

編號：CCMP95-TP-014

## 常用中藥（附子、烏頭、天雄、半夏、大黃） 與腎臟功能相關性研究

劉怡旻

大仁科技大學

### 摘 要

本計畫針對目前市面上常用毛茛科烏頭屬植物（附子、烏頭和天雄）以及半夏和大黃，進行時間或高劑量服用藥材可能引致之腎毒性評估。

針對待測藥材進行一般市售產品的調查及相關資料的收集。利用藥材外觀判定及組織切片進行待測藥材的基原鑑定。並配合高效液相層析法（HPLC）進行待測藥材的成分分析。接下來以適當的口服劑量，採用個別投藥，一天給藥一次，連續3個月的方式，將待測藥材投與至正常大鼠體內。實驗期間定期評估大鼠體重及攝食行為改變；同時評估大鼠血糖、血脂、血尿素氮（blood urea nitrogen, BUN）及血肌酐酸（creatinine）濃度的變化，並檢測尿素氮（urea nitrogen）及尿肌酐（ucreatinine）的數值。藉由尿液微量白蛋白（urine albumin）及24小時尿微量白蛋白排泄率（urinary albumin excretion rate, UAER）數值的改變，同時配合離體腎臟的組織病理切片，評估大鼠腎細胞腫脹及傷害的程度。此外運用免疫組織化學染色（immunohistochemistry staining）觀察待測藥物對正常大鼠腎臟中轉化生長因子（transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1）表現量的影響。

於第一年度計畫已完成待測藥材市售品的資料收集及藥材外觀之觀察。此外，待測藥材之外觀判定及組織切片亦已完成。同時，已完成待測藥材所含指標成分的定量分析。本年度已完成待測藥物腎毒性之觀察：烏頭屬（烏頭、附子及天雄）藥材於中劑量（600mg/kg/day）或是高劑量（3,000mg/kg/day）連續使用3個月後，大鼠即會出現腎損傷。尤其是以高劑量烏頭（3,000mg/kg/day）處理的大鼠腎損傷的情況最為嚴重：其腎球體間質細胞明顯的擴大，同時腎臟

中轉化生長因子 (TGF- $\beta$ 1) 有過度表現的現象。相對的，天雄引致腎臟傷害的能力則是最輕微。連續三個月餵食中劑量 (900mg/kg/day) 或是高劑量 (4,500 mg/kg/day) 大黃或是半夏的大鼠，亦會出現腎損傷的情形：兩種藥物處理的大鼠都可見其腎球體間質細胞明顯擴大伴隨轉化生長因子 (TGF- $\beta$ 1) 蛋白量增加。但是，腎損傷的程度以給予大黃處理的大鼠較為嚴重。實驗結果認為：若要長期使用烏頭屬藥材與具有血脂調降活性的大黃或是半夏時需注意給藥時間最好控制於2個月內。此外，投與至大鼠的給藥劑量，烏頭屬藥材長期給藥劑量應以不超過 600mg/kg/day (換算成人體建議劑量以不超過 5.8g/day) 為依據；至於大黃或是半夏的長期給藥劑量應以不超過 900mg/kg/day (換算成人體建議劑量應不超過 8.6g/day) 為參考，必能有助降低長時間或高劑量服用這些待測藥材引致腎臟毒性的機會。本研究計畫所得結果可提供為中藥安全使用的依據，並可為產官學界日後進行相關中草藥研究及政策訂定及推行的參考。

關鍵詞：附子、烏頭、天雄、半夏、大黃、腎毒性

Number: CCMP95-TP-014

# **Research on the Functions of Kidney Influenced by the Commonly Used Chinese Herbs-Fuzi, Wutou, Tianxiong, Banxia and Dahuang**

I-Min Liu

Tajen University

## **ABSTRACT**

In an attempt to clarify the role of long-term or overdoses administration with commonly Chinese herbals in the development of nephrotoxicity, not only the herbs from *Aconitum carmichaeli* Debx (Ranunculaceae) including fuzi, wutou, and tianxiong, but also dahuang and banxia will be investigated in the research.

The herbs from markets and the related information were collected. Then, the appearance of the herbs as well as the plant tissue slice was investigated to identify the botanical information of the tested herbs. In addition, the compounds of the tested herbs were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The tested herbs were given orally once a day into normal Wistar rats for 3 months. During the experimental period, changes on the body weight and the feeding behavior in rats were investigated. Also, changes induced by the repeated tested herb treatment on the concentrations of blood urea nitrogen (BUN) and plasma creatinine were investigated; in addition, the levels of urea nitrogen and creatinine were estimated. Also, the extent of kidney damage will be determined by the levels of urine microalbumin and 24-hour urinary albumin excretion rate (UAER). Biopsy was further performed to evaluate the pathology of nephrotoxicity. Furthermore, the influences of the tested medicine on the protein levels of transforming growth

factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ <sub>1</sub>) were determined by immunohistochemistry staining.

In the 1st year of the research, the commercial products of the tested herbs and the related information have been collected. The identification of the botany of the tested herbs has been completed by investigation on the appearance of the herbs and the plant tissue slice. The quantitatively of tianxiong has been done by HPLC. In the 2nd year of the research, the nephrotoxicity associated with the tested herbs have been evaluated. The renal damage was observed when rats receiving repeated oral treatment with fuzi, wutou, or tianxiong treatment at medium (600mg/kg/day) to high dosage (3,000mg/kg/day) for 3 months. Especially, the degree of renal damage was most serious in wutou-treated rats, in addition to enhancing the degree of mesangial expansion, wutou possess the ability to make higher expression of TGF- $\beta$ <sub>1</sub> in kidneys of rats. In contrast, tianxiong caused the minor effect on renal damage. The renal damage was also observed when rats receiving repeated oral treatment with dahuang or banxiaa at medium (900mg/kg/day) to highest dosage (4,500mg/kg/day) for 3 months; the degree of renal damage in rats was particularly serious in the presence of dahuang at the highest dosage (4,500mg/kg/day). Thought by the experimental result, it provide an information that when the long-term use of Aconitum herbs, or dahuang and banxiaa with the ability to regulate plasma lipid concentration, it must be pay attention to the treatment period, controlling to under 2 months; in addition, the dosage of Aconitum herbs used might be limited to 600 mg/kg/day (the limited recommended dosage for human is 5.8 g/day) as the basis. As for dahuang or banxiaa was suggested to take not surpass 900mg/kg/day for a long time for the medicine dosage used in rat (the limited recommended dosage for human is 8.6g/day) as the reference. The results from this study must be able to be helpful to reduce the opportunity on kidney toxicity related with long time use or once in a while high dosage to take these medicine. Also, the results will provide valuable information about safety of Chinese herbals for both academic and industrial parties and maybe helpful for the establishment of the related policy.

Keywords: Fuzi, Wutou, Tianxiong, Banxia, Dahuang, Nephrotoxicity

## 壹、前言

根據美國腎臟疾病資料庫 2005 年最新統計，中華民國從 2002 年起，末期腎臟病患需要洗腎的人口達 4 萬多人，每年約有 8 千至 9 千個新的洗腎病患，其發生率已躍居世界首位，至 2003 年時仍然高居第一名。台灣洗腎人口的快速增加，和世界其他國家相比速度驚人，而台灣每年必須花費高達 250 億元以上的支出於洗腎醫療服務，占全民健保總支出的 6% 以上。中藥是我國傳統醫學的重要組成部分，由於其低毒、價廉、有效，在許多疾病（尤其是慢性疾病）的治療中起著重要作用，且中藥治療疾病的作用已得到充分肯定。中藥的安全性一直是最近幾年來國內外關注並探討的問題，近年來許多中藥造成腎臟損害，並引起國內外學者的高度重視，因此，對於可能引致之腎毒性的中藥相當值得重視。

腎臟在身體上是一個重要的器官，身體上很多器官的功能必須依靠腎臟正常的運作才能得以正常的工作。腎臟發揮功能的基本單位是腎元，包括腎絲球及腎小管。腎絲球負責過濾，而腎小管負責再吸收及分泌。腎臟的功能是非常複雜的，包括體內廢物的清除、水份平衡的維持、血壓的調控及維持紅血球的正常代謝等<sup>(1)</sup>。

當腎功能變差時稱為腎衰竭，又分為急性及慢性腎衰竭。慢性腎衰竭常見的病因如慢性腎小球腎炎、糖尿病、高血壓性腎硬化等。急性腎衰竭最常見的原因是急性腎小管壞死，而會產生急性腎小管壞死的原因包括低血壓休克及使用腎毒性藥物。腎臟負責藥物的排泄及代謝，因此藥物的不當使用極易造成腎毒性。易造成腎毒性的藥物包括氨基配醣體抗生素、非類固醇消炎藥物、放射線檢查顯影劑及各類中藥等<sup>(2-3)</sup>。

在中國及日本，常應用烏頭（*Aconitum*）屬植物於鎮痛、抗發炎、降血糖和治療神經系統方面的疾病<sup>(4)</sup>。烏頭屬植物成分中主要為生物鹼，這些生物鹼經吸收後主要分佈於肝臟及腎臟<sup>(5)</sup>。因此，本計畫將針對烏頭屬植物，選擇目前市面上常用的附子、烏頭及天雄，透過動物實驗模式方式來評估藥材長期服用可能引致之腎毒性。這三種藥材的簡介如下：

一、附子為毛茛科烏頭屬植物烏頭（*Aconitum carmichaeli* Debx.）的子根。味辛、性熱、有毒。具有回陽救逆、逐寒燥濕、溫助腎陽的作用。主治亡陽虛脫、肢冷脈微、陽痿、宮冷、心腹冷痛、虛寒吐瀉、陰寒水腫及寒濕痺痛等。成分中大多為生物鹼，尤其以雙萜生物鹼

diester alkaloid (mesaconitine、aconitine、hypoconitine) 及單萜生物鹼 monoester alkaloid (benzoylmesaconine、benzoylaconine、benzoylhypoconitine) 為主，還有多醣體、澱粉等。具有強心、鎮痛、鎮靜及抗發炎等作用<sup>(6-7)</sup>。

二、烏頭為毛茛科植物 (*Aconitum carmichaeli* Debx.) 的乾燥母根。味辛、苦、性熱、有大毒。宜先煎、久煎、孕婦慎用。成分中含有 6 種生物鹼：次烏頭鹼 (hypoconitine)、烏頭鹼 (aconitine)、新烏頭鹼 (mesaconitine)、塔拉胺 (talatisamine)、川烏鹼甲 (chuan-wu-base A) 以及川烏鹼乙 (chuan-wu-base B)。臨床上烏頭應用於風寒痺痛，關節疼痛，手足拘攣以及半身不遂。此外，雖然烏頭鎮痛作用較附子強，但強心和去寒作用不及附子。

三、天雄為毛茛科烏頭屬植物烏頭 (*Aconitum carmichaeli* Debx.) 的子根。為附子或草烏頭之形長而細者。具有祛風、散寒、燥熱和益火助陽。治風寒濕痺，歷節風痛、四肢拘攣、心腹冷痛。其生品中含劇毒的雙酯類生物鹼：烏頭鹼 (aconitine)、中烏頭鹼 (mesaconitine) 和次烏頭鹼 (hypoconitine)。另含具有強心作用的去甲烏藥鹼 (higenamine) 和有升壓作用的仙影掌鹼 (coryneine chloride)、去甲豬毛菜烏藥鹼 (salsolinol)<sup>(8)</sup>。

此外，本計畫亦針對半夏及大黃兩種常用中藥長期服用可能引致之腎毒性進行評估。藥材簡介如下：

半夏具有止咳、祛痰、鎮靜、抗發炎、抗菌、抗潰瘍、保肝和抑制尿酸形成的藥效，此藥材為天南星科多年生草本植物半夏 (*Pinellia ternata* Thunb. Breit) 的乾燥球狀塊莖，首載於《神農本草經》列為下品。根據文獻報導，生半夏有毒，服後表現為口舌麻木、咽喉部灼熱疼痛，口腔黏膜輕度糜爛、水腫、大量流涎、味覺喪失、聲音嘶啞、張口困難、嚴重者出現窒息、呼吸停止。其毒性主要在於對黏膜有強烈的刺激和對中樞神經系統的抑制作用。半夏的成分包括生物鹼、揮發油、多醣體等成分；其中 homogentisic acid 是催吐及苦澀辛辣成分<sup>(9-12)</sup>。

大黃長期應用於治療下焦火氣大引起的便秘。大黃為蓼科植物掌葉大黃 (*Rheum palmatum* L.) 藥用大黃 (*Rheum officinale* B.) 大黃始載於我國現存最早的藥學專著《神農本草經》，是最古老、常用的藥材之一，用其治療疾病並獲得良效的歷史可追溯到西元二世紀。大黃性歸脾、胃、大腸、肝、膽經，具瀉下攻積、調中化食、平肝降氣、利膽退黃、清熱

解毒、瀉火涼血、止血活血、利水消腫等功效。現代廣泛應用於消化系統疾病、急慢性腎功能衰竭、出血性疾病、急性感染及糖尿病腎病的防治等；顯示大黃在臨床中的用途廣泛。據統計，大陸 8,000 多種中藥製劑中約有 800 多種含有大黃。此外，大多數降脂減肥、排毒養顏類中成藥均含有大黃。現代研究表明，大黃含有多種游離和結合的蒽醌類（anthraquinones），包括大黃酸、大黃素（emodin）、蘆薈大黃素（aloe-emodin）、大黃素甲醚（physcion 或 Parietin）及大黃酚（chrysophanol 或 chrysopganic）等成分，具有瀉下、收澀、止血、抗菌、抗病毒、延緩衰老等作用<sup>(13, 14)</sup>。

藉由本計畫的施行所得之實驗彙整成果，可供為產官學各界有關中草藥服用安全評估、政策方向及研究的參考。

## 貳、材料與方法

### 一、實驗藥品

- (一) 購自 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) : Aconitine、emodin、glycine
- (二) 購自 Tedia : Acetone、acetonitrile、ammonia n-butanol、chloroform、dichloromethane、ether、n-hexane、methanol、triethylamine
- (三) 購自 Thermo : Xylene
- (四) 購自 ACROS : ethanol
- (五) 購自 Lancaster : tetrahydrofuran、trifluoroacetic acid
- (六) 購自 SHOWA : ammonia solution、butanol、hydrochloric acid、glycerol、ethanol、acetic acid、formalin
- (七) 購自 BioSystems : Triglycerides Kit、Urea/Bun-UV Kit、Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) Kit、Glucose Kit、Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) Kit、Cholesterol Kit、Blood urea nitrogen Kit xc
- (八) 購自 NovoLink<sup>TM</sup> : Peroxidase Block、Protein Block、TGF- $\beta$ 1 antibody、Post primary Block、polymer DAB chromogen、DAB substrate Buffer、Hematoxylin
- (九) 購自 Merck : Microscopy

### 二、實驗儀器

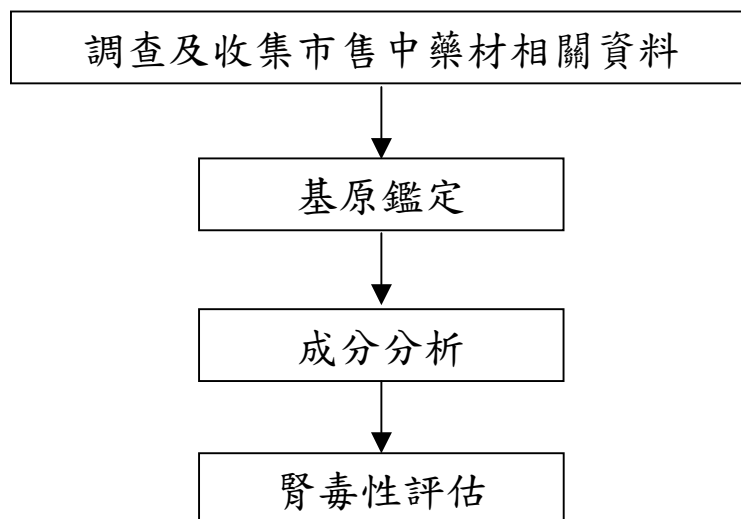
- (一) 組織切片機 (Shandon Crytome 620E, USA)
- (二) 微量天平 (Salcotec SBC-31, Merck Co.)
- (三) 高效液相層析儀 HPLC 系統為 SHIMADZU L610AT system  
Detector : SHIMADZU SPD-10A uv-vis system  
Colum : Hypersil ODS, 250×4.6mm
- (四) 色層分析儀數據處理系統—訊華 SISC 分析軟體
- (五) 生化儀 (HITACH-7150, Japan)
- (六) 數位相機 (Nikon coolpix 4500, Japan)



(七) 離心機：(Kubota 5800,Taiwan)

### 三、方法

#### (一) 計畫流程



#### (二) 實驗方法

1. 調查及收集資料：調查這些藥材在台灣市面上的種類，及收集臺灣市場使用情形。
2. 基原鑑定：以藥材外觀及組織切片進行基原的鑑定。由於植物組織構造較繁雜，觀察鑑別，組織切片是重要步驟。
  - (1) 固定 (Fixation)：將植物組織固定，具有殺死及保存或防腐作用。
    - a. 取材：把材料放進固定液之前，應該把材料切成適當大小，以不大於  $0.6 \times 0.6 \times 0.6 \text{ cm}^3$  為宜。
    - b. 排除氣體：因為材料內氣體存在，有礙液體的滲入。以抽氣法及煮沸法排除氣體。
    - c. 固定液 (FAA)：50%~70%酒精 (90ml)、冰醋酸 (5ml) 及福馬林 (5ml)。
    - d. 冰醋酸使組織腫脹，福馬林使組織萎縮，兩者混合使用可得較理想效果，固定時間最少四小時。
  - (2) 埋蠟 (Embedding)：將已用 F.A.A. 固定液固定完成的植物組織，置於  $-20^{\circ}\text{C}$  冷凍切片機中的埋臘盤上，此時冷凍滑手切片機內的溫度應維持在  $-40^{\circ}\text{C}$ ，將 sample 置入其中調整方

向，而後再加入水臘（frozen specimen embedding medium）以進行埋臘的步驟。

- (3) 修蠟塊及切片：利用切片機進行切片前，先將多餘蠟切除，蠟塊固定於台座，確定牢固，即可置於切片機上進行切片。
- (4) 展片（張貼切片）：將蛋去除蛋黃的部分拿取蛋清（albumen），打至起泡，過濾取得澄清蛋白液。之後與甘油（glycerol）以 1：1 的比例配製成美爾氏黏附劑（Mayer's adhesive）。取一載玻片並在其上塗抹一層薄薄的美爾氏黏附劑，將挑選好的組織切片張貼於上。美爾氏黏附劑中的甘油主要功用為防止乾燥。
- (5) 染色：將載玻片置於染色壺內，依序移動載玻片，以 Safranin—fast green 染色，待切片片子完全乾燥後，選擇完整的切片片子來進行鏡檢。Safranin—fast green 染色法的脫水及染色流程為將完整的組織切片依序浸泡在無水乙醇、95%乙醇、85%乙醇、70%乙醇、50%乙醇各 3 分鐘後，再浸泡於 1% Safranin 之 50%乙醇溶液中 10 小時後取出用蒸餾水洗去多餘的 Safranin 染料，再將其組織切片依序浸泡於 50%乙醇、70%乙醇、85%乙醇、95%乙醇中各 3 分鐘後，再浸泡於 0.5% Fast green 之 95%乙醇溶液中 3 小時，而後再用 95%乙醇洗去多餘的 Fast green 染料後，再浸泡於無水乙醇中兩次，每次各 3 分鐘後取出即完成染色，待片子完全乾燥，選完整片子進行鏡檢。
- (6) 封片、鏡檢：完整之片子滴上封鎖劑，蓋上蓋玻片，待乾後即可進行鏡檢，將需要的部位用顯微鏡照相拍攝<sup>(15)</sup>。

### 3. 成分分析

#### (1) 烏頭、天雄 HPLC 分析條件<sup>(16)</sup>

- a. 樣本處理：分別取 10g 烏頭及天雄藥材研磨成粉，加入氨試液 4mL 及乙醚 50mL，經放置浸泡 14 小時後過濾。藥渣用乙醚洗 3 次每次 15mL，之後合併醚液，溫度控制在 60℃ 以下蒸乾乙醚，殘渣用二氯甲烷溶解，移至定量瓶定容到 5 mL，當作藥材檢液。

b. Column：Hypersil ODS, 5μm, 4.6 I.D.×250mm

- c. Mobile phase : methanol -water-chloroform-triethylamine (70:30:2:0.1)
- d. Detection : UV 230nm
- e. UV 感度 : 0.03 AUFs
- f. Flow rate : 0.8mL/min
- g. Inject volume : 20 $\mu$ L

(2) 大黃 HPLC 分析條件

- a. 樣本處理：取 1g 炮製的大黃溶於 70% MeOH，以超音波震盪萃取方式 2 小時後，過濾濃縮，以 70% MeOH 定容至 10cc，再經 0.45 $\mu$ m 濾膜過濾後進行 HPLC 分析。
- b. Column : Hypersil ODS, 5 $\mu$ m (4.6ID $\times$ 250mm)
- c. Mobile phase : A 溶液 : B 溶液 (30 : 70)
  - A 溶液 : 0.2% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
  - B 溶液 : 甲醇
- d. Detection : UV 437nm
- e. UV 感度 : 0.02 AUFs
- f. Flow rate : 1.0ml/min
- g. Inject volume : 20 $\mu$ L
- h. Oven : 40 $^{\circ}$ C
- i. Run time : 50min
- j. 檢量線之製作：精確稱取標準品，加適量 80% methanol，調配成一系列不同濃度之溶液，經 0.45 $\mu$ m 濾膜過濾後為標準曲線之溶液，各取 20 $\mu$ L 注入進行 HPLC 分析。以標準品波峰面積或高度，進行線性迴歸，製造檢量線，求得檢量線之方程式及相關係數。

(3) 半夏 HPLC 分析條件

- a. 樣本處理：稱取 10g 半夏粉末，以 50ml 之水加熱回流萃取，每次 2 小時，連續萃取二次，合併萃取液，過濾後冷凍乾燥，取乾燥後粉末為樣品做分析。以 DDW 定容至 10cc，再經 0.45 $\mu$ m 濾膜過濾後進行 HPLC 分析。使用 postcolumn reactor 以 nihydrin 試劑反應呈色。

b. Column : Hypersil ODS, 5 $\mu$ m (4.6ID $\times$ 250mm)

c. Mobile phase : A 溶液 : B 溶液 ( 15 : 85 )

A 溶液 : MeOH

B 溶液 : Sodium 1-heptanesulfonate +  
Sodium acetate

d. Detection : UV 540nm

e. UV 感度 : 0.02 AUFs

f. Flow rate : 0.6ml/min

g. Inject volume : 20 $\mu$ L

h. Oven : 100 $^{\circ}$ C

i. Run time : 8.1min

j. 檢量線之製作：精確稱取標準品，加適量 80% methanol，調配成一系列不同濃度之溶液，經 0.45 $\mu$ m 濾膜過濾後為標準曲線之溶液，各取 20 $\mu$ L 注入進行 HPLC 分析。以標準品波峰面積或高度，進行線性迴歸，製造檢量線，求得檢量線之方程式及相關係數。

#### 4. 腎毒性評估

將上述五種中藥材，分別以水進行萃取過濾，將濾液以濃縮機濃縮之後，進入冷凍乾燥機，製成粉末。實驗為期十二週，將 Wistar 大白鼠採隨機分組，每組 8 隻以胃管給予的方法，每天一次，給予實驗動物。空白組給予 RO 水當為對照用。

因附子、烏頭及天雄具有毒性，在〈中華人民共和國藥典〉（2000 版）所述為 1.5-3g 之限量，因此計畫中將設計 120 mg/kg、600mg/kg 及 3,000mg/kg 等三種劑量投與至實驗動物進行試驗。至於半夏和大黃投與至實驗動物的劑量則是 180 mg/kg、900mg/kg 及 4,500mg/kg。

有關劑量換算法採用衛生署健康食品減肥功能評估草案方式，依據體重 60kg 之成人除以受試物之每日人體建議攝取量，即可得每公斤體重之建議攝取量，再乘以實驗動物相對於人體之代謝係數（大白鼠相對於人體之代謝係數為 6.25），即可得該實驗動物每日攝取劑量。以計算式表示則為：大白鼠每公斤體重之攝取劑量＝人體建議攝取量 $\div$ 體重 60kg $\times$ 6.25。

#### 四、將本計畫使用之代測藥物選用劑量換算為人體相當劑量則如下表所示

劑量換算 \ 給藥設計	附子、烏頭及天雄			半夏、大黃		
	低劑量	中劑量	高劑量	低劑量	中劑量	高劑量
投與至大鼠劑量 (mg/kg/day)	120	600	3000	180	900	4500
人體相當劑量 (g/day)	1.2	5.8	28.8	1.7	8.6	43.2

##### (一) 餵食期間定期進行下列實驗

1. 每日記錄大鼠體重、飲水、攝食之變化。
2. 每星期取大鼠血漿和尿液，用全自動生化分析儀測定血糖、血漿肌酐酸 (creatinine)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、尿肌酐酸 (ucreatinine) 及 glutamic pyruvic transaminase (GPT) 與 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 濃度的變化。並計算尿液肌酐清除率 (Ccr)： $Ccr (ml/min) = \frac{\text{尿肌酐濃度} \times \text{每分鐘尿量}}{\text{血漿肌酐酸濃度}}$ ，結果用體重校正。尿液微量白蛋白 (urine microalbumin) 採用放射免疫法測定，並計算 24 小時尿微量白蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rate, UAER) ( $\mu g/24h$ ) = 尿白蛋白含量 ( $\mu g/mL$ )  $\times$  24h 尿量 (mL)。待實驗結束，將動物全部犧牲，由頸動脈採血檢驗腎臟生化功能，並剖腹取腎臟，進行病理變化的分析。並利用免疫組織化學染色 (immunohistochemistry staining, IHC) 對腎臟轉化生長因子 (TGF- $\beta_1$ ) 的蛋白表現量進行評估。

##### (二) 病理檢查

離體腎臟秤重後將臟器固定於 10% 的中性福馬林 (formaldehyde) 液中，在同一位置上分割出各一小塊，放入包埋盒中，脫水一夜後進行石蠟包埋，置於 -20℃ 並接著進行切片 (厚度約為 5 $\mu m$ )，放入烘箱內，使石蠟烘乾固定，以 periodic acid-Schiff (PAS)/hematoxylin 染色。最後蓋片、陰乾，利用顯微鏡進行病理變化的觀察，並以半定量分析的方式進行組織病理學

的評量分析。腎臟間質細胞擴大指數 (mesangial expansion index, MEI) 給分的範圍由“0”到“3”分：“0”代表正常腎絲球體；“1”代表間質細胞擴大的範圍不超過50%腎絲球體；“2”代表間質細胞擴大的範圍延伸為50~75%腎絲球體；“3”代表間質細胞擴大的範圍約為75~100%腎絲球體<sup>(17)</sup>。由每一隻大鼠的50個腎絲球體所得平均數來進行得分的計算。病理變化的評量分析，則委請病理專科醫師，在不清楚本實驗設計的情況下對所有切片進行評估比較，再以所得平均值來進行各組之間的差異性分析。

### (三) 免疫組織化學染色 (immunohistochemistry staining, IHC)

腎臟組織以10%中性福馬林固定後，經過修整後置入石蠟包埋，切成4 $\mu$ m切片經xylene脫蠟及不同濃度之酒精脫水處理，以0.1mmol/l acetic acid煮沸處理30秒後靜置於室溫下20分鐘，之後加入3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>去除內源性過氧化，先以mouse IgG作用後再加入腎臟轉化生長因子 (TGF- $\beta_1$ ) 抗體。利用卵白素-生物素方法 (avidin-biotin complex) 標記抗體抗原免疫複合物，試劑為Avidin Biotinylated enzyme complex，以diaminobenzidine (DAB) 呈色，最後以蘇木紫 (hematoxylin) 染色完成後封片。

## 五、統計分析

本計畫實驗結果之數據，以 one-way ANOVA analysis 分析變異數，再以 Scheffe's multiple range test 檢定其間差異之顯著性，凡 p 值小於 0.05 以下，則認為其差異具統計意義。

## 參、結果

### 一、調查及收集資料

#### (一) 附子、天雄

附子及天雄皆為烏頭屬植物烏頭 (*conitum carmichaeli* Debx.) 子根。屬多年生草本植物，株高約 70~150cm，塊根通常 2 個或 3 個連生，呈紡錘型，長 2.5~5cm，外皮黑褐色，葉子互生，具柄，卵圓型，花期 6~7 月，花為青紫色，果期 6~7 月。中國大陸約有 167 種，分佈廣泛，除了海南島外，大多數分佈於雲南北部、四川西部和西藏東部的高山地帶。如四川、雲南、青海、甘肅、西藏。

附子為傳統中藥，能溫裏散寒，溫腎回陽，屬於溫裏藥。附子在「神農本草經」中，因為具有毒性，而被列為「下品」。在中藥方劑，如真武湯、八味地黃丸、牛車腎氣丸、麻黃附子細辛湯、大防風湯處方中均有使用附子。

附子生品具有毒性，自古以來，常被誤食或當作殺人的工具。烏頭類植物及其製劑的中毒頗為常見，死亡率高。中毒的症狀很快出現，中毒的症狀包括：麻痺、嘔吐、噁心、暈眩、低血壓、心律不整、昏迷、休克。心臟毒性和呼吸系統麻痺，是主要的死因。生品多為外用，經由炮製的過程，降低毒性，便於內服。毒性大的 aconitine 經炮製後，能水解為 aconine (烏頭次鹼)、benzoyl aconine (苯甲基烏頭次鹼)。benzoyl aconine 的毒性是 aconitine 的 1/100；aconine 的毒性是 aconitine 的 1/1000，而同樣具有強心、鎮痛效果。

生附子經不同的炮製方式，在台灣的市场品中常見有鹽附子、黑順片、白順片、炮附片。熟片、卦片、黃片台灣市場罕見。附子的炮製品台灣最常使用為炮附片；天雄是指較小的附子，台灣最常使用為黑順片。黑順片：用中等的泥附子為原料，浸入氯化鎂浸泡數日，連膽巴一起置入鍋中煮沸，煮至無心，撈起清洗，切厚片，再浸入氯化鎂溶液中，加糖及菜油煎熬成的調色劑，染成濃茶色，清水漂至不麻舌，蒸熟，晾至半乾後，再曬乾。炮附片：取附子浸泡，去皮、臍、切片、用薑浸、蒸熟、焙乾、武火炒至為鼓裂起泡。

## (二) 烏頭

烏頭為毛茛科植物 (*Aconitum carmichaeli* Debx.) 的乾燥母根。圓錐狀，長 1.5~3 厘米，直徑 1.5~2 厘米。表面灰褐色，有細的縱皺紋，頂端有凹陷的芽痕，側邊常留有母根摘離的痕跡，下端尖，周圍有數個瘤狀隆起的支根，習稱「釘角」。質堅實，難折斷，斷面外層褐色，內面為灰白色，粉狀，橫切面有一多角行環狀。無臭，味辛辣而麻辣。均以個勻、肥滿、堅實、無空心者為佳。

烏頭毒性極強，因品種、採集時間、炮製、煎煮時間等不同，毒性差別很大。生品烏頭有毒性，炮製過程中生物鹼含量可損失 81.3%，也需經由炮製降低其生物鹼含量。中毒症狀：流涎、噁心、嘔吐、腹瀉、頭昏、眼化、口舌、四肢及全身麻痺、脈搏減少、呼吸困難、手足搐弱、神智不清、大小便失禁、血壓及體溫下降，心率紊亂。

製烏頭方式：取淨烏頭，大小分開，用水泡至內無乾心，取出加水煮沸 4-6 小時，或蒸 6-8 小時，至取大的及實心切開無白心，口嚐微有麻舌感時，取出晾至六成乾，切厚片乾燥，篩去碎屑。

## (三) 大黃

大黃為蓼科植物掌葉大黃 (*Rheum palmatum* L.)、唐古特大黃 (*Rheum tanguticum* Maxim ex Balf.) 或藥用大黃 (*Rheum officinale* Baill) 的根及莖。前兩種習稱西大黃，後一種習稱南大黃、雅黃。台灣市場品大部分為雅黃、南大黃類，西大黃類用量少。

1. 西大黃：為掌葉大黃及唐古特大黃。多加工成類卵圓形、圓錐形或腰鼓形，或不規則短圓柱形，長約 5~17cm，直徑約 3~10cm，外皮已除去，外表黃棕色，可見到類白色菱形的網狀紋理，俗稱「錦紋、檳榔紋」(係由灰白色薄壁組織與棕紅色射線交錯而成)，有時可見菊花狀螺旋型「星點」，一端常有繩孔。質地堅硬，橫斷面黃棕色，顯顆粒性(習稱高粱渣)，微有油性，近外圍有時可見暗色形成層及半徑放射狀的橘紅色射線，髓部中有紫褐色星點，緊密排列成圈環狀，並有黃色至棕紅色的彎曲線紋，亦稱「錦紋」。氣特殊，味苦而微澀。



2. 南大黃、雅黃：又名四川大黃、馬蹄大黃。為藥用大黃的根莖。多橫切成段，一端稍大，形如馬蹄，少數亦呈圓錐形或腰鼓形，長約 6~12cm，直徑約 5~8cm，栓皮已除去。橫斷面黃褐色，多空隙，星點較大，排列不規則，質較疏鬆，富纖維性。氣味較弱。飲片為圓形或半圓形或不規則的橢圓形，直徑 4~6cm，厚 2~4cm，刮去粗皮者呈黃色或紅棕色，可見類白色網狀或有菊花型星點。未刮去外皮者呈棕褐色，表面有疙瘩狀隆起，有橫紋或縱皺紋，質堅實，有時中心較鬆軟，橫切片可見星點狀的錦紋，稍顯油性，氣清香特殊，味苦澀。

#### (四) 半夏

半夏基原為天南星科多年生草本植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit 的乾燥球狀塊莖。半夏根淺，喜歡溫和濕潤的氣候，怕乾旱忌高溫。半夏分佈廣泛，海拔 2500 公尺以下都能生長，常見於玉米地、小麥地、草坡、樹林下。長江流域各省以及東北、華北等地均有種植，主要產於四川、湖北、安徽、江蘇、河南、浙江等地，其中以四川生產的數量最多品質較好。

生半夏具毒性，有催吐作用，其毒性成分難溶於水，不能單純被薑汁所破壞，但可用白礬、加溫烘焙或加工炮製等方法消除。一般都是以水浸至無辣味，再用適當的方法加工炮製，其中用甘草水、石灰、白礬浸泡者為法半夏，與生薑白礬共煮者為薑半夏，兩者用途不同。生半夏有毒，多作外用，用在化痰散結，多用於蟲、蛇咬傷；法半夏可增強燥濕化痰作用，多用於痰多咳喘，痰飲眩悸；薑半夏可增強降逆止嘔作用，多用於嘔吐反胃；法半夏燥濕化痰，用於中成藥中，治療痰多咳喘、眩暈、頭痛。台灣市場品中常見的有法半夏、薑半夏、生半夏、水半夏。大陸可見野生半夏產品，半夏中藥材以雲南昭通為著名產地及集散市場。台灣市場品主要為薑半夏、法半夏兩大類，生半夏很少。

## 二、基原鑑定

### (一) 外觀

1. 附子、天雄外觀：表面灰棕色，有微細縱皺波紋，上端具凹陷的芽痕，周圍有許多個瘤狀隆起的支根，習稱角釘，側邊留有自母根摘離的痕跡，質堅實，斷面灰白色，粉性（圖一）。
2. 烏頭外觀：乾燥的子根，圓錐狀，長 1.5~3 厘米，直徑 1.5~2

厘米。表面灰褐色，有細的縱皺紋，頂端有凹陷的芽痕，側邊常留有母根摘離的痕跡，下端尖，周圍有數個瘤狀隆起的支根，習稱「釘角」。質堅實，難折斷，斷面外層褐色，內面為灰白色（圖一）。

3. 大黃外觀：橫向切成馬蹄形，厚 4~5cm 厚塊，直徑 7~10cm，表面多棕黃色或棕褐色，內色淡黃兼綠白色，體堅實、質板結，肉色青黃、苦味稍淡（圖二）。

4. 半夏外觀：去皮，成圓球狀、半圓球形或偏斜狀，直徑 0.8-2cm。表面白色，或淺黃色，略有皺紋，未去淨的表皮呈黃色斑點（圖二）。

## （二）組織切片

1. 附子、天雄組織切片：經由生附子的組織切片中，可看見栓皮層、導管、澱粉粒、二次皮層（圖三）。

2. 烏頭組織切片：經由烏頭的組織切片中，可看見栓皮層、導管、澱粉粒、髓部（圖四）。

3. 大黃組織切片：經由大黃的組織切片中，可看見栓皮層、木質部、草酸鈣簇晶、導管（圖五）。

4. 半夏組織切片：經由半夏的組織切片中，可看見最外層為栓皮層，其內層為柔細胞。皮部散佈黏液細胞，內含草酸鈣針晶束，澱粉粒含量極多（圖六）。

## 三、成分分析：烏頭屬藥材

烏頭及天雄的 HPLC 分析圖如圖七所示。經定量後得到 1g 烏頭的 aconitine 含量為  $8.29 \pm 0.01 \text{mg}$ ；但是 1g 天雄所含的 aconitine 量極微，可視為 0 mg。

（一）大黃：由 HPLC 定性定量後，得到 1g 大黃其 emodin 含量為  $47.34 \pm 0.01 \text{mg}$ （圖八）。

（二）半夏：由 HPLC 定性定量後，得到 1g 半夏其 glycine 含量為  $36.62 \pm 0.02 \mu\text{g}$ （圖九）。

#### 四、給藥期間待測藥材對正常大鼠體重及攝食行為的影響：體重變化

由實驗中可觀察到空白組的實驗大鼠體重會隨著週齡的增加而增加。可是，給藥組的實驗大鼠平均體重增加較少，尤其是高劑量組；其中，烏頭屬植物以附子的高劑量組（3,000mg/kg/day）使大鼠平均體重增加較少（表一）。

餵食大黃或是半夏的大鼠，不論在何種劑量的作用下，給藥後的第一個月平均體重均明顯降低；體重減輕的情形於給藥後的第二、第三個月仍持續出現（表二）。

(一) 攝食變化：如表一所示，餵食溶劑（RO 水）之空白對照組，每隻大鼠每星期的平均攝食量為 200g。不論是投與哪一種藥物，大鼠的平均攝食量均較餵食溶劑（RO 水）之空白對照組所得數值組低；其中，高劑量組大鼠每星期的平均攝食量又比餵食中、低劑量組大鼠的攝食量少（表一和表二）。

(二) 飲水變化：給藥期間，以溶劑（RO 水）處理之空白對照組，每隻大鼠每星期的平均攝水量為 400mL。給藥組大鼠的平均飲水量亦較空白組低；不論是投與哪一種藥物，高劑量組大鼠每星期的平均飲水量比中、低劑量組為少（表一和表二）。

#### 五、給藥期間待測藥物對正常大鼠血中生化值的影響

##### (一) 附子的作用

相對於餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠，給予大鼠高劑量附子（3,000mg/kg/day）一個月後，大鼠血漿中三酸甘油脂的表現值有升高的趨勢；相反地，血糖值出現下降的現象（表三）。給藥後的第一個月，在投與低劑量附子（120mg/kg/day）的大鼠即可看到血漿中 GOT 及 GPT 數值的提高（表四）。但是，大鼠血尿素氮（BUN）的表現值並不會因給藥劑量的高低或是給藥期間的影響而有明顯的異差（表四）。

##### (二) 烏頭的作用

如表四所示，給藥一個月後，相對於餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值，投予高劑量烏頭（3,000mg/kg/day）的大鼠血漿 GOT 的表現值有升高的趨勢。於給藥後的第二個月，在投與低劑量川烏（120mg/kg/day）的大鼠即可看到血漿中 GOT 及

三酸甘油脂的數值有提高的現象。給藥後的第三個月，給予高劑量烏頭(3,000mg/kg/day)的大鼠其血糖值有下降的現象(表三)。此外，在投藥後的第三個月，高劑量組(3,000mg/kg/day)烏頭可使大鼠血尿素氮(BUN)的表現值皆會上升(表四)。

### (三) 天雄的作用

給藥一個月後，相對於餵食溶劑(RO 水)處理之大鼠所得數值，投與低劑量(120mg/kg/day)天雄的大鼠血漿三酸甘油脂的表現值有升高的情形(表三)。給藥後的第二個月，在投與高劑量(3,000mg/kg/day)天雄的大鼠即可看到血漿中 GOT 及 GPT 數值的提高(表四)。但是，大鼠血尿素氮(BUN)的表現值並不會因給藥劑量的高低或是給藥期間的影響而有明顯的差異(表四)。

### (四) 大黃的作用

大黃不論是在何種劑量的作用下，給藥後的第二個月，大鼠血漿中三酸甘油脂及膽固醇的表現值仍有下降的情形；甚至在給藥的第三個月後大黃仍具有調降三酸甘油脂的作用(表五)。

給藥一個月後，相對餵食溶劑(RO 水)處理之大鼠，餵食中劑量(900mg/kg/day)大黃的大鼠其血漿 GOT 的數值有下降的現象。給藥後的第二個月，給予高劑量組(4,500mg/kg/day)大黃的大鼠血漿 GOT 的表現值則會上升(表六)。

投藥後的第三個月，餵食高劑量(4,500mg/kg/day)及中劑量(900mg/kg/day)大黃的大鼠其血尿素氮(BUN)的表現值均較給予溶劑(RO 水)處理之大鼠所得數值高，但是沒有統計的差異性(表三)。

### (五) 半夏的作用

大鼠連續三個月餵食中劑量(900mg/kg/day)或是高劑量(4,500mg/kg/day)的半夏後會出現血糖升高的現象(表五)。

不論是投與何種劑量的半夏，大鼠血漿中三酸甘油脂及膽固醇的表現值於投藥後的第二個月皆會下降(表五)。於投藥後的第三個月，低劑量(180mg/kg/day)和中劑量組(900mg/kg/day)的半夏仍具有調降大鼠血漿三酸甘油脂及膽固醇的作用；可是，高劑量組(4,500mg/kg/day)的半夏則不具有這項作用(表五)。

但是，大鼠血尿素氮（BUN）的表現值並不會因半夏給藥劑量的高低或是給藥期間的影響而有明顯的差異（表六）。

## 六、給藥期間待測藥物對正常大鼠尿液生化指數的影響

如表七所示，待測藥物各於中、低劑量連續餵食 3 個月後，雖然大鼠的尿量、尿蛋白（urine proteins）以及肌酸酐清除率（creatinine clearance）和 24 小時尿白蛋白排泄率（UAER）的表現值皆比餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值高，但並不會有明顯的差異性。此外，餵食待測藥物的大鼠其腎臟在連續給藥 3 個月後雖然有腫大的現象，但是與溶劑（RO 水）處理之大鼠相比較並不會有明顯的差異性。

## 七、連續給予待測藥物對正常大鼠腎臟病理學的影響

由組織病理學檢查顯示，相對餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠，烏頭屬藥材於中劑量（600mg/kg/day）或是高劑量（3,000mg/kg/day）連續服用 3 個月後，大鼠腎球體間質細胞有擴大的現象；尤其是以高劑量烏頭（3,000mg/kg/day）處理的大鼠其腎球體間質細胞擴大的範圍更為明顯〔圖十（A）〕。由腎臟間質細胞擴大指數（MEI）的變化〔圖十（B）〕，可知連續 3 個月服用高劑量烏頭（3,000mg/kg/day）處理的大鼠其腎球體間質細胞擴大的程度大約為餵食溶劑（RO 水）之大鼠所得數值的 24 倍；而連續 3 個月服用高劑量附子（3,000mg/kg/day）或是天雄（3,000mg/kg/day）處理的大鼠其腎球體間質細胞擴大的程度約為餵食溶劑（RO 水）之大鼠所得數值的 16~18 倍。

連續三個月餵食中劑量（900mg/kg/day）或是高劑量（4,500mg/kg/day）大黃的大鼠，其腎球體間質細胞亦有擴大的現象〔圖十一（A）〕。同樣地，大鼠連續服用三個月中劑量（900mg/kg/day）或是高劑量（4,500mg/kg/day）的半夏，腎球體間質細胞擴大的情形亦然可見〔圖十一（A）〕。由腎臟間質細胞擴大指數（MEI）的變化〔圖十一（B）〕可知：連續 3 個月服用高劑量（4,500mg/kg/day）大黃處理的大鼠其腎球體間質細胞擴大的程度大約為餵食同劑量半夏之大鼠所得數值的 1.5 倍；各組實驗大鼠腎臟間質細胞擴大指數（MEI）的變化如圖十一（B）所示。

## 八、連續給予待測藥物對正常大鼠腎臟中轉化生長因子（TGF- $\beta_1$ ）表現量的影響

相對餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠，連續三個月餵食烏頭屬藥材的大鼠，不論在何種劑量的作用下，腎臟中轉化生長因子均有過度

表現的現象；無論是烏頭、附子或是天雄在高劑量（3,000mg/kg/day）的作用下大鼠腎臟中轉化生長因子的表現更為明顯（圖十二）。

大鼠連續三個月服用大黃或是半夏，腎臟中轉化生長因子的表現值仍然較溶劑（RO 水）處理之大鼠的表現量高；由其是在高劑量藥物的作用下（4,500mg/kg/day），不論是以大黃或是半夏處理的大鼠，腎臟中轉化生長因子的表現更為劇烈（圖十三）。

## 肆、討論

烏頭屬植物中含有 aconitine 成分，長期服用下因 aconitine 會直接作用在胃腸道神經系統，使胃腸道的肌肉鬆弛，而導致有脫水、消化不良等現象，且因腹瀉而使得腸吸收功能不好<sup>(18)</sup>。所以在平均體重上，給與烏頭屬藥材的動物體重比溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值低。另外，餵食大黃的大鼠在第一個月份體重、攝水、攝食均呈現下降現象，可能是因成分中含有蒽醌類化合物（anthraquinones），因而導致腹瀉、食慾減低的現象有關<sup>(19)</sup>。

由實驗結果發現：餵食烏頭屬藥材，包括烏頭、附子及天雄，一個月後，大鼠血漿中 GOT 值及三酸甘油酯數值會有上升的現象。事實上，肝細胞受到傷害時，GOT 和 GPT 會從肝中釋放出來，因此血漿中 GOT 和 GPT 數值的變化可為肝臟損傷生化指標的參考。但是，GOT 可表現於人體腎臟、胰臟、骨骼肌及腦部等，當為肝臟損傷的生化指標較不具專一性；相對地 GPT 較具專一性。雖然大鼠血漿中 GOT 數值於給予烏頭屬藥材後的第一個月，甚至第二個月相較於餵食溶劑（RO 水）處理之大鼠皆有偏高的情形，可是，GPT 的表現值在給藥組與溶劑（RO 水）處理間並沒有明顯地差異性。因此，餵食烏頭屬藥材的初期是否與引致大鼠肝損傷，導致大鼠血脂偏高的現象出現仍需進一步評估。

我們觀察到半夏與大黃具有類似調降血脂的作用，尤其是以調降三酸甘油酯的效果更為明顯。事實上，這項降血脂的作用是否與代測藥物引致實驗大鼠體重減輕有無直接的相關性，由本計畫執行的結果並無法解明，有待更進一步實驗的施行來說明。但是中醫理論認為大黃具利膽退黃效果；近代藥理研究亦證明，大黃的有效成分 emodin 具有保肝作用亦具有血管擴張、免疫抑制及抗癌等生理活性<sup>(13,14)</sup>。確實，服用中劑量（900mg/kg/day）大黃的大鼠於第一個月後血漿中 GOT 的數值會呈現下降的現象，但是給藥期延長至第二、第三個月後大鼠 GOT 數值則會上升。最近研究證實大黃總蒽醌（total rhubarb anthraquinones, TRAs）能有效阻止慢性腎衰竭的發展。有文獻亦指出蒽醌類化合物（anthraquinones）對大鼠的毒性反應靶器官（target organ）可能主要集中於腎臟<sup>(20)</sup>。然而，至目前為止有些研究發現 Sprague-Dawley 大鼠長期服用高劑量的 TRAs 可引致大鼠腎小管的上皮細胞腫脹和變質，與腎毒性的形成有相關性<sup>(20)</sup>。因此，長期餵食具有血脂調降活性的藥物或是烏頭屬藥材是否會造成腎臟損傷值得進一步探討。

血清尿素氮 (BUN) 可為臨床常用腎功能指標，但是數值容易受蛋白質及水份攝取的影響；至於血漿肌酐酸 (creatinine) 雖是非常穩定的腎功能指標，常用於評估腎功能障礙的嚴重度及腎臟病的病情監控，但不適用於早期腎臟疾病的篩檢。

因此，單獨以血清尿素氮 (BUN) 和血漿肌酐酸 (creatinine) 數值的變化來評估待測藥物引致可能有關的腎臟傷害並不客觀。事實上，轉化生長因子 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 能夠刺激膠原蛋白 (collagen IV) 及纖維網狀蛋白 (fibronectin) 的表現，並抑制細胞外基質 (extracellular matrix) 被分解，在腎臟纖維化的過程扮演重要的角色<sup>(21)</sup>。為了更進一步佐證烏頭屬待測藥物與具有血脂調降活性的大黃及半夏於長時間或高劑量服用可能引致之腎臟毒性，因此，進一步對給藥大鼠腎臟進行病理觀察與轉化生長因子 (TGF- $\beta$ 1) 表現量的評估。實驗結果發現相對餵食溶劑 (RO 水) 處理之大鼠，連續三個月餵食烏頭屬藥材、大黃或是半夏的大鼠，不論在何種劑量的作用下，腎臟中轉化生長因子 (TGF- $\beta$ 1) 均有過量表現的現象：烏頭屬藥材中，似乎只有天雄的表現量較輕微；此外，於同劑量的作用下，大黃引致腎臟轉化生長因子 (TGF- $\beta$ 1) 的表現比半夏的作用更為明顯。進一步配合組織病理學檢查所得結果顯示，烏頭屬藥材於中劑量 (600mg/kg/day) 或是高劑量 (3,000 mg/kg/day) 連續服用 3 個月後，大鼠腎球體間質細胞會有擴大的情形；尤其是以高劑量烏頭 (3,000mg/kg/day) 處理的大鼠其腎球體間質細胞擴大的範圍比附子或是天雄更為明顯。將正常大鼠連續餵食待測烏頭屬藥材三個月其腎臟損傷狀況之整理如表八，可知：以中劑量或是高劑量服用待測烏頭屬藥材連續 2 個月，會提高腎損傷出現的機會。以同樣地方式餵食正常大鼠大黃或是半夏，於中劑量或是高劑量的作用下，連續給藥二個月後大鼠腎臟損傷的情況明顯地增加。此外，大黃於同劑量的作用下引致腎球體間質細胞擴大的作用比半夏的影響更為劇烈；餵食大黃或是半夏期間引致大鼠腎臟損傷的狀況整理如表九。因此，若要長期使用烏頭屬藥材或是具有血脂調降活性的大黃、半夏等藥材時需注意給藥時間最好控制於 2 個月內。此外，以投與至大鼠的給藥劑量為依據，烏頭屬藥材 (烏頭、附子及天雄) 長期給藥劑量應以不超過 600mg/kg/day (換算成人體建議劑量以不超過 5.8g/day) 為原則；至於大黃或是半夏的長期給藥劑量應以不超過 900mg/kg/day (換算成人體建議劑量應不超過 8.6g/day) 為參考，必能有助降低長時間或高劑量服用這些待測藥材引致腎臟毒性的機會。



## 伍、結論與建議

本研究計畫所得結果已達成預期目標，除了可提供為中藥安全使用的依據外，並可為產官學各界日後進行相關中草藥服用安全評估及政策訂定及推行的參考。但是，本項計畫仍有部分疑點尚未解明：例如高劑量短期投與烏頭屬藥材是否與引致大鼠肝損傷，導致大鼠血脂偏高的現象有關仍需探討；此外，蔥醌類化合物是否是導致大黃具有腎毒性的主要成分亦需釐清。

## 誌謝

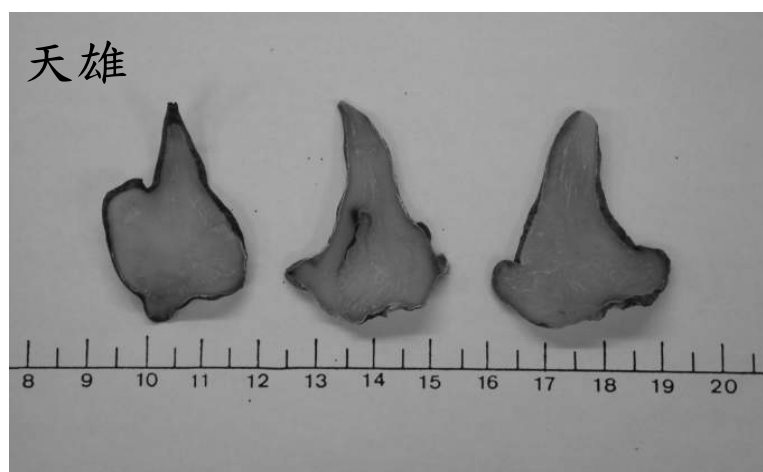
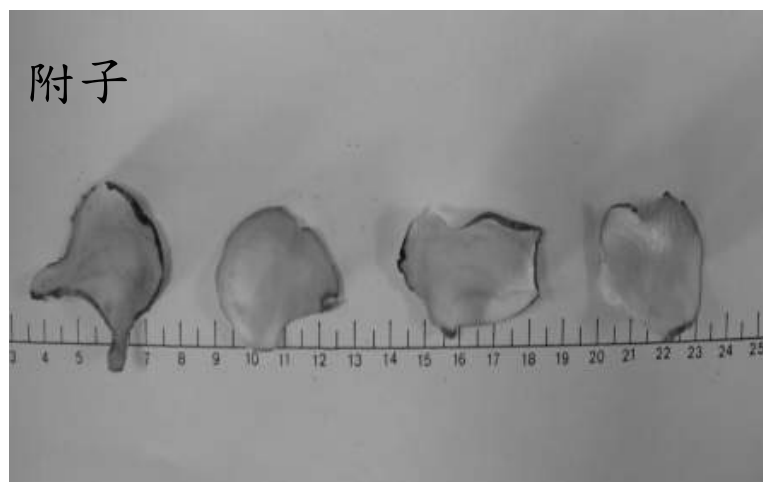
本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP95-TP-014 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

## 陸、參考文獻

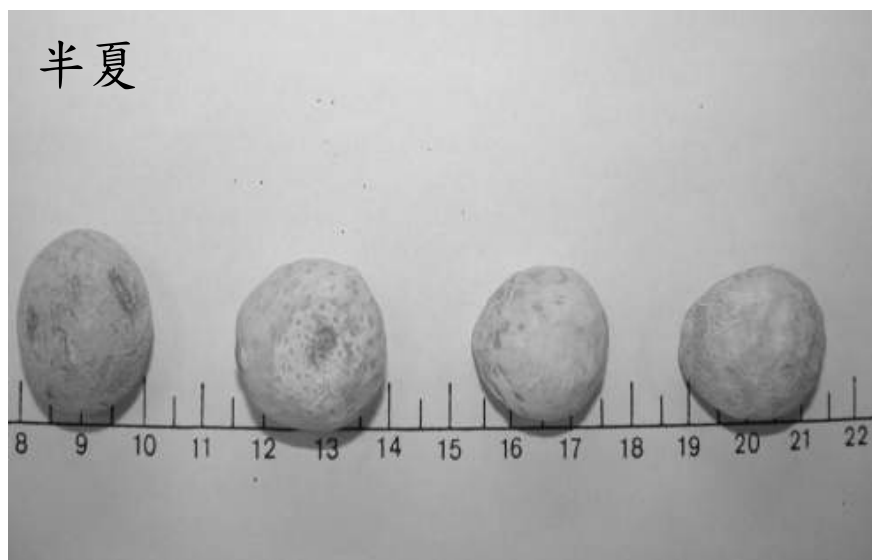
1. 林茂村：人體生理學。文京圖書有限公司，1998，542-575。
2. 林昭庚：含馬兜鈴酸中藥與中草藥腎病變之相關文獻探討。行政院衛生署醫藥委員會研究計畫成果報告，2003。
3. 杜金山：關於藥物的腎毒性。天津藥學1994；6：28-31。
4. Hikino H, Konno C, Takata H, Yamada Y, Yamada C, Ohizumi Y, Sugio K, Fujimura H.: Anti-inflammatory principles of Aconitum roots. *Journal of Pharmacobio Dynamics* 1980; 3: 514-525.
5. Wang Y, Wang S, Liu Y, Yan L, Dou G, Gao Y.: Characterization of metabolites and cytochrome P450 isoforms involved in the microsomal metabolism of aconitine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006; 844: 292-300.
6. Liou SS, Liu IM, Lai MC.: The plasma glucose lowering action of Hei-Shug-Pian, the fire-processed product of the root of Aconitum (*Aconitum carmichaeli*), in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 256-262.
7. Liou SS, Liu IM, Lai MC, Cheng JT.: Comparison of the antinociceptive action of crude Fuzei, the root of Aconitum, and its processed products. *J Ethnopharmacol* 2005; 99: 379-383.
8. 高本釗：新編中藥大辭典（上）。新文豐出版公司，1983年。
9. Marki T, Takahashi K, Shibata S.: An anti-emetic principle of *Pinellia ternate*. *Planta Med* 1987; 53: 410-414.
10. Chen JH, Cui GY, Liu JY, Tan RX.: Pinelloside, an antimicrobial cerebroside from *Pinellia ternate*. *Phytochemistry* 2003; 64: 903-906.
11. 王光明、周蓉：半夏的中藥藥理研究進展。中醫藥導報2007；13：97-99。
12. 宋曉鴻：以中藥學角度探討仲景運用生半夏的臨床意義。河南中醫1994；14：71-72。
13. 杜中惠、劉賀：大黃臨床應用機制及其與西藥的相互作用。實用醫技雜誌2006；13：224-225。
14. 張海峰：大黃複方煎保留灌腸治療慢性腎衰竭療效觀察。牡丹江醫學院學報2006；27：16-18。
15. 易混淆及誤用藥材之鑑別（I）。行政院衛生署藥物食品檢驗局（2002）。

16. Hikoto O, Yasuo S, Noriko TS.: Determination of Aconitum alkaloid in blood and urine samples. I. high-performance liquid chromatographic separation, solid-phase extraction and mass spectrometric confirmation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1997; 691: 351-356.
17. Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslahti E.: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor  $\beta$ 1. *Nature* 1990; 346: 371 – 374.
18. Kentaro W, Makoto N, Youkichi O.: Effects of chronic administrations of aconitine on body weight and rectal temperature in mice. *J Ethnopharmacol* 2006; 105: 89–94.
19. 李瑛、劉伏友：大黃的毒副作用研究。《中國藥房》2006；17：710-711。
20. Yan M, Zhang LY, Sun LX, Jiang ZZ, Xiao XH.: Nephrotoxicity study of total rhubarb anthraquinones on Sprague Dawley rats using DNA microarrays. *J Ethnopharmacol* 2006; 107: 308-311.
21. Hong SW, Isono M, Chen S, Iglesias-De La Cruz MC, Han DC, Ziyadeh FN.: Increased glomerular and tubular expression of transforming growth factor- $\beta$ 1, its type II receptor, and activation of the Smad signaling pathway in the db/db mouse. *Am J Pathol* 2001, 158: 1653-1663.

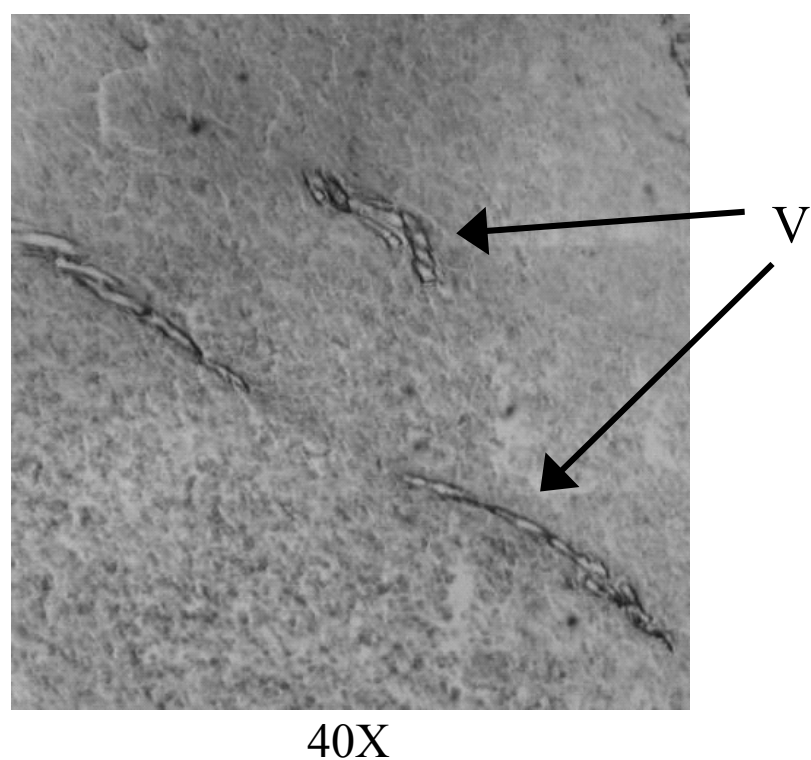
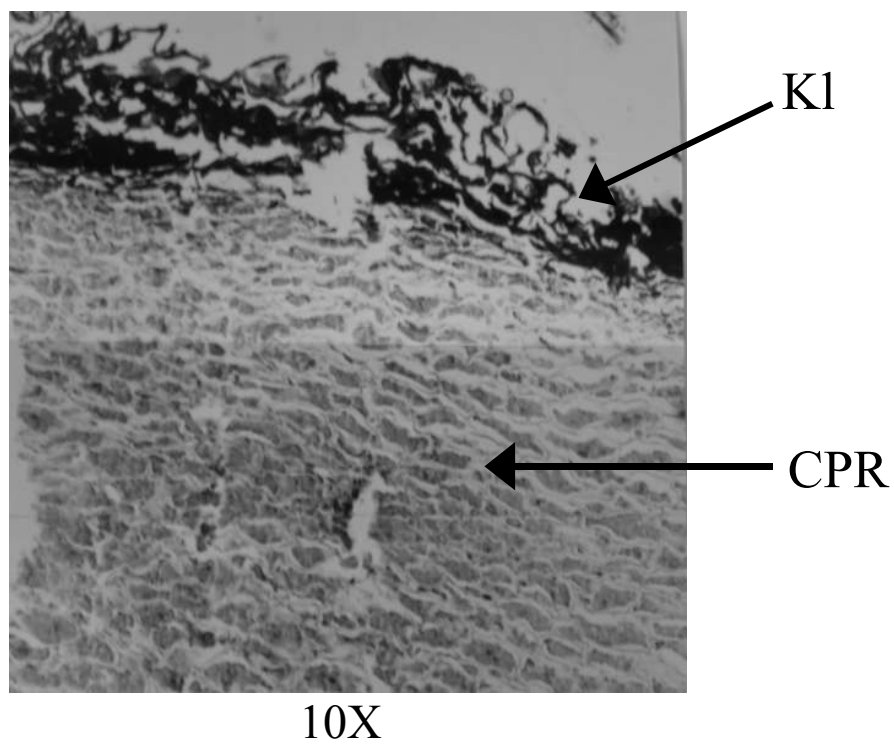
## 柒、圖表



圖一 烏頭屬藥材外觀



圖二 大黃和半夏藥材外觀

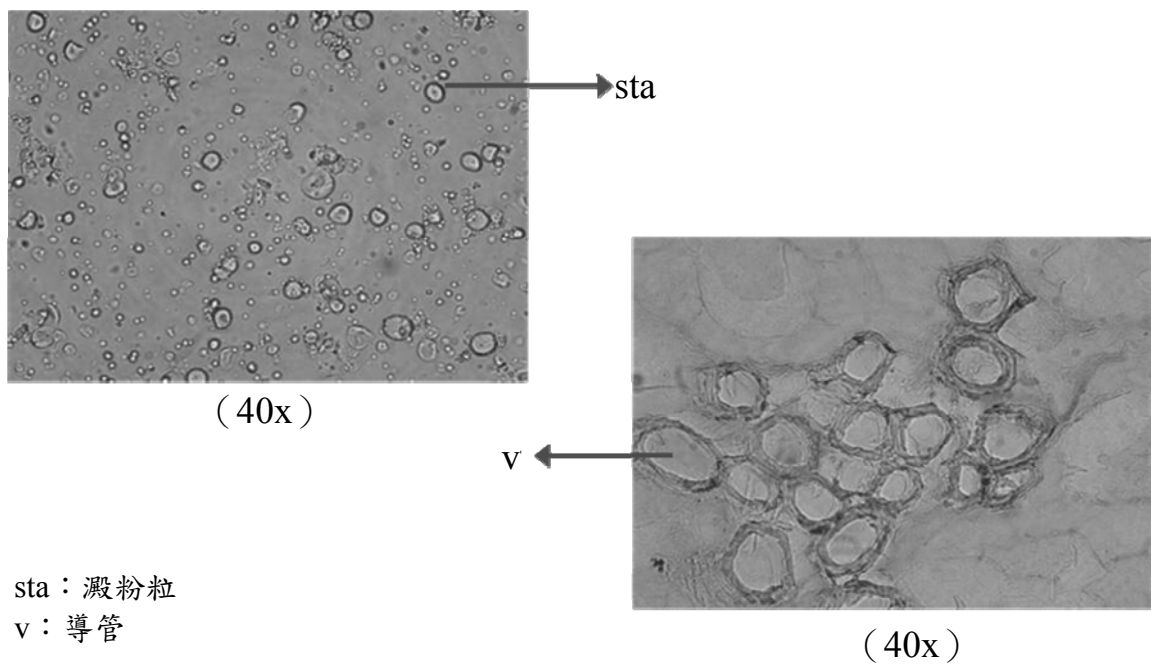
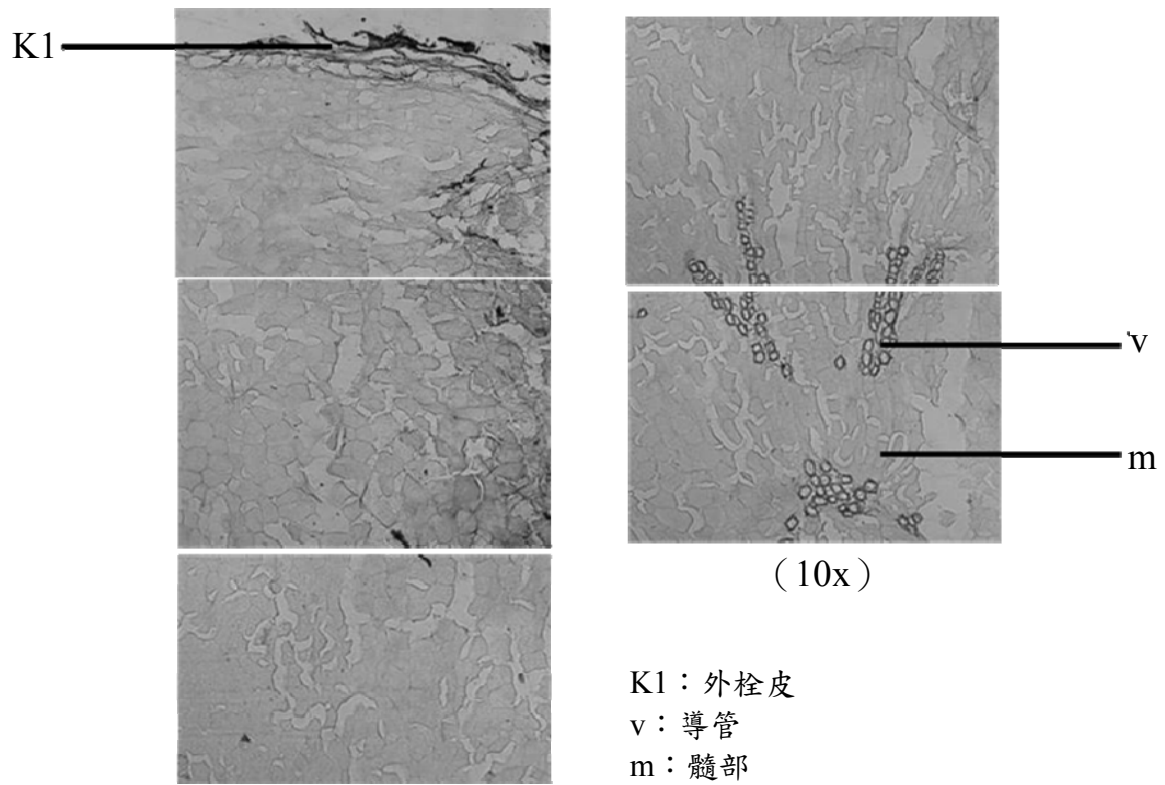


Kl: 栓皮層

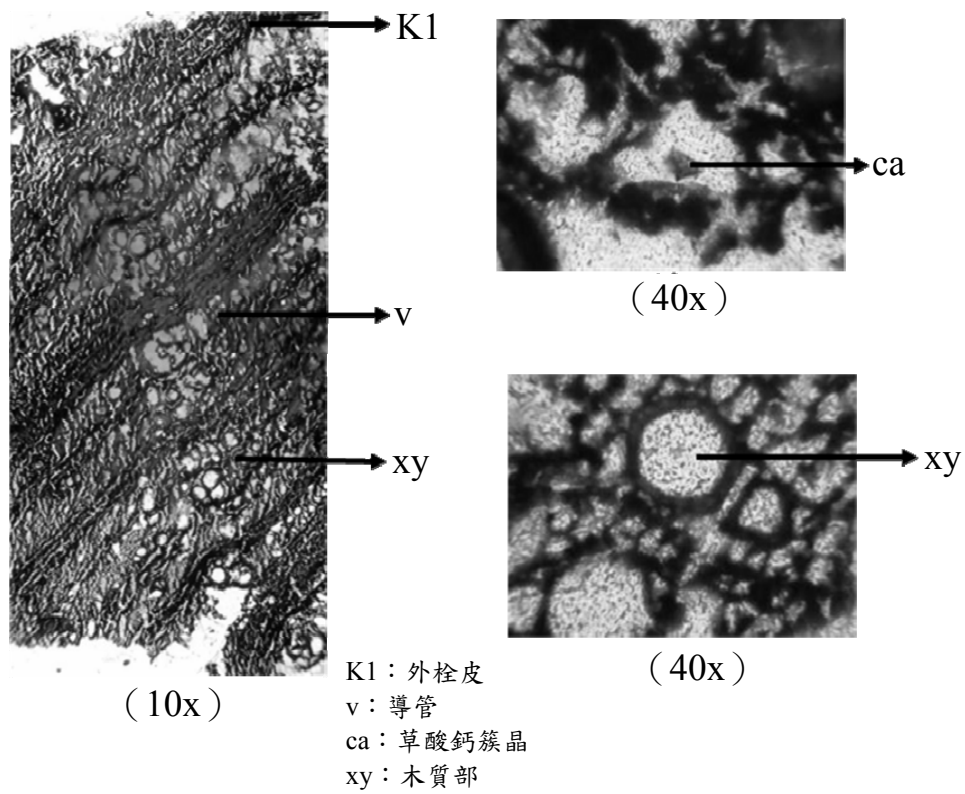
CPR: 二次皮層

V: 導管

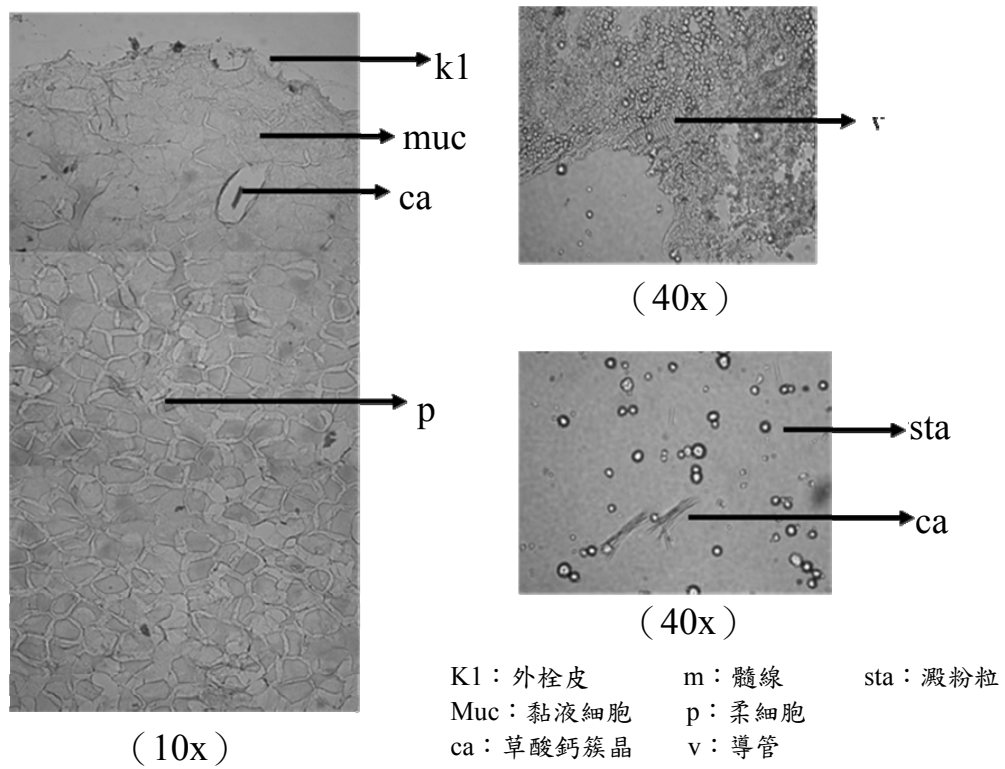
圖三 附子（天雄）組織切片圖



圖四 附子（天雄）組織切片圖

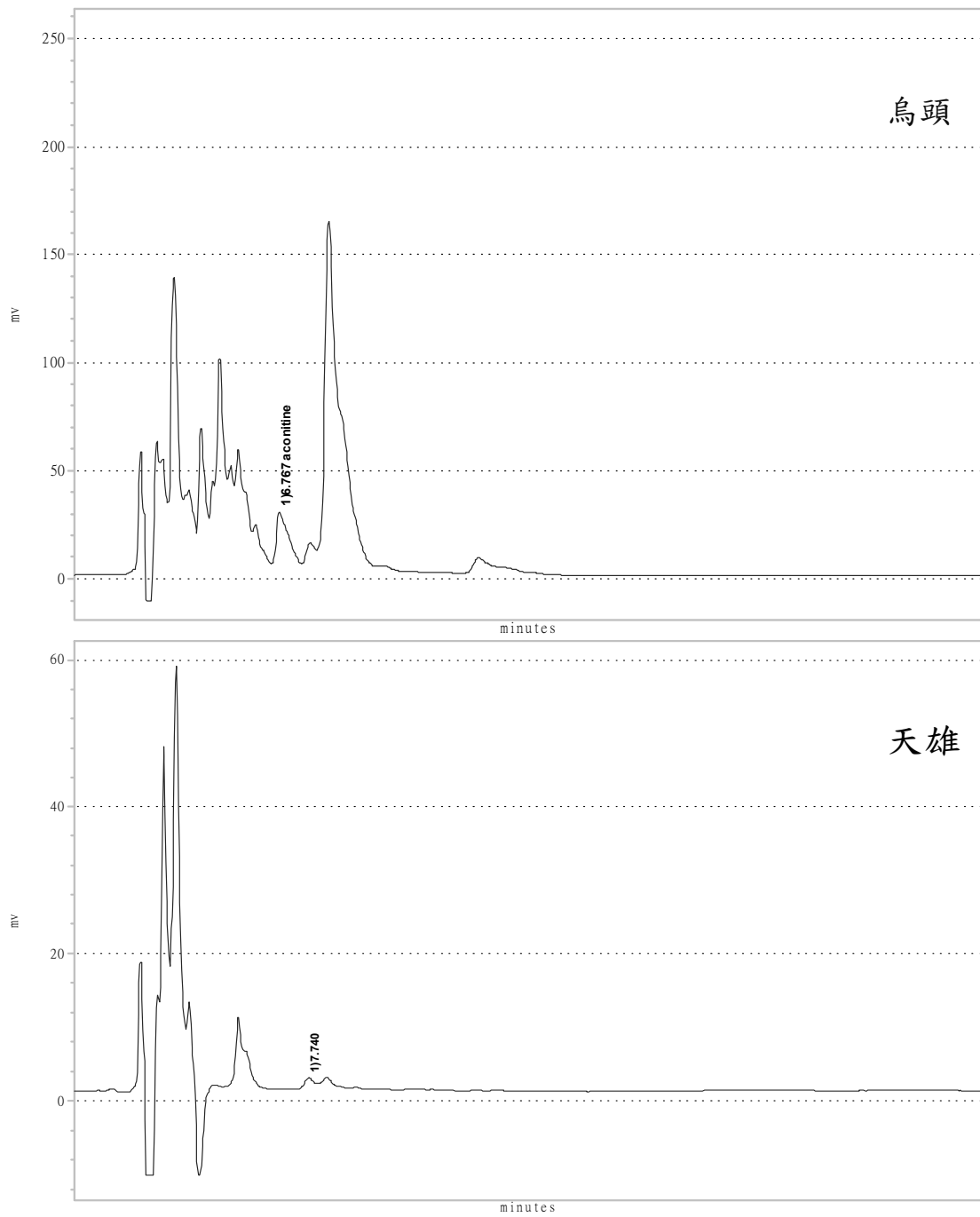


圖五 大黃組織切片圖

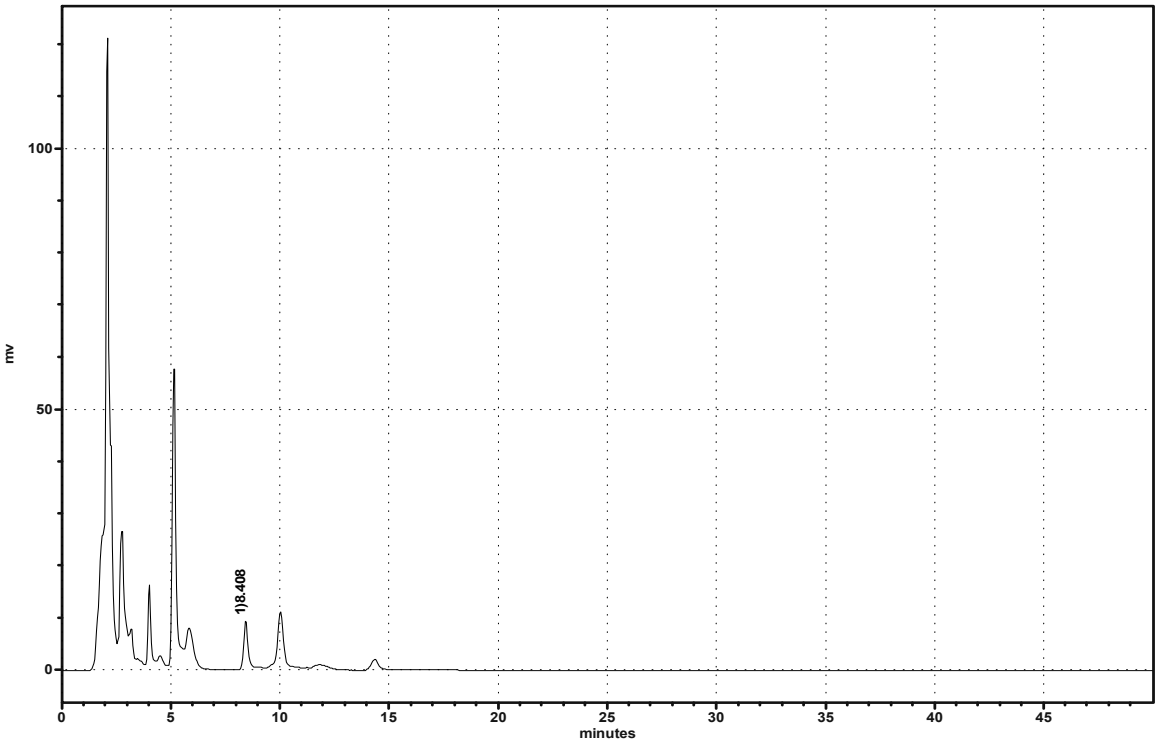


圖六 半夏組織切片圖

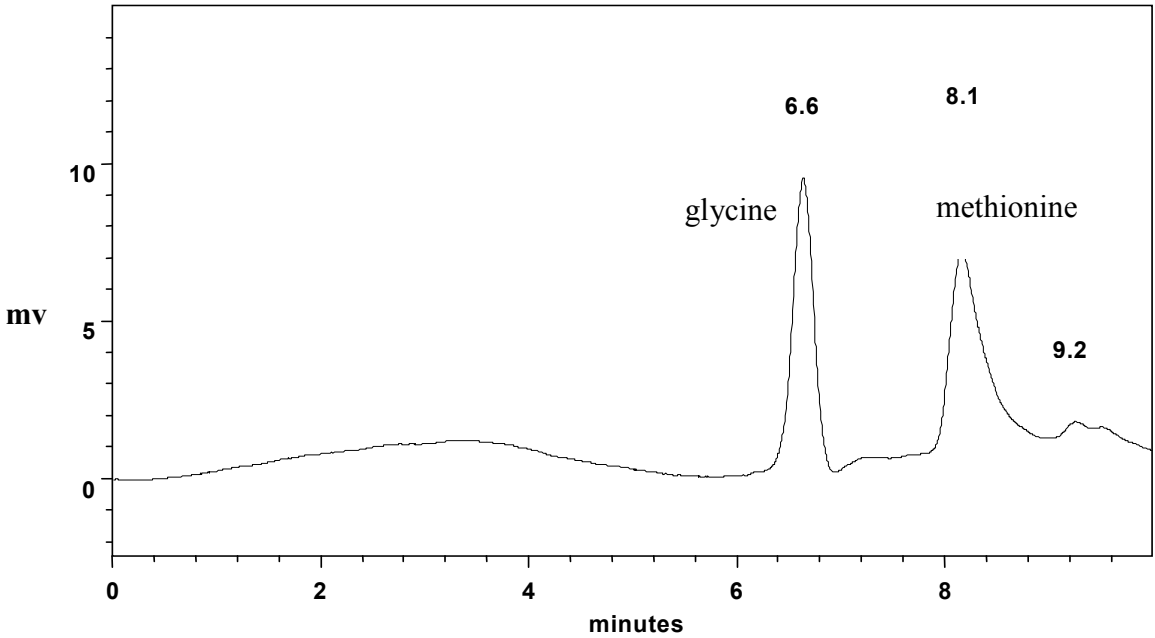




圖七 烏頭屬藥材 HPLC 圖

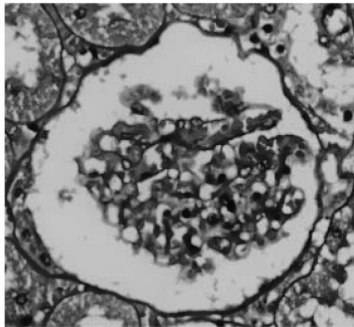


圖八 大黃 HPLC 圖

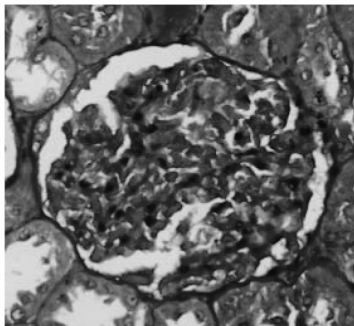


圖九 半夏 HPLC 圖

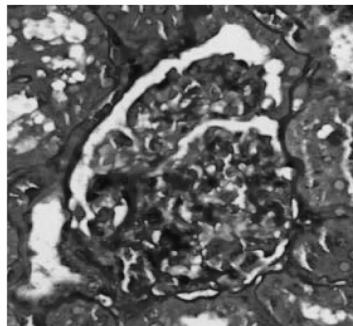
A



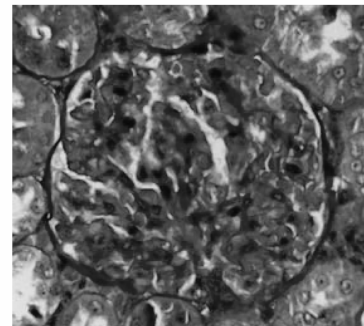
溶劑



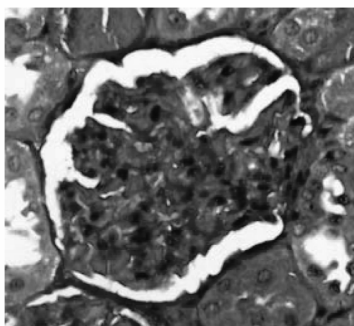
烏頭(120 mg/kg/day)



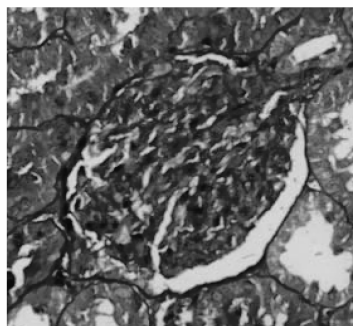
烏頭(600 mg/kg/day)



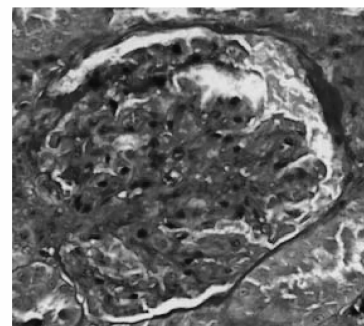
烏頭(3000 mg/kg/day)



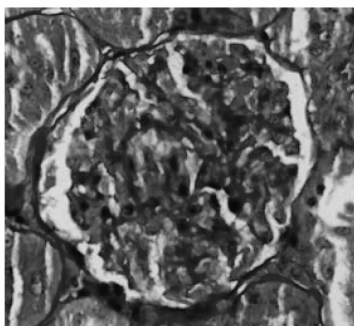
附子(120 mg/kg/day)



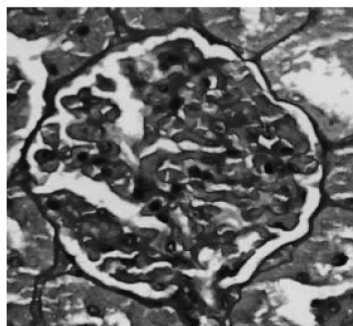
附子(600 mg/kg/day)



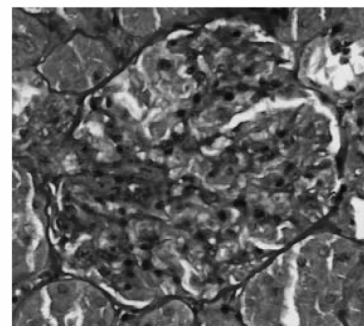
附子(3000 mg/kg/day)



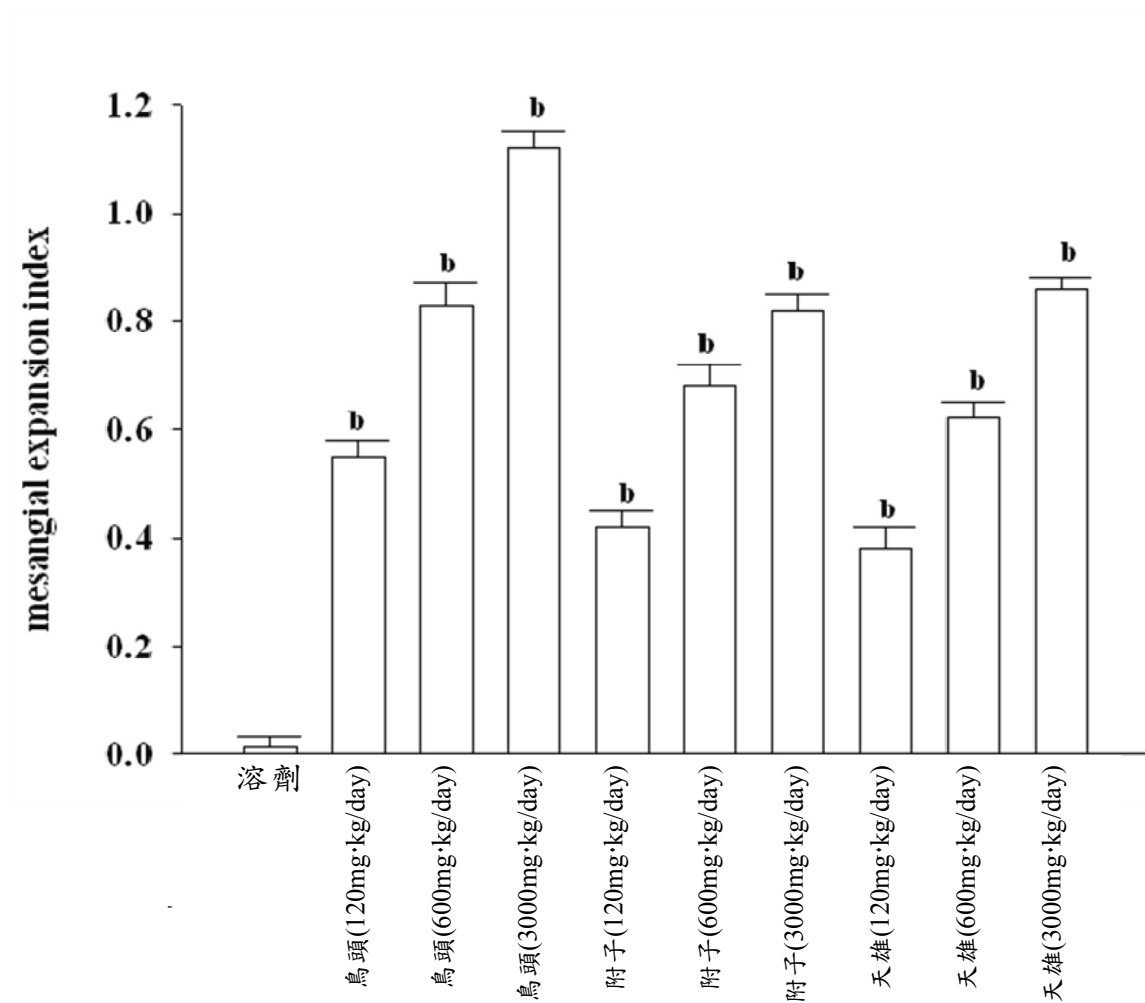
天雄(120 mg/kg/day)



天雄(600 mg/kg/day)

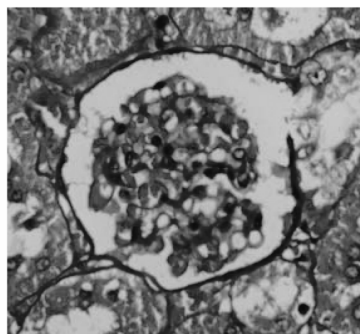


天雄(3000 mg/kg/day)

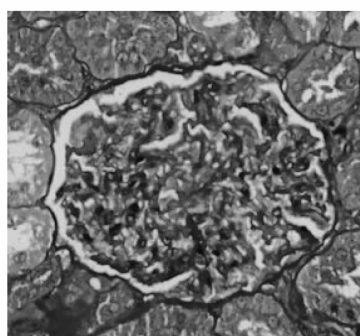


圖十 A:連續餵食烏頭屬藥材3個月後,Wistar大鼠離體腎臟病理切片(400X)結果。B:各組實驗大鼠腎臟間質細胞擴大指數。每組數據為5隻大鼠所得平均值,以  $\text{mean} \pm \text{se}$  表示。<sup>b</sup> $P < 0.01$ ,各組數據與以溶劑(RO水)處理之大鼠所得數據之比較。

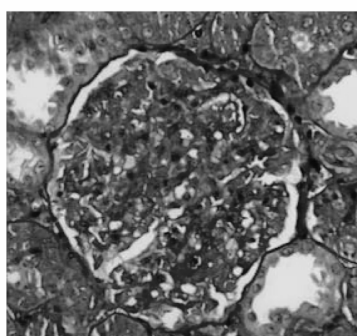
A



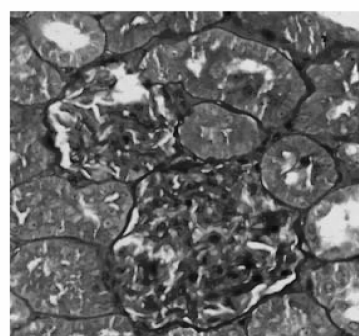
溶劑



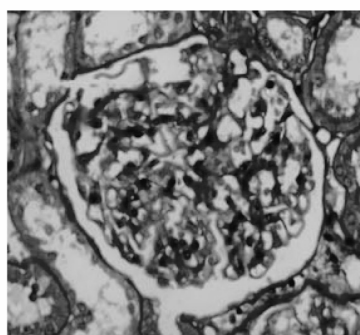
大黃(180 mg/kg/day)



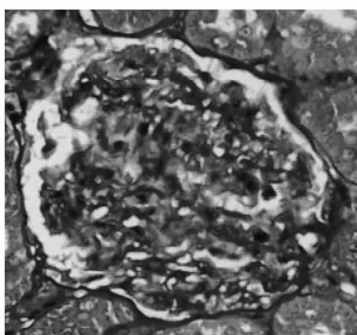
大黃(900 mg/kg/day)



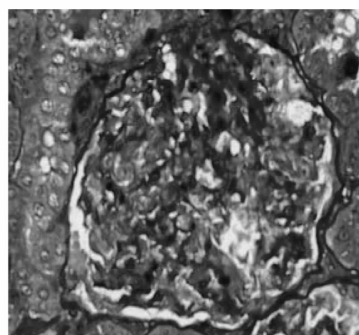
大黃(4500 mg/kg/day)



半夏(180 mg/kg/day)

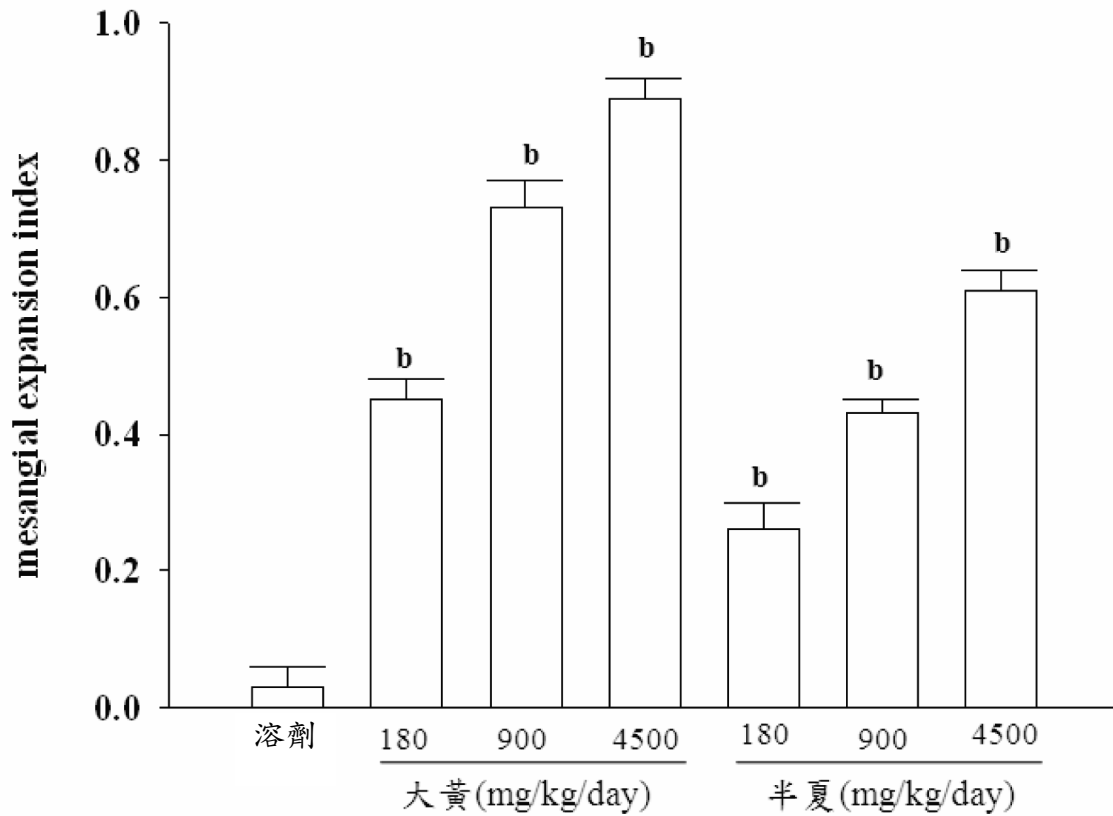


半夏(900 mg/kg/day)

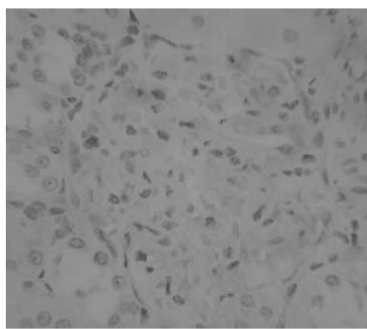


半夏(4500 mg/kg/day)

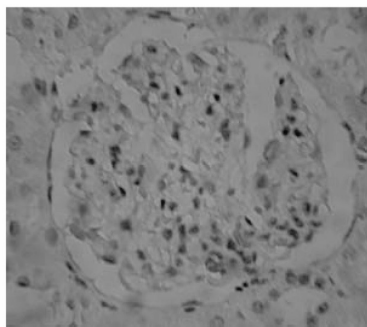
B



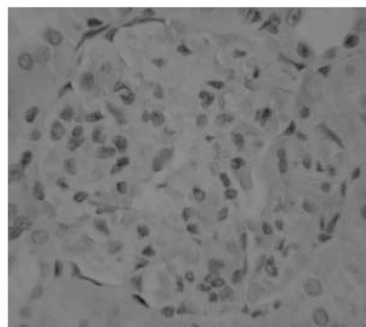
圖十一 A:連續餵食大黃或是半夏 3 個月後,大鼠離體腎臟病理切片(400X)結果。B:各組實驗大鼠腎臟間質細胞擴大指數。每組數據為 5 隻大鼠所得平均值,以  $\text{mean} \pm \text{se}$  表示。<sup>b</sup> $P < 0.01$ ,各組數據與以溶劑(RO 水)處理之大鼠所得數據之比較。



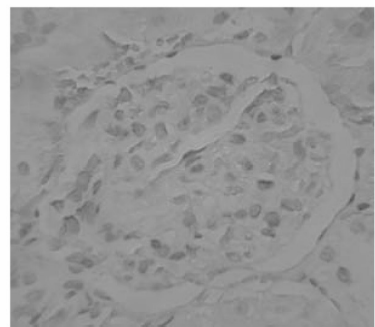
溶劑



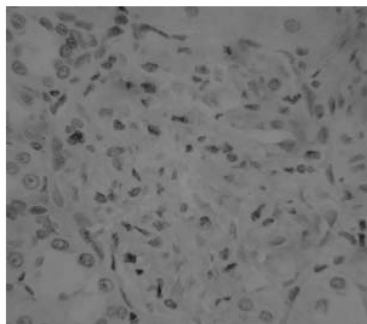
烏頭(120 mg/kg/day)



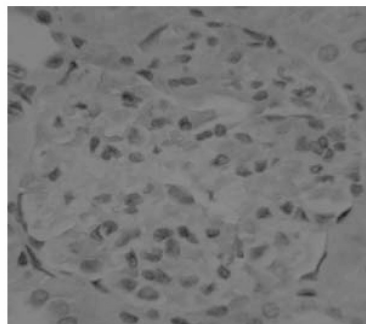
烏頭(600 mg/kg/day)



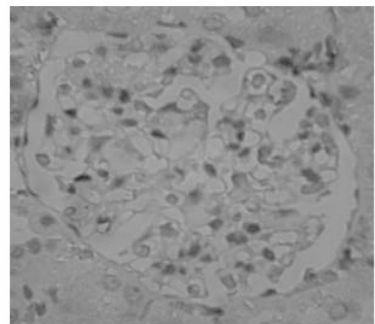
烏頭(3000 mg/kg/day)



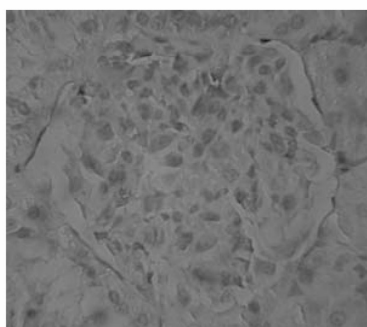
附子(120 mg/kg/day)



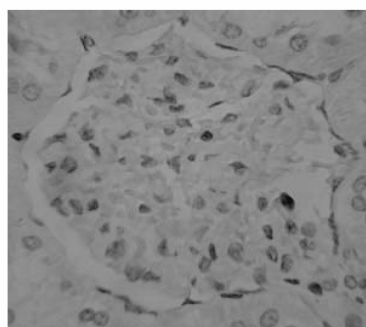
附子(600 mg/kg/day)



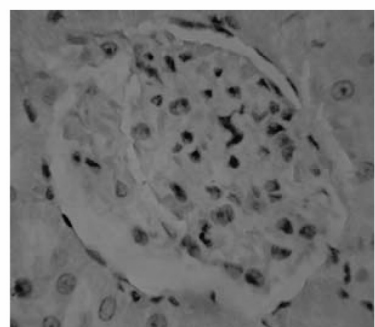
附子(3000 mg/kg/day)



天雄(120 mg/kg/day)

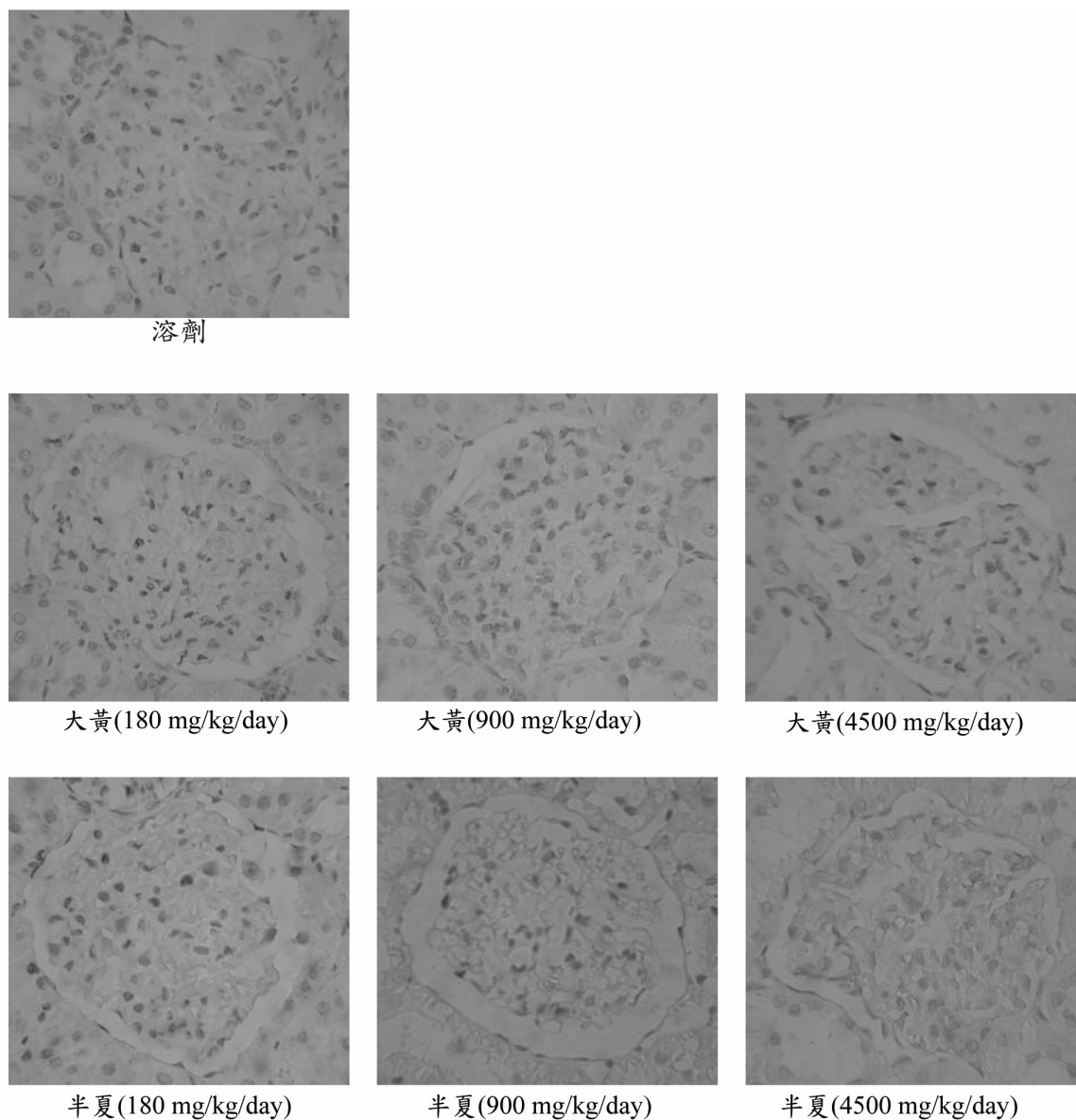


天雄(600 mg/kg/day)



天雄(3000 mg/kg/day)

圖十二 連續餵食烏頭屬藥材3個月後，大鼠離體腎臟轉化生長因子(TGF-β1)免疫組織化學染色(400X)結果。



圖十三 連續餵食大黃或半夏3個月後，大鼠離體腎臟轉化生長因子(TGF-β1)免疫組織化學染色(400X)結果。



表一 連續給予烏頭屬藥材對正常大鼠體重以及攝食行為的影響

實驗期 組別	體重 (g/rat/week)	攝食量 (g/rat/week)	飲水量 (ml/rat/week)
第一個月			
溶劑	440± 9.5	208±3.4	404±4.5
附子(mg/kg/day)			
120	381± 5.1 <sup>a</sup>	194±4.1	335±3.9 <sup>a</sup>
600	391± 5.7 <sup>a</sup>	180±3.9 <sup>a</sup>	312±4.7 <sup>b</sup>
3000	361± 3.3 <sup>a</sup>	146±3.6 <sup>a</sup>	217±5.2 <sup>b</sup>
烏頭(mg/kg/day)			
120	375±5.3 <sup>a</sup>	189±3.5 <sup>a</sup>	350±4.3 <sup>a</sup>
600	370±5.2 <sup>a</sup>	178±3.8 <sup>a</sup>	341±4.5 <sup>a</sup>
3000	367±4.8 <sup>a</sup>	172±3.2 <sup>a</sup>	327±5.1 <sup>a</sup>
天雄(mg/kg/day)			
120	401±8.5	165±3.2 <sup>a</sup>	342±4.4 <sup>a</sup>
600	353±5.3 <sup>a</sup>	166±3.7 <sup>a</sup>	326±3.9 <sup>b</sup>
3000	370±3.4 <sup>a</sup>	162±4.0 <sup>a</sup>	303±4.6 <sup>a</sup>
第二個月			
溶劑	478± 8.5	213±3.5	406±4.8
附子(mg/kg/day)			
120	443±4.2 <sup>a</sup>	199±4.0 <sup>a</sup>	337±4.9 <sup>a</sup>
600	461±5.0 <sup>a</sup>	194±3.2 <sup>a</sup>	327±4.3 <sup>a</sup>
3000	383±4.6 <sup>b</sup>	161±2.9 <sup>a</sup>	242±4.9 <sup>b</sup>
烏頭(mg/kg/day)			
120	423±4.7 <sup>a</sup>	184±2.9 <sup>a</sup>	350±3.9 <sup>a</sup>
600	422±5.1 <sup>a</sup>	182±3.4 <sup>a</sup>	334±4.8 <sup>a</sup>
3000	417±4.3 <sup>a</sup>	179±3.8 <sup>a</sup>	315±4.5 <sup>b</sup>
天雄(mg/kg/day)			
120	455±4.7 <sup>a</sup>	198±3.1 <sup>a</sup>	335±4.3 <sup>a</sup>
600	422±3.9 <sup>a</sup>	195±3.0 <sup>a</sup>	330±4.6 <sup>a</sup>
3000	421±3.4 <sup>a</sup>	166±4.6 <sup>a</sup>	312±5.1 <sup>b</sup>
第三個月			
溶劑	519± 8.4	208±4.0	407±5.0
附子(mg/kg/day)			
120	492±5.3 <sup>a</sup>	202±3.6	352±5.3 <sup>a</sup>
600	495±4.8 <sup>a</sup>	184±4.1 <sup>a</sup>	337±4.5 <sup>b</sup>
3000	438±3.4 <sup>b</sup>	152±3.8 <sup>b</sup>	223±2.4 <sup>b</sup>
烏頭(mg/kg/day)			
120	463±5.6 <sup>a</sup>	188±3.2 <sup>a</sup>	346±3.4 <sup>b</sup>
600	471±4.9 <sup>a</sup>	185±2.9 <sup>a</sup>	334±4.5 <sup>b</sup>
3000	439±3.9 <sup>b</sup>	179±3.3 <sup>a</sup>	318±4.8 <sup>b</sup>
天雄(mg/kg/day)			
120	496±5.0 <sup>a</sup>	198±3.6 <sup>a</sup>	350±3.5 <sup>b</sup>
600	472±4.3 <sup>a</sup>	188±4.0 <sup>a</sup>	342±4.1 <sup>b</sup>
3000	467±4.7 <sup>a</sup>	147±3.8 <sup>b</sup>	315±3.9 <sup>b</sup>

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表二 連續給予大黃或半夏對正常大鼠體重以及攝食行為的影響

實驗期 組別	體重 (g/rat/week)	攝食量 (g/rat/week)	飲水量 (ml/rat/week)
第一個月			
溶劑	535.2±9.0	207.5±3.6	409.2±4.5
大黃(mg/kg/day)			
180	507.4±4.5 <sup>a</sup>	170.2±3.6 <sup>a</sup>	313.4±4.5 <sup>a</sup>
900	502.6±5.7 <sup>a</sup>	176.4±4.2 <sup>a</sup>	355.6±5.6 <sup>a</sup>
4500	490.2±4.6 <sup>a</sup>	128.7±5.3 <sup>b</sup>	226.1±4.8 <sup>b</sup>
半夏(mg/kg/day)			
180	486.7±4.5 <sup>a</sup>	174.2±4.4 <sup>a</sup>	342.3±4.6 <sup>a</sup>
900	478.1±4.6 <sup>a</sup>	171.5±5.1 <sup>a</sup>	323.4±4.2 <sup>a</sup>
4500	493.9±3.8 <sup>a</sup>	159.6±3.5 <sup>a</sup>	283.6±4.5 <sup>b</sup>
第二個月			
溶劑	533.2±8.3	211.3±3.7	402.7±5.0
大黃(mg/kg/day)			
180	503.1±3.5 <sup>a</sup>	207.4±4.1	428.1±4.9 <sup>a</sup>
900	497.4±4.5 <sup>a</sup>	185.6±2.9 <sup>a</sup>	390.8±4.6 <sup>a</sup>
4500	486.7±3.4 <sup>a</sup>	189.3±3.0 <sup>a</sup>	364.4±3.1 <sup>a</sup>
半夏(mg/kg/day)			
180	493.2±3.4 <sup>a</sup>	204.2±3.3	372.2±4.3 <sup>a</sup>
900	456.5±4.5 <sup>a</sup>	195.4±4.0 <sup>a</sup>	365.3±4.5 <sup>a</sup>
4500	487.8±4.1 <sup>a</sup>	165.7±3.8 <sup>b</sup>	334.6±4.4 <sup>b</sup>
第三個月			
溶劑	568.2±8.6	205.1±4.6	406.7±5.5
大黃(mg/kg/day)			
180	526.4±3.6 <sup>a</sup>	170.4±4.0 <sup>a</sup>	438.9±4.5 <sup>a</sup>
900	517.6±4.0 <sup>a</sup>	164.2±5.3 <sup>a</sup>	419.7±5.3
4500	517.1±3.2 <sup>a</sup>	159.5±4.0 <sup>b</sup>	416.4±3.2
半夏(mg/kg/day)			
180	534.3±5.0 <sup>a</sup>	165.3±3.2 <sup>a</sup>	392.1±4.4
900	476.1±4.8 <sup>a</sup>	159.5±3.6 <sup>b</sup>	379.6±4.1 <sup>a</sup>
4500	520.4±3.9 <sup>a</sup>	155.6±3.3 <sup>b</sup>	354.3±4.0 <sup>a</sup>

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表三 連續給予烏頭屬藥材對正常大鼠血中葡萄糖及脂質的影響

實驗期	組別	葡萄糖 (mg/dl)	膽固醇 (mg/dl)	三酸甘油酯 (mg/dl)
第一個月				
	溶劑	123.4± 3.3	74.2± 5.1	35.0± 11.2
	附子(mg/kg/day)			
	120	132.0± 2.9	78.0± 3.8	37.3± 12.0
	600	127.6± 3.1	80.9± 4.0	54.1± 8.1
	3000	107.7± 3.5 <sup>a</sup>	81.5± 4.1	49.1± 9.8
	烏頭(mg/kg/day)			
	120	137.4± 3.4	71.2± 3.5	53.8± 9.8
	600	128.0± 3.5	80.6± 3.8	46.4± 10.7
	3000	117.6± 3.0	77.1± 3.1	44.6± 12.2
	天雄(mg/kg/day)			
	120	132.7± 3.3	79.5± 3.8	61.4± 12.0
	600	124.1± 2.9 <sup>a</sup>	84.7± 4.0	41.1± 9.0
	3000	118.1± 2.6 <sup>a</sup>	71.1± 3.6	34.4± 9.8
第二個月				
	溶劑	137.7± 3.5	81.8± 5.2	56.1± 12.0
	附子(mg/kg/day)			
	120			
	600	134.5± 3.4	91.5± 3.3	54.1± 10.1
	3000	136.1± 3.7	91.8± 4.3	89.1± 11.0 <sup>a</sup>
	烏頭(mg/kg/day)			
	120	133.1± 3.0	82.7± 3.8	62.1± 12.0
	600	123.5± 3.4	89.3± 4.6	71.8± 10.2
	3000	138.0± 3.3	73.2± 3.9	73.2± 12.0
	天雄(mg/kg/day)			
	120	143.0± 3.2 <sup>a</sup>	76.0± 3.6	65.0± 11.0
	600	139.2± 2.7	92.7± 3.4	66.7± 10.3
	3000	127.8± 2.9	85.3± 3.1	68.5± 11.8
		149.1± 3.0 <sup>a</sup>	99.0± 3.6	44.0± 9.5 <sup>a</sup>
第三個月				
	溶劑			
	附子(mg/kg/day)			
	120	132.4± 3.1	70.8± 5.0	75.0± 12.0
	600	132.0± 2.8	83.3± 3.6	61.5± 10.1
	3000	130.2± 3.0	69.8± 3.3	63.7± 10.2
	烏頭(mg/kg/day)			
	120	99.0± 2.9 <sup>b</sup>	59.0± 4.0 <sup>b</sup>	79.0± 9.5
	600	125.3± 3.0	73.3± 3.6	83.5± 11.2
	3000	124.8± 3.1	74.6± 3.9	64.0± 12.0
	天雄(mg/kg/day)			
	120	109.5± 3.2 <sup>a</sup>	68.6± 4.1	58.6± 10.3
	600	128.5± 3.2	86.0± 4.1	86.2± 13.0
	3000	125.1± 3.4	80.6± 3.9	81.8± 12.9
		77.5± 3.0 <sup>b</sup>	44.5± 3.8 <sup>b</sup>	50.5± 12.5

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表四 連續給予大黃或半夏對正常大鼠血中葡萄糖及脂質的影響

實驗期 組別	葡萄糖 (mg/dl)	膽固醇 (mg/dl)	三酸甘油酯 (mg/dl)
第一個月			
溶劑	140.0± 3.1	77.0± 5.1	77.0± 5.1
大黃(mg/kg/day)			
180	130.3± 2.9	81.2± 4.1	88.3± 11.3
900	109.3± 3.0 <sup>a</sup>	57.3± 4.0 <sup>a</sup>	65.8± 9.3
4500	131.8± 3.1	73.8± 3.9	79.0± 10.2
半夏(mg/kg/day)			
180	137.5± 3.2	81.5± 3.4	92.3± 9.3 <sup>a</sup>
900	130.3± 3.0 <sup>a</sup>	77.6± 3.7	87.6± 8.1
4500	129.8± 2.9 <sup>a</sup>	71.1± 4.0	79.5± 10.0
第二個月			
溶劑	151.7± 3.2	94.5± 5.3	94.7± 8.5
大黃(mg/kg/day)			
180	147.4± 3.5	86.5± 4.1	66.2± 8.1 <sup>a</sup>
900	141.6± 3.1 <sup>a</sup>	79.0± 3.9 <sup>a</sup>	72.8± 9.2 <sup>a</sup>
4500	153.3± 2.9	83.0± 4.5	64.3± 7.8 <sup>a</sup>
半夏(mg/kg/day)			
180	149.3± 2.6	92.6± 3.8	75.5± 8.3
900	140.2± 2.8 <sup>a</sup>	81.6± 3.5 <sup>a</sup>	77.1± 9.4
4500	145.5± 3.0	82.3± 3.6 <sup>a</sup>	69.0± 7.9 <sup>a</sup>
第三個月			
溶劑	144.0± 3.1	81.8± 5.2	103.2± 10.4
大黃(mg/kg/day)			
180	152.4± 2.1 <sup>a</sup>	70.3± 4.1 <sup>a</sup>	43.4± 8.2 <sup>b</sup>
900	149.0± 2.4	65.7± 4.2 <sup>a</sup>	46.3± 7.3 <sup>b</sup>
4500	154.5± 2.5 <sup>a</sup>	59.2± 3.9 <sup>b</sup>	34.0± 6.9 <sup>b</sup>
半夏(mg/kg/day)			
180	143.3± 2.9	69.8± 3.8 <sup>a</sup>	59.3± 7.6 <sup>a</sup>
900	160.5± 3.0 <sup>a</sup>	59.5± 4.1 <sup>b</sup>	42.3± 9.8 <sup>b</sup>
4500	165.2± 2.8 <sup>a</sup>	71.5± 4.2 <sup>a</sup>	71.0± 8.9

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表五 連續給予烏頭屬藥材對正常大鼠血液中肝臟、腎臟功能相關生化指數的影響

實驗期 組別	GPT (mg/dl)	GOT (mg/dl)	blood urea nitrogen (mg/dl)	serum creatinine (mg/dl)
第一個月				
溶劑	47.6± 5.6	68.8± 5.4	16.8± 1.8	0.31± 0.02
附子(mg/kg/day)				
120	45.4± 4.7	67.9± 5.3	17.0± 2.1	0.28± 0.03
600	50.9± 4.3	85.1± 5.7 <sup>a</sup>	18.1± 2.3	0.33± 0.03
3000	82.0± 5.2 <sup>b</sup>	91.0± 6.0 <sup>b</sup>	18.9± 2.0	0.42± 0.01 <sup>a</sup>
烏頭(mg/kg/day)				
120	54.8± 4.8	92.0± 4.8 <sup>a</sup>	14.6± 2.0	0.31± 0.01
600	55.8± 4.9	91.6± 4.9 <sup>a</sup>	15.5± 2.3	0.45± 0.02 <sup>a</sup>
3000	55.7± 5.0	93.3± 4.5 <sup>a</sup>	16.6± 2.1	0.52± 0.01 <sup>b</sup>
天雄(mg/kg/day)				
120	38.2± 4.9	73.8± 5.0	14.5± 3.1	0.29± 0.02
600	48.0± 5.2	73.0± 5.3	17.1± 2.1	0.34± 0.03
3000	48.5± 5.4	81.8± 4.9 <sup>a</sup>	16.7± 2.0	0.39± 0.01
第二個月				
溶劑	32.0± 5.5	59.1± 5.3	17.1± 2.0	0.36± 0.03
附子(mg/kg/day)				
120	41.4± 4.7	74.3± 5.1 <sup>a</sup>	16.8± 2.2	0.34± 0.03
600	39.2± 5.2	78.7± 5.2 <sup>a</sup>	16.8± 2.3	0.39± 0.01 <sup>a</sup>
3000	55.7± 5.5 <sup>a</sup>	87.5± 4.9 <sup>b</sup>	15.6± 2.4	0.48± 0.02 <sup>b</sup>
烏頭(mg/kg/day)				
120	34.0± 4.8	77.1± 4.8 <sup>a</sup>	17.3± 2.1	0.31± 0.03
600	39.6± 5.3	64.6± 5.3 <sup>a</sup>	16.4± 2.4	0.48± 0.01 <sup>a</sup>
3000	43.1± 5.6	77.5± 5.5 <sup>a</sup>	17.7± 2.5	0.54± 0.03 <sup>b</sup>
天雄(mg/kg/day)				
120	34.7± 5.7	80.8± 4.9 <sup>a</sup>	16.4± 2.0	0.36± 0.01
600	50.5± 4.9	76.5± 5.0 <sup>a</sup>	15.7± 2.3	0.38± 0.03
3000	49.5± 4.8	103.7± 4.8 <sup>b</sup>	17.0± 2.3	0.42± 0.02 <sup>a</sup>
第三個月				
溶劑	37.8± 6.0	71.8± 5.0	16.4± 1.9	0.41± 0.01
附子(mg/kg/day)				
120	26.0± 5.6	74.5± 5.8	17.1± 2.3	0.36± 0.03
600	33.4± 4.6	69.1± 4.2	17.1± 2.1	0.45± 0.03
3000	30.5± 5.0	69.5± 5.7	16.9± 2.4	0.52± 0.02 <sup>a</sup>
烏頭(mg/kg/day)				
120	39.2± 5.3	84.0± 4.8 <sup>a</sup>	15.7± 2.4	0.42± 0.03
600	31.0± 5.7	82.0± 5.8	16.1± 2.3	0.43± 0.01
3000	35.0± 5.9	76.1± 4.2	18.4± 2.0	0.51± 0.02 <sup>a</sup>
天雄(mg/kg/day)				
120	36.1± 5.1	77.7± 5.0	16.7± 2.2	0.42± 0.01
600	41.1± 5.4	79.0± 4.9	17.8± 2.4	0.46± 0.03
3000	50.5± 5.6 <sup>a</sup>	61.5± 5.3	14.1± 2.8	0.47± 0.02

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表六 連續給予大黃或半夏對正常大鼠血液中肝臟、腎臟功能相關生化指數的影響

實驗期 組別	GPT (mg/dl)	GOT (mg/dl)	blood urea nitrogen (mg/dl)	serum creatinine (mg/dl)
第一個月				
溶劑	48.8± 5.6	74.0± 5.3	15.4± 1.9	0.48± 0.01
大黃(mg/kg/day)				
180	49.8± 5.6	64.5± 4.6 <sup>a</sup>	14.6± 1.8	0.45± 0.02
900	45.5± 4.9	58.5± 5.2 <sup>a</sup>	14.3± 2.0	0.42± 0.03
4500	52.1± 5.3	72.3± 5.4	13.0± 1.9	0.53± 0.01
半夏(mg/kg/day)				
180	50.8± 5.1	74.8± 5.1	14.2± 2.0	0.36± 0.03 <sup>a</sup>
900	46.8± 5.2	70.1± 4.9	14.8± 2.1	0.44± 0.04
4500	49.5± 5.3	63.1± 3.7 <sup>a</sup>	15.3± 2.1	0.50± 0.01
第二個月				
溶劑	54.3± 5.3	70.8± 5.7	13.9± 2.2	0.43± 0.02
大黃(mg/kg/day)				
180	57.0± 5.3	67.7± 5.1	12.4± 2.3	0.39± 0.02
900	56.0± 5.4	88.0± 4.8 <sup>a</sup>	13.9± 2.4	0.30± 0.01 <sup>a</sup>
4500	58.0± 5.3	95.3± 5.1 <sup>a</sup>	17.1± 2.1	0.40± 0.02
半夏(mg/kg/day)				
180	46.6± 5.1	78.1± 4.7	12.4± 2.2	0.42± 0.03
900	62.3± 4.9	84.6± 5.3 <sup>a</sup>	12.9± 2.4	0.35± 0.02 <sup>a</sup>
4500	72.3± 4.8 <sup>a</sup>	86.1± 5.0 <sup>a</sup>	12.9± 2.0	0.27± 0.02 <sup>b</sup>
第三個月				
溶劑	52.8± 5.0	72.4± 6.0	16.0± 2.0	0.48± 0.02
大黃(mg/kg/day)				
180	48.0± 5.0	62.1± 4.5	14.6± 2.2	0.41± 0.01
900	66.3± 4.9	81.3± 4.4	19.5± 2.0	0.50± 0.03
4500	68.5± 5.3 <sup>a</sup>	88.5± 5.1 <sup>a</sup>	18.3± 2.1	0.39± 0.04 <sup>a</sup>
半夏(mg/kg/day)				
180	48.1± 4.8	71.8± 5.6	14.4± 2.0	0.45± 0.02
900	42.5± 4.9	66.8± 4.4	15.1± 2.4	0.45± 0.01
4500	61.7± 5.3	75.5± 5.0	16.3± 2.1	0.40± 0.03

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。<sup>a</sup>P<0.05；<sup>b</sup>P<0.05，各組數據相較於以溶劑（RO 水）處理之正常大鼠於各個時間點所得數值之比較。

表七 連續餵食待測藥物三個月後對正常大鼠腎臟的外觀及尿液中腎臟功能相關生化指數的影響

組別	Urine volume (ml/day)	Ccr (ml/min per kg)	urine proteins (mg/day)	UAER (mg/day)	Kidney weight (g/100 g BW)
溶劑	12.5 ± 3.1	8.6 ± 0.6	8.4 ± 0.7	2.8 ± 0.6	0.7 ± 0.2
附子(mg/kg/day)					
120	12.3 ± 4.2	8.5 ± 0.5	8.2 ± 0.6	2.7 ± 0.5	0.8 ± 0.2
600	13.4 ± 3.8	8.3 ± 0.4	9.3 ± 0.8	2.8 ± 0.7	0.8 ± 0.3
3000	13.6 ± 2.9	8.0 ± 0.6	10.2 ± 0.9	3.1 ± 0.4	0.9 ± 0.2
烏頭(mg/kg/day)					
120	11.9 ± 4.7	8.7 ± 0.5	8.3 ± 0.9	2.8 ± 0.6	0.8 ± 0.2
600	12.7 ± 3.4	8.4 ± 0.6	10.4 ± 1.1	2.7 ± 0.4	0.9 ± 0.3
3000	13.2 ± 4.1	8.1 ± 0.9	10.6 ± 0.9	2.9 ± 0.7	0.9 ± 0.2
天雄(mg/kg/day)					
120	12.6 ± 4.5	8.3 ± 0.6	8.6 ± 0.7	2.7 ± 0.7	0.7 ± 0.3
600	13.2 ± 3.9	8.2 ± 0.5	10.2 ± 1.5	2.9 ± 0.5	0.8 ± 0.2
3000	14.1 ± 3.3	7.9 ± 0.7	10.8 ± 1.2	3.1 ± 0.8	0.8 ± 0.2
半夏(mg/kg/day)					
180	12.5 ± 3.8	8.6 ± 0.7	8.3 ± 0.6	2.6 ± 0.7	0.8 ± 0.2
900	13.4 ± 3.4	8.4 ± 0.6	9.4 ± 1.7	2.8 ± 0.9	0.9 ± 0.3
4500	13.9 ± 4.2	7.8 ± 0.4	10.2 ± 0.8	3.2 ± 0.6	1.0 ± 0.2
大黃(mg/kg/day)					
180	12.2 ± 3.6	8.4 ± 0.6	8.7 ± 0.5	2.7 ± 0.8	0.8 ± 0.3
900	13.3 ± 4.2	8.0 ± 0.5	10.6 ± 0.8	3.2 ± 0.6	0.9 ± 0.2
4500	14.5 ± 4.0	7.3 ± 0.7	11.3 ± 1.2	3.5 ± 0.7	1.1 ± 0.3

每組數據為 6~8 隻大鼠所得平均值，以 mean ± se 表示。以溶劑（RO 水）處理之大鼠所得數值為對照組。Ccr, creatinine clearance; UAER, urinary albumin excretion rate; BW, body weight。

表八 正常大鼠連續餵食待測烏頭屬藥材三個月其腎臟損傷狀況之整理

腎臟損傷狀況	給藥條件	待測烏頭屬藥材											
		附子			烏頭			天雄					
		120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
高尿素氮(BUN)	劑量 (mg/kg/day)	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
高血清肌酸酐(serum creatinine)	劑量 (mg/kg/day)	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
	給藥期 (month)	-	-	+	-	+	++	-	-	++	-	-	-
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
24 小時尿蛋白排泄率 (UAER) 過速	劑量 (mg/kg/day)	-	-	+	-	+	++	-	-	++	-	-	-
	給藥期 (month)	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
		-	-	+	-	+	++	-	-	++	-	-	+
腎臟腫大	劑量 (mg/kg/day)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	給藥期 (month)	-	-	+	-	+	++	-	-	++	-	-	+
		120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
腎絲球體間質細胞擴大	劑量 (mg/kg/day)	+	+	++	+	++	++	+	++	++	+	+	++
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		NIL	NIL	+	NIL	NIL	++	NIL	NIL	++	NIL	NIL	+
腎臟內 TGF-β <sub>1</sub> 的過度表現	劑量 (mg/kg/day)	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
	給藥期 (month)	+	+	++	+	++	++	+	++	++	+	+	++
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	劑量 (mg/kg/day)	NIL	NIL	+	NIL	NIL	++	NIL	NIL	++	NIL	NIL	+
	給藥期 (month)	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
		+	+	++	+	++	++	+	++	++	+	+	++
	劑量 (mg/kg/day)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	給藥期 (month)	NIL	NIL	+	NIL	NIL	++	NIL	NIL	++	NIL	NIL	+
		120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000	120	600	3000
	劑量 (mg/kg/day)	+	+	++	+	++	++	+	++	++	+	+	++
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
		NIL	NIL	+	NIL	NIL	++	NIL	NIL	++	NIL	NIL	+

一：無明顯變化；+：輕度表現；++：表現明顯；NIL：未進行測試。



表九 正常大鼠連續三個月餵食大黃、半夏其腎臟損傷狀況之整理

腎臟損傷狀況	給藥條件	待測藥材					
		大黃			半夏		
		180	900	4500	180	900	4500
高尿素氮(BUN)	劑量 (mg/kg/day)	-	+	+	-	-	-
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3
		-	-	+	-	-	-
高血清肌酸酐(serum creatinine)	劑量 (mg/kg/day)	180	900	4500	180	900	4500
	給藥期 (month)	-	-	-	-	-	-
		1	2	3	1	2	3
24小時尿蛋白排泄率(UAER)過速	劑量 (mg/kg/day)	-	-	-	-	-	-
	給藥期 (month)	180	900	4500	180	900	4500
		-	-	+	-	-	+
腎臟腫大	劑量 (mg/kg/day)	1	2	3	1	2	3
	給藥期 (month)	-	-	+	-	-	+
		180	900	4500	180	900	4500
腎絲球體間質細胞擴大	劑量 (mg/kg/day)	-	+	++	-	+	++
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3
		NIL	NIL	+	NIL	NIL	+
腎臟內 TGF-β <sub>1</sub> 的過度表現	劑量 (mg/kg/day)	180	900	4500	180	900	4500
	給藥期 (month)	+	++	++	+	+	++
		1	2	3	1	2	3
腎臟內 TGF-β <sub>1</sub> 的過度表現	劑量 (mg/kg/day)	NIL	NIL	+	NIL	NIL	+
	給藥期 (month)	180	900	4500	180	900	4500
		+	+	++	+	+	++
腎臟內 TGF-β <sub>1</sub> 的過度表現	劑量 (mg/kg/day)	1	2	3	1	2	3
	給藥期 (month)	NIL	NIL	+	NIL	NIL	+
		180	900	4500	180	900	4500
腎臟內 TGF-β <sub>1</sub> 的過度表現	劑量 (mg/kg/day)	+	+	++	+	+	++
	給藥期 (month)	1	2	3	1	2	3
		NIL	NIL	+	NIL	NIL	+

一：無明顯變化；+：輕度表現；++：表現明顯；NIL：未進行測試。

