

編號：CCMP95-TP-041

# 臨床常用複方濃縮中藥製劑對腎功能影響之研究

鮑力恒

國防醫學院

## 摘要

自從中草藥含馬兜鈴酸會導致腎病變的議題被廣泛報導之後，美國食品藥物檢驗局(Food and Drug Administration, FDA)在 2000 年 6 月就下令禁止含有馬兜鈴酸的產品上市，我國亦在 2003 年 11 月由行政院衛生署公佈全面禁止關木通、青木香、天仙藤、廣防己、馬兜鈴等含有馬兜鈴酸成分的產品上市，同時也註銷 50 張含有馬兜鈴酸的製劑許可證，然而根據行政院衛生署暨財團法人中華民國腎臟基金會的統計資料指出，自衛生署於 2003 年公告禁止含有馬兜鈴酸的產品上市至今，國人洗腎患者的人數不僅沒有減少，反而仍然持續以每年超過 10% 的成長率上升。此計劃是以中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前十名的複方濃縮中藥製劑（小柴胡湯、小青龍湯、疏經活血湯、川芎茶調散、加味逍遙散、獨活寄生湯、六味地黃丸、補中益氣湯、龍膽瀉肝湯、香砂六君子湯）為對象，進行長期(14 天，一天一次)給予動物進行研究，藉由血液與尿液的生化數值變異以評估濃縮中藥製劑在臨床使用上對腎臟可能產生的影響，以期建立基本相關資料供臨床使用上的參考。

截至目前為止已完成三家廠牌 10 種複方濃縮中藥製劑長期使用對於(14 天，一天一次)大白鼠腎臟功能影響的實驗，其中七種複方濃縮中藥製劑在長期使用下，對腎功能並無顯著影響。在血液檢品方面以龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種複方濃縮中藥製劑，在 creatinine 的生化數值分別有二家廠牌與三家廠牌有統計上顯著差異，其中龍膽瀉肝湯的實驗中 creatinine 皆顯著下降(兩家廠牌之  $p < 0.001$ ，一家廠牌之  $p < 0.05$ )；而加味逍遙散的實驗中，creatinine 有兩家廠牌有顯著上升( $p < 0.001$ )。此外在 BUN 的生化數值，龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種複方濃縮中藥製劑皆是三家廠牌具有顯著上升(兩家廠牌之  $p < 0.001$ ，一家廠牌之  $p < 0.01$ )。至於在尿液檢品方面以小青龍湯的廠牌 3 尿蛋白與肌酸酐之比值偏高；故近一步選取龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種中藥製劑的三家廠牌、小青龍湯的廠牌 3 來進行腎臟切片分析，以切片包埋染色的方式來評定腎臟細胞受損情形藉此來判定中藥腎毒性發生與否以及其腎臟受損進程情形，切片結果顯示長期服用較高

劑量之龍膽瀉肝湯可能對腎功能造成不良影響，加味道遙散雖無嚴重受損情形但仍應密切觀察，小青龍湯並未發現明顯受損情形。

國人近年來常以服用中醫的藥物作為治療疾病方式，因缺乏相關的腎毒性資訊，造成病人用藥安全的顧慮。故本研究計畫實施後將可獲得常用的複方濃縮中藥製劑，在臨床使用上對腎臟有不良影響的證據，以期建立建立臨床上經常使用的濃縮中藥製劑與腎毒性關聯性的資料平臺，以供日後衛生主管單位及醫藥人員於臨床實用上評估腎毒性風險的參考，以期能減少可能因濃縮中藥製劑作用而產生腎臟的不良反應或副作用，進而增進醫療資源的有效利用與達到維護國人用藥安全之目的。

關鍵詞：中藥、腎毒性、動物實驗

Number: CCMP95-TP-041

# The Effect of Concentrated Compound Chinese Herbal Medicine Drug on Toxicity Studies in Kidney

Pao, Li-Heng

National Defense Medical Center

## ABSTRACT

The use of Chinese herbal medicines has been increasing rapidly and broadly because of their herbal remedies for disease treatment and supplement use in diet. Since the burgeoning interest in and acceptance of Chinese herbal medicine, its safety is in particular concern. Many studies indicated that herbs derived or contained aristolochic acid (AA), the plant exact of *Aristolochia* spp, would lead to nephrotoxicity or might associate with novel nephropathy. Since then the U.S. Food and Drug Administration (FDA) has banned to immediately discontinue the use of any botanical products containing AA. The Department of Health (DOH) of Taiwan on the other hand has also embargoed any botanical products containing AA from the market in hoping to reduce Chinese herbal medicine induced nephrotoxicity. However, the ratio of patients with blood dialysis in Taiwan has not decrease but increase in a rate of 10% every year. The reason of the high rate of growth might be that there are other components besides AA in herbal medicines that would induce nephrotoxicity. The objective of this project is to study the effect of 10 commonly used concentrated compound Chinese herbal medicines on renal function of rats. Renal function could be estimated by determining the variations of biochemical index of blood and urine.

10 concentrated compound Chinese herbal medicines of three manufacturers (1, 2 and 3) were orally administrated to Sprague-Dawley (SD) rats once daily for 14 days. For blood analysis, creatinine of Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang and Jia-Wei-Xiao-Yao-San showed significant differences between two of three manufacturers. Creatinine of Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang significantly decreased; while creatinine of Jia-Wei-Xiao-Yao-San for 2 manufacturers significantly increased. For blood urine nitrogen test, both Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang and Jia-Wei-Xiao-Yao-San showed significant increase in all manufacturers. On the other hand, the results of

urine analysis from manufacturer 3 showed that urine protein and creatinine of Xiao-Qing-Long-Tang had a higher value. Therefore, Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang and Jia-Wei-Xiao-Yao-San from all manufacturers and Xiao-Qing-Long-Tang of manufacturer 3 were selected for kidney biopsy to evaluate the damage of kidney cells for the determination of kidney damage or nephrotoxicity caused by herbal medicines. The results showed that Lung-Tan-Hsieh-Kan-Tang might worsen the kidney function. However, Jia-Wei-Xiao-Yao-San and Xiao-Qing-Long-Tang of manufacturer 3 did not have obvious effects.

The safety of herbal remedies has become a major concern specifically for patients with renal disease, and credible information is always lacking. Our purpose of this project is to address concerns and issues to the use of Chinese herbal medicine and to provide reliable sources of information.

Keywords: Chinese herbal medicines, nephrotoxicity, biochemical index

## 壹、前言

中醫在我國已有五千年的歷史，無論在醫療、保健、養生等各方面，中草藥都佔有不可或缺的一席之地，近年來，甚至連西方國家也開始研究中草藥的成分、機轉、以及在疾病治療中所扮演的角色。隨著中草藥的普及和大量使用，中草藥的安全性也越來越受到人們的重視，尤其如我國這類中醫藥盛行發達的地區，更應當對中草藥的使用和安全性有更深入的探討，也因此，近年來政府致力於中藥之各項研究<sup>1~7</sup>。

根據行政院衛生署暨財團法人中華民國腎臟基金會的統計資料指出，早在民國 86 年起，我國洗腎總人口數就達到 20937 人，並且每年以 10% 以上的比率增加，截至民國 94 年，我國洗腎總人口數已超過 4 萬 5 千人；雖然造成患者必須洗腎的病因有很多，在後天的因素多半為藥物或食物所引起，西藥所引發的腎毒性目前已有眾多文獻報導，然而過去我國關於中草藥毒性的研究多注重在肝臟方面<sup>8~10</sup>，有關中草藥所導致的腎毒性相關研究較晚起步也相對較少，因此中草藥的使用是否導致我國病患洗腎率節節攀升也無從得知；在中醫藥發達盛行的我國，中草藥不僅只被當作醫療用途，甚至也被運用在保健食品方面，中草藥的使用是如此的遍及大眾，因此釐清中草藥成分是否會引發腎毒性的確有其必要性。

中草藥所引發的腎毒性最早是在 1993 年被注意到，當時比利時首都布魯塞爾血液透析中心的醫師 Vanherwegenmu 發現兩名罕見病例—他們分別是兩位不到 50 歲的婦女，皆被醫院診斷出因間質性腎炎而必須接受血液透析。當時在比利時因間質性腎炎而導致腎衰竭的病人約佔總腎衰竭病患的五分之一，而其病程多要十至二十年才會惡化至需血液透析，因此一次出現兩位年紀小於 50 歲，因為間質性腎炎而導致腎衰竭需洗腎的異常現象才會引起 Vanherwegenmu 醫師的注意。

經過 Vanherwegenmu 醫師等人的追查，發現兩位女性病患都曾接受同一間診所開立的減肥藥，但此診所的減肥藥經調查已連續處方了 15 年，在這期間並無發現嚴重的副作用，直到 1990 年的 5 月，該診所在減肥藥處方中新增厚朴(*Magnolia officinalis*)與粉防己(*Stephania tetrandra*)兩味中藥，因此 Vanherwegenmu 醫師便懷疑是這兩味中藥引起了腎病變的現象，為了更進一步確認，Vanherwegenmu 醫師等人追蹤其他同樣服用此一減肥藥方的女性，發現所追蹤到的 25 名女性中有三位也出現了類似的病徵，於是後續相關研究的學者便將之命名為中草藥腎病變(Chinese Herbs Nephropathy, CHN)<sup>11, 12</sup>。

Vanherweghemu 醫師針對新增的兩味中藥進行成分分析，發現其中並未含有預期的防己鹼<sup>13</sup>，隔年 Vanherweghemu 醫師等人針對比利時中藥進口商提供的 12 個防己樣本以植物化學分析方法進行測驗，結果發現所謂的防己其實並不含防己鹼，而是馬兜鈴酸(Aristolochic acid, AA)<sup>14</sup>。而後 Schmeiser 與 Cosyns 等人也在病患腎臟檢體中測出馬兜鈴酸與 DNA 的鍵結物<sup>15、16</sup>，因此，中草藥腎病變的主因可以大致確定是馬兜鈴酸，Cosyns 等人並將中草藥腎病變正名為馬兜鈴酸腎病變(Aristolochic acid nephropathy, AAN)；雖然馬兜鈴酸為中草藥造成腎病變的主因之一，但中草藥是否仍含其他成分會導致腎毒性，目前我國僅有少數相關文獻與研究報導，因此我們也較不易得知此類訊息。

自從中草藥含馬兜鈴酸會導致腎病變的議題被廣泛報導之後，美國食品藥物檢驗局(Food and Drug Administration, FDA)在2000年6月就下令禁止含有馬兜鈴酸的產品上市<sup>17</sup>，我國亦在2003年11月由行政院衛生署公佈全面禁止關木通、青木香、天仙藤、廣防己、馬兜鈴等含有馬兜鈴酸成分的產品上市，同時也註銷50張含有馬兜鈴酸的製劑許可證，然而根據行政院衛生署暨財團法人中華民國腎臟基金會的統計資料指出，自衛生署於2003年公告禁止含有馬兜鈴酸的產品上市至今，國人洗腎患者的人數不僅沒有減少，反而仍然持續以每年超過10%的成長率上升。而文獻也指出我國曾經發生婦人因經期不規則，服用加味姑嫂丸而導致不可逆的腎衰竭，而加味姑嫂丸成分中並無馬兜鈴酸<sup>18</sup>；除此之外，從1995年1月到2000年9月，國泰醫院共蒐集了19名中草藥腎病變的病例—這些病患因無法解釋的腎衰竭均接受腎臟切片檢查，病理發現在纖維化間質腎炎，比照已知的文獻報導，所有的病患來自不同的居住地區，共同特徵是發病前都曾服用期限不等的中草藥。這些中草藥的來源不同，劑型亦不同，有植物萃取物，丸劑，粉末。這些病患服用中草藥的原因亦不盡相同，有3人為了減肥美容，9人為了強身，2人為了關節痛，其他則因腰酸背痛、高血壓、肝炎、婦科問題。女性為多，共17人(89.5%)，男性只有2人。病患接受腎臟切片檢查時的年齡從28歲到67歲( $48.4 \pm 10.7$ 歲)不等。8人曾服用1至18個月的中草藥，其他人則因不規則服用多種中草藥，無法正確描述服用期間。在服用中草藥之前，10人有正常範圍內尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐酸(Creatinine, Cr)。其中大部分的病人都有快速進程性的腎衰竭，5個病人在接受腎臟切片檢查時已為末期腎衰竭，截至最後的追蹤，有9個病人接受透析治療，其餘的病人仍保持進行性的腎衰竭。而針對6位病患長期服用較固定中草藥之內容物以薄層色層分析及高效液相色層分析作進一步的植物分析，亦不能指出馬

兜鈴酸的存在，因此有可能是某種尚未確認的植物毒素而非馬兜鈴酸會引發腎毒性<sup>19</sup>。

除了中草藥成分本身可能會產生腎毒性之外，Ken Wojcikowski 等人在 2004 年發表的論文中指出，中草藥另一個導致腎病變的重大隱憂為摻雜假藥或其他成分<sup>20</sup>，文獻報導過去曾有 5 名病患因服用添加 mefenamic acid 和 diazepam 的中藥丸劑而引發急性間質性腎炎的案例，而這些患者日後皆必須接受洗腎的治療<sup>21、22</sup>。

如上所述，中草藥可能含有除了馬兜鈴酸以外而會產生腎毒性的成分存在，以致即使含有馬兜鈴酸的產品下市，國人洗腎率仍然每年攀升。另外，中草藥之品管與添加物所導致的腎病變也是一個值得我們去探討的議題。

正因為中草藥在我國的使用是如此頻繁，而目前已有文獻和案例指出某些中草藥可能和非馬兜鈴酸所引發的腎病變相關<sup>23~29</sup>，為了維護國人用藥安全與健康，所以釐清目前市場上常用中草藥與腎毒性之關聯性的確勢在必行。因此本計畫擬定以大白鼠建立試驗模式，在長期(14 天，一天一次)口服餵食大白鼠使用量排行前十名的複方濃縮中藥製劑之後，採集其血液及尿液檢體，分析其和腎功能相關的生化值，以完成針對市售常用複方濃縮中藥製劑與腎毒性的相關性評估，供臨床使用之參考，進而達到維護國人用藥安全與減少藥物副作用之目的。

## 貳、材料與方法

此計劃的執行是以中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前十名的複方濃縮中藥製劑為對象。進行長期(14 天，一天一次)給予動物進行研究，以評估濃縮中藥製劑在臨床使用上對腎臟可能產生的影響，建立基本相關資料供臨床使用上的參考。

進行下列試驗：

- 一、 建立複方濃縮中藥製劑對於腎臟功能影響的動物模式。
- 二、 建立服用複方濃縮中藥製劑後對腎臟功能影響的測定方法。
- 三、 完成三家優良廠商的十種複方濃縮中藥製劑長期(14 天，一天一次)使用後對大白鼠的腎臟功能影響的實驗評估，以建立相關資料供臨床使用上的參考。

《中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前十的複方濃縮中藥製劑》：

1. 加味逍遙散
2. 獨活寄生湯
3. 六味地黃丸
4. 補中益氣湯
5. 小柴胡湯
6. 龍膽瀉肝湯
7. 疏經活血湯
8. 川芎茶調散
9. 香砂六君子湯
10. 小青龍湯

(一)十種複方濃縮中藥製劑於動物體內試驗的評估：

實驗設計為利用大白鼠長期(14 天，一天一次)口服排行前十的複方濃縮中藥製劑，以觀察該模式裡，因為中藥的作用而存在影響腎功能的可能性。

1. 多劑量十種複方濃縮中藥製劑短期口服給予的研究：

取健康年輕成鼠(Sprague-Dawley，6-9 週大)，以中藥複方 30mg/ml 的水溶液每天一次胃管餵食，每次劑量 180~210mg/kg，一共 14 天而在控制組則以 Q 水取代餵食，先取 1μl 的尿液後；再從大白鼠尾靜脈取血 0.2ml 並加入適量的肝素，取完血後以乙醚將大鼠麻醉後犧牲，取其腎臟之後做切片處理。在進行分析前，血液、尿液及腎臟檢品儲存於 -80 °C

冷凍櫃。共十二組(含控制組)，每組至少 N=3。在實驗中若發現有任何動物病危，基於人道理由，將以二氧化碳使其安樂死。

## (二)濃縮中藥製劑的配製劑量：

以中醫醫院及藥廠中藥方劑使用量排行前十的複方濃縮中藥製劑為對象。因為要模擬人體的中藥對腎功能的影響，故以人的平均體重 70kg 為標準，複方濃縮中藥製劑以甘露飲每次服用 4g，一天三次為例： $4\text{ g} / 70\text{ kg} = 0.06\text{ g/kg} = 60\text{ mg/kg}$ ；或是以腸肝體積來計算，以期於人的肝腸中藥物濃度與大鼠體內之肝腸中藥物濃度相同，同樣以甘露飲為例： $0.4\text{ g} / 2\text{ L} = x\text{ g} / 0.1\text{ L}$ ， $x\text{ g} = 0.02\text{ g/rat}$ ，一隻大鼠體重約 300mg，所以可得  $0.07\text{ g/kg} = 70\text{ mg/kg}$ 。故使用劑量應在  $60 \sim 70\text{ mg/kg}$  之間的範圍；而一天一次的使用劑量應在  $180 \sim 210\text{ mg/kg}$  之間的範圍。

## (三)腎功能檢查：

### 1. 血液生化檢驗：

自大鼠的尾靜脈來抽取血液樣本，經過微量離心後，直到進行分析評估前需儲藏於-80°C。

#### (1)肌酸酐：

血液中的肌酸酐含量則以苦味酸(Sigma 555-A, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)所進行的比色法來決定；或是採取 creatinine kit(Sigma)來測定。

#### (2)血尿：

以尿素酶的 kit(Sigma 640-A, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)來測定。

#### (3)膽固醇：

血中膽固醇則用膽固醇的 kit (INFINITY cholesterol reagent No.402 Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)來測定。

#### (4)尿素氮：

由 nitrogen assay kit(Sigma)來測定血液中尿素氮的多寡。

#### (5)白蛋白：

以 albumin reagent kit(Sigma)來測定血液中白蛋白的多寡。

## 2. 尿液生化檢驗：

由於從大鼠取得的尿液檢體量並不多，所以將大鼠圈養於代謝籠中來收集全尿；尿液檢體亦需經過微量離心後，在進行分析評估前需儲藏於-80°C。

### (1) 蛋白尿：

藉由尿液中白蛋白( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )與肌酸酐( $\text{mg}/\text{dl}$ )的比值來評估腎功能的方式。

尿中白蛋白的含量是經由以白蛋白診斷反應物(Sigma 631-2, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)的酵素連結免疫吸附分析來決定；此分析方法是以純化後濃度在 5-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$  之間的尿中白蛋白(Capple, Organon Teknika, Durham, North CA)為參考標準；亦可經由 BCA protein assay kit(Pierce, Rockford, IL)來檢測含量。

### (2) 肌酸酐：

肌酸酐則是由 creatinine assay kit (Sigma)來分析。

## 參、結果

國人近年來常以服用中醫的藥物作為治療疾病方式，因缺乏相關的腎毒性資訊，造成病人用藥安全的顧慮。故本研究計畫實施後將可獲得常用的複方濃縮中藥製劑，在臨床使用上對腎臟有不良影響的證據，以期建立建立臨床上經常使用的濃縮中藥製劑與腎毒性關聯性的資料平臺，以供日後衛生主管單位及醫藥人員於臨床實用上評估腎毒性風險的參考，以期能減少可能因濃縮中藥製劑作用而產生腎臟的不良反應或副作用，進而增進醫療資源的有效利用與達到維護國人用藥安全之目的。

截至目前為止已完成三家廠牌 10 種複方濃縮中藥製劑（小柴胡湯、小青龍湯、疏經活血湯、川芎茶調散、加味逍遙散、獨活寄生湯、六味地黃丸、補中益氣湯、龍膽瀉肝湯、香砂六君子湯）長期使用對於(14 天，一天一次)大白鼠腎臟功能影響的實驗，共完成 30 組實驗組(每組  $N=6$ ，共 180 隻)與控制組( $N=36$ )；至實驗結束為止，一共使用 216 隻大鼠。分別先依血液與尿液的生化數值評估，再進一步進行腎臟組織切片來診斷造成腎功能的傷害情形。

收取給藥前一天的大鼠血液當做空白血，將連續給藥 14 天後的大鼠血液與之比較 4 種血液生化數值(肌酸酐、尿素氮、白蛋白、膽固醇)。其中主要以肌酸酐(creatinine)及尿素氮(BUN)來評估腎功能，並以 Paired *t* test 比較不同廠牌之藥物服藥前後有無統計顯著差異，小青龍湯與小柴胡湯由於未採集 predose 之血液檢品，故以 One-Way ANOVA 比較 control 組之 postdose (餵食 14 天 Q 水， $n=36$ )與實驗組之 postdose 有無統計顯著差異。

收取給藥前的大鼠尿液當做空白尿，並與連續給藥 14 天後的大鼠尿液，做為給藥前後的比較，將尿液檢品測得的尿蛋白和肌酸酐二種生化值，以其比值作為評估連續服用中藥十四天前後對於腎功能造成之影響，並用 Paired *t* test 做為統計方式，以比較三家廠牌之連續十四天服用中藥前後尿液測定究竟有無統計上之顯著差異。

分別以十種複方濃縮中藥製劑連續給藥 14 天後的大鼠血液與尿液分析結果如下：

### 一、小青龍湯：(圖一)

血液方面：三家廠牌之和控制組( $N=36$ )分別比較在餵藥十四天後，雖然在 creatinine 上不具有統計上之顯著性差異，但是，在分別和控制組( $N=36$ )比較後，則可在 BUN 上觀察到廠牌 2 有統計上之顯著上升，同時可以觀察到餵藥十四天後其平均

值也超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義；但是其中廠牌 3 的尿蛋白與肌酸酐之比值是十種複方濃縮中藥製劑連續給藥 14 天實驗結果中最高的。

## 二、小柴胡湯：(圖二)

血液方面：三家廠牌和控制組( $N=36$ )分別比較在餵藥十四天後，雖然在 creatinine 上不具有統計之顯著性差異，但是，在分別和控制組( $N=36$ )比較後，則可在 BUN 上觀察到廠牌 2 和廠牌 3 均有統計上之顯著上升，同時可以觀察到餵藥十四天後廠牌 2 與廠牌 3 其平均值也都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

## 三、疏經活血湯：(圖三)

血液方面：在各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到三家廠牌之 creatinine 均不具有統計之顯著差異，但可觀察到 BUN 在三家廠牌則均有統計上之顯著上升，同時可以觀察到廠牌 1 和廠牌 3 在餵藥十四天後之平均值也都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍，但廠牌 2 在餵藥十四天後之平均值則維持在一般大鼠 BUN 之正常範圍內。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

## 四、川芎茶調散：(圖四)

血液方面：在各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到廠牌 1 之 creatinine 有統計上之顯著下降，同時，觀察到 BUN 即使在廠牌 2 與廠牌 3 均具有統計之顯著上升，但在餵藥十四天後廠牌 2 與廠牌 3 之平均值依然維持在一般大鼠 BUN 之正常範圍內。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

## 五、獨活寄生湯：(圖五)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到 creatinine 在三家廠牌均不具統計上之顯著差異，但在 BUN

上則可觀察到在三家廠牌均具有統計之顯著上升，其中觀察到廠牌 1 在餵藥十四天後之平均值在一般大鼠 BUN 之正常範圍邊緣，而廠牌 2 和廠牌 3 在餵藥十四天後之平均值則都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，可在廠牌 3 得到統計上之顯著上升。

#### 六、加味逍遙散：(圖六)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到 creatinine 即使在餵藥十四天後依然在大鼠的正常範圍內，但廠牌 2 與廠牌 3 均有統計上之顯著下降，同時，也觀察到在餵藥十四天後，三家廠牌之 BUN 均有統計上之顯著上升，並且三家廠牌在餵藥十四天後之平均值也都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

#### 七、六味地黃丸：(圖七)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到雖 creatinine 在三家廠牌中均不具有統計上之顯著性差異，但是，卻觀察到在餵藥十四天後，廠牌 1 及廠牌 2 之 BUN 均有統計上之顯著上升，且廠牌 1 與廠牌 2 在餵藥十四天後之平均值也超過一般大鼠 BUN 之正常範圍，然而廠牌 3 在餵藥前後其平均值均未達到一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

#### 八、補中益氣湯：(圖八)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到雖 creatinine 在三家廠牌中均不具統計上之顯著性差異，但可觀察到在餵藥十四天後，廠牌 3 之 BUN 具有統計上之顯著上升，而廠牌 3 在餵藥十四天後其平均值超過一般大鼠 BUN 之正常範圍，但是，廠牌 1 與廠牌 2 在餵藥前後之平均值卻依然維持在一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

### 九、龍膽瀉肝湯：(圖九)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到 creatinine 即使在餵藥十四天後依然在大鼠的正常範圍內，但廠牌 1 具統計上之顯著上升，同時，也觀察到在餵藥十四天後，三家廠牌之 BUN 均有統計上之顯著上升，且三家廠牌在餵藥十四天後之平均值也都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，均無統計上之顯著意義。

### 十、香砂六君子湯：(圖十)

血液方面：在三家廠牌各自比較過餵藥十四天前後( $N=6$ )，可觀察到雖 creatinine 在三家廠牌中均不具有統計上之顯著性差異，但是，也觀察到在餵藥十四天後，三家廠牌之 BUN 均有統計上之顯著上升，且三家廠牌在餵藥十四天後之平均值也都超過一般大鼠 BUN 之正常範圍。

尿液方面：在三家廠牌各自比較餵藥十四天前後( $N=6$ )尿蛋白與肌酸酐之比值，可在廠牌 1 得到統計上之顯著上升。

綜合上述，十種複方濃縮中藥製劑於此長期實驗中，以在血液檢品方面以龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種複方濃縮中藥製劑，在 creatinine 的生化數值分別有二家廠牌與三家廠牌有統計上顯著差異，其中加味逍遙散的實驗中 creatinine 皆顯著下降(兩家廠牌之  $p<0.001$ ，一家廠牌之  $p<0.05$ )；而龍膽瀉肝湯的實驗中，creatinine 有兩家廠牌有顯著上升 ( $p<0.001$ )。此外在 BUN 的生化數值，龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種複方濃縮中藥製劑皆是三家廠牌具有顯著上升。至於在尿液檢品方面以小青龍湯的廠牌 3 尿蛋白與肌酸酐之比值偏高；故選取出龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種中藥製劑的三家廠牌、小青龍湯的廠牌 3 來進行腎臟切片分析，藉由將切片包埋染色的方式來評定腎臟細胞受損情形，以評估複方濃縮中藥製劑對腎功能的影響，與控制組相比對(圖十一、十二)，切片結果顯示長期服用較高劑量之龍膽瀉肝湯可能對腎功能造成不良影響(圖十三至十八)，加味逍遙散雖無嚴重受損情形(圖十九至二十四)，但仍應密切觀察，小青龍湯(圖二十五、二十六)並未發現明顯受損情形。

## 肆、討論

臨牀上初步診斷腎功能之生化值主要是以血液的肌酸酐和尿素氮以及尿液之蛋白量與尿中肌酸酐之比值評估，血液中之肌酸酐與尿素氮上升則表示腎臟之排泄功能受到影響，但尿素氮易受飲食等其他因素影響，故單憑尿素氮僅能概略顯示腎臟排泄功能的影響；而血中肌酸酐主要來源為肌酸脫水形成，故生成量取決於肌肉多寡，其生成速率固定，不似尿素氮易受其他因素影響，肌酸酐主要由腎絲球過濾排除，少部分經由腎小管主動分泌排除，故肌酸酐常被用於評估腎絲球過濾速率，尿液中之肌酸酐也被用於校正尿蛋白量，血液中之肌酸酐上升與尿液中之肌酸酐下降代表著腎臟之排泄功能可能受損，搭配尿素氮和尿蛋白與尿中肌酐酸比值可用於篩選腎功能可能受損之大鼠。因此本實驗將分別選取血液及尿液生化值異常之大鼠進行腎臟切片以待進一步分析；目前已完成龍膽瀉肝湯與加味逍遙散兩種中藥製劑的三家廠牌、小青龍湯的廠牌 3 的腎臟切片分析與結果判讀，結果顯示以血中 Crea 與 BUN 顯著上升可反映腎功能之傷害，BUN 接近 30 mg/dL 時應密切觀察有無腎臟傷害發生，相較而言尿液生化值(尿蛋白與尿中肌酐酸比值)較無法反應腎功能受損情形。

## 伍、結論與建議

本實驗已完成長期服用十種複方中藥(14 天，一天一次)之大鼠動物實驗，血液及尿液生化值之分析統計均已完成，並已挑選控制組(餵食 14 天 Q 水，一天一次)與實驗組中血液或尿液生化值出現異常之中藥進行腎臟切片，除可評估中藥對腎功能所造成的影响之外，更可釐清血液及尿液何種生化值為大鼠腎功能的較佳指標。

中藥對腎功能所產生的影響或損傷多為長期服用所造成，而臨床上使用中藥也以長期調理居多，且處方常數倍於建議劑量，因此若能進行更長期以及增加中藥劑量之實驗，相信將有助於了解中藥對於腎功能所造成之影響。由本實驗結果顯示其中七種複方濃縮中藥製劑（小柴胡湯、疏經活血湯、川芎茶調散、獨活寄生湯、六味地黃丸、補中益氣湯、香砂六君子湯）長期使用對於腎功能似乎並無顯著影響；腎臟切片結果顯示，長期服用較大劑量之龍膽瀉肝湯可能對腎功能造成不良影響，加味逍遙散與廠牌 3 之小青龍湯則無明顯受損情形，可進一步以更具專一性之生物指標 (biomarker) 確認龍膽瀉肝湯是否造成腎臟特定部位之傷害。

## 誌謝

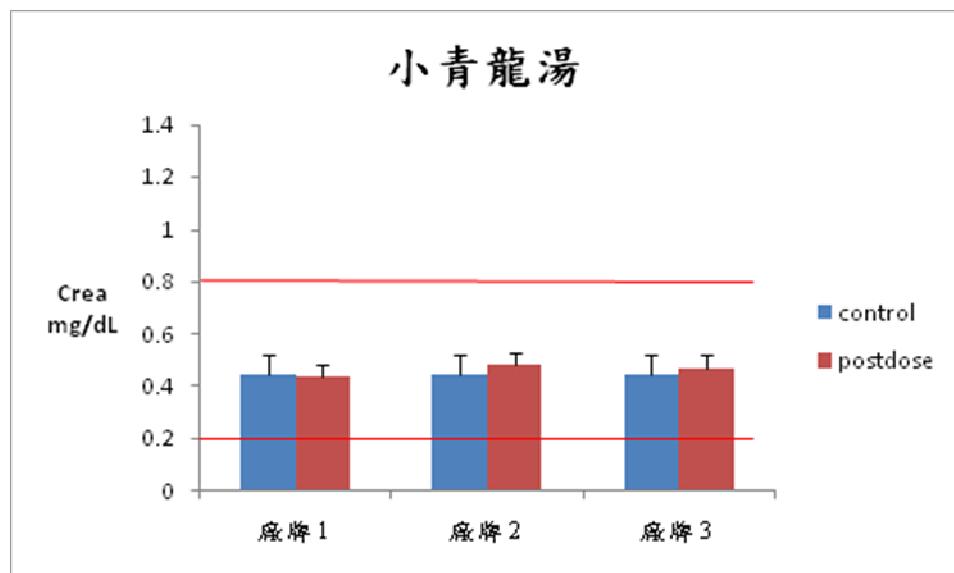
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號 CCMP95-TP-041 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

## 陸、參考文獻

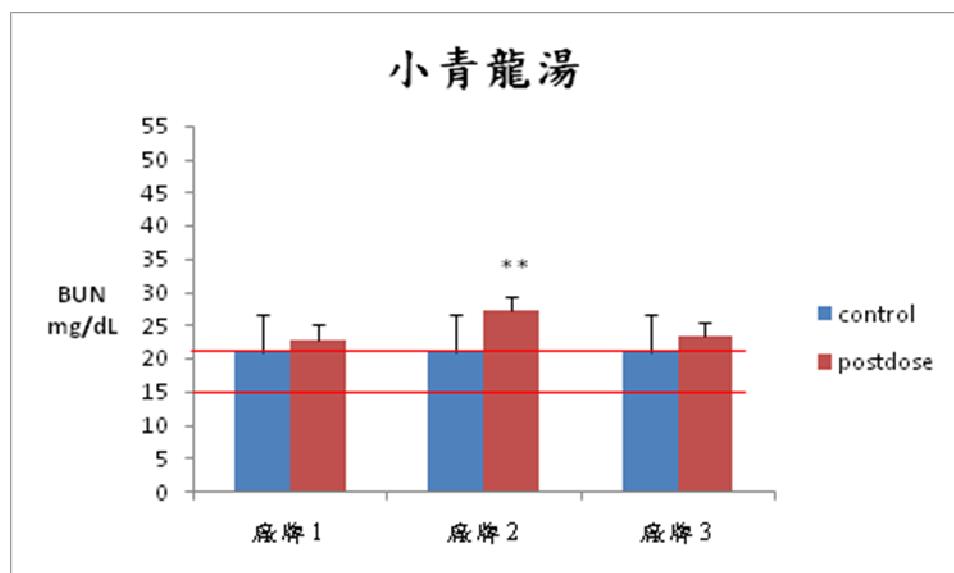
1. 台灣中醫藥整合與前瞻，2003。
2. 台灣中草藥臨床試驗環境與試驗法規，2003。
3. 行政院衛生署中醫藥委員會學術暨臨床應用研討會成果彙編，2004。
4. 建構台灣中藥用藥安全環境，2004。
5. 台灣中醫藥網路資源網站導覽，2004。
6. 中藥用藥安全與實務，2005。
7. 93 年度中醫藥研究計畫成果報告中英文摘要彙編，2006。
8. Stedman C. Herbal hepatotoxicity. *Semin Liver Dis.* 2002; 22: 195-206.
9. Larrey D. Liver involvement in the course of phytotherapy. *Presse Med.* 1994; 23: 691-693.
10. Singh YN, Devkota AK, Sneeden DC, Singh KK, Halaweish F. Hepatotoxicity potential of Saw Palmetto (*Serenoa repens*) in rats. *Phytomedicine* 2006.
11. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, De Plaen JF, Ferluga D, van Ypersele de Strihou C. Chinese herbs nephropathy: a clue to Balkan endemic nephropathy? *Kidney Int.* 1994; 45: 1680-1688.
12. Lin, JG. A Literary Review on Herbs Containing Aristolochic Acids and Chinese Herbal Nephropathy. *Yearbook of Chinese Medicine and Pharmacy* 2004; 22: 1-86.
13. Vanherwegen JL, Depierreux M, Tielemans C, Abramowicz D, Dratwa M, Jadoul M, Richard C, Vandervelde D, Verbeelen D, Vanhaelen-Fastre R. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet* 1993; 341: 387-391.
14. Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanherwegen JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet* 1994; 343: 174.
15. Schmeiser HH, Bieler CA, Wiessler M, van Ypersele de Strihou C, Cosyns JP. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy. *Cancer Res.* 1996; 56: 2025-2028.
16. Cosyns JP. When is "aristolochic acid nephropathy" more accurate than "Chinese herbs nephropathy"? *Kidney International* 2002; 61: 1178.
17. Gold LS, Slone TH. Aristolochic acid, an herbal carcinogen, sold on the Web after FDA alert. *N Engl J Med* 2003; 349: 1576-1577.
18. Cosyns JP. When is "aristolochic acid nephropathy" more accurate than "Chinese herbs nephropathy"? *Kidney International* 2002; 61: 1178.
19. Gold LS, Slone TH. Aristolochic acid, an herbal carcinogen, sold on the Web

- after FDA alert. *N Engl J Med* 2003; 349: 1576-1577.
20. Ng YY, Yu S, Chen TW, Wu SC, Yang AH, Yang WC. Interstitial renal fibrosis in a young woman: association with a Chinese preparation given for irregular menses. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2115-2117.
21. Chin-Hao Lin, and Chwei-Shiun Yang. Chinese Herbs Nephropathy. *J Intern Med Taiwan* 2002; 13: 276-281.
22. Ken Wojcikowski, David W Johnson, Glenda GOBÉ. Medicinal herbal extracts – renal friend or foe? Part one: The toxicities of medicinal herbs. *NEPHROLOGY* 2004; 9: 313–318.
23. Diamond J, Pallone Th L. Acute interstitial nephritis following use of Tung Shueh pills. *Am J Kidney Dis.* 1994; 24: 219 –221.
24. Abt AB, Oh JY, Huntington RA, et al. Chinese herbal medicine induced acute renal failure. *Arch Intern Med.* 1995; 155: 211–212.
25. Hilepo JN, Bellucci AG, Mossey RT. Acute renal failure caused by ‘cat’s claw’ herbal remedy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Nephron* 1997; 77: 61.
26. 24. Adesunloye BA. Acute renal failure due to the herbal remedy CKLS. *Am. J. Med.* 2003; 115: 506–507.
27. 25. Chou WC, Wu CC, Yang PC, Lee YT. Hypovolemic shock and mortality after ingestion of *Tripterygium wilfordii* hook F: A case report. *Int. J. Cardiol.* 1995; 49: 173–177.
28. 26. Saito T, Tsuboi Y, Fujisawa G et al. An autopsy case of licoriceinduced hypokalemic rhabdomyolysis associated with acute renal failure: Special reference to profound calcium deposition in skeletal and cardiac muscle. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1994; 36: 1308–1314.
29. 27. Eswarappa S, Chakraborty AR, Palatty BU, Vasnaik M. *Cleistanthus collinus* poisoning: Case reports and review of the literature. *J.Toxicol. Clin. Toxicol.* 2003; 41: 369–372.
30. 28. Lin CC, Chen JC. Medicinal herb *Erycibe henri* Prain (‘Ting Kung Teng’) resulting in acute cholinergic syndrome. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 2002; 40: 185–187.
31. 29. Weisbord SD, Soule JB, Kimmel PL. Poison on line – acute renal failure caused by oil of wormwood purchased through the Internet [erratum appears in *N. Engl. J. Medical* 1997 November 13; 337: 1483]. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 825–827.

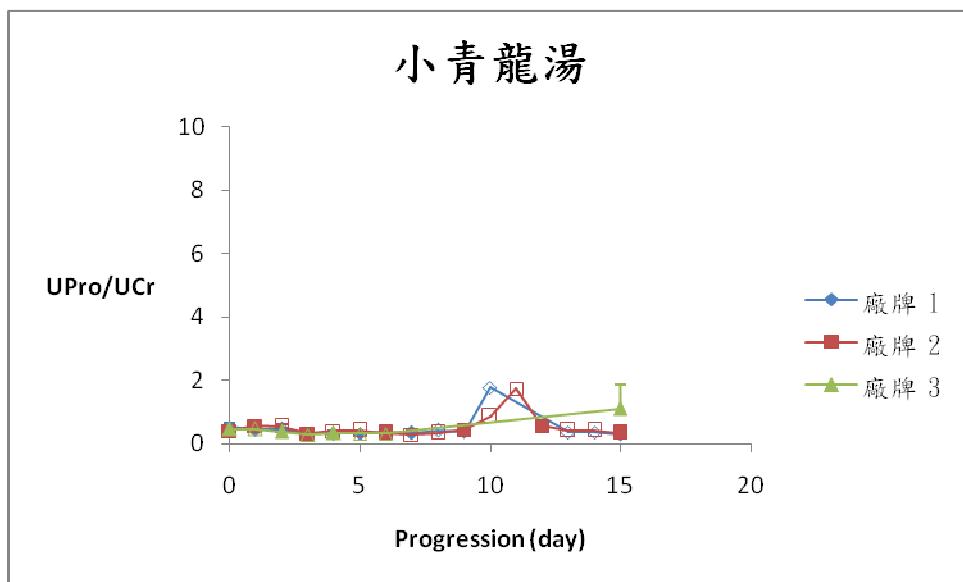
柒、圖、表



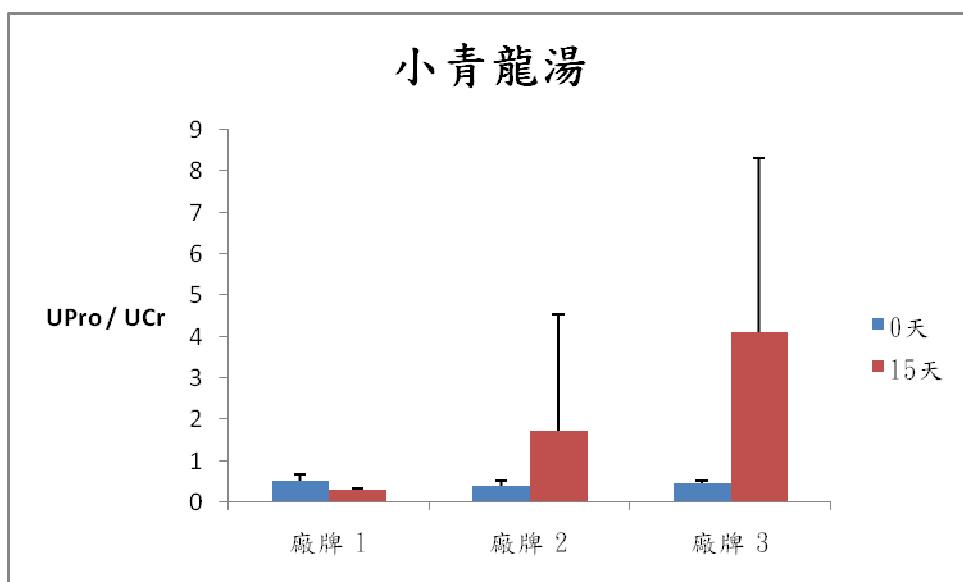
圖一、(1) 長期使用(14 天，一天一次)小青龍湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



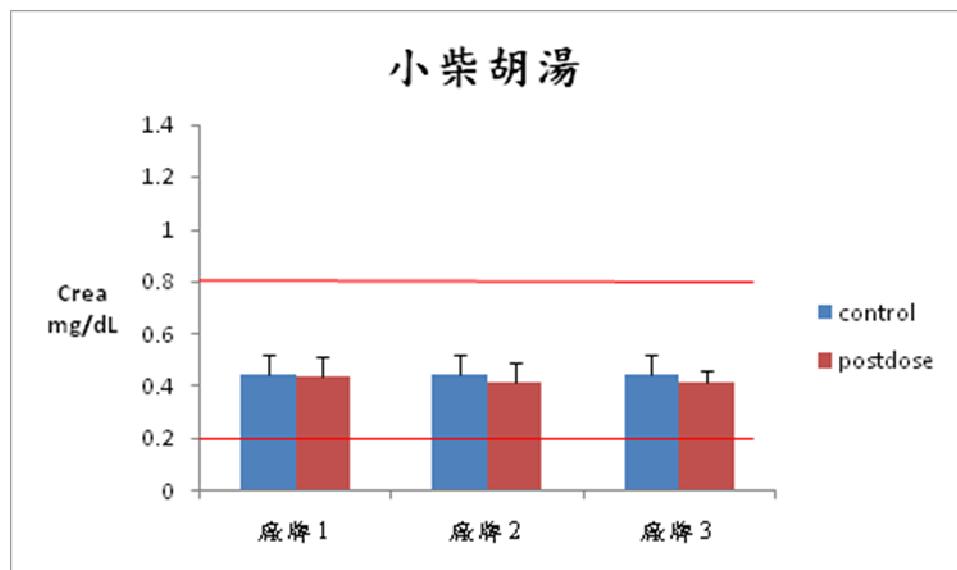
圖一、(2) 長期使用(14 天，一天一次)小青龍湯於大鼠的血中尿素氮濃度



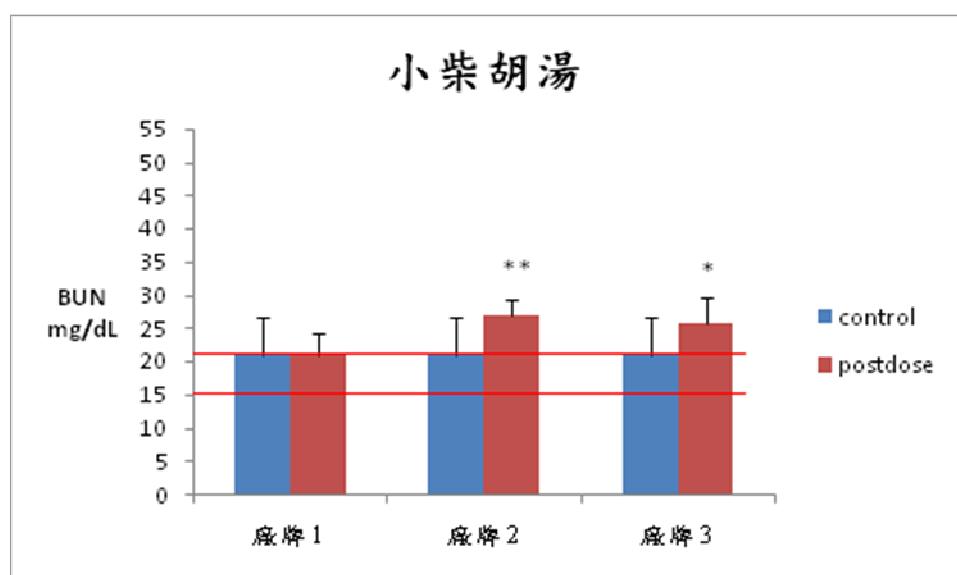
圖一、(3) 長期使用(14 天，一天一次)小青龍湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



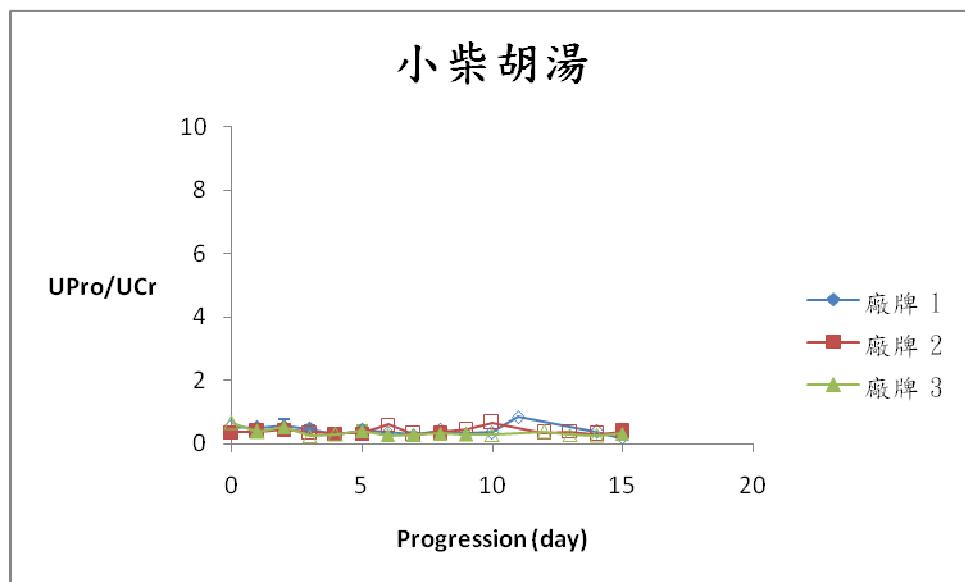
圖一、(4) 長期使用(14 天，一天一次)小青龍湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



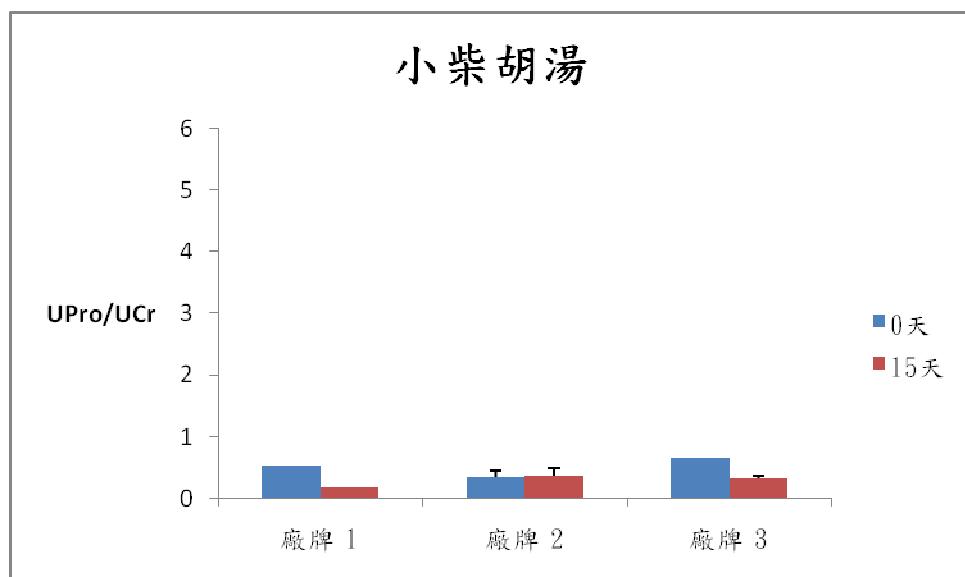
圖二、(1) 長期使用(14 天，一天一次)小柴胡湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



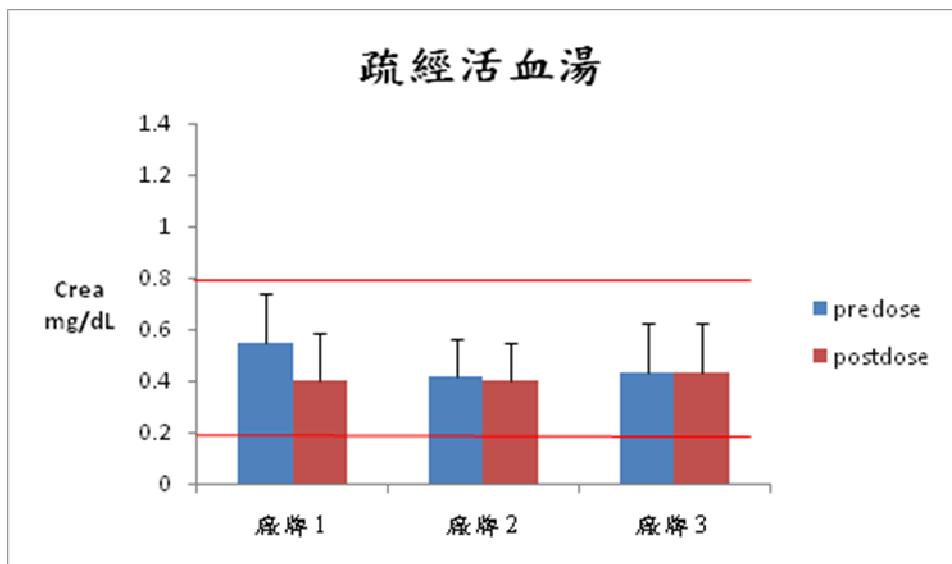
圖二、(2) 長期使用(14 天，一天一次)小柴胡湯於大鼠的血中尿素氮濃度



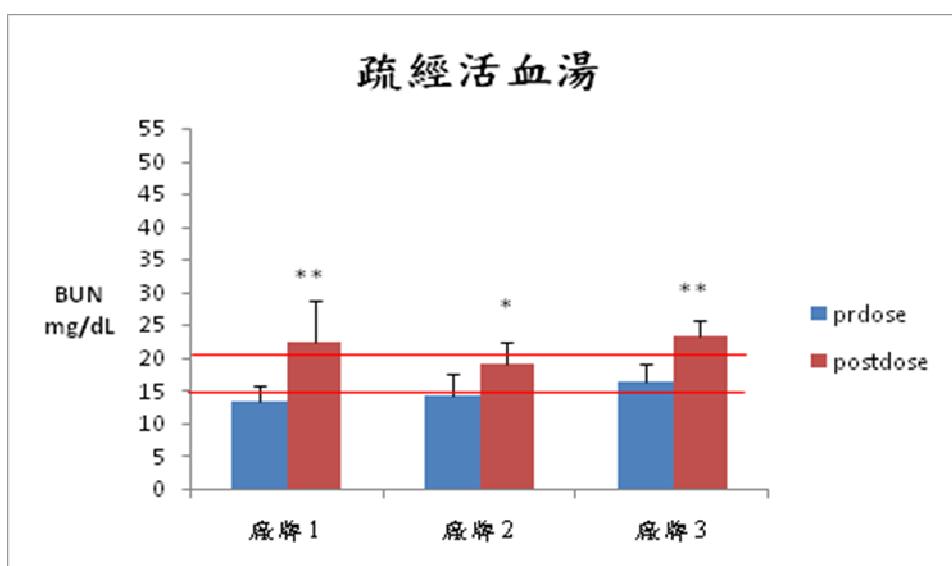
圖二、(3) 長期使用(14 天，一天一次)小柴胡湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



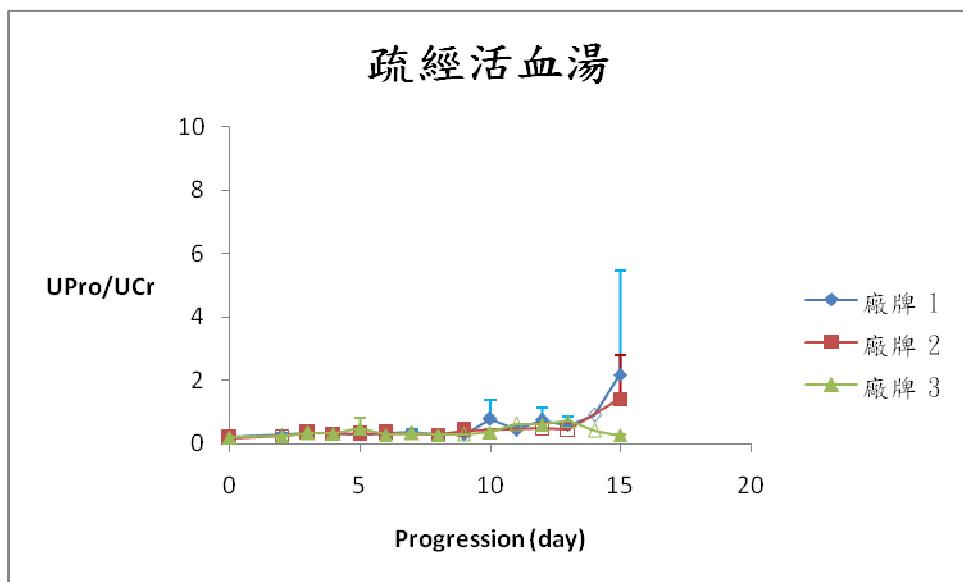
圖二、(4) 長期使用(14 天，一天一次)小柴胡湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



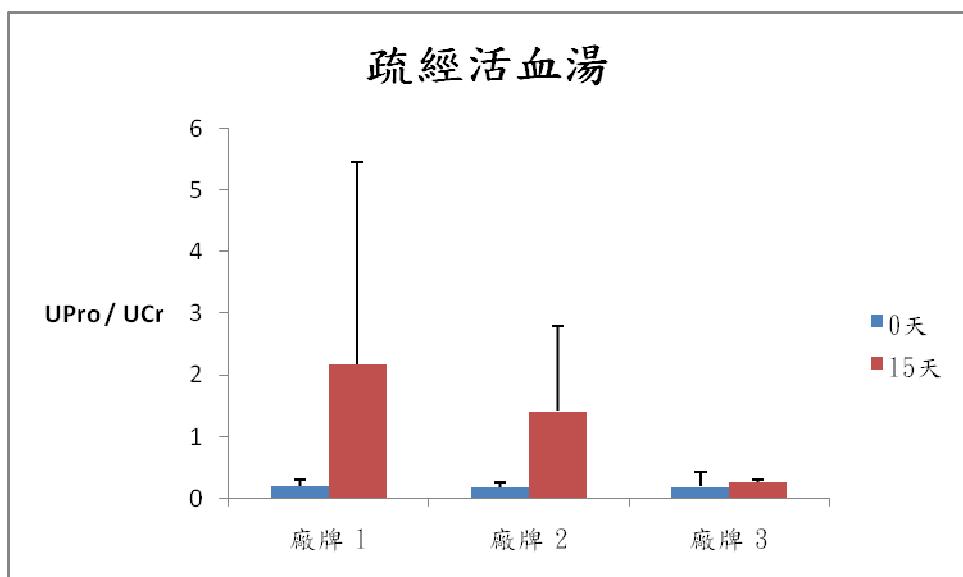
圖三、(1) 長期使用(14 天，一天一次)疏經活血湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



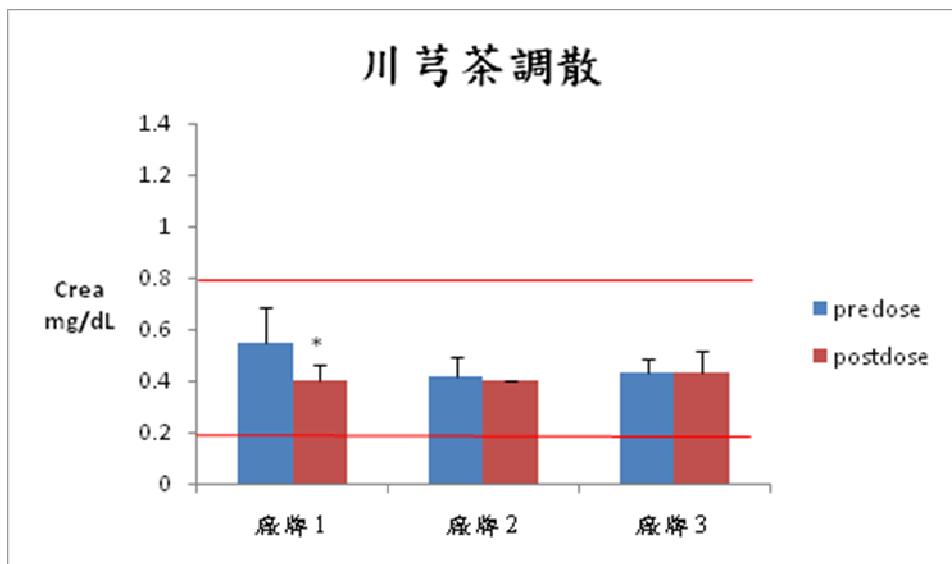
圖三、(2) 長期使用(14 天，一天一次)疏經活血湯於大鼠的血中尿素氮濃度



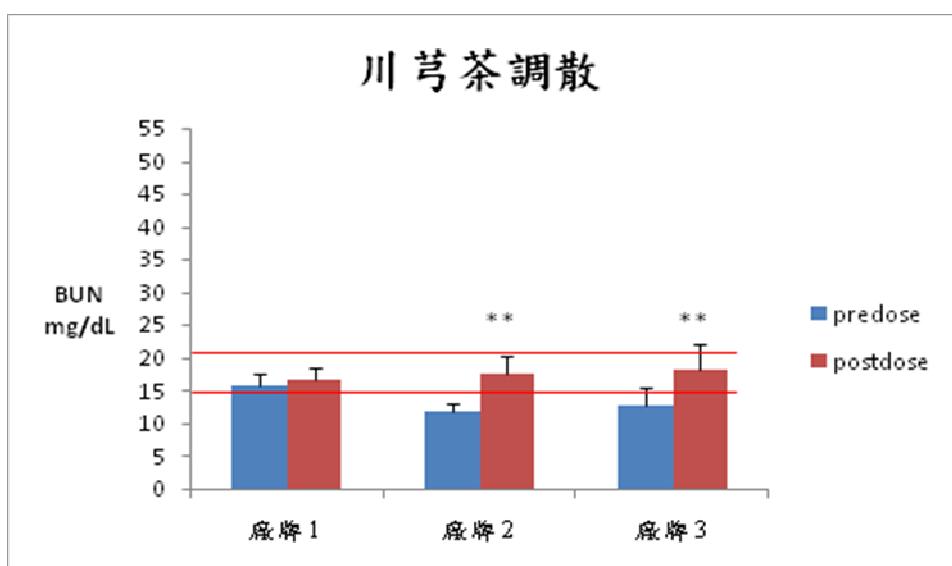
圖三、(3) 長期使用(14 天，一天一次)疏經活血湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



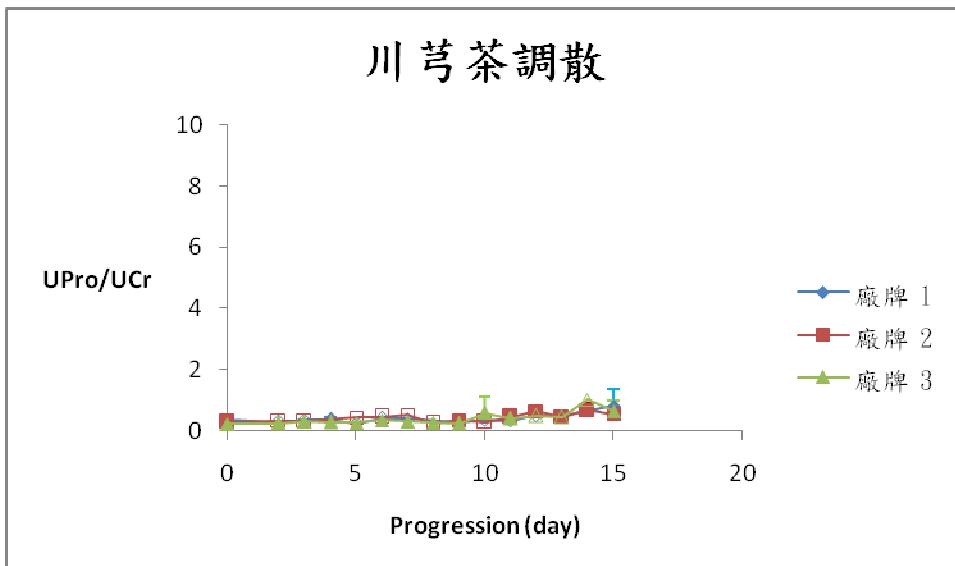
圖三、(4) 長期使用(14 天，一天一次)疏經活血湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



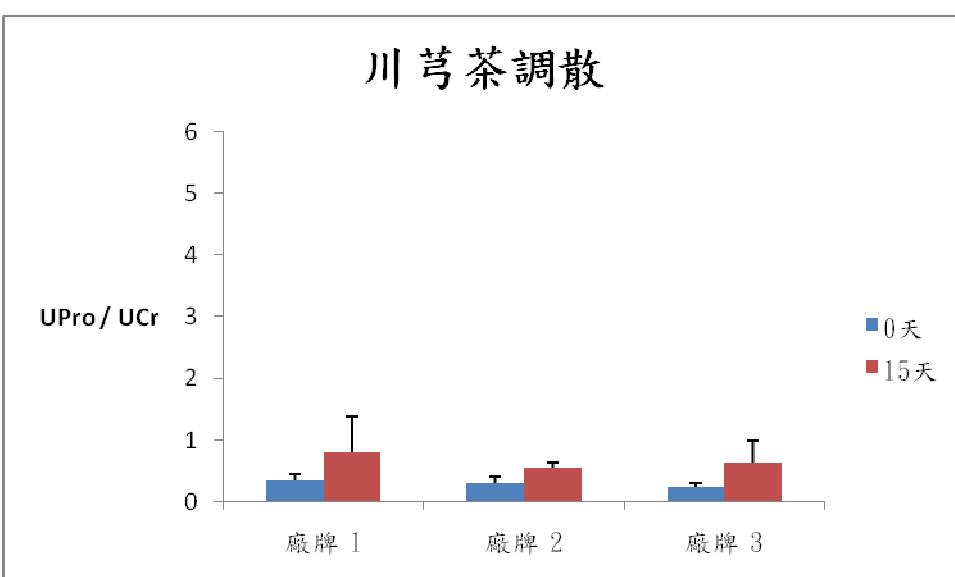
圖四、(1) 長期使用(14 天，一天一次)川芎茶調散於大鼠的血中肌酸酐濃度



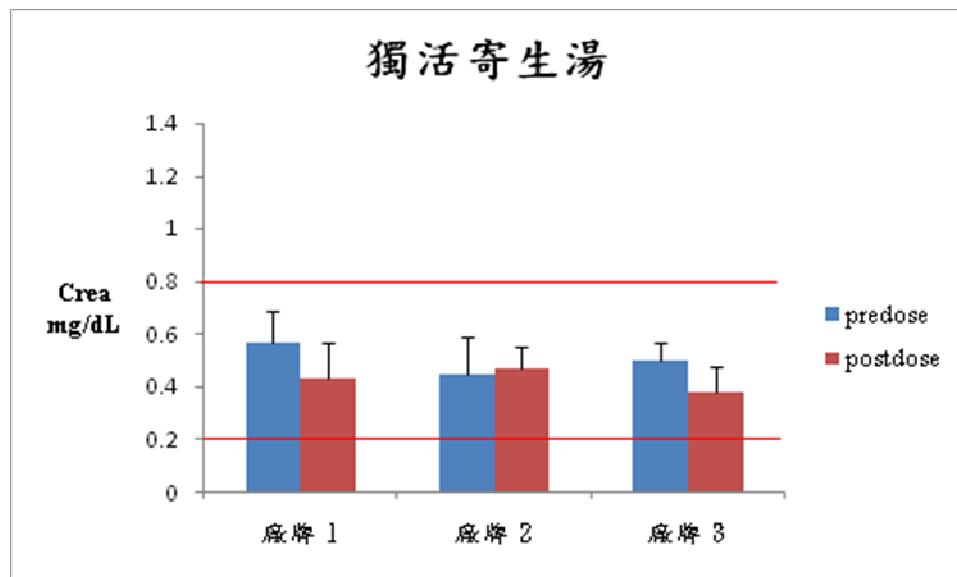
圖四、(2) 長期使用(14 天，一天一次)川芎茶調散於大鼠的血中尿素氮濃度



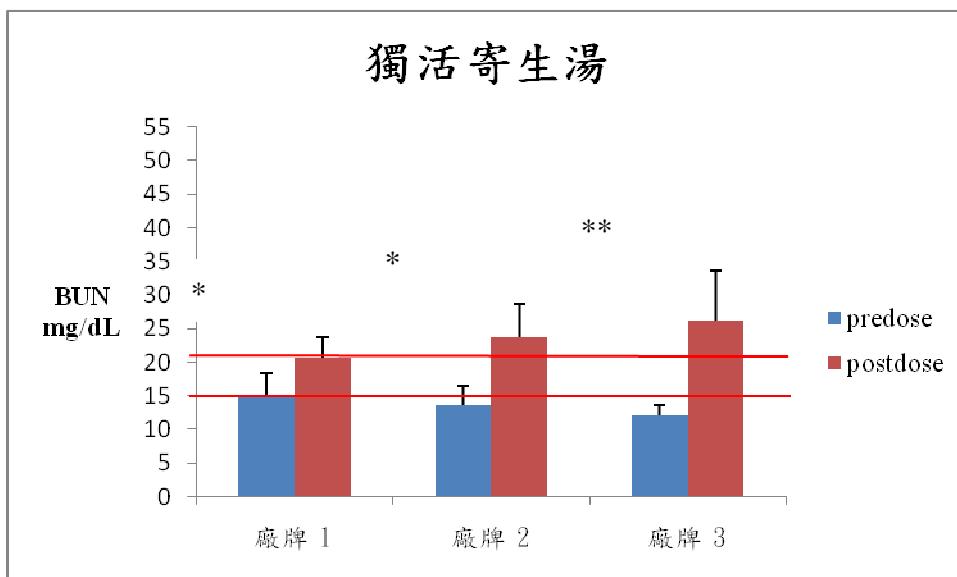
圖四、(3) 長期使用(14 天，一天一次)川芎茶調散於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



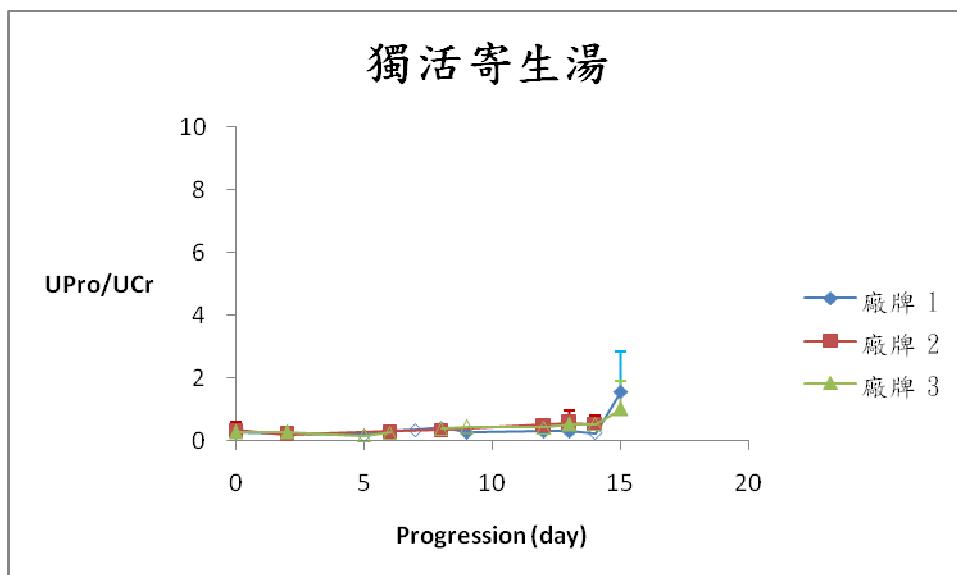
圖四、(4) 長期使用(14 天，一天一次)川芎茶調散前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



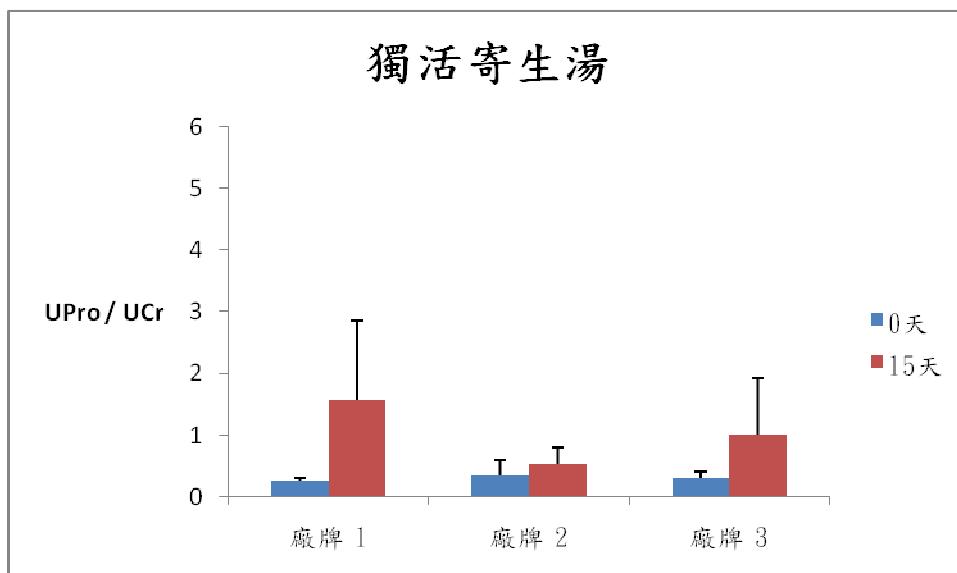
圖五、(1) 長期使用(14 天，一天一次)獨活寄生湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



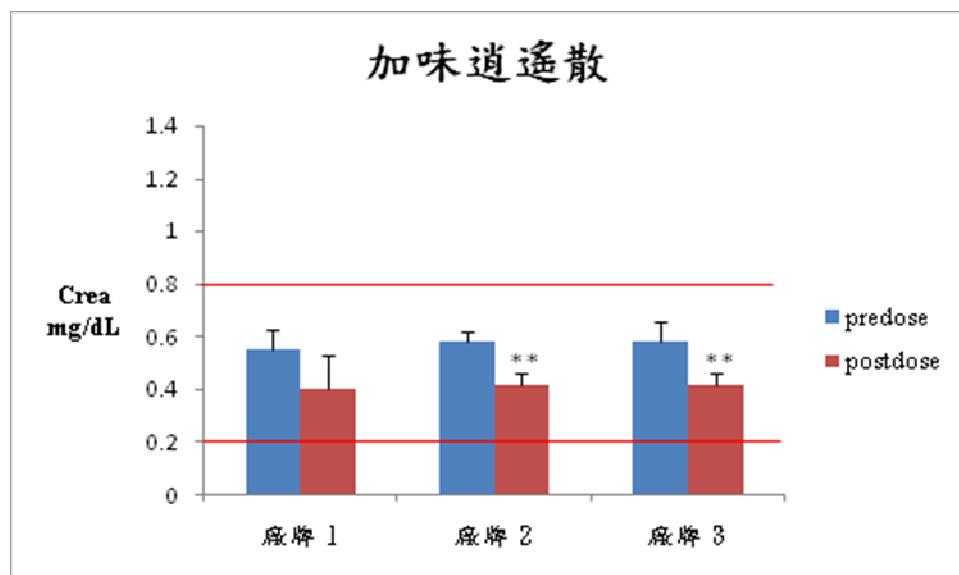
圖五、(2) 長期使用(14 天，一天一次)獨活寄生湯於大鼠的血中尿素氮濃度



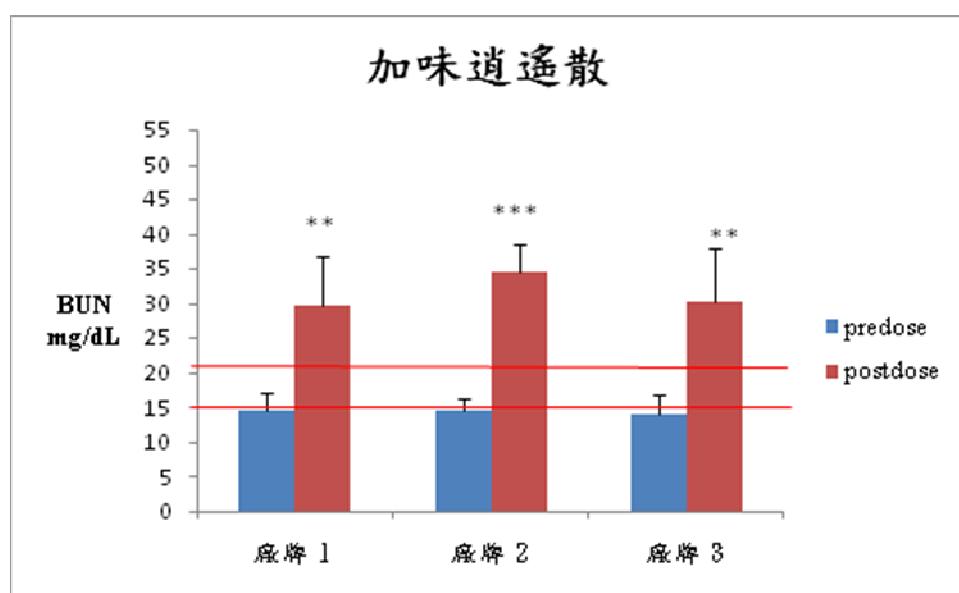
圖五、(3) 長期使用(14 天，一天一次)獨活寄生湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



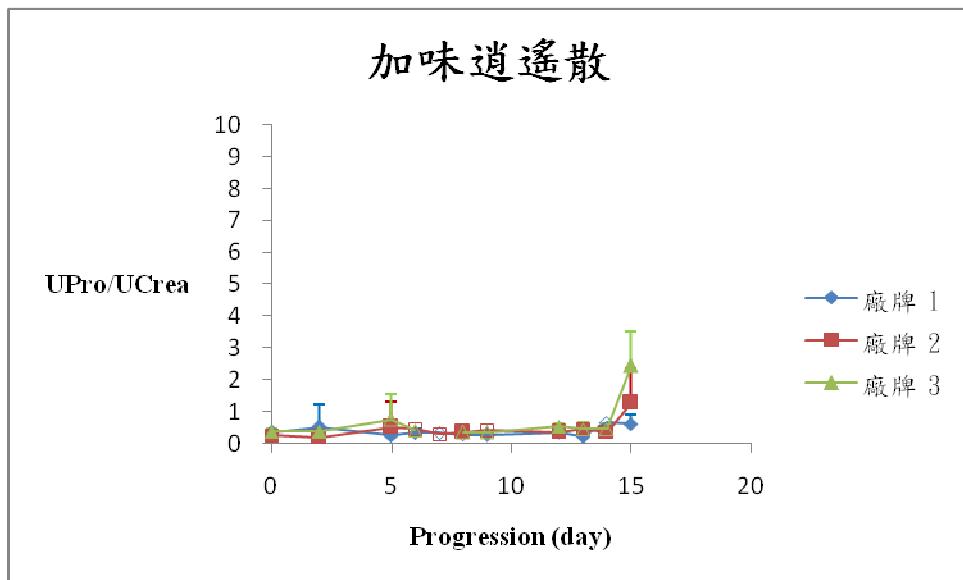
圖五、(4) 長期使用(14 天，一天一次)獨活寄生湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



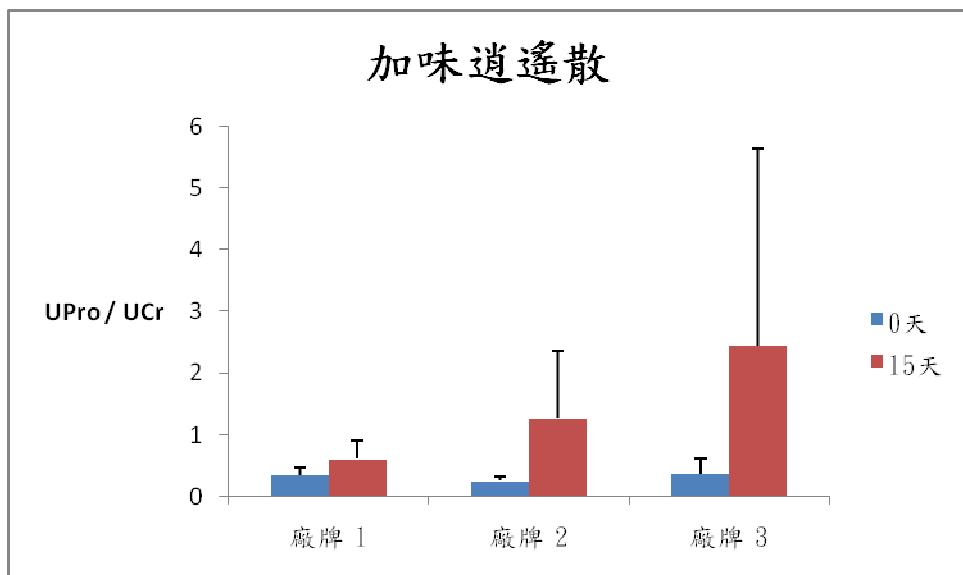
圖六、(1) 長期使用(14 天，一天一次)加味道遙散於大鼠的血中肌酸酐濃度



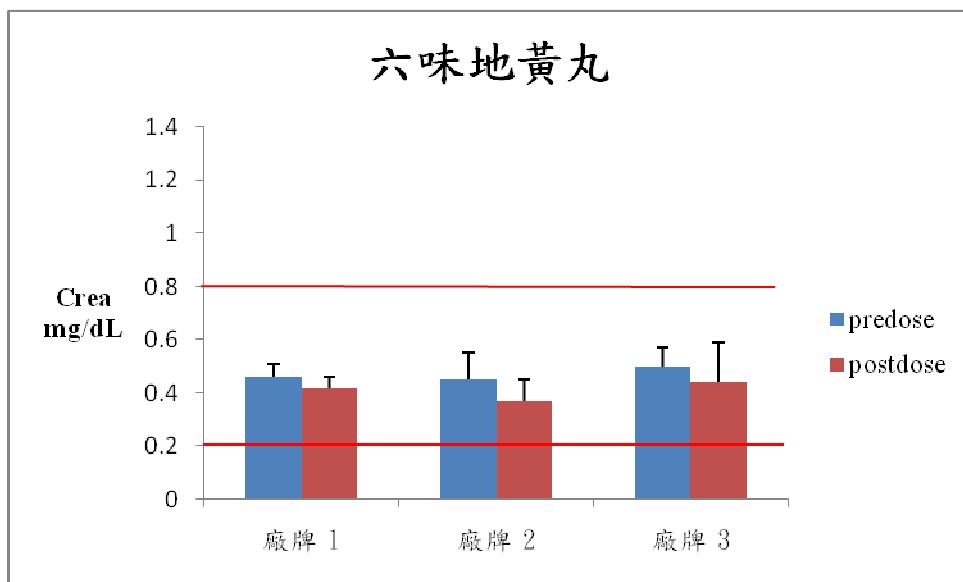
圖六、(2) 長期使用(14 天，一天一次)加味道遙散於大鼠的血中尿素氮濃度



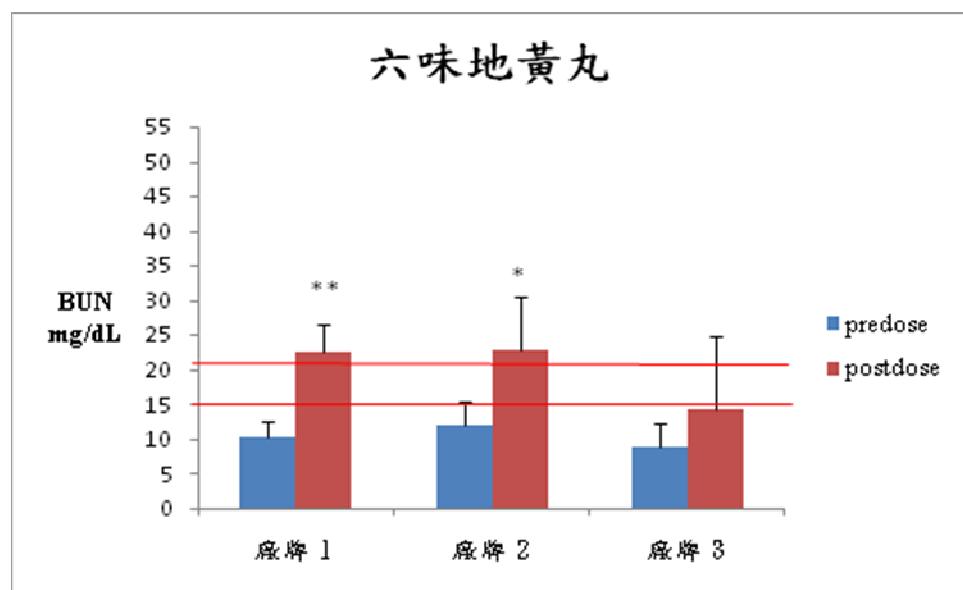
圖六、(3) 長期使用(14 天，一天一次)加味道遙散於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



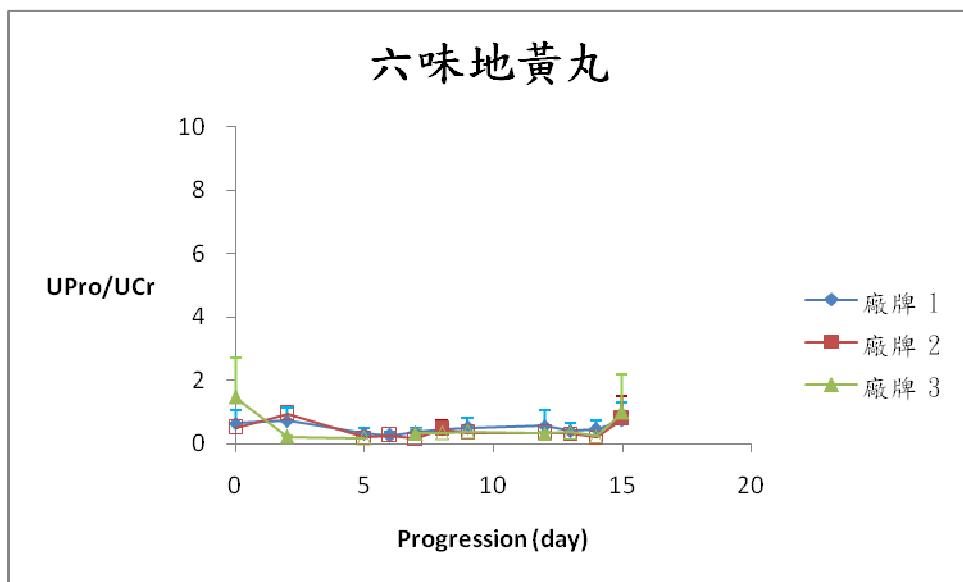
圖六、(4) 長期使用(14 天，一天一次)加味道遙散前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



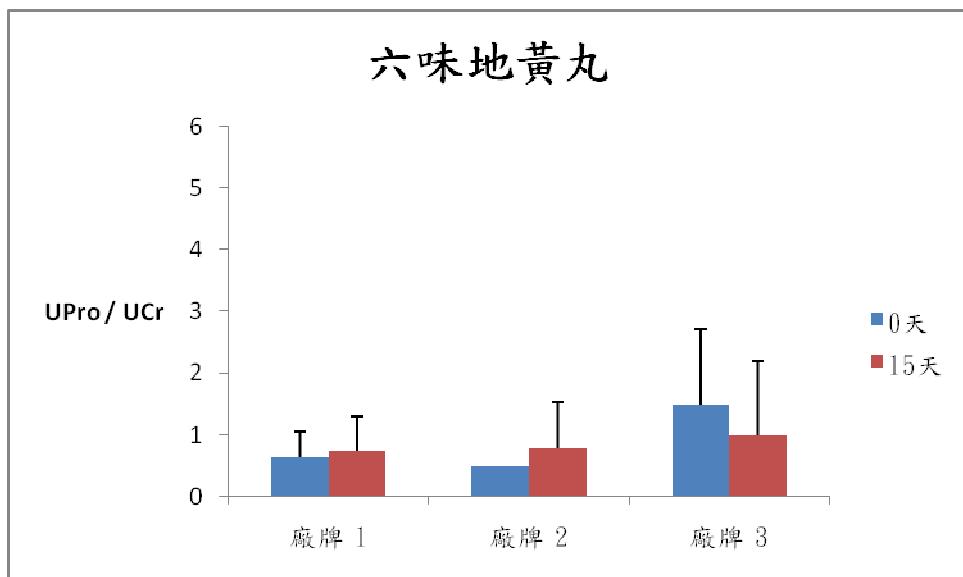
圖七、(1) 長期使用(14 天，一天一次)六味地黃丸於大鼠的血中肌酸酐濃度



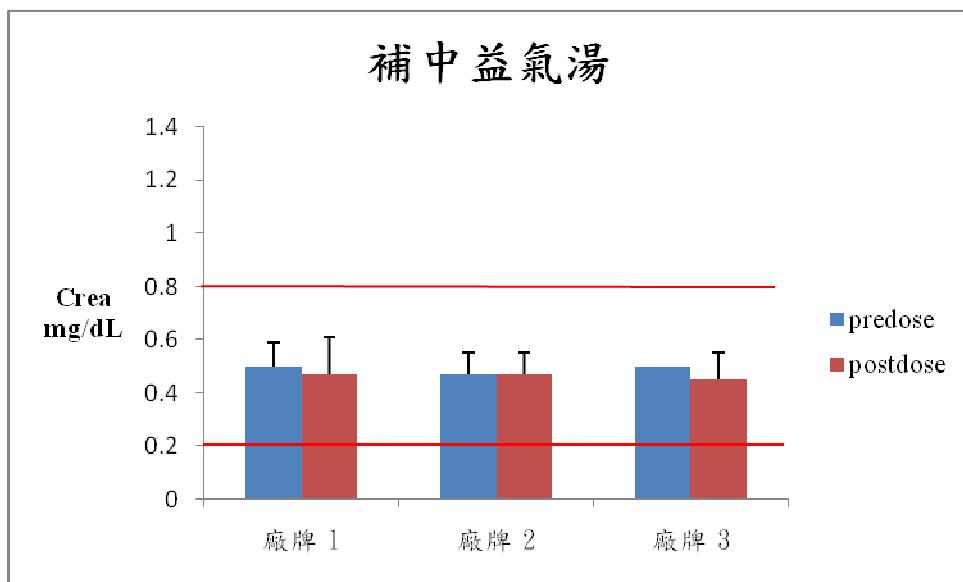
圖七、(2) 長期使用(14 天，一天一次)六味地黃丸於大鼠的血中尿素氮濃度



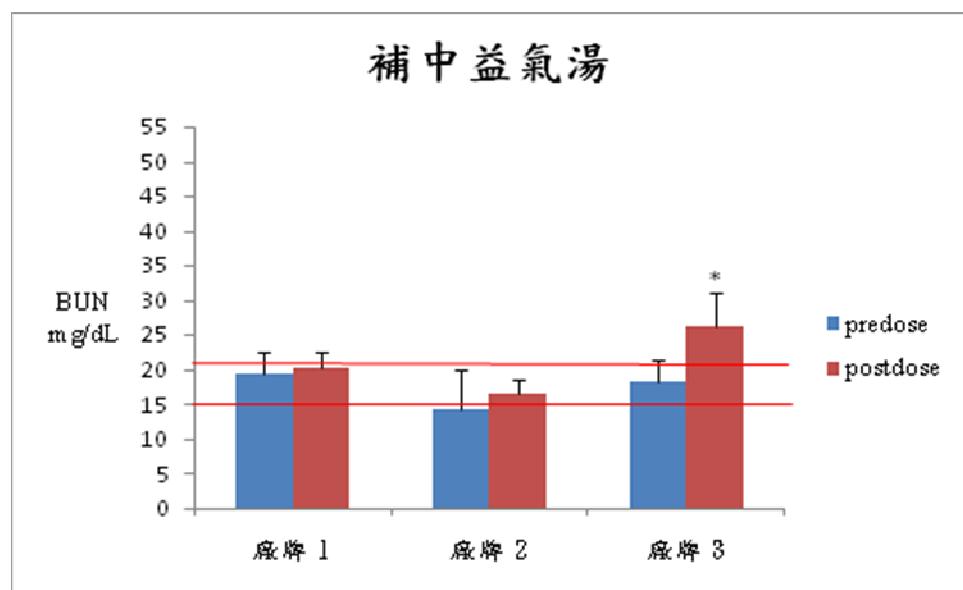
圖七、(3) 長期使用(14 天，一天一次)六味地黃丸於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



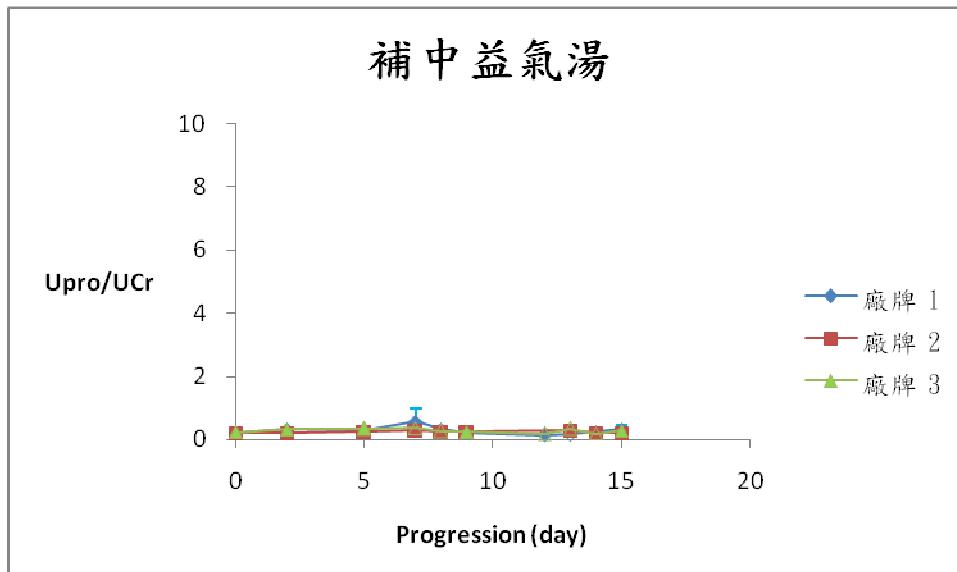
圖七、(4) 長期使用(14 天，一天一次)六味地黃丸前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



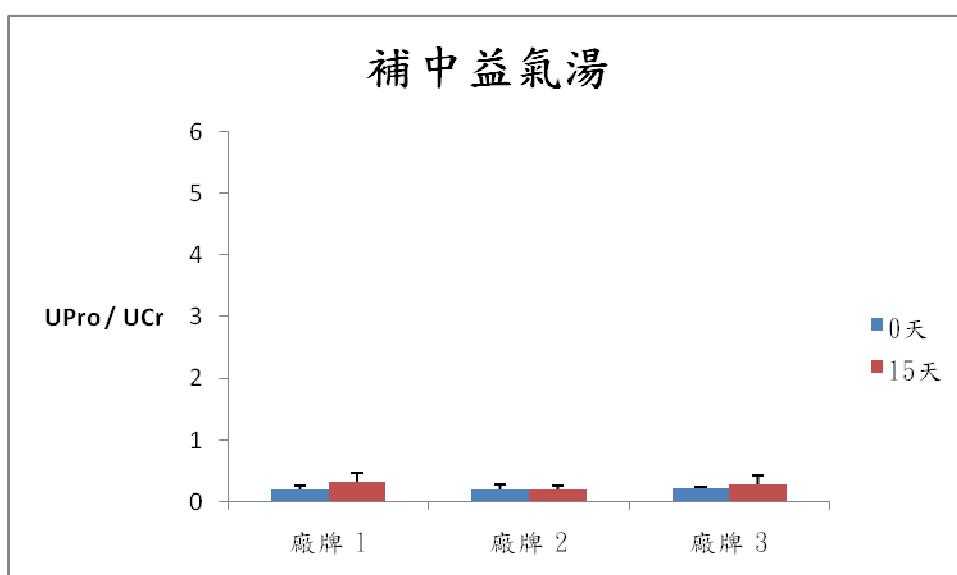
圖八、(1) 長期使用(14 天，一天一次)補中益氣湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



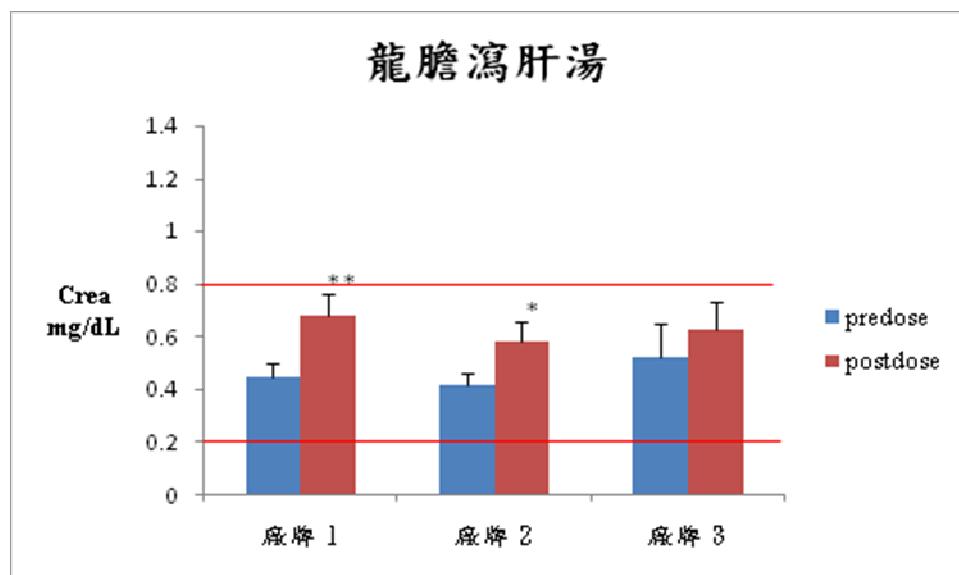
圖八、(2) 長期使用(14 天，一天一次)補中益氣湯於大鼠的血中尿素氮濃度



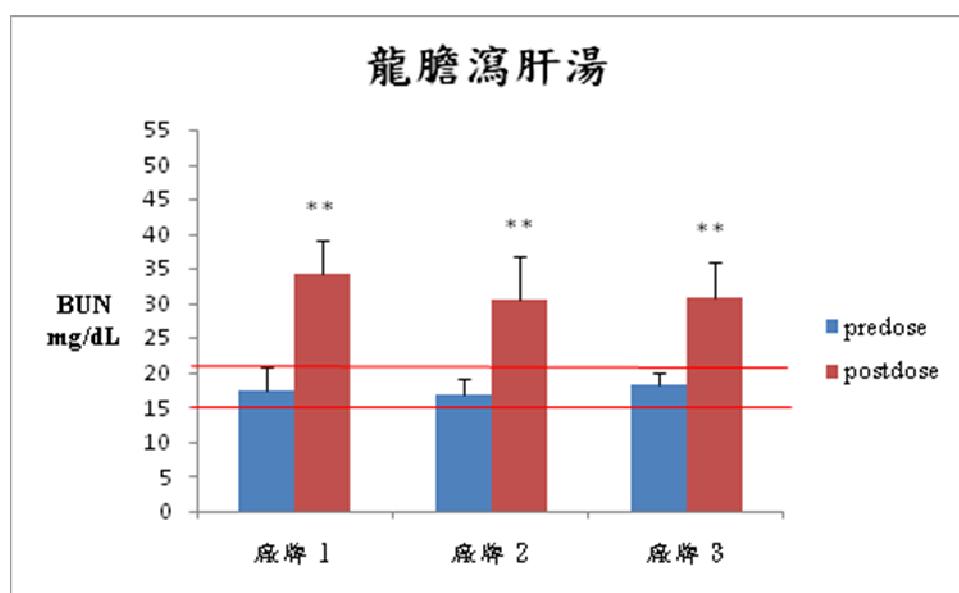
圖八、(3) 長期使用(14 天，一天一次)補中益氣湯於大鼠的尿中之蛋白量  
與尿中肌酸酐之比值趨勢



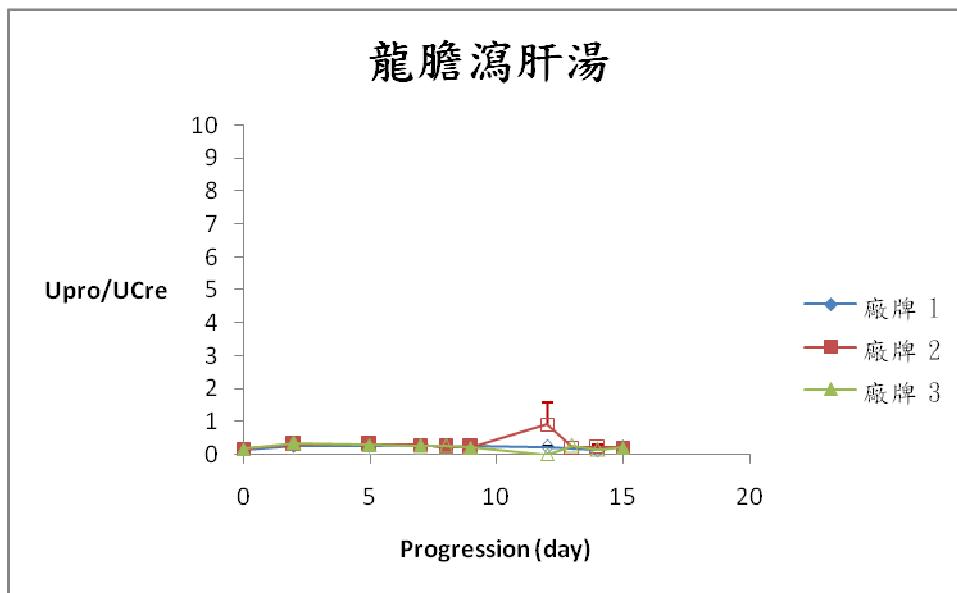
圖八、(4) 長期使用(14 天，一天一次)補中益氣湯前後對於大鼠的尿中之  
蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



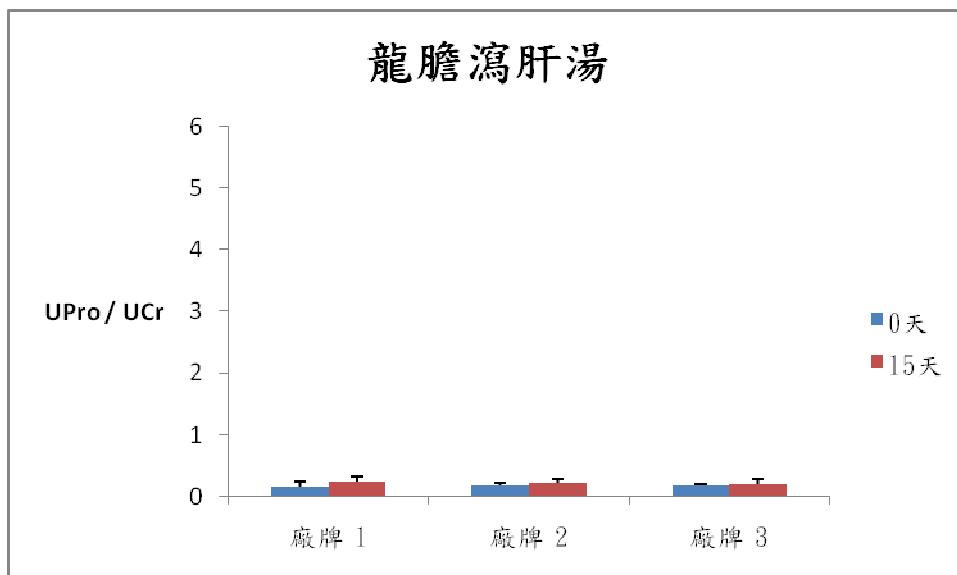
圖九、(1) 長期使用(14 天，一天一次)龍膽瀉肝湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



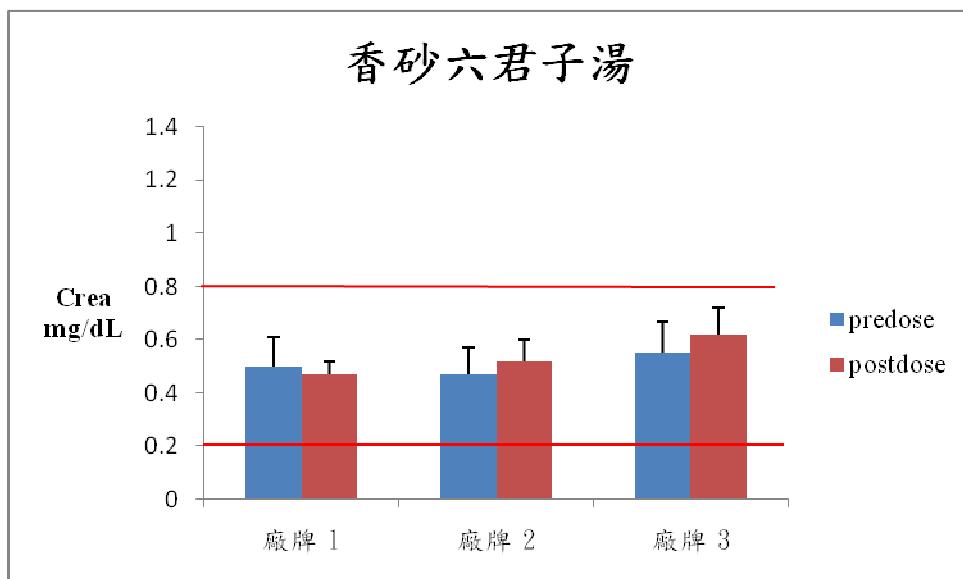
圖九、(2) 長期使用(14 天，一天一次)龍膽瀉肝湯於大鼠的血中尿素氮濃度



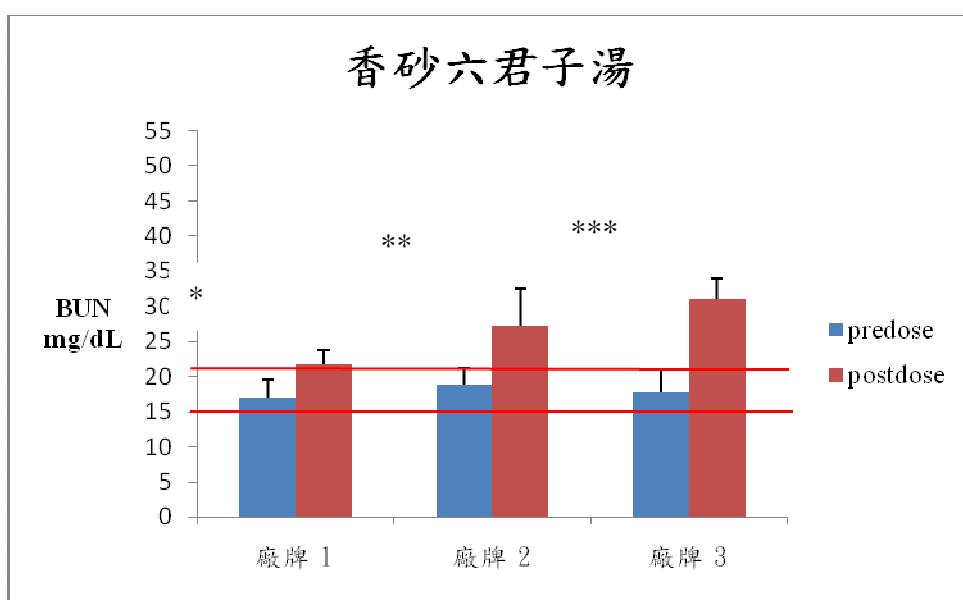
圖九、(3) 長期使用(14 天，一天一次)龍膽瀉肝湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



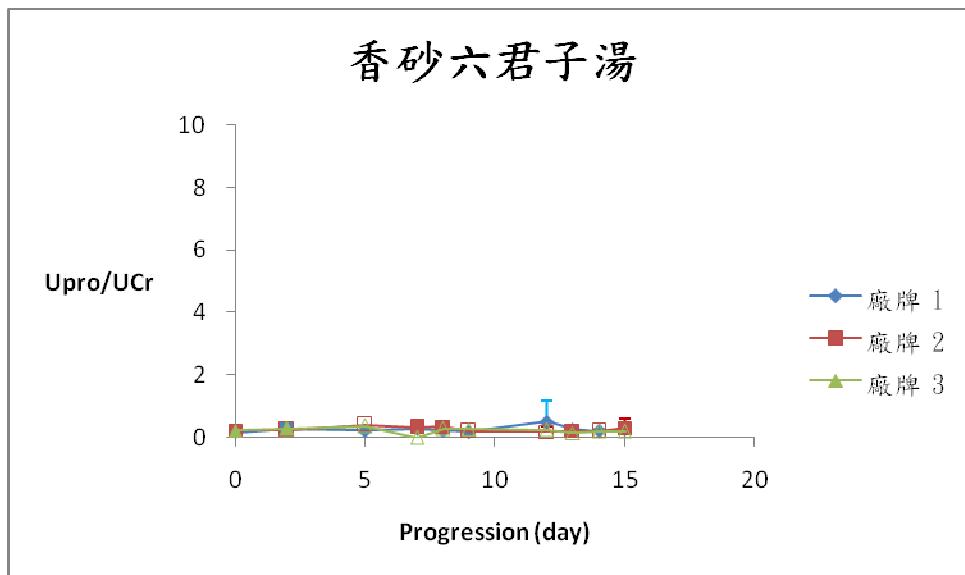
圖九、(4) 長期使用(14 天，一天一次)龍膽瀉肝湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



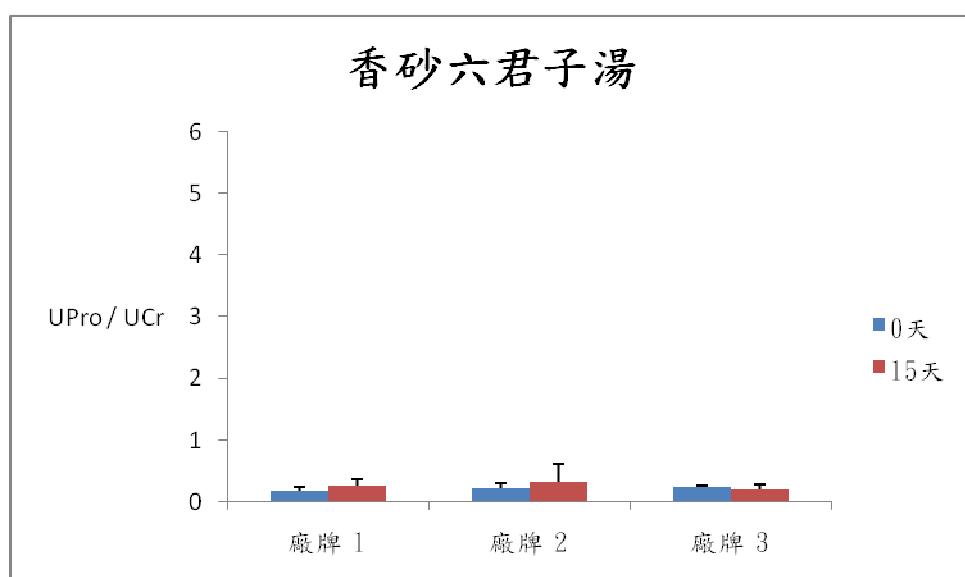
圖十、(1) 長期使用(14 天，一天一次)香砂六君子湯於大鼠的血中肌酸酐濃度



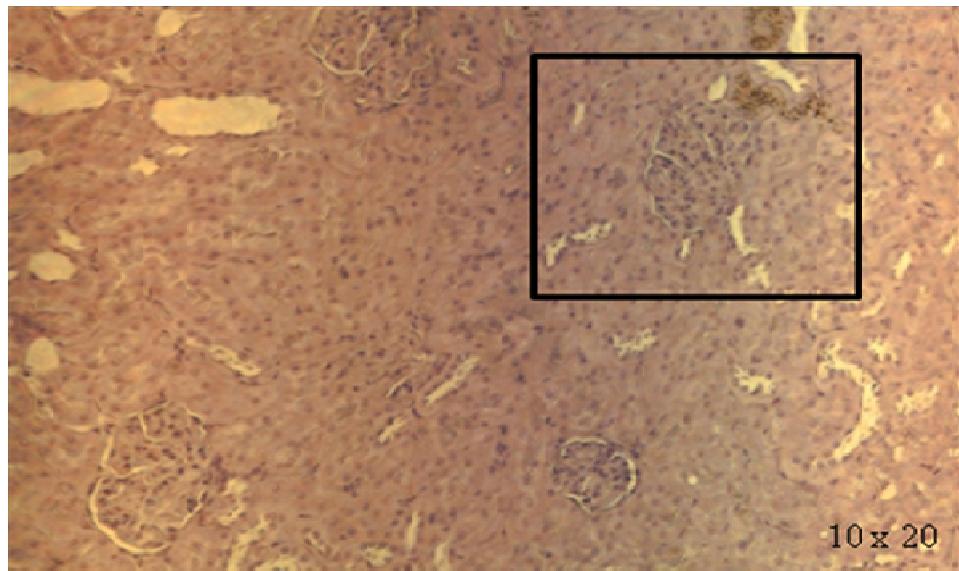
圖十、(2) 長期使用(14 天，一天一次)香砂六君子湯於大鼠的血中尿素氮濃度



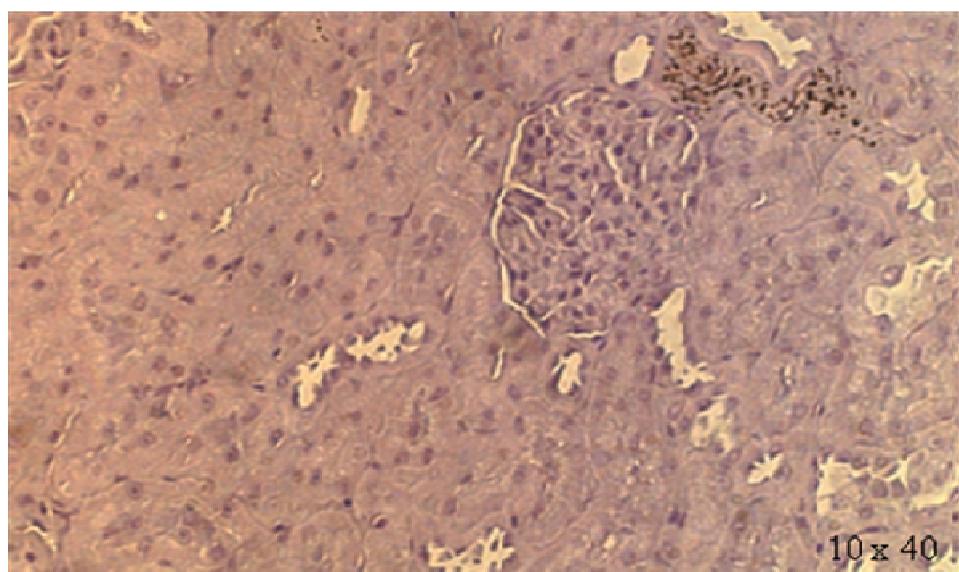
圖十、(3) 長期使用(14 天，一天一次)香砂六君子湯於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值趨勢



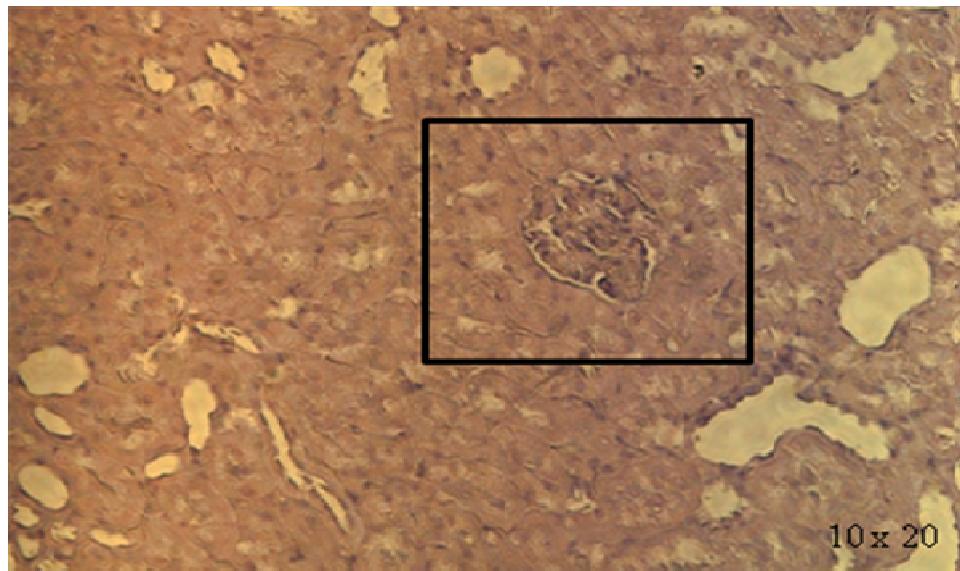
圖十、(4) 長期使用(14 天，一天一次)香砂六君子湯前後對於大鼠的尿中之蛋白量與尿中肌酸酐之比值比較



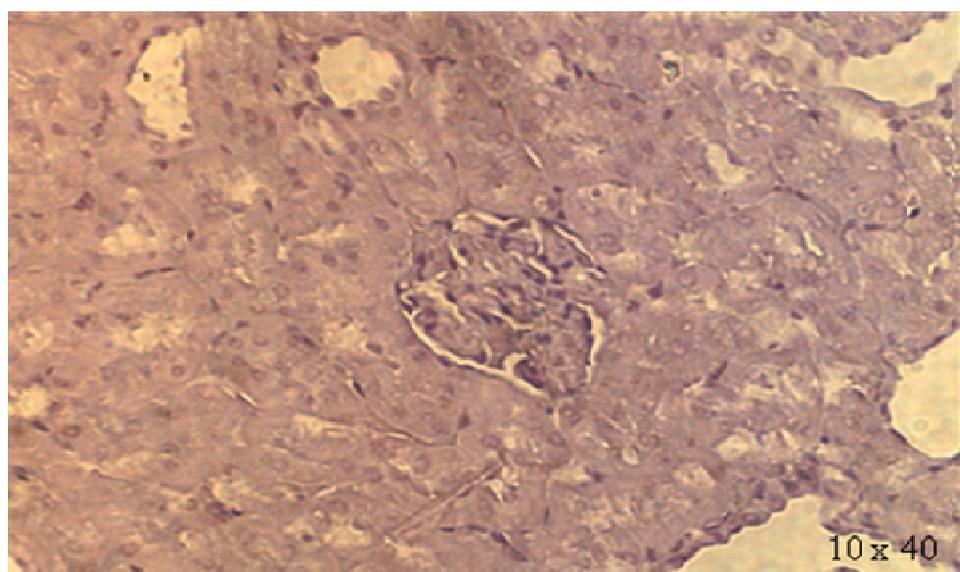
圖十一、(1) 控制組之腎臟切片：200 倍



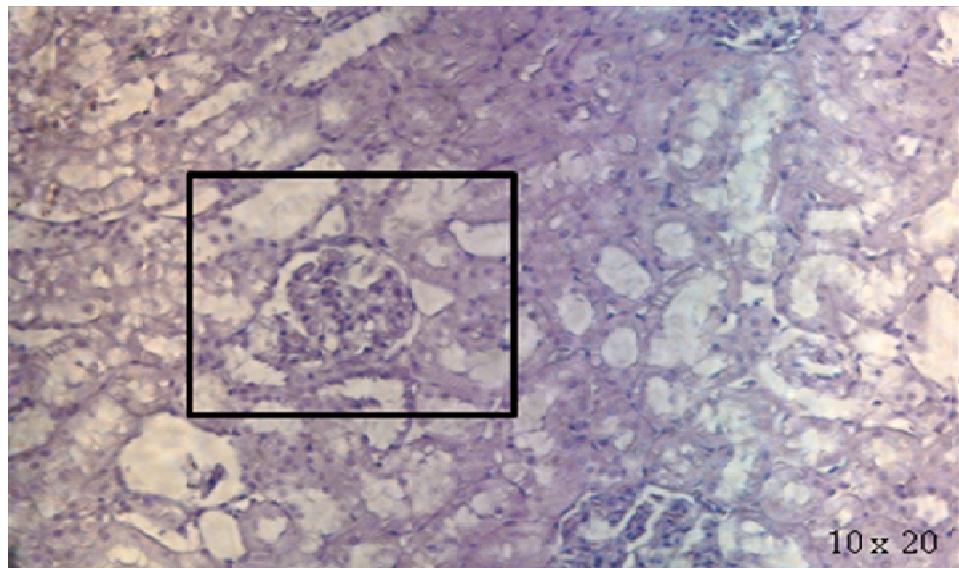
圖十一、(2) 控制組之腎臟切片：400 倍



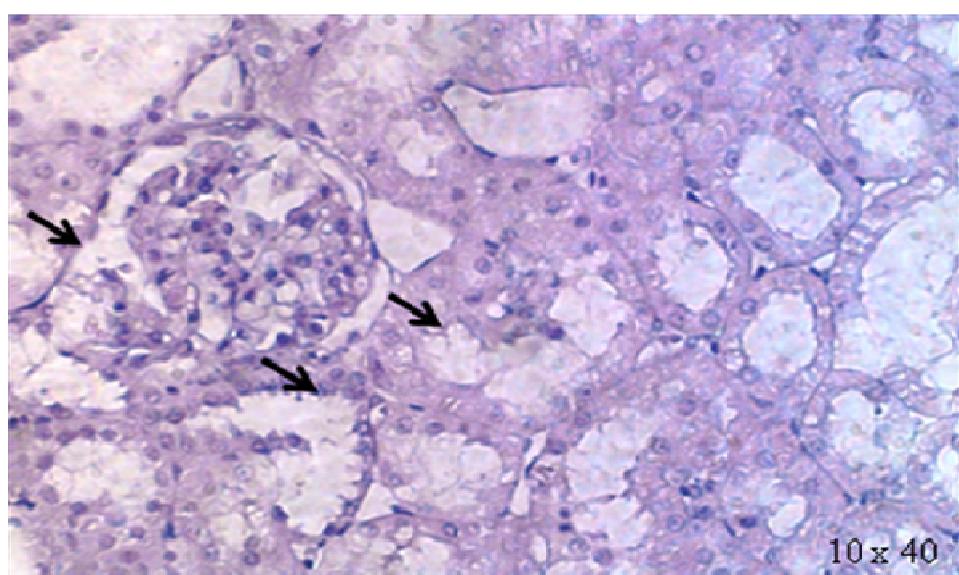
圖十二、(1) 控制組之腎臟切片：200 倍



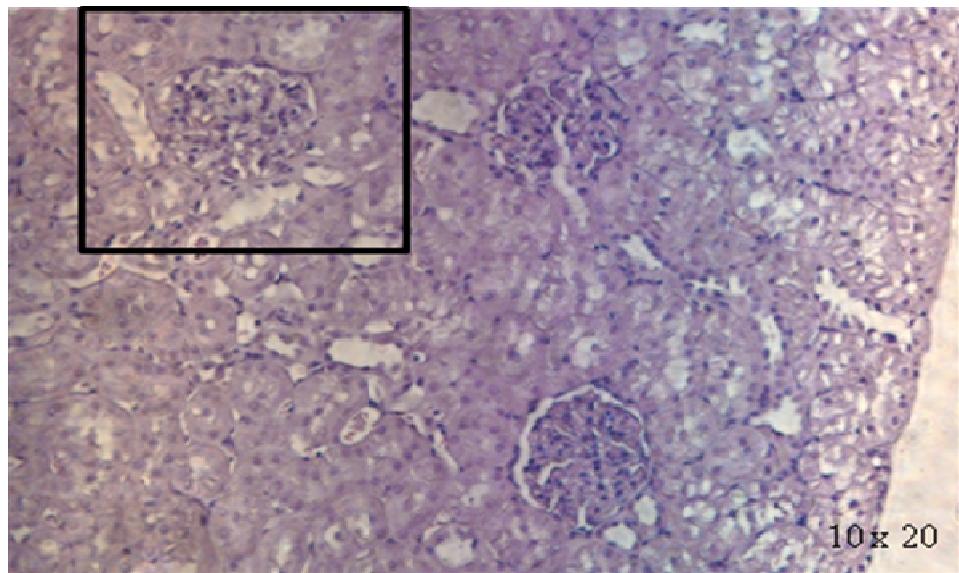
圖十二、(2) 控制組之腎臟切片：400 倍



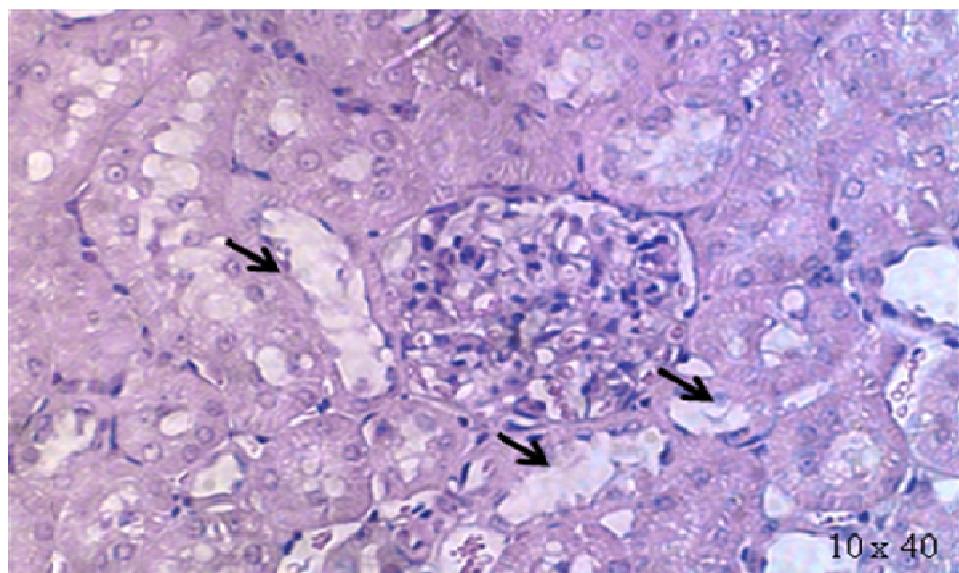
圖十三、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 1 之腎臟切片：200 倍



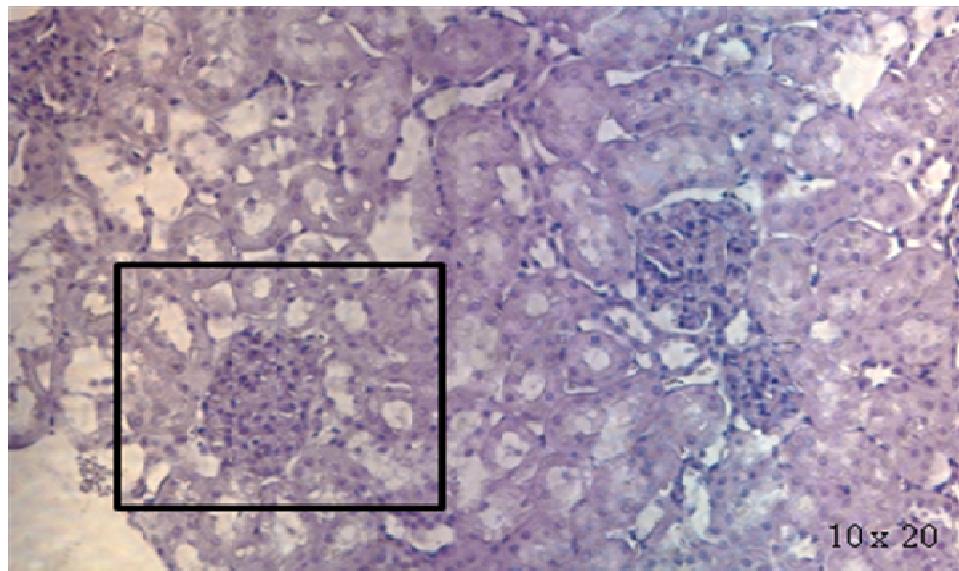
圖十三、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 1 之腎臟切片：400 倍



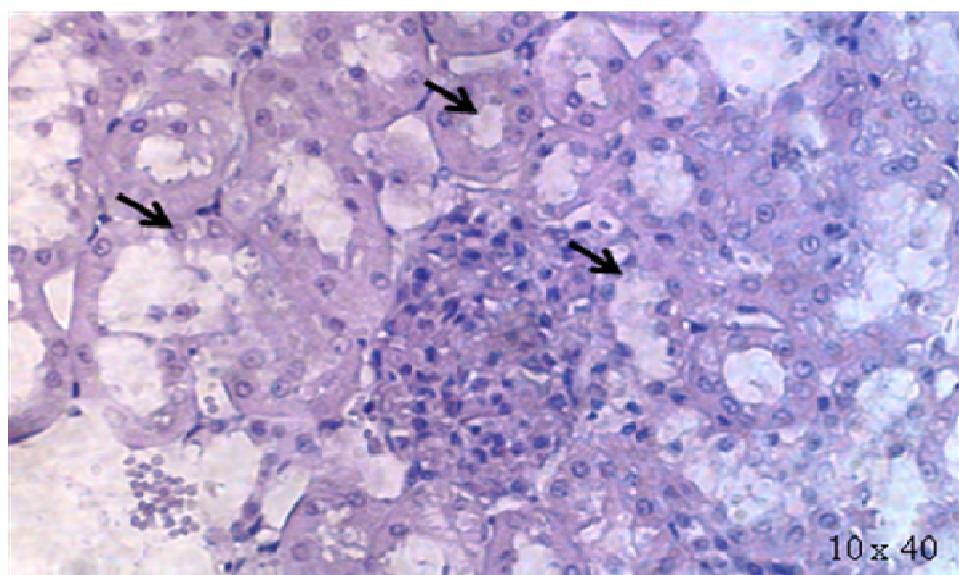
圖十四、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 1 之腎臟切片：200 倍



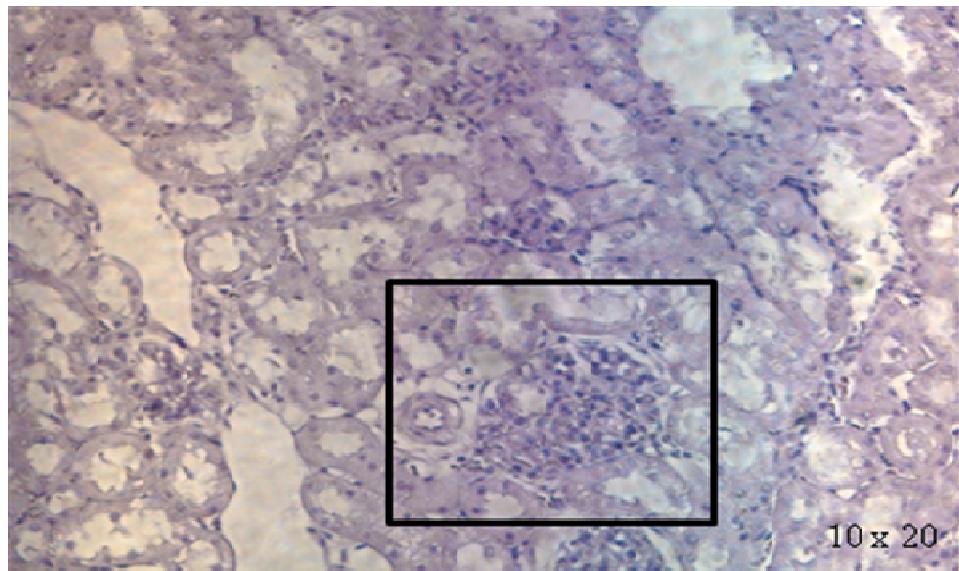
圖十四、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 1 之腎臟切片：400 倍



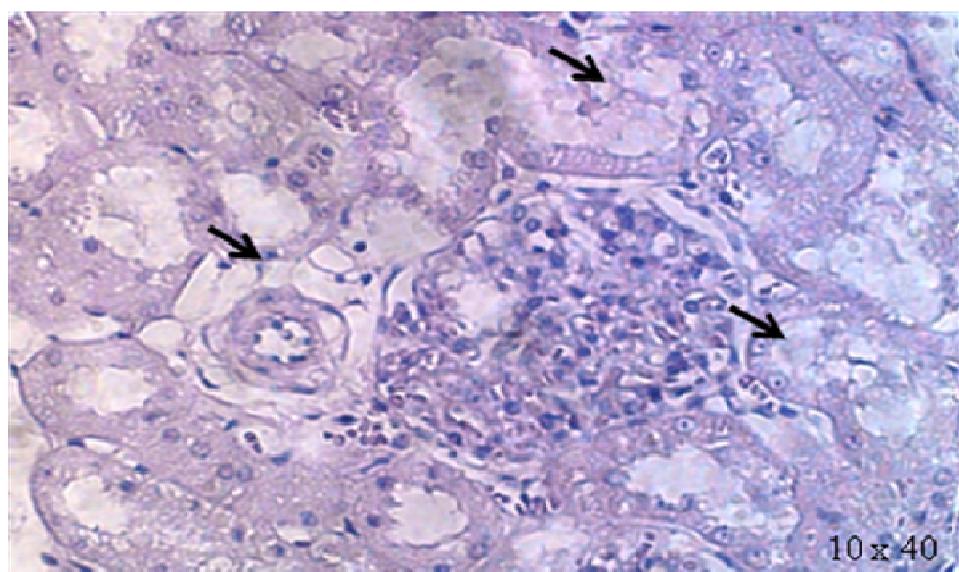
圖十五、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 2 之腎臟切片：200 倍



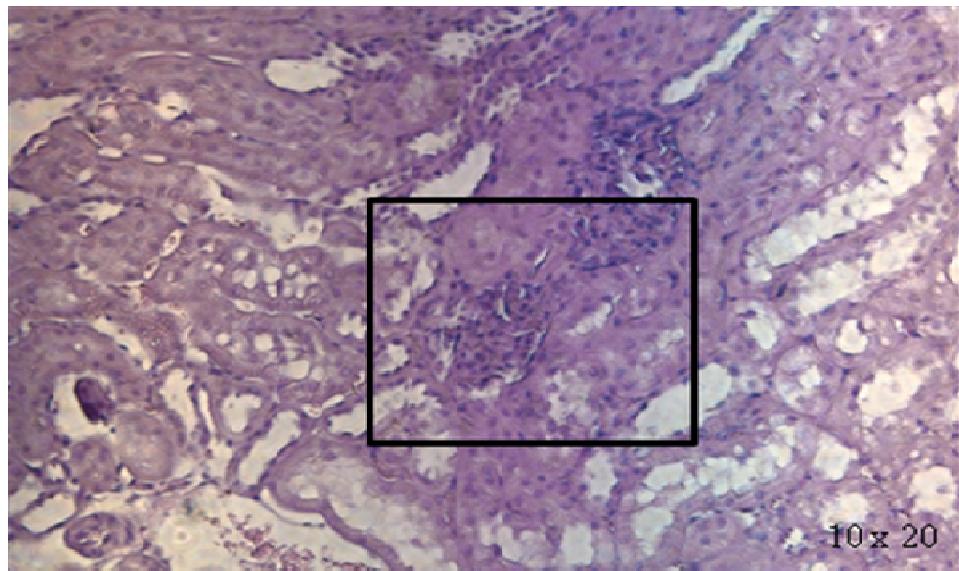
圖十五、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 2 之腎臟切片：400 倍



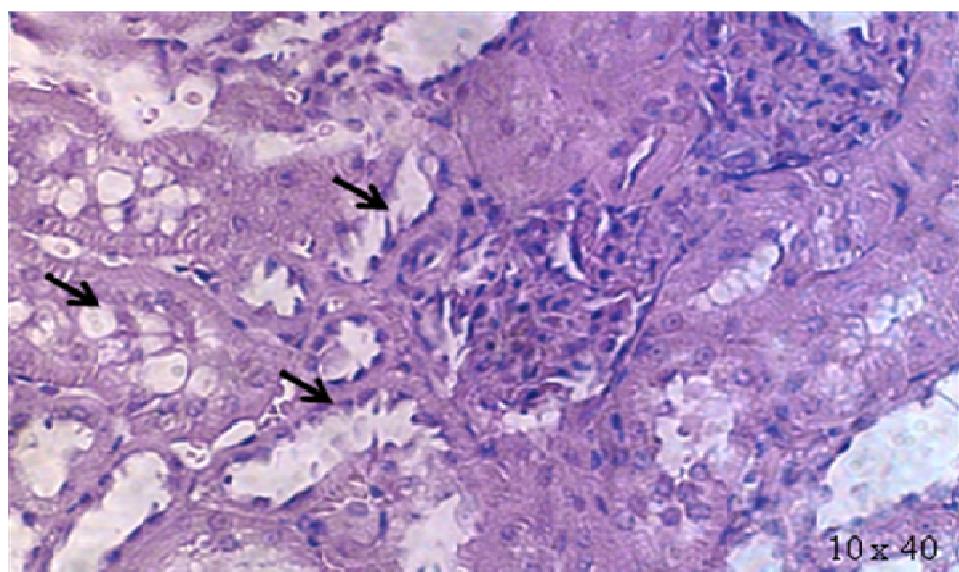
圖十六、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 2 之腎臟切片：200 倍



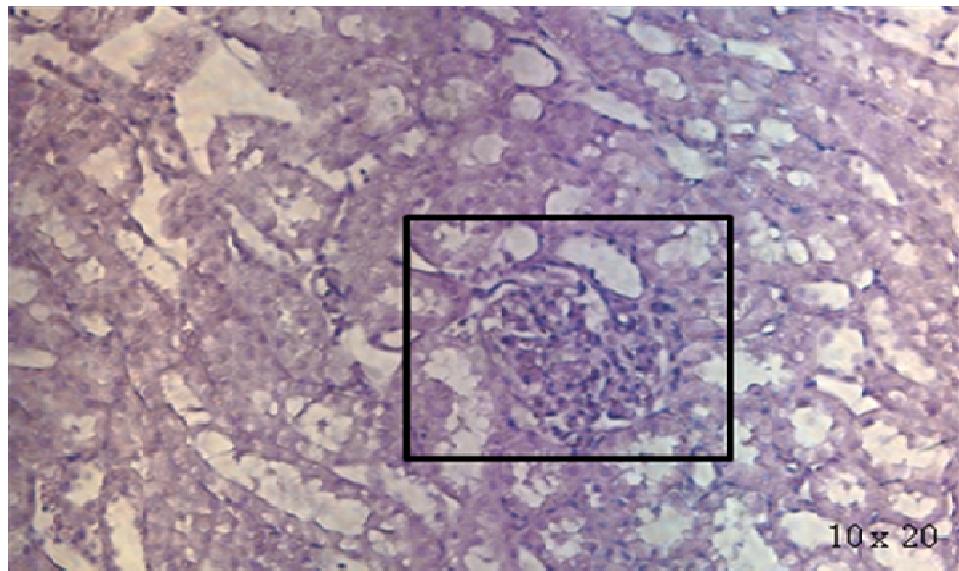
圖十六、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 2 之腎臟切片：400 倍



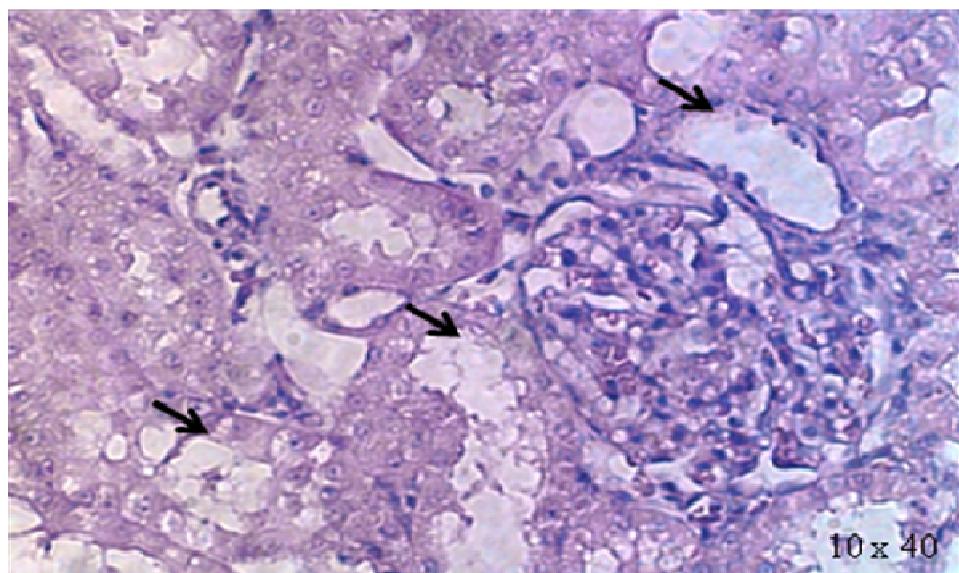
圖十七、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



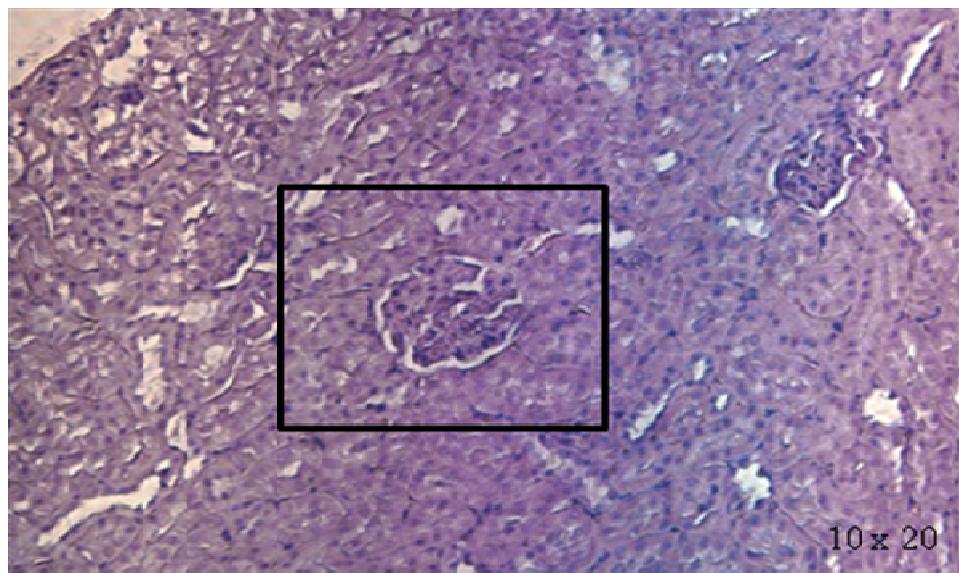
圖十七、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 3 之腎臟切片：400 倍



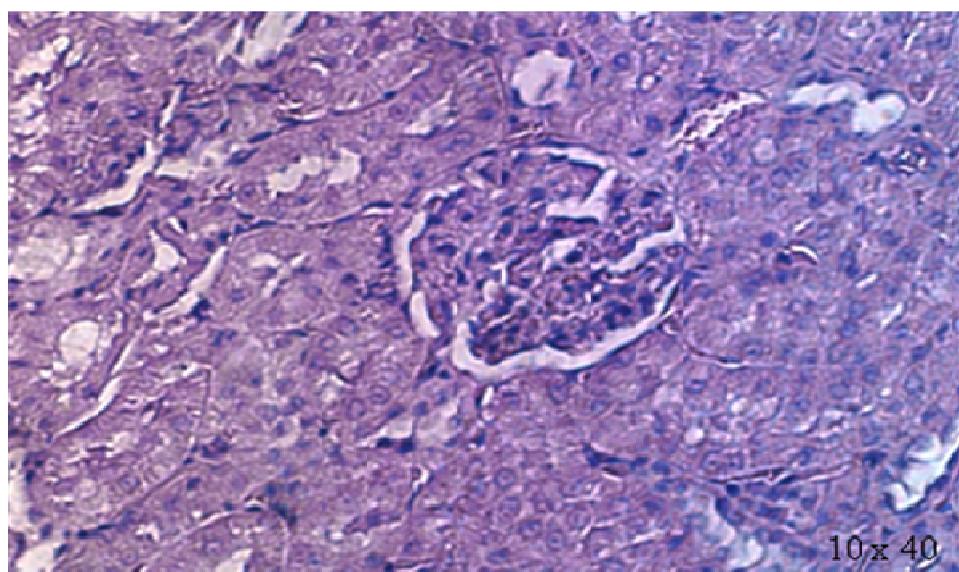
圖十八、(1) 龍膽瀉肝湯廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



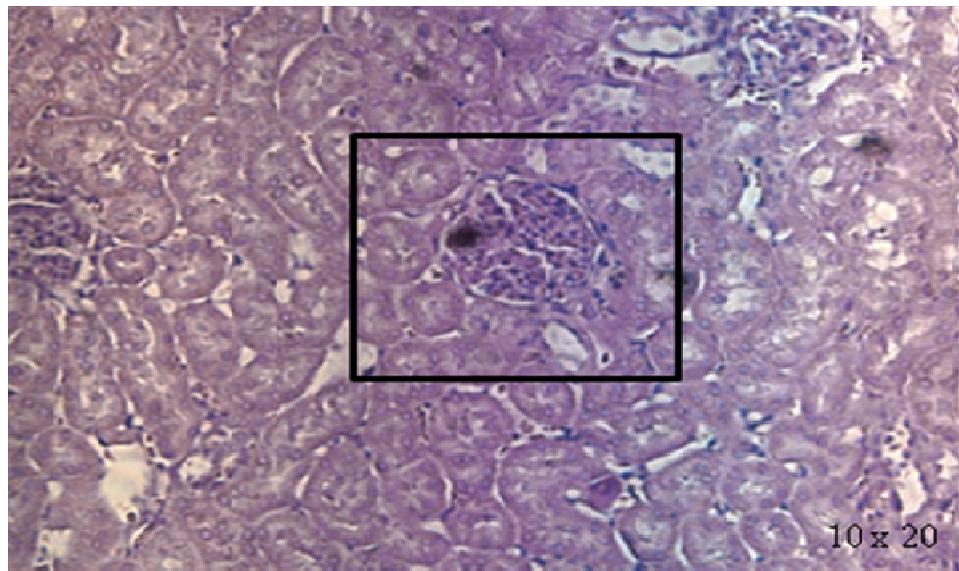
圖十八、(2) 龍膽瀉肝湯廠牌 3 之腎臟切片：400 倍



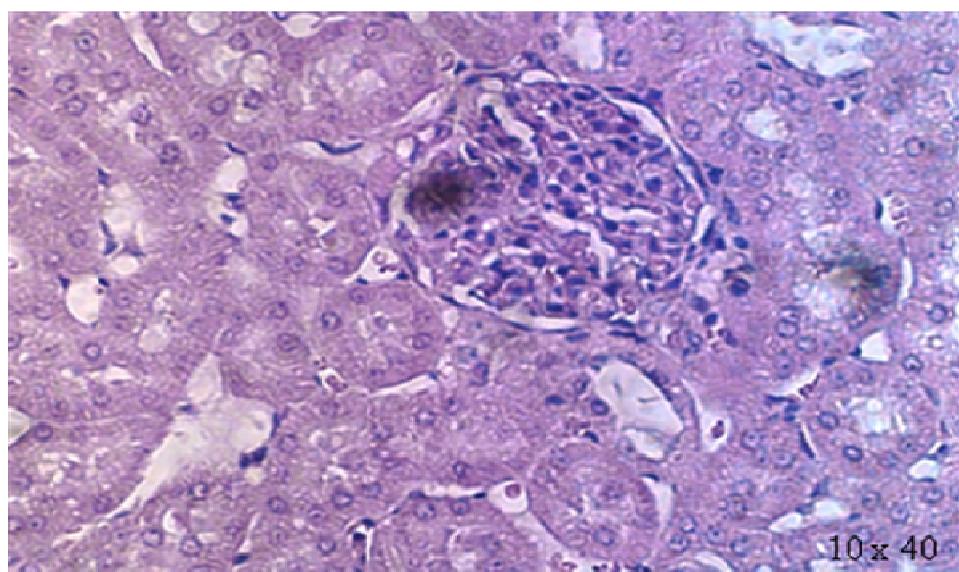
圖十九、(1) 加味逍遙散廠牌 1 之腎臟切片：200 倍



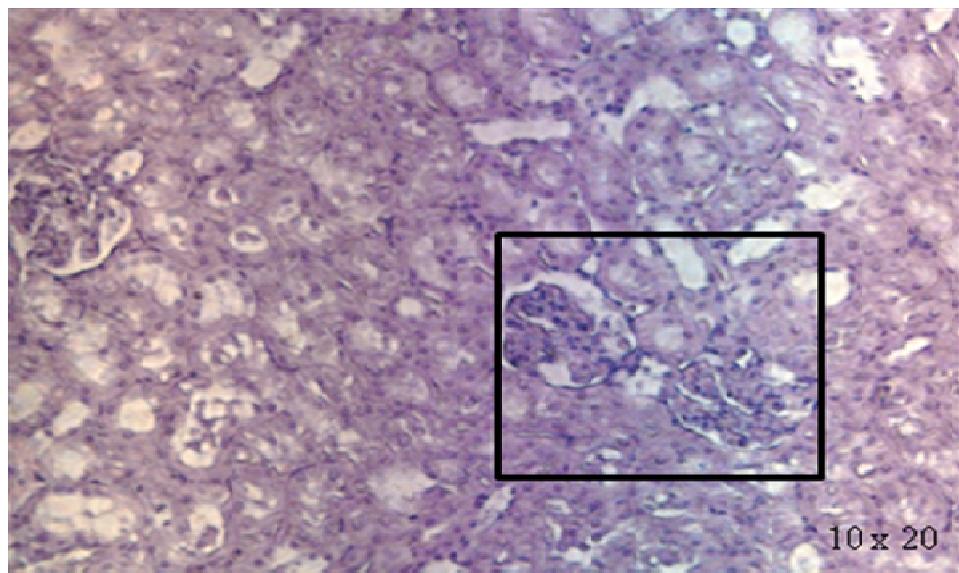
圖十九、(2) 加味逍遙散廠牌 1 之腎臟切片：400 倍



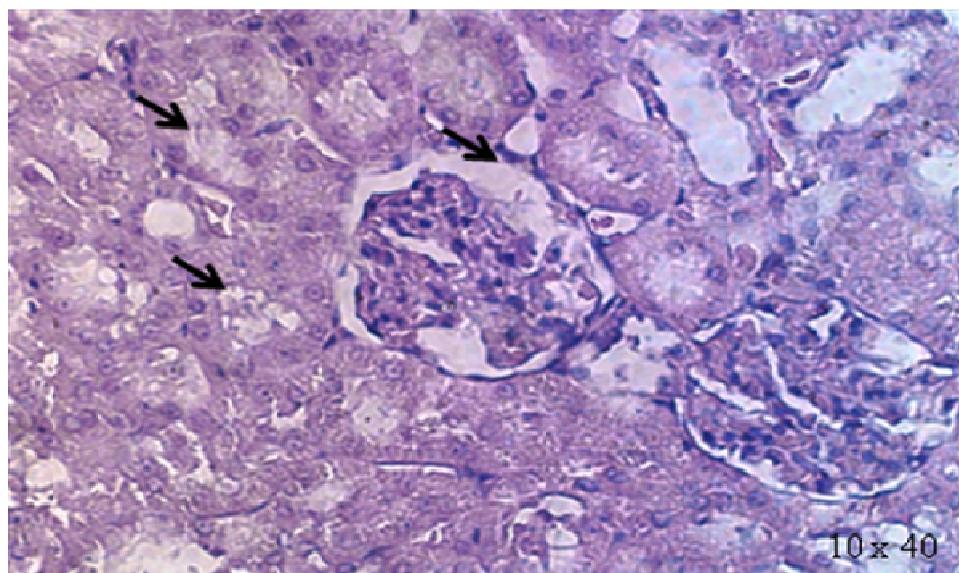
圖二十、(1) 加味逍遙散廠牌 1 之腎臟切片：200 倍



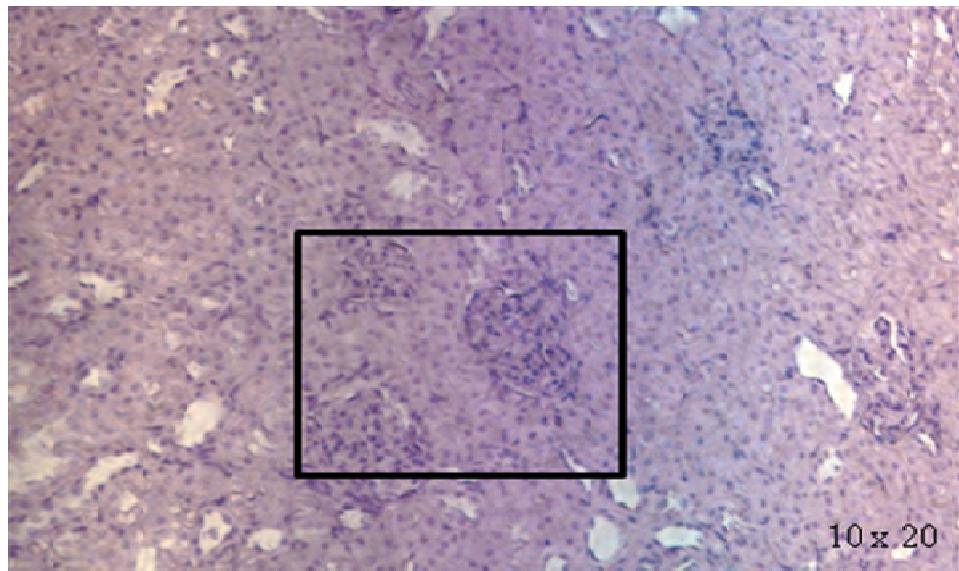
圖二十、(2) 加味逍遙散廠牌 1 之腎臟切片：400 倍



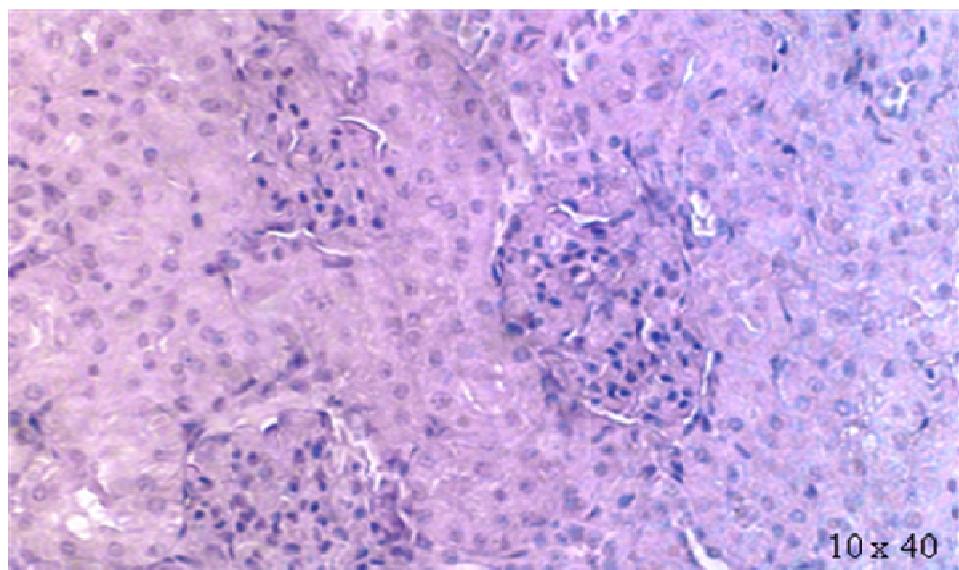
圖二十一、(1) 加味道遙散廠牌 2 之腎臟切片：200 倍



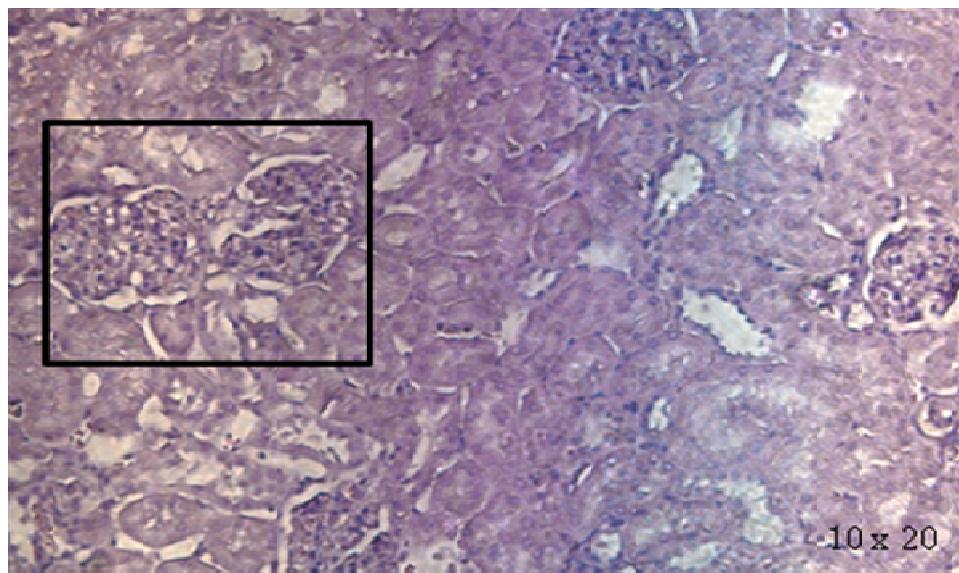
圖二十一、(2) 加味道遙散廠牌 2 之腎臟切片：400 倍



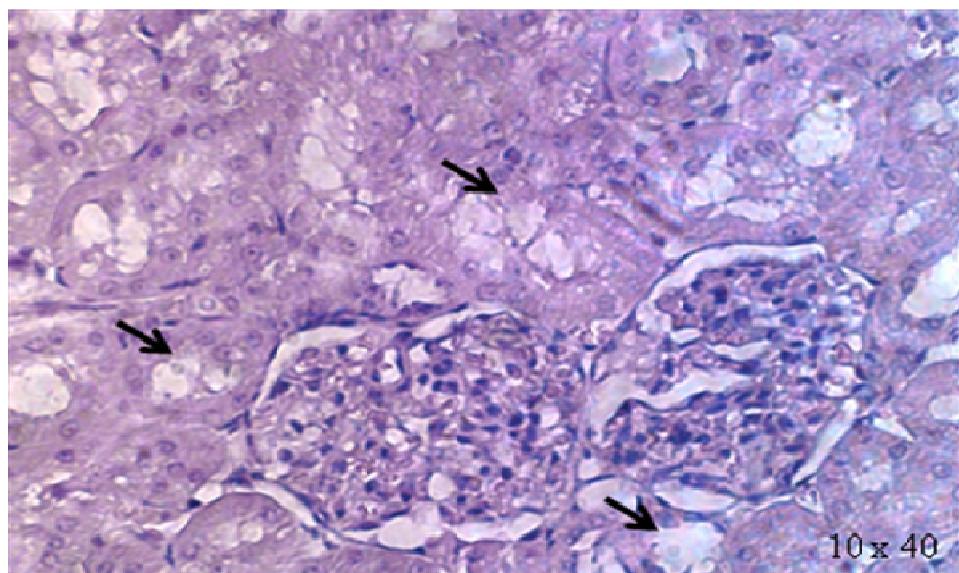
圖二十二、(1) 加味逍遙散廠牌 2 之腎臟切片：200 倍



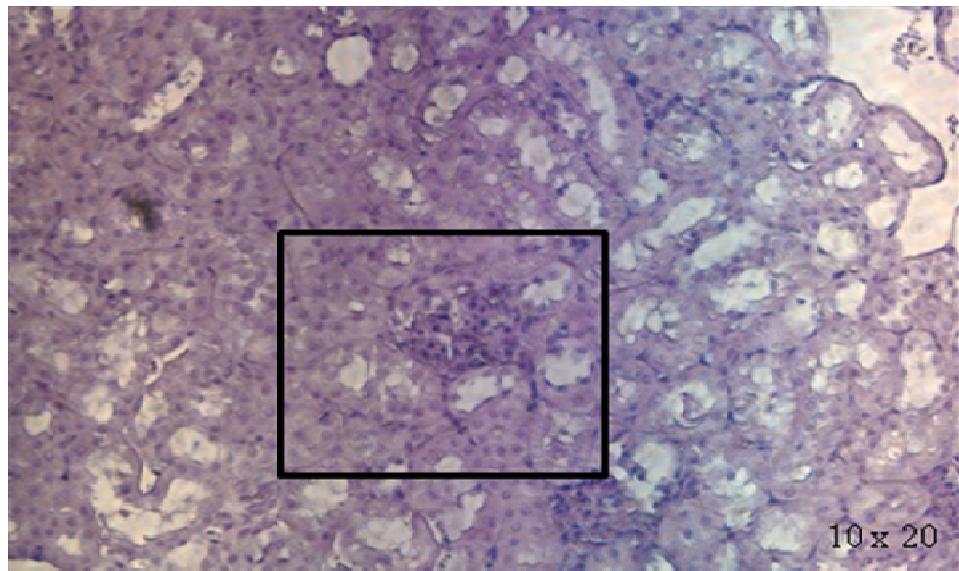
圖二十二、(2) 加味逍遙散廠牌 2 之腎臟切片：400 倍



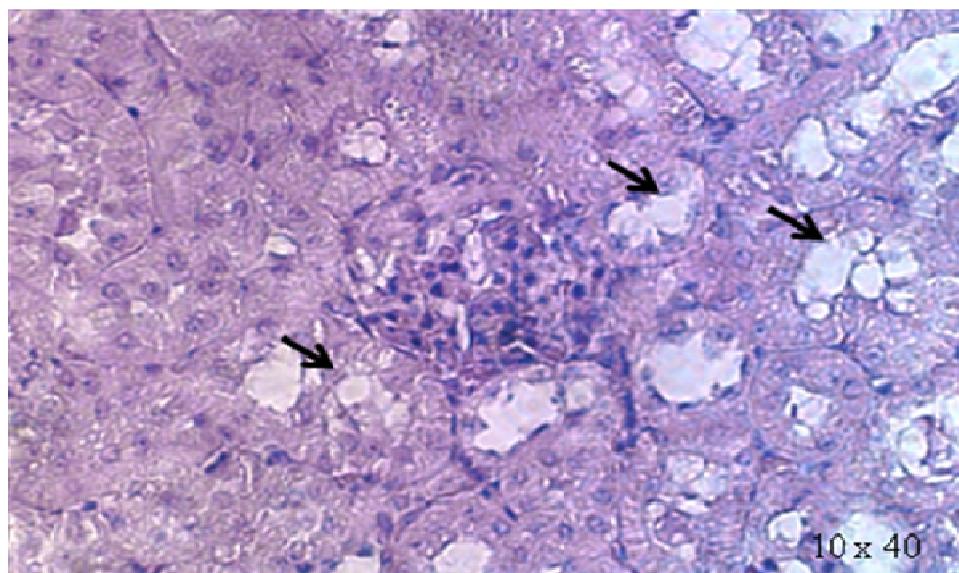
圖二十三、(1) 加味逍遙散廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



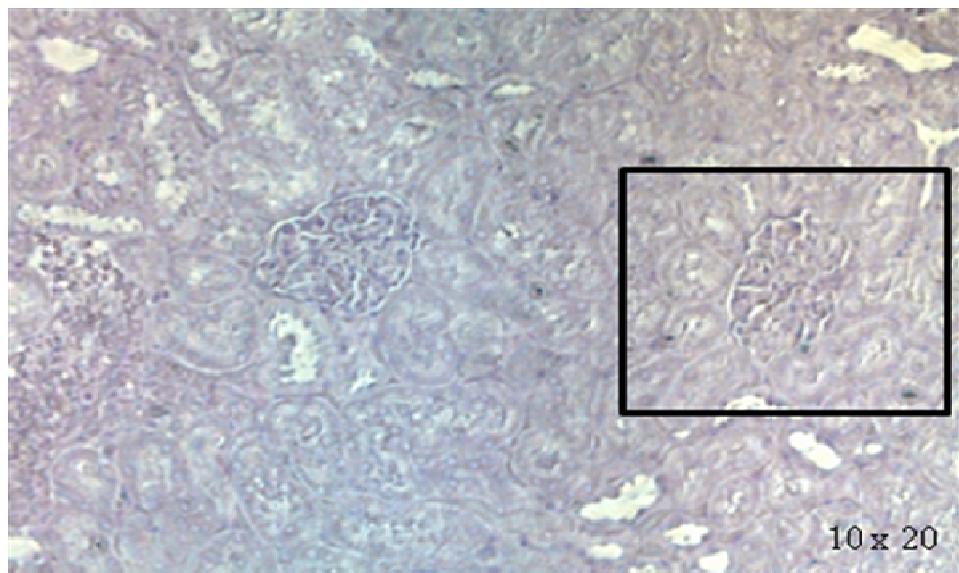
圖二十三、(2) 加味逍遙散廠牌 3 之腎臟切片：400 倍



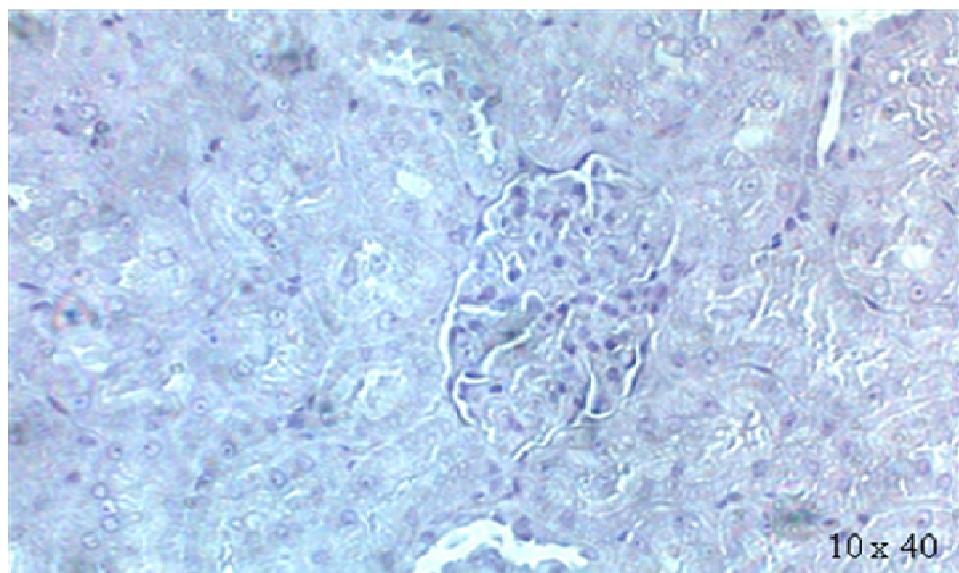
圖二十四、(1) 加味逍遙散廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



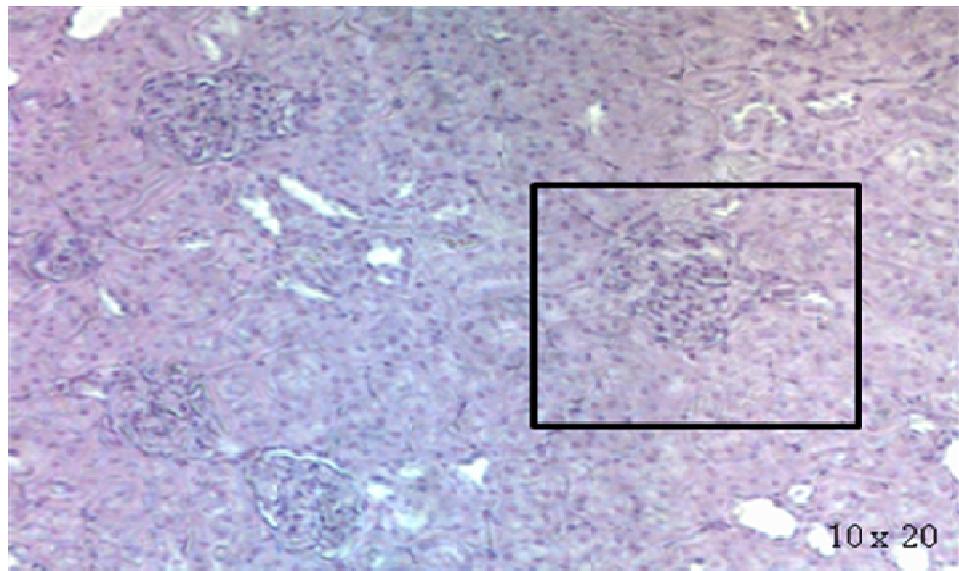
圖二十四、(2) 加味逍遙散廠牌 3 之腎臟切片：400 倍



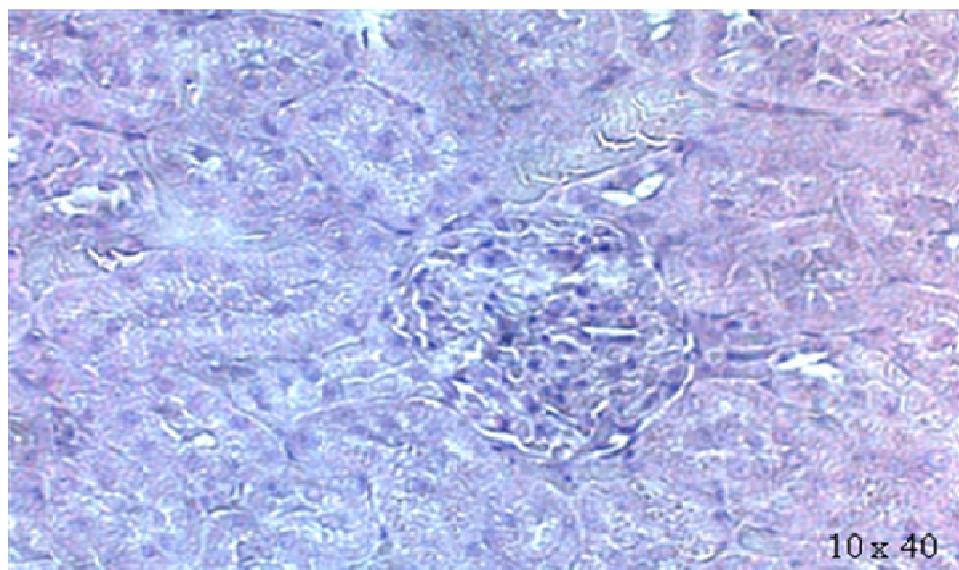
圖二十五、(1) 小青龍湯廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



圖二十五、(2) 小青龍湯廠牌 3 之腎臟切片：400 倍



圖二十六、(1) 小青龍湯廠牌 3 之腎臟切片：200 倍



圖二十六、(2) 小青龍湯廠牌 3 之腎臟切片：400 倍