、前言

一、流感病毒的特性及流行狀況：

流感為重要的呼吸道疾病，除了引起嚴重的呼吸道症狀外，甚至會造成全世界大流行及死亡。流感病毒屬正黏液病毒科 (Family Orthomyxoviridae)，為單股負鏈的 RNA 病毒，外層包膜上散布三種蛋白突起，分別為血球凝集素 (Hemagglutinin, HA)、唾液酸酶 (Neuramindase, NA)、M2 蛋白。中層為基質蛋白 (Matrix protein, M1) 形成的球形蛋白殼，有著維持病毒外形及保護核衣殼的作用。病毒的最內層為由單股負鏈 RNA 和核蛋白 (Nucleocapsid protein, NP) 組成的核醣核蛋白 (Ribonucleoprotein, RNP)，含有三種 RNA 聚合酶 (PB2, PB1, PA)。依照其核蛋白的不同，可將流感病毒分成 A 型、B 型、C 型三種主要的病毒型。A 型流感病毒可依其血球凝集素和唾液酸酶的不同來區分亞型，到目前為止，共有 16 種血球凝集素 (H1 ~ H16) (Fouchier et al., 2005) 和 9 種唾液酸酶 (N1 ~ N9)，除了人類外，A 型流感病毒不同抗原型別還可自然感染豬、馬、貂、海豹及家禽、水鳥等，且可能發生跨物種間的傳播及重組，禽類可感染 A 型流感病毒所有亞型，而人類則較易受到 H1 及 H3 亞型的感染。

依據疾管局「定點醫師監測通報系統」的資料可見，每一流感季 (自每年7月1日至次年6月30日) 中，類流感病例自11月開始逐漸增加，12月至隔年3月份達到流行高峰，甚至可能持續至4月間。另外，依據「病毒性合約實驗室監測系統」統計資料顯示，B型流感病毒在2004-2005及2006-2007流感季為主要流行病毒株，2005-2006及2007-2008流感季則以A/H1N1病毒為主，A/H3N2除了在2003-2004流感季流行外，之後這幾年期間幾乎全年皆可分離到A/H3N2病毒株，是造成夏季流感之主要病毒。進一步由疾病管制局基因體實驗室流感基因收件定序結果報告分析可知2007-2008流感季流感株主要為 A/Brisbane/59/2007(H1N1)-like ， A/Brisbane/10/2007(H3N2)-like 及 B/Florida/4/2006。另外，我們可以發現台灣的病毒株約早歐美1-2年流行，因為WHO預測下一年度的流感流行株多早已在一年前即在台灣流行過了 (Shih et al., 2005)，這現象一直到2008年都沒改變。

有關流感併發重症疫情的方面，則依據「法定傳染病個案通報管理系統」資料可見，自 2002-2003 至 2006-2007 流感季，流感併發重症通報病例數共計 385 例，確定病例數共計 112 例，其中死亡病例數為 30 例，致死率為 26.79 %。若依各年齡層分析資料，小於 5 歲及大於(含) 65 歲族群發生率較高，分別為 0.36 ~ 1.20/100,000 及 0.24 ~ 0.32/100,000；至於死亡率部分，小於 5 歲年齡層之死亡率為 0.40 ~ 0.80/100,000，≧65 歲年齡層之死亡率為 0.09/100,000。

截至 2008 年 4 月 30 日止，2007-2008 年流感季全國各醫療院所共通報 81 例流感併發重症病例，19 例確定 (其中檢出 5 例 A、4 例 A/H1、4 例 A/H3、6 例 B)，其中 1 例確定病例死亡。

二、預防及治療方法：

雖然接種流感疫苗是目前全世界預防流感的主要方法，但因為流感病毒的突變率高，因此，疫苗株的選擇每年必須重新檢討及製造，才能維持其高保護力。另外，流感疫苗成本高並長期依賴國外進口，對接種者會產生如注射位置疼痛、發燒、甚至會出現與自然感染相似的症狀，因此，民眾接受度並不佳。

目前流感抗病毒藥物主要包含兩大類(Nicholson et al., 2003)，一種為 M2 蛋白抑制劑，其中包含 Amantadine 與 Rimantadine。可預防與治療 A 型流感病毒感染症。其作用機制為阻斷氫離子進入病毒的 M2 蛋白離子通道，進而抑制病毒於細胞內複製。另一類則為 Neuraminidase 抑制劑，主要包括 Zanamivir (Relenza®) 與 Oseltamivir (Tamiflu®) 兩種。可用來治療 A、B 型流感病毒感染症。其作用為將阻止子代病毒從感染細胞表面釋放，防止病毒的擴散。Zanamivir 為噴劑，由口吸入，使用上需要技術且不宜使用於氣喘等病患，Oseltamivir 為口服藥。在副作用方面，Amantadine 較 Rimantadine 易引發中樞神經系統之副作用， 如焦慮、憂鬱、失眠等副作用，若是血清中濃度過高，甚可引發妄想與抽搐等症狀。Zanamivir 與 Oseltamivir 則會另少數人產生如噁心及嘔吐等輕微的副作用。除此之外，已有不少關於流感病毒對現有抗病毒藥物產生漸漸產生抗藥性病毒株報告報導，大部份 H1N1 亞型對 Amantadine 已產生抗藥性。甚至台灣也有對 Oseltamivir 產生抗藥性的 H1N1 新型流感(Hurt et al., 2006; Handel et al., 2007; Sheu et al., 2008; Cheng et al., 2009；CDC, USA, 2009; Gulati et al., 2009; Hungnes et al., 2009; Vicente et al., 2009)。

SARS 發生以來，台灣進行中藥抗病毒的研究:

自 SARS 發生以來，台灣對若干常見的病毒亦進行中藥抗病毒的研究。在單味藥方面，蓮子(Seeds of Nelumbo nucifera)的萃取物中 NN-B-5 具有抑制第一型單純疱疹病毒(Herpes simplex virus type 1; HSV-1)在 HeLa 細胞複製的功效，其作用機制與抑制早期轉錄 ICP0 及 ICP4 mRNA 有關(Kuo et al., 2005)。另外，香椿(Toona sinensis Roem)嫩葉的萃取物則有抗 SARS-CoV 的作用(Chen et al., 2008)，而蘆薈大黃素(Aloe-emodin)則被發現同時對腸病毒七十一型及日本腦炎病毒具有抗病毒活性，其作用機制可能與蘆薈大黃素可誘發細胞產生干擾素有關(Lin et al., 2008)。在複方方面，茵蔯蒿湯(Yin Chen Hao Tang) 被發現對 HSV-1 及 HSV-2 均有抑制的功效，但對抗 HSV-2 複製的效果較強(Cheng et al., 2008)。升麻葛根湯(Sheng Ma Ge Gen Tang)則

對腸病毒七十一型的複製有抑制作用(Chang et al., 2008)。又以實證醫學之觀點,發現以天然中藥對 SARS 病人作輔助治療可縮短恢復期之效果(Hsu et al., 2008)。

三、抗流感中藥發展：

以往抗流感的中藥及食用植物中已經有不少報告，如板藍根 (Radix Isatidis)之水萃物 (Chen et al., 2006; Alleva et al., 2010)。岩膠薔薇(Cistus incanus)葉則為歐洲國家流行之一種花茶的飲料，其萃取物，在實胞實驗及小白鼠試驗中皆發現對鼻病毒(Rhinovirus)及各型流感病毒，甚至具有高病原性的禽流感病毒都具有不同程度之抗病毒效果，估計與其含有大量多酚(Polyphenols)之成份有關(Droebner et al., 2007; Ehrhardt et al., 2007; Serkedjieva et al., 2007)。北蟲草(Cordyceps militaris)亦有抗流感之報告，不過其作用並非直接與病毒作用，而是其含有之酸性多醣體(Acidic polysaccharide)使宿主體內免疫系統產生 TNF-□ and IFN-□，活化巨噬細胞並增加其殺病毒能力(Ohta et al., 2007)。其他如日本李(Japanese plum)之濃縮果汁(Yingsakmongkon et al., 2008)、木瓜 (Chaenomeles sinensis) (Sawai et al., 2008)、蜂膠 (Propolis) (Shimizu et al., 2009)、野壩子(Elsholtzia rugulosa)之有效成份為 Flavonoid 類複合物(Liu et al., 2008)、蘇木(Caesalpinia sappan) (Liu et al., 2009)、Clinacanthus siamensis 之葉子萃取物(Wirotesangthong et al., 2009)及甘草酸(Glycyrrhizin)等(Wolkerstorfer et al., 2009)，皆具有不同程度抗流感之功效。另外，日常食用的海帶(Seaweeds)，其萃取物中具有抗病毒之作用。在複方方面，含有桔梗、咖啡因、遠志、冰片、苦杏仁、五倍子、甘草等成份之痰咳淨片具有抗流感之功效(Jiang et al., 2009)。

雖然從現代科學文獻中已經證實有多種有中藥及食用植物具有抗流感病毒的功效，但都是個別報導為多，究竟不同中藥間何者之抗流感病毒的功效較高仍沒有相關研究報導，更少有從大規模中藥篩選抗流感病毒及效果比較的研究。因此，本研究計畫是希望從約 333 種已經初步萃取過之中藥中，與 A 及 B 流感病毒作用，找出那些中藥能實際直接具有抗流感病毒的中藥，並由中藥的分類學中先推測其活性成份，再作純化及結構拆解等試驗等。從第一年的計畫結果顯示，333 種中藥中，最後有 5 種同時對 A 型及 B 型流感病毒病毒有效，未來則針對該 5 種中藥預估其抗流感之成份及進一步分析其抗流感之效果及機制。

貳、材料與方法

一、雞胚胎蛋：

由 GMP 製藥廠所購得 11 日齡的雞胚胎蛋，並於 35 度 C 培養箱培養。

二、病毒株來源：

A/Taiwan/80102/2008 (H1N1) 、 A/Taiwan/80175/2008 (H3N2) 、 B/Taiwan/80141/2008 、A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

三、引子 (He et al., 2009; Wright et al., 1995)

A/NP Anp-1 ATCACTCACTGAGTGACATC

A/NP Anp-2 CCTCCAGTTTTCTTAGGATC

B/NS Bns-1 CGGACAACATGACCACAAC

B/NS Bns-2 TCTCTCTTCAAGAGACATCC 226

H1N1for798U33 ACAATAATATTTGAGGCAAATGGAAATCTAATA

H1N1Rev997-23 GCACTCCTGACATACTTTGGACA

H3－129 for20 CATGCAGTACCAAACGGAAC

H3－309 rev22 CATCACACTGAGGGTCTCCCAA

四、細胞株來源：

Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞株，ATCC (American Type Culture Collection)No. CCL-34（繼代數 P=58）

五、中藥來源：

中國醫藥大學侯庭鏞教授提供中藥初萃取物共 333 種。所提供的中藥皆由 GMP 藥廠依照中華中藥典建議之種源，其每批有一定之 GMP 流程規範進行採買及萃取，以確保藥效之再現。萃取物為科學化中藥之浸膏上清液，主要以經水萃取 之中藥萃取物為主，依不同中藥進行植物組織切片鑑定，並作 TLC 或 HPLC 之分析（表一）。

六、病毒經雞胚胎繼代

先以雞胚胎檢測器觀察雞胚胎的存活，並畫出蛋的氣室。之後用 75% 酒精棉擦拭蛋表面，並利用碘酒棉塗抹於接種區加以消毒。消毒完成後將雞胚胎蛋置入無菌操作台，取雞胚胎蛋打孔器（大頭針）以酒精燈過火滅菌，並在雞胚胎蛋氣室旁約 2 mm 處鑽一注射針筒可進入的孔洞。每一個雞胚胎蛋注射入 0.2 ml 的經細胞繁殖的病毒液，再以石蠟把孔洞封住。將雞胚胎蛋放置 35℃培養箱，之後每日兩次檢測雞胚胎蛋的存活，持續至 72 小時。最後將存活的雞胚胎蛋，置於 4 ℃存放至隔日，再抽取尿囊液(allantoic

fluid)，利用玻璃平板作血球凝集試驗，若血球凝集試驗為陽性，即可收取尿囊腔病毒液，再將病毒液存放於 -80℃保存。

七、雞胚胎半數感染劑量 (50% egg infectious dose, EID_{50})

將經雞胚胎繼代繁殖的病毒液，以不含胎牛血清的細胞生長液作 10 倍連續稀釋至 10^{-9}。再取 11 到 12 天的雞胚胎蛋標示組別，75% 的酒精棉擦拭蛋表面，再用碘酒棉塗抹於接種區。利用蛋的打孔器酒精燈過火滅菌，並在雞胚胎蛋的氣室旁，約 2 mm 處鑽一注射針筒可進入的孔洞。利用尿囊腔接種法注射入 0.2 ml 病毒液，每一個病毒濃度接種 10 顆雞胚胎蛋，再用石蠟把孔洞封住，放入 35℃下培養，培養 24 小時後檢測其存活，持續至 72 小時。72 小時後將存活的雞胚胎蛋置於 4 ℃至隔日。抽取尿囊液作血球凝集試驗，並檢查雞胚胎壞死的情形。最後判讀其血球凝集試驗結果，若呈陽性則雞胚胎為病毒感染。其 EID_{50} 之計算係依 Reed-Muench Method 計算之；其公式如下。

$$\frac{(\text{positive above 50\%})\% - 50\%}{(\text{positive above 50\%})\% - (\text{positive below 50\%})\%}$$

= proportionate distance

最後將計算出的數值，再乘回取出測試的樣品體積，使每單位成為每毫升下的病毒效。

八、雞胚胎蛋抗流感病毒篩選

以雞胚胎檢測器觀察雞胚胎的存活，先畫出蛋的氣室，並在雞胚胎蛋上標示組別。再用 75% 酒精棉擦拭蛋表面，取碘酒棉塗抹於接種區加以消毒。將雞胚胎蛋打孔器以酒精燈過火滅菌。並在胚胎蛋氣室旁 2mm 處鑽入一注射針筒可進入的孔洞。每一個雞胚胎蛋注射入 0.2ml 的中藥萃取液，用石蠟把孔洞封住，之後放入 35℃下培養一個半小時作用。雞胚胎藥物作用一個半小時後，再次用 75% 酒精棉擦拭蛋表面，並以碘酒棉塗抹於接種區以加以消毒。取雞胚胎蛋打孔器以酒精燈過火滅菌。並在胚胎蛋氣室旁 2mm 處，另外再鑽入一注射針筒可進入的孔洞。每一個雞胚胎蛋注射入 0.2ml 之 10 EID_{50}/ml 的病毒液，並以石蠟將孔洞封住。放入 35℃下培養。每日以雞胚胎檢測器檢測其存活，持續培養 72 小時後將存活的雞胚胎蛋，置於 4 ℃中 12 個小時。最後抽取尿囊液作血球凝集試驗並檢查雞胚胎壞死的情形。

結果判讀：若中藥無法抑制病毒感染雞胚胎，血球凝集試驗為陽性；若中藥能有效抑制病毒在雞胚胎的複製，血球凝集試驗為陰性。

九、流感病毒經細胞增殖

取出 4℃冰箱的培養液、PBS、Trypsin- EDTA 置於 37℃水浴槽回溫。

再將 MDCK 細胞自液態氮桶內取出，迅速置於 37℃水浴中解凍。把細胞懸浮液加入 10 ml 培養液 (DMEM + 10%FCS) 中，置於 25 T Flask 37℃培養箱（含 5% CO2）中培養。細胞培養 1~2 天左右，以倒立顯微鏡觀察細胞是否已長成單層細胞 (monolayes)。細胞長滿後，將細胞培養盒 (Flask) 內培養液吸掉，加入 10 ml PBS 緩衝液沖洗細胞表面，再將 PBS 儘量完全吸掉。再加入 1 ml Trypsin-EDTA （以能覆蓋細胞表面為原則），置入 37℃細胞培養箱 15 分鐘，單層細胞會從培養角瓶面脫落，並於倒立顯微鏡下確認細胞變成圓形，脫離細胞培養盒 (Flask) 表面。確認後加入 2 ml 生長培養液，以吸管上下沖打細胞，使細胞打散為單一細胞。再取 1 ml 細胞懸浮移至內含 10 ml 生長培養液的 75 T Flask，並置於 37 ℃含 5% CO_2 培養箱培養。將長滿 MDCK 細胞之 Flask 內培養液取出，再加入 10 ml PBS 緩衝液沖洗細胞表面，再將 PBS 吸出。從-80℃取出流感病毒病毒液，經解凍後，取 200μl 病毒液接種於 MDCK 細胞，37℃ 5% CO_2 培養箱培養作用 1 小時。作用 1 小時後，再加入 10 ml DMEM (內含 2μl/ml TPCK-trypsin 的 DMEM) 中。將 Flask 置入 37℃ 5% CO_2 培養箱培養。當細胞倍病毒感染時，會產生細胞病變的情形，故每日以倒立顯微鏡觀察 Flask 內的細胞病變。當 Flask 內 8~9 成細胞被病毒感染而產生細胞病變，即可以血球凝集試驗來加以確認。血球凝集試驗若為陽性，又產生細胞病變則可以將病毒液收集，將收集的病毒液於-80℃保存。

十、紅血球凝集試驗

血球懸浮製製備以斷頭方式採取雞血，並將雞血置於含抗凝劑 Alsever solution (Glucose 2.05g；Na-citrate 0.8g；Citric acid 0.055g；NaCl 0.42g；DDW 100 ml；pH 6.1) 中；血與抗凝劑 (1:1)。再將血球放入 50 ml 離心管，以 PBS 800G；10 分鐘離心清洗，此述動作重複 3 次。取清洗後的血球，利用 PBS 稀釋成 0.75%紅血球懸浮液，4℃存於備用。

取 U 型底 96 孔盤 (BD Falcon®)，於第二列至第八列各加入 50μl 的 PBS 溶液。並於第一列加入 100μl 病毒原液，陰性對照組以 100μl PBS 取代抗原。將病毒液作連續兩倍稀釋，取第一列 50μl 抗原液加入第二列，並均勻混合，再取 50μl 抗原液加入第三列，以此類推至第八列，最後將第八列的病毒稀釋液取 50μl 丟棄。最後將稀釋後每個 well 的病毒液，各別加入 0.75%紅血球懸浮液 50μl，靜置於室溫 60 分鐘判讀。若孔洞底部紅血球凝集分部均勻，判讀為 HA 陽性結果；若孔洞底部紅血球凝集呈現為光滑圓型，判讀為 HA 陰性。

十一、聚合酶連鎖反應

病毒液以 Qiagen RNA Purification Kit (Cat No.52906)萃取病毒 RNA。先以 560 μl Buffer AVL (內含 carrier RNA)置於 1.5ml 微量試管。再加入 140 μl

之病毒液，振盪 15 秒。振盪後置於室溫 10 分鐘。之後加入 560 µl 100%酒精，再次振盪 15 秒使均勻混合後，取 630 µl 移至管柱(spin column)。並以 6,000G (8,000 rpm)離心 1 分鐘後，移除廢液。再將剩餘病毒處理之混合液全部移至管柱。再次以 6,000G (8,000 rpm) 離心 1 分鐘，並移除廢液。取 500 µl buffer AW1 加入，以 6,000G (8,000 rpm) 離心 1 分鐘後，移除廢液。再加入 500 µl buffer AW2，以 20,000G (14,000 rpm)離心 3 分鐘，移除廢液。最後將管柱移至 1.5ml 離心管，加入 60 µl buffer AVE 或 distilled water 以 6,000 G (8,000 rpm)離心 1 分鐘，收集離心出之 RNA，以進行 RT- PCR 反應。

使用 Epicentre Biotechnologies one- step cDNA synthesis kit (Cat.No.MM070110) 進行 One-step RT-PCR。將萃取出的 RNA 進行反轉錄反應，試劑依序加入如下: MMLV RT 1µl ; MMLV 10X buffer 2µl ; Random Nonamer Primer 1µl; ScriptGuard RNase inhibitor 1µl ; dNTP premix 2µl ; DTT 2µl ; DDW 1µl; RNA 10µl。於 42℃中反應 45 分鐘，再以 92℃反應 2 分鐘，產物即為 cDNA 保存於-20℃。

以 GeneMark PCR Master Mix (Cat.No.RP02)試劑進行 PCR，其反應管分別加入以下反應物 DEPC 28µl；cDNA 10µl；Upstream primer 1µl；Downstream primer 1µl；5x PCR 10µl。加完試劑後放置入聚合酵素連鎖(PCR) 反應槽作用，其 PCR 每一個反應包括三個反應步驟：

94℃變性模板 (denature template) DNA 1 分鐘；55℃使引子及模板雜交配對 (annealing) 2 分鐘，75℃ 3 分鐘使 DNA Taq polymerase 合成引子間的 DNA，重複此三個反應步驟 40 次。最後一個循環後在延長 DNA 合成時間至 7 分鐘，得到 PCR 產物。

在利用電泳分析 PCR 產物，取 0.6 g agarose 加入 40ml 1X TBE Buffer，於微波爐加熱 1 分鐘，倒入製膠模具中，待液體冷卻凝固，其為 1.5% 瓊膠片。再取 5µl PCR 產物與 2µl loading dye 混合，加入膠片之凹槽內。將膠片兩側凹槽各加入 4 µl marker 與 2µl loading dye 混合液。並進行電泳分離 100 V，30 分鐘。以 ethidium bromide 進行膠片染色 5 分鐘，再以水褪染 5 分鐘。最後使用電永膠片影像分析系統判讀結果並照相紀錄。

十二、細胞毒性試驗

先將細胞消化後，以 DMEM（含 10% FBS）稀釋到適當體積，再均勻的接種到 96-well plate 中，每 well 接種 100 µl。並在盤面外圍四周加入 100 µl 無菌的 PBS。再將細胞移入 37℃培養箱，培養 16~18 小時。藥物處理組的部份，先吸掉 100 µl 培養液，再加入 100 µl 已稀釋過的藥物。細胞對照組的部分，為吸掉 100 µl 培養液，再加入 100 µl DMEM。最後將細胞移入 37℃培養箱，培養 16 小時。培養後吸掉孔洞中培養液，再以不含胎牛血清 DMEM 清洗。在每個孔洞再加入不含胎牛血清 DMEM 培養液 100 µl。再加

入 5 μl 的 WST-1 至每個 測試的孔洞，加完後輕拍培養盤，使 WST-1 混合均勻。WST-1 作用一個半小時後以酵素免疫分析儀(ELISA reader; TECAN®)測其 450 nm 之吸光值 (OD)並以 620 nm 為參考波長來判讀其結果。

細胞毒性百分比 (CC%)計算公式如下：

$$\frac{OD_{\text{mock average}} - OD_{\text{herb OD}}}{OD_{\text{mock average}}} \times 100\% = CC\%$$

十三、半數細胞培養物感染劑量 $TCID_{50}$ (50% tissue culture infectious dose)

在血清瓶中將病毒液以不含胎牛血清，但含 5μg/ml trypsin 培養液，作連續 10 倍的稀釋，從 10^{-1}-10^{-8} 稀釋完後置於冰上備用。當 96 培養盤孔洞中的細胞養滿後，吸取出內含胎牛血清的培養液，再以不含胎牛血清之培養液清洗細胞。取出稀釋好的病毒接種到 96 孔微量培養盤中，每一稀釋濃度接種一縱排共 8 孔,每孔接種 100μl。並於兩側縱排為正常細胞對照組(100μl 不含胎牛血清培養液；含 5μg/ml trypsin），逐日以顯微鏡觀察其細胞病變 (Cytopathic effect) 並記錄結果，觀察 2 天後再依照 Reed- Muench 法計算結果。

十四、百分之五十之雞胚胎感染劑量(EID_{50})

將克流感 (75mg/ml)以 DMEM 作 10 倍連續稀釋予以備用,利用雞胚胎檢測器觀察雞胚胎的存活，先畫出蛋的氣室，並在雞胚胎蛋上標示組別。再用 75%酒精棉擦拭蛋表面，取碘酒棉塗抹於接種區加以消毒。將雞胚胎蛋打孔器以酒精燈過火滅菌。並在胚胎蛋氣室旁 2mm 處鑽入一注射針筒可進入的孔洞。每一個雞胚胎蛋注射入 0.2ml 的克流感稀釋液，用石蠟把孔洞封住，之後放入 35℃下培養一個半小時作用。雞胚胎藥物作用一個半小時後，再次用 75%酒精棉擦拭蛋表面，並以碘酒棉塗抹於接種區以加以消毒。取雞胚胎蛋打孔器以酒精燈過火滅菌。並在胚胎蛋氣室旁 2mm 處，另外再鑽入一注射針筒可進入的孔洞。每一個雞胚胎蛋注射入 0.2ml 之 10 EID_{50}/ml 的病毒液，並以石蠟將孔洞封住。放入 35℃下培養。每日以雞胚胎檢測器檢測其存活，持續培養 72 小時後將存活的雞胚胎蛋，置於 4 ℃中 12 個小時。最後抽取尿囊液作血球凝集試驗並檢查雞胚胎壞死的情形。結果判讀：若克流感無法抑制病毒感染雞胚胎，血球凝集試驗為陽性；若克流感能有效抑制病毒在雞胚胎的複製，血球凝集試驗為陰性。

十五、抗流感病毒藥物 50%抑制濃度(IC50)

將細胞消化後，以 GM（10% FBS）稀釋到適當體積，再均勻的接種到 96-well plate 中，每 well 接種 100 μl。另外趁消化空檔，在盤面 X wells 處加入 200 μl 無菌的 DDW。將細胞移入 37℃培養箱，培養 16~18 小時。藥物的準備（以一個藥物為例），先取 6 個 tubes，標示 1~6，其中 1 表稀釋 2 倍，2 表稀釋 4 倍，依此類推。在每個 tube 中加入 350 μl DMEM。取 350 μl

的藥物，加到 1 號 tube 中，混合均勻，再放到 laminar flow 的檯面上，敲一敲，使液體集中在底部。輕輕以 tip resuspend 1 號 tube 中的培養液，吸取 350 µl 1 號 tube 中的培養液，加到 2 號管中，再利用相同的方式稀釋。加藥：一次處理同一稀釋濃度的 3 個 wells，先以 tip 吸去 100 µl 培養液，再加入 100 µl 已稀釋過的藥物。之後更換 tip，再重複相同的動作。C 及 V 的部分，為吸去 100 µl 培養液，再加入 100 µl DMEM。將細胞移入 37℃培養箱作用 1 小時使藥物在細胞中達到平衡。各洞（除 C 外共 57 洞）加入 100 µl (100 $TCID_{50}$/ml)的流感病毒液。3 個 C 洞則加入 100 µl DMEM。將細胞移入 37℃培養箱，培養 48-72 小時（加 WST-1 之時機為 3 個 V 洞的 CPE 皆很明顯且大部份細胞已經死亡）。將各洞的 medium 完全抽掉，加入 PBS 洗滌 1 次並完全抽掉。各洞再加入 100µl DMEM。各洞（共 60 洞）加入 1/10 volume (10 µl)的 WST-1，以八爪 pipetman 加，tip 深到液面下，加完 1 排即更換新的 tip。整盤加完後輕拍 plate，使 WST-1 混合均勻。將細胞移入 37℃培養箱，作用 1 小時。以 ELISA reader 讀取 OD 值(**440-690** nm)。

參、結果

一、流感病毒經細胞增殖

以流感病毒 (A/Taiwan/80102/2008 (H1N1) 、 A/Taiwan/80175/2008 (H3N2)、B/Taiwan/80141/2008 感染 MDCK 細胞予以大量增殖，以倒立式顯微鏡觀察細胞病變效應 (Cytopathic effect) 並拍照，確認 (A/Taiwan/80102/2008 (H1N1) 、 A/Taiwan/80175/2008 (H3N2) 、 B/Taiwan/80141/2008)皆可感染 MDCK 細胞產生細胞病變效應 (圖一)。

二、病毒株基因確認試驗

為確認 MDCK 細胞受到流感病毒感染之病毒株，故收集其病毒上清液萃取 RNA，並予以合成互補 DNA (cDNA)，利用各分型之病毒特異性引子，以 PCR 檢測病毒株之基因序列，以瓊膠電泳呈現結果：發現確實為其基因，B 型流感所特有(306 bp; 圖二 a)；A 型流感(226 bp; 圖二 b, c)，且為 H1N1、H3N2 病毒株所感染 (H1N1：215 bp；圖二 d, H3N2：181 bp；圖二 e)。

三、以雞胚胎增殖流感病毒

經由細胞實驗及 PCR 得知 H1N1，H3N2，B 型流感病毒感染細胞並產生 CPE，故以雞胚胎將病毒增殖 H1N1、H3N2 以尿囊腔 (CAS)接種雞胚胎，而 B 型流感以羊膜腔 (AS)接種，皆至尿囊腔取病毒液以血球凝集試驗檢視第一次、第二次第三次其病毒繼代後 HA 效價：H1N1 效價於第一次接種為 8，第二，三次分別為 128，1024；H3N2 效價於第一次接種為<2，第二，三次皆為 32；而 B 型流感 HA 為陽性，由於 HA 效價過低其 HA 效價 <2。將病毒液收集測其 EID_{50} ，H1N1 的 EID_{50} 於第一次為 10^{6} 第二次為 $10^{6.01}$，H3N2 的 EID_{50} 於第一次為 $10^{4.48}$ 第二次為 $10^{5.5}$，B 型流感病毒效價過低故無予以檢測其 EID_{50} (表二)。

四、抗流感篩選平臺之建立

為建立篩選中藥對於抗流感病毒感染之檢測平臺，故以克流感作為有效藥物對照組，取克流感 75 mg/ml 作連續 10 倍稀釋，尿囊腔接種克流感 1.5 小時後，再於尿囊腔接種 10 EID_{50} 病毒液，培養 72 小時後收集尿囊液檢測 HA 以確認感染與否。結果發現：克流感 75 mg x 10^{-2}/ml 的濃度下抑制病毒感染雞胚胎的比例為 100% ，75 mg x $10^{-3\sim -5}$/ml 的濃度下抑制病毒感染的比例為 0% ；而本實驗中使用的雞胚胎蛋平均重量為 50g，故 Tamiflu 於 23.7 mg/kg 的濃度下抑制 A/H1N1 200 ul 10 EID_{50}/ml 為有效抑制 50% 細胞遭受病毒感染之藥物濃度 (IC_{50})（表三）。

五、克流感及病毒於雞胚胎的感受試驗及 HA 測試

本實驗將雞胚胎取出觀察其感染結果並測其 HA。結果發現當只有病毒感染其 HA 為陽性，雞胚胎型態（圖三 a)；當只有克流感作用其 HA 為陰

性，雞胚胎型態（圖三 b）；當克流感作用並予以病毒接種其 HA 為陰性，雞胚胎型態（圖三 c）。

六、中草藥抗流感篩選平台之 HA 效價試驗

本實驗室利用此抗流感藥物篩選的檢視平臺，接續以各種中草藥之萃取液篩選可能抗流感病毒之候選藥物。首先以中草藥萃取液注射於尿囊腔 1.5 小時後再以感染病毒，72 小時培養收集其尿囊液執行 HA 試驗檢測其病毒效價。取尿囊液作連續兩倍稀釋測其 HA，（圖四 a）為具藥物抑制作用其 HA 效價<2；（圖四 b）為病毒對照組其 HA 效價 512。

依上述方式選出具抗流感病毒之候選藥物，共 22 種其 HA 抑制倍數從 11.31 倍至 512 倍不等。分述如下：牡蠣（抑制倍數 512）、紫蘇葉（抑制倍數 512）、菟絲子（抑制倍數 512）、韮菜子（抑制倍數 512）、海螵蛸（抑制倍數 322.54）及雞內金（抑制倍數 304.43）、秦艽（抑制倍數 215.26）、山楂（抑制倍數 107.63）、木通（抑制倍數 107.63）、木賊草（抑制倍數 64.00）、荊芥（抑制倍數 64.00）、巴戟天（抑制倍數 50.79）、山茱萸（抑制倍數 45.25）、紫花地丁（抑制倍數 32.00）、木香（抑制倍數 25.39）、山藥（抑制倍數 22.62）、白芥子（抑制倍數 22.62）、生地黃（抑制倍數 22.62）、天仙茅（抑制倍數 16.00）、白朮（抑制倍數 12.69）、升麻（抑制倍數 11.31）、半夏（抑制倍數 11.31）初步發現可能具有抗流感感染的中草藥，其候選藥物 HA 效價和病毒對照組相比皆有顯著差異 ($p<0.00001$)（表四）。

七、候選中草藥之細胞毒性試驗

進一步取這些中草藥來處理細胞觀察其細胞毒性。以 WST-1 檢測其細胞毒性，結果發現（表五）。大部份的中草藥細胞毒性極低，除了木香和升麻需將原倍的中藥萃取液再加以稀釋，以檢測其一半細胞培養藥物毒殺劑量(CC_{50})。木香其細胞毒性偏高細胞毒性劑量(CC_{50})為 0.22 mg/ml；山藥、天仙茅、木賊草、白芥子、生地黃、牡蠣及海螵蛸、菟絲子、韮菜子、雞內金未測出細胞毒性，其他具毒性的中草藥數值之範圍約為 0.22 -14.68 mg/ml。

八、候選中草藥之一半抑制濃度

針對上述 22 種初步對 A/H1N1 有抑制效的中藥再以 MDCK 細胞中測其對 A/H1N1 及 B 型流感病毒的一半抑制濃度(IC_{50})，則有 11 種候選中草藥對 B 型流感病毒有效。依其 IC_{50} 從低到高為牡蠣、紫蘇葉、木通、海螵蛸、白朮、木賊草、木香、山楂、巴戟天、荊芥、山茱萸等，其 IC_{50} 之範圍從 0.019 mg/ml 至 3.7 mg/ml 不等(表六)。其中 5 種候選中藥同時對 A/H1N1 流感病毒有抑制之效果，其 IC_{50} 之範圍從 0.11mg/ml 至 3.70.93 mg/ml，平均 CC_{50} 及 selective index 如表六。

肆、討論

雞胚胎蛋為篩選抗流感病毒抑製劑體內試驗簡易的系統(Sauerbrei et al., 2006)。胚胎是動物最早發育階段，許多細胞正處快速分化中。禽類胚胎期具有封閉的保護性蛋殼，在蛋中能自行供給養份，而且是一個無菌的環境以供胚胎組織細胞的生長，所以利用病毒感染胚胎蛋是一種可行的方法。本實驗室陽性藥物對照組克流感，其前趨藥物 oseltamivir 磷酸鹽需經酯酶水解代謝轉化為具療效的 oseltamivir carboxylate (He et al., 1999)。在10日齡的雞胚胎在肝臟和血液中檢測出具有 carboxylesterases，所以雞胚胎有能力將oseltamivir轉換成神經胺酸酶抑製劑 (Farage-Elawar, 1991)。克流感能抑制病毒顆粒從被感染的細胞釋放 (Gubareva et al., 2000)，但無法阻止雞胚胎接種病毒後，雞胚胎細胞免於病毒的感染 (Sauerbrei et al., 2006)。然而 EID_{50} 測量取決於尿囊液的血球凝集，並非由雞胚胎死亡率決定。造成雞胚胎感染模式和感染人類之間的差異。因此雞胚胎感染模式能預測抗流感病毒藥物療效，因為雞胚胎感染模式經由尿囊腔的血管感染，易導致雞胚胎全身性感染而死亡，不同於流感病毒感染動物大多經由呼吸道感染。也必須考慮到病毒適應在新的宿主可能導致病毒HA 抗原和結構突變(Katz et al., 1987; Schild et al., 1983)，所以雞胚胎感染模式可能產生HA受體結合與NA分子的改變 (Ito et al., 1997)。而且本實驗經MDCK分離的B型流感病毒再經雞胚胎培養其適應性不佳。目前雞蛋感染模式其優點為胚胎蛋體積易操作，胚胎生命期短，胚胎蛋成本低允許大量使用，胚胎蛋被視為體內和體外試驗系統間，且在動物保護倫理和法律方面不衝突等 (Balls et al., 1983)，利用尿囊液測HA效價其更容易量化，且血球凝集試驗技術簡單、成本低，並且短時間內即可判讀結果，具安全性。雖然雞胚胎感染模式不能取代體外細胞培養篩選抗病毒化合物系統(Watanabe et al., 1994; Woods et al., 1993)，以及取代小鼠或雪貂的體內感染模式，但是雞胚胎感染模式仍有助於篩選測試藥物並減少實驗動物的數量。綜上所述儘管上述限制胚胎雞蛋模式，但利用該模式證實克流感、瑞樂莎、金剛胺、金剛乙胺皆能抗A型流感病毒 (Sauerbrei et al., 2006)。故此模式仍有利於活體篩選具有抗流感病毒活性的替代方法。

從植物性抗病毒藥物中分離到的化學成分，包括多酚類物質、類黃酮、皂苷和生物鹼(Wang et al., 2006)。有報告指出山楂具酚類化合物，五環三 萜類熊果酸(pentacyclic triterpenoid ursolic acid)、四聚體(tetrameric)、五聚體原花青素(pentameric procyanidin)及類黃酮(Flavonoids)，其O-糖苷類黃酮(O-glycosidic flavonoids)和寡聚原花青素(oligomeric proanthocyanidins) 具抑制單純皰疹病毒第1型(HSV- 1)活性，並且山楂經細胞試驗證實其原花青

素具高的抗氧化活性，能將微脂質和羥自由基清除 (Shahat et al., 2002)。經本實驗發現山楂具抗流感病毒的活性。

先前期刊發表和本實驗同樣具抗流感療效的中藥為山茱萸及木通，敘述如下：當小鼠經鼻腔感染流感病毒 A/WSN/33，口服給予山茱萸治療能增加小鼠生存率，並利用細胞實驗發現山茱萸能抑制病毒與細胞的結合來達到抗病毒的活性 (Sakagami et al., 1992)。木通之甘露糖結合凝集素 (mannose-binding lectin) 具抗病毒以及誘導細胞凋亡的活性，經 branched oligomannosides 能抑制血球凝集活性，並且抑制 H1N1, H3N2, B 型流感病毒在 MDCK 細胞中細胞病變 (cytopathic effect) 的產生 (Peng et al., 2009)。

山楂之主要成分為有機酸及黃酮類化合物。山茱萸含有山茱萸甙、皂甙、鞣質、熊果酸、蘋果酸、酒石酸及維生素A。山藥含皂甙、膽鹼、維生素、甘露醇。巴戟天含有黃酮類化合物、維生素C、糖類。木香含有紫杉醇、黃酮類、內酯類、水芹烯。天仙茅含有皂苷類。木通含有馬兜鈴酸、鞣質、鈣質、皂苷、脂肪油。升麻含有生物鹼、水揚酸、咖啡酸、阿魏酸、鞣質、皂甙。木賊草含有皂苷。白朮含有黃酮類、內酯類、甘露醇、果糖。半夏含有固醇類、皂苷、膽鹼、生物鹼、多種氨基酸、少量脂肪及澱粉。白芥子含有皂甙、生物鹼。生地黃含有固醇類、地黃素、甘露醇、葡萄糖、生物鹼、鐵質、維生素A。牡蠣含有80～95%的碳酸鈣、磷酸鈣及硫酸鈣，並且具鎂、鋁、硅、氧化鐵及有機質。海螵蛸含有80%～85%碳酸鈣、殼角質、氯化鈉、磷酸鈣、鎂鹽。秦艽含有大量生物鹼。荊芥含黃酮類、檸檬油。紫花地丁含有本苷類、黃酮類。紫蘇葉含有皂苷類、檸檬油。菟絲子含有皂苷、糖類、黃酮類。韮菜子含有硫化物、皂苷、维生素C。雞內金含有胃激素、角蛋白、氨基酸以及微量胃蛋白酶、澱粉酶 (李等，2008)。

綜合上述的結果推論得到，山楂、巴戟天、白朮、荊芥中皆含有黃酮類化合物。山茱萸、木香、天仙茅、半夏、紫蘇葉藥材中則含有皂苷類物質。木通、升麻、木賊草、白芥子、生地黃等藥材中皆含有生物鹼類物質。以往研究植物性抗病毒藥物中分離到的化學成分，包括多酚類物質、類黃酮、皂苷和生物鹼 (Wang et al., 2006)。本實驗結果之中藥亦含上述成分，故可能具抗病毒功效。不具上述成份的為牡蠣、海螵蛸，其主要成份為碳酸鈣。牡蠣在傳統中醫學能予治療咳嗽、發冷發熱、祛痰化飲。海螵蛸則能收斂止血，制酸止痛，收濕斂瘡 (行政院衛生署中華藥典編修委員會，2006)。雞內金則可消食健胃 (行政院衛生署中華藥典編修委員會，2006)。

以上以雞胚胎蛋模式篩選出之 22 種抗流感候選中藥中，我們以細胞模式，針對A型及B型流感病毒計算其(IC50)有效抑制病毒濃度(表六)，最後有11種中藥再次被證實對B型流感病毒有抑制效果，其中有5種同時對

A/H1N1流感病毒也有抑制效果。未來可先以該5種中藥，了解其活性成份，再挑選可能有抗流感病毒活性者，再進一步分析。

伍、結論與建議

雖然利用雞胚胎蛋模式找到 22 種具有抗流感病毒活性之中藥，篩選出具有抗流感病毒活性之中藥，但單一實驗不能完全證實其正確性，仍需要用不同的模式交互證明，才能正確地找得到有效的藥物。因此，我們再用細胞模式再次驗證，結果最後找到 5 種中藥同時具有抗 A 及 B 型流感病毒之結果。若以 IC50 及 selective index 來考量抗病毒效果強度，紫蘇葉抗 A 型及 B 型流感病毒之效果應為首選。雖然木通之效果也不錯，但細胞毒性太強，必需把活性成份分離後再分析。另外，每一中藥萃取物中都含有多達十多種甚至數十種化學成份。這些成份中，有些含有毒性，也有具不同生物活性的化合物，更有已經被純化為商品者。因此，為了有效找出中藥中那些成份具有抗流感病毒活性，我們可以針對最後 5 種同時對 A/H1N1 及 B 型流感病毒皆有抑制效果的中藥中，選出比較有可能有效之化合物，一方面直接購買，若無商品者，則以 TLC 及 HPLC 純化的方式獲得。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-033 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 行政院衛生署中華藥典編修委員會，2006
2. 李時珍著，御史編譯。2008。 本草綱目。
3. Alleva LM, Cai C, and Clark IA: Using Complementary and Alternative Medicines to Target the Host Response during Severe Influenza. *Evid Based Complement Alternat Med* 2010; 7: 501-510.
4. Balls M, Riddell R., and Worden AN: Animals and alternatives in toxicity testing. 1983; Academic Press, London; New York.
5. Centers for Disease Control and Prevention: Update: drug susceptibility of swine-origin influenza A (H1N1) viruses. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009; 1(58): 433-435.
6. Chang JS, Wang KC, and Chiang LC: Sheng-Ma-Ge-Gen-Tang inhibited Enterovirus 71 infection in human foreskin fibroblast cell line. *J Ethnopharmacol* 2008; 119: 104-108.
7. Chen CJ, Michaelis M, Hsu HK, Tsai CC, Yang KD, Wu YC, Cinatl J Jr, and Doerr HW: Toona sinensis Roem tender leaf extract inhibits SARS coronavirus replication. *J Ethnopharmacol* 2008; 30: 108-111.
8. Chen ZW, Wu LW, Liu ST, Cai CP, Rao PF, and Ke LJ: Mechanism study of anti-influenza effects of Radix Isatidis water extract by red blood cells capillary electrophoresis. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2006; 31: 1715-1719.
9. Cheng HY, Lin LT, Huang HH, Yang CM, and Lin CC: Yin Chen Hao Tang, a Chinese prescription, inhibits both herpes simplex virus type-1 and type-2 infections in vitro. *Antiviral Res* 2008; 77: 14-19.
10. Cheng PK, Leung TW, Ho EC, Leung PC, Ng AY, Lai MY, and Lim WW: Oseltamivir- and amantadine-resistant influenza viruses A (H1N1).*Emerg Infect Dis* 2009; 15: 966-968.
11. Droebner K, Ehrhardt C, Poetter A, Ludwig S, and Planz O: CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice. *Antiviral Res* 2007; 76: 1-10.
12. Ehrhardt C, Hrincius ER, Korte V, Mazur I, Droebner K, Poetter A, Dreschers S, Schmolke M, Planz O, and Ludwig S: A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti-influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antiviral Res* 2007; 76: 38-47.
13. Farage-Elawar, M: Development of esterase activities in the chicken before

and after hatching. *Neurotoxicol Teratol* 1991; 13:147-152.

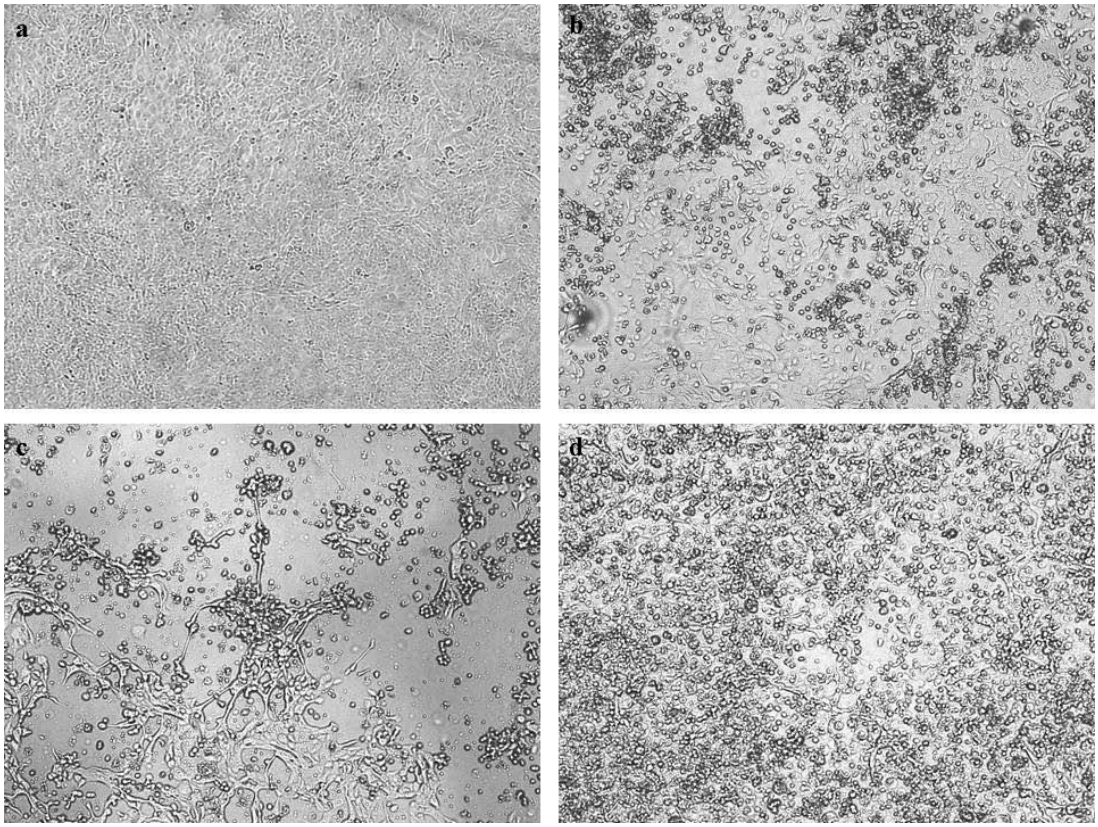
14. Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Bestebroer TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, and Osterhaus ADME: Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814-2822.
15. Gubareva, L.V., L. Kaiser, and F.G. Hayden. 2000. Influenza virus neuraminidase inhibitors. The Lancet. 355:827-835.
16. Gulati S, Smith DF, and Air GM: Deletions of neuraminidase and resistance to oseltamivir may be a consequence of restricted receptor specificity in recent H3N2 influenza viruses.*Virol J* 2009; 14: 6-22.
17. Handel A, Longini IM, and Jr, Antia R: Neuraminidase inhibitor resistance in influenza: assessing the danger of its generation and spread. *PLoS Comput Biol* 2007; 3: e240.
18. He G, Massarella J, and Ward P: Clinical pharmacokinetics of the prodrug oseltamivir and its active metabolite Ro 64-0802. *Clin Pharmacok* 1999; 37:471-484.
19. He J, Bose ME, Beck ET, Fan J, Tiwari S, Metallo J, Jurgens LA, Kehl SC, Ledeboer N, and Kumar S: Rapid multiplex reverse transcription-PCR typing of influenza A and B virus, and subtyping of influenza A virus into H1, 2, 3, 5, 7, 9, N1 (human), N1 (animal), N2, and N7, including typing of novel swine origin influenza A (H1N1) virus, during the 2009 outbreak in Milwaukee, Wisconsin. *J Clin Microbiol* 2009;47:2772-2778.
20. Hsu CH, Hwang KC, Chao CL, Chang SG, Ho MS, Lin JG, Chang HH, Kao ST, Chen YM, and Chou P: An Evaluation of the Additive Effect of Natural Herbal Medicine on SARS or SARS-like Infectious Diseases in 2003: A Randomized, Double-blind, and Controlled Pilot Study. *Evid Based Complement Alternat Med* 2008; 5: 355-362.
21. Hungnes O, and Dudman SG: Resistance in influenza viruses. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2008; 128: 2601-2606.
22. Hurt AC, Ho HT, and Barr I: Resistance to anti-influenza drugs: adamantanes and neuraminidase inhibitors. *Expert Rev Anti-infectiveTher* 2006; 4:795-805.
23. Ito T, Suzuki Y, Takada A, Kawamoto A, Otsuki K, Masuda H, Yamada M, Suzuki T, Kida H, and Kawaoka Y: Differences in sialic acid-galactose linkages in the chicken egg amnion and allantois influence human influenza virus receptor specificity and variant selection. *J Virol* 1997; 71:3357-3362.

24. Jiang YN, and Mo HY: Anti-viral effects of Tankejing preparations against influenza virus A. *Zhong Yao Cai* 2009; 32: 29-32.
25. Katz JM, Naeve CW, and Webster RG: Host cell-mediated variation in H3N2 influenza viruses. *Virology* 1987; 156: 386-395.
26. Kuo YC, Lin YL, Liu CP, Tsai WJ: Herpes simplex virus type 1 propagation in HeLa cells interrupted by Nelumbo nucifera._*J Biomed Sci* 2005; 12: 1021-1034.
27. Lin CW, Wu CF, Hsiao NW, Chang CY, Li SW, Wan L, Lin YJ, and Lin WY: Aloe-emodin is an interferon-inducing agent with antiviral activity against Japanese encephalitis virus and enterovirus 71. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32: 355-359.
28. Liu AL, Liu B, Qin HL, Lee SM, Wang YT, and Du GH: Anti-influenza virus activities of flavonoids from the medicinal plant Elsholtzia rugulosa. *Planta Med* 2008; 74: 847-851.
29. Liu AL, Shu SH, Qin HL, Lee SM, Wang YT, and Du GH: In vitro anti-influenza viral activities of constituents from Caesalpinia sappan. *Planta Med* 2009; 75: 337-339.
30. Nicholson KG, Wood JM, and Zambon M: Influenza. *Lancet* 2003; 362, 1733-1745.
31. Ohta Y, Lee JB, Hayashi K, Fujita A, Park DK, and Hayashi T: In vivo anti-influenza virus activity of an immunomodulatory acidic polysaccharide isolated from Cordyceps militaris grown on germinated soybeans. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 10194-10199.
32. Peng H, Lv H, Wang Y, Liu Y, Li C, Meng L, Chen F, and Bao J: Clematis montana lectin, a novel mannose-binding lectin from traditional Chinese medicine with antiviral and apoptosis-inducing activities. *Peptides* 2009; 30: 1805-1815.
33. Sakagami H, Takeda M, Kawazoe Y, Nagata K, Ishihama A, Ueda M, and Yamazaki S: Anti-influenza virus activity of a lignin fraction from cone of Pinus parviflora Sieb. et Zucc. *In vivo (Athens, Greece)*. 1992; 6: 491-495.
34. Sauerbrei A, Haertl A, Brandstaedt A, Schmidtke M, and Wutzler P: Utilization of the embryonated egg for in vivo evaluation of the anti-influenza virus activity of neuraminidase inhibitors. *Med Microbiol Immunol* 2006; 195: 65-71.
35. Sawai R, Kuroda K, Shibata T, Gomyou R, Osawa K, and Shimizu K: Anti-influenza virus activity of Chaenomeles sinensis. *J Ethnopharmacol*

2008; 118: 108-112.
36. Schild G, Oxford J, De Jong J, and Webster R: Evidence for host-cell selection of influenza virus antigenic variants. *Nature* 1983; 303: 706-709.
37. Serkedjieva J, Toshkova R, Antonova-Nikolova S, Stefanova T, Teodosieva A, Ivanova I: Effect of a plant polyphenol-rich extract on the lung protease activities of influenza-virus-infected mice. *Antivir Chem Chemother* 2007; 18: 75-82.
38. Shahat, AA, Cos P, De Bruyne T, Apers S, Hammouda FM, Ismail SI, Azzam S, Claeys M, Goovaerts E, and Pieters L: A ntiviral and antioxidant activity of flavonoids and proanthocyanidins from Crataegus sinaica. *Planta medica* 2002; 68: 539-541.
39. Sheu, TG, Deyde VM, Okomo-Adhiambo M, Garten RJ, Xu X, Bright RA, Butler EN, Wallis TR, Klimov AI, and Gubareva LV: Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance among human influenza A and B viruses circulating worldwide from 2004 to 2008. *Antimic Agents Chemother* 2008; 52: 3284-3292.
40. Shih SR, Chen GW, Yang CC, Yang WZ, Liu DP, Lin JH, Chiu SC, Chen HY, Tsao KC, Huang CG, Huang YL, Mok CK, Chen CJ, Lin TY, Wang JR, Kao CL, Lin KH, Chen LK, Eng HL, Liu YC, Chen PY, Lin JS, Wang JH, Lin CW, Chan YJ, Lu JJ, Hsiung CA, Chen PJ and Su IJ: Laboratory-based surveillance and molecular epidemiology of influenza virus in Taiwan. *J. Clin. Microbiol* 2005; 43: 1651-1661.
41. Shimizu T, Hino A, Tsutsumi A, Park YK, Watanabe W, and Kurokawa M: Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. *Antivir Chem Chemother* 2008; 19: 7-13.
42. Vicente D, Cilla G, Montes M, Mendiola J, and Pérez-Trallero E: Rapid spread of drug-resistant influenza A viruses in the Basque Country, northern Spain, 2000-1 to 2008-9. *Euro Surveill* 2009; 14: 19215.
43. Wang, X, Jia W, and Zhao A: Anti influenza agents from plants and traditional Chinese medicine. *Phytother Res* 2006; 20: 335-341.
44. Watanabe W, Konno K, Ijichi K, Inoue H, Yokota T, and Shigeta S: MTT colorimetric assay system for the screening of anti-orthomyxo-and anti-paramyxoviral agents. *J Virol Meth* 1994; 48: 257-265.
45. Wirotesangthong M, Nagai T, Yamada H, Amnuoypol S, and Mungmee C: Effects of Clinacanthus siamensis leaf extract on influenza virus infection. *Microbiol Immunol* 2009; 53: 66-74.

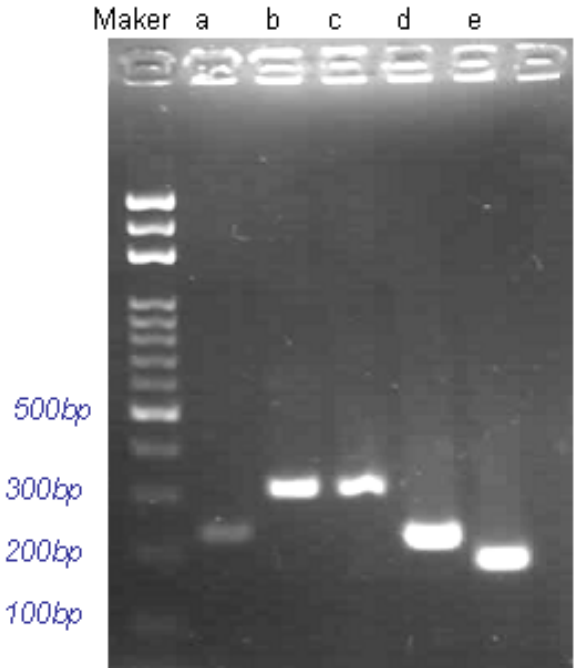
46. Wolkerstorfer A, Kurz H, Bachhofner N, and Szolar OH: Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell. *Antiviral Res* 2009; 83: 171-178.
47. Woods J, Bethell R, Coates J, Healy N, Hiscox S, Pearson B, Ryan D, Ticehurst J, Tilling J, and Walcott S: 4-Guanidino-2, 4-dideoxy-2, 3-dehydro-N-acetylneuraminic acid is a highly effective inhibitor both of the sialidase (neuraminidase) and of growth of a wide range of influenza A and B viruses in vitro. *Antivir Chem Chemother* 1993; 37: 1473-1479.
48. Wright K, Wilson G, Novosad D, Dimock C, Tan D, and Weber J: Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1180-1184.
49. Yingsakmongkon S, Miyamoto D, Sriwilaijaroen N, Fujita K, Matsumoto K, Jampangern W, Hiramatsu H, Guo CT, Sawada T, and Takahashi T: In vitro inhibition of human influenza A virus infection by fruit-juice concentrate of Japanese plum (Prunus mume SIEB. et ZUCC). *Biol Pharm Bull* 2008; 31: 511-515.

柒、圖、表



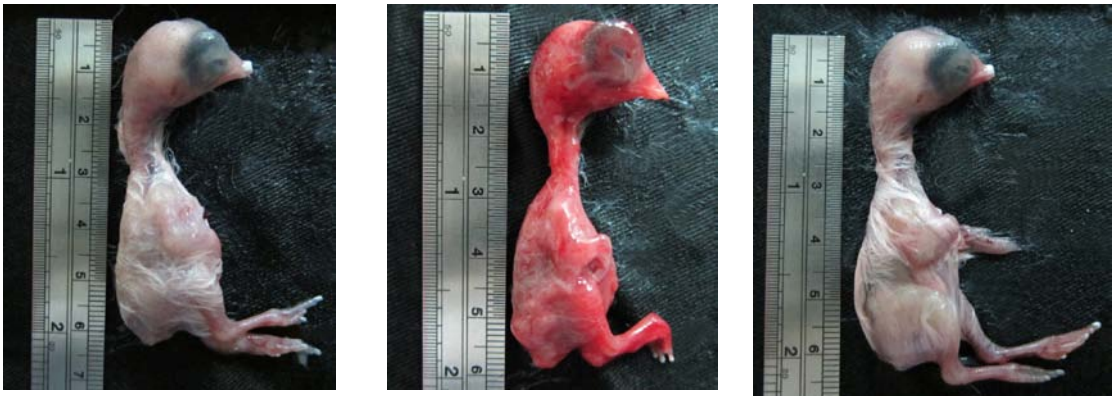
圖一、感染MDCK細胞產生細胞病變效應

(a)正常未感染病毒之MDCK (b) A/Taiwan/80102/2008 (H1N1)
(c) A/Taiwan/80175/2008 (H3N2) (d) B/Taiwan/80141/2008; 40X



圖二、以 PCR 鑑定病毒亞型之正確性。a. B 型流感(306 bp)，b. 及 c. A 型流感(226 bp)，d. A/H1N1 (215 bp)、e. A/H3N2 (181 bp)

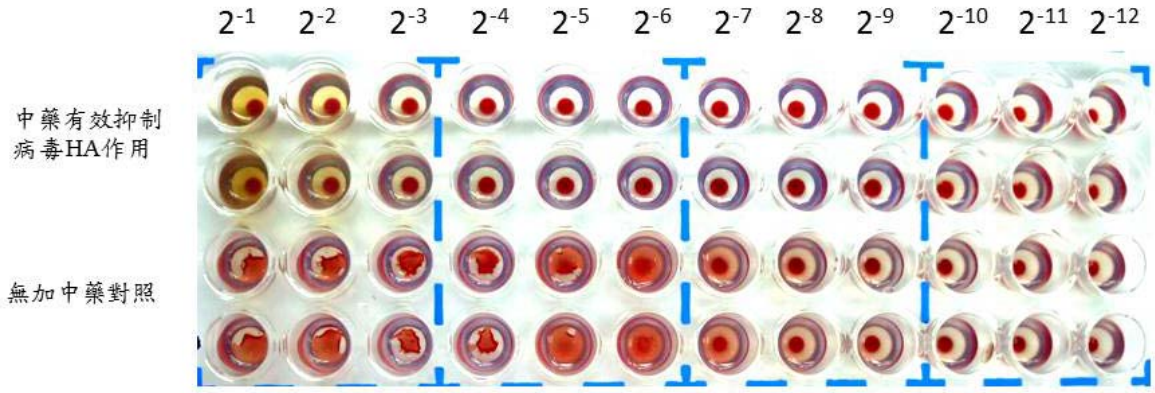
a. H1N1 only　　b. Tamiflu only　　c Tamiflu+H1N1





HA+　　**HA-**　　**HA-**

圖三、克流感及病毒於雞胚胎的病變及血球凝集試驗



圖四、血球凝集試驗

表一、測試之中藥

鬱金	木香	白花蓮	車前草	枳實
一條根	天南星	白前	穀精	柿蒂
人參	水丁香	白花蛇舌草	赤小豆	厚朴
九層塔	天仙茅	玄參	赤苓	砂仁
丁香	木瓜	白鮮皮	車前子	香附子
丁豎朽	化石草	白芷	芒硝	前胡
葶藶子	木通	冬葵子	防風	栝蔞皮
山楂	火麻仁	生薑	辛夷	天花粉
山茱萸	升麻	肉豆蔻	芡實	栝蔞實
大金櫻	木賊草	合歡皮	蟬蛻	栝蔞仁
女貞子	牛蒡子	全蠍	夜交藤	胖大海
山藥	冬瓜子	肉蓯蓉	刺五加	紅骨蛇
大棗	石榴皮	自然銅	狗脊	苦參根
川芎	石決明	血竭	阿膠	香薷
三七	白殭蠶	地榆	虎杖	炮附子
大小薊	玉竹	百部	乳香	威靈仙
小金櫻	甘草	地膚子	延胡索	枳椇子
三稜	北沙參	地骨皮	青皮	郁李仁
大腹皮	石斛	竹茹	佛手	胡麻仁
山豆根	白朮	百合	昆布	柴胡
大青葉	白芍藥	肉桂	枇杷葉	海螵蛸
土茯苓	代赭石	艾葉	金銀花	神麴
千里光	仙鶴草	地龍	青蒿	浮小麥
小茴香	白芨	決明子	青箱子	桑螵蛸
川烏(製)	白荳蔻	穀芽	知母	烏梅
大丁癀	半夏	牡蠣	板藍根	茯神
川楝子	白芥子	杜仲	吳茱萸	倒地蜈蚣
千年健	白果	沙苑子	羌活	桑寄生
大黃	半枝蓮	何首烏	松節	益智仁

五倍子	生地黃	赤芍藥	金錢草	骨碎補
五味子	石膏	沒藥	佩蘭	芫蔚子
天麻(川)	白雞冠花	皂刺	柏子仁	益母草
巴戟天	白茅根	旱蓮草	胡桃	茜草
天門冬	白薇	良薑	枸杞子	桃仁
五靈脂	白薟	貝母	故紙花	馬鞭草
丹參	白椿皮	杏仁	紅花	桂皮
王不留行	白頭翁	忍冬藤	扁柏	降真香
牛膝	白扁豆	牡丹皮	枳殼	烏藥
荔枝核	通草	菟絲子	萹蓄	檀香
浮海石	細辛	粳米	路路通	紫蘇梗
海蛤粉	麻黃	萹蓄	滑石	龍膽草
海藻	石菖蒲	路路通	革薢	薏苡仁
桔梗	訶子	滑石	葛根	龍眼花
烏甜	絞股藍	革薢	酸棗仁	薄荷葉
秦皮	補骨脂	葛根	遠志	瞿麥
桑白皮	紫河車	酸棗仁	銀杏葉	檳榔
夏枯草	黃精	遠志	槐花	龜板
茵陳	黃耆	銀杏葉	蒺藜	覆盆子
馬蹄金	黑地榆	槐花	蒲黃	鎖陽
馬勃	黑槐花	蒺藜	漏蘆	蒿本
射干	黑荊芥	蒲黃	蒲公英	雞內金
秦艽	黑蒲黃	漏蘆	鳳尾草	黨參
桑枝	款冬花	蒲公英	漢防已	雞血藤
茯苓	紫菀	鳳尾草	蒼耳子	蘇木
桑葉	萊菔子	漢防已	蒼朮	藕節
桂枝	紫花地丁	蒼耳子	豨簽草	藿香
荊芥	紫草	蒼朮	蓮鬚	蘇子
麥芽	絲瓜絡	豨簽草	蓮子	雞香藤
淡豆豉	黃芩	蓮鬚	劉寄奴	蘆根
麻黃根	黃連	蓮子	荷葉	石胡荽

鉤藤	黃柏	劉寄奴	蓮子心	雞骨草
麥門冬	貫眾	荷葉	蒙花	鱉甲
蛇床子	黃金桂	蓮子心	蔓荊子	續斷
淫羊藿	筆仔草	蒙花	豬膽	川牛膝
莪朮	番麥鬚	蔓荊子	熟地黃	新木香
陳皮	黃水茄	豬膽	澤蘭	北茵陳
旋覆花	番瀉葉	熟地黃	橘核	水梔子
山梔子	菊花	澤蘭	橘紅	燈心草
淡竹葉	紫蘇葉	橘核	薏仁	連翹
魚腥草	楮實子	橘紅	獨活	獨活
敗醬草	當歸(尾)	薏仁	澤瀉	豬苓
當歸(川)	乾薑	韮菜子	龍骨	萬點金
牽牛子	鳥不宿	蔥白	薑黃	薤白

表二、流感病毒在雞胚胎蛋繼代及適應之歷程

Virus	Passage generation in ECE	Inoculation route	Fluid harvested	HA titer	Virus titer (EID50/ml)
A/Taiwan/80102/2008 (H1N1)	3	CAS	Allantoic	1st 8/8	Test1 10^{6}
				2nd 128/128	Test 2 $10^{6.01}$
				3rd 1024/1024	
A/Taiwan/80175/2008 (H3N2)	3	CAS	Allantoic	1st <2/<2	Test1 $10^{4.48}$
				2nd 32/32	Test 2 $10^{5.5}$
				3rd 32/32	
B/Taiwan/80141/2008	4	AS	Allantoic	+	Not done

表三、克流感(Tamiflu)在雞胚胎蛋抑制 A/H1N1 之 IC50 計算

藥物濃度	存活數	死亡數	累計存活數	累計死亡數	存活數百分比 (%)
75 mg x 10^{-2}	6	0	6	0	100
75 mg x 10^{-3}	0	6	0	6	0
75 mg x 10^{-4}	0	6	0	12	0
75 mg x 10^{-5}	0	6	0	18	0

雞胚胎蛋平均重量為 50 g，Tamiflu 的 IC50 =23.7 mg/kg against 200 ul 的 10 EID50/ml 的 A/H1N1 流感病毒

表四、以接種雞胚胎蛋篩選抗流感之候選中藥

中藥名	血球凝集試驗效價				幾何平均	抑制倍數
牡蠣	<2	<2	<2	ND	1.00	512.00
紫蘇葉	<2	<2	<2	ND	1.00	512.00
菟絲子	<2	<2	<2	<2	1.00	512.00
韮菜子	<2	<2	<2	ND	1.00	512.00
海螵蛸	<2	<2	4	ND	1.59	322.54
雞內金	8	<2	<2	<2	1.68	304.43
秦艽	2	<2	16	<2	2.38	215.26
山楂	2	16	<2	16	4.76	107.63
木通	4	4	8	4	4.76	107.63
木賊草	8	8	4	16	8.00	64.00
荊芥	8	8	8	ND	8.00	64.00
巴戟天	16	<2	64	ND	10.08	50.79
山茱萸	2	64	ND	ND	11.31	45.25
紫花地丁	8	16	32	ND	16.00	32.00
木香	64	4	32	ND	20.16	25.39
山藥	32	8	32	32	22.63	22.62
白芥子	16	32	32	16	22.63	22.62
生地黃	32	16	ND	ND	22.63	22.62
天仙茅	32	32	32	32	32.00	16.00
白朮	32	64	32	ND	40.32	12.69
升麻	64	<2	32	ND	45.25	11.31
半夏	64	64	64	16	45.25	11.31
病毒對照	512	512	512		512.00	-

使用之病毒株為 A/Taiwan/80102/2008 (H1N1)，其候選藥物 HA 效價和病毒對照組相比皆有顯著差異($p<0.00001$)

表五、抗流感病毒之候選中藥對 MDCK 細胞的毒性劑量(CC50)

中藥名	萃取物濃度	CC50	
山楂	31 mg/ml	9.85 mg/ml	10.60 mg/ml
山茱萸	37 mg/ml	13.79 mg/ml	15.57 mg/ml
山藥	31 mg/ml	>15.5 mg/ml	>15.5 mg/ml
巴戟天	32 mg/ml	14.06 mg/ml	ND
木香	17 mg/ml	ND	0.22 mg/ml
天仙茅	14 mg/ml	>7.00 mg/ml	>7.00 mg/ml
木通	23 mg/ml	7.66 mg/ml	9.86 mg/ml
升麻	31 mg/ml	ND	10.464 mg/ml
木賊草	39 mg/ml	>19.50 mg/ml	>19.50 mg/ml
白朮	38 mg/ml	11.43 mg/ml	13.00 mg/ml
半夏	21 mg/ml	ND	8.03 mg/ml
白芥子	37 mg/ml	>18.5 mg/ml	>18.5 mg/ml
生地黃	12 mg/ml	>6.00 mg/ml	>6.00 mg/ml
牡蠣	3 mg/ml	>1.50 mg/ml	>1.50 mg/ml
海螵蛸	14 mg/ml	>7.00 mg/ml	>7.00 mg/ml
秦艽	17 mg/ml	6.14 mg/ml	7.23 mg/ml
荊芥	18 mg/ml	6.53 mg/ml	6.66 mg/ml
紫花地丁	16 mg/ml	3.50 mg/ml	4.20 mg/ml
紫蘇葉	17 mg/ml	3.85 mg/ml	3.92 mg/ml
菟絲子	24 mg/ml	>12.00 mg/ml	>12.00 mg/ml
韮菜子	18 mg/ml	>9.00 mg/ml	>9.00 mg/ml
雞內金	16 mg/ml	>8.00 mg/ml	>8.00 mg/ml
Tamiflu		75mg/ml	0.99 mg/ml

表六、抗 A 及 B 型流感病毒之平均 CC50、IC50 及 selective index

藥名	Av. CC50 (mg/ml)	IC50 (mg/ml) vs A/H1N1	Selective index (CC50/IC50) vs A/H1N1	IC50 (mg/ml) vs B	Selective index (CC50/IC50) vs B
山楂	**10.26**	**0.78**	**13.19**	**1.55**	**6.6**
山茱萸	**14.68**	**0.93**	**15.87**	**3.7**	**3.97**
巴戟天	14.06	-	-	1.6	8.79
木香	**0.22**	**0.215**	**1.02**	**0.21**	**1.04**
木通	8.76	-	-	0.072	121.88
木賊草	19.5	-	-	0.12	160
白朮	12.22	-	-	0.12	102.86
牡蠣	1.5	-	-	0.019	80
海螵蛸	7	-	-	0.088	80
荊芥	**6.595**	**0.45**	**14.66**	**1.8**	**3.66**
紫蘇葉	**3.885**	**0.11**	**35.32**	**0.85**	**4.57**
克流感	0.99	<0.031	>31.94	0.0033	297

編號：CCMP99-RD-034

台灣針灸執業現況調查之研究

蘇奕彰
中國醫藥大學

摘　要

台灣近年來亦逐漸將實證醫學運用於針灸醫學，且積極提升中醫醫療品質，但目前針灸執業品質參差不齊，且無完善之培訓機制及規範，加上建立完善之醫療服務體制並不容易，故徹底地評估目前國內針灸發展情況及建立臨床教學訓練為當務之急。本計畫希望經由專家會議討論制訂「台灣地區針灸執業現況」問卷進行台灣地區針灸醫師的執業現況調查，以提供未來國際上規劃針灸教育及臨床發展之參考；並期望進一步保障民眾就醫安全，發展醫藥衛生科技，提升衛生醫療水準，增進國民健康。

本研究發出 403 份問卷訪問在中醫醫院執業針灸之醫師，回收 177 份（其中 15 份未填達），回覆率為 41.2%；發出 464 份問卷訪問於中醫診所執業針灸之醫師，回收 206 份（其中 19 份未填達），回覆率為 40.7%。研究結果顯示針灸執業的型態的內容受到執業場所（醫院/診所），及教育背景的影響（相較於特考及格中醫師，中醫學系及學士後中醫學系畢業之中醫師有較高的同質性）。疾病治療方式的選擇隨執業場所及教育背景而不同，治療疾病的種類則隨教育背景而不同，對於診斷工具的重視與選用則與執業場所及教育背景而有不同；例如：放血療法較常被特考及格中醫師使用，在下背痛的診斷上，病史詢問及神經理學檢查在中醫學系及後中學系畢業生有較相似的使用趨勢，但西醫理學檢查及神經學檢查較不受特考及格中醫師重視。但在用針技巧及穴位選取上，不同執業場所及不同教育背景的醫師均顯示相同的趨勢。

關鍵詞：針灸、執業、台灣、傳統醫學

Number: CCMP99-RD-034

Study of the Current Status of Acupuncture Practice in Taiwan

Yi-Chang Su
China Medical University

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine how education, the age and the years of practice of the Chinese medicine physicians and as well as the direct environment influence in their practice of acupuncture. In order to understand what leads to different practices. Therefore to provide the basis for further development of the policy of acupuncture education worldwide.

From the 403 questionnaires sent to the hospitals, 177 questionnaires were returned and within 15 were blank (response rate 41.2%). From the 464 questionnaires sent to the clinics, 206 questionnaires were returned and within 19 were blank (response rate 40.7%). The results revealed that acupuncture practice is influenced both by the environment of practice and the education background of the physician. Concerning the education background, one can observe that the special license qualified physicians often differed from the two other educational course, physicians from the school of Chinese medicine and the school of post baccalaureate Chinese medicine were more homogeneous in their acupuncture practice.

As the choice of Chinese medicine therapeutic method seems more related to the constrain of environment of practice (hospital vs. clinics), the diseases categories treated by acupuncture were more correlated with the different education course. The importance accorded to the diagnosis tools tended to be related both with the environment of practice and the education background. On contrary, the needle technique (insertion, stimulation), the choice and rationale for choosing acupuncture points showed a striking homogeneity compared to the dissimilarity noted above.

This study indicates that in the population of Chinese medicine physicians surveyed there was both variations (therapeutic methods, diseases categories, diagnosis tools) and common trends (needle techniques, choice of acupuncture points).

Keywords: Taiwan, acupuncture, questionnaire, western medical hospital, Chinese medical hospital

壹、前言

一、問題狀況或發展需求

「2002-2005 年世界衛生組織傳統醫學策略（WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005）」的報告指出，全球傳統醫學的市場值每年達到 600 億美元的規模，而且仍在持續不斷地成長。以國家及人口來看，非洲地區有80%以上的人口求助傳統醫學，在中國和越南等地，傳統醫學已完全進入健康醫療體系，即使是在已開發國家的使用人口也愈來愈多，加拿大有 70%、法國有 49%、澳洲有 48%、美國有 42%、比利時有 31%的人口曾經接受過一次以上傳統醫學的治療。在中草藥市場佔有率位居全球第一的德國，更有 77%的醫療單位建議病人使用針灸治療疼痛。

根據哈佛大學醫學院 1991 年對美國全國性的統計調查發現，有 34%的成人受訪者在過去一年中，曾使用過另類療法。1997 年已達 6.3 億人次，花費至少 270 億美元。1998 年 Eisenberg 的研究更發現，甚至有高達 43%的美國民眾曾使用過另類療法，此趨勢有增無減。主要由於大家開始重視生活品質，已慢慢發現除西醫治療效果外，還有生活品質的某些微細層面會受治療所影響。同年大規模的調查發現，接受調查的臨床醫師有一半相信針灸、整脊、草藥及按摩具有療效，而調查中又發現有明顯比例的臨床醫師轉介病患給另類醫療或在他們的診療處所，提供相關另類療法。美國政府認為既然另類醫療的發展是一個愈來愈勃蓬的趨勢，而且亦有科學性的證據顯示其對健康或基於尊重美國人民選擇醫療照護的自由及權利，於是由總統發布第 13147 號執行命令，在 2000 年 3 月成立「白宮另類醫療政策委員會」。主要目的即是「針對美國人民的健康，在安全情況的使用下，發展另類醫療的最大效用」，做出報告。報告中指出，建議美國政府建立法規規範、鼓勵療效及安全性的研究並提供研究經費、規劃融入另類醫療的整合型醫療照護系統等。

國際上，愈來愈多麻醉科、復健科、神經內科、外科及家醫科醫師在臨床治療上，合併採用針灸的合併治療方式。1998 年 9 月份的《新英格蘭醫學期刊》提到，不能把醫學分為主流和另類，只有經過足夠測試或是測試不足的醫學，只有有效和無效的醫學。過去十年來，美國醫療照護體系受到兩大趨勢的衝擊：管理式照護及整合性醫療照護；其中，健康維護組織（health maintenance organizations，HMOs）及整合性照護體系（integrated delivery systems，IDSs）分別是最為人熟知的例子。在醫療費用持續高漲而醫療資源有限的環境下，兩個趨勢都被認為是無可避免，而且是值得鼓勵的。

二、國內外相關研究之文獻探討

針灸（Acupuncture）在中國是一門古老的醫術，而現代則為自 1972 年以來最盛行之另類醫學的代言者。[1] 治療源遠流長，自古中國人就已經使砭石壓按穴位治病，以竹筒拔罐，進而使用金屬針（金針、銀針），到現在改

用無菌丟棄型的不鏽鋼針及手法的刺激，並進一步使用電針替代等。[2] 中國針灸歷史發展上有多次的針灸大集結，如：「《黃帝內經》的《靈樞》、魏晉皇甫謐編著的《針灸甲乙經》、北宋王惟一編撰《銅人腧穴針灸圖經》、以及明代徐鳳的《針灸大全》、明代楊繼洲的《針灸大成》……。」。其中北宋的王惟一（西元 1023 年），編撰《銅人腧穴針灸圖經》，闡述述了經絡腧穴等內容，並考證了 354 個腧穴，全書曾刻在石碑上，供學習者拓印和閱讀。次年，還鑄造了兩具針灸銅人，作為教學和考試之用，是中外針灸教育史上的偉大創舉。[3]

針灸治療本身為一種侵入性之物理治療，經由針刺對組織的傷害，誘導局部的組織反應（包括神經反射、體液因子、免疫路徑、內分泌系統、淋巴血管反應），達到治病的目的。[2] 近代科學發達，也發展出許多診斷儀器，如良導絡測量儀、耳穴探測儀、手針足針儀、脈波測量儀、舌影像儀等，均為運用針灸經絡學說加以發揮，以作為中醫現代針療儀器的基礎。如今，針灸的治療功效已被聯合國世界衛生組織（WHO）所肯定，目前被其公認有效的針灸治療病症共有 43 種（包括神經痲痺症、偏頭痛、哮喘、胃及十二指腸胃潰瘍……等多種）。近年來世界各國亦逐漸重視中國醫學，歐美各國人民在現代醫學治療效果不佳，找尋替代療法時，其中最廣為民眾接受的便是針灸治療。[2]

針灸不僅為中國傳統醫學的特色，亦是全球廣泛運用的另類醫療之一。[4,5] 國際間不乏由各種流派與方式從不同的角度分析過此現象。Dr. P. Unschuld 從歷史的角度去解釋這個現象，[6] 另外，人類學家也研究與分析過這個特質。[7-10] 在美國一些研究者分析過對於下背痛的不同診斷與針灸治療。[10-16] 在英國 [17] 與美國 [18,19] 少數文章也調查過針灸的現況。在台灣中醫的分布與特質雖被討論過，[20-22] 可是針灸的執業現況從來沒有引起特別的注意。

三、本計畫與醫療保健之相關性等

國內針灸之研究現況，多以人體為研究對象，我們嘗試進一步以電子網路搜尋國內「博碩士論文」、「衛生署研究計畫」、「台灣針灸中文期刊」等針灸相關資料彙整分類，歸納分析結果顯示，針灸之研究多以肌肉骨骼系統及疼痛相關之議題為主軸，應為台灣發展針灸實證指引的優先考量。且為了提高病患就診針灸之醫療服務品質，衛生署中醫藥委員會亦於 2000 年提供研究經費，編寫《針灸臨床處方指引》以作為中醫時針灸診斷及處置時之參考遵循，並配合全民健康醫療保險為申報費用及審查之參考依據。[5]

台灣近年來亦逐漸將實證醫學運用於針灸醫學，且積極提升中醫醫療品質，但目前針灸執業品質參差不齊，且無完善之培訓機制及規範，加上建立完善之醫療服務體制並不容易，故徹底地評估目前國內針灸發展情況及建立臨床教學訓練為當務之急。本計畫希望經由專家會議討論制訂「「台灣地區針灸執業現況」問卷進行台灣地區針灸醫師的執業現況調查，以提

供未來國際上規劃針灸教育及臨床發展之參考；並期望進一步保障民眾就醫安全，發展醫藥衛生科技，提升衛生醫療水準，增進國民健康。

貳、材料與方法

本計畫主要目的在瞭解台灣針灸之執業現況，預計藉由問卷調查方式瞭解台灣地區針灸執業醫師的教育養成背景、執業場所、及其教育訓練對其執業診察及操作針灸治療患者之影響。為了達到上述研究目的，本研究之實施方法及進行步驟為：

1 月至 3 月：（99 年 11 月-100 年 2 月）

成立工作小組，召開工作會議及邀請專家舉行專家會議，擬定：

一、「台灣地區針灸執業現況」之調查問卷初稿。

為避免回答資料不正確，問卷在擬定時需遵守以下原則：

(一)所有題目與本研究目的相符合。

(二)此問卷設計必須能夠顯示出欲調查主題之重要性，是填答者認為重要，願意長時間去填答。

(三)問卷盡可能簡短，其長度只要獲得重要資料即可，填答時間應控制在 30 分鐘之內。

(四)問卷的題目要依照心理次序排列由一般性到特殊性邏輯。

(五)問卷題目設計要符合編題原則，以免獲得不正確答案。

(六)問卷收集的資料要利於列表和解釋。

(七)問卷指導語和填答標示清楚，使填答者不會有錯誤的反應。

(八)閱卷編排格式要清楚，翻頁要順手，指示符要明確，不該有瞻前顧後的麻煩。

(九)印刷紙張不能太薄，字體不能太小，間隔不能太小，裝訂不能隨便。

二、預計收案名單：為了能反映台灣地區針灸執業現況，本研究調查將根據中醫健保之六區（台北區、北區、中區、南區、高屏區、東區）之調查各區域內醫學中心、區域醫院、地區醫院及診所各級醫院醫師執業使用針灸之情形。

4 月：（100 年 3 月）

以「台灣地區針灸執業現況」問卷初稿進行預試驗，以小樣本之收案測試，瞭解問卷初稿設計之完善與否及評估其可行性。

5 月：（100 年 4 月）

(一)整理「台灣地區針灸執業現況」問卷初稿預試驗之收案結果。

(二)召開專家會議，根據預試驗之收案結果修改「台灣地區針灸執業現況」問卷初稿，確立本問卷最終內容。

6 月至 10 月：（100 年 5 月-8 月）

以「台灣地區針灸執業現況」問卷進行正式收案。

11 月至 12 月：（100 年 9 月-10 月）

(一)問卷收案之結果建檔，進行統計分析。

(二)根據上述結果，再次召開專家會議討論與歸納關於「台灣地區針灸執業現況」的結論，並撰寫結案報告

參、結果

一、完成台灣針灸執業現狀調查問卷

本調查問卷共計九頁，約需二十分鐘填答完成。問卷的第一部分詢問關於各針灸執業醫師的個人資料、教育背景，所參與的社團組織及執業環境；第二部分則詢問關於針灸醫師平時使用針灸的模式；問卷的第三部分舉「腰痛」為例，瞭解各醫生診斷和治療腰痛的模式與重點。（完成的正式問卷請見以下第14-23頁。）

為了瞭解針灸醫師對於針灸治療各模式的使用頻率，我們使用五分量表加以評估：「0 =從未使用」、「1=很少使用」、「2=偶爾使用」、「3=經常使用」、「4=頻繁使用」。以上每個項目對應的病人數大致為：「0=從未使用：沒有用於任何患者」、「1=很少使用：在100例患者中，約使用於1至25名患者」、「2=偶爾使用：在100例患者中，約使用於25至50名患者」、「3=經常使用：在100例患者中，約使用於50至75名患者」、「4=頻繁使用：在100例患者中，約使用於75至100名患者」。

對於各項診斷和治療腰痛方式的重要性評估，則由醫生給予每個項目由三個層次的選項：「0=不熟悉或不重要」、「1 =重要」、「2 =非常重要」的。另外，亦請各位醫師選擇在針灸治療的同時較常使用的另外三種治療方式

台灣針灸使用現況

/調查問卷/

中國醫藥大學 & 中華針灸醫學會

第一部份　醫師基本資料

1. 生日：民國_____年_____月

2. 性別：□男　　□女

3. 目前執業：□中醫師 □西醫師

4. 請問您現在執業的醫療機構為：
□西醫教學醫院中醫科部 □西醫區域醫院中醫科部
□西醫地區醫院中醫科部 □中醫醫院

5. 您目前在那一個縣/市執業？（可複選）
□台北市 □基隆市 □新竹市 □台中市 □嘉義市 □台南市 □高雄市
□台北縣 □桃園縣 □新竹縣 □苗栗縣 □台中縣 □彰化縣 □南投縣
□雲林縣 □嘉義縣 □台南縣 □高雄縣 □屏東縣 □台東縣 □花蓮縣
□宜蘭縣 □澎湖縣 □連江縣 □金門縣

6. 針灸執業年資：_____年

7. 最高學歷：（請在下列勾選）

台灣	□高中　□大學　□碩士　□博士
中國	□高中　□大學　□碩士　□博士
其它國家（　　）	□高中　□大學　□碩士　□博士

8. 教育背景

台灣	□中醫學系　□學士後中醫學系　□醫學系
	□中醫師特考
中國	□大學5年課程（完整課程之學系）
	□大學7年課程（完整課程之學系）
□其他國家，請說明：	

9. 學習針灸過程：

9.1 請問您在正規大學針灸課程外學習針灸的機構或方式？（可複選）

□大學中醫研究所或針灸研究所　□教學醫院（如台北榮總）之推廣教育
□大學針灸中心/推廣教育　□中醫或針灸相關醫學會
□大學中醫社團或針灸社團　□傳統的師徒傳承及家傳
□其它中醫或針灸相關之民間社團
□其他，請說明：_____

9.2 請問您在那裡開始實際操作針灸？（可複選）

□學校課堂　□校外特定老師教授　□社團

□在家自學　□醫院／診所

□其他，請說明：_____

9.3 請問您如何精通針灸的理論與手法？（可複選）

□學校教育　□校外特定老師教授　□醫院／診所執業歷練

□在家自學　□參與針灸相關醫學會研習　□閱讀經典

□其他，請說明：_____

10. 除加入「中華針灸醫學會」外，請問您是否還加入國內其他針灸相關之醫學會？

□無　□有：_____醫學會

11. 請問您有沒有參加過國際性針灸相關之醫學會之學術活動？

□無　□有：_____醫學會所舉辦之活動

12. 請問您是否曾經發表學術性論文？

□無　□有：發表於國內或大陸中文期刊

□有：發表於國際SCI期刊

13. 請問您是否有教授中醫理論或針灸的經驗？（若「有」，請勾選教學地點並註明教學年資）

□無

□有：□大學中醫與針灸相關系所（含推廣教育）_____年

□教學醫院／醫學會_____年　□縣市醫師公會_____年

□學生或民間社團_____年　□自行開班授課_____年

14. 請問您執業時使用針灸治療是否有申請健保給付？

□無。未申請健保給付，您是否會另外收費？□是　□否

□有

15. 請問您認爲健保對於針灸治療的給付費用是否合理？

□合理

□不合理，那麼您認爲針灸治療一次的合理費用爲_____元。

16. 您是否知道在歐美國家每次針灸治療之收費金額爲多少？

□知道，每次收費約新台幣_____元。

□不知道

第二部分　針灸使用範圍

1. 請根據您臨床經驗勾選出在執業中使用下列治療方法的頻率：

治療方法	（每100人次患者使用頻率） 0　25　50　75　100 從未使用	很少	偶爾	經常	頻繁
(1) 毫針					
(2) 灸					
(3) 耳針					
(4) 頭皮針					
(5) 小針刀					
(6) 水煎藥					
(7) 科學中藥					
(8) 傷科手法					
(9) 敷貼藥膏					
(10) 中藥薰蒸					
(11) 拔罐					
(12) 紅外線					
(13) 刮痧					
(14) 放血					
(15) 氣功療法					
(16) 生活建議 （食療、運動）					
其他，請說明：					

2. 請根據您臨床經驗勾選出使用針灸治療下列各系統疾病的頻率：

疾病種類	（每100人次患者使用頻率） 0 25 50 75 100 從未使用	很少	偶爾	經常	頻繁
(1) 骨骼肌肉系統疾病					
(2) 腦神經血管疾病					
(3) 風濕免疫疾病					
(4) 腫瘤疾病					
(5) 精神疾病					
(6) 內分泌及新陳代謝疾病					
(7) 心臟血管疾病					
(8) 胸腔疾病					
(9) 消化系統疾病					
(10) 耳鼻喉疾病					
(11) 泌尿生殖系統疾病					
(12) 婦產疾病					
(13) 皮膚疾病					
(14) 血液疾病					
(15) 中毒					
(16) 診斷欠明之各種病態					

3. 以下是世界衛生組織（WHO）所認可的針灸適應症，請您依照您的臨床經驗，勾選出療效最好的「**前十名**」疾病：

■神經內科系統疾病	■泌尿系統疾病	■呼吸系統疾病
頭痛	腎絞痛	支氣管哮喘
偏頭痛	泌尿道結石	■腸胃系統疾病
緊張性頭痛	小兒遺尿	噁心嘔吐
三叉神經痛	尿失禁	腸道激躁症候群
面癱	尿瀦留	便秘
腰痛	■婦科系統疾病	泄瀉
神經根症候群	經前緊張症候群	胃下垂
偏癱和其他腦病後遺症	痛經	呃逆
失眠	引產	■肝膽系統疾病
原發性低血壓	妊娠反應	膽囊絞痛
高血壓	胎位不正	膽結石
手術後疼痛	缺乳	膽道蛔蟲症
坐骨神經痛	無痛分娩	■皮膚系統疾病
	女性不孕	帶狀疱疹
■運動系統疾病	■五官科系統疾病	■其他
顳頁關節功能紊亂症	過敏性鼻炎（花粉症）	假性心絞痛
頸椎病	兒童近視	類風濕性關節炎
肩周炎	急性扁桃腺炎和急性咽喉炎	憂鬱症
運動系統慢性疼（頸，肩，脊柱，膝等）	耳性眩暈（梅尼爾氏症候群）	男性不育（精子缺乏，精子活動力缺乏）
競技症候群	扁桃腺切除後疼痛	戒煙
扭傷和勞損	鼻竇炎	戒酒
網球肘	慢性咽炎	戒毒
背痛		白血球減少症
肌筋膜炎		陽痿（不能射精）
		單純性肥胖
		精神分裂症

第三部分　針灸診治思維：以「腰痛」爲例

請勾選您對腰痛診斷及治療的看法及臨床經驗：

A.診斷

1. 在診察腰痛時，您是否採用下列診察方式？及其重要性如何？（請逐項勾選）

項目	診察方式	未採用		採用	
		不熟悉	不重要	重要	非常重要
望診	舌診				
	精神				
	面色				
	體態、四肢				
	X光片報告				
	MRI／CT 影像檢查報告				
問診	疼痛病史				
	疼痛部位				
	疼痛的性質與發作頻率				
	加重或減輕疼痛的因素				
	過去病史				
	生化檢查報告				
切診	脈象				
	疼痛的部位／範圍				
	西醫理學檢查				
	西醫神經學檢查				
其他，請說明：					

2. 在診察腰痛時，您是否採取下列辨證論治方法？及其重要性如何？

（請逐項勾選）

使用之辨證方法		未採用		採用	
		不熟悉	不重要	重要	非常重要
使用臟腑辨證					
使用經絡辨證	（例：足太陽膀胱經、足少陰腎經、足少陽膽經、足厥陰肝經、督脈）				
使用六淫辨證	（例：風寒、風熱、寒濕、濕熱）				
使用氣血辨證	（例：氣虛、氣滯、血虛、血瘀）				
其他，請說明：					

B.治療　※若您臨床並不使用針灸治療腰痛，則以下問題不需填寫。※

1. 請問您治療「急性」腰痛最常使用的三個穴位爲何？

(1)_____ (2)_____ (3)_____

留針時間有多長？_____

安排病患每星期的針灸治療次數？_____

2. 請問您治療「慢性」腰痛最常使用的三個穴位爲何？

(1)_____ (2)_____ (3)_____

留針時間有多長？_____

安排病患每星期的針灸治療次數？_____

3. 請問您針灸治療腰痛時的進針手法？　□徒手進針　□管針／拍針

4. 在針刺治療腰痛時，您是否考量並採用以下幾點？及其重要性如何？

（請逐項勾選）

項目		未採用		採用	
		不熟悉	不重要	重要	非常重要
得氣	要求得氣				
順序	按照特別的順序下針				
留針過程	電針刺激				
	手法刺激				

5. 在針刺治療腰痛時，您是否採用以下補瀉法？及其重要性如何？

（請逐項勾選）

項目		未採用		採用	
		不熟悉	不重要	重要	非常重要
補瀉法	捻轉補瀉				
	提插補瀉				
	疾徐補瀉				
	迎隨補瀉（針芒）				
	呼吸補瀉（按病人的呼吸）				
	開闔補瀉				
其他補瀉法，請說明：					

6. 以針刺治療腰痛，您在選穴時是否考量以下幾點？及其重要性如何？

（請逐項勾選）

項目		未採用		採用	
		不熟悉	不重要	重要	非常重要
用固定配穴方式					
根據病人的體質					
根據季節的規律					
根據時辰					
用歸經理論選穴					
腧穴	五腧穴理論				
	原穴理論				
	郄穴理論				
	奇經八脈交會穴理論				
	八脈八法				
	阿是穴				
	經外奇穴				
其他，請說明：					

7. 請問治療腰痛時，你是否還會配合其他療法及建議，請勾選<u>您最常使用的前三種療法</u>：

□灸法　□紅外線　□中藥薰蒸　□情緒的建議

□耳針　□小針刀　□科學中藥　□氣功鍛鍊

□拔罐　□水煎藥　□食療的建議　□運動、復健方法的建議

□刮痧　□傷科手法　□睡眠的建議　□其他，請說明：

□放血　□敷貼藥膏　□衣著的建議　＿＿＿＿＿＿＿＿

/謝謝您的填答/

二、問卷抽樣方式與回收比率

我們的問卷調查對象主要分為兩大類：第一類為在全台各級醫院中醫科部執業針灸的醫師，我們整理了全台教學醫院、區域醫院、地區醫院中醫科部，及中醫醫院中執業針灸之中醫師名單共計 403 位，在寄出的 403 份問卷中，回收 177 份問卷，其中有 15 份問卷未作答。(有效回收率為 41.2%)。第二類為在診所執業的針灸醫師，我們以中華針灸醫學會的會員為基礎，比對「衛生署醫事人員執業資料查詢網站」之最新資料後，以以在診所執業的醫師為對象，調查名單共計有 464 位，在寄出的 464 份問卷中，回收 206 份問卷，其中有 19 份問卷未作答。(有效回收率為 40.7%)。

上述回收有填答的 349 份問卷中：有 8 份問卷因有太多的題目未填答而排除，有 2 份因未能得知填答者的執業環境而排除，有 1 份是因為填答者執業區域為澎湖列島而排除。因此本研究分析的有效樣本共計有 338 中醫師，其中 143 位在西醫醫院執業，15 位在中醫醫院執業，180 位在中醫診所執業。因為相對於在西醫醫院中醫科部的執業環境而言，在中醫醫院與中醫診所的執業環境較為相似，因此我們將在中醫醫院與中醫診所執業的中醫師視為一組進行分析。

三、資料之統計與分析

我們將問卷中各項填答資料輸入 Microsoft Excel，再以 SPSS 統計分析軟體進行分析。各執業中醫師回答之資料以簡單的描述性統計分析，包括次數出現的頻率及有效百分比。並以 T 檢定及卡方檢定分析不同教育背景與針灸執業內容各問項間之相關性。

四、問卷資料分析結果

(一)執業環境

在西醫醫院執業針灸的中醫師，大多是在教學醫院及區域醫院執業。而在中醫診所執業的醫生，其中大多數在自己的診所執業。(表一）本研究受訪者所執業的中醫診所規模通常是由一到兩位中醫師（75.6%）及六位以下的員工組成（78.8%)，且由全民健保國給付針灸治療的費用（89.3%)。(表二）

(二)在西醫醫院與中醫診所執業中醫師之基本資料比較

在西醫醫院與中醫診所執業的中醫師在基本資料上有相當大的差異。在西醫醫院執業的中醫生較年輕（平均年齡 40.2 ± 8.5 歲），平均執業年資為 8.2 ± 6.9 年。在中醫診所的執業醫師平均年齡為 47.5 ± 9.0 歲，平均臨床執業年資為 14.3 ±8.4 年，其執業年資幾乎為在西醫院執業年資的兩倍。而女性在西醫院執業的中醫師比例較高。（表三）

在西醫醫院執業的中醫師其教育背景多畢業自中國醫藥大學的中醫學系及學士後中醫學系，在中醫診所執業的其教育背景則多為學士後中醫學系及特考中醫師。在西醫醫院執業的中醫生較多具有教學經驗，進行研究和發表論文；但在中醫診所執業的中醫生更有較高的比例參與相關針灸學會與社團。在西醫醫院與中醫診所執業的中醫師在台灣北部、中部、南部的地理區域分佈情形相仿；只有非常少數的中醫師分佈在東部。（表三）

(三)在西醫醫院與中醫診所執業中醫師之針灸使用範圍比較

1. 使用治療方法之比較

在西醫醫院與中醫診所執業的中醫師，平時多給予患者科學中藥、生活作息相關建議，及針灸治療。雖然在西醫醫院與中醫診所執業之中醫師使用針灸治療患者比例相當，但在西醫醫院較常配合使用紅外線、艾灸、頭皮針；在中醫診所則較常配合使用敷貼藥膏、傷科手法、拔罐、中藥薰蒸、放血及刮痧。（圖一及表四）

2. 使用針刺治療疾病種類之比較

執業於西醫醫院以針刺治療疾病的種類以頻率而言依次為：「骨骼肌肉系統疾病」（平均 3.59 分）、「神經與血管疾病」（平均 3.04 分）、「耳朵，喉嚨和鼻子疾病」（平均 2.3 分）、消化系統疾病（平均 2.3 分）、「類風濕和免疫系統疾病」（平均 2.1 分）、「懷孕」（平均 1.96 分）、「內分泌和代謝性疾病」（平均 1.84 分）。

執業於西醫醫院與中醫診所的醫師使用針刺治療疾病的種類在以下三類有較顯著的差異：西醫醫院的中醫師較常使用針刺治療神經和血管系統疾病與腫瘤，在中醫診所則較常使用針刺治療呼吸系統疾病；達顯著的統計差異。（圖二與表五）

以世界衛生組織推薦以針刺治療的 64 個疾病，中醫師們選出以針刺治療療效最好的前十項分別為：腰痛（76.9%），坐骨神經痛（66.1%），頭痛（61.2%），扭傷和勞損（59.4%），肩週炎（57.9％），運動系統慢性疼痛（55.7%），肌筋膜炎（53.9%），痛經（48.6%），面癱（43.7%），背痛（40.6%）。而且在西醫醫院與中醫診所執業的兩組醫師間沒有差異。

3. 下背痛診斷工具之比較

診斷下背痛主要是根據「疼痛位置、疼痛性質與發作頻率、加重或減輕疼痛的因素」的問診，及「疼痛部位/範圍」的切診進行診斷。整體來說，在西醫醫院執業的中醫師對於所有

診斷項目的使用頻率及重要性給予較高的評分，尤其是現代醫學的診斷工具如：X-ray、MRI/CT 影像檢查報告、西醫理學及神經學檢查。兩組中醫師對於舌診、觀察精神、面色及脈診皆認為較不重要。(圖三及表六)

4. 治療下背痛所選腧穴考量之比較

阿是穴是最常選用之腧穴(平均 1.27 分)，五腧穴次之(平均 1.14 分)。在西醫醫院執業的中醫師對奇經八脈交會理論的重視顯著高於在中醫診所執業的醫師。(圖四及表七)

5. 治療下背痛選穴考量之比較

在選穴時主要是根據歸經理論選穴（平均 1.24 分)，其次是根據病人體質（平均 1.25 分)；季節的規律（平均 0.45 分)，及時辰（平均得分 0.22）均較不被考慮。以上在兩組醫師間沒有差異。(圖五及表七)

6. 治療下背痛進針方式及過程重視項目之比較

有 83%的中醫師使用醫生報告，管針與拍針的方式進針。在治療過程中，「要求得氣」相當受到重視（平均 1.51 分)；手法刺激（平均 1.14 分）較電刺激（平均 0.93 分）的重要性高。以上趨勢在兩組中醫師間沒有差異。(圖六及表七)

7. 治療下背痛常用補瀉手法之比較

最重要的補瀉法為提插補瀉（平均 1.06 分)，捻轉補瀉次之（平均 0.99 分)。以上趨勢在兩組中醫師間沒有差異。(圖七及表七)

8. 治療下背痛輔助療法之比較

51.6%的中醫師使用科學中藥，40.7%的中醫師給予生活作息的建議， 37%使用紅外線，35.1%加灸，23.2%的配合傷科手法，20.4%會使用拔罐。在兩組中醫師的顯著差異在於，西醫醫院的執業中醫師較常使用紅外線，而在中醫診所執業的中醫師較常使用傷科手法。(圖八及表七)

9. 治療急性及慢性下背痛留針時間長短之比較

治療慢性腰痛的留針時間較長。在中醫診所的留針時間較短，但未達統計顯著差異。(圖九及表八)

10. 治療急性及慢性下背痛每週針刺治療次數之比較

治療急性與慢性腰背痛在中醫診所的每週治療次數均較高。(圖十及表八)

(四)不同教育背景之中醫師針灸使用範圍比較

1. 使用治療方法之比較

不同教育背景的中醫師在選擇治療方法上有所差異。特考合格中醫師較中醫學系及學士後中醫學系畢業的中醫師常使用放血療法，且較少給予患者生活作息之建議、紅外線療法及頭皮針。(圖十一及表九)

2. 使用針刺治療疾病種類之比較

特考合格中醫師較少使用針刺治療神經及血管疾病，但較常使用針刺治療消化系統，懷孕和分娩，內分泌和代謝，心血管疾病，皮膚疾病，血液和呼吸系統疾病。中醫學系與學士後中醫學系畢業的中醫師兩者間沒有特別的差異。(圖十二與表十)

以世界衛生組織推薦以針刺治療的 64 個疾病而言，相較於中醫學系及學士後中醫學系畢業的中醫師，特考及格中醫師較少以針刺治療肌筋膜及腰痛；較常以針刺治療鼻竇炎、胃下垂、慢性咽炎，及支氣管哮喘。(圖十三)

3. 下背痛診斷工具之比較

中醫學系畢業的中醫師較重視每一個項目的診斷工具，學士後中醫學系畢業的中醫師對於這些診斷項目的重視程度介於中醫學系畢業生與特考及格中醫師之間。特考及格中醫師對於西醫理學檢查及西醫神經學檢查的重視程度皆低於其他兩種教育背景的中醫師。(圖十四及表十一)

4. 治療下背痛所選腧穴考量之比較

中醫學系畢業的中醫師較常選用阿是穴。(圖十五及表十二)

5. 治療下背痛選穴考量之比較

特考合格中醫師較重視依季節規律取穴。(圖十六及表十二)

6. 治療下背痛進針方式及過程重視項目之比較

下針方法在三種教育背景的中醫師間沒有顯著差異。中醫學系畢業的中醫師較重視針刺過程的得氣，特考及格的中醫師較不選用電刺激。(圖十七及表十二)

7. 治療下背痛補瀉手法之比較

各式補瀉手法在三組間沒有差異。

8. 治療下背痛輔助療法之比較

特考及格中醫師較少使用紅外線治療做為輔助療法，但較常使用水煎劑做為輔助治療。(圖十八及表十二)

9. 治療急性及慢性下背痛留針時間長短之比較

特考及格中醫師治療急性及慢性下背痛的留針時間較長。（圖十九及表十三、十四）

10. 治療急性及慢性下背痛每週針刺治療次數之比較

雖然特考及格中醫師治療下背痛每週針刺次數較高，但並為達到統計顯著差異。（圖二十及表十三、十四）

肆、討論

本研究目的在瞭解台灣針灸執業現況，並進一步分析發現針灸執業的內容的差異與不同的執業環境及不同的教育背景有關。

在台灣，最常用的中醫治療方法為給予處方、生活作息的相關建議，及針灸。在我們的研究中也觀察到科學中藥與針灸的確有較高的使用度；且以上兩種治療方法不論在西醫醫院、中醫診所，或在中醫學系、學士後中醫學系畢業之中醫師、特考及格之中醫師均有類似的表現趨勢。但在以下背痛為例的問卷調查中，我們亦發現使用針灸治療下背痛，不論在診斷工具的選用、穴位的選擇考量、輔助療法的選用，在不同的執業環境，或不同教育背景的中醫師間均有所差異。中醫診所較常傷科手法為輔助療法，西醫醫院則較常使用紅外線療法。特考及格的中醫師較常使用放血為輔助療法，中醫學系及學士後中醫學系畢業的中醫師則較常使用紅外線、頭皮針，及生活作息的相關建議為輔助療法。

先前的研究結果顯示針灸主要用於治療肌肉骨骼系統和神經系統疾病。在本研究中發現以針刺治療疾病的種類會隨者執業環境而有所不同，神經系統疾病和腫瘤的患者大多在西醫醫院的中醫科部接受治療，在中醫診所則較常使用針刺治療呼吸系統疾病。我們也發現在在西醫醫院中，我們會有較高的頻率看到因中風或腫瘤而來要求接受針刺治療的患者，中醫診所則較常以針刺治療呼吸系統疾患，因此民眾感冒時，較可能是到中醫診所尋求治療。但針灸治療疾病的類別，似乎與更中醫師的教育訓練背景更相關。研究結果顯示畢業自中醫學系及學士後中醫學系的中醫師較常使用針刺治療的為肌肉骨骼和神經系統疾病。特考及格之中醫師則使用針刺治療範圍較廣的疾病，包括：消化系統疾病、懷孕和分娩、內分泌和代謝、心血管、皮膚，血液和呼吸系統疾病。同樣的，特考及格之中醫師最常以針刺治療的疾病亦與其他兩種教育背景的有所不同。

診斷工具的採用與執業環境及教育背景均有高度的相關。問卷中提出的所有診斷項目，受到在西醫醫院執業中醫師較高度的重視，可能的原因一方面是因為在西醫醫院可以提供較多的現代醫學診斷工具，X-ray 和 CT、MRI 的檢查都容易進行與判讀；另一方面，這些現代醫學的診斷亦較為精確。當以下背痛為例，研究發現下背痛的中醫診斷，在三種教育背景的中醫師均較不重視，此種趨勢與之前在中國和美國所進行的其他三個研究類似。中醫學系畢業的中醫師較重視西醫的理學與神經學檢查，特考及格中醫師則較不重視，這可能是因為中醫學系畢業的中醫師在教育過程中瞭解並知道如何操作這些西醫的理學檢查，而這部份的訓練在特考及格中醫師則是缺乏的；因此，後續在辦理針灸醫師的繼續教育時，可以考慮加強西

醫的理學檢查、神經學檢查，及 X-ray、CT 及 MRI 判讀的介紹與研習。

在下背痛的針刺治療中，與執業環境或教育背景相關的差異較少。以管針或拍針進針的手法及注重得氣，在不同執業地點及不同教育背景的中醫師均相當重視。手法刺激比電刺激有更多的應用，且提插補瀉為主要使用的補瀉手法，此項顯示相同教育背景下有叫高的均質性。特考及格的中醫師較不注重得氣感，也較少使用電針刺激。

選穴考量的基本原理和穴位的選擇也顯示相當的一致性。在西醫醫院執業的中醫師在選穴時重視奇經八脈交會理論。中醫學系畢業及學士後中醫學系畢業的中醫師較特考及格中醫師較常選用阿是穴。

本研究所調查中醫師採用的留針時間較其他研究（平均 20 至 28 分鐘）來的短。我們所調查的中醫師，大多數傾向於留針 15 至 20 分鐘。在中醫診所，留針的時間較短且平均每星期針刺治療的頻率較高，這背後的原因可能源自於治療疾病的種類不同、病情嚴重度不同，亦可能與診所執業空間較小，當留針時間拉長，便無法容納更多患者有關。在西醫醫院執業的中醫師可能因醫院空間較大，整體而言留針時間較長。以教育背景分析，特考及格之中醫師留針時間較中醫學系及學士後中醫學系畢業之中醫師來得長。

伍、結論

針灸執業內容受到執業環境和執業中醫師教育背景的影響。在教育背景方面，中醫學系與學士後中醫學系畢業的中醫師在表現上有較高的均質性；在以針刺治療的疾病種類、對於診斷工具的重視，均予教育背景有關，中醫學系畢業的中醫師對於各項診斷方式的重視均高於其他兩類醫師。在輔助治療方法的選擇上則受執業環境影響較明顯。

但在進針方式、手法，及穴位的選擇與考量不論執業環境與教育背景均有明顯地相似趨勢。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-034 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. （陳方佩。由「WHO 傳統醫學臨床指引」看針灸未來的發展。中華針灸醫學會雜誌。2003，6：19-26）
2. 楊筱雯。針灸針機械與電氣性能之研究。2005。國立交通大學機械工程系所論文。
3. 再探當代針灸大成數位典藏計畫 http://tung.dwu.edu.tw/acupuncture/main.html）
4. （ World Heaith Organization: WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005. Geneva World Health Organization 2002:18.）
5. （賴榮年、呂庶熙、吳炫璋及葉家豪。實證醫學運用於台灣針灸醫學之初探。中華針灸醫學會雜誌。2004，7：43-52）
6. Unschuld P.U. *Medicine in China : A History of Ideas*, University of California Press, California, 1985.
7. Hsu E. *The transmission of Chinese Medicine*, Cambridge University Press, Cambridge, 1999
8. Scheid V. *Chinese medicine in contemporary China : plurality and synthesis*, Duke University Press, Durham, 2002.
9. Birch S., Sherman K. Zhong Yi Acupuncture and Low-Back Pain: Traditional Chinese Medical Acupuncture Differential Diagnoses and Treatments for Chronic Lumbar Pain. *J Alterna. Complem. Med*. **5**(5), 415, 1999.
10. Sherman K.J., Cherkin D.C., Hogeboom C.J. The Diagnosis and Treatment of Patients with Chronic Low-Back Pain by Traditional Chinese Medical Acupuncturists. *J Alterna. Complem. Med*. **7**(6), 641, 2001.
11. Sherman K., Hogeboom C.J., Cherkin D.C. How traditional Chinese medicine acupuncturists would diagnose and treat chronic low back pain: result of a survey of licensed acupuncturists in Washington State. *Complement. Ther. Med*. **9**, 146, 2001.
12. Hogeboom C.J., Sherman K., Cherkin D.C. Variation in diagnosis and treatment of chronic low back pain by traditional Chinese medicine acupuncturists. *Complement. Ther. Med*. **9**, 581, 2001.
13. MacPherson H., Thorpe L., Thomas K., Campbell M. Acupuncture for low back pain: traditional diagnosis and treatment of 148 patients in a clinical trial. *Complement. Ther. Med*. **12**, 38, 2004.

14. Kalauokalani D., Cherkin D.C., Sherman K.J. A comparison of physician and nonphysician acupuncture treatment for chronic low back pain. *Clin. J. Pain*, **21**(5),406, 2005.

15. Dale J. Acupuncture practice in the UK. Part 1: report of a survey. *Complement. Ther. Med.* **5**, 215, 1997.

16. Lee A.C.C., Highfield E.S., Berde C.B., Kemper K.J. Survey of acupuncturists: practice charateristics and pediatric care. *West. J. Med.* **171**, 153, 1999.

17. Sherman K.J., Cherkin D.C., Eisenberg D.M. The Practice of Acupuncture: Who are the provider and What Do They Do? *Ann. Fam. Med.* **3**(2),151, 2005.

18. Xue C.C., Zhou W., Zhang A.L. Desired Chinese Medicine practitioner capabilities and professional development needs: a survey of registered practitioners in Victoria, Australia. *BMC Health Services Research* **8**(27), 1, 2008.

19. Arthur Kleinman, *Patient and Healers in the Context of Culture, an Exploration of the Borderland between Anthropology, Medicine and Psychiatry*, University of California Press, Berkley, 1980.

20. Chi Chunhuei et al. The Practice of Chinese Medicine in Taiwan. *Soc. Sci. and Med.* **43**,1329, 1996.

21. Chen L.D. *Taiwan zhongyishi xueli beijing zhi yanjiu (A Study of The Educational Background of Chinese Medicine Practitioners in Taiwan)*, Ph.D diss., China Medical University, 1997.

22. Jue Q.T. *Taiwan xixue zhongyishi yangcheng zhidu zhi yanjiu (Research on Chinese Medicine Discipline Institution of Taiwan Western Learning)*, MA, China Medical University, 1998.

柒、圖表

表一、針灸執業醫師執業環境分析

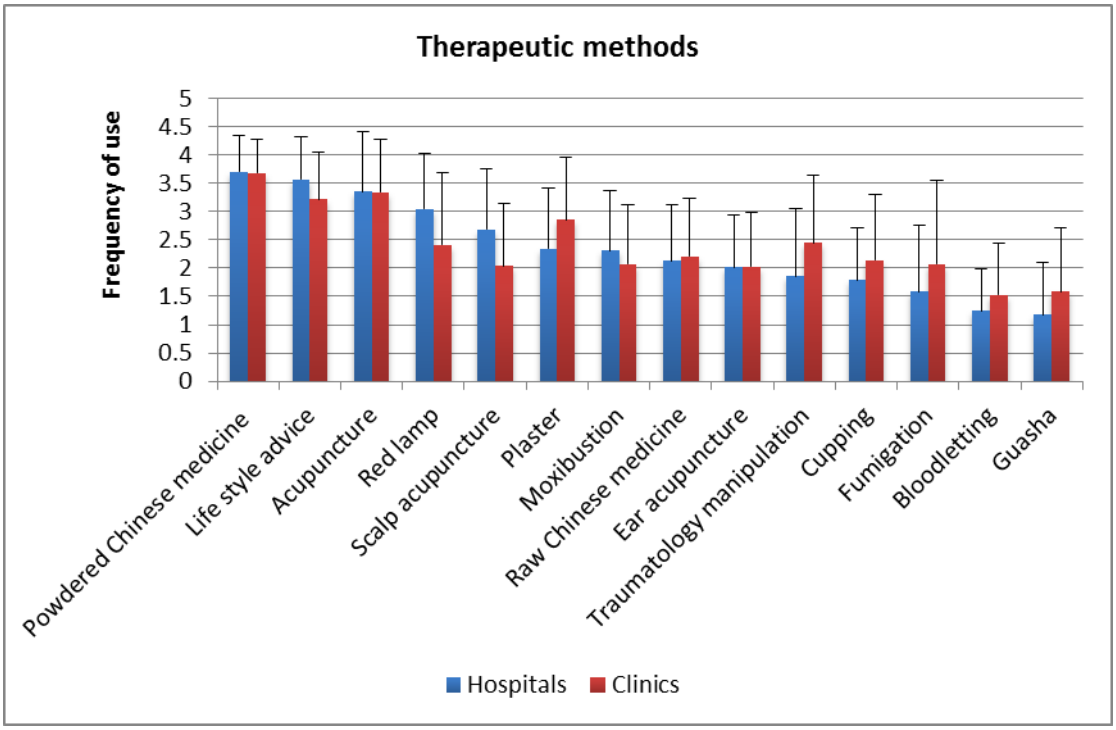
Nb of physicians	
Hospitals	
Teaching hospitals	94
Regional hospitals	40
District hospitals	9
Chinese Medicine Hospitals	15
Chinese Medicine Clinics	180

表二、針灸執業醫師所執業中醫診所之特色

Results expressed in %	
Physician responsible of the clinic	74
Nb of physician working in the clinic	
1 physician	51.7
2 physicians	23.9
3 physicians	12.2
4 physicians	6.7
more than 4 physicians	5.6
Nb of staff members working in the clinic	
Less than 6 staff members	78.8
6 to 12 staff members	17.9
More than 12 staff members	3.4
Under National Health Insurance	89.3

表三、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師之基本資料比較

	Hospitals	Clinics	P
Age (Years ,mean ± SD)	40.2 ± 8.5	47.5 ± 9	0.000
Years of practice (Years ,mean ± SD)	8.2 ± 6.9	14.3 ± 8.4	0.000
Gender (%)			
Male	65.2	77.9	0.012
Female	34.8	22.1	
Education (%)			
School of Chinese Medicine	44.8	12.5	0.000
School of Post baccalaureate Chinese Medicine	50.3	48.4	
Special License qualification examination	4.9	39.1	
Teaching experience(%)	60.1	39.7	0.000
Teaching (%)			
University	25.9	16	0.030
Teaching hospitals	26.6	9.8	0.000
Medical association	25.2	18.6	0.151
Student/Voluntary association	4.9	5.7	0.755
Personal class	2.1	2.6	0.776
Participation to other acupuncture association (%)	4.2	13.8	0.001
Participation to international meeting of acupuncture (%)	27.3	25.3	0.673
Publication (%)	60.1	22.3	0.000
Publication (%)			
Chinese language journals	52.4	20.2	0.000
SCI journals	11.9	5.2	0.034
Location of practice (%)			0.151
North	37.8	27.2	
Centre	28	36.4	
South	32.2	33.3	
East	2.1	3.1	



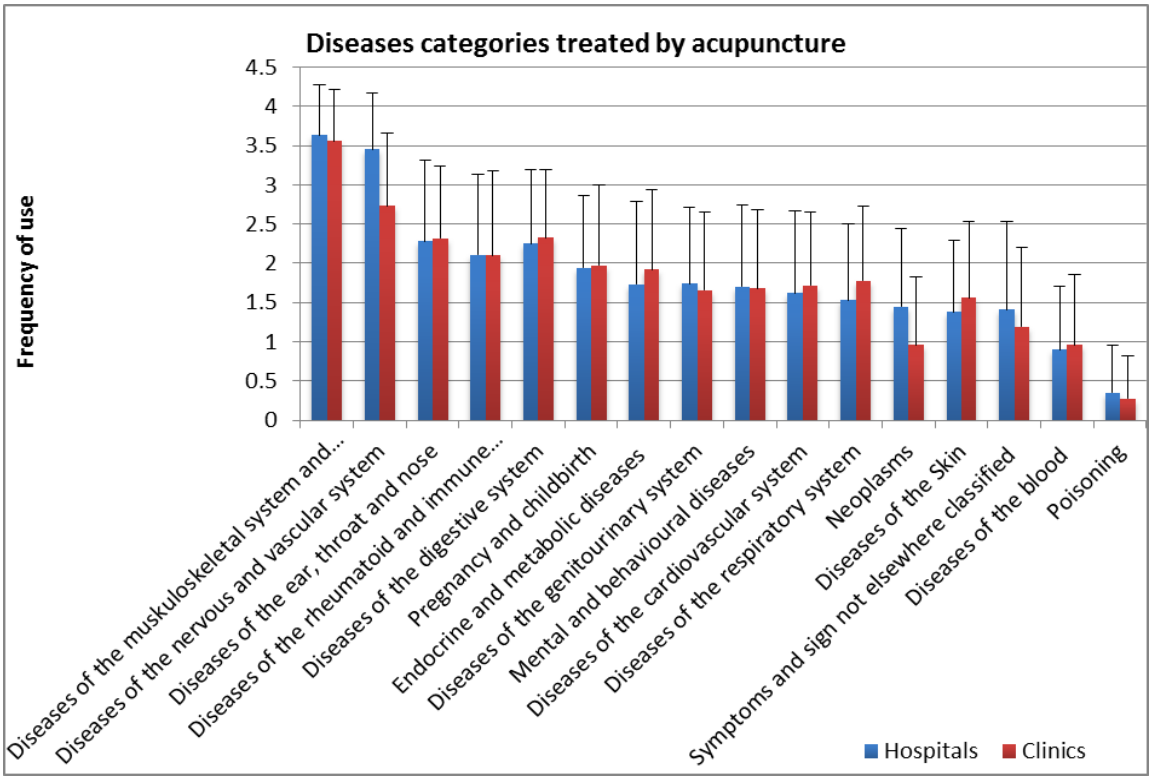
Frequency of use: 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently

圖一、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師使用治療方法之比較

表四、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所(N=195)醫師使用治療方法之比較

(Result expressed by mean of score ± SD)	Hospitals	Clinics	P
Powdered Chinese medicine	3.70 ± 0.63	3.68 ± 0.60	0.853
Life style advice	3.57 ± 0.74	3.21 ± 0.83	0.000
Acupuncture	3.35 ± 1.05	3.34 ± 0.93	0.934
Red lamp	3.04 ± 0.99	2.41 ± 1.28	0.000
Scalp acupuncture	2.68 ± 1.08	2.04 ± 1.11	0.000
Plaster	2.34 ± 1.08	2.85 ± 1.10	0.000
Moxibustion	2.31 ± 1.05	2.07 ± 1.05	0.052
Raw Chinese medicine	2.13 ± 0.99	2.21 ± 1.03	0.489
Ear acupuncture	2.01 ±0.92	2.03 ± 0.96	0.867
Traumatology manipulation	1.86 ± 1.18	2.45 ± 1.18	0.000
Cupping	1.79 ± 0.93	2.14 ± 1.16	0.002
Fumigation	1.58 ± 1.17	2.07 ± 1.47	0.001
Bloodletting	1.24 ± 0.75	1.53 ± 0.90	0.002
Guasha	1.18 ± 0.91	1.58 ± 1.14	0.001

Mean score ranging from 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently



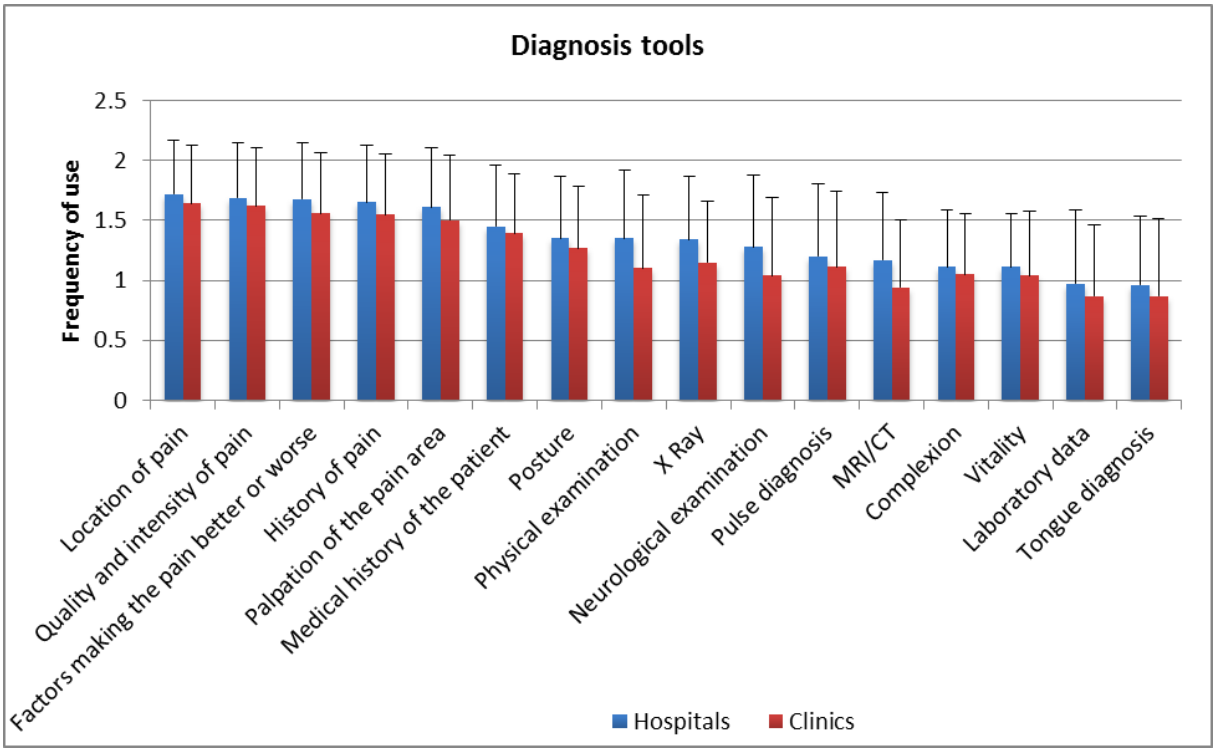
Frequency of use: 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently

圖二、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師針刺治療疾病種類之比較

表五、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師針刺治療疾病種類之比較

(Results expressed by mean of score ± SD)	Hospitals	Clinics	P
Diseases of the muskuloskeletal system and connective tissue	3.63 ± 0.64	3.56 ± 0.65	0.363
Diseases of the nervous and vascular system	3.45 ± 0.72	2.73 ± 0.93	0.000
Diseases of the ear, throat and nose	2.28 ± 1.04	2.32 ± 0.92	0.715
Diseases of the rheumatoid and immune system	2.11 ± 1.02	2.10 ± 1.08	0.941
Diseases of the digestive system	2.25 ± 0.95	2.33 ± 0.87	0.467
Pregnancy and childbirth	1.94 ± 0.93	1.97 ± 1.03	0.785
Endocrine and metabolic diseases	1.73 ± 1.06	1.92 ± 1.02	0.098
Diseases of the genitourinary system	1.74 ± 0.98	1.66 ± 0.99	0.470
Mental and behavioural diseases	1.70 ± 1.04	1.68 ± 1.01	0.911
Diseases of the cardiovascular system	1.62 ± 1.05	1.72 ± 0.93	0.390
Diseases of the respiratory system	1.53 ± 0.97	1.78 ± 0.95	0.021
Neoplasms	1.45 ± 1.00	0.96 ± 0.86	0.000
Diseases of the Skin	1.38 ± 0.92	1.56 ± 0.98	0.087
Symptoms and sign not elsewhere classified	1.41 ± 1.13	1.19 ± 1.02	0.099
Diseases of the blood	0.90 ± 0.81	0.96 ± 0.89	0.564
Poisoning	0.35 ± 0.60	0.28 ± 0.54	0.265

Mean score ranging from 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently



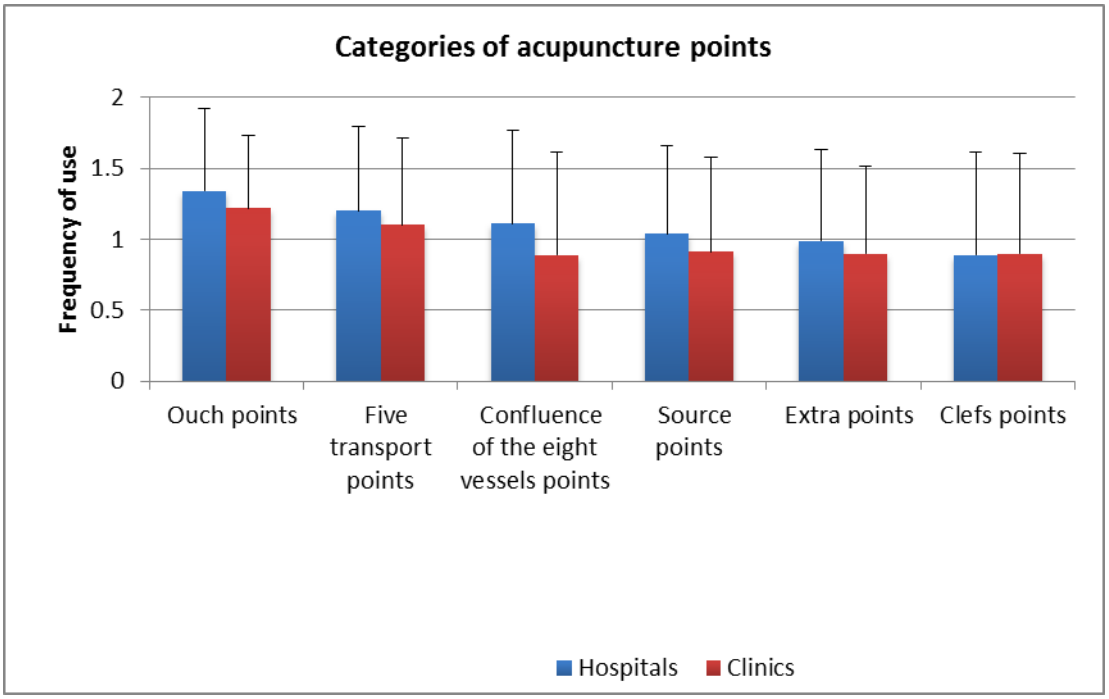
Rating range: 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

圖三、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師對於下背痛診斷方法及工具之比較

表六、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師對於下背痛診斷方法及工具之比較

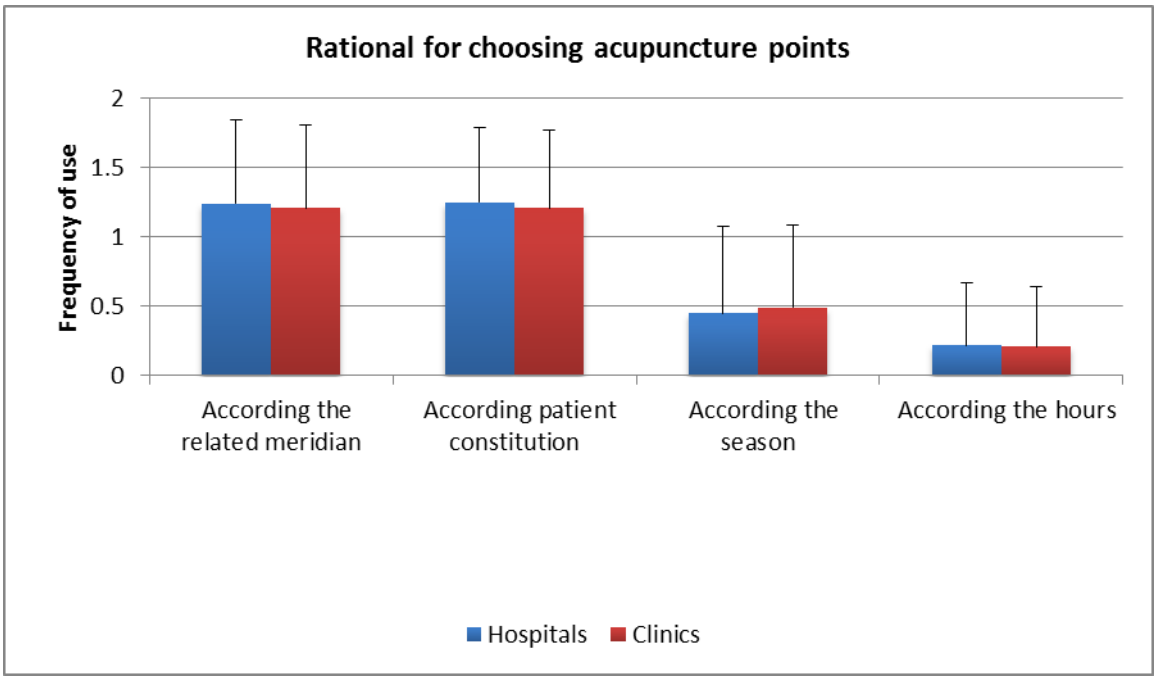
(Results expressed by mean of score ± SD)	Hospitals	Clinics	P
Location of pain	1.72 ± 0.45	1.64 ± 0.49	0.117
Quality and intensity of pain	1.69 ± 0.46	1.62 ± 0.49	0.216
Factors making the pain better or worse	1.68 ± 0.47	1.56 ± 0.50	0.027
History of pain	1.65 ± 0.48	1.55 ± 0.50	0.044
Palpation of the pain area	1.61 ± 0.50	1.50 ± 0.54	0.044
Medical history of the patient	1.45 ± 0.51	1.39 ± 0.50	0.261
Posture	1.35 ± 0.52	1.27 ± 0.51	0.140
Physical examination	1.35 ± 0.57	1.10 ± 0.61	0.000
X Ray	1.34 ± 0.53	1.15 ± 0.51	0.001
Neurological examination	1.28 ± 0.60	1.04 ± 0.65	0.001
Pulse diagnosis	1.20 ± 0.60	1.11 ± 0.63	0.210
MRI/CT	1.17 ± 0.56	0.94 ± 0.56	0.000
Complexion	1.11 ± 0.48	1.05 ± 0.51	0.237
Vitality	1.11 ± 0.45	1.04 ± 0.54	0.203
Laboratory data	0.97 ± 0.62	0.87 ± 0.59	0.137
Tongue diagnosis	0.96 ± 0.58	0.87 ± 0.64	0.179

Mean score ranging from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.



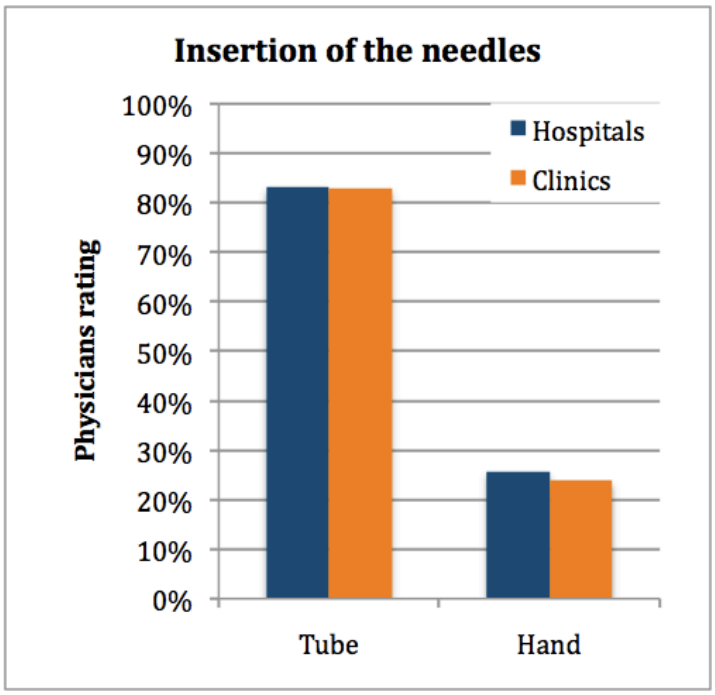
Rating range: 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

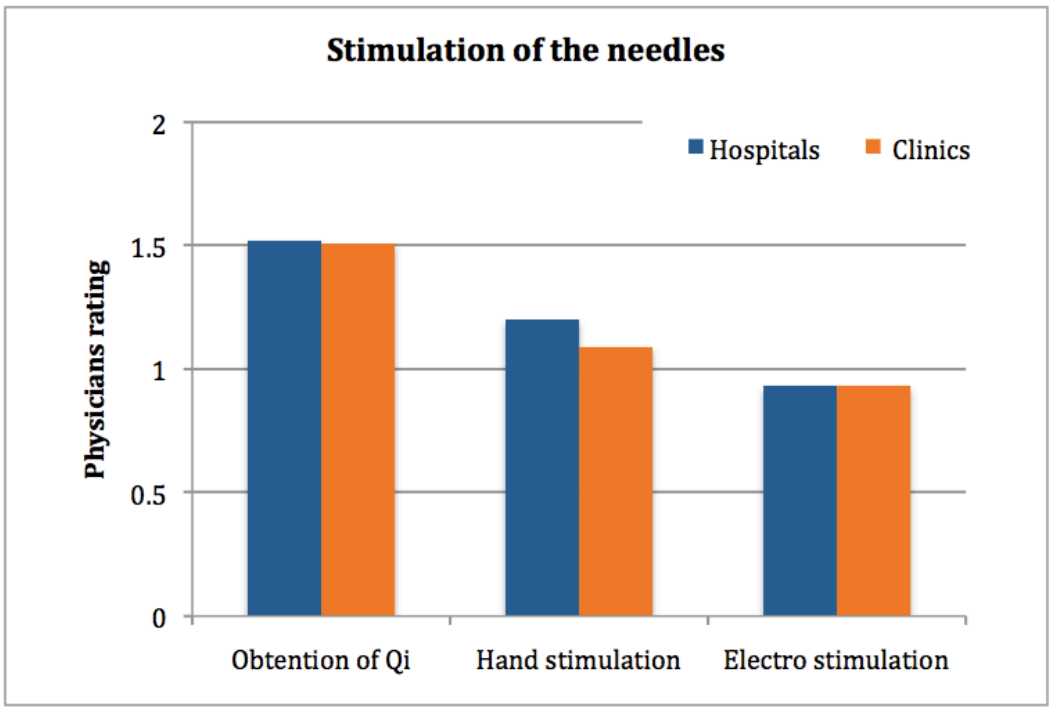
圖四、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療下背痛所選腧穴考量之比較



Rating range: from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

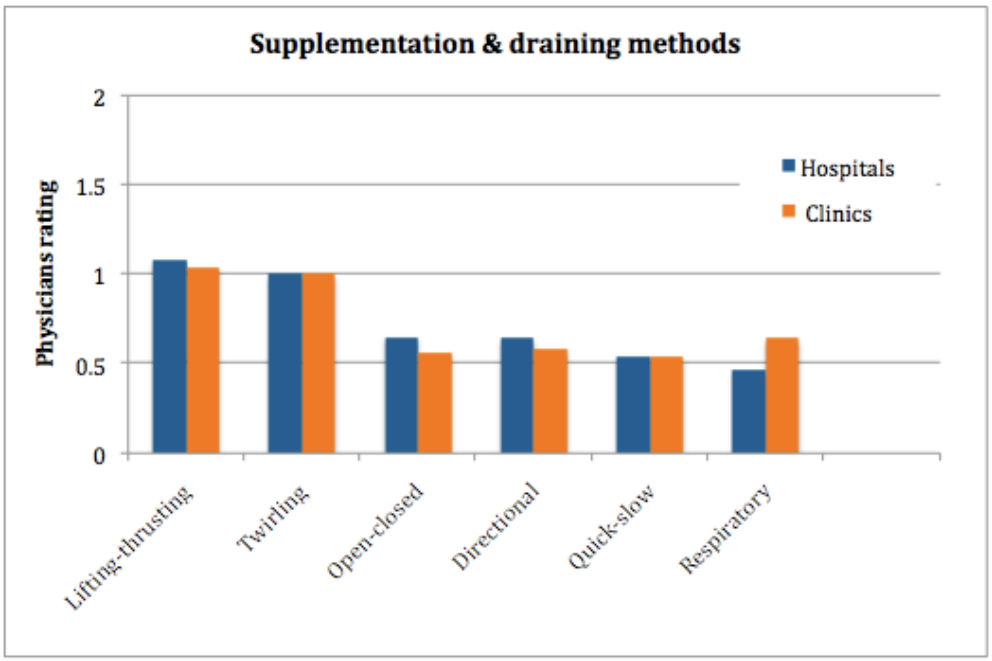
圖五、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療下背痛選穴考量之比較





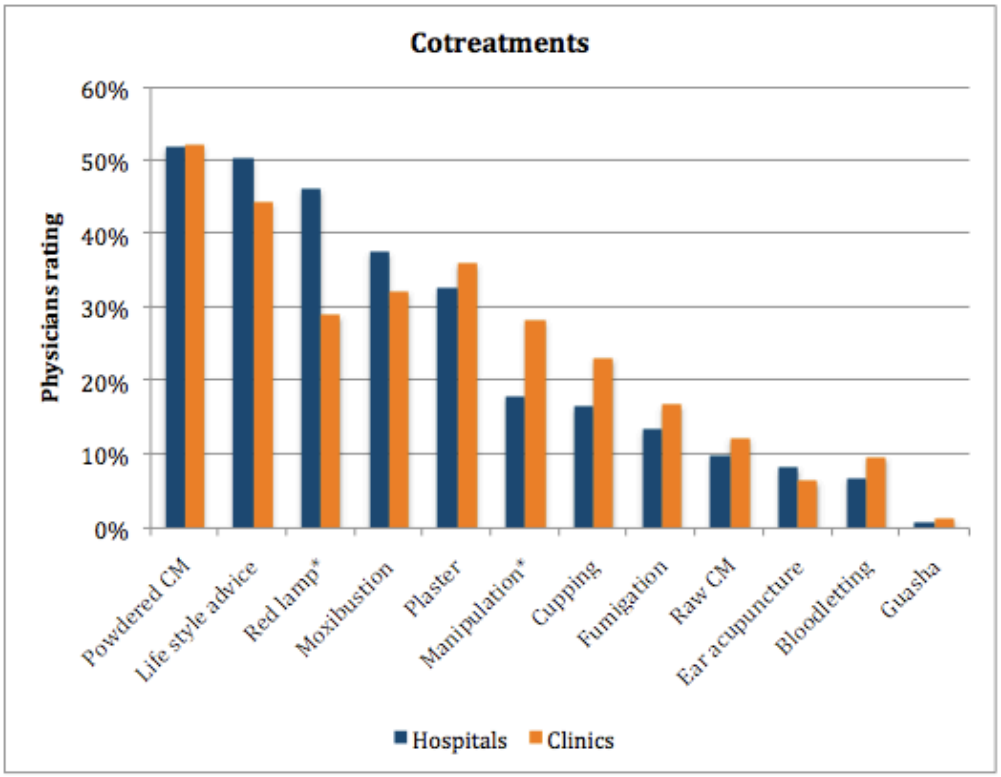
Rating range: from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

圖六、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療下背痛進針方式及過程重視項目之比較



Rating range: from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

圖七、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療下背痛補瀉手法之比較

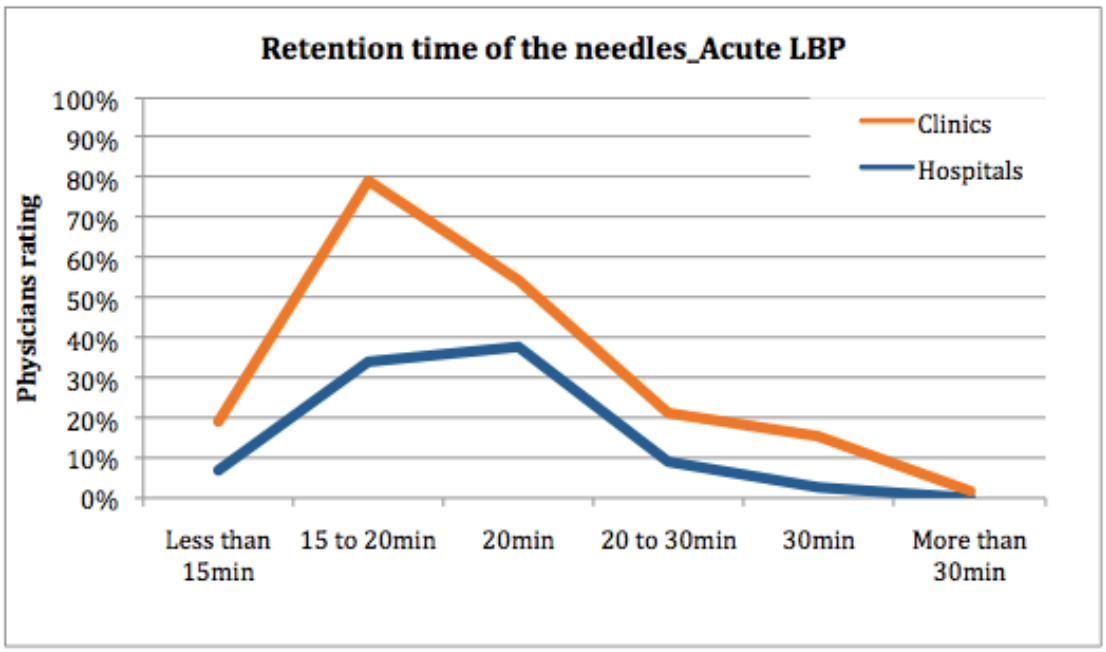


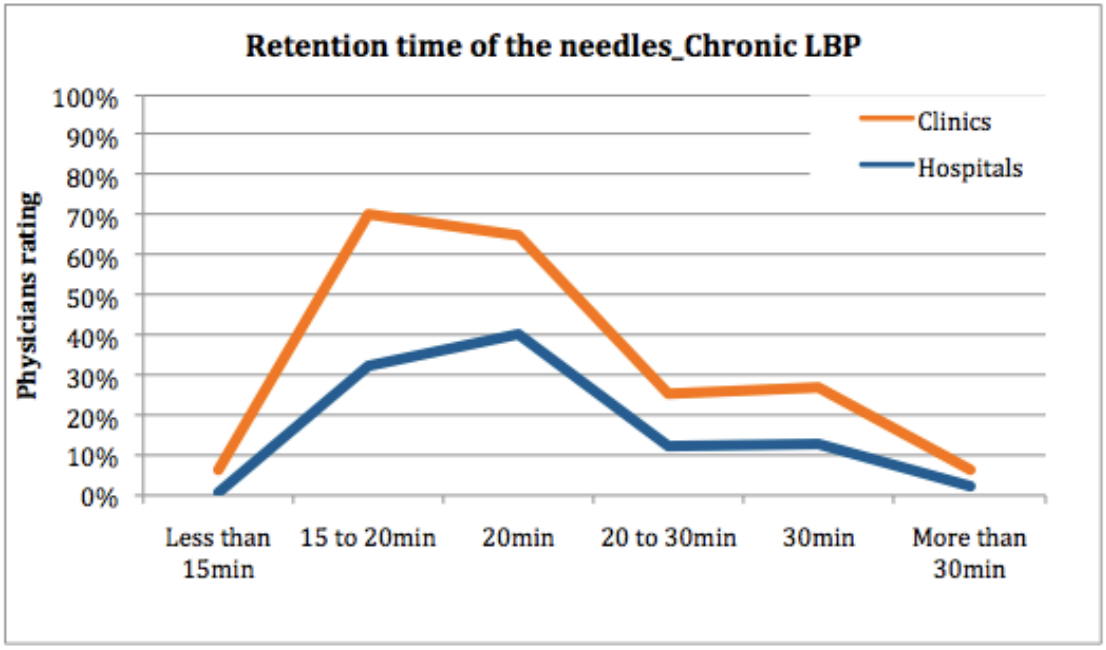
圖八、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療下背痛輔助療法之比較

表七、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師針刺治療下背痛之比較

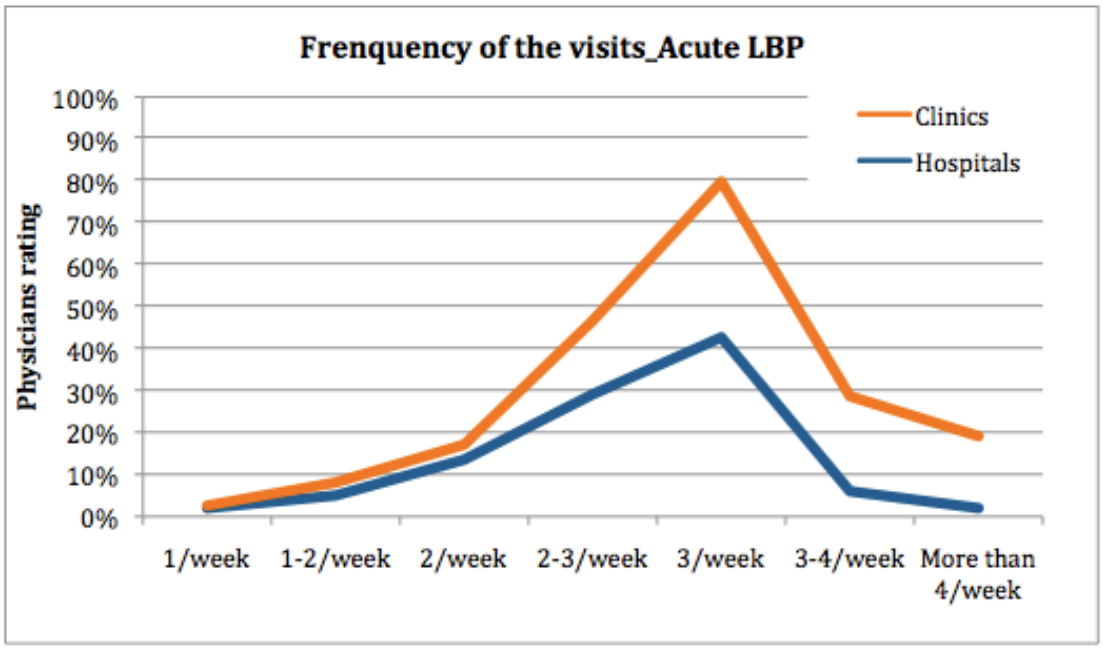
	Hospitals	Clinics	P
Rationale for choosing acupuncture points (mean of score ± SD)a			
According the related meridian	1.24 ± 0.60	1.21 ± 0.60	0.644
According patient constitution	1.25 ± 0.54	1.21 ± 0.56	0.518
According the season	0.45 ± 0.63	0.49 ± 0.60	0.534
According the hours	0.22 ± 0.45	0.21 ± 0.43	0.738
Categories of points choosed (mean of score ± SD)a			
Ouch points	1.34 ± 0.58	1.22 ± 0.51	0.069
Five transport points	1.20 ± 0.59	1.10 ± 0.61	0.129
Confluence of the eight vessels points	1.11 ± 0.66	0.89 ± 0.72	0.007
Source points	1.04 ± 0.62	0.91 ± 0.67	0.083
Extra points	0.99 ± 0.64	0.90 ± 0.61	0.206
Clefs points	0.89 ± 0.72	0.90 ± 0.70	0.856
Insertion of the needles %			
By hand	25.7	23.8	0.695
With guiding tube	83.1	82.9	0.965
Stimulation of the needles (mean of score ± SD)a			
Obtention of Qi (De Qi)	1.52 ± 0.54	1.51 ± 0.53	0.860
Hand stimulation	1.20 ± 0.61	1.09 ± 0.58	0.111
Electro stimulation	0.96 ± 0.64	0.91 ± 0.61	0.510
Supplementation and draining methods (mean of score ± SD)a			
Lifting-thrusting	1.07 ± 0.68	1.05 ± 0.64	0.811
Twirling	0.99 ± 0.73	0.99 ± 0.70	0.909
Open-closed	0.65 ± 0.73	0.56 ± 0.61	0.216
Directional	0.61 ± 0.72	0.60 ± 0.71	0.874
Quick-slow	0.54 ± 0.68	0.54 ± 0.63	0.941
Respiratory	0.48 ± 0.63	0.61 ± 0.71	0.096
Cotreatment %			
Powdered Chinese medicine	51.3	51.8	0.928
Exercises advices	42.9	39.1	0.532
Red lamp	45.8	30.7	0.011
Moxibustion	39.5	31.9	0.192
Plaster	34.8	34.9	0.973
Traumatology manipulation	16.8	27.7	0.027
Cupping	16.8	22.9	0.201
Fumigation	12.6	22.9	0.254
Raw Chinese medicine	9.2	12.1	0.445

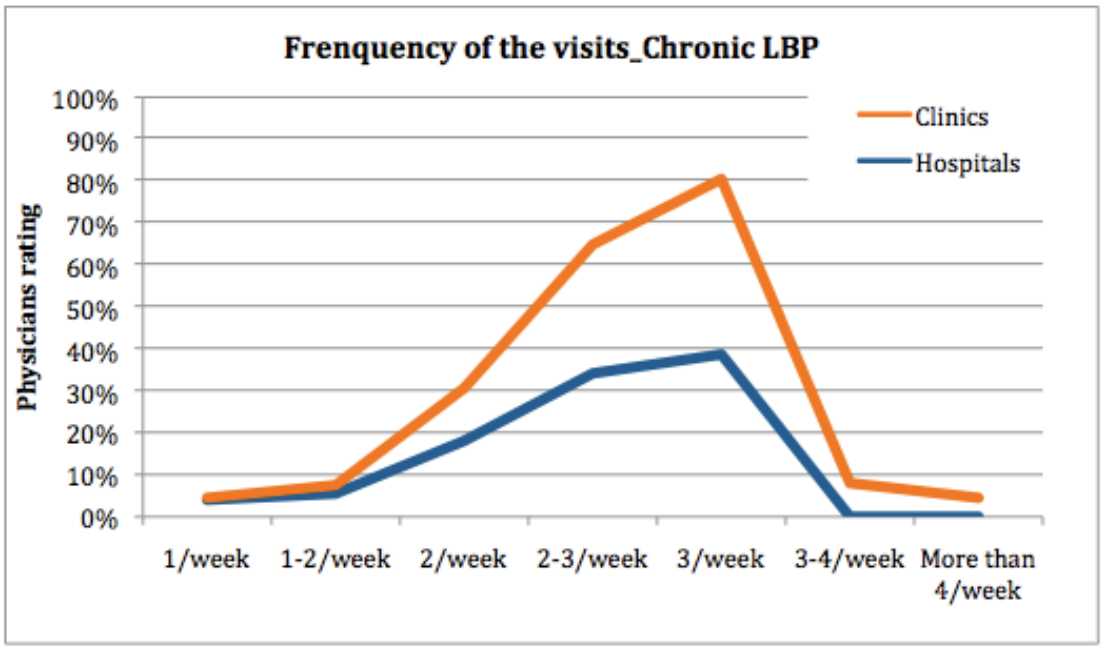
a : mean score ranging from 0=not familiar with or not important; 1=important; 2=very important





圖九、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療急性及慢性下背痛留針時間長短之比較

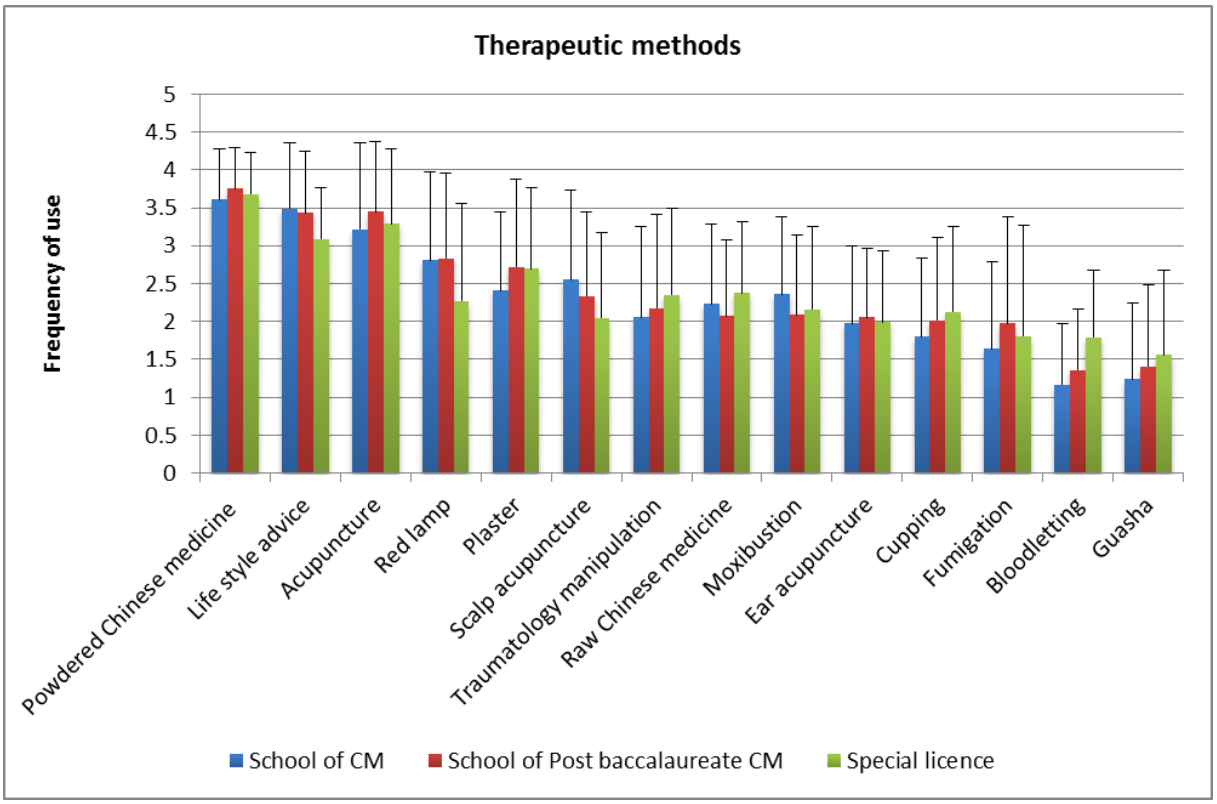




圖十、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療急性及慢性下背痛每週針刺治療次數之比較

表八、執業針灸於西醫醫院（N=143）與中醫診所（N=195）醫師治療急性及慢性下背痛留針時間及每週針刺治療次數之比較

Results expressed in %	Hospitals Acute LBP	Clinics Acute LBP	P	Hospitals Chronic LBP	Clinics Chronic LBP	P
Retention time of the needles			0.001			0.012
less than 15min	6.7	11.5		0.7	5.3	
15 to 20min	32.1	45.5		30.6	38.4	
20 min	38.1	17.8		41	25.3	
20 to 30 min	9.7	11.5		12.7	12.6	
30 min	13.4	12		13.4	13.7	
More than 30 min	0	1.6		1.5	4.7	
Frequency of the treatment s			0.000			0.000
Once a week	2.2	0.5		3.7	0.5	
1 to 2 time/week	4.5	3.2		5.9	2.1	
2 time/week	11.9	4.8		17.8	13.1	
2/3 time/week	28.4	18.6		32.6	31.4	
3 time/week	44	36.7		40	41.4	
More than 3 time/week	9	36.2		0	11.5	



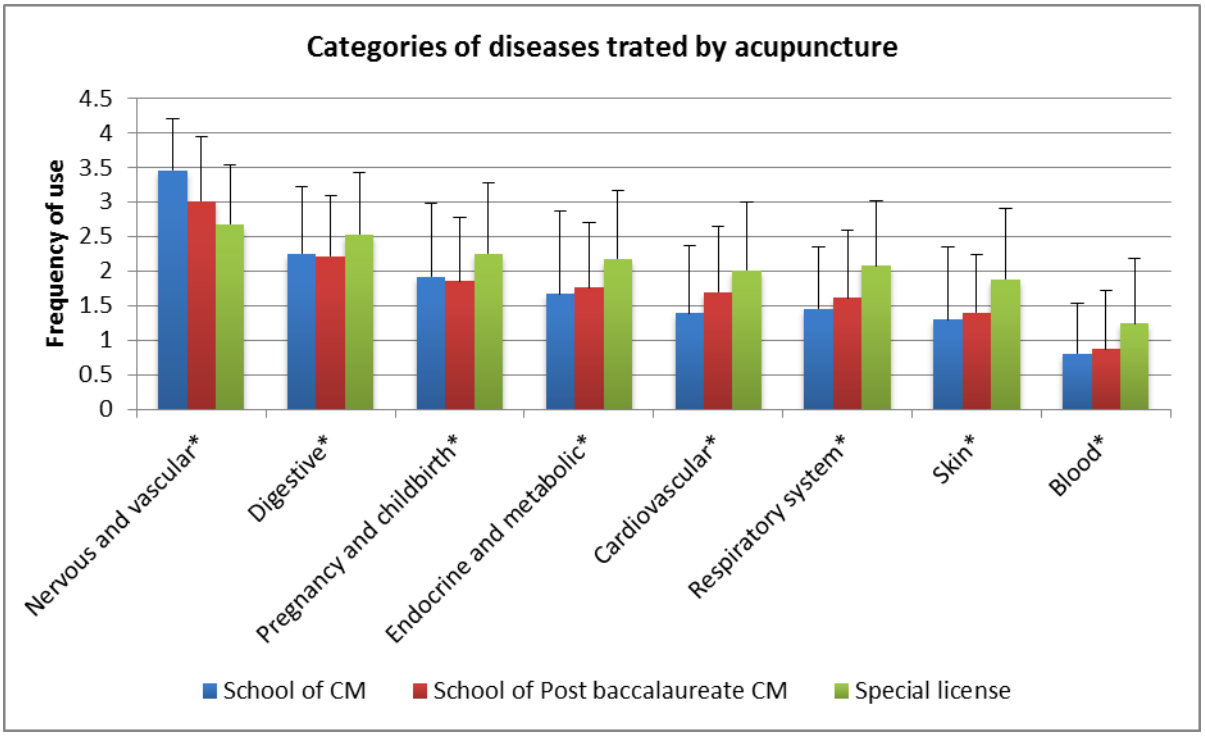
Frequency of use: 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently

圖十一、不同教育背景之中醫師使用治療方法之比較

表九、不同教育背景之中醫師使用治療方法之比較

(Result expressed by mean of score ± SD)	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Powdered Chinese medicine	3.61 ± 0.67	3.75 ± 0.55	3.68 ± 0.55	0.194
Life style advice	3.49 ± 0.87	3.43 ± 0.81	3.09 ± 0.67	0.004
Acupuncture	3.22 ± 1.14	3.45 ± 0.92	3.29 ± 0.98	0.190
Red lamp	2.81 ± 1.16	2.83 ± 1.12	2.27 ± 1.28	0.002
Plaster	2.41 ± 1.04	2.72 ± 1.16	2.70 ± 1.06	0.100
Scalp acupuncture	2.55 ± 1.18	2.34 ± 1.11	2.05 ± 1.12	0.023
Traumatology manipulation	2.06 ± 1.19	2.18 ± 1.24	2.35 ± 1.14	0.287
Raw Chinese medicine	2.23 ± 1.05	2.07 ± 1.00	2.38 ± 0.93	0.066
Moxibustion	2.36 ± 1.02	2.09 ± 1.05	2.16 ± 1.10	0.161
Ear acupuncture	1.98 ± 1.02	2.06 ± 0.91	1.99 ± 0.94	0.747
Cupping	1.80 ± 1.03	2.02 ± 1.09	2.13 ± 1.12	0.132
Fumigation	1.64 ± 1.15	1.98 ± 1.40	1.81 ± 1.46	0.158
Bloodletting	1.17 ± 0.81	1.36 ± 0.80	1.79 ± 0.88	0.000
Guasha	1.24 ± 1.01	1.41 ± 1.08	1.56 ± 1.11	0.171

Mean score ranging from 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently



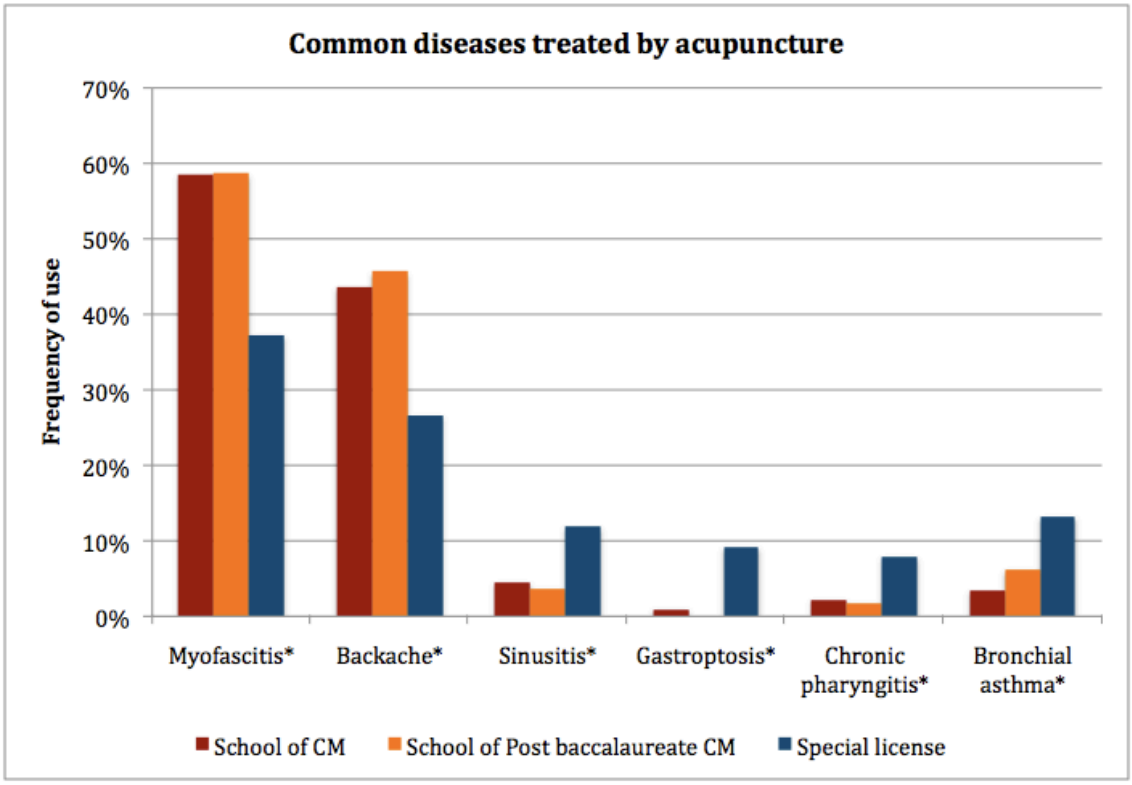
Frequency of use: 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently

圖十二、不同教育背景之中醫師針刺治療疾病種類之比較

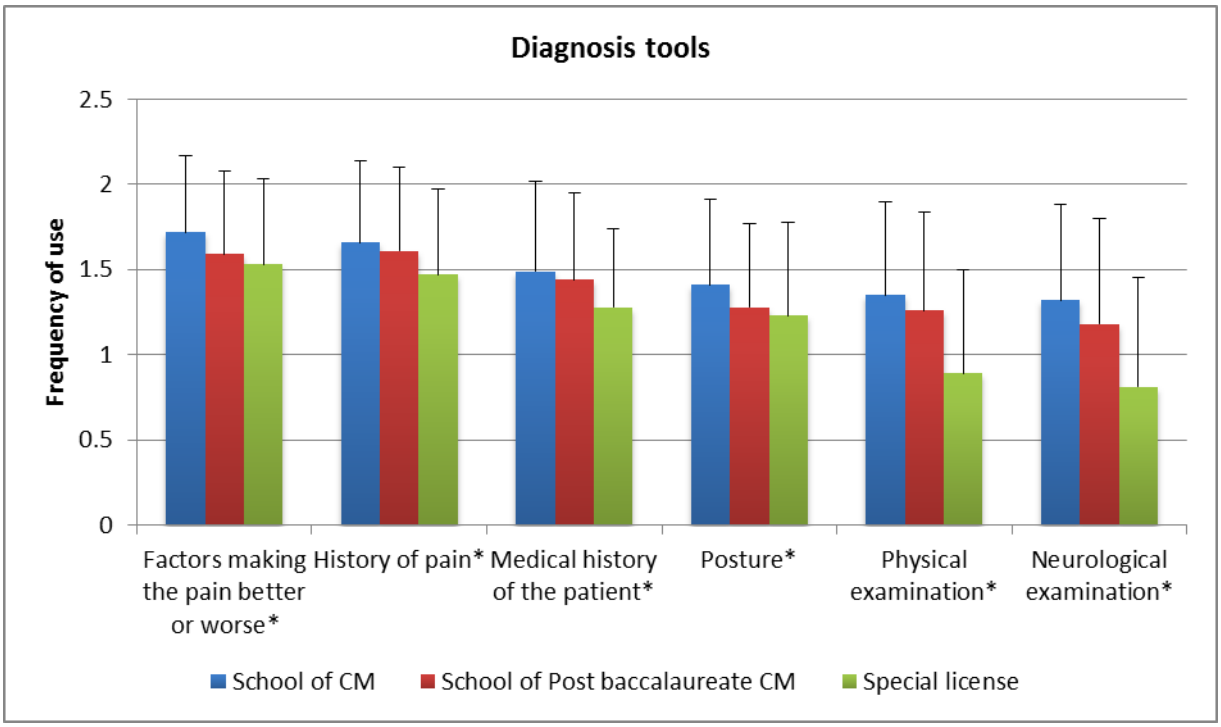
表十、不同教育背景之中醫師針刺治療疾病種類之比較

(Results expressed by mean of score ± SD)	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Diseases of the muskuloskeletal system and connective tissue	3.69 ± 0.58	3.58 ± 0.70	3.48 ± 0.59	0.113
Diseases of the nervous and vascular system	3.46 ± 0.74	3.01 ± 0.94	2.68 ± 0.86	0.000
Diseases of the digestive system	2.25 ± 0.96	2.21 ± 0.88	2.53 ± 0.89	0.032
Diseases of the ear, throat and nose	2.29 ± 1.17	2.24 ± 0.86	2.54 ± 0.97	0.271
Diseases of the rheumatoid and immune system	2.22 ± 1.03	1.99 ± 1.02	2.23 ± 1.14	0.137
Pregnancy and childbirth	1.92 ± 1.05	1.85 ± 0.92	2.25 ± 1.02	0.012
Endocrine and metabolic diseases	1.69 ± 1.20	1.76 ± 0.94	2.18 ± 0.99	0.004
Diseases of the genitourinary system	1.67 ± 0.99	1.62 ± 0.92	1.93 ± 1.10	0.078
Mental and behavioural diseases	1.72 ± 1.06	1.65 ± 0.98	1.75 ± 1.07	0.728
Diseases of the cardiovascular system	1.39 ± 0.97	1.69 ± 0.96	2.01 ± 0.99	0.000
Diseases of the respiratory system	1.45 ± 0.90	1.61 ± 0.97	2.07 ± 0.95	0.000
Diseases of the skin	1.30 ± 1.04	1.40 ± 0.84	1.88 ± 1.03	0.000
Symptoms and sign not elsewhere classified	1.37 ± 1.2	1.24 ± 0.95	1.30 ± 1.17	0.727
Neoplasms	1.35 ± 0.97	1.07 ± 0.93	1.21 ± 0.98	0.089
Diseases of the blood	0.80 ± 0.73	0.87 ± 0.85	1.24 ± 0.95	0.002
Poisoning	0.26 ± 0.49	0.34 ± 0.61	0.34 ± 0.56	0.501

Mean score ranging from 0=Never used; 1=Rarely; 2=Occasionally; 3=Frequently; 4=Very frequently



圖十三、不同教育背景之中醫師針刺常見疾病之比較



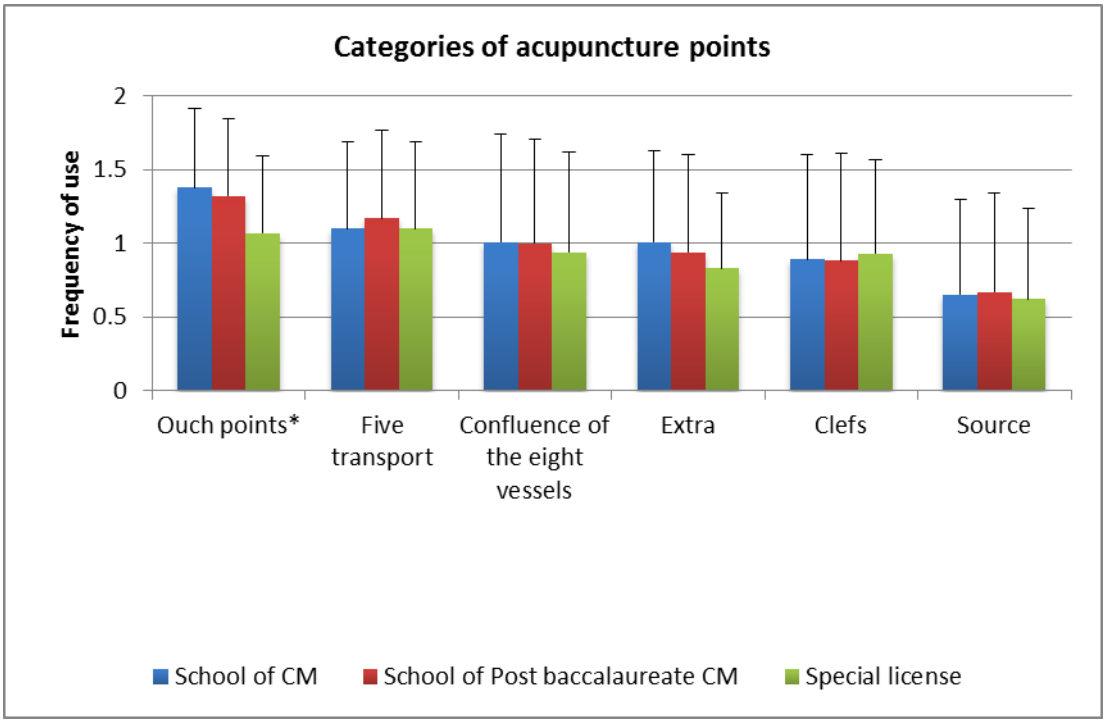
Rating range: 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

圖十四、不同教育背景之中醫師對於下背痛診斷方法及工具之比較

表十一、不同教育背景之中醫師對於下背痛診斷方法及工具之比較

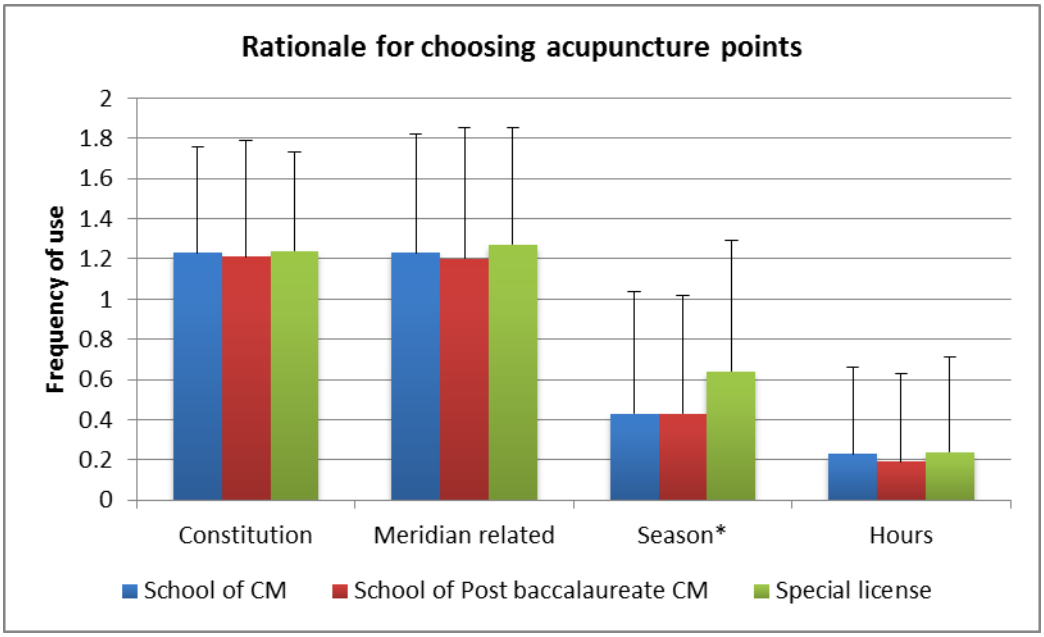
(Results expressed by mean of score ± SD)	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Location of pain	1.73 ± 0.45	1.68 ± 0.47	1.58 ± 0.52	0.117
Quality and intensity of pain	1.70 ± 0.46	1.64 ± 0.48	1.59 ± 0.50	0.269
Factors making the pain better or worse	1.72 ± 0.45	1.59 ± 0.49	1.53 ± 0.50	0.033
History of pain	1.66 ± 0.48	1.61 ± 0.49	1.47 ± 0.50	0.032
Palpation of the pain area	1.62 ± 0.54	1.53 ± 0.54	1.49 ± 0.50	0.044
Medical history of the patient	1.49 ± 0.53	1.44 ± 0.51	1.28 ± 0.46	0.306
Posture	1.41 ± 0.50	1.28 ± 0.49	1.23 ± 0.55	0.041
Physical examination	1.35 ± 0.55	1.26 ± 0.58	0.89 ± 0.61	0.000
X Ray	1.28 ± 0.50	1.21 ± 0.53	1.21 ± 0.57	0.553
Neurological examination	1.32 ± 0.56	1.18 ± 0.62	0.81 ± 0.64	0.000
Pulse diagnosis	1.16 ± 0.61	1.12 ± 0.64	1.18 ± 0.56	0.755
MRI/CT	1.12 ± 0.57	1.03 ± 0.51	0.95 ± 0.68	0.162
Complexion	1.11 ± 0.49	1.04 ± 0.50	1.08 ± 0.50	0.551
Vitality	1.15 ± 0.49	1.01 ± 0.47	1.09 ± 0.57	0.107
Laboratory data	0.94 ± 0.62	0.88 ± 0.58	0.93 ± 0.63	0.694
Tongue diagnosis	0.97 ± 0.62	0.88 ± 0.61	0.90 ± 0.62	0.550

Mean score ranging from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.



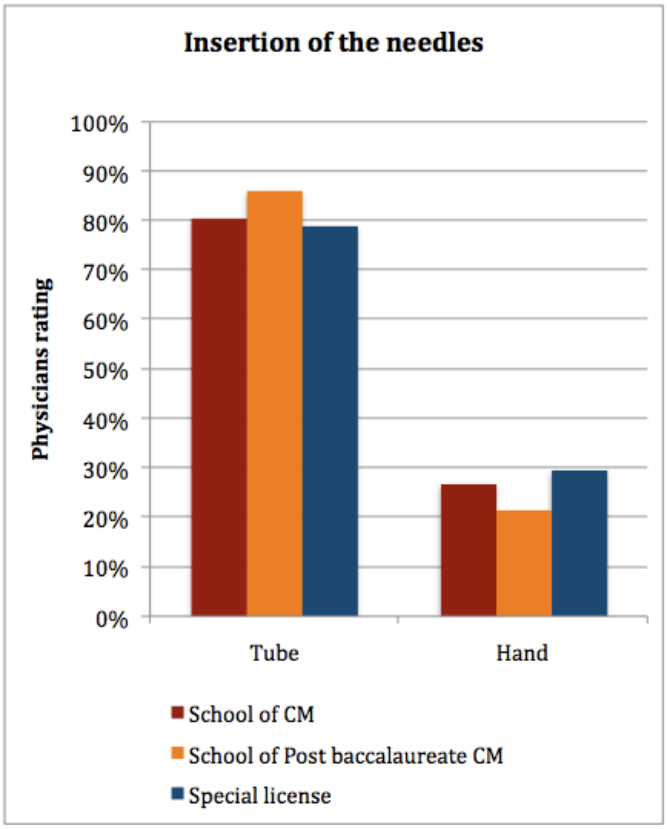
Rating range: 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

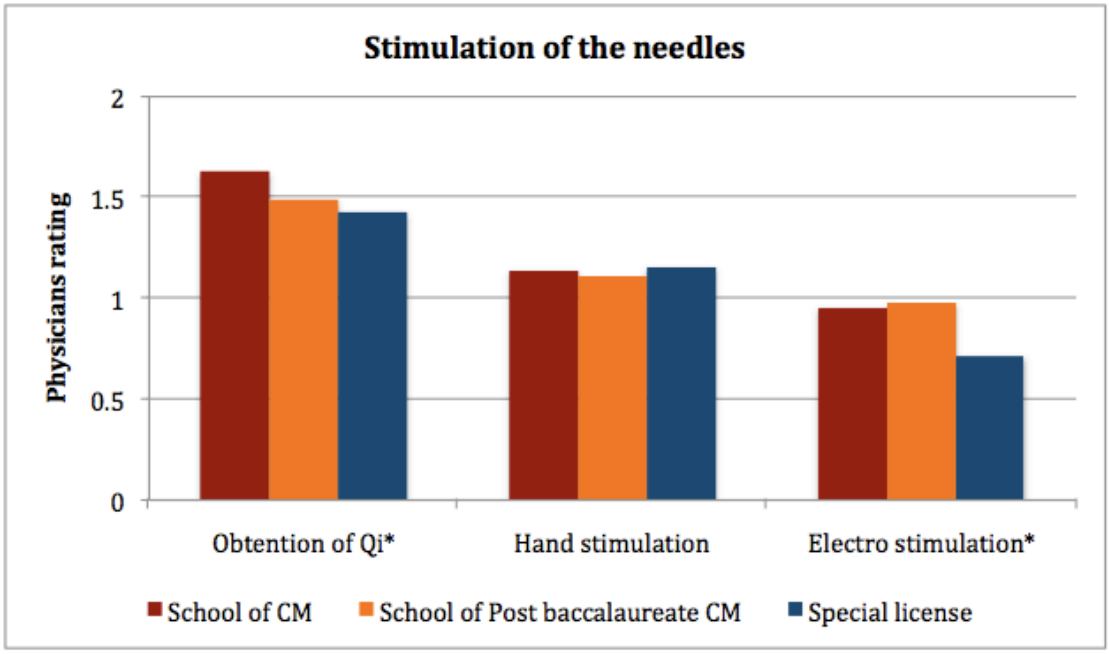
圖十五、不同教育背景之中醫師治療下背痛所選腧穴考量之比較



Rating range: from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

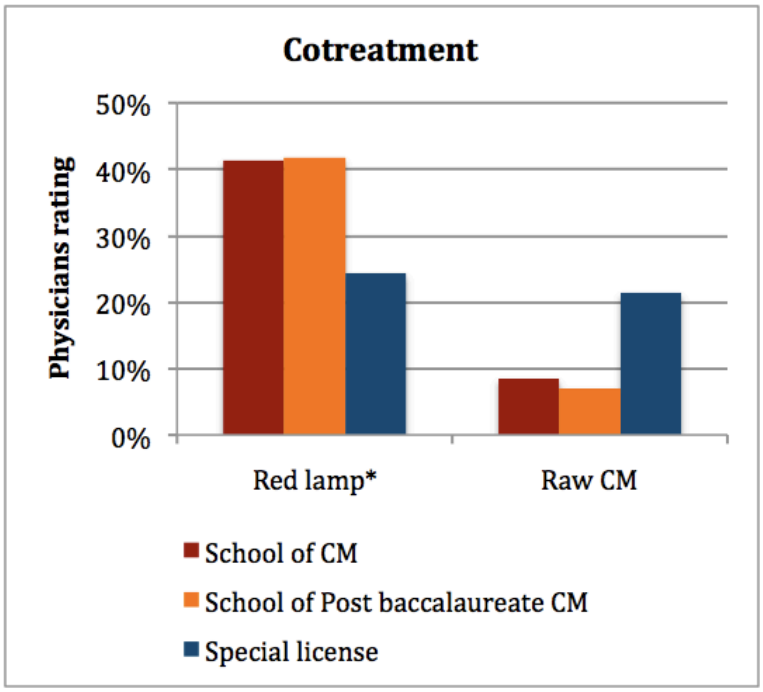
圖十六、不同教育背景之中醫師治療下背痛選穴考量之比較





Rating range: from 0= not familiar with or not important; 1=important; 2=very important.

圖十七、不同教育背景之中醫師治療下背痛進針方式及過程重視項目之比較



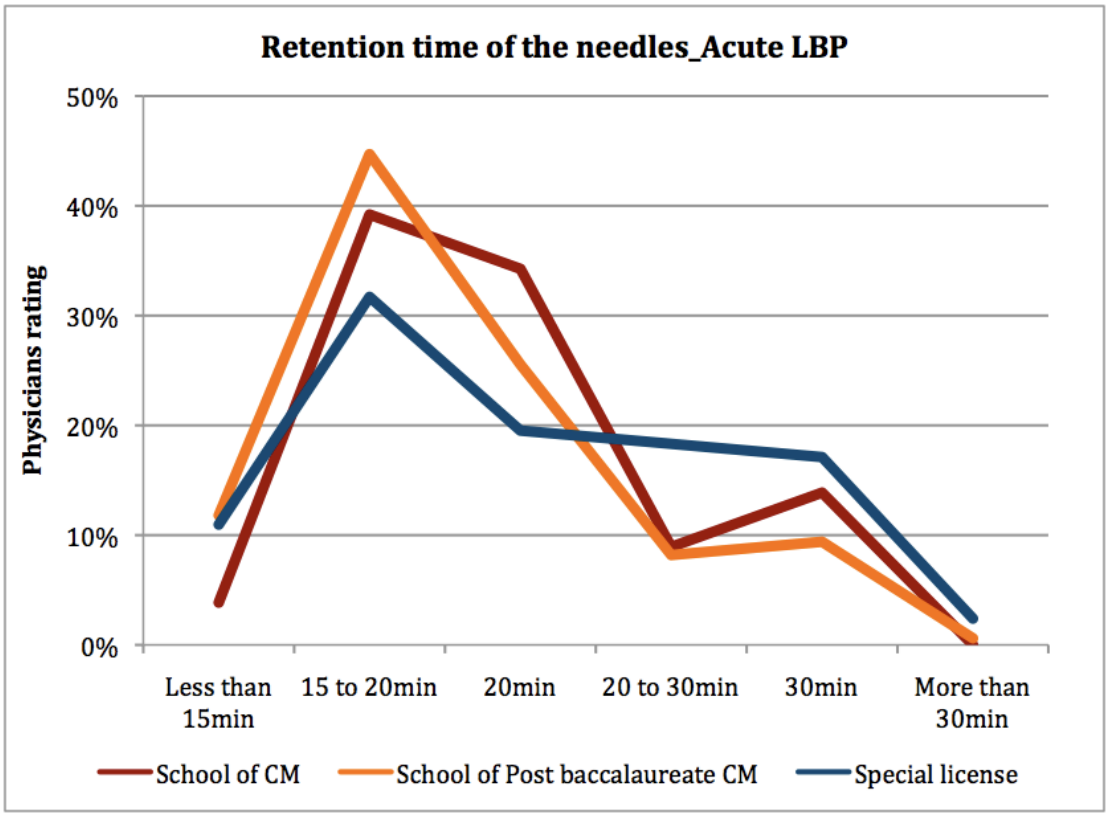
圖十八、不同教育背景之中醫師治療下背痛輔助療法之比較

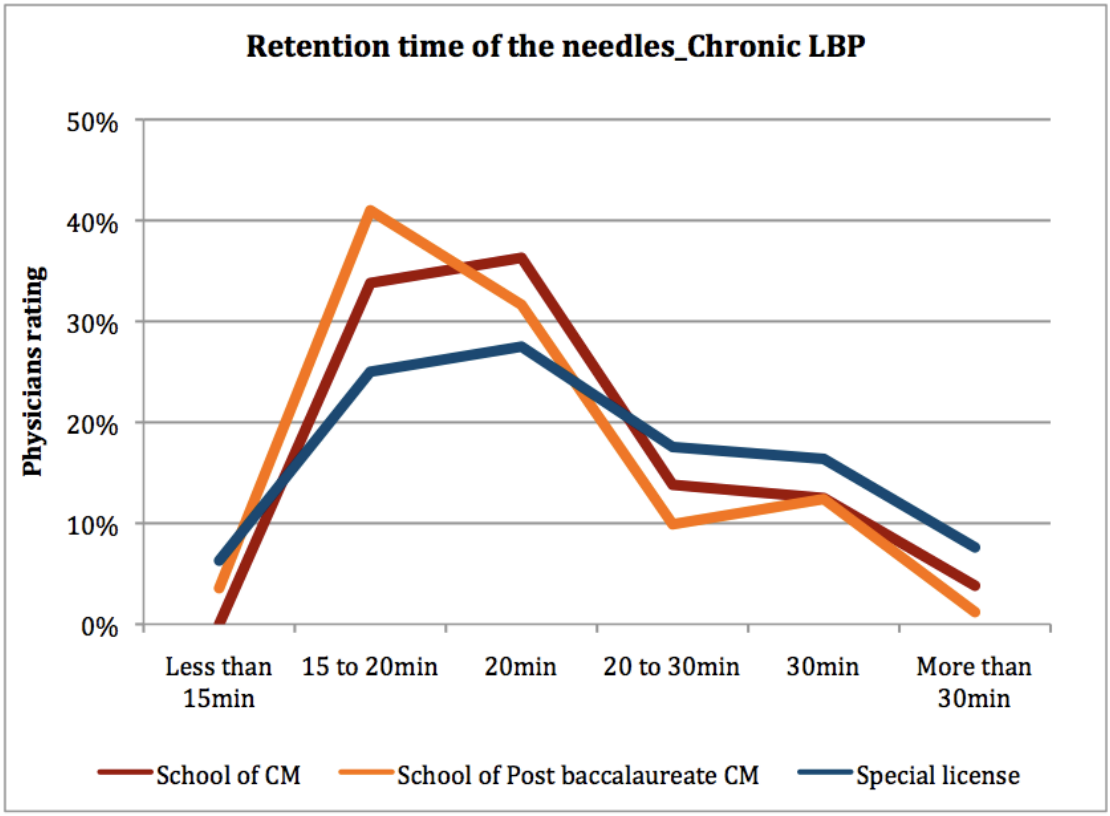
表十二、不同教育背景之中醫師針刺治療下背痛之比較

	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Rationale for choosing acupuncture points (mean of score ± SD)a				
According the related meridian	1.23 ± 0.59	1.20 ± 0.65	1.27 ± 0.58	0.701
According patient constitution	1.23 ± 0.53	1.21 ± 0.58	1.24 ± 0.49	0.890
According the season	0.43 ± 0.61	0.43 ± 0.59	0.64 ± 0.65	0.036
According the hours	0.23 ± 0.43	0.19 ± 0.44	0.24 ± 0.47	0.632
Categories of points choosed (mean of score ± SD)a				
Ouch points	1.38 ± 0.54	1.32 ± 0.53	1.07 ± 0.52	0.000
Five transport points	1.10 ± 0.59	1.17 ± 0.60	1.10 ± 0.59	0.596
Confluence of the eight vessels points	1.01 ± 0.73	1.00 ± 0.71	0.94 ± 0.68	0.808
Source points	0.99 ± 0.65	0.97 ± 0.67	0.95 ± 0.62	0.921
Extra points	1.01 ± 0.62	0.94 ± 0.66	0.83 ± 0.51	0.183
Clefs points	0.89 ± 0.71	0.88 ± 0.73	0.93 ± 0.64	0.879
Insertion of the needles %				
By hand	26.8	21.5	29.6	0.342
With guiding tube	80.5	85.9	79	0.332
Stimulation of the needles (mean of score ± SD)a				
Obtention of Qi (De Qi)	1.63 ± 0.47	1.49 ± 0.51	1.43 ± 0.61	0.045
Hand stimulation	1.14 ± 0.59	1.11 ± 0.58	1.16 ± 0.63	0.843
Electro stimulation	0.96 ± 0.65	0.98 ± 0.61	0.72 ± 0.55	0.015
Supplementation and draining methods (mean of score ± SD)a				
Lifting-thrusting	1.10 ± 0.70	1.01 ± 0.63	0.90 ± 0.64	0.061
Twirling	1.05 ± 0.71	0.99 ± 0.71	0.91 ± 0.70	0.453
Open-closed	0.55 ± 0.68	0.63 ± 0.68	0.60 ± 0.63	0.694
Directional	0.59 ± 0.71	0.62 ± 0.72	0.59 ± 0.73	0.906
Quick-slow	0.55 ± 0.68	0.51 ± 0.64	0.57 ± 0.63	0.803

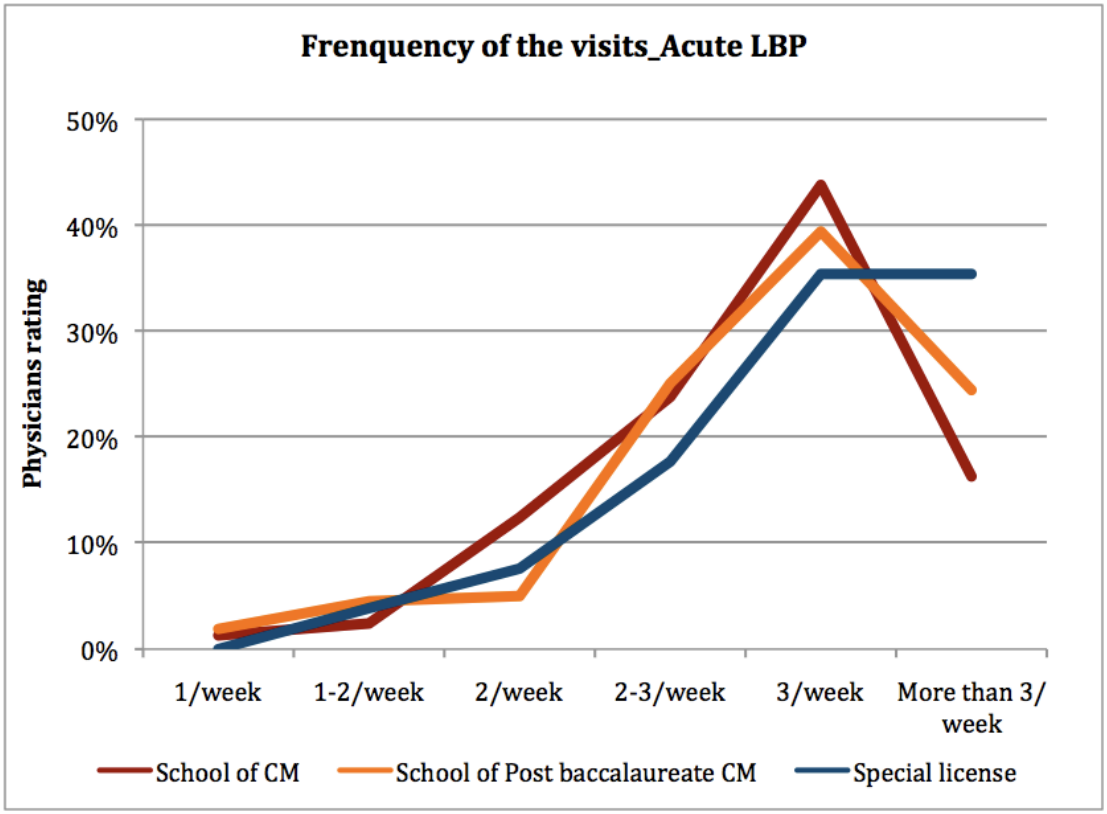
	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Respiratory	0.46 ± 0.62	0.57 ± 0.69	0.61 ± 0.71	0.318
Cotreatment %				
Powdered Chinese medicine	52.1	47.5	58.6	0.318
Exercises advices	36.6	44	38.6	0.539
Red lamp	41.4	41.8	24.3	0.033
Moxibustion	36.6	30.5	42.9	0.200
Plaster	37.1	35.5	30	0.640
Traumatology manipulation	25.4	23.4	20	0.747
Cupping	18.3	22	18.6	0.761
Fumigation	12.7	19.9	10	0.132
Raw Chinese medicine	8.5	7.1	21.4	0.005

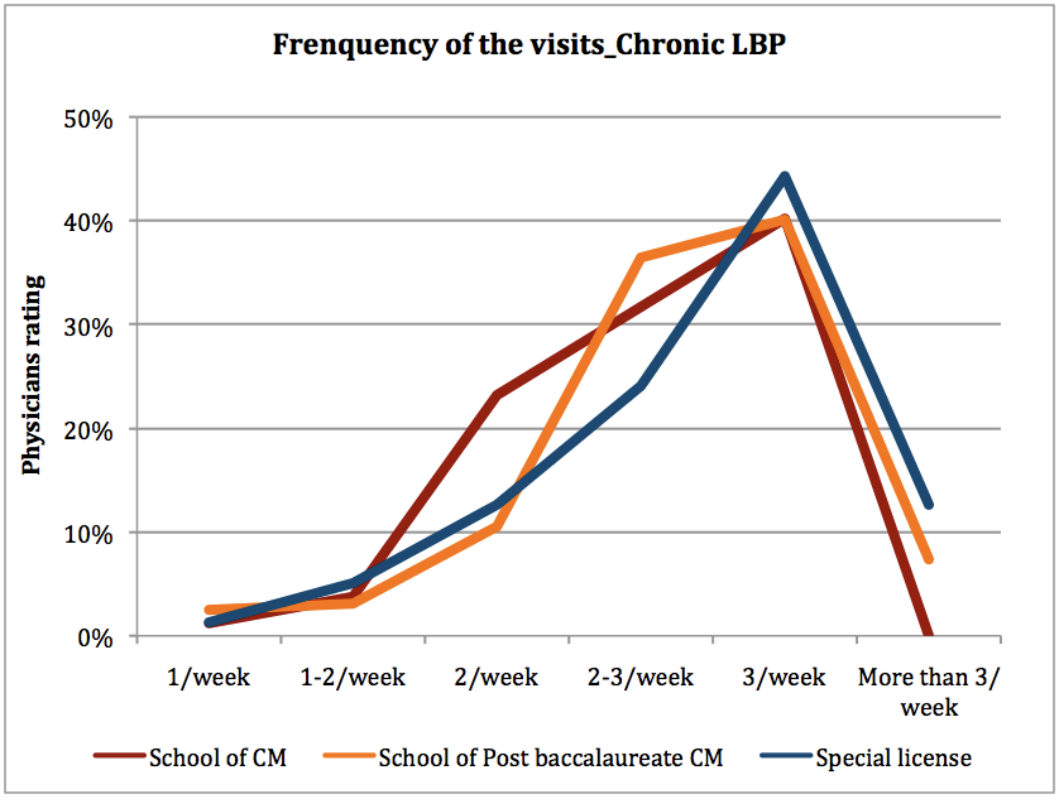
a : mean score ranging from 0=not familiar with or not important; 1=important; 2=very important





圖十九、不同教育背景之中醫師治療急性及慢性下背痛留針時間長短之比較





圖二十、不同教育背景之中醫師治療急性及慢性下背痛每週針刺治療次數之比較

表十三、不同教育背景之中醫師治療急性下背痛留針時間及每週針刺治療次數之比較

Results expressed in %	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Retention time of the needles				0.023
less than 15min	3.8	11.8	11	
15 to 20min	39.2	44.7	31.7	
20 min	34.2	25.5	19.5	
20 to 30 min	8.9	8.1	18.3	
30 min	13.9	9.3	17.1	
More than 30 min	0	0.6	2.4	
Frequency of the treatments				0.181
Once a week	1.3	1.9	0	
1 to 2 time/week	2.5	4.4	3.8	
2 time/week	12.5	5	7.6	
2/3 time/week	23.8	25	17.7	
3 time/week	43.8	39.4	35.4	
More than 3 time/week	16.3	24.4	35.4	

表十四、不同教育背景之中醫師治療慢性下背痛留針時間及每週針刺治療次數之比較

Results expressed in %	School of CM	School of Post baccalaureate CM	Special licence	P
Retention time of the needles				0.043
less than 15min	0	3.7	6.3	
15 to 20min	33.8	41	25	
20 min	36.3	31.7	27.5	
20 to 30 min	13.8	9.9	17.5	
30 min	12.5	12.4	16.3	
More than 30 min	3.8	1.2	7.5	
Frequency of the treatments				0.030
Once a week	1.2	2.5	1.3	
1 to 2 time/week	3.7	3.1	5.1	
2 time/week	23.2	10.5	12.7	
2/3 time/week	31.7	36.4	24.1	
3 time/week	40.2	40.1	44.3	
More than 3 time/week	0	7.4	12.7	

編號：CCMP99-RD-035

針灸對腦中風療效評估之實證研究及文獻回顧

林昭庚
中國醫藥大學

摘　要

研究背景：

腦中風是全球主要死因之一，有很高的復發率，五年內為 35.3%，十年內為 51.3%，是成人殘障的主要致因。為加強中風病人中醫醫療照護，2010 年起腦血管疾病病患之中醫門診及西醫住院中醫會診之特別照護計畫全面納入全民健保給付範圍。中醫運用針灸已經超過 2500 年的歷史，並且廣泛應用於中風的治療。現今中醫政策或醫療體系之推行，實證數據之有效與否便成為關鍵。因此，若可以過去針灸治療腦中風療效評估作成一份綜合評估的文獻回顧研究，將有助於中醫針灸實證醫學的發展。

研究目的：

本研究利用全民健康保險研究資料庫，探討：(1) 台灣中風病人中醫醫療利用及其相關因子，(2) 以二次中風等指標評估針灸治療腦中風療效評估並探討其影響因子。本研究也同時針對針灸治療腦中風實證醫學文獻進行評讀。

研究方法：

本研究施行步驟分為三個部份，第一部份及第二部分為台灣中風病人中醫醫療利用及其相關因子之分析研究，及針灸對腦中風療效評估之實證研究，分別使用國家衛生研究院所提供之健保資料庫 2005 年及 2000 年之百萬歸人檔分析，第三部份為針灸對腦中風療效之實證醫學文獻評讀。

結果：

利用健保資料庫 2005 年百萬歸人檔分析結果顯示，針灸使用次數高者相對於使用次數低及未使用者其中風復發率較低，其風險分別為 0.56、0.65 及 1.00。在性別部分，女性做針灸的療效優於男性；而同為針灸使用次數多者，老年人中風的復發率之風險比為 0.52，高於 20-44 歲之 0.13。在中風後使用針灸、藥物、復健或三種皆未使用者，其中風復發的發生率分別為每千人 0.27、0.50、0.91 及 1.00；使用健保資料庫 2000 年百萬歸人檔分析結果與 2005 年之結果大致相同。有關實證醫學文獻結果顯示針刺治療對中風後急性期和亞急性期的失眠、肌肉的

痙攣及強度有產生明顯的改善；對認知與情緒、生活品質 ADL 則影響不顯著。對慢性期吞嚥、平衡、認知可產生明顯的改善；對生活品質、肌肉的痙攣，根據不同的機構所做的報告成效不一，但多數的報告是有效的。而灸法治療對泌尿系統恢復程度有明顯的改善。

結論：

針灸可以有效減少中風復發，此種治療方式對於年輕的患者療效更為顯著，而使用次數愈多其預防效果更好。

關鍵詞：針灸、腦中風、二次中風、實證醫學

Number: CCMP99-RD-035

The Assessment of the Effects of Acupuncture Therapy on Stroke Patients: Evidence-based Research and Literature Review

Jaung-Geng Lin

China Medical University

ABSTRACT

Background:

Stroke is one of leading causes of death worldwide. The five-year and ten-year rate of recurrent stroke are 35.3% and 51.3%, respectively. Stroke is also the leading cause of disability. To enhance the medical care of traditional Chinese Medicine (TCM) for stroke patients, the special care plan of TCM for stroke patients was implemented in the National Health Insurance since 2010. Acupuncture treatment was used to care stroke patients commonly among people in Taiwan and other Asian countries. The effectiveness of evidenced-based research is the key point to perform TCM policy and medical system. Therefore, we need a systematic review assessing the effectiveness of acupuncture on stroke patients. We also need evidence to support the association between acupuncture treatment and reduced risk of recurrent stroke.

Aim:

The purpose of this study included:

(1) To report the current status of TCM use in stroke patients.
(2) To investigate the association between acupuncture treatment and risk of recurrent stroke.
(3) To complete the review of the effectiveness of acupuncture treatment on stroke patients.

Method:

Our study included three parts:

(1) Factors associated with TCM use in stroke patients:
We collected information from NHRID to investigate TCM use for new-onset stroke patients between 2000 and 2002. TCM use was defined as stroke patient who used TCM services within one year after stroke. The odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were estimated for factors associated with TCM use in multiple logistic regressions.
(2) We identified 5589 newly diagnosed stroke patients in 2000-2002 from the Taiwan National Health Insurance database. The incidence rates and hazards of stroke

recurrence in these patients by the end of 2007 were compared according to the acupuncture treatment status, namely none, low- and high-intensity users. The interactions between acupuncture, pharmacological treatment and rehabilitation were also measured.

(3) We used PubMed search engine to collected references regarding the effectiveness of acupuncture treatment for stroke patients. The searching keywords were limited in “stroke, acupuncture, randomized clinical trial” and “cerebrovascular, acupuncture, randomized clinical trial”. We collected references that published in 2004-2011.

Results:

(1) The first-year rate of TCM use for stroke patients was 32.3%. Female, younger age, recurrent stroke, history of diabetes, living in high-urbanized area and low income were factors associated with TCM use among new-onset stroke patients.

(2) In the seven-year follow-up period, stroke patient with acupuncture treatment had ilower risk of recurrent stroke compared with those without acupuncture treatment (HR=0.60, 95%CI=0.52-0.70). Our results showed the dose-response relationship between the intensity of acupuncture treatment and reduced risk of stroke.

(3) Our systematic review showed that acupuncture improves insomnia, spastic hypertonia, but does not improve cognition and quality of life in patients with acute and subcute stroke. During the chronic period, acupuncture improves dysphagia, balance, cognition for stroke patients. Although the beneficial effects of acupuncture on quality of life, spasticity remained controversial, the majority of previous studies still indicted the positive effects. Moxibustion is also effective to post-stroke urinary symptoms.

Conclusion:

The first-year TCM use after new-onset stroke is as high as 32.3%. Stroke patients used acupuncture had reduced risk of recurrent stroke. Overall, the systematic review suggested acupuncture treatment is beneficial for stroke patients.

Keywords: acupuncture, stroke, recurrent stroke, evidence-based medicine

壹、前言

2006 年 4 月起衛生署將中醫腦血管疾病之西醫住院病患中醫輔助醫療試辦計畫，納入全民健保給付範圍，併同其他 2 項專款項目計畫，全年預算合計為 85 百萬元，該計畫連續獲准辦理迄今。2009 年 9 月衛生署費用協定委員會，進一步協定通過自 2010 年起將中醫腦血管疾病後遺症門診照護計畫，納入全民健保給付範圍，全年預算為 90 百萬元，2010 年起腦血管疾病病患之中醫門診及西醫住院中醫會診之特別照護計畫全面納入全民健保給付範圍；前述二項計畫於協定通過時，均附帶決議應提送成效評估報告及經濟效益評估，以為未來總額協商及續辦與否之參考[1]。

世界衛生組織於 2002 年 5 月發表「2002－2005 世界衛生組織傳統醫學策略」「WHO TRADITIONAL MEDICINE STRATEGY 2002-2005」，WHO 建請各國將傳統醫學納入現有醫療政策體系中，並將透過提供技術指南來確保傳統醫學療法被適當、安全且有效地使用[2]。

中風是全球主要死因之一[3]，依衛生署統計資料顯示 2008 年腦血管疾病為台灣第三大死因，有 10,663 人死於中風，死亡率為每十萬人有 46.4 人[4]，占十大死因中的 7.5%。腦中風的復發率，五年內為 35.3%，十年內為 51.3%[5]。尤其當二次中風發生後，病人的後遺症以及肢體的殘障程度通常要比第一次還要嚴重許多，甚至可能導致死亡。

中風存活患者約 85%會有不同程度的肢體障礙，在美國及歐洲，腦中風皆是成人失能的最主要因素[6]，由於中風不只帶來患者上的活動障礙，同時也造成極大的經濟負擔。根據研究，荷蘭每年花在腦中風的照護的費用超過總健康照護預算的 3%[7]。2010 年台灣腦血管疾病全民健保門住院醫療費用支出金額為約新台幣 140 億元，佔所有全民健保門住院醫療費用支出的 2.76%[8]。中風所帶來的殘障或日常生活的不便，不僅嚴重影響病人和家人的生活品質，更耗費大量的時間與金錢，如昂貴的重症加護醫療、長期照護與復健，這龐大的醫藥支出帶給家屬和社會極大的壓力。此外，中風更是造成老年人失能與失智的主要原因之一[9,10]。預防腦中風的發生或復發，為當前重要的公共衛生議題。

中國醫學是門「經驗醫學」，一開始就是以人為治療對象，並累積豐富的典籍資料供後代醫家參考。中醫運用針灸已經超過 2500 年的歷史，並且廣泛應用於腦中風症的治療。然而現行中醫政策或是醫療體系推行，實證數據之有效與否變成第一道門檻，幾千年來中國醫學被我們認為有效並沿用至今的治療經驗，必須經由現代實證醫學的評估才能獲得認同。

實證醫學(Evidence-based medicine EBM)觀念首先於西元十九世紀中期，由英國流行病學者 Archie Cochrane 教授的著作「療效和效益：醫療保

健中的隨機對照驗」首次討論，醫療保健如何做到既有療效又有效益的問題，在健康服務上引起迴響及後來的提倡，促進了實證醫學觀念接受度。而 EBM 概念和命名的形成，是以 1992 年加拿大 McMaster 大學的 Gordon Gnyatt 博士在美國醫學雜誌（JAMA,1992）發表的文章為里程碑(“Evidence-based medicine. A new approach to teaching the practice of medicine. Evidence-Based Medicine Working Group”, 1992, 268 (17):2420-2425)，同年在英國牛津，Iain Chalmer 及其同事們正式創建了英國的 Cochrane 中心，1993 年實證醫學合作聯盟(Cochrane Collaboration)成立，實證醫學理念在世界各地如火如荼的傳開[11]。近十年來世界各國開始重視補充與另類醫學，許多的醫院開始對傳統醫藥進行隨機對照雙盲臨床試驗，有些著名各醫學期刊也陸續出現針對傳統醫學之療效及安全性的研究報告，並進行系統性文獻回顧及綜合性分析的文章。

隨著實證醫學在國內蓬勃發展，國內學術界、醫學界及中醫藥界也開始重視實證醫學[12]，林昭庚等人於 2008 年將 2004 年「中醫藥療效評估之文獻研究（針灸實證醫學）」之研究計畫編印成書出版，供針灸實證醫學推動之參考[13]。中國醫學傳承至今已經有幾千年的歷史，在西醫發展以前中醫基礎理論和針灸、中藥幾乎是我們對抗疾病延年益壽改善生活品質的唯一途徑。近百年來，隨著西方醫學的蓬勃發展與政府政策之相互影響，西醫成為醫學的主流，中醫藥被歸類在「傳統」醫藥或「輔助(替代)」醫藥的範疇。由於中風帶來身體殘障及生活的不便，因此有許多中風病患及家屬尋求替代性療法。中醫學在臨床上的運用在已行之有年，根據世界衛生組織在 2002 年所出版的針灸可治疾病臨床試驗報告分析及回顧(Acupuncture: Review and Analysis reports of Controlled Clinical trials) 使用針灸療法可以確實有效的改善中風的後遺症。2006 年起全民健保將中風急性期之西醫住院中醫會診照護及中風後遺症門診之特別照護納入給付範圍，針灸對中風治療的療效評估，已成為中醫未來發展的重大議題；加上 2004 年後國內即未再對針灸療效評估之文獻進行研究，所以針對針灸對腦中風療效評估之實證文獻進行系統性回顧及綜合性分析，亦成為當前最迫切的需求。

腦中風在醫學上稱為腦血管意外(Cerebral Vascular Accident, CVA)是指由於腦供血障礙引起腦組織缺血、缺氧而發生壞死、軟化、梗塞的腦血管疾病[14]。腦中風的型態有很多種，大致可概分為缺血性中風(ischemic stroke)及出血性中風(hemorrhagic stroke)兩類。出血性中風約占 30%，為腦血管破裂所引起，包括腦內出血與蜘蛛網膜下腔出血；缺血性中風約占 70%，為腦部動脈阻塞導致腦細胞壞死。

導致腦中風的危險因素，又可分為主要危險因素和次要危險因素。主要因素有：年齡高於 65 歲以上、高血壓、心臟病、糖尿病、暫時性腦缺血

發作(Transient Ischemia Attack TIA)、中風病史。次要危險因子有:高血脂、肥胖、紅血球過多症、吸煙、喝酒、家族遺傳、口服避孕藥等[15]。在性別方面:男性年齡別標準化中風的發生率為女性的 1.18~1.37 倍,因此在男性中風預防上,需更為加強[16]。絕大部份中風的成因,是多致病因子導致包括基因與環境的交互作用,其中高血壓被認定是中風的高危險因子[17],幾乎有 75.5%的中風病患都有高血壓病史[18]。因為高血壓會促使小動脈造成小血管病變而導致於白質和及底核的空洞性腦梗塞(lacunar),也會在腦動脈分叉形成動脈粥狀斑塊,甚至引起腦出血[19]。

中風病名最早見於內經。且是依據中風各不同症狀分別記載,對於卒中、昏迷,內經有仆擊、薄厥、煎厥、暴厥的描述;而半身不遂則多冠以偏枯、身偏等名稱[20]。針灸治療對疼痛有顯著改善之療效是早以被公認,現認為其主要由(1)刺激大感覺神經抑制疼痛感及(2)針刺本身可產生某種不適之刺激進而使體內產生有類似鴉片之麻醉成份達到止痛作用[21]。把針灸治療應用於腦中風病患是中醫傳統療法之一,因其對腦中風病人可產生止痛、調整內分泌、促進肌肉關節活動力、鎮靜、安神等作用,若針後配合復健、藥物治療,則因針後肌肉、關節活動力加強,預期可得到更好之療效[22,23],台灣西醫學者以傳統之針灸療法配合西醫之復健治療進行療效評估結果發現:針灸對初發者之走動及社會認同依賴度及復發者之大小便控制及溝通依賴度之進步量亦明顯有所助益。運動功能進步方面,針灸對初發缺血性腦中風病患之上肢近端運動功能、腕部及手部運動功能、上肢協調與速度等上肢之運動功能恢復較有明顯之進步[24]。

在中國古代,針灸即廣泛應用於腦中風病症的治療,近年來研究統計發現針灸對於中風後麻痺有顯著的效果[25],針灸可作為中風治療之取代與輔助療法[26],可應用於中風後之復健療法[27,28],相關研究也指出無論是急性期或慢性期中風,針灸確可改善運動功能(如膝關節伸直、屈曲及肩膀內收等)[22],進一步發現中風後早期(最初 3 星期)給予針灸治療比中風 3 星期後再與針灸治療可產生較顯著之改善效果[29]。針灸逐漸併入主流的生物醫學治療[30]。相關研究資料也顯示針灸的用途廣泛,它改善中國中風病人的神經學作用,如活動、感覺和說話[30]。其神經學症狀也比針灸治療前顯著改善[26]。同時針灸對復發缺血性腦中風病患日常生活功能之獨立性復健效果佳,當中以自我照顧,括約肌控制及移位獨立性的改善最為明顯[31]。此外減少腦中風患者的平衡力板位移的面積、增強膝伸肌的肌力,改善腦中風患者的平衡功能[32]。

近年來的研究發現,針灸不只對梗塞型中風有效,對出血型中風也有療效[33]。大陸學者研究發現,針灸可降低中風症患者罹患二次中風的機會,其抗復發效果優於單純只做藥物治療患者($P<0.05$)[34]。研究顯示針灸

可以使腦血流量增加，改善腦的血液供應，提高腦部供血，減輕腦組織的損壞[34-38]；同時能降血脂，改善腦微循環，及時建立病灶處的側枝循環[34]。針灸對於改善患者中風後所造成的行動障礙[39,40]及語言障礙、二便失禁等後遺症有顯著的效果[41,42]，可以廣泛的運用於中風後的復健療法[24]。由上述研究資料得知，針灸對於中風確實有明顯的療效，藉由針灸與西藥或針灸與復健等中西醫結合，可增加中風病人功能性的恢復，包含對於日常生活活動能力和生活品質的提升。

自 1995 年全民健保開辦以來，中醫納入給付範圍實施至今已超過 16 年，全民健保下針灸或中藥對腦中風醫療利用情形及療效鮮少有研究進行分析及評估。

全民健康保險政策把傳統醫藥納入給付範圍的第一個最根本的問題就是：究竟中醫藥有無療效？因此，進行中醫藥療效評估是回答這個問題的唯一途徑[43]。賴等人指出，關於中醫藥的療效評估，目前至少有三類研究應該優先進行：

1. 繼續各種中醫治療與中藥的療效評估，這是一個必須長遠持續進行的計畫；
2. 過去各類中醫藥療效評估的報告分別發表在不同國家的不同刊物中，因此需要將這些報告作成一份綜合評估的大型文獻回顧研究，使中醫界得以修正外界批評；
3. 對於中醫保險給付政策而言，除臨床上控制完善的效能（efficacy）評估與實際應用過程的效果（effectiveness）評估以外，還需要各類治療方法的效率評估來決定保險給付內容[41]。

二代健保規劃中有關全民健保醫療資源配置與合理使用的相關結論提到：「在各國給付改革內容方面多以疾病或治療之必要性與治療之成本效益，為資源配置優先順序之考量依據，而非以門、住診之大類切割。此外牙醫或中醫之某些服務相對於西醫某些診療服務或藥品更具成本效益（如某些昂貴檢查、對功能無法改善之長期物理治療）；藥物治療亦為治療之重要一環，因此在考量給付範圍改革應逐一評估各種疾病之需要、治療可行性及治療對健康改善之成效，而非直接決定有門診、中、牙醫服務、或門診藥品之給付」。

中醫腦血管疾病之西醫住院病患中醫輔助醫療承辦計畫加上中醫腦血管疾病後遺症門診照護計畫每年預算合併超過 120 百萬元，腦血管疾病相關計畫占全民健保中醫門診總額試辦計畫專款項目預算將近 50%，因此有效整合發表在國際上各類期刊中有關針灸對腦中風療效評估實證文獻進行系統性回顧整理及綜合性評讀研究及就針灸對腦中風療效評估實證研究進行實證研究，為當前全民健保中醫政策推動中最重要的工作。

本計畫研究結果，預期將可提供政府相關主管單位及中醫團體做為辦理中醫腦血管疾病之西醫住院病患中醫輔助醫療試辦計畫或中醫腦血管疾病後遺症門診照護計畫、中醫師及中醫醫療機構提昇腦中風病患照護品質，及制定相關議題中醫政策之參考。

貳、材料與方法

一、中風病人中醫醫療利用及其相關因子之分析

(一) 資料來源：

本研究採用 1996-2007 年國家衛生研究院提供之「全民健康保險研究資料庫 2005 年承保抽樣歸人檔」資料庫分析，探討台灣中風病人之中醫醫療利用及其相關因子，並進行針灸對腦中風療效評估及其影響因子之研究。此資料庫以醫療院所向健保局申報健保費用之資料為基礎，從 2005 年承保資料檔中「2005 年在保者」隨機取 100 萬人做為樣本，約佔全民健康保險納保者 4.4%，擷取其 1996 年至今之就醫資料建置而成，並與抽樣母群體比較性別及年齡分布，無統計上顯著差異。此資料庫所提供資料之機構、單位及個人身份識別碼均經過加密處理。所串接的就醫資料包括門診、住院及承保資料等 5 種資料檔，分列於下：

1. 門診處方及治療明細檔（CD）。
2. 門診處方醫令明細檔（OO）。
3. 住院醫療費用清單明細檔（DD）。
4. 住院醫療費用醫令清單明細檔（DO）。
5. 承保資料檔（ID）。

本研究根據國際疾病分類法第九版(ICD-9-CM)為腦中風病例的篩選依據，腦中風的 ICD-9 號碼為 430（蜘蛛網膜下腔出血）、431（腦內出血）、432（其他及未明示的顱內出血）、433（腦前動脈阻塞及狹窄）、434（腦動脈阻塞）、435（暫時性腦部缺氧）、436（診斷欠明之急性腦血管疾病）、437（其他及診斷欠明之急性腦血管疾病）、438（腦血管疾病後期影響）。腦中風的病例篩選主要藉由門診檔及住院檔的主診斷符合腦血管疾病 ICD-9 號碼，即為腦中風之病例。

將 2000 至 2002 年門診檔及住院檔的病例合併，排除 1996 年至前一年有腦中風就醫紀錄之病例，得到當年首次中風之新增病例。這些新增病例有可能包括 1995 年或是更早的中風病人在 2000 年至 2002 年二度中風，受限於資料結構，無法區隔。

(二) 研究變項：

1. 年齡：類別變項，分為 20-44、45-54、55-64 及 65 歲以上，共 4 個年齡層。
2. 性別：類別變項，分為男性、女性。
3. 再次中風：類別變項，定義為距離第一次中風 30 天以上，且再

度因主診斷碼為國際疾病分類（The International Classification of Diseases，9th Revision，Clinical Modification，ICD-9-CM）430-438，使用住院或急診醫療服務者。

4. 職業別：根據承保檔中單位保險類別(UNIT_INS_TYPE)分成White collar（白領）、Blue collar（藍領）和 Others（其他），White collar（白領）主要包括公務員、教職員、公民營事業機構受雇者等，Blue collar（藍領）主要包括自營作業者、技術人員、職業工會會員、農漁民等，Others（其他）包括軍人、低收入戶、榮民等。
5. 地區別：根據承保檔中單為區域代碼(AREA_NO_I)分成高密度，中密度及低密度三種都市化型態。
6. 針灸治療：類別變項，從門診醫令檔中中醫就醫(CASE_TYPE=21、22、23、24、25、26、27、28、29)的醫令代碼(DRUG_NO)為 B41、B42、B43、B44、B45、B46 定義為有使用針灸，針灸計算期間為初次中風日期到最後一筆就醫日期之間，有二次中風病人最後一筆就醫日期定義二次中風日期，無二次中風病人最後一筆就醫日期定義為 2007 年 12 月 31 日。針灸根據使用的分佈分成無使用、低度使用（1~2 次）、高度使用（3 次以上）。
7. 復健治療：類別變項，篩選初次中風到最後一筆就醫日期之間主+次處置代碼(OP_CODE)為 D3、D0、93 者為復健，有診斷一次以上及定義為有復健。
8. 高血壓病史：類別變項，篩選初次中風到最後一筆就醫日期之間主、次診斷有 3 次以上 401、402、403、404、405、A260、A269 者為 Hypertension（高血壓），反之則無。
9. 糖尿病病史：類別變項，篩選初次中風到最後一筆就醫日期之間主、次診斷有 3 次以上 250 或 A181 者為 Diabetes Mellitus（糖尿病），反之則無。
10. 高血脂病史：類別變項，篩選初次中風到最後一筆就醫日期之間主、次診斷有 2 次以上 272、A189 者為 Hyperlipldemia（高血脂），反之則無。
11. 服用藥物史：類別變項，篩選初次中風到最後一筆就醫日期之間有使用抗血小板藥(Antiplatelet agents)、抗凝血藥(Anticoagulant)及降血脂劑(Lipid-lowering agents)，上述 3 種用藥定義有 3 次以上用藥紀錄及定義為有使用。
12. 中風治療方式組合：根據有無針灸、有無復健及有無使用西

藥，產生一個新的自變項有 8 個值，分別代表皆無使用、只用針灸、只用復健、只用西藥、只用針灸和復健、只用針灸和西藥、只用復健和西藥、3 種皆有使用。

根據有無針灸及有無使用西藥，產生一個新的自變項有 4 個值，分別代表皆無使用、只用針灸、只用西藥、2 種皆有使用。

13. 平均住院天數：連續變項，為所有中風病人初次中風之中風住院天數平均值。
14. 住院費用：連續變項，為所有中風病人初次中風之中風住院費用平均值。
15. 醫療費用：連續變項，為所有中風病人中風後至 2009 年底或死亡前所花費的醫療費用平均值，包括總醫療費用、西醫醫療費用、住院與急診醫療費用等。
16. ICU：類別變項，指初次中風住院是否使用 ICU 病房。
17. 手術：類別變項，住院是否有做神經外科手術。
18. 人年：類別變項，區分為中風病人初次中風後的就醫資料，共分為一年內、兩年內、三年內...七年內、直到不限年度，用以分析中風後間隔時間長短與使用針灸治療次數對發生二次中風的保護作用。

(三) 資料分析：

本研究先利用健保資料庫 2005 年百萬歸人檔分析，研究對象為 2000 至 2002 年年齡 20 歲以上第一次因中風急診或住院之病人，其主診斷碼為 ICD-9-CM 430-438。

1. 描述性統計：

我們將分別計算 2000 年至 2007 年中風病人每年中醫門診醫療利用率、平均中醫就醫次數及中醫醫療費用，並與西醫就醫次數及費用比較。

2. 分析性統計：病例對照分析

我們將先使用卡方檢定(Chi-square test)比較中風病人曾接受針灸治療者與未曾接受針灸治療者這兩組病人在再次中風、人口地理社會學因子、復健治療史、中風前慢性病史、中風後服用藥物史及中風類型等因子之分布在統計上是否有顯著差異($p<0.05$)。利用羅吉斯、負二項及複迴歸分析中風病人中醫醫療利用情形及其相關因子。

二、針灸對腦中風療效評估之實證研究

利用上述分析中風病人中醫醫療利用及其相關因子檔案分析針灸對腦中風之療效，分析方式可分為以下兩種：

(一)描述性統計：

我們將分別計算 2000 年至 2007 年中風病人每年中醫門診醫療利用率、平均中醫就醫次數及中醫醫療費用，並與西醫就醫次數及費用比較。

(二)分析性統計：病例對照分析

我們將先使用卡方檢定(Chi-square test)比較中風病人發生二次中風與沒有發生二次中風這兩組人在人口地理社會學因子、中風型態、復健治療史、中風前慢性病史、中風後服用藥物史及使用針灸次數多寡等因子之分布在統計上是否有顯著差異($p < 0.05$)。利用多因素 Cox Proportional Hazard Model 分析比較中風病人的性別、年齡、使用針灸治療次數的多寡、有無使用復健及藥物治療等對二次中風風險的影響。

三、針灸對腦中風療效之實證醫學文獻評讀

(一) 資料來源：

本研究文獻搜尋來自美國國家醫學圖書館提供的 PubMed 資料庫，其資料庫內容包括 MEDLINE、PREMEDLINE 及 Genbank，以搜尋臨床實證醫學文獻。

(二) 研究方法：

搜尋方法為使用 PubMed 資料庫的限定搜尋(Limits)，設定文獻發表期限(Dates / Published in the last / Specify date range)為 2004 年至 2011 年，文獻類型(Type of Article)勾選為臨床試驗(Clinical Trial)，物種(Species)勾選為人類(Humans)，完成此設定後，分別於 PubMed 搜尋欄中鍵入「Stroke」、「Acupuncture」與「Randomized Controlled Trial（RCT）」及「Cerebrovascular」、「Acupuncture」與「Randomized Controlled Trial（RCT）」兩組關鍵詞進行搜尋。

評讀方式是依本研究計畫主持人於 95 年接受行政院衛生署中醫藥委員會委託研究計畫「重要內科疾病中草藥療效實證醫學之研究」成果之證據醫學參考文獻評讀表修訂為針灸治療腦中風實證醫學文獻評讀表(如表 1)，以 EMB 之臨床實踐上主要五個步驟:(1)問一個可以回的問題(formulating answerable clinical questions)(2)尋找最佳的文獻證據(searing for the best evidence)(3)對文獻進行嚴格評讀(critical appraisal)(4)應用在個案患者身上(applying evidence to patients)(5)對以上四點進行稽核(audit)。整理針灸治療腦中風於國際發表的期刊文獻，對針灸的療效進行整理，並運用評讀表建立指標，對個別文獻發表雜誌之影響因子(impact factor, IF)、問題支持度(supposition of question, SOQ):此為評讀者對該文章所屬臨

床問題經評讀後之評估量化指標。如果為”0”則表示該文獻與所屬臨床問題完全無關，其支持度分正面與負面各三等級，依所認定之等級填入；證據等級積分(score of evidence, SOE)：根據不同的證據等級給予(5-1)不同的積分，RCTs 給予 5 分，臨床經驗或病歷報告則給予 1 分，其中 IF*SOQ*SOE 則稱為證據強度，進行量化綜合比較，藉此將針灸相關的文獻比較、收集整理與傳播，並提供衛生單位制定健康保險政策之參考。

參、結果

一、中風病人中醫醫療利用及其相關因子之分析

本研究採用全民健康保險資料庫 2005 年百萬歸人檔分析，擷取住院與急診資料在 2000 年至 2002 年第一次中風的病人，扣除性別及年齡不詳者後，最後以 20 歲以上初次中風病人為本研究之研究對象，共 5,589 人。

2000-2002 年初次中風病人中風後 1 年內中醫使用狀況（表 A-1），相較於沒有使用中醫的中風病人，有使用中醫的中風病人男性比例較高、年齡也較大。多居住在高都市化地區、較多使用復健治療、有較多的高血脂病史，但低收入比例較少。

在中風病人中有二次中風的人、女性、有使用復健治療者、或低收入者中醫醫療使用次數較多，花費也較高。

在多變項羅吉斯迴歸分析中，二次中風、女性、年紀較輕、居住在高都市化地區、使用復健治療、無糖尿病史及低收入等因子與中醫醫療利用有關。男性與女性的中醫醫療利用相關因子相似（表 A-4）。表 A-5 顯示各年齡層的中醫醫療利用相關因子。表 A-6 顯示不同中風型態的中風病人中醫醫療利用相關因子之多變項羅吉斯迴歸分析。

在負二項迴歸分析中，中風病人使用中醫醫療次數方面，有發生二次中風、性別、有無使用復健、過去有無糖尿病病史、是否為低收入戶及住院天數等因素皆會影響中風病人中風後一年內之中醫醫療次數（表 A-7）；表 A-8 表示年齡別的負二項迴歸的中醫醫療次數相關因子，男性與女性的相關因子有些許差異。表 A-9 為各年齡層中醫醫療次數的相關因子。在中風型態的分層分析中，中醫醫療次數相關因子有些許差異（表 A-10）。

在中醫醫療費用部分，有發生二次中風者、有使用復健、過去有糖尿病病史及低收入戶的中醫費用較高（表 A-11）。性別及年齡分層的中醫醫療費用相關因子分析，分別顯示於表 A-12 及表 A-13。中風型態分層顯示影響出血性中風者中醫醫療費用的因素有年齡為 20-44 歲、職業別、過去有糖尿病、高血壓病史及住院天數，而影響缺血性中風者的中醫醫療費用之因素包含二次中風、有無使用復健及住院天數，影響其他類型中風者的中醫醫療費用之因素為低收入（表 A-14）。

二、針灸對腦中風療效評估之實證研究

依據本研究分析結果顯示，2000 年至 2002 年第一次中風的病人發生再次中風者有 1,906 人（表 B-1）。相較於沒有二次中風者，有二次中風的人男性比例較高、年齡較大、缺血性中風比例較多、服用藥物（抗血小板劑、抗凝血劑及降血脂劑）的比例較低、住院天數較長。二次中風者較無二次中風者不使用針灸或復健治療。

多變項迴歸分析中，相較於沒有使用針灸治療者，有使用針灸治療的

中風患者的二次中風危險較低。男性、年齡大於 65 歲、缺血性中風以及糖尿病史等為二次中風的危險因子。有使用復健治療、抗血小板劑、抗凝血劑及降血脂藥物的中風病患，二次中風危險較低。(表 B-2)。

經調整後，針灸降低二次中風的效果，女性比男性佳（表 B-3)。在年齡的分層分析中，年齡愈低者，針灸治療降低二次中風效果愈好(表 B-4)。

對於不同的中風型態病人，針灸治療減少二次中風的效果也不同（表 B-5)。表 B-6 為針灸治療、復健治療及藥物治療三者的交叉分析，相較於三種治療都沒使用者，單獨使用針灸治療效果最好。

初中風後 1 年內二次中風，高度使用針灸有保護效用（HR=0.67)，但低度效用不顯著（表 B-12)；2 年內二次中風低度和高度使用針灸皆有效用且 HR 下降，大約 3 年之後的逐年二次中風針灸效用差距不大，但無論篩選二次中風年限為何，針灸皆具有顯著的保護效用。

針灸、西藥和復健對於二次中風皆具保護作用，使用兩種以上效用更好(表 B-13、B-14)，使用針灸相對於不使用針灸，可降低醫療耗用（表 B-15、B-16、B-17、B-18)。

圖 1 和圖 2 皆呈現針灸使用次數愈多，對於降低二次中風的風險愈好 (log -rank，$p<0.0001$)。

三、針灸治療腦中風實證醫學文獻評讀

以 PubMed 資料庫搜尋針灸治療腦中風的相關文獻共有 124 篇，其中分別為英文文獻有 46 篇（表 1)、中文 77 篇與韓文 1 篇。但大多數發表的期刊並非 SCI 期刊，為求杜絕不夠嚴緊之批評並依循計畫書，我們捨棄非 SCI 及主題偏離的文章後，剩餘 18 篇，包括：針刺療效文獻 17 篇與灸法療效文獻 1 篇，以進行評讀（附件一，18 篇評讀表格)，其中依中風受試者性質又分成急性及亞急性中風（10 篇）與慢性中風（8 篇)，各試驗摘要如表 2，結論如下：

(一) 急性及亞急性中風：

1. 失眠：

中國的研究團隊 S.Y. Lee et al.與韓國的研究團隊 Y.S. Kim et al.對中風後合併失眠做出的針刺療效評估，結果與對照組相比有明顯的療效差異，前者更進一步提出機轉的探討。

2. 認知，情緒和生活品質：

對中風後認知，情緒和生活品質的針刺療效評估瑞典的研究團隊 I. Rorsman et al.、英國的研究團隊 V. Hopwood et al.與 J. Park et al.，及德國研究團隊 M.S. Schuler et al.做出的結果與對照組則無明顯的療效差異。

3. 肌力、痙攣與運動功能：

對中風後肌力、痙攣與運動功能的針刺療效評估，香港的研究團隊 T. Yan et al.、台灣的研究團隊 R.L. Hsieh et al.與美國的研究團隊 D.N. Alexander et al.做出的結果與對照組則有明顯的改善。

4. 泌尿系統病狀：

對中風後泌尿系統病狀恢復的灸療效果評估，韓國的研究團隊 S.P. Yun et al.做出的結果與對照組則有明顯的改善。

(二) 慢性中風：

1. 認知，情緒和生活品質：

對中風後認知和生活品質改善的針刺療效評估，台灣的研究團隊 P.C. Chou et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。同樣對中風後生活品質改善的針刺療效評估，英國的研究團隊 P.M. Wayne et al.做出的結果與對照組則無明顯的差異。

2. 吞嚥功能：

對中風後吞嚥功能改善的針刺療效評估，日本的研究團隊 T.S. et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。

3. 肌肉力量與平衡改善：

對中風後肌肉的力量與平衡改善的針刺療效評估，台灣的研究團隊 S.Y. Liu et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。

4. 痙攣症狀：

對中風後痙攣改善的針刺療效評估，中國的研究團隊 J.G. Zhao et al.、美國的研究團隊 W. Liu et al.與 J.D. Schaechter et al.，及英國的研究團隊 P.M. Wayne et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異，但德國的研究團隊 M.F. et al.做出的結果與對照組則無明顯的差異。

因此依據文獻回顧顯示，針刺治療對中風後急性期和亞急性期的失眠、肌肉的痙攣及強度有產生明顯的改善；對認知與情緒、生活品質 ADL 則影響不顯著。對慢性期吞嚥、平衡、認知可產生明顯的改善；對生活品質、肌肉的痙攣，根據不同的機構所做的報告成效不一，但多數的報告是有效的。而灸法治療對泌尿系統恢復程度有明顯的改善。

表 1、PubMed 資料庫中相關針灸治療腦中風的英文文獻 46 篇

編號	文獻題目	狀態
1	Effects of electroacupuncture treatment on impaired cognition and quality of life in Taiwanese stroke patients. J Altern Complement Med	已評讀
2	Intradermal acupuncture on shen-men and nei-kuan acupoints improves insomnia in stroke patients by reducing the sympathetic nervous activity: a randomized clinical trial. Am J Chin Med	已評讀
3	Effects of scalp acupuncture versus upper and lower limb acupuncture on signal activation of blood oxygen level dependent (BOLD) fMRI of the brain and somatosensory cortex. J Altern Complement Med	非探討中風病人
4	Acupuncture stimulation improves balance function in stroke patients: a single-blinded controlled, randomized study. Am J Chin Med	已評讀
5	Effects of Meridian acupressure for stroke patients in Korea. J Clin Nurs	穴位按壓非針灸
6	Transcutaneous electrical stimulation on acupuncture points improves muscle function in subjects after acute stroke: a randomized controlled trial. J Rehabil Med	已評讀
7	Effect of acupuncture treatment on spastic states of stroke patients. J Neurol Sci	已評讀
8	Electroacupuncture may help motor recovery in chronic stroke survivors: a pilot study. J Rehabil Res Dev	已評讀
9	Evaluating the efficacy of acupuncture in defined aspects of stroke recovery: a randomised, placebo controlled single blind study. J Neurol	已評讀
10	Effects of moxibustion on the recovery of post-stroke urinary symptoms. Am J Chin Med	已評讀
11	Correlated change in upper limb function and motor cortex activation after verum and sham acupuncture in patients with chronic stroke. J Altern Complement Med	已評讀

編號	文獻題目	狀態
12	Additional therapeutic effects of electroacupuncture in conjunction with onventional rehabilitation for patients with first-ever ischaemic stroke. J Rehabil Med	已評讀
13	Can electroacupuncture or transcutaneous nerve stimulation influence cognitive and emotional outcome after stroke? J Rehabil Med	已評讀
14	Acupuncture for upper-extremity rehabilitation in chronic stroke: a randomized sham-controlled study. Arch Phys Med Rehabil	已評讀
15	Acupuncture for subacute stroke rehabilitation: a Sham-controlled, subject- and assessor-blind, randomized trial. Arch Intern Med	已評讀
16	Acupuncture for dysphagia in poststroke patients: a videofluoroscopic study. J Am Geriatr Soc	已評讀
17	Acupuncture treatment of geriatric patients with ischemic stroke: a randomized, double-controlled, single-blind study. J Am Geriatr Soc	已評讀
18	Intradermal acupuncture on shen-men and nei-kuan acupoints in patients with insomnia after stroke. Am J Chin Med	已評讀
19	Effects of acupuncture treatment on poststroke motor recovery and physical function: a pilot study. Neurorehabil Neural Repair	已評讀
20	Needle acupuncture in chronic poststroke leg spasticity. Arch Phys Med Rehabil	已評讀
21	A pilot study in acute subarachnoid haemorrhagic patients after aneurysm clipping with complementary therapies of Chinese medicine. Complement Ther Med	非探討針灸
22	Comparative study of the specificities of needling acupoints DU20, DU26 and HT7 in intervening vascular dementia in different areas in the brain on the basis of scale assessment and cerebral functional imaging. Chin J Integr Med	非探討中風療效
23	Acupuncture using laser needles modulates brain function: first evidence from functional transcranial Doppler sonography and functional magnetic resonance imaging. Lasers Med Sci	非探討中風病人

編號	文獻題目	狀態
24	Clinical observation on post-stroke anxiety neurosis treated by acupuncture. J Tradit Chin Med	非 SCI
25	Effects of electroacupuncture at the nerve trunk for treatment of apoplectic hemiplegia at the spastic stage. J Tradit Chin Med	非 SCI
26	Stage-oriented comprehensive acupuncture treatment plus rehabilitation training for apoplectic hemiplegia. J Tradit Chin Med	非 SCI
27	Forty-six cases of acute cerebral infarction treated with the combined use of acupuncture and drugs. J Tradit Chin Med	非 SCI
28	The effect of acupuncture on plasma endothelin content in cerebral infarction patients--a clinical study. J Tradit Chin Med	非 SCI
29	Clinical observation on treatment of ischemic apoplexy by electroacupuncture plus acupoint-injection. J Tradit Chin Med	非 SCI
30	Clinical observation on therapeutic effects of the point-penetrating method in acupuncture treatment of spastic hemiparalysis due to cerebrovascular disorders. J Tradit Chin Med	非 SCI
31	Acupuncture increases cerebral glucose metabolism in human vascular dementia. Int J Neurosci	非 SCI
32	Treatment of ischemic apoplexy based on the theory of "lingering illness affecting collaterals. J Tradit Chin Med	非 SCI
33	Acupuncture and cupping for treatment of hiccup in cases of cerebrovascular accident. J Tradit Chin Med	非 SCI
34	Effects of CT-localized scalp round-needling on the blood rheology, NO and NOS of patients with multiple infarctional dementia. J Tradit Chin Med	非 SCI
35	Effect of "phased whole acupuncture therapy" on ability of daily life in 63 cases of cerebral infarction-induced hemiplegia. J Tradit Chin Med	非 SCI
36	An observation on the acupuncture treatment of ischemic wind-stroke with different lengths of needle-retaining time. J Tradit Chin Med	非 SCI

編號	文獻題目	狀態
37	Needling Neiguan (P 6) for treatment of low pulse pressure syndrome--a report of 31 cases. J Tradit Chin Med	非 SCI
38	Effects of the lifting manipulation of scalp acupuncture for raising myodynamia of the affected limbs in hemiplegic patients due to cerebral thrombosis. J Tradit Chin Med	非 SCI
39	The brain-resuscitation acupuncture method for treatment of post wind-stroke mental depression--a report of 45 cases. J Tradit Chin Med	非 SCI
40	Effect of blood-letting puncture at twelve well-points of hand on consciousness and heart rate in patients with apoplexy. J Tradit Chin Med	非 SCI
41	Effects of acupuncture on hemorheology, blood lipid content and nail fold microcirculation in multiple infarct dementia patients. J Tradit Chin Med	非 SCI
42	Treatment of pseudobulbar paralysis by scalp acupuncture and sublingual needling. J Tradit Chin Med	非 SCI
43	Effects of acupuncture at 7-9 am and 3-5 pm on plasma thromboxane and prostaglandin in patients with ischemic cerebrovascular disease. J Tradit Chin Med	非 SCI
44	Complementary acupuncture in Parkinson's disease: a spect study. Int J Neurosci	非 SCI
45	The midnight-noon ebb-flow point selection for 30 cases of acute ischemic cerebrovascular diseases. J Tradit Chin Med	非 SCI
46	The TCM-combined treatment for aphasia due to cerebrovascular disorders. J Tradit Chin Med	非 SCI

一、急性與亞急性中風：

(一)失眠：

中國的研究團隊 S.Y. Lee et al.與韓國的研究團隊 Y.S. Kim et al.對中風後合併失眠做出的針刺療效評估，結果與對照組相比有明顯的療效差異，前者更進一步提出機轉的探討。

表 2、腦中風針灸實證治療簡表

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
2	Am J Chin Med / Seung Yeop Lee et al./2009	失眠	中風病人	於神門及內關穴進行皮內針灸以降低交感神經的活性，改善中風病人的失眠問題：隨機臨床試驗	1. 皮內針灸神門(HT7)與內關(PC6)。 2. 連續 3 天。	於神門和內關穴進行皮內針灸，可降低交感神經的過度活化，對中風後引發失眠是有效的治療方式	11
18	Am J Chin Med/ Young Suk Kim et al./ 2004	失眠	中風住院病人	針灸神門和內關穴治療中風後患者的失眠	1. 針刺內關(PC6)與神門(HT7)。 2. 以膠布固定針灸針於雙手目標穴位上，持續 2 天。	針灸治療組(RA group)在失眠方面，顯現出更大的改善。以重複測量資料分析法發現有顯著影響於 MQ、ISI 和 AIS 評估項目 。	11

(二)認知，情緒和生活品質：

瑞典的研究團隊 I. Rorsman et al.、英國的研究團隊 V. Hopwood et al.與 J. Park et al.，及德國研究團隊 M.S. Schuler et al.做出的結果與對照組則無明顯的療效差異。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
9	J Neurol/ V. Hopwood et al./ 2008	肌力與情緒	中風病人	評估針灸對於中風復原的明確效用：單盲隨機安慰劑對照研究	1. 電針刺激合谷(LI4)、手三里(LI10)、肩髃(LI15)、外關(TE5)、風池(GB20)、風市(GB31)、陽陵泉(GB34)，陽輔(GB38)、俠谿(GB43;可用足三里 ST36 取代)。 2. 連續 4 星期，每週 3 次，每次 30 分鐘療程。	除肌力指數外，在情緒、諾丁漢姆健康量表和治療信度下，針灸並未顯示特定的療效和其它一般預期結果	-23
13	J Rehabil Med/ Ia Rorsman et al./ 2006	認知功能與情緒	中風病人	電針或經皮下電刺激是否能影響中風後認知或情緒以達到療效？	1. 針刺曲池(LI11)、合谷(LI4)、足三里(ST36)、豐隆(ST40)、陽陵泉(GB34)、百會(GV20)。 2. 連續 10 週，每週兩次，每次療程 30 分鐘直到得氣。	治療後第 3 個月和第 12 個月的認知與情緒功能並無明顯改善	-15

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
15	Arch Intern Med Sep/ Jongbae Park et al./ 2005	生活品質	中風 4 週內的急性中風患者	針灸對亞急性中風後的康復：假針灸、盲性作業、隨機試驗	1. 針刺豐隆(ST40)、中脘(CV12)、百會(GV20) 與 水 溝(GV26)，並依患者病徵另外搭配 6 個穴位。 2. 2 星期內接受 9~12 次的介入治療，每次療程 20 分鐘。	針灸治療組和假針灸組於整體巴氏日常活動評分與生活品質上並無顯著差異，但若單看腿部功能，針灸組之巴氏評分顯著高於假針灸組。	-79
17	J Am Geriatr Soc/ M.S. Schuler et al./ 2005 Mar	生活品質	中風 3~35 天內的缺血性中風患者	針灸治療缺血性中風的老年人患者；隨機、雙對照、單盲試驗	1. 電針刺激穴位，但論文未註明穴位。 2. 連續 4 週，每週 2 次，每次 30 分鐘。	於歐洲中風評估表、巴氏量表評估結果，試驗組間均無顯著差異。	-29

(三)肌力、痙攣與運動功能

香港的研究團隊 T. Yan et al.、台灣的研究團隊 R. L. Hsieh et al.與美國的研究團隊 D.N. Alexander et al.做出的結果與對照組則有明顯的改善。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
6	J Rehabil Med/ Tiebin Yan et al./ 2009	肌肉功能	急性中風病人	急性中風患者使用經皮電刺激器刺激穴位以改善肌肉功能	1. 皮下電刺激患側下肢足三里(ST36)、太衝(LR3)、陽陵泉(GB34)、崑崙(BL60)。 2. 連續 3 週，每週 5 次，每次 60 分鐘療程。	經皮下電刺激穴位可有意義的增進病人的腳踝、足背彎肌之肌肉強度及減少肌肉共同收縮比例、降低足踝蹠屈痙攣。	15
12	J Rehabil/ Ru-Lan Hsieh et al./ 2007	運動功能	第一次缺血性中風的病人	結合電針與傳統復健的附加療法對於初次缺血性中風患者之療效	1. 電針刺激百會(GV20)、風池(GB20)、陽谿(LI15)、商陽(LI11)、合谷(LI4)、風市(GB31)、陽陵泉(GB34)、足三里(ST36)。 2. 連續一個月，每週 2 次，每次 20 分鐘及標準復健治療(物理、職能、語言等)。	電針組分別於治療後第 2 週、第四週與中風後第 3 個月的評估結果發現均明顯改善偏癱之症狀，尤其上肢運動功能得到顯著改善。	15

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
19	Neurorehabil Neural Repair/ D.N. Alexander et al./ 2004	運動功能	中風後 60 天內的住院病患	針灸治療對於中風後運動功能恢復及身體機能之影響：初探性研究	1. 依患者病徵於偏癱處施予針灸。 2. 連續 2 週，每週 7 次，每次 30 分鐘。	於針灸組，傅格－梅爾評估量表中的下肢活動機能項目與功能獨立自主量表中的沐浴移動流順度有顯著改善。	22

(四)泌尿系統病狀恢復

灸法療效評估，韓國的研究團隊 S.P. Yun et al.做出的結果與對照組則有明顯的改善。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
10	Am J Chin Med/ S.P. Yun et al./ 2004	泌尿系統病狀	泌尿系統病狀的中風住院患者	「灸」療對於中風後泌尿系統病狀恢復的療效	1. 灸療中極(CV3)、關元(CV4)、氣海(CV6)。 2. 連續 10 天，每天 5 次。	灸療組的國際前列腺徵狀評分結果，其泌尿系統病狀有顯著改善。但關於日常生活活動力的巴氏指數則與對照組無差異。	11

二、慢性中風：

(一)認知、情緒和生活品質：

臺灣的研究團隊 P.C. Chou et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。同樣對中風後生活品質改善的療效評估，英國的研究團隊 P.M. Wayne et al.做出的結果與對照組則無明顯的差異。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
1	J Altern Complement Med/ PeiChi Chou et al./ 2009	認知受損與生活品質	中風病人	電針治療對台灣中風患者的認知受損與生活品質之療效	1. 針刺內關穴(PC6)與神門穴(HT7)。 2. 連續 8 週，每週兩次，每次 20 分鐘療程。	針灸對中風的病人的方向、認知、知覺、現實感、注意力、因身體生理問題角色受限、活 力、社會功能、因情緒問題角色受限、心理健康有正面的影響	13
14	Arch Phys Med Rehabil/ Peter M. Wayne et al./ 2005	上肢功能障礙與生活品質	中度至重度上肢功能障礙的慢性中風患者	針灸對慢性中風者上肢的復健：隨機對照研究	1. 依患者病徵於身體及頭皮施予針灸及部分電針。 2. 20 次療程，每次 60 分鐘，平均試驗期 10.5 週。	針刺介入治療組分別於手腕痙攣度、手腕和肩膀的活動旋轉程度 (ROM) 有 明 顯 改善,但生活品質(QOL)與其餘評估項目則無顯著差異。	17

(二)吞嚥功能：

日本的研究團隊 T. Seki et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
16	J Am Geriatr Soc/ Takashi Seki et al./ 2005	吞嚥困難	中風後患者	針灸治療中風後吞嚥困難的患者：影像螢光檢查試驗	1. 針刺足三里(ST36)與太谿(KI3) 2. 連續 4 週，每週 3 次，每次 15 分鐘及常規照護。	於介入治療組，發現針灸能明顯改善患者吞嚥困難之症狀，降低嗆入率，而對照組則無顯著改變。且於年平均發燒天數，介入治療組明顯低於對照組。	29

(三)肌肉的力量與平衡改善：

台灣的研究團隊 S. –Y. Liu et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
4	Am J Chin Med/ Sen-Yung Liu et al./ 2009	平衡功能	第一次單側中風病人	針灸刺激改善中風病人的平衡功能：單盲對照的隨機取樣研究	1. 針刺百會穴(GV20)與四神聰，配合捻針與得氣。 2. 療程 20 分鐘。	針灸後病人的患側重心明顯下降，由坐姿到站姿所需時間亦下降，且其麻痺側和非麻痺側的屈髖和伸膝的肌肉強度皆增強	11

(四)痙攣症狀：

中國的研究團隊 J.G. Zhao et al.、美國的研究團隊 W. Liu et al.與 J.D. Schaechter et al.，及英國的研究團隊 P.M. Wayne et al.做出的結果與對照組則有明顯的差異，但德國的研究團隊 Matthias Fink et al.做出的結果與對照組則無明顯的差異。

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
7	J Neurol Sci/ Jian-Guo Zhao et al./ 2009	痙攣狀態	中風病人	針灸對中風病人痙攣狀態的療效	1. 分別針刺穴位：內關(PC6)、三陰交 (SP6)、水溝(GV26)、極泉(HT1)、尺澤(LU5)、委中(BL40)、風池(GB20)；及刺激錐體交叉表面投射區：玉枕(BL9)、天柱(BL10)。 2. 連續 30 天，每天一次，每次 20 分鐘療程。	於錐體交叉表面推測區進行針灸，能有效降低痙攣、增加肌肉張力及偏癱痙攣側的運動神經興奮，改善中風病人的痙攣狀態	9
8	J Rehabil Res/ Wen Liu et al./ 2008	痙攣、運動功能	慢性中風患者	電針有可能幫助慢性中風患者的運動功能回復：初探性研究	1. 電針刺激合谷(LI4)、後谿(SI3)、外關(TE5)、曲池(LI11)、手三里(LI10)、肩髃(LI15)或強度	痙攣程度定量測量、主動手腕伸張幅度、傅格－梅爾上肢運動評估量表皆有意義的改變，但腕等距強度並未有意義的改變	11

編號	期刊/作者/發表年代	適應症	適用對象	題目	治療方式	主要結論	證據積分
					訓練。 2. 連續 6 週，電針刺激 40 分鐘或強度訓練 30 分鐘，每週隨機分配兩次。		
11	J Altern Complement/ Judith D. Schaechter et al./ 2007	上肢和運動皮質活動	慢性偏癱中風病人	於慢性中風病人經針刺與偽針治療後上肢和運動皮質活動的相關改變	連續 10 週，每週 2 次，針刺激穴位。	患側上肢痙攣、移動距離和損傷側腦運動皮質的活化部位，有正面的、有意義的改變且病人的運動皮質顯示較大幅度的活化趨勢	13
14	Arch Phys Med Rehabil/ Peter M. Wayne et al./ 2005	上肢功能與生活品質	中度至重度上肢功能障礙的慢性中風患者	針灸對慢性中風者上肢的復健：隨機對照研究	1. 依患者病徵於身體及頭皮施予針灸及部分電針。 2. 20 次療程，每次 60 分鐘，平均試驗期 10.5 週。	針刺介入治療組分別於手腕痙攣度、手腕和肩膀的活動旋轉程度 (ROM) 有明顯改善，但生活品質(QOL)與其餘評估項目則無顯著差異。	17
20	Arch Phys Med Rehabil/ Matthias Fink et al./ 2004	腿部痙攣	偏癱，且後腿呈痙攣馬蹄畸形壯的慢性中風患者	針刺針灸療法對於慢性中風後的腿部痙攣	1. 依患者病徵施予適用穴位針刺。 2. 連續 4 週，每週 2 次，每次 30 分鐘。	針灸組在經過 4 週的治療後，其 MAS 評估值與安慰劑組無差異。但於神經生理學，針灸組患者脊髓的 H-reflex 反應較安慰劑組顯著增加。	-9

肆、討論

針灸是東方傳統醫學的一部分，亞洲人在臨床上使用針灸來治療疾病已有 2000 多年的歷史。目前針灸治療已廣泛用於中風病人之復健過程，可有效減少中風患者的痙攣問題，改善運動反應、感覺、語言和其他神經系統功能 [47-51]。過去研究顯示針灸能有效的幫助中風後的復原[49,50]，但目前仍無任何證據可以證明針灸治療能減少中風再次的發生。本研究利用全民健康保險資料庫(2005 年)回朔性的世代追蹤研究，探討針灸治療對與二次中風之關係，研究結果顯示，針灸治療可以有效降低中風病人二次中風之危險，這樣的效果不管在男性或女性、年輕或年長及各種中風型態皆可觀察到。且針灸治療次數越多，降低二次中風危險越顯著。

中風是因血液供應到大腦時出現障礙，而導致腦功能迅速喪失。病患初次中風後，二次中風很可能會再侵襲，且存在著罹患心肌梗塞和心血管及的的風險[50]。研究指出，針灸可以強健肌肉或免除痙攣性半身癱瘓的運動神經元[49]。目前利用針灸治療來改善腦中風後的痙攣狀態和焦慮症狀，被認為是一種安全又經濟的重要治療方式[47]。針灸刺激可以使腦中風患者出現病灶之處消退，而這可能是促使腦部重整的方法之一[45]，但針灸活化血流量的機制至今仍未明。

抗血栓治療包括口服抗凝血劑和抗血小板藥物，是初次中風和二次中風的主要預防及治療方法[53-57]。根據過去的臨床試驗研究結果，患者服用 aspirin、warfarin 及 statin 藥物可降低中風的風險及提高存活率[53-56]。在本研究中，中風患者服用 aspirin、warfarin 及 statin 藥物可降低二次中風之風險，這樣的結果與文獻相似，亦可驗證本研究在中風病人的藥物分析誤差甚小。根據本研究的交叉分析結果，不論中風患者使用針灸治療、藥物治療或復健治療，都可降低二次中風中風的風險，但針灸治療與降低的二次中風危險之關係較明顯。相較於單獨使用針灸治療、單獨使用藥物治療或單獨使用復健治療，若中風患者合併使用針灸、藥物及復健治療，對減少二次中風風險效果最好。

民眾對疾病的知識(knowledge)、態度(attitude)與實行(practice)與罹患疾病之風險有關，因此我們相信若初次中風病人的 KAP(knowledge, attitude, practice)較好，二次中風之風險會較低。在本研究中，除了針灸治療的療效外，使用針灸治療的中風患者可能比沒有使用的患者有較好的 KAP，如按時服用藥物、規律運動或不良生活習慣(抽菸、喝酒及嚼檳榔)較少等，因此我們觀察到有使用針灸治療的中風患者其二次中風風險較低。而持之以恆的治療與好的健康結果相關，且可能可做為整體健康行為的替代指標[56,57]。

使用針灸治療的患者中，年輕的患者相較於老年人更可明顯降低中風的復發，其風險比為 0.23 及 0.68。陳等人研究顯示小孩中風的嚴重度與醫療成本都較成年人高[52]，然而，中風病人若皆未使用針灸、藥物及復健，則再次中風的發生率隨著年齡的增加而增加，從 20-44 歲每 1000 人 39.4 增加至 65 歲以上老年人每 1000 人 85.3。年齡和性別是常見的中風危險因素，男性和老年人普遍有較高的中風復發風險[59,60]，本研究結果也顯示男性的中風風險較高，且針灸對於女性二次中風的效果較好。

過去研究指出，中風病患有高血壓、糖尿病及高血脂等合併症者有較高的二次中風風險[58-60]。但在本研究中，高血壓與二次中風之關係較糖尿病和高血脂症弱。經由多變項 Cox Proportional Hazard Model 校正相關因子後，這些合併症與針灸治療對二次中風並沒有顯著的影響。實證證據顯示，二次中風的原因是多方面的，而中風復發率與中風型態有關，但二次中風的發生率在各種中風型態中是不同的，為了避免中風型態對二次中風發生率的修飾效果，本研究將中風型態放入最後研究模型當作共變項加以校正，以減少估計針灸對二次中風療效之誤差。

本研究使用全民健保資料庫做為中風病人樣本的來源，但可能有極少部分的中風病患沒有加入全民健保，這是本研究之限制之一。不過，台灣全民健保納保率為 99%，沒有健保的病例約只有 1%，因此這項研究限制不至於造成本研究的誤差。另外，健保資料庫沒有足夠的變項，如吸煙和飲食習慣、身體質量指數等可能導致中風之影響因素，這也是本文的研究限制之一。而因醫療院所層級的不同，或醫師對中風病人在第一時間判斷中風型態的差異，可能造成 ICD-9-CM 編碼不一致，因此研究在中風型態的判斷上可能會有限制。

有關針灸對腦中風療效之實證醫學文獻評讀，目前發表於 SCI 文獻中中風與灸法相關 RCT 的研究論文非常少，所以其臨床療效還待商確。且發表 SCI 文獻之中風與針刺相關 RCT 的研究論文，規模多不是太大，要做綜合分析(meta-analysis)又有異質性偏高的疑慮；多數做的規模較大，成效較好的文獻，多以中文文獻發表，沒有在 SCI 文獻中發表，有遺珠之憾。但對針刺是否能改善中風的後遺症，恢復功能? 目前對於合併症如失眠，吞嚥困難(dysphagia)等是確定有效的。對於運動及感覺的恢復則多數是認可的，應是值得做更大規模、多中心、同質的 RCT 研究。

伍、結論與建議

一、本研究利用健保資料庫百萬歸人檔分析中風病人中醫醫療利用狀況。結果發現，中風患者在中風出院後一年內使用中醫的盛行率高達32.33%。在本研究中，有二次中風(OR=1.34)、女性(OR=1.21)、年齡小於 65 歲者、居住在高都市化地區者(OR=1.30)、曾接受復健治療(OR=1.53)、無糖尿病病史者(OR=1.17)以及非低收入(OR=1.95)等，皆是影響中風病人使用中醫醫療的因子。

二、在本計畫的追蹤研究中，相較於沒有使用針灸治療的中風病人，有接受針灸治療的中風病人其二次中風風險較低，且針灸治療次數與降低的二次中風風險存在著劑量效應之關係(低度治療的 HR=0.65、高度治療的 HR=0.56)。這樣的關係不論是在男性(低度治療的 HR=0.79，高度治療的 HR=0.65)或女性(低度治療的 HR=0.50、高度,HR=0.48)、年輕或年長、或是不同的中風型態(出血性的針灸低度治療之 HR=0.36，高度治療之 HR=0.50；缺血性的針灸低度治療之 HR=0.70，高度治療之 HR=0.56；其他型中風的針灸低度治療之 HR=0.67，高度治療之 HR=0.63)，都可以觀察的到。

三、本計畫的系統性文獻回顧顯示，針灸對中風病人急性期和亞急性期的失眠、肌肉痙攣及強度有明顯的改善，對於中風病人慢性期的吞嚥、平衡及認知也有改善的效果。但這些文獻的針灸療效差異性大，可能是來自於不良的研究設計或樣本數少的關係。到目前為止，全世界尚無大型臨床試驗探討針灸治療與二次中風的關係。

四、綜合本計畫的研究結果，我們認為中風病人在中風後一年內的使用中醫比例相當高，而針灸是常見的治療方式之一。有使用針灸治療的中風病人，其二次中風的風險較低。雖然此項發現是世界性的先驅研究，但這些是利用全民健保資料庫的二手資料之結果，尚無法提出直接的證據來證明有使用針灸治療的中風病人其降低的二次中風風險完全來自於針灸治療，因此我們強烈建議，台灣需要有一項大型且多中心的臨床試驗，提供直接的證據來證明針灸治療可降低中風病人的二次中風之風險。

五、本研究是由健保資料庫呈現整體的針灸對二次中風保護效用，但分析結果可能會受不同醫療機構、不同治療模式、不同訓練背景及不同治療介入時間點等影響，建議應立即著手研定中醫治療腦血管疾病之 protocol (標準醫療模式)或 guideline (診療指引)及中西會診標準作業，應有助於更精準的呈現中醫師（針灸）之治療效用。

六、根據本研究成果建議現行全民健保中有關腦血管疾病中醫照護之各項

計畫如：「全民健康保險腦血管疾病西醫住院病患中醫輔助醫療試辦計畫」及「全民健康保險腦血管疾病後遺症中醫門診照護計畫」應繼續擴大辦理，俾益民眾之健康照護。前述整合照護模之試辦，雖有雖已有部分成效分析報告，惟目前僅限於大型醫院或部分院所執行，建議衛生主管機關及中醫師公會全聯會未來應針對如何推廣提出更具體之規劃，並增訂 protocol (標準醫療模式)或 guideline (診療指引)，以利合適的中醫院所參與，及進行實施後的品質考核。

七、 流行病學觀察性研究尚不足以證實針灸介入的療效，因此需大型且多中心的臨床研究，進行中西醫結合的臨床試驗來評估針灸對二次中風之療效，並可藉由臨床試驗進一步分析針灸介入時間、針灸穴位的影響；在進行臨床試驗之前可先進行先驅研究，再進行大型且多中心的臨床試驗，可架構出更完整的臨床試驗模式。

八、 一項針對醫院的復健中心病人之研究，建議應將針刺納入中風病人的復健計畫中[82]。而就過去文獻的建議[81]，針灸可以改善中風患者上肢偏癱功能，並且增加在對側運動皮層活動，中風病人接受針灸治療最長約 10 年左右還有療效，平均有效時程為 4.6±3.2 年，建議未來研究應將針灸治療腦血管疾病之介入時機及黃金療程一併納入考量。

九、 建議衛生主管機關整合政府、公學會、及學界力量，持續推動腦血管疾病中醫照護計畫，並進行相關研究計畫，近期可先規劃制定 protocol (標準醫療模式)或 guideline (診療指引)，之後規劃進行臨床試驗之先驅研究，再整合進行大型且多中心的臨床試驗。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-035 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 全民健康保險醫療費用協定委員會：http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DM/DM2.aspx?now_fod_list_no=8886&class_no=109&level_no=2。
2. WHO: WHO traditional medicine strategy 2002-2005, http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/who_edm_trm_2002.1.pdf
3. Murray CJ, Lopez AD: Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997, 349(9061):1269-76.
4. 行政院衛生署統計資訊網：http://www.doh.gov.tw/statistic/.
5. Hata J, Tanizaki Y, Kiyohara Y, et al: Ten year recurrence after first ever stroke in a Japanese community: the Hisayama study. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2005, 76(3):368-72.
6. Lopez, A.D., et al., Global and regionalburden of disease and risk factors, 2001:systematic analysis of population healthdata. Lancet, 2006. 367(9524): p.1747-57.
7. Evers SMAA, Engel GL, Ament AJHA. Cost of stroke in the Netherlands from a social perspective. Stroke 1997, 28: p. 1375-81.
8. 行政院衛生署,門診合計醫療費用統計-按性別及年齡分. 99 年全民健康保險醫療統計年報, 2010. 表 6..
9. Liebetrau M, Steen B, Skoog I: Stroke in 85-year-olds: prevalence, incidence, risk factors, and relation to mortality and dementia. Stroke 2003, 34(11):2617-22.
10. Zhu L, Fratiglioni L, Guo Z, Aguero-Torres H, Winblad B, Viitanen M: Association of stroke with dementia, cognitive impairment, and functional disability in the very old: a population-based study. Stroke 1998, 29(10):2094-9.
11. 高尚德：從實證醫學探討中醫藥在疾病治療之研究。台北：行政院衛生署委託研究計畫 2006。
12. 林昭庚：中醫藥療效評估之文獻研究(2-1)。台北：行政院衛生署中醫藥委員會研究計畫成果報告 2004。
13. 林昭庚：中醫藥療效評估之文獻研究(2-2)。台北：行政院衛生署中醫藥委員會科技研究發展計畫 2005。
14. 林志杰：應用資料探勘技術建立中西醫腦中風診斷模型之研究。 台中：長庚大學資訊管理研究所碩士論文 2006。
15. 李俊霖：中西醫腦中風醫療相關性探討。台北：長庚大學資訊管理研究

所碩士論文 2003。
16. 邱弘毅：腦中風之現況與流行病學特徵. 台灣腦中風學會會訊 2008，15(3)：2-4。
17. 宋鴻樟、廖建彰、李采娟等： 2000 年台灣腦中風發生率與盛行率的城鄉差異。台灣公共衛生雜誌 2006，25(3)：223-30。
18. 宋鴻樟：腦中風研究文獻彙整。台北：行政院衛生署科技研究發展計畫 2002。
19. F. Perren JB: Hypertension and Lowering Blood Pressure. Cerebrovasc Dis 2003, 15(2):19-23.
20. 崔海：針灸大成中有關中風病的文獻研究。浙江中醫藥大學學報 2008，32(4)：432。
21. Carron H, DeGood DE, Tait R: A comparison of low back pain patients in the United States and New Zealand: psychosocial and economic factors affecting severity of disability. Pain 1985, 21(1):77-89.
22. Naeser MA, Alexander MP, Stiassny-Eder D, Galler V, Hobbs J, Bachman D: Acupuncture in the treatment of paralysis in chronic and acute stroke patients--improvement correlated with specific CT scan lesion sites. Acupunct Electrother Res 1994, 19(4):227-49.
23. Yu YH, Wang HC, Wang ZJ: The effect of acupuncture on spinal motor neuron excitability in stroke patients. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei) 1995, 56(4):258-63.
24. 謝如蘭、李祖芹、嚴友君等：腦中風針灸治療之隨機試驗。台北：行政院衛生署委託研究計畫 1999。
25. Mayer DJ: Acupuncture: an evidence-based review of the clinical literature. Annu Rev Med 2000, 51:49-63.
26. Shiflett SC: Overview of complementary therapies in physical medicine and rehabilitation. Phys Med Rehabil Clin N Am 1999, 10(3):521-9.
27. Jellinger KA: Principles and application of acupuncture in neurology. Wien Med Wochenschr 2000, 150(13-14):278-85.
28. 高宗桂、林昭庚、謝慶良等：電針對腦中風手術後顱內壓與經絡電阻之影響。中國醫藥科學雜誌 2000，1(3)：157-66.
29. Chen YM, Fang YA: 108 cases of hemiplegia caused by stroke: the relationship between CT scan results, clinical findings and the effect of acupuncture treatment. Acupunct Electrother Res 1990, 15(1):9-17.
30. Lee JD, Chon JS, Jeong HK, et al: The cerebrovascular response to traditional acupuncture after stroke. Neuroradiology 2003, 45(11):780-4.

31. 謝如蘭、李祖芹、嚴友君等：電針灸對復發缺血性腦中風復健療效之隨機試驗。復健醫學會雜誌 2002，30(1)：9-17。
32. 劉森永：針刺對腦中風患者平衡功能影響之研究。台中：中國醫藥大學中西醫結合研究所碩士論文 2004。
33. 林昭庚：新編彩圖針灸學(初版)。台北，知音出版社 2009：702-3。
34. 曹文忠、張莉、宋書邦等：針灸預防中風后遺癥復發臨床研究。中國針灸 2003，23(6)。
35. 王凡、賈少微：以單光子發射計算機斷層攝像技術觀察針刺對局部腦血流量和腦功能活動的影響。中國中西醫結合雜誌 1996，16(6)：340。
36. 包向陽、盛澤民、楊易木等：前頂透懸顱中風偏癱患者腦血流量的影響。江蘇中醫 1988(4)：22。
37. 張登部、侯鳳琴、殷鏡海等：艾灸法對中風偏癱患者腦阻抗血流圖及血壓影響的觀察。針灸臨床雜誌 1993，2(3)：43。
38. 鐘奇、馬瑞林：針刺對缺血性腦血管患者腦血流量的影響。遼寧中醫雜誌 1991(8)：11。
39. 桂清民：平調陰陽橋脈治療中風後遺症足內外翻 110 例臨床觀察。針灸臨床雜誌 1994(3)：18。
40. 趙維平、周曉鴿：針刺治療中風 70 例臨床分析。上海針灸雜誌 1992(10)：10。
41. 吳奇方：醒腦開竅法治療中風後二便功能障礙 32 例。針灸臨床雜誌 1997，4(5)：32。
42. 李定明、李文鋒：針刺治療腦出血的臨床觀察報告。中醫雜誌 1988(5)：13。
43. 李卓倫、紀駿輝、賴俊雄：1981-1944 中醫政策研究之回顧。公共衛生 1994，21(2)：97-107。
44. 國家衛生研究院：全民健康保險資料庫，http://wwwnhriorgtw/nhird/date_01htm。
45. Disease TICo: 9th revision, clinical modification：ICD-9-CM 5th ed. Los Angeles 1997.
46. 林昭庚：中醫藥療效評估之文獻研究(Ⅱ)。台北：行政院衛生署科技研究發展計畫 2005。
47. Sacco RL, Prabhakaran S, Thompson JL, Murphy A, Sciacca RR, Levin B, et al. Comparison of warfarin versus aspirin for the prevention of recurrent stroke or death: subgroup analyses from the Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study. Cerebrovasc Dis. 2006;22:4-12.
48. Milionis HJ, Giannopoulos S, Kosmidou M, Panoulas V, Manios E, Kyritsis

AP, et al. Statin therapy after first stroke reduces 10-year stroke recurrence and improves survival. Neurology. 2009;72:1816-1822.
49. Sacco RL, Diener HC, Yusuf S, Cotton D, Ounpuu S, Lawton WA, et al. Aspirin and extended-release dipyridamole versus clopidogrel for recurrent stroke. N Engl J Med. 2008;359:1238-1251.
50. Mohr JP, Thompson JL, Lazar RM, Levin B, Sacco RL, Furie KL, et al. A comparison of warfarin and aspirin for the prevention of recurrent ischemic stroke. N Engl J Med. 2001;345:1444-1451.
51. Simpson SH, Eurich DT, Majumdar SR, Padwal RS, Tsuyuki RT, Varney J, et al. A meta-analysis of the association between adherence to drug therapy and mortality. Br Med J. 2006;333:15.
52. Lee JD, Chon JS, Jeong HK, Kim HJ, Yun M, Kim DY, et al. The cerebrovascular response to traditional acupuncture after stroke. Neuroradiology. 2003;45:780-784.
53. Wu H, Tang J, Lin X, Lau J, Leung PC, Woo J, et al. Acupuncture for stroke rehabilitation. Stroke. 2008;39:517-518.
54. Wu P, Mills E, Moher D, Seely D. Acupuncture in poststroke rehabilitation: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. Stroke. 2010;41:e171-e179.
55. Park J, Hopwood V, White AR, Ernst E. Effectiveness of acupuncture for stroke: a systematic review. J Neurol. 2001;248:558-563.
56. Zhao JG, Cao CH, Liu CZ, Han BJ, Li ZG, Wang XH. Effect of acupuncture treatment on spastic states of stroke patients. J Neurol Sci. 2009;276:143-147.
57. Chen PC, Chien KL, Chang CW, Su TC, Jeng JS, Lee YT, et al. More hemorrhagic and severe events cause higher hospitalization care cost for childhood stroke in Taiwan. J Pediatr. 2008;152:388-393.
58. Li C, Hedblad B, Rosvall M, Buchwald F, Khan FA, Engström G. Stroke incidence, recurrence, and case-fatality in relation to socioeconomic position: a population-based study of middle-aged Swedish men and women. Stroke. 2008;39:2191-2196.
59. Ois A, Gomis M, Rodriguez-Campello A, Cuadrado-Godia E, Jime´nez-Conde J, Pont-Sunyer C, et al. Factors associated with a high risk of recurrence in patients with treatment ischemic attack or minor stroke. Stroke. 2008;39:1717-1721.
60. Hillen T, Coshall C, Tilling K, Rudd AG, McGovern R, Wolfe CDA. Cause

of stroke recurrence is multifactorial: patterns, risk factors, and outcomes of stroke recurrence in the South London Stroke Register. Stroke. 2003;34:1457-1463.

61. American heart association. 2009 Update at-a-Glance. Heart Disease and Stroke Statistics. Dallas: American heart association; 2009:14-16.
62. Prencipe M, Culasso F, Rasura M, Anzini A, Beccia M, Cao M, et al. Long-term prognosis after a minor stroke: 10-year mortality and major stroke recurrence rates in a hospital-based cohort. Stroke. 1998;29:126-132.
63. Alexander, D.N., Cen, S., Sullivan, K.J., Bhavnani, G., Ma, X., and Azen, S.P. (2004). Effects of acupuncture treatment on poststroke motor recovery and physical function: a pilot study. Neurorehabil Neural Repair *18*, 259-267.
64. Chou, P., Chu, H., and Lin, J.G. (2009). Effects of electroacupuncture treatment on impaired cognition and quality of life in Taiwanese stroke patients. J Altern Complement Med *15*, 1067-1073.
65. Fink, M., Rollnik, J.D., Bijak, M., Borstadt, C., Dauper, J., Guergueltcheva, V., Dengler, R., and Karst, M. (2004). Needle acupuncture in chronic poststroke leg spasticity. Arch Phys Med Rehabil *85*, 667-672.
66. Hopwood, V., Lewith, G., Prescott, P., and Campbell, M.J. (2008). Evaluating the efficacy of acupuncture in defined aspects of stroke recovery: a randomised, placebo controlled single blind study. J Neurol *255*, 858-866.
67. Hsieh, R.L., Wang, L.Y., and Lee, W.C. (2007). Additional therapeutic effects of electroacupuncture in conjunction with conventional rehabilitation for patients with first-ever ischaemic stroke. Journal of rehabilitation medicine : official journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine *39*, 205-211.
68. Kim, Y.S., Lee, S.H., Jung, W.S., Park, S.U., Moon, S.K., Ko, C.N., Cho, K.H., and Bae, H.S. (2004). Intradermal acupuncture on shen-men and nei-kuan acupoints in patients with insomnia after stroke. Am J Chin Med *32*, 771-778.
69. Lee, S.Y., Baek, Y.H., Park, S.U., Moon, S.K., Park, J.M., Kim, Y.S., and Jung, W.S. (2009). Intradermal acupuncture on shen-men and nei-kuan acupoints improves insomnia in stroke patients by reducing the sympathetic nervous activity: a randomized clinical trial. Am J Chin Med *37*, 1013-1021.
70. Liu, S.Y., Hsieh, C.L., Wei, T.S., Liu, P.T., Chang, Y.J., and Li, T.C.

(2009). Acupuncture stimulation improves balance function in stroke patients: a single-blinded controlled, randomized study. Am J Chin Med *37*, 483-494.

71. Liu, W., Mukherjee, M., Sun, C., Liu, H.Z., and McPeak, L.K. (2008). Electroacupuncture may help motor recovery in chronic stroke survivors: A pilot study. J Rehabil Res Dev *45*, 587-595.
72. Marti, J., Anton, E., and Ezcurra, I. (2005). An unexpected cause of delirium in an old patient. J Am Geriatr Soc *53*, 545.
73. Park, J., White, A.R., James, M.A., Hemsley, A.G., Johnson, P., Chambers, J., and Ernst, E. (2005). Acupuncture for subacute stroke rehabilitation: a Sham-controlled, subject- and assessor-blind, randomized trial. Arch Intern Med *165*, 2026-2031.
74. Rorsman, I., and Johansson, B. (2006). Can electroacupuncture or transcutaneous nerve stimulation influence cognitive and emotional outcome after stroke? Journal of rehabilitation medicine : official journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine *38*, 13-19.
75. Schaechter, J.D., Connell, B.D., Stason, W.B., Kaptchuk, T.J., Krebs, D.E., Macklin, E.A., Schnyer, R.N., Stein, J., Scarborough, D.M., Parker, S.W., *et al.* (2007). Correlated change in upper limb function and motor cortex activation after verum and sham acupuncture in patients with chronic stroke. J Altern Complement Med *13*, 527-532.
76. Tatar, E.L., and Trivedi, C. (2005). Pseudodiarrhea caused by vaginal pessary in an elderly patient. J Am Geriatr Soc *53*, 1083.
77. Wayne, P.M., Krebs, D.E., Macklin, E.A., Schnyer, R., Kaptchuk, T.J., Parker, S.W., Scarborough, D.M., McGibbon, C.A., Schaechter, J.D., Stein, J., *et al.* (2005). Acupuncture for upper-extremity rehabilitation in chronic stroke: a randomized sham-controlled study. Arch Phys Med Rehabil *86*, 2248-2255.
78. Yan, T., and Hui-Chan, C.W. (2009). Transcutaneous electrical stimulation on acupuncture points improves muscle function in subjects after acute stroke: a randomized controlled trial. Journal of rehabilitation medicine : official journal of the UEMS European Board of Physical and Rehabilitation Medicine *41*, 312-316.
79. Yun, S.P., Jung, W.S., Park, S.U., Moon, S.K., Park, J.M., Ko, C.N., Cho, K.H., Kim, Y.S., and Bae, H.S. (2007). Effects of moxibustion on the

recovery of post-stroke urinary symptoms. Am J Chin Med *35*, 947-954.

80. Zhao, J.G., Cao, C.H., Liu, C.Z., Han, B.J., Zhang, J., Li, Z.G., Yu, T., Wang, X.H., Zhao, H., and Xu, Z.H. (2009). Effect of acupuncture treatment on spastic states of stroke patients. J Neurol Sci *276*, 143-147.
81. Judith, D.S., Brendan, D.C., William, B.S., Ted, J.K., David, E.K, Eric, A.M., Rosa, N.S, Joel, S.., Donna, M.S., Stephen, W.P, Chris,A.M., and Peter, M.W. (2007). Correlated Change in Upper Limb Function and Moter Cortex Activation After Verum and Sham Acupuncture in Patients with Chronic Stroke. Complement Med *13*, 527-532.
82. Winnie, Y.., and Jenny, M.W.(2010). Is Acupuncture an accepable option in stroke rehabilitation ? A survey of stroke patients. Complement Ther Med *18*, 143-149.

柒、圖、表

A.中風病人中醫醫療利用及其相關因子之分析

表 A-1、初中風後一年內有無使用中醫之人口基本學、共病症、用藥及復健等分布情形

	中醫		
	否(N=3782) N(%)	是(N=1807) N(%)	p-value
性別			0.0042
女性	1648(43.57)	861(47.65)	
男性	2134(56.43)	946(52.35)	
年齡			<0.0001
20-44	324(8.57)	198(10.96)	
45-54	520(13.75)	309(17.10)	
55-64	822(21.73)	464(25.68)	
≥65	2116(55.95)	836(46.26)	
初中風型態			0.3403
出血性	565(14.94)	293(16.21)	
缺血性	2293(60.63)	1096(60.65)	
其他	924(24.43)	418(23.13)	
都市化程度			0.0018
低度	254(6.72)	96(5.31)	
中度	1376(36.38)	596(32.98)	
高度	2152(56.90)	1115(61.70)	
職業別			0.0287
白領	1386(36.65)	722(39.96)	
藍領	1858(49.13)	861(47.65)	
其他	538(14.23)	224(12.40)	
復健			<0.0001
否	2249(59.47)	895(49.53)	
是	1533(40.53)	912(50.47)	
糖尿病			0.3455
否	2518(66.58)	1226(67.85)	

	中醫		
	否(N=3782) N(%)	是(N=1807) N(%)	p-value
是	1264(33.42)	581(32.15)	
高血壓			0.9009
否	998(26.39)	474(26.23)	
是	2784(73.61)	1333(73.77)	
高血脂			0.0003
否	2696(71.29)	1203(66.57)	
是	1086(28.71)	604(33.43)	
抗血小板藥			0.3729
否	1468(38.82)	679(37.58)	
是	2314(61.18)	1128(62.42)	
抗擬血藥			0.0953
否	3619(95.69)	1711(94.69)	
是	163(4.31)	96(5.31)	
降血脂藥			0.0003
否	2946(77.90)	1329(73.55)	
是	836(22.10)	478(26.45)	
低收入戶			0.0451
否	3721(98.39)	1790(99.06)	
是	61(1.61)	17(0.94)	
住院天數			
平均數(標準差)	7.38(12.59)	7.45(12.88)	0.8503

表 A-2、初中風後一年內有使用中醫者其就醫費用和次數之人口基本學、共病症、用藥及復健等分布情形

	中醫就醫費用 平均數(標準差)	p-value	中醫就醫次數 平均數(標準差)	p-value
二次中風[a]		0.0024		0.0055
否	4034.53(6208.88)		6.23(8.21)	
是	5085.66(7510.46)		7.52(10.19)	
性別[a]		0.0125		0.0146
女性	4003.65(6058.22)		6.16(7.73)	
男性	4788.21(7262.67)		7.18(9.98)	
年齡[b]		0.3577		0.2236
20-44	4705.43(6703.87)		7.54(10.06)	
45-54	4583.80(7150.37)		6.92(9.13)	
55-64	3937.26(5977.35)		6.05(9.07)	
≥ 65	4547.64(6955.56)		6.77(8.62)	
初中風型態[b]		0.0096		0.0559
出血性	5334.03(8146.45)		7.59(10.25)	
缺血性	4412.79(6638.02)		6.74(9.12)	
其他	3773.90(5719.14)		5.95(7.57)	
都市化程度[b]		0.0088		0.0926
低度	4505.50(7206.99)		6.70(8.96)	
中度	4037.46(5683.41)		6.39(8.46)	
高度	5569.46(8478.72)		7.86(10.85)	
職業別[b]		0.0079		0.0543
白領	3822.76(4923.16)		6.53(7.48)	
藍領	3785.08(5429.15)		5.99(7.38)	
其他	4801.69(7424.61)		7.09(9.84)	
復健[a]		<0.0001		0.0086
否	3777(5644.22)		6.14(7.99)	
是	5039.45(7590.42)		7.25(9.85)	
糖尿病[a]		0.0378		0.1312
否	4180.70(6514.13)		6.48(8.97)	

	中醫就醫費用 平均數(標準差)	p-value	中醫就醫次數 平均數(標準差)	p-value
是	4907.49(7131.40)		7.16(9.03)	
高血壓 [a]		0.0507		0.2657
否	3943.70(5726.27)		6.32(8.21)	
是	4581.75(7040.98)		6.83(9.25)	
高血脂 [a]		0.1141		0.0564
否	4591.54(6865.79)		6.97(9.38)	
是	4061.52(6427.62)		6.15(8.14)	
抗血小板藥 [a]		0.7581		0.7973
否	4351.54(6483.63)		6.77(8.86)	
是	4452.20(6869.35)		6.65(9.07)	
抗擬血藥 [a]		0.5787		0.6563
否	4393.56(6753.48)		6.67(8.98)	
是	4758.42(6224.31)		7.09(9.27)	
降血脂藥 [a]		0.9512		0.5542
否	4408.57(6706.63)		6.77(9.11)	
是	4430.52(6784.25)		6.49(8.66)	
低收入戶 [a]		0.0742		0.0319
否	4386.85(6710.31)		6.65(8.97)	
是	7312.94(7853.43)		11.35(10.03)	

[a] T 檢定
[b] ANOVA, F 檢定

表 A-3、初中風一年內有無使用中醫之影響因子

	OR.	95% CI of OR
二次中風		
否	1.00	(參考組)
是	1.34	(1.18,1.52)
性別		
女性	1.21	(1.08,1.36)
男性	1.00	(參考組)
年齡		
20-44	1.74	(1.40,2.15)
45-54	1.54	(1.30,1.83)
55-64	1.44	(1.24,1.66)
≥65	1.00	(參考組)
初中風型態		
出血性	1.09	(0.90,1.32)
缺血性	1.02	(0.89,1.17)
其他	1.00	(參考組)
都市化程度		
低度	1.00	(參考組)
中度	1.14	(0.88,1.48)
高度	1.30	(1.01,1.68)
職業別		
白領	1.03	(0.85,1.25)
藍領	1.00	(0.83,1.21)
其他	1.00	(參考組)
復健		
否	1.00	(參考組)
是	1.53	(1.36,1.72)
糖尿病		
否	1.17	(1.03,1.33)
是	1.00	(參考組)
高血壓		

	OR.	95% CI of OR
否	1.01	(0.87,1.16)
是	1.00	(參考組)
高血脂		
否	1.00	(參考組)
是	1.12	(0.97,1.30)
抗血小板藥		
否	1.00	(參考組)
是	1.11	(0.97,1.27)
抗擬血藥		
否	1.00	(參考組)
是	1.20	(0.92,1.56)
降血脂藥		
否	1.00	(參考組)
是	1.16	(0.99,1.37)
低收入戶		
否	1.95	(1.12,3.38)
是	1.00	(參考組)
住院天數	0.99	(0.99,1.00)

OR.=odds ratio

表 A-4、不同性別下初中風一年內有無使用中醫之影響因子

	女性		男性	
	OR.	95% CI of OR	OR.	95% CI of OR
二次中風				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.49	(1.23,1.79)	1.26	(1.07,1.49)
年齡				
20-44	2.10	(1.49,2.96)	1.48	(1.11,1.95)
45-54	2.10	(1.63,2.70)	1.21	(0.96,1.54)
55-64	1.62	(1.31,2.01)	1.29	(1.06,1.58)
≥65	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
初中風型態				
出血性	1.15	(0.86,1.54)	1.11	(0.85,1.45)
缺血性	0.96	(0.78,1.17)	1.11	(0.91,1.36)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
都市化程度				
低度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
中度	1.30	(0.90,1.88)	1.02	(0.71,1.47)
高度	1.42	(0.99,2.05)	1.20	(0.84,1.72)
職業別				
白領	1.22	(0.88,1.71)	1.02	(0.81,1.30)
藍領	1.16	(0.84,1.61)	1.01	(0.80,1.27)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.46	(1.23,1.73)	1.59	(1.36,1.87)
糖尿病				
否	1.15	(0.95,1.39)	1.19	(0.995,1.43)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血壓				
否	1.03	(0.83,1.28)	0.95	(0.79,1.15)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血脂				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.14	(0.92,1.41)	1.12	(0.92,1.36)
抗血小板藥				

	女性		男性	
	OR.	95% CI of OR	OR.	95% CI of OR
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.18	(0.96,1.44)	1.07	(0.89,1.30)
抗擬血藥				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.25	(0.84,1.86)	1.21	(0.85,1.74)
降血脂藥				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.14	(0.90,1.43)	1.21	(0.97,1.51)
低收入戶				
否	0.89	(0.37,2.17)	2.86	(1.37,6.01)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
住院天數	0.99	(0.98,0.996)	1.00	(0.99,1.01)

表 A-5、不同年齡層下初中風一年內有無使用中醫之影響因子

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	OR.	95% CI	OR.	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
二次中風								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.45	(0.89,2.36)	1.46	(1.04,2.04)	1.19	(0.92,1.54)	1.41	(1.19,1.67)
性別								
女性	1.59	(1.08,2.36)	1.81	(1.34,2.44)	1.29	(1.01,1.65)	1.02	(0.86,1.20)
男性	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
初中風型態								
出血性	0.82	(0.49,1.37)	1.38	(0.88,2.17)	1.09	(0.72,1.64)	1.20	(0.88,1.63)
缺血性	1.20	(0.73,1.96)	0.92	(0.65,1.32)	1.06	(0.79,1.42)	1.04	(0.86,1.27)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
都市化程度								
低度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
中度	2.04	(0.74,5.62)	1.61	(0.76,3.37)	0.95	(0.55,1.66)	1.05	(0.75,1.46)
高度	1.97	(0.74,5.25)	1.72	(0.84,3.53)	1.55	(0.91-2.66)	1.05	(0.75,1.48)
職業別								
白領	1.12	(0.58,2.17)	1.63	(0.92,2.88)	1.05	(0.58,1.90)	1.01	(0.79,1.28)
藍領	0.97	(0.50,1.92)	1.33	(0.75,2.35)	1.13	(0.63,2.03)	0.97	(0.76,1.22)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.57	(1.06,2.33)	1.59	(1.18,2.14)	1.68	(1.32,2.13)	1.44	(1.22,1.70)
糖尿病								

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	OR.	95% CI	OR.	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
否	1.53	(0.81,2.89)	1.11	(0.79,1.56)	1.12	(0.87,1.45)	1.19	(0.996,1.42)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血壓								
否	0.85	(0.55,1.32)	1.19	(0.85,1.68)	1.27	(0.95,1.69)	0.87	(0.70,1.07)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血脂								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.55	(0.31,0.97)	1.24	(0.88,1.76)	1.27	(0.95,1.68)	1.14	(0.92,1.41)
抗血小板藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.71	(0.43,1.18)	1.26	(0.90,1.75)	1.33	(1.00,1.76)	1.06	(0.87,1.28)
抗擬血藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.23	(0.44,3.44)	1.32	(0.64,2.74)	1.22	(0.70,2.14)	1.20	(0.84,1.71)
降血脂藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	2.56	(1.31,5.01)	1.33	(0.91,1.97)	0.93	(0.68,1.26)	1.12	(0.88,1.41)
低收入戶								
否	2.11	(0.50,8.92)	2.18	(0.64,7.37)	2.38	(0.63,8.92)	1.61	(0.68,3.79)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
住院天數	1.01	(0.99,1.02)	1.00	(0.99,1.01)	0.99	(0.98,1.00)	0.99	(0.987,1.00)

表 A-6、不同初中風型態下初中風一年內有無使用中醫之影響因子

	出血性		缺血性		其他	
	OR.	95% CI	OR.	95% CI	OR.	95% CI
二次中風						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.42	(1.03,1.97)	1.31	(1.12,1.53)	1.36	(1.04,1.78)
性別						
女性	1.28	(0.95,1.73)	1.12	(0.97,1.31)	1.43	(1.13,1.83)
男性	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
年齡						
20-44	1.45	(0.93,2.27)	1.91	(1.41,2.59)	1.90	(1.20,2.99)
45-54	1.75	(1.17,2.62)	1.42	(1.14,1.79)	1.68	(1.19,2.38)
55-64	1.20	(0.80,1.79)	1.47	(1.22,1.76)	1.56	(1.15,2.11)
≥65	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
都市化程度						
低度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
中度	1.60	(0.81,3.17)	1.16	(0.83,1.63)	0.91	(0.55,1.50)
高度	1.95	(0.99,3.82)	1.36	(0.97,1.90)	0.93	(0.57,1.54)
職業別						
白領	1.33	(0.80,2.22)	1.09	(0.85,1.39)	0.79	(0.54,1.16)
藍領	1.32	(0.80,2.18)	1.07	(0.84,1.37)	0.72	(0.50,1.05)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.50	(1.11,2.02)	1.62	(1.40,1.89)	1.35	(1.06,1.72)
糖尿病						
否	0.89	(0.61,1.30)	1.21	(1.03,1.42)	1.19	(0.91,1.56)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血壓						
否	1.01	(0.71,1.44)	1.04	(0.86,1.25)	0.91	(0.68,1.21)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
高血脂						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.03	(0.68,1.56)	1.18	(0.99,1.42)	1.01	(0.75,1.36)
抗血小板藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.25	(0.88,1.76)	1.09	(0.91,1.30)	1.11	(0.84,1.46)
抗擬血藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.46	(0.44,4.82)	1.19	(0.87,1.62)	1.16	(0.64,2.09)

	出血性		缺血性		其他	
	OR.	95% CI	OR.	95% CI	OR.	95% CI
降血脂藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.02	(0.10,1.31)	1.13	(0.92,1.37)	1.36	(0.98,1.89)
低收入戶						
否	2.79	(0.76,10.16)	2.18	(0.98,4.83)	1.02	(0.37,2.79)
是	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
住院天數	0.99	(0.98,1.00)	1.00	(0.99,1.01)	0.99	(0.98,1.01)

表 A-7、初中風後一年內有使用中醫者其中醫就醫次數之影響因子

	Rates ratio	p-value
二次中風		
否(參考組)		
是	1.15	0.0087
性別		
女性(參考組)		
男性	1.12	0.0316
年齡		
20-44	1.15	0.1248
45-54	1.03	0.6499
55-64	0.89	0.0580
≥65(參考組)		
初中風型態		
出血性	1.10	0.2561
缺血性	1.06	0.3544
其他(參考組)		
都市化程度		
低度(參考組)		
中度	0.92	0.4477
高度	1.07	0.5758
職業別		
白領(參考組)		
藍領	1.01	0.8586
其他	1.10	0.2448
復健		
否(參考組)		
是	1.11	0.0349
糖尿病		
否(參考組)		
是	1.15	0.0097
高血壓		
否(參考組)		
是	1.09	0.1690
高血脂		
否	1.10	0.1289

	Rates ratio	p-value
是(參考組)		
抗血小板藥		
否	1.01	0.8527
是(參考組)		
抗擬血藥		
否(參考組)		
是	1.03	0.7553
降血脂藥		
否(參考組)		
是	1.00	0.9777
低收入戶		
否(參考組)		
是	1.69	0.0326
住院天數	1.01	<0.0001

* Rates ratio：根據負二項迴歸(negative binomial regression)所估計出之 rates ratio

表 A-8、不同性別下初中風後一年內有使用中醫者其中醫就醫次數之影響因子

	女性		男性	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
二次中風				
否(參考組)				
是	1.03	0.7080	1.29	0.0008
年齡				
20-44	1.09	0.5152	1.29	0.0413
45-54	0.95	0.6413	1.13	0.2561
55-64	0.75	0.0009	1.06	0.5152
≥65(參考組)				
初中風型態				
出血性	0.97	0.7860	1.24	0.0724
缺血性	1.02	0.8350	1.08	0.4080
其他(參考組)				
都市化程度				
低度(參考組)				
中度	1.06	0.7208	0.82	0.2249
高度	1.33	0.0654	0.84	0.2809
職業別				
白領(參考組)				
藍領	1.02	0.7842	1.00	0.9605
其他	0.65	0.0023	1.40	0.0017
復健				
否(參考組)				
是	1.22	0.0055	1.04	0.5644
糖尿病				
否(參考組)				
是	1.07	0.3672	1.25	0.0041
高血壓				
否(參考組)				

	女性		男性	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
是	1.06	0.5158	1.07	0.4226
高血脂				
否	1.14	0.1101	1.01	0.9278
是(參考組)			0.99	0.9278
抗血小板藥				
否	1.09	0.2933	0.91	0.2653
是(參考組)				
抗擬血藥				
否(參考組)				
是	1.11	0.5104	0.89	0.4633
降血脂藥				
否(參考組)				
是	0.98	0.8593	1.03	0.7468
低收入戶				
否(參考組)				
是	1.77	0.1022	1.70	0.1300
住院天數	1.01	0.0049	1.01	0.0050

*Rates ratio：根據負二項迴歸(negative binomial regression)所估計出之 rates ratio

表 A-9、不同年齡層下初中風後一年內有使用中醫者其中醫就醫次數之影響因子

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
二次中風								
否(參考組)								
是	1.62	0.0112	0.96	0.7423	1.10	0.3829	1.15	0.0651
性別								
女性(參考組)								
男性	0.99	0.9670	1.11	0.4019	1.28	0.0112	1.01	0.8994
初中風型態								
出血性	1.42	0.1222	1.12	0.5282	1.07	0.6970	1.09	0.5352
缺血性	1.19	0.4246	1.01	0.9579	1.03	0.7964	1.10	0.2806
其他(參考組)								
都市化程度								
低度(參考組)								
中度	0.88	0.7829	1.60	0.1654	0.85	0.5048	0.84	0.2445
高度	1.16	0.7361	1.54	0.1896	0.95	0.8227	1.01	0.9486
職業別								
白領(參考組)								
藍領	0.89	0.4790	0.96	0.7797	0.98	0.8112	1.13	0.1950
其他	0.64	0.1222	1.07	0.7657	0.73	0.2368	1.35	0.0051
復健								
否(參考組)								
是	1.04	0.8162	1.23	0.1057	1.14	0.1731	1.10	0.2186

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
糖尿病								
否(參考組)								
是	0.92	0.7558	1.62	0.0004	1.14	0.2063	1.10	0.2391
高血壓								
否(參考組)								
是	1.28	0.1765	1.00	0.9846	1.16	0.2195	1.00	0.9617
高血脂								
否	0.80	0.3811	1.32	0.0556	1.09	0.4595	1.12	0.2211
是(參考組)								
抗血小板藥								
否	1.17	0.4626	1.23	0.1321	0.82	0.0941	1.02	0.7832
是(參考組)								
抗擬血藥								
否(參考組)								
是	1.21	0.6335	1.38	0.2596	0.83	0.4055	1.03	0.8651
降血脂藥								
否(參考組)								
是	0.78	0.3653	1.00	0.9991	0.98	0.9008	1.06	0.5683
低收入戶								
否(參考組)								
是	1.96	0.2692	2.12	0.1438	2.56	0.1150	1.28	0.5241
住院天數	1.01	0.0798	1.01	0.1000	1.02	0.0001	1.00	0.2481

*Rates ratio：根據負二項迴歸(negative binomial regression)所估計出之 rates ratio

表 A-10、不同初中風型態下初中風後一年內有使用中醫者其中醫就醫次數之影響因子

	出血性		缺血性		其他	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
二次中風						
否(參考組)						
是	1.03	0.8081	1.17	0.0176	1.13	0.2804
性別						
女性(參考組)						
男性	1.15	0.2588	1.12	0.0982	1.08	0.4743
年齡						
20-44	1.48	0.0514	1.11	0.3849	0.95	0.8015
45-54	1.21	0.2572	0.98	0.8617	1.12	0.4459
55-64	0.94	0.7529	0.89	0.1510	0.84	0.1750
≥65(參考組)						
都市化程度						
低度(參考組)						
中度	0.65	0.1530	0.86	0.3035	1.35	0.1658
高度	0.90	0.7255	0.99	0.9284	1.44	0.0927
職業別						
白領(參考組)						
藍領	1.16	0.2923	1.04	0.5755	0.87	0.2120
其他	1.52	0.0594	1.03	0.7833	1.05	0.7616
復健						
否(參考組)						
是	0.92	0.5455	1.18	0.0108	0.97	0.7717
糖尿病						
否(參考組)						
是	1.23	0.2061	1.16	0.0397	1.14	0.2531
高血壓						
否(參考組)						
是	1.52	0.0050	0.98	0.7907	1.09	0.4632
高血脂						
否	1.20	0.3523	1.09	0.2592	1.08	0.5395

	出血性		缺血性		其他	
	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value	Rates ratio	p-value
是(參考組)						
抗血小板藥						
否	1.12	0.4413	0.97	0.7041	0.98	0.8344
是(參考組)						
抗擬血藥						
否(參考組)						
是	1.00	0.9927	1.10	0.4634	0.86	0.5483
降血脂藥						
否(參考組)						
是	1.05	0.8370	0.98	0.7928	1.02	0.8882
低收入戶						
否(參考組)						
是	3.21	0.0584	1.21	0.6116	2.11	0.0682
住院天數	1.01	0.0003	1.01	0.0040	1.00	0.5849

* Rates ratio：根據負二項迴歸(negative binomial regression)所估計出之 rates ratio

表 A-11、初中風一年內有無使用中醫者其中醫就醫費用之影響因子

	$\exp(\beta)$	p-value
二次中風		
否(參考組)		
是	1.19	0.0044
性別		
女性(參考組)		
男性	1.06	0.3455
年齡		
20-44	1.16	0.1613
45-54	1.01	0.8989
55-64	0.91	0.1945
≥65(參考組)		
初中風型態		
出血性	1.14	0.1671
缺血性	1.03	0.6944
其他(參考組)		
都市化程度		
低度(參考組)		
中度	0.99	0.9559
高度	1.12	0.3996
職業別		
白領(參考組)		
藍領	1.04	0.5458
其他	1.16	0.1172
復健		
否(參考組)		
是	1.20	0.0018
糖尿病		
否(參考組)		
是	1.18	0.0097
高血壓		
否(參考組)		
是	1.09	0.2344
高血脂		

	$\exp(\beta)$	p-value
否	1.13	0.0881
是(參考組)		
抗血小板藥		
否(參考組)		
是	1.07	0.3260
抗擬血藥		
否(參考組)		
是	1.04	0.7378
降血脂藥		
否(參考組)		
是	1.03	0.7045
低收入戶		
否(參考組)		
是	1.79	0.0479
住院天數	1.01	0.0001

* 費用經過自然對數(natural log-transformation)轉換

表 A-12、不同性別下初中風一年內有無使用中醫者其中醫就醫費用之影響因子

	女性		男性	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
二次中風				
否(參考組)				
是	1.05	0.5893	1.34	0.0008
年齡				
20-44	1.10	0.5336	1.30	0.0693
45-54	0.91	0.3846	1.18	0.1726
55-64	0.84	0.0750	1.02	0.8354
≥65(參考組)				
初中風型態				
出血性	0.91	0.4936	1.42	0.0096
缺血性	0.91	0.3094	1.22	0.0614
其他(參考組)				
都市化程度				
低度(參考組)				
中度	1.05	0.8043	0.92	0.6462
高度	1.29	0.1509	0.92	0.6677
職業別				
白領(參考組)				
藍領	1.05	0.5807	1.04	0.7006
其他	0.78	0.1252	1.50	0.0009
復健				
否(參考組)				
是	1.29	0.0016	1.11	0.1985
糖尿病				
否(參考組)				
是	1.14	0.1509	1.24	0.0184
高血壓				
否(參考組)				
是	1.15	0.1593	1.03	0.7473
高血脂				
否	1.14	0.1986	1.10	0.3370
是(參考組)				

	女性		男性	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
抗血小板藥				
否(參考組)				
是	0.99	0.9171	1.14	0.1801
抗擬血藥				
否(參考組)				
是	1.04	0.8327	0.97	0.8452
降血脂藥				
否(參考組)				
是	0.93	0.4890	1.18	0.1457
低收入戶				
否(參考組)				
是	1.85	0.1364	1.66	0.2189
住院天數	1.01	0.0015	1.01	0.0104

* 費用經過自然對數(natural log-transformation)轉換

表 A-13、不同年齡層下初中風一年內有無使用中醫者其中醫就醫費用之影響因子

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
二次中風								
否(參考組)								
是	1.98	0.0016	0.89	0.4605	1.07	0.5963	1.26	0.0079
性別								
女性(參考組)								
男性	1.00	0.9866	1.21	0.1740	1.10	0.3953	0.95	0.5720
初中風型態								
出血性	1.20	0.4625	1.13	0.5502	1.08	0.6936	1.17	0.3053
缺血性	1.16	0.5231	1.00	0.9991	0.99	0.9398	1.07	0.4982
其他(參考組)								
都市化程度								
低度(參考組)								
中度	0.66	0.4206	1.23	0.5825	0.89	0.6708	1.00	0.9848
高度	0.82	0.6884	1.22	0.5846	0.97	0.9078	1.20	0.3043
職業別								
白領(參考組)								
藍領	0.90	0.5778	0.94	0.6733	1.00	0.9884	1.18	0.1235
其他	0.80	0.4702	0.82	0.4787	0.80	0.4367	1.48	0.0015
復健								
否(參考組)								
是	1.22	0.2698	1.28	0.0777	1.22	0.0834	1.12	0.1710
糖尿病								
否(參考組)								
是	1.15	0.6559	1.48	0.0139	1.32	0.0194	1.05	0.5950
高血壓								

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
否(參考組)								
是	1.27	0.2493	1.00	0.9921	1.15	0.3048	1.04	0.7488
高血脂								
否	1.06	0.8349	1.38	0.0550	1.15	0.2818	1.10	0.3726
是(參考組)								
抗血小板藥								
否(參考組)								
是	0.81	0.3855	0.85	0.2766	1.27	0.0668	1.11	0.3078
抗擬血藥								
否(參考組)								
是	1.27	0.5974	1.44	0.2568	1.04	0.8671	0.95	0.7821
降血脂藥								
否(參考組)								
是	0.89	0.6876	1.06	0.7668	0.91	0.4922	1.14	0.2755
低收入戶								
否(參考組)								
是	2.18	0.2713	2.79	0.0919	2.12	0.2798	1.01	0.9835
住院天數	1.01	0.0327	1.01	0.1004	1.01	0.0486	1.01	0.0993

*費用經過自然對數(natural log-transformation)轉換

表 A-14、不同初中風型態下初中風一年內有無使用中醫者其中醫就醫費用之影響因子

	出血性		缺血性		其他	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
二次中風						
否(參考組)						
是	1.19	0.2747	1.20	0.0180	1.13	0.3242
性別						
女性(參考組)						
男性	1.10	0.5241	1.12	0.1279	0.87	0.2274
年齡						
20-44	1.57	0.0473	1.15	0.3131	0.95	0.8266
45-54	1.18	0.3989	0.96	0.7464	0.98	0.9111
55-64	0.93	0.7130	0.91	0.2774	0.87	0.3356
≥65(參考組)						
都市化程度						
低度(參考組)						
中度	0.71	0.3362	0.88	0.4513	1.37	0.1920
高度	1.03	0.9390	0.96	0.8224	1.41	1.1499
職業別						
白領(參考組)						
藍領	1.41	0.0272	1.04	0.6141	0.82	0.1228
其他	2.23	0.0019	1.09	0.4910	0.92	0.6475
復健						
否(參考組)						
是	0.99	0.9345	1.30	0.0004	1.04	0.7500
糖尿病						
否(參考組)						
是	1.49	0.0287	1.15	0.0734	1.09	0.5194
高血壓						
否(參考組)						
是	1.50	0.0216	1.01	0.9152	1.04	0.7981
高血脂						
否	1.12	0.5876	1.17	0.0912	1.06	0.6656
是(參考組)						
抗血小板藥						
否(參考組)						
是	1.11	0.5363	1.06	0.5167	1.11	0.4211
抗擬血藥						
否(參考組)						

	出血性		缺血性		其他	
	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value	$\exp(\beta)$	p-value
是	1.75	0.3170	1.05	0.7419	0.89	0.6844
降血脂藥						
否(參考組)						
是	0.83	0.4620	1.08	0.4631	1.02	0.9222
低收入戶						
否(參考組)						
是	3.85	0.0641	1.07	0.8689	2.72	0.0376
住院天數	1.01	0.0173	1.01	0.0028	1.01	0.5665

*費用經過自然對數(natural log-transformation)轉換

B.中風病人針灸療效評估及其相關因子之分析

表 B-1、初中風病人有無二次中風之人口基本人口基本學、共病症、用藥及復健等分布情形

	二次中風		p-value
	否(N=3683) N(%)	是(N=1906) N(%)	
性別			0.0011
女性	1711(46.46)	798(41.87)	
男性	1972(53.54)	1108(58.13)	
年齡			<0.0001
20-44	427(11.59)	95(4.98)	
45-54	603(16.37)	226(11.86)	
55-64	841(22.83)	445(23.35)	
≥65	1812(49.20)	1140(59.81)	
初中風型態			0.0001
出血性	594(16.13)	264(13.85)	
缺血性	2159(58.62)	1230(64.53)	
其他	930(25.25)	412(21.62)	
職業別			<0.0001
白領	1460(39.64)	648(34.00)	
藍領	1752(47.57)	967(50.37)	
其他	471(12.79)	291(15.27)	
都市化程度			0.0643
低度	217(5.89)	133(6.98)	
中度	1276(34.65)	696(36.52)	
高度	2190(59.46)	1077(56.51)	
糖尿病			0.7731
否	2472(67.12)	1272(66.74)	
是	1211(32.88)	634(33.26)	
高血壓			0.0125
否	931(25.28)	541(28.38)	
是	2752(74.72)	1365(71.62)	
高血脂			<0.0001
否	2414(65.54)	1845(77.91)	

	二次中風		p-value
	否(N=3683) N(%)	是(N=1906) N(%)	
是	1269(34.46)	421(22.09)	
抗血小板藥			<0.0001
否	1289(35.00)	858(45.02)	
是	2394(65.00)	1048(54.98)	
抗擬血藥			0.0139
否	3494(94.33)	1836(96.33)	
是	189(5.67)	70(3.67)	
降血脂藥			<0.0001
否	2653(72.03)	1622(85.10)	
是	1030(27.97)	284(14.90)	
復健			0.0015
否	2016(54.47)	1128(59.18)	
是	1667(45.26)	778(40.82)	
針灸使用			<0.0001
否	2904(78.85)	1690(88.67)	
低度	383(10.40)	115(6.03)	
高度	396(10.75)	101(5.30)	
住院天數			
平均數(標準差)	6.55(11.32)	9.03(14.83)	<0.0001
中醫			0.0266
否	2529(68.67)	1253(65.74)	
是	1154 (31.33)	653(34.26)	

表 B-2、初中風病人有無使用針灸與其發生二次中風之校正(Adjusted) Hazard Ratio

	二次中風	
	HR.	95% CI of HR.
針灸使用		
否	1.00	(參考組)
低度	0.65	(0.53,0.78)
高度	0.56	(0.46,0.69)
性別		
女性	1.00	(參考組)
男性	1.15	(1.05,1.27)
年齡		
20-44	1.00	(參考組)
45-54	1.92	(1.51,2.45)
55-64	2.63	(2.09,3.30)
≥65	2.87	(2.30,3.57)
初中風型態		
出血性	0.87	(0.74,1.03)
缺血性	1.26	(1.13,1.42)
其他	1.00	(參考組)
都市化程度		
低度	1.03	(0.85,1.24)
中度	0.97	(0.88,1.07)
高度	1.00	(參考組)
職業別		
白領	0.91	(0.79,1.05)
藍領	1.00	(0.87,1.15)
其他	1.00	(參考組)
復健		
否	1.00	(參考組)
是	0.87	(0.80,0.96)
糖尿病		
否	1.00	(參考組)
是	1.16	(1.05,1.28)
高血壓		
否	1.00	(參考組)
是	0.84	(0.75,0.93)

	二次中風	
	HR.	95% CI of HR.
高血脂		
否	1.00	(參考組)
是	0.81	(0.72,0.92)
抗血小板藥		
否	1.00	(參考組)
是	0.62	(0.56,0.69)
抗擬血藥		
否	1.00	(參考組)
是	0.77	(0.60,0.97)
降血脂藥		
否	1.00	(參考組)
是	0.63	(0.55,0.73)
住院天數	1.01	(1.009,1.014)

HR.=hazard ratio

表 B-3、不同性別下初中風病人有無使用針灸與其發生二次中風之校正 (Adjusted) Hazard Ratio

	女性		男性	
	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.
針灸使用				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
低度	0.50	(0.37,0.68)	0.79	(0.62,1.01)
高度	0.48	(0.35,0.66)	0.65	(0.50,0.84)
年齡				
20-44	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
45-54	1.88	(1.22,2.90)	1.99	(1.48,2.67)
55-64	2.68	(1.79,4.03)	2.67	(2.03,3.52)
≥65	3.11	(2.10,4.62)	2.77	(2.12,3.62)
初中風型態				
出血性	0.86	(0.66,1.12)	0.86	(0.70,1.06)
缺血性	1.31	(1.11,1.56)	1.21	(1.04,1.41)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
都市化程度				
低度	1.11	(0.85,1.46)	0.97	(0.75,1.25)
中度	1.01	(0.86,1.18)	0.94	(0.82,1.08)
高度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
職業別				
白領	0.85	(0.65,0.11)	0.90	(0.75,1.07)
藍領	0.92	(0.71,1.19)	1.02	(0.86,1.20)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.92	(0.79,1.06)	0.85	(0.75,0.96)
糖尿病				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.29	(1.11,1.50)	1.05	(0.92,1.21)
高血壓				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.80	(0.67,0.95)	0.85	(0.75,0.98)

	女性		男性	
	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.
高血脂				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.25	(1.04,1.51)	1.21	(1.03,1.43)
抗血小板藥				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.67	(0.57,0.78)	0.59	(0.52,0.68)
抗擬血藥				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.68	(0.47,0.99)	0.83	(0.61,1.14)
降血脂藥				
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.63	(0.51,0.78)	0.62	(0.51,0.76)
住院天數	1.01	(1.006,1.02)	1.01	(1.008,1.014)

表 B-4、不同年齡層下初中風病人有無使用針灸與其發生二次中風之校正(Adjusted) Hazard Ratio

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.
針灸使用								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
低度	0.51	(0.23,1.10)	0.42	(0.23,0.78)	0.75	(0.53,1.05)	0.68	(0.52,0.88)
高度	0.13	(0.03,0.54)	0.46	(0.28,0.78)	0.52	(0.34,0.80)	0.70	(0.54,0.91)
性別								
女性	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
男性	1.10	(0.69,1.73)	1.32	(0.99,1.74)	1.22	(0.99,1.49)	1.06	(0.94,1.20)
初中風型態								
出血性	1.33	(0.68,2.57)	1.28	(0.84,1.94)	0.77	(0.54,1.10)	0.76	(0.61,0.95)
缺血性	1.79	(0.96,3.33)	1.34	(0.95,1.90)	1.48	(1.16,1.90)	1.15	(1.00,1.33)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
都市化程度								
低度	1.78	(0.77,4.11)	1.28	(0.74,2.22)	1.28	(0.87,1.88)	0.87	(0.69,1.11)
中度	1.11	(0.70,1.77)	0.99	(0.74,1.34)	0.97	(0.79,1.19)	0.95	(0.83,1.09)
高度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
職業別								
白領	1.10	(0.54,2.26)	0.99	(0.61,1.63)	0.79	(0.51,1.20)	0.87	(0.73,1.03)
藍領	0.93	(0.45,1.92)	1.25	(0.78,2.02)	0.81	(0.54,1.23)	0.99	(0.84,1.17)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.82	(0.52,1.30)	1.00	(0.78,1.32)	0.81	(0.66,0.99)	0.88	(0.78,0.99)
糖尿病								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.33	(0.73,2.44)	1.26	(0.93,1.70)	1.25	(1.02,1.54)	1.08	(0.95,1.23)

	20-44 歲		45-54 歲		55-64 歲		≥65 歲	
	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.	HR.	95% CI of HR.
高血壓								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.39	(0.88,2.22)	1.08	(0.79,1.49)	0.81	(0.65,1.01)	0.73	(0.64,0.84)
高血脂								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.20	(0.67,2.16)	1.51	(1.08,2.11)	1.01	(0.70,1.73)	1.30	(1.10,1.54)
抗血小板藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.03	(0.61,1.75)	0.94	(0.70,1.26)	0.65	(0.52,0.81)	0.54	(0.47,0.61)
抗擬血藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.93	(0.28,3.07)	0.43	(0.16,1.18)	1.10	(0.70,1.73)	0.70	(0.51,0.95)
降血脂藥								
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.54	(0,24,1.19)	0.58	(0.39,0.86)	0.53	(0.40,0.70)	0.69	(0.57,0.84)
住院天數	1.02	(1.01,1.03)	1.009	(1.00,1.01)	1.02	(1.01,1.03)	1.009	(1.006,1.01)

表 B-5、不同初中風型態下初中風病人有無使用針灸與其發生二次中風之校正(Adjusted) Hazard Ratio

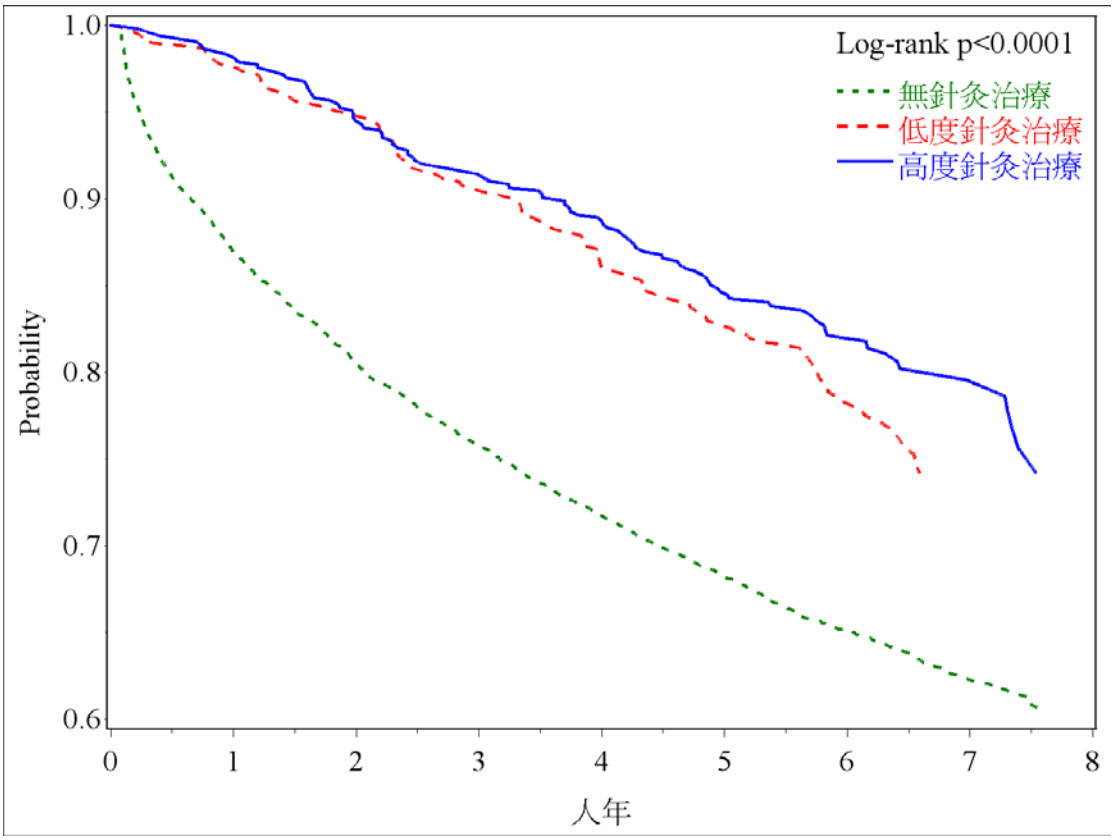
	出血性		缺血性		其他	
	HR.	95% CI	HR.	95% CI	HR.	95% CI
針灸使用						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
低度	0.36	(0.18,0.73)	0.70	(0.56,0.87)	0.67	(0.44,1.00)
高度	0.50	(0.30,0.84)	0.56	(0.43,0.72)	0.63	(0.40,0.98)
性別						
女性	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
男性	1.28	(0.99,1.66)	1.09	(0.97,1.22)	1.28	(1.05,1.57)
年齡						
20-44	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
45-54	2.17	(1.38,3.39)	1.75	(1.26,2.45)	2.31	(1.23,4.32)
55-64	2.05	(1.32,3.19)	2.67	(1.96,3.64)	3.26	(1.80,5.90)
≥65	2.46	(1.62,3.73)	2.62	(1.94,3.54)	4.41	(2.48,7.82)
都市化程度						
低度	1.14	(0.70,1.86)	0.85	(0.67,1.10)	1.59	(1.12,2.26)
中度	1.00	(0.76,1.31)	0.99	(0.87,1.12)	0.94	(0.75,1.17)
高度	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
職業別						
白領	0.95	(0.64,1.41)	0.84	(0.71,1.01)	1.13	(0.82,1.56)
藍領	1.02	(0.70,1.50)	0.94	(0.79,1.11)	1.17	(0.86,1.58)
其他	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
復健						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.07	(0.83,1.38)	0.90	(0.80,1.01)	0.70	(0.57,0.87)
糖尿病						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.07	(0.78,1.47)	1.14	(1.01,1.29)	1.20	(0.96,1.49)
高血壓						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.92	(0.69,1.22)	0.81	(0.71,0.92)	0.85	(0.68,1.07)
高血脂						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	1.33	(0.90,7.96)	1.22	(1.05,1.42)	1.23	(0.95,1.60)
抗血小板藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.62	(0.45,0.83)	0.60	(0.53,0.68)	0.69	(0.56,0.88)

	出血性		缺血性		其他	
	HR.	95% CI	HR.	95% CI	HR.	95% CI
抗擬血藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.54	(0.13,2.18)	0.79	(0.61,1.04)	0.65	(0.35,1.23)
降血脂藥						
否	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)	1.00	(參考組)
是	0.52	(0.30,0.90)	0.64	(0.54,0.76)	0.62	(0.45,0.86)
住院天數	1.008	(1.00,1.012)	1.01	(1.008,1.014)	1.02	(1.01,1.03)

表 B-6、初中風病人有無使用針灸、西藥與復健與其發生二次中風之校正 (Adjusted) Hazard Ratio

	二次中風	
	HR.	95% CI of HR.
治療方式組合		
三者皆無	1.00	(參考組)
復健	0.91	(0.78,1.06)
西藥	0.50	(0.44,0.57)
復健和西藥	0.42	(0.36,0.49)
針灸	0.27	(0.17,0.44)
針灸和復健	0.28	(0.19,0.41)
針灸和西藥	0.37	(0.29,0.49)
三者皆有	0.36	(0.29,0.45)
性別		
女性	1.00	(參考組)
男性	1.16	(1.05,1.27)
年齡		
20-44	1.00	(參考組)
45-54	1.89	(1.48,2.41)
55-64	2.52	(2.01,3.17)
≥65	2.84	(2.28,3.53)
初中風型態		
出血性	0.86	(0.73,1.01)
缺血性	1.26	(1.13,1.42)
其他	1.00	(參考組)
都市化程度		
低度	1.04	(0.86,1.25)
中度	0.98	(0.88,1.08)
高度	1.00	(參考組)
職業別		
白領	0.90	(0.78,1.04)
藍領	0.99	(0.86,1.14)

	二次中風	
	HR.	95% CI of HR.
其他	1.00	(參考組)
糖尿病		
否	1.00	(參考組)
是	1.13	(1.02,1.25)
高血壓		
否	1.00	(參考組)
是	0.84	(0.76,0.94)
高血脂		
否	1.00	(參考組)
是	1.41	(1.25,1.58)
住院天數	1.01	(1.009,1.014)



*使用 2005 年承保抽樣百萬歸人檔

圖 1、2000-2002 年初中風病人針灸使用情形與未發生二次中風之逐年(人年)比例曲線(Kaplan-Meier curve)

表 B-7、初中風病人有無使用針灸之人口基本學、共病症、西藥與復健等分布情形

	針灸				
	否 (N =7284)		是 (N =1723)		
	N	(%)	N	(%)	p-value
二次中風					<0.0001
否	4606	(63.23)	1263	(73.30)	
是	2678	(85.34)	460	(26.70)	
性別					0.0294
女性	3041	(41.75)	769	(44.63)	
男性	4243	(58.25)	954	(55.37)	
年齡, 年					<0.0001
20-44	370	(5.08)	161	(9.34)	
45-54	807	(11.08)	346	(20.08)	
55-64	1325	(18.19)	414	(24.03)	
≥65	4785	(65.65)	802	(46.55)	
年齡, 年	68.33±12.68		62.07±12.55		<0.0001
糖尿病					0.0513
否	4868	(66.83)	1109	(64.36)	
是	2416	(33.17)	614	(35.64)	
高血壓					<0.0001
否	2245	(30.82)	319	(18.51)	
是	5039	(69.18)	1404	(81.49)	
高血脂					<0.0001
否	5551	(76.21)	1040	(60.36)	
是	1733	(23.79)	683	(39.64)	
抗血小板藥					<0.0001
否	2511	(34.47)	395	(22.93)	
是	4773	(65.53)	1328	(77.07)	
抗擬血藥					<0.0001
否	6932	(95.17)	1598	(92.75)	

	針灸				
	否 (N =7284)		是 (N =1723)		
	N	(%)	N	(%)	p-value
是	352	(4.83)	125	(7.25)	
降血脂藥					<0.0001
否	5624	(77.21)	1120	(65.00)	
是	1660	(22.79)	603	(35.00)	
復健					<0.0001
否	4425	(60.75)	631	(36.62)	
是	2859	(39.25)	1092	(63.38)	
初中風型態					0.0250
出血性	1120	(15.38)	310	(17.99)	
缺血性	4519	(62.04)	1045	(60.65)	
其他	1645	(22.58)	368	(21.36)	

表 B-8、初中風病人有無使用針灸與其中風嚴重度之分布情形

	針灸		
	否(N=7284)	是(N=1723)	p-value
	N (%)	N (%)	
住院天數，平均數(標準差)	8.63(6.84)	8.67(7.00)	0.8152
住院天數，天			0.7000
第 1 四分位 (0~4)	1575(21.62)	389(22.58)	
第 2 四分位 (4~6)	1402(19.25)	333(19.33)	
第 3 四分位 (6~11)	2304(31.63)	522(30.30)	
第 4 四分位 (11~29)	2003(27.50)	479(27.80)	
住院費用, 平均數(標準差)	39040.26(57822.83)	38727.21(55348.18)	0.8342
住院費用, NTD			0.9049
第 1 四分位 (1,121~13,136)	1817(24.95)	434(25.19)	
第 2 四分位 (13,136~21,742)	1832(25.15)	420(24.38)	
第 3 四分位 (21,742~39,633)	1813(24.89)	439(25.48)	
第 4 四分位 (39,633~1,214,610)	1822(25.01)	430(24.96)	
ICU 病房			0.1596
否	6162(84.60)	1434(83.23)	
是	1122(15.40)	289(16.77)	
手術			0.8413
否	6979(95.77)	1652(95.88)	
是	308(4.23)	71(4.12)	
出血性			0.0075
否	6164(84.62)	1413(82.01)	
是	1120(15.38)	310(17.99)	
缺血性			0.2856
否	2765(37.96)	678(39.35)	
是	4519(62.04)	1045(60.65)	
蜘蛛膜下腔出血			0.1416
否	7165(98.37)	1686(97.85)	

	針灸		
	否(N=7284)	是(N=1723)	p-value
	N (%)	N (%)	
是	119(1.63)	37(2.15)	
腦內出血			0.0243
否	6283(86.26)	1450(84.16)	
是	1001(13.74)	273(15.84)	
缺血性			0.2856
否	2765(37.96)	678(39.35)	
是	4519(62.04)	1045(60.65)	
暫時性腦部缺氧			0.8076
否	6172(84.73)	1464(84.97)	
是	1112(15.27)	259(15.03)	
腦血管疾病後期影響			0.0065
否	7244(99.45)	1722(99.94)	
是	40(0.55)	1(0.06)	

表 B-9、初中風病人是否發生二次中風之針灸、人口基本學、共病症、西藥及復健等分布情形

	二次中風				p-value
	否 N = 5869		是 N = 3138		
性別	n	(%)	n	(%)	0.0857
女性	2521	(42.95)	1289	(41.08)	
男性	3348	(57.05)	1849	(58.92)	
年齡, 年					<0.0001
20-44	405	(6.90)	126	(4.02)	
45-54	811	(13.82)	342	(10.90)	
55-64	1137	(19.37)	602	(19.18)	
≥65	3516	(59.91)	2068	(65.90)	
職業別					0.1058
白領	1836	(31.28)	914	(29.13)	
藍領	2989	(50.93)	1651	(52.61)	
其他	1044	(17.79)	573	(18.26)	
都市化程度					0.1963
低度	379	(6.46)	228	(7.27)	
中度	2277	(38.80)	1242	(39.58)	
高度	3213	(54.75)	1668	(53.15)	
糖尿病					0.4090
否	3877	(66.06)	2100	(66.92)	
是	1992	(33.94)	1038	(33.08)	
高血壓					0.0194
否	1623	(27.65)	941	(29.99)	
是	4246	(72.35)	2197	(70.01)	
高血脂					<0.0001
否	4113	(70.08)	2478	(78.97)	
是	1756	(29.92)	66	(21.03)	
抗小板藥					0.6898
否	1902	(32.41)	1004	(31.99)	

	二次中風				p-value
	否		是		
	N = 5869		N = 3138		
是	3967	(67.59)	2134	(68.01)	
抗擬血藥					0.9538
否	5559	(94.72)	2971	(94.68)	
是	310	(5.28)	167	(5.32)	
降血脂藥					<0.0001
否	4172	(71.09)	2572	(81.96)	
是	1697	(28.91)	566	(18.04)	
復健					<0.0001
否	3205	(54.61)	1851	(58.99)	
是	2664	(45.39)	1287	(41.01)	
針灸使用					<0.0001
否	4606	(78.48)	2678	(85.34)	
低度	587	(10.00)	222	(7.07)	
高度	676	(11.52)	238	(7.58)	

表 B-10、初中風病人針灸使用情形與其二次中風之發生率(Incidence)和校正 Hazard Ratio,包括 Full model 和性別、年齡、初中風型態、復健、西藥、手術、ICU 病房等之分層分析

	針灸使用*														
	否					低度					高度					p for trend
	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	
Full model†	7284	2678	98.5	1.00	(參考組)	809	222	49.4	0.63	(0.55-0.72)	914	238	45.1	0.59	(0.52-0.68)	<0.0001
分層分析																
性別‡																
女性	3041	1112	96.6	1.00	(參考組)	365	97	45.6	0.61	(0.50-0.76)	404	80	32.6	0.48	(0.38-0.61)	<0.0001
男性	4243	1566	99.9	1.00	(參考組)	444	125	52.5	0.64	(0.53-0.77)	510	158	55.0	0.68	(0.58-0.81)	<0.0001
年齡，年§																
20-44	370	100	53.4	1.00	(參考組)	68	9	19.8	0.45	(0.23-0.91)	93	17	26.8	0.49	(0.29-0.83)	0.0025
45-54	807	262	66.6	1.00	(參考組)	153	40	44.7	0.72	(0.51-1.00)	193	40	32.3	0.54	(0.38-0.76)	0.0001
55-64	1325	503	86.8	1.00	(參考組)	201	51	41.9	0.54	(0.40-0.72)	213	48	38.5	0.48	(0.36-0.65)	<0.0001
≥65	4782	1813	110.7	1.00	(參考組)	387	122	60.3	0.67	(0.56-0.80)	415	133	58.5	0.67	(0.56-0.80)	<0.0001
初中風型態																
出血性	1120	383	91.5	1.00	(參考組)	127	36	51.6	0.68	(0.48-0.96)	183	48	44.6	0.61	(0.45-0.83)	
缺血性	4519	1727	106.5	1.00	(參考組)	490	147	56.3	0.65	(0.55-0.77)	555	158	50.8	0.62	(0.53-0.74)	
其他	1645	568	84.3	1.00	(參考組)	192	39	33.1	0.52	(0.38-0.72)	176	32	29.4	0.47	(0.33-0.68)	
復健																
否	4425	1688	114.8	1.00	(參考組)	348	89	48.4	0.55	(0.44-0.68)	283	74	48.3	0.56	(0.44-0.71)	<0.0001

	針灸使用*														
	否					低度					高度					p for trend
	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	
是	2859	990	80.1	1.00	(參考組)	461	133	50.3	0.73	(0.61-0.88)	631	164	44.1	0.65	(0.55-0.77)	<0.0001
西藥																
否	2254	821	158.2	1.00	(參考組)	167	49	71.4	0.65	(0.49-0.88)	151	35	50.7	0.47	(0.33-0.66)	<0.0001
是	5030	1857	85.4	1.00	(參考組)	642	173	46.2	0.63	(0.54-0.73)	763	203	45.4	0.62	(0.54-0.72)	<0.0001
手術																
否	6976	2591	99.8	1.00	(參考組)	779	213	49.2	0.62	(0.54-0.71)	873	225	44.8	0.58	(0.51-0.67)	<0.0001
是	308	87	72.2	1.00	(參考組)	30	9	54.8	0.94	(0.46-1.92)	41	13	58.2	0.82	(0.44-1.52)	0.5292
ICU 病房																
否	6162	2324	98.0	1.00	(參考組)	698	184	47.3	0.60	(0.51-0.70)	736	192	45.2	0.59	(0.51-0.69)	<0.0001
是	1122	354	103.6	1.00	(參考組)	111	38	65.5	0.86	(0.61-1.20)	178	46	45.0	0.65	(0.47-0.89)	0.0065

*低度: 使用次數 ≤ 中位數; 高度: 使用次數 > 中位數

†控制變項包括年齡、性別、職業別、低收入戶、都市化程度、初中風型態、糖尿病、高血壓、高血脂、抗血小板藥、抗擬血藥、降血脂藥和住院天數

‡控制變項除了性別皆和 full model 相同

§控制變項除了年齡皆和 full model 相同

控制變項除了初中風型態皆和 full model 相同

控制變項除了抗血小板藥, 抗擬血藥, 降血脂藥皆和 full model 相同

‖經過性別和年齡校正, 單位為每 1000 人年

HR：hazard ratio; CI：信賴區間

表 B-11、初中風病人中醫與針灸使用情形與其二次中風發生率(Incidence)和校正 Hazard Ratio,包括 Full model 和性別、年齡、初中風型態、復健、西藥、手術、ICU 病房等之分層分析

	中醫與針灸使用情形									
	使用中醫但無使用針灸					使用中醫且使用針灸				
	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	p-value
Full model†	2333	690	56.7	1.00	(參考組)	1723	460	47.0	0.89	(0.79-0.99)	0.0495
分層分析											
性別‡											
女性	1048	297	52.7	1.00	(參考組)	769	177	38.6	0.82	(0.68-0.99)	0.0375
男性	1285	393	60.0	1.00	(參考組)	954	283	53.8	0.94	(0.80-1.10)	0.4230
年齡，年§											
20-44	159	24	24.2	1.00	(參考組)	161	26	23.9	0.91	(0.49-1.69)	0.7747
45-54	354	88	42.2	1.00	(參考組)	346	80	37.5	0.92	(0.67-1.27)	0.6204
55-64	505	144	50.2	1.00	(參考組)	414	99	39.9	0.73	(0.56-0.95)	0.0182
≥65	1315	434	67.0	1.00	(參考組)	802	255	59.4	0.95	(0.81-1.12)	0.5404
初中風型態											
出血性	322	97	56.0	1.00	(參考組)	310	84	47.1	0.93	(0.68-1.26)	0.6317
缺血性	1353	419	60.9	1.00	(參考組)	1045	305	53.2	0.93	(0.80-1.08)	0.3372
其他	658	174	48.9	1.00	(參考組)	368	71	31.2	0.73	(0.55-0.97)	0.0281
復健											
否	1309	403	62.0	1.00	(參考組)	631	163	48.2	0.82	(0.69-0.99)	0.0408

	中醫與針灸使用情形									
	使用中醫但無使用針灸					使用中醫且使用針灸				
	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	N	Cases	發生率‖	HR	(95% CI)	p-value
是	1024	287	51.0	1.00	(參考組)	1092	297	46.7	0.97	(0.82-1.15)	0.7245
西藥											
否	534	160	71.0	1.00	(參考組)	318	84	58.8	0.89	(0.67-1.17)	0.3992
是	1799	530	53.9	1.00	(參考組)	1405	376	45.7	0.89	(0.77-1.01)	0.0779
手術											
否	2253	675	57.7	1.00	(參考組)	1652	438	46.8	0.86	(0.76-0.98)	0.0183
是	80	15	32.0	1.00	(參考組)	71	22	56.6	1.59	(0.75-3.37)	0.2252
ICU 病房											
否	2076	626	57.4	1.00	(參考組)	1434	376	46.2	0.85	(0.75-0.97)	0.0165
是	257	64	50.9	1.00	(參考組)	289	84	52.0	1.20	(0.85-1.69)	0.3092

†控制變項包括年齡、性別、職業別、低收入戶、都市化程度、初中風型態、糖尿病、高血壓、高血脂、抗血小板藥、抗擬血藥、降血脂藥和住院天數

‡控制變項除了性別皆和 full model 相同

§控制變項除了年齡皆和 full model 相同

控制變項除了初中風型態皆和 full model 相同

控制變項除了抗血小板藥，抗擬血藥，降血脂藥皆和 full model 相同

‖經過性別和年齡校正，單位為每 1000 人年

HR：hazard ratio; CI：信賴區間

表 B-12、初中風病人針灸使用情形與其二次中風校正 hazard ratios (95% 信賴區間)之逐年分析

	針灸使用												
	否				低度				高度				p for trend
	Cases	發生率	HR	(95% CI)	Cases	發生率	HR	(95% CI)	Cases	發生率	HR	(95% CI)	
年初中風後													
0-1	1225	182.4	1.00	(Reference)	54	121.8	0.77	(0.59,1.02)	38	107.3	0.67	(0.49,0.93)	0.0036
0-2	1692	143.0	1.00	(Reference)	88	83.7	0.69	(0.56,0.86)	75	84.9	0.68	(0.54,0.86)	<0.0001
0-3	1997	125.2	1.00	(Reference)	117	67.5	0.65	(0.54,0.79)	106	70.0	0.65	(0.54,0.80)	<0.0001
0-4	2230	114.8	1.00	(Reference)	144	60.6	0.65	(0.55,0.77)	130	58.7	0.62	(0.52,0.74)	<0.0001
0-5	2410	108.7	1.00	(Reference)	167	55.0	0.62	(0.53,0.73)	162	52.7	0.62	(0.53,0.73)	<0.0001
0-6	2542	104.8	1.00	(Reference)	183	51.6	0.61	(0.52,0.71)	182	47.3	0.59	(0.51,0.69)	<0.0001
0-7	2619	102.3	1.00	(Reference)	202	52.2	0.64	(0.56,0.74)	200	44.4	0.58	(0.50,0.67)	<0.0001
不限年限	2678	98.5	1.00	(Reference)	222	49.4	0.63	(0.55,0.73)	238	45.1	0.59	(0.52,0.68)	<0.0001

控制變項包括年齡、性別、職業別、低收入戶、都市化程度、初中風型態、糖尿病、高血壓、高血脂、抗血小板藥、抗擬血藥、降血脂藥和住院天數

發生率經過性別和年齡校正

表 B-13、初中風病人針灸、西藥和復健使用情形與其二次中風之發生率(Incidence)和 Hazard Ratio

針灸使用	復健	西藥	N	Cases	發生率†	HR*	(95% CI)
否	否	否	1589	585	182.0	1.00	(參考組)
否	是	否	665	236	122.9	0.76	(0.65-0.88)
否	否	是	2836	1103	97.5	0.70	(0.62-0.78)
否	是	是	2194	754	72.9	0.53	(0.47-0.59)
是	否	否	146	34	51.5	0.40	(0.28-0.57)
是	是	否	172	50	67.4	0.50	(0.37-0.66)
是	否	是	485	129	48.1	0.41	(0.34-0.50)
是	是	是	920	247	44.8	0.39	(0.33-0.45)

*控制變項包括年齡、性別、職業別、低收入戶、都市化程度、初中風型態、糖尿病、高血壓、高血脂和住院天數

†經過性別和年齡校正，單位為每 1000 人年

HR：hazard ratio; CI：信賴區間

表 B-14、初中風病人針灸、西藥和復健使用情形與其二次中風之發生率 (Incidence)和 Hazard Ratio

針灸使用	西藥	N	Cases	發生率†	HR*	(95% CI)
否	否	2254	821	158.2	1.00	(參考組)
否	是	5030	1857	85.4	0.68	(0.62-0.74)
是	否	318	84	58.8	0.49	(0.39-0.62)
是	是	1405	376	45.7	0.44	(0.38-0.50)

*控制變項包括年齡、性別、職業別、低收入戶、都市化程度、初中風型態、糖尿病、高血壓、高血脂和住院天數

†經過性別和年齡校正, 單位為每 1000 人年
HR：hazard ratio; CI：信賴區間

表 B-15、初中風病人分年有無使用針灸者其總醫療費用之比較

年	針灸	總醫療費用	p-value
1 年	否(n=7874)	128,927 (268,177)	0.5095
	是(n=877)	133,684(193,822)	
2 年	否(n=7490)	212,576(354,009)	0.5318
	是(n=1104)	218,305(272.432)	
3 年	否(n=7211)	290,095(449,863)	06950
	是(n=1251)	294,376(337,576)	
4 年	否(n=6971)	363,672(544,286)	0.3619
	是(n=1352)	376,023(436,476)	
5 年	否(n=6724)	430,568(623,348)	0.2796
	是(n=1457)	447,808(534,856)	
6 年	否(n=6550)	485,797(685,267)	0.2446
	是(n=1521)	506,706(617,904)	
7 年	否(n=6448)	526,547(734,591)	0.1890
	是(n=1560)	551,742(665,584)	
不限年限	否(n=6314)	570,266(783,120)	0.4002
	是(n=1595)	586,252(648,696)	

表 B-16、初中風病人分年有無使用針灸者其西醫醫療費用之比較

年	針灸	西醫費用	p-value
1 年	否(n=7874)	128,322 (268,192)	0.6335
	是(n=877)	124,903 (192,503)	
2 年	否(n=7490)	211,407 (353,977)	0.6121
	是(n=1104)	206,788 (270,436)	
3 年	否(n=7211)	288,418(449,838)	0.4801
	是(n=1251)	280,755 (334,955)	
4 年	否(n=6971)	361,560(544,252)	0.9244
	是(n=1352)	360,279(434,498)	
5 年	否(n=6724)	428,048 (623,264)	0.8791
	是(n=1457)	430,465 (532,695)	
6 年	否(n=6550)	482,914(685,101)	0.7749
	是(n=1521)	488,037(615,691)	
7 年	否(n=6448)	523,422 (734,388)	0.6516
	是(n=1560)	532,058(663,415)	
不限年限	否(n=6314)	566,891 (782,770)	0.9596
	是(n=1595)	565,932 (645,796)	

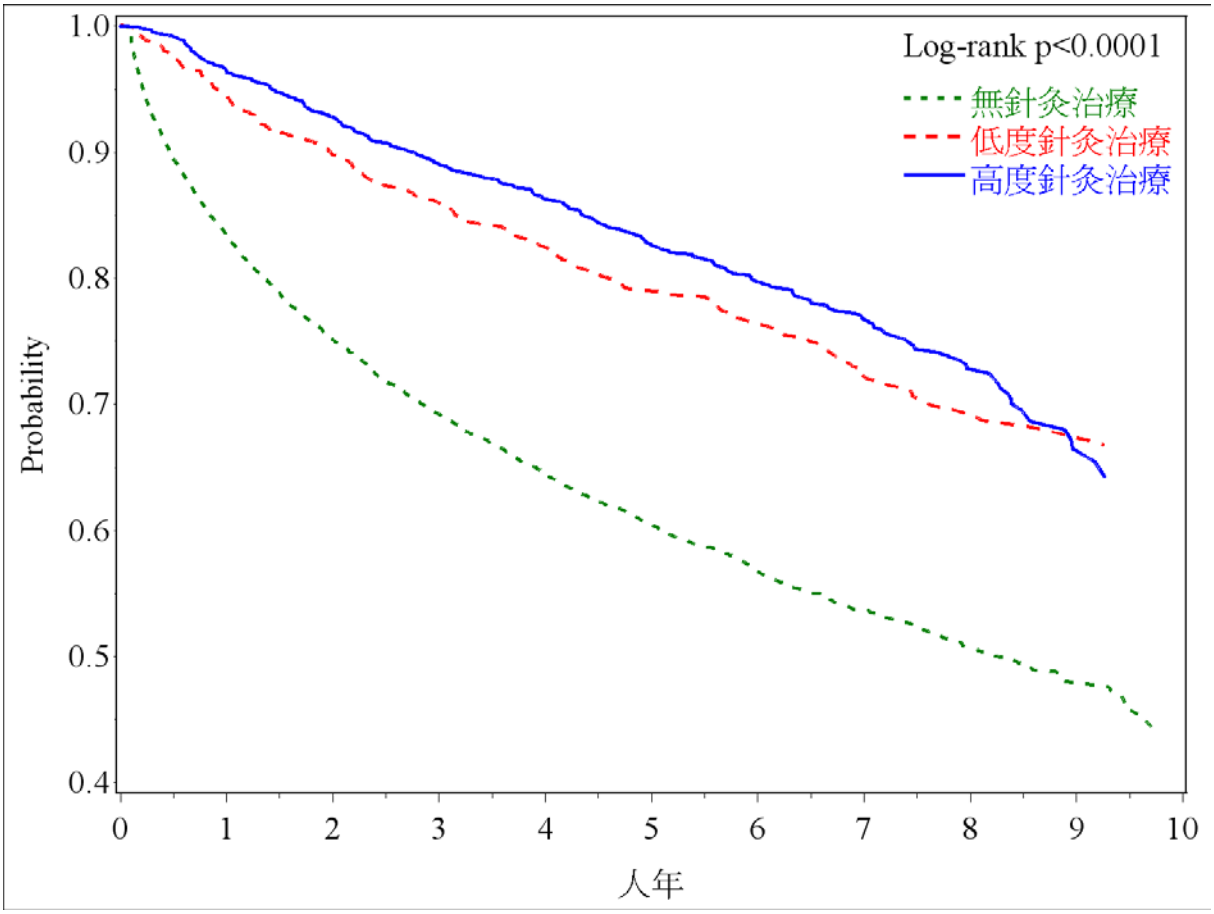
表 B-17、初中風病人分年有無使用針灸者其住院醫療費用之比較

年	針灸	住院費用	p-value
1 年	否(n=7874)	73,069(249,986)	<0.0001
	是(n=877)	47,569(171,401)	
2 年	否(n=7490)	110,219(305,684)	<0.0001
	是(n=1104)	74,196(219,778)	
3 年	否(n=7211)	145,294(372,248)	<0.0001
	是(n=1251)	96,671(241,127)	
4 年	否(n=6971)	181,134(437,883)	<0.0001
	是(n=1352)	122,555(281,522)	
5 年	否(n=6724)	211,619(482,858)	<0.0001
	是(n=1457)	145,397(321,377)	
6 年	否(n=6550)	235,770(509,331)	<0.0001
	是(n=1521)	165,000(373,729)	
7 年	否(n=6448)	253,971(528,971)	<0.0001
	是(n=1560)	181,827(409,830)	
不限年限	否(n=6314)	274,354(542,484)	<0.0001
	是(n=1595)	187,814(366,028)	

表 B-18、初中風病人分年有無使用針灸者其急診及住院醫療費用之比較

年	針灸	急診及住院費用	p-value
1 年	否(n=7874)	76,253(251,571)	<0.0001
	是(n=877)	50,606(172,943)	
2 年	否(n=7490)	115,515(308,217)	<0.0001
	是(n=1104)	79,267(223,051)	
3 年	否(n=7211)	152,591(375,592)	<0.0001
	是(n=1251)	103,443(245,500)	
4 年	否(n=6971)	190,391(442,339)	<0.0001
	是(n=1352)	131,324(287,407)	
5 年	否(n=6724)	222,705(488,332)	<0.0001
	是(n=1457)	156,314(329,029)	
6 年	否(n=6550)	248,533(515,663)	<0.0001
	是(n=1521)	177,541(381,941)	
7 年	否(n=6448)	268,036(535,911)	<0.0001
	是(n=1560)	195,611(418,870)	
不限年限	否(n=6314)	289,828(550,033)	<0.0001
	是(n=1595)	203,041(377,141)	

圖 2、2000-2004 年初中風病人針灸使用情形與未發生二次中風之逐年(人年)比例曲線(Kaplan-Meier curve)



*使用 2000 年承保抽樣百萬歸人檔

C.針灸治療腦中風實證醫學評讀表

表 C-1、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	1
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-認知受損與生活品質
C. 文獻來源(Source)	J Altern Complement Med
D. 出版日期(Date)	2009 Oct
E. 卷(期):頁(Page)	15 (10): 1067-1073
F. 作者(Authors)	Chou P, Chu H, Lin JG
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	電針治療對台灣中風患者的認知受損與生活品質之療效 Effects of electroacupuncture treatment on impaired cognition and quality of life in Taiwanese stroke patients
J. 目的(Purpose)	研究電針對中風病人認知功能與健康相關生活品質的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：年齡介於 50~90 歲，中風發病超過 1 年，且 MMSE (Mini-Mental State Examination)得分小於 24 者，共有 38 個認知受損的個案，其中有 33 位完成研究。 ■ 目標穴位：內關(PC6，Neiguan；手厥陰心包經)與神門(HT7，Shenmen；手少陰心經) ■ 分組：治療組 17 人，對照組 16 人，每組均接受常規復健治療。 1.治療組：於目標穴位電針刺激 20 分鐘，每週兩次，持續 8 週。 2.對照組：無額外處理。 ■ 評估項目：於受試前及治療 8 週後，以洛文斯坦職能治療認知評估-老年版(LOTCA-G)、SF-36 生活品質問卷及中風特定生活品質問卷(SS-QOL）進行療效評估。
L. 結論(Conclusion)	■ 電針治療後，發現治療組於 LOTCA-G、SF-36 與 SS-QOL 評估結果中均有顯著改善，細項分別為：

	1. LOTCA-G 評估：方向、認知、知覺、現實感及注意力。 2. SF-36 評估：RP(因身體生理問題角色受限；role limitation due to physical problems)、VT(活力；vitality)、SF（社會功能；social functioning）、RE（因情緒問題角色受限；role limitation due to emotional problems、MH(心理健康；mental health）。 3. SS-QOL 評估：中風特定生活品質。 ■ 確認電針對中風患者的認知及生活品質具有正面療效。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.685
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	為增進中風病人的認知功能與生活品質，針灸值得在未來進行大規模的推廣與研究。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/05

表 C-2、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	2
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-失眠
C. 文獻來源(Source)	Am J Chin Med
D. 出版日期(Date)	2009
E. 卷(期):頁(Page)	37(6):1013-1021
F. 作者(Authors)	Lee SY, Baek YH, Park SU, Moon SK, Park JM, Kim YS, Jung WS
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	於神門及內關穴進行皮內針灸以降低交感神經的活性，改善中風病人的失眠問題：隨機臨床試驗 Intradermal acupuncture on Shenmen and Neiguan acupoints improves insomnia in stroke patients by reducing the sympathetic nervous activity: a randomized clinical trial
J. 目的(Purpose)	研究皮內針灸對中風後失眠的病人之療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：52 個中風後失眠的住院病人。 ■ 目標穴位：神門(HT7，Shenmen；手少陰心經)及內關(PC6，Neiguan；手厥陰心包經) ■ 分組：隨機分成 2 組，均以膠布固定針於雙手之目標穴位，連續 3 天。 1. 實際皮內針灸組(RA 組；27 人)：於目標穴位接受皮內針灸。 2. 偽針組(SA 組；25 人)：於同穴位接受偽針(不刺穿皮膚)。 ■ 評估項目：於試驗前與治療 3 天後以失眠嚴重指數(ISI)及雅典失眠量表(AIS) 進行評估；另針對血壓及心跳變異率進行 24 小時的監測。
L. 結論(Conclusion)	■ 經失眠相關 ISI 及 AIS 量表評估後， RA 組的失眠情形較 SA 組有顯著改善。 ■ RA 組較 SA 組的夜間血壓不降總數與高

	頻/低頻比率(心跳變異率)有大幅度的降低與減少，並且 RA 組在交感神經過度活化方面得到平穩。 ■ 皮內針灸神門和內關穴能降低中風患者交感神經的過度活化，進而有效治療中風所引發的失眠。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.422
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	針灸有助於中風後失眠之改善
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/05

表 C-3、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	4
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-平衡功能
C. 文獻來源(Source)	Am J Chin Med
D. 出版日期(Date)	2009 Mar
E. 卷(期):頁(Page)	37(3): 483-494
F. 作者(Authors)	Liu SY, Hsieh CL, Wei TS, Liu PT, Chang YJ, Li TC.
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸刺激改善中風病人的平衡功能：單盲對照的隨機研究 Acupuncture stimulation improves balance function in stroke patients: a single-blinded controlled, randomized study.
J. 目的(Purpose)	研究針灸對中風後平衡功能的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：30 位第一次中風的病人，梗塞位置限制於左側或右側，並且所有個案皆能步行 6 公尺。 ■ 目標穴位：百會穴(GV20，Baihui；督脈)與其前側、後側、左側、右側各 1.5 吋處的 4 點。 ■ 分組：隨機分成 2 組。每次療程 20 分鐘。 1. 實驗組(15 人)：針刺時，配合捻針並得氣（當針灸師感覺到針的阻力時，個案會感受到痠、麻、脹及沈重感）。 2. 對照組(15 人)：針刺時，不捻針且不得氣。 ■ 評估項目：於試驗前、針刺後 20 分鐘、與拔針 10 分鐘後，分別測量（1）病患重心位移範圍，(2)病人從坐姿到站姿所需時間，(3)病人步行 6 公尺所花的時間，(4)兩側下肢肌肉強度。
L. 結論(Conclusion)	■ 於實驗組，病患重心的偏移範圍減少，且與對照組相比有顯著下降之差異。 ■ 由坐姿到站姿所需時間於兩組皆下降。 ■ 實驗組的病人其麻痺側和非麻痺側的屈髖和伸膝的肌肉強度皆增強。

	■ 根據實驗結果認為針刺刺激可能引起一個快速的療效以改善中風病人的平衡功能。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.422
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	針灸可能可以改善中風後病人之平衡,惟需更大型之試驗。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/06

表 C-4、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	6
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-肌肉功能
C. 文獻來源(Source)	J Rehabil Med
D. 出版日期(Date)	2009 Apr.
E. 卷(期):頁(Page)	41(5): 312–316
F. 作者(Authors)	Yan T, Hui-Chan CW
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	急性中風患者使用經皮電刺激器刺激穴位以改善肌肉功能 Transcutaneous electrical stimulation on acupuncture points improves muscle function in subjects after acute stroke: a randomized controlled trial
J. 目的(Purpose)	研究中風後以經皮電刺激器刺激穴位降低病人痙攣和/或增強肌肉強度是否較偽刺激、標準復健更有效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：62 位中風 10 天的患者，年齡介於 45~85 歲。 ■ 目標穴位：足三里(ST36，Zusanli；足陽明胃經)、太衝(LR3，Taichong；足厥陰肝經)、陽陵泉(GB34,Yanglinguan；足少陽膽經)、崑崙(BL60，Kunlun；足太陽膀胱經) ■ 分組：隨機分為 3 組，每組均接受標準復建療程包括物理與職能治療。每次實驗療程 60 分鐘，每週 5 次，連續 3 週。 1. 經皮下電刺激器組(TES 組；19 人)：於患側下肢 4 個目標穴位進行電刺激。 2. 偽刺激組(PS 組；19 人)：與 TES 組相同電刺激條件，但電線迴路不開啟。 3. 標準復健組(SR 組；18 人)：無額外處理。 ■ 評估項目：於治療前、治療週間及中風後 8 週，測量蹠屈痙攣、腳踝肌肉強度、功能性移動。

L. 結論(Conclusion)	■ TES 組患者的正常張力百分比率、腳踝足背彎肌之肌肉強度均明顯增加，並顯著降低其肌肉共同收縮比例、足踝蹠屈痙攣。 ■ TES 組患者比 PS、SR 組提前 2~4 天開始走路。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.882
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	經皮電刺激穴位可幫助中風病人肌肉功能。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/06

表 C-5、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	7
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-痙攣狀態
C. 文獻來源(Source)	J Neurol Sci
D. 出版日期(Date)	2009 Jan.
E. 卷(期):頁(Page)	276(1-2): 143-147
F. 作者(Authors)	Zhao JG, Cao CH, Liu CZ, Han BJ, Zhang J, Li ZG, Yu T, Wang XH, Zhao H, Xu ZH
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸對中風病人痙攣狀態的療效 Effect of acupuncture treatment on spastic states of stroke patients
J. 目的(Purpose)	評估針灸對中風病人痙攣狀態的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：130 位患有痙攣偏癱的病患，平均中風 17±7 個月以內，年齡平均介於 59 ±12 歲。 ■ 目標穴位： 1. 傳統針灸治療：內關(PC6，Neiguan；手厥陰心包經)、三陰交 (SP6，Sanyinjiao；足太陰脾經)、 水溝(GV26，Shuigou；督脈)、極泉(HT1，Jiquan；手少陰心經)、尺澤(LU5，Chize；手太陰肺經)、委中(BL40，Weizhong；足太陽膀胱經)、風池(GB20，Fengchi；足少陽膽經) 2. 錐體交叉(decussation of pyramid)表面推測區：位於足太陽膀胱經之玉枕(BL9，Yuzhen)、天柱 (BL10，Tianzhu)的中間，與四周圍等距離的點。 ■ 分組：隨機分 2 組，均接受常規藥物、傳統針灸治療。每療程 20 分鐘，每天一次，連續 30 天。 1. 治療組(60 人)：除接受傳統針灸治療外，另於接受錐體交叉表面推測區之針刺刺激。

	2. 對照組(60 人)：僅接受傳統針灸治療。 ■ 評估項目：治療前後以修正式艾許沃斯氏量表(MAS)、傅格－梅爾評估量表(FMA)、巴氏量表(BI)及患側下肢臂活動肌電圖進行評估。
L. 結論(Conclusion)	■ 艾許沃斯氏量表評估結果：在試驗前後，治療組下肢臂腕關節、肘關節的評量指數明顯下降，且與對照組有顯著差異。 ■ 下肢臂治療與上肢臂治療的反應相似。上肢臂(FMA)與下肢臂(FMA)顯示相似的改善情形。 ■ 治療組的修正式艾許沃斯氏量表(全部)、巴式量表、肌電圖的 F/M 較控制組良好。 ■ 建議於錐體交叉表面推測區進行針灸，能有效降低痙攣、增加肌肉張力及偏癱痙攣側的運動神經興奮，並能改善中風病人的痙攣狀態，可提供中風病人安全而經濟的治療方式。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	2.324
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	1
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本試驗並非直接證實針灸對於中風痙攣之療效。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/07

表 C-6、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	8
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-痙攣、運動功能
C. 文獻來源(Source)	J Rehabil Res Dev
D. 出版日期(Date)	2008 Apr.
E. 卷(期):頁(Page)	45(4):587-95
F. 作者(Authors)	Liu W, Mukherjee M, Sun C, Liu H, McPeak LK
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	電針有可能幫助慢性中風患者的運動功能回復：初探性研究 Electroacupuncture may help motor recovery in chronic stroke survivors: a pilot study
J. 目的(Purpose)	對中風患者進行針灸評估其降低痙攣的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：10 位中度或重度肌肉痙攣的中風病患，平均年齡 60.1 歲。 ■ 目標穴位：手陽明大腸經之合谷(LI4，Hegu)；手太陽小腸經之後谿(SI3，Houxi)；手少陽三焦經之外關(TE5，Waiguan)；手陽明大腸經之曲池(LI11，Quchi)、手三里(LI10，Shousanli)、肩髃(LI15，Jianyu) ■ 分組：隨機交叉設計，分為針灸與強度訓練療程、強度訓練療程，每週隨機分配兩次療程，持續 6 週。 1. 針灸與強度訓練療程：電針治療 40 分鐘，強度訓練 30 分鐘。 2. 強度訓練組：僅接受強度訓練 30 分鐘。 ■ 評估項目：於每次治療前、後進行腕痙攣定量測量、主動手腕伸張幅度、腕等距強度和傅格－梅爾上肢運動評估量表(FM)測定。
L. 結論(Conclusion)	■ 於針灸與強度訓練組，其痙攣程度定量測量、主動手腕伸張幅度、FM 皆有顯著改善，但腕等距強度並無明顯改變。

	■ 於強度訓練組，患者所有評估項目均無顯著差異。 ■ 結合針灸與強度訓練方法治療中度或重度的中風患者，可降低肌肉痙攣並可能改善其運動功能。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.367
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本試驗樣本數有限，仍需更大型試驗加以證實。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/07

表 C-7、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	9
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-中風肌力復原
C. 文獻來源(Source)	J Neurol
D. 出版日期(Date)	2008 Jun
E. 卷(期):頁(Page)	255(6):858-866
F. 作者(Authors)	Hopwood V, Lewith G, Prescott P, Campbell MJ
G. 出版型態(Publication type)	Multicenter Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	評估針灸對於中風復原的明確效用：單盲隨機安慰劑對照研究 Evaluating the efficacy of acupuncture in defined aspects of stroke recovery: a randomised, placebo controlled single blind study
J. 目的(Purpose)	研究針灸對中風復原的療效以安慰劑組作為比較
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：急性中風後 4~10 天的患者。 ■ 目標穴位： 1. 手陽明大腸經之合谷(LI4，Hegu)、手三里(LI10，Shousanli)、肩髃(LI15，Jianyu)；手少陽三焦經之外關(TE5，Waiguanj)，其可以足少陽膽經之風池(GB20，Fengchi)取代。 2. 下肢：足少陽膽經之風市(GB31，Fengshi)、陽陵泉(GB34，Yanglinquan)，陽輔(GB38，Yangfu)、俠谿(GB43，Xiaxi)，其可以足陽明胃經之足三里(ST36，Zusanli)取代。 3. 頭皮處：4 點，The superior and inferior ends of the motor line and at the junctions between the upper and lower limb and the head and upper limb sections. ■ 分組：隨機分為 2 組，每組均接受常規治療，包含物理與職能復健。每次試驗療程

	30 分鐘，每週 3 次，連續 4 星期。 1. 治療組(47 人)：以針刺目標穴位，並於手三里、外關、風市、陽陵泉穴給予 2Hz 電流刺激，頭皮 4 點給予 100Hz 刺激。 2. 安慰劑組(45 人)：以皮下電刺激方式將電擊直接黏附於目標穴位(上肢-手三里與外關、下肢-風市與陽陵泉、頭皮-the superior and inferior ends of the motor line；其於穴位因無法黏著電極而放棄使用)，但未開啟電流通路。 ■ 評估項目：於治療後連續觀察 12 個月，主要療效評估項目為巴氏量表(BI)，次級療效評估分別為肌肉力量、肌力指數(MI)、情緒、諾丁漢姆健康量表(NHP)和治療的確實有效度。
L. 結論(Conclusion)	■ 數據使用 t 檢定和以結構方程為基礎的縱向分析法檢視 BI 與 MI，並使用可互換相關的結構歸納估計方程式。 ■ 但針灸組患者很快的在試驗第 3 週於 MI 表現上得到明顯的改善。 ■ 在 12 週及 52 週，針灸組與對照組相比未顯示統計上的差異結果。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	2.903
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	-2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	針灸在此研究中並未顯示出比 TENS 有更多改善中風後肌力之療效。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/08

表 C-8、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	10
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症- 泌尿系統病症
C. 文獻來源(Source)	Am J Chin Med
D. 出版日期(Date)	2007
E. 卷(期):頁(Page)	35 (6): 947-954
F. 作者(Authors)	Yun SP, Jung WS, Park SU, Moon SK, Park JM, Ko CN, Cho KH, Kim YS, Bae HS
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	「灸」療對於中風後泌尿系統病狀恢復的療效 Effects of moxibustion on the recovery of post-stroke urinary symptoms
J. 目的(Purpose)	以隨機分組與單盲方式來確認灸療對於中風後患者於泌尿系統病症與日常活動力的臨床療效。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：具泌尿系統病狀的中風住院患者，其於國際前列腺徵狀評分(International Prostate Symptom Score，IPSS) >0，且結束輸液療程後 10 天。 ■ 目標穴位：任脈之中極（CV3，Zhongji）、關元（CV4，Guanyuan）、氣海（CV6 ，Qihai）。 ■ 分組：隨機分成組 2 組，每組均接受非治療泌尿系統病症的常規草藥與針灸治療中風。 1. 灸療組(MO 組；20 人)：以灸條於目標穴位進行灸療，每天 5 次，連續 10 天。 2. 對照組(19 人)：無額外處理。 ■ 評估項目：於試驗前與試驗結束後第 10 天，分別以 IPSS、巴氏指數(Barthel Index，BI) 評估患者排尿情形與日常生活活動力。
L. 結論(Conclusion)	■ 比較灸療組與對照組的 IPSS 評估結果，灸療組的泌尿系統病狀有顯著改善。若兩

	組再依 IPSS 程度分組比較，輕微、中度症狀的患者在接收灸療後，有顯著改善，但嚴重症狀患者則無差異。 ■ 於 BI 評估中，兩組日常活動力則無顯著差異。 ■ 本試驗建議使用灸療於中極（Zhongji，CV3）、關元（Guanyuan，CV4）、氣海（Qihai，CV6）三個穴位以改善中風後患者泌尿系統問題。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.422
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本試驗建議灸療可用於中風後患者泌尿系統問題。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/08

表 C-9、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	11
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-上肢和運動皮質活動
C. 文獻來源(Source)	J Altern Complement Med
D. 出版日期(Date)	2007 Jun
E. 卷(期):頁(Page)	13(5):527-32
F. 作者(Authors)	Schaechter JD, Connell BD, Stason WB, Kaptchuk TJ, Krebs DE, Macklin EA, Schnyer RN, Stein J, Scarborough DM, Parker SW, McGibbon CA, Wayne PM
G. 出版型態(Publication type)	Controlled Clinical Trial Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	於慢性中風病患經針刺與偽針治療後上肢和運動皮質活動的相關改變 Correlated change in upper limb function and motor cortex activation after verum and sham acupuncture in patients with chronic stroke
J. 目的(Purpose)	了解針灸治療對於偏癱中風病患的上肢功能作用之影響，並以功能性核磁共振影象(fMRI)檢視患大腦活動的相關改變。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：7 位中度偏癱中風病人 ■ 目標穴位：分身體與頭皮穴位兩部份，文獻未註明穴位點。 ■ 分組：隨機分為 2 組。療程每週兩次，連續 10 週。 1. 真針刺組(4 人)：分別針刺頭皮穴位與電針身體穴位。 2. 偽針刺組(安慰劑組；3 人)：使用具伸縮頭的針進行針灸，即未穿透穴位，且無通電刺激。 ■ 評估項目：於真針刺或偽針刺治療前後，分別進行功能性核磁共振影象(fMRI)和患側上肢功能測試(痙攣和移動範圍)的檢測。主要療效評估項目為巴氏量表(BI)；次要療效評估項目為肌肉力量、肌力指數(MI)、諾丁漢姆健康量表(NHP)和治療的確性有效度。

L. 結論(Conclusion)	■ 針灸組受試者的患側上肢的痙攣、移動距離，和損傷側腦運動皮質的活化範圍，有明顯的正向相關的改變，並患者的運動皮質顯示較大幅度的活化趨勢。 ■ 針灸可能藉由增加損傷側腦運動皮質活動，使慢性中風偏癱的病人的患側上肢得到改善。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.685
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	樣本數太小(n=7)，仍需大型試驗加以證實。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/09

表 C-10、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	12
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-運動功能
C. 文獻來源(Source)	J Rehabil Med
D. 出版日期(Date)	2007 Apr
E. 卷(期):頁(Page)	39(3):205-11
F. 作者(Authors)	Hsieh RL, Wang LY, Lee WC
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	結合電針與傳統復健的附加療法對於初次缺血性中風患者之療效 Additional therapeutic effects of electroacupuncture in conjunction with conventional rehabilitation for patients with first-ever ischaemic stroke
J. 目的(Purpose)	檢視電針治療初次缺血性中風的病人的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：63 位第一次缺血性中風的病人 ■ 目標穴位：手陽明大腸經之合谷(LI4，Hegu)、商陽(LI11，Shangyang)、陽谿(LI15，Yangxi)；足少陽膽經之風池(GB20，Fengchi)、風市(GB31，Fengshi)、陽陵泉(GB34，Yanglingquan)；足陽明胃經之足三里(ST36，Zusanli)；督脈之百會(GV20，Baihui) ■ 分組：隨機分為 2 組，每組均接受標準復健治療(物理、職能、語言等療程) 1. 實驗組：電針刺激穴位，療程 20 分鐘，每週兩次，連續一個月(共 8 次)。 2. 對照組：無額外處理。 ■ 評估項目：分別於治療後第 2、4 週和中風後 3 個月、六個月以傅格－梅爾運動評估量表檢測和功能獨立性評量(FIM™)以評估獨立功能表現。
L. 結論(Conclusion)	■ 實驗組分別於治療後第 2 週、第四週與中風後第 3 個月的評估結果發現均明顯改

	善偏癱之症狀，尤其上肢運動功能得到顯著改善。 ■ 對第一次缺血性中風的病人，電針能夠改善其運動功能，尤其是上肢運動功能。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.882
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本研究人數達 63 人，結果有一定的參考性。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/09

表 C-11、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	13
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-認知功能與情緒
C. 文獻來源(Source)	J Rehabil Med
D. 出版日期(Date)	2006 Apr
E. 卷(期):頁(Page)	38(1):13-9
F. 作者(Authors)	Rorsman Ia, Johansson B.
G. 出版型態(Publication type)	Comparative Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	電針或經皮下電刺激是否能影響中風後認知或情緒以達到療效？ Can electroacupuncture or transcutaneous nerve stimulation influence cognitive and emotional outcome after stroke?
J. 目的(Purpose)	檢視針灸結合電針和經皮下電刺激神經對情緒和認知功能的療效
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：54 位中風後 10 天中或重度功能受損的病人。 ■ 目標穴位：手陽明大腸經之曲池(LI11，Quchi)、合谷(LI4，Hegu)；足陽明胃經之足三里(ST36，Zusanli)、豐隆(ST40，Fenglong)；足少陽膽經之陽陵泉(GB34，Yanglinquan)；督脈之百會(GV20，Baihui)； ■ 分組：隨機分為三組，每次 30 分鐘，每週兩次，連續 10 週。 1. 針灸包含電針組:針刺目標穴位直到得氣，其中曲池、合谷、足三里與豐隆給予電刺激。 2. 經皮下電刺激組:以頻率足以引起肌肉收縮的電極刺激曲池、合谷、足三里、豐隆/陽陵泉等穴位。 3. 對照組：與經皮下電刺激組相同，但給予的電刺激不會引起肌肉收縮。 ■ 評估項目：分別於治療前後、第 3 和 12 個月測量所有刺激的認知表現和情緒功

	能。
L. 結論(Conclusion)	■ 結果：追蹤觀察三組於第 3 和第 12 個月，發現三者間並無顯著差異。並比較各組內的認知和情緒功能方面並無明顯改善。 ■ 結論：這 3 組皆顯示能改善認知與情緒功能，現行的研究並未指出有任何治療對情緒狀態與認知功能有療效。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.882
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	-2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本研究未顯示出針灸有改善中風後認知功能之療效。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/013

表 C-12、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	14
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-上肢(UE)功能和生活品質(QOL)
C. 文獻來源(Source)	Arch Phys Med Rehabil
D. 出版日期(Date)	2005 Dec
E. 卷(期):頁(Page)	86(12):2248-2255
F. 作者(Authors)	Wayne PM, Krebs DE, Macklin EA, Schnyer R, Kaptchuk TJ, Parker SW, Scarborough DM, McGibbon CA, Schaechter JD, Stein J, Stason WB
G. 出版型態(Publication type)	Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸對慢性中風者上肢的復健:隨機對照研究 Acupuncture for upper-extremity rehabilitation in chronic stroke: a randomized sham-controlled stud
J. 目的(Purpose)	比較使用中國傳統針灸和假針灸對慢性中風患者半身癱瘓的上肢(UE)功能和生活品質(QOL)的影響。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：33 位 0.8 至 24 歲曾發生中風，並有中度至重度上肢(UE)功能障礙者。 ■ 目標穴位：結合體針及頭皮針，依患者病程施予適用穴位，如論文所述。 ■ 分組：隨機盲性試驗，分成 2 組，每次療程 60 分鐘，共 20 次，平均試驗期 10.5 週。 1. 針刺介入治療組(16 人)：施予體針與頭皮針，部份穴位給予電刺激。 2. 假針刺組(17 人)：於體穴與頭皮穴施予假針刺，並接電極但無通電。 ■ 評估項目：每週觀察記錄 UE 運動功能，生活品質(QOL)和情緒，痙攣，握力，運動範圍(ROM)，日常生活活動。並持續追蹤調查試驗開始後第 12 週與第 6 個月之

	結果。
L. 結論(Conclusion)	■ 以治療意向分析法(Intention-to-treat analyses, ITT analyses)評估兩試驗組之所有結果，發現均無顯著的差異。 ■ 以 protocol-compliant 項目分析，針刺介入治療組分別於手腕痙攣度、手腕和肩膀的活動旋轉程度(ROM)有明顯改善，其餘評估項目無顯著差異。 ■ 根據 ITT 分析，針灸不能提高生活品質和上肢功能或慢性中風患者的症狀，但於上肢功能觀察符合中國傳統針灸科的推論，其可能有助於中風患者的慢性症狀。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	2.184
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	樣本數目不是很大，但結果顯示針灸有助於手腕痙攣度、手腕和肩膀的活動旋轉程度(ROM)，但於上肢功能傳統針灸科的推論，其有助於中風患者的慢性症狀。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/13

表 C-13、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	15
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-亞急性中風的康復
C. 文獻來源(Source)	Arch Intern Med
D. 出版日期(Date)	2005 Sep
E. 卷(期):頁(Page)	165(17):2026-31
F. 作者(Authors)	Park J, White AR, James MA, Hemsley AG, Johnson P, Chambers J, Ernst E
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸對亞急性中風後的康復:假針灸、盲性作業、隨機試驗 Acupuncture for subacute stroke rehabilitation: a Sham-controlled, subject- and assessor-blind, randomized trial
J. 目的(Purpose)	以新的非穿透式的假針灸器材，進行盲性作業與隨機對照試驗，評估手動針刺對急性中風康復之效果。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：中風 4 週內的患者。 ■ 目標穴位：足陽明胃經之豐隆(ST40，Fenglong，雙邊)；任脈之中脘(CV12，Zhongwan)；督脈之百會(GV20，Baihui)與 水溝(GV26，Shuigou) ■ 分組：隨機分成 2 組，並於 2 星期內接受 9~12 次的介入治療，每次療程 20 分鐘。 1. 針灸治療組(48 人)：針刺 4 個目標穴位(5 點)與 6 個依患者病徵所搭配的穴位(韓國針灸穴位配方有 4 種選擇)，一次療程共扎 11 針。 2. 假針刺組(50 人)：使用不會刺穿皮膚的針灸針對於目標穴位與 6 個搭配穴位之相隔 1.5 公分處進行假針灸。 ■ 評估項目：以治療前、後所測量的巴氏日常活動評分之改變量為主要觀察項目。次要結果包括國立衛生研究院卒中量表評

	分，motoricity 指數和生活品質（EQ -5D 和 EQ- VAS）。
L. 結論(Conclusion)	■ 針灸治療組和假針灸組於整體巴氏日常活動評分上並無顯著差異，但若單看腿部功能，針灸組之巴氏評分顯著高於假針灸組。 ■ 於其他次要測量結果，針灸治療組無顯著改善中風患者的生活品質。 ■ 雖然針灸能有限的恢復中風患者之腿部功能，但在恢復日常活動和健康生活品質的療效上，則與假針灸無差異。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	9.813
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	-2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	此試驗結果顯示針灸對於日常活動和生活品質並無幫助。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/14

表 C-14、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	16
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-中風後吞嚥困難
C. 文獻來源(Source)	J Am Geriatr Soc
D. 出版日期(Date)	2005 Jun
E. 卷(期):頁(Page)	53(6):1083-1084
F. 作者(Authors)	Seki T, Iwasaki K, Arai H, Sasaki H, Hayashi H, Yamada S, Toba K
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Letter Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸治療中風後吞嚥困難的患者:影像螢光檢查試驗 Acupuncture for dysphagia in poststroke patients: a videofluoroscopic study
J. 目的(Purpose)	了解針灸是否可以改善吞嚥困難和嗆入現象。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：32 名中風後患者(年齡：75~93 歲；20 名女性、12 名男性)。 ■ 目標穴位：足三里(ST36，Zusanli；足陽明胃經)與太谿(KI3，Taixi；足少陰腎經) ■ 分組：隨機分成 2 組，且均接受常規照護。每次試驗療程 15 分鐘，每周 3 次，連續 4 週。 1. 介入治療組(18 人)：針刺目標穴位，深度 10mm，無電刺激與捻針動作。 2. 對照組(14 人)：無額外處理。 ■ 評估項目:於試驗前與試驗 4 週後進行影像螢光檢查試驗(VFSS),並於試驗期間每日 PM 2:00 測量體溫。
L. 結論(Conclusion)	■ 在介入治療組,針灸能明顯改善患者吞嚥困難之症狀，且其嗆入率於治療前，水、流體和固體食物分別為 40%、8%與 25%，治療 4 週後則均降至 0%。而對照組於吞嚥困難與嗆入現象均無顯著改變。 ■ 介入治療組病患推算一年平均發燒(大於

	37.81℃)天數為 4 天，明顯低於對照組之 28 天。 ■ 此兩穴位是根據中醫的傳統理論來選擇，且其為新穎、安全、和方便使用的，而試驗結果表示針灸對於中風患者的吞嚥困難和吸入現象有顯著改善之成效。 ■ 就目前研究結果建議運用針灸治療此新方法來預防中風後病患的嗆入現象和吸入性肺炎。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	3.656
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	此試驗雖然樣本數有限，但結果支持針灸有助於中風後吞嚥困難。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/14

表 C-15、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	17
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-日常生活活動力
C. 文獻來源(Source)	J Am Geriatr Soc
D. 出版日期(Date)	2005 Mar
E. 卷(期):頁(Page)	53(3):549-50
F. 作者(Authors)	Schuler MS, Durdak C, Höl NM, Klink A, Hauer KA, Oster P, Du X
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Letter Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸治療缺血性中風的老年人患者；隨機、雙對照、單盲試驗 Acupuncture treatment of geriatric patients with ischemic stroke: a randomized, double-controlled, single-blind study
J. 目的(Purpose)	調查針灸對於急性中風的療效、可行性與安全性
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：缺血性中風 3~35 天內患者，其巴氏量表基線 10~75，血小板數目大於 100,000/ml，凝血國際正規化比率小於 3.5。 ■ 目標穴位：無註明 ■ 分組：隨機分成 3 組，每次療程 30 分鐘，每週 2 次，連續 4 週。 1. 電針組(26 人)：使用電針刺激穴位。 2. 安慰劑組(23 人)：以視覺刺激模擬表面針刺電極刺激穴位。 3. 對照組(19 人)：沒有給予任何治療。 ■ 評估項目：分別於試驗前、試驗開始後第四週與第六個月，以歐洲中風評估表(European Stroke Scale，ESS)及巴氏量表(Barthel Index，BI) 評估患者日常生活活動。
L. 結論(Conclusion)	■ 於 ESS、BI 評估結果，三組間無顯著差異。 ■ 針灸療法雖沒有顯著療效，但對受試者亦

	無產生任何嚴重副作用。不過對於服用抗凝血劑的中風患者，在使用針灸療法時需要多注意。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	3.656
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	讀完整篇後，評讀者認為此文章此一臨床問題之支持度。(-3:非常否定/-2:否定/-1:不確定偏否定/0:與問題無關/1:不確定偏肯定/2:肯定/3:非常肯定)
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	RCT(5)＞RCT/Cohort(4)＞Case control(3)＞Case series(2)＞Experiences/Case report(1)
P. 評註(Comments)	
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/15

表 C-16、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	18
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-失眠
C. 文獻來源(Source)	Am J Chin Med
D. 出版日期(Date)	2004 May
E. 卷(期):頁(Page)	32(5):771–778
F. 作者(Authors)	Kim YS, Lee SH, Jung WS, Park SU, Moon SK, Ko CN, Cho KH, Bae HS
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Randomized Controlled Trial
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸神門和內關穴治療中風後患者的失眠 Intradermal acupuncture on shen-men and nei-kuan acupoints in patients with insomnia after stroke
J. 目的(Purpose)	評估針灸治療中風後失眠的療效。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：持續失眠超過 3 天(失眠嚴正指數>15)的中風住院病患。 ■ 目標穴位：內關(PC6，Neiguan；手厥陰心包經)與神門(HT7，Shenmen；手少陰心經) ■ 分組：隨機分成 2 組，均以膠布固定針灸針於雙手目標穴位上，持續 2 天。 1. 針灸治療組(RA 組，15 人)：針刺目標穴位。 2. 假穴治療組(SA 組，15 人)：將針置於穴位上，但未刺入皮膚中。 ■ 評估項目：於試驗前與介入治療期後第 1、2 天進行問卷評估，分別以 MQ、ISI、AIS 評估患者睡眠狀態、生活品質與日間活動情形。
L. 結論(Conclusion)	■ 針灸治療組(RA group)在失眠方面，顯現出更大的改善。以重複測量資料分析法(Repeated measures analysis)發現有顯著影響於 MQ、ISI 和 AIS 評估項目。 ■ 皮內針灸神門與內關穴為有效治療中風後失眠的療法。
三、評讀指標(Appraisal Index)	

M. 影響係數 IF(Impacts factor)	1.422
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	2
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	皮內針灸神門與內關穴可改善中風後之失眠。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/15

表 C-17、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	19
B. 臨床問題(clinical problem)	運動功能
C. 文獻來源(Source)	Neurorehabil Neural Repair
D. 出版日期(Date)	2004 Dec
E. 卷(期):頁(Page)	18(4):259-67
F. 作者(Authors)	Alexander DN, Cen S, Sullivan KJ, Bhavnani G, Ma X, Azen SP; ASAP study group
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針灸治療對於中風後運動功能恢復及身體機能之影響：初探性研究 Effects of acupuncture treatment on poststroke motor recovery and physical function: a pilot study
J. 目的(Purpose)	評估針灸治療對於中風後運動功能恢復和身體機能的影響
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：於中風後 60 天內，且因偏癱需住院復健之急性中風患者。 ■ 目標穴位:依患者病徵於偏癱處施予適用穴位，如注 1 所述。 ■ 分組：隨機分成 2 組，每組均接受標準復健治療(物理、職能、語言等療程)。 1. 針灸組(16 人)：針刺目標穴位，每次療程 30 分鐘，每周 7 天，連續 2 週。 2. 對照組(16 人)：無額外處理。 ■ 評估項目：於試驗前、試驗後，分別以傅格－梅爾評估量表(Fugl-Meyer ，FM)、功能獨立自主量表(Functional Independence Measure，FIM)測量患者運動功能恢復程度與評估日常生活機能狀態。
L. 結論(Conclusion)	■ 比較整體 FM 與 FIM 評估結果，兩組間無顯著差異。 ■ 但比較各評估表中單獨項目時,發現針灸組的 FM-下肢活動機能與 FIM-沐浴移動

	流順度有顯著改善。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	5.398
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	1
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	針灸是否可作為標準復建的輔助療程,其療效必須藉由以更多中風運動復原與身體機制的特殊量測加以證實。
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/16

註 1：

目標穴位：使用標準性流程手動進針（非電針），針灸主穴包括百會穴、後頂穴、前頂穴、通天穴、風池穴、大椎穴、氣海穴、中脘穴、天樞穴。針灸上肢配穴為肩髃穴、曲池穴、外關穴、合谷穴、列缺穴；下肢配穴為風市穴、足三里、陽陵泉穴、三陰交穴、丰隆穴、解溪穴、太沖穴；對於中風兩週內的患者另外再加入八風穴、廉泉穴，失語症患者加入通里穴；顏面神經失調的患者則加入地倉穴、顴髎穴、頰車穴；視覺問題者則加入承光穴與光明穴。

表 C-18、針灸治療腦中風實證醫學評讀表

一、基本資料(Basic Information)	
A. 編號(No.)	20
B. 臨床問題(clinical problem)	中風後遺症-腿部痙攣之療效
C. 文獻來源(Source)	Arch Phys Med Rehabil
D. 出版日期(Date)	2004 Apr
E. 卷(期):頁(Page)	85(4): 667-672
F. 作者(Authors)	Fink M, Rollnik JD, Bijak M, Borstädt C, Däuper J, Guergueltcheva V, Dengler R,Karst M.
G. 出版型態(Publication type)	Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't
H. 語言(Language)	English
二、文獻簡要內容(Brief Contents of Reference)	
I. 題目(Title)	針刺針灸療法對於慢性中風後的腿部痙攣之作用 Needle Acupuncture in Chronic Poststroke Leg Spasticity
J. 目的(Purpose)	確定針刺針灸治療是否能有效減少慢性中風後之腿部痙攣症狀。
K. 材料與方法(Material & Methods)	■ 受試者條件：缺血性中風 5 年以上，最近一次中風至少 7 個月前，為偏癱，且其癱瘓之後腿呈痙攣馬蹄畸形壯的慢性中風患者。 ■ 目標穴位：依患者病徵施予適用穴位，如論文所述。 ■ 分組：單盲試驗。隨機分成 2 組，每次療程針刺穴位 30 分鐘，每週 2 次，連續 4 週。 1. 針灸組(13 人)：扎針於目標穴位。 2. 安慰劑組(12 人)：使用不會刺穿皮膚的針灸針分別插入非穴位處，如偏癱處的大腿腹面中央、小腿中央內側和手背中央等處。 ■ 評估項目：分別於治療前、第一次治療後、最後一次治療後與整體療程結束後的第 3 個月進行評估，主要項目為 MAS 評分偏癱的踝關節、VAS 評估疼痛程度和走路速度。

L. 結論(Conclusion)	■ 於臨床療效結果，針灸組在經過 4 週的治療後，其 MAS 評估值與安慰劑組無差異。但於神經生理學，針灸組患者脊髓的 H-reflex 反應較安慰劑組顯著增加。 ■ 臨床試驗結果顯示，針灸對於改善慢性中風患者的腿部痙攣可能沒有療效，但於神經生理的證據顯示特定的針灸可能引起疼痛的反應機制，此可能和 A delta、C fiber 傳入脊髓運動神經元有關。
三、評讀指標(Appraisal Index)	
M. 影響係數 IF(Impacts factor)	2.184
N. 問題支持度 SOQ (Supposition of Question)	-1
O. 證據積分 SOE (Score of Evidence, 5-1)	4
P. 評註(Comments)	本試驗未顯現出針灸改善慢性中風患者腿部痙攣之療效
Q. 評讀者(Reviewers)	林昭庚、陳易宏、賴慶元
R. 評讀日期(Appraisal Date)	2011/09/16

編號：CCMP99 -RD-036

中醫診斷多囊性卵巢徵候群的臨床與實驗室檢驗表現(2-1)

徐明義
臺北市立萬芳醫院委託財團法人私立臺北醫學大學辦理

摘　要

研究目的：

多囊性卵巢症候群（PCOS）是一種結合內分泌、生殖、新陳代謝等功能性障礙的症候群。常見於育齡中的婦女，盛行率約 3~10% 。由於 PCOS 的發病機轉複雜且臨床表現多樣化，這對於正確診斷及治療 PCOS 帶來一定的困難度。本研究計畫希望藉由分析 PCOS 患者的生化檢查及性荷爾蒙的數值與臨床表現來歸納出 PCOS 的基本證型，並探討 PCOS 實驗室檢驗表現與中醫證型的相關性，以指導臨床治療，為中醫辨證治療提供客觀化指標，並進一步拓展中西結合治療診斷治療 PCOS 思路與方法。

研究方法：

1. 研究對象與分組

我們從 2011 年 1 月至 2011 年 9 月 15 日收集共 106 筆資料其皆為就診於萬芳醫院門診的病人。其中 PCOS 患者 65 例；非 PCOS 患者 41 例。106 例患者依中醫辨證分型分為腎氣虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、肝鬱氣滯證等，但因 PCOS 的臨床表現多樣性，所以每位患者兼具一種以上證型。

2. 診斷標準

PCOS 的診斷標準是依據 2003 Rotterdam 的條件所診斷，並將代謝異常較輕微的患者納入，其條件：具有下列 3 個條件下的 2 個以上條件：1.排卵的障礙（寡經症或無月經）；2.臨床上雄性素過高（多毛症，青春痘，雄性禿）或血液學檢查有雄性素過高；3.超音波呈多囊性卵巢型態。且每個案例皆記載其體檢資料、婦產科病史及月經史、家族病史、超音波報告、生化檢查資料。

中醫證候標準是參照中國大陸中藥新藥治療月經不調、不孕症、閉經的臨床研究指導原則。《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》，2002 年 5 月第 1 版、《中藥新藥治療不孕的臨床研究指導原則，第一輯》、《中藥新藥治療閉經的臨床研究指導原則，第一輯》、中國醫藥大學蘇奕彰教授的中醫體質量表及分型指標之評值。主要證型分為腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、

痰濕證、血瘀證、氣滯證。以上主症具備三項中之一項，次症 1 一 2 項加舌、脈即可診斷。

結果與討論：

由證型與檢驗值初步分析得到以下結果：痰濕組 59 例、腎陰虛組 58 例、血瘀組 35 例、脾虛組 33 例、腎陽虛組 15 例、肝鬱氣滯組 14 例。

1. 痰濕型是 PCOS 發病最常見的證型

由所得資料統計分析，痰濕型在 71 例 PCOS 病患中占 43 例，是 PCOS 發病最常見的證型，且與其他證型相較，痰濕型 PCOS 的 BMI 值（28.6）及 Insulin（20.2）都較為偏高。痰濕型 PCOS 的證候特點主要包括兩個方面，一是多體型肥胖，以向心性肥胖為主，舌體胖大，脈沉或滑，病程纏綿；二是痰濕證明顯，身體沉重易困倦，胸悶，頭重如裹，口黏，口渴不欲飲，痰多黏。50％以上的 PCOS 患者存在肥胖，且以向心性肥胖居多。中醫學認為痰濁是人體臟腑氣血失和，水穀津液不歸正化的產物，表現在體型上的特徵即是以中心性肥胖為主。《丹溪治法心要》中首次提出了“肥白人多痰濕”的觀點。一方面痰濕壅滯是肥胖的成因，另一方面痰濕證是肥胖人既病之後的主要證候特徵。

2. 腎虛是 PCOS 發病的基本因素

本研究發現腎虛及痰濕是 PCOS 最常見的證型，腎陰是月經的物質基礎，腎精虧虛。腎陰充盛是卵子發育成熟的物質基礎；腎精虧虛使卵子難以發育成熟是無排卵的根本原因。“陽常有餘，而陰常不足”，故臨床上以腎陰虛為多見。而本研究也發現臺灣地區腎陰虛型較甚腎陽虛型為多，除了發病因素外，可能也與都會地區生活習慣習於晚睡飲食重口味，耗傷陰液有關。協同主持人李靜姿醫師於 2008 年於中國南京江蘇省中醫院生殖中心從事臨床研究時，也發現都會區陰虛體質者較為多見。

3. LH/FSH 值是區分腎陰虛、腎陽虛的關鍵

臨床上常把血 LH/FSH>2.5 或 3 作為診斷 PCOS 的標準，我們發現，有部分患者具備 PCOS 的臨床和實驗室表徵，但 LH/FSH 值小於 2.5，甚至不足 1。臨床上表現為月經先期少量或月經後期、口乾便結、手足心熱、脈細等腎陰虛內熱之現象。一部分患者的 LH/FSH>2.5 時，臨床上多表現出月經後期、畏寒便溏、腰酸乏力、肥胖、多毛、舌淡胖、脈細沉等腎陽虛之現象。兩組相較，發現 LH/FSH 比值高者，一般以腎陽虛為主。且在 BMI 值也有差異，腎陽虛組的較低，中國蘇州許小鳳醫師的研究，也提出相同的看法。

4. 肥胖是造成胰島素抵抗的重要因素

本研究發現，腎陽虛組與痰濕組的 BMI 與 Insulin 較他組偏高，顯示肥胖與胰島素抵抗具有相關性。中國黑龍江侯麗輝教授提出“痰壅胞宮”（卵巢胰島素抵抗）;《景岳全書 • 痰飲》云：“故痰之化，無不在脾，而痰之本，無不在腎。”我們對 PCOS 進行辨證也從腎出發，將之病因病機歸結為腎虛為本，氣血痰濕為標，由此造成“痰壅胞宮”導致生殖障礙性疾病。由此可見“痰壅胞宮”是 PCOS 的基本病機。現代醫家認為痰濁阻滯沖任、胞宮可致月經稀發、閉經、不孕；痰濁壅盛，膏脂充溢，可見形體肥胖；痰濕氣血互結為瘕瘕，故卵巢成多囊性改變。

關鍵詞：多囊性卵巢綜合症、中醫診斷、辨證分型、臨床表現

Number: CCMP99-RD-036

Laboratory and Clinical presentation of Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome in Chinese Medicine (2-1)

Hsu, Ming-I
Taipei Medical University – Municipal Wan Fang Hospital

ABSTRACT

Aim:

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a complex syndrome that combined with endocrine, reproduction, and metabolic disorders. The prevalence of PCOS had been estimated as 5- 10 %. The syndrome/sign of PCOS had been explained by traditional Chinese medicine (TCM). To evaluate the correlation between TCM diagnostic pattern and laboratory and clinical presentation in women with PCOS, we perform this proscpective study.

Method:

One hundred and six patients were recruited from outpatient clinic of Wan Fang Hospital from Jan. 2011 to Sep. 2011. Sixty five of them were diagnosed as PCOS and forty-one as non-PCOS. The diagnosis of seven TCM syndrome type and whole laboratorial with clinical evaluation were applied to every studied patients.

The diagnostic criteria: base on 2003 Rotterdam diagnostic criteria which were contained with three criteria: ovulatory dysfunction, polycystic ovary morphology, and hyper androgenism. TCM diagnostic criteria were base on the guideline of TCM treatment 《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》.

Results and Discussion:

Phlegm dampness is the most common phenotype in Taiwanese women with PCOS, more than 60% (43/71) phlegm dampness could be diagnosed as PCOS, furthermore, women diagnosed as phlegm dampness phenotype had higher BMI than who did not.

Kidney deficiency pattern had less obesity, lower BMI than non-kidney deficiency, on the contrary, Phlegm dampness had higher prevalence of obesity and higher BMI than non- Phlegm dampness.

Women with Palpationhad higher FSH than non-palpation.

However, further results should be pending until more data corrected

In the following year, we plan to extend our sample size and study about the relationship between TCM sign and laboratorial data.

Keywords: Polycystic Ovary Syndrome, Traditional Chinese Medicine Diagnosis, Syndrome Differentiation, Clinical Characteristic

壹、前言

多囊性卵巢徵侯群(Polycystic Ovary Syndrome, PCOS)是非常常見的婦女疾病，也是近年來相當熱門的研究項目，國外的資料顯示其發生率約3-10%，不論中醫或者西醫對這個問題都十分關注。我們在臨床上發現中醫在 PCOS 的診斷與治療方面扮演重要的角色，西醫採取的方法因其存在復發率高、副作用較大、價格昂貴等缺點，臨床應用受到限制，而中醫辨證治療能調節整體機能，療效較好，且無明顯副作用，是目前治療 PCOS 的一大趨勢。用中醫的辨證將 PCOS 患者進行分類和治療，同時借助現代醫學的檢查，比較不同證型 PCOS 患者檢查結果的異同，比較某種治法治療前後檢查結果的改變，不僅有利於用現代醫學的檢查手段闡釋證的實質、探討中醫藥的治療機制，同時，根據相應的現代醫學的檢查則可為臨床中醫藥治療提供依據和指導〔1〕。我們瞭解傳統醫學近些年來對於 PCOS 婦女在中醫方面的診斷與治療有令人讚嘆的成就，然而中醫的診斷與西醫的診斷缺乏共通的語言，使得兩者間的溝通與瞭解無法協調，我們希望能夠利用廣泛的西醫臨床檢查及實驗室檢驗數據來結合中醫的診斷基礎，建立傳統醫學問診西醫理學檢查的基礎，同時也可以搭起未來中西醫聯合治療診斷的橋樑。由於 PCOS 的多樣性及多元化，我們相信 PCOS 是建立中醫辨證與西醫辨病相結合的中西醫聯合診治最佳的模式。

多囊性卵巢症候群 Polycystic ovary syndrome (PCOS)

多囊性卵巢症候群是女性常見的內分泌障礙，也是婦女排卵異常最常見的原因，而 PCOS 與糖尿病及肥胖間的關係更是影響婦女的健康的重大威脅。中國醫學典籍上雖然沒有多囊性卵巢症候群這個病名，但根據其臨床表現可以屬於「閉經」、「不孕」、「崩漏」、「癥瘕」等範疇〔5〕。

一、PCOS 在西醫的診斷

2003 年 Rotterdam 定義

PCOS 是一個症候群，不能以單一的診斷來看待整個疾病，北美洲與歐洲對 PCOS 的診斷定義作了一致性的定義：

在排除其他疾病後，PCOS 為下列 3 個條件下的 2 個以上

(一) 排卵的障礙（寡經症或無月經）

(二) 臨床上雄性素過高（多毛症，青春痘，雄性禿）或血液學檢查有雄性素過高

(三) 多囊性卵巢型態

根據我們對臺灣婦女的研究，依照 1990NIH 的條件所診斷的患者其臨床症狀與生化檢驗的異常狀況較 2003 Rotterdam 的條件所診斷的病患嚴重，因此新的診斷條件是將代謝異常較輕微的患

者納入，整體而言，約 61% 2003 Rotterdam 的條件所診斷的多囊性卵巢徵候群患者符合 1990NIH 的診斷條件〔8〕。

二、PCOS 在中醫的辨證分型

目前有關 PCOS 中醫辨證規範和療效評價的研究尚處於起始階段，尚無公認確定的證型分類。根據”中藥新藥臨床研究指導原則”中的中醫辨證標準，熊紅萍等將 PCOS 按辨證結果分為腎虛症脾虛症痰濕症和血瘀症等四型來探討中醫證候分佈情況及其與性激素、胰島素抵抗的相關性。檢測 PCOS 患者 60 例、健康對照組 16 例的性激素、空腹血糖和空腹胰島素水準，計算胰島素抵抗指數，對 PCOS 患者按中醫辨證分型。結果證候分佈以痰濕證所占比例最高、腎虛證次之。PCOS 各證型組 FINS 均高於對照組。其中腎虛組、痰濕組與對照組比較有顯著性差異。

李光榮認為腎氣不足、腎精虧虛是多囊性卵巢症候群月經異常的根本原因，肝鬱脾虛是 PCOS 重要病機。郝松莉等認為 PCOS 的中醫發病機制與腎、肝、脾有著密切關係，並且由於痰濁、瘀血病理產物的形成，共同導致了腎一天癸一沖任一胞宮生殖軸的功能紊亂〔2〕。吳效科認為由中醫學藏象理論認識 PCOS 的病機，為”天癸失序、痰壅胞宮”，PCOS 的發病是先天稟賦與後天因素共同作用的結果，與腎脾功能失常關係密切〔12〕。郝松莉等研究認為 PCOS 的臨床證型分為腎虛血瘀型、脾虛痰濕型、痰瘀互結型。其辨證分訴如下；腎虛血瘀型：症見月經稀少、經行後期，甚則閉經。婚久不孕，腰骶酸楚，頭暈耳鳴，口乾，心煩，便秘，肌膚甲錯，多毛，痤瘡，舌質黯紅或紫暗，邊有瘀點、瘀斑。脈弦或弦細澀。脾虛痰濕型：症見婚久不孕，形體肥胖，經行後期。甚則閉經，帶下量多，色白質黏無臭，頭暈心悸，胸悶泛惡，面色虛浮或咣白，舌淡胖苔白膩，脈滑〔2〕。痰瘀互結型：症見婚久不孕。月經失調，常為先後無定期，經量多少不一，色紫暗夾塊。伴經行小腹脹痛拒按，塊出痛減，甚者經閉不行，或形體肥胖，或性情抑鬱，經前煩躁易怒，善太息，多毛、痤瘡，舌黯紅，舌邊有瘀點，脈弦細〔2〕。吳效科等研究認為 PCOS 證候特徵為痰濕證候婦科痰病的證候特點主要包括兩個方面，一是多體型肥胖，以向心性肥胖為主，舌體胖大，脈沉或滑，病程纏綿；二是痰濕證明顯，身體沉重易困倦，胸悶，頭重如裹，口黏，口渴不欲飲，痰多黏〔12〕。

三、PCOS 的中醫證候靶點為”胞宮和肌膚”

PCOS 證候要素痰瘀，證候靶點胞宮肌膚 PCOS 臨床表現多樣性，具有高度異質性，這些複雜的證候符合中醫”痰”和”瘀”的證候診斷。痰瘀壅滯於胞宮表現為閉經、不孕、卵巢呈多囊性改變等症狀，而痰濁阻塞肌膚可表現為肥胖、多毛。PCOS 是原發於卵巢的疾病，卵巢功能異常是患者臨床表現的核心內容。根據其臨床四聯症（閉經、不孕、肥胖、多毛）可

以確定其病位主要是在卵巢、肌膚和脂肪，中醫無”卵巢”之名，胞宮的功能涵蓋內生殖器官的功能，顯然包括了卵巢，釐定 PCOS 的中醫證候靶點為”胞宮和肌膚”〔12〕。

四、PCOS 與胰島素抗性（Insulin Resistance）

胰島素抗性及高胰島素血症目前被認為是大多數 PCOS 的主要內分泌障礙。胰島素抗性及高胰島素血症（hyperinsulinemia）會刺激卵巢和腎上腺產生雄性素，也與 PCOS 長期的後遺症息息相關。卵巢有 Insulin Growth Factor -I (IGF-I)的接受體，在胰島素接受體功能上有問題或數量上不夠時，胰島素會與 IGF-I 接受體結合〔13〕，因此胰島素可以刺激卵巢的接受體，直接對卵巢組織產生作用。

肥胖是 PCOS 常見的症狀，而胰島素抗性也是肥胖最常見的問題，有研究報告胰島素在不排卵的病人中有明顯昇高的現象，因此懷疑胰島素抗性是造成不排卵的一個主要原因〔14〕。胰島素抗性的問題一直被認為有種族上的差異，建立臺灣 PCOS 婦女這方面的資料應該是研究 PCOS 最迫切的問題。

五、中醫的”痰壅胞宮”與”卵巢胰島素抵抗”

侯麗輝等提出”痰壅胞宮”是 PCOS 的中醫病機，其生物學基礎為”卵巢胰島素抵抗”。《景嶽全書·痰飲》云：故痰之化，無不在脾，而痰之本，無不在腎。吳效科等對 PCOS 進行辨證也從腎出發，將之病因病機歸結為腎虛為本，氣血痰濕為標，並且由此所造成的”痰壅胞宮”導致的生殖障礙性疾病。由此可見”痰壅胞宮”是 PCOS 的基本病機。現代醫家認為痰濁阻滯沖任、胞宮可致月經稀發、閉經、不孕；痰濁壅盛，膏脂充溢，可見形體肥胖；痰濕氣血互結為瘕瘕，故卵巢成多囊性改變。以上三點恰恰可以作為 PCOS 的診斷依據〔12〕。

六、肥胖與雄性素

肥胖是 PCOS 常見的問題之一，我們的的資料顯示在臺灣有 39% PCOS 病患其 BMI 大於 25〔7〕，雖然肥胖與胰島素抗性及荷爾蒙異常間的關係有許多研究，肥胖對 PCOS 的相關症狀及其預後有相當不良的影響是非常明顯的，減重可以改善胰島素抗性，也可以改善排卵障礙，對於 PCOS 的病患而言有時候減少 5%的體重就可以顯著改善雄性素過高及月經異常的症狀〔15, 16〕。萬芳醫院的研究顯示，臺灣多囊性卵巢的病人中，肥胖者會增加 2.2 倍的排卵異常及 2.6 倍雄性素過高的機會。肥胖會增加雄性素的代謝，由於性荷爾蒙多是脂溶性，因此雌激素與雄性素都很容易儲存於脂肪組織之中〔18〕。肥胖本身就是高雄性素血症的危險因素，不論一般正常的婦女或者 PCOS 的婦女，雄性素都與 BMI 成正比〔19, 20〕，這代表脂肪組織可以合成雄性素。

七、PCOS 的中西醫診斷的研究的重要

PCOS 主要發生原因，乃是先天遺傳因素加上後天環境與生活習慣相互影響而成，要減低 PCOS 對婦女健康的衝擊，一方面要瞭解 PCOS 在遺傳上的作用點，提供治療方法，另一方面要改善環境及飲食對 PCOS 的負面影響。我們瞭解西醫在 PCOS 治療上的侷限性，希望能利用傳統醫學的優點來協助 PCOS 的患者得到更好的照顧。中醫與西醫對 PCOS 都有許多研究，也有許多相近而類似的描述與診斷，但是因為缺乏共同的研究基礎，因此兩者的研究成果無法相互溝通，我們計畫利用對同一組病患同時經由中西醫的診斷及實驗室的檢驗，然後瞭解在中醫不同辨證分型下，西醫在臨床上與實驗室檢驗上的鑑別診斷，我們希望透過種種比較能更瞭解中醫診斷的基礎，一方面提供 PCOS 中醫診斷的科學化證據，另一方面也可以建立中醫在其他疾病辨證論治的基礎。

貳、材料與方法

本計劃的是透過中醫李靜姿醫師及西醫徐明義醫師同時對 PCOS 病患進行中醫與西醫的完整評估。中醫的 PCOS 診斷及辨證分型將由李靜姿中醫師、徐慧茵中醫師及陳俊明中醫師診斷。粗略而言，中醫診治將 PCOS 分為主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證等，然後相同的病人再經由西醫的診斷，主要檢驗超音波、月經史、臨床理學檢查、及基本血液學檢查。這些研究資料，可以建立成 PCOS 病患相關檢驗結果的資料庫，利用研究經費先將國人 PCOS 的血液學基本檢查建立起來，然後利用彼此的相關性分析，可以得到國人 PCOS 的相關資料與臨床特性。

就目前的瞭解，PCOS 許多臨床特性是有種族差異的，例如我們先前發表的研究報告顯示 PCOS 婦女臨床表現的種族特異性最明顯的是多毛症，DeUgarte 在 2005 年報告 271 個歐美的 PCOS 患者有 77%多毛症，而在相同診斷條件下，我們發表在 Fertility and Sterility 的資料說明臺灣 PCOS 婦女只有 35%多毛症，而臺灣 PCOS 婦女有 41%有青春痘的問題，這個比率又高於西方婦女 27%的報告，因此臺灣 PCOS 婦女青春痘的問題比多毛症更常見，這是臺灣婦女雄性素過高在臨床上表現的特異性。類似的研究也估計東西方 PCOS 婦女在 Insulin Resistance 方面也可能有差異，然而目前臺灣 PCOS 婦女的相關資料並不完整。至於肥胖，臺灣 PCOS 婦女約 39%BMI>25，西方 PCOS 婦女約四成 BMI>30，肥胖依然是東西方 PCOS 女性常見的問題且會使相關症狀惡化，減重通常是肥胖 PCOS 患者第一線也是最重要的治療。

前述的問題是我們由西醫診斷的臨床資料分析的結果，我們期待將中醫的辨證分型及診斷納入臺灣 PCOS 婦女的研究資料庫中，利用對同一個 PCOS 患者在中醫及西醫診斷下，建立中醫診斷與西醫檢驗的關聯性研究，整合這兩組資料同時建立比較模式，本計劃利用兩年的時間，循序建立中醫對 PCOS 診斷的資料，分析各種中醫 PCOS 辨證分型的西醫診斷差異，中醫進而評估中醫對 PCOS 婦女的特性，希望能利用對 PCOS 婦女中西醫聯合診治的模式來建立中醫科學化的診治基礎，其短期與長期的研究計畫如下：

一、第一年重點在臺灣 PCOS 婦女中醫與西醫基本分型與理學檢查與血液學資料的整理及醫療資訊，依據萬芳醫院目前的基礎，我們已經建立西醫醫療單位的整合，目前在婦產科、減重班、新陳代謝科、心血管內科都已建立對 PCOS 的診斷及轉診系統，如果加上中醫的診斷，我們將可建立 PCOS 婦女中西醫診治的完整資料，我們利用西醫各種層

面的檢驗資料，來分析中醫主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證等在西醫檢驗中擁有的特殊性資料。

二、我們計畫在第一年招募 70 名 PCOS 患者，這些患者同時接受中醫與西醫的完整檢查及診斷，中醫進行診斷分型並完成問診問卷，西醫進行一連串西醫檢查及生化與代謝性疾病的指標。

三、完成資料蒐集的同時，我們會逐步分析各種證型在西醫檢驗的差異性，例如腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證這些辨證分型在血液檢查方面如雄性素、胰島素、血糖及葡萄糖耐受性等是否有差異。

四、同時也利用西醫的分型如月經異常雄性素增高多囊性卵巢及肥胖在中醫辨證論治方面的差異性。

五、經由第一年的研究基礎，我們可以對各種中醫 PCOS 證型的西醫檢查及生化檢驗有基本的理解，第二年以後我們可以進行中醫治療前後的西醫檢查及生化檢驗評估，這個努力除了分析中醫治療的客觀療效外，我們也可以尋求中醫對 PCOS 患者更有效的辯證論治。

六、如果經費許可，我們可以利用中西醫對 PCOS 的診斷、檢驗與治療建立一套相關連工具，一方面瞭解中醫各種腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證等的血液生化學診斷證據，一方面建立治療的評估方式。

中醫的論證

中醫體質証型診斷標準

中醫證候標準參照中藥新藥治療月經不調、不孕症、閉經的臨床研究指導原則中的中醫證候標準。《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》, 2002年5月 第1版、《中藥新藥治療不孕的臨床研究指導原則，第一輯》、《中藥新藥治療閉經的臨床研究指導原則，第一輯》

主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證：

- 腎虛證

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。

  次症：頭暈耳鳴，腰骶酸痛，面色淡暗，性欲減退。

  舌脈：舌淡暗，苔薄白，兩尺脈沉弱。

- 腎陰虛證

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。

  次症：頭暈心悸，腰酸腿軟，五心煩熱，咽乾口渴。

  舌脈：舌質紅，苔少，脈細數。

- 腎陽虛證

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
  次症：頭暈耳鳴，腰酸腿軟，性欲淡漠，小便清長，大便淡薄。
  舌脈：舌質淡，苔白，脈沉細。

- 脾虛證

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
  次症：頭暈乏力，少氣懶言，口淡納差，便溏。
  舌脈：舌淡胖有齒印，苔膩，脈滑。

- 痰濕證

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
  次症：形體肥胖，胸悶泛惡，帶多色白，大便腹瀉，心悸氣短。
  舌脈：舌淡胖有齒印、苔膩、脈滑。

- 血瘀症

  主症：月經停閉；月經提前、延後或前後不定期；婚久不孕。
  次症：小腹疼痛拒案或有痛經，下腹部腫塊。
  舌脈：舌暗或有瘀斑，脈弦或澀。

- 氣滯症

  主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
  次症：小腹脹痛，痛無定處，煩躁易怒。
  舌脈：苔薄白，脈弦或澀。

以上主症具備三項中之一項，，次症1一2項加舌、脈即可診斷。依中醫傳統的望聞問切四診診斷方法

本計劃未將糖尿病人設定為非研究對象，是為瞭解 PCOS 與糖尿病之關係與評估其造成之風險性。基本上我們並不把糖尿病患者排除於研究對象之外，相反的，我們希望透過對 PCOS 族群的研究發覺糖尿病患者病計算其發生的比率與臨床表現，在透過中西醫的合併研究來分析臺灣 PCOS 與糖尿病患者的相關性。

PCOS 與乙型糖尿病兩者間與胰島素抗性有密切的關係，約 50%-70%的 PCOS 併有胰島素抗性而 80%-100%的乙型糖尿病有胰島素抗性，PCOS 的病人比一般人多 5-10 倍的機會得到乙型糖尿病〔3〕。在對 122 名 PCOS

患者的研究發現有 45%有葡萄糖耐受性異常的現象 10%有糖尿病，而 PCOS 患者由葡萄糖耐受性異常轉變到糖尿病速度較快〔4〕，有事實上 PCOS 與乙型糖尿病的關係在不同種族之間有很大的區別；相同的乙型糖尿病病人得到 PCOS 的機會也增加很多，因此乙型糖尿病與 PCOS 是否是類似的基因缺陷在卵巢（PCOS）或者胰臟（糖尿病）不同位置，或者葡萄糖耐受性異常是的表現仍需要更進一步的研究〔3〕。

參、結果

本計畫目前收案 106 例，其中多囊性卵巢患者為 65 例，非多囊性卵巢有 41 例。表一中呈現這 106 例的相關資料，由於資料有限，以下只是初步資料分析，我們期待下一年度的研究可以充實實驗結果。

表二顯示 12 個中醫證型（腎陽虛、腎陰虛、脾陽虛、痰濕、血瘀、氣滯、脾氣虛、腎氣虛、肝熱、惡寒、脾虛、氣滯肝熱）與多囊性卵巢診斷的相關分析，其中腎陽虛 15 例（12 例為 PCOS，而 3 例為非 PCOS），而腎陽虛在 PCOS 中佔 18% （12/65），在非 PCOS 中佔 7%（3/41）；腎陰虛 58 例（34 例為 PCOS，而 24 例為非 PCOS），而腎陰虛在 PCOS 中佔 52%（34/65），在非 PCOS 中佔 59%（24/41）；脾陽虛 30 例（19 例為 PCOS，而 11 例為非 PCOS），而脾陽虛在 PCOS 中佔 29%（19/65），在非 PCOS 中佔 11%（27/41）；痰濕 59 例（43 例為 PCOS，而 16 例為非 PCOS），而痰濕在 PCOS 中佔 66% （43/65），在非 PCOS 中佔 39%（16/41）；血瘀 35 例（22 例為 PCOS，而 13 例為非 PCOS），而血瘀在 PCOS 中佔 34%（22/65），在非 PCOS 中佔 32%（13/41）；其餘可見表二，由目前資料顯示痰濕型在診斷 PCOS 有顯著意義，痰濕型患者明顯增加 PCOS 的發生率（p=0.006）。由以上資料顯示，腎虛在 PCOS 中佔 70.8%(46/65)，與傳統醫學認為腎主生殖，PCOS 是腎→天癸→冲任→胞宮生殖軸失調所致的觀點接近。而痰濕型在 PCOS 的診斷與特異性，也與傳統醫學脾為後天之本，肥胖人月經失調與不孕多由痰濕閉塞子宮所致。

表三分析部分常見的中醫診斷（手足心汗、心悸、乳脹、肌膚麻木、口乾喜飲、消穀善饑、喜生冷、夜寐多夢、小便色黃）與多囊性卵巢的相關性，目前初步結果顯示個別中醫診斷與多囊性卵巢的結果並無明顯相關。但值得觀察的是，肌膚麻木的 PCOS 患者與肥胖密切關係，且年齡較大，膽固醇（Chol）也比較高，可能與疾病進展較久，體內新陳代謝下降有關。

表四呈現中醫證型與多囊性卵巢相關生化檢驗，結果顯示腎陰虛型較少肥胖，BMI 值較低，胰島素的抗性較低；相反的，痰濕型明顯較多肥胖，BMI 較高，空腹血糖及胰島素的抗性都較高，這也顯示痰濕型的患者與多囊性卵巢相關症狀有顯著連結；其他證型如血瘀、氣滯、脾氣虛、腎氣虛、肝熱、惡寒、脾虛、氣滯肝熱與多囊性卵巢相關症狀關係較不明顯。

表五是未來一年希望擴展的研究重點，目前嘗試將部分常見的中醫診斷作西醫臨床與實驗室檢查的分析，初步結果可見中醫診斷心悸患者 FSH 較高，這與西醫的經驗相符合，中醫診斷乳脹者較少 PCOS 及較高的 DHEAs，這是可以進一步研究的項目，中醫診斷手足心汗有較低的 SHBG，

中醫診斷肌膚麻木者年齡較大且較為肥胖，這些將是有趣的結果，希望未來有更多的資料來研判中醫診斷與西醫臨床數據的相關性，這不但能提供中醫診斷的西醫臨床基礎，將來也是中西醫治療及追蹤的橋梁。

多囊性卵巢的中西醫診斷是這個研究計畫的起點，未來一年的研究，表五的研究方向將是重點，我們希望除了增加收案人數外，增加正常非PCOS 的個案，主要將證型的中西醫診斷擴展為中醫診斷的西醫臨床表現及實驗室檢驗的基礎，希望能對一些常見的中醫診斷建立西醫理學與生化檢查的基礎。

肆、結論與建議

經過一年的努力，我們的數據雖有初步的發現，但部份顯示出來的數據仍不夠足以佐證證型與臨床檢驗數值之間的關係。因此，我們期待在未來一年能繼續累積研究的樣本數，同時增加控制組的資料，而不是只收集被診斷為 PCOS 的個案資料，如此我們便能運用這些數據分析在臺灣的婦女中其 PCOS 與非 PCOS 的中醫證型分類與臨床檢驗資料上是否有所差異與其相關性。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-036 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

伍、參考文獻

1. 桑霞、陶莉莉、張玉珍、曾誠、、周英及李莉（2008）·多囊性卵巢综合征患者中医証型与內分泌指标的相關性研究·广东医学·29（9）·1571-1573。
2. 郝松莉, 侯麗輝, 辨證與辨病結合治療多囊卵巢綜合征世界中西醫結合雜誌 2008 年 第 3 卷 第 11 期
3. Ovalle F, Azziz R. Insulin resistance, polycystic ovary syndrome, and type 2 diabetes mellitus. Fertil Steril. 2002 Jun;77(6):1095-105.
4. Dunaif A, Green G, Phelps RG, Lebwohl M, Futterweit W, Lewy L. Acanthosis Nigricans, insulin action, and hyperandrogenism: clinical, histological, and biochemical findings. J Clin Endocrinol Metab. 1991 Sep;73(3):590-5.
5. 徐慧茵”多囊性卵巢綜合症”中醫婦科醫學雜誌 1121-30;2008
6. ACOG Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists: number 41, December 2002. Obstet Gynecol. 2002 Dec;100(6):1389-402.
7. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS workshop group (2004) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS).Hum Reprod 19,41-47
8. Hsu MI, Liou TH, Chou SY, Chang CY, Hsu CS. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome in Taiwanese Chinese women: comparison between Rotterdam 2003 and NIH 1990.Fertil Steril. 2007 Sep;88(3):727-9. Epub 2007 Aug 13.
9. 熊紅萍,李燦東 “多囊卵巢綜合征痰證病理與胰島素抵抗、性激素關係的研究” 現代中西醫結合雜誌 2009 18(1)
10. 郭銀華, 談勇, 周閣, 鄒奕潔”多囊卵巢綜合征中醫發病因素及中醫證候的探討”江蘇中醫藥 2008 年 第 40 卷 第 06 期
11. MI Hsu, Liou TH, Liang SJ, Su HW, Wu CH, Hsu CS. ”Inappropriate gonadotropin secretion in polycystic ovary syndrome”.*Fertil Steril.* 2008 In press.
12. 吳效科 侯麗輝多囊卵巢局部胰島素抵抗實用婦產科雜誌 2005 年第 21 卷第 9 期
13. Fradkin JE, Eastman RC, Lesniak MA, Roth J. Specificity spillover at the hormone receptor--exploring its role in human disease. N Engl J Med. 1989 Mar 9;320(10):640-5.

14. Robinson S, Kiddy D, Gelding SV, Willis D, Niththyananthan R, Bush A, Johnston DG, Franks S. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. Clin Endocrinol (Oxf). 1993 Sep;39(3):351-5.
15. Oretsky L. On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism in insulin-resistant states. Endocr Rev. 1991 Feb;12(1):3-13.
16. Barber TM, McCarthy MI, Wass JA, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. Clin Endocrinol (Oxf). 2006 Aug;65(2):137-45.
17. Liou TH, Yang JH, Hsieh CH, Lee CY, Hsu CS, Hsu MI, "Clinical and biochemical presentations of polycystic ovary syndrome among obese and non-obese women".*Fertil Steril.* 2008 In press.
18. Wabitsch M, Hauner H, Heinze E, Böckmann A, Benz R, Mayer H, Teller W. Body fat distribution and steroid hormone concentrations in obese adolescent girls before and after weight reduction. J Clin Endocrinol Metab. 1995 Dec;80(12):3469-75.
19. Azziz R. Reproductive endocrinologic alterations in female asymptomatic obesity. Fertil Steril. 1989 Nov;52(5):703-25.
20. Taponen S, Ahonkallio S, Martikainen H, Koivunen R, Ruokonen A, Sovio U, Hartikainen AL, Pouta A, Laitinen J, King V, Franks S, McCarthy MI, Järvelin MR. Prevalence of polycystic ovaries in women with self-reported symptoms of oligomenorrhoea and/or hirsutism: Northern Finland Birth Cohort 1966 Study. Hum Reprod. 2004 May;19(5):1083-8. Epub 2004 Mar 25.
21. Quinkler M, Sinha B, Tomlinson JW, Bujalska IJ, Stewart PM, Arlt W. Androgen generation in adipose tissue in women with simple obesity—a site-specific role for beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 5. J Endocrinol. 2004 Nov;183(2):331-42.
22. Barber TM, McCarthy MI, Wass JA, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. Clin Endocrinol (Oxf). 2006 Aug;65(2):137-45.
23. 徐宏生，萬瑞雄.淺談中醫診治多囊卵巢綜合征.湖北中醫雜誌，1998, 20 (5) : 33-34
24. 俞瑾，孫月麗，邵公權.補腎化痰治療多囊卵巢綜合症對下丘腦一垂體一卵巢功能的調節.中西醫結合雜誌，1986,6(4):218-221
25. 侯璟文，俞瑾，魏美娟.中藥天癸方治療多囊卵巢綜合症中高雄激素高胰島素血症的研究.中國中西醫結合雜誌，2000,20(8):589-592.
26. 王興娟.承師心悟一滋陰降火法治療多囊卵巢綜合征.上海中醫藥雜誌，

1999, 1(12):22.
27. 龐保珍，補腎疏肝與補腎治療無排卵性不孕 149 例.浙江中醫雜誌，1992;27(12):539
28. 賈金英.加味補中益氣湯治療多囊卵巢綜合征 43 例.河南中醫,1998,18(6):376
29. 章巧萍.補腎活血為主治療多囊卵巢綜合征 21 例.浙江中醫學院學報，2002,26(3):25
30. 程慧蓮.孫玲.中醫週期療法治療多囊卵巢綜合征.新疆中醫藥.2001.19(4):3
31. 謝紅亮，張娟娟，彭小新.針藥配合治療多囊卵巢綜合征月經失調 30 例療效觀察.中醫藥導報，2005，11(4):36-37.
32. 俞瑾.多囊卵巢綜合征的中西醫治療.中國實用婦科與產科雜誌 2002，1(11):651- 653.

陸、圖、表

表一、106 個案基本資料及相關生化檢驗

	Total	PCOS	Non-PCOS	p-value
Case number	106	65	41	
Age (y/o)	26.6±6.0	26.8±6.1	26.4±5.9	0.742
BMI (kg/m^2)	25.8±6.9	26.6±7.2	24.6±6.3	0.143
Menarche (y/o)	12.5±1.3	12.5±1.2	12.5±1.5	0.780
PCOS components				
Chronic anovulation	75 %	91%	51%	**<0.001***
Polycystic ovary Morphology	59%	86%	17%	**<0.001***
Hyperandrogenism	54%	71%	27%	**<0.001***
Obesity /overweight (Body Mass Index > 25 kg/m^2)	44 %	51%	34%	0.095
Number of cycles per year	7.1±4.1	5.9±3.9	9.0±3.7	**<0.001***
Systolic pressure (mmHg)	113.2±17.3	115.2±17.5	110.0±16.7	0.138
Diastolic pressure(mmHg)	77.0±13.4	78.3±12.8	74.9±14.2	0.200
Androgens				
Total testosterone (nmol/L)	2.1±0.9	2.4±0.9	1.7±0.8	**<0.001***
Androstenedione (ng/dL)	2.5±1.0	2.7±1.0	2.2±1.1	**0.024**
Free Androgen Index	9.0±8.8	11.3±10.2	5.3±3.9	**<0.001***
DHEAS (ng/dL)	200.7±105.6	199.1±100.5	203.2±114.4	0.843
17-OH PRG (ng/dL)	1.0±0.8	1.0±0.7	1.0±0.9	0.991
Anthropometric measures				
Weight (Kg)	66.0±18.0	67.6±18.7	63.4±16.8	0.246
Height (cm)	159.9±5.2	159.5±5.5	160.6±4.6	0.274
Waist (cm)	84.6±15.3	86.3±16.5	82.0±12.8	0.154
Hip (cm)	100.2±12.4	100.8±12.8	99.3±11.9	0.530
Waist to Hip ratio	0.84±0.07	0.85±0.08	0.82±0.06	0.063
Hormonal components				
LH (mIU/mL)	10.0±8.7	10.9±6.5	8.5±11.3	0.171
FSH (mIU/mL)	8.2±13.5	7.4±7.9	9.4±19.5	0.442
TSH (mIU/mL)	2.1±1.4	2.1±1.2	2.2±1.7	0.784
Prolactin (ng/mL)	16.9±15.9	13.3±4.9	22.7±23.8	**0.002***
SHBG (nmol/L)	39.9±29.0	35.9±26.0	46.3±32.5	0.072
Insulin sensitivity and glucose tolerance				
Fasting Insulin (uIU/ml)	16.2±13.5	18.2±15.9	13.1±7.3	0.058
Fasting glucose (mg/dl)	92.5±13.8	93.9±15.6	90.4±10.4	0.209
2-hour glucose (mg/dl)	116.0±48.5	117.7±53.2	113.3±40.6	0.650
HOMA-IR [b]	3.8±3.3	4.3±3.9	3.0±1.9	**0.047***
Inflammatory component				
hsCRP (mg/dL)	0.27±0.44	0.25±0.29	0.31±0.60	0.474
Lipid profiles and blood pressure				
Cholesterol (mg/dL)	183.3±34.9	184.5±37.1	181.4±31.3	0.656
Triglycerides (mg/dL)	88.8±62.9	96.0±70.8	77.5±46.3	0.143
HDL (mg/dL)	53.4±14.6	51.6±13.5	56.3±16.0	0.106
LDL (mg/dL)	111.6±31.8	114.0±33.4	107.8±28.9	0.332

Note: Data are either mean ± SD or are percentage; ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05

[a] : Free androgen index (FAI) = T (nmol/l)X100/SHBG (nmol)

[b]:The homeostasis model assessment insulin resistance index (HOMA)

表二、多囊性卵巢與中醫證型 （共 106 個案，PCOS 65 例，非 PCOS 41 例）

證型	腎陽虛	腎陰虛	脾陽虛	痰濕	血瘀	氣滯	脾氣虛	腎氣虛	肝熱	惡寒	脾虛	氣滯肝熱
共計 N=106	15 (14%)	58 (55%)	30 (28%)	59 (56%)	35 (33%)	14 (13%)	33 (31%)	42 (40%)	14 (13%)	23 (21%)	59 (56%)	28 (13%)
PCOS N=65	12 (18%)	34 (52%)	19 (29%)	**43 (66%)**	22 (34%)	15 (36%)	17 (26%)	25 (38%)	10 (16%)	13 (20%)	34 (52%)	20 (30%)
非 PCOS N=41	3 (7%)	24 (59%)	11 (27%)	**16 (39%)**	13 (32%)	4 (10%)	16 (39%)	17 (41%)	4 (10%)	10 (23%)	25 (61%)	8 (20%)

表三、多囊性卵巢與中醫診斷

證型	手足心汗	心悸	乳脹	肌膚麻木	口乾喜飲	消穀善饑	喜生冷	夜寐多夢	色黃
共計 N=106	46 (43%)	26 (24%)	21 (19%)	13 (12%)	28 (26%)	13 (12%)	10 (9%)	37 (34%)	10 (9%)
PCOS N=65	23 (36%)	9 (14%)	4 (6%)	3 (5%)	9 (14%)	9 (14%)	6 (9%)	24 (36%)	8 (12%)
非 PCOS N=41	23 (53%)	26 (24%)	17 (39%)	10 (23%)	19 (44%)	4 (9%)	4 (9%)	13 (30%)	2 (5%)

表四之一、中醫證型與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	人數	年齡	PCOS (%)	寡月經 (%)	高雄性素 (%)	多囊卵巢 (%)	多毛症 (%)	肥胖 (%)	BMI (Kg/m^2)	TSH (mIU/mL)	FSH (mIU/mL)	LH (mIU/mL)	LH /FSH
合計	**106**	**26.6**	**61%**	**75%**	**54%**	**59%**	**43%**	**44%**	**25.8**	**2.1**	**8.2**	**10.0**	**1.7**
腎陽虛	15	29.1	80%	87%	53%	80%	21%	60%	28.8	1.8	6.3	10.8	1.8
腎陰虛	58	26.6	59%	76%	53%	53%	45%	**31%***	**23.5***	2.0	7.6	6.8	1.8
脾陽虛	30	**29.5***	63%	87%	53%	57%	43%	40%	25.6	1.9	7.1	9.2	1.4
痰濕	59	26.5	**73%***	76%	59%	68%	50%	**63%***	**28.6***	2.3	7.0	9.2	1.9
血瘀	35	27.2	63%	77%	49%	60%	37%	43%	26.7	2.4	10.1	11.0	1.5
氣滯	14	26.6	71%	79%	64%	64%	57%	21%	22.8	1.9	7.4	9.8	1.4
脾氣虛	33	**23.9***	52%	73%	58%	58%	53%	52%	26.2	4.0	6.3	9.9	1.6
腎氣虛	40	**24.5***	58%	78%	55%	53%	48%	45%	25.7	2.2	9.4	10.2	1.4
肝熱	14	26.7	71%	57%	50%	71%	43%	50%	23.8	2.0	9.8	10.0	1.6
脾虛	59	26.5	58%	78%	58%	58%	50%	47%	26.1	2.1	6.6	9.6	1.5
氣滯肝熱	28	26.6	71%	68%	57%	68%	50%	36%	23.3	1.9	8.6	9.9	1.5

*: $p<0.05$
BMI: Body mass index
TSH: Thyroid stimulating hormone
FSH: Follicle stimulatinghormone
LH: Luteinizing hormone

表四之二、中醫證型與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	Insulin (uIU/mL)	Fasting Glucose (mg/dL)	2-hour Glucose (mg/dL)	HOMA	HbA1C	SHBG (nmol/L)	hsCRP (mg/dL)
合計	**16.2**	**92.5**	**116.0**	**3.8**	**5.6**	**39.9**	**0.27**
腎陽虛	19.5	96.5	**145.5***	5.0	5.7	30.9	0.39
腎陰虛	**13.3***	91.0	**105.3***	**3.0***	5.5	**46.6***	**0.17***
脾陽虛	15.7	92.7	127.5	3.8	5.5	36.3	0.31
痰濕	**20.2***	**94.9***	**126.2***	**4.8***	**5.7***	**29.3***	0.34
血瘀	19.1	93.2	113.3	4.6	5.5	43.4	0.37
氣滯	13.9	99.1	124.6	3.5	5.5	48.2	0.18
脾氣虛	17.5	90.5	110.4	4.0	5.5	34.5	0.16
腎氣虛	19.0	91.9	112.4	4.4	5.7	42.1	0.28
肝熱	10.8	91.9	111.9	2.5	5.6	40.0	0.12
脾虛	17.0	92.0	120.6	4.0	5.5	34.6	0.24
氣滯肝熱	12.4	95.5	118.2	3.0	5.6	44.1	0.15

*: $p<0.05$
HOMA: Homeoatasis model assessment of insulin resistance index
HbA1c: Glycosylated hemoglobin
SHBG: Sex Hormone binding globulin
hsCRP: high-sensitivity C-reactive protein

表四之三、中醫證型與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	Cholesterol (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	PRL (ng/mL)	Testosterone (nmol/L)	DHEAS (ng/dL)	AMH (ng/mL)
合計	**183.3**	**88.8**	**53.4**	**111.6**	**13.9**	**2.15**	**200.7**	**7.2**
腎陽虛	187.8	82.8	50.8	118.5	14.8	2.4	190.0	9.3
腎陰虛	182.2	78.0	**58.0***	**105.9***	17.2	2.1	197.4	7.3
脾陽虛	186.9	88.5	53.7	116.9	14.8	2.1	**157.5***	8.4
痰濕	184.1	**107.8***	**47.9***	**117.7***	15.7	**2.4***	204.8	7.5
血瘀	175.6	77.7	52.1	104.4	20.2	2.1	219.4	6.1
氣滯	192.9	88.9	59.1	113.4	15.3	1.9	225.3	8.1
脾氣虛	181.8	85.4	52.1	112.6	19.4	2.2	219.7	6.1
腎氣虛	180.4	95.7	52.2	109.7	16.3	2.0	220.4	6.5
肝熱	187.0	106.3	50.4	114.4	14.2	2.3	198.2	7.6
脾虛	185.4	88.7	52.9	115.6	17.4	2.2	190.2	7.0
氣滯肝熱	190.0	102.4	54.8	113.9	14.7	2.1	211.8	7.8

*: $p<0.05$
TG: Triglycerides
HDL: high-density lipoprotein
LDL: low-density lipoprotein
PRL: Prolactin
DHEAs: Dehydroepiandrosterone-sulphate
AMH: Antimullerian hormone

表五之一、中醫診斷與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	人數	年齡	PCOS (%)	寡月經 (%)	高雄性素 (%)	多囊卵巢 (%)	多毛症 (%)	肥胖 (%)	BMI	TSH	FSH	LH	LH /FSH
合計	**106**	**26.6**	**61%**	**75%**	**54%**	**59%**	**43%**	**44%**	**25.8**	**2.1**	**8.2**	**10.0**	**1.7**
惡寒	5	24.0	80%	80%	40%	80%	20%	20%	21.4	1.4	6.9	12.3	2.0
手足心汗	37	**24.2***	62%	76%	62%	65%	51%	51%*	26.7	1.8	7.3	9.1	1.6
心悸	17	27.5	53%	76%	65%	53%	41%	47%	27.3	2.0	**16.8***	13.5	2.5
乳脹	12	25.7	**33%***	67%	58%	50%	42%	25%	22.8	2.0	6.3	7.8	1.4
肌膚麻木	4	**33.3***	75%	75%	25%	100%	25%	**100%***	31.9	3.4	20.7	10.3	1.2
口乾喜飲	18	27.2	50%	72%	44%	44%	44%	56%	26.8	1.8	13.2	11.6	1.2
消穀善饑	12	25.5	75%	92%	75%	50%	**75%***	58%	27.4	2.2	10.8	12.4	2.2
喜生冷	10	25.9	60%	80%	60%	50%	50%	40%	24.9	1.4	5.3	10.0	2.0
夜寐多夢	35	27.6	66%	77%	57%	54%	53%	40%	26.2	2.1	11.6	12.2	1.7
色黃	10	24.8	80%	80%	70%	70%	70%	50%	26.2	2.2	6.2	12.5	2.0

*: $p<0.05$
BMI: Body mass index

表五之二、中醫診斷與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	Insulin (uIU/mL)	Fasting Glucose (mg/dL)	2-hour Glucose (mg/dL)	HOMA	HbA1C	SHBG (nmol/L)	hsCRP (mg/dL)
合計	**16.2**	**92.5**	**116.0**	**3.8**	**5.6**	**39.9**	**0.27**
惡寒	10.5	90.8	77.5	2.3	5.5	55.8	0.03
手足心汗	20.0	92.8	119.0	4.7	5.6	**32.7***	0.33
心悸	17.4	93.0	113.3	4.1	5.6	38.3	0.25
乳脹	10.6	88.2	106.5	2.3	5.4	59.7	0.09
肌膚麻木	26.3	91.6	151.0	5.8	5.7	16.2	0.28
口乾喜飲	17.4	92.2	107.5	4.0	5.7	37.3	0.23
消穀善饑	22.3	90.5	103.1	5.1	5.5	31.4	0.32
喜生冷	16.9	90.8	116.8	3.9	5.4	37.7	0.14
夜寐多夢	17.3	96.0	120.7	4.1	5.7	41.0	0.34
色黃	**28.5***	88.5	100.7	6.3	5.5	26.1	0.10

*: $p<0.05$
HOMA: Homeoatasis model assessment of insulin resistance index
SHBG: Sex Hormone binding globulin
hsCRP: high-sensitivity C-reactive protein

表五之三、中醫診斷與多囊性卵巢相關生化檢驗

證型	Cholesterol (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	PRL (ng/mL)	Testosterone (nmol/L)	DHEAS (ng/dL)	AMH (ng/mL)
合計	**183.3**	**88.8**	**53.4**	**111.6**	**13.9**	**2.15**	**200.7**	**7.2**
惡寒	180.3	62.8	59.0	107.0	11.7	2.1	183.0	7.6
手足心汗	180.7	98.4	50.3	111.4	18.0	2.2	224.2	7.5
心悸	183.3	97.9	50.6	112.4	21.6	2.1	194.0	6.1
乳脹	179.3	62.0	63.8	95.3	20.2	2.1	**264.7***	7.7
肌膚麻木	191.9	134.2	41.2	129.9	10.0	1.5	136.0	7.4
乾多飲	184.0	90.9	51.6	118.9	13.1	2.0	165.9	6.6
消谷善喜	189.8	86.9	50.9	121.7	14.7	2.2	220.1	6.3
喜生冷	167.8	62.9	55.3	96.0	16.2	2.3	248.9	5.4
夜寐多夢	183.6	90.2	52.8	112.3	16.0	**1.8***	197.4	6.5
色黃	186.1	93.4	48.5	118.5	12.3	2.7	217.6	9.3

*: $p<0.05$
TG: Triglycerides
HDL: high-density lipoprotein
LDL: low-density lipoprotein
PRL: Prolactin
AMH: Antimullerian hormone

表六、生化數值單位參考表

項目	參考值
Fasting Glucose AC	70-100 mg/dl
2-hours Glucose PC	＜140 mg/dl
HDL	＞40 mg/dl
LDL	＜130 mg/dl
Cholesterol	＜200 mg/dl
Triglycerides	＜150 mg/dl
Prolactin	停經前：3.34-26.72
FSH	停經期：16.74-113.59
	濾泡期：3.85-8.78
	Mid-cycle peak：4.54-22.51
	黃體期：1.79-5.12
LH	停經期：10.87-58.64
	濾泡期：2.12-10.89
	Mid-cycle peak：19.18-103.03
	黃體期：1.20-12.86
TSH	0.34-5.60 mg/dl
High-sensitive CRP	＜0.072 mg/dl
Testosterone	0.09-0.86ng/mL
SHBG	26.1-110 nmol/L
Androstenedione	0.1-2.99 ng/mL
17OH-progesterone	濾泡期 0.15-1.1
	黃體期 0.7-3.1
	停經後 0.08-1.3 ng/mL
Fasting Insulin	空腹: 4.0-16.0 uIU/mL
DHEAS	初經期前: 19-63
	成人:195-507
	停經期:7-348 ug/dL

柒、其他附件

一、中醫問卷

Protocol Version：PCOS02
Date：24/12/2010

試驗介紹

試驗背景

多囊性卵巢症候群（PCOS）是一種結合了內分泌、生殖、新陳代謝等功能性障礙的症候群。它常見於育齡中的婦女，盛行率約 3~10%。在臨床上病人常因不孕症、月經不規則及雄性素過高症狀（如多毛、青春痘、肥胖等）而來到門診接受治療。但在近二十年來，因著醫學的進步，PCOS 的患者被觀察到其罹患糖尿病及早發性冠狀動脈疾病的危險性較正常人偏高。而有將近 40%PCOS 患者會出現葡萄糖耐性不良及糖尿病的症狀，也容易出現胰島素抵抗、雄性肥胖、脂質代謝障礙等問題。

中醫學上本來無多囊性卵巢症候群（PCOS）的病名，根據本病徵的臨床表現可歸屬于月水不利、月經後期、月經過少、閉經、不孕等範疇。在西醫上對多囊性卵巢症候群可以概分為肥胖型 PCOS 及非肥胖型 PCOS，並依此給予合適的治療方法。中醫對於疾病的治療，向來是依病人體質分型及臨床症狀給予不同的治療方法。所以，即使病名相同，只要是不同體質的病人，醫師給予的治療方法也會完全不同。

多囊性卵巢症候群（PCOS）在中醫上目前沒有統一的體質証型分類，一般可以粗略分為主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證等。並依這些証型給予不同治療方法。但這些分型與西醫對 PCOS 的分類並沒有直接的相關性。

在查閱臺灣地區及國外地區後的文獻期刊後，並沒有搜尋到關於多囊性卵巢症候群（PCOS）的中醫証型與西醫實驗室檢查及臨床表現的有意義相關性文獻發表。而主要的原因就是 PCOS 是一種多病因多樣表現的疾病，所以無法以傳統的單一証型來分析 PCOS 的體質分型。

本實驗希望藉由門診中 PCOS 病人的實驗室檢查數據，來將 PCOS 病患重新體質分類，這些病患將重新被分類為幾種混和型體質，並期待從這些的新的分類來探討 PCOS 的中醫治療模式。

中醫體質証型診斷標準

中醫證候標準參照中藥新藥治療月經不調、不孕症、閉經的臨床研究指導原則中的中醫證候標準。《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》，2002年5月第1版、《中藥新藥治療不孕的臨床研究指導原則，第一輯》、《中藥新藥治療閉經的臨床研究指導原則，第一輯》。

主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證。

參照《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》(2002年版)中關於月經不調的中醫證候診斷標準：

腎虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。

次症：頭暈耳鳴，腰骸酸痛，面色淡暗，性欲減退。

舌脈：舌淡暗，苔薄白，兩尺脈沉弱。

腎陰虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期：婚久不孕。

次症：頭暈心悸，腰酸腿軟，五心煩熱，咽乾口渴。

舌脈：舌質紅，苔少，脈細數。
腎陽虛證
主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：頭暈耳鳴，腰酸腿軟，性欲淡漠，小便清長，大便溏薄。
舌脈：舌質淡，苔白，脈沉細。
脾虛證
主症：月經停閉：月經提前、延後或先後不定期;婚久不孕。
次症：頭暈乏力，少氣懶言，口淡納差，便溏。
舌脈：舌淡胖有齒印，苔膩，脈滑。
痰濕證
主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：形體肥胖，胸悶泛惡，帶多色白，大便腹瀉，心悸氣短
舌脈：舌淡胖有齒印、苔膩、脈滑。
血瘀症
主症：月經停閉；月經提前、延後或前後不定期：婚久不孕。
次症：小腹疼痛拒案或有痛經，下腹部腫塊
舌脈：舌暗或有瘀斑，脈弦或澀。
氣滯症
主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期，婚久不孕。
次症：小腹脹痛，痛無定處，煩躁易怒。
舌脈：苔薄白，脈弦或澀。
以上主症具備三項中之一項，次症1一2項加舌、脈即可診斷。

門診問診內容如下：依中醫傳統的望聞問切四診診斷方法
【看診情況】
問診
1. 問寒熱：

□1 無特殊	□2 身熱惡寒	□3 畏寒肢冷	□4 壯熱	□5 日晡潮熱	□6 午後潮熱
□7 夜間潮熱	□8 身熱不揚	□9 微熱	□10 往來寒熱	□11 五心煩熱	

2. 問汗：

□1 無汗出	□2 自汗	□3 盜汗	□4 手足心出汗	□5 無特殊

3. 問頭身胸腹四肢：

□1 頭暈	□2 頭痛	□3 耳鳴	□4 耳聾	□5 目眩	□6 目乾澀
□7 胸悶	□8 心悸	□9 目脹	□10 乳脹	□11 腕脹	□12 腹脹
□13 腹痛	□14 身重	□15 肌膚麻木	□16 腰痛	□17 腰膝酸軟	□18 四肢乏力
□19 四肢倦怠	□6 無特殊				

4. 問口渴：

□1 正常	□2 口渴而不欲飲	□3 口乾喜飲	□4 口乾喜冷飲	□5 口乾喜熱飲
□6 口乾喜漱水不欲咽				

5. 問口味：

□1 正常	□2 淡	□3 苦	□4 甜	□5 酸	□6 澀
□7 鹹	□8 黏膩				

6. 問飲食：

□1 正常	□2 不欲食	□3 納少	□4 納呆	□5 厭食	□6 噁心
□7 嘔吐	□8 消穀善饑	□9 喜食生冷	□10 喜食肥甘	□11 喜食辛辣	

7. 問睡眠：

□1 眠可	□2 白日思睡	□3 飯後嗜睡	□4 煩躁難眠	□5 夜寐多夢

8. 問二便：

□1 小便正常	□2 小便量多	□3 小便量少	□4 小便頻數	□5 小便短赤	□6 小便清長
□7 小便淋漓	□8 小便失禁	□9 夜尿頻多	□10 小便色黃	□11 小便色白	
□12 大便正常	□13 大便乾結	□14 大便稀薄	□15 溏結不調	□16 完谷不化	□17 大便黏滯
□18 五更泄瀉	□19 排便無力	□20 滑瀉失禁	□21 肛門氣墜	□22 裡急後重	□23 排便不爽
排便時間　　天／次　或　　次／天					

望診：

整體望診：

1. 望神態：

□1 得神	□2 少神	□3 失神

2. 望型體：

□1 型體適中	□2 型體瘦弱	□3 型體偏瘦	□4 型體偏胖	□5 型體肥胖

局部望診：

1. 望面色：

□1 面色紅潤	□2 面色晄白	□3 面色萎黃	□4 面黃虛浮	□5 面色晦暗
□6 兩顴潮紅	□7 面色青紫	□8 面色青黃	□9 面色暗淡	□10 面色乾焦

2. 望唇色：

□1 口唇淡紅	□2 口唇紅絳	□3 口唇暗紫

聞診：

□1 聲低氣怯	□2 聲高音粗	□3 善嘆息

舌脈象：

1. 望舌體：

舌色：	□1 淡紅	□2 淡白	□3 紅絳	□4 青紫	□5 紫暗	□6 暗紅	□7 淡暗
舌質：	□1 榮	□2 枯	□3 老	□4 嫩	□5 胖	□6 瘦	□7 點
	□8 刺	□9 裂紋	□10 齒印				
舌態：	□1 痿軟	□2 強硬	□3 歪斜	□4 顫動	□5 吐弄	□6 短縮	□7 正常
舌下脈絡：	□1 短細	□2 粗脹	□3 淡紅	□4 青紫	□5 暗紅		

2. 望舌苔：

苔質：	□1 薄	□2 厚	□3 潤	□4 燥	□5 膩	□6 腐	□7 花剝
苔色：	□1 白	□2 黃	□3 灰黑				

3.脈象：

□1 浮	□2 沉	□3 遲	□4 數	□5 細	□6 弱	□7 濡	□8 弦	□9 滑
□10 澀	□11 長	□12 短	□13 散	□14 芤	□15 緊	□16 牢	□17 革	□18 虛
□19 實	□20 微	□21 洪	□22 伏	□22 動	□23 促	□24 結	□25 代	□26 疾

【診斷】

西醫診斷：_____

中醫診斷：_____

辨證分型：

□1 腎陽虛	□2 腎陰虛	□3 脾陽虛	□4 痰濕型	□5 血瘀型	□6 氣滯型
□7 脾氣虛	□8 腎氣虛	□9 肝火型			

以上資料由醫師門診問診取得。

病人初診基本資料表

一般資料：

姓名		年齡		婚齡		民族	
身高		體重		血壓		腰圍	
臀圍		腰臀比		質量指數			

職業：□1 醫護人員 □2 教師 □3 工業 □4 農業 □5 服務業 □6 事務人員 □7 學生 □8 其他

學歷：□1 小學 □2 國中 □3 高中或專科 □4 大學 □5 研究所

【經帶胎產史】

月經情形：

正常	（1）	（2）	（3）	（4）
初潮年齡：	□111-14 歲	□215-16 歲	□317-18 歲	□418 歲以上
經期：	□15-7 天	□23-4 天	□31-2 天	□4＜1 天	□5＞7 天
週期：	□1＜28 天	□228-35 天	□3>1-2 個月	□4＞3 個月
經量：(一天所用衛生棉)	□13-4 片（多）	□22-3 片（正常）	□31-2 片（較少）	□4＜1 片（少）
經色：	□1 正紅	□2 淡紅	□3 鮮紅	□4 暗紅
經質：	□1 不稀不稠	□2 稀薄	□3 黏稠	□4 有血塊
痛經：	□1 輕度	□2 中度尚可忍受	□3 痛不可忍	□4 不痛
痛經性質：	□1 隱痛	□2 脹痛	□3 刺痛	□4 不痛
痛經時間：	□1 經前痛	□2 經期痛	□3 經後痛	□4 不痛
末次月經：	年 月 日			

帶下情況：

正常	（1）	（2）	（3）	
量：	□1 正常	□2 較少	□3 較多	
顏色：	□1 白	□2 黃白相間	□3 黃	□4 透明
質地：	□1 稀薄如水	□2 稀薄	□3 黏稠	
氣味：	□1 無臭味	□2 稍有臭味	□3 臭味較大	
陰癢：	□1 有	□2 無		
陰部乾澀感：	□1 有	□2 無		

孕產情況：□無

孕產	（末次時間：　　）	人流	（末次時間：　　）
自然流產	（末次時間：　　）	引產	（末次時間：　　）
藥物流產	（末次時間：　　）		

既往史：

□0 無				
□1 有	□1 高血壓病	□2 心臟病	□3 慢性腎病	□4 慢性消化道疾病
	□5 惡性腫瘤	□6 糖尿病	□7 慢性肝炎	□8 甲狀腺亢進
	□9 血小板減少性紫癜	□10 免疫性疾病	□11 其他疾病：	
	婦科相關疾病：			
	□14 生殖道細菌／黴菌感染	□15 無菌性陰道炎	□16 宮頸炎	□17 盆腔炎
	□18 披衣菌感染	□19 支原體感染	□20 子宮內膜異位症	□21 其他

過敏史：　□0 無　□1 有

家族史：　□0 無　□1 有

生活史：　出生地　　現居地

家族情況：

- 一級親屬女性月經失調情況(母親及姊妹)：
  □無
  □月經不規律（為發生在育齡期的月經週期＜21 天，或＞35 天，且 1 年少於或等於 9 個週期）
- 一級親屬男性：
  □無
  □早禿(40 歲之前的進行性脫髮，大多數患者在 30 歲之前頭頂都頭髮幾乎全部脫落，而兩側及後腦部頭髮可以存留）

臨床實驗室檢查：由西醫協助檢查。

數據分析

證候分型構成及證型下的四診指標頻數分析採用描述性分析；臨床病例證候分型分析採用樣品聚類分析，並進行證型下的四診指標頻數的描述性分析，利用頻數進行二次歸

一，計算四診指標權重；證候診斷模型採用判別分析、相關指標分析採用Logistic回歸分析。

二、編譯表

題目編號	題目名稱	屬性	說明／注意事項	備註
1	問診			
1.1	問寒熱	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.2	問汗	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.3	問頭身胸腹四肢	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.4	問口渴	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.5	問口味	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.6	問飲食	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.7	問睡眠	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.8.1	問小便	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.8.2	問大便	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
1.8.3	排便次數	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2	望診			
2.1	望神態	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.2	望型體	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.3	望面色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.4	望唇色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
3	聞診			
3.1	聞聲	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.5.1	望舌色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.5.2	望舌質	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.5.3	望舌態	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.5.4	望舌下脈絡	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.6.1	望舌苔質	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
2.6.2	望舌苔色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
4	切診			
4.1	脈象	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
5	診斷	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
5.1	西醫診斷	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
5.2	中醫診斷	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
5.3	證型	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6	經帶胎產史			
6.1.1	初經	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.2	經期	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.3	週期	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.4	經量	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.5	經色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.6	經質	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.7	痛經	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.8	痛經性質	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷

題目編號	題目名稱	屬性	說明／注意事項	備註
6.1.9	痛經時間	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.1.10	末次月經	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.1	帶下量	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.2	帶下顏色	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.3	帶下質地	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.4	帶下氣味	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.5	陰癢	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.2.6	陰部乾澀	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.3.1	孕產	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.3.2	自然流產	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.3.4	藥物流產	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.3.5	人流	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.3.6	引產	文字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.4.1	既往史	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.4.2	各疾病	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.5	過敏史	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.6	家族史	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.7.1	家族月經史	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷
6.7.2	家族禿髮史	數字元	直接鍵入選項代碼	選項代碼請參考問卷

三、訪員手冊

行政院衛生署中醫藥委員會

推動中醫藥療效評估及診斷標準化類

中醫診斷多囊性卵巢徵候群的臨床與實驗室檢驗表現（2-1）

訪員手冊

試驗背景

多囊性卵巢症候群（PCOS）是一種結合內分泌、生殖、新陳代謝等功能性障礙的症候群。它常見於育齡中的婦女，盛行率約 3~10% 。中醫學上本無 PCOS 的病名，根據本病徵的臨床表現可歸屬于月水不利、月經後期、月經過少、閉經、不孕等範疇。

中醫對於疾病的治療，是依病人體質分型及臨床症狀給予不同的治療方法。即使病名相同，體質不同，其治療方法也會不同。PCOS 在中醫上目前沒有統一的証型分類，一般可以粗略分為主要證型：腎虛證、腎陰虛證、腎陽虛證、脾虛證、痰濕證、血瘀證、氣滯證等。因 PCOS 是一種多病因多樣表現的疾病，所以無法以傳統的單一証型來分析 PCOS 的體質分型。

本實驗希望藉由門診中 PCOS 病人的實驗室檢查數據，來將 PCOS 病患重新體質分類，這些病患將重新被分類為幾種混和型體質，並期待從這些的新的分類來探討 PCOS 的中醫治療模式。

中醫體質証型診斷標準

腎虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：頭暈耳鳴，腰骸酸痛，面色淡暗，性欲減退。
舌脈：舌淡暗，苔薄白，兩尺脈沉弱。

腎陰虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：頭暈心悸，腰酸腿軟，五心煩熱，咽乾口渴。
舌脈：舌質紅，苔少，脈細數。

腎陽虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：頭暈耳鳴，腰酸腿軟，性欲淡漠，小便清長，大便溏薄。
舌脈：舌質淡，苔白，脈沉細。

脾虛證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：頭暈乏力，少氣懶言，口淡納差，便溏。
舌脈：舌淡胖有齒印，苔膩，脈滑。

痰濕證

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：形體肥胖，胸悶泛惡，帶多色白，大便腹瀉，心悸氣短。
舌脈：舌淡胖有齒印、苔膩、脈滑。

血瘀症

主症：月經停閉；月經提前、延後或前後不定期；婚久不孕。
次症：小腹疼痛拒案或有痛經，下腹部腫塊。
舌脈：舌暗或有瘀斑，脈弦或澀。

氣滯症

主症：月經停閉；月經提前、延後或先後不定期；婚久不孕。
次症：小腹脹痛，痛無定處，煩躁易怒。
舌脈：苔薄白，脈弦或澀。

以上主症由本研究計劃協同主持人診斷，其具備三項中之一項或次症1-2項加舌、脈即可診斷。

問卷選項註解：

門診問診內容如下：依中醫傳統的望聞問切四診診斷方法，醫師診斷之選項註解將參照中醫證候標準參照中藥新藥治療月經不調、不孕症、閉經的臨床研究指導原則中的中醫證候標準。《中藥新藥治療月經不調的臨床研究指導原則》，2002 年 5 月第 1 版、《中藥新藥治療不孕的臨床研究指導原則，第一輯》、《中藥新藥治療閉經的臨床研究指導原則，第一輯》、中國醫藥大學蘇奕彰教授的中醫體質量表及分型指標之評值，故不列入此問卷註解中。

問診

1. 問寒熱：
   - 1.1.1 無特殊：無特別的感覺。
   - 1.1.2 身熱惡寒：惡寒與發熱同時並作的症狀。
   - 1.1.3 畏寒肢冷：四肢容易冰冷
   - 1.1.4 壯熱：身體感覺非常燥熱難受，體溫明顯升高，身體皮膚發燙，或伴有惡熱口煩渴的表現
   - 1.1.5 日晡潮熱：白天發熱(發熱盛衰有定時，猶如潮汛一般)
   - 1.1.6 午後潮熱：午後發熱
   - 1.1.7 夜間潮熱：夜間發熱
   - 1.1.8 身熱不揚：就是體溫熱勢不高，約於37.5--38.5℃之間。患者或許感到熱，或許感覺不到；醫生用手觸摸，開始不覺熱，時間稍長就感到患者體內有熱。
   - 1.1.9 微熱：身體微微發熱，小於 38℃
   - 1.1.10 往來寒熱：惡寒和發熱交替發作
   - 1.1.11 五心煩熱：兩手心與足心及自覺心胸熱，而體溫有的升高，有的並不升高的一種虛煩發熱症狀

2. 問汗：
   - 1.2.1 無汗出：當汗出而汗不出者
   - 1.2.2 自汗：人體不因勞累，不因天然及穿衣過暖汗服用發散藥物等因素而自然汗出可言
   - 1.2.3 盜汗：入睡時汗出，醒來及止
   - 1.2.4 手足心出汗：手心腳心出汗
   - 1.2.5 無特殊：無特別的感覺。

3. 問頭身胸腹四肢：
   - 1.3.1 頭暈：視物昏花旋轉，如坐舟車之狀，嚴重者張目即覺天旋地轉，不能站立胸中上泛嘔惡，甚或仆倒
   - 1.3.2 頭痛：頭部非外傷引起的疼痛
   - 1.3.3 耳鳴：耳內有鳴聲
   - 1.3.4 耳聾：聽覺失聰，不能聽到外界聲響而言。輕者，聽而不真，稱為重聽;重者，不聞外聲，則為全聾
   - 1.3.5 目眩：視物不清，昏暗不明
   - 1.3.6 目乾澀：目乾少津，滯澀不爽，易感疲勞而言
   - 1.3.7 胸悶：胸痞、胸滿、胸中痞滿，是指自覺中堵塞不暢、胸悶不舒服
   - 1.3.8 心悸：心動悸不寧，俗稱心跳
   - 1.3.9 目脹：自覺眼珠發脹，甚側眉稜骨亦感痠脹的症狀
   - 1.3.10 乳脹：乳房發脹疼痛之症

1.3.11 腕脹：手腕關節感覺腫脹
1.3.12 腹脹：脹氣
1.3.13 腹痛：腹部非外傷引起之不適感
1.3.14 身重：肢體沉重，活動不利，難已轉側的症狀
1.3.15 肌膚麻木：肌出現局部性的片狀、條狀、索狀知覺障礙
1.3.16 腰痛：腰脊相鄰，其疼痛部位或以正中脊不為重，或在脊柱兩側腰部為甚，故一般稱為腰脊痛，或統稱腰痛
1.3.17 腰膝酸軟：腰軟、膝軟二正同時發生
1.3.18 四肢乏力：四肢缺乏力氣
1.3.19 四肢倦怠：手腳無力不想活動，但無外傷或疼痛
1.3.20 無特殊：無特別的感覺。

4. 問口渴：
1.4.1 正常：符合一天約 2000 cc之飲水量。
1.4.2 口渴而不欲飲：口渴也不會攝取水份。
1.4.3 口乾喜飲：口渴會喝很多水。
1.4.4 口乾喜冷飲：口渴偏好攝取冰冷的水份。
1.4.5 口乾喜熱飲：口渴偏好攝取溫熱的水份。
1.4.6 口乾喜漱水不欲咽：口渴會如漱口般只喝少量的水份，但不會額外多攝取。

5. 問口味：
1.5.1 正常：無特別的感覺。
1.5.2 淡：味覺減退，自覺口內發淡而無法嚐出飲食滋味
1.5.3 苦：口內感到苦味，但非食物所引起。
1.5.4 甜：口內感到甜味，但非食物所引起。
1.5.5 酸：自覺口中有酸味，甚者聞之有酸氣
1.5.6 澀：口中有澀感，但非食物所引起。
1.5.7 鹹：自覺口中有鹹味，有時或伴有鹹味痰涎排出
1.5.8 黏膩：口舌年膩，滯澀不爽，甚則食不知味

6. 問飲食：
1.6.1 正常：如一般正常進食量。
1.6.2 不欲食：沒有進食的慾望。
1.6.3 納少：吃很少。
1.6.4 納呆：對進食仍有慾望，但易因其他事情而忽略。
1.6.5 厭食：對進食感到厭惡。
1.6.6 噁心：進食後出現反胃感。
1.6.7 嘔吐：胃氣上膩所出現的症狀
1.6.8 消穀善饑：吃的多，喝的多。
1.6.9 喜食生冷：偏好未經烹煮或冰冷的食物。
1.6.10 喜食肥甘：偏好油炸或甜食。
1.6.11 喜食辛辣：偏好辛辣的食物。

7. 問睡眠：
1.7.1 眠可：無特別的狀況。
1.7.2 白日思睡：白天特別容易想睡覺。

1.7.3 飯後嗜睡：飯後特別容易想睡覺。
1.7.4 煩躁難眠：多慮而難以入睡。
1.7.5 夜寐多夢：入睡後會做很多夢。

8. 問二便：
1.8.1 小便正常：無特殊情況。
1.8.2 小便量多：即便飲水量不多，但尿量仍超過飲水量。
1.8.3 小便量少：尿量仍少於飲水量。
1.8.4 小便頻數：小便次數明顯增加，甚則一日達數十次的一種症狀，簡稱頻尿
1.8.5 小便短赤：簡稱尿痛，止排尿時尿道發生刺痛、灼痛、澀痛、五絞痛等，同時伴有小便淋漓不暢
1.8.6 小便清長：尿液澄清而量多
1.8.7 小便淋漓：小便後仍有餘力點滴不淨的症狀
1.8.8 小便失禁：小便失去控制而自行溺出的症狀，夜間意識清楚的況下見小便自遺者，亦屬本症
1.8.9 夜尿頻多：夜間小便次數及尿量增加的症狀，一般夜尿次數在二、三次以上或夜間尿量超過全日的四分之一，其甚者夜間尿量可接近或超過白晝尿量。白晝小便正常，獨夜間尿多，為本症之特點，據此可別於小便頻數。
1.8.10 小便色黃：小便顏色偏深黃，非藥物引起。
1.8.11 小便色白：小便顏色偏濁白，非藥物引起。
1.8.12 大便正常：無特殊情況。
1.8.13 大便乾結：大便呈現硬粗或不成條的情形。
1.8.14 大便稀薄：拉肚子。
1.8.15 溏結不調：大便質地偏黏稠但不臭。
1.8.16 完谷不化：大便呈現食物大多未經消化完全。
1.8.17 大便黏滯：大便質地偏黏稠且臭位較重。
1.8.18 五更泄瀉：半夜常感到腸胃不適而拉肚子。
1.8.19 排便無力：覺得無法使用足夠的力量解便。
1.8.20 滑瀉失禁：排便不能自控，滑脫不禁，甚則便出而自不隻者稱為失禁
1.8.21 肛門氣墜：肛門處自覺有下墜感，嚴重者有脫肛的感覺。
1.8.22 裡急後重：排便前腹部疼痛，欲便而迫不及待稱裡急;排便窘迫而排出不暢謂後重，二者同時並見稱裡急後重
1.8.23 排便不爽：覺得大便解不乾淨。
1.8.24 排便時間：一天數次或數天一次

望診：
整體望診：
1. 望神態：
2.1.1 得神：精神飽滿，目光炯炯有神，言語清晰是身體健康的表現
2.1.2 少神：精神不振，不想說話，動作遲緩，面色蒼白無華
2.1.3 失神：精神委靡不振，言語錯亂，目光呆滯，面色暗沈，動作遲緩或煩躁不安四肢抽搐。

2. 望型體：
2.2.1 型體適中：指體格適中不胖也不瘦
2.2.2 型體瘦弱：指體格瘦小，四肢肌肉薄肉

2.2.3 型體偏瘦：指體格稍瘦，但四肢肌肉正常
2.2.4 型體偏胖：指體格稍胖，但四肢肌肉正常
2.2.5 型體肥胖：指體重過重，通常 BMI 大於 24 以上

局部望診：
1. 望面色：
2.3.1 面色紅潤：面色紅潤有光采。
2.3.2 面色晄白：患者面部缺乏血色而發白稱為面色白，此為營血不容於面所致，主要鑒於虛寒症與血虛症。
2.3.3 面色萎黃：患者面部顏色比正常人黃而無華者，稱為面色萎黃。
2.3.4 面黃虛浮：指面部虛浮作腫，但按之應手而起。
2.3.5 面色晦暗：面色暗沉無光采。
2.3.6 兩顴潮紅：面色紅易止患者面部之顏色紅於正常人
2.3.7 面色青紫：口唇出現青深紫色或青淡紫色而言。
2.3.8 面色青黃：患者面部顯露青色者稱為面青色。
2.3.9 面色暗淡：面容無光澤。

2. 望唇色：
2.4.1 口唇淡紅：唇色紅潤，但略顯蒼白。
2.4.2 口唇紅絳：唇色紅潤。
2.4.3 口唇暗紫：唇色偏紫黑色。

聞診：
3.1 聲低氣怯：說話語調有氣無力，微弱小聲。
3.2 聲高音粗：聲音高亢有活力。
3.3 善嘆息：自覺中憋悶，每以長聲噓氣為舒的一種症狀。

病人初診基本資料表
一般資料：
姓名：姓名。
年齡：年紀。
婚齡：結婚的年齡。
民族：平地（漢）或原住民。
身高／體重／質量指數：身體高度及重量與其身體質量指數。
血壓：量測橈動脈所得之收縮壓及舒張壓。
腰圍／臀圍／腰臀比：量測臍平及臀骨平之體圍及其比值。
職業：醫護人員、教師、工、農、服務業、事務人員、學生、其他
學歷：小學、國中、高中或專科、大學、研究所

【經帶胎產史】
月經情形：
6.1.1 初潮年齡：第一次來月經為幾歲？
6.1.2 經期：月經間期天數。
6.1.3 週期：月經週期。
6.1.4 經量(一天所用衛生棉)：月經來時出血量。
6.1.5 經色：月經出血顏色。

6.1.6 經質：月經出血性質。
6.1.7 痛經：月經來時是否感到疼痛？
6.1.8 痛經性質：經痛的性質。
6.1.9 痛經時間：經痛的時間。
6.1.10 末次月經：最後一次月經第一天日期。

帶下情況：
6.2.1 量：白帶的量。
6.2.2 顏色：白帶的顏色。
6.2.3 質地：白帶的性質。
6.2.4 氣味：白帶是否具有味道？
6.2.5 陰癢：白帶來時是否感到陰部搔癢？
6.2.6 陰部乾澀感：白帶來時是否感到陰部較乾澀？

孕產情況：
6.3.1 無：無此情況，以下省略不需填答。
6.3.2 孕產：最後一次懷孕時間。
6.3.3 自然流產：最後一次自然流產時間。
6.3.4 藥物流產：最後一次藥物流產時間。
6.3.5 人流：最後一次人工流產時間。
6.3.6 引產：最後一次引產時間。

既往史：
6.4.1 過去病史：是否有以下過去病史？
6.4.2.1 高血壓病：曾被心臟科醫師診斷或服用降高血壓之患者。
6.4.2.2 心臟病：曾被心臟科醫師診斷之患者。
6.4.2.3 慢性腎病：曾被腎臟科醫師診斷之患者。
6.4.2.4 慢性消化道疾病：曾被肝膽腸胃科醫師診斷之患者。
6.4.2.5 惡性腫瘤：曾被腫瘤科醫師診斷之患者。
6.4.2.6 糖尿病：曾被新陳代謝科醫師診斷或服用降血糖藥物之患者。
6.4.2.7 慢性肝炎：曾被肝膽腸胃科醫師診斷之患者。
6.4.2.8 甲狀腺亢進：曾被新陳代謝科醫師診斷或服用降甲狀腺素藥物之患者。
6.4.2.9 血小板減少性紫癜：曾被免疫科醫師診斷之患者。
6.4.2.10 免疫性疾病：曾被免疫科醫師診斷之患者。
6.4.2.11 其他疾病
6.4.2.12 生殖道細菌／黴菌感染：一般性陰道感染。
6.4.2.13 無菌性陰道炎：非細菌或黴菌所引起之陰道發炎。
6.4.2.14 宮頸炎：子宮頸發炎。
6.4.2.15 盆腔炎：骨盆腔發炎。
6.4.2.16 披衣菌感染：披衣菌感染。
6.4.2.17 支原體感染：支原體感染。
6.4.2.18 子宮內膜異位症：患有子宮內膜異位之患者。
6.5 過敏史：是否有對任何東西過敏。
6.6 家族史：家族裡是否有一位以上患有相同的疾病。
6.7 家族
6.7.1 月經失調：母親及姊妹在育齡期的月經週期＜21 天，或＞35 天，且 1 年少於

或等於 9 個週期

6.7.2 禿髮：父親或兄弟 40 歲之前的進行性脫髮，大多數患者在 30 歲之前頭頂都頭髮幾乎全部脫落，而兩側及後腦部頭髮可以存留

編號：CCMP99 -RD-037

自動化舌診系統與中醫師診斷之一致性研究

蔣依吾
國立中山大學資訊工程系

摘　要

主持人執行衛生署中醫藥委員會 90 至 92 年度之中醫舌診標準化整合研究計畫（CCMP90-RD-017, 90.06.01~ 90.12.31、CCMP91-RD-110, 91.01.01~ 91.12.31、CCMP92-RD-102, 92.01.01~ 92.12.31）中，業已發展一可自動分析舌部影像特徵之中醫舌診電腦化系統，並經中醫藥委員會申請專利，於 2008 年 4 月獲准發明專利（"舌診系統及其方法"，中華民國專利證書發明第 I296110 號），復於98 年推動中醫療藥效評估及診斷標準化類研究計畫 (CCMP98-RD-031, 98.01.21~99.12.31)中研究將自動化舌診系統小型化可行性，現正尋求將發明專利商業化，成為舌診臨床診治自動化儀器；然而一臨床輔助儀器商業化所面臨最大挑戰為必須提出一具可靠度相關佐證數據，方可獲得醫師及病患信任，換言之，自動化舌診系統之一致性量測為臨床判讀儀器所不可或缺，可令醫師於臨床診治上使用此系統輔助診斷時更具信心，因此，本計畫針對此一需求，探討前述自動化舌診系統之一致性，共區分為內部一致性(intra-agreement)及外部一致性(inter-agreement)，內部一致性為舌診系統針對同一病人於短時間內拍攝兩張舌頭影像進行判讀後兩次結果相似程度；外部一致性則為系統與中醫師分別對同一舌頭影像觀測後所得結果相似度。

長期以來，國內學者對診斷基準研究貢獻許多心力，然而中醫望聞問切四診臨症技巧，並未建立共識，換言之，如何應用由中醫四診所擷取資訊並無一標準系統或具高度一致性方法提供對病人之病症進行審視，此於臨床研究上將嚴重影響中醫學術發展之延續性，因此望聞問切四診症狀判斷一致性與精準度應為中醫辨證首要解決課題，而在探討四診症狀診斷一致性前，應先探討醫師對由望診、聞診、問診及切診中任一診所得特徵資訊判斷之一致性，因此欲將現有自動化舌診系統商業化，做為醫師臨床時診斷輔助工具，必須先對此自動化舌診系統之自身一致性及外部一致性進行探討，以提供自動化舌診系統可靠度數據使得醫師於臨床診治時對其分析更具信心。

除了對自動化舌診系統進行自身一致性探討外，為使自動化舌診系統分析舌頭特徵而推導數據於臨床上更具說服力，將與已執業中醫師對同一影像之舌診特徵判斷進行一致性比較(inter-agreement)。因此本計畫一致性比較對象共計三類，一為計畫主軸－自動化舌診系統；二為對舌頭特徵辨識已有高度共識彰化基督教

醫院中醫部舌診小組（共計十三位中醫師）；三則是於計畫實施前對舌頭特徵辨識並無共識或討論中醫師（共計十四位中醫師）。將分別針對自動化舌診系統、有共識之中醫師及無共識之中醫師三者進行自身一致性探討，並對自動化舌診系統與有共識之中醫師、自動化舌診系統與無共識之中醫師、有共識與無共識之中醫師共計三組進行外部一致性比較。

關鍵詞：自動化舌診系統、自身一致性、外部一致性

Number: CCMP99-RD-037

The Study on The Agreement Between Automatic Tongue Diagnosis System and Traditional Chinese Medicine Practitioners

John Y. Chiang
Department of Computer Science and Engineering National Sun Yat-sen University

ABSTRACT

Several continuous projects (CCMP90-RD-017, 90.06.01~90.12.31, CCMP91-RD-110, 91.01.01~91.12.31, CCMP92-RD-102, 92.01.01~ 92.12.31), supported by the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy (CCMP), DOH, from 2001 to 2003, aiming at the standardization of tongue diagnosis procedure have successfully developed an automatic tongue diagnosis system. This research result has submitted for patent application by CCMP and granted invention in April, 2008 ("Tongue diagnosis system and its method", ROC Patent: Invention No. I296110). This year's project (CCMP99-RD-037) aims at deriving inter- and intra-agreement information for the automatic tongue diagnosis system developed.

Tongue diagnosis is an important inspection method practiced in traditional Chinese medicine (TCM) in diagnosing diseases before determining proper means of cures and treatment. Traditionally, tongue diagnosis depends solely on personal knowledge and experience of the practitioner, thereby being criticized as lacking in objectivity and quantification. Consequently, an automatic tongue diagnosis system (ATDS) is developed to extract a variety of tongue features and provide practitioners with objective data to assist diagnoses. To evaluate the stability of ATDS in clinical applications, 20 sets of tongue images $\{P_{i,T_1}, P_{i,T_2} \mid i = 1 \sim 20\}$, taken 1 hour apart from 20 patients with possible variations in lighting, and the length, shape and angle of extruding tongue, are employed. The features extracted by the ATDS for each set of tongue images are compared to derive the intra-agreement of ATDS. The image set $\{P_{i,T_1} \mid i = 1 \sim 20\}$ is used in a two-stage tongue diagnosis questionnaire to investigate the intra-agreement of doctors with consensus (DC). According to the diagnosis results of image set $\{P_{i,T_1} \mid i = 1 \sim 20\}$ determined by ATDS and DC respectively, the inter-agreement between ATDS and DC, and the inter-agreement among doctors within DC are derived next. The results of this study lead us to conclude that ATDS is consistent even in the face of variations of environmental lighting and extruding tongue. The high agreement of ATDS can provide objective and reliable tongue features to facilitate studies relevant to the temporal progression of a patient's disease or the finding of a significant index for a specific disease through the analysis of a

large amount of tongue images.

Keywords: Tongue Diagnosis System, intra-agreement, inter-agreement

壹、前言

主持人執行衛生署中醫藥委員會90 至92 年度之中醫舌診標準化整合研究計畫（ CCMP90-RD-017, 90.06.01~ 90.12.31 、 CCMP91-RD-110, 91.01.01~ 91.12.31、CCMP92-RD-102, 92.01.01~ 92.12.31）中，業已發展一可自動分析舌部影像特徵中醫舌診電腦化系統，並經中醫藥委員會申請專利，於 2008 年 4 月獲准發明專利（"舌診系統及其方法"，中華民國專利證書發明第 I296110 號）， 復於98 年推動中醫藥療效評估及診斷標準化類研究計畫(CCMP98-RD-031, 98.01.21~99.12.31)中研究將自動化舌診系統小型化之行性，現正尋求將發明專利商業化，成為舌診臨床診治自動化儀器；然而一臨床輔助儀器商業化所面臨最大挑戰為必須提出一具可靠度相關佐證數據[7,8,9]，方可獲得醫師及病患信任，換言之，自動化舌診系統一致性量測為臨床判讀儀器所不可或缺，可令醫師於臨床診治上使用此系統輔助診斷時更具信心，因此，本計畫針對此一需求，探討前述自動化舌診系統之一致性，共區分為內部一致性(intra-agreement)及外部一致性(inter-agreement)，內部一致性為舌診系統對同一病人於短時間內拍攝兩張舌頭影像進行判讀後兩次結果相似程度；外部一致性則為系統與中醫師分別對同一舌頭影像觀測後所得結果相似度。

貳、實施方法

一、自動化舌診系統

自動化舌診系統共包括舌部影像之擷取[12,14]及分析[1,2]兩大部分，高品質且穩定之影像擷取將可提高後續舌部影像分析正確性[10,11,31]；於環境光源、主光源色溫及取像硬體(相機種類、解析度、快門、光圈及白平衡等設定)等變因之影響下，一致且穩定影像擷取結果有賴亮度及色彩校正，以補償前述各項變因；而舌部影像分析更可細分為舌部區域分割及特徵擷取兩步驟，舌部區域分割旨在將主標的物—舌頭以外之其他與舌診無關部分去除，以利於後續特徵擷取步驟針對剩餘舌部區域進行特徵辨識及擷取[3,4]。以下就自動化舌診系統各關鍵步驟加以介紹。

(一)取像環境

1.主照明光源：

不同光源具有不同色溫，因此，同一物體於日光、鎢絲燈、鹵素燈、或日光燈等照射下均呈現不同顏色，一般認為光源色溫愈接近日光者，所呈現顏色愈接近自然光；考量光源色溫、體積及耗電量，系統採用可裝載於相機鏡頭環形LED做為取像時主要照明光源，如圖一所示。

2.光源擺設：

舌診儀（圖二）包括置放下巴舌診檢查部及架設相機支撐部，二者間以軌道連接，可視相機及鏡頭種類，彈性移動相機支撐部，改變其與舌診檢查部間距離；校正色卡位於舌診檢查部左側，由12個標準色塊構成，藉由比較預存標準色塊值與相機所擷取影像中色卡色塊值，可提供整張影像亮度及顏色校正之參考。

3.相機設定

舌頭部位透過相機擷取數位影像，因此相機相關設定及鏡頭選擇[16]，諸如快門、光圈、感光度、解析度、焦距、白平衡及輔助光源，將會影響成像亮度、尺寸、顏色表現及畫質[25,26]，經多次實測後，所採用相機相關參數如下：快門1/60秒、光圈F2.0、感光度100、解析度4272＊2848、焦距45MM、自動白平衡開啟及閃光燈關閉[27,28]。

4.灰卡

自然場景多由各種不同明暗區域所組成，一典型場景平均亮度經統計約對應至18%之灰階，因此標準灰卡即具有18%之灰階，除針對每張影像以標準色卡進行亮度及色度校正外，於拍

攝環境改變時，例如由室內移往室外，自動化舌診系統亦需進行標準亮度重新設定，藉助標準灰卡標定周遭光源亮度，以設定後續亮度校正所依據標準亮度值，如圖三所示。

5.色卡

色卡為色彩於紙張、塑膠等特定材質上體現，常見於色彩選擇、比對、溝通及色彩供應鏈管理等應用。國際上常使用色彩標準包括柯達 Q-13、Ti_en Q-13、PantoneGP1202、Macbeth 與瑞典 QPCard。系統採用自瑞典QP card201 色卡從其中所擷取12種顏色，如圖四所示。

(二)舌頭影像自動分析

如圖五所示，於擷取舌部影像進行亮度、顏色校正後，藉由分析經亮度及顏色補償舌部影像中不同部位顏色分佈、偵測牙齒區域、嘴唇與牙齒及舌頭邊緣、口腔內部不被光源照射黑色區域[21,22]，可初步決定舌部影像中包含舌頭一矩形區域，再透過主動輪廓法則推導矩形區域中包圍舌頭邊緣內、外曲線上控制點，經修正控制點位置以平滑化邊緣曲線，進而決定準確舌頭區域；於舌頭區域辨識前處理步驟完成後，即進入舌頭特徵擷取核心處理，舌頭特徵擷取主要係依舌頭區域長寬比例、鄰近像素色彩分佈狀態、各像素色彩成分、位置、形狀、數目等，做為判定各項舌頭特徵準則，據以擷取裂紋、瘀斑、齒痕、朱點、苔色、胖瘦、津液、舌形等舌診觀察重點[23]，並進一步產生長度、面積、個數、厚薄等全區及分區詳細資訊[13,15,18]，最後輸出舌診檢查報告表以提供中醫師做為臨床診斷之參考[17]。

二、參予醫師與研究對象

有共識中醫師團隊：對舌頭特徵辨識已有高度共識彰化基督教醫院中醫部舌診小組13位中醫師。

無共識中醫師團隊：未曾對舌頭特徵進行討論且無共識彰化基督教醫院中醫部14位實習中醫師。

研究對象：彰化基督教醫院中醫部門診病患與中山大學學生。

三、問卷與實驗環境

參考相關文獻並與彰化基督教醫院中醫部舌診小組討論[19,20,33]，制定舌診問卷九項主要特徵及其細項[5,6]，舌色分為淡白、淡紅、紅、絳、紫黯；苔色分為白苔、黃苔、染苔；苔之程度分為無苔、薄苔、厚苔、剝苔；裂紋、朱點、瘀點或瘀斑和齒痕皆分為無、輕、中、重；津液分為無津、少津、平津、多津；舌形分為瘦小、適中、胖大[24,32]。

問卷採電腦作答，電腦螢幕先經 Datacolor Spyder 3 ELITE 螢幕校色器

校正其色彩，每位醫師電腦問卷中舌頭影像皆以亂序顯示[29,30]。

四、研究架構

依據研究目的，本研究分為三大項目，自動化舌診系統與中醫師團隊自身一致性、自動化舌診系統與中醫師團隊外部一致性與再教育後無共識中醫師團隊之自身和外部一致性。

參、結果

一、自身一致性

自動化舌診系統、有共識中醫師團隊和無共識中醫師團隊針對 20 位病人之舌頭影像自身一致性分析結果如表一。自動化舌診系統分析 20 位病人舌頭影像上 9 項特徵自身一致性 kappa 值範圍 0.84-1.0，平均值 0.93(almost perfect)，優於有共識中醫師團隊自身一致性 kappa 值範圍 0.59-0.9，平均值 0.74 (substantial)和無共識中醫師團隊自身一致性 kappa 值範圍 0.5-0.86，平均值 0.65(substantial)。

二、外部一致性

自動化舌診系統與有共識中醫師團隊、自動化舌診系統與無共識中醫師團隊針對 20 位病人舌頭影像外部一致性分析結果如表二。自動化舌診系統與有共識中醫師團隊外部一致性 kappa 值範圍 0.25-0.79，平均值 0.45(moderate)，自動化舌診系統與無共識中醫師團隊外部一致性 kappa 值範圍 0.17-0.68，平均值 0.4(fair)。

有共識中醫師團隊與無共識中醫師團隊外部一致性分析結果如表三。有共識中醫師團隊與無共識中醫師團隊外部一致性 kappa 值範圍 0.31-0.8，平均值 0.49(moderate)。

有共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性分析結果與無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性分析結果如表四。有共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性 kappa 值範圍 0.16-0.62，平均值 0.41(moderate)，優於無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性 kappa 值範圍 0.07-0.52，平均值 0.29(fair)。

三、再教育

再教育後無共識中醫師團隊自身一致性分析結果如表五。再教育前無共識中醫師團隊自身一致性 kappa 平均值 0.65(substantial)，經第一次再教育訓練後，自身一致性 kappa 平均值 0.7(substantial)無明顯改變。

再教育後無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性分析結果如表六。再教育前無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性 kappa 平均值 0.29(fair)，經第一次再教育訓練後，醫師與醫師間外部一致性 kappa 平均值 0.32(fair)。

再教育後無共識中醫師團隊與自動化舌診系統外部一致性分析結果如表七。再教育前無共識中醫師團隊與自動化舌診系統外部一致性 kappa 平均值 0.4(fair)，經再教育訓練後，外部一致性 kappa 平均值 0.36(fair)無明顯差異。

四、附註：Kappa 值意義

若有新的檢驗或診斷方法，常於臨床上以新舊方法同時進行檢測。以分析「前後」或「新舊」測量信度之高低，信度測量方式包含 Cronbach α 係數、Kuder-Richardson 信度係數、split-half reliability、alternate form reliability 及 kappa 統計量等方法。kappa 統計量旨在表現重覆測量間之一致性，其定義如下：

$$\kappa = (P_o - P_c) / (1 - P_c),$$

其中 P_o 為觀測一致性(observed agreement)，代表前後測量結果一致百分比，而 P_c 則為期望一致性(chance agreement) ，代表前後測量結果預期相同之機率；κ 計算結果通常落於 0~1 間，視其值可區分為五組不同等級吻合度，分別為 0.0~0.20 極低吻合度(slight)、0.21~0.40 一般吻合度(fair)、0.41~0.60 中等吻合度(moderate)、0.61~0.80 高度吻合度(substantial)及 0.81~1 幾乎完全吻合(almost perfect)。

肆、討論

本研究以 20 位病人間隔十分鐘拍攝 20 組舌頭影像{P_{i,T_1}, P_{i,T_2}|i=1~20}試驗 ATDS 自身一致性，其旨在於測試其強韌性，檢視 ATDS 於光照強度、拍攝頭部角度、伸舌長度等各種不同拍攝環境變因下是否可獲得相同結論，由表 1 得知 ATDS 對於舌頭 9 項特徵 kappa 一致性 0.84-1.00(almost perfect)，平均值 0.93 (almost perfect) ，相對於 DC 與 DWC，間隔一星期共兩次觀察相同 20 張舌頭影像{P_{i,T_1}|i=1~20}自身一致性分別為 0.74(substantial)與 0.65(substantial)，顯示外在環境變因對 ATDS 影響輕微，ATDS 穩定性極高。

為證實ATDS在臨床研究上可行性，其與中醫師利用舌頭影像對特徵所下判斷是否一致之挑戰乃是無可避免，因此本研究將ATDS分析舌頭影像所擷取特徵資訊分別與DC及DWC觀察舌頭影像所填寫問卷進行探討ATDS與DC、DWC間外部一致性，由表2得知實驗結果ATDS與DC外部一致性kappa平均值0.45 (moderate)， ATDS與DWC之外部一致性kappa平均值0.4(fair)，而由表4可知，即便是定期集會判讀舌頭影像6位有共識中醫師，醫師與醫師間外部一致性kappa平均值也只達到0.41 (moderate)，顯示不同中醫師其知識、經驗、思維模式、診斷技巧、對顏色感知及詮釋等因素影響，對同一舌頭影像有不同判斷結果，其中對於朱點與瘀斑判定差異性最大，kappa值分別為0.23(fair)與0.16(slight)，受限於此現象ATDS與有共識中醫師仍有一致性0.45 (moderate) ，以上較低之外部一致性主要源於DC與DWC之內部一致性低，對於舌診之舌色、苔色、苔之程度、裂紋、朱點、瘀點、齒痕、津液、舌形之見解分歧極大，因此與ATDS進行外部一致性必較時，導致較低之外部一致性值。

最後針對 DWC 進行第一次再教育訓練，訓練後 DWC 自身一致性 kappa 平均值 0.7 (substantial)、醫師與醫師間外部一致性 kappa 平均值 0.32(fair)、與 ATDS 外部一致性 kappa 平均值 0.36(fair)與訓練前自身一致性 kappa 平均值 0.65(substantial)、醫師與醫師間外部一致性 kappa 平均值 0.29(fair)、與 ATDS 外部一致性 kappa 平均值 0.4(fair)無明顯差異，顯示出中醫師診斷一致性非短期訓練即可達到提升效果，也更凸顯自動化舌診系統重要性。

伍、結論與建議

長久以來，舌診缺乏客觀標準，無法達到研究及臨床上可重複性的要求，其診斷正確性往往取決於中醫師的主觀經驗及當時所在環境的各種因素，如光源環境不一或患者姿勢不良等。除上述因素外，醫師寶貴臨床經驗亦不易保留下來，值得重視的是，在醫學養成教育過程中，中醫師由書籍習得有關「望聞問切」的知識，多以揣摩方式來了解前人對病症與現象的描述。並配合臨床經驗與教學加以印證所學以增加臨床知識，但是往往須要一段時間，才能成為一位有經驗的中醫師，而這些因素將造成舌診在發展上的阻力。因此發展舌診客觀化及定量化的診斷標準是件非常重要的工作，藉由自動化舌診系統透過影像處理及機器視覺技術，檢測舌面特徵，可減少或消除傳統診斷上環境因素對舌診的影響，對舌象特性作定性及定量分析，能提供客觀的診斷標準，降低舌診結果的差異。此外舌影像可記錄儲存，方便作療程追蹤，亦可作訓練醫學人員訓練之用，使醫師在舌診上的寶貴經驗可傳承下來。

經本研究顯示，自動化舌診系統分析結果大致符合舌診專家判讀，能提供客觀及穩定判讀結果，期望未來針對特殊疾病作長時間追蹤與大規模取樣之舌診資料數據分析能有貢獻。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-037 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 1.K. Minah, C. Deirdre and Z. Christopher, "Traditional Chinese Medicine tongue inspection: An examination of inter- and intrapractitioner reliability for specific tongue characteristics," *J. CAM.*, Vol. 14, No. 5, pp. 527-536, 2008.
2. 伍喜良等,230 例舌象圖譜中舌色診斷結果分析,天津中醫藥期刊, pp. 388-390, 2005。
3. 石強,不同中醫師對舌象觀察結果一致性的研究,江蘇中醫藥期刊, pp.60-61, 2007。
4. 4.J. Kim, Y. Jung, K. Park and J. W. Park, "A digital tongue imaging system for tongue coating evaluation in patients with oral malodour," *J. Oral Dis.*, pp. 565-569, 2009.
5. 5.G. G. Grant, B. Singh, W. Lee, H. Barry, L. Lao and B. Brian, "Improvement of agreement in TCM diagnosis among TCM practitioners for persons with the conventional diagnosis of Rheumatoid Arthritis: Effect of training," *J. CAM.*, Vol. 14, No. 4, pp. 381-386, 2008.
6. 6.G. Z. Grant , W. Lee, B. Bausell, L. Lao, H. Barry and B. Brian, "Variability in the Traditional Chinese Medicine diagnoses and herbal prescriptions provided by three TCM practitioners for 40 patients with Rheumatoid Arthritis," *J. CAM.*, Vol. 11, No. 3, pp. 415-421, 2005.
7. 7.K. A. O'Brien, E. Abbas, J. Zhang, Z. X. Guo, R. Luo , A. Bensoussan and P. A. Komesaroff, "An investigation into the reliability of Chinese medicine diagnosis according to Eight Guiding Principles and Zang-Fu Theory in Australians with hypercholesterolemia," J. *CAM.*, Vol. 15, No. 3, pp. 259-266, 2009.
8. 8.K. A. O'Brien, E. Abbas, P. Movsessian, M. Hook, P. A. Komesaroff and S. Birch, "Investigating the Reliability of Japanese Toyohari Meridian Therapy Diagnosis," *J. CAM.*, Vol. 15, No. 10, pp. 1099-1105, 2009.
9. 9.R. Hyunhee, L. Haejung, K. Honggie and K. Jongyeol, "Reliability and Validity of a Cold–Heat Pattern Questionnaire for Traditional Chinese Medicine," *J. CAM.*, Vol. 16, No. 6, pp. 663-667, 2010.
10. 10.J. J. Sung, W. K. Leung, J. Y. Ching, et al, "Agreements among traditional Chinese medicine practitioners in the diagnosis and treatment of irritable bowel syndrome," *J. Aliment. Pharmacol. Ther.*, Vol. 20, pp. 1205-1210, 2004.

11. 11.T. Kaptchuk, "Chinese Medicine: The Web That Has No Weaver. 2nd ed," London: Rider, 2000.
12. 12.N. Wiseman and A.Ellis, "Fundamentals of Chinese Medicine:Zhong Yi Xue Ji Chu," Brookline, MA: Paradigm Publications, 1996.
13. 13.B. Kirschbaum, "Atlas of Chinese Tongue Diagnosis," Seattle: Eastland Press, 2000.
14. Yu-Cheng Hsu, Ying-Ching Chen, Lun-chien Lo and John Y. Chiang, "Automatic Tongue Feature Extraction," *Conf. ICS.*, pp. 936–941, 2010.
15. 15.T. Dang and C. J. Zaslawski, "A pilot study of the diagnostic reasoning processes used by practitioners of Traditional Chinese Medicine," *Clin. Acupunct. Oriental. Med.*, Vol. 4, pp. 94-101, 2003.
16. 16.K. A. O'Brien, E. Abbas, J. Zhang, et al, "Understanding the reliability of diagnostic variables in a Chinese medicine examination," *J. CAM.*, Vol. 15, No. 7, pp. 727-734, 2009.
17. 17.J. J. B. Allen, R. N. Schnyer and S. K. Hitt, "The efficacy of acupuncture in the treatment of depression in women," *Psychol. Sci.*, Vol. 9, pp. 397-401, 1998.
18. 18.H. MacPherson, K. Sherman, R. Hammerschlag, et al, "The clinical evaluation of traditional East Asian systems of medicine," *Clin. Acup. Oriental. Med.*, Vol. 3, pp. 16-19, 2002.
19. 19.V. Scheid, "Not very traditional, nor exactly Chinese, so what kind of medicine is it? TCM's discourse on menopause and its implications for practice, teaching and research," *J. Chin. Med.*, Vol. 82, pp. 5-20, 2006.
20. 20.K. A. O'Brien and S. Birch, "A review of the reliability of Traditional East Asian Medicine diagnoses," *J. CAM.*, Vol. 15, No. 4, pp. 353-366, 2009.
21. 21.A. M. Joshua, D. S. Celermajer and M. R. Stockler, "Beauty is in the eye of the examiner: Reaching agreement about physical signs and their value," *J. Intern. Med.*, Vol. 35, pp.178-187, 2005.
22. 22.B. Zell, J. Hirata, A. Marcus, et al, "Diagnosis of symptomatic postmenopausal women by traditional Chinese medicine practitioners," *Menopause*, Vol. 7, pp. 129-134, 2000.
23. 23.E. King, D. Cobbin, S. Walsh and D. Ryan, "The reliable measurement of radial pulse characteristics," *Acup. Med.*, Vol. 20, pp. 150-159, 2002.

24. 24.H. MacPherson, L. Thorpe, K. Thomas and M. Campbell, "Acupuncture for lower back pain: Diagnosis and treatment of 148 patients in a clinical trial," *Complement. Ther. Med.*, Vol. 12, pp. 38-44, 2003.
25. 25.J. Cohen, "A coefficient of agreement for nominal scales," *Educ. Psychol. Meas.* , pp. 37-46, 1960.
26. 26.J. R. Landis and G. G. Koch, "The measurement of observer agreement for categorical data," *Biometrics*, Vol. 33, pp. 159–174, 1977.
27. 27.J. Cohen, "Weighed kappa: Nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit," *Psychol. Bull.*, pp. 213-220, 1968.
28. 28.J. J. Bartko, "The intraclass correlation coefficient as a measure of reliability," *Psychol . Rep.*, pp. 3-11, 1966.
29. 29.J. L. Fleiss, "Measuring nominal scale agreement among many raters," *Psychol. Bull.*, pp. 378-382, 1971.
30. 張恒鴻：中醫舌診在電子病歷系統之作業標準研究。中醫藥年報 2006；445-488。
31. 洪禎徽：舌診。立得出版社；台北。
32. 尚瑞梅：舌體大小臨床意義與客觀化計量化研究。浙江中醫雜誌 1993；(11):518。
33. 肖二鋼, 王益民：中醫舌診研究的回顧與展望。天津中醫藥(TIANJIN JOURNAL OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE；3 期，2004。

柒、圖、表



圖一、裝載於相機鏡頭之環形 LED 燈



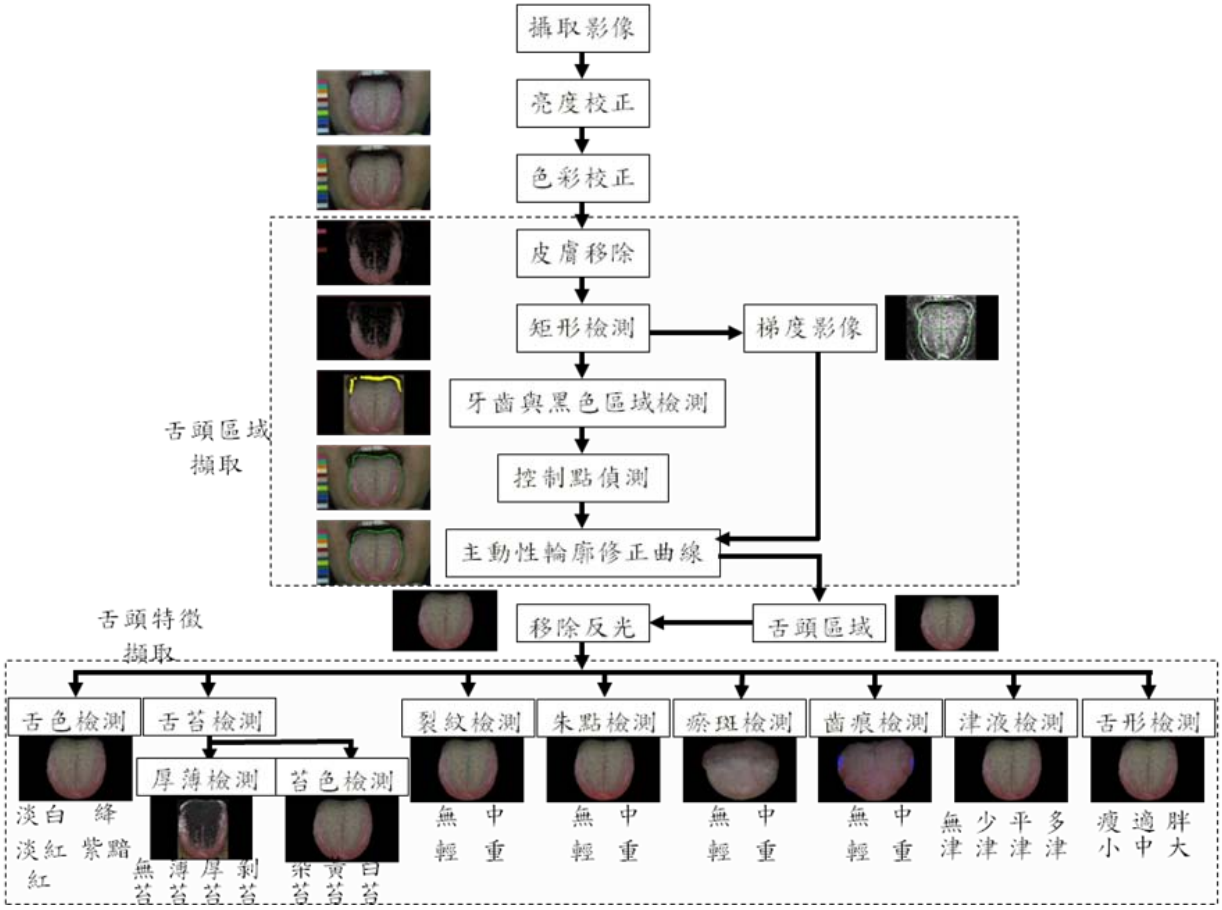
圖二、舌診儀



圖三、於拍攝環境改變時，可經由具有 18%灰階之標準灰卡標定周遭光源亮度



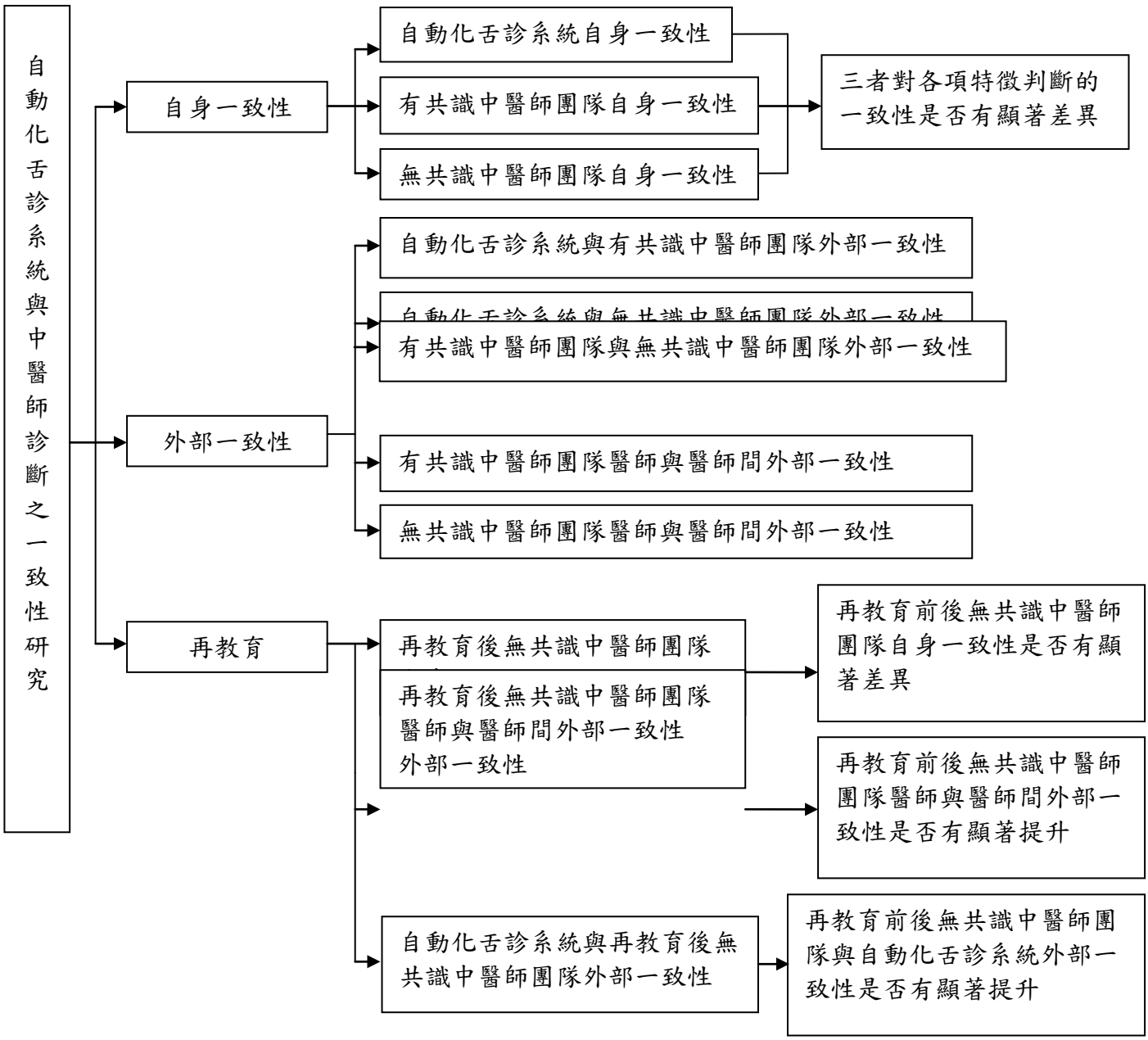
圖四、色卡



圖五、舌頭影像自動分析流程



圖六、電腦舌診問卷


自動化舌診系統與中醫師診斷之一致性研究
自身一致性
外部一致性
再教育
自動化舌診系統自身一致性
有共識中醫師團隊自身一致性
無共識中醫師團隊自身一致性
三者對各項特徵判斷的一致性是否有顯著差異
自動化舌診系統與有共識中醫師團隊外部一致性
有共識中醫師團隊與無共識中醫師團隊外部一致性
有共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性
無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性
再教育後無共識中醫師團隊
再教育後無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性外部一致性
再教育前後無共識中醫師團隊自身一致性是否有顯著差異
再教育前後無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性是否有顯著提升
自動化舌診系統與再教育後無共識中醫師團隊外部一致性
再教育前後無共識中醫師團隊與自動化舌診系統外部一致性是否有顯著提升

圖七、研發架構

表一、自動化舌診系統、有共識中醫師團隊和無共識中醫師團隊自身一致性（n＝20）

	自動化舌診系統 (kappa)	有共識中醫師團隊 (kappa)	無共識中醫師團隊 (kappa)
舌色	1	0.59	0.52
苔色	0.88	0.83	0.64
苔之程度	1	0.68	0.6
裂紋	0.9	0.9	0.86
朱點	0.96	0.73	0.65
瘀斑	1	0.71	0.5
齒痕	0.94	0.78	0.71
津液	0.86	0.62	0.68
舌形	0.84	0.84	0.67
平均	**0.93**	**0.74**	**0.65**

表二、自動化舌診系統與有共識中醫師團隊、自動化舌診系統與無共識中醫師團隊外部一致性（n＝20）

	自動化舌診系統與有共識中醫師團隊(kappa)	自動化舌診系統與無共識中醫師團隊(kappa)
舌色	0.43	0.27
苔色	0.4	0.52
苔之程度	0.55	0.21
裂紋	0.79	0.68
朱點	0.34	0.33
瘀斑	0.26	0.17
齒痕	0.51	0.54
津液	0.25	0.32
舌形	0.52	0.52
平均	**0.45**	**0.4**

表三、有共識中醫師團隊與無共識中醫師團隊之外部一致性（n＝20）

	有共識中醫師團隊與無共識中醫師團隊 (kappa)
舌色	0.43
苔色	0.56
苔之程度	0.32
裂紋	0.8
朱點	0.51
瘀斑	0.31
齒痕	0.64
津液	0.39
舌形	0.46
平均	**0.49**

表四、有共識中醫師團隊、無共識中醫師團隊群組內醫師與醫師間外部一致性（n＝20）。

	有共識中醫師團隊 (kappa)	無共識中醫師團隊 (kappa)
舌色	0.5	0.19
苔色	0.62	0.52
苔之程度	0.48	0.32
裂紋	0.57	0.46
朱點	0.23	0.21
瘀斑	0.16	0.07
齒痕	0.35	0.31
津液	0.42	0.26
舌形	0.4	0.3
平均	**0.41**	**0.29**

表五、再教育前與再教育後無共識中醫師團隊之自身一致性（n＝20）。

	再教育前 無共識中醫師團隊(kappa)	再教育後 無共識中醫師團隊(kappa)
舌色	0.52	0.59
苔色	0.62	0.72
苔之程度	0.62	0.52
裂紋	0.86	0.81
朱點	0.65	0.79
瘀斑	0.5	0.64
齒痕	0.73	0.85
津液	0.68	0.68
舌形	0.67	0.66
平均	**0.65**	**0.7**

表六、再教育前與再教育後無共識中醫師團隊醫師與醫師間外部一致性（n＝20）。

	再教育前 無共識中醫師團隊(kappa)	再教育後 無共識中醫師團隊(kappa)
舌色	0.19	0.27
苔色	0.52	0.51
苔之程度	0.32	0.33
裂紋	0.46	0.29
朱點	0.21	0.37
瘀斑	0.07	0.2
齒痕	0.31	0.36
津液	0.26	0.21
舌形	0.3	0.32
平均	**0.29**	**0.32**

表七、自動化舌診系統與再教育前無共識中醫師團隊、自動化舌診系統與再教育後無共識中醫師團隊外部一致性（n＝20）。

	自動化舌診系統與 再教育前無共識中醫師團隊 (kappa)	自動化舌診系統與 再教育後無共識中醫師團隊 (kappa)
舌色	0.27	0.23
苔色	0.52	0.15
苔之程度	0.21	0.29
裂紋	0.68	0.45
朱點	0.33	0.65
瘀斑	0.17	0.18
齒痕	0.54	0.56
津液	0.32	0.38
舌形	0.52	0.4
平均	**0.4**	**0.36**

編號：CCMP99-RD-043

規劃中醫藥現代化與國際化之政策及研究方向

余萬能
中華民國藥事品質改革協會

摘　要

本計畫目的在評析當前中醫藥相關問題，檢討現行「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」之策略方針及研究成果，具體提出未來中醫藥環境預測，擬具中醫藥未來研究發展方向。

本計畫邀請產、官、醫、藥、衛、研 54 位學者專家，組成「中醫藥現代化與國際化整合型計畫優先發展重點諮詢委員會」，就世界衛生組織以及具有傳統醫學經驗之歐盟議會、中國大陸及日本等國，分析有關中醫藥之研究方向、產品市場、智慧財產及法規，並依據行政院「中草藥產業發展方案」及中醫藥委員會「提昇中醫藥現代化與國際化發展方案」之施政架構，分析檢討目前所推動之「建構中醫整體臨床教學體系計畫」、「建構中藥用藥安全環境計畫」及「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」三項中程施政計畫，研議完成 101 年度至 104 年度「中醫藥品質安全及消費者保護安全創新研究計畫」，並對國內外之中醫藥環境變遷之問題作系統分析，就組織變革、產品分類分級使用、產品品質與臨床試驗環境、兩岸合作介接機制及智慧財產權法規變革五個方向，擬具中醫藥研究發展中程（四年）策略方案及核心工作內容項目，提供政府參採。

關鍵詞：中醫藥、傳統醫學、環境變遷、組織變革、智慧財產

Number: CCMP99-RD-043

Policy and Research Strategy Making on the Modernization and Internationalization of Chinese Medicine

Yu, Wan Nan
Quality Improvement for Pharmaceutical Affairs Association, Taiwan

ABSTRACT

The purpose of this project is to assess issues related to the current Traditional Chinese Medicine, to review the strategies and research findings of the existing "Integration of modernization and internationalization of Chinese Medicine and Pharmacology ", to make the projections of future Traditional Chinese Medicine environment specifically, and to establish the direction of research and development of Traditional Chinese Medicine.

54 experts from industrial, government, medical, pharmaceutical and research fields were recruited into a consulting committee of the “Prior Categories for Developments of the Integration of Modernization and Internationalization of Chinese Medicine and Pharmacology”. The committee analyzed the research interests, product market, intellectual property and regulations of the World Health Organization, the European Parliament, Mainland China, and Japan which possess experience of traditional medicine. The committee accomplished an “Innovation Plan to Quality and Safety of Chinese Medicine and Pharmacology and the consumer protection from year 2012 to year 2015” by analyzing and reviewing three medium-term projects including the "Plan of Establishing an Integral Clinical Education System for Chinese Medicine ", the "Plan of Establishing a Safe Medication Environment for Chinese Medicine" and the "Integration of modernization and internationalization of Chinese Medicine and Pharmacology" in accordance with the policy framework built in the “Plan of Technological Development for TCM Pharmaceutical Industry” of Executive Yuan and the “Plan of Improving the Development for Modernization and Internationalization of Chinese Medicine and Pharmacology” of CCMP.

In this project we did systematic analysis on the problems caused by the revolving Traditional Chinese Medicine environment in Taiwan and foreign countries based on the organization reform, categorized/graded applications of products, product quality and clinical trials environment, the mechanism of cooperation between Taiwan and Mainland China, and reformations of intellectual property regulations. And we schemed out the 4-year midterm strategy and action plans of the research on Traditional Chinese medicine related to these issues. The draft was completed and provided considerations for the Government to adopt.

Keywords: Chinese Medicine, traditional medicine, revolving Traditional Chinese Medicine environment, organization reform, intellectual property and regulations

壹、前言

傳統醫學 TM/CAM (Traditional Medicine /Complementary and Alternative Medicine) 於近十年在世界興起，各國爭相投入研究及發展。世界衛生組織(WHO)在 2002 年 5 月 26 日發表「2002-2005 年傳統醫藥全球策略」，建請各國政府將傳統醫學發展納入現有醫療政策，並設立專責機構積極辦理。又於 2004 年所發表之「WHO 醫學策略 2004-2007」報告中，重申針對傳統醫學的國家政策方面，應制訂新的目標與新的內容，以期有效推動此項工作。WHO 對於發展傳統醫學的國家，在安全性、有效性、品質和合理使用等方面，將給予以下之充分支援：1.適當的整合入國家健康照護體系之中；2.提高其安全性、有效性與品質；3.增進使用之可近性和支付的能力；4.促進其使用之合理性[(1)]。WHO 對傳統醫學的公開支持，無疑是傳統醫藥復興的契機，據統計，目前全球約有 130 個國家使用中醫藥，124 個國家建立中醫藥機構，例如美國，已於 1992 年在 NIH 內設立「另類醫學辦公室」，至 1998 年將該單位改為「國家補充與另類醫學中心」(National Center of Complementary and Alternative Medicine，NCCAM)[(2)]。2006 年美國 FDA 通過 Veregen™(Polyphenon®E) 15% Ointment 之草藥軟膏，用於治療人類乳突病毒(human papilloma virus；HPV)所引起的外疣(external warts)。

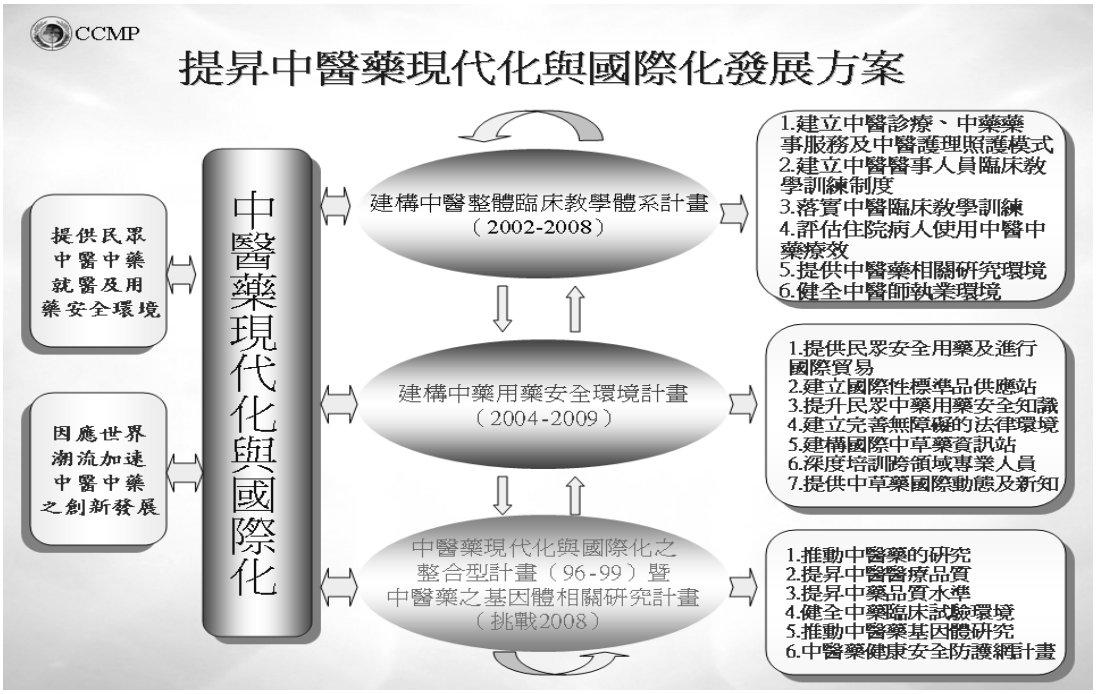
世界衛生組織及歐洲議會皆認為 CAM (Complementary and Alternative Medicine)的重要性與日俱增，醫藥政策不容忽視，必須保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質(quality)、安全(safety)及療效(efficacy)的藥物[(3)]，歐洲議會認為必須評估中草藥具有臨床安全性及有效性[(4)]，並應公開聲明各草藥產品有關的風險[(5)]。

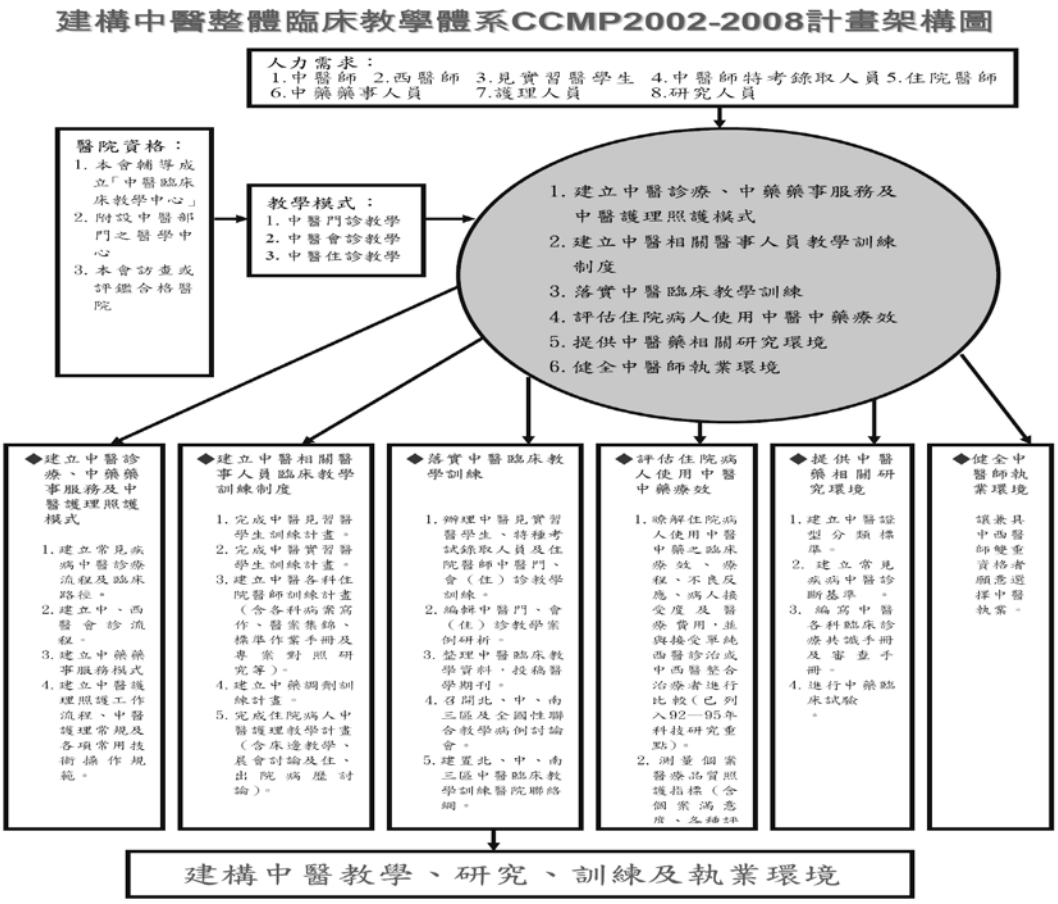
根據 2008 年第六十一屆世界衛生大會以 WHA61.21 號決議通過的「公共衛生、創新和智慧財產權全球戰略和行動計畫」，在研究與創新基礎上進一步發展傳統醫學，要求各國政府有責任保障本國人民的健康，應制定國家政策、法規和標準，作為國家綜合衛生體系的一部分，以確保傳統醫學的適當、安全和有效使用[(6)]。

WTO 及世界主要接受中草藥國家，皆以藥品之安全、有效、品質三個方向，建立法規基準，以保護消費者。世界各國在傳統醫藥組織分工上，多以獨立機關執行政策法規。例如中國大陸，國家食品藥品監督管理局（由衛生部管理），負責藥品、醫療器械註冊和監督管理，其中包括負責制定中藥、民族藥監督管理規範並組織實施，擬訂中藥、民族藥品質標準，組織制定中藥材生產品質管制規範、中藥飲片炮製規範並監督實施，組織實施中藥品種保護制度。國家中醫藥管理局（亦由衛生部管理）負責擬訂中醫藥政策法規，承擔中醫醫療、預防、保健、康復及臨床用藥等的監督管理

責任。擬訂有關中西醫結合管理規範和技術標準，中藥資源的保護、開發和合理利用，中醫藥科學研究、技術開發規劃，指導中醫藥科研條件和能力建設，管理國家重點中醫藥科研項目，促進中醫藥科技成果的轉化、應用和推廣。歐盟則以 EFCAM (the European Federation for Complementary and Alternative Medicine)作為 CAM 促進整體健康(holistic and integrated health care)的一個合作平台，以提供民眾於需要時選擇之傳統醫療保健方式。

行政院自 2001 年起推動「中草藥產業發展方案」，以結合研發、基礎科學及實際之產業輔導，使臺灣成為中草藥科技島為目標，繼而將中草藥之發展納入生物科技產業重要推動方案之一。由於臺灣市售之中藥材，多數來自大陸，目前積極致力於完備中藥材之源頭管理機制，包括進口產品文書認證及落地追蹤等工作[7]。中醫藥委員會亦就中醫藥科學化及中藥用藥安全等，以如構中西醫合作研究與醫療模式等議題，推動「新興產業－生技醫藥產業再造」及「健康政策－加速中醫藥科學化」[8]，並以「整合與前瞻」作為施政理念，規劃「提昇中醫藥現代化與國際化發展方案」，包括「建構中醫整體臨床教學體系計畫」、「建構中藥用藥安全環境計畫」及「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」等三項中程施政計畫，如下圖。





96 年民間中藥支出 214 億 9500 萬元[(9)]，97 年中藥相關產品進口總值約 13.7 億元，中藥材約 3.95 億元[(10)]。而臺灣中(草)藥相關市場約 250 億元新台幣，傳統中藥佔 7%，濃縮中藥佔 13%，食補佔 33%，保健品佔 47%[(11)]。

中藥由動、植、礦物等農作物形式存在的中藥材原料，進行加工炮製成為飲片，再經過藥廠在 GMP 的條件下製成製劑，其製造發展的過程中，每一個環節皆須科技政策與法規的介入。例如在中藥材原料部分，對於基原研發鑑定技術，以農業技術與管理投入中藥植物栽培，發展檢驗技術檢測主成分、生菌數與農藥重金屬殘留；在炮製的過程中，分析古方炮製方法研訂炮製規範，並比對炮製前後之成分與療效；對於飲片，則以放射線技術研發儲存方法，以及包裝技術；製劑部分，則研發製藥技術增進品質的均一性，以生物技術參與指標成分、有效成分之定量比對。中藥飲片之炮製方法，以及其減毒增效之效益，為我國文化資產，且具特殊性，除中國大陸以外，為世界各國所無。故可依 WTO「食品衛生安全與動植物防疫檢疫措施協定」之規定，予以詳細規範，作為本國執行基準，並與 WTO 會員國競爭。

由於中草藥成分複雜，有效成分不明，內含物質變異性大，方劑中常含有不純物及雜質，作用效果欠缺統計方法的確立，以及藥品安定性不易確定等之特性，故在專利保護上常有不易掌握的問題。中草藥產品如果以

新療效（新適應症）作為專利保護的標的時，常會與西藥一樣，因為侵權行為常發生於藥商供應藥品的對象，致不易對其要求損害賠償，而產生盲點。專利法所規範的新發明，需具備未曾公開或無相同前案之「新穎性」，非為熟悉該項技術者所能輕易完成之「進步性」，以及具統計學意義及再現性之「產業利用性」三個要件。中草藥之新藥開發，可以申請專利法中有關「發明」標的，請求專利保護 20 年。例如新物質純化物或混合物，可以化學結構圖譜申請「物的發明」，可以新製造方法或新製造過程申請「方法的發明」，以及可以效能增加或新療效新適應症申請「用途的發明」。重要的是，必須打破對於中藥藥名的迷失，重新命名抽提物，以嶄新的複合物方式申請專利，才能真正的達到保護智慧財產的目的。

未來可以優先發展之重點，包括中醫醫療照護品質之實證醫學研究（臨床教學訓練內容一致化及環境建置、中西醫療整合、評鑑制度、中醫會診及住院制度）；中藥用藥安全之研究（中藥材檢驗基準建立、混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染、中西藥併用、臨床監測分析、中藥材炮製安全性、飲片包裝安全性）；中草藥源頭管理之風險管理研究（建置履歷系統與檢驗認證基準、品質管制基準與規範的建立）；傳統醫藥生技研發（健全中藥臨床試驗環境、中醫藥臨床療效評估）；法規標準化與協合化研究(國際合作方式、全球市場、兩岸中醫藥法規與醫事人力資源)；智慧財產權保護研究（以發展具世界專利權的中草藥技術為主要策略）。

爰本計畫之研究目的，係為評析當前中醫藥政策及研究方向之相關問題，檢討現行「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」之策略方針及研究成果，研擬中醫藥未來研究發展方向，具體提出未來中醫藥研究發展之中程（四年）策略方案及核心工作內容項目，提供政府參採。

貳、實施方法

評析當前中醫藥相關問題，檢討現行「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」之策略方針及研究成果，具體提出未來中醫藥環境預測，擬具中醫藥未來研究發展方向。其執行方法如下：

一、組織「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」，邀請中醫藥產、官、醫、研各界領袖精英，名單報由中醫藥委員會同意確認，以共識座談會議方式運作。

二、以「中醫藥現代化」與「中醫藥國際化」二個主軸，分析世界衛生組織、歐盟、中國大陸及日本等國有關中醫藥之研究方向、產品市場、智慧財產及法規與我國之比較，每二月提報「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」共識座談會議討論。

三、依據行政院「中草藥產業發展方案」及中醫藥委員會「提昇中醫藥現代化與國際化發展方案」之施政架構，諮詢產、官、醫、研各界成員，系統化評析現行產業及醫療實務問題，檢討以前年度所推動之各項計畫內容及成果。

四、配合「預測未來十年中醫藥衛生與健康變遷」計畫進度，針對國內外之中醫藥環境變遷之問題作系統分析，提出具體的未來環境預測。

五、分別就組織變革、產品分類分級使用、產品品質與臨床試驗環境、兩岸合作介接機制及智慧財產權法規變革五個方向，研擬各項策略方案。

六、依中醫藥委員會參與「行政院產業科技策略會議(SRB)」（2005 年變更名稱為「生技產業策略諮議委員會(BTC)」）之指示，配合提供相關資訊，並將結論依中醫藥委員會指示，納入本計畫之規劃方向。

七、擬具未來四年（100 年-103 年）之中醫藥研究發展策略方案及核心工作內容項目，提交中醫藥委員會。

參、結果

一、邀請中醫藥產、官、醫、研各界領袖精英，組織「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」，以共識座談會議方式運作

(一) 依計畫書規劃連繫產、官、醫、研各界共同組織「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」，小組名單於民國 100 年 1 月 7 日以(100)藥改字第 100001 號函陳中醫藥委員會。

(二) 中醫藥委員會於民國 100 年 1 月 14 日核定小組名單，計官方 11 人，中醫領域專家學者 17 人，中藥領域專家學者 15 人，公共衛生教育領域專家學者 5 人，以及產業界 6 人，合計 54 人。小組名稱修正為「中醫藥現代化與國際化整合型計畫優先發展重點諮詢委員會」，其組織及名單如下：

中醫藥現代化與國際化整合型計畫優先發展重點諮詢委員組織及名單

主席：黃林煌主任委員（中醫藥委員會）

議程安排及執行：余萬能理事長
（中華民國藥事品質改革協會）

諮詢委員：

領域	姓名	單位
官方	高文惠主任秘書	中醫藥委員會
	褚文杰組長	中醫藥委員會中醫組
	王鵬豪組長	中醫藥委員會中藥組
	康翠秀組長	中醫藥委員會研究發展組
	王德銘組長	中醫藥委員會資訊典籍組
	（派員）	行政院衛生署科技發展組
	羅吉方組長（主秘）	食品藥物管理局研究檢驗組
	蔡淑貞組長	食品藥物管理局食品組
	陳啟祥主任	經濟部生物技術與醫療工業發展推動小組
	鄧寶蓮處長	財團法人醫藥工業發展中心
	李連滋總計劃主持人	工業技術研究院生醫與醫材研究所
中醫領域	彭汪嘉康教授	國家衛生研究院 （中央研究院院士）
	王英偉教授	慈濟大學
	熊昭教授	國家衛生研究院研究員

領域	姓名	單位
中醫領域	黃怡超所長	國立中國醫藥研究所
	張恒鴻院長	長庚中醫醫院
	蔡金川教授	義守大學
	郭英調醫師	台北榮民總醫院
	陳恆德執行長	醫藥品查驗中心
	張永賢教授	中國醫藥大學附設醫院
	許堯欽主任	奇美醫院
	許中華醫務長	台北市立聯合醫院林森院區
	戴承杰主任	台北醫學大學
	鍾蕙如理事長	臺灣中醫護理學會
	蘇奕彰教授	中國醫藥大學中醫學系
	鄭振鴻院長	台北市立聯合醫院林森院區
	黃升騰主任	高雄長庚中醫部
	陳俊明醫師	陳俊明中醫診所
中藥領域	林榮耀教授	臺灣大學生化研究所 （中央研究院院士）
	鄧哲明教授	台大藥理學科暨研究所
	胡幼圃教授	國防醫學院（考試院考試委員）
	楊寧蓀研究員	中央研究院
	吳永昌副校長	中國醫學大學
	吳天賞院長	中國醫藥大學藥學院
	李水盛教授	臺灣大學
	林俊清教授	高雄醫學大學
	鄭慧文教授	台北醫學大學
	楊玲玲教授	台北醫學大學
	蔡東湖所長	陽明大學傳統醫學研究所
	徐雪瑩教授	慈濟大學生命科學院
	楊榮季主任	長庚醫院中醫藥劑部
	黃文鴻教授	陽明大學衛生福利研究所
	葉明功教授	國防醫學大學藥學系
公共衛生教育	紀雪雲教授	開南大學
	李景美教授	臺灣師範大學
	楊智惠教授	義守大學生物科技研究所

領域	姓名	單位
領域	何蘊芳教授	台大醫學院藥學系
	孫淑慧主任	亞東醫院藥劑部
產業界	孫茂峰理事長	中華民國中醫師公會全國聯合會
	李威著主任委員	臺灣區製藥工業同業公會中藥經營委員會
	謝德夫理事長	財團法人製藥協會
	張朝霖理事長	臺灣區中藥工業同業公會
	王瑞叁 (朱溥霖)理事長	中華民國中藥商業同業公會全國聯合會
	干文男常務理事	中華民國全國總工會

(三) 分別於 100 年 2 月 23 日、100 年 5 月 2 日、100 年 7 月 15 日、100 年 7 月 18 日、100 年 8 月 31 日及 100 年 9 月 23 日召開六次專家核心會議，研議規劃「102 年度中醫藥科技研究方向」、「102 年度中醫藥衛生教育策略發展方向」及「建構中西醫整合醫療研究之模式」，專家意見如下：

張永賢教授

1. 國際間已將西藥與中藥融合，由傳統醫學到疾病醫學到健康醫學，疾病治療亦已中西醫學結合方式進行病人治療。1997 年中國大陸為實施「科教興國」，加強基礎研究的國家性計畫，制定「國家重點基礎研究計畫」（973 計畫），以及「國家科技攻關計畫」包括九·五到十一·五，可資參考。
2. 建議充分擷取國際中醫藥有關資訊，以中醫藥實證醫學(EBM；evidence-based medicine)觀點，進行中醫藥研究。
3. 突顯重點集中完成科技研究，以突顯「中醫藥委員會」的組織定位。
4. 收集世界衛生組織(WHO)及中國大陸對於傳統醫學與中醫藥的規範、標準、研究及成果，加以研究、分析、評估、發展臺灣的特色，凸顯在國際。
5. 加強中醫診斷方法及工具，發展中醫藥現代化。
6. 加強中醫藥資訊，使在 ipad、google 上有正確中醫藥資訊。
7. 健康食品應為「功效」，而非「療效」。
8. WHO 傳統醫學處，準備在 ICD-11 加入中醫藥證型，應密切注

意。

9. 海峽兩岸醫藥衛生合作應建立中醫藥診療方法研究之平台，相互交流，並於每次合作談判，皆有最新最有效之實質議題內容。
10. 建構中醫標準體系，有標準、有規範，才可以國際標準達成國際化目標。
11. 應推動「中醫住院」，以完成中醫醫療教育完整及病患照護的權益。
12. 於國際市場行銷中醫藥製劑，應注意國際相關法規之更新，例如歐盟對人類使用植物藥的經驗訂為 30 年。在非歐盟國家使用 30 年，且在歐盟至少已 15 年使用經驗。
13. 臺灣在中西醫療整合方面一直走在時代前端，中華民國中西整合醫學會相當早期就成立。如何從「教、考、訓、用」著手進行全面性規劃加快整合的腳步，是當前重要課題。
14. 促進臺灣中西整合醫學的發展，可參考美國的「CAM」（Complementary and Alternative Medicine）及「結合醫學」（Integrative Medicine），韓國的「韓洋醫學」（NEW;Neo-East-West）以及日本的「統合醫學」，將教考訓用列入重大議題。
15. 提升中醫師專業素養，應持續強調「繼續教育」的重要性，並要思考如何將臺灣經驗「國際化」向外推廣。
16. 「如何增進中醫師執業素質及合理分布之研究」面向單一，建議加入醫師其他專業層面，如醫療、研究等。
17. 研究方向架構第二部份前瞻性議題內，使用者保護醫療─問題 2 中西醫藥整合性醫療服務加入「4.重視美、韓、日結合醫學之發展，並促進國際傳統醫學交流合作。」於 102 年對策方案中。
18. WHO 對傳統醫學相當關心，2002 年就開始有對傳統醫學的政策，更已經在 2004 年將傳統醫學的部分納入全世界醫藥策略中，另外也訂定傳統醫學自己的 ICD。而現今全世界都在使用 ICD-10，我們卻使用 ICD-9，明顯落後。臺灣政策應多參考 WHO 作法並加速跟進。

胡幼圃教授

1. 密切與中國大陸合作，取得各項計畫之研究成果，進行蒐集、評估、運用。整理我國過去中醫藥重要研究成果，並評估可接受之中國大陸相關研究成果，不重複執行，以落實於臺灣。
2. 中藥應朝「有效性不被懷疑」及「安全性不出狀況」之方向，不分中西，集中經費，進行一、二項具有指標性且有成果的重要合作研究。

3. 建議將已完成之各項基礎研究成果，分類整理，具有指標性的研究成果，應加強向學術界宣導，公諸大眾，讓意見領袖（opinion leader）充分知曉，以利取得合理研究經費。
4. 建議參考中國大陸中藥典，嚴謹修定中華中藥典。
5. 建議改變構面，以「社會大眾關心之重大議題」及「前瞻性議題」為主軸。可排列首長任內立法院及社會大眾關心之重大事件，整理成解決方法，形成政策，以中醫藥專業應可解決之方向，進行研究。另思考提出未來可能會發生的中醫藥問題，以前瞻性思考解決之方向，建立研究方向。
6. 建議擬定主題整體計畫名稱，集中經費，延長計畫年限。

陳啟祥主任

1. 建議進行藥材(產品)安全的研究，並對藥食同源的藥材安全作進一步的研究，不只是研究交互作用而已。
2. 中草藥發展成健康食品是一種趨勢，建議療效、功效一起涵蓋在內，做進一步探討。
3. 中國大陸藥材檢驗集中於質量技術監督局及藥品生物製品檢驗所，未開放民間，故檢驗實驗室之相互認證，是臺灣與中國大陸實際交流之重要事項。
4. 經濟部已注意到歐盟駁回大陸進口中藥的問題，也曾請國外公司協助輔導，講解輸入產品至歐盟的相關法規。由於歐盟要求從藥材品質到市場銷售，都需要完整的資料提供，故中國大陸可能難以達到他們的要求，因此新聞報導其可能退出歐盟之中藥市場。
5. 目前法律規定健康食品不能具有療效，只能具有功效，因此建議應將之細分為療效與功效。目前市售牛樟芝已取得健康食品認證，可資參考。
6. 實驗室認證及驗證機制之建立相當重要，目前化妝品及食品已開放民間認證及驗證。
7. 經濟部「兩岸搭橋專案」將中醫藥部分也含括在內，其中一項成果就是大陸研究成果之盤點，將來可朝此方向討論兩岸如何聯繫和合作。
8. 目前中藥材之檢驗，臺灣、大陸及香港都在做，可能合作的部分以避免重複檢驗為原則，可將一、兩千種的中藥材分頭進行檢驗，再來討論研究成果如何共享。目前經濟部就研發成果部分，已有委託一些法人單位在做。
9. 中國大陸藥材飲片檢驗，大包裝由質量技術監督局執行，小包

裝則由藥品生物製品檢驗所執行，未開放民間經營，而未來臺灣可能輔導民間成立檢測實驗室或檢測公司去做。惟目前大陸僅開放官方檢驗，若兩岸認知不同，臺灣允許民間所作之檢驗大陸是否接受？又若不開放民間檢驗，應注意由中醫藥研究所來做，或整合法人機構之資源。

10. 政府單位應支持產業之間的交流，例如補助中藥新藥關於臨床試驗、科學中藥、炮製飲片製造。
11. 兩岸科技的實質合作仍然有困難。目前頂多做到針對重大議題和項目，雙方面有初步共識，例如：對某一特定的藥材，雙方各自有預算進行研究，而將來做某種程度的資訊交換。若談到政府支持的科研成果到大陸實施，當前是有困難。
12. 針對中醫藥委員會期望的檢驗中心，可參考環保署環境檢驗所的模式。環境檢驗所先推動對民間檢驗公司進行認證，獲得認證之檢驗公司的檢驗報告即擁有行政力，後續檢驗相關業務便可由檢驗公司承接。若有此需求，經濟部可以配合推動檢測業者相關的檢驗工作。

郭英調醫師

1. WHO 規劃的中草藥臨床試驗 Guideline，其 sample size 依療效之是否確定決定。中藥療效溫和，往往需要很大的 sample size。
2. 中草藥進行療效研究可分為二種，如屬治療疾病之療效研究，建議以臨床試驗為主；如屬改善身體功能之健康研究，則建議以觀察試驗為主。
3. 中西醫整合最大的問題在於「人」。中西雙修的醫師依現行制度僅能擇一執業，故需先整合「擇一執業」，走「一人整合醫學」的概念方式。
4. 「中醫師加上西醫師」的整合，最大的問題在「責任歸屬」，當兩位醫師面對同一個病患，究竟誰應該為病患的狀況負起責任？故以中、西醫師共同會診方式執行，應先建立「會診者責任」。
5. 建議中西醫可各開放一部分簡單的診療或操作方式給對方（例如中醫開放一些簡單的診療操作項目給西醫，西醫亦開放一些簡單的診療操作項目給中醫），在互利的原則下達成平衡。
6. 臺灣目前中醫藥使用人數相當多，建議研究方向以提出民眾使用中藥及中醫利用現況及效果的具體數據作為佐證，以便爭取經費獲得更多的重視。
7. WHO 最近相當重視傳統醫學的重要性，因眾多發展中國家對

傳統醫學相當依賴。因此，提出明確的實證，將真正有用的傳統醫學方式留下加以研究，並停止無醫療效果之傳統醫療行為，是 WHO 正在前進的方向。

8. 建議在計畫開頭加上精闢的「說帖」、「前言」或「補充說明」，讓他人更能了解本計畫的重要性、強調之重點及勢在必行的理由。

黃怡超所長

1. 建議收集分析中國大陸的研究進展，在臺灣做好的使用與判讀。
2. 中醫藥相關的臨床試驗，建議可考量參與國家卓越臨床試驗中心計畫。
3. 以實證基礎的學術研究，建議結合中藥界及其他學校共同努力。
4. 固有成方之加減方中加入非典籍藥材，進行新複方之中醫藥臨床試驗，IRB 同意程序經常會 delay，雖然平衡風險（risk）及效益（benefit）非常重要，但也需考量針對創新複方加減藥材容許一定的自由度，降低一些儘快獲得效益的障礙 (hurdle)。
5. 為產業開發與國際化進行中藥研究，無論成功與否，有用的資訊建議皆可給民眾知曉。
6. 是否能夠找出一套世界通用的品質管制、療效評估等方面的標準，使經過檢驗的中藥在品質及安全性上受到世界認可。另外應將重點放在一般民眾自我照護使用中藥，如何確保其安全性和品質。
7. 因我國目前政府法規不允許中藥添加西藥成分，故雖中西藥併用之議題確有討論必要，惟是否將其歸類為療效部分可再討論。
8. 目前分為重大社會議題及前瞻性議題，重要性和迫切性可能屬前者，前瞻性議題部分尚須視其輕重緩急、經費及延續性等問題，可能並非幾年內可解決。
9. 關於中華醫藥典的問題，最近香港衛生署林署長有和中國醫藥大學張永勳教授簽約，檢驗一種藥材 50 萬港幣，折合台幣大約 200 萬以上，惟其要求之品質也比中國大陸更高。目前香港已完成檢驗 200 多樣中藥材，因此我們中華中藥典的檢驗要做到何種品質，如何去實行都可再作深究。
10. 前瞻性議題部分我想可以自由選擇（optional），這是臺灣衛生福利部重大的課題，應儘量使臺灣所有相關單位共同參與，是

否能面面俱到不是最大的重點，而是如何能有好的執行者把事情做好，回歸到對民眾的健康照護有幫助。

11. 這些年來觀察我們人才資源都有，但是合作部分可以再加強，從科學管理、研究一定要發揮長處，在中醫藥研究中突顯出臺灣的有利地位，各個機構發揮所長，多做策略聯盟，與時俱進達到最大的成果。
12. 觀察當前兩岸互動趨勢，相較於過去的常規作業，科技研究之交流是最新的趨勢。建議針對一個科技研究發展方向，做全面性的檢視，而非單一法條或是規範，排定研究優先順序。
13. 從衛生署百年醫療網中可以發現，不論是現象或負擔，老年人口逐漸成為一個重要的健康議題，與之相關的研究逐漸浮上檯面。例如：CGCM 中香港楊教授分享了中藥治療失眠的成效，中醫藥對中風後的輔助治療亦已進行了 60%。
14. 應以宏觀角度來檢視臺灣應面對之中醫藥體系問題：獲得的訊息容易轉化成整個中醫藥界的問題，而非個別單位機關。從行政主管的中醫藥委員會、研究取向的中醫藥研究所、到養成學校、甚至公會，任何環節的狀況會衍伸到整個中醫藥界。決策者在看的時候，往往也會採取同樣的角度，因此需要全面的系統整合。

（郭曜豪組長代理）

15. 現存中西醫教育制度良好，中醫、西醫學都可以學習，並無需作大幅度調整之必要，可於現行教育制度之基礎上，作適當調整。
16. 現行制度若有對中醫不友善的地方，大家可以集思廣益努力爭取一個更好的環境。
17. 若今天偏遠地區有名聲響亮的中醫師，即使存在距離問題，病患依然會前往就診。地理分佈的問題也要考量到這種情況。
18. 透過良好的規劃，搭配適當的單位主導、完善的配套及資金的募集，即使是偏遠地區醫療品質也是可以提昇，城鄉差距的問題或許能有所改變。

楊寧蓀教授

1. 中藥之操作型定義（operational define），常以傳統觀念嚴格區分藥品、食品，很難進行相關研究。
2. 中藥研究常受制於道地藥材（normalization），必須以現代化（modernization）的觀念，進行 multiple formulation revoke，跳脫道地藥材之羈絆。

3. 新聞指出目前大陸之中藥在歐盟無任何一樣通過品質標準，故我們是否應透過歐盟辦事處等等機構蒐集相關具體資料，以了解歐盟詳細之中藥藥品檢驗標準。
4. 建議應建立系統化方式釐清種源，例如牛樟芝、冬蟲夏草等。
5. 目前中醫藥面臨之問題是，只有在研究中藥領域的人，才懂得相關的名詞，至於西醫學院的學生，甚至連植物種原都無法辨別，缺乏一個系統化的歸類。我們已有許多的資料，應該由一個單位去整合歸類，建議中醫藥委員會可做登記歸類，去辨別各種中藥屬何種外形類別，至少將其納入資料庫，形式上有資料可供比對，否則許多散布在學術界的資料，將沒有一個系統化的整理。
6. 此次會議主題研究方向的架構，就有建立架構的意思，中醫藥委員會現在就把大框架建立起來，儘量充實問題內容，避免只有中藥領域內專家學者理解。架構建立就是為了定義哪些部分由官方執行，哪些部份可委託民間，把這些需要考慮的事都逐一列下來，之後彼此再進行對話交流，也可互相學習。
7. 就中醫藥之名詞部分，應與國際接軌，避免出現同樣東西有不同稱呼的情形。
8. 中藥需要領導，而目前的兩位領導者，要善用在場諸位，若出現異議，或有新的形勢，再不停去做修正或重新制定。
9. 中國大陸擅長於做典型性的部分，將中藥材之成分、功能，典型的例子做的很好，但其他部分仍需加強。我們若欲與之合作，可創造一個新的平台、領導地位，把架構建立起來。
10. 對於國際上常用「medicinal food」一詞，國科會、NHRI 及中醫藥委員會/中藥研究所等單位似乎都使用不同之「古老/硬板」定義，來「分割」研究方向。建議就「中藥」、「植物藥」、「健字號保健食品」,「食品」之法律及科學用字、用法予以「鬆綁」,參考國際用語，鼓勵研發，並整合研究方法。
11. 建議就「中藥」訂出「重要科技之重點研究（focus program project）」。

吳天賞院長

1. 西藥 single compound 及中藥 mixture 之研究方向不同，建議依中醫哲學建立中醫藥臨床試驗基準，研究設計應予區隔。
2. 建議依中醫藥之特性及重要性，集中在幾個重點，作主題規劃。
3. 建議組織菁英團隊進行相關研究，例如安全及療效二組。

孫茂峰理事長

1. 臺灣有十多年的中醫健保資料，可以充分利用中醫藥健保資料庫，進行實證研究。
   （陳文戎醫師代理）
2. 中醫利用率不足，才會突顯人力過剩問題。
3. 建議在 102 年度對策方案中增列「中醫藥人才開發及規劃方向」之議題。規劃中醫師「中醫＋中藥」之整體教考用訓練系統，提供中醫師協助，而非直接從西醫界移植人才。
4. 建議規劃中藥調劑人才之培育。

楊玲玲教授

1. 研考會對於中醫藥管理已有相關建議，可找出重點作為設定題目主題之參考及方向。
2. 落實民眾用藥安全教育十分重要，應特別注意中藥方劑之臨床適應症（indication）及禁忌，要求於說明書明確標示。
3. 健康食品具有中藥成分者，其安全性應進行再評估，例如含甘草成分，應注意久服易造成電解質下降。建議含中藥成分之健康食品，應由中醫藥委員會與食品藥物管理局食品組一起審查，以避免產生使用上之安全問題。
4. 建議檢視迄今所有研究項目及成果，分析何者可以落實至行政運用。
5. 應先了解總體計畫經費，若經費有限的時候，將計畫中著眼的重點排列優先順序，再對其投入適當資金。
6. 與相關部會合作，共同分擔經費。例如：衛生教育部分可移請教育部，產品創新部分可委請工業局。
7. 「國人用藥安全要從基本開始」應該是強調的重點政策之一。香港用幾百萬的預算委託中國醫藥大學進行中藥材標準化，準備建立一套從中藥炮製、製作到分析的標準，於用藥安全非常重要,可是目前臺灣自己卻沒有一套標準可以與大陸進行談判。
8. 國衛院花費不貲的核心實驗室，是否哪一部分是可以給中醫藥來使用？臺灣中藥廠條件往往不比西藥廠，因此我們非常需要一個專門針對中藥提供檢驗的實驗室。
9. 中藥的「仿單」上未標示注意事項，民眾購買的時候無從參考，這樣的東西象徵最基本的用藥安全，比教育更重要。

鄭慧文教授

1. 建議中醫藥研究爭取國家型計畫，可以規劃五年一期，以整體計畫經費編列（例如幾年幾億）。
2. 建議統合不良反應通報系統與健保資料庫，利用現有之資料庫

進行研究。

鄧寶蓮處長

1. 建議計畫建立兩岸法規交流平台，定期與中國大陸進行兩岸法規交流，互相瞭解管理之內容。例如中國大陸健保藥品採集中採購方式，限制採購資格，排除臺灣，可以藉由此平台予以整合。
2. 中國大陸對於中藥飲片之品質檢驗，大包裝由質量技術監督局執行，小包裝則由藥品生物製品檢驗所執行，故建議以非正式之方式，比較分析兩岸品檢單位之實驗室人力資源。
3. 產業創新部分，建議由中醫藥委員會主導建立臺灣中醫藥的品牌形象，在國際化的大前提下，針對學術研究、臨床、中藥產品，進行整體中醫藥國際品牌行銷計畫。

張朝霖理事長

1. 中藥與西藥差異性很大，既然不同就應獨立出來，應建立專屬中藥產業之法令規章（藥事法、中藥藥物製造設廠標準、藥物工廠檢查辦法等……）。
2. 明年行政院組織再造，成立衛生福利部中醫藥司，應制定適合中藥之相關法令規章。
3. 研究方向，應把問題顯現出來，雖然有困難，如無開端，永遠無法實現。
4. 依行政院組織再造計劃，101 年起中醫藥司與中醫藥研究所歸屬衛生福利部之一級單位，則所規劃之「101 年度至 104 年度中醫藥科技研究方向」，新的中醫藥司功能性與前中醫藥委員會之附屬獨立體系，其任務職掌是否有所不同或能否配合連結上，宜多加考量。建議研究內容增列「新中醫藥司功能性」。
5. 整個計劃「中藥」的部分比重稍嫌偏低，中醫與中藥如何結合，使整個醫療體系更趨完整，為捍衛國粹，催生專屬中藥產業之中藥藥事法(法規協和，適用中醫藥之相關法規項)，勢宜明確具體化。建議研究內容增列「催生中藥藥事法」。
6. 中藥材 90%從中國大陸進口，其中用量較大之藥材，有一部份被列入二級及三級保護的野生藥材物種管制品，並有其採獵管理及限量出口管理之限制，故未來如何因應與設立預防機制或推廣臺灣適合性之藥材(台藥)本土化，實有探討必要。建議研究內容增列「二、三級保護中藥材」。一級、二級和三級保護野生中藥材物種的比較如下表：

	一級保護野生中	二級保護野生中	三級保護野生中藥

	藥材物種	**藥材物種**	**材物種**
定義	瀕臨滅絕狀態的稀有珍貴野生藥材物種	分佈區域縮小、資源處於衰竭狀態的重要野生藥材物種	資源嚴重減少的主要常用野生藥材物種
藥材種類	虎骨、豹骨、羚羊角、鹿茸(梅花鹿)	鹿茸(馬鹿)、麝香、熊膽、穿山甲、蟾酥、蛤蟆油、金錢白花蛇、烏梢蛇、蕲蛇、蛤蚧、甘草、黃連、人參、杜仲、厚朴、黃柏、血竭	川貝母、伊貝母、刺五加、黃芩、天冬、豬苓、龍膽、防風、遠志、胡黃連、肉從蓉、秦艽、細辛、紫草、五味子、蔓荊子、河子、山茱萸、石斛、阿魏、連翹、羌活
採獵管理	禁止採獵	(1)採伐應持有採藥證和採伐證，狩獵應持有採藥證和或狩獵證 (2)不得在禁止採獵區、禁止採獵期進行採獵 (3)不得使用禁用工具進行採獵	
出口管理	不得出口	限量出口	

蔡東湖所長

1. 以中藥的品質管制，作為兩岸協談的重要議題。例如不合格產品之處理及退運機制，重要的是不能再讓不合格產品有再次上市的機會。
2. 中藥藥食同源的問題，建議以使用場所作為分類的定義，若藥材在醫療場所使用，就以藥管；在食品場所取得使用，就以食管。例如甘草在中藥方劑中就是藥，甘草粉用於食品就是食品。
3. 中藥藥食同源的檢驗內容應注意一致性，例如食品藥物管理局對 18 種用於食品之中藥，其查驗內容有數十項；而中醫藥委員會公布用於食品之中藥，其查驗內容僅有三項，因進口藥材都是一樣，應特別注意邊境管理之一致性。
4. 建議訂定指標成分及附屬成分的分析，應注意分析儀器的有效性。

5. 應注意進口考量中藥材批次差異的問題。
6. 中西醫療法併用中，經由動物實驗得知，治療中風使用阿斯匹靈與補陽還五湯併用，同樣具有抗凝血效果，且彼此不會產生交互作用，合併使用並無影響。
7. 以中醫藥委員會的層級不必囊括所有事情，建議只需制定標準作業程序 SOP 及檢驗標準，讓業界或藥廠能夠遵循，甚至讓他們自我管理，中醫藥委員會只負責督導，審核的部份。
8. 對於衛生教育部分，本人應 2005 年國科會邀請，寫了一篇「合理服用中藥」，發表在國科會的期刊，該文亦被香港高中教科書引用為高中生教材，提供國內衛生教育參考。
9. 對於藥品品質部分，建立中藥材品質標準化，提供民眾一個安全的用藥環境，應是目前重要的議題，應參考中國中醫藥標準化研究中心之研究方向內容。
10. 任何領域爭取被重視的要點，在於如何展現自身存在的價值，因此實務的執行能力非常重要，故中醫藥的核心研究實驗不應該採委託的方式，而該由中醫藥國家單位來執行。建議建立核心實驗室以及標準化，應是該努力的方向。
11. 中藥全球化聯盟會議安排參訪「中國中醫藥標準化研究中心」，國內中醫藥研究可以參考成立標準化研究中心。
12. 中醫藥臨床基礎研究建議以藥物安全為基礎，例如：中藥和中藥的交互作用、中藥和西藥的交互作用等層面是非常重要的。

李連滋總計劃主持人

1. 兩岸醫藥衛生合作協議有關中醫藥研究與交流優先合作項目，以中醫藥智慧財產權為主。由小後大、由急後緩、由簡後繁。
2. 與大陸之交流建議以典籍及教學之資訊交流為主。
3. 歐盟規定若藥材非當地國傳統使用，必須提出人類使用經驗，以及在當地國使用十五年以上之證據。
4. 依據此標準，未來欲將中藥材出口歐盟，可能一律必須以新藥審查，宜及早因應。
5. 本計畫為配合施政規劃，配合各項議題延提科暨研究應該沒有問題，但將所有問題都列入，雨露均霑，可能都在努力但不能解決問題。因此宜分出優先順序，集中方向。
6. 前瞻議題若用以解決目前重要議題，則以前瞻性技術在此議題上的應用為主。

羅吉方組長

1. 未來兩岸協議完成後，有關中藥材的安全管理，輸入臺灣之中藥材，必須提出大陸質檢總局之檢驗證明文件，經查證才可出口。我方將提供最新的檢驗項目、限量要求、檢驗標準及檢測（抽檢）方式，由陸方轉知企業。如遇重大安全事件，可到大陸做實地查訪。整個中藥材管理即可作源頭管制，保障消費者。
2. 兩岸協議有關中醫藥研究交流，會牽涉到檢驗報告、檢驗方法、限量等研究，另 TFDA 亦將依中華藥典修正，並提供方法。
3. 江陳會曾經討論將中藥材以商品法來做邊境管理，惟標準檢驗局希望我們修正藥事法，納入邊境管制條文，惟修法緩不濟急，故在修法完成之前，希望先以商品法將之列入應施檢驗項目。惟中藥一旦列入商品後，主管機關即為標準檢驗局，是否可以委託他機關檢驗，應再深究。
4. 有 TFDA 認可的實驗室皆可做藥材檢驗，並依照中醫藥委員會之標準給予實驗室認證，舉凡重金屬、農藥殘留、二氧化硫等等都有其檢驗方法，而依照中醫藥委員會之公告判定其是否達到標準，進而使經認證之實驗室所作之檢驗具有可信度。
5. 目前 TFDA 在濫用藥物已有實驗室認證法律規範，已有 13 家經認可之實驗室，因具有法源依據，其報告檢驗結果亦具公信力。食品部分食品衛生管理法亦有委託檢驗之相關規定，唯獨藥物、化妝品、醫療器材在這方面尚未有法律規定，這部分藥事法目前也在修法中，一旦修法完成即具法源依據，執行上也可較為順利。
6. 目前中華中藥典部分是委託中國醫藥大學張永勳教授負責，第一版的中華中藥典原本已有 200 多個品目，今年也會增加到 300 個品目，目前已經有篩選出一些藥材品目，基本上會參考大陸藥典，惟擔心大陸藥典的產生過程是否無瑕疵，故於鑑別時都是依照 TLC 的方法，也會把中醫藥委員會公告的限量標準放入，另外 HPLC 的方法也會加以比較是否和我們方法相同，這些部分在編藥典時都有注意，而製劑部分目前尚未納入中華中藥典，主要還是藥材部分為主。

康翠秀組長

1. 目前計畫申請的方向已漸朝向組織團隊的方式，代替之前較分散的申請，鼓勵整合型計畫的申請，研究團隊表現好的也繼續邀請。
2. 健保資料庫每年其實都有列入徵求重點當中，但中醫診治方面有一部分為自費，未於健保資料庫呈現，故應考量數據是否會

有低估的情形。

3. 101 年已核定預算 9,159 萬，配合行政院組織改造，未來本會或許會與國立中醫藥研究所合作提出新的科技計畫，再向國科會爭取預算。
4. 感謝各位專家學者寶貴的建議，議題內容繁多，本會將會再就各項任務的急迫性及重要性，並排列執行優先順序，使得計畫之研究項目能更聚焦。
5. 因為經費有限，目前架構中有關屬 TFDA 業務職掌者，將檢討移除。

林榮耀教授

1. 中西醫療法併用，因為疾病及使用的藥品項目太多，且衛生署目前尚未核准中藥內添加西藥，故應考量是否將中西醫療法併用納入產品療效研究。
2. 目前中藥之檢驗只能判定其是否具有毒性物質，應該建立一個能夠適用於所有中藥之 HPLC 方法。TFDA 幾年前就有在做 HPLC，已有資料，然而沒有任何一個 HPLC 方法可以適用所有中藥，因其成分皆不相同，而 TLC 已屬舊方法，應採用 HPLC 較為可取。委託民間檢驗可能發生品質不可靠之問題，可能還是需要官方來執行。
3. 中藥療效乃與人民健康息息相關，中藥療效判定尚無標準，中華中藥典也應定時更新，可納入研究進行，儘快擬定三年或五年計畫，不能一直原地踏步。若無法確定中藥具有療效，人民就難以信任，故除了確定中藥內不含有害物質外，仍應儘快確立中藥療效之檢驗標準。各種中藥外表不同，成分相同其中含量也不同，如何有一個統一的標準，值得深究。
4. 保健食品之範圍太大，建議限縮到 TFDA 通過有認證的部分，以文件可找到的為主。
5. 國內不同單位合作就已有許多問題，例如論文如何發表、專利如何申請等等，若是跨國合作就更加困難，一件一件分開個別處理之情況又不盡相同，所衍生出的問題應納入研究解決。
6. 目前所提架構內容傾向中醫藥委員會的常態任務，建議針對中醫藥科技研究提出具體方向及項目。
7. 有關中藥安全性，如重金屬分析，可委託國內相關分析機構（如經濟部等。）
8. 國科會執行基因體醫藥國家型計畫八年，經費 120 億元，已建立相當規模研究體系，本計畫可予利用，進行中藥之實證研究。

9. 建議整體聚焦在科技實證研究，探討中醫藥治療糖尿病、癌症、神經退化症（老化）及心血管之中藥發展。
10. 中藥之科學化產品，其有效性及安全性應建立相關法規。

張恒鴻院長

1. 中醫師數量於 2000 年已達飽和，中醫人力市場已不再是「量」的問題，必須考慮「質」的問題以及人力「輸出」問題。
2. 中醫師人力地理分布不均的問題，必須思考健保政策是「錢（總額）跟著人（被保險人）走」，而醫事人力是「人（醫師）跟著錢（保險醫療支付）走」，如何解決健保實務問題或考量以獎勵方式，應列入考量。
3. 從改變「市場」的角度思考中醫師飽和問題，可分析出以下兩點：
   (1) 開拓「健康管理」全新市場，導入中醫師大學教育到前兩年臨床教育，更進一步建議將預防醫學及健康管理概念納入健保，或許可以緩和地理分配不均之問題。
   (2) 臺灣中醫師之培育，在「中西合併」以及「學士後中醫」，皆屬雙專業結合，在國際上亦屬特殊罕見之高品質，應予善加利用，並可以考慮向國際輸出。
4. 發展傳統中醫並促進國際合作，應先瞭解國際哪些國家對傳統醫學有實際需求，產業界亦可帶頭思考國際性需求及供應策略，以文化交流輸出雙專長中醫人人力供應。建議政策上要有明確的規劃，提供產業界、教育界了解。作為一個前瞻性議題，甚至可實際規劃推展路線並執行，將人才實際帶到國外開拓出中醫新市場。
5. 美國採取「整合醫療計畫」（integrated medicine program），德國醫學納入針灸，日本中西醫學皆可同時執行，韓國及中國大陸亦皆結合中西醫學，建議納入「中西醫學整合模式之研究」，研究各國執行方式，作為我國執行之參考。中西醫學整合應先區分疾病嚴重程度，中醫可以提供到什麼程度的醫療服務。可以醫師看待病人的角度觀察探討，對中西醫合併診療過程做紮實的認識。中西醫共同治療的病例，對整個治療過程詳實記錄觀察，了解介入時機及整合成效。
6. 建議納入「規劃中醫臨床訓練納入中藥課程研究」，以臺灣優勢建立教考用之模式，開拓中醫藥之新市場。
7. 自古以來「住院」就是中醫醫療提供的服務之一，但近 100 年來由於西醫發展強勢，醫療制度皆由西醫制定，致使中醫醫療

服務逐漸退縮，亦造成中醫住院的消失，而這樣的改變牽動著中醫界的未來發展。因此如何重新找回「中醫住院」作為中醫醫療的服務項目，是整個中醫界要面對的重要課題。

8. 德國的中醫住院制度完備，健保給付涵蓋 95%，且民眾使用率高，建議政府單位可以參考，逐步列出可以經由轉診而可給付的疾病名稱。而目前可以積極爭取健保給付的方向，以爭取提升品質保證專款落實在有實證依據的中醫治療疾病，例如西醫無法有效改善的疾病，介入中醫會診，專案給付。
9. 充分利用國際化之「教學訓練」，提升醫療品質。建議開放國外醫師來台交流，一方面可以使中醫界更加國際化，另一方面，亦可藉由教學相長，達到提升臺灣中醫師素質之目的。
10. 欲落實中西醫整合醫療模式，建議以下列方式進行：
    (1)「面」的中西醫整合醫療模式：若針對某疾病或某特定病程之病患，中醫介入之治療效果明顯，且改善狀況良好。透過臨床經驗及具體實證的建立，加上古今中外各種資料佐證，提出實質證據說服決策者。例如：癌症化療及腦中風之中醫照護，均頗有建樹。
    (2)「點」的中西醫整合醫療模式：中西醫醫療整合需要用西醫的觀點切入，並由中醫的方法滴定（titration），亦即對於單獨進行中西醫療都無法達到效果之疾病，需要經過長時間的中西對談、磨合共同合作，找出共同解決問題之「點」。臺灣的教學醫院中，就存在有合作會診多年之中、西醫師；政府應該積極發掘，並提供充足的研究經費，將他們關注的焦點視為專案研究計畫，讓這樣的夥伴關係可以持續在臨床上互助合作，發現問題，解決問題。

<u>鄭振鴻</u>院長

1. 中西醫結合治療，必須先將中西醫擇一執業之法規鬆綁。於未鬆綁中西醫擇一執業之前，建議中西醫分開，由一個中醫師和一個西醫師共同診治，設置中西醫結合之臨床實效研究，由中西醫互相配合。
2. 建議在醫事專業人員養成過程中，就要加入中醫相關課程，例如：醫學院大學課程加入「中草藥概論」。
3. 現存中醫師之考選制度尚有改進空間。如何提升中醫師的職業責任感？如何將人才留在大型醫院？針對未來中醫學系是要幾年制？如何因應 103 年西醫由七年改為六年制，中西醫雙主修何去何從？中醫如何去配合西醫將採之 PGY（post-graduate

year）制度？學士後中醫學系制度是否應予檢討？這些問題都是全面提升中醫師素質的關鍵。

4. 中醫師的繼續教育應持續努力，進入國立醫院的中醫師一定要進行完善的訓練，以達到要求水準。
5. 研究架構第二部分前瞻性議題問題 3「中醫藥實證醫學對策方案」2「參酌 WHO 傳統醫學處在 ICD-11 加入之中醫藥證型研究」，因 ICD-10 預計 102 年 1 月 1 日實施，應考量在 102 年研究方向中規劃 ICD-11 是否過早？並探討中醫證型與 ICD-11 之關聯性。
6. 針對各主題依比例討論出先後次序，再依補助款予以補助研究。
7. 組織再造成立中醫藥司及中醫藥研究所，建議未來科技研究，應由中醫藥研究所主導研究方向。

鍾蕙如理事長

1. 護理人員之養成教育已加入中醫護理 7 科 9 學分教育課程，包括傷科護理，故護理技職訓練實質上已屬中西結合。中醫護理政策訂定及護理人員專業能力之培育與發展：
   (1) 中醫護理人員專病失護能力（五專科護理）之培育
   (2) 建置中醫護理人員臨床技能訓練環境
   (3) 中醫護理技術之加強培育訓練（如推拿、穴位按摩、四診護理評估等）中醫實證護理研究之培育訓練
   (4) 中醫護理相關政策之研定，如中醫專科護理師、醫療補助行為項目之修訂
2. 中醫醫療照護品質安全的提升與中醫病患保護：
   (1) 中醫專病施護疾病護理標準化之建立
   (2) 中醫護理服務品質監測模式與評估工具之建立
   (3) 中醫病患保護準則與規範之建立
   (4) 中醫侵入性治療病患安全護理監測模式之建立
   (5) 運用中醫護理介入方案改善中醫病患健康問題（身、心、社會等）之健康品質研究─中醫護理介入方案如足浴、藥浴、穴位按壓、耳穴按壓等。
   (6) 護理資訊化發展之研究
3. 產業創新（中醫、中西醫整合醫療服務模式創新）：
   (1) 以整體醫學理論建立中西醫結合專病護理模式
   (2) 實證護理應用於中醫專病護理之相關研究
   (3) 中西醫結合護理應用於銀髮族、長期照顧相關研究

(李采芬督導代理)

4. 衛生教育工作係中醫護理人員工作執掌之一，護理人員扮演提供衛教諮詢指導重要角色。
5. 在「中醫護理衛生教育」研究方面，建議規劃與建立國內各年齡族群民眾中醫藥衛生教育服務網站：
   (1) 各年齡族群民眾對中醫藥訊息護理衛教需求探討
   (2) 中西醫用藥護里資訊化發展之研究
6. 整合中醫藥衛生教育服務資源，建構並發展民眾（社區或住院）中醫藥衛生教育模式與評價。
7. 整合社區基層醫療及藥局資源，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育
   (1) 食膳在慢性疾病護理之應用成效探討
   (2) 銀髮族食膳推廣與應用之照護研究
   (3) 提昇中西醫用藥安全護理照護品質之研究
8. 中醫藥衛生教育訓練成果評析與監測
   (1) 中醫藥衛生教育對民眾（或病患）知識、態度、行為及相關因素探討
   (2) 護理人員對使用中藥的認識、態度、行為及其相關因素探討
   (3) 民眾自我導向學習中醫藥衛生教育策略之效果研究
9. 醫療院所的醫療人員常擔任重要的衛教角色，若醫療人員本身若非中醫藥專業出身，可能在自身認知及回答上會產生偏頗。因此突顯出醫療人員中醫藥衛生教育的重要性。若對此著墨，中醫藥衛生教育在短、中期的評估上，成果較有機會顯現。

紀雪雲教授

1. 行政院衛生署曾經推動過四方面的平台：學校、社區、媒體、人際網絡。目前學校平台主要為健康促進學校，且持續在運作；而社區平台由國民健康局接手繼續維持。中醫藥界可以多透過這些平台發送衛生教育訊息。例如：社區藥局、診所就經常在衛教宣導的過程中被忽略，其實它們都是政府政令宣傳的好管道。
2. 推動中醫藥校園衛生教育必須「簡單化」。學校該教給學生的是「一個國民需要學習的中醫藥基本能力」。中醫藥委員會要能提供這樣的內容給學校平台的關鍵人物，才容易讓中醫藥的衛教觀念進入校園。現在正在推行教育部和食品藥物管理局的「正確用藥示範學校」，也可納入中醫藥的部份加以宣導。
3. 宣導的過程要用別人聽的懂得語言，群眾才能理解。應避免過

多的專業名詞或術語，否則無法進行有效的衛教。

4. 中醫藥若要進行全面教育，勢必要納入政府教育體系。目前九年一貫課程中國小四年級、國中一年級及高中一年級的課程規劃有「用藥安全」的部分，但內容主要都以西醫為主。中醫藥教育可擬定綱要，融入現有課程內容中。另外，透過教育部國教司的宣布，現在更將「用藥安全」納為校長會議之必要內容，如此一來此議題將備受重視。
5. 任何衛生教育都必須要有「政策的配套措施」，搭配行政機制的介入，納入評鑑體系，才能有效達成目標。再者，應蒐集統一各方（如中醫師、中藥商等）的共識，以尊重共識為前提進行全面性的推動。中醫藥衛生教育出發之前，尚有這些工作要努力。
6. 衛生教育的根本重點之一是要搭配「文化」。搭配當地文化，去進行推廣教育時，民眾才容易接受，甚至產生行為改變。
7. 國家科技經費預算有限，要有完整的準備才能爭取到。就我過去爭取「用藥安全」議題融入教育政策的經驗，建議衛生主管機關要準備充分，擬定出「做什麼、教什麼、該怎麼教」，而非全部移交教育部，九年一貫綱要內容屬指標性，所以許多領域都想進入，若有萬全準備才有較大的機會被納入推動。
8. 建議研究主題分二大類（應依組織調整 併入中醫藥研究所加以說明提出第二大類的原因）一為任務導向，一為新興議題。二大類在領域分類可能不同，第一大類依中醫藥業務分，第二類應依新興、創新機制、方法等歸類。
9. 衛生教育的分類，建議分社區、學校、醫療院所，人員訓練應併入本領域，社區、學校、教育的專業人員培訓。
10. 使用者保護也有民眾宣導、消費者教育應與衛生教育整 併。

<u>李景美教授</u>

1. 建議宜先做「需求評估」收集 baseline 資料，可分別針對民眾（Public）及專業人士（Profession）進行資料收集，收集方式可兼顧實證調查及現有文獻集 documents 兩方面。未來亦可配搭國民健康調查進行夾帶問卷調查，收集長期性資料庫。
2. 研究主題「規劃各年齡族群及各層級學校中醫藥相關衛生教育之教材」，建議增列「中醫藥衛生教育指標」及「介入教育成效分析研究」。
3. 學校教材之發展，可配合目前「九年一貫課程」（國中課程）、「健康與護理」（高中職課程）進行教學融入，並在教科書中納入相

關教學內容（例如消費者健康安全生活）成癮物質濫用等主題軸或核心能力，皆可納入。

4. 可比照國家衛生研究院推動之「國家衛生論壇」，委託學者專家針對國內外相關文獻做統整分析，以了解過去即現在之情況並對未來發展及規則提供建言。
5. 針對中醫藥主軸的訂定方向，以下幾點分析意見供給參考
   (1) 場域的主軸：學校、社區及醫療院所。
   (2) 對象的主軸：民眾及專業人士。
   (3) 教材的主軸
   (4) 師資培訓的主軸
   (5) 目標期程的主軸：102 年的成效是要展現短期、中期或長期的目標？訂定好期程，較好定位 102 年要做些什麼。

葉明功教授

1. 這是重要而有意義的討論，是否應先有找出重要而有意義之 Focus 重點，優先執行。
2. 整體而言建議下列五性作為納入研究主題二：
   (1) 系統性：兼顧政府專家、學者、實務性作者及民眾需求。
   (2) 國際性：導入國際性規範、藥材、品管、品質及法規。
   (3) 本土性：重視目前國內問題及現況而求解答。如：洗腎、中西藥併用等不良習慣。
   (4) 專業性：專業人才培訓、教材、教案及共同教育理念等提供，教育、訓練及評量。
   (5) 親民性：以民眾為中心，提出聽的懂、感覺的到、體會中醫的好，知道就醫找中醫，拿中藥處方籤至合格藥局領取。
3. 各項平台計畫是否整合為一共同平台共用，增加使用率，對口一致，並有效益評估及可提供研究分析之用。
4. 國家政策應訂定出中醫藥教育的主軸，確立中醫藥教育的目標。再要求各級學校教育定出教育核心，核心能力、教綱、教材、教案、教具，提供及教師培訓，才能循序漸進發展。
5. 注意教具、教案、活潑心、生活心、及遊戲心。用遊戲平台的方式，將衛教資料掛上網路分享，提供現場教師教學使用。
6. 建立共識，提供民眾常見中醫藥問題之標準答案，例如「中醫藥常見 100 問」，以解決民眾對於中醫藥 80%之疑惑，並可提供作為宣導教材。
7. 研究主題「整合社區基層醫療及藥局資源，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育宣導」，對象族群除老人外，建議再

加上：婦女、代謝症候群眾等經常使用中醫藥資源之族群。

8. 研究主題「中醫藥衛生教育訓練成果評析與監測」，計畫成果評析監測的部份，建議增加「建立獨立客觀的系統性評量」。在年底或期末的時候可舉辦大型展覽或成果發表等活動，此舉具有公告性及宣傳性，可宣告計畫成果、邀請第三者客觀監測，亦可達到相互交流之目的。
9. 科技應該創新，即使常規亦可產生創新結果，故研究方向建議以創新為主，結合實用及預期產值為主軸寫白皮書及說帖，以利爭取計畫。
10. 主題建議再具體整合成幾大重點，並由專人書寫及追蹤，以確保品質。
11. 建議創新研究可歸納成由「關懷」、「品質」及「專業」三個區塊如下。並借重異業結盟及新科技以產生創新及價值。
    (1) 關懷面以教育為主，可借電子科技結合影、音、圖象作資訊結合傳播，提升教育宣導及使用者保護之效益。（主動傳訊教育）
    (2) 品質面可由材料、產品之安全監視，建立新穎品質材料鑑別鑑識體系，以利他單位聰明複製，創造成功模式。
    (3) 專業面可以整合健保資料，以藥物流行病學方法分析出本國中藥資源使用問題，由中西醫臨床整合出新醫療模式，並以 EBM 為核心以創造出未來醫療模式等。

楊智惠教授

1. 研究主題「規劃與建立國內各年齡族群民眾中醫藥衛生教育服務網絡」，建議在作問卷調查時，可以做城鄉差異性，及調查健保資料庫哪些地方對中醫藥使用量較低，再朝這些區域去推廣。
2. 研究主題「整合中醫藥衛生教育服務資源」，可與現有當地衛生局已經建置完成平台結合。
3. 研究主題「整合社區基層醫療及藥局資源，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育宣導」，建議定出學校各年級學生及社會各階層需要學習的核心能力及主軸。
4. 依據過往經驗，認為高中職生較適合推動中醫藥衛生教育概念，原因有二：
    (1)擁有較高的自主思考能力及行為自主權
    (2)針對有興趣往中醫藥發展的高中職學生，可與升學面向結合。
5. 之前計畫實施經驗中，利用漫畫書為媒介，推廣奈米相關知

識，效果良好。建議可使用具趣味性的素材，會讓學生學習動機提升。

6. 研究主題「整合社區基層醫療及藥局資源，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育宣導」，建議確定民眾教育主題，並針對偏遠地區民眾，應有特別的推廣方式及需注意事項（如：語言、識字率等）

孫淑慧主任

1. 建議中醫藥衛生教育步驟：
   (1)訂定主軸
   (2)養成師資
   (3)發展生活化教材
2. 應先定義中醫教育師資專業範圍。
3. 師資與西藥相比較為不足，且水準不一，因此對於師資的培訓非常重要。
4. 活動中觀察民眾對中藥的認識有以下幾點現象：
   (1) 無法清楚分辨中藥與食材的差異，由於在菜市場、賣場接可輕易買到中藥材或配好的藥方，並不認為中藥屬於「藥」的一種，且大多認為中藥來源天然、相對較安全，對身體有益而且不會有害。故不會主動對醫師或藥師提及有在服用中草藥。
   (2) 常問到中西藥可否併服，應間隔多久。
   建議：
   (1)清楚定義中藥與「藥膳」的差別（類似健康食品的概念） 合法中藥之辨識(中醫藥人員)
   (2)先選用貼近生活的藥方(如：生化湯、轉骨湯、三伏貼...)來發展教材，教導民眾適用的體質及注意事項；先不用交單方。
5. 可用同一主軸放各學校層級推廣，由專業人士與學校教育體系合作開發適合不同年齡層的教材，可用影片遊戲自己動手做嘗試引發學習動機。

何蘊芳教授

1. 整理比較過去計劃成果，建立官方「中醫藥常見問答」示範資料。例如：參照中醫藥委員會五年來的數位學習相關計畫，以及西方當代實證醫學、臨床試驗的資料，回顧過去證據再進行整理，雖然過程繁複，但可由官方先行示範數種藥材、議題，再逐年增加。
2. 計劃延攬的時候，建議要「多元化」納入意見，才可以從不同

的角度探討問題，甚至更進一步建立不同群體的共識。例如：長期照顧的議題邀請醫師、護理師及藥師等。

3. 研究主題「整合社區基層醫療及藥局資源，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育宣導」,有關提供專業人員教學訓練建議增列「藥師」。
4. 日本教育中心理事長 Imura 教授為提升日本國際藥師服務品質，有關對社區藥師進行「漢方藥課程繼續教育」之模式，提供政策參考。

高文惠主任秘書

1. 研究主題「整合中醫藥衛生教育服務資源」，有關開發建構屬於中醫藥衛生教育的平台，應探討是目前中醫藥衛生教育遭遇怎樣的困難或問題？亦或此平台建置後可以對其他已存之衛生教育平台發揮互補性或替代性？
2. 研究主題「中醫藥衛生教育訓練成果評析與監測」，評析與監測部分，除針對計劃本身執行前、後測及成效評估的方法外；由客觀第三者來進行過去、進行中之計畫評估也是一個很好的面向。
3. 應思考如何提供誘因讓醫事從業人員（如：藥師、護理師等），願意接受中醫藥繼續教育？
4. 從行政的執行面而論，我們計畫的內容若要能夠說服衛生署科技預算審核單位及國科會，勢必要能解決當前重要問題及具有前瞻發展性，否則因為整體科技計畫經費考量，相較其他科技計畫而言，最後結果可能會有出入。
5. 從重大社會議題或前瞻性議題的內容來思考「我們是要解決怎樣的政策問題？」。不論是已經發生、正在發生，甚至創造一個新的政策問題，如何讓大家對中醫藥議題有所重視。
6. 實驗室認證非常重要，但是政府主力屬於 FDA，故資源負擔的部分應以之為主，而我們站在支持的立場予以協助。
7. 請專家學者 Review 整體計畫架構，並找出優先解決的問題。盤點過去處理過的問題了解進度，以即將到位的問題為優先處理對象，採取分階段收割的方式讓中醫藥議題持續讓人重視。例如：中華新藥典的製作只需一至兩年便可出新版；亦或中西醫合併在某疾病有所成效，未必要受健保設限，對此議題即可重點發展投注資源。希望透過專家學者的篩選，讓整體架構的 row map 呈現，使中醫藥委員會在執行政策之際能掌握方向。

王銘德組長

建議加入「建立中醫藥衛教宣導資料庫及目錄」，針對各種中醫藥衛生教育宣導品的種類、收費、適合對象、適用媒體規格等進行編撰。針對政府之大規模效果的管道宣導出去，效果較好。

吳永昌副校長

1. 中醫藥委員會之研究方向宜以任務導向（例如重大社會議題）為主，生技（Biotic）方面研究宜由中國醫藥研究所執行。
2. 建議先盤點過去做過的事情，了解需要改進的部分，不再重複，避免在經費爭取上難以有所突破。
3. 實證研究重點建議回歸到「分類」層面，根據政策規劃方向以產品品質安全、使用者保護及產業創新等面向，將常規業務分別納入各項目中，這樣操作較符合衛生署的要求。
4. 建議規劃上下整合（top-down）之整合型計畫，將計畫的規模拉大，甚至可以到達數億元的預算。因應這樣的模式，跨部會的合作勢必要重視。例如：由經濟部建立一個「中草藥綱領」。
5. 建議計畫聚焦於「整體中醫藥相關科技發展」，不論是新、舊藥品的開發，中西互動，中草藥在地化甚至基因組織培養等，都是可以關注的創新主題。例如：相關生技研究（Biotic research）、植物等、新適應症、中草藥在地化。量產（例如丹蔘之基因培養或組織培養量產）
6. 架構第一部份─產品的品質分類，問題 2 之研究對策方案 3 建議修改為「3.中藥材混誤用鑑別(定)方法之開發與提升研究」。研究對策方案「1.推動建立 GAP 制度」，面對大陸大量中藥材進口，建立 GAP 是否為臺灣該做的嗎？如何管理到在地的 GAP，或許是另外一種思考方向。
7. 架構第一部份─產品的品質分類，問題 5 之研究對策方案 2「比較分析兩岸品檢單位之實驗室人力資源」，應強調「quality」的重要性，相較於人數，品質才是人力資源的重點。
8. 架構領域別：產品（藥品、本土及大陸藥材、醫材、生醫），對應內容卻未提及醫材及生醫的部份，最終要如何呈現？
9. 架構第二部份─產品的療效分類，問題 1 之研究對策方案 5 建議修改為「5. 新資源(本土藥材或中草藥)之療效評估研究」。
10. 架構第二部份─產品的療效分類，問題 2 之研究對策方案「2. 改善身體功能之健康研究，以觀察試驗為主」，其中「觀察試驗」之用詞，是否可以達到 function evidence 之意義？字詞應予斟酌。

許堯欽主任

1. 建議研究方向增列「推動中西醫學整合模式」。
2. 推動中西醫學整合模式，之執行內容，包括：特定疾病之中西醫合治病房、中西醫聯合門診、中西醫合治之人體臨床試驗等。
3. 建議選擇特定疾病，以傳統西醫確保病患之基本療效（醫學倫理之必要），再加用中醫藥或針灸以提升有效率或縮短病程或節約醫療費用或降低副作用。例如：
   (1) 腦中風亞急性期住院病患→中西醫合治病房
   (2) 類風濕性關節炎(自體免疫性疾病)＋中藥→中西醫合治臨床試驗
   (3) Sick sinus syndrome(病竇綜合症) ＋中藥→節省使用人工心律調整器節省醫療成本
   (4) Irritable bowel syndrome ＋中藥→減少腹瀉次數改善生活品質
   (5) 更年期症候群＋中藥→減少對荷爾蒙製劑使用改善生活品質
   (6) 其他疾病之動物實驗模式

二、以「中醫藥現代化」與「中醫藥國際化」二個主軸，分析世界衛生組織、歐盟、中國大陸及日本等國有關中醫藥之研究方向、產品市場、智慧財產及法規與我國之比較。

(一) 世界衛生組織(WHO)分析結果

1. 世界衛生組織在 2002 年 5 月 26 日發表「2002-2005 年傳統醫藥全球策略」，建請各國政府將傳統醫學發展納入現有醫療政策，並設立專責機構積極辦理。又於 2004 年所發表之「WHO 醫學策略 2004-2007」報告中，重申針對傳統醫學的國家政策方面，應制訂新的目標與新的內容，以期有效推動此項工作。WHO 對於發展傳統醫學的國家，在安全性、有效性、品質和合理使用等方面，將給予以下之充分支援：①適當的整合入國家健康照護體系之中；②提高其安全性、有效性與品質；③增進使用之可近性和支付的能力；④促進其使用之合理性。WHO 對傳統醫學的公開支持，無疑是傳統醫藥復興的契機，據統計，目前全球約有 130 個國家使用中醫藥，124 個國家建立中醫藥機構，例如美國，已於 1992 年在 NIH 內設立「另類醫學辦公室」，至 1998 年將該單位改為「國家補充與另類醫學中心」（National Center of Complementary and Alternative Medicine，NCCAM）。2006 年美國 FDA 通過 Veregen™(Polyphenon®E) 15% Ointment 之草藥軟膏，用於治療人類乳突病毒（human papilloma virus；HPV）所

引起的外疣（external warts）。

2. 世界衛生組織及歐洲議會皆認為 CAM（Complementary and Alternative Medicine）的重要性與日俱增，醫藥政策不容忽視，必須保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質、安全及療效的藥物，歐洲議會認為必須評估中草藥具有臨床安全性及有效性，並應公開聲明各草藥產品有關的風險。
3. 根據 2008 年第六十一屆世界衛生大會以 WHA61.21 號決議通過的「公共衛生、創新和智慧財產權全球戰略和行動計畫」，在研究與創新基礎上進一步發展傳統醫學，要求各國政府有責任保障本國人民的健康，應制定國家政策、法規和標準，作為國家綜合衛生體系的一部分，以確保傳統醫學的適當、安全和有效使用。
4. 世界衛生組織戰略報告整理中列出「政策」、「安全性、有效性和質量」、「可及性」和「合理利用」四大政策，及其各自的解決方案，並列出世界上其他致力於解決傳統醫學問題之組織，及其組織宗旨，包括聯合國機構、國際組織、非政府組織、全球性專業協會、國際和國家專業協會及特定行動六類，以作未來政策規劃之參考。WHO 四大策略如下：

第一策略：政策

問題：

(1) 缺乏對傳統醫學及其提供者的官方承認。
(2) 傳統醫學未納入國家衛生保健系統。
(3) 缺乏管制與法律機制。
(4) 本地的傳統醫學知識和產品效益的合理分配。
(5) 傳統醫學發展和能力建設的資源分配不足。

解決方法：透過制定和實施國家傳統醫學政策和規劃，酌情將傳統醫學納入國家保健系統。

(1)承認傳統醫學：幫助國家制定國家傳統醫學政策和規則。
(2)保護和保存與衛生相關的當地傳統醫學知識：幫助國家制定保護當地傳統醫學知識的戰略。

第二策略：安全性、有效性和質量

問題：

(1)缺少研究方法。
(2)傳統醫學的療法和產品的依據基礎欠缺。
(3)缺乏確保傳統醫學療法和產品的安全性、有效性和質量控制

的國際和國家標準。

(4)缺乏適當的草藥管制和註冊。

(5)缺少對傳統醫學和替代醫學提供者的註冊。

(6)對研究的支持不夠。

解決方法：通過擴大傳統醫學的知識基礎及通過提供關於管理和質量保證標準的指導，提高傳統醫學的安全性、有效性和質量。

(1)傳統醫學的依據基礎：提高傳統醫學安全性、有效性和質量知識的可及性並擴大其範圍，尤其注重於瘧疾、愛滋病等重點衛生問題。

(2)草藥管制：支持國家建立有效的管制系統，用於草藥的註冊和質量保證。

(3)安全性、有效性和質量準則：制定和支持實施技術準則，以確保草藥及其他傳統醫學產品和療法的安全性、有效性和質量控制。

第三策略：可及性

問題：

(1)缺少衡量可及性水平和可負擔性的數據。

(2)需要認定安全有效的治療方法和產品。

(3)缺乏對傳統醫學提供者作用的官方承認。

(4)傳統醫學提供者與對抗療法醫生之間缺乏合作。

(5)不能持久地利用醫用藥物資源。

解決方法：酌情提高傳統醫學的可獲得程度和可負擔性，並特別強調對貧困人群的可及性。

(1)承認傳統醫學醫生在衛生保健方面的作用：通過鼓勵傳統醫學醫生和對抗療法醫生之間的互動和對話，促進對傳統醫學醫生在衛生保健; 方面作用的承認。

(2)保護藥用植物：促進可持續使用和栽培藥用植物。

第四策略：合理利用

問題：

(1)傳統醫學提供者缺乏培訓，對抗療法醫生缺乏傳統醫學方面的培訓。

(2)傳統醫學醫生與對抗療法醫生之間以及對抗療法醫生與消費者之間缺乏溝通。

(3)公眾缺乏關於合理使用傳統醫學的信息。

解決方法：促進消費者和提供者正確使用適宜的傳統醫學和替

代醫學進行治療。

(1) 提供者適當使用傳統醫學：提高傳統醫學提供者適當使用傳統醫學產品和療法的能力。

(2) 消費者適當使用傳統醫學：提高消費者對適當使用傳統醫學產品療法做出知情決定的能力。

WHO 致力於解決傳統醫學問題之組織：

聯合國機構：

(1) 國際瀕危動植物貿易公約(CITES)：締約國禁止對列入瀕危物種名錄的動植物進行商業開發，同時也對那些可能瀕危的動植物貿易進行管理和監控。

(2) 聯合國糧農組織(FAO)：宗旨為提供營養水平和生活標準，增加作物　產量，並改善農村人口生活條件。

(3) 聯合國貿易和發展協會(UNCTAD)：盡量擴大發展中國家的貿易、投資 和發展機遇，並幫助他們面對全球化產生的挑戰。

(4) 聯合國工業發展組織(UNIDO)：幫助發展中國家和轉型經濟體達到可持續的工業發展。

(5) 世界知識產權組織(WIPO)：致力於促進人類精神產品的使用和保護。

國際組織：

(1) 英聯邦秘書處：致力於尋求改善民主及良好的管理並作為形成全球共識的平台以外，英聯邦還為可持續發展提供實際幫助。

(2) 歐洲醫藥製品評估機構(EMEA)：致力於公眾和動物健康的保護和促進。

(3) 歐洲草藥療法科學研究組織(ESCOP)：致力於提高植物類藥物的科學地位。

(4) 歐盟(EU)：宗旨為增強政治、經濟和社會方面的合作。

(5) 世界銀行：致力於運用其財政資源、人員和知識庫，尋求在與貧困鬥爭中幫助發展中國家取得穩定、可持續和公平的發展。

(6) 世界貿易組織(WTO)：其宗旨為促進無歧視、貿易壁壘的逐步消除、可預見的政策和透明性、競爭以及對發展中國家的特別規定。

非政府組織：

(1) 循證合作組織：致力於幫助人們在得到充分信息的基礎上做

出有關衛生保健的決定。

(2) 福特基金會：宗旨為減少貧困並在全世界促進正義。

(3) 全世界自然基金(WWF)：致力於協助世界各地的協會保護自然的完整和多樣性，並確保公平、在生態方面可持續地利用自然資源。

全球性專業協會：

(1) 國際順勢療法醫學聯盟:支持會員國努力確保順勢療法得到法律認可，在獲得執業許可並有醫學證書的醫師中創造聯繫，並在順勢療法教育、順勢療法研究和順勢療法手段的紀錄方面對國家順勢療法組織提供幫助和支持。

(2) 世界針灸協會聯合會(WFAS)：努力推動全世界各針灸協會之間的理解與合作，加強針灸國際學術交流並對針灸科學的學術發展做出貢獻。

(3) 世界脊椎指壓治療法聯盟(WFC):致力於在脊椎指壓療法教育、研究和實踐方面促進統一的高標準，努力在所有人中形成對脊椎指壓療法的知情輿論，並要求對會員國中脊椎指壓療法的有關立法提供意見。

(4) 世界自療藥物工業組織(WSMI)：致力於鼓勵建立自療藥物工業協會以推動可靠的自療藥物發展和對其的理解。

國際和國家專業協會：

伊斯蘭醫藥科學組織(IOMS)：計畫與世界衛生組織合作制定一本藥用植物使用手冊。

特定行動：

A.全球傳統衛生系統行動(GIFTS)：致力於尋求提高國際上對傳統衛生系統作用的認識，並尋求促進制訂確保其繼續使用的政策。

B.傳統抗瘧方法研究行動(RITAM):致力於開發或確認預防和治療瘧疾的當地草藥。

(二) 歐盟分析結果

1. 根據歐盟法律，中草藥在歐盟可依人用醫藥品指令(Directive 2001/83, amended by Directive 2004/27)之規定，以植物性新藥上市，或依傳統草藥品指令(EU Directive on Traditional Herbal Medicinal Products)之規定，以傳統草藥品上市。
2. 人用醫藥品指令(Directive 2001/83, amended by Directive 2004/27) 針對歐盟地區有關人類用醫藥品之整合性規定，規範有關醫藥品研發上市(placing on the market)、標示與包裝

(labelling and package leaflet)、分類(classification)、銷售(wholesale distribution)、廣告(advertising)、藥物安全監視(Pharmacovigilance)等，並未特別針對中草藥進行管理規定。該指令相關規範如下：

(1) 針對醫藥品(Medicinal porduct)定義如下：

A. 任何具有治療或預防人類疾病特性之成分或數種成分之化合物(Any substance or combination of substances presented as having properties for treating or preventing disease in human beings)

B. 任何成分或數種成分之化合物，其可能基於恢復、改正或修正物理功能之目的，藉由藥理、免疫或代謝活動而江之用於人體內，或用於診斷目的者(Any substance or combination of substances which may be used in or administered to human beings either with a view to restoring, correcting or modifying physiological functions by exerting a pharmacological, immunological or metabolic action, or to making a medical diagnosis)

C. 上述「成分」(substance)包括人類來源、動物來源、植物性來源及化學來源之物質。

(2) 中草藥若符合醫藥品定義，強調治療或預防疾病之功效，即須遵守該指令之規定，於歐盟境內可作為藥品使用，須經審查機關(可向 EMEA 或任一歐盟會員國提出)認定符合安全性(safety)、療效(efficacy)與品質(quality)三大要件始得販售。

3. 傳統草藥品指令(EU Directive on Traditional Herbal Medicinal Products)係為釐清歐盟會員國間草藥製品的定義及定位，於 2004 年通過第 2004/24 號傳統草藥品指令，並自 2005 年 10 月 31 日起全面生效適用於歐盟地區，日後只要符合新修正規定，在歐盟地區及可以藥品形式合法銷售，其相關規範如下：

(1) 草藥產品(herbal medicinal product)之定義

A. 任何醫藥品，其活性成分僅係由一種或多種草本物質(herbal substance)組成。

B. 由一種或多種草本配方(herbal preparations)組成。

C. 由一種或多種草本成分與一種或多種草本配方組合而成。

(2) 符合草藥品定義的植物性製品，若具備以下條件，即被認為

屬傳統草藥品，可依簡化查驗程序合法上市：

A. 以治療特定之病症為目的，且不需醫療專業人員從旁監督即可使用。

B. 使用上具有特定之劑量

C. 使用方式限定在口服、外用及吸入等三種方式

D. 具有 30 年以上使用歷史，其中至少有 15 年是在歐盟境內使用；需有書面或專家證明資料可支持該草藥品基於長久使用經驗，其藥理作用或療效應具備相當之可信度，以確保於特定使用條件下，不會傷害人體。

E. 應遵守人類用醫藥品指令中對於藥證有效年限、製造、分類及銷售、藥品安全監視等之規範要求

F. 在標示及包裝、廣告及資訊提供方面，針對傳統草藥品之具有特別規定。

(3) 為了解歐盟各國對於草藥品之法律規範狀況及相關傳統使用方式，本指令規定在 EMEA 下應設置一個獨立的草藥品委員會(Committee on Herbal Medicinal Products, HMPC)。主要負責下列事項：

A.協助整合歐盟各國草藥產品的審核和提供相關顧問。

B.提供會員國和歐洲組織關於草藥方面的意見

C.建立「歐盟草藥成分、製法和由此衍伸出的傳統藥品一列表(Community list of herbal substances, preparations and combinations thereof for use in traditional herbal medicinal products)」和歐盟草藥相關的專題論文；屬「歐盟草藥成分、製法和由此衍伸出的傳統藥品一列表(Community list of herbal substances, preparations and combinations thereof for use in traditional herbal medicinal products)」中所列之成分或配方者，即屬符合傳統使用要件之草藥品，申請時無須另行提出相關之文獻或專家證明資料。歐盟草藥相關的專題論文則可提供歐盟會員國，作為日後審理相關傳統草藥品查驗登記案件之參考標準。

4. 資料保護

(1) 植物性新藥依第 726/2004 號規則第 14.11 條規定，根據本規則通過上市之醫藥品，享有八年之資料保護(data protection)以及十年之市場行銷保護(marketing protection)；若在資料保護期間發現其上市藥品之新適應症，可再另外獲得一年之市場行銷保護。亦即以植物性新藥上市者，得享有智慧

財產權、資料及市場保護。

(2) 傳統草藥品如循傳統草藥品指令方式上市者,其傳統使用經驗之要件為建立在相關之文獻資料或專家證明而不具有秘密性，則難以申請專利或享受資料專屬權保護。

5. 歐盟的傳統草藥製品法規包含在人類藥製品方面的法令(Directive 2001/83/EC 和 Regulation (EC) No 726/2004)之內,旨在保障社會大眾的健康安全、促進市場功能和鼓勵醫藥創新。但是，會員國間在傳統草藥製品方面的規範相當分歧，因此執委會於 2004 年提出傳統草藥製品註冊的簡化程序。「傳統草藥品指令 (The Traditional Herbal Medicinal Products Directive, 2004/24/EC ， THMPD) 」將「人類藥製品指令(Directive 2001/83/EC)」中關於傳統草藥製品部分法規予以修正，讓具有高品質製程，且行銷超過多年的傳統草藥製品，得免提供藥效和藥性的科學文獻證明，而准予註冊，繼續在歐洲市場銷售。THMPD 在 2004 年 4 月 30 日公布，有七年的過渡期，在 2011 年 4 月 30 日完全生效，所有欲在歐盟境內上市的草藥製品都須在生效日前完成註冊程序。

6. THMPD 規定，除了由草藥師依病人需求調配的特殊用藥外，所有草藥品均須經過授權方可在歐盟上市。並規範所有藥品均需依「優良製造規範 (Good Manufacture Practice, GMP)」來生產製造，以確保產品的品質與安全。藥品的製造廠商須提供資料證明該產品已在歐盟境內使用超過三十年或已在境外使用超過三十年，並且已在歐盟境內使用超過十五年來確保其藥效與安全性。一些已使用超過三十年但並不常用的藥品，例如使用未超過三十年的產品，或在最近三十年未曾製造的產品，在生效日後將被要求下架。

7. THMPD 對草藥產品分類為三種：①草藥製品(herbal medicinal products)、②藥草配製品(herbal preparations)、③藥草物質(herbal substance)。「草藥製品」係指除了「藥草配製品」和「藥草物質」以外的產品。「藥草物質」是指未經加工，通常是乾燥或新鮮的全部、片段或切割的植物、藻類、菌類、地衣等，植物的汁液也算是藥草物質。「藥草配製品」是指利用萃取、蒸餾、純化、濃縮、發酵等方法處理所取得的各種粉狀、酊劑(tincture)、萃取物、精油的藥草成分。

8. THMPD 要求各會員國核准上市草藥產品，必須具備使用範圍(therapeutic uses)和建議安全用法(recommended safe conditions

of use)的指標。草藥製品可依下列三種途徑取得上市許可：

(1) 有足夠證據顯示產品的安全性和可能功效者，得以「傳統用藥 (traditional use)」申請登記註冊。

(2) 需提供足夠的證據顯示其安全性和功效的製品，得以「公認(well-established)」的方式，向歐洲藥品局申請登記註冊。

(3) 業者需提供所有產品特殊的安全性和完整數據(full dossier)者，則以一般藥品的程序，向會員國或歐洲藥品局申請登記註冊。

9. 歐盟新興食材法令(novel food regulation, No.258/97/EC)和THMPD (Directive 2004/24/EC)，嚴重影響到許多藥草的上市，尤其是一些尚未在歐洲上市但已在其他地區沿用了幾千年的藥物或食材。營養與健康宣稱規範(Nutrition and Health Claims Regulation, No. 1924/2006)，取代了許多國家的規範和需求，要求業者提供食品成份與健康的因果關係，造成幾乎所有送審的草藥植物都無法提出因果關係來通過歐洲食品安全局的評估。倘若這些草藥產品無法適當的標示，將造成混淆，引起許多消費者的困擾。傳統草藥品指令 (The Traditional Herbal Medicinal Products Directive, 2004/24/EC，THMPD)雖然為傳統藥物系統所提供的草藥製品簡化註冊方案，也因重重的技術和成本問題，讓中藥和印度草藥等非歐洲起源的傳統藥草無法註冊上市。因此，國際自然健康連線(Alliance for Natural Health International, ANH) 乃針對傳統草藥品指令 THMPD 提出下列質疑：

(1)THMPD 規定製造廠商須提供資料證明該產品已在歐盟境內使用超過三十年或者已經在境外使用超過三十年，並且在歐盟境內使用超過十五年來確保其藥效與安全性。歧視一些在歐洲境外使用多年的草藥，例如傳統中藥還有一些在印度、東南亞、亞馬遜河地區已使用多年的傳統草藥。

(2)THMPD 認定「傳統(traditional)」是指單一草藥或特殊的組合用藥，因此因新的科學發現而重新組合的用藥，則需依一般藥品的方法來註冊。然而註冊所需成本太高，不是一般中小企業公司能夠負擔的。

(3)THMPD 要求草藥產品的純度和穩定度均須符合一般藥品 GMP 的標準；然而依草藥的複雜性，這樣的標準是很難達到的。

(4)THMPD 允許註冊的草藥主要是用來舒緩一些較不重要的

疾病，可能忽視了少數族群想採用草藥系統來治療的意願。

(三) 中國大陸分析結果

中國大陸規劃「中醫藥發展規劃綱要」，包括中國大陸中醫藥創新發展規劃綱要（2006—2020 年）、中藥現代化發展綱要（2002-2010 年）及中醫藥事業發展「十一五」規劃三大部分，重點項目及概要如下：

中國大陸中醫藥創新發展規劃綱要(2006—2020 年)

指導思想

堅持以人為本、為人類健康服務的根本宗旨，按照"自主創新，重點跨越，支撐發展，引領未來"的新時期科技工作方針努力證實、闡明中醫藥的科學內涵。

基本原則

繼承與創新並重。中醫中藥協調發展。現代化與國際化相互促進。多學科結合。

戰略目標

1. 完善中醫疾病防治、養生保健和診療技術體系。
2. 健全中藥現代產業技術體系。
3. 建立國際認可的中醫藥標準規範體系。
4. 豐富發展中醫藥理論體系。
5. 構建符合中醫藥特點的科技創新體系。
6. 形成國際科技合作網路體系。

基本任務

1. 繼承:系統繼承中醫藥的寶貴知識和經驗是中醫藥發展創新的源泉和基礎。
2. 創新：推動傳統醫學和現代醫學協同發展，促進醫學科學體系創新是中醫藥現代化的長遠目標。
3. 現代化:提高中醫藥醫療服務能力和產業技術水準是中醫藥自身發展的需求。
4. 國際化：加強國際交流與合作，加快中醫藥國際化進程。

優先領域

1. 中醫臨床研究
2. 中藥產業發展：以建立現代中藥產業鏈、保障中醫藥療效為目標，不斷提高中藥產業和產品創新能力，為市場提供療效確切、品質優良、安全方便、品質可控的中藥產品，為培育健康產業服務。

3. 基礎理論研究：以證實和闡明中醫藥的科學內涵為目的，充分運用中醫藥學的歷史積累、實踐經驗和現代系統科學、複雜科學的思想方法與技術手段開展多學科交叉研究，為建立具有中國特色的新醫藥學打下基礎。
4. 標準規範研究：以構建符合自身特點的中醫藥標準規範體系、提高中醫藥標準水準為目標，在借鑒現代醫藥和其他國家傳統醫藥經驗的基礎上，爭取使中醫藥標準規範成為國際傳統醫藥標準規範。
5. 創新體系建設：以構建服務於中醫藥現代化和國際化發展的知識與技術創新體系為目的，加強符合中醫藥自身特點的方法學研究和平臺建設以及人才培養，提高自主創新能力。
6. 國際科技合作：以應用全球科技資源推動中醫藥進入國際主流市場為目標，以我為主開展國際傳統醫藥科技合作和交流，促進國際社會對中醫藥的理解和以中醫藥為代表的傳統醫藥的推廣應用。

政策措施

1. 加大投入：集成國家相關計畫支持中醫藥創新發展，形成專案聯動機制。
2. 政策扶持：制定若干鼓勵中醫藥發展的政策法規，推動適合中醫藥特點的標準規範的建立與完善，加強中醫藥知識產權和資源的保護與利用。
3. 組織協調：加強中醫藥發展戰略和機制研究，協調相關部門和各級政府推動本規劃綱要的實施，充分發揮區域資源特色和優勢條件。

中藥現代化發展綱要（2002-2010 年）

指導思想

中藥現代化發展的指導思想是：繼承和發揚中醫藥學理論，運用現代科學理論和先進技術，推進中藥現代化發展；立足國內市場，積極開拓國際市場；以科技為動力，以企業為主體，以市場為導向，以政策為保障，充分利用中醫藥資源優勢、市場優勢和人才優勢，構築國家中藥創新體系。

基本原則

1. 繼承和創新相結合。
2. 資源可持續利用和產業可持續發展。
3. 政府引導、企業為主，共同推進。
4. 總體佈局與區域發展相結合。

5. 與中醫現代化協同發展。

戰略目標

1. 構築國家現代中藥創新體系。
2. 制訂和完善現代中藥標準和規範。
3. 開發出一批療效確切的中藥新產品。
4. 形成具有市場競爭優勢的現代中藥產業。

重點任務

1. 創新平臺建設
   (1) 充分吸納各方面力量，建立和完善現代中藥研究開發平臺。
   (2) 加強中藥國家重點實驗室、中藥國家工程和技術研究中心建設。
   (3) 加強中藥研究開發支撐條件平臺建設，改善中藥研究開發實驗條件，提高儀器設備裝備水準和實驗動物標準，加強資訊共用平臺建設。
2. 標準化建設
   (1) 加強中藥材規範化種植和中藥飲片炮製規範研究，建立中藥材和中藥飲片的品質標準及有害物質限量標準，全面提高中藥材和中藥飲片的品質。
   (2) 加強符合中藥特點的科學、量化的中藥品質控制技術研究，提高中成藥、中藥飲片(包括配方顆粒)、中藥新藥等的品質控制水準。
   (3) 大力推行和實施中藥材生產品質管制規範、藥品生產品質管制規範、藥品非臨床研究品質管制規範、藥品臨床試驗管理規範和藥品經營品質管制規範，規範中藥研究、開發、生產和流通過程，不斷提高中藥行業的標準化水準。

基礎理論研究

1. 加強多學科交叉配合，深入進行中藥藥效物質基礎、作用機理、方劑配伍規律等研究，積極開展中藥基因組學、蛋白組學等的研究。
2. 重視中醫藥基礎理論的研究與創新，特別是與中藥現代化發展密切相關的理論研究，如證候理論、組方理論、藥性理論，探索其科學內涵，為中藥現代化提供發展源泉。

中藥產品創新

1. 選擇經過長期中醫臨床應用證明療效確切、用藥安全，具有特色的經方、驗方，開發中藥現代製劑產品。

2. 在保證中藥療效的前提下，改進中藥傳統製劑，提高品質控制水準，發展療效確切、品質可控、使用安全的中藥新產品，全面提升中藥產品品質。
3. 根據國際市場需求，按照有關國家藥品註冊要求，進行針對性新藥研究開發，促進中國大陸中藥進入發達國家藥品主流市場。

優勢產業培育

1. 加強中藥提取、分離、純化等關鍵生產技術的研究和先進適用技術的推廣應用，促進中藥提取物生產向規模化、標準化、商品化發展，提高企業的核心競爭力，加速現代中藥產品產業化進程。
2. 加強中藥知識產權保護，開發專利產品，註冊專用商標，實施品牌戰略；逐步改變以藥材和粗加工產品出口為主的局面，擴大中成藥出口比例，促進產業結構升級，拓展中藥國際市場。
3. 推進市場機制下的企業兼併重組，逐步形成一批產品新穎、技術先進、裝備精良、管理有素、具有開拓精神的中藥核心企業和數個中藥跨國企業，使企業成為中藥現代化的實施主體。

中藥資源保護和可持續利用

1. 開展中藥資源普查，建立野生資源瀕危預警機制；保護中藥種質和遺傳資源，加強優選優育和中藥種源研究，防止品種退化，解決品種源頭混亂的問題。
2. 建立中藥資料庫和種質資源庫，收集中藥品種、產地、藥效等相關的資料，保存中藥材種質資源。
3. 加強中藥材野生變家種家養研究，加強中藥材栽培技術研究，實現中藥材規範化種植和產業化生產；加強植保技術研究，發展綠色藥材。
4. 加強中藥材新品種培育，開展珍稀瀕危中藥資源的替代品研究，確保中藥可持續發展。

主要措施

1. 加強中藥現代化發展的整體規劃，建立高效、協調的管理機制
2. 建立多管道的中藥現代化投入體系
3. 加大對中藥產業的政策支持
4. 加強對中藥資源及中藥知識產權保護管理力度
5. 加速中藥現代化人才培養
6. 進一步擴大中藥的國際交流與合作
7. 充分發揮中藥行業協會的作用

中醫藥事業發展「十一五」規劃

指導思想與發展目標：

到 2010 年，建立和完善覆蓋城鄉、服務功能完善、中醫藥特色突出、與人民群眾需求相適應的中醫藥服務網路。

重點任務

1.提高和完善中醫藥服務網路和服務能力
2.加強中醫藥應對突發公共衛生事件能力建設和重大疾病防治
3.充分發揮中醫藥在農村和社區衛生服務中的作用
4.提升中醫藥自主創新能力
5.提高中藥產業可持續發展能力
6.加強中醫藥人才培養
7.推進中醫藥法制化、標準化建設
8.促進中醫藥國際及對港澳臺的交流與合作
9.加強中醫藥文化建設
10.大力推進中醫藥資訊化

政策與措施

1.健全中醫藥管理體制
2.貫徹落實支持中醫藥事業發展的財政政策
3.制定促進中醫藥發展的政策和管理制度
4.加強中醫藥知識產權保護與利用
5.深化改革，加強管理
6.加強中醫藥行業精神文明建設

「重大新藥創制」科技重大專項「十一五」計畫

研製具有自主知識產權和市場競爭力的新藥，建立具有先進水準的技術平臺，形成支撐中國大陸藥業自主發展的新藥創新能力與技術體系。

申報範圍及研究內容

1. 創新藥物研究開發

專案針對惡性腫瘤、心腦血管疾病、神經退行性疾病、糖尿病、精神性疾病、自身免疫性疾病、耐藥性病原菌感染、肺結核、病毒感染性疾病等 10 類（種）嚴重危害人民健康的重大疾病，自主研製一批化學藥物、現代中藥和生物技術新藥。

2. 藥物大品種技術改造

專案針對人民基本醫療保障的迫切需求，滿足中國大陸基本藥物制度和新型農村合作醫療制度建設的需要,對醫藥產業發展有重要意義的大產品,選擇市場需求量大、市場佔有率高或增長潛力大、附加值高、對治療疾病具有確切療效、臨床短缺急需的治療藥物、具有出口創匯前景的藥物大品種,開展品質控制關

鍵技術和優化生產工藝等研究，提高 10 個藥物大品種的技術水準和品質標準，培育出符合社會需求的藥物大品種和品牌產品。內容包括：

(1)化學藥物大品種技術改造

(2)中藥大品種技術改造

(3)生物技術藥物大品種技術改造

(4)非專利藥物大品種技術改造

3. 創新藥物研究開發技術平臺建設指南說明：

擬建立 8－10 個綜合性創新藥物研究開發技術平臺，通過其建設來進一步完善國家藥物創新體系，為中國大陸新藥研究開發的持續創新提供有力技術支撐。內容包括：

(1) 藥物安全評價技術平臺

(2) 新藥臨床評價研究技術平臺

4. 企業新藥物孵化基地建設

鼓勵和支持創新型中小生物技術公司的發展，充分發揮其創新活力，支援企業的技術創新；同時通過政府引導，產學研結合，在條件具備的企業建設以企業為主體的創新藥物孵化基地，促進大企業提升藥物技術創新能力，推動產業發展。內容在「十一五」期間，政府引導建立 10－20 個企業為主體，產學研結合的創新藥物孵化基地，逐步形成 8－10 個持續投入、目標明確、隊伍穩定的藥物創新示範企業和產學研聯盟。

(四) 日本分析結果

1. 漢方是在日本發展起來的日本化中國傳統醫學，漢方藥則是在其理論指導下應用的藥物，在其發展的過程中，已經形成獨自的體系。

2. **漢方藥可分為：**

(1) 醫療用漢方製劑為所用生藥作用較強、不便於患者直接使用、須由醫師監督指導的製劑。

(2) 一般用漢方藥製劑主要為經長期臨床試用，認為安全、有效，所使用的生藥作用相對緩和的製劑。

3. 漢方藥的藥政管理原則與西藥的藥政管理一致，分為醫療用漢方製劑和一般漢方藥製劑來管理。醫療用漢方製劑主要是指所用生藥作用較強、不便於患者直接使用、須由醫師監督指導的製劑，相當於西藥使用分類中的處方藥，而一般用漢方藥製劑主要為經長期臨床試用，認為安全、有效，所使用的生藥作用相對緩和的製劑。

4. 漢方藥的智慧財產權保護

(1) 日本專利制度源於西方，並於 1885 年正式建立專利制度。現行專利法是 1959 年頒布的特許法，同年還頒布了「實用新案法」。在 1976 年前只針對藥品製造方法給予專利保護。

(2) 日本對於漢方和生藥製劑的智慧財產權主要表現在於製劑的品質及技術上，由於中醫藥的特殊性當代西醫學的實驗室研究無法對中醫藥的治療作用機制作出合理解釋，於是將重點放在中醫藥治療作用的臨床觀察上，不斷地加進行比較及歸納以總結中醫藥的臨床作用，在製劑的品質及技術上要求良好之再現性，因此大部分漢方製劑有明確的成分標準、藥理研究及臨床功效數據。

(3) 日本對藥品的專利保護包含：化學物質、化學物質的醫藥用途、藥用化學物質的製備方法、藥品的外觀設計、製藥機械、藥用植物及其提取物、生物製品、藥用植物提取物的組方，但不保護以原藥用植物為原料的中藥複方，如小青龍湯等。

5. 確保漢方藥的品質：

(1) 使用現代農業栽培技術，改良栽培技術。

(2) 注意有效成分的監測追蹤。

(3) 採用藥用植物栽培契約制，實行藥廠與產地合作，保證原料藥品質的穩定，以增強生產的計劃性與契約性，確保產品品質。

(4) 優良品種的選育。

(5) 不純物實驗。

(6) 防止微生物污染，日本藥局方的生藥微生物限度試驗法。

(7) 針對成分、含量及規格等標準制定新的漢方漢生藥製劑的品質標準。

(8) 進行有效性的生物學評價標準研究。

(五) WTO 及世界主要接受中草藥國家，皆以藥品之安全、有效、品質三個方向，建立法規基準，以保護消費者。世界各國在傳統醫藥組織分工上，多以獨立機關執行政策法規。例如中國大陸，國家食品藥品監督管理局（由衛生部管理），負責藥品、醫療器械註冊和監督管理，其中包括負責制定中藥、民族藥監督管理規範並組織實施，擬訂中藥、民族藥品質標準，組織制定中藥材生產品質管制規範、中藥飲片炮製規範並監督實施，組織實施中藥品種保護制度。國家中醫藥管理局（亦由衛生部管理）負責擬訂中醫藥政策法規，承擔中醫醫療、預防、保健、康複及臨床用藥等的監督管理責任。

擬訂有關中西醫結合管理規範和技術標準，中藥資源的保護、開發和合理利用，中醫藥科學研究、技術開發規劃，指導中醫藥科研條件和能力建設，管理國家重點中醫藥科研項目，促進中醫藥科技成果的轉化、應用和推廣。歐盟則以 EFCAM (the European Federation for Complementary and Alternative Medicine)作為 CAM 促進整體健康（holistic and integrated health care）的一個合作平台，以提供民眾於需要時選擇之傳統醫療保健方式。中藥由動、植、礦物等農作物形式存在的中藥材原料，進行加工炮製成為飲片，再經過藥廠在 GMP 的條件下製成製劑，其製造發展的過程中，每一個環節皆須科技政策與法規的介入。例如在中藥材原料部分，對於基原研發鑑定技術，以農業技術與管理投入中藥植物栽培，發展檢驗技術檢測主成分、生菌數與農藥重金屬殘留；在炮製的過程中，分析古方炮製方法研訂炮製規範，並比對炮製前後之成分與療效；對於飲片，則以放射線技術研發儲存方法，以及包裝技術；製劑部分，則研發製藥技術增進品質的均一性，以生物技術參與指標成分、有效成分之定量比對。中藥飲片之炮製方法，以及其減毒增效之效益，為我國文化資產，且具特殊性，除中國大陸以外，為世界各國所無。故可依 WTO「食品衛生安全與動植物防疫檢疫措施協定」之規定，予以詳細規範，作為本國執行基準，並與 WTO 會員國競爭。

(六) 由於中草藥成分複雜，有效成分不明，內含物質變異性大，方劑中常含有不純物及雜質，作用效果欠缺統計方法的確立，以及藥品安定性不易確定等之特性，故在專利保護上常有不易掌握的問題。中草藥產品如果以新療效（新適應症）作為專利保護的標的時，常會與西藥一樣，因為侵權行為常發生於藥商供應藥品的對象，致不易對其要求損害賠償，而產生盲點。專利法所規範的新發明，需具備未曾公開或無相同前案之「新穎性」，非為熟悉該項技術者所能輕易完成之「進步性」，以及具統計學意義及再現性之「產業利用性」三個要件。中草藥之新藥開發，可以申請專利法中有關「發明」標的，請求專利保護 20 年。例如新物質純化物或混合物，可以化學結構圖譜申請「物的發明」，可以新製造方法或新製造過程申請「方法的發明」，以及可以效能增加或新療效新適應症申請「用途的發明」。重要的是，必須打破對於中藥藥名的迷失，重新命名抽提物，以嶄新的複合物方式申請專利，才能真正的達到保護智慧財產的目的。

(七) 未來可以優先發展之重點，包括中醫醫療照護品質之實證醫學研究（臨床教學訓練內容一致化及環境建置、中西醫療整合、評鑑制

度、中醫會診及住院制度)；中藥用藥安全之研究（中藥材檢驗基準建立、混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染、中西藥併用、臨床監測分析、中藥材炮製安全性、飲片包裝安全性)；；中草藥源頭管理之風險管理研究(建置履歷系統與檢驗認證基準、品質管制基準與規範的建立)；傳統醫藥生技研發(健全中藥臨床試驗環境、中醫藥臨床療效評估)；法規標準化與協合化研究(、國際合作方式、全球市場、兩岸中醫藥法規與醫事人力資源) ；智慧財產權保護研究（以發展具世界專利權的中草藥技術為主要策略)。

(八) 以「中醫藥現代化」與「中醫藥國際化」二個主軸，分析世界衛生組織、歐盟、中國大陸及日本等國有關中醫藥之研究方向、產品市場、智慧財產及法規與我國之比較如下：

		現代化	國際化
WHO	研究方向	適當整合進入國家健康照護體系。 促進消費者和提供者正確使用適宜的傳統醫學和替代醫學進行治療。	提高傳統醫學的可獲得程度和可負擔性，並特別強調對貧困人群的可及性。
	產品市場	提高其安全性、有效性與品質。 增進使用之可近性和支付的能力。 促進其使用之合理性。	通過擴大傳統醫學的知識基礎及通過提供關於管理和質量保證標準的指導，提高傳統醫學的安全性、有效性和質量。
	智慧財產		致力於促進人類精神產品的使用和保護。
	政策法規	制訂新的目標與新的內容，以期有效推動此項工作。 保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質、安全及療效的藥物。 制定國家政策、法規和標準，作為國家綜合衛生體系的一部分，以確保傳統醫學的適當、安全和有效使用。	建請各國政府將傳統醫學發展納入現有醫療政策，並設立專責機構積極辦理。 透過制定和實施國家傳統醫學政策和規劃，酌情將傳統醫學納入國家保健系統。

		現代化	國際化
歐盟	研究方向	評估中草藥具有臨床安全性及有效性，並應公開聲明各草藥產品有關的風險。	
	產品市場	具有 30 年以上使用歷史，其中至少有 15 年是在歐盟境內使用。 需有書面或專家證明資料可支持該草藥品基於長久使用經驗，其藥理作用或療效應具備相當之可信度，以確保於特定使用條件下，不會傷害人體。 具有高品質製程，且行銷超過多年的傳統草藥製品，得免提供藥效和藥性的科學文獻證明，而准予註冊，繼續在歐洲市場銷售。	協助整合歐盟各國草藥產品的審核和提供相關顧問。提供會員國和歐洲組織關於草藥方面的意見。
	智慧財產	植物性新藥通過上市之醫藥品，享有八年之資料保護(data protection)以及十年之市場行銷保護(marketing protection)；若在資料保護期間發現其上市藥品之新適應症，可再另外獲得一年之市場行銷保護。	
	政策法規	依人用醫藥品指令(Directive 2001/83, amended by Directive 2004/27)之規定，以植物性新藥上市，或依傳統草藥品指令(EU Directive on Traditional Herbal Medicinal Products)之規定，以傳統草藥品上市。	核准上市草藥產品，必須具備使用範圍(therapeutic uses)和建議安全用法(recommended safe conditions of use)的指標。

		現代化	國際化
中國大陸	研究方向	以證實闡明中醫藥的科學內涵，充分運用中醫藥學的歷史積累、實踐經驗和現代系統科學、複雜科學的思想方法與技術手段，開展多學科交叉研究，建立具有中國特色的新醫藥學。 重視中醫藥基礎理論的研究與創新，如證候理論、組方理論、藥性理論，探索其科學內涵。 加強中藥材野生變家種家養研究，加強中藥材栽培技術研究，實現中藥材規範化種植和產業化生產；加強植保技術研究，發展綠色藥材。 加強中藥材規範化種植和中藥飲片炮製規範研究。	應用全球科技資源，推動中醫藥進入國際主流市場，開展國際傳統醫藥科技合作和交流，促進國際社會對中醫藥的理解，傳統醫藥加強多學科交叉配合，深入進行中藥藥效物質基礎、作用機理、方劑配伍規律等研究，積極開展中藥基因組學、蛋白組學等的研究。
	產品市場	提高中醫藥醫療服務能力和產業技術水準。 建立現代中藥產業鏈，保障中醫藥療效，提高中藥產業和產品創新能力，提供療效確切、品質優良、安全方便、品質可控的中藥產品，培育健康產業服務。	加強國際交流與合作，加快中醫藥國際化進程。 逐步改變以藥材和粗加工產品出口為主的局面，擴大中成藥出口比例，促進產業結構升級，拓展中藥國際市場。
	智慧財產	加強中藥知識產權保護，開發專利產品，註冊專用商標，實施品牌戰略。	研製具有自主知識產權和市場競爭力的新藥，建立具有先進水準的技術平臺，形成支撐中國大陸藥業自主發展的新藥創新能力與技術體系。
	政策法規	構建符合自身特點的中醫藥標準規範體系，提高中醫藥	在現代醫藥和其他國家傳統醫藥經驗的基礎上，爭取

		現代化	國際化
		標準水準。 建立中藥材和中藥飲片的品質標準及有害物質限量標準，全面提高中藥材和中藥飲片的品質。	使中醫藥標準規範成為國際傳統醫藥標準規範。
日本	研究方向	進行有效性的生物學評價標準研究。 在製劑的品質及技術上要求良好之再現性，大部分漢方製劑有明確的成分標準、藥理研究及臨床功效數據。	
	產品市場	針對成分、含量及規格等標準，制定新的漢方漢生藥製劑的品質標準。 使用現代農業栽培技術，改良栽培技術，注意有效成分的監測追蹤。 採用藥用植物栽培契約制，實行藥廠與產地合作，保證原料藥品質的穩定，以增強生產的計劃性與契約性，確保產品品質。	
	智慧財產	漢方和生藥製劑的智慧財產權，主要表現在於製劑的品質及技術上，將重點放在中醫藥治療作用的臨床觀察上，不斷地加進行比較及歸納以總結中醫藥的臨床作用。	對藥品的專利保護包含：化學物質、化學物質的醫藥用途、藥用化學物質的製備方法、藥品的外觀設計、製藥機械、藥用植物及其提取物、生物製品、藥用植物提取物的組方。
	政策法規	漢方藥的藥政管理原則與西藥的藥政管理一致，分為醫療用漢方製劑和一般漢方藥製劑來管理。醫療用漢方製劑主要是指所用生藥作用較	

		現代化	國際化
		強、不便於患者直接使用、須由醫師監督指導的製劑，相當於西藥使用分類中的處方藥，而一般用漢方藥製劑主要為經長期臨床試用，認為安全、有效，所使用的生藥作用相對緩和的製劑。	
臺灣	研究方向	中醫醫療照護品質之實證醫學研究，中藥用藥安全之研究，中草藥源頭管理之風險管理研究，傳統醫藥生技研發，法規標準化與協合化研究，智慧財產權保護研究。	加強跨領域人才培育與延聘海外專業人才，同時引進國外生物技術及產品，設置育成中心與生物技術產業園區，以利生物技術產業之發展。
	產品市場	中藥材基原研發鑑定技術，以農業技術與管理投入中藥植物栽培，發展檢驗技術檢測主成分、生菌數與農藥重金屬殘留。	加強國外生技引進與移轉產業。 加強引進即將上市且具國際競爭力之產品，或與國外同步開發，以縮短產品上市時程，並促進技術移轉落實於產業界。 鼓勵大學或研發機構與國外著名大學或研發機構合作共同開發具國際競爭力之項目。
	智慧財產	專利法所規範的新發明，需具備未曾公開或無相同前案之「新穎性」，非為熟悉該項技術者所能輕易完成之「進步性」，以及具統計學意義及再現性之「產業利用性」三個要件。 中草藥之新藥開發，可以申請專利法中有關「發明」標的，請求專利保護 20 年。例	以發展具世界專利權的中草藥技術為主要策略。

		現代化	國際化
		如新物質純化物或混合物，可以化學結構圖譜申請「物的發明」，可以新製造方法或新製造過程申請「方法的發明」，以及可以效能增加或新療效新適應症申請「用途的發明」。	
	政策法規	研訂炮製規範，比對炮製前後之成分與療效。 飲片以放射線技術研發儲存方法，以及包裝技術。 製劑研發製藥技術增進品質的均一性，以生物技術參與指標成分、有效成分之定量比對。	建立臺灣成為國際生物技術社群研發與商業化之重要環節，及亞太地區生物技術產業研發、製造與營運中心。

三、依據行政院「中草藥產業發展方案」及中醫藥委員會「提昇中醫藥現代化與國際化發展方案」之施政架構，系統化評析現行產業及醫療實務問題，檢討以前年度所推動之各項計畫內容及成果。

(一) 行政院自 2001 年起推動「加強生物技術產業推動方案」，以結合研發、基礎科學及實際之產業輔導，使臺灣成為中草藥科技島為目標，繼而將中草藥之發展納入生物科技產業重要推動方案之一。由於臺灣市售之中藥材，多數來自大陸，目前積極致力於完備中藥材之源頭管理機制，包括進口產品文書認證及落地追蹤等工作。中醫藥委員會亦就中醫藥科學化及中藥用藥安全等，以如構中西醫合作研究與醫療模式等議題，推動「新興產業－生技醫藥產業再造」及「健康政策－加速中醫藥科學化」，並以「整合與前瞻」作為施政理念，規劃「提昇中醫藥現代化與國際化發展方案」，包括「建構中醫整體臨床教學體系計畫」、「建構中藥用藥安全環境計畫」及「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」等三項中程施政計畫。

(二) 行政院 90 年 10 月「加強生物技術產業推動方案」

目的：

生物技術產業深具發展潛力，為我國重點推動發展之高附加價值、知識導向型產業；但生物技術產業具高度管制、高風險、商品化認證需時、行銷國際化之特性；為建立我國生物技術產業發展之完整體系，加速推動關鍵性生物技術研發，發展具國際競爭力之生物技術產業。

發展願景及目標

建立臺灣成為國際生物技術社群研發與商業化之重要環節，及亞太地區生物技術產業研發、製造與營運中心。未來五年生物技術產業營業額每年平均成長 25%，帶動一千五百億元的投資；十年內成立五百家以上之生物技術公司。

發展策略

1. 健全相關法規與驗證體系，並推動實施各項優良規範標準。
2. 寬列預算加強輔導獎勵、推動投資並積極引進技術、開發市場。
3. 寬列預算加強研究發展與其成果之移轉、商業化及應用。
4. 擴大專業人才培育與延聘。
5. 建立智慧財產權之保護措施。
6. 推動國際相互認證與建立生物技術產業資訊。

實施要點

1. 設立行政院生物技術產業指導小組(以下簡稱指導小組)，統籌掌理生物技術產業發展之規劃、推動與評估事宜。指導小組會議原則上每二個月召開一次，遇重大、偶發議題時，得隨時召開會議解決。
2. 增修訂生物技術產業研發及投資相關法令規範，及保護生物技術智慧財產權。
3. 選定生物技術產業重點發展項目，積極推動投資，給予集資、貸款融資等便利、優惠與獎勵。
4. 選定生物技術重點研究項目，整合產甲、、官、學、研之研究發展體系，成立國家型計畫或中心。暢通研究、發展與認證、生產、行銷間之管道，以加強生物技術產業之推動。
5. 增加生物技術研發經費，以加強關鍵性生物技術之基礎與應用研究，並將研發成果有效商業化，落實產業界。
6. 加強跨領域人才培育與延聘海外專業人才，同時引進國外生物技術及產品，設置育成中心與生物技術產業園區，以利生物技術產業之發展。
7. 加強生物技術產業資訊服務，推動國際優良製造標準與相互認證，以提升國際競爭力。

8. 加強生物技術國際合作與國際行銷，並加強開發亞洲生物技術市場。

採行措施及實施要項

1. 法規及查驗體系

1-1 健全醫藥生技有關法令規範

(1) 修訂相關藥事法規，增列新興醫療藥物產品之審查規範。

(2) 修訂我國藥品臨床試驗規範，制訂各種疾病之臨床試驗及藥動學試驗基準。（制訂老年病患試驗用藥品臨床試驗基準、兒童病患試驗用藥品臨床試驗基準、腎功能不全病患之藥動學試驗基準、肝功能不全病患之藥動學試驗基準）

(3) 研訂相關疾病之中藥臨床試驗基準。（研訂骨質疏鬆症臨床試驗基準、記憶力改善臨床試驗基準、糖尿病臨床試驗基準、肝病臨床試驗基準）

(4) 訂定基因治療相關規範。

(5) 規劃生物晶片產品管理機制。

(6) 訂定組織、細胞等生醫材料之管理規範。

(7) 訂定核醫藥品短半衰期的正子放射產品之品質規範。

1-2 健全農業生技有關法令規範

(1) 訂定基因改造動植物之試驗及應用管理規範。（訂定基因轉殖植物隔離田間試驗場之設置及作業要點、基因轉殖動物試驗及應用管理辦法、基因轉殖水生動植物田間試驗管理規範）

(2) 依動物之種類，訂定實驗動物之來源、適用範圍及管理辦法。（收集國際間實驗動物管理相關法令規章、成立實驗動物管理辦法制訂小組、辦理實驗動物利用機構之宣導教育工作）

1-3 強化生技產品查驗及效率

(1) 持續提升藥物審核成效。（持續提升臨床試驗、新藥及醫療器材之審查品質及效率、從事「建立新藥臨床試驗前審查制度」之可行性及試辦研究、建立新興生醫產品之品質、安全、有效性之審查體系）

(2) 持續提升財團法人醫藥品查驗中心功能，提供業界新藥研發諮詢服務。協助財團法人醫藥品查驗中心逐年延攬與訓練新藥審查人員。（建立自主嚴謹之新藥專業審查、自給自足之新藥審查體系、配合國內生技製藥發展需要，提供業界(含新藥、生物製劑、中草藥)研發諮詢服務）

(3) 促進查驗登記之健全與法規國際化及作業電子化。（加強藥物審查作業電子化，網路化之先期規劃與研討、配合生物製藥科技產業發展，評估國際醫藥法規協合會(ICH)建立之基準適用在國內之可行性）

(4) 研發新藥物及生醫產品檢驗方法。

(5) 建立符合國際規範之基因改造食品審查及檢驗體系。

2. 研究發展及應用

2-1 加強醫藥生技基礎與應用研究

(1) 持續推動製藥與生物技術國家型計畫(八十九年-九十一年)。

(2) 推動基因體醫學國家型科技計畫(九十一年-九十三年)。

(3) 積極建立生物資訊資源中心，設立高速運算，寬頻網路之基礎設施，建立基因醫藥生物資訊資料庫，做為本土醫藥發展之基礎建設。

(4) 持續推動中草藥產業技術發展五年計畫(九十年-九十四年)。

(5) 規劃與推動「藥用菇類、菌類、藻類資料庫」之建立。

(6) 加強本土性重要傳染病及新興傳染病之檢驗診斷與醫療等生物技術研究開發。

(7) 規劃推動建立放射藥理與分子影像核心實驗室，加強放射診療技術與產品之研究與應用推廣。

(8) 建立完善之醫療器材工業研發、檢測及應用體系。

2-2 加強農業生技基礎與應用研究

(1) 釐清農業生技利基所在及技術與產品之定位，加強動植物基因體之研究。

(2) 持續推動農業生物技術國家型科技計畫(九十年八月-九十三年七月)。

(3) 發展基因轉殖動植物，提高作物、畜禽及水產生物之生產效率。

(4) 開發疫病蟲害快速偵測技術、診斷試劑鑑定用生物晶片，掌控新侵入疫病蟲種類。

(5) 強化對本土特有瀕臨滅絕物種之基因體研究與保存，維護生物多樣性。

2-3 建立生技週邊體系

(1) 建立完整之新藥開發基礎設施，包括臨床前藥理、毒理試驗(GLP)等共用設施。

(2) 建立新藥臨床試驗週邊體系與運作機制。（整合研究臨床試驗中心之各軟硬體、輔導各教學醫院健全人體試驗委員會(IRB)審查流程及運作機制）

(3) 加強推動執行「藥品優良臨床試驗規範」(GCP)及相關查核作業。

(4) 加強釐清臨床醫師執行臨床試驗之刑責疑慮。

(5) 規劃建立全國藥物辨識系統。

(6) 推動基因治療試驗室輔導與認証。

(7) 規劃建置重要整合性醫藥衛生資料庫，善加利用我國全民健康保險資料庫，開放予產業界使用。

(8) 建立中藥臨床試驗週邊體系。（輔導中藥臨床試驗中心軟、硬體之運作符合「藥品優良臨床試驗規範」、加強中、西醫結合，以利推動中藥臨床試驗、輔導成立中藥聯合人體試驗委員會(JIRB)健全審查原則及運作機制）

(9) 加強病原體生物資源之保存與應用設施。

(10) 加強無特殊病原（SPF）動物實驗室之設施及動物供應。

2-4 加強生技智慧財產權保護及促進

(1) 加強生技研究人員之智慧財產權觀念及法律知識。

(2) 修訂生技專利審查基準、建立資料庫、培訓專業審查人員、提升審查品質。

(3) 增強法院辦理生技智慧財產權案件之能力，並健全生技智慧財產權之仲裁、調解等快速解決糾紛之管道。

(4) 加強生技專利商業化之評估及推廣能力。

3. 技術移轉及商業化

3-1 推動國內生技研發成果落實產業

(1) 完成生技實驗室與先導工廠等設施整體規劃，除供研究發展外，並提供業界服務。

(2) 彙整評估政府資助之各項專案計畫研發成果，並篩選具有市場潛力之產品，推廣至產業界。

(3) 規劃產學研生技合作機制，提高與企業合作研發之比重。

(4) 放寬生技學研界以專屬授權方式將政府資助研發成果移轉，並放寬授權至國外之條件。

(5) 准許教育機構、研究機構及參與研發之團隊，取得接受技術移轉公司之股票及認股權證。教育人員及研究機構

之技術開發者，其取得之股權比率，應由投資者和技術移轉者協商，不宜有比率限制。

(6) 支持各研究機構設立技術移轉辦公室，促進對業界進行技術移轉和專利授權或專利申請事宜。

(7) 推動國防部中山科學院及國防醫學院人才與設施協助生技研發與產業發展。

3-2 加強國外生技引進與移轉產業

(1) 加強引進即將上市且具國際競爭力之產品，或與國外同步開發，以縮短產品上市時程，並促進技術移轉落實於產業界。

(2) 鼓勵大學或研發機構與國外著名大學或研發機構合作共同開發具國際競爭力之項目。

3-3 加強生技產品開發及商業化

(1) 鼓勵大學與研究機構成立生技創新育成中心與開放實驗室，並推動產業界運用。

(2) 加強生技產品商業化輔導工作，主動協助學研界成果移轉、促成研發型公司之創業。

(3) 協助醫療器材工業改善產品品質，提升產能並開發新產品。

(4) 鼓勵台糖、台鹽、中油、公賣局等公營事業機構，及民營事業機構積極投入生物技術產品開發。

(5) 推動環境生物技術與產品研發。

(6) 持續推動主導性新產品開發計畫及業界科專(業界開發產業技術計畫與鼓勵新興中小企業開發新技術推動計畫)對生技醫藥產業之獎勵。

3-4 加強生技服務業發展

(1) 輔導產業界建立關鍵性技術平台，接受國際委託進行技術代工及研發業務。

(2) 規劃完善之生技服務業發展體系，鼓勵產業界投入。

(3) 協助生技服務業進駐工業區發展。

(4) 加強輔導研發導向之生技服務業發展與投資。

4. 人才培育及延攬

4-1 培育生技產業專業及管理人才

(1) 加強規劃生技產業人力資源供需評估，落實生物科技教育改進計畫，並規劃相關之教學課程。

(2) 運用工業技術人才培訓計畫，結合學術研究機構與公會，加強培訓生技創業投資、技術移轉、技術鑑價、經營管理等相關技術及管理專業人才。

(3) 加強中草藥研究相關人才培訓與人才資料庫建立，以促進中草藥早日進軍國際市場。

4-2 加強生技職業訓練

(1) 加強培訓醫療器材產業相關人才。

(2) 加強培訓生技產業各級職業技術人力。

4-3 延攬生技產業專業及管理人才

(1) 運用國科會「補助延攬科技人才處理要點」、「補助延聘博士後研究人才處理要點」、經濟部「協助國內民營企業延攬海外產業專家來台服務作業要點」協助業者、政府單位、研究機構延聘生技專業人才。

(2) 運用行政院「科技人才培訓及運用方案」，協助延攬高科技人才，推動生技產業發展相關業務。

5. 投資促進及合作

5-1 加強政府投資生技事業

(1) 運用行政院開發基金積極投資生物技術產業

(2) 推動台糖、台鹽、中油、公賣局等公營事業機構投資具國際競爭力之生物科技產業。

(3) 協調並協助各地方政府推動生技產業發展。

5-2 加強企業投資生技事業

(1) 強化生技投資評估機制，協助產業客觀評估生技產業相關之投資案。

(2) 協助相關企業跨入醫療器材產業，並整合醫療器材關聯產業。

(3) 爭取國際生技事業與國內業者合作在國內投資營運。

(4) 協助生技事業投資發展區域性營運能力。

5-3 擴大創投事業投資生技事業

(1) 擴大行政院開發基金對生技創投事業之投資，並評估建立勞退、勞保、郵儲、退撫等政府基金投資生技創投事業之機制。

(2) 協調創投資金加強投資生技醫藥及醫療器材產業。

(3) 鼓勵金融機構投資生技創投事業。

(4) 鼓勵中大型民營事業機構參與投資生技創投基金。

5-4 提供生技產業租稅融資協助

(1) 持續推動「促進產業升級條例」及「新興重要策略性產業屬於製造業及技術服務業部分獎勵辦法」對於生技醫藥產業之相關租稅優惠措施。
(2) 持續推動所得稅法對於生技醫藥產業之相關租稅優惠措施。
(3) 持續推動生技事業運用經建會中長期資金貸款等融資優惠措施。
(4) 規劃生技事業智慧財產之融資及保證作業。
(5) 放寬生技事業申請上市(櫃)條件為「技術開發成功且具市場性」，以協助取得資金。

5-5 推動生技產業園區

(1) 推動新竹生物醫學園區計畫，結合新竹科學園區(含竹南基地)連成具特色之生技產業發展帶。
(2) 建構改善台北都會區生物技術研究群聚圈。
(3) 建構南臺灣生物技術產業聚落，發展具國際競爭優勢之生技產業。
(4) 研擬設置農業生技園區，帶動農業生物技術產業發展。
(5) 配合生技產業特性，放寬土地分區使用規定，協助發展生產、生活、生態合一之生技產業園區。

5-6 推動生技產業國際及區域合作

(1) 推動生技產業之國際與區域分工合作及投資。
(2) 推動開發區域性生技產品及特有疾病藥物之投資及技術合作計畫。

6. 市場資訊及服務行銷

6-1 分析生技研究與產業資訊

(1) 加強彙整國內生物技術研發資訊，並提供國內外生物技術研發最新資訊服務。
(2) 強化產業技術資訊服務計畫(ITIS)，提供業界法規、商情及市場資訊。

6-2 推動生技產業國際及區域相互認證

(1) 依據國際最新標準，規劃、修訂、推動現行藥品優良製造規範(cGMP)，輔導相關廠商，辦理人員訓練。
(2) 依據國際最新標準，規劃、修訂、推動原料藥優良製造規範(GMP)。
(3) 規劃、推動醫療器材優良製造規範(GMP)，研究國際最新規範與將其引進國內之可行性。

(4) 建立符合國際標準之藥廠查核體系，進行「國際醫藥品稽查協約組織」(PIC/S)入會申請。

(5) 推動藥物不良反應通報系統，促成國際合作。（健全藥物(含中草藥)不良反應通報體系、建立藥物資料及安全資訊分析評估資料庫、引入 MedDRA Terminology 譯碼系統，以利加入國際藥品安全監視組織(CCIDM)及進行國際資料交換）

(6) 推動中藥材飲片炮製藥品優良製造規範(GMP)。

6-3 開拓國際及區域生技產業市場

(1) 持續檢討確認具市場性之區域性重點生技醫藥業及農業領域，協助生技事業提升國際合作與行銷能力。

(2) 協助產業界洽商及參訪國際與區域可合作之生技事業，並參加展覽促銷活動。

(3) 規劃舉辦國際生技產業展覽及研討會。

(4) 推動醫藥工業國際化輔導與推廣計畫(九十年七月-九十三年)。

(5) 妥善運用健保機制，促進國內生技產業發展。

6-4 協助生技產業組織發展

(1) 協助公民營生技事業組織同業發展團體。

(2) 運用生技產業組織協助政府推動生技產業發展及國際合作。

6-5 加強生技產業推廣教育

(1) 加強辦理生技產業知識普及教育。

(2) 規劃舉辦生技科技及產業推廣教育活動(生技月)。

6-6 發表生技產業白皮書

定期發表「加強生物技術產業推動方案」執行成果報告及相關資訊。

(三) 依據行政院「加強生物技術產業推動方案」，經濟部規劃並施行「中草藥產業技術發展五年計畫」，其執行成果如下：

1. 建構中草藥產業技術發展所需之環境，制定科學化的驗證標準、完成完善的臨床試驗環境與規範以及相關技術發展所需之平台技術，將植物藥技術創新扎根至臺灣中草藥產業，進而以科專推動傳統中醫藥與現代醫學整合，讓臺灣中草藥產業發展合乎國際植物藥水準，使得國內中草藥成功邁向國際植物藥舞台。
2. 在「中草藥產業技術發展五年計畫」推動下，國內產業已有 26

件取得國內外臨床試驗許可（IND）並進入臨床試驗之執行，並於民國 94 年 6 月誕生第一個國產中藥新藥「紅麴萃取新藥」取得新藥上市許可（NDA），為國內中藥新藥產業奠定一個嶄新里程碑。可以預見在近期內會有更多中草藥新藥陸陸續續通過臨床試驗上市，造福國人健康。

3. 經濟部技術處為擴散「中草藥產業技術發展五年計畫」衍生的技術與產品，同時推動產業界持續開發中藥新產品與新技術，由「臨床前試驗」邁向「臨床試驗」，在執行「建構生醫科技島」計畫中，積極協助國內醫藥業者執行臨床試驗，藉由執行臨床試驗，使中草藥新藥療效具備國際植物藥的科學化證明。為此，技術處特依「業界開發產業技術計畫」就當前開發醫藥產業技術及臨床試驗範圍，公告業界科專「臨床試驗快速審查機制（Fast Track）」，以加速審查，降低廠商實施臨床試驗之風險，鼓勵業界快速投入醫藥臨床試驗。
4. 經濟部與衛生署建立「經濟部、衛生署與生物醫藥業者溝通平台會議」機制，透過此機制之運作，解決中草藥產業發展有關鍵性影響之法規與制度相關問題，以提升審查效率，建立有利於產品開發與上市之環境。以科學之方法，符合國際規範之臨床試驗，將傳統中草藥或植物萃取新藥，推向國際藥物市場，為植物藥相關產政學研推動者，永不終止之目標。

(四) 行政院衛生署中醫藥委員會規劃「中醫藥現代化與國際化發展方案」，目的為「提供民眾中醫中藥就醫及用藥安全環境」及「因應世界潮流加速中醫中藥之創新發展」，分為「建構中醫整體臨床教學體系計畫」、「建構中藥用藥安全環境計畫」及「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」三個子計畫，相關內容如下：

1. 「建構中醫整體臨床教學體系計畫」：
   (1) 建立中醫診療、中藥藥事服務及中醫護理照護模式
   (2) 建立中醫醫事人員臨床教學訓練制度
   (3) 落實中醫臨床教學訓練
   (4) 評估住院病人使用中醫中藥療效
   (5) 提供中醫藥相關研究環境
   (6) 健全中醫師執業環境
2. 「建構中藥用藥安全環境計畫」：
   (1) 提供民眾安全用藥及進行國際貿易
   (2) 建立國際性標準品供應站
   (3) 提升民眾中藥用藥安全知識

(4)建立完善無障礙的法律環境
(5)建構國際中草藥資訊站
(6)深度培訓跨領域專業人員
(7)提供中草藥國際動態及新知

3. 「中醫藥現代化與國際化整合型計畫」:
(1)推動中醫藥的研究
(2)提昇中醫醫療品質
(3)提昇中藥品質水準
(4)健全中藥臨床試驗環境
(5)推動中醫藥基因體研究
(6)中醫藥健康安全防護網計畫

(五)臺灣中醫藥現代化暨國際化之策略與成果(CCMP2006)

1. 落實中醫臨床教學訓練計劃，強化中醫醫事人員照護能力：
(1)辦理「中醫臨床教學訓練計劃」。
(2)辦理「提升中醫護理照護品質訓練計劃」。
2. 健全中醫醫療機構發展，規劃中醫醫院暨醫院附設中醫部門評鑑工作。
3. 實施中醫醫事人員繼續教育：
(1)辦理「中醫師繼續教育計劃」。
(2)辦理「中西醫學術研討會」。
(3)辦理「中醫基本護理訓練計劃」。
4. 建構中藥用藥安全環境：
(1)推動及輔導傳統中藥廠全面實施 GMP。
(2)舉辦「中藥用藥安全及藥用與有毒植物博覽會」、「中藥用藥安全暨實務研討會」及「中藥產業未來趨勢暨執行查緝宣導教育研討會」等共三場。
(3)公告修正「藥品查驗登記審查準則」第 91 條、第 109 條條文。
(4)為期有效防範硃砂於中藥房或中醫醫療院所被誤用或濫用，特於 94 年 4 月 29 日公告「自 94 年 5 月 1 日起禁止中藥用硃砂製造、調製、輸入、輸出、販賣或陳列」。
(5)於 94 年 7 月 27 日公告「中藥材及中藥製劑含有害物質限量標準及其適用範圍」(草案)。
(6)落實中草藥不良反應通報系統。
(7)中醫藥委員會執行建構中藥用藥安全環境五年計劃，除不斷宣導外，亦促成成果之擴散。

5. 健全中藥審查法規及臨床試驗環境，創新中醫藥產業優質化：
   (1) 國人研發中藥新藥有成。
   (2) 90 年度起開始補助國內教學醫院執行「教學醫院成立中藥臨床試驗中心計劃」。
   (3) 辦理系列中草藥生技法規溝通計劃宣導會議、中草藥臨床試驗教育課程、中醫藥臨床試驗業界座談會共 11 場。
   (4) 研訂中藥(含新藥)審查與臨床試驗相關法規及審查基準。
6. 推動中醫藥科技發展及中醫藥國際衛生事務：
   (1)推動中醫藥科技發展。
   (2)科技研究成果應用及管理。
   (3)推動中醫藥國際衛生事務，為 2006 年臺灣中醫藥國際化啟動年奠定基礎。
   (4)推動辦理中醫藥兩岸或國際學術研討會及持續培訓中醫藥臨床試驗相關醫事人才。
7. 建構全方面中醫藥資訊服務 e 網通：
   (1)建置完成「中草藥用藥安全資訊網」。
   (2)邀請台北市中醫師公會及中國醫藥大學參與本會「中醫藥資訊網」網站「討論區」討論。
   (3)改版本會「中醫藥資訊網」網站成 AAA 級無障礙網頁。
   (4)中醫藥委員會依「中醫藥行政資訊系統主機升級暨公文橫書推動計畫」完成中醫藥行政資訊系統主機平台移轉及資料庫升級。
   (5)針對中醫藥委員會重要資訊資產建立風險管理制度。
   (6)中醫藥委員會建置之「中藥藥物廣告查詢系統」資料庫，已有 3239 筆廣告可供查詢。
   (7)中醫藥委員會規劃開發之「中藥違規案件記錄系統」，使用率達百分之百。
   (8)中醫藥委員會首創建置「許可證及廣告案件申請進度上網查詢系統」。
8. 加強不法藥物稽查及違規廣告查處。
9. 落實 ISO9001：2000 國際品質認証精神。
10. 設備升級，服務升級。
11. 強化防護，資安強固。
12. 造福弱勢，減少落差。
13. 中醫藥防治新興傳染病相關工作。
14. 整合成果，宣導結果：

(1) 中醫藥委員會成立「出版品編輯發行推動小組」，統籌本會相關出版品之整合行銷等管理工作。

(2) 編印出版各種成果專書供各界參考。

(3) 中醫藥委員會參加衛生署「94 年政府出版服務評獎」活動，評選結果機關出版服務獎第一名。

(4) 規劃整合本會 7 項研究計劃成果及網站資料，建置完成「中草藥用藥安全資訊網」(http://tcam.ccmp.gov.tw)。

(六) 100 年度中醫藥現代化、國際化之整合型計劃架構

1. 提升中醫藥訓練及服務品質

(1) 提升中醫醫療照護品質

A. 中醫門、會、住診臨床教學訓練模式研究

B. 中醫臨床技能教室環境建置計畫

C. 強化中醫人力規劃、養成訓練及在教育之政策研究

D. 中醫會診及住院制度相關配套制度建立之實證研究

(2) 中醫藥政策相關研究

A. 中醫診斷、治療基準與規範建立

B. 法規標準化與協和化研究

C. 中醫藥數位知識網建置研究

(3) 中醫藥國際化之推動

2. 強化中藥用藥安全

(1) 藥物安全性之研究

A. 中藥(材)誤混用、農藥殘留、重金屬及生菌污染研究

B. 中西藥併用之研究(含臨床監測分析與健保資料庫資料分析)

C. 中藥材炮製安全性研究

D. 飲片包裝安全性研究(含不良品監測)

E. 複合性產品(如中草藥應用於保健食品)的安全性研究

(2) 中藥源頭認證驗證機制與中藥材之檢驗認證基準之建置及評估研究

(3) 品質管制基準與規範的建立

(4) 中華中藥典編修與應用研究

3. 推動傳統醫藥生技研發

(1) 健全中醫臨床試驗環境的建置及分工協調

(2) 中醫藥療效評估研究

(七) 101 年度中醫藥現代化、國際化之整合型計劃架構

1. 建構中西醫臨床整合及教育訓練服務網絡

(1)建構中西醫合作醫療與研究模式

A.推動以疾病治療之中西醫藥整合性醫療服務

B.發展中西醫共同照護臨床治療途徑

(2)提升中醫醫療照護品質研究

A.中醫門、會、住診臨床教學訓練模式研究

B.中醫臨床技能教室環境建置計畫

C.強化中醫人力規劃、養成訓練及再教育之政策研究

D.中醫會診及住院制度相關配套制度建立之實證研究

(3)中醫藥政策相關研究

A.中醫診斷、治療基準與規範建立

B.法規標準化與協合化研究

C.建立中醫藥數位學習環境

(4)中醫藥國際化之推動

2. 強化中藥用藥安全

(1)藥物安全性之研究

A.中西藥或食品併用之研究

B.複合性產品(如中草藥應用於健康食品)的安全性研究

C.中藥材炮製安全性研究

D.飲片包裝安全性研究(含不良品監測)

(2)健全中藥源頭管理機制

(3)品質管制基準與規範的建立

A.中藥製劑與中藥成藥之安全性研究

B.提升濃縮製劑製造技術與品質研究

(4)中華中藥典科學應用研究

(5)強化消費者用藥安全保護網

A.評估與建置中藥使用之相關風險管理模式研究

B.加強中藥從業人員藥事服務研究

C.落實及宣導民眾用藥行為教育研究

3. 推動傳統醫藥生技研發

(1)健全中醫臨床試驗環境的購置及分工協調

(2)中醫藥療效評估研究

A.以實證研發中草藥治療或預防國人常見疾病

(3)發展本土中藥藥用資源

A.本土中草藥之開發與應用研究

B.常用中(草)藥新價值開發

(八) 比較分析各年策略，本計畫規劃以政府中醫藥科技研究整體政策為

宗旨，以產品品質安全、使用者保護以及產業創新為基礎，落實實證研究，所得成果作為具體施政計畫之參據，先透過政策導向之科技研究計畫，委託學術界及業界，進行政策評估研究，藉由其研究成果，轉為實務之施政計畫執行。又海峽兩岸醫藥衛生合作協議業於 99 年 12 月 21 日簽訂，兩岸中醫藥研究與交流合作亦納入其中，中醫藥委員會為規劃中醫藥未來長期之研究發展，並配合行政院組織改造後，中醫藥司與中醫藥研究所之任務職掌發展考量，參考 100 年度及 101 年度「中醫藥現代化與國際化之整合型計畫」架構，以及海峽兩岸醫藥衛生合作協議有關中醫藥研究與交流合作事項，繼續規劃 102 年計畫架構，以產品品質安全、使用者保護以及產業創新等三個構面，就相關問題予以分類，擬具初步對策方案如下，提報第一次核心小組專家研議討論：

領域	分類	問題	建議 102 年對策方案
產品 （藥品） （本土及大陸藥材） （醫材） （生醫）	品質	市售中藥製劑製造品質瑕疵（藥材混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染含量）	1. 製劑 GMP 製造管制標準解說書 2. 製劑異雜物含量標準 3. 國際法規協和
		1. 市售中藥材製造品質瑕疵（藥材混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染含量） 2. 尚未建立藥材品質標準（尚未以藥證列管）	1. GAP 2. 藥材產地契作 3. 飲片炮製規範 4. 炮製工廠設置規範 5. 中藥(材)誤混用、農藥殘留、重金屬及生菌污染檢驗方法之開發與提升研究 6. 中藥材炮製安全性研究 7. 飲片包裝安全性及規格一致性之研究(含不良品監測)
		藥材品質檢驗資源不足	1. 實驗室認證級驗證基準(GLP) 2. 認證級驗機制法制化 3. 檢驗方法之開發與提升研究 4. 中藥源頭認證驗證機制與中藥材之檢驗認證基準之建置追蹤及評估研究

領域	分類	問題	建議 102 年對策方案
		藥典規格、檢驗標準	1. 中華中藥典檢驗規格標準 2. GMP 品質管制與檢驗標準作業解說書 3. 中華中藥典編修與科學應用研究 4. 中藥標準品製備研究
	安全	不良反應	1. 建立風險評估機制（risk assessment） 2. 安全監視、警語、注意事項 3. 強化消費者用藥安全實證與實驗研究
		交互作用	1. 交互作用風險管理（risk management） 2. 流行病學調查 3. 中西藥或食品併用之研究 4. 複合性產品(如中草藥應用於健康食品)的安全性研究
		危害資訊獲得	建立危害通報機制（report system）
	療效	中醫藥生技(含新療效、新藥材、新使用部位、新複方之臨床試驗)	1. 中藥新藥臨床試驗標準作業程序 2. 選病（國人常見疾病）執行臨床試驗 3. 傳統中藥之療效評估研究 4. 創新複方之療效評估研究 5. 新資源(本土藥材或天然物)之療效評估研究 6. 中醫診療器材之療效評估研究 7. 針灸相關療法之療效評估研究 8. 輔助與另類療法之研究
		中西適應症（病名）一致化	1. 中西醫學整合 2. 國際（兩岸）法規協和

領域	分類	問題	建議 102 年對策方案
		中西醫療法併用	1. 中西醫療法併用之臨床研究與療效評估研究
		產品依療效分類（處方藥、指示藥、成藥、健康食品、特殊營養食品）	1. 再評估、再分類（濃縮及傳統製劑） 2. 藥品審查基準 3. 藥食同源正本清源的食品低度功效（low level claim） 4. 健康食品審查基準 5. 特殊營養食品審查基準 6. 新興中藥產品與健康食品長期追蹤研究
		進行中藥臨床試驗	1. 建立健全臨床試驗環境 2. 健全臨床試驗執行機制 3. 國人常見疾病之選病選方研究 4. 選病（國人常見疾病）選方執行臨床試驗
使用者保護	醫療	提昇醫療服務品質	1. 診斷、處置、處方調劑專業給藥作業 2. 門診、住院分流管理 3. 住院環境建置（由門診、會診到中醫住院） 4. 住院醫師教育訓練
		中西醫藥整合性醫療服務	1. 民眾認知與選擇醫療方式（選擇中醫治療、選擇中西醫整合治療） 2. 以疾病管理（disease management）（選病）為導向之中西醫藥整合性醫療服務 3. 參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治
		中醫藥實證醫學	1. 中醫診療方法研究

領域	分類	問題	建議 102 年對策方案
			2.建立中醫實證醫學機制 3.診斷、治療基準與規範
		健保醫療資源利用	1.中醫健保使用行為分析 2.非健保（自費）醫療行為分析
		中醫藥數位管理	1.建立中醫藥醫療服務數位網絡系統 2.國際中醫藥科技政策資訊分析 3.中醫藥數位學習環境
	用藥	醫療團隊整合性藥事服務	1.宣導民眾正確就醫用藥知識 2.醫師與藥事人員合作，回饋治療結果資訊（藥事照護 pharmaceutical care 初探） 3.醫師用藥及藥事人員交付藥物繼續教育
		保健消費	1.藥事專業人員專業能力、服務品質 2.正確用藥資訊及知識提供
		民眾對中醫藥認識不足	1.加強中醫藥保健與治病之民眾教育
產業創新	藥材來源	藥材來源多元	1.品質管控一致 2.境內外管制（源頭管制及市售品查驗） 3.本土資源開發利用 4.中藥資源之培育研究
	法規協和	適用中醫藥之相關法規	1.國際法規協和及建立兩岸合作介接機制 2.建立適用中醫藥之藥事法規 3.產業創新條例及生技新藥發展條例之運用

領域	分類	問題	建議 102 年對策方案
	製劑研發	產品使用效率	1. 製劑新使用途徑之研究 2. 增加製劑使用效率之研究
	人才培育	特殊專業人才培育	1. 品質管制、製程管制、資訊分析、消費者保護等教育訓練
	產業品質提昇	產品與服務品質一致	1. 建立產業品質（自主）評鑑機制 2. 推動 GSP
	產業聯盟	產業資源利用最大化	1. 建立兩岸分工作業模式 2. 分析市場規模
	智慧財產保護	適用中醫藥之智慧財產權法規	1. 適用中醫藥之藥事法規 2. 配合推動智慧財產權法規變革

(九) 為更完整規劃中醫藥科技研究方向，依第一次核心小組專家建議，以「重大社會議題」及「前瞻性議題」二大方向，修正研究方向架構如下：

重大社會議題

領域	分類	問題	對策方案
產品 （藥品） （本土及大陸藥材） （醫材） （生醫）	品質	1. 市售中藥製劑製造品質瑕疵（藥材混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染含量）	1. 製劑 GMP 製造管制標準解說書 2. 制定製劑異雜物含量標準 3. 國際法規協和
		2. 市售中藥材混誤用	1. 推動建立 GAP 制度 2. 藥材產地契作 3. 中藥(材)誤混用檢驗方法之開發與提升研究
		3. 市售中藥材製造品質瑕疵（農藥殘留、重金屬及生菌污染含量）	1. 制定中華中藥典有關農藥殘留、重金屬及生菌污染標準 2. 中藥(材)檢驗方法之開發與提升研究

領域	分類	問題	對策方案
		4.尚未建立藥材品質標準（尚未以藥證列管）	1.建立飲片炮製規範 2.建立炮製工廠設置規範 3.中藥材炮製安全性研究 4.飲片包裝安全性及規格一致性之研究 5.不良品監測
		5.中國大陸藥材飲片檢驗，大包裝由質量技術監督局執行，小包裝則由藥品生物製品檢驗所執行，未開放民間經營。	1.建立檢驗實驗室相互認證機制 2.比較分析兩岸品檢單位之實驗室人力資源。
	安全	1.交互作用	複合性產品(如中草藥應用於健康食品)的安全性研究
		2.危害資訊獲得	1.安全監視、警語、注意事項 2.建立危害通報機制（report system）
		3.健康食品具有中藥成分者，其安全性應進行再評估。	1.含有中藥成分之健康食品，進行安全性再評估（例如含甘草成分久服易造成電解質下降） 2.中醫藥委員會與食品藥物管理局食品組一起審查
	療效	1.中西醫療法併用	中西醫療法併用之臨床研究與療效評估研究
		2.產品依藥品療效及食品功效分類（處方藥、指示藥、成藥、健康食品、特殊營養食品）	1.藥品再評估、再分類（濃縮及傳統製劑） 2.藥品審查基準（處方藥、指示藥、成藥） 3.藥食同源正本清源的食品低度功效（low level claim） 4.健康食品審查基準 5.特殊營養食品審查基準 6.新興中藥產品與健康食品長期追蹤研究

領域	分類	問題	對策方案
		3.進行中藥臨床試驗	1.建立健全臨床試驗環境 2.健全臨床試驗執行機制 3.國人常見疾病之選病選方研究 4.選病（國人常見疾病）選方執行臨床試驗
		4.進行健康食品功效試驗	選用使用經驗有效之藥材進行健康食品功效試驗
使用者保護	醫療	1.提昇醫療服務品質	1.診斷、處置、處方調劑專業給藥作業 2.住院醫師教育訓練
		2.中西醫藥整合性醫療服務	1.以疾病管理（disease management）（選病）為導向之中西醫藥整合性醫療服務 2.參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治
		3.中醫藥實證醫學	非健保（自費）醫療行為分析
	用藥	1.醫療團隊整合性藥事服務	宣導民眾正確就醫用藥知識
		2.保健消費	1.藥事專業人員對中藥保健品之專業能力、服務品質 2.正確用藥資訊及知識提供
		3.民眾對中醫藥認識不足	加強中醫藥保健與治病之民眾教育
產業研發創新	藥材來源	1.藥材來源多元	1.品質管控一致 2.境內外管制(源頭管制及市售品查驗)
	產業品質提昇	2.產品與服務品質一致	1.建立產業品質（自主）評鑑機制 2.推動 GSP

前瞻性議題

領域	分類	問題	對策方案
產品 （藥品） （本土及大陸藥材） （醫材） （生醫）	品質	1.藥材品質檢驗資源不足	1.實驗室認證及驗證基準(GLP) 2.認證及驗證機制法制化 3.檢驗方法之開發與提升研究 4.中藥源頭認證驗證機制與中藥材之檢驗認證基準之建置追蹤及評估研究
		2.藥典規格、檢驗標準	1.參考中國大陸中藥典，嚴謹修定中華中藥典檢驗規格標準 2.GMP 品質管制與檢驗標準作業解說書 3.中華中藥典編修與科學應用研究 4.中藥標準品製備研究
	安全	1.不良反應	1.建立風險評估機制（risk assessment） 2.安全監視、警語、注意事項 3.強化消費者用藥安全實證與實驗研究
		2.交互作用	1.交互作用風險管理（risk management） 2.流行病學調查 3.中西藥或食品併用之研究
	療效	1.中醫藥生技(含新療效、新藥材、新使用部位、新複方之臨床試驗)	1.中藥新藥臨床試驗標準作業程序 2.選病（國人常見疾病）執行臨床試驗 3.傳統中藥之療效評估研究 4.創新複方之療效評估研究 5.新資源(本土藥材或天然物)之療效評估研究

領域	分類	問題	對策方案
			6.中醫診療器材之療效評估研究 7.針灸相關療法之療效評估研究
		2.中草藥進行療效研究宜依療效及功能，分別制定臨床試驗方式	1.治療疾病之療效研究，以臨床試驗為主 2.改善身體功能之健康研究，以觀察試驗為主
		3.中西適應症（病名）一致化	1.中西醫學整合 2.國際（兩岸）法規協和
		4.分析儀器的有效性	訂定指標成分及附屬成分的分析,注意分析儀器的有效性
使用者保護	醫療	1.提昇醫療服務品質	1.推動「中醫住院」，維護病患照護權益 2.住院環境建置（由門診、會診到中醫住院） 3.住院醫師教育訓練 4.加強中醫診斷方法及工具 5.診斷、處置、處方調劑專業給藥作業 6.門診、住院分流管理
		2.中西醫藥整合性醫療服務	1.民眾認知與選擇醫療方式（選擇中醫治療、選擇中西醫整合治療） 2.以疾病管理（disease management）（選病）為導向之中西醫藥整合性醫療服務 3.參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治

領域	分類	問題	對策方案
		3.中醫藥實證醫學	1. 充分擷取國際中醫藥有關資訊 2. 參酌 WHO 傳統醫學處在 ICD-11 加入之中醫藥證型研究 3. 中醫診療方法研究 4. 建立中醫實證醫學機制 5. 診斷、治療基準與規範 6. 結合中藥界及其他學校共同執行實證基礎的學術研究 7. 依中醫哲學建立中醫藥臨床試驗基準，研究設計應予區隔
		4.健保醫療資源利用	中醫健保使用行為分析
		5.中醫藥數位管理	1. 建立中醫藥醫療服務數位網絡系統 2. 國際中醫藥科技政策資訊分析 3. 中醫藥數位學習環境 4. 加強中醫藥資訊於資通訊產品上之普遍使用性
		6.我國與中國大陸研究成果蒐集、評估、運用，加強向學術界宣導，公諸大眾，讓意見領袖（opinion leader）充分知曉，以利取得合理研究經費	1. 與中國大陸密切合作，蒐集各項計畫之研究成果，評估可接受之中國大陸相關研究成果 2. 整理我國過去中醫藥研究成果，不重複執行，落實施行於臺灣 3. 分類整理具有指標性的研究成果，加強向學術界宣導

領域	分類	問題	對策方案
	用藥	醫療團隊整合性藥事服務	1. 醫師與藥事人員合作，回饋治療結果資訊（藥事照護 pharmaceutical care 初探） 2. 醫師用藥及藥事人員交付藥物繼續教育
產業研發創新	藥材來源	藥材來源多元	1. 本土資源開發利用 2. 中藥資源之培育研究
	法規協和	適用中醫藥之相關法規	1. 國際法規協和及建立兩岸合作介接機制 2. 建立適用中醫藥之藥事法規 3. 產業創新條例及生技新藥發展條例之運用
	製劑研發	產品使用效率	1. 製劑新使用途徑之研究 2. 增加製劑使用效率之研究
	人才培育	特殊專業人才培育	品質管制、製程管制、資訊分析、消費者保護等教育訓練
	產業品質提昇	產品與服務品質一致	1. 建立產業品質（自主）評鑑機制 2. 推動 GSP
	產業聯盟	產業資源利用最大化	1. 建立兩岸分工作業模式 2. 分析市場規模
	智慧財產保護	適用中醫藥之智慧財產權法規	1. 適用中醫藥之藥事法規 2. 配合推動智慧財產權法規變革

(十) 再經五次會議討論後，依核心小組專家建議，以產品品質安全、使用者保護、中醫藥產業創新研發、組織變革以及衛生教育等構面就相關問題予以分類，擬具 101-104 年度研究對策方案修正研究方向架構如下：

1.任務導向議題（以重大社會事件為主）

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
產品（藥品）（本土及大陸藥材）	品質	1.市售中藥製劑製造品質瑕疵(藥材混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染含量)	1. 製劑 GMP 製造管制標準解說書 2. 制定製劑異雜物含量標準 3. 國際法規協和
		2.市售中藥材混誤用	1. 推動藥材產地契作建立 GAP 制度 2. 兩岸互推溯源計畫及生產履歷制度 3. 中藥(材)混誤用鑑別(定)方法之開發與提升研究
		3.市售中藥材製造品質瑕疵(農藥殘留、重金屬及生菌污染含量)	1. 制定中華中藥典有關農藥殘留、重金屬及生菌污染標準 2. 中藥(材)檢驗方法之開發與提升研究(建議由 TFDA 執行)
		4.尚未建立藥材品質標準(尚未以藥證列管)	1. 定義飲片建立飲片炮製規範 2. 建立炮製工廠設置規範 3. 中藥材炮製安全性研究 4. 飲片包裝安全性及規格一致性之研究 5. 不良品監測
		5.中國大陸藥材飲片之檢驗，大包裝由質量技術監督局執行，小包裝則由藥品生物製品檢驗所執	1. 建立檢驗實驗室相互認證機制 2. 比較分析兩岸品檢單位之實驗室人力資源及品質

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		行，未開放民間經營	
		1.中草藥複合性產品可能產生之交互作用	中草藥複合性產品(例如中草藥應用於健康食品)的安全性研究
		2.中草藥產品危害資訊獲得	1. 安全監視、警語、注意事項 2. 建立危害通報機制（report system）
		3.健康食品具有中藥成分者，其安全性應進行再評估。	1. 含有中藥成分之健康食品，進行安全性再評估（例如含甘草成分久服易造成電解質下降） 2. 中醫藥委員會與食品藥物管理局食品組一起審查
	療效	1.中西醫療法併用中西藥之實證	中西醫療法併用藥物之臨床研究與療效安全評估研究
		2.產品依藥品療效及食品功效分類(處方藥、指示藥、成藥、健康食品、特殊營養食品）	1. 藥品再評估、再分類（濃縮及傳統製劑） 2. 藥品審查基準（處方藥、指示藥、成藥） 3. 藥食同源正本清源的食品低度功效(low level claim) 4. 健康食品審查基準 5. 特殊營養食品審查基準 6. 新興中藥產品與健康食品長期追蹤研究 7. 建議由 TFDA 執行
		3.進行中藥臨床試驗	1. 建立健全臨床試驗環境 2. 健全臨床試驗執行機制 3. 國人常見疾病之選病選方研究 4. 選病（國人常見疾病）選方執行臨床試驗

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		4.進行健康食品功效試驗	選用使用經驗有效之藥材進行健康食品功效試驗
使用者保護	醫療	1.提昇醫療服務品質	1. 建立診斷、處置、處方調劑專業給藥作業標準 2. 住院醫師教育訓練 3. 中醫護理人員教育訓練
		2.中西醫藥整合性醫療服務	1. 建立指定疾病之中西醫結合病房、中西醫聯合門診、中西醫合治臨床試驗 2. 選擇特定疾病，以傳統西醫確保病患之基本療效（醫學倫理之必要），再加用中醫藥或針灸以提升有效率或縮短病程或節約醫療費用或降低副作用。例如： (1) 腦中風亞急性期住院病患→中西醫合治病房 (2) 類風濕性關節炎(自體免疫性疾病)＋中藥→中西醫合治臨床試驗 (3) Sick sinus syndrome (病竇綜合症) ＋中藥→節省使用人工心律調整器節省醫療成本 (4) Irritable bowel syndrome ＋中藥→減少腹瀉次數改善生活品質 (5) 更年期症候群＋中藥→減少對荷爾蒙製劑使用改善生活品質 (6) 其他疾病之動物實驗

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
			模式 3. 參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治 4. 長期照護及銀髮族中醫醫療照護服務系統
		3.中西醫擇一執業影響中西醫結合治療。	評估中西醫擇一執業法規鬆綁
		4.於未鬆綁中西醫擇一執業之前，如何考量中西醫師共同診治，設置中西醫結合之臨床實效研究，由中西醫互相配合	建立中西醫結合之臨床實效研究
		5.中醫藥實證醫學	非健保(自費)醫療行為分析
	用藥	1.醫療團隊整合性藥事服務	宣導民眾正確就醫用藥知識
		2.保健消費	1. 藥事專業人員對中藥保健品之專業能力、服務品質 2. 正確用藥資訊及知識提供
		3.民眾對中醫藥認識不足	加強中醫藥保健與治病之民眾教育
中醫藥產業創新研發	醫療產業發展	1.因應以病人為中心及全人醫療之就醫趨勢，探究應由中醫師或西醫師單獨推動，抑或由中醫師與西醫師共同合作推動，何者較為可行？現行中醫師與西醫師養成教育有無調整之必要？若有，應	1. 評估醫學教育允許中西雙修（中＋西；中學西；西學中）之可行性 2. 評估每醫學系開中醫學概論課程之可行性 3. 以教、考、訓、用一致性，探討中西醫學養成教育、考試制度及臨床訓練方式

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		如何調整？又考量教、考、訓、用之一致性，相關醫師考試制度及臨床訓練方式，是否亦應一併檢討？	
		2.美國採取「整合醫療計畫」（integrated medicine program），德國醫學納入針灸，日本中西醫學皆可同時執行，韓國及中國大陸亦皆結合中西醫學，應研議中西醫學整合模式，研究各國執行方式，作為我國執行之參考。中西醫學整合應先區分疾病嚴重程度，中醫可以提供到什麼程度的醫療服務。	1. 中西醫學整合之模式及可行性研究 2. 評估中西雙執照同時健保給付之可行性之調整規劃
	醫藥人力資源開發合理分布	1.中醫師人力數量已達飽和狀態，為提高中醫師專業素養及解決地理分布嚴重不均等問題，應研議規劃如何增進中醫師就業素質及合理分布，針對各項問題積極尋求解決方案。	增進中醫師就業素質及合理分布之研究
		2.為充分利用中醫藥人力資源，應積極執行中醫藥人才開發	1. 規劃中醫師「中醫＋中藥」之整體教考用訓練系統 2. 規劃臺灣中醫向國際輸出

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		及規劃	模式
	藥材來源	1.藥材來源多元	1. 品質管控一致 2. 境內外管制（源頭管制及市售品查驗）
	產業品質提昇	2.產品與服務品質一致	建立產業品質（自主）評鑑機制推動 GSP
衛生教育	社區	1. 中醫藥醫療利用普遍，民眾多次就醫及重複用藥情況日益嚴重，除造成醫療資源浪費，更可能危害民眾用藥安全。 2. 為加強國人中醫就醫、中藥用藥安全觀念，針對不同族群，建構健全完整之中醫藥衛生教育服務網絡，以加強民眾對於中醫藥的認知、信賴及正確使用，進而導正民眾對於中醫藥用藥安全的認知與行為。 3. 臺灣 65 歲以上老人佔總人口數 10.63%（內政部 2009 年統計），高齡化社會有關老人就醫需求及用藥安全之衛教宣導值得重視。 4. 社區老人常由同儕	1. 建立社區及職場民眾中醫藥相關之衛生教育宣導平台，充分利用社區基層醫療及藥局資源，訓練種子教師，於各類適當場所辦理宣導活動。 2. 以老年人口可接受之模式，製作適合老年人口之各類 CF 片，手冊及 DM。 3. 結合社區鄰里、發展協會、公私立機構、職場，加強中醫藥物食品管理之衛生教育宣導，確保民眾健康中醫藥生活。 4. 建構偏遠地區中醫藥醫療教育服務設施，提升中醫藥醫療照護品質。 5. 結合各類公私部門場域，社區鄰里、發展協會、社區大學等單位，共同營造社區中醫藥醫療資源安全利用。

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		朋友介紹，於公園、廟口聚集處，遊覽車上、有線第四台、地下電台等管道接觸中醫藥訊息，造成錯誤就醫用藥行為。 5. 提供偏遠和離島地區的民眾全面的醫療照顧，縮短中醫藥醫療照護品質城鄉差距，同時提供醫師、藥師及護理人員的教學訓練機會，對於偏鄉醫療與教育具有極重大意義與影響。	
	醫療院所	積極推動中醫藥用藥安全宣導並結合相關配套措施共同施行，以強化民眾參與實踐中醫藥健康生活意願。	1. 建置中醫藥安全資訊平台。 2. 強化與醫療院所、地方診所、社區藥局連結，共同推動中醫藥安全醫療及辦理用藥安全衛教。 3. 透過社區教育機制結合醫院、專業藥師、學者及培訓志工，於全國社區宣導正確中醫用藥課程，正確傳達藥物的使用並維護民眾知的權利。

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
	學校	1. 個人觀念與習慣的養成，由從小灌輸正確就醫用藥觀念開始。 2. 藉由各級學校宣導，將中醫藥衛生教育宣導，由下而上紮根，將中醫藥推動現況及正確資源運用教導給學生，讓中醫藥校園化，更進而將訊息傳遞給家人。	1. 建立包括核心內容、核心人力及核心能力之中醫藥衛生教育核心主軸。 2. 建置中藥查詢資料庫，建立教學模組，提供民眾用藥安全知識平台，教導民眾辨識常見易混淆及誤用中藥材，認識中藥及中藥用藥安全，勿隨意購買不明中藥材。 3. 研發製作各層級學校中醫藥衛生教育指標及分類教材教綱，設計用藥安全認知（KAP）評估量表。

2.前瞻性議題（以未來實證為主）

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
產品（藥品）（本土及大陸藥材）	品質	1.藥材品質檢驗資源不足	1. 實驗室認證及驗證基準(GLP) 2. 認證及驗證機制法制化 3. 檢驗方法之開發與提升研究 4. 中藥源頭認證驗證機制與中藥材之檢驗認證基準之建置追蹤及評估研究 5. 建議由 TFDA 執行
		2.藥品成品污染物（如塑化劑）	1.預測污染可能 2.檢驗方法之開發
		3.藥典規格、檢驗標準	1. 參考中國大陸中藥典，嚴謹修定中華中藥典檢驗規格標準 2. GMP 品質管制與檢驗標準作業解說書 3. 中華中藥典編修與科學應

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
			用研究 4. 中藥標準品製備研究
	安全	1.不良反應之安全監視	1. 建立風險評估機制（risk assessment） 2. 安全監視、警語、注意事項 3. 強化消費者用藥安全實證與實驗研究
		2.中西藥或食品併用之交互作用	1. 交互作用風險管理（risk management） 2. 流行病學調查 3. 中西藥或食品併用之研究
	療效	1.中醫藥生技(含新療效、新藥材、新使用部位、新複方之臨床試驗)	1. 中藥新藥臨床試驗標準作業程序 2. 選病（國人常見疾病）執行臨床試驗 3. 傳統中藥之療效評估研究 4. 創新複方之療效評估研究 5. 新資源(本土藥材或中草藥)之療效評估研究 6. 中醫診療器材之療效評估研究 7. 針灸相關療法之療效評估研究
		2.中草藥進行療效研究宜依療效及功能，分別制定臨床試驗方式	1. 治療疾病之療效研究，以臨床試驗為主 2. 改善身體功能之健康研究，建立簡易臨床試驗模式
		3.中西適應症（病名）一致化	1. 中西醫學整合 2. 國際（兩岸）法規協和
		4.分析儀器的有效性	訂定指標成分及附屬成分的分析，注意分析儀器的有效性

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
使用者保護	醫療	1.提昇醫療服務品質	1. 推動「中醫住院」，維護病患照護權益 2. 住院環境建置（由門診、會診到中醫住院） 3. 住院醫師教育訓練 4. 加強中醫診斷方法及工具 5. 診斷、處置、處方調劑專業給藥作業 6. 門診、住院分流管理
		2.中西醫藥整合性醫療服務	1. 民眾認知與選擇醫療方式（選擇中醫治療、選擇中西醫整合治療） 2. 以疾病管理（disease management)（選病）為導向之中西醫藥整合性醫療服務 3. 參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治
		3.美國採取整合醫療計畫（integrated medicine program)，德國醫學納入針灸，日本中西醫學皆可同時執行，韓國及中國大陸亦皆結合中西醫學，應研究各國執行方式，作為我國執行之參考。	重視美、韓、日結合醫學之發展，並促進國際傳統醫學交流合作
		4.「中醫師加上西醫師」的整合，最大的問題在「責任歸屬」，當兩位醫師面對同一個病患，究竟	建立中西醫療會診者責任制度

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		誰應該為病患的狀況負起責任？	
		5.中西醫是否可在互利的原則下達成平衡，各開放一部分簡單的診療或操作方式給對方。	評估中西醫互助機制，相互開放部分診療操作項目
		6.中西醫學整合應先區分疾病嚴重程度，中醫可以提供到什麼程度的醫療服務。	以疾病嚴重程度評估中醫提供醫療服務
		7.中醫藥實證醫學	1. 充分擷取國際中醫藥有關資訊 2. 參酌 WHO 傳統醫學處在 ICD-11 加入之中醫藥證型研究 3. 中醫診療方法研究 4. 建立中醫實證醫學機制 5. 診斷、治療基準與規範 6. 結合中藥界及其他學校共同執行實證基礎的學術研究 7. 建立中醫藥臨床試驗基準，區隔研究設計
		8.健保醫療資源利用	中醫健保使用行為分析
		9.中醫藥數位管理	1. 建立中醫藥醫療服務數位網絡系統 2. 國際中醫藥科技政策資訊分析 3. 中醫藥及護理數位學習環境 4. 加強中醫藥資訊於資通訊

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
			產品上之普遍使用性
		10.我國與中國大陸研究成果蒐集、評估、運用，加強向學術界宣導，公諸大眾，讓意見領袖（opinion leader）充分知曉，以利取得合理研究經費	1. 與中國大陸密切合作，蒐集各項計畫之研究成果，評估可接受之中國大陸相關研究成果 2. 整理我國過去中醫藥研究成果，不重複執行，落實施行於臺灣 3. 分類整理具有指標性的研究成果，加強向學術界宣導
		11.現代化中如何對中醫藥古籍作適當整理，編輯成為可用的指引或教科書	適當整理中醫藥古籍，編輯現代版可用之指引或教科書
		12.「專業人員」、「執業規範」、「醫療保險給付」及「產品使用類別」制度，與①中國大陸②日、韓、港、星③歐美等三群組國家之作法不同，宜參考檢討我國制度。	1. 探討①中國大陸②日、韓、港、星③歐美等三群組國家之作法，檢討現行「專業人員」、「執業規範」及「產品使用類別」，規劃制定具未來性之法令規範。 2. 探討①中國大陸②日、韓、港、星③歐美等三群組國家之作法，檢討現行「醫療保險給付」對中醫發展的影響及未來改革方向。
	用藥	1.醫療團隊整合性藥事服務	1. 醫師與藥事人員合作，回饋治療結果資訊（藥事照護 pharmaceutical care 初探） 2. 醫師用藥及藥事人員交付藥物繼續教育

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		2.規劃中醫臨床訓練納入中藥課程，開拓中醫藥之新市場	規劃中醫臨床訓練納入中藥課程研究
中醫藥產業創新研發	醫療產業發展	現存中醫師之考選制度尚有改進空間。如何提升中醫師的職業責任感？如何將人才留在大型醫院？針對未來中醫學系是要幾年制？如何因應 103 年西醫由七年改為六年制，中西醫雙主修何去何從？中醫如何去配合西醫將採之 PGY（post-graduate year）制度？學士後中醫學系制度是否應予檢討？這些問題都是全面提升中醫師素質的關鍵。	評估建立未來中醫師之教考用制度
	中醫藥人力資源開發合理分布	1.從改變「市場」的角度思考中醫師飽和問題，開拓「健康管理」全新市場，導入中醫師大學教育到前兩年臨床教育，更進一步建議將預防醫學及健康管理概念納入健保，或許可以緩和地理分配不均之問題。	中醫師納入預防醫學及健康管理概念以評估教育制度之變革

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
		1. 臺灣中醫師之培育，在「中西合併」以及「學士後中醫」，皆屬雙專業結合，在國際上亦屬特殊罕見之高品質，應予善加利用，並可以考慮向國際輸出。 2. 發展傳統中醫並促進國際合作，應先瞭解國際哪些國家對傳統醫學有實際需求，產業界亦可帶頭思考國際性需求及供應策略，以文化交流輸出雙專長中醫人人力供應，實際規劃推展路線並據以執行，將人才實際帶到國外開拓出中醫新市場。	輸出中醫藥人才，開拓國外中醫新市場
	藥材來源	藥材來源多元	1. 本土資源開發利用 2. 中藥資源之培育研究
	法規協和	適用中醫藥之相關法規	1. 國際法規協和及建立兩岸合作介接機制 2. 建立適用中醫藥之藥事法規 3. 產業創新條例及生技新藥發展條例之運用
	製劑研發	產品使用效率	1. 製劑新使用途徑之研究 2. 增加製劑使用效率之研究
	人才培育	特殊專業人才培育	品質管制、製程管制、資訊分析、消費者保護等教育訓練

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
	供應服務品質提昇	產品與服務品質一致	1. 建立產業品質（自主）評鑑機制 2. 推動 GSP
	產業聯盟	產業資源利用最大化	1. 建立兩岸分工作業模式 2. 分析市場規模
	智慧財產保護	適用中醫藥之智慧財產權法規	1. 適用中醫藥之藥事法規 2. 配合推動智慧財產權法規變革
組織變革	部門分工	1. 中醫藥委員會 101 年歸併衛生福利部 2. 國立中國醫藥研究所改隸衛生福利部	建立部所政策分工及法制化
	法規協和	部所合作	部門合作介接機制及法制化
	國際學術合作	1. 兩岸學術合作 2. 國際學術合作	建立國際學術研究合作之機制
衛生教育	整合教育資源	1. 探討並整合全國中醫藥衛生教育服務人力及物力資源，結合各類傳播媒體，以創新研發以及多元傳播的方式，傳播民眾對於中醫藥用藥安全的認知與行為。 2. 充分利用中醫藥衛生教育服務資源，促進中醫藥健康知識的普及。	1. 規劃成立中醫藥衛生教育資源中心，整合全國中醫藥衛生教育服務人力及物力資源，建置各類衛生教育媒體傳播平台之開發與利用模式。 2. 研發中醫藥衛生教育模式。 3. 彙編每年度各類中醫藥衛生教育成果專輯。
	教育成果監測	1. 規劃建立監測與評估機制，針對衛生教育訓練成果資料	1. 辦理各項中醫藥衛生保健議題之訪問調查。 2. 整體調查評價教材設計成

領域	分類	問題	101-104 年度研究對策方案
衛生教育		彙整及評析，了解中醫藥衛生教育訓練推廣及施行情形。 2. 將具衛生教育意涵之調查結果及相關政策宣導事項，傳達予一般民眾，以期推廣正確的中醫藥知識。	效，執行成效作系統化效益評估，結果以調查報告、新聞稿或專題研究報告等形式對外發布。
	強化中醫藥衛生教育提供者之專業知能	1. 醫藥法規之目的,在經由醫藥專業人員提供醫療服務及藥品,並執行正確用藥諮詢服務。 2. 加強中醫師、中醫護理人員及中藥藥事專業人員之繼續教育或常規訓練,提昇中醫藥衛生教育品質及普及化。	1. 系統化探討整體中醫藥衛生教育提供者之專業知能。 2. 規劃普及中醫藥衛生教育提供者之專業知能繼續教育或常規訓練，建立藥師、中藥商中藥繼續教育初階、進階訓練課程內容。 3. 發展由相關團體輔導會員學習認證機制。

四、依據「預測未來十年中醫藥衛生與健康變遷」計畫結果，針對國內外之中醫藥環境變遷之問題作系統分析，提出具體的未來環境預測。

(一) 中醫藥委員會原規劃委辦之「預測未來十年中醫藥衛生與健康變遷」計畫（99 年度推動中醫藥國際化及前瞻性政策規劃類委託研究計畫 2-12：中醫藥變遷影響衛生與健康政策的預測），因故未能委辦,本計畫乃蒐集中國大陸於 2011 年 3 月 14 日由第十一屆人民代表大會通過「第十二個五年計畫綱要」,WHO、美國、歐盟、日本及中國大陸近期最新中草藥法規，以及國際標準化作系統分析，作為未來中醫藥環境預測之方向。

(二) 中國大陸「第十二個五年計畫綱要」（2011 年 3 月 14 日第十一屆人民代表大會通過）

1. 與中醫藥有關之條文如下：

第三十四章 完善基本醫療衛生制度

按照保基本、強基層、建機制的要求，增加財政投入，深化醫藥衛生體制改革，建立健全基本醫療衛生制度，加快醫療衛生事業發展，優先滿足群眾基本醫療衛生需求。

第一節 加強公共衛生服務體系建設

完善重大疾病防控等專業公共衛生服務網路。逐步提高每人平均基本公共衛生服務經費標準，擴大國家基本公共衛生服務項目，實施重大公共衛生服務專項，積極預防重大傳染病、慢性病、職業病、地方病和精神疾病，提高重大突發公共衛生事件處置能力。逐步建立農村醫療急救網路。普及健康教育，實施國民健康行動計劃。全面推行公共場所禁煙。70%以上的城鄉居民建立電子健康檔案。孕 產婦死亡率降到22／10 萬，嬰兒死亡率降到 12‰。

第二節 加強城鄉醫療服務體系建設

加強以縣醫院為龍頭、鄉鎮衛生院和村衛生室為基礎的農村三級醫療衛生服務網路建設，完善以社區衛生服務為基礎的新型城市醫療衛生服務體系，新增醫療衛生資源重點向農村和城市社區傾斜。大力推進基層醫療衛生機構綜合改革，建立多渠道補償機制，形成新的運作機制。加強以全科醫生為重點的基層醫療衛生隊伍建設，完善鼓勵全科醫生長期在基層服務政策，每萬人口全科醫師數達到 2 人。加快推行分級診療、雙向轉診制度，形成各類城市醫院和基層醫療機構分工協作格局。完善區域衛生規劃，鼓勵和引導社會資本舉辦醫療機構，放寬社會資本和外資舉辦醫療機構的準入範圍，形成多元辦醫格局。

第三節 健全醫療保障體系

健全覆蓋城鄉居民的基本醫療保障體系，進一步完善城鎮職工基本醫療保險、城鎮居民基本醫療保險、新型農村合作醫療和城鄉醫療救助制度。逐步提高城鎮居民醫保和新農合每人平均籌資標準及保障水準並縮小差距。提高城鎮職工醫保、城鎮居民醫保、新農合最高支付限額和住院費用支付比例，全面推進門診統籌。做好各項制度間的銜接，整合經辦資源，逐步提高統籌層次，加快實現醫保關係轉移接續和醫療費用異地就醫結算。全面推進基本醫療費用即時結算，改革付費方式。積極發展商業健康保險，完善補充醫療保險制度。

第四節 完善藥品供應保障體系

建立和完善以國家基本藥物制度為基礎的藥品供應保障體

系。基層醫療衛生機構全面實施國家基本藥物制度，其他醫療衛生機構逐步實現全面配備、優先使用基本藥物。建立基本藥物目錄動態調整機制，完善價格形成機制和動態調整機制。提高基本藥物實際報銷水準。加強藥品生產管理，整頓藥品流通秩序，規範藥品集中採購和醫療機構合理用藥。

第五節 積極穩妥推進公立醫院改革

堅持公立醫院的公益性質，積極探索政事分開、管辦分開、醫藥分開、營利性和非營利性分開的有效形式。推進現代醫院管理制度，建立科學合理的用人機制和分配製度。改革公立醫院補償機制，積極推進支付方式改革。以病人為中心大力改進公立醫院內部管理，優化服務流程，規範診療行為，改善醫患關係，方便群眾就醫。推進註冊醫師多點執業，建立住院醫師規範化培訓制度。注重調動醫務人員積極性。

第六節 支援中醫藥事業發展

堅持中西醫並重，發展中醫醫療和預防保健服務，推進中醫藥繼承與創新，重視民族醫藥發展。發展中醫藥教育，加強中醫醫療機構和中醫藥人才隊伍建設。加強中藥資源保護、研究開發和合理利用，推進品質認證和標準建設。醫療保障政策和基本藥物政策要鼓勵中醫藥服務的提供和使用。

第五十一章 優化對外貿易結構

繼續穩定和拓展外需，加快轉變外貿發展方式，推動外貿發展從規模擴張向質量效益提高轉變、從成本優勢向綜合競爭優勢轉變。

第一節 培育出口競爭新優勢

保持現有出口競爭優勢，加快培育以技術、品牌、質量、服務為核心競爭力的新優勢。提升勞動密集型出口產品質量和檔次，擴大機電產品和高新技術產品出口，嚴格控制高耗能、高污染、資源性產品出口。完善政策措施，促進加工貿易從組裝加工向研發、設計、核心元器件製造、物流等環節拓展，延長國內增值鏈條。完善海關特殊監管區域政策和功能，鼓勵加工貿易企業向海關特殊監管區域集中。鼓勵企業建立國際營銷網絡，提高開拓國際市場能力。積極開拓新興市場，推進出口市場多元化。

第二節 提升進口綜合效應

優化進口結構，積極擴大先進技術、關鍵零部件、國內短缺資源和節能環保產品進口，適度擴大消費品進口，發揮進口對宏觀經濟平衡和結構調整的重要作用，優化貿易收支結構。發揮我

國巨大市場規模的吸引力和影響力，促進進口來源地多元化。完善重要農產品進出口調控機制，有效利用國際資源。

第三節　大力發展服務貿易

促進服務出口，擴大服務業對外開放，提高服務貿易在對外貿易中的比重。在穩定和拓展旅遊、運輸、勞務等傳統服務出口同時，努力擴大文化、中醫藥、軟件和信息服務、商貿流通、金融保險等新興服務出口。大力發展服務外包，建設若干服務外包基地。擴大金融、物流等服務業對外開放，穩步開放教育、醫療、體育等領域，引進優質資源，提高服務業國際化水平。

2.「十二五」中醫藥事業發展主要有 9 項任務（大陸於 2011 年 1 月 13 日召開全國中醫藥工作會議）：

(1) 加強中醫醫療預防保健服務體系建設。重點推進縣中醫醫院達標建設，完成鄉鎮衛生院和社區衛生服務中心中醫科和中藥房標準化建設，提高村衛生室和社區衛生服務站中醫藥服務能力。推動中醫醫療機構和基層醫療衛生機構開展中醫預防保健服務，完善服務規範。鼓勵和引導社會資本舉辦中醫醫療和預防保健服務機構，形成多元化辦醫格局。

(2) 加強中醫藥應急救治能力和重大疾病防治網路建設。完善中醫藥參與的工作機制和應急網路，建設一批中醫藥防治傳染病臨床基地，推進傳染病醫院中醫藥科室建設，基本形成傳染病中醫藥防治網路。加強重點專科（病）和特色專科建設，形成中醫藥防治重大疾病的協作網路。促進中西醫結合。

(3) 推進中醫藥繼承與創新。建設名老中醫傳承工作室及中醫學術流派傳承工作室，系統整理中醫古籍文獻。加強中醫臨床研究基地建設和中醫藥防治傳染病、慢性非傳染性疾病的臨床科研體系建設，基本建立中醫藥繼承創新體系。

(4) 加強中醫藥人才隊伍建設。推動中醫藥院校教育改革，加強重點學科建設。實行畢業後教育，強化中醫住院醫師規範化培訓。推進中醫藥師承教育，完善繼續教育網路。加強臨床高層次人才培養，加快基層中醫藥人才培養和培訓。開展中醫藥行業特有工種技能培訓和鑒定工作。建立健全中醫藥人才激勵機制。

(5) 提升中藥產業發展水準。建立全國中藥資源普查、監測制度。加強中藥生產關鍵技術研究與應用。加強道地藥材的保護和利用。發展中醫藥相關健康產業。

(6) 加快民族醫藥事業發展。加強民族醫院基礎設施和民族地區

基層醫療衛生機構民族醫科建設。發展民族醫藥高等教育。加強民族醫藥挖掘繼承工作，扶持民族藥開發與使用。

(7) 繁榮發展中醫藥文化。建立中醫藥知識及文化傳播網路，建設一批宣傳教育基地。建設國家中醫藥博物館。做好中醫藥非物質文化遺產的保護傳承。

(8) 加強中醫藥法制化、標準化與資訊化建設。推進中醫藥法規體系建設。基本建立中醫藥標準體系，建立一批標準化研究中心、實施推廣基地，完善標準化工作支撐體系。完善中醫藥電子政務公共服務體系，基本實現中醫藥資訊與醫藥衛生資訊互聯互通、資源分享。

(9) 推動中醫藥走向世界。鞏固和拓展與外國政府及國際組織間的合作，發展民間交流與合作。加強中醫藥文化海外傳播，促進服務和產品貿易。推進中醫藥標準國際化進程。深化與港澳臺地區的合作，發揮其在中醫藥走向世界中的獨特作用。

3. 「十二五」中醫藥事業發展的總體目標，是到 2015 年，中醫藥管理體制和運行機制更科學合理，中醫醫療服務和應急體系更完善，中醫預防保健服務體系初步構建，服務能力顯著提高；中醫藥人才素質明顯改善，結構更趨合理；繼承創新體系基本建立，傳承研究成效顯著；中藥產業發展水準進一步提升，現代中藥工業體系建設和產業創新能力得到加強；中醫藥文化業態更豐富，文化資源得以有效開發利用；實現中醫藥立法，標準規範體系進一步健全，資訊化水準進一步提升；國際交流與合作成效更顯著，在國際傳統醫藥領域優勢地位得到鞏固和加強，基本實現中醫藥醫療、保健、科研、教育、產業、文化全面協調發展。

(三) WHO、美國、歐盟、日本及中國大陸最新中草藥法規

1. WHO 最近中草藥法規

(1) WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues

由於世界各國使用中草藥持續增加，全球市場也迅速擴展，藥用植物原料及中藥製劑產品之品質及安全已成為各國衛生主管機關、製藥工業及社會大眾最主要關心的議題。但因世界各國對中草藥產品之查驗登記規定不一，有為處方藥管理者，亦有為非處方藥或食品管理者，以致少部分國家之中草藥因缺乏法規管理，或對於品質管制系統之管理強度較

弱，或行銷管道之管理鬆散，而增加潛在性不良反應產生的風險。目前中草藥產品中，許多不期望且（或）不應存在的物質，被發現存在或被認為存在許多地區的中藥或藥用植物中，包括殺蟲劑、農藥、放射性物質、致病性微生物、黴菌毒素、重金屬及砷，故 WHO 為了降低中草藥不安全或品質低劣所造成的危害風險，乃於 2007 年制定本準則，請會員國參酌建立與中藥安全及品質保證有關的新的技術準則，並同時更新此領域已存在的技術。

(2) WHO guidelines on good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines

WHO 為中草藥產品之品質保證(Quality Assurance)目的，參酌「Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles」、「Supplementary guidelines for the manufacture of herbal products」、「Guidelines for the assessment of herbal medicines General Guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine」、「Quality control methods for medicinal plant materials」及「Guidelines on good agricultural and collection practices for medicinal plants」等之規定，於 2007 年針對 GMP 再行增訂。其主要針對中草藥品質保證及製造管制有關之技術需求（technical requirements）部分，作至少及原則性之規範，又該規定係以中草藥製劑（herbal medicines）為規範對象，不包括中草藥原料與動物、礦物原料或其他化學成分結合之產品在內。

(3) Traditional Medicines: Global Situation Issues and Challenges

A. 傳統藥物，包括草藥，在世界各地的一些地區已經並持續的被使用。在大部分發展中國家，70-95％的人口依賴著這些傳統藥物的初級保健。

B. 2008 年傳統醫藥的全球市場估計為每年 830 億美元，已成指數的增長率。

C. 監管狀況和相關的術語有很大差異。傳統的藥物經常作為處方或過非處方流通（OTC）藥物使用，像是自我藥療或自我保健、家庭療法，或作為膳食補充劑、保健食品、功能食品、植物性趨蟲劑。它們擁有眾多名稱隸屬於不同管轄權下，因為定義一致性極低，在國際重要通信上往往造成問題。

D. 傳統藥物的產品難以控制品質和確保安全性及療效。WHO

及 WHO 區域辦事處和會員國在此領域已經產生了一系列的技術文件，包括出版物的良好農業及徵收行為（GACP）和良好生產規範（GMP），伴隨其他技術支持，以協助標準化和建立高品質的產品。

E. 傳統藥物的監管是一個複雜且富有挑戰性的議題，因為它高度依賴過去的使用經驗。示範國家如中國，印度和南非作為可用的監管模式目前採取：制定規章指標，及針對於 WHO、非洲、東地中海、東亞地區和歐盟生產之傳統草藥或藥品進行登錄。

F. 為了提高研究的品質安全和效率，傳統藥物的評價需要改進。 醫療情況很難根據歷史上社會的不足和私人基金處理這一日益受到關注的議題。

G. 世界衛生大會（World Health Assembly）決議 62.13，由 WHO 驅策各會員國關注，並於 2009 年 5 月通過。保護和廣泛交流的傳統醫藥知識，同時制定國家政策和法規，以促進適當，安全和有效使用；進一步發展傳統醫學的基礎研究和創新，並考慮列入傳統醫學納入國家衛生系統。WHA 62.13 亦敦促各會員國相互合作，分享知識，同時努力加強常規與傳統從業人員之間的溝通。

2. 歐盟最近中草藥法規

(1) Guideline on The Use of The CTD Format in The Preparation of A Registration Application for Traditional Herbal Medicinal Products Doc. Ref. EMEA/HMPC/71049/2007

補充 Directive 2004/24/EC，目的在製造業者申請傳統草藥產品簡化作業時，提供有關『一般技術文件』全套資料的格式標準。

(2) HMPC Procedure on Management of Proposals from Interested Parties for Community List Entries and Community Herbal Monographs Doc. Ref. EMEA/HMPC/328575/2007

為了簡化及一致管理，委員會列舉中草藥物質，製劑及複方產品等用在傳統草藥醫療產品之名單。

(3) Overview of Comments Received on Draft Guideline on The Use of The CTD Format in The Preparation of A Registration Application for Tratitional Herbal Medicinal Products Doc. Ref. EMEA/HMPC/539645/2007

使用 CTD 格式登記申請傳統草藥產品準則草案

(4) Guideline on Declaration of Herbal Substances and Herbal Preparations in Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products in the SPC Doc. Ref. EMEA/HMPC/CHMP/CVMP/287539/2005

該作業準則係針對不同形式之草藥製劑，在宣稱性狀描述（SPC: Summary of Product Characteristics）部分，如何提出與 EU/(V)ICH 準則相互參考的相關文獻資料。

(5) Guideline on the assessment of genotoxicity of herbal substances/preparations Doc. Ref.EMEA/HMPC/107079/2007

因許多傳統中草藥產品（herbal medicinal products (HMPs)），雖因過去醫學使用上顯示其有一定程度的安全性已被廣為接受，然而有些安全性的問題並未經完全確認(例如基因毒性)，基於安全性之考量，歐盟 HMPC 認為非臨床研究有時仍有必要，乃制定本準則，對於如何估計或測試中草藥產品或製劑有關潛在基因毒性問題，及如何解釋其結果，規範其一般性原則與實際執行方法，並逐項說明如何進行毒性測試，以及中藥產品特殊需求實際的執行方法。

(6) Guideline on repeated dose toxicity

於 2010 年 9 月 1 日生效，為連續劑量毒性測試之準則，其中特別說明此準則亦適用於 herbal products。（The guideline should be considered also in case of herbal products）。

(7) Reflection paper on stability testing of herbal medicinal products and traditional herbal medicinal products

探討建立 HMPs 安定性資料之特殊需求，以確保產品之品質，收集之資料已整理至 HMPs/THMPs 品質問答集（Questions & answers on quality of herbal medicinal products/traditional herbal medicinal products (EMA/HMPC/41500/2010)）中。

(8) Reflection paper on the level of purification of extracts to be considered as herbal preparations

HMPC 認為草藥製劑（herbal preparation）成份中之草藥活性萃取物應依據不同的純化程度進行分類並清楚定義，以協助製造者依據不同類別申請審查，並提供審查者進行評估之參考。

3. 美國最近中草藥法規

(1) Review of Botanical Drug Products (MAPP 6007.1)

該手冊係敘明美國 CDER（Center for Drug Evaluation and Research）為確保產品品質及一致性，審查植物性新藥有關臨床試驗（IND）及新藥查驗登記（NDA）之作業流程。

(2) Transatlantic Administrative Simplification Action Plan–Final Report on implementation

總結跨大西洋行政簡化計畫執行情況。歐洲執委會和美國食品藥物管理局於 2007 年 11 月 28 日共同主持 Transatlantic Administrative Simplification (TAS)，透過組織合作，主要目標為透過簡化跨大西洋合作之行政慣例和準則。其中第 10 項為草藥訊息交流，如下表所示：

	計畫標題	2008年行動計劃要點	2010年新版
10	草藥訊息交流	EMA的草藥委員會提供FDA草案和最終專題。	將 EMA 委員會中草藥最終專著交付給FDA並持續六個月為基礎。FDA 也被邀請針對已經發佈於 EMA 網站上的專論草案提供建議，以便總結。特定植物於歐盟或美國的使用（藥用）有特設的訊息要求，也有可能發生於兩個機構之間。

4. 日本中草藥法規更新

(1) 一般用漢方製劑承認基準

日本厚生勞働省針對一般用漢方製劑有關效能之增列與變更加以規範。

(2) 改正日本藥局方第四項製劑試驗準備工作之問答 12，提及在新藥典總則中有關於口服液產品的醫藥品等有效成分之添加，有必須通過製劑均一性試驗法的規定，但營養補充劑和漢方內服液劑並不需要通過該試驗。

(3)「藥事法」部分修正（2006 年法律第 69 號）」。其中第 6 項根據第 210 條的藥事法實施條例規定厚生省大臣指定之第 2 類藥物為需要特別注意，但「藥事法第 36 條之 3 第 1 項第 1 號及第 2 號規定，由厚生勞動大臣指定的第 1 類醫藥品及第 2 類藥品」（2007 年厚生勞動省告示第 69 號）附表 2 以中藥為基礎處方之藥品除外。

(4) 公告「藥事法第 36 條之 3 第 1 項第 1 號及第 2 號規定，由厚生勞動大臣指定的第 1 類醫藥品及第 2 類藥品之部分修訂」（2011 年厚生勞動省告示第 173 號），公告同日生效。並更新第二類醫藥品（4）含有中藥處方之醫藥品及將其作為有效成分之製劑增加名單，附註於該公文附件 2。

5. 中國大陸最近中草藥法規

(1) 關於印發中藥天然藥物注射劑基本技術要求的通知

為科學規範和指導中藥、天然藥物注射劑的研究工作，保證藥品安全、有效、品質可控。

(2) 「中藥註冊管理補充規定」發佈施行

為遵循中醫藥研究規律，體現中藥註冊特點，根據「藥品註冊管理辦法」有關規定，規範中藥註冊行為，促進中醫藥和民族醫藥事業發展。

(3) 國家食品藥品監督管理局國家中藥保護品種公告

中國大陸為加強中藥品種保護管理工作，突出中醫藥特色，鼓勵創新，促進提高，保護先進，保證中藥品種保護工作的科學性、公正性以及規範性，根據「中藥品種保護條例」發布之指導原則。根據「中藥品種保護條例」的規定，國家食品藥品監督管理局批准廣州健心藥業有限公司等 16 家企業生產的 16 個中藥品種列為國家中藥保護品種。

(4) 中藥飲片用法與用量標準研究

通過對中藥飲片用法用量文獻的系統整理，對全國 18 個省 21 家三級甲等醫院 2004 年 1 月~2005 年 6 月 43 萬多張湯劑處方的數據分析，1704 位臨床專家調查及分析，總結其中 300 味中藥飲片的基本用量範圍。初步提出中藥飲片臨床用量標準的調整方案，為「中國藥典」中藥飲片用法用量項的修訂、完善提供可靠的參考數據。

(5) 藥典增修訂追蹤-中藥飲片臨床將有新規範

針對中藥飲片的用藥須知編纂將涉及性味、功能、主治、歸經、用法用量等多方面；用法用量由於古今度量衡單位不同，將準備予以規範，使之更準確，更整齊。

(6) 關於加強中藥飲片生產監督管理的通知

A. 自 2008 年 1 月 1 日起，未獲得《藥品 GMP 證書》的中藥飲片生產企業一律不得從事中藥飲片的生產經營活動。

B. 使用單位從經營企業購進中藥飲片的，必須要求經營企業提供中藥飲片生產企業的《藥品 GMP 證書》影本。

C.凡持有《藥品 GMP 證書》的中藥飲片生產企業，必須嚴格按照工藝規程自行炮製生產，且只能生產銷售認證範圍內的品種。

D.GMP 企業不得生產中藥飲片

(7) 中藥注射劑臨床使用基本原則

中國大陸近年來魚腥草注射液、刺五加注射液、炎毒清注射液、複方蒲公英注射液及魚金注射液等多個品種的中藥注射劑，因發生嚴重不良事件或存在嚴重不良反應被暫停銷售使用。為保障醫療安全和患者用藥安全，乃進一步加強中藥注射劑有關生產之管理、不良反應監測以及召回工作，並加強中藥注射劑臨床使用管理之有關規定。

(8) 藥品生產管理質量管理規範（2010 年修訂）

公告於 2011 年 3 月 1 日起施行「藥品生產管理質量管理規範（2010 年修訂）」，附錄五中藥製劑中包含範圍、原則、機構與人員、廠房設施、物料、文件管理、生產管理、質量管理、委託生產等規範。

(9) 10 種中藥材入台將實施源頭管理需提供由國家質檢總局及臺灣認可的檢驗單位證明

中國國家中醫藥管理局於 2011 年 9 月 1 日發布，說明自 2011 年 9 月 15 日起，臺灣將對大陸輸台中藥材實施源頭管理及邊境管理制度，要求大陸中藥材輸台時需提供根據台方檢測方法進行檢測的官方證明文件。

(四) 國際標準化

1. 一些國家不斷向國際標準化組織提出建立「東方醫學」（TOM）或「東亞醫學」（TEAM）標準化技術委員會及國際標準提案，同時，反對中國提出的建立“中醫藥（TCM）”技術委員會的提案。致使在國際標準化技術委員會（ISO/TC249）第一次會議上，勉強成立了暫定名為“中醫藥（TCM）”的 ISO/TC 249 技術委員會。世界衛生組織（WHO）制定傳統醫學國際疾病分類（ICD11—TM）標準，韓國、日本主動捐資並參與制定，這是各國支持傳統醫藥發展的積極行動，形成了國際合作的良好局面，但也從另一個側面反映出中醫藥發展面臨的複雜局面和嚴峻形勢。

2. 與醫藥標準化有關的國際組織機構

(1) ISO、IEC 的成立，逐漸使各行業的標準化程度得到了發展，加快國際化進程，使國家間互相交流以及市場運作得到規

範。這些組織分別以行業的特殊職能爲核心，建立與各成員國之間的聯繫平臺。通過各成員國的共同參與，增進行業領域內部的交流，收集和傳播世界範圍內的行業科學、技術和經濟訊息，促進和提高行業內貿易、生產和消費，爲專業知識交流與討論提供平臺。

(2) 國際食品法典委員會(簡稱 CAC)，是 1962 年由聯合國糧農組織(FAO)和世界衛生組織(WHO)共同創立的在政府間協調食品標準的國際組織。CAC 的工作範圍主要是編纂國際食品法典，制定、修訂食品標準，出版國際食品法典。國際食品法典以統一的形式提出并匯集了國際已采用的全部食品標準，包括所有向消費者銷售的加工、半加工食品或食品原料的標準，以及食品加工的衛生規範和其他推薦性措施等指導性條款。

(3) 國際植物保護公約(IPPC)是由聯合國糧農組織(FAO)倡導的多邊條約，由設在 FAO 植保處的 IPPC 秘書處管理。IPPC 的簽約政府有 117 個。IPPC 的設立是為防止由植物和植物產品導致的害蟲引進和傳播，以及促進各簽約國采取相應的控制措施。IPPC 的簽訂將促進各個地區和國家植保組織的技術交流，以及爲促進植保措施的協調一致提供了框架和平臺。

(4) 世界知識產權組織(WIPO)是一個致力于促進使用和保護人類智力作品的國際組織。總部設在瑞士日內瓦的世界知識產權組織，是聯合國組織系統中的 16 個專門機構之一。它管理著涉及知識產權保護各個方面的 23 項國際條約。WIPO 主要職能是負責通過國家間的合作促進對全世界知識產權的保護，管理建立在多邊條約基礎上的關于專利、商標和版權方面的 23 個聯盟的行政工作，並辦理知識產權法律與行政事宜。

3. 中國大陸相關標準化發展及規劃

(1) 2003 年 4 月 7 日公布「中華人民共和國中醫藥條例」，明確提出中醫醫療機構、從業人員和中醫藥教育機構都需遵從一定的標準，對外交流與合作，推進中醫藥的國際傳播。

(2) 中國大陸國家中醫藥管理局發布「中醫藥標準化發展規劃」（2006-2010 年），整合各方面的力量，全面推進中醫藥標準化建設，並以標準化推動中醫藥國際化的進程。

(3) 建立中醫藥國際標準的指導思想，以科學發展觀為指導，堅持企業爲主、自主創新和國際化原則，以提高國家競爭力爲

核心，全面實施標準戰略，充分發揮中醫藥標準化在中醫藥產業結構調整中的技術支撐作用，爲提高中醫藥產品質量、促進中醫藥產業發展、增强技術創新能力，促進中醫藥的對外交流與合作，推進中醫藥的國際傳播，擴大中醫藥國際貿易。

(4) 中醫藥國際標準化目標，通過機制創新和政府引導，逐步建立與市場經濟體制相適應的新型中醫藥國際標準體系；形成中醫藥國際標準和合格評定程序緊密結合的中醫藥國際標準化機制；建立符合市場經濟規律和國際規則、科學有效的標準化管理體制和運行機制。建立以中國大陸爲主的國際標準，顯著提高中國大陸實質性參與國際標準化活動的能力，進一步提高中國大陸在國際標準化舞臺上的地位、作用和影響。大力加強中醫藥國際標準制（修）訂工作，利用信息技術手段，實施對中醫藥國際標準制（修）訂各階段的監管，運用市場機制，按照公開、公平、公正原則，引導企業、大學、科研院所、學會、協會成爲參與中醫藥國際標準制訂和實施的主體，强化中醫藥國際標準與國際市場的關聯度，實現標準從需求、立項、制訂，到出版、實施過程的市場化。

(5) 源頭管理，是指中藥材從大陸出口時，需提供由國家質檢總局及臺灣認可的檢驗單位所核發的檢驗證明；邊境抽驗則指中藥材進口到臺灣海關部門後，將對紅棗、黃耆、當歸、甘草 4 種中藥材按 5%的比例進行抽驗。

(6) 建立中醫藥國際標準的主要任務，制定實施中醫藥國際行業標準，不僅有利于中醫藥與國際社會各方面的銜接，而且可以使其更加廣泛地吸收各國的先進管理與技術，促進中醫藥自身的學術發展。

(7) 目前急需制訂的中醫藥國際行業標準包括以下幾類：

A. 中醫國際標準：包括中醫藥名詞術語標準、翻譯標準，針灸取穴數據系統標準，中醫藥教育機構標準，中醫藥醫療機構標準，中醫醫療診斷、治療和療效評定規範等技術標準，中醫藥從業人員知識結構、學歷職稱、道德規範標準等。

B. 中藥國際標準：完善和提高現有中藥材質量標準、中藥飲片質量標準、中成藥的質量標準、制定中藥飲片炮製質量標準、“有毒中藥材”配伍應用後減毒增效等具中醫藥特色的質量控制標準等。

C. 中藥安全標準：積極開展中藥安全和中藥安全標準前期研究，建立中藥安全和中藥產品安全預警機制，加快制訂中藥、中藥產品安全標準，保障人民健康安全。中藥國際標準制（修）訂重點項目主要包括農藥殘留限量標準、有害重金屬等污染物限量標準、真菌毒素限量標準、有害微生物限量標準、中藥包裝材料衛生標準、中藥檢測方法標準、中藥標籤標識等。

D. 檢驗檢測標準體系：充分利用信息技術和高新技術，加快研究和推廣色譜指紋圖譜技術等先進的檢驗檢測技術的開發並形成標準，增加標準技術含量，提高標準水平，更好地保護國家利益和促進產品出口。

(8) 加強中醫藥知識產權保護與管理，提高知識產權意識，開展中醫藥知識產權綜合保護策略研究，積極探索加強中醫藥知識產權保護的有效途徑和辦法；完善相關的政策措施和管理制度；瞭解和掌握國際醫藥領域知識產權的狀況和態勢，結合科技實力和發展潛能，提出了中醫藥領域知識產權競爭的目標和措施。通過制定、完善法律法規和利用多邊協議，協調和保護知識產權。

(9) 在中醫藥研製開發、生產乃至銷售的每一個環節加強知識產權保護與管理力度，充分運用知識產權制度的保護功能和信息功能，增強中醫藥從業人員的知識權意識和運用知識產權法律手段的能力，發揮中藥優勢，加快中藥基礎性專利的產生和獲得，大幅增加中醫藥領域知識產權的數量，提高創新層次。鼓勵和支持在國外申請中藥權利，獲得保護，促使中國大陸中藥的傳統優勢轉變為現代科技優勢和經濟競爭優勢，提高中藥產業的國際競爭力。

(10) 中國大陸經國務院批准成立了世界中醫藥學會聯合會（WFCMS），最終目標是成為中醫藥的國際標準化組織，研究制定「中醫基本名詞數與中央對照國際標準」(International Standard Chinese – English Basic Nomenclature of Chinese Medicine, ISN)，建立之國家標準如下：

A. 中醫管理標準

a. 醫政管理標準：包括資質管理標準、醫療質量管理標準、服務設施設備管理標準、安全與環保管理標準

b. 教育管理標準：包括資質管理標準、教育質量管理標準、服務設施設備管理標準、安全與環保管理標準

c. 科研管理標準：包括資質管理標準、科研質量管理標準、服務設施設備管理標準、安全與環保管理標準
d. 藥事管理標準：包括資質管理標準、質量管理標準、藥品采購管理標準、服務設施設備管理標準、安全與環保管理標準、儲藏管理標準、其他管理標準
e. 中醫藥國際交流與合作管理標準
f. 中醫藥知識產權、專利保護管理標準
g. 中藥進出口管理標準
h. 醫療廣告管理標準
i. 中醫藥文獻出版管理標準
j. 中醫藥學術會議管理標準
k. 圖書館管理標準

B. 中醫工作標準
a. 中醫醫療工作標準：包括技術崗位工作標準、管理崗位工作標準、其他崗位工作標準
b. 中醫教育工作標準：包括技術崗位工作標準、管理崗位工作標準、其他崗位工作標準
c. 中醫科研工作標準：包括技術崗位工作標準、管理崗位工作標準、其他崗位工作標準
d. 中醫其他工作標準：包括技術崗位工作標準、管理崗位工作標準、其他崗位工作標準

C. 中醫基礎標準
a. 中醫名詞術語標準：包括中醫基礎名詞術語標準、中醫臨床名詞術語標準（中醫臨床診療名詞術語標準、針灸名詞術語標準、推拿名詞術語標準、醫學氣功名詞術語標準）、中藥名詞術語標準、中醫藥其他名詞術語標準
b. 中醫診斷方法標準：包括望診程序規範及判定標準（望神、望面色、望形態、望頭面五官、望軀體、望皮膚、望排泄物與分泌物、望小兒指紋、望舌、其他）、聞診程序規範及判定標準（聽聲音、嗅氣味、其他）、問診程序規範及判定標準（問寒熱、問汗、問疼痛、問頭身胸腹、問耳目、問睡眠、問飲食與口味、問二便、問經帶胎產、問舊病、問病因、其他）、脈診程序規範及判定標準（基本方法、平脈、病脈）、按診程序規範及判定標準（按診手法、按胸脅、按脘腹、

按肌膚、其他）、中醫其他診斷方法標準

c. 中醫辨證標準：包括八綱辨證標準（表症、裏症、寒症、熱症、虛症、實症、陰症、陽症、八綱症候及其關係標準）、病因辨證標準（外感六淫、七情內傷、飲食所傷、勞逸所傷、痰飲、瘀血、其他）、精氣血津液辨證標準（氣、血、津液、臟腑辨證標準、五臟、六腑、臟腑兼證）、六經辨證標準（太陽病證、 陽明病證、少陽病證、太陰病證、少陰病證、厥陰病證、六經病證傳變判斷標準）、衛氣營血辨證標準（衛分證候、氣分證候、營分證候、血分證候、衛氣營血傳變判斷標準）、三焦病證辨證標準（上焦病證、中焦病證、下焦病證、三焦傳變判斷標準）、經絡辨證標準（十二經脉病症、奇經八脉病症、絡病）、其他辨證標準（證素辨證標準）。

D. 中醫治則治法標準

a. 中醫治則標準：包括正治與反治規範、治標與治本規範、扶正與祛邪規範、三因制宜規範、其他中醫治則規範。

b. 中醫治法標準：包括中醫內治法標準（汗法應用規範、吐法應用規範、下法應用規範、和法應用規範、溫法應用規範、清法應用規範、消法應用規範、補法應用規範）、中醫外治法標準

E. 中醫計量標準

F. 中醫計量標準

a. 度：包括中醫長度單位標準（指、夫、寸、咫、尺、丈、尋、常、仞、分、厘、毫、秒、忽）、中醫長度計量方法規範

b. 量：包括中醫容積單位標準（壯、合、升、斗、斛、盞、杯、碗、盅、丸、包、錠、貼、握、把、枚、束、片、粒、朵、雞子黃大、方寸匕、錢匕、刀圭、梧桐子大、大豆大、赤小豆大、黍米大、粟大、綠豆大）、中醫容積計量方法規範

c. 衡：包括中醫重量單位標準（石、斤、兩、錢、克、公斤、分、厘、毫、秒、忽、銖）、中醫重量計量方法規範

d. 時間：包括中醫時間單位標準（節、候、一時許）、

中醫時間計量方法規範

e. 溫度：包括中醫溫度單位標準（壯熱、潮熱、微熱、厥冷）、中醫溫度計量方法規範

f. 其他計量標準

g. 中醫信息化標準

h. 中醫信息數字化標準：包括中醫信息語言系統標準、中醫數據元系統標準、中醫信息分類與代碼、中醫主題詞表、其他

i. 中醫數據庫建設標準

j. 中醫信息管理與共享服務標準

k. 中醫藥數字化技術規範

l. 臨床、教學、科研機構信息網絡技術標準

m. 中醫其他信息化標準

G. 中醫術語翻譯規範：包括外國語言翻譯規範、民族語言翻譯規範

H. 其他中醫基礎標準

I. 中醫醫療技術標準

a. 中醫病（證）診斷標準：包括中醫內科病（證）診斷標準（感冒、咳嗽、哮證、喘證、肺癰、肺癆、肺脹、心悸、胸痹、不寐、癲狂、癇病、痴呆、厥證、胃痛、痞滿、嘔吐、噎膈、呃逆、腹痛、泄瀉、痢疾、便秘、脅痛、黃疸、積聚、鼓脹、頭痛、眩暈、中風、瘧疾、水腫、淋證、癃閉、鬱證、血證、痰飲、消渴、自汗、盜汗、內傷發熱、虛勞、痹證、痙證、痿證、腰痛、其他）、中醫外科病（證）診斷標準（癰、疽、丹毒、瘰癧、乳癖、乳岩、褥瘡、脫疽、燒傷、凍瘡、其他）、中醫婦科病（證）診斷標準（月經病、帶下證、胎孕、產後、其他）、中醫兒科病（證）診斷標準（麻、痘、惊、疳、其他）、中醫皮膚科病（證）診斷標準（疥瘡、鵝掌風、腳溼氣、濕瘡、蛇串瘡、斑禿、白疕、白駁風、粉刺、酒齄鼻、其他）、中醫骨傷科病（證）診斷標準（骨病、骨折、脫位、扭挫傷、關節損傷、其他）、中醫耳鼻喉科病（證）診斷標準、中醫眼科病（證）診斷標準、中醫肛腸科病（證）診斷標準、中醫其他科病（證）診斷標準

b. 中醫病（證）治療指南：包括中醫內科病（證）治療

指南（感冒、咳嗽、哮證、喘證、肺癰、肺癆、肺脹、心悸、胸痹、不寐、癲狂、癇病、痴呆、厥證、胃痛、痞滿、嘔吐、噎膈、呃逆、腹痛、泄瀉、痢疾、便秘、脅痛、黃疸、積聚、鼓脹、頭痛、眩暈、中風、瘧疾、水腫、淋證、癃閉、鬱證、血證、痰飲、消渴、自汗、盜汗、內傷發熱、虛勞、痹證、痙證、痿證、腰痛、其他）、中醫外科病（證）治療指南（癰、疽、丹毒、瘰癧、乳癖、乳岩、褥瘡、脫疽、燒傷、凍瘡、其他）、中醫婦科病（證）治療指南（月經病、帶下證、胎孕、產後、其他）、中醫兒科病（證）治療指南（麻、痘、惊、疳、其他）、中醫皮膚科病（證）治療指南（疥瘡、鵝掌風、腳溼氣、濕瘡、蛇串瘡、斑禿、白疕、白駁風、粉刺、酒齄鼻、其他）、中醫骨傷科病（證）治療指南（骨病、骨折、脫位、扭挫傷、關節損傷、其他）、中醫耳鼻喉科病（證）治療指南、中醫眼科病（證）治療指南、中醫肛腸科病（證）治療指南、中醫其他科病（證）治療指南、中醫病（證）針灸治療指南、中醫病（證）推拿治療指南、中醫病（證）氣功治療指南、中醫病（證）其他療法治療指南

c. 中醫病(證)臨床療效評價標準：包括中醫內科病(證)臨床療效評價標準（感冒、咳嗽、哮證、喘證、肺癰、肺癆、肺脹、心悸、胸痹、不寐、癲狂、癇病、痴呆、厥證、胃痛、痞滿、嘔吐、噎膈、呃逆、腹痛、泄瀉、痢疾、便秘、脅痛、黃疸、積聚、鼓脹、頭痛、眩暈、中風、瘧疾、水腫、淋證、癃閉、鬱證、血證、痰飲、消渴、自汗、盜汗、內傷發熱、虛勞、痹證、痙證、痿證、腰痛、其他）、中醫外科病（證）臨床療效評價標準（癰、疽、丹毒、瘰癧、乳癖、乳岩、褥瘡、脫疽、燒傷、凍瘡、其他）、中醫婦科病（證）臨床療效評價標準(月經病、帶下證、胎孕、產後、其他）、中醫兒科病（證）臨床療效評價標準（麻、痘、惊、疳、其他）、中醫皮膚科病（證）臨床療效評價標準（疥瘡、鵝掌風、腳溼氣、濕瘡、蛇串瘡、斑禿、白疕、白駁、粉刺、酒齄鼻、其他）、中醫骨傷科病（證）臨床療效評價標準（骨病、骨折、脫位、扭挫傷、關節損傷、其他）、中醫耳鼻喉科病（證）臨床療效評

價標準、中醫眼科病（證）臨床療效評價標準、中醫肛腸科病(證)臨床療效評價標準、中醫其他科病(證)臨床療效評價標準

d. 中醫臨床治療技術操作規範：包括藥物外治法技術操作規範、針灸療法技術操作規範、推拿療法技術操作規範、正骨療法技術操作規範、其他療法技術操作規範

e. 中醫護理規範：包括中醫內科病（證）護理規範、中醫外科病（證）護理規範、中醫婦科病（證）護理規範、中醫兒科病（證）護理規範、中醫皮膚科病（證）護理規範、中醫骨傷科病（證）護理規範、中醫耳鼻喉科病（證）護理規範、中醫眼科病（證）護理規範、中醫肛腸科病（證）護理規範、中醫針灸科病（證）護理規範、中醫口腔科病（證）護理規範、中醫腫瘤科病（證）護理規範、中醫傳染病科病（證）護理規範、中醫其他科病（證）護理規範

f. 中醫養生保健規範：包括中醫養生保健指南、中醫養生保健技術操作規範、中醫養生保健評價標準、其他

g. 臨床中藥技術規範：包括臨床中藥炮製技術規範、中藥處方規範、中藥調劑規範、中藥煎服方法規範、其他

h. 中醫其他醫療技術標準

J. 中醫科研技術標準

a. 中醫基礎研究規範：包括中醫基礎性研究規範、中醫應用基礎研究規範、中醫臨床研究規範、中醫流行病學調查研究規範、中醫臨床疾病症候分布調查規範、中醫臨床辨證規律研究規範、中藥新藥臨床研究規範、其他

b. 中醫動物實驗技術規範：包括實驗動物病症造模技術規範、實驗動物症候造模技術規範、實驗動物症候模型評價標準、實驗動物中藥使用技術規範、實驗動物症候療效評價標準、實驗動物針刺穴位對照標準、其他

c. 中醫醫史文獻研究方法規範：包括中醫史學研究方法規範（中醫史料考訂方法規範、中醫史學編撰體例研究方法規範、中醫史觀研究方法規範）、中醫文獻研

究方法規範（中醫文獻目錄研究方法規範、中醫文獻版本研究方法規範、中醫文獻校勘研究方法規範、中醫文獻辨偽研究方法規範、中醫文獻輯佚研究方法規範、中醫文獻分類研究方法規範、中醫科研評價方法規範、中醫其他科研技術標準）

K. 中醫教學技術標準

a. 中醫教學模式規範：包括中醫藥院校教學技術規範（遠程教學技術規範、師帶徒教學技術規範）、中醫教學內容規範（中醫學科體系建設規範、中醫課程體系建設規範、中醫教材建設規範）、中醫教學方法規範（教學模型（掛圖）製作標準、教學軟件編制技術標準、臨床教學實踐技術標準

b. 中醫教學評價規範：包括　考試題庫編制規範、臨床實踐考核標準、閱卷評價規範、考核評價文件編制規範

L. 中醫儀器設備標準

a. 中醫診療儀器設備標準

b. 中醫養生保健儀器設備標準

c. 中醫科研儀器設備標準

d. 中醫計量儀器設備標準

e. 中醫教學儀器設備標準

f. 中醫其他儀器設備標準

M. 中醫其他技術標準

(五) 預測未來中醫藥環境之方向，將以國際標準化為依歸，我國與世界各主要國家之法規亟需加強協合整合，推動中醫藥國際化及前瞻性政策規劃，以因應中醫藥衛生與健康變遷。

(六) 有關臺灣濃縮中藥輸出至中國大陸所遭遇之法規問題，分析如下：

1. 依據中華人民共和國藥品管理法實施條例（國務院令第 360 號）第三十六條第二項規定「進口藥品，應當按照國務院藥品監督管理部門的規定申請註冊。國外企業生產的藥品取得《進口藥品註冊證》，中國香港、澳門和臺灣地區企業生產的藥品取得《醫藥產品註冊證》後，方可進口。」。

2. 大陸進口藥品的註冊，依據藥品註冊管理辦法（局令第 28 號）第九十四條第二項規定「符合規定的，發給《進口藥品註冊證》。中國香港、澳門和臺灣地區的製藥廠商申請註冊的藥品，參照進口藥品註冊申請的程式辦理，符合要求的，發給《醫藥

產品註冊證》」。

3. 依據中藥註冊管理補充規定第六條規定「中藥複方製劑除提供綜述資料、藥學研究資料外，應按照本規定第七條、第八條和第九條，對不同類別的要求提供相關的藥理毒理和臨床試驗資料。」。

(1) 第七條係規定「來源於古代經典名方的中藥複方製劑，是指目前仍廣泛應用、療效確切、具有明顯特色與優勢的清代及清代以前醫籍所記載的方劑。該類中藥複方製劑的具體目錄由國家食品藥品監督管理局協助有關部門制定並發佈」，原則可僅提供非臨床安全性研究資料，並直接申報生產。

(2) 第八條係規定「主治為證候的中藥複方製劑，是指在中醫藥理論指導下，用於治療中醫證候的中藥複方製劑，包括治療中醫學的病或症狀的中藥複方製劑」，該類中藥複方製劑的處方來源、組方合理性、臨床應用情況、功能主治、用法用量等內容由國家食品藥品監督管理局藥品審評中心組織中醫藥專家審評。療效評價應以中醫證候為主。驗證證候療效的臨床試驗可採取多種設計方法,但應充分說明其科學性，病例數應符合生物統計學要求，臨床試驗結果應具有生物統計學意義。生產工藝、用法用量與既往臨床應用不一致的，應提供非臨床安全性試驗資料和藥效學研究資料。藥效學研究應採用中醫證候的動物模型進行；如缺乏成熟的中醫證候動物模型，鼓勵進行與藥物功能主治相關的主要藥效學試驗。臨床研究應當進行Ⅱ、Ⅲ期臨床試驗。

(3) 第九條係規定「主治為病證結合的中藥複方製劑中的“病”是指現代醫學的疾病，“證”是指中醫的證候，其功能用中醫專業術語表述、主治以現代醫學疾病與中醫證候相結合的方式表述」。生產工藝、用法用量與既往臨床應用不一致的，應提供非臨床安全性試驗資料，並根據擬定的功能主治（適應症）進行主要藥效學試驗。藥效學研究一般應採用中醫證候的動物模型或疾病模型；如缺乏成熟的中醫證候動物模型或疾病模型，可進行與功能（藥理作用）相關的主要藥效學試驗。臨床研究應當進行Ⅱ、Ⅲ期臨床試驗。

4. 依據（港、澳、台）中藥、天然藥物醫藥產品註冊（2006 年 2 月 20 日發佈）之規定，（港、澳、台）中藥、天然藥物醫藥產品註冊，其分類按《藥品註冊管理辦法》附件一有 9 種註冊

分類如下，皆要求提具 CMC、毒、藥理及臨床試驗等資料：

註冊分類 1、未在國內上市銷售的從植物、動物、礦物等物質中提取的有效成分及其製劑；

註冊分類 2、新發現的藥材及其製劑；

註冊分類 3、新的中藥材代用品；

註冊分類 4、藥材新的藥用部位及其製劑；

註冊分類 5、未在國內上市銷售的從植物、動物、礦物等物質中提取的有效部位及其製劑；

註冊分類 6、未在國內上市銷售的中藥、天然藥物複方製劑；

註冊分類 7、改變國內已上市銷售中藥、天然藥物給藥途徑的製劑；

註冊分類 8、改變國內已上市銷售中藥、天然藥物劑型的製劑；

註冊分類 9、已有國家標準的中藥、天然藥物。

5. 臺灣濃縮中藥，依據（港、澳、台）中藥、天然藥物醫藥產品註冊（2006 年 2 月 20 日發佈）之規定， 屬「註冊分類 1、未在國內上市銷售的從植物、動物、礦物等物質中提取的有效成分及其製劑」及「註冊分類 6、未在國內上市銷售的中藥、天然藥物複方製劑」，其申請需提具 CMC、毒、藥理及臨床試驗等資料。

6. 目前臺灣濃縮中藥屬「單方」者，已有被核准者；惟屬「複方」者，難度甚高。

五、 分別就組織變革、產品分類分級使用、產品品質與臨床試驗環境、兩岸合作介接機制及智慧財產權法規變革五個方向，研擬各項策略方案。

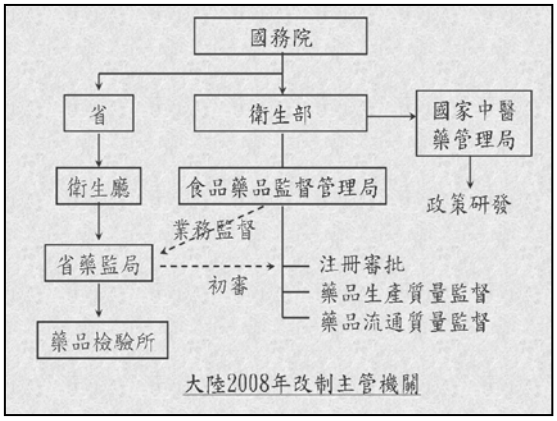
(一) 兩岸衛生主管機關組織分工如下：

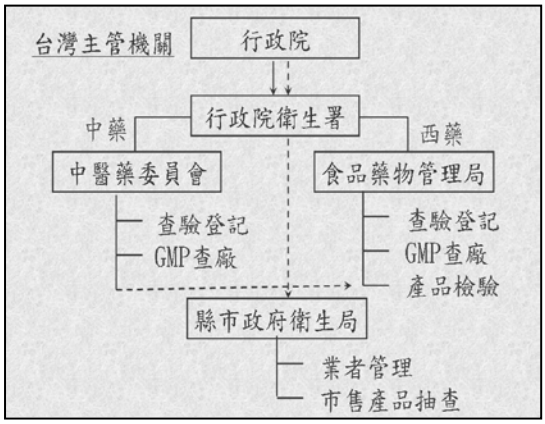
1. 大陸衛生部隸屬國務院，下轄「國家食品藥品監督管理局」及「國家中醫藥管理局」，「國家中醫藥管理局」主要任務為中醫藥行政及政策研發，「國家食品藥品監督管理局」主要任務為藥品注冊審批、生產質量監督及流通質量監督。地方（省）設衛生廳，下轄「省食品藥品監督管理局」（省下有「縣市食品藥品監督管理局」），負責執行藥品注冊審批之初審（新藥除外）及生產流通管理，下設「藥品檢驗所」，執行檢驗工作。「國家食品藥品監督管理局」對於「省食品藥品監督管理局」係採業務監督。

2. 臺灣行政院衛生署隸屬行政院，下轄「行政院衛生署食品藥物管理局」及「行政院衛生署中醫藥委員會」，「行政院衛生署中醫藥委員會」負責中醫藥行政管理及中藥查驗登記，「行

政院衛生署食品藥物管理局」負責西藥及醫療器材查驗登記及 GMP 查廠。地方（縣市）設衛生局，執行生產流通管理。

3. 兩岸組織分工略圖如下：





4. 德國主管藥品之一級主管機關為聯邦藥品與醫療用品研究所 BfArM，其主要任務有：受理藥品註冊申請，頒發藥品上市許可證，關於中草藥的管理如下：

Complementary and Alternative Medicines (CAM) and Traditional Medicinal Products (TMP)

根據 German Medicines Act (AMG)，特殊療法包含下列三種

(1) Phytotherapy 植物療法

(2) Homeopathy 順勢療法

(3) anthroposophic medicine 人智醫學

根據§ 109a AMG，傳統醫藥產品也可能不屬於特殊療法系統之中，其中的區別在於該項產品效用是否僅根據傳統使用而定。

主要相關組織如下：

(1) **專家委員會**

在藥物治療學多元化的前提之下，German Medicines Act 明確特殊療法系統的角色需被接受，在這個理由之下建立功能委員會(委員會 C 負責人智醫學產品、委員會 D 負責順勢療法產品、委員會 E 負責草藥產品)來支持 BfArM 的工作在個別領域下提供相關專門知識

在§ 109a (3) AMG 關於傳統醫藥產品下，管理及提供科學支持的上述委員，為 BfArM 的第五部門

(2) **第五部門的任務**

A. 包含特殊療法及傳統醫藥產品的科學性療效評估、安全性及醫藥產品藥理品質

B. 負責醫藥產品評估，整個行政管理包含基於證照上

市的授權、簡化註冊或者是審查程序

C. 評估其他部門的要求或更新程序，以及歐盟的草藥產品的註冊程序、藥物監視安全的相關法律程序和問題

D. 制定相關的藥物資料單張及提供衛生專業人員專業訊息

E. 發展與特定的治療系統和提供傳統醫藥產品的評價科學原則和指導方針。並參與國家和國際專家委員會。

(二) 有關中草藥之分類分級及效用，歐盟、英國、中國大陸、日本、美國、澳洲及加拿大與我國法定類別比較分析如下：

國家	中草藥名稱	分類	效用（Claim）
歐盟	Traditional Herbal Medicinal Products (THMP)	1. Herbal products (as medicines) 2. Dietary supplements (as foods)	1.依 Commission E monograph 審查 2. Soft claims, e.g. ”strengthening of immune system”
英國	HERBAL MEDICINAL PRODUCTS	1.有許可證的草藥 Register of Chinese Herbal Medicine (RCHM) 2. 免除許可證的草藥 non-register of Chinese Herbal 3.以食品添加劑銷售的草藥 Herbal Remedies	1.可標示療效（藥品）(GSL) 2. Traditional Us，mild form of treatment 3.不得標示療效
中國大陸	中藥	1.處方藥 2.非處方藥 3.中成藥 4.保健食品	1.依藥品管理法審查，依臨床試驗結果宣稱療效 2.同上 3.同上 4.依保健食品註冊管理，可標示功效成分

國家	中草藥名稱	分類	效用（Claim）
日本	漢方藥	1.醫藥品（處方藥及OTC） 2.醫藥部外品 3.特定保健食品 4.一般食品	1.依藥事法審查，依臨床試驗結果宣稱療效 2.同上 3.依食品管理法審查，不得標示療效 4.同上
美國	Botanicals	1.ethnic traditional medicines (NDA, NDC) 2.dietary supplements 3.health food 4.food	1. 依藥品審查，依臨床試驗結果宣稱療效 2. 可標示防止疾病、改善機能 3. health claims、structure/ function claims 4.不得標示療效
澳洲	Complementary Medicine	1. Traditional Medicines (包括 Traditional Chinese Medicines 、Ayurvedic Medicines 、Other Traditional Medicines) 2. Herbal Medicines	依 Australian Regulatory Guidelines for Complementary Medicines (ARGCM) 審查。可標示 Traditional use (傳統使用)。指定(listing)效能(Claim) ex：for relief symptom
加拿大	Natural Health Products	1. herbal remedies 2. homeopathic medicines 3. traditional medicines (such as traditional Chinese medicines)	maintains or promotes health
臺灣	中藥	1.處方藥 2.指示藥 3.成藥	1.依臨床試驗結果 2.依指示藥相關基準(monograph)審查 3.低於指示藥相關基

國家	中草藥名稱	分類	效用（Claim）
			準審查
		4.健康食品	4.健康食品申請許可辦法（審查保健功效成分）
		5.一般食品	5.食品與相關產品查驗登記及許可證管理辦法（國產食品產製前配方審查）

(三) 世界衛生組織及歐盟對針對傳統藥物使用上的安全性(Safety)、有效性(Efficacy)及品質(Quality)相關指引如下：

1. WHO quality control methods for medicinal plants and materials (in 2000)，本指引主要目標在於
   (1) 在研究及評價傳統醫藥方面整合重要術語(summarize key issues for developing methodologies for research and evaluation of traditional medicine)
   (2) 提高傳統醫藥研究質量(improve the quality and value of research in traditional medicine)
   (3) 提供適當的評價方法以促進傳統醫藥的法規化及產品註冊(provide appropriate evaluation methods to facilitate the development of regulation and registration in traditional medicine.)
2. Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices for medicinal plants (GACP) (in 2003)，提供一般性的技術指導，以獲得良好的藥用植物及持續生產，保證藥用植物來源的指引，並且針對藥用植物進行保護工作，主要目標在於：
   (1) 藉由保證藥用植物來源的品質，來促進產品的品質、安全性及有效性(contribute to the quality assurance of medicinal plant materials used as the source for herbal medicines to improve the quality, safety and efficacy of finished herbal products)
   (2) 指導制訂國家和/或區域 GACP 準則和 GACP 藥用植物及相關標準作業程序的專著(guide the formulation of national and/or regional GACP guidelines and GACP monographs for

medicinal plants and related standard operating procedures)

(3) 鼓勵及支持以高品質的作業方式，以藉由鼓勵及支持保護藥用植物種源及生長環境來持續種植及採集藥用植物(encourage and support the sustainable cultivation and collection of medicinal plants of good quality in ways that respect and support the conservation of medicinal plants and the environment in general)

3. WHO guidelines on assessing safety and quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues (in 2007)，評估藉由測定污染物及殘留物評估青草藥品質，針對污染物及殘留物建議定性及定量的分析方法。主要的目標在於提供：

(1) 針對具有參考價值的污染物及殘留物測定，建立品質評估原則確保青草藥之安全性。(guiding principles for assessing the quality in relation to the safety of herbal medicines, with specific reference to contaminants and residues)

(2) 建立確認可能污染物及殘留物的有用模型標準(model criteria for use in identifying possible contaminants and residues)

(3) 建立方法及技巧的範本(examples of methods and techniques)

(4) 針對成品建立實用的品管技術程序範本(examples of practical technical procedures for controlling the quality of finished herbal products)

4. WHO Monograph on Good Agricultural Practice and Good Collection Practice (GACP) for Artemisia annua L. in 2006。本專著主要目標為：

(1) 對於高品質及高產量的青蒿種植及採收提供實際和具體的技術指導(provide practical and specific technical guidance on the cultivation and collection of Artemisia annua L. of good quality and a high yield)

(2) 減輕以青蒿素為主的藥品短缺現象(contribute to alleviating the shortage of artemisinin-based medicines)

(3) 提供基礎模型供國家或者研究人員，在其他藥用職務上發展更進一步的藥用植物優良種植與採集規範。(provide a model monograph as a basis for countries and researchers to develop further monographs on good agricultural and collection

practices (GACP) for other medicinal plants)

(4) 保護藥用植物的野生種源，特別是青蒿，以確保可持續利用 (protect the wild resources of medicinal plants, in particular Artemisia annua L., to ensure their sustainable use.)

5. WHO 將於 2010-2011 年將繼續進行下列技術文件(Technical documents)之建立
   (1) 青草藥製成品品管方法(Quality control methods for finished herbal products)
   (2) 青草藥良好製造規範(Good processing practices for herbal medicines)
   (3) 青草藥安全性研究 – 藥物交互作用(Safety of herbal medicines: interaction with other medicines)
   (4) 傳統醫學或補充/替代療法的臨床研究方法建立(Research methodologies for clinical study in TM/CAM)
   (5) 藥用植物臨床研究技術審查建立(Technical review on clinical study of phytotherapy)
6. Report of the WHO Interregional Workshop on the Use of Traditional Medicine in Primary Health Care, Ulaanbaatar, Mongolia, 23-26 August 2007 中指出：
   (1) 在傳統醫藥應用在初級健康照護中有三個核心原則：1.確保藥品安全和品質，2.教育消費者及民眾如何正確使用傳統醫藥，特別在於自我照護部分，3.發展永續性的交付機制及系統。文中並指出為了確保品質及安全管控，會員國應針對傳統藥物及原料建立法規及審查登記系統，除此之外國家藥物警訊系統(national pharmacovigilance systems)應涵蓋傳統藥物。應用於自我照護的傳統藥物產品應提供適當的消費者藥物使用訊息。文中並介紹 WHO 與會代表針對相關問題所提出之意見及介紹：Quality assurance and control of medicinal plants and herbal materials: good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants 直接與藥用植物相關，主要內容包含採集或栽培用的藥用植物的選擇、植株的選擇、培育或採集點的選擇、培育或採集的方法、採收方式、人員管理、採收後處理（包含滅毒及保存）、紀錄。
   (2) Quality assurance and control of traditional/herbal medicine products: good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines and experience in China good manufacturing

practices (GMP)應包含：1.界定製造生產流程；2.關鍵的製造步驟進行驗證；3.合格且訓練有素的品管人員；4.足夠的實驗室設備；5.核可的書面流程及指示；6.紀錄以確保所有步驟已完成；7.可藉由批號紀錄及流通紀錄完整追蹤產品；8.回收系統及客訴調查。

(3) Safety monitoring of traditional medicines and experience in China 藥物警戒系統應能夠檢測出未知的安全性問題，確定風險及預防消費者受到影響。其組成應包含確定及報告藥物的不良反應，藥物的安全性評估及風險管理

(4) Developing consumer information 消費者資訊應包含如何以及何時正確地使用、如何儲存、何時應停止使用、何時應該諮詢醫生以及基本的健康教育。

(四) 藥物科技研發智慧財產權與產業推動

1. 大陸為企業和研究單位進行新藥的研究開發創造良好的競爭環境，鼓勵企業進行新藥的研製與開發，防止低水準重複，對生物科技研發與產業推動制定相關法律規章政策如下：

(1) 大陸為保護和鼓勵專利權，於 1984 年 3 月 12 日制定專利法，最後一次修正自 2001 年 7 月 1 日生效。受理對藥品的專利保護申請，保護藥品品種專利發明人的專利權。內容包括對專利權的授予條件、申請及審批程序、權利的期限和終止、強制許可、專利權的保護，以專利保護作為最全面的知識產權保護制度，直接對藥品品種實施保護。

(2) 衛生部於 1987 年採藥品行政保護制度，制定關於新藥保護及技術轉讓的規定，對一、二、三、四類新藥分別規定 8 年、6 年、4 年、3 年的保護期限。1998 年國家藥品監督管理局成立後，修正新藥審批辦法、新生物製品審批辦法、新藥保護和技術轉讓的規定等新藥審批方面的規章，延長新藥保護期，使之更有利於新藥研製。1999 年 4 月 12 日國家藥品監督管理局為鼓勵研究創制新藥，保護科研與生產單位研究、開發、生產新藥的積極性，避免重復研究和生產，維護藥品技術市場的秩序和新藥技術轉讓雙方的合法權益，促進大陸製藥工業的發展，根據中華人民共和國藥品管理法、新藥審批辦法，特制定發布關於新藥保護及技術轉讓的規定，自 1999 年 5 月 1 日起施行。規定「新藥經國家藥品監督管理局批准頒發新藥證書後即獲得保護。各類新藥的保護期分別為： 第一類新藥 12 年； 第二、三類新藥 8 年； 第四、五類新藥 6 年。

凡有試產期的新藥，其保護期包含試產期。」。（第 4 條）

(3) 1992 年 10 月 14 日國務院為提高中藥品種的品質，保護中藥生產企業的合法權益，促進中藥事業的發展，發布中藥品種保護條例，建立中藥品種保護制度，鼓勵開發傳統藥。明確規定「國家鼓勵研製開發臨床有效的中藥品種，對品質穩定，療效確切的中藥品種實行分級保護制度」。分級保護制度是指在大陸境內經國家批准註冊的中藥製品，並且符合中藥品種保護管理要求的中藥品種，經國務院藥品監督管理部門批准給予保護後，在其保護期內，只能由獲得該品種「中藥品種保護證書」的企業生產，未獲得該品種「中藥品種保護證書」的企業，一律不得生產。受保護的中藥品種分為一、二級。一級保護包括「對特定疾病有特殊療效」、「相當於國家一級保護野生藥材物種的人工製成品」及「用於預防和治療特殊疾病」，二級保護包括「解除一級保護的品種」、「對特定疾病有顯著療效」及「從天然藥物中提取的有效物質及特殊製劑」。對於國務院衛生行政部門批准的新藥，應按照國務院衛生行政部門規定的保護期給予保護；批准的保護期限屆滿前六個月，得重新依本條例之規定申請保護。2009 年 2 月 11 日國家食品藥品監督管理局為繼承中醫藥傳統，突出中醫藥特色，鼓勵創新，促進提高，保護先進，保證中藥品種保護工作的科學性、公正性和規範性，根據中藥品種保護條例發布實施中藥品種保護指導原則，以提高技術門檻，體現中藥保護管理的前瞻性。指導原則分為總則、一般要求、初次保護、同品種保護、延長保護期五個部分，有利於解決過去保護門檻較低，保護品種過多以及同品種管理中存在的問題。其主要內容和特點如下：

A. 明確臨床評價標準，要求申請一級保護品種的臨床資料應能證明其對某一疾病在治療效果上取得重大突破性進展，或用於預防和治療特殊疾病；申請二級保護品種的臨床資料應能證明具有顯著臨床應用優勢，或對某一主治疾病、證候或症狀的療效優於同類品種。改變劑型品種應有試驗資料證明其先進性和合理性；二是對有重大工藝改進的品種，與原品種比較必須在服用劑量、製劑穩定性等方面具有明顯優勢；三是中藥、天然藥物和化學藥品組成的復方製劑應證明其組方合理性；四是注重品質穩定性和可控性，申報品種的原料藥材應基原明確，主要藥味還應固

定產地有相對穩定的供貨渠道，以中藥飲片投料的應提供炮製方法及標準；五是單味製劑的主要藥效成分應清楚，並應有相應的專屬性品質控制方法。

B. 合理設定同品種管理要求，首先在初次保護中要求原研企業才能首次提出初次品種保護申請；其次明確了同品種定義，同品種生產企業可以自行判斷是否屬於同品種，並有較充分的時間開展同品種保護的相關工作；第三突出同品種品質考核，強調同品種與初次保護品種在生 產品質方面的一致性，併合理調整了同品種保護申報資料要求，解決同品種逾期申報的問題。

C. 強調申請延長保護期的品種應能證明其對主治的疾病、證候或症狀較同類品種有顯著臨床療效優勢。二是要求企業必須按有關要求完成各項改進工作並提交相關資料；三是明確延長保護期的品種在臨床、藥理毒理、藥學等方面應較保護前有明顯改進與提高，如生 產用藥材和飲片基原明確、產地固定，工藝參數明確，過程式控制制嚴格，品質標準可控完善，主治範圍確切，藥品說明書完善等。通過以上措施，全面提高延長保護期門檻，促進中藥保護品種品質和水準的不斷提高，帶動中藥 產業的發展。

2. 臺灣為推動生物科技研發與產業發展，分別定有專利法、藥事法、藥物科技研究發展獎勵辦法、生技新藥產業發展條例，相關規定如下：

(1) 我國為鼓勵、保護、利用發明與創作，以促進產業發展，早於民國 33 年 5 月 29 日即制定專利法，分別規範專利要件、申請條件、審查及再審查、專利權核准及延長、專利侵害之保護等事項。

(2) 藥事法第 41 條規定「為提昇藥物製造工業水準，對於藥物科技之研究發展，得由中央衛生主管機關會同中央工業主管機關獎勵之。前項獎勵之資格條件、審議程序及其他應遵行事項之辦法，由中央衛生主管機關會同中央工業主管機關定之。」。行政院衛生署即制定藥物科技研究發展獎勵辦法，適用獎勵對象為國內之藥物製造廠及從事藥物研發之自然人、法人、機構或團體，其研發成果符合本辦法之獎勵條件者（第 3 條）。適用之獎勵條件包括：一、國內自行研發，取得國內 (外) 專利，在我國或其他先進國家首先上市之新發明藥物者。二、取得國內 (外) 專利之授權，在國內研發，所生產製

品為我國或其他先進國家首先核准或上市之新發明藥物者。三、國內研發之未上市藥物，取得國內 (外) 專利或授權，且經核准在國內 (外) 進行臨床試驗研究，有具體成效者。 (人體試驗階段一、階段二或階段三，各階段得分別提出申請獎勵)四、國內研發或製造藥物，有重要且具體之市場成效者。五、國內研發或製造藥物以進步性，取得國內外專利，且對藥物製造工業發展有具體貢獻者。六、國內研發或製造之新原料藥、賦形劑、醫療器材材質、零組件或其他方式，對提昇我國藥物製造工業有顯著貢獻者。七、引進國外先進科技，於國內研究並產製生物製劑藥品，對國人疾病之醫療有顯著貢獻者。八、國內自行開發新設備裝置、製程或分析檢驗方法，對改進藥物製造或檢驗技術有重大成效者。九、配合中央衛生或工業主管機關政策，推動本國藥物製造工業發展，提昇藥物研發水準，績效卓著者。(第 4 條)

(3) 藥事法於 94 年 2 月 5 日修正增訂第 40-1 條「查驗登記資料公開」及第 40-2 條「新成分新藥資料專屬權」之規定。第 40-1 條規定「中央衛生主管機關為維護公益之目的，於必要時，得公開所持有及保管藥商申請製造或輸入藥物所檢附之藥物成分、仿單等相關資料。但對於藥商申請新藥查驗登記屬於營業秘密之資料，應保密之。得公開事項之範圍及方式，其辦法由中央衛生主管機關定之。」，第 40-2 條規定「中央衛生主管機關於核發新藥許可證時，應公開申請人檢附之已揭露專利字號或案號。新成分新藥許可證自核發之日起五年內，其他藥商非經許可證所有人同意，不得引據其申請資料申請查驗登記。新成分新藥許可證核發之日起三年後，其他藥商得依本法及相關法規有關藥品查驗登記審查之規定提出同成分、同劑型、同劑量及同單位含量藥品之查驗登記申請，符合規定者，得於新成分新藥許可證核發屆滿五年之翌日起發給藥品許可證。新成分新藥在外國取得上市許可後三年內，必須向中央衛生主管機關申請查驗登記，始得準用第二項之規定。新藥專利權不及於藥商申請查驗登記前所進行之研究、教學或試驗。」。

(4) 行政院衛生署於 99 年 12 月 9 日修正藥品查驗登記審查準則第 54 條第三項「首家執行新適應症臨床試驗之保護」，規定「首家申請增加新適應症（含變更適應症及新增適應症）之廠商，得自行決定是否執行國內臨床試驗。如有執行國內臨

床試驗並所附資料能證實該新適應症之療效及安全性者，自其獲准增加新適應症之日起五年內，其他申請相同成分、劑型、劑量許可證之查驗登記宣稱具有該適應症、或已有相同成分、劑型、劑量許可證申請增加該適應症之廠商，應另附與首家廠商相同標準之國內臨床試驗報告。」。

(5) 我國為發展我國生技新藥產業，成為帶動經濟轉型的主力產業，於 96 年 7 月 4 日制定公布生技新藥產業發展條例，為限時法，施行至 110 年 12 月 31 日，主管機關為經濟部，明定有關投資抵減、技術股票分配、專業技術投資人認股權、公務員參與研發之例外等規定如下：

A. 為促進生技新藥產業升級需要，生技新藥公司得在投資於研究與發展及人才培訓支出金額百分之三十五限度內，自有應納營利事業所得稅之年度起五年內抵減各年度應納營利事業所得稅額；生技新藥公司當年度研究與發展支出超過前二年度研發經費平均數，或當年度人才培訓支出超過前二年度人才培訓經費平均數者，超過部分得按百分之五十抵減之。投資抵減，其每一年度得抵減總額，以不超過該生技新藥公司當年度應納營利事業所得稅額百分之五十為限。但最後年度抵減金額，不在此限。投資抵減之適用範圍、核定機關、申請期限、申請程序、施行期限、抵減率及其他相關事項，由行政院定之；並每二年檢討一次，做必要調整及修正。（第 5 條）

B. 為鼓勵生技新藥公司之創立或擴充，營利事業原始認股或應募屬該生技新藥公司發行之股票，成為該公司記名股東達三年以上，且該生技新藥公司未以該認股或應募金額，依其他法律規定申請免徵營利事業所得稅或股東投資抵減者，得以其取得該股票之價款百分之二十限度內，自其有應納營利事業所得稅之年度起五年內抵減各年度應納營利事業所得稅額。營利事業如為創業投資事業，應由其營利事業股東按該創業投資事業依第一項規定原可抵減之金額，依其持有該創業投資事業股權比例計算可享投資抵減金額，自創業投資事業成為該生技新藥公司記名股東第四年度起五年內抵減各年度應納營利事業所得稅額。生技新藥公司適用股東投資抵減之要件、申請期限、申請程序、施行期限、抵減率、第二項計算方式及其他相關事項，由行政院定之。（第 6 條）

C. 為鼓勵高階專業人員及技術投資人參與生技新藥公司之經營及研究發展，並分享營運成果，生技新藥公司高階專業人員及技術投資人所得技術股之新發行股票，免予計入該高階專業人員或技術投資人當年度綜合所得額或營利事業所得額課稅。但此類股票於轉讓、贈與或作為遺產分配時，應將全部轉讓價格，或贈與、遺產分配時之時價作為轉讓、贈與或作為遺產分配年度之收益，扣除取得成本，申報課徵所得稅。發行公司於辦理前項規定之股票移轉過戶手續時，應於移轉過戶之次日起三十日內，向所在地稅捐稽徵機關申報。技術投資人計算前項所得未能提出取得成本之證明文件時，其成本得以轉讓價格百分之三十計算減除之。（第 7 條）

D. 生技新藥公司經董事會以董事三分之二以上之出席及出席董事過半數同意之決議，並經主管機關核准後，得發行認股權憑證予高階專業人員或技術投資人。前項持有認股權憑證者，得依約定價格認購特定數量之股份，其認購價格得不受公司法第一百四十條不得低於票面金額之限制；其取得之股票依前條規定課徵所得稅。生技新藥公司依第七條規定發行新股時，不適用公司法第二百六十七條規定。高階專業人員或技術投資人取得之認股權憑證，不得轉讓。（第 8 條）

E. 新創之生技新藥公司，其主要技術提供者為政府研究機構研究人員時，該研究人員經其任職機構同意，得持有公司創立時百分之十以上之股權，並得擔任創辦人、董事或科技諮詢委員，不受公務員服務法第十三條之限制。研究機構及研究人員，由行政院會同考試院認定之。（第 10 條）

F. 為提升生技新藥技術，加強產官學研合作研究發展，促進生技新藥產業升級，學研機構之研發人員在該機構同意下，得擔任生技新藥公司研發諮詢委員或顧問。（第 11 條）

六、依中醫藥委員會參與「行政院產業科技策略會議(SRB)」之指示，配合提供相關資訊，並將結論依中醫藥委員會指示，納入本計畫之規劃方向。

(一) 行政院於八十四年八月頒訂「加強生物技術產業推動方案」，成立「生物技術產業推動指導小組」，就建立健全法規體系、輔導

獎勵創業、研究發展、技術移轉、人才培育與運用及智慧財產權保護、產品推廣等措施，分別由相關部會署分工執行，作為結合國內產官學研努力的依據。自民國八十六年起每年舉辦「生物技術產業策略」 (SRB)會議，旨在匯集國內外專家智慧，以提昇我國生技產業水準；諸如整合研發體系、改善產業發展投資環境、提出中藥發展策略、檢討生技與製藥國家型計畫、建立新藥臨床試驗體系等。

(二)2004 年「行政院產業科技策略會議」 (SRB)會議結論指出，臺灣的生技產業制度不夠健全，資源片段分散且缺乏有效的合作機制，以致競爭力不如韓國和新加坡，需要大力整合，建議在現有的政府體制下，有必要責成一個資源分配的領導單位，為臺灣的生技產業未來方向作整體評估和規畫。行政院乃為加強生技產業發展藍圖的規劃，並強化政策與資源統籌功能，成立具國家政策位階的「生技產業策略諮議委員會(BTC)」，自 2005 年召開第一次會議，其後每年視必要召開會議，期能藉會議結論，諮詢國家生技產業政策及發展願景、與對應之建議，並評估建議適合臺灣發展的重點方向，以及檢視建議生技相關投資策略及優先順序，最後作為部會署推動生技產業之政策依循。

(三)「行政院產業科技策略會議(SRB)」2004 年之會議結論指示，配合提供相關資訊。依中醫藥委員會指示「行政院產業科技策略會議(SRB)」結論，納入本計畫之規劃方向，提報「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」共識座談會議討論。

(四)配合中醫藥委員會將核心小組會議相關結論，納入 BTC 重要結論與建議，依中醫藥委員會指出，修正增列「議題二：推動區域生醫產業合作－以兩岸中（草）藥產業交流為例」如附件七（修正如底色部分）。

(五)依中醫藥委員會指示，將核心小組會議相關結論，納入「102 科技議題及分項策略」如附件八（修正如底色部分）。

七、擬具未來四年（101 年-104 年）之中醫藥研究發展策略方案及核心工作內容項目，提交中醫藥委員會。

(一)依據「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」各項會議結論，草擬未來四年（101 年-104 年）之中醫藥研究發展策略方案及核心工作內容項目，提報中醫藥委員會。

(二)未來四年（101 年-104 年）之中醫藥研究發展策略方案及核心工作內容項目，名稱訂為「中醫藥品質安全及消費者保護創新研究

中程計畫」(草案),如下:

中醫藥品質安全及消費者保護創新研究中程計畫(草案)

壹、計畫背景

一、近年來由於傳統醫療對養生保健、慢性疾病的療效逐漸受到重視與肯定,使得中醫藥醫療利用普遍存在。

二、惟中藥材尚未以藥證列管,藥材品質標準亦無法未建立,市售品仍存在藥材混誤用、農藥殘留、重金屬及生菌污染等品質瑕疵,以及中草藥複合性產品可能產生之交互作用,亟需建立中草藥產品相關危害資訊,進行安全性再評估。又為推動中醫藥產業升級,充分利用健保醫療資源,選病選方進行中藥臨床試驗,以及中西醫療法併用中西藥之實證研究,建立醫療團隊整合性醫事及藥事服務,修正適用中醫藥之智慧財產權法規,最終達成中醫藥數位管理,仍必須繼續積極努力的進行。

三、臺灣中醫醫療一直侷限於門診醫療,而鄰近國家如中國大陸、韓國、日本及德國等歐洲部分國家,都有頗為完善的中醫住院醫療之發展,特別是中國大陸地區每個省均有中醫醫院附設之中醫住院醫療業務,大多以中西醫結合之住院醫療為其特色。行政院衛生署中醫藥委員會過去研究結果發現,88.5%中醫藥相關專家學者皆同意將中醫住院納入健保,建議以中醫療效顯著、療效較西醫顯著或西醫以束手無策之疾病為優先,例如中風、腫瘤放化療後緩解期調養、閉鎖性骨折以及急性肝炎等。鑑於全民選擇就醫的權益,推動以全人為醫療服務,及結合「教考訓用」之連貫性,以提昇中醫藥治療的療效與中醫臨床訓練,加強建構中西醫整合醫療照護模式,已為重要之研究課題。

四、促進臺灣中西整合醫學的發展,可參考美國 CAM(Complementary and Alternative Medicine)採取「整合醫療計畫」(integrated medicine program),韓國的「韓洋醫學」(NEW;Neo-East-West),日本的「統合醫學」,以及中國大陸亦皆結合中西醫學,將教考訓用列入重大議題。臺灣中醫師之培育,在「中西合併」以及「學士後中醫」,皆屬雙專業結合,在國際上亦屬特殊罕見之高品質,應予善加利用,並可以考慮向國際輸出。

五、由於國人傳統用藥習性不正確,坊間仍充斥各式違規的中醫藥廣告以及不合格產品,應加速提升國人對於中藥(材)之認識。而民眾多次就醫及重複用藥情況日益嚴重,除造成醫療資源浪費,更可能危害民

眾用藥安全。為加強國人中醫就醫、中藥用藥安全觀念，建構健全之中醫藥衛生教育服務網絡推動體系，透過族群導向，辦理中醫藥衛生教育宣導服務，以加強民眾對於中醫藥的認知、信賴及正確使用，進而導正民眾對於中醫藥用藥安全的認知與行為。以社區、學校及病人為中心，配合全人醫療之就醫趨勢，因應未來整合中醫藥學教育，規劃與建立國內各級民眾中醫藥衛生教育服務網絡，整合社區基層醫療及藥局中醫藥衛生教育服務資源，規劃各層級及學校中醫藥相關衛生教育之教材，提供社區老人及各層級中醫藥服務之衛生教育宣導，並實施中醫藥衛生教育訓練成果評析與監測。

六、101 年中醫藥委員會將歸併衛生福利部，國立中國醫藥研究所改隸衛生福利部，組織變革後，如何配合行政院衛生署食品藥物管理局之任務，分工建立產品品質與臨床試驗環境、兩岸合作介接機制及管控品質之境外與境內管制驗證認證機制，必須在現有的法律架構與環境基礎上，就中藥生物科技的研究發展及專利獲取，進行「標準化」、「國際化」、「科學化」的中醫藥研發供應制度，與世界主要國家之法規協合平衡規範。

七、政府中醫藥科技研究整體政策之規劃，係系統分析現有之社會重大議題及未來前瞻性議題之各項可能存在或發生之問題，透過政策導向之科技研究計畫，以產品品質安全、使用者保護以及產業創新為基礎，落實實證研究，委託學術界及業界，進行政策評估研究，所得成果作為具體施政計畫之參據。

貳、計畫目的

規劃中醫藥未來長期之研究發展，並配合行政院組織改造後，中醫藥司與中醫藥研究所之任務職掌發展考量，以目前重大社會議題及未來前瞻性議題，規劃以產品（藥品及藥材）之品質安全與療效、醫療服務與消費者使用安全、中醫藥醫療產業創新研發、中醫藥衛生教育與衛生教育提供者之專業資源及監測）以及組織變革之分工協調等構面，以四年為期，進行政策規劃委託研究。

參、實施期程

民國 101 年 1 月 1 日至 104 年 12 月 31 日，共計 4 年。

肆、執行機關

行政院衛生署中醫藥委員會（CCMP）、國立中國醫藥研究所（NRICM）、行政院衛生署食品藥物管理局（TFDA）

伍、問題與對策

一、 產品（藥品及藥材）之品質安全與療效

問題	對策
1.市售中藥製劑製造品質瑕疵（藥材混誤用、農藥殘留、重金屬生菌污染含量及塑化劑）	1. 製劑 GMP 製造品質管制與檢驗標準解說書 2. 預測污染可能性 3. 檢驗方法之開發與提升研究 4. 參考中國大陸中藥典，嚴謹修定中華中藥典檢驗規格標準與國際法規協和，制定製劑異雜物含量標準 5. 中藥標準品製備研究與科學應用
2.市售中藥材混誤用	1. 推動藥材產地契作建立 GAP 制度 2. 兩岸互推溯源計畫及生產履歷制度 3. 中藥(材)混誤用鑑別(定)方法之開發與提升研究
3.市售中藥材製造品質瑕疵（農藥殘留、重金屬及生菌污染含量）	1. 制定中華中藥典有關農藥殘留、重金屬及生菌污染標準 2. 中藥(材)檢驗方法之開發與提升研究
4.藥材尚未以藥證列管，品質標準尚無法建立	1. 定義飲片，建立飲片炮製規範 2. 建立炮製工廠設置規範 3. 中藥材炮製安全性研究 4. 飲片包裝安全性及規格一致性之研究 5. 不良品監測
5.藥材品質檢驗資源不足，中國大陸藥材飲片之檢驗，大包裝由質量技術監督局執行，小包裝則由藥品生物製品檢驗所執行，未開放民間經營	1. 建立中藥材檢驗之實驗室認證及驗證基準(GLP) 2. 認證及驗證機制法制化 3. 比較分析兩岸品檢單位之實驗室人力資源及品質 4. 建立兩岸源頭檢驗實驗室相互認證機制 5. 檢驗方法之開發與提升研究

問題	對策
6.中草藥複合性產品可能產生之交互作用，以及中西藥或食品併用之交互作用	1.中草藥複合性產品(例如中草藥應用於健康食品)之安全性研究 2.中西藥或食品併用之安全性研究 3.中草藥安全性流行病學調查
7.中草藥產品不良反應之安全監視及危害資訊獲得	1. 健康食品具有中藥成分者之安全性再評估（例如含甘草成分久服易造成電解質下降） 2. 建立中草藥交互作用之風險管理及評估（risk management and assessment）機制 3. 建立危害通報系統（report system）及資訊管理發布機制 4. 強化消費者用藥安全之警語、注意事項實證與實驗研究 5. 藥事專業人員對中藥保健品之專業能力、服務品質
8.產品依藥品療效及食品功效再分類（處方藥、指示藥、成藥、健康食品、特殊營養食品）	1. 藥品再評估、再分類（濃縮及傳統製劑） 2. 藥品審查基準（處方藥、指示藥、成藥） 3. 藥食同源正本清源的食品低度功效（low level claim） 4. 健康食品審查基準 5. 特殊營養食品審查基準 6. 新興中藥產品與健康食品長期追蹤研究
9.中醫藥生技新產品(含新療效、新藥材、新使用部位、新複方) 進行中藥臨床試驗	1. 中藥新藥臨床試驗標準作業程序 2. 選病（國人常見疾病）執行臨床試驗 3. 傳統中藥之療效評估研究 4. 創新複方之療效評估研究 5. 新資源(本土藥材或中草藥)之療效評估研究 6. 選用使用經驗有效之藥材進行健康

問題	對策
	食品功效試驗 7. 中醫診療器材之療效評估研究 8. 針灸相關療法之療效評估研究
10.中草藥進行療效研究，依療效及功能，分別制定臨床試驗方式	1. 治療疾病之療效研究，以臨床試驗為主 2. 改善身體功能之健康研究，建立簡易臨床試驗模式
11.中西適應症（病名）一致化	1. 中西醫學整合 2. 國際（兩岸）法規協和
12.分析儀器的有效性	訂定指標成分及附屬成分的分析，注意分析儀器的有效性

二、 醫療服務與消費者使用安全

問題	對策
1.消費者使用中醫藥之需求與供應調查研究	1. 非健保（自費）醫療行為分析 2. 民眾對中醫藥保健與治病之認知程度研究 3. 利用健保醫療資源，進行中醫健保使用行為分析
2.推動「中醫住院」，維護病患照護權益，建立中醫醫療服務作業流程，提昇醫療服務品質	1. 加強中醫診斷方法及工具 2. 建立診斷、處置、處方調劑專業給藥作業標準 3. 建置住院環境，門診、住院分流管理，由門診、會診到中醫住院 4. 加強住院醫師教育訓練 5. 加強中醫護理人員教育訓練 6. 規劃中醫臨床訓練納入中藥課程研究，開拓中醫藥之新市場
3.建立中西醫藥團隊整合性醫療服務，由民眾認知與選擇醫療方式（選擇中醫治療、選擇中西醫整合治療）	1. 建立指定疾病之中西醫結合病房、中西醫聯合門診、中西醫合治臨床試驗 2. 建立以疾病管理 (disease management)（選病）為導向之中西

問題	對策
	醫藥整合性醫療服務 3. 選擇特定疾病，以傳統西醫確保病患之基本療效（醫學倫理之必要），再加用中醫藥或針灸以提升有效率或縮短病程或節約醫療費用或降低副作用。例如腦中風亞急性期住院病患（中西醫合治病房）、自體免疫性疾病類風濕性關節炎＋中藥（中西醫合治臨床試驗）、Sick sinus syndrome(病竇綜合症) ＋中藥（節省使用人工心律調整器節省醫療成本）、Irritable bowel syndrome ＋中藥（減少腹瀉次數改善生活品質）、更年期症候群＋中藥（減少對荷爾蒙製劑使用改善生活品質）。 4. 建立各特定疾病之臨床治療路徑 5. 參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治 6. 長期照護及銀髮族中醫醫療照護服務系統
4.兼具中西醫資格者，限制擇一執業，影響中西醫結合治療。於未鬆綁前，考量中西醫師共同診治，設置中西醫結合之臨床實效研究，由中西醫互相配合，並解決「責任歸屬」問題。	1. 評估中西醫擇一執業法規鬆綁 2. 建立中西醫療會診者責任制度 3. 以疾病嚴重程度評估中醫提供醫療服務 4. 評估中西醫互助機制，相互開放部分診療操作項目
5.中醫藥實證醫學研究	1. 中西醫療法併用中西藥物之臨床研究與療效安全評估研究 2. 參酌 WHO 傳統醫學處在 ICD-11 加入之中醫藥證型研究 3. 中醫診療方法研究 4. 建立中醫實證醫學機制

問題	對策
	5.診斷、治療基準與規範 6.結合中藥界及其他學校共同執行實證基礎的學術研究 7.建立中醫藥臨床試驗基準，區隔研究設計
6.中醫藥數位管理	1. 建立中醫藥醫療服務數位網絡系統 2. 國際中醫藥科技政策資訊分析 3. 中醫藥及護理數位學習環境 4. 加強中醫藥資訊於資通訊產品上之普遍使用性
7.我國與中國大陸研究成果蒐集、評估、運用，加強向學術界宣導，公諸大眾，讓意見領袖（opinion leader）充分知曉，以利取得合理研究經費	1. 與中國大陸密切合作，蒐集各項計畫之研究成果，評估可接受之中國大陸相關研究成果 2. 整理我國過去中醫藥研究成果，不重複執行，落實施行於臺灣 3. 分類整理具有指標性的研究成果，加強向學術界宣導
8.現代化中如何對中醫藥古籍作適當整理，編輯成為可用的指引或教科書	適當整理中醫藥古籍，編輯現代版可用之指引或教科書
9.專業人員團隊建置與規範。	1. 參酌中國大陸、日、韓、港、星、歐美之作法，檢討現行「專業人員」、「執業規範」及「產品使用類別」，規劃制定具未來性之法令規範。 2. 檢討現行「醫療保險給付」對中醫發展的影響及未來改革方向。

三、 中醫藥人力規劃

問題	對策
1.因應以病人為中心及全人醫療之就醫趨勢，探究現行中醫師與西醫師養成教	1. 評估醫學教育允許中西雙修（中＋西；中學西；西學中）之可行性 2. 評估每醫學系開中醫學概論課程之

問題	對策
育有否調整之必要及如何調整？考量教、考、訓、用之一致性，相關醫師考試制度及臨床訓練方式，是否亦應一併檢討？	可行性 3. 以教、考、訓、用一致性，探討中西醫學養成教育、考試制度及臨床訓練方式
2.研究各國中西醫學整合模式執行方式，是否可將中西醫學整合應先區分疾病嚴重程度，中醫可以提供到什麼程度的醫療服務。	1. 中西醫學整合之模式及可行性研究 2. 評估中西雙執照同時健保給付之可行性之調整規劃
3.中醫師人力數量已達飽和狀態，為充分利用中醫藥人力資源，積極執行中醫藥人才開發及規劃，增進中醫師就業素質，提高中醫師專業素養及解決地理分布嚴重不均等問題，。	1. 醫藥人力資源開發 2. 增進中醫師就業素質及合理分布之研究 3. 規劃中醫師「中醫＋中藥」之整體教考用訓練系統 4. 規劃臺灣中醫向國際輸出模式
4.中醫藥專業人員培育，全面提升中醫師及藥事專業人員素質，中醫藥人力資源合理開發分布，開拓「健康管理」全新市場，將預防醫學及健康管理概念納入健保。	1. 評估建立未來中醫師之教考用制度（學制年限、雙主修） 2. 評估建立 PGY（post-graduate year）制度 3. 中醫師納入預防醫學及健康管理概念以評估教育制度之變革推動藥事專業人員對中藥保健品之專業能力、服務品質
5.臺灣中醫師之培育，兼具中西醫學雙專業結合，在國際上亦屬特殊罕見之高品質，應予善加利用，並可以考慮向國際輸出。	1. 規劃傳統中醫發展並促進國際合作 2. 評估國際對傳統醫學實際需求，規劃供應輸出中醫藥人才策略，開拓國外中醫新市場

四、 中醫藥醫療產業創新研發

問題	對策
1.藥材來源單一，應拓展多元開發	1. 多元藥材來源，品質管控一致 2. 本土藥材資源開發利用 3. 中藥資源之培育研究
2.製劑研發，產品使用效率	1. 製劑新使用途徑之研究 2. 增加製劑使用效率之研究 3. 特殊製造專業人才培育 4. 品質管制、製程管制、資訊分析、消費者保護等教育訓練
3.供應服務品質提昇	1. 建立產業品質（自主）評鑑機制 2. 推動 GSP 3. 產品與服務品質一致
4.產業聯盟	1. 建立兩岸分工作業模式 2. 分析市場規模 3. 產業聯盟，產業資源利用最大化
5.法規協和，適用中醫藥之相關法規	1. 國際法規協和及建立兩岸合作介接機制 2. 建立適用中醫藥之藥事法規 3. 產業創新條例及生技新藥發展條例之運用
6.智慧財產保護	1. 適用中醫藥之智慧財產權法規 2. 配合推動智慧財產權法規變革

五、 組織變革

問題	對策
1.部門分工	1.中醫藥委員會 101 年歸併衛生福利部，國立中國醫藥研究所改隸衛生福利部 2.建立部所政策分工及法制化
2.法規協和部所合作	部門合作介接機制及法制化
3.兩岸國際學術合作	建立國際學術研究合作之機制

六、 中醫藥衛生教育與成效評估

問題	對策
1.社區中醫藥衛生教育供需 (1) 中醫藥醫療利用普遍，民眾多次就醫及重複用藥情況日益嚴重，除造成醫療資源浪費，更可能危害民眾用藥安全。 (2) 為加強國人中醫就醫、中藥用藥安全觀念，針對不同族群，建構健全完整之中醫藥衛生教育服務網絡，以加強民眾對於中醫藥的認知、信賴及正確使用，進而導正民眾對於中醫藥用藥安全的認知與行為。 (3) 臺灣 65 歲以上老人佔總人口數 10.63%（內政部 2009 年統計），高齡化社會有關	1. 建立社區及職場民眾中醫藥相關之衛生教育宣導平台，充分利用社區基層醫療及藥局資源，訓練種子教師，於各類適當場所辦理宣導活動。 2. 以老年人口可接受之模式，製作適合老年人口之各類 CF 片，手冊及 DM。 3. 結合社區鄰里、發展協會、公私立機構、職場，加強中醫藥物食品管理之衛生教育宣導，確保民眾健康中醫藥生活。 4. 建構偏遠地區中醫藥醫療教育服務設施，提升中醫藥醫療照護品質。 5. 結合各類公私部門場域，社區鄰里、發展協會、社區大學等單位，共同營造社區中醫藥醫療資源安全利用。

問題	對策
老人就醫需求及用藥安全之衛教宣導值得重視。 (4) 社區老人常由同儕朋友介紹，於公園、廟口聚集處，遊覽車上、有線第四台、地下電台等管道接觸中醫藥訊息，造成錯誤就醫用藥行為。 (5) 提供偏遠和離島地區的民眾全面的醫療照顧，縮短中醫藥醫療照護品質城鄉差距，同時提供醫師、藥師及護理人員的教學訓練機會，對於偏鄉醫療與教育具有極重大意義與影響。	
2.學校中醫藥衛生教育供需 (1) 個人觀念與習慣的養成，由從小灌輸正確就醫用藥觀念開始。 (2) 藉由各級學校宣導，將中醫藥衛生教育宣導，由下而上紮根，將中醫藥推動現況及正確資源運用教導給學生，讓中醫藥校園化，更進而將訊息傳遞給家人。	1. 建立包括核心內容、核心人力及核心能力之中醫藥衛生教育核心主軸。 2. 建置中藥查詢資料庫，建立教學模組，提供民眾用藥安全知識平台，教導民眾辨識常見易混淆及誤用中藥材，認識中藥及中藥用藥安全，勿隨意購買不明中藥材。 3. 研發製作各層級學校中醫藥衛生教育指標及分類教材教綱，設計用藥安全認知（KAP）評估量表。
3.醫療院所中醫藥衛生教育資源利用 (1) 積極推動中醫藥用藥	1. 建置中醫藥安全資訊平台。 2. 強化與醫療院所、地方診所、社區藥局連結，共同推動中醫藥安全醫

問題	對策
安全宣導並結合相關配套措施共同施行，以強化民眾參與實踐中醫藥健康生活意願。 (2) 醫藥法規之目的，在經由醫藥專業人員提供醫療服務及藥品，並執行正確用藥諮詢服務。 (3) 加強中醫師、中醫護理人員及中藥藥事專業人員之繼續教育或常規訓練，提昇中醫藥衛生教育品質及普及化。 (4) 探討並整合全國中醫藥衛生教育服務人力及物力資源，結合各類傳播媒體，以創新研發以及多元傳播的方式，傳播民眾對於中醫藥用藥安全的認知與行為。 (5) 充分利用中醫藥衛生教育服務資源，促進中醫藥健康知識的普及。	療及辦理用藥安全衛教。 3. 透過社區教育機制結合醫院、專業藥師、學者及培訓志工，於全國社區宣導正確中醫用藥課程，正確傳達藥物的使用並維護民眾知的權利。 4. 系統化探討整體中醫藥衛生教育提供者之專業知能。 5. 規劃普及中醫藥衛生教育提供者之專業知能繼續教育或常規訓練，建立藥師、中藥商中藥繼續教育初階、進階訓練課程內容。 6. 發展由相關團體輔導會員學習認證機制。 7. 規劃成立中醫藥衛生教育資源中心，整合全國中醫藥衛生教育服務人力及物力資源，建置各類衛生教育媒體傳播平台之開發與利用模式。 8. 研發中醫藥衛生教育模式。 9. 彙編每年度各類中醫藥衛生教育成果專輯。
4.中醫藥衛生教育監測與評估 (1) 規劃建立監測與評估機制，針對衛生教育訓練成果資料彙整及評析，了解中醫藥衛	1. 辦理各項中醫藥衛生保健議題之訪問調查。 2. 整體調查評價教材設計成效，執行成效作系統化效益評估，結果以調查報告、新聞稿或專題研究報告等形式對外發布。

問題	對策
生教育訓練推廣及施行情形。 (2) 將具衛生教育意涵之調查結果及相關政策宣導事項，傳達予一般民眾，以期推廣正確的中醫藥知識。	

陸、分年執行方法與步驟

一、產品（藥品及藥材）之品質安全與療效

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
（一）標準化					
1. 與國際法規協合，制定製劑異雜物含量標準	CCMP	✓	✓		
2. 中藥(材)混誤用鑑別(定)方法之開發與提升研究	TFDA	✓	✓		
3. 制定中華中藥典有關農藥殘留、重金屬及生菌污染標準，中藥(材)檢驗方法之開發與提升研究	TFDA	✓	✓	✓	✓
4. 建立中藥材飲片炮製管理機制，修正法規，定義飲片，制定炮製工廠設置標準	CCMP	✓	✓		
5. 進行中藥材飲片炮製安全性研究，包裝安全性及規格一致性之研究，建立飲片炮製規範	NRICM	✓	✓		
6. 預測污染可能，檢驗方法之開發與提升研究	NRICM			✓	✓
7. 參考中國大陸中藥典，嚴謹修定中華中藥典檢驗規格標準	NRICM	✓	✓	✓	✓
8. GMP 品質管制與檢驗標準作業解說書	NRICM	✓	✓		
9. 中華中藥典編修與科學應用研究	NRICM	✓	✓	✓	✓
10. 中藥標準品製備研究	NRICM	✓	✓	✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
11. 訂定指標成分及附屬成分的分析，注意分析儀器的有效性	NRICM	✓	✓		
（二）實驗室認證					
1. 建立實驗室認證及驗證基準(GLP)	TFDA			✓	✓
2. 比較分析兩岸藥品檢單位之實驗室人力資源及品質,建立檢驗實驗室相互認證機制	TFDA	✓	✓		
3. 中藥源頭認證驗證機制與中藥材之檢驗認證基準之建置追蹤及評估研究	TFDA			✓	✓
（三）藥品安全療效監視					
1. 推動藥材產地契作，建立 GAP 制度,兩岸互推溯源計畫及生產履歷制度	CCMP	✓	✓		
2. 建立危害通報機制（report system），安全監視、警語、注意事項及不良品監測	CCMP	✓	✓		
3. 中草藥複合性產品(例如中草藥應用於健康食品)的安全性研究（例如含甘草成分久服易造成電解質下降）	CCMP	✓	✓		
4. 4.選用使用經驗有效之藥材進行健康食品功效試驗,進行新興中藥產品與健康食品長期追蹤研究	CCMP	✓	✓		
5. 建立健全臨床試驗環境,健全臨床試驗執行機制,選定國人常見疾病選方執行臨床試驗	CCMP	✓	✓		
6. 建立風險評估機制（risk assessment）	CCMP			✓	✓
7. 安全監視、警語、注意事項	CCMP	✓	✓		
8. 強化消費者用藥安全實證與實驗研究	CCMP			✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
9. 交互作用風險管理（risk management），流行病學調查，中西藥或食品併用之研究	CCMP	✓	✓	✓	✓
10. 中藥新藥臨床試驗標準作業程序	NRICM	✓	✓		
11. 選病（國人常見疾病）執行臨床試驗	NRICM	✓	✓	✓	✓
12. 療效評估研究-傳統中藥、創新複方、新資源(本土藥材或中草藥)、中醫診療器材、針灸相關療法	NRICM	✓	✓	✓	✓
13. 治療疾病之療效研究，以臨床試驗為主，改善身體功能之健康研究，建立簡易臨床試驗模式	NRICM	✓	✓		
（四）法制化					
1. 實驗室認證及驗證基準(GLP)法制化	CCMP	✓	✓		
2. 進行藥品類別（濃縮及傳統製劑之處方藥、指示藥、成藥分類）再評估、再分類，修正藥品審查基準	CCMP	✓	✓		
3. 修正健康食品、特殊營養食品審查基準，將藥食同源之中藥納入食品低度功效（low level claim）	TFDA	✓	✓		
4. 中醫藥委員會與食品藥物管理局食品組一起審查中草藥複合性產品（組織）	CCMP	✓	✓	✓	✓
5. 中西醫學整合，國際（兩岸）法規協和	CCMP	✓	✓		

二、醫療服務與消費者使用安全

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
（一）標準化					
1. 建立診斷、處置、處方調劑專業給藥作業標準	CCMP	✓	✓		
2. 加強中醫診斷方法及工具	CCMP	✓	✓		
3. 建立診斷、處置、處方調劑專業給藥作業	CCMP			✓	✓
4. 參酌 WHO 傳統醫學處在 ICD-11 加入之中醫藥證型研究	NRICM			✓	✓
5. 建立中醫藥醫療服務數位網絡系統，分析國際中醫藥科技政策資訊	CCMP			✓	✓
6. 建立中醫藥及護理數位學習環境，加強中醫藥資訊於資通訊產品上之普遍使用性	NRICM			✓	✓
7. 適當整理中醫藥古籍，編輯現代版可用之指引或教科書	NRICM			✓	✓
（二）臨床訓練					
1. 住院醫師教育訓練	CCMP	✓	✓	✓	✓
2. 中醫護理人員教育訓練	CCMP	✓	✓		
3. 藥事專業人員對中藥保健品之專業能力、服務品質	CCMP	✓	✓		
4. 重視美、韓、日結合醫學之發展，並促進國際傳統醫學交流合作	CCMP			✓	✓
5. 醫師用藥及藥事人員交付藥物繼續教育	CCMP			✓	✓
6. 規劃中醫臨床訓練納入中藥課程研究	CCMP			✓	✓
（三）臨床服務與評估					
1. 建立指定疾病之中西醫結合病房、中西醫聯合門診、中西醫合治臨床試驗	CCMP	✓	✓		
2. 選擇特定疾病，以傳統西醫確保病	CCMP	✓	✓	✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
患之基本療效（醫學倫理之必要），再加用中醫藥或針灸以提升有效率或縮短病程或節約醫療費用或降低副作用。例如：腦中風亞急性期住院病患→中西醫合治病房；類風濕性關節炎(自體免疫性疾病)＋中藥→中西醫合治療臨床試驗；Sick sinus syndrome(病竇綜合症) ＋中藥→節省使用人工心律調整器節省醫療成本；Irritable bowel syndrome ＋中藥→減少腹瀉次數改善生活品質；更年期症候群＋中藥→減少對荷爾蒙製劑使用改善生活品質					
3. 參與公共衛生照護體系及疾病（傳染病、慢性病）防治	CCMP	✓	✓	✓	✓
4. 長期照護及銀髮族中醫醫療照護服務系統	CCMP			✓	✓
5. 建立中西醫結合之臨床實效研究	CCMP	✓	✓	✓	✓
6. 非健保（自費）醫療行為分析	CCMP	✓	✓		
7. 中醫健保使用行為分析	CCMP	✓	✓		
8. 推動「中醫住院」，維護病患照護權益	CCMP	✓	✓		
9. 住院環境建置（由門診、會診到中醫住院）	CCMP	✓	✓		
10. 提昇醫療服務品質門診、住院分流管理	CCMP	✓	✓		
11. 中西醫藥整合性醫療服務由民眾認知與選擇醫療方式（選擇中醫治療、選擇中西醫整合治療）	CCMP			✓	✓
12. 以疾病管理（disease management）（選病）為導向之中西醫藥整合性醫療服務	CCMP	✓	✓	✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
13. 評估中西醫互助機制，相互開放部分診療操作項目	CCMP	✓	✓		
14. 以疾病嚴重程度評估中醫提供醫療服務	NRICM	✓	✓		
15. 中醫診療方法研究	NRICM	✓	✓	✓	✓
16. 探討①中國大陸②日、韓、港、星③歐美等三群組國家之作法，檢討現行「醫療保險給付」對中醫發展的影響及未來改革方向。	NRICM			✓	✓
17. 醫師與藥事人員合作，進行藥事照護（pharmaceutical care），回饋治療結果資訊	NRICM			✓	✓
（四）法制化					
1. 評估中西醫擇一執業法規鬆綁	CCMP	✓	✓		
2. 2 建立中西醫療會診者責任制度	CCMP	✓	✓		
3. 建立中醫實證醫學機制、診斷、治療基準與規範	CCMP	✓	✓	✓	✓
4. 建立中醫藥臨床試驗基準，區隔研究設計	CCMP	✓	✓		
5. 探討①中國大陸②日、韓、港、星③歐美等三群組國家之作法，檢討現行「專業人員」、「執業規範」及「產品使用類別」，規劃制定具未來性之法令規範。	CCMP	✓	✓		

三、中醫藥人力規劃

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
1. 以教、考、訓、用一致性，探討中西醫學養成教育、考試制度及臨床訓練方式，評估醫學教育允許中西雙修（中＋西；中學西；西學中）之可行性及醫學系開中醫學概論	CCMP	✓	✓		

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
課程之可行性					
2. 評估建立未來中醫師之教考用制度（六年制、PGY）	CCMP	✓	✓	✓	✓
3. 中醫師納入預防醫學及健康管理概念以評估教育制度之變革	CCMP			✓	✓
4. 評估中西醫學整合之模式及可行性研究，中西雙執照同時健保給付之可行性之調整規劃	CCMP	✓	✓		
5. 增進中醫師就業素質及合理分布之研究	CCMP	✓	✓		
6. 規劃中醫師「中醫＋中藥」之整體教考用訓練系統	CCMP	✓	✓		
7. 規劃臺灣中醫藥人才向國際輸出模式，開拓國外中醫新市場	CCMP			✓	✓

四、中醫藥醫療產業創新研發

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
1. 境內外管制(源頭管制及市售品查驗）及品質管控一致	CCMP	✓	✓		
2. 推動 GSP，建立產業品質（自主）評鑑機制	CCMP	✓	✓		
3. 本土藥材資源開發利用，中藥資源之培育研究	CCMP			✓	✓
4. 國際法規協和及建立兩岸合作介接機制，建立適用中醫藥之藥事法規	CCMP			✓	✓
5. 產業創新條例及生技新藥發展條例之運用	CCMP			✓	✓
6. 增加製劑使用效率之研究，製劑新使用途徑之研究	CCMP			✓	✓
7. 品質管制、製程管制、資訊分析、消費者保護等教育訓練	CCMP			✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
8. 推動 GSP，建立產業品質（自主）評鑑機制	CCMP			✓	✓
9. 分析市場規模，建立兩岸分工作業模，產業聯盟促進產業資源利用最大化	CCMP			✓	✓
10. 配合推動智慧財產權法規變革，修正適用中醫藥之智慧財產權法規	CCMP			✓	✓

五、中醫藥衛生教育與成效評估

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
（一）社區中醫藥衛生教育供需					
1. 推廣社區衛生教育，結合社區鄰里、發展協會、公私立機構及職場，建立民眾中醫藥相關之衛生教育宣導平台，充分利用社區基層醫療及藥局資源，訓練種子教師，於各類適當場所辦理宣導活動，宣導民眾正確就醫用藥知識、中醫藥物食品管理。	CCMP	✓	✓		
2. 配合不同年齡層，以可接受之模式，製作各類 CF 片，手冊及 DM	CCMP	✓	✓	✓	✓
3. 發展由相關團體輔導會員學習認證機制。	CCMP			✓	✓
4. 正確用藥資訊及知識提供	CCMP	✓	✓		
5. 加強中醫藥保健與治病之民眾教育	CCMP	✓	✓		
（二）學校中醫藥衛生教育供需					
1. 建立學校中醫藥衛生教育核心內容、核心人力及核心能力之中醫藥衛生核心教育主軸。	CCMP	✓	✓		
2. 研發製作各層級學校中醫藥衛生	CCMP			✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
教育指標及分類教材教綱，設計用藥安全認知（KAP）評估量表。					
（三）醫療院所中醫藥衛生教育資源利用					
1. 醫療院所建置中醫藥安全資訊平台，建構偏遠地區中醫藥醫療教育服務設施，強化與醫療院所、地方診所、社區藥局連結，宣導正確中醫用藥課程，正確傳達藥物的使用並維護民眾知的權利。	CCMP	✓	✓		
2. 建置中藥查詢資料庫，建立教學模組，提供民眾用藥安全知識平台，教導民眾辨識常見易混淆及誤用中藥材，認識中藥及中藥用藥安全，勿隨意購買不明中藥材。	CCMP			✓	✓
3. 規劃普及中醫藥衛生教育提供者之專業知能繼續教育或常規訓練，建立藥師、中藥商中藥繼續教育初階、進階訓練課程內容。	CCMP			✓	✓
（四）中醫藥衛生教育監測與評估					
1. 系統化探討整體中醫藥衛生教育提供者之專業知能。強化中醫藥衛生教育提供者之專業知能整合教育資源成果監測	CCMP			✓	✓
2. 規劃成立中醫藥衛生教育資源中心，整合全國中醫藥衛生教育服務人力及物力資源，建置各類衛生教育媒體傳播平台之開發與利用模式。	CCMP			✓	✓
3.研發中醫藥衛生教育模式。	CCMP			✓	✓
4. 彙編每年度各類中醫藥衛生教育成果專輯。	CCMP			✓	✓
5. 辦理各項中醫藥衛生保健議題之訪問調查。整體調查評價教材設計	CCMP			✓	✓

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
成效，執行成效作系統化效益評估，結果以調查報告、新聞稿或專題研究報告等形式對外發布。					

六、組織變革

執行方法與步驟	執行機關	101年	102年	103年	104年
1. 配合中醫藥委員會及國立中國醫藥研究所歸併改隸衛生福利部，建立部所政策分工及法制化	CCMP	✓			
2. 建立部門合作介接機制及法制化	CCMP	✓			
3. 建立兩岸及國際學術研究合作之機制	CCMP	✓	✓		

七、經費預估

101 年度經費建議暫估新台幣 3 億元；102 年度經費建議暫估新台幣 3 億元；103 年度經費建議暫估新台幣 2 億元；104 年度經費建議暫估新台幣 2 億元。合計新台幣 10 億元。

八、撰寫報告

(一) 詳實記錄各項會議之預備資料及紀錄。

會議全程錄音並提供委員發言條紀錄發言重點；會後依錄音檔及委員發言條整理重點作成會議記錄。

(二) 將相關參考資料妥為建檔。

1. 歷次會議相關資料依開會通知、議程及會議記錄等順序建立檔案如附件一至六。
2. 將歷次會議資料電子檔及會議錄音檔，依會議主題建立資料夾，燒成光碟陳中醫藥委員會參卓。

肆、討論

世界衛生組織及歐洲議會皆認為 CAM（Complementary and Alternative Medicine）的重要性與日俱增，醫藥政策不容忽視，必須保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質、安全及療效的藥物，歐洲議會認為必須評估中草藥具有臨床安全性及有效性，並應公開聲明各草藥產品有關的風險。其策略係透過制定和實施國家傳統醫學政策和規劃，將傳統醫學納入國家保健系統。本計畫亦規劃推動中醫住院制度，並研議以專病規劃納入健保支付。

歐盟傳統草藥品指令(EU Directive on Traditional Herbal Medicinal Products)要求具有 30 年以上使用歷史，其中至少有 15 年是在歐盟境內使用，對於我國上市之傳統藥品，因缺乏在歐盟國家 15 年使用經驗，不易開拓歐盟市場，2011 年大陸產品登陸歐盟亦因此全面失敗，需以新藥競爭，我國政府宜及早輔導規劃。

中國大陸是我國得以競爭之市場，其 2011 年開始推動之「第十二個五年計畫綱要」，已將中醫藥事業發展，併同新醫改政策，堅持中西醫並重，發展中醫醫療和預防保健服務，推進中醫藥創新發展，，加強中醫藥教育及人才培育，加強中藥資源保護、研究開發和合理利用，推進品質認證和標準建設，值得我國注意其發展結果，並作為我國推動未來十年中醫藥政策之參考。

國際間已不斷發展「標準化」，我國中醫藥亦應掌握世界脈動，以建立中醫藥實證科學作業與國際標準協合，方能事半功倍。

本計畫依據「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」各項會議結論，草擬未來四年（101 年-104 年）之中醫藥研究發展策略方案及核心工作內容項目，初擬「中醫藥品質安全及消費者保護創新研究中程計畫」（草案），宜應繼續研議推動。

伍、結論與建議

本計畫獲致下列結論：

一、本計畫由 54 位中醫藥衛護專家學者成組成「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」，六次會議完成規劃「102 年度中醫藥科技研究方向」、「102 年度中醫藥衛生教育策略發展方向」及「建構中西醫整合醫療研究之模式」之具體建議。

二、完成整理分析世界衛生組織、歐盟議會、中國大陸及日本有關草藥（herbal medicinal products）、中醫藥及漢方藥之研究方向、產品市場、智慧財產及法規，分析所得結果提報「中醫藥現代化與國際化研究專家核心小組」會議討論。

三、以「產品品質安全」、「使用者保護」、「中醫藥產業創新研發」、「組織變革」以及「衛生教育」等構面就相關問題予以分類，擬具 101-104 年度研究對策方案修正研究方向架構。

四、蒐集中國大陸「第十二個五年計畫綱要」，參酌中國大陸「十二五」期間相關中醫藥發展主要目標及規劃，整理分析國際「標準化」之發展與規劃，預測未來中醫藥環境之方向。預測未來中醫藥衛生與健康變遷。

五、將核心小組會議相關結論，納入中醫藥委員會「102 科技議題及分項策略」及「推動區域生醫產業合作重要結論與建議執行進度」。以產品品質安全、使用者保護、中醫藥產業創新研發、組織變革以及衛生教育等構面，依「任務導向議題（以重大社會事件為主）」及「前瞻性議題（以未來實證為主）」予以分類，擬具 101-104 年度研究對策方案，修正研究方向架構。

六、依「產品（藥品及藥材）之品質安全與療效」、「醫療服務與消費者使用安全」、「中醫藥人力規劃」、「中醫藥醫療產業創新研發」、「組織變革」及「中醫藥衛生教育與成效評估」六大方向，擬具四年（101 年-104 年）「中醫藥品質安全及消費者保護創新研究中程計畫」（草案），提交中醫藥委員會。

七、本計畫因係持續配合中醫藥委員會所指示之政策方向，所得各項成果，預期皆可作為中醫藥委員會未來各年度之施政參考。

本計畫作成下列建議：

一、臺灣濃縮中藥輸出至中國大陸遭遇法規問題，建議納入兩岸衛生協議，推動兩岸進行濃縮製造方法與傳統製造方法分析，結果儘速研議整合相關法規，及早解決。

二、歐盟多數為傳統使用草藥國家，輸入草藥要求具有 30 年以上使用歷史，其中至少有 15 年是在歐盟境內使用，對於我國上市之傳統藥品，因缺乏在歐盟國家 15 年使用經驗，不易開拓歐盟市場，建議我國政府宜及早輔導規劃以新藥競爭國際市場。

三、CAM（Complementary and Alternative Medicine）在世界的重要性與日俱增，要求必須保證病人足以獲得經過適當訓練的最佳專業人員，以及具有可靠品質、安全及療效的藥物，透過制定和實施國家傳統醫學政策和規劃，將傳統醫學納入國家保健系統。建議政府及早規劃推動中醫住院制度，並研議以專病規劃納入健保支付，以達 CAM 的要求，並得以將我國醫藥人力及專業能力推動向國際輸出。

四、中國大陸 2011 年推行「第十二個五年計畫綱要」，將中醫藥事業發展，併同新醫改政策，以中西醫並重，發展中醫醫療和預防保健服務，建議政府密切注意其發展結果，作為我國中醫藥政策之參考。

五、本計畫所擬四年（101 年-104 年）「中醫藥品質安全及消費者保護創新研究中程計畫」（草案），建議繼續就所擬內容，依各年度之政策事件，逐年檢討修正。

六、建議未來有類似計畫時，可增加衛生政策及消費者保護等專家學者或團體代表參與會議，以利多元聲音（例如:探討中藥廣告、藥酒課稅管理、健保中醫利用）等議題之搜集彙整。

七、本計畫分析世界衛生組織、歐盟、中國大陸及日本等國有關中醫藥之政策法規，建議中醫藥委員會積極推動配合我國相關法規之修正。

八、本計畫依產品（藥品及藥材）之品質安全與療效、醫療服務與消費者使用安全、中醫藥人力規劃、中醫藥醫療產業創新研發、組織變革及中醫藥衛生教育與成效評估六大方向，具體提出問題及對策，擬具四年(101 年-104 年)『中醫藥品質安全及消費者保護創新研究中程計畫』（草案），提請中醫藥委員會參考，並具體實施。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-043 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 中醫藥委員會：臺灣建置中草藥臨床試驗環境計畫成果摘要暨管理法規彙編。98 年 8 月，第 3 頁。
2. 推動中醫藥之發展十年有成---行政院衛生署中醫藥委員會十週年會慶系列活動（中醫藥委員會 94.10.18 發布新聞）
3. WHO and CoE Policy on CAM
4. Guideline on Quality of Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products
5. Guideline on the assessment of clinical safety and efficacy in the preparation of community herbal monographs for well-established and of community herbal monographs/entries to the community list for traditional herbal medicinal roducts/substances/preparations（EMEA/HMPC/104613/05）
6. 世界衛生組織 2008 年 11 月 8 日傳統醫學大會北京宣言
7. 透過兩岸搭橋計畫，加強中草藥合作機制（行政院衛生署 2008/12/19 發布新聞）
8. 加速中醫藥之科學化與現代化（行政院衛生署 2008/06/20 發布新聞）
9. 行政院衛生署：民間部門醫療保健支出統計。2008/12/11
10. 10.97 年財政部關稅總局進出口貨物、數量、價值統計表
11. 經濟部 2008 年臺灣中草藥產業概況
12. WHO quality control methods for medicinal plants and materials
13. WHO Guidelines on Good Agricultural and Collection Practices for medicinal plants (GACP) in 2003
14. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues in 2007
15. WHO Monograph on Good Agricultural Practice and Good Collection Practice (GACP) for Artemisia annua L. in 2006
16. WHO guidelines on good manufacturing practices (GMP) for herbal medicines in 2007
17. Report of the WHO Interregional Workshop on the Use of Traditional Medicine in Primary Health Care, Ulaanbaatar, Mongolia, 23-26 August 2007

編號：CCMP99-RD-046

中醫藥研究成果推動與應用

顏上詠
逢甲大學

摘　要

研究目的：

中醫藥委員會研究計畫具有良好的成果，希望藉由本計畫，不但可以評估現有的研究成果，從中篩選出好的案件以專利保護，並以積極行動推展中醫藥委員會委辦研究計畫之優良成果，並加速研究成果之應用及促進產業發展。另一方面提供專利及富智財文化經驗團隊組成諮詢團隊，提供相關諮詢服務。

研究方法：

協助中醫藥委員會評估及申請專利，另將中醫藥委員會已獲得之專利或優良研究成果，舉辦三場公開技轉及成果應用說明會，邀請各家藥廠及生技公司、學術界等相關單位參與，徵求有意願承接及合作的廠商以落實學術成果產業化，期間並配合辦理中醫藥智慧財產權相關課程訓練。撰寫招商、技轉授權與契約書相關資料，進行專利或優良研究成果授權。成立諮詢委員會，供中醫藥委員會及本會委託研究計畫主持人諮詢。

結果：

1. 專利評估會議共舉辦四場，評估的案件共 22 件，其中只有 3 件，符合專利要件，建議先申請台灣專利，可以在優先權取得先機，未來一年內，若有需要也可以以台灣專利申請的優先權再申請他國專利。
2. 公開技轉及成果應用說明會（含技轉說明會及智權課程），共吸引 240 人次參與，會議之後也都有非常熱烈的討論及意見交換。

討論：

1. 評估的案件，原計畫為 20 件，而本次評估的案件 22 件（多年計畫視為同一件），惟符合申請專利的案件，因為技術缺乏新穎性及進步性居多，所以未來在技術的研發初期時，智財權團隊需扮演重要角色，協助研發人員並提供相關智財觀念，否則一種新藥開發至少需要 5-10 年的研發期，若無法順利得到智財的保護，獲利將會大打折扣。
2. 影響活動的條件很多，但是現代人的時間寶貴，因此地點的選擇也就扮演著很重要的角色，國內搭乘高鐵南北往返開會已漸漸為趨勢。另一方面，同一

次會議可得到最多的學分、技轉標的說明及課程內容，也將更容易吸引大眾前往參與的關鍵。

關鍵詞：中醫藥、專利、智慧財產、技術授權

Number: CCMP99-RD-046

Chinese Medicine Research Results Promotion and Application

Shang-Yung Yen PhD
FENG CHIA UNIVERSITY

ABSTRACT

Committee on Chinese Medicine and Pharmacy (CCMP) has excellent research projects results. Through this program, we not only assess the existing research results, but also select some good cases to obtain patent protection. Moreover we take positive actions to promote excellent research projects results and accelerate the application of research results and promote industrial development. Finally we arrange a committee to provide rich experience in patent and intellectual property commercialization, and provide consultative services related to services.

Method:

1. To assist CCMP to assess and apply for patents, to hold open technology transfer and results applications which pharmaceutical, biotech companies etc., are invited. The willingness is to seek co-manufacturer, and to implement the industrialization of academic achievements.
2. To write investment, technology transfer and contracts information, and carry out patents and excellent research authorization.
3. To arrange a team with intellectual property rights, patents ands technology transfer relevant experience to handle the results of the authorization., and to arrange a Committee for CCMP and moderators of CCMP research projects to consult.
4. To handle intellectual property rights of Chinese medicine-related courses.

Results:

1. We held four patent evaluation meetings in this CCMP plan. Less than 10% (2/21) cases meet requirements for patentability and could be applied for filing them in Taiwan. If necessary, these cases can also be claimed by a priority of Taiwan patent application to apply for foreign patents.
2. We took place some meeting to discuss technology transfer and application of the results open briefings (including technology transfer and intellectual rights briefings course). There are 240 people participated with a very active discussion and exchange of views.

Discussion:

1. Assessment of the case, the original plan for the 20, but in this case 22 assessment. Only 3 cases are qualified to meet the requirements for patentability, because most of cases lack novelty and inventive steps. Therefore, in future research and development in the early technology, intellectual property team needs to play an important role in helping researchers and providing the concept of intellectual property(included CCMP or SBIR , etc.,) As being a new drug development requires at least 5-10 years of R & D period, well-protected intellectual property protection will reduce profit from the intellectual property.
2. Some factors and conditions affect the activity of person to join a meeting. So, the choice of location also plays an important role. In particular, the factors include available credit, the subject of technology transfer instructions and course content. All above feature will be easier to attract the public to participate the meeting.

Keywords: Chinese medicine, patent, intellectual property righ

壹、前言

傳統中醫藥主要建立於較為自然，較少副作用之整體健康醫療。相對於西方「對症下藥」，傳統中藥對於精神或情緒上失調之症狀，能提供較為和緩且有效之治療方式；自 1970 年代開始，全球對於中草藥之需求已有逐漸明顯增加之趨勢，因此這些具備功效之傳統中草藥療法，建漸成為西方醫療體系及全球醫界認可，紛紛進行立法保護，文獻更指出 2006 年，中醫藥全球產值約 350 億美元，每年更以 10-15%成長，「哈佛商業評論」更預測了中醫藥現代化將是未來二十年最重要的四大產業之一。

然而就資金方面來看，綜觀目前國內企業界以中小企業為主，在中醫藥產業領域也是一樣，常礙於中藥廠商規模過小、資金短缺且缺乏國際視野，導致我國中醫藥產業面臨極大的發展瓶頸。另就法規方面來看，因為國內對中醫藥專利的審查基準遲至 2008 年才出爐，在業界尚未盡熟悉此基準規範下，中醫藥專利數量的表現上遠遠落後於歐、美、中國大陸及日本。這對講求以知識的核心競爭力來說，不啻是一種發展上的隱憂。

此外，在知識經濟的今天，無形的智慧資產遠遠已經超越有形資產的重要性，而從科學和技術的角度來看，專利往往扮演了一個相當重要的角色，對生物醫藥領域來說，甚至還可強調：沒有專利的公司根本就不是這行業的參與者。很可惜的是在台灣，專利相關的教育沒有普及，再加上對於研究成果之評估也很多著重於論文之發表，使得原本有些很好的研究成果只發表在期刊，因而喪失有價值的產出。

有鑑於此，本計畫之研究目的，短期目標，可以藉由此計畫，對部份中醫藥研究成果，進行評估，對於符合的案件提出國內、外專利申請，舉辦公開授權技轉及成果應用說明會等；中程目標，辦理中醫藥研發成果事業化導引訓練、智慧財產權相關課程訓練及研發成果制度及規章使用者之宣導等；而長程目標則是希望能促進中醫藥創新政策、建置中醫及研發成果管理及運用之機制，建立中醫藥業者諮詢服系統，培養相關科技人員及輔導中醫藥委員會建置管理規範或相關契約，甚至協調智財權與研發的參與機制等。從而期望未來能將中醫藥領域研究成果最有價值化。

貳、實施方法

一、協助中醫藥委員會評估及申請專利，另將中醫藥委員會已獲得之專利或優良研究成果，舉辦三場公開技轉及成果應用說明會，邀請藥廠及生技公司、學術界等相關單位參與（於今年 1 月 20 日台中、6 月 18 日台北及 9 月 23 日台南共舉辦三場技轉說明會，詳細時間地點及說明會內容，請參考結果第 11 頁至 14 頁），徵求有意願承接及合作的廠商落實學術成果產業化。

二、撰寫招商、技轉授權與契約書相關資料，進行專利或優良研究成果授權。經審查後的技轉授權合約書如附件：合約書範本，目前有天明製藥公司對於公開技轉及成果應用說明會所提供的技術相當有興趣，目前為篩選階段。

三、需具有智慧財產權、專利及技術授權法律背景及辦理成果授權相關經驗 團隊；並成立諮詢委員會，供本會及本會委託研究計畫主持人諮詢。諮詢委員會於今年 1 月 17 日成立，並於 4 月 1 日、7 月 15 日及 9 月 21 日召開三次專利評估會議，共審查來自中醫藥委員會的 21 個計畫案件，10 月分中醫藥委員會也還有提供 1 個案件，所以至本日為此，共有 22 個案件。但除了專利評估會議外，另外也有提供趙效明醫師國內及美國專利申請諮詢。

四、辦理中醫藥智慧財產權相關課程訓練。訓練課程與技轉說明會同一天辦理，（課程內容也請參照結果第 11 頁至 14 頁各次技轉說明會的會議流程表）。若單純辦理訓練課程恐怕會讓人覺得枯燥乏味，所以才會與技轉標的之技術說明會同時舉行。

參、結果

分為成立諮詢委員會及中醫藥智財權及技轉說明會兩部份說明：

一、 諮詢委員會，從 1 月 17 日成立後，並於前後於 4 月 1 日及 7 月 15 日兩次的專利評估會議共評估 21 件案件，並於 9 月 21 日從這 21 個案件中選出比較適合的案件再進行一次評估（4 個發明人五件案件）（評估統計如圖五）。五案分別如下所述：（合約工作執行內容第 1 點）（另外 10 月分加審一案，總數為 22 件）

(一) 計畫編號 CCMP96-RD-210 與 CCMP97-RD-210　主持人：周昌弘教授

關於本計畫係分析茄科植物具生物活性之化合物、探討分離出之化合物對抗肝炎病毒之功效及探討具生物活性之化合物生合成機制，以瞭解其基因與化合物之演化相關性。

目前，本研究利用山煙草經萃取過程分離出編號 SEL9363625 及 SEL93944 的化合物，並經過一串的體外實驗，如抗原表現、表面蛋白表現、B 型肝炎病毒 DNA 複製之劑量效應、DNA 複製之時間效應、細胞毒殺性之影響等相關實驗，證實 SEL93944 該化合物具有抗肝炎病毒的效果。因此本計畫預定申請具有抗肝炎病毒的 SEL93944 化合物。

(二) 計畫編號 CCMP98-RD-014　主持人：陳錦樹教授

此計畫中所使用的 *Asp. oryzae* NCH-42 可於多種中藥渣中生長，並且利用甲醇萃取所得之萃取物具有較佳的抑菌能力，且該些中藥渣如：厚朴、金銀花、括樓仁、甘草以及丹蔘於 30℃、添加水量比為 1:6 進行發酵五天，可得較廣泛之抑菌效果；另，厚朴、金銀花、括樓仁、甘草以及丹蔘經過 *Asp. oryzae* NCH-42 發酵並以甲醇萃取後，與未發酵藥渣之甲醇萃取物相比較結果顯示，單寧含量均降低；此外，關於單寧含量降低，有助於未來畜產業的發展，如經過處理的藥渣可作為飼料應用。

然此計畫所使用的 *Asp. oryzae* NCH-42 是否曾經公開，則需注意，若欲申請專利，則中興大學亦可評估。此外，本案的價值在於 *Asp. oryzae* NCH-42，而降解單寧的結果可另外申請。

(三) 計畫編號 CCMP97-RD-207　主持人：徐松錕教授

此計畫係利用臨床病人的治療效果，篩選可以有效抑制肺腺癌的中藥（中藥篩選平台），並且利用細胞、動物實驗來確認中藥的療效及中藥抑制細胞的效果與分子機轉。

本計畫因經費及人力問題，無法進入動物實驗；然在細胞實

驗中，已篩選出有效抑制肺腺癌細胞(A549， H1299)的生長的中藥、對癌細胞的毒性有專一性（相較於控制組細胞）及 EGFR 的磷酸化與相關訊息傳遞。

在本計畫中，中藥的使用方法係以號碼來標示中藥材，以避免預期心理；採用順天堂的科學中藥，並與水煎藥比較；最後透過溶解、離心、過濾來使用。本計畫經過細胞毒性測試、EGFR 訊息傳遞的抑制效果及 EGFR-AKT 訊息-中藥對 AKT 的磷酸化的影響等，發現所使用的中藥濃度需要用到 5mg/ml 才有效果，因此水煎藥也需相對高的劑量。

本計畫的未來方向希望能進入到動物實驗、分離有效成分及有效成份的圖譜分析(HPLC)。

(四) 計畫編號 CCMP96-RD-206　主持人：呂紹俊教授

本計畫係利用龍膽(A14)、炙甘草(A28)、五味子(A50)以 0.5: 0.3: 0.2 的比例製備而得的中草藥複方，其製備過程係將藥材與水以 12:1 的比例用陶瓷電壺或其他適合煎煮的容器煎煮，煎煮之時間為煮沸起計時 60 分鐘，煮沸期間不再添加水，將藥材盡量攪拌均勻使其浸到液面下，煎煮結束後靜置室溫下待冷卻，再以 100 號篩網過篩，過濾完的藥液可以減壓濃縮方式濃縮至 1g 藥材/1ml 液體的濃度。

此計畫經由細胞模式到兩種動物模式，結果顯示該配方可減少肝細胞脂肪含量，預防非酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝炎與肝纖維化。

二、諮詢委員會，在 2 月份及 6 月份時分別接獲中醫藥委員會轉辦趙效明醫師國內及美國專利，並由協助單位基律智財專利事務所承辦後續申請事宜，其中國內專利已於 8 月份通過，美國專利也進行至最後官方申覆階段。另外在專利評估後，有三案是符合專利申請，一案：周昌弘教授的 SEL93944 成份可申請國內及美國，評估後決定先申請國內，若未來要申請美國專利案則可以主張國際優先權；呂紹俊教授的計畫案亦符合申請專利的條件，但是需再提供三合一與單一味中藥的優劣比較，而本案之專利案，中醫藥委員會建議暫時不申請。第三案 1/17 審查案件，余建志教授具防潮包衣之低賦型劑科學濃縮中藥開發，符合專利申請，並請專利事務所完成說明書之撰寫並送件，但因余教授個人因素，本案放棄申請（工作執行內容第 2 點）。

計畫編號	計畫主持人	申請專利可能性	目前專利申請階段	備註
CCMP 96-RD-210 CCMP 97-RD-210	周昌弘教授	高	撰寫專利書中，預計11/20 前提出申請案。（未來也可申請美國）	多年性計畫
CCMP 98-RD-014	陳錦樹教授	高	不由本計畫申請	
CCMP 97-RD-207	徐松錕教授	高	不由本計畫申請	
CCMP 96-RD-206	呂紹俊教授	高	需要再補數據	中醫藥委員會指示暫不申請
本次技轉標的案件	趙效明醫師	高	台灣專利 8 月底通過	2 月申覆時轉委託基律事務所承辦
本次技轉標的案件	趙效明醫師	高	美國最終官方意見申覆	6 月申覆時轉委託基律事務所承辦
CCMP 96-RD-045 CCMP 98-RD-011	余建志老師	高	專利申請書資料已備妥及送件	發明人放棄

三、中醫藥智財權及技轉說明會概述如下：

（工作執行內容第 3 點智財及技轉說明會與第 6 點課程訓練）

第一場中醫藥智財權及技轉說明會

時間：100 年 1 月 20 日（四）上午 9:00

地點：台中逢甲大學第三國際會議廳

出席總人數：64 人（意願表如圖七）

時間流程表如下：

中醫藥智財權及公開授權技轉說明會

說明會議程

時間	流程	演講人
9:00~9:30	報到作業	
9:30~9:40	長官致詞	逢甲大學商學院 王葳院長
9:40~10:40	(一)中醫藥與智慧財產權	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠教授
10:40~11:00	休息	
11:00~12:00	(二)專利申請實務	智慧財產局專利審查官 張仁平科長
12:00~13:40	中餐時間	
13:40~14:40	(三)技術交易流程	財團法人台灣必安研究所 林靖哲博士
14:40~15:00	休息	
15:00~15:15	(四)技轉標的說明(I) 具防潮包衣之低賦型劑科學濃縮中藥開發	中國醫藥大學 余建志老師/發明人
15:15~15:30	(四)技轉標的說明(II) 艾灸煙霧之抽風排煙系統	台北市立聯合醫院中興院區 蔡德豐醫師/發明人
15:30~15:45	(四)技轉標的說明(III) 一種帶有 Wnt 訊息活化報導質體之穩定細胞株寄期使用方式與製造方法	陽明大學 莊凱安博士/發明人
15:45~16:00	(四)技轉標的說明(IV) 一種治療視網膜缺血及青光眼之中草藥組成物	振興醫院 趙效明醫師/發明人
16:00~16:15	(四)技轉標的說明(V) 分離自牛樟芝之具免疫調節性質之揮發性油及活性物質	中央研究院 陳水田教授/發明人
16:15~16:45	One-on-One meeting	

第二場中醫藥智財權及技轉說明會
時間：100 年 6 月 18 日（六）上午 9:00
地點：國立台灣大學法學院國際的議廳（霖澤館）
出席總人數：117（廠商意願表如圖八）
時間流程表如下：

中醫藥智財權及公開授權技轉說明會

時間	流程	演講人
9:00~9:30	報到作業	
9:30~9:40	長官致詞	台灣大學法律系 黃銘傑教授
9:40~10:10	(一)中醫藥技術智財權保護	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠副教授
10:10~10:40	(二)營業秘密法	基律科技智財有限公司 葛介正總經理
10:40~11:00	休息	
11:00~12:00	(三)專利申請實務	智慧財產局 簡正芳專利審查官
12:00~13:20	中餐時間	
13:20~14:20	(四)技術交易流程 (五)技術交易實務	財團法人台灣必安研究所 林靖哲博士
14:20~14:30	休息	
14:30~15:10	技轉標的說明(I) (1)一種治療視網膜缺血及青光眼之中草藥組成物 (2)Method for treating RETINAL ischaemia and glaucoma	振興醫院 趙效明醫師/發明人
15:10~15:30	(五)技術交易實務：技轉標的說明(II) 艾灸煙霧之抽風排煙系統	台北市立聯合醫院忠孝院區 蔡德豐醫師/發明人
15:30~15:50	(五)技術交易實務：技轉標的說明(III) 一種帶有 Wnt 訊息活化報導質體之穩定細胞株寄期使用方式與製造方法	輔仁大學 郭育綺教授/發明人

15:50~16:10	(五)技術交易實務:技轉標的說明(IV) 一種濃縮中藥之造粒方法	財團法人台灣必安研究所 高聿虹副理/發明人
16:10~16:30	(五)技術交易實務：技轉標的說明(V) 從含有有機污染物的中草藥移除該有機污染物的方法	國立清華大學 周鳳英教授/發明人
16:30-17:00	One-on-One meeting	

第三場中醫藥智財權及技轉說明會

時間：100 年 9 月 23 日（五）下午 1:30

地點：國立功成大學國際會議廳第三演講廳

出席總人數：67（如圖六）

邀請函如（圖九），廠商意願表（圖十）課程及技轉內容如下表：

時間	流程	演講人
13:00~13:30	報到作業	
13:30~13:40	長官致詞	成大育成中心主任 陳顯禎教授
13:40~14:10	(一)中醫藥技術智財權保護	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠副教授
14:10~15:00	(二) A.專利申請實務 B.技術交易平台與仲介人	基律科技智財有限公司 葛介正總經理
15:00~15:30	Break Time	
15:30~16:20	(三)技術交易流程	成大育成中心法務經理 陳錫山經理
16:20~16:45	(四)技術交易實務：技轉標的說明(I) 蛇床子素之製備方法與活性的測定	高雄醫學大學/詹道明教授
16:45~17:10	(四)技術交易實務：技轉標的說明(II) 舌診系統及其方法	國立中山大學/蔣依吾教授

四、撰寫招商、技轉授權與契約書相關資料（工作執行內容第 4 點），技轉授權合約書完成，並經中醫藥委員會及審查完成。（如附件：技轉合約書範本）

五、諮詢委員會成立於今年 1 月 17 日（工作執行內容第 5 點）

諮詢專家：

逢甲大學科技管理研究所　顏上詠教授
亞洲大學財經系　唐淑美副教授
藥學院中國藥學研究所　張永勳教授
智慧財產局專利審查官　張仁平科長
財專法人台灣必安研究所　林靖哲博士
基律科技智財有限公司　葛介正總經理

六、辦理中醫藥智慧財產權相關課程訓練（工作執行第 6 點）

課程分別於 1 月 20 日、6 月 18 日及 9 月 23 日與技轉說明會同時舉行，時間地點請參照技轉會邀請函說明。

課程內容：

1 月 20 日課程內容	授課人員
(一)中醫藥與智慧財產權	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠教授
(二)專利申請實務	智慧財產局專利審查官 張仁平科長
(三)技術交易流程	財團法人台灣必安研究所 林靖哲博士

6 月 18 日課程內容	授課人員
(一)中醫藥技術智財權保護	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠副教授
(二)營業秘密法	基律科技智財有限公司 葛介正總經理
(三)專利申請實務	智慧財產局 簡正芳專利審查官
(四)技術交易流程 (五)技術交易實務	財團法人台灣必安研究所 林靖哲博士

9 月 23 日課程內容	授課人員
(一)中醫藥技術智財權保護	逢甲大學科技管理研究所 顏上詠副教授
(二) A.專利申請實務 B.技術交易平台與仲介人	基律科技智財有限公司 葛介正總經理
(三) 技術交易流程	成大育成中心法務經理 陳錫山經理

七、總結：全程成果預估

(一) 技轉說明會目標 300-400 人：但實際參加人數只有 245 人（已自依中醫藥委員會扣款處理。）

1. 專利審核累積 20 件：全部共審核 22 件。
2. 至少累計 3 件專利案申請：可申請案為 4 件，兩件由學校申請，一件已申請（後來發明者放棄申請），一件申請中（已於 11/17 送件申請，案號：100142022）。另外為趙效明醫師申請案（一件國內已通過、一件美國官方最後申覆。）

(二) 公開授權技轉及成果應用至少 10 家廠商追蹤及成交一件授權技轉案。

追蹤廠商超過 10 家，授權技轉案余建志老師授權及趙效明醫師合作目前至少兩案。

肆、討論

一、評估會議討論

(一)計畫編號 CCMP96-RD-210 與 CCMP97-RD-210

委員建議本案提出 SEL93944 藥學組成物為申請標的,用途為抑制肝炎病毒，另外需補充 in vivo 數據，有助於專利之申請。

(二)計畫編號 CCMP98-RD-014。

計畫發現 *Asp. oryzae* NCH-42 菌株有裂解單寧的作用，並可作為飼料的應用，且不影響蛋白質吸收，可另外以方法為專利申請標的。

(三)計畫編號 CCMP97-RD-207

本計畫建議以有效的藥材先行申請專利，之後若有後續的成果再陸續申請。

(四)計畫編號 CCMP96-RD-206

本計畫建議以三味藥材之特殊比例範圍申請專利。然而龍膽、甘草及五味子過去皆有保肝的報告，申請專利時可能需提出三者合用比單一藥材更好的效果，才有專利的可能。此次評估會議共審查 5 件可能申請專利之計畫。在這 5 件計畫中，其中，周昌弘教授 CCMP96-RD-210(CCMP97-RD-210) 及呂紹俊教授 CCMP96-RD-206 所主持的計畫在檢索及審查過程中，其具有專利三要件，亦是產業利用性、新穎性及進步性。

周昌弘教授欲申請的抑制肝炎病毒化合物需再補充 in vivo 數據，有助於專利之申請；而呂紹俊教授亦需提出三味材料(龍膽、甘草及五味子)合用比單一藥材有更好的效果數據。

因此，最後經計畫評估會議委員審查後，周昌弘教授及呂紹俊教授(計畫編號：CCMP96-RD-210(CCMP97-RD-210)、CCMP96-RD-206 之計畫預定先申請台灣發明專利案，而呂紹俊教授必須提出上述數據，否則暫不建議申請。(於第十一頁，對此五案件以統整說明申請可能性及專利進度，及增加余建志老師及趙效明醫師國內及美國三案。)

二、智財權及技轉說明會

本次計畫也於北、中、南三地各舉辦了一個智財權及技轉說明會，共吸引超過 240 人次，第一場 100/1/20 台中逢甲大學國際會議廳、第二場 100/6/18 台北國立台灣大學第一活動中心、第三場 100/9/23 台南國立成功大學國際會議廳第三演講廳，(活動內容及時程請參考各場次時間流程圖)。其中第二場及第三場有辦理藥師繼續教育學分。(其他詳細說明如第十七頁)

伍、結論與建議

這四場評估會議，總共評估完成共 22 個中醫藥委員會的計畫案件（但其中有多項為多年性計畫），但是最後符合且成功機會較大，僅剩余建志老師 CCMP96-RD-045 與 CCMP98-RD-011、周昌弘教授 CCMP96-RD-210 (CCMP97-RD-210)及呂紹俊教授 CCMP96-RD-206 三件計畫案，其具有專利三要件，佔全部評估案件的 9.5%左右。主要原因是許多技術從研發到實務的利用性，都很正面，都是建立在"學術"或研發上，其中學校的老師、碩士及博士生所研究的題材，若有重要研究成果時，第一時間就是發表在國內外文獻上，碩士或博士生更因為畢業論文的撰寫，必需將論文內容上傳，如此一來很容易使技術尚失新穎性，若在延伸至技術或產品的進步性時，符合的案件更是大打折扣。所以於此建議，未來可成立「智慧財產權諮詢委員會」，不僅可對中醫藥委員會所承辦的相關計畫，甚至對 SBIR、主導性新產品等國家計畫，在研發前端即應該進行專利智慧財產權的評估，以免錯失，申請專利的先機，對未來的技術商品化或全球化的商品行銷，可以帶來更大的商機及經濟效益。

本次委員組成：

逢甲大學科技管理研究所	顏上詠教授
亞洲大學財經學系	唐淑美副教授
藥學院中國藥學研究所	張永勳教授
智慧財產局專利審查官	張仁平科長
財團法人台灣必安研究所	林靖哲博士
基律科技智財有限公司	葛介正總經理

本次專利評估會議的人員，都是該領域頂尖的專家，評估專利也較說服力，同一案件經多人評估，評估結果也將更為客觀，建議往後的評估會議的組成，也能以此為參考。

有關智財權及技轉說明會，此次計畫期間，原計畫為辦理二場，台北及台中各一場，後來考量到多數製藥廠商均設於中南部，故於 9 月 23 日於台南國立成功大學加辦一場技轉說明會。三次會議的其他資料統整比較，如下表：

	第一場	第二場	第三場
地點	台中（逢甲大學）	台北（台灣大學）	台南（成功大學）
日期	100/01/20 星期四	100/06/18 星期六	100/09/23 星期五
會議時間全程	6 小時 45 分鐘	7 小時	4 小時 10 分鐘
課程部份時數	3 小時	3 小時	2 小時 10 分
技術標的說明時數	75 分鐘	120 分鐘	50 分鐘
藥師學分申請	無	有	有
技術標的件數	5 件	5 件	2 件
人數	64	117	67

第二場人數較約為另外兩場二倍，期中報告評估時，考量到很多 GMP 製藥廠商大多設址於南部，才於 9 月 23 日於台南成功大學，加辦乙場，由上表及廠商收到邀請函之後的回覆分析如下：

一、會議時間：週一到週五，應該是比週六的效果差，因為要上班上課。

二、會議時間點：邀請的學者或教授有反應，9 月份為開學期間，需要備課，無法參與。因此，時間點為學期末或寒假期，或許也是未來舉辦類似會議的參考。

三、會議地點：台北的地點比較方便，因可搭乘高鐵再轉捷運到公館站即可到達，無需離開車站，交通方便；反觀，台中逢甲大學，無論高鐵或台鐵，到站後均需再轉車；台南除了台鐵比較方便，但乘車時間過久，而台南高鐵站到成功大學，需再轉乘計程車，也要花二十分鐘以上的車程，也是相當不便。

四、會議全程時間：若一次出差，就能得到最多的資訊，這樣在時間上才是最符合經濟成本效益。

五、技轉標的件數：同第 4 點，第一場及第二場，在同一次的會議中，就能聽到最多的技轉標的。

六、藥師學分：目前每五十分鐘一個學分點，所以第二場比第三場可多點一個學分點，而第一場則完全沒有（藥師一年繼續再教育學分需要約 25 個）。

七、技轉標的說明時間：第一場每個技轉標的只有 15 分鐘說明，第二、三場每個標的說明時間約為 25 分鐘。技轉標的物說明時間若過短可能影響說明的完整性。

八、廠商：雖然很多藥廠設址於中南部，但是公司運作其實都在台北，中南部的主要是生產的廠房，真正會參與智財權說明及技轉標的說明的人員，並非中南部廠房的作業人員，所以雖然在南部舉辦會議，但沒有收到預期的效果。

綜合以上數點推論，台北舉辦說明會人數最多，因此舉辦活動時，台北場次優先考慮辦理；而中南部往後若辦理類似活動，可考慮中山醫學大學，因該地點離台中高鐵站較近，交通較為方便。而本次南部活動選擇成功大學原因係因國立成功大學係目前南部最大且相當頂尖的學校；此外，更是政府在南部針對技術交易發展的重點學校，故本次活動沒有於他校舉辦。另一方面，本次說明會收到各方的意見，尤其係南部場次是否可到高雄醫學院舉辦？因此說明會結束後，與高雄醫學大學育成中心人員談論時，該中心人員表示若有類似的活動於該校舉行，不需支付場地費用，因此上述都是往後辦理相關活動可做為參考。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-046 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 張仁平著，台灣中草藥專利保護之回顧與前瞻（上），載智慧財產權月刊，2011 年 11 月，頁 33-34。
2. 經濟部工業局，2003 生技產業白皮書，台北，2003 年 8 月，頁 53。
3. World Health Organization, WHO Trational Medicine Strategy, 2002-2005 Geneva:WHO(2000).
4. 生技時代，http://www.books.com.tw/magazine/item/bio1118.hm 2005 年 4 月 11 日
5. 中華民國產業技術資訊服推廣計畫，中草藥產業現況與趨勢，台北，2001 年 12 月，頁 12-26
6. 經濟部產業技術資訊服推廣計畫，（歐洲草藥商業規則及通路分析），百 3-29~3-30，91 年 8 月。
7. 顏上詠、貝俐珊、莊晏詞、唐淑美，論中草藥之法律保護，法學研究第二十三期 251-296
8. 智慧財產局「專利審查基準第二篇發明專利實體查第十二章中草藥相關發明」，2008 年 1 月 17 日

編號：CCMP99-RD-050

中藥治療乳癌患者化療副作用白血球減少之臨床療效評估計畫（2-1）

王惠暢
中國醫藥大學 醫學系

摘　要

本研究目的在評估中藥之治療是否可改善乳癌患者化療後「白血球減少」之副作用。本研究於中國醫藥大學附設醫院乳房外科進行為期兩年期之臨床試驗研究，採雙盲、隨機、安慰劑對照之臨床試驗(double blind, randomized, placebo controlled clinical trial)。受試者納入條件為經專科醫師首次確診之乳癌患者（年齡 ≧ 18 歲，Stage I、II、IIIa、IIIb、IIIc）；並排除以下研究樣本：（1）接受手術及化學治療前，病人已長期具有各種會引發影響判斷是否為「化療副作用」之相關症狀或疾病。（2）併有血液惡性腫瘤，或其他重大影響存活之疾病。（3）懷孕。（4）具嚴重之精神疾患。

受試者完成第一次化療即開始服用中藥。研究小組將在「手術前後、每次化療進行前」等時間點，記錄患者之血液及生化值；並同時分別以「BCQ 中醫體質量表」評估患者中醫體質狀態；以「癌症病患生活品質問卷表(EORTC QLQ-C30)」、「乳癌病患特殊生活品質問卷表(EORTC QLQ-BR23)」，及「Karnofsky 身體功能狀況量表」評估患者生活品質；以美國國家癌症學會(National Cancer Institute，NCI)所公佈之一般不良事件評量標準(Common Terminology Criteria for Adverse Events，CTCAE Version 3.0)評估乳癌患者接受化療後出現頻率較高之副作用。

截至 102 年 3 月 31 日止，共篩選出 130 位可入案之乳癌患者，簽署同意書者共有 52 人，其中因故中途退出 13 人，目前服藥及追蹤中 4 人，已完成全程服藥及追蹤 35 人。將這 35 位受試者資料解盲分析後，中藥組 16 人，安慰劑組 19 人。初步結果顯示當歸補血湯對於乳癌患者在接受化學治療時，對 WBC、RBC、Hgb、Platelet 有正面效益；另外，雖然未達統計上顯著差異，服用當歸補血湯受試者完成全程化療的天數較短，接受 GCSF 的比例較低、接受 GCSF 的總劑量亦較少；且中藥組無受試者因感染或血球降低而住院。

關鍵詞：乳癌、化學治療、白血球減少、中藥、體質、生活品質

Number: CCMP99-RD-050

Evaluation of the Effects of Chinese Medical Treatment on Leucopenia after Chemotherapy in Breast Cancer Patients (2-1)

Hwei-Chung Wang
School of Medicine, College of Medicine, China Medical University

ABSTRACT

This is a two-year double blind, placebo-controlled, and randomized clinical trial, which is aimed to evaluate the effects of Chinese medical treatment on leucopenia after chemotherapy in breast cancer patients. The study was conducted in the Department of General Surgery in China Medical University Hospital, Taichung. Fifty newly diagnosed breast cancer patient (age ≧18, Stage I, II, IIIa, IIIb, IIIc) were included. The exclusion criteria are: (1) Before receiving operation and chemotherapy, the patient already have other chronic diseases. (2) Already have hematological malignancy and other lethal disease. (3) Pregnant. (4) Have severe psychological diseases. The included subjects were interviewed and their blood was sampled before and after operation, 2 and 4 months after receiving chemotherapy. We will adopt the body constitution questionnaire (BCQ) to evaluate the Chinese medical constitutional status, the EORTC QLQ-C30, EORTC QLQ-BR23, and Karnofsky score to evaluate the quality of life, and to evaluate the adverse effects of the adjuvant chemotherapy with the NCI-CTCAE Version 3.0. At the end of the study, at least 35 subjects will complete the whole treatment protocol. This study will also investigate the influence of the operation and chemotherapy on the Chinese medical constitutional status, and in order to provide the basis for the complementary treatment for the breast cancer by adjusting and balancing the constitutional status of the patients.

Till the end of March 2013, a total of 52 patients were included in our study, 13 of them dropped, 4 are still receiving the treatment, and 35 patients completed the whole prorocol. The results revealed that Chinese medical treatment has beneficial effects on the WBC, RBC, Hgb and Platelet. Though it didn't achieve statistical significance, patients in the Chinese medical treatment group had shorter chemotherapy treatment length, received less GCSF administration, and no one was admitted because of infection.

Keywords: Breast cancer, chemotherapy, leucopenia, Chinese medicine, constitution, quality of life

壹、前言

一、乳癌的流行病學

行政院衛生署國民健康局於民國 98 年 3 月發佈民國 95 年癌症登記資料，乳癌高居女性癌症發生率首位；另比較 91 與 95 年癌症標準化發生率 5 年變化，女性所有癌症增加 4.7%，其中子宮體癌（31%）和乳癌（22%）增加幅度最高。而在 25-44 歲的壯年人口中，乳癌的發生率亦排名首位。由以上流行病學統計資料可知乳癌在我國婦女之健康保健上是舉足輕重的重要議題。

二、乳癌的治療方式

乳癌患者常見的治療模式可大分為局部的處置和全身性的治療。局部性處置，如手術、放射線療法；全身性治療則包括化學治療、荷爾蒙療法，及免疫治療等。以局部性處置而言，外科手術方式包括乳房保留手術(breast-conserving surgery)、部份乳房組織切除術(partial mastectomy)、單純性全乳房切除術(simple or total mastectomy)、改良型乳房根除術(modified radical mastectomy)，及腋下淋巴結採樣和摘除等。[2] 而放射線治療除了與局部切除乳房之保留手術合併，用於治療一、二期乳癌病人，而使病人保留乳房，提供與改良型乳房根除術相同的存活率外；放射線治療也作為根除手術後之輔助療法。

在全身性治療方面，荷爾蒙療法之目的，主要在阻斷位於癌細胞上的雌激素和黃體素之接受器，以防止癌細胞取得成長所需之荷爾蒙，進而誘導細胞死亡，多用於乳癌手術後之輔助治療或轉移性乳癌。許多試驗相繼證實 tamoxifen（屬雌激素拮抗劑）的臨床效用，除可減少乳癌復發的危險，亦有助於改善整體存活率。而對於具有特殊腫瘤生長基因之乳癌患者，投以拮抗腫瘤細胞膜表面生長因子作用之免疫療法，除可抑制腫瘤快速生長外，亦有利於免疫系統對癌症進行更有效的攻擊。

化學治療有助於長期控制乳癌的復發，並提高整體存活率。乳癌的化學治療，依病程與治療的時機，可區分為手術後之輔助性化療、手術前化療，及復發性化療。手術後輔助性化療的重點，在殲滅所有手術時不可見，或局部放射線治療無法清除的顯微轉移腫瘤細胞。手術前化療，即所謂的誘導性化療，其主要目的，在過去主要是為了縮小無法開刀的過大腫瘤，以利手術之進行；隨著治療概念的轉變，目前則是使病人擁有保留乳房的機會。當乳癌復發，腫瘤細胞轉移出原發部位，到達體內其他器官或組織，例如肺部、肝臟、骨頭等，為此情形所進行之化學治療，謂之劫殺性化療。

三、乳癌化學治療之副作用及評估

除了零期的原位性乳癌，絕大多數乳癌病人在手術後須接受輔助性化

療；而對於無法接受手術之轉移性乳癌病人，化學治療的臨床角色，更勝於外科手術。雖然眾多臨床試驗，皆已肯定化學治療可以提升存活率，並減少復發。但是在化學治療後，各項不良反應經常伴隨而來，以致許多患者對化學治療心生恐懼，甚至望之卻步而拒絕接受。

(一)骨髓抑制

因化學治療而造成骨髓正常功能受到抑制，其結果將使得一連串血球細胞之製造減少，並進而引起顆粒性白血球減少症、血小板減少症、貧血等。其中顆粒性白血球減少症，會增加病人感染的機會，嚴重者可能危及生命。

(二)噁心和嘔吐

化學治療引起噁心和嘔吐之真正致病機轉，仍不十分清楚。可能導因於腦脊髓液或血液中的致吐性化學物質，到達並活化化學受器激發區(chemoreceptor trigger zone)，進而促發一系列噁心、嘔吐之反應步驟。又其他被認為和細胞毒藥品引發噁心、嘔吐有關之機制，還包括來自對周邊的破壞與刺激（即破壞胃腸黏膜與刺激腸道神經傳導受器）、對中樞皮質直接與間接的影響（即直接活化大腦與間接的精神性活化）、改變嗅覺和味覺，及經由對前庭的作用等。[6]

(三)黏膜炎

化學治療藥品會影響位於口腔及腸胃道中快速分化的細胞，導致口腔炎、口角嘴唇龜裂、舌頭發炎、食道炎，及口腔潰瘍等，進而造成吞嚥上的困難。黏膜炎通常發生於化療開始後的3-10天；接著的3-5天，黏膜表面呈現發紅、糜爛、潰瘍；嚴重的疼痛，將伴隨著進食量減少；多數病人在化療完成後的1-2週，會自然痊癒。當然，也有可能因感染，而更形嚴重。

(四)腹瀉

腹瀉的發生時間，從化療後的第1-34天都有可能，平均大約是在第5天。與化學治療相關的腹瀉，主因是因為毒素直接作用於小腸及大腸中快速分化的黏膜細胞所致；其中以抗代謝藥物最常造成腹瀉。另外，患者之腹瀉亦可能是由於腸胃道感染、吸收不良、機械性阻塞，或併用的藥物等所引起。[6]

(五)神經毒性

常見造成神經毒性反應的細胞毒藥品，如taxanes、methotrexate、5-FU。[7]已知taxanes 類藥物，有可能造成感覺及運動性的周邊神經病變。其病變的程度，可以由輕-重度，主要取決於個別患者所接受之藥物劑量、累積劑量，及整體治療計劃。至

目前為止，taxanes類藥物引發的神經病變，仍缺乏有效的預防或治療方式，所以，大多數病人只得靠早期發現、延後或降低給藥劑量等，來改善臨床症狀。

(六)卵巢功能衰竭

化學治療引起的卵巢功能衰竭，以對於患者的影響，可分為短期及長期兩方面。化療後短期內，患者會出現停經症狀，包括熱潮紅、陰道乾燥、憂鬱、睡眠障礙等，是乳癌病人最常抱怨的不適。長期則易引起骨質疏鬆及心血管疾病；患者的年齡和化療所持續時間，是乳癌病人發生卵巢功能衰竭之重要決定因素。[8]

(七)心臟毒性

Anthracyclines類抗癌藥物的心臟毒性，向來是化學治療領域備受關切的問題。以此類藥品作為乳癌病人術後輔助性化療，有助於延長病人的存活期；但基於對心臟可能造成的影響，故若有需要使用時，須多方考量並仔細評估。

(八)皮膚的反應

化學治療用藥可能因起以下皮膚不良反應：禿髮(alopecia)、過敏反應、色素沉著症(hyperpigmentation)、指甲變形萎縮(onychodystrophy)、手-足皮膚反應(acral erythema，palmar-plantar erythrodysesthesia，toxic erythema of the palms and soles)、光敏感性(photosensitivity)。經適當護理與調養，多數皮膚症狀可獲得妥善的控制或緩解；若反應的本身屬於可逆性質，於化療結束後，便可漸漸自行恢復，如禿髮、色素沉著症。[9]

(九)疲勞和生活品質

癌症病人在接受放射療法及化學治療後，約七成的病人會出現疲勞的症狀。而乳癌病人的發生機率可以高達99%，且60%以上是屬於中-重度的疲勞。[10]

臨床上常用於評估化療藥品引起的毒性反應之參考指引，包括美國國家癌症學會(National Cancer Institute，NCI)所公佈之一般不良事件評量標準(Common Terminology Criteria for Adverse Events，CTCAE)，[11]及美國東岸癌症臨床研究合作組織(Eastern Cooperative Oncology，ECOG)所提出的常見毒性反應評量準則(Common Toxicity Criteria，CTC)。[12]兩種評量表所訂定之各級毒性反應嚴重程度，大體上為大同小異，只是NCI的分級有將「死亡」納入不良事件的第五級，但ECOG的分級方式則無此第五級之分級。NCI 所公佈之評量表共分五級，第一級為輕度不良事件，第二級為中度不良事件，第三級為嚴重不良事件，第四級為不良事

件會威脅生命或導致失能，第五級則為與不良事件相關的死亡；ECOG的分級標準，則僅上述的第一至第四級。

四、癌症患者生活品質評估之重要性

自1970到1980年代多層面生活品質概念開始出現在醫學文獻。由於醫療科技進步使病人生命延長，疾病型態也轉型為慢性疾病，病人在接受各項治療處置之際，易產生身體改變及合併症。有鑑於此，腫瘤醫學專科開始注重癌症病人的生活品質，茲將其提出的重要性，歸納如下：

(一)建立與病人溝通橋樑，了解治療與疾病過程對個人影響。

(二)強調應以病人自我陳述其主觀自我感受，而非他人代答，進而真正測量治療成效。

(三)臨床專業人員可藉由追蹤病人健康相關生活品質的改變，以了解疾病與治療過程對其衝擊，及所引發的遲發性心理社會調適問題。

(四)整體性生活品質、身體安適感受、情緒以及疼痛都是預測治 療成功與否的重要預測因子。

(五)健康相關生活品質可以修正或改進臨床照護及復健計畫。[13,14]癌症病人的生活品質，為一深具主觀經驗之感受，故在國家健康照護及政策決策時，更傾向於採用健康相關生活品質的測量工具，作為健康照護成效及政策決定的依據，故癌症患者生活品質測 量工具的選擇更顯得重要。[15]

五、體質與疾病及治療的關係

中醫治療病症是從兩方面入手的，一是要考慮疾病的診斷問題，即疾病產生的原因、疾病的發展傳變規律和疾病的預後；另一個方面則考慮個人的體質特性，不同體質的人易於感受不同種類的疾病，而某種疾病在不同體質的病人身上表現和發展演變規律也有所不同。「體質」的內涵包括個體生命過程中在先天遺傳和後天獲得的基礎上表現的形態結構、生理機能和心理狀態方面綜合的、相對穩定的特質，它反映生命過程的某些形態特徵和生理特性方面，對自然社會環境的適應能力方面，以及發病過程中對某些致病因素的易罹性和病理過程中疾病發展的傾向性方面。體質的形成與很多因素有關，包括先天因素、後天因素，是多種因素綜合作用的產物，其中先天因素對體質起決定性的作用，後天因素如地理環境及氣候因素、飲食、年齡性別、勞逸、房事等其他因素則對體質產生影響，使體質發生變化。[16]

(一)體質與疾病發生的關係

體質和疾病是相互影響的，體質是疾病發生的主要原因。《素問・評熱病論》云：「卒然逢疾風暴雨而不病者，蓋無虛，故邪不

能獨傷人。此必因虛邪之風，與其身形兩虛相得，乃客其形。」由此可知在疾病的發生過程中，有正氣和邪氣兩個主要因素；而正氣又是起決定性作用的，因此我們可以認為體質是疾病發生的根本原因，不同的體質特點對於不同的疾病具有易感性。[17]

(二)體質與疾病辨證施治的關係

體質的差異不僅決定了發病與否，而且還決定了發病的類型、病位和病證的性質。體質類型決定「證」，是因為有一個體質易感受性和傾向性的問題。[18]「證」的發展演變受體質的制約，即體質對證的轉變具有內在的規定性。「證」的本質就是體質，由於體質的差別而進一步引起證的變化，「同病異治」、「異病同治」實質是證同治同。所以辨證的過程首先要辨體質，治療的基本目的就是通過調節體質在起作用。[19,20]

同時由於個體體質的差異對相同的治療方法和用藥劑量具有不同的反應性和耐受性，從而應根據體質的不同分別採取不同的治療方法和用藥劑量，即辨體質施治的原則。在針刺治療上，也需因體質而有別，因此《內經》在此基礎上提出了「因人制宜」的觀點，認為針刺本乎體質。張景岳在《類經》中提出：「當識因人因證之辨。蓋人者，本也。」現在亦有觀點認為，治療疾病的實質是在調節體質，通過體質發生變化，從而使疾病得以痊癒。因此，辨證治療時必須要考慮體質因素。

(三)體質的改變與疾病治療的關係

從上面的論述中可知人體體質的形成與地域、飲食、氣候等因素有密切的關係。先天因素是不可改變的，而後天因素是我們可以決定與加以應用的的，在掌握體質的變化規律之後，我們就可以對體質進行調節使之改變。當我們因為某種原因發生地域變遷時，也可以根據體質及地域的特點，採取相應的措施，預防疾病的發生。

六、乳癌的中醫辨證與治療

傳統醫學文獻對乳癌早有記載，隋、唐時期稱為「乳石癰」。「乳岩」病名則首見於宋朝《婦人大全良方》，書中亦同時記載了初期、晚期症狀和病因。明朝《外科正宗》對本病認識更為詳細：「初如豆大，漸若棋子；半年一年，二載三載，不疼不癢，漸漸而大，始生疼痛，痛則不解，日後腫如堆栗，或如覆碗，紫色氣穢，漸漸潰爛，深知岩穴，凸者若泛蓮，疼痛連心，出血則臭，其時五臟俱衰，四大不救，名曰乳岩。」治療宜早，晚期則不可救治。

乳癌之手術治療由於切除組織多、創面大，大多造成氣血虧損；又續

作化療，產生毒副作用，耗氣傷陰，損傷氣血及臟腑功能，尤其是脾胃、肝腎等臟器的功能；表現出氣血損傷、肝腎虧損、脾胃虛弱等症候。影響骨髓造血功能，自身免疫功能降低，加上乳癌患者多由七情內傷，精神憂鬱，導致氣血鬱結，經絡阻塞而成。臨床局部症狀，又表現為惡毒蘊結之症。故通過審症求因，採用益氣血、養陰液、活瘀血、解惡毒、健脾胃之法組方。達到扶正驅邪，調和陰陽氣血，恢復臟腑功能，提高免疫能力，消除臨床症狀，減輕化療之毒副反應，預防復發和轉移，提高生存年限。[21-23]

乳癌局部治療模式包括手術與放射治療，全身治療包括化療與內分泌治療、中醫藥治療。其中放化療可控制或預防局部復發和全身轉移，但同時也帶來一定的毒副反應，嚴重影響放化療的完成率。[24,25]中醫藥治療的優勢在於提高患者免疫功能，減少放化療毒副反應，提高放化療敏感性，對乳癌的治療及化、放療副作用的預防可提供相當的助益。中醫在治療乳癌術後各期，可藉由以下各期辨證提供相應之治則：

(一) 通過益氣養血，滋補肝腎等法治療骨髓功能抑制，升高白血球、紅血球，及血小板。

(二) 以益氣健脾，和胃降逆等法改善胃腸功能紊亂，減輕噁心嘔吐腹脹等症狀，增進食欲。

(三) 以健脾燥濕，清利肝膽濕熱等法治療藥物性肝損害。

(四) 以補益肝腎法治療化療性脫髮。

(五) 通過調攝衝任，活血祛瘀等治療減輕抗雌激素藥物引起的月經不調，潮熱出汗，心煩及深部靜脈血栓形成等症狀。[26-28]

綜合以上，本研究嘗試以化療副作用中白血球減少做為治療調整之目標；評估中醫治療是否可提高白血球，提升患者生活品質。

貳、實施方法

一、研究方法：本研究預計進行兩年，自 99.11.19 日至 101.12.31 止。

(一)性質：

本研究為雙盲、隨機、安慰劑對照之臨床試驗（double blind, randomized, placebo controlled clinical trial），目的在評估中藥治療對於乳癌患者化學治療之副作用血球減少之效應。

(二)收案地點：

1. 中國醫藥大學附設醫院乳房外科門診。(IRB No.DMR99-IRB-259)
2. 三軍總醫院一般外科門診門診。（TSGHIRB No.1-101-05-056，自 101 年 10 月 1 日開始收案）

(三)收案人數：

預計收案 50 位乳癌並接受化學治療之患者，依照臨床試驗經驗可能有 20-40%的受訪者無法完成全程追蹤，預估至少可有 35 位受試者完成全程療效評估。

(四)研究對象之篩選標準：

本研究選定之研究對象，必須符合以下之納入與排除條件。

1. 納入條件：
   (1) 經乳房外科專科醫師初次確立診斷（newly diagnosed）為 Stage I、II、IIIa、IIIb，及IIIc之乳癌患者。
   (2) 其治療計畫是手術前、後接受化學治療之乳癌患者；本研究納入收案之化學治療模式計有以下12組：

編號	用藥組合	次數	給藥週期	總療程
1	AC*4(Anthracycline , cyclophosphamide 600mg/ m^2 IV)	4	每3週	12 週
2	AC*4 + Weekly Paclitaxel*12 Or Weekly Paclitaxel*12 + AC*4	16	每3週	24 週
3	Weekly Paclitaxel + Trastuzumab *12 →AC*4	16	每3週	24 週
4	CMF*6(Cyclophosphamide 500-600 mg/m^2 IV, Methotrexate 50 mg/m^2 IV, 5-Florouracil 500 mg/m^2 IV)	6	每3週	18 週

編號	用藥組合	次數	給藥週期	總療程
5	FEC*6(5-Fluorouracil 500mg/m^2 IV, Epirubicin 90 mg/m^2 IV, Cyclophosphamide 500mg/m^2 IV)	6	每3週	18 週
6	FEC*3(5-Fluorouracil 500mg/m^2 IV, Epirubicin 75-100 mg/m^2 IV, Cyclophosphamide 500mg/m^2 IV) +Taxotere*3(75-100mg/m^2 IV) or Taxotere + Trastuzumab*3(註)	3 3	每3週 每3週	18 週
7	FEC*4(5-Fluorouracil 500mg/m^2 IV, Epirubicin 75-100 mg/m^2 IV, Cyclophosphamide 500mg/m^2 IV) + Taxotere*4(75-100mg/m^2 IV) or Taxotere + Trastuzumab*4(註)	4 4	每3或4週 每3或4週	24 週 -32 週
8	FEC*4(5-Fluorouracil 500mg/m^2 IV, Epirubicin 90 mg/m^2 IV, Cyclophosphamide 500mg/m^2 IV)	4	每3週	12 週
9	Lipo-Dox(30-40 mg/m^2 IV)+Endoxan(500mg/m^2 IV) *4	4	每3週	12 週
10	Lipo-Dox(30-40 mg/m^2 IV)+Endoxan(500mg/m^2 IV) *6	6	每3週	18 週
11	Lipo-Dox(30-40 mg/m^2 IV)+Endoxan(500mg/m^2 IV) *3 →Taxotere*3(75-100mg/m^2 IV)	3 3	每3週	18 週
12	Lipo-Dox(30-40 mg/m^2 IV)+Endoxan(500mg/m^2 IV) *4 →Taxotere*4(75-100mg/m^2 IV)	4 4	每3或4週	24 週 ~32 週

註：Trastuzumab（初始劑量為4mg/kg，爾後維持劑量為2mg/kg）

(3) 患者年齡 ≧ 18歲，可以國語及台語溝通，且「Karnofsky身體功能狀況量表」評分 ≧ 60分者（見「附件一」）。

(4) 經解釋研究目的及過程，同意受訪加入本研究，並簽署受試者同意書；且能理解測量問卷之內容者。

2. 排除條件：

(1)接受手術及化學治療前，病人已長期具有各種會引發影響判斷是否為「化療副作用」之相關症狀或疾病，如腹瀉、神經病變、心臟衰竭、血管栓塞疾病、慢性肺部、腎臟疾患及禿髮等。

(2)併有血液惡性腫瘤，或其他重大影響存活之疾病，如愛滋病。

(3)懷孕。

(4)具嚴重之精神疾患：如精神分裂症、重度憂鬱症。

(五)研究對象之資料收集：主要包括下列各項

1. 患者基本資料：包括性別、年齡、身高、體重、婚姻狀況、教育程度、過去病史、疾病的家族史、個人史（主要為抽煙和喝酒之習慣）、食物/藥物過敏史、懷孕與生產史、目前併存之慢性疾病、身體質量指數（body mass index，BMI），及身體功能狀況之評估等。
2. 乳癌相關資料：含乳癌診斷之TNM分期，乳癌切除手術術式，乳癌腫瘤細胞型態學、組織分化程度、荷爾蒙受器之顯著性，及腫瘤基因HER2之表現等。
3. 化學治療記錄：包括患者所接受之化療藥物種類、治療劑量、治療週期、之後是否有調整化學治療之劑量或延後治療時間，以及是否完成預定之化療週期數等。
4. 中醫體質證型測量：採用「BCQ 中醫體質量表」作為中醫體質評估的工具，此量表已完成信度、效度、內在一致性、再測信度、題目鑑別度的測試，可作為醫療人員客觀評估體質之工具。（見「附件二」）因考慮患者接受化療後可能出現之身體不適，本研究之問卷均由受過專業訓練之研究人員口述題目，協助患者填答。
5. 生活品質測量：採用之研究工具包括歐洲癌症研究與治療組織（The Europoan Organization for Research and Treatment）所發展之生活品質量表：「癌症病患生活品質問卷表（EORTC QLQ-C30）」（見「附件三」）、「乳癌病患特殊生活品質問卷表（EORTC QLQ-BR23）」（見「附件四」），及「Karnofsky 身體功能狀況量表」。因考慮患者接受化療後可能出現之身體不適，本研究之問卷均由受過專業訓練之研究人員口述題目，協助患者填答。
6. 併用藥物及特殊飲食習慣：包含在手術及化學治療前就已服用之所有慢性疾病用藥、化學治療期間為預防或緩解不良反應之

相關用藥，以及化學治療後為處理各種身體的不適，所使用之暫時性或長期治療藥物；另亦記錄患者是否服用中藥及生機飲食。

7. 血液與生化值記錄：包括白血球總數、顆粒性白血球與淋巴球的百分比、血小板數量，及血紅素值等；生化值之監測項目，主要是在評估肝功能、腎功能、電解值平衡等。
8. 化療副作用之記錄與評估：化學治療相關之毒性反應及副作用不勝枚舉，本研究參考由美國國家癌症學會（National Cancer Institute，NCI）所公佈臨床上常用於評估化學治療引起的毒性反應之一般不良事件評量標準（Common Terminology Criteria for Adverse Events，CTCAE Version **3.0**）及乳房外科專科醫師之建議，在考量乳癌患者接受化療後常出現各副作用之頻率後，僅針對以下評估項目進行相關毒性反應之評量：「白血球總數、顆粒性白血球數量、血小板數目、血紅素值、感染（再細分為顆粒性白血球低下及正常兩種情況）、腸胃道的症狀（包括噁心或嘔吐、腹瀉，腹脹）、黏膜炎、手麻、皮膚色素沈澱和失眠等」。
9. 醫師針對嚴重副作用之處理：主要包括需要增加藥物治療、降低化學治療藥品之使用劑量、延後化學治療之時間，及被迫停止化學治療之進行等。
10. 其他：化學治療期間，非預期性的門診、急診，及住院等，也就其尋求治療的原因和次數，加以記錄與進行變數分析。

(六)實驗組及對照組之用藥(Placebo)：

1. 實驗組用藥
   (1) 本試驗使用「當歸補血湯」，該方為中醫典籍固有成方，為理血劑中補氣養血的基礎方，由黃耆、當歸二味藥所組成。該方收錄於謝觀先生之中國醫學大辭典中（衛生署中醫藥委員會認同之中醫固有典籍參考資料），主要功效為補氣生血，主治勞倦內傷，為中醫師臨床上常用之方劑，兩藥均屬於食品級中藥，為臺灣民眾日常膳食主要調理食品。目前並未發現有副作用之報導。
   (2) 劑量：每包 3 克，一天服用 2 次。
   (3) 服用方法：口服。
   (4) 本研究將由具中西醫師證書之醫師執行。
2. 對照組用藥（Placebo）
   (1) 依目前中藥臨床試驗共同作法，採用同體積澱粉炒黃代替，

控制藥品顏色，並以與實驗組相同外觀之膠囊填裝。

(2) 劑量：每包 3 克，一天服用 2 次。

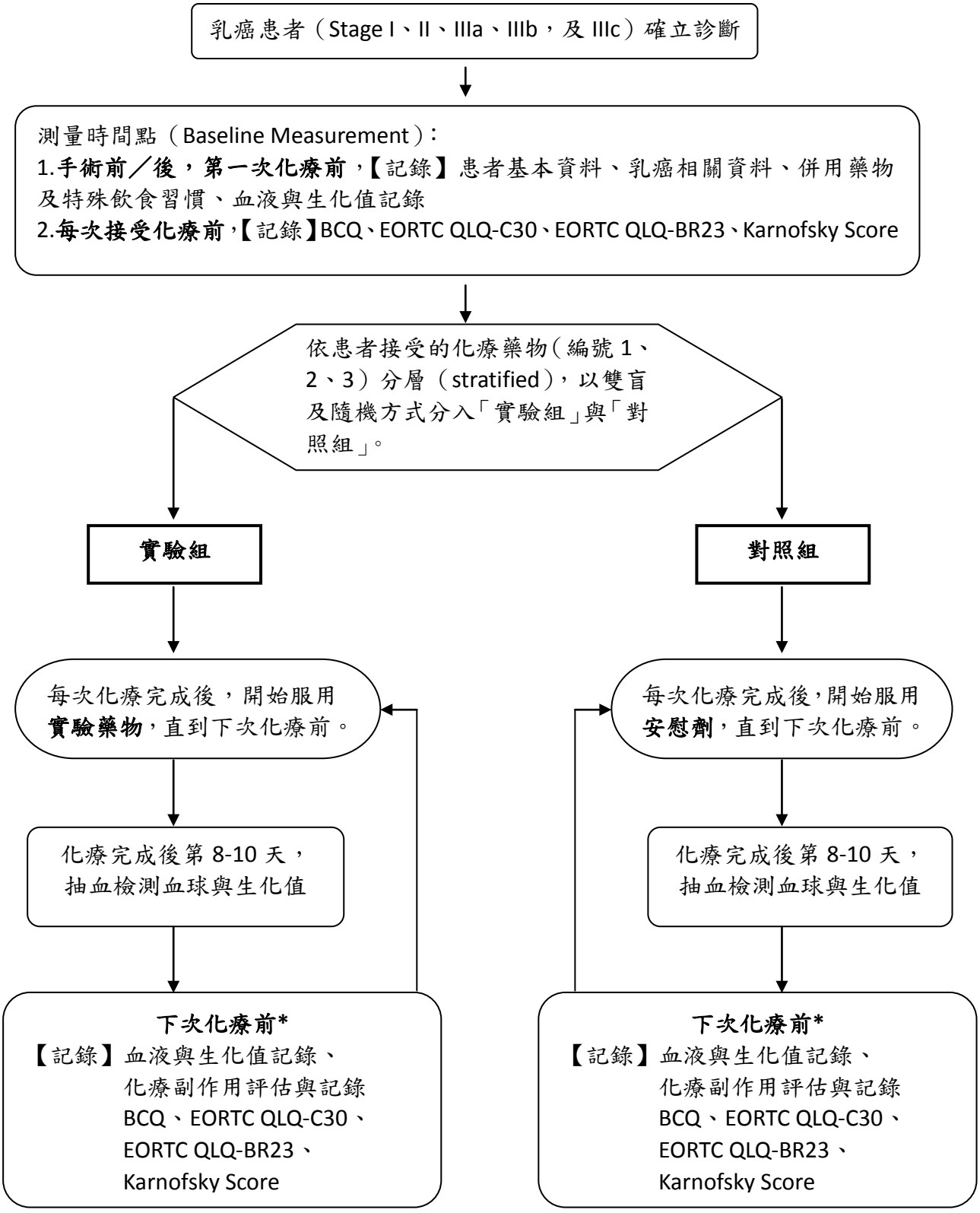
(3) 服用方法：口服。

3. 實驗組用藥及對照劑（Placebo）之製備：本研究將委託GMP藥廠專門負責實驗用藥及安慰劑之製造、混合、包裝。

(七)專家會議之召開：

在本臨床計畫開始執行前，將召開專家會議審定上述處方之適用性及臨床研究之執行流程。

(八)研究流程：


乳癌患者（Stage I、II、IIIa、IIIb，及 IIIc）確立診斷
測量時間點（Baseline Measurement）：
1.手術前／後，第一次化療前，【記錄】患者基本資料、乳癌相關資料、併用藥物及特殊飲食習慣、血液與生化值記錄
2.每次接受化療前，【記錄】BCQ、EORTC QLQ-C30、EORTC QLQ-BR23、Karnofsky Score
依患者接受的化療藥物（編號 1、2、3）分層（stratified），以雙盲及隨機方式分入「實驗組」與「對照組」。
實驗組
對照組
每次化療完成後，開始服用實驗藥物，直到下次化療前。
每次化療完成後，開始服用安慰劑，直到下次化療前。
化療完成後第 8-10 天，抽血檢測血球與生化值
化療完成後第 8-10 天，抽血檢測血球與生化值
下次化療前*
【記錄】血液與生化值記錄、化療副作用評估與記錄 BCQ、EORTC QLQ-C30、EORTC QLQ-BR23、Karnofsky Score
下次化療前*
【記錄】血液與生化值記錄、化療副作用評估與記錄 BCQ、EORTC QLQ-C30、EORTC QLQ-BR23、Karnofsky Score

(九)評估指標：

1. 主要療效指標(Primary Outcome)：乳癌患者血液中之白血球數目。
2. 次要療效指標(Secondary Outcome)：
   (1) 患者完成化療全部療程之總天數。
   (2) 接受白血球生成素(GCSF)施打的次數、總劑量及其費用。
   (3) 生活品質量表(EORTC QLQ-C30、EORTC QLQ-BR23、Karnofsky Score)之得分。
   (4) 中醫體質量表(BCQ)之得分。
   (5) 治療期間非預期性之因發燒、感染而就診之次數。
   (6) 其他化療副作用出現之頻率與嚴重度。
3. 安全性評估：包括實驗室檢驗數值、不良反應事件。

(十)統計分析方法：

1. 將患者資料依編號輸入電腦資料庫，使用SPSS統計軟體執行分析。
2. 連續性變量(continuous variables)將提供觀察個數、平均數、中位數、標準差、最大值、最小值及95%信賴區間(confidence interval)等敘述統計量。類別性變量(categorical variables)則提供次數與其對應之比例。
3. 對於療效指標(efficacy endpoints)及其他安全性評估指標(safety endpoints)之統計檢定將以雙邊(two-sided)、顯著水準為0.05之方式執行。療效指標的主要分析母體為intent-to-treat-population，安全性指標的主要分析母體為safety population。以unpaired *t* test或Wilcoxon rank sum test比較治療組間的差異，同時，也將提供兩組治療組別間之療效指標差異的點估計值與95%信賴區間；Paired *t* test或Wilcoxon signed rank test則將用來檢定組內的變化。在不同觀測點患者之資料及各量表之比較將採用Mann–Whitney U、Kruskal–Wallis、Wilcoxon Rank tests以及Pearson's correlations進行檢定分析。將使用相依樣本T檢定(Paired-Samples T Test)、淨相關檢定(Partial correlation test)等統計方法來針對體質及副作用等變項進行分析。
4. 針對受試者中途離開本試驗之情形，將依治療組別提供人數分布。受試者於療效指標的資料有不完整的評估紀錄，將以LOCF (Last Observation Carry Forward)方法來推估遺失資料(messing data)。若受試者於安全性評估的資料有不完整的紀

錄將不進行推估。

5. 對於受試者基本資料(demographic)與各評估指標的基準值(baseline)，如年齡、體重等連續性變量將以unpaired *t* test或Wilcoxon rank sum test進行試驗組與對照組之組間比較。類別變量則以Fisher's exact test、Chi-square test或Mantel-Haenszel statistics進行組間比較。
6. 在安全性評估方面，實驗室檢驗數值於用藥前後的情形將以unpaired *t* test或Wilcoxon rank sum test進行組間的比較，組內的變化將以paired *t* test或Wilcoxon signed rank test進行比較。對於實驗室檢驗數值與其正常值(normal range)比較的結果及身體檢查的結果，將提供兩組受試者自治療前到治療後變化的transition table。不良反應事件(adverse event；AE)依COSTART code system分類，將發生之人數與比例依治療組別、Body System、COSTART preferred term及嚴重程度列表。對於發生不良反應事件的人數將以Fisher's exact test進行組間的比較。

參、結果

一、中藥組及安慰劑組受試者之基本資料

本研究計畫自 100 年 6 月在中國醫藥大學附設醫院乳房外科正式收案，另三軍總醫院一般外科部亦於 101 年 10 月 1 日加入本研究計畫共同收案。截至 102 年 3 月 31 日止，共篩選出 130 位可入案之乳癌患者，經說明研究目的及流程後，簽署同意書者共有 52 人，其中因故中途退出 13 人，目前服藥及追蹤中 4 人，已完成全程服藥及追蹤 35 人。

在完成全程服藥及追蹤的 35 人中，中藥組 16 人，安慰劑組 19 人。兩組受試者之基本資料，包括年齡、BMI、教育程度、職業、婚姻狀況、是否與家人同住、胎產史，以及是否停經均無差別。（表一）

表一、中藥組及安慰劑組受試者之基本資料

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
年齡（歲）		54.3 ± 6.6	51.7 ± 7.3	0.29
BMI（Kg/m^2）		23.6 ± 3.3	25.6 ± 4.4	0.13
教育程度	不識字	0（0%）	2（10.5%）	0.54
	小學	3（18.8%）	2（10.5%）	
	國中	3（18.8%）	6（31.5%）	
	高中	6（37.5%）	6（31.5%）	
	大學	4（25.0%）	3（15.8%）	
職業	家管	12（75.0%）	15（78.9%）	0.78
	其他	4（25.0%）	4（21.1%）	
婚姻狀況	未婚	1（6.3%）	0（0%）	0.55
	已婚	14（87.5%）	18（94.7%）	
	其他	1（6.3%）	1（5.3%）	
與家人同住		16（100%）	19（100%）	-
懷孕次數		2.3 ± 1.3	3.0 ± 1.8	0.20
生產次數		1.8 ± 1.2	2.4 ± 1.5	0.20
自然產次數		1.7 ± 1.5	2.2 ± 1.4	0.34
剖腹產次數		0.3 ± 0.7	0.4 ± 1.1	0.80
流產次數		0.7 ± 1.3	0.4 ± 0.9	0.62
已停經		7（46.7%）	9（47.7%）	0.97

二、中藥組及安慰劑組受試者之乳癌診斷及治療

兩組受試者之乳癌診斷及治療，包括腫瘤位置、所接受之手術術式、腫瘤之組織學型態、Grade 及 TNM 診斷分級，腫瘤細胞之 ER、PR、Her2-neu2 之數量比例，及化學治療之 Protocol 在分布上並無差別。（表二）

中藥組完成化療的總天數為 151.3 ± 26.2 天，安慰劑組為 163.4 ± 22.6 天。在化療過程中接受 GCSF 注射的比例，中藥組為 56.3%，安慰劑組為 68.4%；注射 GCSF 的劑量，中藥組為 3.6 ± 4.2 vial，安慰劑組為 5.3 ± 5.8 vial；惟兩組間尚未達統計上顯著差異。（表二）

表二、中藥組及安慰劑組受試者之乳癌診斷及治療

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
腫瘤位置（左）		10（62.5%）	7（36.8%）	0.13
手術術式	Modified radical mastectomy	2（14.3%）	6（35.3%）	
	Partial mastectomy & axillary lymph node dissection	4（28.6%）	3（17.6%）	0.39
	Partial mastectomy & SLNB	8（57.1%）	8（47.1%）	
組織學	Invasive ductal carcinoma	0（0%）	1（5.3%）	
	Invasive lobular carcinoma	15（93.8%）	18（94.7%）	0.36
	Other	1（6.3%）	0（0%）	
Grade	I	1（6.3%）	0（0%）	
	II	8（50.0%）	12（60.0%）	0.41
	III	7（43.8%）	6（33.3%）	
TNM	IA	1（6.7%）	1（5.6%）	
	IB	4（26.7%）	5（27.8%）	
	IC	2（13.3%）	3（16.7%）	0.97
	IIB	5（33.3%）	7（38.9%）	
	IIIC	3（20.0%）	2（11.1%）	
ER %		88.5 ± 12.0	80.4 ± 21.2	0.29
ER	0 / 4	4（25.0%）	3（15.8%）	0.53

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
	1 / 4	0（0%）	1（5.3%）	
	2 / 4	0（0%）	0（0%）	
	3 / 4	2（12.5%）	5（26.3%）	
	4 / 4	10（62.5%）	10（52.6%）	
PR %		56.9 ± 40.3	49.8 ± 38.5	0.69
	0 / 4	4（25.0%）	6（31.6%）	
	1 / 4	3（18.8%）	5（26.3%）	
PR	2 / 4	2（12.5%）	0（0%）	0.56
	3 / 4	1（6.3%）	2（10.5%）	
	4 / 4	6（37.5%）	6（31.6%）	
	0 / 3	5（31.3%）	13（68.4%）	
Her2/	1 / 3	5（31.3%）	4（21.1%）	0.13
neu	2 / 3	1（6.3%）	0（0%）	
	3 / 3	5（31.3%）	2（10.5%）	
	1	2（12.5%）	3（15.8%）	
	2	9（56.3%）	8（42.1%）	
化療	3	4（25.0%）	4（21.1%）	0.70
Protocol 編號	4	0（0%）	1（5.3%）	
	6	1（6.3%）	1（5.3%）	
	8	0（0%）	2（10.5%）	
完成化療平均天數		151.3 ± 26.2	163.4 ± 22.6	0.32
使用 GCSF 比例		9（56.3%）	13（68.4%）	0.46
使用 GCSF 總量（vial）		3.6 ± 4.2	5.3 ± 5.8	0.32

三、中藥組及安慰劑組受試者之血球變化

為避免給與 GCSF 對於血球增生之干擾效應，單純分析兩組受試者在接受化療第一天及第八天前後均未曾接受 GCSF 的抽血記錄。兩組患者之 WBC、Platelet 在化療第一天時數量相當，但在化療後第八天時，中藥組受試者的 WBC 為 $3.6 \pm 2.5\ 10^3$/uL，安慰劑組為 $2.8 \pm 1.2\ 10^3$/uL（P = 0.05）；Platelet 為 $220.8 \pm 59.4\ 10^6$/uL，安慰劑組為 $200.2 \pm 44.0\ 10^6$/uL（P = 0.05）且中藥組 Platelet 至化療後第八天的下降值及下降百分比均較安慰劑組來得低（P < 0.01）。（表三）

中藥組 WBC 中 Neutrophil 比例、RBC 及 Hgb 在第一天的平均值均較安慰劑組來得高，且達統計上顯著差異；在化療後的第八天，中藥組的 RBC 及 Hgb 的平均值仍較安慰劑組來得高，且達統計上顯著差異，WBC 中 Neutrophil 比例亦仍較安慰劑組高，但未達統計上顯著差異。（表三）

表三、中藥組及安慰劑組受試者之血球變化

項目		中藥組 (n = 16)	安慰劑組 (n = 19)	P值
WBC (10^3/uL)	第1天	6.1 ± 2.0	6.1 ± 2.2	0.92
	第8天	3.6 ± 2.5	2.8 ± 1.2	**0.05**
	下降值	2.7 ± 2.4	3.4 ± 2.3	0.08
	下降%	43.5 ± 32.7	50.9 ± 24.4	0.16
Neu (%)	第1天	64.7 ± 10.6	58.5 ± 10.1	**< 0.01**
	第8天	59.0 ± 17.8	52.2 ± 21.8	0.07
	下降值	8.6 ± 24.9	7.5 ± 26.0	0.81
	下降%	10.3 ± 35.8	8.2 ± 46.2	0.79
RBC (10^6/uL)	第1天	4.5 ± 0.4	4.0 ± 0.4	**< 0.01**
	第8天	4.2 ± 0.4	3.8 ± 0.3	**< 0.01**
	下降值	0.5 ± 0.9	0.4 ± 0.7	0.57
	下降%	11.4 ± 22.7	9.7 ± 17.7	0.66
Hgb (g/dL)	第1天	12.5 ± 1.3	11.8 ± 1.1	**< 0.01**
	第8天	11.8 ± 1.2	11.1 ± 1.0	**< 0.01**
	下降值	0.7 ± 0.7	0.8 ± 0.5	0.46
	下降%	5.4 ± 5.2	6.6 ± 3.8	0.20
Platlete (10^6/uL)	第1天	268.2 ± 51.8	282.1 ± 63.7	0.19
	第8天	220.8 ± 59.4	200.2 ± 44.0	**0.05**
	下降值	50.3 ± 48.9	84.8 ± 49.8	**< 0.01**
	下降%	18.0 ± 16.4	28.1 ± 15.6	**< 0.01**

四、中藥組及安慰劑組受試者體質得分及 Karnofsky Performance Status 之變化

中藥組及安慰劑組受試者在化療開始前的陽虛、陰虛、痰瘀體質及 Karnofsky Performance Status 的得分在兩組間均沒有顯著差異。在全部療程

結束後，兩組之陽虛、陰虛、體質得分略為增加，Karnofsky Performance Status的得分略為下降，但上述各項得分在兩組間亦無明顯差異。（表四）

表四、化療前後受試者體質得分及Karnofsky Performance Status之變化

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
陽虛得分	化療開始前	22.6 ± 4.0	28.0 ± 8.6	0.24
	化療結束後	24.3 ± 6.3	27.3 ± 6.4	0.38
陰虛得分	化療開始前	23.8 ± 4.4	28.2 ± 9.5	0.33
	化療結束後	25.3 ± 6.4	30.0 ± 8.3	0.22
痰瘀得分	化療開始前	19.3 ± 2.7	23.9 ± 7.4	0.17
	化療結束後	20.3 ± 4.6	24.8 ± 8.2	0.28
Karnofsky Performance Status	化療開始前	90.0 ± 0.0	89.2 ± 2.8	0.50
	化療結束後	88.3 ± 7.5	86.9 ± 4.8	0.72

五、中藥組及安慰劑組受試者 EORTC QLQ-C30 及 EORTC QLQ-BR23 生活品質評估指標之變化

中藥組及安慰劑組受試者在化療開始前，及全部療程結束後，在EORTC QLQ-C30 的各項指標之得分均無顯著差異。（表五、表六）

表五、化療前後受試者乳癌患者EORTC QLQ-C30生活品質評估指標之變化

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
身體功能	化療開始前	94.4 ± 5.0	90.3 ± 12.7	0.78
	化療結束後	93.3 ± 11.2	86.7 ± 13.1	0.21
角色功能	化療開始前	100.0 ± 0.0	87.2 ± 15.4	0.07
	化療結束後	94.4 ± 13.6	92.3 ± 12.9	0.61
情緒功能	化療開始前	81.9 ± 9.7	81.9 ± 17.0	0.96
	化療結束後	88.9 ± 11.4	81.9 ± 16.6	0.44
認知功能	化療開始前	88.9 ± 13.6	75.6 ± 22.2	0.22
	化療結束後	86.1 ± 16.4	84.6 ± 14.4	0.82
社會功能	化療開始前	88.9 ± 17.2	79.5 ± 20.6	0.42
	化療結束後	88.9 ± 17.2	84.6 ± 17.3	0.61
整體健康	化療開始前	77.8 ± 25.1	64.1 ± 26.2	0.22
	化療結束後	75.0 ± 17.5	72.2 ± 14.8	0.73
生活品質	化療開始前	72.2 ± 22.8	62.8 ± 28.1	0.47
	化療結束後	77.8 ± 17.2	72.2 ± 14.8	0.43

表六、化療前後受試者乳癌患者EORTC QLQ-BR23生活品質評估指標之變化

項目		中藥組（n = 16）	安慰劑組（n = 19）	P值
身體形象	化療開始前	91.7 ± 8.3	88.5 ± 20.8	0.61
	化療結束後	76.4 ± 28.1	83.3 ± 17.7	0.58
對未來的擔憂	化療開始前	66.7 ± 21.1	47.2 ± 38.8	0.26
	化療結束後	66.7 ± 36.5	64.1 ± 21.4	0.56
副作用	化療開始前	13.1 ± 13.7	16.5 ± 14.0	0.65
	化療結束後	22.2 ± 16.9	26.2 ± 15.1	0.81
乳房症狀	化療開始前	8.3 ± 10.2	21.1 ± 23.0	0.44
	化療結束後	11.1 ± 12.5	16.0 ± 12.9	0.45
手臂症狀	化療開始前	25.9 ± 19.5	23.9 ± 19.7	0.89
	化療結束後	11.1 ± 12.5	18.8 ± 15.3	0.36
因掉髮沮喪	化療開始前	16.7 ± 23.6	33.3 ± 27.2	0.45
	化療結束後	33.3 ± 33.3	33.33 ± 0.0	1.00

六、化學治療期間非預期性因發燒、感染而就診之次數

化學治療期間，安慰劑組共有兩位受試者因 Febrile neutropenia、一位因急性化膿性扁桃腺炎，還有一位因肺炎住院接受抗生素治療。中藥組之受者則無住院記錄。

七、不良反應事件

化學治療期間，中藥組及安慰劑組受試者均無不良反應事件記錄。

肆、討論

此臨床研究因採分層、雙盲、隨機分配及安慰劑控制之試驗方法，不論在中國醫藥大學附設醫院乳房外科及三軍總醫院一般外科收案均遭遇許多困難：(1) 在醫院及坊間的衛教文宣中可見到手術後不宜服用當歸等敘述，因此患者在簽署受試者同意書之前，看到本研究用藥含有當歸，在罹患癌症及手術等多重高度壓力下，乳癌患者較易處在精神緊張、慌亂的狀態，極不容易被說服加入本研究。(2) 相當多數患者堅持要服用到研究中的治療中藥，並認為若依雙盲隨機分配法取藥，會有很高的機率服用到安慰劑，因此願意加入本研究的意願很低。同意加入者，多僅接受賀爾蒙補充療法或使用中藥，仍堅拒服用安慰劑；此類受試者若後續自覺服用的為安慰劑，有很高機率會中斷服藥。在申請展延計畫執行期限，並經中醫藥委員會同意執行至 102 年 3 月底，本計畫共完成了 35 位受試者的完整服藥及追蹤。

根據將上述 35 位受試者之資料解盲後之初步分析結果，可粗略當歸補血湯對於乳癌患者在接受化學治療時，對 WBC、RBC、Hgb、Platelet 的正面效益；另外，雖然未達統計上顯著差異，服用當歸補血湯受試者完成全程化療的天數較短，接受 GCSF 的比例較低、接受 GCSF 的總劑量亦較少；且中藥組無受試者因感染或血球降低而住院。但在化療開始及完成全程化療之後之體質及生活品質評估指標之得分，在中藥組及安慰劑組間無顯著差異。

在臨床試驗中，受試者血球數量及生活品質感受，受到許多因素影響，如：接受 GCSF 的注射、其他用藥、患者對於疾病的認知及心情感受等。為了能更精確評估當歸補血湯對於化療後白血球的效益，本研究團隊會再自籌經費繼續執行本臨床試驗，希望累積更多完成全程化療之受試者人數後，以多元迴歸分析(Multiple regression)進行多變數分析，才能更清楚了解患者之血球變化、體質狀態、生活品質指標之變化、臨床其他用藥等因素彼此之相關性。

伍、結論與建議

本研究為臺灣且為全球難得以中、西醫合作方式，且採用西藥臨床試驗標準（分層、雙盲、隨機分配試驗）嚴謹度非常高之中西醫結合之中藥臨床試驗。初步結果可見當歸補血湯對於乳癌患者接受化療後在血球增生、縮短化療所需日程及 GCSF 注射之正面效益。以此嚴謹標準執行之臨床試驗結果將可提供中西醫學整合治療疾病的先驅模式，研究結果除可為全球中醫藥的療效建立科學性充足之實證證據，更可增加臺灣在全球中醫藥領域的競爭力，值得相關單位投入更多經費贊助此類型之研究。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-050 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 行政院衛生署國民健康局：發布 95 年癌症登記資料（2009.03.13）。網址：http://www.bhp.doh.gov.tw/BHPnet/Portal/AnnounceShow.aspx?No=20090313000 3
2. 乳癌診斷與治療共識。國家衛生研究院 癌症研究組。網址：http://www.nhri.org.tw/
3. Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group: Tamoxifen for early breast cancer. An overview of the randomized trials. Lancet 1998; 351:1451-1467.
4. Fisher B, Costantino J, Wickerham L, et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study. J Natl Cancer Inst 1998; 90:1371-1388.
5. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomized trials. Lancet 1998;352:930-942.
6. Bokemeyer C, Hartmann JT. Oral and Gastrointestinal Toxicity. In Lipp HP. Anticancer Drug Toxicity 1999. Marcel Dekker. 235-261.
7. Lipp HP. Neurotoxicity (including sensory toxicity) induced by cytostatics . In Lipp HP. Anticancer Drug Toxicity 1999. Marcel Dekker. 431-454.
8. Shapiro CL, Recht A. Side effects of adjuvant treatment of breast cancer. N Engl J Med 2001; 344:1997-2008.
9. Koppel RA, Boh EE. Cutaneous reactions to chemotherapeutic agents. Am J Med Sci 2001; 321:327-335.
10. Bower JE, Ganz PA, Desmond KA, et al. Fatigue in breast cancer survivors: occurrence, correlates, and impact on quality of life. J Clin Oncol 2000;18:743-753.
11. DCTD, NCI, NIH, DHHS. Cancer therapy evaluation program, common terminology criteria for adverse events, version 3.0. 2003. 網址：http://ctep.cancer.gov.
12. Oken MM, Creech RH, Termey DC. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Amer J Clin Oncol 1982; 5:649-655.
13. Fayers P M, Machin D: Quality of life: Assessment, analysis, and interpretation. New York: John Wiley. 2000:1-154.
14. 4. Schou KC, Hewison J: Experiencing cancer: quality of life in treatment .Philadelphia: Open University Press, 1999:2-25.
15. 羅淑芬、胡文郁：癌症病人健康相關生活品質之概念與測量工具之評

析，2008；13(1)：42-57。

16. 劉健：中醫體質學說與中醫疾病證治的思考，中國中醫基礎醫學雜誌，2009；15(4)：316-317。
17. 杜艷芳：論體質與疾病的相互關係，現代中西醫結合雜誌，2003；12(16)：1808-1809。
18. 鄧芳、劉奕龍、吳一龍、曹卡加、馬國勝、張江江、張秀蓮：體質指數與廣州市女性乳腺癌發病，中國腫瘤，2001；10(11)：632-633。
19. 朴仁范：淺談體質與疾病的關係，陝西中醫，2009；30(3)：310-312。
20. 趙民望：體質與疾病和康復，1999；14(83)：5-7。
21. 黃曉佳、曹勇：乳腺癌中醫體質辨證探討，新中醫，2009；41(2)：110-111。
22. 洪宋貞、周劬志：乳腺癌術後的中醫辨證治療概況，中華中醫藥雜誌，2005；20(8)：499-502。
23. 魏開建：乳腺癌中醫證型與 TNM 分期的相關分析，湖南中醫藥導報，2002；8(10)：619-620。
24. 孫紅、李萍萍：乳腺癌中醫證候分類與預後相關性的初步研究，中國中醫基礎醫學雜誌，2003；9(2)：72-73。
25. 徐巍、盧雯萍：以中醫體質學說研究乳腺癌癌前病變，中國中醫藥信息雜誌，2006；13(10)：90-91。
26. 顧群浩、蔡照弟、張勝華：乳腺癌辨證分型與雌孕激素受體的相關性分析，遼寧中醫雜誌，2004；31(6)：463-464。
27. 王銀山：中醫藥治療乳腺癌概況，湖南中醫雜誌，2002；18(5)：58-59。
28. 段靜、王蘋：乳腺癌辨證論治研究進展，2005；10(15)增刊：104-106。

編號：CCMP99-RD-051

常用中西藥併用之交互作用臨床研究與風險評估(2-1)

鮑力恒
國防醫學院

摘　要

本研究計畫主要是基於之前體內外試驗的成果上，進一步地針對人體主要代謝酵素CYP2C9有顯著抑制作用且經動物試驗證實與西藥有顯著交互作用的常用濃縮中藥（如：甘露飲）進行單劑量與多劑量中藥於健康自願者之臨床交互作用評估，以主要經由 CYP2C9 代謝之西藥（如：fluvastatin）來進一步評估產生交互作用的風險。本研究計畫亦將針對臨床上最常用的 30 種複方中藥製劑進行對癌症治療上重要的運輸蛋白(如 P-gp)功能的影響作一系統性的探討及研究，包含動物體內的試驗成果；再更進一步地挑選具有最顯著功能調控的中藥複方來進行 P-gp 受質藥物（如：fexofenadine）與多劑量中藥投予的人體臨床交互作用評估，以提供後續臨床上實際使用及評估的參考依據。

針對甘露飲影響人體主要代謝酵素CYP2C9實驗方法為第一階段先給予受試者單一劑量之 fluvastatin (40mg)併用 16 克的安慰劑，經過至少一星期的 washout period 後繼續進行第二階段試驗，第二階段再同時給予單一劑量 fluvastatin (40mg)及單一劑量甘露飲(16g)；參與試驗者共 24 人次。所有血液檢體將以高效液相層析質譜儀(LC/MS/MS)分析其中 nalbuphine 之濃度，並以獲得數據計算相對生體可用率、濃度時間曲線下面積、最高血中濃度、達到最高濃度的時間以及排除半衰期等藥動學參數。

結果發現當受試者給予甘露飲併服 fluvastatin (66mg)後，受試者體內血漿之 fluvastatin 濃度與控制組相比，中藥組會在吸收相顯著升高，而由 fluvastatin 動力學參數來看，fluvastatin體內最高濃度(Cmax)由控制組的 139.85 ± 50.03 ng/mL，升高至 397.48 ± 245.09 ($p < 0.01$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUCt，則由控制組的 317.94 ± 70.73 hr*ng/mL，升高至 477.29 ± 180.86 hr*ng/mL ($p < 0.01$)，增加吸收達 1.5 倍；而代表藥物清除速率的 Cl/F，由控制組的 131.24 ± 28.76 L/hr，減緩至 96.62 ± 36.83 ($p < 0.01$)；顯示單一劑量(16 克)甘露飲併服 fluvastatin 結果即發現 fluvastatin 最高血中濃度及吸收量顯著高於口服 fluvastatin 併用安慰劑者。

複方中藥影響 P-gp 功能之實驗方法為口服給予大鼠複方中藥七天後，第八天給予 P-gp 受質 fexofenadine (10mg/kg)。所有血液檢體將以高效液相層析質譜儀 (LC/MS/MS) 分析其中之 fexofenadine 濃度，在本實驗室已開發完成利用 fexofenadine-d6 當內部標準品及蛋白質沉澱之前處理的方式來處理血漿檢體。於 0.1 ml 血漿檢體中，fexofenadine 最低可定量濃度為 1 ng/mL。依目前結果，fexofenadine 於血漿之分析方法均符合國際及國內分析確效的要求，此分析方法應可應用於相關藥物濃度之檢測及於動物藥物動力學研究之用。

動物試驗部份，已分析完成於體外實驗中具顯著 p-glycoprotein 功能調控的前八種常用中藥複方之體內模式試驗。結果顯示連續服用七天的葛根湯、香砂六君子湯、小柴胡湯與川芎茶調散，再於第八天口服 fexofenadine (10mg/kg)之結果，對 P-gp 的專一性受質 fexofenadine 之曲線下面積會造成顯著影響，其中又以葛根湯影響最甚，下降約 67%。有鑑於國人目前服中藥的人數日益漸增，故此中西藥交互作用的問題於人體體內的影響，急需進一步的試驗確認來釐清此疑慮。

關鍵詞：中西藥物交互作用、代謝酵素、運輸蛋白

Number: CCMP99-RD-051

Clinical Study and Risk Evaluation of Herb-Drug Interaction (2-1)

Pao, Li-Heng
National Defense Medical Center

ABSTRACT

Based on the results of herb-drug interactions of CYP2C9- metabolized drug in rats, the first purpose of this project is to conduct the interactions between administrating Gan Ru Yin at a single dose or multiple doses and fluvastatin in healthy human volunteers. The second purpose of this study was to evaluate the effects of 30 frequently used clinical Chinese herbal medicines on a P-gp in rats. The most effective candidates of Chinese herbal medicines would be chosen for further studies in human at a multiple doses. This study may provide useful information for medical professional in prescription and consultation to reduce the chance of adverse effects and improve the quality of medical care.

To evaluate the drug-drug interaction between Chinese medicine, Gan-Lu-Yin (GLY) and marketed drug, fluvastatin. Healthy volunteers were included in this study for two stages treatments. For the first stage, subjects were orally co-administered with single dose of fluvastatin (40mg) with placebo. For the second stage, subjects were orally co-administered with single dose of fluvastatin (40mg) and single dose of GLY (16g). The plasma samples were analyzed for fluvastatin concentration with LC/MS/MS. The pharmacokinetic parameters, Cmax, AUC, and half-life were calculated and compared for the two stages to evaluate the herb-drug interaction between GLY and fluvastatin.When subjects were co-administered with GLY and fluvastatin, their plasma levels of fluvastatin were significantly higher than the ones of subjects co-administered with fluvastatin and placebo. The Cmaxs of fluvastatin of subjects administered with or without GLY were 397.48 ± 245.09 and 139.85 ± 50.03 ng/mL ($p < 0.01$), respectively. The extent of absorption (AUCt) of fluvastatin of subjects co-administered with GLY and fluvastatin were also significantly increased to 150% compared to the ones of subjects co-administered with fluvastatin and placebo (477.29 ± 180.86 vs. 317.94 ± 70.73 hr*ng/mL, $p < 0.01$). The clearance (CL/F) of

fluvastatin of subjects co-administered with GLY were also significantly decreased from the ones without GLY (131.24 ± 28.76 vs. 96.62 ± 36.83 L/hr, $p < 0.01$). Herb-drug interactions were initially found between Chinese medicine, Gan-Lu-Yin and Western medicines, fluvastatin.

In vivo analysis of p-glycoprotein regulation with continuous administration of Chinese herbal medicines, Ko Ken Tang, Siang Sha Liu Jun Zi Tang, Xiao Chai Hu Tang or Chuan Chiung Cha Tiao San for seven days was completed. The concentration of the area under the curve (AUC) of the orally administered 10mg/kg fexofenadine showed significant effects. Ko Ken Tang, exhibited the most effect where it decreased 67% compared with the control group. In order to provide more useful information for the use of CHMs and the possible herb-drug interactionsfurther tests needed to be confirmed.

Keywords: herb-drug interactions, metabolite enzymes, transporters

壹、前言

近年來隨者科技的進步及中藥科學化的政策引領下，我國中藥科學化腳步一直持續穩健的成長，加上全民健保制度對中藥的給付之促進下，各級醫院大部分均設有中醫部及中醫門診，各級醫院多半以濃縮中藥製劑為主。目前國內在全民健康保險醫療下及在目前國人的就醫習慣上，民眾常以同時服用中醫及西醫的藥物作為治療疾病方式，同時也因缺乏相關的交互作用資訊，中醫與西醫的疾病診治過程中，用藥安全上常常無法兼顧，此可能造成許多藥物不良反應或是中西藥物交互作用，造成病人用藥安全的顧慮。

中草藥的使用在古希臘、埃及、中國已有數千年歷史，蔓陀羅(Mandrake, *Mandragora officinarum*)是一多年生草藥，含有atropine及scopolamine 古時用於麻醉、鎮靜劑及止痛劑用。毒芹(Poison Hemlock, *Conium maculatum*) 亦含有生物鹼，古希臘時代用來處決之用。毛地黃(foxglove, *Digitalis purpurea*)至今仍廣泛使用於治療心臟疾病。而至今使用的抗癌藥物如tamoxifen及Taxol均來自太平洋紫杉(Pacific yew, *Taxus brevifolia*)。特別是在最近幾年中，世界各地使用各式各樣的天然製備品有明顯增加的趨勢。越來越多的民眾利用這些天然製備品做為保健及替代醫療之用途而非純粹醫療。中草藥及類似療法(Herb and homeopthic remdies)由1998年資料顯示：在歐洲佔有67億美金的市場，而在美國亦有40億美金的市場，且有持續增加的趨勢。

臨床治療上因同時使用多種藥物、不同科別或醫院的醫生間開立不同處方、加上民眾自行使用一般非處方藥物及維他命，健康食品製劑，以及中草藥製劑的盛行更增加了藥物交互作用發生率及評估時的複雜性。就一般使用中草藥的狀況來看，在美國需經常服用西藥的人中18.4%有同時服用至少一種中草藥產品或高劑量維他命。1539位成年人中，34%使用至少一種非傳統治療，其中72%並未告訴醫師自己正在服用中草藥[1]。在英國，面對面訪問調查於6家藥房及6家健康食品店的690位民眾，其中只有25.4%沒使用中草藥製劑，有74.6%（515位）有使用過中草藥製劑（336位在藥房，179位在健康食品店）；這使用515位使用過中草藥製劑者，有62%經常性的使用一種以上中草藥製劑，另38%偶爾或不定期使用一種以上中草藥製劑。更重要的是當服用西藥或中草藥當發生嚴重不良反應時的反應並不相同[2]。特別是如果嚴重不良反應症狀解除後仍會繼續服用中草藥的比例較服用西藥高8.5倍。而諮詢醫師的比例也遠教諮詢藥師及其他相關人員來的低，這些都將不利於中藥-西藥交互作用的控制及追蹤[3]。

對於一般民眾而言，認為中草藥是天然植物製備來的，不像一般西藥由化學物質組成，因此安全性較高且不易產生副作用。然而，中草藥製劑

不論在我國或歐美大部分國家，均是將其歸類在食品或是營養補充品，因此在販售上並未像成藥或處方藥般受到嚴格的規範，民眾可以輕易的根據自己的需求自行購買此類產品,而相對於這些天然製備品的應用日漸廣泛，一般認為中草藥是天然植物製備而來的，不像一般西藥由化學物質組成，因此安全性較高且不易產生副作用。因此近年來，特別是歐美流行使用草藥製劑，一般是以健康食品或營養補充品方式販售。事實上，身體並不會區分進入體內是化學合成成分或天然中草藥中的成分，一旦進入人體內的物質即被視為外來成分，須先經過過濾及處理。這些中草藥製劑其相關的藥理、毒理、藥物動力學、安全性和藥物交互作用的評估資訊便顯得較為的匱乏，因此提供臨床中西藥物交互作用的判斷仍待建立。

我國傳統中草藥的使用已有數千年歷史，目前常用大致可分為單方或複方濃縮製劑，皆是由植物或藥草研磨或萃取製成。複方顧名思義即由多種單方按照「君臣佐使」之原則配伍而成，其成分組成相當複雜，然就單方的濃縮中藥製劑而言，其中絕大部分均包含多種具有生理活性的成分或物質。而目前已知有超過6500種黃酮類、生物黃酮(flavonoids、bioflavonoids)廣泛分佈於中草藥植物中，另外它們也存在於各種蔬果及飲料（如紅葡萄酒、茶、咖啡及果汁）中[4]。

黃酮類物質主要結構以C6-C3-C6組合，自身又可再細分成數類：flavones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones, chalcones, anthocyanins等，一些最常見的黃酮例如：quercetin，屬於flavonols類，大量存在於洋蔥、茶、及蘋果；catechin，屬於flavonols類，主要是存在於茶中；hesperetin, 屬於flavanones類，常見於柑橘類的水果；cyanidin，屬於anthocyanins類，存在於具有紅色的水果中；daidzein及genistein，屬於isoflavones類，存在於大豆製品中。而最常見的phenolic acid即是caffeic acid，常會和quinic acid酯化形成chlorogenic acid，這類物質佔咖啡中的phenolic acid比例為最大量。

Flavonoids具有多種生物活性，最主要的即是顯著的抗氧化作用，因它們具有多個hydroxyl group，可以發揮捕抓自由基的能力，且具有較低的還原電位在還原其他物質熱力學上是有利的，特別是針對需氧細胞中所存在的超氧化陰離子(superoxide anion)之還原作用，故在動物實驗中已證實確能降低多數因過度氧化壓力而產生的組織器官退化性疾病之風險。此外，flavonoids還具有抑制人體內多種相當重要酵素的作用例如：xanthine oxidase, protein kinase C, cyclooxygenase, lipoxygenase, microsomal monooxygenase, glutathione S-transferase, mitochondrial succinoxidase, 以及NADH oxidase等，尤其在影響肝臟酵素CYP450系統活性的效應方面（如CYP3As family），相當帶有產生藥物交互作用的可能[5,6]。

藥物-藥物交互作用可導致藥物的失調反應而造成服藥者的死亡、使服

藥者住院或延長住院期限及增加醫療成本。近年在美國已上市藥物由市場上撤回原因中，主要也是以藥物-藥物交互作用為主，其中涉及主要的酵素是以細胞色素CYP為主。對於口服藥物而言，腸肝的首渡效應(first pass effect)是影響生體可用率的重要因素。而其中主要扮演代謝角色的還是肝細胞中的CYP3A4。CYP3A4是CYP3A的一個亞型酵素，其亦為細胞色素P-450的其中一個重要亞綱的酵素。CYP3A酵素在人類主要負責第一型代謝，經由非結合性(nonconjugation)反應增進藥物排除，估計在肝中的CYP約佔30% [7]，而在小腸的CYP有約佔70% [8]。所以以目前治療藥物的代謝主要途徑而言即使不以CYP3A當作首要的代謝酵素，亦有50% ~70% 經由CYP3A代謝 [9-12]。CYP3A家族中最主要且同性質的就屬CYP3A4[20,21]，它大量存在成人的肝[13-18]和小腸[19]中。在小腸CYP3A的量通常為肝中找到的10% ~50% 。然而在一些研究報告[20]也觀察到CYP3A的濃度相等或超過於肝中的存量。CYP3A蛋白質和催化活性，乃順著十二指腸、空腸及迴腸而呈縱向地減少[22]。肝及小腸的CYP3A4就其酵素來討論，它們具有相同的cDNA[21]。即使是食物中的成分經由抑制腸肝的細胞色素CYP3A酵素，已可產生嚴重的交互作用。如葡萄柚汁(grapefruit juice)其中bargamottin及6',7'-dihydroxybergamottin具有抑制CYP3A4酵素的作用，如與藥物一起服用可增加主要經由CYP3A4酵素代謝藥物，如cyclosporin, felodipine, nifedipine等藥物的Cmax及AUC[21,22]，此等交互作用可於臨床上造成嚴重的藥物不良反應極嚴重副作用的發生。

於94~95年間在貴會的資助下已初步建立複方濃縮中藥製劑的體內交互作用的動物模式、建立服用複方濃縮中藥製劑後對肝腸CYP3A活性影響的測定方法及完成三種複方濃縮中藥製劑於大白鼠體內(n=3～5)短期（7天，一天三次）使用後對模式藥物代謝(CYP3A)影響，之後的實驗將依據此試驗結果進一步進行長期使用複方濃縮中藥製劑對藥物代謝的影響。由此結果顯示在給予多劑量複方中藥濃縮製劑後，其中龍膽瀉肝湯對於Midazolam的C_{max}及$AUC_{0\rightarrow\infty}$增加約2.5倍、蒼耳散對於Midazolam的C_{max}及$AUC_{0\rightarrow\infty}$增加3倍及5倍、辛夷清肺湯對於Midazolam的C_{max} 及$AUC_{0\rightarrow\infty}$並沒有影響，但上述三種中藥對於Midazolam的半衰期則無顯著影響。更進一步進行複方濃縮中藥製劑與西藥於人體內之交互作用評估，結果顯示蒼耳散複方濃縮中藥製劑在連續服用臨床常用治療劑量下七天後，確實可增加CYP3A的專一性受質midazolam的曲線下面積及最高血中濃度，增加幅度分別為1.37倍及1.52倍；此結果顯示，即使在短期服用複方中藥製劑是有可能造成中藥-西藥併用時的交互作用。

另一方面，藥物對肝臟產生毒性主要會造成肝臟的血流量的改變及肝細胞本身的損傷，而這些改變及損傷所造成的影響最主要的即是肝臟代謝功能的變化。而肝臟代謝功能的變化即直接可能造成毒性物質的累積、藥

物-藥物交互作用的產生等等嚴重影響人體健康的後果，因此，無論中藥或西藥均應特別注意其對肝臟代謝功能之影響。

腸肝裡進行的藥物代謝效應常常在口服藥物吸收中扮演非常重要的角色，一個很顯著的例子即為葡萄柚汁反映在小腸及肝的藥物代謝酵素在人的體內的實驗，這個研究包含以葡萄柚汁當作一個選擇性小腸的CYP3A同功酶抑制劑23[-28]，而使felodipine有較高的口服生體利用率。然而，在葡萄柚汁中負責酵素抑制的活性成份還沒有被真正的確認。這個例子證明：一杯葡萄柚汁就很有可能增加口服利用率，卻使我們更加憂心國人常用之中藥亦非常可能傷害肝臟及影響人體代謝藥物的酵素進而與上市西藥產生嚴重的交互作用。因此，基於此想法，本計畫的目標之一即為評估以CYP2C9代謝活性影響之中藥為指標，進一步評估中西藥併服發生交互作用的風險。

Cytochrome P450 (CYP450)為藥物體內代謝以進行氧化還原反應之重要酵素，CYP450區分為多種亞型(subfamily)，廣泛分佈在肝臟、腸道及其他組織中[29]，以進行phase Ⅰ reaction而利於代謝物排出體外，各種亞型及次亞型一般依據胺基酸序列相似度予以區分[30]，因此其酵素命名橫跨生物界各物種之間，包含動物、植物及微生物，Cytochrome P450中文譯名為『細胞色素P450』，Cytochrome乃指一群含三價鐵離子並附著於細胞內質網的酵素蛋白質，此含鐵蛋白結構及功能類似血紅素(hemoglobin) 可負責電子轉移及能量釋放，一般稱之為heme-group或prosthetic group，CYP450則表示當一氧化碳結合於此酵素後，經可見光分光光譜儀檢測[31]，在波長450 nm上具有最大吸光係數，因此定義為CYP450。

藥物經由各種給藥途徑吸收進入體內後，遵循動力學模式接續進行代謝及排除過程，藥物在體內的代謝方式主要分為一相反應(phase Ⅰ reaction)及二相反應(phase Ⅱ reaction)，兩種機制皆可形成親水性代謝物，以利藥物排出體外。混合功能單氧化 酶(mixed function monooxygenase)是負責體內phase Ⅰ reaction的主要酵素，而CYP450則是屬於此型酵素，也就是經由CYP450, CYP450 reductase, cytochrome b5等群組蛋白負責藥物的氧化還原及水解反應。

1994年Shimada及Yamazaki等學者，為求瞭解細胞色素的含量比及種類分佈，而分離三十位日本人及高加索人的肝臟酵素，其研究發現雖然西方人細胞色素總體含量較東方人高，但人類肝臟細胞色素的含量比例並不隨人種及性別而有顯著差異[32]，此研究也提供後續研究者對於藥物代謝及酵素專一性一個相當完整的資訊，其中值得討論的是：各型細胞色素的含量以CYP3A所佔比例最高約為28.2 %，這個結果同時也輔證過去一般認定體內藥物代謝主要經由CYP3A負責phase Ⅰ代謝的定論，然而經由免疫化學分析

法鑑定結果，CYP2C subfamily同時也佔整體CYP450酵素含量的18.2 %，其含量比高居第二，僅次於CYP3A，其次分別是CYP1A2 (12.7%)、CYP2E1 (6.6%)、CYP2A6 (4.0%)、CYP2D6 (1.5%) 及CYP2B6 (0.2%)；本計畫即選擇CYP2C9代謝酵素來進行與中藥對經其代謝藥物的交互作用的評估。

特別是今日國人使用中藥藥物治療疾病有明顯增加的趨勢，常常中藥與西藥之間產生嚴重交互作用而未發覺，如：金絲桃草(St. John's wort)常被使用於抗憂鬱症，對於輕度到中度的憂鬱症的治療效果，在德國是很多年的傳統藥草，在美國則以健康食品的膠囊或錠劑食品上市，然而已有數個臨床報告指出使用金絲桃草的萃取物會與多種的處方藥物產生重要的交互作用[33-40]。在相關的仿單中亦增加此項交互作用的警語，主要是經由對腸道及肝臟CYP3A酵素的誘導效應，如 Cyclosporin、Portease inhibitor：indinavir、nevirapine、Oral contraceptives： ethinyloestradiol、Anticoagulants、Digoxin、Antidipressant：amitriptyline及Theophylline造成藥物交互作用，使得藥物療效降低[33-40]。

我們過去多年已進行了許多的中藥的研究，發現許多的中藥純成份的確能有效改變藥物吸收，其中包括可大幅促進acyclovir, piroxicam及buprenorphine等藥經皮吸收的中藥成份；另外，也發現許多可有效抑制或促進Phase I 代謝酵素CYP1A、CYP3A、CYP2C9及Phase II代謝酵素UGT2B的中藥成份，而這些研究成果已成功獲得國內及國際共十項專利，另有四項專利正在申請中。於94~95年在中醫藥委員會的資助下進行了「已上市中藥對體內肝臟酵素活性之影響研究」及於96~97年的「常用中西藥同時併用之交互作用風險評估」結果發現：

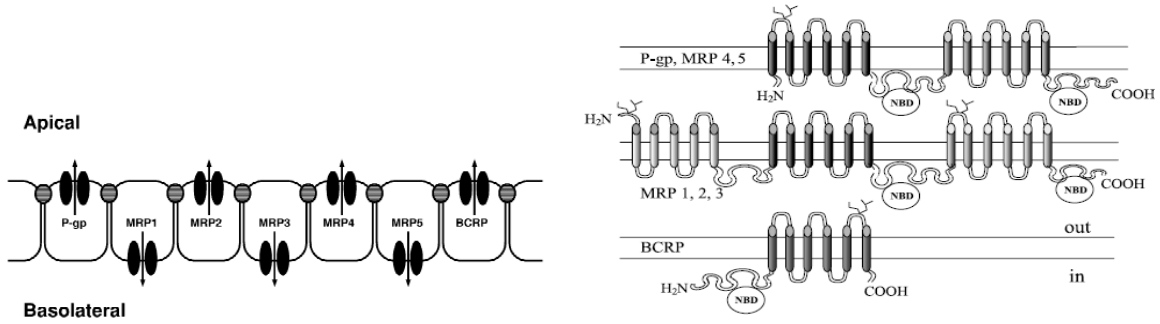
一、挑選了30種常用濃縮中藥來做測試，結果即發現至少有一半以上會對人體肝臟代謝酵素有顯著的影響，比例非常高，其中蒼耳散抑制CYP1A2之活性達99.2 ± 1.4%; 正骨紫金丹抑制CYP2D6活性達85.4 ± 7.7%; 甘露飲抑制CYP2C9活性達82.2 ± 8.7%; 正骨紫金丹抑制CYP3A4活性達89.6 ± 6.1%; 清心蓮子飲抑制UGT2B7活性達92.8 ± 1.8%。

二、經人類肝微粒體體外試驗及大白鼠體內藥動試驗、病理切片觀察，發現單一劑量或多劑量使用7天龍膽瀉肝湯後併服nalbuphine後會對大白鼠肝有所損傷HAI score顯著上升(1.6 ± 0.89上升至 4.40 ± 2.07)，代謝酵素活性也顯著下降，nalbuphine在體內的吸收量(AUCtotal)大幅增加25至40倍，體內最高濃度(Cmax)也大幅升高12至15倍，排除半衰期也增長3至6倍，已明顯產生藥物-藥物交互作用。

近幾年來的研究[41,42]也發現到黃酮類部分種類之結構類似ATP分子，因而擁有結合ATPase的特性，對於分布於體內腸道、肝臟的主動性排除性運

輸蛋白 (active efflux transporters) 如P-gp、breast cancer resistantance protein (BCRP)、multidrug resistance-associated protein (MRP)1-2 (上述皆屬於ATP-binding cassette (ABC) superfamily，已證實為產生癌症多重抗藥性的主要機制之一) 的活性，經體外試驗結果證實確具有相當程度之影響，實在值得系統性探討其與西藥併用時可能產生的交互作用。事實上，越來越多體外體內文獻不約而同地証實這些成分多數具有抑制或促進efflux transporters主動運輸或清除作用，或者是負責藥物代謝的酵素活性 (如細胞色素CYP3A、UGT等) 之多重作用[41,42]，進而可能影響到其他西藥藥物吸收、體內的分布及清除，以致常常促使了中西藥物交互作用的可能性及影響預期的藥物療效，甚至造成肝、腎及全身性之毒性反應。

人體內具代謝清除功能的主要器官及重要的黏膜障壁上大多會表現依賴能量運輸的transporters，又可分為排除性 (efflux) 及接收性 (uptake)，這類transporters往往具有調節藥物在體內藥物動力學參數或保護體內清除堆積於各腔室中的外來物質如毒素及廢物的功能，而口服藥物的吸收主要靠著腸黏膜上被動擴散或藉由特定的載體進入血液循環，倘若中藥製劑中的某成分改變了該transporters的活性必然可能導致原服用治療藥物的血中濃度發生非常態性的變化，也可能造成正常生理功能的改變。其中，位在腸黏膜上的efflux transporters會形成第一層主要影響口服藥物吸收的障壁，主要以P-gp、BCRP以及MRP2分布為主，其中又以P-gp與BCRP的活性影響藥物吸受的程度最廣為受到重視[43]。腸道上各種efflux transporters的分布位置[43]，如圖一(a)，其相關重要的ABC efflux transporter結構示意圖[44]，如圖一(b)。

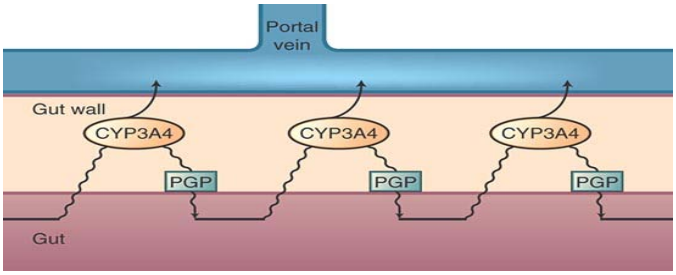


(a) (b)

圖一、(a)腸道上 ABC 家族運輸蛋白細胞的分布位置示意圖 [31]
(b)ABC 家族主動運輸蛋白的結構示意圖

腸道中的P-gp位在腸絨毛細胞上故具有高度效率來產生排除藥物的作用，其表現隨著腸道的位置而有所不同 (由小腸近端往遠端逐漸增加，大腸最多)，當給予其抑制劑會造成另一種藥物的腸清除率降低因而導致藥物交互作用，如digoxin和verapamil或quinidine合併服用使得digoxin血中濃度增加[32]。

P-gp影響口服藥物生體可用率中最重要的機制即是與Phase Ⅰ、Phase Ⅱ代謝酶之協同作用，如cytochrome P450 (CYP) family及glutathione-*S*-transferases，其中CYP3A4被認為和P-gp最具有協同作用關係。CYP3A家族能顯著影響口服吸收，起因於目前使用的藥物中有40~50%是經由此家族代謝的。CYP3A4在人類肝臟中約佔了CYP酵素30%；在小腸中約佔了70%，本身參與代謝一系列的環境中毒素、內源物質以及藥物，故是CYP大家族中受質專一性範圍最廣大的一支。雖然因肝臟中CYP單位酵素含量是最多的而成為首渡代謝的主要位置，腸道中較低單位含量的CYP3A4仍具有強烈的首渡代謝作用。而該協同機制可能為由P-gp將經CYP3A4代謝的藥物排除掉，或經Phase Ⅱ酵素結合親水機團後由MRP2排除，因而限制了藥物的吸收。另外一可能的機制為當藥物同時為P-gp及CYP3A4受質時，P-gp重複的排除進入細胞內的原型藥物分子使得這些被排出回腸腔的藥物分子又進入腸細胞因而增加與CYP3A4的接觸時間，結果類似腸肝循環一樣，故增加了腸酵素抽提的比率(見圖二)[31,43]。



圖二、腸道中 P-gp 與 CYP3A4 協同作用的假想圖

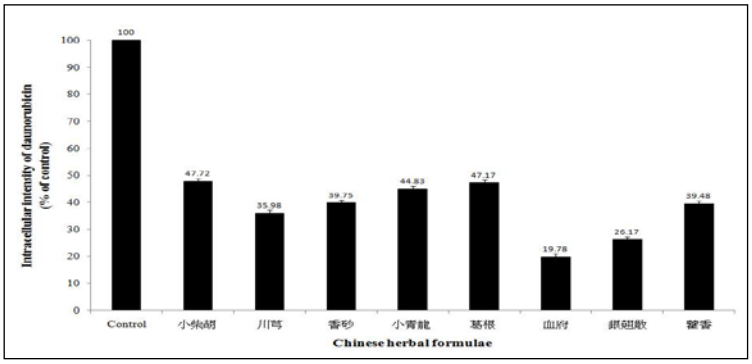
由於P-gp對於臨床上多重抗藥性的產生具有相當重要的地位，因此自從確認其生理病理意義後，研究者便積極的找尋該蛋白的抑制劑以作為改善癌症治療的新策略，自1981年起，Tsuruo等人首度提出證明verapamil及trifluoperazin體外實驗增加multidrug- resistance murine leukaemia細胞株內vincristine的蓄積，因此稱為chemosensitisers具有調控（反轉）抗藥性，也稱為 P-gp inhibitors、reversal agents或是modulators。在化學治療時，希望利用此類調控劑增加抗癌藥物的細胞毒性以達到治療效果。近來研究開發許多藥物或物質作為P-gp調控劑，區分為First generation及second generation。通常第一代(first generation)調控劑需要較高的濃度才能達到抑制P-gp作用，然而造成的細胞毒性也較高。第二代(second generation)調控劑部分是第一代調控劑衍生物，而所需劑量較低，抑制P-gp作用的效果較佳且毒性低，並且較具有專一性。然而，目前也有更多的研究指向中國傳統的醫用草藥中的成分對P-gp活性影響之探討。

目前本實驗室也已經針對30種常用科學濃縮複方中藥製劑對過度表現

P-gp之細胞株進行相關之試驗（表一）。主要是利用具過度表現 P-gp 的HCT15細胞株為體外篩選模式輔以流式細胞儀分析，進行體外篩選相關模式之建立與確效，包括模式藥物Daunorubicin (DNR)適當濃度及其在細胞內累積的時間、陽性抑制劑Vanadate 之濃度反應曲線與抑制時間等影響因素評估。體外試驗結果顯示以小柴胡湯、川芎茶調散、香砂六君子、小青龍湯、葛根湯、血府逐瘀湯、銀翹散與藿香正氣散有促進50% P-gp排出受質的能力，主要結果如圖三及表一所示。此也顯示上述常用科學中藥已有與西藥產生交互作用之能力，其可能造成抗癌藥物的吸收顯著減少，此尚待動物及人體試驗進一步確認。此部分研究未來兩年的研究目標在延續對p-glycoprotein (p-gp)運送蛋白功能影響的複方製劑進行體內的動物實驗及臨床試驗的評估。

表一、常用科學濃縮複方中藥製劑對於調控 P-glycoprotein 功能之影響

科學中藥編號與濃度	Intracellular intensity of daunorubicin (% of control, mean ± SD, n=3)	
加味逍遙散 (40 mg/ml)	106.64	± 1.70
獨活寄生湯 (40 mg/ml)	65.59	± 5.36
六味地黃丸 (40 mg/ml)	84.80	± 2.11
補中益氣湯 (40 mg/ml)	74.08	± 2.20
小柴胡湯 (15 mg/ml)	47.72	± 0.10
龍膽瀉肝湯 (30 mg/ml)	100.14	± 7.92
疏經活血湯 (30 mg/ml)	80.49	± 8.09
川芎茶調散 (25 mg/ml)	35.98	± 0.76
香砂六君子 (35 mg/ml)	39.75	± 2.19
小青龍湯 (25 mg/ml)	44.83	± 0.71
葛根湯 (25 mg/ml)	47.17	± 0.95
半夏瀉心湯 (11.3 mg/ml)	73.12	± 10.35
辛夷清肺飲 (30 mg/ml)	114.64	± 5.63
麻杏甘石湯 (25 mg/ml)	75.97	± 2.92
辛夷散 (18.8 mg/ml)	60.87	± 3.95
甘露飲 (40 mg/ml)	66.61	± 1.08
桑菊飲 (26.3 mg/ml)	53.42	± 1.67
桂枝茯苓丸 (15 mg/ml)	103.80	± 16.07
芍藥甘草湯 (22.5 mg/ml)	89.95	± 3.79
歸脾湯 (50 mg/ml)	110.76	± 2.47
知柏地黃丸 (40 mg/ml)	73.94	± 2.33
血府逐瘀湯 (50 mg/ml)	109.30	± 2.83
平胃散 (11.3 mg/ml)	19.78	± 1.77
蒼耳散 (22.5 mg/ml)	78.43	± 1.68
當歸芍藥湯 (15 mg/ml)	99.99	± 8.21
天王補心丹 (15 mg/ml)	78.22	± 7.56
銀翹散 (22.5 mg/ml)	26.17	± 1.40
杞菊地黃丸 (40 mg/ml)	87.60	± 4.58
麥門冬湯 (30 mg/ml)	72.25	± 2.92
藿香正氣散 (30 mg/ml)	39.48	± 1.86



圖三、常用科學濃縮複方中藥製劑對調控 P-glycoprotein 功能於體外細胞篩選前八名之比較圖 (mean ±SD, n=3)

綜合上述，我們研究團隊在過去多年已進行了許多的中藥的研究中，發現許多的中藥純成份的確能有效改變藥物吸收；另外，也發現許多可有效抑制或促進 Phase I 代謝酵素 CYP1A、CYP3A、CYP2C9 及 Phase II 代謝酵素 UGT2B 的中藥成份。在 efflux transporters 如：BCRP、MRP1 體外及體內活性影響之研究上亦也相當的成果；而 P-gp 方面已有體外細胞的篩選實驗結果，再經由動物試驗確認後，由動物試驗中交互作用最顯著的中藥複方製劑來進行人體臨床試驗及常用濃縮中藥(如：甘露飲)併服經 CYP2C9 代謝模式藥物(如：fluvastatin)之人體臨床試驗之執行。藉以評估中西藥併用產生交互作用的風險，供中西醫政策上之參考。

研究目的

本計畫各年工作項目分別列述如下：

第一年：

1. 經 CYP2C9 代謝藥物臨床試驗模式藥物(如：fluvastatin)於人體血液分析方法開發。
2. 單劑量常用濃縮中藥(如：甘露飲)併服經 CYP2C9 代謝模式藥物(如：fluvastatin)之人體臨床試驗。
3. 建立對 p-glycoprotein 的體內試驗模式及分析方法開發。
4. 體外實驗中具顯著 p-glycoprotein 功能調控的前八種常用中藥複方，進行體內模式試驗。
5. 試比較 p-glycoprotein 功能調控對常用中藥複方的體內體外相關性。

第二年：

1. 多劑量常用濃縮中藥(如：甘露飲)併服經 CYP2C9 代謝模式藥物(如：fluvastatin)之人體臨床試驗。
2. p-glycoprotein 之體內試驗模式及分析方法確效完成。

3. 由體內試驗成果中挑選具有最顯著 P-gp 功能調控的中藥複方製劑，進行多劑量常用濃縮中藥對 P-gp 受質藥物(如：fexofenadine)的人體臨床試驗。

第一年(99 年度)：

一、fluvastatin 之人體臨床試驗

本研究所使用之模式藥物為降血脂藥 fluvastatin (Lescol®)，fluvastatin 是第一種完全由化學合成之 HMG-CoA reductase 抑制劑口服生體可用率約 25~30 %，專一性受 CYP2C9 代謝，fluvastatin sodium 之口服吸收可達 90 %，因此嚴重的初度效應是造成 fluvastatin 低生體可用率的主要原因，此藥(fluvastatin)經肝臟代謝可生成四種不同代謝物，其中 CYP2C9 負責代謝 80 % fluvastatin，而其餘 isoenzyme 則負責另外的 20 %。

將西藥與中藥併用，主要是基於國人習慣同時併服中西藥，以同時給予受試者西藥與 GMP 製造且核准上市之濃縮中藥，以研究西藥在健康受試者體內的藥物動力學變化與肝功能指數，以評估建立中西藥併用的安全性資料。

二、體內中西藥交互作用試驗

本試驗在於研究複方中藥製劑與 fexofenadine（P-gp 的受質）於動物體內之交互作用評估，以期進一步評估於體外試驗中具顯著交互作用複方中藥於動物體內發生交互作用之可能性，先前實驗室已經針對 30 種常用科學濃縮複方中藥製劑對過度表現 P-gp 之細胞株進行相關之試驗。體外試驗結果顯示以小柴胡湯、川芎茶調散、香砂六君子、小青龍湯、葛根湯、血府逐瘀湯、銀翹散與藿香正氣散有促進 50% P-gp 排出受質的能力。此部分研究之研究目標在延續對 p-glycoprotein (p-gp)運送蛋白功能影響的複方製劑進行體內的動物試驗的評估。

貳、實施方法

一、實驗方法

(一) fluvastatin 之人體臨床試驗

本試驗為單中心、開放標示及多劑量給藥之臨床試驗，受試者在每一試驗階段將會接受多劑量科學中藥併服單一劑量西藥且不重複給藥，試驗全程預計將於三軍總醫院臨床研究中心執行（視實際需要而定）。

研究中藥對於西藥其藥物動力學性質的影響試驗中，所有受試者在篩選體檢時，除一般項目外，另需給予半乳糖並抽血以檢測肝功能。試驗開始時受試者在試驗當天給藥前先抽一次血，約24毫升（共三管），之後服藥一次，從早上8點起，固定時間間隔抽血，服用fluvastatin之受試者，給藥前15分鐘以及給藥之後的0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、8、10、12、24小時，抽取血液檢體，在抽完第12小時的血液後，受試者即可返家休息，直到隔天早上8點，受試者必須自行返回三軍總醫院臨床研究中心抽取第24小時的血液檢體。

受試者參與中西藥併服風險評估的臨床試驗，總計所需試驗時間單劑量組約為2天。所有血液檢體將以高效液相層析質譜儀(LC/MS/MS)分析其西藥之濃度，並以獲得之數據計算相對生體可用率、濃度時間曲線下面積、最高血中濃度、達到最高濃度的時間以及排除半衰期等藥物動力學參數。

(二)研究用藥及給藥方式：

對照組：

1. 藥名：fluvastatin (Lescol®) + placebo(starch)
2. 劑型：膠囊
3. 劑量：fluvastatin (Lescol®)40 mg、placebo 4~16g
4. 用法：口服
5. 藥物作用機轉：Fluvastatin 是 HMG-CoA 還原酶的競爭性抑制劑。主要是通過抑制這種還原 酶將HMG-CoA轉化為mevalonate，進而抑制膽固醇的形成。
6. 藥理分類：降血脂藥物

研究組：（100 年度）

1. 藥名：fluvastatin (Lescol®)+ 甘露飲
2. 劑型：膠囊 + 口服粉劑
3. 劑量：甘露飲(4~5.3g, TID, 7days)、 fluvastatin (Lescol®)40 mg

4. 用法：口服
5. 藥物作用機轉：Fluvastatin 是 HMG-CoA 還原酶的競爭性抑制劑。主要是通過抑制這種酶將 HMG-CoA 轉化為 mevalonate，進而抑制膽固醇的形成。甘露飲為一中藥複方，用於急慢性咽炎、慢性扁桃腺炎、口內潰瘍、口內炎、齒齦炎、黃疸、便秘、胃炎等。
6. 藥理分類：fluvastatin 為降血脂藥物、甘露飲為中藥複方。

(三)評估及統計方法

受試者的試驗數據及統計分析結果將會作一個整合性概述，藥物動力學數據以平均值及標準差描述，下列藥動學參數將會以dextromethorphan及fluvastatine血中濃度計算而得。

Kel 藥物排除速率常數，以藥物血中濃度經時變化之排除相為根據，藉由簡單線性迴歸求得。

$AUC_{0\rightarrow t}$ 由零時間到最後一個血中濃度量測點，藥物血中濃度經時變化之曲線下面積，藉由 trapezoidal rule 求得。

$AUC_{0\rightarrow \infty}$ 由零時間到無窮大，藥物血中濃度經時變化之曲線下面積，藉由 trapezoidal rule 以及最後一點血中濃度估計而得(Cp/Kel)。

T_{max} 血中藥物到達最高濃度之時間。

C_{max} 最高藥物血中濃度。

$T_{1/2}$ 血漿藥物之移除半衰期(0.693/Kel)

AUMC 由零時間到無窮大，瞬時藥物血中濃度經時變化之曲線下面積，藉由trapezoidal rule 以及下列公式計算而得：

$$AUMC_{0\rightarrow\infty}=C_nt_n/Kel + C_n/Kel^2 + \Sigma[(t_n-t_{n-1})(C_{n-1}t_{n-1} + \mathbf{C_nt_n)/2]}$$

MRT 平均滯留時間 $(AUMC_{0\rightarrow\infty}/ AUC_{0\rightarrow\infty})$

相對吸收速率將會以dextromethorphan或fluvastatine最高血中濃度(Cmax)及平均滯留時間(MRT)作比較，而吸收量則是利用dextromethorphan或fluvastatine血中濃度對時間作圖後之曲線下面積(AUC)估算。我們也將會針對GSP及藥動學參數之間做進一步的相關性分析，試驗中所得到的藥動學參數及數據上的顯著差異，將會以95% confidence interval及ONEWAY ANOVA或其他更適切的統計分析方法進行分析。

(四)交互作用判定標準

根據美國FDA規範藥物-藥物交互作用的Guidance: 「Drug Interaction Studies -Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labeling」裏對代謝酵素抑制的程度有如下表之分級：

等級	血中藥物之 AUC 增加倍數
強(strong)	≥ 5
中等(moderate)	2 ~ 5
弱(week)	1.25 ~ 2

由此，本計畫亦將套用此一標準來定義中西藥之交互作用的程度。

1. 分析條件

Nalbuphine 於人類血漿中濃度檢測前處理方式使用液相-液相萃取，並採用高效能液相層析質譜儀 (Liquid Chromatography /Mass/Mass, LC/MS/MS, API 3000 triple-quadrupole mass spectrometer equipped with an ion-spray (ESI)) 進行分析，層析管採用 Water® sunfire C18，2.1 × 50 mm, 3mm column，移動相採用 0.1% formic acid in H_2O : 0.1% formic acid in MeOH (20：80;v/v)，流速設定為 0.25 mL/min。血液檢品處理程序詳列於下。

2. 樣品處理(Sample preparation)：

取 0.5 mL 臨床人體血漿置於 16*125 mm 平口試管中

↓

加入 50 μL 內部標準品 (Indomethacid : 500 ng/mL)

↓

加入 1mL , 0.75 M Ammonium acetate (pH=3.0) , 移置試管振盪器振 3 分鐘

↓

加入 5mL Is0-propyl ether

↓ (vortex 30 mins)

移置-80℃冰凍 30 分鐘

↓

倒上層有機溶液至 13*100 mm 平口試管

↓

氮氣吹乾 (30℃; 30 分鐘)

↓

回溶 100 mcL (H2O: MeOH=25:75)

↓ (vortex 3min)

Transfer HPLC vial

↓

注射 10 mcL

3. 分析條件

(1)液相層析條件

參數	描述
移動相	0.1% formic acid in H_2O : 0.1% formic acid in MeOH (20：80;v/v)
分析管柱	Water® sunfire C18，2.1 × 50 mm, 3mm column
流速	0.25 mL/min
注射體積	5mcL
分析時間	3 min

(2)質譜條件

Compound	Precursorion	production	Coll.Energy (eV)
Fluvastatin	412.2	266.0	23
Indomethacid	358.35	138.95	20

二、體內中西藥交互作用試驗

(一) p-glycoprotein 的體內試驗模式

1. 體內試驗：雄性 Sprague-Dawley 健康老鼠，體重介於 260～350 g，出生約八週，實驗前禁食 18 小時，但給予足夠水量，以尾靜脈採血。給藥途徑以餵食管口服灌食。
2. 體內模式藥物:Fexofenadine 是 P-glycoprotein 的受質。實驗時，將口服給予 S.D. rat 市售 Fexofenadine 10 mg/kg。
3. 體內試驗口服給藥實驗：依照外包裝之常用劑量換算為大鼠所需劑量，將秤取之藥物溶於 1ml Q 水。首先管灌口服餵食大鼠單劑量或多劑量科學濃縮複方中藥製劑七天後（control 組餵食 Q 水），於第八天再進行口服給予 fexofenadine 及取血。取血時間點為 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12, 24 小時，取得血液約 500 μl，之後用血漿進行 fexofenadine 分析，分析前血漿保存於 -80℃。實驗共 9 組（含控制組），每組至少 N = 6。在實驗中任何時間，若發現有任何動物病危，則基於人道理由，將以二氧化碳使其安樂死。

(二)Fexofenadine 的分析方法

1. 分析條件：利用高效液相層析質譜儀分析血漿中 Fexofenadine 濃度。移動相(mobile phase)是由 30% Acetonitrile 與 70% Q 水(各含 0.1％ formic acid)組成。流速設定為每分鐘 0.3 ml。
2. 檢品處理:檢品處理的步驟,取平口試管中取 90 μl 老鼠血漿，加入 400 μl methanol deprotein，離心 10 分鐘，取上清液經真空離心濃縮吹乾。以 200 μl 移動相溶解乾燥藥品。經由自動取樣器以 5 μl 注入高效液相層析系統中，分析濃度。

本計畫所使用體內試驗之西藥模式藥物為 fexofenadine，此藥為美國 FDA 及歐洲 EUFEPS（The European Federation of Pharmaceutical Science）於藥物-藥物交互作用評估的指南所建議使用於體內實施測定 P-gp 活性之模式藥物。以確認其交互作用的可能影響程度，以利建立中藥之使用資訊。

本實驗室已開發完成利用 fexofenadine-d6 當內部標準品及蛋白質沈澱之前處理方法來處理血漿檢體；再配合簡單等梯度移動相，即可在 5 分鐘內分析完成本計畫所使用體內試驗之西藥模式藥物 fexofenadine 之定量分

析。於 100μL 血漿檢體中，fexofenadine 其最低可定量濃度(lower limit of quantitation, LLOQ)為 1 ng/mL；最高可定量濃度(upper limit of quantitation, ULOQ)為 100 ng/mL。

Fexofenadine 於大鼠血漿中濃度檢測之前處理方式使用去蛋白質沈澱(protein precipitation, PPT)方式，並採用高效能液相層析質譜儀 (liquid chromatography tandem mass, LC/MS/MS)以電灑法進行血中藥物濃度分析，層析管柱使用 Waters XBridge Phenyl 5μm 3.0 × 50 mm column，移動相採用 formic : water：Acetonitrile (0.1 : 70：30　v/v/v)，流速設定為 300 μL/min。

(三)血液檢品處理程序

1. 樣品處理：

100μL rat plasma sample add with 50μL fexofenadine-d6

↓

deprotein by methanol (400μL)

↓

centrifuged to get the supernatant and N_2 dryness at 50 ˚C

↓

回溶 200μL (water : acetonitrile = 70 : 30; v/v)

↓

inject 5μL onto LC-MS/MS

2. 分析條件：

(1)液相層析條件

參數	描述
移動相	0.1% formic acid in H_2O : 0.1% formic acid in ACN (70：30;v/v)
分析管柱	XBridge Phenyl 5μm 3.0 × 50 mm column
流速	0.3 mL/min
注射體積	5 μL
分析時間	5 min

(2)質譜條件

	compound	polarity	precursor ion	product ion
1	fexofenadine	+	502	466
2	fexofenadine-d6	+	508	472

二、實驗材料：

(一)儀器設備：

1. 液相層析串聯式質譜儀分析系統(LC/MS/MS)：

(1) SHIMADZU 高效液相層析儀系統：

幫浦：Shimadzu LC10 ADvP

自動注射器：Shimadzu SIL-10 ADvp

(2)質譜：美商生命系統 API 3000 LC/MS/MS with Analyst 1.4

2. 其他：

(1)Sorvall® RT7 高速離心機

(2)TurboVap® LV 濃縮吹乾機

(二)標準品:

Fluvastatin Sodium (USP)

Fexofenadine （廠牌：Sigma-Aldrich; 批號:038K4730; 純度:99%）

Fexofenadine-d6（廠牌：Toronto Research chemicals inc.; 批號：F322500 純度：98%）

(三)化學藥品:

1. Acetonitrile : HPLC grade, TEDIA.
2. Ammonium acetate: SIGMA
3. Indomethacid: SIGMA
4. Iso-propyl eyher : A.C.S. reagent, J. T. Baker.
5. Methanol (MeOH): HPLC grade, Merck.

參、結果

一、fluvastatin 之人體臨床試驗

Fluvastatin 於人類血漿中測定之標準曲線濃度範圍為 0.5～250 ng/mL。標準曲線異日間（n=6，如圖二）之線性迴歸，r 值為 0.9982，顯示本分析系統在所使用的濃度範圍內線性關係良好，精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在 15%規定範圍之內。

Fluvastatin 的分析確效驗證，包括 LLOQ (0.5ng/mL)、LQC (1.5ng/mL)、Medium QC (125ng/mL)、High QC (225ng/mL)四種濃度，其同日間(n=6)及異日間(n=6)之精密度(precision, CV)與準確度(accuracy, %error)皆在 15%規定範圍之內，如表一。

今年度計畫預計進行 16 人，以至少達成 12 人為目標，此計畫於本年度已完成 24 人次之臨床試驗(控制組與中藥組各 12 人次)，如圖三所示，當中藥組受試者(n=12)給予甘露飲(16 克/人)併服 Fluvastatin (40 mg/人)後，體內血漿之 Fluvastatin 濃度會比服用安慰劑加上 Fluvastatin 之控制組受試者(n=12)在吸收相顯著升高，而由表二之 Fluvastatin 動力學參數來看，Fluvastatin 體內最高濃度 (Cmax) 由控制組(n=12)的 139.85 ± 50.03 ng/mL，升高至 397.48 ± 245.09 ($p < 0.01$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUCt，則由控制組的 317.94 ± 70.73 hr*ng/mL，升高至 477.29 ± 180.86 hr*ng/mL ($p < 0.01$)，增加吸收達 1.5 倍；而代表藥物清除速率的 Cl/F，由控制組的 131.24 ± 28.76 L/hr，減緩至 96.62 ± 36.83 ($p < 0.01$)；甘露飲顯然會增加人體吸收 Fluvastatin 的能力；由此可知，甘露飲與 Fluvastatin 併服極可能會造成藥物交互作用，而產生危險。

目前已知已超過 6500 種 Flavonoids 經確認廣泛分佈於中藥植物中，誠如前所言，文獻已証實這些成分可經由抑制或促進負責藥物代謝的酵素，進而可能影響到其他西藥藥物吸收及代謝，以致常常造成了中西藥物交互作用(drug interaction)的可能及影響預期的藥物療效或造成毒性反應。

二、體內中西藥交互作用試驗

此試驗為使了解複方中藥製劑與西藥 fexofenadine 於動物體內之交互作用評估，進行動物實驗共 9 組（含控制組），每組至少 N = 5，目前已分析完成一組控制組與八組實驗組動物血液檢體之 fexofenadine 血中濃度，並進行複方中藥製劑與西藥於動物體內交互作用之評估，以確認其交互作用之可能影響程度。

本研究投藥方式參考目前公認最為客觀之體表面積劑量換算方式，依

此八種中藥不同之建議劑量換算其投予大鼠之劑量分別為：血府逐瘀湯每隻大鼠投予 660 mg、銀翹散每隻大鼠投予 380 mg、川芎茶調散每隻大鼠投與 330 mg、藿香正氣散每隻大鼠投與 400 mg、香砂六君子每隻大鼠投與 420 mg、小青龍湯每隻大鼠投與 330 mg、葛根湯每隻大鼠投與 340 mg 以及小柴胡湯每隻大鼠投與 370 mg，每日於相同時間以餵食管於鼠胃直接投藥，每次投予一毫升水溶物後，再以一毫升去離子水洗淨餵食管中殘餘藥物並投予大鼠，連續七日；於第八日投與 p-gp 之受質 fexofenadine，並於不同時間點用尾靜脈採血方法收集大鼠血液，以供分析之用。

其血中藥物濃度分析之數據已詳細整理並附於其後。控制組之血中藥物濃度分析結果詳列於表六；實驗組之血府逐瘀湯血中藥物濃度分析結果詳列於表七，實驗組之銀翹散血中藥物濃度分析結果詳列於表八，實驗組之川芎茶調散血中藥物濃度分析結果詳列於表九，實驗組之藿香正氣散血中藥物濃度分析結果詳列於表十，實驗組之香砂六君子血中藥物濃度分析結果詳列於表十一，實驗組之小青龍湯血中藥物濃度分析結果詳列於表十二，實驗組之葛根湯血中藥物濃度分析結果詳列於表十三及實驗組之小柴胡湯血中藥物濃度分析結果詳列於表十四。

其血中藥物濃度之經時變化圖已詳細整理並附於其後。實驗組之血府逐瘀湯血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖六，實驗組之銀翹散血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖七，實驗組之川芎茶調散血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖八，實驗組之藿香正氣散血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖九，實驗組之香砂六君子血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖十，實驗組之小青龍湯血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖十一，實驗組之葛根湯血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖十二，實驗組之小柴胡湯血中藥物濃度之經時變化圖詳列於圖十三及控制組與八組複方中藥血中藥物濃度之經時變化比較圖詳列於圖十四。

依據血中藥物濃度變化實驗結果，利用 WinNonline 軟體計算出各組不同之藥物動力學參數，以供其後比較之用。控制組與其八組實驗組之藥物動力學計算出之藥物動力學參數詳列於表十五；並 wilcoxon signed rank test 方式比較 T_{max} 參數組間之不同差異，以 One-way ANOVA 比較 C_{max} 與 AUC_{0-t} 參數組間之不同差異，其統計結果詳列於表十五。

依據本研究顯示，發現利用體外細胞藥物篩選平台所篩選之濃縮科學中藥，的確對於 p-gp 受體有顯著的影響，在 T_{max} 方面銀翹散、小青龍湯、葛根湯與小柴胡湯使到達血中最高藥物濃度之時間加快，但藿香正氣散、血府逐瘀湯、川芎茶調散及香砂六君子則對 T_{max} 沒有顯著改變；在 C_{max} 方

面僅有銀翹散有顯著改變，其餘七種則沒有顯著變化；在 AUC_{0-24} 方面川芎茶調散、香砂六君子小青龍湯、葛根湯與小柴胡湯有顯著改變，而藿香正氣散、銀翹散、血府逐瘀湯則沒有顯著改變；總體而言以葛根湯影響最為顯著，此方劑有可能對於中西藥交互作用有重大影響，可以為臨床人體試驗之候選方劑。

肆、討論

一、fluvastatin 之人體臨床試驗

本計畫構想乃延續並依據前兩年計畫成果，由體外試驗（人類肝微粒體）建立檢測藥物對各種肝臟代謝功能影響的測試系統，並利用這些測試系統去評估常用中藥濃縮製劑對肝臟代謝功能的影響，並從中挑選會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，篩選出與西藥併服後會產生顯著的藥物-藥物交互作用的中藥來進行本計畫的人體試驗，在服用單一劑量甘露飲後併服 fluvastatin (n = 12)的條件下，併服中西藥組(n = 12)對於西藥的吸收較西藥併服安慰劑組(n = 12)有顯著差異，與體外試驗及動物體內試驗結果相符，顯示體內體外試驗間之相關性甚高，因此在未來或許可利用體外試驗快速且大量篩檢中西藥交互作用，以免對服藥人產生不良影響。臨床上中藥處方為中長天期(6~7 天)，有些民眾亦會自行購買複方中藥長期服用，本計畫明年預計要執行多劑量組中藥後併服西藥之臨床試驗，乃是延續今年的計畫，使試驗條件更貼進現況，試驗的結果會更有意義與參考價值，在日後可教導並對民眾宣導若服用會「顯著影響」藥物藥動學參數之中藥後，同時併服其他藥物時即可能使藥物在體內的濃度產生不預期之變化，進而可能造成藥物失效或產生副作用的情形。

二、體內中西藥交互作用試驗

依據本實驗室先前建立之體外細胞篩選平台，利用過度表現 P-gp 之 HCT-15 細胞株作為體外篩選模式輔以流式細胞儀分析進行體外篩選相關模式之建立與確校。依據之前針對三十種常用科學濃縮複方中藥製劑對過度表現 P-gp 之細胞株進行相關試驗，體外實驗結果以小柴胡湯、川芎茶調散、香砂六君子、小青龍湯、葛根湯、血府逐瘀湯、銀翹散與藿香正氣散有促進 50% P-gp 排出受質之能力，基於實驗所得之資料顯示，若病患在接受西藥治療時同時併服此八種科學濃縮中藥，可能會因中藥促進 P-gp 表現，而使西藥血中藥物濃度下降，造成治療預後不佳；此發現雖令本實驗室興奮，在學術研究上有所發現，但卻也憂心國人在用中藥-西藥交相使用上的安全，進而想確認此八種複方濃縮中藥是否在體內也會有相同促進 P-gp 之情況。

本計畫實驗以投予去離子水控制組及投予八種複方濃縮中藥實驗組之變因，來比較大鼠體內 fexofenadine 之藥動數值來分析，而八種濃縮中藥之動物實驗投藥依據，為目前公認較為準確地體表面積(body surface area, BSA)給藥模式，以人類每日服食之劑量，依 BSA 換算後可以得到較為科學準確之投藥劑量；並於每日固定時間投藥，每日一次，共為期七天投予濃縮複方科學中藥，第八日投予 P-gp 受質(fexofenadine)，並於當日在不同時間點採集血液樣本進行分析。

實驗結果顯示連續投予大鼠七天的濃縮複方科學中藥後，某些中藥的確會顯著的改變 P-gp 受質之藥物動力學參數，其結果分述如後。在 T_{max} 方面，與控制組(0.72±0.66 hr)相比，服食銀翹散、小青龍湯、葛根湯與小柴胡湯之大鼠到達最高濃度之時間會顯著加快，意即會有較快的時間可以達到血中最高濃度，其結果分別為 0.12±0.07 hr、0.22±0.07 hr、0.17±0.09 hr 及 0.18±0.17 hr；在 C_{max} 方面，與控制組(16.19±5.99 ng/mL)相比，服食銀翹散之大鼠其血中最大濃度會顯著上升，意即到達血中最大濃度時有服食中藥的大鼠會高於控制組大鼠的血中藥物濃度，其結果為 24.50±7.88 ng/mL；在 AUC_{0-24} 方面，與控制組(116.62±25.54 hr*ng/mL)相比，服食川芎茶調散、香砂六君子、小青龍湯、葛根湯與小柴胡湯之大鼠其曲線下面均有顯著的下降，意即服食濃縮科學中藥的大鼠其總體藥物血中濃度會低於控制組之大鼠，其結果分別為 66.50±31.48 hr*ng/mL、41.18±24.04 hr*ng/mL、78.82±26.89 hr*ng/mL、38.74±14.35 hr*ng/mL 及 48.55±24.72 hr*ng/mL。

觀察由本實驗所得的結果數據後發現，投予 fexofenadine 後，大鼠體內藥物經時變化會有雙波峰的現象，此結果與 Pathak S. M.等人[53]於 2008 年發表在大鼠體內分析 fexofenadine 藥物濃度之結果相似；另一個發現是在 24 小時後，fexofenadine 在大鼠體內血中濃度會有反彈上升的現象，由於 Pathak S. M.等人僅有採集血液到 8 小時，無法與文獻相比較，就血中藥物濃度而言，大部分藥物濃度於 8 小時會低於 LLOQ，之後於 12 或 24 小時後又可再測得，故亦將 AUC_{0-8} 之數據表列於後，以供參考。本實驗室以 0-8 小時的曲線下面積數據來作為比較的基準，避免分析的誤差造成總體判斷失誤。

八種實驗中藥之中，以投予葛根湯後 fexofenadine 的曲線下面積(AUC_{0-24})最高血中濃度(C_{max})所需時間與藥物總體濃度和控制組相比均顯著下降。葛根湯組的藥物曲線下面積下降比例約為 68%，而到達最高血中濃度所需時間下降比例為 28%，以上數據顯示葛根湯在服用七天之後於動物實驗中具有減少 P-gp 專一性受質 fexofenadine 吸收之效果。

葛根湯的組成是由桂枝湯、麻黃湯演化而來，桂枝湯內的桂枝、白芍、甘草、生薑、大棗全被運用，而麻黃湯內的麻黃、桂枝、杏仁、甘草四味藥中，去杏仁換葛根，並重用葛根而成葛根湯。葛根湯出現在《傷寒論・合病併病篇》第 345 條：「太陽陽明合併，必自下利，葛根湯主之。」風寒兩感造成腸胃型的感冒，可用葛根湯。另外，在剛痙柔痙的病症中，出現項背強几几，就是頸部、肩背部顯得僵硬，轉側不利，屬於剛痙，用葛根湯可很快獲緩解。《內經》有云：「腎為先天，脾、胃為後天。」因此先天不足，可藉後天之補養健身，所以葛根有改善腸胃消化功能，自可增強免疫功能，達到未病防治的效果。

2011 年由行政院國家科學委員會所委託中國醫藥大學藥學系執行”利用體外與體內模型探討富含多酚中藥對藥物運送蛋白之調控作用”[28] 研究報告中發現，單方葛根之水抽取物，可降低用同樣為 P-glycoprotein 受質之藥物環孢靈(cyclosporine)，在體內之生體可用率。其研究所使用之 P-gp 受質雖與本計畫使用受質不同，但卻同樣地被含葛根之中藥製劑影響，降低體內之血中藥物濃度，由此二不同之研究結果可以歸納發現，如果病患在接受藥物治療期間併服含葛根之單方或複方製劑可能促使 P-gp 活化其受質而將治療藥物排出，使得血中藥物濃度下降，造成療效不佳之藥物交互作用情況發生。

由於國人常使用之中藥製劑之習慣為複方中藥製劑居多，故針對本實驗中顯示之葛根湯在服用七天之後於動物實驗中具有顯著的影響 P-gp 受質 fexofenadine 的吸收，此交互作用是否同樣會發生在人身上，則尚待應與進一步於人體試驗來評估；第二年計畫即是選用葛根湯來進行交互作用人體試驗，以進一步評估其對 p-gp 受質之藥物之間影響程度，以提供中藥西藥間藥物安全資訊。

伍、結論與建議

一、結論方面：

(一)服用單一劑量甘露飲後併服 fluvastatin 結果即發現 fluvastatin 最高血中濃度及吸收量顯著高於併服 fluvastatin 與安慰劑者，下一年度將進行多劑量甘露飲併服 fluvastatin 之臨床藥動試驗，更能進一步確認甘露飲併服 fluvastatin 之交互作用的情形。

(二)本計畫依據前兩年計畫成果，由體外試驗中會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，再從中挑選與西藥併服後會產生顯著的藥物-藥物交互作用的中藥來進行本計畫的人體試驗，結果顯示體內體外試驗之相關性甚高，未來，使用體外試驗快速且大量篩檢中西藥交互作用是值得參考的工具。

(三)在摘要及結果中所提及之對藥物藥動學參數有「顯著影響」，意指民眾若服用會「顯著影響」藥物藥動學參數之中藥後，同時併服其他藥物時即可能使藥物在體內的濃度產生不預期之變化，進而可能造成藥物失效或產生副作用的情形。

(四)已開發完成於大白鼠血中測定 p-gp 專一性受質 fexofenadine 的 LC-MS/MS 分析方法，其最低可定量濃度(LLOQ)可達 1ng/mL，最高可定量濃度為(ULOQ) 100 ng/mL，此分析方法符合本計畫於大鼠的藥物動力學分析之需求。

(五)完成 8 種複方科學中藥於大白鼠經口服七天後對 p-gp 專一性受質 fexofenadine 的交互作用評估。

(六)體內動物試驗顯示銀翹散會促使血中藥物最大濃度顯著上升 66%；川芎茶調散、香砂六君子、小青龍湯、葛根湯與小柴胡湯則會降低藥物血中濃度-時間曲線下面積。特別是投予葛根湯之大鼠，曲線下面積(AUC)改變最為顯著，值得在未來的計劃中再深入探討。

(七)此計畫第二年後即選用葛根湯進行多劑量之人體中西藥物交互作試驗，以進一步評估此交互作用用於人體之程度。

二、建議方面：

本研究之最終目標為了解中藥與西藥之間是否具有交互作用，選擇 P-gp 的受質藥物 fexofenadine 來研究複方中藥製劑於連續服用 7 天後對 P-gp 運輸蛋白是否會有影響，進而改變 p-gp 受體而影響治療藥物之吸收、分布、代謝及排除。中醫藥委員會近年來對於中西藥交互作用影響國人健康之研究不遺餘力，本計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會大力支持，從先前建立體外細胞藥物篩選平台到現今之常用複方濃縮中藥的體內體外

關聯性研究，此些研究發現不僅對於學術上有研究開發的價值，對於臨床上探討新的治療策略也有相當的貢獻。

國人目前服中藥的人數日益漸增，故此中西藥交互作用的問題於人體體內的影響，急需進一步的臨床試驗確認來釐清此疑慮。藥物交互作用對於病患來說雖可能會造成療效不佳，但在這背後更大的隱憂是可能會造成我國健保的支出的負擔，尤其是當病患需要同時使用多種藥物時。在藥物動力學方面可能會改變藥物的吸收、分佈、代謝與排除，而與原先預期的情況不同；在藥效學方面可能會造成藥效的增強或減弱，而無法達到療好的治療效果，中西藥交互作用對病患帶來的負面效益遠大於正面效益，常會使病患需要更多醫療時間來恢復,或產生額外的併發症,增加醫療人力、醫療成本的支出。有鑑於此，本實驗室希冀中醫藥委員會能在未來能繼續予以大力支持中藥對於西藥的交互作用之研究，以期達到維護我國人用藥安全、降低健保不需要支出。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-051 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Eisenber DM, Davis RB, Ettner SL, Appel S, Wilkey S, Van R, Kessler RC: Trends in alternative medicine used in the United States, 1990-1997: results of a follow-up National Survey. *JAMA.* 1998; **280**: 1569-1575.
2. Barnes J, Mills SY, Abbot NC, Willoughby M and Ernst E: Different standards for reporting ADR to herbal remedies and conventional OTC medicines: face-t-face interviews with 515users of herbal remedies. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1998; **45**: 496-500.
3. Lynch N, Berry D: Differences in perceived risks and benefits of herbal, over-the-counter conventional, and prescribed conventional, medicines, and the implications of this for the safe and effective use of herbal products. *Complement Ther Med.* 2007; **15**: 84-91.
4. 認識常用中藥，2002.
5. Scalbert A, Manach C, Morand C, Christian R:. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2005; **45:** 287-306.
6. Taylor LP. Grotewold E.: Flavonoids are as developmental regulators. *Current Opinion in Plant Biology.* 2005; **8:** 317-323.
7. Relling MV, Nemec J, Schuetz E. et al: O-demetheylation of epipodophyllotoxins is catalyzed by human cytochrome P450 3A4 *Mol Pharmacol* 1994; **45**: 352-358.
8. Toffoli G, Simone F Gigante M. et al: Comparison of mechanisms responsible for resistance to idarubicin and daunorubicin in multidrug resisitant LoVo cell lines. *Biochem Pharmacol* 1994; **48**: 1871-1881.
9. Wacher MJ, Chi-Yuan W. Benet LZ: Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: Implications for drug delivery and activity In cancer chemotherapy. *Mol Carcinogen* 1995; **13**: 129-134.
10. Harris JW, Rahman A. Bok-Ryang K, et al: Metabolism of Taxol by human hepatic microsomes and liver slices: Participation of cytochrome P450 3A4 and unknown P450 enzyme. *Cancer Res* 1994; **54**: 4026-4035.
11. Hendricks C, Rowinsky E, Grochow L , et al: Effect P-glycoprotein expression on the accumulation and cytotoxicity of topotecan (SK & F 104864), a new camptothecin analogue. *Cancer Res* 1992; **52**: 2268-2278.
12. Wacher, V. J.; Wu, C. -Y.; Benet, *L.* Z.: Overlapping substrate specificities

and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and cancer chemotherapy. *Mol. Carcinog.* 1995; **13**: 129-134.

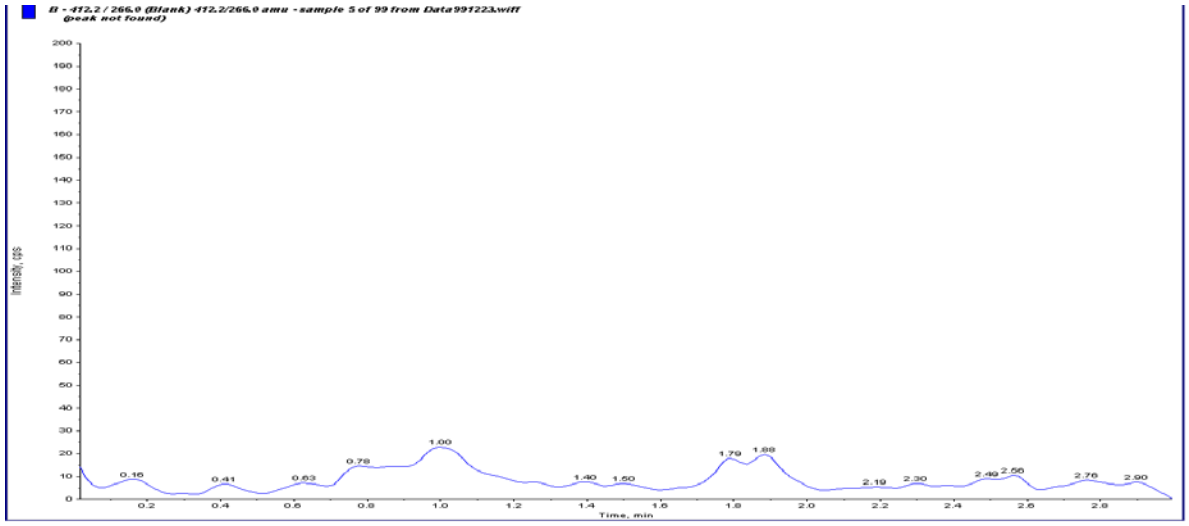
13. Wacher, V. J.; Salphati, L.; Benet, L. Z.: Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. *Adv. Drug Deliveiy Rev.* 1996; **20**: 99-112.
14. Murray, G. I.; Barnes, T. S.; Sewell, H. F.; Ewen, S. W. B.; Melvin, W. T.; Burke, M. D.: The immunocytochemical localisation and distribution of cytochrome P-450 in normal human hepatic and extrahepatic tissues with a monoclonal antibody to human cytochrome P-450. *Br. J Clin. Pharmacol.* 1988; **25**: 465-475.
15. Fitzsimmons, M. E.; Collins, J. M. :Selective biotransformation of the human immunodeficiency virus protease inhibitor saquinavir by human small-intestinal cytochrome P450 3A4. Potential contribution to high first-pass metabolism. *Drug Metab. Dispos.* 1997; **25**: 256-266.
16. Tateishi, T.; Soucek, P.; Caraco, Y.; Guengerich, F. P.; Wood, A. J. J.: Coichicine biotransformation by human liver microsomes. Identification of CYP3A4 as the major isoform responsible for coichicine demethylation. *Biochem. Pharmacol.* 1997; **53**: 111-116.
17. Wu, C.-Y.; Benet, L. Z.; Hebert, M. F.; Gupta, S. K.; Rowland, M.; Gomez, D. Y.; Wacher, V. J.: Differentiation of absorption and first-pass gut and hepatic metabolism in humans: Studies with cyclosporine. *Clin. Pharmacol. Ther*. 1995; **58**: 492-497.
18. Vincet J. Wacher, Jeffery A. Silverman, Yuanchao Zhang and Lesliw Z. Benet. :Role of p-Glycoprotein and cytochrome P450 3A in limiting oral absorption of peptide and prptidomimetics. *J. Pharma. Sci.* 1998; **87**: 1322-1330.
19. Schuetz, E.G.; Schinkel, A. H.; Rolling, M. V.; Schuetz, J. D. P-glycoprotein, a major determinant of rifampicin-inducible expression of cytochrome P450 3A in mice and humans. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1996; **93**: 4001-4005.
20. Fricker, G.; Drewe, J.; Huwyler, J.; Gutmaun, H.; Beglinger, C. Relevance of P-glycoprotein for the enteral absorption of cyclosporin A, in vitro-in vivo correlation. *Br. J. Pharmacol.* 1996; **118**: 1841-1847.
21. Bailey DG, Bend JR, Arnold JMO, Tran LT, Spence JD. Erythromycin-felodipine interaction: magnitude, mechanism, and comparison with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 25-33.

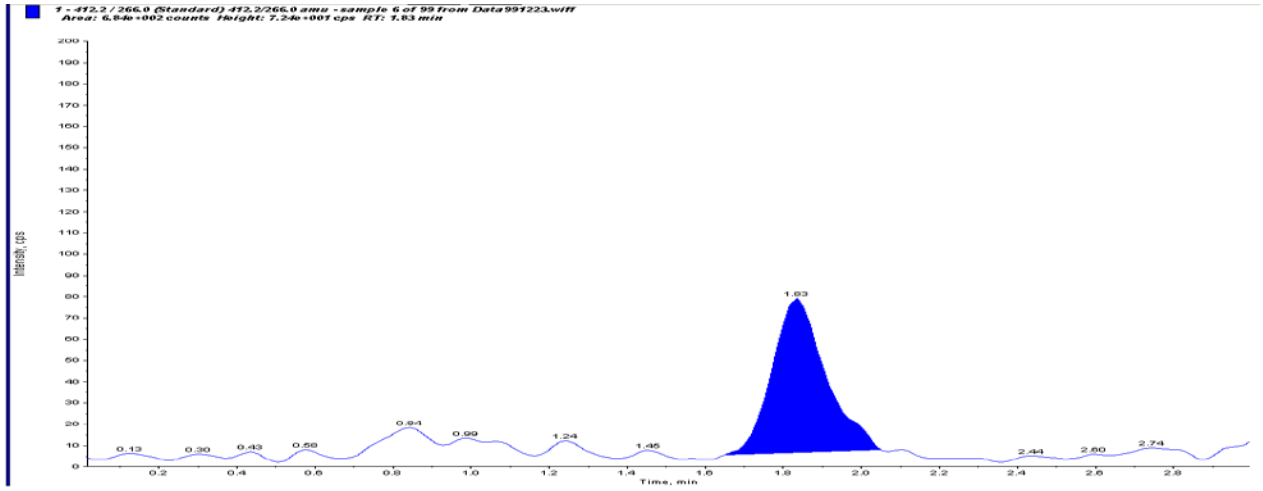
22. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, *et al*. Grapefruit juice Increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. *J Clin Invest* 1997; **99**: 2545-2553.
23. Regardh CG, Baamhielm C, Edgar B, Hoffman KJ. Pharmacokinetics and biotransformanon of 1,4-dihydropyridine calcium antagonists. *Prog Drug Metab* 1990; **12**: 41-86.
24. Guengerich FP, Brian WR, Iwasaki M, Sari MA, Baarnhielm C, Berntsson P. Oxidation of dihydropyridine calcium channel blockers and analogues by human liver cytochrome P450111A4.J *Med Chem* 1991; **34**: 1834-1844.
25. Bailey DG, Bend JR, Arnold JMO, Tran LT, Spence JD. Erythromycin-felodipine interaction: magnitude, mechanism, and comparison with grapefruit juice. *Clin Pharmacol Ther* 1996; **60**: 25-33.
26. Kolars JC, Schmiedlin-Rem P, Schuetz JD, Fang C, Watkins PB. Identification of rifampicin-inducible P450ⅢA4 (CYP3A4) in human small bowel enterocytes. *J Clin Invest* 1992; **90**: 1871-1878.
27. De Waziers I , Cugnenc PH, Yan CS, Leroux JP, Beaune PH. Cytochrorne P450 isoenzymes, epoxide hydrolase and glutathione transferases in rat and human hepatic and extrahepatic tissues. J *Pharmacol Exp Ther* 1990; **253**: 287-294.
28. Lown KS, Bailey DG, Fontana RJ, *et al*. Grapefruit juice Increases felodipine oral availability in humans by decreasing intestinal CYP3A protein expression. J *Clin Invest* 1997; **99**: 2545-2553.
29. Krishna D. and Klotz U., Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clinical Pharmacokinetics* 1994; **26**: 144-160.
30. Slaughter R.L. and Edward D.J., Recent advances: the cytochrome P450 enzymes. *The Annals of Pharmacotherapy* 1995; **29**: 619-624.
31. Omura T. and Sato R., The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *The Journal of Biological Chemistry* 1964; **239**: 2370-2378.
32. Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y. and Guengerich F.P., Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1994; **270**:414-423.
33. Barnes J. Anderson LA. Phillipson JD. St John's wort (Hypericum perforatum L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy & Pharmacology* 2001; **53**: 583-600.

34. Bergonzi MC. Bilia AR. Gallori S. Guerrini D. Vincieri FF. Variability in the content of the constituents of Hypericum perforatum L. and some commercial extracts. *Drug Development & Industrial Pharmacy* 2001; **27**: 491-497.
35. Johne A. Brockmoller J. Bauer S. Maurer A. Langheinrich M. Roots I. Pharmacokinetic interaction of digoxin with an herbal extract from St John's wort (Hypericum perforatum). *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1999; **66**: 338-345.
36. Muller WE. Rolli M. Schafer C. Hafner U. Effects of hypericum extract (LI 160) in biochemical models of antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry* 1997; **30** Suppl 2: 102-107.
37. Nebel A. Schneider BJ. Baker RK. Kroll DJ. Potential metabolic interaction between St. John's wort and theophylline. *Annals of Pharmacotherapy* 1999; **33**: 502.
38. Piscitelli SC. Burstein AH. Chaitt D. Alfaro RM. Falloon J. Indinavir concentrations and St John's wort. *Lancet* 2000; **355**: 547-548.
39. Ruschitzka F. Meier PJ. Turina M. Luscher TF. Noll G. Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort. *Lancet* 2000; **355**: 548-549.
40. Yue QY. Bergquist C. Gerden B. Safety of St John's wort (Hypericum perforatum). *Lancet* 2000; **355**: 576-577.
41. Boumendjel A, Pietro AD, Dumontet C, Barron D. Recent advances in the discovery of flavonoids and analogs with high-affinity binding to P-glycoprotein responsible for cancer cell multidrug resistance. *Med Res Rev.* 2002; **22**: 512-52.
42. Pietro AD, Conseil G, Perez-Victoria JM, Dayan G, Baubichon-Cortay H, Trompier D, Steinfels E, Jault JM, de Wet H, Maitrejean M, Comte G, Boumendjel A, Mariotte AM, Dumontet C, McIntosh DB, Goffeau A, Castanys S, Gamarro F, and Barron D. Modulation by flavonoids of cell multidrug resistance mediated by P-glycoprotein and related ABC transporters. *Cell Mol Life Sci.* 2002; **59**: 307-322.
43. Chan LM, Lowes S, Hirst BH. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci.* 2004; **21**: 25-51.
44. Hoffmann U., Kroemer HK. The ABC Transporters MDR1 and MRP2: Multiple Functions in Disposition of Xenobiotics and Drug Resistance. *Drug. Metab. Rev.* 2004; **36**: 669-701.

45. Tsen LC, Segal S, Pothier M, Bader AM. Alternative medicine use in presurgical patients. Ansthesiology 2000; 93:148-51.
46. Dorman T. Herbal medicine and anesthesia. Curr Opin Anaesthesiol 2001; 14:667-9
47. Skinner CM, Rangasami J. Preoperative use of herbal medicines: a patient survey. Br J Anaesth 2002; 89:792-5.
48. Velanovich V, Hallal N, Shah M. Patterns of usage of complementary and alternative medicine in general surgical patients. Int J Surg 2006; 4:206-11.
49. Lin YC, Bioteau AB, Ferrari LR, Berde CB. The use of herbs and complementary and alternative medicine in pediatric preoperative patients. J Clin Anesth 2004; 16:4-6.
50. Fleming S, Rabago DP, Mundt MP, Fleming MF. CAM therapies among primary care patients using opioid therapy for chronic pain. BMC Complement Altern Med 2007; 7:15-21.
51. Adams M, Jewell AP. The use of complementary and alternative medicine by cancer patients. Int Semin Surg Oncol 2007; 4:10-7.
52. 李佩端,侯鈺琪:利用體外與體內模型探討富含多酚中藥對藥物運送蛋白之調控作用.2011.
53. Shriram M.P. et al: A simple and rapid high performance liquid chromatographic method with fluorescence detection for the estimation of fexofenadine in rat plasma—Application to preclinical pharmacokinetics. *Talanta*. 2008;76:338-346

柒、圖、表

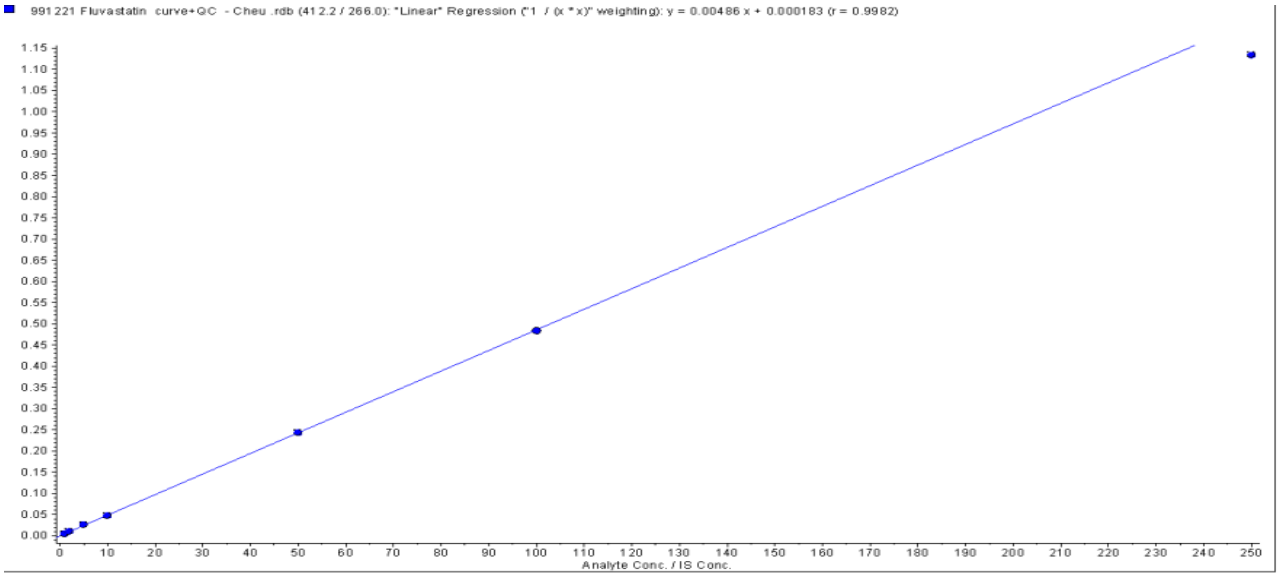




圖四、液相層析串聯質譜圖譜

上：人類空白血漿不含 Fluvastatin 的液相層析串聯質譜圖譜

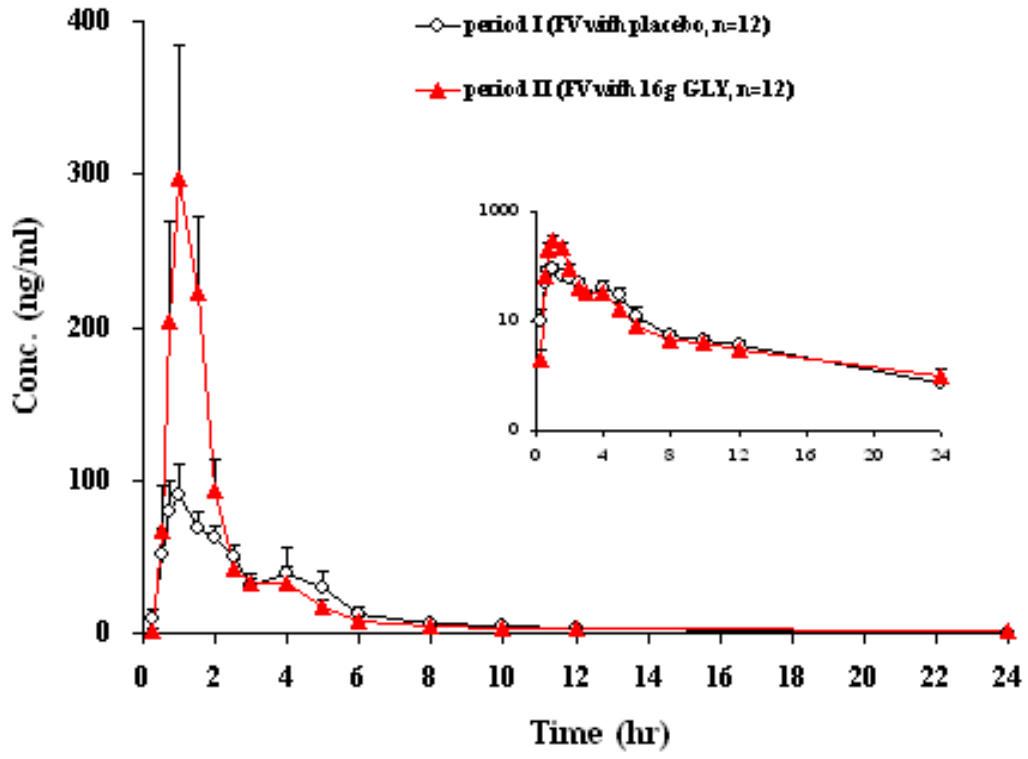
下：人類血漿含 Fluvastatin 最低可定量濃度(LLOQ : 0.5 ng/mL)的液相層析串聯質譜圖譜



圖五、Fluvastatin 於人類血漿中 LC-MS-MS 同日間之標準曲線

表一、Fluvastatin 於人類血漿中 LC-MS-MS 同日間之分析確效驗證結果

Concentration Spiked (ng/mL)	Concentrations Calculated (ng/mL) N=6						Mean N=6	SD	CV (%)	Relative Error (%)
0.5	**0.497**	**0.507**	**0.496**	**0.491**	**0.501**	**0.493**	**0.48**	**0.03**	**6.90**	**-3.83**
1.5	**1.54**	**1.52**	**1.57**	**1.5**	**1.5**	**1.55**	**1.53**	**0.03**	**1.69**	**2.00**
125	**123**	**136**	**124**	**127**	**131**	**133**	**129.00**	**4.73**	**3.66**	**3.20**
225	**211**	**232**	**209**	**229**	**213**	**217**	**218.50**	**8.86**	**4.06**	**-2.89**

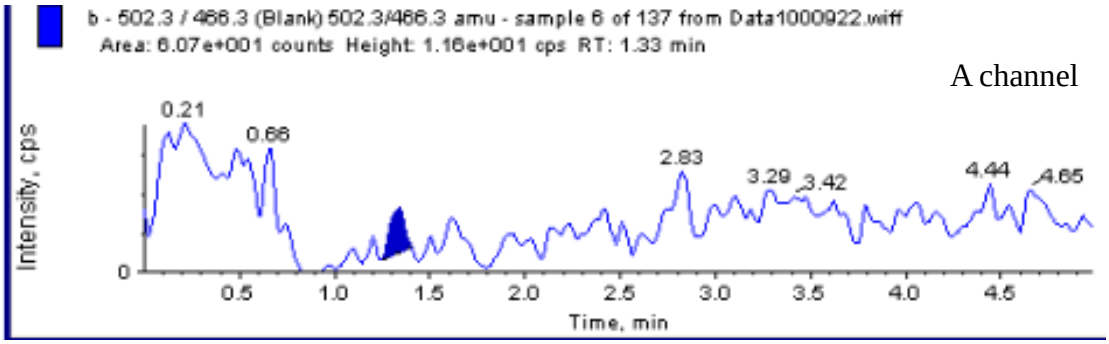


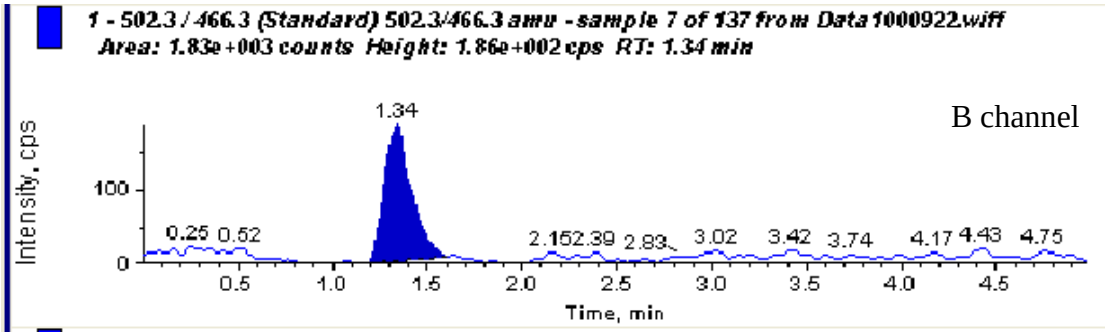
圖六、健康受試者併服 Fluvastatin (40mg)與安慰劑及服用單劑量甘露飲(16 g)後併服 Fluvastatin (40mg)對受試者 Fluvastatin 血中濃度之影響（小圖為半對數座標）

表二、健康受試者併服 Fluvastatin (40mg)與安慰劑及服用單劑量甘露飲(16 g)後併服 Fluvastatin (40mg)對受試者 Fluvastatin 血中濃度之藥動參數影響

PK parameter	A:Fluvastatin 40 mg Oral with placebo (n=12)	B:Fluvastatin 40 mg Oral with 16g GLY, n=12 (B/A)
Cmax (ng/mL)	139.85 ± 50.03	397.48 ± 245.09** (2.8)
Tmax (hr)	1.98 ± 1.29	1.60 ± 1.05 (0.81)
AUCt (hr*ng/mL)	317.94 ± 70.73	477.29 ± 180.86** (1.5)
AUC_{∞} (hr*ng/mL)	322.34 ± 72.99	487.89 ± 173.73** (1.5)
Half-life (hr)	6.05 ± 2.14	6.46 ± 2.22 (1.1)
Cl/F (L/hr)	131.24 ± 28.76	94.62 ± 36.83** (0.7)
Vd/F (L)	1134.59 ± 449.18	893.01 ± 504.38 (0.8)

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$

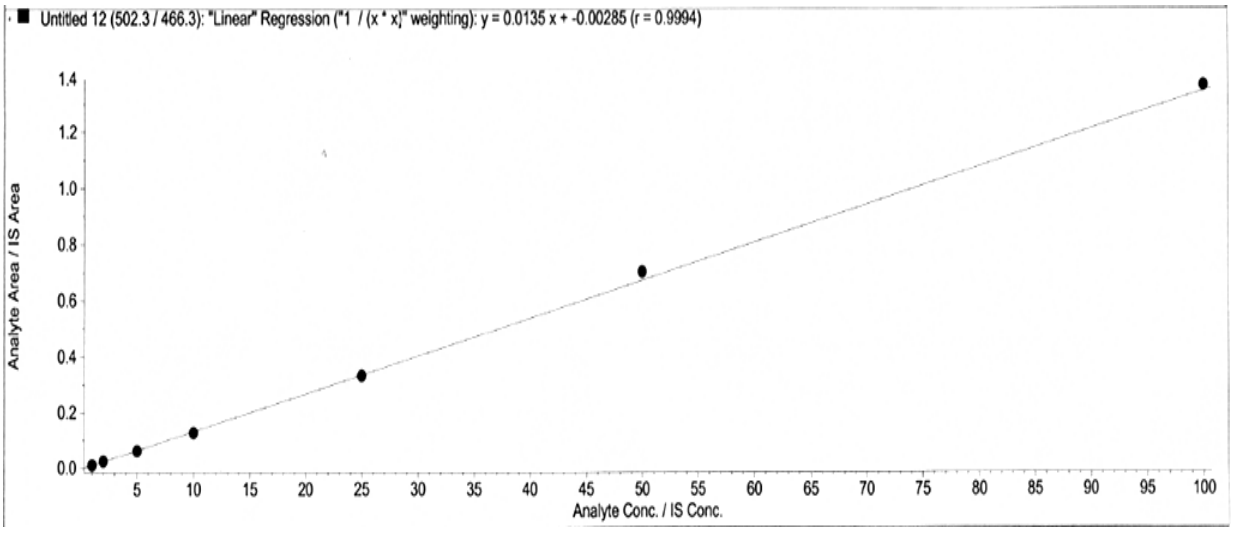




圖七、液相層析串聯質譜圖譜

(一)channel：大鼠空白血漿不含 fexofenadine 的液相層析串聯質譜圖譜

(二)channel：大鼠血漿含 fexofenadine 最低可定量濃度(LLOQ :1 ng / mL)的液相層析串聯質譜圖譜



圖八、Fexofenadine 於大鼠血漿中 LC-MS-MS 之標準曲線

表三、Fexofenadine 在大鼠血漿中同日間 LC-MS-MS 標準曲線分析精密度及準確度實驗結果

Inter-day curve

Analysis	**Concentration (ng/ml)**						
No.	**1**	**2**	**5**	**10**	**25**	**50**	**100**
1	1	2.04	4.83	9.63	24.8	52.2	101
2	1.04	1.87	5.05	9	25.3	52.4	106
3	1.01	1.95	5.06	10.3	23.5	50.4	103
4	0.971	2.11	4.97	10.1	26.4	48.8	94
5	0.993	2.05	4.89	9.76	26.3	49.4	98.7
6	1.03	1.87	5	10.1	25.9	50.5	97.5
Mean	1.01	1.98	4.97	9.82	25.37	50.62	100.03
SD	0.03	0.10	0.09	0.47	1.10	1.45	4.24
%CV	2.5	5.1	1.8	4.8	4.3	2.9	4.2
% Diff	0.7	-0.9	-0.7	-1.9	1.5	1.2	0.0

表四、Fexofenadine 於大鼠血漿中 LC-MS-MS 同日間之 QC 樣品分析確效驗證結果

Inter-day QC

Analysis	**Concentration (ng/ml)**			
No.	**1**	**3**	**45**	**90**
1	1.06	2.81	45.1	86.5
2	1.12	3.11	48.6	94.9
3	1.03	2.99	45.4	97.7
4	1.14	3.01	45.9	94.5
5	1.19	2.89	45	95.8
6	1.18	3.29	46.3	93.4
Mean	1.12	3.02	46.1	93.8
SD	0.06	0.17	1.34	3.86
%CV	5.7	5.6	2.9	4.1
% Diff	11.9	0.6	2.3	4.2

表五、Fexofenadine 於大鼠血漿中 LC-MS-MS 異日間之 QC 樣品分析確效驗證結果

Intra-day QC

Analysis	**Concentration (ng/ml)**			
No.	**1**	**3**	**45**	**90**
1	1.13	3.07	47.9	95.9
2	1.09	3.08	48.4	93.6
3	1.13	3.10	44.1	89.8
4	0.99	3.02	44.6	83.8
5	1.09	3.01	44.9	91.4
6	1.11	2.99	42.8	90.3
N	6	6	6	6
Mean	1.09	3.05	45.5	90.8
SD	0.05	0.04	2.22	4.11
%CV	4.7	1.5	4.9	4.5
% Diff	9.0	1.5	1.0	0.9

表六、短期（七天）餵食 Q 水後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度(ng/mL)結果

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	3.42	13.30	17.60	17.80	14.00	13.10	15.40	6.12	1.35	3.01	7.53
No.2	26.40	11.40	8.08	8.03	6.38	8.30	9.71	7.19	2.18	5.61	5.30
No.3	7.18	10.20	13.90	13.30	12.00	8.95	16.90	6.44	3.27	3.38	6.65
No.4	2.93	10.50	15.10	10.70	8.71	9.09	12.10	7.24	1.49	2.05	7.18
No.5	4.90	10.30	12.10	11.80	9.32	6.70	8.47	4.57	1.18	2.29	3.67
No.6	2.84	6.69	8.85	7.75	5.20	5.81	8.53	2.58	1.73	3.89	2.95
MEAN	7.95	10.40	12.61	11.56	9.27	8.66	11.85	5.69	1.87	3.37	5.55
SD	9.19	2.16	3.68	3.73	3.32	2.53	3.61	1.81	0.77	1.29	1.90
CV(%)	115.65	20.73	29.19	32.30	35.80	29.25	30.47	31.76	41.26	38.27	34.34

表七、短期（七天）餵食血府逐瘀湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 血中濃度(ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	1.66	3.06	5.99	5.88	5.43	5.13	4.00	4.33	3.34	1.23	*
No.2	8.66	15.70	16.40	19.00	15.20	14.80	18.80	12.40	2.44	*	4.76
No.3	21.50	18.40	22.90	17.40	18.70	21.60	23.00	14.60	4.10	2.32	2.92
No.4	10.90	19.30	14.60	12.60	12.40	10.00	14.30	7.19	1.86	1.32	1.63
No.5	5.97	9.55	9.50	9.30	9.77	8.00	5.81	5.78	8.23	1.38	1.27
No.6	8.13	18.80	8.26	9.79	11.40	9.53	10.10	6.96	5.64	3.88	2.51
MEAN	9.47	14.14	12.94	12.33	12.15	11.51	12.67	8.54	4.27	2.03	2.62
SD	6.67	6.52	6.26	5.05	4.55	5.86	7.43	4.03	2.35	1.13	1.37
CV(%)	70.44	46.15	48.37	40.96	37.47	50.94	58.62	47.19	55.05	55.59	52.25

*表示測定濃度低於最低可定量濃度

表八、短期（七天）餵食銀翹散後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度(ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	27.10	21.50	17.00	13.60	17.40	20.90	21.10	5.46	3.49	4.14	2.35
No.2	21.10	21.70	10.50	8.90	5.93	5.31	4.01	6.12	6.47	6.11	1.21
No.3	22.60	19.70	11.80	9.34	9.21	9.20	9.35	3.52	2.74	6.49	1.29
No.4	13.70	10.50	9.80	7.66	8.64	12.70	8.20	8.30	3.86	3.08	1.67
No.6	37.40	21.30	11.30	10.60	17.20	23.80	17.10	5.84	15.40	6.09	3.22
MEAN	24.38	18.94	12.08	10.02	11.68	14.38	11.95	5.85	6.39	5.18	1.95
SD	8.73	4.78	2.85	2.26	5.28	7.80	6.97	1.71	5.23	1.49	0.84
CV(%)	35.81	25.26	23.63	22.56	45.24	54.21	58.28	29.19	81.79	28.79	43.21

表九、短期（七天）餵食川芎茶調散後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	4.60	5.95	9.72	9.96	10.60	8.96	10.60	7.61	5.92	4.16	3.34
No.2	5.61	13.90	16.60	14.10	11.20	9.46	13.90	3.80	1.61	1.64	*
No.3	4.06	9.06	11.40	8.76	8.67	6.41	5.49	10.40	1.78	1.14	*
No.4	2.59	7.95	10.40	8.53	7.83	6.17	6.85	3.99	2.32	3.40	*
No.5	3.81	8.27	10.70	9.31	8.04	7.50	7.17	7.39	2.88	2.67	*
No.6	1.54	3.70	5.04	6.43	6.30	5.42	9.13	3.38	1.69	1.07	*
MEAN	3.70	8.14	10.64	9.52	8.77	7.32	8.86	6.10	2.70	2.35	3.34
SD	1.45	3.42	3.70	2.54	1.83	1.62	3.06	2.81	1.65	1.27	*
CV(%)	39.14	42.06	34.74	26.72	20.88	22.08	34.53	46.16	61.08	54.20	*

* 表示測定濃度低於最低可定量濃度

表十、短期（七天）餵食藿香正氣散後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	8.10	14.20	11.90	8.37	7.50	7.04	6.47	7.37	1.30	1.43	*
No.2	2.35	5.21	3.52	4.58	2.81	4.17	4.40	1.71	*	3.36	1.61
No.3	7.23	21.60	16.80	13.80	14.70	17.40	20.30	8.31	2.35	4.09	*
No.4	8.40	12.80	8.82	8.59	8.98	12.50	14.40	7.26	6.99	3.12	2.09
No.5	28.40	25.50	19.50	13.50	13.50	19.40	18.30	10.60	1.47	4.68	*
No.6	19.40	19.00	11.80	10.40	12.20	10.90	14.30	7.05	2.71	4.57	2.43
MEAN	12.31	16.39	12.06	9.87	9.95	11.90	13.03	7.05	2.96	3.54	2.04
SD	9.67	7.21	5.68	3.49	4.43	5.85	6.35	2.93	2.33	1.21	0.41
CV(%)	78.50	43.98	47.12	35.31	44.54	49.17	48.74	41.53	78.49	34.17	20.16

*表示測定濃度低於最低可定量濃度

表十一、短期 (七天) 餵食香砂六君子湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	0.00	1.26	3.01	4.86	4.39	4.42	3.86	3.50	*	*	*
No.2	7.82	6.47	7.72	5.10	7.46	5.82	7.53	4.98	*	*	3.00
No.3	6.09	14.20	10.00	8.49	6.86	6.80	8.13	1.75	*	*	1.68
No.4	1.77	3.44	4.43	3.64	3.83	5.61	5.47	5.26	1.58	1.11	1.06
No.5	1.91	5.01	5.09	4.72	4.31	5.71	7.33	5.91	2.19	2.04	2.43
No.6	4.22	6.64	7.57	4.68	3.78	3.39	2.43	*	*	1.01	*
MEAN	3.64	6.17	6.30	5.25	5.11	5.29	5.79	4.28	1.89	1.39	2.04
SD	2.95	4.42	2.57	1.67	1.62	1.20	2.28	1.67	0.43	0.57	0.85
CV(%)	81.19	71.64	40.82	31.73	31.77	22.69	39.37	38.95	22.88	40.96	41.58

* 表示測定濃度低於最低可定量濃度

表十二、短期（七天）餵食小青龍湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	3.34	8.94	7.05	4.84	3.83	3.32	2.06	*	*	1.69	2.13
No.2	17.30	22.90	14.60	12.40	7.53	6.73	4.65	2.72	1.57	6.08	1.15
No.3	12.80	31.10	25.70	21.10	20.30	10.10	7.95	3.39	2.18	2.25	5.47
No.4	4.39	11.60	9.18	6.82	5.03	4.66	5.00	2.31	*	5.11	1.04
No.5	5.73	8.72	7.49	5.26	3.98	3.61	3.83	1.54	1.98	4.01	2.01
No.6	5.40	5.19	3.02	3.70	3.98	2.70	2.70	1.69	*	2.59	3.42
MEAN	8.16	14.74	11.17	9.02	7.44	5.19	4.37	2.33	1.91	3.62	2.54
SD	5.59	10.05	8.05	6.66	6.45	2.79	2.08	0.76	0.31	1.74	1.67
CV(%)	68.46	68.19	72.02	73.89	86.71	53.81	47.74	32.61	16.28	47.96	65.94

* 表示測定濃度低於最低可定量濃度

表十三、短期（七天）餵食葛根湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

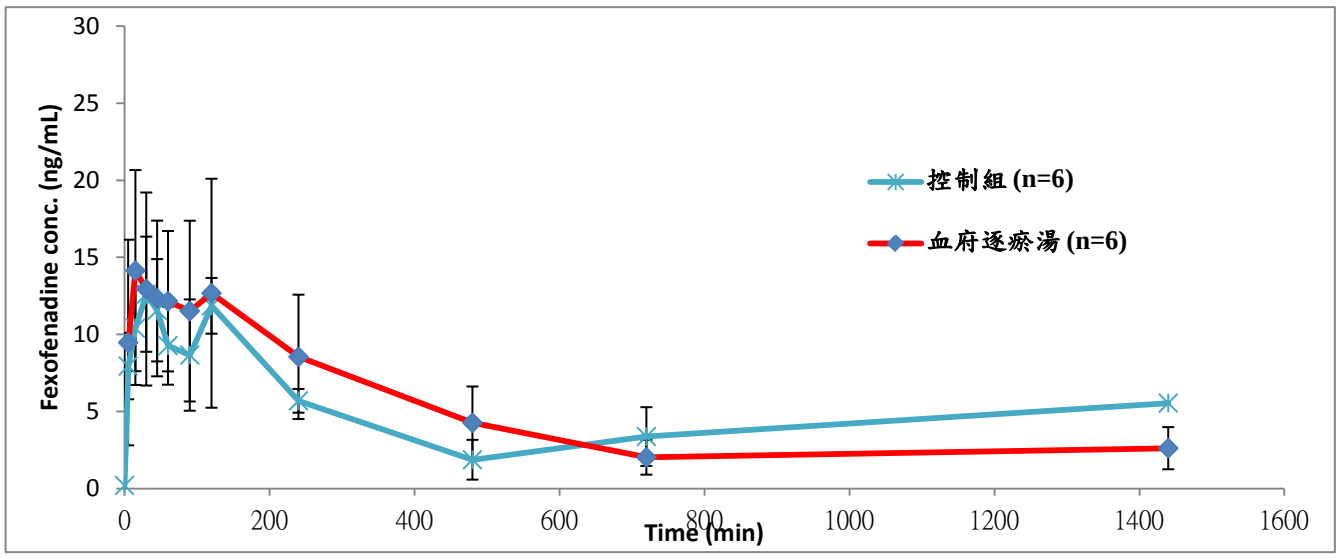
time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	5.15	8.92	6.72	5.32	4.17	2.75	2.01	1.36	1.27	*	1.19
No.2	12.90	10.20	7.28	3.82	2.80	2.63	5.48	1.12	0.00	*	5.88
No.3	10.80	13.00	8.43	6.13	4.42	4.14	5.50	4.24	1.02	*	1.77
No.4	12.60	9.36	8.23	5.53	5.03	5.53	5.18	1.48	*	*	3.88
No.5	3.10	8.32	7.00	4.53	3.17	5.10	3.82	*	*	*	5.01
No.6	6.94	5.99	4.88	2.69	2.36	1.71	1.57	*	*	*	1.33
MEAN	8.58	9.30	7.09	4.67	3.66	3.64	3.93	2.05	1.15	*	3.18
SD	4.10	2.30	1.28	1.26	1.04	1.52	1.77	1.47	0.18	*	2.02
CV(%)	47.83	24.79	18.02	27.01	28.37	41.61	45.12	71.59	15.44	*	63.74

* 表示測定濃度低於最低可定量濃度

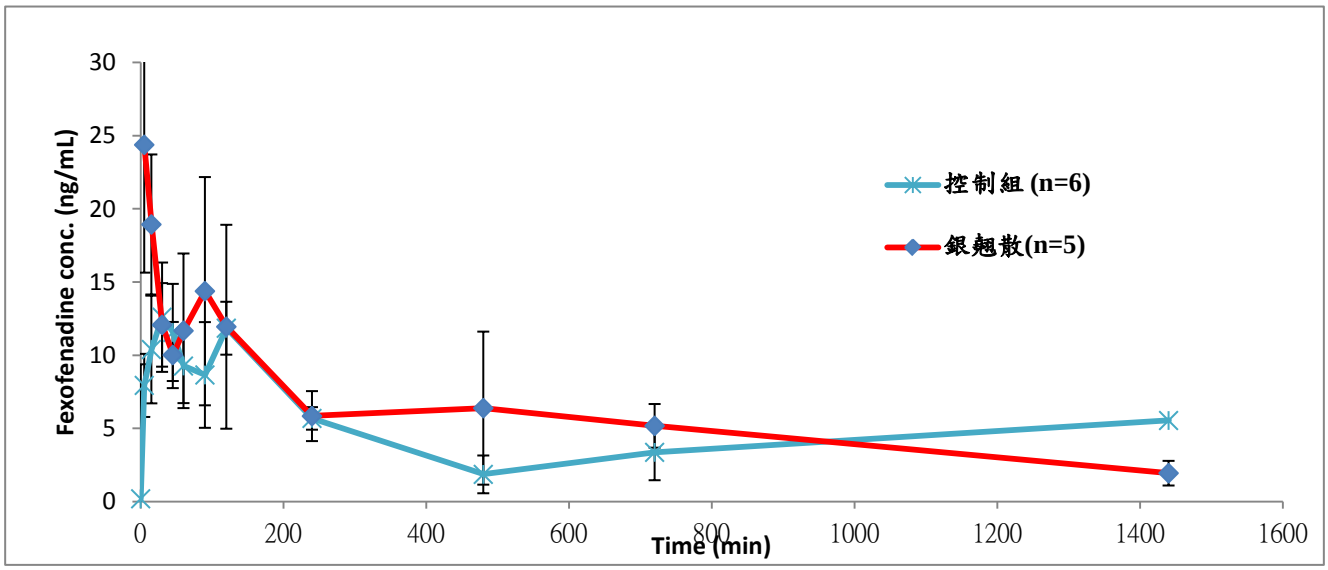
表十四、短期（七天）餵食小柴胡湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 血中濃度 (ng/mL)

time (min)	5	15	30	45	60	90	120	240	480	720	1440
No.1	7.94	11.10	11.50	6.92	6.38	4.67	3.04	2.45	1.76	1.13	*
No.2	17.90	17.30	17.10	11.90	7.36	6.13	6.78	2.71	2.96	*	*
No.3	27.10	18.10	13.20	10.70	13.30	21.70	8.95	1.15	1.51	*	*
No.4	28.20	21.30	16.90	11.70	9.63	9.36	3.78	1.07	*	*	*
No.5	25.70	25.70	20.40	16.60	20.30	23.70	16.10	3.18	1.79	1.16	2.30
No.6	10.50	11.20	5.33	4.59	2.81	2.72	4.68	*	*	1.66	2.68
MEAN	19.56	17.45	14.07	10.40	9.96	11.38	7.22	2.11	2.01	1.32	2.49
SD	8.82	5.70	5.31	4.20	6.15	9.05	4.85	0.95	0.65	0.30	0.27
CV(%)	45.11	32.69	37.74	40.41	61.69	79.57	67.21	45.07	32.37	22.61	10.79

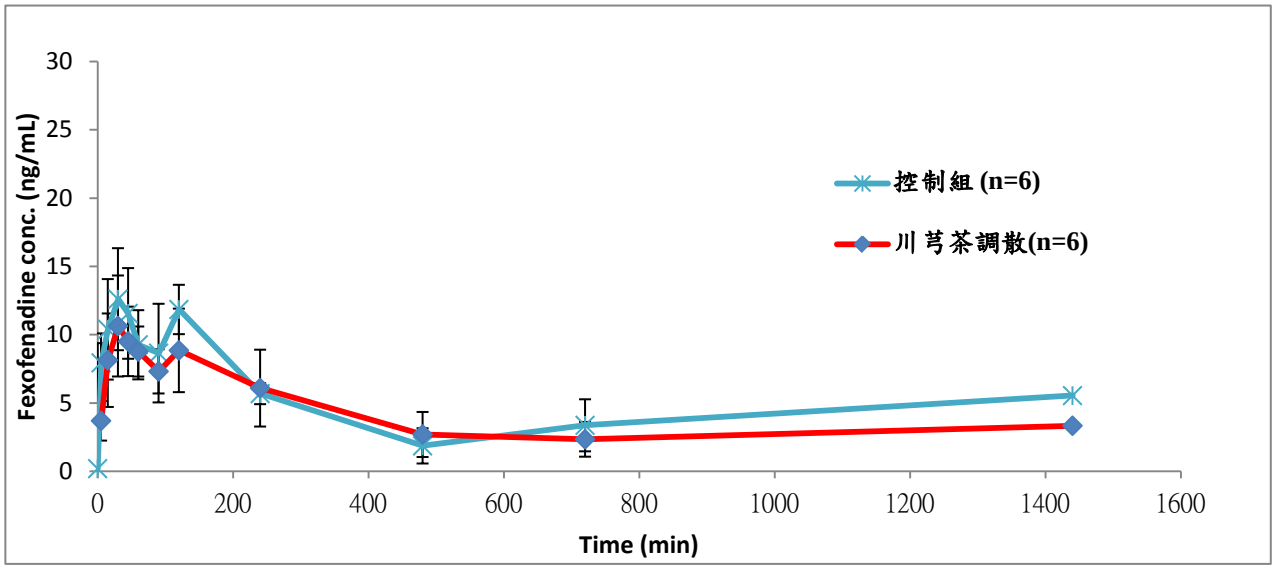
* 表示測定濃度低於最低可定量濃度



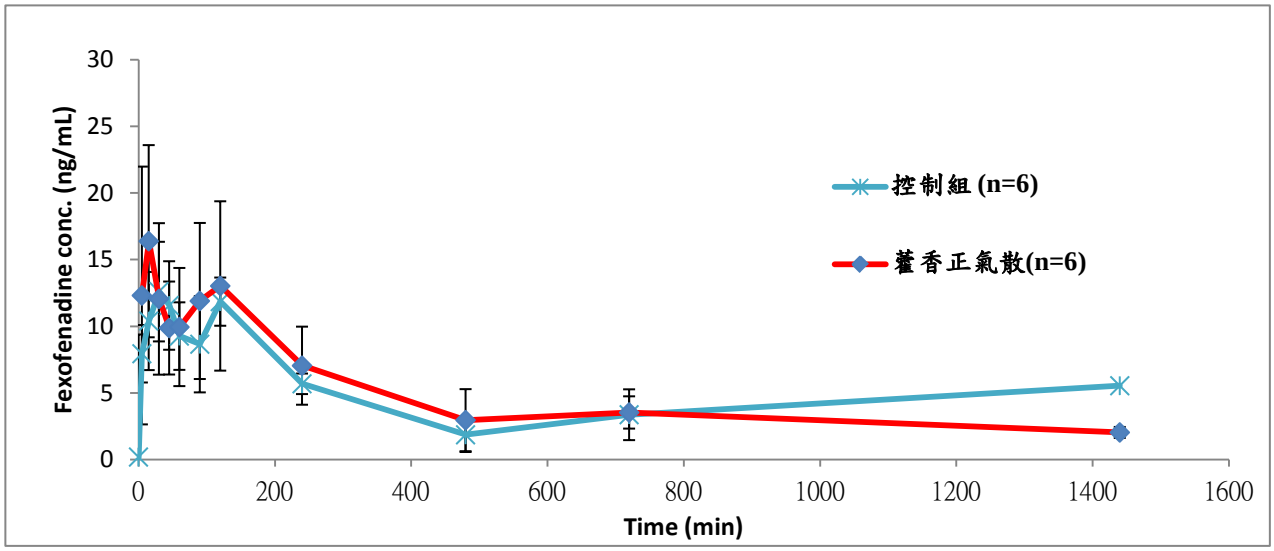
圖九、短期（七天）餵食血府逐瘀湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



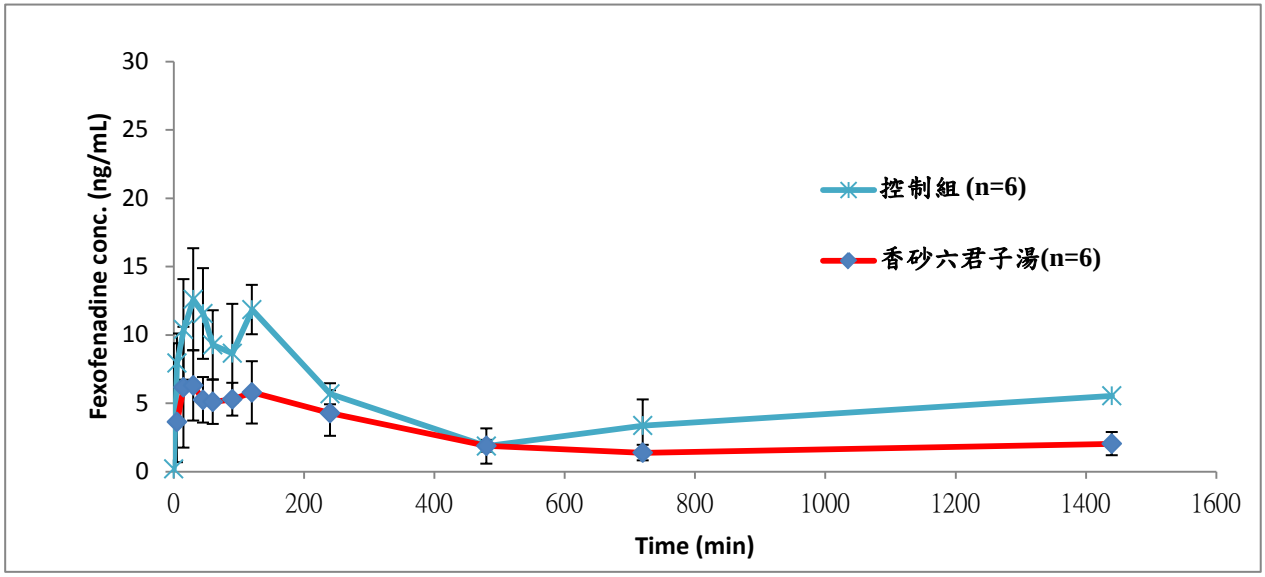
圖十、短期（七天）餵食銀翹散後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



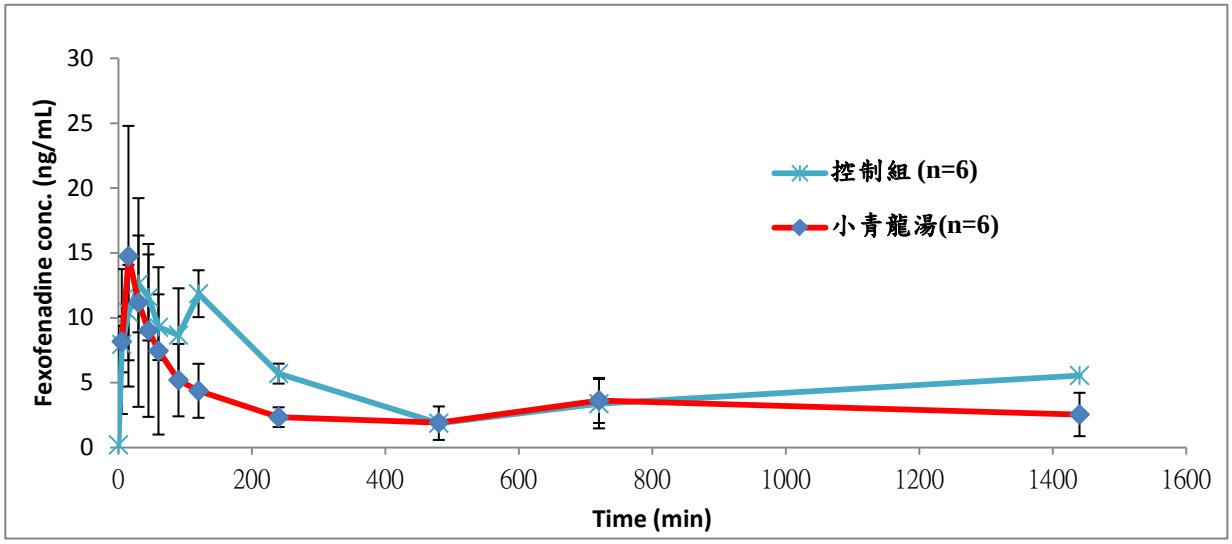
圖十一、短期（七天）餵食川芎茶調散後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



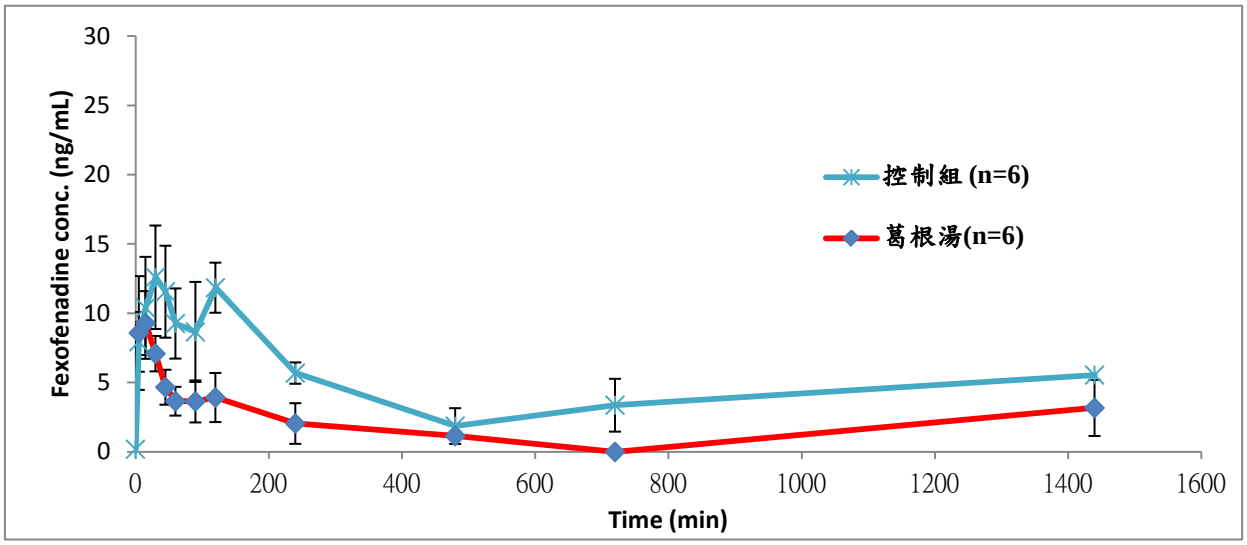
圖十二、短期(七天)餵食霍香正氣散後口服投予 Fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



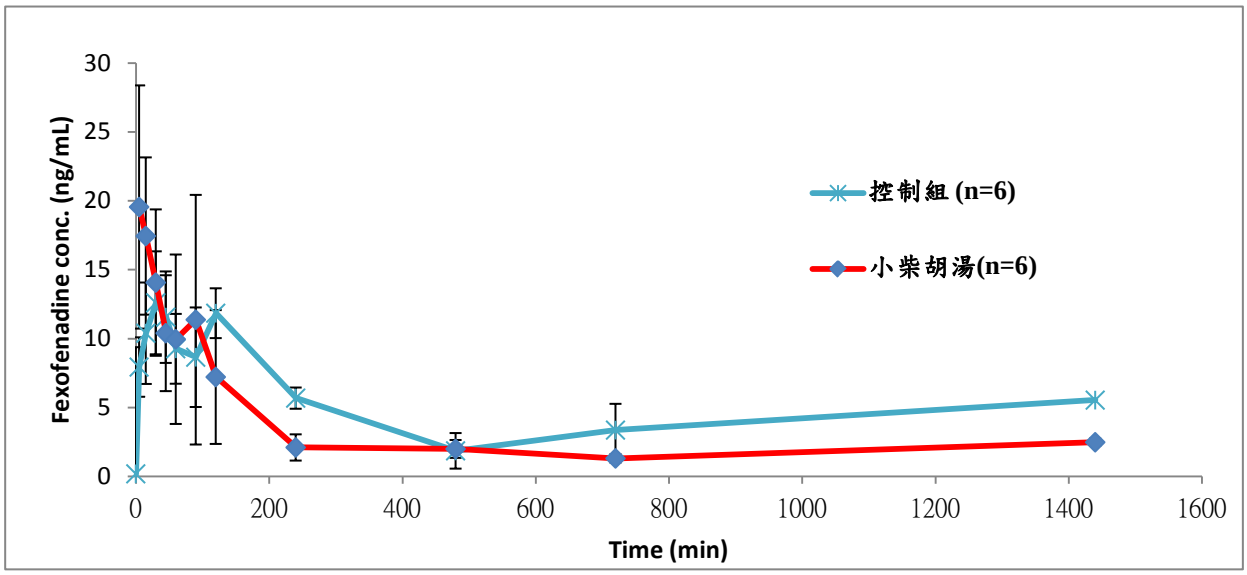
圖十三、短期（七天）餵食香砂六君子湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



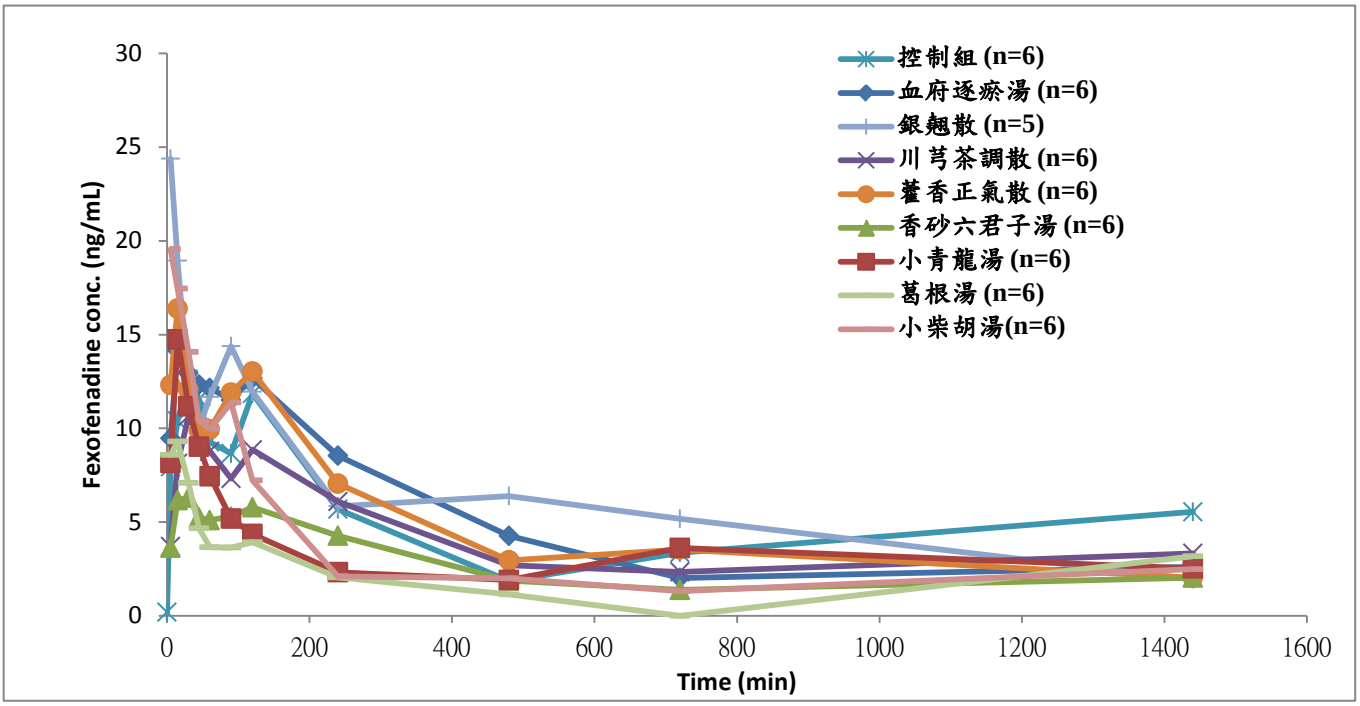
圖十四、短期（七天）餵食小青龍湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



圖十五、短期（七天）餵食葛根湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg)之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



圖十六、短期（七天）餵食小柴胡湯後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖



圖十七、短期（七天）餵食控制組與八組複方中藥後口服投予 fexofenadine (10mg/kg) 之 fexofenadine 藥物濃度對時間之關係圖

表十五、動物試驗血中 fexofenadine 藥動學參數表

Subject No.	Tmax (hr)	Cmax (ng/mL)	AUC0-8 (hr*ng/mL)	AUC_{0-24} (hr*ng/mL)
控制組	0.72 ± 0.66	16.19 ± 5.99	52.62 ± 12.91	116.61 ± 25.54
藿香正氣散	0.49 ± 0.75	17.20 ± 7.88	61.92 ± 27.55	91.70 ± 31.49
銀翹散	0.12 ± 0.07 *	24.50 ± 8.68 **	57.98 ± 34.49	112.81 ± 65.15
血府逐瘀湯	0.79 ± 0.66	15.98 ± 6.57	70.76 ± 28.77	104.66 ± 40.01
川芎茶調散	0.83 ± 0.61	11.47 ± 2.62	48.90 ± 11.03	66.50 ± 31.48 **
香砂六君子湯	0.85 ± 0.75	7.90 ± 3.31	24.57 ± 11.42 *	41.18 ± 24.04 **
小青龍湯	0.22 ± 0.07 *	14.78 ± 10.01	26.04 ± 18.09 *	78.82 ± 26.89 *
葛根湯	0.17 ± 0.09 *	10.45 ± 2.70	17.15 ± 9.34 **	38.74 ± 14.35 **
小柴胡湯	0.18 ± 0.17 *	20.27 ± 7.80	37.47 ± 20.66	48.55 ± 24.72 **

注：Tmax (hr)採用 wilcoxon signed rank test 統計方法分析，Cmax (ng/mL)與 AUC_{0-24} (hr*ng/mL)使用 One- way ANOVA 統計方法分析。

*：P<0.05，**：P<0.01。

表十六、收錄受試者清單

編號	研究病歷號	姓名縮寫	年齡	性別
1	C006xx8	LSH	28	男
2	C006xx6	HSY	26	男
3	C006xx9	HTY	24	男
4	C006xx1	HGS	27	男
5	C006xx2	LCL	24	男
6	C007xx1	LYG	23	男
7	C006xx1	HCB	30	男
8	C006xx4	CDN	32	男
9	C007xx2	FWJ	33	男
10	C007xx8	HXW	37	女
11	C007xx9	XMJ	28	女
12	C007xx0	XYX	28	女

編號：CCMP99-RD-055

葛根芩連新劑型開發及其藥效、安全性及安定性評估(2-1)

溫曉薇
國立中興大學 食品暨應用生物科技學系

摘 要

葛根芩連湯為具有抗發炎及抗菌能力的中藥方劑，本研究計畫中主要探討其生產製備過程，找到最合適的水萃醇沉條件，並探討其抗菌、抗發炎能力及藥物毒性。首先找出葛根芩連湯的最適製備條件，在製備過程中有許多因數會影響有效成分(葛根素、黃芹苷、甘草酸、小檗鹼)的含量，包括萃取水量、萃取時間、初浸膏密度及酒精濃度皆會影響結果，經過試驗後最適的製備條件為(1) 使用 6 倍水量萃取 2 小時，(2) 濃縮以將初浸膏的密度調成 1.111 g/mL，(3) 加入酒精至 60%以進行醇沉並靜置 24 小時，(4) 減壓濃縮去除酒精得到終浸膏，(5) 終浸膏與玉米澱粉混合並烘乾得到葛根芩連粉末，(6) 將粉末裝入膠囊形成葛根芩連膠囊。而在抗菌試驗中，初浸膏及終浸膏對 *Salmonella enterica* 和 *Staphylococcus aureus* 都有良好抑菌能力，但對 *Pseudomonas aeruginosa* 和 *Enterococcus faecalis* 則無抑制作用。在抗發炎試驗中，初浸膏及終浸膏皆可降低由 LPS 誘導產生的 NO 及 PGE_2 濃度；且終浸膏抑制 PGE_2 生成的效果較初浸膏好。最後進行急毒性試驗，將終浸膏以管喂方式餵食給大鼠，每只大鼠餵食藥物濃度為 40 g 生藥重/kg body weight，單次餵食並觀察 14 天，結果顯示經餵食藥物的組別和控制組相比較，並沒有中毒症狀或死亡結果出現。另外體重、臟器重量、血液生化值、血清生化值和控制組相比亦沒有顯著性差異，以肉眼觀察臟器與病理組織切片結果也沒有病變現象，因此本研究以水萃醇沉所製成的葛根芩連終浸膏對於大鼠並沒有急毒性的傷害。本研究已完成葛根芩連湯的水萃醇沉製程的最適化研究，並確定其具有抑制 *Salmonella enterica* 和 *Staphylococcus aureus* 的抗菌功能，以及降低 NO 與 PGE_2 生成的抗發炎功效，最後藉由急毒性動物試驗以確保其安全性。

關鍵字：葛根芩連湯，抗菌，抗發炎，急毒性試驗

Number: CCMP99-RD-055

Process Optimization of New “Gegen Qinlian Capsule” with the Evolution of Its Therapeutic Effects, safety, and Stability (2-1)

Hsiao-Wei, Wen. Ph.D.
National Chung Hsing University, Department of Food Science and Biotechnology

ABSTRACT

This study focused on refining the process of “Gegen Qinlian Decoction”, whose major therapeutic effects are anti-inflammatory and anti-bacteria. We worked on the optimization of “water extraction/alcohol precipitation” process, the evolution of antibacterial and anti-inflammatory effects and acute toxicity of the products. Several factors affecting the amounts of effective compounds (puerarin, baicalin, glycyrrhizic acid, and berberine) were studied, including the amount of water, the extraction time, the density of primary decoction, and ethanol concentration. The optimal processing was settled as (1) using 6 times of water to extract for 2 hours, (2) concentrate the primary decoction to the density as 1.111 g/mL, (3) using 60% ethanol to perform alcohol precipitation for 24 hours, (4) removing ethanol to get the final decoction, (5) mixing with corn starch and drying to produce “Gegen Qinlian Powder”, and (6) put powder into capsules to make “Gegen Qinlian Capsule”. In the antimicrobial evaluation, primary and final decoction presented good effects against *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus*, but had no inhibitory effect on *Pseudomonas aeruginosa and Enterococcus faecalis*. Additionally, primary and final decoction could efficiently reduce productions of NO and PGE_2, induced by LPS, and final decoction had better ability in reducing PGE_2 production than primary decoction. Finally, the safety of final decoction was evaluated through the acute oral toxicity in SD rats. Rats were single given at a dose of final decoction as 40 g raw drug/kg body weight and consecutively observed for 14 days. No poison symptom or death was observed in the control and treated rats. No significant differences of body weight, organ weight, hematological parameters, and serum biochemistry between control and treated groups. No gross and histopathological change of rats was found. Conclusively, this study had

optimized the process for “Gegen Qinlian Decoction”, proved its antimicrobial activity against *S. enterica* 和 *Staphylococcus aureus* and anti-inflammetory effect on reducing NO and PGE production, and proved its safety based on the acute oral toxicity test on rats.

Keywords: Gegen Qinlian decoction, antibacterial activity, anti-inflammatory effect, acute oral toxicity

壹、前言

中藥於中華民族已流傳千年之久，各種藥物之功效已有大量書籍文獻記載以提供完善的中藥知識，而現今由於合成藥物對人體具副作用，故以天然中藥製備藥劑逐漸被重視。而複方為中藥的主要使用形式，其以中醫藥理論為指導並根據君臣佐使的原則，挑選合適的藥物配伍而成，而不同種類的藥物與藥量將會改變其原本療效功能，可依不同病情加以調配(劉明，2009)。複方中藥在煎煮過程中，會產生不同的化學反應如水解、聚合和沈澱等現象，而這些變化是否會影響有效成分之提取及療效卻難以證明，故複方中藥的研究除了依循中藥的配伍理論外，在生產技術過程中有效成分濃度的變化尚待更深入的研究。此外，複方中藥湯劑有許多改善之處如味道太苦、服用量大及使用不便等缺點，使其推廣相當不易，所以藉由研發複方中藥新劑型如膠囊或碇劑，使產品更為精緻、易服用且提升療效，並用現代科學方法證明其療效，進而使中藥為國際所理解與接受，以拓展中藥市場，提升國際競爭力(謝恬，2009)。

本研究將探討複方中藥-葛根芩連湯之生產技術條件，葛根芩連湯為健保給付排名第 85 名的藥方，為國人常使用來治療感冒等症狀(張長強，2002)。其最早記載于張仲景所撰《傷寒論》文獻中，其寫到：“太陽病，桂枝證，醫反下之，利遂不止，脈促者，表未解也，喘而汗出，葛根芩連湯主之(李倩楠，2008；王立，2009)。”其為治療急性腹瀉的處方，並具有清熱止痢功效，臨床應用相當廣泛(雷鵬，2005；耿俊英，2006)。此複方由四種中藥組成，葛根為君，黃芩與黃連為臣，而甘草屬佐。此方劑目前被研究出具解熱、抗菌、抗病毒、抗缺氧、降血糖、抗心律失常、增強免疫能力、抑制胃腸運動等許多藥理作用(龔湛文，2003)。在葛根芩連湯對腸道菌株抑菌作用實驗中，對鼠傷寒桿菌具低敏感度抑菌作用，對其他菌株如大腸桿菌、傷寒桿菌、福氏痢疾桿菌等均無抑菌效果(王孝先，2007)。而另一劑型葛根芩連微丸有較廣的抗菌作用，對已感染金黃色葡萄球菌、肺炎雙球菌之小白鼠具有保護作用，而在體外抗病毒實驗中其具有抗流感病毒作用(譚曉梅，2000)。

葛根(*Radix Puerariae* Lobatae)為常用中藥，其為豆科植物野葛或幹葛藤之乾燥塊根，具有解肌退熱、生津透疹及升陽止瀉的功效(李鍵，2008)。全世界葛藤屬的植物大概有 20 幾種，亞洲為分佈中心，其分佈位置主要於印度至日本，南到馬來西亞(白東義，2008)。研究指出葛根具有避免骨質疏鬆，改善心腦血管迴圈、擴張冠脈、改善心臟功能、提高學習記憶、抗氧化及抗癌等藥理作用(Wang，2005)。葛根的主要活性成分有葛根素(puerarin)、大豆素(daidzein)、大豆苷(daidzin)等異黃酮類化合物成分(王薇，2007)。研

究表示葛根所含的異黃酮成分能抑制 HS578T、MDA-MB-231、MCF-7 等乳癌細胞增生，使癌細胞停留在 G0/G1 期，進而走向細胞凋亡，達到抑制的效果(Lin，2009)。其中葛根素為主要活性成分之一，葛根素具有擴張冠脈和腦血管、降低心肌耗氧量、改善心肌收縮功能、促進血液迴圈等作用，適用於冠心病、心絞痛、心肌梗死、視網膜動靜脈阻塞和突發性耳聾等疾病(白東義，2008)，其亦可對抗缺血再灌注損傷，對谷氨酸引起的神經細胞損傷均有保護作用，可減輕脂質過氧化反應(彭少君，2009)。研究指出葛根素對乳鼠心肌細胞缺氧-複氧時脂質過氧化損傷有保護作用，降低因缺氧造成的自由基傷害，減少丙二醛含量，減低超氧化物歧化酶耗損，具有保護心肌細胞的粒線體功能(朱智彤，2002)。另外，葛根素有降血糖功能，用其治療糖尿病大鼠時發現葛根素能控制血糖濃度，並阻止蛋白糖基化，降低血清糖基化終產物的生成，下調血清糖基化終產物受體的過度表現(茅彩萍，2004)。而在解熱方面，葛根芩連微丸可有效地將上呼吸道感染風熱症小兒患者體溫下降，且臨床觀察中未見明顯不良反應(陳琦，2004)。研究發現葛根素能抑制 Aβ（β-amyloid）誘發的大鼠海馬神經元的炎性反應，其可能藉由抑制 NF-κB 信號途徑及活化 PPAR-γ 來抑制 iNOS、COX-2 的過量表現來達到抑制炎性反應的作用，藉此作為治療阿滋海默氏症的基礎研究(王文勝，2009)；另一探討大鼠腦缺血再灌注所引發的炎症反應之研究亦指出葛根素藉由抑制 NF-κB 之表現來減輕腦缺血再灌注的損傷(婁海燕，2007)。此外，葛根素能降低促炎因數 TNF-α 及 IL-6 的表現量並提高抑炎因數 IL-10 的表現來提高全身炎症反應綜合症大鼠的存活率(孫琦，2008)。在解熱的研究上，葛根素對 LPS 所誘發發燒之大鼠，具有明顯的解熱作用且具劑量依賴性，另外對於 NO donor、NO releaser、8-Bromo-cGMP 和 PGE_2 等熱原媒介物質物所誘發之發燒反應也具有抑制的作用(邵立珠，2000)。

黃芩又名腐腸、涇芩、條芩等，為多年生草本植物的傳統中藥，為唇形科植物黃芩(*Scutella ria baicalensis* Georgi)的乾燥根，分佈于河北、東北、山東、山西、內蒙古和陝西等地均有生長，而在國外亦有黃芩的產地，像日本和韓國等地。其味苦，性寒，歸肺、肝、膽、大腸和小腸經，有清熱燥濕、瀉火解毒、止血、安胎等藥效(延衛東，2002；王豔春，2009)。此外，體外試驗顯示黃芩萃取物具有抑制血癌、淋巴瘤及骨髓癌等癌細胞增生之作用(Kumagai，2007)。而黃芩中的 baicalein、baicalin 和 wogonin 等黃酮類化合物能有效的抑制由活性氧與亞硝酸鹽引起的肝損傷(Zhao，2006)。黃芩中有效成分以黃芩苷(baicalin)最具代表性，為一種黃酮類化合物，具有清熱解毒、抑菌抗炎、螯合金屬離子、降壓反應和清除超氧陰離子等藥理作用(李倩楠，2008；張建春，2005；文敏，2008；Gao，1999)。故文獻中葛根芩連複方的各種製劑，如錠劑、飲片、湯劑及微丸製劑，是以偵測黃芩苷為

主(袁藝，2007；譚曉梅，2006；雷鵬，2005)。另外，研究發現黃芩具解熱作用，將黃芩莖葉總黃酮以腹腔注射和管胃給藥方式於實驗動物，結果顯示其對感染性發熱和非感染性發熱誘導之實驗動物具有解熱作用(趙鐵華，2001)。黃芩內之有效成分具抗炎作用，學者以漢黃芩素、黃芩素和黃芩苷為樣品比較三種抗炎效力，三者在 1 mg/L 濃度明顯抑制 LPS 誘導的炎症反應，其主要抑制 prostaglandin E2 (PGE_2) 和 leukotriene C4 (LTC4) 的合成，進而抑制炎症反應，三者中以黃芩素和黃芩苷的作用較強(Chung，1995)。此外，黃芩素較黃芩苷具較高的熱穩定性。黃芩素和黃芩苷均能抑制白血球的活性來減低發炎反應(Shen，2003)。在抑炎作用機制的探討上，Li 等人發現黃芩苷會與特定的數種驅化素(chemokines)結合使其失去生理活性進而限制白血球等免疫細胞的移動，達到抑制炎症反應的作用(Li，2000)。

黃連始載于『神農本草經』，其性味苦寒，歸心、脾、胃、肝、膽及大腸經 (舒華，2004)。黃連為毛茛科植物黃連 (*Coptis chinensis* FRANCH)、家黃連 (*Coptis. teeta* WALLICH)及同屬近緣植物除去鬚根之乾燥根莖，外觀呈圓柱形或不規則形，表面暗黃色，有不規則結節狀隆起。其功效主要為清熱瀉火，另有抗菌、止瀉、抗消化性潰瘍及預防血管硬化等藥理作用(行政院衛生署中醫藥委員會-中草藥用藥安全-黃連，2008)。黃連的主要成分包含多種生物鹼，包括小檗鹼、黃連鹼、甲基黃連鹼、巴馬汀、藥根鹼和表小檗鹼。黃連有較強的抗菌(Yan，2008)、抗病毒、抗炎作用、抗氧化、解熱、降血壓、擴張血管、抗血小板凝集、強心、抗心律失常、利膽、降血糖、促進組織癒合、鎮痛、鎮靜、降低眼內壓、降血脂和抗腫瘤等作用(馮奕斌，2008)。以黃連及其複方對人鼻咽癌細胞（HNE-1）的殺傷研究發現，黃連單用時作用最明顯，半抑制濃度為 1: 729，具濃度依賴性；但黃連複方作用則稍減弱，半抑制濃度為 1: 249，兼具濃度依賴性與時間依賴性(唐發清，1995)。另外，針對作用於 DNA 拓撲異構酵素的抗癌物質研究發現，從日本產黃連中發現拓撲Ⅱ抑制活性，而從中國產黃連(味連、雅連)中發現拓撲Ⅰ與拓撲Ⅱ兩方面的抑制活性，且發現黃連的拓撲阻礙活性為小檗鹼系生物鹼所致(賀玉琢，1995)。小檗鹼是黃連中主要的活性成分，於體外及體內試驗發現其具有顯著的抗發炎效果(Kuo，2004)。小檗鹼可以抑制 IκB-α 的磷酸化與降解從而阻止 IL-1β 和 TNF-α 的產生、抑制炎症反應(Lee，2007)。並能抑制 *Staphylococcus epidermidis* 形成菌膜(Wang，2009)，也有引發血癌細胞 HL-60 的細胞凋亡的抗癌作用(Kuo，1995)。

甘草為豆科多年生草本植物，主要分產于蒙古、新疆、東北、河北、三西等地(宛立平，2000)，有益氣健脾，清熱解毒，止痛和調和諸藥之功效。用於脾胃虛弱，倦怠乏力，心悸氣短，咳嗽多痰，脘脹，四肢攣急，疼痛，癰腫瘡毒，緩解藥物毒性(李延華，2009)。甘草中之重要有效成分為甘草酸，

為一種三帖皂苷，具有抗炎、抗病毒、抗腫瘤、調節免疫功能等作用。另外，甘草酸可抗化膿性鏈球菌，進而可能降低上呼吸道感染(Tanaka，2001)。此外，甘草酸具抗炎的藥理作用，藉由抑制磷脂 酶A2 和脂加氧酶的活性，降低與花生四烯酸產生反應，使前列腺素 E2 與白三烯等炎性介質無法生成，及抑制補體系統之啟動途徑，達到抗炎作用(張翠玲，2008)。

中藥製劑常用的提取與精緻方法為水提取醇沈澱法(簡稱水提醇沈)，用以提取與精製中藥之有效成分，提高藥液品質，改善製劑澄清度。中藥材先經水提取，之後用一定體積的乙醇去除水提取溶液中的水溶性雜質，減少有效成分的損失。其利用中藥中有效成分，如生物鹼鹽、苷類、有機酸鹽、氨基酸及多醣等易溶于水和醇的特性，先用水提取再將提取液濃縮，添加適當乙醇經一次或多次沉降，不溶解的物質將會析出，最後制得澄明液體的一種方法。當含醇量為 50-60%時可除去澱粉，而當含醇量達 75%以上時，可除去蛋白質類雜質(蔡寶昌，2005)。而為了確保醇沉時去除雜質，並減少有效成分的損失，需將水提液濃縮到一定程度的初膏。如果初膏濃度太濃，則藥液較黏稠，乙醇與藥液難以充分混合，導致生成之沉澱物容易包覆藥液，使有效成分損失；反之，初膏濃度過低，藥液體積增加，需花費大量乙醇，增加工作時間既費時又費力(孫月霞，2006)。中藥醇沉過程中，影響其醇沉效果的因素有許多，其中有些因素會導致有效成分的流失，因此中藥製劑中有必要對此精製技術的影響參數做探討，如乙醇濃度、初膏濃度、藥液溫度、加醇方式、室內溫度及醇沉時間等，以減少有效成分的流失 (孫月霞，2000；肖瓊，2005；張兆旺，1995；丁水準，2004；應如海、2007)。

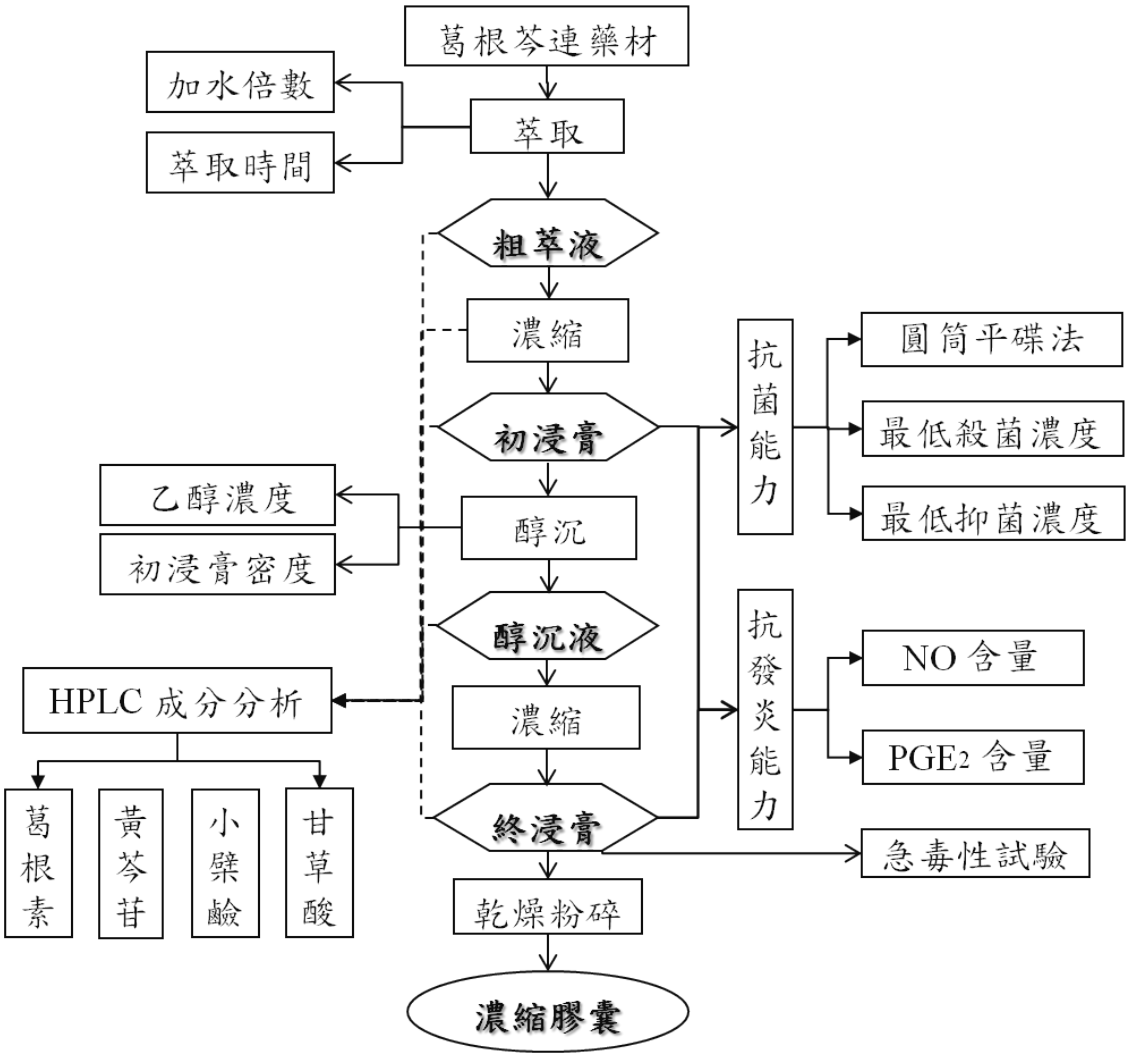
中藥為天然植物，其對於人體之傷害較化學合成之製劑低，因此近年來中藥製劑之研究學者日益增加。中醫主要用藥形式以中藥複方為主，中藥材藉由水提醇沈法之提取與精製，提高藥材中有效成分提取並增益療效。而中藥複方湯劑具有苦味、用藥量大且不便食用，故開發新劑型如膠囊，可有效改善上述缺點。此外，中藥萃取液可能含有吸濕性的成分，例如：澱粉、粘質液、多醣及無機鹽類等親水性化合物，會吸收空氣中的水分，使膠囊產生變軟、結塊現象，進而影響藥物的品質，因此，可藉由水提醇沉或醇提法之方式去除相關的吸濕性的成分(蒲顯強，2001)。研究顯示中藥浸膏大部份具黏度大、流動性差、濃度高、分散性差等問題，故製備膠囊可填加賦形劑來改善上述問題。賦形劑種類繁多，功能亦不相同，其中磷酸氫鈣、磷酸鈣、澱粉和糊精可作為吸收劑吸收藥物中多餘的水分，並扮演稀釋劑的角色，調整膠囊中藥物的濃度；另外幹澱粉和羧甲基澱粉鈉等可作為崩散劑，有助於藥物在體內的釋放(唐國勝，1998；吳曉寧，2004)。

因此本研究將探討複方中藥-葛根芩連湯之生產製備條件，如水提萃取量和時間、醇沈條件等，以及包含有效成分測定，用以提高有效成分之提取，並將其包裹於膠囊內，降低苦味易於服用，最後以動物實驗探討並證明其安全性與療效，為消費大眾所理解與接受。

貳、實施方法

一、實驗設計

葛根芩連膠囊制程精緻化研究將分三階段實施，第一階段將專注于提升水萃處理後的初浸膏中有效成份含量，而第二階段將針對初浸膏做不同的醇沈處理，以去除雜物並提產高品中有效成份的含量。最後在第三階段進行功能性試驗，將包括抗菌試驗以及抗發炎試驗，實驗流程，請見下圖。



二、實驗步驟

(一)葛根芩連膠囊制程之精緻化

1. 水萃條件之優化

根據文獻顯示，水萃取過程中的水量與煎煮次數為影響有效成分萃取效率的兩項主要因素(陳建真，2006)，故本研究將利用三種加水倍數(6、12、18 倍)以及 6 種萃取時間(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 及 3.0 小時)來探討水萃取步驟的最適化。首先取葛根、黃芩、黃連、甘草(四種藥材比例為 12:4.5:4.5:3)，加入適當倍數水量煎煮，再以過濾移除藥渣，再將濾液定容至一定體積，保存於 4°C 下待分析或進行醇沈製備。本計畫所用之藥材(葛根、黃芩、黃連、甘草)由 GMP 藥廠提供。

2. 醇沈條件之優化

影響醇沈的主要因素為初浸膏的相對應密度以及醇沈後最終乙醇濃度(%)，故本研究將利用三種初浸膏的相對應密度以及三種最終乙醇濃度(60、70、80%，w/w)來探討醇沈步驟的最適化(孫月霞，2000；肖瓊，2005)。將不同相對應密度的初浸膏依據樣品的體積大小，分別緩慢加入 95%的乙醇，使所含乙醇之最後濃度到達適當濃度(60、70 或 80%)。繼之，在 4°C 下靜置 24 小時使之完全沉澱，再經離心過濾後將乙醇回收，濃縮過後的樣品則稱為終浸膏，糖度約為 30 Brix。再加入等量固形物的玉米澱粉，混合均勻後，置於 60oC 乾燥箱中烘乾，將幹浸膏粉碎過 100 篩目，再將細粉裝入膠囊，即完成膠囊劑型的葛根芩連湯。

(二)產物之有效成分測定

1. 有效成分的萃取

將提取所得之水萃液、初浸膏或浸膏離心去沉澱物後，以微孔濾膜(0.22 μm)過濾，取 20 μL 注入 HPLC 中分析樣品中有效成分含量。

2. 葛根素、黃芩苷與甘草酸含量測定

所用分析管柱為矽基質逆相碳 18 管柱(C18、5 μm、ID 4.0 x 250 mm；Merck)，紫外光檢測波長為 270 nm。移動相 A (100% acetonitrile)與移動相 B (20 mM ammonium acetate、pH6.5)利用以下梯度方式將三種指標成分分離出。0-27 min: 90% B；27-32 min: 90-85% B ； 32-37 min: 85-83.5% B ； 37-65 min: 83.5-77.3%B； 65-72 min: 77.3-76%B；72-82 min: 76-70% B；82-87 min: 70%B；87-92 min: 70-58%B；92-98 min: 58-5%B;

98-100 min: 5%B; 100-101 min: 5-90%B; 101-108 min: 90%B。樣品經 0.22 μm 濾膜過濾後，以流速 0.9 mL/min 於 32℃下進行分析。葛根素 100-1200 μg/mL 的溶液製成標準曲線 (陸健，2007；趙素珍，2007)；而黃芩苷則配製成 25-600 μg/mL 的溶液製成標準曲線(黃永剛，2009；王小龍，2004)；甘草酸則配製成 25-200 μg/mL 的溶液製成標準曲線 (趙清暉，2002)。利用以上的標準曲線計算出樣品中葛根素、黃芩 苷、與甘草酸的含量。

3. 小檗鹼含量測定

所用分析管柱為矽基質逆相碳 18 管柱(C18、5 μm、ID 4.6 x 250 mm)，紫外光檢測波長為 266 nm。移動相(乙腈: 0.2 M 磷酸二氫鉀= 31: 69)經 0.22 μm 濾膜過濾後，以流速 0.9 mL/min 於 25oC 下進行分析。以鹽酸小檗鹼為標準品，再配置成 1-60 μg/mL 的溶液製成標準曲線，用之計算出葛根芩連湯制程中相關步驟樣品中鹽酸小檗鹼的含量(袁藝，2007)。

(三)產物之抗菌能力分析

1. 圓筒平碟法

製備每皿含 12 mL 基層固態培養基的培養皿，冷卻後以夾子將四個不銹鋼圈菌環（stainless cloning cylinder）在培養皿上等距間隔放置，然後每個培養皿再倒入 4 mL 含有試驗菌株的種層培養基，待凝固之後，每個不銹鋼圈菌環加入 150 μL 不同濃度的萃液，經培養 24 小時之後，觀察判斷抑菌活性及抑菌圈大小，抗菌直徑利用光尺規量至± 0.01 mm。

2. 最低抗菌濃度

將 0.45 mL 不同濃度的葛根芩連膠囊的萃取液、0.05 mL 活化後的試驗菌液及 4.5 mL 的液態培養基(視試驗菌株的不同加以調整)，混合均勻之後，在 37oC 培養箱中培養 24 小時。24 小時後以磷酸緩衝溶液做序列稀釋，並取 0.1 mL 樣品在固態培養基(視試驗菌株的不同加以調整)平板上進行塗盤則視培養後混濁程度高低以磷酸緩衝溶液做序列稀釋，于 37oC 培養箱中培養，計算培養後的菌落數以推算生長後的總菌數，得到的菌落數愈少表示抑菌效果愈佳(夏中偉，1995)。

(四)產物之抗發炎反應之能力分析

1. 小鼠巨噬細胞株 RAW 264.7 的培養與細胞型態之觀察

小鼠巨噬細胞株 RAW 264.7 培養在 37oC、5%二氧化碳的培養箱中，使用 DMEM 培養液，內含 4 mM L-glutamate、4.5

g/L glucose、10% bovine calf serum、100 IU/ml penicillin、100μg/mL streptomycin 及 1.5 g/L sodium bicarbonate、0.25 ug/mL amphotericin。將經 LPS 誘導的小鼠巨噬細胞 RAW 264.7 與葛根芩連膠囊的萃取液作用後，於相位差光學顯微鏡下觀察，並加以照相紀錄形態之變化(李敬，2006)。

2.細胞存活率之測量

MTT 法是一種快速呈色法，細胞還原 MTT 之能力代表細胞粒腺體的活性，因此可做為細胞存活率的指標。以細胞括勺將細胞刮下，加入細胞(2×104 cells/well)至 96 孔盤培養 24 小時。24 小時後加入 LPS 及不同濃度藥物培養 24 小時。時間到時移除上清液，以 PBS 清洗細胞二次，加入 80 uL 培養液及 20 μL 的 MTT 溶液 (5 mg/mL)，置於 5% CO2，37oC 恒溫培養箱中 4 小時後，除去上清液，加入 DMSO (0.2 mL/well)溶解結晶紫，置於振盪器上振盪，至顆粒溶解為止，再以 ELISA reader 檢測波長 570 nm 的吸光值。吸光值越高表示活細胞數目越高，各實驗組的 OD 值與對照組細胞 OD 值相比，即可得到細胞的存活率。

3. 細胞分泌 NO 之測定

NO 在活體易代謝形成 nitrate 的穩定產物，故以偵測 nitrate 的濃度來回推 NO 的釋放量。小鼠巨噬細胞 RAW 264.7 經 250 ng/mL 的 LPS 誘導，並與不同濃度藥物共同培養 24 小時，取 50 uL 細胞培養液放入 microplate 中，再加入等量的 Griess Reagent (1% sulfanilamide; 0.1% N-1-naphthylethylenediamine)，於室溫下避光反應 10 分鐘，以 ELISA reader 於 520 nm 波長下讀取吸光值，並與標準品所製成的標準曲線相比較，估算培養液中 nitrate 濃度。

4. 細胞分泌 PGE_2 之測定

當細胞產生發炎反應，細胞會分泌 PGE_2 於胞外，藉由偵測 PGE_2 濃度可瞭解細胞的發炎程度。PGE_2 的測定是採用商業套組(Cayman 500141)，小鼠巨噬細胞 RAW264.7 經 250 ng/mL LPS 誘導，並與待測樣品共同培養 24 小時，取 50 uL 細胞培養液以商業套組分析，最後以 ELISA reader 偵測 PGE_2 含量。

5. 急毒性(經口 LD_{50})試驗(Acute toxicity)

以大鼠每日建議量之 40 倍作為受試樣品，葛根芩連萃取物以 RO (逆滲透)水配製充分混勻後餵食大鼠，分為控制組及藥物處理組，每組十隻(雌雄各半)，實驗動物飼養室溫度

25±2°C，相對濕度 50~70%，12 小時光/12 小時暗之光照週期。動物禁食(不禁水) 16 小時後，將受試樣品採用一次經口灌胃方式餵食，大鼠逐只秤重，灌胃量為 40 g 生藥材/kg of body weight。繼以維持兩周的觀察期，觀察動物的一般狀態、體重變化、中毒症狀和死亡情況等。實驗末再次將動物秤重，對死亡動物及到期犧牲動物進行屍體解剖，以肉眼觀察大體是否有病理情況。實驗全程觀察而內容均做詳細紀錄。

(五)統計方法

實驗數據由平均值±標準差(mean±standard deviation)為方式呈現。並以多指標綜合評價方法研究綜述(multi-index comprehensive method)評估葛根芩連湯最適萃取條件，及使用 SARS 軟體分析數據，當 p-value 小於 0.05 時具有顯著性差異。

參、結果

一、產物之有效成分測定

參考傷寒論與中醫藥委員會網站中「葛根芩連湯」的複方配伍比例(葛根 12 g、黃芩 4.5 g、黃連 4.5 g 及甘草 3 g)，進行制程條件的最適化研究。在各參考文獻中得知葛根中的葛根素、黃芩中的黃芩 苷、黃連中的小檗鹼和甘草中的甘草酸為此類藥材中的主要指標成分，因此在各項萃取與醇沉條件的優化過程中，將以此四種指標成分含量做為評估的準則。首先以兩種高效能液相層析法(HPLC)分別進行指標成分的定量，當以 20 mM 乙酸銨(pH 6.50)與乙腈進行梯度沖提，可於 108 分鐘內同時定量出葛根素(peak 1、17.1 min)、黃芩苷(peak 2、48.3 min)和甘草酸(peak 3、71.1 min)，如圖一所示；而當以 200 mM 乙酸銨(pH 4.85)與乙腈進行沖提，則可在 10 分鐘左右定量出小檗鹼(圖二)。利用以上兩種 HPLC 的沖提方法制出四種主要成分的標準曲線，其相對應之回歸方程式、線性範圍與相關係數則整理於表一，將之應用於偵測本計畫中所有樣品的葛根素、黃芩 苷、小檗鹼和甘草酸含量。

二、葛根芩連膠囊制程之精緻化

(一)水萃條件的最適化

首先將 24 g 的葛根芩連生藥材在不同萃取水量（生藥重量的 6、12 和 18 倍，w/w）及不同萃取時間（0.5、1、1.5、2、2.5 或 3 小時）的 18 種不同條件下進行萃取，再以離心去除藥渣，將水萃液中的有效成分（葛根素、黃芩 苷、甘草酸和小檗鹼）則以 HPLC 定量，以找出最適的水萃條件。

從表二的結果顯示，四種指標成分中以葛根素含量最高，其次依序為黃芩苷、甘草酸和小檗鹼。24 g 生藥材所萃取出的葛根素，其含量隨著萃取時間和水量提高而增加，當以 6 倍水量的萃取至 1.5 小時後，樣品中葛根素含量已達飽和(60-63 mg)；而以 12 或 18 倍水量的萃取則在 1.0 小時即達飽和(72-86 mg)，且兩種水量的萃取液在相同萃取時間的條件下，其萃液中葛根素含量無顯著差異。而黃芩苷的含量在萃取時間 0.5-2.5 小時之間，水量與時間對黃芩苷總量無顯著影響，但在萃取 3 小時的樣品可以發現黃芩苷總量隨水量增加而增加，可由 45 mg（6 倍水量）上升至 75 mg（18 倍水量），大約增加 1.67 倍。而甘草酸當以 6 倍水萃取時，萃取時間不影響甘草酸的萃取量，但在水量增至 12 或 18 倍水時，甘草酸的萃取量隨萃取時間而增加，與萃取 0.5 小時樣品相比(20 mg)，萃取 3 小時的 18 倍水樣品的甘草酸可上升 1.5 倍(31 mg)。

而小檗鹼的萃取則是在 12 倍水的條件下，會隨時間增加而增加，萃取 3 小時萃液中小檗鹼含量為 0.5 小時樣品中小檗鹼含量的 1.98 倍。由以上結果可以得知四種有效成分的最適萃取條件並不相同，故參考已發表之文章，以加權公數方式，依四種藥材在生藥中所占的重量作加權分數計算，其公式如下，再以加權分數的高低評比出最適的水萃取條件。四種藥材在 24 g 的生藥中葛根含 12 g、黃芩含 4.5 g、黃連含 4.5 g 及甘草占 3 g，故葛根素、黃芩苷、小檗鹼與甘草酸相對重量比值分別為 0.5 (= 12/24)、0.1875 (= 4.5/24)、0.1875 (= 4.5/24)與 0.125 (= 3/24)。

分數(Score) =

0.5 x（葛根素重/所有萃取方法中最高量的葛根素重）

+ 0.1875 x（黃芩苷重/所有萃取方法中最高量的黃芩苷重）

+ 0.1875 x（小檗鹼重/所有萃取方法中最高量的小檗鹼重）

+ 0.125 x（甘草酸重/所有萃取方法中最高量的甘草酸重）

根據以上公式將四種有效成分依其萃取方法計算出的相對的加權分數並製圖做比較。如圖三所示隨著萃取水量及萃取時間增加，分數亦上升。在相同萃取時間下，以高倍水量萃取能獲得較高的分數，表示可以萃出較多的有效成分；相對應可能是因為萃取水量減少，使萃液容易達到飽和狀態而無法再有效萃出有效成分，故 6 倍水萃的樣品所得分數較 12 及 18 倍水萃樣品的分數低。當以 6 倍水量萃取，在萃取 2 小時才可得到較高的分數。而 12 與 18 倍水量萃取則在萃取時間 1 和 0.5 小時相比，分數有明顯上升；而在 1-3 小時之間分數只有些微上升，且兩組的的加權分數在統計上無顯著差異。因此，考慮當水萃液體積加大時會造成後續濃縮時間延長，而使成本增加；且濃縮加熱時間延長，可能對藥品中部份熱敏感的物質產生降解。因此，選擇 12 倍水量萃取 1 小時和 6 倍水量萃取 2 小時作為水萃取的適當條件，以進行接下來的醇沉條件的探討。

(二)醇沉條件的最適化

醇沉在中藥製備中為一個重要的過程，利用藥物內的有效物質可溶於酒精，而水溶性物質（如醣類與蛋白質）不可溶在酒精中而產生沉澱，可去除藥液內不要的雜質。醇沉過程中，藥液的濃度（密度）、酒精濃度百分比、醇沉的溫度和攪拌速度等會影響醇沉效果，因此 6 倍水量和 12 倍水量所萃取的萃液，先經過濃縮後調成不同密度(1.212、1.111 或 1.057 g/mL)的初浸膏再加入不同量的酒精進行醇沉，以使藥液中最終酒精濃度分別達 60、70 或 80%

(w/w)。初浸膏經醇沉及離心後，所得之醇沉上清液內所含的有效成分含量則用 HPLC 定量，再將含量轉換為上述加權分數做比較。

結果如圖四所示，相同醇沉條件，6 倍水量和 12 倍水量的加權分數並無明顯差異。但醇沉液中酒精濃度比例高之藥液，有效物質含量有下降的趨勢。此外，在相同酒精濃度下隨著藥液密度的上升，分數有下降的趨勢。經統計分析後，當以酒精濃度 60%、密度 1.057 和 1.111 g/mL，及酒精濃度 70%、密度 1.057 g/mL 處理過的 6 倍與 12 倍水萃取樣品（共六組）所得分數相對較高，而 6 組間無顯著差異。考慮使用 12 倍水萃取後所得萃液要濃縮成初浸膏的加熱時間較長，以及若使用 70%酒精醇沉則酒精消耗量較大，且當要將酒精完全移除製成終浸膏時間會相對延長，所以將 12 倍水的水萃處理方式以及 70%酒精醇沉方式去除。最後在考慮 6 倍水萃液要調整密度至 1.057 g/mL 或 1.111 g/mL 時，因為相同水萃液若濃縮至密度較高的初浸膏，則樣品體積較小，相對使用之酒精量下降，且移除酒精時間也減少。故綜合評估以上減少成本與縮短制程時間等考慮重點，最後決定最佳的葛根芩連終浸膏作法是先以 6 倍水萃取 2 小時，再將水萃液濃縮至密度為 1.111 g/mL 的初浸膏，再加入酒精至 60% (w/w)進行醇沉 24 小時，最後利用減壓濃縮方式將酒精移除以製成終浸膏。接下來將針對此最適化制程所制出的產品進行分別進行(1)抗菌、(2)抗發炎與(3)口服急毒性動物試驗，以確保此新水萃醇沉制程所制出的藥物具有良好的藥效與生物安全性。

(三) 葛根芩連初、終浸膏指紋圖譜和有效成分含量

葛根芩連初、終浸膏的 HPLC 圖譜如圖五和圖六，兩張圖譜相比發現初浸膏和終浸膏圖譜上波峰的分佈情形相近，沒有明顯的變化，醇沉步驟不影響藥液中成分組成。 葛根芩連膠囊製備過程中，需經過萃取、濃縮、醇沉等步驟，為瞭解有效成分在製備過程中的變化，以 HPLC 定量葛根芩連粗萃液、初浸膏、醇沉液、終浸膏中的有效成分含量（圖七）。結果顯示葛根素在每個階段含量皆為最高，其次為黃芩 苷，而甘草酸和小檗鹼含量相當少。從初萃液到終浸膏制程中的有效成分含量，黃芩苷和甘草酸隨著製備過程到終浸膏時，其兩者含量有些微下降的情況，而相對于葛根素和小檗鹼則無此情形。另外有效成分中以葛根素和黃芩苷含量多，相較下小檗鹼和甘草酸含量少。在吳和戴的研究中，葛根芩連湯（葛根 15g、黃芩 9 g、黃連各 9 g、甘草 6 g）粗萃液中，甘草酸濃度為 0.87 ug/g 生藥重、小檗鹼濃度為 1.64 ug/g 生藥重，

想比之下本計畫甘草酸濃度（0.98 ug/g 生藥重）較高，小檗鹼濃度較低（0.37 ug/g 生藥重），小檗鹼萃出量較少，推測可能此批黃連藥材本身小檗鹼含量少，或是小檗鹼和其他有效成分如葛根素、黃芩苷或甘草酸等反應而產生沉澱使小檗鹼含量減少（吳昭暉，2004；戴開金，2003）。葛根芩連初、終浸膏的產率以初浸膏為基準，終浸膏中的有效成分葛根素、黃芩苷、甘草酸和小檗鹼的產率分別為 101.76%、63.51%、89.09% 和 102.35%，黃芩苷和甘草酸可能因醇沉階段被沉澱物一起包裹沉降，而使含量減少，而葛根素和小檗鹼受醇沉影響低。

三、產物之抗菌能力分析

(一)圓筒平碟法

以圓筒平碟法評估最適制程所做出的初浸膏與終浸膏對金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、糞腸球菌(*Enterococcus faecalis*)、沙門氏菌(*Salmonella enterica*)及綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的抑菌效果，以評估樣品抗菌能力(表三)。結果顯示用初浸膏處理糞腸球菌及綠膿桿菌後並沒有抑菌圈，故初浸膏對此兩株菌沒有抑菌能力。而初浸膏對於金黃色葡萄球菌及沙門氏菌有較佳的抑菌效果，抑菌圈大小分別為 13.90 及 15.30 mm，顯示初浸膏對沙門氏菌有較佳抑菌效果。另外，終浸膏除了對糞腸球菌沒有抑制能力外，對其他三株菌皆有抑菌效果。依其抑制能力由大到小依序排列，沙門氏菌(14.9 mm) >金黃色葡萄球菌(11.63 mm) > 綠膿桿菌(0.71 mm)。由以上結果可以得知，終浸膏的抑菌能力比初浸膏強，可抑制的細菌種類也較多；而兩種藥物對沙門氏菌皆有較好的抑制效果。

(二)最低抗菌濃度

以最小抑菌濃度及最小殺菌濃度評估初浸膏與終浸膏對金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、糞腸球菌(*E. faecalis*)、沙門氏菌(*S. enterica*)及綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)的抑菌效果(表四)。結果顯示葛根芩連初浸膏和終浸膏對糞腸球菌和綠膿桿菌兩株菌沒有抑菌效果，初浸膏最小抑制濃度及最小殺菌濃度需大於 1.087 g/mL，而終浸膏則需大於 1.111 g/mL 才可能有抑制效果。但初浸膏與終浸膏針對金黃色葡萄球菌及沙門氏菌則有良好的抑制效果，初浸膏對金黃色葡萄球菌的最小抑制濃度為 0.272 g/mL、最小殺菌濃度為 0.544 g/mL，而沙門氏菌分別為 0.068 及 0.136 g/mL。終浸膏對金黃色葡萄球菌的最小抑制濃度為 0.556 g/mL、最小殺菌濃度為 1.111 g/mL，而沙門氏菌分別為 0.139 及 0.278 g/mL，故葛根芩連初浸膏

及終浸膏對抑制沙門氏菌能力高於對金黃色葡萄球菌的抑制力，此結果與上述的圓筒平碟法結果相符；但相同菌種下，初浸膏的抑制力比終浸膏好，此結果則與圓筒平碟法結果不相互呼應，可能是終浸膏黏稠度小，較易在 agar 中擴散，所以抑菌圈較大，但詳細機制仍待研究。

圖八和圖九分別為葛根芩連初浸膏及終浸膏抑制沙門氏菌及金黃色葡萄球菌生長的結果。初浸膏和沙門氏菌培養 24 小時後，濃度 1.087-0.136 g/mL 可使沙門氏菌無法存活達到殺菌的作用，可降低 9.3 log CFU/mL 的菌數。隨著初浸膏濃度下降其抑制效果變差，0.068 g/mL 無法使菌死滅但可讓菌數下降 4.21 log CFU/mL，而 0.034 g/mL 抑菌作用極差，菌數下降不到一個 log 值。針對金黃色葡萄球菌，濃度 1.087-0.544 g/mL 可達到殺菌作用，可降低 9.1 log CFU/mL 的菌數。隨著初浸膏濃度減少其抑菌能力下降，0.272 g/mL 抑菌能力佳，可使菌數下降 8.01 log CFU/mL，0.136 g/mL 為 3.26 log CFU/mL，而 0.068 g/mL 抑菌作用極差，菌數下降不到一個 log 值。從上述結果可得知初浸膏對沙門氏菌抑制能力較金黃色葡萄球菌好。終浸膏濃度 1.111-0.278 g/mL 中無沙門氏菌生長，可降低 9.3 log CFU/mL 的菌數。0.139 g/mL 可讓菌數下降 3.72 log CFU/mL；而 0.069 g/mL 抑菌力差，菌數下降不到一個 log 值。針對金黃色葡萄球菌，濃度 1.111 g/mL 具殺菌作用，可降低 9.1 log CFU/mL 的菌數；0.556 g/mL 抑菌能力可使菌數下降 6.12 log CFU/mL；0.278 g/mL 為 2.42 log CFU/mL；而 0.139 g/mL 抑菌力差，小於 1 log CFU/mL。從上述可得知無論初浸膏或終浸膏對沙門氏菌抑制能力皆較金黃色葡萄球菌佳；而針對金黃色葡萄球菌與沙門氏菌的抑菌能力，皆是初浸膏較佳。

四、產物之抗發炎反應之能力分析

(一)產物對細胞型態之影響

為瞭解藥物對細胞型態的影響，以倒立顯微鏡觀察細胞型態的變化(圖十)。RAW 264.7 細胞正常為貼附型態的細胞，細胞呈圓形至橢圓形，而當加入 LPS 誘導後細胞型態轉變成變形蟲狀，有突觸產生。當加入 0.1 mg/mL 的初浸膏或終浸膏時，對受 LPS 誘導而引發的細胞行態的轉變並無顯著改善。但在加入 1 mg/mL 的初浸膏或終浸膏時，因 LPS 誘導而產生的變形蟲型態細胞比例有減少的趨勢，但初浸膏與終浸膏的處理效果間無顯著差異。當以 10 mg/mL 的初浸膏與終浸膏處理經 LPS 誘導細胞時，RAW 264.7 細胞呈變形蟲的比例反而增加，且突觸的產生更加明顯。故若以加

藥處理對經 LPS 誘導 RAW 264.7 細胞型態的結果將建議有效藥物處理濃度為 1 mg/mL，而初浸膏與終浸膏處理之間並無顯著差異。

(二)產物之細胞毒性分析

為確定添加初浸膏與終浸膏是否對 RAW 264.7 細胞產生細胞毒性，將以上兩種藥物稀釋成不同濃度(0.1-10 mg/mL)加入細胞中培養 24 小時，再以 MTT 試驗觀察細胞生長情形。由圖十一-A，可以發現終浸膏比初浸膏更會對細胞產生毒性，但統計上無顯著性差異。而藥物毒性會隨濃度上升而增加，當以低濃度(0.1 與 0.33 mg/mL)處理時，細胞存活率約在 90%左右；當以中濃度(1 與 3.3 mg/mL)處理時，細胞存活率約在 85-88%之間，其與低濃度處理的細胞存活率並無顯著差異。而當以 10 mg/mL 的高濃度處理時，細胞存活率則顯著下降。初浸膏處理組降至 81%，而終浸膏處理組則降至 78%，故以高濃度(10 mg/mL)的初浸膏或終浸膏處理 RAW 264.7 細胞，會顯著下降細胞存活率。

RAW 264.7 細胞經 LPS 誘導並以初浸膏或終浸膏處理後，以 MTT 試驗觀察其細胞存活率(圖十一-B)，發現相同濃度下，兩種藥物的處理對細胞存活率並無顯著差異，但細胞存活率的確會隨藥物濃度上升而下降。而與未經 LPS 處理的細胞相比，細胞存活率約下降 10-15%，低濃度(0.1 與 0.33 mg/mL)處理時，細胞存活率約在 76-84%左右；中濃度(1 與 3.3 mg/mL)處理時，細胞存活率約在 74-77%之間；而以高濃度(10 mg/mL) 處理時，細胞存活率下降至 70-72%。故與未經 LPS 處理的細胞相比，經 LPS 誘導並經加藥處理，會產生更高的細胞毒性，而使細胞存活率下降。

(三)產物抑制 NO 生成之效果

圖十二-A 顯示 RAW 264.7 細胞當只以初浸膏或終浸膏(0.1-3.3 mg/mL)處理後，細胞所產生的 nitrite 濃度與控制組(正常細胞)相比並無顯著差異，都在 2 uM 以下。但當初浸膏或終浸膏上升至 10 mg/mL 時，nitrite 濃度則顯著上升，初浸膏處理組上升至 3.94 uM，而終浸膏處理組則上升至 3.15 uM，而兩組間無顯著差異。故加入高濃度的初浸膏或終浸膏會活化 RAW 264.7 細胞的免疫機制，使細胞產生少量 NO。

為評估初浸膏或終浸膏抑制由 LPS 誘導所產生 NO 的能力，將細胞以 250 ng/mL 的 LPS 誘導，並同時分別加入不同濃度的初浸膏或終浸膏，共培養 24 小時，再偵測其培養液中 nitrite 的濃度。如圖十二-B 所示，經 LPS 誘導則 nitrite 濃度上升至 12.7 uM，當以初浸膏或終浸膏處理，nitrite 濃度隨加藥濃度上升而減少，故添加

初浸膏或終浸膏確實有抑制 NO 生成的效果。此外，初浸膏或終浸膏抑制 NO 生成能力並無顯著差異。以 0.1 mg/mL 初浸膏或終浸膏處理時，無顯著抑制效果；以 0.33-3.3 mg/mL 初浸膏或終浸膏處理時，抑制效果則呈現劑量依賴性地增加；當藥物濃度升高至 10 mg/mL 時，終浸膏抑制效果比初浸膏好，具顯著性差異。

(四)產物抑制 PGE_2 生成之效果

圖十三-Ａ顯示當 RAW 264.7 細胞只以初浸膏或終浸膏(0.3-10 mg/mL)處理後，細胞會產生微量的 PGE_2。其中以初浸膏組所誘導產生的 PGE_2 量大於終浸膏組的 PGE_2 濃度。而初浸膏所誘導產生的 PGE_2 會隨加藥濃度上升而增加，會由 1.47 ng/mL 上升至 2.55 ng/mL；但終浸膏所誘導產生的 PGE_2 則維持在 0.26-0.82 ng/mL 之間，沒有劑量依賴性。故當加入高濃度(10 mg/mL)的初浸膏會活化 RAW 264.7 細胞的免疫機制，進而使其產生 PGE_2，而終浸膏則無此問題產生.

為評估初浸膏或終浸膏抑制由 LPS 誘導所產生 PGE_2 的能力，將細胞以 250 ng/mL 的 LPS 誘導，並同時分別加入不同濃度的初浸膏或終浸膏，共培養 24 小時後偵測其培養液中 PGE_2 的濃度。如圖十三-Ｂ所示，經 LPS 誘導則 PGE_2 濃度上升至 228.5 ng/mL，當以初浸膏或終浸膏處理，PGE_2 濃度隨加藥濃度上升而減少。以 0.3 mg/mL 濃度處理時，無論是初浸膏或終浸膏，對 PGE_2 的生成無顯著的抑制效果，且兩組間抑制效果無顯著差異；但當以 1、3 或 10 mg/mL 藥物處理時，終浸膏具有較佳的抑制能力，可使 PGE_2 濃度分別下降至 27.7、6.6 與 1.9 ng/mL；而初浸膏處理則只使 PGE_2 分別下降至 100.9、21.9 與 6.3 ng/mL。由以上結果得知終浸膏對於抑制 LPS 所誘導的 PGE_2 的產生具有較佳的效果，故接下來將針對終浸膏進行動物的急毒性試驗，以確保此新制程所產生的產品之生物安全性。

五、急毒性(經口 LD_{50})試驗(Acute toxicity)

參考衛生署健康食品安全性評估規範以 SD 品系的大鼠進行新制程的葛根芩連湯萃取物之口服急毒性試驗。將醇沉後的葛根芩連萃取物以 RO(逆滲透)水配製成每毫升含有 4 g 生藥材萃取物的餵食溶液，每只大鼠灌食體積量為 10 mL/kg body weight，試驗當天依照測量之體重以餵食管經口強迫灌食大鼠 1 次，故最終每只大鼠的投予劑量總計為 40 g 藥材/kg body weight，投予樣品後連續觀察兩周(14 天)，注意試驗動物是否有行動異常、甚至死亡等不良臨床症狀出現。臨床觀察的結果顯示，經過醇沉步驟所得之葛根芩連的終浸膏在 40 g 藥材/kg body weight 的投予劑量下，全部鼠只

皆無中毒症狀或是死亡的情形出現。

(一)血液學變化

經過 14 天的臨床觀察之後，將試驗動物解剖犧牲，觀察內臟的病變情形，另外同時由腹主動脈采血進行血液學及血清生化學檢查。在血液學檢查方面，白血球總數(white blood cell count，WBC)、血紅素(Hemoglobin，HGB)、血球容積比(Hematocrit，HCT)、平均血紅素(mean corpuscular hemoglobin，MCH)、平均血紅素濃度(mean corpuscular hemoglobin concentration，MCHC)、血小板(platelet count，PLT)及淋巴球(lymphocyte，LYM)等數值皆在參考標準範圍內(表五)。而所有試驗動物的紅血球總數(red blood cell count，RBC)都落在 6.6-6.7×10^6/μL 之間，略低於參考標準值(7.07-9.65×10^6/μL)，平均紅血球體積(mean corpuscular volume，MCV)則是介於 61.1-65.4 fL 之間，與參考標準值(48.9-58.3 fL)相比有偏高的情形，但是控制組與測試組兩組之間並無顯著差異，故 RBC 與 MCV 未落在參考標準值內的原因應該不是葛根芩連萃取醇沉物造成的影響，可能是動物本身的個體差異所造成。

(二)肝腎血清酵素值變化

在肝腎血清酵素值的檢測項目上，分別檢測兩項肝指數-天門冬酸轉氨基腖 (aspartate aminotransferase，GOT)和麩氨基酸焦葡萄轉氨基酶 (alanine aminotransferase，GPT)，與兩項腎指數尿素氮 (blood urea nitrogen，BUN)和肌酐酸 (creatinine)，其結果如表六所示。控制組雄鼠 GOT 值為 74.0 ± 12.6 U/L，對照組為 68.8 ± 7.2 U/L；控制組雌鼠 GOT 值為 67.6 ± 3.1 U/L，對照組為 60.6 ± 3.7 U/L。與參考標準值(雄鼠 74-143 U/L，雌鼠 65-203 U/L)進行對照，除了對照組雌鼠的數值略為偏低外，其他試驗動物的 GOT 值皆在正常範圍內。而另一項 GPT 值的雄鼠參考標準值為 18-45 U/L，雌鼠為 16-48 U/L。雄鼠控制組 37.2 ± 4.0 U/L，測試組 35.6 ± 7.5 U/L；雌鼠控制組 24.4 ± 1.5 U/L，測試組 25.8 ± 5.4 U/L，所有試驗動物的 GPT 值都在標準範圍內。顯示在每公斤體重餵食 40 g 生藥材的萃取醇沉物對試驗動物的肝臟功能沒有產生傷害。再比較腎指數 BUN 及 creatinine，測試組雄鼠的 creatinine (0.6 ± 0.1 mg/dL)比參考值(0.2-0.5 mg/dL)略高，但是與控制組(0.5 ± 0.1 mg/dL)相比則無顯著差異；控制和測試兩組雌鼠的 creatinine 分別為 0.6 ± 0.0 和 0.6 ± 0.1 mg/dL，皆在參考值(0.2-0.6 mg/dL)的範圍內。故此試驗所餵食的葛根芩連醇沉所得之終浸膏對試驗動物的腎臟功能也沒有造成傷害。

(三)白血球分類變化

利用血液抹片去觀察試驗動物血液中白血球的分類情形，其結果如表七所示。測試組雄鼠的淋巴球比例為 89.2 ± 4.1%，控制組為 87.6 ± 3.8%，測試組雌鼠的淋巴球比例則為 81.2 ± 3.1%，控制組雌鼠則為 87.2 ± 6.6%，都在參考的標準值內。而正常雄鼠的單核球比率為 0.8-3.8%，雌鼠為 0.8-3.9%，在測試組雄鼠的單核球比例是 2.3 ± 1.5%，控制組是 2.4 ± 1.3%；雌鼠方面，測試組為 1.2 ± 0.4%，控制組是 1.2 ± 0.8%，都在正常範圍內。故試驗動物血液中的白血球比例與種類分佈都正常，證實葛根芩連的醇沉終浸膏並不會使試驗動物白血球或免疫細胞有異常增生的情形發生。

(四)試驗動物 4-7 周之體重變化

圖十四的(A)和(B)圖分別顯示在實驗期間，測試組和控制組試驗動物的體重變化和體重增減百分比。所有試驗動物的體重皆穩定成長，以開始試驗開始(5 周齡)的體重為基準，計算在試驗期間動物們的體重增加率，管喂後一周，測試組的雄鼠體重增加了 34.1 ± 4.6%，控制組則增加了 36.8 ± 5.3%，雌鼠部分，測試組體重增加 21.3 ± 1.2%，控制組 17.3 ± 4.6%，控制組與測試組的雌雄鼠之間並無顯著差異。同樣情形也可以在管喂兩周後被觀察到，測試組的雄鼠體重增加了 71.9 ± 14.0%，控制組則增加了 75.2 ± 7.0%，雌鼠部分，測試組體重增加 41.3 ± 10.9%，控制組 40.5 ± 12.5%，測試組和控制組試驗動物的體重變化無顯著差異。另外，在管喂第二周時，雄鼠在測試組的平均重量為 245.8 ± 20.0g、控制組則為 266.0 ± 10.7g，雌鼠在測試組的平均重量為 195.8 ± 15.1g、控制組則為 194.8±17.3g，故餵食高劑量的葛根芩連湯醇沉所得之終浸膏並不會對試驗大鼠的平均體重或增重百分比產生任何影響。

(五)臟器重量百分比變化

比較對照組與試驗組雄鼠與雌鼠臟器重量的結果如圖十五所示，雄鼠與雌鼠無論是試驗組或是對照組，其臟器相對體重的百分比皆無顯著差異。而重要器官中以肝臟所占重量百分比最高，雄鼠為 3.08-3.19%，雌鼠則為 2.97-3.05%。雄鼠與雌鼠在心臟、胸線、肝臟、腎臟、腎上腺、脾臟的臟器相對體重的百分比上無顯著差異，但在腦部對體重的百分比則是雌鼠(0.94%)大於雄鼠(0.74%)，此差別為性別上的差異，與試驗物質無關。由以上結果得知，葛根芩連湯醇沉所得之終浸膏並不會對試驗大鼠的臟器發

育產生任何影響。

(六)臟器病理檢查

將上述各項重要臟器經取出後進行鏡檢，首先針對肉眼病理觀察(圖十六、十七)，結果顯示對照組及葛根芩連試驗組之腦、心臟、腎臟、腎上腺、脾臟、睪丸及卵巢均無明顯與試驗物質有關之肉眼與組織病理變化。此外，進行組織病理檢查(圖十八、十九)，對照組及葛根芩連試驗組之腦、心臟、腎上腺、脾臟、睪丸及卵巢均無明顯與試驗物質有關之組織病理變化。另外，在觀察腎臟病理切片時發現有局部單核細胞浸潤(focal mononuclear cell infiltration)，對照組雌雄發生率為 0/5 及 1/5，處理組雌雄發生率則為 0/5 及 2/5，對照組與試驗組雌雄鼠間並不具試驗物質與病變發生之正相關性，故屬自發性之非特異性變化，與試驗物質無關。對照組及試驗組雌鼠肝臟出現局部、極微至輕微程度脂肪浸潤病變。試驗組一隻雄鼠出現雙側先天性隱睪之生精小管彌漫性、嚴重萎縮。以上各組間病變程度及發生率並無正相關性，為一非特異性病變，與試驗物質無關。

肆、討論

葛根芩連湯是以葛根、黃芩、黃連及甘草為藥材所製成的複方藥劑，目前為健保給付排名第 85 名的藥方，最常用來治療感冒、腹瀉等症狀。傳統制程上是以水萃醇沉來進行有效成分的提煉，為使制程能夠更精簡以節省成本，並提升有效成分在產品的含量，本計畫先對其水題醇沉的制程過程作最適化的探討，再研究產品的抗菌與抗發炎能力，最後用動物急毒性試驗確保產品的安全性。

首先針對水提(水萃取)進行研究，分別以不同水量(為生藥重 6、12、18 倍的水)與不同萃取時間(0.5、1、1.5、2、2.5 與 3 小時)，共 18 種條件進行萃取，再以 HPLC 定出有效成分含量。若針對個別主要成分去找尋最適化水萃條件，發現結果很難一致，故參考針對複方中藥所衍生的加權分數(依個別藥材在總要量的重量百分比進行計算)，發現 12 倍水與 18 倍水的加權分數皆比 6 倍水高，可能是因為 6 倍水的水量較少，有效成分易在此條件下飽和，進而無法持續提高有效成分含量以及加權分數。針對萃取效率來分析，6 倍水在萃取 2 小時後達飽和，而 12 倍與 18 倍水在萃取 1 小時即達飽和。因在相同萃取時間下，12 倍水與 18 倍水樣品的加權分數想無顯著差異，考慮萃液體積加大會使濃縮時間加長，在接下來的醇沉條件的最適化只選擇以 6 倍水萃取 2 小時或以 12 倍水萃取 1 小時所得的水萃液進行研究。

醇沈是以一定體積的乙醇去除水提取溶液中的水溶性雜質，如醣類或蛋白質等，以提升有效成分在最終產品的含量。而樣品的黏稠度會影響醇沉的效果，一般會先將水萃液濃縮成初浸膏，縮小樣品體積，減少乙醇用量。故在醇沉最適化研究上，針對 3 種初浸膏密度(1.212、1.111、1.057 g/mL)以及 3 種乙醇濃度(50、60 與 70%)作對醇沉液中有效成分含量作探討。結果發現當以最密度的初浸膏進行醇沉，其所得的分數皆為最低，無論在何種乙醇濃度下，推測是因密度過高，乙醇與藥液難以充分混合，導致生成之沉澱物容易包覆藥液，使有效成分損失。另外，在相同密度下，乙醇濃度越高則加權分數越低，可能是因為乙醇的添加使醇沉液的非極性增加，而使有效成分的溶解度下降。經由統計分析的結果以密度 1.111 與 1.057 g/mL 初萃液以 60%乙醇處理或密度 1.057 g/mL 初萃液以 70%乙醇處理所得醇沉液的加權分數相對最高。基於考慮乙醇用量，先將以 70%乙醇處理的條件去除，再來因為初萃液密度越低，表示初萃液體積越大，則乙醇用量將會提升，故最後本計畫所使用的醇沉條件為先將初萃液濃縮，將其密度調整至 1.111 g/mL，在加入乙醇至 60%，最後靜置於 4^{o}C 冰箱 24 小時，再以離心方式去除藥渣，所得上清液去除乙醇後及為終浸膏，終浸膏與玉米澱粉混合、乾燥後則可以得到所需的葛根芩連粉，將之填裝於膠囊中，以

製成所需之葛根芩連膠囊。

葛根芩連湯主要有抗菌與抗發炎的功效，所以將制程中主要的兩種藥液- (1)經水萃、濃縮而得的初浸膏、(2)經水萃醇沉、濃縮而得的終浸膏，進行抗菌及抗發炎反應的比較。在抗菌能力上，針對四株俊進行分析，發現對 *Pseudomonas aeruginosa* 與 *Enterococcus faecalis* 沒有生長抑制作用，對 *Staphylococcus aureus* 有些微的抑制，而 *Salmonella enterica* 有較佳的抑制作用。此外，針對 *Salmonella enterica* 與 *Staphylococcus aureus*，初浸膏比終浸膏具有較抑制效果，可能一些抑菌物質在醇沉時被移除。而在抗發炎效果上，針對由 LPS 誘導所產生的 NO 生成抑制，初浸膏與終浸膏抑制效果無顯著差異，但針對由 LPS 誘導所產生的 PGE_2 生成抑制，則是終浸膏的抑制效果較佳。

為確定以新的水萃醇沉所得之葛根芩連湯的終浸膏的生物安全性，進行 2 周的急毒性測試，以回推為 40g 生藥材重/kg body weight 的劑量管喂大鼠，連續觀察 2 周後犧牲，進行相關的血液、臟器、組織等檢查。結果顯示，對照組及葛根芩連試驗組之腦、心臟、腎上腺、腎臟、肝臟、脾臟、胸線、睪丸及卵巢、腸道均無明顯肉眼與組織病理變化。與對照組相比，試驗組的血液學及血清生化學檢查皆無顯著差異；其肝腎血清酵素值也無無顯著差異，故終浸膏不會對大鼠的肝、腎臟功能產生傷害；也不會對試驗大鼠的平均體重、增重百分比或臟器重量百分比產生任何影響，故本制程所產生的葛根芩連湯的終浸膏經一次餵食觀察 16 天后，對雌雄大鼠各重要臟器並未造成器官毒性反應相關之病理變化。

伍、結論與建議

本計畫研究出的葛根芩連膠囊的最適化制程為以 6 倍水萃取 2 小時，再將萃液濃縮至密度 1.111 g/mL，製成初浸膏，再以 60%乙醇進行醇沉，於 4^{o}C 放置 24 小時，以烘乾方式去除酒精，製成終浸膏。終浸膏再與玉米澱粉混合、乾燥，以製成葛根芩連粉，包裝至膠囊中及成為最終產品葛根芩連膠囊。由抗菌與抗發炎反應的結果顯示，無論初浸膏或終浸膏皆有抑制 *Salmonella enterica* 與 *Staphylococcus aureus* 的生長功效。而在抑制發炎反應上，終浸膏的抑制 PGE_2 生成藥果較佳，故以水萃醇沉的方式製備葛根芩連藥粉，可以有效降低藥材體積，使產品精緻化而可以填充於膠囊中進行販賣。另外，其抑制發炎效果提升，且急毒性試驗並無毒性產生，是一個具有潛力開發的產品，可將中藥推向國際化。

未來研究上，建議針對葛根芩連膠囊的安全性作更徹底的研究，可以包含致突變性、28 天的亞急毒性試驗或 90 天的毒性試驗，以確保新制程所產出的產品的生物安全性。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-055 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Ahn MY, Ryu KS, Jee SD, Kim I, Kim JW, Kim YS, Kim HS, Kim IS, Kang SC, Koo HJ, Park YA, Choi SM, Yoo EJ, Kwack SJ, Yoo SD, Lee BM. Genotoxicity evaluation of Isaria sinclairii (ISE) extract. *J Toxicol Environ Health A*. 2004. 67(23-24): 2037-2044.
2. Cabrales P, Tsai A, Intaglietta M. Nitric oxide regulation of microvascular oxygen exchange during hypoxia and hyperoxia. *J Appl Physiol*. 2006. 100(4): 1181-1187.
3. Chung CP, Park JB, Bae KH. Pharmacological effects ofmethanolic extract from the root of Scutellaria baicalensis and its flavonoids Onhu2 mangingival fibroblast. PlantaMed. 1995. 6l(2): 150-153.
4. Gao Z, Huang K, Yang X, Xu H. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. 1999. 1472(3): 643-650.
5. Kumagai T, Müller C I., Desmond J C., Imai Y, Heber D and Koeffler H. P. *Scutellaria baicalensis*, a herbal medicine: Anti-proliferative and apoptotic activity against acute lymphocytic leukemia, lymphoma and myeloma cell lines. Leukemia Research. 2007. 31(4): 523-530.
6. Kuo CL, Chi CW, Liu TY. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and i*n vivo*. Cancer Letters. 2004. 203(2): 127-137.
7. Kuo LC, Chou CC, Yung Y.-M. B. Berberine complexes with DNA in the berberine-induced apoptosis in human leukemic HL-60 cells. Cancer Letters. 1995. 93(2): 193-200.
8. Lee CH, Chen JC, Hsiang CY, Wu SL, Wu HC, Ho TY. Berberine suppresses inflammatory agents-induced interleukin-1β and tumor necrosis factor-α productions via the inhibition of IκB degradation in human lung cells. Pharmacological Research. 2007. (56): 193-201.
9. Lee JS. Supplementation of Pueraria radix water extract on changes of antioxidant enzymes and lipid profile in ethanol-treated rats. Clinica Chimica Acta. 2004. 347(1-2): 121-128.
10. Li BQ, Fu T, Gong WH, Dunlop N, Kung Hf, Yan Y, Kang J, Wang JM. The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines. Immunopharmacology. 2000. 49: 295-306.

11. Lin YJ, Hou YC, Lin CH, Hsu YA, Sheu J. J.C., Lai CH, Chen BH, Lee Chao PD, Wan L, Tsai FJ. *Puerariae radix* isoflavones and their metabolites inhibit growth and induce apoptosis in breast cancer cells. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2009. 378(4): 683-688.
12. Shen YC, Chiou WF, Chou YC, Chen CF. Mechanisms in mediating the anti-inflammatory effects of baicalin and baicalein in human leukocytes. European Journal of Pharmacology. 2003. 465: 171-181.
13. Tanaka Y, Kikuzaki H, Fukuda S, Nakatani N. Antibacterial compounds of licorice against upper airway respiratory tract pathogens. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 2001. 47: 270-273.
14. Tsai CC, Lin MT, Wang JJ, Liao JF, Huang WT. The antipyretic effects of baicalin in lipopolysaccharide-evoked fever in rabbits. Neuropharmacology. 2006. 51(4): 709-717.
15. Wang X, Wu J, Chiba H, Yamada K, Ishimi Y. *Puerariae radix* prevents bone loss in castrated male mice. Metabolism. 2005. 54(11): 1536-1541.
16. Wang X, Yao X, Zhu Z, Tang T, Dai K, Sadovskaya I, Flahaut S, Jabbouri S. Effect of berberine on *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. International Journal of Antimicrobial Agents. 2009. 34(1): 60-66.
17. Yan D, Jin C, Xiao XH, Dong XP. Antimicrobial properties of berberines alkaloids in *Coptis chinensis* Franch by microcalorimetry. Journal of Biochemical and Biophysical Methods. 2008. 70(6): 845-849.
18. Zhao Y, Li H, Gao Z, Gong Y, Xu H. Effects of flavonoids extracted from *Scutellaria baicalensis* Georgi on hemin–nitrite–H2O2 induced liver injury. European Journal of Pharmacology. 2006. 536(1-2): 192-199.
19. 丁水準、方建國、曾虹霞。肝炎平膠囊水提醇沉工藝研究。醫藥導報。2004，23 (11): 801-804.
20. 尹華熙、白筱璐、鄧文龍。黃芩的解熱作用研究。中藥藥理與臨床。2007，23: 51-53。
21. 文敏、李雪、付守廷。黃芩　苷藥理作用研究新進展。瀋陽醫科大學學報。2008，25(2): 158-162。
22. 王小龍。高效液相色譜法測定葛根芩連片中黃芩苷的含量。時珍國醫國藥。2004，15: 197。
23. 王文勝、柴錫慶、王英傑、韓梅、溫進坤。β-澱粉樣蛋白激發大鼠海馬炎性反應及葛根素對其的抑制作用。中國全科醫學。2009，12(3B):

461-464。

24. 王立。經典方劑葛根芩連湯研究現狀。黑龍江醫藥。 2009，22(2): 172-173。
25. 王孝先。黃芩湯、白頭翁湯、葛根芩連湯對腸道菌株抑菌作用的實驗觀察。中國中醫基礎醫學雜誌。2007，7(1): 42-44。
26. 王薇。葛根總黃酮提取純化工藝研究。陝西中醫學學報。2007，30(6): 53-54。
27. 王豔春、張忠豔、姜小卓。中藥黃芩的藥理及應用。中外醫療。2009，13: 158。
28. 白東義、佟春玲、韓慧、巴音吉日嘎拉。葛根素的藥理作用及其臨床應用研究發展。江蘇中醫藥。2009，41(3): 76-78。
29. 朱智彤、姚智、李會強、婁建石、盧奕。葛根素對乳鼠心肌細胞缺氧-複氧時脂質過氧化損傷的保護作用。中草藥。2002，33(4): 343-346。
30. 吳曉寧。中藥浸膏裝硬膠囊劑的常見問題及解決方法。浙江中醫學院學報。2004，28(3): 64-66。
31. 李延華、王芳、李靜霞。甘草藥理活性的研究。中國實用醫藥。2009，4(7): 232-233。
32. 李倩楠、葛曉群。黃芩苷及黃芩複方製劑解熱機制研究進展。國際藥學研究雜誌。2008，35(5): 342-345，363。
33. 李敬、 劉雲海、陳新、丁小佳、伍三蘭、 謝委。黃芩中黃芩苷的抗內毒素作用。醫藥導報 。2006，25: 1237-1240。
34. 李鍵。葛根總黃酮的研究進展。安徽醫藥。2008，12(12): 1117-1118。
35. 肖瓊、沈平娘。中藥醇沉工藝的關鍵影響因素。中成藥。2005，27: 143-144。
36. 宛立平。甘草功效淺談。安徽醫藥。2000，4(1): 34。
37. 延衛東、王瑞君、何琰、楊養賢。黃芩　苷藥理作用研究進展。陝西中醫。2002，23(12): 1127-1129。
38. 邵立珠。葛根素對大鼠體溫調節作用之研究。中國醫藥大學碩士論文。2000。
39. 金建玲、張輝、劉波、田曉、高培基。射干水煎液的致突變性檢驗及Ames 測驗的改進。中醫藥學報。2009，37: 12-16。
40. 茅彩萍、顧振綸。葛根素對糖尿病大鼠主動脈糖基化終產物的形成及其受體表達的的影響。中國藥理學通報。2004，20(4): 393。
41. 唐國勝。中藥硬膠囊劑的製備。時珍國藥研究。1998，9(3): 266。

42. 夏中偉、李應超。葛根芩連湯與部分抗生素的抗菌活性及配伍影響。寧波醫學。1995，7: 113。
43. 孫月霞、吳淑娥。初膏濃度對醇沉效果的影響。基層中藥雜誌。2006，14: 36。
44. 孫琦、湯仁仙、範興麗、孫愛華。葛根素對炎症反應綜合症大鼠的治療作用。中華急診醫學雜誌。2008，17(2): 158-161。
45. 耿俊英、任天池。腹瀉治療各方系列(二):葛根黃芩黃連湯。家醫醫藥。2006，p21。
46. 袁藝、賈玉梅;、包麗昕。HPLC 法同時測定葛根芩連片中鹽酸小檗鹼和黃芩苷的含量。中國傷殘醫學。2007，15: 25-27。
47. 婁海燕、魏欣冰、王汝霞、張岫美。葛根素對大鼠局部性腦缺血再灌注損傷後炎症反應的抑制作用。中國病理生理雜誌。2007，23(2): 366-369。
48. 張兆旺、孫秀梅。中藥水提醇沉澱法應用中注意的問題。山東中醫學院學報。 1995，19 (6) : 421.
49. 張長強、梁廣新。葛根黃芩黃連湯治泄瀉下痢的臨床驗證。河南中醫。2002，22: 4-5。
50. 張建春、張華、施瑛、胡浩。黃芩 苷的研究近況。時珍國醫國藥。2005, 16 (3) : 247-249。
51. 張翠玲。甘草酸藥理作用及臨床應用。社區醫學雜誌。2008，6(20): 13-14。
52. 陳建真、陳建明。葛根降糖膠囊水提醇沉工藝的研究。世界科學技術-中醫藥現代化。2006，8: 46-49。
53. 陸健。用 HPLC 法測定降糖顆粒中葛根素的含量。藥學服務與研究。2007，7: 411-412。
54. 彭少君。葛根素抗衰老作用實驗研究。山東醫藥。2009，49(20): 45-46。
55. 黃永剛、顧旭霞。HPLC 法同時測定清熱解毒片中黃芩苷和連翹苷含量。中國藥師。2009，12: 771-773。
56. 楊永紅、韋建榮、李崇興。葛根研究發展。中獸醫醫藥雜誌。2008，27(3):71-74。
57. 雷鵬,劉韶,李新中,肖菁。葛根芩連湯飲片湯劑、配方顆粒湯劑中黃芩苷含量比較。中國醫院藥學雜誌。2005，25(11): 1008-1010。
58. 蒲顯強。中藥硬膠囊劑品質變化原因及其對策。時珍國醫國藥。2001，12(10): 894。
59. 趙素珍、宋衛雲。高效液相色譜法測定清熱止瀉合劑中葛根素的含量。

中國醫藥導報。2007，10: 87-88。

60. 趙鐵華、楊鶴松、鄧淑華。黃芩莖葉總黃酮解熱作用的實驗研究。中國中醫藥科技。2001， 8(3): 174-175。
61. 劉明、高月、肖瑞、張伯禮。中藥組方原則“君臣佐使”的模糊數學量化描述。藥學學報。2009，44: 38-41。
62. 蔡寶昌、羅興洪主編。中藥製劑前處理新技術與新設備。北京、中國醫藥科技出版社。2005， p264。
63. 應如海、王明根、呂錦芳、甯康健。 黃芩水提醇沉液對家兔動脈血壓及心率的影響。中國中醫藥科技。2007。14: 265-266。
64. 謝恬、孫敏。中國傳統中藥的現代化研究進展。健康研究。2009，29: 64-66。
65. 譚曉梅、吳豔萍、吳昭暉。葛根芩連微丸中黃芩 苷和小檗鹼的含量及其溶出度測定。中藥材。2006，29: 195-196。
66. 譚曉梅、陳育堯、羅佳波、張鳳民、郭彩玲。葛根芩連微丸抗菌及抗呼吸道病毒作用的研究。中藥藥理與臨床。2000，16(3): 10-11。
67. 龔湛文。葛根芩連湯抗病毒有效物質基礎研究。北京中醫醫藥大學。2003，p1。
68. 吳昭暉、奚林明、戴開金、羅佳波、譚曉梅。配伍對葛根芩連湯中小檗鹼含量的影響。中草藥。2004，35: 33-35。
69. 戴開金、羅佳波、吳昭暉、譚曉梅、任建生。配伍 对葛根芩连汤中甘草酸含量的影响。中草藥。2003，34: 1084-1087。

柒、圖、表

表一、四種成分回歸方程式、線性範圍與相關係數。

Table 1. The regression equations, calibration range and correlation coefficients of four constituents of Ge-Gen-Qin-Lian decoction.

Constituents	Regression equations	Conc. Range (μg/mL)	R^2
Puerarin	Y = 57408X + 959138	100-1200	0.999
Baicalin Hydrate	Y= 49105X + 205559	25-600	1.000
Glycyrrhizic Acid	Y = 6679X + 862	25-200	0.998
Berberine Hydrochloride	Y= 85972X - 106206	1-60	0.996

表二、18 種葛根芩連的水萃液中四種有效成份的總量(μg)。

Table 2. The total amount (μg) of four effective constituents in 18 different water extracts of Gegen Qinlian decoction.

	Extraction time (h)					
6 folds of water	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Puerarin	39222 ± 3647[#]	49968 ± 1321	59708 ± 1859	60956 ± 15425	57028 ± 4264	63624 ± 6896
Baicalin	28236 ± 13749	32095 ± 7632	31048 ± 10633	50932 ± 17583	42092 ± 3685	45402 ± 3543
Glycyrrhizic acid	15179 ± 1509	10690 ± 734	11057 ± 2912	9850 ± 1694	17087 ± 3754	13429 ± 4222
Berberine	2872 ± 935	3284 ± 1197	3802 ± 969	6001 ± 596	3757 ± 709	3493 ± 165
12 folds of water						
Puerarin	49756 ± 7476	72819 ± 8086	66935 ± 3722	72622 ± 7997	84060 ± 3609	86700 ± 17708
Baicalin	21054 ± 6881	46385 ± 18171	25574 ± 1503	42456 ± 6119	47428 ± 18840	64644 ± 25006
Glycyrrhizic acid	14039 ± 1126	19210 ± 986	20646 ± 10180	24254 ± 8031	24855 ± 8280	20106 ± 1371
Berberine	3600 ± 849	4745 ± 1474	5087 ± 1428	5695 ± 1624	6092 ± 1016	7143 ± 673
18 folds of water						
Puerarin	41345 ± 9809	64707 ± 17391	70260 ± 7784	75623 ± 434	76275 ± 1925	80199 ± 8341
Baicalin	25225 ± 30923	29992 ± 21277	68402 ± 6689	56472 ± 3905	39695 ± 17014	74510 ± 7267
Glycyrrhizic acid	20275 ± 899	20103 ± 1811	27189 ± 6665	26753 ± 2073	29278 ± 1552	30805 ± 1466
Berberine	3531 ± 1596	6133 ± 1671	4344 ± 363	4769 ± 195	7483 ± 3980	4435 ± 210

Data is presented as mean±SD.

表三、葛根芩連的初浸膏及終浸膏對四株菌的抑菌圈結果。

Table 3. Inhibitory zone of Gegen Qinlian primary and final decoction on for four bacteria.

		Diameter of inhibitory zone (mm)	
		primary decoction	final decoction
Gram-positive	*Enterococcus faecalis*	— [a]	—
	Staphylococcus aureus	13.90±0.42	11.63±0.18
Gram-negative	*Salmonella enterica*	15.30±0.28	14.9±0.42
	Pseudomonas aeruginosa	—	0.71±0.03

[a] had no ability of inhibiting the growth of bacteria

表四、葛根芩連的初浸膏及終浸膏對四株菌的最小抑菌濃度及最小殺菌濃度。

Table 4. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bacteria concentration (MBC) of Gegen Qinlian primary and final decoction for four bacteria.

		Gram-postive		Gram-negative	
		Enterococcus faecalis	*Staphylococcus aureus*	*Salmonella enterica*	*Pseudomonas aeruginosa*
MIC (g/mL)	primary decoction	>1.087	0.272	0.068	>1.087
	final decoction	>1.111	0.556	0.139	>1.111
MBC (g/mL)	primary decoction	>1.087	0.544	0.136	>1.087
	final decoction	>1.111	1.111	0.278	>1.111

表五、葛根芩連湯口服急毒性試驗之大鼠血液學變化。

Table 5. Changes in hematological parameters of rats after orally administered by gaving with Gegen Qinlian decoction in the acute oral toxicity test

Dose (g/kg)	WBC (10^3/μL)	RBC (10^6/μL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	PLT (10^3/μL)	LYM (%)	LYM (10^3/μL)
Male										
Control	10.0 ± 2.1	6.6 ± 0.4	13.8 ± 0.3	43.1 ± 2.5	65.4 ± 0.5	21.0 ± 0.8	32.2 ± 1.2	1213.2 ± 497.1	86.2 ± 6.6	8.7 ± 2.3
40	7.6 ± 2.4	6.7 ± 0.3	13.2 ± 0.3	42.6 ± 0.9	63.5 ± 2.1	19.7 ± 0.9	31.1 ± 0.5	1283.6 ± 150.1	86.8 ± 4.1	6.6 ± 2.2
Reference	1.96-8.25	7.27-9.65	13.7-17.6	39.6-52.5	48.9-57.9	17.1-20.4	32.9-37.5	638-1177	66.6-90.3	1.41-7.11
Female										
Control	6.0 ± 1.7	6.7 ± 0.3	13.5 ± 0.6	40.8 ± 1.9	61.1 ± 0.3	20.2 ± 0.3	33.1 ± 0.5	1292.4 ± 229.6	85.1 ± 3.8	5.1 ± 1.5
40	5.4 ± 1.6	6.7 ± 0.3	13.5 ± 0.4	41.3 ± 1.3	61.3 ± 1.9	20.1 ± 0.8	32.8 ± 0.3	883.4 ± 591.3	83.0 ± 4.3	4.5 ± 1.5
Reference	1.13-7.49	7.07-9.03	13.7-16.8	37.9-49.9	49.9-58.3	17.8-20.9	33.2-37.9	680-1200	62.2-90	0.82-5.66

WBC: white blood cell; RBC: red blood cell; HGB: hemoglobin; HCT: hematocrit; MCV: the average volume of a single; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: the number of grams of hemoglobin per unit volume; PLT: platelet count; and LYM: lymphocyte. n=10/group.

表六、葛根芩連湯口服急毒性試驗之大鼠血清肝及腎臟指數變化。

Table 6. Serum biochemistry changes in liver and renal function of rats after orally administered by gavage with Gegen Qinlian decoction in the acute oral toxicity test

Dose (g/kg)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)
Male				
Control	68.8 ± 7.2	37.2 ± 4.0	11.4 ± 2.2	0.5 ± 0.1
40	74.0 ± 12.6	35.6 ± 7.5	11.8 ± 1.3	0.6 ± 0.1
Reference	74-143	18-45	12.3-24.6	0.2-0.5
Female				
Control	67.6 ± 3.1	24.4 ± 1.5	12.0 ± 2.0	0.6 ± 0.0
40	60.6 ± 3.7	25.8 ± 5.4	12.2 ± 1.9	0.6 ± 0.1
Reference	65-203	16-48	13.2-27.1	0.2-0.6

GOT: glutamate oxaloacetate transaminase; GPT: glutamate oxaloacetate transaminase; BUN: blood urea nitrogen. n=10/group.

表七、葛根芩連湯口服急毒性試驗之大鼠白血球分類變化。

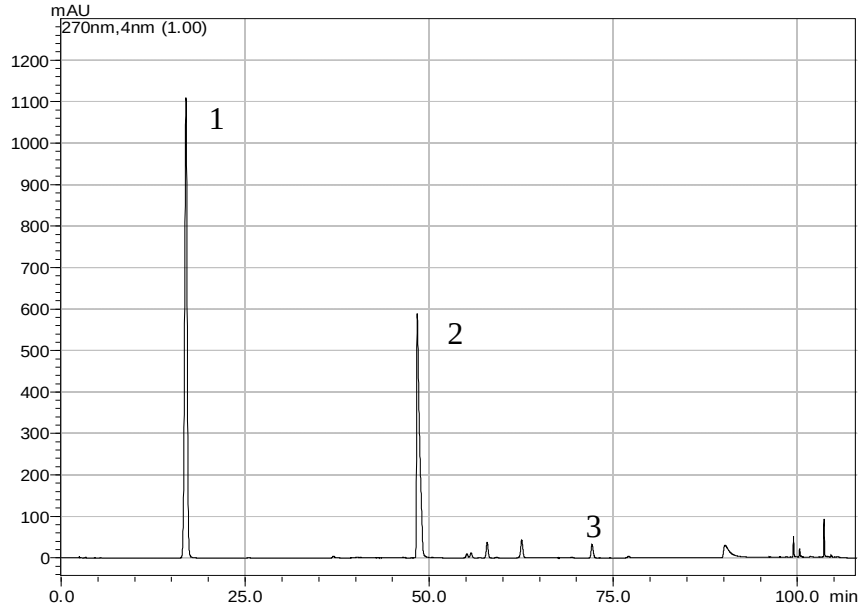
Table 7.Changes in white blood cells of rats after orally administered by giving with Gegen Qinlian decoction in the acute oral toxicity test

Dose (g/kg)	WBC (10^3/μL)	Lymph (%)	Neutrophil (%)		Monocyte (%)	Eosinophil (%)	Basophil (%)
			Band	Segment			
Male							
Control	10.0 ± 2.1	87.6 ± 3.8	0.0 ± 0.0	9.8 ± 3.4	2.4 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
40	7.6 ± 2.4	89.2 ± 4.1	0.0 ± 0.0	9.2 ± 2.9	2.3 ± 1.5	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.0
Reference	1.96-8.25	66.6-90.3		6.2-26.7	0.8-3.8	0.2-3.5	0.0-0.8
Female							
Control	6.0 ± 1.7	87.2 ± 6.6	0.0 ± 0.0	11.4 ± 6.1	1.2 ± 0.8	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4
40	5.4 ± 1.6	81.2 ± 3.1	0.4 ± 0.9	16.4 ± 3.4	1.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.5
Reference	1.13-7.49	62.2-90.0		7.1-33.2	0.8-3.9	0.5-4.5	0.0-0.8

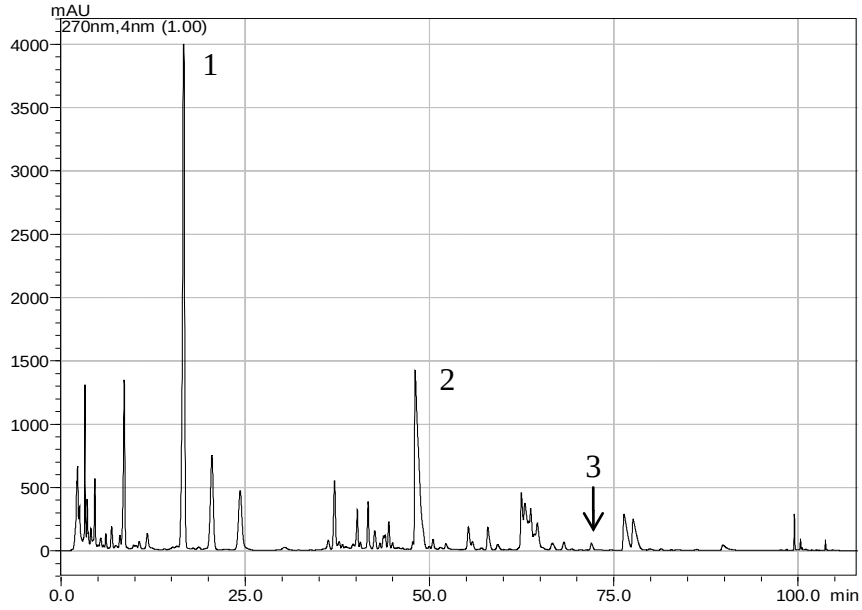
WBC: white blood cell.

n=10/group

(A)



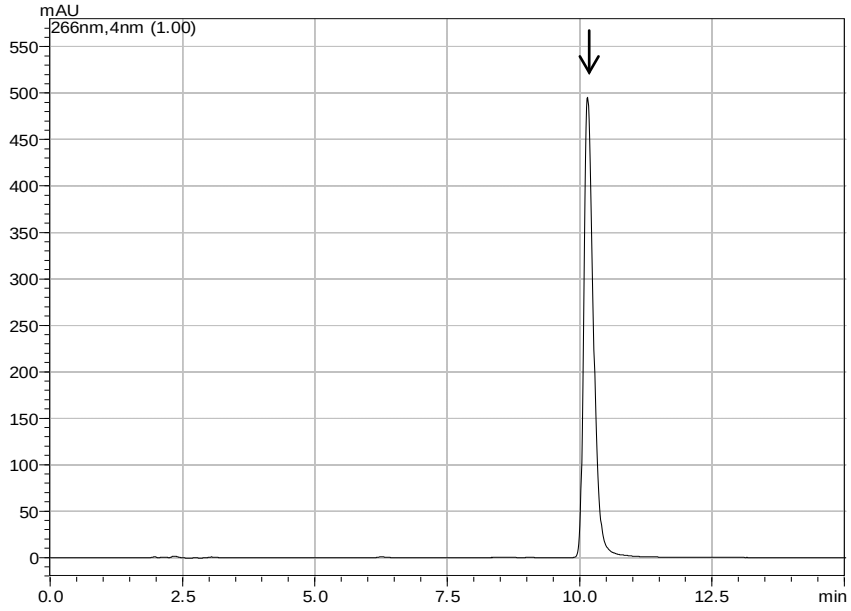
(B)



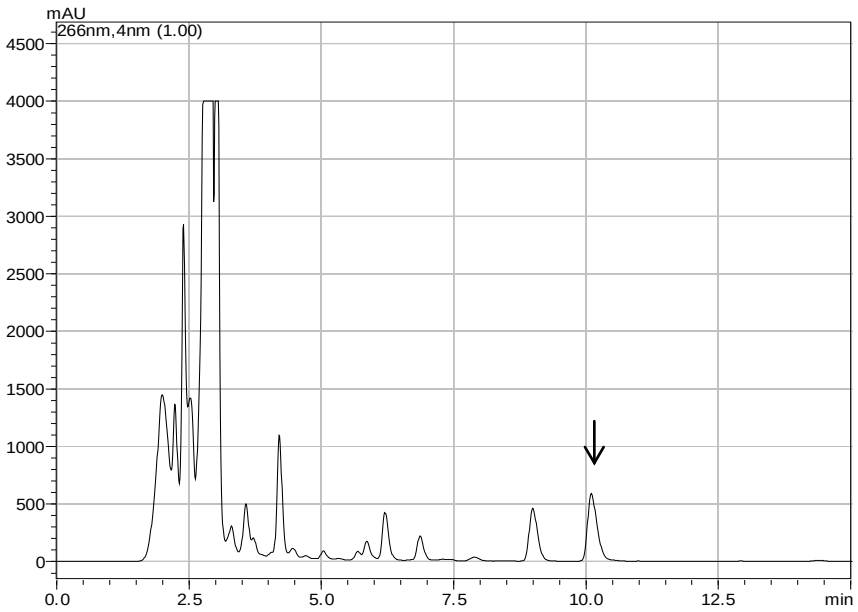
圖一、葛根素、黃芩苷和甘草酸的HPLC 分析圖譜。(A)標準品，(B)葛根芩連水萃液。Peak 1、2 及 3 分別代表葛根素、黃芩苷和甘草酸。

Figure 1. HPLC chromatogram of puerarin, baicalin and glycyrrhizic acid. (A) standards, (B) water extract of Gegen Qinlian decoction. Peak 1, 2 and 3 are represented as puerarin, baicalin, and glycyrrhizic acid, respectively.

(A)

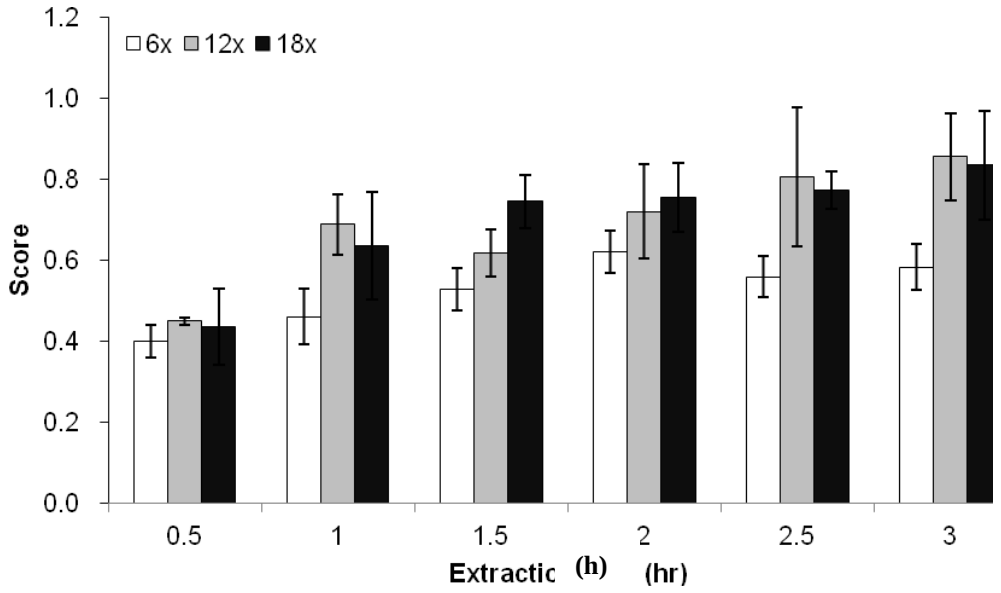


(B)



圖二、小檗鹼的 HPLC 分析圖譜。(A)標準品，(B)葛根芩連水萃液。箭頭指示小檗鹼。

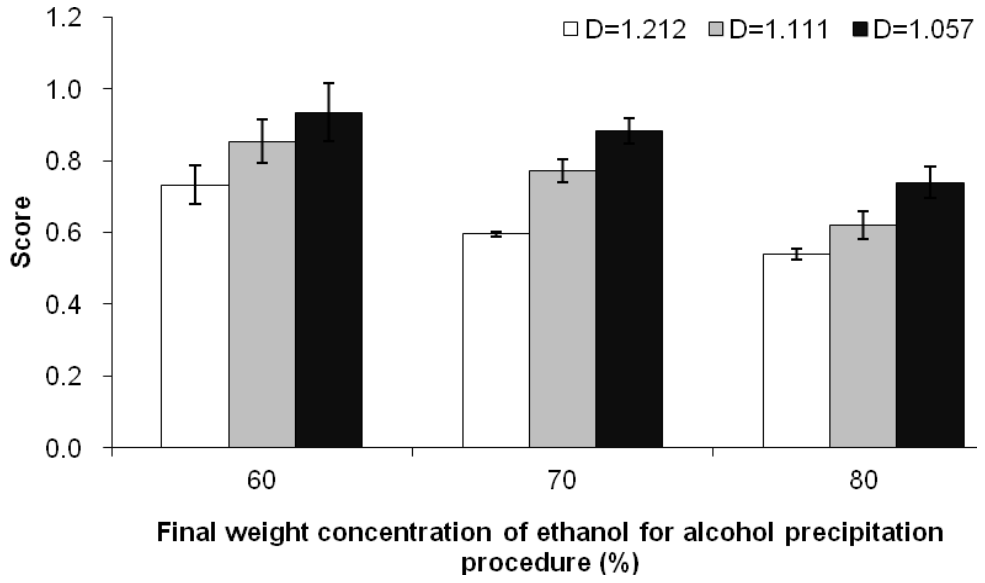
Figure 2. HPLC chromatogram of berberine. (A) standards, (B) water extract of Gegen Qinlian decoction. The arrow indicates the peak of berberine.



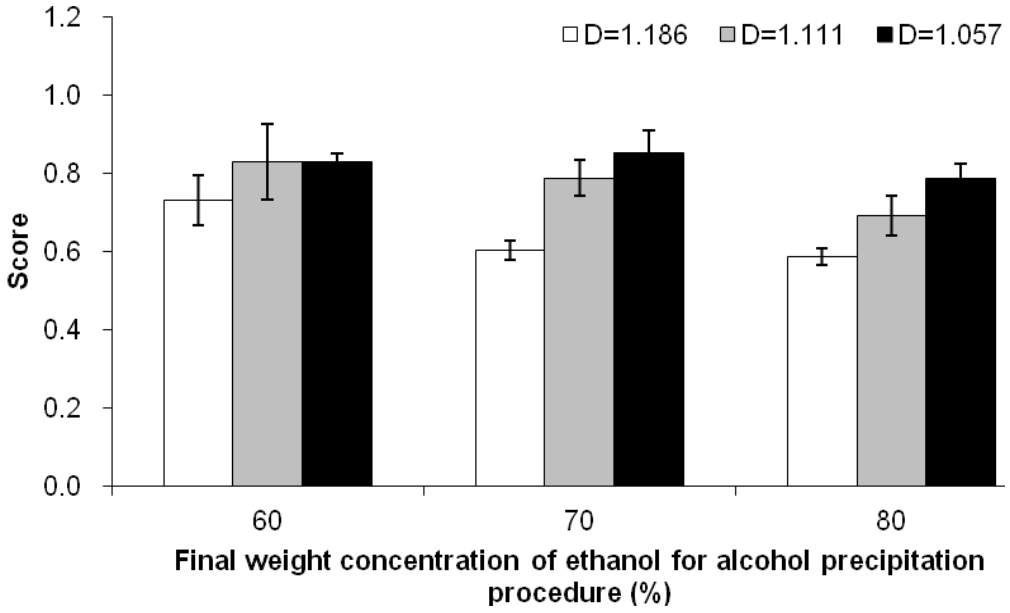
圖三、萃取時間與萃取水量對葛根芩連水萃液的加權分數的影響。

Figure 3. Effects of extraction times and the amounts of water on the multi-index scores of the extract solution.

(A)



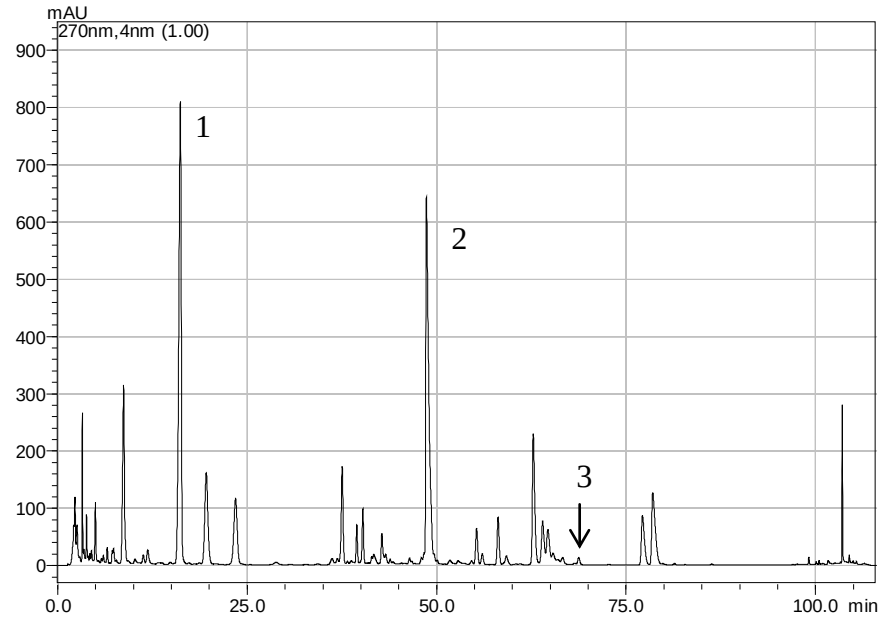
(B)



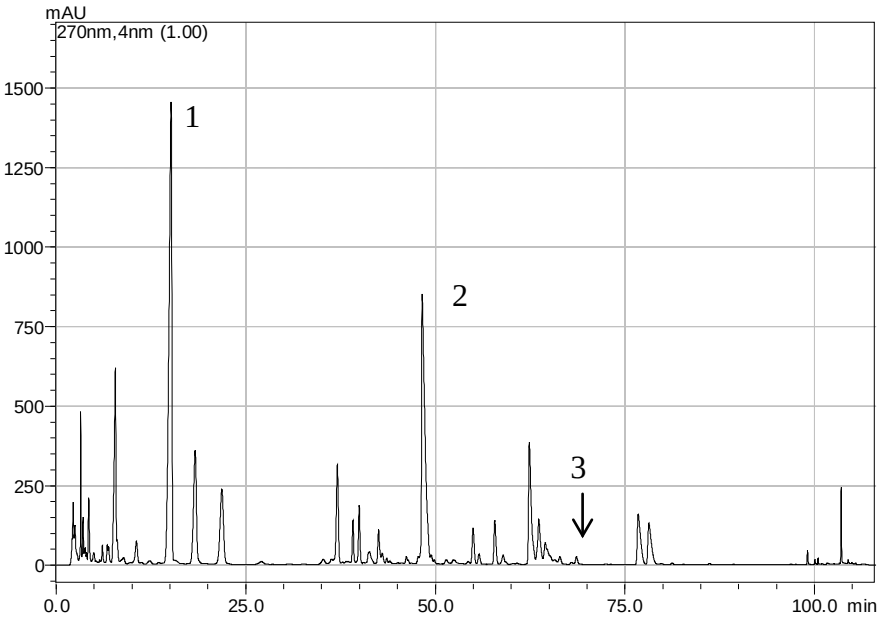
圖四、初浸膏的密度與醇沉液中酒精含量對葛根芩連醇沉液加權分數的影響。(A)以 6 倍水萃取 2 小時所得之初浸膏，(B)以 12 倍水水萃取 1 小時所得之初浸膏。

Figure 4. Effects of the density of primary decoction and the ethanol concentration on the multi-index score of the extract after alcohol precipitation. (A) the primary decoction was from the use of 6 folds water with 2 h-extraction, (B) the primary decoction was from the use of 12 folds water with 1 h-extraction.

(A)

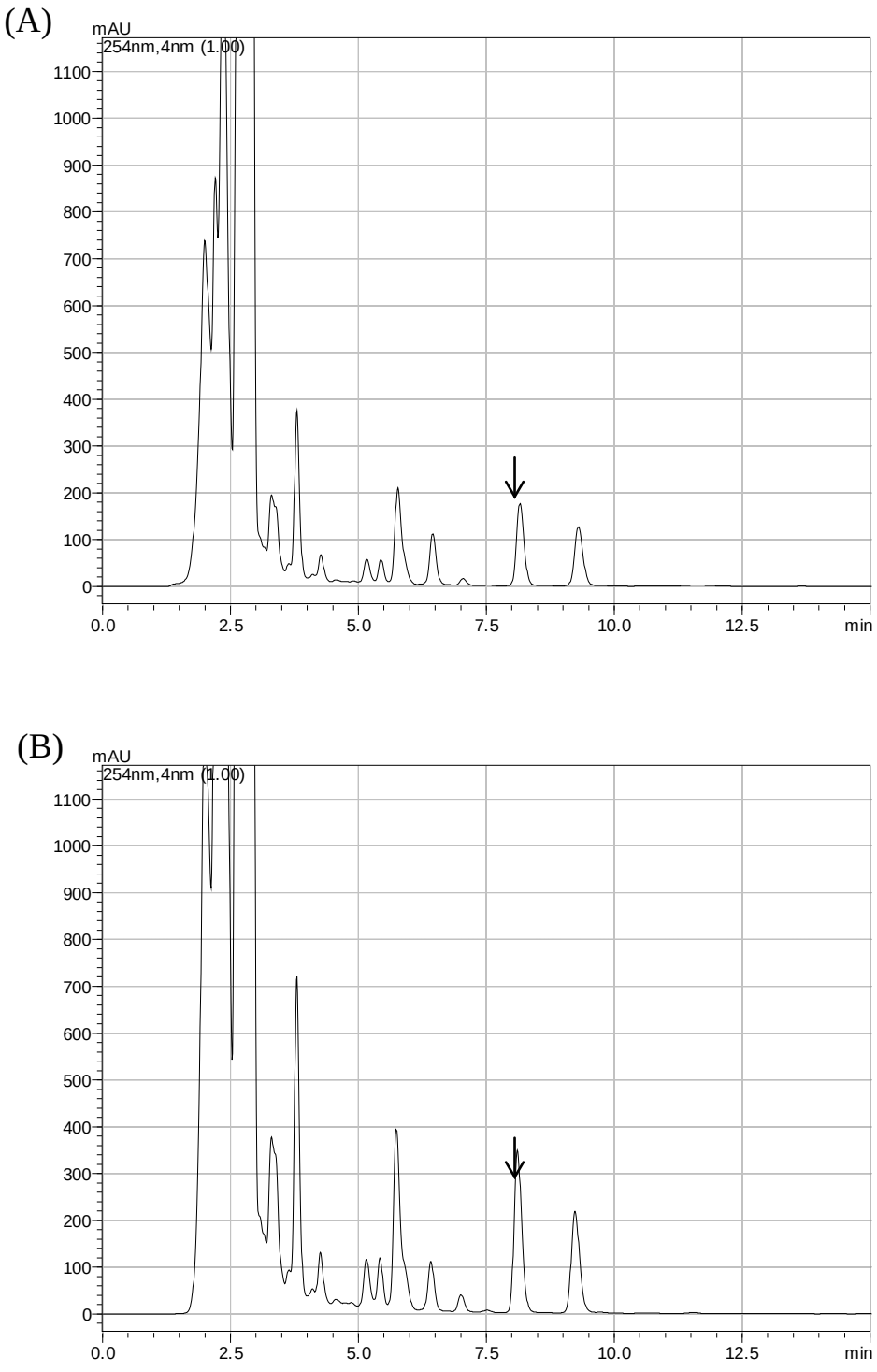


(B)



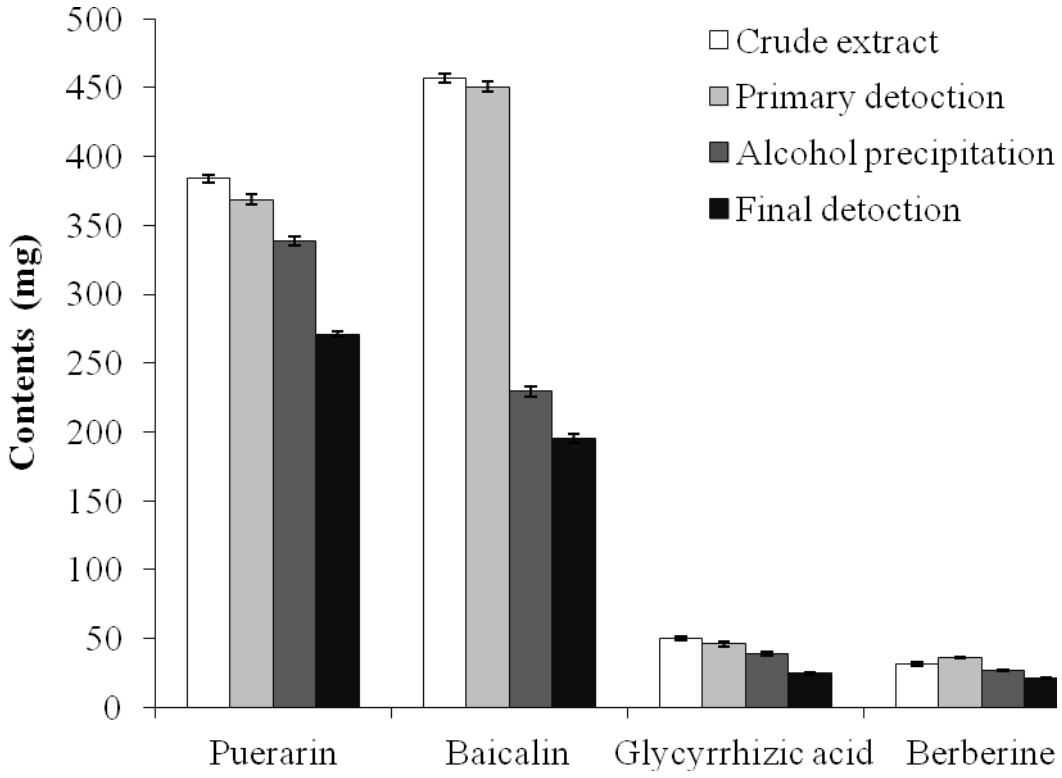
圖五、葛根素、黃芩苷和甘草酸的HPLC 分析圖譜。(A)初浸膏，(B)終浸膏。Peak 1、2 及 3 分別代表葛根素、黃芩苷和甘草酸。

Figure 5. HPLC chromatogram of puerarin, baicalin and glycyrrhizic acid. (A) Primary decoction, (B) Final decoction. Peak 1, 2 and 3 are represented as puerarin, baicalin, and glycyrrhizic acid, respectively.



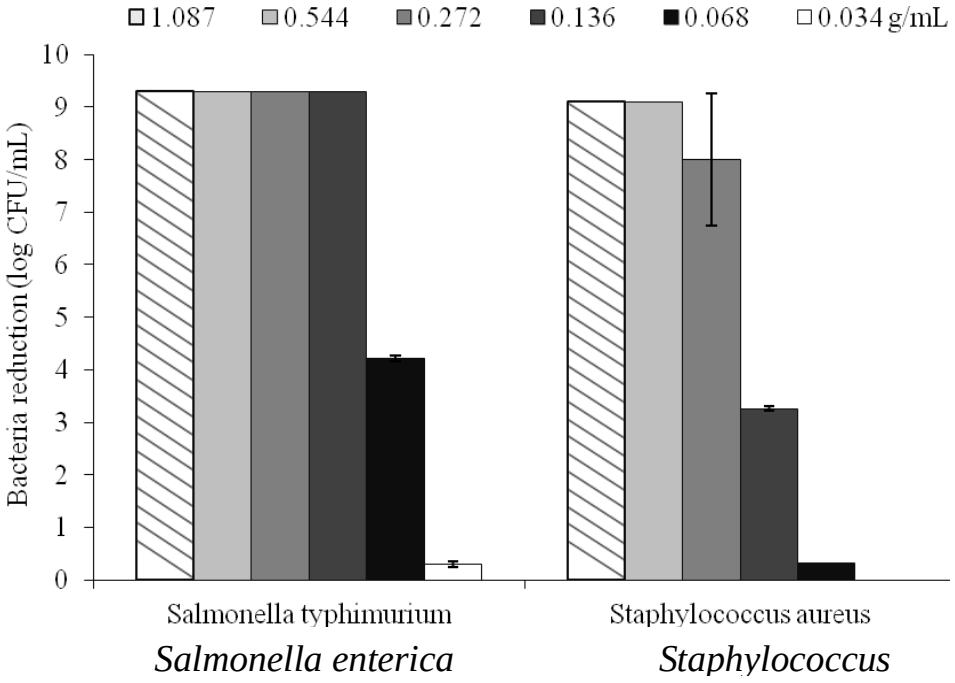
圖六、小檗鹼的 HPLC 分析圖譜。(A)初浸膏，(B)終浸膏。箭頭指示小檗鹼。

Figure 6. HPLC chromatogram of berberine. (A) Primary decoction, (B) Final decoction. The arrow indicates the peak of berberine.



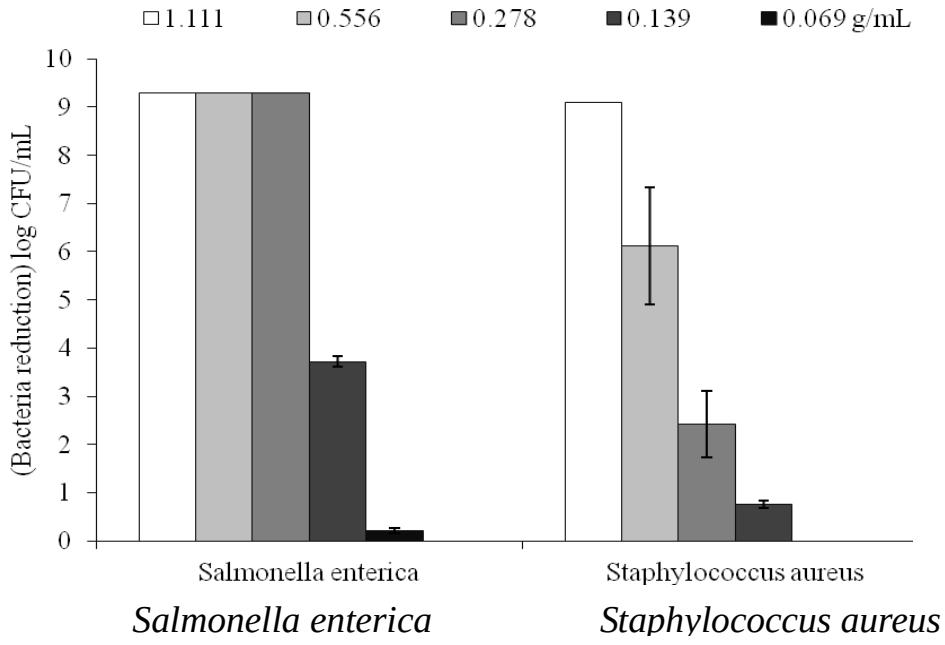
圖七、葛根芩連在各製備階段中的有效成分含量。

Figure 7. The contents of major compound in Gegen Qinlian at different processes.



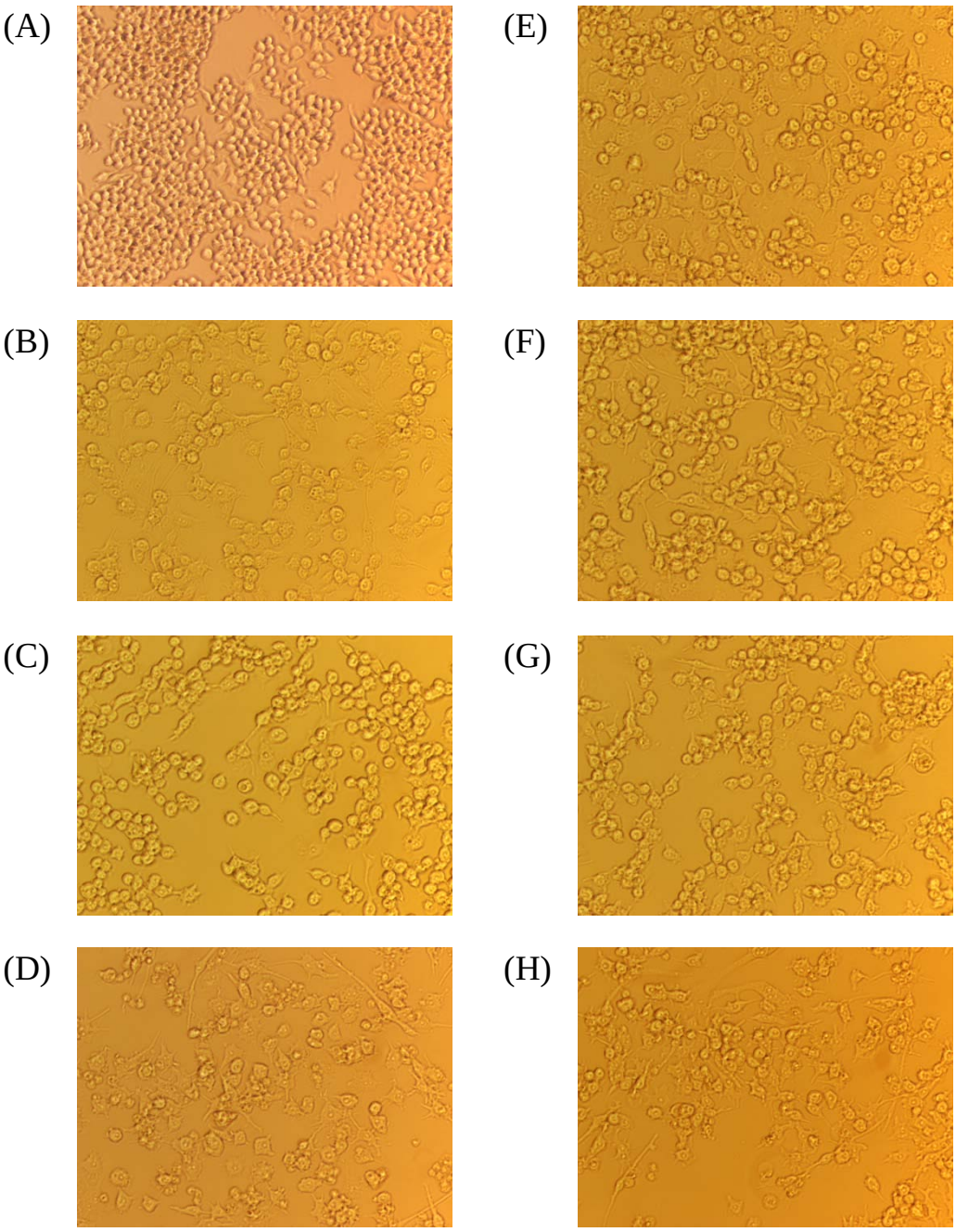
圖八、初浸膏的抑菌能力。

Figure 8. The antibacterial ability of Gegen Qinlian primary decoction



圖九、終浸膏的抑菌能力。

Figure 9. The antibacterial ability of Gegen Qinlian final decoction.

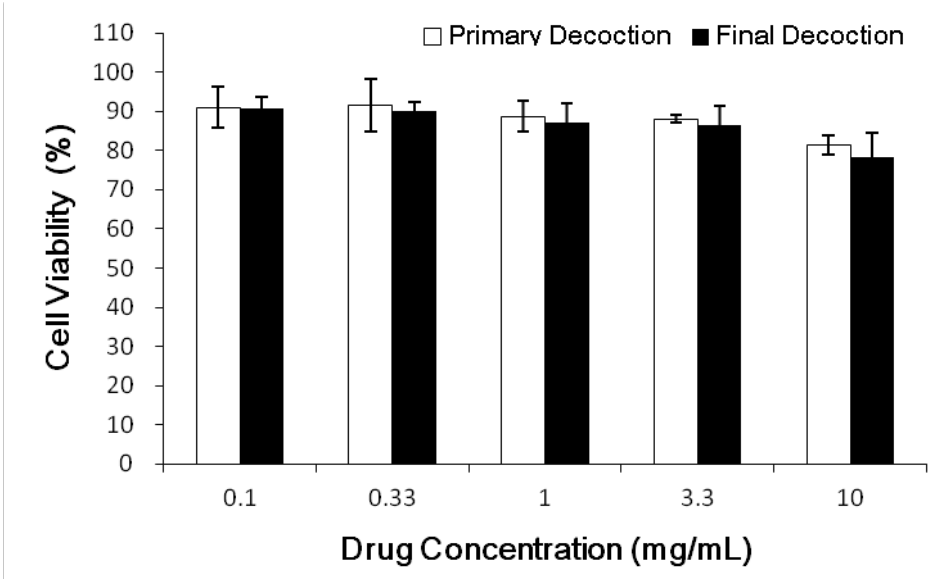


圖十、RAW264.7 細胞型態的觀察。(A):實驗對照組、(E): 加入 250 ng/mL LPS、(B): 加入 0.1 mg/mL 初浸膏、(C): 1 mg/mL 初浸膏、(D): 10 mg/mL 初浸膏、(F): 加入 0.1 mg/mL 終浸膏、(G): 1 mg/mL 終浸膏、(H): 10 mg/mL 終浸膏。(B)-(D)與(F)-(H)皆有受 250 ng/mL LPS 誘導。

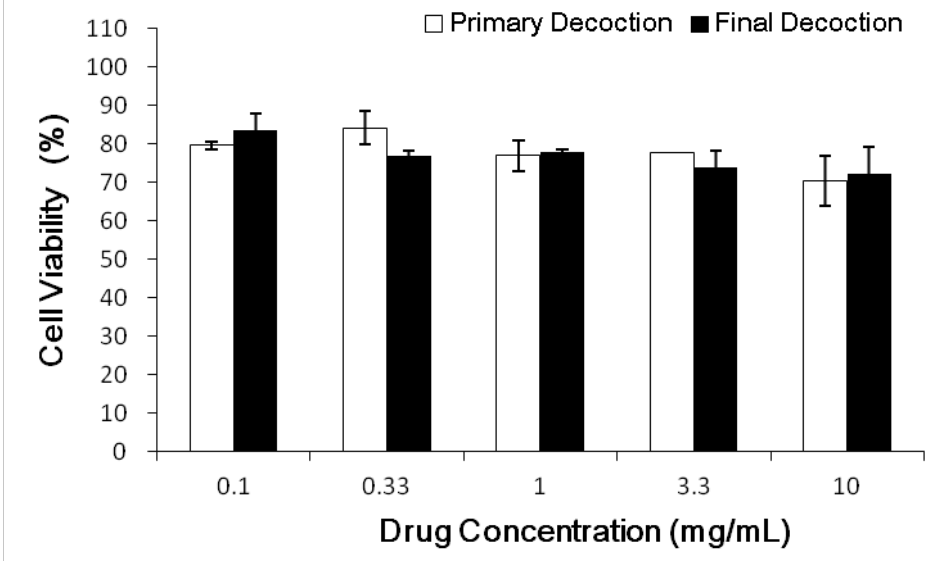
Figure 10. Morphological Observation for RAW 264.7 cells. (A): The control group,(E): Treated with 250 ng/mL LPS, (B): Treated with 0.1 mg/mL primary decoction, (C): Treated with 1 mg/mL primary decoction, (D): Treated with 10 mg/mL primary decoction, (F): Treated with 0.1 mg/mL final decoction, (G): Treated with 1 mg/mL

final decoction, (H): Treated with 10 mg/mL final decoction. (B)-(D) and (F)-(H): also treated with 250 ng/mL LPS.

(A)

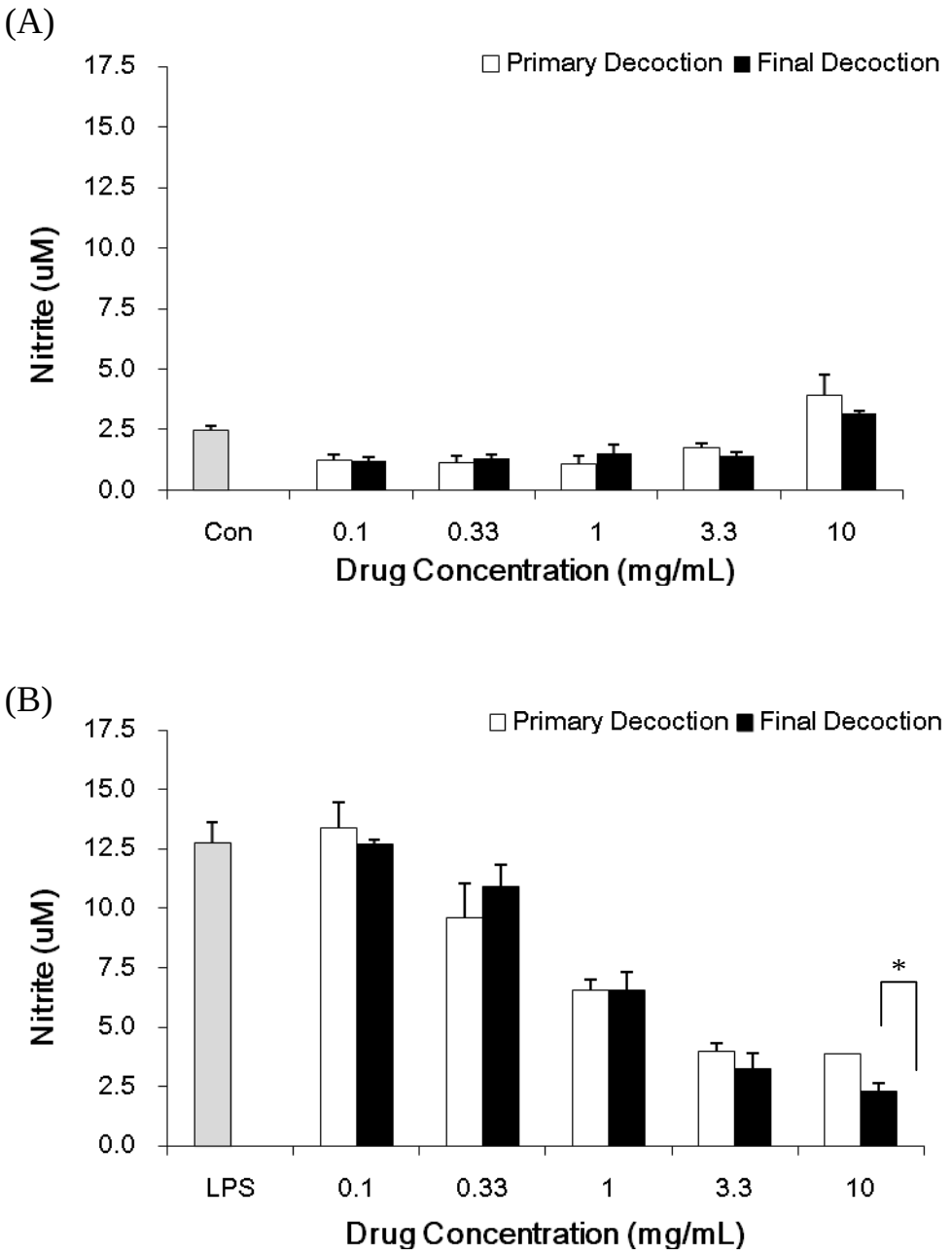


(B)



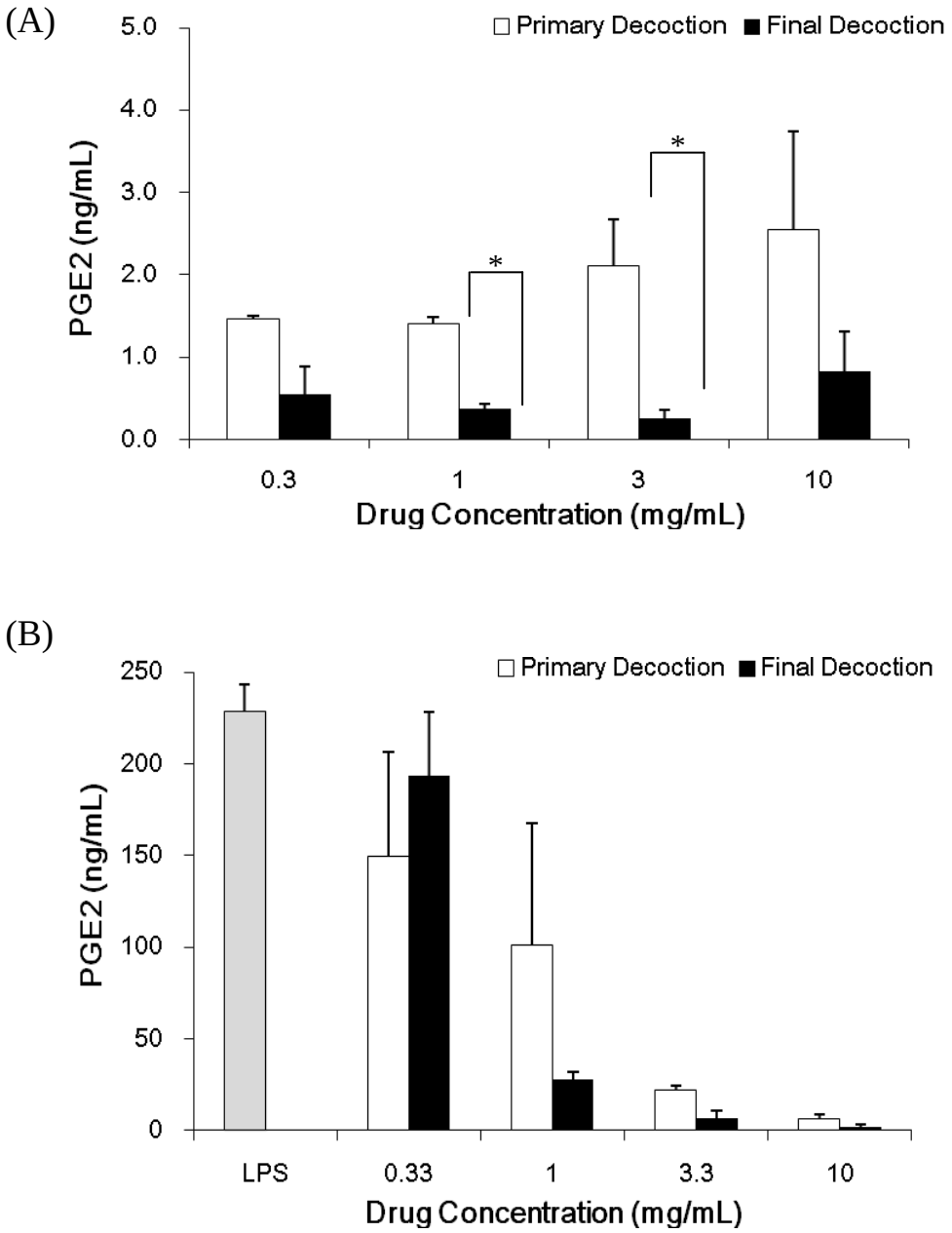
圖十一、細胞存活率的比較。(A): 經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理；(B): 經由 250 ng/mL LPS 誘導，並同時經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理。(* 代表有顯著差異, $p<0.05$)

Figure 11. Cell viability for RAW 264.7 cells. (A): Cells treated with various concentrations of primary decoction or final decoction; (B): Cells treated with 250 ng/mL LPS as well as different concentrations of primary decoction or final decoction. (* Means significant difference, $p<0.05$)



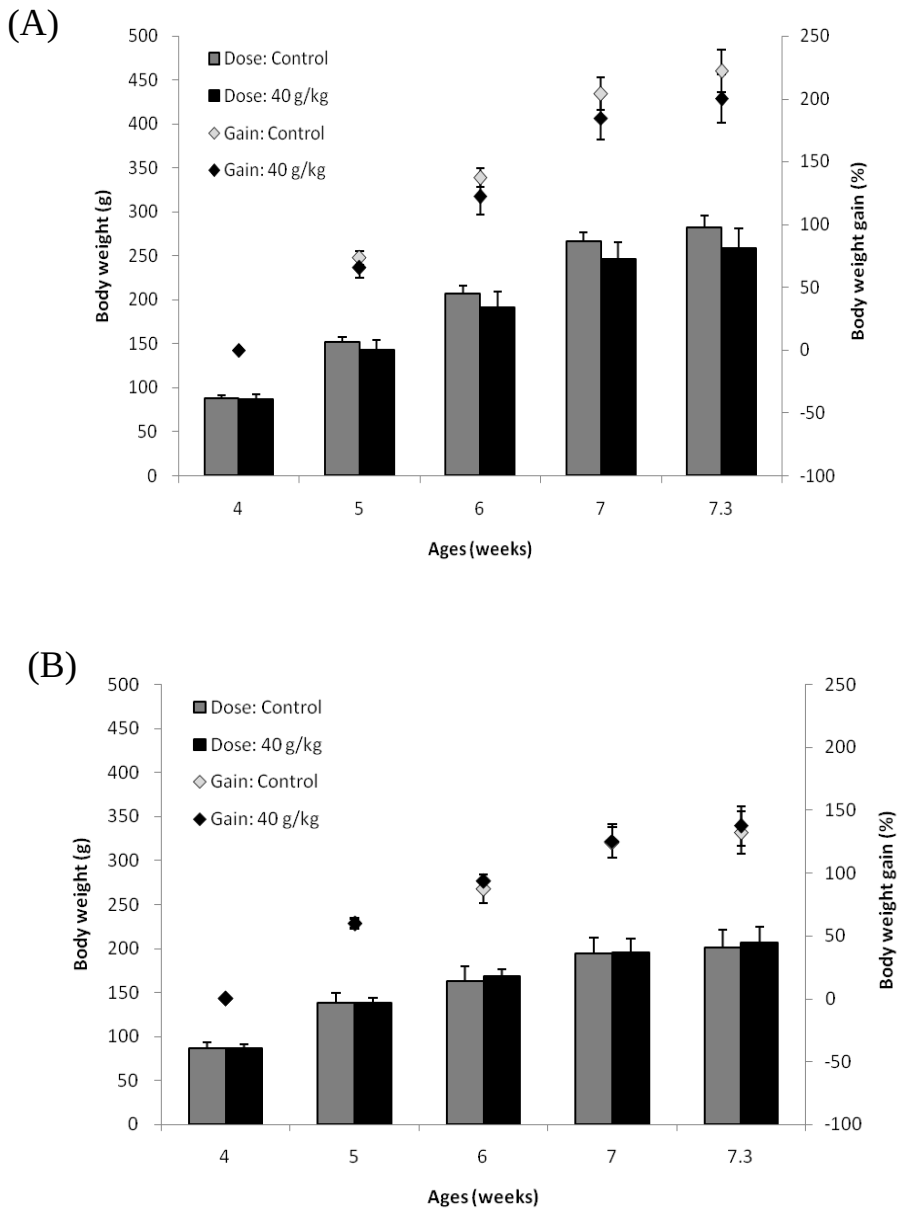
圖十二、RAW264.7 細胞所產 nitrite 含量之測定。(A): 經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理；(B): 經由 250 ng/mL LPS 誘導，並同時經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理。Con 為控制組，未經加 LPS 或家要處理。LPS 為只經 250 ng/mL LPS 誘導，未做加藥處理。(* 代表有顯著差異, $p<0.05$)

Figure 12. Nitrite concentrations of RAW 264.7 cells. (A): Cells treated with various concentrations of primary decoction or final decoction; (B): Cells treated with 250 ng/mL LPS as well as different concentrations of primary decoction or final decoction. Con: the control group without any treatment. LPS: treated with only 250 ng/mL LPS. (* Means significant difference, $p<0.05$)



圖十三、RAW264.7 細胞所產 PGE_2 含量之測定。(A): 經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理；(B): 經由 250 ng/mL LPS 誘導，並同時經由不同濃度的初浸膏或終浸膏處理。Con 為控制組，未經加 LPS 或家要處理。LPS 為只經 LPS 誘導，未做加藥處理。(* 代表有顯著差異, $p<0.05$)

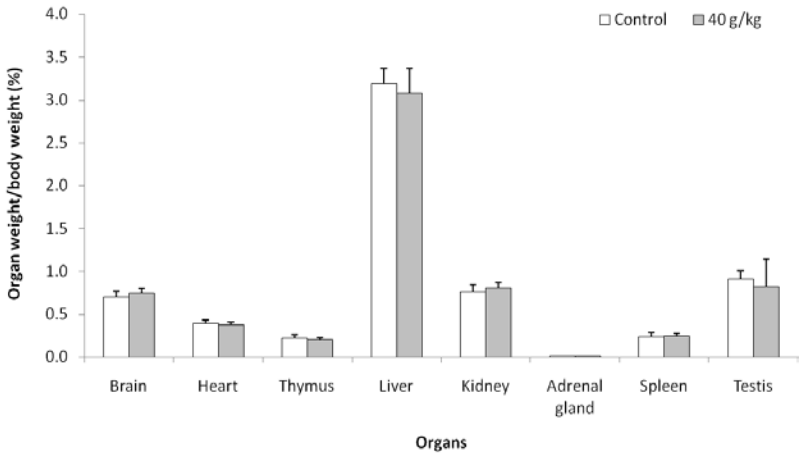
Figure 13. PGE_2 concentrations of RAW 264.7 cells. (A): Cells treated with various concentrations of primary decoction or final decoction; (B): Cells treated with 250 ng/mL LPS as well as different concentrations of primary decoction or final decoction. Con: the control group without any treatment. LPS: treated with only 250 ng/mL LPS. (* Means significant difference, $p<0.05$)



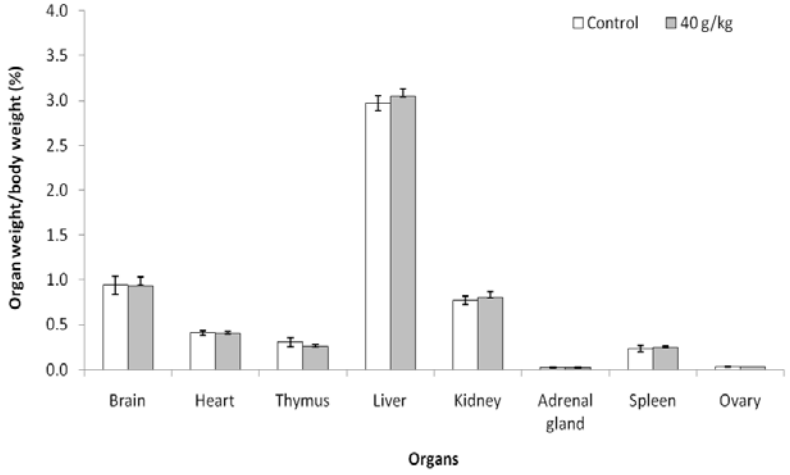
圖十四、葛根芩連湯口服急毒性試驗期間之大鼠體重及增重變化 (A) 雄鼠 (B) 雌鼠。

Figure 14. Changes in body weight and body weight gain of rats after orally administered by gavage with Gegen Qinlian decoction in the acute oral toxicity test (A) male (B) female. n=10/group.

(A)



(B)



圖十五、葛根芩連湯口服急毒性試驗之大鼠臟器重量變化 (A) 雄鼠 (B) 雌鼠。

Figure 15. Changes in organ weight of rats after orally administered by gavage with Gegen Qinlian decoction in the acute oral toxicity test (A) male (B) female. n=10/group.



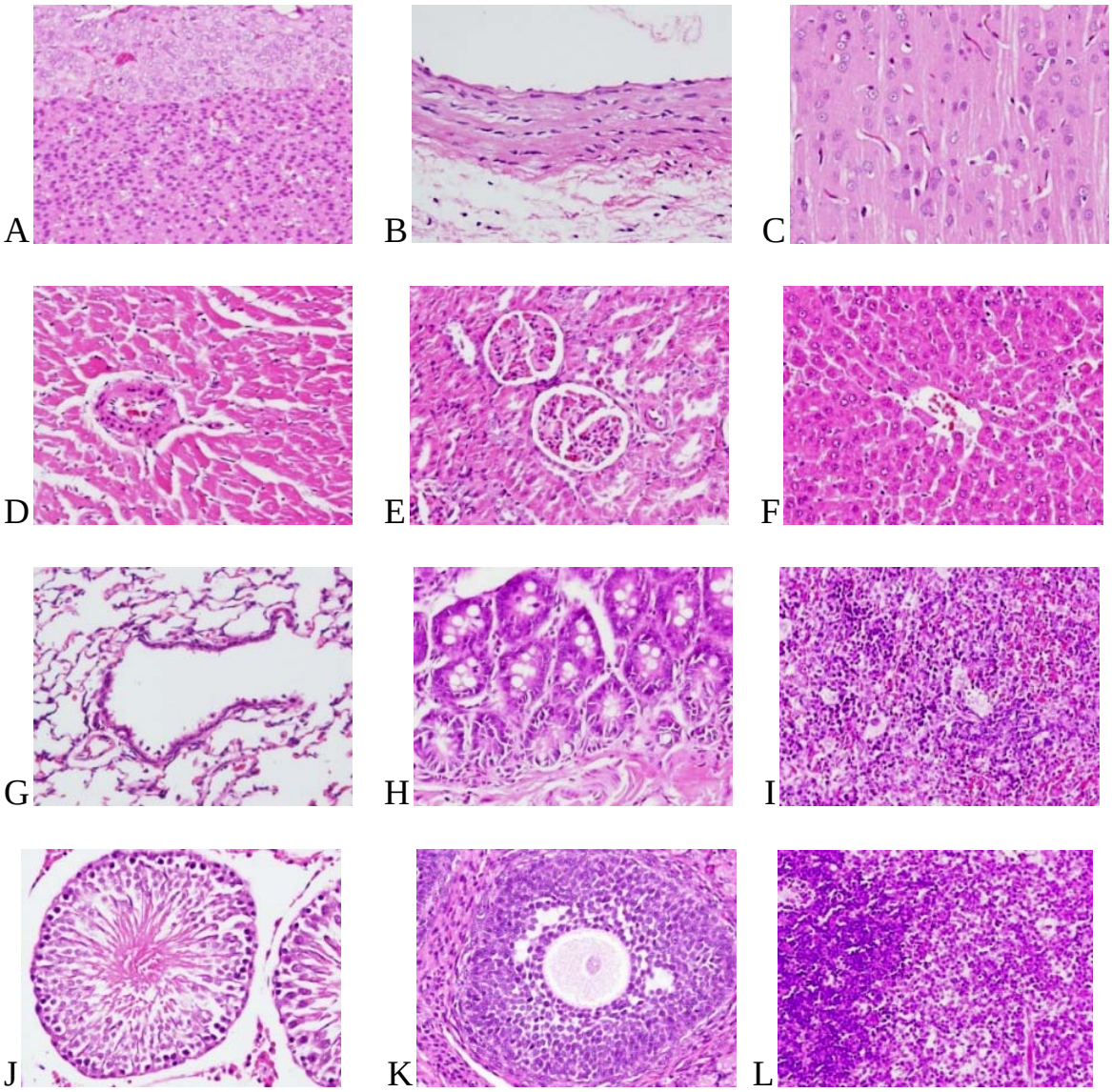
圖十六、葛根芩連對大鼠口服急毒性試驗對照組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察。高劑量葛根芩連湯處理組大鼠之腦及心臟(A)、腎上腺及腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟及胸腺(D)、睪丸(E)(動物編號：101)及卵巢(F) (動物編號：201)等臟器均無明顯肉眼病理變化。

Figure 16. Gross findings of Gegen Qinlian decoction control rats in the acute oral toxicity test. No significant gross findings of brain and heart (A), adrenal and kidney (B), liver (C), spleen, and thymus, testes (E) (No.: 101) and ovary (F) (No.: 201) of treated rats were noted in the Gegen Qinlian decoction group.



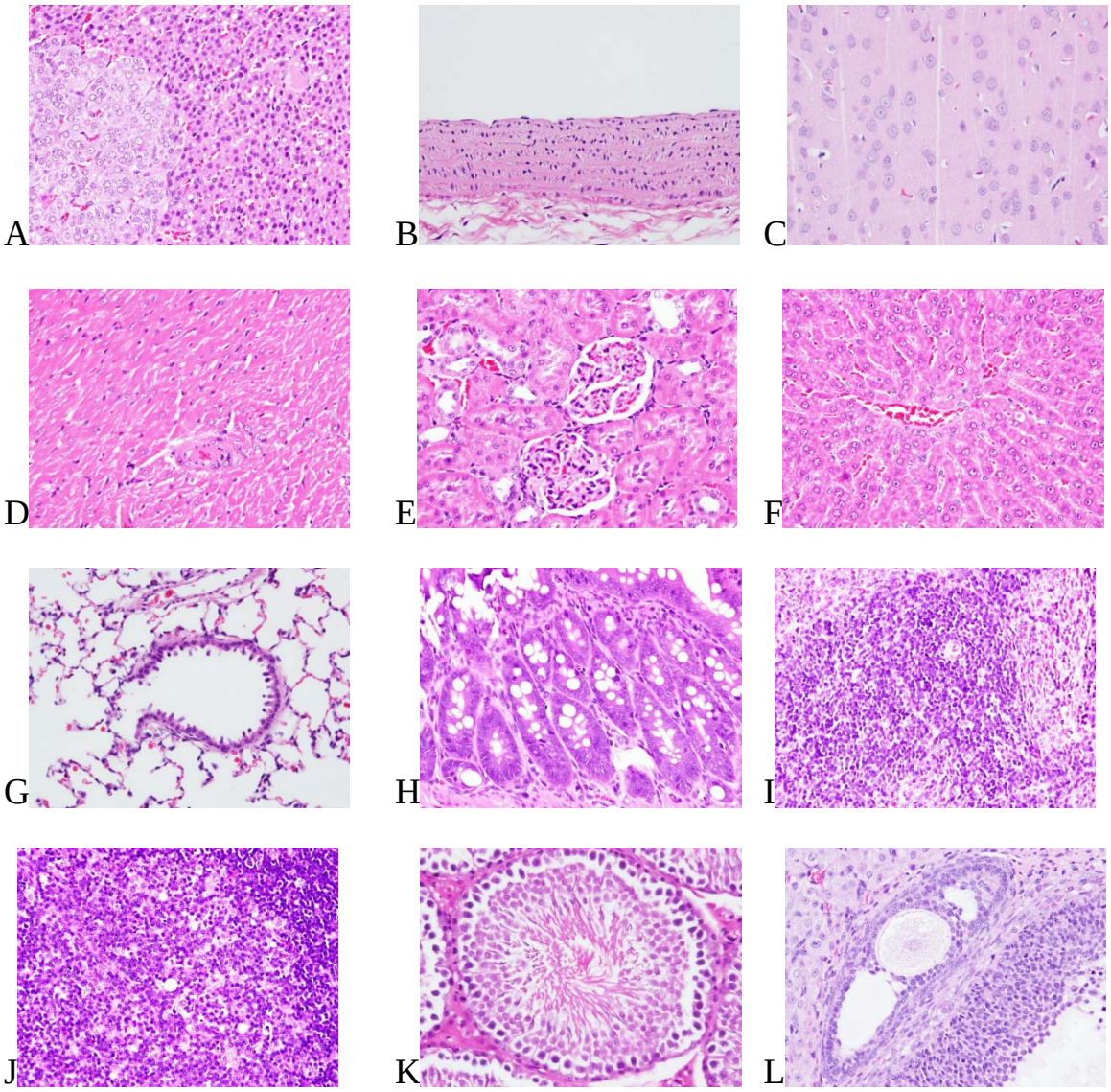
圖十七、葛根芩連對大鼠口服急毒性試驗試驗組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察。高劑量葛根芩連湯處理組大鼠之腦及心臟(A)、腎上腺及腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟及胸腺(D)、睪丸(E)(動物編號：107)及卵巢(F) (動物編號：206)等臟器均無明顯肉眼病理變化。

Figure 17. Gross findings of Gegen Qinlian decoction treated rats in the acute oral toxicity test. No significant gross findings of brain and heart (A), adrenal and kidney (B), liver (C), spleen, and thymus, testes (E) (No.: 107) and ovary (F) (No.: 206) of treated rats were noted in the Gegen Qinlian decoction group.



圖十八、葛根芩連對大鼠口服急毒性試驗處理組大鼠體內臟器之組織病理觀察。急毒性試驗組大鼠腎上腺(A)、主動脈(B)、腦(C)、心臟(D)、腎臟(E)、肝臟(F)、肺臟(G)、腸道(H)、脾臟(I)、胸腺(J)、睪丸(K)(動物編號：101)及卵巢(L) (動物編號：201)等重要臟器均無明顯組織病理變化(H&E stain, 400×)。

Figure 18. Histopathological findings of Gegen Qinlian decoction control rats in the acute oral toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), aorta (B), brain (C), heart (D), kidney (E), liver (F), lung (G), intestine (H), spleen (I), thymus (J), testes (K) (No. 101) and ovary (L) (No. 201) were found in the treated group (H&E stain, 400×).



圖十九、葛根芩連對大鼠口服急毒性試驗組大鼠體內臟器之組織病理觀察。急毒性試驗組大鼠腎上腺(A)、主動脈(B)、腦(C)、心臟(D)、腎臟(E)、肝臟(F)、肺臟(G)、腸道(H)、脾臟(I)、胸腺(J)、睪丸(K) (動物編號：106)及卵巢(L) (動物編號：206)等重要臟器均無明顯組織病理變化(H&E stain, 400×)。

Figure 19. Histopathological findings of Gegen Qinlian decoction treated rats in the acute oral toxicity test. No significant lesions of adrenals (A), aorta (B), brain (C), heart (D), kidney (E), liver (F), lung (G), intestine (H), spleen (I), thymus (J), testes (K) (No. 106) and ovary (L) (No. 206) were found in the treated group (H&E stain, 400×).

編號：CCMP99-RD-058

四物湯水煎劑與濃縮方劑之生物相等性研究

王靜瓊
臺北醫學大學

摘　要

研究目的：

水煎劑是傳統的中藥劑型之一，隨著製藥技術的進步，1963 年開始有了中藥濃縮製劑，但兩種劑型間的生物相等性，卻鮮少有相關之科學論文。因此本研究選擇被國人常食用的四物湯，作為研究的首要方劑。健康人可以飲用作為補血藥膳，因此以治療『卵泡發育不全症』之效用，作為藥效相等性之指標。探討水煎劑與濃縮製劑間的生物相等性關係。

研究方法：

1. 將四物湯水煎劑與濃縮製劑，給予不同年齡層之健康女生口服後，進行阿魏酸於體內生體可用率相等性研究評估。
2. 將四物湯水煎劑與濃縮製劑，給予『卵泡發育不全』之不孕症婦女口服後，藥效相等性研究評估。

結果與討論：

水煎劑與濃縮製劑在含等量阿魏酸的情況下，濃縮製劑（18 克）之生體可用率比水煎劑(135 mL)高，且水煎劑較易受人的年齡而影響其吸收，其最大血中濃度(C_{max})及曲線下面積(AUC)皆小於濃縮製劑，因此依曲線下面積結果顯示，在服用 180min 內，具有相同阿魏酸血中濃度之含量下，水煎劑（170mL/日）與濃縮製劑（18 克/日），對卵泡發育不全的婦人皆有改善。顯示一半的水煎劑日服量，與濃縮製劑的日服量具有相同作用，建議未來應針對濃縮製劑及水煎劑之日服量進一步討論。

關鍵詞：四物湯、水煎劑、濃縮製劑、生物相等性、生體可用率、卵泡發育不全症

Number:CCMP99 -RD-058

The Human Bioequivalence Study between the Decoction and Concentrated Herbal Extracts of Si-Wu Tang

Ching-Chiung Wang
Taipei Medical University

ABSTRACT

Aim:

Decoction is one formulation of traditional Chinese medicines. Following the advancement of pharmaceutical technology, the concentrated herbal extracts became popular since 1963. However, few studies had reported the bioequivalence between the decoction and concentrated herbal extracts. Thus, we choose the Si-Wu Tang (SWT), the widely used traditional Chinese prescription, as our target to explore the bioequivalence differences. Health people usually used SWT to treat or prevent anemia, and Traditional Chinese medical doctor usually used SWT to treat the patients who are diagnosed as ovarian follicular maldevelopment, so SWT can be used to evaluate the pharmacological bioequivalence.

Method:

First topic: explore the ferulic acid bioequivalence effects of SWT which are presented as decoction or concentrated herbal extracts forms in different age health women. Second topic: explore the pharmacological bioequivalence of different forms of SWT in ovarian follicular maldevelopment patients.

Results & Discussion:

The dose-usage of SWT-decoction (135 mL) and concentrated herbal extracts (18 g) was control at the same amount of ferulic acid. The results showed the bioavailability of SWT-concentrated herbal extracts was better than SWT-decoction. When ovarian follicular maldevelopment patients took SWT-decoction (170 mL/day) or concentrated herbal extracts (18g/day) at the dosage of the same AUC, their symptom all were improved. In according to the results, we suggested the effects of half daily dose of SWT-decoction was the same as daily dose SWT-concentrated herbal extracts in clinical. We suggest the daily dose of SWT-decoction and concentrated herbal extracts should be discussed in future.

Keyword: Si-Wu Tang, decoction, concentrated herbal extracts, bioequivalence, ovarian follicular maldevelopment

壹、前言

1963 年臺灣開始推行濃縮中藥，順天堂製藥廠首先與日本長倉製藥株事會社技術合作，自日本引進萃取濃縮製造技術，發展出方便、易服的濃縮中藥製劑（俗稱：科學中藥），並帶動中藥製藥廠製造濃縮中藥的風潮，1966 年勝昌等製藥廠也相繼製售濃縮中藥，1970 年臺灣的濃縮製劑已可以順利出口至日本。1984 年政府鼓勵 GMP 藥廠的設立，至 2006 年 4 月前已有 105 家 GMP 中藥廠[1]，且中醫藥委員會亦相繼制訂許多濃縮製劑品質規範，如：臨床常用中藥方劑基準方的制訂，中藥濃縮製劑訂定指標成分定量法及中華中藥典公告等[2]，使臺灣中藥製劑的技術及設備已經相當純熟與完善，其生產的品質已達到國際水準，相繼可以出口至世界各地。而中藥廠主要的劑型大至可分為三類：傳統劑型、濃縮劑型、西藥劑型等...，且根據「全民健康保險藥價基準」，健保只給付 GMP 中藥濃縮廠製造之「調劑專用」及「須由醫師(中醫師)處方使用」之濃縮中藥為限，所以濃縮製劑的臨床使用將會更普及，有機會取代傳統之水煎劑。但在坊間消費者的心裡，總是對『科學中藥』有著不信任，認為自行煎煮的『中藥湯劑』效果比較好。在張仲景的【傷寒論】中亦提及 『理中丸』的用法時，就標示出『丸不及湯』四字。而濃縮製劑正是將傳統湯劑現代化的產物，利用現代製藥科技，並根據藥材特性，使用不同的製程，準確控制水量、溫度、時間，再加上標準化的藥物分析技術，製造出品質均一穩定且服用方便的產品。但是現代化製造後，與原來湯劑的服用法是否相同？正是當下最迫切需解決的問題。

隨著現代科技的昌明，醫藥的發達，及現代人貪圖便利的想法，都改食用『健康食品』來養身。但是尋求中醫的部分患者，或部分醫師，都深信『水煎劑』效用比『濃縮製劑』效果好。而『養身吃顆粒，看病喝水劑』這樣矛盾的心態，普遍存在一般民眾的心裡。濃縮製劑的開發過程，我們利用現代植物萃取、濃縮及分析技術，計算製造出與水煎劑等一日量的服用劑量（18 克/日）。但在劑型的改變，顯有文獻探討其生體可用率是否相等？效用是否相等？濃縮的過程是否減少了揮發油的組成？等都未被仔細討論。為使濃縮製劑更具時代競爭力，能更為醫師與患者接受，本研究選擇眾人皆知的中藥方劑-**四物湯**，作為探討的對象。

女生在成長的過程中，在不同的生理階段都會飲用四物湯，如：青春期的調整月經，少婦期增加受孕力，懷孕初期的安胎補血，更年期的滋陰養血等。因四物湯是補血的常用方，也是調經的基本方。臨床多用於血虛而又血行不暢的病證，尤其對婦女月經不調，閉經、痛經，胎前產後等尤為多用，運用時以唇爪無華，舌淡、脈細為應用要點。四物湯所治之症，

因營血虧虛、血行不暢所致。血虛則肝失所養，無以上榮，故見頭暈、目眩耳鳴；心失所養，則驚惕不安；爪失濡養則蒼白無華；婦人肝血不足，衝任虛損則月經量少，甚而不能應時而下，或前或後；營血凝滯、血行不暢；故臍腹疼痛，舌淡，脈細弦或細澀均為營血虛滯之象。治宜補血癢肝、調血行滯。方中用熟地滋陰補血為君，臣以當歸補血養肝和血調經，佐以白芍養血柔肝和營；使以川芎活血行滯、暢氣通血，四物相合，補而不滯，滋而不膩，養血活血，可使營血調和，因此，四物湯是補血的主方，又是調經之要劑。綜合其古、今相關功效如下：

出典：太平惠民和劑局方

組成：熟地、當歸、川芎及芍藥

效用：補血調血

用途：調經止痛、養血疏筋。滋潤肌膚、防止老化。妊娠胎動不安，血下不止。產後惡露不下，小腹堅痛。

現代研究：如表一

方劑名		藥理作用	
四物湯 (Si Wu Tang)		1. 抵抗以 5-Fu 治療之血液毒性[3] 2. 治療經痛[4] 3. 經調節 HER-2 路徑，刺激細胞增生[5] 4. 造血作用[6]	
組成	**學名(科名)**	**主成份**	**藥理作用**
熟地黃	*Rehmannia glutinosa* Liboschitz（玄參科）	Mannitol、amino acid、stachyose、catalpol	1. 抗憂鬱[7] 2. 免疫增强作用[8] 3. 降血壓[8] 4. 降血糖[8] 5. 地黃多糖可刺激造血细胞增殖、分化[9]
當歸	*Angelica sinensis* Diels.（繖形科）	阿魏酸、丁二酸、香草酸、煙酸、棕櫚酸、維他命 A、維他命 B12、維他命 E、精油 (safrole, ligustilide, butylidenphthalide, valerophenone-o-carboxylic acid)	1. 阿魏酸、當歸多糖可刺激造血細胞增殖、分化[10] 2. 降血糖[11] 3. 抗腫瘤[12] 4. 免疫調節[13] 5. 抗發炎[14]
川芎	*Ligusticum chuanxiong* Hortorum（繖形科）	揮發油、 阿魏酸(Ferulic acid)、4-Hydroxy-3-butylphthalide、Senkyunolide、Ligustilide、Tetramethylpyrazine、川芎酚(Chuanxiongol)、Spathulenol、Sedanic acid、Vanillin、β-Sitosterol、維生素A、蔗糖、脂肪油	1. 抗氧化[15] 2. 抑制血小板啟動[16] 3. 抗血管炎症[16] 4. 減輕肺水腫[16] 5. 提高機體免疫力[16] 6. 抗腫瘤[17],[18]
芍藥	*Paeonia lactiflora*（牡丹科）	Paeoniflorin、安息香酸、tannin	芍藥苷 (Paeoniflorin) 具鎮痛、抗過敏、抗發炎[19]

根臨床經驗及文獻[20]~ [28]指出四物湯對於經後卵泡發育有明顯刺激生長作用，因此本研究將利用四物湯對『卵泡發育不全引起的不孕婦人』改善其卵泡成長，作為水煎劑與濃縮製劑的藥效相等性指標。

生物相等性係指，西藥之化學主成（chemical equivalence）、劑型及給藥方式都相同，但因製造廠商不同時，後研發之學名藥，將會進行對『生體相等性』之評估，其主要評估兩藥劑間的生體可用率（bioavailability）。而其主要評估的項目有二：一為藥物在身體中的吸收、分佈、代謝、及排泄之藥物動力學（pharmacokinetics），二則為藥效（pharmacodynamics）之表現。相關的生物藥劑學參數，已被完整建立。然而，四物湯為四個中藥材等比煎煮而成，其所含的植物化學成分複雜，如何選擇監測的指標成分，是實驗的關鍵。根據文獻指出，利用生物活性追蹤的體外藥物動力學試驗發現，四物湯中的阿魏酸 ferulic acid，藁本內脂（ligustilide），洋川芎脂 A (senkyunolide A)適合作為品質管制的指標成分[29]。此 3 個天然物中又以阿魏酸的活性功能報導最多，如：抗氧化、抗癌、保護腦神經預防阿茲海默症、保護皮膚避免老化、預防心血管疾病及糖尿病等[30]，雖無直接報導與卵巢發育不良相關疾病有關，但卵泡的發育會受氧化因子干擾，所以具抗氧化能力的阿魏酸，推測可以作為作為監測水煎劑與濃縮製劑為不同劑型的指標，作為藥效相等性之評估。

綜合上述，本研究將與臺灣開發濃縮製劑的第一家 GMP 藥廠合作，取得相同之藥材來源，並確實鑑定其基源，製造出水煎劑與濃縮中藥，利用四物湯中指標成分的變化，探討兩劑型之相對生體可用率之關係，繼而訂定適當的煎煮與濃期中結果所訂定之四物湯血中濃度相等之水煎劑與濃縮製劑之服用法，給於臨床卵泡發育不全的婦女，觀察卵泡發育的情形，評估兩劑型之功效相關性，其結果可以提供未來臨床使用之參考。

貳、實施方法

一、生體可用率相等性研究評估

(一)藥材製備

四物湯之藥材（熟地黃，芍藥，當歸，川芎）及濃縮製劑中藥購自順天堂製藥廠，濃縮製劑批號為：140243，含量標示如下：


【成份】Ingredients 每15公克中含有：
Each 15gm contains the following dry herbs:
熟地黃 Radix Rehmanniae preparata ···· 7.5g
白　芍 Radix Paeoniae alba ····· 7.5g
當　歸 Radix Angelicae sinensis ····· 7.5g
川　芎 Rhizoma Chuanxiong ····· 7.5g
以上生藥製成浸膏 the above herbs yield
an amount of dry extract ····· 8.5g
(生藥與浸膏比例 30.0 : 8.5 = 3.5 : 1)
澱　粉 Corn Starch ····· 6.5g

四種中藥材，藥廠亦檢附檢驗合格證明，檢驗文號為：MH-125、MH-128、CH-270、CH-237H。

將藥材各秤取 600 公克，放入煎藥機中（委託中藥鋪代煎），加入 20L 的過濾水，煎煮 30 分鐘以上至一半量，包裝成 170mL/包，共 60 包，則為四物湯之水煎劑。

(二)水煎劑及濃縮製劑之指標成分分析

1. 水煎劑及濃縮製劑之 HPLC 檢品配置

精秤 1g 濃縮製劑加入 10mL 的水，超音波震盪 1 小時，定量稀釋 50 倍，過濾，濾液備用。水煎劑則以蒸餾水稀釋 50 倍，過濾，濾液備用。

2. 阿魏酸(ferulic acid)指標成分分析條件

以四物湯內的阿魏酸(ferulic acid)為本次研究之監測指標，其分析條件如下：

固定相：Purospher® STAR RP-18e reversed-phase column (5 μm, 4 mm i.d. × 250 mm, Merck)

移動相：甲醇：0.05%TFA = 38：62

流速 0.5mL/min

偵測波長：UV 320 nm

管柱溫度：30℃

滯留時間: 17.5 min

3. 阿魏酸(ferulic acid)檢量線分析

精秤阿魏酸 1mg，溶於移動相 38%MeOH 中，連續稀釋為 20μg/ml~0.5μg /ml，以 HPLC 進行分析，確認於線性內之

偵測濃度範圍。再以此檢量線，分析比較水煎劑及濃縮製劑中阿魏酸之含量，推測出相等之口服劑量。

(三)生體可用率評估（將根據『藥品生體可用率及生體相等性試驗準則』[31]進行）

本計劃已通過臺北醫學大學人體試驗倫理委員會審核編，核准號為：100024。

1. 受試者募集

本研究共招募（20～35 歲）之非經期內健康女性，實驗前一周需無服用營養補充劑(如綜合維他命，及含鐵劑之相關產品)，及藥物(包含中西藥)等，參與此計畫共 30 人。

2. 四物湯樣品給予與採血方式

實驗前需空腹 8 小時，實驗當天先抽血檢測其基礎值（0 分鐘），再服用四物湯水煎劑或濃縮中藥，於服藥後 10 分鐘、30 分鐘、60 分鐘、120 分鐘及 180 分鐘，抽血檢測四物湯指標成分之血中濃度。

3. 血液樣品製備及分析

血液樣品於 4^{o}C 下以 2000 rpm 離心 5 分鐘，取其血清。取出 250μL 血清，加入 0.6N HCl 125μL 於 15mL 離心管中震盪 10 秒鐘，加入乙酸乙酯(EA)5mL 震盪 30 秒鐘，以 3000rpm 離心 5 min，取出全部 EA 至玻璃試管中濃縮乾燥，以 250μL 移動相(38%甲醇)回溶，並震盪 30 秒鐘，將 100μL 注入 HPLC 分析。

4. 血液中阿魏酸之添加回收率檢測

分別於 240μl 血清中加入 ddH_2O 和 0.25mg/ml、1.25mg/ml 以及 2.5mg/ml 之阿魏酸 10μl，使其血清每 100μl 中之阿魏酸含量為分別為 0ng、1ng、5ng 以及 10ng，以上述之萃取方法，萃取並以 HPLC 進行分析，確認於線性內之偵測濃度範圍。並分析其添加回收率，確認分析方法之準確度。

5. 四物湯樣品交換測試

實驗結束後一個月，服用四物湯水煎劑及濃縮中藥的組別進行交換測試，原本服用四物湯水煎劑改服用四物湯濃縮中藥，而服用四物湯濃縮劑組改服用水煎劑，再利用上述之實驗方法進行血液中指標成分分析。

6. 藥物動力學參數測定

將分析得到之血液指標成分含量進行尖峰濃度時間(time of maximum concentration, T_{max})、最高藥物血中濃度(maximum concentration, C_{max})、藥物半衰期(Half-life, $T_{1/2}$)、血藥曲線下面積 (area under concentration-time curve, AUC)及藥

物清除率　　(Clearance, Cl)。

(四)生體相等性評估

以同一人交叉服用不同劑型，探討計算出給予四物湯水煎劑或濃縮中藥組之阿魏酸(ferulic acid)藥物動力學參數，及年紀是否影響生體可用濾，最後確認四物湯兩種劑型間，可達到生體相等性之劑量。

二、藥效相等性研究評估

(一)四物湯水煎劑及濃縮製劑之給予劑量

根據第一階段實驗發現，服用此兩種劑型，於體內之阿魏酸藥物動力學相等之劑量為 170mL 之四物湯水煎劑，相當於 18 克之濃縮製劑。因此以此兩種劑量，提供受試者服用。

(二)受試者募集

受試者經萬芳醫院婦產科中西醫聯合門診，利用超音波檢查或 LH/FSH 比直異常者，月經週期次數過少，判定有卵泡發育不全（或排卵異常）之情形，並由傳統醫學科李靜姿醫師診斷，需給予四物湯治療之患者，即可納入為受試者。符合條件者，於診間先告知有此計畫之訊息，患者表示有興趣時，再由本計劃研究助理以電話連絡，並說明計畫之目的。若同意者，再請患者至臺北醫學大學藥學系生藥學科，由主持人及研究人員，解釋知情同意書，待患者了解，且簽署受試者知情同意書後，即可參與本實驗，若未滿 20 歲則需由法定代理人同意，才可以參加。第一次服用四物湯前，將由合格之護理人員抽血 8 mL，檢查分析血液生化值，包含雌二醇(Estradiol, E_2)、濾泡刺激素(FSH)、黃體激素(LH)、黃體脂酮(Progesterone, P4) 及睪固酮(Testosterone, T)等，超音波及生化數值。並讓受試者帶回 1 個月份的四物湯。

(三)樣品給予

受試者依自我意願下，隨機選服任一劑型，預計每組 10-30 人（研究時程縮短，收案人數不足時，延長服用時間，比較其每月之改善狀況），每日服用四物湯水煎劑（170mL/包）或濃縮製劑（18 克）。實驗期間每月回來抽血檢查（若出現經期，則在見紅的第 3～5 日前來採血），分析四物湯水煎劑或濃縮製劑對不孕相關的生化值是否有影響。檢查數值以服用一個月後為一個抽血觀察點，至多進行 3 個月觀察。於實驗最後，再次利用超音波檢測卵泡發育情形，評估四物湯水是否具有改善卵泡發育，此外可以評估四物湯水煎劑或濃縮中藥對於不孕症的治療是否有差異。四物湯服用期間，不可以同時服用其他相關四物湯之產品（如：四物飲等補血湯劑...，避免增加藥效），及含鐵

劑藥品及中藥的龍骨或滑石等（避免降低藥效）。而服用的過程中，可能出現輕微的腹瀉，受試者可以隨時終止試驗，或選擇繼續參與。

參、結果

一、生體可用率相等性研究評估結果

(一)四物湯之水煎劑與濃縮製劑中之阿魏酸含量

1. 阿魏酸檢量線範圍

以上述之 HPLC 條件分析，其可偵測阿魏酸的濃度範圍為：0.5ng~20ng，線性公式為：y = 11762x - 4380.7，R^2 = 0.9938，檢量線如圖一。

2. 檢品含量

兩種製劑經 HPLC 分析後，結果顯示：現水煎劑含 58.5μg /mL 阿魏酸，當濃縮製劑以水萃取時，含 440.0μg/g 阿魏酸。而以 70%甲醇萃取時，其含量則為 434.9μg/g，其 HPLC 圖譜如圖二。

根據此結果計算，濃縮製劑 1 日量 18 克，相對水煎劑應該為 135 mL。

(二)阿魏酸於血清中之添加回收率

於血清添加 1，5，10 ng 阿魏酸時，回受收率分別為：97，92，100％，顯示萃取方法與分析法良好。

(三)服用四物湯之血清中阿魏酸含量分析結果

根據前述之分析劑量，135 mL 與 18 克具有等量之阿魏酸，但給予人服用後，採血分析血清中阿魏酸含量，其指紋圖譜如圖三，結果：濃縮製劑組，阿魏酸的血中最高濃度（C_{max}）及曲線下面積（$AUC_{0\text{-}180min}$）皆高於水煎劑（135 mL 組），因此再增加水煎劑劑量至 170 mL，降低濃縮製劑劑量至 12 克，再進行比較。

結果如下：

1. 全部受試者之依服用不同劑型及劑量統計分析，其平均後，血中濃度曲線如圖四(A)，藥物動力學參數如表一，其 11 人服用 170 mL，19 人服用 135 mL，22 人服用 18 克，8 人服用 12 克。

(1) 依年齡層比較含阿魏酸相同量之不同劑型：20～23 歲 18 克的 $AUC_{0\text{-}180min}$ 及 $AUC_{0\text{-}\infty}$有意義的比 135mL 大，Cl 及 $T_{1/2}$ 則明顯變小; 24-29 歲組只有 $AUC_{0\text{-}180min}$ 及 $T_{1/2}$ 具統計意義差異，但 30 歲以上組則皆無統計意義差異。但因採血時間小於 $T_{1/2}$ 的 5 倍時間，所以 Cl 及 $T_{1/2}$ 之結果不具臨床意義。

(2) 三組年齡層服用水煎劑或濃縮製劑，C_{max}、$AUC_{0\text{-}180min}$及$AUC_{0\text{-}\infty}$皆具有劑量依存之關係，但年紀越大，其間差異越小。

2. 同一人交叉服用兩種劑型，135mL 水煎劑/12 克濃縮製劑共 4 人（A 組），170mL 水煎劑/18 克濃縮製劑共 7 人（B 組），170mL 水煎劑/12 克濃縮製劑共 4 人（C 組），135mL 水煎劑/18 克濃縮製劑共 15 人（D 組）比較統計分析結果，血中濃度曲線如圖五(A~D)，藥物動力學參數如表一。

(1) 同一人交叉服用含阿魏酸相同量之不同劑型（D 組），18 克的$AUC_{0\text{-}180min}$有意義的比 135mL 大，Cl 及$T_{1/2}$則明顯變小，每一人交叉服用之 AUC 分布圖如圖五。但因採血時間小於$T_{1/2}$的 5 倍時間，所以 Cl 及$T_{1/2}$之結果不具臨床意義。

(2) 同一人交叉服用含阿魏酸不同量之不同劑型（A 及 B 組），C_{max}、$AUC_{0\text{-}180min}$及$AUC_{0\text{-}\infty}$皆無顯著差異，B 組每一人交叉服用之 AUC 圖如圖六。C 組屬低劑量的濃縮製劑與高劑量之水煎劑比較，發現 C_{max}、$AUC_{0\text{-}180min}$ 及$AUC_{0\text{-}\infty}$皆具有顯著差異。

(3) 由圖五及圖六，個人之交叉實驗之 AUC 圖結果發現，水煎劑之吸收曲線圖型個體差異較小，而濃縮製劑的個體差異較大。

綜合上述圖表結果顯示：（A）以不同年齡層比較，服用之相同劑量及劑型發現：年紀 30 歲以上其C_{max}及 AUC 具統計意義變小，且清除率明顯變大，然而年紀影響水煎劑比濃縮製劑更明顯。（B）以同一人交叉服用結果，135mL 相當於 12 克的 AUC 及C_{max}，170ml 相當於 18 克。但因計算清除率所需的觀察時間需更長，所以清除率之結果，未來需再設計更長的採血時間點，再行討論。

二、藥效相等性研究評估

卵泡發育不全的原因許多種，其中主因為（一）下丘腦性不排卵：原發性器質性因素、原發的功能性因素、繼發性器質性病變、繼發性功能性因素。（二）垂體性無排卵：器質性因素、功能性因素。（三）卵巢性無排卵：多囊卵巢綜合症、單純性腺發育不全綜合徵，性腺形成不全症、卵巢早衰、黃體化未破裂卵泡綜合症。（四）甲狀腺、腎上腺皮質功能異常：排卵障礙。而診斷卵泡發育不全的標準為（一）內分泌激素測定：FSH，LH 血清中含量明顯高，E2 含量明顯低下，達到停經期。（二）陰道脫落細胞：顯示雌激素含量低，出現底層細胞或以低層細胞為主。

（三）超音波檢測：顯示卵巢小，未見卵泡者屬卵巢早衰;卵巢正常大小，可見多個小卵泡者屬無反應卵巢症。（四）腹腔鏡檢查或剖腹卵巢活體組織檢查：卵巢早衰者可見卵巢小，萎縮，卵泡不明顯，內視鏡下未見卵泡母細胞，卵巢間質纖維化，卵巢內可找到抗卵巢抗體：無反應卵巢症，則見到卵巢正常大小，肉眼及內視鏡下均可見多個小卵泡，卵巢組織內可找到抗卵泡膜細胞，抗顆粒細胞，抗 FSH 抗體。綜合上述臨床表徵與診斷，我們以月經週期不正常，LH，FSH 值偏高或是比值大於 1（正常婦女 LH/FSH 比值應小於 1），或是超音波檢查卵泡發育不全者為受試者。

本次研究經萬芳醫院許淳森、徐明義婦產科醫師及李靜姿中醫師聯合門診篩選符合之病人，依據之條件：1. LH/FSH 比值大於 1。2. LH 或 FSH 異常。3. 超音波檢查卵泡小於 8mm，且個數大於 12 個。有其中一項符合，並主述有月經異常者（週期紊亂，經血顏色及量異常），為納條件。取得符合條件之受試者名單 125 人，經電話連絡邀請參加研究，簽署知情同意書者有 25 人，經由個人意願分組，13 人服用濃縮製劑（表二），12 人服用水煎劑（表三），過程中有十位受試者退出，一名失聯，一名因腹瀉（預期之能產生之副作用）退出，一名因換看其他中醫師。其中濃縮製劑有 4 個人未滿一個月即退出；2 個人服用 1 個月後退出，共有 2 次檢查；2 個人服用 2 個月後退出，有 4 次檢查；5 個人服用 3 個月，共有 15 次檢查，結果顯示：服用 18 克四物湯濃縮製劑一個月共 21 次結果，其結果皆比未服用前月經週期後 3-5 天之 LH/FSH 比值較小，且 LH/FSH 比值皆小於 1，顯示恢復正常（表二），其中有一位受試者 FSH/LH 異常，而服用後仍無恢復正常範圍。170mL 四物湯水煎劑組有 2 人退出；3 個人服用 1 個月以上退出，共得 3 次檢查；有 1 個人服用 2 個月以上，共有 2 次檢查；6 人服用 3 個月，共有 18 次檢查。服用水煎劑一個月共有 23 次檢查，其結果皆比未服用前月經週期後 3-5 天之 LH/FSH 較小，且 LH/FSH 比值亦皆小於 1，顯示恢復正常（表三）。

綜合結果顯示：利用阿魏酸作為四物湯之藥物動力學指標成分，決定之濃縮製劑與水煎劑的服用劑量，於卵泡發育不全的婦人，亦能得到相等的療效。

肆、討論

一、四物湯水煎劑與濃縮製劑之藥材量比較

濃縮製劑之含量標示中，15 克濃縮製劑，為熟地黃，芍藥，當歸，川芎各 7.5 克，共 30 克藥材煎煮後濃縮成 3.5：1 之浸膏混合澱粉而成，所以每克濃縮製劑為 2 克藥材煎煮製造而成。(12 克的濃縮製劑則約相當於 24 克藥材，而 18 克的濃縮製劑則相當於 36 克藥材製成)。而水煎劑是以各 600 克，共 2.4 公斤之藥材，煎煮成 10000 mL，所以每 mL 為 0.24 克藥材。(135 mL 約為 32.4 克藥材，170 mL 約為 40 克藥材。）兩種劑型以 HPLC 分析其阿魏酸含量則發現每 mL 之水煎劑含 58.5μg 阿魏酸，每克濃縮製劑含 440.0μg 阿魏酸，換算原藥材萃取得之阿魏酸為：水煎劑是每帖藥中，每克含有 243.75μg 阿魏酸，而濃縮製劑是每帖藥中，每克含有 220.0μg 阿魏酸。由此得知，在相同藥材量製做四物湯時，水煎劑比濃縮製劑含的阿魏酸多。

二、服用四物湯水煎劑與濃縮製劑後，於血中之阿魏酸含量比較

18 克的濃縮製劑（每日最高服用量）之阿魏酸含量，相當於 135 mL 之煎劑，但當人服用後，服用水煎藥組，阿魏酸於血中的濃度則小於濃縮製劑（圖五 B），其與 170 mL 的水煎劑血中濃度 AUC 較為相近（圖五 D），且發現水煎劑之 T_{max}、C_{max}、AUC 都較相同含量阿魏酸之濃縮製劑小，而 Cl 及 $T_{1/2}$ 則較大，推測可能是因阿魏酸在酸性的環境下，屬強的抗氧化劑，當水煎劑進入胃後，直接暴露在酸性環境下，而加速氧化反應，使得阿魏酸降解較快;反之，濃縮製劑需消化而釋出阿魏酸，使代謝時間延長，又因個體代謝的差異使 AUC 之圖型，個體間差異較大。水煎劑的 T_{max} 較短，顯示作用時間較快，與張仲景曾提及『丸不及湯』不謀而合。但因採血時間小於 $T_{1/2}$ 的 5 倍時間，所以未來可以延長採血點，觀察四物湯中的阿魏酸是否會因劑型的不同，其 Cl 及 $T_{1/2}$ 而有改變。根據文獻報導，柴胡疏肝散（水煎劑）經人體試驗觀（23-49 歲）監測其中的阿魏酸藥物動力學變化，發現阿魏酸的 $T_{1/2}$ 約為 131.27±19.67 分鐘，其結果與表一水煎劑之全部人平均 $T_{1/2}$ 之結果相似[32]。

三、不同年齡對四物湯生體可用率之影響比較

根據圖四結果發現，年齡影響四物湯中阿魏酸之代謝，年紀大者 C_{max} 及 AUC 越小，而對水煎劑影響較明顯。推測與代謝阿魏酸的酵素或環境，與年齡有關，值得進一步討論，未來應該增加 35 歲以上之年齡層，並將受試者人次增加，使統計更具臨床意義。

四、四物湯對卵泡發育不全的治療[20]- [22]

中醫治療不孕症的方法分為五大病症類型：腎陽虛型，腎陰虛型，肝氣鬱滯型，血瘀胞脈型，痰濕壅阻型。而依據人工週期療法，則分為四大

類型：經後期：經期第六至十日，治宜補沖任，補腎滋陰，促進卵泡發育。排卵前期至排卵期：經期第十一至十六日，治宜補腎通絡，活血化瘀，促進排卵。黃體期：經期第十七至二十五日，治宜溫陽補腎。滋養沖任，促進黃體成熟，以利受精卵著床。經前期至經期：經期第二十五至二十八日，治宜行氣活血調經。而據結果顯示四物湯對卵泡發育不全，且月經週期不規則的婦人有改善，推測 LH 與 FSH 異常者，可能屬中醫辯證的肝氣鬱滯型，所以用補肝血，補腎陰的四物湯都有良好作用。且根據藥物動力學的評估後的服用劑量調整，使得水煎劑與濃縮製劑具有相同之功效。

根據已完成的臨床數據，我們可以發現，服用 18 g 濃縮製劑組及 170 mL 水煎劑組的受試者，使用三個月後的 LH 與 FSH 比值皆回復至正常值，我們可以推測水煎劑與濃縮製劑在藥效方面是有相等之功效。但因受試者每日需服用 18g 的濃縮製劑，較水煎劑難入口，故濃縮製劑組退出試驗的受試者較多。

伍、結論與建議

根據上述結果顯示，濃縮製劑較不易因人的年齡而影響其吸收，且在相同的阿魏酸含量下，濃縮製劑組之阿魏酸可達血中最高濃度（C_{max}）大於水煎劑，且在服藥後 180 分鐘內，其血中濃度的總含量（AUC）亦較高，但個體間的血中濃度曲線圖差異較大，且達到最高血中濃度的時間（T_{max}）較長，綜合目前結果顯示：在相同藥材條件，四物湯以阿魏酸作為指標，濃縮製劑有高血中濃度之優越性，水煎劑則是具有快速吸收的好處。

當調整四物湯之日服量，以兩劑型服用後 180 分鐘內，血中濃度相似的劑量，作日服量，觀察對卵泡發育不正常婦人之效用追蹤，結果顯示：水煎劑一日服用一包 170 mL/包，濃縮製劑服用 18 克，都具有改善卵泡發育不全之作用。具此結果推測，在阿魏酸相同的血中濃度下，其藥理作用亦具等效性。

目前臨床之使用經驗，水煎劑是早晚各服用一包（170 mL/包），而濃縮製劑一日量，建議最多 18 克，所以水煎劑的日服量為濃縮製劑的 2.5 倍，因而患者或醫師都認為水煎劑之功效優於濃縮製劑。根據本次藥效相等性評估，一半量的水煎劑，即可以達到濃縮製劑相同之作用。根據此研究結果，建議要從新思考水煎劑與濃縮製劑間之相等量。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-058 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 行政院衛生署 公告。衛署中會字第八九０二三七八０號。
2. 行政院衛生署 公告。衛署中會字第八九０三七九二九號。
3. Takano F, Ohta Y, Tanaka T, Sasaki K, Kobayashi K, Takahashi T, Yahagi N, Yoshizaki F, Fushiya S, Ohta T. Oral Administration of Ren-Shen-Yang-Rong-Tang 'Ninjin'yoeito' Protects Against Hematotoxicity and Induces Immature Erythroid Progenitor Cells in 5-Fluorouracil-induced Anemia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009, 6, 247-256.
4. Cheng JF, Lu ZY, Su YC, Chiang LC, Wang RY. A traditional Chinese herbal medicine used to treat dysmenorrhoea among Taiwanese women. *J Clin Nurs.* 2008, 17, 2588-2595.
5. Chang CJ, Chiu JH, Tseng LM, Chang CH, Chien TM, Chen CC, Wu CW, Lui WY. Si-Wu-Tang and its constituents promote mammary duct cell proliferation by up-regulation of HER-2 signaling. *Menopause* 2006, 13, 967-976.
6. Tan W, Song CS, Tan HL, Liu LL, Ma ZC, Wang YG, Gao Y. Hematopoietic effect of Siwu decoction in the mice with blood deficiency induced by compound method of bleeding, starved feeding and exhausting. *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 2005, 30, 926-929.
7. Zhang D, Wen XS, Wang XY, Shi M, Zhao Y. Antidepressant effect of Shudihuang on mice exposed to unpredictable chronic mild stress. *J Ethnopharmacol.* 2009, 123, 55-60.
8. Li J, Zhang LP, Zhang ZL. Recent development of Radix Rehmannia. *Journal of henan university of chinese medicine*. 2005. No. 6.
9. 唐昆、吳希。四物湯的現代藥理作用和臨床應用。中國中醫急症。2006，15 卷，12 期。
10. Enoki T, Ohnogi H, Nagamine K, Kudo Y, Sugiyama K, Tanabe M, Kobayashi E, Sagawa H, Kato I. Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese herb, *Angelica keiskei*. *J Agric Food Chem.* 2007, 55, 6013-6017.
11. Zhang SD, Fang YX, Chen MM, Huang JP, Zhang K. Extraction and anti-tumor activity study of polysaccharide in several traditional Chinese medicine. *Zhong yao cai*. 2007, 30, 179-182.
12. Yang T, Jia M, Meng J, Wu H, Mei Q. Immunomodulatory activity of polysaccharide isolated from *Angelica sinensis*. *Int J Biol Macromol.* 2006,

39, 179-184.
13. Marotta F, Mao GS, Liu T, Chui DH, Lorenzetti A, Xiao Y, Marandola P. Anti-inflammatory and neuroprotective effect of a phytoestrogen compound on rat microglia. *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1089, 276-281
14. Yuan JF, Zhang ZQ, Fan ZC, Yang JX. Antioxidant effects and cytotoxicity of three purified polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong* Hort. *Carbohydrate Polymers*. 2008, 74, 822-827.
15. 張曉萍。川芎及其有效成分藥理活性研究進展。黑龍江醫藥。2005，18 卷，5 期。
16. Jia RR, Gou YL, Ho LS, Ng CP, Tan NH, Chan HC. Anti-apoptotic activity of Bak Foong Pills and its ingredients on 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity in PC12 cells. *Cell Biol Int.* 2005, 29, 835-842.
17. Zhang XJ, Chen HL, Li Z, Zhang HQ, Xu HX, Sung JJY, Bian ZX. Analgesic effect of paeoniflorin in rats with neonatal maternal separation-induced visceral hyperalgesia is mediated through adenosine A1 receptor by inhibiting the extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) pathway. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2009, 1, 88-97.
18. Lee B, Shin YW, Bae EA, Han SJ, Kim JS, Kang SS, Kim DH. Antiallergic effect of the root of *Paeonia lactiflora* and its constituents paeoniflorin and paeonol. *Archives of Pharmacal Research* 2008, 31, 445-450.
19. Huang H, Chang EJ, Lee Y, Kim JS, Kang SS, Kim HH. A genome-wide microarray analysis reveals anti-inflammatory target genes of paeonol in macrophages. *Inflamm Res.* 2008, 57, 189-198.
20. 長庚醫院。不孕症手冊。
21. 台北市政府。不孕症衛教。
22. 漢銘醫院。中醫對不孕症的治療。
23. 楊麗姝、程惠政、鄭振鴻、林君玉、陳春發。子宮內膜異位性不孕症病例討論。*J Chin Med* 11(4): 159-172, 2000.
24. 楊允、楊大鵬、何新慧。江寧中醫藥大學學報。2000，10 卷，8 期。
25. 葉曉雲。四物湯治療女性不孕症 50 例。中國中醫藥現代遠程教育。2010，8 卷，11 期。
26. 彭華杰。四物湯在婦科臨床的應用。光明中醫。2011， Vol 26. 5。
27. 楊嗣明。徐大椿擅用四物湯治不孕學術見地。遼寧中醫雜誌。1995，Vol. 22 .4。
28. 劉征麗、張延、金暢、韓華、王敏鴿。益母聖金湯結合抗生素治療輸卵管阻塞性不孕症 132 例。陝西中醫。2007，28 卷，7 期。

29. Wang L, Wang Z, Wo S, Lau CBS, Chen X, Huang M, Lee VHL, Chow M SS, Zuo Z. A bio-activity guided in vitro pharmacokinetic method to improve the quality control of Chinese medicines, application to Si Wu Tang. *Inter. J. of Pharmaceutics* . 2011, 406, 99-105.
30. Barone E , Calabrese V, Mancuso C, Ferulic acid and its therapeutic potential as a hormetin for age-related diseases. *Biogerontology* .2009, 10,97-108.
31. 2009-04-02 衛生署公告，衛署藥字第 0980316265 號，訂定「藥品生體可用率及生體相等性試驗準則」。
32. Qiu XJ, Huang X, Chen ZQ, Ren P, Huang W, Qin F, Hu SH, Huang J, He J, Liu ZQ, Zhou HH. Pharmacokinetic study of the prokinetic compounds meranzin hydrate and ferulic acid following oral administration of Chaihu-Shugan-San to patients with functional dyspepsia. J. of Ethnopharmacology. 2011, 137, 205- 213.

柒、圖、表

表一、受試者服用四物湯，血中阿魏酸之藥物動力學參數

	分組	劑型	劑量	$T_{max(\ min)}$	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}180min}$（min × ng/mL）	$AUC_{0\text{-}\infty}$（min × ng/mL）	Cl（mL/min）	$T_{1/2\ (\ min)}$
年齡分組	20~23 歲	濃縮劑	12g	30.0±0.0	31.5±6.0	2582.4±350.2	3689.2±889.5	1489.6±331.2	111.0±53.5
			18g	34.3±11.3	47.0±6.8	3599.8±441.1 [a]	4374.1±564.9 [a]	1834.0±253.8 [a]	76.4±16.7
		水煎劑	135mL	30.0±0.0	33.4±11.6	2450.4±589.1	3661.6±839.6	2240.2±435.8	148.3±95.9
			170mL	25.0±10.0	63.6±29.8	3920.1±1223.9	5163.2±1032.9	1985.1±455.1	144.9±114.1
	24~29 歲	濃縮劑	12g	30.0±0.0	32.4±1.2	2638.6±633.0	3172.5±814.8	1727.6±443.7	72.0±4.9
			18g	31.1±12.7	42.3±15.8	3668.2±946.4[a]	4591.3±1127.6 [a]	1820.3±466.8 [a]	78.9±20.9
		水煎劑	135mL	28.8±15.5	38.8±12.0[b]	2849.8±506.3[b]	3963.6±1016.9	2108.5±532.4	114.1±43.2
			170mL	25.0±10.0	55.1±28.7	3439.1±1522.5	4539.7±1694.5	2390.7±777.5	126.5±69.4
	30~34 歲	濃縮劑	12g	30.0±0.0	26.1±6.8	2166.2±232.5	3099.5±453.9	1732.8±234.2	112.8±19.9
			18g	30.0±0.0	34.8±11.3	2757.8±927.4	3575.3±758.8	2294.4±491.1	106.6±63.9
		水煎劑	135mL	26.0±8.9	26.3±8.9	2075.6±373.1	3117.8±564.0	2593.3±414.0	133.0±56.7
			170mL	37.5±15.0	39.7±19.0	2606.4±893.2	3768.7±1033.2	2769.2±699.3	152.4±49.9
	全部	濃縮劑	12g	26.7±10.0	26.3±8.8	2170.1±759.5	2956.3±883.9	1534.6±501.5	92.5±32.5
			18g	31.1±10.5	40.5±14.2	3283.4±1032.2	4097.1±1177.4	1878.1±554.0	82.4±38.4
		水煎劑	135mL	28.4±10.7	33.8±11.7	2519.9±576.1	3645.6±889.4	2277.7±491.9	129.9±65.0
			170mL	29.2±12.4	52.8±25.9	3321.9±1256.8	4490.5±1311.5	2381.7±683.1	141.3±75.3

	分組	劑型	劑量	$T_{max(\ min)}$	C_{max}（ng/mL）	$AUC_{0\text{-}180min}$（min × ng/mL）	$AUC_{0\text{-}\infty}$（min × ng/mL）	Cl（mL/min）	$T_{1/2\ (\ min)}$
交叉劑量分組	A	濃縮劑	12g	30.0±0.0	28.2±8.2	2416.4±438.1	3481.8±836.4	1580.5±325.9*	110.7±43.7
		水煎劑	135mL	30.0±0.0	33.5±14.8	2503.7±755.5	3467.2±523.5	2314.3±317.5	118.4±31.1
	B	濃縮劑	18g	30.0±0.0	44.4±12.3	3370.1±638.2	4111.5±692.3	1972.7±359.8*	80.5±10.6*
		水煎劑	170mL	31.4±14.6	49.4±28.1	3223.9±1242.7	4544.3±1145.8	2310.0±626.5	163.8±90.6
	C	濃縮劑	12g	30.0±0.0	31.2±1.8*	2464.3±423.6*	3196.0±575.0*	1700.0±309.7	93.2±29.4
		水煎劑	170mL	25.0±10.0	64.1±23.2	3797.9±1372.4	4773.8±1675.6	2272.2±776.8	102.7±34.9
	D	濃縮劑	18g	32.7±12.2	40.5±13.1	3411.3±985.0**	4307.5±1062.1	1945.3±500.8	88.1±45.0*
		水煎劑	135mL	28.0±12.1	33.9±11.4	2524.3±551.6	3693.2±973.1	2267.9 ±537.6	133.0±71.9

a:服用 18 克濃縮製劑組，與 30 歲以上組有差異者 $p<0.05$

b:服用 135mL 水煎劑組，與 30 歲以上組有差異者 $p<0.05$

同一人交叉服用 12 克/135 mL 、18 克/170 mL、12 克/170 mL 及 18 克/135mL 相互比較之結果，*：$p<0.05$; **：$p<0.05$

表二、受試者服用四物湯濃縮製劑之生化值參數

LH：黃體激素，FSH：濾泡刺激素，E2：雌二醇(Estradiol)，

P4：黃體脂酮(Progesterone)及 T：睪固酮（Testosterone）。

0：服四物湯前之檢查數值

1：服用 1 個月後或服用後第一次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

2：服用 2 個月後或服用後第二次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

3：服用 3 個月後或服用後第三次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

LH：最小可測量濃度為 0.3 mIU/mL

E2：最小可測量濃度為 10 pg/mL

濃縮製劑組（18 克/天）								
篩選編號	**實驗編號**	**抽血次序**	**LH (mlU/mL)**	**FSH (mlU/mL)**	**E_2 (pg/mL)**	**P4 (ng/mL)**	**T (ng/mL)**	**LH/FSH**
16	1	0	16.4	5.8	38	-	0.9	2.83
		一個月後，失聯。						
21	2	0		6.88	308	1.56	0.69	
		因受試者看其他中醫，該醫師建議不要吃其他中藥，而退出 a						
12	**3**	0	14.93	6.5	38	0.61	0.80	2.30
		1	<0.3	1.41	<10	1.21	0.08	0.21
		2	<0.3	2.89	10.1	0.54	0.17	0.10
		3	0.3	1.86	10.6	0.40	0.14	0.16
24	4	0	8.92	5.22	38	0.4	1.09	1.71
		1	4.57	8.29	15.1	0.63	0.47	0.55
		退出試驗						

濃縮製劑組（18 克/天）								
篩選編號	**實驗編號**	**抽血次序**	**LH (mlU/mL)**	**FSH (mlU/mL)**	**E_2 (pg/mL)**	**P4 (ng/mL)**	**T (ng/mL)**	**LH/FSH**
54	5	0	0.64	4.99			0.95	0.13
		1	2.76	9.36	21.8	0.44	0.43	0.29
		2	0.66	6.5	10.8	0.38	0.38	0.10
		3	0.49	8.21	10.8	0.75	0.44	0.05
44	6	0	2.8	6.4	46	0.53	0.27	0.44
		1	13.1	10.1	13	0.86	0.55	1.29
		2	4.25	11.7	21.2	0.79	0.45	0.36
		退出試驗						
87	7	0	7.7	6.5	32	1.08	0.89	1.18
		1	3.16	8.86	30.5	1.19	0.93	0.35
		2	2.57	13	23.1	1.39	1.05	0.19
		3	2.65	7.59	42.7	1.24	0.97	0.34
94	8	0	16.0	6.7	50	0.69	0.84	2.39
		1	8.69	8.96	10.9	0.7	0.74	0.96
		2	5.7	8.35	28	0.92	0.84	0.68
		3	6.42	8.58	22.6	1.1	0.93	0.74

表三、受試者服用四物湯水煎劑之生化值參數

LH：黃體激素，FSH：濾泡刺激素，E_2：雌二醇(Estradiol)，P4：黃體脂酮(Progesterone)及 T：睪固酮（Testosterone）。

0：服四物湯前之檢查數值

1：服用 1 個月後或服用後第一次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

2：服用 2 個月後或服用後第二次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

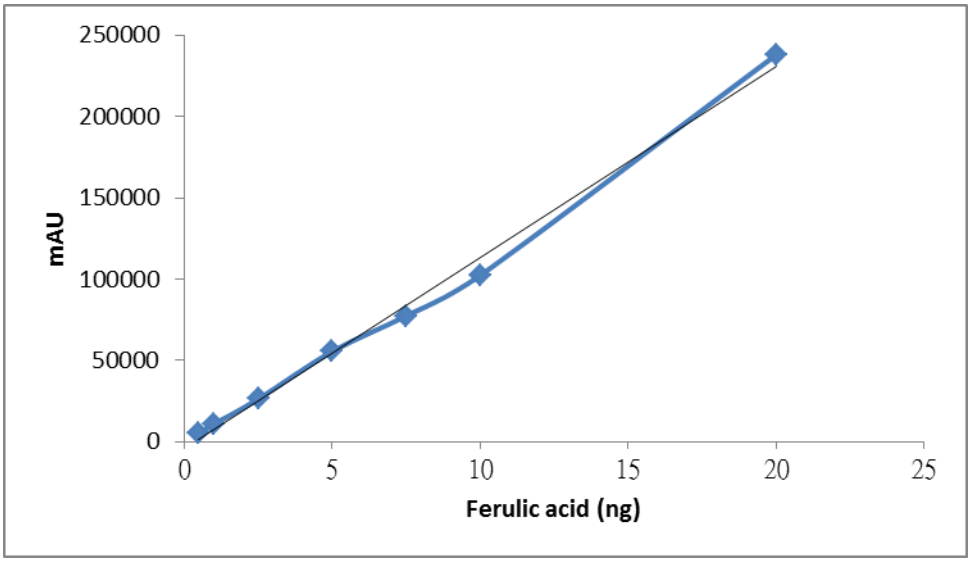
3：服用 3 個月後或服用後第三次月經來潮之第 3～5 天檢查數值

a:受試者可於自由意志下，選擇是否繼續參加試驗，退出無需特殊理由。當受試者服用一個月後，研究人員通知受試者時，其表明已改看其他中醫師，所以無法參加本試驗，而已停止服用。其停止服用之主因：其改看之中醫師要求其聽從醫囑，不要隨便服用其他中藥或西藥，避免影響該醫師之治療效果，並非針對四物湯，而要求停用。

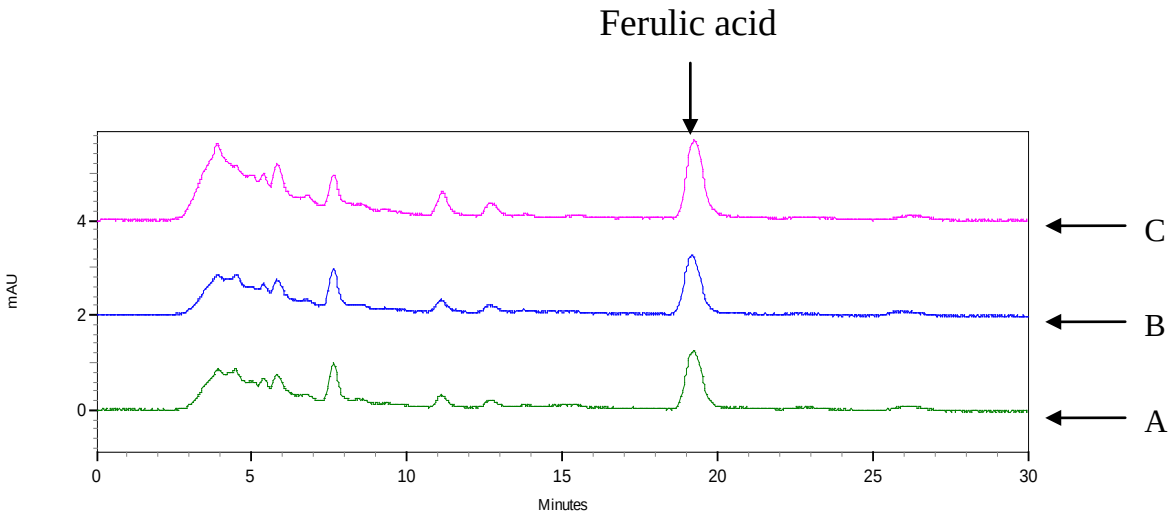
水煎劑組（170 mL/天）								
篩選編號	實驗編號	抽血次序	LH（mlU/mL）	FSH（mlU/mL）	E_2 (pg/mL)	P4 (ng/mL)	T (ng/mL)	LH/FSH
15	1	0	18.87	6.76	53.0	0.57	0.74	2.79
		1	1.39	6.07	14.5	0.45	0.25	0.23
		2	0.87	4.57	78.3	3.59	0.20	0.19
		3	0.83	5.68	15.2	0.47	0.26	0.14
7	2	0	-	6.88	308	1.56	0.69	
		1	吃後有腹瀉（同意書記載預期之不良反應），受試者決定退出。					
1	3	0	16.4	5.8	38	-	0.9	2.83
		1	14.50	8.85	152.0	1.15	0.67	1.64
		2	2.94	7.26	22.2	0.75	0.52	0.40
		3	2.83	7.75	11	0.74	0.44	0.36

水煎劑組（170 mL/天）								
篩選編號	實驗編號	抽血次序	LH（mlU/mL）	FSH（mlU/mL）	E_2 (pg/mL)	P4 (ng/mL)	T (ng/mL)	LH/FSH
23	4	0	9.49	5.19	79	0.86	1.11	1.82
		1	2.79	14.50	33.0	0.89	0.45	0.19
		2	2.03	7.88	18.8	0.84	0.43	0.25
		3	1.48	8.81	19.8	0.89	0.4	0.16
20	5	0	12.7	9.77	82.2	0.91	0.29	1.17
		1	1.43	8.94	10.5	0.61	0.21	1.29
		2	12.7	9.77	82.2	0.91	0.29	0.15
		3	1.23	4.9	10.8	0.87	0.12	0.25
60	6	0	10.06	7.92				1.27
		1	1.98	9.88	17.1	0.93	0.39	0.20
		2	2.4	7.96	47.4	11.1	0.43	0.30
		退出試驗						
86	7	0	9.9	7.60	42	0.62	0.88	1.30
		1	1.35	11.6	18.2	0.91	0.83	0.11
		2	0.63	8.34	11	0.79	0.46	0.07
		3	1.36	9.92	16.6	0.83	0.66	0.13
57	8	0	57	123	20	0.44	0.28	0.48
		1	10.5	51.6	30.9	0.42	0.14	0.20

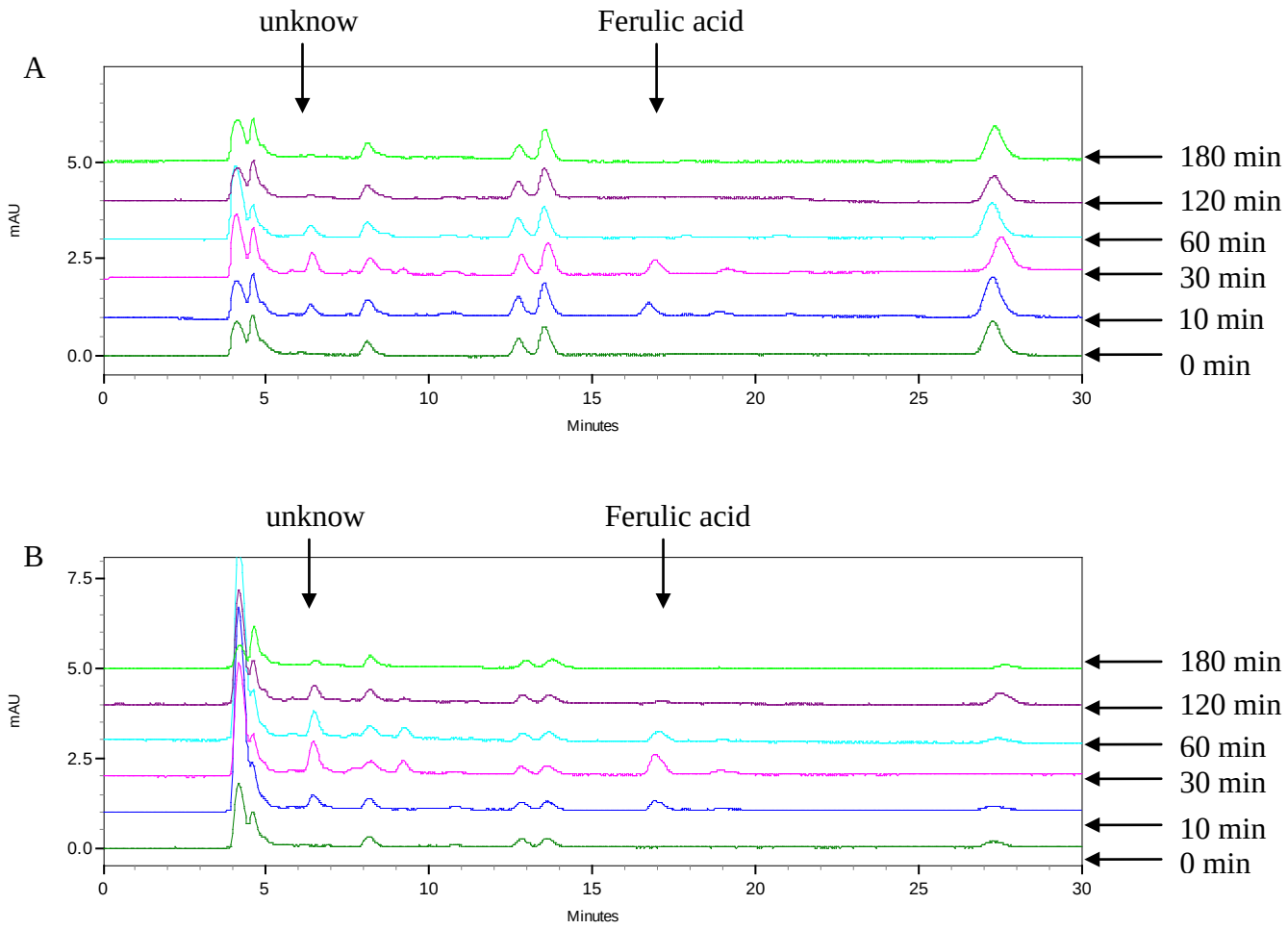
水煎劑組（170 mL/天）								
篩選編號	實驗編號	抽血次序	LH（mlU/mL）	FSH（mlU/mL）	E_2 (pg/mL)	P4 (ng/mL)	T (ng/mL)	LH/FSH
		2	90.1	22.3	98.2	0.38	0.28	4.04
		3	5.11	27.8		0.31	0.59	0.18
123	9	0	13	6.20				2.10
		1	7.3	8.24	33.4	0.8	0.53	0.88
		退出試驗						
72	10	0	8.6	5.90	22	0.81	0.68	1.46
		1	4.52	8.6	29.1	0.92	0.6	0.52
		退出試驗						
65	11	0	19	8.7	47	1.06	0.8	2.18
		1	10.1	8.96	57.3	1.29	0.91	1.12
		退出試驗						
80	12	0	12	4.8	50	0.76	0.84	2.50
		退出試驗						



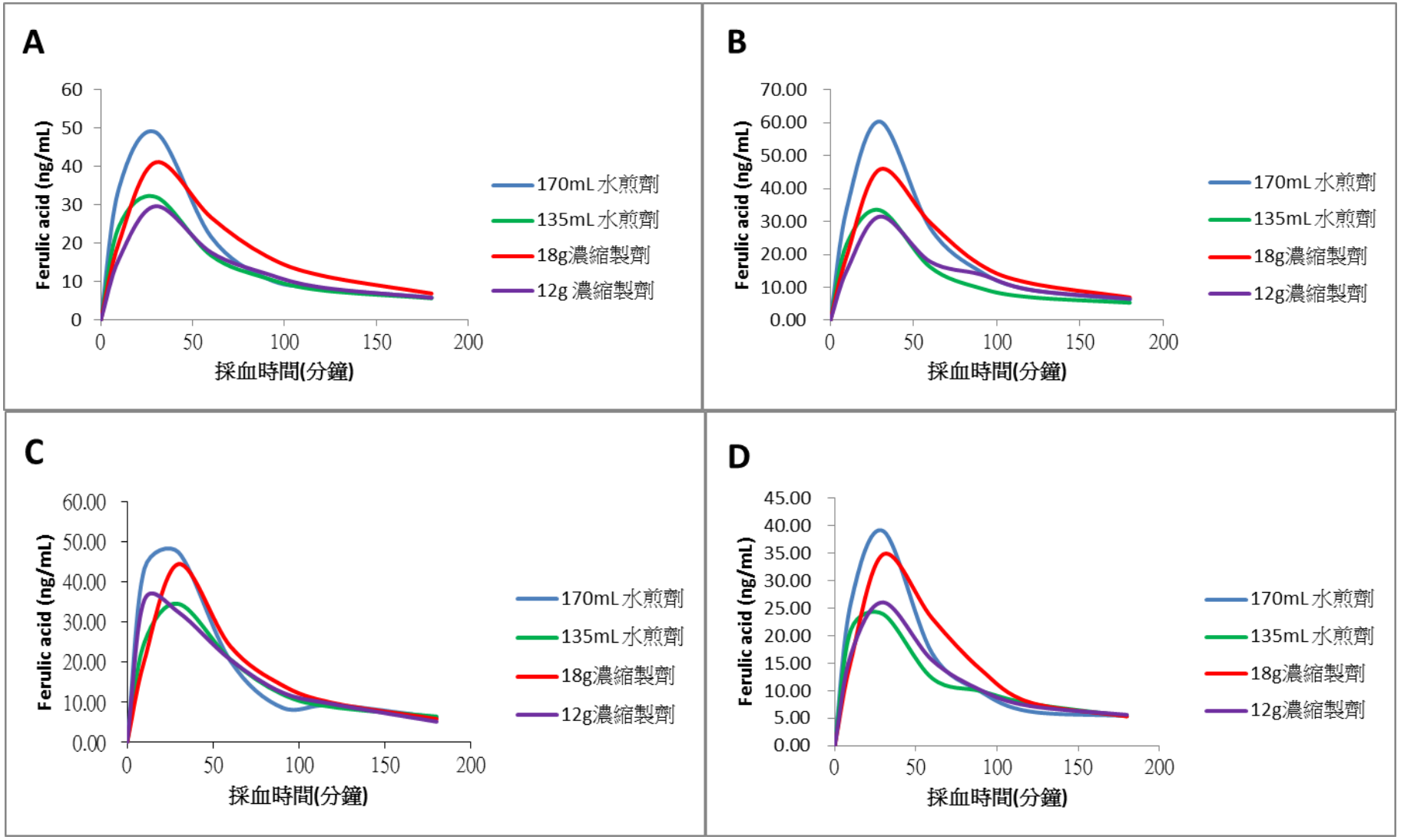
圖一、阿魏酸之檢量線



圖二、四物湯水煎劑（A）、濃縮製劑-水萃物（B）以及濃縮製劑-70%MeOH 萃物（C）之阿魏酸檢測 HPLC 圖譜

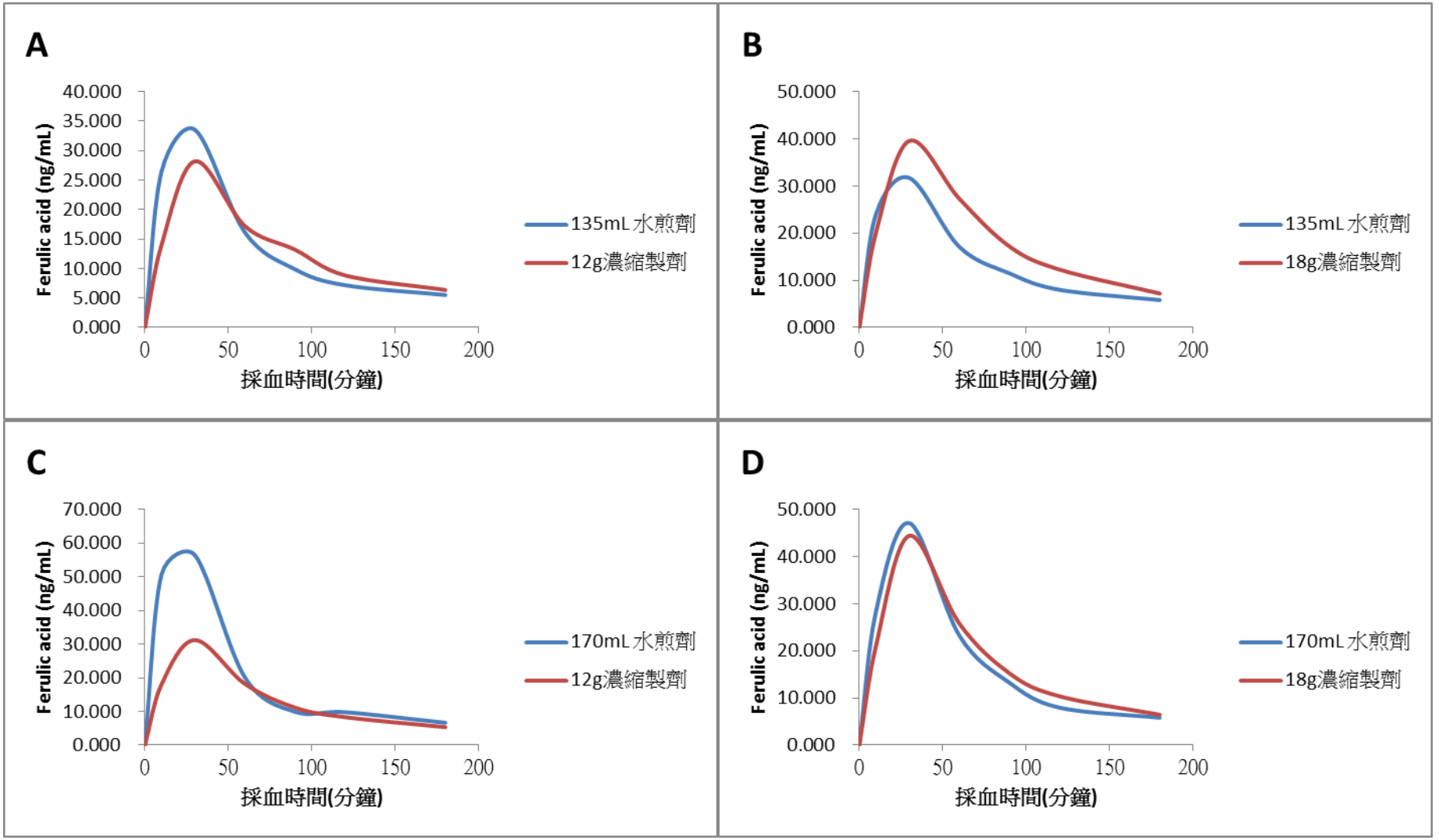


圖三、服用四物湯水煎劑 135 mL（A）及濃縮製劑 18 克（B）之血清中阿魏酸檢測 HPLC 圖譜



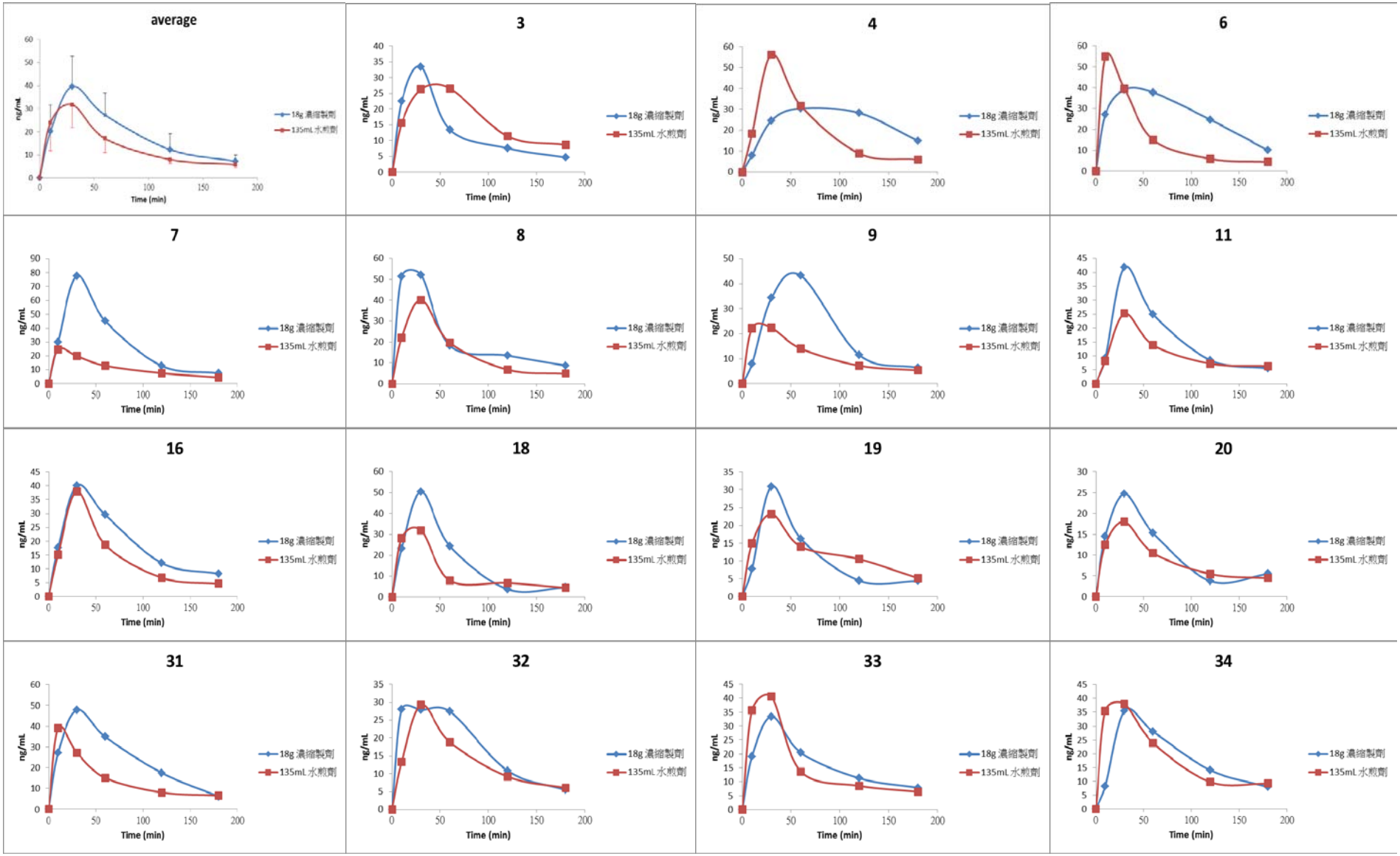
圖四、不同年齡之服用不同劑型及劑量之阿魏酸血中濃度分布曲線

（A）30 個人平均（B）20-23 歲，10 人 (C) 24-29 歲，11 人 (D)30-34 歲，9 人

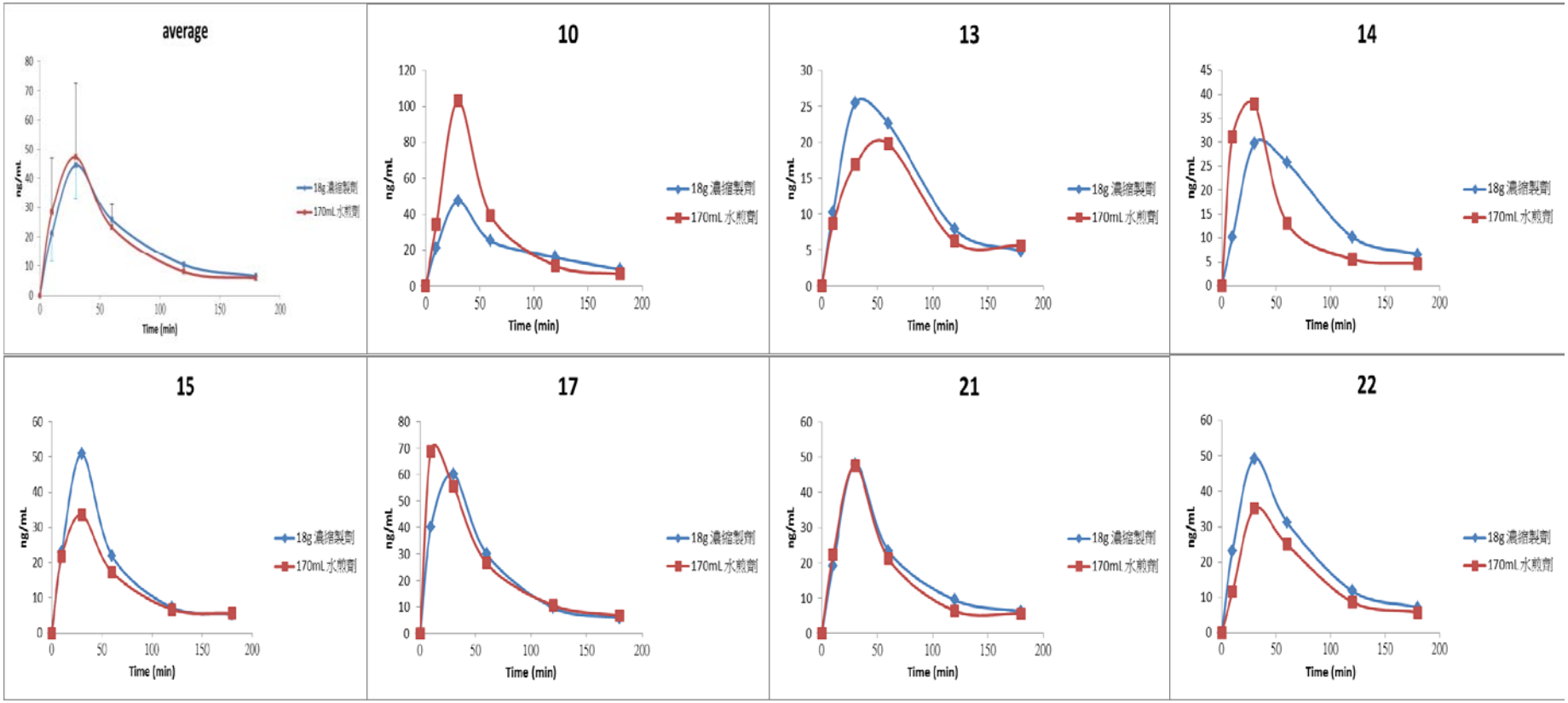


圖五、同一人交叉服用兩種劑型，阿魏酸血中濃度平均分布曲線圖

（A）135mL 水煎劑/12 克濃縮製劑，4 人（B）135mL 水煎劑/18 克濃縮製劑，15 人 (C) 170mL 水煎劑/12 克濃縮製劑，4 人　(D) 170mL 水煎劑/18 克濃縮製劑，7 人



圖六、135mL 水煎劑與 18 克濃縮製劑於同一人交叉服用後，血中阿魏酸濃度分布曲線圖



圖七、170mL 水煎劑與 18 克濃縮製劑於同一人交叉服用後，血中阿魏酸濃度分布曲

編號：CCMP99-RD-059

促進植物細胞生物合成與指標成分的製備

吳金濱
中國醫藥大學 藥物化學研究所

摘　要

研究目的：

本計畫運用實驗室已經建立的枇杷懸浮細胞培養的基礎上，探討各種前驅誘導物質或二次代謝物促激劑對枇杷細胞生合成三萜酸的影響。一方面提高細胞培養量、另一方面提高二次代謝產物三萜酸的含量，並且放大到 35 公升級的生物反應器進行培養。確立傳統藥材的生物技術利用，並提取純化培養細胞的主要有用成分，供作中藥指標成分之用。

研究方法：

透過已馴化的枇杷細胞株，利用生物反應器培養來尋找各種調控因子促進植物細胞生長及合成二次代謝產物方法。培養過程中，每兩天進行採樣，將取得的萃出液進行各種檢測；記錄細胞的生長情形與利用 HPLC 分析細胞中二次代謝產物的含量。最後分離純化出三萜酸成分。

結果與討論：

生物反應器培養中，最理想的生長環境為(MS)medium，BA 2.5 ppm，NAA 1 ppm，3% sucrose 及轉速 80 rpm。蔗糖能提高細胞量，且有利於 Tormentic acid (TA) 的生產；果糖則有利於 Corosolic acid (CA)的生成。離子添加後，培養至第 20 天能達到最高乾重，第 26~30 天時，可以達到最高的三萜酸類產量。於第 16 天添加 Methyl jasmonate 100mM 進行老化誘導可以有效增加細胞乾重 15%，總三萜酸含量增加 23%，TA 含量增加 55%。添加醋酸可同步提高所有三萜酸含量。傳統型的轉子可得到較多的細胞重量，離心型可以提高二次代謝產物的產率。於第八天後額外添加 3%蔗糖，使細胞乾重高達 22.42 g/L。細胞於 35L 的生物反應器中培養仍有良好的平行放大性。細胞乾重介於 11.48 g/L ~ 12.7 g/L 之間，而三萜酸產量介於 151.54 mg/g ~ 135.48 mg/g 之間。顯示本試驗細胞株可放大培養。

關鍵詞：二次代謝產物、生物反應器、三萜酸、Tormentic acid

Number: CCMP99-RD-059

Promote Plant Cell Biosynthesis and the Preparation of Index Components

Jin-Bin Wu
China Medical University

ABSTRACT

Aim:

The aim of this study is development of the loquat cell lines to find the best method of suspension culture to synthesis second metabolites of triterpenoic acids, as a base study of precussor, elicitor to obtain a large scale of the secondary metabolites of bioreactor culture. Furthermore, use 35 liter bioreactor for a large scale of secondary metabolites syntehsis. Thus, to obtain large scale of secondary metabolites in loquat from suspension culture cells, And purify the bioavtive components for authentic sample of Chinese medicine.

Method:

Through the loquat cell have been domesticated. To use the bioreactor to find a variety of regulatory factors to promote cell growth and synthesis of plant secondary metabolites methods. Sampling every two days and used filter paper to filtrate lequid and cells to obtaine data for various detection. Records of cell growth and HPLC analysis of secondary metabolites. Finally, purified triterpene acid components.

Results & Discussion:

The great growth environment in bioreactor was MS medium with BA 2.5 ppm, NAA 1 ppm, 3% sucrose, 80 rpm speed. Sucrose could improved all production. Especially, conducived to the production of TA, if changed source to fructose, it couled conducived to the growth of CA. After ion added, the study achieved the highest dry weight In day 20 and the highest triterpene acids yield in day26~30. In day 16, added Methyl jasmonate 100mM could increased 15% cell dry weight, 23% triterpene acids and 55% Tormentic acid. On the other hand, Acetic acid added to increase all the triterpene acid content. The traditional type rotor could availabled much more weight of the cells. Centrifugal type was increased the yield of secondary metabolites. In day 8, Added an additional 3% sucrose could let the dry cell weight up to 22.42 g/L. Cells in the 35 L bioreactor was still a great zoom in parallelism, dry cell weight between12.7 g/L ~ 11.48 g/L, triterpene acids yield between 151.54 mg/g ~ 135.48 mg/g. Those data Showed that loquat cell could zoomed for culture.

Keywords: Secondary metabolites, bioreactor, triterpene acids, Tormentic acid

壹、前言

本計畫以開發本土藥用植物資源為目的，利用本實驗室已經建立的枇杷懸浮細胞培養的基礎上，探討各種前驅誘導物質或二次代謝物促激劑對枇杷細胞生合成三萜酸的影響，在近代研究中，枇杷葉中的五環三萜類具有很多的藥理活性，包括：增強免疫[(1)]及胰臟 β-cell 的作用[(1)]、抗 HIV 活性[(2)]、抑制心臟手術後血管再狹窄[(3)]、抗腫瘤作用[(4)]、減肥[(5)]及抗骨質疏鬆[(6)]，本研究目標為提高培養的細胞產量、另一方面又能提高二次代謝產物三萜酸[(7)]的含量並建立 35 公升的生物反應器的試生產培養技術，作為進入工業級產能的跳板，並進行培養細胞中有用物質薔薇酸的純化與分離，提供作為中藥指標成分，以及藥物或中藥新藥開發的原料，確立生物技術在中藥材的永續資源利用。

貳、實施方法

一、材料

(一)枇杷葉經過脫分化誘導的癒傷組織，進行優化篩選的細胞株

(二)試藥

MS 培養液

生長調節劑(6-Benzyladenine、α-naphthalene acetic acid)

碳源與磷含量試驗：蔗糖、葡萄糖、果糖、磷

細胞存活率試驗：TTC 試劑、磷酸鹽緩衝液

生合成刺激劑：Methyl jasmonate、 Pectin

誘導後細胞的生長與二次代謝產物動力學分析試驗：Acetic acid、Farnesol

乙醇、HPLC 級甲醇、二次水

(三)儀器

蒸餾水製造機、電子天平、超音波震盪器、無菌操作台、高溫高壓滅釜、恆溫水浴槽、離心濃縮機、高效液相層析儀、震盪培養器、7L 生物反應器(New Brunswick Scientific BioFlo110, USA)、35L 生物反應器、pH 檢測器、導電度檢測器、離子檢測器(RQflex plus10, Merck)、ELISA 吸光檢測器、烘箱

二、方法

(一)高濃度培養之懸浮細胞的建立

1. 培養液的配製：以 MS (Murashige & Skoog,1962)[9][12] 無機鹽類及有機成分為基本配方，添加 3 % 蔗糖及，配 NAA(α-naphthaleneacetic acid)、2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid)、BA (6-benzyladenine)、kinetin 等各類植物生長調節劑，用 1N NaOH(aq)及 HCl(aq)將 pH 值調整至 5.70±0.01，然後以 121℃進行高壓滅菌 15 分鐘後即可。
2. 培養環境：接種後，將材料置於 25 ± 1℃之恆溫、黑暗下培養。
3. 接種方法：以反應器為培養容器，接種細胞濃度至 32g 新鮮細胞/L，經 20 天培養後進行繼代。

(二)不同碳源及含磷量對細胞生長代謝測試

1.不同的碳源對於細胞生長的影響：

(1)分別秤取蔗糖 30g/L、葡萄糖 30g/L 與果糖 30g/L[14]添加於 MS 培養液中。

秤取新鮮細胞接種於 400ml 含有不同碳源的三角錐型瓶中，使細胞密度為 32g/L。

(2)120rpm 轉速下迴旋振盪器振盪培養[11]，培養溫度 25±1℃

(3)每兩天進行採樣，記錄細胞之鮮重後將細胞至於烘箱中65℃乾燥兩天。記錄細胞乾重並利用HPLC分析總三萜類含量，重複試驗進行統計。

2.不同磷酸鹽濃度對於細胞生長的影響：

(1)使用最適當的碳源，培養於含有 400ml 培養基之 1000ml 三角瓶中。

於細胞培養 16 天(細胞生長停止之前兩天)時，每天兩次，連續四天額外添加磷酸鹽，使的總添加磷酸鹽總量為 110ppm。

(2)添加磷酸鹽後每 2 天取出其培養液，分析培養液中之 pH、導電度之變化。

將細胞置烘箱中 65℃乾燥兩天。重複試驗進行統計。

(三)各種添加劑對於細胞的生長及代謝影響

1. 添加刺激劑誘導物質對於細胞生長的影響：

在MS培養液BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖3%的條件下，當培養至第16天時，添加100mM Methyl jasmonate及1000mM Pectin。

2. 添加前驅物誘導物質對於細胞生長的影響：

(1)在MS培養液BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖3%的條件下，分別添加0.05、0.5、5mM的Acetic acid及0.01、0.1、1mM的Farnesol，然後分別滅菌。於25℃、無光照、轉速120rpm下進行連續震盪培養。

(2)每兩天進行採樣，記錄細胞的沉澱高度(細胞數量)，利用0.22μm的濾紙將濾液與細胞分離。分析濾液(培養液)中酸鹼值與導電度並記錄細胞的鮮重。

(3)將分離的細胞置於65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用HPLC分析總三萜類含量。

(四)細胞存活率試驗方法的建立

1. 根據 Towill and Mazur 所描述，利用 TTC 與粒線體中的粒腺體水解脢進行反應後生成 TPF，在依呈色程度來計算細胞的存活率。

2. 將 200mg 之新鮮細胞用 5ml 的二次水洗淨，再加入 4ml，TTC 試劑(0.08% w/v TTC,加入 50mM 磷酸鹽緩衝液，使 pH=7.5)，在黑暗中 23℃下放置 24 小時候用二次水潤洗 3 次。

3. TPF 利用 5ml 的 95%乙醇 60℃下萃取 25 分鐘。

以95%乙醇作為背景，在485nm下測量吸光度。然後再計算細胞的存活率。

(五)生物反應器中不同影響因子試驗：

1. 不同轉子的影響：

(1)本實驗利用97年度之研究成果，延續實驗室內已馴化過的優良的枇杷細胞株，適量接種於內含MS BA2.5ppm、NAA 1ppm、蔗糖3%的7公升生物反應器中。

(2)在轉速80rpm、通氣1vvm、25℃、無光照的情形下，分別在傳統型與離心型兩種不同轉子的反應器中進行培養。

(3)每兩天進行採樣，利用0.22μm的濾紙將濾液與細胞分離。分析濾液(培養液)中酸鹼值與導電度並記錄細胞的鮮重。

(4)將分離的細胞置於65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用HPLC分析總三萜類含量。

2. 流加培養的影響：

(1)本實驗利用97年度之研究成果，延續實驗室內已馴化過的優良的枇杷細胞株，適量接種於內含MS BA2.5ppm、NAA 1ppm、蔗糖3%的7公升生物反應器中。

(2)在轉速80rpm、通氣1vvm、25℃、無光照的情形下進行培養。

(3)於培養第8天後，額外添加3%蔗糖於培養液中

(4)每兩天進行採樣，利用0.22μm的濾紙將濾液與細胞分離。分析濾液(培養液)中酸鹼值與導電度並記錄細胞的鮮重。

(5)將分離的細胞置於65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用HPLC分析總三萜類含量。

(六) 35公升放大型生物反應器培養之建立

1. 固體培養的建立：

將新鮮細胞繼代於 MS 培養基 BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖 3%的條件下,使細胞濃度為 32g 新鮮細胞/L，接種後，將培養基置於 25 ± 1℃之恆溫、黑暗下培養 30 天。之後取出的細胞置於 65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用 HPLC 分析總三萜類含量。

2. 1L級震盪培養平行放大：

取適量已馴化生長快速的新鮮細胞，接種於 400 ml 培養液中，內含有 MS 培養液 BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖 3 % 的 1L 三角錐型瓶中，使細胞密度為 32g/L。將錐形瓶置於 25 ± 1℃之恆溫、黑暗下連續震盪培養 24 天。每兩天進行採樣，將濾液與細胞分離。記錄細胞的鮮重，將分離的細胞置於 65℃烘

箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並分析總三 萜類含量。

3. 7L級生物反應器平行放大建立：

取新鮮細胞液繼代於含有 MS 培養液 BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖 3%的 7 L 生物反應器中，使細胞濃度為 32g 新鮮細胞/L，總體積為 5 L。將反應器置於 25 ± 1℃之恆溫、黑暗下，轉速為 40rpm，通氣速度 1vvm 進行連續培養 18 天。每兩天採樣一次，每次採樣 10 mL ，將濾液與細胞分離。記錄細胞的鮮重，將分離的細胞置於 65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用 HPLC 分析總三萜類含量。

4. 35L級生物反應器平行放大建立：

取 7L 級生物反應器內適量的新鮮細胞液繼代於含有 MS 培養液 BA 2.5ppm，NAA 1ppm，蔗糖 3%的 35 L 生物反應器中，使細胞濃度為 32g 新鮮細胞/L，總體積為 30 L。將反應器置於 25 ± 1℃之恆溫、黑暗下，轉速為 40rpm，通氣速度 0.3vvm 進行連續培養 18 天。每兩天採樣一次，每次採樣 10 mL ，將濾液與細胞分離。記錄細胞的鮮重，將分離的細胞置於 65℃烘箱中乾燥兩天，記錄細胞乾重並利用 HPLC 分析總三萜類含量。

(七)活性成分分析及大量分離純化方法

1. 癒傷組織之萃取方法：

精稱癒傷組織 1g，研碎，加入 20ml 乙醇加熱抽 70℃共回流 6 小時(三次)，

濃縮三次萃取得抽出物(mg)，之後利用 HPLC 進行三萜酸含量分析。

2. 高效液相層析儀(HPLC)之分離條件：

層析管：Ascentis™ C18 HPLC column, 250 x 4.6 mm, 5 µm

移動相：pump A 為 Methanol，pump B 為 H_2O； Methanol /H2O = 7 / 3

流速：pump A : pump B = 0.8 : 0.1→1.6 : 0.1→3.2 : 0.1mL/min

檢測器：折射檢測器

3. 指標成分分離純化方法：

取 5 公升及 35 公升細胞反應器培養的懸浮細胞過濾，分離細胞，秤細胞濕重，置於 60 度烘箱乾燥，秤取乾燥重量，用 10 倍酒精下迴流煎煮，減壓濃縮至浸膏狀，以乙酸乙酯和水進行分配，取乙酸乙酯層濃縮物作為三 萜酸總含量，利用製備型高效液相層析進行各成分之分離，所純化的化合物經核磁共振進行結構鑑定。

(八)碳源（蔗糖，葡萄糖，果糖）濃度測定方法

1. 高效液相層析儀(HPLC)之分析條件

   層析管：Merck NH2-N column（5μm, 4.6×250mm）

   移動相：Acetonitrile: Water= 88:12

   流速：1.2 mL/min

   檢測器：折射檢測器

2. 樣品以 0.45 μm 之濾膜過濾後 4℃ 冷藏並避免與空氣接觸。過濾時，濾膜及過濾器應先使用大量去離子蒸餾水淋洗，以減少誤差。將標準各種糖溶液及待測定之樣品置於室溫或水浴中保持恆溫，水溫保持在 25 ±0.5℃。

參、結果

一、細胞生長與二次代謝物之生產的理想培養條件為 Murashige and Skoog (MS) medium，(BA) 2.5 ppm，(NAA) 1 ppm，碳源為 Sucrose 及轉速為 80rpm 的生長環境。下有較理想的。（見圖 1）

二、蔗糖可以得到最好的細胞生長效率（見圖 2），與其他碳源比較為蔗糖>葡萄糖>葡萄糖+果糖>果糖（見圖 3）。

三、二次代謝產物三萜酸總產量的影響，分別為蔗糖>果糖>葡萄糖（見圖 3~4）。蔗糖有利於 TA 的生產（見圖 5）；而果糖有利於 CA 的生產（見圖 6）。混合糖的培養，TA 及 CA 含量則介於蔗糖與果糖之間。

四、離子添加實驗中（見圖 7~10），在鈣、鎂的添加，離子總消耗量並無明顯增加；磷的添加並沒有反映於細胞的生長與二次代謝產物，但導電度、pH 值都有變化。在第 20 天培養能達到最高乾重，鈣最高乾重為 13.1g/L ；鎂最高乾重為 14.2g/L ；磷最高乾重為 12.7g/L；而培養到第 26~30 天時，可以達到最高的三萜酸類產量（117.8~125.3 mg/g cell dry weight）。

五、誘導物質的添加實驗中（見圖 11~14），添加 Methyl jasmonate 可以刺激細胞生長，並提高細胞乾重約 15%。二次代謝產物也提高 23%的產率，增加的部分都集中於 Tormentic acid，提高了約 55%。誘導物質的添加對於 pH 值有較大的影響。然而對於導電度則沒有太大的變化。

六、誘導物質添加後的細胞生長與二次代謝產物結果（見圖 15~18）。於第 16 天添加 Methyl jasmonate 100mM 可以有效的增加細胞乾重 15%，總三萜酸含量增加 23%，Tormentic acid 含量增加 55%。此數據顯示，Methyl jasmonate 可以有效的提高 Tormentic acid 的產率。Pectin 的添加不影響細胞的生長與代謝物產生。對導電度也沒有太大的變化（見圖 20~21）。

七、細胞存活率試驗方法顯示（見圖 19），可以反映誘導物質添加對細胞存活率的影響。Methyl jasmonate 與 Pectin 的添加會誘導細胞的凋亡。此現象與其他的研究相符合。

八、添加 Acetic acid 對細胞生長和二次代謝的影響，從結果（見圖 22~25）顯示當添加 5mM 的 Acetic acid 後，細胞的生長不但受到抑制且總三 萜酸的含量也降低，添加 5mM 的 Acetic acid，其導電度下降最慢；0.05mM 則對細胞的生長沒有太大的影響；而添加 0.5mM 的 Acetic acid 後，總三萜酸的含量有明顯的增加。針對不同三萜酸分析比較後，顯示 Acetic acid 同步的提高各種三萜酸的含量。

九、添加 Farnesol 的數據顯示（見圖 26~29），不同濃度的 Farnesol 並無法

有效的增加細胞的數量或是三 萜酸的產量。高濃度的 Farnesol 反而會抑制細胞的生長造成效率的低下。

十、生物反應器中改變不同轉子的結果（見圖 30~33），表明轉子的不同對於細胞的生長與代謝物的產生有很大的影響。傳統型轉子可得到較多的細胞重量，而離心型的轉子提高了二次代謝產物的產率；從導電度來看，離心型的轉子比傳統轉子更早消耗掉養分，並且將養份轉換合成三萜酸。

十一、生物反應器中糖的添加使得細胞乾重獲得突破（見圖 34~37）。單次培養的細胞乾重並無超過 18 g/L 的紀錄，本試驗於第八天後額外添加 3%蔗糖，使細胞乾重高達 22.42 g/L。但是細胞的快速增殖對三 萜酸的產量並沒有太大的影響，但可增加總產量，有繼續研究的價值。

十二、35 公升放大型生物反應器培養之建立

細胞於 35L 的生物反應器中培養仍有良好的放大平行性。細胞乾重介於 12.7 g/L ~ 11.48 g/L 之間，而三 萜酸產量介於151.54 mg/g ~ 135.48 mg/g 之間。顯示枇杷細胞株可放大培養，有利於經濟規模生產（見圖 38~39）。

肆、討論

一、利用生物反應器培懸浮養植物細胞調控生產二次代謝產物。不僅有利於大量提取純化、縮短植物生長時間，且不受地區和季節限制、也沒有金屬污染的問題，達到經濟工業化生產等優點。

二、本計畫建立枇杷細胞的懸浮培養基礎上修正其營養與環境影響因子，深入探討細胞生長，養分與二次代謝產物之間的動力學關係。結果顯示細胞接種密度 32g/L 為最理想的濃度，低於此密度的時候細胞生長緩慢，高於此密度時細胞生長會受到限制而停止增加。

三、碳源以利用蔗糖可以得到最高的生長效率。離子添加方面，磷的添加，在導電度、pH 都產生變化，有助於增進細胞與代謝產物的產量。

四、本計畫中建立了 35 L 生物反應器可以平行放大的技術，其中不同轉子對於細胞的生長代謝會產生很大的影響，且於培養第 8 天進行糖的添加，顯示細胞快速增殖。這些動力學研究的數據顯示枇杷細胞在生物反應器內培養可達到有效率的生產二次代謝產物。

伍、結論與建議

本計畫從基礎細胞培養到 35 公升生物反應器懸浮培養枇杷細胞，建立生物反應器的平行放大培養技術，並且純化分離萜酸類 等二次代謝產物，許多藥理研究顯示此類三萜酸類具有多種藥理活性，如降血壓、降血糖、降血脂等等作用。綜合結果的各種數據可以了解到在枇杷細胞在生物反應器培養中：

一、最適當高濃度培養條件為 MS 培養液 BA 2.5ppm，NAA 1ppm，碳源為 3%蔗糖，25 ± 1℃恆溫、黑暗下，轉速為 80 rpm。

二、蔗糖為碳源的條件下，細胞乾重、二次代謝產物產量及培養效率最優良。針對不同三萜酸類的生產方面，蔗糖培養系統利於 TA 的生產；果糖培養 系統則有利於 CA 的生產。

三、離子添加的結論中，第 20 天培養能達到最高乾重，26~30 天時，可以達到最高的三萜酸類產量。

四、在第 16 天添加 Methyl jasmonate 100mM 進行誘導可以有效的增加細胞乾重 15%，總三萜酸含量 23%，TA 含量 55%。

五、添加 0.5mM 的 Acetic acid 可以全面的提升三萜酸的產量。

六、傳統型轉子能得到較多的細胞重量；離心型的轉子得到較多二次代謝產物產量。

七、35 L 生物反應器平行放大條件建立，能夠生產出介於 12.7 g/L~ 11.48 g/L 之間的細胞乾重，及介於 151.54 mg/g ~ 135.48 mg/g 之間的三萜酸。

綜合以上條件得知利用生物反應器來進行枇杷細胞的培養將是一種經濟效益的生產模式，能夠取得大量的三萜酸活性成分。可以鎖定提取某特定三萜酸成分。從這次實驗結果可以反映出，生物反應器的開發研究，是將來細胞培養科技的趨勢，在本土中草藥資源開發使用中具有相當好的潛力。在培養放大的過程中，生物反應器內部環境影響因子調控，與固態培養及震盪培養比較起來，極為複雜，仍然有繼續探討改良的空間與需求，以期許能夠達到更高的生產效率。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-059 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

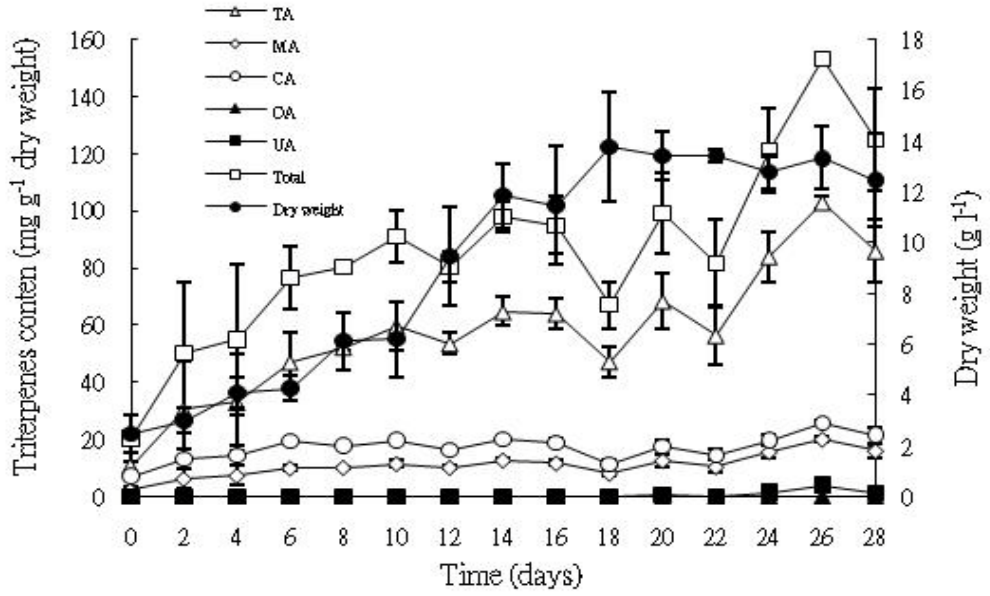
1. Sun-Mi Jang, Sung-Tae Yee, Jina Choi, Myung-Sook Choi, Gyeong-Min Do, Seon-Min Jeon ,Jiyoung Yeo, Myung-Joo Kim, Kwon-Il Seo, Mi-Kyung Lee. Ursolic acid enhances the cellular immune system and pancreatic β-cell function instreptozotocin-induced diabetic mice fed a high-fat diet. International Immunopharmacology 9 (2009) 113–119
2. Andres Parra, Francisco Rivas, Pilar E. Lopez a, Andres Garcia-Granados a, Antonio Martinez a, Fernando Albericio b, Nieves Marquez c, Eduardo Munoz c. Solution- and solid-phase synthesis and anti-HIV activity of maslinic acid derivatives containing amino acids and peptides. Bioorganic & Medicinal Chemistry 17 (2009) 1139–1145
3. Fernando J. Reyes-Zurita, Eva E. Rufino-Palomares Jose A. Lupianez, Marta Cascante. Maslinic acid, a natural triterpene from Olea europaea L., induces apoptosis in HT29 human colon-cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. Cancer Letters 273 (2009) 44–54
4. Kotaro YAMADA Masaya HOSOKAWA, Chizumi YAMADA, Rie WATANABE Shimpei FUJIMOTO Hideya FUJIWARA, Masaru KUNITOMO, Toshihiro MIURA, Tetsuo KANEKO, Kinsuke TSUDA, Yutaka SEINO, and Nobuya INAGAKI. Dietary Corosolic Acid Ameliorates Obesity and Hepatic Steatosis in KK-Ay Mice. Biol. Pharm. Bull. 31(4) 651—655 (2008)
5. Su-Ui Lee, Sang-Joon Park, Han Bok Kwak, Jaemin Oh, Yong Ki Min, Seong Hwan Kim. Anabolic activity of ursolic acid in bone: Stimulating osteoblast differentiation in vitro and inducing new bone formation in vivo. Pharmacological Research 58 (2008) 290–296
6. L.O.Somova, A. Nadar, P.Rammanan, F.O. Shode Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic acid and ursolic acid in experimentak hypertension. Pytomedicine 10 115-121, 2003
7. Shoko Taniguchi, Yoko Imayashi, Eri Kobayashi, et al. Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica*[J]. Phytochemistry, 2002, 59(3): 315~323.
8. Naveena B. Janakiram, Cooma Indranie, Swamy V. Malisetty, Patlolla Jagan, Vernon E. Steele, and Chinthalapally V. Rao. Chemoprevention of Colon

Carcinogenesis by Oleanolic Acid and Its Analog in Male F344 Rats and Modulation of COX-2 and Apoptosis in Human Colon HT-29 Cancer Cells. Pharmaceutical Research, Vol. 25, No. 9, September 2008

9. 原田, 駒嶺：”植物細胞組織培養” p.42，理工學社(1979)
10. 周明燕，廖玉珠，張定霖，陳駿季。蝴蝶蘭組織培養種苗生產費用結構分析。行政院農業委員會:統計與出版品 (193) July 2008
11. Li Xiao-Liu, Chen Chao, Li Yan-Mei, Shi Hong-Ling, Wang Hong-Mei. Cell suspension culture of *Pyrethrum cinerariifolium.* 植物生理學通訊 第 41 卷 第 1 期, 2005 年 2 月
12. 小島邦彥，植物組織培養的營養學. P38-p45：植物組織培養營養學 1993
13. Gunjan Prakash, Ashok K. Srivastava. Azadirachtin production in stirred tank reactors by Azadirachta indica suspension culture. Process Biochemistry 42 (2007) 93–97
14. SRINIVASAN V.; RYU D. D. Y. Improvement of shikonin productivity in Lithospermum erythrorhizon cell culture by alternating carbon and nitrogen feeding strategy. Biotechnology and bioengineering
15. R. Amdouna, L. Khelifi, M. Khelifi-Slaoui, S. Amroune, E.-H. Benyoussef, Dao Vu Thi, Assaf-Ducrocq , E. Gontier . Influence of minerals and elicitation on Datura stramonium L. tropane alkaloid production: Modelization of the in vitro biochemical response. Plant Science 177 (2009) 81–87

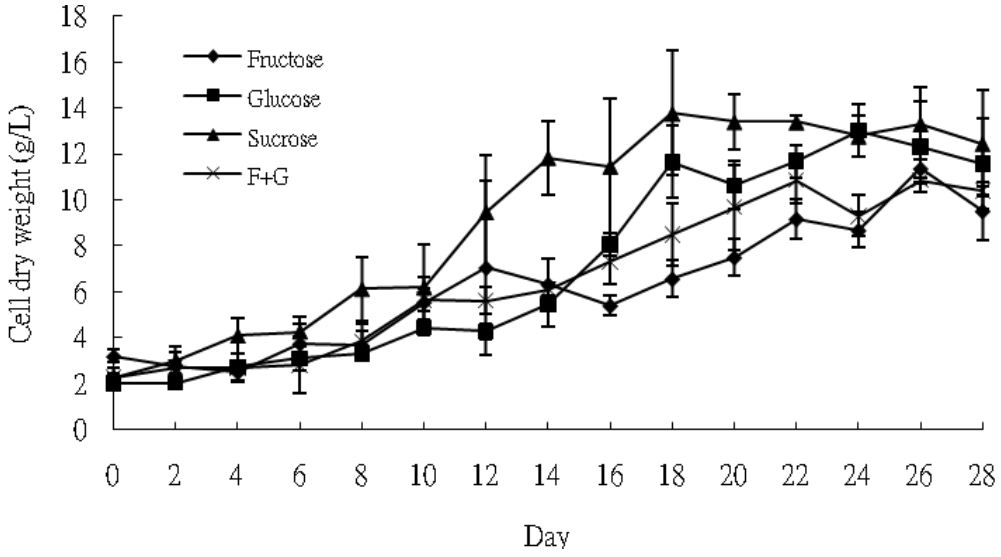
柒、圖、表

一、最適當培養條件所得之懸浮細胞乾重及二次代謝產物生產率



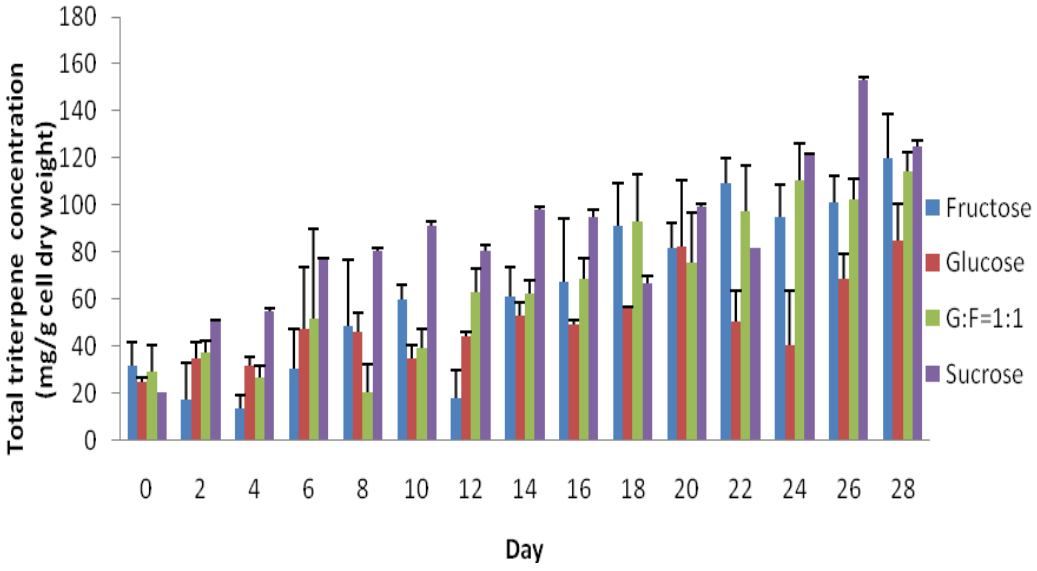
圖一、總細胞乾重及各二次帶謝產物產量 n=3

二、不同碳源對細胞生長與代謝的影響。

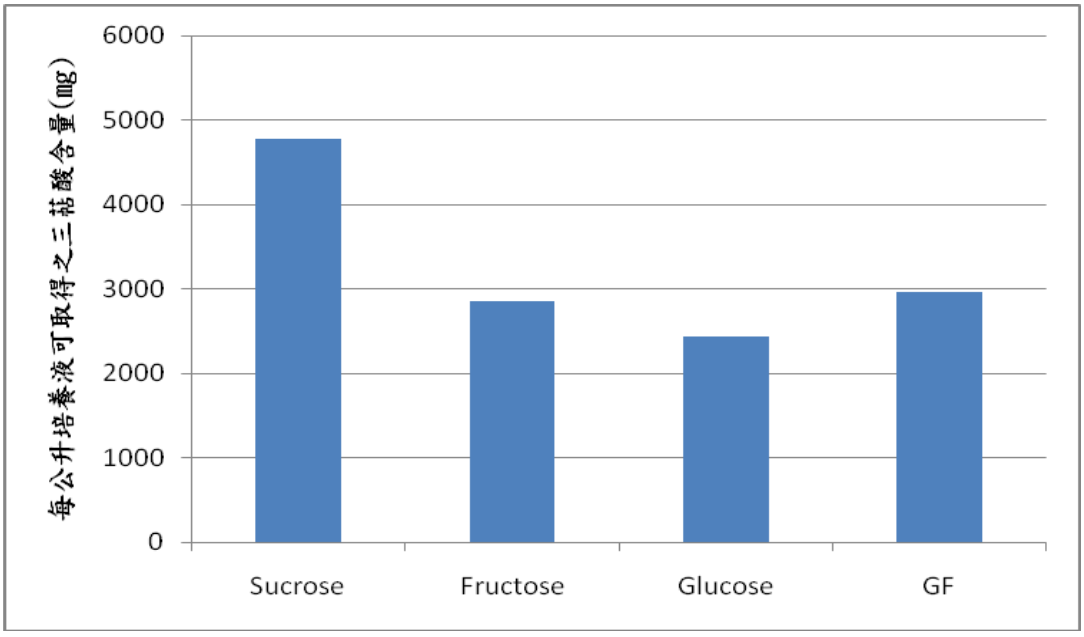


圖二、蔗糖進行細胞培養可以得到最高的生長效率 n=3

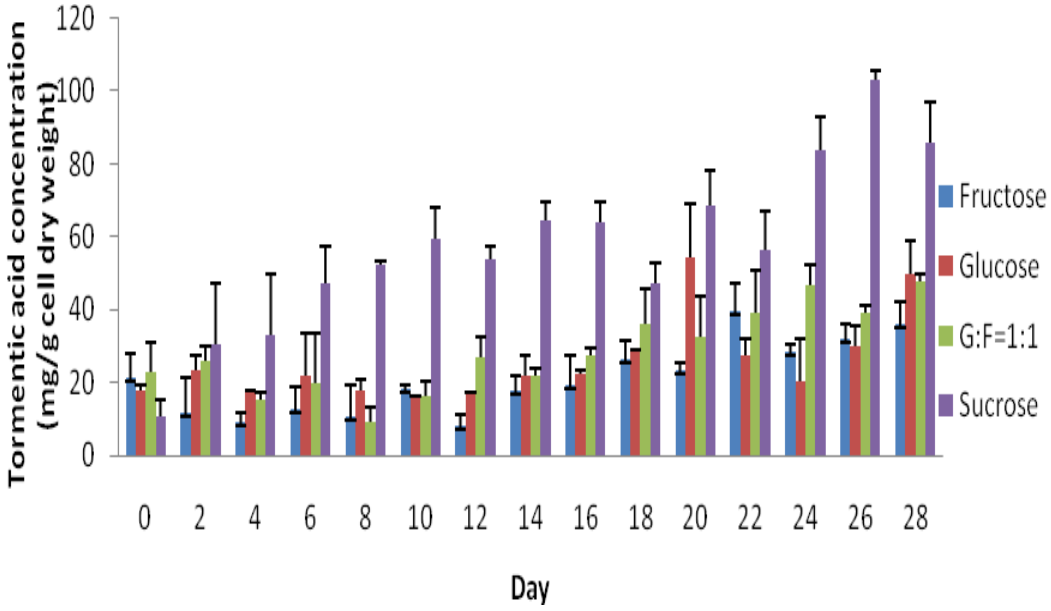
三、不同碳源對於二次代謝產物產量的影響。



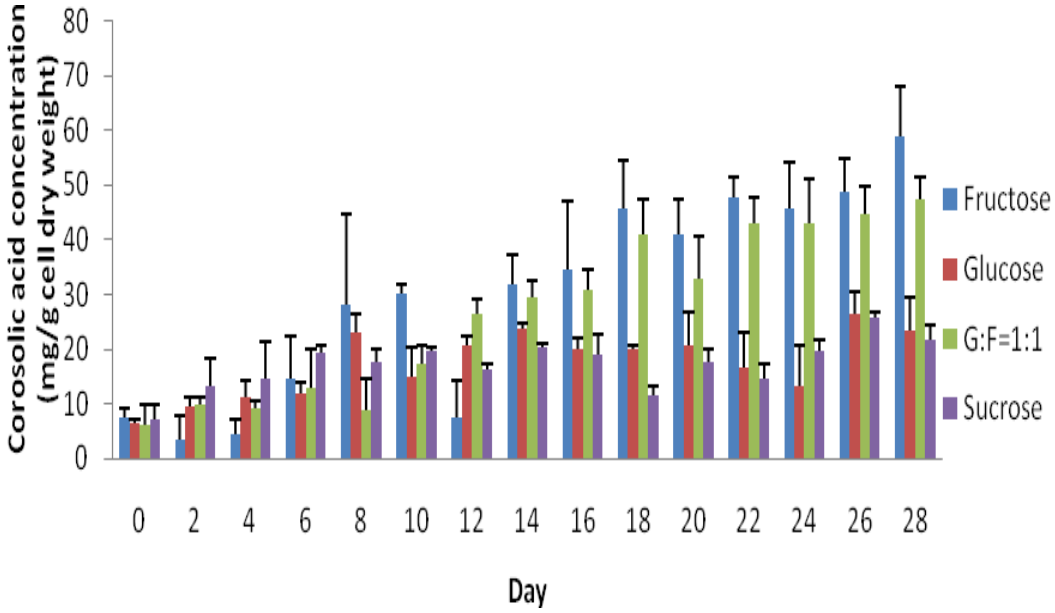
圖三、各碳源所培養的總三萜酸量 n=3



圖四、各碳源每公升可得的總三萜酸量 n=3

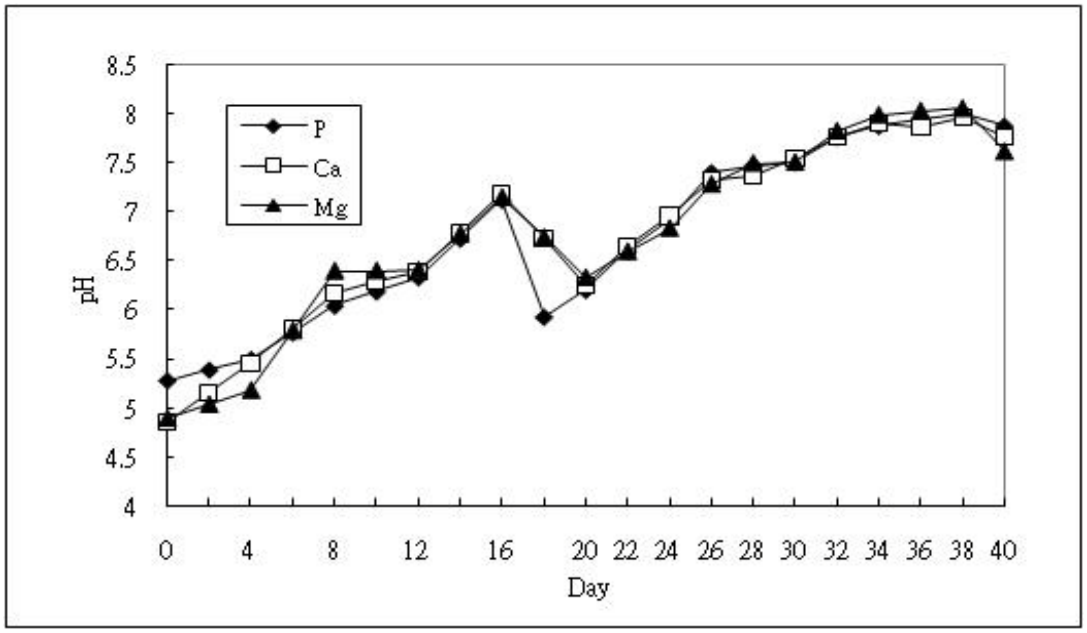


圖五、各碳源所培養的 Tormentic acid 含量 n=3

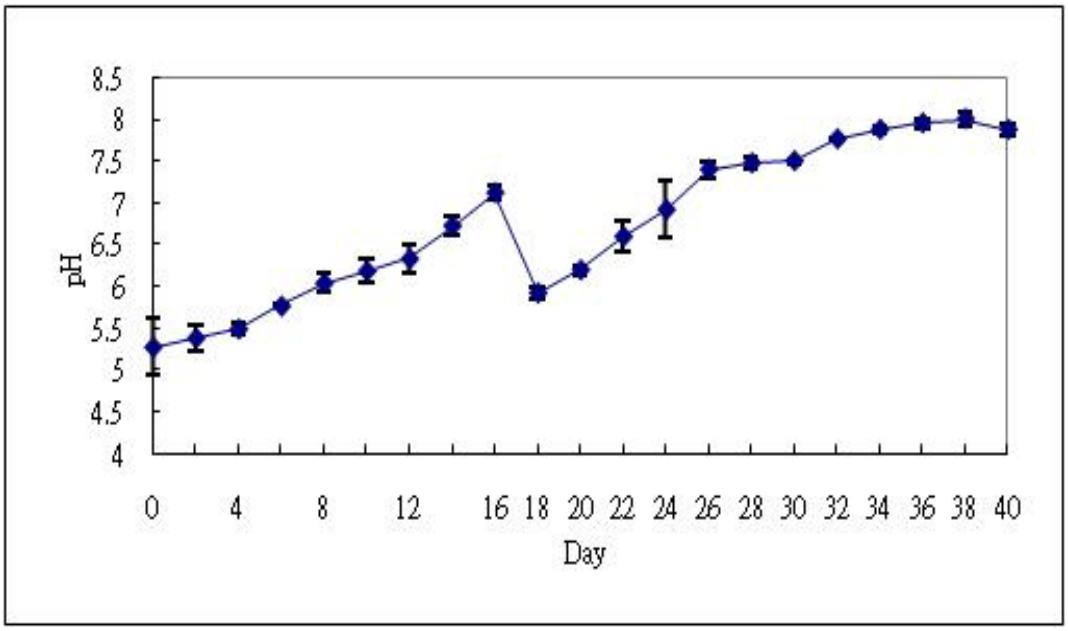


圖六、各碳源所培養的 Corosolic acid 含量 n=3

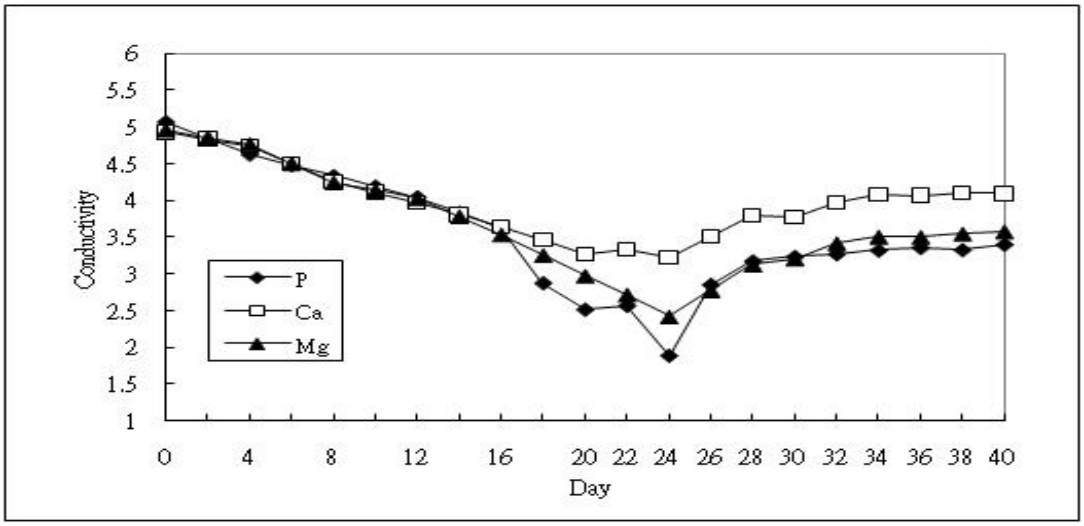
四、各離子添加培養中酸鹼值與導電度的變化曲線



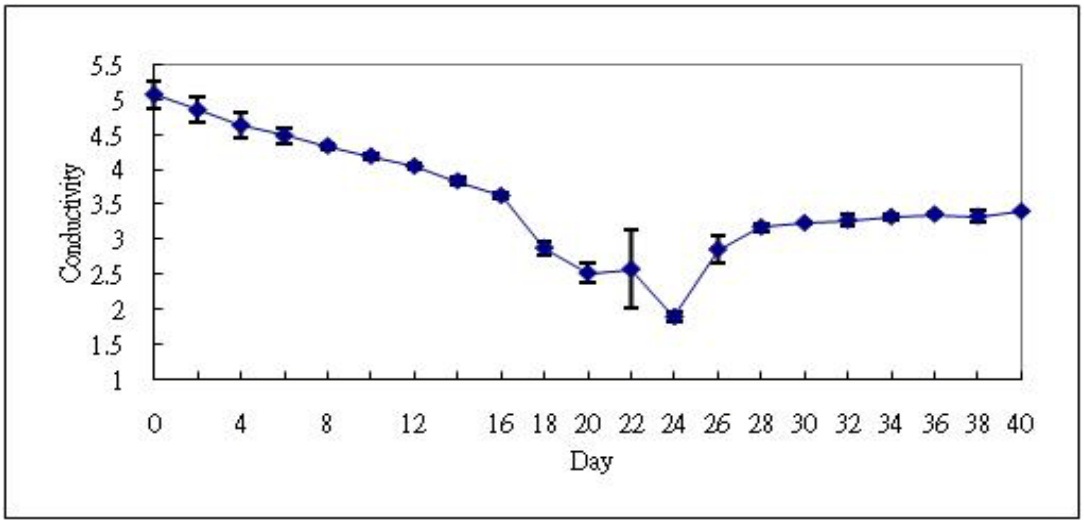
圖七、磷、鈣、鎂離子添加培養中酸鹼值變化曲線比較 n=3



圖八、磷離子添加培養中酸鹼值變化曲線 n=3

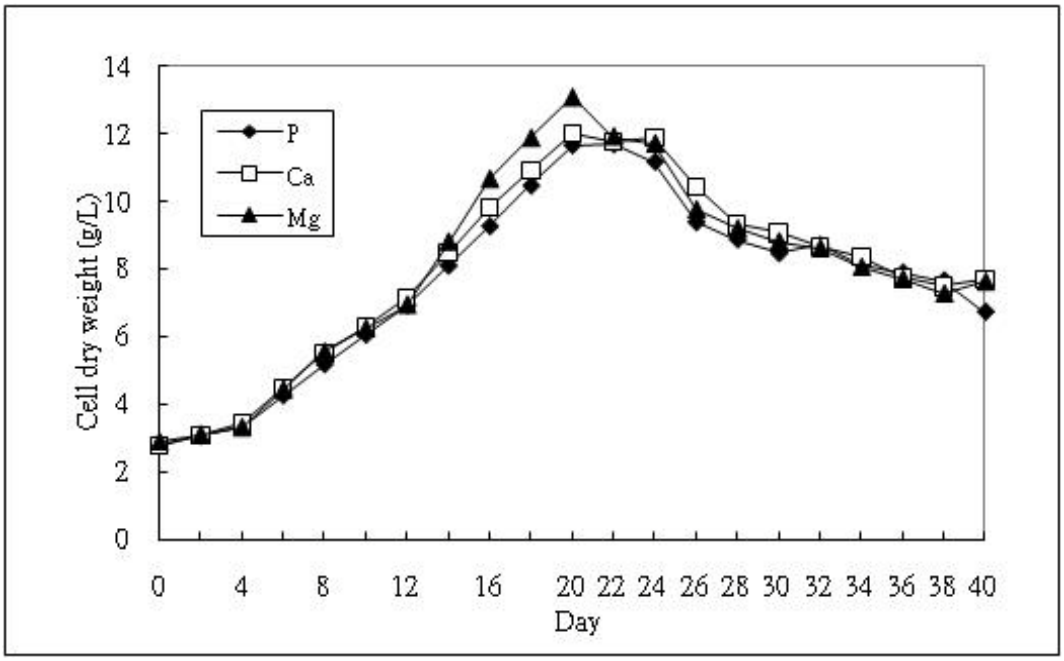


圖九、磷、鈣、鎂離子添加培養中導電度變化曲線比較 n=3

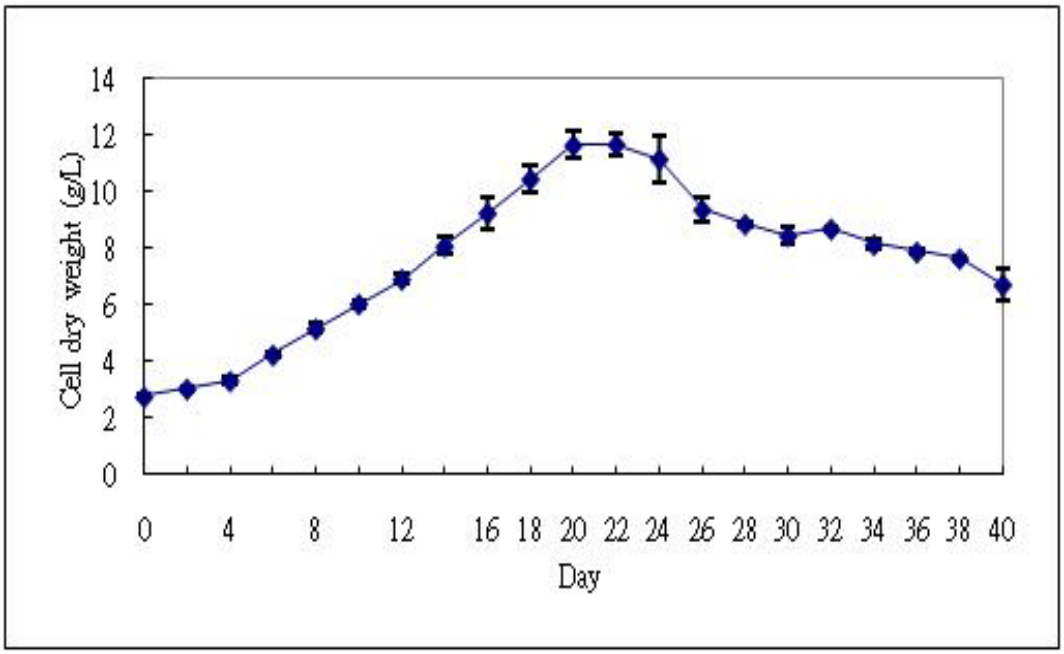


圖十、磷離子添加培養中導電度變化曲線 n=3

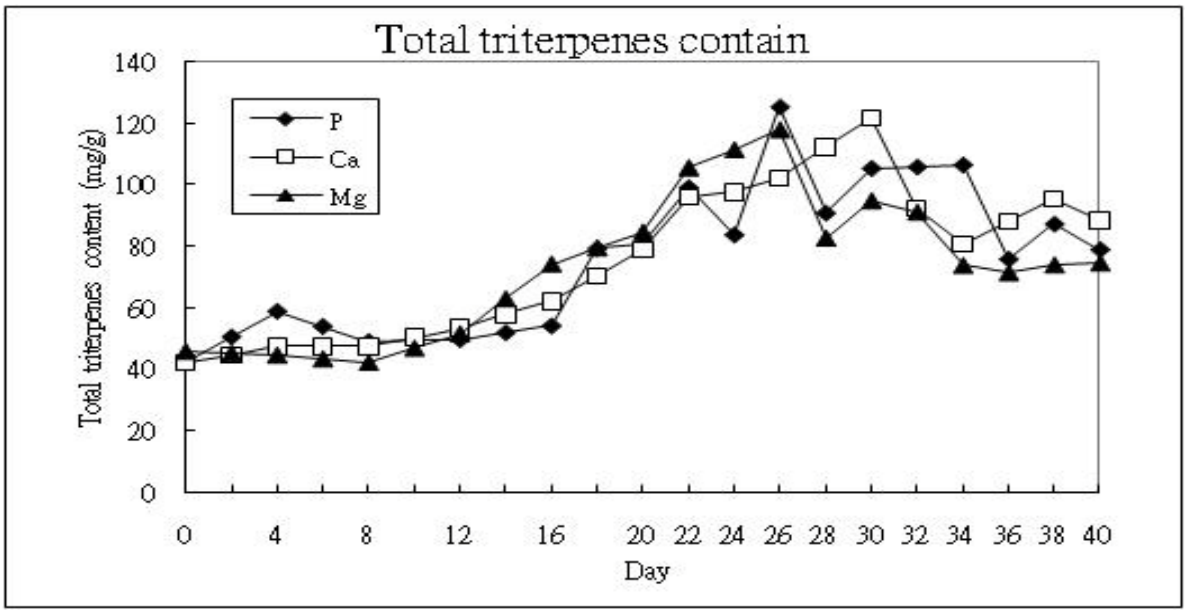
五、培養液中各離子添加對細胞生長與代謝影響的變化曲線



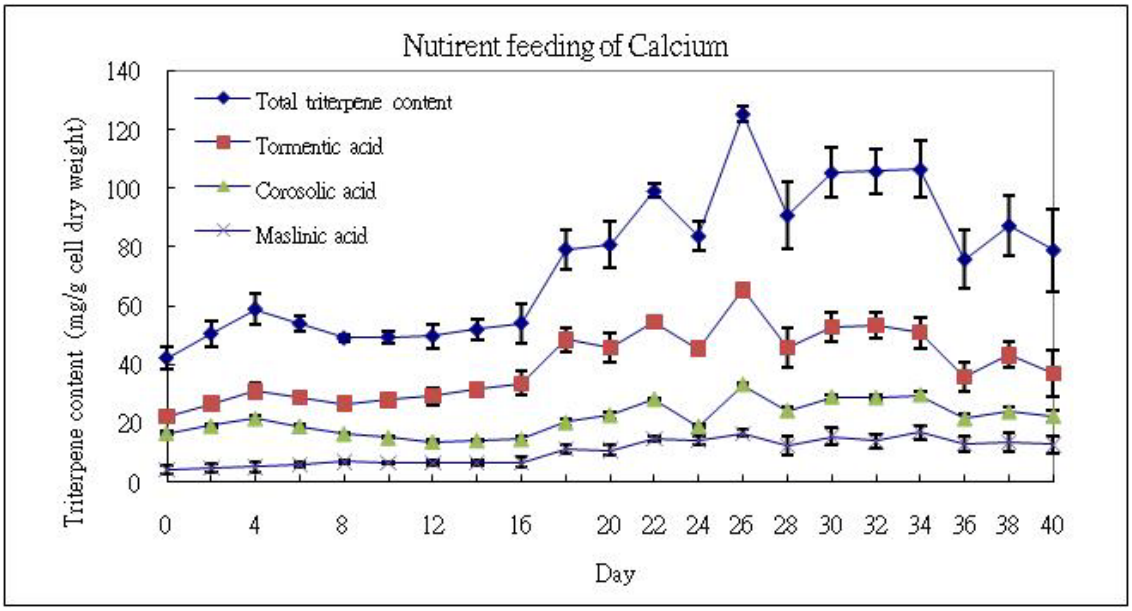
圖十一、磷、鈣、鎂離子添加培養中細胞乾重變化曲線比較 n=3



圖十二、磷離子添加培養中細胞乾重變化曲線 n=3

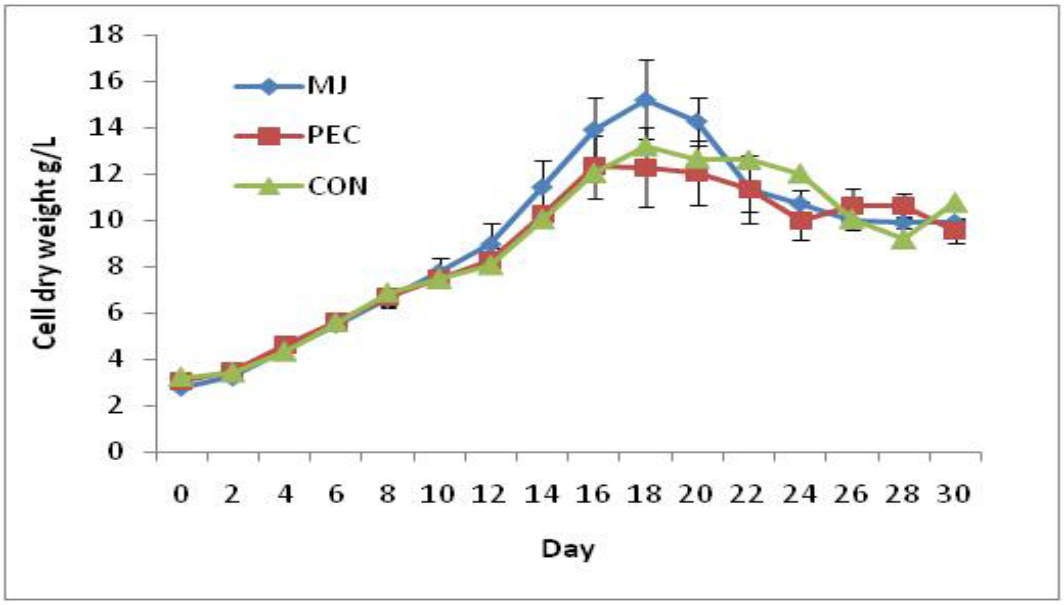


圖十三、磷、鈣、鎂離子添加培養中總三萜酸含量變化曲線比較 n=3

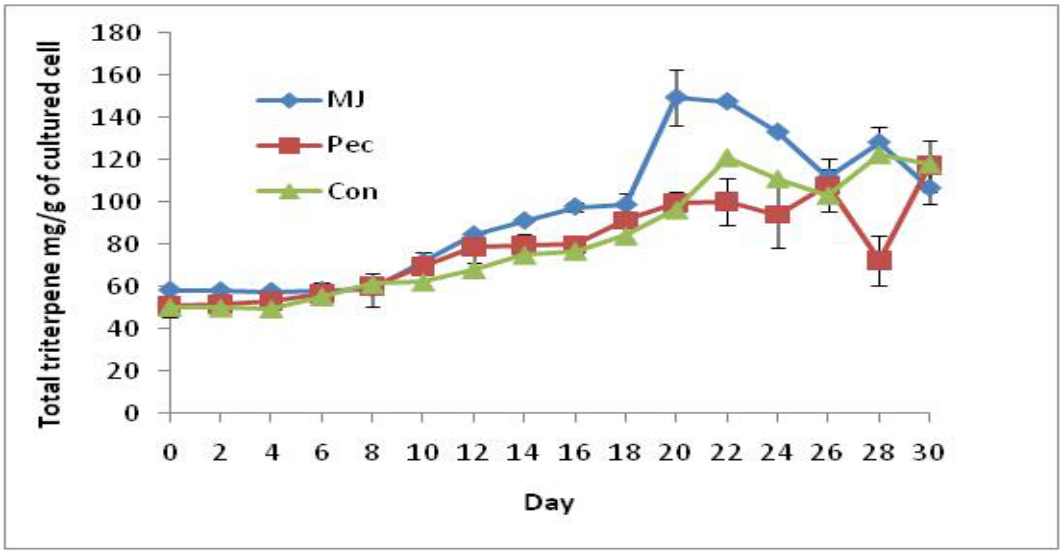


圖十四、磷離子添加培養中總三萜酸含量變化曲線 n=3

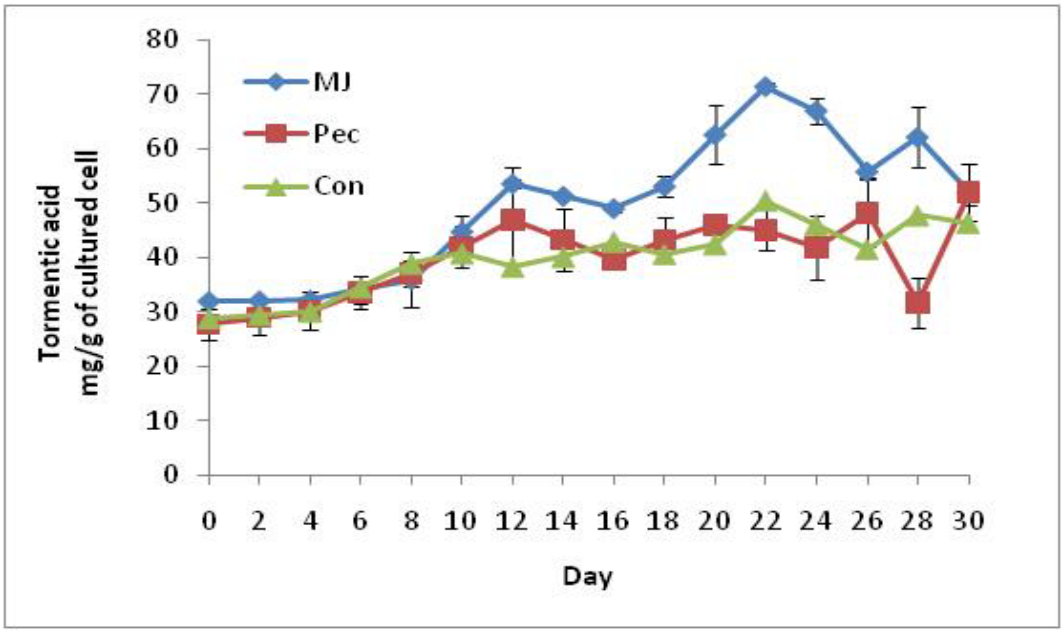
六、誘導物質添加培養的細胞生長與代謝影響的變化曲線



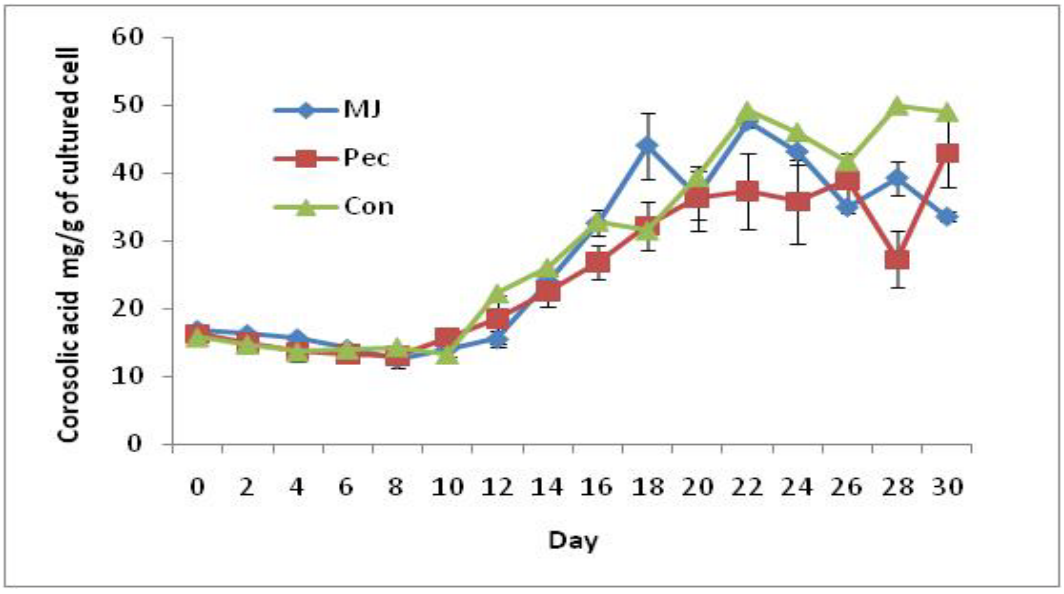
圖十五、誘導物質添加培養的細胞乾重 n=3



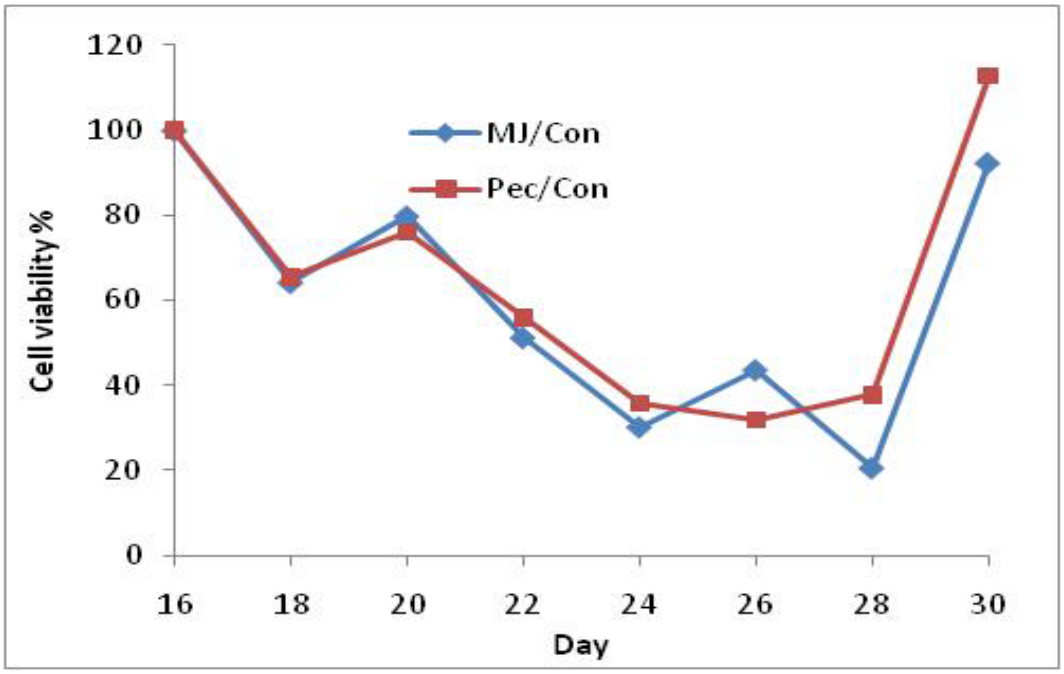
圖十六、誘導物質添加培養的二次代謝物產率 n=3



圖十七、誘導物質添加培養的 Tormentic acid 產率 n=3

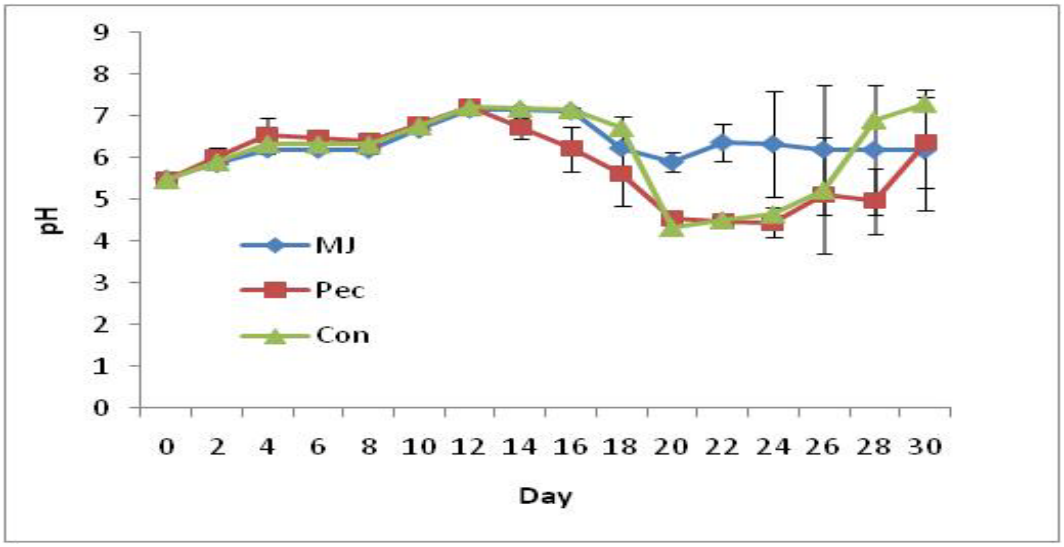


圖十八、誘導物質添加培養的 Corosolic acid 產率 n=3

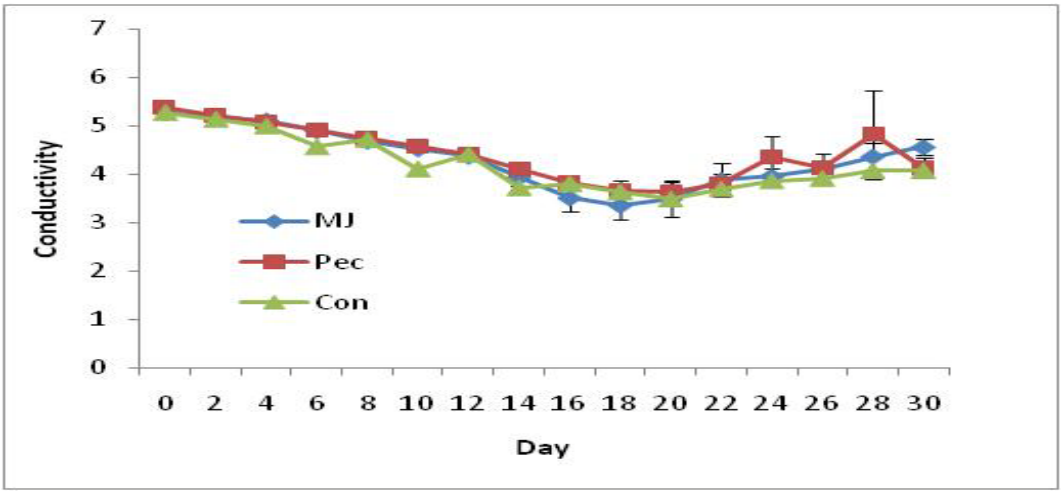


圖十九、誘導物質添加後細胞存活率 n=3

七、誘導物質添加培養的酸鹼值與導電度的變化曲線

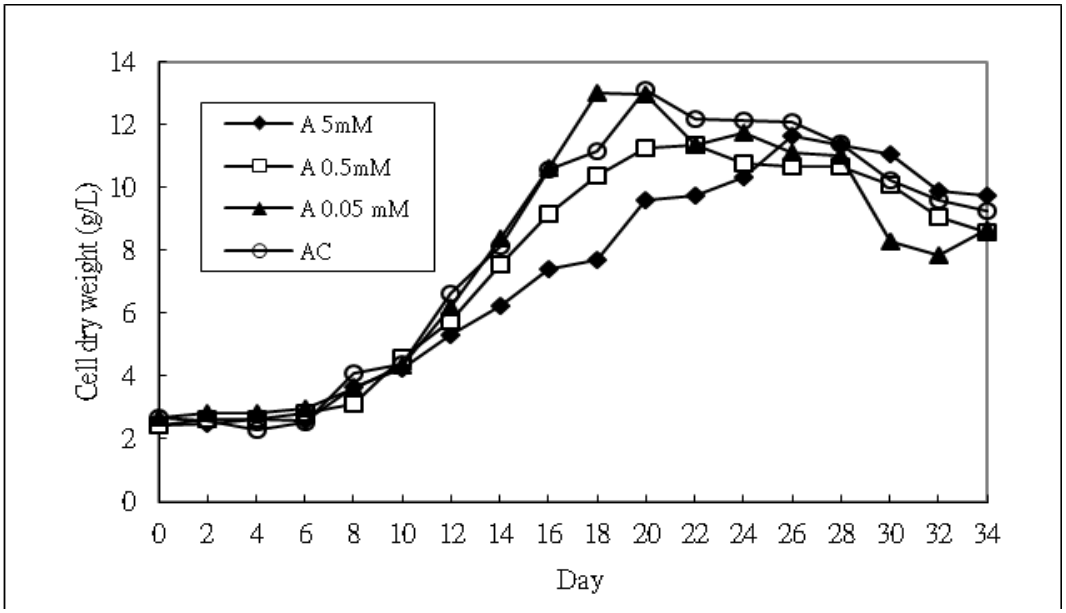


圖二十、誘導物質添加培養的酸鹼值變化曲線 n=3

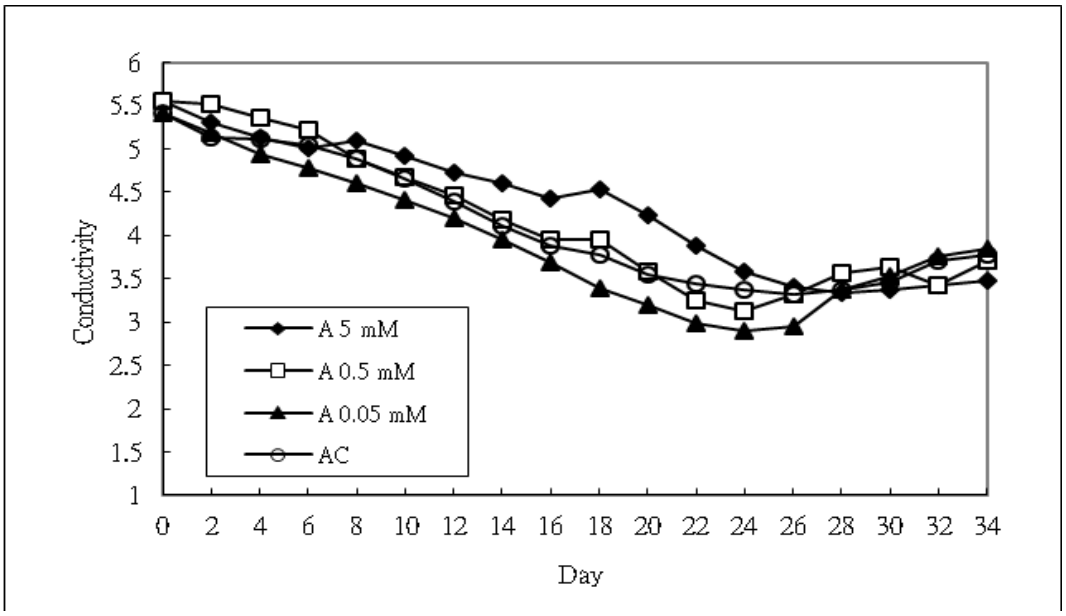


圖二十一、誘導物質添加培養的導電度變化曲線 n=3

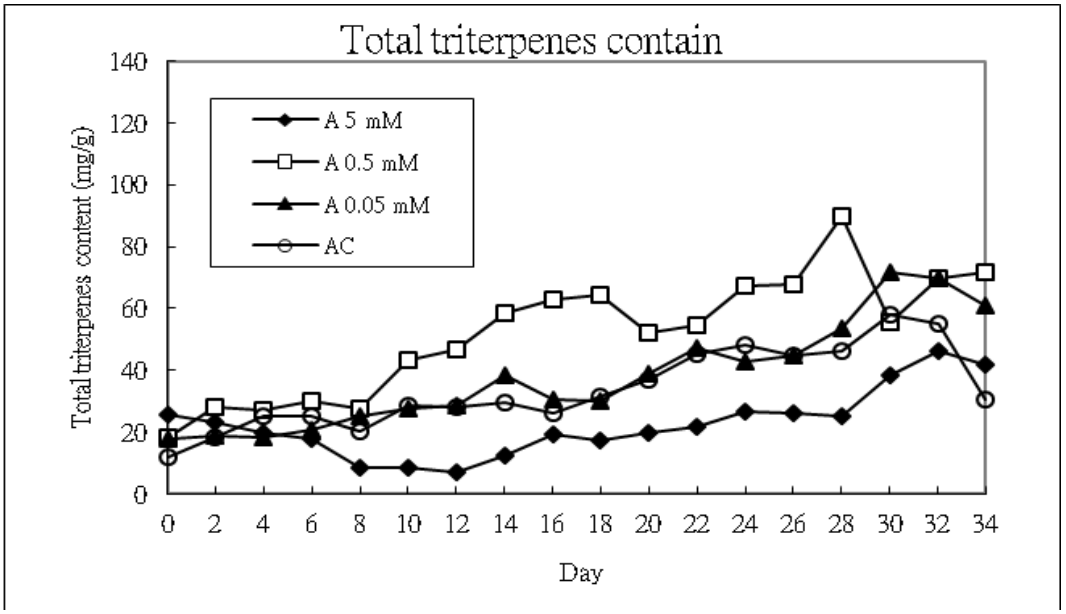
八、Acetic acid 添加對細胞生長與代謝的影響的變化曲線



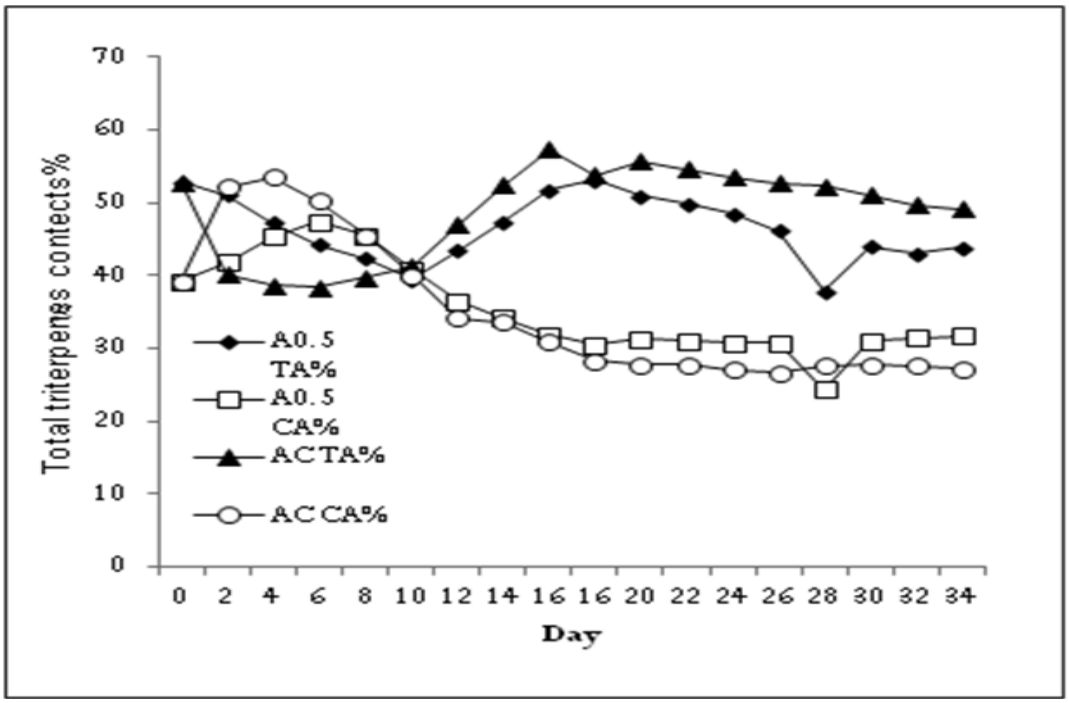
圖二十二、Acetic acid 添加的細胞生長變化曲線 n=3



圖二十三、Acetic acid 添加的導電度變化曲線 n=3

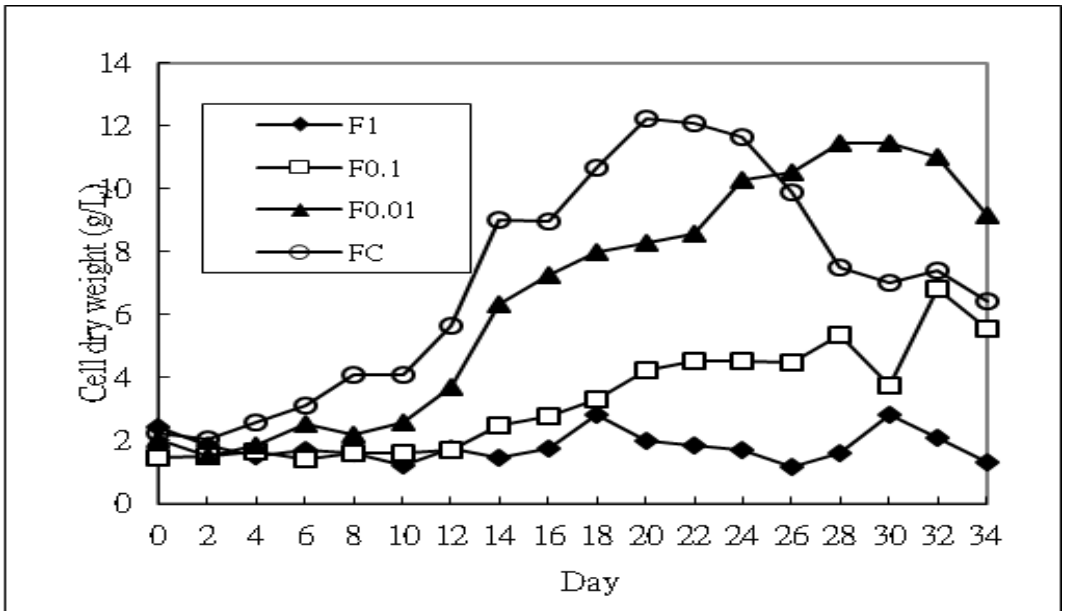


圖二十四、Acetic acid 添加後三萜酸含量的變化曲線 n=3

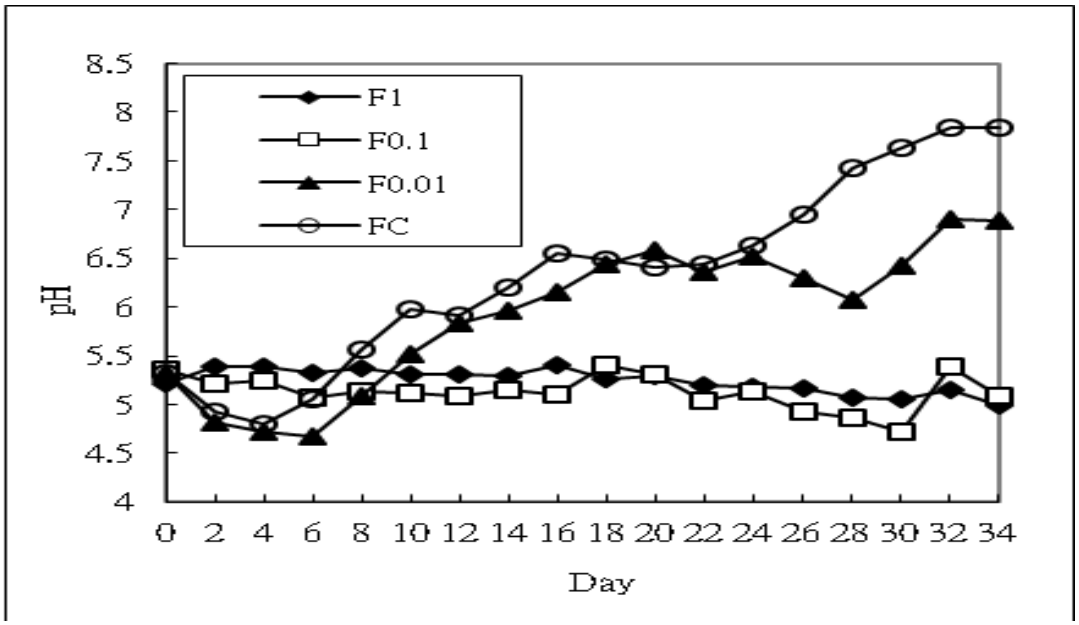


圖二十五、Acetic acid 添加與 Methyl jasmonate 誘導後三萜酸含量的變化曲線比較 n=3

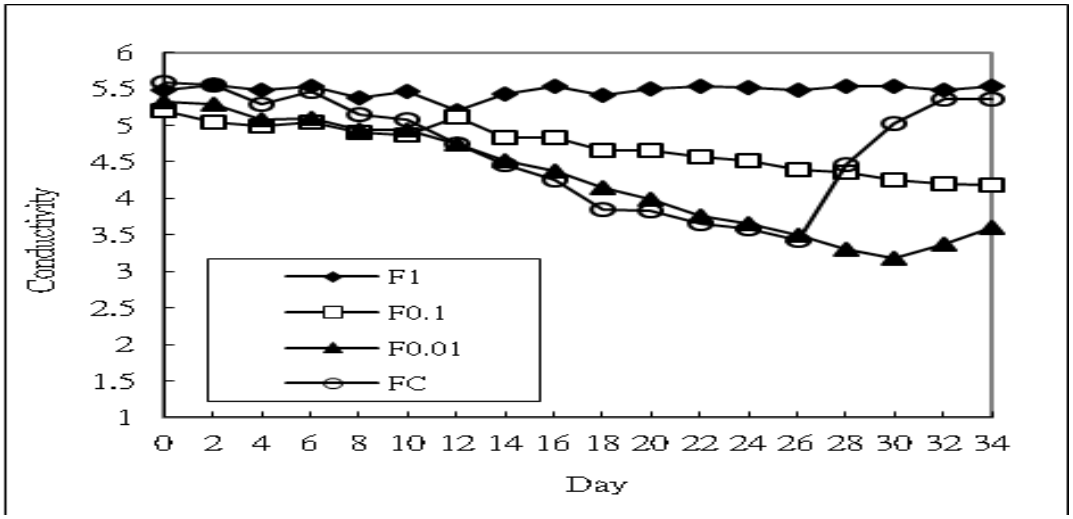
九、Farnesol 添加對細胞生長與代謝的影響的變化曲線



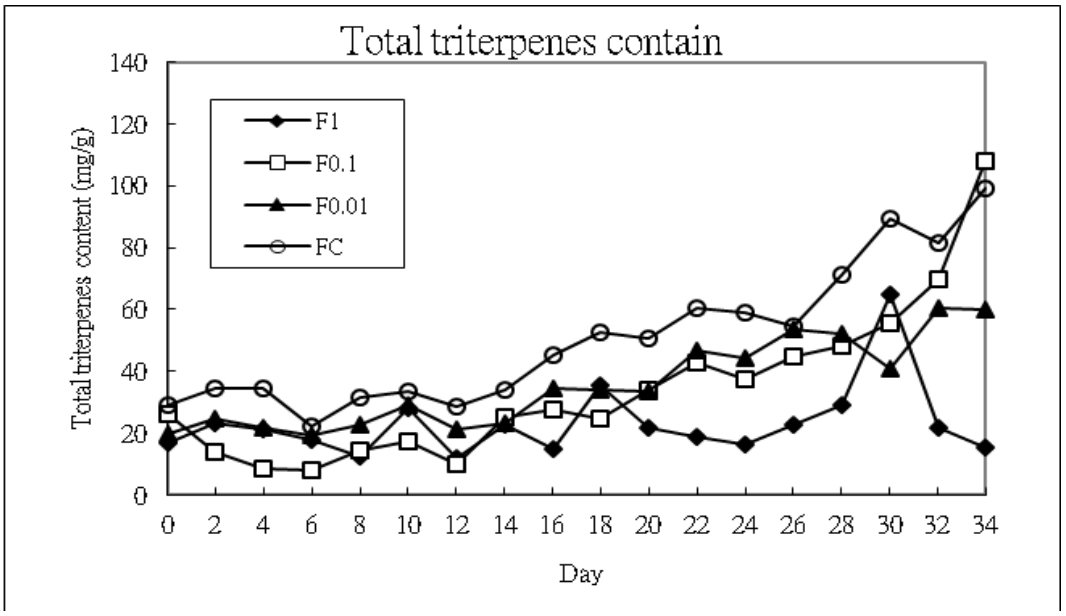
圖二十六、Farnesol 添加的細胞生長變化曲線 n=3



圖二十七、Farnesol 添加的酸鹼值變化曲線 n=3

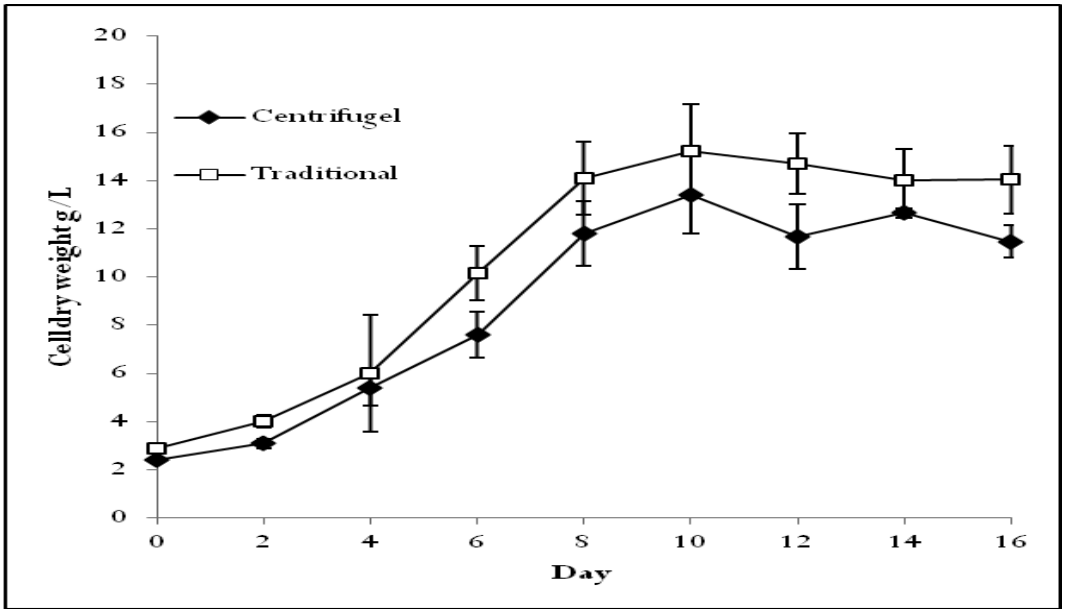


圖二十八、Farnesol 添加的導電度變化曲線 n=3

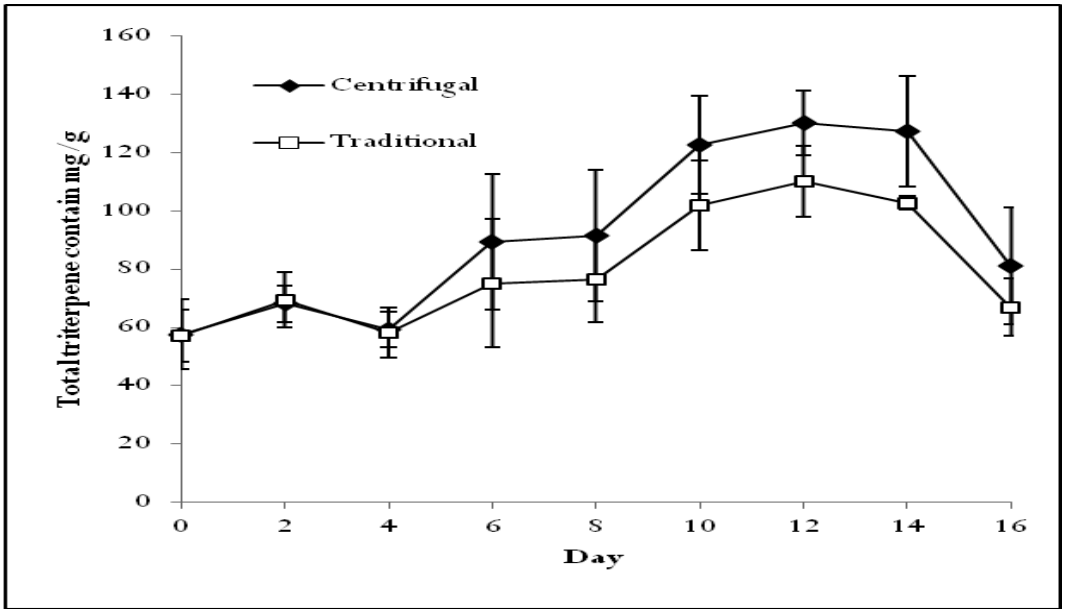


圖二十九、Farnesol 添加後三萜酸含量的變化曲線 n=3

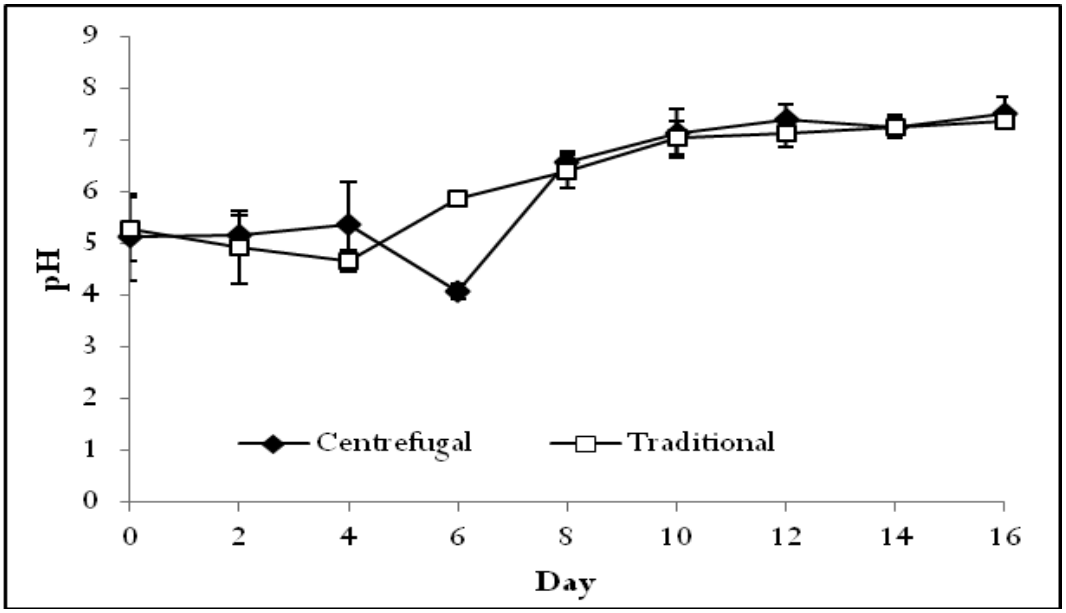
十、不同轉子對細胞生長代謝的影響的變化曲線



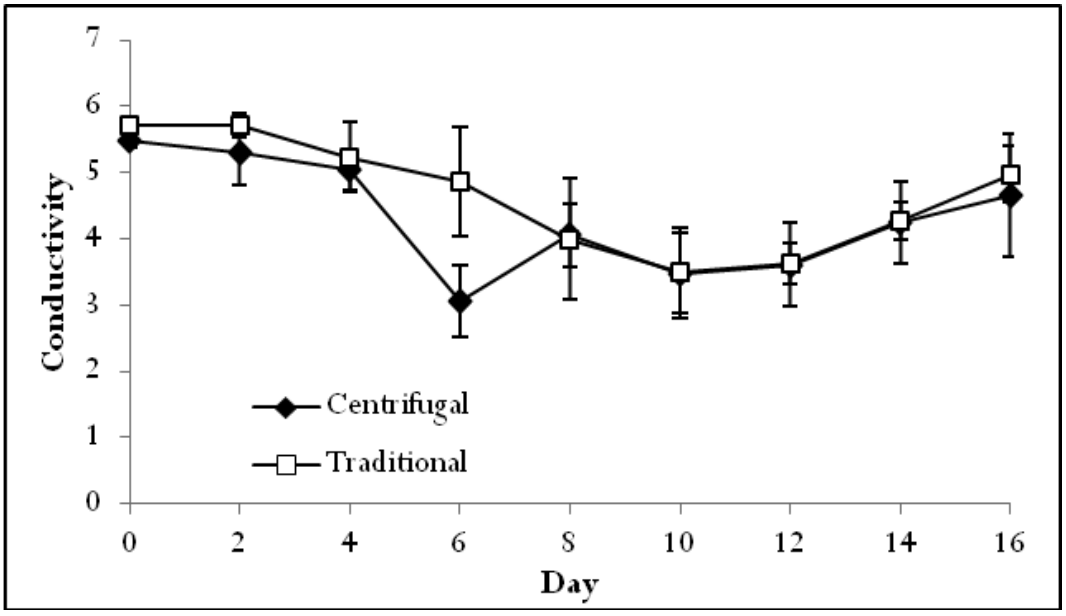
圖三十、不同轉子培養的細胞生長變化曲線 n=3



圖三十一、不同轉子培養的三萜酸含量變化曲線 n=3

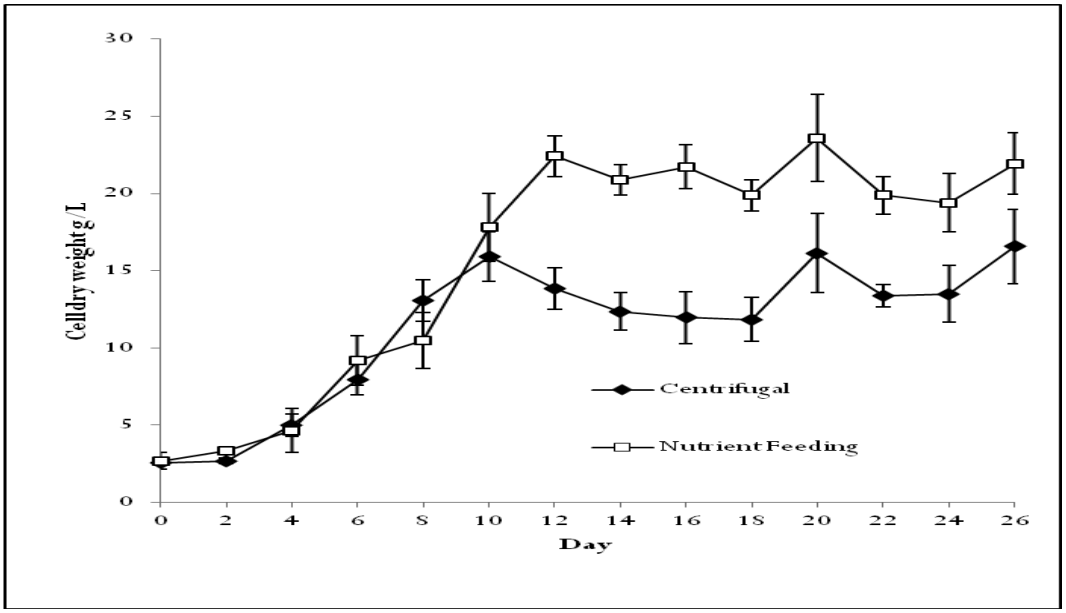


圖三十二、不同轉子培養的酸鹼質變化曲線 n=3

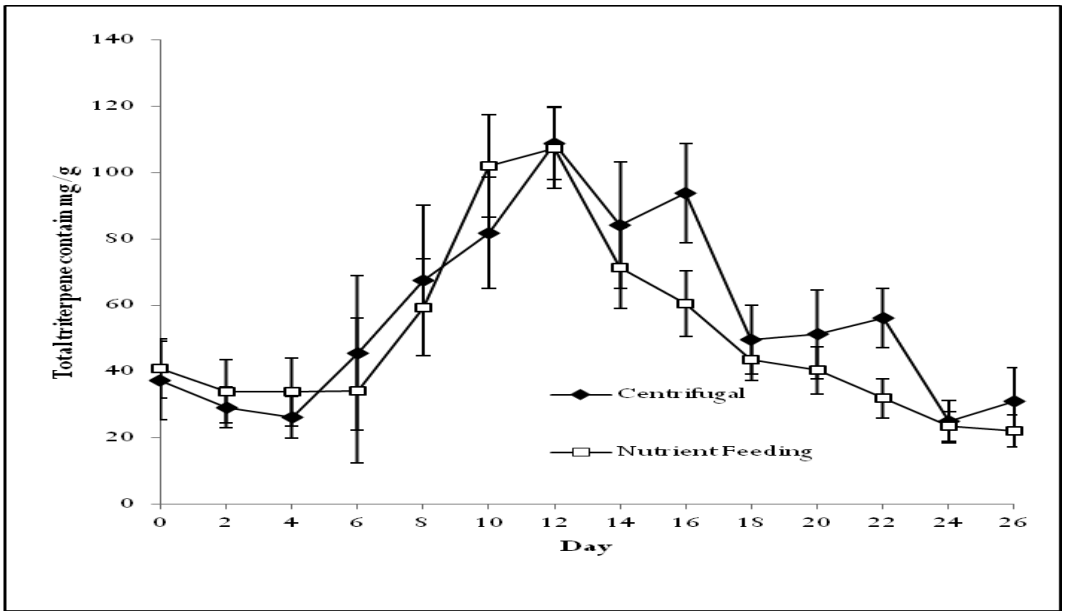


圖三十三、不同轉子培養的導電度變化曲線 n=3

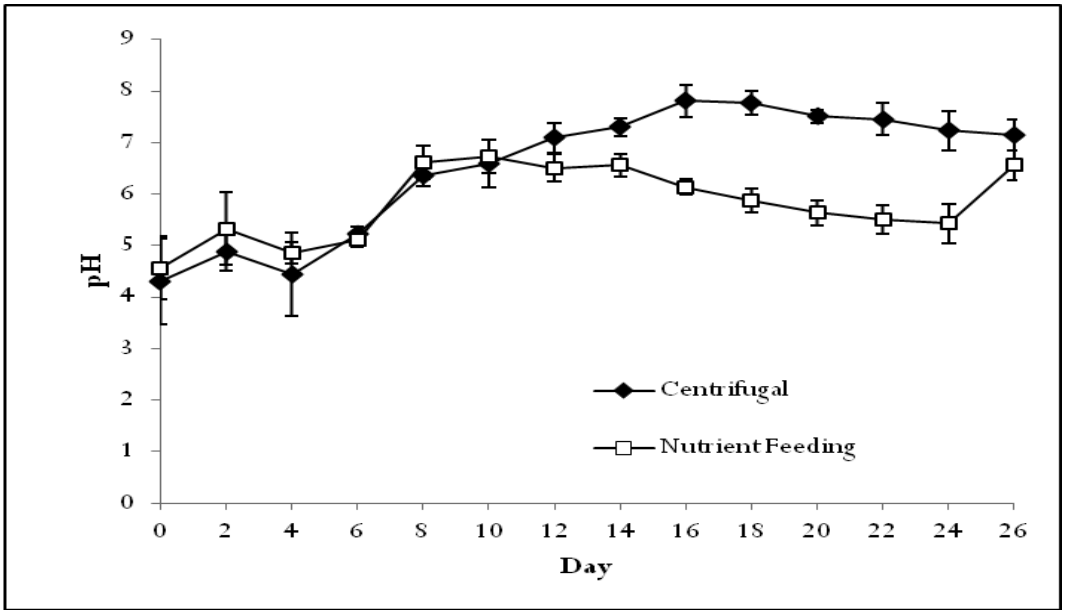
十一、3%蔗糖添加的變化曲線



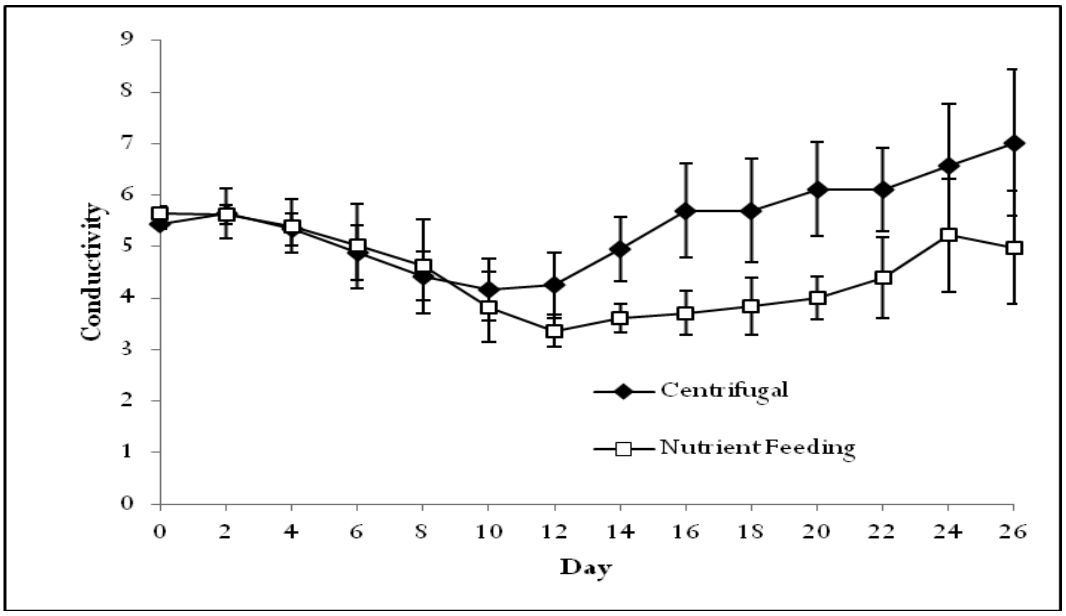
圖三十四、蔗糖添加培養的細胞生長變化曲線 n=3



圖三十五、蔗糖添加培養的三萜酸含量變化曲線 n=3

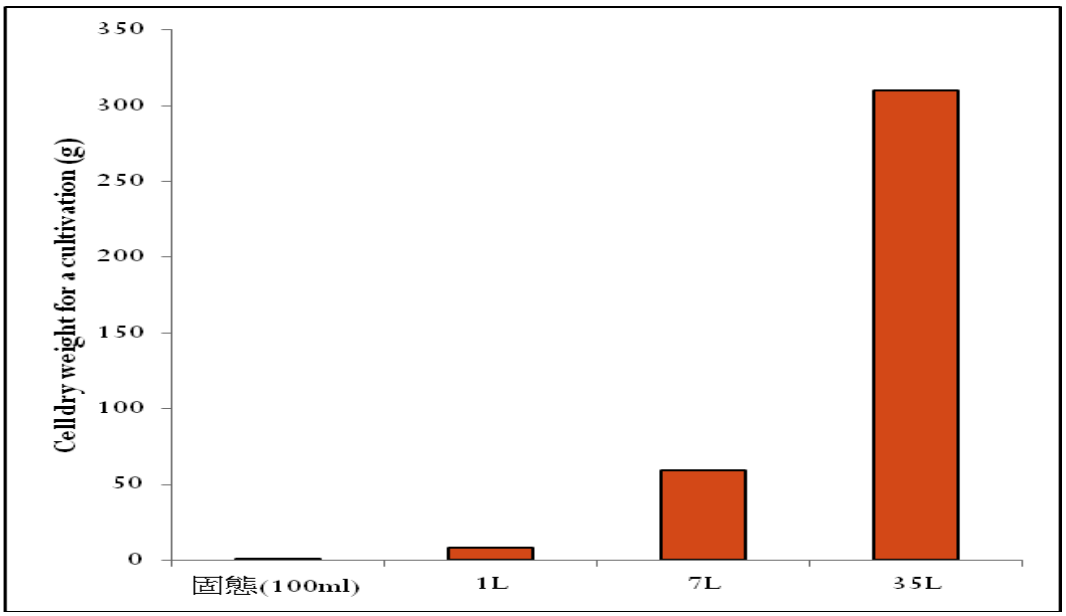


圖三十六、蔗糖添加培養的酸鹼質變化曲線 n=3

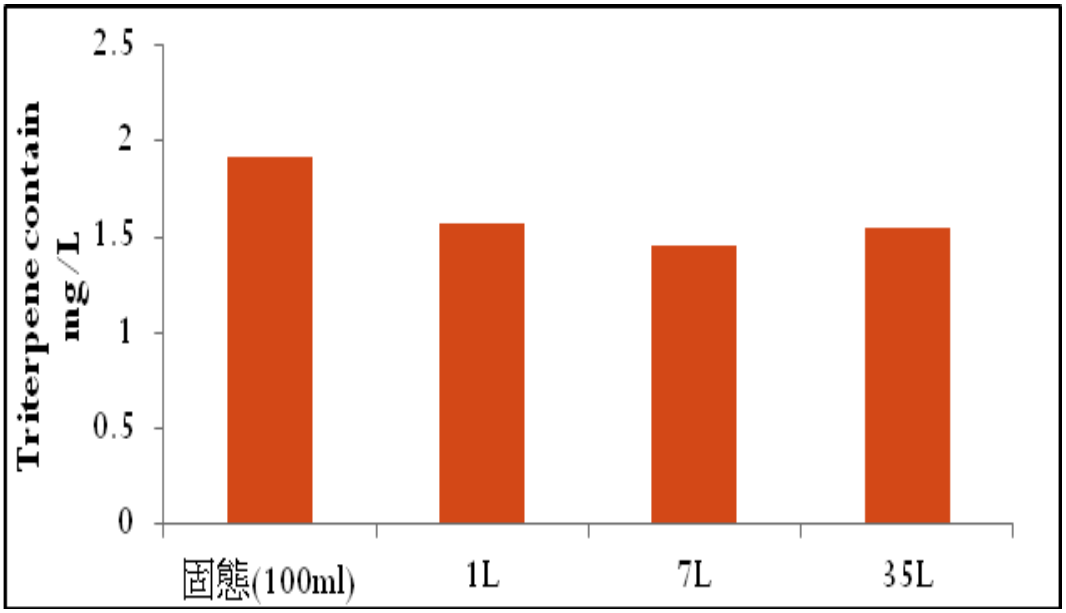


圖三十七、蔗糖添加培養的導電度變化曲線 n=3

十二、35L 生物反應器的放大平行性比較圖



圖三十八、不同容量培養的細胞生長變化圖 n=3



圖三十九、不同容量培養的三萜酸含量變化圖 n=3

編號：CCMP99-RD-061

台灣產黃花石斛健康食品之開發(2-1)

林文川
中國醫藥大學醫學系

摘　要

石斛類藥材是中藥中的珍品，台灣本土產黃花石斛具有霍山石斛相似的黏性，且植株高大，易於量產，具有發展成保健食品的優勢。本計畫以四氯化碳誘發小鼠慢性肝炎、高脂飼料誘發小鼠肥胖及去卵巢誘發小鼠骨質疏鬆等實驗模式，評估黃花石斛粗萃物的護肝、抗肥胖及改善骨質疏鬆的功效。黃花石斛粗萃物不具有保肝及抗肥胖的效果。但可減緩小鼠去卵巢誘發的骨質流失，黃花石斛不可消化多醣也具有此作用。體外的糞便發酵實驗證實此多醣可以促進比菲德氏菌的生長。在去卵巢大鼠鈣平恆試驗，黃花石斛粗萃物可以促進腸道鈣的吸收，同時糞便的培養也發現比菲德氏菌增生。

結論，動物實驗確認黃花石斛具有改善骨質疏鬆的效果，其有潛力發展成健康食品。

關鍵詞：黃花石斛、骨質疏鬆，健康食品

Number: CCMP99-RD-061

Health Foods Development in *Dendrobium tosaenase* of Taiwan (2-1)

Wen-Chuan Lin
School of Medicine, China Medical University

ABSTRACT

Dendrobii Herba is a treasure of Chinese medicine. The mucilage of *Dendrobium tosaense* growth in Taiwan is similar to that of *D. huoshanense.* The plant of *D. tosaense* is larger than other species of *Dendrobium* and is suitable for mass production. Above properties of *D. tosaense* make it is beneficial to being a functional food. This plan took the experimental models: carbon tetrachloride induced chronic hepatitis in mice; high-fat diet induced obesity in mice and ovariectomy (OVX) induced osteoporosis in mice, to evaluate the bioactivities of *D. tosaense* in hepatic protection, anti-adiposity and anti-osteoporosis. The water extracts of *D. tosaense* failed to hepatic protection and anti- adiposity, but reduced the bone loss in OVX mice. The indigestible polysaccharides of *D. tosaense* (IDTPC) had similar bioactivity to the water extracts in OVX mice. The *in vitro* fecal fermentation experiment demonstrated that the IDTPC could promote the growth of *Bifidobacterium spp*. The test of calcium balance in rats showed that the water extracts of *D. tosaense* could improve the calcium absorption in intestine and could increase the number of fecal *bifidobacteria* using agar culture plates.

In conclusion, *in vivo* experiments demonstrated that the anti-osteoporosis effect of *D. tosaense* which is a good possibility of being a functional food.

Keywords: *Dendrobium tosaense*, osteoporosis, functional food

壹、前言

石斛類藥材為蘭科(Orchidaceae)石斛蘭屬(*Dendrobium*)之藥用植物，被稱之為中藥中的仙草，始載於《神農本經》上品。根據沈氏對石斛的考證指出，霍山石斛是傳統應用石斛的正品；在《本草綱目拾遺》中所記載的霍山石斛應包括霍山石斛(*Dendrobium huoshanense*)、黃花石斛(*D. tosaense*)及鐵皮石斛(*D. candidum*)等 3 種[1]。2005 年版的大陸中藥典收載的石斛是鐵皮石斛(*D. candidum*)、金釵石斛(*D. nobile*)及馬鞭石斛(*D. fimbriatum*)。由於霍山石斛(*D. huoshanense*)的生長條件極為苛刻和長期無節制採集，因此產量很少市場根本無法買到，或許因此沒有被大陸藥典收載。大陸石斛的研究以金釵石斛及鐵皮石斛為主[2, 3]。

黃花石斛屬台灣原生種[4]，被認為是霍山石斛正品之一。霍山石斛植株較小不易量產，黃花石斛所具的黏性與霍山石斛相近，但植株較大，易於量產。在台中縣新社鄉的「種苗改良繁殖場」可以提供大量的黃花石斛，由於研究材料可以掌控，因此在保健產品的開發上有其優勢。

開發黃花石斛成為健康食品首要工作應先確認其可能的保健功效，因此本計畫先評估黃花石斛是否有保肝、減少體脂肪堆積及改善骨質疏鬆的功效，並以金釵石斛作為對照品，這些結果是進一步研發的重要依據。

貳、材料與方法

一、試驗材料製備

黃花石斛(*D. tosaense*)及金釵石斛(*D. nobile*)由新社鄉「種苗改良繁殖場」提供，兩種材料乾品以熱水萃取，減壓濃縮後儲存於-20^{0}C 備用。黃花石斛乾品萃出物(DTE)的產率為 24.7%，金釵石斛乾品之萃出物(DNE)的產率為 20.3%。DTE 及 DNE 使用前以去離子水配成適當濃度的懸浮液使用。

黃花石斛不可消化多糖(IDTPS)之製備，DTE 水懸浮液以 4 倍體積 95%酒精沉降，沉降的粗多糖約 70.4%。粗多糖以 α-amylase、protease 及 amyloglucosidase 消化後得到 IDTPS，粗萃物中約含 56%的 IDTPS。

DTE 酒精可溶層以正丁醇進行分層，正丁醇層以 HP-20 管柱分離，沖洗溶媒為 0、25%、50%、100%甲醇，得到四個分層其產率如圖 1 所示。100%甲醇層進一步以 HPLC 分析確認含有 ouercetin 存在(圖 2)。

二、小鼠急性毒性及 28 天連續餵食毒性試驗（肝、腎毒性為主）

(一)急性毒性試驗

使用體重 22-25 公克小鼠，試驗前禁食 6 小時，經口投與 DTE，20 分鐘內投與兩次，投與體積為 0.2 ml/10 g。觀察中毒症狀及 14 天內死亡情形。

(二)連續餵食 28 天肝、腎毒性試驗

每批使用 ICR 雄性小鼠 40 隻，分成四組。其中三組經口投與 DTE，使用劑量為 3、1、0.33 g/kg。投與體積為 0.1 ml/10 g，每週投與 7 天，共投 28 天。投藥終了，在 CO_2 麻醉下，由腹腔靜脈採血，供血清生化學檢查。取出肝臟、腎臟、腎上腺、脾臟、睪丸稱重後，部分臟器浸於 10%中性福馬林溶液。高劑量組及對照組的臟器固定後進行石臘包埋及切片製作，以蘇木青與伊紅染色法(Hematoxylin and Eosin stain)染色，供病理檢查。發現有病裡變化的該組織，中劑量組及低劑量組的組織全部進行病理切片檢查。

血清生化學檢查使用生化自動分析儀(Roche Cobas plus)及市售試劑(Roche)。以肝、腎功能為檢測目標，其項目為 ALT、AST、ALP、BUN、cteatinine。

三、護肝功能之評估

小鼠肝慢性肝炎之誘導：ICR 小鼠每週兩次投與四氯化碳(carbon tetrachloride，CCl_4；10% 溶於橄欖油；0.1ml/10 g)，為期 8 週。每批使用 90 隻小鼠，分成 9 組，DTE 及 DNE 各 3 個劑量組，水組、正對照組(silymarin)及控制組各一組。試驗物質每天投與為期 8 週。於第一、三、六週由眼窩採血供 ALT 測定。投與終了，小鼠在 CO_2 麻醉下，由腹腔靜脈採血，供血

清生化值測定。迅速取下肝臟及脾臟，以冰冷生理食鹽水洗淨、吸乾水分後稱重。肝臟分成四分，分別浸於 10 %中性福馬林供病理切片用，在 100^0C 烘乾供臟纖維化程度測定，儲存於-80^0C 供脂質過氧化測定。

血液取得後，靜置待其凝固後，以 4700 rpm 離心 15 分鐘，取血清供 ALT 檢驗。最後犧牲時，除檢驗 ALT 外，也進行 AST 檢驗。檢驗使用市售檢驗試劑(Roche)，以血清生化自動分析儀測定(COBAS MIRA)。

肝組織的脂質過氧化測定依據 Ohkawa 氏等人的方法[5]，肝組織均質液和 thiobarbituric acid 溶液加熱反應，以 n-butanol、pyridine (15:1)混合液萃取，在 532 nm 測吸光度。脂質過氧化的程度以 nmol malondialdehyde/mg protein 表示之。蛋白質測定依照 Lowry 氏等人 et al.的方法測定[6]，以牛血漿蛋白為標準品。

肝臟組織膠原蛋白(hydroxyproline)含量測定參照 Neuman 及 Loga 二人的方法[7]。肝臟乾組織水解後加 H_2O_2 氧化，再以 p-dimethylaminobenzoaldehyde 呈色，於 540 nm 測吸光值。Hydroxyproline 量以 mg / g tissue 表示之。

肝臟組織經福馬林固定後，進行石臘包埋及切片製作，進行 Hematoxylin and eosin stain 觀察肝臟損傷，以 Sirius Red stain 染膠原蛋白觀察纖維化程度。

四、對肥胖鼠效果之評估

每批使用雄性 C57BL/6 小鼠 90 隻分成 9 組，一組餵食正常飼料，另 8 組餵食高脂飼料 58G9 (購自 TestDiet)，8 組分別為 DTE 及 DNE 各 3 個劑量組，水組及正對照組(Clenbuterol)各一組。高脂飼料餵食 4 週後，再適當分成六組，使每組平均體重盡量相同。此後每天經口投與試驗物質、或 H_2O，為期 8 週，測定每週平均攝食量及體重變化。投藥期滿，在 CO_2 麻醉下，採血，取出兩側副睪旁脂肪及肝臟。稱重後，一部分浸泡於 10%中性福馬林。

使用自動生化儀(Cobas Mira; Roche, Rotkreuz, Switzerland).及市售試劑(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)，測定血漿總膽固醇及三酸甘油脂濃度。也測定肝臟三酸甘油脂濃度。脂肪切片進行 HE 染色，以影像分析系統分析脂肪細胞的直徑。

五、對改善骨質疏鬆功能之評估

使用 ICR 母鼠 120 隻，待達 8 週齡時時在 Zoletil 麻醉下去除兩側卵巢，其中 10 隻進行偽手術，110 隻去卵巢大鼠分成 11 組（每組 10 隻）。11 組分別為 DTE、DNE 及 IDTPF 各 3 個劑量組及水組和正對照組（使用 alendronate）。於去卵巢後一週開始投與試驗物質，每天一次，為期三週。投藥期滿後，在麻醉下由腹腔靜脈採血至死亡，取下兩隻股骨、脛骨。

生化指標測定：以酵素免疫測定法測定血清中 osteocalcin (OCN)及 C-terminal cross-lined telopeptides of type I collagen (CTx)含量。

骨組織分析：右股骨以微型電腦斷層掃描儀(micro computed tomography) (SkyScan 1076, Kontizh, Belgium)，拍攝電腦斷層掃描圖，並以分析軟體分分析骨體積與組織體積的比率(bone volume/ tissue volume)、及骨小梁數目。

六、去卵巢大鼠促鈣吸收試驗

使用三月齡的 Wistar 雌鼠 50 隻。分為假手術組一，去卵巢大鼠 3 組分別投與水、DTE (300、900 mg/kg)。大鼠在麻醉下，於背部中線微切開，進行雙側去卵巢手術。假手術組也進行手術切開，但不摘除卵巢。大鼠犧牲時，檢查卵巢組織，確認去除卵巢手術是否成功，手術失敗的動物，實驗結果不採用。在手術後兩週，開始投藥，在投藥後第六週進行鈣平恆試驗[8]，大鼠放進代謝籠 6 天，前兩天讓大鼠適應環境，記錄後 4 天的攝食量，收集此 4 天的尿液及糞便，供進一步的測定分析。

糞便經 100^0C 12 小時乾燥後稱重，乾燥糞便經 700^0C 煅燒 10 小時，稱灰分重量。灰分以酸溶解後供鈣含量測定。尿液以 12 M HCl (225 μl/100 ml 尿液)酸化後，儲存於-20^0C，供鈣含量測定。食物鈣含量測定前處理與糞便的處理相同。鈣含量測定使用市售 o-cresolphthalein complexone method 試劑。以下列公式算出鈣吸收量及鈣平衡或滯留量。

(一) Apparent Ca absorption = Ca intake – fecal Ca

(二) Apparent Ca absorption rate (%) = 100 × (Ca absorption/ Ca intake)

(三) Apparent Ca balance = Ca intake – fecal Ca – urinary Ca.

另外，在 DTE 投與四週後收集大鼠糞便於密閉容器內，加入厭氧稀釋液，取試當稀釋之稀釋液加入雙叉桿菌培養基，經2-4天培養後，計數菌落數。

七、IDTPS 糞便發酵試驗

培養基加入大鼠糞便及IDTPC進行厭氧發酵[9]，24小時後取出發酵物，萃出DNA [10]進行PCR分析，使用引子的序列列在表1。

八、RAW264.7細胞實驗

存活率：將巨噬細胞株 Raw 264.7植入96孔細胞培養盤，隔夜培養後，吸除舊細胞培養液，加入含不同濃度試驗物質之新鮮細胞培養液作用2 小時後，加入LPS刺激24小時。吸除舊細胞培養液，每槽加入100 μl細胞培養液及20 μl MTS溶液，經1小時之培養，以490 nm讀取吸光值。細胞存活率 = (試驗組的吸光值/對照組的吸光值) × 100 %。

NO 定量: 將細胞接種至96 well 微量分析盤並調整每 well 細胞數

為 1×10^4，加入各種不同濃度的試驗物質溶液，於 37℃，5 % CO_2 培養 2 小時後，加入 lipopolysaccharide (LPS；0.1 μg/ml) 培養 24 h 後。分別取培養上清液以及一氧化氮標準品 ($NaNO_2$) 與 Griess reagent 試劑等體積反應，反應形成紫紅色產物於 540 nm 處具有最大吸光值，故以 540 nm 吸光值計算樣本亞硝酸根濃度。每次實驗皆有三重複以上並與標準曲線比對，測得樣本濃度計算其產生量。

九、統計方法

本實驗所得之數據，均以單尾變異數分析(one-way analysis of variance)，並進行 Dunnet 測試，以 P 值小於 0.05 認為有顯著差異。

參、結果

一、DTE 小鼠急性毒性試驗

體重約 25 公克之 ICR 雄性小鼠禁食一晚後投與 DTE (3、6 g/kg)，未有死亡發生，DTE 之一半致死劑量大於 6 g/kg。對於投與後 14 天的體重變化也沒有影響(表 2)。

二、DTE 28 天連續投與毒性試驗

(一)對體重的影響

ICR 雄性小鼠 28 天連續投與 DTE (0.33、1、3 g/kg)，對小鼠體重沒有影響(表 3)。

(二)對血漿生化值的影響

DTE (0.33、1、3 g/kg) 28 天連續投與對小鼠血漿 ALT、AST 及 ALP 活性沒有影響(表 4)，對 BUN 及 Crestinine 的濃度也沒有影響(表 4)。

(三)對臟器絕對及相對重量的影響

DTE (0.33、1、3 g/kg) 28 天連續投與對小鼠肝臟、心臟、脾臟、腎臟、腎上腺及睪丸的絕對及相對重量沒有影響(表 5)。

(四)病理檢查

由表 6 及圖 3 及 4 所示，DTE 28 天連續投與對小鼠心臟、腎臟、肝臟及脾臟組織沒有影響。

三、DTE 及 DNE 對小鼠 CCl_4 肝損傷的影響

(一)對血漿 ALT 及 AST 的影響

如表 7 所示，小鼠投與 CCl_4 後滿一、三及六週血漿 ALT 值明顯高於控制組，除第一週 DTE (200 mg/kg)的 ALT 值低於 $CCl_4 + H_2O$ 外，其餘 DTE 及 DNE 的處理血漿 ALT 值與 $CCl_4 + H_2O$ 組比較沒有差異。如表 8 所示，小鼠投與 CCl_4 後滿八週血漿 ALT 及 AST 值明顯高於控制組，DTE 及 DNE 的處理血漿 ALT 及 AST 值與 $CCl_4 + H_2O$ 組比較沒有差異。

(二)對肝臟及脾臟重量的影響

如表 9 所示，CCl_4 誘發小鼠慢性肝損傷造成肝臟及脾臟腫大，DTE 及 DNE 的處理對肝臟及脾臟重量沒有影響。

(三)對肝臟蛋白質、malondialdehyde 及 hydroxyproline 含量的影響

小鼠投與 CCl_4 8 週後造成肝臟蛋白質含量明顯降低(表 10)，肝臟脂質過氧化的產物之一 malondialdehyde，及肝臟纖維化膠原蛋白增生的指標成分 hydroxyproline 皆顯著增加(表 10)。DTE 及 DNE 之投與對肝臟蛋白質、malondialdehyde 及 hydroxyproline 含

量皆沒有影響。

(四)病理學檢查

由圖 5 HE 染色所示，CCl_4 造成小鼠肝臟組織壞死及纖維化的情形，DTE 及 DNE 之投與對肝臟組織壞死沒有影響。肝臟纖維化程度進一步以 Sirius red 染色，使用影像分析軟體分析纖維化的程度，由圖 5 及表 11 所示，CCl_4 造成小鼠顯著肝臟纖維化的產生，DTE 及 DNE 之投與對肝臟纖維化沒有影響。

四、DTE 及 DNE 對高脂飼料誘發小鼠肥胖的影響

(一)對攝食量的影響

小鼠先餵食高脂飼料(HF)四週後開始投與投與 DTE、DNE 及 Clenbuterol，紀錄每週的平均每日攝食量，表 12 所示僅為第四、五、八及十二週的平均每日攝食量，HF + H_2O 組的攝食量明顯低於正常飼料組，DTE、DNE 及 Clenbuterol 的投與對平均每日攝食量沒有影響。

(二)對體重的影響

小鼠先餵食 HF 四週後開始投與投與 DTE、DNE 及 clenbuterol，滿第四週的體重，各組間沒有差異，HF + H_2O 組的體重較控制組高，但沒有統計上的差異(表 13)。DTE、DNE 及 clenbuterol 投與滿八週，相當於 HF 餵食十二週，最終 HF + H_2O 組小鼠體重顯著高於控制組。DTE、DNE 及 clenbuterol 投與八週後對小鼠體重沒有影響(表 13)。

(三)對肝臟重量及肝臟三酸甘油脂濃度的影響

如表 14 所示，高脂飼料餵食十二週後，HF + H_2O 組小鼠肝臟重量低於控制組，但肝臟三酸甘油脂濃度高於控制組。DTE、DNE 及 clenbuterol 投與八週後對小鼠肝臟重量及肝臟三酸甘油脂濃度沒有影響(表 14)。

(四)對血漿總膽固醇及三酸甘油脂濃度的影響

如表 15 所示，高脂飼料餵食十二週後，HF + H_2O 組小鼠血漿總膽固醇及三酸甘油脂的濃度顯著高於控制組。DTE、DNE 及 clenbuterol 投與八週後對小鼠血漿總膽固醇及三酸甘油脂的濃度沒有影響(表 15)。

(五)對脂肪重量及脂肪細胞大小的影響

如表 16 所示，高脂飼料餵食十二週後，HF + H_2O 組小鼠腎臟及副睪旁脂肪重明顯重於控制組。DTE 及 DNE 投與八週後對小鼠腎臟及副睪旁脂肪重量沒有影響(表 16)。Clenbuterol 的投與有減輕腎臟及副睪旁脂肪重量，但沒有統計上的差異。副睪旁脂肪

進行組織學檢查，HF + H_2O 組小鼠脂肪細胞直徑明顯大於控制組，DTE 及 DNE 投與八週後對小鼠副睪旁脂肪細胞大小沒有影響(表 16 及圖 7)。clenbuterol 的投與能使脂肪細胞直徑減短(表 16)。

五、DTE 及 DNE 對去卵巢小鼠誘發骨質疏鬆的影響

(一)血漿 CTX 及 OCN 濃度

去卵巢小鼠水組四週後犧牲，如表 17 所示，血漿中 CTX 及 OCN 濃度明顯高於假手術組。DTE (200 –1200 mg/kg)、DNE (600、1200 mg/kg) 及正對照藥物 alendronate (2.5 mg/kg) 處理的去卵巢小鼠血漿 CTX 濃度顯著低於去卵巢水組。DTE (1200 mg/kg)、DNE (600、1200 mg/kg) 及正對照藥物 alendronate (2.5 mg/kg) 處理的去卵巢小鼠血漿 OCN 濃度顯著低於去卵巢水組。

(二)Micro-CT 分析

以 Micro-CT 分析股骨，去卵巢水組小鼠骨小樑積與組織體積的比率、骨小樑數目及骨小樑厚度皆較假手術組低(圖 8 及表 18)。DTE (1200 mg/kg) 及 DNE (1200 mg/kg)處理的去卵巢小鼠其骨小樑體積比率、骨小樑厚度均較去卵巢水組高，但對骨小樑數目沒有影響。alendronate (2.5 mg/kg)組的骨小樑體積比率、骨小樑厚度及骨小樑數目均較去卵巢水組高。

六、IDTPS 對去卵巢小鼠誘發骨質疏鬆的影響

(一)血漿 CTX 及 OCN 濃度

去卵巢小鼠水組四週後犧牲，如表 19 所示，血漿中 CTX 及 OCN 濃度明顯高於假手術組。IDTPS (7、20 mg/kg) 處理的去卵巢小鼠血漿 CTX 及 OCN 濃度顯著低於去卵巢水組。

(二)Micro-CT 分析

以 Micro-CT 分析股骨，去卵巢水組小鼠骨小樑積與組織體積、骨小樑數目及骨小樑厚度皆較假手術組低(表 20)。IDTPS (7 或 20 mg/kg) 處理的去卵巢小鼠其骨小樑體積比率、骨小樑厚度均較去卵巢水組高，但對骨小樑數目沒有影響。

(三)盲腸 pH 值及糞便比菲德氏菌數目

去卵巢小鼠水組四週後犧牲，如表 21 所示，盲腸 pH 值高於假手術組。IDTPS (20mg/kg) 處理的去卵巢小鼠盲腸 pH 值顯著低於去卵巢水組。

七、DTE 對去卵巢大鼠促進腸道鈣吸收作用

(一)對糞便 Bifidobacteria 數目的影響

去卵巢大鼠投與 DTE 滿四週，收集糞便以培養比菲德氏菌的培養基在厭氧下培養，DTE 及 inulin 明顯促進比菲德氏菌的增生(表 22)。

(二)鈣平恆試驗

去卵巢大鼠投與 DTE 進入第 6 週，大鼠置於代謝籠進行鈣平恆試驗，由表 23 所示，DTE 能增加鈣吸收量、鈣吸收率及鈣體內存留量。

八、IDTPS 對大鼠糞便發酵試驗

培養基中加入大鼠糞便及IDTPC，經發酵24小時，檢測*Escherichia coli*、*Bifidobacterium sp*、*Clostridium sp*、*Lactobacillus sp.*. 等菌的DNA量，IDTPC顯著增加*Bifidobacterium sp*的量。

九、細胞實驗

DTE 對 RAW264.7 細胞的影響

DTE 對 LPS 誘發 RAW264.7 細胞釋出 NO 的抑制作用雖有統計上的意義，但效果不顯著(圖 10)。DTE 進行正丁醇分層，進一步以管柱分層，100%甲醇流洗物雖具有抑制 NO 產生作用，但須在相當高濃度才有作用(圖 10)。

IDTPS 可以促使 RAW264.7 細胞釋出 NO (表 24)，加入 p38、pJNK 或 pERK 抑制劑，三者很明顯拮抗 LPS 的作用，p38、pJNK 抑制劑也很明顯減弱 IDTPC 的作用。但 pERK 抑制劑拮抗 IDTPC 的作用很弱。IDTPC 可經由 p38、pJNK 的途徑促使 RAW264.7 放出 NO。

肆、討論

本計畫之目的在開發本土藥用植物黃花石斛成為具有產業價值的保健產品。保健產品首重安全性，由於臨床上黃花石斛少用，肝腎毒性是中草藥較為常見的毒性,因此先以小鼠評估其肝腎毒性作為下一步研發的依據。本計畫評估黃花石斛粗萃物(DTE)是否具護肝、減少體脂肪堆積極改善骨質疏鬆之保健功效,並以中草藥市場上常見的金釵石斛粗萃物(DNE)做為對照藥。三種保健功效中只有在骨質疏鬆方面得到正面的效果，因此在骨質疏鬆方面進行較深入的研究。

一、安全性試驗

由於DTE具有很強的黏性限制了投與量，小鼠最高劑量只能投到 6 g/kg。小鼠急性毒性試驗使用3 g/kg 及 6 g/kg兩個劑量,20分鐘內投與完畢,小鼠沒有死亡情形。觀察14天未發現特殊臨床症狀，對體重也沒有影響。DTE的一半致死劑量(LD50)大於6 g/kg。

針對肝，腎毒性，小鼠連續28天投與DTE (0.33、1、3 g/kg)，血漿生化檢測肝功能指標ALT、AST、ALP，及腎功能指標BUN、creatinine 沒有發現異常變化。肝、腎、心及脾臟的組織切片檢查也沒有異常出現。這些結果初步排除了肝、腎毒性的顧慮，可以朝保健品研發。

二、CCl_4 肝損傷

肝臟受到傷害，肝細胞內的 AST 和 ALT 會漏出，使血漿中的 AST 和 ALT 活性上升，是最常用的肝臟損傷生化指標[11]。在本試驗使用 CCl_4 造成肝損傷，血漿中 AST 和 ALT 的活性明顯上升。DTE 及 DNE 不能降低血漿清的 AST 和 ALT 活性，顯示其不能減輕 CCl_4 對肝臟的傷害。

慢性肝炎會引起肝臟纖維化，測定肝臟 hydroxyproline 的量可以反應纖維化的程度[12]。肝臟纖維化，使血流進入肝臟受到阻力，引起門脈高壓，連帶影響到脾臟的血流，會使脾臟腫大[13]。DTE 及 DNE 不能減少肝臟 hydroxyproline 的含量及改善脾腫大的情形。已知 CCl_4 造成肝臟纖維化，與自由基的傷害造成脂質過氧化有關[14]。DTE 及 DNE 也不能使脂質過氧化程度減輕。以上結果顯示 DTE 及 DNE 不具護肝功能。

三、對肥胖鼠效果之評估

以高脂飼料誘導小鼠肥胖，小鼠出現體重上升，脂肪組織重量增加，由以副睪龐脂肪較為明顯，脂肪細胞變大。血中總膽固醇及三酸甘油脂濃度上升，肝臟三酸甘油脂含量增加。DTE及DNE的投與對這些症狀皆無減輕效果，顯示DTE及DNE不具有減少體脂肪堆積的效果。

四、對改善骨質疏鬆效果之評估

骨質疏鬆好發於更年期婦女，因缺雌激素會使破骨細胞活性上升，促

進蝕骨作用 [15]。因此在本計畫使用去卵巢小鼠模式來評估抗骨質疏鬆的效果。

骨頭結構可分為緻密骨與海棉骨。緻密骨約佔全身骨量 80%，主要形成骨頭最外層，質地堅硬。海棉骨佔全身骨量 20%，含有許多骨小樑，其排列產生許多孔隙如海棉般的鬆散組織。人體之骨骼終身都在不停的『換舊更新』,即骨重塑作用,約 75%在海綿骨進行,骨質流失也由此處開始 [16]。

生化指標的測定不具有傷害性，臨床上已發展出可以評估骨質疏鬆的檢測試劑，可以分別偵測造骨細胞或破骨細胞活性。其中 OCN 是骨重塑作用「骨形成」的常用生化指標。CTx 是骨重塑作用「骨吸收」常用生化指標 [17]。

OCN 是造骨細胞分泌出的一種特有非膠原蛋白性質的蛋白。大部分的 OCN 產生後與 hydroxyapatite 結合形成骨基質，一小部分會進入血中。在骨吸收作用期間 OCN 會放出，OCN 是骨形成很敏感的指標。當骨轉換率增加時，OCN 也會隨著增加 [17]。

膠原蛋白的穩定有賴兩端的兩股蛋白以 pyridinoline 或 deoxypyridinoline 交叉聯結，當骨吸收作用破壞膠原蛋白，會放出 pyridinoline 或 deoxypyridinoline,可以偵測 pyridinoline 或 deoxypyridinoline 來評估骨吸收作用。骨吸收作用只能使 40% pyridinum 放出，還有 60%形成 peptide-attached cross-links。第一型膠原蛋白有 amino-terminal (N-terminal) 和 carboxyterminal (C-terminal) 兩個 peptide-attached cross-links，對 N-terminal telopeptide (NTx)及 C-terminal telopeptide (CTx)已開發出抗體，可利用免疫反應來測定 [17]。

在本試驗，小鼠去卵巢 4 週後，血中 CTx 濃度上升，即蝕骨細胞活性增強，誘發骨轉換率增加，因此血中 OCN 濃度上升。DTE 及 DNE 的投與可以降低血中 CTx 及 OCN 濃度，顯示兩者可能經由抑制蝕骨細胞的活性而減少骨質流失。

近年來，分子影像醫學非常進步，電腦斷層掃描儀已發展到可以應用到小動物,micro-CT (微型電腦斷層掃描儀)已是目前用於研究骨結構的最佳儀器，骨結構的立體掃描數據可用來分析骨密度、骨小樑的數目及厚度，算出骨組織所佔的比率 [18]，可取代 dual-energy X-ray absorptiometer 的骨礦密度分析，及傳統病理切片的骨小樑數目、厚度，及骨組織比率的分析。小鼠去卵巢 4 週後，以 micro-CT 分析，DTE 及 DNE 的投與可以改善骨組織比率及骨小樑厚度。

不可消化之多糖是黃花石斛主要的成分，不可消化之多糖如 inulin，因其促進益菌之增生，進而促進鈣吸收及防止骨質疏鬆已有很多研究 [19]，最近的研究也指出 inulin 類多醣在腸道發酵產生的短鍊脂肪酸如丁酸，具有

抑制蝕骨細胞及活化成骨細胞的功能[20-22]。因此本試驗也探討 IDTPS 的作用得到正面的結果。檢測糞便中不同菌種的 DNA，是一個很方便評估促進細菌生長的方法[9, 10]。在糞便的發酵試驗進一步證實 IDTPS 可促進比菲德氏菌增生。去卵巢大鼠的試驗也確認 DTE 能促進腸道對鈣的吸收。

DTE 酒精可溶的部分的量很少，因此在小分子成分方面的探討較不易進行。酒精可溶的分層對 LPS 誘發 NO 的活性抑制作用都不明顯。已有文獻指出 DTE 含有 quercetin[23]，在本實驗也得到證實，quercetin 能抑制蝕骨細胞形成[24]，是可用為黃花石斛開發成改善骨質疏鬆保健產品的指標成分。

伍、結論與建議

黃花石斛具有改善去卵巢動物引起的骨質流失，具有開發成預防骨質疏鬆的保健產品。在產品品質的控管方面可以quercetin作為指標成分。黃花石斛的不可消化之多糖含量很高，具有益菌生及免疫活化功能，與骨質疏鬆的改善也有關連，值得進一步研究開。

誌謝

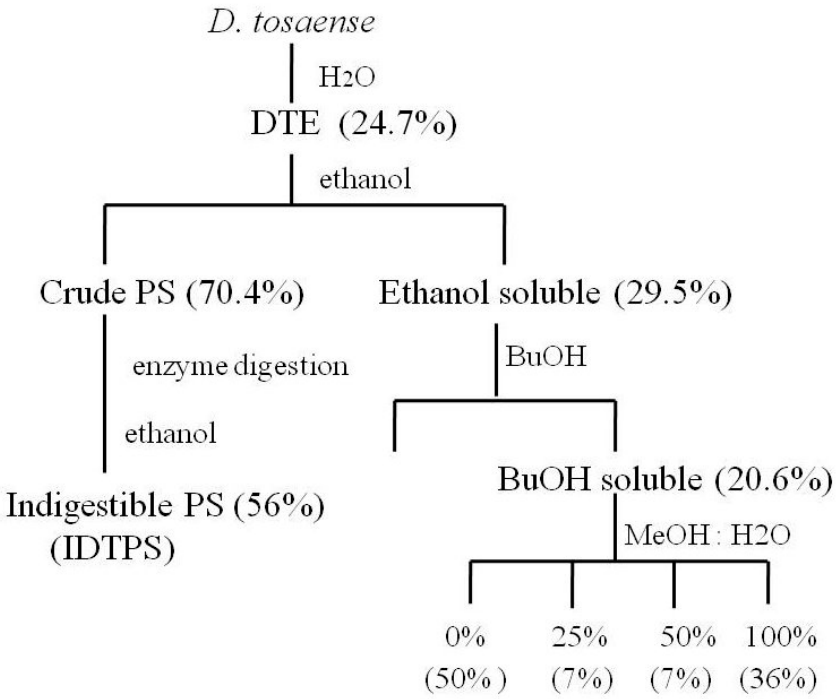
本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-061 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

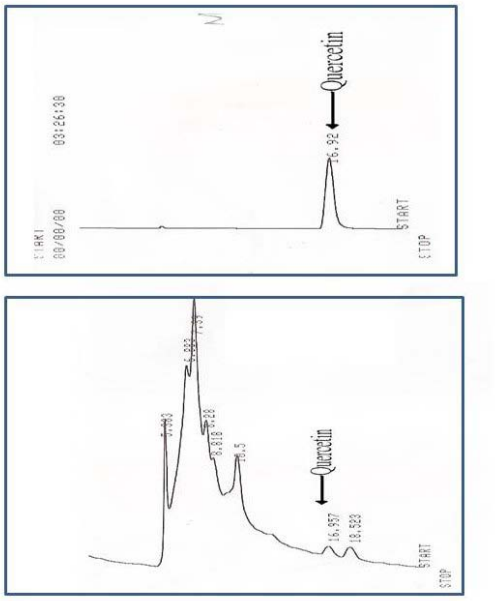
1. 沈保安: *石斛與霍山石斛的本草考證及植物鑑定*. *中國中醫藥出版社* 1998.
2. 馬忠仙;王剛: *金釵石斛研究概況*. *遵義醫學院學報* 2008;31:536-9.
3. 高正華;楊兵勛;陳立鈷: *鐵皮石斛的研究進展*. *中國現代應用藥學雜誌* 2008;25:692-5.
4. 陳富永;蔡奇助: 台灣原生石斛蘭植物種源蒐集、保存及種原基因庫建立. *GRB* 2006:GR9503-4032.
5. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
6. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
7. Neuman RE, Logan MA: The determination of hydroxyproline. *J Biol Chem* 1950;184:299-306.
8. Asvarujanon P, Ishizuka S, Hara H: Promotive effects of non-digestible disaccharides on rat mineral absorption depend on the type of saccharide. *Nutrition* 2005;21:1025-35.
9. Sanz ML, Polemis N, Morales V, et al: In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *J Agric Food Chem* 2005;53:2914-21.
10. Esteves MP, Moura P, Cabanas S, et al: In vitro fermentation of selected xylo-oligosaccharides by piglet intestinal microbiota. *Lwt-Food Science and Technology* 2008;41:1952-61.
11. Sturgill MG, Lambert GH: Xenobiotic-induced hepatotoxicity: mechanisms of liver injury and methods of monitoring hepatic function. *Clin Chem* 1997;43:1512-26.
12. Hanauske-Abel HM:Fibrosis: representive molecular elements, a basic concept, and emerging targets for suppressive treatment. In: *Hepatology: A textbook of liver disease*. Zakim, D. and Boyer, T.D. (eds) W.B. Saunders Company, Philadelphia,third edition, 1996, pp. 465-506.
13. Mark A: Alcoholic liver disease. In: Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach. Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, et al. (eds) 1997:785-800.
14. Camps J, Bargallo T, Gimenez A, et al: Relationship between hepatic lipid peroxidation and fibrogenesis in carbon tetrachloride-treated rats: effect of zinc administration. *Clin Sci (Lond)* 1992;83:695-700.

15. Riggs BL: The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest* 2000;106:1203-4.
16. Oconnell MBS: Osteoporosis and osteomalacia. In: Pharmacotherapy: A pathophysiology approach. 1997:1689-716.
17. Swaminathan R: Biochemical markers of bone turnover. *Clin Chim Acta* 2001;313:95-105.
18. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, et al: Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res*;25:1468-86.
19. Roberfroid MB: Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr* 2005;93 Suppl 1:S13-25.
20. Schroeder TM,Westendorf JJ: Histone deacetylase inhibitors promote osteoblast maturation. *J Bone Miner Res* 2005;20:2254-63.
21. Katono T, Kawato T, Tanabe N, et al: Sodium butyrate stimulates mineralized nodule formation and osteoprotegerin expression by human osteoblasts. *Arch Oral Biol* 2008;53:903-9.
22. Rahman MM, Kukita A, Kukita T, et al: Two histone deacetylase inhibitors, trichostatin A and sodium butyrate, suppress differentiation into osteoclasts but not into macrophages. *Blood* 2003;101:3451-9.
23. Lo SF, Nalawade SM, Mulabagal V, et al: In vitro propagation by asymbiotic seed germination and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity studies of tissue culture raised plants of three medicinally important species of dendrobium. *Biol Pharm Bull* 2004;27:731-5.
24. Wattel A, Kamel S, Prouillet C, et al: Flavonoid quercetin decreases osteoclastic differentiation induced by RANKL via a mechanism involving NF kappa B and AP-1. *J Cell Biochem* 2004;92:285-95.

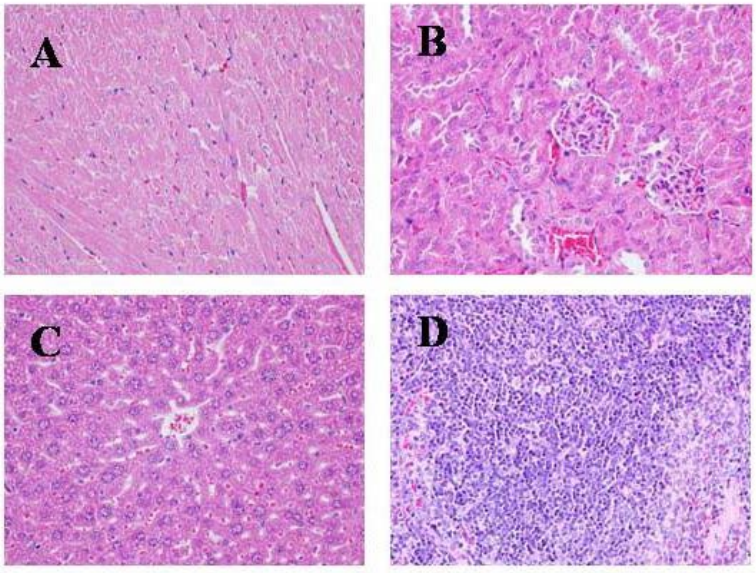
柒、圖、表



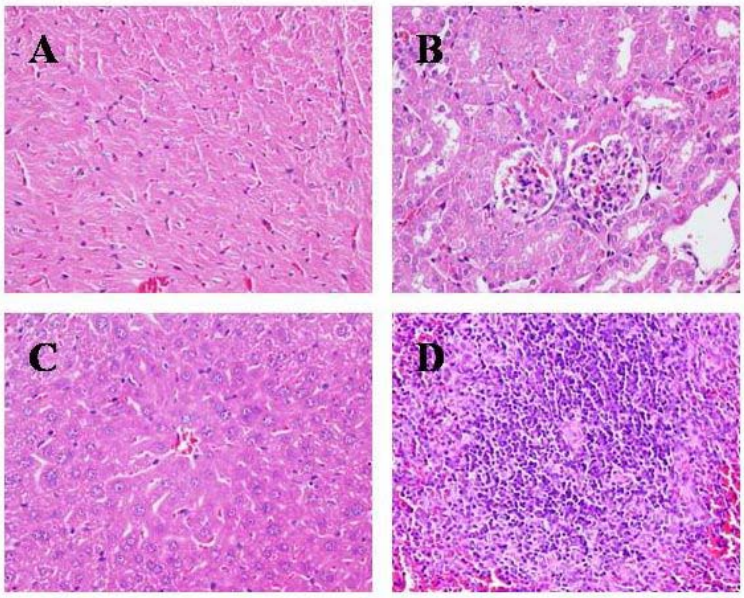
圖一、黃花石斛成分分離流程圖



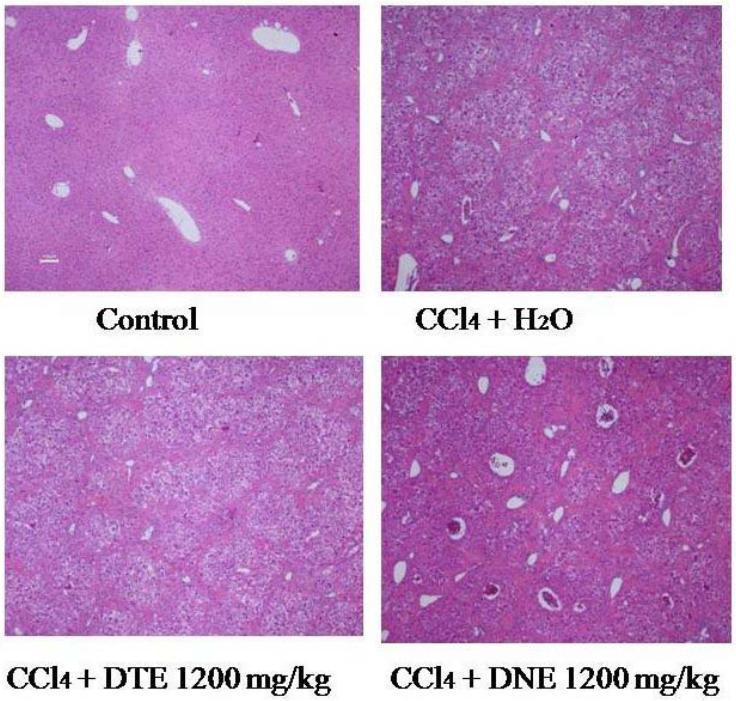
圖二、DTE 之 100%甲醇流洗物之 HPLC 分析



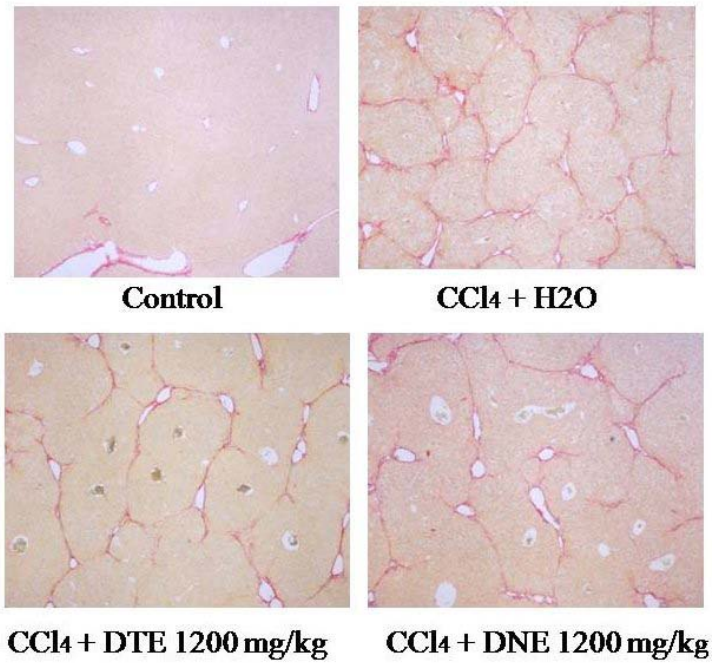
圖三、28 天餵食毒性試驗 H_2O 組小鼠無明顯組織病理變化之臟器。H_2O 組心臟(A)、腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟(D) (動物編號：H_2O-1)等臟器無明顯組織病理變化(H&E stain, 400x)



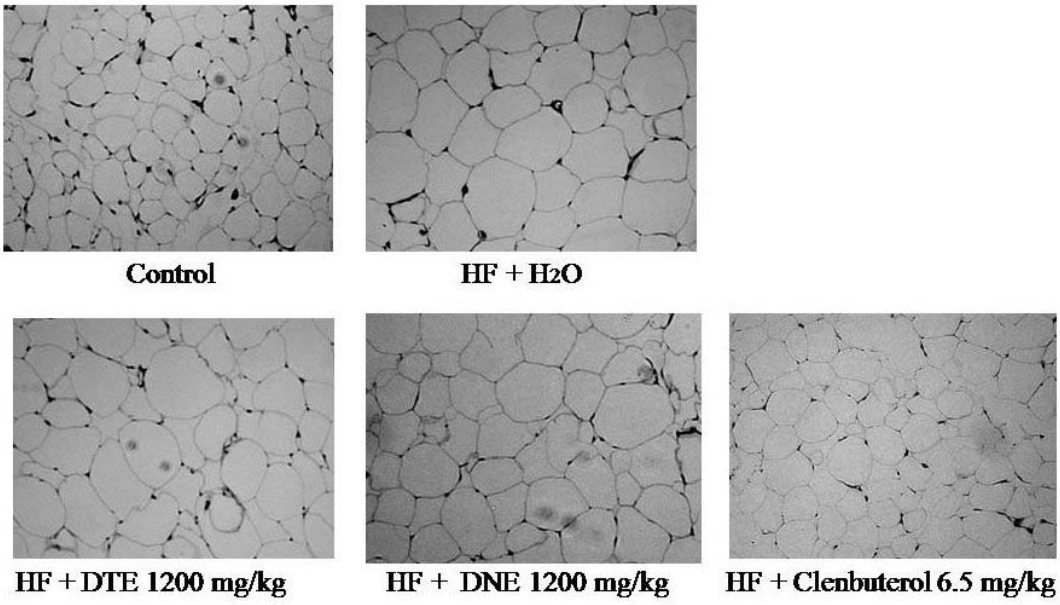
圖四、28 天餵食毒性試驗 DTE (3g/kg)組小鼠無明顯組織病理變化之臟器。H 組心臟(A)、腎臟(B)、肝臟(C)、脾臟(D) (動物編號：H-1)等臟器無明顯組織病理變化(H&E stain, 400x)。



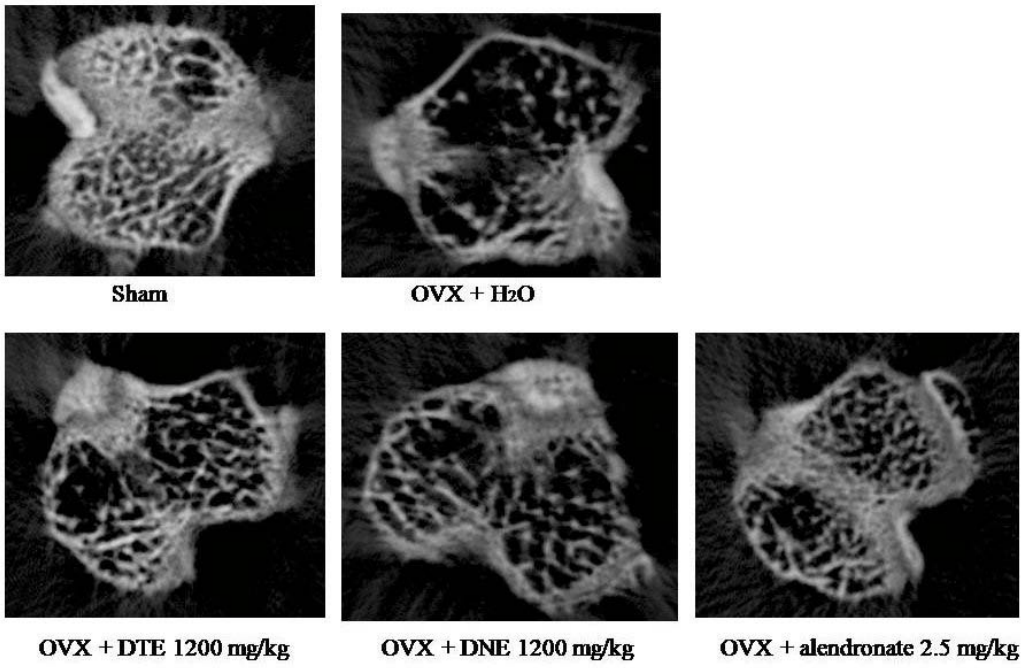
圖五、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發慢性肝損傷的影響(HE 染色)



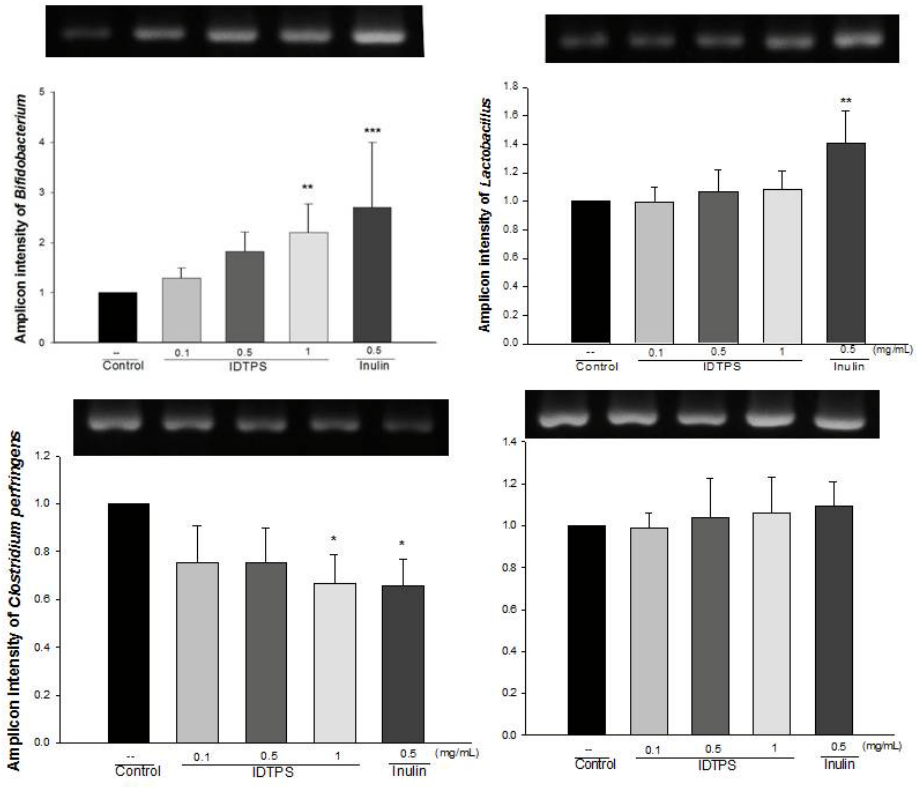
圖六、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發慢性肝損傷肝臟纖維化的影響 (Sirius red 染色)



圖七、脂肪細胞組織學檢查

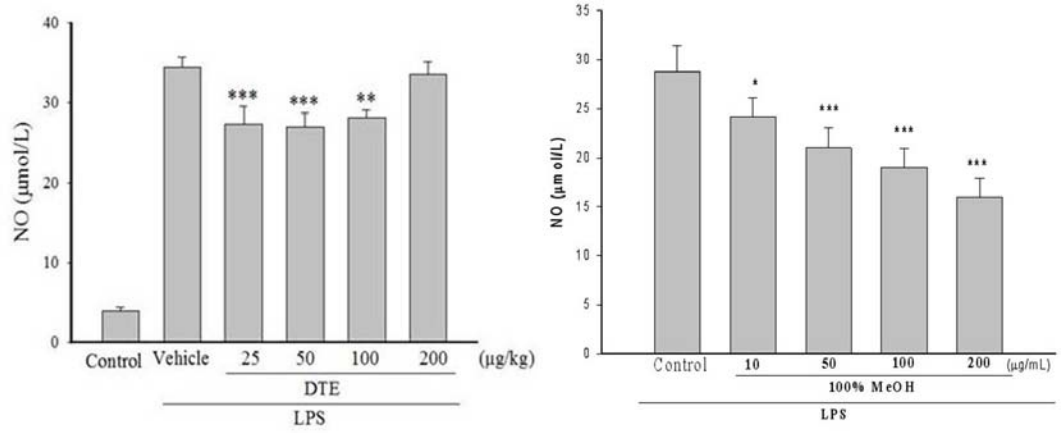


圖八、小鼠股骨之 Micro-CT 分析



圖九、IDTPC 對大鼠糞便比菲德氏菌的增生作用

All values were means ± SD (n = 3). *P< 0.05, ** P < 0.01 and ***P< 0.001 as compared with control group.



圖十、DTE 及其分層對 LPS 活化 RAW264.7 細胞釋放 NO 的抑制作用

All values were means ± SD (n = 3). **P < 0.01, ***P < 0.001 as compared with the vehicle or control group.

表一、引子序列

Escherichia coli	F: CGACGATCCCTAGCTGGTCT
	R: GAGTTAGCCGGTGCTTCTT
Bifidobacterium sp.	F: GTCAGCTCGTGTCGTGAG
	R: GTCGCATCCCGTTGTACC
Clostridium sp.	F: GACGGGTGAGTAACACGTGG
	R: TTGCTGCATCAGGGTTTCCC
Lactobacillus sp.	F: GACGGGTGAGTAACACGTGG
	R: CGCAGGTCCATCCAAGAGTG

表二、DTE 急性毒性試驗對小鼠體重變化的影響

Treatments	Dose (g/kg)	Body weight (g)				
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 7	Day 14
Control		26.2 ± 1.7	28.0 ± 2.2	28.2 ± 2.7	32.5 ± 3.0	35.2 ± 2.0
DTE	3.00	25.3 ± 1.0	27.5 ± 1.2	29.3 ± 2.7	30.3 ± 1.8	33.2 ± 1.6
	6.00	25.5 ± 2.4	27.7 ± 3.0	29.2 ± 3.1	30.2 ± 2.9	33.3 ± 3.7

All values are means ± SD (n = 6).

表三、DTE 28 天連續投與對小鼠體重的影響

Treatments	Dose (g/kg)	Body weight (g)				
		Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Control		27.2 ± 1.4	30.3 ± 1.7	33.3 ± 2.4	34.2 ±2.7	34.9 ± 3.0
DTE	0.33	27.2 ± 1.3	30.3 ±1.4	32.8 ± 1.5	34.0 ± 1.6	34.6 ± 1.8
	1.00	26.6 ± 1.0	30.0 ± 2.0	32.3 ± 1.6	33.0 ± 1.8	33.6 ± 2.3
	3.00	27.2 ± 1.5	29.9 ± 1.1	32.2 ± 1.5	33.5 ± 1.7	34.2 ± 1.9

All values are means ± SD (n = 10).

表四、DTE 28 天連續投與對小鼠血漿生化值的影響

Parameters	Control	DTE 0.33 g/kg	DTE 1.00 g/kg	DTE 3.00 g/kg
ALT (U/L)	34.3 ± 6.7	35.6 ± 7.5	37.5 ± 7.3	35.3 ± 7.9
AST (U/L)	60.1 ± 7.9	68.1 ± 11.0	61.3 ± 15.5	68.6 ± 14.0
BUN (mg/dL)	24.5 ± 2.7	26.3 ± 6.2	25.1 ± 4.2	29.7 ± 5.8
Crestinine (mg/dL)	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.02
ALP (U/L)	61.5 ± 24.5	66.3 ± 29.3	60.0 ± 26.5	65.2 ± 27.8

All values are means ± SD (n = 10).

表五、DTE 28 天連續投與對小鼠臟器絕對及相對重量的影響

Parameters	Control	DTE 0.33 g/kg	DTE 1.00 g/kg	DTE 3.00 g/kg
Liver (g)	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.3 ± 0.1
Liver (g/100g BW)	3.6 ± 0.2	3.8 ± 0.2	3.8 ± 0.3	3.7 ± 0.2
Heart (g)	0.17 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.16 ± 0.02
Heart (g/100g BW)	0.49 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.49 ± 0.02	0.47 ± 0.04
Spleen (g)	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.01
Spleen (g/100g BW)	0.25 ± 0.05	0.26 ± 0.04	0.27 ± 0.05	0.25 ± 0.03
Kidney (g)	0.50 ± 0.08	0.46 ± 0.07	0.49 ± 0.07	0.46 ± 0.05
Kidney (g/100g BW)	1.43 ± 0.17	1.34 ± 0.15	1.46 ± 0.13	1.32 ± 0.11
Adrenal (mg)	4.58 ± 0.99	4.42 ± 1.09	5.26 ± 0.80	4.69 ± 0.58
Adrenal(mg/100g BW)	13.3 ± 3.6	12.8 ± 2.8	15.7 ± 2.5	13.6 ± 1.6
Testes (g)	0.24 ± 0.2	0.23 ± 0.02	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.03
Testes (g / 100 g BW)	0.68 ± 0.10	0.66 ± 0.08	0.38 ± 0.10	0.64 ± 0.07

All values are means ± SD (n = 10).

表六、28 天餵食毒性試驗小鼠組織病理綜合評估

Organ	Lesions	Group	
		H_2O	High
Heart		-	
	Epicarditis, focal, slight[1]		1/10[2]
Kidney		-	-
Liver		-	-
Spleen		-	-

-: No significant lesions.

[1]: Degree of lesions was graded from one to five depending on severity: 1 = minimal (< 1%); 2 = slight (1-25%); 3 = moderate (26-50%); 4 =moderate/severe (51-75%); 5 = severe/high (76-100%).

[2] Incidence: Affected mice/ Total examined mice. n=10.

表七、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發小鼠慢性肝損傷第一、三及六週血漿 ALT 值的影響

Treatments	Dose (g/kg)	ALT (U/L)		
		Week 1	Week 3	Week6
Control		42.5 ± 12.4	43.3 ± 10.4	40.3 ± 9.8
CCl_4 + H_2O		436.3 ± 181.8$^{###}$	680.6 ± 276.0$^{#}$	1344.3 ± 325.8$^{###}$
+ DTE	200	241.9 ± 96.3*	988.3 ± 202.0	1090.0 ± 435.0
	600	280.0 ± 106.9	410.6 ± 189.9	1221.4 ± 380.6
	1200	503.8 ± 181.3	689.4 ± 138.9	1740.0 ± 620.0
+ DNE	200	450.6 ± 128.1	524.4 ± 131.3	1261.7 ± 548.1
	600	521.9 ± 116.9	921.9 ± 278.8	1861.7 ± 750.2
	1200	433.1 ± 87.0	762.0 ± 693.5	1646.7 ± 821.2

All values are means ± SD (n = 10). $^{#}P < 0.05$, $^{###}P < 0.001$ as compared with the control group. *P< 0.05, ** P < 0.01 as compared with the CCl_4 + H_2O group. Sily: silymarin

表八、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發小鼠慢性肝損傷第八週血漿 ALT、AST 值的影響

Treatment	Dose (g/kg)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Control		39.2 ± 12.6	68.6 ± 9.8
$CCl_4 + H_2O$		2037.7 ± 785.8$^{###}$	2463.5 ± 1862.0
+ DTE	200	1903.0 ± 821.0	1498.6 ± 1247.2
	600	1718.3 ± 567.6	2460.3 ± 1775.3
	1200	2475.4 ± 1361.4	3144.4 ± 2074.6
+ DNE	200	1604.8 ± 267.1	2806.1 ± 3235.6
	600	3045.8 ± 1616.6	3960.9 ±3267.4
	1200	2631.0 ± 1708.9	3972.5 ± 2641.5

All values are means ± SD (n = 10). $^{###}P < 0.001$ compared with control group. *P< 0.05, ** $P < 0.01$ compared with $CCl_4 + H_2O$ group.

表九、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發小鼠慢性肝損傷肝臟及脾臟重量的影響

Treatment	Dose (g/kg)	Liver (g)	Spleen (g)
Control		1.9 ± 0.1	116.6 ± 8.1
$CCl_4 + H_2O$		2.5 ± 0.3$^{##}$	199.6 ± 52.5$^{#}$
+ DTE	200	2.4 ± 0.4	159.7 ± 39.6
	600	2.6 ± 0.4	159.2 ± 38.0
	1200	2.3 ± 0.3	129.7 ± 28.8*
+ DNE	200	2.3 ± 0.3	156.9 ± 54.3
	600	2.5 ± 0.3	181.5 ± 38.0
	1200	2.6 ± 0.3	165.5 ± 43.1

All values are means ± SD (n = 10). $^{#}P < 0.05$, $^{###}P < 0.001$ compared with control group.

表十、DTE 及 DNE 對 CCl_4 誘發慢性肝損傷肝臟蛋白質、Malondialdehyde 及 hydroxyproline 含量的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	Protein (mg/g tissue)	Malondialdehyde (nmol/mg protein)	Hydroxyproline (μg/g tissue)
Control		195.7 ± 6.1	1.2 ± 0.1	371.6 ± 45.0#
$CCl_4 + H_2O$		145.3 ± 17.8$^{\#\#}$	3.2 ± 0.5$^{\#\#}$	538.8 ± 58.2$^{\#}$
+ DTE	200	151.0 ± 13.4	3.4 ± 2.1	560.0 ± 76.0
	600	155.0 ± 14.3	3.2 ± 0.3	517.5 ± 104.4
	1200	145.4 ± 8.2	3.2 ± 0.2	540.7 ± 85.8
+ DNE	200	142.7 ± 11.6	3.1 ± 0.6	611.8 ± 122.4
	600	145.9 ± 13.1	3.7 ± 1.2	546.7 ± 90.6
	1200	141.8 ± 10.5	3.8 ± 1.9	466.3 ± 87.4

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#\#}P < 0.01$ compared with control group.

表十一、DTE 及 DNE 對 CCl4 誘發慢性肝損傷肝臟纖維化的影響

Treatment	Dose (g/kg)	Fibrosis area (%)
Control		0
$CCl_4 + H_2O$		6.3 ± 1.4$^{\#\#\#}$
+ DTE	200	6.2 ± 3.0
	600	5.3 ± 2.2
	1200	4.3 ± 0.7
+ DNE	200	6.9 ± 1.7
	600	6.5 ± 2.0
	1200	5. 0 ± 2.9

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#\#\#}P < 0.01$ as compared with the control group.

表十二、DTE 及 DNE 對高脂飼料攝食量的影響

Treatments	Doses (mg/kg)	Food intake (g)			
		Week 4	Week 5	Week 8	Week 12
Control		3.7 ± 0.2	4.1 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.0 ± 0.4
HF+ H_2O		2.2 ± 0.2$^{###}$	2.4 ± 0.1$^{###}$	2.5 ± 0.1$^{##}$	2.7 ± 0.1$^{##}$
HF+ DTE	200	2.3 ± 0.2	2.1 ±0.1	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.1
	600	2.4 ± 0.1	2.1 ±0.2	2.4 ± 0.3	2.7 ± 0.1
	1200	2.9 ± 0.2	2.2 ± 0.1	2.3 ± 0.2	2.7 ± 0.3
+ DNE	200	2.2 ± 0.2	2.4 ± 0.1	2.5 ± 0.1	2.6 ± 0.1
	600	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.6 ± 0.2	2.7 ± 0.3
	1200	2.1 ± 0.4	2.4 ± 0.3	2.5 ± 0.4	2.8 ± 0.1
+ Clen	6.5	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.1 ± 0.8	2.7 ± 0.1

All values are means ± SD (n = 10). $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$ as compared with the control group. Clen: Clenbuterol

表十三、DTE 及 DNE 對高脂飼料誘發肥胖小鼠體重的影響

Treatments	Doses (mg/kg)	Body weight (g)	
		Week 4	Week 12
Control		24.9 ± 1.7	26.9 ± 1.7
HF+ H_2O		27.7 ± 1.5	31.4 ± 1.3$^{##}$
HF+ DTE	200	28.3 ± 1.9	31.7 ± 2.3
	600	27.1 ± 1.8	33.6 ± 1.7
	1200	27.5 ± 2.9	32.6 ± 3.3
+ DNE	200	28.0 ± 2.4	33.0 ± 3.0
	600	27.5 ± 2.5	31.4 ± 2.3
	1200	26.8 ± 1.7	33.5 ± 3.2
+ Clenbuterol	6.5	26.8 ± 2.0	31.0 ± 1.2

All values are means ± SD (n = 10). $^{###}P < 0.001$ as compared with the control group.

表十四、DTE 及 DNE 對肥胖小鼠肝臟重量及肝臟三酸甘油脂濃度的影響

Treatments	Doses (mg/kg)	Liver (g)	Hepatic Triglyderides (mg/dl)
Control		1.28 ± 0.12	9.4 ± 1.4
HF+ H_2O		1.10 ± 0.06$^{\#}$	19.0 ± 2.6$^{\#\#}$
HF+ DTE	200	1.06 ± 0.09	22.2 ± 2.9
	600	1.04 ± 0.08	19.6 ± 4.8
	1200	1.03 ± 0.12	20.5 ± 4.0
+ DNE	200	1.07 ± 0.12	22.1± 4.7
	600	1.04 ± 0.15	22.2 ±5.8
	1200	1.04 ± 0.08	28.7 ± 6.1
+ Clenbuterol	6.5	0.89 ± 0.07**	12.1 ± 2.2*

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#\#\#}P < 0.001$ as compared with the control group.

表十五、DTE 及 DNE 對肥胖小鼠血漿總膽固醇及三酸甘油脂的濃度的影響

Treatments	Doses (mg/kg)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyderides (mg/dl)
Control		76.7 ± 10.5	25.1 ± 10.3
HF+ H_2O		143.0 ± 11.0$^{\#\#\#}$	43.0 ± 6.1$^{\#}$
HF+ DTE	200	149.9 ± 10.6	48.6 ± 17.7
	600	140.9 ± 13.6	45.3 ± 15.9
	1200	146.9 ± 22.2	43.3 ± 6.3
+ DNE	200	151.8 ± 15.8	41.7 ± 8.6
	600	145.8 ± 8.9	42.5 ± 5.9
	1200	153.3 ± 13.7	40.2 ± 6.2
+ Clenbuterol	6.5	152.3 ± 15.6	31.9 ± 4.5

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#\#\#}P < 0.001$ as compared with the control group.

表十六、DTE 及 DNE 對肥胖小鼠脂肪重量及脂肪細胞大小的影響

Treatments	Doses (mg/kg)	腎旁脂肪 (g)	副睪脂肪 (g)	Diameters of fat cells (μm)
Control		0.08 ± 0.04	0.38 ± 0.13	131.6 ± 18.0
HF+ H_2O		0.46 ± .14$^{\#\#}$	1.07 ± 0.37$^{\#}$	214.2 ± 25.4$^{\#\#\#}$
HF+ DTE	200	0.59 ± 0.20	1.56 ± 0.46	190.6 ± 26.9
	600	0.44 ± 0.18	1.17 ± 0.61	208.9 ± 25.3
	1200	0.51 ± 0.27	1.19 ± 0.50	208.1 ± 26.3
+ DNE	200	0.61 ± 0.19	1.54 ± 0.36	205.9 ± 13.7
	600	0.46 ± 0.14	1.23 ± 0.41	204.0 ± 31.2
	1200	0.55 ± 0.16	1.45 ± 0.46	224.5 ± 14.1
+ Clenbuterol	6.5	0.28 ± 0.16	0.77 ± 0.33	178.2 ± 24.9*

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#}$P < 0.05 as compared with the control group.

表十七、DTE 及 DNE 對去卵巢小鼠血漿 CTX 及 OCN 濃度的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	CTX (μg/ml)	OCN (μg/ml)
Sham		5.6 ± 1.2	27.9 ± 1.1
OVX + H_2O		14.6 ± 2.4$^{\#\#\#}$	35.4 ± 1.3$^{\#\#}$
+ DTE	200	9.2 ± 2.2**	32.7 ± 2.9
	600	9.3 ± 2.8**	32.8 ± 2.8
	1200	8.9 ± 2.5***	30.9 ± 2.1**
+ DNE	200	11.1 ± 2.7	34.3 ± 1.8
	600	8.4 ± 2.6***	32.2 ± 1.4**
	1200	7.9 ± 2.6***	31.3 ± 2.3**
+ alendronate	2.5	8.9 ± 2.6*	30.7 ± 3.6**

All values are means ± SD (n = 10). $^{\#}P$ < 0.05, $^{\#\#\#}P$ < 0.001as compared with the control group. *P < 0.05, P*P <0.01, ***P < 0.001 as compared with the OVX + H_2O group.

表十八、DTE 及 DNE 對去卵巢小鼠骨組織的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	Trabecular Bone Volume (%)	Thickness of the trabeculae (μm)	Number of Trabeculae (No./ mm)
Sham		29.5 ± 1.9	91.8 ± 2.9	3.22 ± 0.19
OVX + H_2O		20.6 ± 1.6$^{###}$	80.1 ± 3.9$^{###}$	2.70 ± 0.29$^{##}$
+ DTE	200	20.6 ± 2.7	80.6 ± 4.5	2.61 ± 0.36
	600	22.1 ± 1.0	82.5 ± 2.8	2.67 ± 0.14
	1200	24.3 ± 2.2*	85.4 ± 1.8*	2.82 ± 0.23
+ DNE	200	20.1 ± 3.3	81.3 ± 2.7	2.72 ± 0.36
	600	21.8 ± 1.9	84.4 ± 4.1	2.68 ± 0.19
	1200	26.2 ± 2.0**	86.8 ± 4.3*	3.05 ± 0.24
+ Alen	2.5	26.6 ± 1.8**	87.3 ± 3.6*	3.10 ± 0.10*

All values are means ± SD (n = 10). $^{##}P < 0.01$ as compared with the sham group.

*$P < 0.05$, **$P < 0.01$ as compared with the OVX + H_2O group.

表十九、IDTPS 對去卵巢小鼠血漿 CTX 及 OCN 濃度的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	CTX (μg/ml)	OCN (μg/ml)
Sham		5.6 ± 1.2	27.9 ± 1.1
OVX + H_2O		14.6 ± 2.4$^{###}$	35.4 ± 1.3$^{##}$
+ IDTPS	7	9.9 ± 1.6***	31.4 ± 1.4***
	20	7.9 ± 1.9***	31.3 ± 2.0***

All values are means ± SD (n = 10). $^{#}P < 0.05$, $^{###}P < 0.001$ as compared with the sham group. ***$P < 0.01$ as compared with the OVX + H_2O group.

表二十、IDTPS 對去卵巢小鼠骨組織的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	Trabecular Bone Volume (%)	Thickness of the trabeculae (μm)	Number of Trabeculae (No./ mm)
Sham		29.5 ± 1.9	91.8 ± 2.9	3.22 ± 0.19
OVX + H_2O		20.6 ± 1.6$^{###}$	80.1 ± 3.9$^{###}$	2.70 ± 0.29$^{##}$
+ IDTPS	7	24.4 ± 1.8**	82.5 ± 4.1	2.71 ± 0.17
	20	24.5 ± 0.8**	85.9 ± 2.1*	2.87 ± 0.24

All values are means ± SD (n = 10). $^{##}P < 0.01$ as compared with the sham group. *$P < 0.05$, **P <0.01 as compared with the OVX + H_2O group.

表二十一、IDTPS 對去卵巢小鼠盲腸 pH 值及糞便比菲德氏菌數目的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	Cecal pH	No. of Bifidobacterium (Log CFUs / g feces)
Sham		6.7 ± 0.2	7.1 ± 0.1
OVX + H_2O		7.1 ± 0.1$^{###}$	7.2 ± 0.2
+ IDTPS	7	7.0 ± 0.2	7.4 ± 0.3**
	20	6.8 ± 0.1**	7.4 ± 0.2***

All values are means ± SD (n = 10). $^{###}P < 0.01$ as compared with the control group.

**$P < 0.01$, ***P <0.001 as compared with the OVX + H_2O group.

表二十二、DTE 對去卵巢大鼠糞便比菲德氏菌數目的影響

Treatment	Dose (mg/kg)	No. of Bifidobacterium (Log CFUs / g feces)
Sham		9.9 ± 0.2
OVX + H_2O		9.6 ± 0.4$^{###}$
+ DTE	300	9.9 ± 0.2
	900	10.1 ± 0.2**
+ inulin	400	10.4 ± 0.1***

All values are means ± SD (n = 8). $^{###}P < 0.01$ as compared with the control group.

**$P < 0.01$, ***P <0.001 as compared with the OVX + H_2O group.

表二十三、DTE 對去卵巢大鼠腸道鈣吸收的影響

Items	Sham	OVX			
		H_2O	DTE 300 mg/kg	DTE 900 mg/kg	Inulin 400 g/kg
Body weight (g)	302.3 ±41.4	365.2 ± 32.3$^{###}$	353.0 ± 27.1	359.9 ± 29.7	366.0 ± 33.7
Ca intake (mg)	338.6 ±28.7	351.4 ± 55.8	360.3 ± 25.3	368.3 ± 53.4	320.0 ± 29.9
Fecal Ca (mg)	207.3 ± 29.5	199.5 ± 22.3	214.4 ± 24.8	214.4 ± 24.8	218.5 ± 12.6
Urinary Ca mg)	1.7 ± 0.3	2.1 ±0.5	1.8 ± 0.4	1.8 ± 0.7	1.7 ± 0.3
Absorption (mg)	126.3 ± 29.8	117.3 ± 31.2	133.2 ± 18.7	174.2 ± 22.0*	117.6 ± 6.2
Absorption (%)	36.9 ±6.0	33.0 ± 3.9	36.9 ± 4.1	47.6 ±4.3*	37.0 ± 4.1
Retention (mg)	124.6 ± 30.0	115.3 ± 31.3	131.4 ± 18.8	172.3 ± 21.3*	115.9 ± 6.1

All values were means ± SD (n = 8). $^{##}P < 0.01$ as compared with the sham group.

*$P < 0.05$ as compared with the OVX + H_2O group.

表二十四、IDTPS 對 RAW264.7 細胞存活率及 NO 釋放的影響

	Con. (μg/ml)	NO (μM)			
		Vehicle	SB203580 (10μM)	SP600125 (10μM)	PD98059 (10μM)
Control		10.7 ± 0.9	9.4 ± 0.7	10.0 ± 0.8	9.1 ± 1.2
IDTPS	100	20.6 ± 1.8	7.7 ± 1.6***	12.3 ± 1.1***	11.8 ± 1.7***
	200	25.4 ± 1.1	13.3 ± 3.0***	14.6 ± 1.0***	22.4 ± 2.0
	500	35.8 ± 2.2	17.0 ± 2.2***	24.8 ± 1.9**	30.1 ± 2.1
LPS	1	40.5 ± 1.2	11.7 ± 1.7***	10.2 ± 2.6***	9.0 ± 2.4***

All values were means ± SD (n = 3). $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ as compared with the IDTPC alone group (coulmn 3).
SB203580: p38 inhibitor; PD98059: ERK inhibitor; SP60125: JNK inhibitor

編號：CCMP99-RD-062

台灣特有菊科植物之抗發炎與護肝功能的研發(2-1)

徐麗芬
中央研究院/農業生物科技研究中心

摘　要

研究目的：

菊科植物為臺灣第三大維管束植物，其中多數種類常用為臺灣的民俗草藥，其中薊屬的植物一般被認為具有護肝之功效。本計畫擬針對臺灣本土特有薊屬植物：阿里山薊為目標，以科學實驗系統驗證其是否真正具有護肝功能及確認主要活性成分，並評估其開發為抗發炎或護肝功能之保健食品的潛力。

研究方法：

本計畫將建立系統化之體外試驗平台(*in vitro* assay platform)，包括：巨噬細胞株(macrophage) 以及肝細胞株(hepatocytes)，利用此二類細胞分別進行篩選具有抗發炎與保護肝細胞損傷之生物活性成分。

結果與討論：

實驗結果顯示，阿里山薊的地下部(根部)抽出物具有抗發炎活性，且與地上部抽出物比較後發現不具細胞毒性,並且可保護APAP誘導小鼠肝臟細胞 (FL83B)損傷的效果。在分析阿里山薊的地下部不同分層抽出物發現，乙酸乙酯層較其它分層含有高量總多酚類化合物。目前由地下部乙酸乙酯層分離純化得到兩個化合物 syringin 與 ethyl caffeate。由體外試驗篩檢出最具開發潛力的藥草成分，將進一步利用本研究室建立之體內實驗動物模式(*in vivo* animal model)，例如：四氯化碳誘導小白鼠肝損傷、細菌內毒素脂多醣(lipopolysaccharide)與 D-半乳糖胺(D-galactosamine)所誘導之猛爆性肝炎(fulminant hepatitis) 或藥物 N-acetyl-p-aminophenol (or acetoaminophen, APAP) 所誘導之肝損傷動物系統來評估這些成分的護肝功效並瞭解其可能的作用機制，進而有效規範出具抗發炎或護肝功能之藥草成分組合、其製造品管條件與安全性與安定性評估，並於未來開發成為以科學驗證為基準(evidence-based)之護肝功能之保健食品。

關鍵詞：阿里山薊、抗發炎、護肝作用、保健食品

Number: CCMP99-RD-062

Research and Development of Endemic Compositae Plant in Taiwan as Anti-inflammatory and Hepatoprotective Agents

Lie-Fen Shyur
Agricultural Biotechnology Research Center, Academia Sinica

ABSTRACT

Aim:

Compositae plants are the third biggest flowering plants in Taiwan. Many of the Compositae plants have been frequently practiced as folk medicines locally, such as thistle plants, which have been anecdotally claimed for hepatoprotective effects. The objective of this project is to investigate and evaluate the potential anti-inflammatory and hepatoprotective bioactivities of an endemic thistle plant in Taiwan, *i.e.*, *Cirsium arisanense* Kitamura. The preparation and fractionation protocols for the plant extract of *C. arisanense* will be established and standardized. Bioactive extracts or phytocompounds identified from the target herb will be further evaluated for their potentials to be further development into hepatoprotective functional food.

Method:

In this project, *in vitro* assay platform using macrophage RAW264.7 cell line and normal hepatocytes FL83B cell line have been established, in attempt to evaluate the bioactivities of bioactive extract fractions or derived phytocompounds on anti-inflammation, preventing drug or toxin-induced hepatocytes damages.

Results & Discussion:

We observed that the enriched EA fraction of *C. arisanense* root extracts possess anti-inflammatory activity in macrophage cell system with little cytotoxicity as compared to the extracts prepared from the stem and leaf tissues of the plant. Furthermore, EA fraction of root extracts also exhibited protective effect against APAP-induced hepatotoxicity in FL83B cells. On the other hand, we have demonstrated that EA fraction of *C. arisanense* root extracts contain the high level of total polyphenols. Syringin and ethyl caffeate were further isolated and identified from the EA fraction of *C. arisanense* root extracts. The key molecular mechanism(s) underlying the observed bioactivities will be elucidated. The herbal extract(s)/compounds exhibiting the most significant protective effects on liver cells or anti-inflammation, as demonstrated using the *in vitro* assay systems, will be further studied for their *in vivo* pharmacological bioactivities using carbon tetrachloride-induced liver damage, LPS/D-GalN-induced fulminant hepatitis or

APAp-induced liver damage in mouse model systems. The best bioactive fraction or compound formula, alone or as a mixture, for hepatoprotection will be created and its chemical manufacturing control (CMC) protocol will be established. The final goal of this project anticipates to developing science and evidence-based hepatoprotective healthy food(s) from endemic medicinal plant in Taiwan.

Keywords: *Cirsium arisanense* Kitamura, anti-inflammation, hepatoprotection, healthy foods

壹、前言

臺灣乃肝炎、肝硬化及肝癌盛行地區之一，根據行政院衛生署之統計資料顯示，慢性肝病及肝硬化等肝臟疾病為近十年來十大死亡原因之第七或第八位，每年死亡人數約在三千人以上。國人罹患肝臟疾病之主因為病毒感染；此外，藥物濫用、長期酗酒、熬夜、過度勞累以及缺乏均衡營養等亦為國人罹患肝臟疾病之原因。一旦罹患肝臟疾病就需要長期治療，而在整個醫療過程中，不僅是患者本身，甚至於整個家庭成員都會受到影響。若是肝臟罹患者不斷增加，對於整個醫療系統、社會及國家亦是一種沉重的負擔，因此如何預防肝臟疾病也是今日醫藥衛生研究的重要課題之一。衛生署的健康食品法中，並有健康食品之護肝功能評估施行之方法，供科研界與臺灣之生技公司進行相關科研或建字號產品的發展。

中草藥在東方經幾千年的「類人體試驗」，常宣稱(claim)其具有抗發炎或增強免疫力等功能或效用，而坊間的中草藥或其製劑也常被宣稱具有「清熱解毒、保肝或防癌」等功效，但大多仍缺乏科學客觀與實驗室或臨床之證據來加以佐證。近年來，由於生物科技的大幅提昇，與現代醫療息息相關之植物藥物(botanical drug)及植物天然化合物(phytocompound)等相關研究，已成為未來藥物或保健食品研究與開發的目標。特別在強調預防醫學的今日社會中，如何開發與評估真正具有預防特定疾病功效的中草藥健康食品，將是今後國家基礎與應用科學發展領域中最重要以及最值得探討的研究課題之一。因此，中草藥保健食品之推動發展、現代化及科學化，在基礎研究、經濟及社會層面上都是臺灣今日非常重要的議題。

四氯化碳(CCl_4)誘導肝損傷之主要作用機制為 CCl_4 在肝臟中會代謝成更具有毒性作用的自由基分子，即三氯甲烷自由基(trichloromethyl radical, $CCl_3^{\bullet}$)，因而對肝細胞直接造成毒性而產生發炎壞死之情形(Weber *et al.*, 2003)。故理論上，抗氧化物質可能在此肝臟疾病動物模式中具有阻斷 CCl_4 所造成之氧化傷害。此外，採用 CCl_4 誘導肝損傷動物模式之主因包括：CCl_4 能夠快速且有效地誘發急性(如：急性肝炎)與慢性之肝臟疾病(如：肝臟脂肪變性、脂肪肝、肝臟纖維化以及肝硬化) (Chang *et al.*, 2009)。因此，利用不同的 CCl_4 投予方式、劑量、次數以及頻率，可以誘發動物肝損傷情形達到類似臨床上不同嚴重程度的肝臟疾病之目的。故此模式常被應用來評估治療肝臟疾病(尤其是肝纖維化)之藥物或食物成分之治療效果。

由於猛爆性肝炎(fulminant hepatitis)是一項具有致死性的疾病，在短時間內會造成肝細胞大量死亡，因此在臨床治療上極具有其重要性(Williams, 1996; Riedemann *et al.*, 2003)。故我們針對此種疾病建立快速驗證具有護肝功效之植物化合物的小鼠動物模式。我們利用脂多醣(lipopolysaccharide,

LPS)與 D-半乳糖胺(D-galactosamine, D-GalN)共同投予的方式誘導小鼠猛爆性肝炎。此動物模式除了可以觀察猛爆性肝炎之動物存活率(survival rate)以外，亦可進一步藉由 DAPI (4,6 diamidino-2-phenylindole)螢光染劑進行細胞核染色觀察肝細胞核型態之差異(細節請參見前述成果報告部分)。此猛爆性肝炎動物模式可用來篩選並驗證具有抑制肝炎之植物化合物。

由植物發展具潛力之健康食品進而量產化，是需要專精與深入之科學研究為根基。本計畫將利用先進之細胞學、有機生化學等科學實驗系統，從事臺灣常見藥草之潛在護肝功能的研發。本計畫將製備標準化之植物抽出物，利用系統化之體外試驗平台(*in vitro* assay platform)進行篩選抗發炎與保護肝細胞損傷之活性植物萃取成分，並以嚴謹之體內(*in vivo*)動物實驗系統，亦即四氯化碳誘導小鼠肝損傷或猛爆性肝炎之動物模式來評估這些成分的護肝功效，進而規範出有效的抗發炎與護肝之藥草組合。由本計畫鑑定的活性草藥化合物經設計後，得以單一、多重成分或活性抽出物分離部之組合為配方，研發作為護肝功能之保健食品、食品補充品。

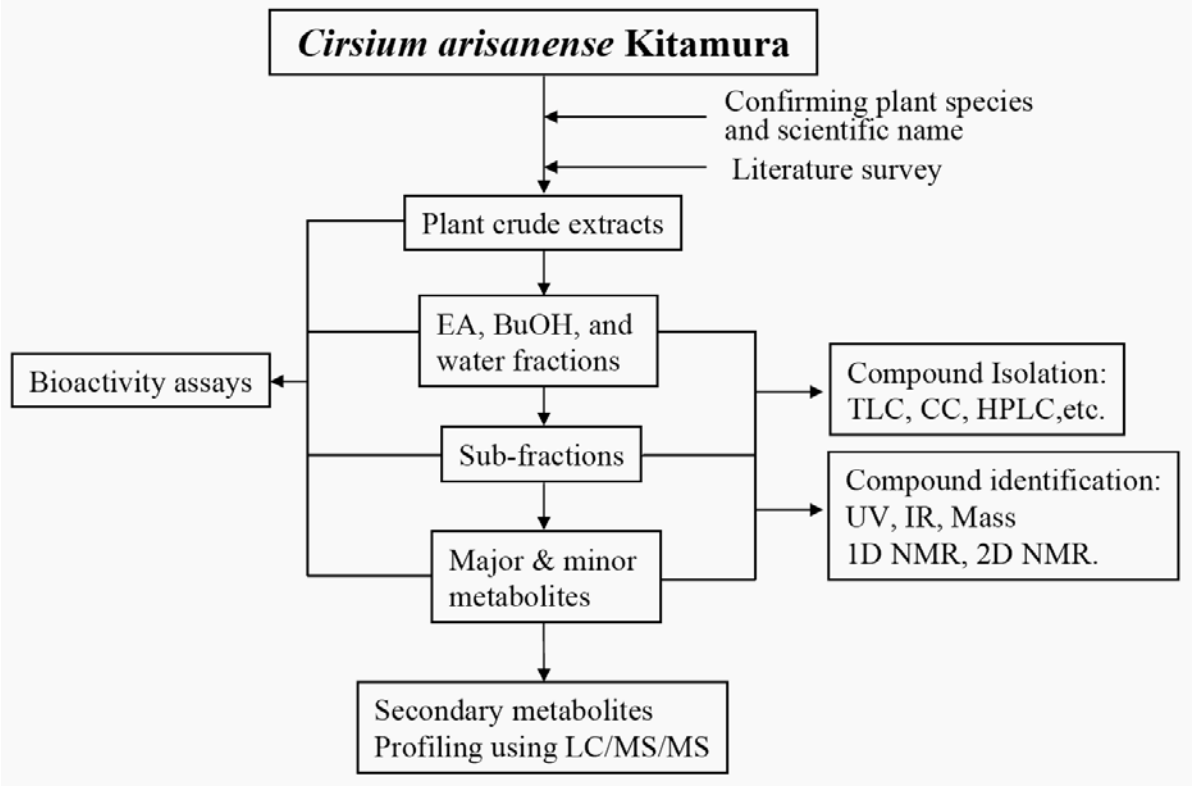
臺灣因地形、區域之特殊性，有多種原生或常用的藥用植物已發展成為民俗草藥，但大都缺乏嚴謹或系統性科學證據來佐證其功效。由於薊屬植物被廣泛認為具有護肝的功效，如：乳薊(Milk Thistle)所含的 silymarin 為治療肝臟疾病的藥物成分。故本計畫以臺灣本土特有植物「阿里山薊」為目標，以實驗系統驗證其是否真正具有護肝功能，並評估其開發為保健食品的潛力。目前僅有一篇文獻報告指出，阿里山薊粗抽出物對於治療 Alzheimer 藥物 Tacrine 造成小鼠急性肝損傷具有保護之效果(Ku *et al.*, 2008)。但是尚未有研究直接針對阿里山薊於抗發炎活性以及常用肝損傷動物模式進行完整與深入的研究。根據我們預實驗的結果發現，阿里山薊根部乙醇粗抽出物(CAE)以及次分劃之 CAE-H 與 CAE-E 於低劑量(25 μg/L)下，能夠有效抑制細菌內毒素 LPS 誘導巨噬細胞產生發炎反應介質一氧化氮(nitric oxide, NO)之反應，而且在這些有效測試濃度之下並不具細胞毒性。由這些結果顯示，此阿里山薊根部含有抗發炎活性之成分與抑制自由基的能力，故極具開發為護肝保健食品之價值。透過本計畫之執行，我們預期獲得阿里山薊在長期慢性肝損傷或猛爆性肝炎中具預防或治療效果的活性成分。並依據衛生署公告的「健康食品安全及功效評估方法」之『健康食品之護肝功能(針對化學性肝損傷)評估方法』進行預防或治療老鼠肝損傷之活性評估，以作為目標藥草開發成健康食品之重要依據。

貳、實施方法

一、製備標準化之草藥抽出物供活性測試

(一)建立標準化目標藥草抽出物之製備流程

我們與中興大學林管處處長王升陽教授合作，由王博士採集與提供本計畫所需的臺灣原生種阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)藥草材料。取每年春夏季開花期的阿里山薊全株植物為材料，乾燥後，分別採取地上部(Aerial)與地下部(Root)，浸泡於 70% ethanol 中 3 天，連續萃取兩次，以濾紙過濾，接著將阿里山薊地上部與地下部萃取液以減壓濃縮方式移除 ethanol，最後再經過冷凍乾燥方式去除水分，將所得之藥草抽出物秤重。接著以實驗室建立之適用系統，進行不同有機溶媒的抽取以及針對各分劃層進行管柱之分離與純化，此部分工作如下圖所示。



(二)依生物活性為導向之分離策略利用一般或 HPLC 管柱來進一步精製與分離活性抽出物與成分，並大量製備供活性測試使用。

二、篩選出具有抑制小鼠巨噬細胞(RAW 264.7 cells)發炎反應以及保護肝實質細胞(FL83B or Clone 9 hepatocytes)損傷之活性抽出物

(一)小鼠巨噬細胞株發炎反應之模式

許多研究報告指出，當巨噬細胞受到刺激與誘導，例如酒精、細菌內毒素(LPS)，會產生數種細胞激素(cytokine)，包括：tumor necrosis factor-α (TNF-α)與 interleukin-6 (IL-6)等致發炎物質，而導

致慢性肝臟損傷(Purohit and Russo, 2002)。此外，當巨噬細胞受到刺激時，inducible nitric oxide synthase (iNOS)會被誘導而生成 NO (Nanji *et al.*, 2003)。當 NO 過度生成時，除了會造成體內處於慢性發炎狀態外，過量的 NO 也會與氧自由基($O_2^{\bullet-}$)反應生成更具毒性之 peroxynitrite ($OONO^-$)，而毒害正常細胞、組織，並造成 DNA damage (Ohshima and Bartsch, 1994)。因此，若是能夠抑制過量的 NO 產生，或許可減少因 peroxynitrite 等自由基所導致的過氧化傷害，並避免過度慢性發炎反應之發生。故本實驗將利用抑制 LPS 誘導巨噬細胞株 RAW264.7 所產生之 NO，作為評估活性草藥成份抑制巨噬細胞發炎反應之指標。另外，草藥抽出物/成份對於 RAW264.7 細胞生存率之影響也要同時進行分析。

– RAW264.7 cells 之培養、發炎介質 NO 含量之測定(Griess assay)以及細胞毒性測試(MTT assay)，所採用之分析方法將依照本實驗室已發表的系統(Shyur *et al.*, 2008)。

(二)小鼠肝實質細胞(FL83B cells)損傷之模式

1. FL83B cells 之培養：以 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)培養液(含 10% FBS 與 0.1% penicillin-streptomycin solution)培養於 37°C、5% CO_2 之培養箱中，細胞密度為 1×10^6 cells/mL。
2. FL83B cells 細胞損傷之評估指標：本實驗選用大部分研究中常用來直接造成肝實質細胞毒性之投予物，如：四氯化碳(CCl_4)進行誘發肝實質細胞損傷。藉由細胞壞死與細胞生存率之測定來篩選具有保護肝實質細胞損傷之藥草抽出物/成份。
   (1)細胞壞死之測定：肝實質細胞壞死主要是以乳酸脫氫酶流失率[LDH leakage (%)]表示，數值愈高顯示細胞壞死情形愈嚴重(Yang *et al.*, 2004)。將肝實質細胞於 6 well 細胞盤，加入含有不同濃度藥草抽出物之培養基進行 1 小時培養，隨後取適當濃度之 CCl_4 分別溶於培養基中，依序加入繼續培養 24 小時。隨後取細胞培養液或細胞液，與反應液(1.36 mM pyruvate, 0.2 mM NADH, 2% BSA in Krebs-Henseleit buffer, pH 7.4)混合均勻後，於波長 340 nm、37°C 的條件下紀錄 5 分鐘內吸光值減少速率。乳酸脫氫酶流失率(%)計算公式如下：

$$\text{LDH leakage (\%)} = \frac{\text{細胞培養液 LDH 活性}}{(\text{細胞培養液 LDH 活性} + \text{細胞內液 LDH 活性})} \times 100\%$$

藉由此項分析，可以篩選出具有保護肝實質細胞受到不同肝毒性物質所造成之細胞壞死。

(2)細胞生存率之分析：此步驟同 RAW264.7 cells 細胞毒性測試部分所述。

(三)統計分析方法

統計分析方法將使用 SAS 軟體(version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)執行。以單因子變異數分析法(one-way ANOVA)以及費歇檢定(Fisher's test)比較各組間之差異。所有數值均以 Mean ± SD 表示，P <0.05 表示具有統計上之意義。

三、建立活性藥草抽出物之化學指紋圖譜做為未來發展成保健產品時之 CMC 指標

針對活性抽出物部分，利用本實驗室既有之代謝產物體學(metabolomics)技術系統包括：高壓液相層析(HPLC)、氣相層析質譜分析(GC-MS)、液相層析質譜分析(LC-MS)、核磁共振圖譜分析(NMR)等聯用分析技術(hyphenated technology)來建立活性藥草抽出物之化學指紋圖譜以作為品質管制之標準。

四、建立損傷小鼠動物模型系統評估活性草藥成分之體內護肝功能性評估

由體外活性試驗結果，評估最適當活性成分或抽出物的組合，並利用一般或 HPLC 管柱來進一步大量製備與純化活性成分以供應研究體內生物活性之用。

(一)依照衛生署護肝功能性評估方法所使用之 CCl_4 誘發肝損傷動物模式進行實驗

1. 實驗動物之飼養與分組：本研究擬使用年齡相同之雄性 ICR 品系 6 週齡小鼠，供應充足之動物飼料(Rodent Laboratory Chow 5001)與蒸餾水予以小鼠自由攝食，每週紀錄體重 1 次。待適應環境 2 週後，依照小鼠血液生化值 AST 與 ALT 進行分組，大致之實驗設計與分組如下：(A)正常飲食組、(B)正常飲食+植物抽出物低劑量組、(C)正常飲食+植物抽出物高劑量組、(D)四氯化碳處理組、(E)四氯化碳處理+植物抽出物低劑量組、(F)四氯化碳處理+植物抽出物高劑量組，每組 15 隻。
2. 實驗設計與流程：依照以上的方式飼養，實驗期擬定為 8 週。於實驗開始前以及第 2、4、6 週由小鼠下顎採血(submandibular bleeding)取得少量血液(約 100 μL)分析 AST 與 ALT 之活性，以監測肝功能狀況，並於第 8 週犧牲動物。收集血液並取出肝臟進行病理切片染色。

(二)細菌內毒素脂多醣與 D-半乳糖胺(LPS/D-GalN)所誘導之猛爆性肝炎與 APAP 藥物誘導之肝損傷小鼠模型的試驗條件之藥物投予、設計與指標分子測定將與上述之 CCl_4 誘發肝損傷動物模式相似。其中猛爆性肝炎動物是以 500 ng LPS+25 mg D-GalN/kg body weight (BW)處理小鼠 8 小時；而 APAP 藥物誘導之肝損傷動物是以 800 mg/kg BW 處理小鼠 8 小時。

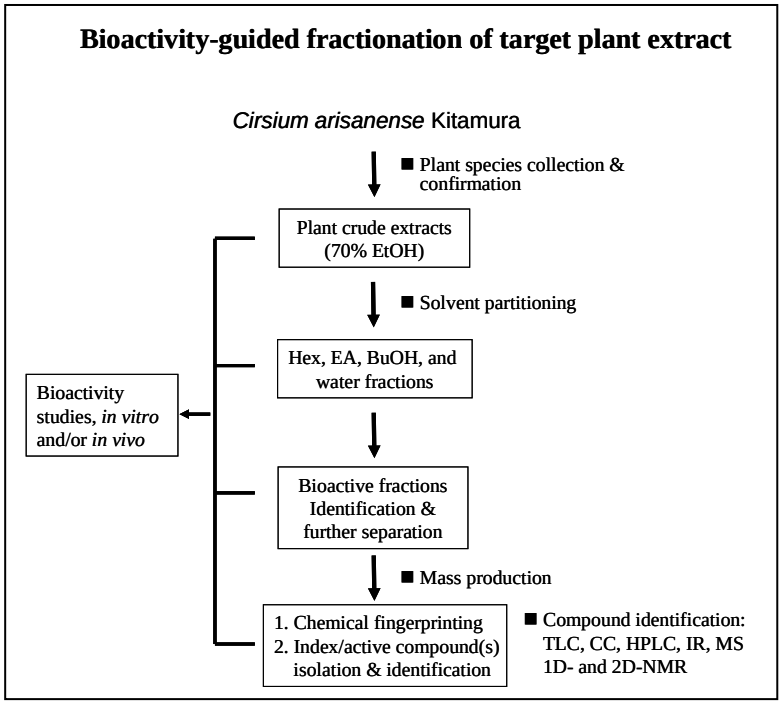
(三)統計分析方法

統計分析方法將使用 SAS 軟體(version 9.0; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)執行。以單因子變異數分析法(one-way ANOVA)以及費歇檢定(Fisher's test)比較各組間之差異。所有數值均以 Mean ± SD 表示，P <0.05 表示具有統計上之意義。

參、結果

一、工作目標一：製備標準化之草藥抽出物供活性測試

本實驗以臺灣本土特有薊屬植物阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)為材料，分為地上部(aerial part) 與地下部 (roots)，分別以 70% 乙醇進行萃取得到 70%EtOH 粗抽物，再以 hexane、ethyl acetate、butanol 與 water 進行分配萃取，獲得 Hex fraction、EA fraction、BuOH fraction 與 water fraction (如下圖)。



初步分別以高壓液相層析法(HPLC)進行初步化學圖譜分析，其結果如附件圖 1~圖 5 所示，由 HPLC 圖譜顯示，以 280 nm 及 350 nm 等吸收峰為主的成份較多。

二、工作目標二：篩選出具有抑制小鼠巨噬細胞發炎反應以及保護肝實質細胞損傷之活性抽出物

本實驗以內毒素誘導小鼠巨噬細胞(RAW 264.7 cells)發炎反應及小鼠肝纖維母細胞(FL83B)為實驗對象，藉由抑制內毒素誘導小鼠巨噬細胞產生一氧化氮以及維持肝細胞存活率之測試，來篩檢阿里山薊藥草抽出物之抗發炎或保護肝細胞的效果。

(一)抑制內毒素誘導小鼠巨噬細胞發炎反應之測試：

本實驗除了測試抑制內毒素誘導小鼠巨噬細胞產生一氧化氮當成抗發炎活性，並同時測試阿里山薊抽出物是否具抑制小鼠巨噬細胞增生的效果。結果顯示，阿里山薊地上部具有顯著的抑制一氧

化氮產生的活性，70% EtOH 粗抽出物、Hex fraction、EA fraction、BuOH fraction 隨濃度增加抑制一氧化氮生成量顯著降低，其 IC_{50} 分別為 36.3, 29.7, 12.1, 67.6 μg/ml。但當地上部 Hex fraction 與 EA fraction 濃度為 100 μg/ml 時，RAW 264.7 小鼠巨噬細胞細胞存活率約 40%。而地下根部以 Hex fraction 與 EA fraction 隨濃度增加抑制一氧化氮生成量顯著降低，其 IC_{50} 分別為 6.8, 21.3 μg/ml。但地下部 Hex fraction 有顯著細胞毒性，濃度為 100 μg/ml 時，RAW 264.7 小鼠巨噬細胞存活率分別約低於 10%，而 EA fraction 約抑制 50% 巨噬細胞存活率，Water fraction 則完全無抑制效果，數值低於 0 以下，結果如附件圖 6 所示。

(二)小鼠肝臟細胞 (FL83B) 存活率之測試：

阿里山薊地上部抽出物測試方面，發現 70% EtOH 粗抽出物、Hex fraction 與 EA fraction 對小鼠肝臟細胞均具有細胞毒性，其 IC_{50} 分別為 62.5、49.2、32.1 μg/ml。當濃度為 100 μg/ml 時，小鼠肝臟細胞存活率分別約 40%、20%、20%。而地下根部，以 Hex fraction 具有較高的細胞毒性，隨濃度增加細胞存活率顯著降低，其 IC_{50} 為 45.7 μg/ml。當阿里山薊地下部 Hex fraction 與 EA fraction 濃度為 100 μg/ml 時，小鼠肝臟細胞存活率分別約 20%與 55%；其它分離部處理之細胞存活率皆高於 80%以上，如附件圖 7 所示。

(三) APAP 誘導小鼠肝臟細胞(FL83B)損傷之測試：

我們並建立普拿疼成分 acetoaminophen (APAP) 誘導小鼠肝臟細胞(FL83B)損傷之細胞模型，並測試阿里山薊地上部與地下部各 fractions 對 APAP 誘導小鼠 FL83B 細胞損傷之保護效果。結果顯示，以阿里山薊地下部 EA fraction 具有較佳的保護效果，APAP 處理之後只剩約 45%細胞存活率，隨 EA fraction 濃度增加，細胞存活率回復至約達 80%，但地上部各分層抽出物則無保護的效果(圖 8)。

(四)建立小鼠肝損傷動物模型：

我們已建立三種小鼠肝損傷之三種動物模型，分別為細菌內毒素脂多醣與 D-半乳糖胺(LPS/D-GalN)所誘導之猛爆性肝炎、APAP 藥物誘導之肝損傷(Figure 9A)以及四氯化碳誘導小白鼠肝損傷(Figure 10A)。其中猛爆性肝炎動物是以 500 ng LPS+25 mg D-GalN/kg body weight (BW)處理 8 小時；APAP 藥物誘導之肝損傷動物是以 800 mg/kg BW 處理 8 小時；四氯化碳誘導小白鼠肝損傷動物是以 40% CCl_4 處理 8 小時，之後再行犧牲並收集血液與肝臟進行肝指數測定與組織切片進行病理鏡檢 (Figure 9B &10B)。本次

實驗結果顯示，以 LPS/D-GalN、APAP 藥物和 CCl_4 所誘導之猛爆性肝炎小鼠血清 AST (aspartate aminotransferase) 分別為 5331.1 ± 1074.2, 7585.4 ± 1733.2, 1290.1 ± 210.6 (U/L)，ALT (alanine aminotransferase)分別為 11861.2 ± 2267.6, 10757.3 ± 2895.3, 1134.9 ± 88.6 (U/L)，可成功誘導猛爆性肝炎模式。

三、工作目標三：大量製備阿里山薊抽出物活性成分

依生物活性為導向之分離策略，進一步將阿里山薊地下部 ethyl acetate fraction，利用 HPLC 管柱來進一步精製與分離活性抽出物與成分，共分得八個 sub-fractions 之 HPLC 化學圖譜分析 (圖 11)，其中 sub-fractions 1 和 7 經由 NMR 測定結構，分別為 syringin 和 ethyl caffeate，目前正大量製備以供活性測試使用。

同時也利用 Folin-Ciocalteu phenol reagent，分析阿里山薊地上部與地下部各種萃取物總多酚類化合物含量，其結果如表一、二所示。表一是以 catechol 為標準品，地上部與地下部皆以 EA fraction 總多酚類化合物含量為最高，分別為 283.14 ± 0.00、792.69 ± 0.01。而表二以 gallic acid 為標準品，同樣以 EA fraction 總多酚類化合物含量為最高，且地上部含量約為地下部的三倍。

伍、結論與建議

薊屬植物被廣泛認為具有護肝的功效，故本計畫以臺灣本土特有植物「阿里山薊」為目標，評估 APAP 誘導小鼠 FL83B 細胞損傷之保護效果，結果顯示，以阿里山薊地下部 EA fraction 具有較佳的保護效果，APAP 處理之後只剩約 45%細胞存活率，隨 EA fraction 濃度增加，細胞存活率回復至約達 80%。

同時也由地下部 EA fraction 分離純化得到兩個化合物，syringin 與 ethyl caffeate 以供活性測試使用。以實驗系統驗證其是否真正具有護肝功能，並評估其開發為保健食品的潛力。

誌謝

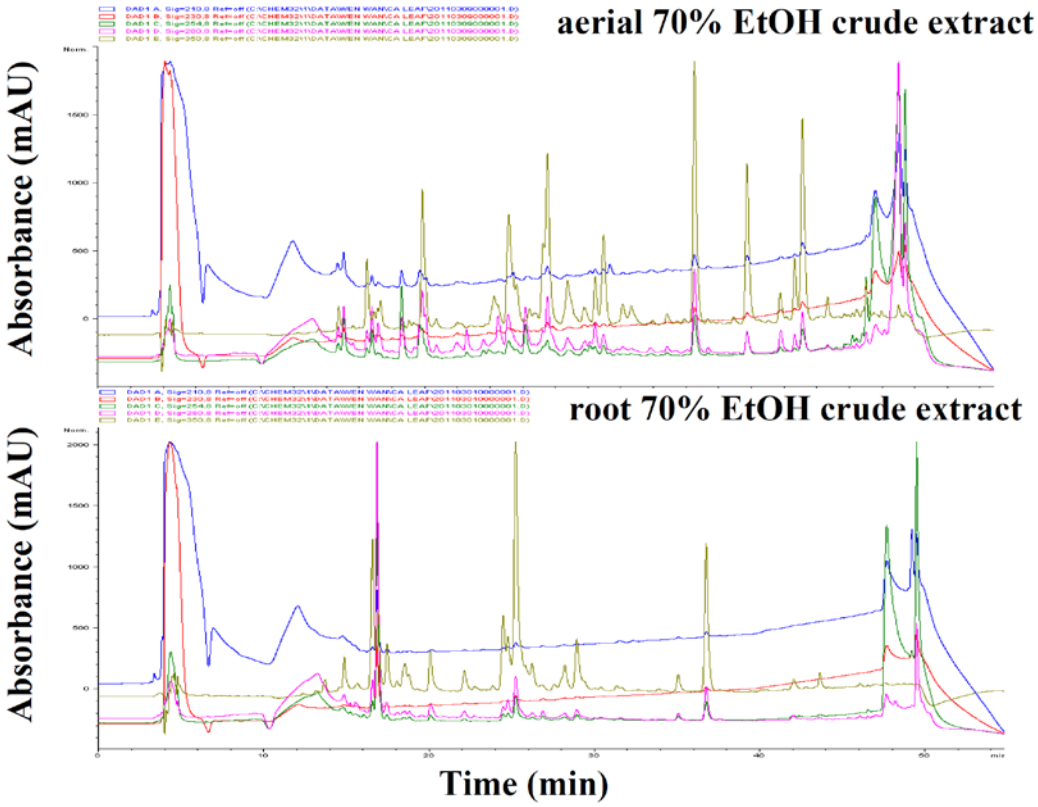
本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-062 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

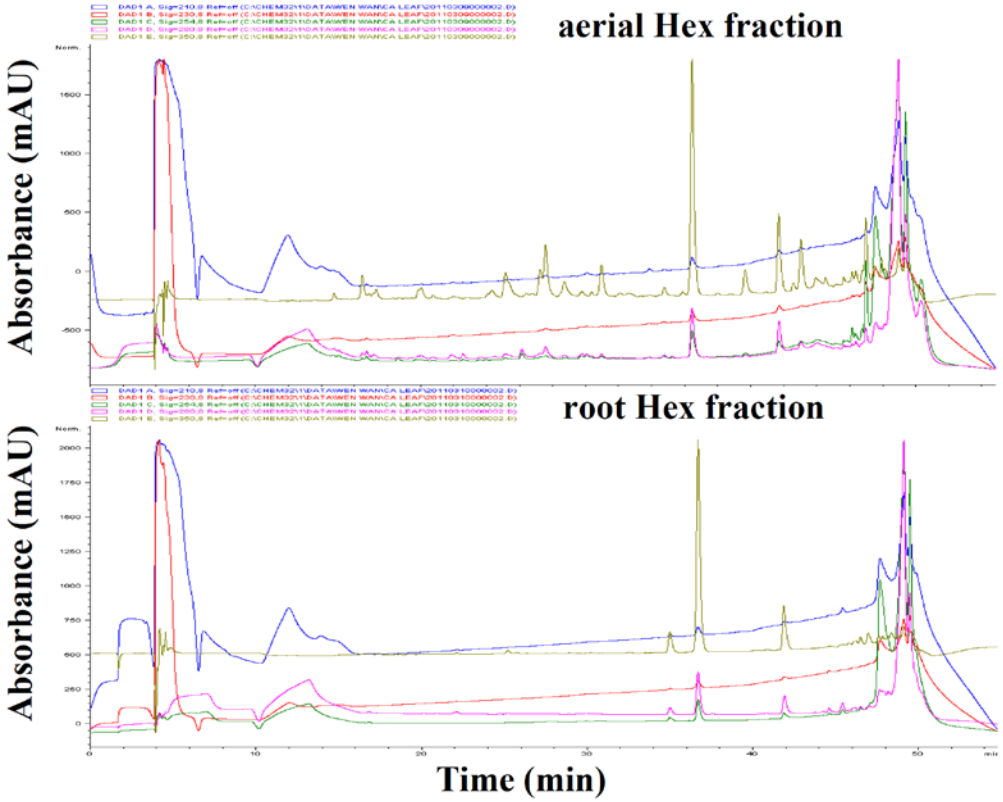
1. Chang CY, Chen YL, Yang SC, Huang GC, Tsi D, Huang CC, Chen JR and Li JS: Effect of schisandrin B and sesamin mixture on CCl_4-induced hepatic oxidative stress in rats. *Phytother Res* 2009; 23: 251-256.
2. Chiang YM, Lo CP, Chen YP, Wang SY, Yang NS, Kuo YH and Shyur LF: Ethyl caffeate suppresses NF-kappaB activation and its downstream inflammatory mediators, iNOS, COX-2, and PGE_2 in vitro or in mouse skin. *Br J Pharmacol* 2005; 146: 352-363.
3. Friedman SL: Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250.
4. Huang CC, Lo CP, Chiu CY, and Shyur LF: Deoxyelephantopin, a novel multifunctional agent suppresses mammary tumor growth and lung metastasis and doubles survival time in mice. *Bri J Pharm* 2010; 159: 856-871.
5. Ku KL, Tsai CT, Chang WM, Shen ML, Wu CT and Liao HF: Hepatoprotective effect of Cirsium arisanense Kitamura in tacrine-treated hepatoma Hep 3B cells and C57BL mice. *Am J Chin Med* 2008; 36: 355-368.
6. Lin YL, Wu CH, Luo MH, Huang YJ, Wang CN, Shiao MS and Huang YT: *In vitro* protective effects of salvianolic acid B on primary hepatocytes and hepatic stellate cells. *J Ethnopharmacol* 2006; 105: 215-222.
7. Ohshima H and Bartsch H: Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat Res* 1994; 305: 253-264.
8. Purohit V and Russo D: Cellular and molecular mechanisms of alcoholic hepatitis: introduction and summary of the symposium. *Alcohol* 2002; 27: 3-6.
9. Ramm GA: Isolation and culture of rat hepatic stellate cells. *J Gastroenterol Hepatol* 1998; 13: 846-851.
10. Riedemann NC, Guo RF and Ward PA: The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003; 112: 460-467.
11. Sakata R, Ueno T, Nakamura T, Sakamoto M, Torimura T and Sata M: Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation of human hepatic stellate cell line LI90. *J Hepatol* 2994; 40: 52-59.

12. Shyur LF, Chen CH, Lo CP, Wang SY, Kang PL, Sun SJ, Chang CA, Tzeng CM and Yang NS: Induction of apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by phytochemicals from Anoectochilus formosanus. *J Biomed Sci* 2004; 11: 928-939.
13. Shyur LF, Huang CC, Lo CP, Chiu CY, Chen YP, Wang SY and Chang ST: Hepatoprotective phytocompounds from Cryptomeria japonica are potent modulators of inflammatory mediators. *Phytochemistry* 2008; 69: 1348-1358.
14. Weber LW, Boll M and Stampfl A: Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33: 105-136.
15. Williams R: Classification, etiology, and considerations of outcome in acute liver failure. *Semin Liver Dis* 1996; 16: 343-348.
16. Yang SC, Huang CC, Chu JS and Chen JR: Effects of beta-carotene on cell viability and antioxidant status of hepatocytes from chronically ethanol-fed rats. *Br J Nutr* 2004; 92: 209-215.
17. 健康食品護肝功能評估方法修訂草案 (針對四氯化碳誘導化學性肝損傷) (98 年 11 月 03 日)
18. 行政院衛生署健康食品安全性評估方法，衛署食字第 88037803 號。

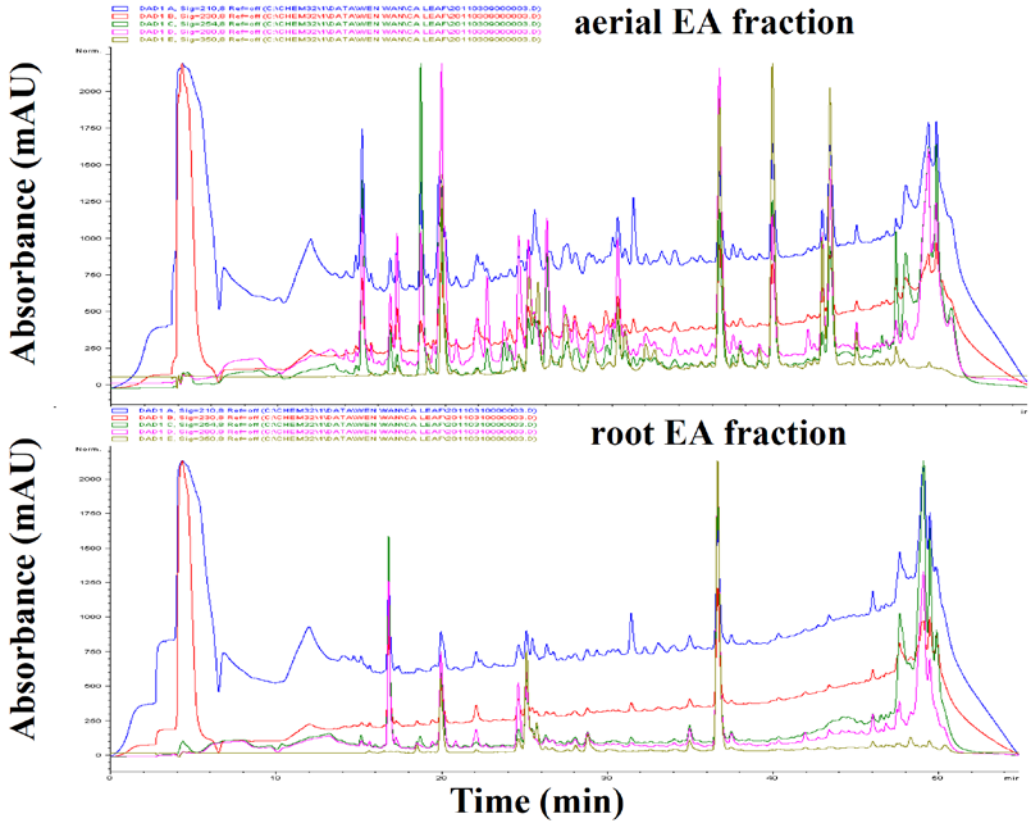
柒、圖、表



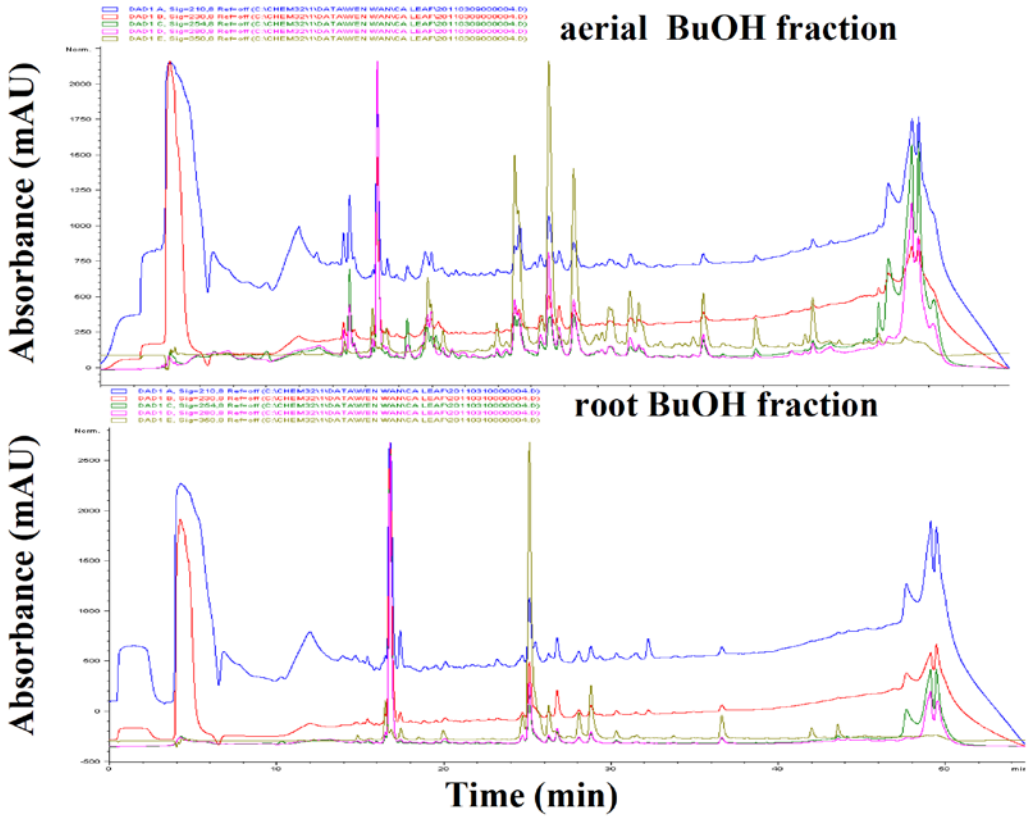
圖一、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura) 地上部與地下部總 70%乙醇粗抽物之 HPLC 化學圖譜分析 (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)



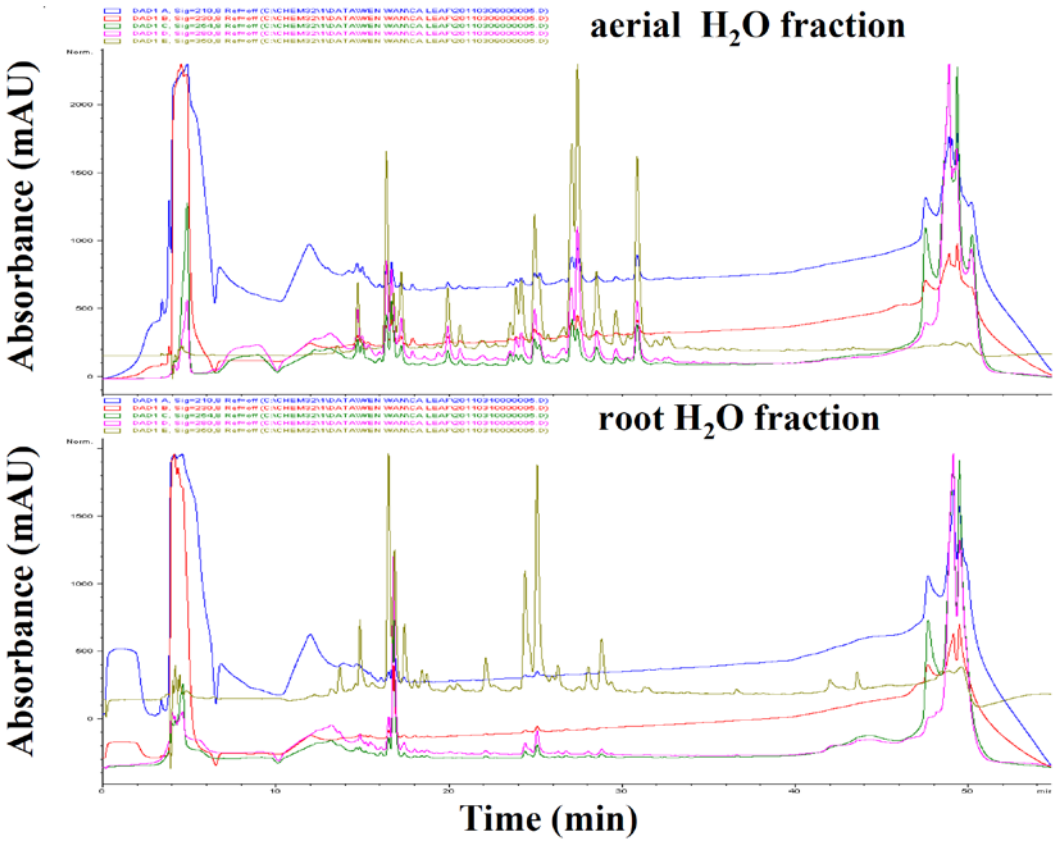
圖二、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部 hexane fraction 之 HPLC 化學圖譜分析 (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)



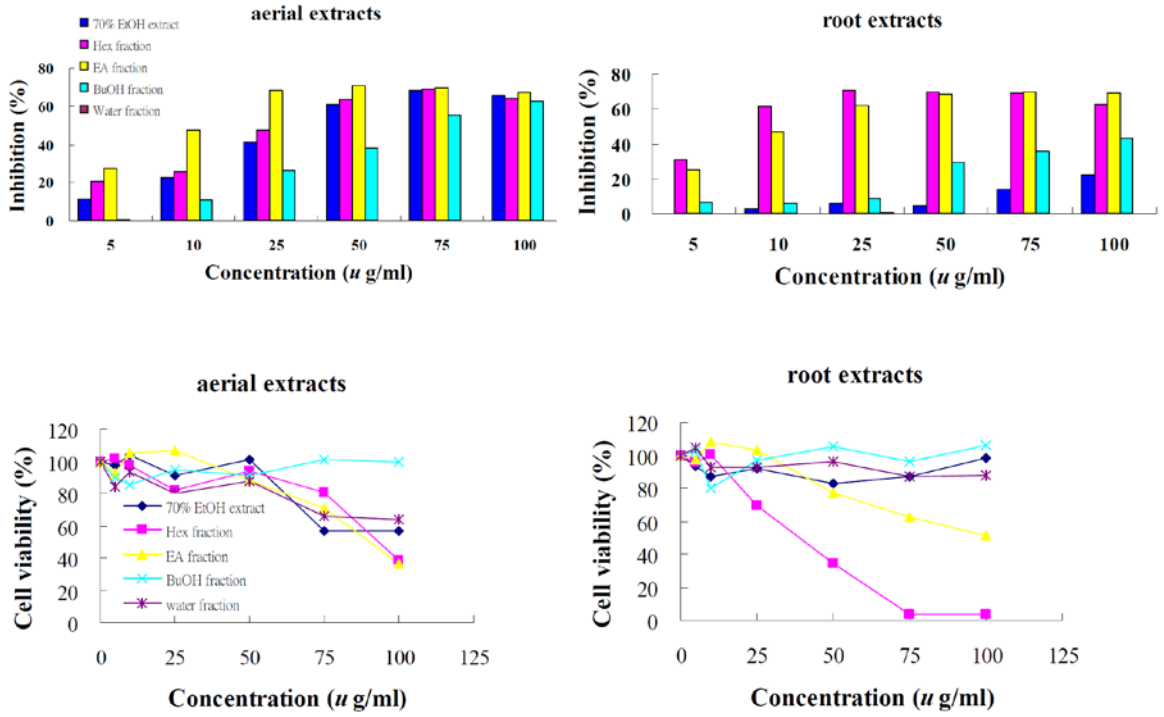
圖三、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部 ethyl acetate fraction 之 HPLC 化學圖譜分析 (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)



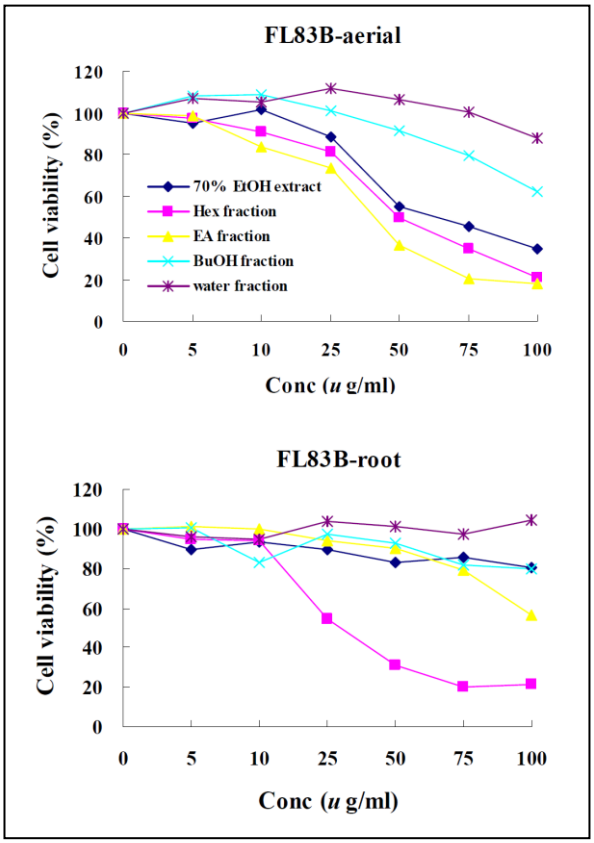
圖四、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部 butanol fraction 之 HPLC 化學圖譜分析 (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)



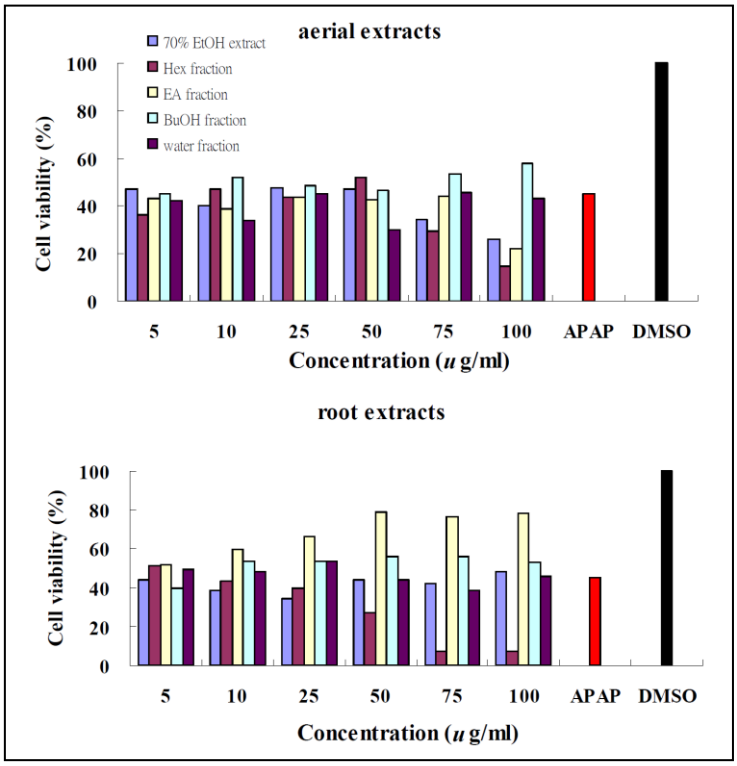
圖五、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部 water fraction 之 HPLC 化學圖譜分析 (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)



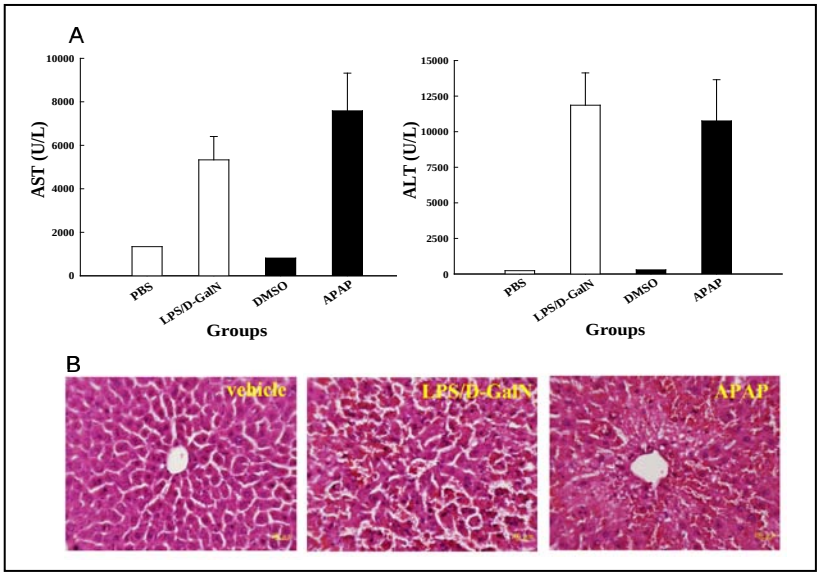
圖六、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部粗抽出物與各分劃層，對抑制內毒素誘導小鼠巨噬細胞(RAW 264.7 cells)產生一氧化氮及細胞存活率之影響



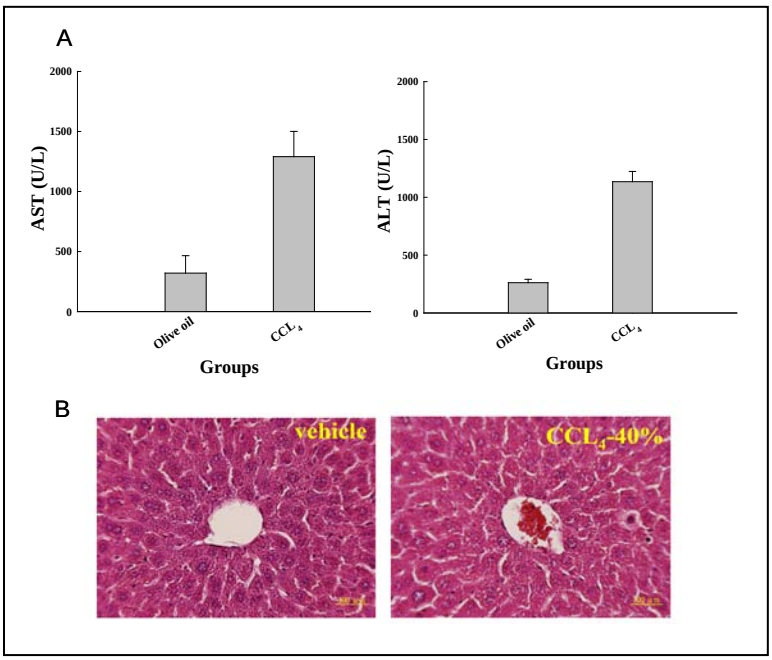
圖七、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部粗抽出物與各分劃層對小鼠肝臟細胞(FL83B)細胞存活率之影響



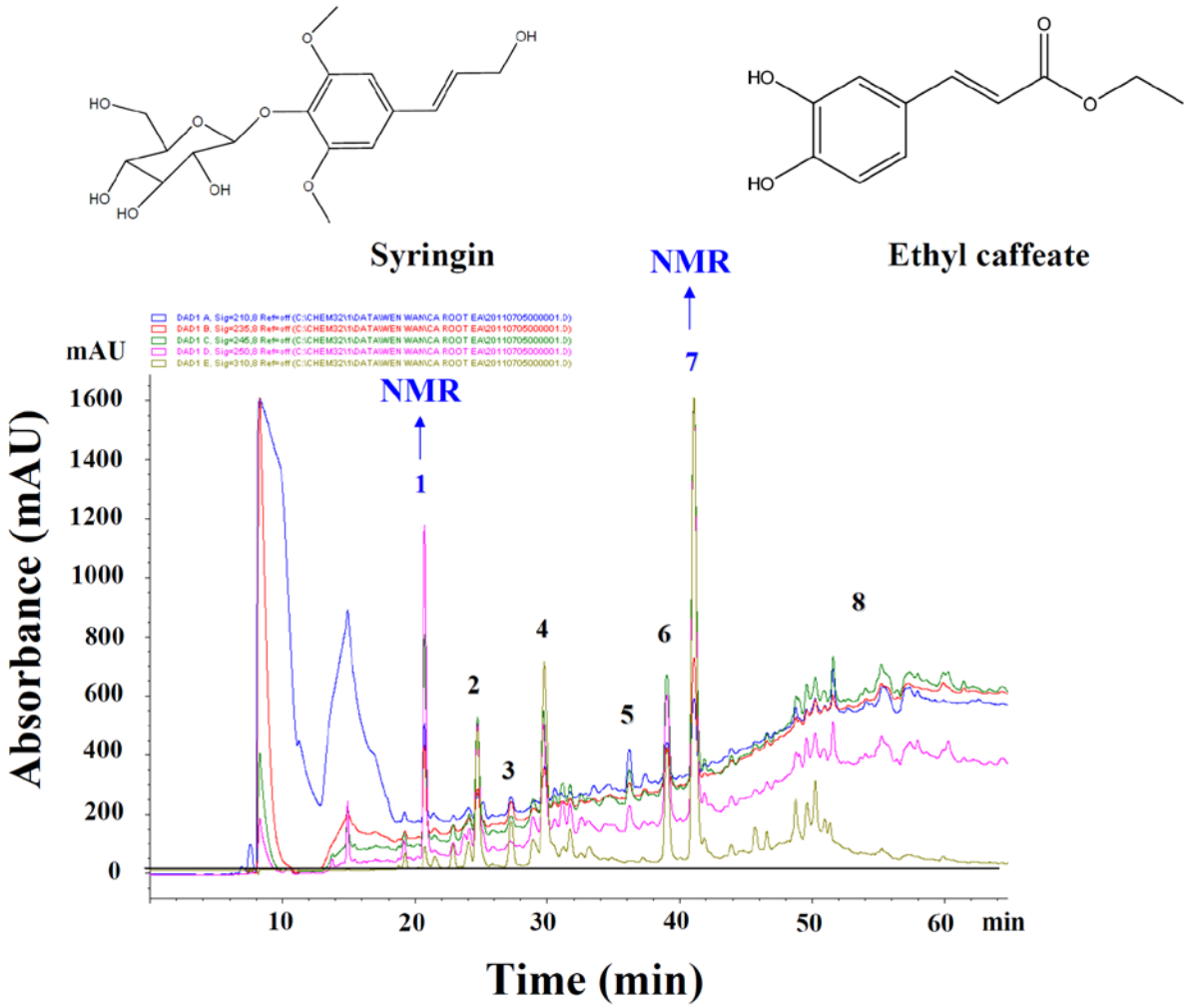
圖八、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地上部與地下部粗抽出物與各分劃層對 APAP 誘導小鼠肝臟細胞(FL83B)損傷之保護效果



圖九、細菌內毒素脂多醣與 D-半乳糖胺(LPS/D-GalN)及 acetaminophen (APAP)所誘導之猛爆性肝炎小鼠模型試驗。A：血清中 AST、ALT 肝指數測定值；B：小鼠肝組織之病理切片。



圖十、四氯化碳誘導小白鼠肝損傷小鼠模型試驗。A：血清中 AST、ALT 肝指數測定值；B：小鼠肝組織之病理切片。



圖十一、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura)地下根部 ethyl acetate fraction 之 HPLC 化學圖譜分析。化合物 1 與 7 分別收集與純化進行 NMR 圖譜分析鑑定出結構分別為化合物 syringin 與 ethyl caffeate (藍色為 210 nm，紅色為 230 nm，綠色為 254 nm，粉紅色為 280 nm，黃色為 350 nm)

表一、表二、阿里山薊(*Cirsium arisanense* Kitamura) 地上部與地下部各種抽出物與分劃層總多酚類化合物含量測定

Table 1 Contents of total polyphenols extracted from root and leaf of *Cirsium arisanense Kitamura*

***Cirsium arisanense Kitamura* extracts**	**Root total polyphenols [#] (μg CE/mg)**	**Leaf total polyphenols [#] (μg CE/mg)**
70% EtOH extract	86.05 ± 0.01[e]	221.15 ± 0.01[c]
Hex fraction	137.02 ± 0.09[c]	78.69 ± 0.00[e]
EA fraction	283.14 ± 0.00[a]	792.69 ± 0.01[a]
BuOH fraction	234.90 ± 0.03[b]	325.56 ± 0.02[b]
water fraction	90.79 ± 0.02[d]	150.66 ± 0.00[d]

The data are displayed as mean ± SD (n = 3).
[#] Data expressed in μg catechol equivalent/mg dry weight (μg CE/mg).

Table 2 Contents of total polyphenols extracted from root and leaf of *Cirsium arisanense Kitamura*

***Cirsium arisanense Kitamura* extracts**	**Root total polyphenols [#] (μg GE/mg)**	**Leaf total polyphenols [#] (μg GE/mg)**
70% EtOH extract	109.79 ± 0.00[e]	243.74 ± 0.02[c]
Hex fraction	172.41 ± 0.01[c]	80.50 ± 0.00[e]
EA fraction	329.61 ± 0.01[a]	1042.49 ± 0.04[a]
BuOH fraction	301.88 ± 0.02[b]	421.51 ± 0.01[b]
water fraction	135.96 ± 0.04[d]	198.57 ± 0.01[d]

The data are displayed as mean ± SD (n = 3).
[#] Data expressed in μg gallic acid equivalent/mg dry weight (μg CE/mg).

編號：CCMP99-RD-067

篩選具調節免疫和抗發炎活性之台灣本土中草藥

楊寧蓀
中央研究院農業生物科技研究中心

摘　要

據調查，臺灣中草藥市場已達 250 億元新台幣以上，同時中草藥製成之相關商品已經廣泛地被當作營養補充品或藥品使用。然而目前國內中草藥市場中，許多中草藥植株因氣候、地理位置不同、成本高等因素而不易在臺灣栽種，故目前多數中草藥藥材皆由大陸方面輸入。在品管不易掌握情況下，因而時有進口之中草藥材品系不實或含有農藥、重金屬殘留的事件發生。臺灣本土產中草藥也正在民間進一步在推廣為使用中，不少藥材常被宣稱具有抗發炎或可調節免疫的療效，且與傳統之中草藥相類似的療效，但其確實”療效”卻常為經驗論，且常被人們所誇大。本計畫即藉由評估樹突狀免疫細胞之細胞激素之表現，做為抗發炎及免疫調節活性測試之方式，以初步篩選出具抗發炎，或可增強免疫的臺灣本土中草藥。實驗進一步則以原位乳癌動物模型及乳癌切除動物模型，評估臺灣本土中草藥之抗腫瘤活性，並經由多項免疫調控試驗以深入探討中草藥之免疫調控作用之機制之效果及其應用。目前我們研究結果顯示左手香、澤蘭及黃水茄酒精萃取物對於細胞激素 IL-6 有部分抑制活性。另一方面，馬齒莧、白豬母乳、左手香、澤蘭及黃水茄之酒精萃取物對於細胞激素 IL-12，皆具有顯著之抑制活性。在原位乳癌動物模型中之抗腫瘤活性測試實驗中，黃水茄、狗肝菜及淮山山藥皮酒精萃取物，對於原位乳癌細胞生長並無顯著抑制活性。然而，在乳癌切除動物模型中之抗腫瘤轉移活性測試上，黃水茄萃取物可降低腫瘤轉移率及顯著提高老鼠存活率。本計畫後續亦將藉由最新重要發現之腫瘤生成調控成因的研究觀點來評估臺灣本土中草藥對腫瘤免疫調節之活性，期望藉由本計畫之研究不僅可提供科學上的相關佐證，幫助民眾之食用安全，更希望此研究成果能對於發展臺灣本土中草藥產業帶來助益進而提升臺灣本土中草藥市場規模及國際市場的價值。

關鍵詞：臺灣本土中草藥、抗發炎、免疫調節、腫瘤免疫、實證醫學

Number: CCMP99-RD-067

Define and Screen Taiwan's Indigenously Grown Medicinal Plants that Confer Potent Immuno-modulatory and Anti-inflammatory Bio-activities

Ning-Sun Yang
Agricultural Biotechnology Research Center

ABSTRACT

Traditional Chinese medicines (TCM) in Taiwan are increasingly appreciated and recognized for use in public health cares. It is estimated that the sales of TCM related products are more than 25 billion TWD per year in Taiwan. However, due to the high cost and different agricultural environments, many TCM plants were found as difficult to cultivate in Taiwan. Therefore, most of Taiwan's TCM are imported from Mainland China but their qualities are often poor, including pesticide or heavy metal contaminations. Recently, Taiwan's indigenously grown medicinal plants (TIGMPs) are produced for health care use and claimed to confer some TCM efficacies on anti-inflammation or immuno-modulation. However, modern scientific evidences to support their efficacies are limited. The objective of this study is aimed to employ the tools of systems biology, immunobiology, and molecular biology to define and screen TIGMPs that may confer potent immuno-modulatory and anti-inflammatory bio-activities. Our preliminary results showed that a number of the ethanol extracts of test TIGMPs exhibited an inhibitory activity on LPS-induced expression of IL-6 and IL-12 in mouse bone marrow derived dendritic cells (BMDCs). In addition, these test herbal extracts were categorized into several functional groups based on their capacities to regulate cytokine. In orthotopic breast tumor mouse model, the ethanol extracts of *Solanum undatum, Dicliptera chinensis* and *Dioscorea batatas* did not suppresse primary tumor growth and mammary tumor metastasis. However, the ethanol extracts of *Solanum undatum* significantly suppressed mammary tumor metastasis in breast tumor resection animal model. Together, we believe that the

project developed here provided us with a useful approach for future biotechnology development of TIGMPs in Taiwan.

Keywords: Taiwan’s indigenously grown medicinal plants immuno-modulation; anti-inflammation; tumor immunity

壹、前言

近年來，中草藥的使用逐漸受到國內外的重視，中草藥的應用及開發也日漸成為醫學發展的重點之一，例如促成全球中草藥市場逐年成長，也帶動各國對於中草藥的需求增長；另外，各國醫藥研究單位和美國食品及藥物管理局（FDA）等也擴大投入財力參與中西草藥研發及臨床試驗。近三年來臺灣中研院院士暨耶魯大學藥理系講座教授鄭永齊尤其以他團隊在2010 年 8 月 Science Translational Medicine 發表之重要中草藥論文，也以建立、發展、及共享中草藥技術分析平台，促進不同學術機構間的合作、推動高品質的中草藥國際研發為目標，在香港大學發起成 立已快 10 年之「中藥全球化聯盟」(Consortium for Globalization of Chinese Medicine，CGCM)，也正促進中草藥在世界全球之發展。在此之前，國際科學期刊 Science 在2002 年即發表一篇文獻，其內容對於中草藥給予關注[2]。近幾年國內產學界努力推動中草藥研究開發，並在各學術研究及政府機構單位如衛生署中醫藥委員會、中研院基因體中心、農生中心、各大學院校等具有中草藥研究技術能力，同時政府為推動中醫現代化、中藥科學化及中醫藥國際化等三大目標。在今年國內行政院生技鑽石計畫及"總體檢"會議中，亦將中草藥研究列入國內生物技術研究重點之一，呼籲利用加強品質管制與研究發展，以引領臺灣成為全球具有指標性的中醫藥發展國家，帶動臺灣成為廿一世紀之生物科技島及中草藥科技島。

然而，由於目前國內中草藥市場中多數中草藥藥材是由大陸方面輸入，也因輸入品管較不易掌握，故時有輸入之中草藥含有農藥或重金屬的現象產生，並且輸入中草藥植株可因地域位置、氣候、成本等因素的不同，造成中草藥植株不易在臺灣栽種，不少臺灣本土中草藥常被宣稱具有與傳統之中草藥植株相類似抗發炎或可調節免疫的療效，但其"療效"常為經驗論，常被人們誇大，且大多仍無科學上客觀，直接及較系統性的實證醫學來加以驗證，故若能藉由系統性的分子細胞生物學等技術進行篩選具抗發炎或增強免疫之臺灣本土中草藥，不僅提供科學上的佐證，亦將對於臺灣中草藥的未來科學性發展有長期之助益。

人體疾病，如病原體感染、自體免疫疾病(autoimmune disease)、腫瘤等，皆與人體中免疫系統息息相關。舉例來說，當人體受到病毒感染時，會引發高度免疫生成性(immunogenicity)和兩種免疫反應（體液型反應及細胞型反應），人體可藉由此兩種反應消除侵入人體之病毒，以達到抵抗外來病原體的功用。另一方面，免疫也可能會造成人體傷害，當人體免疫系統無法分辨自體和外來物的關係時，會使免疫系統攻擊自體細胞，造成自體免疫疾病(autoimmune disease)[3]。近期科學界研究發現，腫瘤細胞可產生促進免

疫耐受(immune tolerance)的環境以及它可啟動多種免疫抑制機制,進而使腫瘤可逃避免疫攻擊之功能,促進腫瘤成長[4],再者,也有研究指出,藉由調控人體免疫,如增加樹突細胞抗原呈現之能力[5],可增強腫瘤治療的效果。因此,可藉由中草藥可能具有利用調控免疫功能之方式,以增進它對人體各疾病保健或治療的效果。

免疫系統為生物體中扮演對抗外來病原和保護生物體,以恆定生理功能的重要系統。在人體免疫系統中包含著先天性(innate)及後天性(adaptive)免疫兩類免疫系統,並且此兩類免疫系統皆包含許多種類的蛋白質、細胞,器官及組織,形成一繁複互動的系統。

在人體免疫系統中,巨噬細胞(Macrophage)是在先天性免疫啟動中扮演重要角色,它可藉由吞噬的方式消除外來物或病原體,並且會分泌許多細胞激素及化學激素調控免疫反應及擴大發炎反應;巨噬細胞亦會分泌細胞毒性物質,如活性氧自由基(reactive oxygen species),消可誘導後天性免疫攻擊外來病原體。巨噬細胞(Macrophage)和樹突狀細胞(Dendritic cell)是最主要的抗原呈現細胞(antigen-presenting cells),並且在先天性(innate)及後天性(adaptive)免疫中皆扮演舉足輕重的角色[6 7],其可依功能、來源及位置有不同的分類。未成熟的樹突狀細胞(immature Dendritic cell; iDC)會藉由利用細胞表面受體或直接利用胞飲作用將病原體或是外來抗原吞噬。一旦樹突狀細胞接受外來抗原刺激後,會將其水解成其他數種免疫細胞可辨認的分子片段,再利用「主要組織相容性複合體」(MHC)將抗原呈現在細胞表面。在此過程中,樹突狀細胞也會受到病原體本身的分子,如 LPS、雙股 RNA 等,或是發炎作用所引起產生的發炎性介質(inflammatory mediators),如 TNF-α、IL-1β,或是 $CD4^+$ T 細胞本身上的受體分子(Ligand),或是免疫球蛋白的受體(FcR),又或是細胞死亡後所釋放的分子,皆可刺激活化樹突狀細胞的成熟[8],並且接受外來抗原刺激的樹突狀細胞促使本身移動到淋巴腺組織中的 T 細胞區域,並載有抗原的 MHC 分子呈現給從未接觸過這些抗原的輔助者 T 細胞。樹突狀細胞它們細胞表面有一種「協同刺激分子」(co-stimulatory molecular),會幫助樹突狀細胞與 T 細胞表面相對應的受體結合。輔助者 T 細胞一旦認識了這些抗原,就會促使 B 細胞去製造專一性極高且能辨認特殊抗原的抗體或促進細胞毒性 T 細胞(cytotoxic T cells)大量增生並產生能毒殺外來生物的毒素。樹突狀細胞除了會幫助 B 細胞以及輔助者 T 細胞外,也會指導某些 T 細胞變成「記憶細胞」,以持續留在體內數年,並可在極短的時間內有效消滅未來再度出現的入侵者[9]。身體以抗體或殺手細胞的方式來回應入侵者,部份取決於樹突狀細胞的傳達訊號(如分泌 IL-10 或 IL-12 等),以及它們讓輔助者 T 細胞製造出了哪種細胞激素(cytokine)。當輔助者 T 細胞接受到 IL-12 刺激後,會活化成第一型輔助者 T

細胞，也會分泌更多的 IL-12 去活化更多的第一型輔助者 T 細胞。許多的第一型輔助者 T 細胞被活化後會移動至感染處，而其主要功能為釋放 INF-γ，而 INF-γ 會誘導更多的巨噬細胞和樹突細胞聚集到受感染的細胞，進而引發發炎。然而，當樹突狀細胞分泌 IL-10，IL-10 會抑制第一型輔助者 T 細胞活化，而接受到 IL-10 刺激的輔助者 T 細胞會被活化成第二型輔助者 T 細胞，而第二型輔助者 T 細胞主要功能是釋放 IL-4 去活化更多的 B 細胞[8]。因此，若能了解本土中草藥對於免疫系統中重要的巨噬細胞、樹突狀細胞及 T 細胞，可促進我們更有效了解中草藥對於免疫作用機制之影響。

NF-κB 為一種可調控 DNA 轉錄的蛋白複合體，其會受到各種刺激後如壓力、病原體感染、自由基等影響[10]，而在免疫細胞體內大量產生， NF-κB 也可調控表現 T 細胞受體與 B 細胞受體(receptor)以及多種細胞激素(cytokine)、化學趨素(chemokine)。在樹突狀細胞抗原呈現過程中[11]，或是 T 細胞活化及 T 細胞受刺激時[12]，亦可引發細胞中的 NF-κB 活化，進而調控下游免疫相關基因。因此，NF-κB 對於免疫系統扮演極為重要角色，並且可稱之為免疫系統之中心樞紐。NF-κB 也因調控許多發炎相關基因的表現[13]，因此在許多發炎疾病中，如類風濕性關節炎(rheumatoid arthritis) [14]，敗血症(Spesis) [15] 中，均可偵測到相當高活性的 NF-κB，藉此 NF-κB 可視為免疫系統及發炎的重要指標之一。在 NF-κB 調控下游免疫及發炎相關基因中，會調控多種細胞激素的表現[10]。細胞激素可增強許多先天免疫的生物活性[16]，在免疫系統中細胞激素扮演一個重要的調節角色，各項免疫反應皆須要許多不同激素的參與，其中 IL-1β 是由 IFN-α/β 所引發之促發炎反應的主要細胞激素[17]，因此，許多與發炎相關之研究常會利用 IL-1β 作為發炎相關指標。另一方面，NF-κB 也會調控發炎重要相關誘導酶－環氧合酶-2 (COX-2)，環氧合酶-2 在大多正常組織中表現量較低，當發炎情況發生時，環氧合酶會被誘導表現，將花生四烯酸(Arachidonic Acid)轉變為為前列腺素 H_2(PGH_2)。前列腺素 H_2 會促進發炎反應，因此環氧合酶-2 也被作為發炎相關的重要指標之一，故檢測 NF-κB、環氧合酶-2、IL-1β 等活性作為初步篩檢中草藥是否可抗發炎或能調節免疫的一系列很好之測試方法，這些也是一種直接減亦並為國際接受之測試方法。

目前，在最新腫瘤研究中顯示骨髓衍生抑制性細胞(myeloid derived suppressor cells)和基質細胞(stromal cells)對於腫瘤發展及免疫調節扮演重要角色。在人體腫瘤中有一群細胞能夠抑制(myeloid derived suppressor cells，MDSC)，此細胞群主要由未成熟的巨噬細胞、顆粒狀細胞、樹突狀細胞及其他在分化早期的骨髓細胞(myeloid cells)而組成[4]。在正常健康老鼠體內中，與骨髓衍生抑制性細胞相似的細胞表面標記之骨髓或脾臟細胞，會分化成正常的巨噬細胞、顆粒狀細胞及樹突狀細胞；若將 MDSC 置入健

康老鼠中也會自行分化成非免疫抑制細胞[18]。這些骨髓衍生抑制性細胞會有效表現第一型 MHC 分子，表現較少的第二型 MHC，且會藉由第一型 MHC 表現抗原而抑制 $CD8^+$ T 細胞產生 IFN-γ，而這種抑制方式必須有細胞與細胞之間的接觸以及活性氧自由基(reactive oxygen species)的產生[19]。在人體中，這種骨髓衍生抑制性細胞常表現”細胞表現標記 CD33”，而較少量表現”細胞表現標記 HLA-DR”[20]，這些細胞可利用不同分子機制引起 T 細胞的缺陷，包含產生 IL-10 等。此外，腫瘤所產生的部分物質亦可刺激產生 MDSCs，再藉由它們與 T 細胞作用產生免疫耐受作用，但其中確切的作用機制也還待深入了解。除了骨髓衍生抑制性細胞，在腫瘤中之基質細胞(stromal cells)也同樣會對於腫瘤之免疫抑制扮演一項重要角色。基質細胞是組成支持器官之疏鬆結締組織，包含皮膚纖維母細胞(fibroblast)、免疫細胞(immune cells)、周圍細胞(pericyte)、內皮細胞(endothelial cell)、肌成纖維細胞(myofibroblast)等。在正常健康情況下，其主要功能為形成支持器官之結構以及主質細胞(parenchymal cells)的穩定；但在腫瘤內，這些基質細胞反而可藉由與腫瘤細胞之間的作用而分泌成長因子(growth factors)或是細胞外基質(Extracellular Matrix)，從而促進腫瘤生長或是蔓延[21]。而在近年的研究中顯示，前列腺素 E2(PGE2) [22] 及 IL-1β[23] 會促進 MDSC 活性，從而使 MDSC 得以抑制 T 細胞作用，而因增進 T reg 細胞的功能，從而達到腫瘤之免疫耐受或生長抑制的效果。而 COX-2 又為體內前列腺素 E2 生成的必須酵素之一，故若本土中草藥萃取物能調控 COX-2 及 IL-1β 的表現，就可能減少 MDSC 的數量，因而達到減少腫瘤細胞數目的效果。因此，若能研究本土中草藥萃取物對於腫瘤中的骨髓衍生抑制性細胞及基質細胞的活性影響，就可能促進我們了解中草藥對於腫瘤免疫調節之作用，以及推廣促進特殊中草藥對於腫瘤防治之應用。

本計畫將篩選之約十種臺灣本土中草藥，包含八角蓮、黃水茄、鱧腸、臺灣蒲公英、左手香、臺灣澤蘭、白豬母乳、香蒲、臺灣天仙果、臺灣野薑花、雙花蟛蜞菊及高山蓍等。在此十種臺灣本土中草藥中，鱧腸(*Eclipta prostrate* (L.) L.)[24]、左手香(*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.)[25]、臺灣野薑花(*Hedychium coronarium* Koenig)[26]、雙花蟛蜞菊(*Wedelia biflora* (L.) DC. var. *biflora* (L.) DC.)[27] 與高山蓍(Achillea alpine L.)是在過去研究報導中，顯示出其不同極性之萃取物或部分成分可能含有抗細菌或抗黴菌等效果，而鱧腸的葉萃取物也被發現可能含有抗氧化活性[28]。在臺灣澤蘭(*Eupatorium cannabinum* L. subsp. *Asiaticum* Kitam.)[29] 和臺灣野薑花[30] 之萃取物也發現可對小鼠的肝臟產生保護作用；八角蓮(*Dysosma pleianthum* (Hance) Woodson)成分之一的鬼臼素(podophyllotoxin)被發現可能具有抗癌效果；而與臺灣蒲公英(*Taraxacum formosanum* Kitam.)同屬的西洋蒲公英(*Taraxacum*

officinale Weber ex F. H. Wigg.)已被發現具有抗發炎之植化成分[31]。另外，黃水茄(*Solanum undatum* Lam.)、白豬母乳(*Sedum formosanum* N. E. Brown)、香蒲(*Typha orientalis* Presl)、臺灣天仙果(*Ficus formosana* Maxim.)等，雖曾被民間宣稱或有些報告指出含有抗發炎或增強免疫的功效，但目前就我們了解是尚無明確之系統性的科學證據可驗證這些作用。並且，所有研究所使用的植物材料皆已請「臺灣植物誌」作者兼菊科植物鑑定者之一的中央研究院生物多樣性中心的彭鏡毅研究員鑑定過。因此，本計畫選定此十種民間常用中草藥作為初步篩選具有免疫調節或抗發炎的對象，也望藉此利用實證醫學與系統性的分子細胞生物學等技術加以重新驗證，並期待計畫成果能成為中草藥推廣及發展之助力。

在本計畫中，我們將利用分子及細胞學生物技術及免疫學觀點測試系統，對於具有免疫調節及抗發炎的本土中草藥進行篩選，並且藉由中草藥給予樹突狀細胞、T 細胞、骨髓衍生抑制性細胞及基質細胞的方式，以了解中草藥對於免疫調節及抗發炎的調控方式。對於本土常用之之調節/減輕體內臟器長期慢性發炎及免疫力降低(體弱)之藥食研發趨勢之重要，著力發展研究抗發炎及免疫調節之生物活性平台，已獲得突破性的研究成果，並已發表了多篇研究論文於 *Mol. Pharmacol., Carcinogenesis, Bio. Med. Central., Genomics, J. Biol. Chem.* [32] [33] [34] [35] 和 *BMC Genomics*[36] [37] [38] 等期刊。楊寧蓀實驗室在臺灣常用重要中藥材如山藥的研究，亦發現了多醣體的不同分層具有不同調節免疫功能的作用，此成果剛獲美國專利並發表相關重要論文在知名國際期刊(eCAM)上 [39]。藉由多年來執行許多中草藥研究計畫，我們實驗室已建立一套篩檢中草藥抗發炎能力及免疫調節之技術平臺，是以分子、基因及細胞學為基礎的測試系統(Molecule, Gene and Cell-Based Assay Systems)。譬如過去我們研究室工作便曾以幾十種中草藥為標的，利用轉染 NF-κB 報導基因的細胞株，測定了多種常見與抗發炎及免疫調節有關的草藥。蔬果食品對重要細胞株中 NF-κB 活性之影響，發現各種中草藥萃取物在不同極性的有機溶劑分層下，可表現很不同的調節 NF-κB 活性之作用，在低極性有機溶劑分層草藥萃取物中通常具有抑制 NF-κB 活性作用，而高極性水層通常具有增強 NF-κB 活性作用。近來，本實驗室已建立之動物模式來評估這些藥草的抗發炎及免疫調節活性，包括利用紫外光 UVB 或化學藥劑 TPA 所誘發的皮膚發炎模式，或是用葡聚糖硫酸鈉 (Dextran sulfate sodium，DSS)誘發之腸道發炎的動物模式，DSS 可直接作用在腸道上皮細胞並影響黏膜的完整性，由 DSS 所引起急性腸道發炎目前被認為是一個研究腸道發炎先天性免疫機轉的最好模式 [40]。除此之外，我們也初步從 DSS 誘發腸道發炎的動物模式得知除了黃花蜜菜萃取物之外，蟛蜞屬中某些種的萃取物也具有抗發炎的生物活性；而在抗皮膚發炎動物模式上，黃花蜜

菜也顯示出能有效抑制發炎因子如基質金屬蛋白酵素-9 (matrix metalloproteinases-9，MMP-9)和環氧化酶-2 (cyclooxygenase-2，COX-2)的表現量。因此，我們相信本實驗室已具備有進行此一類型中草藥生物活性評估之研究能力，亦希望藉此計畫將此研發能量提供於臺灣本土常用中草藥的科學化研究中，為臺灣中醫藥界及生技產業界建立實用而有系統的中草藥應用與開發案例。

本計畫將利用系統性的分子細胞生物學技術以篩選宣稱是抗發炎或可增強免疫的約十種臺灣本土中草藥，將其分類並且進行先作細胞株，再作老鼠體內試驗之程序，經由此篩選後的中草藥再作較為深入探討中草藥之免疫調控功能及機制，以期可增進中草藥應用對各種疾病或製成健康食品之應用及推廣，也望得提升國人健康及增加市場規模，使臺灣中草藥價值大為提升。

一、具體目標一：

在體外系統中，藉由偵測老鼠巨噬細胞株 (RAW 264.7 cell line)之轉錄因子(NF-κB)、細胞激素(IL-1β)及環氧合酶-2 (COX-2)等啟動子表現，以評估臺灣本土中草藥萃取物抗發炎及增強免疫的活性。

以有效提升臺灣本土中草藥之應用價值，本計畫主要擬以臺灣民間常用卻又較少完整系統性科學證據之十種本土中草藥做為篩選對象（如:臺灣蒲公英、車前草等），期使本研究成果與民眾之所需能相符合，並可提升其應用價值。在免疫細胞系統中，NF-κB、細胞激素(IL-1β)及環氧合酶-2 (COX-2)是高誘導性的相關基因因子，不管在先天性免疫或是後天性免疫系統中皆扮演著非常重要的角色；不論是免疫反應刺激、病原體的侵入、化學毒物的接觸、物理上的損傷或是組織的創傷皆可誘導此三者基因的表現。目前已知三者在發炎反應有相當的關聯性；在慢性發炎疾病中，可測得 NF-κB 維持相當高的活性，在發炎性腸疾病(IBD)及急性肝炎反應中皆可測得高活性 NF-κB 的臨床症狀，而活化的 NF-κB 轉錄因子又可控制許多其他基因的表現，包括參與發炎反應細胞激素(IL-1β)，趨化素(chemokine)及多種免疫系統之受體(receptor)，或是與發炎相關之誘導酶(COX-2)，所以 NF-κB 可謂是免疫系統之中心樞紐，為調控免疫系統一重要指標。而在新藥的開發產業上，也有藥廠以 NF-κB 作為 *in vitro* 系統作篩選新藥的工具。故在本計畫中，我們擬測定本土中草藥萃取物對巨噬細胞活化或抑制的影響。另一方面有關樹突狀細胞重要的發炎相關誘導酶，以及細胞激素的產生，皆已知與 NF-κB 之調控有關，故檢測 NF-κB、IL-1β、COX-2 活性可作為篩檢中草藥是否抗發炎或能增強免疫力功能的直接可行方法。

二、具體目標二：

以老鼠皮膚體內系統，來評估臺灣本土中草藥萃取物對轉錄因子

(NF-κB)、細胞激素(IL-1β)及環氧合酶-2 (COX-2)等基因啟動子表現活性的影響。

在具體目標一中，本計畫將本土中草藥篩選出具有抗發炎或能增強免疫力，但因體外試驗(Ex vivo)無法完全模擬體內狀況，因此本計畫將利用老鼠體內試驗(In vivo)進行中草藥再次(Subsequent)篩選，已確定體外試驗篩選之效果，並且利用老鼠體內試驗有機會能夠模擬人體內狀況，則可測試篩選之中草藥在於體內使用之安全和效果程度。本計畫將利用老鼠皮膚做為篩選系統，藉由基因槍轉殖質體 NF-κB、IL-1β 及 COX-2 基因啟動子至老鼠皮膚上，再塗抹 TPA 引發化學性動物皮膚發炎反應後，利用檢測皮膚組織或血清中的報導基因(luciferase)表達之螢光強度，反應報導基因產物的濃度。另外，再以 TPA 引發化學性動物皮膚發炎反應後，給予本土中草藥萃取物，評估皮膚組織內 NF-κB、IL-1β、COX-2 等的表現，則可精準地定量植物萃取物對基因啟動子的調節效果，而達到確定中草藥在體內之藥效。

三、具體目標三：

評估臺灣本土中草藥萃取物對於兩種免疫細胞型，骨髓分化之樹突細胞(Bone Marrow derived Dendritic Cells)和 T 細胞之交互作用的影響。

樹突細胞(Dendritic cells)在人體中可藉由抗原呈現作用(antigen-presentation)將先天免疫反應傳遞到後天免疫反應，此項及貨其他多項研究已印證 DC 對於人體免疫系統之重要性。它可以執行後天免應反應的 T 細胞經由樹突狀細胞的刺激下，可分化出第一型 T 輔助細胞（Th1）及第二型 T 輔助細胞（Th2），並因而誘導出細胞免疫反應及體液免疫反應。因此觀察中草藥對於兩種免疫細胞型，可較多面了解中草藥對於人體免疫機轉之重要性，而為了解中草藥對於樹突細胞之影響，本計畫將利用小鼠骨髓樹突細胞做為研究對象，小鼠骨髓樹突細胞可藉由刺激方式將所需研究之細胞大量成長，因此利用此系統可有效提供所需研究之細胞數量。而為了解兩種免疫細胞型之相互作用，我們將利用觀察放射性氫胸腺嘧啶之結合作用(^{3}H-Thymidine incorporation)，以了解被 γ-射線抑制活性，對 DC 活化各類 T 細胞的增生(proliferation)情形以及混合淋巴球反應(mixed lymphocyte reaction，MLR)等測試，並利用流式細胞儀(flow cytometry)來測定解輔助者 T 細胞細胞內細胞激素的表現情形(如 INF-γ、IL-4)以了解輔助者 T 細胞中 Th1/Th2 的比例。以上幾種測試可較全面了解本土中草藥對於兩種免疫細胞型之生化/生理影響。

四、具體目標四：

以黑色素瘤小鼠模式評估臺灣本土中草藥萃取物對於骨髓衍生抑制細胞(Myeloid-derived Suppressor Cells)及基質細胞(Stromal Cells)之交互影響。

近年來研究顯示，在腫瘤發生或其蔓延中經常伴隨著發炎反應及免疫

抑制之產生。因此，癌症病患常無法消除癌細胞，而最新研究中，在癌症病人或小鼠中已知會有一群細胞，它能抑制身體的免疫反應。而此細胞群被稱之為骨髓衍生的抑制細胞(MDSC)，MDSC 可透過多重分子機制來抑制免疫系統之細胞及其功能，包括造成調節性 T 細胞的增加與執行 T 細胞的抑制。另一方面，在腫瘤中，一群基質細胞(Stromal Cells)近來也得知它們對於促進腫瘤細胞生長及發展扮演著重要角色，同時也對於腫瘤中免疫細胞具有抑制效果。因此，為發展具有增強免疫力的本土中草藥對於癌症中免疫系統之影響，本計畫將評估標的本土中草藥對於腫瘤中或其他組織中此兩類細胞群之影響。我們將藉由黑色素瘤小鼠模式給予中草藥後，分析血液中骨髓衍生抑制細胞(Myeloid-derived Suppressor Cells)量之影響。也將測試化學免疫組織染色方式並觀察中草藥對於腫瘤中基質細胞之影響。

本計畫乃是希望以結合現代免疫學，細胞學及分子生物學觀點及生技方法，篩檢出具有強力及特異性高之抗發炎反應及增強免疫力的臺灣本土常用中草藥。實驗上將利用轉殖外來細胞激素(IL-1β)及轉錄因子(NF-κB)基因之啟動子(promoter)進入到培養的細胞內或老鼠皮膚之皮層組織內，直接而有效地探討植物萃取物對細胞激素及轉錄因子基因啟動子的活化或抑制作用，我們也將利用幾種免疫細胞型進行本土中草藥代謝物中對調節免疫功能之探討，以提升本土中草藥之科學化和應用價值。藉由本計畫之結果，可望得提供日後本土中草藥研究方法及資料庫之參考，以增加臺灣本土中草藥應用價值以及增加健康食品之科學證據。而經科學證實效果後之本土中草藥，也才宜推廣為高價值的農作物。故真正具保健功效的中草藥產品可增加國人之健康，故若能將本土中草藥推廣應用於生技產業以及醫藥業，亦對可提升臺灣中草藥國際競爭力和發展新藥之潛力提供貢獻，值得我們好好地去國際上申請多項國內外專利，以望創造好的經濟價值。

貳、材料與方法

目標一、在體外系統中，藉由偵測老鼠巨噬細胞株 (RAW 264.7 cell line)之轉錄因子(NF-κB)、細胞激素(IL-1β)及環氧合酶-2(COX-2)等啟動子表現，以評估臺灣本土中草藥萃取物抗發炎及增強免疫的活性。

(一)依"標準型(Typical)"之不同水或有機溶劑進行中草藥萃取物製備

1. 實驗材料

將測試八角蓮、黃水茄、鱧腸、臺灣蒲公英、左手香、臺灣澤蘭、白豬母乳、香蒲、臺灣天仙果、臺灣野薑花、雙花蟛蜞菊、高山薯等十種中草藥。

2. 中草藥萃取物製備

(1)冷水萃法:以中草藥:冷萃水為 1:10 的比例浸泡兩個星期之後，收取萃取液。

(2)熱水萃法：以中草藥:水為 1:10 的比例加熱至水含量剩 1/3 後，收取萃取液。

(3)酒萃法：以中草藥:95%酒精為 1:10 的比例浸泡兩個星期之後，收取萃取液。將不同萃取法所得之萃取液用減壓濃縮機(Rotary Evaporator)及迴轉蒸發瓶增加蒸發面積，於低壓下，在水浴器內旋轉加熱，使溶液快速蒸發濃縮之後，再使用凍乾法(lyophilization)凍乾成粉末保存及使用。

(二)以報導基因系統評估中草藥萃取物在體外系統中的抗發炎或免疫調節活性

巨噬細胞在免疫反應扮演相當重要的角色，包括病原菌的吞噬、細胞激素的分泌及活化轉錄因子之活性，而本計畫將各別建構完成的細胞激素和轉錄因子啟動子載體以 invitrogen 公司生產的微脂體基因轉殖試劑(lipofectin)轉染到細胞細胞(RAW 264.7 cell) 後，再將載體與 lipofectin 試劑混合後與培養細胞共同培養 6 小時候，再加入待測的中草藥萃取物。而後再以 Promega 公司生產的冷光反應分析試劑(luminescence assay kit)檢測螢光酵素表現強度以分析轉染的細胞激素啟動子在細胞體內的表現活性，並以螢光酵素標準品作標準濃度曲線，實驗使用之冷光儀靈敏度可達奈米層級。

目標二、以老鼠皮膚體內系統，來評估臺灣本土中草藥萃取物對轉錄因子(NF-κB)、細胞激素(IL-1β)及環氧合酶-2 (COX-2)等基因啟動子表

現活性的影響。

(一)利用基因槍轉殖技術，轉殖含各基因(NF-κB、IL-1β、COX-2)的基因啟動子螢光酵素(luciferase) 報導基因載體，以化學方式誘發動物皮膚發炎反應，來評估中草藥萃取物在老鼠皮膚體系統中對發炎相關之影響。

利用基因槍轉殖技術將含各基因(NF-κB、IL-1β、COX-2)的基因啟動子螢光酵素(luciferase) 報導載體轉殖到實驗老鼠(品系為 C3H/HeNCrNarl)皮膚組織細胞中。將待測的中草藥萃取物經由皮膚塗抹方式送入實驗老鼠體內，再以佛波酯(TPA)誘發動物皮膚發炎。處理時間(如 12 小時)到後，採集實驗老鼠皮膚，測量螢光酵素(luciferase)強度以分析轉殖的細胞激素啟動子在實驗老鼠皮膚組織的表現活性。

(二)以佛波酯（12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TPA）誘發皮膚發炎的動物模式評估草藥萃取物之抗發炎生物活性。

本計劃將以佛波酯(TPA)引起之老鼠急性皮膚發炎模式進行中草藥抗發炎活性的評估。此實驗是利用皮膚對外界刺激敏感性較高的 C3H/HeNCrNarl 老鼠品系進行抗發炎的生物活性測試。TPA 是一種促進腫瘤形成的化學試劑，在此實驗中我們將 2 nmol 的 TPA 溶解在丙酮中之後，每隻老鼠均處理 100μl 的 2 nmol 的 TPA 促使老鼠的皮膚發炎。首先，取本土中草藥萃取物 1mg 溶解在丙酮中，老鼠分組後，用濃度 1mg 的本土中草藥萃取物 100μl 塗在老鼠皮膚上，30 分鐘後，再處理 TPA，並於 6、12、或 24 小時的時間點收取老鼠皮膚，最後在利用組織免疫化學染色法（Immunohistochemistry, IHC）及生化實驗進行中草藥抗發炎生物活性之評估。

目標三、評估臺灣本土中草藥萃取物對於兩種免疫細胞型，骨髓分化之樹突狀細胞(Bone Marrow derived Dendritic Cells)和 T 細胞之交互作用的影響。

(一)有效樹突狀細胞及 T 細胞的分離培養

從老鼠(C57BL/6)骨髓中取得骨髓細胞(Bone marrow cell)，再利用 ACK buffer 去除紅血球，培養於 RPMI 培養液中，進一步外加老鼠細胞激素 GM-CSF 與 IL-4 的方式培養細胞 6-7 天，可得到未成熟樹突狀細胞。而後可以加入藥草萃取物，以評估其對免疫細胞的影響。另外，由老鼠脾臟中取得脾臟細胞，再以高專一性單株抗體，配合磁珠得到高純度 T 細胞(目前我們實驗室已建立起此套細胞分離系統)。

(二)利用流式細胞儀測定中草藥萃取物對於樹突狀細胞之特定細胞膜上分子標記之活性反應

將利用免疫螢光染劑(如：fluorescein isothiocyanate (FITC) 及 phycoerythrin(PE))去標定各項免疫標記(CD marker)，分辨加藥處理後 DC 之 CD1a 、CD14、CD32、CD80、CD83、CDB86 及 HLA-DR 等標記之表現，並測定是否有特定細胞激素的釋放 (如白介素 10 或白介素 12 等)，來判定其所發生的免疫調節活性。

(三)以混合淋巴細胞培養反應(mixed lymphocyte reaction，MLR)，來評估中草藥萃取物對於 DC 與 T 細胞交互作用之正或負面影響

為了解由先天免疫反應傳遞到後天免疫反應，利用混合淋巴球反應 (mixed lymphocyte reaction，MLR)，以了解 DC 活化 T 細胞的情形，和 DC 的抗原呈現作用 (antigen-presentation)。觀察胸腺嘧啶結合作用 (^{3}H-Thymidine incorporation)，以了解被 γ-射線抑制活性之 DC 活化各類 T 細胞的增生 (proliferation) 情形。將經草藥萃取物處理過之 DC 與 T 細胞共同培養四天，並利用免疫螢光染劑(如：fluorescein isothiocyanate (FITC) 及 phycoerythrin(PE))去標定分化後 T 細胞細胞內細胞激素(如 INF-γ, IL-4)，並利用流式細胞儀(flow cytometry)來測定輔助者 T 細胞內細胞激素的表現情形以了解輔助者 T 細胞中 Th1/Th2 的比例。

(四)利用 ELISA 來分析樹突狀細胞及 T 細胞所分泌之細胞激素差異及中草藥造成之影響(Myeloid-derived Suppressor Cells)及基質細胞(Stromal Cells)之交互影響。

酵素免疫分析，是利用抗原及抗体間專一性反應而測試，來偵測樹突狀細胞白細胞介素 12(IL-12)分泌表現量以及 T 細胞 IFN-γ、IL-4 分泌表現量。簡言之，96 格微滴定盤加入細胞培養液，以 FBS 填充格底，加入一次抗體，二次抗體-酵素連結體 (2nd Ab-Enz) 後呈色，以 ELISA 讀值機偵測特定波長(450nm)下的吸光值。

目標四、以黑色素瘤小鼠模式評估臺灣本土中草藥萃取物對於骨髓衍生抑制細胞

(一)黑色素癌老鼠動物模式：

選擇 C57BL/6J 為老鼠之品種，並配合基因疫苗的操作模式，在接種 B-16 黑色素細胞之前或之後，將不同本土中草藥

萃取物以靜脈注射、口服等方式給予黑色瘤小鼠，測量黑色素大小及老鼠存活時間等，並利用流式細胞儀(flow cytometry)、ELISA、化學免疫組織染色等技術分析腫瘤小鼠血液中的 MDSCs 與腫瘤中基質細胞數量和細胞激素分泌的影響，以及利用細胞分離方式將 MDSCs 及腫瘤相關肌纖維母細胞分離出來，再給予不同本土中草藥萃取物，藉由 ELISA、流式細胞儀等技術觀察兩種細胞在體外培養(*ex vivo*)以及體內情況(*in vivo*)下，測試比較中草藥萃取物對 MDSCs 及腫瘤相關肌纖維母細胞的細胞數量及細胞激素分泌的影響。

(二)有效 MDSC 及基質細胞的分離培養

另外，由黑色素瘤老鼠的脾臟中取得 MDSCs 細胞以及由黑色素瘤組織取得腫瘤相關肌纖維母細胞(tumor associated fibroblasts)，再以高專一性單株抗體(如 CD11b、Gr-1、vimentin)，配合磁珠得到高純度 MDSCs 細胞以及腫瘤相關肌纖維母細胞。

(三)以 ELISA 測定基質細胞激素及其他標的分子分泌及表達可能受的影響

酵素免疫分析，是利用抗原及抗体間專一性反應而測試，來偵測腫瘤相關肌纖維母細胞所分泌 IGF-1、HGF、IL-6、IL-8、MCP-1 的表現量。簡言之，96 格微滴定盤加入細胞培養液，以 FBS 填充格底，加入一次抗體，二次抗體-酵素連結體 (2nd Ab-Enz) 後呈色，以 ELISA 讀值機偵測特定波長(450 nm)下的吸光值。

(四)利用流式細胞儀測定 MDSCs 產生 ROS 活性

由黑色素瘤老鼠所分離出的MDSCs，給予臺灣中草藥萃取物後，利用與25 mM的2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetatediacetate (H2DCFH-DA)作用三十分鐘後，將MDSC收集，再以流式細胞儀分析其螢光量，達到測定本土中草藥萃取物對於MDSC產生ROS之能力的影響。

(五)化學免疫組織染色（Immunohistochemistry, IHC）

腫瘤取出後，浸泡 10% 福馬林溶液，進行石蠟脫水包埋。取得切片後，進行抗體染色，使用抗原抗體結合原理，最後以 DAB 呈色，滴上封片膠後蓋上蓋玻片，待乾燥後，於光學顯微鏡下觀察。

參、結果

本計畫為利用系統性的分子細胞生物學技術，以篩選古方或民俗宣稱是抗發炎或可增強免疫的約十種臺灣本土中草藥材，將其分類，再以老鼠體內試驗之驗證來作研發，對經由此篩選後的中草藥我們則再深入探討中草藥之免疫調控功能及機制，以期可增進中草藥應用於各種疾病或製成健康食品之應用及推廣，也希望以此提升國人健康及增加市場規模，使臺灣中草藥產業之生技價值大可有效提升。為了能快速、直接有效達到計畫目標，本計畫執行之初擬建構一中草藥研究篩選平台（圖一），包含中草藥萃取物之製備、中草藥萃取物對於樹突狀細胞細胞激素調控之評估、中草藥萃取物對於原位乳癌動物模式之評估及中草藥萃取物對於骨髓衍生抑制細胞（Myeloid-derived Suppressor Cells, MDSCs）之交互影響。

一、樹突狀細胞細胞激素之調控

樹突狀細胞所表現的細胞激素是活化 T 細胞及調控免疫反應之重要因子，近年來研究顯示，在眾多樹突狀細胞表現之細胞激素中，以受刺激從基因表現的時間就前後可區分出包含早期(TNF-□□-6 I□nd IL-1)及後期(IL-12and IL-10)兩類的細胞激素(圖二)，這兩類細胞激素在免疫反應調控亦知扮演著不同的角色。因此在本研究之測試項目中，我們是以細胞激素 IL-6 及 IL-12 作為前期及後期的代表以評估中草藥萃取物之抗發炎活性並依此將其分類。這兩類細胞激素已知在免疫反應調控上，扮演著不同且非常重要的角色。我們在此計畫內測試了多種中草藥萃取物，包含 *Curcuma longa* (薑黃)、*Rheum Palmatum* (大黃)、*Saliva miltiorrhiza* (丹參)、*Lithospermum erythrorhizon* (紫草)、*Vigna radiata* (綠豆)、*Wedelia chinensis* Merr. (黃花蜜菜)、*Bidens pilosa* (大花咸豐草) 等不同中草藥之萃取物。我們以細菌之脂多醣(LPS)作為促發炎試劑以刺激樹突狀細胞表現各項細胞激素。在中草藥萃取物與 LPS 加入樹突狀細胞 24 小時後，將細胞培養液取出並以酵素免疫分析法(ELISA)測試了 IL-6 及 IL-12 表現活性，以評估中草藥萃取物對於細胞激素 IL-6 及 IL-12 表現調控之影響。實驗結果以細胞激素 IL-6 及 IL-12 表現結果二維象限作圖表達。我們以 IL-6 表現結果為 X 軸，以 IL-12 表現結果為 Y 軸並以以 100%及 60%相對於 LPS 細胞激素表現量作為割分。如圖三所示，我們可將中草藥萃取物對 IL-6 及 IL-12 的表現調控活性區分為九群族。其中，在標記為Ⅰ及Ⅱ兩群之結果可看到，Ⅰ群中草藥萃取物可有效抑制 IL-6 及 IL-12 細胞激素之表現，而Ⅱ群中草藥萃取物則只可顯著抑制 IL-12 之表現。在Ⅰ群中草藥萃取物，我們可以用薑黃作為代表，可以發現相對於薑黃熱水萃取物，薑黃乙酸乙酯或是酒精之萃取物皆可以有效抑制 LPS 引發之 IL-6 及 IL-12 之產生（圖四、圖五）。在Ⅱ群中草藥萃取物，我們可以用大花

咸豐草作為代表，亦可發現在細胞激素 IL-12 表現調控能力上，乙酸乙酯或酒精萃取物皆具有顯著的抑制活性(圖四、圖五)。因此，在考量到未來產業應用性及食用安全性之因素下，我們建議可以用酒精作為後續臺灣本土中草藥之萃取溶劑。目前我們已完成多種臺灣本土中草藥，包含黃水茄、鱧腸、臺灣蒲公英、左手香、臺灣澤蘭、白豬母乳、臺灣天仙果及臺灣野薑花的酒精萃取物之製備，及其對老鼠骨髓分化之樹突細胞(Bone Marrow-derived Dendritic Cells, BMDCs)之細胞激素調控活性之功能影響。我們製備完成之臺灣本土中草藥萃取物對於 IL-6 及 IL-12 細胞激素之調控能力之結果則分別顯示於圖六及圖七。由實驗結果可看出左手香、澤蘭及黃水茄酒精萃取物對於細胞激素 IL-6 可部分地抑制活性。另一方面，馬齒莧、白豬母乳、左手香、澤蘭及黃水茄酒精萃取物對於細胞激素 IL-12，則皆可顯著地抑制活性。

二、原位乳癌動物模型抗腫瘤活性之測試

近年來，許多研究顯示發炎在腫瘤生成及轉移扮演一非常重要的角色，許多研究結果顯示許多具有抗發炎活性的植物化合物在動物腫瘤模式中也具有抗腫瘤的活性。因此我們藉由一原位乳癌動物模型來評估中草藥萃取物之抗腫瘤活性。

(一)原位乳癌細胞動物模型之建立

如圖八所示，將帶有冷光基因（luciferase）的老鼠乳癌細胞 4T1-Luc2（2×10^5）植入BALB/c老鼠的第六對左側乳腺脂房墊裡，7天後則以活体即時冷光影像檢測系統非侵入方式偵測乳癌細胞生長情形，並以冷光強度作為量化腫瘤大小之依據。

(二)中草藥萃取物在原位乳癌動物模型中的抗腫瘤活性

我們的研究結果顯示黃水茄酒精萃取物在高濃度下（50 μg/ml）可部分地抑制IL-6的表現，並可顯著地抑制IL-12在樹突狀細胞的表現。因此在初步實驗中，我們先行評估了黃水茄酒精萃取物的抗腫瘤之活性。另外，我亦選擇同屬於Ⅱ群中草藥萃取物之狗肝菜及屬於Ⅰ群中草藥萃取物之淮山山藥皮酒精萃取物作為我們實驗之參考組。如圖九所示，我們將老鼠乳癌細胞4T1-Luc2植入BALB/c老鼠的乳腺脂肪墊裡，待7天後，每天開始餵食黃水茄等酒精萃取物（100 mg/kg/day），並以餵食0.1% DMSO作為實驗對照組，每天測量腫瘤大小，並在每一週以活体即時冷光影像檢測系統測量腫瘤生長及轉移情形。實驗進行49天後犧牲老鼠並統計分析腫瘤之生長情形。實驗結果顯示黃水茄等三種酒精萃取物對於原位乳癌細胞生長並不能顯著地抑制活性(圖十)。

(三)中草藥萃取物在乳癌切除動物模型中的抗腫瘤轉移活性

在此實驗中，我們進一步以乳癌腫瘤切除動物模式來以評估

黃水茄酒精萃取物之抗腫瘤活性。如圖十一所示，老鼠接種腫瘤細胞，7天後餵食中草藥萃取物並在17天後切除原位腫瘤。先前本中心蕭培文老師實驗室已證實了黃花蜜菜酒精萃取物在此動物模式中可顯著地抑制腫瘤轉移之活性，因此在我們此一實驗中，加入了黃花蜜菜部分純化萃取物作為實驗正對照組。由圖十二至圖十三結果顯示，實驗對照組在切除腫瘤一週後，12隻老鼠中有8隻偵測出了有轉移出去之乳癌細胞，老鼠餵食過黃水茄及黃花蜜菜萃取物，乳癌細胞轉移發生率分別為（14%）及（22%）。初步實驗結果到目前為止，若與實驗對照組相比黃水茄及黃花蜜菜皆可顯著抑制腫瘤轉移。由上述所有動物實驗結果顯示出，黃水茄具有可抑制腫瘤細胞轉移的活性，但對乳癌細胞原位生長則無顯著之抑制效果。後續，我們將會進一步評估淮山山藥皮與其他可抑制細胞激素表現之酒精萃取物。中草藥萃取物在細胞激素的抑制活性與腫瘤生長或轉移活性之可能關聯性則需我們進一步加以探討，目前這方面實驗仍在進行，我們也將進一研究黃水茄抗腫瘤轉移活性與骨髓抑制細胞（MDSCs）活性之關聯性。

三、指標成份分析

HPLC化學指紋圖譜

為了測定並定量目標中草藥萃取物中之指標成分，我們以HPLC化學指紋圖譜分析法初步分析中草藥酒精萃取物包括黃水茄、淮山山藥皮之酒精萃取物成分。我們以C18為分離管柱，以10%-100%甲醇為溶劑。黃水茄、淮山山藥皮酒精萃取物之HPLC分析之結果顯示於圖十四。後續我們將會進一步分析其化學指標成份及有效成分。

肆、討論

本計畫乃是藉由系統性的生物活性/功效測試平台，以篩選並研發具調節免疫和抗發炎活性之臺灣本土中草藥及其商業應用。藉由評估中草藥對於樹突狀細胞細胞激素之調節活性將中草藥分類，並以原位乳癌動物模式來評估中草藥萃取物之抗腫瘤活性，再進一步分析中草藥化學指標成份及有效成分。我們希望經由本研究結果，可因而增進臺灣本土中草藥於癌症及各種疾病或製成健康食品之應用及推廣，也望得提升國人健康及增加市場規模，使臺灣中草藥價值大為提升。

目前樹突狀細胞在免疫反應活化、調節上之重要性已逐漸被人們所了解。今年2011年諾貝爾生醫獎一頒發給此項研究及先天性免疫之相關研究人員（主要為Dr. Ralph Steiman）。在樹突狀細胞免疫調控上，細胞激素的表現被認為是調節免疫反應之一重要因子。在細胞表現的偵測上，相較於以螢光酵素為報導基因來偵測細胞激素啟動子之活性方式，以酵素免疫分析法(ELISA)測試細胞激素表現情形更能真實反應內生性細胞激素的表現情形，因而本計畫在執行之後乃採用酵素免疫分析法來評估中草藥萃取物對於重要細胞激素之表現情形。近年來研究顯示，在眾多樹突狀細胞表現之細胞激素中，以刺激表現的時間可區分出早期（TNF-α， IL-6）及後期（IL-12，IL-10）兩類的細胞激素。在各項免疫反應皆需要許多不同激素的參與，在功能上， TNF-α， IL-6及IL-1β等這些激素皆被認為與急性發炎反應有關；另一方面，如IL-12，IL-23，IL-10等細胞激素則被認為與調控其他免疫細胞如T細胞分化相關。因此，我們認為早期及後期兩類細胞激素在免疫調控的功能上可能扮演不同的角色，而本計畫以IL-6及IL-12為初步篩選區分中草藥萃取物之抗發炎能力也因而有所依據。

在原位乳癌細胞動物模型中，我們的實驗結果顯示，在原位乳癌動物模式中，黃水茄、淮山山藥及狗肝菜酒精萃取物並無抑制原位腫瘤細胞生長或腫瘤轉移的效果。然而，黃水茄萃取物在乳癌腫瘤切除動物模式中，反而具有抑制腫瘤轉移的活性。對於兩種不同乳癌動物模式中，黃水茄萃取物在抗癌活性上具不同效果，我們將會進一步探討其原因。而此一結果也或可說明正確時機使用中草藥治療可能是相當重要的。的在原位乳癌動物模式中，我們觀察到原位腫瘤生長的大小與脾臟的腫脹程度及腫瘤細胞轉移的發生率有正向的關聯。我們亦觀察到帶有CD11c或Gr1標記的骨髓抑制細胞族群在脾臟的數量亦與腫瘤生成大小及腫瘤接種的天數成正相關。此一現象亦在前人研究結果中得到類似之證實。我們目前正設法釐清三者之間的關聯性及骨髓抑制細胞在腫瘤細胞轉移所扮演的角色，以期能進一步說明黃水茄萃取物抑制腫瘤轉移活性的細胞/分生作用機理。此外，中草

藥萃取物對於樹突狀細胞及骨髓抑制細胞在細胞激素的調控能力的異同性亦是我們想要進一步探討的研發議題。

伍、結論與建議

本計畫在執行之後,在篩選具調節免疫和抗發炎活性之臺灣本土中草藥之前，我們遵循本計畫擬定之初衷，藉由測試多種中草藥萃取物，包含 *Curcuma longa* (薑黃)、 *Rheum Palmatum* (大黃)、*Saliva miltiorrhiza* (丹參)、*Lithospermum erythrorhizon* (紫草)、 *Vigna radiata* (綠豆)、*Wedelia chinensis* Merr. (黃花蜜菜)、*Bidens pilosa* (大花咸豐草) 等不同中草藥之萃取物以確認建立及應用此一研究平台之可行性。目前，我們的結果顯示以評估樹突狀細胞細胞激素表現活性為標的的體外抗發炎篩選平台，是可以有效地區分臺灣本土中草藥之抗發炎能力。由於研究時間及經費之限制，目前我們無法一一的將具有抗發炎活性之中草藥萃取物，以原位乳癌動物模式或乳癌切除動物模式來評估其抗腫瘤生成或轉移之抗癌活性。目前我們初步研究結果獲得相當優良的研究成果，尤其是有關原位癌動物模型研究結果顯示，黃水茄酒精萃取物具有抑制腫瘤轉移的活性。目前還有幾項重要議題值需要我們進一步的釐清探討。因此，我們認為本研究計畫很值得再深入近一步之探討及開發。我們誠摯希望衛生署中醫藥委員會能給予本計畫再次的支持以完成後續全面及更完整的研究結果。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-067 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 古源翎. 植物新藥開發技術成果. *財團法人醫藥工業技術發展中心* (2009).
2. Koop, C.E. The future of medicine. *Science* **295**, 233 (2002).
3. Gregersen, P.K. & Olsson, L.M. Recent advances in the genetics of autoimmune disease. *Annu Rev Immunol* **27**, 363-391 (2009).
4. Rabinovich, G.A., Gabrilovich, D. & Sotomayor, E.M. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu Rev Immunol* **25**, 267-296 (2007).
5. Dougan, M. & Dranoff, G. Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol* **27**, 83-117 (2009).
6. Banchereau, J., *et al*. Dendritic cells: controllers of the immune system and a new promise for immunotherapy. *Ann N Y Acad Sci* **987**, 180-187 (2003).
7. Banchereau, J. & Steinman, R.M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* **392**, 245-252 (1998).
8. Banchereau, J., *et al*. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* **18**, 767-811 (2000).
9. Guermonprez, P., Valladeau, J., Zitvogel, L., Thery, C. & Amigorena, S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. *Annu Rev Immunol* **20**, 621-667 (2002).
10. Li, X. & Stark, G.R. NFkappaB-dependent signaling pathways. *Exp Hematol* **30**, 285-296 (2002).
11. Yoshimura, S., Bondeson, J., Foxwell, B.M., Brennan, F.M. & Feldmann, M. Effective antigen presentation by dendritic cells is NF-kappaB dependent: coordinate regulation of MHC, co-stimulatory molecules and cytokines. *Int Immunol* **13**, 675-683 (2001).
12. Schmitz, M.L., Bacher, S. & Dienz, O. NF-kappaB activation pathways induced by T cell costimulation. *FASEB J* **17**, 2187-2193 (2003).
13. Siebenlist, U., Franzoso, G. & Brown, K. Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annu Rev Cell Biol* **10**, 405-455 (1994).
14. Makarov, S.S. NF-kappa B in rheumatoid arthritis: a pivotal regulator of inflammation, hyperplasia, and tissue destruction. *Arthritis Res* **3**, 200-206 (2001).
15. Brown, M.A. & Jones, W.K. NF-kappaB action in sepsis: the innate immune system and the heart. *Front Biosci* **9**, 1201-1217 (2004).

16. Roitt, I., J. Brostoff, and D. Male. Immunology. *Mosby, London.* (1998.).
17. Tian, Z., Shen, X., Feng, H. & Gao, B. IL-1 beta attenuates IFN-alpha beta-induced antiviral activity and STAT1 activation in the liver: involvement of proteasome-dependent pathway. *J Immunol* **165**, 3959-3965 (2000).
18. Kusmartsev, S. & Gabrilovich, D.I. Inhibition of myeloid cell differentiation in cancer: the role of reactive oxygen species. *J Leukoc Biol* **74**, 186-196 (2003).
19. Kusmartsev, S., Nefedova, Y., Yoder, D. & Gabrilovich, D.I. Antigen-specific inhibition of CD8+ T cell response by immature myeloid cells in cancer is mediated by reactive oxygen species. *J Immunol* **172**, 989-999 (2004).
20. Almand, B., *et al.* Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. *J Immunol* **166**, 678-689 (2001).
21. Tlsty, T.D. & Coussens, L.M. Tumor stroma and regulation of cancer development. *Annu Rev Pathol* **1**, 119-150 (2006).
22. Sinha, P., Clements, V.K., Fulton, A.M. & Ostrand-Rosenberg, S. Prostaglandin E2 promotes tumor progression by inducing myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res* **67**, 4507-4513 (2007).
23. Bunt, S.K., Sinha, P., Clements, V.K., Leips, J. & Ostrand-Rosenberg, S. Inflammation induces myeloid-derived suppressor cells that facilitate tumor progression. *J Immunol* **176**, 284-290 (2006).
24. Karthikumar, S., Vigneswari, K. and Jegatheesan, K. Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of Eclipta prostrata (L). *Scientific Research and Essays* **2**, 101-104 (2007).
25. Depo, Y. Antibacterial activity on skin and chemical composition of the volatile oils from Agastache rugosa and Pogostemon cablin. *JOURNAL OF MICROBIOLOGY* (1998).
26. Joy, B., Rajan, A. & Abraham, E. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oil from Hedychium coronarium. *Phytother Res* **21**, 439-443 (2007).
27. Miles, D.H.U.o.C.F., Orlando, FL); Chittawong, V.; Payne, A.M.; Hedin, P.A.; Kokpol, U. Cotton boll weevil antifeedant activity and antifungal activity (Rhizoctonia solani and Pythium ultimum) of extracts of the stems of Wedelia biflora. *Journal of agricultural and food chemistry* **38**,

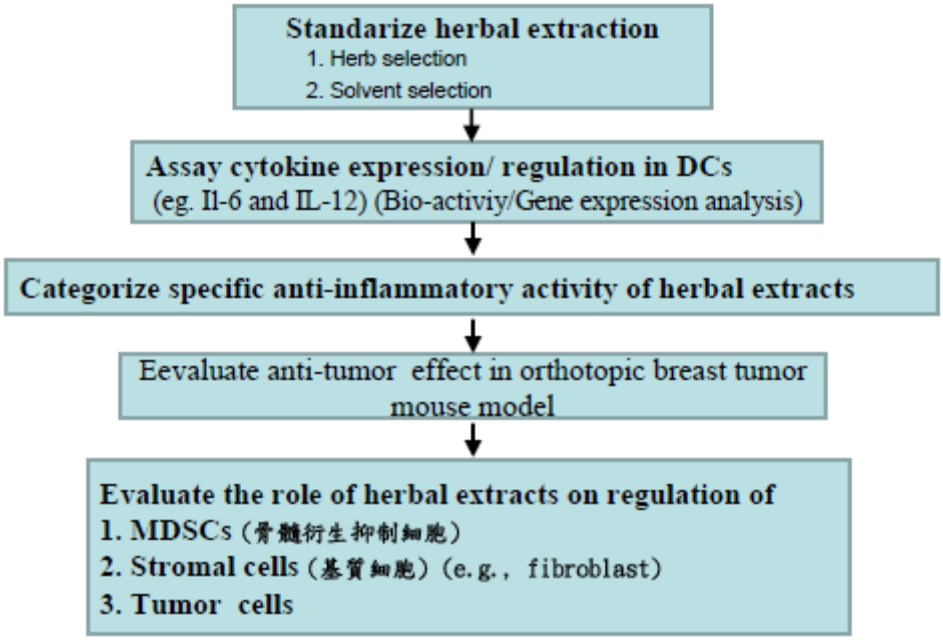
1591-1594 (1990).
28. Yao, S.-c.L.a.C.-j. Hepatoprotective Activity of Taiwan Folk Medicine: Eclipta prostrata Linn. against Various Hepatotoxins Induced Acute Hepatotoxicity. *phytother Res* **10**, 483-490 (1996).
29. A. Lexa, J.F., C. Younos, F. Mortiert. Study of antihepatotoxicity of Eupatorium cannabinum L. in mice. An adequate method of screening in vivo antihepatotoxic natural principles. *Phytother Res* **4**, 148-151 (1990).
30. Nakamura, S., *et al.* Medicinal flowers. XXIV. Chemical structures and hepatoprotective effects of constituents from flowers of Hedychium coronarium. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **56**, 1704-1709 (2008).
31. Jeon, H.J., *et al.* Anti-inflammatory activity of Taraxacum officinale. *J Ethnopharmacol* **115**, 82-88 (2008).
32. Chiu, S.C. & Yang, N.S. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha through selective blockade of Pre-mRNA splicing by shikonin. *Mol Pharmacol* **71**, 1640-1645 (2007).
33. Staniforth, V., Chiu, L.T. & Yang, N.S. Caffeic acid suppresses UVB radiation-induced expression of interleukin-10 and activation of mitogen-activated protein kinases in mouse. *Carcinogenesis* **27**, 1803-1811 (2006).
34. Wang, C.Y., *et al.* Modulatory effects of Echinacea purpurea extracts on human dendritic cells: a cell- and gene-based study. *Genomics* **88**, 801-808 (2006).
35. Staniforth, V., Wang, S.Y., Shyur, L.F. & Yang, N.S. Shikonins, phytocompounds from Lithospermum erythrorhizon, inhibit the transcriptional activation of human tumor necrosis factor alpha promoter in vivo. *J Biol Chem* **279**, 5877-5885 (2004).
36. Yin, S.Y., *et al.* Stimulatory effect of Echinacea purpurea extract on the trafficking activity of mouse dendritic cells: revealed by genomic and proteomic analyses. *BMC Genomics* **11**, 612 (2010).
37. Chiu, S.C., *et al.* Differential functional genomic effects of anti-inflammatory phytocompounds on immune signaling. *BMC Genomics* **11**, 513 (2010).
38. Wang, C.Y., *et al.* Genomics and proteomics of immune modulatory effects of a butanol fraction of echinacea purpurea in human dendritic cells. *BMC Genomics* **9**, 479 (2008).
39. Su PF, L.C., Hsu CC, et al. Dioscorea Phytocompounds Enhance Murine

Splenocyte Proliferation Ex Vivo and Improve Regeneration of Bone Marrow Cells In Vivo. *eCAM*, 1-11 (2010).

40. Wirtz, S., Neufert, C., Weigmann, B. & Neurath, M.F. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc* **2**, 541-546 (2007) .

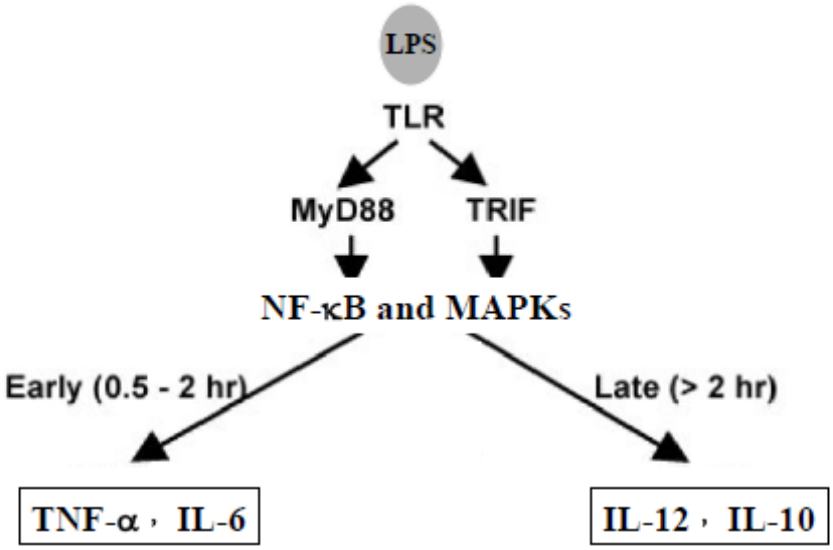
柒、圖、表

Fig. 1 Flow chart of research plan



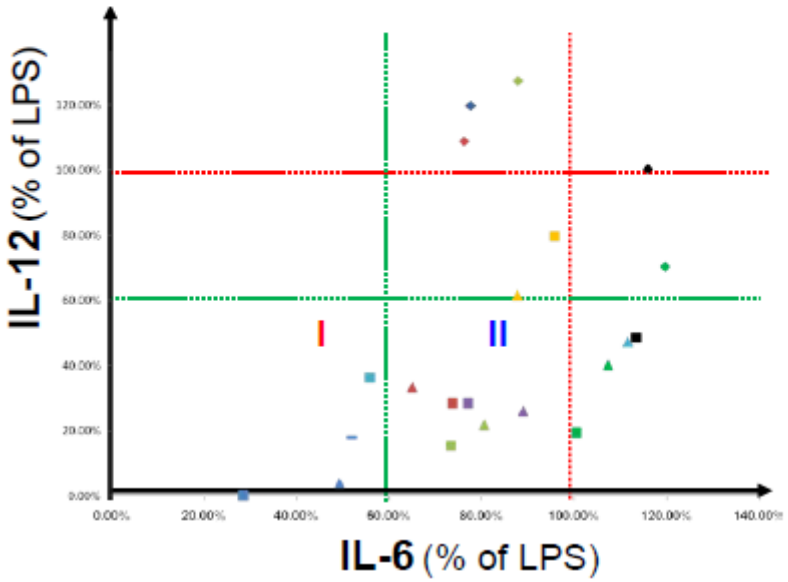
圖一、研究平台架構圖

Fig. 2 Profiling of cytokine expression in LPS-stimulated DCs



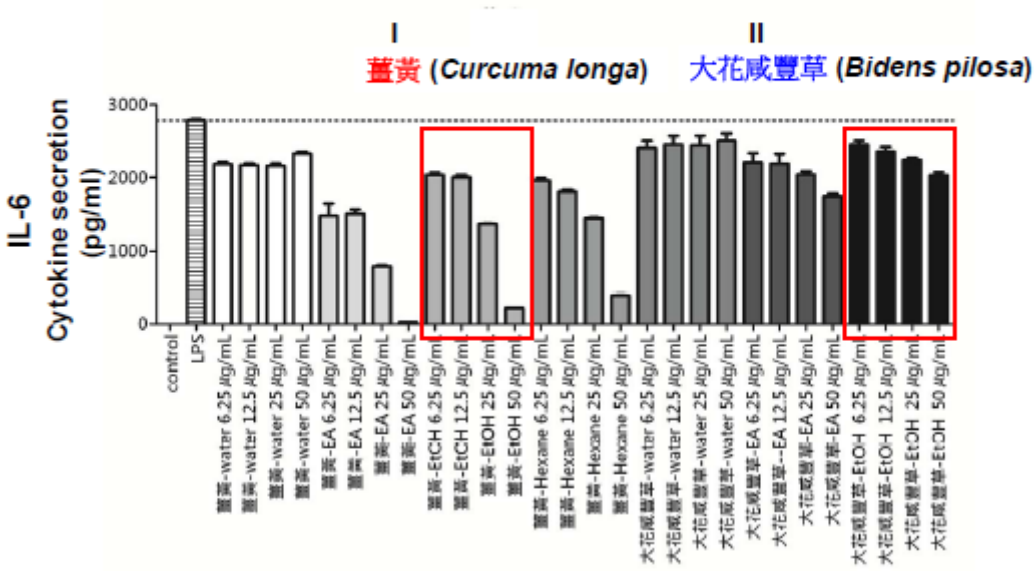
圖二、樹突狀細胞細胞激素之分類

Fig. 3 Effect of herbal extracts on LPS-induced expression of IL-6 and IL-12 in mouse BMDCs



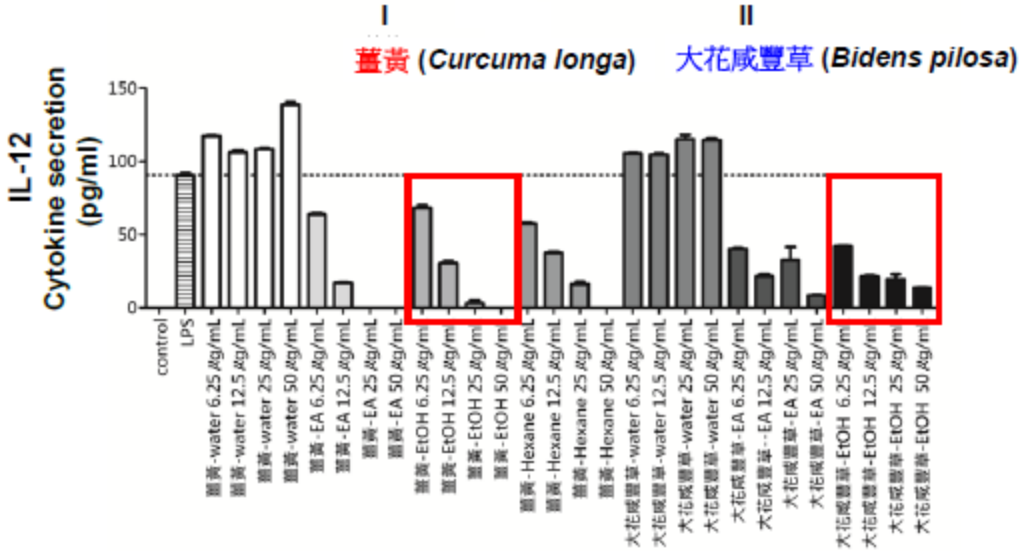
圖三、中草藥萃取物抑制 IL-6 及 IL-12 表現活性之二維象限圖

preparations on LPS-induced IL-6 expression in mouse BMDCs



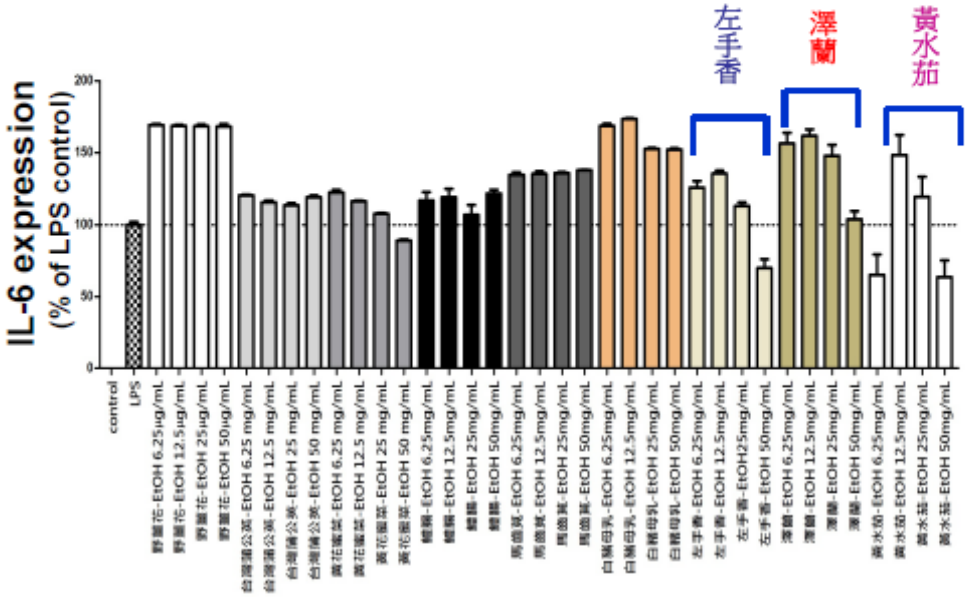
圖四、比較第一區及第二區萃取物對樹突狀細胞細胞激素 IL-6 之抑制活性

Fig. 5 Inhibitory effect of different herbal extract preparations on LPS-induced IL-12 expression in mouse BMDCs



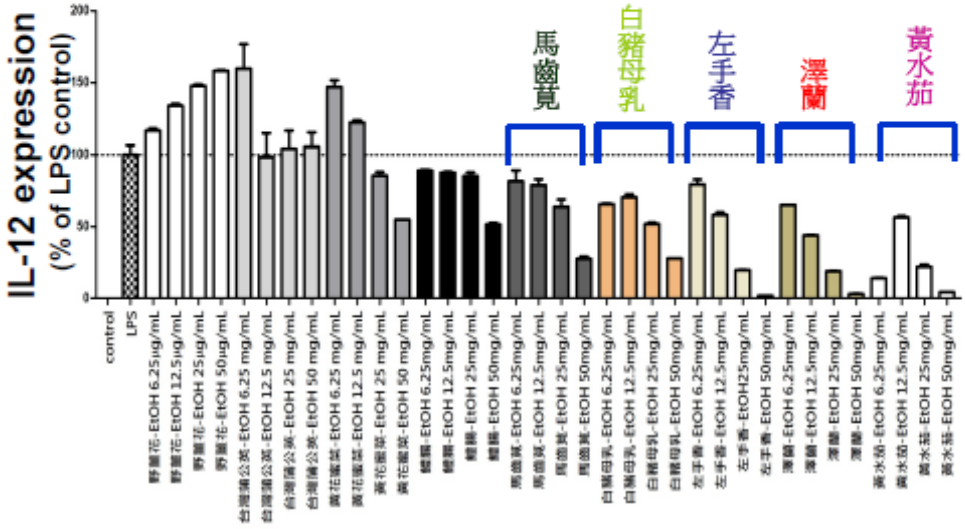
圖五、比較第一區及第二區萃取物對樹突狀細胞細胞激素 IL-12 之抑制活性

Fig. 6 Effect of different herbal extract preparations on LPS-induced IL-6 expression in mouse BMDCs



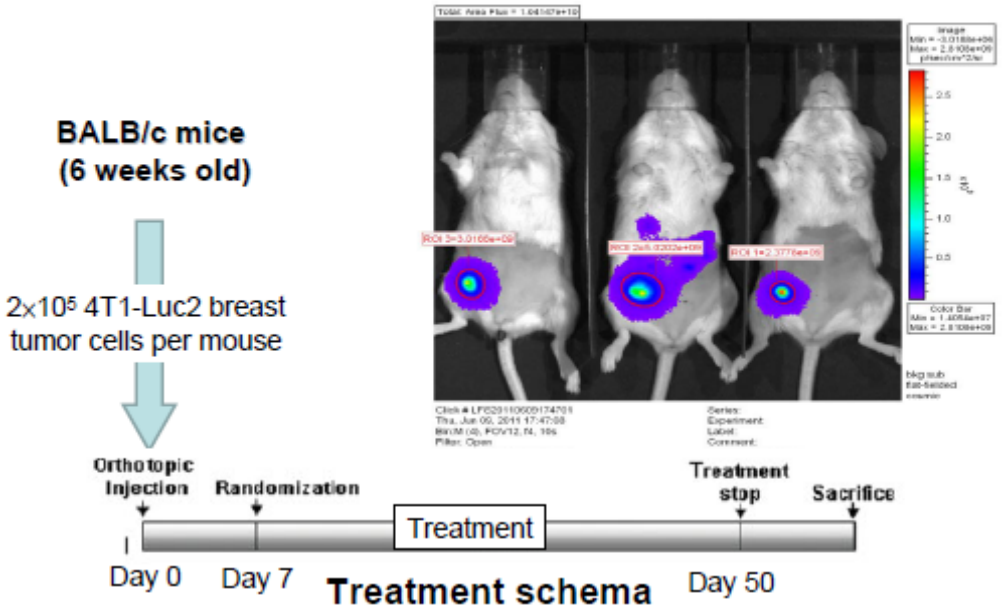
圖六、中草藥萃取物對樹突狀細胞細胞激素 IL-6 之抑制活性

Fig. 7 Effect of different herbal extract preparations on LPS-induced IL-12 expression in mouse BMDCs



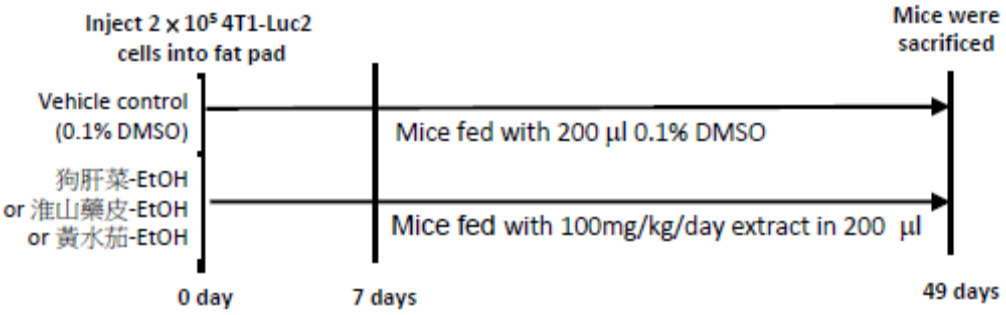
圖七、中草藥萃取物對樹突狀細胞細胞激素 IL-12 之抑制活性

Fig. 8 Orthotopic breast tumor mouse model



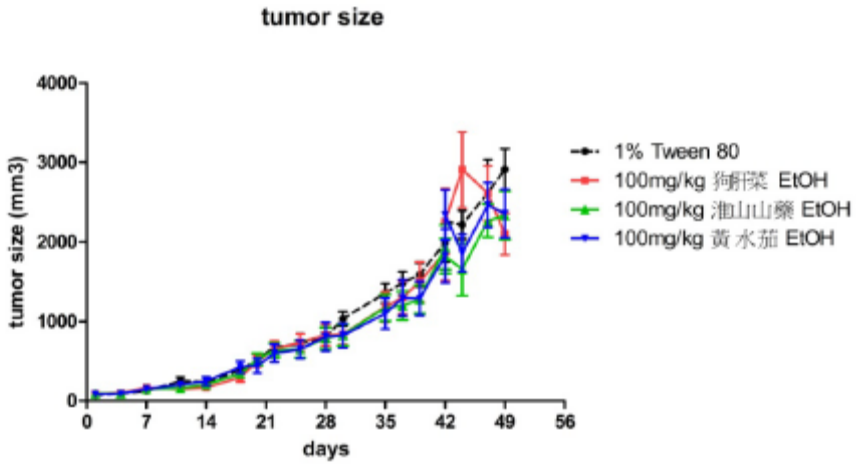
圖八、原位乳癌動物模式

Fig. 9 Experimental design for evaluating the effect of herb extracts on primary tumor growth and metastasis

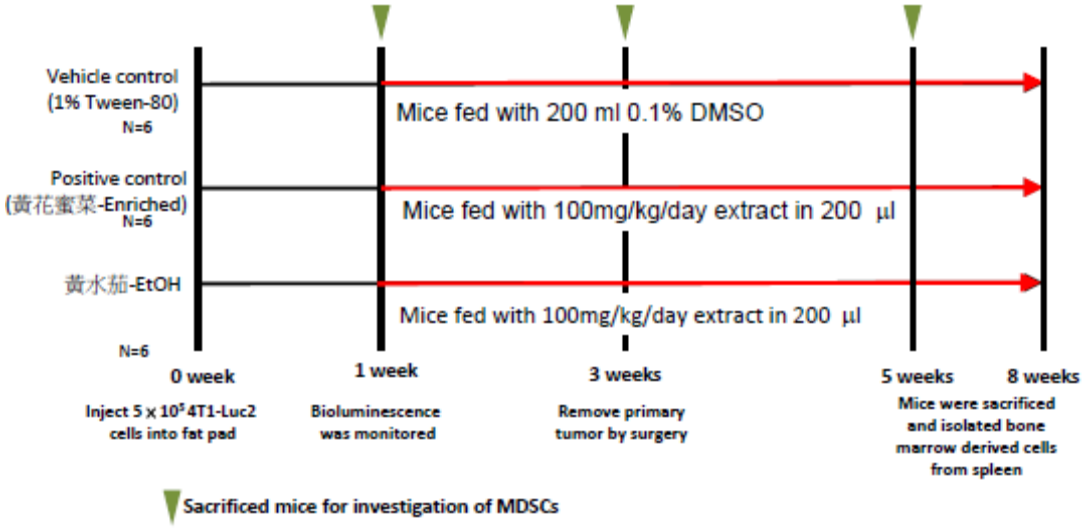


圖九、中草藥萃取物抗癌活性之實驗設計

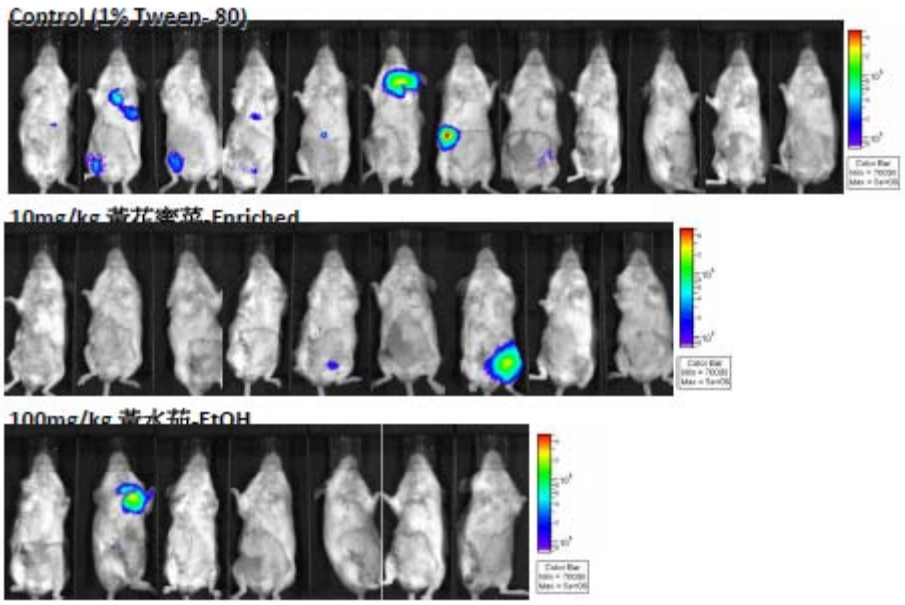
Fig. 10 Effect of herb extracts on primary tumor growth



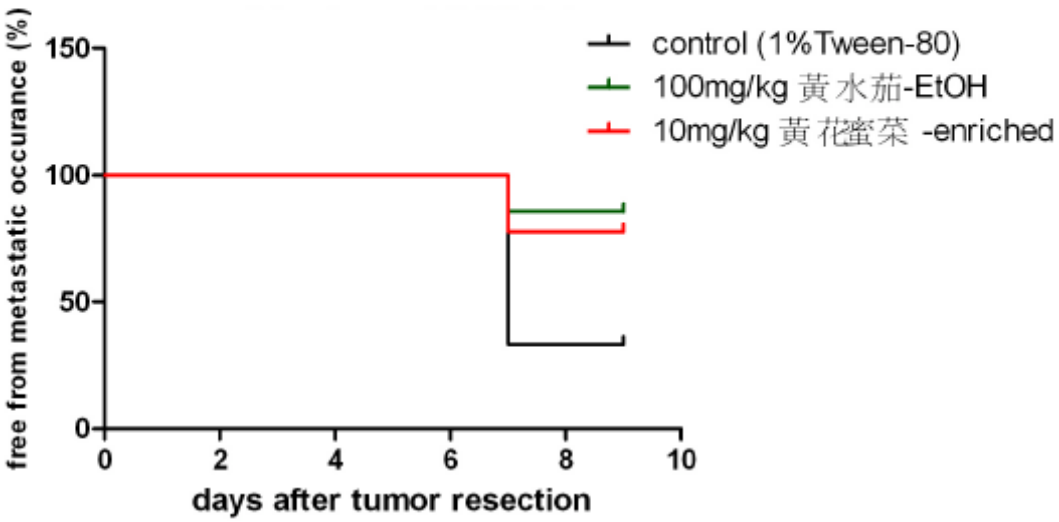
圖十、中草藥萃取物對原位乳癌細胞生長活性之影響



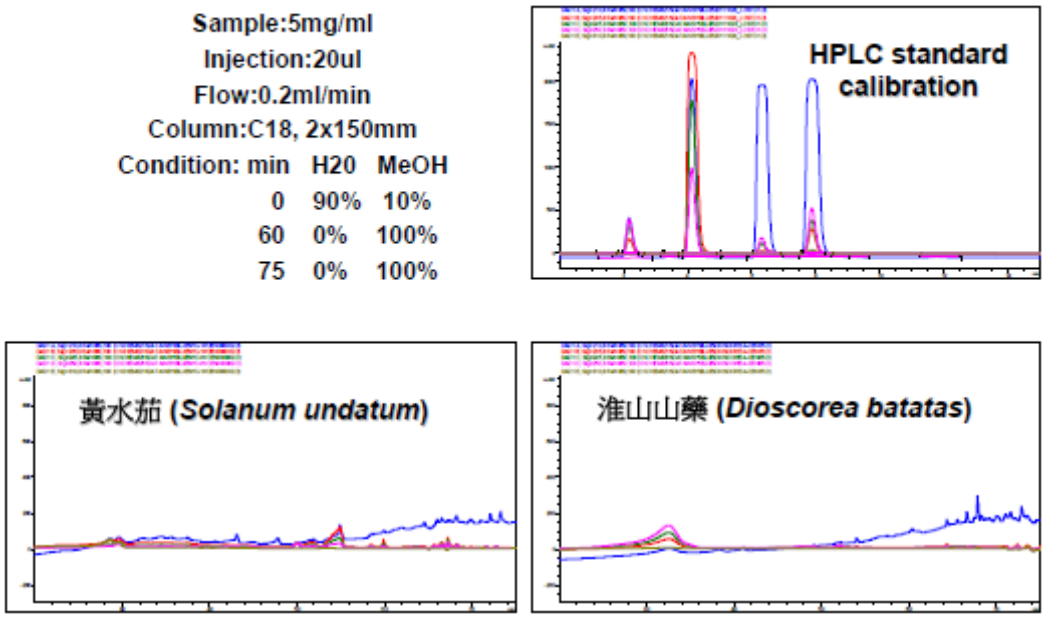
圖十一、中草藥萃取物抗癌細胞轉移活性之實驗設計



圖十二、中草藥萃取物對乳癌細胞轉移活性之影響



圖十三、中草藥萃取物對乳癌細胞轉移率之影響



圖十四、中草藥酒精萃取物之 HPLC 化學組成之分析

編號：CCMP99-RD-103

台灣外科手術病人服用中草藥對外科麻醉相關藥物交互作用之調查與臨床實證醫學探討(2-2)

何善台
三軍總醫院附設民眾診療服務處

摘　要

子計畫一：外科手術病人服用中草藥之流行病學調查研究

研究背景：

國人廣泛使用中草藥用以調理體質來達到保健養身的效果或治療特定的疾病，目前雖有許多研究指出外科手術病人服用中草藥會造成不利之影響，但其服用中草藥之盛行率及對於手術麻醉中及手術後相關影響之研究，在國外雖有少數的研究探討，但國內並沒有相關研究結果。

研究目的：

本研究目的是探討外科手術病人服用中草藥與保健食品之盛行率、調查常見之中草藥與保健食品之使用情形、瞭解外科手術病人服用中草藥與保健食品之相關影響因子及經由手術中、後相關臨床數據與文獻探討其服用中草藥與保健食品於手術期間可能產生之不良反應。

研究方法：

本研究設計為橫斷研究法，在一家醫學中心採自擬半結構式問卷，調查外科手術病人服用中草藥與保健食品之情形。以 SPSS 18.0 進行統計分析，利用 t 檢定、卡方檢定及羅吉斯分析來探討服用中草藥與保健食品與變項之相關性等。

結果：

研究結果顯示在 1,428 位外科手術病人其服用中草藥與保健食品之比率分別為 52.1%及 68.8%。年齡、性別、宗教信仰及家庭所得等相關因子會影響到外科手術病人服用中草藥之情形；性別、教育程度、宗教信仰、家庭所得等相關因子會影響到外科手術病人服用保健食品之情形。最常使用之中藥複方為四神湯(經常使用 1.0%；偶而使用 23.9%)，其它依序為四物湯、咳嗽散等；中藥單方為枸杞子(經常使用 4.1%；偶而使用 28.9%)，其它依序為山藥、大棗等；保健食品為維他命類(經常使用 20.4%；偶而使用 22.5%)，其它依序為綠茶、維骨力等。

結論：

外科手術病人服用中草藥與保健食品是一很普遍之現象，在眾多相關因子中以性別與家庭所得變項較具影響力。而本研究歸納出之 15 種最常使用之中草藥與保健食品，也經由文獻探討了對外科手術中、術後或與麻醉藥物交互影響的情形，以期能進一步成為國家未來衛生政策之參考。

子計畫二：中西藥併用之交互作用臨床研究

研究目的：

口服 Nalbuphine 併用龍膽瀉肝湯後，nalbuphine 在健康受試者體內的藥動學變化，以確認 Nalbuphine 併用龍膽瀉肝湯的中西藥交互作用

研究方法：

受試者分三階段進行實驗，第一階段給予受試者單一劑量之 Nalbuphine (66mg)，經過至少一星期的 washout period 後繼續進行第二階段試驗，第二階段再同時給予單一劑量 Nalbuphine (66mg) 及單一劑量龍膽瀉肝湯 (3g)；後再經過至少一星期的 washout period 後進行第三階段試驗，第三階段則先給予多劑量之龍膽瀉肝湯，每天三次，每次 3 克，連續給予七天，在第七天最後一次給予龍膽瀉肝湯後再立刻給予單一劑量之 Nalbuphine (66mg)。參與試驗者共 28 人次，受試者在篩選體檢時，除一般項目外，另給予半乳糖並抽血以檢測肝剩餘功能。試驗開始時受試者在給藥前先抽一次血，之後服藥，受試者固定時間間隔抽血(0.25、0.5、1、1.25、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12 及 24 小時)，血液檢體以高效液相層析質譜儀(LC/MS/MS)分析其中 nalbuphine 之濃度，並以獲得數據計算相對生體可用率、濃度時間曲線下面積、最高血中濃度、達到最高濃度的時間以及排除半衰期等藥動學參數。

結果與討論：

單一劑量組之臨床藥動學試驗，結果發現當受試者給予龍膽瀉肝湯(3g/人)併服 Nalbuphine(66mg/人)後，受試者體內血漿之 Nalbuphine 濃度會在吸收相顯著升高，而由 Nalbuphine 動力學參數來看，Nalbuphine 體內最高濃度 (Cmax) 由控制組的 28.59 ± 10.69 ng/mL，升高至 44.96 ± 16.55 ($p < 0.05$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUCt，則由控制組的 122.21 ± 60.90 hr*ng/mL，升高至 151.99 ± 50.2 hr*ng/mL ($p < 0.05$)，增加吸收達 1.24 倍；而代表藥物清除速率的 Cl/F，由控制組的 622.45 ± 356.20 L/hr，減緩至 467.99 ± 214.53 ($p < 0.05$)。多劑量組(龍膽瀉肝湯 3 克, TID, 7days) 併服單一劑量(66mg)西藥與單服(66mg)西藥的控制組之臨床藥動學試驗，結果發現當受試者給予龍膽瀉肝湯(3 克, TID, 7days)併服 Nalbuphine(66mg/人)後，受試者體內血漿之 Nalbuphine 濃度會在吸收相顯著升高，而由 Nalbuphine 動力學參數來看，Nalbuphine 體內最高濃度 (Cmax) 由控制組的 25.49 ± 9.97 ng/mL，升高至 43.74 ± 12.26 ($p < 0.01$)。代表體內吸收藥物的總量的 AUCt，則由控制組的 112 ± 54 hr*ng/mL，升高至 179 ± 22 hr*ng/mL ($p < 0.001$)，增加吸收達 1.6 倍；而代表藥物清除速率的 Cl/F，由控制組的 654 ± 313 L/hr，減緩至 323 ± 37 ($p < 0.01$)；由此可知，龍膽瀉肝湯與 Nalbuphine 併服會造成藥物交互作用。依據目前試驗資料有以下之結論：

(一)服用多劑量龍膽瀉肝湯後併服 nalbuphine 結果發現 nalbuphine 最高血中濃度及吸收量顯著高於單獨口服 nalbuphine 者，與前年度服用單劑量龍膽瀉肝湯後併服 nalbuphine 結果相似，多劑量組的影響高於單劑量組。

(二)本子計畫依據前五年計畫成果，由體外試驗中會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，再從中挑選與西藥併服後會產生顯著的交互作用的中藥來進行本計畫的人體試驗，結果顯示體內體外試驗之相關性甚高，未來，使用體外試驗快速且大量篩檢中西藥交互作用是值得參考的工具。

關鍵詞：中草藥醫學、輔助及替代醫學、草藥與藥物交互作用、中西藥交互作用、龍膽瀉肝湯、Nalbuphine

Number: CCMP99-RD-103

Survey and Study on Drug Interactions between Chinese-Herb Medicines and Surgery-Anesthesia Related Drugs in Taiwan Surgical Patients (2-2)

Shung-Tai Ho
Tri-Service General Hospital/National Defense Medical Center

ABSTRACT

Part I:

Background:

Traditional Chinese Herbal Medicines (TCHM) are widely used to strengthen physique, to recuperate health after sickness and to treat a variety of diseases. Currently, there are many studies which have pointed out that TCHM would cause adverse effects on surgical patients. Nevertheless, little information is available about the TCHM epidemiology and impact on surgical patients.

Objectives:

To investigate the most popular TCHM inclusive of Chinese herbal formulae and single Chinese herbals and the supplements used among surgical patients, to analyze the sociodemographic and health-related medical conditions influencing the choice of the TCHM and supplements, and to do the literature researching about potential risk of taking TCHM and supplements.

Methods:

This study was a cross-sectional in design. A semi-structured questionnaire survey was conducted at a tertiary hospital in a space of 2 years. Data collected from the questionnaires were subjected to statistic analysis with SPSS 18.0. Chi-Square test and multivariate logistic regression were used to identify important associated factors which influenced the usage of the TCHM and supplements.

Results:

Of the 1428 surgical patients under survey, 744 (52.1%) reported the use of TCHM, and 983 (68.8%) the use of supplements. Multivariate logistic regression analysis revealed that the factors associated with TCHM usage included age, gender, religion, and household income; as to supplements the associated factors were gender, education level, religion, and household income. As to TCHM formulae, Szu-Shen-Tang (a soup made of Chinese yam, Lotus seed, Euryales semen, Indian bread, and small intestine and stomach of swine) was the most favorite one in use

(regular use: 1.0%; casual use: 23.9%) followed in sequence by Szu-Wu-Tang (a soup made of Rehmannia root, Chinese angelica root, Peony root and *Ligusticum chuanxiong* Hortorum) and Hai-Sou-San (cough powder). In single Chinese herbals, gou-qi-zi (Wolfberry fruit) was the choicest one in use (regular use: 4.1%; casual use: 28.9%) followed in sequence by shan-yao (Chinese yam) and da-zao (Jujube). The supplements most regularly used were vitamins (regular ues: 20.4%; casual use: 22.5%) followed in order by green tea and glucosamine.

Conclusions:

TCHM and supplements are commonly used in the surgical patients of Taiwan. Among these associated factors, the most influential ones are gender and household income. Our study has enumerated 15 most popular TCHM and supplements. In the near future we will continue our studies with prior attention to the potential risks and harmful events during perioperative period.

Part II

Aims:

To evaluate the drug-drug interaction between Chinese medicine, Long-dan-xie-gan-tang (LDXGT) and marketed drug, nalbuphine.

Methods:

Healthy volunteers were included in this study for three stages treatments. For the first stage, subjects were orally administered with single dose of nalbuphine (66mg) only. For the second stage, subjects were orally co-administered with single dose of nalbuphine (66mg) and single dose of LDXGT (3g). For the third stage, subjects were administered with multiple doses of LDXGT (3g, tid) for seven days, then, after the last dose of LDXGT, subjects were orally administered with single dose nalbuphine (66mg). Subjects were taken blood samples from the forearm veins at 0, 0.25, 1, 1.25, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12 and 24 hours after the dosing of nalbuphine. The plasma samples were analyzed for nalbuphine concentration with LC/MS/MS. The pharmacokinetic parameters, Cmax, AUC, and half-life were calculated and compared for the three stages to evaluate the herb-drug interaction between LDXGT and nalbuphine.

Results:

For the first year of this projetcs, when subjects were co-administered with single dose of LDXGT and nalbuphine, their plasma levels of nalbuphine were significantly higher than the ones of subjects administered with nalbuphine only. The Cmaxs of nalbuphine of subjects administered with or without LDXGT were 44.96 ± 16.55 and 28.59 ± 10.69 ng/mL, respectively. The extent of absorption (AUC_t) of nalbuphine of subjects co-administered with LDXGT and nalbuphine were also significantly increased to 124% compared to the ones of subjects administered with nalbuphine only (152.0 ± 50.2 vs. 122.2 ± 60.9 hr*ng/mL, $p < 0.05$).The clearance (CL/F) of nalbuphine were also significantly decreased (468.0 ± 214.5 vs. 622.5 ± 356.2 L/hr, $p<0.01$). For the second year of this project, when subjects were co-administered with multiple dose of LDXGT and nalbuphine, their plasma levels of nalbuphine were significantly higher than the ones of subjects administered with nalbuphine only. The

Cmaxs of nalbuphine of subjects administered with or without LDXGT were 43.74 ± 12.26 and 25.49 ± 9.97 ng/mL, respectively ($p<0.01$). The extent of absorption (AUC_t) of nalbuphine of subjects co-administered with LDXGT and nalbuphine were also significantly increased to 160% compared to the ones of subjects administered with nalbuphine only (179 ± 22 vs. 112 ± 54 hr*ng/mL, $p < 0.005$). The clearance (CL/F) of nalbuphine of subjects co-administered with LDXGT were also significantly decreased from the ones without LDXGT (323 ± 37 vs. 654 ± 313 L/hr, $p<0.01$).

Conclusions:

Herb-drug interactions were found between Chinese medicine, Long-dan-xie-gan-tang and Western medicines, nalbuphine.

Keywords: Traditional Chinese Herbal Medicine; TCHM, Complementary and Alternative Medicine; CAM, Herbal-Drug interaction, CYP450, UGT, Herb-drug interaction, nalbuphine

壹、前言

隨著輔助與替代醫學(Complementary and Alternative Medicine; CAM)的興起，已逐漸影響了世界各國人們對於健康的信念與行為。在眾多輔助與替代醫學療法中，其中以中草藥(Traditional Chinese Herbal Medicine; TCMH)的使用，扮演著重要的角色。據估算全世界有超過 15 億人口因認為中草藥是安全、有效而廣泛去使用它[1]，而其在病人間使用的比率也越來越高，但其所隱藏的安全議題，也逐漸受到重視，尤其是外科手術病人。外科手術病人使用草藥療法可能在手術過程中常造成心肌梗塞[2]、出血與增強麻醉藥效[3]等副作用，但目前為止並沒有相關研究結果提供服用草藥對外科病人影響的明確數據[4]。

近年來關於藥物利用的研究(Drug utilization)已獲得廣大的重視，尤其對藥物治療的最適化，但由於我國目前很多藥物使用模式都是來自西方的文獻，關於傳統中醫及中草藥的研究卻仍是稀少的[5]。

台灣因傳統中醫與信仰的影響，所以在現今以西方醫學為主流的醫療生態中，仍佔有極大的影響力。台灣病人常合併使用中草藥、西藥，而手術前使用中草藥之情形或影響的研究，目前僅有極少數研究。國人日常習慣服用中草藥用於保健養生、預防及治 療特定疾病上。在健保局統計 89 年至 92 年間中藥總用量排行中排名第一的加味逍遙散共 28,534,829 劑，第二名的疏經活血湯共 24,913,104 劑及第三名的正骨紫金丹共 7,162,758 劑等，而這些服用中草藥的人有多少人在服用期間接受外科手術？這些人除了單純服用中草藥外，有無合併使用西藥？這些中草藥與西藥間的交互作用如何？服用這些中草藥的病人在手術過程中有什麼影響？這些問題目前似乎都沒有一個明確的研究數據去回答，而相關文獻關於這方面的資訊還是很稀少的，大部分都是一些零星的病例報告[6]。且有許多病人服用草藥與西方醫學治療藥物一起合併使用，但是這些草藥與西方醫學所使用之藥品可能會產生不利的交互作用而造成傷害[4]。且某些草藥可能還隱藏了重金屬、有害成分或與其它藥物產生交互作用等。美國 FDA 五年期的報告也顯示使用這類產品產生了 2,621 的不良事件，且造成了 101 位死亡[7]，而根據另一研究顯示於術前使用這類非醫師處方用藥之病人，其於術後產生併發症之機率(勝算)比沒使用之病人高出 2.7 倍[8]。

中西醫結合整合治療是未來發展的趨勢，能提供病人更完善的醫療照顧，但需長時間的研究才能提出醫學上之實證與科學化的證明。而目前注重西藥與草藥間的交互作用(Drug-Herb Interaction)主要皆探討其不良反應，值得我們參考，但是歐美各國使用草藥的方式(單味藥萃取物)與我國不同(中藥複方或單方)，所以不能完全直接適用於國內，且國人最常服用的中

草藥和西方使用情形並不一致，國外的研究結果並不能直接反應到台灣目前之現況。

草藥在西方銷售可分成單方萃取草藥與複方草藥，同樣的中草藥也可以分成中藥單方與中藥複方。目前外科手術病人使用草藥與保健食品已有多篇文獻報導，但關於外科手術病人服用中藥單方目前只有一篇文獻去探討，中藥複方部分尚無相關之文獻探討。

國人服用中草藥的情形相當普遍，但至今仍沒有一個系統性探討中草藥對外科手術麻醉之間的作用。本計畫以二年時間從流行病學的調查、資料分析，到交互作用的探討，完整的將本土性使用中草藥與保健食品的情形做完整的分析，以期能在中醫的衛生政策等提供建議。

本二年連續計畫目的是在探討國人接受外科手術麻醉前服用中草藥的情形，以及中草藥對外科手術麻醉術中、術後相關臨床資料的相互影響。

國人服用中草藥情形普遍，但至今沒有一個有系統性探討中草藥和外科手術麻醉之間的作用。本計畫將以二年時間從流行病學的調查、資料分析，到交互作用的探討，完整的將本土性的用藥情形做完整的分析，以期能在中醫的衛生政策等提供建議及遵守規範。

一、第一年已完成之工作目標

(一)子計畫一：

1.完成問卷設計、問卷信度及效度的測試

2.初步完成一家醫學中心（三軍總醫院）外科手術病人之問卷調查之問卷資料整理及分析，研究期間發放 1020 份問卷，其中完成了資料的登錄與分析 550 份問卷。

(二)子計畫二：

1. 經 UGT2B7 代謝藥物臨床試驗模式藥物（如 nalbuphine）於人體血液之分析方法開發。

2. 常用濃縮中藥(如龍膽瀉肝湯)併服經UGT2B7代謝模式藥物(如nalbuphine)之人體臨床試驗（完成 12 人次試驗）。

二、第二年工作目標

(一)子計畫一：

第二年將持續進行問卷的登錄與資料分析。預定第二年計畫再執行 1000 份病人訪視問卷或兩年計畫有效問卷共達 1400 份，進一步分析瞭解外科手術病人服用中草藥及保健食品的狀況。

最後將從資料中找出病人最常服用中草藥前 15 名，以病人基本資料和病人服用中草藥有無相關性，病人服用中草藥和病人現有疾病有無相關性，病人服用中草藥和術中異常出血有無關係，手術後 7 天的死亡率有無相關；利用統計中的描述性、推論性（卡

方檢定，t-test，logistic regression analysis）將判定自變項與依變項及各反應變數間之統計意義。同時我們也進行文獻查詢，找出前幾名中草藥和麻醉手術的相關性，以發現手術麻醉病人服用中草藥對肝臟、凝血等系統的影響。

(二)子計畫二：

本試驗主要研究(1)口服 Nalbuphine 併用龍膽瀉肝湯後，nalbuphine 與 morphine 在健康受試者體內的藥動學變化，並建立中西藥交互作用的體內吸收影響，(2)此外更進一步建立以肝剩餘功能指標 GSP 值來佐證中西藥併用之風險。

第二年：繼續完成常用濃縮中藥（如龍膽瀉肝湯）併服經 UGT2B7 代謝模式藥物（如 nalbuphine）之人體臨床試驗（繼續完成 12 人次試驗，最後完成總共 24 人次試驗）。

貳、材料與方法

一、子計畫一：外科手術病人服用中草藥之流行病學調查研究

本研究經三軍總醫院/國防醫學院人體試驗委員會核准同意在三軍總醫院執行。研究設計法採用橫斷式調查研究，研究期間為 2009 年 3 月至 2011 年 9 月。第一部分資料的收集使用半結構式問卷，由訪員面對面的在外科病房中進行。第二部分資料於病人出院後，經由病歷調閱後，登錄相關臨床數據資料。

(一)受訪者納入與排除條件

而本研究對象為外科手術麻醉之病人，如果符合下面這些條件，將納入本研究樣本中：

1.納入條件：

(1)年齡介於 20 至 80 歲之間。

(2)需為住院且接受麻醉手術之病人。

(3)需意識清晰、能清楚表達且受訪者(病人)同意簽署同意書參與本試驗。

2.而其排除條件為：

(1)配戴呼吸器或氣切管、插管之病人。

(2)患有精神疾病之病人。

(3)受隔離、保護之病人。

(4)進行緊急、危急及重大手術之病人。

(5)懷孕生產之婦女。

所有的受試者都為外科手術病人且同意填寫受訪同意書參與本試驗。病人主要來自 12 個不同的科別，一般外科、心臟外科、婦科、大腸直腸外科、神經外科、胸腔外科、泌尿外科、骨科、眼科、耳鼻喉科與口腔外科與其它科別（包含整形外科）。

問卷調查於外科病房內進行，問卷採用自填式問卷，由訪員向受訪者（病人）先說明本研究之內容、目的與過程，徵得受訪者（病人）同意簽署同意書後，於外科病房內填寫，所需時間大約 20 分鐘；如果受訪者（病人）同意參加，但無法自行填寫，則由訪員以口述方式詢問，並代受訪者填答。

(二)研究工具之信、效度分析

1.問卷效度分析：

採用專家效度(Expert validity)，邀請相關領域的專家（中醫學、醫學、傳統醫學及公衛）共同參與討論。邀請學者專家有中國醫藥大學中醫所蘇奕彰教授、陽明大學傳醫所黃怡超教授、

長庚醫院麻醉部沈振庭醫師、長庚醫院藥劑科鄭奕帝博士、國防醫學院公衛所高森永教授、國防醫學院外科學科俞志誠教授及台北榮民總醫院麻醉學科何善台教授等專家學者參與會議，共召開三次專家會議，針對問卷內容的相關性、正確性及適切性予以評估與建議，最後依專家意見作修改或刪除，而完成問卷而定稿。

2.問卷信度分析：

本研究採外在信度(External reliability)，即在不同時間點測量其一致之程度，而再測信度是外在信度最常使用的方法。問卷於預測階段，於外科病房選擇符合條件之受訪者（病人）共 18 位，先向其說明研究目的及填寫方式後，徵得其同意，簽署受訪同意書後，進行第一次施測，並於一個月後，以郵寄方式進行第二次施測。本研究發展出的半結構式問卷，非量化問卷，所以信度分析的方式為第一次施測回答選項與第二次施測回答選項一致題數佔整份問卷題數之比率。結果呈現整體問卷一致之比率為 90.7%，而在中草藥部分為 93.6%，在保健食品部分為 87.1%，表示問卷有良好之再測信度。

(1)問卷內容

自擬之半結構式問卷主要分為三大部分，列出了 158 種中草藥與保健食品，且有一開放欄位提供填寫未明確列出之中草藥或保健食品品項。第一部分為病人的基本特質，包含了人口社會特質與健康相關狀況。基本特質部份參考 Andersen 健康服務利用行為模式中傾向求因素（Predisposing factors）、能力因素(Enabling factors)及需求因素(Need factors)來探討醫療服務利用的情形(服用中草藥及保健食品之情形)。傾向因素包含人口學特徵，如：性別、年齡、婚姻狀況、教育程度等；能力因素包含個人及家庭資源，如：家戶所得、職業等；需求因素包含 10 種常見之疾病，如：心臟病、高血壓、糖尿病、腫瘤等、手術科別。

第二部分為病人使用中草藥的情形，包含了主要來源、使用型態與頻率。第三部分為其使用保健食品的情形，也包含了主要來源、使用型態與頻率。我們把頻率分類為三個等級：A.不曾使用，定義為沒有使用中草藥或保健食品；B.偶而使用，定義為一個月至少服用一次以上；C.經常使用，定義為一個星期至少服用 2-3 次以上。

(2)術中後臨床數據資料

最後病人臨床數據資料於病人出院後，經由病歷調閱後，由醫師協助填寫登錄相關臨床數據資料，包括 A.病人術前資料，如服用抗凝血劑與止痛劑情形；B.臨床數據，如凝血、肝、腎功能值及血糖值等；C.術中資料，如手術時間、麻醉種類、術中出血量、輸血量等及 D.出院狀況，如是否有異常出血、併發症、發燒、住院天數、是否死亡等資料。

(3)研究倫理考量

本計畫在研究進行前，已獲得三軍總醫院人體試驗審議委員會審核通過，並同意執行。研究者在進行研究前已先向受訪者（病人）解釋研究目的、內容及過程，並向受訪者保證維護其隱私權，所得資料僅供學術研究使用，個人資料絕對不會對外公開，經受訪者同意參與及簽署受訪同意書(Subject Information/Consent Form)後，始進行問卷施測。

(4)統計方法與分析

所有的數值呈現都以平均值±標準差或次數（百分比）來表示，除非有特別的標示或說明。連續變項使用 t 檢定，類別變項使用卡方檢定與多元羅吉斯迴歸分析去評估各變項與使用中草藥與保健食品間的相關情形。統計顯著水準設為 $P<0.05$，且資料分析使用 SPSS 18.0 來分析。

二、子計畫二：中西藥併用之交互作用臨床研究

(一)儀器設備：

1. 液相層析串聯式質譜儀分析系統(LC/MS/MS):

(1) SHIMADZU 高效液相層析儀系統：

幫浦：Shimadzu　LC10 ADvP

自動注射器：Shimadzu SIL-10 ADvp

(2)質譜：美商生命系統 API 3000　LC/MS/MS with Analyst 1.4

2. 其他：

Sorvall® RT7 高速離心機

TurboVap® LV 濃縮吹乾機

(二)標準品：

Nalbuphine-HBr (華宇藥品；10mg/mL)

Naloxone　(美時製藥；純度:99%)

(三)化學藥品:

1. Acetonitrile : HPLC grade, TEDIA.

2. n-Hexane : A.C.S. reagent, Merck

3. Iso-amylalkohal : A.C.S. reagent, J. T. Baker.

4. Methanol (MeOH) : HPLC grade, Merck.

(四) Nalbuphine LC-MS-MS 的分析

1. 分析條件

Nalbuphine 於人類血漿中濃度檢測前處理方式使用液相-液相萃取，並採用高效能液相層析質譜儀 (Liquid Chromatography /Mass/Mass, LC/MS/MS, API 3000 triple-quadrupole mass spectrometer equipped with an ion-spray (ESI)) 進行分析，層析管採用 Atlantis® HILIC Silic 3 mcm，4.6 × 150 mm column，移動相採用 2 mM Ammonium formate and 0.1% formic acid in H_2O : 2 mM Ammonium formate and 0.1% formic acid in ACN (20：80;v/v)，流速設定為 1 mL/min。血液檢品處理程序詳列於下。

2. 樣品處理(Sample preparation):

取 1 mL 臨床人體血漿置於 16*125 mm 平口試管中

↓

加入 50μL 內部標準品 (Naloxone : 250 ng/mL)

↓

加入 100 mcL , 0.5N Na_2CO_3 (pH=10.0) , 移置試管振盪器振 3 分鐘

↓

加入 6mL extraction solution(n-hexane:iso-amylalkohal=9:1;v/v)

↓(vortex 20 mins)

移置-80℃冰凍 1 小時

↓

倒上層有機溶液至 13*100 mm 平口試管

↓

氮氣吹乾 (60℃; 1 小時)

↓

回溶 200 mcL (H2O: ACN=20:80)

↓(vortex 3min)

倒上層液至 1.5 mL microtube

↓

離心 13000 rpm, 1 min

↓

Transfer HPLC vial

↓

注射 10 mcL

3. 分析條件

(1)液相層析條件

參數	描述
移動相	2 mM Ammonium formate and 0.1% formic acid in H_2O : 2 mM Ammonium formate and 0.1% formic acid in ACN (20：80;v/v)
分析管柱	Atlantis® HILIC Silic 3 mcm，4.6 × 150 mm column
流速	1 mL/min
注射體積	10 mcL
分析時間	5.5 min

(2)質譜條件

Compound	Precursor ion	product ion	Coll.Energy (eV)
Nalbuphine	358.3	340.3	5500
Naloxone	328.31	310.25	5500

(五)臨床試驗實施方法及實驗步驟

1. 試驗主題：

常用中西藥併用之交互作用

2. 背景及研究目的：

Nalbuphine（納布芬）注射液目前在國內以及在全球，其已經核准上市並且有很久的臨床使用經驗。以nalbuphine 併用濃縮科學中藥（龍膽瀉肝湯），主要是給予納布芬口服液的同時，併服市售GMP核准之科學濃縮中藥後，觀察nalbuphine 與龍膽瀉肝湯之間的交互作用。

這個研究所使用的藥物 – nalbuphine 是止痛藥物，nalbuphine 的化學結構和morphine 相似。Nalbuphine 是長效性的藥劑，可提供手術後及癌症病患的止痛。在過去的動物實驗中已證實nalbuphine 的安全性和效果都和morphine 相當。

本試驗主要研究 (1) 口服Nalbuphine 併用龍膽瀉肝湯後，nalbuphine在健康受試者體內的藥動學變化，並建 立中西藥交互作用的體內吸收影響，(2) 此外更進一步建立以肝剩餘功能指標GSP值來佐證中西藥併用之風險。

3. 試驗方法：

(1)受試者數目

參與試驗者共 28 人次。

(2)納入及排除條件

A.納入條件：

這個試驗的對象是身體健康的成年人，如果符合下面這些條件，在評估過其他的臨床檢驗結果之後，將可加入這個計劃：

a.年齡介於20 至40歲

b.體重介於理想體重的上下20%以內

理想體重= (身高－80) × 0.7

c.不抽煙

d.篩選時血液及尿液檢驗結果正常或主持醫師判定可接受

e.心電圖及胸腔x 光檢查結果正常或主持醫師判定可接受

f.受試者同意書簽署同意參與本試驗

B.排除條件：

如果受試者具有下列這些條件，或經其他臨床評估為不適合，將無法加入這個計劃：

a.曾患有心臟血管、代謝、血液、肺、腸胃、肝、腎、泌尿及精神系統之疾病而主持人認為會影響臨床試驗

b.篩選期前十四天曾服用任何藥物、含酒精產品參加試驗前有濫用藥物或酒癮的情況、對「納布芬」、「嗎啡」藥品成分或相似結構的化學物質，以及對中藥服用後會產生過敏

c.試驗前兩個月內曾捐血超過250 c.c.

d.篩選期前30天內曾接受過其他還在試驗階段的藥物

e.給藥前48小時喝酒或含咖啡因飲料

4.試驗設計及方法

本試驗全程於三軍總醫院臨床研究中心執行，受試者分三階段進行實驗，第一階段先給予受試者單一劑量之Nalbuphine (66mg)，經過至少一星期的washout period後繼續進行第二階段試驗，第二階段再同時給予單一劑量Nalbuphine (66mg) 及單一劑量龍膽瀉肝湯 (3g)；後再經過至少一星期的washout period後繼續進行第三階段試驗，第三階段則先給予多劑量之龍膽瀉肝湯，每天三次，每次三克，連續給予七天，在第七天最後一次給予給龍膽瀉肝湯後再立刻給予單一劑量之Nalbuphine (66mg)。參與試驗者共28人次。

所有受試者在篩選體檢時，除一般項目外，另需給予半乳 糖

並抽血檢測肝剩餘功能，半乳 糖單點法的試驗步驟如下在試驗開始前須先禁食8 小時以上。在試驗開始時，每位試驗者會在3 分鐘之內，靜脈注射給予每公斤0.5ml 的半乳糖溶液。注射半乳糖溶液60 分鐘之後，在指尖扎針並擠出血滴，用毛細管傾斜採血約八分滿，再將毛細管 立於濾紙的圓圈符號中心點滴上。半乳糖單點法乃是由我國學者胡幼圃與唐鴻舜發表於1992 年Digestion 期刊之方法，另外此方法也已被美國FDA 所核准。以上檢驗之結果須經主持醫師判定健康狀況合格後，才可參與本試驗之進行。

研究nalbuphine 併服中藥對於藥動性質的影響試驗中，健康自願者分兩階段 (cross-over study) 分別給予Nalbuphine 口服液，併用單劑量或多劑量的龍膽瀉肝湯。所有受試者在篩選體檢時，除一般項目外，另需給予半乳糖並抽血以檢測肝剩餘功能。試驗開始時受試者在給藥前先抽一次血，約24 毫升，之後服藥一次，從早上8 點起，受試者固定時間間隔抽血 (0.25、0.5、1、1.25、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12 及24 小時)，在抽完第12 小時的血液後，受試者即可返家休息，直到隔天早上8 點，受試者必須自行返回三軍總醫院臨床研究中心抽取第24 小時的血液檢體。

受試者參與nalbuphine 中西藥併服風險評估的臨床試驗，總計所需試驗時間約為2~8 天。所有血液檢體將以高效液相層析質譜儀(LC/MS/MS)分析其中nalbuphine 之濃度，並以獲得數據計算相對生體可用率、濃度時間曲線下面積、最高血中濃度、達到最高濃度的時間以及排除半衰期等藥動學參數。

5.評估及統計方法

受試者的試驗數據及統計分析 結果將會作一個整合性概述，藥物動力學數據以平均值及標準差描述，下列藥動學參數將會以nalbuphine血中濃度計算而得。

Kel藥物排除速率常數，以藥物血中濃度經時變化之排除相為根據，藉由簡單線性迴歸求得。

AUC0→t 由零時間到最後一個血中濃度量測點，藥物血中濃度經時變化之曲線下面積，藉由 trapezoidal rule 求得。

AUC0→∞ 由零時間到無窮大，藥物血中濃度經時變化之曲線下面積，藉由

trapezoidal rule 以及最後一點血中濃度估計而得(Cp/Kel)。

Tmax 血中藥物到達最高濃度之時間

Cmax　　最高藥物血中濃度

T1/2　　血漿藥物之移除半衰期(0.693/Kel)

MRT　　平均滯留時間 (AUMC0→∞/ AUC0→∞)

相對吸收速率將會以Nalbuphine 最高血中濃度(Cmax)及平均滯留時間(MRT)作比較，而吸收量則是利用Nalbuphine 血中濃度對時間作圖後之曲線下面積(AUC)估算。我們也將會針對GSP及藥動學參數之間做進一步的相關性分析，試驗中所得到的藥動學參數及數據上的顯著差異，將會以95%confidence interval 及ONEWAY ANOVA 或其他更適切的統計分析方法進行分析。

6.交互作用判定標準

根據美國FDA規範藥物-藥物交互作用的Guidance：「Drug Interaction Studies — Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labeling」裏對代謝酵素抑制的程度有如下表之分級：

等級	血中藥物之AUC增加倍數
強(strong)	≥ 5
中等(moderate)	2 ~ 5
弱(week)	1.25 ~ 2

由此，本計畫亦將套用此一標準來定義中西藥之交互作用的程度。

參、結果

一、子計畫一：外科手術病人服用中草藥之流行病學調查研究

在研究期間第一年計畫訪問了 1020 位，第二年計畫訪問了 938 位，二年共 1,958 位外科病人，其中 283 位拒絕受訪，247 位問卷填寫未完整，共有 1428 位外科病人完成問卷，其中再進一步經由住院病歷調閱與登錄其相關臨床資料，完成登錄了 1242 位病人，但其中 7 位未開刀即出院(圖一)。

(一)外科病人基本特性

研究期間訪問完成之 1428 位外科病人平均年齡為 45.5 歲，大部分為男性(56.4%)、已婚(61.5%)、教育程度為專科或大學(41.7%)與無罹患任何慢性疾病(51.5%)。骨科(33.5%)為最常見之手術科別，其次依序為耳鼻喉科(13.1%)、泌尿外科(9.7%)、一般外科(9.5%)、神經外科(7.9%)、婦科(7.4%)與其他科別(18.8%)。

(二)使用中草藥與保健食品之情形

在 1428 位受訪的外科手術病人中，過去一年內有 744(52.1%)位有使用中草藥，983(68.8%)位有使用保健食品之經驗。表二呈現利用年齡與性別分層中中草藥與保健食品之使用情形，女性使用中草藥與保健食品之比率都大於男性(61.0% vs. 45.2%; 74.6% vs. 64.3%)，且呈現在 31-40 年齡層中草藥的使用(因圖表在 31-40 年齡層出現一個高峰)比其它年齡層有較高的使用情形，而在保健食品則較無此差異。

表一至三顯示最常使用的前 15 種中草藥與保健食品情形，且大多數中草藥與保健食品使用的目的都為促進健康，除了咳嗽散、平胃散等主要用於治療某種疾病。在中藥複方部分，平常最常使用的複方為四神湯(1.0%)，依序為四物湯(0.8%)、咳嗽散(0.3%)等(表一)。在中藥單方部分，平常最常使用的為枸杞子(4.1%)，其它依序為山藥(4.1%)、大棗(3.7%)(表一)。在保健食品部分以維他命類(20.4%)最常使用，其它依序為綠茶(10.2%)與維骨力(10.2%) 等(表二)。

從研究調查 1428 位外科病人中，其所使用中草藥的主要來源為中醫師處方(44.6%)，其它依序為中藥房(26.0%)、親朋好友推薦(19.8%)與其他來源(9.6%)；保健食品主要來源為親朋好友推薦(39.5%)，其它依序為藥局(18.1%)、直銷(12.8%)與其他管道(29.6%)。

外科病人服用中草藥與保健食的型式常超過一種以上的使用方式。在中草藥部分，病人常服用傳統煎煮之湯或茶(42.6%)、濃縮科學中藥(33.6%)、傳統藥丸或粉末(30.8%)與藥膳(29.8%)等型態。

在保健食品部分以生物科技產品為大宗(89.1%)，其它依序為果汁或茶(17.9%)與其它(10.5%)。

在併用西藥部分，外科手術病人服用中草藥與保健食品常與一種以上之西藥合併使用。研究中顯示出可能有 38.0%的外科病人服用中草藥與西醫處方藥物一起使用，其中以抗高血壓藥物為最常見(16.3%)，其次依序為止痛劑(10.7%)、降血糖藥物(7.0%)與心臟病藥物(3.9%)。在保健食品部分，39.0%外科病人使用保健食品與醫師處方藥物，其中最常與保健食品一起使用之處方藥物也是抗高血壓藥物(18.4%)，其次依序為止痛劑(9.9%)、降血糖藥物(7.6%)與心臟病藥物(5.2%)。

(三)服用中草藥與保健食品相關因素分析

表三為經由卡方檢定後所得外科手術病人基本特質對其是否服用中草藥或保健食品比率之分析結果。結果發現，外科手術病人基本特質對其服用中草藥比率有達顯著差異之單變項有:年齡、性別及家庭所得，其餘變項皆未達統計顯著水準；而在保健食品部分，經由卡方檢定後所得外科手術病人基本特質對其是否影響其服用保健食品比率之分析結果有達顯著差異之單變項有:性別、教育程度、宗教信仰、家庭所得，其餘變項皆未達統計顯著水準。

再進一步帶入多元羅吉斯迴歸分析中，在中草藥部分，年齡變項，以 20-40 歲組為參考組，41-60 歲與 61-80 歲組二組之 OR 值都呈現顯著,也就是 41-60 歲服用中草藥之風險比 20-40 歲組少了 0.44 倍；61-80 歲組比 20-40 歲組少了 0.45 倍。性別變項，以男性為參考組，女性服用中草藥之風險值為男性的 2.03 倍。宗教信仰以無任何信仰為參考組，信仰道教與佛教服用中草藥之風險比率都比參考組大了 1.5 倍。家戶所得變項以無固定收入為參考組，家戶所得 1000~3000 美金組與大於 3001 美金組其風險值比參考組分別大 1.47 倍與 1.65 倍。另外，從事婦科手術之病人其服用中草藥之風險比率比一般外科病人大 2.25 倍(表四)。

在保健食品部分，性別變項，以男性為參考組，女性服用保健食品之風險值為男性的 1.94。教育程度變項，以高中以下為參考組，大學專科與研究所以上二組之 OR 值都呈現顯著，也就是大學專科組風險比參考組多了 1.74 倍;研究所以上組比參考組多了 4.44 倍。宗教信仰以無任何信仰為參考組，信仰佛教組服用保健食品之風險比率比參考組大了 1.52 倍。家戶所得變項以無固定收入為參考組，家戶所得 1000~3000 美金組與大於 3001 美金組其風險值比參考組分別大 1.50 倍與 1.93 倍(表五)。

(四)術中、後臨床數據

第二年將持續進行問卷的登錄與資料分析，瞭解中草藥對外科手術病人出血、死亡率影響，以及前 15 種外科病人常用中草藥與凝血的關係。

由表六中呈現外科手術病人術中、後相關臨床資料。外科手術病人對 WBC 值平均值為 7525.1，異常的比率為 12.1%；對凝血方面:Plt 平均值為 240.7，異常的比率為 8.8%，PT 平均值為 11.3，異常的比率為 12.8%，PTT 平均值為 28.1，異常的比率為 3.4%，INR 平均值為 1.0 異常的比率為 0.6%。而對腎功能 BUN 平均值為 156，異常的比率為 10.3%；Cr 平均值為 0.9，異常的比率為 25.7%；肝功能 AST 平均值為 25.0，異常比率為 6.8%，ALT 平均值為 28.5，異常比率為 14.4%。

由表七中呈現住院時狀況，異常出血的比率為 0.2%；有其他併發症的比率為 0.2%；發燒的比率為 8..0%；感染的比率為 5.7%；死亡的比率為 0.1%，平均住院天數為 5.14 天。

表八至表九為常見 15 種中草藥與保健食品其經常服用或未曾服用對外科手術病人其 WBC 與 PT、PTT、INR 值 (凝血)之單變項分析，除經常服用綠茶對 PTT 異常比有呈現顯著(P=0.030)外，其餘都未曾現統計顯著意義。死亡率部份之探討，因收案期間只收取到一名死亡病例，所以無法進一步進行分析。

表七中呈現外科手術病人異常出血、併發症或死亡的原因。經病歷調閱後，異常出血原因為手術前病人使用抗凝血劑造成術後凝血異常而出血；是否有其它併發症，如高血糖，因病人本身患有糖尿病，所以術後造成了發燒與高血糖併發症。死亡案例主要原因為病人升結腸癌住院開刀，但因導尿管感染引起敗血症與多器官衰竭。雖服用中草藥無太大關聯，然其是否有加成作用待進一步探討。

二、子計畫二：中西藥併用之交互作用臨床研究

Nalbuphine 於人類血漿中測定之標準曲線濃度範圍為 0.1～100 ng/mL。標準曲線異日間（n=6，如圖四）之線性迴歸，r 值為 0.9998，顯示本分析系統在所使用的濃度範圍內線性關係良好，精密度（precision, CV）與準確度（accuracy, ％error）皆在 15％規定範圍之內。

Nalbuphine 的分析確效驗證，包括 LLOQ (0.1ng/mL)、LQC (0.3ng/mL)、Medium QC (40ng/mL)、High QC (80ng/mL)四種濃度，其同日間（n=6）及異日間（n=6）之精密度（precision, CV）與準確度（accuracy, ％error）皆在 15％規定範圍之內，如表十五。

如圖五所示，當受試者給予單一劑量龍膽瀉肝湯(3g/人)併服 Nalbuphine

(66mg/人)及服用多劑量龍膽瀉肝湯(3 g、TID、7 days)併服 Nalbuphine (66mg)後，受試者體內血漿之 Nalbuphine 濃度會在吸收相顯著升高，而由表十六之 Nalbuphine 動力學參數來看，控制組的 Nalbuphine 體內最高濃度(Cmax)由 25.49 ± 9.97 ng/mL，升高至 44.96 ± 15.48 ($p < 0.01$，單劑量組)及 43.74 ± 12.26 ($p < 0.01$,，多劑量組) ng/mL。代表體內吸收藥物的總量的 AUCt，則由控制組的 112 ± 54.2 hr*ng/mL，升高至單劑量之 152 ± 47 及多劑量之 179 ± 22 hr*ng/mL ($p < 0.001$)，增加吸收達 1.36 倍及 1.6 倍；藥物在體內的半衰期則由控制組的 7.31 ± 3.41，增加到 8.48 ± 2.17 ($p < 0.05$，單劑量組)、10.82 ± 2.69 ($p < 0.05$，多劑量組)。而代表藥物清除速率的 Cl/F，由控制組的 654 ± 313 L/hr，減緩至單劑量之 451 ± 197 及多劑量之 322 ± 37 ($p < 0.05$)；由此可知，龍膽瀉肝湯與 Nalbuphine 併服會造成藥物交互作用。

肆、討論

一、子計畫一：外科手術病人服用中草藥之流行病學調查研究

本研究為第一篇調查華人外科手術病人使用中草藥與保健食品的情形，而本篇研究結果顯示台灣外科手術病人使用中草藥與保健食品是一很普遍的現象，且盛行(使用)率比西方國家相類似之研究結果還高[9-14]。在加拿大所作的電話調查訪問，結果呈現華人使用草藥療法之比率比白人還高(48.7% vs 33.7%)[15]。而這可能的原因是中草藥的使用已在中國數千年至今，一直扮演著健康促進、預防疾病與疾病治療的重要角色，所以其已被廣泛的使用在日常飲食中與被當作預防或疾病治療的重要方法之一。而在華人社會中包含了新加坡、香港與台灣等地區，雖已建立完善的西醫治療體系，但在中草藥的使用仍然是很普遍的情形[5, 16]。且在台灣中草藥與保健食品的使用是一很重要的健康行為。根據我們研究的結果顯示使用中草藥的年齡高峰為 31-40 歲且女性高於男性(圖二)，而這結果與陳所作的研究結果一致[17]。經由羅吉斯分析後呈現性別、家戶所得與教育程度與使用中草藥與保健食品有強烈的關連。外科手術病人傾向服用中草藥與保健食品的特徵與其他服用草藥與保健食品的文獻也有相類似的結果:女性、較高所得較有可能使用或服用草藥與保健食品[9, 12-13]。

根據帕雷托法則（又稱作 80/20 法則），應該關注於關鍵的少數，也就是少部分中草藥與保健食品品項卻已涵蓋了大部分外科病人服用之品項。所以我們歸納出前 15 名之中草藥與保健食品，且都已佔服用比率的 75%以上，對後續的研究提供了一個重要的參考數據。

而我們的研究也呈現了在中草藥與保健食品使用的範疇方面不同於西方文獻的結果。在中藥單方部分，只有一篇香港研究文獻討論外科手術病人服用的情形[10]，而我們研究結果與香港調查研究有相類似的結果，其中香港的調查結果顯示最常使用的中藥單方為淮山(山藥)，依序為枸杞子、桂圓、人參等。在我們研究中，我們發現最常使用的中草藥複方與單方大都用在飲食或健康促進上，只有一小部分用於治療疾病上。在一家醫院所做的調查研究顯示中醫的藥物使用模式，最常開立的中草藥為紅花，其它依序為知母與枸杞子，最常見的中藥複方為加味逍遙散，其它依序為酸棗仁湯與香砂六君子[5]。中草藥複方使用情形部分，因國內外尚無針對這議題而發表之相關文獻，所以參照中醫門診 2002-2004 年全民健保方劑用量(如表十)[18]，使用量前 50 名之處方，進行對比，結果呈現本研究前 15 名之中草藥複方只有六味地黃丸及平胃散有列入全民健保方劑用量前 15 中，分別為第 10 名與第 14 名。補中益氣湯與咳嗽散有列入前 30 名中，分別為第 20 名與第 24 名。

保健食品部分，與美國零售資料作一對比，可以發現美國使用之情形與國內使用之情形有很大之差異，前 13 名銷售最好之草藥依序為:紫錐菊、大蒜、北美黃蓮、人蔘、銀杏、鋸棕櫚、蘆薈、麻黃、刺五加、蔓越莓、金絲桃草、纈草、小白菊[19]，而這與我們所作之調查研究有很大的不同，其中有許多草藥在本研究中都未曾被調查出，而這之間的差異主要可能原因為文化背景與信仰的不同。歐美與我國除了在服用情形上很不一樣，其服用形式上也有很大之差異。在西方已開發國家，使用草藥療法大都是以膠囊為主；但在台灣或華人地區，服用中草藥來源與方法是很複雜的，其來源與形式可能來自中醫師健保濃縮中藥處方或傳統飲片處方、中藥房購買之固有成方飲片、丸、散、膏、丹、藥酒、藥膳飲片等、西藥房可購買之中成藥製品及其它來源，如傳統或年貨市場提供之中醫固有與民間藥膳方飲片、餐飲業、購物商場與坐月子中心等，所以很難去準確定量。

由本研究可以得知國內外科手術病人使用中草藥物的情形大都是以濃縮科學中藥、煎煮之藥湯或茶、藥膳等為主，而這種使用模式也與歐美西方使用草藥之方式有很大的不同。而在銷售方面，由表十一呈現了美國草藥銷售之形式大都為單味萃取藥，佔了 65%，而國人主要使用之形式為保健食品 47%、食補 33%、濃縮科學中藥 13%及傳統中藥 7%等形式[20-21]，且美國人每人每年平均購買了 520 元草藥相關產品,但國人每人每年平均 1087 元，是美國的兩倍以上。

目前研究顯示大約 40%的外科病人服用中草藥與保健食品與醫師處方一起合併使用。相關的文獻已經發現使用某些草藥可能會提高血壓與增加外科手術出血風險[22]。依據目前許多的臨床試驗與病例報告，中草藥與保健食品可能會與藥物產生交互作用的情形，但目前仍有許多中草藥與保健食品未被研究所確認與預測出[23]。然而潛在的交互作用最有可能發生在治療指數狹窄的藥物，如 warfarin[23]，醫師所以應意識到這種可能的交互作用，特別是與手術期間出血、心臟血管的穩定有關及與常見的鎮靜與心臟藥物產生交互作用[24]，如黨參、當歸、銀杏與大蒜等有抗凝血的效果，因此會增加手術期間出血的風險[16]。因為會增加手術期間副作用的風險，所以在接近手術時使用中草藥是不被鼓勵的[25]。因此當外科病人使用中草藥與保健食品應增加麻醉醫師的警覺，尤其當病人有合併使用多種藥物與中草藥或保健食品時。

根據相關之文獻，國外已有研究去探討草藥療法與西藥間可能產生之交互作用，且已有研究歸納出少部分之草藥產品，卻可以涵蓋了大部分可能產生之不良反應。在美國梅約醫學中心所做之研究，五個最常見使用之草藥產品（大蒜、纈草、銀杏、卡瓦根、金絲桃草），卻包含了 68%可能產生之臨床顯著之交互作用；而四類處方藥物（抗血栓藥物、鎮靜藥物、

抗憂鬱藥物及抗糖尿病藥物），卻包含了 94%可能產生之臨床顯著交互作用 [26]。在本研究已歸納出前 15 種常用之中草藥複方、單方及保健食品品項，可以涵蓋 75%以上之使用率，且根據帕雷托定理，未來研究應針對這 15 種常用之中草藥複方、單方及保健食品對外科病人手術過程中可能造成之風險進行探討。

從文獻探討可得知有些中草藥產品會與麻醉藥物產生交互作用，造成手術過程中、後，對病人疾病癥狀產生副作用，常見的不良反應有出血、心臟循環系統（含血壓改變）、鎮靜作用及電解質的平衡等。表十二整理出前 15 種中草藥單方中、英文名及可能造成的心血管、鎮靜及免疫之功效 [27]。其中可能會對心血管系統造成影響（含血壓改變）之中草藥單方有枸杞子、山藥、人參、菊花、當歸、決明子、黃耆等單方；會影響鎮靜作用之中草藥單方有紅、黑棗、薏苡仁、人參及茯苓等單方；會造成利尿作用之中草藥單方有山藥、牛蒡及茯苓。

在中草藥與保健食品中可能會抑制血小板凝集，而造成手術過程中出血之風險藥物有鳳梨酵素、軟骨素、當歸、魚油、亞麻子油、大蒜、薑、銀杏、綠茶及薑黃等產品，如表十三及表十四，且大部分中草藥與保健食品都會與 warfarin 產生交互作用，所以應該針對這類指標藥物，當病人有服用這類藥物時，必須考慮其所服用之中草藥或保健食品是否會對其產生交互作用之風險，且 warfarin 因會與大部份之酵素蛋白質結合，且個體間對於 warfarin 的劑量反應不同，會受到基因多型性、藥物、飲食與疾病狀況的影響，因此病人在服用 warfarin，時必須嚴格監控其 INR (International normalized ratio)等臨床數據，避免造成出血的症狀 [28]。會影響 warfarin 抗凝血作用之中草藥或保健食品，有增加抗凝血作用，如當歸、銀杏、丹參、大蒜、生薑、菊花與木瓜酵素等；減少抗凝血作用的如綠茶、金絲桃草與輔助酵素 Q10 等，而辣椒也曾被懷疑會降低凝血功能，但目前尚未有明確之證據 [29]。根據目前隨機對照試驗，人參、金絲桃草已被證實會降低 warfarin 的效果，所以針對病人服用中草藥或保健食品的建議為避免服用瘀血化瘀或會增加出血危險性之藥物 [28]。

表十三及表十四關於術前停用之建議，很多草藥產品與保健食品都未提供相關之建議。在中草藥部分，國外使用草藥之情形與服用方式與我國有很大的差異，國外多為單味萃取藥物之膠囊或錠狀等，但國人服用之形式複雜，有濃縮科學中藥、煎煮之藥湯或茶、傳統製作之飲片、丸、散、膏、丹、藥酒、藥膳飲片及藥膳等，關於術前停用之建議並不完全適合於國內情形。未來需投入更多研究人員，進一步實證研究，找出服用哪些中草藥可能會對病人於手術期間造成其血壓、凝血、免疫等不良反應，並提供相關之停用建議。

研究優點與限制：

本研究的優勢主要在使用問卷廣泛的調查使用草藥補充品的情形，包含中藥複方、單方與保健食品的情形。由於中草藥、草藥與保健食品間定義的模糊，一個草藥產品可能在我們國家被歸類為中草藥，但在其他國家可能被歸類為草藥或保健食品。這之間的界線與範疇並不明顯，所以我們必須包含這三類型在我們研究裡去探討。

然而本研究限制主要有三:第一為因為本研究的樣本主要為外科病人，所以研究的結果並不適用於外推至一般的研究族群。第二為本研究為橫斷式研究並不能建立明確的因果關係。且本次研究雖收取了一千多位外科手術病人，但飲食的多樣性與人口、疾病特徵的影響，須待進一步的實驗與研究去證實其可能的影響。第三為使用中草藥與保健食品的概念很難被完全定義清楚，因為草藥普遍使用在華人社會且廣泛的使用在各種日常生活中，甚至有些草藥已成為一般生活飲食的一部分。

伍、結論與建議

一、子計畫一：外科手術病人服用中草藥之流行病學調查研究

中草藥使用在華人地區已有很長時間的使用歷史，我們的研究是國內第一次調查中藥複方單方使用情形於外科手術病人，且已證實外科手術病人有很高的比率使用中草藥與保健食品在健康促進或治療疾病上。然而有許多外科病人使用中草藥與保健食品與西方醫學藥物一起合併使用，有些中草藥與保健食品可能因本身具有的藥理活性或與麻醉藥劑的交互作用而造成手術過程中的不良反應。所以麻醉醫師或外科醫師應該意識到外科手術病人可能服用中草藥與保健食品，並根據文獻實證研究瞭解其可能產生的益處或傷害。

最後，經由以上分析，可知外科手術病人於術前服用中草藥與保健食品是一很普遍之現象，已有許多文獻證實一些中草藥與保健食品可能會造成抑制凝血功能、造成心血管作用、增強麻醉藥效及改變體內電解質的平衡等副作用，台灣病人中西藥合併服用之情形一直有很高的比率，而有多少病人於手術前因服用中草藥而造成手術過程中、後生命徵象的不穩地、凝血、出血及併發症的增加，且台灣對於這方面的研究目前還是缺乏實證，去提供一可靠之參考數據。

台灣外科手術麻醉病人之併發症與死亡率一直高居不下，根據台灣麻醉醫學會 2009 年所做的麻醉併發症及死亡率調查研究呈現台灣麻醉死亡率為十萬分之十一點九，是歐美日等國的數十倍以上，且其中有 50%以上原因是可以預防的[30]，而不知道其中有多少是因為病人於術前服用中草藥或保健食品這類產品所導致?

所以建議醫院應關注外科病人於術前使用中草藥這議題，制訂相關政策，且於外科手術評估單張中，設計一固定之欄位可以記載這類非西藥的用藥情形；而外科醫師或麻醉醫師也應列入術前評估的項目之一，獲得病人完整的用藥史；而病人也應被教育，打破天然即是安全無副作用的迷思。除此之外，醫師與病人皆需注意哪些中草藥或保健食品可能與西方醫學藥物產生不良反應，減少其可能交互作用，確保病人之用藥安全。在所有中草藥或保健食品可能產生的交互作用被證實或澄清前，建議外科或麻醉醫師應採取較較謹慎的態度。

二、子計畫二：中西藥併用之交互作用臨床研究

(一)服用單劑量及多劑量龍膽瀉肝湯後併服 nalbuphine 結果即發現 nalbuphine 最高血中濃度及吸收量顯著高於單獨口服 nalbuphine 者，多劑量組的影響高於單劑量組，進一步確認膽瀉肝湯併服 nalbuphine 之交互作用的情形。

(二)本計畫依據前三年計畫成果，由體外試驗中會顯著抑制代謝酵素活性的中藥來進行大鼠體內藥動試驗，再從中挑選與西藥併服後會產生顯著的藥物-藥物交互作用的中藥來進行本計畫的人體試驗，結果顯示體內體外試驗之相關性甚高，未來，使用體外試驗快速且大量篩檢中西藥交互作用是值得參考的工具。

(三)在摘要及結果中所提及之對藥物藥動學參數有「顯著影響」，意指民眾若服用會「顯著影響」藥物藥動學參數之中藥後，同時併服其他藥物時即可能使藥物在體內的濃度產生不預期之變化，進而可能造成藥物失效或產生副作用的情形。

誌謝

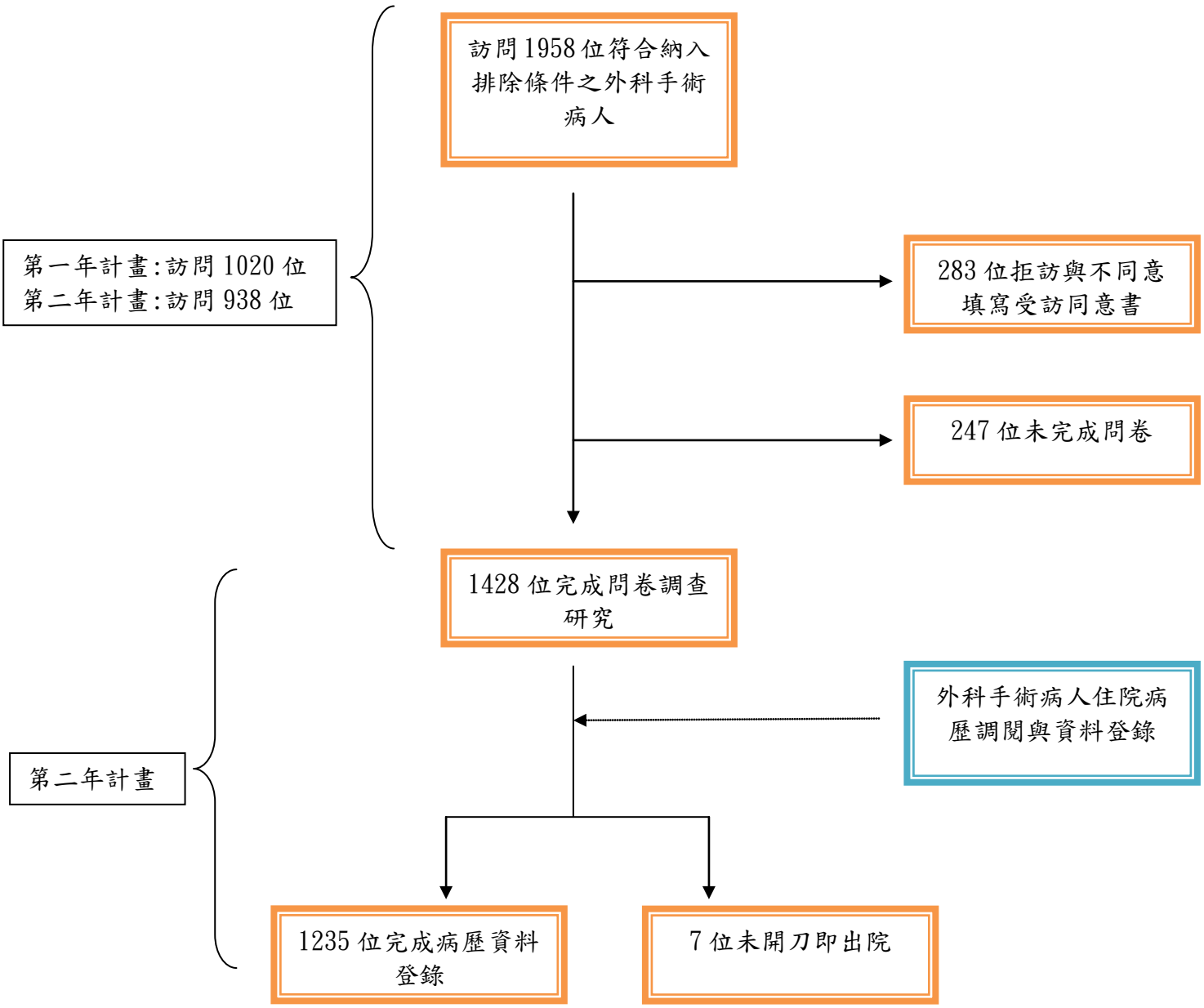
本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-103 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

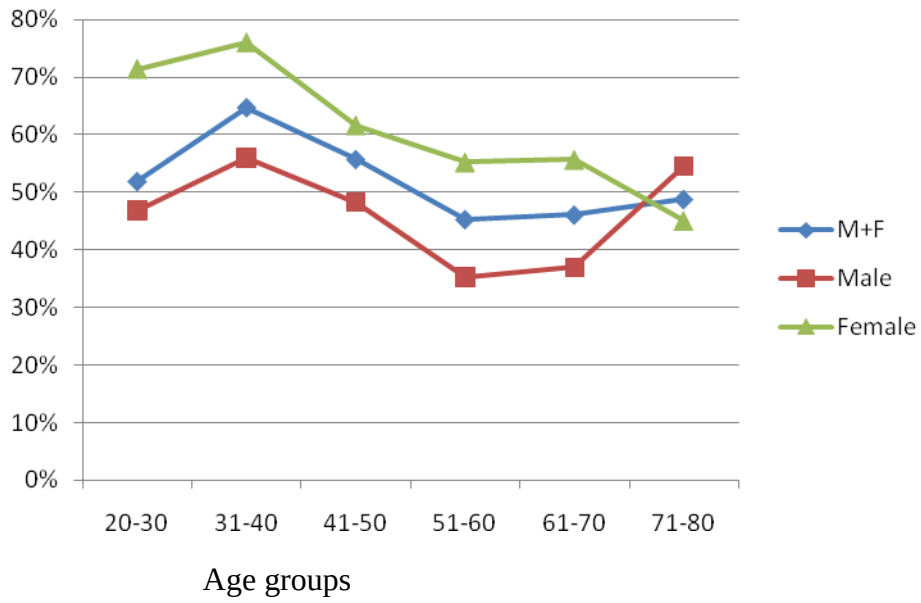
1. Hosbach I, Neeb G, Hager S, Kirchhoff S, Kirschbaum B. In defence of traditional Chinese herbal medicine. Anaesthesia 2003;58:282-3; author reply 3.
2. Haller CA, Benowitz NL. Adverse cardiovascular and central nervous system events associated with dietary supplements containing ephedra alkaloids. N Engl J Med 2000;343:1833-8.
3. Almeida JC, Grimsley EW. Coma from the health food store: interaction between kava and alprazolam. Ann Intern Med 1996;125:940-1.
4. Dorman T. Herbal medicine and anesthesia. Curr Opin Anaesthesiol 2001;14:667-9.
5. Chen LC, Wang BR, Chou YC, Tien JH. Drug utilization pattern of Chinese herbal medicines in a general hospital in Taiwan. Pharmacoepidemiol Drug Saf 2005;14:651-7.
6. Tessier DJ, Bash DS. A surgeon's guide to herbal supplements. J Surg Res 2003;114:30-6.
7. Heyneman CA. Preoperative considerations: which herbal products should be discontinued before surgery? Crit Care Nurse 2003;23:116-24.
8. Kennedy JM, van Rij AM, Spears GF, Pettigrew RA, Tucker IG. Polypharmacy in a general surgical unit and consequences of drug withdrawal. Br J Clin Pharmacol 2000;49:353-62.
9. Adusumilli PS, Ben-Porat L, Pereira M, Roesler D, Leitman IM. The prevalence and predictors of herbal medicine use in surgical patients. J Am Coll Surg 2004;198:583-90.
10. Critchley LA, Chen DQ, Lee A, Thomas GN, Tomlinson B. A survey of Chinese herbal medicine intake amongst preoperative patients in Hong Kong. Anaesth Intensive Care 2005;33:506-13.
11. Crowe S, Lyons B. Herbal medicine use by children presenting for ambulatory anesthesia and surgery. Paediatr Anaesth 2004;14:916-9.
12. Leung JM, Dzankic S, Manku K, Yuan S. The prevalence and predictors of the use of alternative medicine in presurgical patients in five California hospitals. Anesth Analg 2001;93:1062-8.
13. Skinner CM, Rangasami J. Preoperative use of herbal medicines: a patient survey. Br J Anaesth 2002;89:792-5.
14. Tsen LC, Segal S, Pothier M, Bader AM. Alternative medicine use in presurgical patients. Anesthesiology 2000;93:148-51.
15. Quan H, Lai D, Johnson D, Verhoef M, Musto R. Complementary and

alternative medicine use among Chinese and white Canadians. Can Fam Physician 2008;54:1563-9.
16. Kam PC, Liew S. Traditional Chinese herbal medicine and anaesthesia. Anaesthesia 2002;57:1083-9.
17. Chen FP, Chen TJ, Kung YY, et al. Use frequency of traditional Chinese medicine in Taiwan. BMC Health Serv Res 2007;7:26.
18. 張賢哲. 道地藥材圖鑑. 台中市: 中國醫藥大學; 2008.
19. Blumenthal M, Lindstrom A, Lynch ME, P R. Herb sales continue growth-up 3.3% in 2010. HerbalGram (American Botanical Council) 2011;90:64-7.
20. Council AB. Herbal Supplement Sales Rise in All Channels in 2009. HerbalGram (American Botanical Council) 2010;86:62-5.
21. 2008 年台灣中草藥市場概述. 2010. (Accessed Oct. 1, 2010, at http://www.tcmp.com.tw/chinese.)
22. Allen-Davis W, Fletcher H, Davis C, Frankson M. Commonly used botanicals and vitamins and their impact on blood pressure and blood loss in surgical gynaecology patients. J Obstet Gynaecol 2010;30:272-6.
23. Chavez ML, Jordan MA, Chavez PI. Evidence-based drug--herbal interactions. Life Sci 2006;78:2146-57.
24. deAzevedo Pribitkin E. Herbal Medicine and Surgery. Seminars in Integrative Medicine 2005;3:17-23.
25. Lee A, Chui PT, Aun CS, Lau AS, Gin T. Incidence and risk of adverse perioperative events among surgical patients taking traditional Chinese herbal medicines. Anesthesiology 2006;105:454-61.
26. Sood A, Sood R, Brinker FJ, Mann R, Loehrer LL, Wahner-Roedler DL. Potential for interactions between dietary supplements and prescription medications. Am J Med 2008;121:207-11.
27. Dictionary of Chinese Herbs. (Accessed Oct. 1, 2010, at http://alternativehealing.org/chinese_herbs_dictionary.htm.)
28. 鄭名惠. 如何正確使用 warfarin. 成大藥誌 2007;17:第 5-8 版.
29. 李建瑩, 施宏哲, 蔡敏鈴. Warfarin 與中草藥之交互作用. 藥學雜誌 2008;24:135-42.
30. Liu TC, Wang JO, Chau SW, et al. Survey of 11-year anesthesia-related mortality and analysis of its associated factors in Taiwan. Acta Anaesthesiol Taiwan 2010;48:56-61.

柒、圖、表

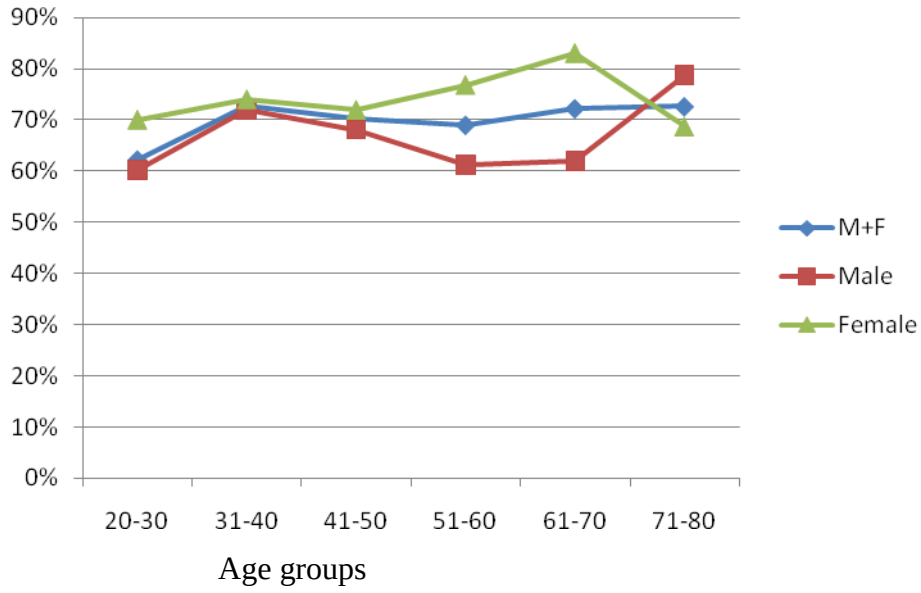

訪問1958位符合納入排除條件之外科手術病人
第一年計畫:訪問1020位
第二年計畫:訪問938位
283位拒訪與不同意填寫受訪同意書
247位未完成問卷
1428位完成問卷調查研究
外科手術病人住院病歷調閱與資料登錄
第二年計畫
1235位完成病歷資料登錄
7位未開刀即出院

圖一、流程圖



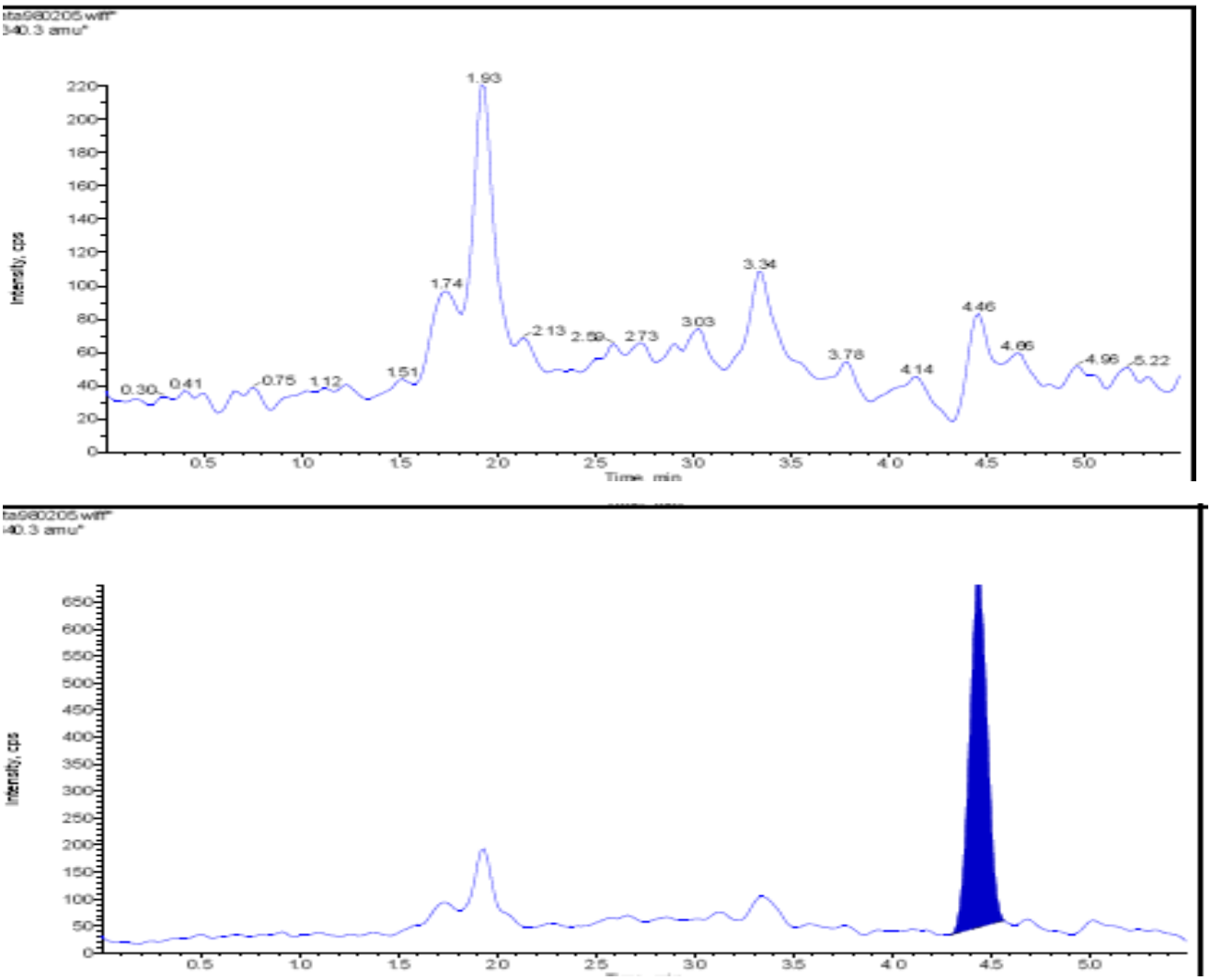
圖二、Prevalence of TCHM Use in the surgical patients

Fig 1(a) Prevalence of TCHM Use in the surgical patients



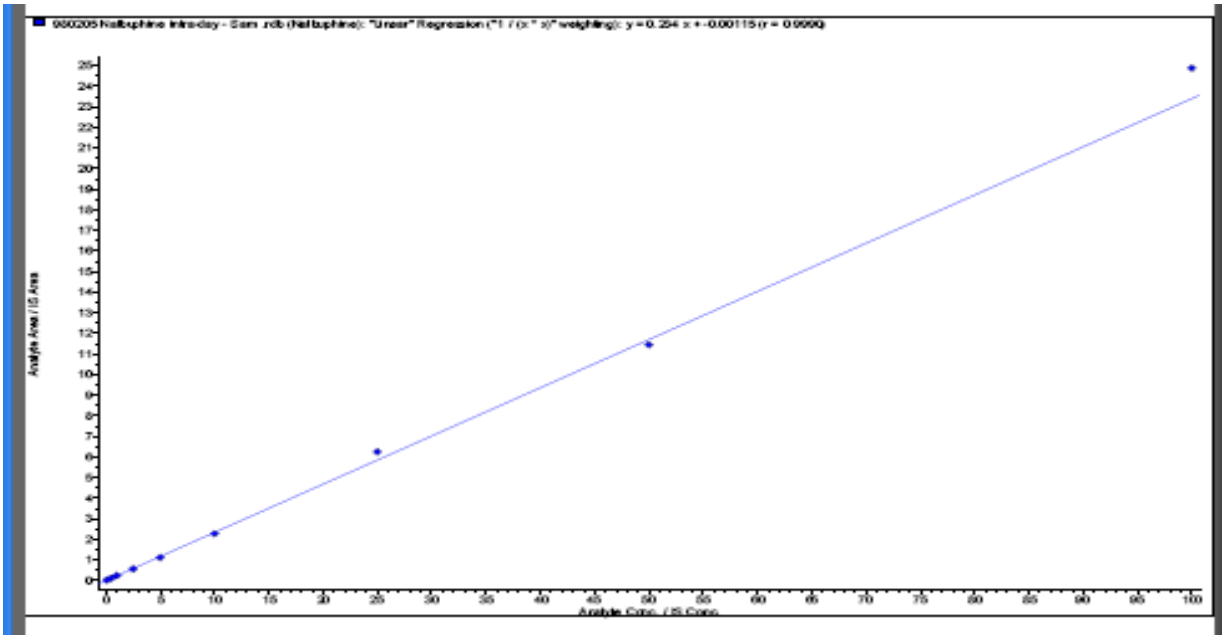
圖二、Prevalence of TCHM Use in the surgical patients

Fig 1(b) Prevalence of Use of Supplements in the surgical patients

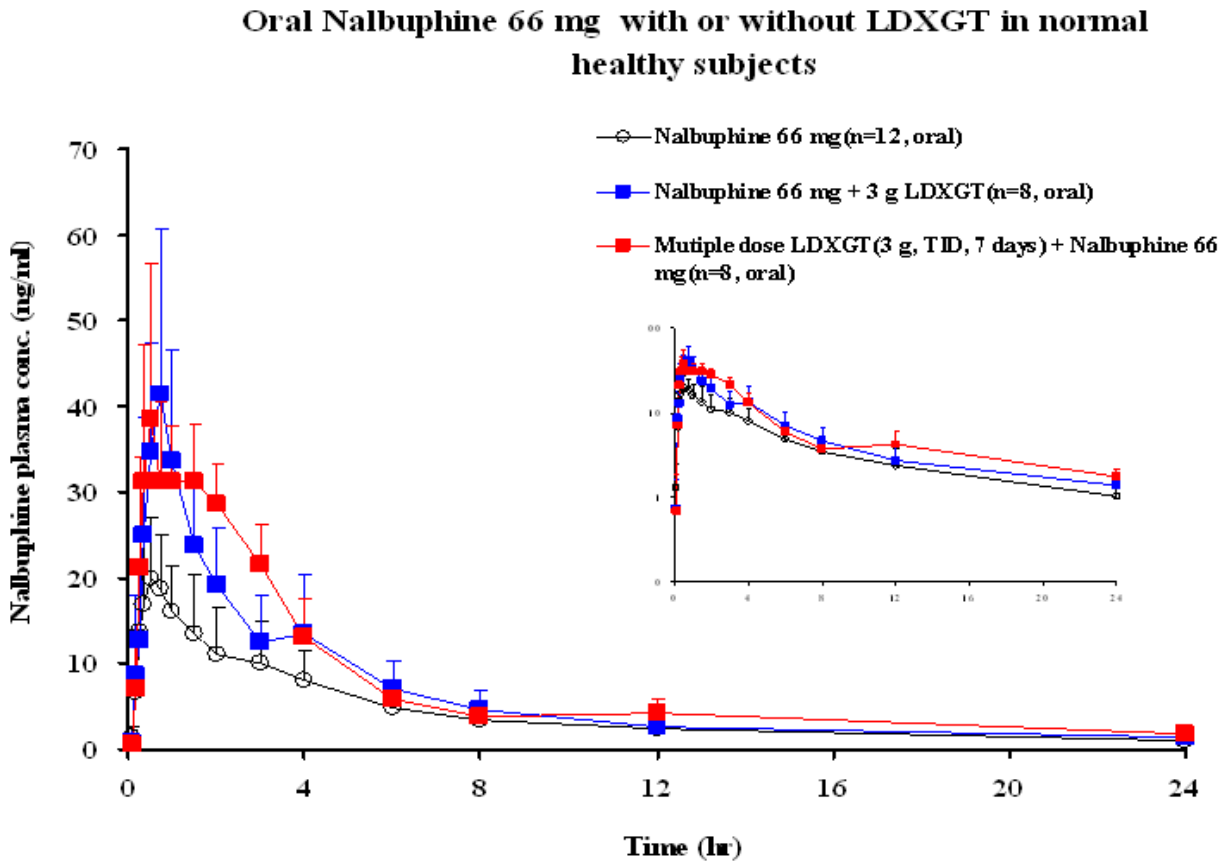


圖三、上：人類空白血漿不含 Nalbuphine 的液相層析串聯質譜圖譜

下：人類血漿含 Nalbuphine 最低可定量濃度(LLOQ : 0.1 ng/mL)的液相層析串聯質譜圖譜



圖四、Nalbuphine 於人類血漿中 LC-MS-MS 同日間之標準曲線



圖五、健康受試者口服 Nalbuphine(66 mg)與服用單劑量(3 g)及多劑量龍膽瀉肝湯(3 g、TID、7 days)後併服 Nalbuphine(66mg)對其 Nalbuphine 血中濃度之影響(小圖為半對數座標)

表一、List of Top-15 Traditional Chinese Herbal formulae and single Chinese herbals used by surgical patients (n=1428)

Chinese Herbal formula	Regular use A (%)	Casual use B (%)	Consumption Rate C=A+B (%)	Reason *	Single Chinese herbals	Regular use A (%)	Casual use B (%)	Consumption Rate C=A+B (%)	Reason*
Szu-Shen-Tang	1.0	23.9	24.9	P	Gou-qi-zi (Wolfberry fruit)	4.1	28.9	33.0	P
Szu-Wu-Tang	0.8	16.0	16.8	P	Shan-yao (Chinese yam)	4.1	27.1	31.2	P
Hai-Sou-San	0.3	8.9	9.2	T	Da-zao (Jujube)	3.7	28.2	31.9	P
Liu-Wei-Ti-Huang-Wan	0.3	2.3	2.6	P	Lian zi (Lotus seed)	2.4	28.2	30.6	P
Suan-Tong-Wan	0.3	1.5	1.8	T	Niu-bang (Arctium lappa)	1.8	21.8	23.6	P
Shih-Chuan-Ta-Pu-Tang	0.2	10.4	10.6	P	Ren-shen (Ginseng)	1.7	22.6	24.3	P
Huang-Lien-Chieh-Tu-Tang	0.2	4.5	4.7	P	Ju-hua (Chrysanthemum flower)	1.6	17.9	19.5	P
Bu-Yao-Jiu	0.2	6.0	6.2	P	Yi-yi-ren (Coix seed)	1.5	11.8	13.3	P
Dang-Gui-Bu-Xue-Tang	0.1	8.9	9.0	P	Long-yan (Longan pulp)	1.3	24.4	25.7	P
Yun-Gong-San	0.1	5.2	5.3	P	Huang-qi (Astragalus root)	1.2	20.7	21.9	P
Sheng-Hua-Tang	0.1	4.0	4.1	P	Dong-guai (Chinese angelica root)	1.1	28.0	29.1	P
Gui-Lu-Er-Xian-Jiao	0.1	3.4	3.5	P	Luo-han-guo (Momordica fruit)	0.8	17.1	17.9	P
Ping-Wei-San	0.1	3.2	3.3	T	Jue ming zi (Cassia tora seed)	0.7	12.7	13.4	P
Pu-Chung-I-Chi-Tang	0.1	3.3	3.4	P	Lu-hui (Aloe)	0.6	14.8	15.4	P
Suan-Tong-Yao-Jiu	0.1	2.7	2.8	P	Fu-ling (Indian bread)	0.6	6.2	6.8	P

*Most common reasons for use: promotion of health (P), treatment of illness (T), and others.

表二、List of Top-15 Supplements used by surgical patients (n=1428)

Supplements	Regular use A (%)	Casual use B (%)	Consumption Rate C=A+B (%)	Reason*
Vitamins	20.4	22.5	42.9	P
Green tea	10.2	17.2	27.4	P
Glucosamine	10.2	11.7	21.9	P
Onion	7.2	14.7	21.9	P
Calcium supplement	7.1	16.9	24.0	P
Ginger	6.1	13.9	20.0	P
Cayenne	6.0	12.5	18.5	P
Shiitake mushrooms	5.7	10.2	15.9	P
Vitamin E	4.9	17.0	21.9	P
Fish oil	4.6	11.6	16.2	P
Probiotic	4.0	12.3	16.3	P
Honey	3.5	22.3	25.8	P
Cranberry juice	2.8	22.9	25.7	P
Lutein	2.5	2.8	5.3	P
Enzyme	2.4	7.4	9.8	P

*Most common reasons for use: promotion of health (P), treatment of illness (T), and others.

表三、Demographic Characteristics of Surgical Patients

Variable		TCHM		P value	Supplements		P value
		Users	Non-users		Users	Non-users	
Age (yr)							
	20-40	319 (57.0)	241 (43.0)	0.009	372 (66.4)	188 (33.6)	0.205
	41-60	301 (49.8)	303 (50.2)		420 (69.5)	184 (30.5)	
	61-80	124 (47.0%)	140 (53.0)		191 (72.3)	73 (27.7)	
Gender							
	Male	364 (45.2)	441 (54.8)	<0.001	518 (64.3)	287 (35.7)	<0.001
	Female	380 (61.0)	243 (39.0)		465 (74.6)	158 (25.4)	
Education level							
	High school or less	363 (49.7)	368 (50.3)	0.173	470 (64.3)	261 (35.7)	<0.001
	College/University	324 (54.4)	272 (45.6)		427 (71.6)	169 (28.4)	
	Graduate training/degree	52 (55.9)	41 (44.1)		80 (86.0)	13 (14.0)	
Marital status							
	Single	222 (52.9)	198 (47.1)	0.913	274 (65.2)	146 (34.8)	0.152
	Married	453 (51.6)	425 (48.4)		613 (69.8)	265 (30.2)	
	Divorced/widowed	63 (52.1)	58 (47.9)		88 (72.7)	33 (27.3)	
Religions							
	none	209 (47.3)	233 (52.7)	0.099	280 (63.3)	162 (36.7)	0.018
	Taoism	198 (54.2)	167 (45.8)		252 (69.0)	113 (31.0)	
	Buddhism	257 (54.8)	212 (45.2)		337 (71.9)	132 (28.1)	
	Others	75 (53.6)	65 (46.4)		104 (74.3)	36 (25.7)	

Variable		TCHM		P value	Supplements		P value
		Users	Non-users		Users	Non-users	
Household income							
	No stable income	89 (41.0)	128 (59.0)	0.005	132 (60.8)	85 (39.2)	<0.001
	≦US $ 1000	108 (52.4)	98 (47.6)		129 (62.6)	77 (37.4)	
	US $ 1001-3000	339 (53.9)	290 (46.1)		443 (70.4)	186 (29.6)	
	≧US $ 3001	128 (55.9)	101 (44.1)		181 (79.0)	48 (21.0)	
Working status							
	Employed	243 (53.1)	215 (46.9)	0.440	324 (70.7)	134 (29.3)	0.629
	Not working	314 (55.7)	250 (44.3)		390 (69.1)	174 (30.9)	
No. of chronic disease	0	377 (52.4)	343 (47.6)	0.047	480 (66.7)	240 (33.3)	0.096
	1	262 (54.9)	215 (45.1)		348 (73.0)	129 (27.0)	
	2	58 (45.3)	70 (54.7)		84 (65.6)	44 (34.4)	
	≧3	29 (40.3)	43 (59.7)		47 (65.3)	25 (34.7)	

Data are shown as **n (%)**

表四、Associated factors for TCHM use in the multivariate logistic regression analysis

Variables	β	Odds Ratio	P value	95% CI	
Age group (41-60)	-0.58	0.56	<0.01	0.39	-0.79
Age group (61-80)	-0.60	0.55	0.01	0.35	-0.86
Gender (Female)	0.71	2.03	<0.01	1.54	-2.68
Religion (Taoism)	0.42	1.53	<0.01	1.11	-2.10
Religion (Buddhism)	0.42	1.52	<0.01	1.12	-2.08
Household income US $ 1001-3000)	0.38	1.47	0.03	1.04	-2.07
Household income (≧US $ 3001)	0.50	1.65	0.02	1.08	-2.52
Gynecology	0.81	2.25	0.01	1.19	-4.25

Note:

1. All demographic factors entered into the model: age, gender, education level, marital status, religion, household income, working status, number of chronic disease, history of chronic disease and type of surgery.
2. The categorical references for variables under logistic regression analysis - age group: 20-40yr; gender: male; education level: high school or less; marital status: single; religion none; household income: no stable income; working status: employed; number of chronic disease: none; surgical specialty: general surgery.

表五、Associated factors for Supplements use in the multivariate logistic regression analysis

Variables	β	Odds Ratio	P value	95% CI	
Gender (Female)	0.66	1.94	<0.01	1.43	-2.64
Education (College/University)	0.55	1.74	<0.01	1.29	-2.35
Education (Graduate training/degree)	1.49	4.44	<0.01	2.25	-8.75
Religious (Buddhism)	0.42	1.52	0.01	1.09	-2.12
Household income US $ 1001-3000)	0.40	1.50	0.03	1.05	-2.14
Household income (≧US $ 3001)	0.66	1.93	0.01	1.21	-3.08
Congenital disease	-1.70	0.18	0.04	0.03	-0.96

Note:

1. All demographic factors entered into the model: age, gender, education level, marital status, religion, household income, working status, number of chronic disease, history of chronic disease and type of surgery.
2. The categorical references for variables under logistic regression analysis - age group: 20-40yr; gender: male; education level: high school or less; marital status: single; religion none; household income: no stable income; working status: employed; number of chronic disease: none; surgical specialty: general surgery.

表六、術前臨床數據

臨床數據	平均值	標準差	最小值	最大值	安全值	異常比率	單位
WBC	7525.1	2694.7	1500	23000	4.50-11.0	12.1	$10^3/\mu L$
Hgb	13.3	2.1	0.6	18.1	13.5-18.0	41.0	g/dL
Plt	240.7	74.3	34	701	150-400	8.8	$10^3/\mu L$
PT	11.3	1.5	9.1	46.0	8-12	12.8	
PTT	28.1	3.1	1.0	78.0	23.9-35.5	3.4	
INR	1.0	1.0	0.7	31.3	<1.5	0.6	
Glucose	111.8	43.0	52	460	74-109	36.5	mg/dL
Bun	15.6	8.6	5	115	6-20	10.3	mg/dL
Cr	0.9	0.9	0.4	13.7	0.7-1.2	25.7	mg/dL
AST	25.0	18.8	9	282	<40	6.8	U/L
ALT	28.5	26.1	4	329	<41	14.4	U/L

表七、住院狀況

住院狀況	人次	比率	平均值	標準差
異常出血	2	0.2		
其他併發症	3	0.2		
發燒	99	8.0		
感染	70	5.7		
死亡	1	0.1		
住院天數			5.14	5.387

n=1231

表八、15 種常見中草藥保健食品對免疫數值(WBC)的影響

中草藥	不曾服用	經常服用	P 值	保健食品	不曾服用	經常服用	P 值
	異常比率	異常比率			異常比率	異常比率	
枸杞子	12.7	9.3	0.600	維他命類	12.9	12.4	0.920
山藥	12.3	11.1	0.964	綠茶	12.5	10.9	0.704
大棗	12.1	15.2	0.693	維骨力	12.5	11.8	0.921
蓮子	12.2	18.2	0.447	洋蔥	12.6	7.4	0.200
牛蒡	12.0	4.3	0.429	鈣片類	12.5	11.7	0.962
人蔘	12.5	13.6	1.000	薑	11.8	11.5	1.000
菊花	13.0	10.5	1.000	辣椒	12.3	11.8	1.000
薏苡仁	12.3	11.1	1.000	椎茸（香菇）	12.2	14.9	0.628
桂圓	12.1	6.3	0.748	維他命 E	11.8	16.9	0.301
黃耆	11.7	18.8	0.636	魚油	12.3	8.6	0.529
當歸	11.8	28.6	0.133	乳酸菌類	11.9	6.1	0.317
羅漢果	12.7	18.2	0.933	蜂蜜	12.6	6.4	0.297
決明子	12.6	20.0	0.827	蔓越莓汁	12.2	10.5	0.956
蘆薈	12.5	0	0.671	葉黃素	12.3	6.7	0.513
茯苓	12.2	12.5	1.000	酵素	12.1	9.1	0.803

表九、15 種常見中草藥保健食品對凝血數值的影響

(一) PT

中草藥	不曾服用	經常服用	P 值	保健食品	不曾服用	經常服用	P 值
	異常比率	異常比率			異常比率	異常比率	
枸杞子	11.7	18.5	0.203	維他命類	13.4	8.6	0.057
山藥	12.2	14.8	0.721	綠茶	12.6	11.6	0.858
大棗	11.6	17.4	0.344	維骨力	13.9	7.5	0.058
蓮子	11.6	15.2	0.725	洋蔥	11.8	16.3	0.279
牛蒡	11.8	13.0	1.000	鈣片類	12.7	9.7	0.500
人蔘	12.4	18.2	0.626	薑	11.9	15.4	0.473
菊花	12.6	15.8	0.949	辣椒	12.2	13.2	0.956
薏苡仁	12.4	22.2	0.372	椎茸（香菇）	12.1	19.2	0.117
桂圓	11.9	31.3	0.051	維他命 E	11.8	17.2	0.283
黃耆	11.8	18.8	0.646	魚油	12.4	8.8	0.539
當歸	11.5	21.4	0.470	乳酸菌類	12.0	13.0	1.000
羅漢果	12.6	27.3	0.317	蜂蜜	12.0	14.9	0.712
決明子	12.1	30.0	0.218	蔓越莓汁	12.5	13.2	1.000
蘆薈	11.5	28.6	0.415	葉黃素	12.9	10.0	0.846
茯苓	12.7	37.5	0.120	酵素	12.6	15.2	0.860

(二)PTT

中草藥	不曾服用	經常服用	P 值	保健食品	不曾服用	經常服用	P 值
	異常比率	異常比率			異常比率	異常比率	
枸杞子	3.7	3.7	1.000	維他命類	3.4	4.3	0.644
山藥	3.4	0	0.327	綠茶	4.4	0	0.030
大棗	3.4	0	0.397	維骨力	3.3	3.0	1.000
蓮子	3.5	3.0	1.000	洋蔥	3.9	1.1	0.272
牛蒡	3.2	8.7	0.378	鈣片類	3.0	5.4	0.347
人蔘	3.5	0	0.759	薑	3.4	1.3	0.489
菊花	3.3	0	0.879	辣椒	3.9	1.3	0.410
薏苡仁	3.1	5.6	1.000	椎茸（香菇）	3.7	0	0.178
桂圓	3.3	6.3	1.000	維他命 E	3.0	6.3	0.284
黃耆	3.3	0	0.978	魚油	3.3	5.3	0.660
當歸	3.4	0	1.000	乳酸菌類	3.5	2.2	0.942
羅漢果	3.3	0	1.000	蜂蜜	3.6	2.1	0.904
決明子	3.3	0	1.00	蔓越莓汁	3.6	5.3	0.923
蘆薈	3.2	14.3	0.559	葉黃素	3.5	0	0.599
茯苓	3.3	12.5	0.645	酵素	3.3	0	0.580

(三)NR

中草藥	不曾服用	經常服用	P 值	保健食品	不曾服用	經常服用	P 值
	異常比率	異常比率			異常比率	異常比率	
枸杞子	0.6	0	1.000	維他命類	0.4	0.8	0.896
山藥	0.5	0	1.000	綠茶	0.6	0	0.846
大棗	0.5	0	1.000	維骨力	0.5	0	0.869
蓮子	0.5	0	1.000	洋蔥	0.6	1.1	1.000
牛蒡	0.4	0	1.000	鈣片類	0.4	0	1.000
人蔘	0.6	0	1.000	薑	0.6	0	1.000
菊花	0.6	0	1.000	辣椒	0.6	1.3	1.000
薏苡仁	0.5	0	1.000	椎茸（香菇）	0.5	1.4	0.870
桂圓	0.6	0	1.000	維他命 E	0.3	0	1.000
黃耆	0.4	0	1.000	魚油	0.4	0	1.000
當歸	0.5	0	1.000	乳酸菌類	.6	0	1.000
羅漢果	0.5	0	1.000	蜂蜜	0.4	0	1.000
決明子	0.6	0	1.000	蔓越莓汁	0.6	0	1.000
蘆薈	0.7	0	1.000	葉黃素	0.5	0	1.000
茯苓	0.6	0	1.000	酵素	0.5	0	1.000

表十、前 15 名中醫健保方劑及其功效

	中醫健保方劑 (2002-2004 年)	功效
1	加味逍遙散 Chia-Wei-Hsiap-Yao-San	疏肝解鬱、清熱涼血
2	疏經活血湯 Shu-Ching-Huo-Hsieh-Tang	疏經、活血、祛風
3	葛根湯 Ko-Ken-Tang	發汗解肌
4	辛夷清肺湯 Xin-Yi-Qing-Fei-Tang	清肺熱
5	川芎茶調散 Chuan-Chiung-Cha-Tiao-San	祛風、止痛
6	銀翹散 Yin-Chiao-San	辛涼透表、清熱解毒
7	獨活寄生湯 Tu-Huo-Chi-Sheng-Tan	祛風溼、止痹痛、補氣血
8	麻杏甘石湯 Ma-Hsing-Kan-Shih-Tang	辛涼宣泄、清肺平喘
9	小青龍湯 Hsiao-Ching-Lung-Tang	解表散寒、溫肺化飲
10	六味地黃丸 Liu-Wei-Ti-Huang-Wan	滋陰補腎
11	辛夷散 Xin-Yi-San	散風寒、祛濕邪、通鼻竅
12	龍膽瀉肝湯 Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang	瀉肝火、利溼熱
13	半夏瀉心湯 Pan-Hsia-Hsieh-Hsin-Tang	和胃降逆
14	平胃散 Ping-Wei-San	燥濕健脾，理氣和中
15	香砂六君子湯 Hsiang-Sha-Liu-Chuan-Tzu-Tang	健脾養胃

表十一、美國與台灣草藥銷售之形式與銷售額比較

美國草藥銷售形式		**台灣草藥銷售形式**	
單味萃取草藥 (Single herbs)	65%	濃縮中藥	13%
複方草藥 (Combination herbs)	35%	傳統中藥	7%
		食補	33%
		保健產品	47%
估計銷售額為 50.3 億美金		估計銷售額為 250 億台幣	

資料來源：1. 台灣中草藥網

2. American Botanical Council

*美國平均每人每年花費：50.3 億美金 x31/ 3 億人口=520 台幣

(假設美金換算台幣匯率為 31 元)

*台灣平均每人每年花費：250 億/ 0.23 億人口=1087 台幣

表十二、常見中藥單方於心血管、鎮靜及免疫等之功效

中藥單方		英文藥學名	功 效
枸杞子	Gou qi zi	Fructus Lycii	1. 提升免疫功能(能顯著提高吞噬細胞吞噬的吞噬率) 2. 降血糖作用 3. 降血壓作用
山藥(淮山)	Shan yao (Huai shan)	Radix Dioscoreae Oppositae	1. 利尿 2. 降血壓 3. 降血糖
大棗	Da zao	Fructus Zizyphi Jujubae	鎮靜中樞神經
蓮子	Lian zi	Semen Nelumbinis Nuciferae	
薏苡仁	Yi yi ren	Semen coicis	1. 鎮靜鎮痛解熱作用 2. 呼吸功能(少量的薏苡仁油會造成呼吸系統興奮，大量則會造成痲痺) 3. 心血管作用(低濃度薏苡仁油對蛙的離體心臟有興奮作用，高濃度則反之)
人參	Ren shen	Radix Ginseng	1. 調節中樞神經 2. 調節循環系統(小量刺激增高血壓，大量抑制血壓) 3. 增強免疫系統(能活化巨噬細胞，白血球細胞吞噬能力) 4. 增進醛固酮作用
菊花	Ju hua	Flos Chrysanthemi Morifolii	1. 對心血管系統的影響(有明顯的擴張冠狀動脈的作用，是直接鬆弛冠狀動脈的平滑肌所致) 2. 野菊花對於降低膽固醇、降血壓、抑制感染三方面療效優於菊花
牛蒡	Niu bang	Fructus Arctii Lappae (seeds) Radix Arctii lappae (roots) Folium Arctii Lappae (leaves)	1. 降低血糖 2. 利尿作用

中藥單方		英文藥學名	功 效
當歸	Dang gui	Radix Angelicae sinensis	1. 降低血小板凝集和抗血拴作用 2. 心血管系統(可擴大離體豚鼠冠狀動脈，可使其血流量增加及對大鼠心律失常有保護作用) 3. 對免疫系統的影響
桂圓	Long yan	Arillus Euphoriae Longanae	
黃耆	Huang qi	Radix astragali	1. 大劑量能降血壓，有擴張血管作用 2. 延長利尿作用 3. 調整血糖
羅漢果	Luo han guo	Fructus Siraitiae grosvenorii	降低 AST 與 ALT.
決明子	Jue ming zi	Cassiae Semen	1. 降血脂 2. 降血壓 3. 保護肝臟 4. 抗菌
蘆薈	Lu hui	Herba Aloes	1. 致瀉作用 2. 抗腫瘤，抗腹水性肝癌 3. 抑制 離體青蛙肝臟作用 4. 抑制黴菌作用
茯苓	Fu ling	Sclerotium Poriae Cocos	1. 利尿 2. 降血糖 3. 鎮靜 4. 放鬆平滑肌 5. 增強免疫功能

資料來源: http://alternativehealing.org/chinese_herbs_dictionary.htm

表十三、常見中藥單方可能產生之藥物交互作用與不良反應

TCHM	Possible drug Interactions	Possible adverse effects	Discontinuation before surgery
Aloe		·Decreased effectiveness of digoxin and thiazide diuretics[8] ·Increased peristalsis[8] ·Increased potassium loss[8]	No specific recommendations
Dashen	Digoxin[1] Warfarin[1,9]	·Digoxin plasma levels may be falsely measured[1] ·Anticoagulant[1] ·Bleeding[5] ·Inhibition CYP2C9[9]	No specific recommendations
Dong quai	Warfarin[1,10]	·Anticoagulant[1] ·Bleeding[10] ·Contains coumarin derivatives[4] ·Gastrointestinal problems[10] ·Gynaecomastia[4] ·Prolongs PT/INR, aPTT[4] ·Photosensityvity[10]	2 wks[10]
Ginseng	Aspirin[7,8] Coumadin[8] Digoxin[8] Haldol[8] Heparin[7] MAOI[4,8] NSAIDs[7] Warfarin[3]	·Anticoagulation[3,10] ·Bleeding[2,5] ·Diarrhea[8] ·Decrease warfarin effect[4] ·Headache[4] ·Hypertension[2,4,7,8,10] ·Hypoglycemia[2,3,4,8,10] ·Inhibits PT/PTT in animals[3]	1-2 wks[2] 1 wks[6,8] 2 wks[10]

TCHM	Possible drug Interactions	Possible adverse effects	Discontinuation before surgery
		·Insomnia[4,7,8] ·Interaction with cardiovascular medication, digitalis, and MAOI[4] ·Nervousness[7] ·Prolongation of anesthetic effect[a] ·Tachycardia[2,10] ·Vomiting[4] ·Water/electrolyte disturbance[2]	
gou qi zi	Warfarin[1]	·Anticoagulant[1] ·Bleeding[5]	No specific recommendations

*aPTT: activated partial thromboplastin time

*INR: international normalized ratio

*MAOI: monoamine oxidase inhitors

*NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs

*PT: prothrombin time

*資料來源:

1. DerMarderosian A and Beutler JA：Evidence-Based Herb-Drug Interaction. in：Appendix：The Review of Natural Products. Published by Wolters Kluwer Health, St. Louis, Missouri, 2008, pp.1401-1425.
2. King AR, Russett FS, Generali JA, and Grauer DW. Evaluation and implications of natural product use in preoperative patients: a retrospective review. BMC Complement Altern Med 9:38, 2009.
3. Whinney C. Perioperative medication management: general principles and practical applications. Cleve Clin J Med 76 Suppl 4:S126-132, 2009.
4. Cheng B, Hung CT, and Chiu W. Herbal medicine and anaesthesia. Hong Kong Med J 8(2):123-130, 2002.
5. deAzevedo Pribitkin E. Herbal Medicine and Surgery. Seminars in Integrative Medicine 3(1):17-23, 2005.

6. Trapskin P, and Smith KM. Herbal medications in the perioperative orthopedic surgery patient. Orthopedics 27(8):819-822, 2004.
7. Hodges PJ, and Kam PC. The peri-operative implications of herbal medicines. Anaesthesia 57(9):889-899, 2003.
8. Adusumilli PS, Ben-Porat L, Pereira M, Roesler D, and Leitman IM. The prevalence and predictors of herbal medicine use in surgical patients. J Am Coll Surg. 198(4):583-590, 2004.
9. Tomlinson B, Hu M, and Lee VW. In vivo assessment of herb-drug interactions: possible utility of a pharmacogenetic approach? Mol Nutr Food Res 52(7):799-809, 2008.
10. Broughton G, 2nd, Crosby MA, Coleman J, and Rohrich RJ. Use of herbal supplements and vitamins in plastic surgery: a practical review. Plast Reconstr Surg 119(3):48e-66e, 2007.
11. Messina BA. Herbal supplements: Facts and myths--talking to your patients about herbal supplements. J Perianesth Nurs 21(4):268-278; quiz 279-281, 2006.
12. Kumar NB, Allen K, and Bell H. Perioperative herbal supplement use in cancer patients: potential implications and recommendations for presurgical screening. Cancer Control 12(3):149-157, 2005.

表十四、常見保健食品可能產生之藥物交互作用與不良反應

Supplements	Possible drug Interactions	Possible adverse effects	Discontinuation before surgery
Bromelain	Warfarin[12]	·Antiplatelet[10,12] ·Bleeding[5]	2 wk[10]
Cayenne	Warfarin[k]	·Anticoagulant[12]	No specific recommendations
Chondroitin		·Anticoagulant[6] ·Antiplatelet[6] ·Bleeding[2]	2-3 wks[2] 2 wks[6]
Coenzyme Q10	Warfarin[1]	·Anticoagulant[1] ·Bleeding[2] ·Cardiac effects[2] ·Hypotension[2]	No specific recommendations
Cranberry	Warfarin[1]	·Bleeding[1]	
Fish oil		·Bleeding[2,6] ·Hypotension[2]	2-3 wks[2]
Flax Seed oil		·Bleeding[2]	No specific recommendations
Garlic	Aspirin[7,8] NSAIDs[7] Ritonavir[9] Saquinavir[9] Warfarin[1,4,7,12]	·Allergy[7] ·Antiplatelet[1,4,6,7,8,12] ·Bleeding[1,2,5,7] ·Hypotension[2,7] ·Nausea[f] ·Interaction with warfarin(Increase INR)[4,7] ·Induction CYP3A4 and P-gp[9] ·Risk of interaction with cardiovascular medications, MAOI, hypoglycaemics[4]	1-2 wks[2] 1 wks[6,8,10]

Supplements	Possible drug Interactions	Possible adverse effects	Discontinuation before surgery
Ginger	Coumadin[10] Warfarin[1,4,12]	·Antiplatelet[1,4,6,12] ·Bleeding[1,4,10,12] ·Hypoglycemic[6] ·Hyperglycaemia[4,10] ·Possible mutagenesis[4]	1 wks[6,10]
Ginkgo biloba	Aspirin[1,7,8] Coumadin[8] Digoxin[9] MAOI[4] NSAIDs[7] Nifedipine[1] Warfarin[1,7,12]	·Inhibits platelet-activating factor (PAF), leading to increasing bleeding risk[3,5,6,7,] ·Bleeding[1,7,8] ·Modulation P-gp[9] ·Elevated nifedipine plasma concentrations[1] ·Antiplatelet[4,12]	36 hrs[8,10] 1 wks[6] 2 wks[11]
Glucosamine		·Hypoglycemia(Diabetes)[2,6]	2wks[6] 2-3 wks[2] Not need to be stopped until the evening before surgery[i]
Green tea	Warfarin[1]	·Anticoagulant [1]	No specific recommendations
Onion		·Bleeding[5]	No specific recommendations
Omega-3 fatty acids		·Anticoagulant[10]	No specific recommendations
Papain		·Bleeding[5]	No specific recommendations
Seaweed	Warfarin[1]	·Anticoagulant[1]	
Soy Isoflavones	Levothyroxine[11] MAOIs[11]	·Allergy[11] ·Bloating[11]	No specific recommendations

Supplements	Possible drug Interactions	Possible adverse effects	Discontinuation before surgery
	Ralixifene[11] Tamoxifen[11] Warfarin[11]	·Constipation[11] ·Nausea[11] ·May support growth of estrogen-dependent tumors[j]	
Turmeric (root)	Warfarin[12]	·Antiplatelet[12] ·Bleeding[5]	No specific recommendations
Vitamin C	PropranololM	·The pharmacologic effects of propranolol may be decreased[1]	
Vitamin E	Warfarin[1]	·Anticoagulant[10] ·Bleeding[1]	2-3 wks[10]

*aPTT: activated partial thromboplastin time

*INR: international normalized ratio

*MAOI: monoamine oxidase inhitors

*NSAIDs: non-steroidal anti-inflammatory drugs

*PT: prothrombin time

*資料來源:

1. DerMarderosian A and Beutler JA：Evidence-Based Herb-Drug Interaction. in：Appendix：The Review of Natural Products. Published by Wolters Kluwer Health, St. Louis, Missouri, 2008, pp.1401-1425.
2. King AR, Russett FS, Generali JA, and Grauer DW. Evaluation and implications of natural product use in preoperative patients: a retrospective review. BMC Complement Altern Med 9:38, 2009.
3. Whinney C. Perioperative medication management: general principles and practical applications. Cleve Clin J Med 76 Suppl 4:S126-132, 2009.
4. Cheng B, Hung CT, and Chiu W. Herbal medicine and anaesthesia. Hong Kong Med J 8(2):123-130, 2002.
5. deAzevedo Pribitkin E. Herbal Medicine and Surgery. Seminars in Integrative Medicine 3(1):17-23, 2005.

6. Trapskin P, and Smith KM. Herbal medications in the perioperative orthopedic surgery patient. Orthopedics 27(8):819-822, 2004.
7. Hodges PJ, and Kam PC. The peri-operative implications of herbal medicines. Anaesthesia 57(9):889-899, 2003.
8. Adusumilli PS, Ben-Porat L, Pereira M, Roesler D, and Leitman IM. The prevalence and predictors of herbal medicine use in surgical patients. J Am Coll Surg. 198(4):583-590, 2004.
9. Tomlinson B, Hu M, and Lee VW. In vivo assessment of herb-drug interactions: possible utility of a pharmacogenetic approach? Mol Nutr Food Res 52(7):799-809, 2008.
10. Broughton G, 2nd, Crosby MA, Coleman J, and Rohrich RJ. Use of herbal supplements and vitamins in plastic surgery: a practical review. Plast Reconstr Surg 119(3):48e-66e, 2007.
11. Messina BA. Herbal supplements: Facts and myths--talking to your patients about herbal supplements. J Perianesth Nurs 21(4):268-278; quiz 279-281, 2006.
12. Kumar NB, Allen K, and Bell H. Perioperative herbal supplement use in cancer patients: potential implications and recommendations for presurgical screening. Cancer Control 12(3):149-157, 2005

表十五、Nalbuphine 於人類血漿中 LC-MS-MS 同日間之分析確效驗證結果

Concentration Spiked (ng/mL)	Concentrations Calculated (ng/mL) N=6						Mean N=6	SD	CV (%)	Relative Error (%)
0.1 (LLOQ)	**0.111**	**0.104**	**0.3104**	**0.104**	**0.102**	**0.104**	**0.105**	**0.003**	**2.98**	**4.83**
0.3 (LQC)	**0.292**	**0.29**	**0.279**	**0.287**	**0.283**	**0.285**	**0.286**	**0.047**	**1.65**	**4.67**
40 (MQC)	**37.4**	**42.9**	**42**	**38.2**	**37.7**	**37**	**39.2**	**2.56**	**6.54**	**2**
80 (HQC)	**81.9**	**74.5**	**80.4**	**74.1**	**75.2**	**73.3**	**76.57**	**3.63**	**4.75**	**4.29**

表十六、健康受試者口服 Nalbuphine(66 mg)與服用單劑量(3 g)及多劑量龍膽瀉肝湯(3 g、TID、7 days)後併服 Nalbuphine (66mg)對受試者 Nalbuphine 血中濃度之藥動參數影響

PK parameter	Nubain (n=12)	Nubain with LDXGT 3g(n=8)	Nubain 66 mg with LDXGT multiple dose (3g, TID, 7day, n=8)
Cmax (ng/mL)	25.49 ± 9.97	44.96 ± 15.48(1.76**)	43.74 ± 12.26(1.71**)
Tmax (hr)	0.84 ± 0.77	0.70 ± 0.20(0.83)	0.91 ± 0.57(1.08)
AUC_{0-t} (hr*ng/mL)	112 ± 54.2	152 ± 47(1.36)	179 ± 22(1.60***)
AUC_{∞} (hr*ng/mL)	124 ± 58.3	169 ± 48(1.36)	207 ± 23(1.67***)
T1/2 (hr)	7.31 ± 3.41	8.48 ± 2.17(1.16*)	10.82 ± 2.69(1.48*)
MRT (hr)	8.94 ± 2.11	8.98 ± 2.91(1.00)	10.49 ± 2.08(1.17)
Cl/F (L/hr)	654 ± 313	451 ± 197(0.69)	322 ± 37(0.49**)
Vd/F (L)	7087 ± 5012	5623 ± 2978(0.79*)	5004 ± 1262(0.71)

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

編號：CCMP99-RD-104

梗塞型腦中風急性期患者中醫證型與其預後關係之探討

謝慶良
中國醫藥大學

摘要

我們先前研究 162 位梗塞型腦中風急性期患者的中醫證型，結果發現風證 140 位（87%）、痰證 92 位（56.7%）、血瘀證 78 位（48.1%）、火熱證 33 位（20.4%）、氣虛證 32 位（19.8%）和陰虛陽亢證 23 位（14.2%），因此台灣地區梗塞型腦中風急性期的中醫證型以風、痰和血瘀證為主，風、痰和瘀是台灣梗塞型腦中風的主要病因。又我們研究 148 位出血型腦中風急性期患者中醫證型，結果顯示風證 141 位（95.3%）、痰證 60 位（40.5%）、火熱證 43 位（29.1%）、血瘀證 39 位(26.4%)、氣虛證 7 位（4.7%）和陰虛陽亢證 3 位（2.0%），因此台灣地區出血型腦中風急性期的中醫證型以風、痰和火熱證為主，風、痰和火熱是台灣出血型腦中風的主要病因。腦中風急性期中醫證型與其預後關係之探討，根據我們所知至今尚未有研究報告，因此本研究的目的是探討梗塞型腦中風急性期中醫證型與其預後之關係。我們預計二年蒐集 160 位梗塞型腦中風急性期患者，每年 80 位。他們都是第一次腦中風患者，於發病後 72 小時內分別完成填寫 Glasgow Coma Scale （GCS）、Modified Rankin Scale（MRS）、美國國家衛生研究院中風評量表（National Institutes of Health Stroke Scale，NIHSS）、巴氏量表（Barthel Index，BI）和生活功能獨立執行測量表（Functional Independence Measure，FIM）。另外，由兩位資深中醫師取得一致後填寫中風病辨證量表，並確定其中醫證型。12 週（12 週±3 天）後再分別填寫 GCS、MRS、NIHSS、BI 和 FIM 表。結果 107 位梗塞型腦中風急性期患者中有風證 102 位（95.3%），氣虛證 56 位（52.3%），痰證 65 位（60.7%），火熱證 25 位（23.4%），血瘀證 28 位（26.2%），陰虛陽亢證 29 位（27.1%）。

梗塞型腦中風的發病主因為風、痰和氣虛，這些結果與我們先前的風、痰和血瘀稍有差異，但與中醫傳統理論相謀合。

關鍵詞：梗塞型腦中風，急性期、中醫證型、預後

CCMP99-RD-104

The study on the relationship between Chinese Medicine pattern and its prognosis in patient with acute stage of cerebral infarct

Ching-Liang Hsieh
China Medical University

ABSTRACT

Our previous results indicated that Wind pattern is 140 (87%), Phlegm pattern 92 (56.7%), Blood-stasis pattern 78 (48.1%), Fire-hot pattern 33 (20.4%), Qi-vacuity 32 (19.8%) and Yin-Vacuity pattern 23 (14.2%) in the Chinese Medicine pattern (CMP) of 162 patients with acute stage of cerebral infarct. The main CMP is Wind pattern, Phlegm pattern and Blood-stasis pattern, suggesting the etiology of cerebral infarct mainly results from Wind, Phegm and blood stasis. In addition, Wind pattern is 141 (95.3%), Phlegm pattern 60 (40.5%), Fire-hot pattern 43 (29.1%), Blood-stasis pattern 39 (26.4%), Qi-vacuity pattern 7 (4.7%), Yin-Vacuity 3 (2.0%) and Yang-hyperactivity pattern 3 (2.0%) in the CMP of 148 patients with acute stage of cerebral hemorrhage. The main CMP is Wind pattern, Phlegm pattern and Fire-hot pattern, suggesting the etiology of cerebral hemorrhage mainly results from Wind, Phegm and Fire-hot. The study is about the relationship between CMP and its prognosis, according to our knowledge until now not yet. Therefore, the purpose of the present study was to investigate the relationship between CMP and its prognosis, we collect 160 patients with acute stage of cerebral infarct among two years, one year is 80 patients. All of them, the stroke is first attack, and the Glasgow Coma Scale (GCS), Modified Rankin Scale (MRS), National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS), Barthel Index (BI) and Functional Independence Measure (FIM) were finished within 72 h after onset of stroke. In addition, the CMP was confirmed by two experience Chinese Medicine doctors and finished the CMP chart of stoke. The score of GCS, MRS, NIHSS, BI and FIM were written again after 12 weeks (12 weeks±3 days). Results indicated that a total 107patients with acute cerebral infarction were studied. Wind pattern was 102 (95.3%), Qi-vacuity pattern 56 (52.3%), Phlegm pattern 65 (60.7%), Fire-hot 25 (23.4%), Blood stasis 28 (26.2%), Yin-Vacuity pattern 29 (27.1%).

The results of the present study indicated the main etiology of cerebral infarct was wind, Phlegm and Qi-vascuity, and these results partly controversy to our previous results of Wind, Phlegm and Blood stasis, but the results are consistent with traditional Chinese theory.

Keywords：Cerebral infarct; Acute stage; Chinese Medicine Pattern; Prognosis

壹、前言

根據衛生署統計腦血管疾病仍是台灣十大死因的第三位[1]。一般將腦中風分為梗塞型和出血型兩種。有研究認為梗塞型腦中風發生後 30 天內的死亡率為 20%，而腦中風發生後約有 60～70%的患者發生殘廢[2]。梗塞型腦中風發病三小時內用靜脈注射 rt-PA 證實有效外，至今仍著重於預防再發而沒有特殊的治療[3]。有研究指出腦中風發生後一年中有 12.3%，而 3 年中有 21.3%的人發展為失智症（dementia），即所謂的腦中風後失智症[4]。因此，有關腦中風的研究是刻不容緩的事，同時也是身為一位醫師的職責。

中醫歷代典籍有關腦中風證型的分類最詳盡的首推清朝的《醫宗金鑑》，其將腦中風分為：中絡、中經、中腑、中臟、中經絡兼中臟腑、中臟閉證、中臟脫證、中經絡閉證、中臟腑閉證等九種證型[5]。張仲景的《金匱要略》根據腦中風發病時病人是否意識障礙分為中經絡和中臟腑兩類。邪在於絡，肌膚不仁；邪在於經，即重不勝；邪入於腑，即不識人；邪入於藏，舌即難言、口吐涎[6]。以現代醫學觀點而言中經絡不論是梗塞型或出血型其病變應比臟腑小，因此預後比較好所以沒有意識障礙的產生。大陸王永炎教授等（1994 年）整理歷代中醫典籍各家學說對腦中風之論點，將腦中風證型分為：風、火熱、痰證、血瘀證、氣虛證和陰虛陽亢等六種證型，每種證型總分 30 分，若大於 7 分證型成立[7]。我們先前根據上述證型研究 162 位梗塞型腦中風急性期患者，結果發現風證 140 位（87%）、痰證 92 位（56.7%）、血瘀證 78（48.1%）、火熱證 33 位（20.4%）、氣虛證 32 位（19.8%）和陰虛陽亢證 23 位（14.2%），因此台灣地區缺血性腦梗塞急性期的中醫證型以風、痰和血瘀證為主，風、痰和瘀是台灣梗塞型腦中風的主要病因。又梗塞型腦中風急性期中醫證型與臨床表現之嚴重度沒有關係[8]。我們也研究 148 位出血型腦中風急性期患者，結果顯示風證 141 位（95.3%）、痰證 60 位（40.5%）、火熱證 43 位（29.1%）、血瘀證 39 位（26.4%）、氣虛證 7 位（4.7%）和陰虛陽亢證 3 位（2.0%），因此台灣地區出血型腦中風急性期的中醫證型以風、痰和火熱證為主，風、痰和火熱是台灣出血型腦中風的主要病因。又

出血型腦中風急性期患者火熱證比非火熱證、痰證比非痰證、氣虛證比非氣虛證臨床表現較不嚴重[9]。我們也研究 101 位腦中風後失智證患者的證型，結果顯示腎精虧虛證有 100 位(99.0%)；肝陽上亢證有 83 位(82.2%)；氣血虧虛證有 83 位 (82.2%)；瘀血阻絡證有 81 位 (80.2%)；腑滯濁留證有 72 位 (71.3%)；火熱內盛證有 50 位 (49.5%)；痰濁阻竅證有 39 位(38.6%)。根據上述研究結果我們認為中風後失智症與腎精虧虛、肝陽上亢和氣血虧虛有密切的關係[10]。

根據我們所知，至今為止尚未有關於梗塞型腦中風急性期中醫證型與其預後關係之研究，因此本研究延續我們先前的研究探討梗塞型腦中風急性期中醫證型與其預後之關係。我們選擇經頭部電腦斷層或磁振造影及臨床診斷確定為梗塞型腦中風的病患，於發作後 72 小時內分別完成填寫 Glasgow Coma Scale (GCS)、Modified Rankin Scale (MRS)、美國國家衛生研究院中風評量表 (National Institutes of Health Stroke Scale，NIHSS)、巴氏量表 (Barthel Index，BI) 和生活功能獨立執行測量表 (Functional Independence Measure，FIM)。另外，由兩位資深中醫師取得一致後填寫中風病辨證標準[7]，並確定其中醫證型。12 週(12 週±3 天)後再分別填寫 GCS、MRS、NIHSS、BI 和 FIM 表。

貳、材料與方法

實施方法與進行步驟

本研究施行前計畫書先經中國醫藥大學附設醫院人體試驗委員會審查通過後，才開始進行研究。預計二年期計畫，每年完成 80 例，二年共 160 例。第一年我們已完成 80 例。

#第二年：預計完成 80 例

一、梗塞型腦中風急性期病患之蒐集

從本院急診室蒐集經頭部電腦斷層（CT）或磁振造影（MRI）檢查，神經科專科醫師確定為腦梗塞型腦中風病患。

（一）收案基準：

1.男性或女性均可。

2.年齡從 40 歲（含）至 85 歲（含）之間。

3.第一次腦中風發病患者，或曾經中風但復原狀況良好（MRS≦2）。

4.中風發病開始 72 小時內。

5.經頭部電腦斷層或磁振造影檢查，確定為梗塞型腦中風。

6.病變部位位於大腦半球（cerebral hemisphere）包括視丘（thalamus），或腦幹。

7.NIHSS score≧5 分。

8.經說明研究目的和整個研究過程自願加入研究，並填寫同意書者。

（二）排除條件

1.年齡小於 40 歲或大於 85 歲。

2.腦中風部位在小腦。

3.腦中風發病已超過 72 小時。

4.患有嚴重內科疾病如心臟衰竭、尿毒症、慢性阻塞性肺疾病或癌症患者，或患有精神疾病無法配合研究者。

5.不願簽署同意書者。

二、梗塞型腦中風急性期病患資料的填寫

（一）腦中風登記表：

當病患到達急診室時，神經科醫師根據臨床表現和頭電腦斷層或核磁共振檢查確定為腦梗塞急性期，則納入本研究，並填寫神經缺損評量表：GCS（附件一）、MRS（附件二）、NIHSS（附件三）、BI（附件四）、FIM（附件五）。

（二）中風病辨證診斷標準[7]：

神經科醫師診斷確定為梗塞型腦中風急性期患者，之後由兩位資深中醫師於中風發作開始 72 小時內施行中醫望、聞、問、切等四診檢查，他們取得一致性後，填寫「中風病辨證診斷標準」[7] 並確定中醫證型（附件六）。

三、梗塞型腦中風慢性期病患資料的填寫

梗塞型腦中風患者發病 12 週（12 週±3 天）後，根據患者神經缺損狀況再填寫 GCS、MRS、NIHSS、BI、FIM 表格，若死亡則註明死亡。

四、統計分析方法

描述性統計分析方法

1. 以百分比描述中醫證型、Glasgow Coma Scale（GCS）、Modified Rankin Scale（MRS）的分布，平均值與標準差描述中醫辨證量表分數、美國國家衛生研究院中風評量表（National Institutes of Health Stroke Scale，NIHSS）、巴氏量表（Barthel Index，BI）和生活功能獨立執行測量表（Functional Independence Measure，FIM）的分布情形。
2. 以 Pearson's 或 Spearman's 相關係數（將視變項是否成常態分布或中央極限定理是否成立）來評估到院後 72 小時內「中風病辨證診斷標準」分數與急性期與慢性期之 GCS、MRS、美國國家衛生研究院中風評量表、巴氏量表和生活功能獨立執行測量表分數間之相

關。

3. 以 t 檢定或 Wilcoxon rank-sum 檢定（將視變項是否成常態分布或中央極限定理是否成立)來檢定各種證型之急性期與慢性期所測量之美國國家衛生研究院中風評量表、巴氏量表和生活功能獨立執行測量表分數是否有顯著差異。
4. 評估有無各種證型與 GCS、MRS 之種類或死亡間之相關，則將採用卡方檢定或 Fisher's exact test（當沒有超過百分之二十格子的期望值小於 5 時將採用卡方檢定，但當有超過百分之二十格子的期望值小於 5 時將採用 Fisher's exact test)。
5. 樣本數之估算:若本研究之第一誤差設定為 0.05，而第二誤差設定為 0.2，即本研究之檢力為 0.8，假設本研究主要研究目的為評估有無某種證型慢性期之美國國家衛生研究院中風評量表、巴氏量表和生活功能獨立執行測量表分數間之差異，假設有無某種證型其美國國家衛生研究院中風評量表、巴氏量表和生活功能獨立執行測量表分數之標準化差異（standardized effect size）為 0.5（兩組差為 2 分，標準差假設為 4)，若本研究要能偵測出此差異，則有無某種證型各需 64 名受訪者[11]，假設有年齡、性別或其他變項之干擾效應，需使用統計模式來控制此干擾效應，則需增加 20%的樣本數，則各診斷所需的總樣本數為 77 人。因此，本研究預定收 160 位之梗塞型腦中風病患應有充分的統計檢力（power）來偵測此效應。

參、結果

自 99 年 11 月 16 至 100 年 11 月 20 日止共收案梗塞型腦中風急性期患者 113 人，其中男性佔 75 位(%)，女性佔 38 位(%)。113 人中 1 人死亡，5 人失去追蹤沒有完成第二次評估，完成發病時和發病後 12 週（12 週±3 天）時二次評估的有 107 位，其中男性 70 位(65.4%)，女性 37 位(34.6%)，平均年齡為 64.1±10.4 歲(男性 62.7±10.1；女性 66.8±10.6)，如（圖一）。

107 位梗塞型腦中風急性期患者中有風證 102 位（95.3%），氣虛證 56 位（52.3%），痰證 65 位（60.7%），火熱證 25 位（23.4%），血瘀證 28 位（26.2%），陰虛陽亢證 29 位（27.1%）。107 位梗塞型腦中風急性期患者中風證 2 位（1.9%）。

一、107 位梗塞型腦中風急性期患者五種量表之分數變化

107 位梗塞型腦中風急性期患者發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7，而 12 週後（12 週±3 天）的分數為 15.0±0.2，兩者間的差為 0.3±0.7，達到統計上意義的差（$p<0.0001$；表一）；發病時 MRS 的分數為 3.7±0.7，而 12 週後（12 週±3 天）的分數為 2.4±1.3，兩者間的差為-1.3±1.0 呈現有意義的差（$p<0.0001$；表一）；發病時 NIHSS 的分數為 7.6±2.6，12 週後（12 週±3 天）的分數為 3.6±3.4，兩者間的差為-4.0±3.0 呈現有意義的差（$p<0.0001$；表一）；發病時 BI 的分數為 47.9±28.0，而 12 週後（12 週±3 天）的分數為 78.6±26.3，兩者間的差為 30.7±27.3 呈現有意義的差（$p<0.0001$；表一）；發病時 FIM 的分數為 74.0±23.8，而 12 週後（12 週±3 天）的分數為 99.7±23.0，兩者間的差為 25.7±21.1 呈現有意義的差（$p<0.0001$；表一）。

二、107 位梗塞型腦中風急性期一個證型患者五種量表之分數變化

1. 107 位梗塞型腦中風急性期患者一個證型的有 2 位（1.9%），而非證型的有 105 位（98.1%）。風證的有 2 位（1.9%），而非風證 105 位（98.1%）。
2. 風證患者發病時的 GCS 分數為 15.0±0.0，12 週後（12 週±3 天）的

GCS 分數為 15.0±0.0，兩者間的差為 0.0±0.0；非風證患者發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2，兩者間的差為 0.0±1.2。風證與非風證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p<0.0001$；表二）。

三、107 位梗塞型腦中風急性期二個證型患者五種量表之分數變化

1. 107 位梗塞型腦中風急性期患者二個證型的有 31 位（29.0%），而非證型的有 76 位（71.0%）。風．火熱證的 1 位（0.9%），而非風．火熱證 106 位（99.1%）；風．痰證的有 13 位（12.1%），而非風．痰證有 94 位（87.9%）；風．血瘀證有 3 位（2.8%），而非風．血瘀證有 104 位（97.2）；風．氣虛證有 6 位（5.6%），而非風．氣虛證 101 位（94.4%）；風．陰虛陽亢證的有 3 位（2.8%），而非風．陰虛陽亢證 104 位（97.2%）；火熱．痰證 1 位（0.9%），而非火熱．痰證 106 位（99.1%）；痰．血瘀證 2 位（1.9%），而非痰．血瘀證 105 位（98.1%）；痰．陰虛陽亢證 1 位（0.9%），而非痰．陰虛陽亢證 106 位（99.1%）；氣虛．陰虛陽亢證 1 位（0.9%）；而非氣虛．陰虛陽亢證 106 位（99.1%）。（表三）
2. 風．血瘀證發病時的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非風．血瘀證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。風．血瘀證與非風．血瘀證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p<0.0001$；表三）。
3. 風．陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非風．陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。風．陰虛陽亢證與非風．陰虛陽亢證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p<0.0001$；表三）。
4. 痰．血瘀證發病時的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，12 週後（12 週±3 天

）的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非痰・血瘀證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。痰・血瘀證與非痰・血瘀證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p < 0.0001$；表三）。

四、107 位梗塞型腦中風急性期三個證型患者五種量表之分數變化

1. 107 位梗塞型腦中風急性期患者三個證型的有 45 位（42.1%），而沒有證型的有 62 位（57.9%）。風・火熱・痰證的有 5 位（4.7%），而非風・火熱・痰證 102 位（95.3%）；風・火熱・血瘀證的有 1 位（0.9%），而非風・火熱・血瘀證 106 位（99.1%）；風・火熱・氣虛證有 5 位（4.7%），而非風・火熱・氣虛證有 102 位（95.3%）；風・痰・血瘀證有 6 位（5.6%），而非風・痰・血瘀證 101 位（94.4%）；風・痰・氣虛證的有 12 位（11.2%），而風・痰・氣虛證 95 位（88.8%）；風・痰・陰虛陽亢證的有 2 位（1.9%），而風・痰・氣虛證 105 位（98.1%）；風・血瘀・氣虛證有 7 位（6.5%），而非風・血瘀・氣虛證 100 位（93.5%）；風・氣虛・陰虛陽亢證的有 7 位（6.5%），而非風・氣虛・陰虛陽亢證 100 位（93.5%）。
2. 風・火熱・氣虛證發病時的 GCS 分數為 14.8±0.4 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 14.8±0.4 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非風・火熱・氣虛證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.1 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。風・火熱・氣虛證與非風・火熱・氣虛證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p < 0.0001$；表四）。
3. 風・痰・陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 14.5±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 14.5±0.7 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非風・痰・陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.1 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。風・痰・陰虛陽亢證與非風・痰・陰虛陽亢證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p < 0.0001$；表四）。

4. 風・氣虛・陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，兩者間的差為 0.0±0.0 分；非風・氣虛・陰虛陽亢證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2 分，兩者間的差為 0.3±0.7 分。風・氣虛・陰虛陽亢證與非風・氣虛・陰虛陽亢證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p < 0.0001$；表四）。

五、107 位梗塞型腦中風急性期四個證型患者五種量表之分數變化

1. 107 位梗塞型腦中風急性期患者四個證型的有 24 位（22.4%），而非證型的有 83 位（77.6%）。風・火熱・痰・血瘀證的有 2 位（1.9%），而非風・火熱・痰・血瘀證 105 位（98.1%）；風・火熱・痰・氣虛證的有 4 位（3.7%），而非風・火熱・痰・氣虛證 103 位（96.3%）；風・火熱・痰・陰虛陽亢證的有 2 位（1.9%），而非風・火熱・痰・陰虛陽亢證 105 位（98.1%）；風・火熱・氣虛・陰虛陽亢證的有 1 位（0.9%），而非風・火熱・氣虛・陰虛陽亢證 106 位（99.1%）；風・痰・血瘀・氣虛證有 5 位（4.7%），而非風・痰・血瘀・氣虛證有 102 位（95.3%）；風・痰・血瘀・陰虛陽亢證有 2 位（1.9%），而非風・痰・血瘀・陰虛陽亢證 105 位（98.1%）；風・痰・氣虛・陰虛陽亢證有 4 位（3.7%），而非風・痰・氣虛・陰虛陽亢證 103 位（96.3%）；風・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證有 2 位（1.9%），而非風・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證 105 位（98.1%）；風・火熱・血瘀・陰虛陽亢證有 1 位（0.9%），而非風・火熱・血瘀・陰虛陽亢證 106 位（99.1%）；風・火熱・血瘀・氣虛證有 1 位（0.9%），而非風・火熱・血瘀・氣虛證 106 位（99.1%）。（表五）
2. 風・痰・血瘀・氣虛證發病時的 GCS 分數為 14.0±01.0 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.0 分，兩者間的差為 1.0±1.0 分；非風・痰・血瘀・氣虛證發病時的 GCS 分數為 14.7±0.7 分，12 週後（12 週±3 天）的 GCS 分數為 15.0±0.2 分，兩者間的差為 0.2±0.7 分。風・痰・血瘀・氣虛證與非風・痰・血瘀・氣虛證兩者 GCS 分數後－前的差呈現有意義的差（$p=0.02$；表五）。

六、107 位梗塞型腦中風急性期五個證型患者五種量表之分數變化

107 位梗塞型腦中風急性期患者五個證型的有 5 位（4.7%），而非證型的有 102 位（95.3%）。風・火熱・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證 1 位（0.9%），而非風・火熱・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證 106 位（99.1%）；風・火熱・痰・血瘀・氣虛證 2 位（1.9%），而非風・火熱・痰・血瘀・氣虛證 105 位（98.1%）。風・痰・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證 2 位（1.9%），而非風・痰・血瘀・氣虛・陰虛陽亢證 2 位（98.1%）。（表六）

肆、討論

1. 本研究的結果顯示 107 位梗塞型腦中風急性期患者中有風證 102 位（95.3%），氣虛證 56 位（52.3%），痰證 65 位（60.7%），火熱證 25 位（23.4%），血瘀證 28 位（26.2%），陰虛陽亢證 29 位（27.1%），說明梗塞型腦中風的主要發病原因為風、痰和氣虛，這些結果與我們先前的研究以風、痰和血瘀為主[8]稍有出入，但與中風的本質其發病為突然發作與中醫之“風”的特性相類似。中風會導致腦水腫的發生，即中醫的“痰”。若從本研究的結果推論為血瘀來自於“氣虛”也能與我們的結果不相抵觸。
2. 本研究的結果顯示 107 患者其發病 12 週後，其 MRS 和 NIHSS 分數比發病時減少，而 GCS，BI 和 FIM 分數增加，這些結果顯示發病 12 週後的神經缺損（neruological deficit）改善，推測與疾病自然病程的發展有關。

伍、結論與建議

1. 本研究的結論為梗塞型腦中風的發病主因為風、痰和氣虛，這些結果與我們先前的風、痰和血瘀稍有差異，但與中醫傳統理論相謀合。
2. 建議關於證型與實際臨床關係之探討有必要繼續支持研究。

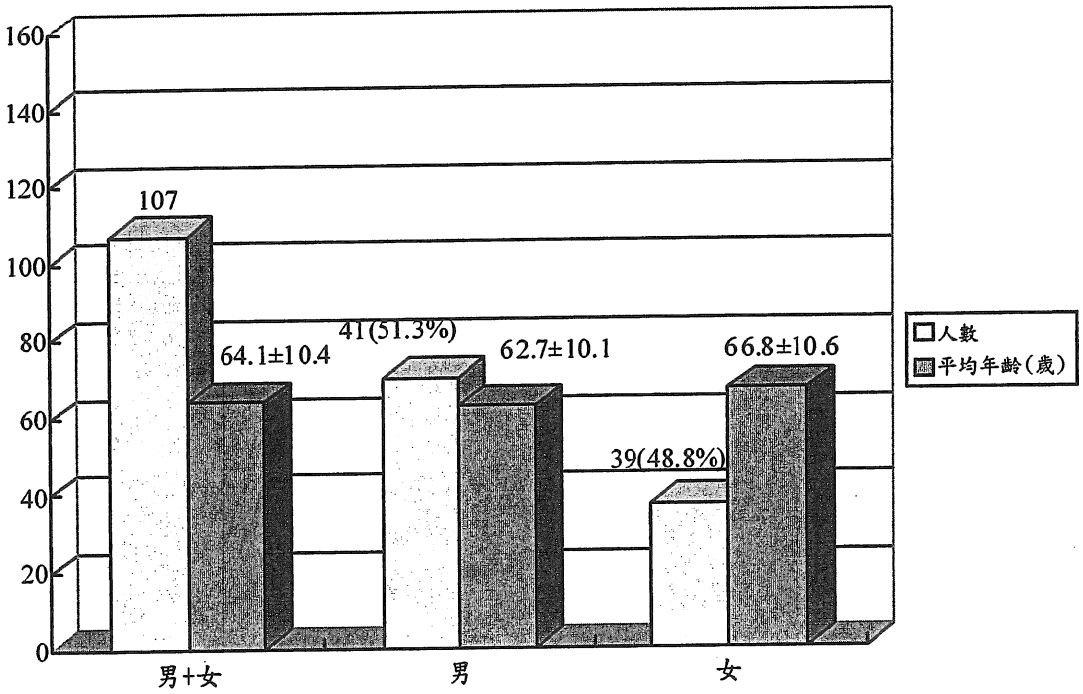
誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-104 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 行政院衛生署民國 96 年死因統計記者會發布資料。http://www.doh.gov.tw/cht2006/index populace. aspx。
2. Wiebers D.O., Feigin V.L., Brown R.D. Handbook of stroke 2nd Edition Lippincott Williarms & Wilkins Philadelphia 2006; pp.:355-356.
3. 劉祥仁、葉炳強：急性缺血性腦中風之一般處理原則，台灣腦中風學會大會會刊，2003；meeting of Taiwan stroke society，P.：127-134。
4. Hénon H., Durieu I., Guerouaou D., Lebert F., Pasquier F. Poststroke dementia incidence and relationship to prestroke cognitive decline. Neurology, 2001; 57:1216-1222.
5. 吳謙：醫宗金鑑 編輯雜病心法要訣，世一文化事業股份有限公司，第三版，2001；pp.：107-115。
6. 李克光、楊百茀：金匱要略；知音出版社，台北市，1994；pp：132。
7. 王永炎、任占利、王順道、高穎、郭蓉鵑：中風病辨證診斷標準（試行），北京中醫藥大學學報，1994；17(3)：64-66。
8. 劉崇祥、唐娜櫻、李采娟、彭昱憲、陳巍耀、謝慶良：台灣腦梗塞急性期病患中醫證型與臨床嚴重度之相關性，Mid Taiwan J Med，2006；11：97-103。
9. 唐娜櫻、劉崇祥、陳維恭、周德陽、李采娟、彭昱憲、謝慶良：台灣出血型腦中風急性期中醫證型之研究，Mid Taiwan J Med，2006；11：42-49。
10. 謝慶良、唐娜櫻、李采娟、劉崇祥、呂宗達、蔡宗璋、黃偉師、黃琬婷、陳香霓：腦中風後失智症之中醫證型及證型與失智嚴重度關係之研究，2007 年行政院衛生署中醫藥委員會研究計畫成果報告書（計畫編號：CCMP95-TP-024）。
11. Hulley S. B., Cummings S. R., Browner W.S., Grady D. Hearst Norman, Newman T.B. Designing Clinical Research. 2nd, Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

柒、圖、表



圖一：107 位梗塞型腦中風急性期患者人數及年齡分布圖

表一、107 位梗塞型腦中風急性期患者五種量表之分數變化

量表	前	後	後一前	*p* 值 (paired t)
GCS	14.7±0.7	15.0±0.2	0.3±0.7	<0.0001
MRS	3.7±0.7	2.4±1.3	-1.3±1.0	<0.0001
NIHSS	7.6±2.6	3.6±3.4	-4.0±3.0	<0.0001
BI	47.9±28.0	78.6±26.3	30.7±27.3	<0.0001
FIM	74.0±23.8	99.7±23.0	25.7±21.1	<0.0001

本表及以下各表：前：發病住院時之評估；後：發病後 12 週（12 週±3 天）時之評估；GCS：Glasgow Coma Scale ；MRS：Modified Rankin Scale；NIHSS：National Institutes of Health Stroke Scale；BI: Barthel Index；FIM：Functional Independence Measure。

表二、107 位梗塞型腦中風急性期患者一個證型之五種量表分數的變化

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
風證	有 n=2 1.9%	前	15.0±0	3.5±0.7	6.5±2.1	57.5±24.7	75.0±19.8
		後	15.0±0	2.0±0	1.5±0.7	90.0±0	106±14.1
		後—前	0.0±0.0	-1.5±0.7	-5.0±1.4	32.5±24.7	31.0±5.7
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	47.7±28.2	74.0±23.9
		後	15.0±0.2###	2.4±1.3	3.7±3.4	78.3±26.5	99.6±23.1
		後—前	0.0±1.2***	-1.3±1.2***	-3.0±4.8***	27.7±23.2***	23.2±21.3***

有：證型成立；非：證型不成立；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$ 與前比較；#$p < 0.05$，##$p < 0.01$，###$p < 0.001$ 與有相比較。

表三、107位梗塞型腦中風急性期患者二個證型之五種量表分數的變化

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
風·火熱證	有 n=1 0.9%	前	15.0	4.0	6.0	60.0	82.0
		後	15.0	2.0	4.0	75.0	82.0
		後-前	0.0	-2.0	-2.0	15.0	0.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.7	47.7±28.2	73.9±23.9
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.4***	78.6±26.5***	99.9±23.0***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.8±27.4	26.0±21.1
風·痰證	有 n=13 12.2%	前	14.3±1.0	3.9±0.5	8.0±2.2	47.7±25.1	69.5±20.5
		後	15.0***	2.5±1.5***	3.4±3.1***	76.5±31.0***	98.8±27.2***
		後-前	0.7±1.0	-1.5±1.3	-4.6±1.8	28.8±17.8	29.2±18.3
	非 n=94 87.9%	前	14.7±0.7	3.7±0.8	7.6±2.6	47.9±28.5	74.6±24.3
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.7±3.5***	78.8±25.8***	99.9±22.5***
		後-前	0.2±0.6	-1.3±1.0	-3.9±3.1	31.0±28.4	25.2±21.5
風·血瘀證	有 n=3 2.8%	前	15.0±0	3.3±1.2	6.7±2.9	60.0±32.8	91.3±21.6
		後	15.0±0	3.0±1.0	4.7±2.1	81.7±16.1	104.3±17.9
		後-前	0.0	-0.3±0.6	-2.0±1.0	21.7±20.2	13.0±8.2
	非 n=104 97.2%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.5±28.0	73.5±23.8
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.4***	78.5±26.6***	99.6±23.2***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.0±27.5	26.1±21.3
風·氣虛證	有 n=6 5.6%	前	14.7±0.8	3.8±0.8	8.0±1.7	41.7±32.7	72.2±24.6
		後	15.0±0	2.3±1.2*	2.5±2.1***	82.5±20.9*	100.8±19.3*
		後-前	0.3±0.8	-1.5±1.0	-5.5±1.9	40.8±26.7	28.7±22.0
	非 n=101 94.4%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.2±27.9	74.1±23.9
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.7±3.5***	78.3±26.7***	99.7±23.3***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-3.9±3.1	30.1±27.3	25.5±21.2
風·陰虛陽亢證	有 n=3 2.8%	前	15.0±0.0	3.7±0.6	5.7±0.6	60.0±13.2	91.7±10.7
		後	15.0±0.0	1.7±1.5	1.7±1.5	86.7±23.1	112.0±12.1
		後-前	0.0	-2.0±1.0	-4.0±1.0	26.7±17.6	20.3±4.0
	非 n=104 97.2%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.5±28.3	73.5±23.9
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.7±3.4***	78.3±26.5***	99.4±23.2***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.1	30.8±27.6	25.9±21.4
火熱·痰證	有 n=1 0.9%	前	14.0	4.0	10.0	10.0	44.0
		後	15.0	2.0	2.0	75.0	101.0
		後-前	1.0	-2.0	-8.0	65.0	57.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.2±27.9	74.3±23.7
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.7±3.4***	78.6±26.5***	99.7±23.1***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.4±27.2	25.4±21.0
痰·血瘀證	有 n=2 1.9%	前	15.0±0.0	4.0±0.0	9.5±2.1	20.0±7.1	45.0±8.5
		後	15.0±0.0	2.4±1.	2.0±0.0	90.0±7.1	105.0±8.5
		後-前	0.0	-2.0±1.4	-7.5±2.1	70.0±14.1	60.0±17.0
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.4±28.0	74.6±23.7
		後	15.0±0.2***	2.5±1.3***	3.7±3.4***	78.3±26.5***	99.6±23.2***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-3.9±3.0	30.0±27.0#	25.1±20.7#
痰·陰虛陽亢證	有 n=1 0.9%	前	15.0	4.0	10.0	20.0	48.0
		後	15.0	3.0	6.0	75	97
		後-前	0.0	-1.0	-4.0	55.0	49.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.1±28.0	74.3±23.8
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.4***	78.6±26.5***	99.8±23.1***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.5±27.3	25.5±21.1
氣虛·陰虛陽亢證	有 n=1 0.9%	前	15.0	3.0	5.0	95.0	115.0
		後	15.0	1.0	0.0	100.0	126.0
		後-前	0.0	-2.0	-5.0	5.0	11.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.4±27.8	73.6±23.6
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.7±3.4***	78.3±26.4***	99.5±22.9***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.9±27.3	25.9±21.2

有：證型成立；非：證型不成立；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$ 與前比較；#$p < 0.05$，##$p < 0.01$，###$p < 0.001$ 與有相比較。

表四、107 位梗塞型腦中風急性期患者三個證型之五種量表分數的變化

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
風・火熱・痰證	有 n=5 4.7%	前	14.6±0.8	3.6±0.9	8.6±2.7	39.0±32.7	70.8±26.7
		後	15.0±0.0	2.2±1.5*	3.4±3.0**	81.0±26.1	98.8±21.8
		後-前	0.4±0.9	-1.4±0.9	-5.2±1.5	42.0±35.3	28.0±23.5
	非 n=102 95.3%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.3±27.9	74.2±23.8
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.6±3.4***	78.4±26.5***	99.8±23.1***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.1	30.1±27.0	25.6±21.1
風・火熱・血瘀證	有 n=1 0.9%	前	15.0	2.0	7.0	95.0	115.0
		後	15.0	1.0	4.0	100.0	121.0
		後-前	0.0	-1.0	-3.0	5.0	6.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	47.4±27.8	73.6±23.6
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.6±3.4***	78.3±26.4***	99.5±23.0***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.9±27.3	25.9±21.1
風・火熱・氣虛證	有 n=5 4.7%	前	14.8±0.4	3.6±1.1	7.6±2.2	45.0±38.7	73.2±33.3
		後	14.8±0.4	2.4±1.7*	4.2±3.6*	69.0±42.8	96.6±37.0
		後-前	0.0±0.0	-1.2±0.8	-3.4±2.2	24.0±28.8	23.4±21.6
	非 n=102 95.3%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.0±27.7	74.0±23.5
		後	15.0±0.1***	2.4±1.2***	3.6±3.4***	79.0±25.5***	99.9±22.3***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.1	31.0±27.3	25.8±21.2
風・痰・血瘀證	有 n=6 5.6%	前	14.8±0.4	3.7±0.5	7.2±2.1	57.5±17.0	76.5±16.5
		後	15.0±0.0	1.7±1.2**	2.7±2.3**	96.7±6.1**	114.2±11.9**
		後-前	0.2±0.4	-2.0±0.9	-4.5±2.5	39.2±19.6	37.7±17.2
	非 n=101 94.4%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.3±28.5	73.9±24.2
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.7±3.5***	77.5±26.7***	98.9±23.2***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.1	30.2±27.7	25.0±21.2
風・痰・氣虛證	有 n=12 11.2%	前	14.6±1.2	4.2±0.4	7.8±3.1	36.3±24.4	68.0±24.0
		後	15.0±0.0	2.8±1.2**	4.7±5.3*	69.6±35.5**	94.7±27.9**
		後-前	0.4±1.2	-1.3±1.2	-3.2±3.8	33.3±36.5	26.7±23.4
	非 n=95 88.8%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.5	49.3±28.2	74.8±23.8
		後	15.0±0.2***	2.3±1.3***	3.5±3.1***	79.7±25.1***	100.4±22.4***
		後-前	0.3±0.6	-1.3±1.0	-4.1±2.9	30.4±26.2	25.6±20.9
風・痰・陰虛陽亢證	有 n=2 1.9%	前	14.5±0.7	3.0±1.4	7.0±2.8	55.0±49.5	64.0±18.4
		後	14.5±0.7	2.5±2.1	5.5±6.4	55.0±63.6	83.5±60.1
		後-前	0.0±0.0	-0.5±0.7	-1.5±3.5	0.0±14.1	19.5±41.7
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.7	47.7±27.9	74.2±23.9
		後	15.0±0.1***	2.±1.2***	3.6±3.4***	79.0±25.6***	100.0±22.3***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.3±27.2	25.8±20.9
風・血瘀・氣虛證	有 n=7 6.5%	前	14.9±0.4	3.9±0.4	6.0±1.4	50.7±24.1	76.6±18.8
		後	15.0±0.0	2.7±1.0	3.9±4.7	81.4±18.6*	100.4±16.9*
		後-前	0.1±0.4	-1.1±1.2	-2.1±5.3	30.7±31.9	23.9±24.5
	非 n=100 93.5%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.7±28.4	73.8±24.2
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.3***	78.4±26.8***	99.7±23.4***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.1±2.8	30.7±27.1	25.9±21.0
風・氣虛・陰虛陽亢證	有 n=7 6.5%	前	15.0±0.0	3.0±1.0	6.3±1.9	67.9±35.5	95.6±25.9
		後	15.0±0.0	1.4±1.3**	2.3±2.1**	88.6±17.0	110.1±16.6
		後-前	0.0±0.0	-1.6±1.0	-4.0±2.3	20.7±37.1	14.6±21.5
	非 n=100 93.5%	前	14.7±0.7	3.8±0.7	7.7±2.6	46.5±27.1	72.5±23.0
		後	15.0±0.2***	2.5±1.2***	3.7±3.5***	77.9±26.8***	99.0±23.2***
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.1	31.4±26.6	26.5±21.0

有：證型成立；非：證型不成立；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$ 與前比較；#$p < 0.05$，##$p < 0.01$，###$p < 0.001$ 與有相比較。

表五、107 位梗塞型腦中風急性期患者四個證型之五種量表分數的變化

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
風證・火熱證・痰證・血瘀證	有 n=2 1.9%	前	14.5±0.7	3.0±1.4	6.0±1.4	65.0±49.5	94.0±28.3
		後	14.5±0.7	3.0±0.0	3.5±2.1	77.5±3.5	98.5±12.0
		後-前	0.0	0.0±1.4	-2.5±3.5	12.5±53.0	4.5±40.3
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.5±27.8	73.6±23.7
		後	15.0±0.1	2.4±1.3	3.6±3.4	78.6±26.6	99.8±23.2
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.0±26.9	26.1±20.7
風證・火熱證・痰證・氣虛證	有 n=4 3.7%	前	14.8±0.5	4.0±0.8	7.5±2.9	32.5±26.3	61.8±21.6
		後	15.0±0.1	2.4±1.3	3.6±3.4	78.6±26.6	99.8±23.2
		後-前	0.3±0.5	-1.5±1.0	-4.8±3.0	53.8±34.0	42.8±22.3
	非 n=103 96.3%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.4±28.1	74.5±23.8
		後	15.0±0.2	2.4±1.3	3.7±3.5	78.3±26.5	99.5±23.3
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.	-4.0±3.0	29.8±26.8	25.1±20.9
風證・火熱證・痰證・陰虛陽亢證	有 n=2 1.9%	前	15.0	3.0±1.4	8.0±2.8	60.0±49.5	88.0±39.6
		後	15.0	2.0±1.4	3.5±4.9	77.5±31.8	104.0±31.1
		後-前	0	-1.0±0	-4.5±2.1	17.5±17.7	16.0±8.5
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.7	47.6±27.8	73.7±23.6
		後	15.0±0.2	2.4±1.3	3.6±3.4	78.6±26.4	99.6±23.0
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0###	-4.0±3.0	31.0±27.4	25.9±21.3
風證・火熱證・氣虛證・陰虛陽亢證	有 n=1 0.9%	前	15.0	4.0	13.0	25.0	51.0
		後	15.0	4.0	5.0	50.0	69.0
		後-前	0.0	0.0	-8.0	25.0	18.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.5	48.1±28.1	74.2±23.8
		後	15.0±0.2	2.4±1.2	3.6±3.4	78.8±26.3	100.0±22.9
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.8±27.4	25.8±21.2
風證・痰證・血瘀證・氣虛證	有 n=5 4.7%	前	14.0±1.0	4.2±0.4	12.0±3.8	25.0±18.7	50.6±12.2
		後	15.0±0.0	3.2±1.1	7.4±6.3	58.0±37.5	81.4±26.3
		後-前	1.0±1.0	-1.0±0.7	-4.6±6.7	33.0±32.5	30.8±29.7
	非 n=102 95.3%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.4±2.3	50.0±28.0	75.2±23.7
		後	15.0±0.2	2.4±1.2	3.5±3.1	79.6±25.5	100.6±22.6
		後-前	0.2±0.7#	-1.3±1.0	-4.0±2.8	30.6±27.2	25.5±20.8
風證・痰證・血瘀證・陰虛陽亢證	有 n=2 1.9%	前	15.0	4.0	10.5±3.5	50.0±35.4	85.0±28.3
		後	15.0	3.0	4.0±1.4	82.5±10.6	96.5±21.9
		後-前	0	-1.0	-6.5±2.1	32.5±24.7	11.5±6.4
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.5	47.8±28.1	73.8±23.8
		後	15.0±0.2	2.4±1.3	3.6±3.4	78.5±26.6	99.8±23.1
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0###	-3.9±3.0	30.7±27.5	26.0±21.2
風證・痰證・氣虛證・陰虛陽亢證	有 n=4 3.7%	前	14.8±0.5	3.5±0.6	7.0±0.8	52.5±21.8	73.3±19.7
		後	15.0±0.0	2.3±1.7	2.8±2.2	82.5±22.5	97.0±26.4
		後-前	0.3±0.5	-1.3±1.3	-4.3±2.6	30.0±7.1	23.8±13.1
	非 n=103 96.3%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.7±28.3	74.0±24.0
		後	15.0±0.2	2.4±1.2	3.7±3.4	78.4±26.6	99.8±23.0
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.7±27.8	25.8±21.4
風證・血瘀・氣虛證・陰虛陽亢證	有 n=2 1.9%	前	15.0	3.5±0.7	6.5±2.1	52.5±31.8	79.0±36.8
		後	15.0	2.5±0.7	4.0	97.5±3.5	112.5±0.7
		後-前	0	-1.0	-2.5±2.1	45.0±28.3	33.5±37.5
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	47.8±28.1	73.9±23.7
		後	15.0±0.92	2.4±1.3	3.6±3.4	78.2±26.4	99.5±23.1
		後-前	0.3±0.7###	-1.3±1.0###	-4.0±3.0	30.4±27.4	25.6±21.0
風證・火熱證・血瘀證・陰虛陽亢證	有 n=1 0.9%	前	15.0	4.0	5.0	40.0	64.0
		後	15.0	3.0	4.0	75.0	87.0
		後-前	0	-1.0	-1.0	35.0	23.0
	非 n=106	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.9±28.2	74.1±23.9
		後	15.0±0.2	2.4±1.3	3.6±3.4	78.6±26.5	99.8±23.1

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
	99.1%	後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.7±27.4	25.7±21.2
風證・火熱證・血瘀證、氣虛證	有 n=1 0.9%	前	15.0	3.0	5.0	85.0	112.0
		後	15.0	0	0	100	126
		後-前	0	-3.0	-5.0	15.0	14.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.7±2.6	47.5±27.9	73.7±23.6
		後	15.0±0.2	2.4±1.2	3.7±3.4	78.3±26.4	99.5±22.9
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	30.5±27.4	25.8±21.2

有：證型成立；非：證型不成立；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$ 與前比較。

表六、107位梗塞型腦中風急性期患者五個證型之五種量表分數的變化

證型			GCS	MRS	NIHSS	BI	FIM
風證·火熱證·血瘀證·氣虛證·陰虛陽亢證	有 n=1 0.9%	前	15.0	4.0	8.0	30.0	55.0
		後	15.0	4.0	8.0	30.0	57.0
		後-前	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
	非 n=106 99.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	48.0±28.1	74.2±23.8
		後	15.0±0.2***	2.4±1.2***	3.6±3.4***	79.0±26.0***	100.1±22.7***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.0±27.3	25.9±21.1
風證·火熱證·痰證·血瘀證·氣虛證	有 n=2 1.9%	前	14.0±1.4	3.5±0.7	7.5±3.5	55.0±35.4	75.5±33.2
		後	15.0	3.0±1.4	5.5±3.5	65.0±49.5	92.5±47.4
		後-前	1.0	-0.5	-2.0	10.0	17.0
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.7	47.7±28.1	74.0±23.8
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.4***	78.8±26.1***	99.9±22.7***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.1±27.4	25.9±21.2
風證·痰證·血瘀證·氣虛證·陰虛陽亢證	有 n=2 1.3%	前	15.0	4.0	6.5±0.7	52.5±3.5	71.5±0.7
		後	15.0	3.0	3.5±2.1	70.0	92.5±4.9
		後-前	0	-1.0	-3.0±1.4	17.5±3.5	21.0±4.2
	非 n=105 98.1%	前	14.7±0.7	3.7±0.7	7.6±2.6	47.8±28.3	74.1±24.0
		後	15.0±0.2***	2.4±1.3***	3.6±3.4***	78.7±26.6***	99.9±23.2***
		後-前	0.3±0.7	-1.3±1.0	-4.0±3.0	31.0±27.5	25.8±21.3

有：證型成立；非：證型不成立；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$ 與前比較。

捌、附錄

附件一：Glasgow Coma Scale 紀錄表
附件二：Modified Rankin Scale
附件三：美國國家衛生研究院中風評量表（NIHSS）
附件四：巴式量表 Barthel Index（BI）
附件五：生活功能獨立執行測量表（FIM）
附件六：中風病辨證診斷標準

附件一

Glasgow Coma Scale 紀錄表

（總分：15）

眼睛張開		語音反應		運動反應	
自然張開 （4）		能清楚理解 （5）		自發性活動 （6）	
被要求時才張開 （3）		語無倫次 （4）		可依從指示而活動 （5）	
因疼痛而張開 （2）		只能說出單字 （3）		可指出疼痛處 （4）	
無反應 （1）		只能發聲 （2）		彎屈反應 （3）	
		無反應 （1）		伸直反應 （2）	
				無反應 （1）	
總　分					

附件二

Modified Rankin Scale

0 No symptoms at all

1 No significant disability despite symptoms; able to carry out all usual duties and activities

2 Slight disability; unable to carry out all previous activities, but able to look after own affairs without assistance

3 Moderate disability; requiring some help, but able to walk without assistance

4 Moderately severe disability; unable to walk without assistance and unable to attend to own bodily needs without assistance

5 Severe disability; bedridden, incontinent and requiring constant nursing care and attention

6 Dead

附件三

美國國家衛生研究院中風評量表

姓名：	病歷號：	入院日：	出院日：
診斷：			

項目	評分指導	分數	入院評估				
1a.意識程度	警覺	0					
	嗜睡	1					
	木僵	2					
	昏迷	3					
1b.意識程度，問題 （問年齡及出生月份）	正確回答二項指令	0					
	正確回答一項指令	1					
	二者回答皆不正確	2					
1c.意識程度，遵從命令 （睜閉眼/握放拳）	正確服從二項指令	2					
	正確服從一項指令	1					
	二者皆不正確	2					
2.凝視 1:一眼或兩眼凝視不正常,案無不自然的偏向 2:呈現不自然的偏向	正常	0					
	部分凝視麻痺	1					
	完全凝視麻痺	2					
3.視野 1:局部偏盲(1/4 的視野) 2:一側的視野完全偏盲 3 兩側的視野完全偏盲	視野正常	0					
	部分偏盲	1					
	完全偏盲	2					
	兩側偏盲	3					
4.顏面麻痺	動作正常	0					
	輕微麻痺	1					
	局部麻痺	2					
	完全麻痺	3					
5-6.最佳運動功能（重複每隻手臂及腿） 手:抬高維持 10 秒. 腳:抬高維持 5 秒 1:抬起達指定時間雖有移動但未碰到床. 2 抬起未達指定時間而放下碰到床. 3:只可水平移動 4:完全不能動	無偏移	0	右上肢	右下肢	左上肢	左下肢	當病患躺著時手抬起約45度,腳抬起約30度.當病者坐著時手抬起約90度.
	有偏移	1					
	稍可對抗重力	2					
	不能對抗重力	3					
	不能運動	4					
	無法測試	9					
7.四肢失調	沒有出現	0					
	一肢失調	1					
	二肢失調	2					
	無法測試	9					
8.感覺 1:針刺時的痛覺感較不明顯,或感覺麻麻的. 2:完全無痛覺感或昏迷	正常	0					
	局部喪失	1					
	嚴重喪失	2					
9.語言(包括 comprehension) 1:不流利但聽得懂 2:斷斷續續聽不懂 3:昏迷	無失語症	0					
	輕-中度失語症	1					
	嚴重失語	2					
	完全失語	3					
10.發音困難 1:含糊的發音但可以理解 2:含糊的發音但難以理解	正常發音	0					
	輕-中度發音困難	1					
	無法理解或更差	2					
	無法測試	9					
11.疏忽/不注意(視覺、觸覺、聽覺、空間、人) 1:上述一種檢驗有忽略出現 2:上述兩種或兩種以上檢驗有忽略出現	無疏忽	0					
	部分疏忽	1					
	完全疏忽	2					
總　　分							

附件四

巴式量表 Barthel Index

姓名：	病歷號：	住院日期：	出院日期：		
診斷：					
項目	評　分　指　標		分數	入院評估	出院評估
一、進食	獨立。自己在合理時間內可用筷取食食物，若需使用輔助具時，可自行取用穿脫。		10		
	需協助穿脫進食輔助具。		5		
	無法自行進食。		0		
二、移位	可自行坐起，由床移位至椅子或輪椅不需協助，包括輪椅煞車及移開腳踏板，且無安全顧慮。		15		
	在上述移位過程中需要協助或提醒，或有安全上的顧慮。		10		
	可自行坐起但需別人協助才能移至椅子。		5		
	不會自行移位。		0		
三、個人衛生	可自行刷牙、洗臉、洗手及梳頭髮。		5		
	需別人協助。		0		
四、如廁	可自行上下馬桶不會弄髒衣褲並能穿好衣服，使用便盆可自行清理便盆。		10		
	需幫忙保持姿勢平衡，整理衣物及衛生紙，使用便盆時可自行取放便盆，但需仰賴他人清理。		5		
	需別人協助。		0		
五、洗澡	能獨立完成		5		
	需別人協助。		0		
六、平地行走	使用或不使用輔具皆可自行行走 50 公尺以上。		15		
	需稍微協助才能行走 50 公尺以上。		10		
	雖無法行走但可獨立操作輪椅，並可維持輪椅 50 公尺以上。		15		
	無法行走。		0		
七、上下樓梯	可自行上下樓梯，可使用扶手或枴杖。		10		
	需要扶持或監督。		5		
	無法上下樓梯。		0		
八、穿脫衣服	可自行穿脫衣褲。		10		
	需協助穿脫衣服，自己能完成一半以上的動作。		5		
	無法自己穿脫。		0		
九、大小便控制	不會失禁，需要時能自行使用栓劑。		10		
	偶而失禁，需協助使用栓劑。		5		
	失禁，需別人處理大便事宜。		0		
十、小便控制	不會失禁，需使用尿套、尿袋時，可自行使用及清理。		10		
	偶而失禁，需別人處理尿套。		5		
	失禁，需別人處理小便事宜。		0		
總　分					

附件五

生活功能獨立執行測量表
FIM（Functional Independence Measure）

總分：等級：日期：年月日編號：

項次	項目	完全依賴	大量協助	中度協助	稍微協助	監督設定計劃	改良性獨立	完全獨立
自我照顧								
	A.進食	1	2	3	4	5	6	7
	B.修容	1	2	3	4	5	6	7
	C.沐浴	1	2	3	4	5	6	7
	D.穿脫上衣	1	2	3	4	5	6	7
	E.穿脫下半身褲裙	1	2	3	4	5	6	7
	F.如廁	1	2	3	4	5	6	7
括約肌控制								
	G.膀胱處理	1	2	3	4	5	6	7
	H.腸道處理	1	2	3	4	5	6	7
行動								
	I.床椅輪椅間移動	1	2	3	4	5	6	7
	J.廁所間移動	1	2	3	4	5	6	7
	K.浴室間移動	1	2	3	4	5	6	7
走動								
	L.行走輪椅	1	2	3	4	5	6	7
	M.上下樓梯	1	2	3	4	5	6	7
溝通								
	N.理解	1	2	3	4	5	6	7
	O.表達	1	2	3	4	5	6	7
社會認知								
	P.社會互動	1	2	3	4	5	6	7
	Q.問題解決	1	2	3	4	5	6	7
	R.記憶	1	2	3	4	5	6	7

評分等級：0-18：完全依賴　19-36：大量協助　37-54：中度依賴　55-72：輕度依賴
73-90：監督設定計劃　91-107：改良性獨立　108-126：完全獨立

附件六

中風病辨證診斷標準

姓　　名：＿＿＿＿＿＿＿＿　病 歷 號：＿＿＿＿＿＿＿＿　病房：＿＿＿＿＿＿

發作時間：＿＿＿＿＿＿＿＿　記錄時間：＿＿＿＿＿＿＿＿

一、風證	1.1 起病	□a.48 小時達到高峰（2 分）　□b.24 小時達到峰（4 分） □c.病情數變（6 分）　□d.發病即達高峰（8 分）
	1.2 肢體	□a.兩手握固或口噤不開（3 分）□b.肢體抽動（5 分）□c.肢體拘急或頸項強急（7 分）
	1.3 舌體	□a.舌體顫抖（5 分）　□b.舌體歪斜且顫抖（7 分）
	1.4 目珠	□a.目珠游動或目偏不瞬（3 分）　□b.正常（0 分）
	1.5 脈弦	□a.是（3 分）　□b.否（0 分）
	1.6 頭暈頭痛	□a.頭暈或頭痛加掣（1 分）　□b.頭暈目眩（2 分）
二、火熱證	2.1 舌質	□a.舌紅（5 分）　□b.舌紅絳（6 分）
	2.2 舌苔	□a.薄黃（2 分）□b.黃厚（3 分）□c.乾燥（4 分）□d.灰黑乾燥（5 分）
	2.3 大便	□a.便乾便難（2 分）□b.便乾 3 日未解（3 分）□c.便乾 5 日以上未解（4 分）
	2.4 神情	□a.心煩易怒（2 分）　□b.躁擾不寧（3 分）　□c.神昏譫語（4 分）
	2.5 面目呼吸氣味	□a.聲高氣粗或口唇乾紅（2 分）　□b.面紅目赤或氣促口臭（3 分）
	2.6 發熱	□a.有（3 分）　□b.無（0 分）
	2.7 脈象	□數大有力或弦數或滑數（2 分）
	2.8 口中感覺	□a.口苦咽乾（1 分）　□b.渴喜冷飲（2 分）
	2.9 尿短赤	□a.有（1 分）　□b.無（0 分）
三、痰證	3.1 痰	□a.口多粘涎（2 分）□b.咳痰或嘔吐痰涎（4 分）□c.痰多而粘（6 分）□d.鼻鼾痰鳴（8 分）
	3.2 舌苔	□a.膩或水滑（6 分）　□b.厚膩（8 分）
	3.3 舌體	□a.胖大（4 分）　□b.胖大多齒痕（6 分）
	3.4 神情	□a.表情淡漠或寡言少語（2 分）　□b.神情呆滯或反應遲鈍或嗜睡（3 分）
	3.5 脈象	□滑或濡（3 分）
	3.6 頭昏沉	□a.有（1 分）　□b.無（0 分）
	3.7 體胖壅腫	□a.是（1 分）　□b.否（0 分）
四、血瘀證	4.1 舌質	□a.舌背脈絡瘀張青紫（4 分）　□b.舌紫暗（5 分）　□c.有瘀點（6 分） □d.有瘀斑（8 分）　□e.青紫（9 分）
	4.2 頭痛	□a.頭痛而痛處不移（5 分）　□b.頭痛如針刺或如炸裂（7 分）
	4.3 肢體	□a.肢痛不移（5 分）　□b.爪甲青紫（6 分）
	4.4 面色	□a.臉下青黑（2 分）□b.口唇紫暗（3 分）□c.口唇紫暗且面色晦暗（5 分）
	4.5 脈象	□a.沉弦細（1 分）　□b.沉弦遲（2 分）　□c.澀或結代（3 分）
五、氣虛證	5.1 舌質舌體	□a.舌淡（3 分）　□b.舌胖大（4 分）　□c.胖大邊多齒痕或舌瘦（5 分）
	5.2 體態聲音	□a.神疲乏力或少氣懶言（1 分）　□b.語聲低怯或咳聲無力（2 分） □c.倦怠嗜臥（3 分）　□d.鼻鼾細微（4 分）
	5.3 汗	□a.稍動則汗出（2 分）□b.安靜時汗出（3 分）□c.冷汗不止（4 分）
	5.4 二便	□a.大便溏或初硬後溏（1 分）□b.小便自遺（2 分）□c.二便自遺（4 分）
	5.5 肢體	□a.手足腫脹（2 分）　□b.肢體癱軟（3 分）　□c.手撒肢冷（4 分）
	5.6 心悸	□a.活動較多時心悸（1 分）□b.輕微活動即心悸（2 分）□c.安靜時常心悸（3 分）
	5.7 面色	□a.面白（1 分）　□b.面白且面色虛浮（3 分）
	5.8 脈象	□a.沉細或遲緩或脈虛（1 分）　□b.結代（2 分）　□c.脈微（3 分）
六、陰虛陽亢證	6.1 舌質舌體	□a.舌體瘦（3 分）□b.舌瘦而紅（4 分）□c.舌瘦而紅乾（7 分）□d.舌瘦而紅乾多裂（9 分）
	6.2 舌苔	□a.苔少或剝脫苔（5 分）　□b.光紅無苔（7 分）
	6.3 神情	□a.心煩易怒（1 分）□b.心煩不得眠（2 分）□c.躁擾不寧（3 分）
	6.4 熱象	□午後顴紅或面部烘熱或手足心熱（2 分）
	6.5 頭暈目眩	□a.有（2 分）　□b.無（0 分）
	6.6 盜汗	□a.有（2 分）　□b.無（0 分）
	6.7 耳鳴	□a.有（2 分）　□b.無（0 分）
	6.8 乾燥	□咽乾口燥或兩目乾澀或便乾尿少（2 分）
	6.9 脈象	□弦細或細數（1 分）

※證候診斷得分：≧7 分為該證型診斷成立。(7~14 分：輕度；15~22 分：中度；≧23：重度)（王永炎等，19994）

記錄者：＿＿＿＿＿＿＿＿

編號：CCMP99-RD-106

接受化學治療癌症病患之中醫診斷：以經絡能量診察為基礎(2-2)

戴承杰
臺北醫學大學

摘　要

研究目的：

國內有中西醫並行的醫療體系，癌症病患有很高的中醫使用率，但至今仍缺乏對癌症病患中醫診斷的研究。本研究目的是以接受化療的癌症患者之經絡能量診察結果為基礎，並考量癌症診斷後，作出中醫診斷的分類；再進一步檢視中醫診斷分類與中醫體質評估、癌症症狀、癌症生理指標與健康相關生活品質的關係。

研究方法：

本計畫採縱貫性研究設計，研究地點在北部某一同時具有血液腫瘤科及傳統醫學科的教學醫院，研究對象為肺癌、大腸直腸癌與乳癌，蒐集癌症病患在化學治療前、化療第 1、3、6 個月與結束後 1 個月的經絡能量、中醫體質量表評估、癌症症狀、生理檢驗值與生活品質資料，研究收案自 2009 年 1 月至 2011 年 9 月，共收案 120 位，完成 432 人次的訪問與儀器測量。

結果與討論：

在診斷變項的校正下，針對整體經絡能量的預測，整體經絡能量在治療第 6 個月較治療前為低（β=-5.50, $p<0.05$）。不論是陽虛、陰虛、痰瘀總分，其在化學治療後體質均有更虛的傾向，另外，肺癌病患的陽虛與痰瘀體質較乳癌病患更虛（β=4.88, $p<0.05$）。肺癌病患的症狀干擾程度較乳癌病患為高（β=1.38, $p<0.05$）。生理檢測值方面，AST 的數值在結束化療後 1 個月明顯較治療前為高（β=9.85, $p<0.05$）。心智與身體成份的生活品質（PCSs）不受治療時間因素影響，但肺癌病患的身體成份生活品質較乳癌的 PCSs 分數為差（β=-4.51, $p<0.05$）。兩步集群分析（Two-Step Cluster Analysis）將經絡能量集群為 3 組，分別命名為低、中、高經絡能量 3 組，肺癌、大腸直腸癌、肝癌病患在低經絡能量組的百分比較乳癌為高（X^2=25.04, $p<0.01$）。在陽虛體質、症狀嚴重度與困擾程度、血色素檢驗值、身體成分生活品質健康相關生活品質得分上，三組經絡能量有顯著差異。

結論：

整體經絡能量在治療第 6 個月較治療前為低，且與其他健康指標有顯著相關，顯示以中醫經絡能量的觀點來描述癌症病患的健康狀態是合適的，未來針對

中醫藥治療或介入能量治療是否能改善症狀、體質進而提升整體能量與平衡，或間接改善病患的健康相關生活品質值得未來進一步研究。

關鍵詞：癌症，經絡，能量，群集分析，症狀，體質，健康相關生活品質

Number: CCMP99-RD-106

Traditional Chinese Medicine Diagnosis of Patients with Cancer Receiving Chemotherapy: Based on Meridian Energy Results (2-2)

Chen-Jei Tai
Taipei Medical University

ABSTRACT

Aim:

Taiwan has a two-tiered medical system including modern medicine and traditional Chinese medicine (TCM). Patients with cancer have a high rate of TCM use, but few studies have been conducted on TCM diagnosis for patients with cancer. The objectives of this study are to construct TCM diagnosis among patients with cancer receiving chemotherapy based on meridian energy results, given cancer diagnosis was considered.

Method:

We further examine the relationship between TCM diagnosis, constitution, cancer symptoms, physiological indicators, and health-related quality of life (HRQOL). This study is a longitudinal study. The researcher collected data at the pre-treatment, and the 1st, 3rd, 6th month after the starting treatment, and 1st month after the treatment. The study participants will be recruited from a teaching hospital with both Dept. of hemo-oncology and TCM. The researcher recruited the participants from. There were 120 cancer patients who accepted the interview and meridian energy examination from January 21th, 2009 to September 28th, 2011.

Results & Discussion:

As time went by, the patients had the worse overall meridian energy, Yang deficiency (Yang-Xu), Ying deficiency (Ying-Xu), Phlegm silt constitution, AST. But there was no significant change for the symptom severity, symptom interference, physical and mental component scores (PCSs and MCSs) of SF-36 during the therapy. Comparing with the patients with breast cancer, the patients with lung cancer had significant worse in Yang deficiency constitution, Phlegm silt constitution, symptom interference and PCSs. All patients were assigned to low, medium, and high meridian energy groups by two-step cluster analysis. Comparing with the patients with breast cancer, the patients with lung cancer had higher percentage in the low, meridian energy group. The meridian energy was related with Yang deficiency constitution, symptom severity, interference, hemoglobin, and PCSs.

Conclusion:

The results show patients with 6-months chemotherapy have worse meridian energy. The meridian energy was related with the other health indicators. It hints the meridian energy is an appropriate indicator to measure the health. The Chinese doctors should continue observing the change of the symptoms and give some treatments to alleviate the symptoms and even to ameliorate the meridian energy, the function and the role performance at the same time. Whether using traditional Chinese medicine could improve overall health or not is worth doing further studies.

Keywords: Cancer, Meridian, Energy, Cluster analysis, Symptoms, Constitution, Health-related quality of life

壹、前言

從民國七十一年起，癌症就名列國人十大死因的榜首，根據民國九十六年行政院衛生署統計資料顯示，癌症每年要奪走台灣數萬多條人命，因癌症喪生者已佔死亡人口的 28.9%，是第二位死亡原因腦血管疾病死亡者的 3.0 倍，且有逐年增加的趨勢（行政院衛生署，2008），而每年用於癌症的醫療費用也已超過百億元（Chu, Hwang, Wang, & Chang, 2008）。

癌症的治療方式會依據腫瘤的種類、位置、期數等不同而有所差異，主要包括外科手術切除法、放射線治療法、化學或荷爾蒙藥物治療法、輔助性中藥療法或另類療法（complementary and alternative medicine, CAM）。外科手術切除法就是直接把腫瘤以及可能波及蔓延到的地方一起割除，有些癌症的早期，例如結腸、直腸、腎臟、乳房、子宮等部位的癌，可以手術切除法治癒。當癌發展到癌周圍的淋巴結被侵犯，此時單用外科手術是不能治癒癌的；放射線治療法則是以放射線的能量殺死癌細胞，有鈷-六十、直線加速器、近接治療機等，放射線治療對以下幾種癌症效果特別好；鼻咽癌、皮膚癌、子宮頸癌、喉癌、口腔癌、頜竇癌、睪丸癌等，治癒率達到 90% ；化學治療法是利用化學製劑合成的藥物來治療癌症，有時使用於手術或放射線療法之前或後，為輔助性之療法；雖然西醫強調癌症治療的存活與療效，但治療的副作用或併發症均會影響到病患本身，在台灣門診接受化學治療的癌症病患約有 98%的人有使用輔助性中藥療法或另類療法的行為，但有三分之二的病患未告知主治醫師（Boughey, Gonzalez, Bonner, & Kuerer, 2007; Glynne-Jones & Harrison, 2007, Greene & Sobin, 2008; Hammer, Fanning, & Crowe, 2008; Yang, Chien, & Tai, 2008）。

中醫治療癌症及癌症病期照護中已有許多相關文獻證明有相當的治療效果及改善西醫治療之副作用；早在中醫的《內經》裡即有記載與腫瘤相關的病因、病位、發病情形、治療方法…等；在臨床上，中醫藥的癌症輔助治療成效明顯，目前在兩岸中醫學界也有許多研究表示中醫藥的治療成果。中醫藥已在癌症治療中逐漸受到重視並被接受，中西醫的相輔相成可以讓癌症治療達到最好的效果，且使癌症病患可以得到較好的生活品質，且可降低癌症復發的機會，目前癌症的中西醫結合治療會是世界癌症治療的趨勢。蘇（2007; 2008）年發展了中醫體質量表，更有助於未來中醫臨床及研究疾病防治的推展，且促進中醫現代化。

經絡能量診察是中醫界目前逐漸被重視的檢查工具，經絡能量檢測儀（Meridian Electroacupuncture Analysis Device; MEAD）又可稱為良導絡，是由日本中谷義雄先生所發明的，依人體的皮膚電透點及電阻與全身的神經、血管、解剖位置有相關連，進而發現與中醫的 12 條經絡符合。可用來

了解目前人體內的經絡氣血運行情形，可以幫助醫師了解病患的五臟六腑間的運作情形，找出些微不易發現的問題，幫助病患改善其困擾的問題；也可協助醫師來了解所施給的治療藥物是否有達到預期效果（Nakatani &Yamashita, 1977）。目前許多文獻指出不同病症測量出的值有不同的變化，MEAD 的發展是 TCM 以電生理為基礎邁入科學化的一條研究之路。在良導絡的相關研究方面，Schmidt, Sparenberg, Fraunhofer, & Zirngibl (2002) 曾在病患執行腹腔內視鏡（laparoscopy）及探針內視鏡（needlescopy）膽囊切除術（cholecystectomy）時，運用良導絡系統評估人體交感神經的活動度。良導絡的測量也曾被運用在評值氣功工作坊與減重的能量成效研究（Sancier, 2003; Weng, Hung, Shyu, & Chang, 2004）。國內 Huang, Chien, & Tai（2008）的研究也發現正常胃部與十二指腸的個案與異常胃部與十二指腸的個案在 12 個經絡的能量表現有差別。但與癌症有關的良導絡研究，除了西元 1984 年 Tsuneo 曾利用良導絡測定法診斷癌症，發現癌症患者的和正常人的能量值有明顯的差異外，之後再以癌症為經絡能量為主軸之研究就不再多見。

邱（2007）曾提出疾病形成的冰山理論，其認為雖然中西醫的理論基礎雖然有差別，但症狀是中西醫對疾病觀念的共同切入點。另外，Lenz、Pugh、Milligan、Gife 和 Suppe（1997）的 Theory of Unpleasant Symptoms（TUS）指出症狀很少單獨出現，常是多個一起發生，且症狀之間彼此會相互影響。症狀群集（symptom cluster）的概念用於精神科與臨床醫學領域的疾病診斷已經提出約三十年以上（Kim, McGuire,Tulman, & Barsevick, 2005）。近十年來針對症狀群集的研究尤其是以癌症病患為主的研究於開始發展，有些學者提出，群聚在一起的症狀，可能是由相同的生理機轉如 proinflammatory cytokines 所產生。（Olson, Hayduk, Cree, Cui, Quan, Hanson, et al., 2008; Tsai, Li, Lai, Liu, Chang, & Tu, 2007; Williams, 2007; Yeh, Chiang, Chien, Lin, Yang, & Chuang, 2008）。不同的治療方式對病患的症狀影響也有很大的差異，如 Karamouzis, Ioannidis, & Rigatos （2007）針對 210 位乳癌轉移病患的前瞻性研究，結果顯示支持性療法病患的生活品質較接受化學治療病患為差，兩組的功能與症狀也有顯著差異。因此若要以經絡能量診察系統來建立癌症病患中醫診斷的評估基礎，並整合中西醫診斷，有必要在特定治療方式下收集與分析癌症症狀與生理檢驗的資料。

醫療照護的目標不僅是生命的延長，也要使病患維持或回到可接受的生活品質。生活品質的研究能擴展醫療照護層次、評價治療療效與瞭解病患身心社會問題，除了符合潮流趨勢外，也能提供醫護與病患間接的溝通，因此近年來健康相關生活品質的研究蓬勃發展，其是被用來確保瞭解個體、社會脈絡等事實的重要指標，對於重大決策過程將能提供更有助益的

資訊。健康相關生活品質又區分為一般性（generic）與特定疾病（disease-specific）健康相關生活品質。特定疾病與一般性生活品質的最大不同在於重視疾病、意外或治療對個體導致的身體功能改變，進而影響其在心理、社會層面，造成生活品質的改變（Fayers & Machin, 2000; McDowell & Claire, 1996）。許多研究已經證實癌症病患的生活品質會隨著疾病的進程、治療方式與症狀有所變化（Fox, & Lyon, 2006; Fox, & Lyon, 2007; Holzner et al., 2001; Ridner, 2005; Vacek et al., 2003; Wang, Tsai, Chen, Lin, & Lin, 2008），一些學者則指出尋求輔助或替代療法的病患會有顯著的心理社會困擾與較低的生活品質，接受輔助或替代療法可以滿足癌症病患的心理需求（Burstein et al., 1999; Moschen et al., 2001; Risberg & Jacobsen, 2003），而國人接受化學治療的門診癌症病患使用輔助性中藥療法或另類療法的行為高達九成以上（Yang, Chien, & Tai, 2008）。中醫強調身心與環境達到一平衡的境界，是一個整體的哲學觀，因此，健康生活品質也是評價中醫診斷分類的重要指標之一。

因此，本研究嘗試以中醫經絡的觀點來描述癌症病患的能量變化，並檢視其與中醫體質評估及西醫強調的生理檢測值、癌症症狀、健康相關生活品質的關係，期能提供中醫診斷治療的參考。

貳、材料與方法

本研究旨在探討接受化學治療癌症病患之經絡能量及變化情況，縱貫性研究可以顯示疾病早期經驗與以後發展結果之間的關聯性，較能真實反映出隨著時間變化而改變的特質（Polit, 2003），因此本研究為縱貫性研究設計。研究設計與工具選擇是依據文獻與專家建議而成，以下分研究對象、工具與步驟加以說明：

一、研究對象

96 年行政院衛生署公告的前四大癌症發生率為肺癌、肝癌、直腸結腸癌與乳癌等。本研究為縱貫性研究設計，考量到未來預後較差及可能併發症較嚴重的因素可能造成的成功收案數不足問題，故本研究將同時以北部某一同時具有血液腫瘤科及傳統醫學科之教學醫院的肺癌、直腸結腸癌、肝癌與乳癌等癌症病患為研究對象，選樣標準說明如下：

(一)收案個案須為接受化學治療者。

(二)收案個案為在北台灣地區某家醫學中心接受化學藥物治療的肺癌與直腸結腸癌病患，年齡設限在 18-65 歲。

(三)肺癌、直腸結腸癌收案性別控制在男女各占半數。

(四)乳癌收案以女性為主。

二、研究工具

以下分研究問卷與儀器加以說明：

(一)研究問卷

研究問卷內容包括個案社會人口學資料、生理檢驗變項、中醫體質量表評估、癌症症狀評估量表與生活品質問卷。社會人口學變項包括性別、年齡、種族、宗教信仰、教育程度、婚姻狀態、診斷與分期等變項，生理檢驗變項除了收集 CEA、TPA 與 CA153 等癌症分子血液檢驗值外，CBC（complete blood count）、肝腎功能指數（如 GOT、GPT、BUN 與 Creatinine 等）及血液電解質（Na、K 等）也會納入收集變項中。生活品質問卷是以 SF-36 測量，症狀評估工具則是採用 M. D. Anderson Symptom Inventory，中醫體質量表評估則為蘇（2007）所發展的。

文獻查證部分結果顯示乳癌病患在功能與角色執行觀點上的健康結果有包括身體與心智兩部分，此與 SF-36 健康評估量表內容一致，故本研究將採用此量表為研究工具。SF-36 是一般性（generic）的心理測量工具，由 Ware 等人於 1990 年代在美國進行 Medical Outcome Study 中所發展的多層面健康生活品

質評估問卷，有 8 個層面，共涵括 36 項問題，其中身體生理功能（physical functioning, PF）共 10 子題、因生理功能角色受限（role limitation due to physical problems, RP）共 4 子題、身體疼痛（bodily pain, BP）共 2 子題、一般健康（general health, GH）共 5 子題、活力（vitality, VT）共 4 子題、社會功能（social functioning, SF）共 2 子題、因情緒角色受限（role limitation due to emotional problems, RE）共 3 子題、心理健康（mental health, MH）共 5 子題，此外還有 1 題是自評健康變化（reported health transition, HT）。在 SF-36 臺灣版中，經由多領域專家建議，將「過去一個月」一詞來取代英文版直譯的「過去四星期」，以「打太極拳」取代「打高爾夫球」，用「一公里」取代「一英哩」等（曾、盧、蔡，2003；盧、曾、蔡，2003）。在計分方式部分，SF-36 的總分是由量表下每一子題的選項號碼加總而來，不過在加總之前需進行反向或權重計分的轉換，需反向計分的子題有 GH3、GH5、VT1、VT2、SF1、MH3 與 MH5，須同時反向並權重計分的子題有 BP1、BP2 與 GH1（曾、盧、蔡，2003；盧、曾、蔡，2003）。計分方式是先將 SF-36 八大面向各子題轉換成百分制的分數，八個層面經由標準化計算（Z 分數）可形成常模分數，另外計算 T 分數形成身體（physical component scores, PCSs）與心智（mental component scores, MCSs）成份兩大測量層面，前者主要為身體成份的整體生活品質狀態，後者主要為心理成份的整體生活品質狀態，加總分數越高者，代表生活品質越佳（Ware, Kosinski, & Dewey, 2000）。

盧、曾、蔡（2003）的研究中，以 2001 年國民健康調查 12 歲（含）以上的 18,142 位受訪者為分析樣本，最後以 17,515 人進行 SF-36 台灣版的心理計量特質分析。結果顯示在資料品質方面， SF-36 台灣版的量表平均漏答率低於 4%，女性的漏答率皆低於男性，年輕受訪者較年老人的漏答率為低；量表結構部分，各子題與所屬量表的相關係數範圍在 0.40-0.83 之間，除心理健康量表外，各量表皆通過區分效度的檢測。在內部一致性方面，除社會功能量表外均達到可接受的信度水準（$\alpha >$ 0.70）。此研究工具在國際上常被使用，台灣版亦發展出常模可供比較。另外，SF-36 中所包括的八個次量表可被選擇性使用。但所選擇使用的次量表，則其全部項目必須完全使用（曾、盧、蔡，2003；盧、曾、蔡，2003）。此部分分別在五次量測時以訪談病患方式完成。

在癌症症狀評估量表部分，本研究將採用 Lin, Chang, Cleeland, Mendoza, &Wang（2007）翻譯的 M. D. Anderson Symptom Inventory 台灣版，此量表共訪問 556 位癌症病患，症狀嚴重題與干擾題的內在一致性 Cronbach alpha 值分別為 0.89 與 0.94，3 天的再測信度值分別是 0.96 與 0.97。Concurrent validity 與 Known-group validity 的結果也顯示 M. D. Anderson Symptom Inventory 台灣版具有良好的效度。

本研究對癌症病人的體質的定義是指特徵的組成，其受到後天的化療影響而有所變化，包含陽（氣）虛、陰（血）虛、痰（濕）淤（滯）等三種體質。所採用的量表為中醫體質量表（蘇，2007），所包含的範圍和本研究所需內容相似，故採用此量表。該量表內容由三份體質組成，包含陽（氣）虛體質、陰（血）虛體質、痰（濕淤）滯體質；共 44 題，陽（氣）虛質 19 題，陰（血）虛質 19 題，痰（濕）淤（滯）質 16 題。該量表採李克氏五點量尺，所使用的五點頻率與強度語詞，分別為「完全不會」、「稍微會」、「中等程度會」、「很會」、「最嚴重會」，並經再度測量具有一定穩定性，所以，選取的量尺語詞可使用於中醫體質量表，為使受試者對語詞有較一致的判斷標準，分別在量表上加注五個語詞的百分比，依據選取頻率及強度大小，給予 1~5 分，同一問項可能重複在不同體質類型，得分越高表示該體質越虛。換言之，分數越高，表示體質發生頻率越多或強度越強（王、陳、蘇，2010）。

中醫體質量表發展過程是依據體質文獻及質性訪談之結果，將各體質之問項依序列出，採德爾非法（Delphi Techniques）方式，以教學醫院主治級或具博士學位之資深中醫師進行專家效度，經過多次討論後產生各體質的初問項後，再進行信效度檢定（蘇，2007；Chen, Lin, &Chang, 2009）。該量表使用探索性因素分析（exploratory factor analysis）進行建構效度（construct validity）檢測，出現六個因素，可解釋之變異量範圍介於 27.5%-48.8%，進一步採確認性因素分析，取適合度指標，RMSEA＜0.05，NNFI＜0.9 及 CFI＜0.9，以建立模式標準，最後以三個體質組成包括陽（氣）虛質、陰（血）虛質及痰（濕）淤（滯）質。信度方面，使用有量尺之初量表於 597 位 18-65 歲自覺身體正常者進行內在一致性（internal consistency）分析，去除 Item-total correlation 係數值＜ 0.3 的問項後，體質之 Cronbach’s α 值介於 0.77～0.84。在孕前及孕期婦女的體質研

究中，其 Cronbach’s α 值介於 0.66~0.78(王曉玲等人，2010)。本研究在化療前陽虛、陰虛與痰淤體質的 Cronbach’s α 值 0.72、0.55、0.72，化療後此三種體質的 Cronbach’s α 值分別為 0.77、0.67 與 0.77。

由上可知，SF36、M. D. Anderson Symptom Inventory 台灣版與中醫體質評估量表信度與效度的結果良好，內涵也能滿足本研究目的，故成為本研究量表之一。

(二)研究儀器

本研究乳癌病患經絡能量觀點的健康結果是以中國醫學中「氣」理論基礎的十二經絡能量，其十二經絡能量分別是手太陰肺經、手少陰心經、手厥陰心包經、手太陽小腸經、手少陽三焦經、手陽明大腸經、足太陰脾經、足厥陰肝經、足少陰腎經、足太陽膀胱經、足少陽膽經、足陽明胃經等能量。日本中谷義雄博士（Dr. Yoshio Nakatani）自 1949 年開始，首先測量人體體表的低電阻點，稱為良導點（ryodaten）， 良導點所連感的線即稱為良導絡（ryodaroku），此與中醫針灸古籍所描述的穴位與經絡位置相當一致，並且在良導絡上找到良導點代表測量點（representative measuring point, RMP），其電導值為整條 良導絡電導值的平均數，並用以協對診斷全身疾病（ Nakatani &Yamashita, 1977）。因此，本研究將以量測 24 個 RMP 的結果做為乳癌病患經絡能量觀點的健康結果。每次測量結果儲存於電腦中，再列印存於病歷中。所有執行的過程將制定成操作流程(protocol)予以標準化。

本研究經絡能量的測量儀器是 MEAD Me-Pro 型經絡能量分析儀（衛署醫器第 002062 號）（Hanja International CO. Ltd, Taoyuan, Taiwan），此與先前研究中（Wang et al., 2002; Weng, Wang, Hu, & Sun, 2002；Weng et al., 2004）使用的相似。實驗場地在醫院的病房或化學治療室進行。實驗操作為由一位曾經中醫師訓練三個月認穴標準一致者的技術員執行，測量穴道所使用的檢測棒為恆壓式檢測棒，將檢測壓力控制在 120-140 克間，可減少因人為檢測壓力不平衡的誤差。另外，以鈉離子導電棉（NIC cotton）取代傳統沾水棉花可增加檢測的穩定性。個案在接受檢測 MEAD 前必須脫下鞋襪，取出身上之 金屬飾物、藥物、手機及電子產品等，並坐於塑膠坐椅及塑膠足墊上休息 15 分鐘後，才開始進行檢查，此時間將依儀器手冊進行敏感性的校正。技術員將探棒對每個個案的十二經脈左右各 12 個原穴點進行

測量，12 個原穴分別為手太陰肺經、手少陰心經、手厥陰心包經、手太陽小腸經、手少陽三焦經、手陽明大腸經、足太陰脾經、足厥陰肝經、足少陰腎經、足太陽膀胱經、足少陽膽經、足陽明胃經等。經絡能量的評量分為各自、整體能量與能量平衡兩個層面來看。十二個各自的經絡能量為左右兩點的平均值，整體能量值為左右共 24 經絡能量值的平均值，其值介於 0-200 μA，數值越高，能量越高。能量的平衡包括左右側比值、上下肢比值、陰陽比值與最大最小比值，其值越接近 1，表示能量越平衡。測量點則參照 WHO（2007）的說明執行，穴位測量的順序統一依序為左手心、左手背、右手心、右手背、左足內側、左足外側、右足內側、右足外側。每次測量結果儲存於電腦中，再列印存於病歷中。所有執行的過程將制定成操作流程（protocol）予以標準化。此部分分別在三次量測時由同一個操作者以機器測量方式完成。

量測結果將依整體能量與能量平衡加以說明。在整體能量方面，其為左右共 24 個 RMP 的平均值。經絡能量的平衡首先計算上肢/下肢、左/右、陰/陽、最大值/最小值的比值，計算公式如下。進一步計算受試者與健康的差距，其中，上肢/下肢、右/左、陰/陽、最大值/最小值比值大於 1 者減去 1，比值小於 1 者取倒數後再減去 1，最後取得的分數為上肢/下肢、右/左、陰/陽平衡、最大值/最小值與健康的差距。差值越大，顯示受試者越不健康。

左側（LHYin）：手太陰肺經、手少陰心經、手厥陰心包經

左側（LHYang）：手太陽小腸經、手少陽三焦經、手陽明大腸經

左側（LFYin）：足太陰脾經、足厥陰肝經、足少陰腎經

左側（LFYang）：足太陽膀胱經、足少陽膽經、足陽明胃經

右側（RHYin）：手太陰肺經、手少陰心經、手厥陰心包經

右側（RHYang）：手太陽小腸經、手少陽三焦經、手陽明大腸經

右側（RFYin）：足太陰脾經、足厥陰肝經、足少陰腎經

右側（RFYang）：足太陽膀胱經、足少陽膽經、足陽明胃經

整體能量= (RHYin+ RHYang + RFYin + RFYang +LHYin+ LHYang + LFYin + LFYang)/24

上肢/下肢= (RHYin+ RHYang + LHYin+ LHYang) / (RFYin + RFYang + LFYin + LFYang)

左/右= (LHYin+ LHYang + LFYin + LFYang) / (RHYin+ RHYang + RFYin + RFYang)

陰/陽= (RHYin+ LHYin + RFYin + LFYin) / (RHYang + LHYang + RFYang + LFYang)

最大值/最小值= Max (RHYin, RHYang, RFYin, RFYang, LHYin, LHYang, LFYin, LFYang) / Min (RHYin, RHYang, RFYin, RFYang, LHYin, LHYang, LFYin, LFYang)

三、研究步驟

(一)向台北醫學大學附設醫院人體試驗委員會申請通過此研究（本研究已於 12 月 8 日通過經台北醫學大學人體試驗委員會審核通過，證書號為：TMUH-05-08-10。

(二)聯繫大腸直腸外科、胸腔外科、血液腫瘤科、一般外科與傳統醫學主治醫師，請求提供即將接受化學治療癌症病患之名單。

(三)徵得病患同意後在接受化學治療前進行第一次面訪，接受治療後一、三與六個月與結束後一個月分別在病患回診時間進行經絡能量與問卷的測量。蒐集癌症病患在化學治療前、化療第 1、3、6 個月與結束後 1 個月的經絡能量等時間考量，主要是考慮肺癌、大腸直腸癌、肝癌、乳癌化學治療的療程約為六個月。依照的療程分別觀察化學治療初期(一個月)、期間(三個月)、後期(六個月)與結束後一個月，這些時間點普遍在探討癌症化學治療病患症狀與生活品質研究中被使用。回診時間點前兩天、當天會以電話連繫病患，生理檢驗值則以回診時間所檢驗的值為主。為減少病患參與本研究時需來回醫院奔波所造成的不適，經絡能量的測量安排在回門診行化學治療的時間點。病患在回診等待化學藥物時，由專人帶領病患至經絡能量診察室，在一舒適的沙發座椅接受量測，其一為安靜舒適的空間。問卷的測量由病患自行填寫或由專人協助。原則上經絡能量的測量不會造成生理上的不適，若病患有因治療造成的不適而拒絕填寫問卷，則再詢問病患合適的時間點，以電話或家訪方式協助填寫。

(四)將所得的研究資料經由編碼與建檔後，進行統計分析。本研究亦將邀請三至四位中醫經絡相關專家學者於舉行周期性專家會議，針對本研究過程與結果進行研討。

(五)最後的統計結果將與其他文獻作討論，並提供本研究之特殊發現，且研究結束後會將成果翻譯成英文，並投稿於 Integrative & Complementary Medicine 中的期刊文章。

四、樣本數計算與資料的統計分析

本研究對象為肺癌、大腸直腸癌、肝癌及乳癌病患病患，由於本研究屬於非實驗性研究，且只有極少數癌症化學治療病患會只給予一種藥物治療，考量到長期性追蹤癌症病患的目的與收案困難性，及到目前為止經絡能量尚未在此肺癌、大腸直腸癌、肝癌、乳癌三族群有可參考的數據計算來樣本數，預計收 120 名。使用統計軟體 SPSS 17.0 統計套裝軟體（SPSS InC, Chicago, IL）進一步分析。

參、結果

本章共有 8 部分，第一部分為研究對象背景資料描述，第二至第八部分依研究目的加以說明，包括（二）檢驗接受化學治療癌症病患的經絡能量及變化、(三）檢驗接受化學治療癌症病患的中醫體質評估狀況及變化、（四）檢驗接受化學治療癌症病患疾病與治療的症狀及變化、(五）檢驗接受化學治療癌症病患的生理檢驗值及變化、(六）檢驗接受化學治療癌症病患的健康相關生活品質及變化（七）探討並建立化學治療癌症病患在經絡能量的中醫診斷分類(八)探討接受化學治療癌症病患在化學治療前、第 1、3、6 個月及結束後 1 個月的的經絡能量、體質、症狀、生理檢驗值與健康相關生活品質的相關性，分述如下。

一、研究對象背景資料描述

本研究共收案 120 位，以下將以 120 位個案的第一次收集的資料（治療前）加以分析，分述如下：個案平均年齡為 54.5 歲（標準差為 11.3 年），女性佔 67.5%(81 位)，平均身高在 160.4(標準差為 7.2)公分，體重是 59.9（標準差為 11.0）公斤。教育程度在國小以下者共 28 位（23.3%)，國中及高中者有 47 位（39.2%)、專科大學以上者有 45 位（37.5%)。70.0%者為閩南人，無宗教信仰者有 26 位(21.7%)，信仰道教者佔最多有 51 位(42.5%)，佛教次之（25.8%)。多數的個案是已婚狀態（70.8%)，各有 21、7、7 位未婚、喪偶、離婚，所有人中僅 5 位是獨居狀態（詳見表 1)。乳癌與大腸癌佔最多，各為 62 位（51.7%）與 29 位（24.2%)，肺癌及肝癌各有 17 及 12 位（14.2%, 10.0%)，有糖尿病、高血壓、心臟病者各有 14、21、8 位（詳見表 2)。化療第 1、3、6 個月與結束後 1 個月的成功受訪率各為 83%（99/120)、73%（87/120)、60%（72/120）與 45%（54/120)。未完成訪談與測量的主要原因為死亡與家屬拒絕打擾。

二、檢驗接受化學治療癌症病患的經絡能量及變化

本研究中經絡能量的健康結果可分為整體經絡能量與平衡狀態，由於在不同治療時間點的受訪人數不同，故研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定在不同時間點（治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月）的整體能量值差異與平衡比值的差異。結果顯示癌症病患的整體能量值差異或能量平衡比值在治療不同時間點無顯著差異（詳見表 3、圖一)。圖二顯示在化學治療後乳癌的整體經絡能量較其他癌症來的高，另外，乳癌在化學治療 1 個月後有稍微上升的趨勢，其他癌症包括肺癌、大腸直腸癌與肝癌在化學治療後 1 個月、3 個月與 6 個月均較治療前為低，於化學治療結束後 1 個月有逐漸回升的趨勢。

在整體能量方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前

的經絡能量的離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中整體經絡能量隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的經絡能量情形，ICC（subject）計算值為 132.41/(132.41+295.78)= 30.92%，顯示不同病患對於整體經絡能量變化佔總變異量的 30.92%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 4 中 GLMM1，顯示整體經絡能量在治療第 6 個月較治療前為低（β=-5.50, p<0.05）（表 4）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient）將診斷與時間產生交互作用分析，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式，診斷與時間產生交互作用項對整體經絡能量無顯著預測力。

在能量平衡狀態部分，考量二項式分析結果及個體因素在治療過程中的作用，以 GLMM 探討不同病患於治療後能量平衡比值隨著時間的改變（表 5），本研究採用上/下肢、左/右側、陰/陽、最大值/最小值的能量比值為 Y 變項。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的能量平衡比值情形， ICC（subject）計算值均大於 10%，顯示不同病患對於能量平衡比值變化佔總變異量的大於 10%，不能僅各個時間平均來看。GLMM 結果顯示陰/陽能量平衡比值在治療第 1 個月較治療前為低（β=-0.14, p<0.01），第 6 個月較治療前為低（β=-0.1, p<0.01），但診斷對陰/陽能量比值均無預測力（表 5）。無論是診斷或時間，對上/下肢、左/右側、最大值/最小值的能量比值均無顯著的預測力（表 5）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient）將診斷與時間產生交互作用分析，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式，診斷與時間產生交互作用項對能量比值無顯著預測力。

由上可知，在診斷變項的校正下，針對整體經絡能量的預測，整體經絡能量在治療第 6 個月較治療前為低。在能量平衡的預測部分，陰/陽能量平衡比值在治療第 1 個月較治療前為低，第 6 個月較治療前為低。

三、檢驗接受化學治療癌症病患的中醫體質評估狀況及變化

本研究中醫體質評估可分為陽虛、陰虛、痰瘀等三部分，由於在不同治療時間點的受訪人數不同，故研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定在不同時間點（治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月）的陰虛、陽虛、痰瘀的總分差異。結果顯示癌症病患的陽虛與痰瘀總分在治療不同時間點無顯著差異，在痰瘀的總分有顯著差異，但 Scheffe 事後分析檢定則無差異（詳見表 6）。

在陽虛總分方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的陽虛總分離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中陽虛總分隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的陽虛總分情形，ICC（subject）計算值為 11.86/(11.86+75.03)= 13.65%，顯示不同病患對於陽虛總分變化佔總變異量的 13.65%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 7 中 GLMM，顯示陽虛總分在治療第 3 個月、第 6 個月、結束後 1 個月均較治療前為高（β=3.24; β=2.39; β=3.27; p<0.05）（表 7），肺癌較乳癌的陽虛總分為高（β=6.05, p<0.05）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在陰虛總分方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前陰虛總分的離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中陰虛總分隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的陰虛總分情形，ICC（subject）計算值為 9.11/(9.11+44.41)= 17.02%，顯示不同病患對於陰虛總分變化佔總變異量的 17.02%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 7 中 GLMM，顯示陰虛總分在治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月、結束後 1 個月均較治療前為高（β=1.86; β=2.38; β=2.60; β=4.11; p<0.05）（表 7），診斷對陰虛總分無顯著預測力（β=6.05, p<0.05）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在痰瘀總分方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的痰瘀總分離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中痰瘀總分隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的痰瘀總分情形，ICC（subject）計算值為 20.92/(20.92+41.64)= 33.44%，顯示不同病患對於痰瘀總分變化佔總變異量的 33.44%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 7 中 GLMM，顯示痰瘀總分在治療第 3 個月與結束後 1 個月均較治療前為高（β=1.82; β=2.90; p<0.05）（表 7），肺癌較乳癌的陽虛總分為高（β=4.88, p<0.05）。進一步採隨機截距與共變數（random

intercept & coefficient)，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

由上可知，在診斷變項的校正下，不論是陽虛、陰虛、痰瘀總分，其在化學治療後體質均有更虛的傾向，另外，肺癌病患的陽虛與痰瘀體質較乳癌病患更虛。

四、檢驗接受化學治療癌症病患疾病與治療的症狀及變化

本研究中疾病與治療的症狀可分為症狀嚴重度與症狀干擾程度，由於在不同治療時間點的受訪人數不同，故研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定在不同時間點（治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月）症狀嚴重度與干擾程度的差異。結果顯示癌症病患的症狀嚴重度與干擾程度在治療不同時間點無顯著差異（詳見表 8）。

在症狀嚴重度方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的症狀嚴重度離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中症狀嚴重度隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的症狀嚴重度情形，ICC（subject）計算值為 0.80/(0.80+2.25)= 26.23%，顯示不同病患對於症狀嚴重度變化佔總變異量的 26.23%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 9 中 GLMM，顯示症狀嚴重度不受治療時間與診斷等變項影響（表 9）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient)，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在症狀干擾程度方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的症狀干擾程度離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中症狀干擾程度隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的症狀干擾程度情形，ICC（subject）計算值為 1.34/(1.34+5.62)= 19.25%，顯示不同病患對於症狀干擾程度變化佔總變異量的 19.25%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 9 中 GLMM，顯示症狀干擾程度不受治療時間因素影響，肺癌病患較乳癌病患的症狀干擾程度為高（β=1.38, p<0.05）（表 9）。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient)，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

由上可知，在診斷變項的校正下，不論是症狀嚴重度或症狀干擾程度，其不受治療時間因素影響，另外，肺癌病患的症狀干擾程度較乳癌病患為

高。

五、檢驗接受化學治療癌症病患的生理檢驗值及變化

本研究生理檢驗值除了包括生理檢驗變項除了收集 CEA、TPA、CA153 等癌症分子血液檢驗值外，CBC（complete blood count）、肝腎功能指數（如 GOT、GPT、BUN 與 Creatinine 等）及血液電解質（Na、K 等）也納入收集變項中。但此小節大部分的研究資料遺漏嚴重，此與癌症治療本身的特性有關，白血球、血色素、ALT、AST 在治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月時間點的資料完整性較好，以白血球為例，其治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月時間點上的資料完整度較高，分別為 96.7% （4/120）、97%（3/99）、94.3%（5/87）、86.1%（10/72）、87%（7/54）。CEA、TPA、CA153、Na、K、BUN 與 Creatinine 在治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月時間點的上資料完整性均小於 40%，故本研究僅就白血球、血色素、ALT、AST 做進一步分析。

由於在不同治療時間點的受訪人數不同，故研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定在不同時間點（治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月）白血球、血色素、ALT、AST 的差異。結果顯示癌症病患的白血球、血色素、ALT、AST 在治療不同時間點無顯著差異（詳見表 10）。

在白血球方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的白血球數值離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中白血球數值隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的白血球數值，ICC（subject）計算值為 174.78/(174.78+237.14)= 42.43%，顯示不同病患對於症狀嚴重度變化佔總變異量的 42.43%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 11 中 GLMM，顯示白血球數值不受治療時間與診斷等變項影響。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在血色素方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的血色素數值離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中血色素數值隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的血色素數值情形，ICC（subject）計算值為 0.45/(0.45+2.325)=

16.12%，顯示不同病患對於血色素數值變化佔總變異量的 16.12%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 11 中 GLMM，顯示血色素數值不受治療時間與診斷等變項影響。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在 AST 方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的 AST 數值離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中 AST 數值隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的 AST 數值情形，ICC（subject）計算值為 2660.41/(2660.41+564.57)=82.49%，顯示不同病患對於 AST 數值變化佔總變異量的 82.49%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 11 中 GLMM，顯示 AST 數值在治療期間有稍微上升，結束化療後 1 個月較治療前的數值明顯為高（β=9.85, p<0.05），但不受診斷變項影響。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在 ALT 方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的 ALT 數值離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中 ALT 數值隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的症狀嚴重度情形，ICC（subject）計算值為 865.80/(865.80+714.28)=54.79%，顯示不同病患對於 ALT 數值變化佔總變異量的 54.79%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 11 中 GLMM，顯示 ALT 數值不受治療時間與診斷等變項影響。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient），疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

由上可知，在診斷變項的校正下，不論是白血球、血色素或 ALT，其均不受治療時間因素影響，但 AST 的數值在結束化療後 1 個月明顯較治療前為高。

六、檢驗接受化學治療癌症病患的健康相關生活品質及變化

本研究中健康相關生活品質可分為身體生理功能（physical functioning, PF）、因生理功能角色受限（role limitation due to physical problems, RP）、身體疼痛（bodily pain, BP）、一般健康（general health, GH）、活力（vitality,

VT)、社會功能(social functioning, SF)、因情緒角色受限(role limitation due to emotional problems, RE)、心理健康(mental health, MH)等次量表。另外，八個層面經由標準化計算（Z 分數）可形成常模分數，另外計算 T 分數形成身體(physical component scores, PCSs)與心智(mental component scores, MCSs)成份兩大生活品質測量層面。由於在不同治療時間點的受訪人數不同，故研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定在不同時間點(治療前、治療第 1 個月、第 3 個月、第 6 個月與治療結束後 1 個月）八個次量表與 PCSs 及 MCSs 的差異。結果顯示心理健康（MH）在結束化療後 1 個月明顯較治療前為高，其他變項在治療不同時間點無顯著差異（詳見表 12)。

在 PCSs 生活品質方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的 PCSs 分數離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中 PCSs 分數隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的 PCSs 分數情形，ICC（subject）計算值為 21.94/(21.94+68.72)=24.20%，顯示不同病患對 PCSs 分數佔總變異量的 24.20%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 13 中 GLMM，顯示 PCSs 分數不受治療時間變項影響，肺癌病患較乳癌的 PCSs 分數為差（β=-4.51, p<0.05)。進一步採隨機截距與共變數（random intercept & coefficient)，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距（random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

在 MCSs 生活品質方面，由上述二項式分析結果與標準差發現，病患治療前的 MCSs 分數離散度高，明顯存在個別差異，且有許多個案無法繼續追蹤。考量個體因素在治療過程中的作用，進一步將時間與個案視為二層因素，以 generalized linear mixed model（GLMM）探討不同病患在治療過程中 MCSs 分數隨著時間的改變。首先利用隨機截距（random intercept）瞭解治療前病患的 MCSs 分數情形，ICC（subject）計算值為 38.31/(38.31+92.59)=29.27%，顯示不同病患對於 MCSs 分數變化佔總變異量的 29.27%，不能僅各個時間平均來看。結果為表 13 中 GLMM，顯示 MCSs 分數不受治療時間與診斷等變項影響。進一步採隨機截距與共變數(random intercept & coefficient)，疊代後結果並不穩定，且 AIC 值較隨機截距(random intercept）模式為大，顯示隨機截距（random intercept）模式為較好的模式。

由上可知，在診斷變項的校正下，心智成份的生活品質（PCSs）不受治療時間因素影響，身體成份的生活品質（PCSs）分析顯示其不受治療時間因素影響，但肺癌病患較乳癌的 PCSs 分數為差。

七、探討並建立化學治療癌症病患在經絡能量的中醫診斷分類

本研究採兩步集群分析（Two-Step Cluster Analysis），此方法可以根據分類性的變數來將相似的個案予以分群。根據本研究的目的，將分類性的變數設為癌症診斷（肺癌、大腸直腸癌、肝癌、乳癌），24 個經絡能量測量結果設為標準化連續變項，選擇最小 BIC 值。分析結果顯示個案可分為 3 個集群（表 14 與表 15），進一步依照表 16 的數據結果，分別將 3 個集群命名為低、中、高經絡能量 3 組，其人次分別為 194（44.9%）、160（37%）、78（18.1%）。表 17 顯示肺癌、大腸直腸癌、肝癌在低或中經絡能量的百分比較高，相較於肺癌、大腸直腸癌、肝癌，乳癌者在高經絡能量較多（X^2=25.04, p<0.01）。

八、探討接受化學治療癌症病患在化學治療前、第 1、3、6 個月及結束後 1 個月的經絡能量、體質、症狀、生理檢驗值與健康相關生活品質的相關性

(一)相關係數分析

以皮爾森積差相關（Pearson’s correlation coefficients）分析檢驗經絡能量（整體經絡能量與平衡狀態）與體質、症狀、生理檢驗值與健康相關生活品質的相關性。分別說明如下：

整體而言（以人次分析），整體經絡能量與陽虛總分、痰瘀總分、症狀嚴重度、症狀干擾程度呈現負相關（r=-0.154～-0.211, p<0.05），整體經絡能量與血色素、身體成分的生活品質、心智成分的生活品質等呈正相關。換言之，陽虛與痰瘀狀態越虛或症狀嚴重度與症狀干擾程度越高時，整體經絡能量也越低。當血色素數值越低或身體成分、心智成分的生活品質越差時，整體經絡能量也越差。

在經絡能量平衡方面，當左/右比值會越低時，症狀干擾程度會越高（r=-0.124, p<0.05），血色素數值會越低（r=0.109, p<0.05），身體成分的生活品質會越差（r=0.114, p<0.05）。當陰/陽比值會越低時，陰虛程度會越嚴重（r=0.123, p<0.05），血色素數值越低（r=0.147, p<0.05），身體成分的生活品質越差（r=0.118, p<0.05）。採分層分析，分各個不同時間點了解經絡能量與體質、症狀、生理檢驗值、健康相關生活品質的相關性，結果顯示整體經絡能量的分析與前者一致，在經絡能量平衡方面與前者分析結果有差異。

(二)單因子變異數分析

本研究先以 one-way ANOVA 及 Scheffe 事後分析檢定低、中、高經絡能量 3 組在體質、症狀、生理檢驗值、健康相關生活品質的差異。在體質得分的分析結果顯示，低經絡能量組的陽虛體質

得分較高經絡能量組者為虛（F=3.57; p=0.03），其他三組經絡能量的陰虛與痰瘀體質得分無顯著差異（詳見表 19）。在症狀得分的分析結果顯示，低經絡能量組的症狀較高經絡能量組者為嚴重（F=6.37; p<0.01），低經絡能量組的症狀困擾程度亦較中或高經絡能量組者為高（F=8.34; p<0.01）（詳見表 19）。在生理檢驗值的 one-way ANOVA 分析顯示，低經絡能量組的血色素較中經絡能量組者為低（F=3.53; p<0.05），但事後分析檢定無差異，其他三組經絡能量的 WBC、ALT、AST 數值無顯著差異。

在健康相關生活品質得分的分析結果顯示，低經絡能量組的身體成分生活品質較中或高經絡能量組為差（F=12.54; p<0.01），心智成分生活品質在低、中、高經絡能量組的得分雖有漸升的趨勢，但未達到統計上顯著差異（詳見表 19）。

肆、討論

本研究以經絡學說為基礎的能量的觀點來量測乳癌病患。在整體能量方面，過去的並無針對癌症病患進行經絡能量的量測，因此本研究的結果與過去其他研究做比較。在 Chamberlin、Colbert 及 Larsen（2011）的研究中，針對 8,637 個一般民眾進行經絡能量測量，結果顯示女性平均的整體能量值為 86.5μA，男性為 98.5μA ，且年齡越大能量越低。以行膽囊切除術（Schmidt et al., 2002）或減重的能量成效研究（Weng et al., 2004）為例，病患的經絡能量分別為 45、63.5μA；Huang 等人（2011）研究中參加健康檢查但禁食至少 8 小時的 1,223 個個案的整體能量值為 24.41μA。比較一般民眾與個體有特殊健康情況或問題者，一般民眾的整體能量值顯然較高。雖然本研究的個案大部分為女性，且平均年齡為 54.5 歲，但整體而言，在不同時間的平均經絡能量值介於 21.34-26.52 μA，顯示化學治療期間癌症病患的整體能量均較一般民眾或非癌症病患者為低。

經絡能量分為低、中、高三組時，診斷為乳癌者在低經絡能量組的比例較肺癌、大腸直腸癌、肝癌為低，在治療六個月後，所有病患的整體經絡能量會顯著下降，顯示長期的藥物治療對乳癌病患的經絡能有所影響。此可能是隨著接受長時間的化學或其他治療，癌症病患的健康狀態仍有呈出不窮的問題，包括胃口不佳、疲憊、不安、睡眠障礙等（Granda-Cameron, Hanlon, Lynch, Houldin, 2011），且在肺癌、大腸直腸癌、肝癌病患的健康問題較乳癌病患來的多且嚴重。黃（2011）的研究結果發現在化學治療期間口乾、噁心、疲憊、睡眠紊亂、健忘等嚴重度有增加的趨勢。這些症狀與腸胃道問題有相關，以進食為例，癌症病患的許多腸胃道問題可能造成進食量不足，雖然少許的研究報告指出進食量不足與較低的整體能量值可能有關（Huang, et al., 2011），但這些因果關係研究都仍需要進一步的研究。

整體來說，本研究的結果發現影響癌症病患接受化學治療期間整體能量的變項包括陽虛體質、症狀嚴重度與困擾程度、血色素檢驗值、身體成分生活品質健康相關生活品質。從許多電性的研究結果顯示經絡是溝通生理物質、能量及信息的無形網絡，對應於能量的名詞，氣功中的「氣」是最合乎能量醫學中的預防保健定義（何，2006；陳，2009；楊，2009；施，2005；梁，2007; Han, Park, Soh, Myoung, Lee, Ogay, et al., 2011）。過去臨床的研究顯示，增加經絡能量可能減緩症狀嚴重度，如氣功療法應用在憂鬱症病患有顯著的成效(林,2007)。在癌症病患方面,Oh, Butow, Mullan, Clarke, Beale, Pavlakis 等人（2009），癌症病患接受氣功者不僅發炎指數及疲憊情況較無接受氣功者為佳，功能性的生活品質也較佳。由此可知，乳癌病患的經絡能量（氣）存在可能與生理指標、症狀、功能有關。在接受化療的

癌症病患方面，氣功療法也能有效改善化療過程中疼痛、麻木感、胃灼熱感、眩暈等生理症狀（Yeh et al., 2006）。

過去的研究僅就能量治療來了解病患健康的改善程度，未有文獻中醫藥介入後的經絡能量的改變成效，臨床上許多癌症病患在治療期間至中醫部門診，大部份是為了改善治療所產生的副作用或症狀，是否傳統中醫藥減少癌症病患的症狀嚴重度或干擾程度時，進而促使整體經絡能量（氣）的上升，但經絡能量（氣）上升的情況並非均勻散佈在全身，此仍需要更多研究深入探討，未來以能量治療或中醫藥治療來改善其不適症狀或增加其整體能量值仍值得進一步的研究。另外，本研究發現整體經絡能量在各個治療時間點的分析結果較為一致，考量整體能量的改變對能量平衡比值會有直接影響，建議建立診斷指標時以整體經絡能量為主。因此，以能量平衡的觀點來判斷癌症化學治療期間病患的健康結果顯然更需要審慎的評估。

本研究是以台北某教學醫院癌症病患為對象，進一步評估在接受化療前後的中、西醫健康情況，研究結果指出中醫的整體經絡能量測量可作為評價接受化學治療癌症病患的客觀指標，此科學上的客觀證據能進一步做為中、西醫整合照護的專業溝通橋梁，在促進中、西醫整合照護有重大的意義。未來仍期待有更多的學者加入其他疾病的經絡能量研究，以作為中、西醫整合照護的基礎。

研究限制

本研究目的主要在描述癌症病患接受化療過程的能量變化，並檢視其與中醫體質評估及西醫強調的生理檢測值、癌症症狀、健康相關生活品質的關係。所收集的樣本為 120 個研究個案，包括乳癌、肺癌、大腸直腸癌與肝癌病患。雖然就單一種癌症病患進行分析會較客觀，但在臨床上在會有收案困難的情況，導致樣本數嚴重不足。建議未來的研究可進一步針對單一癌症進行研究分析。

伍、結論與建議

本研究嘗試以中醫經絡的觀點來描述癌症病患的能量變化，並檢視其與中醫體質評估及西醫強調的生理檢測值、癌症症狀、健康相關生活品質的關係。研究結果顯示整體經絡能量在治療第 6 個月較治療前為低。另外，經絡能量分為低、中、高三組時，診斷為乳癌者在低經絡能量組的比例較肺癌、大腸直腸癌、肝癌為低，且在陽虛體質、症狀嚴重度與困擾程度、血色素檢驗值、身體成分生活品質健康相關生活品質得分會有顯著差異。此暗示以中醫經絡能量的觀點來描述癌症病患的健康狀態是合適的，未來針對中醫藥治療或介入能量治療是否能改善症狀進而提升整體能量與平衡，或間接改善病患的健康相關生活品質值得未來進一步研究。

誌謝

本研究計畫承蒙衛生福利部中醫藥司計畫編號 CCMP99-RD-106 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. 行政院衛生署（2008a）・民國 96 年死因統計記者會發布資料・2008 年 10 月 14 日取自 http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DM/DM2_2.aspx?now_fod_
2. list_no=9598&class_no=440&level_no=4
3. 邱仁輝（2007）・疾病形成的冰山理論--症狀是中西醫對疾病觀念的共同切入點・*當代醫學，*34（11），874-878。
4. 何逸僊（2006）・*生物能量信息醫學*・臺北：華杏。
5. 李曜暄（2005）・*時間、年齡及針刺、艾灸、冰刺激足三里穴對良導絡值變化之探討*・未發表之碩士論文，台中：中國醫藥大學中西醫結合研究所。
6. 施淙銘（2005）・傳統中醫與能量醫學的結合・*中醫內科醫學雜誌，3*（4）， 48-50。
7. 梁懷茂（2007）・能量的奧秘・*能量醫學會刊，7*，89-94。
8. 陳國鎮（2009）・經絡的電性與生理意義・*能量醫學會刊，13*，31-36。
9. 曾旭民、盧瑞芬、蔡益堅（2003）・國人生活品質評量Ⅱ：SF-36 台灣版的常模與效度檢測・*台灣公共衛生雜誌，22*（6），512-518。
10. 黃升苗（2011）・以縱貫性研究探討乳癌病患接受治療期間的健康結果：比較標靶、化學與合併治療・未發表之博士論文，台北：陽明大學護理學系暨研究所。
11. 楊乃彥（2009）・五行食材與經絡保健・*能量醫學會刊，13*，24-30。
12. 盧瑞芬、曾旭民、蔡益堅（2002）・國人生活品質評量Ⅰ：SF-36 台灣版的發展及心理計量特質分析・*台灣公共衛生雜誌，22*（6），501-511。
13. 蘇逸彰（2007）・中醫體質量表及分型指標之建立（2-1）・*中醫藥年報，25*（5），45-144。
14. 蘇逸彰（2008）・中醫體質量表及分型指標之建立（2-2）・*中醫藥年報，26*（5），65-152。
15. Boughey JC, Gonzalez RJ, Bonner E, Kuerer HM. Current treatment and clinical trial developments for ductal carcinoma in situ of the breast. Oncologist. Nov 2007; 12(11):1276-1287.
16. Burstein HJ, Ramirez MJ, Petros WP, Clarke KD, Warmuth MA, Marcom PK, Matulonis UA, Parker LM, Harris LN, Winer EP. Phase I study of Doxil and vinorelbine in metastatic breast cancer. Annals of Oncology 1999 Sep; 10(9): 1113-1116.
17. Chamberlin S, Colbert AP, Larsen, A. (2011). Skin conductance at 24 source (yuan) acupoints in 8637 patients: influence of age, gender and time of day.

Journal of Acupuncture Meridian Studies,11;4(1):14−23.
18. Chu PC, Hwang JS, Wang JD, Chang YY. Estimation of the Financial Burden to the National Health Insurance for Patients with Major Cancers in Taiwan. Journal of the Formosan Medical Association 2008; 107(1): 54-63.
19. Cheng CM, Kao TK, Huang ST. The Gender Difference of Ryodoraku Bio-energy Response of Qigong Regimen Exercise in Adults. Science Journal of Taiwan Traditional Chinese Medicine, 2008; 3 (1): 1-10.
20. Fayers PM, Machin D. Quality of life: Assessement, analysis and interpretation. London 2000: John Wiley & Sons Ltd.
21. Fox SW, Lyon DE. Symptom clusters and quality of life in survivors of lung cancer. Oncology Nursing Forum 2006 Sep; Online. 33(5): 931-936.
22. Fox SW, Lyon D. Symptom clusters and quality of life in survivors of ovarian cancer. Cancer Nursing 2007 Sep-Oct; 30(5): 354-361.
23. Glynne-Jones R, Harrison M. Locally advanced rectal cancer: what is the evidence for induction chemoradiation?. Oncologist 2007 Nov; 12(11): 1309-1318.
24. Granda-Cameron C, Hanlon A, Lynch MP, Houldin A. (2011). Experience of newly diagnosed patients with sarcoma receiving chemotherapy. *Oncology Nursing Forum, 38*(2), 160-169.
25. Greene, F. L., & Sobin, L. H. (2008). The staging of cancer: a retrospective and prospective appraisal. *CA: a Cancer Journal for Clinicians, 58*(3), 180-190.
26. Hammer C, Fanning A, Crowe J. Overview of breast cancer staging and surgical treatment options. Cleveland Clinic Journal of Medicine 2008 Mar; 75 Suppl 1: S10-16.
27. Han HJ, Park SJ, Soh KS, Myoung HS, Lee KJ, Ogay V. et al. (2011). Electrical characterization of proposed transpositional acupoints on the urinary bladder meridian in a rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 2011: doi: 10.1155/2011/295475
28. Holzner B, Kemmler G, Kopp M, Moschen R, Schweigkofler H, Dunser M, Margreiter R, Fleischhacker WW, Sperner-Unterweger B. Quality of life in breast cancer patients--not enough attention for long-term survivors? Psychosomatics 2001 Mar-Apr; 42(2): 117-123.
29. Huang SM, Chien LY, Tai CJ. Abnormal Gastroscopy Findings Were Related to Lower Meridian Energy. International Concil of Nursing Congress 2009.
30. Huang SM, Chien LY, Chang CC, Chen PH, & Tai CJ. (2011). Abnormal

Gastroscopy Findings Were Related to Lower Meridian Energy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,* 2011, doi:10.1155/2011/878391.

31. Kim HJ, McGuire DB, Tulman L, Barsevick AM. Symptom clusters: concept analysis and clinical implications for cancer nursing.[erratum appears in Cancer Nurs. Cancer Nursing 2005 Jul-Aug; 28(4): 270-282; quiz 283-274.
32. Lenz ER, Pugh LC, Milligan RA, Gift A, Suppe F. The middle-range theory of unpleasant symptoms: an update. Advances in Nursing Science 1997 Mar; 19(3): 14-27.
33. Lin C-C, Chang A-P, Cleeland CS, Mendoza TR, Wang XS. Taiwanese version of the M. D. Anderson symptom inventory: symptom assessment in cancer patients. Journal of Pain & Symptom Management 2007 Feb; 33(2): 180-188.
34. McDowell I, Claire N. General health status and quality of life. In I. McDowell & N. Claire (Eds.), Measuring Health: A guide to rating scales and questionnaire (pp. 380-492). Oxford 1996: Oxford University Press.
35. Moschen R, Kemmler G, Schweigkofler H, Holzner B, Dunser M, Richter R, Fleischhacker WW, Sperner-Unterweger B. Use of alternative/complementary therapy in breast cancer patients--a psychological perspective. Supportive Care in Cancer 2001 Jun; 9(4): 267-274.
36. Nakatani Y, Yamashita K. Ryodoraku Acupuncture. Tokyo: Ryodoraku Research Institute 1977.
37. Oh B, Butow P, Mullan B, Clarke S, Beale P, Pavlakis N., et al. (2010). Impact of Medical Qigong on quality of life, fatigue, mood and inflammation in cancer patients: a randomized controlled trial. *Annals of Oncology*, 21(3), 608-614.
38. Olson K, Hayduk L, Cree M, Cui Y, Quan H, Hanson J, Lawlor P, Strasser F. The changing causal foundations of cancer-related symptom clustering during the final month of palliative care: a longitudinal study. BMC Medical Research Methodology 2008; 8: 36.
39. Ridner SH. Quality of life and a symptom cluster associated with breast cancer treatment-related lymphedema. Supportive Care in Cancer 2005 Nov; 13(11): 904-911.
40. Risberg T, Jacobsen BK. The association between mental distress and the use of alternative medicine among cancer patients in North Norway. Quality

of Life Research 2003 Aug; 12(5): 539-544.
41. Sancier KM. Electrodermal measurements for monitoring the effects of a qigong workshop. J Altern Complement Med 2003;9:235-241.
42. Schmidt J, Sparenberg C, Fraunhofer S, Zirngibl H. Sympathetic nervous system activity during laparoscopic and needlescopic cholecystectomy. Surg Endosc 2002;16:476-480.
43. Tsai L-Y, Li I-F, Lai Y-H, Liu C-P, Chang T-Y, Tu C-T. Fatigue and its associated factors in hospice cancer patients in Taiwan. Cancer Nursing 2007 Jan-Feb; 30(1): 24-30.
44. Vacek PM, Winstead-Fry P, Secker-Walker RH, Hooper GJ, Plante DA. Factors influencing quality of life in breast cancer survivors. Quality of Life Research 2003 Aug; 12(5): 527-537.
45. Wang CN, Weng CS. Hu WC, Chang YH, Lin JG. The development of new Ryodoraku neurometric patterns. J Med Bio Eng 2002;22:s99–s106.
46. Wang S-Y, Tsai C-M, Chen B-C, Lin C-H, Lin C-C. Symptom clusters and relationships to symptom interference with daily life in Taiwanese lung cancer patients. Journal of Pain & Symptom Management 2008 Mar; 35(3): 258-266.
47. Weng CS, Wang CN, Hu WC, Sun MF. Evaluation of acupuncture treatment of low back pain using a new Ryodoraku neurometric system. *J. Chin. Med. Sci.* 2002; 3(1): 65–72.
48. Weng CS, Hung YL, Shyu LY, Chang YH. A study of electrical conductance of meridian in the obese during weight reduction. Am J Chin Med 2004;32:417-425.
49. Williams LA. Clinical management of symptom clusters. Seminars in Oncology Nursing 2007 May; 23(2): 113-120.
50. World Health Organization. WHO International Standard Terminologies on Traditional Medicine in the Western Pacific Region 2007.
51. Yang C, Chien L-Y, Tai C-J. Use of complementary and alternative medicine among patients with cancer receiving outpatient chemotherapy in Taiwan. Journal of Alternative & Complementary Medicine 2008 May; 14(4): 413-416.
52. Yeh C-H, Chiang Y-C, Chien L-C, Lin L, Yang C-P, Chuang H-L. Symptom clustering in older Taiwanese children with cancer. Oncology Nursing Forum 2008 Mar; Online. 35(2): 273-281.

柒、圖、表

表一、接受化學治療癌症病患的社會人口學與疾病治療資料 (n=120)

變項名稱	N	(%)
教育程度		
不識字	4	(3.3)
國小－國中	33	(27.5)
高中－五專	56	(46.7)
大學以上	27	(22.5)
工作狀況		
無	103	(85.8)
有	17	(14.2)
宗教信仰		
無	26	(21.7)
有	84	(78.3)
婚姻		
未婚	21	(17.5)
已婚	85	(70.8)
喪偶	7	(5.8)
離婚	7	(5.8)
居住狀態		
獨居	5	(4.2)
與家人同住	115	(95.8)

表二、接受化學治療癌症病患的疾病與治療資料 (n=120)

變項名稱	N	(%)
癌症分類		
肺癌	17	(14.2)
大腸直腸癌	29	(24.2)
肝癌	12	(10)
乳癌	62	(51.7)
糖尿病		
無	106	(88.3)
有	14	(11.7)
高血壓		
無	99	(82.5)
有	21	(17.5)
心臟病		
無	112	(93.3)
有	8	(6.7)
癌症分期		
Ⅰ	9	(7.5)
Ⅱ	24	(20)
Ⅲ	40	(33.3)
Ⅳ	47	(39.2)
手術		
無	94	(78.3)
有	26	(21.7)

表三、比較癌症病患在化學治療不同時間的整體經絡能量與平衡差異

		N	平均值	標準差	F	P
整體經絡能量	化療前	120	25.7661	20.72529	0.903	0.462
	化療後1個月	99	26.5239	22.74881		
	化療後3個月	87	22.9568	19.91020		
	化療後6個月	72	21.3410	15.97964		
	化療結束後1個月	54	25.0203	22.88767		
上/下比值	化療前	120	1.8328	1.36247	0.225	0.924
	化療後1個月	99	1.7945	0.95650		
	化療後3個月	87	1.7609	0.89426		
	化療後6個月	72	1.8952	0.96839		
	化療結束後1個月	54	1.7447	0.98554		
左/右比值	化療前	120	1.0091	0.18166	0.486	0.746
	化療後1個月	99	0.9863	0.18247		
	化療後3個月	87	0.9906	0.19896		
	化療後6個月	72	1.0152	0.22368		
	化療結束後1個月	54	0.9800	0.17810		
陰/陽比值	化療前	120	1.0435	0.42460	1.682	0.153
	化療後1個月	99	0.9502	0.28673		
	化療後3個月	87	0.9951	0.41716		
	化療後6個月	72	0.9215	0.22682		
	化療結束後1個月	54	0.9833	0.29185		
最大值/最小值比值	化療前	120	3.7687	3.18410	0.185	0.946
	化療後1個月	99	3.7727	2.51826		
	化療後3個月	87	3.4998	1.97889		
	化療後6個月	72	3.6817	2.13082		
	化療結束後1個月	54	3.6247	2.24117		

表四、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的整體經絡能量

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
整體經絡能量				
截距	28.49	2.33	12.21	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-1.42	2.92	-0.48	0.63
治療第 6 個月(vs.治療前)	-5.50	2.64	-2.08	0.04
治療第 3 個月(vs.治療前)	-3.99	2.46	-1.62	0.11
治療第 1 個月(vs.治療前)	0.35	2.25	0.16	0.88
肺癌(vs.乳癌)	-6.06	4.36	-1.39	0.17
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-4.43	3.44	-1.29	0.20
肝癌(vs.乳癌)	-7.95	4.96	-1.60	0.11

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表五、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的能量平衡比值

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
上/下比值				
截距	1.89	0.12	16.05	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.08	0.17	-0.48	0.63
治療第 6 個月(vs.治療前)	0.05	0.15	0.31	0.76
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.07	0.14	-0.46	0.64
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.05	0.12	-0.43	0.67
肺癌(vs.乳癌)	-0.27	0.21	-1.32	0.19
大腸直腸癌(vs.乳癌)	0.09	0.16	0.54	0.59
肝癌(vs.乳癌)	-0.35	0.23	-1.49	0.14
左/右比值				
截距	1.03	0.02	50.52	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.03	0.03	-0.85	0.40
治療第 6 個月(vs.治療前)	0.00	0.03	0.16	0.87
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.02	0.03	-0.81	0.42
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.02	0.02	-0.99	0.32
肺癌(vs.乳癌)	-0.05	0.03	-1.37	0.18
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.04	0.03	-1.42	0.16
肝癌(vs.乳癌)	-0.05	0.04	-1.23	0.22
陰/陽比值				
截距	1.04	0.04	27.13	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.07	0.05	-1.31	0.19
治療第 6 個月(vs.治療前)	-0.14	0.05	-2.97	＜0.01
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.06	0.04	-1.38	0.17
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.10	0.04	-2.40	＜0.01
肺癌(vs.乳癌)	-0.04	0.07	-0.55	0.58
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.02	0.05	-0.30	0.76
肝癌(vs.乳癌)	0.10	0.08	1.28	0.20
最大值/最小值比值				

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
截距	3.78	0.28	13.52	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.07	0.40	-0.17	0.87
治療第 6 個月(vs.治療前)	-0.10	0.36	-0.29	0.77
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.26	0.33	-0.77	0.44
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.05	0.29	-0.17	0.86
肺癌(vs.乳癌)	-0.02	0.49	-0.05	0.96
大腸直腸癌(vs.乳癌)	0.24	0.38	0.63	0.53
肝癌(vs.乳癌)	-0.66	0.56	-1.18	0.24

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表六、比較癌症病患在化學治療不同時間點的體質差異

		N	平均值	標準差	F	P
陽虛總分	化療前	120	30.2333	8.46121	1.162	0.327
	化療後1個月	99	31.3333	8.21149		
	化療後3個月	87	32.9540	10.12470		
	化療後6個月	72	31.9583	10.51148		
	化療結束後1個月	54	32.0370	10.47362		
陰虛總分	化療前	120	26.6417	5.70684	2.462	0.045
	化療後1個月	99	28.4545	6.42106		
	化療後3個月	87	28.9655	7.50263		
	化療後6個月	72	29.0000	9.39134		
	化療結束後1個月	54	29.8148	8.64406		
痰瘀總分	化療前	120	26.0917	7.13848	0.618	0.65
	化療後1個月	99	26.5657	7.12736		
	化療後3個月	87	27.3563	8.88947		
	化療後6個月	72	26.5556	7.17564		
	化療結束後1個月	54	27.8519	10.08157		

表七、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的體質得分

	GLMM(隨機截距)			
	β	SE	t	p
陽虛總分				
截距	29.06	1.07	27.20	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	3.27	1.37	2.39	0.02
治療第 6 個月(vs.治療前)	2.39	1.21	1.98	<0.05
治療第 3 個月(vs.治療前)	3.24	1.07	3.04	＜0.01
治療第 1 個月(vs.治療前)	1.44	0.84	1.70	0.09
肺癌(vs.乳癌)	6.05	2.06	2.94	＜0.01
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.51	1.62	-0.31	0.76
肝癌(vs.乳癌)	4.35	2.33	1.87	0.07
陰虛總分				
截距	26.69	0.83	32.24	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	4.11	1.09	3.78	＜0.01
治療第 6 個月(vs.治療前)	2.60	0.97	2.67	0.01
治療第 3 個月(vs.治療前)	2.38	0.88	2.71	0.01
治療第 1 個月(vs.治療前)	1.86	0.72	2.58	0.01
肺癌(vs.乳癌)	1.91	1.56	1.22	0.22
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-1.84	1.23	-1.50	0.14
肝癌(vs.乳癌)	1.22	1.77	0.69	0.49
痰瘀總分				
截距	25.16	0.91	27.55	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	2.90	1.08	2.68	0.01
治療第 6 個月(vs.治療前)	1.11	0.97	1.14	0.26
治療第 3 個月(vs.治療前)	1.82	0.88	2.07	0.04
治療第 1 個月(vs.治療前)	0.77	0.74	1.03	0.30
肺癌(vs.乳癌)	4.88	1.78	2.75	0.01
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.26	1.41	-0.19	0.85
肝癌(vs.乳癌)	3.00	2.02	1.48	0.14

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表八、比較癌症病患在化學治療不同時間的症狀嚴重度與症狀干擾程度差異

		N	平均值	標準差	F	P
症狀嚴重度	化療前	120	2.5141	1.62812	0.317	0.866
	化療後1個月	99	2.6768	1.57653		
	化療後3個月	87	2.7259	1.93526		
	化療後6個月	72	2.5310	1.67971		
	化療結束後1個月	54	2.4915	1.94369		
症狀干擾程度	化療前	120	3.3208	2.51959	0.799	0.526
	化療後1個月	99	3.3889	2.48909		
	化療後3個月	87	3.3467	2.75979		
	化療後6個月	72	2.9468	2.73873		
	化療結束後1個月	54	2.7623	2.74618		

表九、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的症狀嚴重度與症狀干擾程度

	GLMM(隨機截距)			
	β	SE	t	p
症狀嚴重度				
截距	2.45	0.20	12.21	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	0.15	0.25	0.59	0.56
治療第 6 個月(vs.治療前)	0.14	0.22	0.64	0.53
治療第 3 個月(vs.治療前)	0.35	0.20	1.78	0.08
治療第 1 個月(vs.治療前)	0.23	0.16	1.38	0.17
肺癌(vs.乳癌)	0.54	0.39	1.38	0.17
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.12	0.31	-0.39	0.70
肝癌(vs.乳癌)	0.16	0.44	0.36	0.72
症狀干擾程度				
截距	3.18	0.31	10.40	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.14	0.37	-0.36	0.72
治療第 6 個月(vs.治療前)	-0.06	0.33	-0.17	0.87
治療第 3 個月(vs.治療前)	0.28	0.29	0.97	0.33
治療第 1 個月(vs.治療前)	0.22	0.22	0.99	0.32
肺癌(vs.乳癌)	1.38	0.60	2.30	0.02
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.36	0.48	-0.75	0.46
肝癌(vs.乳癌)	0.27	0.68	0.39	0.70

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表十、比較癌症病患在化學治療不同時間的生理檢驗值差異

		N	平均值	標準差	F	P
白血球 ($*10^3$)	化療前	116	7.81	8.99	0.683	0.604
	化療後1個月	96	8.64	30.11		
	化療後3個月	82	5.17	2.35		
	化療後6個月	62	5.70	3.86		
	化療結束後1個月	47	8.05	16.92		
血色素	化療前	116	12.01	1.85	1.95	0.10
	化療後1個月	95	11.48	1.63		
	化療後3個月	81	11.45	1.57		
	化療後6個月	62	11.68	1.35		
	化療結束後1個月	47	11.77	1.66		
AST	化療前	105	45.48	70.09	1.01	0.40
	化療後1個月	77	39.10	49.82		
	化療後3個月	66	34.09	18.48		
	化療後6個月	51	34.73	19.83		
	化療結束後1個月	43	32.00	12.59		
ALP	化療前	108	32.05	43.32	0.40	0.81
	化療後1個月	78	35.55	47.43		
	化療後3個月	67	30.40	22.25		
	化療後6個月	53	36.55	31.36		
	化療結束後1個月	43	29.67	20.87		

表十一、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的生理檢驗值

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
白血球				
截距	8.75	2.65	3.30	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-0.22	2.06	-0.11	0.91
治療第 6 個月(vs.治療前)	0.59	2.93	0.20	0.84
治療第 3 個月(vs.治療前)	-3.19	1.76	-1.81	0.07
治療第 1 個月(vs.治療前)	-1.20	3.40	-0.35	0.73
肺癌(vs.乳癌)	-0.42	4.04	-0.11	0.92
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-1.62	3.20	-0.51	0.61
肝癌(vs.乳癌)	-2.84	4.60	-0.62	0.54
血色素				
截距	11.70	0.26	44.73	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	0.35	0.26	1.35	0.18
治療第 6 個月(vs.治療前)	-0.25	0.26	-0.95	0.34
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.27	0.26	-1.06	0.29
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.12	0.23	-0.53	0.60
肺癌(vs.乳癌)	-0.57	0.37	-1.56	0.12
大腸直腸癌(vs.乳癌)	0.21	0.29	0.72	0.47
肝癌(vs.乳癌)	-0.08	0.41	-0.20	0.84
AST				
截距	35.61	7.96	4.48	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	9.85	4.65	2.12	0.04
治療第 6 個月(vs.治療前)	2.93	4.68	0.63	0.53
治療第 3 個月(vs.治療前)	4.37	4.59	0.95	0.34
治療第 1 個月(vs.治療前)	5.87	4.32	1.36	0.18
肺癌(vs.乳癌)	-8.00	15.38	-0.52	0.60
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-3.66	12.46	-0.29	0.77
肝癌(vs.乳癌)	18.72	17.26	1.08	0.28
ALP				

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
截距	29.98	6.17	4.86	＜0.01
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	1.83	5.15	0.36	0.72
治療第 6 個月(vs.治療前)	5.07	5.27	0.96	0.34
治療第 3 個月(vs.治療前)	1.26	5.29	0.24	0.81
治療第 1 個月(vs.治療前)	6.95	5.11	1.36	0.18
肺癌(vs.乳癌)	7.60	9.92	0.77	0.45
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-7.19	7.90	-0.91	0.37
肝癌(vs.乳癌)	12.08	11.08	1.09	0.28

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表十二、比較癌症病患在化學治療不同時間的健康相關生活品質差異

		N	平均值	標準差	F	P
PF	化療前	120	43.20	12.12	0.808	0.520
	化療後1個月	99	41.41	10.88		
	化療後3個月	87	40.63	12.14		
	化療後6個月	72	42.18	11.61		
	化療結束後1個月	54	43.24	12.26		
RP	化療前	120	26.57	15.50	1.663	0.158
	化療後1個月	99	22.12	11.56		
	化療後3個月	87	24.09	13.35		
	化療後6個月	72	22.84	13.05		
	化療結束後1個月	54	24.20	13.72		
BP	化療前	120	48.56	10.78	1.978	0.097
	化療後1個月	99	50.17	10.48		
	化療後3個月	87	51.09	10.07		
	化療後6個月	72	52.02	10.02		
	化療結束後1個月	54	52.34	9.74		
GH	化療前	120	38.49	8.12	0.175	0.951
	化療後1個月	99	37.90	7.90		
	化療後3個月	87	38.06	7.95		
	化療後6個月	72	38.81	8.36		
	化療結束後1個月	54	38.43	7.52		
VT	化療前	120	46.43	10.78	2.236	0.064
	化療後1個月	99	43.60	10.07		
	化療後3個月	87	42.75	10.32		
	化療後6個月	72	44.81	9.68		
	化療結束後1個月	54	46.49	11.78		
SF	化療前	120	40.67	11.09	0.826	0.509
	化療後1個月	99	39.88	11.47		

		N	平均值	標準差	F	P
	化療後3個月	87	39.99	10.77		
	化療後6個月	72	41.47	11.66		
	化療結束後1個月	54	42.91	11.15		
RE	化療前	120	27.63	17.69	0.922	0.451
	化療後1個月	99	24.78	16.32		
	化療後3個月	87	26.21	17.04		
	化療後6個月	72	28.02	17.49		
	化療結束後1個月	54	29.96	20.26		
MH	化療前	120	36.40	12.50	03.706	0.006
	化療後1個月	99	39.92	11.04		
	化療後3個月	87	39.28	11.07		
	化療後6個月	72	41.40	9.21		
	化療結束後1個月	54	42.19	9.94		
PCSs	化療前	120	42.82	10.31	0.908	0.459
	化療後1個月	99	40.56	8.72		
	化療後3個月	87	41.10	9.83		
	化療後6個月	72	41.03	9.06		
	化療結束後1個月	54	41.45	8.99		
MCSs	化療前	120	35.11	11.47	1.927	.105
	化療後1個月	99	35.52	11.23		
	化療後3個月	87	35.50	11.18		
	化療後6個月	72	37.89	11.78		
	化療結束後1個月	54	39.47	11.82		

表十三、GLMM 比較四種癌症在不同時間點的健康相關生活品質

	GLMM1(隨機截距)			
	β	SE	t	p
PCSs（身體成分）				
截距	41.19	1.40	29.51	0.00
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	2.26	1.38	1.64	0.10
治療第 6 個月(vs.治療前)	-0.53	1.39	-0.38	0.71
治療第 3 個月(vs.治療前)	-0.05	1.38	-0.04	0.97
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.44	1.25	-0.35	0.73
肺癌(vs.乳癌)	-4.51	2.06	-2.19	0.03
大腸直腸癌(vs.乳癌)	0.93	1.63	0.57	0.57
肝癌(vs.乳癌)	-2.07	2.34	-0.89	0.38
MCSs（心智成分）				
截距	38.97	1.67	23.31	0.00
治療結束後 1 個月(vs.治療前)	-3.07	1.62	-1.90	0.06
治療第 6 個月(vs.治療前)	-2.66	1.64	-1.62	0.11
治療第 3 個月(vs.治療前)	-3.22	1.64	-1.96	0.05
治療第 1 個月(vs.治療前)	-0.86	1.53	-0.57	0.57
肺癌(vs.乳癌)	-3.55	2.49	-1.43	0.16
大腸直腸癌(vs.乳癌)	-0.08	1.96	-0.04	0.97
肝癌(vs.乳癌)	-2.71	2.82	-0.96	0.34

GLMM: generalized linear mixed model, AR (1).

表十四、自動集群表

Number of Clusters	Schwarz's Bayesian Criterion (BIC)	BIC Change	Ratio of BIC Changes	Ratio of Distance Measures
1	8494.763			
2	5863.74	-2631.02	1	2.57
3	5028.859	-834.881	0.317	4.552
4	5086.954	58.094	-0.022	1.041
5	5154.865	67.912	-0.026	1.026
6	5228.982	74.117	-0.028	1.402
7	5370.612	141.63	-0.054	1.068
8	5522.879	152.267	-0.058	1.077
9	5686.395	163.516	-0.062	1.293
10	5882.968	196.573	-0.075	1.042
11	6084.057	201.089	-0.076	1.215
12	6304.323	220.266	-0.084	1.06
13	6529.641	225.318	-0.086	1.157
14	6766.4	236.759	-0.09	1.007
15	7003.668	237.268	-0.09	1.199

表十五、集群分配表

		人次	% of 總人次	% of Total
集群	低經絡能量	194	44.90%	44.90%
	中經絡能量	160	37.00%	37.00%
	高經絡能量	78	18.10%	18.10%
	總數	432	100.00%	100.00%

表十六、集群重心表

		集群		
		低經絡能量	中經絡能量	高經絡能量
L 肺經	平均值	9.09	36.37	76.74
	標準差	8.13	17.70	24.58
L 心包經	平均值	7.63	34.58	71.39
	標準差	8.16	17.63	25.20
L 心經	平均值	6.49	30.44	62.15
	標準差	5.74	15.31	24.06
L 小腸經	平均值	7.57	35.76	76.07
	標準差	6.90	18.46	22.89
L 三焦經	平均值	11.39	36.25	78.48
	標準差	9.25	19.98	26.32
L 大腸經	平均值	10.11	36.70	75.27
	標準差	7.57	17.85	25.35
L 脾經	平均值	6.52	27.92	52.76
	標準差	7.19	17.41	21.76
L 肝經	平均值	6.59	22.56	54.05
	標準差	5.49	13.00	18.86
L 腎經	平均值	4.57	17.53	43.20
	標準差	3.87	12.52	26.02
L 膀胱經	平均值	6.10	25.09	47.30
	標準差	5.93	16.35	24.16
L 膽經	平均值	3.77	11.58	28.80
	標準差	3.20	9.49	17.33
L 胃經	平均值	7.30	22.75	55.69
	標準差	6.41	13.36	20.22
R 肺經	平均值	10.34	37.83	74.67
	標準差	8.79	16.32	23.39
R 心包經	平均值	7.55	34.18	68.18
	標準差	6.74	16.67	21.88
R 心經	平均值	7.62	30.13	59.60
	標準差	6.93	13.01	22.36
R 小腸經	平均值	8.57	33.97	75.29

		集群		
		低經絡能量	中經絡能量	高經絡能量
	標準差	7.50	17.08	23.71
R 三焦經	平均值	11.69	36.71	78.25
	標準差	9.38	19.69	25.84
R 大腸經	平均值	11.10	36.16	75.42
	標準差	8.43	17.89	25.80
R 脾經	平均值	6.58	26.29	52.97
	標準差	7.22	16.27	23.47
R 肝經	平均值	6.03	21.83	53.86
	標準差	4.87	12.46	21.23
R 腎經	平均值	4.32	18.22	44.76
	標準差	3.70	13.10	27.65
R 膀胱經	平均值	6.39	24.59	46.66
	標準差	6.48	16.77	23.73
R 膽經	平均值	4.22	12.33	31.82
	標準差	4.46	10.16	22.77
R 胃經	平均值	6.85	22.16	57.11
	標準差	5.71	13.82	19.79

表十七、癌症分類的集群次數表

		診斷							
		肺癌		大腸直腸癌		肝癌		乳癌	
		Frequency	Percent	Frequency	Percent	Frequency	Percent	Frequency	Percent
集群	低經絡能量	31	58.50%	65	58.00%	19	46.30%	79	35.00%
	中經絡能量	14	26.40%	32	28.60%	19	46.30%	95	42.00%
	高經絡能量	8	15.10%	15	13.40%	3	7.30%	52	23.00%
	Combined	53	100.00%	112	100.00%	41	100.00%	226	100.00%

表十八、經絡能量、體質、症狀、生理檢驗值與健康相關生活品質的相關係數（n=432 人次）

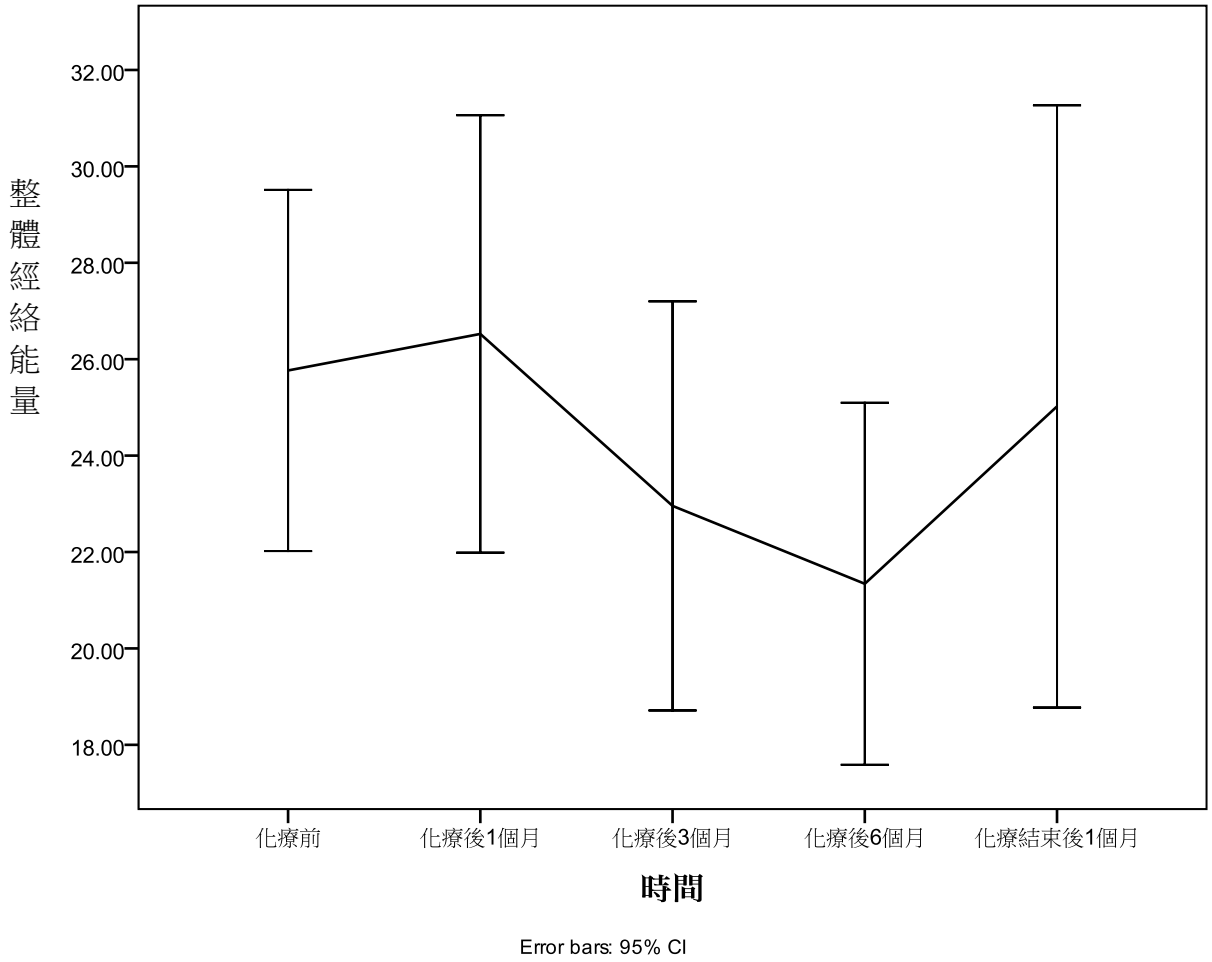
	整體經絡能量	上/下比值	左/右比值	陰/陽比值	最大值/最小值比值
陽虛總分	-0.170**	0.015	-0.053	<0.005	0.026
陰虛總分	-0.048	0.034	0.009	0.123*	0.064
痰瘀總分	-0.154**	0.035	-0.064	0.023	0.040
症狀嚴重度	-0.211**	0.042	-0.068	-0.049	0.051
症狀干擾程度	-0.218**	0.028	-0.124**	-0.077	0.047
WBC	-0.008	-0.01	-0.021	-0.020	-0.036
Hb	0.141**	0.029	0.109*	0.147**	0.005
AST	-0.099	-0.061	-0.008	-0.086	-0.041
ALT	-0.003	-0.05	-0.003	-0.045	-0.017
PCSs	0.250**	0.022	0.114*	0.118*	-0.012
MCSs	0.141**	0.017	0.088	-0.001	0.013

*p<0.05; **p<0.01.

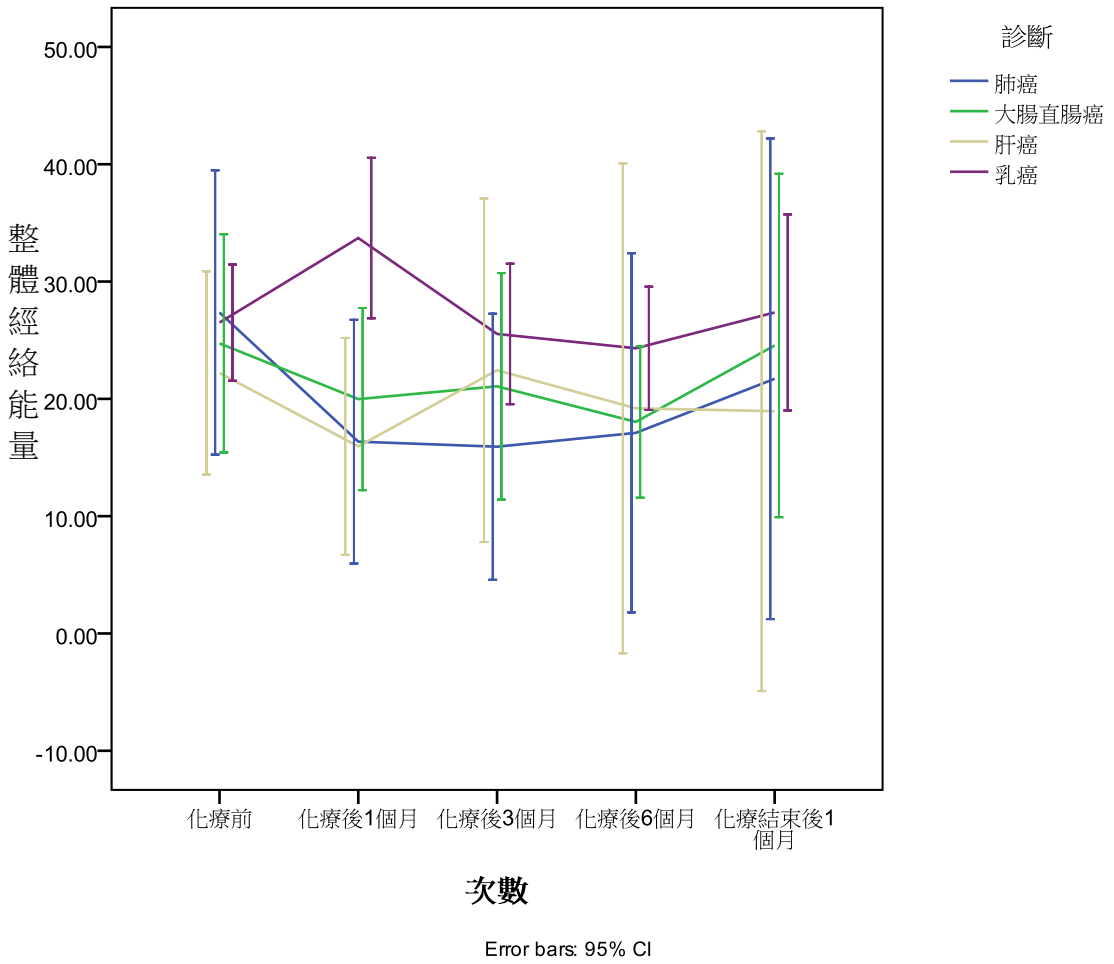
表十九、比較三組經絡能量病患在體質、症狀、生理檢驗值與健康相關生活品質的差異

		人次	平均值	標準差	F	p
陽虛總分	低經絡能量組	194	32.64	9.71	3.569	0.029
	中經絡能量組	160	31.29	9.60		
	高經絡能量組	78	29.35	7.68		
陰虛總分	低經絡能量組	194	28.24	7.33	0.312	0.732
	中經絡能量組	160	28.63	8.14		
	高經絡能量組	78	27.85	5.78		
痰瘀總分	低經絡能量組	194	27.58	8.54	2.638	0.073
	中經絡能量組	160	26.51	7.21		
	高經絡能量組	78	25.21	7.55		
症狀嚴重度	低經絡能量組	194	37.52	23.90	6.366	0.002
	中經絡能量組	160	32.18	21.17		
	高經絡能量組	78	27.44	19.58		
症狀干擾程度	低經絡能量組	194	22.69	16.72	8.836	<0.001
	中經絡能量組	160	16.90	14.73		
	高經絡能量組	78	15.56	13.65		
WBC	低經絡能量組	186	7.39	11.31	0.375	0.688
	中經絡能量組	145	7.65	24.50		
	高經絡能量組	72	5.66	2.38		
Hb	低經絡能量組	184	11.45	1.71	3.530	0.030
	中經絡能量組	145	11.90	1.64		
	高經絡能量組	72	11.89	1.49		
AST	低經絡能量組	154	43.22	64.98	1.424	0.242
	中經絡能量組	121	35.46	24.38		
	高經絡能量組	67	33.37	22.52		
ALT	低經絡能量組	160	32.39	41.84	0.049	0.953
	中經絡能量組	122	33.75	30.13		
	高經絡能量組	67	32.60	36.94		
PCSs	低經絡能量組	194	39.16	9.15	12.536	<0.001

		人次	平均值	標準差	F	p
	中經絡能量組	160	42.70	9.13		
	高經絡能量組	78	44.80	9.73		
MCSs	低經絡能量組	194	34.95	11.20	2.786	0.063
	中經絡能量組	160	36.95	11.66		
	高經絡能量組	78	38.29	11.67		



圖一、癌症病患整體經絡能量的變化圖



圖二、癌症病患整體經絡能量的變化圖