

編號：CCMP98-RD-102

以動物實驗評估丹參及丹參酮 IIA 的作用 (2-2)

蘇進成

花蓮佛教慈濟綜合醫院

摘 要

從中醫傳統理論，丹參入肝、心二經，有活血化瘀，寬胸止痛的功效，臨床用在心臟冠狀動脈疾病、心絞痛、心肌梗塞及急、慢性肝炎。另有一味丹參，功同四物之說，也用在婦科痛經疾病。丹參酮 IIA 是丹參的成份之一，在先前實驗結果顯示有抗癌作用，但尚未在臨床應用。為日後臨床試驗作準備，進行動物實驗，確認丹參酒粹物和丹參酮 IIA 有無肝毒性及對抗氧化酶 SOD、CAT 和 GPx 的影響。

本實驗選用小白鼠(NMRI mice，此品系為慈濟大學實驗動物中心所繁殖小鼠)。隨機選用雄性，3~4 周齡，體重 15~20 公克左右的 NMRI mice 共 48 隻。實驗二 18 隻分成 3 組每組 6 隻，分別為控制組、丹參酮 IIA 組、丹參-酒精萃取物組。小白鼠暴露丹參乙醇萃取物(1 g/kg/day)、丹參酮 IIA (200 mg/kg/day)五天後，在停止暴露七天後，給予犧牲，抽血檢測肝功能指數(GOT、GPT、Bilirubin total/direct)，並做組織病理切片，確認有無肝損傷，再測定肝臟組織中 SOD、GPx、CAT 的活性和 CAT 含量。實驗三 30 隻分成 3 組每組 10 隻，分別為控制組、丹參酮 IIA 組、丹參-酒精萃取物組。讓 NMRI 小鼠暴露在丹參酒萃物(1g/kg/day)、丹參酮 IIA (200 mg/kg/day)每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲，抽血檢測肝功能指數(GOT、GPT、Bilirubin total/direct)，並做組織病理切片，確認有無肝損傷，再測定肝臟組織中 SOD、GPx、CAT 的活性和 CAT 含量。

本實驗結果顯示丹參酒粹物及丹參酮 IIA 無論短期(五天)使用或長期(八週)使用，皆不會造成肝臟在病理學上的病理變化。對抗氧化酶(SOD、CAT 和 GPx)的影響方面，丹參酒粹物在短期(五天)使用，雖會稍微降低抗氧化酶的活性，但停用七天後抗氧化酶(GPx、CAT)的活性就恢復正常且稍微提高，只有抗氧化酶(SOD)的活性稍微降低，而長期(八週)使用後停藥四週抗氧化酶(SOD)的活性就恢復正常水準且稍微提高抗氧化酶(GPx、CAT)的活性。丹參酮 IIA 在短期(五天)使用，雖會稍微降低抗氧化酶的活性，但停用七天後抗氧化酶(GPx)的活性就恢復正常，甚至提升抗氧化酶(CAT)的活性，而長期(八週)使用後停藥四週抗氧化酶的

活性就恢復正常水準且稍微提高(SOD、CAT)，甚至可大幅提升抗氧化酶(GPx)的活性。實驗結果，顯示丹參酒粹物及丹參酮 IIA 在動物體內確認不會造成肝臟實質病理變化，也沒有造成肝指數(GOT、GPT、Bilirubin Total and Direct)的異常，且長期(八週)使用後，停藥四週，抗氧化酶的活性就恢復正常水準或稍微提高(SOD、CAT)，丹參酮 IIA 甚至可大幅提升抗氧化酶(GPx)的活性。所以傳統中醫將丹參列在上品藥，應是古代醫家臨床長期使用的觀察心得。本實驗結果，顯示丹參酒粹物及丹參酮 IIA 在動物體內都沒有造成肝毒性，印證傳統中醫的理論。

關鍵詞：丹參、丹參酮 IIA、肝臟毒性、動物實驗

Number: CCMP98-RD-102

To Evaluate the Effects of Danshen and Tanshinone IIA in Vivo (2-2)

Chin-Cheng Su

Buddhist Tzu Chi General Hospital

ABSTRACT

Danshen was widely used to treat cardiovascular disease, hepatitis and dysmenorrhea. Tanshinone II A was isolated from Danshen (*Salviae Miltiorrhizae Radix*). In our previous studies (in vitro) showed that Tanshinone II A with anti-cancer effects. In the present study, we will evaluate the hepatic toxicity of Danshen and tanshinone IIA in vivo, in order to be regarded as the reference of the clinical testing in the future.

4~5 weeks, 25~30 gm, male Mice (NMRI) (number=48) divided into two group. One group (n=18) for high dose recover experiment, mice were feeding with corn oil (n=6), danshen (1 gm/kg) (n=6) and Tanshinone IIA (200 mg/kg) (n=6) for 5 days separately, then stop medication for 7 days and were sacrificed at 13th days and then check the hepatic functions (GOT、GPT、Bilirubin total/direct) from the blood and check the activities of SOD、GPx、CAT and the amount of CAT by kits. We also check the protein expression of SOD、CAT by western blotting. The hepatic changes were detected by tissue pathology section. The other group for long term high dose experiment, mice were feeding with corn oil (n=10), danshen (1 g/kg) (n=10) and tanshinone IIA (200 mg/kg) (n=10) for 5 days per week for 8 weeks separately, then stop medication for 4 weeks and were sacrificed at 85th days and then check the hepatic functions (GOT、GPT、Bilirubin total/direct) from the blood and check the activities of SOD, GPx, CAT and the amount of CAT by kits. We also check the protein expression of SOD、CAT by western blotting. The hepatic changes were detected by tissue pathology section.

The results showed that the hepatic pathologic resection showed no definite pathologic change and the GOT / GPT and Direct / Total bilirubins were not significantly changed when treated with corn oil, danshen and Tanshinone IIA. Mice were treated with high dose Danshen for 5 days could decrease the activities of SOD, CAT and GPx, but post 7 days CAT and GPx were recover to normal range. Long term (8 weeks) treated with high dose Danshen and waits for 4 weeks the activities of SOD could return to normal range and increase the activities of CAT and GPx. Mice

were treated with high dose Tanshinone IIA for 5 days could decrease the activities of SOD, CAT and GPx, but post 7 days GPx were recover to normal range and increase the activities of CAT. Long term (8 weeks) treated with high dose Tanshinone IIA and waits for 4 weeks the activities of SOD and CAT could return to normal range and increase the activities of GPx significantly. The results showed that Danshen and tanshinone IIA no hepatic toxicity. Danshen and tanshinone IIA could increase the antioxidation of hepatic tissure and protect hepatic functions. These is agreement with traditional Chinese medicine.

Keywords: Danshen, Tanshinone IIA, hepatic toxicity, in vivo

壹、前言

一、丹參與丹參酮 IIA

丹參為唇形科，鼠尾草屬 (*Salvia miltiorrhiza*, Bunge) 植物丹參 (*Radix, Salviae, Miltiorrhizae*) 的乾燥根莖，丹參酮 IIA 是從丹參 (Danshen) 提取的主成份之一。

在中醫傳統理論，丹參有活血化瘀的功效，有關丹參的藥性，文獻記載為『活血化瘀、養血寧心、寬胸止痛。』、『另有一味丹參，功同四物之說』、『丹參性味苦，微寒，入心、肝經。』。而現代醫學研究指出，有擴張冠狀血管、增加冠狀動脈血流量、改善心肌收縮力和降血壓的功效，還有鎮靜及止痛效果。臨床用於腦栓塞、冠狀心臟病、心絞痛、心肌梗塞、血栓閉塞性脈管炎、急、慢性肝炎等。

丹參提取物的化學成分目前已經闡明成分結構的約有 50 多種，主要成分包括丹參酮 I、IIA、IIB (Tanshinone I、IIA、IIB)、隱丹參酮 (Cryp-totanshinone)、異丹參酮 I、II (Iso-Tanshinone I、II)、丹參新酮、丹參醇和維生素 E 等，丹參有效成份迄今尚待進一步探討與研究【1】

二、丹參與丹參酮 IIA 相關文獻回顧

丹參可以清除自由基和抗氧化，其主要是含有丹參素，丹參素是丹參中一個很重要的水溶性成分，已經被證明具有保護心肌、抗動脈硬化等藥效【2】。文獻報導丹參的氯仿提取物對於多種癌細胞株 (包括 Colo 205、Hep G2) 有毒殺作用，可能透過活化自由基的產生，造成 DNA 的損傷，且在 1 $\mu\text{g/mL}$ 以下就有功效【3】，有很多研究報導指出丹參酮 I 和 II 可以誘導肝癌細胞凋亡【4,5】和肺癌細胞凋亡【6,7】。經由體內及體外實驗證實，丹參酮 IIA 對於人類乳癌細胞有很強的抑制作用，藉由調節部分凋亡基因的表達，而 ADPRTL-1 可能是丹參酮 IIA 主要的作用標的【8】。丹參酮 IIA 透過活化 NADPH: Quinone oxidoreductase (NQO1)，增加鈣離子釋放使粒線體膜電位 (Mitochondrial membrane potential, MMP) 下降，活化 Caspase，使人類上皮細胞死亡【9】。丹參酮 IIA 透過抑制端粒酶的活性，抑制 HL-60 和 K562 細胞的增殖和引起凋亡【10】，丹參酮 IIA 可以透過下調 Bcl-2 和 C-myc 的 mRNA 表達，抑制 NCI-H460 細胞的增殖和引起凋亡【11】。丹參酮 IIA 經由下調 Bcl-2 和 C-myc 的 mRNA 表達，上調 Fas、Bax、p53 的 mRNA 表達，抑制人類肝癌細胞 SMMC-7721 的增殖和引起凋亡【12】，丹參酮 IIA 經由上調 Fas、Bax、p53 和 p21 的表達，下調 Bcl-2 的表達，誘導人類鼻咽癌細胞 CNE-1 發生凋亡【13】。並藉由活化 Caspase 3 誘使 NB4 細胞發生凋亡【14】。丹參酮 IIA 能夠引起人類肝癌細胞 BEL-7402 凋亡，抑制人類肝癌細胞 BEL-7402 的增殖【15】。能使 NF- κ B p65 和 MMP-2 蛋

白表達量下降的藥物，就可以減少 colo 205 細胞侵襲和轉移能力【16】。在 95 年度由花蓮佛教慈濟綜合醫院，醫療科技研究部補助研究計畫，體外實驗檢測大腸癌細胞 colo 205 是否受丹參酮 II 的抑制，同時也測訂丹參酮 II 是否影響凋亡及轉移相關蛋白質的表現。我們發現在丹參酮 IIA 濃度為 1 μ g / mL，其增殖作用明顯受到抑制，為對照組的 56.54%。我們也發現丹參酮 IIA（2.5, 5 μ g / mL）作用 24 小時後，可引起 p53、p21、Fas、Caspase 8、Caspase 3 和 Cytochrome C 蛋白質表達量上升。我們也發現丹參酮 IIA，抑制人類 colo 205 細胞的增殖，使細胞週期停滯在 G0/G1 期，引起細胞凋亡。我們發現，丹參酮 IIA 作用 24 小時後，可以 MMP-2 蛋白質表達量下降，丹參酮 IIA 也可以減少 colo 205 的侵襲和轉移能力。在執行衛生署中醫藥委員會 95 年度基因體補助計畫的結果顯示，丹參酮 IIA 對於肺癌細胞株，有很好的抑制效果。

三、血液生化檢驗 【GOT 與 GPT】

Glutamic Oxaloacetic Transaminase（GOT，麩氨酸草醋酸轉氨基酵素，又稱 AST）及 Glutamic Pyruvic Transaminase（GPT，麩氨酸焦葡萄糖轉氨基酵素，又稱 ALT），都是肝細胞內的重要酵素。

「GOT」大部分存在於細胞核內，少數則存在於細胞質；因此，當整個肝細胞壞死後，其中的「GOT」才會大量流失在血清內；因此，由「GOT」濃度的上升，可以間接估計肝細胞壞死的程度。「GPT」則絕大部分存於肝細胞的細胞質內，當肝細胞受到藥物傷害時，肝細胞本身會發生腫脹的現象，一方面使細胞質產生變性，另一方面細胞膜本身的通透性亦因而增加，而促使其中的「GPT」流失在細胞外，進而導致血清中「GPT」的濃度增加。因此，由「GOT」及「GPT」在血清濃度之異常增加，可以反應肝細胞壞死或變性的程度。

四、血液生化檢驗 【膽紅素】

膽紅素通常用於評估二類疾病：肝膽疾病及溶血性疾病。膽紅素起源於紅血球裡的血紅素，當衰老紅血球被破壞後，細胞膜發生變化，網狀內皮細胞可以識別並加以吞噬，而血紅素被網狀內皮系統轉變成膽紅素，此時的膽紅素為脂溶性，不溶於水，稱為間接膽紅素。間接膽紅素容易透過細胞膜沉積在組織中呈現黃色，並對組織細胞有毒性，尤其是腦細胞。由於間接膽紅素是脂溶性，必須轉變成水溶性形式方可代謝，因此在血流中會和白蛋白或 α_1 球蛋白（以白蛋白為主）結合成複合物。這種結合增加了膽紅素在血漿中的溶解度，便於運輸；同時又限制膽紅素自由透過各種細胞膜，不致對組織細胞產生毒性。這些和蛋白質結合的膽紅素被運送到肝臟，經肝臟攝取及肝細胞轉移酶（Glucuronyl transferase）作用後，移至分泌細胞，形成水溶性，對組織細胞無毒性的膽紅素，稱為直接膽紅素。隨

後和其他膽汁成分一起儲存在膽囊。血中總膽紅素升高，包括膽紅素生成增加、肝臟攝取障礙或結合減少所導致的間接膽紅素升高症，常見的情形是溶血性疾病。至於直接膽紅素升高常見於膽汁排泄障礙。而臨床最為常見者為直接與間接膽紅素同時升高，且直接膽紅素高於間接膽紅素，此現象常見於肝病和膽道阻塞，原因是此類疾病常引起多重功能障礙，引發混合型高膽紅素血症。

在實驗診斷方面，總膽紅素輕度上升時，若 ALT 在正常範圍，暗示可能發生溶血，而非肝病，並由間接膽紅素上升即可確診。相反的，若血清膽紅素偏高，通常意味著嚴重的肝病合併溶血或腎功能障礙，因為單純的肝病很少引起這樣嚴重的黃疸。

五、氧化壓力 (Oxidative stress)

氧化壓力 (oxidative stress) 是指體內的致氧化物質與抗氧化物質的平衡狀態，此平衡與細胞的存活及器官的功能有密切的關係。在一般正常情況下，細胞是處於在一個致氧化物質與抗氧化物質平衡的狀態；當有外來物質或內生性的物質，產生過量的自由基或降低抗氧化物質的能力，就會打破此種平衡而導致細胞死亡及組織傷害【17】。以下就致氧化物質與抗氧化物質作簡要說明：

(一) 致氧化物質

致氧化物質 (oxidants) 主要包含自由基 (free radicals) 以及活性氧屬 (reactive oxygen species, ROS) 等。

自由基的定義為任一分子或原子以一個或一個以上不成對電子的形式存在。由於自由基具有相當高的活性，容易與細胞內分子作用而產生傷害。另一方面，活性氧屬是指從氧分子所衍生出來的自由基及非自由基物質，它們具有相當高的活性及不穩定性，容易對生物體造成傷害【18】。在生物體內活性氧屬主要包含了以下幾類：

1. 超氧自由基 (superoxide anion radical, $O_2^{\bullet-}$)

氧分子還原時若只接受一個電子，會產生一種具有相當破壞力的自由基即超氧自由基。它是人體中最先產生也是最多的一種自由基，這種型態的自由基與生物有機體反應較為緩慢且半衰期很短，較不會產生直接性的傷害，但會誘發其他種類自由基的生成。超氧自由基為體內代謝所產生的副產物，來源主要有兩個，來自細胞質的黃嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase) 催化過程及粒線體內的電子傳遞鏈過程。兩個分子的超氧自由基會經由自發性 (spontaneous) 或經超氧歧化酶 (superoxide dismutase) 催化產生一個過氧化氫分子 (hydrogen peroxide)

【19,20】。

2. 過氧化氫 (hydrogen peroxide, H_2O_2)

過氧化氫可經由超氧歧化酶 (superoxide dismutase) 催化產生，也可以經由其他氧化酶 (oxidase) 反應產生，如單胺氧化酶 (monoamine oxidase) 等；除此之外，也可以經由吞噬細胞經氧化還原作用而產生。過氧化氫的穩定性比其他的自由基強，但因為會通過細胞膜流竄於身體各部位，而擴大傷害範圍【19,20】。

3. 氫氧自由基 (hydroxyl radical, OH^\bullet)

氫氧自由基的主要來源是來自過氧化氫的分解或水分子經各式輻射線照射後所產生。另外，也會經由金屬離子（以二價鐵為主）催化而產生，此為芬頓反應 (Fenton reaction)：



氫氧自由基是最不穩定、破壞力最強和毒性最大的自由基；它會攻擊細胞膜上的不飽和脂肪酸造成脂質過氧化，也會攻擊蛋白質及去氧核糖核酸等，造成細胞的傷害及死亡【19,20】。

4. 其他

包括了過氧化脂質 (lipid peroxides, LOO^\bullet) 及單激氧 (singlet oxygen, $^1\text{O}_2$) 等形式的活性氧屬【19,20】。

(二) 抗氧化物質

體內的抗氧化物質分成兩類，即酵素型與非酵素型抗氧化物質，一般稱此抵抗氧化壓力的機制為「抗氧化系統」。在細胞與組織中有三類主要酵素型抗氧化物質，包含超氧歧化酶 (superoxide dismutase; SOD)、過氧化氫酶 (catalase; CAT) 及麩胱甘胺過氧化酶 (glutathione peroxidase; GPX) 等；另外，非酵素型抗氧化物質包括維生素 C、A、E 和麩胱甘胺 (glutathione; GSH) 及其他微量元素（如硒、銅及鐵等）【21】。這些抗氧化物質可限制 ROS 生成過程，並減低 ROS 造成之傷害。

以下就酵素型抗氧化物質作說明：

1. 超氧歧化酶 (superoxide anion dismutase; SOD)

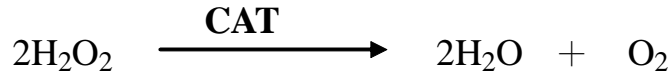
SOD 可以清除 $\text{O}_2^{\bullet-}$ ，使兩個 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 轉變成 H_2O_2 和 O_2 ，反應式如下：



自然界 SOD 主要有兩種同功酶，存在於細胞質中 (cytosol)，其活化部位含銅及鋅離子者為 Cu/Zn SOD。哺乳類的 Cu/Zn SOD 是由兩個單體組合而成的蛋白質，各單位分別含有一個銅離子及鋅離子，單體分子量約為 15.6 kDa。【21,22】。

2. 過氧化氫酶 (catalase; CAT)

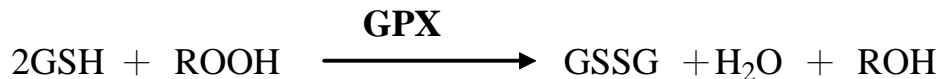
CAT 可以清除 H_2O_2 ，使兩個 H_2O_2 轉變成 H_2O 和 O_2 ，反應式如下：



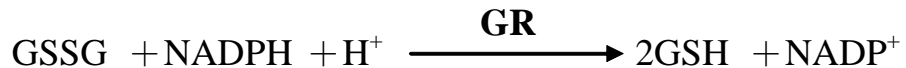
CAT 廣佈於細菌、酵母、植物和動物，他們在需氧有機體可說很普遍。CAT 在不同組織存在於不同的位置，如大量存在於紅血球的細胞質中，肝臟的過氧化體 (peroxisome) 內，在心臟細胞的粒線體及細胞質內，它可以保護細胞免於 H_2O_2 堆積而造成更大的傷害。CAT 是由四個單體組合而成，單體分子量約為 62.5 kDa 【22,24】。

3. 麩胱甘肽過氧化酶 (glutathione peroxidase; GPX)

GPX 會運用一個還原劑 glutathione (GSH) 把過氧化脂質 (lipid peroxide, ROOH) 或 H_2O_2 還原成 H_2O 和醇類 (ROH)，其反應式如下：



其中當 GSH 氧化為 GSSG 後，則可經由 glutathione reductase (GR) 將 GSSG 還原為 GSH，其反應式如下：



GPX 主要分為 selenium 和 non selenium dependent glutathione peroxidase (Se-GPX and Non Se-GPX) 兩類，其中 Se-GPX 對 ROOH 和 H_2O_2 皆具有代謝的能力；而 Non Se-GPX 僅對 ROOH 具有活性，而此反應被歸為 glutathione transferase 所進行的反應之一。Se-GPX 是由四個單體組合而成，各單體含有一個硒原子，單體分子量為 22 kDa。GPX 主要存在於細胞質內，可以有效預防脂質過氧化的擴大所導致的傷害，亦可快速的將 SOD 在細胞質內所產生的 H_2O_2 進行代謝 【22,24】。

貳、材料與方法

一、材料

(一)動物來源

本實驗選用動物為小白鼠，品系為 NMRI mice，此品系為慈濟大學實驗動物中心所繁殖小鼠。

隨機選用雄性，3~4 周齡，體重 15~20 公克左右的 NMRI mice 共 48 隻。

實驗二 18 隻分成 3 組每組 6 隻，分別為控制組、丹參酮 IIA 組、丹參-酒精抽提萃取物組。

實驗三 30 隻分成 3 組每組 10 隻，分別為控制組、丹參酮 IIA 組、丹參-酒精抽提萃取物組。

購買並飼養於符合無特定病原實驗室 (Specific-pathogen-free Lab.; SPF Lab.) 即 (花蓮慈濟大學實驗動物中心; Laboratory Animal Center of Tzu Chi University, Hualien, Taiwan)。

(二)中藥來源

1. 丹參酮 IIA

已經購於符合 cGMP 規範之中藥製藥廠，並經 HPLC 檢測達 96.4%，並通過 NMR、MASS 分析。進行實驗前，分裝丹參酮 IIA。

(1) 高劑量組：每管 600 mg 分裝於避光離心管中，於 4℃ 冰箱內保存，使用前加入 30 mL 的玉米油 (購於 Sigma Chemical Co.)，混合均勻後，才可操作實驗。

丹參乙醇萃取物

已經購於符合 cGMP 規範之中藥製藥廠。丹參萃取液是由 95% 乙醇萃取液乾重約 104 公克與 50 % 乙醇萃取液乾重約 102 公克混合而成。最終濃度為『每公克萃取液含有生藥 8.99 公克』。進行實驗前，分裝丹參乙醇萃取物：

(2) 高劑量組：每管 333.75 mg 分裝於避光離心管中，於 4℃ 冰箱內保存，使用前加入 30 mL 的生理食鹽水 (購於慈濟醫院藥品庫房)，混合均勻後，才可操作實驗。

(三)動物實驗耗材

1. ST-S114 手術剪刀，購於信德儀器公司。
2. ST-S214 手術剪刀，購於信德儀器公司。
3. ST-S011 眼科剪刀，購於信德儀器公司。
4. ST-S112 Semken 鑷，購於信德儀器公司。

5. ST-I110 眼科彎鑷，購於信德儀器公司。
6. ST-P114 彎止血鉗，購於信德興儀器公司。
7. ST-D003 動脈夾，購於信德興儀器公司。
8. 22 mm 餵食針，購於信德儀器公司。
9. 24 mm 餵食針，購於信德儀器公司。
10. 1 mL 胰島素針，購於芳林貿易公司。
11. 1 mL 針，購於芳林貿易公司。
12. 5 mL 針，購於芳林貿易公司。
13. 10 mL 針，購於芳林貿易公司。
14. 50 mL 針，購於芳林貿易公司。
15. 24G 軟針頭，購於芳林貿易公司。
16. 22G 軟針頭，購於芳林貿易公司。
17. 精密點滴組，購於綠思藥局。
18. 碘酒，購於綠思藥局。
19. 無菌棉花棒，購於綠思藥局。
20. 無菌紗布，購於綠思藥局。
21. 75 % 消毒酒精，購於綠思藥局。
22. 解剖盤（網狀層），購於一九九百貨有限公司。
23. 解剖盤（密盤層），購於一九九百貨有限公司。
24. 擦手紙，購於一九九百貨有限公司。
25. 0.9 % 生理食鹽水，購於慈濟醫院藥品庫房。
26. Isoflurane 氣體麻醉藥，購於慈濟醫院藥品庫房。
27. Chloral Hydrate 小兒安眠藥，購於慈濟醫院藥品庫房。
28. Heparin 抗凝固劑，購於 Sigma Chemical Co.。

(四)病理診斷相關耗材

1. 載玻片，購於信德儀器公司。
2. 蓋玻片（短），購於信德儀器公司。
3. 蓋玻片（長），購於信德儀器公司。
4. 玻片夾（紙），購於信德儀器公司。
5. 玻片夾（塑膠），購於信德儀器公司。
6. 玻片整理盒，購於信德儀器公司。
7. 包埋盒，購於信德儀器公司。
8. 冷凍切片膠，購於信德儀器公司。
9. 石蠟包埋塊，購於信德儀器公司。
10. 封片膠，購於信德儀器公司。
11. Hematoxylin 蘇木紫，購於 Sigma Chemical Co.。

12. Eosin Y 嗑伊紅，購於 Sigma Chemical Co.。
13. 甲苯，購於 Sigma Chemical Co.。
14. 變性酒精，購於 Sigma Chemical Co.。
15. 絕對酒精，購於 Sigma Chemical Co.。
16. 冰醋酸，購於 Sigma Chemical Co.。
17. 福馬林，購於慈濟醫院藥品庫房。
18. 10 % 中性福馬林，購於慈濟醫院藥品庫房。
19. S-35 切片刀，購於百上企業有限公司。
20. 中型保鮮盒，購於一九九百貨有限公司。
21. 小型保鮮盒，購於一九九百貨有限公司。
22. 保鮮膜，購於一九九百貨有限公司。
23. 鋁箔紙，購於一九九百貨有限公司。

(五) 抗氧化檢測相關耗品

1. 蛋白質提取試藥組，iNtRON，韓國，購於亞伸科技公司。
2. 15 mL 離心管，購於波仕特公司。
3. 50 mL 離心管，購於波仕特公司。
4. 100 mm 培養盤（非細胞用），購於波仕特公司。
5. 96 孔分析盤，CORNING，美國，購於進階生物科技公司。
6. 1.5 mL 微離心管，購於伯昂興業有限公司。
7. 0.5 mL 微離心管，購於伯昂興業有限公司。
8. 0.5 mL 防爆管，購於伯昂興業有限公司。
9. 1000 μ L 尖頭拋棄吸管，購於伯昂興業有限公司。
10. 200 μ L 尖頭拋棄吸管，購於伯昂興業有限公司。
11. 10 μ L 尖頭拋棄吸管，購於伯昂興業有限公司。
12. CAT 試藥組，購於志德國際有限公司。
13. SOD 試藥組，購於志德國際有限公司。
14. GPx 試藥組，購於志德國際有限公司。
15. 均質珠，購於志德國際有限公司。
16. 500 mL 血清瓶，購於信德儀器公司。
17. 100 mL 血清瓶，購於信德儀器公司。
18. 試管架（塑膠），購於信德儀器公司。
19. 96 孔操作盤，購於信德儀器公司。
20. 冷凍小管，購於進階生命科學有限公司。

(六) 西方墨點法相關耗品

1. 10X TG-SDS buffer，購於波仕特公司。
2. 0.5 M Tris Buffer，購於波仕特公司。

3. 1.5 M Tris Buffer，購於波仕特公司。
4. Acrylamide/Bis 40% solution (37.5:1)，購於波仕特公司。
5. APS (Ammonium persulfate)，購於波仕特公司。
6. Tween-20，購於波仕特公司。
7. SDS (Sodium dodecylsulfate)，購於波仕特公司。
8. N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylenediamine，購於波仕特公司。
9. 6X Protein loading dye，購於波仕特公司。
10. Methanol，購於波仕特公司。
11. BioMax Flim，購自 Kodak。
12. 顯影劑，購自 Kodak。
13. 定影劑，購自 Kodak。
14. Protein assay kit (CBG R-250)，購自 Bio-Rad。
15. Protein maker，購自 Femantas。
16. PRO-PREP 蛋白質萃取試藥，購自 iNtRON Biotechnology。
17. ECL kit (Enhanced chemiluminescent kit)，購自伯森生物科技有限公司。

二、方法

(一)概論

小白鼠暴露丹參乙醇萃取物及丹參酮 IIA 五天後，在停止暴露七天後，解剖取肝臟出來，檢測藥物對 GOT、GPT、SOD 和 CAT 的活性和 CAT 含量的影響。在雄性小白鼠 (NMRI mice) 方面，以口服餵食的方式給予丹參酮 IIA (溶於玉米油)，劑量／體重 (0.1 毫升／10 公克)。

高劑量可逆性實驗

小白鼠 18 隻，分為控制組 (玉米油)、丹參乙醇萃取物 1 g/kg 及丹參酮 IIA 200 mg/kg 三組，連續餵食五天，在停止暴露七天後，分別抽血檢測肝功能指數 (GOT、GPT、Bilirubin total/direct)，給予犧牲，並做組織病理切片，確認有無肝損傷，再測定肝臟組織中 SOD、GPx、CAT 的活性和 CAT 含量。

(二)抽血檢測肝功能指數

1. 先秤動物體重，並以腹腔注射肝素 (Heparin, 4000U/kg)，抑制組織中血液凝固。
2. 30 分鐘後再腹腔注射 Chloral Hydrate (350 mg/kg)，之後以 Isoflurane 輔助麻醉，在用力捏鼠尾無反應後，在予以解剖。
3. 打開胸部 (從兩側腋下剪開，並於劍突下橫開)。
4. 從左心房採血，並靜置到血液凝固為止。
5. 以 4000 rpm 離心 10 分鐘。
6. 以 6000 rpm 離心 10 分鐘。

7. 分離血清送往慈濟醫院檢驗科生化組檢驗。

(三)肝組織切片

1. 小白鼠開胸抽血後，經灌注生理食鹽水灌注（perfusion）心室，直到肝臟無血色並秤重，分為兩份保存於-80℃下。
2. 摘取肝臟組織，並取樣約 0.4 公分，長和寬均不超過 1 公分。
3. 然後用 10 % 甲醛固定 12 ~ 24 小時，再脫水，經透明，浸蠟和包埋，然後再切片，切片厚度為 3 ~ 4 μm 。
4. 常規脫臘，H&E 染色，封片，然後在顯微鏡下仔細觀察，有無變化。

(四)肝組織蛋白質抽提

1. 取約 0.4 公克的組織樣品。
2. 加入 100 μL 的蛋白質萃取液（PRPE Buffer）。
3. 以均質機研磨 6 分鐘，每 2 分鐘將檢體放置於冰上降溫。
4. 接著以高速 13200 rpm 低溫離心 10 分鐘，分離出蛋白質濃厚液。
5. 接著以 CBG-250（Bio-Rad kit）在 550nm 波長定量。
6. 分裝保存在 -80 度冰箱等待測定。

(五)GPx 活性分析

1. 將檢體稀釋到適當濃度（30 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ）。
2. 依照 Cayman Chemical 的 Glutathione Peroxidase Assay kit 標準操作流程操作（Catalog NO. 703102）。
3. 配藥

藥品說明	內容物
Assay Buffer	50 mM Tri-HCl, 0.1 mM DTPA, 0.1 mM Hypoxanthine
Sample Buffer	50 mM Tri-HCl

4. 取 200 μL 的 radical dectector 加入 10 μL 的檢體。
5. 在加入 20 μL xanthine oxidase，反應數秒鐘後。
6. 放在震盪器上混合，並作用 20 分鐘。
7. 利用波長 450nm 分析。

(六)CAT 活性與濃度分析

1. 將檢體稀釋到適當濃度（30 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ）。
2. 依照 Cayman Chemical 的 Catalase Assay kit 標準操作流程操作（Catalog No.707002）。
3. 配藥

藥品說明	內容物
Assay Buffer	100 mM Potassium phosphate, pH 7.0
Sample Buffer	25 mM Potassium phosphate, 1 mM EDTA, 0.1% BSA

4. 取 100 μL 的 assay buffer，加入 30 μL 的甲醇和 20 μL 的檢體。
5. 混合均勻後，加入 20 μL hydrogen peroxide，用膜封住 96 孔盤。

6. 在室溫下，震盪混合 20 分鐘。
7. 加入 30 uL 的 potassium hydroxide，再加入 30 uL 的 Purpald。
8. 在室溫下震盪反應 10 分鐘。
9. 再加入 10 uL 的 potassium periodate 反應 5 分鐘。
10. 在 550 nm 下偵測 OD 值。
11. 檢測後 20 分鐘，再測一次 OD 值。

(七)SOD 活性分析

1. 將檢體稀釋到適當濃度 (30 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$)。
2. 依照 Cayman Chemical 的 Superoxide Dismutase Assay kit 標準操作流程操作 (Catalog No. 706002)。
3. 配藥

藥品說明	內容物
Assay Buffer	50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA
Sample Buffer	50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 1 mg/mL BSA

4. 取 100 uL 的 assay buffer，加入 50 uL 的 co-substrate 混合均勻。
5. 再加入 20 uL 的檢體，混合均勻。
6. 再加入 20 uL 的 cumene hydroperoxide 反應數秒。
7. 利用 340 nm 波長分析。
8. 標準檢量線要測定 5 次以上，每次間隔 1 分鐘。

(八)西方墨點法 (Westren Blot)

1. 在酵素活性分析後，取適當的蛋白含量與 sample buffer 等比例混合 (30 $\mu\text{g} / \mu\text{L}$) 進行 SDS-PAGE (配製 12% polyacrylamide gel)。使用 Running buffer (購於 Amresco)。
2. 分離蛋白質 (80 volts, 60 min and 120 volts, 80 min)。將分離後的蛋白質轉漬 (Transfer) 到 PVDF，使用 Bio-Rad 轉漬槽進行轉漬 (400 mA, 150 min)。
3. 轉漬後移至封閉緩衝液 (Blocking solution; 5 %脫脂奶粉溶於 TBS-Tween 20) 中，放置於平面震盪器 (設定 80 rpm)，在室溫下孵育一小時。
4. 然後，用清洗緩衝液 (TBS-Tween 20) 洗三次各十分鐘。將清洗緩衝液倒掉後，加入初級抗體 (primary antibody: anti-Cu/Zn SOD 和 anti-catalase rabbit polyclonal; 以 TTBS 稀釋一千倍) 孵育整晚。
5. 隔日以清洗緩衝液洗三次；再加入二級抗體 (secondary antibody; biotin conjugate anti-rabbit IgG; 以 TTBS 稀釋一萬五千倍)，一小時。
6. 以清洗緩衝液洗三次；加入 ECL 混合液，在暗房進行曝光與洗底片。最後晾乾後，利用光密度計進行定量分析。

參、結果

一、實驗一 (CCMP-97-RD-011)

(一)丹參酮 IIA

1. 採用 NMRI 品系小鼠，公鼠 25~30 gm，週齡為 3 ~ 4 週大，以餵食針灌胃給藥（暴露），小鼠每 10 公克給藥 0.2 mL，每天給藥一次，連續給藥五天，第六天犧牲，抽心臟血液與摘取肝臟組織進行實驗【圖 1-6-1-1】。
2. 本實驗所用血液生化檢驗採用，佛教慈濟綜合醫院花蓮分院醫學檢驗科生化組的 INTEGRA 800 生化檢驗機台，並通過院內與院外品管稽核【圖 1-6-1-2】。
3. 本實驗肝組織病理診斷委託，佛教慈濟綜合醫院花蓮分院病理科專科主治醫師進行判讀【圖 1-6-1-3】。
4. 在血液生化檢驗發現，低劑量的丹參酮 IIA 對於肝功能血清生化檢驗項目（GOT、GPT、Total Bilirubin、Direct Bilirubin）無顯著影響【圖 1-6-1-4】。
5. 在血液生化檢驗發現，高劑量的丹參酮 IIA 對於肝功能血清生化檢驗項目（GOT、GPT、Total Bilirubin、Direct Bilirubin）亦無顯著影響【圖 1-6-1-4】。
6. 再以 Cayman 公司所生產之 SOD、Catalase、GPx 的檢測試藥組分別檢測肝自由基代謝的重要酵素【圖 1-6-1-6】。
7. 然而，我們發現在低劑量的丹參酮 IIA 中，自由基代謝酵素 SOD、GPx 並無顯著的變化、但是 Catalase 有上升【圖 1-6-1-7】。
8. 但是，在高劑量的丹參酮 IIA 中，自由基代謝酵素 SOD、GPx 有顯著的下降，而 Catalase 並無顯著的變化【圖 1-6-1-8】。
9. 最後將肝臟病理切片送往病理科委託專科醫師近進行判讀與診斷，病理科醫師無發現顯著病理變化，但是肝臟竇間隙與細胞體積有變化，依照變化程度不同給予不同分數，藉此評估變化，以 0~1 分視為正常、1~2 分視為輕微的改變、2~3 分視為中度的改變、3 分以上則為具病理意義的變化【圖 1-6-1-9】。
10. 經病理醫師判讀後，發現在低劑量丹參酮 IIA 組部份，不論在竇間隙與細胞體積變化部份，並無顯著的差異【圖 1-6-1-10】。
11. 經病理醫師判讀後，發現在高劑量丹參酮 IIA 組部份，雖然竇間隙有變大，但與控制組比較，並無顯著的差異，而細胞體積變化部份亦無顯著變化【圖 1-6-1-10】。
12. 經病理醫師判讀後，從各組所拍攝的病理切片中，選擇最具代

表性的照片【圖 1-6-1-12】。

13. 依照前期實驗結果，我們發現高劑量的丹參酮 IIA 連續服用五天後，雖然會造成肝自由基代謝酵素 SOD、GPx 有顯著的下降，但是在臨床生化檢驗學上卻沒有顯著變化，且病理診斷後亦無病理性變化。
14. 以上結果於 2009 年第二十四屆生物醫學學術聯合年會以口頭方式報告於毒物學學會（編號 S22）【圖 1-6-1-14】。
15. 因此進行 CCMP-98-RD-102 計劃來釐清高劑量丹參酮 IIA 所造成的 SOD、GPx 顯著下降，是否為一種可逆的變化。

(二) 丹參-酒精抽提物

1. 採用 NMRI 品系小鼠，公鼠 25~30 gm，週齡為 3~4 週大，以餵食針灌胃給藥（暴露），小鼠每 10 公克給藥 0.2 mL，每天給藥一次，連續給藥五天，第六天犧牲，抽心臟血液與摘取肝臟組織進行實驗【圖 1-6-2-1】。
2. 本實驗所用血液生化檢驗採用，佛教慈濟綜合醫院花蓮分院醫學檢驗科生化組的 INTEGRA 800 生化檢驗機台，並通過院內與院外品管稽核【圖 1-6-1-2】。
3. 本實驗肝組織病理診斷委託，佛教慈濟綜合醫院花蓮分院病理科專科主治醫師進行判讀【圖 1-6-1-3】。
4. 在血液生化檢驗發現，低劑量的丹參酒精萃取物對於肝功能血清生化檢驗項目（GOT、GPT）亦無顯著影響【圖 1-6-1-4】。
5. 在血液生化檢驗發現，高劑量的丹參酒精萃取物對於肝功能血清生化檢驗項目 GOT 無顯著影響（p 值為 0.095），但是 GPT 卻有上升，但誤差區間極大（ ± 70.40 IU/dL），以 T 檢定雙尾分析，發現 p 值為 0.095，有些微的差異【圖 1-6-2-4】。
6. 在血液生化檢驗發現，低劑量的丹參酒精萃取物對於肝功能血清生化檢驗項目（Total Bilirubin、Direct Bilirubin），檢測值遠低於正常參考值，故不做統計分析【圖 1-6-2-6】。
7. 在血液生化檢驗發現，高劑量的丹參酒精萃取物對於肝功能血清生化檢驗項目（Total Bilirubin、Direct Bilirubin），檢測值遠低於正常參考值，故不做統計分析【圖 1-6-2-6】。
8. 再以 Cayman 公司所生產之 SOD、Catalase、GPx 的檢測試藥組分別檢測肝自由基代謝的重要酵素【圖 1-6-2-8】。
9. 然而，我們發現在低劑量的丹參酒精萃取物中，自由基代謝酵素 SOD 有些微上升（p 值為 0.058）、但是 GPx（p 值為 0.437）與 Catalase 沒有變化（p 值為 0.665）【圖 1-6-2-9】。

10. 但是，在高劑量的丹參酒精萃取物中，自由基代謝酵素 SOD (p 值為 0.005)、GPx 有顯著的下降(p 值為 0.043)，而 Catalase 並無顯著的變化【圖 1-6-2-10】。
11. 最後將肝臟病理切片送往病理科委託專科醫師近進行判讀與診斷，病理科醫師無發現顯著病理變化，但是肝臟竇間隙與細胞體積有變化，依照變化程度不同給予不同分數，藉此評估變化，以 0~1 分視為正常、1~2 分視為輕微的改變、2~3 分視為中度的改變、3 分以上則為具病理意義的變化【圖 1-6-1-9】
12. 經病理醫師判讀後，發現在低劑量丹參酒精萃取物部份，會造成竇間隙變小與細胞體積變大，雖然有變化但都仍在正常範圍（3 分以下）【圖 1-6-2-12】。
13. 經病理醫師判讀後，發現在丹參酒精萃取物部份，雖然竇間隙與細胞體積有變大，但都仍在正常範圍（3 分以下）【圖 1-6-2-12】。
14. 經病理醫師判讀後，從各組所拍攝的病理切片中，選擇最具代表性的照片【圖 1-6-2-14】。
15. 依照前期實驗結果，我們發現在服用低劑量的丹參酒精萃取物，對於肝功能不會有影響，不論在血液生化檢驗、抗氧化酵素分析與肝組織病理切片，皆無影響。
16. 但在高劑量的丹參酒精萃取物連續服用五天後，雖然會造成肝自由基代謝酵素 SOD、GPx 有明顯的下降，在臨床生化檢驗學上也會造成 GPT 偏高，但仍沒有達到顯著變化，而病理診斷後亦無病理性變化。
17. 以上結果於 2009 年第二十四屆生物醫學學術聯合年會以口頭方式報告於毒物學學會（編號 O57）【圖 1-6-2-17】。
18. 因此進行 CCMP-98-RD-102 計劃來釐清高劑量丹參酒精萃取物所造成的 SOD、GPx 下降與 GPT 偏高，是否為一種可逆的變化。

二、實驗二 丹參酮 IIA（CCMP-98-RD-102）

（一）血清肝功能生化檢驗

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量（200 mg/day）丹參酮 IIA 五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組（Recover group），而直接犧牲的稱之為治療組（Treatment group），並抽血檢測血清中肝功能生化檢驗指標的變化【圖 3-1-1-1】。
2. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT、ALT/GPT，其控制組數據於【表 3-1-1-2】，控制組 AST/GOT 平均為 114.4 ± 78.59 IU/dL，ALT/GPT

平均為 44.4 ± 11.24 IU/dL。

3. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT、ALT/GPT，其實驗組數據於【表 3-1-1-3】，實驗組 AST/GOT 平均為 102.83 ± 16.02 IU/dL，ALT/GPT 平均為 64.17 ± 11.82 IU/dL。
4. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其控制組散點圖見於【圖 3-1-1-4】
5. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其實驗組散點圖見於【圖 3-1-1-5】
6. 實驗二的肝功能 AST 檢驗結果與控制組相比，控制組平均 AST/GOT 為 114.4 ± 78.59 IU/dL，實驗組平均為 102.83 ± 16.2 IU/dL，有顯著差異(p-value 為 0.033)【圖 3-1-1-6】。
7. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其控制組散點圖見於【圖 3-1-1-7】
8. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其實驗組散點圖見於【圖 3-1-1-8】
9. 實驗二的肝功能 ALT 檢驗結果與控制組相比，控制組 ALT/GPT 平均為 44.4 ± 11.24 IU/dL，實驗組平均為 64.17 ± 11.82 IU/dL，無顯著差異(p-value 為 0.059)【圖 3-1-1-9】。
10. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin、Direct-Bilirubin，其控制組數據見於【表 3-1-1-10】
11. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin、Direct-Bilirubin，其實驗組數據見於【表 3-1-1-11】
12. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-1-1-12】
13. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-1-1-13】
14. 實驗二的肝功能 總膽紅素 檢驗結果與控制組相比，檢測結果遠低於正常值，控制組平均為 0.102 ± 0.02 IU/dL，實驗組平均為 0.175 ± 0.06 IU/dL。【圖 3-1-1-14】。
15. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-1-1-15】
16. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-1-1-16】
17. 實驗二的肝功能 直接膽紅素 檢驗結果與控制組相比，檢測結果遠低於正常值，控制組平均為 0 ± 0 IU/dL，實驗組平均為 0 ± 0 IU/dL。【圖 3-1-1-17】。

(二)肝臟組織蛋白中抗氧化酵素的變化

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量丹參酮 IIA (200 mg/day) 五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組(Recover group)，而直接犧牲的稱之為治療組 (Treatment group)【圖 3-1-2-1】，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。
2. 依照試藥組說明書進行檢測肝組織抗氧化酵素的變化【圖 1-6-2-8】。
3. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其數據於【表 3-1-2-3】，控制組平均為 5.99 ± 1.81 (U/mL)，實驗組平均為 5.01 ± 1.06 (U/mL)。
4. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其控制組散點圖見於【圖 3-1-2-4】
5. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其實驗組散點圖見於【圖 3-1-2-5】
6. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 SOD 的結果如【表 3-1-2-6】，控制組 $100 \pm 30.21\%$ ，實驗組 $83.65 \pm 21.21\%$ ，無顯著差異($P=0.32$)。
7. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其數據見於【表 3-1-2-7】，控制組平均 100 ± 8.25 (U/mL)，實驗組平均為 103.61 ± 6.68 (U/mL)。
8. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其控制組散點圖見於【圖 3-1-2-8】
9. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-1-2-9】
10. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 GPx 的結果如【圖 3-1-2-10】，控制組 100 ± 8.25 U/mL，實驗組 103.61 ± 6.68 U/mL，無顯著差異($P=0.119$)。
11. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其數據於【表 3-1-2-11】，控制組平均 123.57 ± 20.68 (μM)，實驗組平均為 151.43 ± 6.91 (μM)。
12. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其控制組散點圖於【圖 3-1-2-12】
13. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其實驗組散點圖於【圖 3-1-2-13】
14. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalases 濃度的結果如【圖 3-1-2-14】，控制組平

- 均 $100 \pm 16.74\%$ ，實驗組平均為 $122.56 \pm 4.57\%$ ，有顯著差異 (p 值 0.046)。
15. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其數據於【表 3-1-2-15】，控制組平均 7.83 ± 1.29 (U/mL)，實驗組平均為 10.65 ± 0.83 (U/mL)。
 16. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其控制組散點圖於【圖 3-1-2-16】
 17. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-1-2-17】
 18. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 活性的結果如【圖 3-1-2-18】，控制組平均 $100 \pm 16.43\%$ ，實驗組平均為 $135.99 \pm 7.79\%$ ，有顯著差異 (p 值 0.002)。
 19. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 SOD 的影響，數據如【表 3-1-2-19】，以比值表示，兩者無顯著差異，p 值為 0.227。
 20. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 GPx 的影響數據如【圖 3-1-2-20】，以比值表示，停藥對 GPx 活性有顯著提升，p 值為 0.022。
 21. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 Catalase 的影響數據如【圖 3-1-2-21】，以比值表示，停藥對 Catalase 活性有顯著提升，p 值為 0.0001。
 22. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 SOD 有影響 (p-value 為 0.2266)，可逆組有些微上升【圖 3-1-2-23】。
 23. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 GPx 有影響 (p-value 為 0.0218)，可逆組有明顯的上升【圖 3-1-2-23】。
 24. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 Catalase 有影響 (p-value 為 0.0001)，可逆組有顯著的上升【圖 3-1-2-23】。
 25. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 SOD 活性能提高 6.46%，與控制組的比值從 0.864 提升到 0.928【圖 3-1-2-25】。
 26. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 GPx 活性能提高 30.74%，與控制組的比值從 0.729 提升到 1.036【圖 3-1-2-25】。
 27. 比較治療組與可逆組的丹參酮 IIA，發現停藥對於 Catalase 活性能提高 37.62%，與控制組的比值從 0.983 提升到 1.359【圖

3-1-2-25】。

(三)肝臟抗氧化酵素的蛋白質表達量

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量 (200 mg/day) 五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組 (Recover group)，而直接犧牲的稱之為治療組 (Treatment group)【圖 3-1-2-1】，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質
2. 分別配置 10% 與 15% 的 SDS-PAGE，10% 膠跑 Catalase，15% 膠跑 SOD，以固定電壓 90 伏特跑 3 小時，固定 400 毫安培低溫轉漬 2 小時半，再以含 5% 脫脂奶粉 TBST 的封閉緩衝液封閉 (Block) 1 小時，接著下 1 抗 (Catalase 1:2000, R&D 與 SOD 1:7500, R&D) 孵育整晚，隔日清洗 3 次後以 Millipore 的二抗 (Goat, 1:15000) 孵育 1 小時後壓片。
3. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-1-3-3】
4. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-1-3-4】
5. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-1-3-5】。
6. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-1-3-6】。
7. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，分析底片估算蛋白質表達情形，發現控制組與丹參酮 IIA 無顯著差異，見表【表 3-1-3-7】。
8. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，發現控制組與丹參酮 IIA 無顯著差異，見圖【圖 3-1-3-8】。

(四)肝臟病理組織切片與診斷。

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量 (200 mg/day) 五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組 (Recover group)，而直接犧牲的稱之為治療組 (Treatment group)【圖 3-1-2-1】，並摘取肝臟，以 10% 中性緩衝福馬林固定組織，並以石蠟包埋，以滑走式切片機縱切向切取組織樣本，每隻小鼠切取樣本 12~18

片，每片組織樣本 0.3 μ m 厚，貼附在含有膠原蛋白的載玻片上。

2. 樣本玻片經 65°C 烘 10 分鐘，以常規 H&E 染色法染片，並由慈濟醫學中心病理科病理專科主治醫師進行判讀與診斷，同樣本每次判讀相隔三天，共判讀三次，已確定樣本診斷的再現性與準確性，病理醫師依照變化程度不同與以給分，0~1 分為無差異，1~2 分為輕微變化，2~3 分為超微變化，3~4 分為顯著變化，4~5 分為輕微病變，5~6 分為顯著病變，並分成五大重點進行判讀，包括竇間隙變大、細胞變大、凋亡、壞死、纖維化。
3. 控制組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-1-4-3】。
4. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-1-4-4】。
5. 控制組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙無異狀（積分 0.5 ± 0.8 ）、細胞大小有輕度變大（積分 1.0 ± 0.6 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-1-4-5】。
6. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙輕度變大（積分 1.3 ± 0.5 ）、細胞大小有輕度變大（積分 1.3 ± 0.4 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-1-4-5】。

三、實驗二 丹參-酒精抽提粗抽物（CCMP-98-RD-102）

（一）血清肝功能生化檢驗

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量（200 mg/day）丹參-酒精抽提粗抽物五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組（Recover group），而直接犧牲的稱之為治療組（Treatment group），並抽血檢測血清中肝功能生化檢驗指標的變化【圖 3-2-1-1】。
2. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT、ALT/GPT，其控制組數據於【表 3-2-1-2】，平均分別為 114.4 ± 78.59 與 44.4 ± 11.24 IU/dL。
3. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT、ALT/GPT，其實驗組數據於【表 3-2-1-3】，平均分別為 68.83 ± 18.06 與 37.33 ± 5.32 IU/dL。
4. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-4】
5. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-5】
6. 比較控制組與實驗組的丹參-酒精抽提粗抽物，其 GOT/AST

的直方圖【圖 3-2-1-6】平均控制組為 98.5 ± 23.97 IU/dL，實驗組 102.83 ± 16.018 IU/dL，無顯著差異。

7. 肝功能血液生化檢驗 GPT/ALT，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-7】
8. 肝功能血液生化檢驗 GPT/ALT，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-8】
9. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，其 GPT/ALT 的控制組數據【表 3-2-1-9】平均控制組為 44.4 ± 11.24 IU/dL，實驗組 64.17 ± 11.82 IU/dL，無顯著差異。
10. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin、Direct-Bilirubin，其控制組數據於【表 3-2-1-10】平均為 0.11 ± 0.102 mg/mL， 0 ± 0 mg/mL。
11. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin、Direct-Bilirubin，其實驗組數據於【表 3-2-1-11】平均為 0.14 ± 0.04 mg/mL， 0.02 ± 0.02 mg/mL。
12. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-12】
13. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-13】
14. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 Total-Bilirubin 沒有影響【圖 3-2-1-14】，因為檢驗數據遠低於正常值。
15. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-15】
16. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其實驗組散點圖於【圖 3-2-1-16】
17. 比較控制組與實驗組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 Direct-Bilirubin 無影響【圖 3-2-1-17】，因為檢驗數據遠低於正常值。

(二)肝臟組織蛋白中抗氧化酵素的變化

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量（1 g/day）丹參-酒精抽提粗抽物五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組（Recover group），而直接犧牲的稱之為治療組（Treatment group）【圖 3-2-1-1】，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。
2. 依照試藥組說明書進行檢測肝組織抗氧化酵素的變化【圖 1-6-2-8】。

3. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其控制組散點圖於【圖 3-2-2-3】
4. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-2-2-4】
5. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 SOD 的結果如【圖 3-2-2-5】控制組 $100 \pm 30.21\%$ ，實驗組 $92.84 \pm 14.43\%$ ，無顯著差異 p 值 0.615。
6. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其控制組散點圖於【圖 3-2-2-6】
7. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-2-2-7】
8. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 GPx 的結果如【圖 3-2-2-8】控制組 $100 \pm 8.25\%$ ，實驗組 $107.07 \pm 5.13\%$ ，有顯著上升 p 值 0.022。
9. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其控制組散點圖於【圖 3-2-2-9】
10. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其實驗組散點圖於【圖 3-2-2-10】
11. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 濃度的結果如【圖 3-2-2-11】，控制組為 $100 \pm 16.74\%$ ，實驗組 $120.43 \pm 6.90\%$ ，有顯著上升，p 值 0.032。
12. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其控制組散點圖於【圖 3-2-2-12】
13. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-2-2-13】
14. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 活性的結果如【圖 3-2-2-14】，控制組為 $100 \pm 16.43\%$ ，實驗組 $120.65 \pm 11.38\%$ ，無顯著差異，p 值 0.114。
15. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 SOD 有影響(p-value 為 0.0487)，可逆組有明顯上升【圖 3-2-2-15】。
16. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 GPx 有影響(p-value 為 0.0062)，可逆組有明顯的上升【圖 3-2-2-16】。
17. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 Catalase 有影響(p-value 為 0.0210)，可逆組有顯著的上升【圖

3-2-2-17】。

18. 比較治療組與可逆組各抗氧化酵素活性，結果如【圖 3-2-2-18】，發現停藥確實能夠讓抗氧化酵素有效回升。
19. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 SOD 活性能提高 18.55 %，與控制組的比值從 0.651 提升到 0.836【圖 3-2-2-19】。
20. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 GPx 活性能提高 37.02 %，與控制組的比值從 0.700 提升到 1.071【圖 3-2-2-19】。
21. 比較治療組與可逆組的丹參-酒精抽提粗抽物，發現停藥對於 Catalase 活性能提高 22.74 %，與控制組的比值從 0.979 提升到 1.206【圖 3-2-2-19】。

(三)肝臟抗氧化酵素的蛋白質表達量

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量 (1 g/day) 五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組 (Recover group)，而直接犧牲的稱之為治療組 (Treatment group)【圖 3-1-2-1】，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。
2. 分別配置 10% 與 15% 的 SDS-PAGE，10% 膠跑 Catalase，15% 膠跑 SOD，以固定電壓 90 伏特跑 3 小時，固定 400 毫安培低溫轉漬 2 小時半，再以含 5% 脫脂奶粉 TBST 的封閉緩衝液封閉 (Block) 1 小時，接著下 1 抗 (Catalase 1:2000, R&D 與 SOD 1:7500, R&D) 孵育整晚，隔日清洗 3 次後以 Millipore 的二抗 (Goat, 1:15000) 孵育 1 小時後壓片。
3. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-2-3-3】
4. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-2-3-4】
5. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-2-3-5】。
6. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-2-3-6】。
7. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，分析底片估算蛋白質表達情形，發現控制組

與丹參酮 IIA 無顯著差異，見表【表 3-2-3-7】。

8. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-2-3-8】。

(四)肝臟病理組織切片與診斷。

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量(1 g/day)五天，並停止暴露七天，在第十三天犧牲，以下稱之為可逆組 (Recover group)，而直接犧牲的稱之為治療組 (Treatment group)【圖 3-1-2-1】，並摘取肝臟，以 10% 中性緩衝福馬林固定組織，並以石蠟包埋，以滑走式切片機縱切向切取組織樣本，每隻小鼠切取樣本 12~18 片，每片組織樣本 0.3μm 厚，貼附在含有膠原蛋白的載玻片上。
2. 樣本經 65℃ 烘 10 分鐘，以常規 H&E 染色法染片，並由慈濟醫學中心病理科病理專科主治醫師進行判讀與診斷，同樣本每次判讀相隔三天，共判讀三次，已確定樣本診斷的再現性與準確性，依照變化程度不同與以給分，0~1 分為無差異，1~2 分為輕微變化，2~3 分為超微變化，3~4 分為顯著變化，4~5 分為輕微病變，5~6 分為顯著病變，並分成五大重點進行判讀，包括竇間隙變大、細胞變大、凋亡、壞死、纖維化。
3. 控制組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-2-4-3】。
4. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-2-4-4】。
5. 控制組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙異狀（積分 0.5 ± 0.8 ）、細胞大小有輕度變大（積分 1.0 ± 0.6 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-2-4-5】。
6. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙無變化（積分 0.8 ± 0.8 ）、細胞大小有輕度變大（積分 1.2 ± 0.4 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-2-4-5】。沒有病理學上的病理變化。

四、實驗三 丹參酮 IIA (CCMP-98-RD-102)

(一)血清肝功能生化檢驗

1. 每週五天，連續給丹參酮 IIA (200 mg/kg/day) 八週，並停止服藥四週後犧牲，並抽血檢測血清中肝功能生化檢驗指標的變化【圖 3-3-1-1】。
2. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其數據於【表 3-1-3-2】控制

組平均為 102.67 ± 31.05 IU/dL，實驗組 129.11 ± 91.76 IU/dL，無顯著差異，p 值 0.360。

3. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其控制組散點圖於【圖 3-3-1-3】
4. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其實驗組散點圖見於【圖 3-3-1-4】
5. 肝功能 AST 檢驗結果與控制組相比，無顯著差異(p-value 為 0.3598)【圖 3-3-1-5】
6. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其數據見於【表 3-3-1-6】控制組平均為 60.56 ± 21.58 IU/dL，實驗組平均為 94.89 ± 77.02 IU/dL，無顯著差異，p 值 0.347。
7. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其控制組散點圖於【圖 3-3-1-7】
8. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其實驗組散點圖於【圖 3-3-1-8】
9. 肝功能 ALT 檢驗結果與控制組相比，無顯著差異(p-value 為 0.3471)。「圖 3-3-1-9」。
10. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其數據於【表 3-3-1-10】控制組平均為 0.10 ± 0.06 mg/mL，實驗組平均為 0.07 ± 0.04 mg/mL。
11. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-3-1-11】
12. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-3-1-12】
13. 肝功能 總膽紅素 檢驗結果與控制組相比，檢測結果遠低於正常值。「圖 3-3-1-13」。
14. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其數據於【表 3-3-1-14】控制組平均為 0.02 ± 0.017 mg/mL，實驗組平均為 0.009 ± 0.009 mg/mL。
15. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-3-1-15】
16. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-3-1-16】
17. 肝功能 直接膽紅素 檢驗結果與控制組相比，檢測結果遠低於正常值。「圖 3-3-1-17」。

(二)肝臟組織蛋白中抗氧化酵素的變化

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量 (200 mg/day) 每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲【圖 3-3-1-1】，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。

2. 依照試藥組說明書進行檢測肝組織抗氧化酵素的變化【圖 1-6-2-8】。
3. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其數據於【表 3-3-2-3】控制組平均為 7.24 ± 2.71 ，實驗組平均為 7.80 ± 0.94 ，無顯著差異，p 值 0.601。
4. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其控制組散點圖於【圖 3-3-2-4】
5. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-3-2-5】
6. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 SOD 的結果如【圖 3-3-2-6】，無顯著差異。
7. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其數據於【表 3-3-2-7】控制組平均為 62.56 ± 29.00 U/dL，實驗組平均為 121.77 ± 60.93 U/dL。
8. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其控制組散點圖於【圖 3-3-2-8】
9. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-3-2-9】
10. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 GPx 的結果如【圖 3-3-2-10】，實驗組有顯著上升，p 值 0.007。
11. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其數據於【表 3-3-2-11】控制組平均為 205.18 ± 24.25 μM ，實驗組平均為 $224.67 \pm 22.68 \mu\text{M}$ 。
12. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其控制組散點圖於【圖 3-3-2-12】
13. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其實驗組散點圖於【圖 3-3-2-13】
14. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 GPx 的結果如【圖 3-3-2-14】，實驗組有顯著上升，p 值為 0.042。
15. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其數據於【表 3-3-2-15】控制組平均為 275.49 ± 34.44 U/dL，實驗組 296.72 ± 31.25 U/dL。
16. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其控制組散點圖於【圖 3-3-2-16】
17. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-3-2-17】

18. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 的結果如【圖 3-3-2-18】，p 值為 0.114，無顯著變化。
19. 比較實驗一二三的丹參酮 IIA，其 SOD 的影響數據如【圖 3-3-2-19】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.88，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 0.84，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.08。表示短期給藥，會降低 SOD 的活性，但長期給藥後，休息四週就會回復正常。
20. 比較實驗一二三的丹參酮 IIA，其 GPx 的影響數據如【圖 3-3-2-20】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.70，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.036，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.946。表示短期給藥，會降低 GPx 的活性，但停藥七天後就恢復正常，長期給藥後，休息四週可大幅提高 GPx 的活性。
21. 比較實驗一二三的丹參酮 IIA，其 Catalase 活性的影響數據如【圖 3-3-2-21】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.984，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.226，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.087。表示短期給藥，會降低 Catalase 的活性，但停藥七天後就恢復正常而且提高，長期給藥後，休息四週就恢復正常 Catalase 的活性。
22. 比較實驗一二三的丹參酮 IIA，其 Catalase 濃度的影響數據如【圖 3-3-2-22】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.984，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.360，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.072。表示短期給藥，會降低 Catalase 的濃度，但停藥七天後就恢復正常而且提高，長期給藥後，休息四週就恢復正常 Catalase 的濃度。

(三)肝臟抗氧化酵素的蛋白質表達量

1. 讓 NMRI 小鼠每週五天，連續給丹參酮 IIA（200 mg/kg/day）八週，並停止服藥四週後犧牲，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。
2. 分別配置 10%與 15%的 SDS-PAGE，10%膠跑 Catalase，15%膠跑 SOD，以固定電壓 90 伏特跑 3 小時，固定 400 毫安培低溫轉漬 2 小時半，再以含 5% 脫脂奶粉 TBST 的封閉緩衝液封閉（Block）1 小時，接著下 1 抗（Catalase 1:2000, R&D 與 SOD

- 1:7500, R&D) 孵育整晚，隔日清洗 3 次後以 Millipore 的二抗 (Goat, 1:15000) 孵育 1 小時後壓片。
3. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-3-3-3】
 4. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-3-3-4】
 5. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-3-3-5】。
 6. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-3-3-6】。
 7. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，分析底片估算蛋白質表達情形，發現控制組與丹參酮 IIA 無顯著差異，見表【表 3-3-3-7】。
 8. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見表【表 3-3-3-8】。

(四) 肝臟病理組織切片與診斷。

1. 讓 NMRI 小鼠每週五天，連續給丹參酮 IIA (200 mg/kg/day) 八週，並停止服藥四週後犧牲，並摘取肝臟，以 10% 中性緩衝福馬林固定組織，並以石蠟包埋，以滑走式切片機縱切向切取組織樣本，每隻小鼠切取樣本 12~18 片，每片組織樣本 0.3μm 厚，貼附在含有膠原蛋白的載玻片上。
2. 樣本玻片經 65°C 烘 10 分鐘，以常規 H&E 染色法染片，並由慈濟醫學中心病理科病理專科主治醫師進行判讀與診斷，同樣本每次判讀相隔三天，共判讀三次，已確定樣本診斷的再現性與準確性，病理醫師依照變化程度不同與以給分，0~1 分為無差異，1~2 分為輕微變化，2~3 分為超微變化，3~4 分為顯著變化，4~5 分為輕微病變，5~6 分為顯著病變，並分成五大重點進行判讀，包括竇間隙變大、細胞變大、凋亡、壞死、纖維化。
3. 控制組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-3-4-3】。
4. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-3-4-4】。

5. 控制組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙異狀（積分 0.2 ± 0.4 ）、細胞大小有輕度變大（積分 0.7 ± 0.7 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-3-4-5】。
6. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙無變化（積分 0.6 ± 0.5 ）、細胞大小有輕度變大（積分 0.8 ± 0.8 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-3-4-5】。沒有病理學上的病理變化。

五、實驗三 丹參抽提粗抽物（CCMP-98-RD-102）

（一）血清肝功能生化檢驗

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在高劑量（ 1g/kg/day ）丹參每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲，並抽血檢測血清中肝功能生化檢驗指標的變化【圖 3-4-1-1】。
2. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其數據於【表 3-4-1-2】平均控制組為 102.67 ± 31.05 U/dL，實驗組為 66.33 ± 21.23 U/dL。
3. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其控制組散點圖於【圖 3-4-1-3】
4. 肝功能血液生化檢驗 AST/GOT，其實驗組散點圖於【圖 3-4-1-4】
5. 肝功能 AST 檢驗結果，實驗組與控制組相比，實驗組有顯著下降（ $p\text{-value} = 0.013$ ）【圖 3-4-1-5】
6. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其數據於【表 3-4-1-6】，控制組平均為 60.56 ± 21.58 U/dL，實驗組平均為 36.56 ± 8.11 U/dL。
7. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其控制組散點圖見於【圖 3-4-1-7】
8. 肝功能血液生化檢驗 ALT/GPT，其實驗組散點圖於【圖 3-4-1-8】
9. 肝功能 ALT 檢驗結果，實驗組與控制組相比，無顯著下降（ $p\text{-value}$ 為 0.0779）【圖 3-4-1-9】。
10. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其數據於【表 3-4-1-10】控制組平均為 0.10 ± 0.06 mg/mL，實驗組平均為 0.11 ± 0.05 mg/mL。
11. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-4-1-11】
12. 肝功能血液生化檢驗 Total-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-4-1-12】
13. 肝功能 總膽紅素檢驗結果，實驗組與控制組相比，檢測結果遠低於正常值。【圖 3-4-1-13】。
14. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其數據於【表 3-4-1-14】，

控制組平均為 0.02 ± 0.017 mg/mL，實驗組平均為 0.022 ± 0.015 mg/mL。

15. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其控制組散點圖見於【圖 3-4-1-15】

16. 肝功能血液生化檢驗 Direct-Bilirubin，其實驗組散點圖見於【圖 3-4-1-16】

17. 肝功能 直接膽紅素 檢驗結果，實驗組與控制組相比，檢測結果遠低於正常值。【圖 3-4-1-17】。

(二) 肝臟組織蛋白中抗氧化酵素的變化

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在丹參酒萃物高劑量 (1g/kg/day) 丹參每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質【圖 3-4-1-1】。

2. 依照試藥組說明書進行檢測肝組織抗氧化酵素的變化【圖 1-6-2-8】。

3. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其數據於【表 3-4-2-3】控制組平均為 7.24 ± 2.71 U/mL，實驗組平均為 7.8 ± 0.94 U/mL。

4. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其控制組散點圖見於【圖 3-4-2-4】

5. 肝組織抗氧化酵素分析 SOD 活性，其實驗組散點圖見於【圖 3-4-2-5】

6. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 SOD 的結果如【圖 3-4-2-6】，控制組與實驗組比較，沒有顯著差異，p 值為 0.893。

7. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其數據於【表 3-4-2-7】，控制組平均為 62.56 ± 29.00 nmol/min/mL，實驗組平均為 66.23 ± 17.59 nmol/min/mL。

8. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其控制組散點圖於【圖 3-4-2-8】

9. 肝組織抗氧化酵素分析 GPx 活性，其實驗組散點圖於【圖 3-4-2-9】

10. 將肝組織均漿後檢測，得到數據，實驗組與控制組比較，並換算成比值，抗氧化酵素 GPx 的結果如【圖 3-4-2-10】，無顯著差異，p 值為 0.768。

11. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其數據於【表 3-4-2-11】，控制組平均為 205.18 ± 24.25 μM ，實驗組平均為 219.46 ± 19.26 μM 。

12. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其控制組散點圖見於【圖 3-4-2-12】
13. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 濃度，其實驗組散點圖見於【圖 3-4-2-13】
14. 將肝組織均漿後檢測，得到數據與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 濃度的結果如【圖 3-4-2-14】，實驗組有顯著上升，p 值為 0.015。
15. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其數據於【表 3-4-2-15】平均控制組為 275.49 ± 34.44 nmol/min/mL 實驗組為 286.01 ± 27.94 nmol/min/mL。
16. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其控制組散點圖見於【圖 3-4-2-16】
17. 肝組織抗氧化酵素分析 Catalase 活性，其實驗組散點圖見於【圖 3-4-2-17】
18. 將肝組織均漿後檢測，得到數據。實驗組與控制組比較並換算成比值，抗氧化酵素 Catalase 活性的結果如【圖 3-4-2-18】，並無顯著變化。
19. 比較實驗一二三的丹參酒萃物高劑量（1g/kg/day），其 SOD 的影響數據如【圖 3-4-2-19】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.701，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 0.928，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.018。
20. 比較實驗一二三的丹參酒萃物高劑量（1g/kg/day），其 GPx 的影響數據如【圖 3-4-2-20】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.728，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.071，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.059。
21. 比較實驗一二三的丹參酒萃物高劑量（1g/kg/day），其 Catalase 濃度的影響數據如【圖 3-4-2-21】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.979，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.204，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.128。
22. 比較實驗一二三的丹參酒萃物高劑量（1g/kg/day），其 Catalase 活性的影響數據如【圖 3-4-2-22】，與控制組比較後，實驗一（短期給藥結束馬上犧牲）為 0.979，實驗二（短期給藥結束停藥休息後犧牲）為 1.206，實驗三（長期給藥結束停藥休息後犧

牲) 為 1.107。

(三) 肝臟抗氧化酵素的蛋白質表達量

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在丹參酒萃物高劑量 (1g/kg/day) 丹參每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲，並摘取肝臟，將組織研磨成漿，並抽提總蛋白質。
2. 分別配置 10% 與 15% 的 SDS-PAGE，10% 膠跑 Catalase，15% 膠跑 SOD，以固定電壓 90 伏特跑 3 小時，固定 400 毫安培低溫轉漬 2 小時半，再以含 5% 脫脂奶粉 TBST 的封閉緩衝液封閉 (Block) 1 小時，接著下 1 抗 (Catalase 1:2000, R&D 與 SOD 1:7500, R&D) 孵育整晚，隔日清洗 3 次後以 Millipore 的二抗 (Goat, 1:15000) 孵育 1 小時後壓片。
3. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-4-3-3】
4. 控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-4-3-4】
5. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組、丹參酒萃物高劑量 (1g/kg/day) 與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，見圖【圖 3-4-3-5】。
6. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組、丹參酒萃物高劑量 (1g/kg/day) 與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見圖【圖 3-4-3-6】。
7. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 SOD 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 SOD 蛋白質表達，分析底片估算蛋白質表達情形，發現控制組與丹參酮 IIA 無顯著差異，見表【表 3-4-3-7】。
8. 將各組中的每隻小鼠取等量肝組織，混合均勻後定量，以西方墨點法觀察 Catalase 的表達控制組與丹參酮 IIA 每隻小鼠的肝組織 Catalase 蛋白質表達，見表【表 3-4-3-8】。

(四) 肝臟病理組織切片與診斷。

1. 讓 NMRI 小鼠暴露在丹參酒萃物高劑量 (1g/kg/day) 丹參每週五天，連續給藥八週，並停止服藥四週後犧牲，並摘取肝臟，以 10% 中性緩衝福馬林固定組織，並以石蠟包埋，以滑走式切片機縱切向切取組織樣本，每隻小鼠切取樣本 12~18 片，每片組織樣本 0.3μm 厚，貼附在含有膠原蛋白的載玻片上。

2. 樣本玻片經 65°C 烘 10 分鐘，以常規 H&E 染色法染片，並由慈濟醫學中心病理科病理專科主治醫師進行判讀與診斷，同樣本每次判讀相隔三天，共判讀三次，已確定樣本診斷的再現性與準確性，病理醫師依照變化程度不同與以給分，0~1 分為無差異，1~2 分為輕微變化，2~3 分為超微變化，3~4 分為顯著變化，4~5 分為輕微病變，5~6 分為顯著病變，並分成五大重點進行判讀，包括竇間隙變大、細胞變大、凋亡、壞死、纖維化。
3. 控制組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-4-4-3】。
4. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，分以 100 倍（左）與 200 倍（右）選取最具代表的切片樣本拍照，見圖【圖 3-4-4-4】。
5. 控制組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙異狀（積分 0.2 ± 0.4 ）、細胞大小有輕度變大（積分 0.7 ± 0.7 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-4-4-5】。
6. 丹參酮 IIA 組病理切片樣本，經病理專科主治醫師診斷，竇間隙無變化（積分 0.6 ± 0.5 ）、細胞大小有輕度變大（積分 0.8 ± 0.8 ）、無凋亡發生（積分 0）、無壞死發生（積分 0）、無纖維化發生（積分 0），見表【表 3-4-4-6】。

肆、討論

從中醫傳統理論，丹參入肝、心二經，有活血化瘀，寬胸止痛的功效，臨床用在心臟冠狀動脈疾病、心絞痛、心肌梗塞及急、慢性肝炎。另有一味丹參，功同四物之說，也用在婦科痛經疾病。丹參酮ⅡA 是丹參的成份之一，在先前實驗結果顯示有抗癌作用，但尚未在臨床應用。為日後臨床試驗作準備，進行動物實驗，確認有無肝毒性及對抗氧化酶的影響，本實驗結果顯示丹參酒萃物及丹參酮ⅡA 無論短期(五天)使用或長期(八週)使用，皆不會造成肝臟在病理學上的病理變化。對抗氧化酶(SOD、CAT 和 GPx)的影響方面，丹參酒萃物在短期(五天)使用，雖會稍微降低抗氧化酶的活性，但停用七天後抗氧化酶(GPx、CAT)的活性就恢復正常且稍微提高，只有抗氧化酶(SOD)的活性稍微降低，而長期(八週)使用後停藥四週抗氧化酶(SOD)的活性就恢復正常水準且稍微提高抗氧化酶(GPx、CAT)的活性。丹參酮ⅡA 在短期(五天)使用，雖會稍微降低抗氧化酶的活性，但停用七天後抗氧化酶(GPx)的活性就恢復正常，甚至提升抗氧化酶(CAT)的活性，而長期(八週)使用後停藥四週抗氧化酶的活性就恢復正常水準且稍微提高(SOD、CAT)，甚至可大幅提升抗氧化酶(GPx)的活性。

伍、結論與建議

一、結論

實驗結果，顯示丹參酒萃物及丹參酮ⅡA 在動物體內確認不會造成肝臟實質病理變化，也沒有造成肝指數(GOT、GPT、Bilirubin Total and Direct)的異常，且長期(八週)使用後，停藥四週，抗氧化酶的活性就恢復正常水準或稍微提高(SOD、CAT)，丹參酮ⅡA 甚至可大幅提升抗氧化酶(GPx)的活性。本實驗結果，顯示服用劑量丹參體重每公斤 89.9 公克，丹參酮ⅡA 每公斤 2 公克不會有肝毒性，遠超過臨床使用劑量。丹參酒萃物及丹參酮ⅡA 在動物體內都沒有造成肝毒性，印證傳統中醫的理論，所以傳統中醫將丹參列在上品藥，應是古代醫家臨床長期使用的觀察心得。

二、建議

傳統中醫藥的理論，必須藉由現代分子醫學及生物科技的理論及方法來幫忙驗證，如此在中醫藥的推廣及運用方面，才能更有說服力。能在固有中醫藥的基礎上，開發及創新中醫藥的新紀元。

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CCMP98-RD-102 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. 郭濟賢, 丹參的研究與臨床應用, 北京; 中國醫藥科技出版社, 1992, 37-106.
2. 楊春欣, 丹參素的藥理研究發展, *中國藥理學通報*, 1997, 13(4); 298.
3. Wu WL, Chang WL, Chen CF Cytotoxic activities of Tanshinones against human carcinoma cell lines. *Am J Chin Med*, 1991; 19(3-4); 207-16
4. Tang Zm Tang Y, Fu L, Growth inhibition and apoptosis induction in human hepatoma cell by Tanshinone IIA. *J Huazhong Univ Sci Technology Med Sci*. 2003; 23(2): 166-8, 172.
5. Yuan SL, Wei YQ, Wang XJ, Xieo F, Li SF, Zhang J. Growth inhibition and apoptosis induction of Tanshinone IIA on human hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol*. 2004Jul 15;10(14)2024-8
6. Zhang P, Pei Y, Qi Y. Influence of blood activating drugs on adhesion and invasion of cells in lung cancer patients. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 1999 Feb; 19(2)103-5
7. Liu MZ, Huang YS, Xiao WQ. NO promoting effects of sodium Tanshinone IIA sulfonate on growth and metastasis of Lewis carcinoma. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*. 1991 Nov ;12(6):534-7
8. Wang X, Wei Y. Yuan S, et al., Potential anticancer activity of Tanshinone IIA against human breast cancer *Int J Cancer*. 2005 Sep 20;116(5):799-807.
9. Yang LJ, Jeng CJ, Kung HN, Cheng CC, et al., Tanshinone IIA isolated from *Salvia miltiorrhiza* elicits the cell death of human endothelial cells. *J Biomed Sci*. 2005 Feb;30(3):207-11
10. Song Y, Yuan SL, Yang YM, et al., Alteration of activities of telomerase in Tanshinone IIA inducing apoptosis of the leukemia cells. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2005 Feb; 30(3):207-11
11. Hu H, Zhang Y, Huanhg F, Deng H. Inhibiton of proferation induction of apoptosis by Tanshinone IIA in NCI-H460 cell. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2005 Apr; 28(4):301-4
12. Yuan SL, Wei YQ, Wang XJ, et al., Growth inhibition and apoptosis induction of Tanshinone IIA on human hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol*. 2004 Jul 15;10(14): 2024-8
13. Yuan S, Wang Y, Chen X, et al., A study on apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cell line induced by Tanshinone IIA and its molecular mechanism. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2002 Jan; 33(1):84-6, 90

14. Liang X, Yang Y, Deng C et al., The variation of caspase 3 activity in Tanshinone induced NB4 cells apoptosis *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2003 Jul; 34(3): 549-51.
15. Tang ZZ, Tang Ym Fu LB., Effect of Tanshinone IIA in the growth behavior of human hepatoma cell line BEL-7402 in vitro and its mechanism *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. 2003. Jun; 23(6): 595-7,601.
16. Chin-Cheng Su, Guang-wei Chen, Jaung-geng Lin, et al. Curcumin inhibits cell migration of human colon cancer colo 205 cells through inhibition of nuclear factor kappa B/p65 and Down-regulate cyclooxygenase-2 and MMP-2 expression. *Anticancer research*. 2006;26:1281-1288.
17. Sies, H., Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med*. 91: 31-8s, 1991.
18. Thomas, C.E., Introduction: free radicals and human disease-trick or treat? *Oxygen Radicals and the Disease Process* 1-14, 1997.
19. Baskin, S.I., Analysis of free radicals, products and antioxidants. *Oxidants, Antioxidants and Free Radicals* 23-77, 1997.
20. Baskin, S.I., Antioxidant System Response to Stress. *Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals* 125-41, 1997.
21. David Josephy, P., Superoxide and Superoxide Dismutase. *Molecular Toxicology* 54-80, 1997.
22. David Josephy, P., Hydrogen Peroxide, Catalase and Peroxidases. *Molecular Toxicology* 81-9, 1997.

柒、圖、表

圖 1-6-1-1

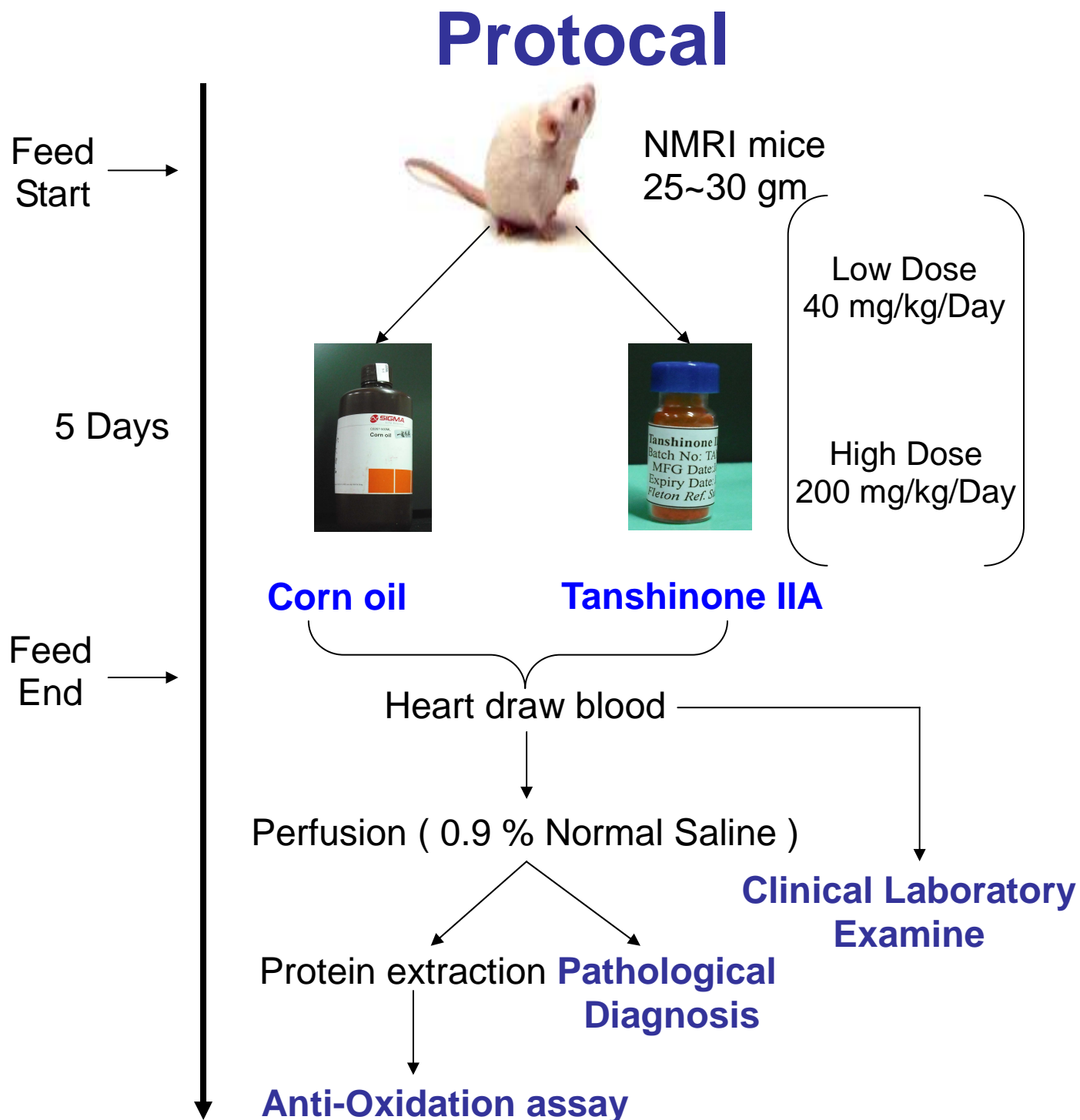


圖 1-6-1-2

Clinical Laboratory Examine 慈濟綜合醫院 醫學檢驗科



檢驗單位: 慈濟綜合醫院 分析方法: Tris buffer & pyridoxal-S

檢驗單位代碼: F002 試劑代碼: 300

檢驗項目: ALT (GPT) (U/L) 儀器代碼: 230

檢體編號	測定值	SDI*	可接受範圍	評估結果
1	73	-0.9	63-95	O.K.
2	28	-0.8	25-37	O.K.
3	68	-0.7	58-88	O.K.

RTF method spec for ALT



圖 1-6-1-3

Pathological Diagnosis

慈濟綜合醫院 病理科

專 長

- 病理切片診斷
- 子宮頸抹片及非婦科細胞學判讀

Histopathology

Cytopathology

Immunohistochemical interpretation

現 職

- 病理科主治醫師
- 部定講師(病理學)

圖 1-6-1-4

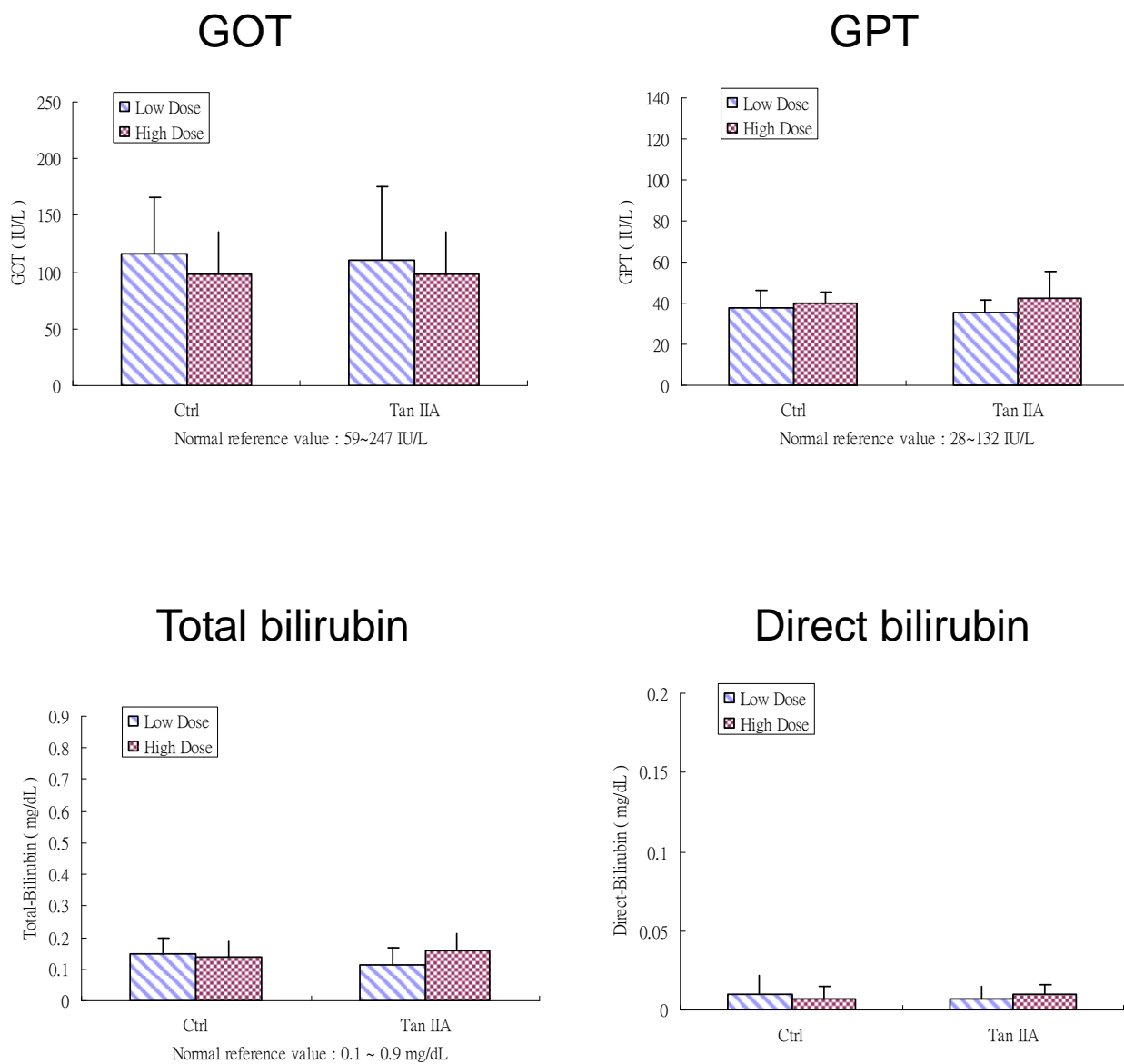
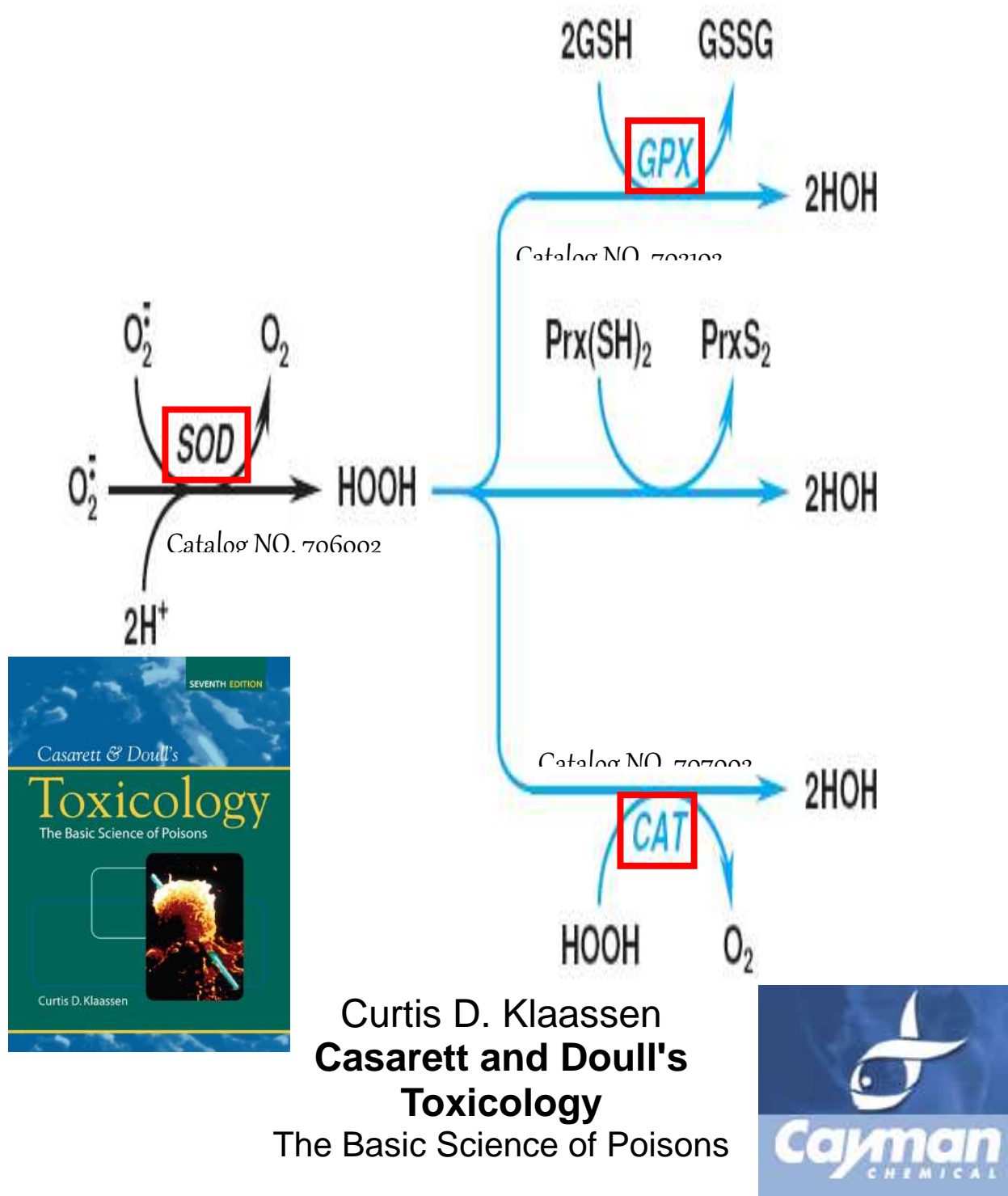


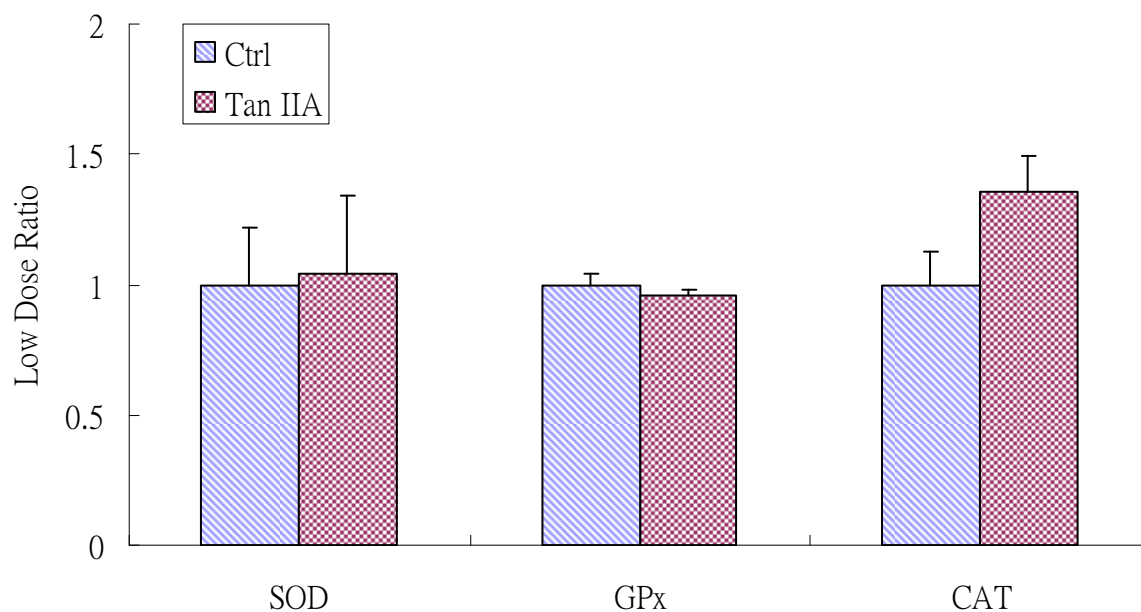
圖 1-6-1-6

Anti-Oxidation assay



Curtis D. Klaassen
**Casarett and Doull's
 Toxicology**
 The Basic Science of Poisons
 2008; 7th Ed, Figure 3-5,p54

圖 1-6-1-7

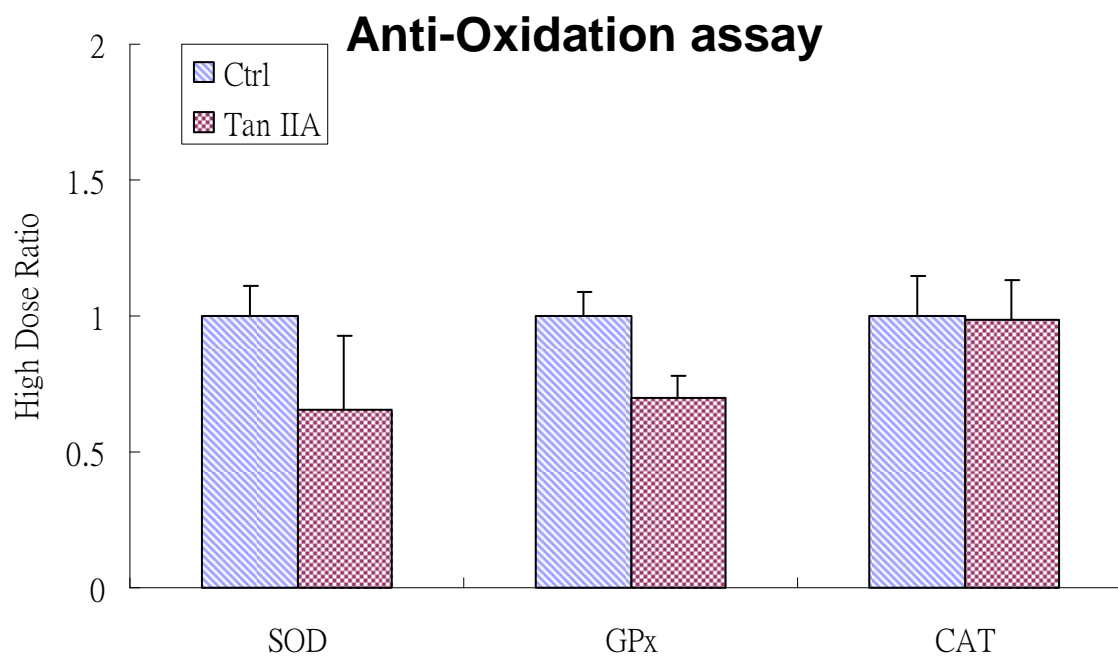


SOD : Superoxide dismutase

GPx : Glutathione peroxidase

CAT : Catalase

圖 1-6-1-8



SOD : Superoxide dismutase

GPx : Glutathione peroxidase

CAT : Catalase

圖 1-6-1-9

Pathological Diagnosis

Pathology Score	
0 ~ 1	Normal
1 ~ 2	Slight Change
2 ~ 3	Moderate Change
3 ~ 4	Pathological Slight Change
4 ~ 5	Pathological Change

圖 1-6-1-10

Pathology Score			
0 ~ 1	Normal	2 ~ 3	Moderate change
1 ~ 2	Slight change	3 ~ 4	Pathological Slight change

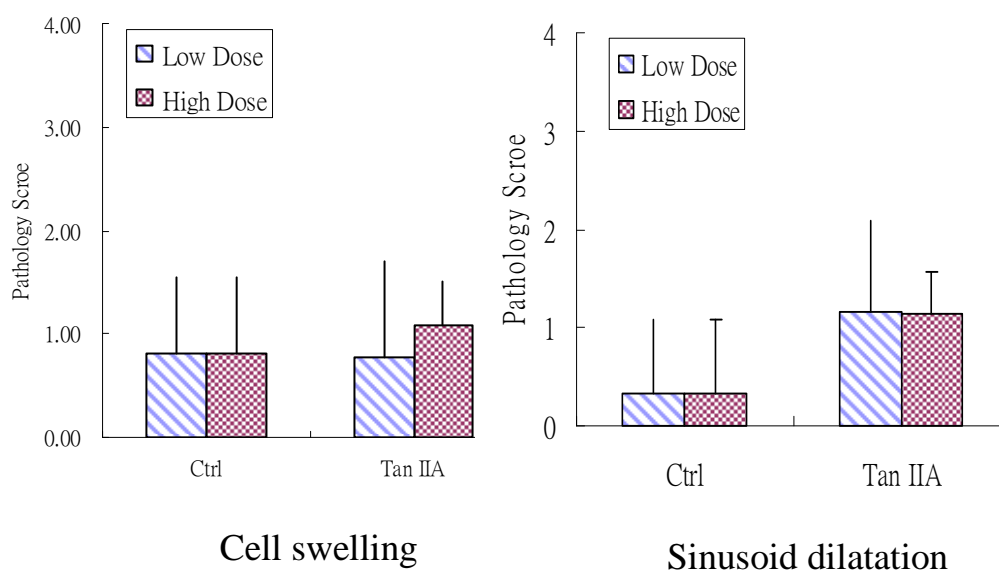
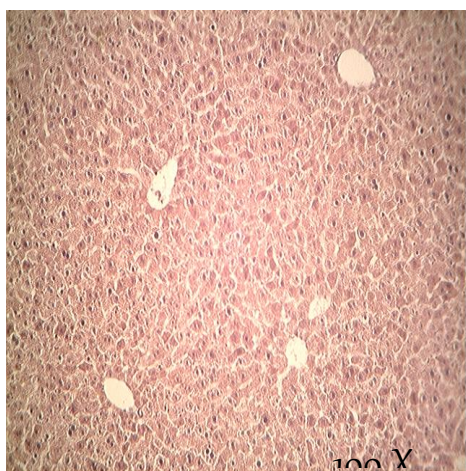


圖 1-6-1-12

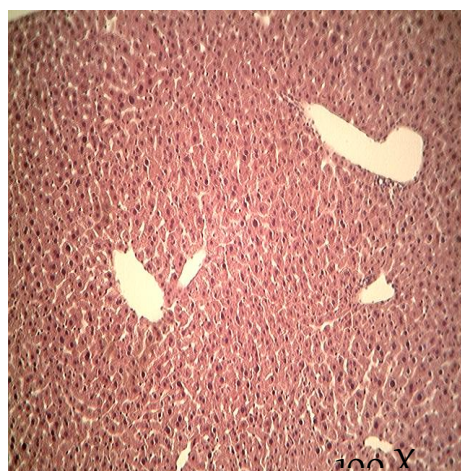
Pathological Diagnosis



Control
Corn oil



Low dose
Tan IIA
(40 mg/kg/day)



High dose
Tan IIA
(200 mg/kg/day)

圖 1-6-1-14

第二十四屆生物醫學聯合學術年會
中華民國毒物學學會口頭論文比賽 (I, II)

時 間：98年3月21日(週六) 13：30 ~ 16：45

地 點：三樓，34教室

主持人：台灣大學醫學院 毒理學研究所	康熙洲 教授
主持人：慈濟大學藥理暨毒理學研究所	陳慧誠 教授
主持人：國立陽明大學醫學院藥理研究所	戚謹文 教授

S22 16:25 To Evaluate the Hepatic Toxicity of Tanshinone IIA in Vivo
¹財團法人佛教慈濟綜合醫院, ²慈濟大學, ³慈濟大學毒理所
潘鳳儀^{2*}, 林意翔³, 蕭琦諭², 黃靖軒², 蘇進成^{1,2,3#}

圖 1-6-2-1

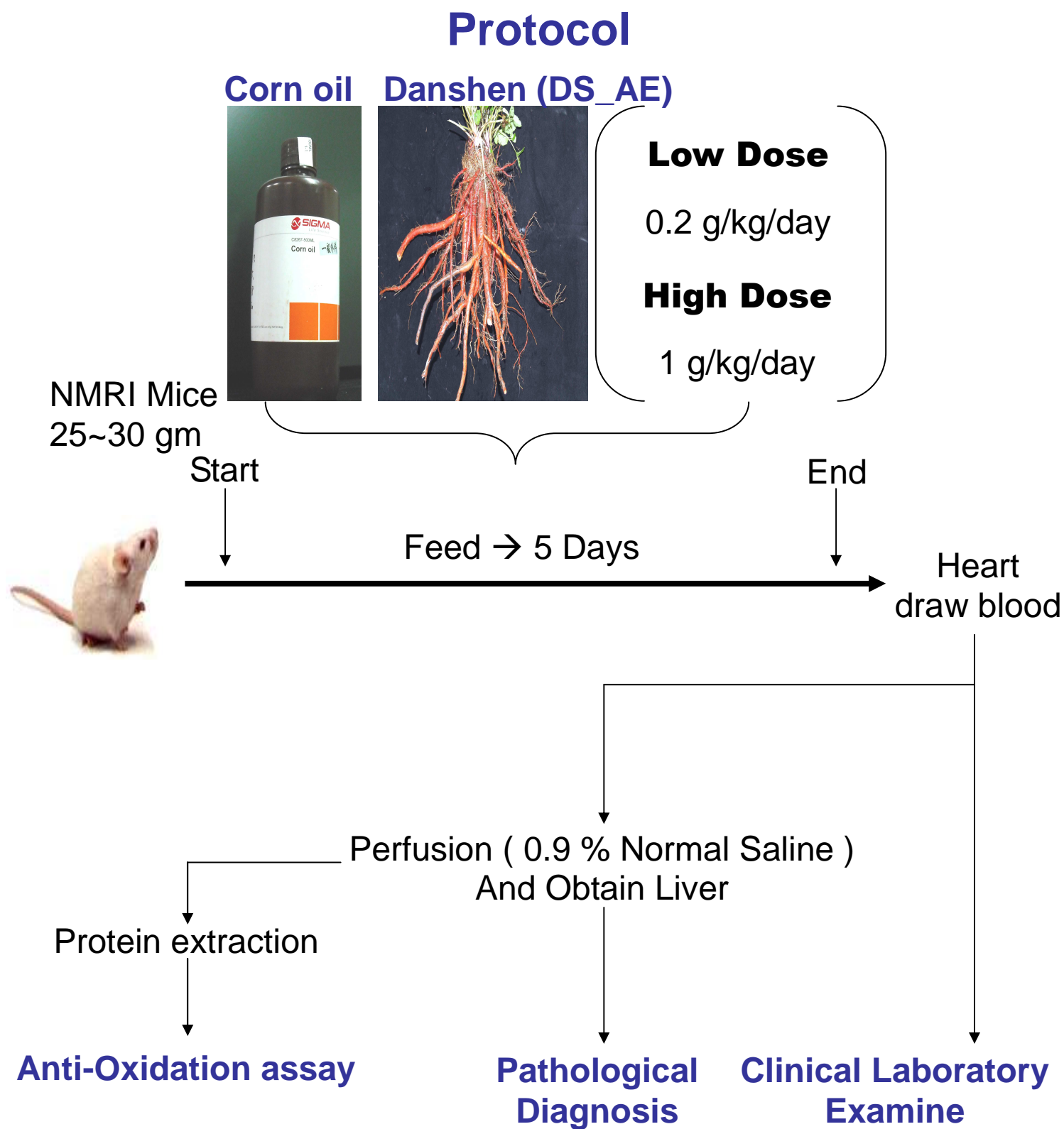


圖 1-6-2-4

Clinical Laboratory Examine

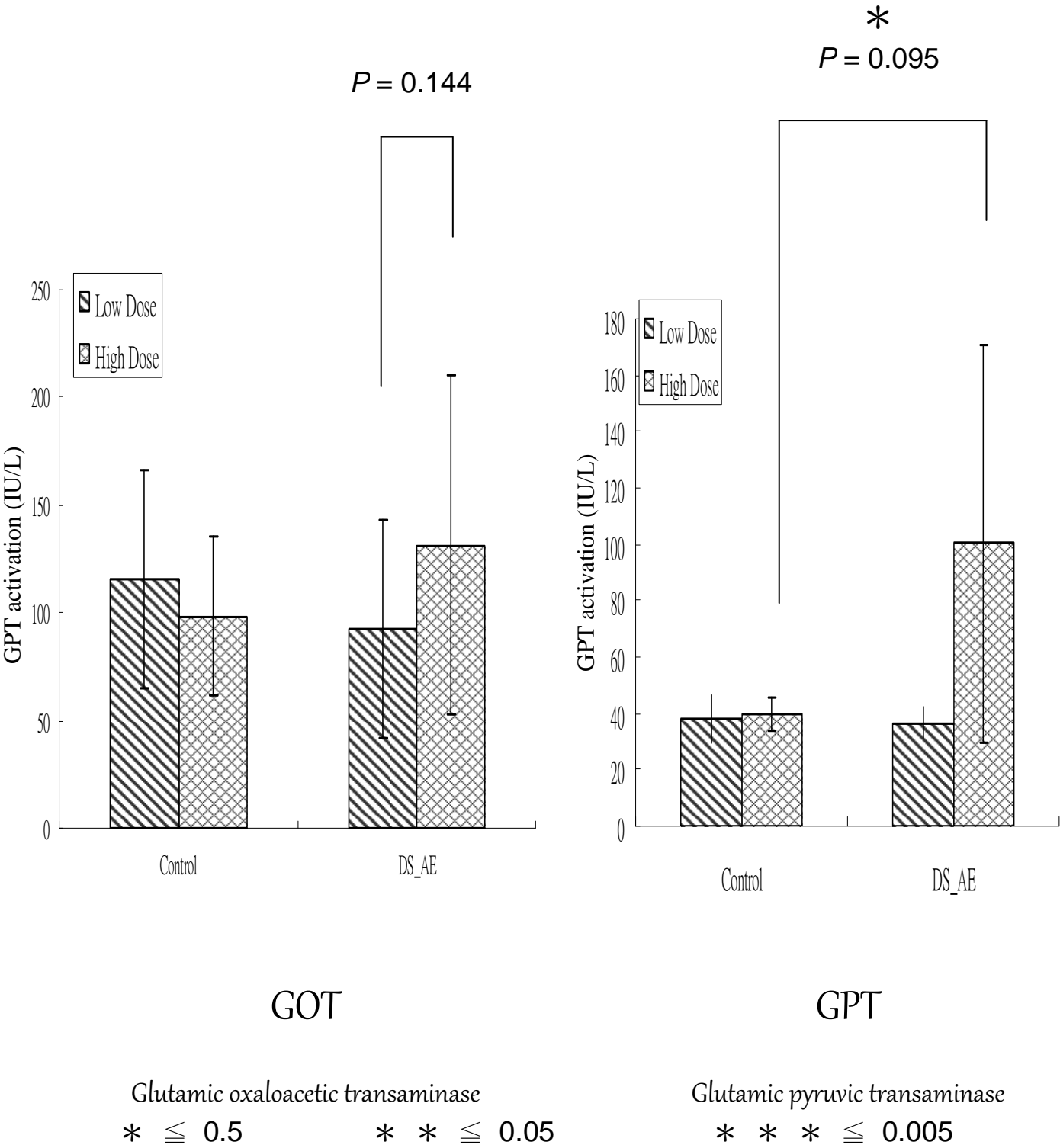
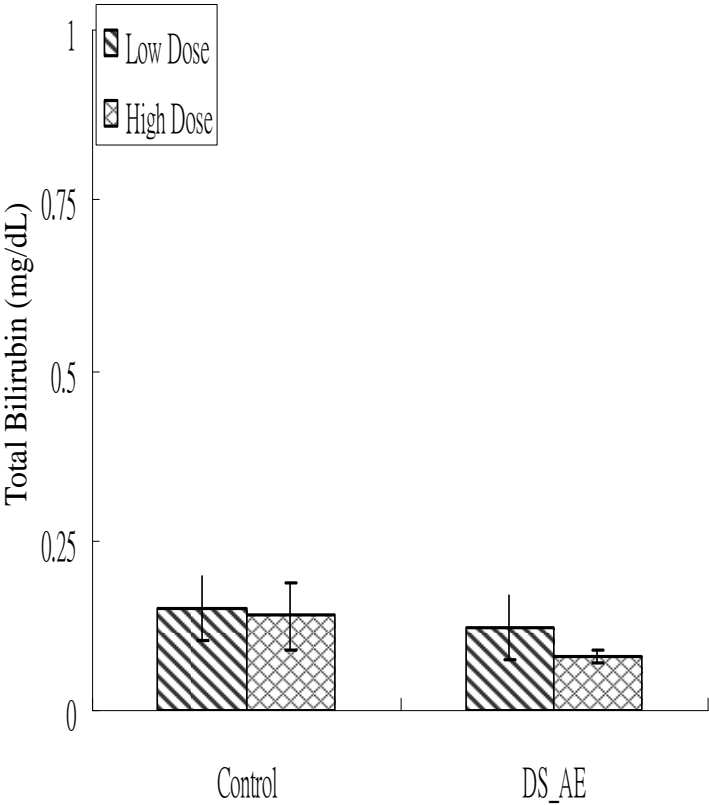
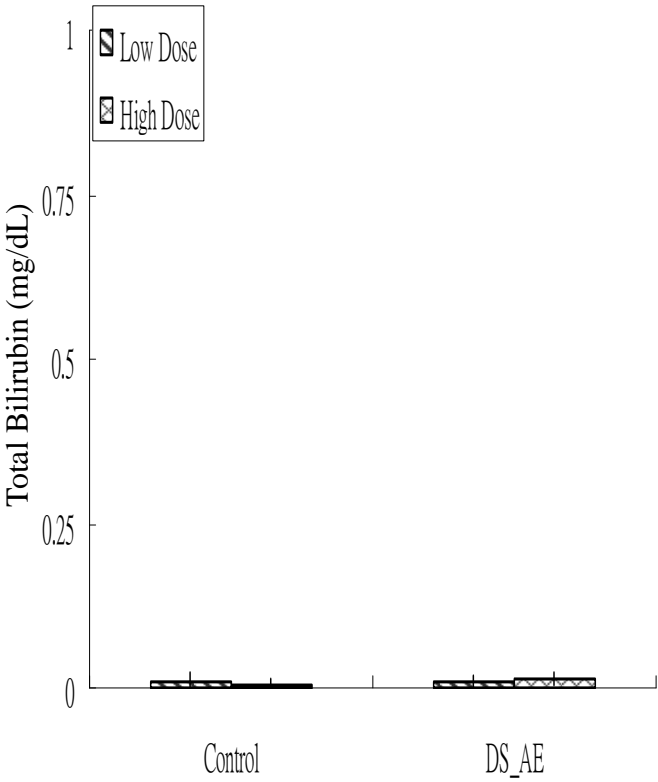


圖 1-6-2-6

Clinical Laboratory Examine



Total Bilirubin



Direct bilirubin

圖 1-6-2-8

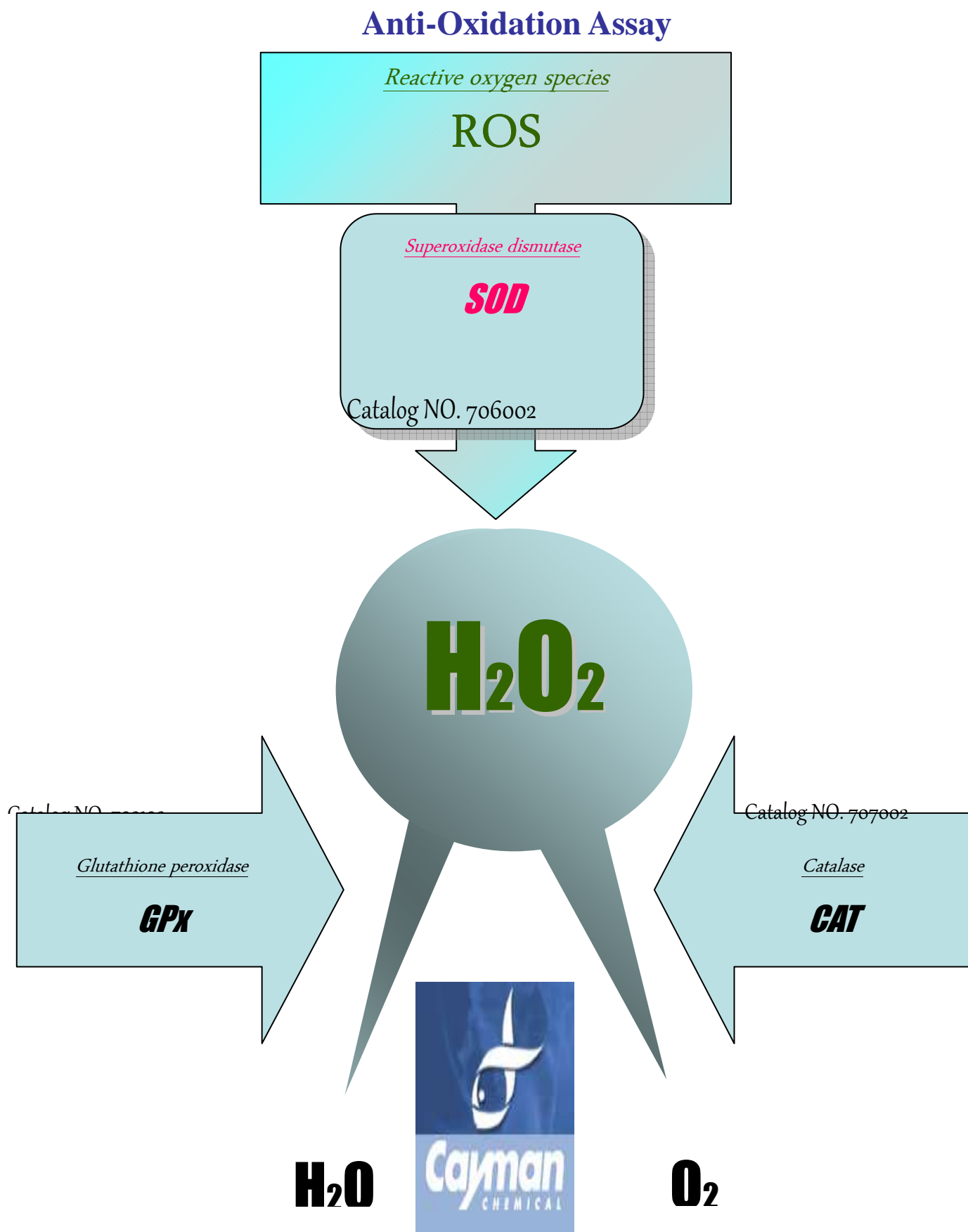


圖 1-6-2-9

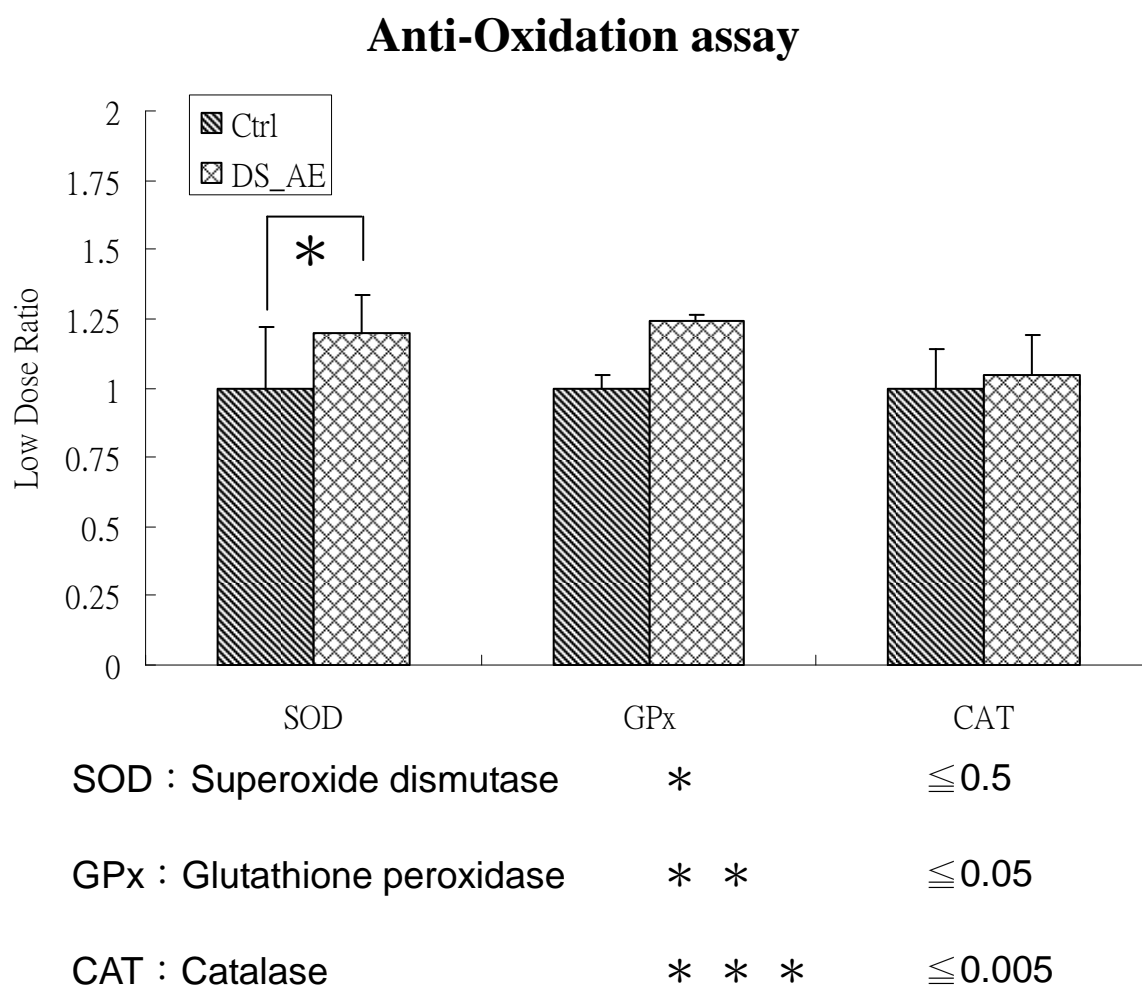


圖 1-6-2-10

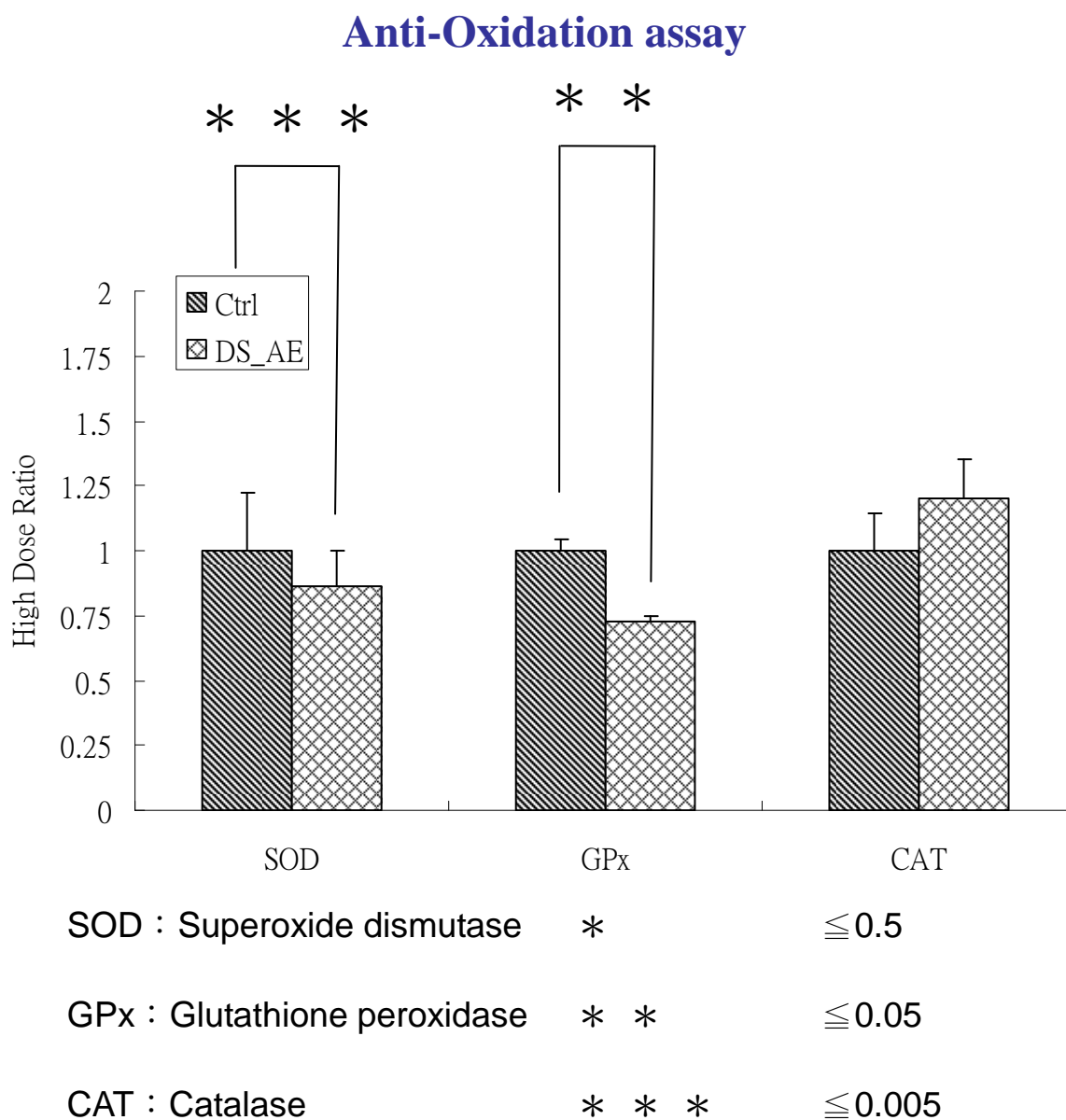


圖 1-6-2-12

Pathological Diagnosis

Pathology Score

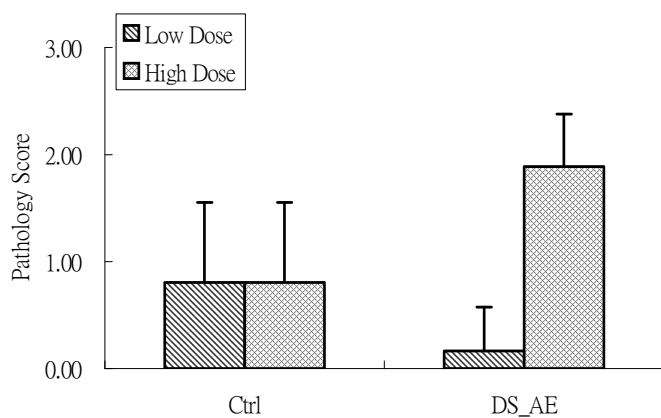
0 ~ 1 Normal

2 ~ 3 Moderate change

1 ~ 2 Slight change

3 ~ 4 Pathological Slight change

Sinusoid dilatation



Cell swelling

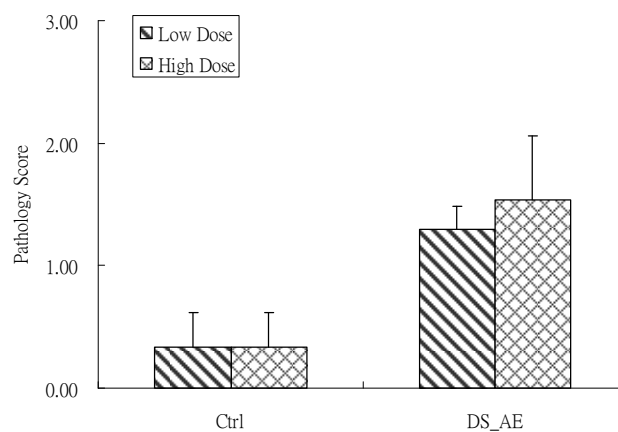


圖 1-6-2-14

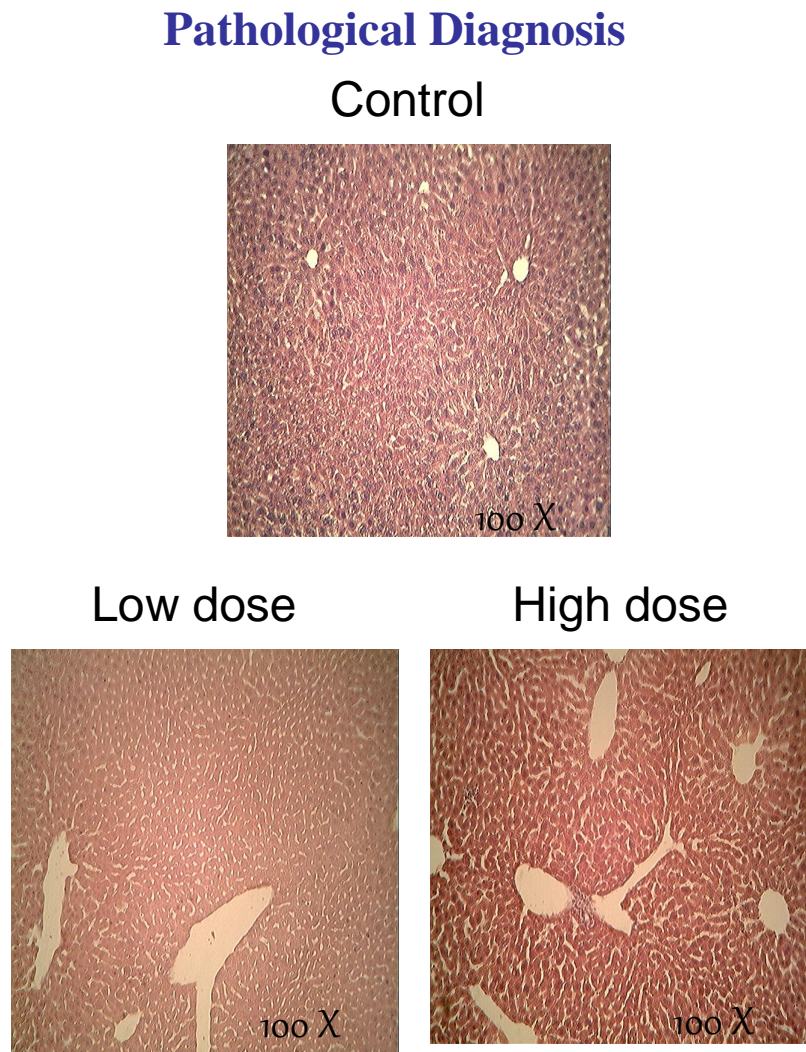


圖 1-6-2-17

第二十四屆生物醫學聯合學術年會

Toxicology : Cellular & Genetic Toxicology

時 間：98年3月22日(周日) 8：45～9：45

地 點：三樓，34教室

主持人：中山醫學大學醫學分子毒理學研究所 許國堂 副教授

O57 8:45 To Evaluate the Hepatic Toxicity of Danshen in Vivo
 ¹財團法人佛教慈濟綜合醫院, ²慈濟大學, ³慈濟大學毒理所
 林意翔^{3*}, 潘鳳儀², 黃靖軒², 蕭琦諭², 蘇進成^{1,2,3#}

圖 2-2-1-1

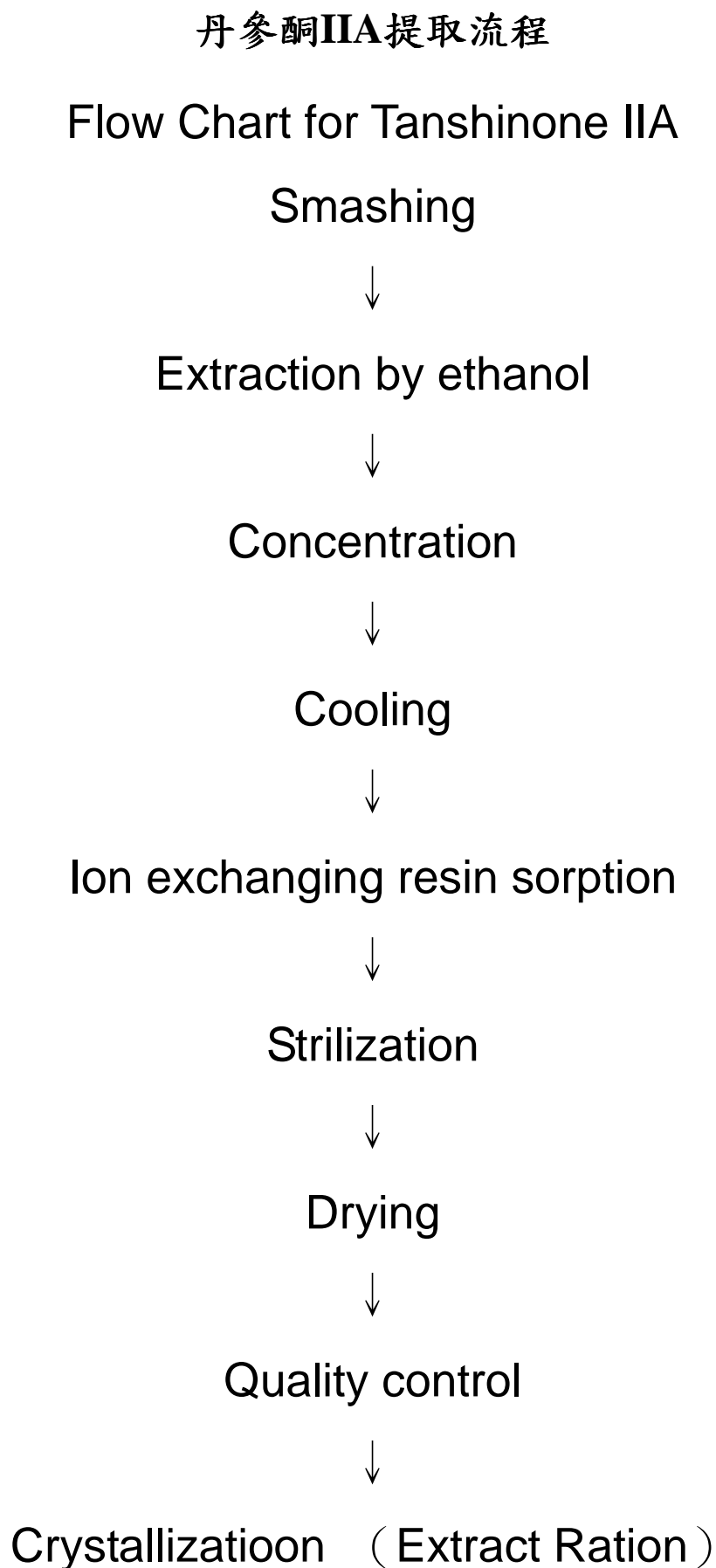


圖 3-1-1-1

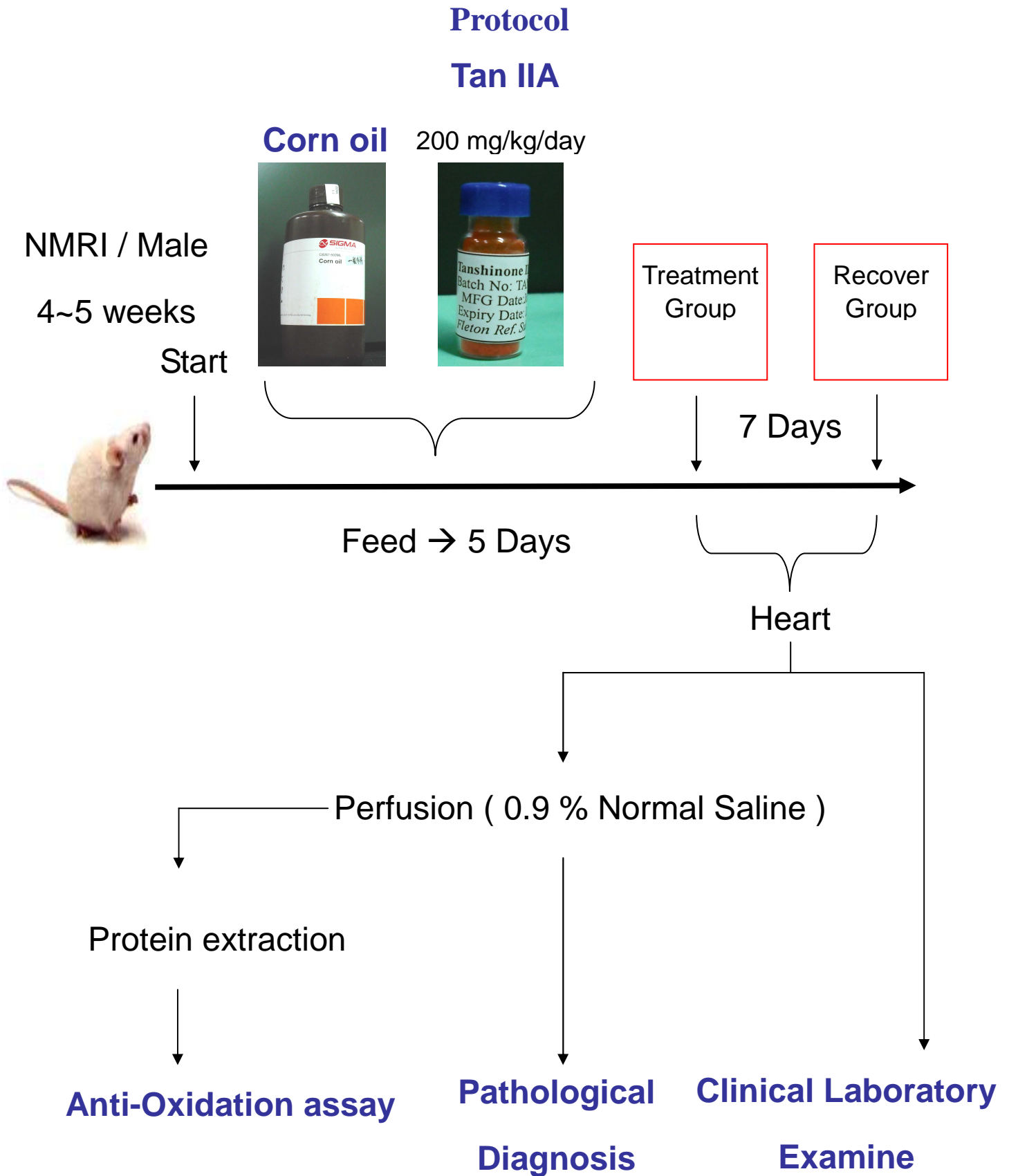
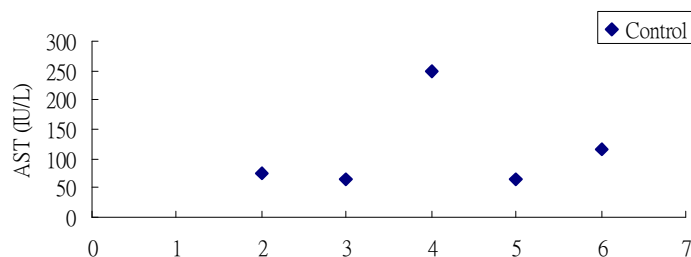
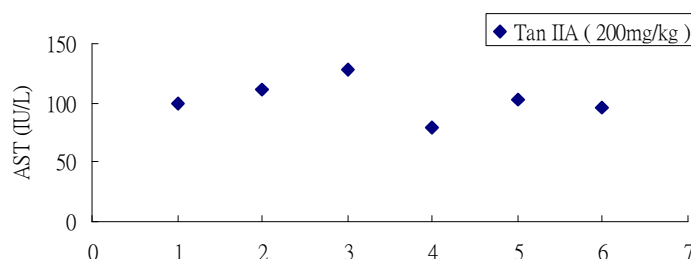


圖 3-1-1-4



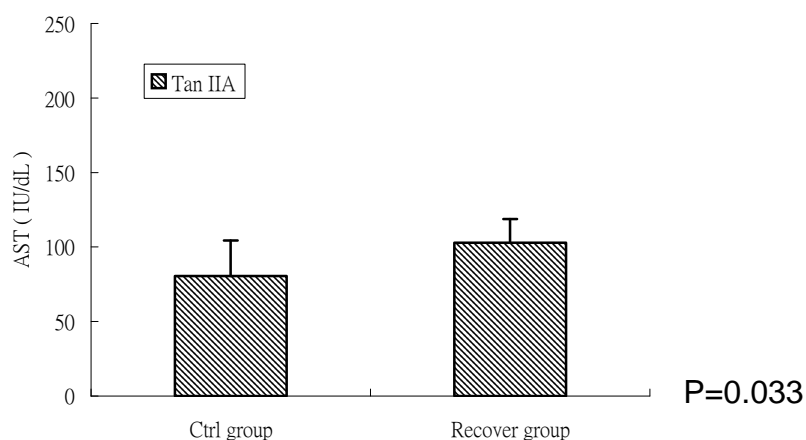
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化AST檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-1-5



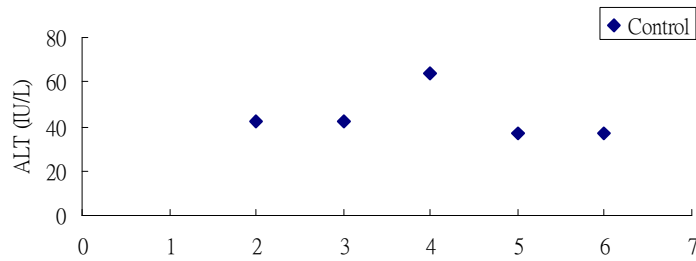
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化AST檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-1-6



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-AST的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

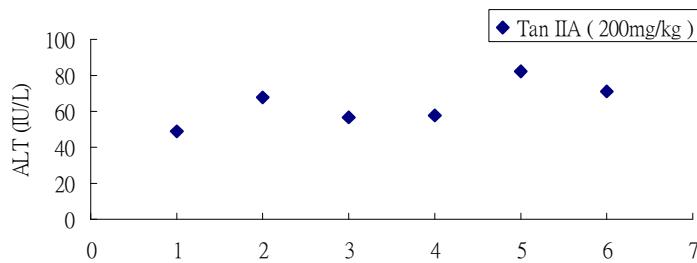
圖 3-1-1-7



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組的血液生化ALT檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

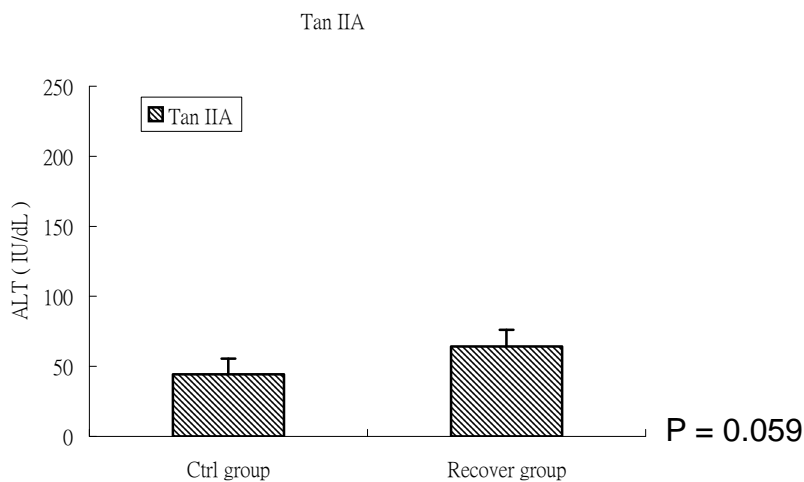
圖 3-1-1-8



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組的血液生化ALT檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

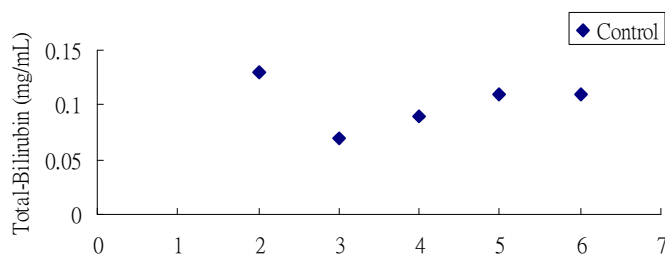
圖 3-1-1-9



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-ALT的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

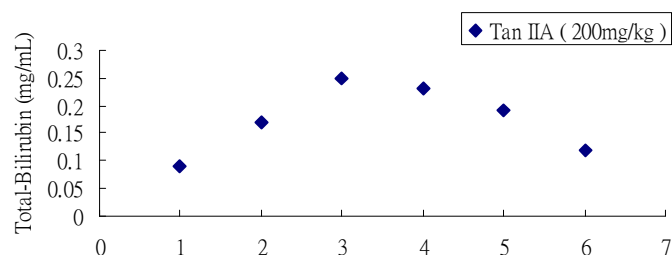
圖 3-1-1-12



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

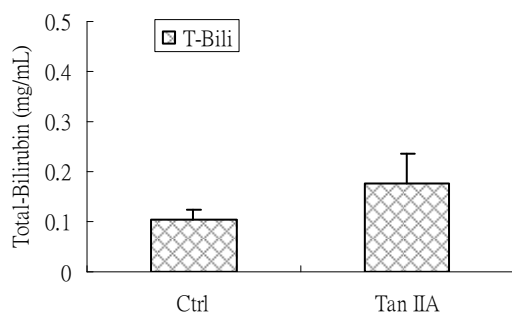
圖 3-1-1-13



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

實驗組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

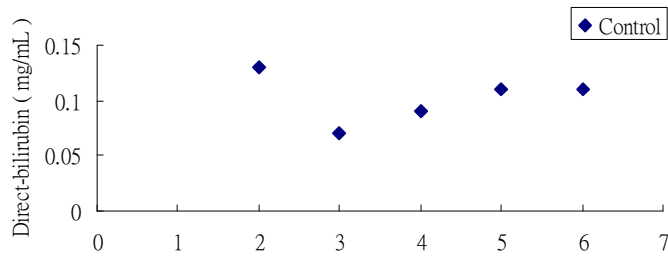
圖 3-1-1-14



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

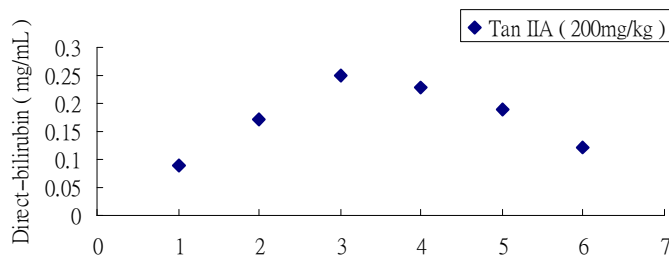
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-總膽紅素的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-1-15



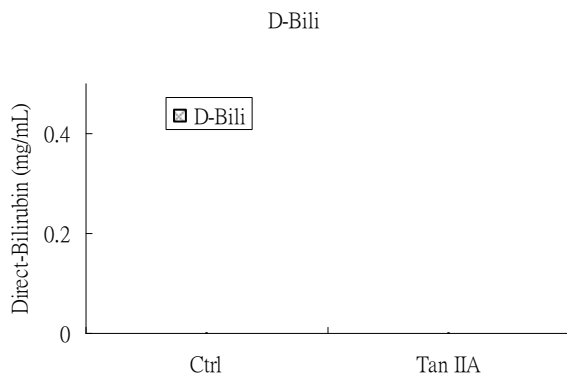
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為
老鼠數據。

圖 3-1-1-16



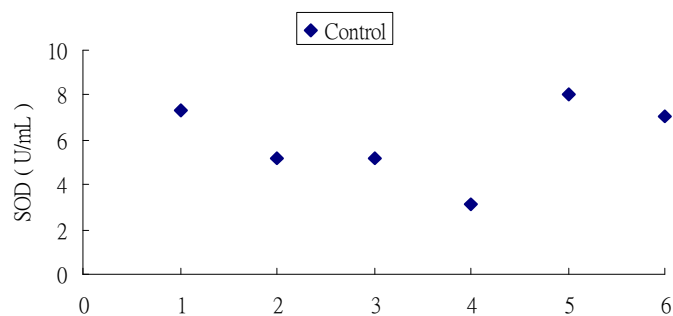
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為
老鼠數據。

圖 3-1-1-17



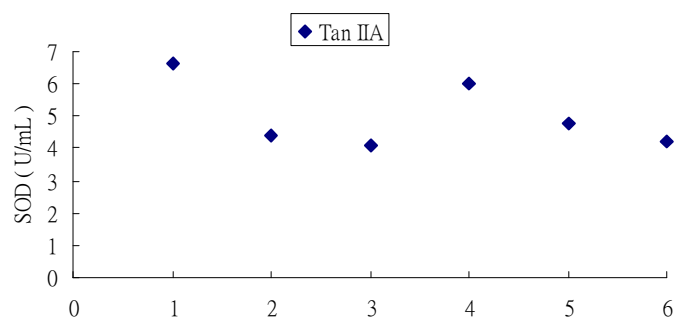
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-直接膽紅素的差異，X軸為群組，Y
軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-2-4



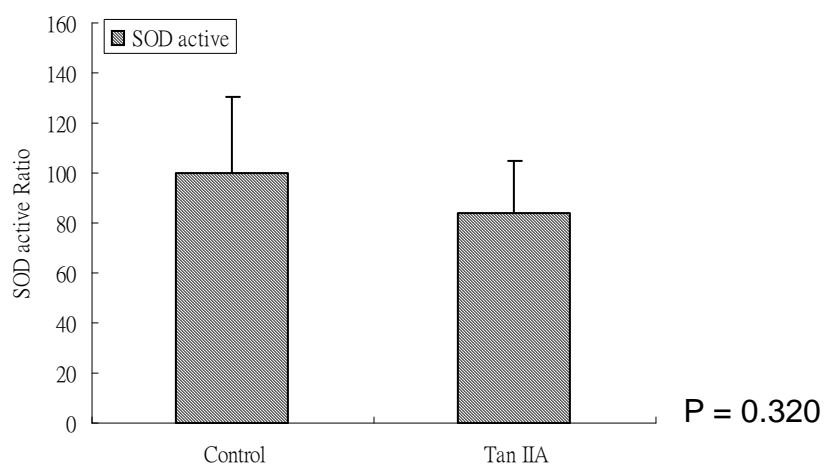
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化SOD檢測點圖，Y軸為酵素活性(U/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-4



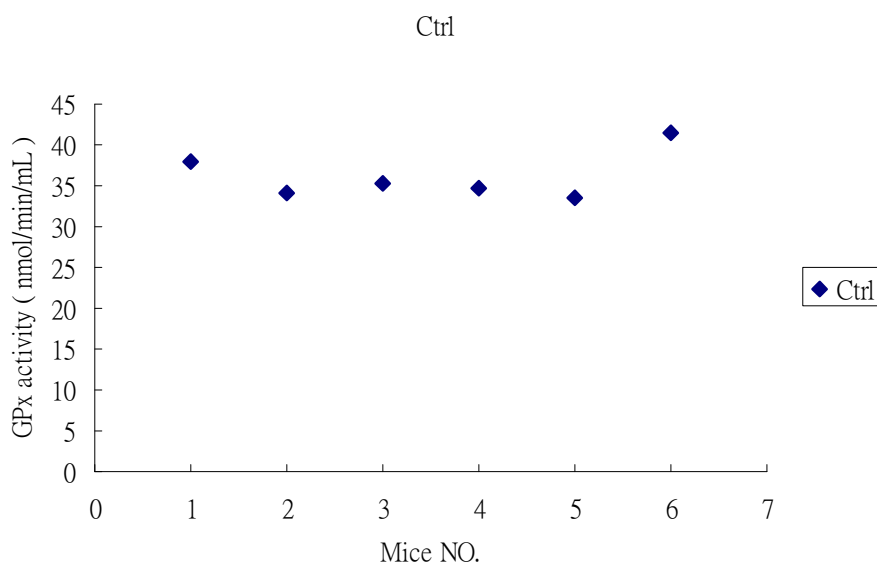
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化SOD檢測點圖，Y軸為酵素活性(U/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-6



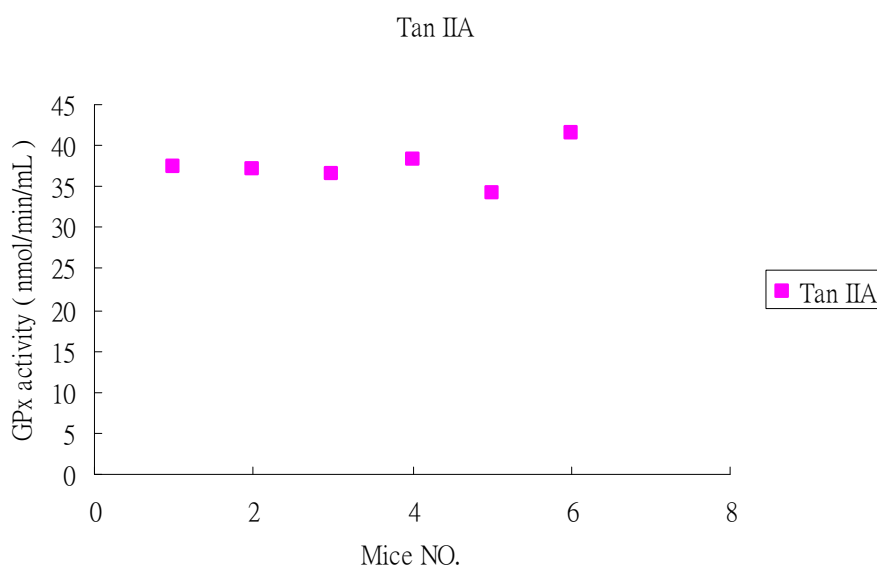
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-SOD活性的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-2-8



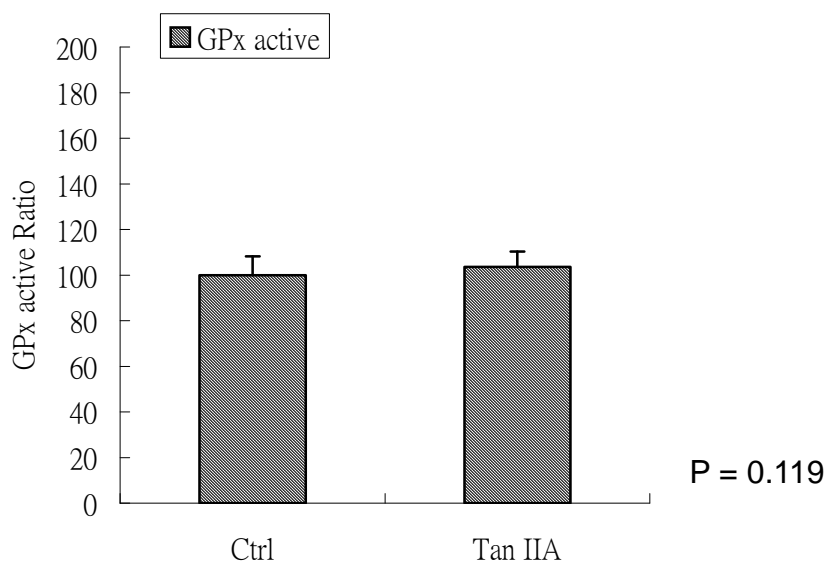
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化GPx檢測點圖，Y軸為酵素活性(U/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-9



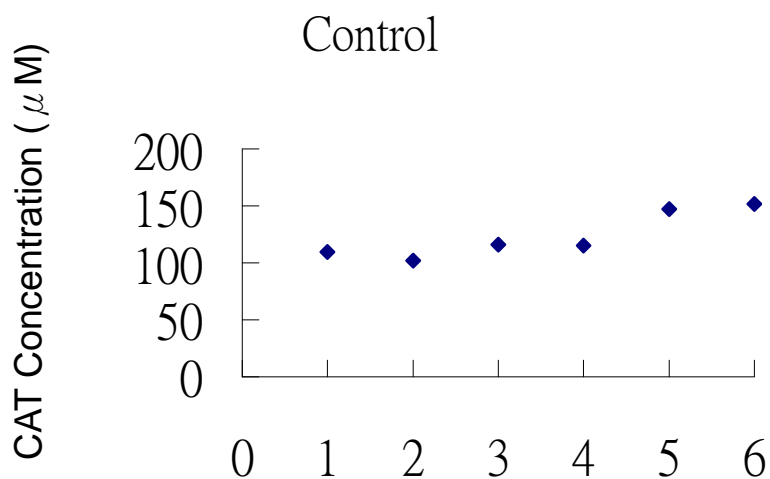
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化GPx檢測點圖，Y軸為酵素活性(U/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-10



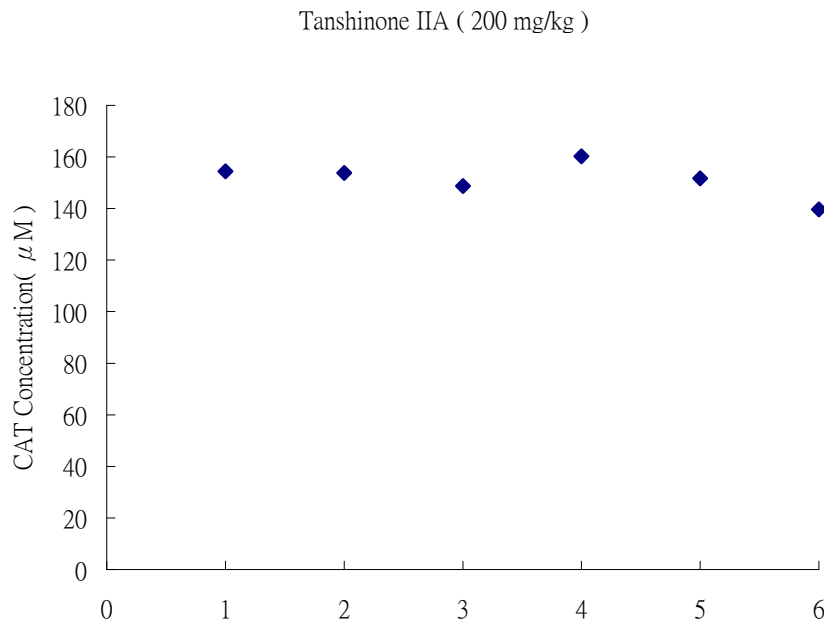
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-GPx活性的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-2-12



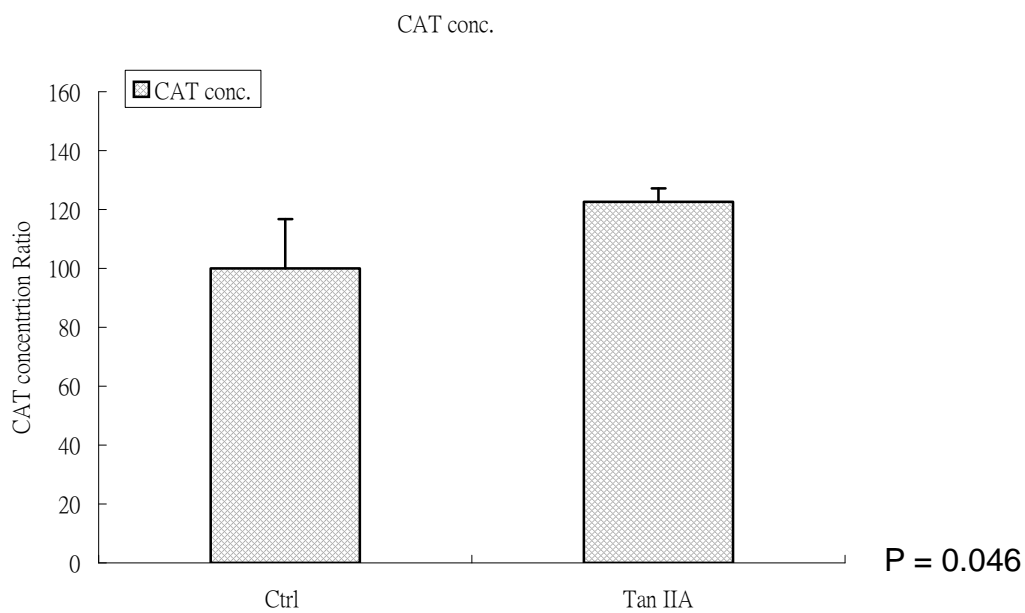
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的抗氧化酵素Catalase濃度 檢測點圖，Y軸為酵素濃度(μ M)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-13



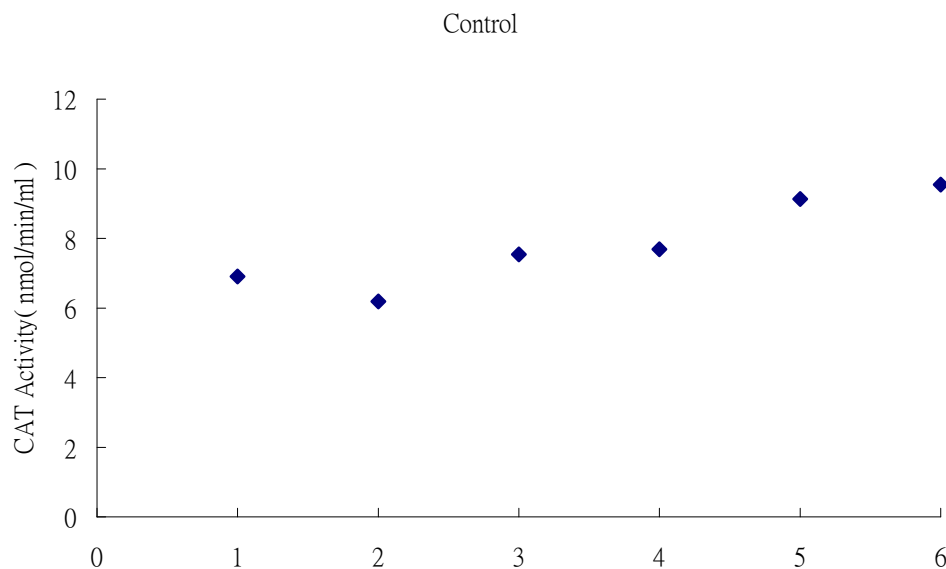
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的抗氧化酶 Catalase濃度 檢測點圖，Y軸為酵素濃度(μ M)，X軸為
老鼠數據。

圖 3-1-2-14



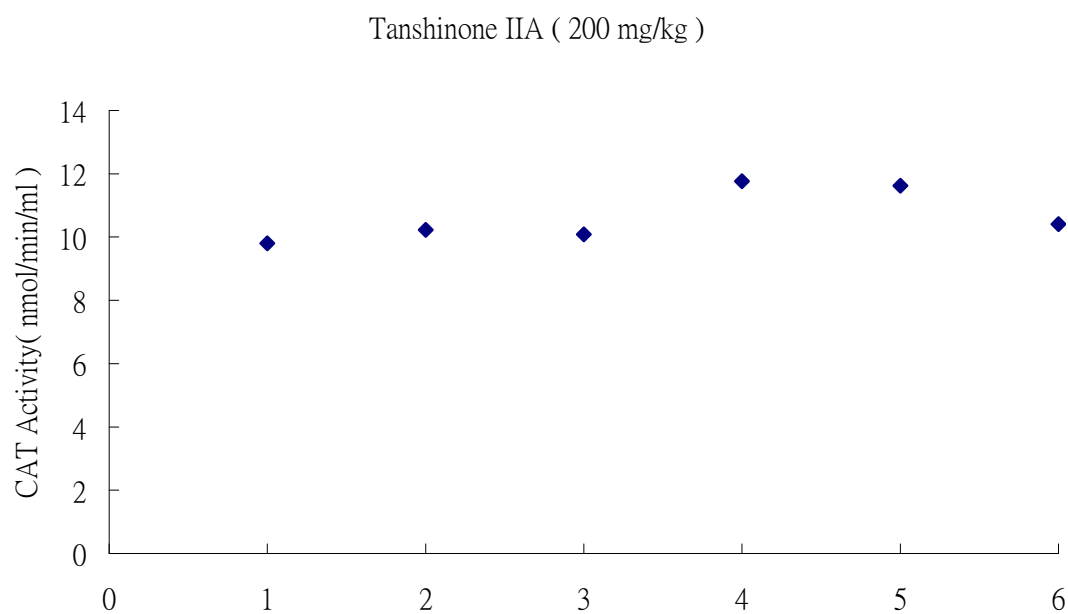
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase濃度的差異，X軸為群組，Y軸
為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-2-16



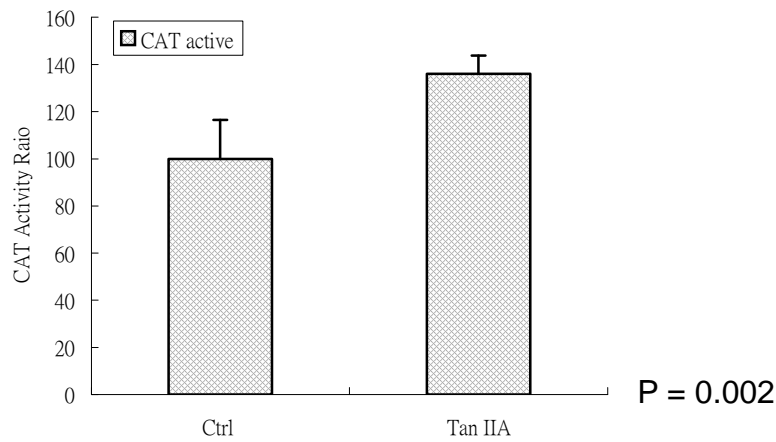
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲控制組的抗氧化酵素Catalase活性 檢測點圖，Y軸為酵素活性(nmol/min/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-17



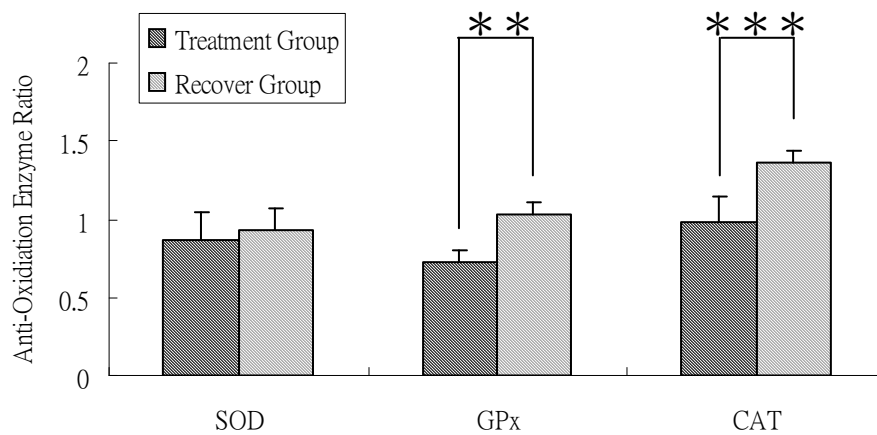
實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲實驗組的抗氧化酵素Catalase活性 檢測點圖，Y軸為酵素活性(nmol/min/mL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-1-2-18



實驗二：丹參酮IIA服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase活性的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-1-2-23

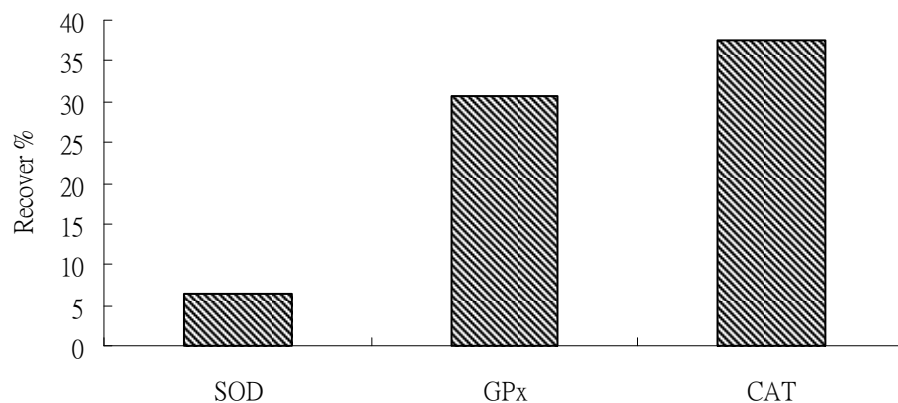


	SOD=0.2266			
pvalue	GPx=0.0218	*	*	≤ 0.05
	CAT=0.0001	*	*	* ≤ 0.005

連續服用丹參酮IIA (200mg/kg/day) 5天後，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

X軸由左到右分別為SOD，GPx，CAT三種酵素，每種酵素的左邊是直接犧牲組(treatment group)，右邊是停藥後再犧牲組(Recover group)，Y軸為實驗組與對照組的比值 (Ratio of control)。

圖 3-1-2-25



SOD , Arecover 6.46% (0.864 → 0.928)

GPx , A recover 30.74% (0.729 → 1.036)

CAT , A recover 37.62% (0.983 → 1.359)

連續服用丹參酮IIA (200mg/kg/day) 5天後，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的回覆：

X軸由左到右分別為SOD，GPx，CAT三種酵素，Y軸為停藥後再犧牲能回覆抗氧化酵素的程度。

圖 3-1-3-3

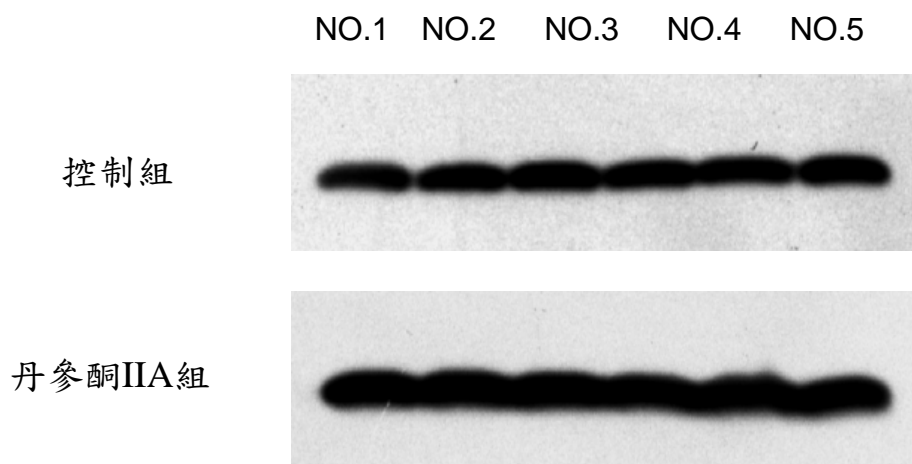


圖 3-1-3-4

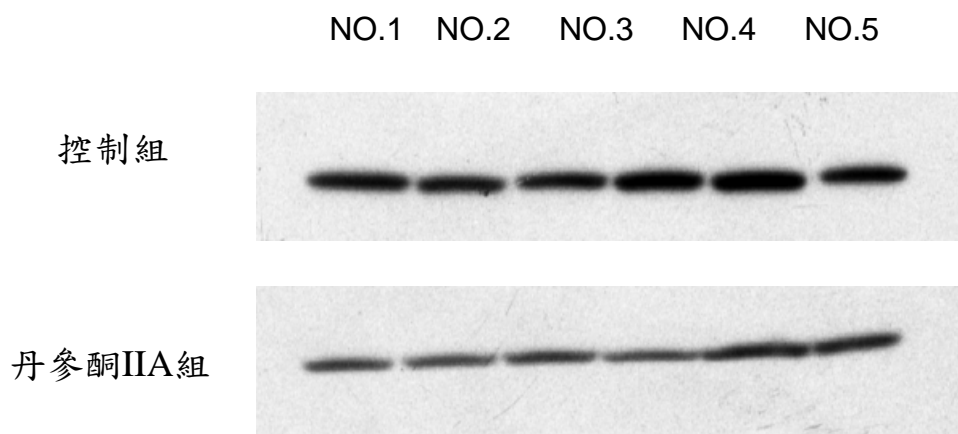
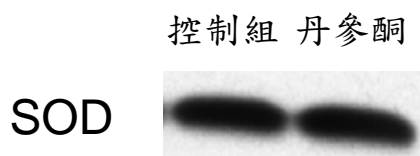
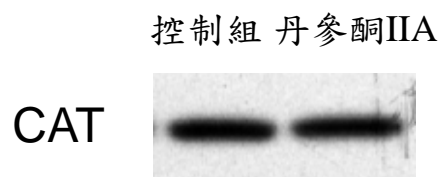


圖 3-1-3-5



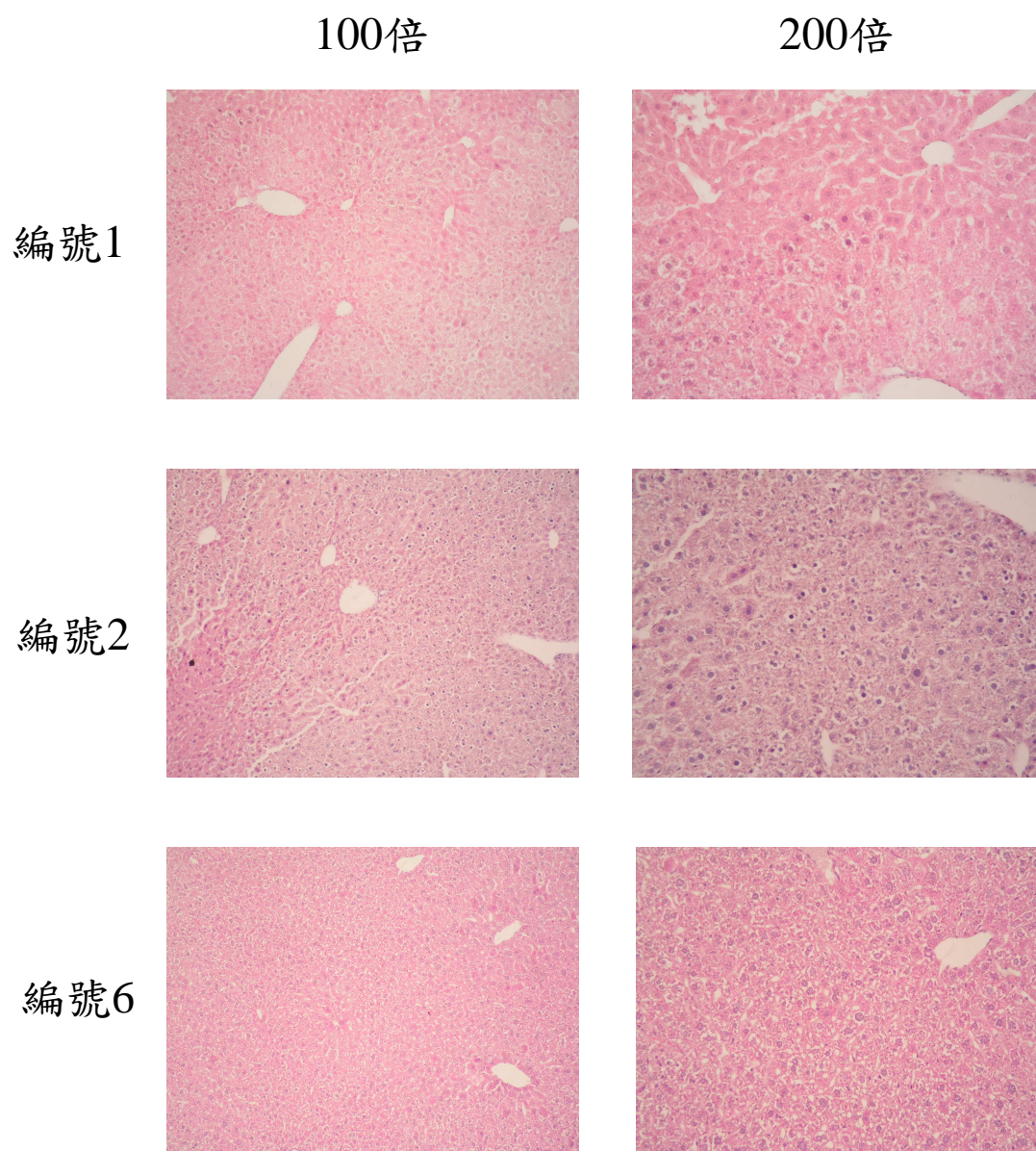
連續服用丹參酮IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察SOD的表達變化。
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮IIA組。

圖 3-1-3-6



連續服用丹參酮IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察SOD的表達變化。
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮IIA組。

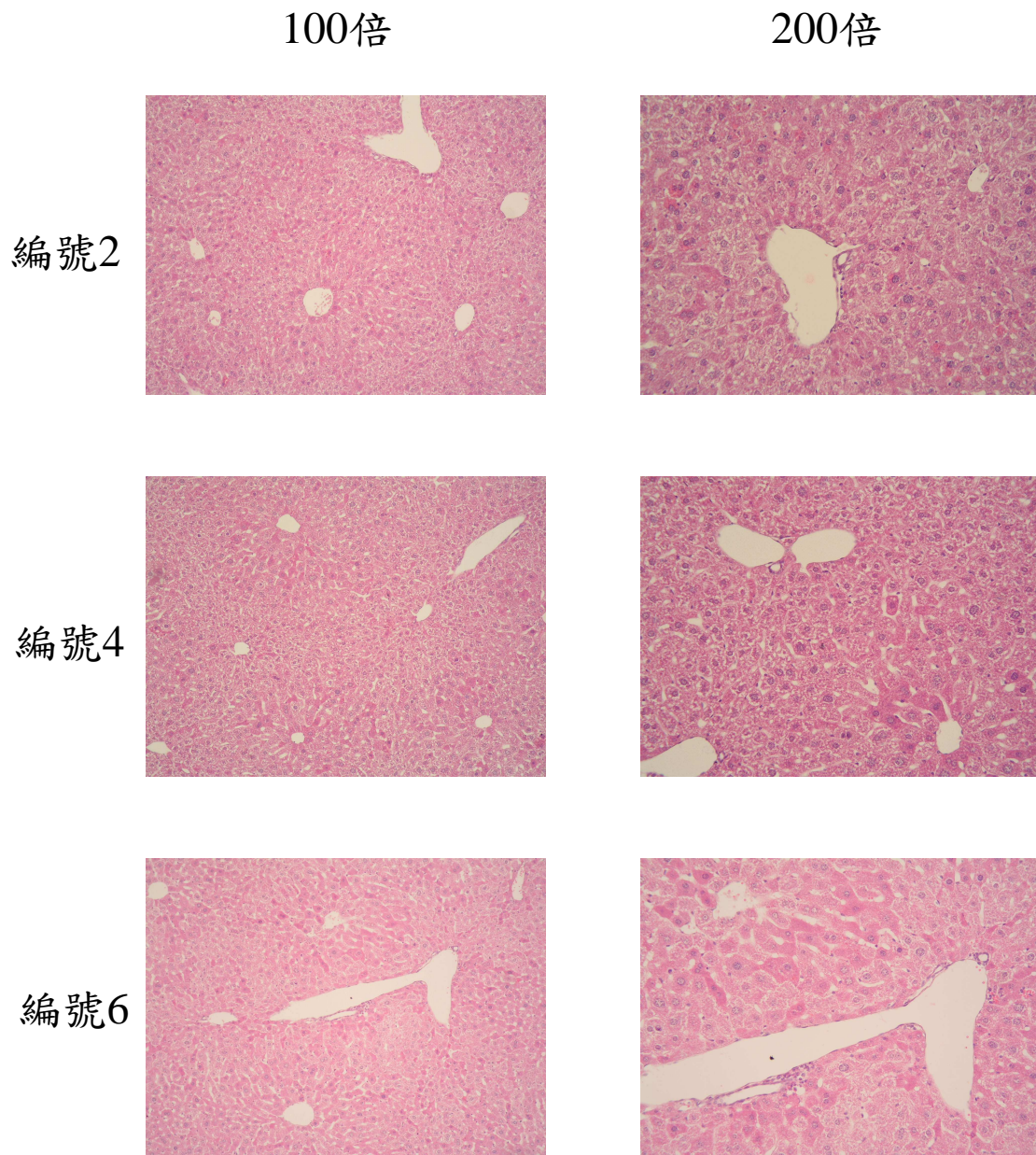
圖 3-2-4-3



連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以H&E染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-2-4-4



連續服用丹參酮IIA，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以H&E染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-2-1-1

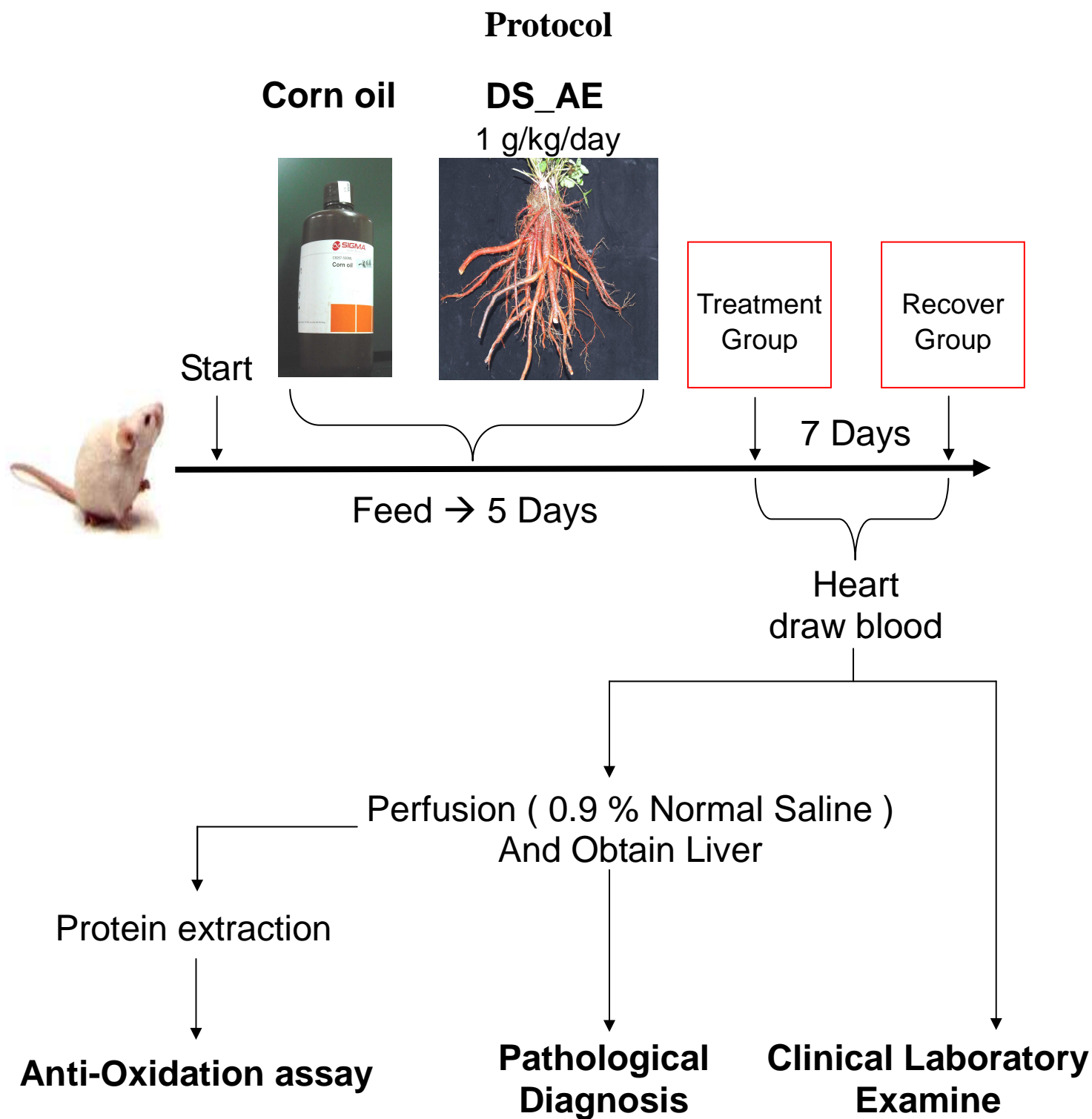
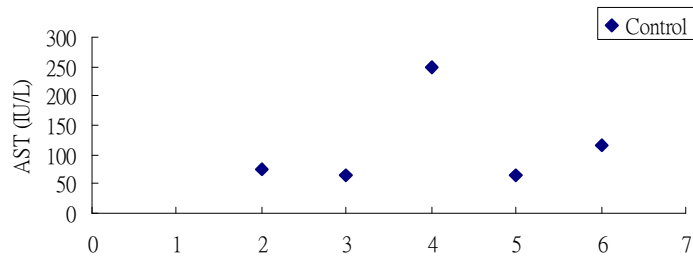


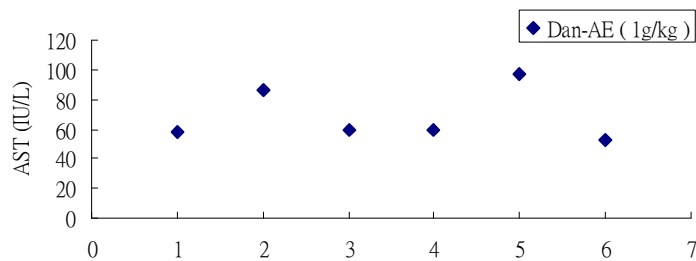
圖 3-2-1-4



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

實驗組的血液生化AST檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

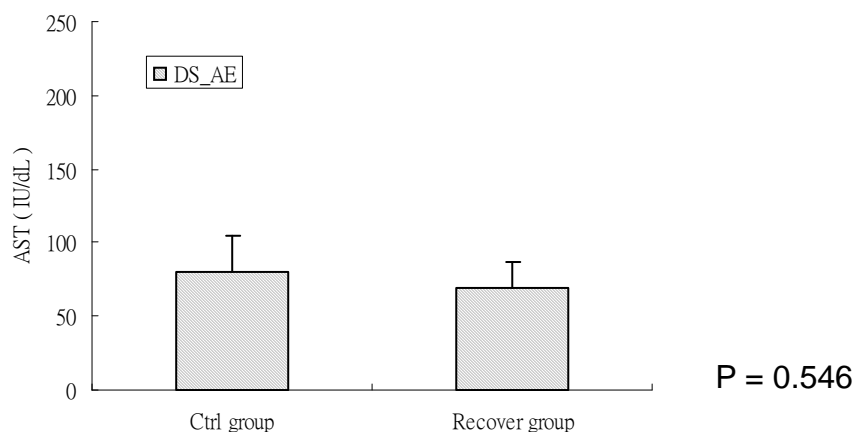
圖 3-2-1-5



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組的血液生化AST檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

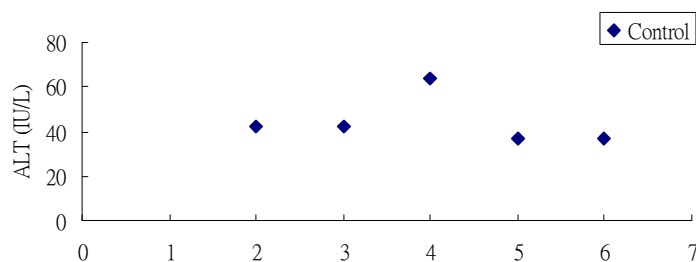
圖 3-2-1-6



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

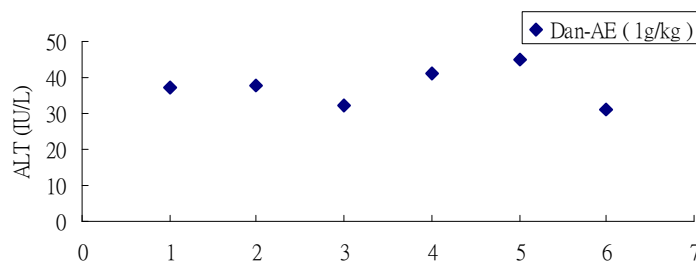
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-AST的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-1-7



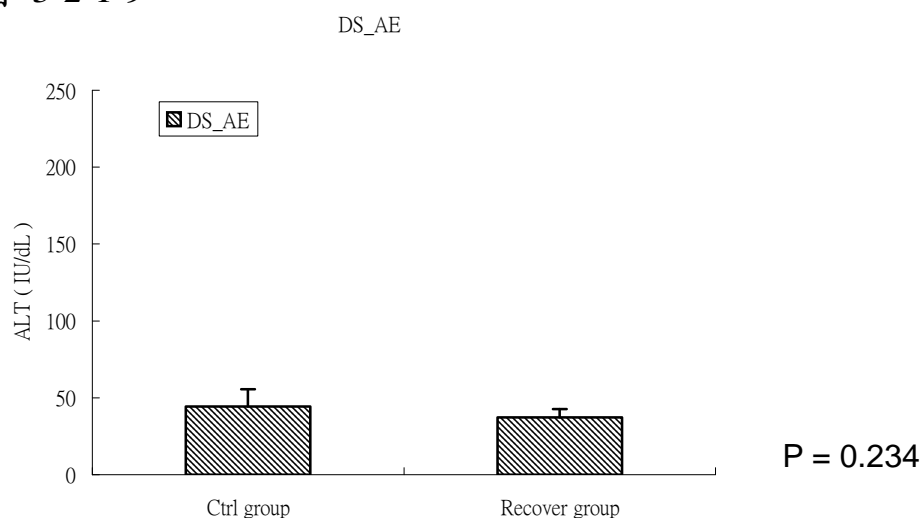
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化ALT檢測點圖，Y軸為酵素活性 (IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-2-1-8



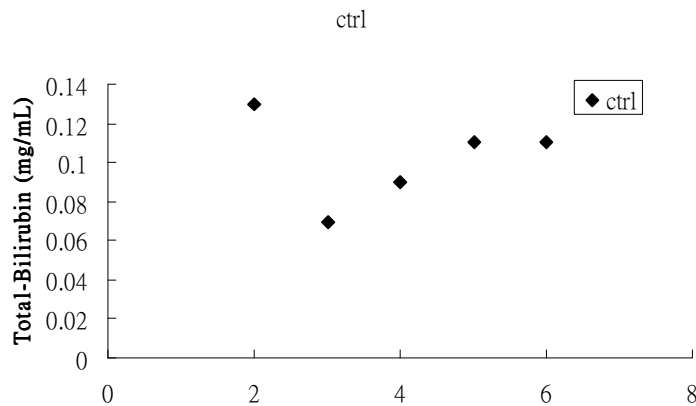
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化ALT檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-2-1-9



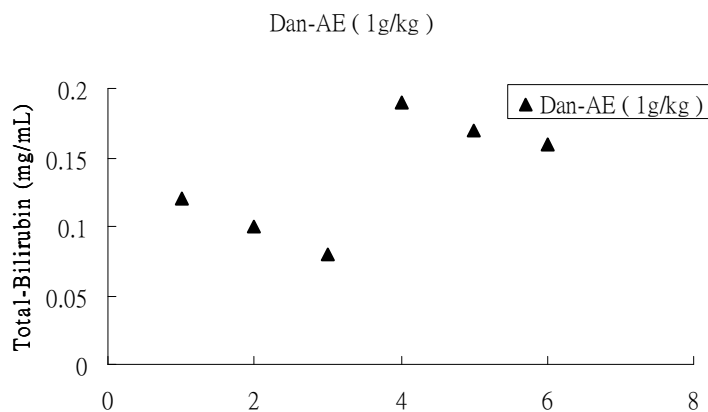
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-ALT的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-1-12



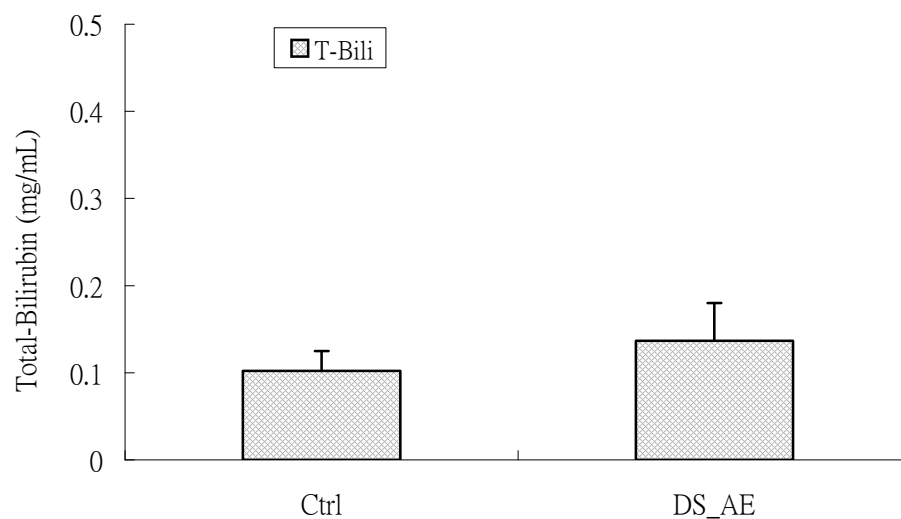
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-2-1-13



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

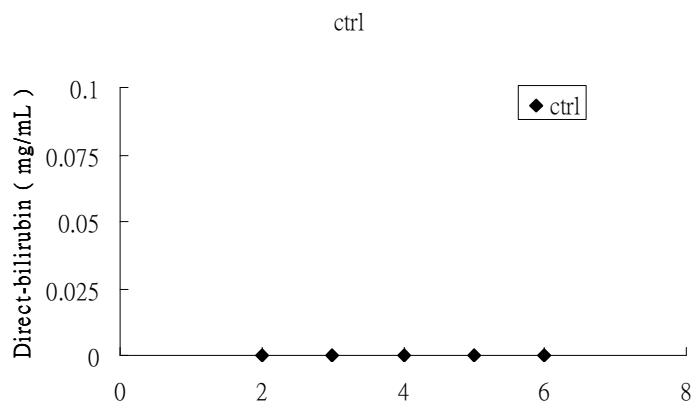
圖 3-2-1-14



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-總膽紅素的差異，X軸為群組，Y軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

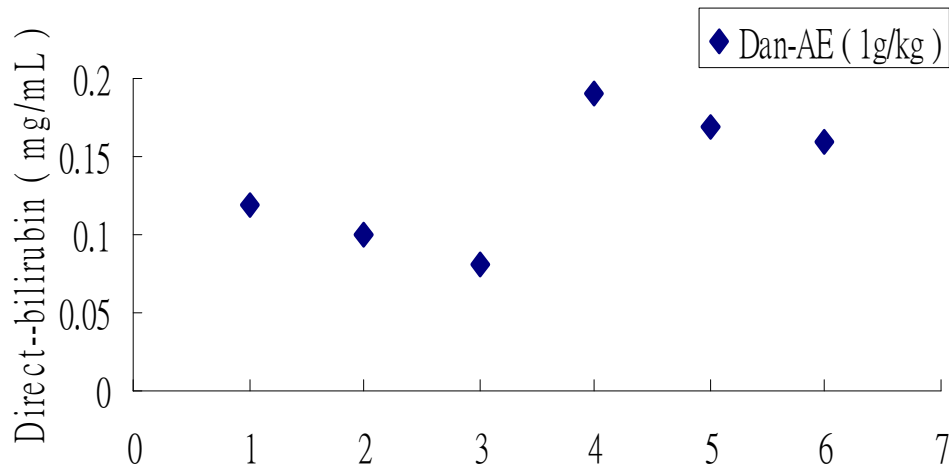
圖 3-2-1-15



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

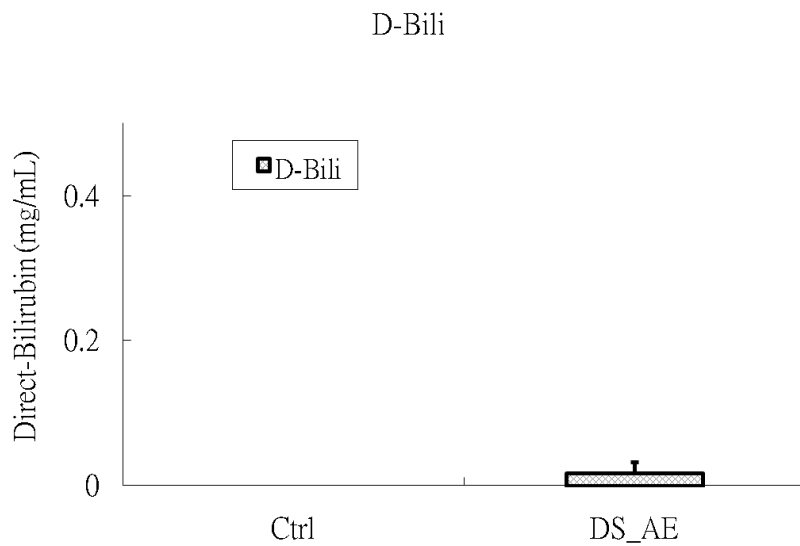
控制組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y軸為酵素活性(IU/dL)，X軸為老鼠數據。

圖 3-2-1-16



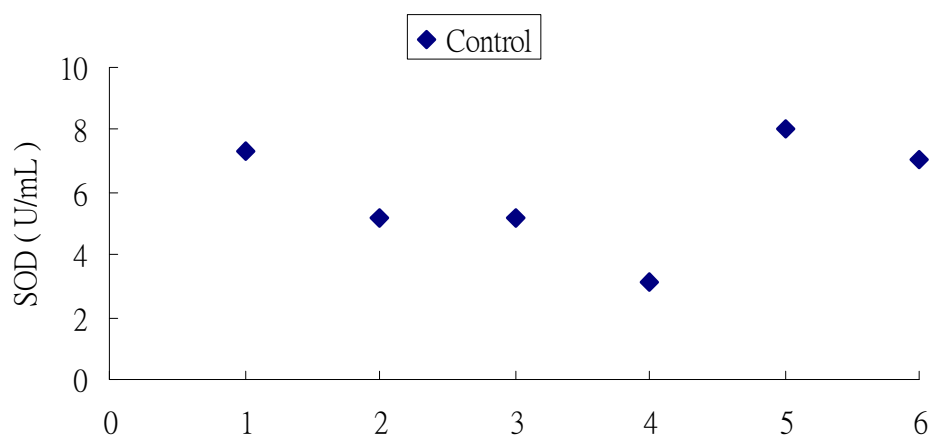
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸
為老鼠數據。

圖 3-2-1-17



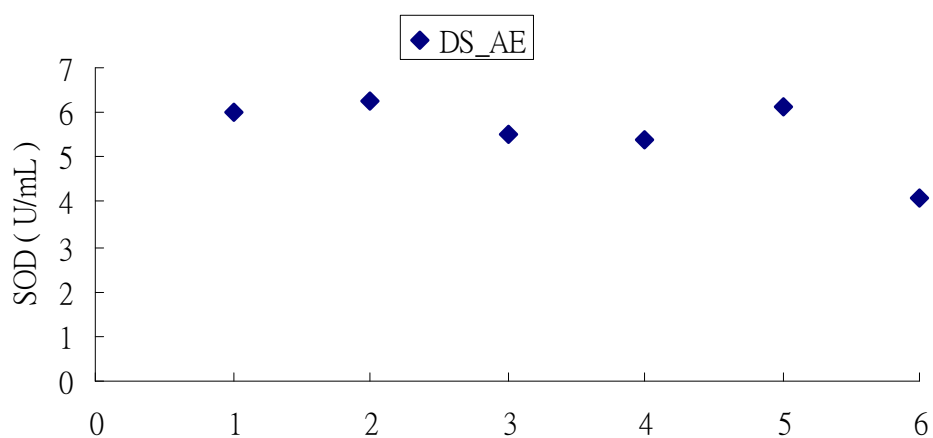
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-直接膽紅素的差異，X 軸為群組，Y
軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-2-3



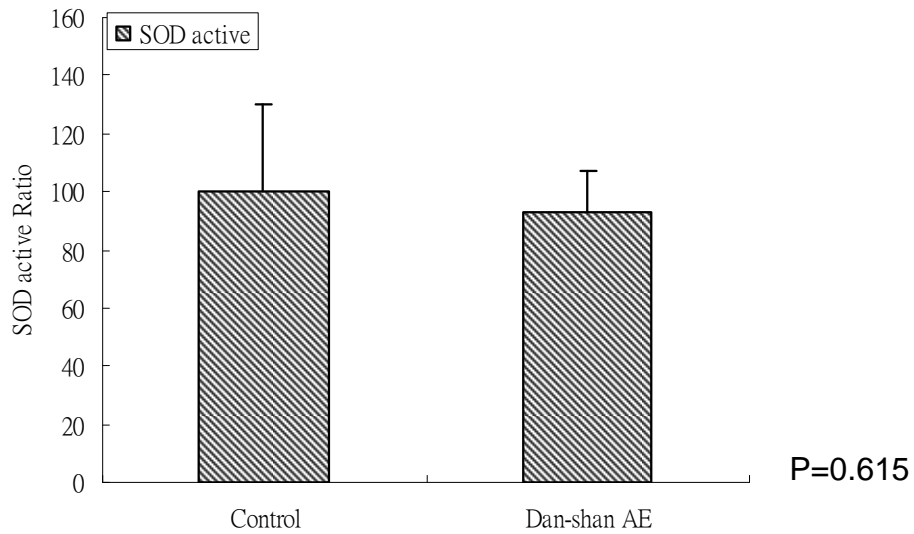
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠
數據。

圖 3-2-2-4



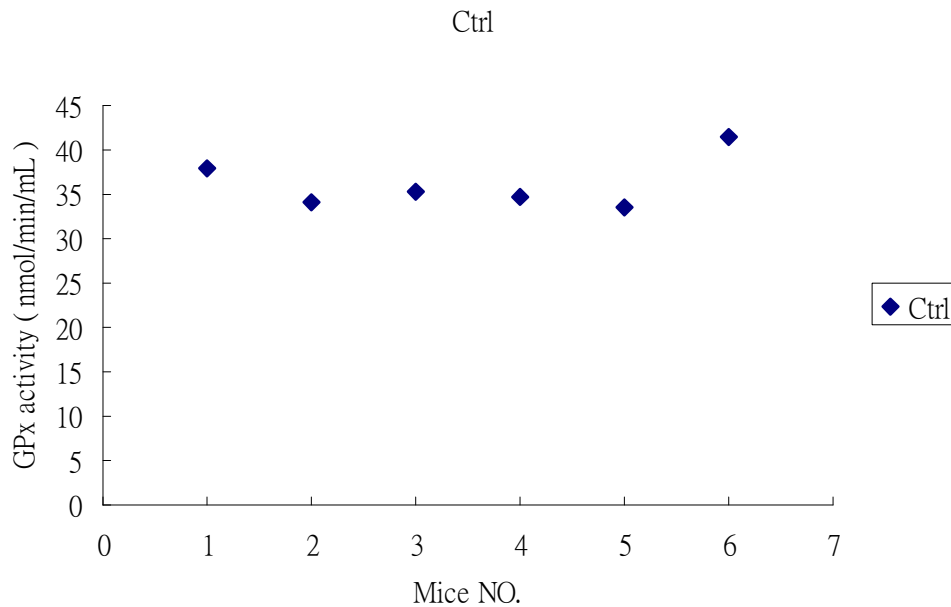
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠
數據。

圖 3-2-2-5



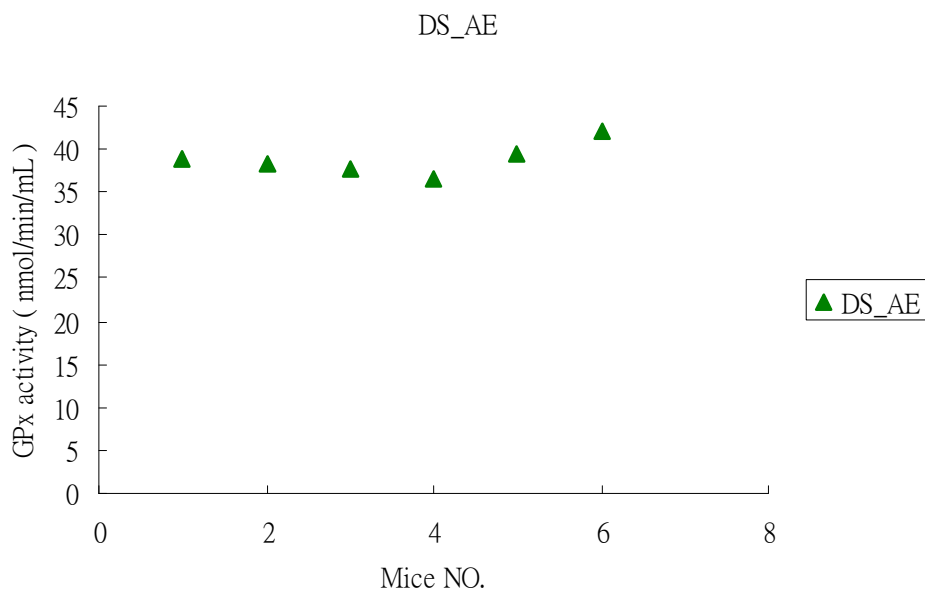
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-SOD 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為
酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-2-6



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠
數據。

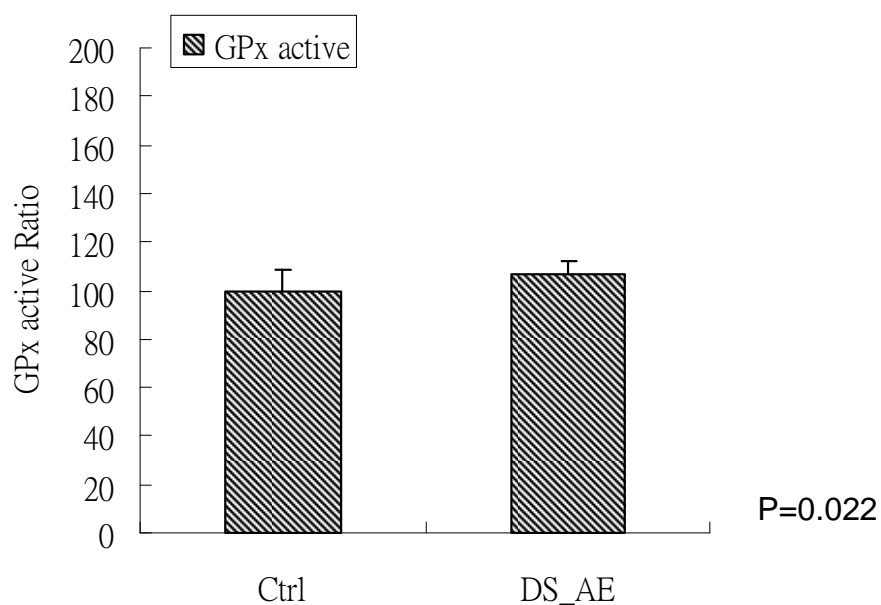
圖 3-2-2-7



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

實驗組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

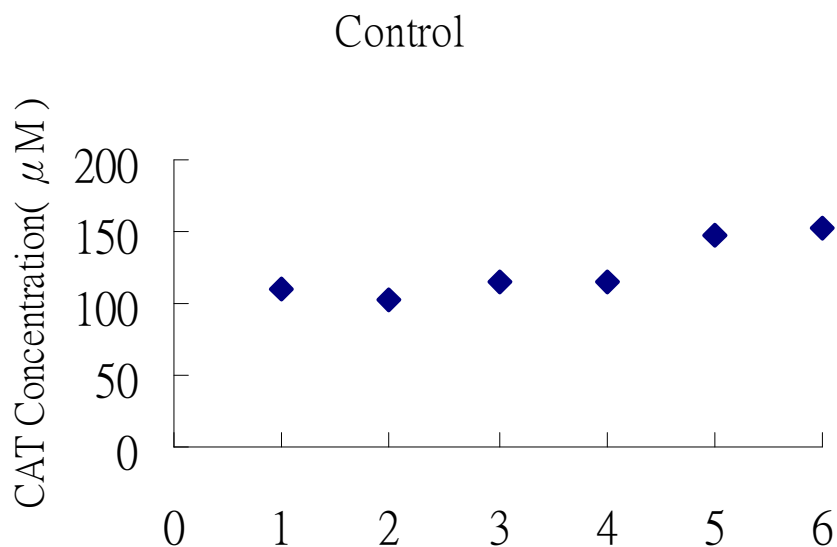
圖 3-2-2-8



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

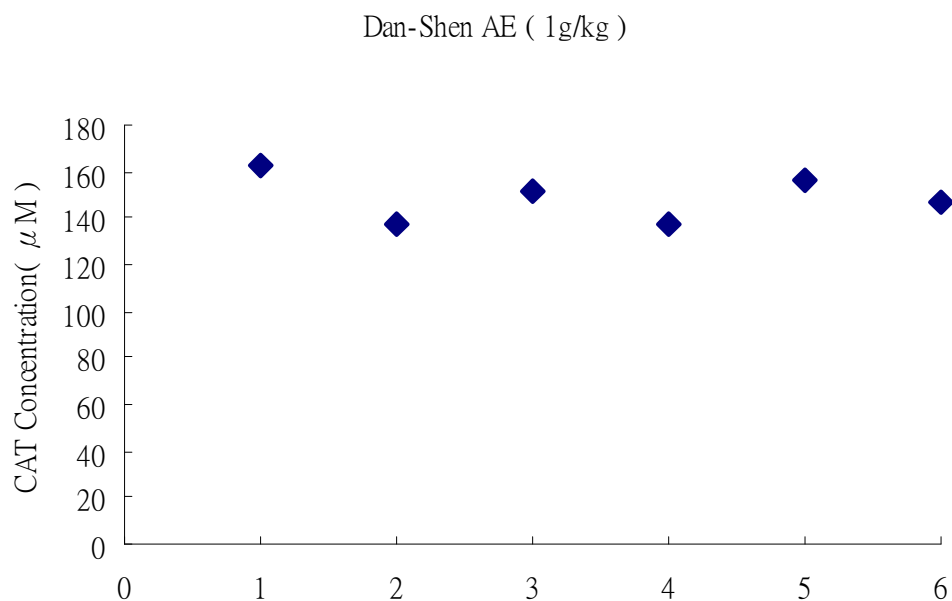
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-GPx 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-2-9



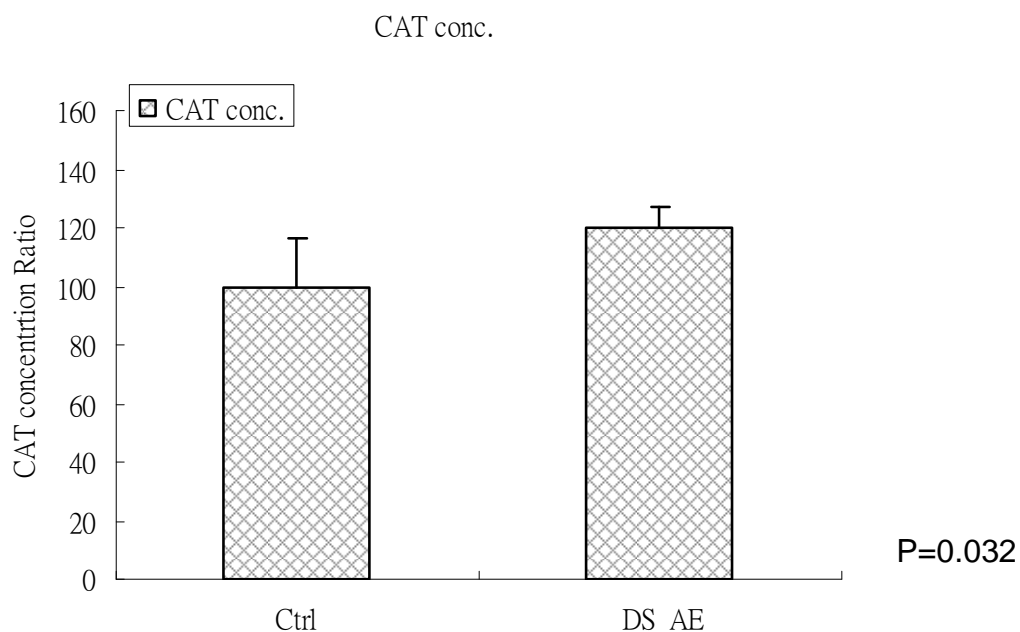
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的抗氧化酵素 Catalase 濃度 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (μM)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-2-2-10



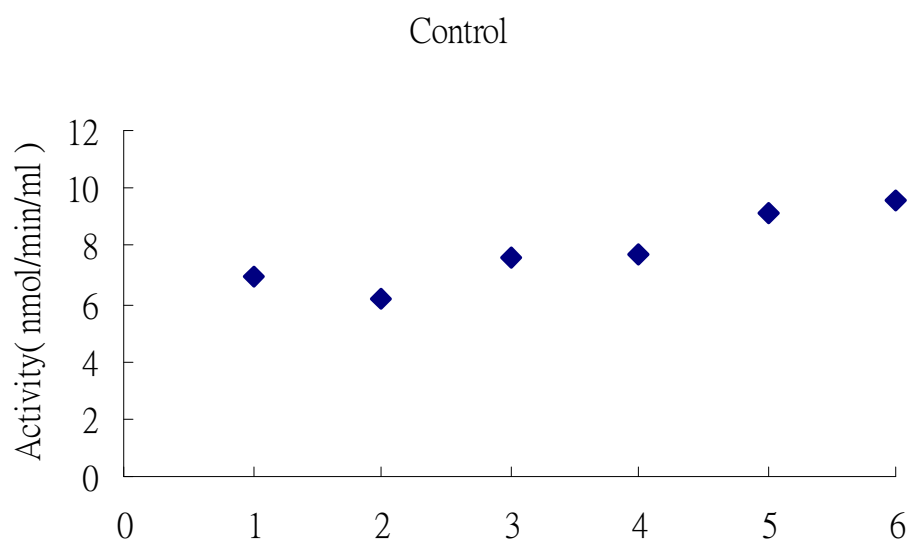
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的抗氧化酵素 Catalase 濃度 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (μM)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-2-2-11



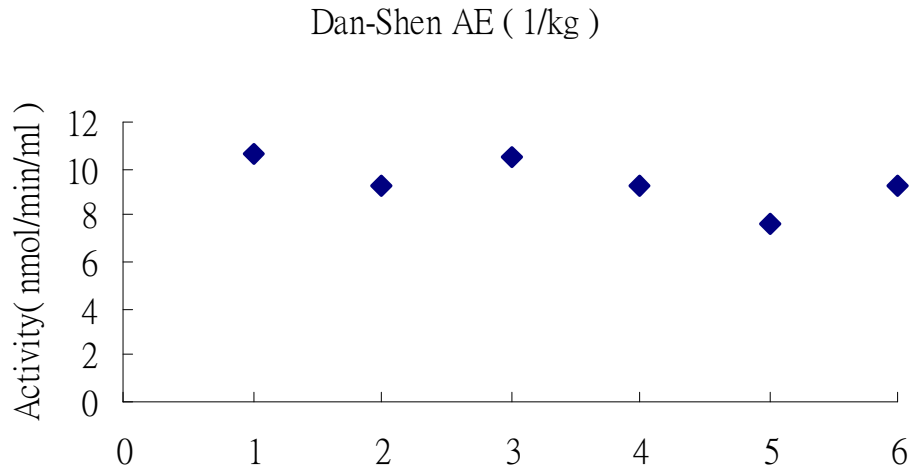
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 濃度的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-2-2-12



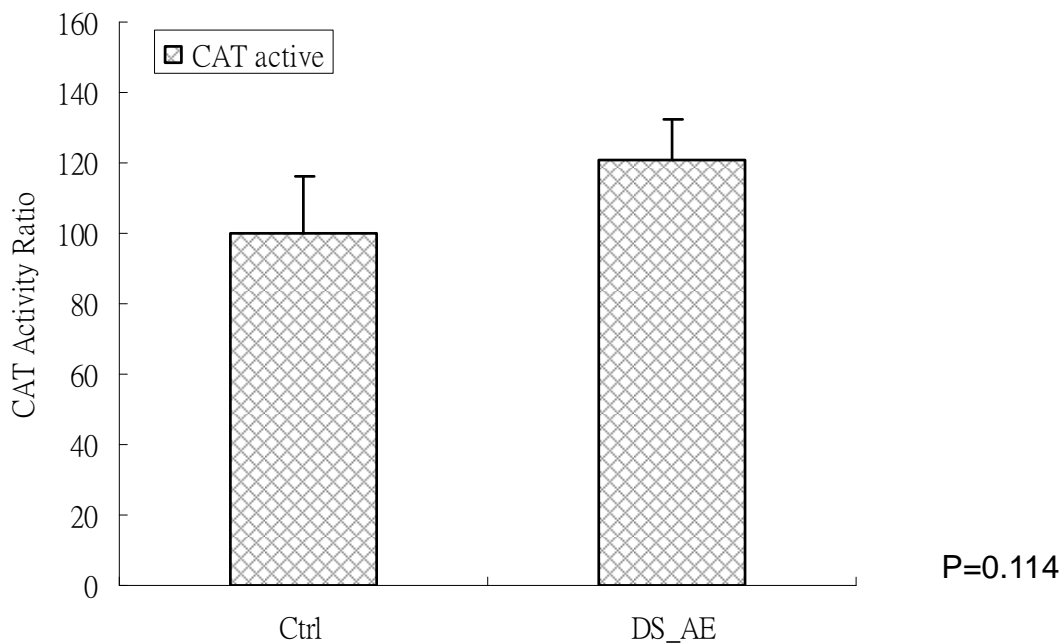
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-2-2-13



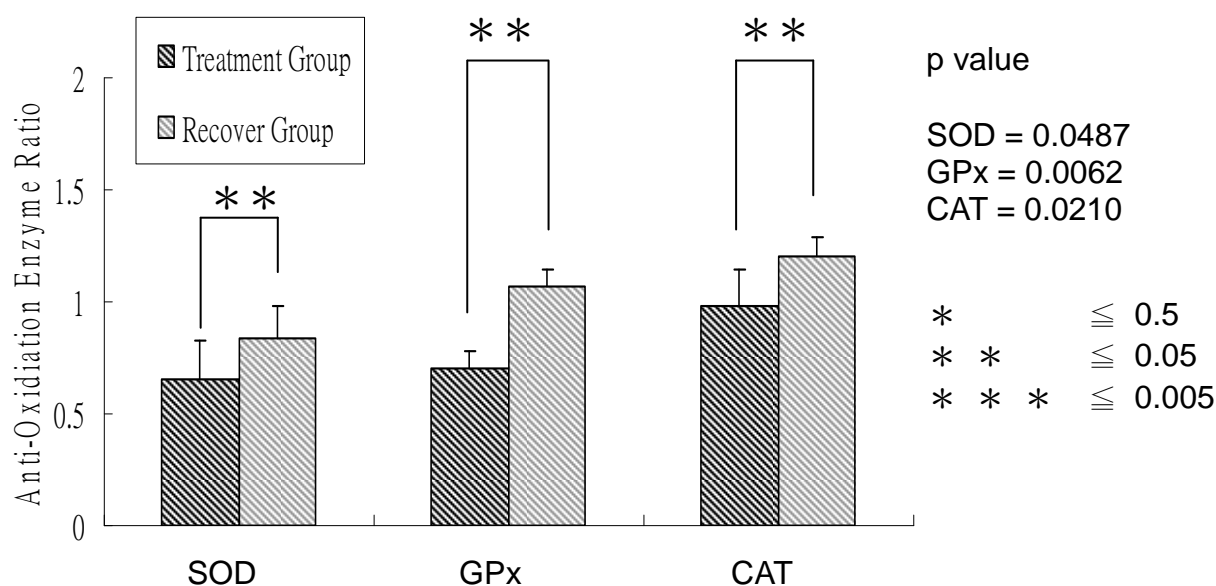
實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性
(nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-2-2-14



實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 活性的差異，X 軸為群組，Y
軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

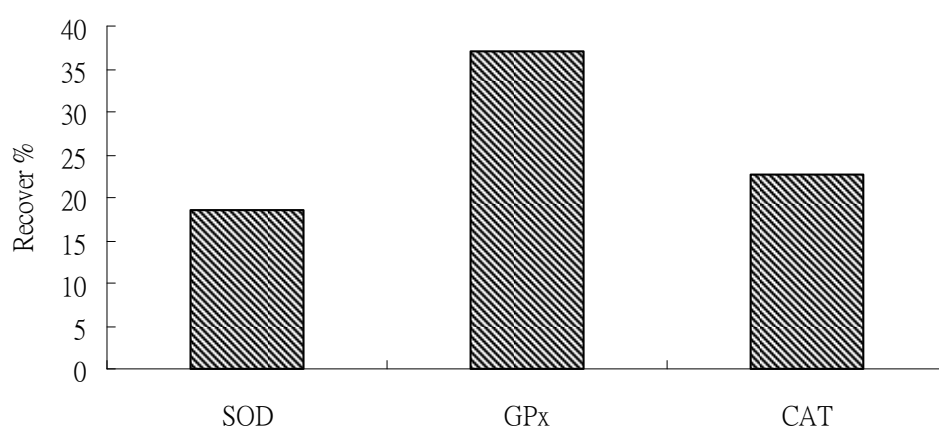
圖 3-2-2-18



連續服用丹參酒萃物(1 g/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

X 軸由左到右分別為 SOD，GPx，CAT 三種酵素，每種酵素的左邊是直接犧牲組(treatment group)，右邊是停藥後再犧牲組(Recover group)，Y 軸為實驗組與對照組的比值 (Ratio of control)。

圖 3-2-2-19

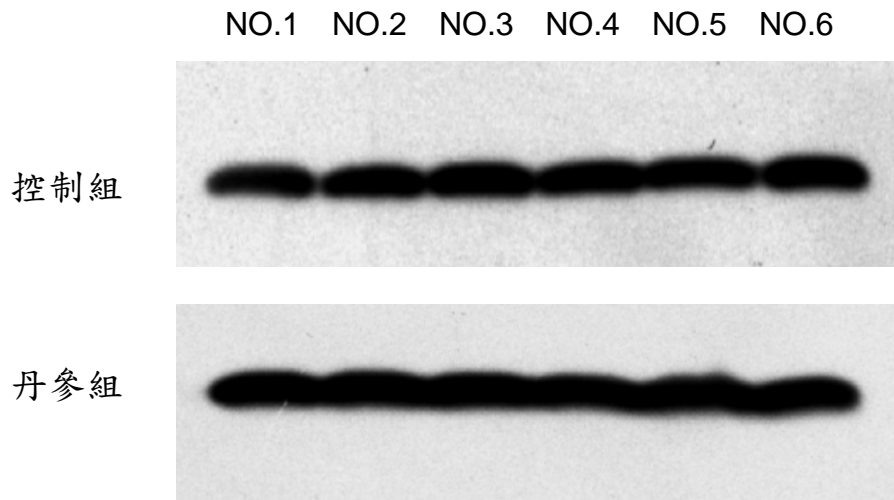


SOD, recover 18.55% (0.651 → 0.836)
 GPx, recover 37.02% (0.700 → 1.071)
 CAT, recover 22.74% (0.979 → 1.206)

連續服用丹參酒萃物(1 g/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的回覆：

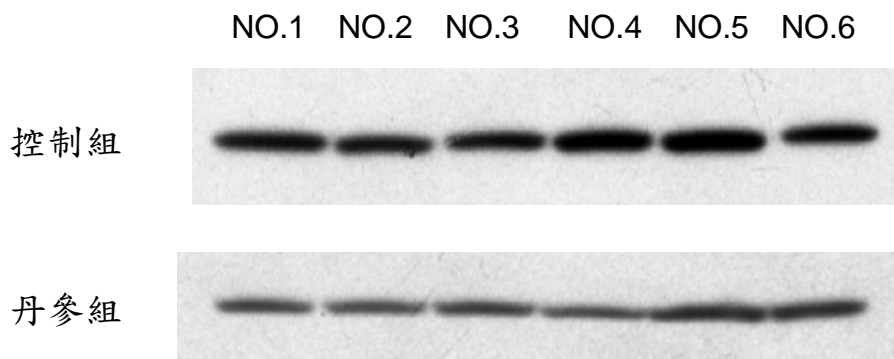
X 軸由左到右分別為 SOD，GPx，CAT 三種酵素，Y 軸為停藥後再犧牲性能回覆抗氧化酵素的程度。

圖 3-2-3-3



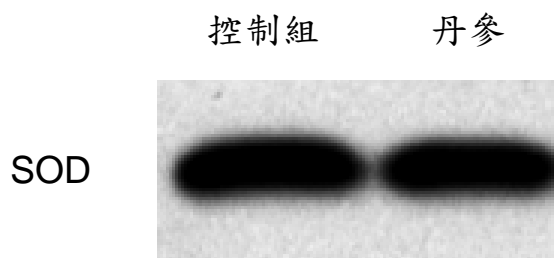
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素 SOD 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參組，由左往右是每隻實驗小鼠的肝組織樣本，
分別編號成 1~6 號。

圖 3-2-3-4



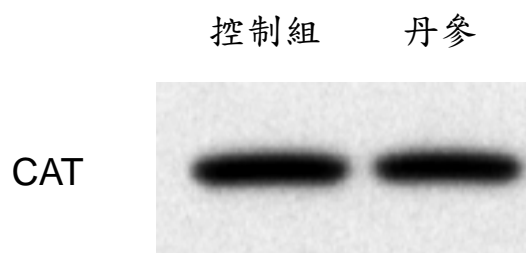
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素 SOD 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參組，由左往右是每隻實驗小鼠的肝組織樣本，
分別編號成 1~6 號。

圖 3-2-3-5



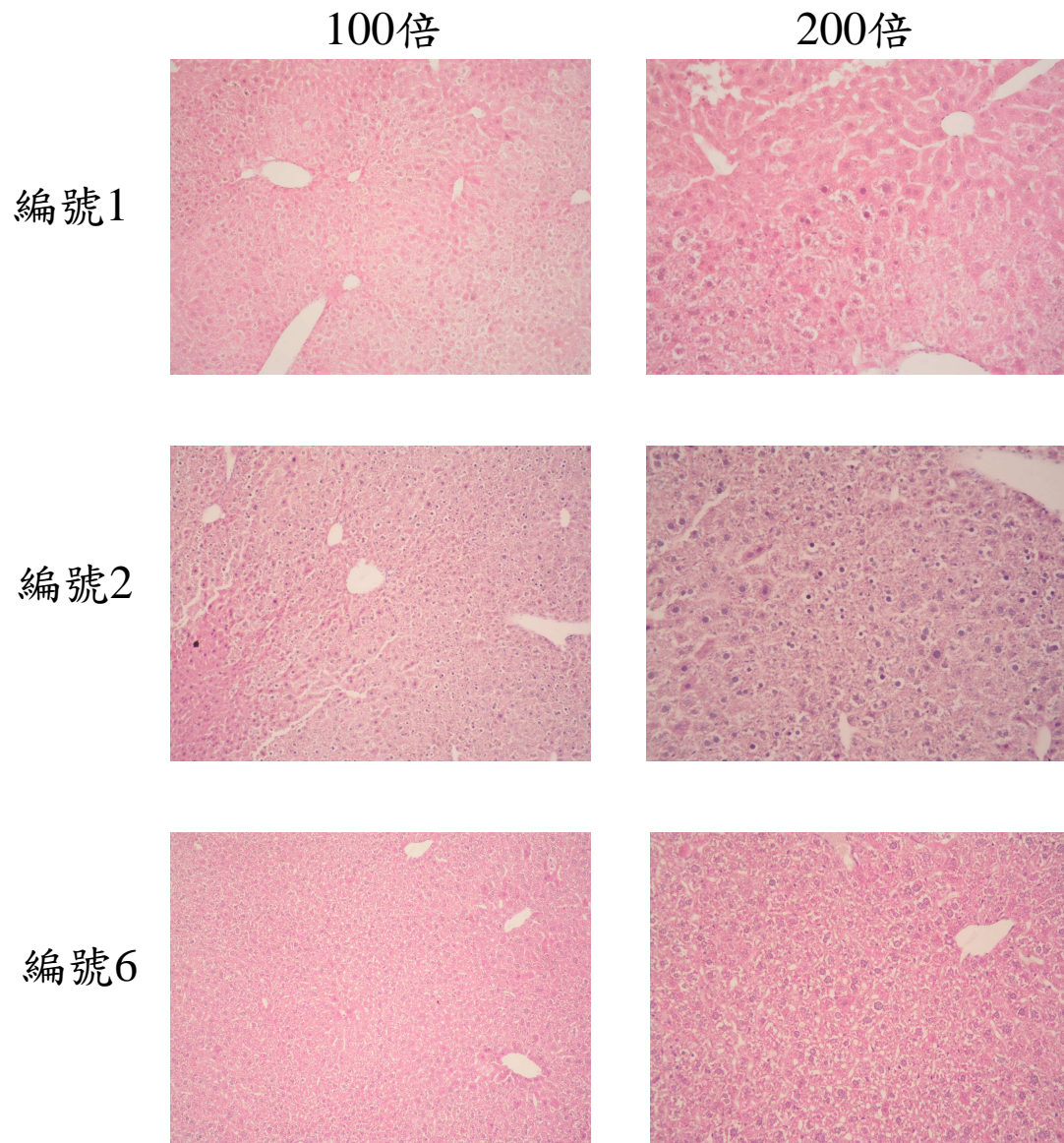
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化，由左往
右是控制組、丹參組。

圖 3-2-3-6



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左
往右是控制組、丹參組。

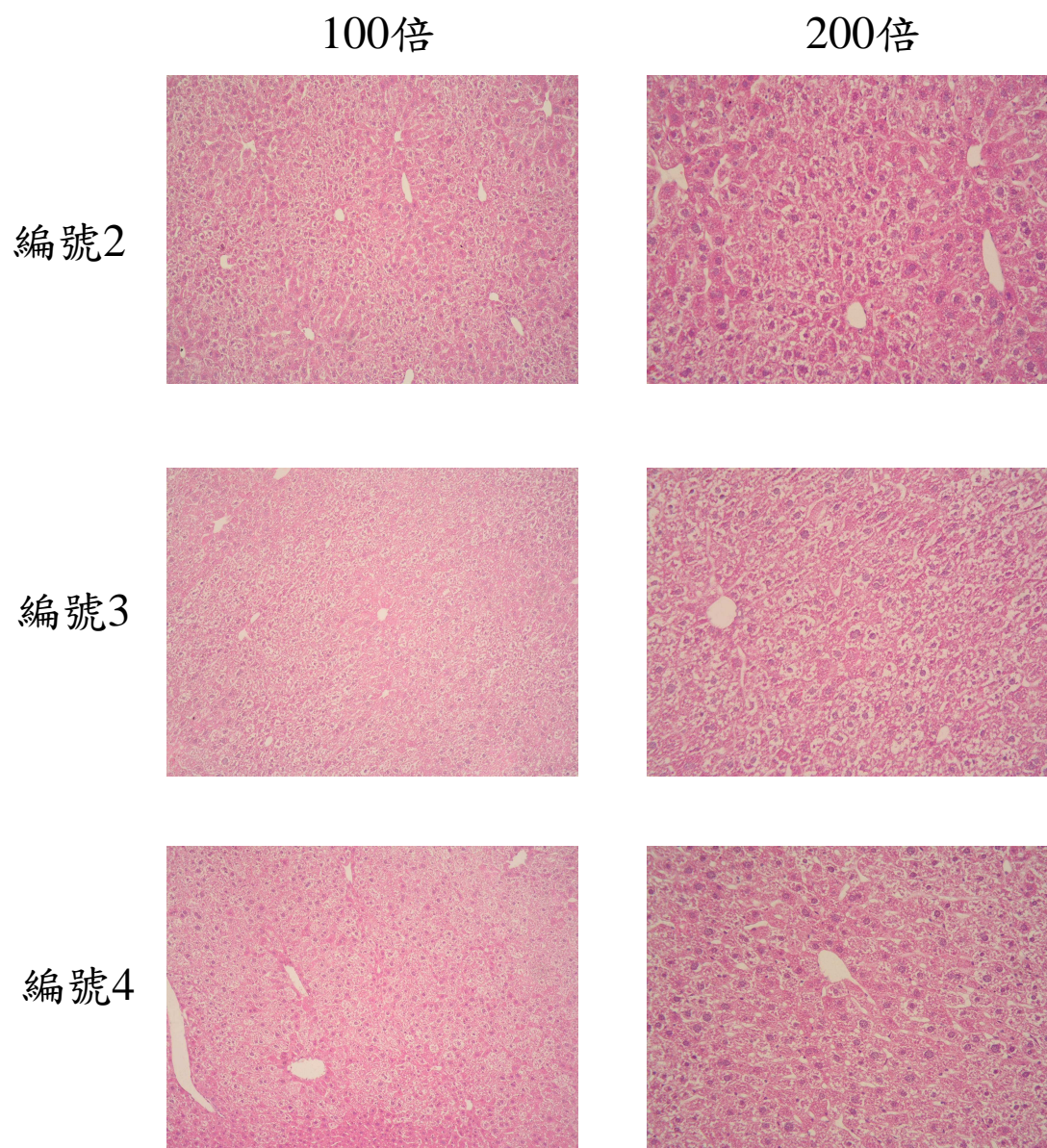
圖 3-2-4-3



連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-2-4-4



連續服用丹參酒萃，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-3-1-1

Protocol

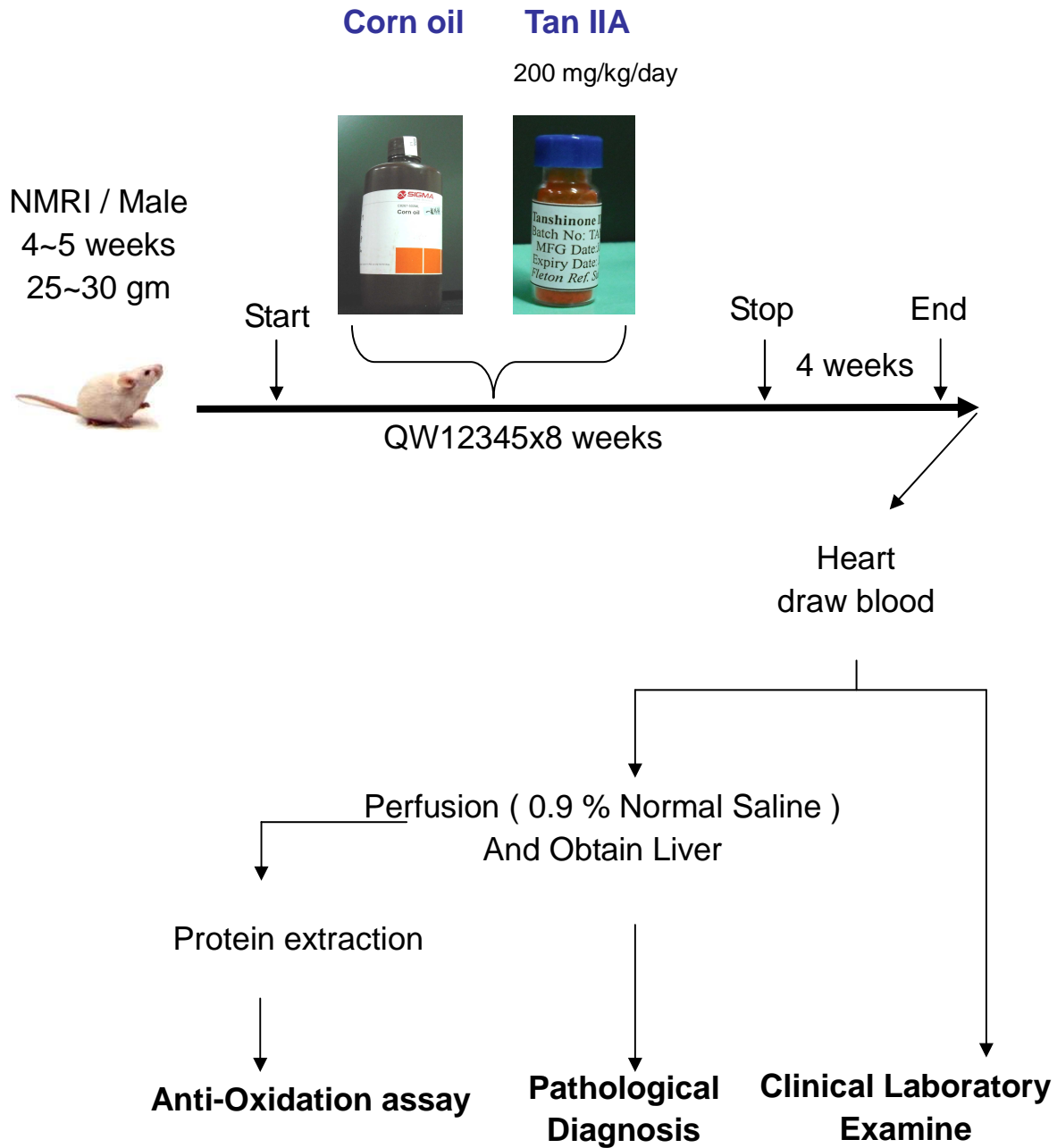
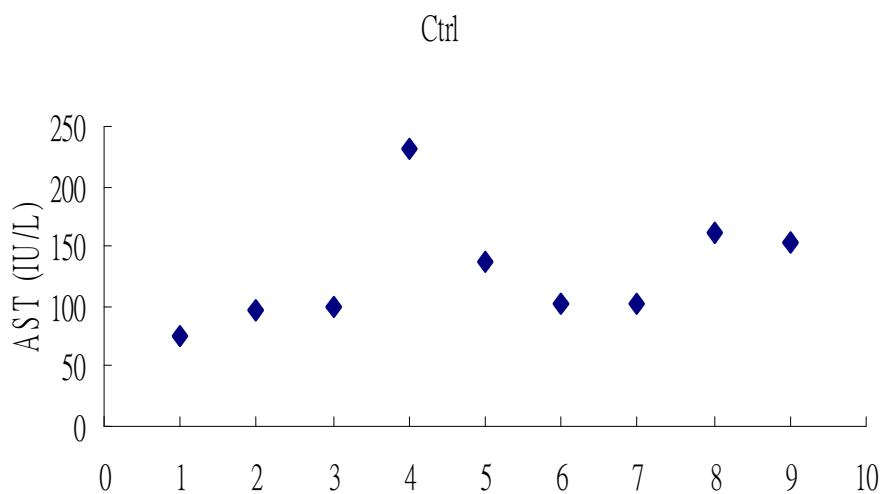
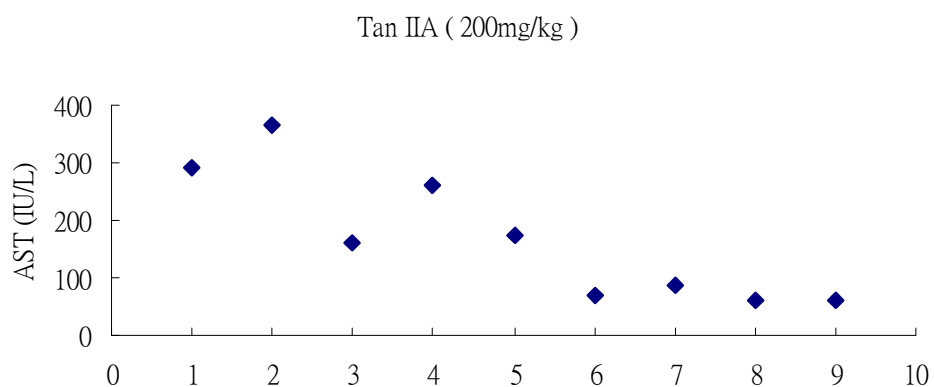


圖 3-3-1-3



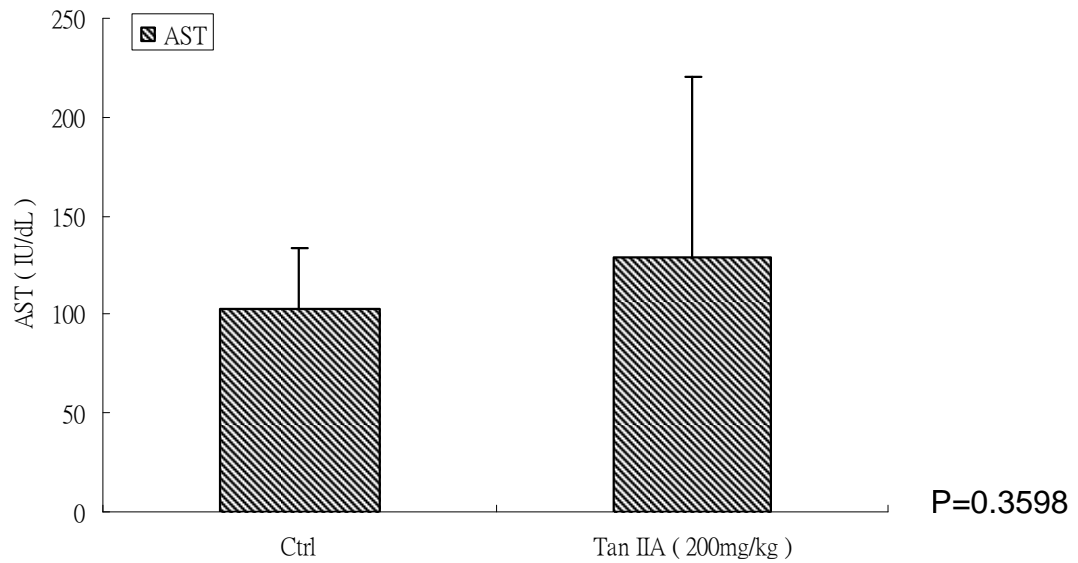
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 AST 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-4



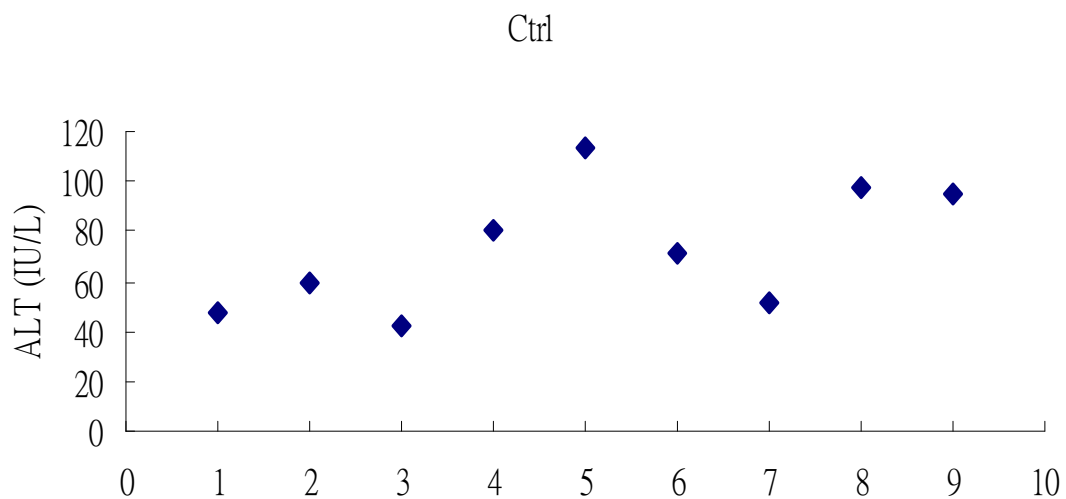
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 AST 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-5



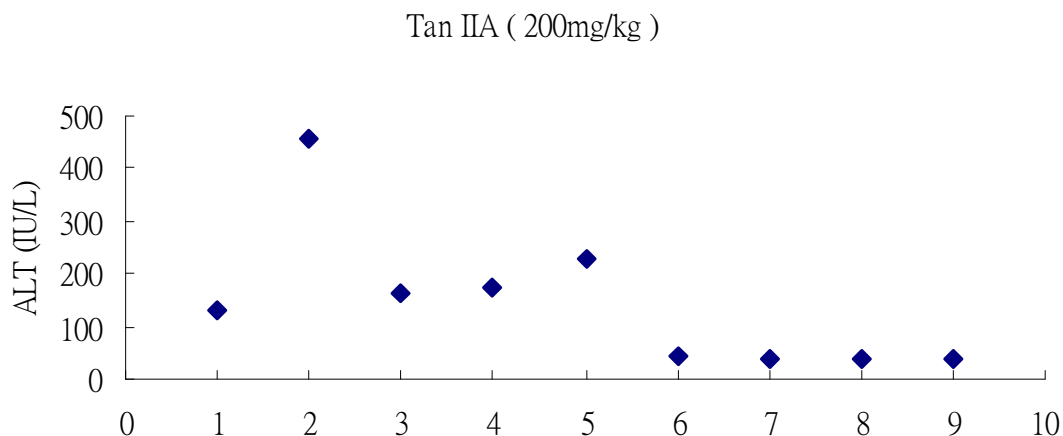
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-AST 的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-3-1-7



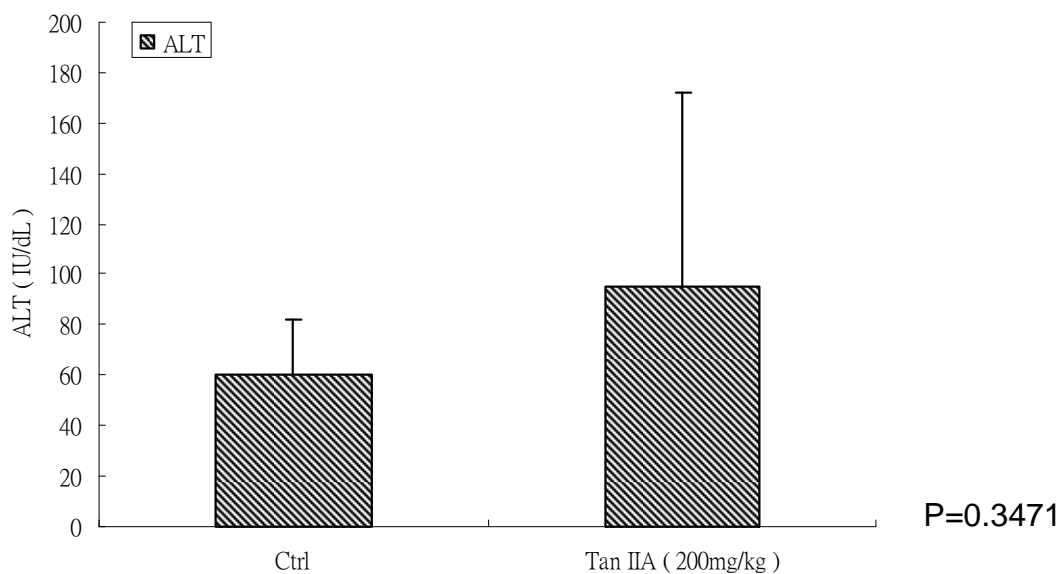
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 ALT 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-8



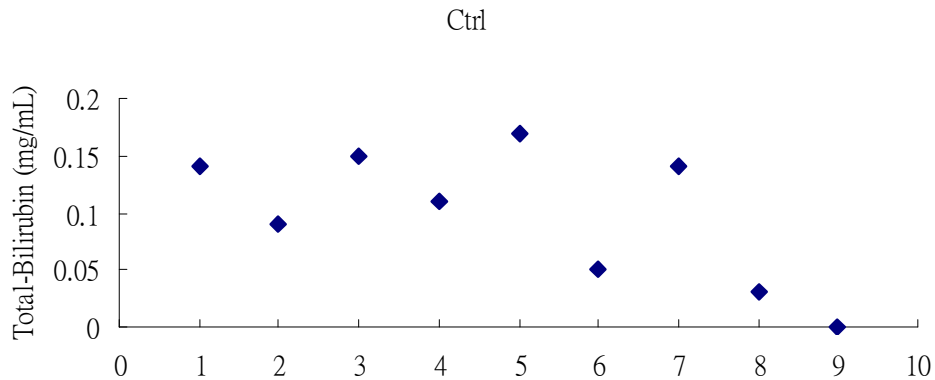
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 ALT 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-9



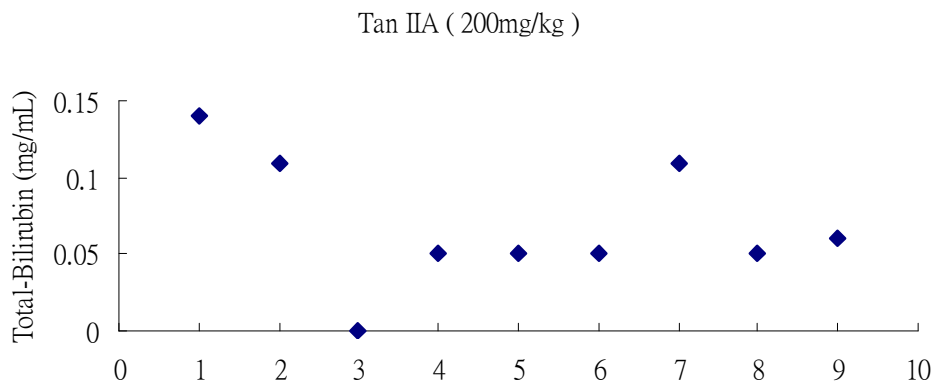
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-ALT 的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-3-1-11



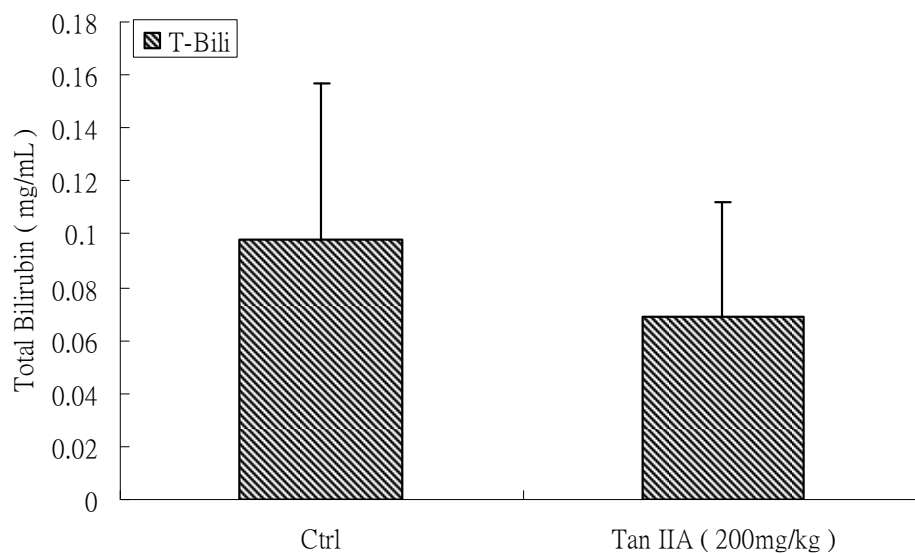
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為
老鼠數據。

圖 3-3-1-12



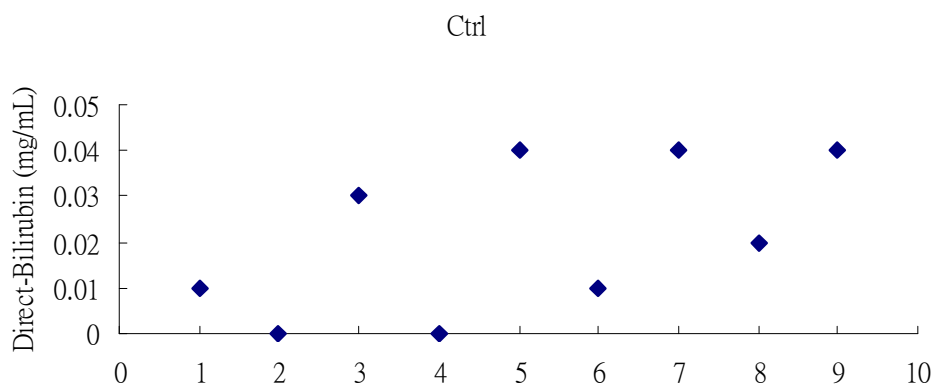
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
實驗組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為
老鼠數據。

圖 3-3-1-13



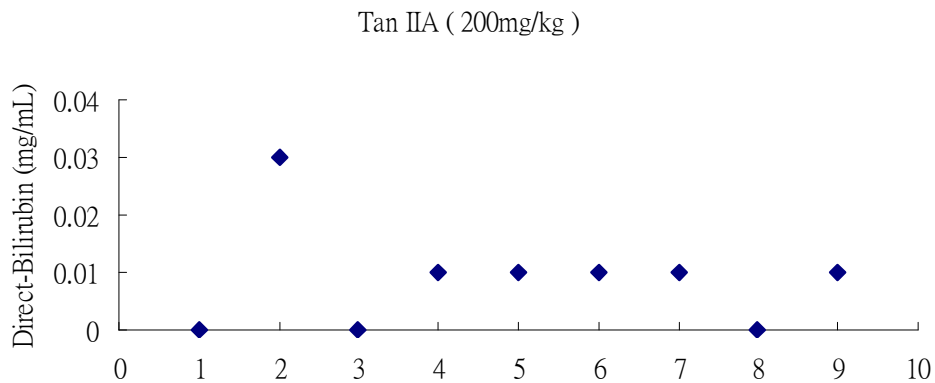
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-總膽紅素的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-3-1-15



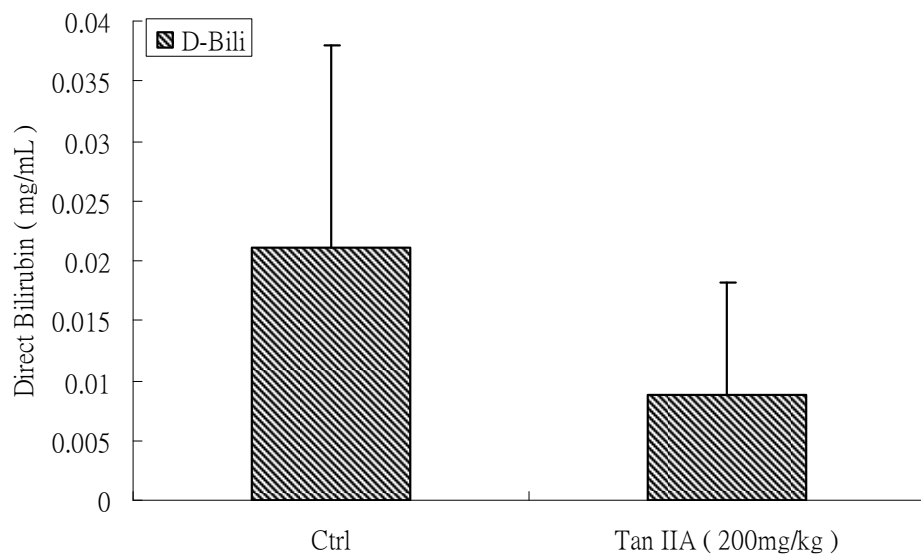
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-16



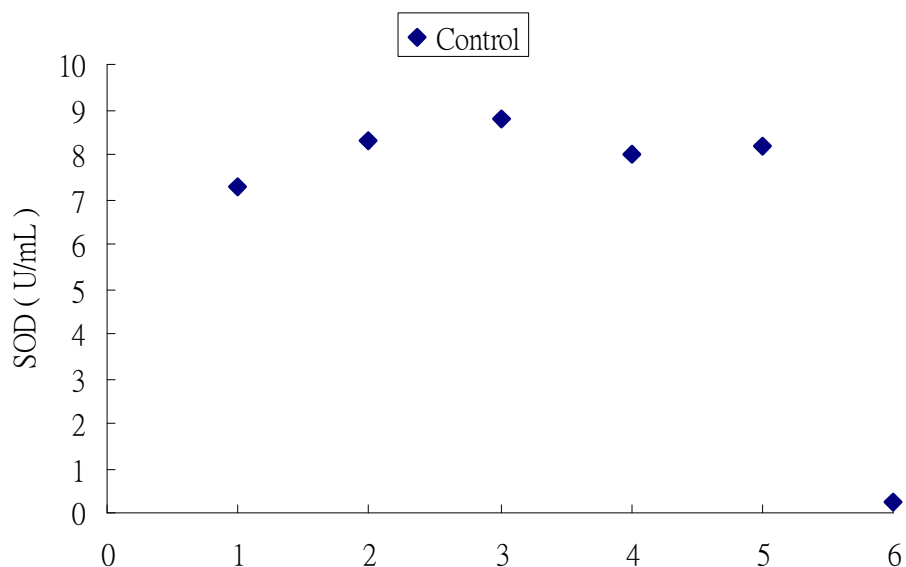
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-1-17



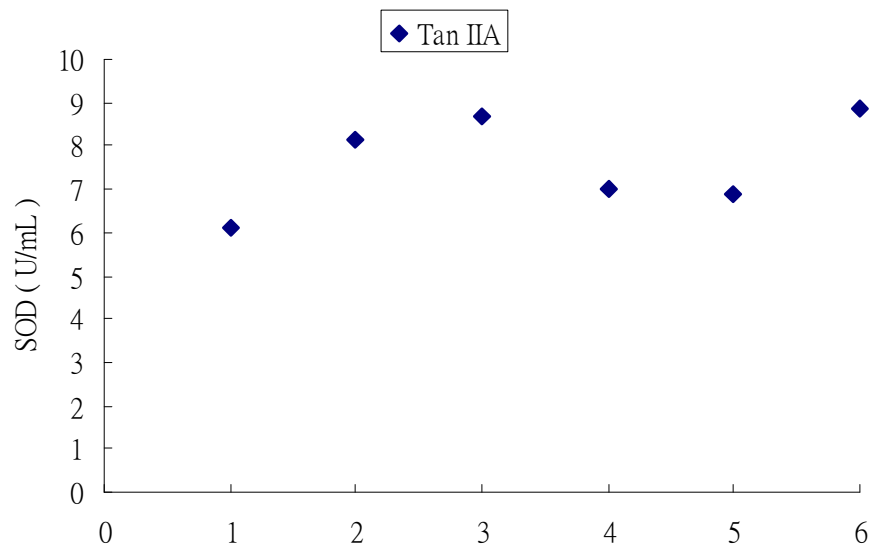
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-直接膽紅素的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-3-2-4



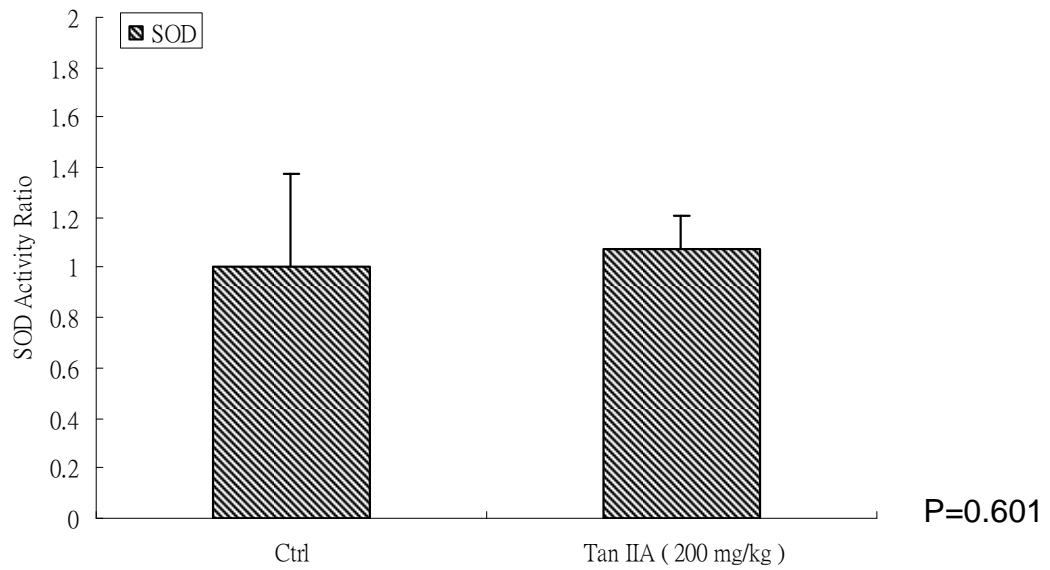
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-5



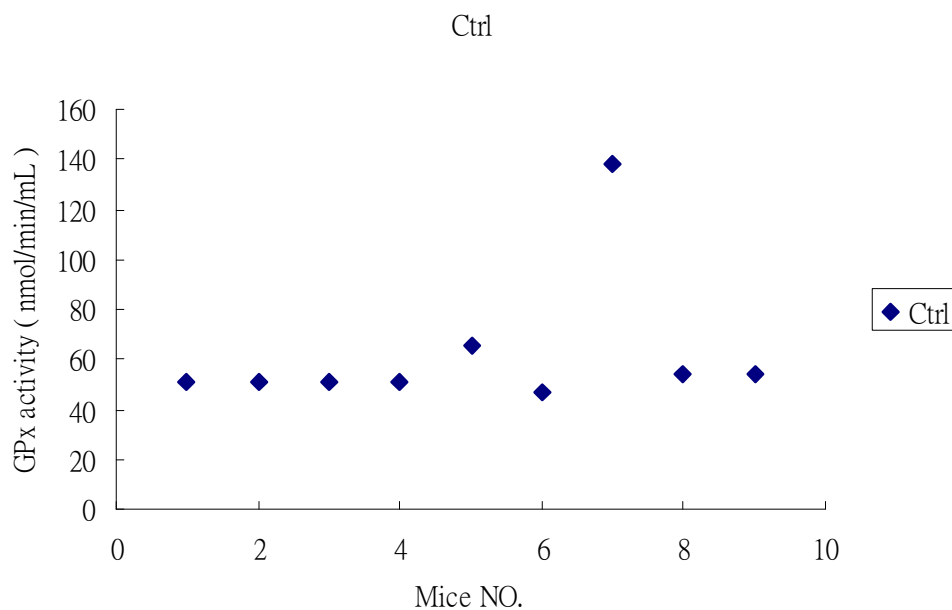
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-6



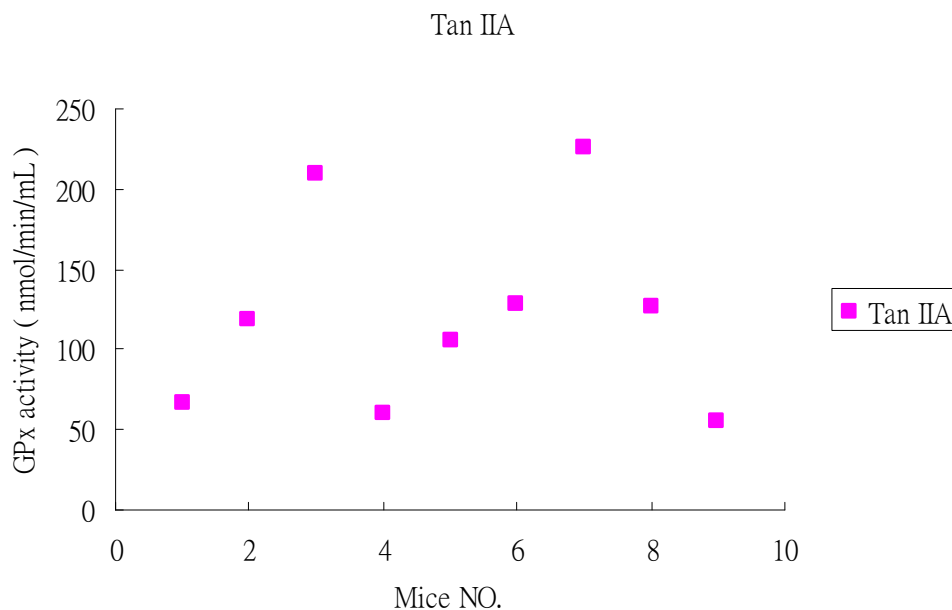
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天,連續餵食八週,停藥四周,然後犧牲
比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-SOD 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為
酵素活性。

圖 3-3-2-8



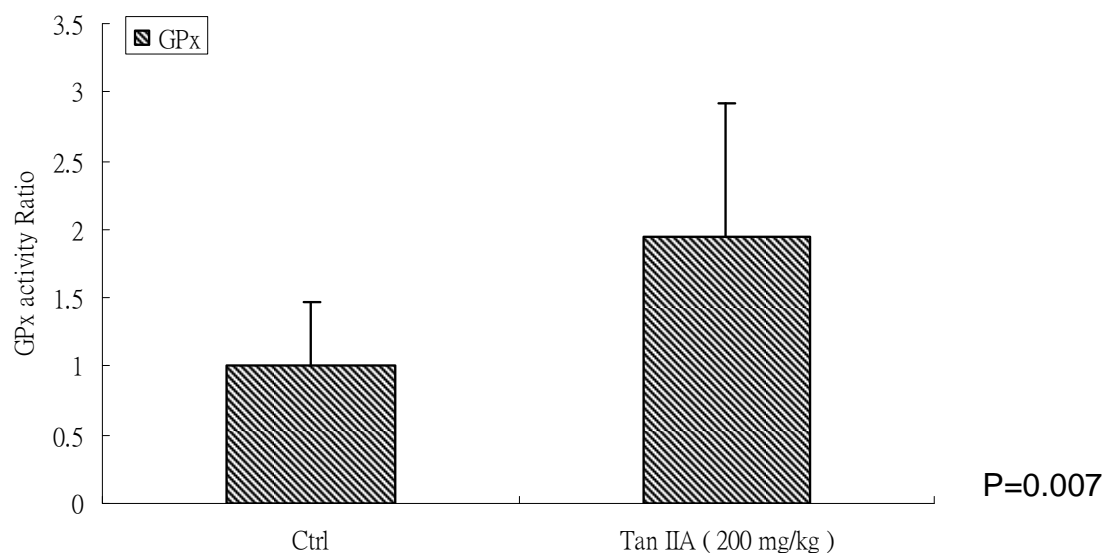
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠
數據。

圖 3-3-2-9



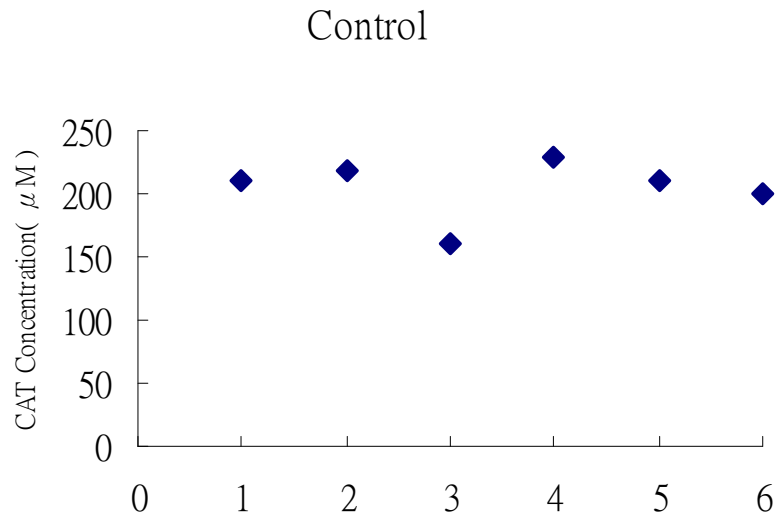
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-10



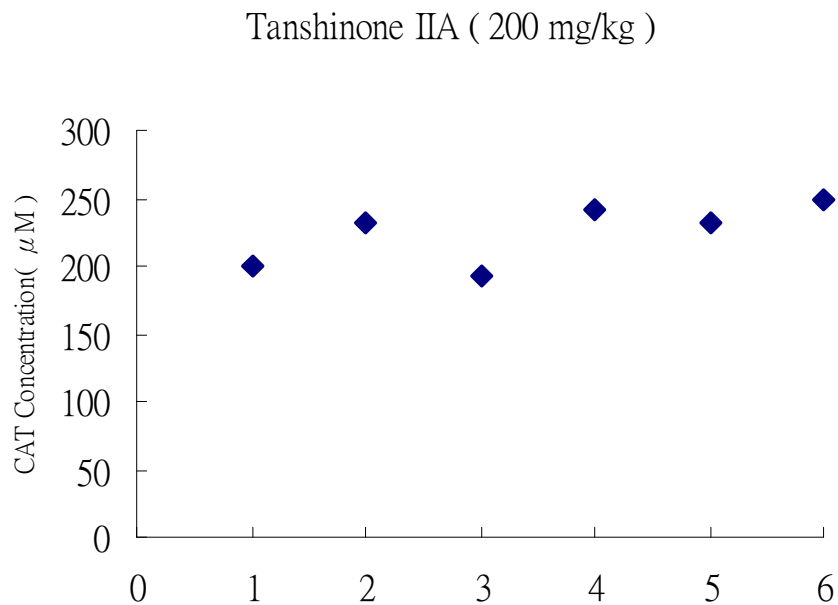
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-GPx 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-3-2-12



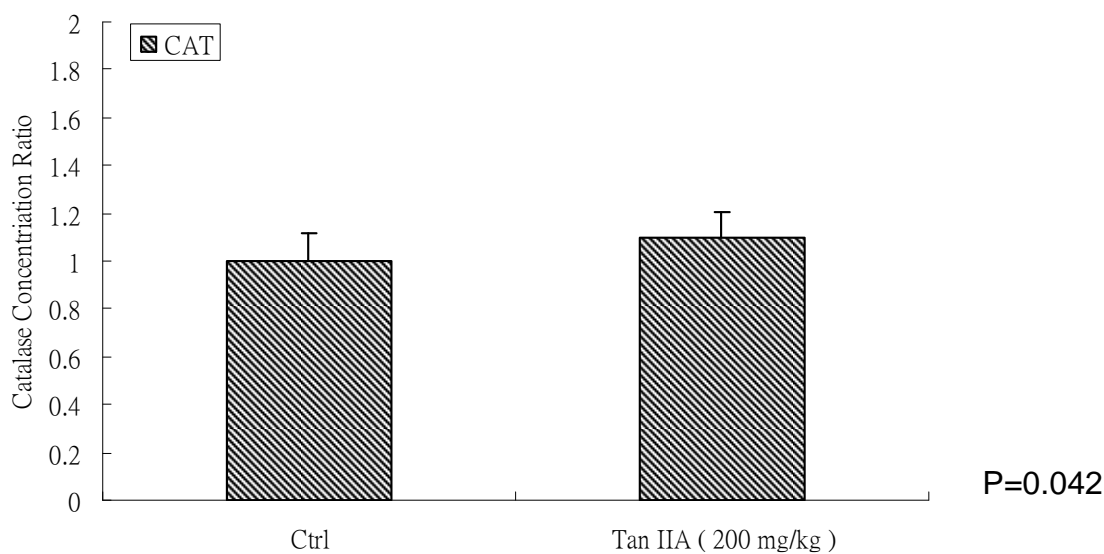
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的抗氧化酵素 Catalase 濃度 檢測點圖，Y 軸為酵素濃度 (μM)，X
軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-13



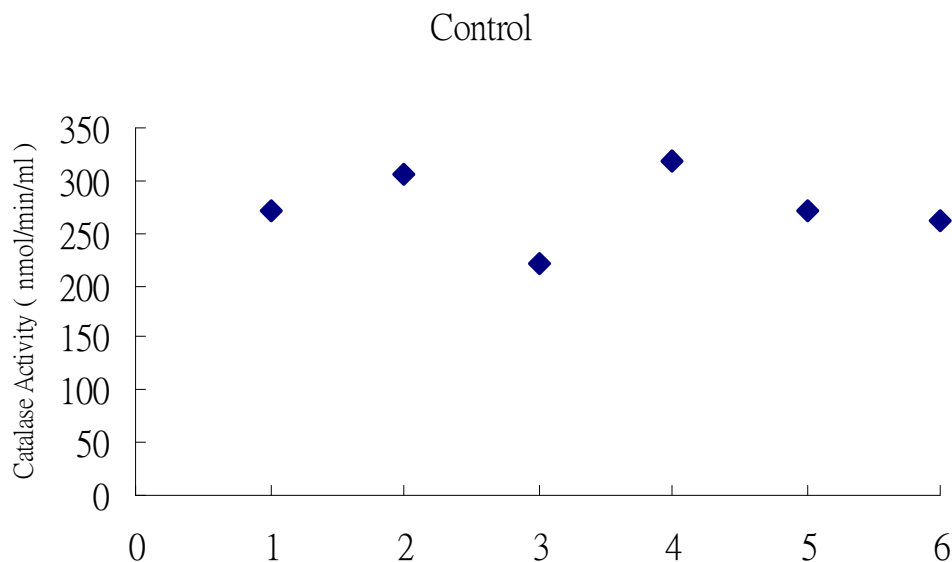
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
實驗組的抗氧化酵素 Catalase 濃度 檢測點圖，Y 軸為酵素濃度 (μM)，X
軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-14



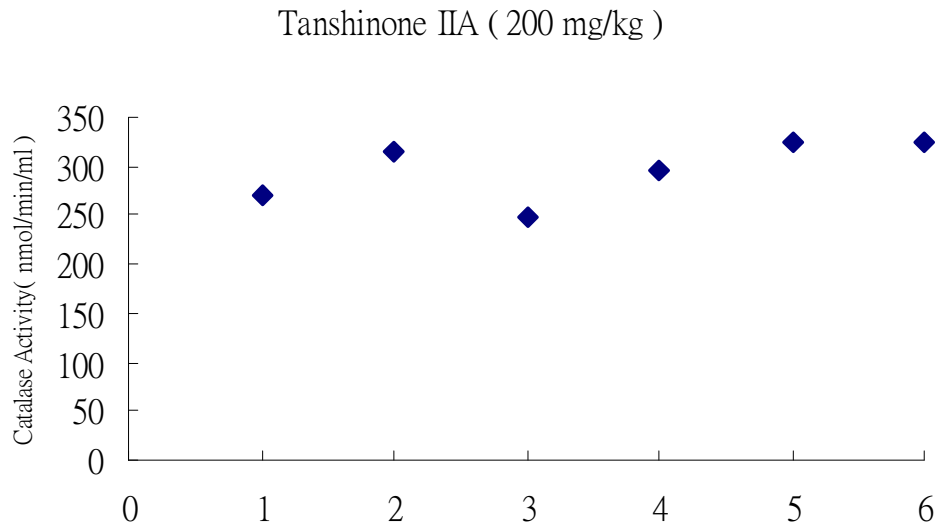
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 濃度的差異，X 軸為群組，左為控制組，右為實驗組，Y 軸為酵素濃度。

圖 3-3-2-16



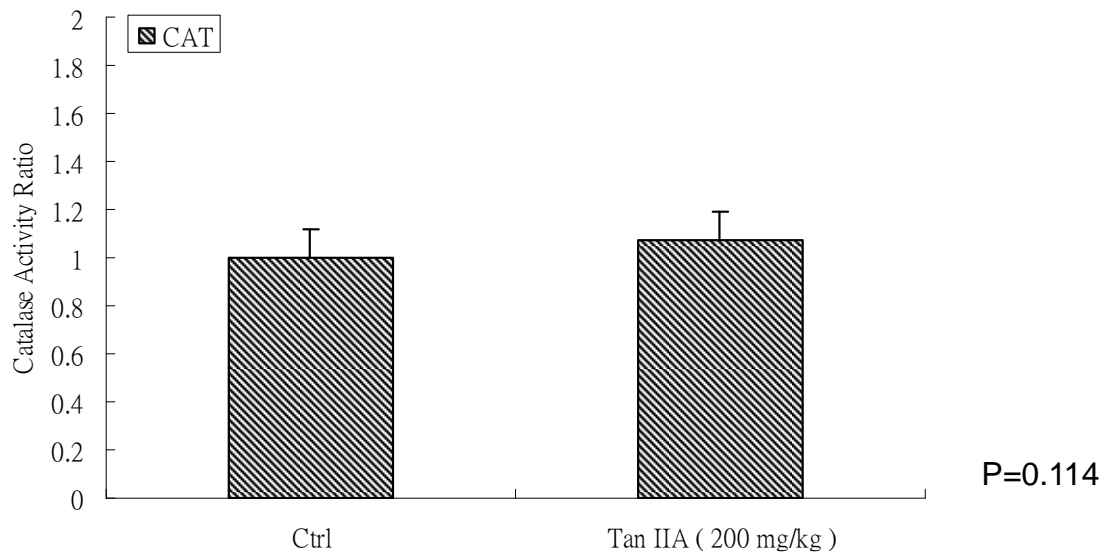
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-17



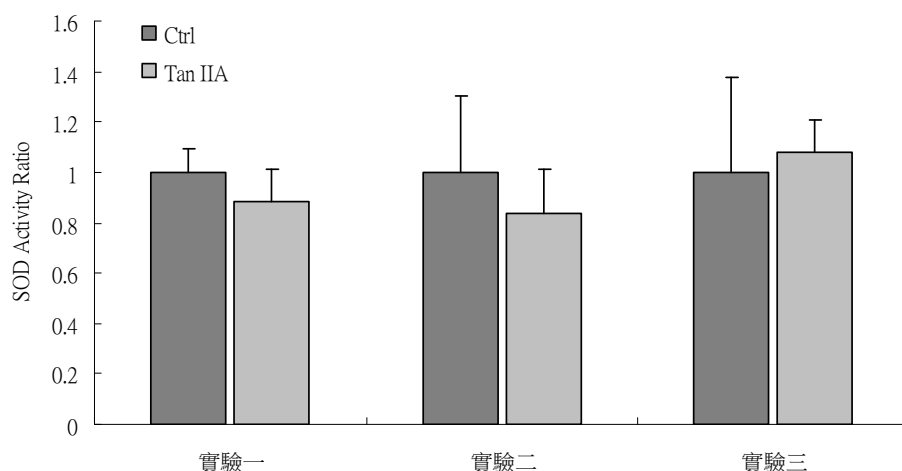
實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-3-2-18



實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

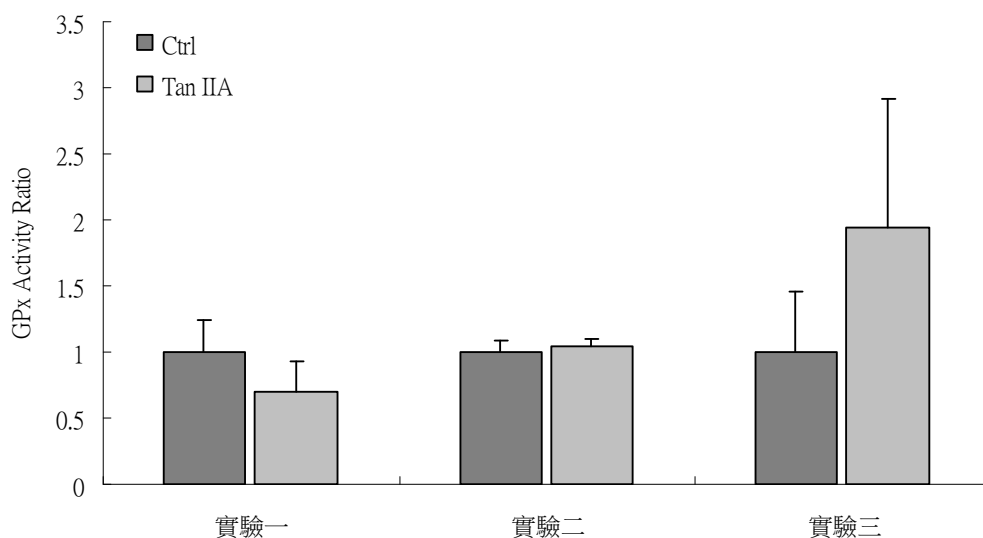
圖 3-3-2-19



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 SOD 活性結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

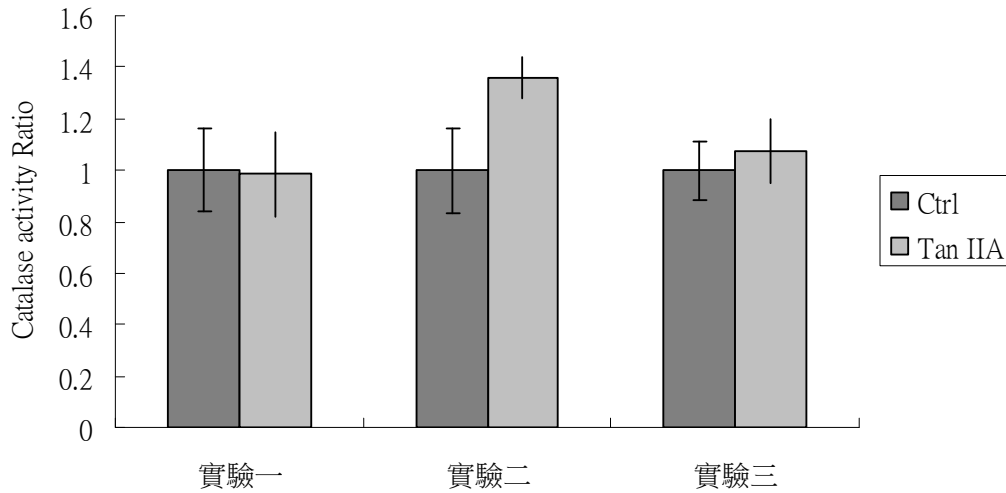
圖 3-3-2-20



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 GPx 活性結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

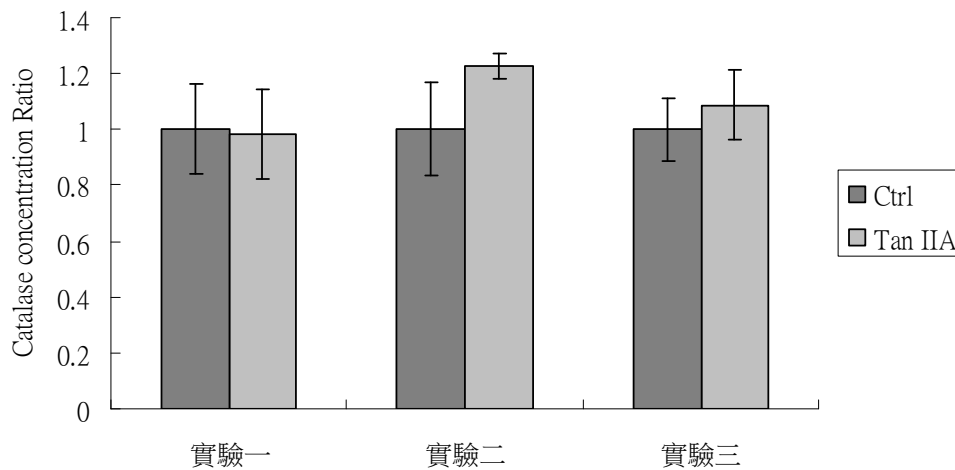
圖 3-3-2-21



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 CAT 活性結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

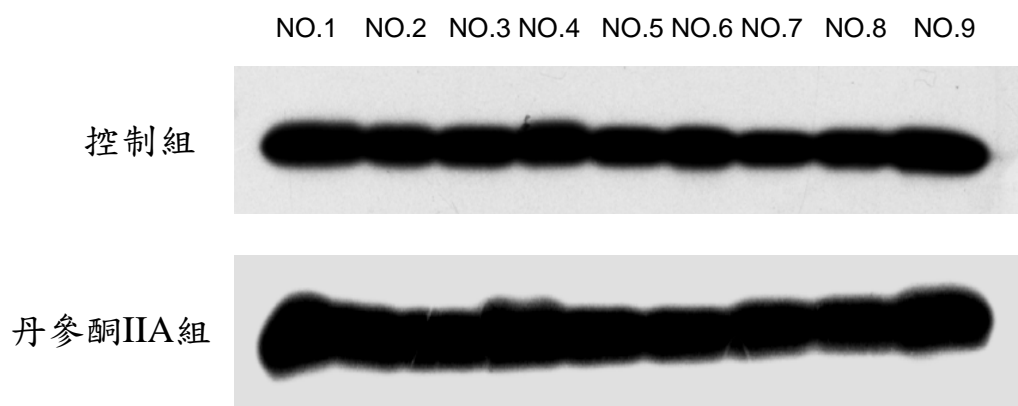
圖 3-3-2-22



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：

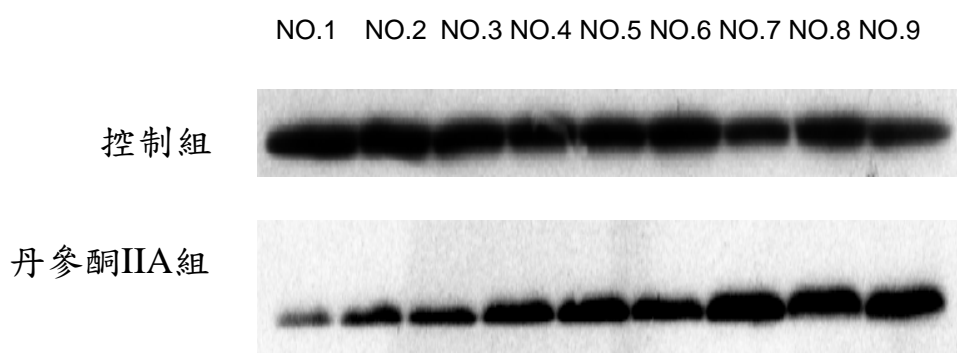
X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 CAT 濃度結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

圖 3-3-3-3



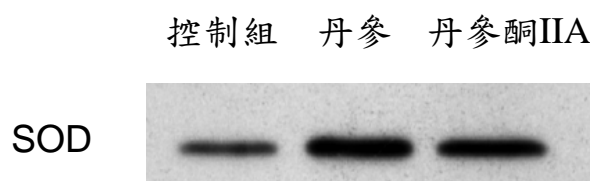
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素 SOD 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參酮 IIA 組，由左往右是每隻實驗小鼠的肝組織樣本，分別編號成 1~6 號。

圖 3-3-3-4



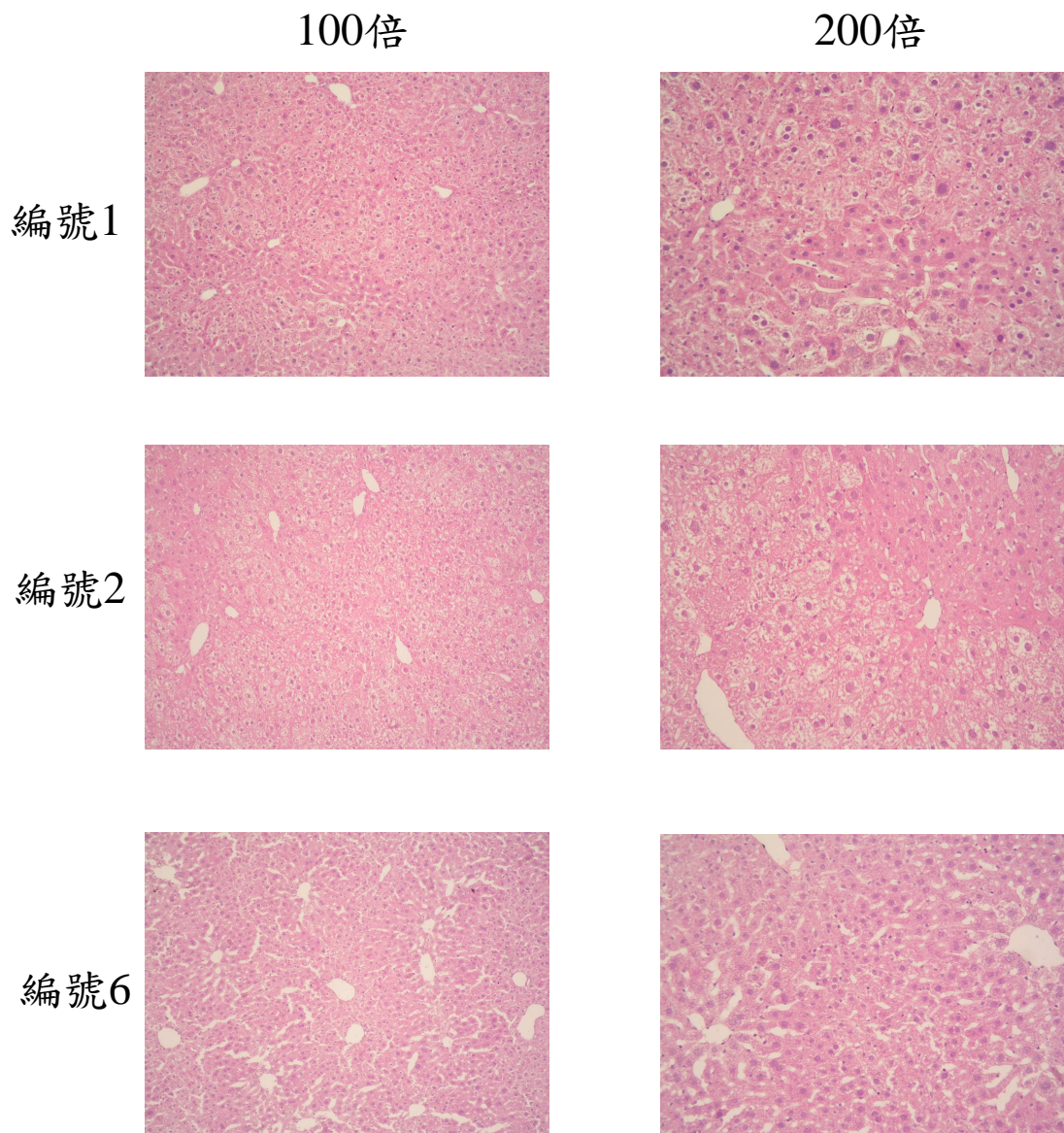
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素 CAT 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參酮 IIA 組，由左往右是每隻實驗小鼠的肝組織樣本，分別編號成 1~6 號。

圖 3-3-3-5



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

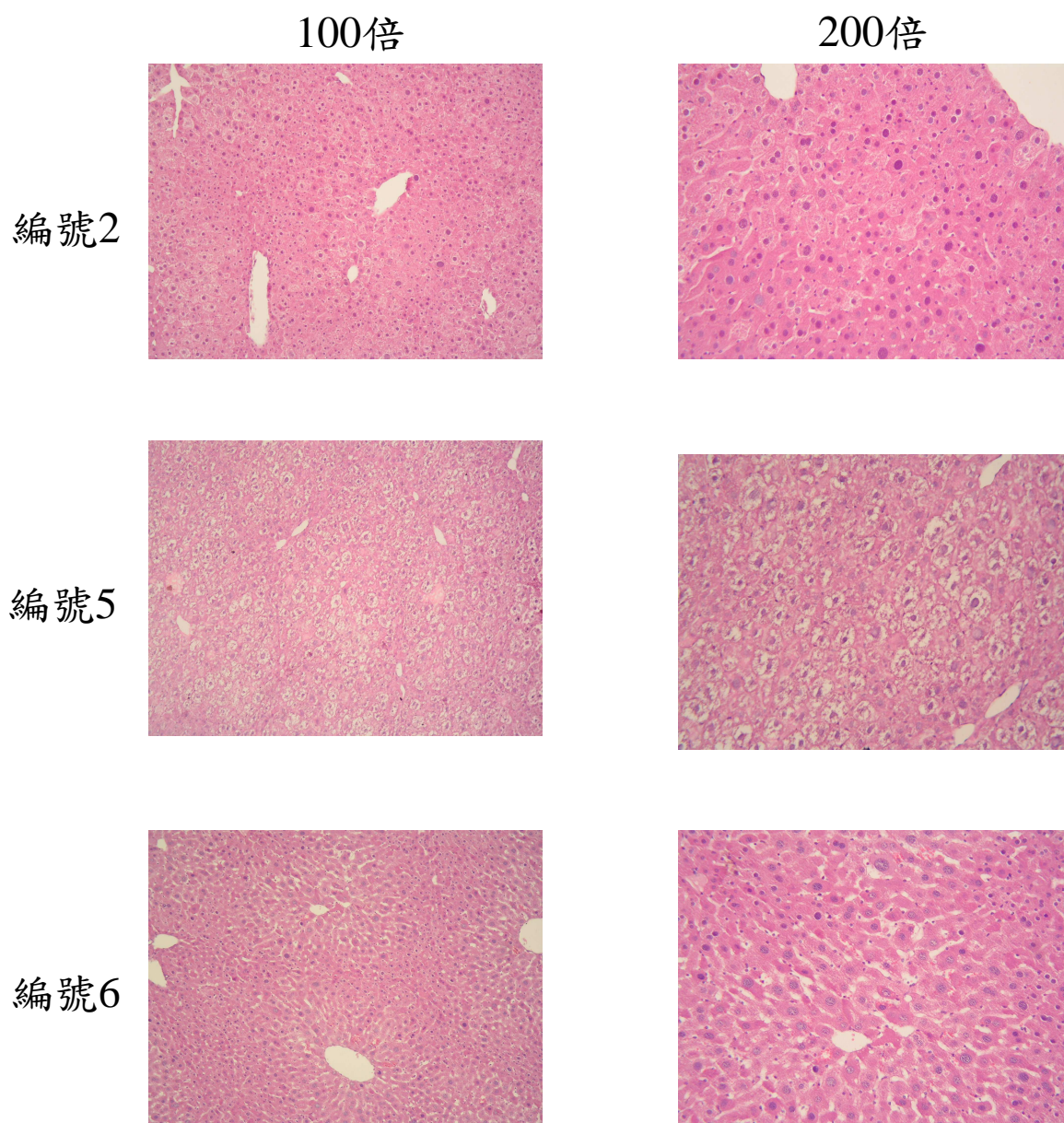
圖 3-3-4-3



連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-3-4-4



連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-4-1-1

Protocol

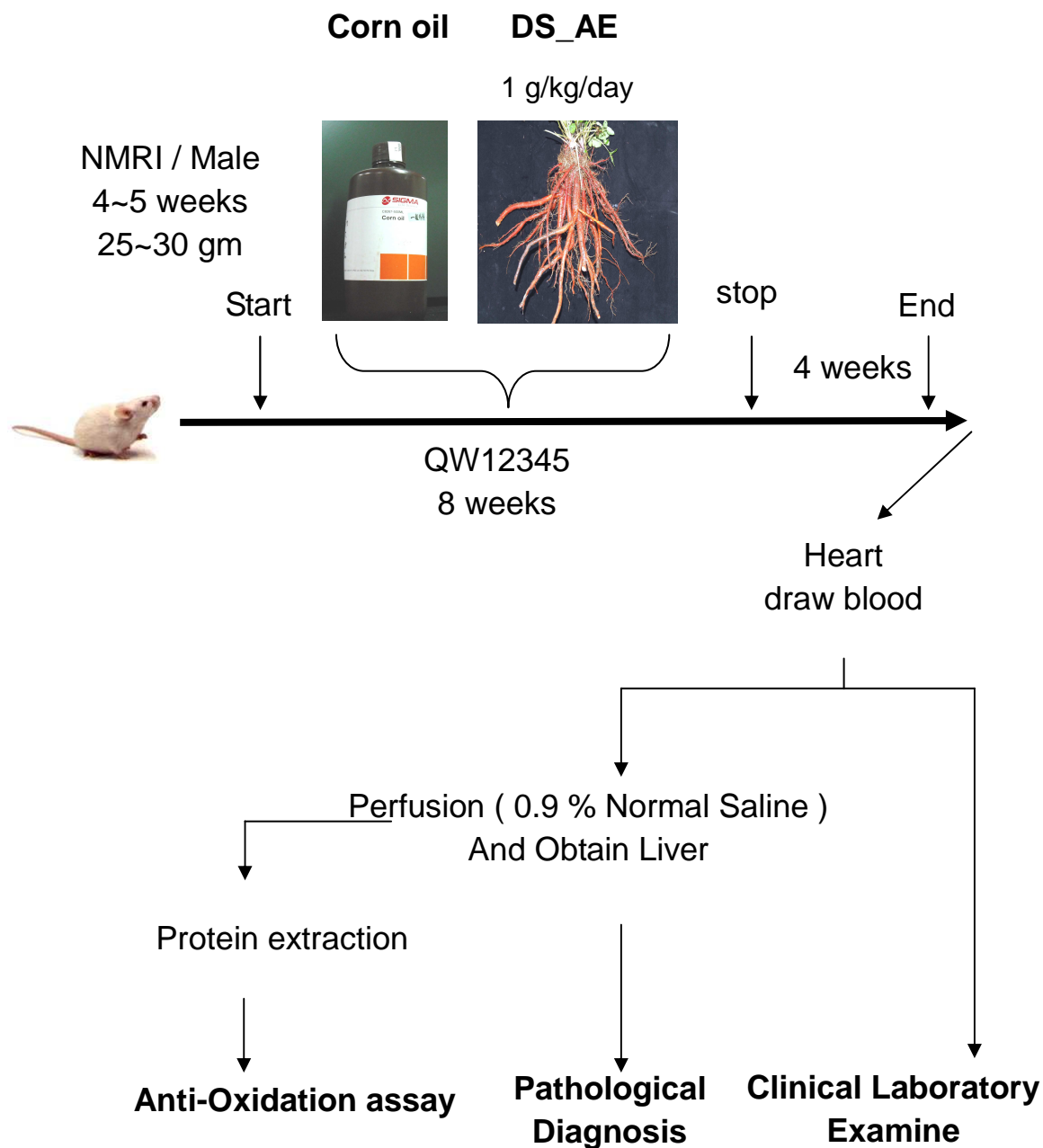
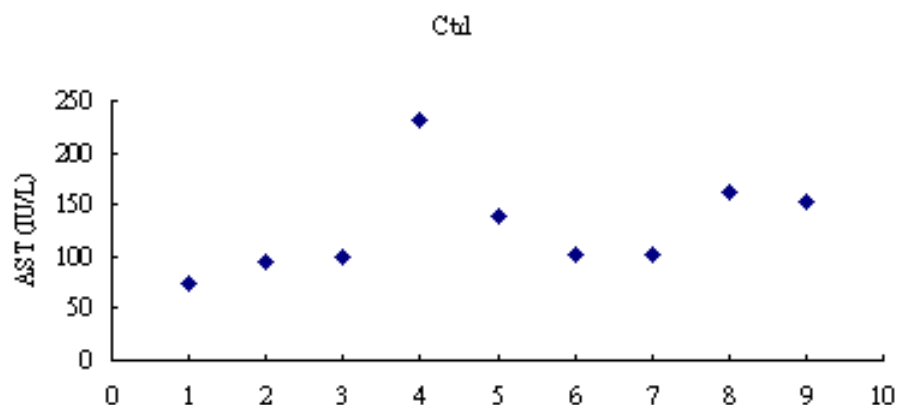
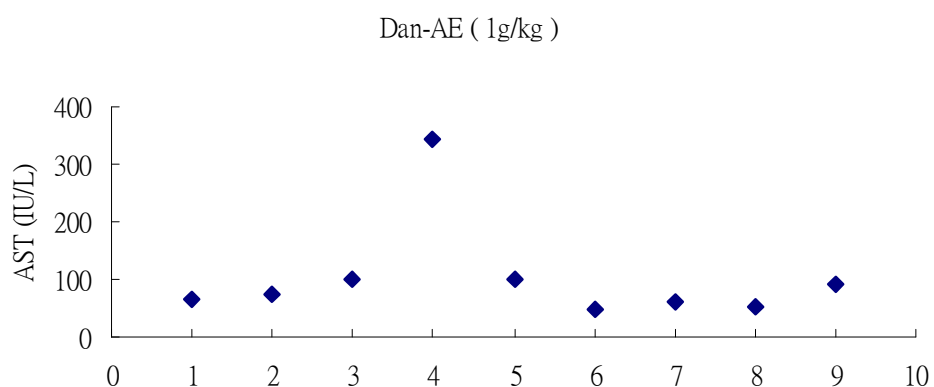


圖 3-4-1-3



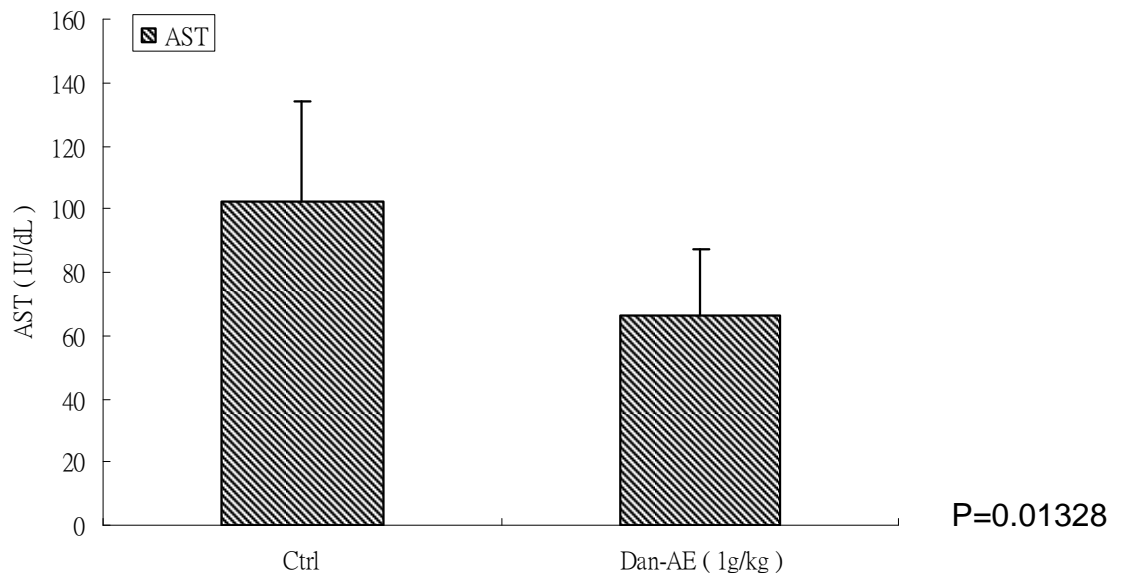
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 AST 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-1-4



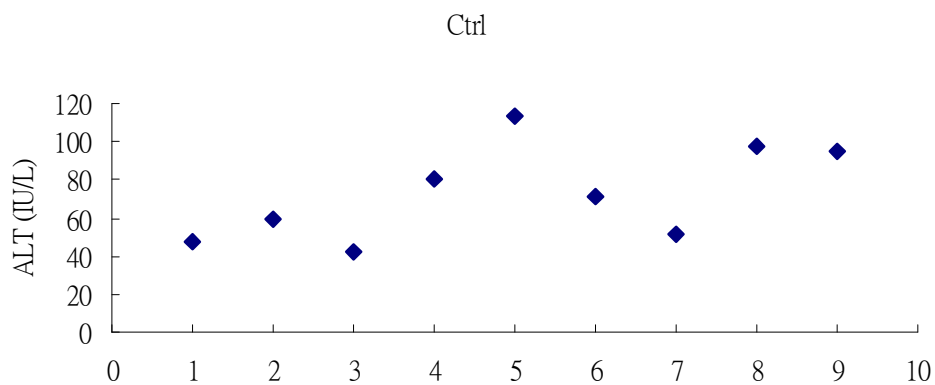
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 AST 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-1-5



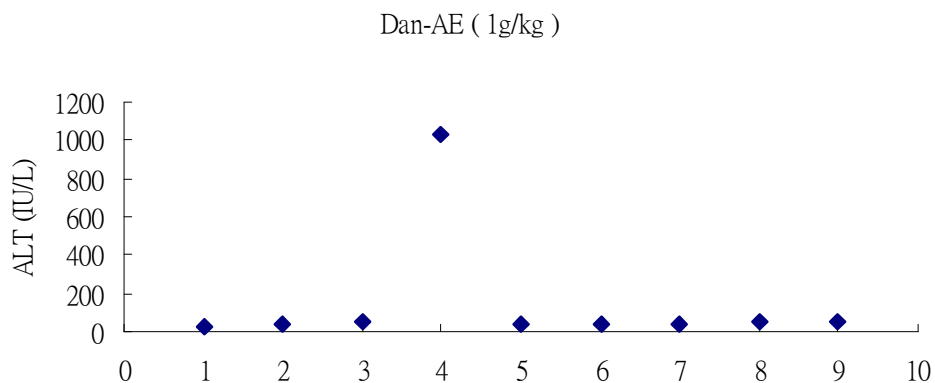
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-AST 的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-1-7



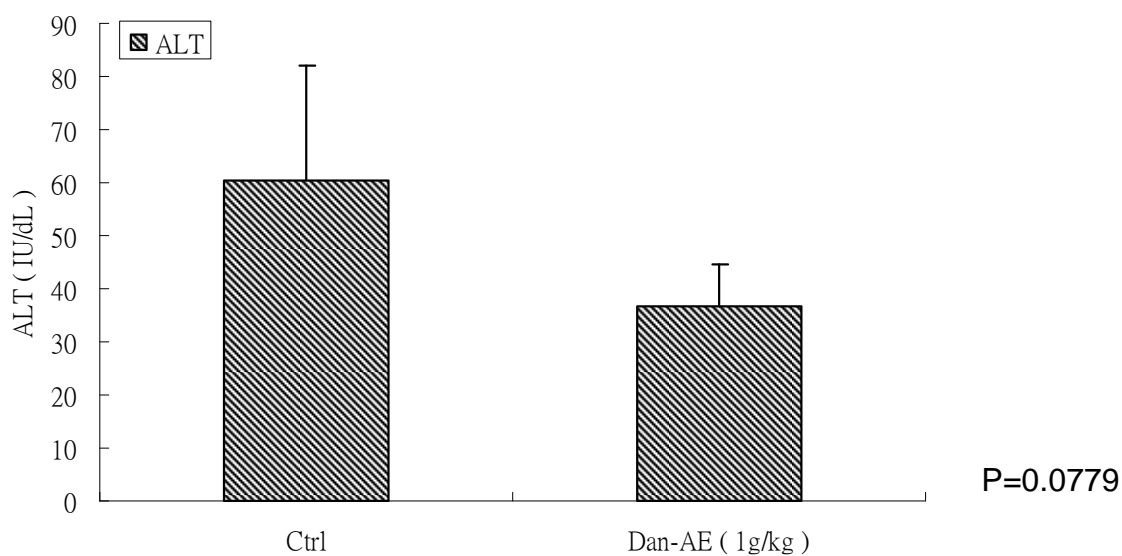
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 ALT 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-1-8



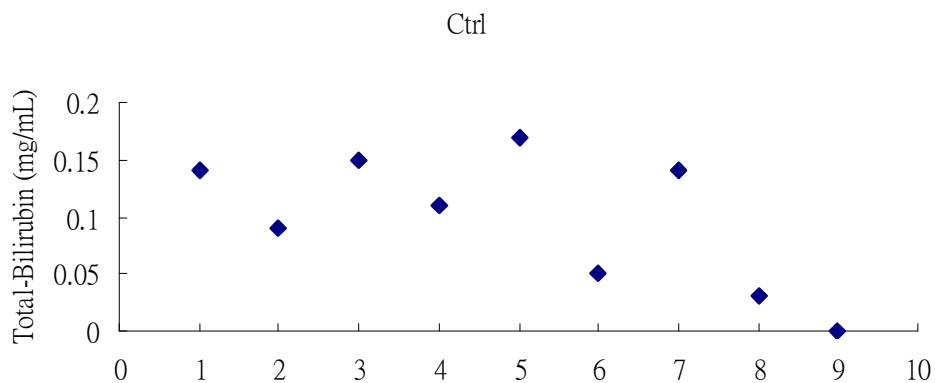
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 ALT 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-1-9



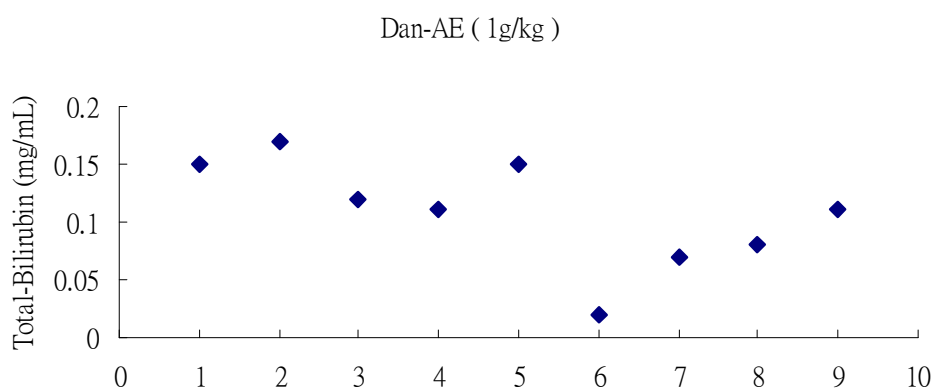
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-ALT 的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-1-11



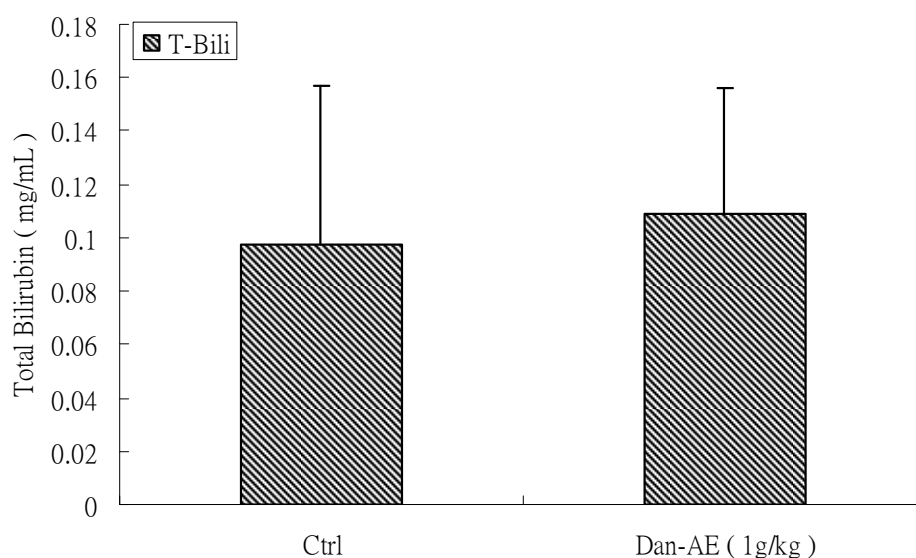
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為
老鼠數據。

圖 3-4-1-12



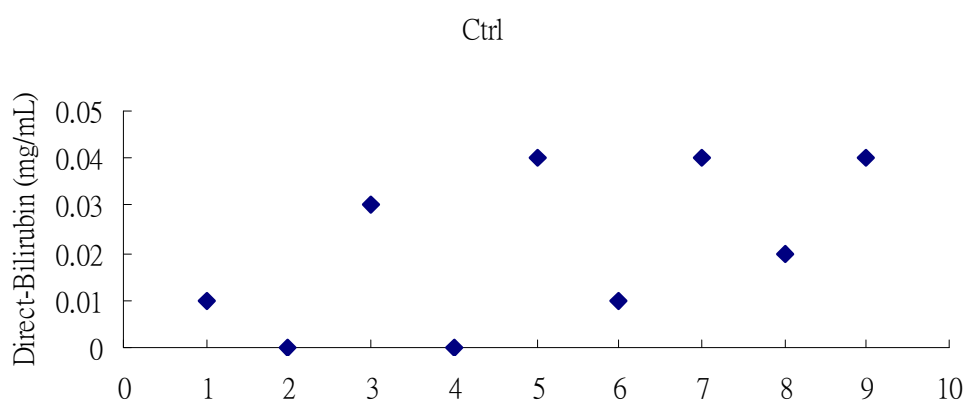
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的血液生化 總膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為
老鼠數據。

圖 3-4-1-13



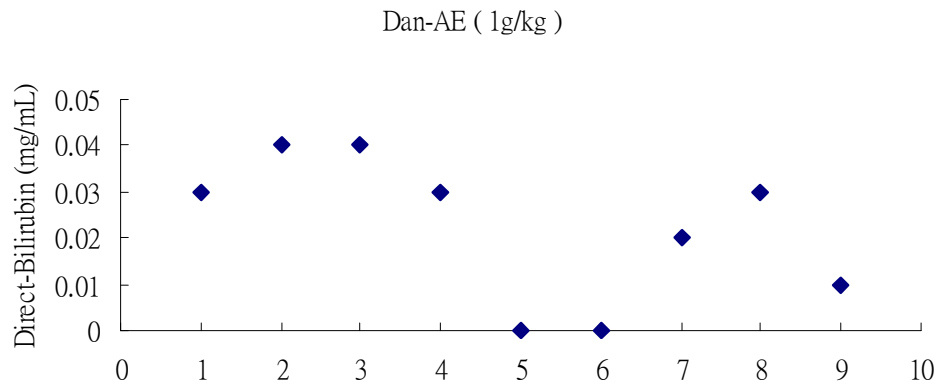
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-總膽紅素的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-1-15



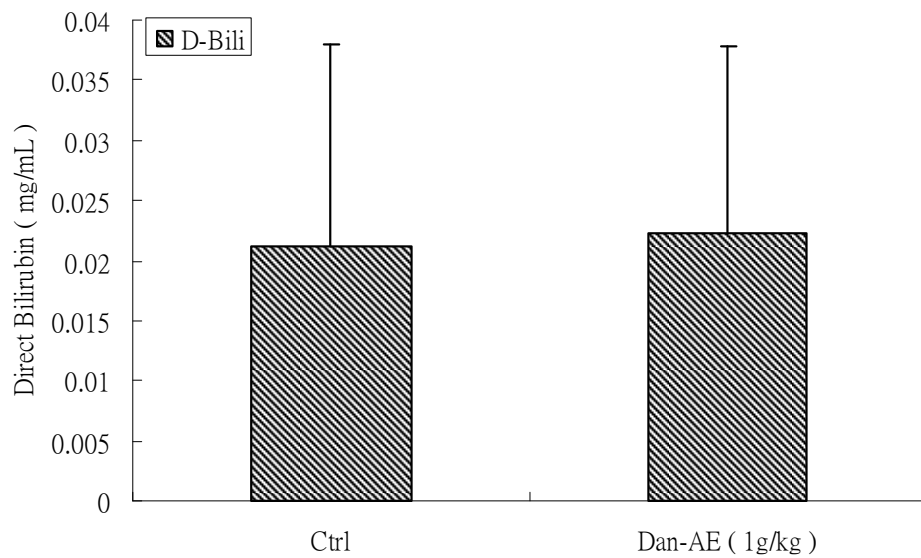
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-1-16



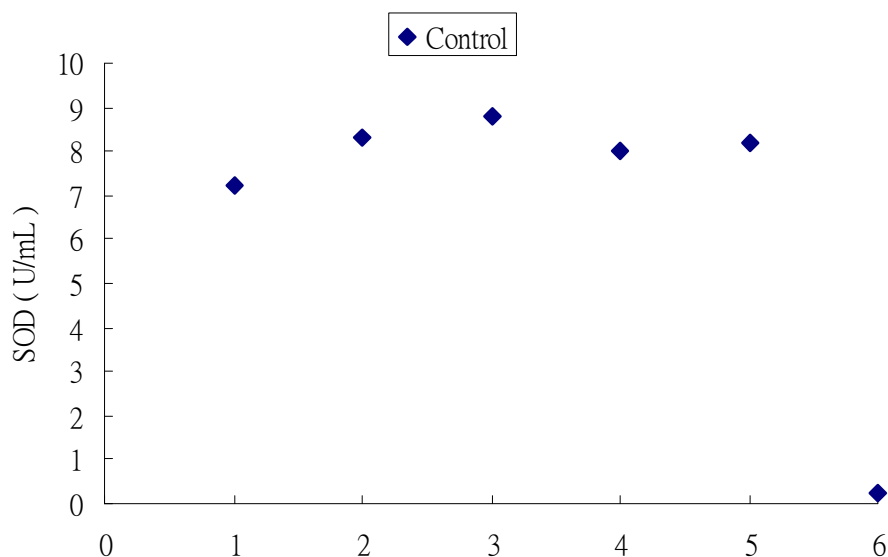
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的血液生化 直接膽紅素 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (IU/dL)，X 軸
為老鼠數據。

圖 3-4-1-17



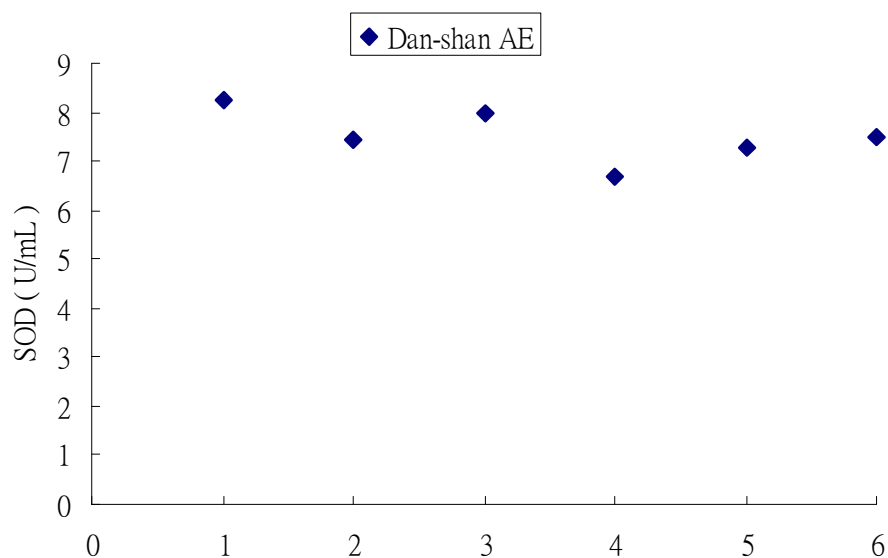
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
比較控制組與實驗組的血液生化檢驗-直接膽紅素的差異，X 軸為群組，Y
軸為酵素活性。

圖 3-4-2-4



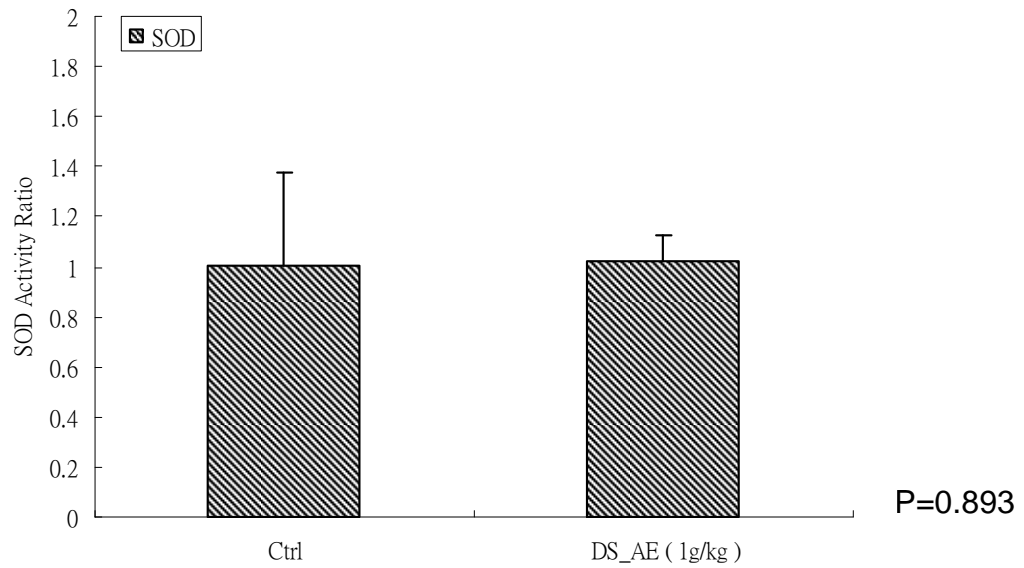
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-5



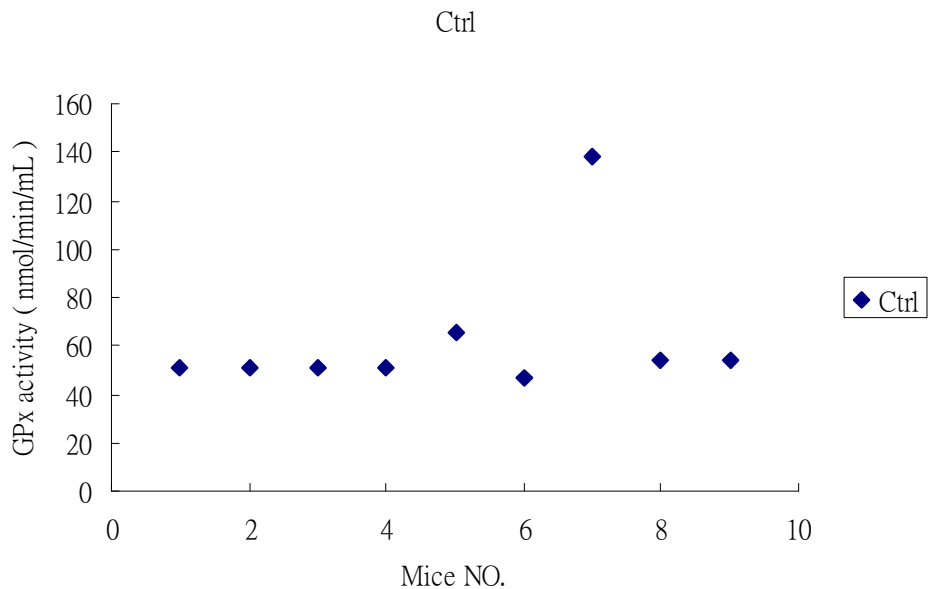
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 SOD 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-6



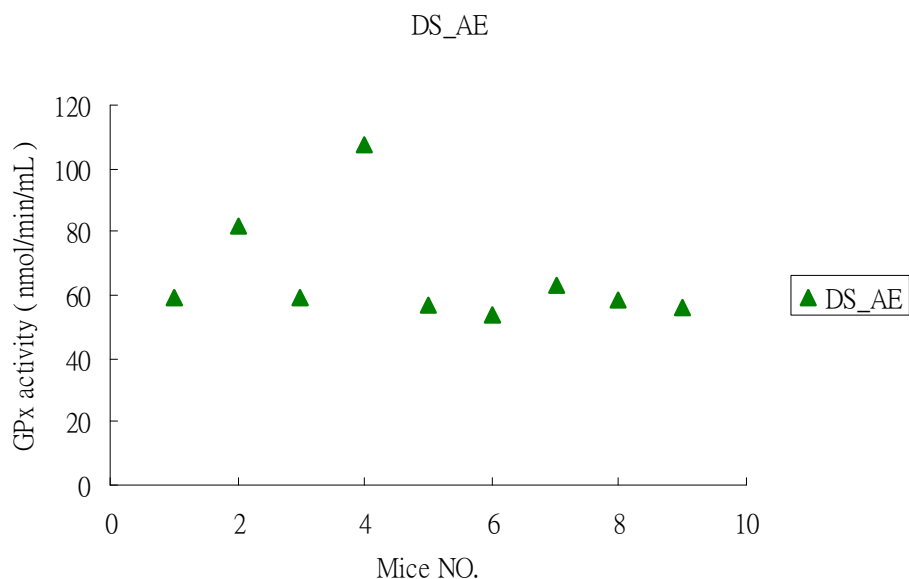
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-SOD 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-2-8



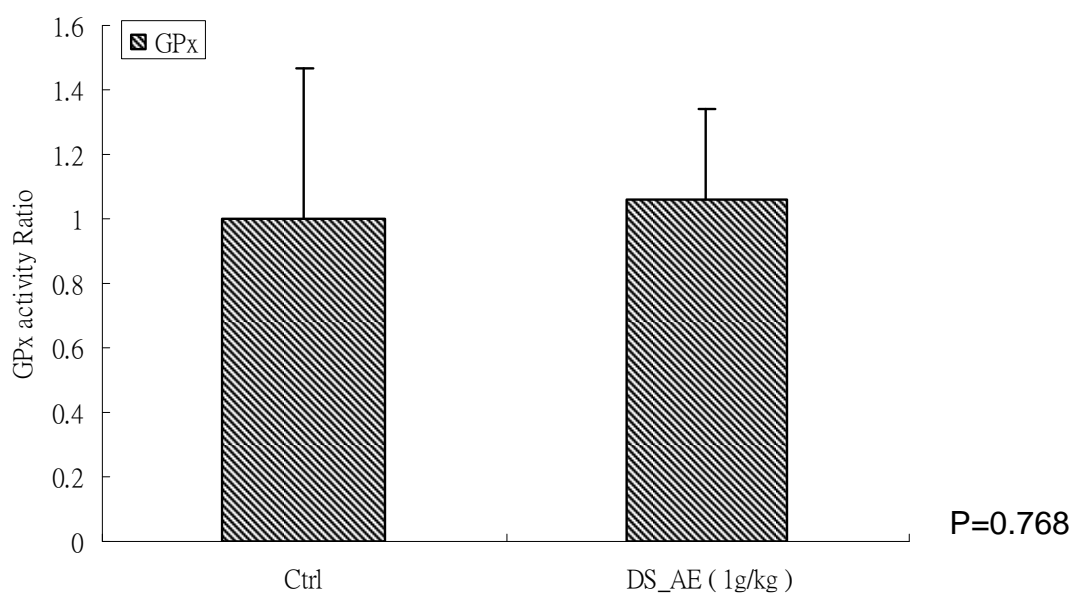
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲控制組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-9



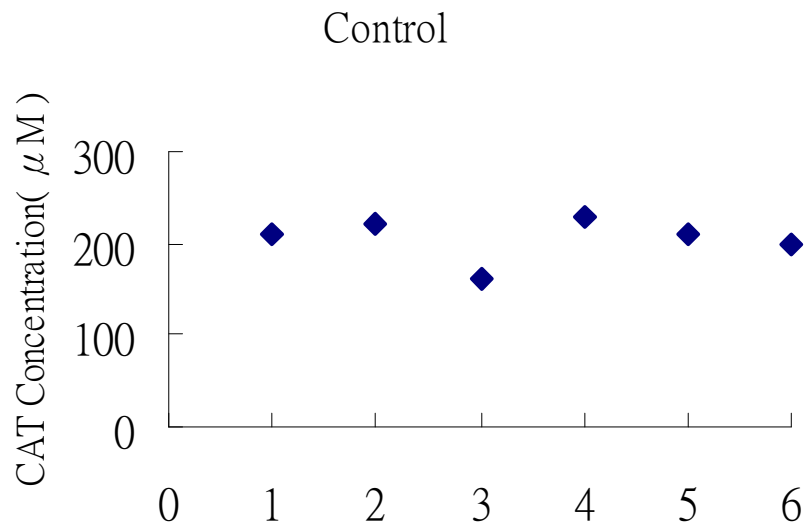
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的血液生化 GPx 檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (U/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-10



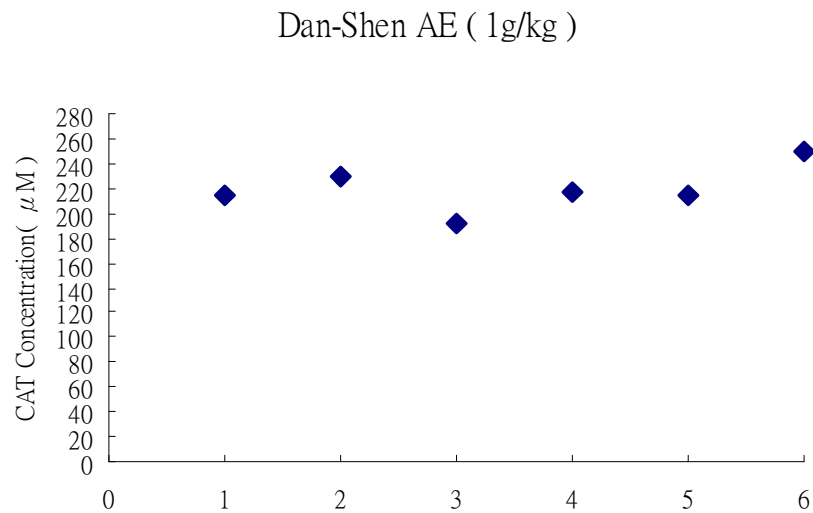
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-GPx 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-2-12



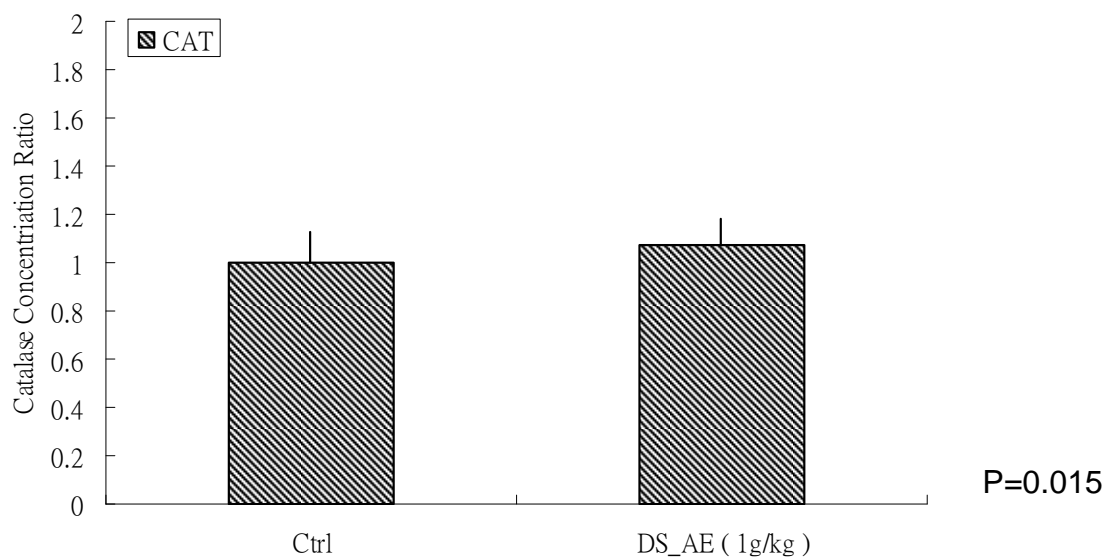
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的抗氧化酵素 Catalase 濃度檢測點圖，Y 軸為酵素濃度 (μM)，X
軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-13



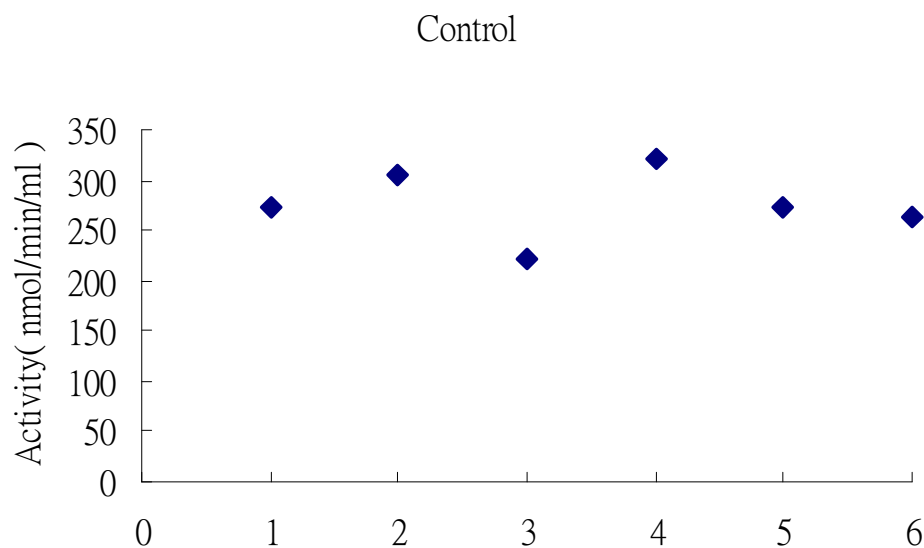
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
控制組的抗氧化酵素 Catalase 濃度檢測點圖，Y 軸為酵素濃度 (μM)，X
軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-14



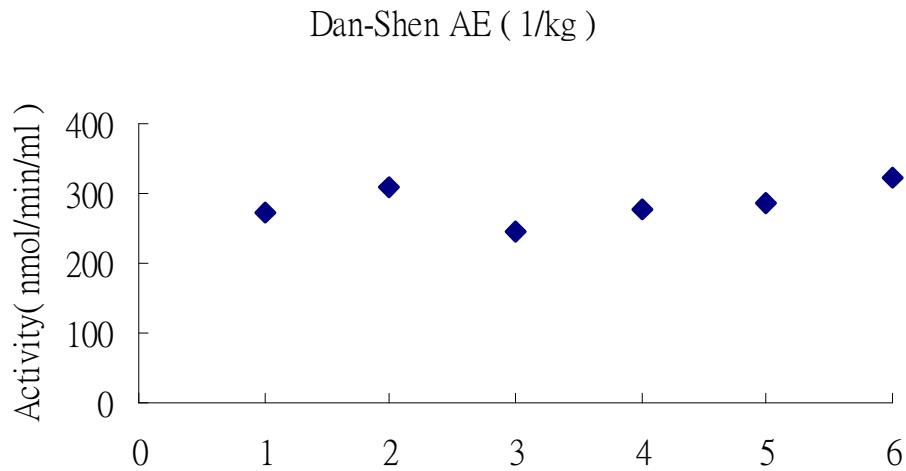
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 濃度的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性，左為控制組，右為實驗組。

圖 3-4-2-16



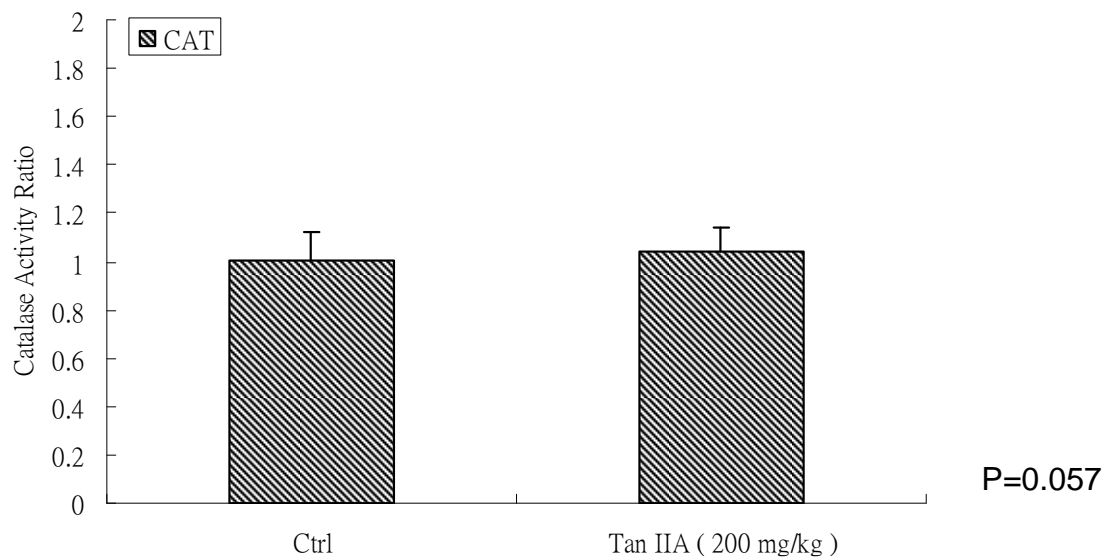
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-17



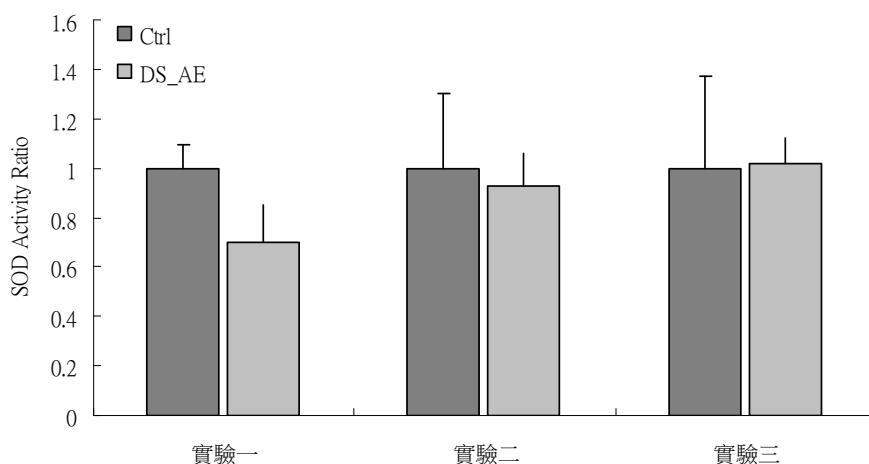
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲實驗組的抗氧化酵素 Catalase 活性檢測點圖，Y 軸為酵素活性 (nmol/min/mL)，X 軸為老鼠數據。

圖 3-4-2-18



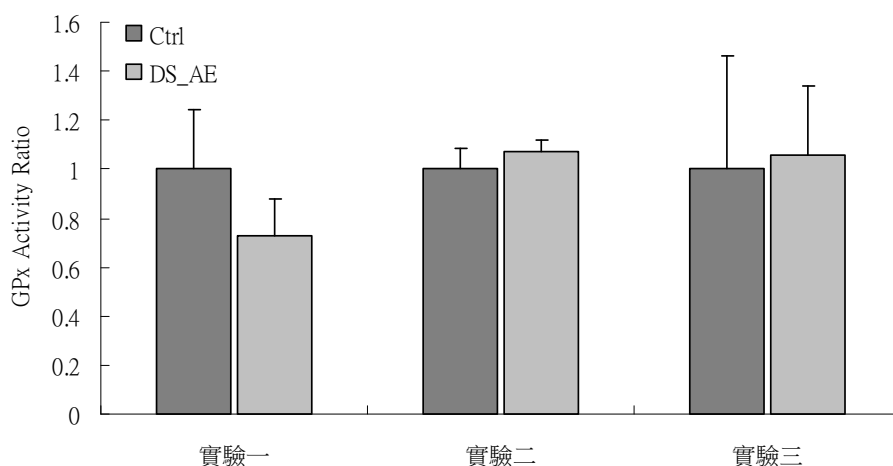
實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲比較控制組與實驗組的抗氧化酵素-Catalase 活性的差異，X 軸為群組，Y 軸為酵素活性。

圖 3-4-2-19



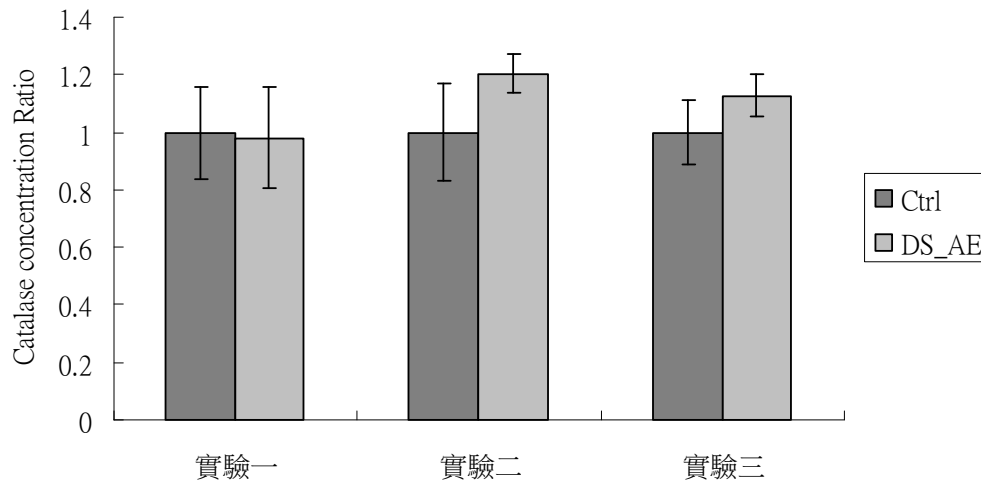
連續服用丹參酒萃物(1g/kg/day) ，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：
X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 SOD 活性結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

圖 3-4-2-20



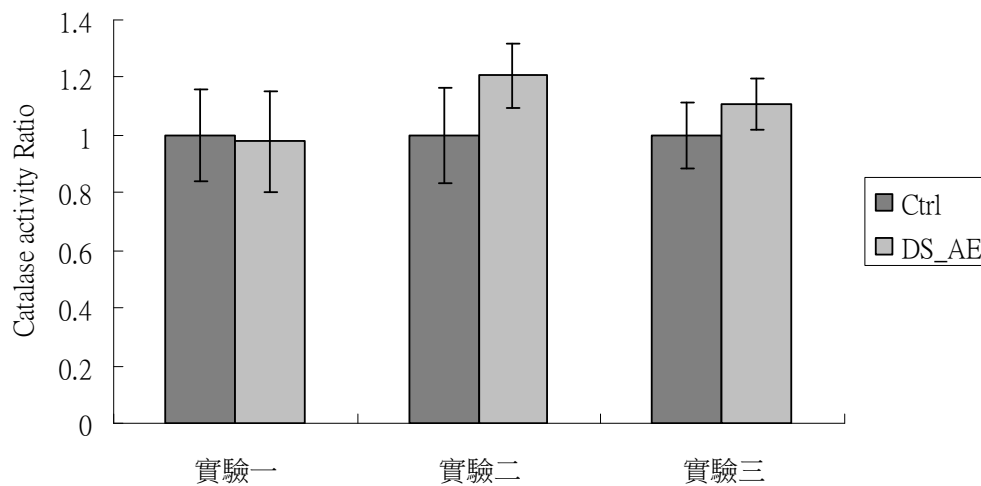
連續服用丹參酒萃物(1g/kg/day) ，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：
X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 GPx 活性結果，每組左邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

圖 3-4-2-21



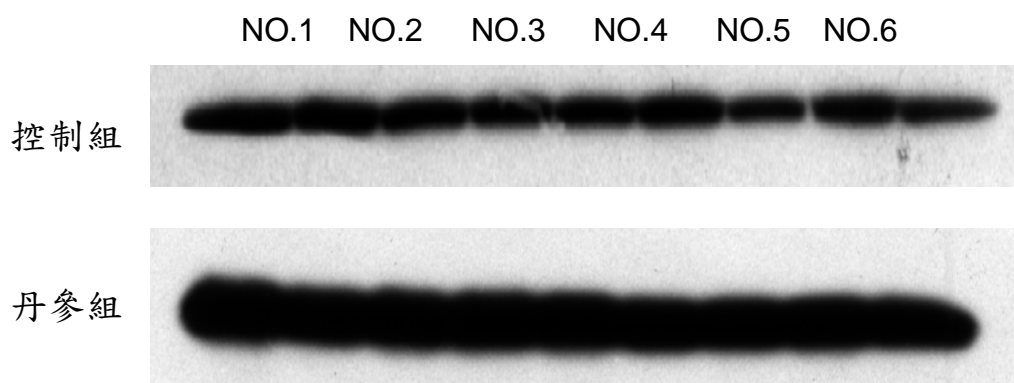
連續服用丹參酒萃物(1g/kg/day) ，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：
X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 CAT 濃度結果，每組左
邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

圖 3-4-2-22



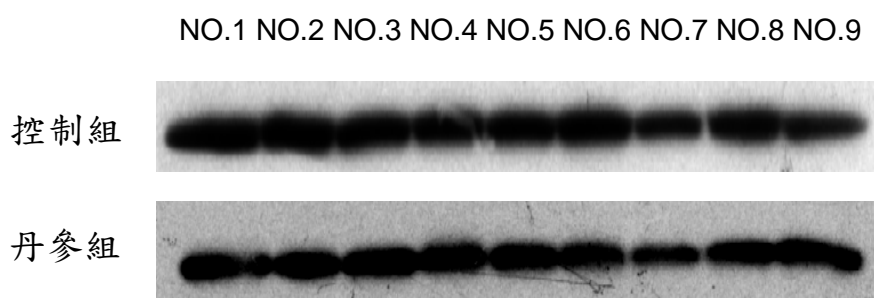
連續服用丹參酒萃物(1g/kg/day) ，觀察停藥對於抗氧化酵素活性的影響：
X 軸由左到右分別為 實驗一，實驗二，實驗三 的 CAT 濃度結果，每組左
邊是控制組，右邊是實驗組，Y 軸為比值 (Ratio of control)。

圖 3-4-3-3



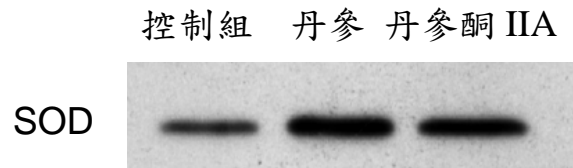
連續服用丹參酒萃，觀察停藥對於抗氧化酵素 SOD 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參組、丹參酮 IIA 組，由左往右是每隻實驗小鼠
的肝組織樣本，分別編號成 1~6 號。

圖 3-4-3-4



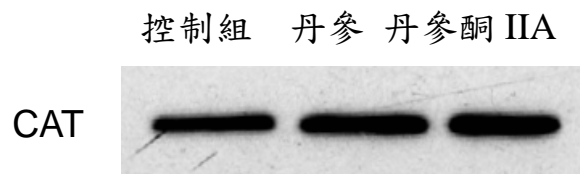
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素 CAT 表達量的影響：
由上往下分別為控制組、丹參組、丹參酮 IIA 組，由左往右是每隻實驗小鼠
的肝組織樣本，分別編號成 1~6 號。

圖 3-4-3-5



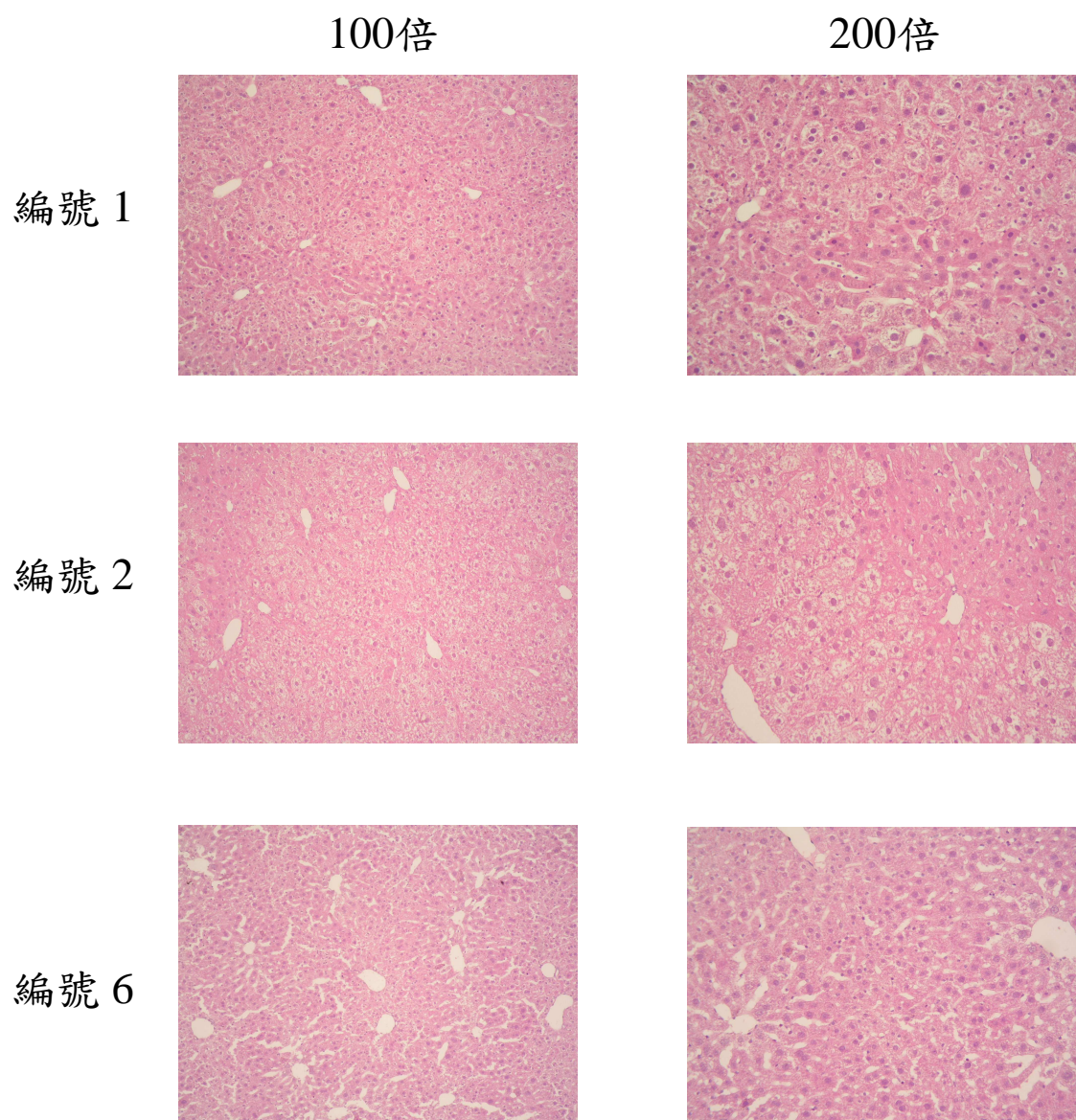
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

圖 3-4-3-6



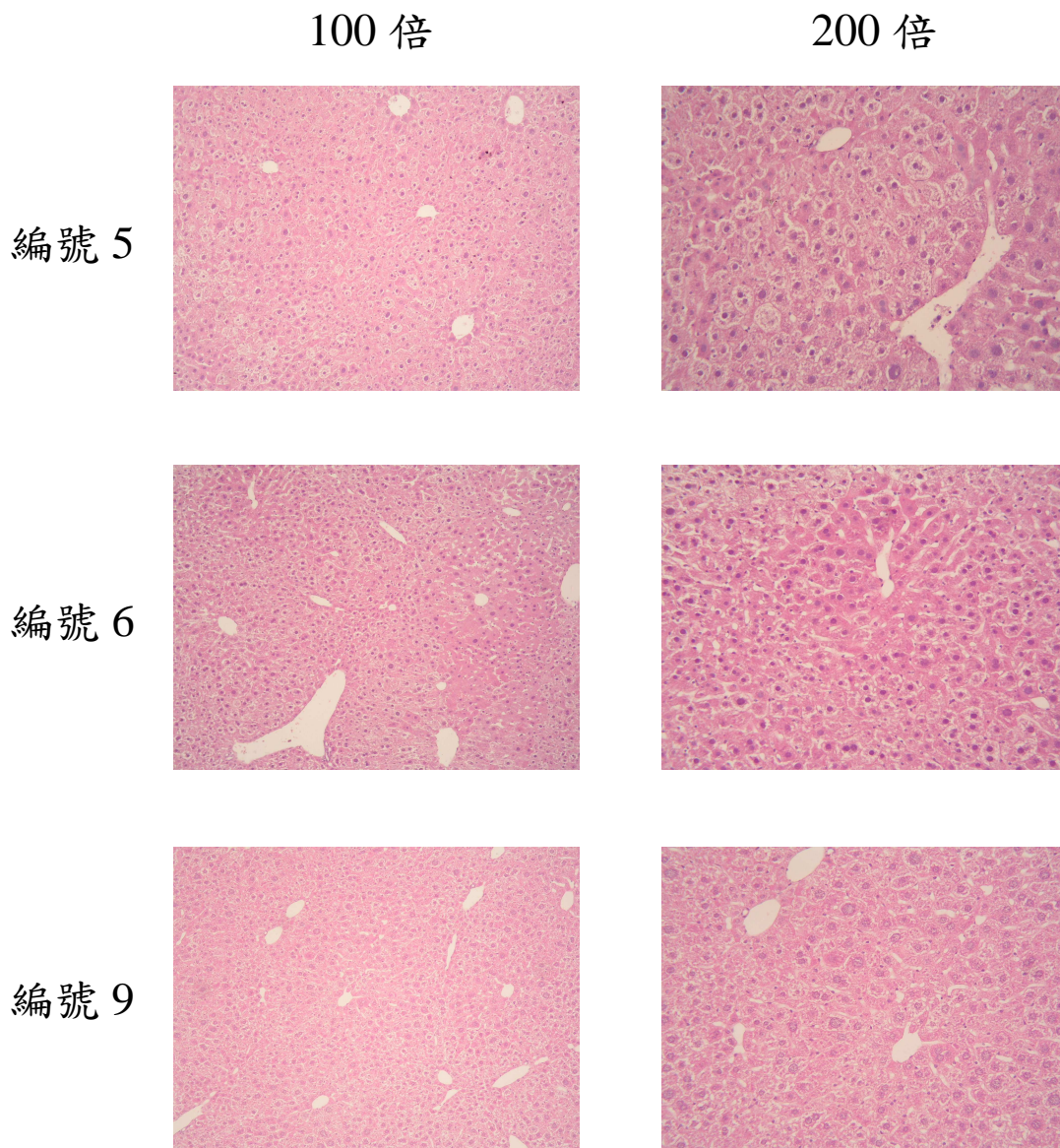
連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左
往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

圖 3-4-4-3



連續服用玉米油（控制組），觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

圖 3-4-4-4



連續服用丹參酒萃，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化。

表 3-1-1-2

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組血液生化的檢測數據，左欄為 AST，右欄為 ALT。

Ctrl	AST	ALT
Ctrl-1		
Ctrl-2	74	42
Ctrl-3	66	42
Ctrl-4	250	64
Ctrl-5	66	37
Ctrl-6	116	37
average	114.4	44.4
SE	78.59262	11.23833

表 3-1-1-3

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組血液生化的檢測數據，左欄為 AST，右欄為 ALT。

Tan IIA (200mg/kg)	AST	ALT
TanIIA-1	99	49
TanIIA-2	111	68
TanIIA-3	128	57
TanIIA-4	80	58
TanIIA-5	103	82
TanIIA-6	96	71
average	102.8333	64.16667
SE	16.0177	11.8223

表 3-1-1-10

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組血液生化的檢測數據，左欄為總膽紅素，右欄為直接膽紅素。

Ctrl	T-Bili	D-Bili
Ctrl-1		
Ctrl-2	0.13	0
Ctrl-3	0.07	0
Ctrl-4	0.09	0
Ctrl-5	0.11	0
Ctrl-6	0.11	0
average	0.102	0
SE	0.022804	0

表 3-1-1-11

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組血液生化的檢測數據，左欄為總膽紅素，右欄為直接膽紅素。

Tan IIA (200mg/kg)	T-Bili	D-Bili
TanIIA-1	0.09	0
TanIIA-2	0.17	0
TanIIA-3	0.25	0
TanIIA-4	0.23	0
TanIIA-5	0.19	0
TanIIA-6	0.12	0
Average	0.175	0
Std. Ev.	0.061887	0

表 3-1-2-3

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組抗氧化酵素 SOD 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

SOD (U/mL)	Control	Tan IIA
NO. 1	7.315	6.641
NO. 2	5.201	4.418
NO. 3	5.165	4.059
NO. 4	3.165	6.011
NO. 5	8.030	4.755
NO. 6	7.079	4.192
Average	5.992	5.013
Standard Error	1.810238	1.063193

表 3-1-2-7

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組抗氧化酵素 GPx 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

GPx (U/mL)	Control	Tan IIA
NO. 1	104.43	102.91
NO. 2	94.59	102.68
NO. 3	97.52	101.15
NO. 4	95.76	106.08
NO. 5	92.95	94.24
NO. 6	114.75	114.63
Average	100	103.61
Standard Error	8.25	6.68

表 3-1-2-11

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組抗氧化酵素 catalase 濃度的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

CAT (μM)	Control	Tan IIA
NO. 1	109.48	154.47
NO. 2	102.01	153.84
NO. 3	115.87	148.73
NO. 4	115.15	160.23
NO. 5	147.19	151.69
NO. 6	151.63	139.63
Average	123.57	151.43
Standard Error	20.68	6.91

表 3-1-2-15

實驗二：丹參酮 IIA 服用五天，停藥七天，第十三天犧牲

控制組抗氧化酵素 Catalase 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

CAT (U/mL)	Control	Tan IIA
NO. 1	6.90	9.81
NO. 2	6.19	10.23
NO. 3	7.54	10.09
NO. 4	7.69	11.76
NO. 5	9.13	11.62
NO. 6	9.55	10.41
Average	7.83	10.65
Standard Error	1.29	0.83

表 3-1-2-19

連續服用丹參酮 IIA (200mg/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 SOD 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	1.074497	1.10824
NO. 2	0.797787	0.737208
NO. 3	0.858052	0.677371
NO. 4	0.977616	1.003161
NO. 5	0.893402	0.793491
NO. 6	0.699526	0.699599
p value	0.226676082	

表 3-1-2-20

連續服用丹參酮 IIA (200mg/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 GPx 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	0.684039	1.029107
NO. 2	0.762997	1.026763
NO. 3	1.117915	1.011526
NO. 4	0.649642	1.060754
NO. 5	0.481564	0.942372
NO. 6	0.509707	1.146318
p value	0.021871354 (* *)	

表 3-1-2-21

連續服用丹參酮 IIA (200mg/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 CAT 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	0.91735	1.251822
NO. 2	0.947816	1.305804
NO. 3	0.835002	1.287993
NO. 4	1.100446	1.501521
NO. 5	1.246441	1.483641
NO. 6	0.854911	1.328547
p value	0.000126004 (* * *)	

表 3-1-3-7

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

SOD	控制組	丹參酮 IIA
一重複	412.82	419.55
二重複	417.982	415.554
三重複	415.85	415.554
平均值	415.55	416.88
標準誤	2.60	2.30

表 3-1-3-8

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

CAT	控制組	丹參酮 IIA
一重複	291.75	288.32
二重複	290.04	284.48
三重複	295.79	286.60
平均值	292.53	286.47
標準誤	2.95	1.92

表 3-1-4-5

連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

控制組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	1	1	0	0	0
2	0	2	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	2	1	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	1	0	0	0
平均值	0.5	1	0	0	0
標準誤	0.83666	0.632456	0	0	0

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-1-4-6

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

丹參酮 IIA 組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	1	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	1	2	0	0	0
4	2	1.5	0	0	0
5	1	1.5	0	0	0
6	2	1	0	0	0
平均值	1.333333	1.333333	0	0	0
標準誤	0.516398	0.408248	0	0	0

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-2-1-2

實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組血液生化的檢測數據，左欄為 AST，右欄為 ALT。

Ctrl	AST	ALT
Ctrl-1		
Ctrl-2	74	42
Ctrl-3	66	42
Ctrl-4	250	64
Ctrl-5	66	37
Ctrl-6	116	37
average	114.4	44.4
SE	78.59262	11.23833

表 3-2-1-3

實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組血液生化的檢測數據，左欄為 AST，右欄為 ALT。

Dan-AE (1g/kg)	AST	ALT
Dan-AE-1	58	37
Dan-AE-2	86	38
Dan-AE-3	59	32
Dan-AE-4	60	41
Dan-AE-5	97	45
Dan-AE-6	53	31
average	68.83333	37.33333
SE	18.06008	5.316641

表 3-2-1-10

實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
控制組血液生化的檢測數據，左欄為總膽紅素，右欄為直接膽紅素。

Ctrl	T-Bili	D-Bili
Ctrl-1		
Ctrl-2	0.13	0
Ctrl-3	0.07	0
Ctrl-4	0.09	0
Ctrl-5	0.11	0
Ctrl-6	0.11	0
average	0.102	0
SE	0.022804	0

表 3-2-1-11

實驗二：丹參酒萃物服用五天，停藥七天，第十三天犧牲
實驗組血液生化的檢測數據，左欄為總膽紅素，右欄為直接膽紅素。

Dan-AE (1g/kg)	T-Bili	D-Bili
Dan-AE-1	0.12	0.03
Dan-AE-2	0.1	0
Dan-AE-3	0.08	0.04
Dan-AE-4	0.19	0.01
Dan-AE-5	0.17	0
Dan-AE-6	0.16	0.02
average	0.136667	0.016667
SE	0.043205	0.01633

表 3-2-2-15

連續服用丹參酒萃物(1 g/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 SOD 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	0.787255	1.003161
NO. 2	0.507529	1.041749
NO. 3	0.515202	0.918664
NO. 4	0.787255	0.899148
NO. 5	0.861149	1.026055
NO. 6	0.750121	0.681742
p value	0.0486872340616887 (* *)	

表 3-2-2-16

連續服用丹參酒萃物(1 g/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 GPx 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	0.75987	1.074819
NO. 2	0.961564	1.054894
NO. 3	0.741107	1.037312
NO. 4	0.769251	1.011526
NO. 5	0.594137	1.085368
NO. 6	0.54645	1.160383
p value	0.006214056 (* *)	

表 3-2-2-17

連續服用丹參酒萃物(1 g/kg/day) 5 天後，觀察停藥對於 CAT 酵素活性的影響：

左欄為服用後直接犧牲組(treatment group)，
右欄為服用後停藥再犧牲組(Recover group)。

Ratio	Treatment Group	Recover Group
NO. 1	0.9816	1.365814
NO. 2	1.114624	1.184962
NO. 3	1.15082	1.334576
NO. 4	1.067266	1.18551
NO. 5	0.857927	0.980271
NO. 6	0.70228	1.187702
p value	0.020998828 (* *)	

表 3-2-3-7

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組。

CAT	控制組	丹參
一重複	313.21	302.08
二重複	311.75	299.70
三重複	314.77	306.19
平均值	313.24	302.66
標準誤	1.51	3.28

表 3-2-3-8

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左往右是控制組、丹參組。

SOD	控制組	丹參
一重複	425.68	401.08
二重複	426.846	400.61
三重複	425.879	401.81
平均值	426.14	401.17
標準誤	0.62	0.60

表 3-2-4-5

連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

控制組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	1	1	0	0	0
2	0	2	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	2	1	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	1	0	0	0
平均值	0.5	1	0	0	0
標準誤	0.83666	0.632456	0	0	0

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-2-4-6

連續服用丹參酒萃，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

丹參組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	0	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	1	2	0	0	0
4	2	1	0	0	0
5	0	1	0	0	0
6	1	1	0	0	0
平均值	0.833333	1.166667	0	0	0
標準誤	0.752773	0.408248	0	0	0

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-3-1-2

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化 GOT/AST 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

AST	Ctrl	Tan IIA (200mg/kg)
NO. 1	74	293
NO. 2	96	
NO. 3	99	159
NO. 4		259
NO. 5	138	172
NO. 6	102	70
NO. 7	101	87
NO. 8	161	63
NO. 9	153	59
average	102.6667	129.1111
SE	31.05295	91.7555
p value	0.359848815	

表 3-3-1-6

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化 GPT/ALT 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

ALT	Ctrl	Tan IIA (200mg/kg)
NO. 1	47	130
NO. 2	59	
NO. 3	42	165
NO. 4	81	173
NO. 5		229
NO. 6	71	44
NO. 7	52	37
NO. 8	98	39
NO. 9	95	37
average	60.55556	94.88889
SE	21.58331	77.02087
p value	0.347137901	

表 3-3-1-10

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化總膽紅素的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

Total-Bilirubin	Ctrl	Tan IIA (200mg/kg)
NO. 1	0.14	0.14
NO. 2	0.09	0.11
NO. 3	0.15	0
NO. 4	0.11	0.05
NO. 5	0.17	0.05
NO. 6	0.05	0.05
NO. 7	0.14	0.11
NO. 8	0.03	0.05
NO. 9	0	0.06
average	0.097778	0.068889
SE	0.059325	0.04285

表 3-3-1-14

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化直接膽紅素的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

Total-Bilirubin	Ctrl	Tan IIA (200mg/kg)
NO. 1	0.01	0
NO. 2	0	0.03
NO. 3	0.03	0
NO. 4	0	0.01
NO. 5	0.04	0.01
NO. 6	0.01	0.01
NO. 7	0.04	0.01
NO. 8	0.02	0
NO. 9	0.04	0.01
average	0.021111	0.008889
SE	0.016915	0.00928

表 3-3-2-3

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
抗氧化酵素 SOD 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

SOD activity	Ctrl	Tan IIA (200 mg/kg)
NO. 1	7.25	6.10
NO. 2	8.32	8.17
NO. 3	8.78	8.70
NO. 4	8.03	7.02
NO. 5	8.17	6.90
NO. 6	0.22	8.86
NO. 7	9.20	8.54
NO. 8	7.20	7.62
NO. 9	7.96	8.24
Average	7.24	7.80
Sted Ev	2.71	0.94

表 3-3-2-7

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
 抗氧化酵素 GPx 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

GPx activity	Ctrl	Tan IIA (200 mg/kg)
NO. 1	51.32	67.37
NO. 2	50.47	118.69
NO. 3	50.81	208.68
NO. 4	50.90	60.74
NO. 5	65.37	106.04
NO. 6	47.03	128.49
NO. 7	138.68	225.02
NO. 8	54.21	126.07
NO. 9	54.25	54.84
Average	62.56	121.77
Std. Ev	29.00	60.93

表 3-3-3-11

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
抗氧化酵素 Catalases 濃度的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

Catalases conc.	Ctrl	Tan IIA (200 mg/kg)
NO. 1	209.66	200.40
NO. 2	219.53	231.12
NO. 3	160.27	193.25
NO. 4	230.14	241.52
NO. 5	211.84	232.32
NO. 6	199.65	249.39
NO. 7	188.21	168.68
NO. 8	198.45	229.76
NO. 9	171.35	198.73
Average	205.18	224.67
Std. Ev	24.25	22.68

表 3-3-2-15

實驗三：丹參酮 IIA 一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
 抗氧化酵素 Catalases 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

Catalases conc.	Ctrl	Tan IIA (200 mg/kg)
NO. 1	271.502	270.99
NO. 2	305.42	316.32
NO. 3	221.88	248.06
NO. 4	319.80	297.35
NO. 5	271.85	323.66
NO. 6	262.49	323.96
NO. 7	254.46	222.82
NO. 8	257.94	302.54
NO. 9	241.32	275.02
Average	275.49	296.72
Std. Ev	34.44	31.25

表 3-3-3-7

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

CAT			
	控制組	丹參酒萃	丹參酮 IIA
一重複	322.414	322.144	322.231
二重複	397.157	396.218	395.627
三重複	434.611	435.382	435.755
平均	384.7273	384.5813	384.5377
標準誤	57.12192	57.50887	57.56869

表 3-3-3-8

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

SOD			
單位：CNT	控制組	丹參酒萃	丹參酮 IIA
一重複	291.446	291.679	291.564
二重複	433.368	433.071	433.123
三重複	414.743	415.143	415.385
平均	379.8523	379.9643	380.024
標準誤	77.12641	76.98103	77.12028

表 3-3-4-5

連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

控制組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	0	2	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	1	0	0	0
6	0	1	0	0	0
7	1	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
平均值	0.222222	0.666667	0	0	0
標準誤	0.440959	0.707107	0	0	0
描述	無差異	無差異	無差異	無差異	無差異

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-3-4-6

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

丹參酮 IIA 組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	1	1	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	1	0	0	0	0
5	0	2	0	0	0
6	1	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	1	0	0	0
9	1	0	0	0	0
平均值	0.555556	0.833333	0	0	0
標準誤	0.527046	0.752773	0	0	0
描述	無差異	無差異	無差異	無差異	無差異

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-4-1-2

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化 GOT/AST 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

AST	Ctrl	Dan-AE (1g/kg)
NO. 1	74	66
NO. 2	96	74
NO. 3	99	102
NO. 4		
NO. 5	138	100
NO. 6	102	50
NO. 7	101	61
NO. 8	161	51
NO. 9	153	93
average	102.6667	66.33333
SE	31.05295	21.23298
	0.013284883	

表 3-4-1-6

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化 GPT/ALT 的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

ALT	Ctrl	Dan-AE (1g/kg)
NO. 1	47	31
NO. 2	59	40
NO. 3	42	56
NO. 4	81	
NO. 5		38
NO. 6	71	34
NO. 7	52	37
NO. 8	98	47
NO. 9	95	46
average	60.55556	36.55556
SE	21.58331	8.114141
	0.077892804	

表 3-4-1-10

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化總膽紅素的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

Total-Bilirubin	Ctrl	Dan-AE (1g/kg)
NO. 1	0.14	0.15
NO. 2	0.09	0.17
NO. 3	0.15	0.12
NO. 4	0.11	0.11
NO. 5	0.17	0.15
NO. 6	0.05	0.02
NO. 7	0.14	0.07
NO. 8	0.03	0.08
NO. 9	0	0.11
average	0.097778	0.108889
SE	0.059325	0.046756

表 3-4-1-14

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲血液生化直接膽紅素的檢測數據，左欄為控制組，右欄為丹參酮 IIA 組。

	Ctrl	Dan-AE (1g/kg)
NO. 1	0.01	0.03
NO. 2	0	0.04
NO. 3	0.03	0.04
NO. 4	0	0.03
NO. 5	0.04	0
NO. 6	0.01	0
NO. 7	0.04	0.02
NO. 8	0.02	0.03
NO. 9	0.04	0.01
average	0.021111	0.022222
SE	0.016915	0.015635

表 3-4-2-3

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
 抗氧化酵素 SOD 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

SOD activity	Ctrl	DS_AE (1g/kg)
NO. 1	7.25	6.10
NO. 2	8.32	8.17
NO. 3	8.78	8.70
NO. 4	8.03	7.02
NO. 5	8.17	6.90
NO. 6	0.22	8.86
NO. 7	9.20	8.54
NO. 8	7.20	7.63
NO. 9	7.96	8.24
Average	7.24	7.80
Std Ev	2.71	0.94

表 3-4-2-7

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
抗氧化酵素 GPx 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

GPx activity	Ctrl	DS_AE (1g/kg)
NO. 1	51.32	59.13
NO. 2	50.47	81.84
NO. 3	50.81	59.30
NO. 4	50.90	107.69
NO. 5	65.37	57.01
NO. 6	47.03	53.91
NO. 7	138.68	62.82
NO. 8	54.21	58.32
NO. 9	54.24	56.03
Average	62.56	66.23
Std. Ev	29.00	17.59

表 3-4-2-11

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
 抗氧化酵素 Catalases 濃度的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

	Ctrl	DS_AE (1g/kg)
NO. 1	209.67	214.20
NO. 2	219.53	229.32
NO. 3	160.27	190.98
NO. 4	230.14	217.48
NO. 5	211.84	215.37
NO. 6	199.65	249.42
NO. 7	188.21	232.69
NO. 8	198.45	239.85
NO. 9	171.35	229.29
Average	205.18	219.46
Std. Ev	24.25	19.26

表 3-4-2-15

實驗三：丹參酒萃物一週五天，連續餵食八週，停藥四周，然後犧牲
 抗氧化酵素 Catalases 活性的檢測數據，左欄為控制組，右欄為實驗組。

	Ctrl	DS_AE (1g/kg)
NO. 1	271.502	274.55
NO. 2	305.42	309.75
NO. 3	221.88	245.74
NO. 4	319.80	276.22
NO. 5	271.85	285.20
NO. 6	262.49	324.61
NO. 7	254.46	325.68
NO. 8	257.94	313.36
NO. 9	241.32	309.58
Average	275.49	286.01
Std. Ev	34.44	27.94

表 3-4-3-7

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 SOD 的表達變化
由左往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

SOD			
單位：CNT	控制組	丹參酒萃	丹參酮 IIA
一重複	291.446	291.679	291.564
二重複	433.368	433.071	433.123
三重複	414.743	415.143	415.385
平均	379.8523	379.9643	380.024
標準誤	77.12641	76.98103	77.12028

表 3-4-3-8

連續服用丹參酮 IIA，觀察停藥對於抗氧化酵素表達量的影響：
將每組實驗小鼠的肝組織均漿定量混合後，觀察 Catalase 的表達變化，由左
往右是控制組、丹參組、控制組、丹參酮 IIA 組。

CAT			
單位：CNT	控制組	丹參酒萃	丹參酮 IIA
一重複	322.414	322.144	322.231
二重複	397.157	396.218	395.627
三重複	434.611	435.382	435.755
平均	384.7273	384.5813	384.5377
標準誤	57.12192	57.50887	57.56869

表 3-4-4-5

連續服用玉米油(控制組)，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

控制組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	0	2	0	0	0
2	1	1	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	1	0	0	0
6	0	1	0	0	0
7	1	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
平均值	0.222222	0.666667	0	0	0
標準誤	0.440959	0.707107	0	0	0
描述	無差異	無差異	無差異	無差異	無差異

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

表 3-4-4-6

連續服用丹參酒萃，觀察停藥對於肝臟病理診斷的影響：

將每組實驗小鼠的肝組織石蠟包埋切片，以 H&E 染色，經病理科病理專科醫師診斷肝組織病理學的變化，並依據變化程度給予評分。

丹參組					
編號	竇間隙變大	細胞變大	凋亡	壞死	纖維化
1	0	1	0	0	0
2	1	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0
4	1	0	0	0	0
5	1	2	0	0	0
6	2	1	0	0	0
7	1	1	0	0	0
8	0	1	0	0	0
9	1	1	0	0	0
平均值	0.777778	0.833333	0	0	0
標準誤	0.666667	0.752773	0	0	0
描述	無差異	無差異	無差異	無差異	無差異

程度	描述
0~1	無差異
1~2	輕度變化
2~3	稍微變化
3~4	顯著變化
4~5	輕微病變
5~6	顯著病變

