

中醫藥委員會

# 中醫藥年報

第十二期第三冊



行政院衛生署中醫藥委員會編印  
中華民國八十五年五月出版

中醫藥委員會

# 中醫藥年報

第十二期第三冊

行政院衛生署中醫藥委員會編印  
中華民國八十五年五月出版

# 中醫藥年報第十二期第三冊

## 目 錄

1. 藥用植物之引種觀察及標本之製作·····	劉新裕·····	1
2. 四種科學中藥之交互作用及其對賦形劑效應的 探討·····	詹道明·····	49
3. 獨活寄生湯及當歸拈痛湯三妙九之抗炎症研究·····	林俊清·····	109
4. 炎症和過敏疾患之中藥治療機轉之研究(三)·····	邱慧芬·····	123
5. 中藥材及中藥製劑指標成分之製備·····	林漢欽·····	153
6. 中藥材及中藥製劑指標成分之純化製備·····	李 威·····	159
7. 中藥牡丹皮及赤芍藥之研究·····	林漢欽·····	165
8. 金線蓮抽取物抑制 A 型流行性感冒病毒之試管 內研究·····	劉武哲·····	171
9. 中藥毒理作用之測定(三)·····	廖志飛·····	193
10. 大白鼠胎盤對老雄鼠泌乳素黃體促素甲狀線促 素分泌效應·····	王錫崗·····	213
11. 常用中藥藥效成分之生物活性評估·····	陳介甫·····	229
12. 靈芝與雲芝免疫增強作用之研究·····	王聲遠·····	257
13. 評估中藥中有化學預防肝癌成分之方法(一)·····	劉宗榮·····	277
14. 中藥對 HIV-I 抑制效應之研究(一)·····	林榮耀·····	297
15. 篩選抗癌性中藥與其生化性質之研究·····	翁一鳴·····	333
16. 常用活血化瘀藥方對心臟血管疾患之 治療機轉研究(二)·····	張瑞璋·····	353
17. 礦物性中藥一硃砂之亞慢性毒性評估·····	曾信雄·····	373
18. 國家藥園母園地點初步選定·····	胡大維·····	437
19. 設立藥用植物標本園暨原生藥用植物撫育管理·····	傅偉志·····	447
20. 中藥材之種植與推廣·····	陳堯階·····	451
21. 中藥材試種保育工作·····	韓覺非·····	453

# 序

目前科技雖然發達，但現階段對生命科學的認識仍然有限，因此在持續現代醫學研究之餘，加強中醫藥的研究發展是現階段醫學研究的重心，期望透過研究，充分理解及發揮幾千年來先賢在醫藥方面所累積的許多寶貴經驗與傳承。

中醫中藥是我國傳統文化中的瑰寶，政府向極重視，早期於內政部衛生司就設有中醫藥委員會之諮詢單位，民國六十年行政院衛生署成立後，中醫藥委員會仍負責中醫藥有關之諮詢業務。由於各界對中醫中藥的日益重視，民國七十六年七月二十九日修正「行政院衛生署組織法」第十七條，明訂中醫藥委員會掌理中醫中藥各項行政事務，而依此規定所研擬之「行政院衛生署中醫藥委員會組織條例」草案，則於民國七十六年十一月二十一日送請立法院審議。在中醫藥界之敦促與關心中醫、中藥之立法委員大加支持，於民國八十三年十二月十五日經立法院三讀通過，同年十二月三十日由總統公布實施。歷經十個月的籌備，八十四年十一月一日正式成立行政院衛生署中醫藥委員會，成為行政院衛生署所屬之獨立機關。

加強中醫藥的研究發展，是行政院衛生署的重要業務之一，因此衛生署近年來每年均寬籌經費來進行中醫藥研究，七十八年度研究經費約為一千萬元，進行二十四項研究，七十九年度進行三十項研究，八十年度進行六十九項研究，八十一年度進行六十六項研究，而研究預算逐漸增加至八十二年度之四千七百餘萬元，進行七十四項研究，近年來研究預算緊縮為三千餘萬元，不過八十三年度仍進行了六十四項研究，八十四年度則進行了六十一項研究計畫。至於所進行之中醫藥研究計畫，其研究成果輪流在中醫藥學院、台北醫學院、高雄醫學院舉辦研究成果發表會，使國人瞭解國內中醫藥研究發展情形，同時也提供國內中醫藥從業人員繼續教育、吸收新知識的機會。每年的

研究成果也均刊載於行政院衛生署中醫藥年報，以提供國內外學者專家之參考，自民國七十年出版年報第一期，迄今已出版至第十一期，由於去年籌備本會的成立，人事繁，致八十二及八十三年度的成果報告未能及時出版，而於今年併同八十四年度的成果報告，同時出版年報第十二、十三、十四期，未來每年將能配合年度研究成果報告定期出版年報一期，以提供各界之參考。

新成立的中醫藥委員會設有中醫組、中藥組、研究發展組及資訊典籍組四個組，在中醫組的業務，未來將加強與中醫界的連繫與溝通，輔導進行的醫師繼續教育，提昇中醫醫療服務的水準；在中藥組的業務方面，則將加強中藥藥品查驗與管理，中藥廠的輔導與獎勵，以提升中藥製藥工業水準，促進中藥科學化；在研究發展組方面，未來將加強中醫藥與針灸的基礎與臨床的研究，加強中醫診斷儀器的開發，配合野生動物保育進行有關保育類動物性中藥材代用品的研究。以往中醫藥的研究發展，係以鼓勵學術界進行中醫藥研究為導向，民國七十七年以前，每年進行不到七十項的研究，近年來每年申請中醫藥研究計畫者約有一百二十項，同意委託辦理約六、七十項，足見從事中醫藥研究者確實大幅增加；由於國人十大死因中的心臟疾病、糖尿病、高血壓性疾病及氣喘等疾病的，現代醫學目前並無治癒的適當療法，因此未來的中醫藥的研究將以這些疾病為導向進行研究，希望中醫藥的研究能在慢性疾病方面有進一步的貢獻；資訊典籍組主要業務係由中醫藥典籍的電腦化，建立中醫藥典籍查詢系統，屆時醫藥學界的使用者，藉著電腦連線作業，即可順利查詢到所需要的中醫藥相關資料；期望未來在本會四個組的配合下，使中醫藥行政與研究能密切配合，加速中醫的現代化與中藥的科學化，爰為序

主任委員

蘇 貫 中 謹誌

中華民國八十五年五月一日

# 藥用植物之引種觀察及標本之製作

劉新裕

台灣省農業試驗所

## 摘 要

爲配合行政院衛生署設立不同海拔藥園之構想，利用本所目前已蒐集及保存之藥用與保健植物爲基礎，建立了低海拔（本所海拔 85m）藥園一處，並定期進行施肥管理及園區美化工作。本年度內利用各種公、私管道引進國內外藥用與保健植物之種原計有 200 種，經利用種子播種或莖枝扦插等技術進行繁殖，並試種於本所溫室、農田或藥園中，同時進行初步觀察及利用福馬林溶液進行全部藥用植物永久標本之製作。上述引種中較爲重要的有高氏柴胡、三島柴胡、金銀花、車前草、當歸、白鶴靈芝、明日葉、通天草、仙草、何首烏、山防風、甜菊、荷蘭千日、黃梔子、芡實、蘆薈、麥門冬、長形山藥、白肉山藥及紅肉山藥等。由這 20 種重要藥用植物之成分分析結果可知，當歸之根、白鶴靈芝、通天草及明日葉之葉富含蛋白質（23 ~ 25 %）。荷蘭千日與柴胡之花、柴胡之根及黃梔子之果實富含脂肪（10 ~ 16 %），金根花、白鶴靈芝、通天草、甜菊、柴胡及仙草富含纖維素（30 ~ 50 %）。白鶴靈芝、明日葉及仙草富含灰分（16 ~ 18 %）。芡實、麥門冬與何首烏塊根、以及山藥塊莖含有 80 % 以上之無氮抽出物。總共八種主要礦物元素含量以白鶴靈芝居首，其次爲當歸、明日葉、仙草、柴胡與甜菊。總共七種微量元素含量亦似白鶴靈芝居先，其次爲柴胡、仙草與甜菊。總共五種維他命含量最多的仍是白鶴靈芝，其次爲柴胡及甜菊。

# Introduction, Observation, and Specimen Preparation of Medicinal Plants

S. Y. Liu, H. I. Liu, and C. L. Chu

## Summary

As a program of the Department of Health, Executive Yuan, Republic of China, Taiwan Agricultural Research Institute (TARI) has currently established a lowland Medicinal Plant Park (altitude 85 m) due to its plentiful herb germplasm preservation and active research activities on medicinal plants. A total of 200 important medicinal species have been introduced, propagated, and observed at TARI during the past year. The introduced species included Dioscorea spp., Bupleurum spp., Polygonum multiflorum Thunb., Lonicera japonica Thunb., Angelica acutiloba Kitag., Euryale ferox salisb. etc. The specimen of these 200 species have also been prepared using formalin solution for long-term storage purpose. Materials from different plant parts of 20 important medicinal plants in Taiwan have been chemically analyzed. The analytical results showed that 4 species including Angelica acutiloba, Rhinacanthus nasutus, and others were rich in protein (23-25%), Spilanthes acemella var. Oleacea and Gardenia jasminoides possessed a high content of fat (10-16%), 6 species including Lonicera japonica were rich in fiber content (30-50%), Rhinacanthus nasutus and 2 other species had a high content of ash (16-18%), Euryale ferox, Dioscorea spp., and 2 other species were rich in NFE (nitrogen free extracts), and Rhinacanthus nasutus and 7 other species were rich in vitamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and C. The contents of major and minor elements were high in Bupleurum spp., Stevia rebaudiana, Mesona chinensis, Angelica acutiloba, Rhinacanthus nasutus, Lonicera japonica, and Angelica keiskei.

key words: Medicinal plants, Introduction, Observation, Specimen preparation, Component analysis.

## 前言

中國傳統醫藥係我國固有文化寶藏之一，含蘊哲理奧妙無窮，能挽沈痾且濟世活人。惟因近代科學日新月異，國人若墨守成規固步自封，不知以科學方法針對藥材生產、品質與利用進行研究，則將有日漸式微之慮，以國內現今所用藥材大多仰賴進口為例，可為式微之證，每年因之耗費外匯至鉅。

本省因雨量充沛，及山坡地分佈甚廣，氣候土宜很適合植物生長，素有天然大植物園之稱，其中藥用及保健植物種類之蘊藏量相當豐富。為促進本省生藥材之國產化，充分利用本省之地理環境，及逐步開發與利用特有之天然藥用與保健植物，為刻不容緩之事。其首要之工作為對重要藥用植物進行調查與種原蒐集，對其特性、功用、市場需要性及其生長環境進行瞭解，並進行繁殖與試種與觀察，同時應探討栽培技術、評價品質、及開發各項利用可能性。

根據甘偉松教授之『台灣藥用植物誌』及其他專著可知，本省藥用植物種類甚多，而一般民間青草用藥更屬不少，有關此類資訊至今甚為短缺或不全，急待有系統地加以整理補充。

國內三個主要藥用及保健植物之農業研究機關正積極承辦各項藥植開發研究，以種原蒐集為例，迄今已自國內外引進眾多種原，農業試驗所種原數計有 600 種，桃園區及台東區農業改良場各收集有 300 多種藥用植物，並已分別進行適應性觀察。由初步觀察結果得知，自國外引進之種原，部分較難適應，而本土性者大致生育較好，由此可知本土原生藥用植物適應力甚強，且無慮於進口競爭，只要確知其品質、藥效、用途及經濟利用價值，則栽培模式與大面積推廣即可逐步建立，如此將有助於節省外匯支出，並使藥材省產化之目的早日達成。

行政院衛生署為積極發展國內藥用植物之研究，初步有於不同海拔地區設立藥園之構想，如能於本所(海拔 85m)設立低海拔藥園，就現有藥用植物種類及其他人力、物力、設備及技術之配合，將可收事半功倍之效。

本年度預期完成之工作項目為(一)蒐集並引進國內外重要藥用植物之文獻報告及種原，逐步建立藥用植物之完整資訊，並生產足夠材料供進一步社教及研究發展用。(二)完成第二年藥園之規劃、種植與管理工作。(三)完成重要藥用植物之引種及觀察試驗，並為進一步比較試驗或生產技術之改進預作準備。(四)建立各種成分分析體系，並完成約 20 種重要藥用植物之成分分析工作。(五)進行永久藥用植物標本之製作。

## 材料與方法

### 一、建立低海拔藥園：

以本所目前為數約600種藥用與保健植物資源，及陸續引入之種原，建立低海拔(本所海拔85m)藥園，藥園內將區分下列各區：

- (一)草部本草植物區：主以本草摘要常用藥用植物為主，例如柴胡、當歸、麥門冬、天門冬、山藥、菝葜、車前、桔梗、射干、半夏、天南星、防風、夏枯草、大小蓀、牛蒡、何首烏、薄荷、金銀花、葛根、益母草、艾葉、薑黃、商陸、木通、仙茅、使君子、山柰、蒲公英、土茯苓、白茅及其他重要本草植物等。
- (二)木部本草植物區：主以黃梔子、枸杞、紫蘇、檉柳、宣梧、白鶴靈芝、桑樹、大青及肉桂等藥用植物為主。
- (三)民間藥用植物區：主以魚腥草、肝炎草、明日葉、山防風、三白草、左手香、同梅及蘆薈等藥用植物為主。
- (四)水生藥用植物區：主以芡、蓴菜、及澤瀉等藥用植物為主。
- (五)抗癌植物區：主以薏苡、山防風及金銀花等藥用植物為主。
- (六)引種保育區：將建立引種育苗專區，供新引進藥用植物適應、繁殖及比較用。
- (七)試驗推廣區：本區將供已經試驗證明特具藥效，且值得推廣利用之藥用植物，作栽培示範及觀摩比較用。

### 二、藥用植物之引種觀察及標本製作：

- (一)藥用植物之引種與觀察：將利用各種公、私管道引進國內外重要藥用植物之種子或植株，並進行初步觀察比較試驗。
- (二)永久標本製作法：利用飽和 $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 加水(1:3)，將藥用植物植株在 $75^\circ\text{C}-85^\circ\text{C}$ 下煮50分鐘，然後水洗40分，取出植株並用草酸和亞硫酸鈉溶液浸2-3天(各3.15g/l)，之後浸在2%福馬林中4-3小時，並放入含同樣溶液之標本瓶中，供永久保存。

### 三、成分分析：

- I、樣本種類：本試驗初步分析之藥用植物種類有：柴胡(高氏柴胡、三島柴胡)、金銀花、車前草、當歸、白鶴靈芝、明日葉、通天草、仙草、何首烏、山防風、甜菊、荷蘭千日、黃梔子、芡實、蘆薈、麥門冬(長葉麥門冬、細葉麥門冬、大葉麥門冬)及不同品種山藥等十七種。其中，金銀花、車前草、甜菊、白鶴靈芝、柴胡、明日葉及通天草等植株分為葉、莖、根三部份分析；仙草分為葉與莖兩部份；何首烏分為莖葉與根兩部份分析；其餘植物則僅分析其一般食用部位，如：當歸及山防風之根、麥門冬之塊根、蘆薈之葉、山藥之塊莖、荷蘭千日之花、黃梔子之果實及芡實之子實等。
- II、樣本前處理：將收穫之植株樣本經 $70^\circ\text{C}$ 烘乾後，分出葉、莖、根、花等部位，分別用磨粉機磨成粉末，作為成分分析樣本。

### III、分析方法：

#### A. 一般成分分析：

1. 水分：精稱 1g 樣本，在 105℃ 下乾燥過夜，稱至恆量，以乾燥前後重量差異計算水分含量。
2. 粗蛋白質：精稱 0.4g 樣本，以 Semi-micro Kjeldahl 方法測出氮含量，而以  $N\% \times 6.25$  表示之。
3. 粗脂肪：精稱 1g 樣本利用 Soxhlet 裝置以乙醚抽出 18 小時後測定。
4. 粗纖維：取抽脂肪完後之樣本，依 A.O.A.C. 方法測定。
5. 灰分：精稱 1g 樣本以 600℃ 灰化法測定。
6. 無氮抽出物 (Nitrogen Free Extracts)：以 100% 減去水分、粗蛋白質、粗脂肪、粗纖維及灰分含量所得之值。

#### B. 礦物質組成分析：

1. 灰化法：以測定灰分後之植體灰化樣本，以 3N HCl 加熱溶出礦物質元素，並加水稀釋至 25.0ml 後，用感應耦合電漿-原子發光光譜分析儀 (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrophotometer, 簡稱 ICP-AES) Jobin-Yvon JY38 Type III) 測定 P、Ca、Mg、Fe、Mn、Cu、Zn、Al、Ni、Co 等元素含量。
2. 酸分解法：精稱 0.5-1g 樣本，加入濃硝酸後以微波分解爐消化之；然後以火焰光度計 (Flame Spectrophotometer) Jenway 測定 Na、K 含量；以 ICP-AES 測定 P、Ca、Mg、Fe、Mn、Cu、Zn、B、S、Ni、Co 等元素含量。
3. 氫化物分析法：將酸分解法所得到的樣本溶液中中和至 pH 2.3-2.4 後，以 hydride generation 法分析全鎢 (total germanium) 含量。

#### C. 維他命含量分析：

1.  $\beta$ -胡蘿蔔素 (維他命 A)：稱取 1g 樣本以 80% 丙酮抽出色素後，以濾紙快速過濾並定量至 50ml，濾液再以 0.45 $\mu$ m 之玻璃棉濾紙過濾，然後直接注入高效液相層析儀 (HPLC) 分析之。  
HPLC 分析條件為：Hitachi L-6000 Pump, L-4000 UV detector 及 D-2500 積分儀 (Chromato-integrator)，Column 為 Lichrospher RP-18 (4x250mm, 5 $\mu$ m) 及 C18 guard column，溫度為室溫，吸光波長為 438nm，移動相為 Acetone:Methanol:Acetonitrile 20:40:40，流速 1.0ml/min。
2. 維他命 B1、B2 及 Niacin：取 1g 樣本加入 10ml 0.1N HCl，在沸水浴中煮 30 分後，再置入殺菌釜中經 121℃ 30 分鐘處理，俟冷卻後加入 2N 醋酸鉍溶液調節 pH 至 4.0-4.5，再加 0.1g 酵素 Takadiastase，混合後在 37~40℃ 放置一夜；加水稀釋後以濾紙過濾並定量至 50ml，濾液再以 0.45 $\mu$ m 之玻璃棉濾紙過濾，然後直接注入高效液相層析儀 (HPLC) 分析之。  
HPLC 分析條件為：Hitachi L-6000 Pump, L-4000 UV detector 及 D-2500 積分儀 (Chromato-integrator)，Column 為 Spherisorb S5 ODS2 4x250mm 及 C18 guard column，Column oven 溫度為 40℃，吸光波長為 280nm，移動相為 25% methanol、3mM Sodium 1-Hexanesulfonate、10ml Merck acetic acid 之水溶液，流速 0.75 ml/min。
3. 抗壞血酸 (維他命 C)：取 2g 樣本，依 A.O.A.C. 方法中之 2,4-dichlorophenol Indophenol 滴定法測定之。  
本次分析試驗由於部份供試樣本量較少，除一般成分 (粗蛋白質、粗脂肪、粗纖維、灰分)、礦物質組成及維他命 C 係進行兩重覆外，部份樣本之維他命 A 及 B 含量僅進行一次分析。

## 結果與討論

為配合行政院衛生署全省性藥用植物研究計畫及籌設藥園，本計畫將於本所籌設一低海拔藥園，並進行重要藥用植物之引種觀察及標本製作試驗，針對常用藥用植物將進行一系列成分分析與比較，以建立一完整規模之藥園，及開發各種具潛力、且質量俱優之常用藥用植物，期早日達到生藥材料自給自足之目標。

### 一、建立低海拔藥園：

為配合衛生署不同海拔藥園之設立，擬以本所目前為數約 600種藥用植物資源，建立低海拔（本所海拔85m）藥園，藥園內將成立下列七區：

(一)草部本草植物區：主以本草備要常用藥用植物為主，例如柴胡、當歸、麥門冬、天門冬、山藥、菝葜、車前、桔梗、射干、半夏、天南星、防風、夏枯草、大小蓀、牛蒡、何首烏、薄荷、金銀花、葛根、益母草、艾葉、薑黃、商陸、木通、仙茅、使君子、山奈、蒲公英、土茯苓、白茅及其他重要本草植物等。

(二)木部本草植物區：主以黃梔子、枸杞、紫蘇、檉柳、宜梧、白鶴靈芝、桑樹、大青及肉桂等藥用植物為主。

(三)民間藥用植物區：主以魚腥草、肝炎草、明日葉、山防風、三白草、左手香、岡梅及蘆薈等藥用植物為主。

(四)水生藥用植物區：主以芡、蓴菜、及澤瀉等藥用植物為主。

(五)抗癌植物區：主以薏苡、山防風及金銀花等藥用植物為主。

(六)引種保育區：將建立引種育苗專區，供新引進藥用植物適應、繁殖及比較用。

(七)實驗及推廣區：本區將供已經實驗證明特具藥效，且值得推廣利用之藥用植物，作栽培示範及觀摩比較用。

### 二、引種觀察及標本製作：

本年度利用各種公、私管道計引進將近200種藥用與保健植物，除了在本所農場及溫室進行觀察外，同時進行這些植物之永久標本製作。引種植物之目錄及相關資料整理綜述如下：

82年藥用與保健植物引種及標本製作種類表

82001 三葉葡萄	82036 白花菜	82071 山藥 Gunung
82002 生毛將軍	82037 馬鞭草	82072 石胡荽
82003 通脫木	82038 膨蜆菊	82073 山藥 Purmay
82004 萬點金	82039 山藥 Leone Globe	82074 山藥 Horesly
82005 石上柏	82040 蛇莓	82075 元寶草
82006 風慙	82041 七層塔	82076 馬地金
82007 益母草	82042 羊角豆	82077 尖尾芋
82008 康復力	82043 山素英	82078 紅鳳菜
82009 蘆薈	82044 珠砂根	82079 山藥 Beti
82010 台灣薑菜	82045 細木三葡萄	82080 紅錦葵
82011 山芙蓉	82046 翼豆	82081 山藥 Doli
82012 南五味子	82047 十大功勞	82082 長花九頭獅子草
82013 山煙草	82048 文殊蘭	82083 白蒲姜
82014 箭葉鳳尾草	82049 蘇鐵	82084 鴨舌堇
82015 鳳仙花	82050 腎蕨	82085 山藥 Muni
82016 爵牀	82051 樹蕨	82086 芸香薄荷
82017 蝴蝶花	82052 龍葵	82087 大和當歸
82018 紅田烏	82053 酸模	82088 車桑
82019 白花藤	82054 四葉蓮	82089 一枝蒿
82020 黃花虱母	82055 蓬萊藤	82090 仙茅
82021 漏蘆	82056 山葡萄	82091 山藥 Kombi
82022 乳仔草	82057 三白草	82092 狹葉涼侯茶
82023 車前	82058 山藥 Kinabayo	82093 假川牛膝
82024 西河柳	82059 野梧桐	82094 萱草
82025 山藥 Florido	82060 八角連	82095 白鳳菜
82026 九層塔	82061 薏苡	82096 麥門冬
82027 山藥 Forastero	82062 薔華	82097 山藥 Seti
82028 仙人掌	82063 蕎麥	82098 山藥 TDR131
82029 白鳳菜	82064 燈心草	82099 山藥 TER179
82030 薄荷	82065 白粗糠	82100 莖菊
82031 山藥 Gemelos	82066 五爪金英	82101 彩葉蓮
82032 遍地錦	82067 山藥 Kabusah	82102 龍舌攏
82033 老公根	82068 山藥 Binugas	82103 假人參
82034 半枝蓮	82069 鴨舌堇	82104 天門冬
82035 一枝香	82070 山藥青森	82105 香茅

82年藥用與保健植物引種及標本製作種類表(續)

82106 台灣山菊	82133 白花曼陀羅	82160 (大)車前(種子)
82107 菊	82134 虎杖	82161 夏枯草
82108 芸香	82135 桃金娘	82162 枳實(本)
82109 蜘蛛抱蛋	82136 虱母子	82163 石葛蒲
82110 烏甜	82117 大葉千斤拔	82164 鬱金
82111 艾納香	82138 昆明雞血藤	82165 枸杞
82112 下田菊	82139 欒櫚	82166 芡實
82113 七層塔	82140 山藥茨城	82167 戟朮
82114 安石榴	82141 菊山藥	82168 澤瀉
82115 西洋蒲公英	82142 台灣寶鐸花	82169 薏
82116 鏽線菊	82143 山藥自然薯	82170 綠豆(瓊)
82117 山藥 TDR205	82144 紫菀三七	82171 枇杷
82118 延命草	82145 山藥壽豐	82172 玉米
82119 胡枝子	82146 龍吐珠	82173 何首烏
82120 羅漢松	82147 蜀葵	82174 化石草(本)
82121 山石榴	82148 葉底珠	82175 荔枝(本)
82122 枇杷	82149 使君子	82176 雞冠花
82123 刺桐	82150 常山	82177 馬鞭草(本)
82124 山藥 TDR608	82151 黃連(粗根)	82178 仙鶴草(本)
82125 翠蘭	82152 黃連(細根)	82179 澤蘭(本)
82126 山藥羌薯	82153 黃連(種子)	82180 蒲黃
82127 六角英	82154 三島柴胡台農一號(粗根)	82181 山藥大和
82128 鐵掃帚	82155 三島柴胡台農一號(細根)	82182 葛根
82129 尖尾鳳	82156 三島柴胡台農一號(種子)	82183 籠癩子
82130 葉底珠	82157 明日葉(根)	82184 高氏柴胡
82131 使君子	82158 明日葉(種子)	82185 通天草種子
82132 常山	82159 向日葵	82186 何首烏(半年生)
		82187 山藥埔里地方種
		82188 山藥花蓮紅
		82189 山藥菲律賓
		82190 山藥嘉扁紅

中 科 學	名：三葉葡萄(三腳別) 名：葡萄科 Vitaceae 名：Tetrastigma dentatum (Hay.) Li.	82001	中 科 學	名：風慈 名：百合科 名：Allium fistulosum L.	82006
部位與藥效：全草消炎退腫。治癰疽、頸淋巴腺結核。			部位與藥效：全草發表、利尿、祛痰。利濕熱。		
中 科 學	名：生毛將軍 名：菊科 Compositae 名：Blumea lacera (Burm.) De Candolle.	82002	中 科 學	名：益母草 名：唇形科 Labiatae 名：Leonurus heterophyllus Sweet	82007
部位與藥效：全草清熱解毒，治肺炎、腮腺炎、癰腫腫毒；并可搗敷患處。			部位與藥效：全草去瘀生新、活血調經及利尿。		
中 科 學	名：通脫木(通草、花草) 名：五加科 Araliaceae 名：Tetrapanax papyriferus (Hook.) Koch	82003	中 科 學	名：康復力 名：紫草科 Boraginaceae 名：Symphytum officinale L.	82008
部位與藥效：通利尿、清涼、解熱、鎮靜。治水腫、淋病癰閉、乳少。花粉治惡瘡痔疾、頸部淋巴腺結核。			部位與藥效：葉補血、防癌、富含維生素B <sub>12</sub> 。		
中 科 學	名：岡梅(萬點金) 名：冬青科 Aquifoliaceae 名：Ilex asprella Champ.	82004	中 科 學	名：蘆薈 名：百合科 Liliaceae 名：Aloe vera (L.) var. chinensis Haw.	82009
部位與藥效：根主治中氣不足、咳嗽乏力、肺癰、肺炎、跌打。為涼茶原料、葉治毒蛇傷及腫毒。			部位與藥效：鮮葉刮去外皮治肝炎，煎水或炖赤肉服食，一次量1-2公克。		
中 科 學	名：石上柏 名：卷柏科 Selaginellaceae 名：Selaginella doederleinii Hieron.	82005	中 科 學	名：台灣堇菜 名：堇菜科 Violaceae 名：Viola formosana Hay.	82010
部位與藥效：全草抗癌、清熱解毒、清利濕熱。治癌症、肝硬化。			部位與藥效：全草主治赤白帶、治小兒感冒、為兒科及婦科良藥。		

中 科 學	名：山芙蓉 名：錦葵科 Malvaceae 名：Hibiscus taiwanensis S. Y. HU.	82011	中 科 學	名：爵林 名：爵林 Acanthaceae 名：Justicia procumbens L.	82016
部位與藥效：幹消炎、解毒、清肺、涼血。治一切癰疽腫毒。			部位與藥效：草搗汁塗腰背疼痛、癱瘓質斯。一切癰疽腫毒。		
中 科 學	名：南五味 名：木蘭科 Magnoliaceae 名：Kadsura japonica Dun.	82012	中 科 學	名：蝴蝶花 名：鳶尾科 Iridaceae 名：Iris japonica Thunb.	82017
部位與藥效：根及藤稱紅骨蛇、有解熱、止渴、鎮壓及鎮痛之功，主治蛇傷。果實為強壯劑及鎮咳劑。			部位與藥效：根莖清涼解毒。治喉症、扁桃腺炎、單雙蛾、胎毒、肋膜炎。花為止血、吐血利尿、解熱藥。		
中 科 學	名：山煙草 名：茄科 Solanaceae 名：Solanum verbascifolium L.	82013	中 科 學	名：紅田島 名：莧科 Amaranthaceae 名：Alternanthera versicolor Reg.	82018
部位與藥效：葉治風濕腳痛及腰部神經痛。根及幹主治風濕病及傷風感冒。			部位與藥效：全草解熱、止血及消腫。治風濕病及傷風感冒。		
中 科 學	名：箭葉鳳尾草 名：鳳尾草科 Pteridaceae 名：Pteris ensiformis Burm. F. kurz.	82014	中 科 學	名：白花藤(烏面馬) 名：藍雪科 Plumbaginaceae 名：Plumbago zeylanica L. . F.	82019
部位與藥效：全草解熱。治傷風、疾疫、			部位與藥效：根行血及通經。		
中 科 學	名：鳳仙花 名：鳳仙科 Balsaminaceae 名：Impatiens balsamina L.	82015	中 科 學	名：黃花虱母 名：田麻科 Tiliaceae 名：Triumfetta bartramia L.	82020
種子治難產積塊墮胎，通經催生。另治月經困難、月經停止。花清血，治胸病、蛇傷、毒蟲傷。莖洗腫毒，追風透骨。沖黃酒服治跌打。葉搗敷指甲傷。			部位與藥效：根及莖解毒清血、消炎鎮痛、祛風及降血壓。沖黃酒服治跌打。葉搗敷指甲傷。		

中 名：漏蘆 82021  
科 名：菊科 Compositae  
學 名：Echinops grilisii Hance

部位與藥效：全草排膿止血、清熱。治瘡痔；可治骨癌。

中 名：九層塔 82026  
科 名：唇形科 Labiatae  
學 名：Ocimum basilicum L.

部位與藥效：全草為婦科良藥。治胃痙攣、腎臟病、跌打；種子為眼科藥、避孕藥。

中 名：乳仔草(乳仔草、大地錦草、 82022  
科 名：大飛揚草)  
學 名：大戟科 Euphorbiaceae  
Euphorbia hirta L.

部位與藥效：全草治牙齦腫痛、痢疾、乳房腫毒、支氣管炎、哮喘、肺氣腫。

中 名：山藥 Forastero 82027  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea alata L.

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：車前 82023  
科 名：車前科 Plantaginaceae  
學 名：Plantago asiatica L.

部位與藥效：全草為利尿及鎮咳藥。種子利尿、鎮咳、祛痰、止瀉及明目。

中 名：仙人掌 82028  
科 名：仙人掌科 Cactaceae  
學 名：Opuntia ficuindica Mill.

部位與藥效：莖壓汁治百日咳。

中 名：柳 82024  
科 名：楊柳科 Salicaceae  
學 名：Salix babylonica L.

部位與藥效：嫩枝皮治關節風濕痺(特效)。

中 名：白鳳菜 82029  
科 名：菊科 Compositae  
學 名：Gynura fomesana Kitam.

部位與藥效：全草鮮用，內服治跌打、風濕，外用搗敷瘡癤、腫毒。

中 名：山藥 Florido 82025  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea alata L.

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：薄荷 82030  
科 名：唇形科 Labiatae.  
學 名：Mentha arvensis L.

部位與藥效：全草可驅風，治感冒。

中 科 學	名：山藥 <i>Gemelos</i> 名：薯蕷科 <i>Dioscoreaceae</i> 名： <i>Dioscorea alata</i> L.	82031	中 科 學	名：白花菜 名：白花菜科 <i>Capparidaceae</i> 名： <i>Cleome gynandra</i> L.	82036
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。			部位與藥效：全草解熱、利尿、祛瘀退癰。治跌打、敗腎、淋病。		
中 科 學	名：遍地錦(械葉止血草) 名：繖形科 <i>Umbelliferae</i> 名： <i>Hydrocotyle benguetensis</i> Elm.	82032	中 科 學	名：馬鞭草 名：馬鞭草科 <i>Verbenaceae</i> 名： <i>Verbena officinalis</i> L.	82037
部位與藥效：全草主治喉痛、感冒、胎毒、腎結石諸症，腦炎、跌打，有解熱、利尿、解毒、涼血之功。			部位與藥效：全草治月經不通、癰瘕腹脹、下部濕癢陰腫、久瘡。		
中 科 學	名：老公根(含殼草) 名：繖形科 <i>Umbelliferae</i> 名： <i>Centella asiatica</i> Urb. ) Merr.	82033	中 科 學	名：蟛蜞菊(黃花蜜菜) 名：菊科 <i>Compositae</i> 名： <i>Wedelia chinensis</i> Merr.	82038
部位與藥效：全草祛風、固腸、明目及清暑。			部位與藥效：全草清熱解毒，治婦女崩漏及黃疸急性肝炎。		
中 科 學	名：半枝蓮 名：唇形科 <i>Labiatae</i> 名： <i>Scutellaria rivularis</i> Wall.	82034	中 科 學	名：山藥 <i>Leone Globe</i> 名：薯蕷科 <i>Dioscoreaceae</i> 名： <i>Dioscorea alata</i> L.	82039
部位與藥效：全草活血行氣，散風理喉，解熱止痛治跌打、驚風、肺炎、喉痛、腹痛、胎毒腸炎、盲腸炎。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：一枝香(傷寒草) 名：菊科 <i>Compositae</i> 名： <i>Vernonia cinerea</i> (L.) Less.	82035	中 科 學	名：蛇莓(蛇婆、蛇波) 名：薔薇科 <i>Rosaceae</i> 名： <i>Duchesnea indica</i> (Andr.) Forcke	82040
部位與藥效：全草治外感發熱、止咳。治痢疾、蛇傷。			部位與藥效：全草止血、解熱、除毒。主治吐血、胃病。用量 20~220公分。蛇莓(別錄)，解熱、通經。敷疔瘡神效。(日本)全草治風濕病。		

中 名：七層塔(蘭香草、婆絨花) 82041  
科 名：馬鞭草科 Verbenaceae  
學 名：Caryopteris incana (Thunb.) Miq.

部位與藥效：全草治咳嗽、肝疼、祛風濕。

中 名：翼豆 82046  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Psophocarpus tetragonolobus (L.) DC.

部位與藥效：根及莢果供食用。

傷

中 名：羊角豆(草決明、大本羊角豆) 82042  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Cassia torosa Cavan.

部位與藥效：莖葉治毒蛇、毒蟲的螫傷、牙痛、疥癬。種子健胃。根為水腫的利尿劑。

中 名：十大功勞 82047  
科 名：小蘗科 Berberidaceae  
學 名：Mahonia japonica DC.

部位與藥效：葉為清涼滋養強壯劑。根及莖治牙痛、滋腎。

中 名：山素英 82043  
科 名：木犀科 Oleaceae  
學 名：Jasminum hemsleyi Yamamoto

部位與藥效：全草有行血補腎、理帶明目之功，主治眼疾、腰痠。用量 20~150公克。涼血之功。

中 名：文殊蘭(兌水蕉) 82048  
科 名：石蒜科 Amaryllidaceae  
學 名：Crinum asiaticum L.

部位與藥效：鱗莖、根及葉有毒。根解毒蟲咬傷，葉治頭痛。

中 名：硃砂根(平行木、鐵雨傘) 82044  
科 名：紫金牛科 Myrsinaceae  
學 名：Ardisia crenata Sims.

部位與藥效：根治咽喉腫痛、蛇咬傷、跌打損傷。

中 名：蘇鐵(鳳尾蕉) 82049  
科 名：鳳尾蕉科 Cycadaceae  
學 名：Cycas revoluta Thunb.

部位與藥效：葉：(南洋)鐵樹葉，可治癌症。(台灣)通稱鐵樹。治高血壓。拾遺卷 5：鐵樹葉，治難產、肝氣痛。

中 名：細本山葡萄 82045  
科 名：葡萄科 Vitaceae  
學 名：Vitis thunbergii S. et Z. var. taiwaniana Lu

部位與藥效：根主治眼疾、風濕、腎虧、肺疾、乳癌，無名腫毒。莖葉洗腫毒。腸炎、盲腸炎。

中 名：腎蕨(球蕨、鳳凰蛋) 82050  
科 名：  
學 名：骨碎補科 Davalliaceae  
Nephrolepis auriculata Trimen

部位與藥效：塊莖治淋巴結核、解熱、腎炎、五淋白濁、崩帶、高血壓。

中 科 學	名：樹薯 名：大戟科 Euphorbiaceae 名：Manihot utilisima Pohl.	82051	中 科 學	名：山葡萄(冷飯藤、耳空仔藤) 名：葡萄科 Vitaceae 名：Ampelopsis brevipedunculata var. hancei (Planch.) Li.	82056
部位與藥效：樹皮治傷風感冒。塊根提取澱粉，為酒精、味精之原料。 解熱、通經。敷疔瘡神效。(日本)全草治風濕病。			部位與藥效：根、藤主治風濕、淋病、腫毒。		
中 科 學	名：龍葵 名：茄科 Solanaceae 名：Solanum nigrum L.	82052	中 科 學	名：三白草 名：三白草科 Saururaceae 名：Saururus chinensis Baill.	82057
部位與藥效：全草解熱、利尿、抗癌。			根為利尿劑、治水腫、淋病。另治水腫部位與藥效：利尿、消痰破癰、除積聚、消腫。		
中 科 學	名：酸模(山羊蹄、山大黃、蕨蕪、酸母) 名：蓼科 Polygonaceae Rumex acetosa L.	82053	中 科 學	名：山藥 Kinabayo 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea alata L.	82058
部位與藥效：根汁塗疥癬，根健胃。 莖葉：(台)莖葉塗疥癬、汗斑。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：四葉蓮(臺灣芭菱、臺灣及己) 名：金粟蘭科 Chloranthaceae 名：Chloranthus oldhami Solms.	82054	中 科 學	名：野梧桐 名：大戟科 Euphorbiaceae 名：Mallotus japonicus (Thunb.) Muell. Arg.	82059
部位與藥效：莖破積、止痛、解毒消炎。治毒蛇咬傷及腹痛、風濕疼痛、癩癧。			部位與藥效：葉敷腫毒，或以果煎汁洗滌。樹皮治癌症。		
中 科 學	名：蓬萊藤 名：防己科 Menispermaceae 名：Pericampylus formosus Diels.	82055	中 科 學	名：八角蓮 名：小檗科 Berberidaceae 名：Podophyllum pleianthum Hance	82060
部位與藥效：莖含 stepharine 等生物鹼。葉外用治頭痛。			部位與藥效：根莖為治毒蛇咬傷之著名藥材。能抗癌含麥胚固醇 ( $\beta$ -sitosterol)，可降血糖。根莖含普達非倫毒。(podo-phyllotoxin) 及芸香苷(rutin)。		

中 名：薏苡 82061  
科 名：禾本科 Gramineae  
學 名：Coix lacryma-jobi L.

部位與藥效：乾燥除去種皮之種仁，稱薏苡仁、鴨母珠，為健胃、利尿藥，根為鎮咳劑。葉，治難產、肝氣痛。

中 名：五爪金英 82066  
科 名：爵床科 Acanthaceae  
學 名：Hapocastles purpurea R. Br.

部位與藥效：治肝炎、中風。

中 名：蠶華 82062  
科 名：蠶華科(美人蕉科) Cannaceae  
學 名：Canna flaccida Rosc

部位與藥效：根主治肝病瘰癧及高血壓。塊莖治淋巴結核、解熱、腎炎、五淋白濁、崩帶、高血壓。

中 名：山藥 Kabusah 82067  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea alata L.

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：蕎麥(軟麥、烏麥、花蕎) 82063  
科 名：蓼科 Polygonaceae  
學 名：Fagopyrum vulgare Hill.

部位與藥效：種子炒焦，熱水沖服，治絞腸沙痛。開花時之花及葉，含芸香苷(rutin) 3~5%，可防止中風。

中 名：山藥 Binugas 82068  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea alata L.

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：燈心草 82064  
科 名：燈心草科 Juncaceae  
學 名：Juncus decipiens (Buchen) Nakai

部位與藥效：莖中之髓部為利尿藥，有清涼、鎮靜作用。

中 名：鴨舌堇(石莧) 82069  
科 名：馬鞭草科 Verbenaceae  
學 名：Phyla nodiflora (L.) Greene

部位與藥效：全草為婦科藥，治月經不調，經閉，白帶，淋病，搗汁塗腫毒。

中 名：白粗糠(杜虹花、毛將軍) 82065  
科 名：馬鞭草科 Verbenaceae  
學 名：Callicarpa formosana Rolfe

部位與藥效：根及幹補腎滋水、清血去瘀。有止嘔、鎮嘔作用，治胸悶吐瀉腹痛。

中 名：山藥青森 82070  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea japonica

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 科 學	名：山藥 Gunung 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea alata L.	82071	中 科 學	名：尖尾芋(狼毒、虎耳草) 名：天南星科 名：Alocasia cucullate (Lour.) Schott ex Engl.	82076
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。			部位與藥效：本品有毒，治毒蜂螫傷、毒蛇咬傷。		
中 科 學	名：石胡荽(珠仔草) 名：菊科 Compositae 名：Centipeda minima (L.) A. Braun & Aschers	82072	中 科 學	名：紅鳳菜(紅菜、腳目菜) 名：菊科 Compositae 名：Gynura bicolor (Willd) DC.	82077
部位與藥效：全草治鼻病、眼疾、痔瘡、頭痛、哮喘、瘡疾及一切腫毒。			部位與藥效：治心臟病、糖尿病。		
中 科 學	名：山藥 Purmay 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea alata L.	82073	中 科 學	名：落新婦 名：虎耳草科 Saxifragaceae 名：Astilbe chinensis Fr. et Sav.	82078
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。			部位與藥效：根莖為升麻代用品，可解熱、解毒、及消炎。		
中 科 學	名：山藥 Moresly 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea alata L.	82074	中 科 學	名：山藥 Beti 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea esculenta	82079
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：馬地金 名：曇華科(美人蕉科) Cannaceae 名：Canna flaccida Rosc	82075	中 科 學	名：苦蕒 名：茄科 Solanaceae 名：Physalis angulata L.	82080
部位與藥效：根主治肝病癰腫及高血壓。			部位與藥效：果有紅、白兩種，紅者旺血，白者消毒。可洗爛腳、爛癰疼痛，解熱除毒，治疳氣，跌打紅腫。有破血、通經、解毒之效。全草祛風止痛、解熱利尿。		

中 名：山藥 *Doli* 82081  
科 名：薯蕷科 *Dioscoreaceae*  
學 名：*Dioscorea esculenta*

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：大和當歸(日本當歸) 82086  
科 名：繖形科 *Umbelliferae*  
學 名：*Angelica acutiloba* (S. et Z.)  
Kitag.

部位與藥效：根有補血、鎮靜及強壯之功。

中 名：白蒺藜(駁骨丹) 82082  
科 名：馬錢科 *Loganiaceae*  
學 名：*Buddleia asiatica* Lour.

部位與藥效：枝葉治蕁麻疹、皮膚癢、風疹、濕疹等皮膚病。根及幹祛風清血滋腎。治風濕病、小兒麻痺、腫毒、下消。

中 名：車桑(車栓仔) 82087  
科 名：無患子科 *Sapindaceae*  
學 名：*Dodonaea viscosa* L. Jacq.

部位與藥效：葉為解熱、發汗劑。治咽喉炎。

中 名：鵝舌癩(石莧) 82083  
科 名：馬鞭草科 *Verbenaceae*  
學 名：*Phyla nodiflora* (L.) Greene

部位與藥效：全草為婦科藥，治月經不調，經閉，白帶，淋病，搗汁塗腫毒。

中 名：一枝蒿(飛天蜈蚣、鋸草) 82088  
科 名：菊科 *Compositae*  
學 名：*Achillea alpina* L.

部位與藥效：治跌打損傷、風濕疼痛、頭風痛。

中 名：大還魂草(雞爪三七) 82084  
科 名：景天科 *Crassulaceae*  
學 名：*Kalanchoe gracilis* Hance e

部位與藥效：清熱解毒、散瘀止血。 經閉，白

中 名：仙茅 82089  
科 名：石蒜科 *Amaryllidaceae*  
學 名：*Curculigo orchoides* Gaertn

部位與藥效：根莖滋補藥、補精壯陽、散寒除痺。治陽痿、腰膝冷痛、筋骨痿弱。

中 名：山藥 *Muni* 82085  
科 名：薯蕷科 *Dioscoreaceae*  
學 名：*Dioscorea esculenta*

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：雷公藤(昆明山海棠) 82090  
科 名：衛矛科 *Celastraceae*  
學 名：*Tripterygium wilfordii* Hook. f.

部位與藥效：抗癌、殺蟲。

中 科 學	名：山藥 Kombi 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea esculenta	82091	中 科 學	名：白有骨消 名：唇形科 Labiatae 名：Hyptis capitata Jacq.	82096
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。			部位與藥效：全草解熱、行血，治感冒、麻疹、氣喘、腹痛、肺疾，葉搗敷癰疽。		
中 科 學	名：假川牛膝(台灣慈草) 名：莧科 Amaranthaceae 名：Cytula prostrata (L.) Blume.	82092	中 科 學	名：山藥 Seti 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea esculenta	82097
部位與藥效：消腫止痛、治痢疾、止咳。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：葎草 名：百合科 Lilaceae 名：Hemerocallis fulva L.	82093	中 科 學	名：山藥 TDR131 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea rotundata	82098
部位與藥效：根治結石及肝病。 消炎。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：白鳳菜(白蔞菜) 名：菊科 Compositae 名：Gynura formosana Kitamura.	82094	中 科 學	名：山藥 TDR179 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea rotundata	82099
部位與藥效：治肺炎、肝炎。			部位與藥效： 塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：狹葉麥門冬 名：百合科 Liliaceae 名：Liriope spicata Lour.	82095	中 科 學	名：彩葉蓮(花葉山薑) 名：薑科 Zingiberaceae 名：Alpinia sanderar Sand.	82100
部位與藥效：塊根具消炎、滋養及強壯功效。老消毒。可洗爛腳、爛瘡疼痛，解熱除毒，治疝氣，跌打紅腫。有破血、通經、解毒之效。全草祛風止痛、解熱利尿。			部位與藥效：主治反胃、嘔吐、宿食消化不良。		

中 科 學	名：龍舌癩(瓢蟲草、一條根) 名：豆科 Leguminosae 名：Tadehagi triquetrum (Linn.) Ohashi.	82101	中 科 學	名：菊(菊仔、菊花) 名：菊科 Compositae 名：Chrysanthemum morifolium Ramat.	82106
部位與藥效：清涼退熱、利尿、清血、毒蛇咬傷。			部位與藥效：花去頭風、解熱。治頭痛、眩暈，為眼科藥，治線內障。		
中 科 學	名：假人參 名：馬齒莧科 Portulacaceae 名：Talinum crassifolium Willd.	82102	中 科 學	名：芸香(臭草、臭艾、小香草) 名：芸香科 Rutaceae. 名：Ruta graveolens L.	82107
部位與藥效：民間以根作補藥，葉敷腫傷、去熱、散腫。			部位與藥效：祛風、退熱、利尿、活血、消腫。		
中 科 學	名：天門冬 名：百合科 Liliaceae 名：Asparagus cochinchinensis (Lour.) Merr.	82103	中 科 學	名：蜘蛛抱蛋 名：百合科 Liliaceae 名：Aspidistra elatior Bl.	82108
部位與藥效：塊根鎮咳、利尿、解熱、強壯。治痛風、心臟水腫。			部位與藥效：根莖強心、利尿、祛痰。		
中 科 學	名：香茅 名：禾本科 Gramineae 名：Cymbopogon nardus Rendl. var. genuinus Honda	82104	中 科 學	名：烏甜(山瑞葵) 名：馬鞭草科 Verbenaceae 名：Vitex quinata (Lour.) F. N. Will.	82109
部位與藥效：葉去風止癢。治皮膚病			部位與藥效：根及幹開中氣、祛濕、補肺，治肺病；葉治喉頭炎、寒咳、熱咳、吐血諸症。		
中 科 學	名：台灣山菊 名：菊科 Compositae 名：Parfugium japonicum (L.) kitam var. formosanum (Hay.) kitam.	82105	中 科 學	名：艾納香(有米菜、對藥蓮、河孔 莖草) 名：菊科 Compositae 名：Bunea balsamifera DC.	82110
部位與藥效：清熱、解毒、活血、治風熱感冒、咽喉腫痛、瘰癧、疔瘡、癰疽。			部位與藥效：葉治感冒祛痰、根及幹治感冒、肺疾及月內風。		

中 科 學	名：下田菊 名：菊科 Compositae 名：Adenostemma lavenia (L.) O. Kuntze	82111	中 科 學	名：細葉黃楊 名：黃楊科 Buxaceae 名：Buxus microphylla sieb Eucc.	82116
部位與藥效：全草涼血、消腫、排膿。主治肺癰，肋膜積水及肺炎。			部位與藥效：祛風濕、理氣、止痛。		
中 科 學	名：七層塔(婆絨花、蘭香草) 名：馬鞭草科 Verbenaceae 名：Caryopteris incana (Thunb.) Miq.	82112	中 科 學	名：山藥 TDR205 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea rotundata	82117
部位與藥效：全草治咳嗽、肝炎，可祛風濕及強筋骨。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		
中 科 學	名：安石榴(白樹榴) 名：安石榴科 Punicaceae 名：Punica granatum L.	82113	中 科 學	名：胡頹子 名：胡頹科 Elaeagnaceae 名：Elaeagnus pungens Thunb.	82118
部位與藥效：果皮治慢性下痢及腸痔出血。			部位與藥效：實為強壯及收斂藥。葉治咳嗽、氣喘及痢疾。根治吐血。		
中 科 學	名：西洋蒲公英 名：菊科 Compositae 名：Taraxacum officinale wder.	82114	中 科 學	名：羅漢松 名：羅漢松科 Podocarpaceae 名：Podocarpus macrophyllus D. Don.	82119
部位與藥效：全草為健胃劑。			部位與藥效：枝葉益肺、止血、殺蟲。治心胃痛、風濕骨疼。		
中 科 學	名：綉線菊 名：薔薇科 Rosaceae 名：Spiraea prunifolia S. et Z. var. Pseudoprunifolia (Hay.) Li.	82115	中 科 學	名：安石榴(白樹榴) 名：安石榴科 Punicaceae 名：Punica granatum L.	82120
部位與藥效：治咽喉、腫痛。			部位與藥效：果皮治慢性下痢及腸痔出血。		

中 名：枇杷 82121  
科 名：薔薇科 Rosaceae  
學 名：Eriobotrya deflexa (Hemsl.) Nakai.

部位與藥效：果解熱、葉止咳。  
腫痛、癰腫、疔瘡、癩瘡。

中 名：山藥羌蓉 82126  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea alata L.

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：刺桐(海桐) 82122  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Erythrina variegata L. var.  
o-orientalis (L.) Merr.

部位與藥效：樹皮治霍亂、赤白痢、疥癬、牙痛。眼科藥，治綠內障。

中 名：鐵掃帚(千里光) 82127  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Lespedeza cuneata (DUMONT de  
COURSEZ) G. DON.

部位與藥效：莖葉為利尿、解熱劑。治眼病、腎臟病。

中 名：佛手柑(香圓子、佛手香柑) 82123  
科 名：芸香科 Rutaceae  
學 名：Citrus medica L. var. sarcodactylis Swingle

部位與藥效：果及根治水腫、腳氣、嘔氣、痰飲。果利尿、健胃、鎮靜、鎮痙、助消化。

中 名：尖尾鳳 82128  
科 名：爵床科 Acanthaceae  
學 名：Gendarussa vulgaris Nees.

部位與藥效：根利大小便，療酒疸、黃疸，解酒毒，治關節俱麻質斯。

中 名：山藥 TDR608 82124  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea rotundate

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：葉底珠(瓜打子、市懸) 82129  
科 名：大戟科 Euphorbiaceae  
學 名：Securinega suffruticosa (Pallas)  
Reha.

部位與藥效：葉治小兒麻痺的後遺症及顏面神經麻痺。

中 名：竹節蓼 82125  
科 名：蓼科 Polygonaceae  
學 名：Muehlenbeckia platyclada Meisn.

部位與藥效：莖葉治腫毒及蛇傷。

中 名：使君子 82130  
科 名：使加科 Combretaceae  
學 名：Quisqualis indica L.

部位與藥效：果實驅蛔蟲。根健胃、驅蟲。

中 科 學	名：常山(土常山、華八仙) 名：虎耳草科 Saxifragaceae 名：Hydrangea chinensis Maxim..	82131	中 科 學	名：大葉千斤拔(乙條根) 名：豆科 Leguminosae 名：Flemingia macrophylla (Wild.) Merr.	82136
部位與藥效：花為解熱藥。			部位與藥效：補中益氣。		
中 科 學	名：白花曼陀羅 名：茄科 Solanaceae 名：Datura metel L.	82132	中 科 學	名：昆明雞血藤 名：豆科 Leguminosae 名：Millettia reticulata BENTH.	82137
部位與藥效：花為雲南白藥之主藥、有毒、為鎮咳、鎮痛及催眠藥。葉能止痛。種子能行血及祛風寒濕痺。			部位與藥效：外敷跌打損傷。甚治遺精白濁、調經、風痛濕痺性血筋。		
中 科 學	名：虎杖(苦杖、大蟲杖、斑杖、酸杖) 名：蓼科 Polygonaceae 名：Polygonum cuspidatum S. et Z.)	82133	中 科 學	名：欒梔(鯽魚膽) 名：菊科 Compositae 名：Pluchea indica (L.) Less.	82138
部位與藥效：根為利尿、通經藥，有鎮痛解毒之效。嫩梢葉：(台灣)嫩梢葉敷跌打、刀傷。			部位與藥效：根頭解熱發汗、治風濕及坐骨神經痛。		
中 科 學	名：桃金娘(多年頭、水刀蓮、哆咩仔) 名：桃金娘科 Myrtaceae 名：Rhodomyrtus tomentosa Hassk.	82134	中 科 學	名：崖椒(雙面刺) 名：芸香科 Rutaceae 名：Fagara nitida Roxb. )DC.	82139
部位與藥效：根及幹去風、止瀉。治風濕關節炎、神經痛、打傷、白濁及痢疾。			部位與藥效：主治風濕、牙痛、肺癰、蛇傷、瘡癤、花柳病。外用治跌打。根治痰火癰核、喉症。		
中 科 學	名：虱母子 名：錦葵科 Malvaceae 名：Urena lobata L.	82135	中 科 學	名：山藥茨城 名：薯蕷科 Dioscoreaceae 名：Dioscorea japonica	82140
部位與藥效：根消炎、解毒藥，散血凝，散風毒，治慢性盲腸炎、梅毒性疥瘡疳均效；亦治牙痛、痢疾、酒感、經風、高血壓、慢性胃病。			部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		

中	名：刺蜜薯	82141
科	名：薯蕷科 Dioscoreaceae	
學	名：Dioscorea esculenta	
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		

中	名：蜀葵	82146
科	名：錦葵科 Malvaceae	
學	名：Althaea rosea Cav.	
部位與藥效：苗除客熱、利腸胃。根治客熱、利尿、散瘀血。花治帶下、解虫毒。		

中	名：元寶草(劉寄奴)	82142
科	名：福木科 Guttiferae	
學	名：Hypericum patulum THUNB.	
部位與藥效：全草治金瘡出血、治跌打有起死回生之效。根治胃氣病。		

中	名：黃連(粗根)	82147
科	名：毛茛科 Ranunculaceae	
學	名：Coptis japonica Makino	
部位與藥效：黃連(本經上品)，根莖味苦，性寒。清熱燥濕，涼血解毒，為苦味健胃劑。		

中	名：山藥自然薯	82143
科	名：薯蕷科 Dioscoreaceae	
學	名：Dioscorea japonica	
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		

中	名：黃連(細根)	82148
科	名：毛茛科 Ranunculaceae	
學	名：Coptis japonica Makino	
部位與藥效：黃連(本經上品)，根莖味苦，性寒。清熱燥濕，涼血解毒，為苦味健胃劑。		

中	名：爵芳草(有米菜、對葉蓮、河乳豆草)	82144
科	名：石竹科 Caryophyllaceae	
學	名：Drymaria cordata Willd.	
部位與藥效：全草消炎解毒，解小兒胎毒。		

中	名：黃連(種子) Ranunculaceae	82149
科	名：毛茛科 Ranunculaceae	
學	名：Coptis japonica Makino	
部位與藥效：黃連(本經上品)，根莖味苦，性寒。清熱燥濕，涼血解毒，為苦味健胃劑。		

中	名：山藥壽豐	82145
科	名：薯蕷科 Dioscoreaceae	
學	名：Dioscorea japonica	
部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。		

中	名：三島柴胡台農 1 號(粗根)	82150
科	名：繖形科 Umbelliferae	
學	名：Bupleurum falcatum L.	
部位與藥效：根為解熱、解毒、鎮痛、鎮痙攣，治瘧疾之惡寒戰慄及潮熱，除胸肋部苦悶，對呼吸器疾患、肋膜炎、黃疸、胃腸病有效。		

中 科 學	名：三島柴胡台農 1號(細根) 名：繖形科 Umbelliferae 名：Bupleurum falcatum L.	82151	中 科 學	名：明日葉(種子) 名： 名：繖形科 Umbelliferae Koidj. Angelica Keiskei Koidj.	82156
部位與藥效：根為解熱、解毒、鎮痛、鎮痙攣，治瘧疾之惡寒戰慄及潮熱，除胸肋部苦悶，對呼吸器疾患、肋膜炎、黃疸、胃腸病有效。			部位與藥效：調、調經、民間用為保健植物。		
中 科 學	名：三島柴胡台農 1號(種子) 名：繖形科 Umbelliferae 名：Bupleurum falcatum L.	82152	中 科 學	名：向日葵 名：菊科 Compositae 名：Helianthus annuus L.	82157
部位與藥效：根為解熱、解毒、鎮痛、鎮痙攣，治瘧疾之惡寒戰慄及潮熱，除胸肋部苦悶，對呼吸器疾患、肋膜炎、黃疸、胃腸病有效。			部位與藥效：消腫、活血、潤腸、止淋、除濁，治瘧疾及熱性疾患。		
中 科 學	名：明日葉(莖) 名：繖形科 Umbelliferae Koidj. 名：Angelica Keiskei Koidj.	82153	中 科 學	名：薏苡(種子) 名：禾本科 Gramineae 名：Coix lacryma-jobi L.	82158
部位與藥效：民間用為保健植物。			部位與藥效：薏苡仁(本經)，鎮咳、抗癌、主治肺結核、胃癌。有鎮痛、鎮靜、解熱作用。		
中 科 學	名：明日葉(葉) 名：繖形科 Umbelliferae Koidj. 名：Angelica Keiskei Koidj.	82154	中 科 學	名：(大)車前(種子) 名：車前科 Plantaginaceae 名：Plantago major L.	82159
部位與藥效：民間用為保健植物。			部位與藥效：全草利尿、鎮咳。種子利尿、鎮咳、祛痰、止瀉、明目，治淋病、咳嗽、眼疾。		
中 科 學	名：明日葉(根) 名：繖形科 Umbelliferae Koidj. 名：Angelica Keiskei Koidj.	82155	中 科 學	名：夏枯草 名：唇形科 Labiatae 名：Prunella vulgaris L.	82160
部位與藥效：民間用為保健植物。			部位與藥效：全草清肝火。治癰疽瘰癧、目赤腫痛及癰腫瘡毒。		

中 科 學	名：枳實(木) 名：芸香科 Rutaceae 名：Citrus aurantium L.	82161
部位與藥效：胸脅痰癖、胸痺結胸、脹滿痞痛、食積便秘。		

中 科 學	名：芡實(芡、雞頭) 名：睡蓮科 Nymphaeaceae 名：Euryale ferox Salisb.	82166
部位與藥效：果實可收欬鎮痛、治遺精帶濁、濕痺、腰脊膝痛。		

中 科 學	名：使君 名：使君科 Combretaceae 名：Quisqualis indica L.	82162
部位與藥效：(一)果稱使君子(宋開寶)，驅蛔蟲。 (二)根：(台灣)全年採根，稱使君子根，健胃、驅蟲。種子含生物鹼。		

中 科 學	名：莪朮(莪黃) 名：薑科 Zingiberaceae 名：Curcuma zedoaria (Berg.) Rosc.	82167
部位與藥效：根莖稱莪朮、三七仔。為芳香健胃、消炎劑。治跌打損傷。		

中 科 學	名：石菖蒲 名：天南星科 Araceae 名：Acorus gramineus Soland.	82163
部位與藥效：根莖化痰，開竅、健脾、利濕。治癲、驚悸、健忘、泄瀉、痢疾、風濕痛，為芳香性健胃藥。		

中 科 學	名：澤瀉 名：澤瀉科 Alismataceae 名：Alisma variflorum Samuels	82168
部位與藥效：乾燥塊莖稱澤瀉，為利尿、止渴劑。清熱燥濕，涼血解毒，為苦味健胃劑。		

中 科 學	名：鬱金 名：薑科 Zingiberaceae Valet. 名：Curcuma domestica Valet.	82164
部位與藥效：根莖為芳香健胃劑、利膽劑、止血劑、通經劑。		

中 科 學	名：薑 名：薑科 Zingiberaceae 名：Zingiber officinale Rosc.	82169
部位與藥效：乾燥治吐瀉腹痛、肢冷脾微、寒飲咳嗽、寒濕痺痛。		

中 科 學	名：枸杞(地骨皮) 名：茄科 Solanaceae 名：Lycium chinense Mill.	82165
部位與藥效：根皮骨蒸勞熱、有汗消渴、咳嗽止血。		

中 科 學	名：綠豆(蠶) 名：豆科 Leguminosae 名：Azukia radiata (L.) Ohwi	82170
部位與藥效：種子為解毒藥，有利尿解熱作用。疾之惡寒戰慄及潮熱，除胸肋部詰悶，對呼吸器疾患、肋膜炎、黃疸、胃腸病有效。		

中 科 學	名：枇杷(川) 名：薔薇科 Rosaceae 名：Eriobotrya japonica (Thunb.) Lindl.	82171	中 科 學	名：雞冠花 名：苋科 Amaranthaceae 名：Celosia cristata L.	82176
部位與藥效：葉治嘔吐不止、肺氣熱咳、婦女產後口乾。花治頭痛。種子鎮咳祛痰。對呼吸器疾患、肋膜炎、黃疸、胃腸病有效。			部位與藥效：種子及花止血、止泄。根治婦女赤白帶。		
中 科 學	名：玉米 名：禾本科 Gramineae 名：Zea mays L.	82172	中 科 學	名：馬鞭草(本) 名：馬鞭草科 Verbenaceae 名：Verbena officinalis L.	82177
部位與藥效：鬚可利尿、治水腫、肝炎、黃疸、腎臟疾患、膽道結石。			部位與藥效：全草治水腫腹脹、久瘧、痢疾、癰腫、瘡毒、月經困難、帶下。發熱等。		
中 科 學	名：何首烏 名：蓼科 Polygonaceae 名：Polygonum multiflorum Thunb.	82173	中 科 學	名：仙鶴草(本)(龍芽草) 名：薔薇科 Rosaceae 名：Agrimonia pilosa Ledeb.	82178
部位與藥效：塊根治神經衰弱、貧血引起不眠及動悸、血虛、風濕、疥癬。			部位與藥效：全草為強壯性收斂藥。治脫力勞傷、腸出血、胃潰瘍出血、月經過多症。舒、月經不調。		
中 科 學	名：化石草(本) 名：唇形科 Labiatae 名：Orthosiphon spiralis (Lour.) Merr	82174	中 科 學	名：澤蘭(本)(山澤蘭) 名：菊科 Compositae 名：Eupatorium formosanum Hay.	82179
部位與藥效：全草治慢性腎炎、膀胱炎、尿路結石、關節炎。			部位與藥效：葉葉通經、消腫、抗癌。潤，治瘡疾及熱性疾患。		
中 科 學	名：荔枝(本) 名：無患子科 Sapindaceae 名：Litchi chinensis Sonn	82175	中 科 學	名：蒲黃(東香蒲)(水燭) 名：香蒲科 Typhaceae 名：Typha orientalis Presl.	82180
部位與藥效：種子治胃脘痛、婦人血氣痛、疝氣痛、特別用於男性疝氣。			部位與藥效：乾燥花粉稱蒲黃、蒲包花，為止血劑、通經劑，並有消炎利尿作用。		

中 名：山藥大和 82181  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea japonica

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：高氏柴胡 82186  
科 名：繖形科 Umbelliferae  
學 名：Bupleurum Kaoi

部位與藥效：根為肝膽疾病要藥。

中 名：葛根 82182  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Pueraria lobata (Willd.) Ohwi

部位與藥效：葛根（本經），為發汗解熱之要藥。主治熱性病、口渴、嘔氣、頭痛。

中 名：通天草種子 82187  
科 名：豆科 Leguminosae  
學 名：Uraria macrostachya Wall.

部位與藥效：全草開脾利尿、殺蟲、除癰、健胃。治脾疳、胃痛。

中 名：蓖麻子 82183  
科 名：大戟科 Euphorbiaceae  
學 名：Ricinus communis L.

部位與藥效：蓖麻（唐本）子油，為優秀之瀉劑。  
根及幹：行血、止痛、解毒。  
葉：治跌打、腫毒、外痔、皮膚病。

中 名：何首烏（半年生） 82188  
科 名：蓼科 Polygonaceae  
學 名：Polygonum multiflorum Thunb.

部位與藥效：根治肝腎陰虛、頭髮早白、腰膝酸痛、遺精、崩帶、腸風、久瘡。

中 名：山藥埔里地方種 82184  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea aleata L. var. purpurea

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：山藥嘉扁紅 82189  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea aleata L. var. purpurea

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：山藥花蓮紅 82185  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae  
學 名：Dioscorea aleata L. var. purpurea

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

中 名：山藥紫皮紫心 82190  
科 名：薯蕷科 Dioscoreaceae var. purpurea  
學 名：Dioscorea aleata L. var. purpurea

部位與藥效：塊莖有滋養、強壯及止瀉功效。

### 三、成分分析與比較：

植體一般可分為葉、莖、根、花、果實、種子等不同的器官，由於各器官的構造不盡相同，其化學成分自亦不同。植物的葉是進行光合作用及呼吸作用的所在，因此貯藏性物（如碳水化合物及油脂等）之含量較少，但富含蛋白質、核酸類成分、光合作用色素及礦物質等成分。對大多數植物而言，莖是植體的支柱，往往含有較多的構造成分，如：纖維素、半纖維素、木質素等。惟一例外的是供作貯藏器官的塊莖則富含碳水化合物。根與土壤直接接觸，是植物由土壤中吸收礦物質的所在，因此較富含礦物質；而以塊根形式存在之根部，亦屬植物的貯藏器官，通常富含碳水化合物。花則近似葉，除了礦物質含量較少外，其它成分與葉均相近。由子實類芡實之成分則可明顯看出，子實中之成分也以澱粉成分為主。黃梔子果實中除了碳水化合物外，尚富含脂溶性成分。

#### I、一般化學組成分之比較：

一般化學組成分包括水分、粗蛋白質、粗脂肪、粗纖維、灰分及澱粉等無氮抽出物，對人體健康維護之重要性，不言可喻。蛋白質為生物體主要構成原料，為一切生理機能之主要調節物質。脂質構成皮下脂肪組織，充填於各器官之間，且為細胞膜之主要成分。纖維素有刺激消化器官及促進通便的作用。灰分含量代表植體內多種礦物元素之總量，對人體健康影響甚大。主要為澱粉之無氮抽出物為人體活動能量之供源。

表一所示為不同種類藥用植物不同植株部位之一般化學成分分析值。比較粗蛋白質之分析結果可知：(1)就葉而言，白鶴靈芝、通天草及明日葉之含量最高，達23%以上。金銀花、仙草、甜菊、三島柴胡及高氏柴胡之含量介於10~19%之間。蘆薈葉粗蛋白質含量則最低，在5%以下。由蘆薈葉中含有多量的碳水化合物（即無氮抽出物）判斷，可見其葉亦具有貯藏碳水化合物之功能。何首烏因莖葉一同分析，因此粗蛋白質含量亦不高，約為9.4%。車前草葉之粗蛋白質含量約為10%。(2)莖的粗蛋白質含量普遍低於葉及根。只有明日葉及通天草之蛋白質含量接近11%，其餘都在9%以下。(3)本次試驗樣本中根之粗蛋白質含量以當歸為最高，不論主根或鬚根皆可達25%。金銀花及細葉麥門冬根之蛋白質含量最低，小於2.5%。白鶴靈芝葉之粗蛋白質含量約為其根與莖之三倍；柴胡則相反，兩種柴胡根之粗蛋白質含量反而較高於葉與莖。(4)柴胡、麥門冬及山藥等由於栽培期及採收期不同，其葉、莖、根及花等部位之粗蛋白質含量均有差異，有些甚至可差約兩倍。比較柴胡葉與花之粗蛋白質含量可知，花之粗蛋白質含量遠高於莖與葉。

粗脂肪成分中除了油脂外尚包括脂溶性色素及脂溶性維生素等。葉綠素及胡蘿蔔素均為脂溶性色素，因此顏色呈黃綠色的樣本其粗脂肪含量大多較高。比較表一粗脂肪含量分析值可知：參試藥用植物中以黃梔子果實之粗脂肪含量最高，可達16%。而花的粗脂肪含量一般又較根與莖為高，荷蘭干貝及柴胡之花可達12%，柴胡之根可達10%，粗脂肪含量在5%以上者尚有：明日葉、仙草、甜菊、白鶴靈芝、兩種柴胡等六種之葉、車前草及三島柴胡之莖、當歸之主根及鬚根、甜菊之花等。芡實子實及部份

山藥塊莖之粗脂肪含量最低，不足0.5%。品種、栽培期及採收期不同時，藥用植物之粗脂肪含量亦將不同。

粗纖維的主成分為不被酸鹼溶解的纖維素、半纖維素及木質素等，一般在組織老化時含量漸增，因此老的枝條往往含有多量的粗纖維。由表一之分析結果可知：大部份植物的莖部含有較多量的粗纖維，如金銀花、通天草、白鶴靈芝、仙草、甜菊及柴胡的莖含有約30~50%的粗纖維。在根部方面，通天草之根含有52%粗纖維，是所有樣本中含量最高者，白鶴靈芝根亦可達41%。粗纖維含量達20%以上的有：通天草之葉、何首烏之莖葉、甜菊之根、荷蘭干貝及甜菊之花。子實、塊根及塊莖類等富含碳水化合物之貯藏器官，其粗纖維含量均較低，如芡實、何首烏、麥門冬及山藥等屬之。

灰分含量多寡顯示植物體所含有的礦物質元素含量多少。由於植物之收穫來自土壤，因此在樣本處理上，若未能將沾附於植體上之壟土洗淨，則樣本之灰分含量將受影響而略增。植物的根部因與土壤直接接觸，在清洗時較不容易洗淨，往往會有或多或少的污染機會。由表一之結果可知：參試藥用植物中葉的灰分含量一般較根、莖及花略高。葉部灰分含量在10%以上有白鶴靈芝等7種，莖部有明日葉1種，根部有白鶴靈芝等4種，及甜菊花1種。莖之灰分含量通常較低，不過明日葉之莖灰分含量卻較葉與根為高。當歸之鬚根較其主根灰分含量高出甚多。子實、塊根及塊莖類等富含碳水化合物之貯藏器官其灰分含量較低，如芡實、何首烏、麥門冬及山藥等。本次分析樣本中灰分含量最多的是白鶴靈芝之葉與根、仙草之葉、與明日葉之莖，含量在16%以上；灰分含量最低的是芡實，含量尚不及0.6%。

無氮抽出物中主要成分為碳水化合物，包括有機酸、游離糖及多醣體。由表一之分析結果可知：芡實、麥門冬及何首烏塊根、以及山藥塊莖等無氮抽出物之含量大半在80%以上，蘆薈之葉及車前草之根無氮抽出物含量在70%以上，似皆可視為高澱粉藥用植物。

## II、主要礦物元素含量之比較：

植體中主要礦物元素含量最多的通常是鉀與鈣，其次是磷、鎂、硫，再次為鈉、鐵、鋁等，尤其是鉀、鈣含量往往可以%表示。上述八種礦物元素之含量不高，但功效甚大：鉀主司體內之酸鹼平衡與正常滲透壓。磷、鈣及鎂為骨骼之主要成分。硫為維他命B<sub>1</sub>、輔酶A及生物素等之成分。鈉控制細胞之滲透作用及肌肉之感應。鐵參與細胞之呼吸作用，並為血紅素之主成分。鎂、鈉、鉀及鈣共同維持心臟、肌肉及神經的正常功能。表二所示即本次試驗分析之藥用植物主要礦物元素分析值之比較結果。

1. 鉀：鉀含量最高的是明日葉的莖，高達6.4%，為一般蔬菜所少見。明日葉的根莖葉均含有大量的鉀，其根與莖之鉀含量皆在4%以上。車前草莖葉、仙草葉、白鶴靈芝葉及荷蘭干貝花之鉀含量亦在3%以上。當歸主根及鬚根鉀含量約達2.5%，除明日葉之根外，顯著高於其它之根。參試植物中以芡實含鉀最低，只約0.09%。

2. 鈣：葉之鈣含量一般較其他部位為高。蘆薈及白鶴靈芝之葉中鈣含量高達4%，為一般食品所少見。莖之鈣含量以明日葉、通天草及白鶴靈芝較多；根部以通天草、白鶴靈芝含量較高；花則以柴胡之花含量最高，約在1.3%以上。芡實及大部分山藥之塊莖鈣含量則在0.1%以下。
3. 鎂：鎂是葉綠素的構成元素，也是許多酵素反應不可少的元素；因此植物體綠葉部份往往含有較多的鎂。在本次所分析之樣本中以仙草、蘆薈及白鶴靈芝葉之鎂含量最高，約在0.75%以上。莖的部份以仙草莖0.5%為最高。當歸之鬚根及柴胡根含鎂量可達0.3%。花則以荷蘭千日含0.4%最多，甜菊花亦可達0.3%。對大部份的植物而言，鈣含量往往是鎂含量的數倍，甚至可高達十倍以上；但仙草、芡實及大部份山藥之鈣含量則與鎂含量接近，甚至有低於鎂者。
4. 磷：比較不同種類不同部位之磷含量，在柴胡為根>葉>莖，白鶴靈芝與甜菊為葉>莖>根，明日葉及通天草則葉莖根含量相近；可見植物種類不同時，磷在植體各部位的濃度分佈並不一致。磷含量以82年採收之白鶴靈芝葉及當歸主根與鬚根含量最高，約在0.89%以上。含量最低為金銀花之根，只約為0.08%。
5. 硫：硫是含硫胺基酸的構成元素，因此粗蛋白質含量較高的產品往往含有較多量的硫，又因硫是植體許多氣味成分的構成元素(如山藥、大蒜的辣味及香菇的香味等)，因而具有特殊氣味之藥用植物往往也可能含有較多量的硫。表二中所示硫含量以車前草之葉特別高，達到1.3%，其次是82年白鶴靈芝葉、明日葉之葉、山防風之根、以及當歸之主根、鬚根等，含量均在0.5%以上。含量最低的是何首烏、金銀花、車前草等之根與部分山藥之塊莖，含量略小於0.1%。
6. 鈉：鈉在植體中的含量遠低於鉀，因此較不受重視。根據表二之分析結果可知，明日葉之葉與根及山防風之根含量最高，約為0.15%。
7. 鐵：由於鐵是人體血紅素的構成元素，在營養成分比較上倍受重視。表二所示之鐵含量以82年採白鶴靈芝根含量最高，達0.79%。其次是甜菊根、葉與仙草葉。
8. 鋁：植體中之鋁含量一般較少分析，惟近年來由於大眾對老年痴呆症可能與鋁有關而特予重視。在表二中以81年採收之白鶴靈芝根鋁含量最高，達0.3%以上，其次是甜菊之葉、根與花、仙草葉、當歸之鬚根、三島柴胡之根與花、以及竹山紫圓山藥塊莖，其鋁含量在0.15%以上。金銀花之根未含鋁元素，芡實及大部分山藥塊莖之含鋁量亦甚低。

### III、微量元素含量之比較

植體中之微量元素主要為金屬元素，其含量甚低，但在生物體中往往是生理代謝上不可或缺的必需物質，惟量太多時也會造成毒害作用。表三所示為本次試驗分析之錳、銅、鋅、硼、鎳、鈷、及鉻的含量分析值。

1. 鉻：鉻為稀有元素，在此次所分析之樣本中並未發現有鉻存在。
2. 鈷：鈷是維他命 B<sub>12</sub>的構成元素，因此鈷含量的多寡可能會對維他命 B<sub>12</sub>含量有影響，此外，鈷另有助於人體血球之形成。根所含的鈷含量似乎較葉及莖略高。在所分析之樣本中鈷含量最高的是82年採收之二年生三島柴胡根，含量高達0.269mg/100g。其它含量約達0.1mg/100g則有白鶴靈芝根、當歸根、甜菊根、甜菊花及仙草葉。山藥除竹山紫圓鈷之含量特別高達0.06mg/100g外，大部份樣本均不含鈷。

3. 鋇：鋇含量最高的是當歸的主根、81年白鶴靈芝根及82年白鶴靈芝葉，其含量均高於2mg/100g。次高的是當歸鬚根、荷開干日及甜菊之花及山防風之根等，鋇含量約在1mg/100g以上。
4. 銅：銅有助於血紅素之生成。比較表三之銅含量以81年白鶴靈芝根含5mg/100g最高。銅含量較低的則是部份塊根(何首烏、細葉麥門冬及大葉麥門冬)、二年生高氏柴胡之莖、部份山藥塊莖與芡實子實，含量均小於0.6mg/100g。
5. 錳：錳與酵素之活化有關。自然界之農產品中錳含量通常以米、麥等穀物最多。在本次分析中錳含量最高的則是仙草葉，高達38mg/100g，比米糠(rice bran)之35mg/100g還高；蘆薈葉含錳達20mg/100g，仙草莖含15mg/100g，二年生高氏柴胡葉含14.4mg/100g，甜菊葉含13.4mg/100g，也比麥胚(wheat germ)、麥麩(wheat bran)之13mg/100g還高。錳含量最低的則是部份山藥樣本，幾乎不含錳。
6. 鋅：鋅與蛋白質及核酸之生成有關，因此粗蛋白質含量較高的樣本也可能含有較多量的鋅。在本次分析樣本中鋅含量以白鶴靈芝葉及金銀花之根含量最高，約10mg/100g左右，三島柴胡之根含有較其葉、莖及高氏柴胡多量的鋅。鋅含量較少的是通天草、何首烏、細葉麥門冬與大葉麥門冬之根部、黃梔子果實及部分山藥之塊莖，含量小於2mg/100g。
7. 硼：除了含高澱粉質之塊根、塊莖及芡實子實外，在本次分析中其他材料均含有1mg/100g以上之硼。含量最高的是82年採收之白鶴靈芝葉及仙草之葉，約在5mg/100g以上。含量最低的是芡實，不及0.1mg/100g。

#### IV、維他命含量之比較：

植物體內所含有的維他命A 主要成分為胡蘿蔔素乙( $\beta$ -Carotene)。 $\beta$ -Carotene呈黃色，為類胡蘿蔔素(Carotenoid)中之一種，因此含有黃紅色脂溶性物質的產品，大多含有豐富的維他命A，如胡蘿蔔、木瓜、橙果等。植物葉中的脂溶性色素成分，除了綠色的葉綠素外，也含有多量的類胡蘿蔔素；綠色葉片因而也是維他命A的重要來源，如：菠菜。維他命A易受光及氧化破壞。

維他命B 包括一群水溶性維他命，在營養成分分析上一般只分析三種，即：維他命B1(Thiamine)、維他命B2(核黃素 Riboflavin)及菸鹼酸(Niacin)；其中維他命B2呈黃色，較易辨認。此三種維他命中在酸下均穩定，但B1及B2對光十分不安定。核黃素較不難溶於酸性水溶液。

維他命C 普遍存在於新鮮蔬果中，在空氣中很容易氧化分解。

目前上述之維他命均有以HPLC方法分析之報導，但都在實驗室階段，尚未經AOAC正式確定分析方法。本試驗中對維他命A、B1、B2、Niacin均採HPLC方法分析；其中維他命A之分析圖譜較單純，而以80%丙酮抽出之脂溶性色素較少，主要為葉綠素及類胡蘿蔔素。以HPLC方法分析維他命B群，除了可以分別出B1、B2、Niacin(或

Nicotinamid )外，尚可分離出維他命 B6(Pyridoxine)、葉酸(Folic Acid)等；不過，藥用植物以稀酸抽出，以醋酸調節pH值後，再以酵素分解澱粉，過濾所得之濾液，其HPLC分析圖譜因含有眾多成分而顯得複雜，往往需要在分析樣本內添加標準品才能確定維他命的種類。因此以HPLC方法分析藥用植物之維他命B群，尚有待改進。

表四所示為乾燥磨粉後參試藥用植物的維他命分佈情形。由於維他命類物質大多對光、氧化及熱敏感，因此烘乾磨粉樣本之維他命含量往往不及以鮮物測得之結果。

#### 1. $\beta$ -Carotene胡蘿蔔素乙(維他命A)：

植體的葉部呈黃綠色，因此普遍含有多量的  $\beta$ -Carotene，其中又以車前草及仙草之葉部含量較多。花、莖及根其次。本次分析樣本中維他命A含量最低的是麥門冬的塊根、芡實子實及大部份山藥塊莖等高澱粉質作物。黃梔子雖然含有大量黃色色素—番紅花甘(crocin)，由於番紅花甘屬水溶性色素，因此黃梔子中  $\beta$ -Carotene 的含量也很低。

#### 2. Thiamin(維他命B<sub>1</sub>)：

依據四十年前何氏等對藥用植物維他命B<sub>1</sub>分佈情形之研究報告得知，大部份的藥用植物都不含維他命B<sub>1</sub>。本次試驗也得到類似的結果。依據表四所示之結果，葉的部份僅通天草、甜菊、白鶴靈芝、高氏柴胡含有少量。莖的部份則除了明日葉及仙草不含維他命B<sub>1</sub>外，其它樣本均少量含有。根的部份則以當歸主根含量最多，其它如通天草、白鶴靈芝及柴胡均少量含有。部分山藥塊莖亦含少量維他命B<sub>1</sub>。

#### 3. Riboflavin核黃素(維他命B<sub>2</sub>)：

核黃素為水溶性黃色色素，因此具有黃色水溶性成分之樣本較有可能含有核黃素。本次分析之核黃素含量以黃梔子果實與白鶴靈芝莖較高，其次為二年生高氏柴胡葉，其它藥用植物之核黃素含量多不高。

#### 4. 菸鹼酸(Niacin)：

由表四之分析結果可以看出菸鹼酸似乎以葉含量較高，尤其是82年收穫之白鶴靈芝、蘆薈、甜菊、何首烏及部份柴胡樣本之葉含量最高。其次是何首烏之根與甜菊花。部份山藥塊莖也含有4mg/100g以上之菸鹼酸。至於其它大部份樣本的菸鹼酸含量則普遍低於2mg/100g。

#### 5. 抗壞血酸(維他命C)：

新鮮蔬果往往含有多量的抗壞血酸，但烘乾磨粉後的樣本則大多不含維他命C。表四所示之烘乾磨粉樣本中，抗壞血酸含量最高的是白鶴靈芝，其次是明日葉。含量較低的有荷蘭千日之花、麥門冬塊根及黃梔子之果。芡實子實及部份山藥塊莖則不含維他命C。

比較81與82年收穫之白鶴靈芝莖與根之維他命C含量，則81年分析值顯然偏高甚多。由於烘乾磨粉過程必然會造成維他命C之損失，81年之分析值偏高仍採用新鮮植

體之故。由於植體中維他命之含量甚少，在分析上往往需要較多量的樣本，本次試驗由於部份樣本量較少，因此測定各種維他命含量時，除了取樣量減少外，分析時之重覆次數亦受樣本量限制而未能進行重覆分析。又，B群維他命的測定直接採用HPLC方法測定，未能依照A.O.A.C.或其它化學標準法再予確定；因此，表四所示（乾燥磨粉後之中草藥的維他命含量）之數值僅做參考；尚須再收集較多量的樣本並進行重覆分析後方可確定各中草藥的維他命含量。又由本次分析試驗可以看出，不同品種、不同栽培期、不同收穫期、不同部位之中草藥，其化學成分分析值往往有很大的差異；因此對於各中草藥之成分分析值有必要做較大量樣本的取樣分析，才能得到較可靠的成分範圍。

### 結論與建議

本研究進行至今，已完成近 400種藥用及保健植物之引種、觀察及永久標本之製作。經田間試種及栽培技術之探討，並參酌各種文獻資料知，下列20種應屬於本省較為重要的且值得開發利用的藥用及保健材料，即高氏柴胡、三島柴胡、金銀花、車前草、當歸、白鶴靈芝、明日葉、通天草、仙草、何首烏、山防風、甜菊、荷蘭千日、黃梔子、芡實、蘆薈、麥門冬、長形山藥、白肉山藥及紅肉山藥。此外，另由初步成分分析結果知，其中之白鶴靈芝、何首烏、當歸、柴胡、山藥、芡實、通天草、明日葉、荷蘭千日、黃梔子、金銀花、甜菊及仙草等13種更富含蛋白質等一般成分、大量與微量礦物元素、或各種維他命，應值得國內有關醫藥研究單位加以繼續開發及利用。

表一：本省重要藥用植物不同部位之一般組成分比較

採收 年份	種 類	部 位	水分 %	粗蛋	粗脂肪	粗纖維	灰分	無氮 抽出物
				白質				
% dry basis								
81	金銀花	葉	5.46	19.06	4.76	13.97	7.90	54.31
81	車前草	葉	6.56	9.95	3.51	8.95	11.81	65.77
81	明日葉	葉	12.69	24.78	6.84	11.81	13.94	42.62
81	通天草	葉	6.86	24.66	3.77	23.37	10.74	37.46
81	仙草	葉	10.83	16.42	6.57	17.54	16.68	42.79
81	何首烏	莖葉	7.46	9.43	1.09	24.75	6.07	58.66
81	蘆薈	葉	7.21	4.65	3.66	8.43	13.44	69.82
82	甜菊	葉	5.89	13.24	7.49	14.32	13.64	51.31
81	白鶴靈芝	葉	7.28	25.04	7.80	12.85	13.29	41.03
82	白鶴靈芝	葉	10.07	23.19	6.22	10.90	18.88	40.82
82	三島柴胡一年	葉	11.05	13.44	6.20	13.34	8.32	58.70
82	三島柴胡二年	葉	8.76	10.08	6.13	16.48	9.18	58.13
82	高氏柴胡一年	葉	11.11	17.03	5.87	11.36	8.35	57.38
82	高氏柴胡二年	葉	8.30	12.05	4.35	13.37	9.79	60.45
-----								
81	金銀花	莖	6.89	5.73	1.71	43.94	5.16	43.47
81	車前草	莖	9.19	4.16	5.97	13.20	9.32	67.34
81	明日葉	莖柄	14.34	10.72	4.01	18.30	16.57	50.40
81	通天草	莖	5.72	11.51	1.23	45.21	7.88	34.17
81	仙草	莖	7.89	4.83	1.17	50.91	4.85	38.24
82	甜菊	莖	6.78	6.12	1.69	46.52	7.50	38.17
81	白鶴靈芝	莖	5.12	8.25	2.40	48.26	7.46	33.62
82	白鶴靈芝	莖	7.12	4.85	1.35	50.64	7.40	35.77
82	三島柴胡一年	莖	10.39	9.97	5.33	29.21	3.90	51.59
82	三島柴胡二年	莖	7.04	5.79	3.00	40.30	4.45	46.46
82	高氏柴胡一年	莖	9.06	7.09	2.75	38.29	4.18	41.09
82	高氏柴胡二年	莖	7.84	4.17	1.76	31.17	3.07	59.83

表一：本省重要藥用植物不同植體部位之一般組成成分比較(續)

採收 年份	種 類	部 位	水 分 %	粗蛋	粗脂肪	粗纖維	灰分	無氮 抽出物
				白質		% dry basis		
81	金銀花	根	5.07	2.33	—	—	2.11	—
81	車前草	根	7.76	4.91	2.22	15.64	6.29	70.93
81	當歸	主根	5.40	25.08	6.82	12.37	9.21	46.52
81	當歸	鬚根	5.54	25.11	6.21	13.90	12.78	41.99
81	明日葉	根	13.69	11.12	2.95	16.23	10.59	59.11
81	通天草	根	5.26	9.34	0.84	52.77	6.34	30.71
81	何首烏	根	6.29	5.22	1.02	3.99	3.14	86.63
81	山防風	根	8.95	13.43	0.70	16.56	4.07	65.23
82	甜菊	根	9.06	6.21	1.87	25.02	10.62	56.28
81	白鶴靈芝	根	5.29	8.80	3.28	41.16	18.25	28.51
82	白鶴靈芝	根	7.63	8.73	3.33	28.78	9.40	49.75
82	三島柴胡一年	根	12.11	21.54	10.88	11.97	5.38	50.22
82	三島柴胡二年	根	7.97	16.35	9.39	16.24	6.96	51.06
82	高氏柴胡一年	根	11.80	21.09	11.03	14.02	4.89	48.97
82	高氏柴胡二年	根	7.91	13.57	9.28	9.49	6.39	61.28
81	長葉麥門冬	塊根	14.37	10.43	2.10	9.91	6.96	70.59
81	細葉麥門冬	塊根	9.50	2.05	0.75	7.34	3.67	86.19
81	大葉麥門冬	塊根	7.80	4.14	0.63	6.15	4.53	84.55
-----								
81	荷蘭千日	花	7.83	17.88	12.64	25.26	8.67	35.55
82	甜菊	花	5.85	13.37	7.52	26.51	14.35	38.25
81	三島柴胡一年	花	8.80	17.37	9.82	13.54	6.59	52.68
82	三島柴胡二年	花	9.49	12.75	6.81	16.56	7.49	56.39
81	高氏柴胡一年	花	9.75	20.00	9.85	17.32	6.60	46.23
82	高氏柴胡二年	花	8.61	16.82	12.28	13.38	6.62	50.91
81	黃梔子	果實	5.06	7.97	16.27	13.01	4.98	57.77
81	芡實	子實	9.98	14.12	0.33	1.69	0.54	83.62

表一：本省重要藥用植物不同部位之一般組成成分比較(續)

採收 年份	種    類	部  位	水分 %	粗蛋	粗脂肪	粗纖維	灰分	無氮
				白質				% dry basis
81	白肉山藥							
	千里達	塊莖	4.62	11.82	1.06	2.99	3.71	80.42
	品保1號	塊莖	3.98	11.14	0.22	2.09	3.67	82.87
	品保4號	塊莖	4.75	9.91	0.70	1.40	3.07	84.92
	品保5號	塊莖	4.30	8.06	0.87	1.75	3.03	86.29
82	紅肉山藥							
	竹山紫圓	塊莖	4.12	7.26	0.97	5.68	8.66	77.42
	血薯	塊莖	7.20	8.57	0.81	1.48	3.83	85.31
	花蓮紅	塊莖	6.86	11.42	0.83	1.88	4.35	81.52
81	長形山藥							
	C3	塊莖	7.36	9.36	0.68	1.67	4.33	83.96
	C7	塊莖	8.01	7.96	0.57	0.36	3.40	87.71
	C11	塊莖	6.96	15.71	0.81	2.45	6.67	74.37

表二：本省重要藥用植物不同植株部位之主要礦物元素比較

採收 年份	種 類	部 位	S	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Al
			m g / 100 g dry basis							
81	金銀花	葉	278	327	1940	1274	301	16	49	47
81	車前草	葉	1344	195	3278	2024	460	99	13	14
81	明日葉	葉	502	598	4025	2223	204	188	71	89
81	通天草	葉	255	326	2253	2304	255	55	41	31
81	仙草	葉	286	511	3035	1343	1051	59	281	218
81	何首烏	莖葉	162	247	1350	963	254	51	136	122
81	蘆薈	葉	287	236	2029	4110	952	114	12	15
82	甜菊	葉	200	348	1886	891	337	35	265	188
81	白鶴靈芝	葉	245	430	2758	2751	756	31	67	67
82	白鶴靈芝	葉	810	1079	4027	4063	774	50	103	87
82	三島柴胡一年	葉	200	318	1523	2495	329	20	45	49
82	三島柴胡二年	葉	167	252	1513	2095	249	35	98	88
82	高氏柴胡一年	葉	290	383	1838	2751	120	25	33	34
82	高氏柴胡二年	葉	232	278	1686	2998	144	33	41	37
<hr/>										
81	金銀花	莖	104	191	1580	501	122	17	61	54
81	車前草	莖	355	210	3850	753	167	17	10	20
81	明日葉	莖	144	629	6434	1693	149	119	34	46
81	通天草	莖	176	347	2052	1442	153	55	37	36
81	仙草	莖	152	149	1319	572	499	69	46	43
82	甜菊	莖	306	302	2394	481	86	43	95	91
81	白鶴靈芝	莖	170	317	2115	1382	209	64	55	53
82	白鶴靈芝	莖	135	369	1782	1721	174	40	20	20
82	三島柴胡一年	莖	159	392	1105	559	180	33	20	29
82	三島柴胡二年	莖	90	195	914	596	155	68	71	57
82	高氏柴胡一年	莖	98	166	1037	951	106	35	19	37
82	高氏柴胡二年	莖	84	114	718	750	100	22	22	21

表二：本省重要藥用植物不同部位之主要礦物元素比較(續)

採收 年份	種 類	部位	S	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Al
			m g / 100 g dry basis							
81	金銀花	根	64	75	411	193	79	80	139	0
81	車前草	根	99	230	1432	398	224	61	117	129
81	當歸	主根	519	885	2489	779	266	52	33	50
81	當歸	鬚根	509	960	2989	762	336	108	141	159
81	明日葉	根	147	603	4395	484	217	151	66	108
81	通天草	根	241	360	1133	1457	184	74	42	32
81	何首烏	根	96	220	1066	323	144	2	50	24
81	山防風	根	515	271	1006	281	170	154	32	21
82	甜菊	根	452	267	1977	394	166	49	335	193
81	白鶴靈芝	根	290	203	1632	1281	243	135	792	339
82	白鶴靈芝	根	250	249	1008	2236	214	40	175	141
82	三島柴胡一年	根	240	635	1162	574	336	51	56	51
82	三島柴胡二年	根	199	528	1004	491	371	61	217	174
82	高氏柴胡一年	根	242	605	1022	507	322	44	39	49
82	高氏柴胡二年	根	205	441	932	522	270	49	127	118
81	長葉麥門冬	塊根	159	201	1396	202	59	67	121	121
81	細葉麥門冬	塊根	168	138	872	139	48	57	57	60
81	大葉麥門冬	塊根	155	130	900	192	65	71	118	112
<hr/>										
81	荷蘭干日	花	394	509	3075	738	425	53	34	16
82	甜菊	花	232	517	2104	647	321	35	277	201
81	三島柴胡一年	花	321	724	2110	781	277	65	21	15
82	三島柴胡二年	花	250	440	1318	1928	277	77	70	66
81	高氏柴胡一年	花	348	586	1410	1375	151	23	31	29
82	高氏柴胡二年	花	262	525	1317	1708	212	35	24	24
81	黃梔子	果實	175	234	1917	560	183	11	4	11
81	芡實	子實	162	167	91	36	39	4	3	3

表二：本省重要藥用植物不同植體部位之主要礦物元素比較(續)

採收 年份	種 類	部位	S	P	K	Ca	Mg	Na	Fe	Al
			m g / 100 g dry basis							
81	白肉山藥									
	千里達	塊莖	175	226	1732	50	83	9.7	3.9	5.1
	品保1號	塊莖	134	185	1826	36	77	5.9	2.8	6.3
	品保4號	塊莖	135	196	1460	33	64	10.3	4.3	6.2
	品保5號	塊莖	119	206	1571	29	62	8.6	2.1	5.8
82	紅肉山藥									
	竹山紫圓	塊莖	128	211	1250	71	99	54.8	181.7	166.6
	血薯	塊莖	91	245	1803	28	53	35.3	6.5	19.8
	花蓮紅	塊莖	140	346	1919	56	87	31.7	6.6	19.5
81	長形山藥									
	C3	塊莖	140	203	1942	113	91	73.3	8.0	31.9
	C7	塊莖	134	192	1596	92	74	37.1	2.6	5.1
	C11	塊莖	209	293	2832	404	165	69.3	5.9	5.6

表三:本省重要藥用植物不同植體部位之微量礦物元素比較

採收 年份	種 類	部位	Mn	Cu	Zn	B	Ni	Co	Ge
			mg / 100 g dry basis						
81	金銀花	葉	4.96	1.26	5.21	2.85	0.47	0.019	0.00
81	車前草	葉	4.56	0.93	3.05	1.97	0.26	0.014	0.00
81	明日葉	葉	5.17	1.05	4.30	3.80	0.69	0.031	0.00
81	通天草	葉	4.08	1.05	3.08	2.54	0.31	0.026	0.00
81	仙草	葉	37.93	1.76	6.47	5.20	0.93	0.118	0.00
81	何首烏	莖葉	3.50	0.76	2.64	1.88	0.54	0.061	0.00
81	蘆薈	葉	20.46	0.62	3.28	3.73	0.46	0.016	0.00
82	甜菊	葉	13.37	0.87	6.53	4.27	0.80	0.093	0.00
81	白鶴靈芝	葉	6.32	1.04	7.00	3.63	0.71	0.025	0.00
82	白鶴靈芝	葉	9.78	2.83	10.48	6.68	2.59	0.044	0.00
82	三島柴胡一年	葉	6.54	1.09	5.91	2.31	0.30	0.031	0.00
82	三島柴胡二年	葉	13.28	0.88	4.34	2.80	0.49	0.065	0.00
82	高氏柴胡一年	葉	6.37	1.28	3.92	2.27	0.12	0.026	0.00
82	高氏柴胡二年	葉	14.36	0.88	3.62	2.39	0.21	0.019	0.00
-----									
81	金銀花	莖	2.95	1.42	6.18	1.36	0.46	0.022	0.00
81	車前草	莖	1.15	1.10	2.94	2.49	0.21	0.004	0.00
81	明日葉	莖	3.25	0.58	4.99	3.58	0.86	0.029	0.00
81	通天草	莖	1.39	1.41	2.65	1.62	0.41	0.027	0.00
81	仙草	莖	15.46	1.27	2.23	1.73	0.39	0.054	0.00
82	甜菊	莖	4.48	0.76	3.21	1.49	0.61	0.045	0.00
81	白鶴靈芝	莖	2.01	1.30	3.22	1.36	0.60	0.020	0.00
82	白鶴靈芝	莖	2.27	0.69	2.86	1.80	0.46	0.027	0.00
82	三島柴胡一年	莖	3.07	2.18	5.02	1.69	0.25	0.018	0.00
82	三島柴胡二年	莖	4.57	0.68	3.25	1.89	0.51	0.064	0.00
82	高氏柴胡一年	莖	2.00	0.75	3.70	1.44	0.12	0.019	0.00
82	高氏柴胡二年	莖	3.84	0.59	2.32	1.41	0.10	0.019	0.00

表三：本省重要藥用植物不同部位之微量礦物元素比較(續)

採收 年份	種 類	部 位	Mn	Cu	Zn	B	Ni	Co	Ge
			m g / 100 g dry basis						
81	金銀花	根	2.86	1.90	9.39	0.59	0.00	0.000	0.00
81	車前草	根	6.74	1.79	5.48	2.31	0.91	0.097	0.00
81	當歸	主根	3.55	1.79	6.46	3.03	2.86	0.107	0.00
81	當歸	鬚根	3.89	1.58	4.60	2.49	1.36	0.152	0.00
81	明日葉	根	3.72	0.96	3.56	2.82	0.90	0.051	0.00
81	通天草	根	1.06	0.95	1.64	1.51	0.38	0.025	0.00
81	何首烏	根	1.51	0.33	1.47	1.66	0.30	0.022	0.00
81	山防風	根	7.39	1.72	2.07	1.33	1.16	0.065	0.00
82	甜菊	根	7.40	0.99	3.71	1.63	0.33	0.127	0.00
81	白鶴靈芝	根	10.36	5.21	6.28	1.16	2.36	0.172	0.00
82	白鶴靈芝	根	5.21	0.62	2.93	1.26	0.53	0.122	0.00
82	三島柴胡一年	根	4.94	2.10	7.41	2.03	0.33	0.068	0.00
82	三島柴胡二年	根	6.87	1.73	5.75	2.33	0.78	0.269	0.00
82	高氏柴胡一年	根	3.25	1.68	5.65	1.80	0.13	0.030	0.00
82	高氏柴胡二年	根	6.02	1.08	3.89	1.82	0.42	0.079	0.00
81	長葉麥門冬	塊根	1.99	1.40	2.21	1.36	0.59	0.055	0.00
81	細葉麥門冬	塊根	0.91	0.41	1.70	0.92	0.27	0.035	0.00
81	大葉麥門冬	塊根	1.67	0.52	1.34	0.73	0.28	0.054	0.00
-----									
81	荷蘭千日	花	4.36	2.54	3.30	3.71	1.33	0.025	0.00
82	甜菊	花	9.60	0.99	5.53	2.73	1.79	0.109	0.00
81	三島柴胡一年	花	4.33	1.14	5.69	1.80	0.25	0.037	0.00
82	三島柴胡二年	花	9.45	2.24	5.37	3.69	0.57	0.092	0.00
81	高氏柴胡一年	花	4.77	0.94	5.48	1.80	0.37	0.020	0.00
82	高氏柴胡二年	花	8.67	0.99	4.69	2.30	0.28	0.041	0.00
81	黃梔子	果實	1.54	1.22	1.13	2.28	0.14	0.007	0.00
81	芡實	子實	1.60	0.44	2.14	0.09	0.06	0.004	0.00

表三：本省重要藥用植物不同部位之微量礦物元素比較(續)

採收 年份	種 類	部 位	Mn	Cu	Zn	B	Ni	Co	Ge
			m g / 100 g dry basis						
81	白肉山藥								
	千里達	塊莖	0.00	1.23	2.11	0.41	0.28	0.017	0.00
	品保1號	塊莖	0.00	0.97	1.46	0.34	0.12	0.000	0.00
	品保4號	塊莖	0.00	0.79	1.25	0.29	0.10	0.000	0.00
	品保5號	塊莖	0.00	0.84	1.36	0.32	0.08	0.000	0.00
82	紅肉山藥								
	竹山紫圓	塊莖	1.86	0.98	1.89	0.37	0.40	0.062	0.00
	血薯	塊莖	0.17	0.57	1.45	0.66	0.02	0.000	0.00
	花蓮紅	塊莖	0.17	1.42	2.18	0.36	0.17	0.000	0.00
81	長形山藥								
	C3	塊莖	0.16	0.46	1.05	0.44	0.09	0.002	0.00
	C7	塊莖	0.00	0.40	1.18	2.78	0.08	0.000	0.00
	C11	塊莖	1.22	0.76	2.04	0.80	0.09	0.000	0.00

表四：本省重要藥用植物不同植體部位之維他命含量比較

採收 年份	種 類	部 位	$\beta$ -Carotene	Ascorbic acid	Thiamine	Ribo-flavin	Niacin
			m g / 100 g				
81	金銀花	葉	4.62	23.4	t	0.27	1.09
81	車前草	葉	10.98	30.2	t	0.24	2.23
81	明日葉	葉	5.84	55.4	0	0	0.32
81	通天草	葉	9.02	65.6	0.20	0.35	0.48
81	仙草	葉	11.55	5.3	0	0.33	0
81	何首烏	莖葉	1.56	24.8	0	0.05	8.41
81	蘆薈	葉	2.82	24.4	0	t	16.93
82	甜菊	葉	8.22	21.3	0.14	0.38	13.47
81	白鶴靈芝	葉	9.81	443 ?	0.07	2.41	0.24
82	白鶴靈芝	葉	8.42	66.3	0.48	2.55	22.92
82	三島柴胡一年	葉	5.97	18.8	0	0.20	12.16
82	三島柴胡二年	葉	3.09	15.0	0	0.07	6.25
82	高氏柴胡一年	葉	7.07	15.0	0	0.53	9.77
82	高氏柴胡二年	葉	5.29	18.8	0.15	1.62	0
<hr/>							
81	金銀花	莖	-	17.3	-	-	-
81	車前草	莖	0.98	19.3	0.22	0.63	-
81	明日葉	葉	1.23	91.7	0	0	2.25
81	通天草	莖	0.89	8.4	0.66	0.22	0.51
81	仙草	莖	1.41	13.9	0	0.29	0.47
82	甜菊	莖	0.64	10.6	0.12	0.30	2.92
81	白鶴靈芝	莖	0.54	61.9	0.09	0.54	-
82	白鶴靈芝	莖	0.44	19.7	0.05	0.54	1.55
82	三島柴胡一年	莖	0.36	12.5	0	0	0
82	三島柴胡二年	莖	0.32	5.6	0.16	0.35	0
82	高氏柴胡一年	莖	1.13	8.1	0.10	0.51	1.69
82	高氏柴胡二年	莖	0.34	6.3	0.18	0.55	0.07

表四：本省重要藥用植物不同植體部位之維他命含量比較(續)

採收 年份	種 類	部 位	$\beta$ -Caro-	Ascorbic	Thiamine	Ribo-	Niacin
			tene	acid		flavin	
m g / 100 g							
81	金銀花	根	-	8.3	-	-	-
81	車前草	根	-	28.6	t	-	-
81	當歸	主根	0.05	5.5	1.09	t	-
81	當歸	鬚根	0.02	6.7	0	t	-
81	明日葉	根	0.46	57.7	0	0	1.89
81	通天草	根	0.03	4.0	0.06	t	0.42
81	何首烏	根	0.12	7.3	0	0	8.51
81	山防風	根	0.32	5.6	0	0.05	-
82	甜菊	根	0.18	8.1	0	0.31	0
81	白鶴靈芝	根	0.36	396 ?	0.10	0.18	-
82	白鶴靈芝	根	5.64	67.5	0.02	0.47	0.73
82	三島柴胡一年	根	3.25	10.0	0.11	0.05	2.22
82	三島柴胡二年	根	0.84	10.6	0.22	0.04	0.55
82	高氏柴胡一年	根	0.81	5.6	0.12	0.05	2.42
82	高氏柴胡二年	根	0.36	2.5	0.10	0.07	0
81	長葉麥門冬	塊根	0.01	8.7	0	0	-
81	細葉麥門冬	塊根	0	6.1	0.02	0	-
81	大葉麥門冬	塊根	0	1.9	0	0	-
-----							
81	荷蘭千日	花	0.42	3.9	0	0.32	0.71
82	甜菊	花	2.04	9.4	0	0	4.12
81	三島柴胡一年	花	1.01	67.9	0	0	0.26
82	三島柴胡二年	花	1.53	18.8	0	0	0
81	高氏柴胡一年	花	2.29	28.9	0.15	t	0.07
82	高氏柴胡二年	花	2.16	10.0	0	0	0
81	黃梔子	果實	0.22	1.1	0	2.86	1.37
81	芡實	子實	0.01	0	0	0.20	0.35

表四：本省重要藥用植物不同部位之維他命含量比較(續)

採收 年份	種 類	部位	$\beta$ -Caro-	Ascorbic	Thiamine	Ribo-	Niacin
			tene	acid		flavin	
m g / 100 g							
81	白肉山藥						
	千里達	塊莖	0	6.1	0.05	t	2.03
	品保1號	塊莖	0	0	0.09	0.11	0.42
	品保4號	塊莖	0	0	t	0.10	0.99
	品保5號	塊莖	0	8.0	t	0.09	1.55
82	紅肉山藥						
	竹山紫圓	塊莖	0.01	5.6	0.04	0	2.29
	血薯	塊莖	0	7.5	0.11	0	1.54
	花蓮紅	塊莖	0	5.0	0.04	0	7.65
81	長形山藥						
	C3	塊莖	0	2.0	0.10	t	1.10
	C7	塊莖	0	0	t	0.11	1.26
	C11	塊莖	0	0	0.09	t	1.36

## 參考文獻

1. 甘偉松・1981・藥用植物學・國立中國醫藥研究所・全冊
2. 甘偉松・1986・台灣抗癌植物與長壽藥草・勝昌醫藥 16・全冊
3. 林俊清・1990・生藥柴胡與柴胡劑・全冊
4. 高木村・1981・台灣藥用植物手冊・南天書局・全冊
5. 高木村・1985・台灣民間藥 (1)・南天書局・全冊
6. 高木村・1988・台灣民間藥 (2)・南天書局・全冊
7. 張鴻銘(鑑訂)・1980・(1)山藥・昭人出版社中藥大辭典第一冊・pp:298-304  
(2)白鶴靈芝・昭人出版社中藥大辭典第二冊・pp:1256-1257  
(3)車前子・昭人出版社中藥大辭典第二冊・pp:1862-1866  
(4)金銀花・昭人出版社中藥大辭典第三冊・pp:2124-2129  
(5)柴胡・昭人出版社中藥大辭典第三冊・pp:2816-2825
8. 張光雄・邱年永・1983・原色台灣藥用植物圖鑑 (1)・全冊
9. 張光雄・邱年永・1986・原色台灣藥用植物圖鑑 (2)・全冊
10. 楊再義・1982・台灣植物名彙・天然書社・全冊
11. 賴榮祥・1976・原色生藥學・創譯出版社・全冊
12. 戴新民(發行)・1984・中藥栽培法・啓業書局・全冊
13. Association of Official Agricultural Chemists・1975・Methods of Analysis of A.O.A.C. 12th ed. pub. by Association of Official Agricultural Chemists Washington, D. C.
14. Association of Vitamin Chemist・1966・Methods of Vitamin Assay, 3 rd. The Association of Vitamin Chemists, Interscience pub., N. Y.
15. Van Niekerk, P. J.・1982・Determination of Vitamins. In "HPLC in Food Analysis" ed. by R. Macrae, Chapter 8. pp: 187-225. Acad. Press, London, New York.
16. Wills, R. B. H., P. Wimalasiri, and H. Greenfield・1984・Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in total vitamin C activity. J. Agric. Food Chem. 32. pp: 836-838.

附錄：81年藥用與保健植物引種及標本製作表

001 穿心蓮	026 嶺南白連茶	051 山苦蘆
002 狗肝草	027 桔梗	052 荷蘭千日
003 白鶴靈芝	028 忍冬	053 六神草
004 東澤瀉	029 接骨木	054 甜菊
005 紫莖牛膝	030 九節茶	055 肺炎草 (長柄菊、燈籠草)
006 青葙	031 鴨跖草	056 台農一號山藥
007 千日紅	032 蚌蘭	057 台東山藥
008 軟枝黃蟬	033 白花霍香薷	058 日本大和山藥
009 日日春	034 紫花霍香薷	059 黃蘗 (山芋、山慈姑)
010 山馬茶	035 青蒿	060 刺薔薇
011 黃花夾竹桃	036 角菜 (鴨腳艾)	061 基隆山藥
012 烏面馬 (白花藤)	037 艾草	062 凹葉越橘
013 岡梅	038 三葉鬼針草	063 鐵瓦菜
014 石菖蒲	039 蒼耳 (象耳、羊帶來)	064 七厘草
015 半夏	040 走馬胎	065 巴豆
016 土半夏	041 紅花	066 大甲草
017 三葉五加	042 薺 (大薺、雞過菜)	067 大飛揚
018 八角金盤	043 蕪艾	068 霸王鞭
019 杜衡	044 山防風	069 小飛揚
020 細辛	045 鱧腸	070 青紫木
021 馬利筋	046 山澤蘭	071 紫莖
022 白薇	047 菊三七	072 白飯樹
023 羊角藤 (武靴藤)	048 兔兒草	073 大風子
024 藤三七	049 馬蘭 (開脾草、雞兒腸)	074 檸檬香茅
025 檉柳	050 美洲一枝黃花	075 金絲草
026 淡竹葉	116 細葉金午時草	156 食茱萸
027 甘蔗	117 白花虱母	157 倒地鈴 (粽子草)
028 楓香	118 野牡丹	158 魚腥草
029 射干	119 樹蘭	159 虎耳草
030 鳶尾	120 香椿	160 砲仗竹
031 魚針草	121 香椿花	161 甜珠草
032 伏散血草	122 木防己	162 釘地蜈蚣
033 金錢薄荷	123 寬筋藤	163 龍鱗草

- |                |              |               |
|----------------|--------------|---------------|
| 084 貓鬚草        | 124 紫金牛      | 164 枸杞        |
| 085 紫蘇         | 125 大葉校      | 165 黃水茄       |
| 086 白紫蘇        | 126 黃金桂      | 166 鉏仔茄       |
| 087 廣藿香        | 127 稜果榕      | 167 通條木       |
| 088 草石薺        | 128 大葉榕      | 168 百部        |
| 089 台灣木通       | 129 桑        | 169 山芝麻       |
| 090 雞母珠        | 130 紫茉莉      | 170 草梧桐       |
| 091 菊花木        | 131 喜樹       | 171 油茶        |
| 092 翼柄決明       | 132 女貞子      | 172 南嶺菟花      |
| 093 望江南        | 133 桂花       | 173 黃麻        |
| 094 決明         | 134 水丁香      | 174 明日葉       |
| 095 蝴蝶豆木 (飛機草) | 135 石斛       | 175 當歸        |
| 096 紫花野百合      | 136 省藤       | 176 三島柴胡      |
| 097 含羞草        | 137 車前草      | 177 鴨兒芹 (山芹菜) |
| 098 脾錢樹        | 138 竹節蓼      | 178 防葵 (防風)   |
| 099 羅望子        | 139 扛板歸      | 179 芋麻        |
| 100 通天草        | 140 馬齒莧      | 180 台灣敗醬      |
| 101 台灣百合       | 141 排香草      | 181 杜虹        |
| 102 小葉麥門冬      | 142 珍珠菜      | 182 化石樹       |
| 103 闊葉麥門冬      | 143 鳳尾草      | 183 大青        |
| 104 大葉麥門冬      | 144 海川常山     | 184 苦藍盤 (苦明)  |
| 105 長葉麥門冬      | 145 酸棗       | 185 白龍船花      |
| 106 細葉麥門冬      | 146 薔薇       | 186 金露花       |
| 107 台灣黃精       | 147 地榆       | 187 長穗木       |
| 108 菝葜         | 148 大花黃梔     | 188 漢氏山葡萄     |
| 109 台灣油點菜      | 149 黃梔子      | 189 月桃        |
| 110 紫薇         | 150 水線草      | 190 閉鞘薑       |
| 111 假三念 (香葵)   | 151 白花蛇舌草    | 191 鬱金        |
| 112 磨盤草        | 152 雞矢藤      | 192 薑黃        |
| 113 芙蓉 (木芙蓉)   | 153 過山香      | 193 薑花        |
| 114 朱槿         | 154 月橘 (七里香) | 194 山奈        |
| 115 落神葵        | 155 臭芙蓉      | 195 薑三七       |

# 四種科學中藥之交互作用及其對賦形劑效應的探討

郭敏文 卓玟禾 蔡東榮 陳益昇 詹道明

高雄醫學院 藥學研究所

## 摘 要

本實驗中將市售之四種常用中藥材（甘草、麻黃、葛根、芍藥）以適當之溶媒抽取並濃縮成乾粉後，分別與四種常用的賦形劑 (Microcrystalline Cellulose (Avicel PH 101), Corn starch, Dicalcium Phosphate Dihydrate (DCP), Lactose) 以 1 : 1(W/W) 的比例混合打錠。所製得之錠劑分別置於由二種相對濕度 (0 % , 75 % ) 及三種溫度 (35 °C , 45 °C , 60 °C ) 所構成的六種環境中貯存，並定時取出以高效率液相層析儀 (HPLC) 測定其主要成份含量的變化情形。

實驗中並配合示差掃描熱分析儀 (DSC) 預測藥品主成份與賦形劑間的配伍性，與含量分析結果對照。結果顯示兩者確有關係存在。實驗結果顯示，甘草與各賦形劑間並沒有明顯的交互作用。麻黃抽提物的稀釋以 corn starch 為最適宜，DCP 最不適合。葛根抽提物也以 corn starch 為最佳稀釋劑，其餘賦形劑則大約相同。芍藥以 DCP 較不適合當稀釋劑，Avicel pH 101, corn starch, lactose 等賦形劑則沒有明顯的影響。在溫、濕度的影響方面，一般來說水份的存在會明顯增加藥物主成份對溫度的敏感性。但本實驗中甘草內的甘草酸其安定性受濕度的影響甚為有限，較為特殊。

綜合來說，Avicel pH 101 與四種藥品都沒有交互作用。corn starch 則

對部份藥品有安定的作用。DCP則較易造成藥物的不安定，宜謹慎選用。

## 一．緒論

濃縮科學中藥製劑對病患及調劑藥師都提供了方便使用及劑量正確的優點。在將濃縮劑製成粉體或顆粒劑型時，往往需要添加稀釋劑。中藥材之濃縮劑成分複雜而稀釋劑是否對其中之成分會有影響，以及複方中藥物間之交互作用，往往都被忽略掉。

本實驗選擇四種經常以單味藥作用的中藥濃縮劑及四種常用之稀釋劑分別製成1：1比例之錠劑。探討粉體顆粒及在壓力下製成的錠劑之一般物理性質及它們在六種環境（三種溫度，二種濕度）下之安定性。藥物與稀釋劑之交互作用是本實驗探討之重點。

分析方法是以前HPLC來分析各藥物主成份含量及其含量在各種環境下之可能變化。以示差掃描卡計分析法(DSC)，探討藥物與稀釋劑之交互作用。預期瞭解稀釋劑的不同性質對這四種中藥主成份之影響，作為稀釋劑選用的參考。

## 二．計畫目的：

濃縮科學中藥對患者的使用及藥師的調劑，無疑是提供了快速，正確的藥量及方便的服用。在濃縮科學中藥中添加的稀釋劑對中藥安定性的影響及在不同的儲存條件下，藥品的安定性及其與賦形劑可能產生的交互作用情形為本實驗所要探討的範圍。本實驗預期利用DSC及HPLC所得的分析資料為濃縮中藥製劑中稀釋劑的選取找尋一較快速而可靠的篩選方法。

### 三．實驗材料與儀器

#### (一) 材料：

##### (1) 賦形劑(excipients)：

Corn starch USP: 惠民製藥股份有限公司

Lactose USP: 裕元貿易股份有限公司

Dicalcium Phosphate Dihydrate: Edward Mendoll Co.,  
Ltd.

Microcrystalline cellulose (Avicel PH 101): 旭化成工  
業株式會社

##### (2) 化學試藥(chemical reagents)：

Methanol: Mallinckrodt Specialty Chemicals Co. U.S.A.

Acetonitrile: Fisher ChemAlert Guide U.S.A.

Citric Acid: Sigma Chemical Co. U.S.A.

Di-Sodium Hydrogen Phosphate 12-water: Nacalai Tesque  
Inc. Tokyo, Japan.

Sodium Lauryl Sulfate: Sigma Chemical Co. U.S.A.

Tetra-n-Butylammonium Bromide: Tokyo Kasei Kogyo Co.,  
Ltd. Japan.

n-Propylparaben: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd. Japan.

Salicylic acid: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.  
Japan.

Indomethacin: Sigma Chemical Co. U.S.A.

Sulfamerazine: Sigma Chemical Co. U.S.A.

Ammonia water: Nihon Shiyaku Industries, Ltd. Japan.

Perchloric acid: Nihon Shiyaku Industries, Ltd. Japan.

##### (3) 標準品(standards)：

麻黃：(-)-Ephedrine HCl: Sigma Chemical Co. U.S.A.

(+)-Pseudoephedrine HCl: Sigma Chemical Co. U.S.A.

甘草：Glycyrrhizin: Nacalai Tesque, Inc. Tokyo, Japan.

葛根：Puerarin: Funakoshi Co., Ltd. Japan.

Daidzein: Extrasynthnese, France.

芍藥：Paeoniflorin: Nacalai Tesque., Inc. Tokyo, Japan.

#### (二) 儀器：

自動油壓打錠機：CARVER® Freds. Carver Inc., Model-C.  
U.S.A.

高效率液相層析儀：Spectra-Physics System (Pump: P1500,  
UV: UV2000, Intergrator: Data Jet Intergrator)

恆溫恆濕機：泰琪精密工業股份有限公司

真空減壓乾燥機：Napco Model-5831 Napco Scientific Co.  
Ltd., U.S.A.

酸鹼度測定儀：Corning pH/ion meter 150, Corning Co., Ltd.  
U.K.

表面積測定儀：Micromeritics Flowsorb II 2300,  
Micromeritics Co., Ltd., U.S.A.

真密度測定儀：Multi-pycnometer, Quantachrome MVP-1  
Quantachrom Co., Ltd., U.S.A.

冷凍乾燥機：LABCONCO, Name Ching Young Co., Ltd.

粉碎機：Retsch Muhle Wuppertal W. Germany

拍擊密度測定儀：STAV 2003, J Engelsmannag

減壓濃縮機：EYELA TOKYO RIKAKIKAI Co., Ltd.

示差掃描熱分析儀：PERKIN ELMER

#### 四．實驗步驟

##### (一) 確認實驗與抽提步驟：

- (1) 初步確認：自坊間中藥行購買甘草、麻黃、葛根、芍藥等四種中藥材，經外觀初步辨認並利用薄層層析法(TLC) 確認無誤後，即將麻黃以外之三種藥材分別以粉碎機粉碎，以利抽提。

##### (2) 薄層層析法(TLC)條件：(結果見圖一)

甘草：

薄層層析板：Silica gel 60 F254

展開溶媒：正丁醇：水：冰醋酸 (7:2:1)

點注量：5  $\mu$ l

展開距離：10 cm

檢出方法：UV 254 nm

結果：對照Glycyrrhizin標準品溶液於Rf值約0.3 處有暗色吸收斑點。

麻黃：

薄層層析板：Silica gel 60 F254

展開溶媒：正丁醇：水：冰醋酸 (4:5:1 上層液)

點注量：5  $\mu$ l

展開距離：10 cm

檢出方法：Ninhydrin spray reagent, 105℃加熱2分鐘。

結果：對照Ephedrine HCl標準品溶液於Rf值約0.5處有粉紅色色點。

葛根：

Puerarin：

薄層層析板：Silica gel 60 F254

展開溶媒：氯仿：甲醇：水（65:35:10 下層液）

點注量：5  $\mu$ l

展開距離：10 cm

檢出方法：UV 365 nm

結果：對照Puerarin標準品溶液於Rf值約0.5處有黃綠色螢光發光點。

Daidzein：

薄層層析板：Silica gel 60 F254

展開溶媒：氯仿：丙酮（7:3）

點注量：5  $\mu$ l

展開距離：10 cm

檢出方法：UV 254 nm

結果：對照Daidzein標準品溶液於Rf值約0.3處有暗色吸收斑點。

芍藥：

薄層層析板：Silica gel 60 F254

展開溶媒：正丁醇：水：冰醋酸（7:2:1）

點注量：5  $\mu$ l

展開距離：10 cm

檢出方法：

p-Anisaldehyde/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> spray reagent, 105℃加熱2分鐘。

結果：對照Paeoniflorin標準品溶液於Rf值約0.6處有藍紫色色點。

### （3）溶媒篩選：

爲使藥物中主成分能完整的抽取，本實驗以三種溶媒進行抽取，比較其抽取效率，以獲得最佳之抽取條件。

- <1> 以水抽取：稱取四種粉碎之藥材各100g（麻黃50g），分別以蒸餾水1000ml浸泡並加熱攪拌。沸騰1小時後冷卻過濾。煮沸期間並不斷以熱蒸餾水補充。濾液以水稀釋至1000ml後以HPLC分析各主成分之含量。

<2> 以甲醇抽提：稱取四種粉碎之藥材各100g (麻黃50g)，分別加入甲醇1000ml加熱，迴流攪拌1小時後冷卻過濾。濾液以水稀釋至1000ml後以HPLC分析各主成分之含量。

<3> 以甲醇及水(1:1)抽提：稱取四種粉碎之藥材各100g (麻黃50g)，分別加入溶媒1000ml加熱，迴流攪拌1小時後冷卻過濾。濾液以水稀釋至1000ml後以HPLC分析各主成分之含量。

#### (4) 大量萃取：

對甘草、麻黃、葛根及芍藥等四種中藥材，利用上一步驟中所得之最佳抽提溶媒進行抽提。首先稱取粉碎之藥材1公斤，加入5公升之溶媒以迴流裝置加熱攪拌1小時。冷卻後過濾，收集濾液。殘渣重複抽取二次，將三次濾液混合後，以減壓濃縮機除去甲醇後，再以冷凍乾燥機乾燥得到粉狀的抽取物。抽取物密封後冷藏保存，留待儲存實驗時使用。

### (二) 賦形劑之各種物理性質測定：

#### 1. 粉體粒子大小及分佈：

(particle size and size distribution)

取少量粉末，加入一滴分散劑(Coulter dispersant)研和均勻，加入少量電解液(Isoton II)攪和均勻。取少量懸浮液滴入電解液之燒杯中，以超音波振盪30秒，以庫爾特粒度分析儀(Coulter Counter Multisizer II)測定其粒子大小及大小分佈。

#### 2. 粉體比表面積之測定：

(specific surface area)

以Micrometrics Flowsorb II 2300來檢測。

- (1) 先將待測檢品置於Flowsorb II 2300之Degas位置。30分鐘後，換至Test位置。
- (2) 將檢品試樣管浸在液態氮中，待吸附完全後清除吸附之表面積值。
- (3) 移去液態氮，換以室溫下的水，使檢品溫度很快回復至室溫，開始去附。
- (4) 去附完全，記錄表面積值。
- (5) 取下檢品稱重，減去試樣管重量，得淨檢品重量。每個檢品重複(1)~(4)步驟3至5次，求其平均值及標準偏差。

$$\text{比表面積} = \frac{\text{表面積}}{\text{檢品重}} \quad (\text{m}^2/\text{g})$$

### 3. 粉體真密度之測定：

(true density)

真密度測定儀 Multi-Pycnometer.

先將粉體置於烘箱中，以 60℃ 乾燥 24 hrs，以氮氣取代法來測定。

### 4. 粉體拍擊密度及假密度之測定：

(tapped bulk density and bulk density)

拍擊密度測定儀 Englesmann Bulk Density Apparatus. 粉體粉末 (或顆粒) 先以 500 $\mu$ m 篩網過篩。取 100ml 量筒，精確稱量並記錄之。將已精稱過之量筒，傾斜一固定角度，以藥刀小心且緩慢地把粉體倒入量筒，至體積 100ml 為止。啓動馬達 (250 r.p.m.)，拍擊次數從 0 ~ 500 次，每隔 50 次記錄其體積的變化情形。每種粉體重覆 3 次，取其平均值。依下列公式求得拍擊密度和粉體相對密度：

$$\begin{aligned} D_{tb} &= W/V & W &= \text{粉體達到 100ml 時的重量} \\ & & v &= \text{經拍擊後粉體的體積} \\ D_{tb} &= \text{拍擊密度 (Tapped Bulk Density)} \\ D_{rd} &= D_{tb}/D_t & D_{rd} &= \text{相對密度 (Relative Density)} \\ & & D_t &= \text{粉體的真密度 (True Density)} \end{aligned}$$

### 5. 粉體之拍擊壓縮性：

(compressibility on tapping)

$$\text{Compressibility \%} = (D_{tb} - D_b) / D_{tb} \times 100$$

$D_{tb}$  = 粉體的拍擊密度 (Tapped Bulk Density)

$D_b$  = 粉體的假密度 (Bulk Density)

### 6. 粉體及顆粒之流動性：

(flowability)

以 Flow meter 來檢測一定時間內粉體的流動量 (g/min) 作為粉體流動性之評估。

## (三) 錠劑之製備：

1. 將四種藥品的萃取物分別混以 corn starch、lactose、DCP、Avicel PH 101 等四種常用的賦形劑，得到 16 種錠劑處方 (如表一所列)。處方中之混合比例為 1:1。為探討賦形劑與藥品間之交互作用情形，本實驗中所有處方均不添加 binder 及其它賦形劑。各處方混合時以研鉢及杵研磨混合 40 分鐘，以確保混合均勻。
2. 各處方於充分混合後稱取約 300mg 置於 10mm 衝模內以 CARVER® 自動油壓機以適當壓力壓製成錠。所得之錠劑置於裝有 silica gel 之乾

燥皿內。24小時後取出分別精確稱重。以包藥紙包裹並記錄錠劑重量於稱藥紙上，置回乾燥皿備用。

3. 精稱約150mg 未混有賦形劑之純萃取物，以包藥紙包妥後記錄其重量。將此萃取物與錠劑存於同一環境以爲對照之用。

4. 本實驗中之萃取物均具吸濕性，故以上的步驟均應於乾燥的環境中操作，以避免因藥物吸潮而影響錠劑的製備。

(四) 藥物在不同溫度、濕度環境下，貯存前後主成份之含量變化：

1. 錠劑之貯存：

將壓製完成之錠劑及純抽取物置於二種濕度及三種溫度所組成的六種貯存環境中儲存（如表二所列）。並分別於貯存第零個月（貯存前），第一個月，及第二個月抽樣以HPLC測定各錠劑及萃取物的主成份含量變化。

2. HPLC含量分析：

在找尋HPLC條件前先測得各標準品之UV吸收光譜，以提供HPLC分析條件中檢出波長選定之依據。並且於各次含量分析前以detector之UV scan功能確認分析對象。（見圖二～圖七）

(1) 甘草：

1). 分析條件：

Column: Nova-Pak® RP-C18

Column temperature: room temperature

移動相: 0.2M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  275ml + 0.1M Citric acid 225ml +  $\text{CH}_3\text{CN}$  185ml + n-Tetrabutyl Ammonium Bromide 0.25g, pH=5.4

流速: 1 ml/min

檢出波長: UV 250nm

內部標準品: n-Propylparaben

注入量: 20 $\mu$ l

滯留時間：

Glycyrrhizin: 6.65 min

n-Propylparaben: 10.84 min

(圖八)

2). 檢量線的製作：

Glycyrrhizin標準溶液之製備：

精確稱取Glycyrrhizin標準品約25mg，置於100ml的定量瓶內。以1%之氨水溶解後，稀釋至100ml。得到Glycyrrhizin濃度0.25 mg/ml的標準溶液甲。分別量取7ml, 5ml, 3ml, 1ml之甲溶液分別置於10ml定量瓶中，以1%氨水稀釋至標示處。即可得到Glycyrrhizin濃度為0.175, 0.125, 0.075, 0.025mg/ml之乙，丙，丁，戊標準溶液。

內部標準溶液的配製：

精確稱取內部標準品n-Propylparaben約100mg置於100ml的定量瓶裡。以甲醇溶解後，加甲醇稀釋至標示點。得到1mg/ml n-Propylparaben的內部標準溶液。

檢量線：

精確量取甲～戊溶液各1ml，分別與1ml之內部標準溶液混合。均勻混合後，各取20 $\mu$ l打入HPLC中。

## (2) 麻黃：

### 1). 分析條件：

Column: Nova-Pak<sup>®</sup> RP-C18

Column temperature: room temperature

移動相： $H_2O:MeOH:Sod. Lauryl Sulfate:H_3PO_4=60:100:0.25:0.2$

檢出波長：UV 256nm

流速：1 ml/min

內部標準品：Indomethacin

注入量：20 $\mu$ l

滯留時間：

(+)-Pseudoephedrine: 6.05 min

(-)-Ephedrine: 6.85 min

Indomethacin: 8.75 min

(圖九)

### 2). 檢量線的製作：

(-)-Ephedrine, (+)-Pseudoephedrine標準溶液之配製：

精確稱取(-)-Ephedrine HCl標準品約10mg及(+)-Pseudoephedrine HCl約50mg，同置於500ml的定量瓶內。加水溶解後，稀釋至500ml。得到(-)-Ephedrine, (+)-Pseudoephedrine濃度分別為0.02 mg/ml及0.1mg/ml的標準溶液甲。分別量取7ml, 5ml, 3ml, 1ml之甲溶液分別置於10ml定量瓶中，以水稀釋至標示處。即可得到

乙，丙，丁，戊等標準溶液。其(-)-Ephedrine HCl 的濃度分別為 0.014, 0.01, 0.006, 0.025mg/ml, (+)-Pseudoephedrine HCl 的濃度分別為 0.07, 0.05, 0.03, 0.01mg/ml。

內部標準溶液的配製：

精確稱取內部標準品 Indomethacin 約 100mg 置於 100ml 的定量瓶裡。以甲醇溶解後，加甲醇稀釋至標示點。得到 1mg/ml Indomethacin 的內部標準溶液。

檢量線：

精確量取甲～戊溶液各 1ml，分別與 1ml 之內部標準溶液混合。均勻混合後，各取 20 $\mu$ l 打入 HPLC 中。

### (3) 葛根：

Puerarin

1). 分析條件：

Column: Nova-Pak® RP-C18

Column temperature: room temperature

移動相： $H_2O:CH_3CN:H_3PO_4 = 89.5:10.5:0.05$

檢出波長：UV 250nm

流速：1 ml/min

內部標準品：Sulfamerazine

注入量：20 $\mu$ l

滯留時間：

puerarin: 5.97 min

sulfamerazine: 4.02 min

(圖十)

2). 檢量線的製作：

Puerarin 標準溶液之配製：

精確稱取 Puerarin 標準品約 10mg，置於 100ml 的定量瓶內。加水溶解後，稀釋至 100ml。得到 Puerarin 濃度為 0.1mg/ml 的標準溶液甲。分別量取 7ml, 5ml, 3ml, 1ml 之甲溶液分別置於 10ml 定量瓶中，以水稀釋至標示處。即可得到乙，丙，丁，戊等標準溶液。其 Puerarin 的濃度分別為 0.07, 0.05, 0.03, 0.01mg/ml。

內部標準溶液的配製：

精確稱取內部標準品 Sulfamerazine 約 20mg 置於 100ml 的定量瓶裡。以甲醇溶解後，加甲醇稀釋至標示點。得到 0.2mg/ml sulfame-

razine 內部標準溶液。

檢量線：

精確量取甲～戊溶液各 1ml，分別與 1ml之內部標準溶液混合。均勻混合後，各取20 $\mu$ l打入HPLC中。

Daidzein:

Column: Nova-Pak® RP-C18

Column temperature: room temperature

移動相:  $H_2O:CH_3CN:H_3PO_4 = 80:20:0.1$

檢出波長: UV 250nm

流速: 1 ml/min

內部標準品: Salicylic acid

注入量: 20 $\mu$ l

滯留時間:

daidzein: 10.78 min

salicylic acid: 7.83 min

(圖十)

## 2). 檢量線的製作：

Daidzein標準溶液之配製：

精確稱取Daidzein標準品約10mg，置於1000ml的定量瓶內。加水溶解後，稀釋至1000ml。得到Daidzein濃度為0.01 mg/ml的標準溶液甲。分別量取7ml, 5ml, 3ml, 1ml之甲溶液分別置於10ml定量瓶中，以水稀釋至標示處。即可得到乙，丙，丁，戊等標準溶液。其Daidzein 的濃度分別為0.007, 0.005, 0.003, 0.001 mg/ml。

內部標準溶液的配製：

精確稱取內部標準品salicylic acid約10mg置於100ml 的定量瓶裡。以甲醇溶解後，加甲醇稀釋至標示點。得到0.1mg/ml salicylic acid內部標準溶液。

檢量線：

精確量取甲～戊溶液各 1ml，分別與 1ml之內部標準溶液混合。均勻混合後，各取20 $\mu$ l打入HPLC中。

## (4)白芍：

### 1). 分析條件：

Column: Nova-Pak® RP-C18

Column temperature: room temperature

移動相:  $\text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{CN} : \text{HClO}_4 = 87.5 : 12.5 : 0.05\%$   
/ $(\text{NH}_4\text{OH}, \text{pH} = 3.2)$

檢出波長: UV 232nm

流速: 1 ml/min

內部標準品: Salicylic acid

注入量: 20 $\mu$ l

滯留時間:

Paeoniflorin: 6.34 min

Salicylic acid: 10.23 min

(圖十一)

## 2). 檢量線的製作:

Paeoniflorin標準溶液之配製:

精確稱取Paeoniflorin標準品約30mg, 置於100ml的定量瓶內。加甲醇溶解後, 稀釋至100ml。得到Paeoniflorin濃度為0.3mg/ml的標準溶液甲。分別量取7ml, 5ml, 3ml, 1ml之甲溶液分別置於10ml定量瓶中, 以甲醇稀釋至標示處。即可得到乙, 丙, 丁, 戊等標準溶液。其Paeoniflorin的濃度分別為0.21, 0.15, 0.09, 0.03mg/ml。

內部標準溶液的配製:

精確稱取內部標準品Salicylic acid約10mg置於100ml的定量瓶裡。以甲醇溶解後, 加甲醇稀釋至標示點。得到0.1mg/ml Salicylic acid的內部標準溶液。

檢量線:

精確量取甲~戊溶液各1ml, 分別與1ml之內部標準溶液混合。均勻混合後, 各取20 $\mu$ l打入HPLC中。

## (五) 藥物與賦形劑間之配伍情形:

本實驗以示差掃描熱分析儀(DSC)來探討藥物與賦形劑間可能產生的交互作用。由於萃取物中成份複雜, 主成份含量偏低, DSC圖較難判讀。本實驗採單一之主成份與賦形劑混合。首先將標準品與賦形劑以1:1充分混合後, 稱取約5mg置於鋁盤(Aluminum pan)中, 蓋上鋁蓋密封後, 於室溫下儲存一個月。操作前先於乾燥箱內去水24小時。取出後以10 $^{\circ}\text{C}/\text{Min}$ 的加熱速率測其DSC圖, 並與純成份的結果對照判讀。

## 五．結果與討論

### (一) 賦形劑之物理特性 (見附錄)

附錄表(一)爲賦形劑的物理性質，包括真密度，粗密度，比表面積，安息角以及水份含量測定等。

附錄表(二)爲四種賦形劑的相對密度。

### (二) 不同溶媒抽提效果之比較：

將不同溶媒抽提結果，以冷凍乾燥法得到之粉末，精確稱取適量以蒸餾水溶解並利用內部標準法以HPLC分析主成份含量後，結果列於表三。

由表三中可看出，除麻黃以外，甘草、葛根及芍藥均以水與甲醇的混合溶媒(1:1)抽提效果最佳。這是因爲這三種藥材中都含有大量的澱粉。以水爲溶媒時，大量的澱粉會阻礙萃取液的過濾，進而影響其抽提效果。其中葛根甚至因而無法過濾。而麻黃因爲是植物的莖部，澱粉較少，因此其水溶性甚佳的麻黃素就以水的抽提效果最佳。

### (三) 利用示差掃描熱分析儀觀察藥物與賦形劑間之交互作用情形：

在示差掃描卡計法(DSC)中，當化學系統的溫度以定速上升時，用來補償此化學系統於加熱過程所可能產生的熱反應所需的能量即被記錄。將給熱功率對溫度作圖後即得到我們所看到的DSC圖。由DSC圖上的吸(放)熱峰(peak)我們可看出物質在不同溫度下所進行的熱反應。當兩種以上物質混合時，peak的出現，消失，位移，外形的改變，或是面積的改變都表示有交互作用產生的可能。

#### 1. 四種賦形劑的熱分析圖：

- (1) Corn starch: 在大約80℃時有一個吸熱峰，此峰爲巨型分子排列改變所造成。(圖十二)
- (2) Avicel PH 101: 在約68℃附近有一與Corn starch類似的吸熱峰。(圖十三)
- (3) Lactose: 由熱分析圖上可判斷此Lactose爲 $\alpha$ -form monohydrate。其DSC圖上147℃處有一peak，此爲結晶水脫離時吸熱的結果。在220℃左右有一peak，此爲結晶熔解的結果。(圖十四)

- (4) DCP: 在140℃及153℃有兩個小peak, 192℃則有一較高的吸熱峰。  
(圖十五)

## 2. 藥物主成份之熱分析圖及與賦形劑交互作用的情形:

- (1) Glycyrrhizin: 在210℃左右有一peak, 可能是晶體熔解的peak。  
隨後即開始分解。(圖十六)

當glycyrrhizin與DCP混合貯存時(圖十七), 210℃的peak似已變小, 且已位移到220℃處。但如從其面積及高度來看, 則除了glycyrrhizin的熔點稍有移動外, 幾乎可以判斷二者並沒有重要的交互作用。Glycyrrhizin與其它賦形劑的混合結果幾乎都是二組成份DSC圖的重疊(圖十八~二十)。因此綜合以上DSC圖的結果可知, Glycyrrhizin與所使用的四種賦形劑間都沒有明顯的交互作用產生。

- (2) (-)-Ephedrine: 在220℃有一很sharp的peak。此為(-)-ephedrine的熔點。(圖二十一)

(+)-Pseudoephedrine: 在186℃左右有一peak, 這是它的熔點(圖二十二)。

從混合的結果來看(圖二十三~三十), (-)-ephedrine及(+)-pseudoephedrine都跟Avicel PH 101與DCP沒有交互作用。但兩者與lactose及corn starch混合時, 其peak都有偏離或變形的情形產生, (+)-pseudoephedrine與corn starch的混合甚至在192℃出現一新的吸熱峰。因此可知二者與Avicel PH 101及DCP都沒有交互作用。但卻與corn starch及lactose有交互作用。

- (3) Daidzein: 在342℃左右有一個熔解的peak。(圖三十一)

當Daidzein與corn starch混合儲存後, 兩者原先的peaks都已消失(圖三十二)。代之出現的是280℃開始出現的分解雜峰。而在此之前並沒有其它新出現的peak。這顯示二者於儲存期間即已有某種型式的交互作用發生。但是當daidzein與其它三種賦形劑混合儲存時, 所得DSC圖均為原組成分的組合(圖三十三~三十五)。其中與lactose混合時在175℃有一個放熱峰, 此為lactose在與其它藥物混合時, 混合過程可能對lactose晶形產生破壞, 在此溫度下形成結晶的放熱情形。因此此peak在所有的lactose混合物中都會出現。所以從DSC圖上的判斷, daidzein除了與corn starch有交互作用外, 與其餘的三種賦形劑都沒有明顯的交互作用。

- (4) Puerarin: puerarin的DSC圖並沒有太大的特徵, 僅在175℃處有一peak小而不明顯(圖三十六)。此一peak在與四種賦形劑混合貯存時, 都仍在原處出現, 外形也都沒有改變(圖三十七~四十)。因此從DSC圖上並無法看出有任何交互作用的發生。

(5) Paeoniflorin: paeoniflorin的DSC圖就如puerarin一樣，其特徵也不明顯，在106℃的peak也是小而扁平（圖四十一）。此peak在與lactose, Avicel PH 101, corn starch等賦形劑混合時，並沒有什麼改變（圖四十二～四十四）。但當它與DCP混合時，則在161℃附近出現一未知的peak（圖四十五），顯示paeoniflorin與DCP間可能交互作用的發生。

### 3. 藥物在貯存前後主成份含量的變化情形：

將萃取得到的藥物粉體與四種賦形劑混合打錠後，將錠劑及原藥粉依六種不同的溫、濕度條件儲存（如表二所示）。並於固定的時間裡取出，以HPLC定其主成份之含量。定量結果如表四～表九所列。表中將儲存前的含量訂為100%。主成份的變化情形則如圖四十六～圖五十一所示。

(1) Glycyrrhizin: 在儲存2個月後，甘草萃取物內的glycyrrhizin含量已下降到74%左右。而以稀釋劑1:1稀釋後的錠劑其glycyrrhizin含量都大約在80%左右，尤其以corn starch混合打錠時，其glycyrrhizin含量約在82%左右，殘存比例最高。顯示各稀釋劑與甘草中glycyrrhizin並沒有明顯的交互作用，因此在被稀釋的情形下，glycyrrhizin的變化都變得較為緩和，尤其以corn starch為稀釋劑時，其殘存量最多。

另外，從不同貯存條件所得的結果顯示，glycyrrhizin貯存時的含量變化受相對濕度或溫度的影響都很小。這很可能是因為glycyrrhizin的轉變機制與水無關。（表四、圖四十六）

(2) (-)-ephedrine & (+)-pseudoephedrine: 從含量的變化情形顯示，相對於原抽取物的變化情形，以Avicel PH 101, corn starch或DCP為稀釋劑的主成份變化情形顯然較為緩和，不論是否有水的存在。而其中以corn starch的減少速率最慢。相反地，lactose中的(-)-ephedrine及(+)-pseudoephedrine的減少速率則與萃取物大約相同，甚至更快些。以上的結果可能是因為Avicel PH 101或DCP與麻黃萃取物並沒有交互作用。因此在1:1混合後，稀釋作用使得主成份含量減少速率減緩。而corn starch從DSC圖中顯示可能有交互作用的發生，例如(+)-pseudoephedrine在192℃左右有一新生成，似晶形熔解的peak出現。而(-)-ephedrine與(+)-pseudoephedrine可能就因此交互作用而變的更為安定。Lactose從DSC圖上也可看出與麻黃的主成份均有交互作用。圖中可看出二成份與lactose混合後都多少造成了lactose晶形的破壞（150℃的放熱峰及220℃ peak外形的改變）。可能就因為此作用而造成了lactose中主成份含量比其它賦形劑更少的原因。

在溫、濕度的影響方面，在濕氣的存在下，溫度對主成份安定性的影響變得較大而明顯，在乾燥的環境中則影響不大。

(表五、六，圖四十七、四十八)

- (3) Daidzein: 從HPLC的daidzein含量分析結果顯示，葛根萃取物與Avicel PH 101, lactose, DCP等三種賦形劑混合貯存時，其daidzein變化情形與純萃取物相仿。但與corn starch混合的結果，其含量消失速率卻明顯比其它處方慢。由以上含量分析的結果配合DSC圖的判斷，可能是daidzein與corn starch混合貯存後，兩者即產生某種形式的交互作用。此作用使得daidzein處於更安定的環境，因此其含量之變化速率明顯減緩。

在溫、濕度的影響方面，從含量分析結果顯示，在乾燥的情形下，含量的變化受溫度的影響甚為有限。但在相對濕度75%時則明顯受溫度影響。其中以corn starch所受的影響最少。

(表七、圖四十九)

- (4) Puerarin: puerarin的含量變化情形與daidzein很類似，但在DSC圖上，176℃的peak在與賦形劑混合後的變化情形則較不顯著。含量變化在不同賦形劑間的差異也較小。在儲存條件的影響上，也和daidzein樣在水份的存在下才會較明顯地受溫度影響。

(表八、圖五十)

- (5) Paeoniflorin: 在相對濕度75%時，芍藥-DCP混合物的paeoniflorin含量下降速率最快。此結果與DSC所得到的結果相吻合。其它賦形劑從含量的變化來看與純抽取物的變化情形並沒有太大的差別。在受溫、濕度的影響方面仍与其它藥品類似，當環境為乾燥時，則不同的溫度所得的結果並沒有明顯的差異。但在75%相對濕度下，則溫度越高，含量下降越快。

(表九、圖五十一)

## 六．結論

1. 濃縮中藥中常會添加不同種類的稀釋劑，而這些賦形劑的添加，的確會因藥物及賦形劑不同的性質，而會對藥物產生不同程度的影響。這些影響可能造成藥物成份的不安定，也可能使其更安定，也可能只是簡單的稀釋而已。對於無交互作用者可用DSC預測。但對於有交互作用者，其如何影響藥物的安定性則需藉由含量分析方能得知。
2. Glycyrrhizin與各賦形劑間並沒有太明顯的交互作用存在。其安定性受溫度及濕度的影響也很有限。

3. 麻黃萃取物以 Avicel PH 101, DCP, 或 corn starch 為稀釋劑時, (-)-Ephedrine 與 (+)-pseudoephedrine 的含量在實驗的濕度下, 其下降速率都會減緩。其中以 corn starch 最慢。當麻黃萃取物以 lactose 為稀釋劑時, 其主成份安定性顯然比其它配方差。
4. 葛根萃取物與稀釋劑混合時, 除 corn starch 會使主成份 (puerarin, daidzein) 更安定外, 其餘賦形劑對安定性的影響並不大。
5. 芍藥萃取物以 DCP 為稀釋劑時, paeoniflorin 的安定性最差。其餘賦形劑則差異不大。
6. 濕度對安定性的影響以葛根及芍藥較為顯著, 麻黃次之, 對甘草的影響則較不明顯。
7. 溫度對本實驗中的藥物安定性的影響需在有水份的存在下才會顯現。對甘草的影響則較為有限。

表一．本計劃實驗所使用之配方

藥 材	Avicel PH 101	lactose	DCP	corn starch	-----
甘 草	Rx 1	Rx 2	Rx 3	Rx 4	Rx 5
麻 黃	Rx 6	Rx 7	Rx 8	Rx 9	Rx 10
葛 根	Rx 11	Rx 12	Rx 13	Rx 14	Rx 15
芍 藥	Rx 16	Rx 17	Rx 18	Rx 19	Rx 20

\*表中各處方的混合比例均為 1:1。

\*Rx 5, Rx 10, Rx 15, Rx 20 等各處方僅有藥品抽取物。

表二．本計劃實驗所使用之貯存條件

儲存 條件 編號		溫度 (°C)		
		35	45	60
相對 濕度 (%)	0	C3500	C4500	C6000
	75	C3575	C4575	C6075

\*儲存條件中以無水 silica gel 所得之乾燥環境其相對濕度設為 0%。

表三．不同溶媒抽提效果之比較

藥材	成分	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O:MeOH 1:1	MeOH
芍藥	Pae%	1.44%	1.60%	1.53%
甘草	Gn %	2.10%	2.25%	0.81%
葛根	Pu %	-----*	0.36%	0.21%
麻黃	Eph%	0.134%	0.042%	0.024%
	PEp%	0.520%	0.172%	0.128%

\* 黏稠度過高，無法過濾。

表四．Glycyrrhizin 貯存殘存率

貯存 條件		Rx 1	Rx 2	Rx 3	Rx 4	Rx 5
	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	100.28%	98.39%	93.58%	99.81%	102.37%
	二個月	99.64%	96.45%	97.42%	93.62%	100.66%
C3575	一個月	99.78%	94.58%	96.37%	96.38%	99.43%
	二個月	98.28%	91.94%	91.97%	90.86%	101.04%
C4500	一個月	102.56%	98.60%	98.47%	99.67%	100.56%
	二個月	95.22%	90.77%	90.99%	87.30%	97.53%
C4575	一個月	95.22%	90.49%	89.25%	92.95%	94.97%
	二個月	91.44%	78.64%	88.34%	87.43%	85.29%
C6000	一個月	98.78%	95.06%	85.96%	95.23%	97.91%
	二個月	93.22%	93.19%	79.32%	90.52%	92.59%
C6075	一個月	70.18%	58.55%	72.96%	66.45%	61.95%
	二個月	56.34%	44.34%	60.52%	56.36%	51.42%

表五. (-)-Ephedrine 貯存殘存率

貯 存 條 件		Rx 6	Rx 7	Rx 8	Rx 9	Rx10
	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	105.96%	94.45%	95.57%	103 %	94.17%
	二個月	97.13%	91.37%	83.50%	93 %	83.49%
C3575	一個月	97.13%	93.42%	94.56%	98 %	92.23%
	二個月	96.02%	87.26%	82.49%	88 %	82.52%
C4500	一個月	109.27%	102.66%	94.56%	101 %	95.14%
	二個月	100.44%	88.29%	91.54%	90 %	84.46%
C4575	一個月	91.61%	87.26%	84.50%	91 %	78.64%
	二個月	91.61%	82.13%	82.49%	96 %	76.69%
C6000	一個月	103.75%	97.53%	92.55%	100 %	88.34%
	二個月	94.92%	95.48%	84.50%	93 %	80.58%
C6075	一個月	92.71%	85.21%	79.47%	88 %	69.90%
	二個月	70.64%	65.70%	72.43%	77 %	61.16%

表六. (+)-Pseudoephedrine 貯存殘存率

貯 存 條 件		Rx 6	Rx 7	Rx 8	Rx 9	Rx10
	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	97.36%	96.78%	96.81%	102.00%	97.08%
	二個月	92.71%	89.95%	87.25%	93.77%	86.18%
C3575	一個月	90.68%	95.78%	94.62%	100.60%	95.71%
	二個月	87.24%	88.35%	85.85%	88.35%	83.65%
C4500	一個月	100.20%	103.21%	98.60%	101.60%	95.91%
	二個月	94.53%	92.77%	89.04%	94.17%	87.93%
C4575	一個月	86.43%	89.15%	83.66%	92.36%	80.35%
	二個月	77.53%	79.11%	76.29%	83.93%	74.51%
C6000	一個月	96.76%	99.19%	97.01%	100 %	91.05%
	二個月	90.48%	89.75%	87.25%	91.56%	84.24%
C6075	一個月	78.74%	80.72%	75.29%	89.15%	73.34%
	二個月	65.58%	74.09%	62.35%	78.91%	64.20%

表七. Daidzein 貯存殘存率

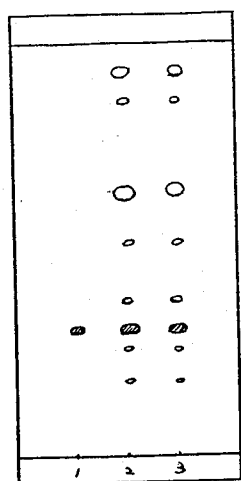
貯 存		Rx 11	Rx 12	Rx 13	Rx 14	Rx15
條 件	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	90.67%	93.61%	97.42%	96.71%	87.36%
	二個月	96.64%	92.90%	89.33%	95.62%	90.61%
C3575	一個月	100.37%	92.55%	96.69%	104.01%	95.30%
	二個月	94.40%	87.23%	95.22%	94.52%	77.97%
C4500	一個月	99.25%	92.90%	93.38%	106.20%	105.41%
	二個月	93.28%	89.36%	91.54%	92.33%	83.75%
C4575	一個月	83.58%	90.42%	84.55%	92.70%	79.06%
	二個月	80.59%	78.36%	81.25%	86.49%	71.84%
C6000	一個月	92.16%	101.41%	94.48%	95.98%	82.67%
	二個月	94.77%	89.71%	90.80%	94.52%	85.19%
C6075	一個月	78.73%	80.14%	77.57%	89.05%	79.42%
	二個月	74.25%	70.92%	71.32%	83.21%	76.17%

表八. Puerarin 貯存殘存率

貯 存 條 件		Rx 11	Rx 12	Rx 13	Rx 14	Rx15
	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	97.62%	95.99%	94.56%	95.05%	92.27%
	二個月	98.41%	95.23%	91.25%	94.80%	91.77%
C3575	一個月	96.83%	93.21%	91.25%	97.32%	87.77%
	二個月	95.77%	87.38%	91.00%	95.05%	80.02%
C4500	一個月	98.41%	96.50%	94.05%	96.31%	96.77%
	二個月	98.94%	94.47%	94.05%	95.81%	92.52%
C4575	一個月	86.27%	90.42%	83.88%	91.52%	81.27%
	二個月	72.29%	71.17%	69.39%	82.19%	74.26%
C6000	一個月	94.19%	93.97%	93.03%	95.05%	93.27%
	二個月	93.93%	92.45%	88.96%	93.54%	89.02%
C6075	一個月	56.72%	68.89%	68.88%	76.14%	84.02%
	二個月	42.21%	54.45%	57.95%	60.76%	47.76%

表九. Paeoniflorin 貯存殘存率

貯 存 條 件	處 方	Rx16	Rx17	Rx18	Rx19	Rx20
	貯存前	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
C3500	一個月	91.50%	89.64%	90.81%	84.87%	83.45%
	二個月	79.73%	76.05%	80.73%	81.84%	76.47%
C3575	一個月	91.99%	92.39%	90.49%	90.44%	85.01%
	二個月	78.10%	78.96%	80.57%	80.49%	75.13%
C4500	一個月	90.03%	90.61%	93.27%	90.60%	86.19%
	二個月	81.69%	81.71%	82.04%	82.08%	77.17%
C4575	一個月	91.33%	92.39%	89.67%	87.26%	86.43%
	二個月	80.88%	82.03%	78.68%	81.84%	71.84%
C6000	一個月	91.83%	90.61%	93.27%	91.40%	86.43%
	二個月	83.00%	81.79%	82.37%	83.83%	72.62%
C6075	一個月	88.39%	90.61%	88.19%	89.64%	77.33%
	二個月	79.16%	82.28%	79.75%	82.72%	70.74%

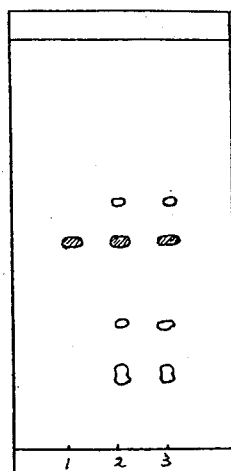


front

start

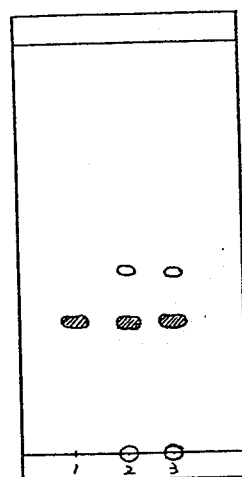
甘草:

1. Glycyrrhizin
  2. Glycyrrhizin + Glycyrrhizae extract
  3. Glycyrrhizae extract
- Solvent system: n-BuOH + H<sub>2</sub>O + CH<sub>3</sub>COOH(7:2:1)



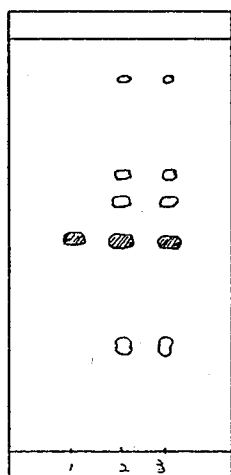
麻黃:

1. (-)-Ephedrine
  2. (-)-Ephedrine + Ephedrae extract
  3. Ephedrae extract
- Solvent system: n-BuOH + H<sub>2</sub>O + CH<sub>3</sub>COOH(4:5:1)



葛根:

1. Daidzein
  2. Daidzein + Puerariae extract
  3. Puerariae extract
- Solvent system: CHCl<sub>3</sub> + Acetone(7:3)

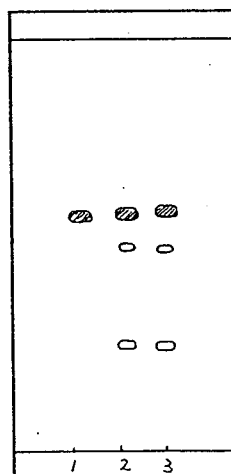


front

start

葛根:

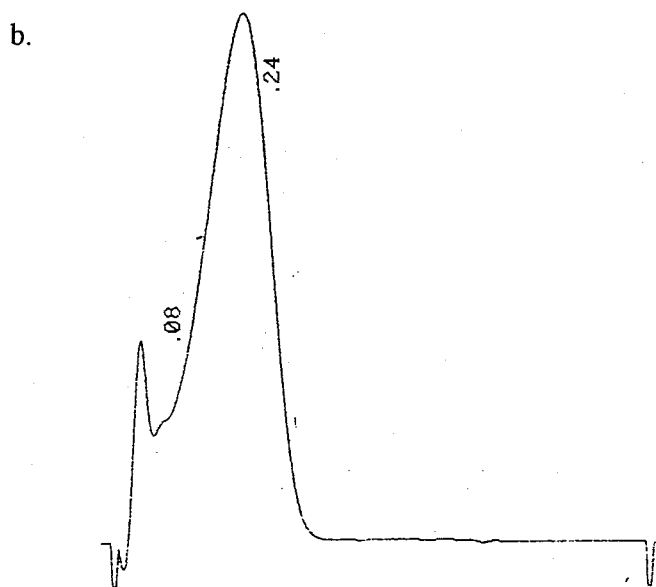
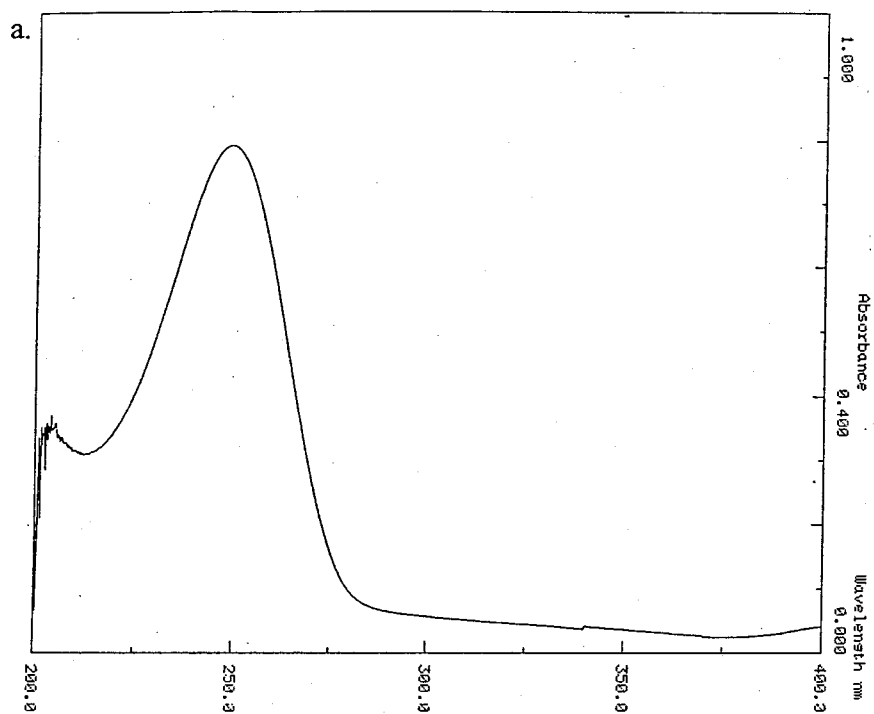
1. Puerarin
  2. Puerarin + Puerariae extract
  3. Puerariae extract
- Solvent system: CHCl<sub>3</sub> + MeOH + H<sub>2</sub>O(65:35:10 lower layer)



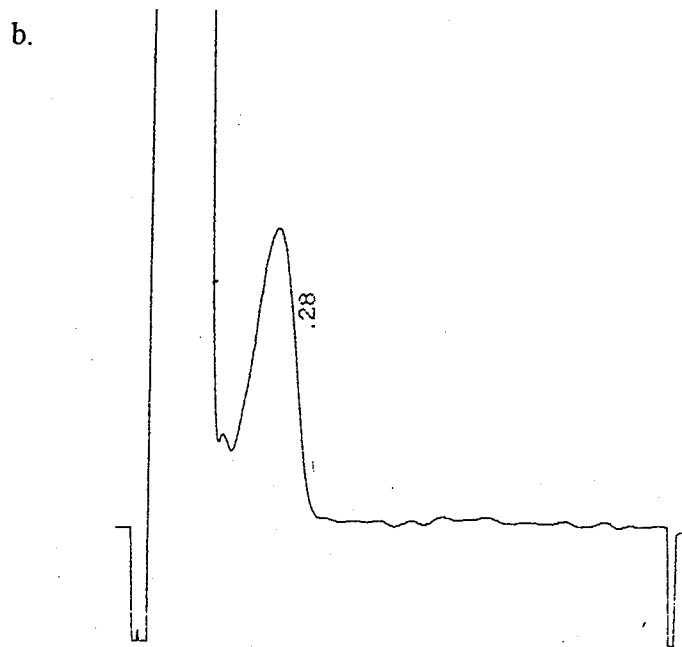
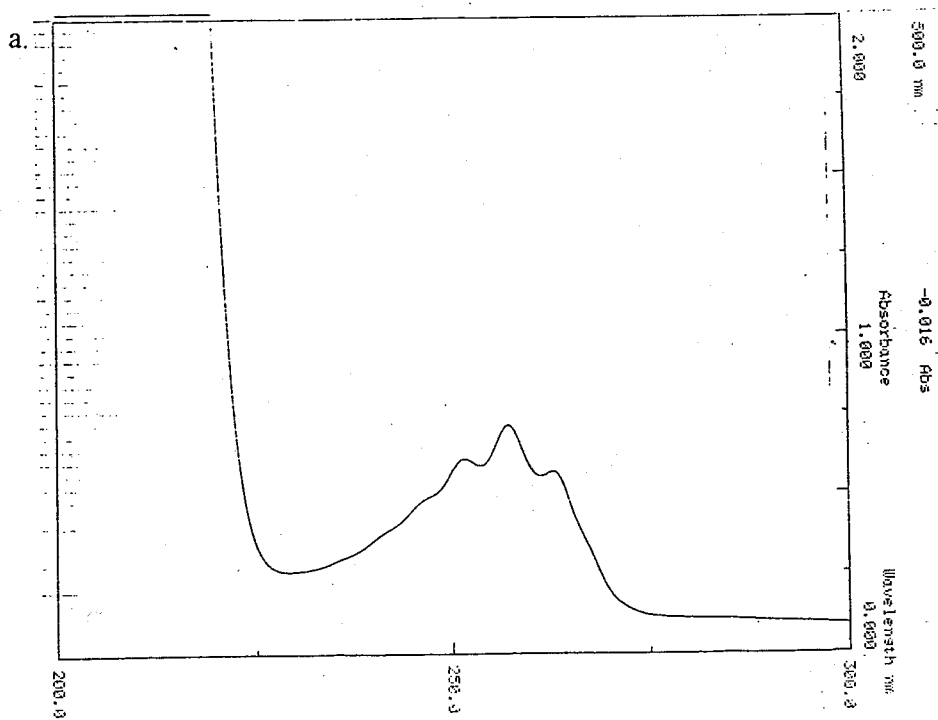
芍藥:

1. Paeoniflorin
  2. Paeoniflorin + Paeony extract
  3. Paeony extract
- Solvent system: n-BuOH + H<sub>2</sub>O + CH<sub>3</sub>COOH(7:2:1)

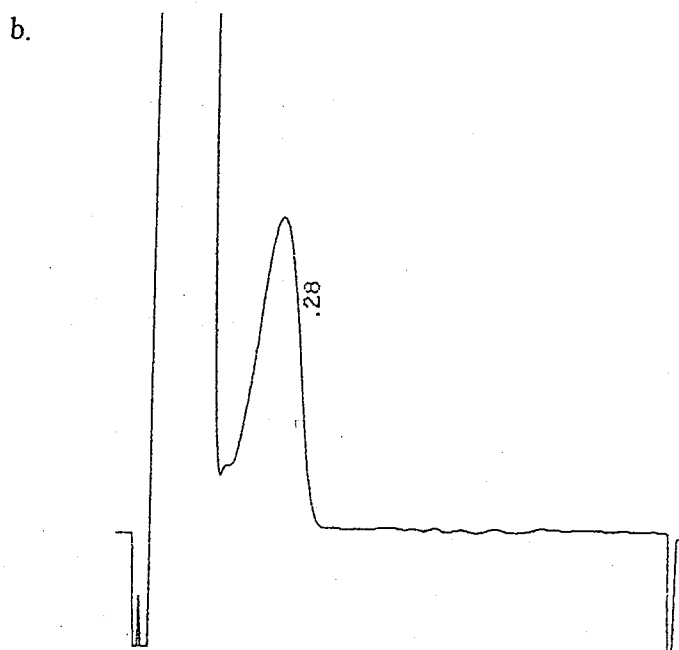
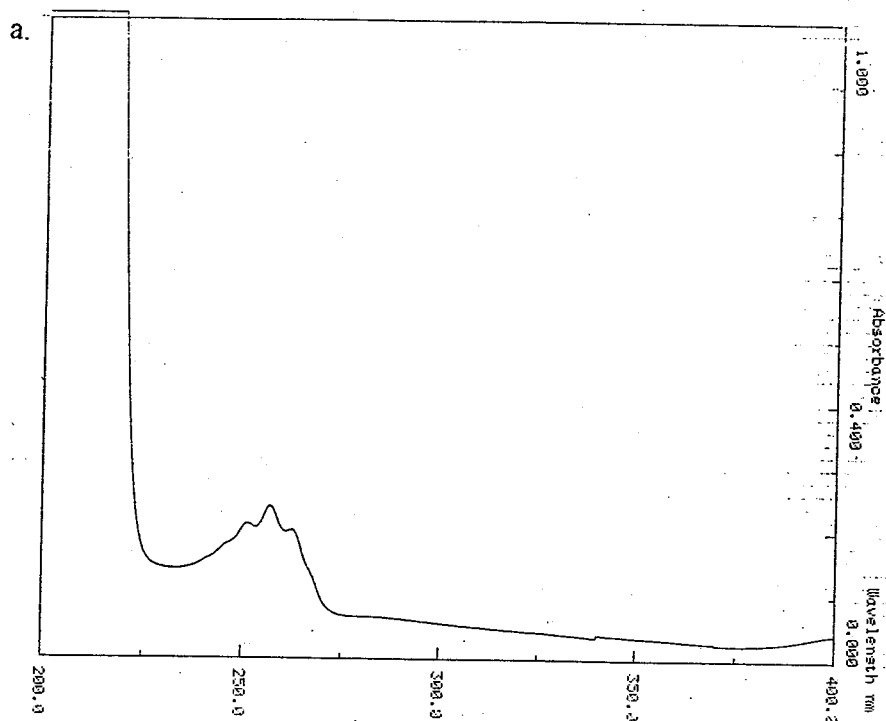
圖一. 四種中藥之薄層層析圖



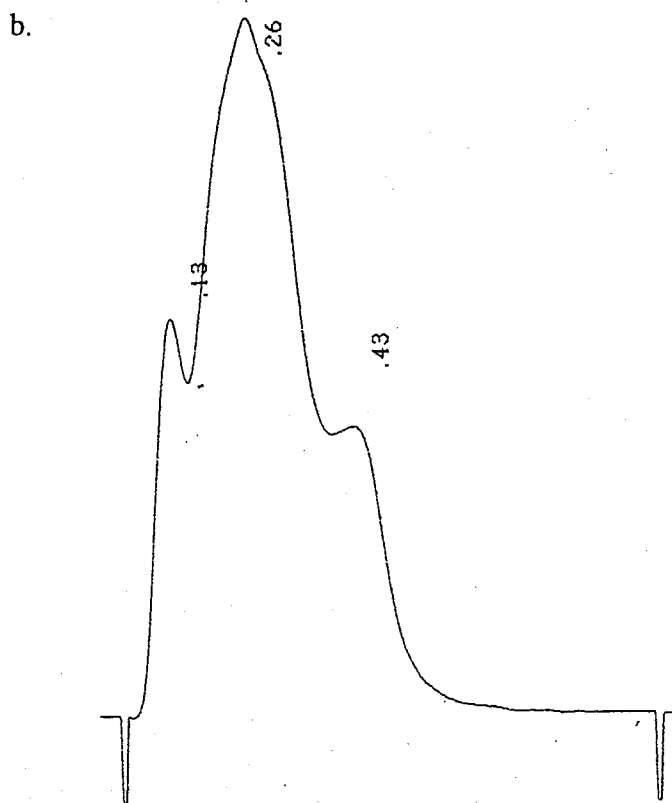
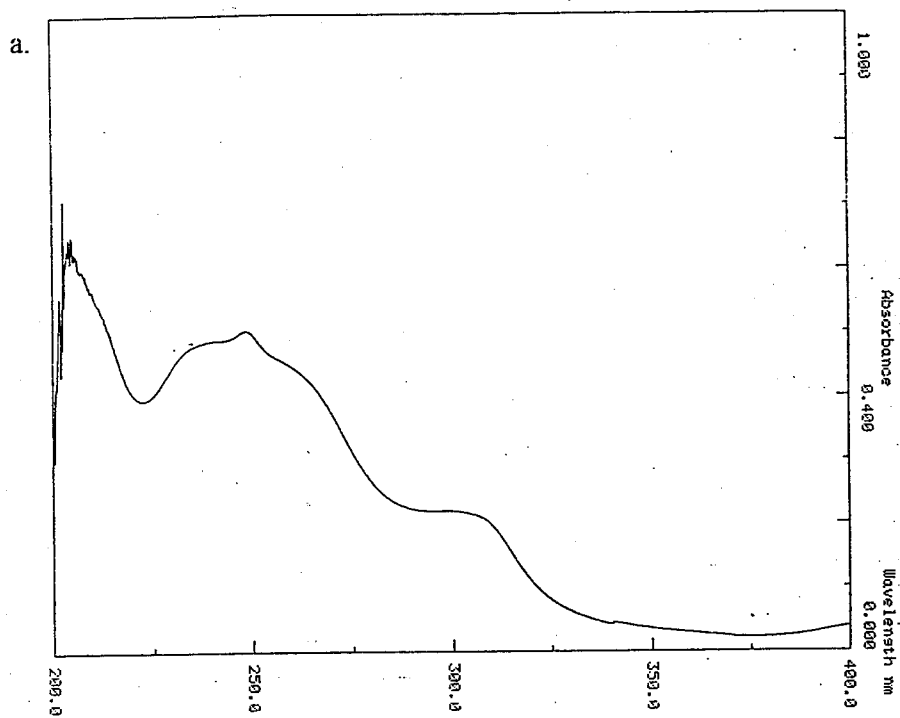
圖二. Glycyrrhizin之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)



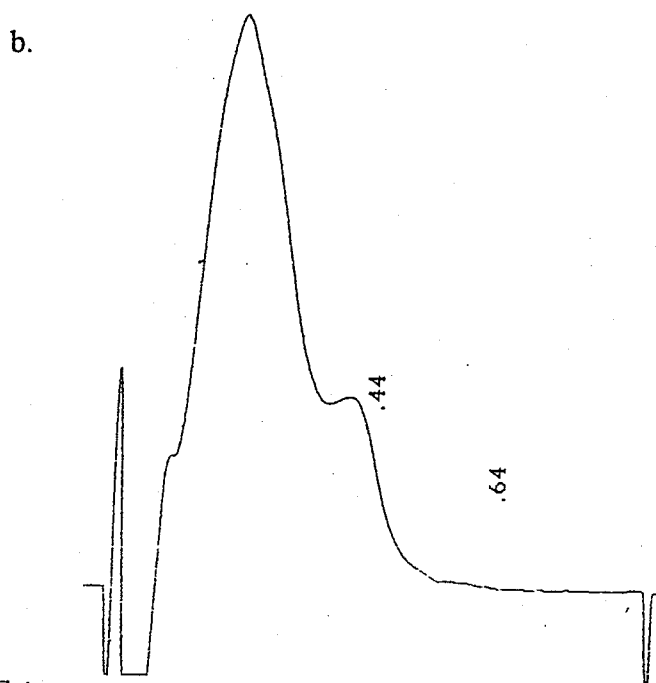
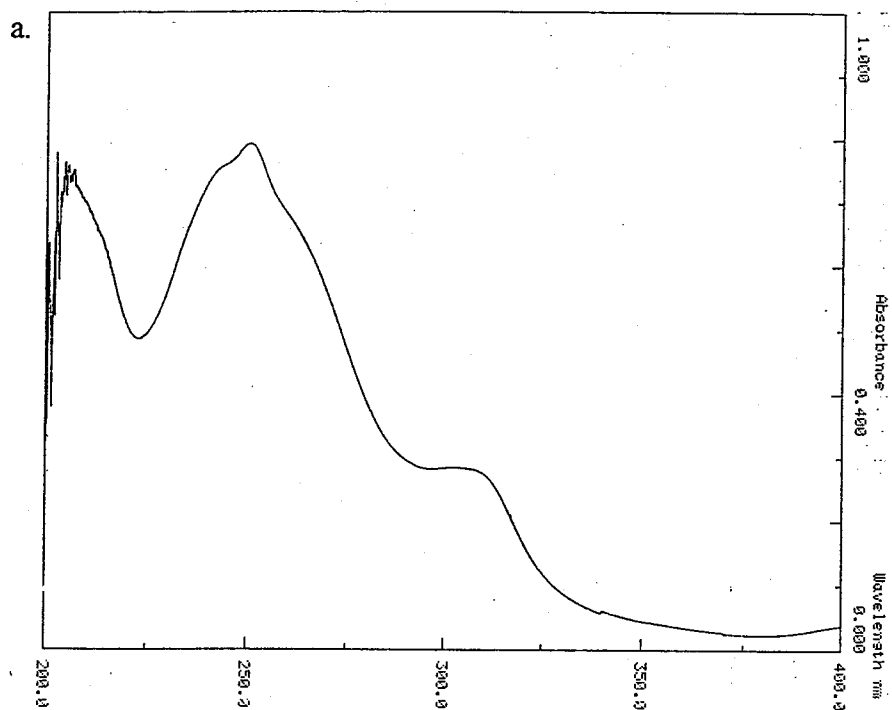
圖三. (-)-Ephedrine之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)



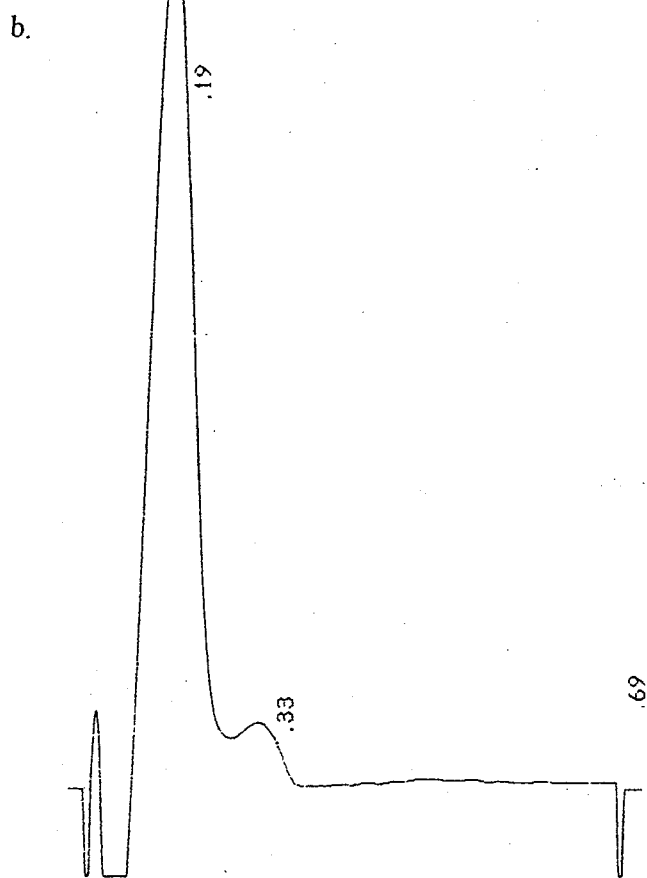
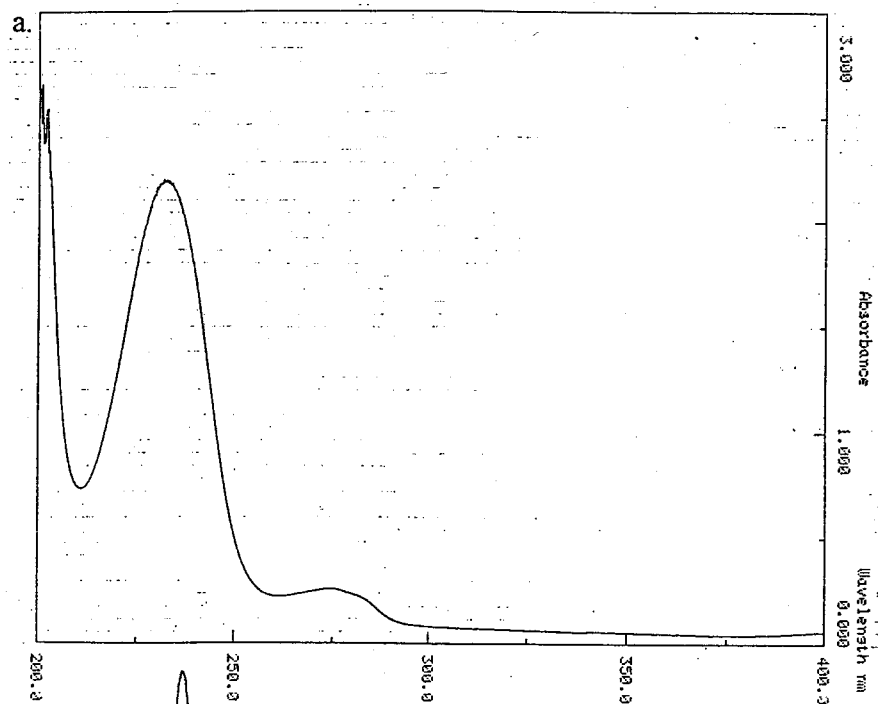
圖四. (+)-Pseudoephedrine之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)



圖五. Daidzein之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)

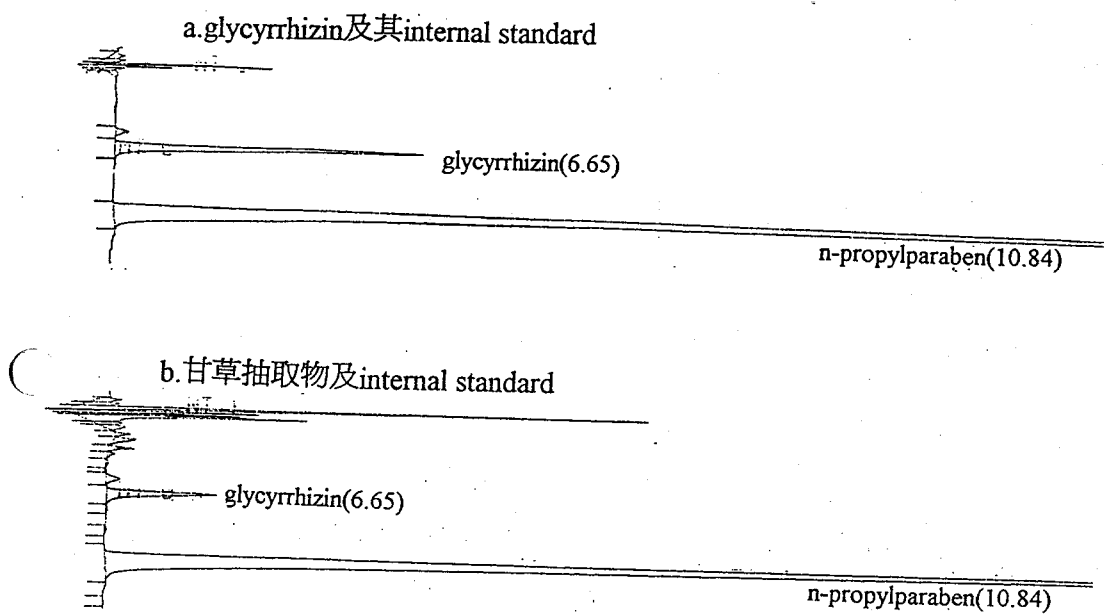


圖六. Puerarin之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)

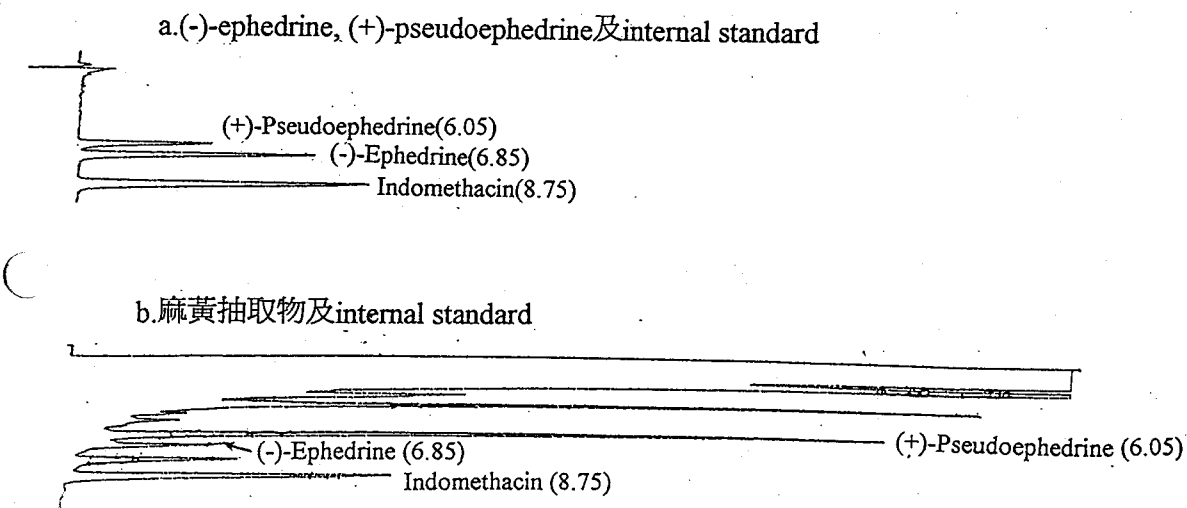


圖七. Paconiflorin之UV吸收光譜(a)及detector scanning所得之光譜(b)

圖八. 甘草之HPLC圖

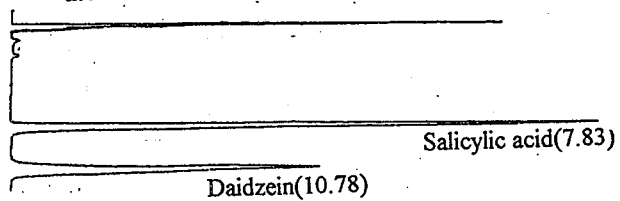


圖九. 麻黃之HPLC圖

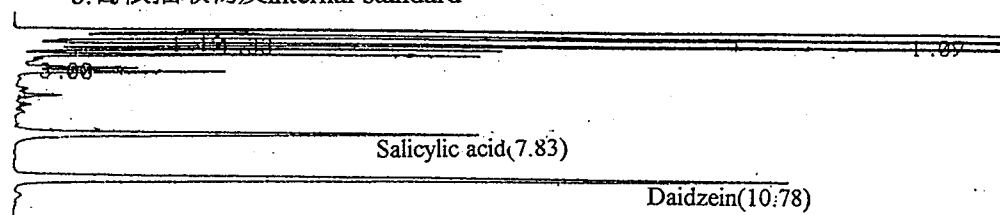


圖十. 葛根之HPLC圖

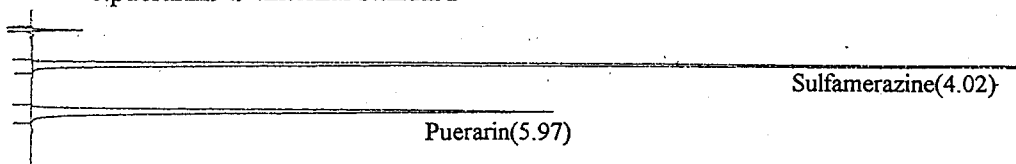
a. daidzein及其internal standard



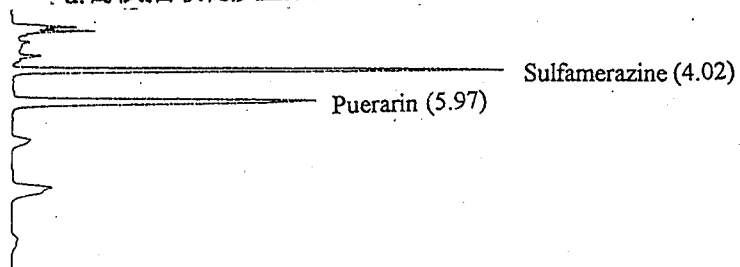
b. 葛根抽取物及internal standard



c. puerarin及其internal standard

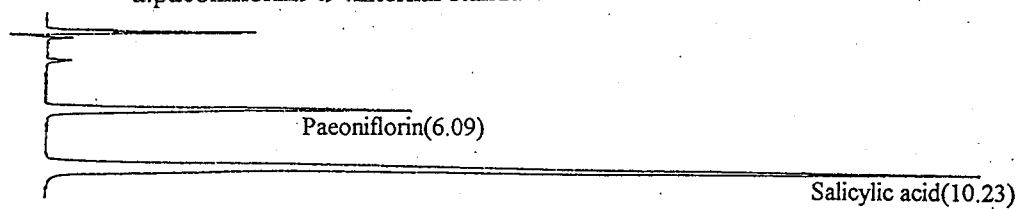


d. 葛根抽取物及internal standard

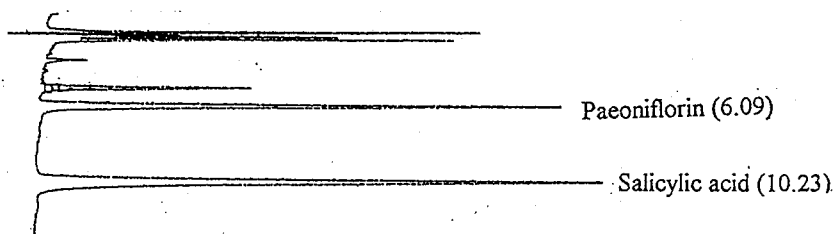


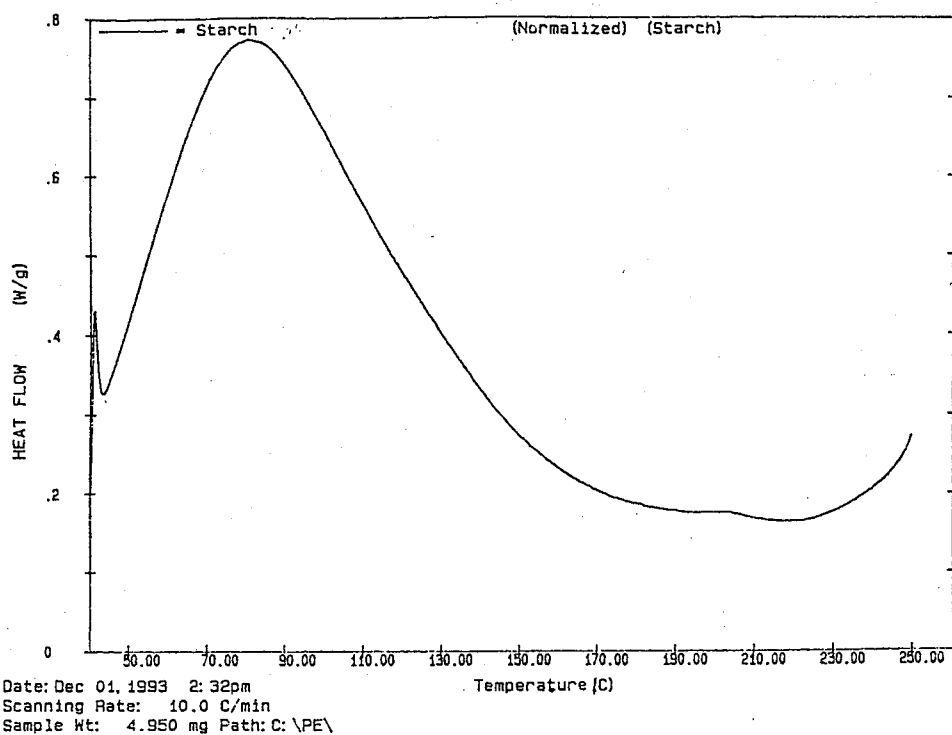
圖十一. 芍藥之HPLC圖

a. paeoniflorin及其internal standard

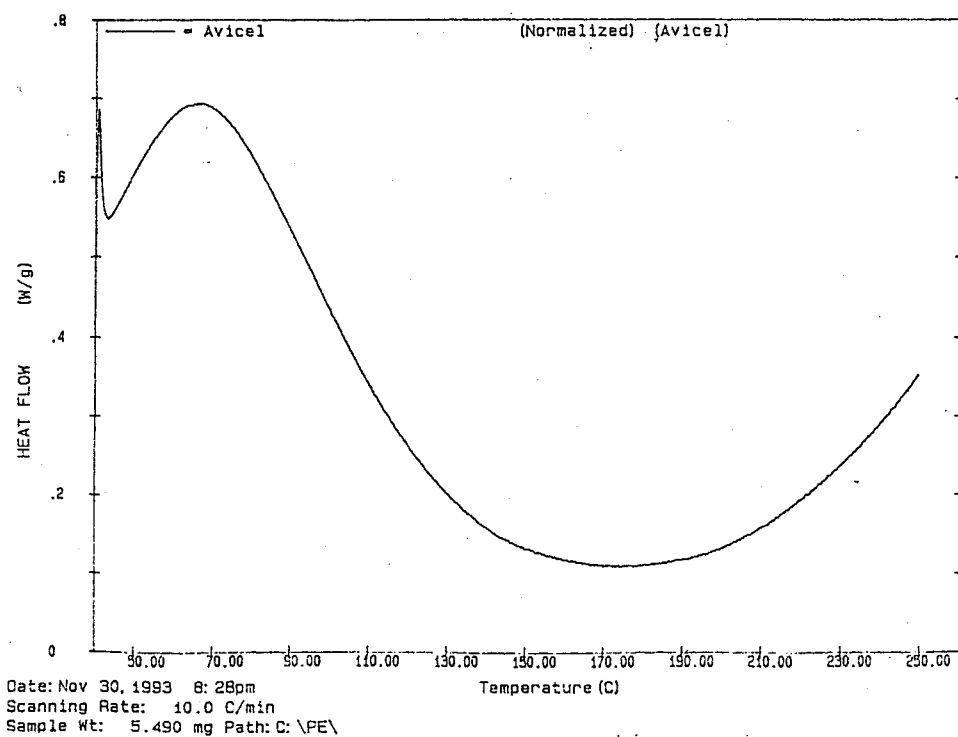


b. 芍藥抽取物及internal standard

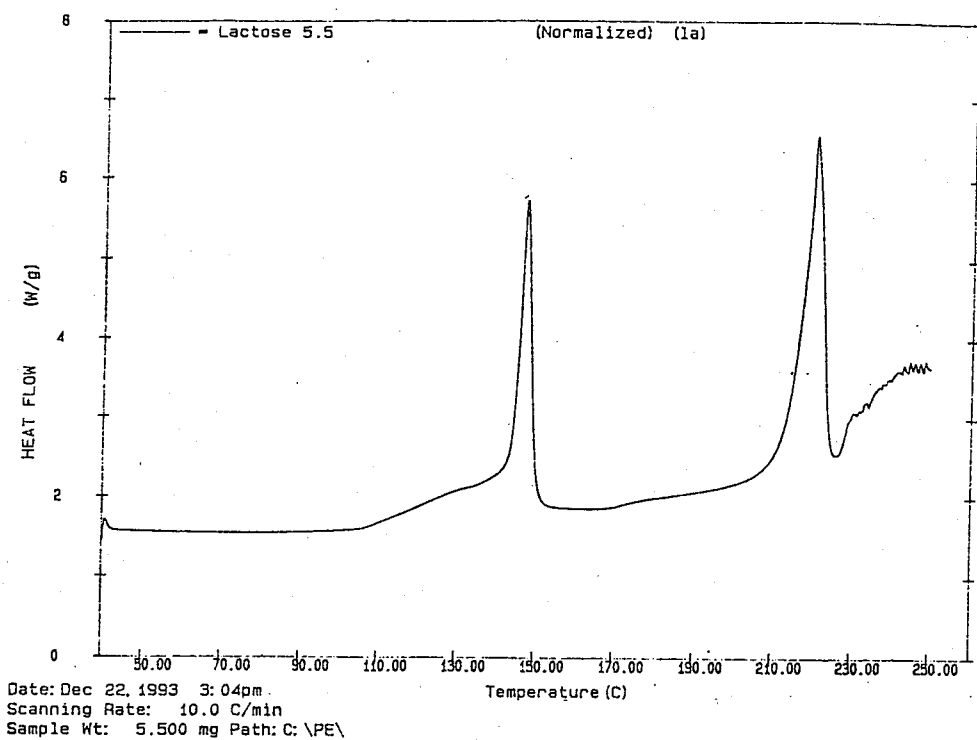




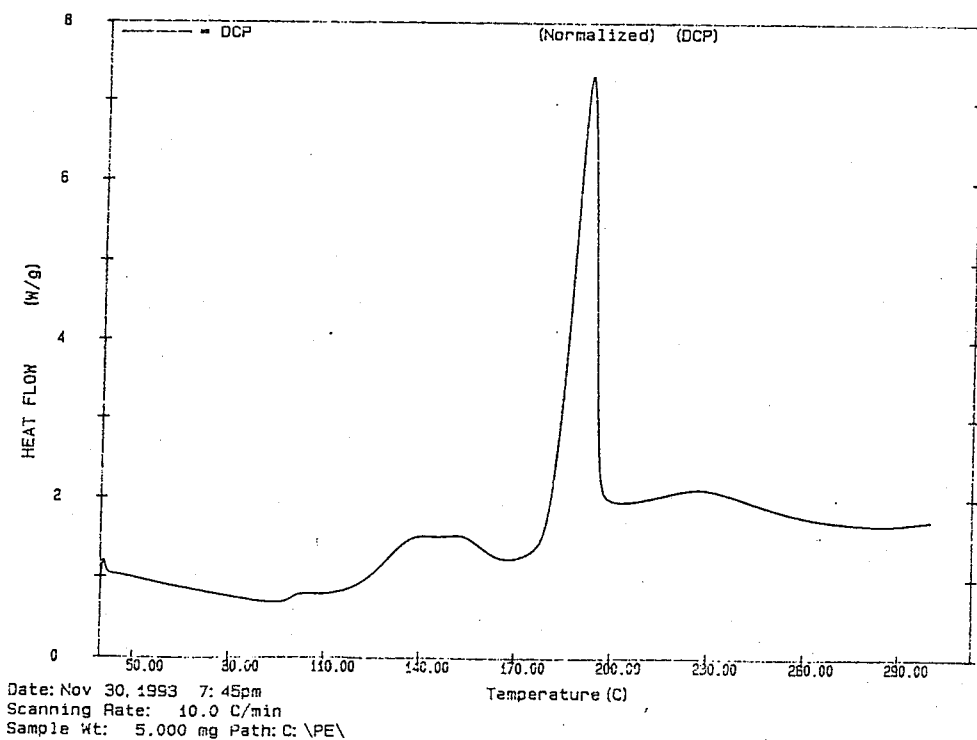
圖十二. DSC thermogram of corn starch



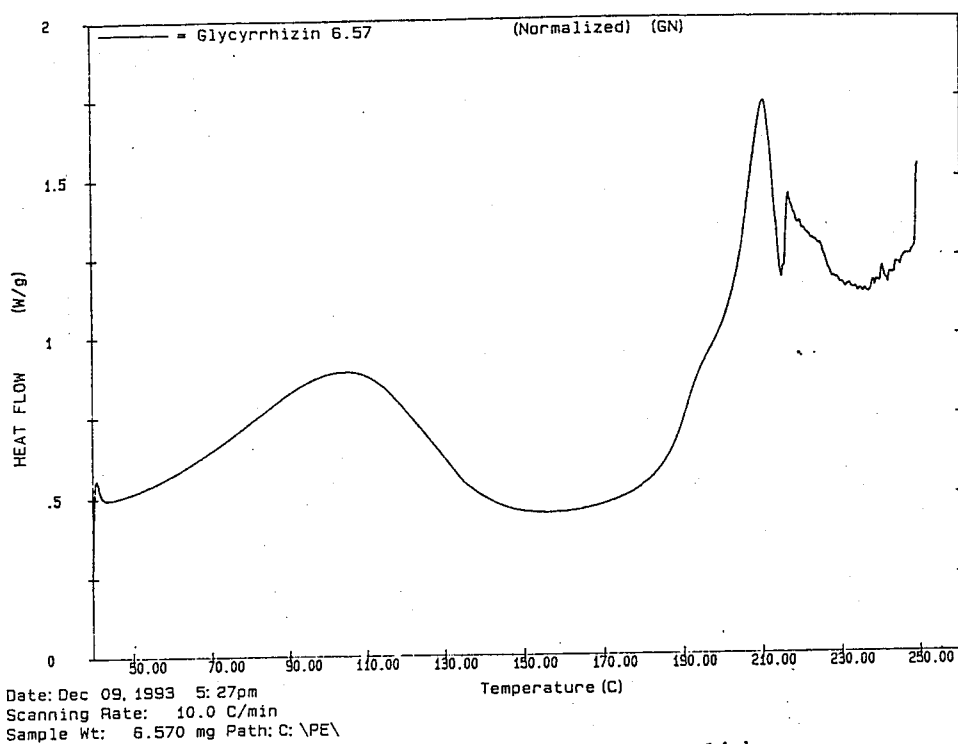
圖十三. DSC thermogram of Avicel PH 101



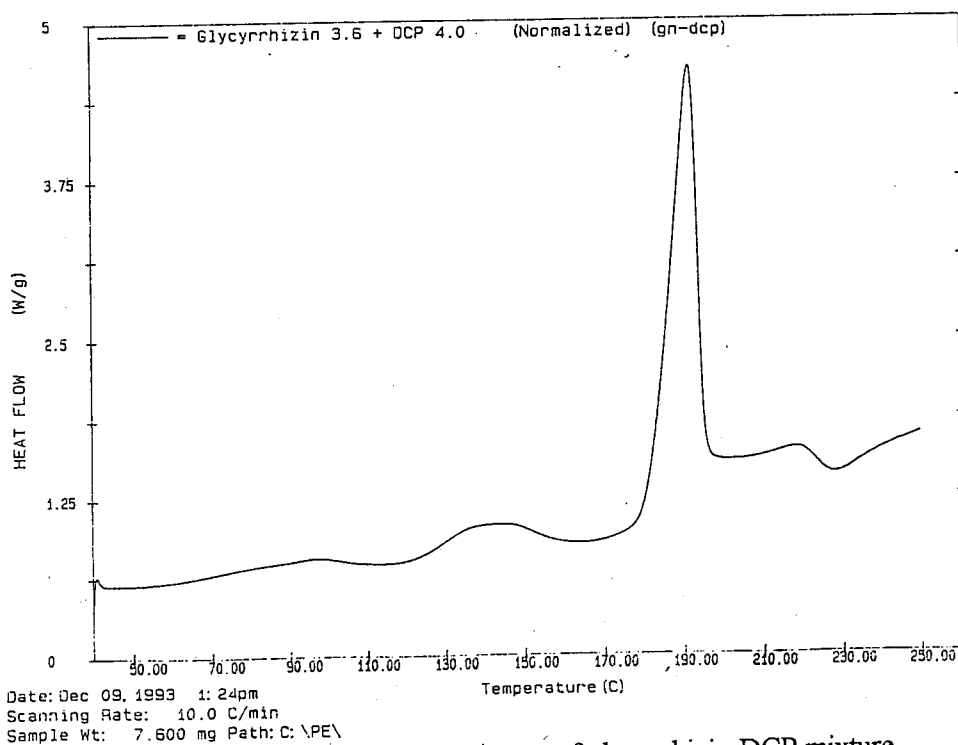
圖十四. DSC thermogram of lactose



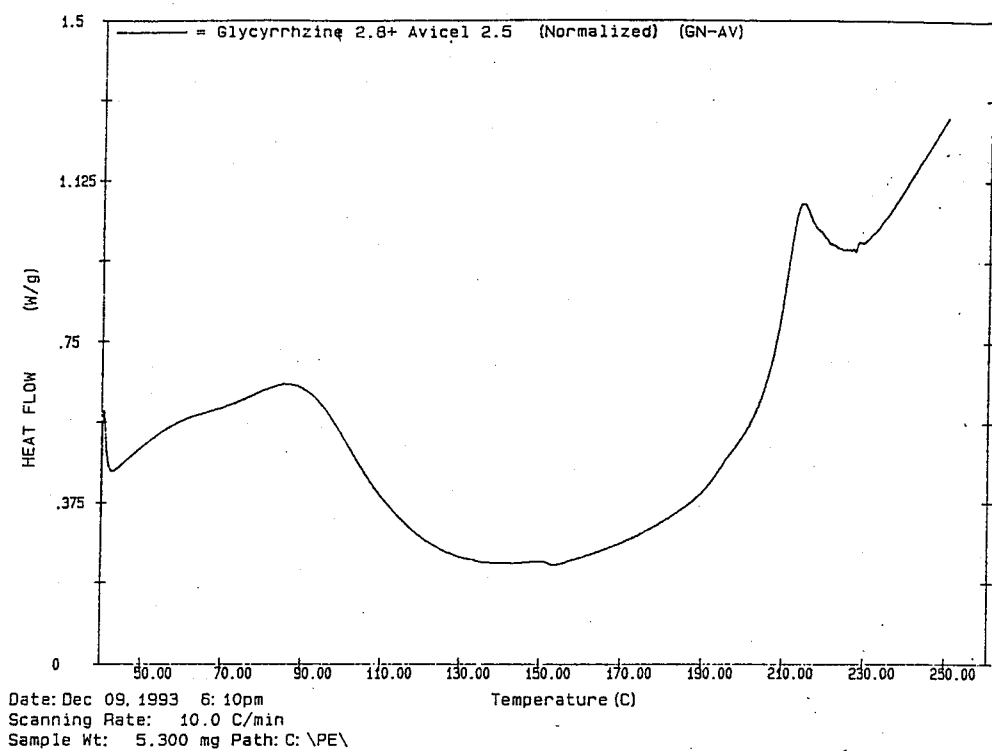
圖十五. DSC thermogram of DCP



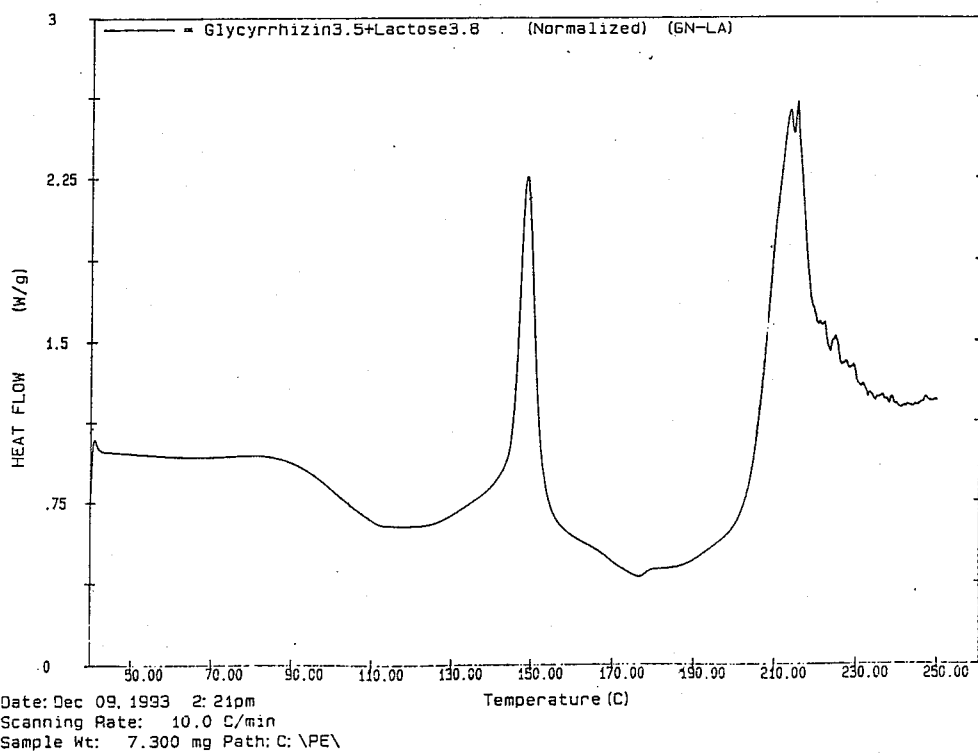
圖十六. DSC thermogram of glycyrrhizin



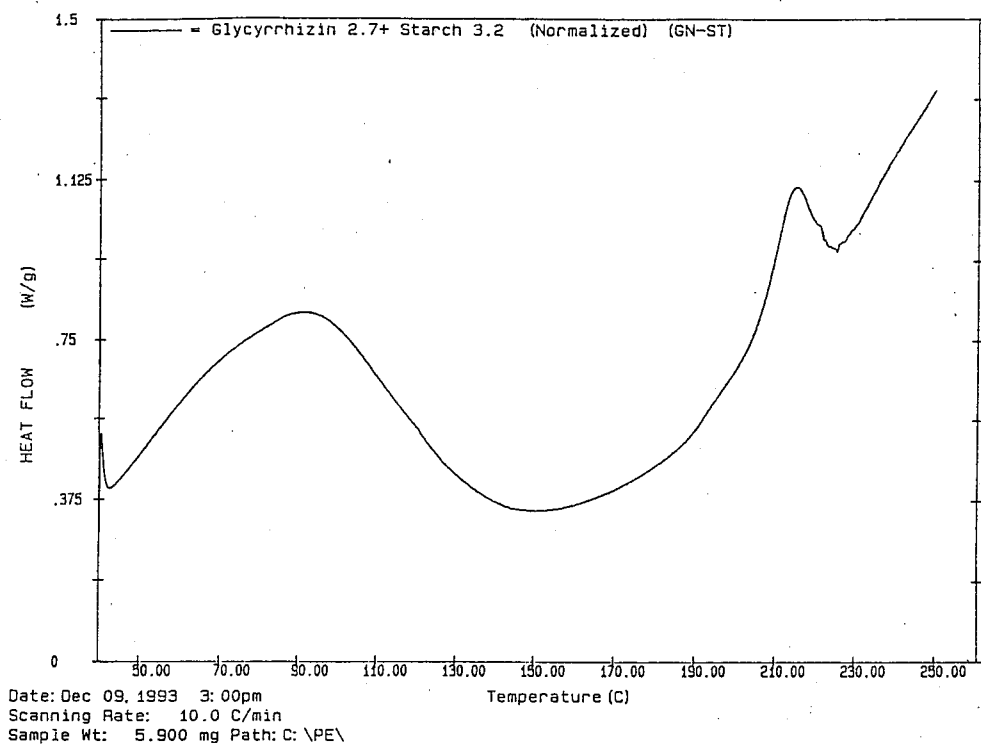
圖十七. DSC thermogram of glycyrrhizin-DCP mixture



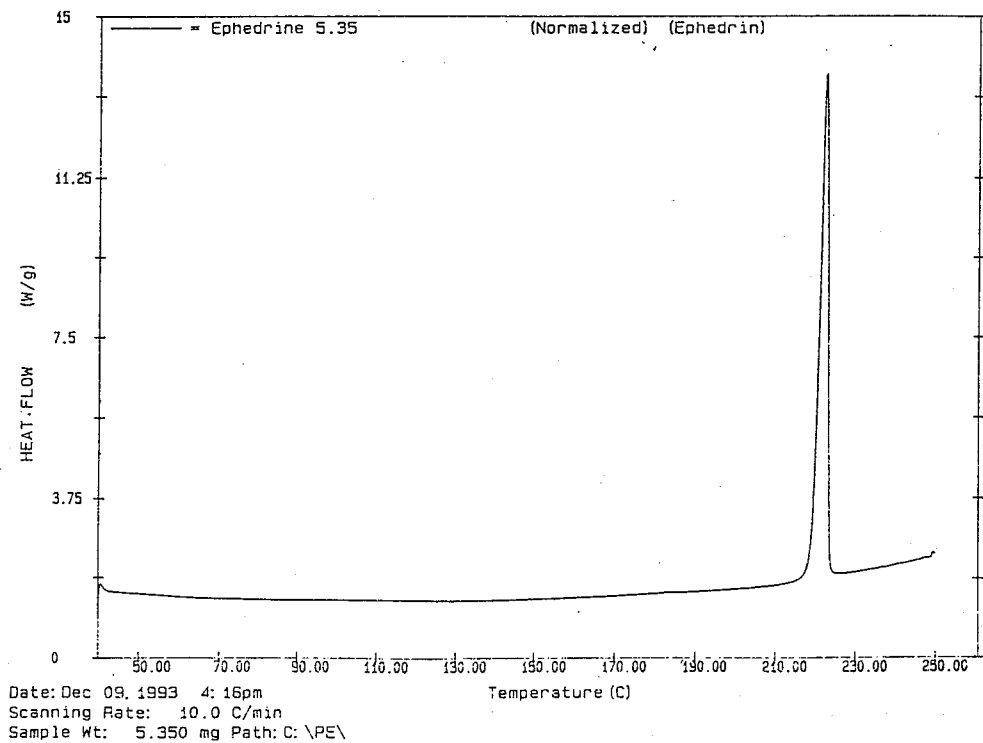
圖十八. DSC thermogram of glycyrrhizin-Avicel PH 101 mixture



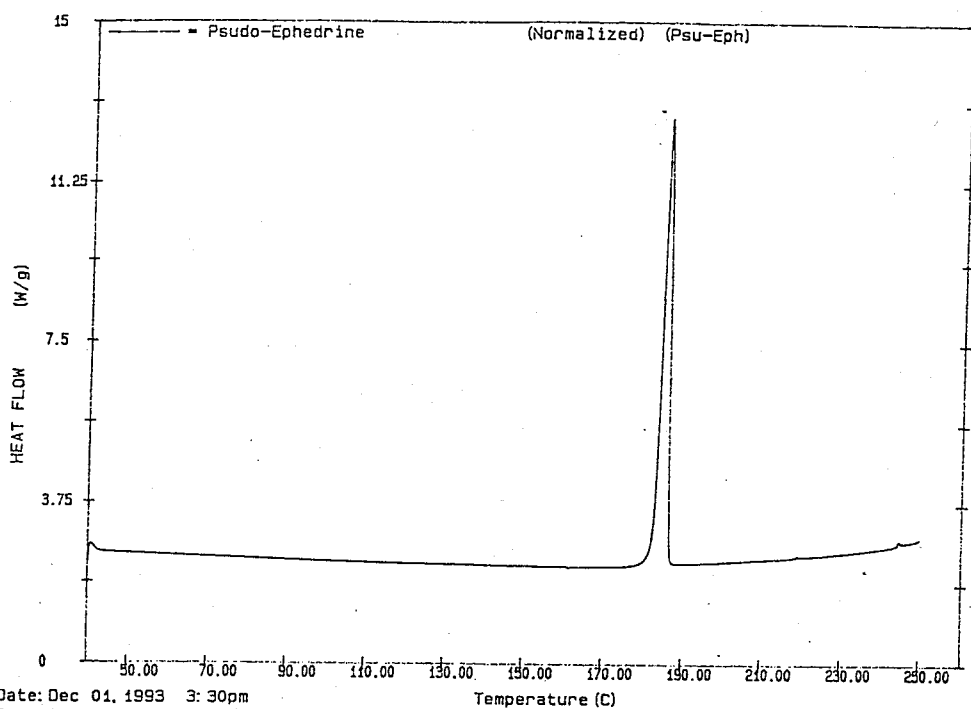
圖十九. DSC thermogram of glycyrrhizin-lactose mixture



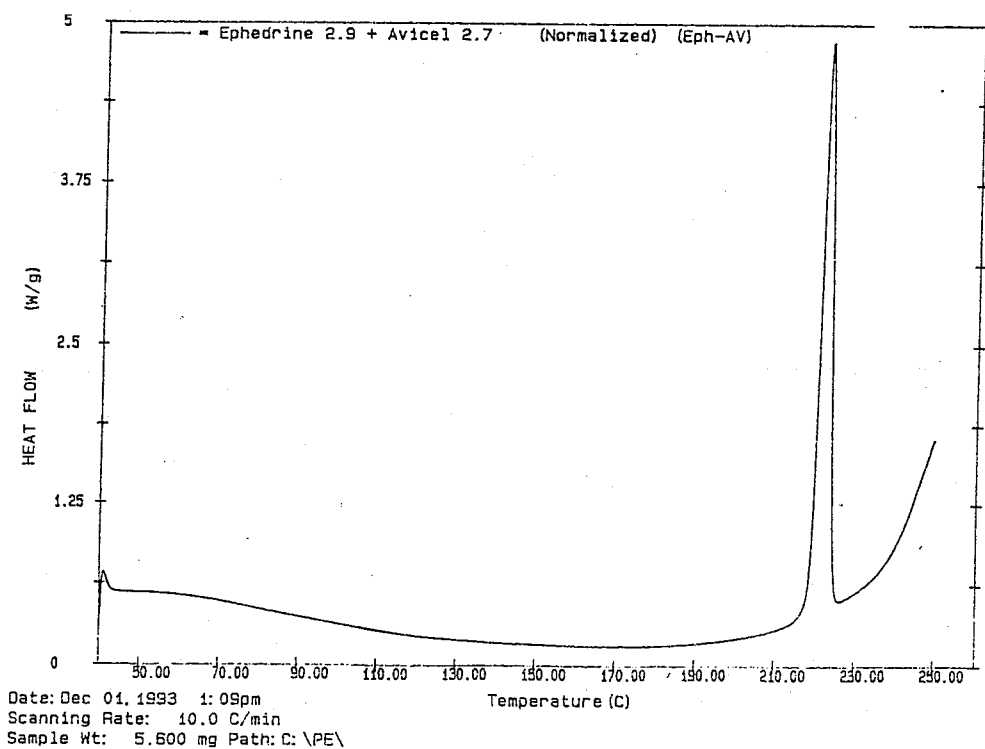
圖二十. DSC thermogram of glycyrrhizin-corn starch mixture



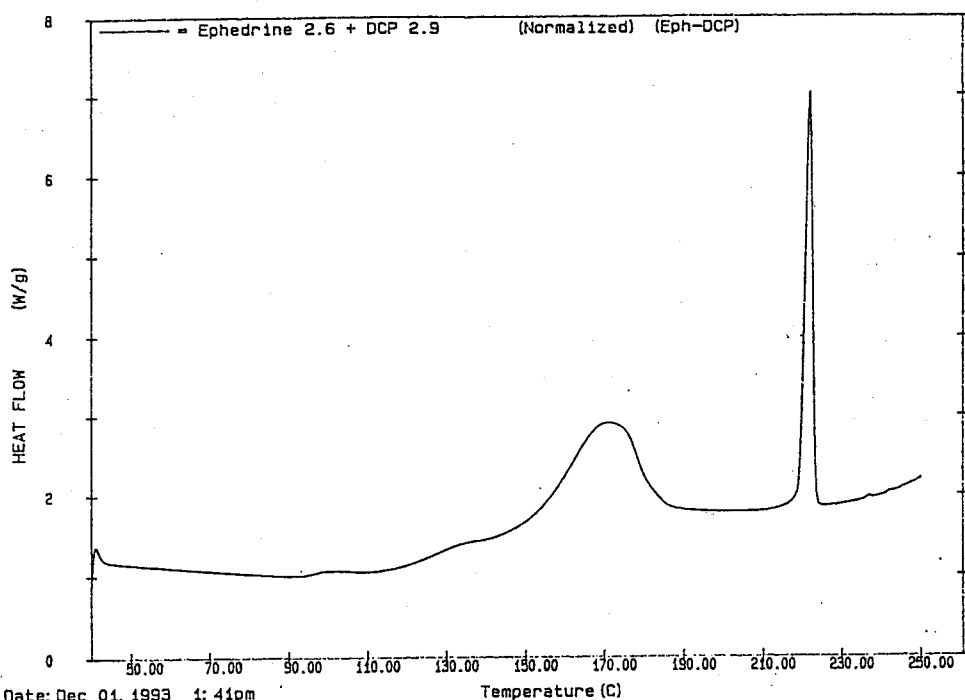
圖二十一. DSC thermogram of (-)-ephedrine



圖二十二. DSC thermogram of (+)-pseudoephedrine

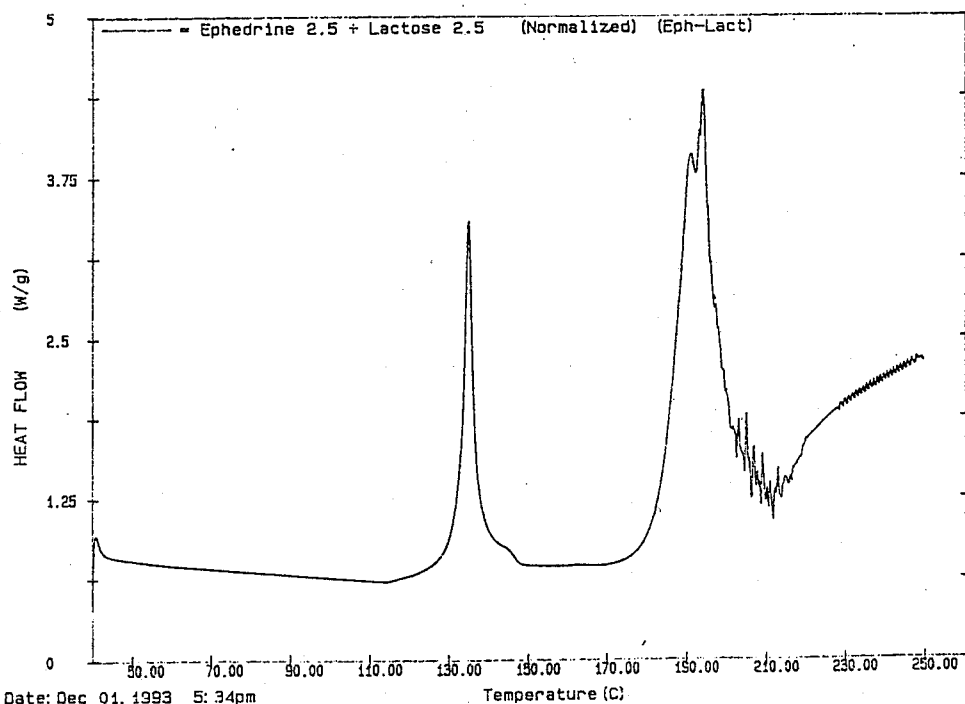


圖二十三. DSC thermogram of (-)-ephedrine-Avicel PH 101 mixture



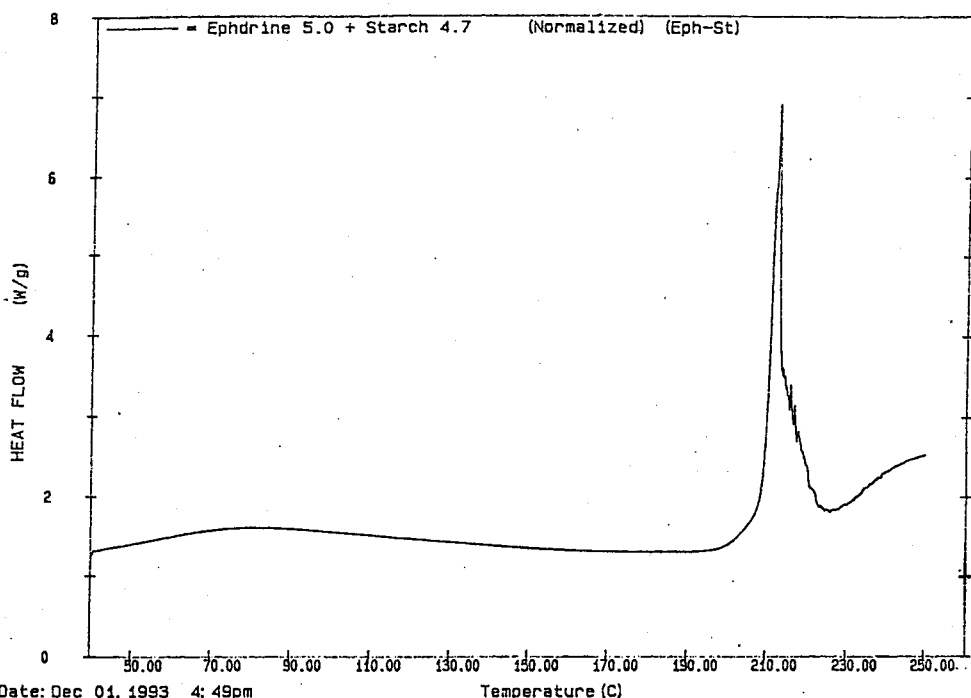
Date: Dec 01, 1993 1: 41pm  
 Scanning Rate: 10.0 C/min  
 Sample Wt: 5.500 mg Path: C: \PE\

圖二十四. DSC thermogram of (-)-ephedrine-DCP mixture



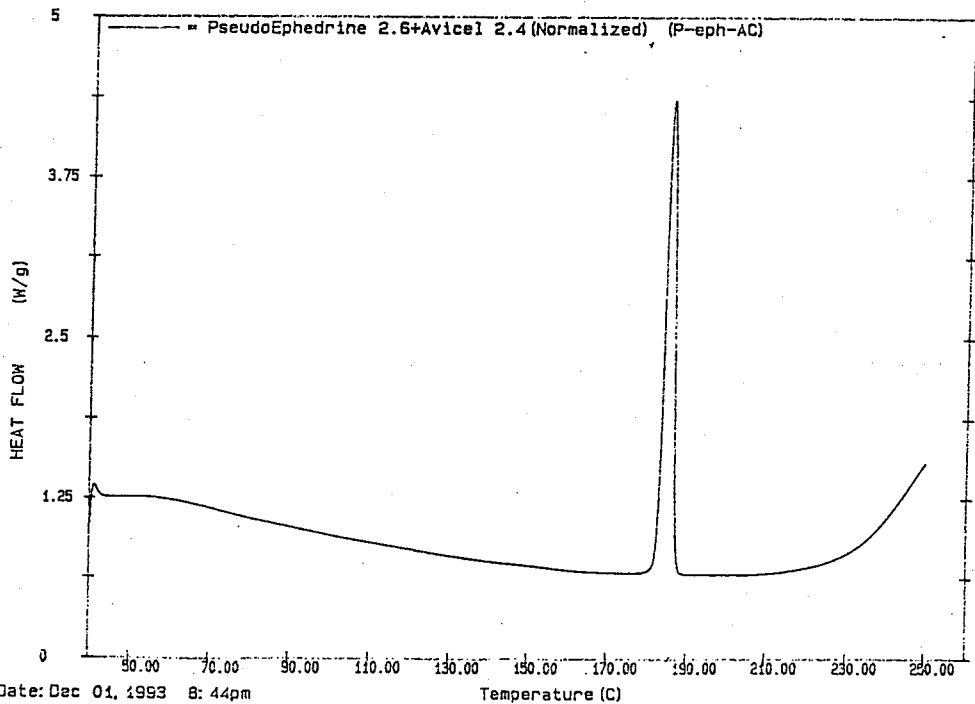
Date: Dec 01, 1993 5: 34pm  
 Scanning Rate: 10.0 C/min  
 Sample Wt: 5.000 mg Path: C: \PE\

圖二十五. DSC thermogram of (-)-ephedrine-lactose mixture



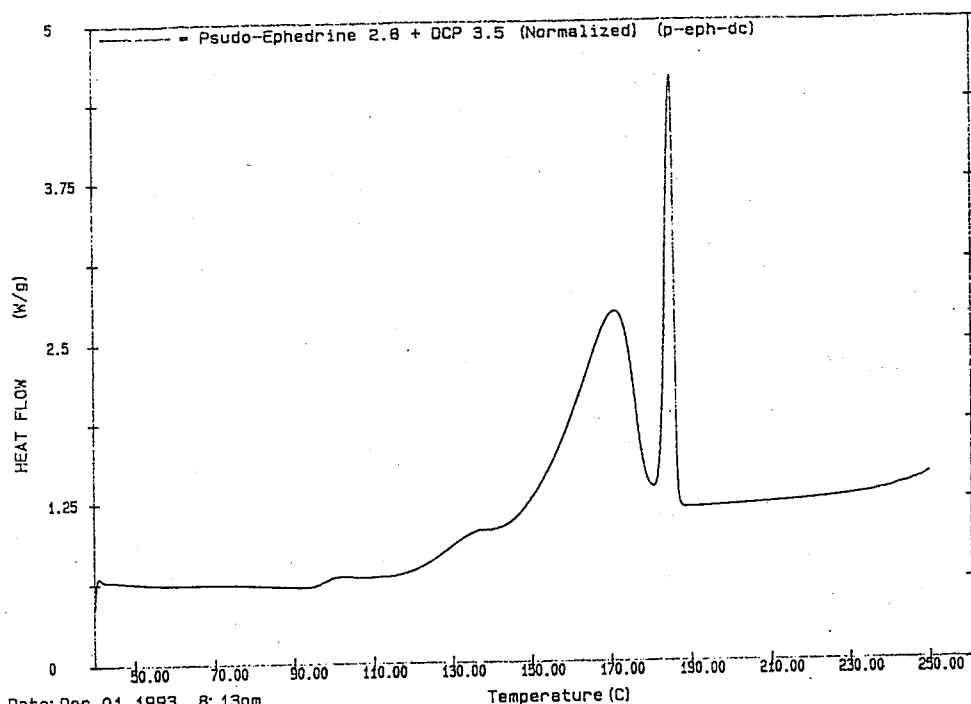
Date: Dec 01, 1993 4: 49pm  
Scanning Rate: 10.0 C/min  
Sample Wt: 9.700 mg Path: C:\PE\

圖二十六. DSC thermogram of (-)-ephedrine-corn starch mixture



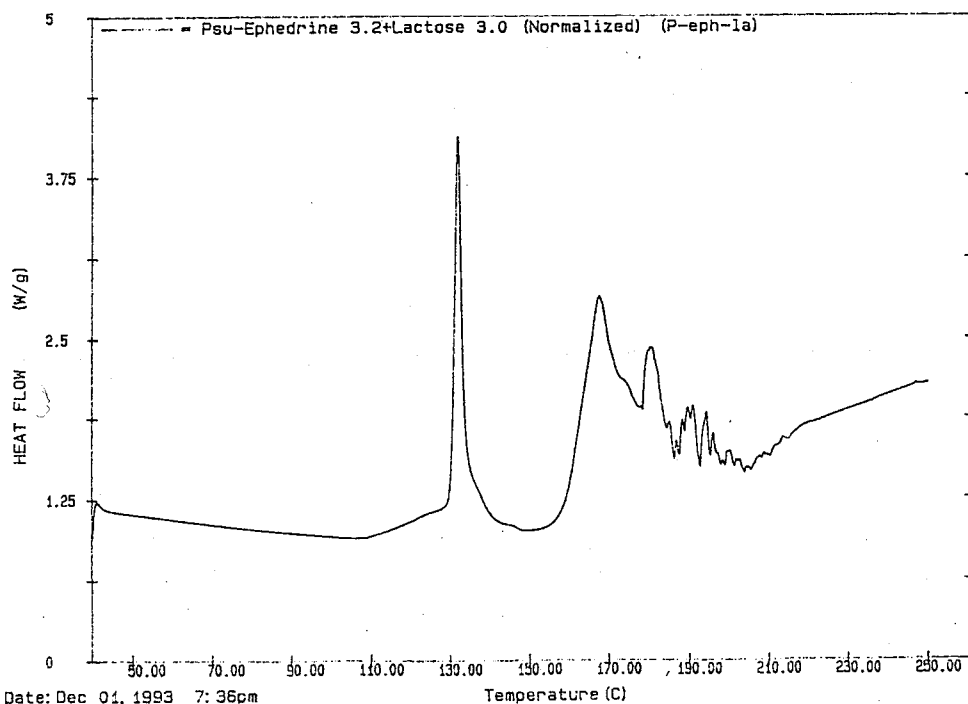
Date: Dec 01, 1993 8: 44pm  
Scanning Rate: 10.0 C/min  
Sample Wt: 5.000 mg Path: C:\PE\

圖二十七. DSC thermogram of (+)-pseudoephedrine-Avicel PH 101 mixture



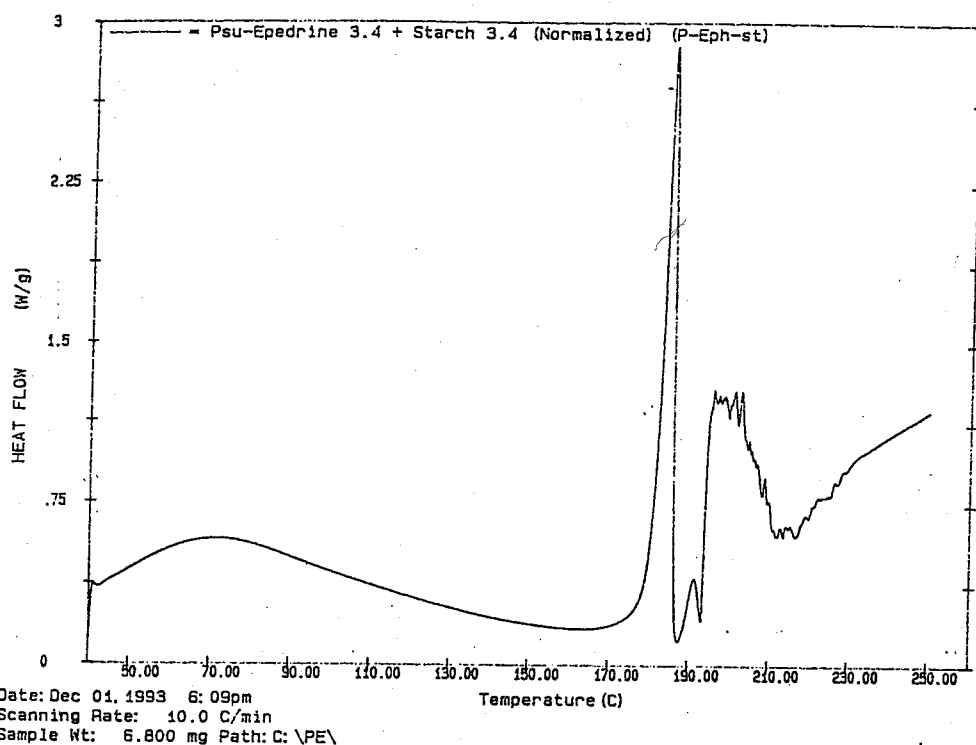
Date: Dec 01, 1993 8:13pm  
 Scanning Rate: 10.0 C/min  
 Sample Wt: 6.300 mg Path: C:\PE\

圖二十八. DSC thermogram of (+)-pseudoephedrine-DCP mixture

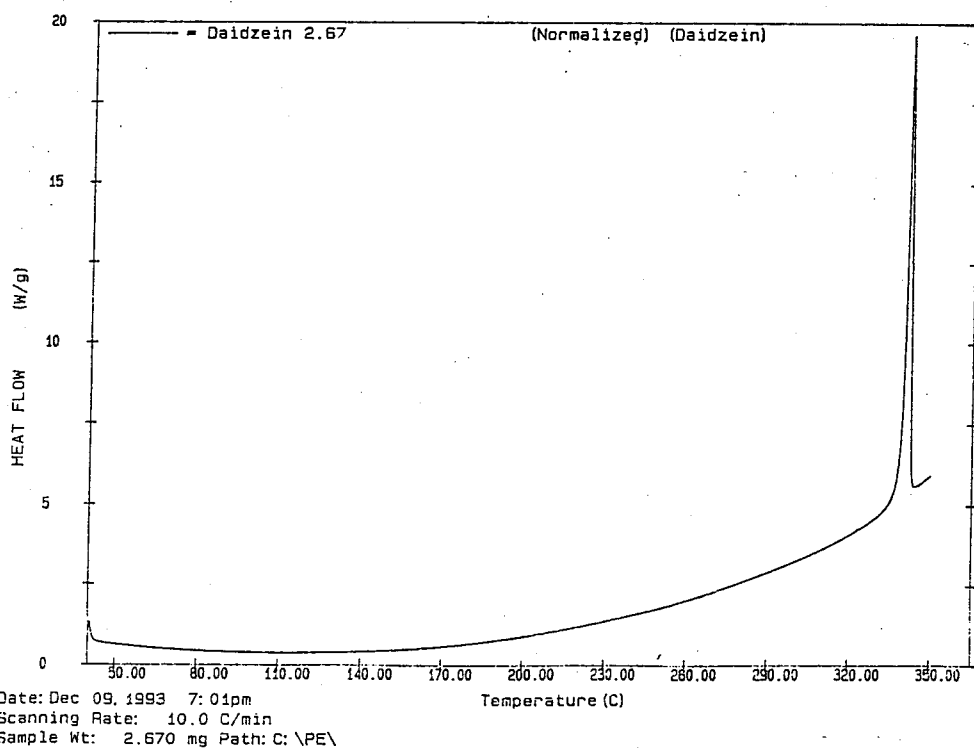


Date: Dec 01, 1993 7:36pm  
 Scanning Rate: 10.0 C/min  
 Sample Wt: 6.200 mg Path: C:\PE\

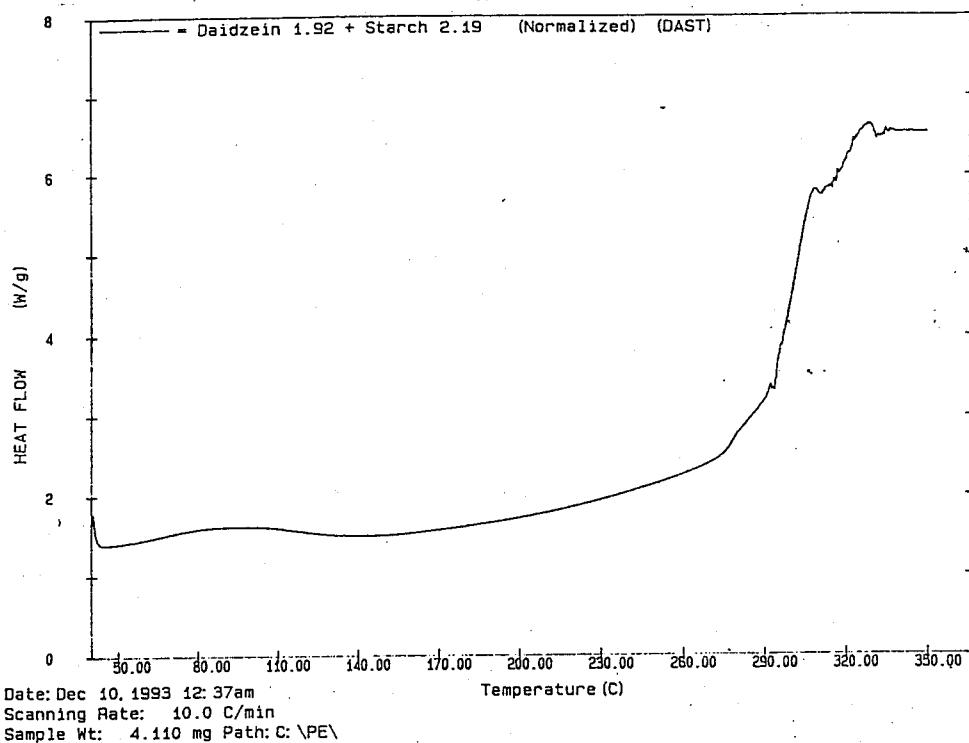
圖二十九. DSC thermogram of (+)-pseudoephedrine-lactose mixture



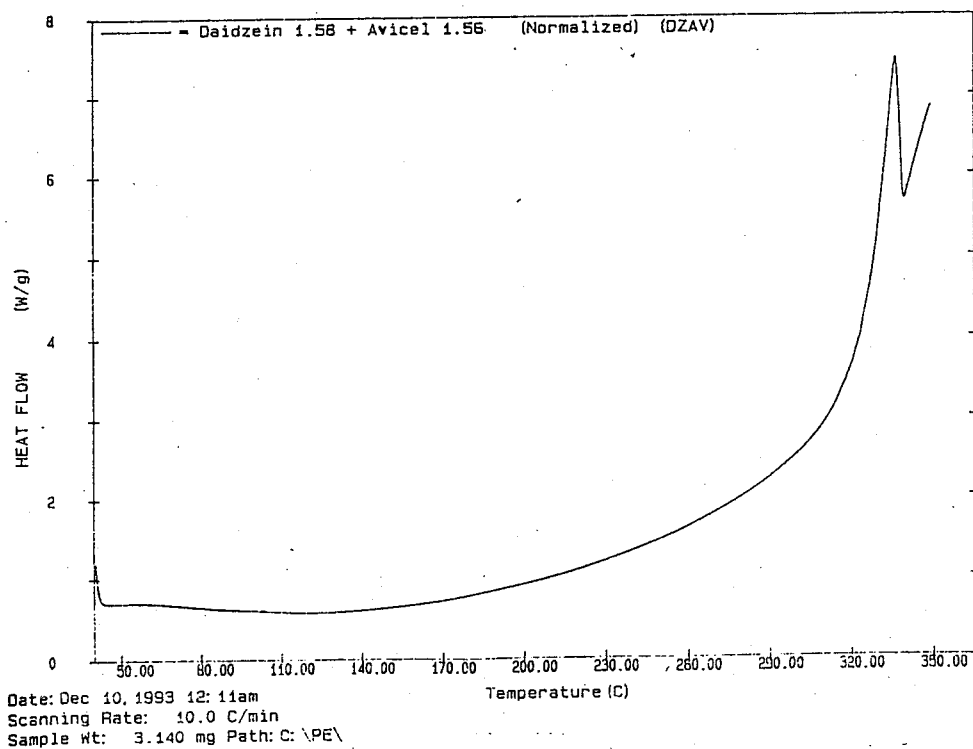
圖三十. DSC thermogram of (+)-pseudoephedrine-corn starch mixture



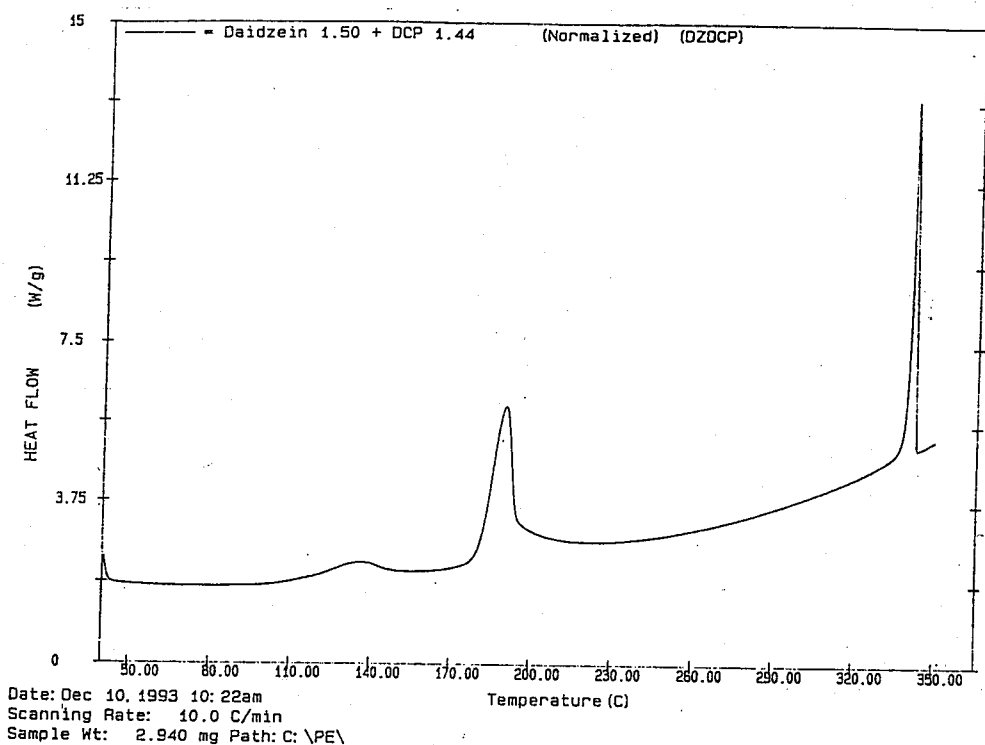
圖三十一. DSC thermogram of daidzein



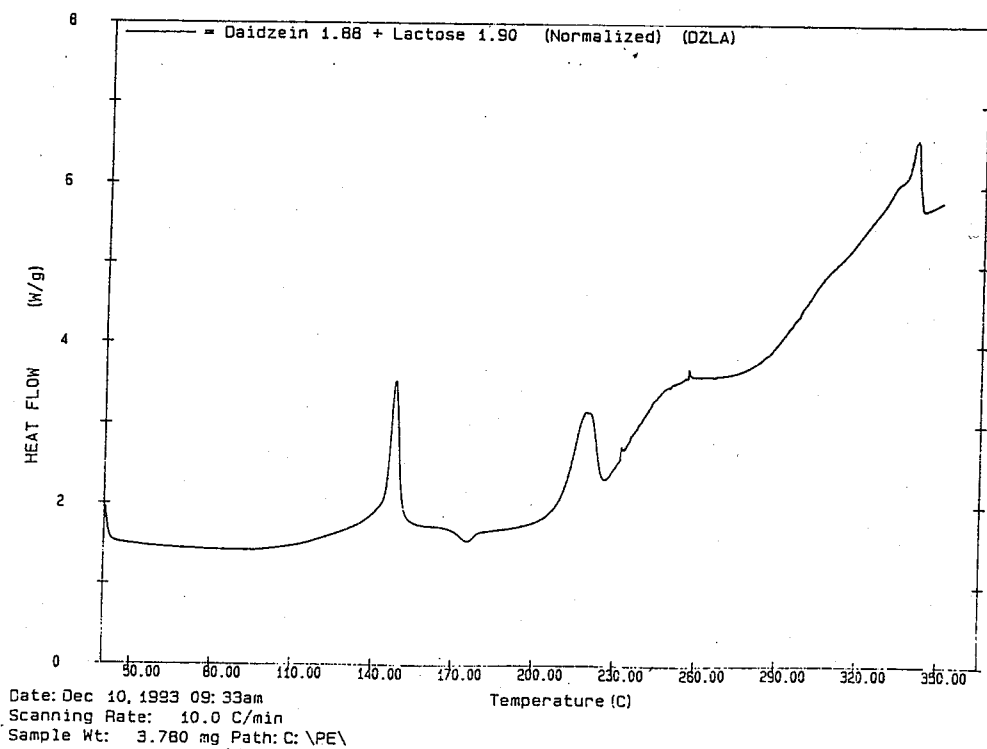
圖三十二. DSC thermogram of daidzein-corn starch mixture



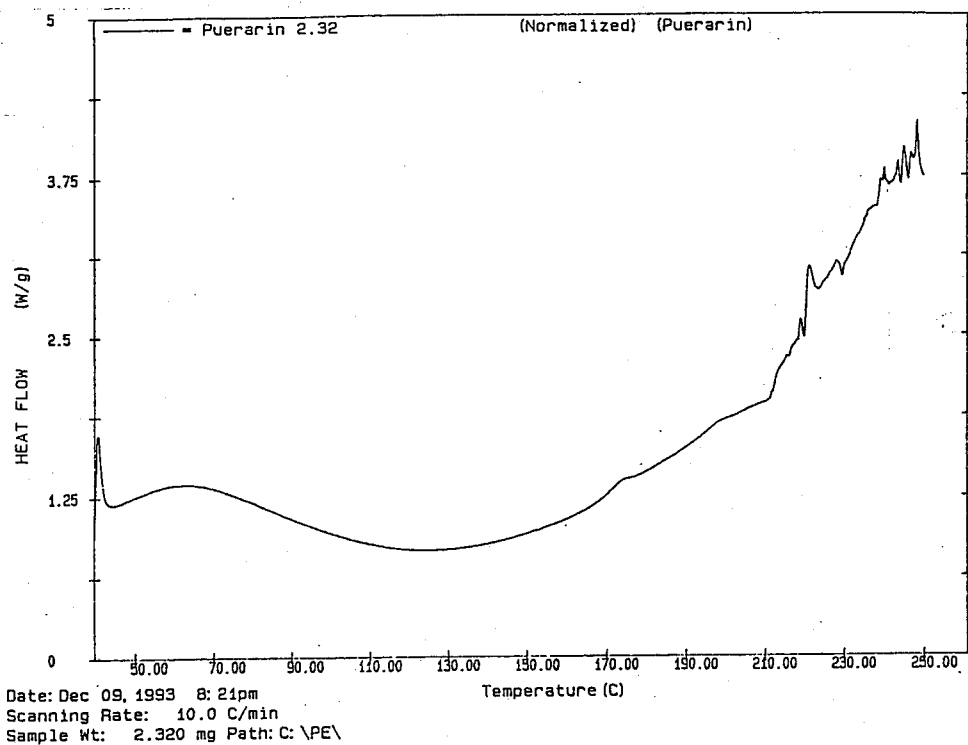
圖三十三. DSC thermogram of daidzein-Avicel PH 101 mixture



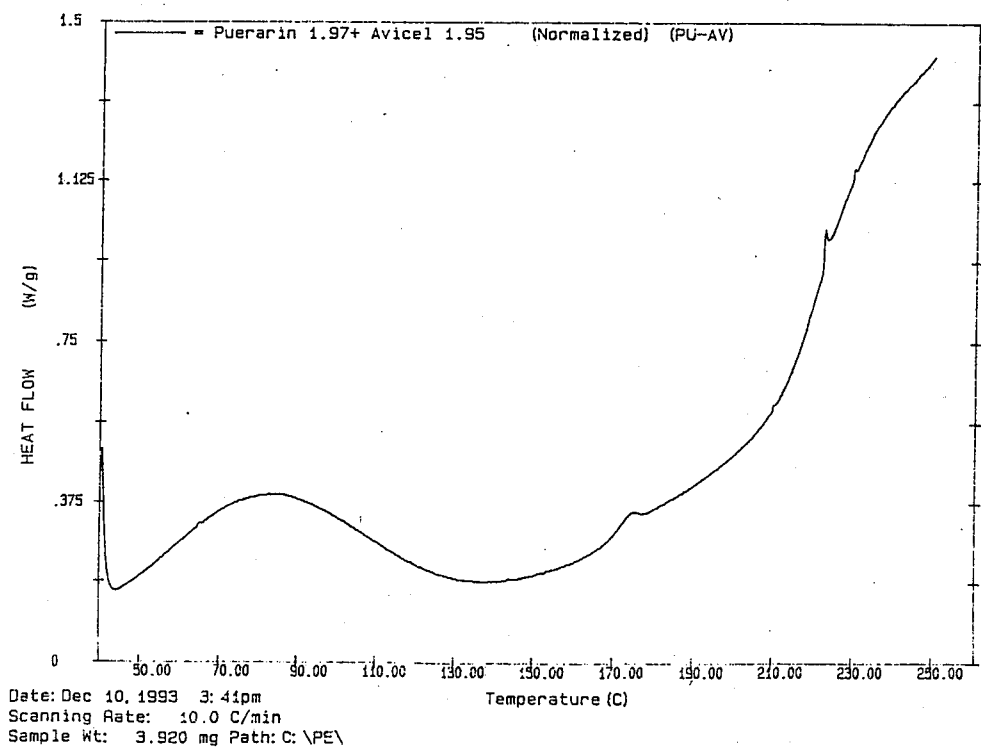
圖三十四. DSC thermogram of daidzein-DCP mixture



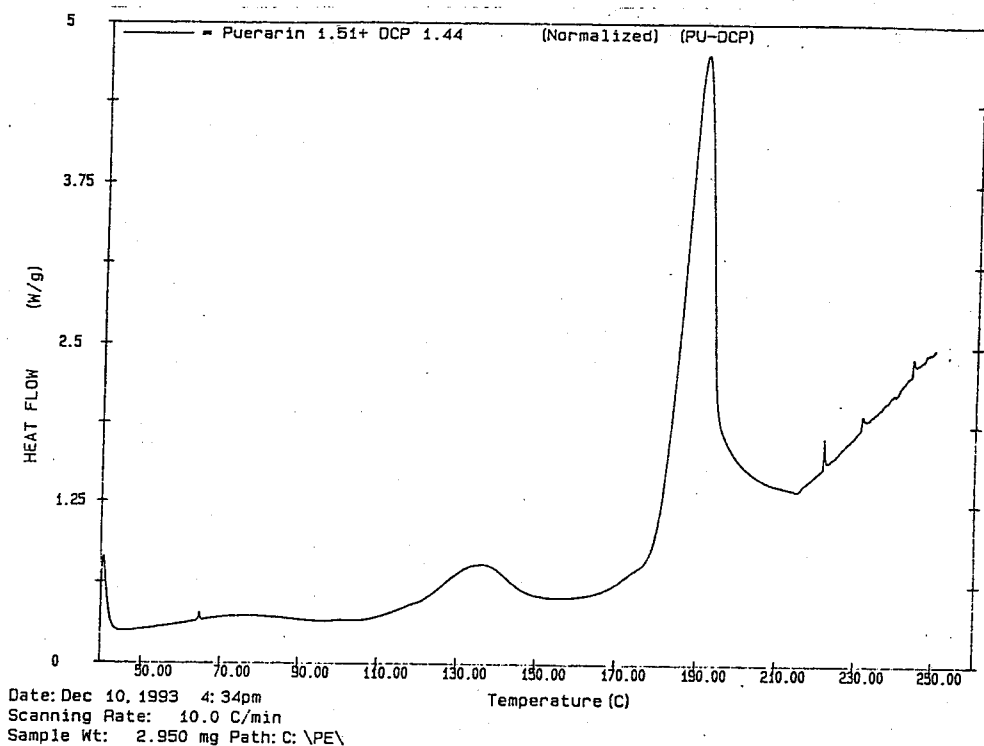
圖三十五. DSC thermogram of daidzein-lactose mixture



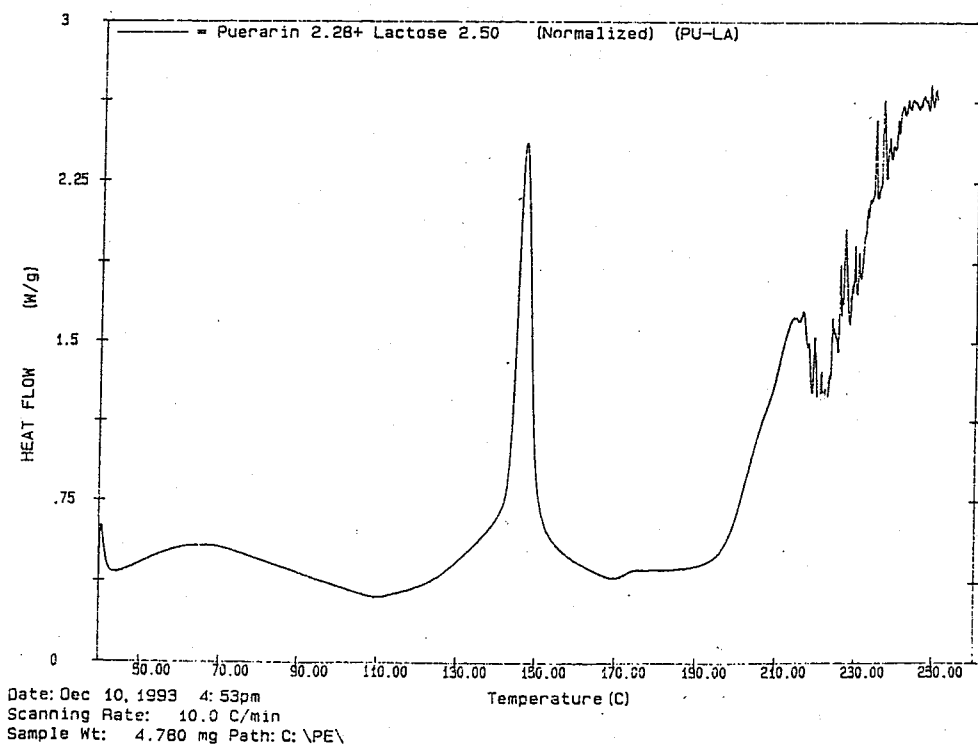
圖三十六. DSC thermogram of puerarin



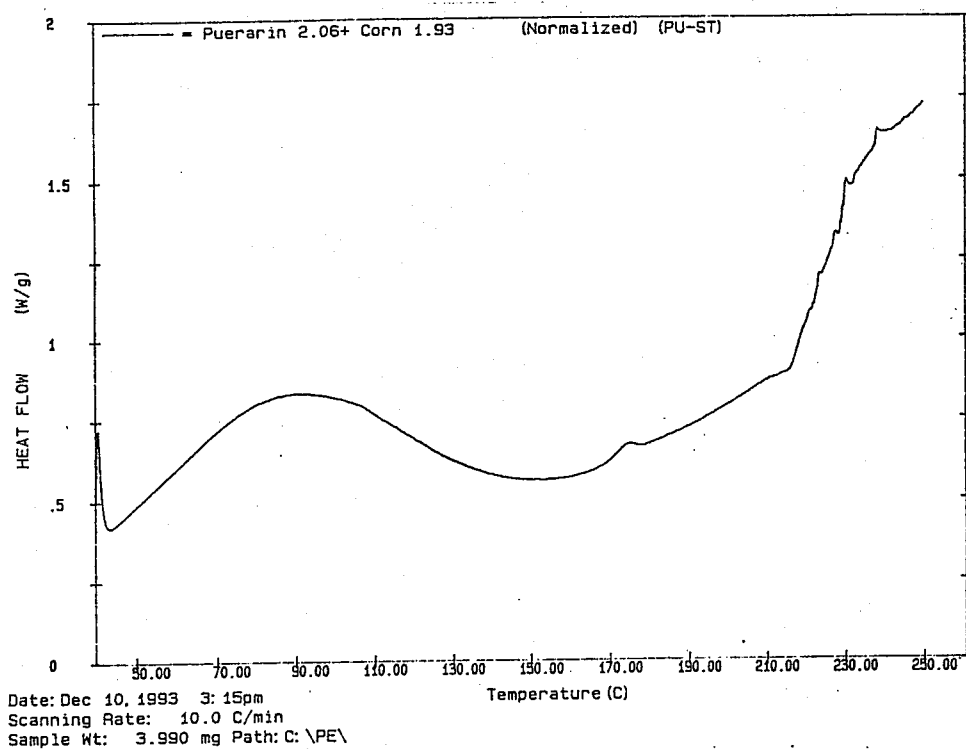
圖三十七. DSC thermogram of puerarin-Avicel PH 101 mixture



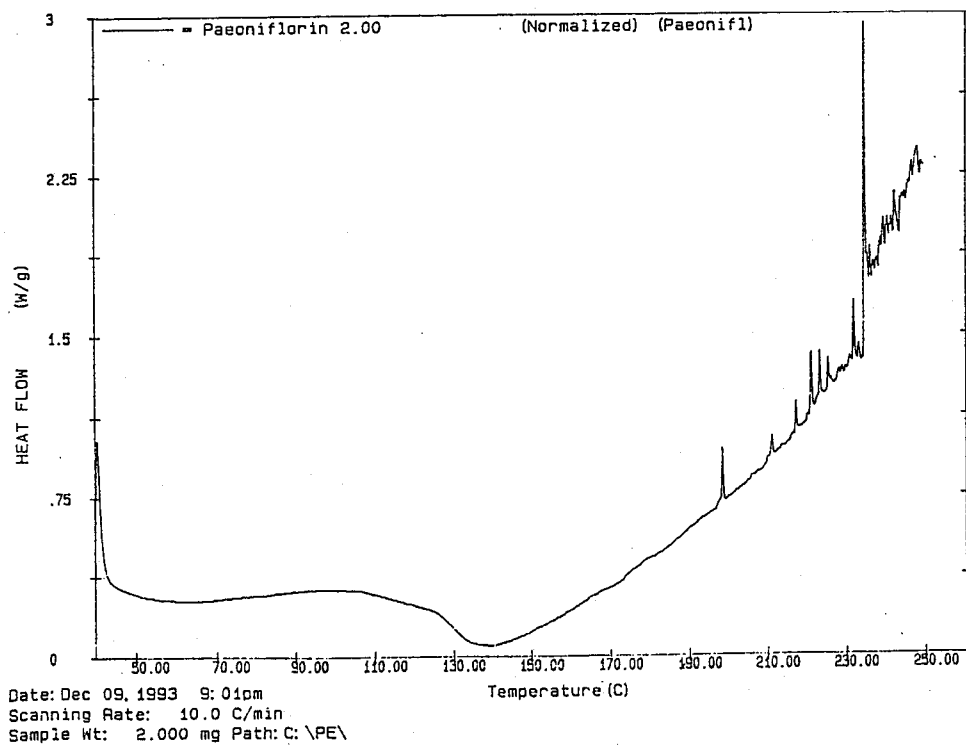
圖三十八. DSC thermogram of puerarin-DCP mixture



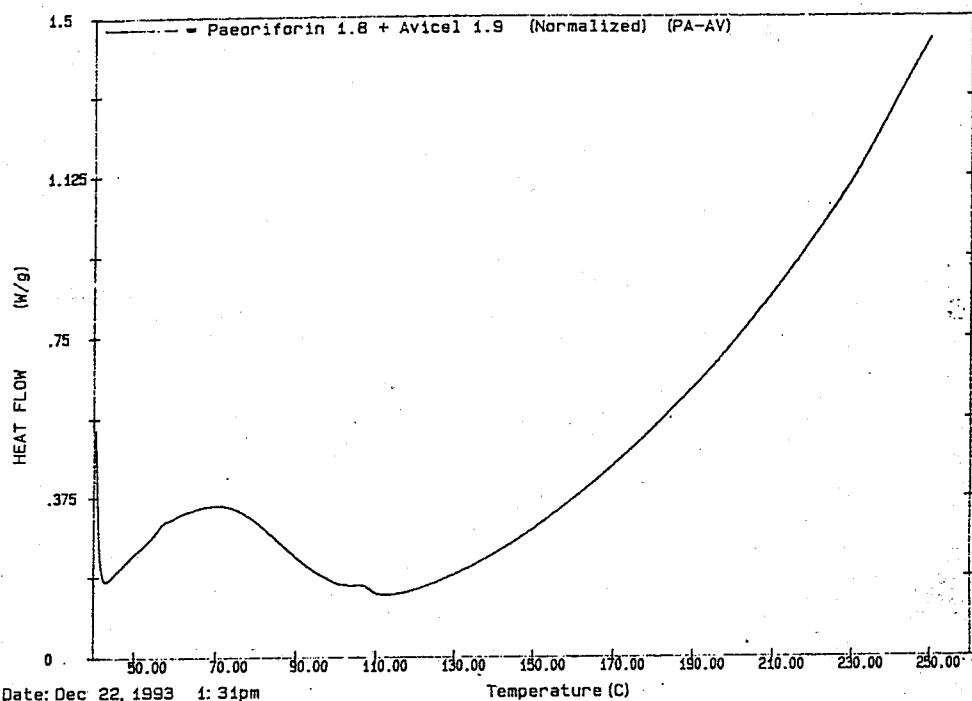
圖三十九. DSC thermogram of puerarin-lactose mixture



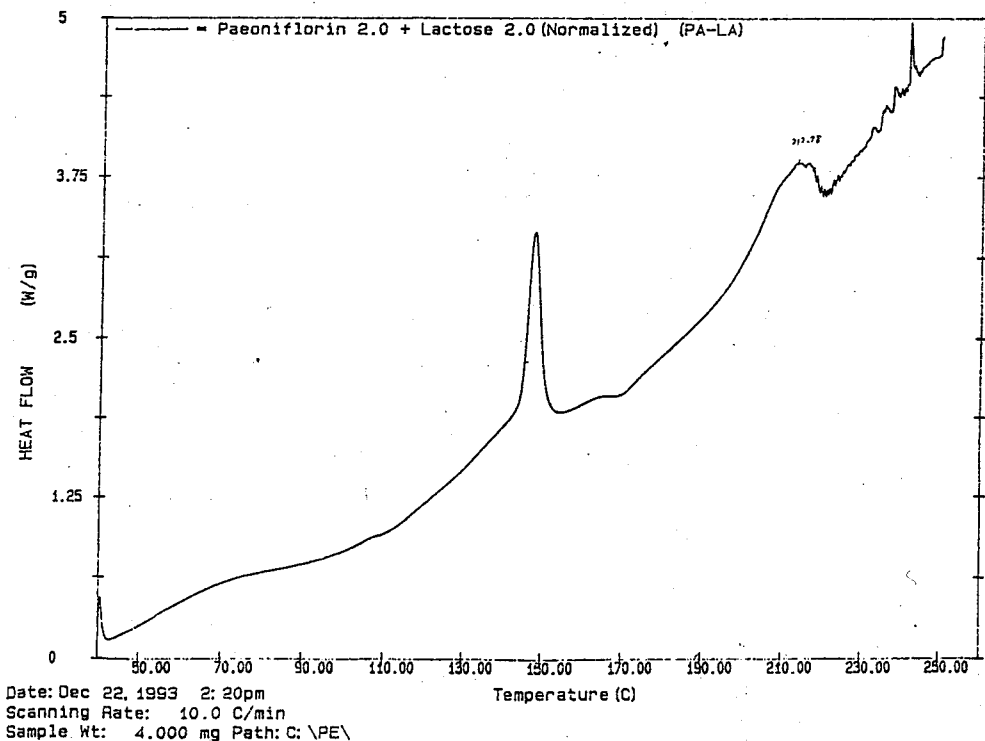
圖四十. DSC thermogram of puerarin-corn starch mixture



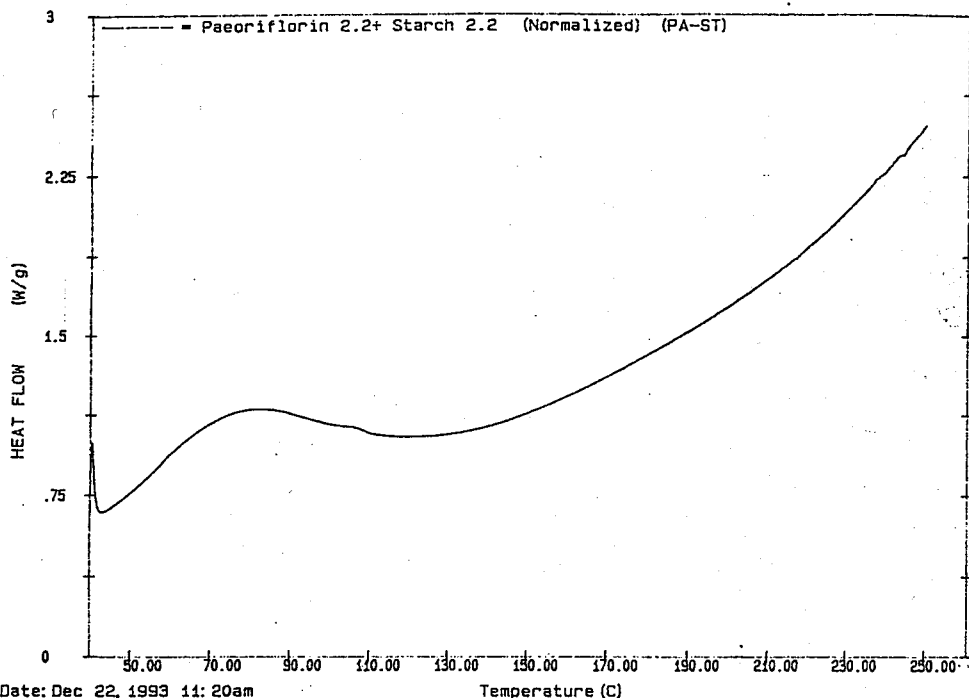
圖四十一. DSC thermogram of paeoniflorin



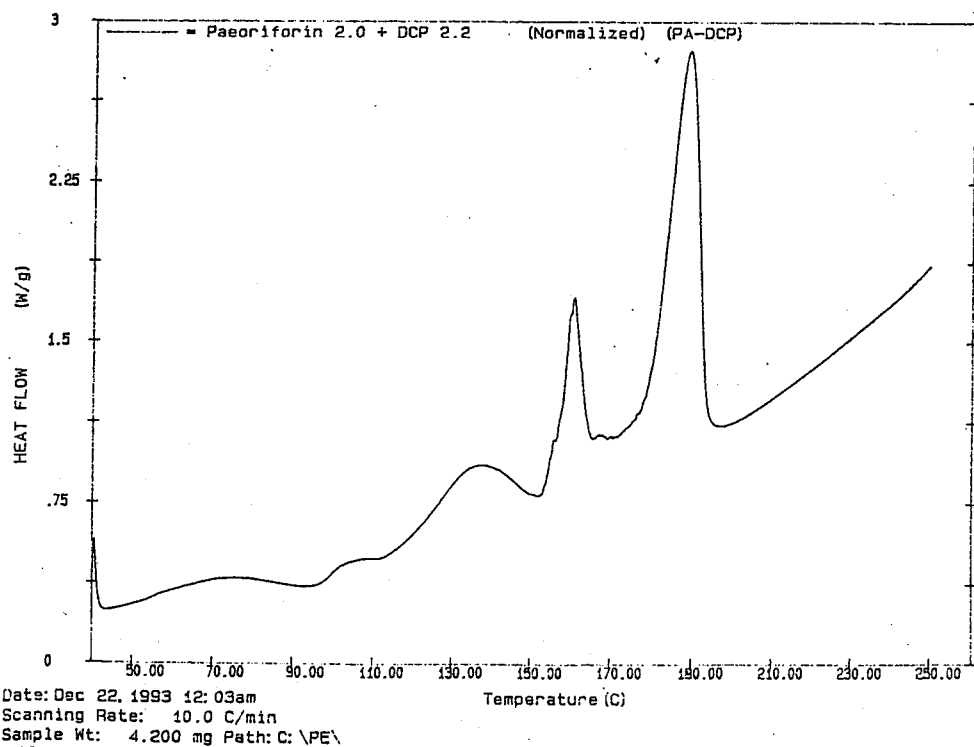
圖四十二. DSC thermogram of paeoniflorin-Avicel PH 101 mixture



圖四十三. DSC thermogram of paeoniflorin-lactose mixture

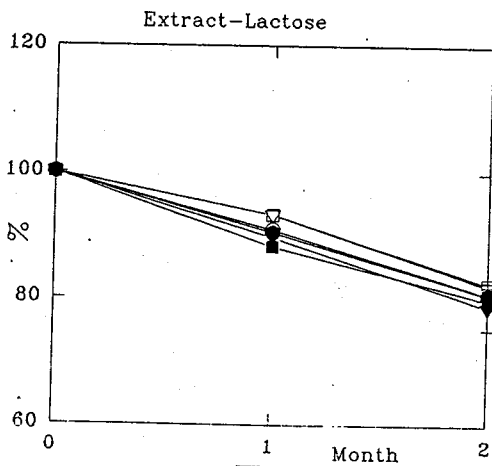
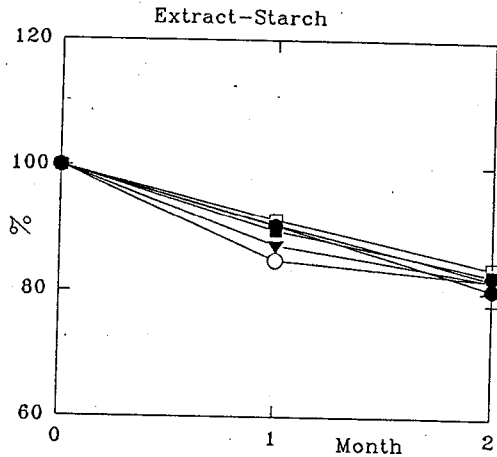
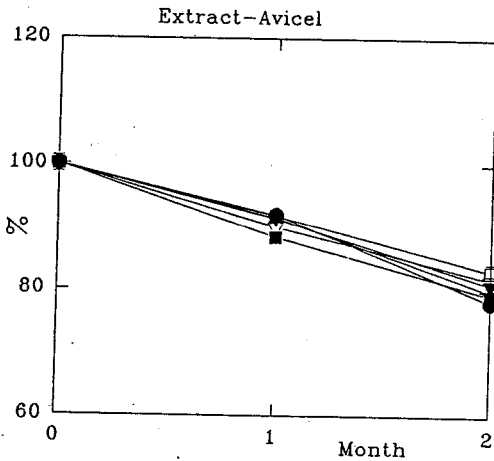
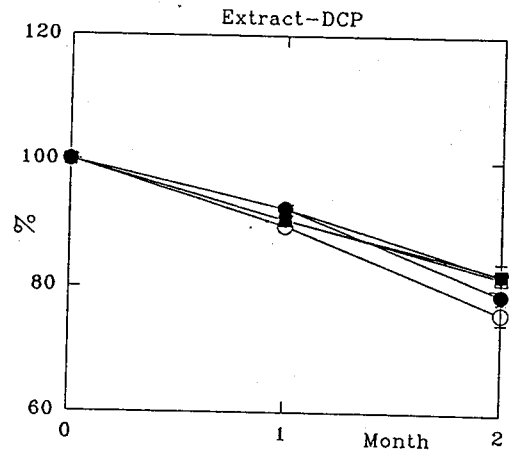
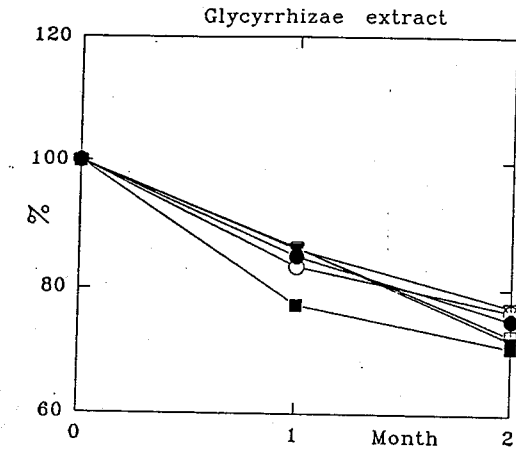


圖四十四. DSC thermogram of paeoniflorin-corn starch mixture:



圖四十五. DSC thermogram of paeoniflorin-DCP

# Glycyrrhizin



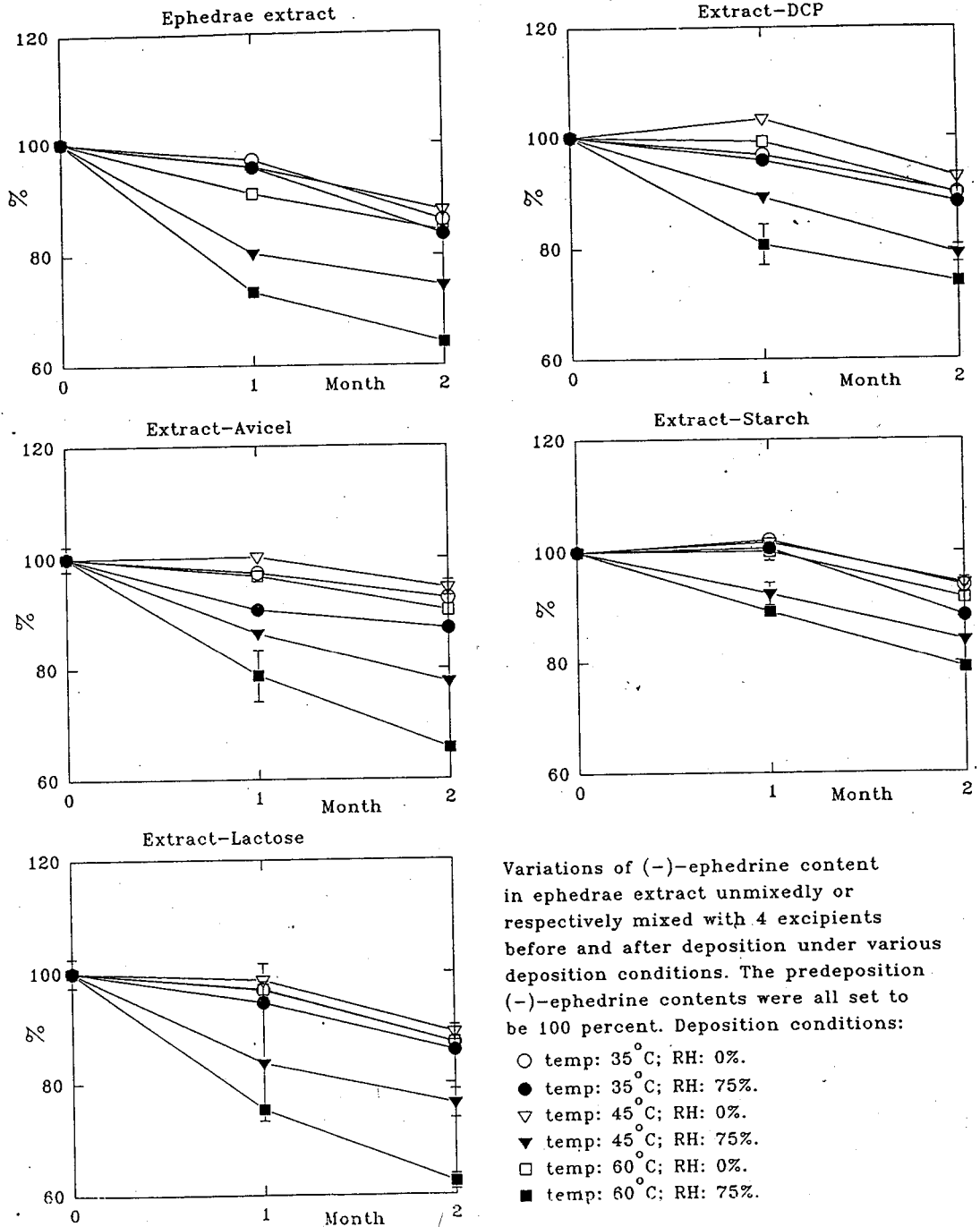
Variations of Glycyrrhizin content in glycyrrhizae extract unmixedly or respectively mixed with 4 excipients before and after deposition under various deposition conditions. The predeposition Glycyrrhizin contents were all set to be 100 percent.

Deposition conditions:

- temp: 35°C; RH: 0%.
- temp: 35°C; RH: 75%.
- ▽ temp: 45°C; RH: 0%.
- ▼ temp: 45°C; RH: 75%.
- temp: 60°C; RH: 0%.
- temp: 60°C; RH: 75%.

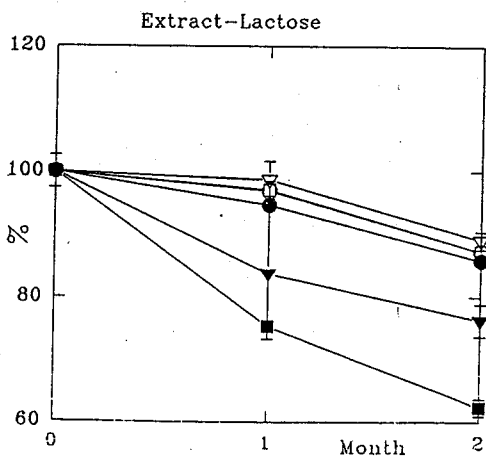
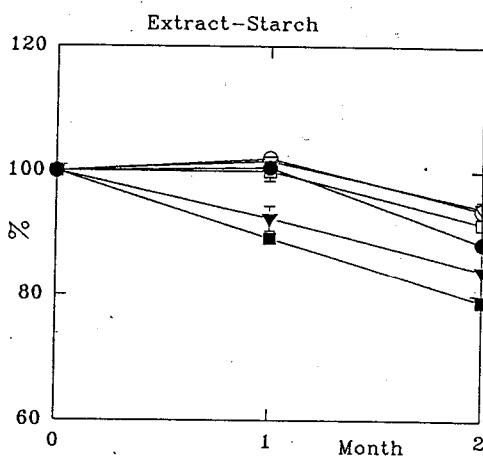
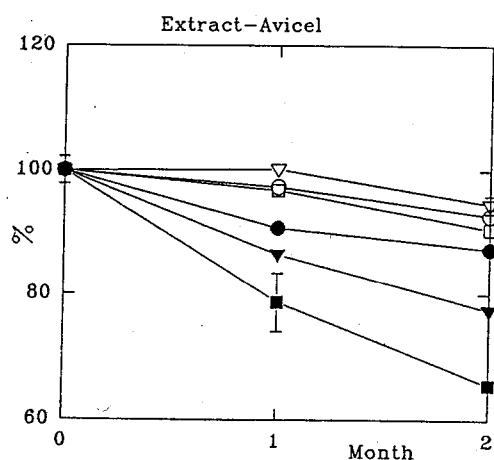
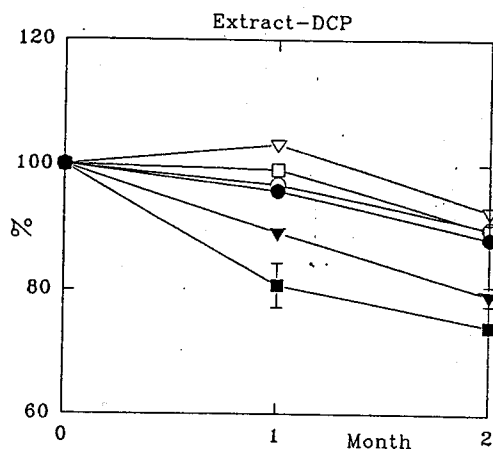
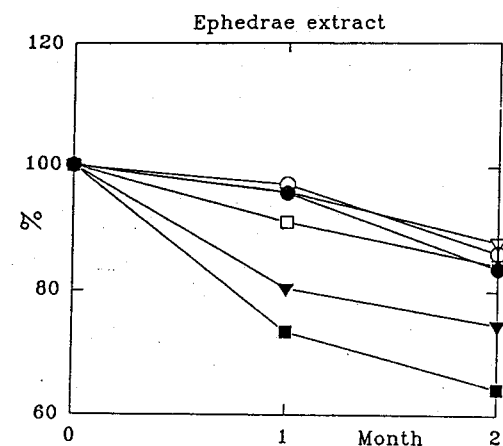
圖四十六. 貯存前後glycyrrhizin含量之變化分析圖

(-)-Ephedrine



圖四十七. 貯存前後(-)-ephedrine含量之變化分析圖

# (+)-Pseudoephedrine



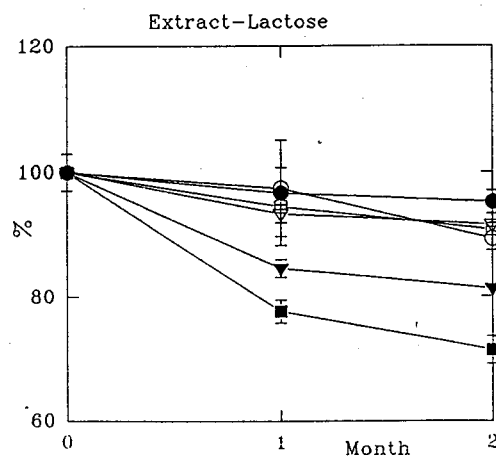
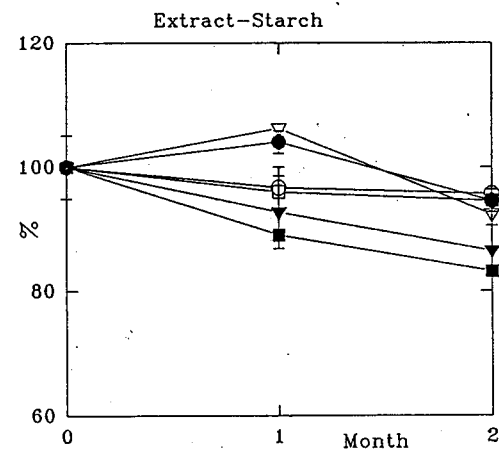
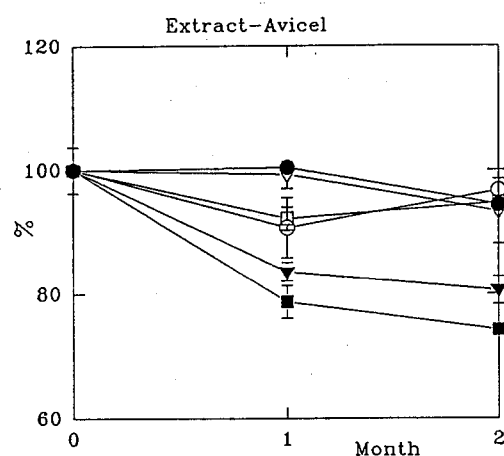
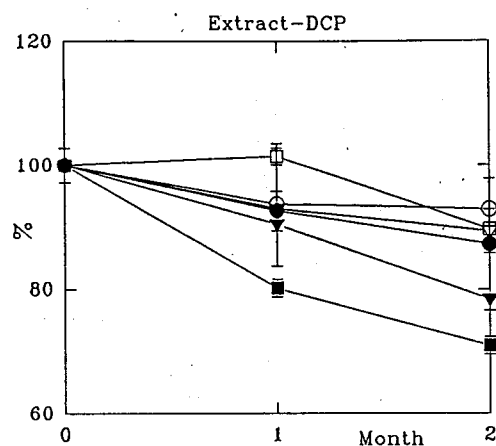
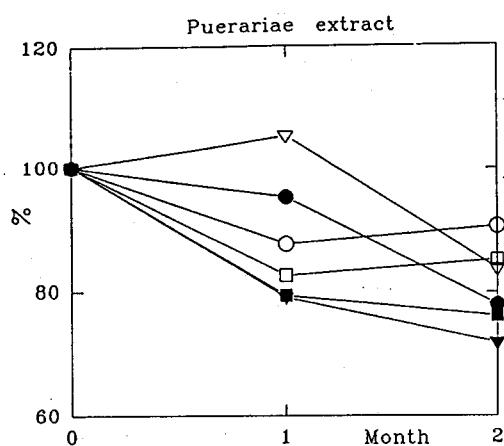
Variations of (+)-pseudoephedrine content in ephedrae extract unmixedly or respectively mixed with 4 excipients before and after deposition under various deposition conditions. The pre-deposition (+)-pseudoephedrine contents were all set to be 100 percent.

Deposition conditions:

- temp: 35°C; RH: 0%.
- temp: 35°C; RH: 75%
- ▽ temp: 45°C; RH: 0%.
- ▼ temp: 45°C; RH: 75%.
- temp: 60°C; RH: 0%.
- temp: 60°C; RH: 75%.

圖四十八. 貯存前後(+)-pseudoephedrine含量之變化分析圖

# Daidzein



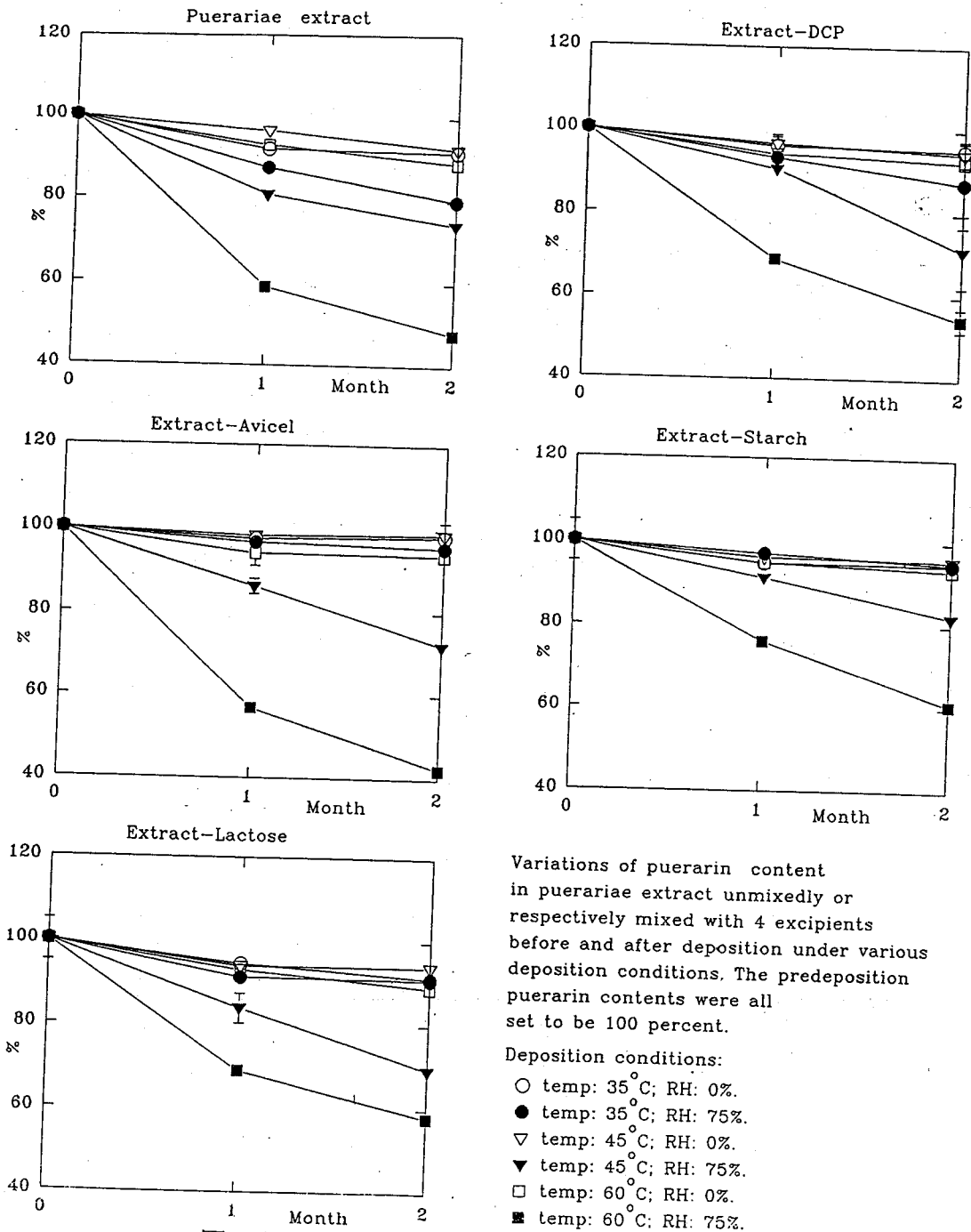
Variations of daidzein content in puerariae extract unmixedly or respectively mixed with 4 excipients before and after deposition under various deposition conditions. The pre-deposition Daidzein contents were all set to be 100 percent.

Deposition conditions:

- temp: 35°C; RH: 0%.
- temp: 35°C; RH: 75%.
- ▽ temp: 45°C; RH: 0%.
- ▼ temp: 45°C; RH: 75%.
- temp: 60°C; RH: 0%.
- temp: 60°C; RH: 75%.

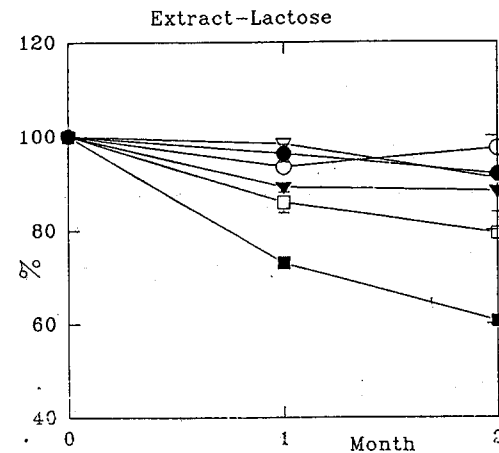
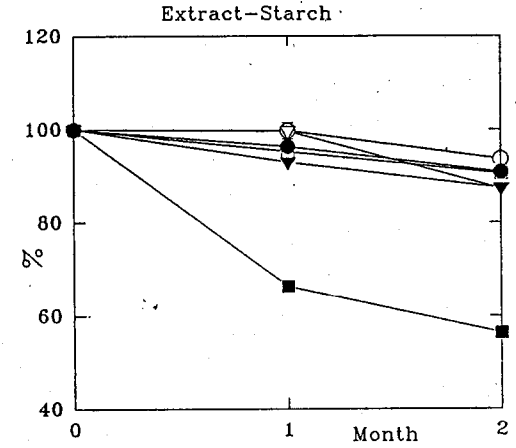
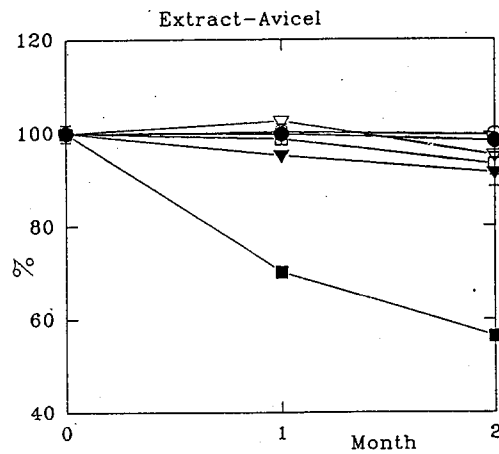
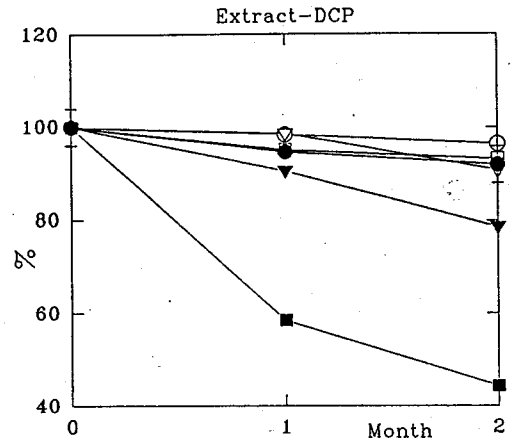
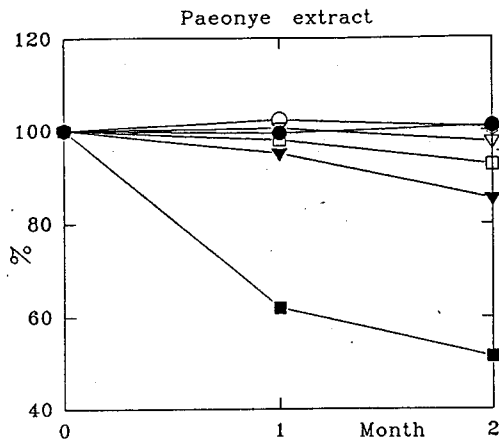
圖四十九. 貯存前後daidzein含量之變化分析圖

# Puerarin



圖五十. 貯存前後puerarin含量之變化分析圖

# Paeoniflorin



Variations of paeoniflorin content in paeony extract unmixedly or respectively mixed with 4 excipients before and after deposition under various deposition conditions. The predeposition paeoniflorin contents were all set to be 100 percent.

Deposition conditions:

- temp: 35°C; RH: 0%.
- temp: 35°C; RH: 75%.
- ▽ temp: 45°C; RH: 0%.
- ▼ temp: 45°C; RH: 75%.
- temp: 60°C; RH: 0%.
- temp: 60°C; RH: 75%.

圖五十一. 貯存前後paeoniflorin含量之變化分析圖

# 附錄

## 附錄(一) 賦形劑之物理性質

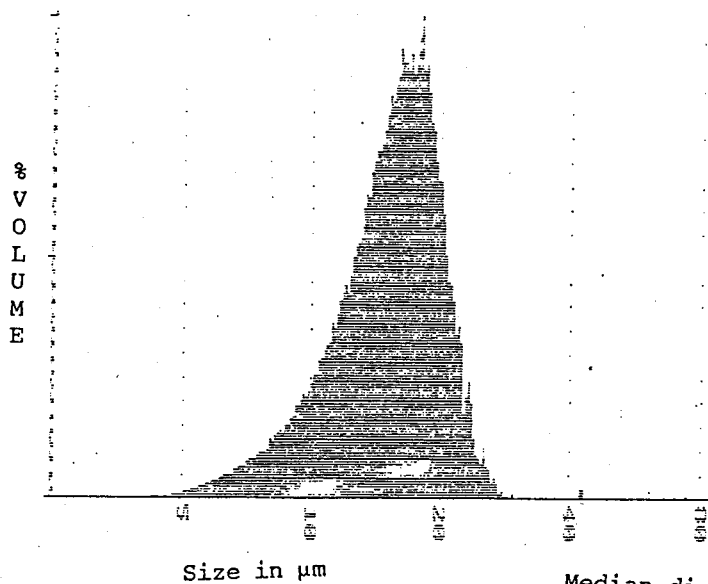
附錄表(一) Properties of excipients

Material	True Density (g/ml)	Bulk Density (g/ml)	Specific Surface Area (m <sup>2</sup> /g)	Angle of Respose (θ°)	Moisture content (%)
Corn Starch	1.556±0.022	0.465±0.001	0.451±0.022	55.04±0.009	11.40±0.23
Lactose	1.542±0.003	0.588±0.002	0.244±0.022	54.26±0.07	0.126±0.18
Emcompress	2.341±0.009	0.582±0.002	2.722±0.016	59.74±0.09	1.24±0.22
Avicel 101	1.567±0.001	0.3044±0.005	0.986±0.014	57.20±0.12	4.43±0.29

附錄表(二) Tap numbers on relative density for excipients

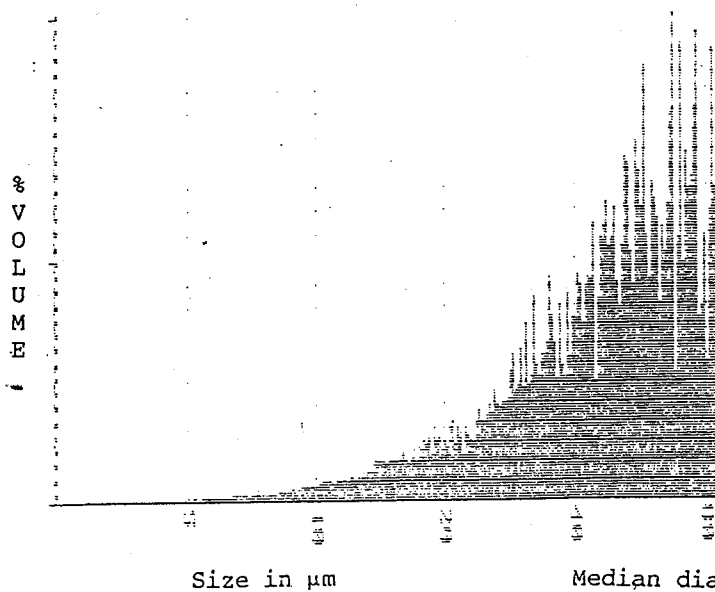
Material	0	Tap Numbers (n)				
		100	200	300	400	500
Corn starch	0.296	0.374	0.395	0.401	0.404	0.406
Lactose	0.375	0.458	0.469	0.475	0.477	0.481
Emcompress	0.222	0.268	0.295	0.320	0.342	0.349
Avicel	0.183	0.239	0.512	0.255	0.262	0.262

附錄(二) 賦形劑之粒子形狀及大小分布



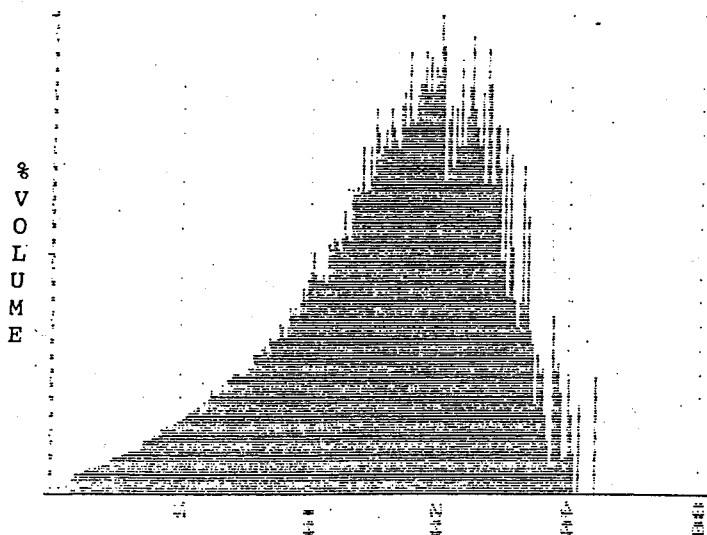
附錄圖(一) Particle size of corn starch

Median diameter:  $15.62\mu\text{m}$   
 Mean diameter:  $14.81\mu\text{m}$   
 Mode (diameter):  $18.01\mu\text{m}$



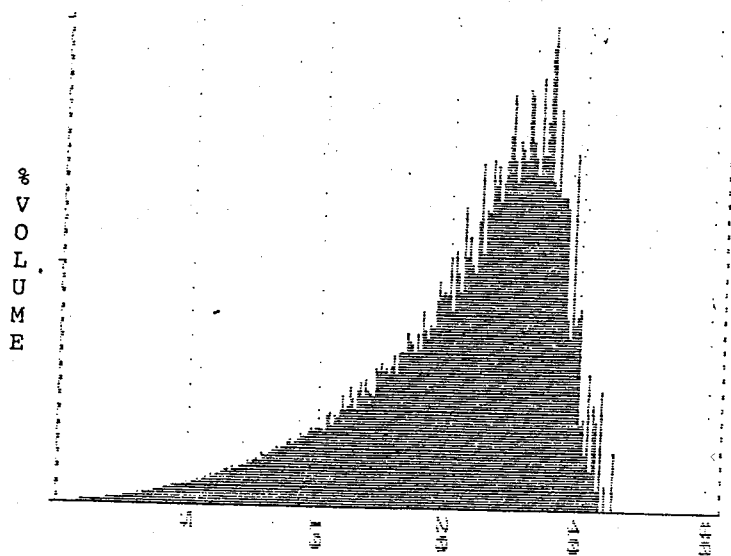
附錄圖(二) Particle size of lactose

Median diameter:  $49.73\mu\text{m}$   
 Mean diameter:  $43.28\mu\text{m}$   
 Mode (diameter):  $67.21\mu\text{m}$



附錄圖(三) Particle size of DCP

Median diameter: 16.76 $\mu$ m  
Mean diameter: 20.97 $\mu$ m  
Mode (diameter): 33.61 $\mu$ m



附錄圖(四) Particle size of Avicel PH 101

Median diameter: 24.12 $\mu$ m  
Mean diameter: 15.49 $\mu$ m  
Mode (diameter): 20.12 $\mu$ m



# 中藥藥材及中藥方劑之藥理、藥效研究 ( I ) — 三妙丸、獨活寄生湯及當歸拈痛湯之抗炎症研究

林俊清<sup>1</sup>、陳明豐<sup>2</sup>、陳介甫<sup>3</sup>

1. 高雄醫學院 2. 台南市立醫院 3. 國立中國醫藥研究所

## 摘 要

三妙丸、當歸拈痛湯及獨活寄生湯，此三方劑在臨床上常用於類風濕性關節炎、坐骨神經痛等之治療。本研究將探討此三方劑對於由 Carrageenan 誘發大白鼠 (Wistar) 急性足蹠浮腫試驗及 Freund's Adjuvant 誘發大白鼠 (wistar) 慢性類風濕炎症性試驗，從抗炎活性之比較得知，三方劑的水抽出物在 300mg/kg 劑量下和 100mg/kg 劑量下，其三者之抗急性、慢性發炎活性雖略遜於 Indomethacin (10mg/kg) 活性，在試驗上，均呈現有意義的全程抑制，且三者間抗發炎藥效約相當，對急慢性關節炎均有其臨床使用之價值。

## A B S T R A C T

San-Miao-wan(SMW), Tuhwo-jih-shen-t'ang(TJS) and Dang-guei-nian-tong-tang(DGT) are traditional prescription. They can remove pathogenic "heat" and "wetness" for the treatment of edema and chronic pain. Usually, they are treated on rheumatic arthritis, sciatica and gouty arthritis. To clarify their pharmacologic effects, the anti-inflammatory effect of SMW, TJS and DGT were evaluated with carrageenin and complete Freund's adjuvant-induced edematous responses of hind-paw in rats. It was found that dose (100 mg/kg) and dose (300 mg/kg) of SMW, TJS and DGT have the same significant anti-inflammatory effect ( $p < 0.005$ ). From the experimental results showed that SMW, TJS and DGT were be a potential anti-inflammatory agents and may be considered as alternatives for indomethacin or hydrocortison.

## — 前 言

三妙丸由二妙散 <丹溪心法> 加牛膝。

三妙丸目錄於 <醫學正傳>：清熱燥濕。其能治濕熱下注之痿証，如風濕性關節炎、類風濕性關節炎等病。

當歸拈痛湯目錄於 <蘭室秘藏> 其能治濕熱為病，見腳氣、肢節疼痛、胸膈不利等。

獨活寄生湯出典於 <千金方> 能益肝腎、補氣血、祛風濕、止痺痛。治腰膝冷痛或酸痛、肢節屈伸不利、肢體麻木，如慢性關節炎、慢性腰腿痛、風濕性坐骨神經痛等。

此三方劑在臨床上功用主治雷同，但其一般藥理作用研究尚無文獻報導。爲了解明其藥裡作用，評估其藥效開發關節炎治療藥物之新資源，本研究以 carrageenan 誘發大白鼠急性炎症試驗及大白鼠 Completl Freund's adjuvant 誘發之慢性炎症實驗模式來觀察其抑制動物急性及慢性類風濕性關節炎之作用，同時以 Indomethacin 作爲比較藥物，加以比較抗炎藥效，以確定其臨床使用之價值。

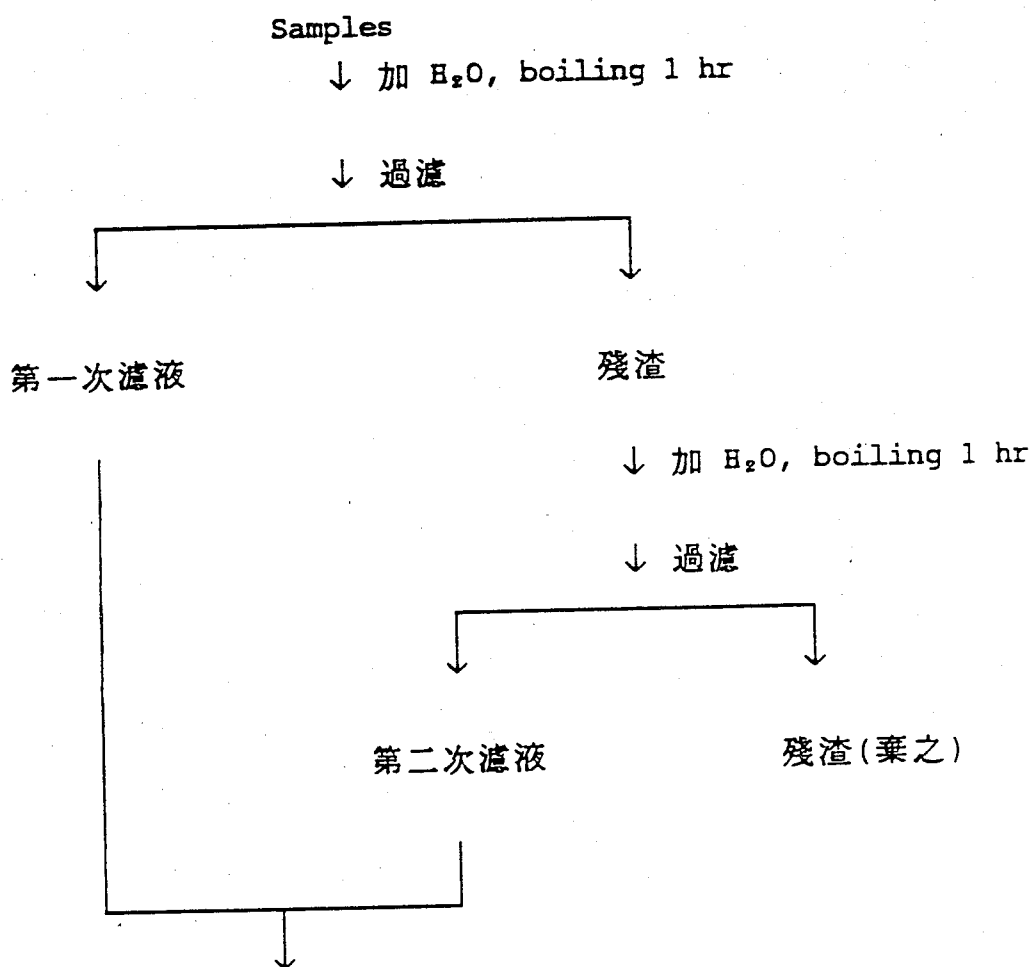
## 二 實驗方法

### 材料製備：

獨活寄生湯之組成 ---- 獨活9g、桑寄生、秦艽、防風、細辛、川芎、當歸、熟地、白芍、茯苓、肉桂、杜仲、牛膝、黨參、甘草各6g。

當歸拈痛湯之組成 ---- 當歸、知母、羌活、茵陳、黃芩、白朮、豬苓、澤瀉各2.5g、蒼朮、防風、葛根、人參、苦參、升麻各2g。

三妙丸之組成 ---- 黃蘗、蒼朮、川牛膝各12g。



## 實驗動物

採用由成功大學中心購得的Wistar系四週齡雄性大白鼠,體重在150~180g。

## 實驗儀器

足跡浮腫測定儀器為Plethysmometer 7150 UGO(Italy)

## 實驗步驟

### A. Carrageenan 誘發急性炎症反應

依 Winter<sup>(1)</sup>之方法誘發發炎，控制組給予生理食鹽水，對照組給予 Indomethacin (10mg/kg 之 1% C M C 懸浮液)，藥物組分別給予三妙丸、當歸拈痛湯、獨活寄生湯之水抽出物 100 mg/kg 及 300 mg/kg，背部皮下給藥一小時後，再於大白鼠左後肢的足蹠皮下注射 0.05 ml 的 1% carrageenan 生理食鹽水，觀察並記錄 carrageenan 注射前之足蹠體積及注射後 1, 2, 3, 4, 5 小時之足蹠體積變化。

### B. Complete Freund's adjuvant 誘發慢性炎症反應

依 Neubould<sup>(2)</sup>的方法，先測每隻大白鼠左後足蹠的體積，再於每隻大白鼠左後足蹠皮下注射 0.05 ml Complete Freund's adjuvant (1% Suspension olive oil; Difco)；藥物組於注射 adjuvant 前一日開始連續以胃管給予三妙丸，當歸拈痛湯，獨活寄生湯的水抽出物 100 mg/kg 及 300 mg/kg，控制組給予生理食鹽水 (10c.c/kg)，對照組給予 Indomethacin (5mg/kg 之 1% C.M.C. 懸浮液)，連續給藥十四日，再觀察十四日共二十八日，其間並隔一、二天記錄其左後足蹠之浮腫率變化。

各組之浮腫率 (Edema rate) 及抑制率 (Inhibition rate) 依下列方式計算：

$$\text{浮腫率 (Edema rate) } E\% = \frac{V_t - V_0}{V_t} \times 100\%$$

$$\text{抑制率 (Inhibition rate) } I\% = \frac{E_c - E_t}{E_c} \times 100\%$$

$V_0$ ：Carrageenan 注射前左後足蹠體積

$V_t$ ：Carrageenan 注射後第  $t$  小時之左後足蹠體積 ( $t=1, 2, 3, 4, 5$ )

$E_c$ ：控制組的浮腫率

$E_t$ ：藥物組的浮腫率

## 實驗結果：

### A. Carrageenan-induced 的急性炎症反應：

Carrageenan 投予後，於第一小時內便誘發炎症之浮腫，並於第三、四小時達到最大發炎反應，其浮腫率及抑制率如表1，表2所示，各藥物組和 Indomethacin 組對於 Carrageenan 所誘發之足趾浮腫反應，皆呈現有意義全程抑制作用 ( $P < 0.005$ )。經由統計學 (ANOVA) 發現劑量為 300mg/kg 和 100mg/kg 三種藥物組對 Carrageenan 所引起的浮腫抑制率皆呈現有意義及良好的抑制效果，得知低劑量即可達到抑制發炎反應。

### B. Adjuvant-induced 的慢性炎症反應：

由 Complete Freund's adjuvant 所引起的類風濕性慢性炎症反應，其浮腫率和抑制率如表3，表4所示，經由 ANOVA 統計學評估發現各藥物組和 Indomethacin 組對於 Adjuvant 所引起的慢性炎症足趾浮腫反應，均呈現有意義的全程抑制作用 ( $p < 0.005$ )。藥物組除獨活寄生湯 (100mg/kg) 組於第2、4日效果較差外 ( $p > 0.05$ )，其餘劑量為 300mg/kg 和 100mg/kg 三種藥物組對 Adjuvant 所引起的浮腫抑制率皆有很好的抗炎活性，得知低劑量即可達到抑制效果。

# A. Carrageenan-induced 之抗發炎活性

Table 1. Effects of San-Miao-Warn , Tuhwo-jih-shen-tang, and Dang-guei-nian-tong-tang on carrageenan-induced paw edema in rats.

Group	Dose (mg/kg ip)	Edema rate (E%) after carrageenan administration				
		+1hr	+2h	+3hr	+4hr	+5hr
Control(N/S)		24.1±2.5 <sup>a)</sup>	52.3±6.2	68.0±5.8	59.0±2.2	45.8±4.1
Indomethacin	10	5.9±0.7* <sup>b)</sup> (75.5%) <sup>c)</sup>	11.9±1.9* (77.2%)	18.6±1.8* (72.6%)	20.3±0.7* (65.6%)	12.5±2.5* (72.7%)
三 妙 丸	100	6.7±1.0* (71.4%)	24.2±3.6* (53.7%)	30.5±4.2* (55.1%)	30.3±3.9* (48.6%)	22.4±2.6* (51.1%)
當歸拈痛湯	100	8.6±1.9* (64.3%)	24.7±3.8* (52.8%)	32.7±4.1* (51.9%)	28.6±5.1* (51.5%)	24.5±4.9* (46.5%)
獨活寄生湯	100	10.6±1.3* (56.0)	29.7±3.2* (43.2%)	35.3±3.2 (48.1%)	32.7±2.8* (44.6%)	22.2±2.1* (51.5%)

Table 2. Effects of San-Miao-Warn, Tuhwo-jih-shen-tang, and Dang-guei-nian-tong-tang on carrageenan-induced paw edema in rats.

Group	Dose (mg/kg ip)	Edema rate (E%) after carrageenan administration				
		+1hr	+2hr	+3hr	+4hr	+5hr
Control(N/S)		27.5±3.9 <sup>a)</sup>	48.6±4.1	66.3±5.5	55.6±6.6	43.9±6.4
Indomethacin	10	10.2±1.7* <sup>b)</sup> (62.9%) <sup>c)</sup>	17.9±2.3* (63.2%)	29.8±3.2* (55.1%)	23.2±4.2* (58.3%)	18.0±3.4* (58.8%)
三 妙 丸	300	16.4±3.7* (40.4%)	28.4±3.4* (41.6%)	40.5±4.8* (38.9%)	33.0±3.8* (40.6%)	22.2±6.8* (49.4%)
當歸拈痛湯	300	15.4±2.8* (44.0%)	25.7±4.8* (47.1%)	37.4±5.4* (43.6%)	27.1±7.8* (51.3%)	17.7±5.9* (59.7%)
獨活寄生湯	300	15.0±1.9* (45.5%)	24.5±3.4* (49.6%)	36.3±2.4* (45.2%)	30.6±2.4* (45.0%)	20.7±2.5* (52.8%)

<sup>a)</sup> Values represent the mean±S.D. of 6 animals each group.

<sup>b)</sup> \*p< 0.005 (Dunnett's t-test), significantly different from control group.

<sup>c)</sup> Values within parentheses indicate percentage inhibition rate (I%).

B. Comloto Freund's adjuvant-Induced 之抗原性變異性

Table 3. Effects of San-miao-yang, Tuluo-jih-shon-tang and Dang-guol-ni-an-tong-tang on adjuvant-induced arthritis in rats

Group	Dose (mg/kg p.o.)	Edema ratio (%) after adjuvant administration													
		1day	2day	3day	4day	6day	8day	10day	13day	15day	17day	19day	21day	24day	28day
Control (W/S)		31.0±5.3**	38.6±5.8	50.4±8.0	40.3±2.5	63.1±4.6	65.5±9.0	70.3±4.7	75.1±7.0	77.7±5.7	77.0±8.1	77.3±5.0	80.1±0.3	81.9±8.4	80.0±5.5
Indomethacin	5	21.1±3.3** (33.2%)**	27.0±1.3* (30.1%)	28.2±3.4* (44.0%)	24.5±3.1* (47.1%)	29.3±4.6* (53.6%)	34.6±3.7* (47.2%)	35.3±3.8* (50.8%)	33.5±4.0* (55.4%)	32.1±4.6* (58.7%)	33.0±2.8* (57.5%)	39.7±0.1* (48.6%)	43.2±3.0* (48.8%)	42.1±7.4* (48.6%)	41.0±0.8* (45.0%)
三妙丸	100	22.4±3.8* (29.1%)	28.0±3.7* (25.0%)	33.2±3.3* (34.1%)	32.2±1.6* (30.5%)	41.2±3.2* (34.7%)	44.7±3.0* (31.8%)	42.2±4.0* (40.0%)	43.9±0.9* (41.5%)	45.1±7.7* (42.0%)	48.7±4.7* (37.2%)	40.5±4.5* (39.8%)	52.4±5.7* (39.1%)	42.2±0.0* (48.5%)	48.9±0.1* (40.0%)
靈驗貼痛膏	100	23.9±1.9** (24.1%)	29.1±1.8* (24.0%)	34.2±1.8* (32.1%)	30.9±2.2** (13.8%)	39.6±3.2* (37.2%)	40.1±4.9* (28.6%)	46.4±3.0* (34.0%)	44.6±3.0* (40.6%)	46.0±2.2* (40.8%)	41.0±4.4* (46.4%)	52.9±3.5* (31.6%)	51.0±2.0* (40.1%)	57.0±1.8* (26.7%)	55.9±1.3* (35.0%)
獨活寄生湯	100	23.3±5.7* (20.3%)	31.3±8.0 (18.0%)	38.7±0.3* (22.2%)	40.9±0.5 (11.7%)	40.3±4.4* (36.1%)	44.4±5.9* (32.2%)	40.4±3.1* (42.5%)	42.2±2.8* (43.8%)	49.0±4.8* (30.9%)	47.3±4.7* (30.0%)	59.8±4.0* (23.6%)	62.2±4.0* (31.7%)	62.8±4.9* (24.1%)	60.5±4.4* (29.7%)

\*\* Values represent the mean ± S.D. of 8 animals each group.

\*, \*\*, p < 0.01, p < 0.005 (Dunnnett's t-test), significantly different from control group.

\*\* Values within parentheses indicate percentage inhibition ratio (%).

Table 4. Effects of San-miao-yang, Tuluo-jih-shon-tang and Dang-guol-ni-an-tong-tang on adjuvant-induced arthritis in rats

Group	Dose (mg/kg p.o.)	Edema ratio (%) after adjuvant administration													
		1day	2day	3day	5day	7day	8day	9day	12day	14day	17day	20day	22day	24day	28day
Control (W/S)		44.5±5.2**	58.1±0.9	68.8±5.2	74.7±5.2	70.0±2.9	76.1±4.2	70.2±6.7	73.4±4.2	71.6±3.6	71.1±2.4	74.4±4.7	77.3±4.5	77.1±0.2	78.0±3.7
Indomethacin	5	21.0±2.4** (52.8%)**	24.5±2.2* (57.8%)	24.1±4.1* (55.5%)	26.4±4.3* (64.7%)	34.9±7.8* (50.1%)	36.7±0.9* (51.8%)	35.2±8.4* (53.8%)	32.2±8.3* (56.1%)	30.0±8.3* (58.1%)	31.3±9.7* (56.0%)	45.8±5.2* (38.4%)	43.9±7.9* (43.2%)	43.3±0.5* (43.8%)	53.7±13.1* (31.7%)
三妙丸	300	27.5±5.0* (38.2%)	33.3±0.4* (42.7%)	43.0±5.1* (38.4%)	44.7±4.0* (40.2%)	46.0±5.4* (34.3%)	44.2±0.4* (41.0%)	46.3±4.0* (39.2%)	44.0±4.4* (40.1%)	41.2±4.8* (42.5%)	47.0±5.3* (33.9%)	53.8±0.0* (27.7%)	54.5±8.5* (29.5%)	50.9±3.2* (26.2%)	53.2±4.2* (32.3%)
靈驗貼痛膏	300	27.0±5.8* (38.3%)	38.3±0.7* (32.4%)	39.4±8.0* (43.6%)	45.1±6.3* (38.6%)	40.8±7.2* (33.1%)	43.4±0.8* (43.0%)	46.0±6.2* (39.6%)	42.0±5.9* (42.8%)	39.3±4.6* (45.1%)	55.9±3.7* (21.4%)	52.3±10.6* (29.7%)	47.3±4.5* (38.8%)	50.3±3.4* (34.8%)	59.5±7.1* (24.3%)
獨活寄生湯	300	24.8±2.6* (44.3%)	33.8±2.2* (41.8%)	36.0±3.6* (47.0%)	36.9±2.4* (50.6%)	37.6±1.6* (46.3%)	41.6±5.5* (45.3%)	39.2±0.4* (48.6%)	37.6±5.2* (48.8%)	33.2±3.9* (53.6%)	41.2±5.0* (42.1%)	51.5±0.2* (30.8%)	51.0±3.9* (33.2%)	48.0±4.1* (37.0%)	50.3±0.2* (24.6%)

\*\* Values represent the mean ± S.D. of animals each group.

\*, \*\*, p < 0.005 (Dunnnett's t-test), significantly different from control group.

\*\* Values within parentheses indicate percentage inhibition ratio (%).

### 三 討論及考察：

根據 Vinegar R<sup>(3)</sup>等人的研究, carrageenan所導致發炎作用乃具有"雙相的"作用機轉。第一相發生於 carrageenan 注射後 1小時內,主要是因肥大細胞 (mast cell) 吸收 carrageenan 粒子後, carrageenan本身之毒性對肥大細胞釋放 cytoplasmic enzymes 及 serotonin, 進一步導致 Arachidonate cyclooxygenase inhibitors sensitive edema 及痛覺過敏 (hyperalgesia), 痛覺遲鈍 (hypoalgesia) 等, 因此第一相可稱為非吞噬性發炎反應。

第二相發生於 carrageenan 注射後2~5小時產生, 源於 carrageenan 進入內皮真皮層後損壞組織, 受傷組織釋出 interleukin 1, 釋出之 interleukin 1 改變了受傷真皮層的表面結構, 而造成嗜中性細胞之趨化作用, 接著 carrageenan 又破壞了嗜中性細胞, 釋出更多的 lysosomal enzymes 至真皮組織, 並且活化了 PG intermediate, 造成吞噬性發炎和痛覺過敏症狀, 因此第二相可稱為吞噬性反應。

Adjuvant 所引起由的浮腫反應和風濕性炎症常被病理學和藥理學者用來作測慢性炎症反應的模式, 機轉尚不確定, 只知至少和 immunogenic, adjuvant, granulomagenic 有關。

由實驗結果, 顯示三妙丸、當歸拈痛湯、獨活寄生湯的水抽出物, 分別以劑量 100mg/Kg 及 300mg/Kg 投予, 對於由 carrageenan 所誘發急性發炎反應及由 adjuvant 所誘發的類風濕炎症反應皆呈有意義的抑制作用 ( $p < 0.005$ )。雖此三種方劑的抑制浮腫率略遜於 Indomethacin, 但此三方劑抗炎活性差不多, 可用於臨床作為抗炎消腫的良藥。由於對 adjuvant 所誘發的類風濕炎症反應, 抑制足蹠浮腫效果良好, 值得進一步做免疫風濕炎症之研究。由本實驗研究, 證明了古人用此三藥方治療關節炎及類風濕性關節炎之療效有其意義, 有關其作用機轉將作進一步之探討。

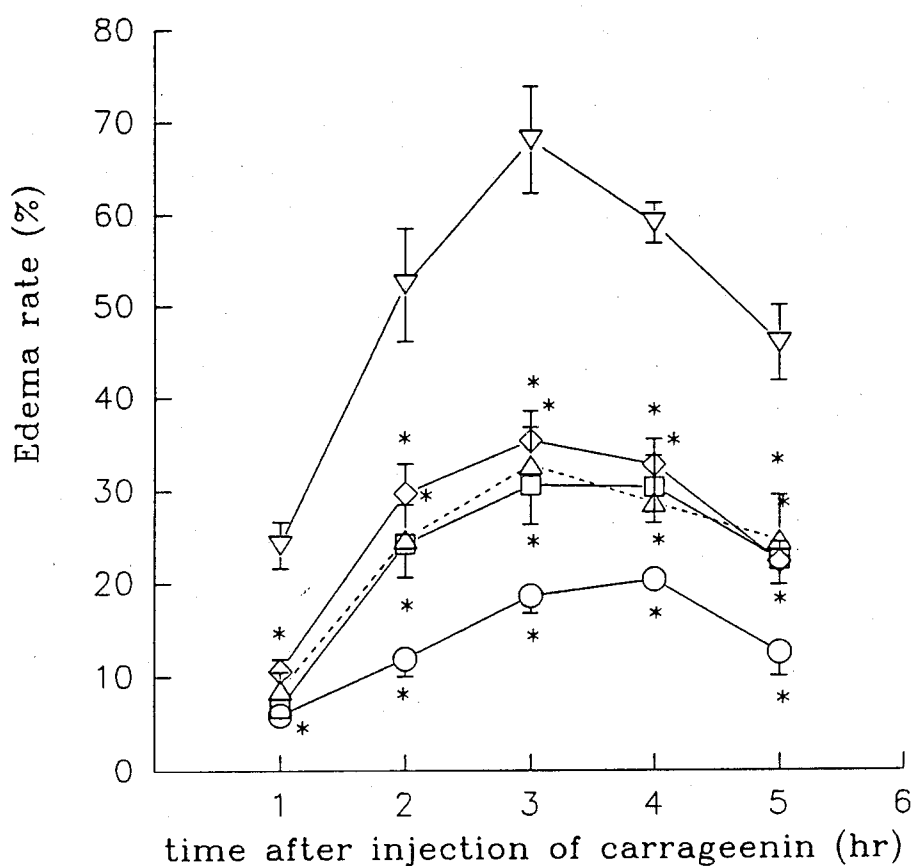


Fig 1. Effect of SMW, TJS, and DGT on carrageenan-induced paw edema in rats.

▽—▽ Control (n=6) Means  $\pm$  S.D.

○—○ Indomethacin 10 mg/kg i.p. (n=6)

□—□ SMW 100mg/kg i.p. (n=6)

△----△ TJS 100mg/kg i.p. (n=6)

◇—◇ DGT 100mg/kg i.p. (n=6)

\*  $p < 0.005$  (Dunnett's t-test) significantly different from the treated control.

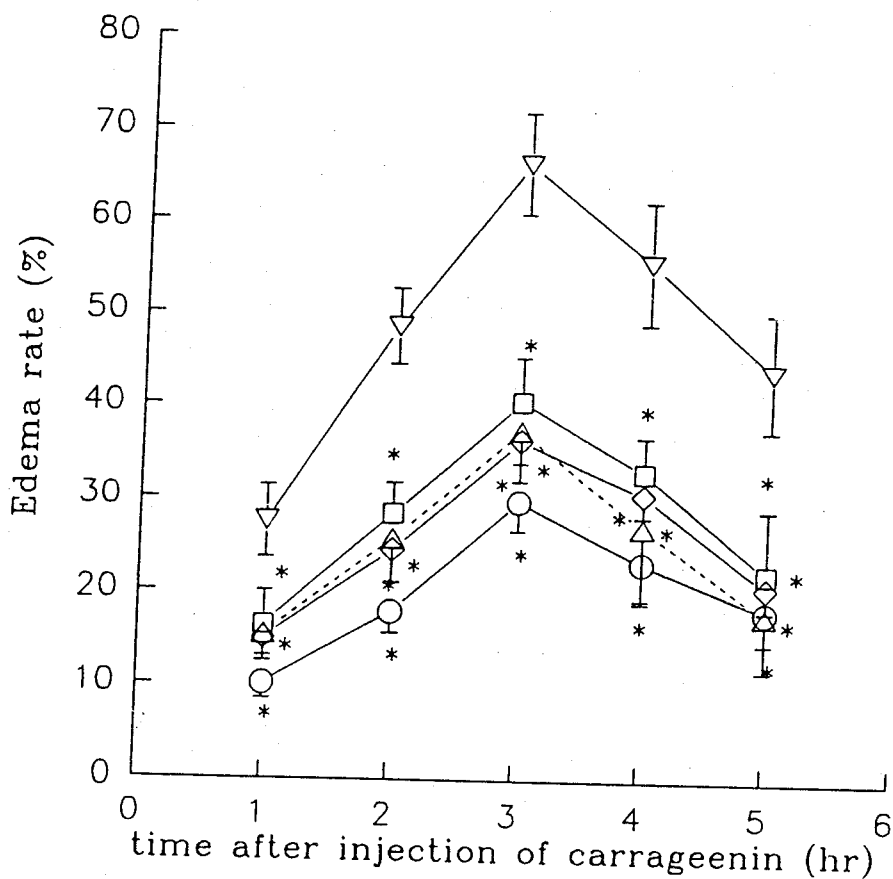


Fig 2. Effect of SMW, TJS, and DGT on carrageenan-induced paw edema in rats.

▽—▽ Control (n=6) Means  $\pm$  S.D.

○—○ Indomethacin 10 mg/kg i.p. (n=6)

□—□ SMW 300mg/kg i.p. (n=6)

△---△ TJS 300mg/kg i.p. (n=6)

◇—◇ DGT 300mg/kg i.p. (n=6)

\*  $p < 0.005$  (Dunnett's t-test) significantly different from the treated control group.

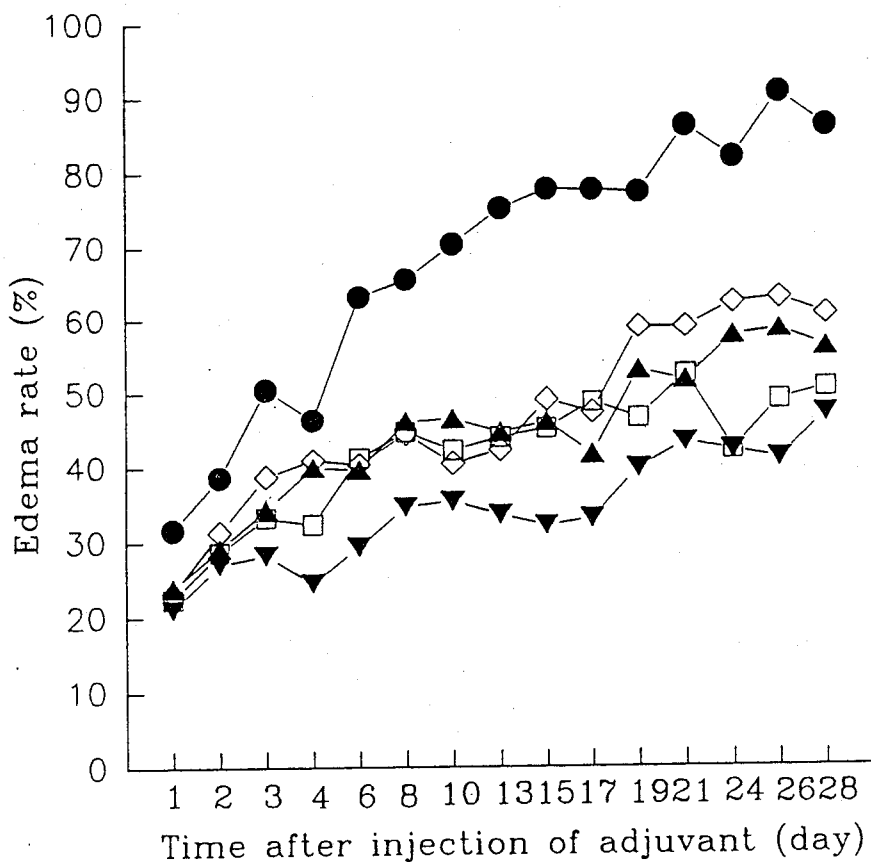


Fig 3. Effect of SMW, TJS, and DGT on adjuvant-induced arthritis in rats.

- Control
- ▼—▼ Indomethan 5mg/kg p.o.
- SMW 100mg/kg p.o.
- ▲—▲ TJS 100mg/kg p.o.
- ◇—◇ DGT 100mg/kg p.o.

Each point represents the mean obtained from six rats.

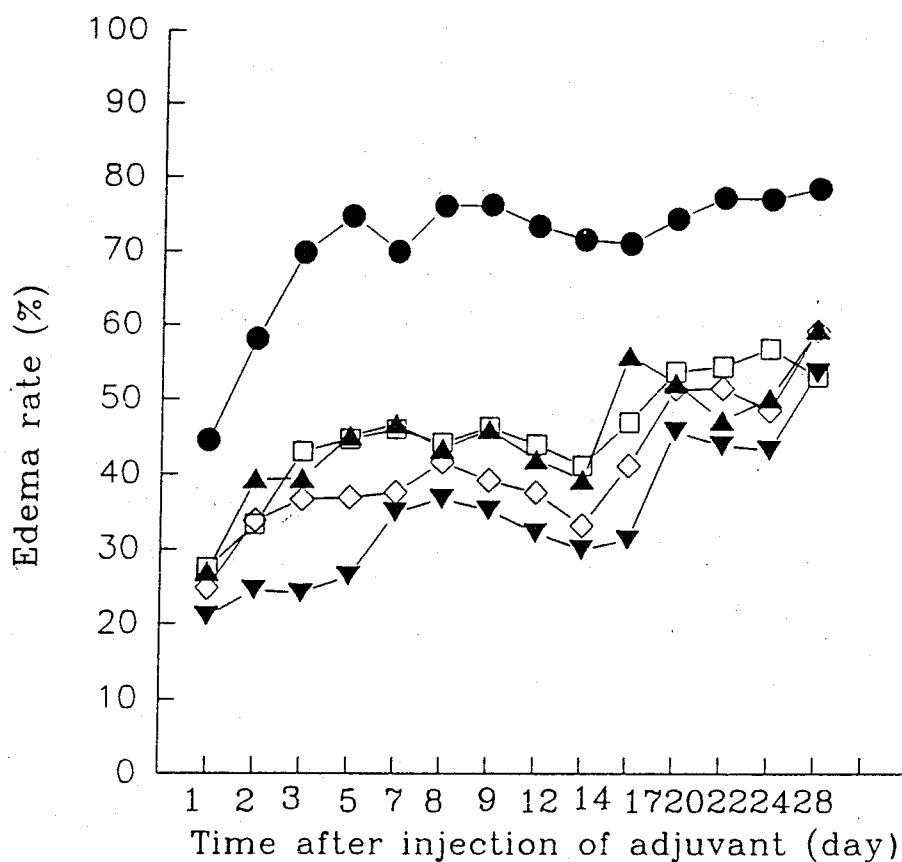


Fig 4. Effect of SNW, TJS, and DGT on adjuvant-induced arthritis in rats.

- Control (n=6)
- ▼—▼ Indomethacin 5mg/kg p.o.
- SMW 300mg/kg p.o.
- ▲—▲ TJS 300mg/kg p.o.
- ◇—◇ DGT 300mg/kg p.o.

Each point represents the mean obtained from six rats.

## 参 考 文 献

1. Winter, C.A., Risley, E.A., and Nuss, C.W. (1962). Carrageenan induced Edema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Med. 111, 544-547.
2. Newbould, B.B. (1963). Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. Brit J Pharmacol 21:127-136.
3. Vinegar, R., Truax, J.F., Selph, J.H., Johnston, P.R., Venable, A.L. and McKenzie, K.K. (1987). Pathway to carrageenan induced inflammation the hind of the rat. Feder. Proc. 46(1), 118-126.

## 炎症和過敏疾患之中 藥治療機轉之研究(三)

邱慧芬 賴文德 林俊清\* 張瑞璋\*\*

高雄醫學院醫學系，藥學系\*  
高雄市立中醫醫院\*\*

### 摘 要

本計劃第三年之實驗仍以 Carrageenan 誘發大白鼠後肢炎症浮腫反應和四氯化碳誘發肝急性炎症損害的動物模式，來篩選一系列台灣產具有抗炎作用的中藥及其進一步之劑量反應 (dose-response) 曲線，另外以腹膜液中分離之肥胖細胞加入中藥萃取液或純化之中藥成分，來觀察中藥對肥胖細胞釋出過敏因子組織胺，前列腺素及白三烯素之影響。

將中藥三七 (S. Ginseng)，黃柏 (P. Wilsonii)，木棉 (B. Malabarica)，山豆根 (S. Subprostrata)，白花蛇舌草 (H. Diffusa)，白毛藤 (S. Lyratym) 之生藥抽取液以不同劑量 1.0, 2.0, 5.0g/kg 注射在大白鼠背部皮下，1 小時後再注入 1% Carrageenan 0.05ml 以觀察這些中藥之抗炎藥效，本實驗之結果顯示對 Carrageenan 之第 1 小時內之浮腫作用以黃柏 2.0g/kg ( $P < 0.001$ ) 以及木棉 5.0g/kg ( $P < 0.001$ )，二者之藥效較為明顯，然而在第 2-4 小時內之浮腫抑制作用，則以木棉 5.0g/kg ( $P < 0.001$ ) 之藥效最為顯著 (ANOVA)。

本研究至目前為止，已陸續完成下列藥物對四氯化碳肝臟急性毒性的保護作用之中藥篩選，其藥物包括：三七 (Sanchi Ginseng)，黃柏 (P. Wilsonii)，威靈仙 (C. Chinensis)，柴胡 (B. Chinense)，木棉 (B. Malabarica)，

半隻蓮 (*S. Rivularis*)，山豆根 (*S. Subprostrata*)，白花蛇舌草 (*H. Diffusa*)，赤芝 (*G. Lucidum*)，白毛藤 (*S. Lyratum*)，丁豎朽 (*E. Scaber*)，白花丁豎朽 (*E. Mollis*)，穗丁豎朽 (*P. Spicatus*)，山防風 (*E. Grijisii*)，漏蘆 (*E. Lati-folius*)，在 CCL<sub>4</sub>(3.0ml/kg) 皮下注射導致之急性肝毒性中，以黃柏，木棉 ( $P < 0.001$ ) 等較其它藥物和大陸產北柴胡之藥效為明顯，然而大部分藥物之抽取液均對中心小葉性的壞死與肝細胞之脂肪變性現象均具有改善作用。

本研究以純化之三七成份即 Sanchinoside，加入於分離之腹膜肥胖細胞中在 5.0uM，10.0uM 及 20.0uM 之下，可觀察到隨劑量增加之抑制組織胺自肥胖細胞釋出作用，而其以及其它中藥之純化成份對前列腺素和白三烯素之作用為何尚待繼續評估。

## 材料與方法

(1) 動物：本實驗採用國立成大醫院動物室飼養之純種 Wistar

大白鼠，體重在  $200 \pm 25$  克。

(2) 材料：

(a) 抗炎症實驗：

入-Carrageenan 購自美國 Sigma 公司，另外生藥成分以熱水抽取三七 (*Sanchi Ginseng*)，黃柏 (*Phellodendron Wilsonii*)，木棉 (*Bombax Malabarica*)，山豆根 (*Sophorae Subprostrata*)，白花蛇舌草 (*Hedyotis Diffusa*)，白毛藤 (*Solanum Lyratum*) 等生藥之水溶性成分，並濃縮至 1.0 g/ml 的濃度。以不同的劑量注入以求出劑量-反應曲線。

(b) 肝臟保護作用實驗：

以 Merk 公司四氯化碳 3.0ml/kg 注入大白鼠皮下，並且同時給予三七，黃柏，木棉，半隻蓮，北柴胡，山豆根，白花蛇舌草，赤芝，白毛藤，威靈仙，丁豎朽，白花丁豎朽，穗丁豎朽，山防風，漏蘆等生藥抽提液 1.0 g/kg.

(3) 大白鼠後肢浮腫體積之測定：

實驗以 1962 年 Winter. B (21) 所提出浮腫體積測量方法為主，以足趾浮腫體積測量器 Plethysmometer (Ugobasile, Italy) 作為測定大白鼠後肢浮腫體積變化量的裝置。

Carrageenan 注入大白鼠後肢所引起的浮腫體積變化，為浮腫作用強度及不同中藥抽取液藥效判斷的依據，大白鼠每 8 隻為一組，分別在每隻左後肢的足趾關節處以性色筆劃線，作為測定浮腫體積測量的界限，然後自左腳掌皮內注入 0.05 ml 含不同劑量的檢品作為實驗組時，自右後肢注入同體積的生理食鹽水作為對照組，注射後將大白鼠的後肢自足趾關節劃線處以下之部分浸入水銀槽中，經壓力改變推動相連之水柱上升，以記錄出浮腫的體積變化，在第一小時以內每間隔 15 分鐘測量一次，然後每隔 1 小時測量一次，連續觀察注射後 5 小時內的浮腫體積變化量。

(4) 腹膜肥胖細胞之分離：

將 15ml 37°C 之 Tyrode 溶液調整於 PH=7.2 注入於大白鼠之腹腔中，經 2-5 分鐘按摩其腹部後，斷頭去血剖開腹腔以消毒之注射器自腹腔內吸取腹膜液，先在低速 350 g 離

心 5 分鐘製成  $2.0 \times 10^6$  cell/ml 之細胞懸浮液以進行肥胖細胞組織胺釋出之測定

(5) 組織胺的螢光測定法：

依 Shore et al 方法以螢光劑 OPD (ophthaldehyde) 和組織胺結合後經螢光度計在 365 nm excitation 及 450 nm emission 之下測定自肥胖細胞釋出之組織胺含量

(6) 生藥抽提物對肝臟的保護作用：

將大白鼠每 8 隻為一組，以四氯化碳 3.0 ml/kg 背部皮下注射後，以 1.0 g/kg 劑量同時給予木棉，半隻蓮，北柴胡，山豆根，白花蛇舌草，赤芝，白毛藤，威靈仙，黃柏，丁豎朽，白花丁豎朽，穗丁豎朽，山防風，漏蘆等抽提液後分別於第 24, 48 小時再追藥物。另外以注射 Olive oil (CCl<sub>4</sub> 溶劑) 作為對照組。

(7) 老鼠肝功能測定與肝組織切片製備：

在給予四氯化碳及生藥抽取液 72 小時後，即將動物犧牲頸動脈取得血液後以 3000 轉 10 分鐘離心 (照 Reitman and Frankel(18) 所描述方法來操做，並測定 SGOT, SGPT 的血清活性。取得老鼠血液後，再將肝組織隨機在每一肝小葉選取微小部份檢品 (1 mm)，並以 10% 福馬林及 50%-90% 之乙醇液作脫水步驟，最後將組織包埋在石蠟 (paraffin) 中，並製成小切片，以 Hematoxylin-Eosin 染色液染色並於光學顯微鏡下觀察肝細胞組織病理變化。

#### (8) 統計學分析：

本研究之結果均以平均值±標準誤來顯示，並以 Student's test 和變異數分析 (ANOVA) 二種不同的檢定方法在不同的

### 結果與討論

抗炎作用以 Carrageenan 誘發的大白鼠後肢浮腫，經 6 小時觀察其變化量後顯示，Carrageenan 於 60 分鐘達到 33.62% 之浮腫率，在 2 - 4 小時內由 54.74% 增加到 89.32% 的浮腫百分率。在經不同劑量 1.0, 2.0 和 5.0 g/kg 之三七 (Sanch, Gingseng) (圖一)，黃柏 (*P. wilsonii*) (圖二)，木棉 (*B. malabarica*) (圖三)，山豆根 (*S. Subprostrata*) (圖四)，白花蛇舌草 (*H. Diffusa*) (圖五) 和白毛藤 (*S. Lyratum*) (圖六) 等中藥抽取液 1 小時前投予後，可觀察到對 Carrageenan 誘發之浮腫反應有不同程度之抑制作用在對 Carrageenan 第三小時最高浮腫百分率的抑制作用上之 5.0 g/kg 的木棉呈現強效的抑制作用由 88% 降到 6% 其次為 5.0 g/kg 的山豆根，另外 2.0g/kg 的木棉和山豆根也呈現較其它藥物為強的抗腳掌炎症浮腫作用，因木棉，山豆根，白花蛇舌草和白毛藤在 1.0 g/kg 的劑量時 (圖七) 對第三小時的浮腫，並未呈現顯著地藥理差異作用，但在較高的劑量 2.0 g/kg (圖八) 和 5.0 g/kg (圖九) 投予時木棉則顯現出較其它藥物為強的藥理抑制作用，而山豆根之藥效僅次於木棉，而比其它二者白花蛇舌草和白毛藤為強 (ANOVA,  $P < 0.01$ )。

另外在肝臟保護實驗中，四氯化碳導致的肝毒性類似急性肝炎的細胞損傷（2, 3, 7, 8, 10-17, 19-26）。在先前已發表的報告（1-6）指出，在正常情況下以四氯化碳注射於老鼠皮下會誘導急性 SGOT, SGPT 上升。另外以大陸產北柴胡為對照標準下（1-6）分別注入台灣產木棉及半隻蓮，山豆根，白毛藤，白花蛇舌草，赤芝，威靈仙，黃柏，丁豎朽，穗丁豎朽，白花丁豎朽，山防風，漏蘆等藥分別觀察其對  $CCl_4$  導致之肝毒性保護作用（圖十），發現均能有效地降低急性之轉氨酵素 SGOT 和 SGPT 之上升，尤其以木棉和黃柏之藥效最為顯著，並且在中央靜脈周圍的脂肪變性和中央小葉之病理上的變化均見到對肝組織細胞的保護作用。

總而言之，目前篩選之生藥均具有強度到中等程度之抗炎作用（對肥肝細胞釋出 histamine 之作用）（圖十一至十三），至於肝臟之保護作用則以木棉和黃柏二者具有較明顯的保肝藥理作用。依目前之結果再更進一步地純化中藥之有效純化成分和探討這些藥的作用機轉與藥理劑量反應曲線及這些藥在過敏作用中對肥肝細胞之 prostaglandins 及 leukotrienes 等之生合成的抑制作用（22-33），則將在未來的計畫中繼續深入地探討，也希望衛生署能繼續支持本研究的執行。

〈表一〉 各中藥抽取液對 Carrageenan 誘發後肢浮腫之藥理抑制作用

藥 物	劑量 (g/kg)	時 間 ( 小 時 )						
		0.5	1	2	3	4	5	6
		浮腫百分率 (%)						
1% Carrageenan	0.05ml	19.14±1.47	33.62±1.55	54.74±1.1	88.12±1.49	89.32±0.92	76.47±2.36	61.21±2.05
Dexamethasone	2.0mg	14.79±1.96	19.96±3.24***	24.49±3.81 *	20.43±2.32 *	21.29±2.79 *	23.59±3.92 *	15.17±6.12 *
木 棉	1.0	8.50±1.79 *	29.62±3.2	42.30±4.55	39.70±2.25 *	47.57±4.35 *	36.58±0.79 *	28.42±4.21 *
	2.0	7.59±1.74 **	11.86±2.3 *	20.95±4.4 *	18.39±2.3 *	24.10± 4.0 *	11.65±3.5 *	5.39±0.45 *
	5.0	4.78±1.4 *	6.95±1.2 *	10.28±1.7 *	6.41±1.3 *	15.96±1.3 *	6.11±2.9 *	2.89±0.54 *
山豆根	1.0	5.60±0.94 *	16.25±1.38 *	29.98±2.45 *	39.46±1.54 *	32.87±0.84 *	30.62±1.64 *	23.06±1.75 *
	2.0	5.19±0.38 *	10.84±1.02 *	19.41±1.01 *	24.24±1.34 *	22.71±1.83 *	14.36±1.1 *	11.01±1.0 *
	5.0	5.77±0.69 *	10.20±0.66 *	15.41±1.59 *	18.04±2.2 *	20.59±1.6 *	13.94±2.8 *	8.00±0.6 *
白花蛇舌草	1.0	9.99±0.79 *	31.96±2.97	48.41±2.88	41.20±1.84 *	40.95±1.48 *	35.81±1.72 *	30.13±2.73 *
	2.0	6.70±0.56 *	22.21±2.4 ***	41.38±2.8 **	40.58±3.1 *	33.58±4.1 *	28.13±2.99 *	24.45±2.3 *
	5.0	6.41±1.35 *	19.19±1.7 **	33.29±3.6 **	30.50±3.8 *	23.89±1.9 *	19.84±1.5 *	12.40±2.1 *
三七	1.0	8.96±1.24 *	27.62±1.61	38.72±2.62	41.56±1.78 *	46.94±3.62 *	37.42±3.25 *	32.89±2.94 *
	2.0	8.14±0.92 *	18.72±1.40***	31.38±2.62 **	38.72±6.42 *	32.56±2.89 *	31.72±4.01 *	26.69±2.41 *
	5.0	7.25±0.87 *	14.62±1.7 **	29.32±2.62 **	31.25±3.42 *	30.76±1.96 *	30.76±1.96 *	26.82±3.30 *
黃柏	1.0	4.94±0.99 *	18.19±3.65 *	28.23±7.16 *	32.02±2.91 *	37.23±6.09 *	33.19±8.10 *	21.56±4.32 *
	2.0	4.26±0.83 *	17.01±1.64 **	20.99±1.08 *	31.01±5.63 *	35.51±5.82 *	32.90±3.99 *	17.94±3.42 *
白毛藤	1.0	7.25±0.96**	12.21±1.09 *	41.31±2.25 **	49.81±1.96 *	47.31±0.86 *	38.96±1.47 *	30.34±1.78 *
	2.0	7.13±1.92 **	22.35±1.8 **	31.93±2.8 *	32.79±1.07 *	27.95±1.8 *	18.79±2.84 *	15.74±3.3 *
	5.0	4.91±0.8 *	20.80±1.7 **	26.97±1.9 *	25.29±2.29 *	18.78±1.7 *	13.04±1.95 *	12.31±2.8 *

\*P<0.001 \*\*p<0.005 \*\*\*p<0.01 與 Carrageenan 對照組比較為顯著有意義差別 (t test)

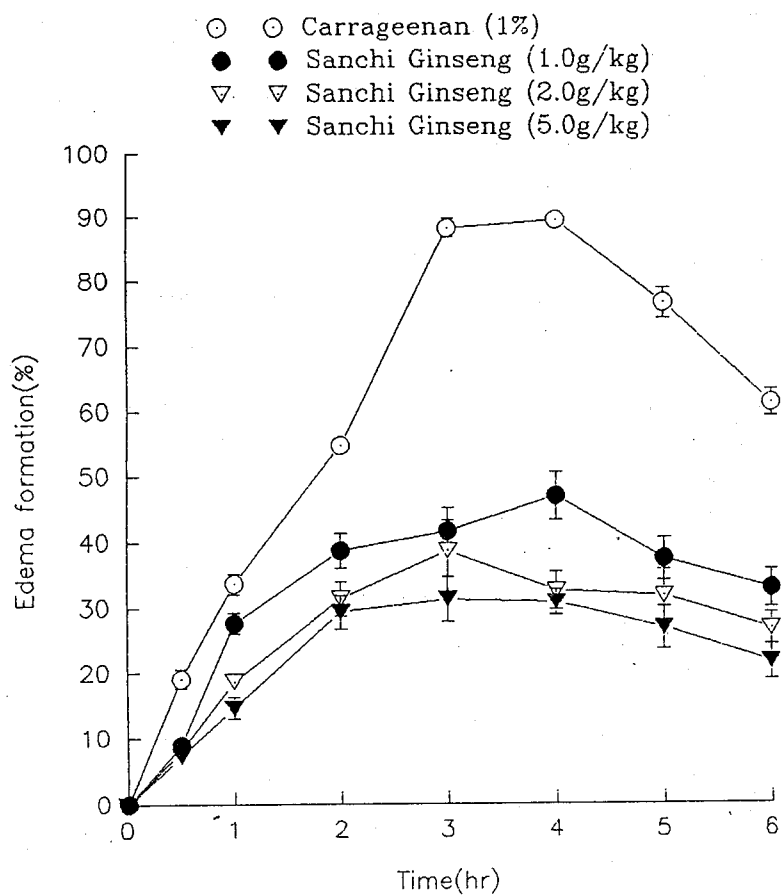
表二. 各中藥抽取成分對 CCL4 誘發肝臟 SGOT 和 SGPT 上升之抑制作用

group	liver function test	dose (ml/kg)	SGOT (IU/l)	SGPT (IU/l)
(1) normal rat		0	119.2± 2.7	50.8± 1.3
(2) CCL4 /olive oil		3.0	319.0±32	255.9± 4.8
(3) B. chinese (柴胡)		1.0	221.2±16.4*	147.6±22.6****
(4) B. malabarica (木棉)		1.0	153.0± 4.5****	67.0± 3.6****
(5) S. rivularis (半隻蓮)		1.0	162.3±12.3****	90.1± 6.6****
(6) S. subprostrata (山豆根)		1.0	238.8±19.5	165.7±24.1**
(7) H. diffusa (白花蛇舌草)		1.0	285.3±27.4	218.0±10.6****
(8) G. lucidum (赤芝)		1.0	292.1±15.2	185.0± 6.5****
(9) S. lyratum (白毛藤)		1.0	170.2±23.1**	124.4±17.9****
(10) C. chinensis (威靈仙)		1.0	240.5±19.7	220.6±21.6
(11) P. wilsonii (黃柏)		1.0	130.4±17.6****	107.3±12.4****
(12) E. scaber (丁豎朽)		1.0	202.3± 5.8**	172.8± 3.5****
(13) E. mollis (白花丁豎朽)		1.0	229.8± 2.5	192.5± 7.5****
(14) P. spicatus (穗丁豎朽)		1.0	227.0± 3.8*	197.3± 2.5
(15) E. grijisii (山防風)		1.0	219.9±19.1	111.3±11.3****
(16) E. latifolius (漏蘆)		1.0	200.0±19.2*	111.3± 8.9****

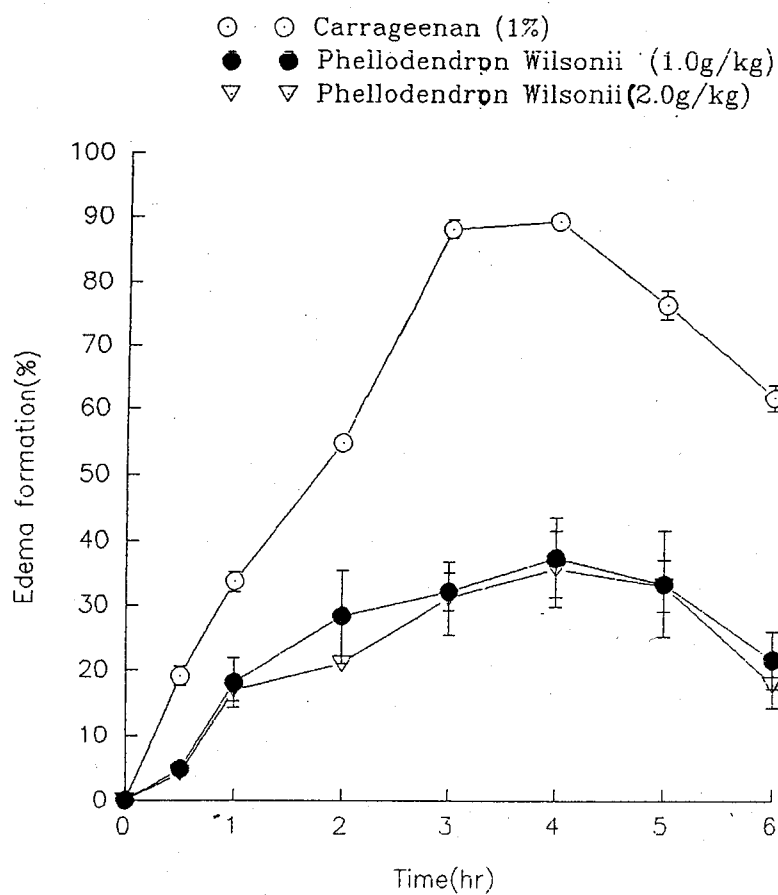
\*P < 0.01, \*\*P < 0.005, \*\*\*\*P < 0.001  
 與 CCL4 對照組比較為顯著有意義差別 (t test)  
 木棉和黃柏為藥效最為顯著之藥效治療組  
 單因子變異數分析(one way ANNOVA, P < 0.01)

表三. 各中藥抽取液對 CCL4 肝臟毒性之抑制百分率

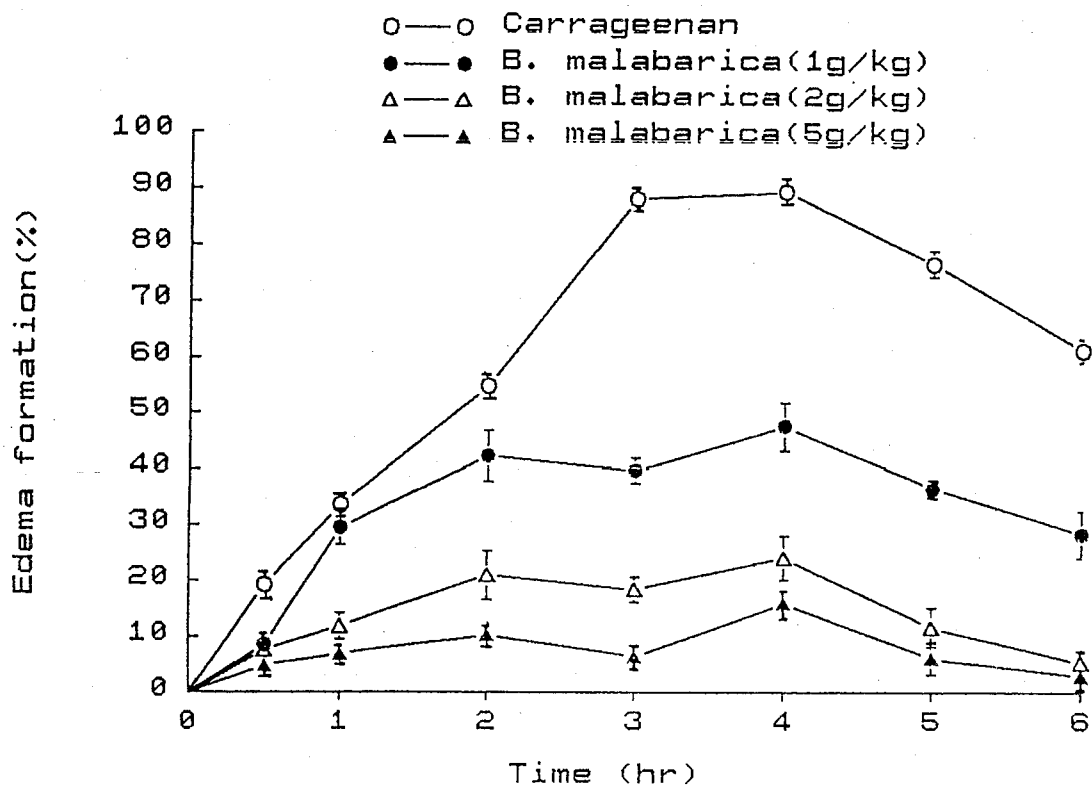
藥 物 \ 抗炎百分率	SGOT	SGPT
B. chinese (柴胡)	29.7	36.3
B. malabarica (木棉)	51.3	71.1
S. rivularis (半隻蓮)	48.4	61.1
S. subprostrata (山豆根)	25.1	35.3
H. diffusa (白花蛇舌草)	10.56	14.8
G. lucidum (赤芝)	8.42	27.7
S. lyratum (白毛藤)	46.6	51.4
C. chinensis (威靈仙)	24.6	17.9
P. wilsonii (黃柏)	59.1	60.11
E. Scaber (丁豎朽)	40.1	39.6
E. mollis (白花丁豎朽)	31.9	32.7
P. spicatus (穗丁豎朽)	32.8	31.0
E. grijisii (山防風)	34.7	52.6
E. latifolius (漏蘆)	40.7	52.6



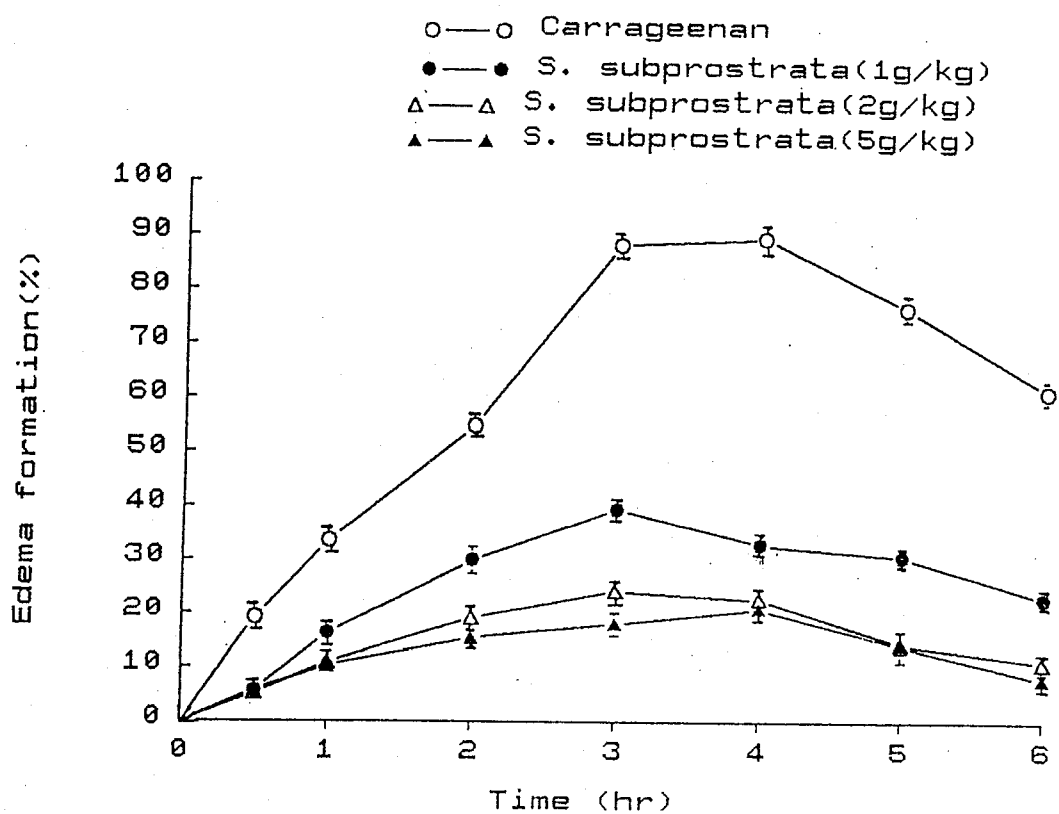
圖一 不同劑量之三七對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



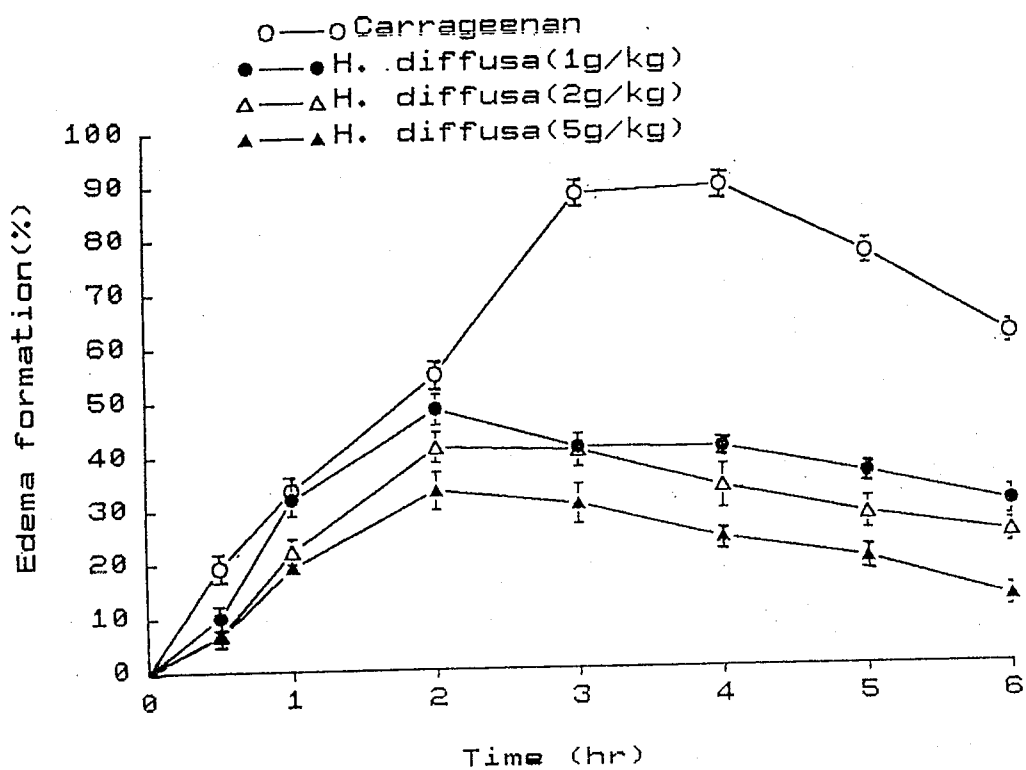
圖二 不同劑量之黃柏對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



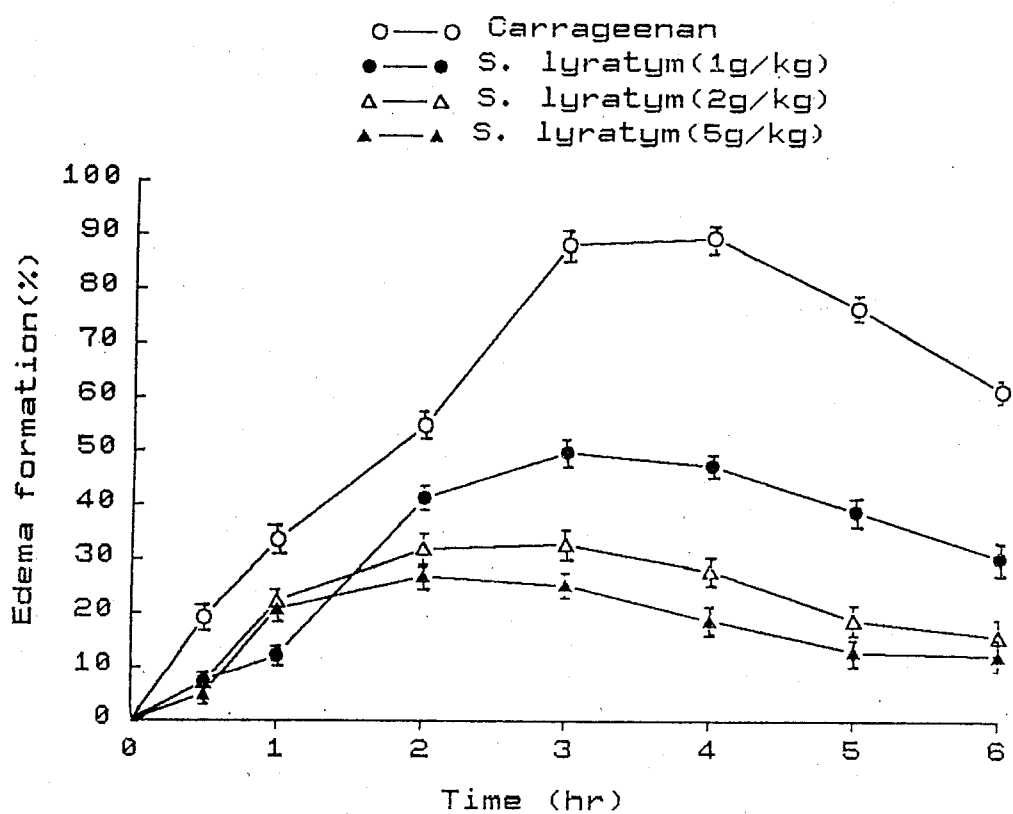
圖三 不同劑量之木棉對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



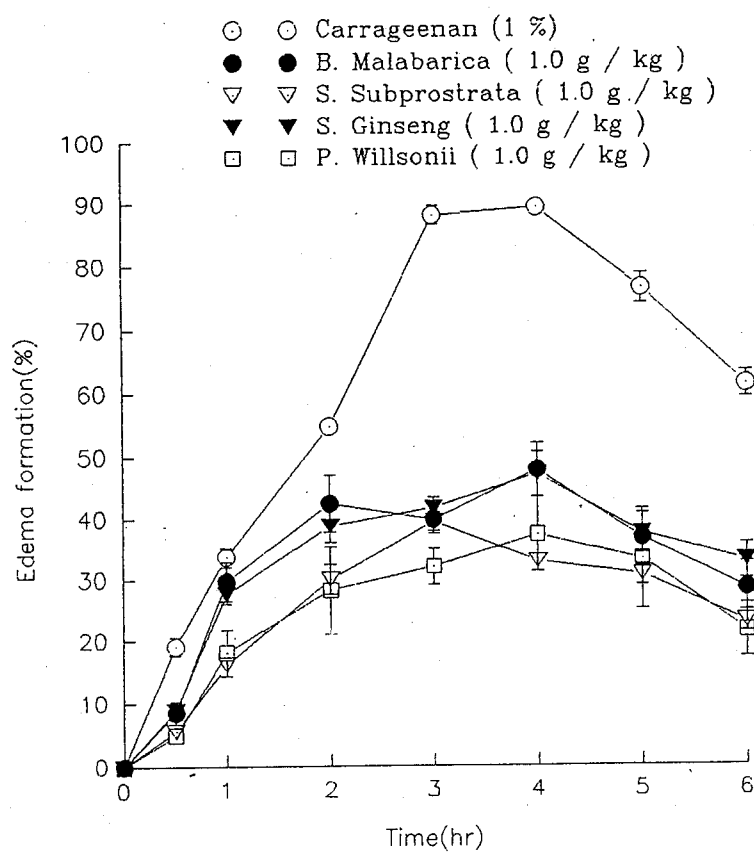
圖四 不同劑量之山豆根對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



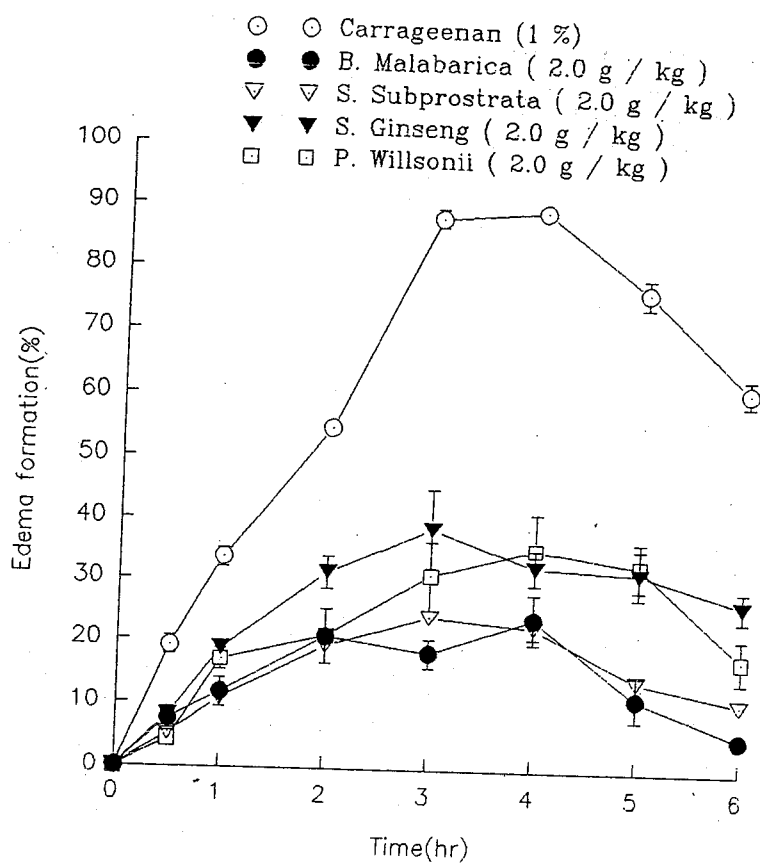
圖五 不同劑量之白花蛇舌草對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



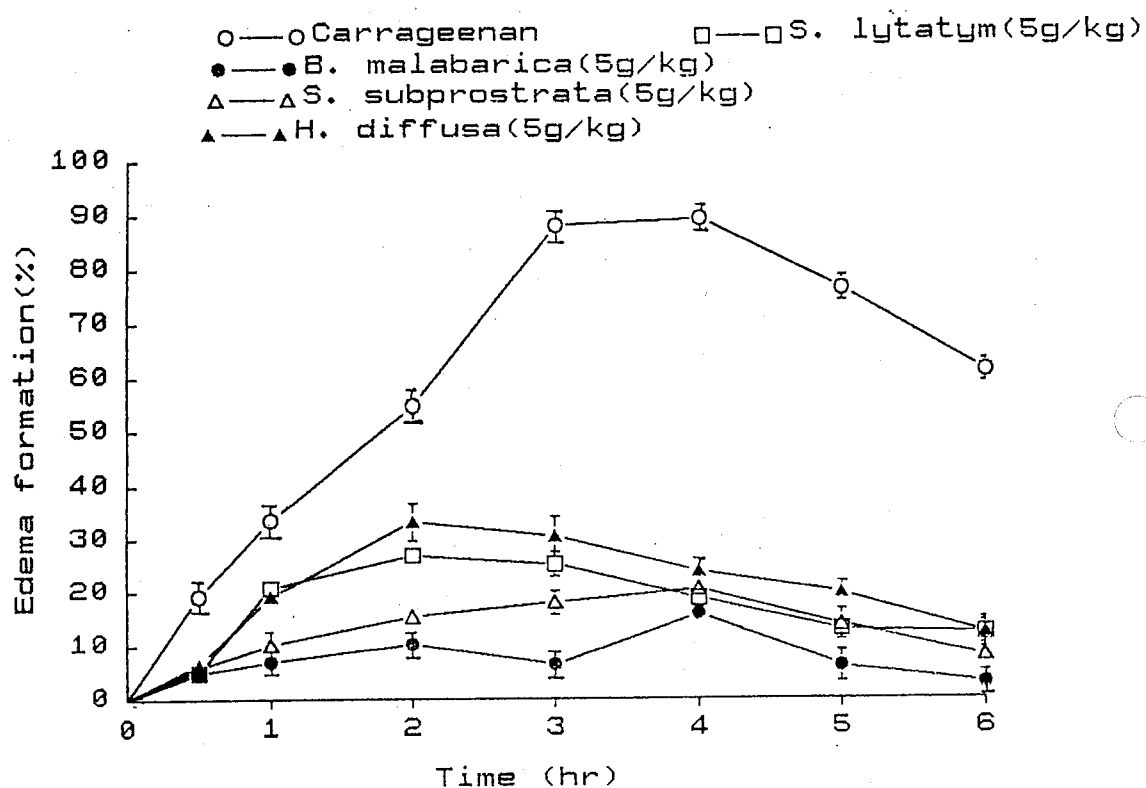
圖六 不同劑量之白毛藤對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



圖七 四種不同中藥抽取液 (1.0 g/kg) 對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



圖八 四種不同中藥抽取液 (2.0 g/kg) 對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用



圖九 四種中藥抽取液 (5.0 g/kg) 對 Carrageenan 誘發大白鼠後肢浮腫之抑制作用

圖十 大白鼠肝細胞之型態變化圖

(A) 正常肝細胞組織

(B) 投予四氯化碳/橄欖油 (1:1, 3.0 ml/kg) 在肝小葉中心產生明顯的脂肪變生氣球樣形態變化, 炎症細胞 (kupffer cell) 及淋巴細胞增殖的炎症浸潤現象。

以下各圖為投予四氯化碳及各中藥抽取液 (1.0 g/kg) 72 小時後其肝細胞之形態變化, 從輕微 (+) 到中等 (+++) 各種程度的炎症浸潤現象及肝小葉的脂肪變性氣球樣變化。

(C) 山豆根 (*S. subprostrata*) (+)

(D) 山防風 (*E. grijsii*) (++)

(E) 漏蘆 (*E. latifolius*) (++)

(F) 白毛藤 (*S. lyratum*) (+)

(G) 白花蛇舌草 (*H. diffusa*) (++)

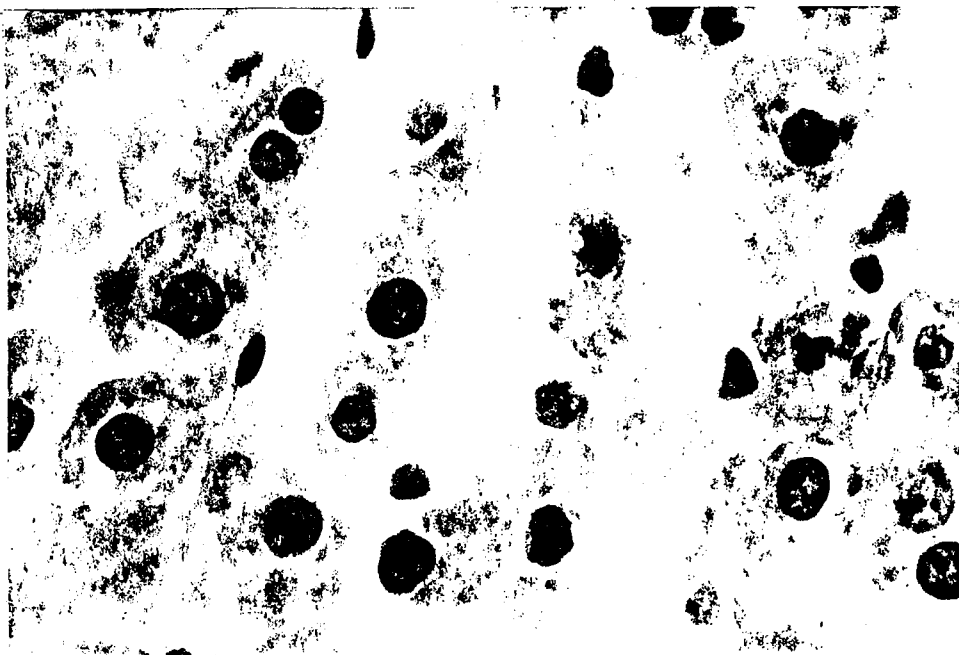
(H) 赤芝 (*G. lucidum*) (+++)

(I) 威靈仙 (*C. chinensis*) (+++)

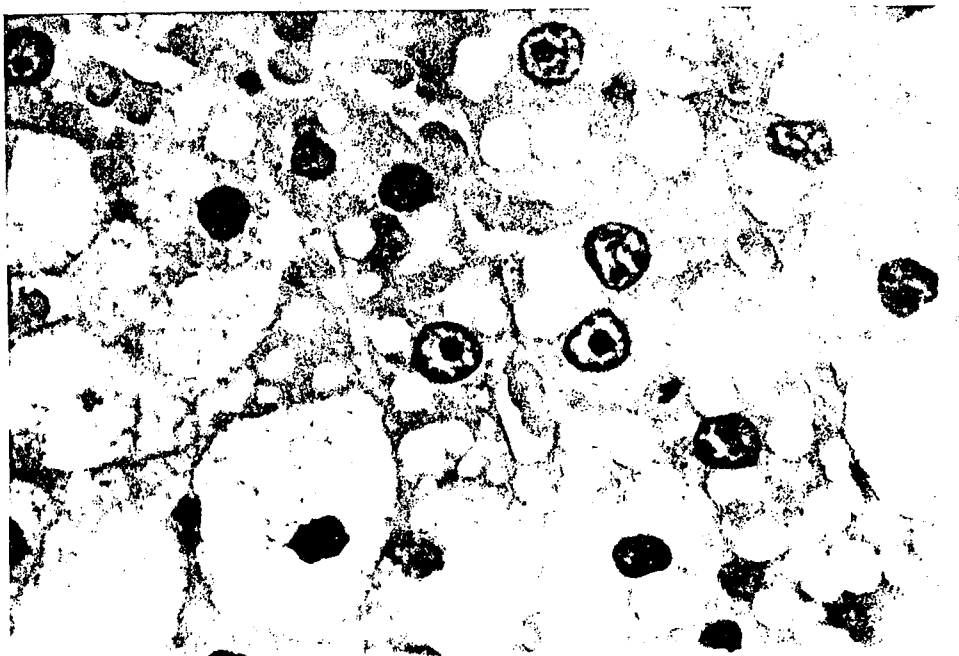
(J) 黃柏 (*P. wilsonii*) (+++).

至於其他藥物如北柴胡 (*B. chinense*), 木棉 (*B. malabarica*), 半枝蓮 (*S. rivularis*) 等對肝細胞病理變化 已列於上次報告中。

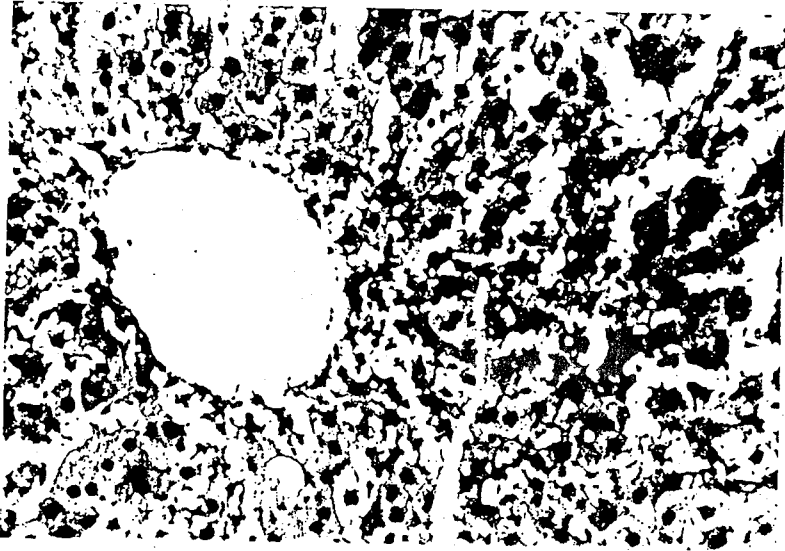
A



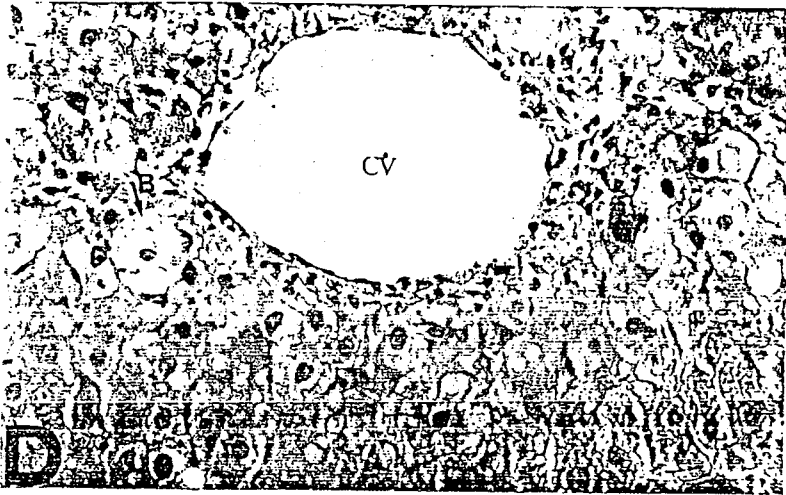
B



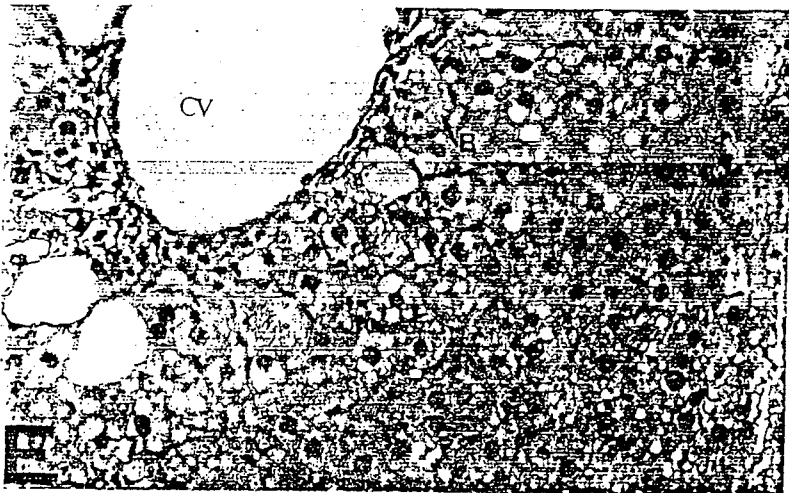
C



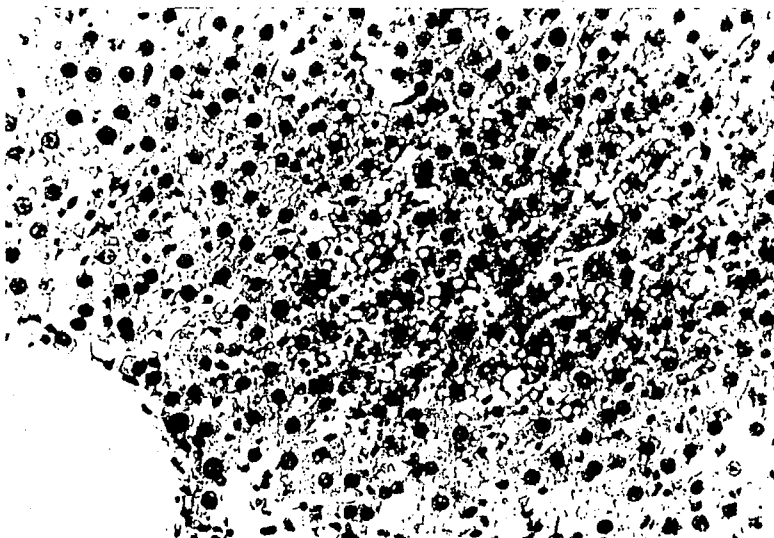
D



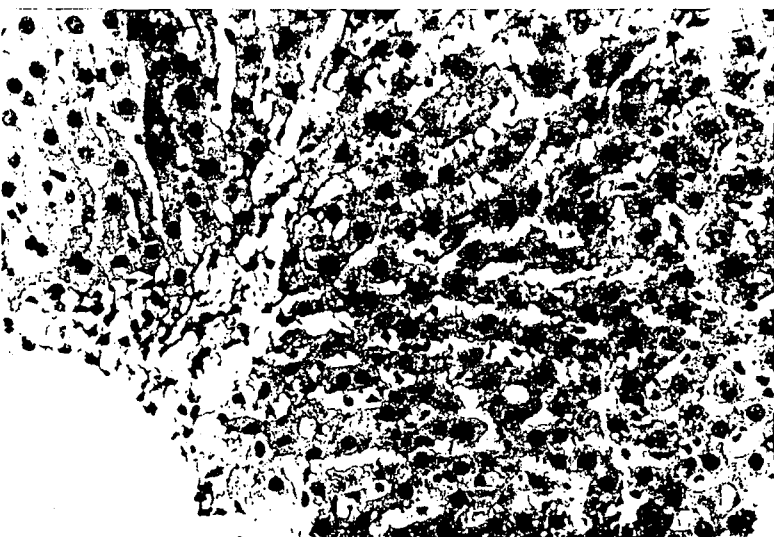
E



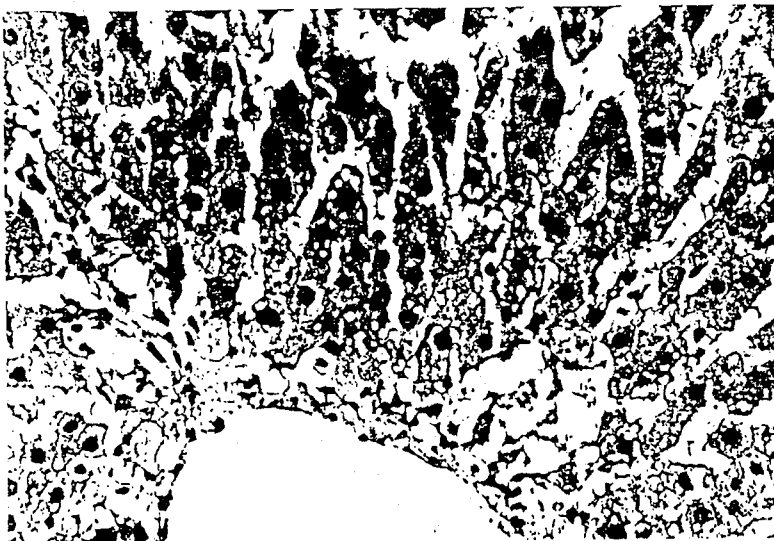
F

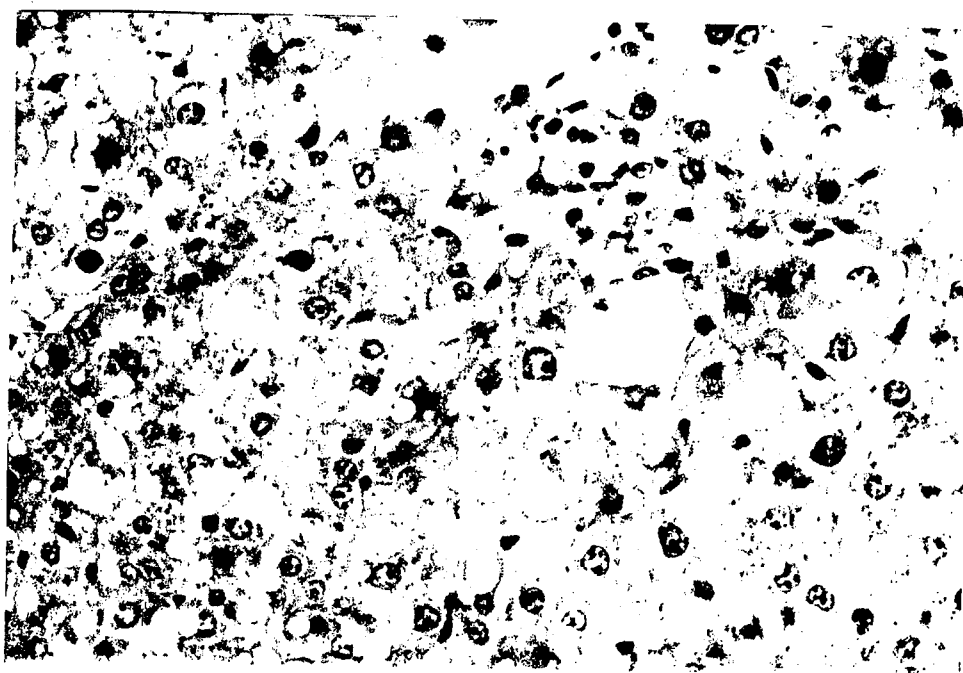
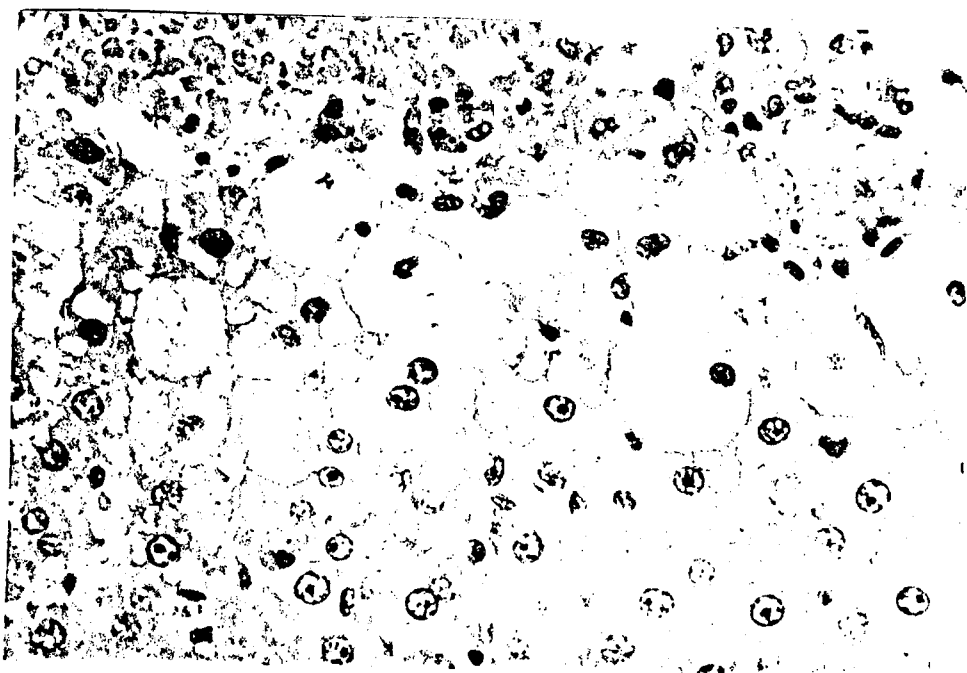


G



H





圖十一 肥胖細胞之型態變化圖

(A) 正常之腸繫膜肥胖細胞

(B) 投予四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) 之肥胖細胞 (400 X, toluidine blue 染色)

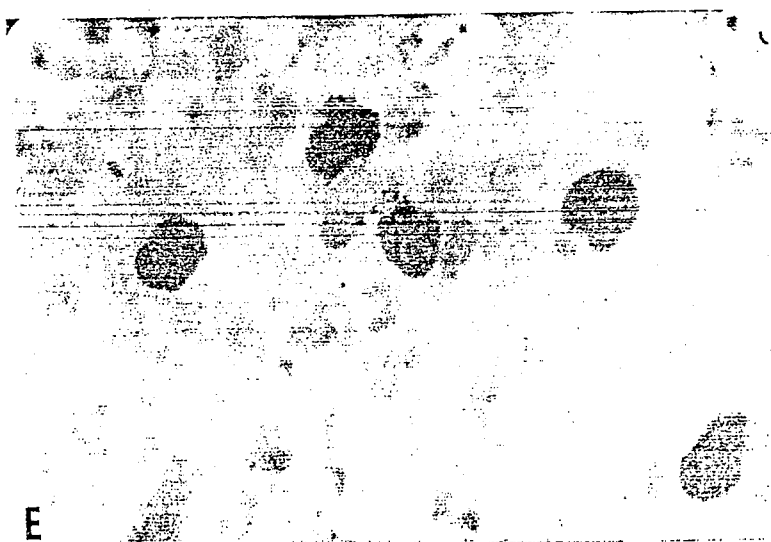
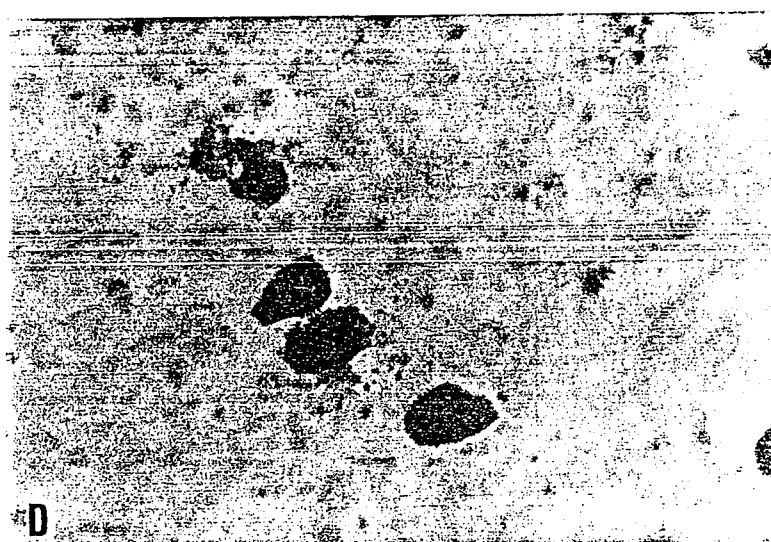
圖十二 木棉投予後之肥胖細胞保護作用

大白鼠注射木棉 (A) 1.0 g/kg (B) 2.0 g/kg (C) 5.0 g/kg

再投予 CCl<sub>4</sub> 後觀察到不同劑量之木棉對肥胖細胞釋出炎症因子

(如 Histamine ) 脫顆粒現象之保護作用





# References.

1. Shibata M., Isomura A., Inoue T. and Nagai M. Some pharmacological studies on the crude drugs possessing antiinflammatory properties-on the root of *Bupleurum* and leaves of fig. *Shoyakugaku Zasshi*, 30, 62, 1976.
2. Kiso Y., Suzuki Y., Konno C., Hikino H., Hashimoto I. and Yagi Y. Application of carbon tetrachloride-induced liver lesion in mice for screening of liver protective crude drugs. *Shoyakugaku Zasshi*, 36(3), 238, 1982.
3. Wang C.J., Lai J.H. and Shiow S.J. Protective effect of *Bupleurum falcatum* L. extract on the hepatic damage induced by carbon tetrachloride. *Nat. Sci. Coun. Mon.(R.O.C.)*. 11, 6, 1983.
4. Yamamoto M., Kumagai A. and Yamamura Y. Structure and actions of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum* L.I. anti-inflammatory action of saikosaponins. *Arzneim. Forsch.* 25, 1021, 1975.
5. Yamamoto M., Kumagai A. and Yamamura Y. Structure and action of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum* L.II. metabolic actions of saikosaponins, especially a plasma cholesterol-lowering action. *Arzneim. Forsch.* 25, 1240, 1975.
6. Marumoto M., Maeda T., Shinozuka K., Kato M. and Hayashi E. Effects of saiko-zai prescriptions including saiko (*Bupleuri Radix*), on experimental liver injury. *Shoyakugaku Zasshi* 15, 95, 1982.
7. Oshima Y., Kawakami Y., Kiso Y., Hikino H., Yang L.L. and Yen K.Y. Antihepatotoxic principles of *Aeginetia indica* herbs. *Shoyakugaku Zasshi* 38, 198, 1984.
8. Yang L.L., Yen K.Y. Kiso Y. and Hikino H. Antihepatotoxic principles of formosan plant drugs. *J. Ethnopharma*, 19, 103, 1987.
9. Kiso Y., Tohkin M. and Hikino H. Assay method for antihepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary-cultured hepatocytes. *J. Natu. Prod.* 46, 841, 1983.
10. Akahori A., Masui M. and Ando M. Change of serum glutamic oxaloacetic transaminase activities after administration of carbon tetrachloride to mice. *Chem. Pharm. Bull.* 26, 2316, 1978.
11. Kiso Y., Ogasawara S., Hirota K., Watanabe N., Oshima Y., Kono C. and Hikino H. Antihepatotoxic principles of *artemisia capillaris* buds. *Planta Medica* 12, 143, 1984.

12. Molander D.W. and Friedman M.M. Transaminase levels in experimental liver injury. Clin. Res. Proc. 4, 39, 1959.
13. Cornish H.H. and Black W.D. A study of CCL4 II. the effect of CCL4 inhalation on serum and tissue enzymes. A.M. A. Arch. Envirom. Heal. 1, 96, 1960.
14. Fry W.A., Smith J.M. and Suker J.R. Acute CCL4 intoxication report of a case of inhalation intoxication with severe liver damage followed by complete recovery. Quart. Bull. Northwestern Univ. M. School 33, 346, 1959.
15. Reynolds E.S., Thiers R.E. and Vallee B.L. Mitochondrial function and metal content in carbon tetrachloride. J. Exp. Med. 116, 55, 1962.
16. Smuckler E.A. Iseri O.A. and Benditt E.P. A defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. J. Exp. Med. 116, 55, 1962.
17. Smuckler E.A. and Benditt E.P. Studies on CCL4 intoxication III. A subcellular defect in protein synthesis. Biochemistry 4, 671, 1965.
18. Reitman S. and Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Path. 25, 940, 1957.
19. Chiu H.F., Lin C.C., Yang C.C. and Yang F. The pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (I). Am. J. Chinese Med. 16(3-4), 127, 1988.
20. Chiu H.F., Lin C.C., Yang C.C. and Yang F. The pharmacological and pathological studies on several hepatic protective crude drugs from Taiwan (II). Am. J. Chinese Med. 17(1-2), 17, 1989.
21. Lin C.C., Chiu H.F., Yen M.H., Wu C.C. and Chen M.F. The pharmacological and pathological studies on hepatic protective crude drugs from Taiwan Folk-Medicine (III): The effects of Bupleurum kaoi and cultivated Bupleurum var. komarowii. Am. J. Chinese Med. 18(3-4), 105, 1990.
22. Lin C.C., Yen M.H., Chiu H.F. and Chang C.H. The pharmacological and pathological studies on Taiwan Folk-Medicine (IV): The effects of Echinops grijisii and Echinops latifolius. Am. J. Chinese Med. 18(3-4), 113, 1990.
23. Chiu H.F., Lin C.C., Yen M.H. Wu P.S. and Yang C.Y. The pharmacological and pathological studies in hepatic protective crude drugs from Taiwan (V): The effect of Bombax malabarica and Scutellaria rivularis. Am. J. Chinese Med. 19, in press, 1992.

24. Lin C.C., Yen M.H. and Chiu H.F. The pharmacological and pathological studies on Taiwan Folk-Medicine(VI): The effects of *Elephantopus scaber* subsp. *oblanceolata*, *E. mallia* and *Pseudoelephantopus spicatus*. Am. J. Chinese Med. 19, 41, 1991.
25. Lin C.C., Lin C.H., Chiu H.F. and Hu M.F. The pharmacological and pathological studies on Taiwan Folk-Medicine(VII): The anti-inflammatory effect of *Echinops grijisii*. Am. J. Chinese Med. 20, 127, 1992.
26. Lin C.C., Chen S.Y., Lin J.M. and Chiu H.F. The pharmacological and pathological studies on Taiwan Folk-Medicine(VIII): The anti-inflammatory and liver protective effects of Mu-mien. Am. J. Chinese Med. 20, 135, 1992.
27. Winter C.A., Risley E.A. and Nuss G.W. Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111, 544, 1962.
28. Madeleine E., Ind P.W., Pearce F.L. and Dollery C.T. Calcium antagonist and histamine secretion from rat peritoneal cells. Agent and action 13, 144, 1983.
29. Shore P.A., Burkhalter A. and Cohn V.H. A method for the fluorometric assay of histamine in tissue. J. Pharmacol. Exp. Ther. 127, 182, 1959.
30. Gaetani D. and Laureui C.F. High pressure liquid chromatography: Separation and dosage of imidazole base. IIFarma-co-ED- . Vol. 33, 1, 1978.
31. Weiss B. Techniquis for mesuring the interaction of drugs with calmodulin. Methods in Enzymology 102, 171, 1983.
32. Levine L., Morgan R.A., Lewis R.A. Radioimmunoassay of the leukotrienes of slow reaction substance of anaphylaxis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78, 7692, 1981.
33. Lindgren J.A., Goetzl E.J. A sensitive and specific radioimmunoassay for leukotriene C<sub>4</sub>. FEBS LETTERS. 152, 83, 1983.
34. Geotzl E.J., Woods J.M., Gorman R.R. Stimulation of human eosinophil and neutrophil polymorphonuclear leukocyte chemotaxis and random migration by 12-L-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid. J. Clin. Invest. 59, 179, 1977.
35. Geotzl E.J., Pickett W.C. The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxy-eicosatetraenoic acids (HETES). J. Immunol. 125, 1785, 1980.
36. Desiderio D.M., Cunningham M.D. and Trimble T.A. High performance (pressure) liquid chromatography separation and quantification of picomole amounts of prostaglandins utilizing a novel triethylamine formate buffer. J. Liq. Chroma... 4, 1261, 1981.

37. Yabuno N. Prostacyclin and thromboxane in cerebral vasospasm: Effects of prostacyclin on experimentally-induced cerebral vasospasm. *Acta. Med. Okayama* 38, 147, 1984.
38. Lawson D. Anti-immunoglobulin-induced histamine release secretion by rat peritoneal mast cell studied by immunoferritin electron microscopy. *J. Exp. Med.* 142, 391, 1975.
39. Burwen, S.J. and Satir B.H. Plasma membrane fold on the mast cell surface and their relationship to secretory activity. *J. Cell Biol.* 74, 690, 1977.

# 中藥材及中藥製劑指標成分之製備

林漢欽

國防醫學院

## 摘 要

本報告提供中藥指標成分 (Ferulic acid, paeonol, paeoniflorin, 及 atractylon, hinesol 及  $\beta$ -eudersmol) 之製備純化方法，實驗結果證明 atractylon 及 atractylodin 不適合作為指標成分，因為這二成分為不安定物質。上述指標成分屬於中藥當歸，芍藥、牡丹皮，蒼朮，白朮之重要成分。成分之純化過程如下：1.paeonol 用再結晶法純化 2 .paeoniflorin 以矽膠層析和苯基型逆相層析純化 3.hinesol 和  $\beta$ -eud esmol 以矽膠層析，碳-18 逆相層析和 NH<sub>2</sub> 正相層析純化。

## 序 言

此計劃係配合衛生署對中藥材或中藥製劑在定性，定量之品質管制中所需之指標成分提供一種純化製備之方法，及提供指標成分給衛生署藥檢局作標準品用。上述指標成分之 ferulic acid 屬於當歸，paeonol, paeoniflorin 屬於牡丹皮或芍藥，hinesol,  $\beta$ -eudesmol, atractylodin, atractylon 屬於蒼朮（南或北蒼朮，白朮）。

## 實驗方法

### 一 材料部份

中藥材部份：牡丹皮，津蒼朮，白朮均購自台北市乾元行。

原料藥部份：Ferulic acid購自Sigma和Aldrich公司。

有機溶媒部份：除酒精為國產外，萃取及分離溶媒為德國默克公司產品，保證級以上之純度。

層析儀及分離層析管柱：

低壓層析管柱為逆相碳-8型，購自德國默克公司，高壓層析儀為Shimadzu產品(LC-8A型)，可作分析及製備分離用，分析或製備管柱皆為逆相苯基型，碳-8型或NH<sub>2</sub>型。層析片碳-8型或矽膠型均為默克產品。

對照標準品：Paeonol, paeoniflorin及atractylon（純度均在98%以上）為日本米山公司產品， $\beta$ -eudersmol（純度在98%以上）為日本Nakali desque公司產品，hinesol（純度在98%以上）為日本Funakoshi公司產品。

### 二 純化分離部份：

(I) Ferulic acid之純化：Ferulic acid如購自Aldrich則在逆相碳-8型薄層析片檢測中，以50%甲醇顯示出除主含ferulic acid外，另含一不明物質。如購自Sigma公司則為一點，由於價格便宜，故ferulic acid可以Sigma公司所購作標準品，如為Aldrich產品可以以水作溶媒作再結晶亦可得純品。

(II) Atractylon之分離純化：白朮5Kg以丙酮萃取濃縮後以n-hexane: 95% MeOH分配抽取，n-hexane部分濃縮後以矽膠柱層析法層析並以n-hexane溶離，取溶離液在矽膠薄層析片僅一點（紫外燈檢測）部分合併，此點濃縮後靜置一夜，第二天重新檢

測此點，發現此點全消失而出現許多氧化性之產物。

- (III) Atractylodin 之分離純化：津蒼朮 5 Kg 以丙酮萃取濃縮，同 atractylon 之分配萃取及以矽膠層析並以 n-hexane 溶離並同上述方法檢測及合併溶離液，濃縮後以甲醇再結晶可得淡褐色之柱狀晶（此物質應為無色），但是極不安定而變色。
- (IV) Hinesol 及  $\beta$ -eudesmol 之分離純化：上述津蒼朮以 n-hexane -  $\text{CHCl}_3$  層析，逐漸增加  $\text{CHCl}_3$  之含量，以標準品對比下取含有  $\beta$ -eudesmol 之溶離液合併（hinesol 與  $\beta$ -eudesmol 為混合物且無法層析分離）濃縮後以下列各條件均無法分離：（甲）碳-8型低壓逆相層析。（乙）碳-18型逆相層析。故改以下列方式純化，第一步以碳-18管柱以 70-75% acetonitrile 溶離，hinesol 及  $\beta$ -eudesmol 混合物（去掉不要之其它成分），所得成分改以吸附式之  $\text{NH}_2$  基管柱進行分離，（以 n-hexane : acetonitrile = 99:1 溶離，檢測部分以 207nm 設定波長）但要注意的是由於此二化合物易存混合狀態，故出現三根峰線而中間峰線則為二者混合物。為了純化起見，每根純化物均須再經管柱層析二次以確定為單一純化物。附圖一顯示三根峰線，附圖二為純化後之  $\beta$ -eudesmol，附圖三為純化後之 hinesol。
- (V) Paeonol 之分離純化：牡丹皮 5 Kg 以酒精 95% 及 70% 萃取，濃縮後以 n-hexane : 95% MeOH 分配萃取，n-hexane 濃縮後以 80% 甲醇再結晶，以冰水冷卻，再結晶液以種晶加入便很快可得到 paeonol 結晶，此種過程可重覆二次即可得到白色之針狀結晶。
- (VI) Paeoniflorin 之分離純化：上述牡丹皮之 95% 分配液濃縮後以 ethylacetate :  $\text{H}_2\text{O}$  分配抽取，取水層再以丁醇抽取，paeoniflorin 即存在丁醇內。濃縮丁醇後以矽膠層析以 MeOH :  $\text{CHCl}_3$  = 10 : 90 之混合液

溶離此成分，濃縮後以碳-8逆相層析分離純化此成分（以40% MeOH溶離），此成分進一步以苯基型逆相層析分離純化可得二成分（以35%

MeOH溶離）。所得主成分paeoniflorin再經二次純化即可得純品之化合物。附圖四為苯基型逆相層析所得paeoniflorin及另一成分。

### 結果與討論

- (I) 由於Atractylon及atractylodin為相當不穩物質，實驗證實如此，文獻亦如此報告，故不適合作品質管制之標準品。
- (II)  $\beta$ -eudesmol及hinesol因具有三級醇，故在矽膠純化過程愈快愈好，避免在矽膠催化下分解成其它產物，又因二者常以混合態存在，極性又相似故不易以逆相層析分離，故此處建議以NH<sub>2</sub>管柱來分離。經比對下hinesol純化後之產品優於標準品。
- (III) Ferulic acid因Sigma產品相當純可購該公司產品而Aldrich產品則有不純物，建議不要使用。
- (IV) Paeonol易於80% MeOH再結晶，故不須以較費時之層析法來純化，paeoniflorin為極性物質不易結晶且吸附層析不易純化不純物質，故採用逆相層析法來純化效果較佳。

## 參考文獻

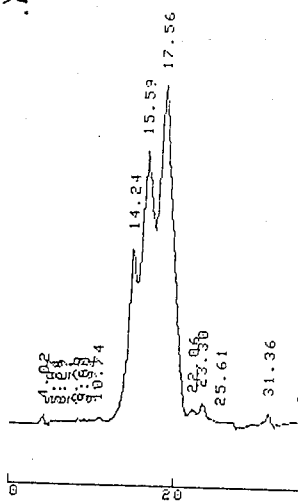
蒼朮，白朮部份：

1. Yosioka, I., Takahashi, S., Hikino, H., and Sasaki, Y., 藥學雜誌（日本） ， 80, 1564, (1960).
2. Yosioka, I., Takahashi, S., Hikino, H., and Sasaki, Y., Chem. Pharm. Bull., 7, 319, (1959).
3. Yosioka, I., Nishino, T., Tani, T., Kitagawa, I., 藥學雜誌（日本） ， 96, 1229, (1976).
4. Hikino, H., Hikino, Y., and Yosioka, I., Chem. Pharm. Bull. 12, 755, (1964).

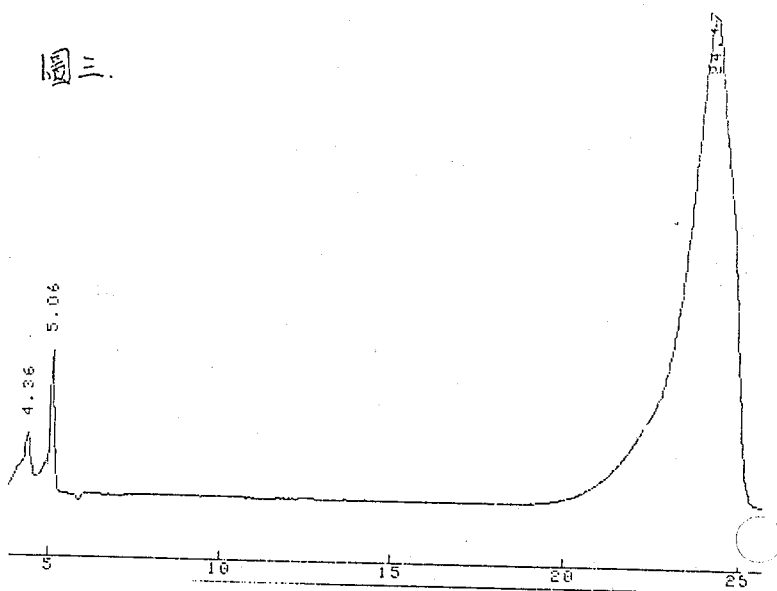
牡丹皮部份：

1. Shimadzu preparative liquid chromatograph deta book p.20-p.21 1989.
2. Kitagawa, I., Yoshikawa, M., Tsunaga, K., and Tani, T., 生藥學雜誌（日本） ， 33, 171, (1979).

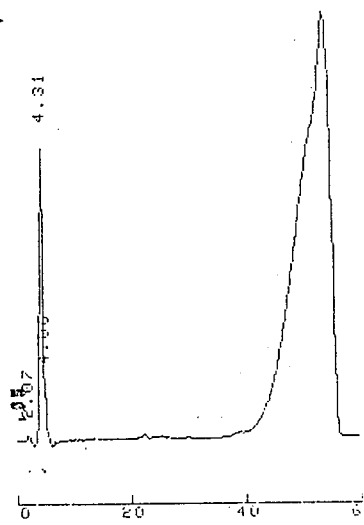
圖一



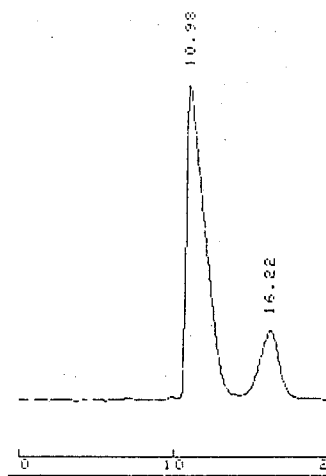
圖二



圖三



圖四



# 中藥材及中藥製劑指標成分之純化製備

李威

國防醫學院

## 摘 要

本報告提供中藥指標成分 (naringin, hesperidin, daidzein 及 puerarin) 之製備方法，這些成分屬於中藥枳實，陳皮及葛根之重要成分。成分之純化過程如下：1. daidzein 是由矽膠層析及溶媒再結晶而得 2. puerarin 則依序以矽膠層析，碳-8 逆相層析；苯基逆相層析及溶媒再結晶而得 3. naringin 及 hesperidin 則以溶媒再結晶純化。

## Abstract

This report provides the methods in which standard compounds ( daidzein, puerarin, naringin, hesperidin ) are purified by recrystallization, adsorption chromatography and reversed partition chromatography. The above-mentioned compounds are constituents of the following chinese medicine; Chenpi, Gegen and Zhishi.

## 序言

此計劃係配合衛生署對中藥材或中藥製劑在定性，定量之品質管制中所需之指標成分提供一種純化製備之方法，及提供指標成分給衛生署藥檢局作標準品用。上述指標成分 naringin, hesperidin, 屬於中藥枳實，陳皮之重要成分，而 puerarin 屬葛根之重要成分。

## 實驗方法

### 一 材料部份

中藥材部份：葛根為台灣產之藥材。

原料藥部份：Naringin 原料藥係歐洲瑞士 Fluka 公司產品，標示上為 97% 純度。hesperidin 為美國 Aldrich 公司產品，標示上為 97% 純度。

有機溶媒部份：除酒精為國產外，萃取及分離溶媒為德國默克公司產品，保證級以上之純度。

層析儀及分離層析管柱：

低壓層析管柱為逆相碳-8 型，購自德國默克公司，高壓層析儀為 Shimadzu 產品 (LC-8A 型)，可作分析及製備分離用，分析或製備管柱皆為逆相苯基型或碳-8 型。層析片碳-8 型或矽膠型均為默克產品。

對照標準品：Hesperidin, naringin 法國 Extrasynthese 公司產品，純度標示為 100%，Puerarin 為日本 Funakoshi 公司，純度為 99.5% 以上。

### 二 純化分離部份

甲：Naringin 之純化：可由下列三種方式（參看 A, B, C 之說明）取得純品。

(A) 以丙酮加熱溶解，靜置，析出粉末型化合物。

(B) 以甲醇 (40%) 或乙醇 (95%) 再結晶均不得純品，但可進一步以丙酮再結晶則得純品。

- (C) 如以甲醇再結晶，再以乙醇再結晶或相反方式進行亦可得純品。
- (D) 上述實驗均可以以每100cc醇溶入5g樣品進行再結晶，結晶析出時間，至少需時3天。丙酮之再結晶則非常快速，但是在醇類再結晶可得晶形，丙酮則為粉末形成分且不易以丙酮再結晶。
- (E) 利用逆相碳-8型薄層析在以60%甲醇下很容易以UV燈檢示純化後之物質為一點相對於原料則有四點出現。

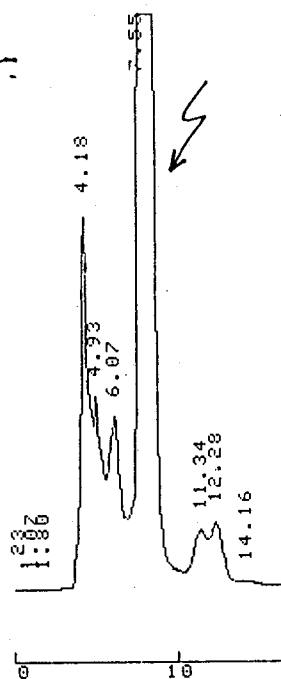
乙：Hesperidin之純化：

以1g溶於650cc (50% -70% 乙醇) 加熱至沸騰攪拌溶解，靜置48小時後過濾，則25g黃色樣品可得14g白色物質，以上述方法再進行一次再結晶，則每8g可得6.1g純白色結晶性物質。

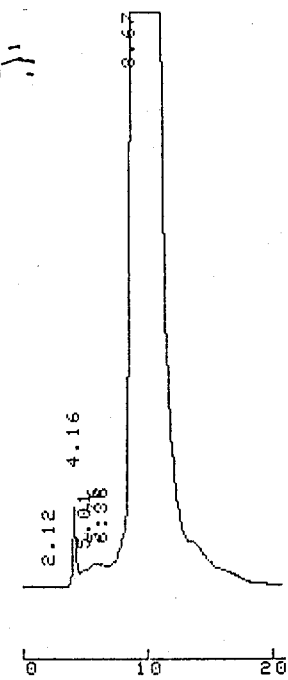
丙：Puerarin之純化：

葛根5 Kg以95%乙醇和70%乙醇萃取濃縮後，直接以矽膠柱層析分離( $\text{CHCl}_3$ :MeOH；先以 $\text{CHCl}_3$ 再逐漸增加MeOH含量)，並以矽膠薄層析片，在對照之puerarin標準品比對下收集含此物質之溶離液並合併濃縮之。進一步以逆相碳-8型低壓層析，並以45%之甲醇溶離層析，並以逆相碳-8型薄層析片比對標準品收集含此點之溶離液並將之合併濃縮，進一步再以高壓逆相層析分離（以苯基型為管柱）以38%甲醇溶離可得初步純化之puerarin（圖一，箭頭所指處），所得溶離液濃縮後再以35%甲醇溶離可得圖二之較純物質，如此再反覆二次可得純品。

圖一



圖二



## 結果與討論

(I) 由於naringin及hesperidin均為配醣體，且由於對鹼亦不安定，故無法以酸鹼處理純化。由於二者溶解度亦不好，故以層析法純化亦頗為困難，故採用溶媒再結晶法進行純化。naringin純化後之母液濃縮後固態物質呈黑色；而hesperidin之母液則含黃色不純物質。進一步測定naringin及hesperidin含量純度（以標準品比對）目前進行中。

(II) Puerarin由於薄層析法容易檢測故利用吸附性之正相層析及分配式之逆相層析處理可以得到純化物，但是由於含許多成分，純化時間頗為費時。至於其純度（以標準品比對）及純化足夠量提供藥檢局目前進行中。

## 參考文獻

Naringin, hesperidin 部份：

1. Hsu, H. Y., and Tominaga, T., J. Taiwan Pharm. Assoc. 1, 34, (1949).
2. Hsu, H. Y., Chang, M. L., Liu, S. J., J. Taiwan Pharm. Assoc. 16, 6, (1964).
3. Yang, T. H., and Hwang, C. H., J. Taiwan Pharm. Assoc. 16, 11, (1964).

Puerarin 部份：

1. Murakami, T., Nishikawa, Y., and Ando, T., Chem. Pharm. Bull. 8, 688,



# 中藥牡丹皮及赤芍藥之研究

林漢欽

國防醫學院

## 摘 要

從赤芍藥之非極性成分（己烷及氯仿萃取成分）分離  $\beta$ -sitosterol palmitate, palmitic acid, benzoic acid 和  $\beta$ -sitosterol 等主要成分，另外亦含 paeonol 及 2,5-dihydroxy-4-methyl acetophenone 二種微量成分，此二成分主要存在於中藥牡丹皮內，且為牡丹皮抑制血小板凝集之重要成分。此次研究亦分離得二種 monoterpene glucoside 之衍生物，benzoyl paeoniflorin 及 lactiflorin，此二成分與 benzoic acid 在抗血小板凝集試驗中，顯示 benzoyl paeoniflorin 及 benzoic acid 為赤芍非極性成分中抗血小板凝集主要化合物，但是活性不如 acetophenone 類化合物。

## Abstract

Four major constituents,  $\beta$ -sitosterol palmitate, palmitic acid, benzoic acid and  $\beta$ -sitosterol were isolated from n-hexane / chloroform extracts of peony ( root of paeonia lactiflora ). In addition, two minor constituents, paeonol and 2,5 - dihydroxy - 4 - methyl acetophenone, were isolated and have been shown to inhibit platelet aggregation through the inhibition of cyclooxygenase. Two monoterpene glucosides, benzoyl paeoniflorin and lactiflorin which are present in chloroform extract, and benzoic acid were tested for their inhibition of platelet aggregation. The results indicate the significant activity of these compounds were demonstrated, but the activities are weaker than that of the above-mentioned acetophenones.

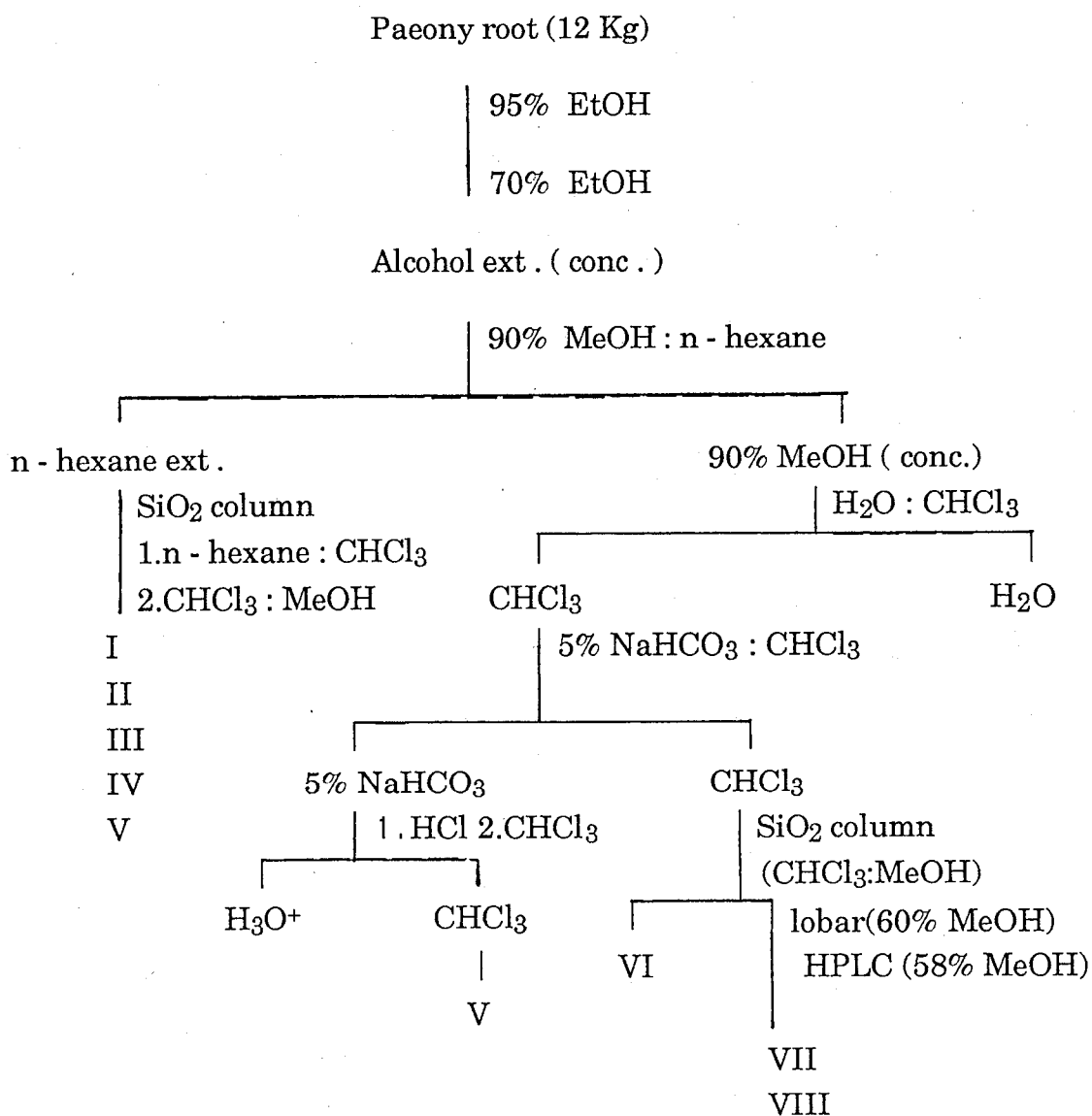
## 序言

牡丹皮與芍藥為我國重要之活血化癥重要中藥，有關牡丹皮及芍藥之現代化研究以瞭解其有效成分及藥理作用機轉之研究對於臨床使用之學理基礎。並可證明中藥與西方使用之西藥在學術及救人之疾病治療應具有同等重要性貢獻。

牡丹皮之非極性成分（已烷及氯仿萃取成分）之有效成分及藥理作用機轉之研究已得到相當不錯之結果（參考81年度本研究之第一報）。此次研究繼續沿用去年度研究牡丹皮之方法，並參考歷年來大陸與日本學者之研究結果進行本年度芍藥之活血化癥有效成分研究並探討其作用機轉。

## 實驗方法

- (一) 矽膠管柱層析之操作：同上年度之第一報。
- (二) 逆相層析分離：使用低壓層析，管柱為默克之 Iobar-RP8，B 型。高壓層析使用 Shimadzu LC-8A 型儀器管柱亦為該公司產品，為碳-18 製備型。
- (三) 有效成分之分離：參看表一。
- (四) 抗血小板凝集試驗方法：同上年度之第一報。
- (五) 化合物之鑑定：測試熔點，紅外光譜，紫外光譜核磁共振（測氫及碳），質譜（電子撞擊法或快速撞擊法），質譜分別於台大及清大儀器中心測試，核磁共振則於本學院或成功大學測試，其它儀器測試請參考上年度之第一報。
- (六) 赤芍藥材：來自台北市乾元行。
- (七) 溶媒：來自默克公司（除了酒精為國產外）。
- (八) 血小板凝集試驗之材料與儀器：由台大藥理所鄧哲明教授提供並執行此項試驗。
- (九) 試驗之藥物：benzoic acid, lactiflorin, benzoyl-paeoniflorin 三種，由此次分離所得。



表一芍藥成分之分離

## 結果與討論

- (I) 從已烷萃取物得到 (I) 到 (V) 之成分，經從核磁共振圖及質譜分析很容易鑑定為  $\beta$ -sitosterol palmitate (I), palmitic acid (II), paeonol (III),  $\beta$ -sitosterol (IV) 及 benzoic acid (V) 其中 I 為新發現成分，其它之成分均已經在文獻有記載過。III 化合物文獻上有爭論過，有人認為只有牡丹皮有而赤芍藥不存在，亦有人認為有，此次研究看來，有存在但含量非常低（10 毫克以下）。
- (II) 從氯仿萃取物得到 V 到 VIII 之成分其經核磁共振譜鑑定為 benzoic acid (V), 2,5-dihydroxy-4-methyl acetophenone (VI), benzoyl paeoniflorin (VII) 及 lactiflorin (VIII)。這些成分除 VI 以外均在文獻記載過。VI 化合物亦為此次所新發現存於芍藥，不過含量很低（10 毫克以下）。
- (III) III 與 VI 化合物均屬於 acetophenone 類化合物，主要存在於牡丹皮內且為抑制血小板凝集主要之有效成分，為牡丹皮活血之重要基礎之一（參考去年度研究報告），但是芍藥含此等成分很低故不是赤芍（或稱芍藥）活血之主要機理所在。
- (IV) 由於牡丹皮成分，主要為 acetophenone，而赤芍主成分，反而是 benzoic acid 故從學理而言牡丹皮與芍藥之基源雖是同屬不同科，但是非極性成分卻是差別非常大。故成分之區別可作為鑑定藥材之重要參考。
- (V) 由於 monoterpene glucosides (VII, VIII) 衍生物之發現且由於 VII 經日本學者發現，具有重要抗血小板凝集作用，而且優於西藥阿斯匹靈，但其作用機轉仍不明，故目前已進行其機轉之研究。至於 VIII 化合物結構明顯不同於 VII，且無人研究過它之活血作用，故目前進行測試其活血作用之藥理試驗。

(VI) Benzoic acid 爲芍藥之主要成分，且爲活血藥物阿斯匹靈之類似物，故目前亦進行其活血作用之藥理試驗。

### 參考文獻

1. Lang, H.Y., Li, S. Z., and Liang, X.T., Acta. Pharmac., 18, 551 (1983).
2. Yu, J., Elix, J.A., and Iskander, M. N., Phytochemistry, 29, 3859 (1990).
3. Kaneda, M., Iitaka, Y., and Shibata, S., Tetrahedron, 28, 4309 (1972).
4. Kubo, M., Matsuda, H., Izumi, S., Tani, T., Arichi, S., Yoshikawa, M., and Kitagawa, I, Shoyakugaku Zasshi, 36, 70, (1982).

# 金線蓮抽取物抑制 A 型流行性感 冒病毒之試管內研究

劉武哲 詹前朕 侯嘉隆

國立陽明醫學院 醫事技術學系

## 摘 要

金線蓮爲本省民間一種貴重藥材，具有清涼退火，涼血固肺，去傷解鬱，開中氣，滋養強壯的功能。本實驗以低濃度 (2mg/ml) 的金線蓮 50 % 甲醇粗抽取物作用感染 A 型流行性感  
冒病毒的人類早期單核球細胞株 HL-CZ，以免疫螢光染色法測定病毒抗原，發現細胞表面的血球凝集素抗原隨著金線蓮作用時間增加而減少。

細胞感染流行性感  
冒病毒 48 小時後，約有 41.55 % 血球凝集素免疫螢光表現。若細胞同時以金線蓮處理，並感染流行性感  
冒病毒 48 小時後，約有 27.47 % 血球凝集素免疫螢光表現，表示金線蓮能抑制血球凝集素免疫螢光表現。若細胞先以金線蓮處理 3 小時，再感染流行性感  
冒病毒，則金線蓮對感染病毒細胞不具保護作用。若細胞先以流行性感  
冒病毒感染 3 小時後，洗去未結合病毒，再以金線蓮處理 48 小時後，約有 13.98 % 血球凝集素免疫螢光表現。若前述處理之感染細胞再繼續以金線蓮處理，則只有 19.59 % 血球凝集素免疫螢光表現。以聚合酶連鎖反應偵測流行性感  
冒病毒血球凝集素基因，發現細胞被流行性感  
冒病毒感染，再以金線蓮處理，則細胞內流行性感  
冒病毒血球凝集素基因含量不會因不同處理方式而有改變，但是，隨作用時間延長而降低。本實驗顯示低濃度的金線蓮粗抽取物

可抑制流行性感冒病毒血球凝集素抗原表現。同時，金線蓮對流行性感冒病毒無直接抑制作用，也不能保護細胞避免被病毒感染。

## 前言

台灣民間傳說有藥虎的存在，所謂藥虎是指可治疑難雜症，稀有而不易採得到的珍貴藥草，而金線蓮就是藥虎的一種。金線蓮雖有藥虎之稱，但藥性卻相當溫和，全草清淡無毒，可生食，有清涼退火之功，能涼血潤肺，滋養強壯，清血軟化血管，調和五臟六腑，諸病導致之虛火攻心和漲悶鬱結。金線蓮全草包括根、莖、葉、花皆可入藥，原本大量分布於全省山地闊葉林中，因藥效極為廣泛，而遭到濫採。由於野生的金線蓮被大量採集，日漸稀少，為保護此種珍貴植物資源，便利用組織培養方法，由播種或切取頂芽，側芽，在試管繁殖金線蓮，並進行大量栽培（青草集,1987）。

金線蓮為多年生草本蘭科植物，在墨綠色的圓形葉面上鑲嵌銀色略黃的鮮亮網紋，背面呈淡紫紅色。台灣原產的金線蓮有二種，一種是台灣金線蓮（Anoectochilus formosanus hay.），花呈乳黃色，唇瓣中段有魚翅狀裂絲。一種是高雄（恆春）金線蓮（Anoectochilus koshunensis hay.），花為乳白色，無魚翅狀之裂絲，唇瓣兩側各具三角形裂片（甘偉松,1980，吳進錫,1979，劉國柱,1976）。因為藥理作用包括降血糖作用，鎮靜作用、鎮痛作用、利尿作用，抗發炎作用的生理活性檢測結果，都是以台灣金線蓮為佳（陳榮進論文，1988）之緣故。本論文選用台灣金線蓮作為研究材料。

· 基源：蘭科 Orchidaceae

金線蓮屬 Anoectochilus BL.

· 學名：台灣金線蓮 Anoectochilus formosanus. hay

流行性感冒是一種常見的疾病，不分年齡、種族、性別，每個人都會得病，而且終其一生都會感冒數次。典型的流行性感冒潛伏期只需 1 ~ 2 天。當病毒侵入並繁殖於呼吸道後，流行性感冒的症狀便開始出現，包括鼻塞、流鼻涕、喉嚨痛、咳嗽、氣管支氣管炎，此外患者亦有發熱、發冷，頭痛，一般性肌肉疼痛，四肢疲勞無力，食慾不振等全身性症狀。本病急性發作時僅維持 3 ~ 5 天，但會造成患者極度不適，而且其人隨後 1 ~ 3 星期仍不能完全恢復。尤其感染幼兒、老年人及患有心、肺疾病的患者，常因嚴重併發症而造成死亡，特別是老人的死亡率常因流行性感冒的流行而增加。

。流行性感冒流行時，機關、工廠缺勤及住院休養人數也隨之增加，造成工作效率低落，生產力減退的現象，間接造成經濟的損失。因此，抗流行性感冒藥物或疫苗發展是刻不容緩的事。其中流行性感冒病毒的變異（見下文）甚大，疫苗製作不易；因此，抗病毒藥物依然有發展的空間。此為本文研究的動機之一。

二次大戰後，利用人工培養的細胞來使病毒複製，並配合生物化學及免疫學的技術，而對病毒有更深入的了解。因此，抗病毒研究朝向二個大方向發展，一個是疫苗的研製，另一個是抗病毒藥物的發展。由於對抗流行性感冒病毒的免疫力主要是細胞免疫及來自人體產生的分泌性 IgA 抗體 (Lamb, 1983)，而 IgA 抗體是與血球凝集素，神

經胺酸酶抗原作用的，但這種免疫力無法完全保護人體免於新型流行性感冒病毒感染。同時，A型流行性感冒病毒的表面抗原不斷地改變，人們來不及產生抗體或細胞免疫來對抗病毒之變異。目前雖然有疫苗可提供個案使用，但新型流行性感冒病毒蔓延十分快速，只需數個月便將可傳遍全世界，因此往往製造疫苗不能及時使用，雖然理想中可在流行開始時，立刻將病毒分離並送往疫苗製造中心生產，但培養大量的病毒及完成其安全性試驗需耗時數月，生產的疫苗常因此失去時效。所以，疫苗不完全適用於世界性之流行性感冒的預防。然而利用新分離的病毒所製造疫苗仍可有效預防某些流行性病例。目前所使用之疫苗含有A、B兩型流行性感冒病毒，幼童、老年人、罹患心、肺及其他慢性疾病的患者皆可以施行流行性感冒預防注射，而流行性感冒病毒對兒童和老人的侵襲最大，故疫苗以兒童和65歲以上老人為主要的接種對象。

流行性感冒疫苗對全世界性大流行效果有限，而化學藥物三環胺的用途在於預防流行性感冒，而非用於治療，因此，本研究論文希望從民間藥中尋找治療流行性感冒病毒的藥物，由初步的篩選中，發現台灣金線蓮的抽取物能抑制流行性感冒病毒的表面抗原，因此，再進一步研究台灣金線蓮對流行性感冒病毒的作用。

## 材料與方法

### 一．金線蓮：

由南投埔里金線蓮花卉培養推廣中心（謝清奇先生）購得組織培

養 (tissue culture) 之台灣金線蓮，培養於三角錐瓶六個月，將整株組織培養的金線蓮（包含根、莖、葉），經過清洗洗淨後，放入烤箱 (oven) 烘乾。將乾燥後之生藥精確稱重，並加以粉碎處理。將粉碎之金線蓮乾燥品置於 50% 甲醇水溶液 (50% methanol) 冷浸二天。收集上清液後，再加入新的 50% 甲醇水溶液繼續冷浸二天。收集二次上清液，經減壓濃縮蒸餾以去除甲醇，濃縮液分裝於小瓶稱重後，經冷凍乾燥 24 小時，即可得到每瓶 0.2 ~ 0.4 克的金線蓮粗提取物。

## 二．HL-CZ 細胞株培養及病毒接種：

此細胞株由一位五十歲成人白血病中國男子血液分離培養的早期前單核白血球，命名為 HL-CZ (Liu et.al, 1989)。此細胞株特性為含嗜鹼性的細胞質，90% 細胞含有白血球分化標幟 (cell differentiation marker, CD15)

細胞株培養於 RPMI-1640 培養液 (medium)，內含 10% 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS)，100 單位 /ml 青黴素 (penicillin)，100mg/ml 鏈黴素 (streptomycin)。細胞培養於 75cm<sup>2</sup> 或 25cm<sup>2</sup> 培養瓶中，置於 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 的培養箱 (incubator) 中。每隔 2 ~ 3 天更換培養液。

病毒接種是將細胞以 RPMI-1640 培養液培養於 25cm<sup>2</sup> 培養瓶中，取 0.5ml 病毒液 (HA titer 1:64) 加到細胞懸浮液中，置於 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培養箱中培養，培養 3 小時讓病毒完全吸附 (adsorption) 至細胞。

### 三．細胞生長曲線 (Growth Curve):

取  $1.2 \times 10^6$  個細胞以 RPMI-1640 培養液培養於  $25\text{cm}^2$  培養瓶中，置於  $37^\circ\text{C}$ ， $5\%\text{CO}_2$  培養箱中，培養一週，以  $0.5\%$  錐藍 (trypan blue) 染色法染色後，用血球計數盤 (hemocytometer) 計算細胞數目，包括被錐藍染色的死亡細胞和活細胞數目，連續計算 6 天，可得到細胞生長數目與時間的關係，即生長曲線。

### 四．最低細胞毒性濃度 (Minimum Cytotoxicity Concentration,)

取  $1.2 \times 10^6$  個細胞以 RPMI-1640 培養液培養於  $25\text{cm}^2$  培養瓶中，置於  $37^\circ\text{C}$ ， $5\%\text{CO}_2$  培養箱中，培養一週，並在培養液中加入不同濃度的金線蓮抽取液，以  $0.5\%$  錐藍染色法染色後，用血球計數盤計算細胞數目（方法同上），連續計算 4 天，可得到存活細胞數目與時間的關係，再以活細胞數目除以細胞總數後的百分率 (survival cells / total cells)，即定義為細胞存活率 (percentage of survival cells)。做細胞存活率與時間的關係曲線，而金線蓮最低細胞毒性濃度則定為：培養 4 天後，維持  $80\%$  以上細胞存活率的金線蓮濃度。

### 五．流行性感冒病毒株 (influenza virus strain):

本論文所用各病毒株皆由台北榮民總醫院檢驗部臨床病毒科歷年分離的檢體而來

## 六·血球凝集試驗：

取感染過的細胞培養液，於 V 型微量平盤 (microplate, V-type) 上，以磷酸緩衝液 (phosphate buffer saline, PBS, pH7.2) 做 2 倍系列稀釋 (serial dilution)。先加 25ul 磷酸緩衝液於試驗盤的每個穴 (well) 中，再加 25ul 細胞懸浮液於第一個穴中，均勻混合後，取 25ul 混合液做連續稀釋。再加 25ul 磷酸緩衝液於所有穴中，最後加 50ul 0.5% 天竺鼠紅血球懸浮液 (guinea pig RBC suspension) 於所有穴中。並做紅血球對照組，即 50ul 紅血球加 50ul 磷酸緩衝液。用低速水平振盪器 (rotator) 混合均勻，置於室溫或 4 °C 下一小時，以產生部分或完全紅血球凝集現象之最高稀釋倍數為其凝集效價。

## 七·免疫螢光染色法 (Immunofluorescence staining)：

免疫螢光染色法為病毒診斷之快速方法，通常可以測定病毒的特異性抗原。其主要用途為直接測定臨床之受感染組織抹片，經細胞培養出來之病毒鑑定，以及經病毒傳染之病人血清抗體的測定。

### 1·玻片製作：

取 0.5ml 細胞懸浮液加到微量管 (eppendorf tubes) 中，以 1500 rpm 低速離心 5 分鐘，沉澱細胞，去除上清液，再加入磷酸緩衝液清洗三次後，以 1ml 磷酸緩衝液將沉澱細胞震盪製成細胞懸浮液，取 15ul 細胞懸浮液滴至玻片上，抹成直徑 0.6cm 的圓點，在室溫

下乾燥後，再將玻片浸泡在冷丙酮 (cold acetone) 在  $-20^{\circ}\text{C}$  下或 10% 福馬林 (10% formalin) 於  $4^{\circ}\text{C}$ ，靜置 10 分鐘，使細胞固定於玻片上，並增加細胞膜的滲透性，使抗體反應物質易於進入細胞，而不使抗原破壞。取出玻片置於室溫下乾燥，進行染色。

## 2. 直接免疫螢光染色法：

取 15ul 抗 A 型流行性感冒病毒血球凝集素之單株抗體 (monocloned antibody FITC-conjugated, Clonatec, Biosoft, Paris) 直接加在細胞玻片上，使抗體與細胞膜的抗原作用。將玻片放置於潮濕盒 (wet chamber) 中，溫度保持  $37^{\circ}\text{C}$ ，作用 (incubation) 45 分鐘，再將玻片泡在磷酸緩衝液，清洗三次，每次 10 分鐘，以洗去未結合之螢光標誌抗體，再用蒸餾水清洗約 1 分鐘，以去除磷酸緩衝液所可能殘留之結晶，避免干擾螢光顯微鏡的觀察。空氣乾燥後，在細胞玻片滴上一滴緩衝甘油液 (90% glycerol)，加上蓋玻片封蓋，置於螢光顯微鏡下觀察。

## 3. 間接免疫螢光染色法：

間接免疫螢光染色法則將標本先和未標誌之病毒抗血清作用，再與動物之標誌免疫球蛋白作用（以病毒抗血清免疫的動物血液而製取），以檢測病毒抗體與抗原之結合。因居中之抗血清可增加標誌抗體之結合位置，而增加螢光抗體的光量。所以間接免疫螢光法較直接法敏感。

取 15ul 抗 A 型流行性感冒病毒血球凝集素之單株抗體

(monocloned antibody FITC-conjugated, Clonatec, Biosoft, Paris) 直接加在細胞抹片上，將玻片置於潮濕盒中溫度保持 37 °C，作用 30 分鐘，將玻片浸泡在磷酸緩衝液，清洗三次，每次 10 分鐘，以洗去未結合之單株抗體。空氣乾燥後，再加入抗老鼠免疫球蛋白螢光標誌抗體 (anti-mouse IgG antibody, FITC-conjugated) 於細胞玻片上，再將玻片置於潮濕容器中，溫度保持 37 °C，作用 30 分鐘，再將玻片泡在磷酸緩衝液，清洗三次，每次 10 分鐘，以洗去未結合螢光標誌抗體，再用蒸餾水清洗一次，約 1 分鐘，以去除磷酸緩衝液所可能殘留之結晶，避免干擾螢光顯微鏡的觀察。空氣乾燥後，在細胞玻片滴上一滴緩衝甘油液，加上蓋玻片封蓋，置於螢光顯微鏡下觀察。

## 八．抗病毒效果評估 (Anti Viral Assay, A.V.A):

本實驗利用藥物影響感染細胞免疫螢光的表現率做為抗病毒藥物效果評估，當螢光標誌抗體與感染細胞表面抗原 (surface antigen) 結合時，感染細胞會呈現螢光反應，且隨著時間延長病毒感染細胞的程度增加，而使免疫螢光表現增加。因此，可藉感染細胞表面抗原螢光反應程度來評定抗病毒藥物作用的效果。(Fulton, 1974)

以含最低細胞毒性濃度 (M.C.C) 2mg/ml 金線蓮粗提取液的 RPMI-1640 培養液處理感染細胞來進行實驗，以細胞感染病毒和金線蓮處理的時間順序不同，將實驗分成三部分：

### 1. 細胞同時與金線蓮和病毒作用：

取 500ul 病毒 (HA titer 1:64) 接種於  $6 \times 10^5$  細胞，加入 4.5ml 含 2mg/ml 金線蓮之 RPMI-1640 培養液在離心管中混合後，於 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培養箱中，培養 3 小時，每隔 30 分鐘震盪混合，讓病毒完全吸附至細胞上。再以 1500 rpm 低速離心 10 分鐘，沉澱細胞，去除上清液，用 RPMI-1640 培養液清洗細胞二次，以去除未結合病毒。再加 4ml 新鮮含 2mg/ml 金線蓮 RPMI-1640 培養液，培養於 25cm<sup>2</sup> 的培養瓶中，再培養於 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培養箱中，於第 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 小時取 0.5ml 細胞懸浮液製作免疫螢光玻片。以螢光顯微鏡觀察細胞表面血液凝集素免疫螢光抗體的表現率。

### 2. 細胞先以金線蓮處理：

取  $6 \times 10^5$  細胞，培養於 5ml 含 2mg/ml 金線蓮之 RPMI-1640 培養液在離心管中混合後，於 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培養箱中，培養 3 小時，以 1500 rpm 低速離心 10 分鐘，沉澱細胞並去除上清液，用 RPMI-1640 培養液清洗細胞二次，再加 4.5ml 新鮮培養液，並接種 500 ul 病毒，培養於 25cm<sup>2</sup> 的培養瓶中，再培養於 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 培養箱中，培養 3 小時，讓病毒完全吸附至細胞上，再洗去未與細胞結合之游離病毒。於第 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 小時取 0.5ml 細胞懸浮液製作免疫螢光玻片。以螢光顯微鏡觀察細胞表面血液凝集素免疫螢光抗體的表現率。

### 3. 細胞先以病毒感染：

取 500ul 病毒接種於  $6 \times 10^5$  細胞，加入 4.5ml RPMI-1640 培養液在離心管中混合後，於 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培養箱中，培養 3 小時，以 1500 rpm 低速離心 10 分鐘，沉澱細胞並去除上清液，用 RPMI-1640 培養液清洗細胞二次，加入 5ml 含 2mg/ml 金線蓮之新鮮培養液，培養於 25cm<sup>2</sup> 的培養瓶中，再培養於 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培養箱中，於第 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 小時取 0.5ml 細胞懸浮液製作免疫螢光玻片。以螢光顯微鏡觀察細胞表面血液凝集素免疫螢光抗體的表現率。

## 九．聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) :

### 1. RNA 抽取 (RNA extraction) :

取 50ul 病毒檢體 (sample) 加 50ul TE 緩衝溶液 (10mM Tris-HCl pH7.5, 1mM EDTA), 400ul RNA 抽取緩衝溶液 (4.2M guanidine thiocyanate, 25mM Tris-HCl pH8, 0.5% Sarcosyl), 25.2ul  $\beta$ -mercaptoethanol。混合均勻後，再加入 50ul 10 倍酚抽取緩衝溶液 (1M Tris-HCl pH8, 100mM EDTA, 10% SDS) 和 500ul 酚到各管檢體，劇烈震盪至少 1 分鐘。均勻混合後，於 65 °C 水浴中作用 30 分鐘，再以等體積 酚 / 氯仿 (1:1) 連續抽取二次，以 12000 rpm 離心 5 分鐘，取上清液加 1ml 異丙醇和 2.5mM 醋酸銨 (ammonium acetate)。均勻混合後，靜置於 -20 °C 中 2 小時，於 4°C，以 12000 rpm 離心 15 分鐘，沉澱 RNA，去除上清液。將沉澱的 RNA 於真空乾燥後，再溶於 10ul 蒸餾水。

## 2. 反轉錄作用 (reverse transcription) :

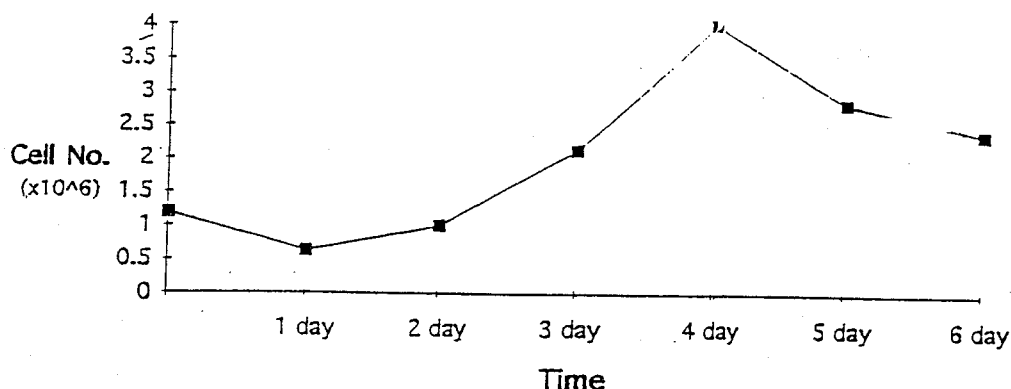
取 9ul 前述 RNA 溶液，加入反轉錄緩衝溶液 (50mM KCl, 10mM Tris-HCl pH8.4, 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.02% gelatin), 1mM dNTP, 50pmole 下游引子 (down-stream primer), 1ul AMV 反轉錄酶 (reverse transcriptase 7 unit/ml)，置於 43 °C，反應 60 分鐘。再加入 61.5ul 蒸餾水，並升高溫度至 95 °C，作用 5 分鐘。再將管子急速置於冰浴 (chill in ice)，以終止反轉錄作用。此步驟代表第一股 cDNA 的合成。

## 3. cDNA 增幅反應 (complement DNA amplification) :

本實驗利用聚合酶連鎖反應將 A 型流行性感冒病毒血球凝集素基因之 cDNA 大量增幅。取 81.5ul 上述 cDNA 產物，加入 20ul 聚合緩衝溶液 (10mM Tris-HCl pH8.3, 50mM KCl, 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 0.02% gelatin)，各 20pmole 上游、下游引子，2.5unit Taq 耐熱菌 DNA 聚合酶 (Taq polymerase)。反應液最後覆蓋一、二滴 (約 50ul) 的礦物油 (mineral oil)。而聚合酶連鎖反應條件為以 94 °C 變性 (denaturing) 1 分鐘，55 °C 煉合 (annealing) 2 分鐘，72 °C 延伸 (extension) 3 分鐘為 1 週期，反應進行 25 週期。

# 結果

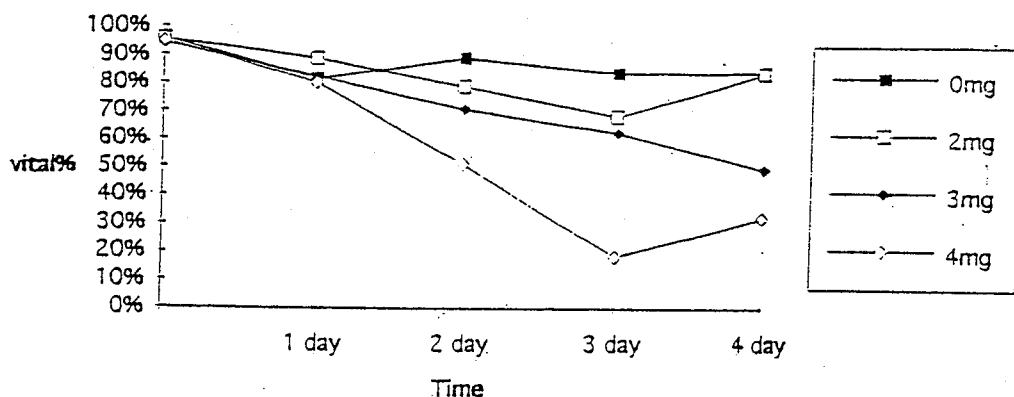
## 一、HL-CZ 細胞株之生長曲線：



圖一、HL-CZ細胞株生長曲線

HL-CZ 細胞株以 RPMI-1640 培養液連續培養 6 天，用 0.5% 錐藍染色法，血球計數器計算存活細胞總數，所得到之細胞總數與培養時間的關係。

## 二、金線蓮最低細胞毒性濃度：

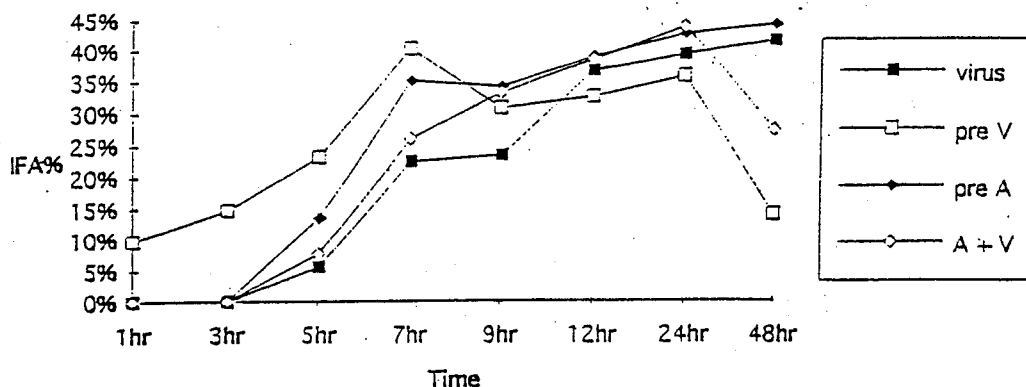


圖二、金線蓮最低細胞毒性濃度（細胞存活率）

HL-CZ 細胞株以含有不同金線蓮濃度之 RPMI-1640 培養液連續培養 4 天，每天取細胞懸浮液，用 0.5% 錐藍染色法，血球計數器計算存活細胞總數和細胞總數。以存活細胞數除以總細胞數定義為細胞存活率。培養 4 天後，使細胞存活率大於 80% 的金線蓮濃度為金線蓮對細胞的最低毒性濃度。

### 三．抗病毒效果評估：

細胞依接種流行性感冒病毒和加入金線蓮處理時間的順序不同，將抗病毒作用分成三部分：細胞先接種病毒，再以金線蓮處理；細胞先以金線蓮處理，再接種病毒；細胞同時以金線蓮處理，並接種病毒



圖三、金線蓮對感染病毒細胞不同處理方式，所得到感染病毒細胞表面血球凝集素免疫螢光反應率。

virus 為 HL-CZ 細胞將病毒接種後，以 RPMI-1640 培養液連續培養 48 小時。

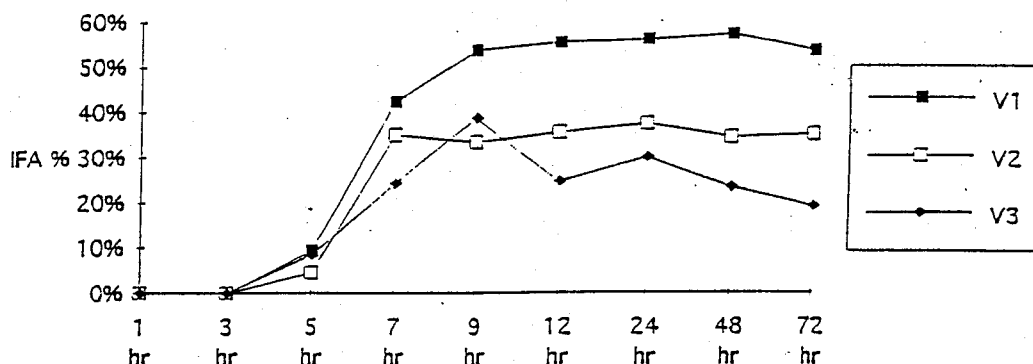
pre V 為 HL-CZ 細胞先接種病毒 3 小時後，洗去未結合之病毒，再以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液連續培養 48 小時。

pre A 為 HL-CZ 細胞株以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養 3 小時，再接種病毒，並以新鮮之 RPMI-1640 培養液連續培養 48 小時。

A + V 為 HL-CZ 細胞株接種病毒的同時，以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液連續培養 48 小時。

所有實驗細胞都是培養在 25cm<sup>2</sup> 培養瓶中，置於 37°C 5%CO<sub>2</sub> 培養箱中培養。金線蓮都是保持在 2mg/ml 的濃度。於第 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 小時，從各個培養瓶中，取 0.5ml 細胞懸浮液製作免疫螢光玻片。並以血球凝集素單株抗體和抗老鼠螢光標幟免疫球蛋白進行間接螢光染色，再以螢光顯微鏡觀察，將觀察結果拍攝照片，計算螢光細胞數和細胞總數以 螢光細胞數目除以細胞總數定義為螢光細胞百分率 (IFA%)。

#### 四、病毒對金線蓮先處理細胞之感染活性：



圖四、金線蓮先處理細胞 48 小時，再感染病毒後，所得到感染病毒細胞表面血球凝集素免疫螢光反應率

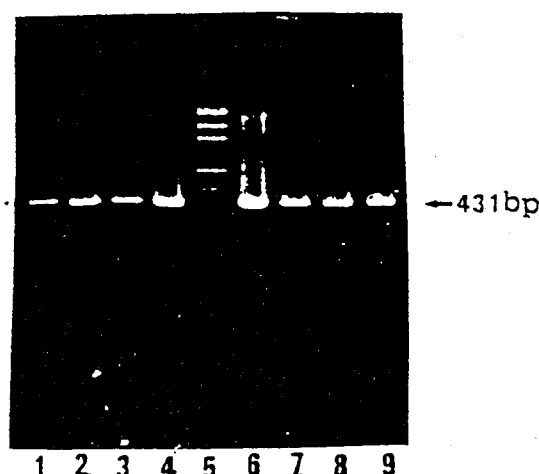
V1 為 HL-CZ 細胞在以金線蓮先處理細胞 48 小時後，洗去含金線蓮之 RPMI-1640 培養液，再接種病毒，並以新鮮 RPMI-1640 培養液連續培養 72 小時。

V2 為 HL-CZ 細胞在以金線蓮先處理細胞 48 小時後，洗去含金線蓮之 RPMI-1640 培養液，再接種病毒 3 小時後，洗去未結合之病毒，並以新鮮 RPMI-1640 培養液連續培養 72 小時。

V3 為 HL-CZ 細胞在以金線蓮先處理細胞 48 小時後，洗去含金線蓮之 RPMI-1640 培養液，再接種病毒 3 小時後，洗去未結合之病毒，再以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液連續培養 72 小時。

所有實驗細胞都是培養在 25cm<sup>2</sup> 培養瓶中，置於 37°C 5%CO<sub>2</sub> 培養箱中培養。金線蓮都是保持在 2mg/ml 的濃度。於第 1, 3, 5, 7, 9, 12, 24, 48 小時，從各個培養瓶中取 0.5ml 細胞懸浮液製作免疫螢光玻片。並以血球凝集素單株抗體和抗老鼠螢光標幟免疫球蛋白進行間接螢光染色，再以螢光顯微鏡觀察，將觀察結果拍攝照片，計算螢光細胞數目和細胞總數以 螢光細胞數目除以細胞總數定義為螢光細胞百分率 (IFA%)。

## 五．聚合酶連鎖反應：



圖五、金線蓮對感染病毒細胞不同處理方式，培養 24-48 小時之聚合酶連鎖反應產物

將 HL-CZ 細胞分別以金線蓮先處理，再感染病毒細胞，或先接種病毒後，再以金線蓮處理，或同時接種病毒，並以金線蓮處理，將三種金線蓮處理的感染細胞培養 24-48 小時，再進行聚合酶連鎖反應，所得產物以 2% 洋菜膠、TBE 緩衝溶液進行電泳分析，所得結果可在 431 鹼基對位置見到病毒血球凝集素基因的聚合酶連鎖反應產物的橫帶。

第一道為接種病毒後，培養於 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第二道為接種病毒 3 小時後，洗去未結合病毒，再培養於含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第三道為先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 3 小時，洗去含金線蓮之培養液，再接種病毒，以新鮮 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第四道為同時接種病毒後，並培養於含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

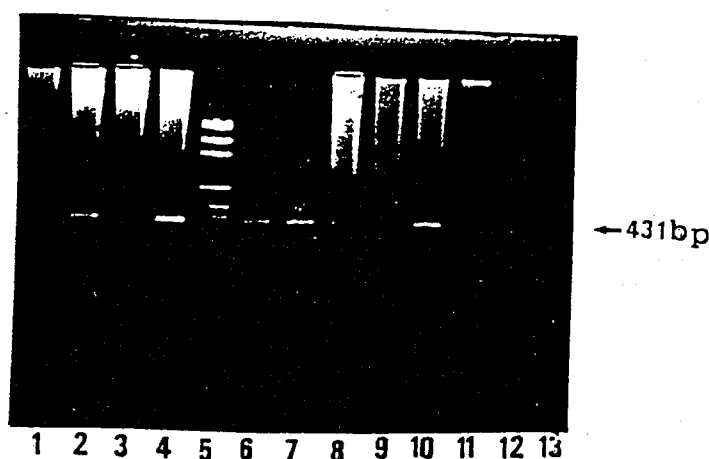
第五道為 pGEM/Hinf I, Rsa I, Sin I 的限制酶截切片段。

第六道為接種病毒後，培養於 RPMI-1640 培養液培養 48 小時的 HL-CZ 細胞株。

第七道為接種病毒 3 小時後，洗去未結合病毒，再培養於含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養 48 小時的 HL-CZ 細胞株。

第八道為先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 3 小時，洗去含金線蓮之培養液，再接種病毒，以新鮮 RPMI-1640 培養液培養 48 小時的 HL-CZ 細胞株。

第九道為同時接種病毒後，並培養於含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養 48 小時的 HL-CZ 細胞株。



圖六、金線蓮先處理細胞48小時，再感染病毒之聚合酶連鎖反應產物

HL-CZ 細胞株先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 48 小時，洗去含金線蓮之培養液，再接種病毒 3 小時後，分別以不洗去未結合病毒，洗去未結合病毒，以新鮮 RPMI-1640 培養液培養，或洗去未結合病毒，以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液培養，再進行聚合酶連鎖反應，所得產物以 2% 洋菜膠、TBE 緩衝溶液進行電泳分析，所得結果可在 431 鹼基對位置見到病毒血球凝集素基因的聚合酶連鎖反應產物的橫帶。

第一道為接種病毒後，培養於 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第二道為先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 48 小時，洗去含金線蓮之培養液，再接種病毒，以新鮮 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第三道為先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 48 小時，洗去含金線蓮之培養液，接種病毒 3 小時後，洗去未結合病毒，再以新鮮 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第四道為先以含金線蓮之 RPMI-1640 培養液處理 48 小時，洗去含金線蓮之培養液，接種病毒 3 小時後，洗去未結合病毒，再以含金線蓮 RPMI-1640 培養液培養 24 小時的 HL-CZ 細胞株。

第五道為 pGEM/Hinf I, Rsa I, Sin I 的限制酶截切片段。

第六、七、八、九道同前述第一、二、三、四道處理，但細胞培養 48 小時的 HL-CZ 細胞。

第十、十一、十二、十三道同前述第一、二、三、四道處理，但細胞培養 72 小時的 HL-CZ 細胞。

## 討論

免疫螢光染色法在本論文中做為一種測定流行性感冒病毒血球凝集素在 HL-CZ 細胞表現的方法，其優點為能顯示病毒抗原。將感染細胞塗抹在玻片上，先經空氣乾燥後，以冷丙酮固定細胞，再加上血球凝集素抗體，使抗體與細胞膜上血球凝集素抗原反應 1 小時後，再用螢光顯微鏡觀察。在實驗過程中，固定液與固定方法是十分重要，用冷丙酮於 4 °C 中固定細胞 5-10 分鐘，常可以增加細胞膜通透性，使抗體容易通過細胞膜，而與細胞內抗原作用，同時又不破壞細胞膜上表面抗原。但以冷丙酮固定細胞，對於細胞膜通透性增加程度不一。本論文除了使用血球凝集素單株抗體偵測細胞表面抗原外，並用基質蛋白 (matrix protein) 單株抗體偵測細胞內基質蛋白抗原。但在重複實驗中，所測得之基質蛋白免疫螢光反應率差異很大。若延長丙酮固定的時間，又會造成細胞破裂而破壞抗原，因此，本論文只使用血球凝集素單株抗體來偵測病毒抗原的表現。

就生長曲線而言，HL-CZ 細胞在培養過程中，經過低速離心，沉澱細胞後，再加入新鮮 RPMI-1640 培養液，培養於 25c m<sup>2</sup> 培養瓶中，靜置於 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培養箱中。在培養一天後，活細胞數目由  $1.19 \times 10^6$  降至  $0.62 \times 10^6$ ，可能是在離心過程中，細胞受到損傷，再培養於培養瓶時，細胞對新環境適應不良，不能附著於培養瓶上，因此，無法進行分裂生長，甚至死亡，造成細胞數目的降低。若再培養一天，細胞逐漸沉積並疏鬆地附著在培養瓶底，才開始能進行分裂生長，於是細胞數目開始增加。但是培養到第 5 天時，培養瓶已長滿細胞，細胞生長環境趨近飽和，因而產生生存壓力，使細胞數目在競爭生存空間中降低。同時，培養液養分隨著細胞數目增加而不足，同樣也會造成細胞數目下降。若在此時更換新鮮培養液，或接種到 75c m<sup>2</sup> 大培養瓶中，則細胞數目仍可再增加。由此可知，HL-CZ 細胞株最好的生長狀況，在培養的第 1 ~ 4 天。

細胞先以金線蓮處理後，能增加病毒對細胞的感染力。因金線蓮先處理細胞的時間不同，在接種病毒 3 小時後，洗去未結合細胞的游離病毒，加入新鮮 RPMI-1640 培養液，進行培養，細胞的血球凝集素免疫螢光反應率也不同。以金線蓮先處理 48 小時的細胞其免疫螢光反應率最高只達 37.76%，而金線蓮先處理 3 小時的細胞免疫螢光反應率卻可持續增加到 44.14%，表示細胞經金線蓮長時間處理，會降低螢光細胞百分率，可能是抑制細胞內病毒血球凝集素的合成。若接種病毒 3 小時後，洗去未結合細胞的游離病毒，再加入含金線蓮 RPMI-1640 培養液進行培養，則不論細胞先以金線蓮處理多久，細胞血球凝集素免疫螢光反應率都會降低。

金線蓮處理 48 小時的細胞，若感染病毒後 3 小時，洗去未結合病毒，則螢光細胞百分率在培養 7 小時後，即維持在  $35 \pm 2\%$ 。但若不洗去未結合病毒時，則在培養 11 小時後，螢光細胞百分率維持在  $55 \pm 2\%$ 。表示延長感染時間，能使病毒充分侵入細胞而可以增加螢光細胞百分率。而金線蓮先處理細胞在接種病毒後，培養於 RPMI-1640 培養液中，其血球凝集素免疫螢光反應率降低，若在接種病毒後，加入含金線蓮 RPMI-1640 培養液培養，所能抑制血球凝集素螢光反應率也降低。可能是細胞經過金線蓮 48 小時的處理後，細胞因應外界環境改變，使蛋白質合成系統被抑制，病毒利用細胞的蛋白質合成系統來合成病毒血球凝集素因此降低，而使免疫螢光反應率降低。若持續以含金線蓮 RPMI-1640 培養液來培養感染細胞，則因細胞對金線蓮已產生耐受性 (tolerance)，因此，抑制血球凝集素免疫螢光的反應率也降低。

以金線蓮先處理細胞和未經處理細胞比較，接種病毒後，都是在接種 5 小時後，才能以免疫螢光染色法，偵測病毒血球凝集素的免疫螢光反應。但經過金線蓮處理的細胞的螢光細胞百分率都比未經金線蓮處理的細胞高，若再同時比較接種病毒再培養於含金線蓮 RPMI-1640 培養液的螢光細胞百分率，也比未處理細胞高。表示病毒感染細胞後，需要 5 小時才能合成血球凝集素蛋白，再運送到細胞膜上，其中包括病毒吸附到細胞表面，進入細胞中的細胞核，利用宿主細胞的蛋白質合成系統，合成病毒抗原蛋白，再運送至細胞膜上等過程，病毒感染細胞時間不長，2 小時即能使大部分病毒顆粒進入細胞中，而使免疫螢光反應率提高 17% 以上。隨後免疫螢光反應率增加速率不快，逐漸趨於飽和，因為游離病毒顆粒減少之故。而金線蓮粗抽取

物中，可能含有幫助病毒進入細胞的成份，所以，病毒容易進入細胞內，而增加細胞表面血球凝集素免疫螢光反應率。因為，流行性感  
冒病毒進入細胞，

需要以血球凝集素附著於內含末端神經胺酸 (N-acetyl neuraminic acid, NANA) 之特異性糖蛋白細胞接受體，神經胺酸酶再水解細胞表面血球凝集素接受體的涎酸 (sialic acid)，而使病毒吸附進入細胞內。因此，推論金線蓮粗提取物的成份中，可能含有水解涎酸作用之成份，可增加病毒感染力，此點可供以後再研究的參考。

以金線蓮先處理細胞，不但不能保護細胞免於被病毒感染，反而會增加感染病毒細胞的比例，若將感染細胞培養在含金線蓮 RPMI-1640 培養液中。培養 48 小時後，細胞表面血球凝集素的免疫螢光反應率就會降低。因金線蓮並不是直接作用在病毒顆粒上，可能是作用在感染細胞上，透過細胞的蛋白質合成系統而抑制病毒血球凝集素的合成，導致螢光細胞百分率降低。同時，以聚合酶連鎖反應偵測病毒血球凝集素的基因，發現都可在細胞內偵測到血球凝集素基因的存在，而且，其聚合酶連鎖反應產物量都很相近，表示金線蓮處理感染細胞，不會抑制病毒基因的複製過程，但細胞表面血球凝集素免疫螢光表現率都會降低。推論金線蓮的作用機轉，是抑制病毒 RNA 合成蛋白質的過程。雖然，由聚合酶連鎖反應的結果可能發現，不論金線蓮處理的時間長短，每一組實驗細胞皆可偵測到血球凝集素基因。而且，在相同的培養時間內，除了直接接種病毒細胞內的病毒基因含量較少外，其他細胞內的病毒基因含量相差不多，因這些細胞的聚合酶連鎖反應產物量相近。可能是直接接種病毒的細胞，未經過金線蓮處理，所以，感染病毒的細胞較少，因此，偵測到的細胞內病毒基因

含量較少。其他金線蓮處理細胞內的病毒基因含量較多，而且相近，但卻有不同的血球凝集素合成，推測金線蓮抑制血球凝集素的作用是在於抑制病毒的 RNA 合成血球凝集素的過程。而且，這種抑制作用必須要以金線蓮處理細胞 24 小時以後，才能發生作用。

最後，細胞毒性濃度的決定是依不同實驗，病毒株，細胞株和藥材而有不同的標準，本論文是以培養四天後，能維持細胞存活率在 80% 以上的金線蓮濃度為最低細胞毒性濃度。金線蓮 50% 甲醇粗提取物的最低細胞毒性濃度 2mg/ml，與美國國立癌症研究中心 (National Cancer Institute) 對天然物初步篩選抗癌活性的藥物標準為：對口腔上皮癌細胞 (KB cell) 50% 細胞致死率小於 20 ~ 30 ug/ml ( $ED_{50} \leq 30 \text{ug/ml}$ )。相比之下，濃度太高。因此，可再進一步分離金線蓮成分，並加以純化。由實驗結果中，可知金線蓮至少含有二種活性成分，一種是可抑制病毒血球凝集素在細胞的表現。另一種是增加病毒感染細胞的能力。所以，若能將這二種成份分離，就能對病毒血球凝集素有專一性的抑制結果，而不會增加病毒感染力。

## 中藥毒理作用之測定(三)

廖志飛<sup>1</sup>，張勝祺<sup>2</sup>，陳介甫<sup>3</sup>

1. 國立陽明醫學院藥理學科
2. 國立陽明醫學院生化學科
3. 國立中國醫藥研究所

### 摘 要

爲了評估中藥是否具有致突變性，本計畫就「中華民國中藥典範」中，其藥材爲植物乾燥果實或種子之二十九種中藥，如大風子、女貞子、牛蒡子、五味子、白芥子、地膚子、金櫻子、使君子、苦楝子、胖大海、柏子仁、枸杞子、茺蔚子、梔子、牽牛子、蛇床子、紫蘇子、萊菔子、菟絲子、楮實、葶藶子、蓖麻子、蒼耳子、蓮子、蕤仁、蔓荊子、橄欖、薏苡仁及覆盆子等，製備其熱水抽提物，以沙門菌回復突變測試法 [Salmonella/microsome (Ames) test] 及活體外非排定 DNA 合成測定法 [in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay] 做致突變性測定。於測試之劑量或濃度下，結果顯示女貞子、地膚子、柏子仁、菟絲子、葶藶子、蓮子及蕤仁於 Ames test 具有致突變活性；而大風子、葶藶子、蓮子及蕤仁會增加 UDS，暗示此四種中藥含有破壞 DNA 之成份。以活體小白鼠小核仁測試法 (in vivo micronucleus test in mice) 之致突變性測試法測試前計畫 (DOH 81-CM-064) 中經上述兩種測試法測定後具有具有致突變潛力之中藥水抽提物（如地骨皮、馬兜鈴、丹參、木通、仙鶴草、白芷、白附子、延胡索、漢防己及雞血藤），初步結果顯示於腹腔注射一半致死劑量之一半劑量至 ICR 小白鼠 48 小時後，於股骨之骨髓中發現馬兜鈴及漢防己會稍微增加小核仁出現率。

## Toxicological Testing of Chinese Drugs (3)

Jyh-Fei Liao

Department & Institute of Pharmacology  
National Yang-Ming Medical College  
Taipei, Taiwan, R.O.C.

To evaluate whether Chinese drugs have mutagenicity, the water extract of 29 Chinese drugs such as *Hydnocarpi Semen* (HyS), *Ligustri Fructus* (LiF), *Arctii Fructus*, *Schizandrae Fructus*, *Sinapis Albae Semen*, *Kochiae Fructus* (KoF), *Rosae Laevigatae Fructus*, *Quisqualis Fructus*, *Meliae Toosendan Fructus*, *Sterculiae Semen*, *Thujae Orientalis Semen* (ThOS), *Lycii Fructus*, *Leonuri Fructus*, *Gardeniae Fructus*, *Pharbitidis Semen*, *Cnidii Monnieri Fructus*, *Perillae Fructus*, *Raphani Semen*, *Cuscutae Semen* (CuS), *Broussonetiae Fructus*, *Lepidii Semen* (LeS), *Ricini Semen*, *Xanthium Fructus*, *Nelumbinis Semen* (NeS), *Prinsepiae Semen* (PrS), *Vitidis Fructus*, *Canarii Fructus*, *Coicis Semen*, and *Rubi Fructus* were tested with the *Salmonella*/microsome (Ames) test and the in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay. In the Ames test, the results showed that LiF, KoF, ThOS, CuS, LeS, NeS, and PrS had mutagenic activities. In the UDS assay, only HyS, LeS, NeS, and PrS increased UDS, suggesting that they could cause DNA damage. Using the in vivo micronucleus test in mice, those showed mutagenic activities in the Ames test or in the UDS assay as tested in the previous project such as the water ethanol extracts of *Lycii Radicis Cortex*, *Aristolochiae Fructus* (ArF), *Salivae Miltiorrhizae Radix*, *Akebiae Caulis*, *Agrimoniae Herba*, *Angelicae Dahuricae Radix*, *Aconiti Coreani Tuber*, *Corydalis Tuber*, *Hanfangchi Radix* (HaR), and *Milletiae Caulis* were further evaluated. Preliminary results showed that ArF and HaR slightly increased the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes in the bone marrow 48 hr after intraperitoneal injection of test drugs into the ICR mice at the dose of 50% of the LD50.

### 前 言

歐、美、日等國家對於醫療系統內藥物(或稱西藥)之登記或新藥之申請,除必須提供有關藥效性與藥劑學品質評估數據外,亦需有安全性(特別是毒理學)之評估數據(1)。而在我國對廣為應用之藥用天然物(或稱中藥)則還未有此種規定,亦未建立有關毒理學試驗之準則。行政院全國第三次科技會議第四中心議題「醫藥衛生科技」分組討論,已建議對毒理學

發展加強毒理學之評估、調查與研究，建立完整之生物性評估體系。自77年度起陽明醫學院藥理研究所陳介甫教授於執行貴署之「常用中藥毒性及生物活性之評估」五年計畫中，已陸續就貴署所編「中華民國中藥典範」(2)中所列之常用中藥，做解熱、抗驚厥、降血壓、鎮痛及急性毒性之藥理評估。為了配合此計畫及基於保障全民健康與使中藥科學化之原則，乃擬定本計畫來初步評估中藥是否具有不可逆之遺傳學毒性(genetic toxicity)。

全程計畫擬分五年就「中華民國中藥典範」第一輯醫師處方常用400種中藥中，每年選取相關之30種中藥，製備其50%乙醇或熱水抽提物以沙門菌回復突變測試法[Salmonella/microsome (Ames) test]及活體外非排定DNA合成測定法[in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay]做致突變性測定；並就經上述兩種測定後，懷疑有致突變潛力之中藥再以活體小白鼠小核仁測試法(in vivo micronucleus test in mice)之致突變性毒理測定來確認。第一年(八十年度，DOH-CD21)先建立Ames test及UDS assay評估法並就29種對心臟血管有作用之中藥之50%乙醇抽提物及黃連熱水抽提物做評估，結果顯示地骨皮、吳茱萸、夏枯草、馬兜鈴、黃芩、菊花及黃連具有致突變潛力(3)。第二年(八十一年度，DOH81-CM-064)繼續就地骨皮、夏枯草、馬兜鈴、黃芩、菊花及列有抗驚厥或鎮痛之29種中藥之熱水抽提物做相似之致突變性測試，結果顯示馬兜鈴、木通、仙鶴草、白芷、白附子、延胡索及漢防己於Ames test具有致突變活性；而丹參、雞血藤及地骨皮會增加UDS。此年度並建立活體小白鼠小核仁測試法，經測試地骨皮、吳茱萸、夏枯草、馬兜鈴、黃芩及菊花之50%乙醇抽提物及黃連熱水抽提物，初步結果顯示於腹腔注射一半致死劑量之一半劑量至ICR小白鼠48小時後，於股骨之骨髓中發現夏枯草及馬兜鈴會稍微增加小核仁出現率。本年度(八十二年度，DOH82-CM-062)繼續就如表一所列，除營實外之29種中藥之熱水抽提物做相似之致突變性測試，並以活體小白鼠小核仁測試法，來確認具有致突變性潛力之中藥抽提物是否在活體內亦有致突變性作用。

## 方 法

依照美國普強(Upjohn)藥廠評估新藥所採用之四種短期遺傳學毒性測試法(4)，於第一年「中藥毒理作用之測定」之計畫(DOH-CD21)已建立

其中之兩種測試法，即沙門菌回復突變測試法 (Ames test) 與活體外非排定DNA合成測定法 (UDS assay)。第二年再建立第二線之短期遺傳學毒性測試法中的活體小白鼠小核仁測試法，來做進一步之致突變性確認評估。

#### I. 被測藥材：

選用之藥材(如表一所示)乃「中華民國中藥典範」(2)中其藥材為植物乾燥果實或種子之三十種中藥。購自臺北市中藥行之藥材取 100 克，搗碎後置入紗布以五倍量之二次水煮沸 60 分鐘後取抽提液，如此反覆抽提三次。把抽提液經 Whatman 1 號濾紙過濾後經 60° C 加熱濃縮至約 500 毫升後冷凍，再經冷凍真空乾燥以製得粉末狀水抽提物。取適量之水抽提物以適量之 DMSO 或二次水配成之溶液用於致突變性之測試。

#### II. 致突變性測試：

##### A. Ames test 與 UDS assay

參考美國環境保護局 (EPA) 出版之 "Health Effects Test Guideline" (5) 中所述之致突變性測試 HG-Gene Muta-S. typhimurium 及 HG-DNA-Unsched Syn 與相關之資料，使用於執行之「中藥毒理作用之測定」計畫中所建立之 Ames test 與 UDS assay 測試法，進行有關之致突變性實驗。

Ames test 可測試被測之中藥抽提物中是否能致使此種鼠傷寒桿菌之 genome 產生鹽基對置換 (base-pair substitution) 或框構位移 (frame-shift) 之突變 (6)。此測試法是任何微生物測試中最有效的，是優先被考慮用在任何遺傳學毒性篩試系統中 (7)。

所建立之 Ames test 測試法採用直接平板混合法 (direct plate incorporation method)。使用之菌種係 *Salmonella typhimurium* TA98 及 TA100，是由美國加州大學 Dr. Bruce N. Ames 供給，可分別測定引起框構位移及鹽基對置換之突變物質 (6)。將保存於 -70° C 之菌種接種到肉湯培養基 (nutrient broth) 中，於 37° C 下振搖 14-15 小時後，細菌數可達  $10^9$  cells/ml。將 2 ml 上層培養基 (主要含 0.6% Difco agar 及 0.5% NaCl，滅菌後每 100 ml 加入 10 ml 無菌之 0.5 mM biotin 及 0.5 mM histidine) 於 45° C 下，依序加入 0.1 ml 測試樣品，0.1 ml TA98 或 TA100 菌種懸浮液，視需要加入 0.5 ml 含大白鼠肝臟微粒體活化酵素之 S9 混合液 (microsomal S9 mix) 當代謝性活化劑，均勻搖盪後傾倒於底層培養基 (含 1.5% Difco agar, 2% Vogel-Bonner medium E 及 2% glucose) 平板上，於 37° C 培養箱中培養 48 小時，然後計算 his 逆突變 (his+ revertant) 菌落數。TA98 菌株之自然突變數為  $46 \pm 3$  (不含 S9) 及  $31 \pm 3$  (含 S9)；而 TA100

為  $133 \pm 6$  (不含 S9) 及  $130 \pm 5$  (含 S9)。若被測之樣品引起逆突變菌落數超過上述自然突變菌落數二倍以上，即視為該樣品具有致突變能力 (8)。陽性對照組於 TA98 使用 2-aminofluorene (含 S9) 與 picrolonic acid (不含 S9)；而於 TA100 使用 2-aminofluorene (含 S9) 與 4-nitroquinoline-N-oxide (不含 S9)。

大白鼠肝臟微粒體活化酵素之 S9 混合液之製備如下 (9)：大白鼠腹腔注射 Aroclor 1254 (500 mg/kg) 五天後取其肝臟，加入 0.5 M KCl 緩衝液以 Potter-Elvehjem 均質機均勻磨碎，以  $9000 \times g$  (Beckman JA20) 離心 10 分鐘，所得上層液即為 S9 懸浮液。其主要成份為微粒體 (microsomes)，所含之混合加氧酵素 (mixed-function oxygenase) 能使間接致突變劑 (indirect mutagen) 活化為具有致突變能力的終致突變劑 (ultimate mutagen)。每 1 ml S9 混合液中含有 0.1 ml S9 懸浮液， $8 \mu\text{mol}$   $\text{MgCl}_2$ ， $23 \mu\text{mol}$  KCl， $5 \mu\text{mol}$  glucose-6-phosphate， $4 \mu\text{mol}$  NADP 及  $100 \mu\text{mol}$  sodium phosphate，pH 7.4。

UDS assay 測試培養細胞之 DNA 被致突變劑破壞後之修護能力，亦是短期遺傳學毒性測試群中重要之一種方法。很明顯地 UDS 方法比 Ames test 與所謂之安全性評估更有關係 (7)。

所建立之 UDS assay 採用液相閃爍計數 (LSC) 測定法。使用之細胞株係人類成纖維細胞 (human fibroblast cells, CRL1508)，是由中研院生醫所李德章博士供給。取大約  $5-15 \times 10^4$  細胞種植於 6-well 之培養皿 (2 ml Dulbecco's modified Eagle medium 中含 10% 胎牛血清，100 unit/ml penicillin，100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  streptomycin 及 0.37% sodium bicarbonate) 中，於第四天細胞可達到群集 (confluence) 時 (每培養皿含  $7-24 \times 10^4$  細胞) 才開始測試實驗。測試時依序加入 10 mM hydroxyurea (以阻斷細胞進入 S phase (10,11))，視需要加入代謝性活化劑 S9 混合液 (0.2 ml)，被測樣品，及 8  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$  [methyl- $^3\text{H}$ ]thymidine ([ $^3\text{H}$ ]TdR, 84.8 Ci/mmol, NEN-NET-0272)，於培養箱 (8%  $\text{CO}_2$ ， $37^\circ\text{C}$ ) 培養 3 小時後，置於冰上以冰冷之 150 mM NaCl 溶液沖洗二次，加入 1 ml 冰水後存於  $-30^\circ\text{C}$  冷凍箱過夜。隔天取出解凍，把 cell lysate 移至試管中，加入 2 ml 冰冷之 20% trichloroacetic acid (TCA) 於冰浴中靜置 45 分後，於真空抽氣下以 GF/C 玻璃濾片收集 TCA 不溶之沉澱物，並以冰冷之 5% TCA 沖洗濾片二次 (12)。濾片以 10 ml 閃爍計數液 Ready Safe (Beckman) 測  $\beta$  放射性。

#### B. 活體小白鼠小核仁測試法

參考 EPA 出版之 "Health Effects Test Guideline" (5) 中所述之

HG-Chromo-Micronuc 與相關之資料，建立活體小白鼠小核仁測試法，來進一步確認經 Ames test 與 UDS assay 測試後懷疑具有致突變性潛力之中藥，是否真的具有遺傳性毒性。

活體小白鼠小核仁測試法可測試被測之中藥提取物中是否會破壞染色體或絲狀分裂器 (mitotic apparatus)。此測試法已被日本選用為評估醫用及工業用化學物致突變性之測試群中必備之一種，用於經 Ames test 等 in vitro 測試法檢出有致突變潛力之物質的後續確認測試法 (8)。

其測法大致如下：原則上取 5 隻公與 5 隻母 ICR 小白鼠為一處理組。每一中藥評估實驗均包括一陰性對照組、一陽性對照組、三個不同劑量之中藥處理組。陽性對照組使用 cyclophosphamide (13)。每隻實驗動物以水或藥物處理後，經 48 小時後犧牲取股骨，取出骨髓與胎牛血清混和均勻後平塗在載玻片上，經絕對甲醇固定 5 分後以 May-Grunwald 與 Giemsa-staining 混合染色法 (14) 染色。以 1000 倍顯微鏡觀看，每隻實驗動物骨髓樣品至少觀看 500 個 polychromatic erythrocytes (PCE) 並檢出其中有多少個含 micronuclei 及算出其百分比。實驗數據整理後以 Student's t test 或 one way ANOVA 統計分析。

#### C. 藥物測試濃度或劑量

依各藥材水抽提物之溶解度，於 Ames test 以不同量之 DMSO 配製 0.5 克被測藥材水抽提物之溶液當起試劑量；於 UDS assay 及活體小白鼠小核仁測試法中則以二次過濾水製得每毫升溶液含相當 0.5 克原被測藥材。在活體小白鼠小核仁測試法中以此水溶液依 10 g 體重由腹腔給予 0.3 ml 之劑量當起試劑量，再以兩倍遞減之比率，測試至少三個不引致動物死亡之不同劑量。如已知其腹腔注射給藥兩天後之一半致死劑量 (LD50) 則以 LD50 之 1/2 劑量當起試劑量。

## 結 果 與 討 論

#### A. 中藥水抽提物

因中藥水抽提物溶液比較符合國人服用中藥方劑之煎煮藥湯，所以本計畫亦以水抽提物來評估。表二顯示 29 種中藥材經熱水抽提後所得之粉狀水抽提物之重量與原藥材重量之百分比 (即抽提率)。其中以 12. 枸杞子最

高 (64.6%), 而以 10. 胖大海最低 (2.7 %)。28. 營實因缺貨已予抽除, 將不在此計畫中評估。測試之劑量或濃度均以原藥材重量計, 而不是以水抽提物之重量計。

## B. Ames Test

TA98 菌株之自然突變數為  $46 \pm 3$  (含 S9) 與  $31 \pm 3$  (不含 S9), 而 TA100 為  $133 \pm 6$  (含 S9) 與  $130 \pm 5$  (不含 S9)。於 S9 存在下, 陽性對照致突變劑 2-aminofluorene ( $10 \mu\text{g}/\text{plate}$ ) 分別使 TA98 及 TA100 之突變數增為  $5,500 \pm 130$  及  $2,500 \pm 105$ 。於 S9 不存在下, 陽性對照致突變劑 picronic acid ( $250 \mu\text{g}/\text{plate}$ ) 使 TA98 之突變數增為  $2,054 \pm 98$  而 4-nitro-quinoline-N-oxide (NQO,  $1 \mu\text{g}/\text{plate}$ ) 使 TA100 之突變數增為  $3,500 \pm 110$ 。

29 種中藥水抽提物先以單劑量測試其致突變能力, 結果如表三所示。此單劑量之選定係以 4-12 毫升 DMSO 配製 0.5 g 被測藥材之水抽提物成溶液當起試劑量, 而表中所列劑量係經換算以原藥材重量表示。如以所測定樣品引起逆突變菌落數增為自然突變菌落數之二倍以上即判定該樣品具有致突變能力 (8), 則於 TA98 中有 2. 女貞子 (+S9 與 -S9)、6. 地膚子 (+S9 與 -S9)、11. 柏子仁 (-S9)、19. 菟絲子 (+S9)、21. 葶藶子 (-S9)、22. 蓮子 (-S9) 及 25. 薏仁 (+S9); 於 TA100 中則有 2. 女貞子 (+S9 與 -S9)。為了證實 2. 女貞子、6. 地膚子、11. 柏子仁、19. 菟絲子、21. 葶藶子、22. 蓮子及 25. 薏仁確有致突變能力, 經以不同之劑量再測試, 其結果如表四顯示 2. 女貞子、6. 地膚子、11. 柏子仁、19. 菟絲子、21. 葶藶子、22. 蓮子及 25. 薏仁確有與劑量相關之致突變能力, 而以 2. 女貞子之作用最強。此項結果與 Morimoto 等人 (15) 及 Yin 等人 (16) 之報導, 有部份吻合亦有部份差異, 現分別比較及討論如下。由於 Morimoto 等人之報導 (15) 中所用之劑量以抽提物重量計 (最高至  $10 \text{ mg}/\text{plate}$ ), 為比較方便暫以表二所述之水抽提率換算成原藥材重量一併列出。

Yin 等人 (16) 報導 2. 女貞子水抽提物 ( $5-40 \text{ mg}/\text{plate}$ ) 於 Ames test 未見致突變能力, 但於本研究則發現女貞子於  $11 \text{ mg}/\text{plate}$  即對 TA100 有顯著作用, 而於  $43 \text{ mg}/\text{plate}$  亦對 TA98 有顯著作用。經測定女貞子之 histidine 含量, 未能測出, 顯示女貞子含有致突變能力之未知成分, 值得分離出來加以探討與確認。6. 地膚子之結果為首次報導;  $89 \text{ mg}/\text{plate}$  對 TA98 有顯著作用, 但劑量增加一倍則對 TA98 有毒性, 而劑量減為  $1/4$  即失去作用。11. 柏子仁之結果亦是首次報導;  $109 \text{ mg}/\text{plate}$  對 TA98 有顯著作用, 但劑量減半或在 S9 存在下即失去作用。Yin 等人 (16) 報導 19. 菟絲子水抽

提物 (5-40 mg/plate) 於 Ames test 未見致突變能力，而於本研究發現菟絲子要於 65 mg/plate 及 S9 存在下才對 TA98 有顯著作用，但劑量增加一倍或減為一半即失去作用。21. 葶藶子結果亦是首次報導；64 mg/plate 對 TA98 有顯著作用，但劑量減為 1/4 或 S9 存在下即失去作用。22. 蓮子結果亦是首次報導；104 mg/plate 對 TA98 有顯著作用，但劑量減為一半或 S9 存在下即失去作用。25. 薏仁之結果亦是首次報導；101-201 mg/plate 於 S9 存在下對 TA98 有顯著作用。

Morimoto 等人 (15) 報導 3. 牛蒡子水抽提物於 91 mg/plate 及 S9 存在下對 TA98 有致突變能力，但於本研究則未見有致突變能力，其差別之原因目前未明，須再度確認。至於其它於測試劑量下對於 TA98 及 TA100 沒有致突變能力，而已被報導者有 4. 五味子、5. 白芥子、12. 枸杞子、14. 梔子、16. 蛇床子及 29. 薏苡仁 (15-16)。

### C. UDS Assay

因非排定 DNA 合成 (UDS) 係以  $[3H]TdR$  併入不在 cell cycle S phase 之培養細胞的 DNA 內來測定，所以需用 Hydroxyurea 來阻斷細胞進入 S phase 及阻斷複製性的 DNA 合成 (10-11)。先前之實驗結果已知，10 mM Hydroxyurea 可抑制 96-98% 之  $[3H]TdR$  併入細胞之 DNA；而以陽性對照藥物 4-nitroquinoline N-oxide (NQO) 測試知 NQO 1  $\mu M$  可抑制  $[3H]TdR$  併入 DNA 至空白對照組之 37-39%，但卻 2-3 倍以上地增加於 10 mM Hydroxyurea 存在下之 UDS。以此為基準來檢測不同濃度之中藥水抽提物，經整理如表五所示。由表知除 21. 葶藶子外 (以下另有探討)，所有測試之中藥水抽提物 (0.5-40 mg/ml) 均呈現與濃度有關地抑制  $[3H]TdR$  併入 DNA，其中以 8. 白芥子之作用最強。而 1. 大風子、21. 葶藶子、24. 蓮子及 25. 薏仁可與濃度有關地增加 UDS。除 21. 葶藶子、24. 蓮子及 25. 薏仁外，那些在 Ames test 顯示有致突變能力者如 2. 女貞子、6. 地膚子、11. 柏子仁及 19. 菟絲子於測試之濃度下則未能檢出會增加 UDS。反而於 Ames test 未顯示有致突變能力者如 1. 大風子會增加 UDS。

表六比較 1. 大風子、21. 葶藶子、24. 蓮子、與 1  $\mu M$  NQO 增加 UDS 之能力，結果顯示 10 mg/ml 之大風子或 5-10 mg/ml 之葶藶子增加 UDS 之能力約等於或大於 1  $\mu M$  NQO 增加 UDS 之能力。很獨特的是葶藶子對  $[3H]TdR$  併入細胞 DNA 之作用呈現倒 V 型。表七評估葶藶子增加 UDS 之能力是否會與 NQO 產生相互作用，結果顯示兩者併用後增加 UDS 之能力比單獨使用還高，但沒有達到相加作用，暗示兩者之作用機轉有可能相似但又可能完全不同，最

主要之考慮為葶藶子不是單一成份。另外，葶藶子對 $[3H]$ TdR併入細胞DNA呈現倒V型之作用於此實驗再度證實，而10 mg/ml 葶藶子與對照組比較反而有促進 $[3H]$ TdR併入細胞DNA之作用。此促進作用於細胞對 $[3H]$ TdR併入DNA能力不高之狀態下特別明顯。如圖一所示，培養八天之細胞很明顯地比培養四天之細胞對 $[3H]$ TdR併入DNA之能力差，而10 mg/ml 葶藶子促進 $[3H]$ TdR併入細胞DNA之作用在此就突顯出來，但葶藶子促進UDS之濃度作用圖在此就沒有顯著差別。表八顯示葶藶子促進UDS不是拮抗Hydroxyurea (HU)所致，因於加倍HU濃度(20<sup>M</sup>)下，葶藶子促進UDS之能力並沒有改變。

當在UDS測試中添加在Ames test中廣為使用之標準代謝性活化劑S9 mix時，由表九知此種添加並未使25種中藥於選用之濃度下增加UDS，亦沒有顯著影響。5 mg/ml 薤仁增加UDS之能力，但降低10 mg/ml 薤仁增加UDS之能力。由表十知於S9 mix存在下，NQO抑制 $[3H]$ TdR併入細胞DNA之作用還在，但NQO增加UDS之作用則消失；然而S9 mix存在下對大風子、葶藶子及蓮子之作用沒有影響。

#### D. 活體小白鼠小核仁測試法

參照Salamone等人(13)之報導，ICR小白鼠經腹腔注射cyclophosphamide (100  $\mu$ g/kg) 24小時後犧牲取股骨內骨髓塗片，經固定及染色後，以1000倍顯微鏡觀看500個 polychromatic erythrocytes (PCE)，可檢有 $34 \pm 11$ 個含小核仁(micronuclei)，而48小時後亦可檢出25個含小核仁，此結果與Salamone等人(13)之報導吻合。於是以cyclophosphamide當陽性對照組，開始評估80年度計畫中經Ames test或UDS assay測試後顯示具有致突變能力之七種中藥。採用之劑量為先前實驗得知之LD50之一半劑量當起試劑量，如表十一之A部份所示，結果顯示夏枯草及馬兜鈴會稍微增加小核仁出現率。由於增加小核仁之數目很少，因此於本研究再度評估。由表十一之B部份所示結果知，夏枯草於此次實驗並未明顯增加小核仁之數目，但馬兜鈴不管是50%酒精抽提物或熱水抽提物均會明顯地增加小核仁之數目，雖然其作用不強。

本研究亦評估81年度計畫中經Ames test或UDS assay測試後顯示具有致突變能力之八種中藥，由表十一B部份所示結果知，只有漢防己會明顯增加小核仁數目。在此，漢防己使用之劑量亦為先前實驗得知之LD50之一半劑量。

誌

謝

本計畫承蒙國立中國醫藥研究所所長 陳介甫教授啓發與鼓勵，國立陽明醫學院生化學學科 張勝祺副教授協助 Ames test 之執行，行政院衛生署麻醉藥品經理處副處長 李志恆博士建議使用人類成纖維細胞，中央研究院生物醫學科學研究院 李德章博士供應人類成纖維細胞株，及行政院衛生署中醫藥委員會提供研究經費 (DOH-CD21、DOH 81-CM-064 及 DOH 82-CM-062) 之補助，在此一併誌謝。

建

議

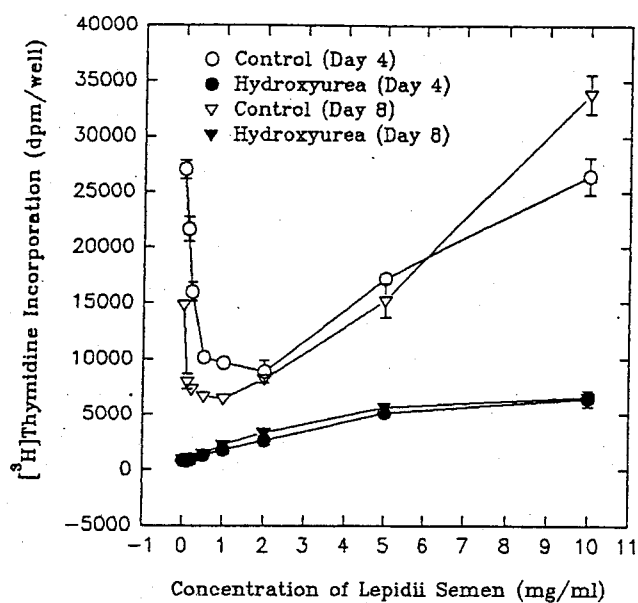
經文獻檢索知某些中藥所含之黃酮類化合物 (17) 或 isoquinoline 生物鹼 (18) 具有致突變能力；而四種含槲皮素之醫用植物乙醇抽提物製劑已被報導具有致突變性 (19)。本計畫實驗結果亦顯示某些中藥具有致突變潛力，而日本 Morimoto 等人 (15) 及大陸 Yin 等人 (16) 亦已報導某些中藥具有致突變潛力。雖然各家結果有些差異，但可肯定的是某些中藥具有致突變潛力，因此有關中藥之遺傳學毒性研究值得繼續進行，其成果除可提供中藥安全性之依據外，對於那些經各類評估而被確認具有不可逆遺傳學毒性之中藥則應宣導少用或不用。

## 參 考 文 獻

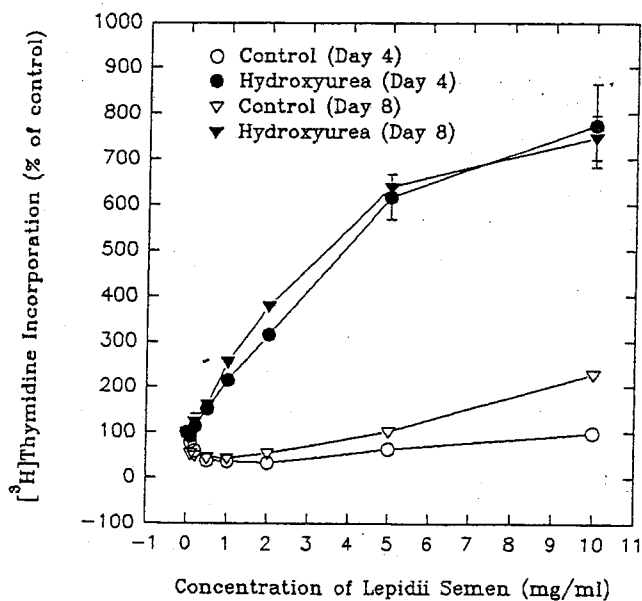
1. Inveresk Research International: Regulatory Guidelines, Number 1-5, 1990 & 1991.
2. 行政院衛生署：中華民國中藥典範，1985.
3. Liao, J.F., Chang, S.C., and Chen, C.F.: Mutagenicity testing of the crude extracts of 30 Chinese drugs. *Journal of Chinese Medicine* 3: 73-85, 1992.
4. Aaron, C.S.: Evaluation of drug candidates in a battery of short-term genetic toxicology assays: Overview. *Mutation Research* 223: 105-109, 1989.
5. United States Environmental Protection (EPA): Health Effects Test Guidelines. National Technical Information Service, 1982.
6. Maron, D. M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research* 113: 173-215, 1983.
7. Ray, V.A.: Application of microbial and mammalian cells to the assessment of mutagenicity. *Pharmacological Reviews* 30: 537-554, 1979.
8. Ishidate Jr., M.: A proposed battery of tests for the initial evaluation of the mutagenic potential of medicinal and industrial chemicals. *Mutation Research* 205: 397-407, 1988.
9. Ames, B.N., McCann, J., Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research* 31: 347-364, 1975.
10. Yarbro, J.W., Kennedy, B.J., and Barnum, C.P.: Hydroxyurea inhibition of DNA synthesis in Ascites tumor. *Proceedings of the National Academy of Sciences (U.S.A.)* 53: 1033-1035, 1965.
11. Lieberman, M. W., Sell, S., and Farber, E. Deoxyribonucleoside incorporation and the role of hydroxyurea in a model lymphocyte system for studying DNA repair in carcinogenesis. *Cancer Research* 31: 1307-1312, 1971.

12. Williams, G.M.: Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures. *Cancer Research* 37: 1845-1851, 1977.
13. Salamone, M., Heddle, J., Stuart, E., and Katz, M.: Towards an improved micronucleus test. Studies on 3 model agents, mitomycin C, cyclophosphamide and dimethylbenzanthracene. *Mutation Research* 74: 347-356, 1980.
14. Adler, I.-D.: Cytogenetic tests in mammals. In: *Mutagenicity Testing. A Practical Approach*. (Venitt, S. and Parry, J. M. eds.), IRL Press, Washington DC, pp. 275-306, 1984.
15. Morimoto, I., Watanabe, F., Osawa, T., Okitsu, T.: Mutagenicity screening of crude drugs with *Bacillus subtilis* rec-assay and *Salmonella*/microsome reversion assay. *Mutation Research* 97: 81-102, 1982.
16. Yin, X.J., Liu, D.X., Wang, H., Zhou, Y.: A study on the mutagenicity of 102 raw pharmaceuticals used in Chinese traditional medicine. *Mutation Research* 260: 73-82, 1991.
17. MacGregor, J.T.: Genetic toxicology of dietary flavonoids. In: *Genetic Toxicology of the Diet* (Knudsen, I. ed.), Alan R. Liss, New York, pp 33-43, 1986.
18. Nozaka, T., Watanabe, F., Tadaki, S., Ishino, M., Morimoto, I., Kunitomo, J., Ishii, H., and Natori, S.: Mutagenicity of isoquinoline alkaloids, especially of the aporphine type. *Mutation Research* 240: 267-279, 1990.
19. Schimmer, O., Hafele, F., and Kruger, A.: The mutagenic potencies of plant extracts containing quercetin in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. *Mutation Research* 206: 201-208, 1988.

A.



B.



圖一 比較葶藶子對不同培養天數之人類成纖維細胞併入 $[^3\text{H}]\text{TdR}$ 之影響。

表一 被測藥材之基源

No.	中文名	拉丁名及藥材之基源
1.	大風子	(Hydnocarpi Semen)為大風子科大風子[Hydnocarpus anthelmintica PIER. ex LANESE.]之成熟種子 (799)*
2.	女貞子	(Ligustri Fructus)為木犀科女貞[Ligustrum lucidum AITON]之乾燥成熟果實 (661)
3.	牛蒡子	(Arctii Fructus)為菊科惡實[Arctium lappa LINN.]乾燥成熟之果實 (35)
4.	五味子	(Schizandrae Fructus)為木蘭科五味子[Schizandra chinensis (TURCZ.) BAILL.]之乾燥果實 (685)
5.	白芥子	(Sinapis Albae Semen)為十字花科白芥[Brassica alba BOISS.]之成熟乾燥種子 (361)
6.	地膚子	(Kochiae Fructus)為藜科地膚[Kochia scoparia (L.) SCHRAD.]之乾燥果實 (791)
7.	金櫻子	(Rosae Laevigatae Fructus)為薔薇科金櫻[Rosa laevigata MICHX.]之乾燥果實 (698)
8.	使君子	(Quisqualis Fructus)為使君子科使君子[Quisqualis indica LINN.]之乾燥成熟果實 (769)
9.	苦楝子	(Meliae Toosendan Fructus)為楝科川楝[Melia toosendan SIEB. et ZUCC.]之乾燥成熟果實 (457)
10.	胖大海	(Sterculiae Semen)為梧桐科胖大海[Sterculia scaphigera WALL.]之乾燥種子 (345)
11.	柏子仁	(Thujae Orientalis Semen)為柏科側柏[Thuja orientalis LINN.]之乾燥種仁 (733)
12.	枸杞子	(Lycii Fructus)為茄科枸杞[Lycium chinense MILL.]之乾燥成熟果實 (600)
13.	茺蔚子	(Leonuri Fructus)為唇形科益母草[Leonurus sibiricus LINN.]之乾燥果實 (554)
14.	梔子	(Gardeniae Fructus)為茜草科梔子樹[Gardenia jasminoides ELLIS. var. angustifolia NAKAI]之成熟乾燥果實 (65)
15.	牽牛子	(Pharbitidis Semen)為旋花科裂葉牽牛[Pharbitis nil (L.) CHOISY]之乾燥種子 (218)
16.	蛇床子	(Cnidii Monnieri Fructus)為繖形科蛇床[Cnidium monnieri (L.) CUSSON]之乾燥成熟果實 (789)
17.	紫蘇子	(Perillae Fructus)為唇形科皺紫蘇[Perilla frutescens (L.) BRITT. var. crispa (THUNB.) HAND-MAZZ.]之果實 (13)
18.	萊菔子	(Raphani Semen)為十字花科萊菔[Raphanus sativa L. var. hortensis BACKER]乾燥成熟種子 (422)
19.	菟絲子	(Cuscutae Semen)為旋花科菟絲子[Cuscuta chinensis LAM.]之乾燥成熟種子 (629)
20.	楮實	(Broussonetiae Fructus)為桑科楮(構)[Broussonetia papyrifera (L.) VENT.]之乾燥果實 (649)
21.	葶藶子	(Lepidii Fructus)為十字花科獨行菜[Lepidium apetalum WILL.]之乾燥種子 (372)
22.	蓖麻子	(Ricini Semen)為大戟科蓖麻[Ricinus communis LINN.]之乾燥成熟種子 (216)
23.	蒼耳子	(Xanthium Fructus)為菊科蒼耳[Xanthium strumarium LINN.]之乾燥果實 (30)
24.	蓮子	(Nelumbinis Semen)為睡蓮科蓮[Nelumbo nucifera GAERTN.]之乾燥果實 (692)
25.	薏仁	(Prinsepiae Semen)為薔薇科小馬茄子[Prinsepia uniflora BATAL.]之乾燥成熟種仁 (671)
26.	蔓荊子	(Viticis Fructus)為馬鞭草科單葉蔓荊[Vitex rotundifolia LINN.]之乾燥成熟果實 (49)
27.	橄欖	(Canarii Fructus)為橄欖科橄欖[Canarium album (LOUR.) RAEUSCH.]之果實 (349)
28.	營實	(Rosae Multiflorae Fructus)為薔薇科多花薔薇[Rosa multiflora THUNB.]之乾燥果實 (175)
29.	薏苡仁	(Coicis Semen)為禾本科薏苡[Coix lacryma-jobi LINN.]之種仁 (254)
30.	覆盆子	(Rubi Fructus)為薔薇科掌葉覆盆子[Rubus chingii HU]之乾燥未成熟果實 (694)

\* 括號內之數目表示收錄在「中華民國中藥典範」第一輯(正文)之頁次

表二 中藥水抽提物之抽提率：

藥材	抽提率 (%)*	藥材	抽提率 (%)*
1. 大風子	5.8	16. 蛇床子	9.8
2. 女貞子	28.8	17. 紫蘇子	5.1
3. 牛蒡子	11.0	18. 萊菔子	7.6
4. 五味子	32.3	19. 菟絲子	15.5
5. 白芥子	13.8	20. 楮實子	15.6
6. 地膚子	11.3	21. 葶藶子	9.7
7. 金櫻子	20.9	22. 蓖麻子	5.6
8. 使君子	18.0	23. 蒼耳子	9.1
9. 苦楝子	30.1	24. 蓮子	20.7
10. 胖大海	2.7	25. 薏仁	5.0
11. 柏子仁	9.2	26. 蔓荊子	8.1
12. 枸杞子	64.6	27. 橄欖	28.9
13. 羌活	5.2	28. 營實	---
14. 梔子	19.6	29. 薏仁	10.5
15. 牽牛子	13.1	30. 覆盆子	15.5

\* 抽提率 (%) = (水抽提物重量 / 原藥材重量) × 100

表三 中藥水抽提物對沙門菌致突變性之測定

		Revertants/Plate			
		TA98		TA100	
No. 被測藥物	劑量 (mg/plate)	+S9	-S9	+S9	-S9
對照組		46±3#	31±3	133±6	130±5
1. 大風子	178	46	15	121	126
2. 女貞子	43	130*	354*	667*	751*
3. 牛蒡子	91	54	44	152	133
4. 五味子	31	28	28	126	113
5. 白芥子	91	62	59	145	134
6. 地膚子	89	94*	67*	153	117
	178	44	20	-	-
7. 金櫻子	60	45	31	132	137
8. 使君子	56	33	19	122	144
9. 苦楝子	20	68	21	139	134
10. 胖大海	370	29	13	142	171
11. 柏子仁	109	75	64*	162	133
12. 枸杞子	16	59	11	150	171
13. 羌活	192	60	20	188	168
14. 梔子	43	36	47	139	126
15. 牽牛子	77	33	31	79	98
16. 蛇床子	57	81	16	180	162
17. 紫蘇子	123	55	48	215	188
18. 萊菔子	55	84	34	175	153
19. 菟絲子	65	101*	61	115	156
	129	77	10	-	-
20. 楮實子	80	78	21	185	141
21. 葶藶子	64	67	69*	165	159
22. 蓖麻子	179	46	17	98	95
23. 蒼耳子	110	52	59	145	141
24. 蓮子	104	58	66*	136	121
25. 薏仁	201	105*	19	192	153
26. 蔓荊子	58	43	39	167	153
27. 橄欖	35	49	48	147	124
29. 薏仁	40	59	39	140	134
30. 覆盆子	64	32	17	144	163

# 對照組以十次測定數據之平均值±標準值表示，其餘藥物組以兩次實驗之平均值表示

\* 代表突變菌落數大於兩倍空白對照組

表四 不同劑量之 中藥水抽提物對沙門菌致突變性之測定

		Revertants/Plate			
		TA98		TA100	
No. 被測藥物	劑量 (mg/plate)	+S9	-S9	+S9	-S9
對照組		39± 2#	28± 4	137± 3	139± 6
2. 女貞子	43	-	-	749*	856*
	22	-	-	354*	486*
	11	-	-	231	328*
對照組		-	-	118± 1	100± 11
2. 女貞子	43	-	-	542*	556*
	22	-	-	274*	343*
	11	-	-	172	244*
對照組		39± 2	28± 4	-	-
6. 地膚子	88	89*	50	-	-
	44	78*	37	-	-
11. 柏子仁	108	61	60*	-	-
	54	64	31	-	-
19. 菟絲子	64	78*	33	-	-
	32	61	41	-	-
21. 葶藶子	64	58	56*	-	-
	32	58	47	-	-
24. 蓮子	104	54	60*	-	-
	52	59	26	-	-
25. 薏仁	202	79*	75*	-	-
	101	80*	50	-	-
對照組		43± 1	26± 2	-	-
2. 女貞子	43	72	217*	-	-
	22	52	7	-	-
	11	49	24	-	-
6. 地膚子	44	102*	52*	-	-
	22	49	44	-	-
11. 柏子仁	54	46	42	-	-
	27	56	34	-	-
19. 菟絲子	32	67	42	-	-
	16	57	36	-	-
21. 葶藶子	32	60	67*	-	-
	16	40	48	-	-
24. 蓮子	52	43	42	-	-
	26	41	24	-	-
25. 薏仁	101	86*	24	-	-
	51	87*	51	-	-

# 對照組以二次測定數據之平均值±標準值表示，其餘藥物組以兩次實驗之平均值表示

\* 代表突變菌落數大於兩倍空白對照組

表五 不同濃度之中藥水抽提物對[3H]thymidine 併入人類成纖維細胞之影響

No. 被測藥物	-HU / +HU (% of control)						
	濃度 (mg/ml)						
	0.5	1	2	5	10	20	40
1. 大風子				48/209	23/342		
2. 女貞子	69/101		38/52	17/62		2/47	2/54
3. 牛蒡子	59/99		18/51	19/54			
4. 五味子		87/88		31/78	13/87		
5. 白芥子	38/80		19/41	18/52			
6. 地膚子	73/69		26/42	23/50			3/72
7. 金櫻子			56/70	43/56	13/87		
8. 使君子		87/127		60/67	20/57		
9. 苦楝子		89/119	68/70	24/82			
10. 胖大海		90/107		99/123	80/114	54/104	
11. 柏子仁			68/68	78/87	86/123	65/102	
12. 枸杞子		99/103		70/89	47/73	26/56	
13. 芫蔚子	59/86		27/63	13/66			
14. 梔子	45/95		25/56	9/60			
15. 牽牛子			73/66	39/97	28/65		
16. 蛇床子	64/95	41/58		15/48			
17. 紫蘇子		70/75	62/84	29/71			
18. 萊菔子		69/81		41/68	34/130		
19. 菟絲子	91/108	41/74		18/44			6/47
20. 楮實子		61/76	66/68	15/45			
21. 草麻子				37/266	44/468		
22. 蓖麻子		44/68		70/69		24/85	
23. 蒼耳子		90/92		31/76	28/90		
24. 蓮子				95/101	70/141	48/139	
25. 薏苡仁		64/208		36/72	40/357		
26. 蔓荊子	129/123	94/113		20/60			
27. 橄欖仁				75/73	63/86	51/76	
29. 薏苡仁				82/99	74/145	68/174	
30. 覆盆子	63/88	73/96	63/64	13/128	4/61		

實驗數據以兩個測定值之平均值表示

HU = hydroxyurea 10 mM

表六 大風子、葶藶子、蓮子與 NQO 增加 UDS 之比較

No. 被測藥物	濃度 (mg/ml)	--		Hydroxyurea (10 mM)	
		dpm/dish	(% control)	dpm/dish	(% control)
對照組		29356±3940	(100±13)	943±5	(100±2)
NQO	1 $\mu$ M	18288±598	(62±2)*	2961±299	(399±40)*
1. 大風子	5	10912±8	(37±0)*	1449±203	(195±27)
	10	6863±6	(23±0)**	2539±207	(342±28)*
21. 葶藶子	2	6722±632	(23±2)*	1570±166	(211±22)*
	5	11403±230	(39±1)**	2499±3	(336±0)**
	10	16536±953	(56±3)	3975±269	(535±36)**
24. 蓮子	10	17422±959	(59±3)	971±36	(131±5)*
	20	13979±820	(48±3)	1036±29	(139±4)*
對照組		48892±3628	(100±7)	821±66	(100±8)
NQO	1 $\mu$ M	26703±2539	(55±5)*	4422±403	(539±49)**
21. 葶藶子	2	7235±673	(15±1)**	1800±110	(219±13)*
	5	10508±1797	(22±4)*	2616±148	(319±18)**
	10	21769±1945	(45±4)*	3843±528	(468±64)*

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , 與各別之對照組比較有差別

表七 NQO 與葶藶子對 [3H]thymidine 併入人類成纖維細胞之相互作用

被測藥物	濃度	--		Hydroxyurea (10 mM)	
		dpm/dish	(% control)	dpm/dish	(% control)
對照組		13426±700	(100±5)	614±12	(100±2)
NQO	1 $\mu$ M	8274±353	(62±3)*	1620±491	(264±80)
葶藶子	1 mg/ml	6316±217	(47±2)*	1465±108	(239±18)*
	2 mg/ml	7231±431	(54±3)*	2190±40	(357±7)**
	5 mg/ml	15632±2440	(116±18)	4624±612	(753±100)**
	10 mg/ml	20721±3505	(154±26)	6714±736	(1094±120)*
葶藶子 +	1 mg/ml	4868±200	(36±2)**	2059±188	(335±31)*
	2 mg/ml	6369±986	(47±7)*	3018±191	(492±31)**
NQO 1 $\mu$ M	5 mg/ml	15386±9130	(115±7)	4725±252	(770±41)**

\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , 與各別之對照組比較有差別

表八 NQO 或 葶藶子 於不同 hydroxyurea 濃度下對 [3H]thymidine 併入人類成纖維細胞之影響

	Control	HU 10 mM	HU 20 mM
Control	6779±350 (100±5)	519±22 (100±4)	399±12 (100±3)
NQO 1 μM	3245±114 (48±2)*	1194±22 (230±0)**	997±79 (250±20)*
10 μM	874±30 (13±0)**	794±57 (153±11)*	1072±1 (269±0)*
葶藶子	19856±1262 (293±19)**	4796±373 (924±72)**	4308±249 (1080±62)**

HU = hydroxyurea; 葶藶子 = 10 mg/ml; \* p<0.05, \*\* p<0.01, 與各別之 Control 組比較有差別

表九 S9 mix 存在下中藥水抽提物對 UDS 之影響

No. 被測藥物	濃度 (mg/ml)	-S9		+S9	
		dpm/dish (% of control)		dpm/dish (% of control)	
對照組		304±17 (100±6)		301±27 (100±9)	
2. 女貞子	5	154±12 (51±4)		205±15 (68±5)	
3. 牛蒡子	5	188±29 (62±10)		165±11 (55±4)	
4. 五味子	10	206±25 (68±8)		160±2 (53±1)	
5. 白芥子	5	211±43 (70±14)		162±39 (54±13)	
6. 地膚子	5	193±7 (64±2)		179±17 (60±6)	
7. 金櫻子	5	237±52 (78±17)		219±12 (73±4)	
8. 使君子	10	217±4 (72±1)		169±11 (56±4)	
9. 苦楝子	10	151±16 (50±5)		189±30 (63±10)	
10. 胖大海	20	244±1 (80±0)		268±32 (89±11)	
11. 柏子仁	20	349±27 (115±9)		286±9 (95±3)	
12. 枸杞子	10	188±3 (62±1)		168±35 (56±12)	
13. 羌活	5	190±3 (63±1)		149±24 (50±8)	
14. 梔子	2	252±16 (83±5)		285±4 (95±1)	
15. 牽牛子	10	144±5 (47±2)		268±27 (89±9)*	
16. 蛇床子	5	171±1 (56±0)		225±49 (75±16)	
17. 紫蘇子	5	199±4 (66±1)		183±13 (61±4)	
對照組		232±10 (100±4)		175±5 (100±3)	
18. 萊菔子	10	503±3 (217±1)		388±59 (222±34)	
19. 菟絲子	5	173±5 (75±2)		181±2 (103±1)	
20. 楮實子	5	170±10 (73±4)		160±10 (91±6)	
22. 蓖麻子	10	167±3 (72±1)		157±5 (90±3)	
23. 蒼耳子	10	199±11 (86±5)		166±6 (95±3)	
26. 蔓荊子	5	159±28 (69±12)		147±12 (84±7)	
27. 橄欖	20	148±27 (64±12)		125±2 (71±1)	
29. 薏苡仁	10	221±10 (95±4)		180±2 (103±1)	
30. 覆盆子	5	320±36 (138±16)		208±10 (119±6)	
對照組		125±14 (100±11)		122±26 (100±21)	
15. 牽牛子	10	84±14 (67±11)		157±4 (129±3)*	
對照組		232±10 (100±4)		175±5 (100±3)	
25. 薏仁	5	3004±226 (1295±97)		3120±108 (1783±62)	
	10	4405±147 (1899±63)		1952±224 (1115±128)*	

實驗數據以兩個測定值之平均值±標準誤差值表示

\* p<0.05, -S9 vs. +S9

表十 S9 mix 存在下對NQO、大風子、葶藶子及蓮子引致UDS增加之影響

				-S9		+S9	
No.	被測藥物	濃度 (mg/ml)	dpm/dish (% of control)		dpm/dish (% of control)		
	對照組	-HU	2377± 167	( 100± 7 )	1694± 104	( 100± 6 )	
		+HU	335± 20	( 100± 6 )	294± 13	( 100± 4 )	
	NQO	1 μ M	-HU	1252± 203	( 53± 9 )*	1114± 102	( 66± 6 )*
		+HU	664± 29	( 198± 9 )*	280± 44	( 95± 15 )	
1.	大風子	2	-HU	2284± 230	( 96± 10 )	2306± 93	( 136± 6 )*
		+HU	996± 14	( 297± 4 )**	764± 35	( 260± 12 )**	
		10	-HU	3339± 262	( 141± 11 )*	2876± 174	( 170± 10 )**
		+HU	3471± 81	(1036± 24 )**	3711± 57	(1262± 19 )**	
21.	葶藶子	2	-HU	5710± 10	( 240± 0 )**	6303± 52	( 372± 3 )**
		+HU	3265± 57	( 975± 17 )**	3408± 68	(1159± 23 )**	
		10	-HU	11577± 1287	( 487± 54 )**	11030± 1213	( 651± 72 )**
		+HU	6188± 372	(1847± 111)**	6725± 594	(2287± 202)**	
	對照組	-HU	1095± 61	( 100± 6 )	858± 53	( 100± 6 )	
		+HU	176± 10	( 100± 6 )	160± 7	( 100± 4 )	
24.	蓮子	10	-HU	1557± 23	( 142± 2 )**	1526± 98	( 178± 11 )*
		+HU	436± 4	( 248± 2 )**	431± 37	( 270± 23 )*	

實驗數據以兩個測定值之平均值±標準誤差值表示  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01, 與各別之對照組比較有差異

表十一 中藥50%酒精抽提物或水抽提物對小核仁出現率之影響

No.	被測藥物	小時	n	小核仁 #	小核仁出現率(%)
A.	對照組		10	0.7±0.2	0.14±0.04
	Cyclophosphamide 100 mg/kg	24	3	34.0±11.2**	6.80±2.23**
		48	1	25	5
			3	0.3±0.3	0.07±0.07
1-8	地骨皮(A)	4.4 g/kg	48	3	1.7±0.3*
1-20	夏枯草(A)	3.2 g/kg	48	3	3.5±0.5**
1-21	馬兜鈴(A)	19.3 g/kg	48	2	0.70±0.10**
B.	對照組		21	0.6±0.1	0.12±0.02
	1-8 地骨皮(W)	2.2 g/kg	48	3	1.2±0.4
	1-20 夏枯草(A)	3.2 g/kg	48	3	0 ±0
		4.8 g/kg	48	5	0.6±0.2
	1-21 馬兜鈴(A)	19.3 g/kg	48	3	0.7±0.2
		25 g/kg	48	4	1.7±0.8
	1-21 馬兜鈴(W)	9.6 g/kg	48	3	1.5±0.3
	2-2 丹參	8.5 g/kg	48	3	0.3±0.2
	2-6 木通	1.2 g/kg	48	4	0.1±0.1
	2-12 仙鶴草	2.5 g/kg	48	3	0.2±0.2
	2-15 白芷	6.8 g/kg	48	3	0.3±0.2
	2-17 白附子	3.3 g/kg	48	4	0 ±0
	2-18 延胡索	1.9 g/kg	48	3	1.0±0.3
	2-27 漢防己	10.5 g/kg	48	3	1.9±0.3
	2-29 雞血藤	3.3 g/kg	48	2	1.2±0.6
					0.12±0.02
					0.23±0.09
					0 ±0
					0.12±0.04
					0.14±0.04
					0.34±0.16*
					0.30±0.06*
					0.07±0.03
					0.03±0.03
					0.03±0.03
					0.07±0.03
					0 ±0
					0.20±0.06
					0.38±0.06**
					0.23±0.10

實驗數據以平均值±標準誤差表示；\* p<0.05, \*\* p<0.01, 與對照組比較有差異

A: 50% 酒精抽提物；W: 熱水抽提物

#: 觀看每隻實驗動物股骨內骨髓抹片標本500個 polychromatic erythrocytes (PCE)中出現之小核仁數目

# 大白鼠胎盤對老雄鼠泌乳素黃體促素 甲狀線促素分泌效應

王錫崗

國立陽明醫學院 生理學研究所

## 摘 要

本研究旨在探討大鼠口服胎盤萃取液後，血漿泌乳素及甲促素濃度之改變，以及離體腦下腺泌乳素及甲促素釋放之變化。大鼠懷孕第22日犧牲，取出胎盤，經丙酮脫脂，乾燥後，以磷酸鹽緩衝液萃取，所得萃取液（每毫升內含相當6.7毫克組織），供15-19月齡雄鼠口服五日，對照組動物則口服肌肉萃取液。口服停止前一日，於右頸靜脈植一插管，次日由插管注入甲釋素( $10 \mu\text{g/kg}$ )，並於注入前及注射後5, 10, 20, 40, 及60分鐘抽血，每次0.5毫升，離心分出血漿，以放射免疫法檢測泌乳素及甲促素之濃度。另一實驗係將大鼠斷頭犧牲，取出腦下腺前葉於 $37^\circ\text{C}$ 與Locke's溶液培養30分鐘，收集培養液，檢測泌乳素及甲促素濃度。腦下腺組織則以磷酸鹽緩衝液萃取，檢測泌乳素及甲促素濃度。所得結果是，口服胎盤萃取液後，雄鼠血漿泌乳素濃度基礎值及對甲釋素之反應均顯著降低。離體腦下腺泌乳素釋放亦減少，但腦下腺組織之泌乳素濃度却增加。血漿甲促素濃度之基礎值未改變，唯對甲釋素之反應降低，離體腦下腺甲促素之釋放增加，但組織內甲促素之濃度減少。這些結果顯示，大鼠口服胎盤萃取液五日後，可以降低老化對泌乳素及甲促素分泌之效應。

## 英 文 摘 要

The effects of oral placenta extracts on the release of prolactin (PRL) and thyrotropin (TSH) in vivo and in vitro were investigated. Placentas were collected from pregnant rats on gestation day 22, defatted by acetone, and then extracted by phosphate buffer saline, pH 7.0. Male rats (15-19 months) were fed with placenta extracts (PE, 6.7 mg/ml/rat) once per day for 5 days before challenging with thyrotropin-releasing hormone (TRH, 10 $\mu$ g/kg) via jugular vein. Blood samples were collected at 0, 5, 10, 20, 40, and 60 min following TRH injection. The control animals were fed with muscle extracts. In another experiment, male rats were decapitated. The anterior pituitary glands (APs) were excised, bisected, and incubated with Locke's solution at 37 °C for 30 min. Concentrations of PRL and TSH in medium, AP tissue, and plasma samples were measured by radioimmunoassays. Oral PE diminishes the basal and TRH-stimulated levels of plasma PRL, as well as the in vitro release of pituitary PRL, but reduces the concentration of PRL in AP tissues. The basal level of plasma TSH was not altered, but the plasma TSH in response to TRH was reduced by oral PE in male rats. The in vitro release of TSH from APs was higher, but the concentration of TSH in AP tissue was lower in PE than in control group. These results suggest that the placenta extracts attenuate aging effects on the release of PRL and TSH in male rats.

## 前 言

胎盤在中醫藥稱之為紫河車。依增批本草備要及一般藥書(1-3)所載，其功效為能大補氣血，治一切虛勞損極。其泡製方法亦十分簡單，一般以酒浸泡，可煮食(2, 3)。民間常取之供虛勞及年老者使用。

在生殖生理方面，長久以來，胎盤被認為是免疫學上一大特例，可以容忍一個胎兒，長達十個月而不致發生免疫之問題(4, 8)。它又是一個重要的內分泌腺體，不但分泌固醇類激素，同時還分泌一些腦和腦下腺的激素(5, 7, 9-14, 16, 17, 19, 20)，可能與中醫學認為具滋補血氣的功能有密切的關係。

動物年老後，許多生理機能出現異常現象，以內分泌為例，年老的大鼠與年輕大鼠比較，血漿泌乳素(Prolactin, PRL) 濃度顯著增高(18)，甲狀腺促素(Thyrotropin, TSH) 濃度雖然不變，但甲狀腺素( $T_4$ )濃度顯著降低(6)，而黃體促素(Luteinizing Hormone, LH)之濃度亦降低(8)，以甲釋素(Thyrotropin Releasing Hormone, TRH)刺激大鼠，發現血漿泌乳素濃度之增加以年老大鼠較多，但甲狀腺促素之增加卻以年輕大鼠較多(18)，取腦下腺作離體培養，所得結果與活體相似(18)，以性釋素(Gonadotropin-Releasing Hormone, GnRH)刺激年老大鼠，無論離體或活體，黃體促素之反應均不如年輕大鼠(8)。

本研究計畫擬以上述腦下腺分泌之泌乳素上升、甲狀腺促素分泌不變為主要的大鼠老化內分泌指標，觀察中年大鼠口服胎盤萃取物後，這些激素之分泌變化，是否有傾向年輕動物之表現？藉此，一方面探討老化的生理機轉，一方面準備應用於臨床之老化保健。

## 材 料 與 方 法

### 一．製備大鼠胎盤萃取液

選購 Sprague-Dawley 種系雌鼠，進行陰道抹片觀察，在動情前

期時，送入內有雄鼠的鼠籠，次日再以陰道抹片觀察，若出現精子，則表示已受孕，乃隔離飼養至受孕後第22天，犧牲，取出胎盤，稱重後，保存於-70°C。使用前，與去離子水混合(1 g/15 ml)，以磨碎機磨碎後，在1000 xg離心30分鐘，取得上層液，即大鼠胎盤萃取液(Placenta Extracts, PE)。另取大腿肌肉，同法處理，製得肌肉萃取液(Muscle Extracts, ME)。

## 二．活體實驗

15-19月齡雄鼠分為兩組，一組每日口服1毫升胎盤萃取液(PE)，另一組則口服肌肉萃取液(ME)，作為對照，口服連續五日後，由右頸靜脈植入一軟管，休息一夜後，由插管注入每毫升內含10 µg甲釋素之溶液，注射體積為每公斤1毫升。注入後，0，5，10，20，40，及60分鐘取血，每次0.5毫升，離心，分出血漿，保存於-20 °C，待日後以放射免疫法測定血漿泌乳素及甲狀腺促素之濃度。

## 三．離體實驗

大鼠犧牲後，取出腦下腺前葉，與1毫升之Locke's溶液一齊培養半小時後，收集培養液，並取出組織稱重，以磷酸鹽緩衝液萃取，與培養液一齊以放射免疫法檢測泌乳素及甲狀腺促素之濃度。

## 四．激素之放射免疫測定

血漿培養液以及腦下腺前葉組織的泌乳素及甲狀腺促素濃度，以美國NIH贈送之放射免疫套組檢測(18)。

## 五．統計分析

兩組間之平均值差異比較，均以學生氏t-值測驗分析，以 $p < 0.05$ 為顯著， $p < 0.01$ 為極顯著。

## 結 果

### 一．大鼠胎盤萃取液對泌乳素分泌之影響

圖1顯示年輕雄鼠(3月齡)血漿泌乳素濃度之基礎值約在3 ng/ml，以甲釋素(TRH, 10  $\mu$ g/kg)刺激10分鐘後可增至8 ng/ml，甲釋素注射後60分鐘，泌乳素濃度降回基礎值。年老雄鼠(21月齡)血漿泌乳素之基礎值約為26 ng/ml，經甲釋素刺激後10分鐘可高達75 ng/ml。

15-19月齡的雄鼠，若口服肌肉萃取液，5日後其血漿泌乳素基礎值約在10 ng/ml，經甲釋素刺激後10分鐘可達16 ng/ml，60分鐘降至13 ng/ml(圖2)。口服胎盤萃取液的雄鼠其血漿泌乳素之基礎值為4 ng/ml，注射甲釋素後5分鐘可達最高，10分鐘後則為10 ng/ml。口服胎盤萃取液組在注射前及注射後10，20，及40分鐘血漿泌乳素濃度均比對照組顯著減少。

口服胎盤萃取液後，雄鼠離體腦下腺泌乳素之分泌較對照組低(圖3)，但腦下腺組織內的泌乳素濃度卻比對照組高(圖4)。

### 二．大鼠胎盤萃取液對甲促素分泌之影響

圖5顯示年老及年輕雄鼠血漿甲促素濃度之基礎值(約3 ng/ml)和甲釋素刺激後之分泌(最高值可達11 ng/ml)均十分接近，並無顯著差異。

15-19月齡雄鼠血漿甲促素之基礎值約為4-7 ng/ml，不因口服胎盤萃取液與否而有差異(圖6)，唯注射甲釋素後，甲促素濃度之反應在口服胎盤萃取液者較對照組為低，尤以注射後10及20分鐘呈現顯著差異。

口服胎盤萃取物後，雄鼠腦下腺前葉甲促素之離體釋放為對照組之兩倍餘(圖7)，但甲促素在腦下腺組織內之濃度則較對照組低(圖8)。

## 討 論

動物年老後，許多激素的分泌產生改變，例如血漿泌乳素的濃度升高(18)，甲狀腺素濃度下降(6)。本實驗室過去曾證實年老之去卵巢鼠，血漿泌乳素濃度比年輕之去卵巢鼠高(18)，本研究亦證實年老濃度，包括基礎值及甲釋素刺激後之雄鼠血漿泌乳素反應，均比年輕雄鼠高(圖1)。中年大鼠血漿泌乳素濃度之基礎值介於老年及年輕大鼠之間(年老組約20 ng/ml，中年組約10 ng/ml，年輕組約為2 ng/ml)。口服胎盤萃取物後，血漿泌乳素濃度之基礎值顯著下降，對甲釋素之反應亦減低(圖2)，顯示胎盤萃取物可以減少泌乳素之分泌。離體實驗的結果更進一步證實，口服胎盤萃取液之後，大鼠腦下腺前葉泌乳素的釋放減少，因而導致存留在腦下腺前葉組織的泌乳素濃度增高。顯然，口服胎盤萃取物之後，血漿泌乳素濃度的降低，至少一部份原因是由於腦下腺前葉泌乳素釋放減少所致。

年老並未影響大鼠血漿甲促素之基礎值，以及對甲釋素之反應。中年大鼠血漿甲促素濃度之基礎值與年老和年輕大鼠者十分接近。口

服胎盤萃取物後，對大鼠血漿甲促素之基礎值並無影響，僅降低了甲促素對甲釋素之反應。但是，在離體實驗結果指出，腦下腺甲促素之釋放會因口服胎盤萃取物之後而增加，這種增加，導致腦下腺組織內甲促素之濃度顯著減少。顯然，口服胎盤萃取物會促使腦下腺前葉釋放較多的甲促素，這作用為何未能升高血漿甲促素之濃度，卻令人費解。推測可能的原因是(一)胎盤萃取物增加體制素(somatostatin)之分泌，使腦下腺甲促素的基礎釋放受到抑制，故無法由血漿甲促素濃度觀察到胎盤萃取物刺激甲促素釋放之效應。(二)胎盤萃取物增加了甲促素之代謝廓清率(Metabolic Clearance Rate, MCR)，致使腦下腺甲促素釋放雖然因口服胎盤萃取物而增加，但無法由血漿觀得變化。

本研究目前所得之結果顯示，大鼠口服胎盤萃取液五日後，可以降低腦下腺泌乳素的分泌以及血漿泌乳素的濃度，另外，並可刺激腦下腺甲促素的分泌。基於年老導致泌乳素分泌昇高的觀察，口服胎盤

## 結 論 與 建 議

### 一．結論

中年大鼠口服胎盤萃取液連續五日後，可以降低腦下腺泌乳素釋放以及血漿泌乳素濃度，但增加腦下腺甲促素的釋放，因此推論具有改變老化效應之作用。

### 二．建議

- (1) 本報告僅提供有關泌乳素及甲促素之初步結果，至於黃體促素結果尚未整理，不及列出。
- (2) 未來考慮使用人胎盤萃取物，觀察其對大鼠泌乳素和甲促素分泌的效應。
- (3) 預算撥發太遲，距執行截止時間太短(不足半年)，建議是否可準時撥發。

## 參 考 文 獻

1. 增批本草備要，大中國圖書公司印行
2. 中藥炮製法，啟業書局印行
3. 中藥材炮製規範，啟業書局印行
4. Beer AE, Sio JO: Placenta as an immunological barrier. Biol Reprod 1982; 26: 15-27.
5. Gibbons JM Jr., Mitnick M, Chieffo V: In vitro biosynthesis of TSH- and LH-releasing factors by the human placenta. Am J Obstet Gynecol 1975; 121: 127-131.
6. Gregerman RI: Regulation of thyrotropin physiology during aging. In: Neuroendocrinology of Aging. Edited by Metes J., Plenum Press, Chapter 13, pp.259-274, 1983.
7. Hershman JM, Starnes WR: Extraction and characterization of a thyrotropic material from the human placenta. J Clin Invest 1969; 48: 923-929.
8. Hwang C, Pu HF, Hwang JY, Liu JY, Yao HC, Tung YF, Wang PS: Age-related differences in the release of luteinizing hormone and gonadotropin-releasing hormone in ovariectomized rats. Neuroendocrinology 1990; 52: 127-132.

9. Kaplan SL, Grumbach MM: Studies of a human and simian placental hormone with growth hormone-like and prolactin-like activities. *J Clin Endocrinol Metab* 1964; 24: 80-100.
10. Krieger, DT: Placenta as a source of "brain" and "pituitary" hormones. *Biol Reprod* 1982; 26: 55-71.
11. Liotta A, Osathanondh R, Ryan KJ, Krieger DT: Presence of corticotropin in human placenta: demonstration of in vitro synthesis. *Endocrinology* 1977; 101: 1552-1558.
12. Sarkar DK: Gonadotropin-releasing hormone-like immunoreactivity in rat placenta. *Neuroendocrinology* 1986; 44: 397-400.
13. Seppala M, Wahlstrom T, Leppaluoto J: Luteinizing hormone-releasing factor(LRF)-like immunoreactivity in rat pancreatic islet cells. *Life Sci* 1979; 25: 1489-1496.
14. Shambaugh G, Kubek M, Wilber JF: Thyrotropin-releasing hormone activity in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 483-486.
15. Siiteri P, Stites DP: Immunologic and endocrine interrelationship in pregnancy. *Biol Reprod* 1982; 26: 1-14.
16. Siler-Khodr TM, Khodr GS: Content of luteinizing hormone-releasing factor in the human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1978; 130: 216-219.

17. Watkins WB, Yen SSC: Somatostatin in cytotrophoblast of the immature human placenta: localization by immunoperoxidase cytochemistry. J Clin Endocrinol Metab 1980; 50: 969-971.
18. Wang PS, Liu JY, Hwang CY, Hwang C, Day H, Chang CH, Pu HF, Pan JT: Age-related differences in the Spontaneous and thyrotropin-releasing hormone-stimulated release of prolactin and thyrotropin in ovariectomized rats. Neuroendocrinology 1989; 49: 592-596.
19. Wierman ME, Kepa JK, Sun W, Gordon DF, Wood WM: Estrogen negatively regulates rat gonadotropin releasing hormone (rGnRH) promoter activity in transfected placental cells. Mol Cell Endocrinol 1992; 86: 1-10
20. Youngblood WW, Humm J, Lipton MA, Kizer JS: Thyrotropin-releasing hormone-like bioactivity in placenta: evidence for the existence of substances other than pyroglu-his-pro-NH (TRH) capable of stimulating pituitary thyrotropin release. Endocrinology 1980; 106: 541-546.

#### Figure Legend

Fig.1. The spontaneous and TRH-stimulated levels of plasma PRL in old (21 months) and young (3 months) male rats.

Fig.2. Effects of oral placenta extracts(PE) on the spontaneous and TRH-stimulated levels of plasma PRL in middle-aged(15-19 months) male rats. Rat placentas were defatted by acetone before extracting by phosphate buffer saline(PBS), pH 7.5. Male rats were fed orally with PE(6.7 mg/ml/rat) once daily for 5 days before challenging with TRH(10  $\mu$ g/kg) via right jugular vein. Concentration of PRL in plasma samples was measured by radioimmunoassay. Control animals were fed with muscle extracts. \*\*,  $p < 0.01$  as compared with control animals.

Fig.3. Effect of PE on PRL release in vitro. Old male rats fed with PE or muscle extracts were decapitated. The anterior pituitary glands(APs) were bisected, and incubated with Locke's solution at 37°C for 30 min. The tissues were weighed. The concentration of PRL in medium samples was measured by radioimmunoassay. \*\*,  $p < 0.01$  as compared with control group.

Fig.4. Effect of PE on pituitary PRL. See legends to Fig. 3 for details. \*,  $p < 0.05$  as compared with control group.

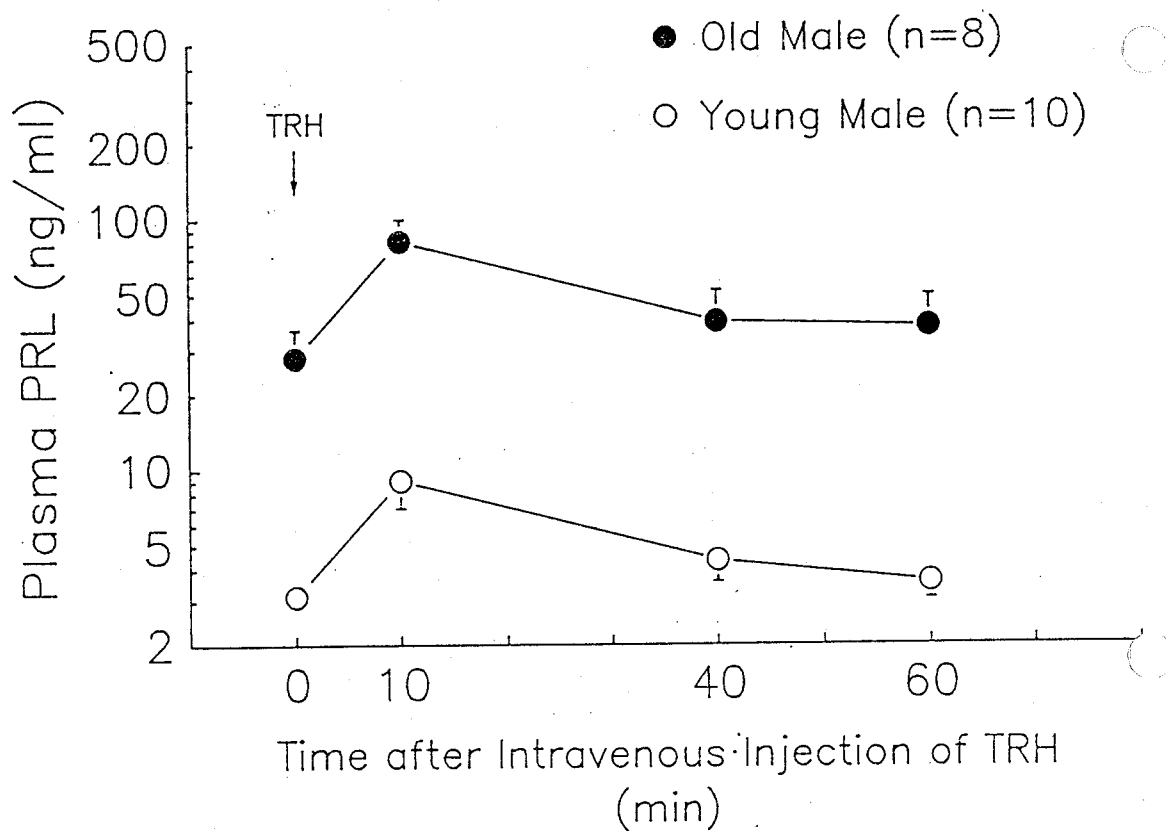
Fig.5. The spontaneous and TRH-stimulated levels of plasma TSH in old (21 months) and young (3 months) male rats.

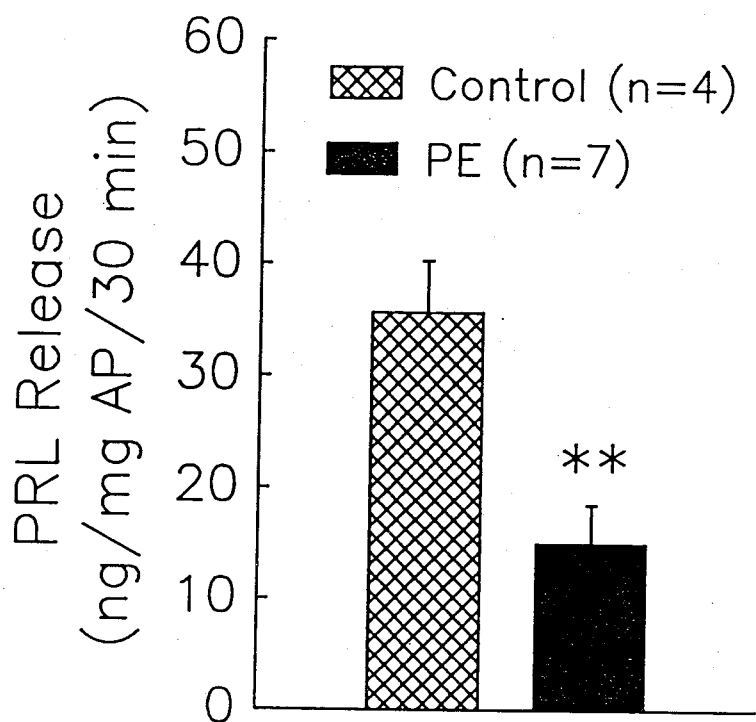
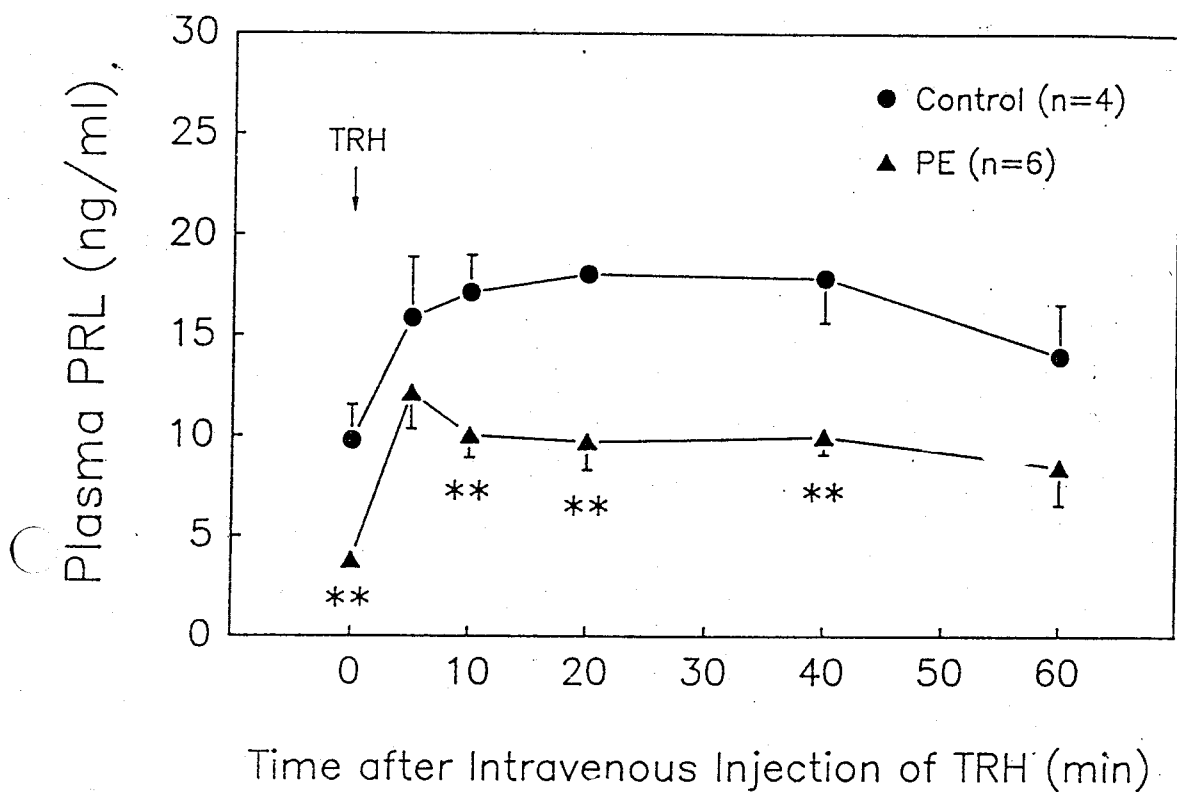
Fig.6. Effects of oral placenta extracts (PE) on the spontaneous and TRH-stimulated levels of plasma TSH in middle-aged(15-19 months) male rats. See legend to Fig. 2 for details \*, \*\*,  $p < 0.05$ , and  $p < 0.01$  as compared with control group, respectively.

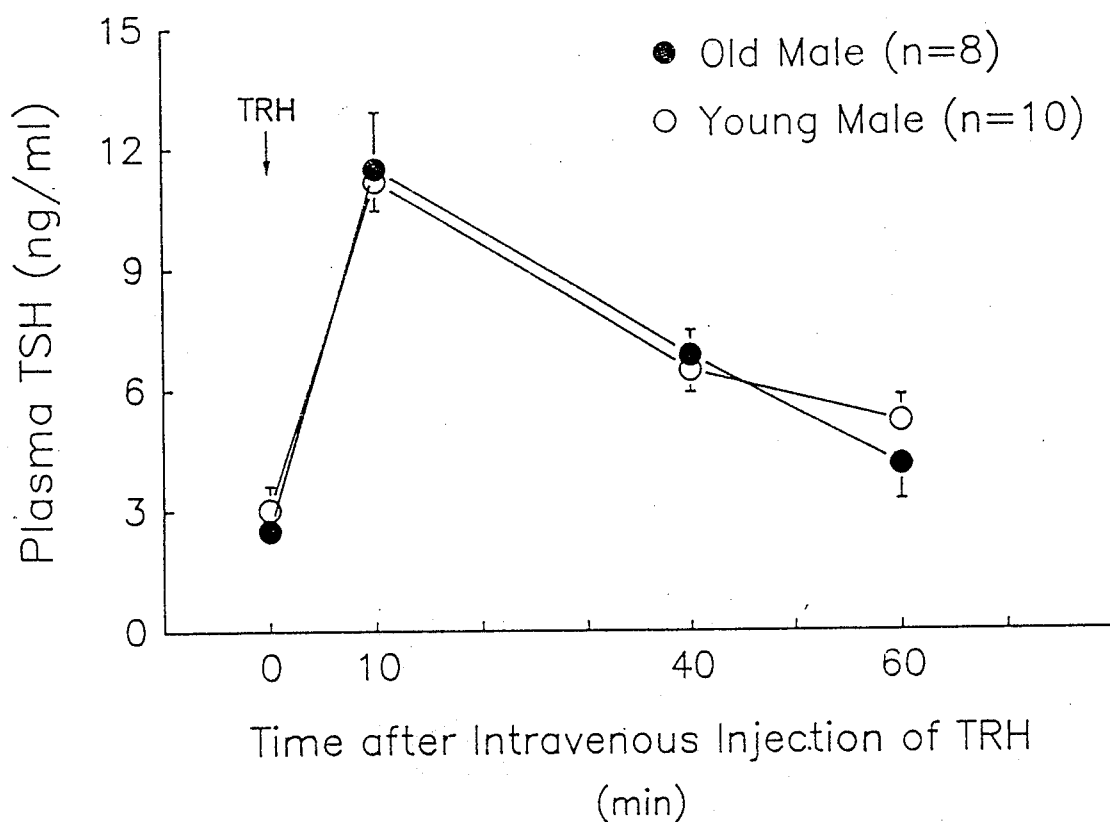
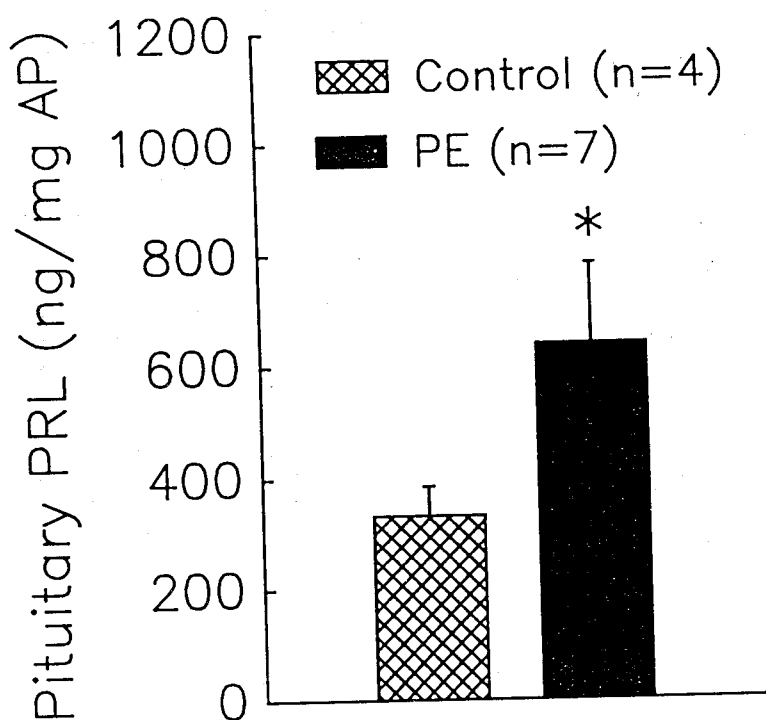
Fig.7. Effect of PE on TSH release in vitro. See legends to Fig. 3

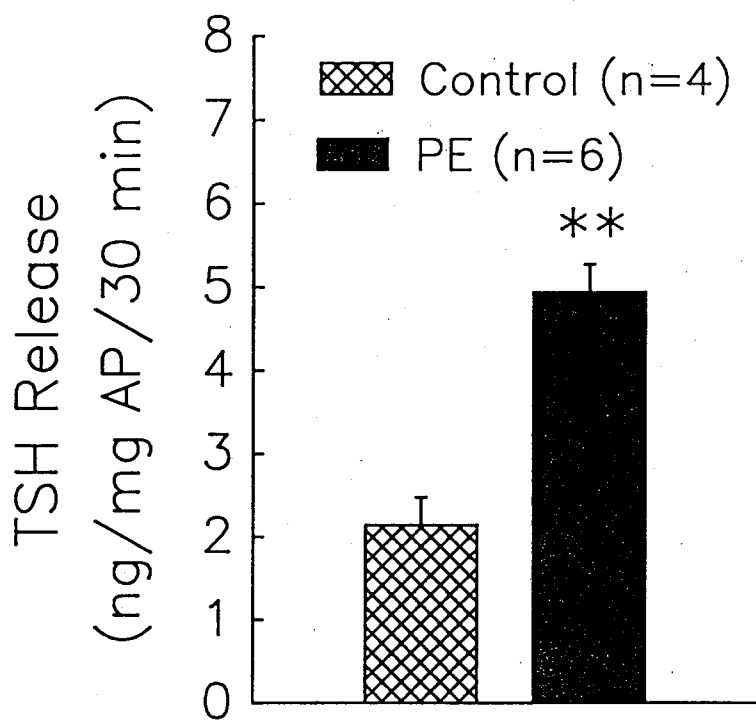
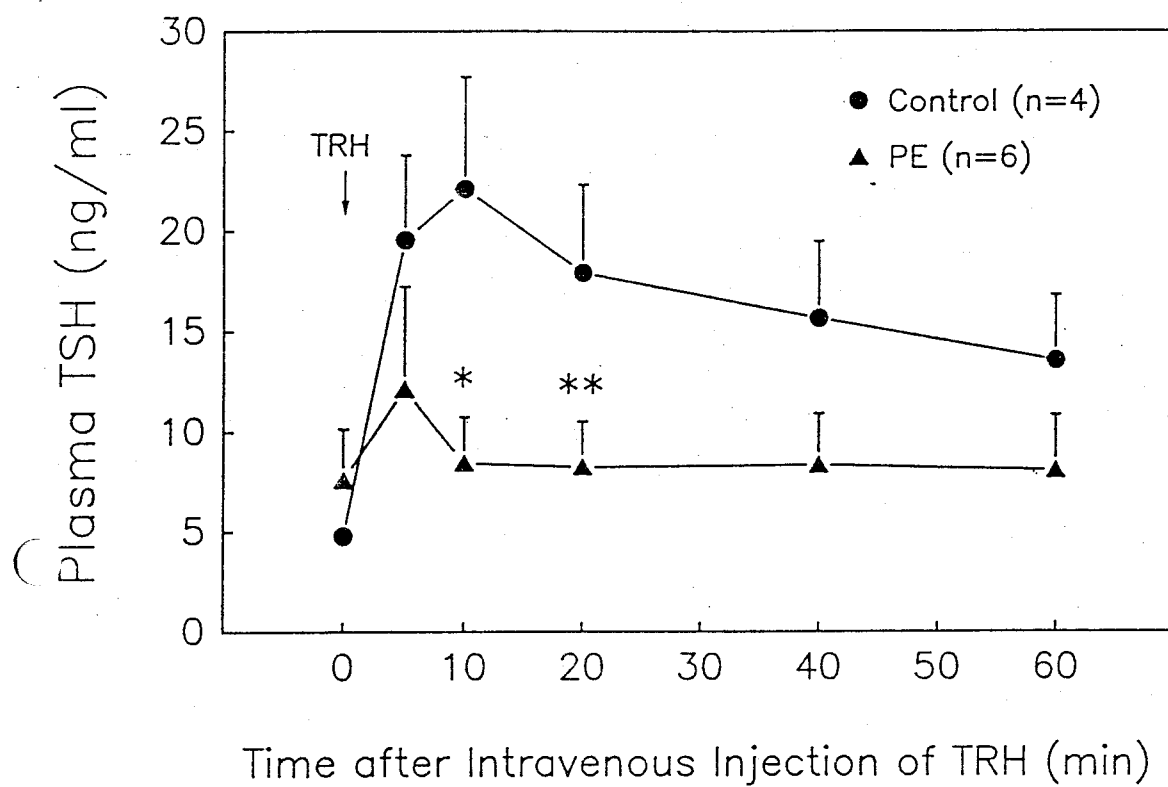
for details.

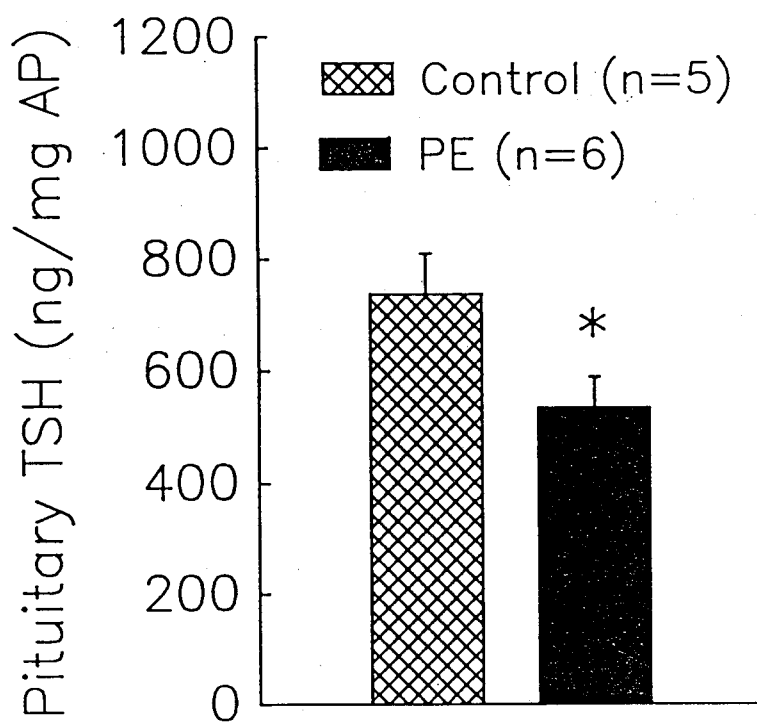
Fig.8. Effects of PE on pituitary TSH. See legends to Fig. 3 for details \*,  $p < 0.05$  as compared with control groups.











# 常用中藥藥效成分之生物活性評估

陳介甫<sup>1</sup>，楊行義<sup>2</sup>

1. 國立中國醫藥研究所，新店，臺北
2. 國立陽明醫學院藥理學科暨研究所

## 摘 要

「常用中藥藥效成份之生物活性評估」五年計劃預計評估約一百種中藥之藥效活性成份；願此生物活性系統評估之資料對常用中藥之藥效鑑定與品質管制之基準有所助益。本年度（第一年計劃）對傳統中藥中『退熱解毒、除濕解熱』類進行抗炎作用之藥效鑑定。動物實驗評估之方法採用  $\lambda$ -carragennin 引發大白鼠腳掌急性水腫與 Freund's complete adjuvant 引發慢性關節炎等兩種發炎模式。被試中藥之藥效活性成份及劑量分別為 amygdalin(100, 250, 500mg/kg), allantoin(5,20,50mg/kg), berberine (50, 100, 250mg/kg), betaine (5, 20, 50 mg/kg), esculin (5, 20, 50 mg/kg), ferulic acid (100, 250, 300 mg/kg), fraxin (100, 250, mg/kg), glycyrrhizic acid(100, 250 mg/kg), qiercetom (100, 250 mg/kg), rutin hydrate (100, 250, 500 mg/kg), safole (100, 250, 500 mg/kg), scoparone (50, 100 mg/kg),  $\beta$ -sitosterol (100, 250, 500 mg/kg)，及丹參、大青葉、杜仲、黃耆、龍葵、蛇舌草之水層萃取物 (5, 7.5, 10g/kg) 等；同時以 cyclooxygenase inhibitors: diclofenac-Na (10, 50 mg/kg), piroxicam (50, 100, 250 mg/kg), profenid (2.5, 5, 10 mg/kg); lipooxygenase inhibitors: baicalin (5, 20, 50 mg/kg), caffeic acid (100, 250, 500 mg/kg); Leukotriene B<sub>4</sub> antagonist: dapsone (100, 250, 500 mg/kg) 為實驗評估之正相對照組。結果發現口服給予 allantoin( 5,20, 50 mg/kg); betaine (50 mg/kg),

dapsone (100, 250, 500mg/kg), esculin (50 mg/kg), blycyrrhizic acid (250 mg/kg), piroxicam (100, 250 mg/kg), profenid (2.5, 5, 10 mg/kg), rutin hydrate (250 mg/kg), safrole (100, 250, 500 mg/kg), scoparone (100 mg/kg),  $\beta$ -sitos-terol (100, 250, 500 mg/kg) , 龍葵水層萃取物 (7.5, 10 g/kg) 等對  $\lambda$ -carrageenin 引發大白鼠腳掌急性水腫有效，而口服給予 berberine (100 mg/kg), diclofenac-Na (25 mg/kg), piroxicam (100, 250 mg.kg), profenid (2.5, 5 mg/kg), safrole (500 mg/kg) 等對 Freund's complete adjuvant 引發之發炎反應有顯著之抑制作用。

## **TITLE: Evaluation the Bioactivity of Active Principles from Chinese Drugs**

### **Abstract**

( Keywords: Chinese Drugs, Bioactive principles, Drug Evaluation )

Traditional Chinese herbal drugs has been used for thousands of years in Chinese. It is currently still serving one of the most important health resources, and still prescript in parallel with Western medical treatment. The annual consumption of traditional Chinese herbs is increased tremendously, with the improvement of relationship between mainland China and Taiwan, and the Chinese medicine is now available in National Health Insurance Program.

In order to apply traditional Chinese drugs to medical care, it is vital that the government should take appropriate effort for their effectiveness and safety. Also, intensive support from the "National Scientific Consulting Committee", "Department of Health, Executive Yuan", " National Science Council" and " National Research Institute of Chinese Medicine " for the scientific and systemic investigation about this " Experience Medication" is required.

Of the 400 commonly-used Chinese medicinal drugs list in the " Standards of Chinese Drugs, ROC. " receive no mention on their toxicity characteristics. With the growth in our knowledge, modern biochemical, physiological ,pharmacological & toxicological methods were now used to screening, evaluate and investigate the biological activities, efficiency and efficacy of traditional Chinese herbs. Within this limited survey, this 5-year project " Evaluation of the bioactivity of the active principles from the Chinese drugs" was proposed to evaluate the bioactive principles of about 100 Chinese drugs. It is anticipated that these information obtained from this systemic evaluation will stimulate future efficacy identification and quality control system on commonly used herbal medicine.

## INTRODUCTION

To provide further groundwork for the scientific application, the anti-inflammatory effects of the following active principles from traditional herbal extract as "heat and toxin eliminant" for the treatment of jaundice, edema, and chronic inflammation. The active principles undergoing evaluation are Amygdalin ( 100, 250, 500 mg/kg ), Allantoin ( 5, 20, 50 mg/kg ), Berberine ( 50, 100, 250 mg/kg ), Betaine ( 5, 20, 50 mg/kg ), Esculin ( 5, 20, 50 mg/kg ), Ferulic acid ( 100, 250, 300 mg/kg ), Fraxin ( 100, 250 mg/kg ), Glycyrrhizic acid ( 100, 250 mg/kg ), Quercetin ( 100, 250 mg/kg ), Rutin hydrate ( 100, 250, 500 mg/kg ), Safrole ( 100, 250, 500 mg/kg ), Scoparone ( 50, 100 mg/kg ), and  $\beta$ -sitosterol ( 100, 250, 500 mg/kg ) and the water-fraction extracts from Dangshen ( 5, 7.5, 10 g/kg ), Daqingye ( 5, 7.5, 10 g/kg ), Duzhong ( 5, 7.5, 10 g/kg ), Huangqi ( 5, 7.5, 10 g/kg ), Longkui ( 5, 7.5, 10 g/kg ) and Sirsircho ( 5, 7.5, 10 g/kg ); while cyclooxygenase inhibitors: Diclofenac-Na ( 10, 50 mg/kg ), Piroxicam ( 50, 100, 250 mg/kg ) and Profenid ( 2.5, 5.0, 10 mg/kg ); lipooxygenase inhibitors : Baicalin ( 5, 20, 50 mg/kg ) and Caffeic acid ( 100, 250, 500 mg/kg ); Leukotriene B<sub>4</sub> antagonist and inhibits LTB<sub>4</sub> induced lysozyme release induced lysozyme release: Dapsone ( 100, 250, 500 mg/kg ), as the positive control group. All of above tested drugs was evaluated with carrageenin-induced acute edematous response and Freund's complete adjuvant-induced chronic polyarthritis of hind-paw in rats.

## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### Determination of anti-inflammatory effect

#### 1. Carrageenin-induced edema of the rat paw

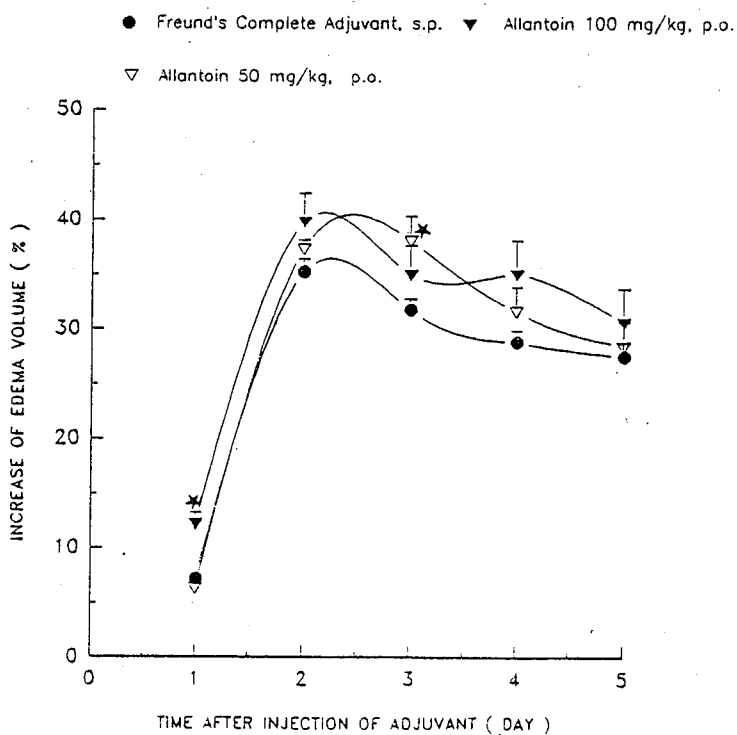
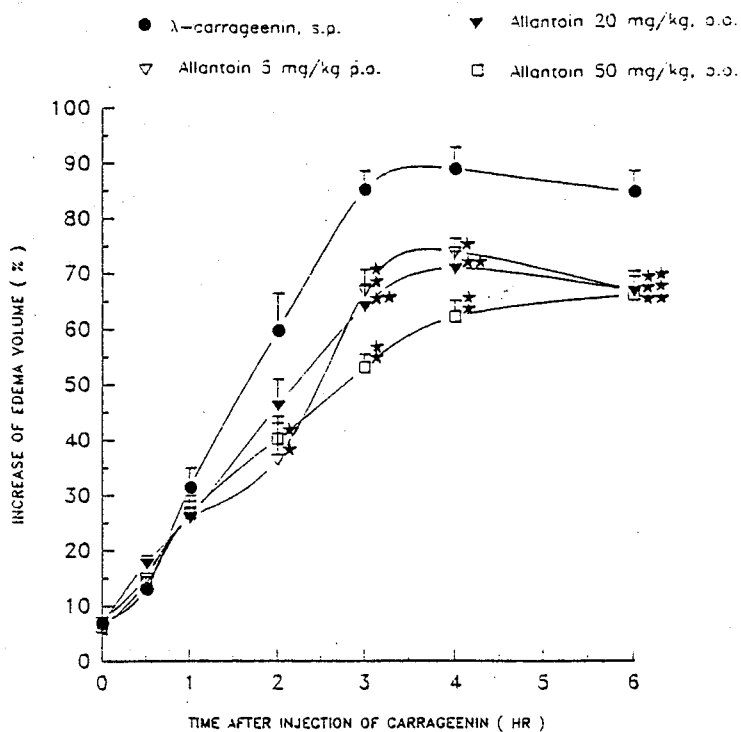
According to the Winter ( 1962 )<sup>9</sup>, and Vinger (1976)<sup>10</sup> method, male Sprague-Dawley rats weighting 200-250 g were randomized divided into different groups. Experimental drugs or vehicle controls were administered orally by stomach tube 1 hr before the injection of 0.1 ml of 1 %  $\lambda$ -carrageenin ( lambda fraction, Sigma Chem. Co ) in saline into the plantar surface of the right hind paw. The reference hindpaw volume was measured immediately before carrageenin injection by water displacement method in a plethysmeter ( UGO Basile Co. Model 7150 ). The volume of edema was calculated by the differences between the first reading, and each of the following reading, i.e. 1, 2, 3, 4, and 6 hr after carrageenin injection.

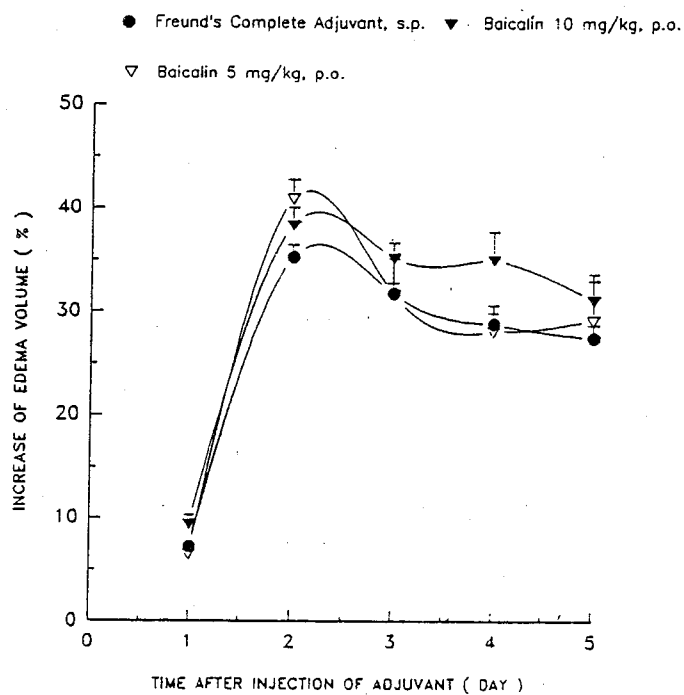
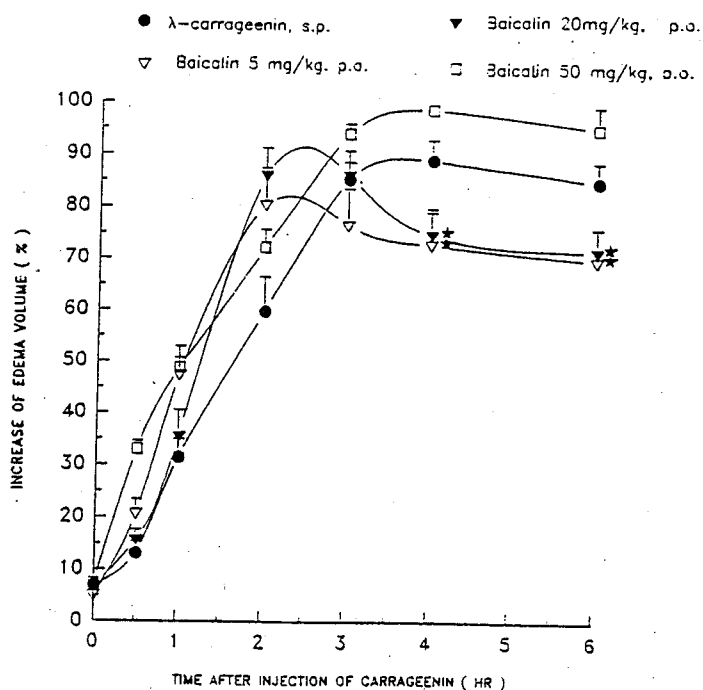
#### 2. Adjuvant-induced edematous response

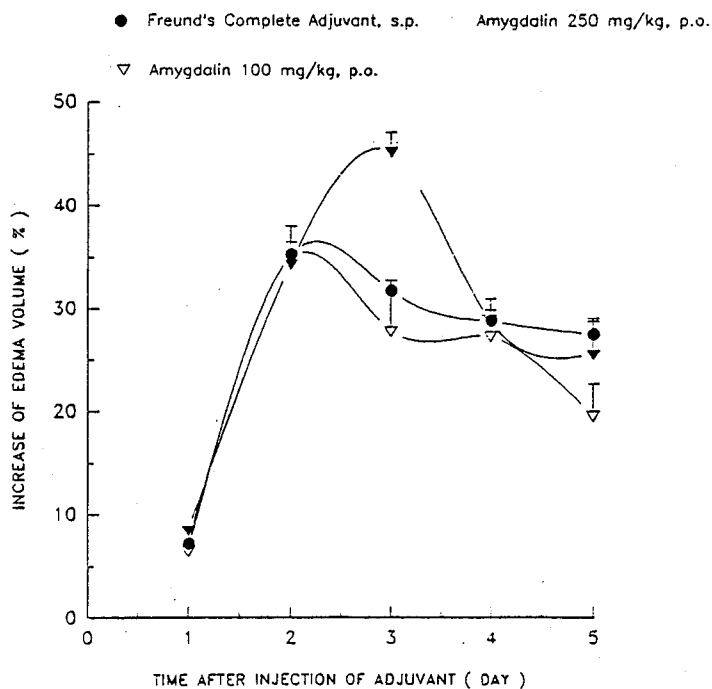
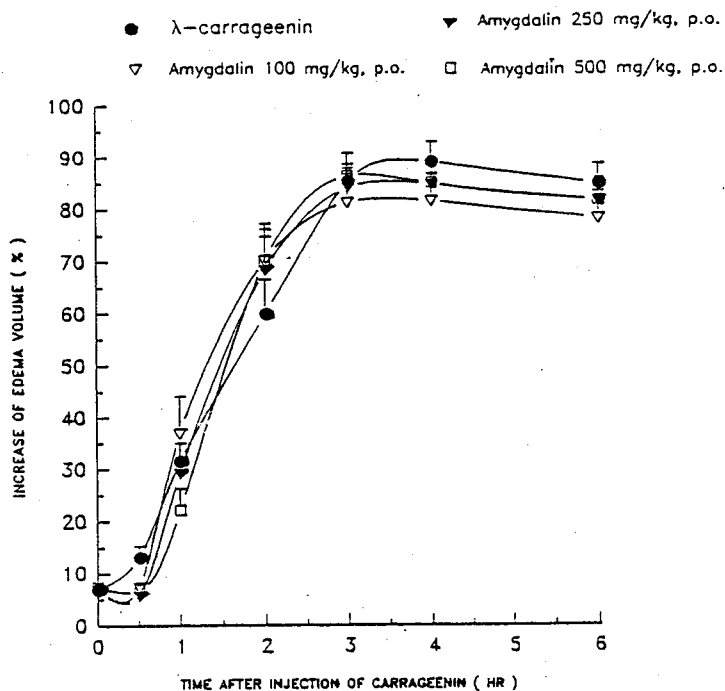
According to the Neubould ( 1963 )<sup>11</sup> and Yang (1988)<sup>12</sup> method, male Sprague-Dawley rats were used as the experimental animals. The edematous response was induced by intradermal injection of 0.1 ml of the adjuvant ( 5 mg/ml ), dead *Mycobacterium butyricum* ( 1 % suspension in olive oil; Difco ) in the subplantar of the right hind-paw. Swellings in the hind-paw were measured every day with aplethysmometer. Compounds undergoing test were dissolved in aqueous suspension ( glycerin 6g , lectrol-400 112.9 g and water 10 g ) and administered orally once per day for a period of 5 days

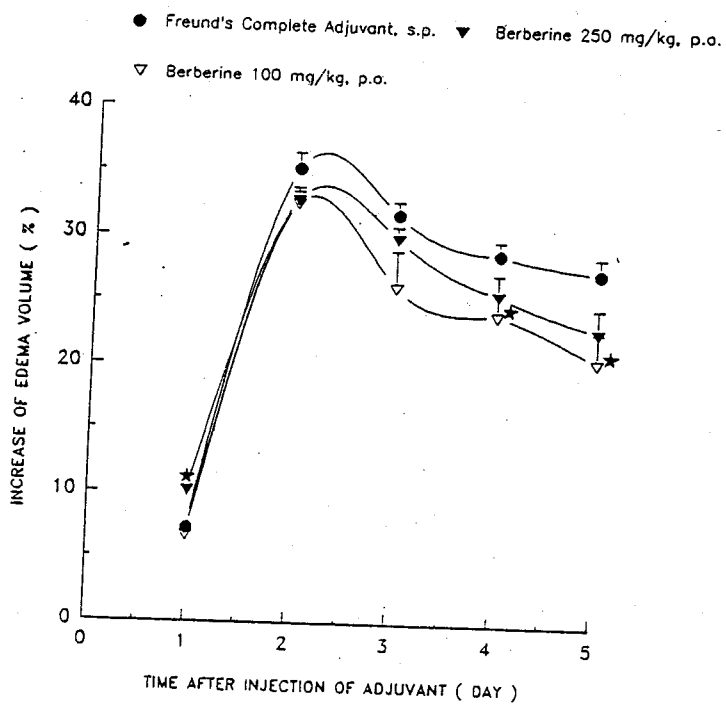
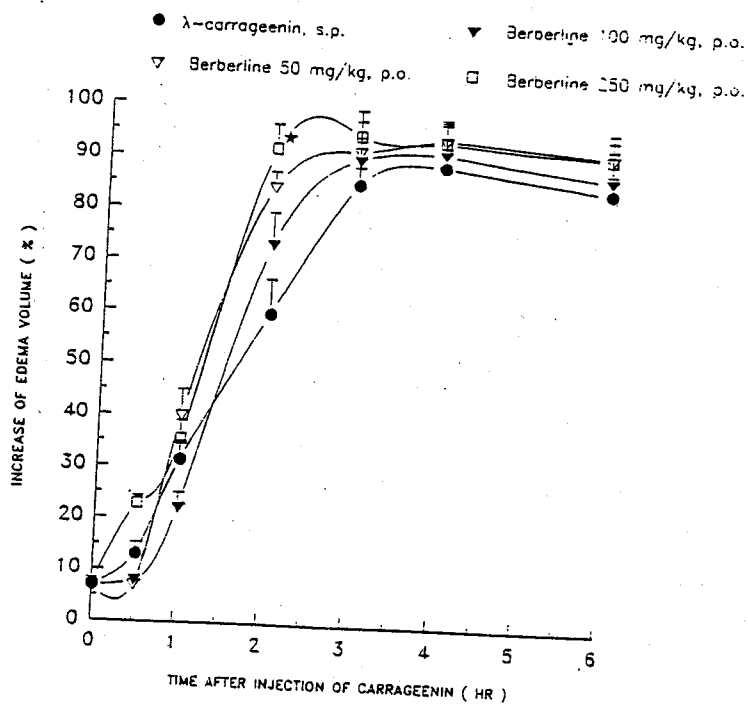
#### 3. Calculation and Statistics

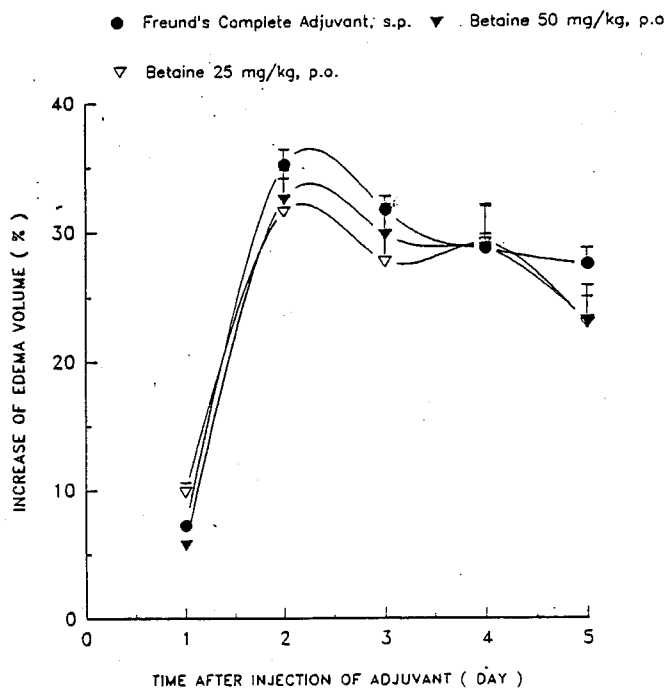
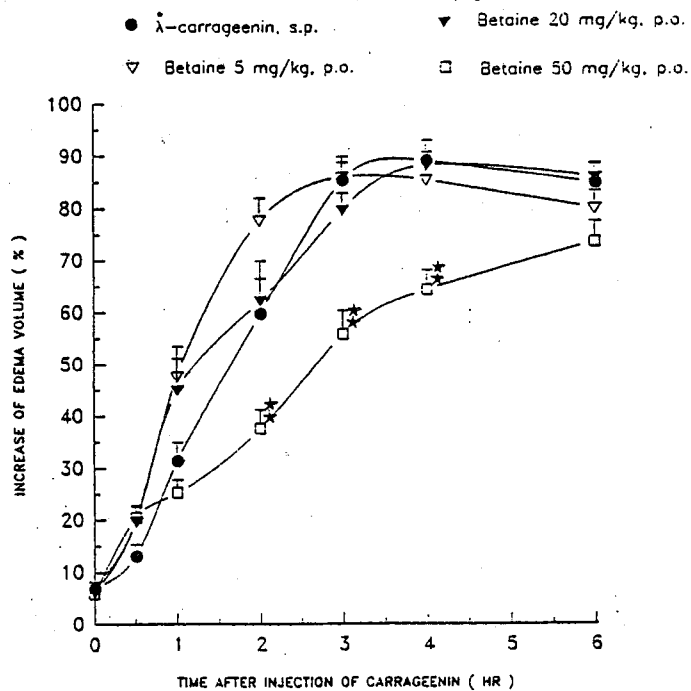
As injection of saline alone caused a slight increase in the paw volume, all values were corrected by subtracting the volume obtained in the contralateral saline injected paw from that of the test paw. The swelling in paw volume was expressed as the percentage of change. The data were then statistically evaluated using analysis of variance ( ANOVA ) between groups and Neuman-Keuls t test. P value < 0.05 was regarded as significant. All values are expressed as the mean and S.E. of the mean.

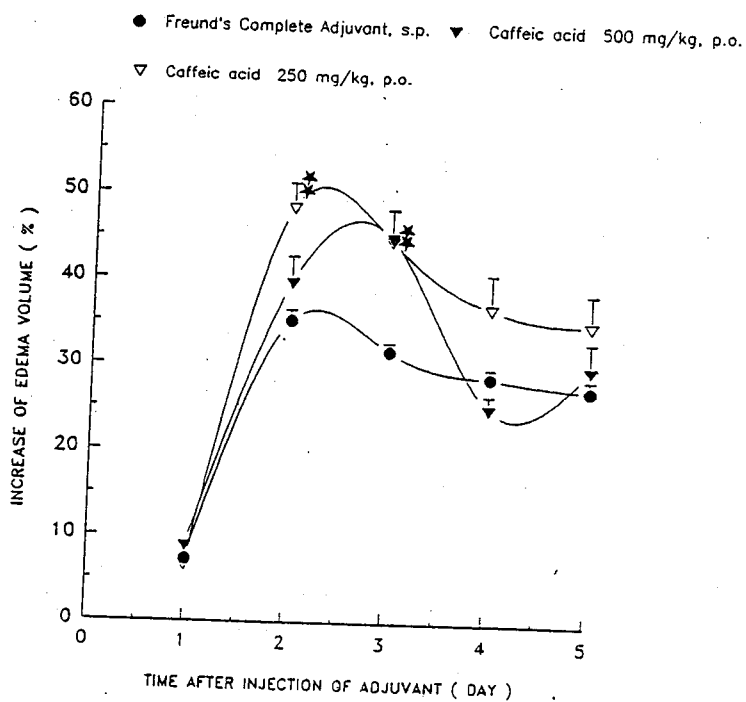
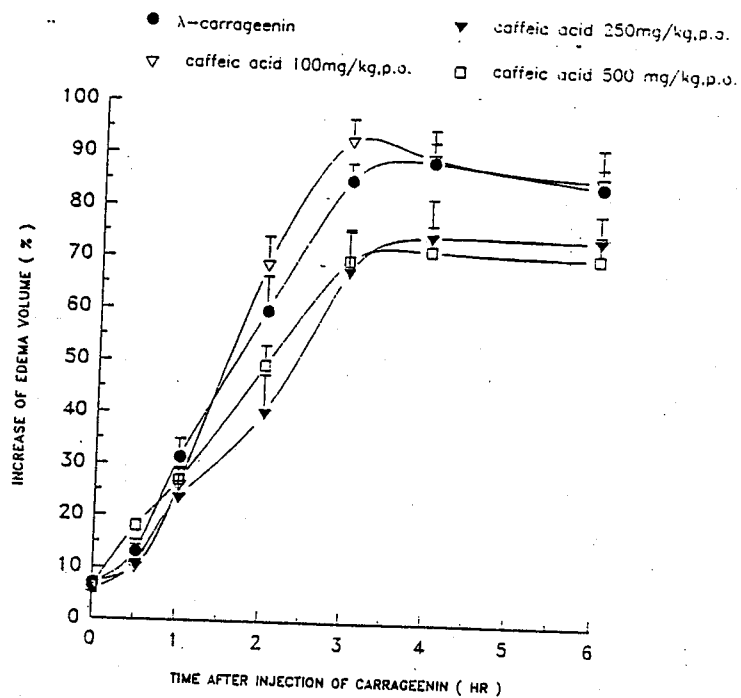


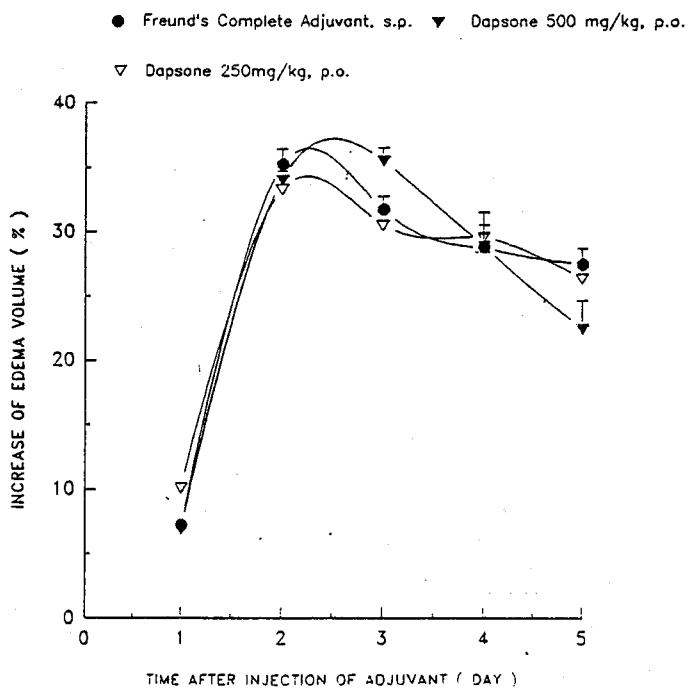
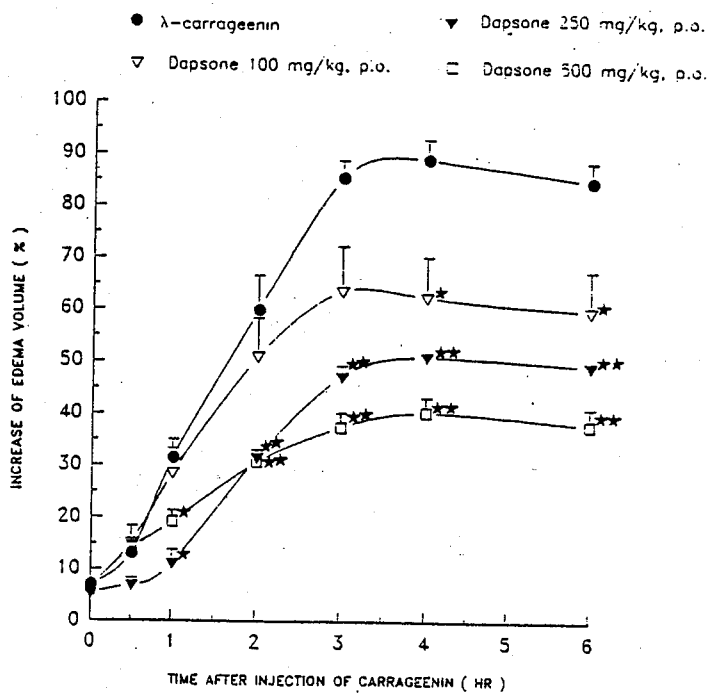


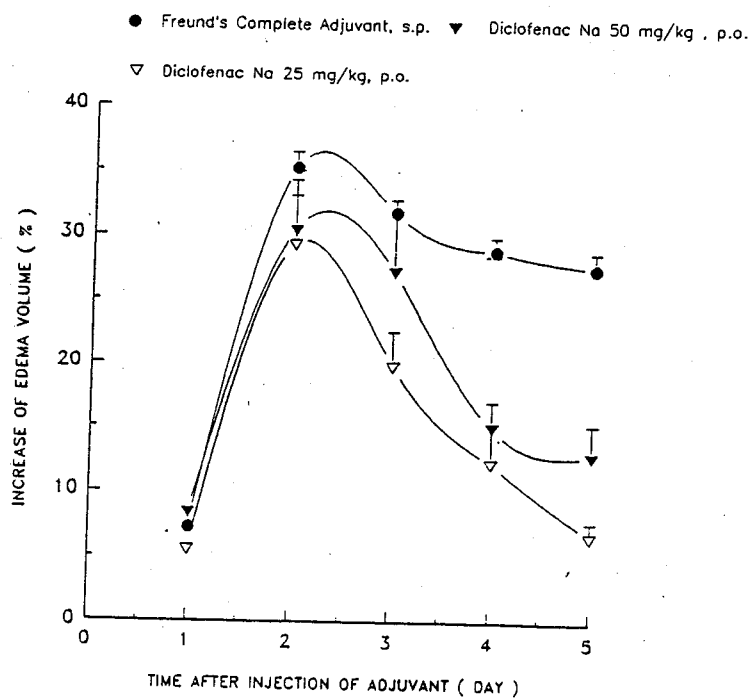
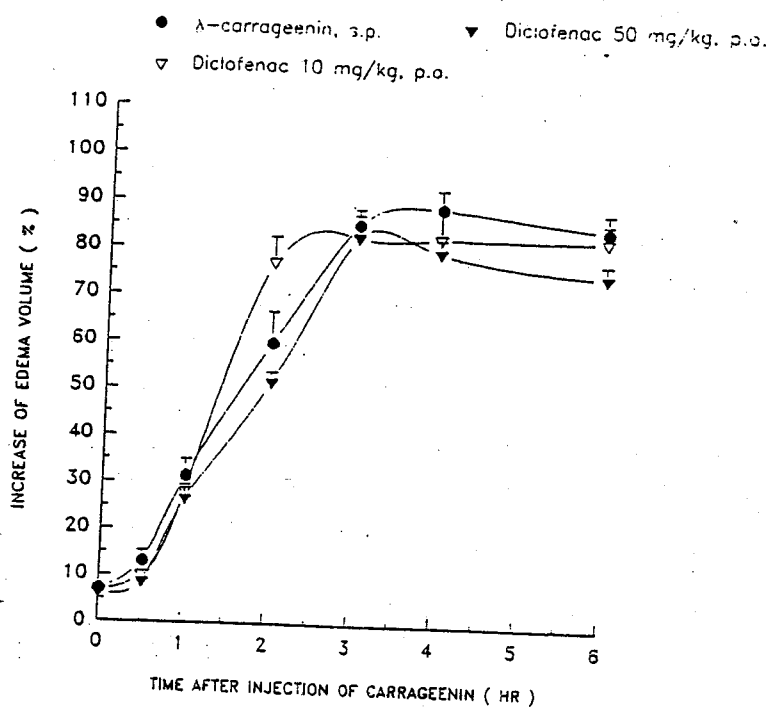


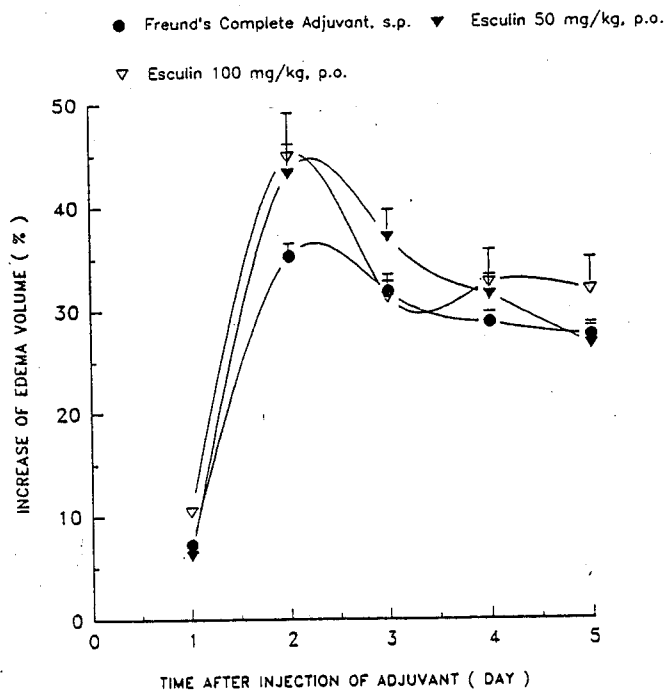
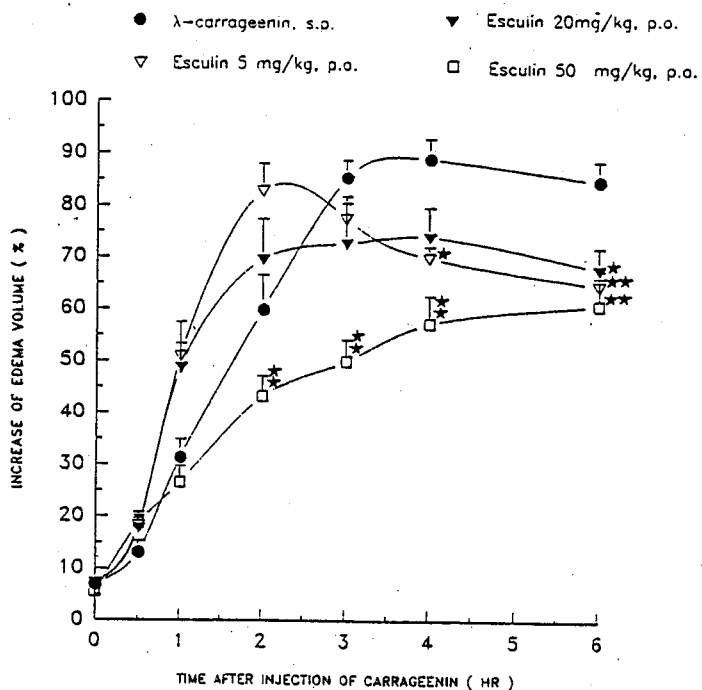


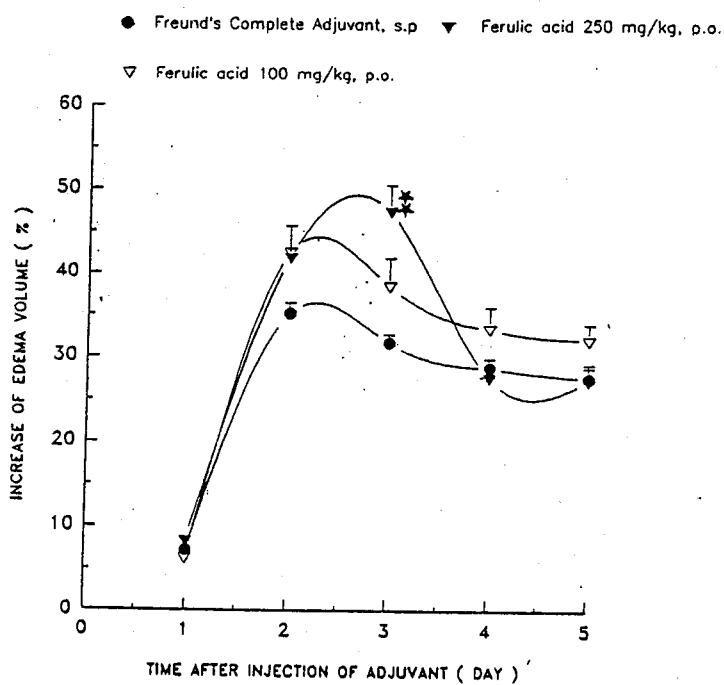
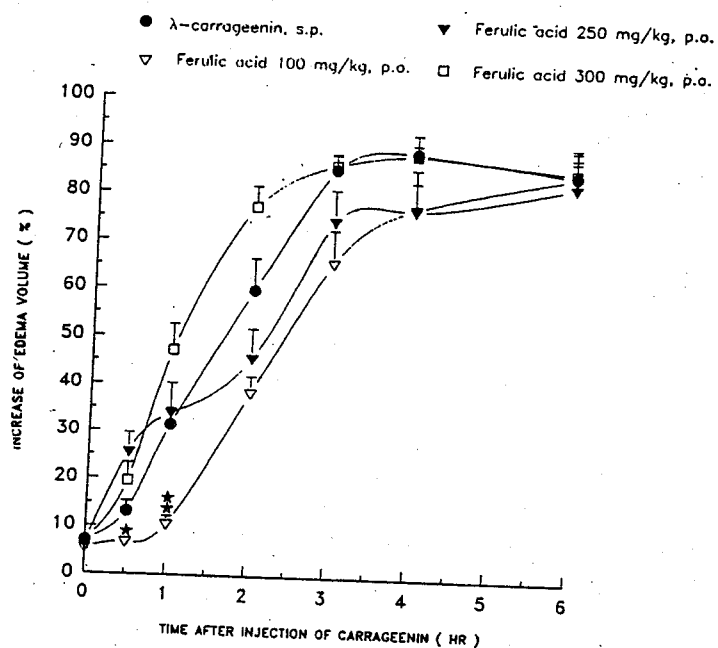


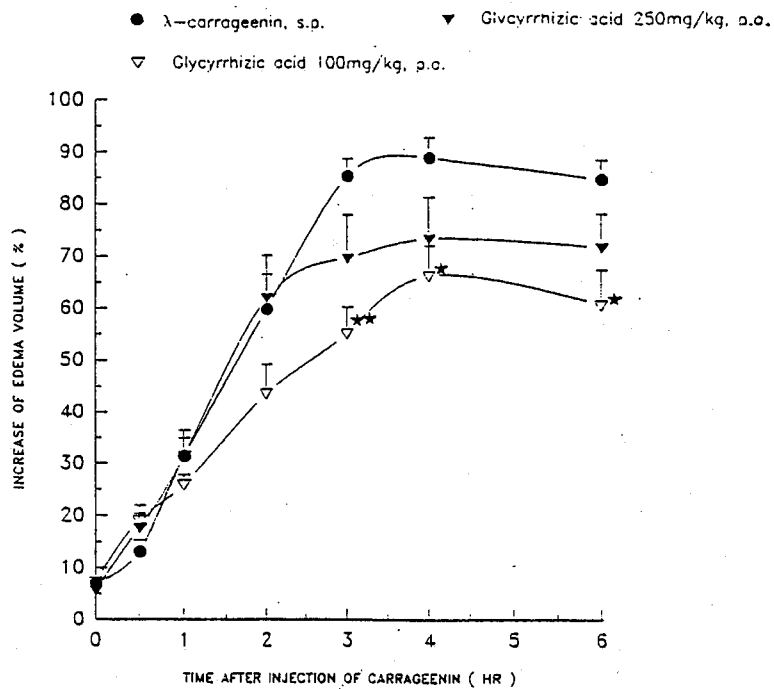
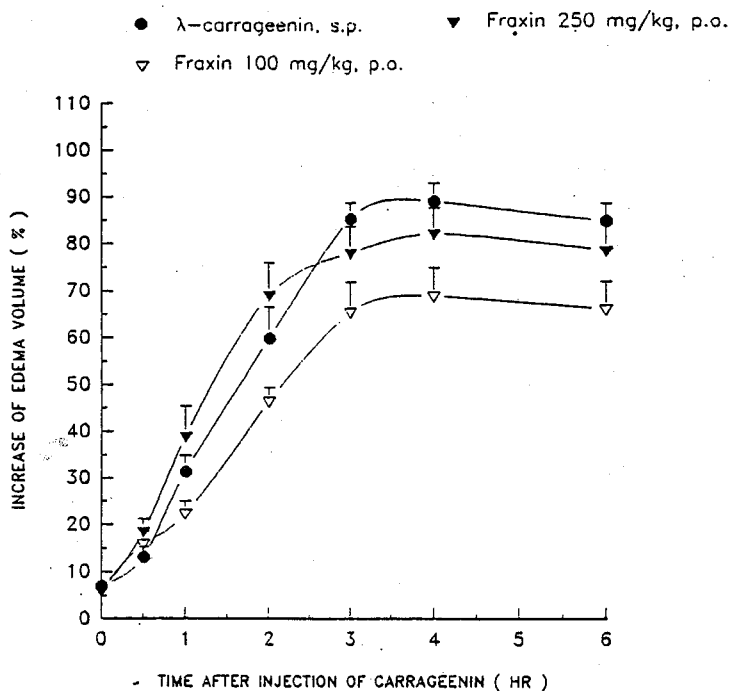


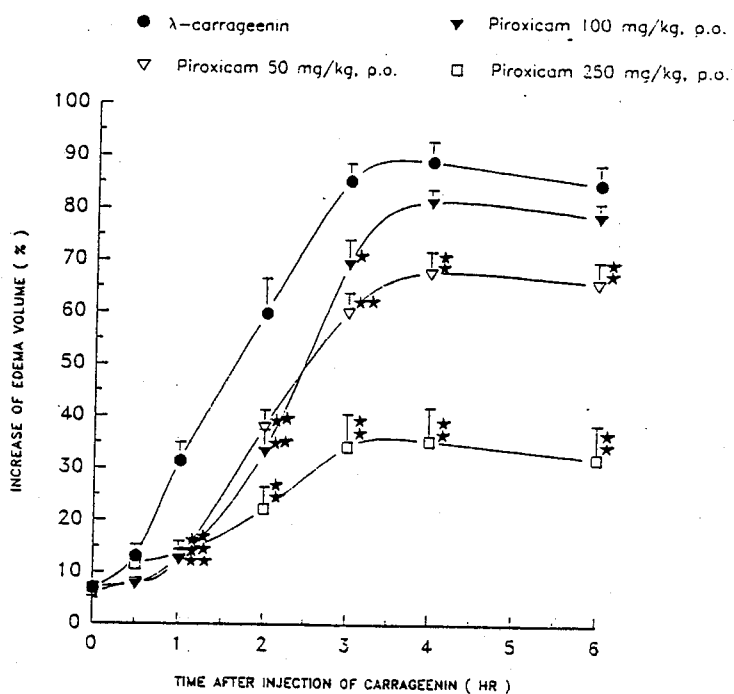
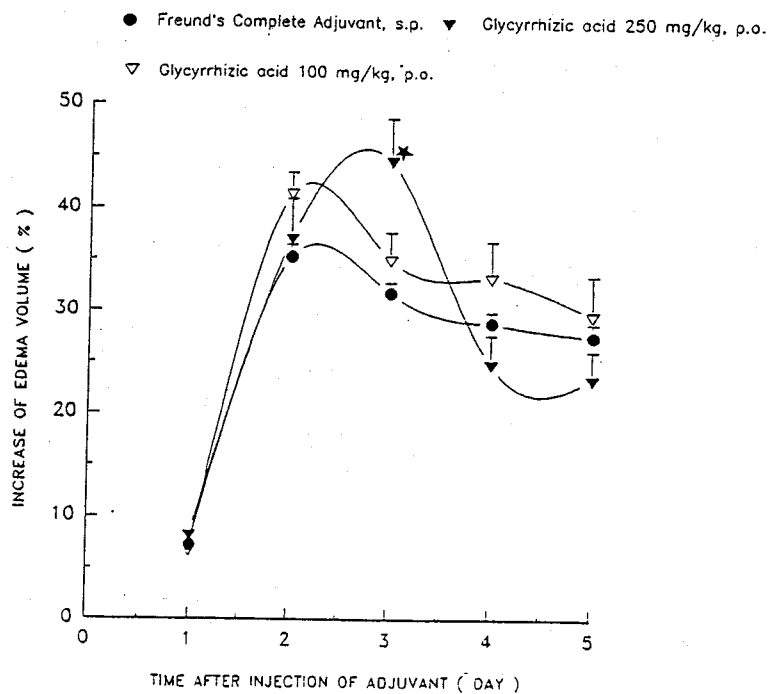


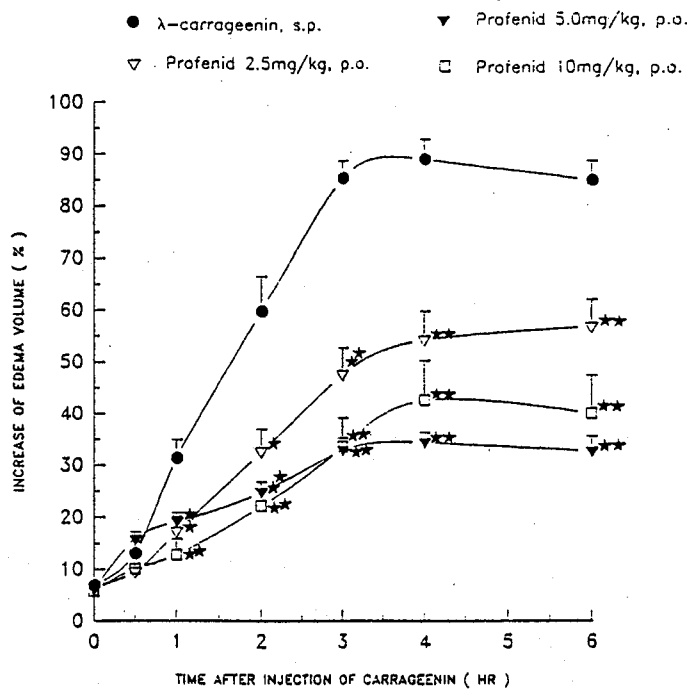
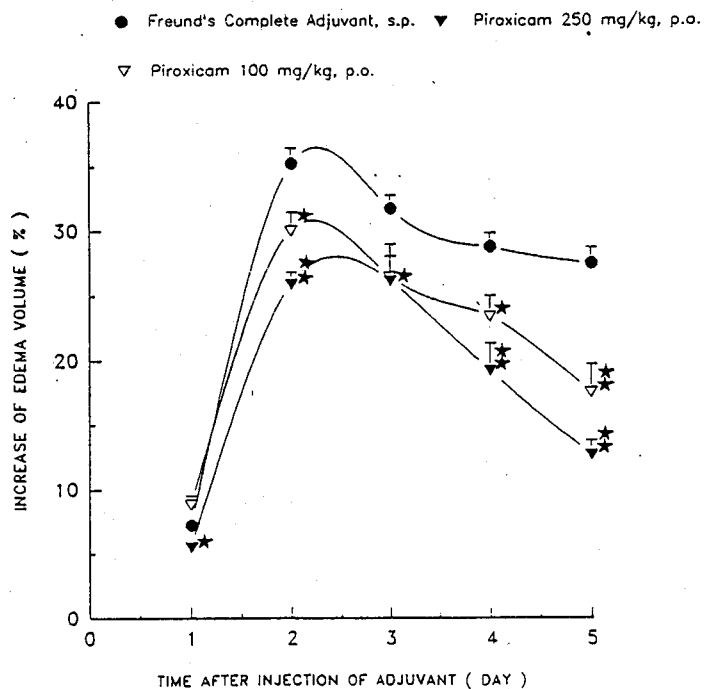


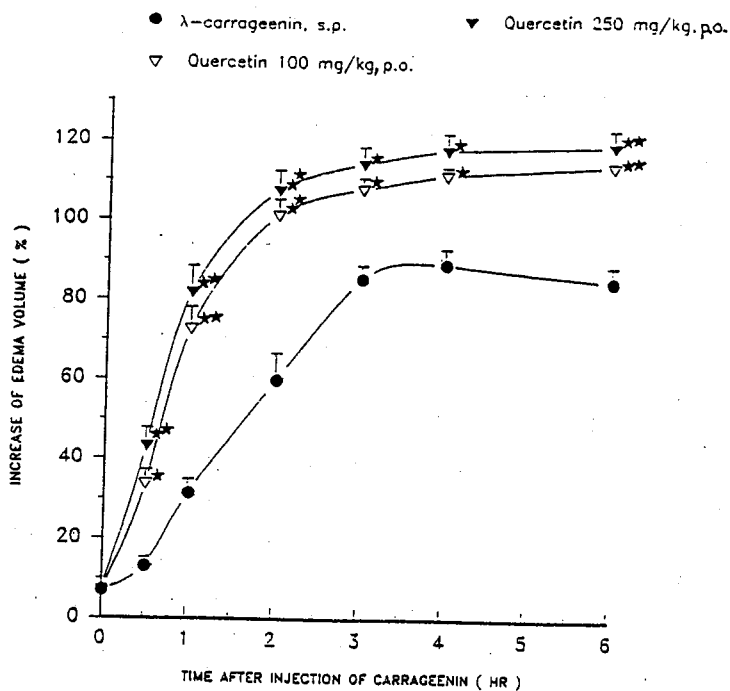
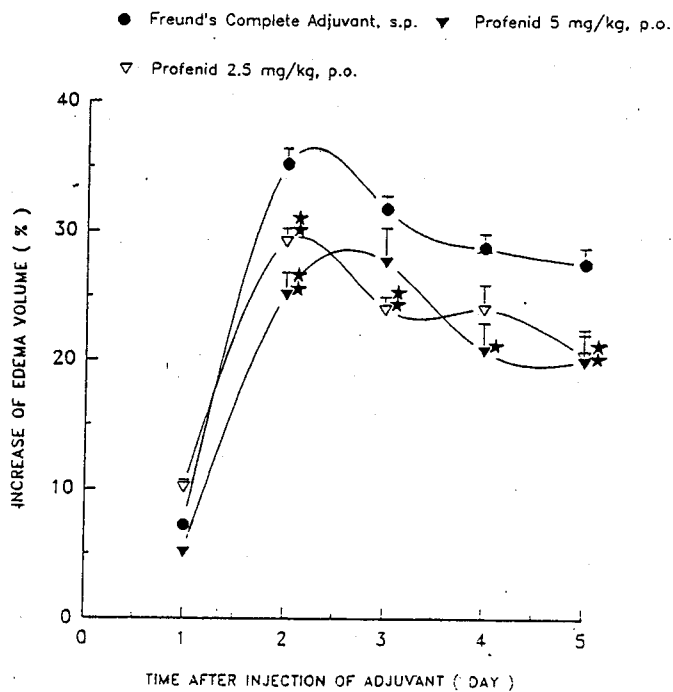


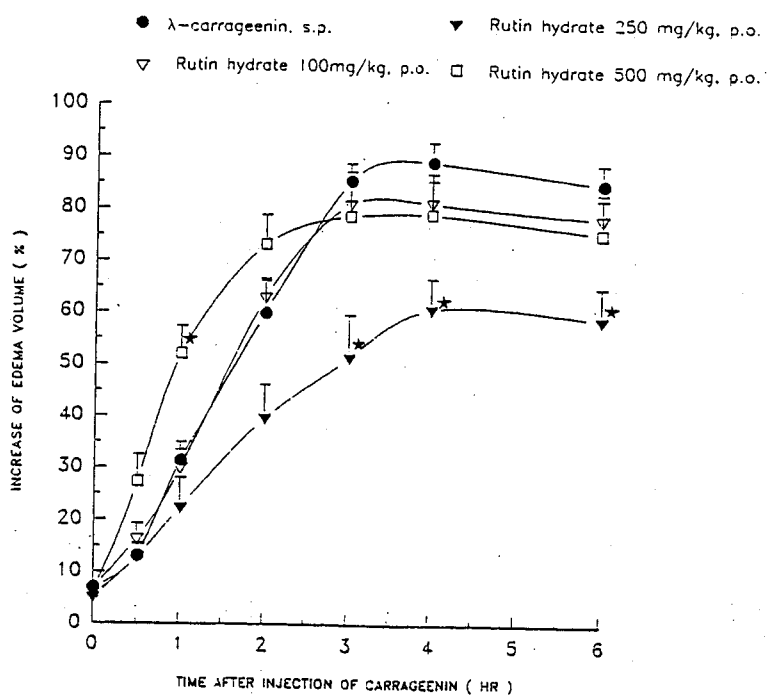
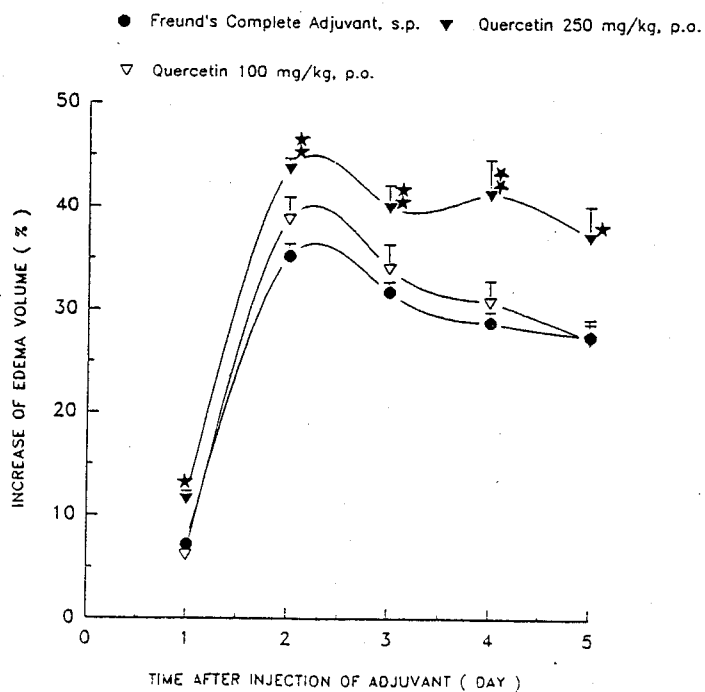




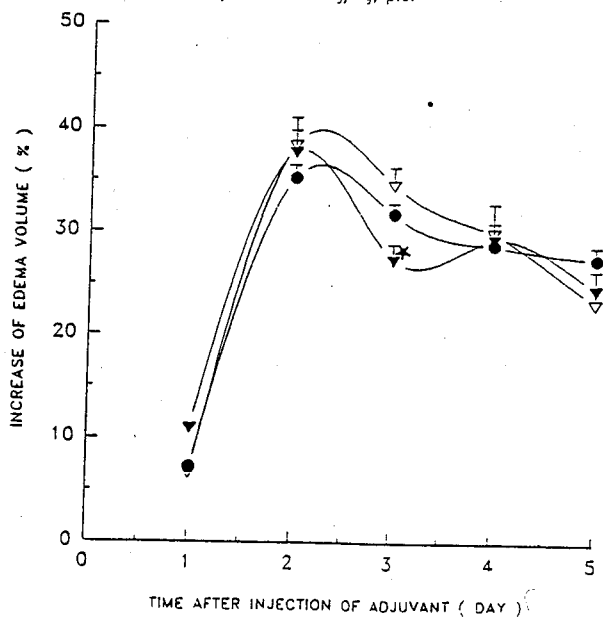




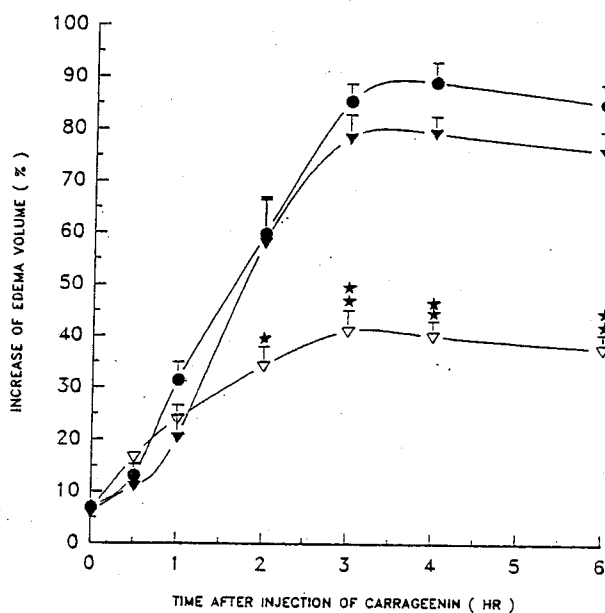


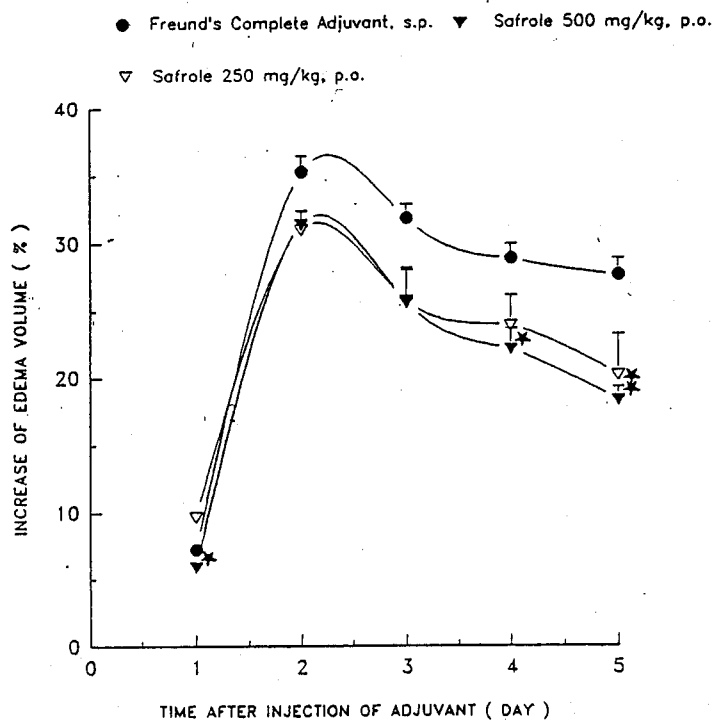
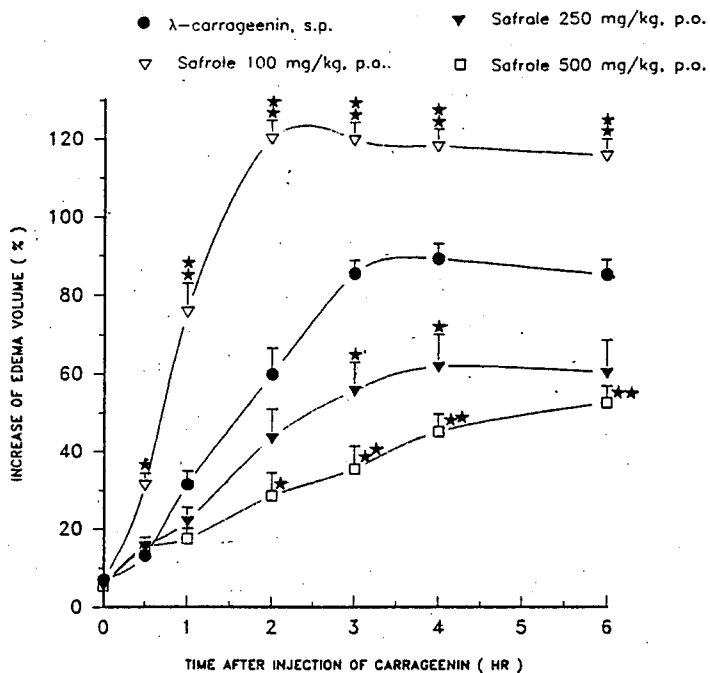


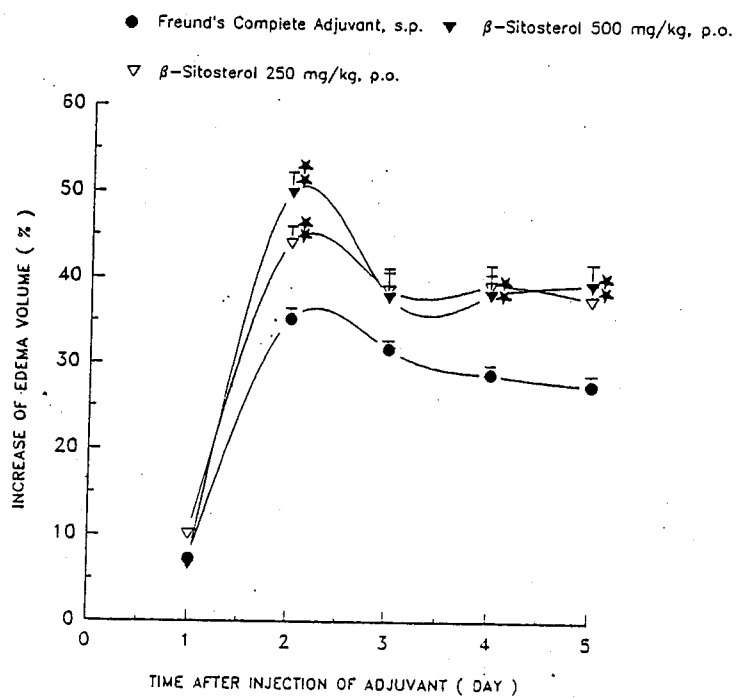
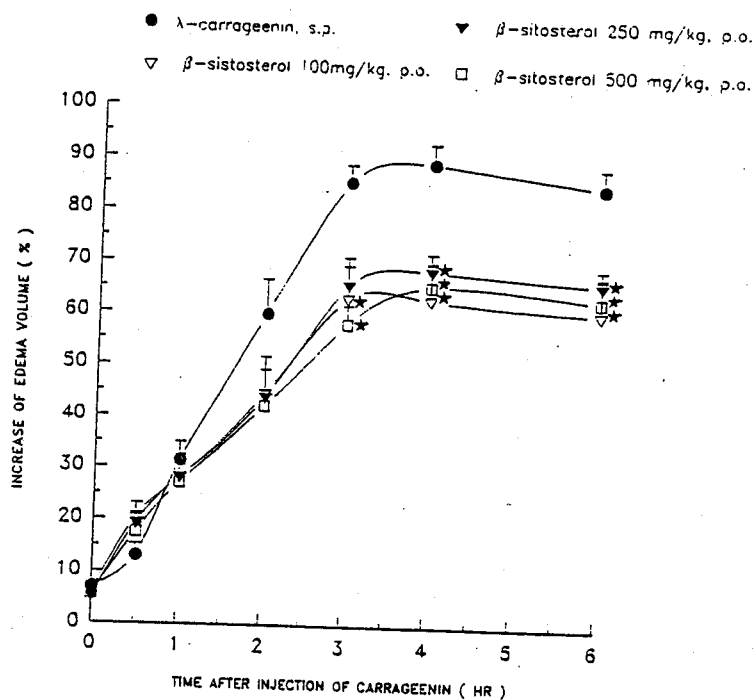
● Freund's Complete Adjuvant, s.p. ▼ Rutin hydrate 500 mg/kg, p.o.  
 ▽ Rutin hydrate 250 mg/kg, p.o.

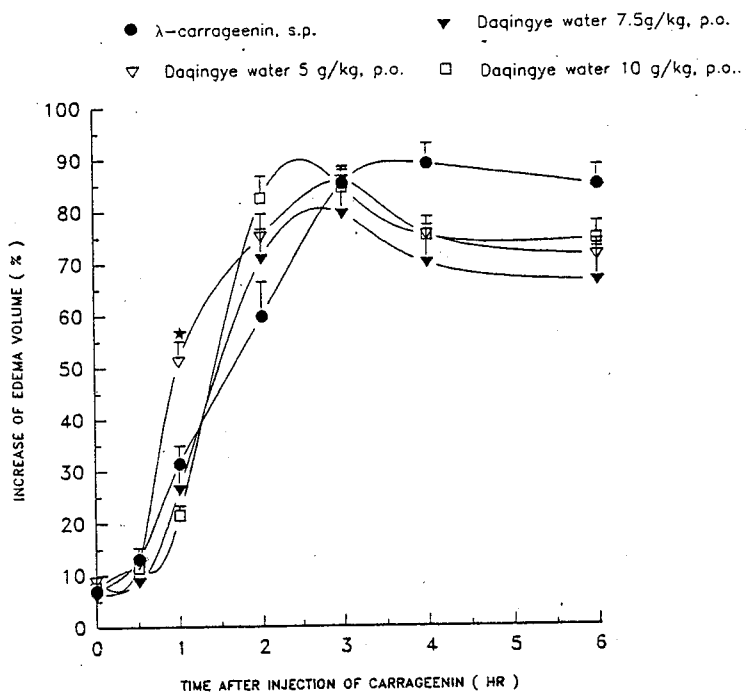
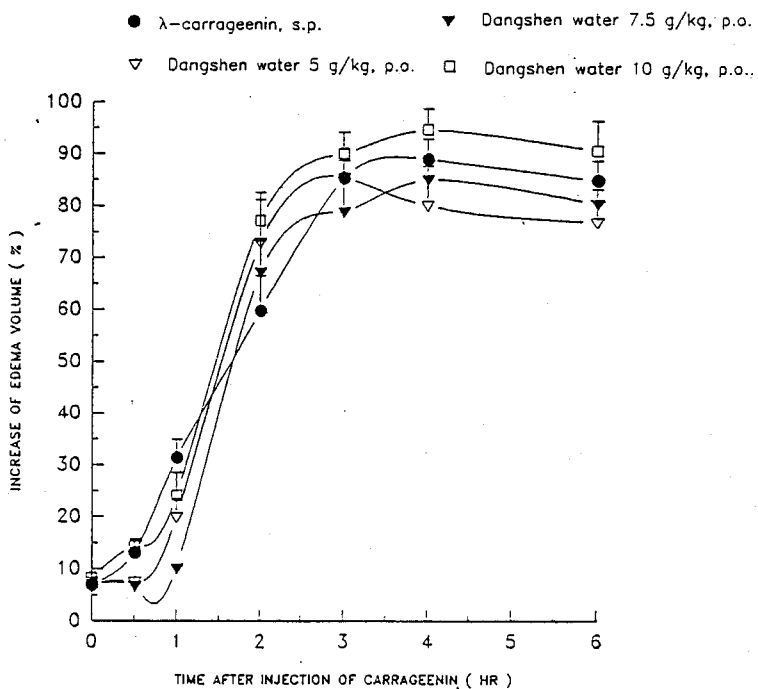


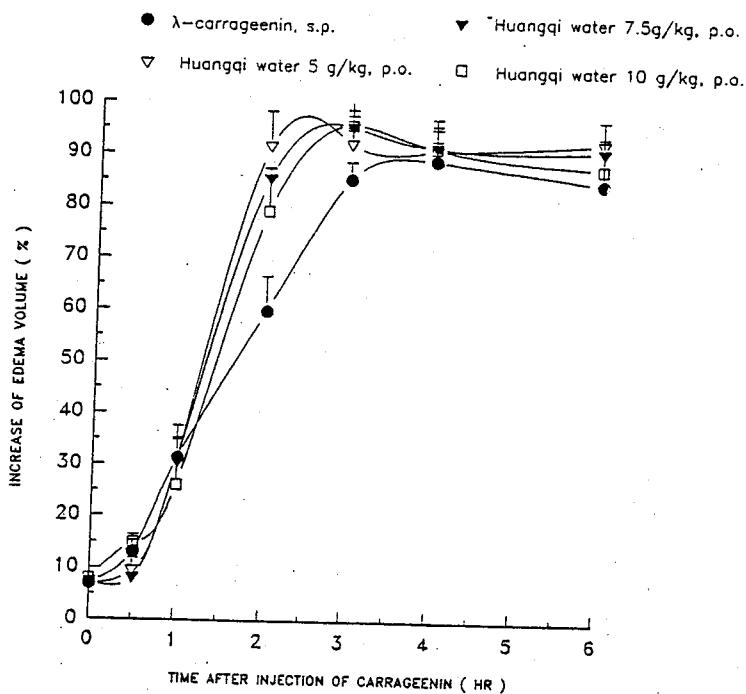
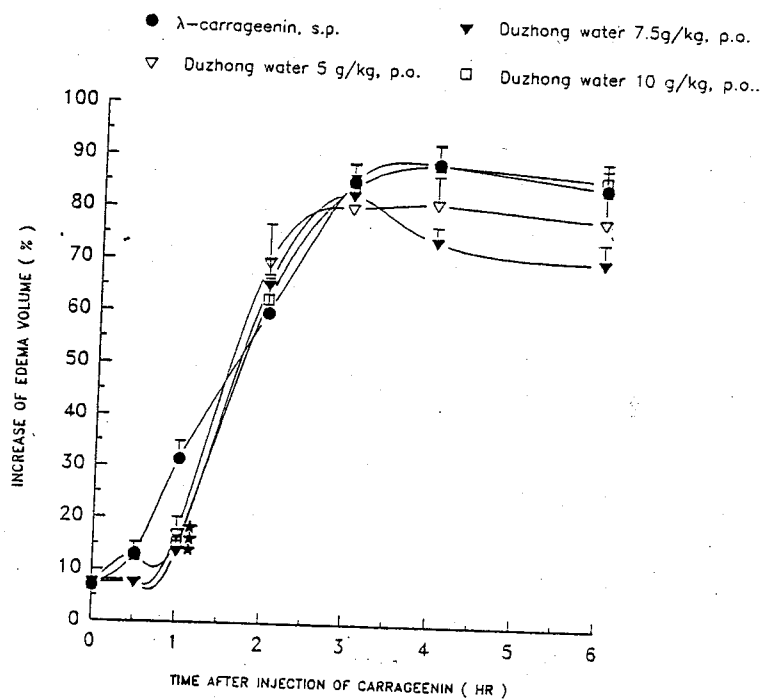
● λ-carrageenin, s.p. ▼ Scoparone 50 mg/kg, p.o.  
 ▽ Scoparone 100mg/kg, p.o.

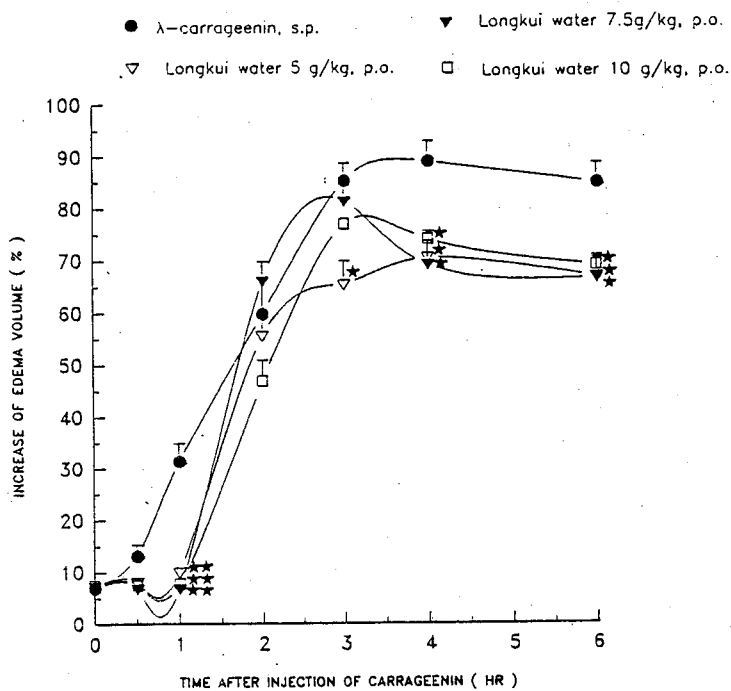
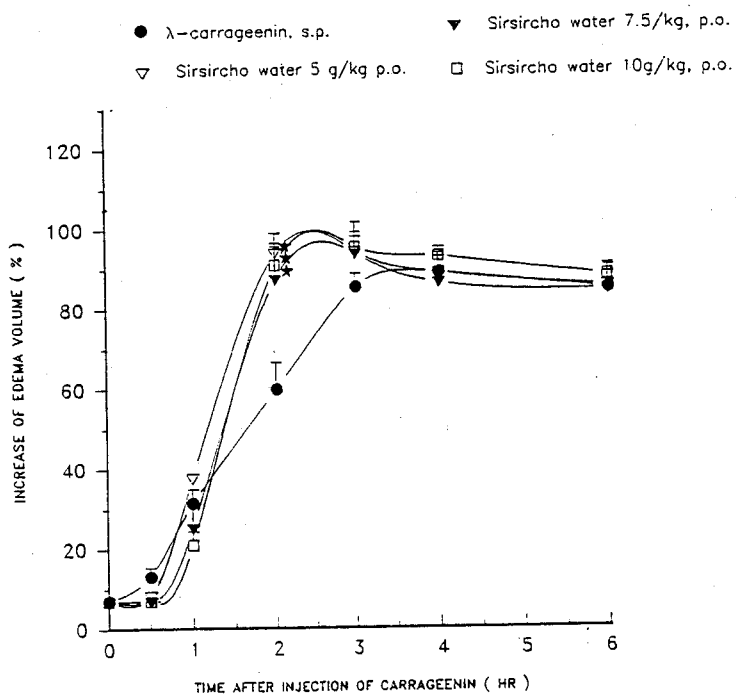












## DISCUSSION

Inflammation may be described as the response of irritated or damaged tissue to an injury or an invasion by a foreign agent. It is a mechanism in which phagocytic cells, complement and antibodies are involved. It is caused by the release of chemical mediators from tissues and migrating cells to eliminate a foreign pathogen and to institute a process of repair of damaged tissue. Recent evidence strongly implicated that inflammation is a complicated response which is controlled with different classes of chemical mediators or autocooids, such as prostaglandins, leukotrienes, serotonin, histamine, bradykinin, and more recently, platelet-activating factor, interleukin-1 and free radicals 13,14.

Although many experimental models of inflammation are employed in the laboratory, none of the methods provides adequate simulation of the pathophysiological events that underlied the clinical disorders. To predict the therapeutic antiinflammatory effect of traditional herbal drugs, experiment should be made concomitantly on several models *in vivo*, which can mimic a broad spectrum of acute and chronic inflammatory reactions.

The classification of Non-steroid antiinflammatory drug (NSAID) based on following cellular mechanisms:

1. Cyclooxygenase Inhibitors, e.g.
  - Ibuprofen : selective cyclooxygenase inhibitor (IC<sub>50</sub> =14.9  $\mu$ M)
    - inhibits the neutrophil dependent edema response of rabbit skin to C5a/PGE<sub>2</sub>.
  - Indomethacin: inhibits cyclooxygenase (IC<sub>50</sub>= 0.1  $\mu$ M) selectively over lipooxygenase (IC<sub>50</sub> > 100  $\mu$ M)
  - Naproxen:
  - Piroxicam
2. Lipooxygenase Inhibitors, e.g.
  - AA-861 : potent, selective and orally effective
  - Baicalein (5,6,7-trihydroxyflavone)
    - selective 12-lipooxygenase inhibitor (ID<sub>50</sub> =0.12  $\mu$ M, platelet 12-LO )
    - inhibits leukotriene biosynthesis ( at higher conc.) and release of lysosomal enzymes.
    - inhibits adjuvant induced arthritis
  - Caffeic acid
    - selective inhibitor of 5-lipooxygenase (IC<sub>50</sub> = 3.7  $\mu$ M )
  - CDC ( cinnamyl-3,4-dihydroxy- $\alpha$ -cyanocinnamate )
    - selective 12-lipooxygenase inhibitor (IC<sub>50</sub> = 0.063, 3.33  $\mu$ M & 1.89  $\mu$ M for 12-, 15-, and 5-lipooxygenase respectively ) in isolated enzyme preparations
  - 5,6-dehydro-arachidonic acid
    - selective, irreversible inhibitor of 5-lipooxygenase
  - Esculetin ( 6,7-dihydroxycoumarin )
    - inhibitor of 5-lipooxygenase (ID<sub>50</sub> = 4 $\mu$ M ) and 12-lipooxygenase (ID<sub>50</sub> = 2.5  $\mu$ M)
    - does not inhibit cyclooxygenase
  - Gossypol : antispermatogenic activity
    - inhibits RBL-15-lipooxygenase (IC<sub>50</sub> = 0.3  $\mu$ M ) and 12-lipooxygenase (IC<sub>50</sub> =0.7  $\mu$ M)
    - inhibits PAF and leukotriene induced guinea pig parenchyma contractions
  - NDGA ( Nordihydroguaiaretic acid )
    - selective inhibitor of lipooxygenases (IC<sub>50</sub> = 0.2, 30 and 30  $\mu$ M for 5-, 12-, and 15- LO respectively ) over cyclooxygenase (IC<sub>50</sub> = 100  $\mu$ M)
    - inhibits rat epidermal and hepatic microsomal cytochrome P-450 (ID<sub>50</sub> = 40  $\mu$ M)
3. Dual lipooxygenase and cyclooxygenase Inhibitors, e.g.
  - Curcumin : inhibitor of 5-lipooxygenase (IC<sub>50</sub> =8  $\mu$ M) and cyclooxygenase (IC<sub>50</sub>=52  $\mu$ M)
  - ETYA ( 5,8,11,14- eicosatetraynoic acid )
    - inhibits arachidonic acid uptake
    - inhibits arachidonic acid specific and nonspecific acyl-CoA synthetase
    - inhibits cyclooxygenase (ID<sub>50</sub> = 8  $\mu$ M) and all lipooxygenase (ID<sub>50</sub> = 10, 0.3, and 0.2  $\mu$ M for 5- 12- and 15-lipooxygenase respectively ) in whole cells
    - inhibits PLA2 and cytochrome P-450
    - stimulates luteinizing hormone release from cultured pituitary cells.
  - Meclofenamic acid
    - dual 5-lipooxygenase (IC<sub>50</sub> = 46.8  $\mu$ M) and cyclooxygenase inhibitor (IC<sub>50</sub>= 0.6  $\mu$ M)
  - Phenidone ( 1-phenyl-3-pyrazolidinone )

- dual lipooxygenase ( IC50 = 24  $\mu$ M) and cyclooxygenase ( IC50= 1-1.8  $\mu$ M) inhibitor
- Others: nonspecific
  - Dazoxiben: inhibit thromboxane synthetase, as anticoagulant
  - 13-APA (( $\pm$ )13-azaprostanoic acid) : a moderately potent, but specific TXA2 antagonist
    - more selective ( 5x ) for platelet ( human ) versus vascular ( rat )TXA2 receptor
  - HPETE: inhibit prostacyclin synthetase
  - Furosemide, ethocrynic acid: inhibit PGF2, PGE2, PGD2  $\Rightarrow$  15-OH-PG DHase  $\Rightarrow$  15-keto-PGs, potentiate PGF2, PGE2 ( inhibit ADH, diuretic ), PGD2 effects.
  - Imipramine, Xylocaine: sti 15-OH-PG DHase , antidiuretic effect.
- 4. Eicosanoid Receptor Antagonist, e.g.
  - 14,15-dehydro- leukotriene B4 : LTB4 antagonist
    - inhibits LTB4 induced lysozyme release ( IC50 = 1  $\mu$ M )
  - Dapsone : antibacterial agent
    - Leukotriene B4 antagonist
    - inhibits LTB4 induced lysozyme release ( IC50 = 160  $\mu$ M )
  - ICI-198,615
    - a potent and selective leukotriene D4 antagonist, Ki = 0.3 nM
    - competitively inhibits LTD4 induced contractions in guinea pig trachea and human bronchi
    - binds to guinea pig cardiac ventricular membranes with high affinity.
  - LY 171,883
    - selective, orally active leukotriene D4 antagonist, Ki = 0.63  $\mu$ M
  - Acivicin ( AT-125, U-42,126 ) : potent anti-tumor and anti-leishmania agent
    - irreversible inhibitor of L-glutamy transpeptidase ( ID50 = 0.54 mM )
    - inhibits the enzymatic conversion of LTC4 to LTD4
- 5. Others antiinflammatory agent, e.g.
  - Anthralin (1,8-dihydroxyanthrone) : widely used as anti-psoriatic drug.
    - inhibits leukotriene biosynthesis and LTB4  $\omega$ -oxidation
  - Auranofin : widely used anti-arthritic drug
    - inhibit various leukocyte activation pathways at multiple sites.
    - inhibits mediator release from human basophils, pulmonary mast cells and macrophages.
    - inhibits 5-lipoxygenase in human neutrophils.
  - Cromoglycate : partially but significantly inhibits the effects of LDD4 on pulmonary airway resistance.
    - mast cell stabilizer
    - reduces mediators induced plasma leakage.
  - Ebselen ( 2-phenyl-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-one) : novel selenium-containing antiinflammatory agent
    - inhibits 5-lipoxygenase, cyclooxygenase, NADPH oxidase, and protein Kinase C.
    - potent antioxidant
    - possesses a unique glutathion peroxidase-like activity
  - Gentisic acid : aspirin metabolite
    - inhibits PMNL aggregation and superoxide anion release
  - Oxatomide : clinically useful anti-allergic drug
    - supresses PAF induced bronchoconstriction in the guinea pig
    - inhibits the release and actions of leukotrienes and other mediators

The carrageenin-induced edema assay is useful in detecting and evaluating nonsteroidal and steroidal antiinflammatory drugs. There is a good qualitative correlation between the inhibitory activity of edema and inhibition of prostaglandin formation either by blocking the liberation of arachidonic acid from phospholipids via inhibition of phospholipase A2 activity ( e.g. corticosteroids ) or by blocking the arachidonic acid cyclooxygenase reaction ( e.g. aspirin )<sup>13</sup>. Carrageenin induces an inflammatory reaction in two different phases. The initial phase, which occurs between 0- 2.5 hr after injection, is attributed to the actions of histamine, serotonin, and bradykinin on vascular permeability<sup>10</sup>. The edema volume reaches thereafter its maximum approximately 3 hr post-treatment and begins to decline. The late phase, which is a complement-dependent reaction, is shown to be a result of over production of prostaglandins in tissues<sup>15</sup>.

Adjuvant-induced edematous response or polyarthritis is the most frequently used chronic inflammatory model and is extensively used in rats by pathologists and pharmacologists<sup>16</sup>. Since Freund's complete adjuvant-

induced edematous formation produces a local inflammatory swelling which reaches its maximal response during 4 - 5 days. it seems that bacterial peptidoglycan, muramyl dipeptide are responsible for its induction. Since bacterial adjuvant is a complex in composition and the immune response is a multi-stage process of intercellular co-operation, the mechanism is still unknown. At least 3 different pathways are involved; immunogenic, adjuvant and granulomagenic effect<sup>17</sup>.

Berberine, one of the bioactive alkaloids from Huanglian (*Rhizoma Coptidis*), is the dry rhizome of *Coptis Chinensis* Franch., *C. deltoidea* C.Y. Cheng et Hsiao, or *C. Teetoides* C.Y. Cheng (*Ranunculaceae*), which is one of the most well known and widely used herbs in traditional Chinese medicine. It is used as a bacteriostatic, antipyretic. From our results, Berberine administered p.o. to rats at doses of 50, 100 & 250 mg/kg potentiated and did not exert any significant attenuation of the edematous response during 2-4 hr after carrageenin-induced acute inflammation. However, using complete Freund's adjuvant as a model for chronic polyarthritis, single daily dose of Berberine (100, & 250 mg/kg, p.o.) continuous for 5 days suppressed the inflammatory response during 3-5 days (ANOVA  $p > 0.05$ ). But this inhibition is not statistically significant using Neuman Keuls' t test comparing with blank control..

Baicalin, one of the bioactive principle from Hungqin (*Radix Scutellariae*), is the dry roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi (*Lamiaceae*) is a flavone aglycone. In isolated tracheal muscle from guinea pigs as model, baicalin showed antihistamineic, anticholinergic, and papaverine-like activity. In mice, it inhibit HAC-induced vascular permeability. In rat, it reduce acute paw edema in rats induced by compound 48/80, it also suppressed development of secondary lesion in adjuvant-induced arthritis in rats. From our results, baicalin (5, 20 mg/kg, p.o.) significantly suppressed the carrageenin-induced acute edematous response at late phase (4-6 hr), while in the contrast, potentiated the edematous response in early phase (0-2 hr). At higher dose (50 mg/kg, p.o.) of Baicalin, all stages of hind-paw edema were more severe than the control. These results were also demonstrated that baicalin (5, 10 mg/kg daily dose continuous for 5 days; p.o.) did not significantly attenuated the edematous effects in Freund's complete adjuvant-induced chronic polyarthritis (ANOVA,  $p > 0.05$ ). These finding lead to the suggestion that baicalin -- a specific cyclooxygenase inhibitor-, at higher dose, may cause a change of cellular activity, presumably an increase in the neutrophil phagocytosis and mobilization.

Dapsone, a leukotriene B4 antagonist and inhibits LTB4 induced lysozyme release, at the dose of 100, 250, 500 mg/kg administered p.o., significantly and dose-dependently attenuated the hind-paw edema both at early and late phases induced by carrageenin. The antiinflammatory potency of dapsone (500 mg/kg) is about the same as profenid (10 mg, p.o.). However, Dapsone (250 & 500 mg/kg, daily dose continuous for 5 days; p.o.) did not significantly (ANOVA and Neuman Keuls' t test  $p > 0.05$ ) exerted anti-inflammatory activities in complete Freund's adjuvant as a model for chronic polyarthritis.

Cyclooxygenase inhibitors Piroxicam (50, 100, 250 mg/kg) and Profenid (2.5, 5.0, 10 mg/kg) administered p.o., significantly and dose-dependently attenuated the hind-paw edema both at early and late phases induced by carrageenin (ANOVA and Neuman-Keuls' t test  $p < 0.05$ ). Using complete Freund's adjuvant as a model for chronic polyarthritis, single daily dose of Profenid (2.5 and 5 mg/kg, p.o. continuous for 5 days) also significantly suppressed the hind-paw inflammatory response.

In conclusion, the cyclooxygenase inhibitory and/or leukotriene B4 antagonist effects are essential for the suppression the acute inflammation caused by carrageenin. Histological varification need further investigated. Chinese herbal medicines contain many potential anti-inflammatory agents and may be considered as an alternative for indomethacin or hydrocortisone. The exact mechanisms for its anti-inflammatory activity await further investigation.

## REFERENCE

1. Tang W & Eisenbrand. *Chinese Drugs of Plant Origin : Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine*. Springer-Verlag, New York. 1992.
2. Kiangsu Institute of Modern Medicine. *Encyclopedia of Chinese Drugs*, 2 vols. Shanghai Scientific and Technical Publication, Shanghai, China. 1977
3. Shibata S, Itokawa H, Sankawa U, Shoji T, and Takaido M. *Natural Product for Medicinal Use*. Nanzando Co., Tokyo, 1982.
4. Chang HM and But PPH. *Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica*. Singapore: World Scientific Publishing Co Pte Ltd., Singapore, 1986, 1987, vol.1 & 2.
5. Winter CA, Risley EA and Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 111:544-547, 1962.
6. Vinger R, Truax JF and Selph JL. Quantitative studies of the pathway to acute carrageenan inflammation. *Fed Proc* 35: 2447-2456, 1976.
7. Newbould BB. Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *Brit J of Pharmacol* 21: 127-136, 1963.
8. Yang HY. Experimental models for the study of inflammation. *J. Hosp. Pharmacy (Taiwan)* 5: 95-100, 1987.
9. Gallin JJ, Goldstein IM, and Snyderman R. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Raven Press, New York, 1988.
10. Willoughby DA. Inflammation - Mediators and Mechanisms. *Brit Med Bull* 43:247-400, 1987.
11. Vinger R, Truax JF, Selph JL, Johnston PR, Venable AL and McKenzie KK. Pathway to carrageenan-induced inflammation in the hind limb of the rat. *Fed Proc* 46: 118-126, 1987.
12. Walz DT, Di Martino MJ and Mishner A. Adjuvant-induced arthritis in rats. II. Drug effects of physiologic, biochemical and immunologic parameters. *J Pharmacol* 178:223-231, 1971.
13. Chang YH, Pearson CM, Abe C. Adjuvant polyarthritis. IV. Induction by a synthetic adjuvant : Immunologic, histopathologic and other studies. *Arthritis Rheum* 23:62-71, 1980.

# 靈芝與雲芝免疫增強作用之研究

王聲遠<sup>1</sup>，許敏玲<sup>1</sup>，李旭生<sup>2</sup>，蕭明熙<sup>1</sup>

1. 台北榮民總醫院 醫學研究部
2. 國立陽明醫院 生化研究所

## 摘 要

培養兩株赤芝，取其菌絲體 (mycelium) 以系列植化分離方法抽取靈芝多醣 (PS-G)。由正常成人取外週血液，分出純 monocytes (M  $\Phi$ ) 及純 T lymphocytes (TL)，分別進行培養。將 PS-G 以不同濃度 (50-800  $\mu$ g/ml) 加入 M  $\Phi$  或 TL 培養皿中，觀察與測定其對細胞激素 (包括 IL-1  $\beta$ ，TNF- $\alpha$ ，IFN- $\gamma$ ，及 GM-CSF 等) 生成／分泌之影響。單核～巨噬細胞 (M  $\Phi$ ) 具有自發性 (Constitutive) 分泌 IL-1  $\beta$ ，TNF- $\alpha$  和 GM-CSF 之性能，其生成動力學三者間不盡相同，TNF- $\alpha$  與 IL-1  $\beta$  之峰值出現於培養之早期 (12 ~ 24 小時)，而 GM-CSF 之峰值則出現於培養之第 5 天。T 淋巴細胞 (TL) 之細胞激素生成分泌多仰賴刺激活化，靜態之 TL 不分泌或僅分泌微量之 IFN- $\gamma$ 。

PS-G 對 M  $\Phi$  合成／分泌 IL-1  $\beta$ ，TNF- $\alpha$  和 GM-CSF，皆有明顯之促進作用，且這種增強與促進作用與 PS-G 之劑量呈正相關。PS-G 對 TL 生成 IFN- $\gamma$  亦具強力之刺激作用，這種作用亦呈劑量依賴關係。PS-G 對 M  $\Phi$  或 TL 分泌細胞激素之最適刺激劑量為 400  $\mu$ g/ml。在這一濃度下，細胞活力佳，細胞激素分泌旺盛，與未做刺激之對照組相比，IL-1  $\beta$  和 GM-CSF 提升約 1 倍；TNF- $\alpha$  提升約 3 ~ 4 倍。；而 IFN- $\gamma$  之提升則高達 100 倍。

由於上述諸細胞激素具有十分重要的增強免疫、促進造血及抑制腫瘤生長之作用，故本研究之所見，證示靈芝多醣確有明顯的免疫增強作用；而由PS-G所強化及提升之免疫細胞激素（包括上述4種）對腫瘤之防治亦具重要意義。

### (一) 前言：

靈芝 (*Ganoderma Lucidum*) 在我國醫藥史上流傳甚久，素有“瑞草”、“芝草”之稱，具強身、益壽之功。靈芝屬於擔子菌類，本菌類之多醣體 (polysaccharide) 多有免疫增強效應，亦具抗腫瘤生長之作用，如Lentinan [1]，Glucan [2] 等。靈芝多醣 (PS-G) 對免疫機能之作用，尚待深入研究。部份報導曾指出它有提升小鼠脾臟自然殺手細胞之細胞毒殺作用 [3]。與 PS-G相似的 PS-P亦有雷同的抗瘤效應 [4]，既可見之於實驗動物 [5-7]，亦可見之於臨床病患 [8]。靈芝免疫增強作用之機構，迄今仍缺乏深入之研究，特別是在免疫功能最新進展的細胞激素分泌方面尤需進行研究和探討。

淋巴細胞與巨噬細胞是身體免疫機構的兩大支柱，而此兩群細胞通過免疫反應而履行防禦功能，例如抵抗微生物侵犯以及遏制腫瘤細胞生長等。新近的研究進展揭示，巨噬細胞和淋巴細胞分泌許多細胞激素 (Cytokines)，它們在抗感染和抗腫瘤上扮演重要的角色 [9]。在這些細胞激素中，如：腫瘤壞死因子 (Tumor necrosis factor, TNF) [10-12] 和干擾素 (Interferon, IFN) [19]，已被發現具有極強的抑瘤作用，它們可能是機體控制突變的惡性細胞生長增殖的最重要的內在防禦力，而且它們還具有導使白血病細胞分化成熟之功效。此外，介白素 (Interleukins) 中的大部份成員，亦由TL及M $\phi$ 所分泌，其中之IL-2 [20-23]，IL-1 [24, 25]，IL-6 [26, 27] 以及IL-8 [28, 29] 等，在免疫防禦中都具有重要的作用。

因此，本研究特擬在細胞激素分泌的層面上研討靈芝免疫增強作用之機轉。吾人之研究發表，PS-G對人類巨噬細胞具有明顯地激活作用，可促進巨噬細胞之IL-1 $\beta$ ，TNF- $\alpha$ 及GM-CSF之分泌，同時亦可促進T淋巴細胞之IFN- $\gamma$ 之產生，而這些細胞激素分泌之增進乃免疫功能提升之物質基礎與根本所在。

## (二) 研究材料與方法：

### 1. 靈芝之培植：

選取赤芝，分別從榮總醫研部蕭明熙教授和陽明醫學院李旭生教授處獲種(前者定名為TP，後者定名為GL)。在室內培植，由擔孢子長至菌絲體時，收取做多醣體之分離。

### 2. PS-G之分離與提取：步驟如下：

Mycelium  
↓ Water (100°C) extraction  
Filtrate  
↓ EtOH precipitation  
ppt  
↓ Sephadex G50  
Gel Filtration  
↓  
Anion exchange chromatography

最後，獲取PS-G (TP-I 和 GL-I)組份，用於實驗。

### 3. 巨噬細胞之分離與培養：

取正常成人外週血，每次 250ml，先離心收取 Buffy coat cells，再以 density gradient (Ficoll-Hypaque Sol. 1.077) centrifugation 分出 mononuclear cells (MNC)。將MNC 懸於RPMI 1640+15% FCS培養液中，置37°C

培育3小時，待monocytes充份粘附後，徹底洗除非粘附細胞，再以Rubber-policeman 將monocytes刮下，做細胞計數及治率測試，並以NSE Stain [32] 檢試其純度。之後，以 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 之濃度懸於 $\alpha$ -MEM+20%HoS中，置 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 溫箱中培育之。

#### 4. T淋巴細胞之分離與培養：

用上述(3)步驟由正常人外週血中分出MNC，再以 AET 處理的綿羊紅血球(SRBC)與MNC 在 $0^\circ\text{C}$  下做玫瑰花環形成(E-RFC)試驗[30]。人類T細胞因有SRBC之受體而與之結成花環，繼而以密度切割離心法，分離去除 monocytes 及 B cells；再用低滲處理使 SRBC溶破而最終獲得純T cell [31]。之後，將其以 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 之濃度懸於RPMI 1640+10% FCS培養液中，置 $37^\circ\text{C}$ 溫箱培育之。

#### 5. 裝備 $\text{M}\phi$ -CM及TL-CM：

取純化之巨噬細胞( $\text{M}\phi$ )，及純化之T淋巴細胞(TL)，分別培養於35mm平皿中(2ml/皿)，置 $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$ 溫箱中培育之，定期(2h, 6h, 12h, 24h, 72h, 120h)取出上清液(CM)，做細胞激素之測定。

#### 6. PS-G對 $\text{M}\phi$ 及TL之刺激：

(1) PS-G之劑量效應(以24h/72h為基準)：作用濃度包括：

0, 50, 100, 200, 400和 $800 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

(2) PS-G之時間效應(以200/400  $\mu\text{g}$ 為基準)：作用時間分

別為：0, 4, 12, 24小時和3, 5, 7天。

#### 7. CFU-GM檢測：

用以測定GM-CSF。方法是取正常人骨髓細胞，以Soft agar為支持物，做Clonal culture，以 rGM-CSF為陽性對照，藉Colony formation之計數來測定 $\text{M}\phi$ -CM/TL-CM中之GM-CSF之活性。

## 8. ELISA檢測：

用以測定PS-G激活或靜態之M $\phi$ 及TL的細胞激素分泌，包括IL-1 $\beta$ ，TNF- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 。各細胞激素之測定皆以EIA Kit進行。IL-1 $\beta$  Kit得自Cistron biot.，TNF- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ 者則購自Genzyme。

## (三) 研究結果：

### 1. 靈芝多醣 (PS-G) 之分離：

靈芝菌絲體中富含多醣類及蛋白質。經沸水浸提及乙醇沈澱後，PS-G得到初步濃集；再經凝膠過濾及離子交換柱層析後，得出兩個純化的部份 (Fractions)。如圖1所示，第1個部份 (ps) 為多醣類，第2個部 (pt) 為蛋白質。兩部份以前者 (多醣類) 為主，故可分步收集之。惟Fraction I 中俱含有少量之蛋白質，此少量蛋白質則很難徹底分出。

### 2. 靈芝多醣 (PS-G) 對M $\phi$ 分泌GM-CSF之影響：

巨噬細胞 (M $\phi$ ) 是 GM-CSF的生成細胞之一，而GM-CSF則具有刺激造血祖細胞 (progenitor cells) 增殖分化以及增強成熟顆粒球與單核球功能之性能。表 1資料表明兩種靈芝之PS-G (包括TP-I及GL-I) 均有促進M $\phi$  分泌GM-CSF之作用。數據顯示，靜態之M $\phi$  其製造/分泌GM-CSF之活力較弱，而經PS-G之刺激後GM-CSF之分泌活力提升，且這種提升與PS-G之劑量有一定關係 (圖2)，當劑量為 800  $\mu$ g/ml 時，colonies 之數量達至最高點。從M $\phi$  之GM-CSF生成動力學觀之，呈逐漸上升之走勢，至第 5天達到高峰，以後則趨於下降 (圖略)。

### 3. 靈芝多醣 (PS-G) 對M $\phi$ 分泌IL-1 $\beta$ 之影響：

巨噬細胞是IL-1 $\beta$  之主要生成細胞。IL-1是一個具有

多種功能的細胞激素， $M\phi$  之免疫調節以及造血強化等作用，與其分泌IL-1 密切相關。從動力學的觀察可見， $M\phi$  生成IL-1 $\beta$  集中在開始培育的12-24小時之間，72小時以後則逐漸下降(圖略)。由於有此種特質，吾人觀察PS-G對 $M\phi$  生成IL-1 $\beta$ 之作用，其CM皆以培養24h者為準。實驗之結果集中總結於圖3，並以不予刺激和加入3  $\mu\text{g/ml}$  之LPS ( $M\phi$  之標準活化物) 分別作為陰性和陽性對照。由圖3可見，靜態的 $M\phi$  分泌少量之IL-1 $\beta$  (<1500pg/ml)；50-200  $\mu\text{g/ml}$  之PS-G 刺激 $M\phi$ ，使其IL-1 $\beta$ 之生成明顯升高；而400-800  $\mu\text{g/ml}$  之PS-G，其刺激作用尤為顯著。PS-G由50 至800  $\mu\text{g/ml}$ ，其所刺激生成之IL-1 $\beta$ 呈線形遞增之狀況。400-800  $\mu\text{g/ml}$  之PS-G所引起之IL-1 $\beta$ 提升，分別是160%和172%；在800  $\mu\text{g/ml}$ 時，IL-1 $\beta$ 之水平甚至比3  $\mu\text{g/ml}$  LPS所刺激者還高(圖3)。

#### 4. 靈芝多醣(PS-G)對 $M\phi$ 分泌TNF- $\alpha$ 之影響：

除IL-1 $\beta$ 外，巨噬細胞( $M\phi$ )亦是TNF- $\alpha$ 之主要生成細胞。在諸種細胞激素中，TNF- $\alpha$ 在腫瘤防禦上尤具重要作用。在 $M\phi$ 分泌monokines的動態觀察中，可以發現TNF- $\alpha$ 之釋放為時最早，培養12h左右即達巔峰，24h後便迅速消滅，這與GM-SCF之生成動力學有極大之不同。PS-G對 $M\phi$ 生成TNF- $\alpha$ 之影響，其實驗結果總結於圖4。由該圖可見， $M\phi$ 之TNF- $\alpha$ 合成對PS-G刺激的反應相當敏銳，僅小劑量(50  $\mu\text{g/ml}$ )之PS-G，其所刺激而生成之TNF- $\alpha$ 即達靜態(對照組)之2倍，而PS-G之劑量由50遞升800  $\mu\text{g/ml}$ ， $M\phi$ 之TNF- $\alpha$ 的產生與分泌也隨之增高，呈明顯之正相關現象。而400  $\mu\text{g/ml}$ PS-G刺激下的 $M\phi$ 其TNF- $\alpha$ 之分泌高達對照組之3~4倍(圖4)。

#### 5. 靈芝多醣(PS-G)對TL分泌TNN- $\gamma$ 之影響：

IFN- $\gamma$ 之生成細胞主要為T 淋巴細胞(TL)及NK細胞

。IFN- $\gamma$  在免疫調節和抗腫瘤生長方面均扮演重要角色。與M $\phi$ 產生monokines不同，靜態之T細胞其細胞激素之分泌較少，如IFN- $\gamma$ ，僅2 pg/ml而已(見表2)。經PS-G刺激後，TL之IFN- $\gamma$ 之生成大量提升，且亦與劑量成線性關係。400  $\mu$ g/ml之PS-G所刺激而產生之IFN- $\gamma$ 已達巔峰(220 pg/ml)，此時之IFN- $\gamma$ 相當於對照(靜態)組之110倍(表2)。從以上四種免疫細胞激素之產生來看，400  $\mu$ g/ml之PS-G可視為最適宜(Optimal)而有效之劑量。

#### (四) 討論：

靈芝(Ganoderma Lucidum)在我國醫書中早有記載，因有强身、益壽之說，故享有“瑞草”之譽。靈芝含有多種具有生物效應之物質，其中之脂類成份，有效於心臟血管疾患，而多醣體則可能增強免疫防禦功能。靈芝屬於担子菌類，該菌屬中已被發現可分離出具有免疫增強與抗瘤作用之多醣體，如PS-K, Glucan等。儘管對PS-K的免疫增強作用已有一些報導，但研究工作尚甚膚淺，對巨噬細胞活化與細胞激素分泌等近代進展尚未涉及；而靈芝對巨噬細胞免疫與造血調節功能之影響更是所知厥如。

本研究首先以植化方法分離製取靈芝多醣(PS-G)，再以純化的巨噬細胞(M $\phi$ )為Target cells，觀察PS-K對M $\phi$ 在免疫與造血兩大重要系統極具作用的細胞激素之分泌有無影響。我們的研究發現，PS-G對M $\phi$ 釋放TNF- $\alpha$ ，IL-1 $\beta$ 和GM-CSF皆有明顯的刺激作用(表1，圖1)。Macrophages分泌TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 均集中在細胞培養之早期(12—24 h)(data not shown)而分泌GM-CSF則以培養之第5天為量最多。M $\phi$ s以靈芝多醣(PS-P)所做的實驗研究表明，藥物之劑量以400—800  $\mu$ g/ml為最

適。這與本研究對 PS-G 所做的觀察甚相吻合。PS-G 刺激  $M\phi$  產生  $TNF-\alpha$  , IL-1 和 GM-CSF 其劑量均以  $400 \mu g/ml$  為最佳。此劑量 ( PS-G ) 下之  $TNF-\alpha$  和 IL- $1\beta$  的合成 / 分泌均較  $3 \mu g/ml$  LPS ( 常用之  $M\phi$  活化劑量 ) 所刺激者為高 ( 圖 4 及圖 3 ) 。

本研究所得的結果有兩大重要意義，表明靈芝多醣具有抗腫瘤生長和提升造血功能之功效。吾人已知 IL-1 除可直接對某些腫瘤發揮毒殺和 / 或生長抑制作用之外，並可刺激巨噬細胞和淋巴細胞釋放細胞激素  $TNF$  和  $IFNs$  等，而此二種細胞激素乃機體免疫防禦腫瘤生長的重要屏障。此外，IL-1 尚可作用於  $CD_4$  T 細胞增加其 IL-2 之分泌，繼而促進 LAK 細胞之生成，而 LAK 細胞乃是除  $M\phi$  外，機體抵抗腫瘤生長的另一重要防禦機構。由此可見，PS-G 刺激  $M\phi$  後，一方面是直接增進 IL-1 及  $TNF-\alpha$  的分泌，另一方面又通過這些細胞激素再誘導出更多的抗腫瘤因子，諸如  $IFN-\gamma$  , IL-2 , LAK 細胞等，從而形成一個抗腫瘤生長的免疫防禦網路 ( Network ) 體系。根據最近的研究進展，在此一抗腫瘤 network 中，亦有 IL-4 和 IL-6, IL-8 的參與。後二者係巨噬細胞活化後，與  $CD_4$  T 淋巴細胞相互作用之連鎖反應。

PS-G 之另一方面功效是提升骨髓性造血 ( Myelopoiesis ) 功能，這主要是通過刺激  $M\phi$  產生 GM-CSF 和 IL-1 而達成。已知 GM-CSF 乃是 Myelopoiesis 的主要成長因子 ( Growth factor )，不僅體外研究而且臨床試用均見到它能明顯地促進 CFU-GM 之增殖和顆粒性白血球數目之提升等，而且已被視為抗癌治療之

有力後援，即與抗癌化學治療相聯合，通過強固造血功能，防止白血球減少，使化療殺瘤作用得以充份發揮，從而可最終提升綜合性的抗瘤療效。IL-1 在造血活動上亦具有重要作用，它可以刺激 CSF 的生成細胞（包括 Macrophages, Endothelium cells 和 Fibroblasts）分泌 G-/GM-CSF,從而也間接地強化了造血功能。

從以上的討論分析中，不難看出 PS-G 的重要意義在於既能提升抗腫免疫防禦功能，又能增強造血活動，而這兩方面在腫瘤治療中又具有互補作用。因此，本研究之發現揭示靈芝多醣將可成為抗癌治療中的一個極具價值的免疫增強劑。

#### （五）結論與建議：

1. 靈芝在培植之幼期，其中之多醣體所含較高，故宜以菌絲體或果實體之幼期做為原料來分離提取靈芝多醣（PS-G）。
2. PS-G 對巨噬細胞（ $M\phi$ ）之免疫功能有明顯的刺激作用，可使  $M\phi$  之細胞激素（Monokines）之分泌呈倍量之提升，包括  $TNF-\alpha$ ， $IL-1\beta$ ，及 GM-CSF 等。
3. PS-G 亦可刺激 T 淋巴細胞分泌  $IFN-\gamma$ 。在 400-800  $\mu g/ml$  的濃度下， $IFN-\gamma$  之產量，已刺激及未受刺激者相差達百倍。
4. PS-G 對免疫細胞之功能確有明顯的強化作用，特別表現在細胞激素合成/分泌之提升。PS-G 之最適作用濃度為 400  $\mu g/ml$ 。
5. PS-G 所提升的細胞激素其主要的生物功能包括增強免疫，促進造血，和抑制腫瘤。因此，PS-G 增進健

康和防治腫瘤有相當重要的意義。

6. 建議成立相應的（公立或私立）開發機構，從事靈芝之培植及多醣體之抽提，要確保品質，以利民眾或病患之服用；從而防堵不肖廠商以不實偽冒之製品，魚目混珠，偏財害人。

致謝：本研究受行政院衛生署科技發展計畫DOH82-CM-065  
號預算之資助，特此銘謝

#### （六）參考文獻：

1. Suga T, Shio T, Maeda YY, et al: Antitumor activity of Lentinan in murine syngeneic and autochthonous hosts and its suppressive effect on 3-methylcholanthrene-induced carcinogenesis. *Cancer Res* 44:5132, 1984.
2. Chihara G, Hamuro J, Maeda Y, et al: Antitumor polysaccharide derived chemically from natural glucan (Pachyman). *Nature* 225:943, 1970.
3. Won SJ, Lee SS, Ke YH, Lin MT: Enhancement of splenic NK activity by extracts of *Ganoderma Lucidum* mycelium in mice. *J Biomed Lab Sci* 2:201, 1989.
4. Oka S, Okamura N, Kats S, et al: Antitumor activity of some plant polysaccharides. I. Fractionation and antitumor activity of bagasse polysaccharide. *Gann* 59:35, 1968.
5. Sakita M, Imai H, Kasuga M, et al: Effect of a protein-bound polysaccharide preparation, PSK, on dimethyl hydrazine induction of intestinal tumor in rats. *Gann* 74:351, 1983.
6. Abe S, Yamazaki M, Mizuno D: Correlation of differences in antigenicity of four 3-methyl-cholanthrene-induced tumors in syngeneic mice with the susceptibility of tumor to an immunopotentiator, PS-K. *Gann* 69:223, 1978.

7. Zhou JX, Shen XL, Shen ZM, Li XY: Anti-tumor effect of polysaccharide peptide of *Coriolus Versicolor* (PSP) and its mechanism. In: Chew EC, et al (eds) Recent Advances in Cancer 1989. Hong Kong: CUHK, pp 105-113, 1989.
8. Liu TF, Xue WC: Clinical implication of PSP in oncology. In: Chew EC, et al (eds) Recent advances in Cancer 1989. Hong Kong: CUHK, pp 57-61, 1989.
9. Balkwill FR (ed): Cytokines in Cancer Therapy. Oxford: Oxford university Press, pp 8-110, 1989.
10. Watanabe N, et al: Synergistic cytotoxic antitumor effects of recombinant human tumor necrosis factor and hyperthermia. *Cancer Res* 48:650, 1988.
11. Haranaka K, Satomi N, Sakurai A: Antitumor activity of murine tumor necrosis factor (TNF) against transplanted murine tumors and heterotransplanted human tumors in nude mice. *Int J Cancer* 34:263, 1984.
12. Brouckaert PGG, Leroux-Roels GG, Tavernier J, et al: In vivo anti-tumor activity of recombinant human and murine TNF, alone and in combination with murine IFN- $\gamma$ , on a syngeneic murine melanoma. *Int J Cancer* 38:763, 1986.
13. Bartsch HE, Pfizenmaier K, Schroeder M, Nagel GA: Intralesional application of recombinant human tumor necrosis factor  $\alpha$  induces local tumor regression in patients with advanced malignancies, *Eur J Cancer Clin Oncol* 25:287, 1989.
14. Talmadge JE, Phillips H, Schindler H, et al: Systematic preclinical study on the therapeutic properties of recombinant human interleukin 2 for the treatment of metastatic disease. *Cancer Res* 47:4725, 1987.
15. Grob JJ, Collect AM, Munoz MH, Bonerandi JJ: Treatment of large basal-cell carcinomas with intralesional interferon- $\alpha$ -2a. *Lancet* i:878, 1988.
16. Creagan ET, Long HJ, Frytak S, Moertel CG: Recombinant leukocyte  $\alpha$  interferon with doxorubicin. A phase I study in advanced solid neoplasms and implications for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 61:19, 1988.
17. Aulitzky W, et al:  $\alpha$ -interferon for the treatment of metastatic renal cancer: dose-dependent stimulation and down regulation of  $\beta_2$  microglobulin and neopterin responses. *Immunobiology* 176:85, 1987.
18. Ramani P, Hart IR, Balkwill FR: The effect of interferon on experimental metastases in immunocompetent and immunodeficient mice. *Int J Cancer* 37:563, 1986.
19. Geissler K, Tricot G, Leemhuis T, et al: Differentiation-inducing effect of recombinant human tumor necrosis factor  $\alpha$  and gamma-interferon in vitro on blast cells from patients with acute myeloid leukemia and myeloid blast

- crisis of chronic myeloid leukemia. *Cancer Res* 49:3075, 1989.
20. Gearing AJH, Johnston AP, Thorpe R: Production and assay of interleukins. *J Immunol Methods* 83:1, 1985.
  21. Grimm EA: Human lymphokine-activated killer cells (LAK cells) as a potential immunotherapeutic modality. *Biochem Biophys Acta* 865:267, 1986.
  22. Oshimi K, et al: Cytotoxicity of interleukin 2-activated lymphocytes for leukemia and lymphoma cells. *Blood* 68:938, 1986.
  23. Nishimura T, et al: Generation of lymphokine-activated killer (LAK) cells from tumor-infiltration lymphocytes. *Cellular Immunology* 100:149, 1986.
  24. Le J, Vilcek J: Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 56:234, 1987.
  25. Dinarello CA, Mier JW: Current concepts: lymphokines. *New Eng J Med* 317:940, 1987.
  26. Wong GG, Clark SC: Multiple action of interleukin 6 within a cytokine network. *Immunol Today* 9:137, 1988.
  27. Kishimoto T: The biology of interleukin 6. *Blood* 74:1, 1989.
  28. Yoshimura T, Matsushima K, Oppenheim JJ, Leonard EJ: Neutrophil chemotactic factor produced by lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human blood mononuclear leukocytes: partial characterization and separation from interleukin 1 (IL-1). *J Immunol* 139:788, 1987.
  29. Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K: Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol* 143:1366, 1989.
  30. Pistoia V, Cozzolino F, Torcia M, et al: Production of B-cell growth factor by a Leu7<sup>+</sup>, OKM1<sup>+</sup> non-T cell with the features of large granular lymphocytes (LGL). *J Immunol* 134:3179, 1985.
  31. Chen LY, Wang SY, Lin CK, et al: Release of colony-stimulating activity by resting and activated monocytes, T cells and B cells. *Chin Med J* 43:277, 1989.
  32. Yam LT, Li CY, Crosby WH: Cytochemical identification of monocytes and

### 圖表說明

圖 1. : PS-G 之分離製備 : I ( 組份 11 - 13 ) 爲多醣濃集部份。

II ( 組份 14 - 19 ) 爲蛋白質濃集部份。

圖 2. : 兩株靈芝製備之多醣體 ( GL-1 和 TP-1 ) 對刺激巨噬細胞產生 GM-CSF 之比較。縱座標示 CSF 之活性 ; 橫座標爲 PS-G 之濃度。

圖 3. : PS-G 對巨噬細胞產生 IL-1 $\beta$  之影響。縱座標示 IL-1 $\beta$  之產量 ; 橫座標爲刺激物之濃度。□ 爲未經刺激之 M $\phi$  ; ▨ 爲 PS-G 刺激之 M $\phi$  ; ▩ 爲 LPS 刺激之 M $\phi$  。

圖 4. : PS-G 對巨噬細胞產生 TNF- $\alpha$  之影響。縱座標示 TNF- $\alpha$  之產量 ; 橫座標爲刺激物之濃度。□ 爲未經刺激之 M $\phi$  ; ▨ 爲 PS-G 刺激之 M $\phi$  ; ▩ 爲 LPS 刺激之 M $\phi$  。

Table 1. Effect of PSG on CSA Production by Human Macrophages

Concentration of PSG( $\mu$ g/ml)	No. of GM Colonies/Clusters			
	GL-1	GL-2	TP-1	TP-2
0	20/137			
50	25/91	21/93	25/121	20/111
100	32/99	29/109	31/124	31/126
200	36/81	36/78	30/137	34/92
400	37/86	40/82	32/126	33/87
800	45/77	41/101	42/87	37/104

The polysaccharide (PS) from two strains of *Ganoderma Lucida* ( GL and TP ) was used at various concentrations (50-800 ug/ml ) to induce the production of CSA by human macrophages. , GL-1/TP-1 was the fraction of pure polysaccharide and GL-2/TP-2 was polysaccharide combined with protein. The activity of CSA was assessed using a method of CFU-GM assay. Results were expressed as mean number of colonies/clusters per  $1 \times 10^5$  bone marrow cells.

Table 2.  
Effect of PS-G(GL-1) on the Production of IFN- $\gamma$   
by Human Peripheral Lymphocytes

PS-G ( $\mu\text{g/ml}$ )	IFN- $\gamma$ (pg/ml)	Index*
Untreated Control	$2 \pm 0.1$	1
50	$16 \pm 2.0$	8
100	$58 \pm 5.2$	29
200	$102 \pm 12.4$	51
400	$220 \pm 26.2$	110
800	$212 \pm 24.6$	106

\* Index = Experimental group/Untreated control.

Normal human T lymphocytes were incubated at  $5 \times 10^5/\text{ml}$  with or without various concentrations (50-800  $\mu\text{g/ml}$ ) of PS-G at  $37^\circ\text{C}$  for 24 hrs. Conditioned media were then collected for assay of IFN- $\gamma$  using an EIA kit.

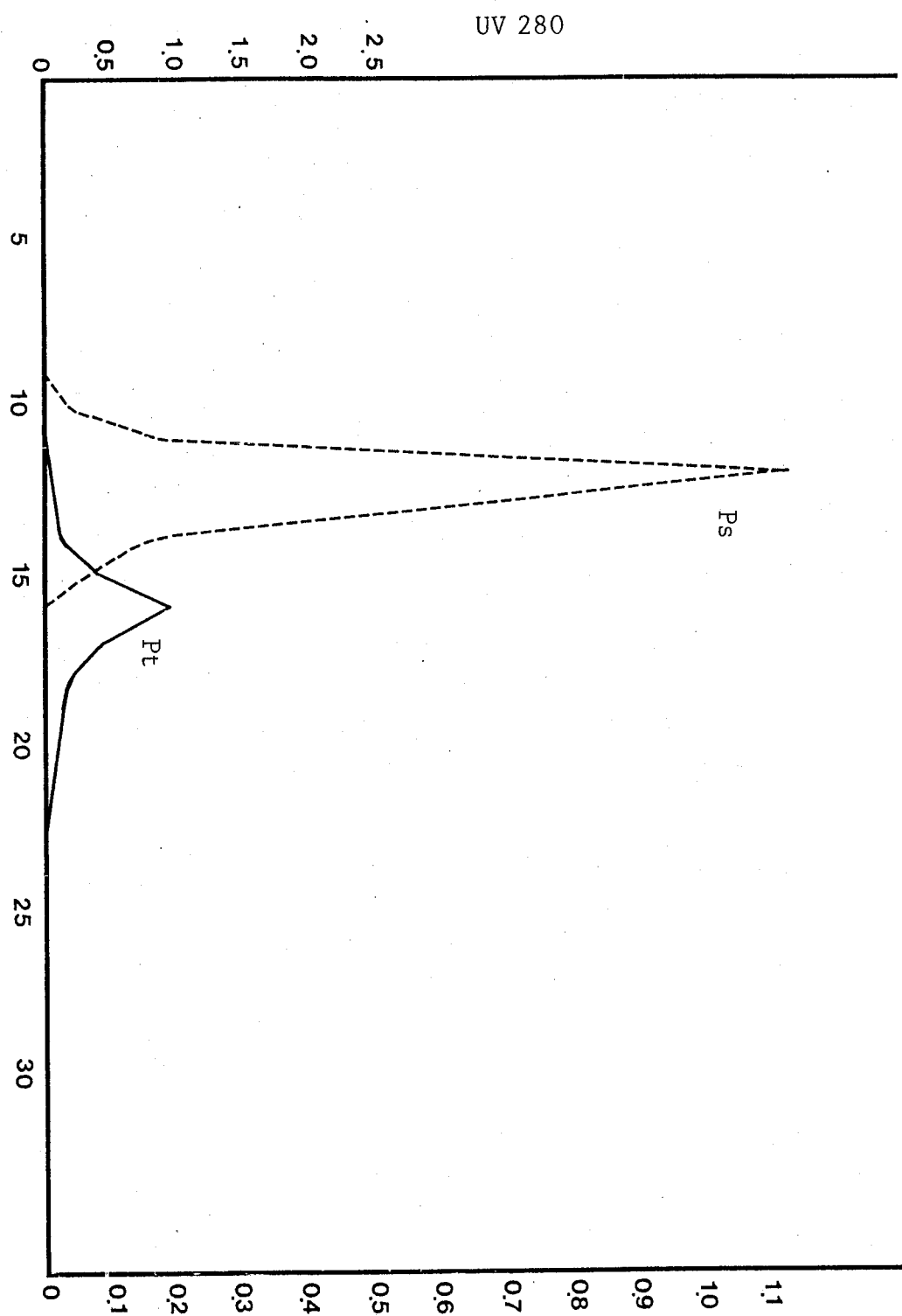


Fig. 1. Fractionation of Polysaccharide(PS) from Ganoderma Lucidum

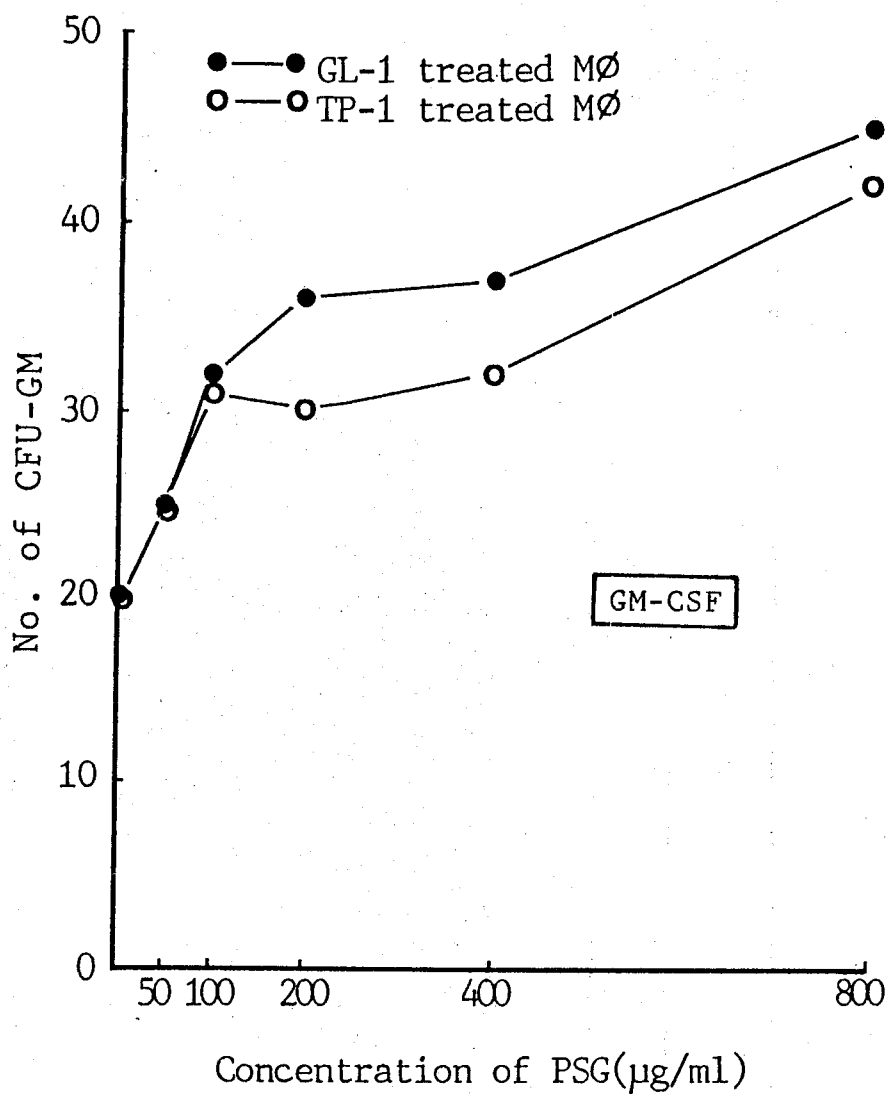


Fig. 2 Effect of PS-G(GL-1 & TP-1) on the Production of Granulocyte-Macrophage(GM)-CSF by Human Macrophage.

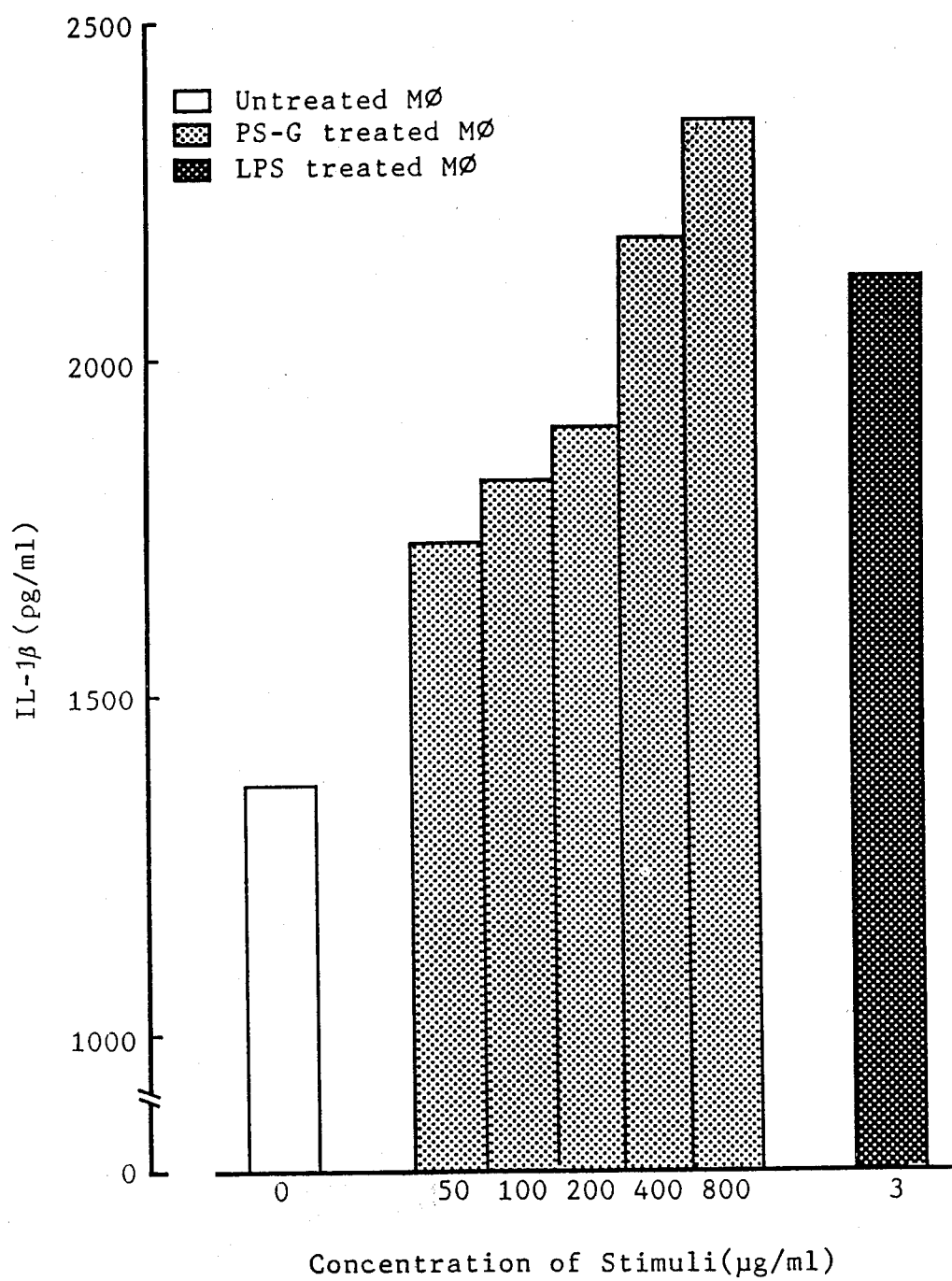


Fig.3 Effect of PS-G on Production of IL-1 $\beta$  by Human Macrophage

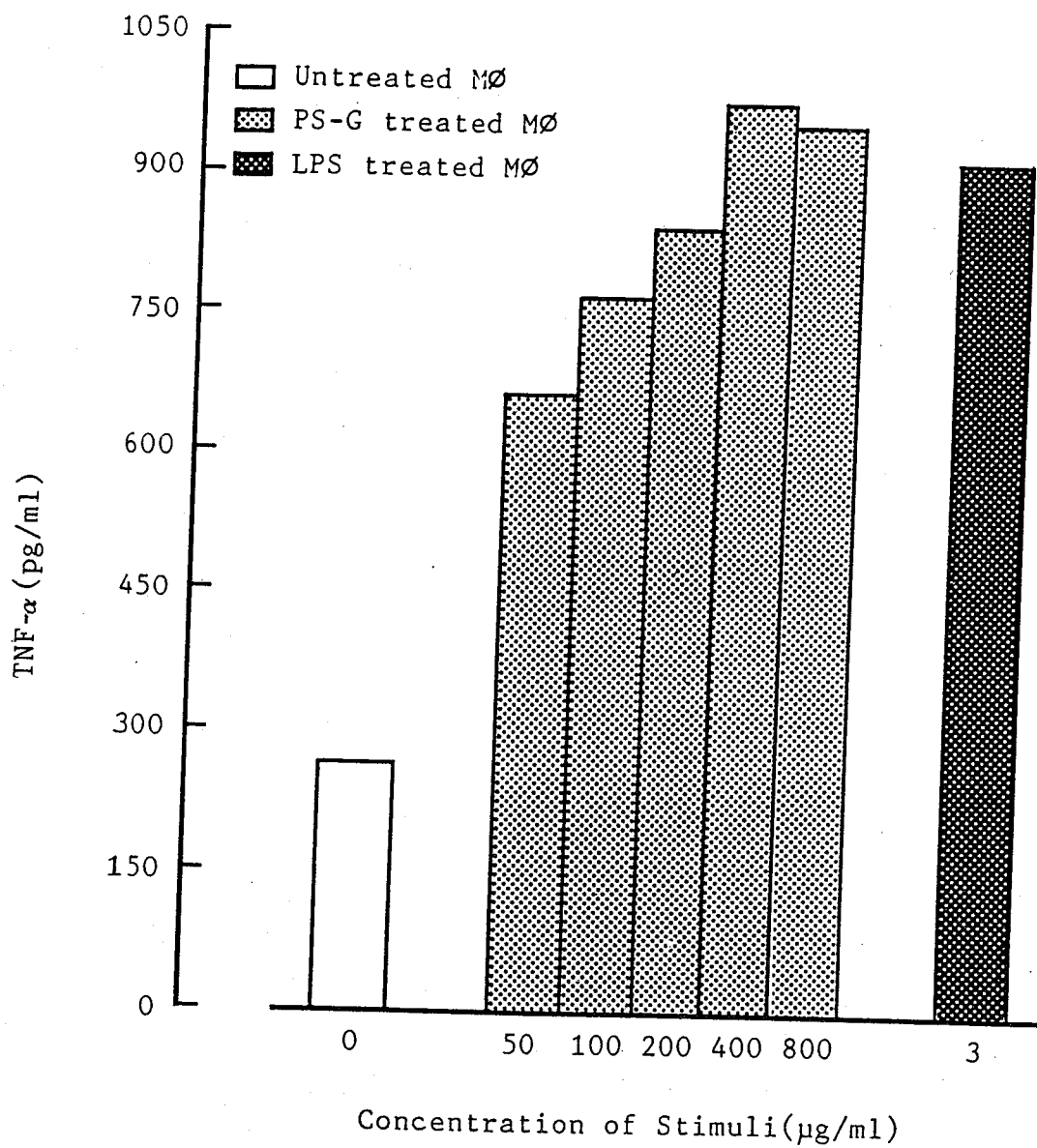


Fig.4 Effect of PS-G on Production of TNF- $\alpha$  by Human Macrophage.



# 評估中藥中有化學預防 肝癌成分之方法(一)

劉宗榮 研究員

台北榮民總醫院 醫學研究部

## 摘 要

中藥是中國傳統文化一部份，有許多中藥材有所謂之「保肝」作用，但缺乏強而有力之藥理學上根據，本計劃就是要針對有潛力之保肝中藥材做一整體性之評估。

第一年我們對梔子中之 Geniposide (去經梔子甘) 做了 in vitro/in vivo 分析，即以強迫餵食不同劑量之 geniposide 後，取肝，發現其有對抗黃麴毒素 B1 的致突變作用，而此抑制黃麴毒素之作用主要是因其抑制了肝微粒體中之 cytochrome P450 氧化酵素，亦即抑制了黃麴毒素之活化，但 geniposide 亦誘發了肝中解毒酵素 (glutathione S-transferase) 之作用，但研究發現此誘發解毒酵素在參與抑制黃麴毒素 B1 之作用上不大。

我們另外亦針對大陸目前對抗肝炎之女兒茶作了分析，先將女兒茶以 50 % 乙醇／水來萃取，而後再 partition 為正己烷，90 % 甲醇／水，正丁醇及水層 4 個部分，而後濃縮，再以 Benzo(a)pyrene (BaP) 誘發之細菌突變做分析，發現以上 4 層均可抑制 BaP 所誘發之突變作用，而且呈劑量關係的抑制作用，且由 90 % 甲醇／水層中分出二個純物質，大黃素及 rhamnositrin。

我們已證明用抑制細菌突變及體內餵食，體外分析之方法可用來篩選

並探討有保肝作用中藥之成份及其作用機轉，並將建立 in vivo 之保肝模式。

## ABSTRACT

Chinese herbal medicine is part of the Chinese culture. Some herbal medicines have been claimed to have so called "hepatoprotective" effects but lacks strong scientific basis. This study is then designed to assess the effects of "hepatoprotective" herbs by a series of in vitro and in vivo studies.

In the first year, we have analyzed 2 different herbs. The first one is Zhi-Zi. We gavaged SD rats with geniposide, the major ingredient of Zhi-Zi, at 10 mg/kg/day. Following 3-day treatment, we sacrificed the rats, prepared hepatic subcellular fractions, and made analysis. Geniposide treatment induced hepatic glutathione S-transferase activity (GST), inhibited ethoxyresourfan O-deethylase (EROD), methoxycoumarin O-deethylase (MOCD) and NADPH cytochrome c reductase activities in rats. By using microsomal pellet and cytosol from geniposide treated rats in the aflatoxin B1-induced *S. typhimurium* TA98 mutagenicity test, we have attributed the protective effect of geniposide to the inhibition of phase I enzyme activities.

We also studied *Rhamnus heterophylla* Oliv., which has been widely used in mainland China to treat hepatitis. We extracted *R. heterophylla* Oliv. with 50% EtOH/H<sub>2</sub>O and then partitioned into n-hexane, 90% MeOH/H<sub>2</sub>O, n-BuOH and H<sub>2</sub>O four fractions. All four fractions inhibited benzo(a)pyrene (BaP)-induced mutagenicity dose-dependently in *S. typhimurium* TA98. The n-hexane and 90% MeOH/H<sub>2</sub>O fractions showed greater inhibition than the other two fractions. We isolated and identified emodin and rhamnocitrin from 90% MeOH/H<sub>2</sub>O fraction. Emodin inhibited BaP-induced mutagenicity in TA98 dose-dependently. This inhibition effect has been linked to its inhibition of arylhydrocarbon hydroxylase (AHH) activity.

Therefore, by using in vitro and in vitro/in vivo studies, we have been able to identifying "hepatoprotective" herbs and studying there underlying "hepatoprotective" mechanisms.

## 1. 前言：

肝病是目前國人最常見之疾病，而且肝炎（化學性、病毒性）及肝癌均無有效之治療藥物。肝癌除了及早發現及手術切除外，其它之療法（化學、免疫）癒後情形均不佳，所以尋找對肝病有效之療藥為一重要之課題。

一般來說對癌細胞有效之藥物對細胞有毒性，換句話說，它有殺死癌細胞之能力，但到目前為止無一藥物對肝癌病人有效。有鑑於新的化學治療癌症藥物開發不易，美國癌症研究院 (NCI) 就從另一角度著手，那就是開發所謂的化學預防癌症藥物 (chemopreventive agents)，此類藥物幾乎全由植物中篩選出，再加以化學修飾而成。其毒性低可長期服用，已在臨床試驗之藥物有維他命 A 酸及 oltipraz 等 (1)。

植物中有許多結構完全不同之成份能抑制化學致癌物之毒性或致癌反應，這作用就被稱為化學抑制作用 (chemoprevention)，此化學抑制作用之原理 (2) 在於：

(甲) 阻止或抑制化學物質引起之突變。這可能是因為細胞之 Phase I 及 Phase II 酵素活性被提高之故。Phase I 酵素（如加 OH 作用）活性之提高會造成致癌物之水溶性增加進而加速排出體外，但有時卻反而會增加原有之毒性。Phase II 酵素活性之升高則會中和化學致癌物所形成之有毒中間產物，因而降低其引起突變之機率。另外 Glutathione (GSH) 之升高亦會有中和毒性之作用。梔子中藏紅酸 (crocetin) 之保肝作用 (3) 及大黃素 (Emodin) 之抗突變作用 (4) 均屬此類。

(乙) 阻止促進 (Promotion) 作用。促進作用是癌細胞經起動 (Initiation) 後長成癌組織之一步驟。有些物質可抑制細胞之增生 (mitogenesis)，如：維他命 A, tamoxifen 等均屬於此類。

(丙) 抑制突變及 Promotion 者兼具 (甲) 及 (乙) 之作用。

中藥在中國傳統醫學上有相當之歷史與價值，而且目前仍被廣泛使用。目前國內一年對中藥及中藥材成品之消費額約 100 億台幣 (5)，可見其受重視之程度。

中藥之使用是一種經驗醫學，較少有系統性及科學化之研究與評估，這是非常不幸與可惜的。基於傳統中藥中，尤其是所謂的保肝藥物，一定有特殊成份其可 (甲) 抑制起動作用 (乙) 抑制促進作用 (丙) 抑制起動及促進作用之成份，所以本計劃就是要以系統性方法找尋並評估具有化學預防肝病 (以上 (甲) (乙) (丙)) 之中藥成份。

## 2. 材料與方法：

### 材料：

女兒茶 (*Rhamnus heterophylla* Oliv.) 生藥及純化之 geniposide 均由陽明醫學院，藥理研究所何禮剛教授提供。實驗中所用之試劑，黃麴毒素 B1, benzo(a)pyrene(BaP) 均由 Sigma (St. Louis) 公司購得，至於所用之所有溶劑則均向德國 Merk 公司購買。

雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 (約 200 g) 購自陽明醫學院動物中心，*Salmonella typhimurium* TA98 菌種則由台灣省農藥毒物試驗所應用毒理系所贈。

### 女兒茶之抽取與純化：

1Kg 女兒茶經洗淨，切片，加入 10 倍 50% 乙醇水溶液浸泡三周，經過濾，濃縮而得 53 g 之粗抽取液。此粗抽出液再依 partition 之方法分為正己烷 (F1)，90% 甲醇 / 水 (F2)，正丁醇 (F3) 及水 (F4) 四部份 (圖一)。F2 再利用 Silica gel 之柱層色層分析法，依極性不同之溶媒梯度沖提出純化物質，再由 TLC 純化，利用 HPLC 測其純度，及 NMR, Mass 作結構鑑定。

### 致突變反應及抑制作用：

依 Ames 等於 1975 年發表之方法 (6) 將致突變劑如 BaP 或黃麴毒素與 *S. typhimurium* TA98 菌液混合，再加入經 Aroclor 1254 處理過之鼠肝 S9，及不同濃度之萃取液，當只有致變劑時，突變菌株在選擇培養基中就生長出來，但如加入中藥萃取液致變劑後無突變菌株生出，則代表此萃取液抑制了黃麴毒素 B1 或 BaP 之致突變作用。

### 微粒體及 cytosol 之分離：

取鼠肝，以下均在 4℃ 下進行，以 1.15% KCl 與之磨碎後，10,000 g 離心 20 分，取上清液再以 100,000 g 離心 1 小時，下面之 pellet 即為微粒體，上清液為 cytosol。微粒體可存於 -70℃ 冰箱，而 cytosol 則需立即使用。

### 酵素活性測定：

微粒體中 cytochrome P450 之量以 Omura 及 Sato 發表之方法測定 (7)，Aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) (8)，Ethoxyresourfan O-deethylase (EROD) (9)，Methoxycoumarin O-deethylase (MOCD) (10)，NADPH Cytochrome C reductase (11)，glutathione S-transferase (12)，則分別以發表之方法測定。

### 3. 結果：

女兒茶分離之流程如圖一所示。90% 甲醇 / 水此部分經繼續純化得到了二個純物質，經 NMR 及 Mass 鑑定出為大黃素 (Emodin) 及 rhamnocitrin，如圖二。

從女兒茶萃取物中，分配出的四個部分均對 BaP 的致突變性有對抗作用，而且呈現劑量關係。其中以正己烷部分具有最強的抑作用，在 150 ug/plate 下，具有 80% 的抑制作用；90% 甲醇 / 水這部分作用次之，在 600 ug/plate 下具有 79% 的抑制作用；而正丁醇及水層這二部分的作用

最小。正丁醇部分在 2000 ug/plate 時，具有 60% 的抑制作用，水層這部分則在 2000 ug/plate 時，具 69.5% 的抑制作用 (Fig. 3)。

由結果發現正己烷及 90% 甲醇 / 水二部分具最強的抑制作用，而其抑制作用是否由於對細菌產生毒性所造成的呢？於是作了這二部分的毒性測試，採用和對抗 BaP 作用相同的劑量下，結果發現並沒有使菌落數明顯減少的情形出現，表示沒有毒性出現，於是可以說這二部分具有的較強抑制作用，並非由於產生細菌毒性造成 (Fig. 4)。

大黃素對 BaP 活性具有很強的抑制作用，在 100 ug/plate 下，具有 80% 的抑制作用，而且在 5, 12.5, 25, 50, 100 ug/plate 下，呈現劑量關係的抑制作用，同樣在相同的劑量下，在毒性測試上並沒有毒性出現，表示大黃素的抑制 BaP 作用，並非由於對細菌產生毒性造成。

大黃素對於碳氫芳香環加水酵素 (AHH) 的活性，具有抑制作用，在 100ug/ml 下，具 54% 的抑制作用 (Fig. 5)。

在梔子之 geniposide 方面，發現餵食 geniposide 水溶液後可有效的抑制鼠肝 cytochrome P450 之量 (圖6)，連續餵食 10mg/kg/day geniposide 三天，所降低 P450 之量較 2mg/kg/day 三天來的大，而且 cytochrome P450-dependent 酵素活性，如 EROD (Ethoxyresourfan O-deethylase), MOCD (methoxycoumarin O-deethylase) 亦隨劑量升高而降低 (圖 7, 8)。另外，NADPH cytochrome C reductase 之活性劑隨劑量之升高而降低 (圖 9)。圖 10 是以餵食 geniposide 10mg/kg/day 連續三天後大鼠之肝微粒體及 cytosol 在體外做抑制突變試驗，發現微粒體抑制黃麴毒素 B1 之作用較 cytosol 來的大。

#### 4. 討論：

由實驗結果發現，女兒茶的粗抽取物及分配出之 4 個部份對 BaP 之

致突變作用均有抑制作用，在沒有達到細菌毒性之劑量下，以正己烷部份的抑制作用最大，90% 甲醇 / 水層部分次之，而正己烷層這部份在 200ug/plate 下，即產生細菌毒性，90% 甲醇 / 水這部分則在 800ug/plate 下才產生細菌毒性。

由 90% 甲醇 / 水分出之大黃素在文獻中有許多報導，由於它是女兒茶中之一主要成份，所以亦對它做了抑制 BaP 突變研究，發現它對 BaP 有強之抑制作用，在 100ug/plate 下有 80% 之抑制作用，此與文獻中所報導者同 (13)。此研究中更發現大黃素在體外可直接抑制活化 BaP 之碳氫芳香環加水酵素 (AHH)，因此可說大黃素抑制了 BaP 之活化，至於抑制此酵素之原因則仍在探討中。

梔子在傳統中藥方劑中常被應用在利膽及保肝上 (21, 22)，geniposide 是梔子中之主成分之一而且亦具有降低  $\alpha$ -naphthylisothiocynate 所引起 SGPT 及 SGOT 升高現象 (23)。1991 年 Wang 等人 (24) 指出，將 geniposide 以 10mg/kg/day 口服給予大白鼠三天，再在腹腔注射黃麴毒素，發現血中 SGPT 及 SGOT 濃度及鼠肝中 AFB 與 DNA adduct 之量均較沒有給予 geniposide 為低；而肝中 GST 之活性在 geniposide 處理後升高，故 Wang 等人認為 geniposide 之保肝作用在於誘發肝中之解毒酵素 GST。

此研究指出 geniposide 口服處理大鼠三天 (10mg/kg/day) 不但能誘發鼠肝中之解毒酵素 GST，更能有效的抑制 cytochrome P450 及需 P450 之氧化酵素活性，如 EROD 及 MOCD。此實驗亦指出 EROD 及 MOCD 活性之降低與 NADPH cytochrome C reductase 活性被抑制有關。

geniposide 抑制了活化致癌物如 AFB<sub>1</sub>，BaP 之 Phase I 酵素 (EROD, MOCD)，但何者在 geniposide 之保肝作用上扮演較重要之角色仍不明，此研究將 geniposide 處理過後之肝微粒體 (含 Phase I 酵素)，及 cytosol (

含 GST 等解毒酵素) 分開做細菌突變實驗, 結果指出 geniposide 所抑制之 Phase I 酵素在抑制致變物上較重要。

## 5. 結論與建議

此研究指出用抑制細菌突變及體內餵食, 再取肝的 subcellular fraction 做分析之方法可用來篩選並探討有保肝作用之中藥及其作用機轉。我們將更進一步進行 in vivo 之保肝模式, 希望可建立一套 in vitro 及 in vivo 之模式, 來找中藥中有保肝作用之藥物。

## REFERENCE

1. Boone, C.W., Kelloff, G.J., and Malone, W.E. Identification of candidate cancer chemopreventive agents and their evaluation in animal models and human clinical trials: a review. *Cancer Res* 50:2-9, 1990
2. Wattenberg, L.W. Chemoprevention of cancer. *Cancer Res* 45:1-8, 1985
3. Wang, C.J., Shiow, S.J., and Lin, J.K. Effects of crocetin on the hepatotoxicity and hepatic DNA binding of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *Carcinogenesis* 12:459-62, 1991
4. Lee, W, and Tsai, S.J. Antimutagenicity of emodin against cooked-food mutagens. presented at the Sixth Joint Annual Conference of Biomedical Sciences (1991), Taipei, Taiwan, Republic of China.
5. Lee, L.Z. Perspective of herbal research in Taiwan. *Modern Engineering and Technology Seminal 1990*, Vol VII Chemical Engineering and Biotechnology Session, pp 37-44.
6. Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res* 31:347-64, 1975
7. Omura, T., and Sato, R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol Chem* 239:2370-78, 1964
8. Dehnen, W., Tomingas, R., and Roos, J. A modified method for the assay of benzo(a)pyrene hydroxylase. *Anal Biochem* 53:373-83, 1973
9. Pohl, R.J., and Fouts, J.R. A rapid method for assaying the metabolism of 7-ethoxyresorufin by microsomal subcellular fractions. *Anal Biochem* 107:150-55, 1980

10. Reen, R.K., Ramakanth, S., Wiebel, F.J., Jain, M.P., and Singh, J. Dealkylation of 7-methoxycoumarin as assay for measuring constitutive and phenobarbital-inducible cytochrome P450s. *Anal Biochem* 194:243-249, 1991
11. Phillips, A.H., and Langdon, R.G. Hepatic triphosphopyridine nucleotide-cytochrome c reductase: isolation, characterization, and kinetic studies. *J Biol Chem* 237:2652-60, 1962
12. Habig, W.H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B., Glutathione S transferase. *J Biochem Chem* 249: 7130-7139, 1974
20. Lee, H., and Tsai, S.J. Effect of emodin on cooked-food mutagen activation. *Food Chem Toxicol* 29:765-770, 1991
21. Takeda, S., Endo, T., and Aburada, M. Pharmacological studies on iridoid compounds. III. The choleric mechanism of iridoid compounds. *J Pharm Dyn* 4:612-623, 1981
22. Cheng, Y.Y., Chan, Y.S., Choang, K.F., and Chang, H.M. Active principle in a capillaries compound in the treatment on experimental acute jaundice in rats. *Chung Hsi I Cheih HoTsa Chih* 5:365-360, 1985
23. Chen, Y.Y., Chan, Y.S., Choang, K.F., and Chang, H.M. Effect of geniposide on acute jaundice in rat caused by ANIT poisoning. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 7:69-72, 1986
24. Wang, C.J., Wang, S.W., and Lin, J.K. Suppressive effect of geniposide on the hepatotoxicity and hepatic DNA binding of aflatoxin B1 in rats. *Cancer Lett* 60:95-102, 1991

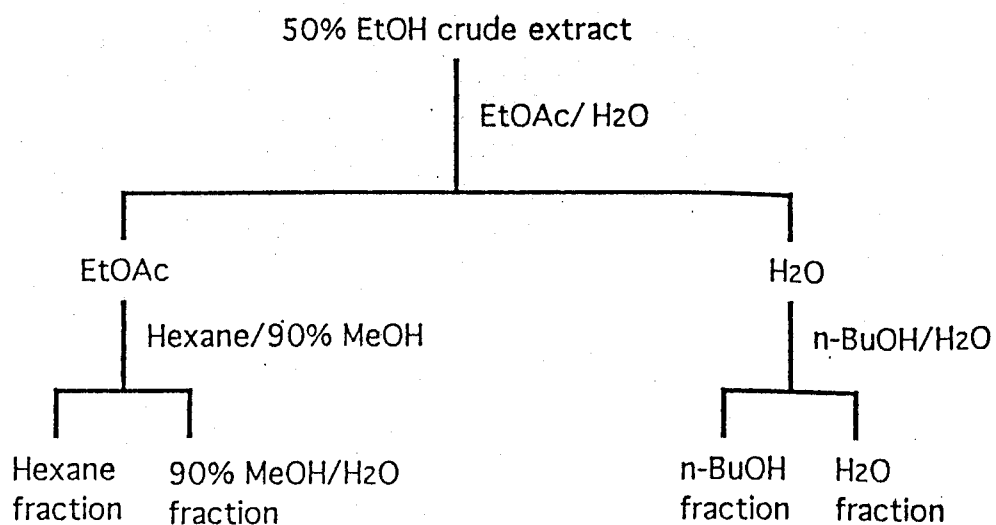


Fig. 1 Isolation procedure for constituents from stem of *Rhamnus heterophylla* Oliv.

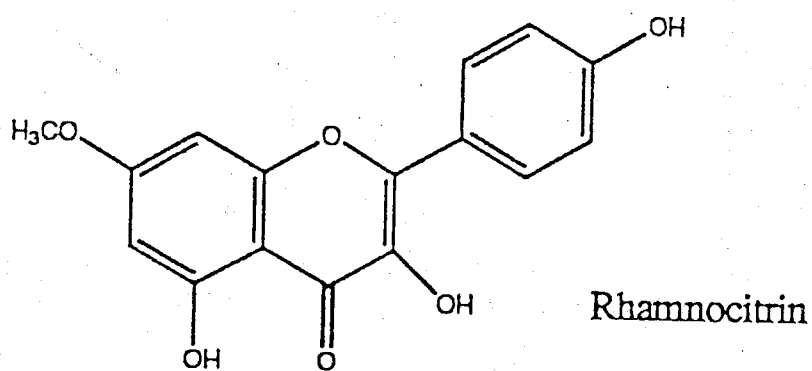
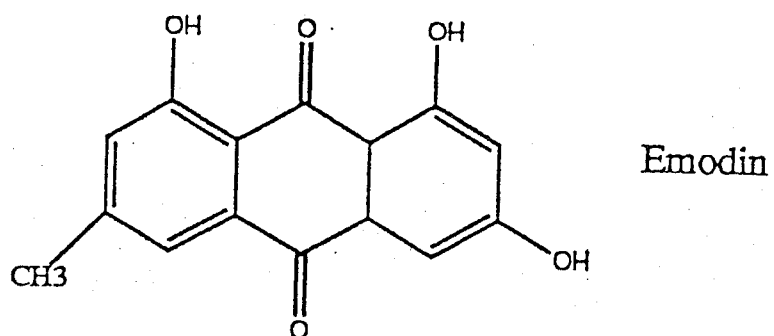


Fig. 2 Structures of emodin and rhamnocitrin.

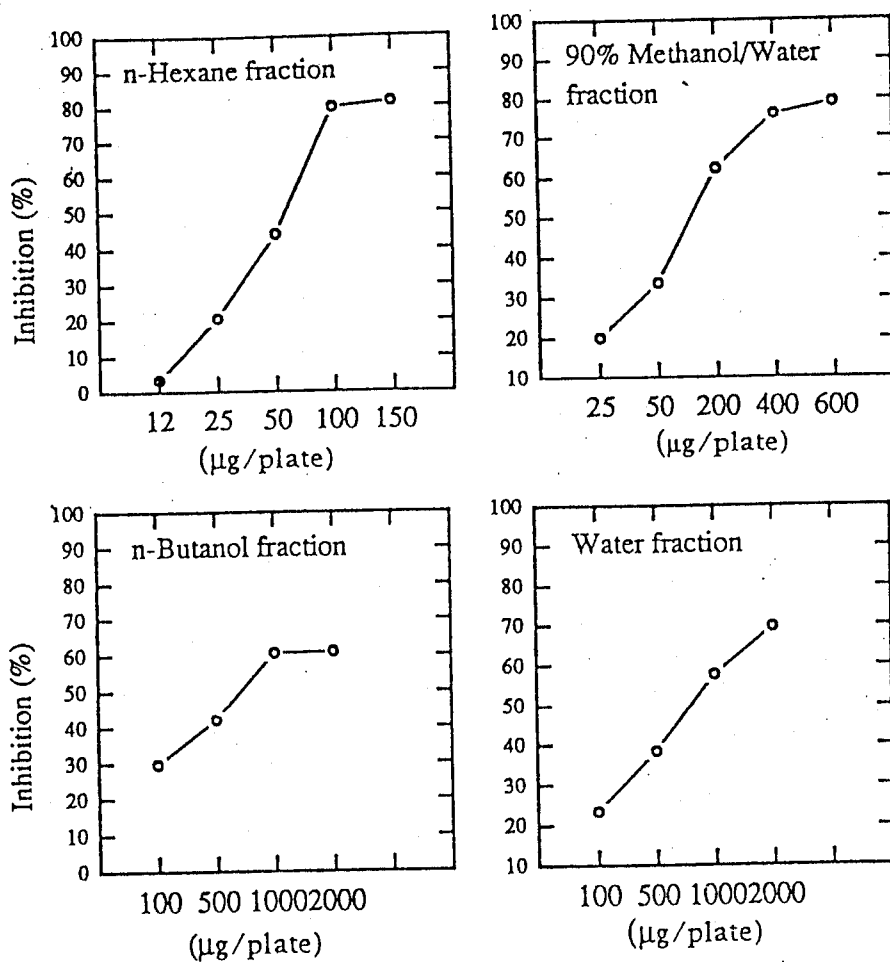


Fig. 3 Inhibition of four fractions of *Rhamnus heterophylla oliv* on the mutagenic activity of BaP in TA98. BaP =  $5\mu\text{g/plate}$ .

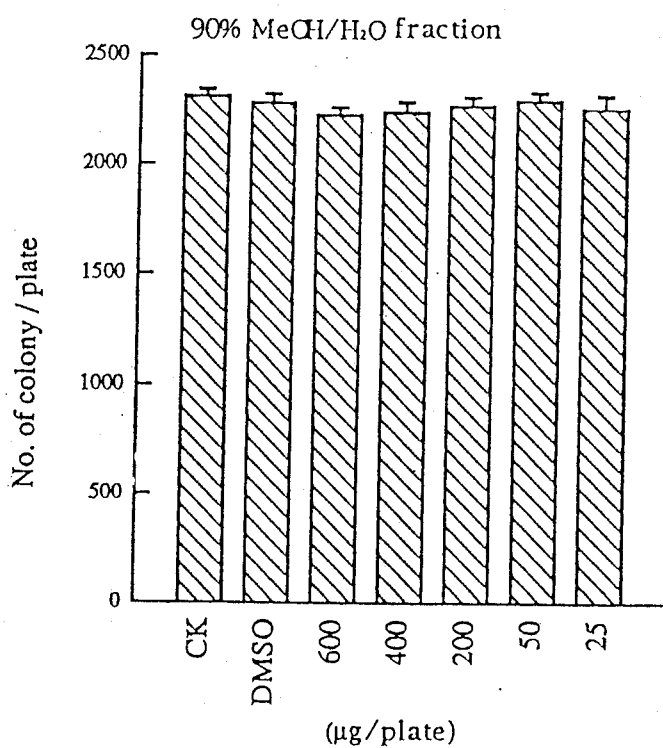
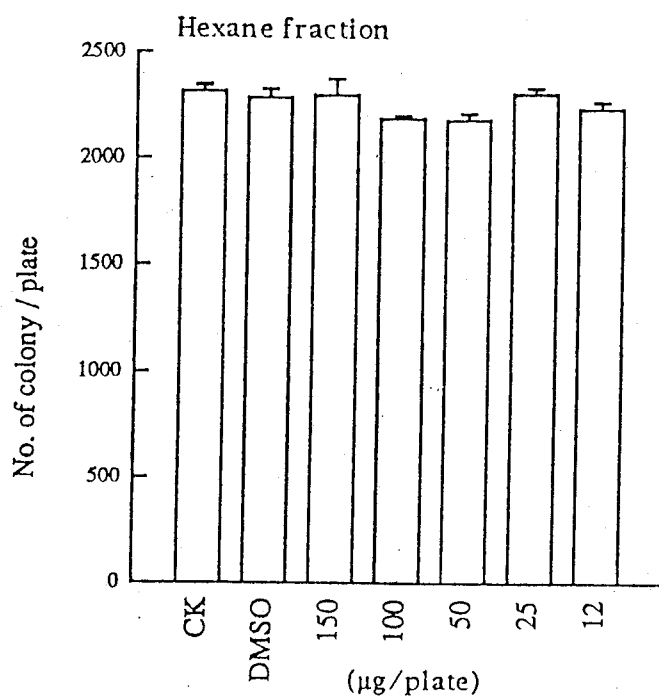


Fig. 4 The results of toxicity test of n-hexane and 90% MeOH/water fractions.

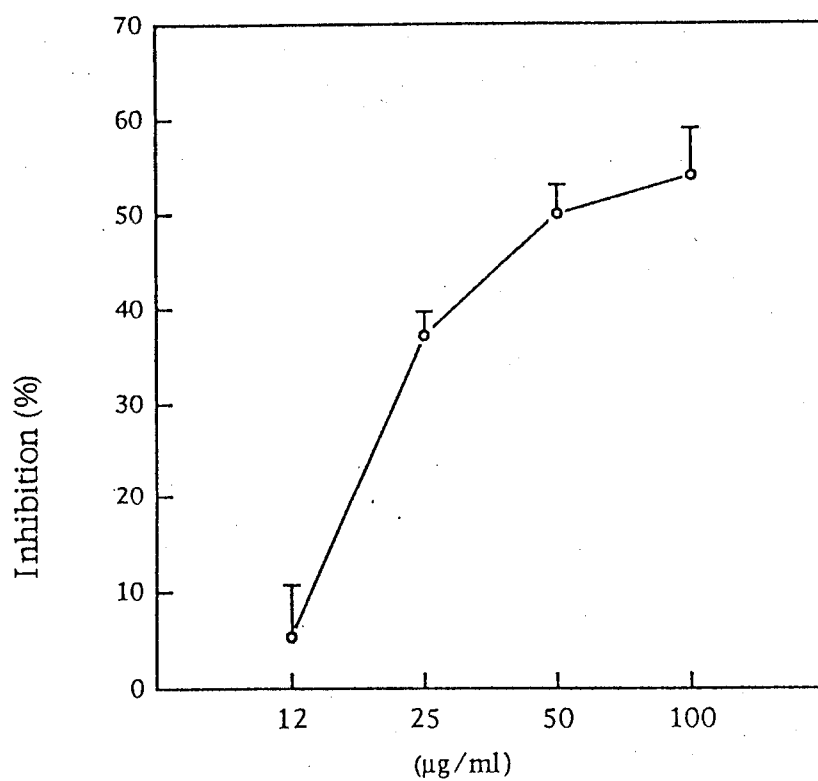


Fig. 5 Inhibition of emodin on the aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) activity.

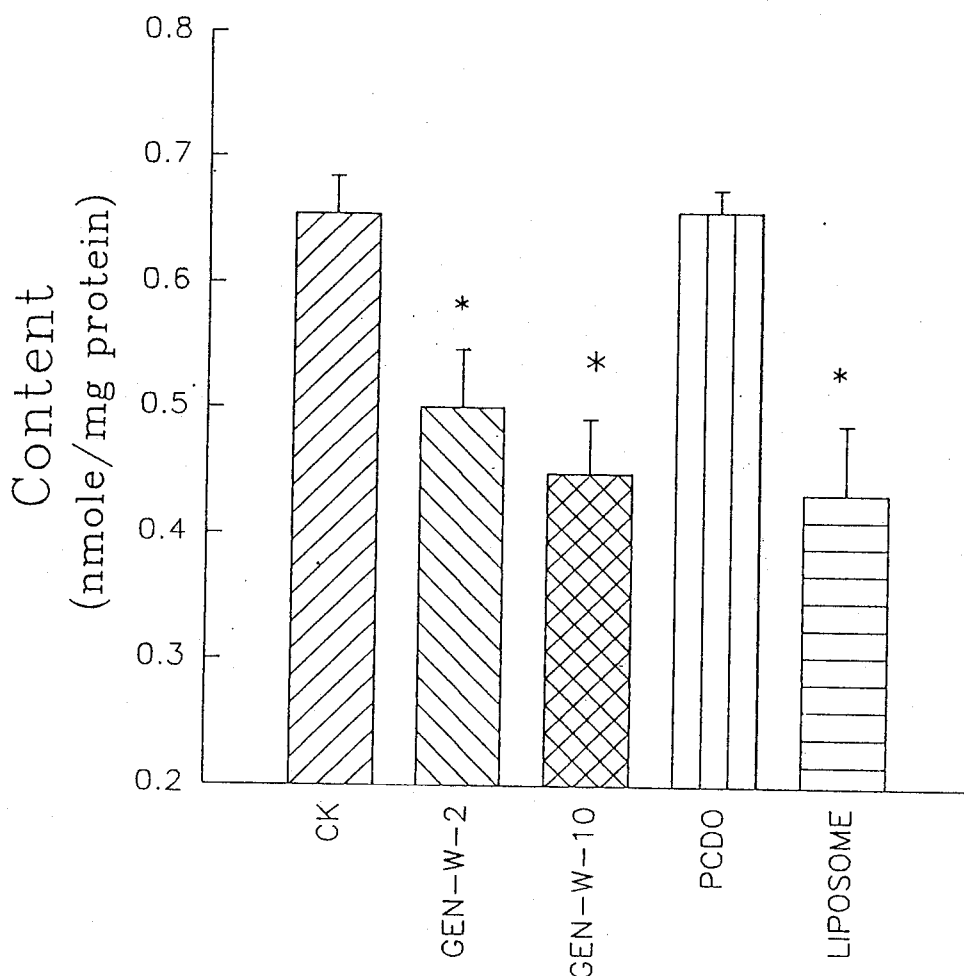


Fig.6 Effect of geniposide and lipid-form geniposide on cytochrome P450 content.

Value are mean  $\pm$  S.E. n=4

CK: control group

PCDO: PCDO(4mg/kg/day)

GEN-W-2: geniposide(2mg/kg/day, water)

GEN-W-10: geniposide(10mg/kg/day, water)

LIPOSOME: geniposide(2mg/kg/day, PCDO)

\*: compared with CK,  $p < 0.05$

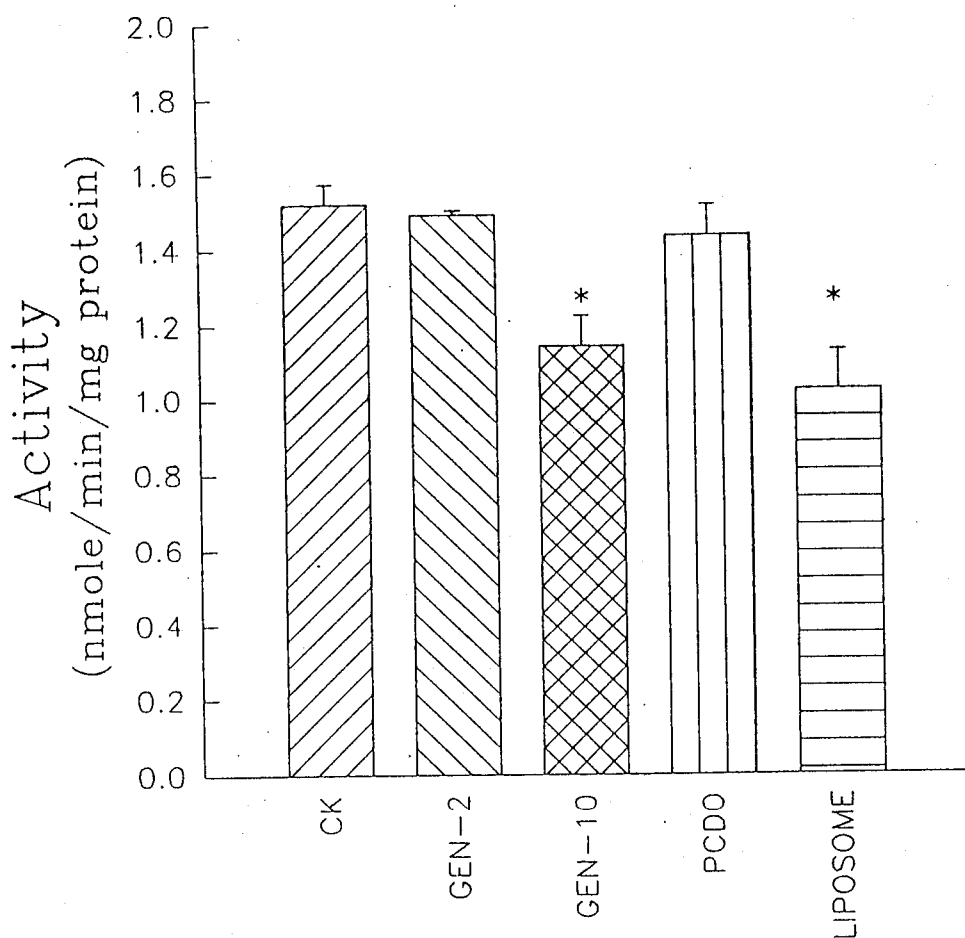


Fig.7 Effect of geniposide or lipid-form geniposide on hepatic EROD activity in rats.

mean  $\pm$  S.E. n=4

CK: control group n=4

GEN-2: geniposide, 2mg/kg, po

GEN-10: geniposide, 10mg/kg, po

PCDO: PCDO, 4mg/kg, po

LIPOSOME: geniposide(2mg/kg)+  
PCDO(4mg/kg), po

\*: compared with CK, p<0.05

\*\*: compared with CK p<0.01

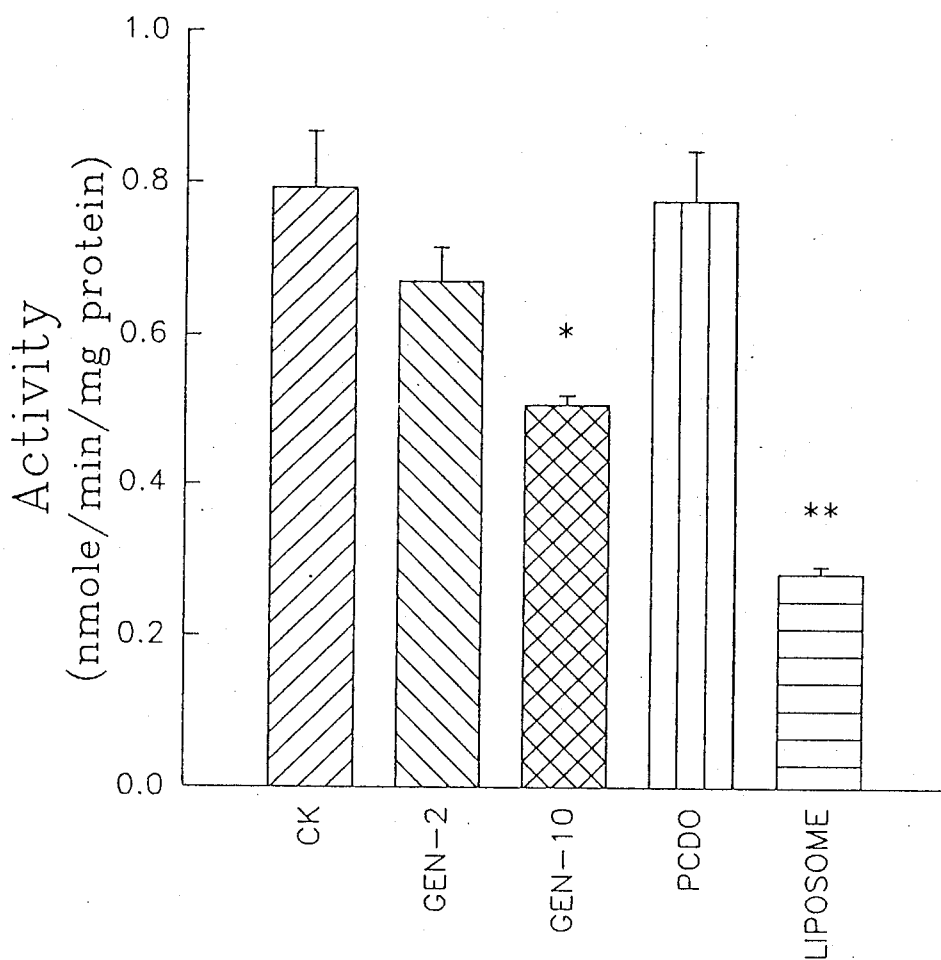


Fig. 8 Effect of geniposide or lipid-form geniposide on hepatic MOCD activity in rats.

mean  $\pm$  S.E. n=4

CK: control group n=4

GEN-2: geniposide, 2mg/kg, po

GEN-10: geniposide, 10mg/kg, po

PCDO: PCDO, 4mg/kg, po

LIPOSOME: geniposide(2mg/kg)+  
PCDO(4mg/kg), po

\*: compared with CK,  $p < 0.05$

\*\*: compared with CK,  $p < 0.01$

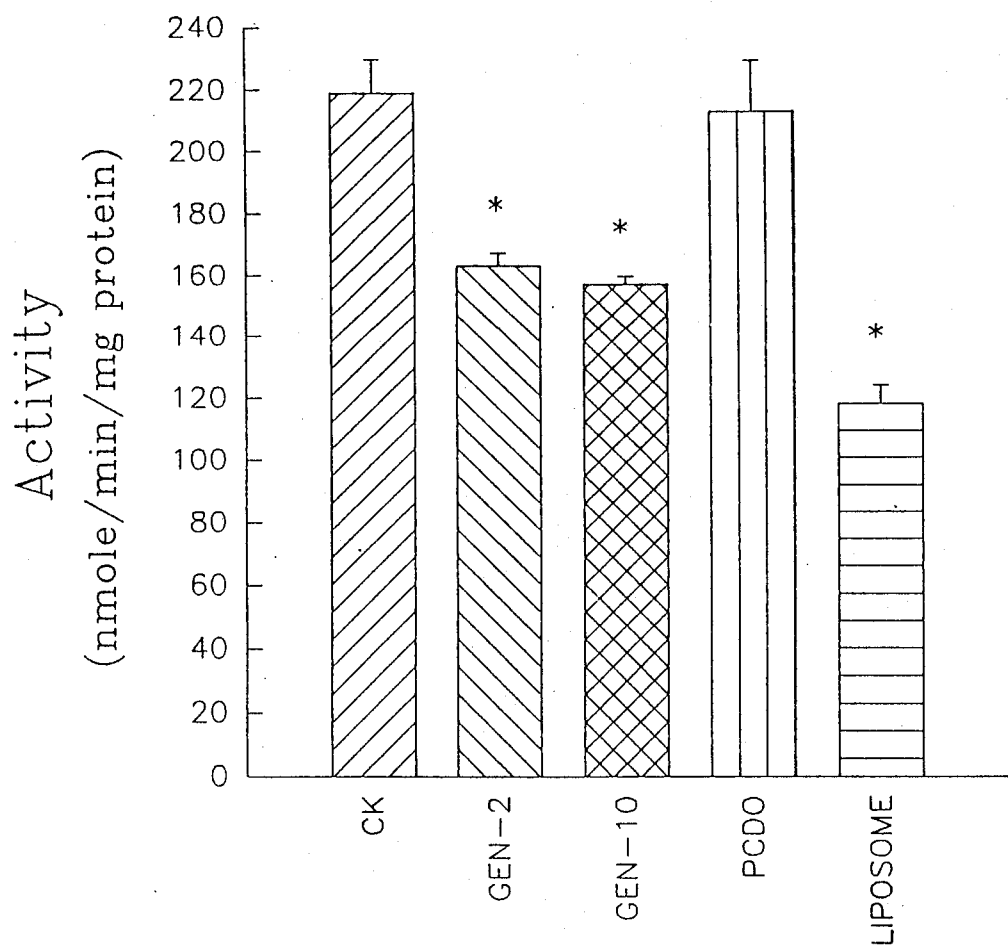


Fig. 9 Effect of geniposide or lipid-form geniposide on hepatic cytochrome c reductase activity in rats.

mean  $\pm$  S.E. n=4

CK: control group n=4

GEN-2: geniposide, 2mg/kg, po.

GEN-10: geniposide, 10mg/kg, po

PCDO: PCDO, 8mg/kg, po

LIPOSOME: geniposide(2mg/kg)+  
PCDO(8mg/kg), po

\*: compared with CK,  $p < 0.05$

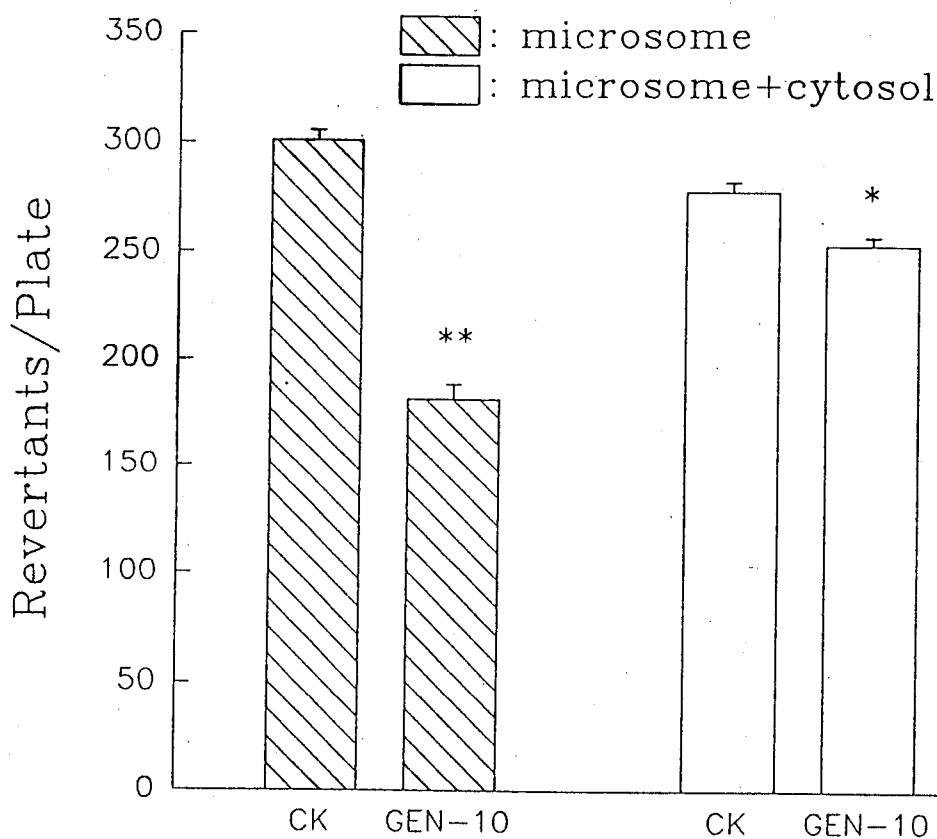


Fig.10 Effect of geniposide pretreatment on mutation AFB<sub>1</sub>(2.5 $\mu$ g/plate) in hepatic microsome or microsome with cytosol.

CK: control group

GEN-10: geniposide(10mg/kg/day, water)

microsome: 2mg, cytosome: 2mg

\*: compared with CK group(□),  $p < 0.05$

\*\* : compared with CK group(▨),  $p < 0.01$

n=4



# 中藥對 HIV-1 抑制效應之研究(一)

張嘉文<sup>1</sup>，涂鳳麟<sup>2</sup>，林榮耀<sup>1</sup>

1. 國立台灣大學醫學院生化所

2. 私立台北醫學院藥學所

## 摘 要

從綠茶—鐵觀音中分離萃取出四個 polyphenolic catechins，分別是 epicatechin[1]，epigallocatechin[2]，epicatechin-3-O-gallate [3] 和 epigallocatechin-3-O-gallate[4]。由本實驗室所建立的抗人類免疫不全病毒反轉錄酶 (Human Immuno-deficiency Virus Reverse Transcriptase, HIV-RT) 藥物篩選系統中證實為新的抑制劑。化合物 [2]、[3]、[4] 抑制 50 % (50% inhibition) 酵素活性所需要的濃度分別為  $7.5 \mu\text{M}$ 、 $0.58 \mu\text{M}$ 、 $0.67 \mu\text{M}$ 。由結構上來探討 polyphenolic catechins 得知，在第三個位置上的 galloyl group 為抑制 HIV RT 活性所必需的。進而由酵素動力學分析這些抑制劑，發現對模板—引子 (template-primer, (rA)n(dT)12-18) 呈現競爭性 (competitive) 的抑制作用；對另一受質 dTTP 則為非競爭性 (noncompetitive) 的抑制作用。

# 中文提要

為大量篩選具抗反轉錄病毒之反轉錄酶效力的中藥萃取物，本研究建立一個以Mo-MuLV及AMV反轉錄酶活性為指標的活體外(*in vitro*)評估系統。

本研究以此評估系統共計篩選100種中藥萃取物。結果經篩選性定性分析，其中62種中藥萃取物在藥物濃度每毫升30微克有50%以上反轉錄酶抑制效力，經定量分析其7種中藥萃取物之I.D.<sub>50</sub>在每毫升0.2微克以下，29種中藥萃取物之I.D.<sub>50</sub>在每毫升3微克以下，26種中藥萃取物之I.D.<sub>50</sub>在每毫升20微克以下。

經由中藥萃取物抗反轉錄酶成份之單離及分析，可知中藥萃取物之類黃酮成份可能為抗反轉錄酶有效成份之一。

## SUMMARY

A simple, rapid and efficient method was developed to screen and quantify the extracts from Chinese medical herbs with anti-reverse transcriptase activity by determining their potencies in suppressing avian myeloblastosis virus (AMV) and Moloney murine leukemia virus (Mo-MuLV) reverse transcriptase as an indicator.

One hundred extracts from various kinds of herbs were screened by this *in vitro* system. By screening analysis at the concentration 30  $\mu\text{g/ml}$  of herbal extracts, sixty-two of them were found to have more the 50% supression potency. The supression potency of sixty-two extracts were quantified further. The remaining thirty-eight extracts had little or no effects.

We conclude that AMV and Mo-MuLV reverse transcriptase assay could serve as an in vitro system for screening and quantifying anti-reverse transcriptase herbal extracts.

## 縮 寫

1. AMV : Avian myeloblastosis virus
2. AIDS : Acquired immune deficiency syndrome
3. AZT : Azidothymidine [3'-Azido-3'-deoxythymidine]
4. BSA : Bovine serum albumin
5.  $^3\text{H}$ -dGTP : Deoxy [8- $^3\text{H}$ ] guanosine 5'-triphosphate
6. DEPC : Diethyl pyrocarbonate
7. DMSO : Dimethyl sulfoxide
8. DNAP I : DNA polymerase I
9. DTT : Dithiothreitol
10. EDTA : Ethylene diaminetetraacetic acid
11. HIV : Human immunodeficiency virus
12. Mo-MuLV : Moloney murine leukemia virus
13. POPOP : 1.4-Bis [2-(5-phenyl)oxazolyl]-benzene
14. PPO : 2.5-Diphenyl oxazole
15. RNasin : Ribonuclease inhibitor
16. R.T. : Reverse transcriptase
17.  $^3\text{H}$ -TTP : Thymidine-5'-triphosphate [methyl- $^3\text{H}$ ]

## 緒言

自從1910年羅斯Peyton Rous第一次以實驗顯示病毒可以引發雞的肉瘤[1]以來，病毒在人類癌症中所扮演的角色一直被高度的懷疑及爭論著。直到1960年代，Epstein-Barr virus (EBV) 被發現與Burkitt氏腫瘤有關[2,3]，病毒在人類癌症中的可能作用才又重新被重視。此種趨勢直到1981年左右，另一種人類癌症，即日本九州四國主要流行的成人T細胞白血病/淋巴瘤(adult T-cell/leukemia/lymphoma, ATL)被發現與人類T細胞白血病病毒第I型(human T-cell leukemia virus type I, HTLV-I)有關後[4,5]，病毒在人類癌症中的角色才被逐漸肯定。至於人類病毒致癌的機轉，目前分子生物學界則正熱烈研究中，其可能機轉包括(1)介入性突變(insertional mutagenesis)，(2)病毒所攜帶致病基因(oncogene)或細胞致癌基因的活化，以及(3)病毒或其它內在及外在因素所引發的細胞生長因子如白血球間素II型(interleukin-II, IL-2)及其受體(IL-2R)基因的表現等(6)。

在1980年代的相同時間內，幾種人類腫瘤如肝細胞癌及子宮頸瘤，也被發現分別與B型肝炎病毒(hepatitis B virus; HBV)[7,8]及人類乳頭瘤病毒(human papilloma virus; HPV)[9]密切相關，另一種與人類免疫功能不全病毒(human immunodeficiency virus; HIV)有關而在全世界流行有「現代黑死病」之稱的愛滋病(acquired immunodeficiency syndrome ; AIDS)則更受到高度的注意及研究。

引起愛滋病的致病體，是一種能侵襲人體的反轉錄病毒(human retrovirus)，病毒首先由法國巴斯德研究中心(Pasteur institute)Montagnier博士分離純化出來。他們命名為LAV病毒(lymphadenopathy associated virus)，幾個月後，在美國國家醫學研究院((NIH)的Robert Gallo博士也在科學雜誌上發表，他們也分離出了愛

滋病毒，他們最初以為與引起人類T細胞的血癌病毒(human T-cell leukemia virus; HTLV-I)有關，因此命名為HTLV-III virus，但是最後証明此病毒與白血病患者過多的血癌無關，因此再更正名為human T-cell lymphotropic virus，縮寫仍為HTLV。大約在此同時，在舊金山加大醫學院，Jay Levy博士也由愛滋病人身上分離純化此種病毒，他命名為愛滋病有關的病毒ARV(AIDS-associated retrovirus)。基本上到目前，公認LAV, HTLV, ARV 都屬同類，基本結構相同的病毒。尤其LAV/HTLV-III 幾乎分子結構上完全一樣[10]，1986年愛滋病毒統一名稱，改為HIV 病毒(human immunodeficiency virus)。

愛滋病毒的分子結構，基本上兩端有終端重覆結構，縮寫為LTR結構(long terminal repeat structure)，接著有病毒核心結構(long open reading frames encoding gag, viral core structure)，接下來是病毒酵素群結構pol區，這包括複製病毒的反轉錄酶(reverse transcriptase; RT)和其他與病毒結構與功能有關的複製酵素(virion RNA-dependent DNA polymerase, ribonuclease, protease 等)。再下面是第一個開複製區(open reading frame 1)，然後是複製病毒表面抗原結構區(viral envelopes)緊接著是第二個開複製區(open reading frame 2)，最後接著是長終端重覆結構區(Long terminal repeat structure)。TRS和TAT區與病毒複製和調整(regulatory)的控制有關。

愛滋病毒pol 區的核酸，主要複製病毒如htlv-i 病毒，Mo-MuLV 病毒(moloney murine leukemia virus)，RSV(rous sarcoma virus)[11]最相似，知此區域能複製愛滋病毒的反轉錄酶(reverse transcriptase)，na endonuclease 及protease 等。

在治療愛滋病方面，一般而言集中在三個方面

首先，也是最常見的治療方法，用藥物來治療愛滋病患所引起的各種

因免疫系統失調後，造成各種發炎感染，這種機會感染(opportunistic infections)是造成愛滋病人最後死亡的主因。第二類治療的努力方向，辦法來重建病人受損的免疫功能，這方面的實驗治療方法，包括病人接受骨髓移植，或用能刺激免疫功能的物質，來刺激免疫包系統的功能(immunomodulating substances)，這類物質如人體干擾素interferon到化學刺激物藥物(isoprinosine)等，到目前為止，還沒有任何一種方法，使受破壞免疫系統復元。第三方面，是針對反病毒本身來治療(antiviral therapy)，由於反轉錄病毒的致病機轉與其複製過程息息相關，因此抑制病毒的複製過程，使其在人體內消滅，是以抗病毒治療(Antiviral therapy)之新藥主要策略[12]。其中由於反轉錄作用(Reverse transcription)是反轉錄病毒獨一無二的特徵，因此大多數的研究在於開發新的反轉錄酶抑制劑[13]。HIV病毒之反轉錄酶的抑制劑已有許多報告，如HPA-23[14]，Suramin[15]，AZT[16]及2,3-dideoxy Cytosine[17]等，其中HPA-23，Suramin，AZT已應用於臨床的治療。而AZT是目前為止最令人振奮的新藥，在临床上可減緩早期AIDS相關綜合症(AIDS-Related Complex，簡稱ARC)病狀的進行，尤其對於AIDS早期症狀(如中度T淋巴球數目減少和口腔感染)之病患尤其療效。但此藥不能根治愛滋病，且副作用不小，包括嚴重的貧血，頭痛，嘔吐，疲勞暈沉等；另報告指出若長期使用會使HIV病毒減低對AZT的敏感性(Sensitivity)[18]。因此，針對HIV病毒反轉錄酶之抑制作用所開發的特效藥仍有發展的潛力。

中藥及民間藥對病毒感染引起之諸多症狀的治療能有所助益，已是不爭的事實。而以化學療法的觀點，發展並研究出中藥及民間藥的有效成份，以供临床上抗發炎，抗過敏，抗突變及抗病毒之應用，在近年來受到廣泛注意。目前多種中藥已被確認具抗發炎[19-21]，抗過敏[22,23]，抗突變[24,25]及抗病毒[26-30]活性，而其中有關活性之有效成份，部份已被

單離並經分析鑑定。而其中抗病毒之一有效成份為類黃酮(flavonoid),如 quercetin[26]具抗單純皰疹病毒(herpes simplex virus type 1; HSV-1),副流行感冒病毒(parainfluenza virus type 3; Pf-3)及 sindbis virus 活性;如 morin[27]具抗 herpesvirus-suis 活性;如 dihydroquercetin 及 dihydrofisetin[28]具抗 HSV-1, herpesvirus-suis 活性;如 quercetin, morin, leteolin 及 fisetin[29]具抗假性狂犬病病毒(pseudorabies virus)活性;如 quercetin, naringin, hesperetin 及 catechin[30]具抗 HIV-1, 脊髓灰質炎病毒(poliovirus type 1), Pf-3 及呼吸性融合細胞病毒(respiratory syncytial virus; RSV)活性。中藥及民間藥所含之抗病毒(包括 DNA 及 RNA 病毒)有效成份之作用機制,為有效地抑制病毒之感染活性或複製活性。

目前,有關中藥及民間藥抗 HIV 的研究尚在起步階段,1988 年 Chang[31]等,以 27 種中藥萃取物從事抑制 H9 細胞株被 HIV 感染之研究,發現其中 11 種 (*Prunella vulgaris*, *Lithospermum erythrorhizon*, *Alternanthera philoeroides*, *Arctium lappa* L, *Epimedium grandiflorum*, *Lonicera japonica*, *Woodwardia unigemmata*, *Viola yedoensis*, *Andrographis paniculata*, *Coptis chinensis*) 有顯著效應,其中 *Viola yedoensis* 其有效成份經單離[32],並經 NMR 及 IR 光譜分析,推測為分子 10,000-15,000 之磺基多醣聚體(sulphonated carbohydrate polymer)。

因為 HIV 基因組 pol 區與 Mo-MuLV, AMV 基因組 pol 區極為相似,已知 pol 區主要複製病毒功能有關之酵素蛋白質,如反轉錄酶,故可推 Mo-MuLV, 之反轉錄酶不僅與 HIV 都具以 RNA 為模板複製 DNA 能力(RNA-directed DNA polymerase),其結構也一定極為相似。鑑於國內有關以活的 HIV 病毒感染 H9 細胞株分析抗 HIV 活性之系統尚未建立,故本實驗擬收集中藥及民間藥

以傳統水煮法或有機溶劑法萃取出抗反轉錄酶物質並以Mo-MuLV反轉錄系統以poly r(A)<sub>n</sub>-(dT)<sub>12-18</sub> 為模板-引子, <sup>3</sup>H-TTP為標示之核苷酸, 以poly r(C)<sub>n</sub>-(dG)<sub>12-18</sub> 為模板-引子, <sup>3</sup>H-dGTP為標示之核苷酸等二種方式進行分析, 經分析具強而有效的抗反轉錄酶活性之中藥及民間藥, 將以薄層液相層析(thin layer chromatography), 液相管柱層析及高壓液相層析(HPLC), 配合抗反轉錄酶活性之指標, 而加以單離, 純化並分析鑑定其結構。此外, 將向國內中藥研究學者收集中藥及民間藥已經單離, 純化, 並已鑑定結構成份加以分析其抗反轉錄酶活性, 希望能抑制HIV的感染與複製。

## 材料

- (一) poly r(A)<sub>n</sub>-(dT)<sub>12-18</sub>, poly r(C)<sub>n</sub>-(dG)<sub>12-18</sub>, unlabeled nucleoside triphosphate購自Boehringer Mannheim公司。
- (二) <sup>3</sup>H-TTP購自Amersham公司。
- (三) Mo-MuLV reverse transcriptase, nuclease-free BSA購自BRL公司。
- (四) POPOP, PPO購自New England Nuclear公司。
- (五) Acetone, benzene, chloroform, DMSO, DTT, EDTA, ethylene acetate, ethylene formate, ethanol, formic acid, Folin-Ciocalteu reagent, methanol, toluene, Triton X-100購自Merck公司。

## 方法

### 一. 中藥及民間藥有效成份之萃取[33]:

中藥及民間藥材如表一，分別採自田間的藥用植物或購自各地的藥材市，經專家鑑定後才進行處理。各藥材經洗滌，陰乾後，各稱取100-200克，切碎放入圓底燒瓶中，分別以水或有機溶劑如50%酒精，80%丙酮，甲醇或乙醚於70°C水浴中迴流6小時，萃取液趁熱過濾並保存之。重覆迴流步驟共四次，並合併四次經過濾之萃取液，進行減壓濃，待去除有機溶劑則冷凍乾燥，而存放於-20°C冰櫃中以備分析用。

### 二. 容器之處理[34]:

本實驗以反轉錄系統進行分析，需以RNA當模板，操作之容器先去除核糖核酸酶(RNase)，故操作所有的容器如Eppendorf試管，管套等，需先經過0.1%焦碳酸二乙酯(Diethyl pyrocarbonate)於室溫下處理一天，然後經高壓蒸氣鍋於121°C高溫及高壓下處理30分鐘，烘乾後備用。

### 三. Mo-MuLV反轉錄酶活性分析方法:

根據Ono et al.[36]與Lindell et al.[37]的方法，反應混合液包括1微升500微克/毫升之模板-引子混合物3微升1mM dTTP，1微升500uCi/毫升之<sup>3</sup>H-dTTP及2微升溶100% DMSO之待分析之中藥及民間藥單離成份，以緩衝溶液(50mM Tris-HCl, pH8.3, 75mM KCl, 3mM MgCl, 10mM DTT)調整體積至25微升;最後加入5微升2 units/微升的Mo-MuLV反轉錄酶，混合均勻後，於37°C下反應30分鐘，而後加入5微升0.4M EDTA以終止反應。以Eppendorf離心機(Model 5414)離心30秒鐘，而後等量(20微升)取出，點在DEAE cellulose濾紙，(Whatman DE-81, 23mm)上，先以5%磷酸氫鈉沖6次，再以水和95%酒精各沖洗2次;待濾紙乾燥之後，將濾紙置於液體閃爍計數

器(Packard model 2200 CA, Tri-carb Liquid Scintillation Counter)測定 $^3\text{H}$ 之放射性強度。

反轉錄酶活性被抑制百分比以下列公式計算：

$$\text{R.T.I.}(\%) = (1 - \text{S-B/C-B}) * 100\%$$

R.T.I.(%)：反轉錄酶活性之抑制百分比(Percent of inhibition of reverse transcriptase activity)

S-B/C-B : 殘存之反轉錄酶活性(Residual reverse transcriptase activity)

S: 實驗組(加藥處理)之放射強度

C: 控制組(未加藥處理)之放射強度

B: 空白組(未加反轉錄酶者)之放射強度

控制能力的強弱以 $\text{IC}_{50}$ (50% inhibition concentration)表示,  $\text{IC}_{50}$ 之定義: 抑制50%反轉錄酶活性所需之中藥單離成份的濃度。

## 結果：

### 中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性分析

#### (A) 篩選性定性分析

本實驗以篩選性定性分析共分析100種中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性, 其中47種中藥及民間藥萃取物, 在30微升反應混合物中, 其萃取物1微克之反轉錄酶抑制活性高於50%, 即47種中藥及民間藥萃取物中有抗反轉錄酶活性之有效成份。

## (B) 定量分析

經篩選性定性分析出含有抗反轉錄酶活性的47種中藥及民間藥萃取物，我們進一步進行定量分析，首先以30微升反應混合物中含1,000, 100, 10及1毫微克之萃取物進行分析，結果如表二所示，烏白，仙鶴草，紫花羊蹄甲，雞血藤，北茵陳，地錦及風不動等七種中藥萃取物，即使在30微升反應混合物中萃取物的量低至10毫微克仍有50%以上之Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性。如表三所示，蒲桃，蒲桃枝，王不留行，番瀉葉，康復力，葉下珠，貫眾，何首烏，大本山葡萄根，大本山葡萄葉及大葉合歡莖等11種中藥萃取物在30微升反應混合物中萃取物的量為10毫微克時，仍有20-49%之Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性。如表四所示，蒲桃枝，基隆山葡萄莖，續隨子，小金英(水)，小山葡萄，絲瓜絡，穿山龍，小金英(酒精)，敗醬草，大本山葡萄根(酒精)，大本山葡萄莖，紅蘇木，風不動，六月雪，黃金桂，廣東山葡萄莖，五味子及蜈蚣等18種中藥萃取物，在30微升反應混合物中萃取物的量為100毫微克時，其Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性高於50%。如表五所示，牡丹皮，蒲公英，大本山葡萄根(甲醇)，烏藥，大麻仁，半支蓮，覆盆子，綿茵陳，商陸，虎仗及薑黃等11種中藥萃取物，在30微升反應混合物中萃取物的量為100毫微克時，其Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性在20%-49%之間。接著我們進一步縮小萃取物濃度分析之範圍並分別做系列的濃度稀釋，結果如圖一至圖六可求得各中藥及民間萃取物之I.D.50，並表示於表至二表五中。

## 討論：

本實驗操作之所有容器均先經過0.1%焦碳酸以二乙酯(DEPC)於室溫

下處理一天，並經過高壓蒸汽鍋於120°C高溫及高壓下處理30分鐘以除去核糖核酸酶(RNase)，實驗結果為三次以上試驗之平均值，試驗之重現性也極高，故抑制之活性不是由於核糖核酸酶的殘存。

在Mo-MuLV及AMV反轉錄酶之反轉錄系統分析中，我們選用之條件為0.5微克之poly r(A)<sub>n</sub>-d(T)<sub>12-18</sub>，poly r(C)<sub>n</sub>-d(G)<sub>12-18</sub>或globin mRNA-d(T)<sub>12-18</sub>當模板-引子，分別加入5 units Mo-MuLV反轉錄酶或2 units AMV反轉錄酶，於水浴反應30分鐘，乃因在此條件下，隨著Mo-MuLV及AMV反轉錄酶加入量的增加，所合成的DNA量也隨著增加，而且二者呈線性關係，並且未達到高原期。而於中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶定性分析(篩選)中選用上述任一條件進行，其結果均如表二所示，100種中藥及民間藥萃取物，其中62種萃取物1微克之反轉錄酶抑制活性大於50%。但由於AMV反轉錄酶必需貯存於-70°C以下的冰櫃，且分子並不穩定，隨著貯存或操作時間之增加其活性逐漸喪失，即重現性並不高，而Mo-MuLV僅需貯存於-20°C以下的冰櫃，分子穩定性高，其酵素活性並不會隨著貯存或操作時間之增加其活性逐漸喪失，重現性也很高，此外也具較高敏感度，適於定量之分析，故定量分析均以0.5微克之poly r(A)<sub>n</sub>-d(T)<sub>12-18</sub>或poly r(C)<sub>n</sub>-d(G)<sub>12-18</sub>為模板-引子，分別加入5 units Mo-MuLV反轉錄酶進行之。

目前用來分析天然物(中藥，民間藥成份)抗反轉錄酶抑制活性的系統並未建立，由本實驗結果(表二至表五)得知本研究建立之Mo-MuLV及AMV反轉錄之反轉錄酶系統定性及定量分析，可有效率，簡單而快速地篩選具抗反轉錄酶活性者。

由中藥具顯著抗反轉錄酶活性者之類黃酮成份分析，可推之中藥萃取物之抗反轉錄酶活性可能是由於萃取物中含類黃酮flavonols及dihydroflavonols而造成，但表八結果中仙鶴草，紫花羊蹄甲，風不動，

地錦，北茵陳，雞血藤及烏白，其粗萃取物的抗反轉錄酶活性並不亞於某些單離成份結晶體之結果，可能包括皂素[38]，多糖聚體[32]，核苷酸衍生物[35]或無機物負修飾劑[33]。

有報告指出DHBV反轉錄酶之無機正修飾主要為 $Mg^{2+}$ ，無機物負修飾劑則包括 $Ba^{2+}$ ， $Ca^{2+}$ 及 $Co^{2+}$ 等[33]，因此中藥萃取物中存在的Mo-MuLV及AMV反轉錄酶抑制物質除了包括萃取物的有機成份外，亦可能包括如 $Ba^{2+}$ 等無機物負修飾劑以及 $Mg^{2+}$ 的螯合物[39]；目前僅知中藥材所含的離子態與結合態今屬元素中，Ca元素通常為數萬ppm，Ba及Co元素則僅達數萬ppm[33]，而離子態金屬元素含量應僅為其中小部份，這些離子態金屬元素從中藥材到萃取物中的含量是否對Mo-MuLV及AMV反轉錄酶具抑制作用可能性較低。至於中藥材是否含有 $Mg^{2+}$ 離子螯合物仍為發現此類研究報告，所以Mo-MuLV及AMV反轉錄酶是否由於 $Mg^{2+}$ 的缺乏而無法活化表現其酵素活性則仍未可之；雖然儘可藉改變實驗設計排除萃取物可能之無機物負修飾劑或 $Mg^{2+}$ 的螯合物的偽陽性抑制作用，無論如何，單離萃取物成份物質並評估其抑制效力，將是直接證明中藥萃取物的真陽性抑制作用之主要方法，我們將繼續朝此方向努力，希望尋得更多更有效之抗反轉錄酶成份。

由本實驗結果獲之某些中藥萃取物在低劑量時便具有顯著抗反轉錄酶活性，而且其DNA聚核酶抑制活性及肝細胞毒性均極低；從另一觀點，這些藥物在減低 $CCl_4$ 對初代培養的兔肝細胞之傷害程度指出[40]，各萃取物可減低肝細胞受傷害程度之平均保肝效應分別是烏白29%，仙鶴草30%，番石榴葉35%，絲瓜絡44%，穿山龍20%，小金英32%及小本山葡萄葉50%，其中仙鶴草根及莖具有抗癌及制菌成份[41,42]，番石榴葉主治創傷收斂止瀉並可治糖尿病[43]，小金英具止血抗菌作用，而烏白則在中藥臨床效用及保肝作用上似乎應加強其開發潛力。此外，中藥尚有刺激病人之免疫系統重建其受損的免疫功能。中醫治療疾病，不外扶正祛邪兩大法則[44]，

扶正就是調動機體的抗病力，提高機體的免疫功能，祛邪就是排除破壞免疫平衡的一切因素；扶正可提高免疫力，祛邪可達到免疫平衡。臨床實驗證明，扶正藥方多具提高機體的免疫力，改善機體免疫狀態調節免疫功能的相對穩定性作用，而臨床及動物實驗上也證明祛邪的藥方，有抑制免疫反應和調節免疫平衡之作用；以上說明了中藥萃取物確實可作為開發抗HIV或人類反轉錄病毒藥物的來源。

雖然於本實驗分析系統僅就中藥及民間藥萃取物直接抑制Mo-MuLV及AMV反轉錄酶加以評估，而間接抑制作用如經過其它作用（如肝臟微粒體S<sub>9</sub>激活才具抑制效力者[43]不易由本方法得到結論，無論如何，本分析系統確實可呈現藥物對Mo-MuLV反轉錄酶之抑制效力，因此極可應用於對具抗HIV或人類反轉錄病毒之中藥萃取物的大量篩檢。

## 參考文獻

1. Rous P: A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cell. *J Exp* 1911;13:397-411.
2. Burkitt DP, O'Connor GT: Malignant lymphoma in African children. I. Clinical syndrome. *Cancer* 1961;14:258-269.
3. Epstein MA, Achong BC, Barr YM: Virus partical in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964;1:702-703.
4. Gallo RC, Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, et al: Association of the human type C retrovirus with a subset of adult T-cell cancer. *Cancer Res* 1983;43:3892-4899.
5. Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, et al: Adult T-cell leukemia antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci USA*

1982;78:6476-6480.

6. Bishop JM: The molecular genetics of cancer. *Leukemia* 1988;2:199-208.
7. Beasley RP: Hepatitis B virus-the major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988;61:1942-1956.
8. London T, Blumberg B: A cellular model for the role of hepatitis B virus in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1982;2:10-14.
9. Zur Hausen H: Papillomaviruses in human cancer. *Cancer* 1987;59:1692-1696.
10. Lasky LA, Groopman JE, Fennine CW, et al: Neutralization of the AIDS retrovirus by antibodies to a recombinant envelope glycoprotein. *Science* 1986;33:209-212.
11. Seiki M, Hattori S, Hirayama Y, Yoshida M: Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:3618-3622.
12. Mitsuya H, Broder S: Strategies for antiviral therapy in AIDS. *Nature* 1987;325:773-778.
13. Yarchoan R, Broder S: Anti-retroviral therapy of AIDS and related disorders: General principles and specific development of dideoxynucleosides. *Pharmacol Ther* 1989;40:329-348.
14. Roxenbaum W, Dormnt D, et al: Antimoniotunsstate (HPA 23) treatment of three patient with AIDS and one with prodrome.

*Lancet* i. 1985;450-451.

15. Mitsuya H, Popovic M, et al: Suramin protection of T cell in vitro against infectivity and cytopathic effect of HTLV-III. *Science* 1984;266:172-174.
16. Richman D, Fischl M, et al: The toxicity of azidothymidine(AZT) in the treatment of patient with AIDS and AIDS-related complex. *N Engl J Med* 1987;317:192-197.
17. Mitsuya D, Jarrett R, et al: Long-term inhibition of human T-lymphotropic virus type III/ lymphadenopathy-associated virus (human immunodeficiency virus) DNA synthesis and RNA expression in T cells protected by 2',3'-dideoxynucleosides in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1987;84:2033-2037.
18. Larder B, Darby G, et al: HIV with reduced sensitivity to Zidovudine (AZT) isolated during prolong therapy. *Science* 1989;231:1731-1734.
19. Bohm K: "The Flavonoids." Editio Cantor, Aulendar Wurtt. 1968.
20. Gabor M: "The Anti-inflammatory action of flavonoids." Budapest: Akademiai Kiado. 1972.
21. Gabor M: Anti-inflammatory substances of plant origin. In Vane JR, Ferreira SH(eds): "Handbook of experimental pharmacology: Anti-inflammatory drugs." New York: Springer Verlag 1979;698-739.
22. Middleton EJr, Drzewicki G: Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen induced histamine release from human basophils. *Biochem Pharmacol* 1982;31:1449-

1453.

23. Pamukcu AM, Yalciner S, Hatcher JF, Bryan GT: Quercetin, a rat intestinal and bladder carcinogen present in bracken fern. *Cancer Res* 1980;40:3468-3472.
24. Hardigree AA, Epler JL: Comparative mutagenesis of plant flavonoids in microbial system. *Mutation Res* 1978;58:231-239.
25. Macgregor JT, Jurd L: Mutagenicity of plant flavonoids: Structural requirements for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium* *Mutation Res* 1978;54:297-309.
26. Pusztai R, Beladi I, Bakai M, Musci I, Kukan E: Study on the effect of flavonoids and related substances. I. The effect of quercetin on different viruses. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 1968;13:113-118.
27. Bakay M, Mucsi I, Beladi I, Gabor I: Effect of flavonoids and related substances. II. Antiviral effect of quercetin, dihydro-quercetin and dihydro-fisetin. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 1968;15:223-227.
28. Beladi I, Pusztai R, Bakai M: Inhibitory activity of tannic acid and flavonols on the infectivity of herpesvirus hominis and herpesvirus suis. *Die Naturwissenschaften* 1965;52:402.
29. Beladi I, Pusztai R, Bakai M, Garbor M: Activity of some flavonoids against viruses. *Annals New York Academy Sciences* 1977;284:358-364.
30. Kaul TN, Middleton E, Ogra PL: Antiviral effect of

- flavoroids on human viruses. *J Med Virol* 1985;15:71-79.
- 31.Chang RS, Yeung HW: Inhibition of growth of human immunodeficiency virus in vitro by crude extracts of Chinese medicinal herbs. *Antiviral Res* 1988;9:163-176.
- 32.Ngan F, Chang RS, Tabba HD, Simth KM: Isolation, purification and characterization of an active anti-HIV compound from the Chinese medicinal herb Viola yedoenses *Antiviral Res* 1988;10:107-116. E
- 33.Yang LL, Yen KY: Analysis of metals in Chinese crude drugs. *Bull Taipei Med Coll* 1983;13:27-41.
- 34.Berger SL: RNase inhibitor. *Anal Biochem* 1975;67:428-437.
- 35.Kotewicz JM, D'Alessio JM, Driftmier KM, Blodgett KP, Gerard G F: Cloning and overexpression of Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase in Escherichia cloi. *Gene* 1985;35:249-258.
- 36.Ono K, Nakane H. et al: Differential inhibition of varius mammalian DNA polymerase activities by ammonium 21-tungsto-9-antimoniate(HPA23). *Eur J Biochem* 1989;176:305-310.
- 37.Lindell T, Weinberg F. et al.: Specific inhibition of nuclear RNA polymerase II by  $\alpha$ -amanitin. *Science* 1970;170:447-449.
- 38.Shen YL, Ye WC, Zhao SX, Shu YZ, Wataya M, Kakiuchi N and Hattori M: Isolation of two saponins from Aemone flaccida and their effects on reverse transcriptase. *Shoyakugaku Zasshi* 1988;42:35-40.
- 39.Hutchinson DW: Metal chelators as potential antiviral agents.

*Antiviral Res* 1985;5:193-205.

40. Yang LL, Yen KY, Kiso Y and Hikino H: Antihepatotoxic actions of Formosa plant drugs. *J Ethnopharmacol* 1987;19:103-110.
41. Miyamoto, K., Ryozyo, K., Ikeya, Y. and Taguchi, H.: Isolation of agrimonia, an antitumor constituent, from the roots of Agrimonia pilosa Ledeb. *Chem Pharm Bull* 1985;33:3977-3981.
42. Su G, Su S. and Zhu T: Studies on bacteriostatic components from Agrimonia pilosa Ledeb. *Shenyang Yaoxueyuan Xuebao* 1984;1:40-50.
43. Maruyama Y, Matsuda H, Matsuda R, Kubo M, Hatano T and Okuda T: Study on Psidium guajava l.(I) Antidiabetic effect and effective components of the leaf of Psidium guajava l.(I). 1985.
44. 游士勳, 張錦清: 補益方劑, 實用中藥方劑學 pp366-395.
45. Elion GB, Furman PA, Fyle JA., De Miranda, Beauchamp L and Schaeffer HJ: Selectivity of action of an antiherpetic agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:5716-5720.

## 圖表說明

表 一：中藥的種類，萃取溶媒及產率。

表 二：檢出的中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性定量分析的初步結果-----萃取物的量在10毫微克時，50%以上之Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性。

表 三：檢出的中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性定量分析的初步結果-----萃取物的量在10毫微克時，有20%-50%之Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性。

表 四：檢出的中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性定量分析的初步結果-----萃取物的量在10毫微克時，其Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性小於20%，但在100毫微克時，其Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性大於50%者。

表 五：檢出的中藥及民間藥萃取物之抗反轉錄酶活性定量分析的初步結果-----萃取物的量在100毫微克時，其Mo-MuLV反轉錄酶抑制活性在20%-49%者。

表一： 中藥的種類、萃取溶媒及產率

No.	Drug	Extract	Yield(%)	Species
001	烏 白	80% Acetone	—	<u>Sapium sebiferum</u> Roxb.
002	紫花羊蹄甲	"	4.20	<u>Bauhinia purpurea</u> Linn.
003	大葉合歡	"	2.75	<u>Albizzia lebbeck</u> (L.) Benth
004	魚 藤	"	42.68	<u>Derris trifoliata</u> Lour.
005	長葉合歡	"	—	<u>Albizzia longipedata</u> Br. & R. ex Record.
006	蕃石榴葉	"	—	<u>Psidium guajava</u> L.
007	仙鶴草	50% EtOH	12.20	<u>Agrimonia pilosa</u> Ledeb.
008	雞血藤	"	17.17	<u>Spatholobus suberectus</u> Dunn.
009	北茵陳	"	6.49	<u>Origanum vulgare</u> L.
010	地 錦	"	11.80	<u>Parthenocissus tricuspidata</u> Planch.
011	風不動	"	18.76	<u>Psychotria serpens</u>
012	蒲 桃	"	8.71	<u>Syzygium jambos</u> Alston.
013	王不留行	"	13.11	<u>Vaccaria pyramidata</u> .
014	六月雪	"	14.64	<u>Eupatorium formosanum</u> Hay.
015	蒲桃枝	"	6.20	<u>Syzygium jambos</u> Alston.
016	黃金桂	"	6.81	<u>Cudrania cochinchinaefolium</u> .
017	番瀉葉	"	28.87	<u>Cassia angustifolia</u> Vahl.
018	葉下珠	"	18.62	<u>Phyllanthus urinaria</u> Linn.
019	何首烏	"	20.61	<u>Polygonum multiflorum</u> Thumb.
020	續隨子	"	7.84	<u>Euphorbia lathyrus</u> L.
021	小山葡萄	"	11.89	<u>Vitis thunbergii</u> Sieb & Zucc, var. taiwanian Lu.
022	穿山龍	"	10.60	<u>Dioscorea nipponica</u> Mak.
023	小金英	"	15.26	<u>Rosa cymosa</u> Tratt.
024	大本山葡萄 根	"	13.26	<u>Ampelopsis brevipedunculata</u> (Maxim.) Traut. var. hancei (Planch)
025	大本山葡萄 莖	"	5.00	<u>Ampelopsis brevipedunculata</u> (Maxim.) Traut. var. hancei(Planch)
026	大本山葡萄 葉	"	20.20	<u>Ampelopsis brevipedunculata</u> (Maxim.) Traut. var. hancei(Planch)
027	廣東山葡萄 莖	"	5.00	<u>Ampelopsis cantoniensis</u> Planch,
028	基隆山葡萄 莖	"	2.20	<u>Vitis kelungensis</u> Momiyama.
029	五味子	"	43.13	<u>Schisandra chinensis</u> (Turcz)Baill
030	蜈 蚣	"	18.70	<u>Scolopendra subspinipes mutilans</u> L. Koch.

續(表一)

No.	Drug	Extract	Yield(%)	Species
031	五靈脂	50% EtOH	5.65	<u>Pteropus dasymallus</u>
032	牡丹皮	"	18.82	<u>Paeonia suffruticosa</u> Andr.
033	烏藥	"	12.42	<u>Lindera strychnifolia</u> Villar
034	大麻仁	"	4.18	<u>Cannabis sativa</u> Linne
035	覆盆子	"	12.33	<u>Rubus palmatus</u> Thunberg
036	綿茵陳	"	10.25	<u>Artemisia capillaris</u> Thunberg
037	商陸	"	7.61	<u>Phytolacca esculenta</u> Van Houtte
038	大戟	"	19.87	<u>Euphorbia pekinensis</u> Rupr.
039	肉豆叩	"	8.21	<u>Myristica fragrans</u> Houtt.
040	山防風	"	—	<u>Echinops grilisii</u> Hance
041	色豆	"	—	<u>Croton tiglium</u> L.
042	菟絲子	"	8.81	<u>Cuscuta japonica</u> Choisy
043	蒼朮	"	22.80	<u>Atractylodes lancea</u> (Thunb) DC.
044	補骨脂	"	17.19	<u>Psoralea corylifolia</u> L.
045	薑黃	"	10.55	<u>Curcuma longa</u> L.
046	骨碎補	"	28.15	<u>Davallia divaricata</u> Bl.
047	陳皮	"	11.17	<u>Citrus aurantium</u> L.
048	枳實	"	13.73	<u>Poncirus trifoliata</u> Raf.
049	青皮	"	11.07	<u>Citrus tangerina</u> Hort. et Tanaka.
050	巴戟夫	"	43.67	<u>Morinda officinalis</u> How.
051	枳殼	"	37.73	<u>Poncirus trifoliata</u> Raf.
052	女貞子	"	24.03	<u>Ligustrum lucidum</u> Ait.
053	附子	"	3.57	<u>Aconitum chinense</u> Siebold
054	川紅花	"	22.75	<u>Carthamus tinctorius</u> Linne
055	大金英根	"	8.75	<u>Rosa laevigata</u> Michx
056	田七	"	19.31	<u>Panax pseudo-ginseng</u> Wallich
057	淮山藥	"	4.56	<u>Dioscorea batatas</u> Decaisne
058	厚朴	"	19.55	<u>Magnolia officinalis</u> Rehd. et Wils.
059	斑茅	"	17.83	<u>Mylabris phalerata</u> Pallas.
060	瓜樓實	"	11.89	<u>Trichosanthis kirilowii</u> Maximowicz.

續(表一)

No.	Drug	Extract	Yield(%)	Species
061	野 芋	50% EtOH	2.57	<u>Colocasia antiquorum</u> Schott et Endl
062	麩	"	7.28	<u>Tribulus terrestris</u>
083	藤 黃	"	7.89	<u>Garcinia morella</u> Desv.
064	地 龍	"	16.67	<u>Pheretima aspergillum</u> (E. Perrier)
065	伸筋草	"	20.63	<u>Lycopodium clavatum</u> Linn.
066	疾 黎	"	7.28	<u>Tribulus terrestris</u> L.
067	川牛七	"	27.17	<u>Achyranthes bidentata</u> .
068	川 芎	"	34.43	<u>Ligusticum wallichii</u> Franch.
069	茵陳蒿	"	6.49	<u>Artemisia capillaris</u> Thunb
070	野牡丹	H <sub>2</sub> O	13.11	<u>Melastoma candidum</u> D. Don
071	蒲桃枝	"	13.32	<u>Syzygium jambos</u> Alston.
072	紅蘇木	"	2.48	<u>Cesalpinia sappan</u>
073	風不動	"	9.81	<u>Psychotria serpens</u>
074	康復力	"	17.80	<u>Symphytum officinale</u> Linn
075	小金英	"	—	<u>Rosa cymosa</u> Tratt.
076	絲瓜絡	"	4.80	<u>Luffa cylindrica</u> (L.) Roem.
077	敗醬草	"	6.10	<u>Patrinia villosa</u> Juss.
078	大本山葡萄 根	"	6.90	<u>Ampelopsis brevipedunculata</u> (Maxim.) Traut. var. hancei (Planch)
079	虎 杖	"	9.10	<u>Polygonum cuspidatum</u> Sieb. & Zucc
080	稀莧草	"	5.14	<u>Siegesbeckia orientalis</u>
081	蘆 薈	"	5.69	<u>Aloe perryi</u> Baker
082	蒲公英	"	10.10	<u>Taraxacum mongolicum</u> Hand. Mazz.
083	半支蓮	"	13.10	<u>Portulaca grandiflora</u> Hook
084	小葉葡萄	"	—	<u>Vitis thunbergii</u> Sieb. & Zucc. var. taiwaniana Lu.
085	黃 芩	"	23.94	<u>Scutellaria baicalensis</u> georgi.
086	甘 草	"	29.39	<u>Glycyrrhiza uralensis</u> Fisch.
087	木 棉	"	9.30	<u>Gossampinus malabarica</u> Merr.
088	鐵樹葉	"	11.20	<u>Cordyline fruticosa</u> A. Cheval.
089	莪 朮	"	12.47	<u>Curcuma zedoaria</u> Roscoe
090	蛇舌草	"	9.30	<u>Hedyotis diffusa</u> Willd

續(表一)

NO.	Drug	Extract	Yield(%)	Species
091	烏不宿	H <sub>2</sub> O	10.40	<u>Zanthoxylum nitidum</u> (Koxb) DC
092	金線蓮	"	3.54	<u>Anoectochilus formosanus</u> Hay
093	白朮	"	74.55	<u>Atractylodes macrocephala</u> Kdiz.
094	黃柏	"	10.71	<u>Phellodendron amurense</u> Rupr.
095	乾漆	"	7.52	<u>Rhus vernicifera</u>
096	五靈脂	"	4.35	<u>Pteropus dasymallus</u>
097	歸尾	"	19.23	<u>Angelica sinensis</u>
098	貫衆	MeOH	—	<u>Cibotium barometz</u> J. Smith
099	大本山葡萄根	"	6.90	<u>Ampelopsis brevipedunculata</u> (Maxim.) Traut, var. <u>hancei</u> (Planch)
100	光萼野百合葉	"	—	<u>Crotalaria zanzibarica</u> Benth

表二

Drug	R.T.I. (%)	Dose(ng/30 $\mu$ l)				I.D. <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
		1000ng	100ng	10ng	1ng	
烏 白		99.4	95.8	72.6	10.0	0.10
仙鶴草		98.9	98.5	85.3	17.0	0.08
紫花羊蹄甲		100.0	100.0	100.0	20.0	0.06
雞血藤		100.0	100.0	64.3	8.0	0.12
北茵陳		100.0	100.0	59.5	6.0	0.15
地 錦		100.0	100.0	80.0	16.0	0.09
風不動(酒精)		99.7	99.7	99.7	9.5	0.08

表三

Drug	R.T.I. (%)	Dose(ng/30 $\mu$ l)				I.D. <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
		1000ng	100ng	10ng	1ng	
蒲桃(根皮)		100.0	100.0	37.5	0.0	0.58
蒲桃枝(水)		96.0	98.4	33.7	0.0	0.58
王不留行		99.1	93.2	22.8	7.3	0.80
番瀉葉		100.0	100.0	36.0	0.0	0.55
康復力		96.0	99.5	33.0	0.0	0.60
葉下珠		96.0	96.0	26.0	18.0	0.73
貫 衆		100.0	97.4	20.0	1.0	0.83
何首烏		100.0	98.1	20.0	0.0	0.83
大本山葡萄 根(水)		99.1	96.5	24.4	0.0	0.77
大本山葡萄 葉		99.3	96.9	35.7	0.0	0.57
大葉合歡 莖		99.9	74.0	29.0	0.0	0.89

表四

Drug	Dose(ng/30 $\mu$ l)				I.D. <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
	1000ng	100ng	10ng	1ng	
蒲桃枝(酒精)	97.8	97.0	18.0	3.5	0.90
基隆山葡萄 莖	97.7	93.5	16.4	0.0	0.93
續隨子	100.0	98.9	13.0	0.0	0.93
小金英(水)	99.2	98.8	10.8	0.0	0.93
小山葡萄	98.3	99.0	0.0	0.0	1.07
絲瓜絡	100.0	95.3	0.0	0.0	1.13
穿山龍	98.9	99.3	0.0	0.0	1.08
小金英(酒精)	100.0	99.3	0.0	0.0	1.06
敗醬草	100.0	100.0	0.0	0.0	1.03
大本山葡萄 根(酒精)	99.6	93.4	0.0	0.0	1.17
大本山葡萄 莖	98.6	99.1	1.0	0.0	1.07
紅蘇木	99.0	79.1	0.0	0.0	1.23
風不動(水)	98.1	98.8	0.0	0.0	1.07
六月雪	97.9	71.6	0.0	0.0	1.67
黃金桂	98.6	84.1	0.0	0.0	1.33
廣東山葡萄 莖	97.7	84.2	0.0	0.0	1.33
五味子	94.4	63.0	0.0	0.0	2.03
蜈蚣	98.4	52.7	0.0	0.0	2.90

表五

R.T.I.(%) Drug	Dose(ng/30 $\mu$ l)				I.D. <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
	1000ng	100ng	10ng	1ng	
牡丹皮	100.0	48.8	29.0	0.0	4.00
蒲公英	99.0	45.0	31.0	22.0	5.00
大本山葡萄 根(甲醇)	98.0	48.2	1.1	7.7	4.00
烏 藥	99.7	49.0	0.0	0.0	4.00
大麻仁	100.0	45.0	18.0	3.0	4.33
半支蓮	86.0	42.0	0.0	0.0	5.33
覆盆子	98.5	38.2	0.0	0.0	5.33
綿茵陳	97.7	30.5	14.6	0.0	6.67
商 陸	98.4	25.0	15.0	12.0	7.33
虎 杖	98.7	20.3	9.4	0.0	7.89
薑 黃	76.0	38.0	23.2	0.0	7.93

圖 一：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

I.D.<sub>50</sub>)分析(一)。

以0.5微克之poly r(A)n-d(T)<sub>12-18</sub> 當模板-引子及5 units Mo-MuLV 反轉錄酶，分別加入含不同量中藥萃取物之反應混合液中，於37°C水浴反應30分鐘，而後加0.2M EDTA終止反應，分析Mo-MuLV反轉錄酶之反轉錄活性。

烏白[●—●]，仙鶴草[▲—▲]，紫花羊蹄甲[■—■]，雞血藤[\*—\*]，北茵陳[★—★]，地錦[∅—∅]，風不動[∩—∩]。

圖 二：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

I.D.<sub>50</sub>)分析(二)。

，唯反應混合物中含不同量之蒲桃(根皮)[●—●]，蒲桃枝(水)[▲—▲]，王不留行[■—■]，蕃瀉葉[\*—\*]，康復力[★—★]，葉下珠[∅—∅]，貫眾[∩—∩]，何首烏[∪—∪]，大本山葡萄根(水)[+—+]，大本山葡萄葉[○—○]，大葉合歡莖[△—△]。

圖 三：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

I.D.<sub>50</sub>)分析(三)。

反應混合物中含不同量之蒲桃枝(酒精)[●—●]，基隆山葡萄莖[▲—▲]，續隨子[■—■]，小金英(水)[\*—\*]，小山葡萄[★—★]，絲瓜絡[∅—∅]，穿山龍[∩—∩]，小金英(酒精)[∪—∪]，敗醬草[+—+]。

圖 四：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

I.D.<sub>50</sub>)分析(四)。

反應混合物中含不同量之大本山葡萄根(酒精)[○—○]，大本山葡萄莖[△—△]，紅蘇木[□—□]，風不動(水)[◇—◇]，六月雪[●—●]，黃金桂[■—■]，廣東山葡萄莖[▲—▲]，五味子[◆—◆]，蜈蚣[▣—▣]。

圖 五：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

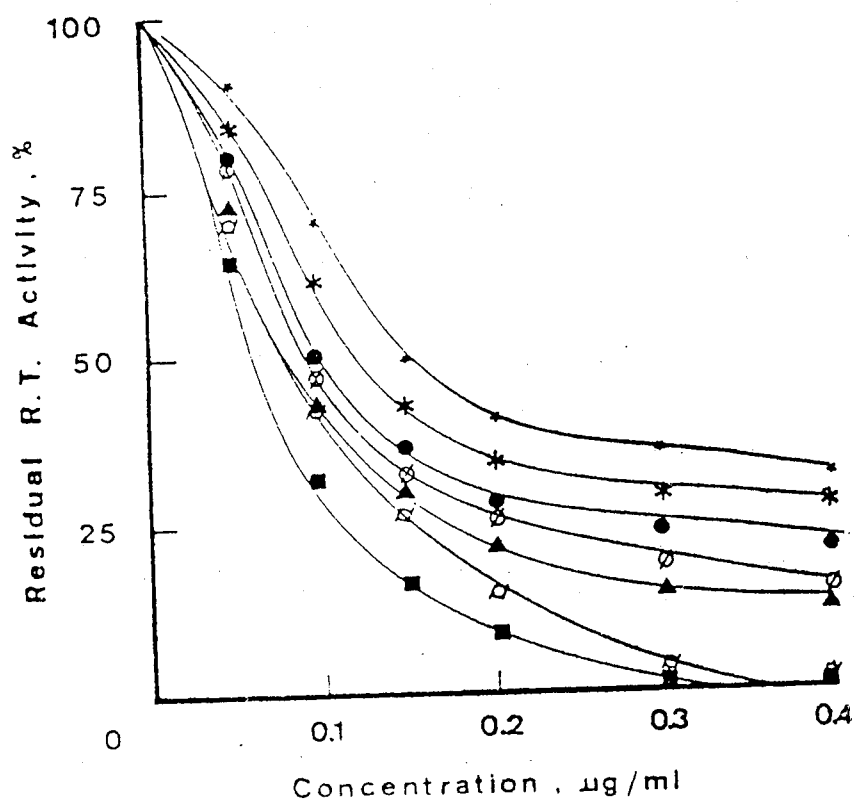
I.D.<sub>50</sub>)分析(五)。

同圖七，唯反應混合物中含不同量之牡丹皮[●—●]，蒲公英[▲—▲]，大本山葡萄根(甲醇)[■—■]，烏藥[\*—\*]，大麻仁[★—★]，半支蓮[∅—∅]，覆盆子[ℵ—ℵ]，錦茵陳[⊖—⊖]，商陸[+—+]，虎杖[○—○]，薑黃[△—△]。

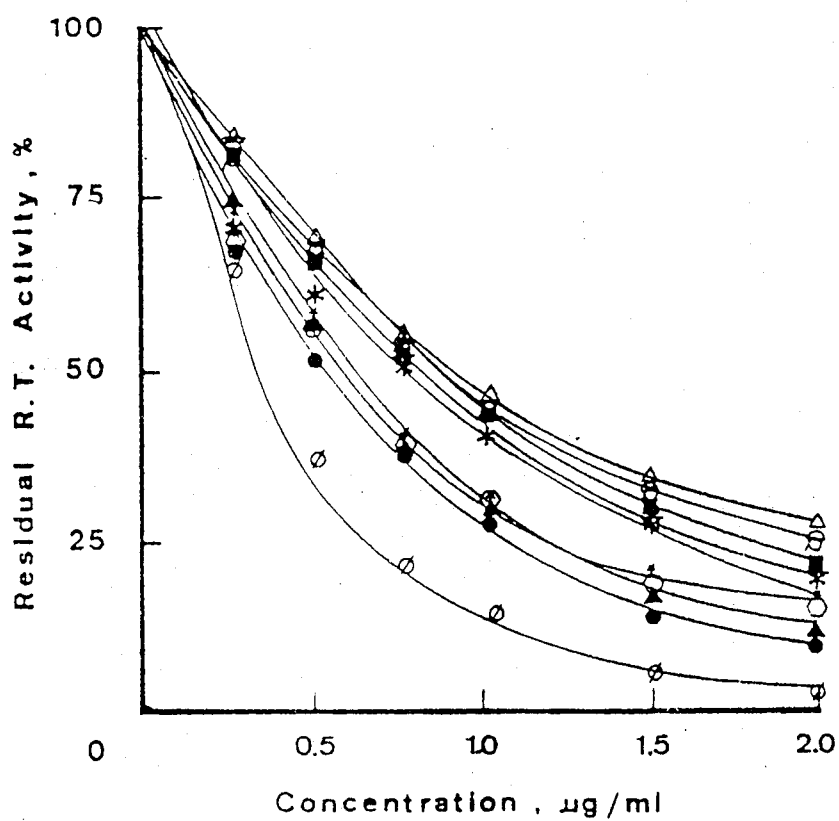
圖 六：中藥及民間藥萃取物抑制Mo-MuLV反轉錄酶50%所需之量(

I.D.<sub>50</sub>)分析(六)。

反應混合物中含不同量之魚藤[●—●]，大戟[▲—▲]，小葉葡萄[■—■]，長葉合歡(葉)[\*—\*]，蕃石榴葉[★—★]，肉豆叩[∅—∅]，山防風[ℵ—ℵ]，巴豆[⊖—⊖]，菟絲子[+—+]，蒼朮[○—○]，補骨脂[△—△]，黃芩[□—□]，稀荬草[◇—◇]，蘆薈[○—○]，五靈脂[□—□]。

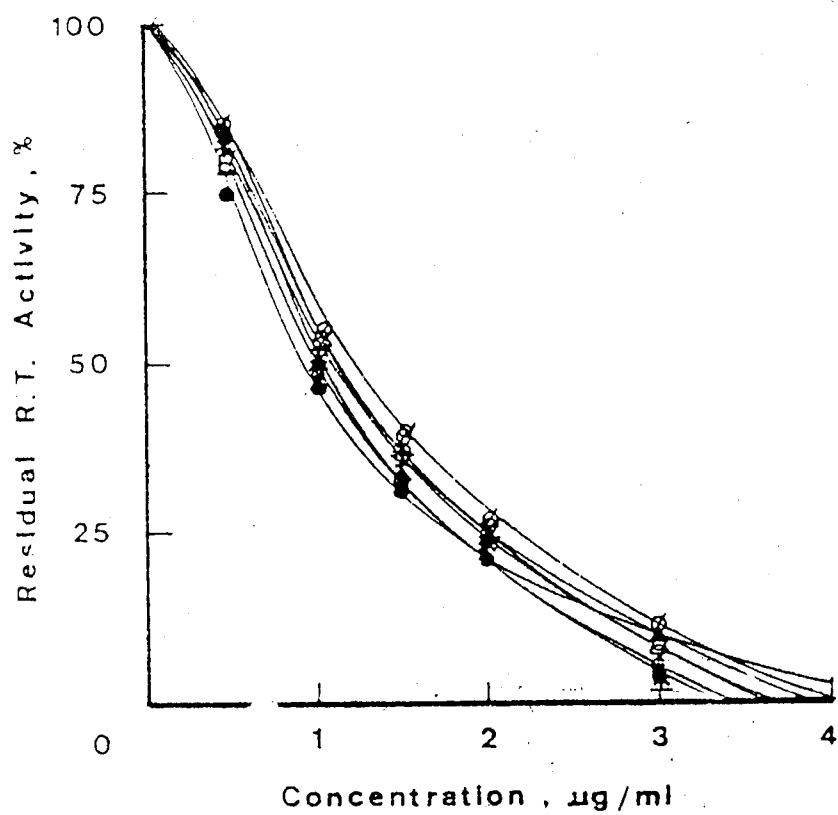


—

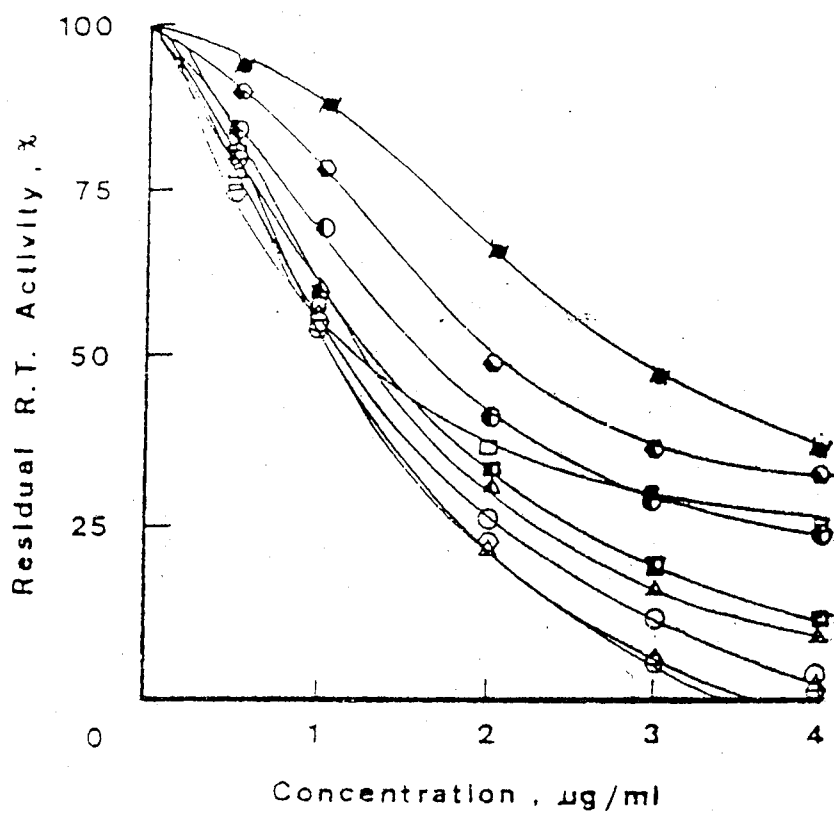


圖

二



三



III

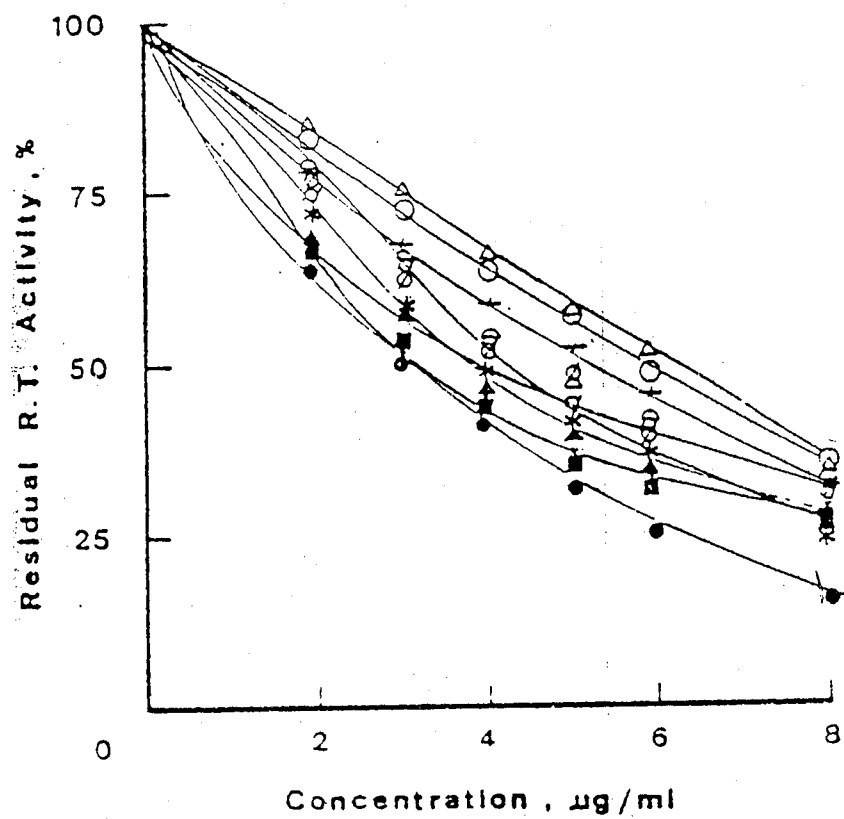


圖 五

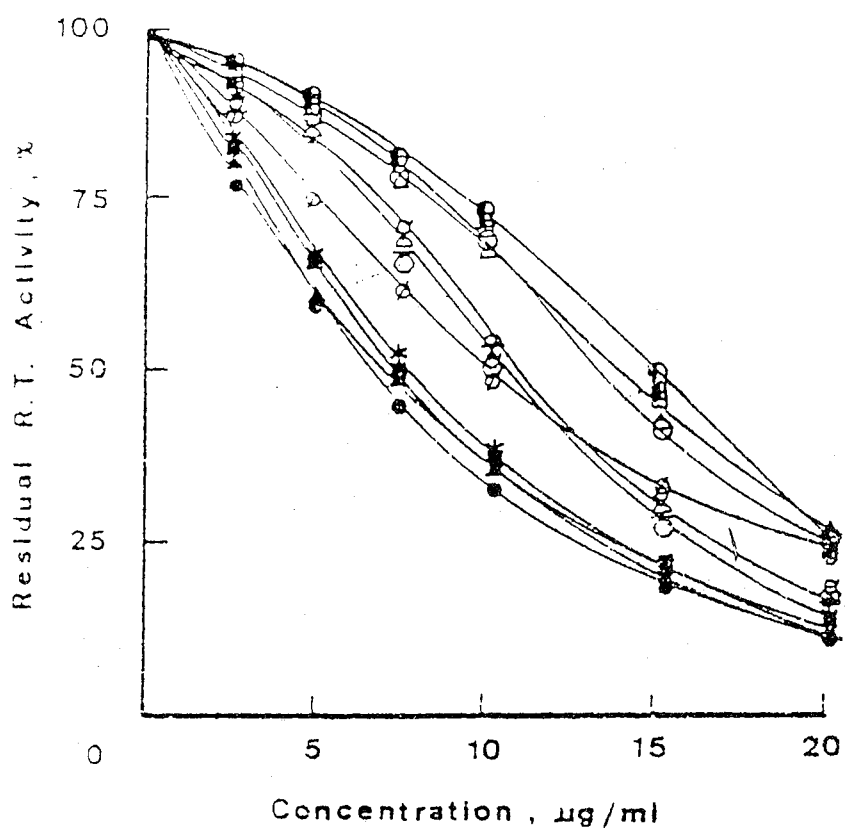


圖 六



# 篩選抗癌性中藥與其生化性質之研究

郭啓利<sup>1</sup>，翁一鳴<sup>2</sup>

1. 陽明醫學院藥理學研究所
2. 長庚醫學暨工程學院藥理科

## 摘 要

癌症是目前人類所面臨最嚴重的疾病之一，然而目前在臨床上所使用的抗癌藥物，或因選擇性不夠、毒性太強、副作用太大，在使用上受到嚴格的限制。爲了加強藥物抗癌的效果及減低對身體的傷害，最近科學家們開始一些臨床實驗，目的是想由改變癌細胞不斷分裂的生物特性來從事抗癌的研究，這些實驗包括引發癌細胞發生分化(differentiation)及細胞程式死亡(programmed death)即 apoptosis 的現象。程式死亡是因細胞內某些基因的表現引導細胞進行死亡，此爲正常細胞在細胞週期的調控方式，若是由此發展出抑制細胞不斷分裂的方法，似乎可以提供一個對癌細胞較具選擇性，對身體傷害較小的治療方式。在我們的實驗模式裡，以小藥鹼(berberine)處理 HL-60 細胞發現小藥鹼具有誘導 HL-60 細胞進行程式死亡的效果；由此研究小藥鹼誘導癌細胞進行程式死亡之現象及可能的作用機轉，爲本實驗所要探討的。

本實驗以不同濃度的小藥鹼續處理 HL-60 細胞時發現：(A) 在較高濃度 (25, 50,  $\mu$ g/ml) 的小藥鹼處理 24 小時後發現已有 HL-60 細胞的死亡現象產生，細胞死亡數目隨著時間的增加及小藥鹼濃度的增加而增加。(B) 在較高濃度的小藥鹼處理 24 小時後，以劉氏改良之 Wright-Giemsa 染色及 trypan blue 染色觀察 HL-60 細胞，均可發現細胞表現出進行程式死亡的特

徵。以 trypan blue 染色的區別方法觀察發現小蘗鹼所誘導的細胞死亡絕大多數為程式死亡所引起的。以 flow cytometry 分析連續處理 25  $\mu$ g/ml 的小蘗鹼影響下的 HL-60 細胞之細胞週期 (cell cycle) 發現：(A) 在連續處理小蘗鹼的初期，存活細胞的細胞週期停滯在 G2/M 期之比例變化不大，而在 24 小時後此一比例又驟然增加。(B) 在連續處理小蘗鹼的初期，HL-60 細胞進行程式死亡之比例變化不大，而在 48 小時後此一比例又驟然增加。由以上結果知道小蘗鹼對於細胞週期的影響，並可推測小蘗鹼所引起細胞程式死亡與細胞週期的影響之間的關係。

## 實驗動機

在我們實驗室的細胞分化 (differentiation) 實驗發現：小蘗鹼 (berberine) 於低濃度時能誘發 HL-60 細胞進行分化，但效果並不顯著。隨著小蘗鹼濃度的增加並未見分化程度的增加，但卻發現細胞死亡數目隨小蘗鹼濃度的增加而增加，經本實驗室實驗觀察得知有進行程式死亡 (programmed death) 情況出現，這使我們對於小蘗鹼誘發之細胞死亡是否程式死亡引起？抑或只是一偶發現象？另外小蘗鹼對細胞還造成什麼樣的影響也是我們實驗的方向。

## 背景介紹

### 一、小蘗鹼簡介：

小蘗鹼爲一種 benzodioxolquinolizine alkaloid，普遍存在於小蘗科 (Berberidaceae) 植物中；黃連 (*Copis chinensis*) 便爲此科植物中小蘗鹼含量較高者，在中藥常用來當健胃藥，解熱及止瀉等。小蘗鹼及其相關的結構已被廣泛的研究而且發現有多種藥理及生理的活性，包括了抗菌 (1)，驅蠕蟲 (2)，降血壓 (3)，墮胎 (4) 及加強巨噬細胞的吞噬力的能力 (5)。除此之外還可抑制酵素的活性，例如抑制乙醇去氫酵素 (alcohol dehydrogenase) (6) 及反轉錄酵素 (reverse transcrip-tase) (7)。有研究指出小蘗鹼具有引發細胞分化 (differentiation) 的作用，但機轉尚不明確 (8)。雖然已有小蘗鹼抗癌的研究發表 (9)，我們仍不確定小蘗鹼誘發的細胞死亡爲程式死亡，所以我們將在以後的實驗加以探討。

### 二、細胞程式死亡簡介：

細胞死亡方式可分爲意外死亡或程式死亡兩種 (10)。細胞意外死亡常稱爲壞死 (necrosis)，經常是由於創傷或疾病所造成，

所以可說是細胞曝露於非生理狀態引起的 (10,11) ；而在發展中的組織及變形 (metamorphosis) 時，一種非中毒性的 (non-toxic) 細胞死亡發生 (11,12) 。不同於細胞意外死亡，程式死亡被認為是生理或可能是基因控制的 (13) 。

程式死亡是一種生理性死亡，其特徵有細胞質萎縮，染色質緻密 (chromatin condensation) (14) ，細胞漿冒泡 (cytoplasmic blebbing) (15) 及 DNA 斷裂 (fragmentation) (16) ，這些情形為進行死亡的細胞藉著 RNA 及蛋白質合成而達成的 (16) ，因此被廣泛地認為是進行死亡的細胞主動參與的自殺反應 (10-13) 。

在我們的實驗發現小葉鹼影響 HL-60 細胞的生長，我們將進一步觀察，小葉鹼誘發的細胞死亡形態是否符合程式死亡的特徵，進而計算細胞進行程式死亡的比率。

### 三、細胞週期簡介：

細胞週期的觀念來自 1951 年 Howard 及 Pelc 氏，他們將原本只分為 I phase (Inter phase) 及 M phase (mitotic phase) 的細胞生命週期細分出 S phase (DNA synthesis之意) 而介於細胞分裂 (M phase) 及 DNA 合成時期 (S phase) 之間的過渡時期稱之

爲 gap，進入 S phase 之前的時期爲  $G_1$  phase (gap 1之意)，DNA 合成結束到進入細胞分裂的過渡時期爲  $G_2$  phase (gap 2之意)，脫離細胞週期停留在休止狀態的爲  $G_0$  phase (17-20)。

癌化的細胞在生長的調控上顯然的不同於一般細胞 (21)，它沒有 contact inhibition 特性 (22)，生長速度快，細胞週期短 (23)。因爲在我們實驗中發現小蘗鹼誘發細胞死亡，因此我們也將進行實驗觀察小蘗鹼對細胞週期的影響。

## 實驗目的

(A) 研究 berberine 對於 HL-60 細胞存活的影响：給予不同濃度的 berberine 處理 HL-60 細胞，觀察細胞生長及死亡的曲線變化。

(B) 確認 berberine 能否誘導 HL-60 細胞進行程式死亡：給予 berberine 處理 HL-60 細胞，觀察細胞的死亡形態是否符合程式死亡的特徵。

(C) 探討 berberine 對於 HL-60 細胞的細胞週期造成影响：給予 berberine 處理 HL-60 細胞，以 flow cytometry 分析細胞週期變化。

## 材料與方法

### 一、細胞培養

#### 1. 細胞培養液:

RPMI-1640 medium (購自 Gibco 公司) 含 10% 胎牛血清 (購自 JR 公司), 50 U/ml penicillin G 及 50  $\mu$ g/ml streptomycin sulfate (Gibco公司) 及 3.7g/l  $\text{NaHCO}_3$  (Merck公司)。

#### 2. 細胞株及其培養:

HL-60 cell, 培養在含 RPMI-1640 的培養瓶 (tissue culture flask 75T, 購自 Corning 公司) 中。每兩天作一次繼代培養 (sub-culture or passage), 整個過程皆在無菌操作檯 (laminar flow; 購自海天公司) 中操作將細胞密度調為  $2 \times 10^5/\text{ml}$ , 每個培養瓶供以 15~20ml RPMI-1640, 置於 37°C 恆溫, 飽和濕度的培養箱 (Forma 公司) 並供以 5%  $\text{CO}_2$ 。每天更換一次培養液。

### 二、細胞的藥物處理

### 1. 藥物的配製:

berberine 購自 Sigma 公司，溶於三次水，濃度  $1\text{mg/ml}$ ，儲存於  $4^{\circ}\text{C}$ 。

### 2. 藥物的投予:

HL-60 cells 培養於 20T 培養瓶，細胞密度為  $1 \times 10^5/\text{ml}$ 。  
小藥驗使用劑量為 5、10、25 及  $50\mu\text{g/ml}$ 。

### 三、細胞生長、死亡及程式死亡之測定：

培養瓶中 HL-60 細胞於給藥前(即 0 小時)，給藥後於第 12、24、36、48、72 小時取  $0.5\text{ml}$  置於微離心管 (eppendorf)；取其中  $20\mu\text{l}$  與含 0.4% trypan blue 的 PBS 作 1:1 混合，再取  $20\mu\text{l}$  的混合液放入血球計數器 (hemocytometer，購自 Reichert 公司)，以顯微鏡觀察。存活及正進行程式死亡的細胞均有 trypan blue 排除 (exclusion) 的能力，但正進行程式死亡的細胞可見細胞漿冒泡的現象；死亡及已完成程式死亡的細胞則被染成藍色，但已完成程式死亡的細胞成緻密的小圓形。計算出生長、死亡及程式死亡之細胞數。

#### 四、死亡細胞形態之觀察

劉氏改良之Wright-Giemsa染色觀察：

取  $3\sim5\times10^4$  個 HL-60 細胞，固定於載玻片上，取 Liu A 染液 (0.18g Eosin Y, 0.05g methylene blue 溶於 100ml 甲醇中過濾而得)，染色 25sec 後再補上 2 倍體積的 Liu B 染液 (0.12g methylene blue, 0.14g azure B, 2.52g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 1.26g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  溶於 100ml 水中，過濾而得)，混合均勻，1分鐘後以水洗去染劑，風乾後封片，於 400x 及 1000x 下觀察。

#### 五、細胞週期分析：

將細胞放在 1.5ml 的微離心管中以含有 70% 乙醇的 PBS 固定 (冰溫下，30分鐘)，微離心管離心機 (5415C 型，Netheler-Hinz 公司) 離心 3000rpm (735xg) 3分鐘後，倒掉上清液，以 PBS 洗細胞，再如上述離心一次後，倒掉上清液後加入含有  $40\text{ }\mu\text{g/ml}$  propidium iodide (Sigma 公司)， $0.1\text{mg/ml}$  RNase (Boehringer Mannheim 公司) 的 PBS，使固定後的細胞懸浮在此溶液中， $37^\circ\text{C}$  下培養 30分鐘，此條件下，細胞內的 DNA 會染有 propidium

iodide，就可以 flow cytometry (FACStar cytofluorometer；Becton-Dickinson 公司) 以波長 488nm 定量每個細胞 DNA 含量。

#### 六. 統計分析:

本實驗結果的數據皆以平均值加減標準偏差( mean  $\pm$  S.D ) 表示，再以 Duncan's multiple range test 作統計分析，或然率  $p < 0.05$  即視為有統計學上之意義。

### 結果

#### 1. 小葉鹼對於 HL-60 細胞生長的影響

小葉鹼 5、10、25、50  $\mu\text{g/ml}$  連續處理 HL-60 細胞時發現，在低濃度 (5, 10  $\mu\text{g/ml}$ ) 小葉鹼處理下，HL-60 細胞的生長雖不如對照組，但還不致於完全被抑制住。在高濃度 (25, 50  $\mu\text{g/ml}$ ) 小葉鹼處理下的 HL-60 細胞則有存活細胞數目降低的結果，而且隨著時間的改變而減少 (Fig. 1)。其中以 25  $\mu\text{g/ml}$  小葉鹼處理下的細胞生長曲線較容易見到細胞存活數目與時間改變的相關性，因此後續的實驗便以此一濃度進行觀察。

## 2. 細胞形態之觀察

以 25  $\mu\text{g/ml}$  小葉鹼連續處理 HL-60 細胞，於 0、24、72 小時取出細胞，在劉氏改良之 Wright-Giemsa 染色後藉由 400x 相位差顯微鏡的鏡檢觀察，可以發覺小葉鹼連續處理下 HL-60 細胞的形狀會逐漸的發生變化 (Fig. 2)。在 0 小時 HL-60 細胞外形為圓形，細胞膜平滑而完整，細胞核大而完整，略呈圓或橢圓形，N/C ratio 大，細胞核被染成紅紫色，核質染色均勻，另可見到染色較深的核仁，細胞質質地均勻，染色較淺 (A)。在 24 小時可以發覺細胞的一些細部變化：細胞核變小而呈不規則狀，核質濃染，顯示已有染色質濃縮的現象發生，偶而會見到碎裂的核 (B，箭頭所示)。在 72 小時可以發現細胞發生了細胞質萎縮的現象，細胞變成緻密的、均質紅紫色的小圓形 (C)，這些都是細胞進行程式死亡重要的特徵 (24)。

## 3. 觀察不同濃度的小葉鹼誘發 HL-60 細胞進行程式死亡的差異

以小葉鹼 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g/ml}$  處理 HL-60 細胞 48 小時發現，在低濃度 (5, 10  $\mu\text{g/ml}$ ) 小葉鹼處理下，HL-60 細胞存活與進行程式死亡的比例與對照組相差不大；而在高濃度 (25, 50  $\mu$

g/ml) 小蘗鹼處理下的 HL-60 細胞則有因進程式死亡而使存活細胞數目降低的結果 (Fig. 3) , 這與我們前面的細胞存活實驗觀察相符, 因此我們認為小蘗鹼造成的細胞死亡為誘導程式死亡所致。

#### 4. 觀察小蘗鹼誘發 HL-60 細胞進程式死亡與時間變化的關係

以 25  $\mu$ g/ml 小蘗鹼連續處理 HL-60 細胞, 於 0、24、48、72小時取出細胞觀察細胞存活與進程式死亡的比例, 發現細胞存活與進程式死亡的比例於 48小時各約佔 50%, 72小時則見細胞均死於程式死亡 (Fig. 4) , 這也與我們之前的實驗觀察相符, 更確認小蘗鹼誘發的程式死亡作用。

#### 5. 觀察小蘗鹼對 HL-60 細胞的細胞週期之影響

以 25  $\mu$ g/ml 小蘗鹼連續處理 HL-60 細胞, 於 0、6、12、24、48小時取出細胞, 以 flow cytometry 分析細胞週期變化, 發現在小蘗鹼作用下存活的 HL-60 細胞其細胞週期停滯於 G2/M 期的比例在 24小時後急劇增加 (由 11.9% 到 22.1%) (Fig. 5) 。同時分析進程式死亡與分布於各細胞週期的細胞時發現: 24小時後程式死亡細胞比例增加的同時, 各細胞週期的細胞比例均減少 (Fig. 6) , 這似乎表示各細胞週期的細胞均會進程式死亡, 但這個現象還須日後進一步實驗才能瞭解。

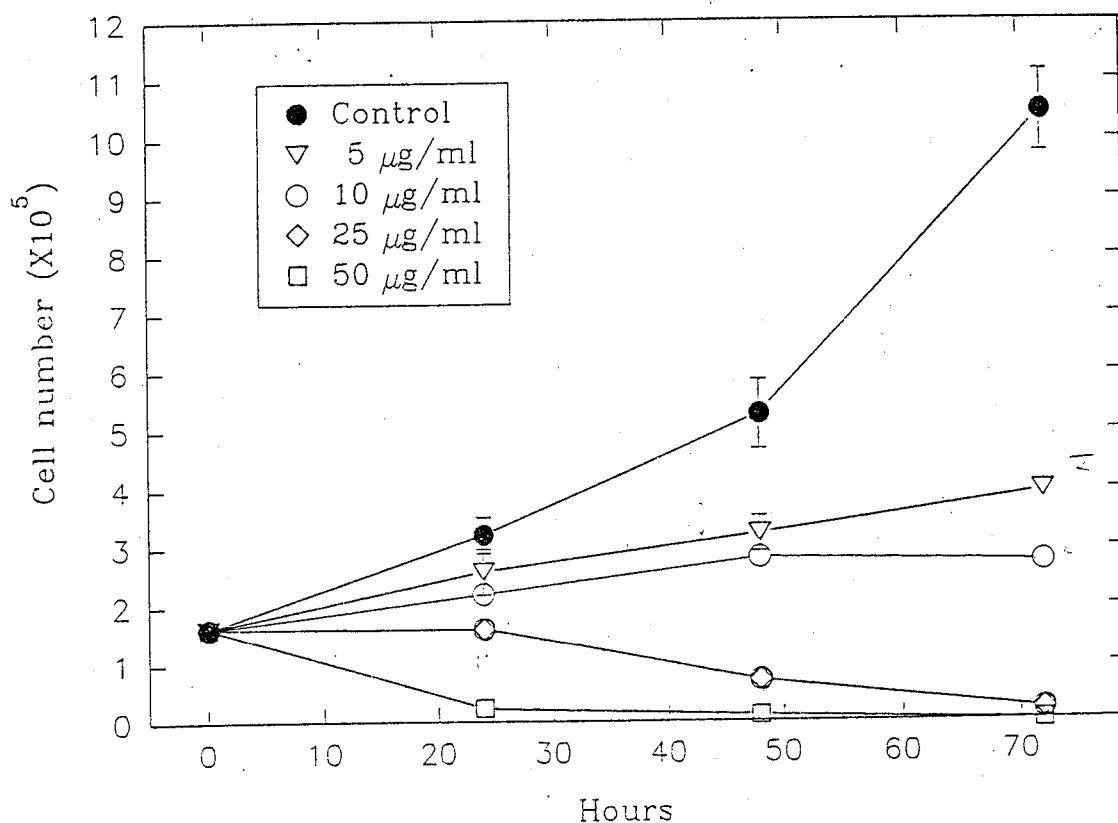
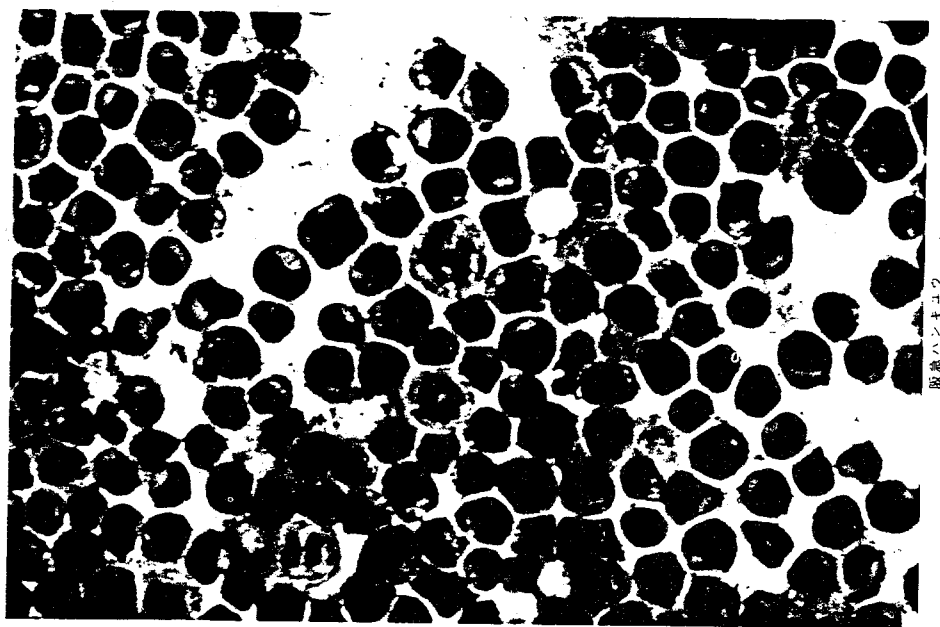
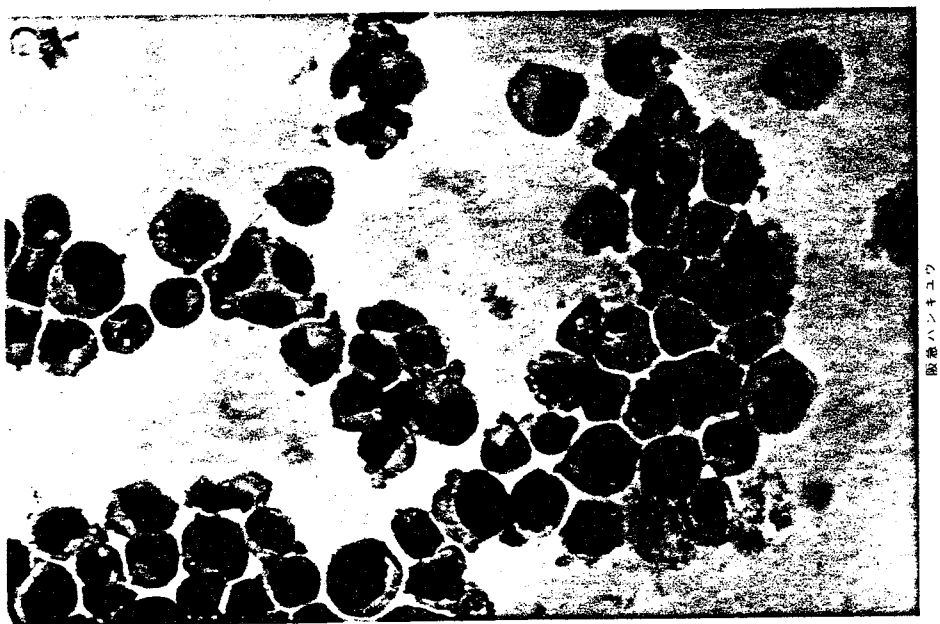


Figure 1. Effect of various concentration of berberine continuous treatment on the induction of loss of cell viability in HL-60 cells cultures. HL-60 cells were incubated in the presence of 0, 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g/ml}$  berberine for 72 hrs. Cells were harvested in 0, 24, 48, 72 hours after berberine treatment. The levels of viable cells were determined by trypan blue stain.

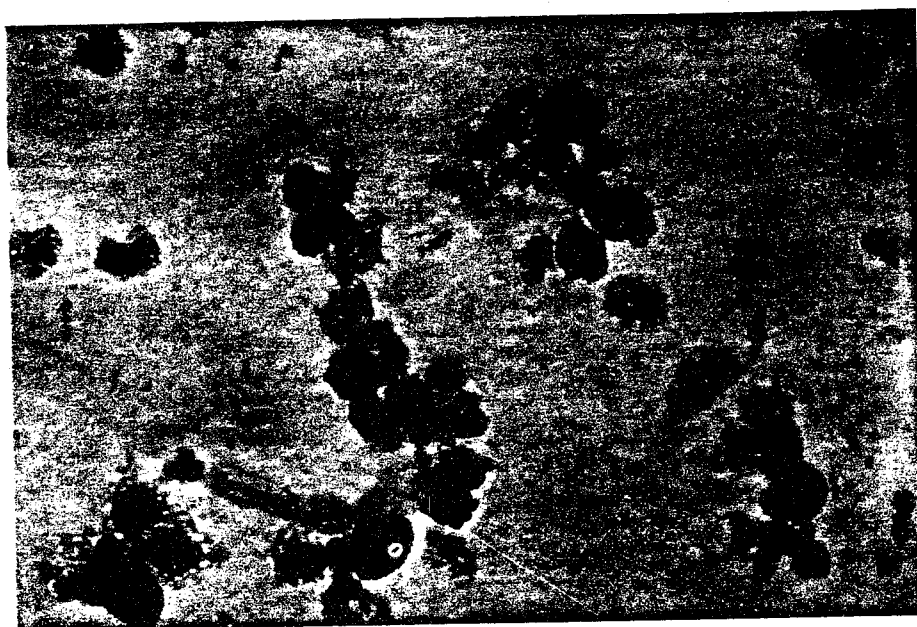
A



B



C



*Figure 2. Morphology change of HL-60 cells induced by berberine.* HL-60 cells were incubated in the presence of 25  $\mu\text{g/ml}$  berberine for 72 hrs. Cells were harvested in 0 hr (A), 24 hr (B), 72 hr (C) after berberine treatment. Cells were stained by Wright-Giemsa stain and photographed in 400X phase contrast microscope.

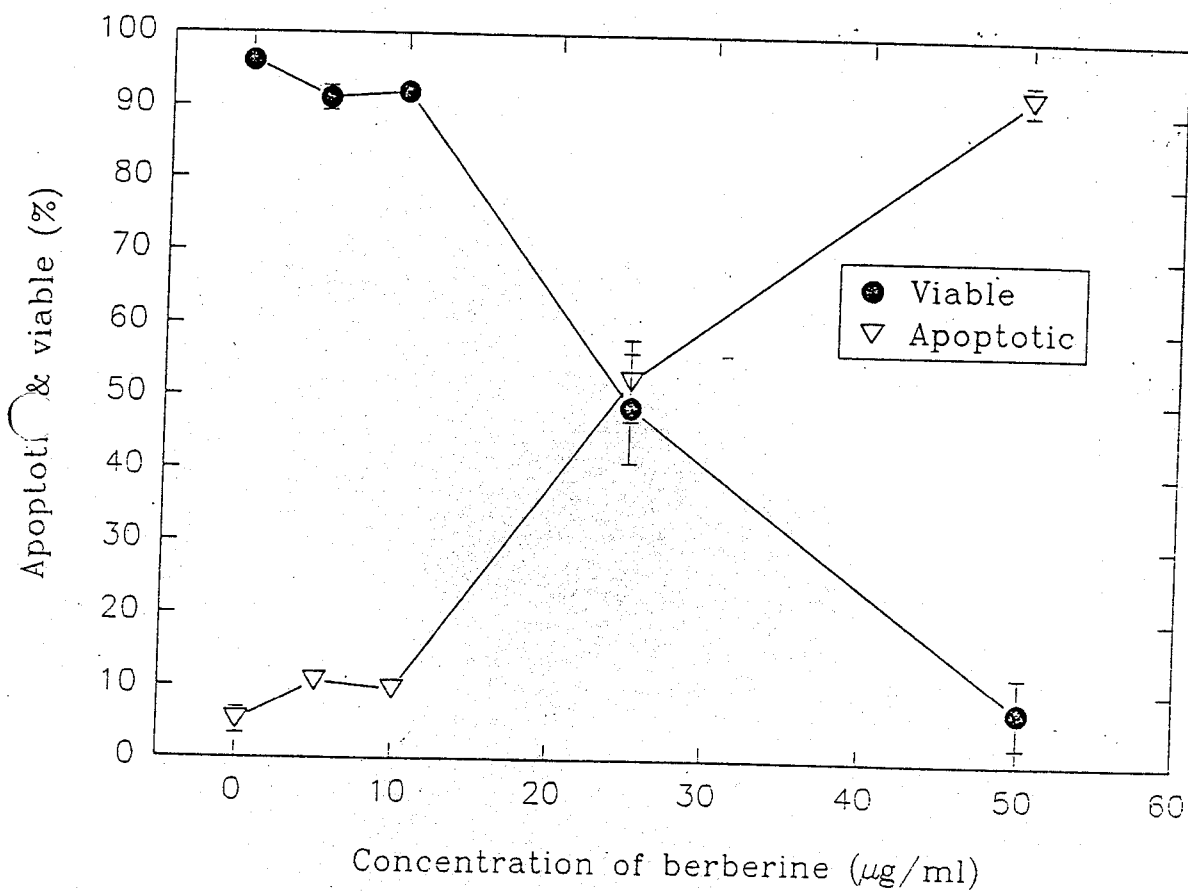
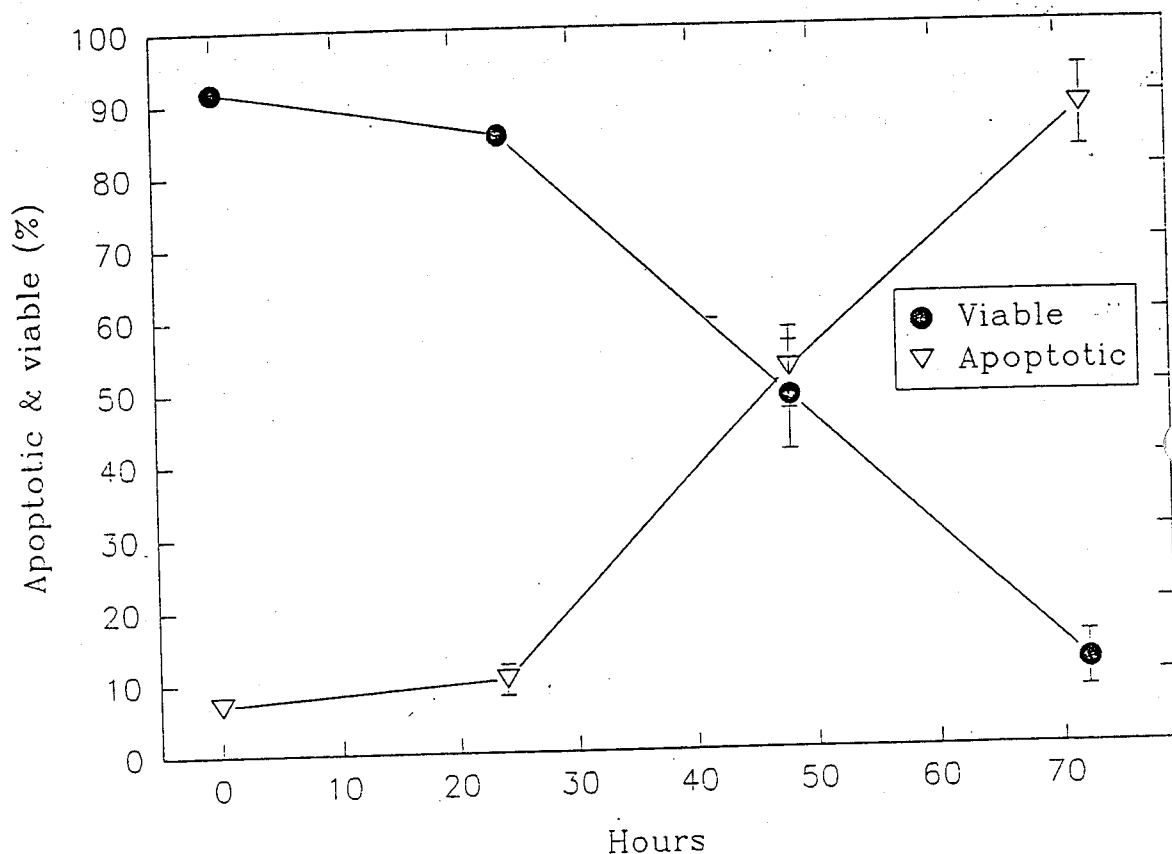


Figure 3. Effect of various concentrations of berberine on the induction of apoptosis and loss of cell viability in HL-60 cells cultures. HL-60 cells were incubated in the presence of 0, 5, 10, 25, 50  $\mu\text{g/ml}$  berberine for 48 hrs. The levels of apoptotic and viable cells were determined by trypan blue stain.



*Figure 4.* Effect of berberine continuous treatment on the induction of apoptosis and loss of cell viability in HL-60 cells cultures. HL-60 cells were incubated in the presence of 25  $\mu\text{g/ml}$  berberine for 72 hrs. Cells were harvested in 0, 24, 48, 72 hours after berberine treatment. The levels of apoptotic and viable cells were determined by trypan blue stain.

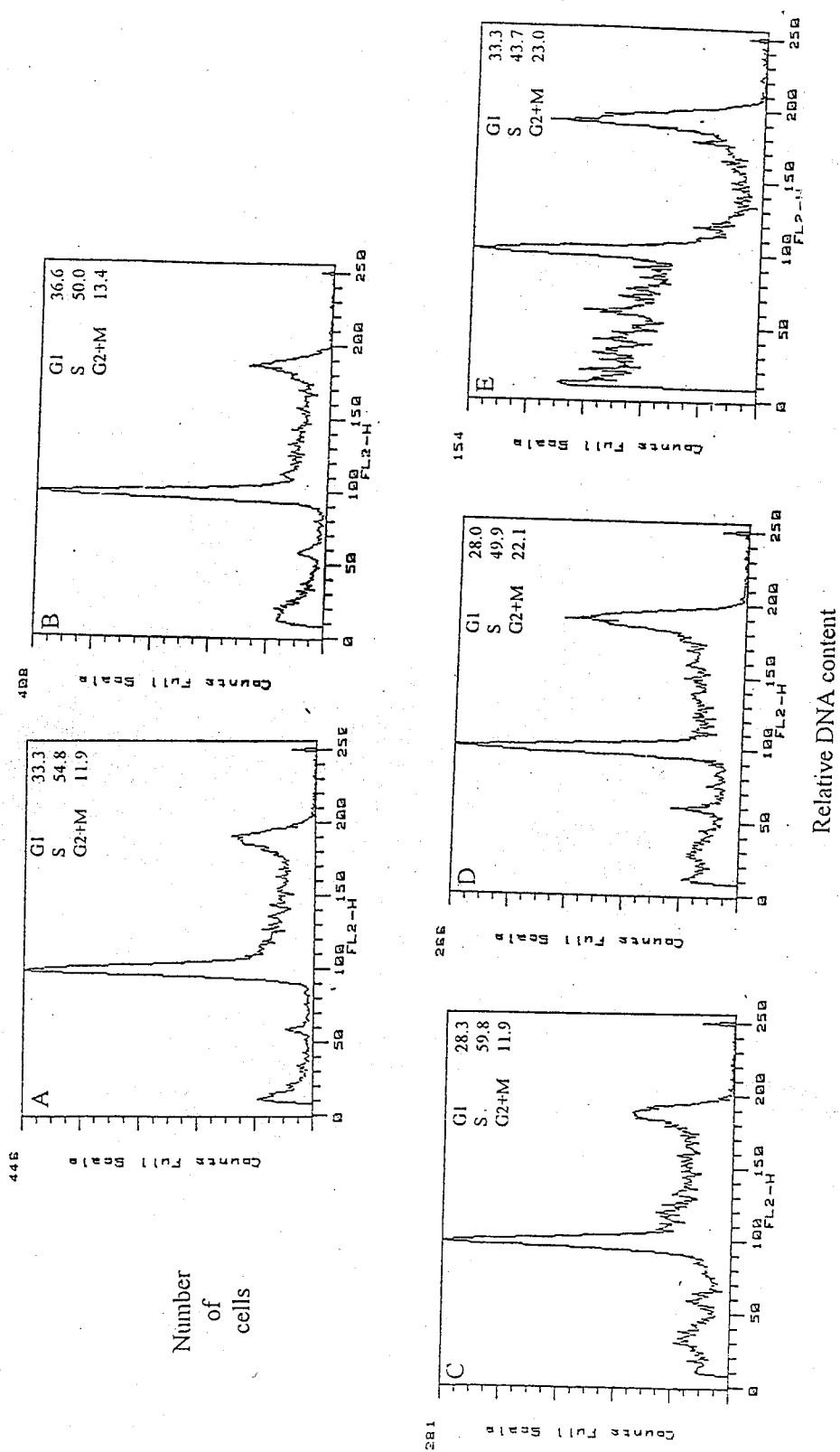


Figure 5. Changes in the cell cycle distribution of HL-60 cells induced by berberine. HL-60 cells were incubated in the presence of 25  $\mu$ g/ml berberine for 48 hrs. Cells were harvested in 0 hr (A), 6 hr (B), 12 hr (C), 24 hr (D), 48 hr (E) after berberine treatment, fluorescence of individual cells were measured with flowcytometry.

## Reference

1. Hahn, F. E. and Ciak, J. (1975) Antibiotics, Vol. 3, Editors: D. Ottliele, P. D. Shaw and J. W. Cocoran. Springer-Verlag, New York, N. Y., p.577.
2. Ghosh, A. K., Bhattacharyya, F. K. and Ghosh, D. K. (1985) *Leishmania donovani*: Amastigote inhibition and mode of action of berberine. *Exp. Parasitol.*, 60, 404-413.
3. Preinger, V. (1975) In: *The Alkaloids*, Vol. 15, pp. 231-243. Editors: R. H. F. Manske. Academic Press, New York.
4. Farnworth, N. R., Bingel, A. S., Cordell, G. A., Crane, F. A. and Fong, H. H. S. (1975) Potential value of plants as sources of new antifertility agents. *I. J. Pharm. Sci.*, 64, 535-598.
5. Kumazawa, Y., Itagaki, A., Fukumoto, M., Fujisawa, H., Nishimura, C. and Nomoto, K. (1984) Activation of peritoneal macrophages by berberine-type alkaloids in terms of induction of cytostatic activity. *Int. J. Pharm. Sci.*, 64, 535-598.
6. Kovar, J., Durrova, E. and Skursky, L. (1979) Differences in the interaction of liver alcohol dehydrogenases with probes binding into the substrate pocket. *Eur. J. Biochem.*, 101, 507-514.
7. Sethi, M. (1985) Comparison of inhibition of reverse transcriptase and antileukemic activity exhibited by protoberberine and benzophenanthridine alkaloids and structure-activity relationships. *Phytochemistry*, 24, 447-454.
8. Chang, K. S. S., Gao, C., and Wang, L-C. (1990) Berberine-induced morphologic differentiation and down-regulation of c-Ki-ras2 protooncogene expression in human teratocarcinoma cell. *Cancer lett.* 55: 103-108.
9. Zhang, R. X. (1990) Laboratory studies of berberine used alone and in combination with 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea to treat malignant brain tumors. *Chinese Med. J.* 103 (8): 658-665.
10. Wyllie, A. H. (1981) Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis. In *Cell Death in Biology and Pathology*. (Bowen, etal eds.) Chapman and Hall Ltd. New York. pp. 9-34.
11. Ellis, R. E., Yuan, J., and Horvitz, H. R. (1991) Mechanisms and founctions of cell death. *Annu. Rev. Cell Biol.* 7: 663-698.
12. Bursch, W., Oberhammer, F., and Schulte-Hermann, R. (1992) Cell death by apoptosis and its protective role against disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 245-251.
13. Williams, G. T. (1991) Programmed cell death: apoptosis and oncogenesis. *Cell* 65: 1097-1098.
14. Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H., and Currie, A. R. (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26: 239-244.
15. Wyllie, A. H., Kerr, J. F. R., and Currie, A. R. (1980) Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 68: 251-306.

16. Morris, R. G., Hargreaves, A. D., Duvall, E. and Wyllie, A. H (1984) Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *Am. J. Pathol.* 115: 426-436.
17. Darzynkiewics, Z. (1986) Cell growth and division cycle. In, *Cell Cycle Effects of Drugs*. (L. A. Dethlefsen eds) Pergamon Press Co. New York, pp. 1-3.
18. Stein, G. and Baserga, R. (1972) Nuclear proteins and the cell cycle. *Adv. Cancer Res.* 15: 287-330.
19. Laskey, R. A., Fairman, M. P., Blow, J. J. (1989) S phase of the cell cycle. *Science* 246: 609-613.
20. Macintosh, J. R. and Koonce, M. P. (1989) Mitosis. *Science* 246: 622-628.
21. Hunter, T. and Pines, J. (1991) Cyclins and cancer. *Cell* 66: 1071-1074.
22. Cifone, M. A., and Fidler, I. J. (1981) Increasing metastatic potential is associated with increasing instability of colonies isolate from murine neoplasms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:6949-6952.
23. Hall, P. A. (1991) Cell proliferation. *J. Pathol.* 165: 349-354.
24. Kyprianou, N., English, H. F., Davidson, N. E. and Isaacs, J. T. (1991) programmed cell death during regression of MCF-7 human breast cancer following estrogen ablation. *Cancer Res.* 51: 162-166.



# 常用活血化瘀藥方對心臟血管疾患之 治療機轉研究(二)

張瑞璋 邱慧芬\* 賴文德\* 林俊清\*\*

高雄市立中醫醫院  
高雄醫學院醫學系\* 藥學系\*\*

## 摘 要

本研究之目的，係針對原發性高血壓患者，採取中醫之治療方式，或再配合活血化瘀理論的應用，以比較兩者在治療上之效果。

研究中，高血壓患者共 58 例，分 A、B、C 三組進行治療，A 組共二十例，使用鉤藤散治療，B 組共二十例，使用鉤藤散加丹參治療；C 組共十八例，使用鉤藤散加川七治療，三組均給藥四週後，再作治療前後之療效比較。

結果顯示：三組病人在主觀之症狀上包括頭暈，頸項強痛等，均有顯著改善；在血壓變化方面，三組均呈現降壓效果 ( $P < 0.05$ )；但以 B 組（鉤藤散加丹參）及 C 組（鉤藤散加川七）的降壓效果較 A 組（鉤藤散）為佳 ( $P < 0.05$ )，顯示在高血壓之臨症治療時，若能配合活血化瘀療法，臨床上應有一定之價值。

本研究亦測定 A、B、C 三組之病人血小板凝集功能之差異，取病人血清收集 PRP 和 PPP 測定血小板之凝集反應後之透光度變化，發現使用鉤藤散再加活血化瘀藥（丹參）之 B 組及加活血化瘀藥（三七）之 C 組病人，測其血小板凝集功能與 Control 和 A 組之病人比較，有相當之改變情形。

# ABSTRACT

The present study is focus on the pharmacological effect of anticoagulant Chinese herb on the treatment of essential hypertension. Patients were divided into three groups, (A,B&C), all the groups received Gou-Terng-Saan (鈎藤散).

The group A (20 cases) adminstrated Gou-Terng-Saan only, the group B (20 cases) have Gou-Terng-Saan and anticoagulant herb-Danshen (丹參) by contrast, the group C: adminis-trated Gou-Terng-Saan and San-Chi (三七), the effect of different treatment in A,B&C groups were evaluated after four weeks.

Our results showed that all A,B&C groups have significant improvement in hepertension. Nevertheless, the group B and C has demonstrated a more potent antihypertensive effect ( $P < 0.05$ ) than group A, the similiar result was observed in the platelet coagulation test.

Our study have shown that it is valuable to add the antigoagulant herb to the traditional therapy of hypertention

## 緒言

高血壓或微循環不良之病人，在臨床上很容易造成心血管疾患之症候群與急性發作，目前患有此種疾患之病人為數眾多，最為易造成有威脅生命之慮，目前亦是十大死亡原因之一。

據統計台灣地區40歲以上者高血功之流行率為18~25%，如果未加妥善治療，會造成心臟、腎臟、腦部、眼睛等之併發症，引起狹心症、心肌梗塞、左心室肥大、腎臟衰竭、蛋白尿、尿毒症、腦中風、眼底血管出血等，這些疾病大都無法復原。由於許多患者正值盛壯有為之年，若罹患此等病症，對於個人、家庭或國家來說，均為一重大的損失。

中醫自內經以來歷代典籍，雖無「高血壓」一詞之記載，但就傳統中醫之治療模式以辨證論治而言，現代醫學上所述之高血壓，其症狀在古代醫籍中即有相當豐富之記載，諸如眩暈、頭痛、腦轉、項強、耳鳴、目赤……等，這些證狀在傳統之治療模式中，將其歸納為肝風內動、肝陽上亢、肝腎陰虛、氣滯血瘀……等項目之下。因此，若對血內經以來之傳統醫籍文獻作一檢視，可知中醫對高血壓之認識及治療，具有其本身之豐富理論與經驗。

本研究之目的，係針對原發性高血壓之患者，採取中醫之治療方式，投與處方鉤藤散；並配合活血化瘀之理論應用，投與處方鉤藤散加丹參或三七，以探討活血化瘀藥在高血壓疾患中之降壓效果，同時兼作活化瘀藥對血小板之凝集作用的探討。以供臨床治療之參考，並藉此提借中醫藥治病之統計數據及機制，希望本研究對我國傳統醫學中高血壓機轉之學術研究，有所貢獻。

## 材料與方法

### 一、研究對象：

選擇高雄市立中醫醫院門診中之高血壓患者，合乎下列條件者，作為治療與追蹤之對象：

(一)曾經赴西醫醫院診療而確定無其他致病原因者，或因不明原因之

原發性高血壓患者。

(二)治療前經血液常規檢查，血液生化檢查和尿液常規檢查，均無異常現象者。

(三)患者經第一次測量血壓以後，每天均測量血壓一次為期一星期，其間均呈高血壓狀態者。（收縮壓大於160mmHg或舒張壓大於90mmHg）。

## 二、使用之藥物：

本研究之患者使用之藥物，為「本事方」中記載之鉤藤散或鉤藤散外加丹參或三七。其中鉤藤散之藥物組成及製備方法如下：

### 鉤藤散成分

鉤 藤 ( <i>Uncaria rhynchophylla</i> )	382 mg
茯 苓 ( <i>Pachyma hoelen</i> )	382 mg
人 參 ( <i>Panax ginseng</i> )	382 mg
半 夏 ( <i>Pinellia tenta</i> )	382 mg
甘 花 ( <i>Chrysanthemi Flos</i> )	382 mg
生 薑 ( <i>Zingiber officinale</i> )	192 mg
防 風 ( <i>Ledebouriella seseloides</i> )	382 mg
石 膏 ( <i>Fibrous gypsum</i> )	760 mg
甘 草 ( <i>Glycyrrhiza uralensis</i> )	192 mg
陳 皮 ( <i>Citrus sinensis</i> )	382 mg

以上生藥製成浸膏600mg加澱粉400mg合為1公克

## 二、分組與治療方法

(一)本研究病人分A、B、C三組治療，A組服用藥物為鉤藤散，劑量每天十六公克分四次服用；B組服用鉤藤散加活血化癥藥物丹參，劑量為每天鉤藤散十六公克加丹參四公克，分四次服用。C

組服用鈎藤散加活血化瘀藥、川七、劑量爲每天鈎藤散十六公克加川七四公克，分四次服用

(二) A組與B組與C組之病人採男性與女性分開，隨機配對，當一人爲A組時下一位則爲B組，另再一位爲C組，以次循環類推。

(三) 依中醫望聞問切四診、詳細詢問病史及症狀。

(四) 治療期間患者之作息及飲食習慣不變。

(五) 治療前除測量血壓外，並作尿液血液常規檢查和血液生化檢查和血液生化檢查（肝功能、腎功能、飯前血糖、尿酸、膽固醇、之酸甘油脂、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、極低密度脂蛋白等檢驗）。

(六) 血壓之測量：患者每次測量血壓前不得有抽煙與飲酒行爲且均需休息三十分鐘，測血壓時採坐姿，測其左臂肱動脈血壓三次，每次間隔休息五分鐘，取三次血壓之平均值。

(七) 抗血小板凝集作用之測定：

以活血化瘀藥抑制經由ADP或collagen誘導之血小板凝集，取出之血液9.0ml加入10mM EDTA作抗凝劑，於離心機1500rpm轉速離心分鐘，取其上清液platelet-rich plasma (PRP)，再拿其去掉上清液之血漿以3000rpm轉速離心15分鐘，以Tyrode's solution清洗小板的小顆粒以去掉EDTA.利用混濁測定方法並且計算出凝集作用百分率，以血小板之懸浮物作爲吸光度(A)0%，血小板游離於Tyrode's solution中的吸光度(A)爲100%，利用下列公式：

## 結 果 與 討 論

本研究之就診病人五十八例中，年齡以五十歲以上者居多（佔81%）（圖一）

A、B、C三組治療前後之肝腎功能均無顯著之差異，顯示此中

藥處方，對肝腎功能，殆無影響。（表一）

A組病例共二十例，使用鉤藤散治療，經四週治療後顯示其收縮壓由治療前之 $175.50 \pm 8.37$ mmHg降為 $163.10 \pm 7.80$ mmHg；而舒張壓則由治療前之 $104.50 \pm 5.76$ mmHg降為 $97.70 \pm 5.48$ mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義差別（ $P < 0.05$ ）。（表二）

B組病例共二十例，使用鉤藤散加活血化癥藥（丹參）治療，經治療四週後顯示：收縮壓由治療前之 $173.70 \pm 9.32$ mmHg降為 $149.50 \pm 6.39$ mmHg，舒張壓由治療前之 $104.0 \pm 5.62$  mmHg降為 $91.20 \pm 6.03$ mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義之差別（ $P < 0.05$ ）（表三）

C組病例共十八例，使用鉤藤散加活血化癥藥（三七）治療，經四週治療後顯示：收縮壓由治療前之 $175.6 \pm 7.66$ mmHg降為 $148.9 \pm 6.90$ mmHg，舒張壓由治療前之 $105.0 \pm 5.37$ mmHg降為 $90.22 \pm 5.17$ mmHg。其降壓效果，在統計學上為有意義之差別（ $P < 0.05$ ）。（表四）

A組、B組與C組三者均顯示有明顯之降壓作用，然而若就A、B兩組之降壓效果比較，結果顯示加有活血化癥藥物（丹參）之B組，其降壓效果較A組為佳。若就A組與C組兩組之降壓效果比較，結果亦顯示加有活血化癥藥物（三七）之C組，其降壓效果較A組為佳。

此現象顯示高血壓之臨症中藥治療時，若配合活血化癥藥物，在治療上有相當改善作用與參考價值，是否繼續加入其它活血化癥藥於高血壓之治療而可得相加的效果，則有待更進一步深入的探討。

總而言之，本研究之結果顯示：三組病人在主觀之症狀上，均有顯著改善；在血壓變化方面，三組均呈現降壓效果（ $P < 0.05$ ）

）；但以B組、C組（鉤藤散加丹參或三七）的降壓效果較A組（鉤藤散）為佳（ $P < 0.05$ ），顯示在高血壓之臨症治療時，若能配合活血化癥療法，臨床上應有一定之價值。

本研究亦測定A、B、C三組之病人血小板凝集功能之差異取病人血清收集PRP和PPP測定血小板之凝集反應後之透光度變化，發現使用鉤藤散再加活血化癥藥（丹參或三七）之B、C二組病人，其血小板凝集功能與Control和A組之病人比較，有相當之改善情形。（圖三～圖八）。

高血壓之中醫論治，就其症狀之表現而言，認為其原因主要由風、火、痰、虛所引起，如劉河間·素問玄機原病式：「風火皆屬陽，多為兼化，陽主乎動，兩動相搏，則為之眩轉。」朱丹溪·丹溪心法：「頭眩……治痰為主……無痰不作眩。」朱丹溪·脈因證治：「眩暈因痰飲隨氣上，伏留於陽經，遇火則動。」靈樞·衛氣篇：「上虛則眩。」靈樞·海論：「髓海不足，則腦轉耳鳴，脛痠眩冒。」張景岳·景岳全書：「眩暈者，虛其八九，兼火兼痰，不過十之一二也。」葉天士·臨症指南醫案：「精液有虧，肝陰不足，血燥生熱，熱則風陽上升，竅絡阻塞，頭目不清，眩暈跌仆，甚則痲痺癱瘓矣。由以上先賢之典籍討論中，可以明白該等症狀之致病原因，雖離不開風、火、痰、虛四者，然而其中甚有關係者，當為「痰」矣。因此本研究中即先採此一治痰之觀念，作為治療高血壓之初步探討。

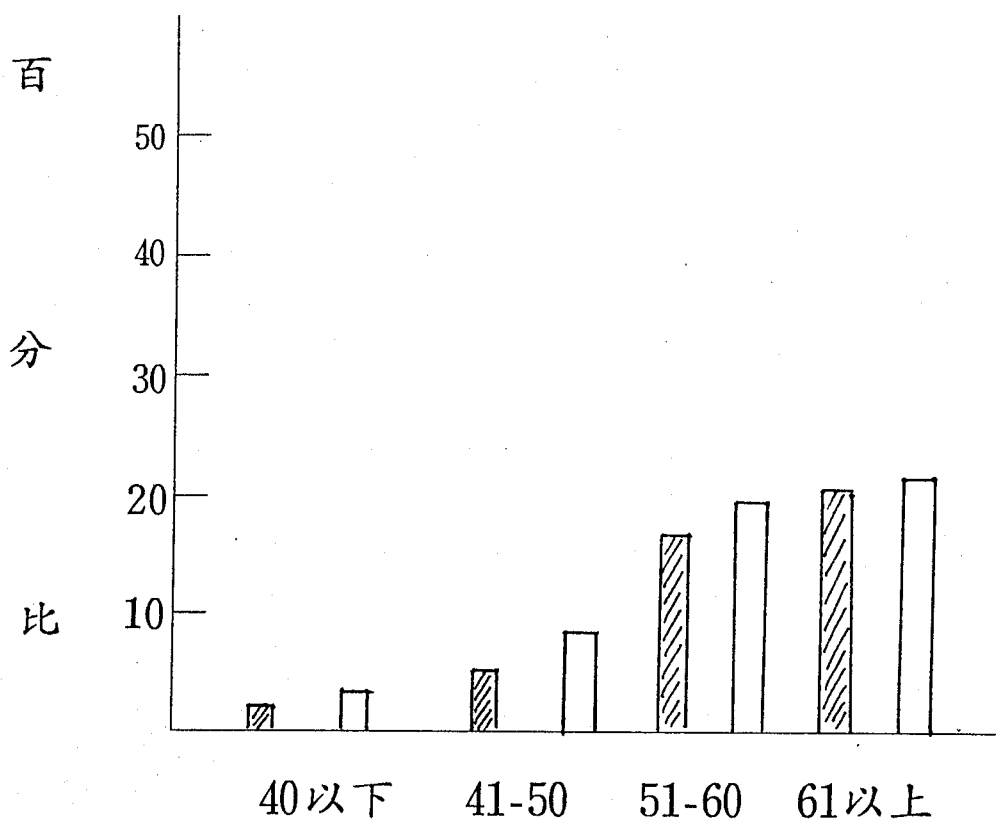
按，本研究所使用之鉤藤散，出自本事方·眩暈門，若就其組成藥物來分析，該方為由治痰之名方「二陳湯」（陳皮、半夏、茯苓、甘草）加味（鉤藤、甘菊花、人參、防風、石膏、生薑）而來，二陳湯在傳統中醫學中，稱其為「治痰之總劑」此與丹溪先生所主張「頭眩治痰為主」遙相呼應，所加之藥味中，鉤藤、菊花、防風，為祛風之藥物、石膏退火，生薑祛痰，人參補虛。綜觀全方，對於風火痰虛引起之眩暈，恰為合治，無怪乎本事方稱其功效為治療肝厥眩暈，日本矢數道明、大塚敬節等先生，則將其應用以治療高血壓、動脈硬化等心血管疾病。

$$\text{Aggregation(\%)} = \frac{\text{initial A} - \text{final A after aggregation}}{\text{initial A} - \text{A of suspending medium}}$$



(八)數據之評估：

本研究結果均次平均值±標準誤差來顯示，並以student's t-test  
平均值檢定來分析服藥結果之差異。

圖(一)



圖一 病人年齡層之分佈

年齡	男 	女 
40以下	1( 1.3%)	2(3.4%)
41-50	3( 5.2%)	5(8.6%)
51-60	10(17.2%)	12(20.7%)
61以上	12(21.7%)	13(22.4%)

表一 病人肝腎功能治療前後之數值（無明顯之差異）。

A 組	治 療 前	治 療 後
SGOT	$20.73 \pm 1.76$	$20.71 \pm 1.78$
SGPT	$23.10 \pm 2.59$	$22.98 \pm 2.95$
BUN	$12.49 \pm 1.25$	$12.99 \pm 1.58$
Creatinine	$0.85 \pm 0.18$	$0.85 \pm 0.15$

B 組	治 療 前	治 療 後
SGOT	$20.93 \pm 2.25$	$20.28 \pm 4.96$
SGPT	$21.49 \pm 2.99$	$22.60 \pm 2.43$
BUN	$13.16 \pm 1.69$	$13.57 \pm 1.84$
Creatinine	$0.88 \pm 0.20$	$0.90 \pm 0.2$

C 組	治 療 前	治 療 後
SGOT	$20.67 \pm 2.10$	$20.98 \pm 4.30$
SGPT	$21.95 \pm 2.30$	$22.25 \pm 2.09$
BUN	$12.89 \pm 1.41$	$12.79 \pm 1.35$
Creatinine	$0.92 \pm 0.24$	$1.24 \pm 1.45$

表二 服用鉤藤散四週後病人血壓之差異

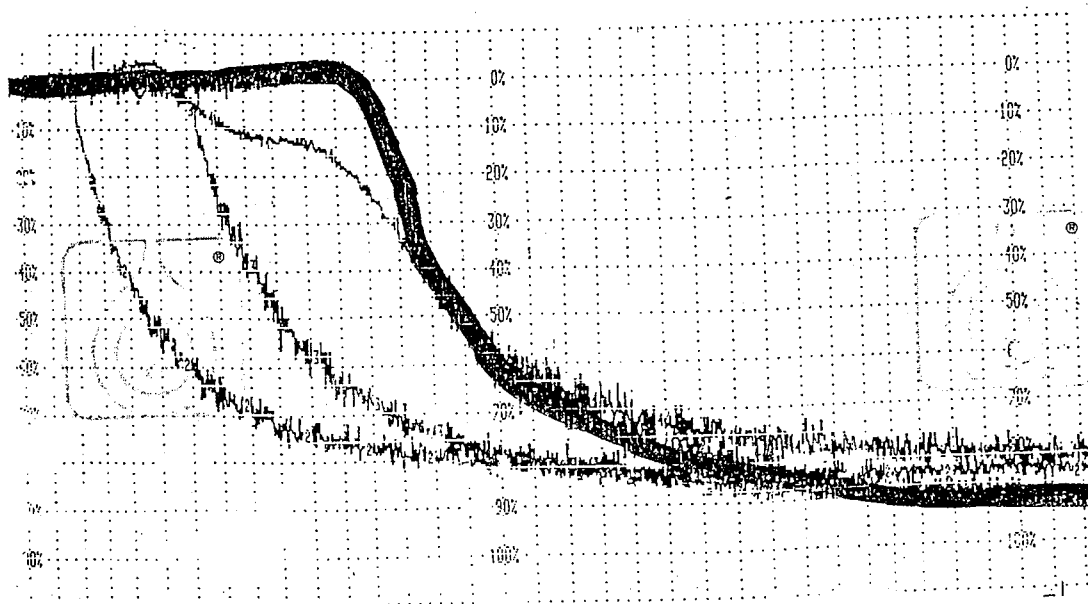
A 組 (20 case)	鉤藤散(16 g/天)	
	治 療 前	治 療 後
收 縮 壓 (毫米汞柱)	175.5±8.73*	163.1±7.80*
舒 張 壓 (毫米汞柱)	104.5±5.76*	97.7±5.48*
* P < 0.05 統計學上有意義差別		

表三 服用鉤藤散加丹參四週後病人血壓之差異

B 組 (20 case)	鉤藤散(16 g/天)加丹參(4 g)	
	治 療 前	治 療 後
收 縮 壓 (毫米汞柱)	173.7±9.32*	149.5±6.39*
舒 張 壓 (毫米汞柱)	104.0±5.62*	91.2±6.03*
* P < 0.05 統計學上有意義差別		

表四 服用鈎藤散加三七四週後病人血压之差異

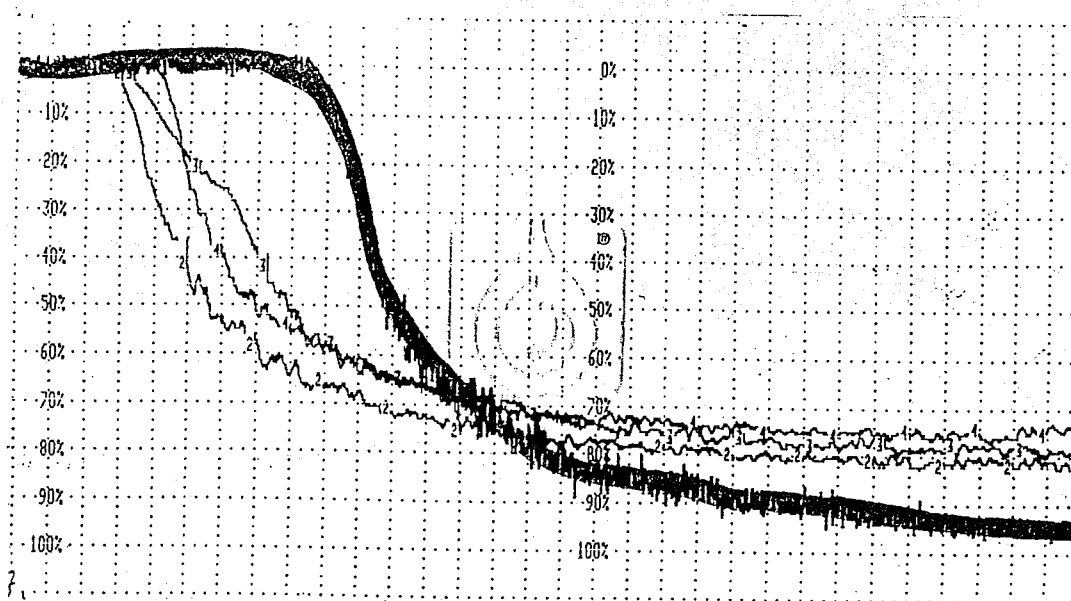
C 組 (18 case)	鈎藤散(16 g/天)加三七(4 g)	
	治 療 前	治 療 後
收 縮 壓 (毫米汞柱)	175.6±7.66*	148.9±6.90*
舒 張 壓 (毫米汞柱)	105.0±5.37*	90.2±5.17*
* P < 0.05 統計學上有意義差別		



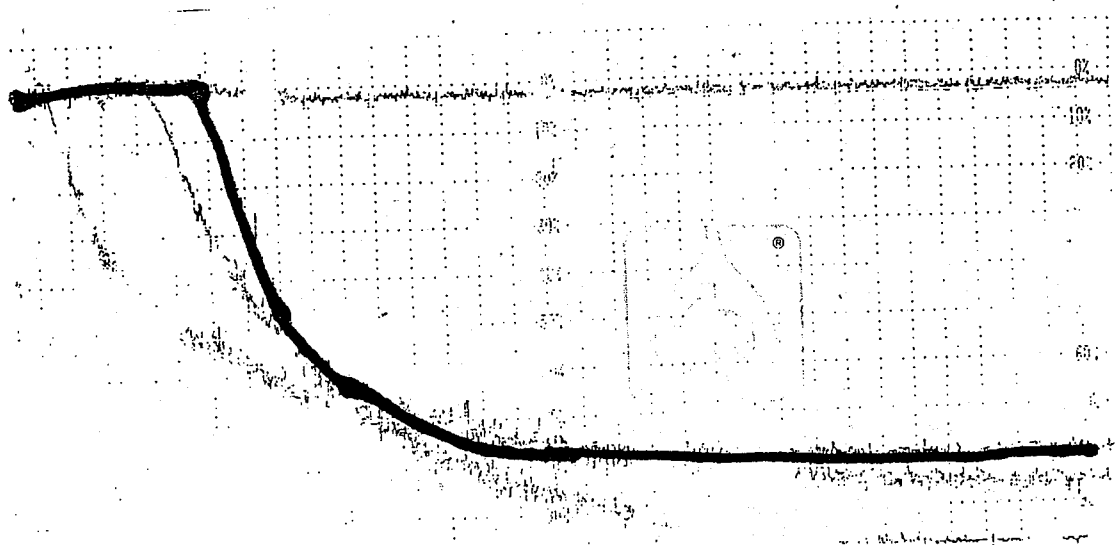
圖三 病人未經治療前之血小板凝集現象 (以Collagen當inducer)



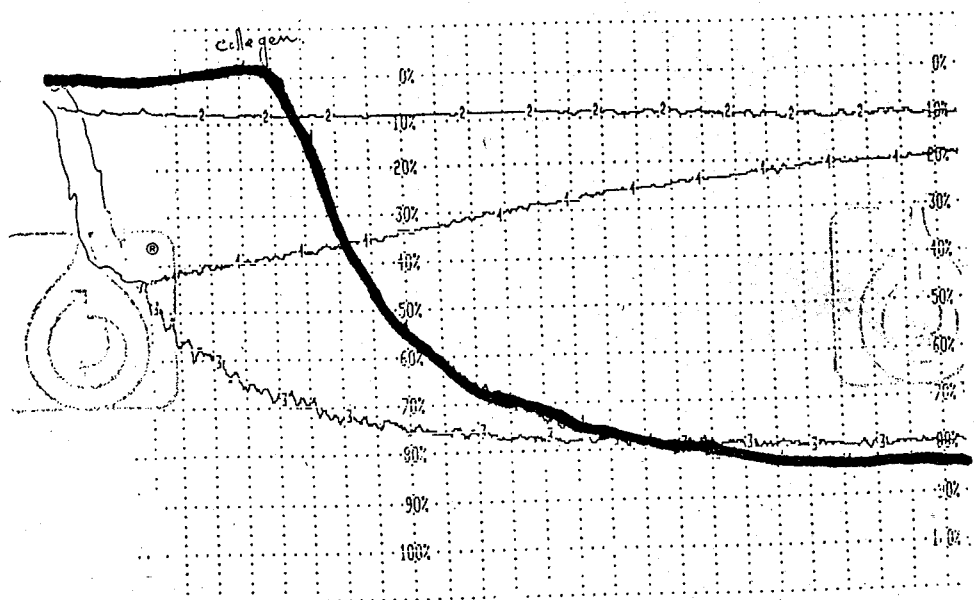
圖四 病人服用鈎藤散治療後之血小板凝集現象 (以Collagen當inducer)



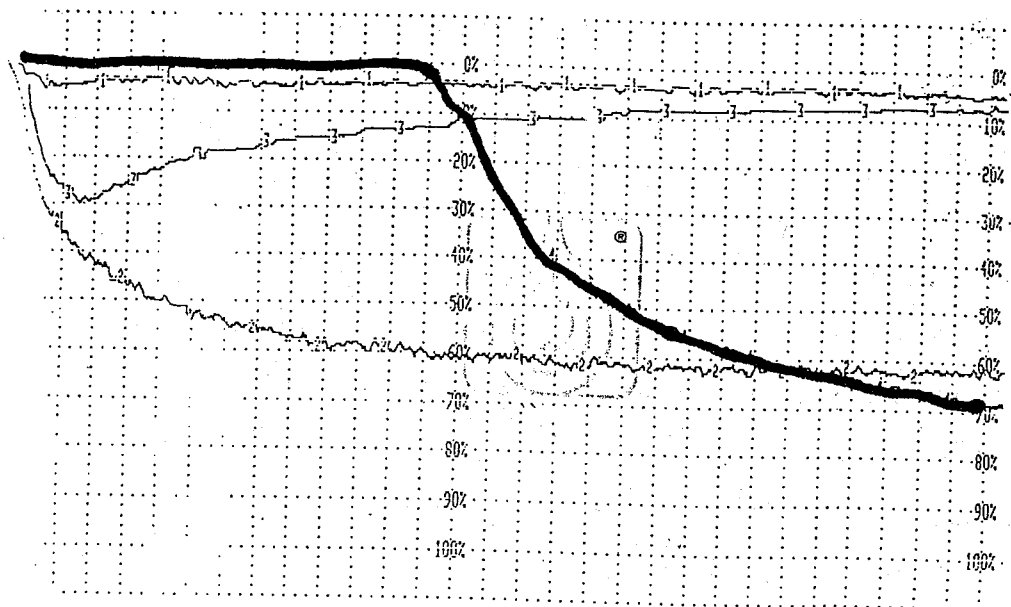
圖五 病人服用鈎藤散加丹參治療後血小板凝集現象 (以Collagen當inducer)



圖六 病人未經治療前之血小板凝集現象（以Collagen當inducer）



圖七 病人服用鈎藤散治療後之血小板凝集現象（以Collagen當inducer）



圖八 病人服用鉤藤散加三七治療後之血小板凝集現象(以Collagen當inducer)

## 參 考 資 料

1. 許扶魁"活血化癥之臨床研究與探討"華鼎出版社·1990; P.143-150, P.184-188, P.280-311.
2. Chun-Ching Lin. The clinical pharmacognosy (II) .1988; P 67-81, P.299-313.
3. Ault MJ, Ellrodt AG. Pathphysiologic events leading to the endorgan effects of acute hypertension. J Emerg Med. 1985; 3(Suppl. 2):10.
4. Anderson R, Reed WG. Current concepts in treatment of hypertensive urgencies. Am Heart J. 1986; 111:211.
5. Frohlich ED et al. Task force IV: systemic arterial hypertension. J Am Coll Cardiol. 1985; 6:1218.
6. WHO. Guidelines for treatment of mild hypertension. Lancet. 1983; 1:457.
7. Kannel WB et al. Blood pressure and risk of coronary artery disease :the Framingham study. Dis Chest. 1969; 56:43.
8. Messerli FH. Pathophysiologic mechanisms in essential hypertension : a clue to the therapeutic approach. J Cardio-vasc Pharmacol. 1984 ; 6(Suppl. 6):S875.
9. Kannel Wb et al. Hypertension and cardiac impairment increase stroke risk. Geriatrics. 1978; 33:71.
10. Frick MH et al. Helsinki heart study: primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. N Engl J Med. 1987; 317:1237.
11. Ahrens EH. The diet-heart question in 1985: has it really been settled? Lancet. 1985; 1:1085.

12. Hoeg JM et al. An approach to the management of hyperlipoproteinemia. JAMA. 1986; 225:512.
13. Philips NR et al. Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides: association With adiposity and the consumption of ethanol, tobacco, and beverages containing caffeine. Arteriosclerosis. 1981; 1:13.
14. Kesaniemi YA, Grundy SM. Influence of gemfibrozil and clofibrate on metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in man. JAMA. 1984; 251:2241.
15. 曾文賓：台灣之高血壓現況 台灣學會雜誌 86:35;1987
16. Consensus Conference. Treatment of hypertriglyceridemia. JAMA. 1984; 251:1196.
17. J. Stessman, B. Leibel, Y. Yagil, R. Elaikim, D. Ben-Ishay. Nifedipine in the treatment of hypertension in the elderly. J Clin Pharmacol. 1985 ; 25:193-196.
18. Hsu MF, Young JH, Wang JP, Teng CM. Effect of hsien-ho-t'sao (*Agrimonia pilosa*) on experimental thrombosis in mice. American J. of Chinese Medicine. 1987; 15(1-2):43-51.
19. Teng CM, Kuo SC, Ko FN, Lee JC, Lee LG, Chen SC, Huang TF. Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. Biochimica Et Biophysica Acta. 1989; 990(3):315-20.
20. Ou XC. Studies on the antithrombotic activity of 11 traditional Chinese herbal drugs. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(6):358-9.

21. 詹文濤：高血壓病的中醫理論及防治規律探討 雲南中醫雜誌1:P 20, 1983.
22. Wang ZY. Inhibitory effects of new-breviscapine on thrombosis in vivo. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(1):26-8.
23. Li AG. H SL. Pen YG. Effect of buyang huanwu decoction on the antithrombotic functions of the vessel wall. Chinese J. of Integrated Traditional & Western Medicine. 1989; 9(9):545-7.
24. You S. Yao XS. Chen YJ. Cui CB. Qu GX. Wu J. Xin XJ. Anti-blood platelet aggregation constituents in the root of *Isatis tinctoria* L. Chung Yao Tung Pao. 1988; 13(2):31-2.
25. Wang M. Wu D. Wang F. Zheng X. Zhou E. Pharmacological studies of huomaisan. China J. of Chinese Materia Medica. 1990; 15(5): 308-320.
26. Tao J. Feng KY. Experimental and clinical studies on inhibitory effect of *ganoderma lucidum* on platelet aggregation. J. of Tongji Medical University. 1990; 10(4):240-3.
27. 孫伯揚：中醫治療高血壓病的臨床體會 新中醫，4:23, 1982.
28. Teng CM. Yu SM. Chen CC. Huang YL. Huang TF. EDRF-release and  $Ca^{+}(+)$ -channel blockade by magnolol, an antiplatelet agent isolated from Chinese herb *Magnolia officinalis*, in rat thoracic aorta. Life Sciences. 1990; 47(13):1153-61.
29. Liu XF. Liu ML. Iyanagi T. Legesse K. Lee TD. Chen SA. Inhibition of rat liver NAD(P)H:quinone acceptor oxidoreductase (DT-diaphorase) by flavonoids isolated from the Chinese herb *scutellariae radix* (Huang Qin). Molecular Pharmacology

1990; 37(6):911-5.

30. Okuyama T. Fujita K. Shibata S. Hoson M. Kawada T. Masaki M. Yamate N. Effects of Chinese drugs "xiebal" and "dasuan" on human platelet aggregation (*Allium bakeri*, *A. sativum*) . *Planta Medica*. 1989; 55(3):242-4.
31. Wang N. Luo HW. Niwa M. Ji J. A new platelet aggregation inhibitor from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Medica*. 1989; 55(4) :390-1.
32. Sato T. Yamaguchi H. Fujii T. Akiba S. Tamura A. Fujii T. Tatsumi Y. Miura O. Inhibitory effect of various traditional Chinese medicines on rabbit platelet phospholipase A2 in vitro and suppressive effect of toki-syoku-san on increased aggregability in hypercholesterolemic rabbit *ex vivo*. *J. of Pharmaceutical Society of Japan*. 1989; 109(11):868-76.
33. Luo HW. Hu XJ. Wang N. Ji J. Platelet aggregation inhibitors from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Acta Pharmaceutica Sinica*.
34. Shan CW. Effects of polydatin on platelet aggregation in rabbits. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 1988; 23(5):394-6.
35. 明·徐春甫：古今醫統大全 P3603 新文豐出版社，1979.



# 礦物性中藥一硃砂之亞慢性毒性評估

曾信雄

行政院衛生署藥物食品檢驗局

## 摘 要

硃砂 (HgS) 是廣用於中國傳統醫學，記載中具有解毒與鎮靜之礦物性中藥，由於其具有不溶於水之性質及長久供生藥之使用，因此其亞慢性毒性並未受到注意與重視。

評估礦物性中藥一硃砂之亞慢性毒性，選用大鼠，以中藥藥典中之有關硃砂之用法用量及曾經發生硃砂中毒之劑量作為硃砂濃度選用之基準，將硃砂均勻拌入正常之飼料中使其成為 0,50,500 與 5000mg/kg 等四種濃度。試驗動物雌雄分群共 480 隻以自由攝食方式授予。實驗結果授予硃砂之動物，其毒性出現顯著的劑量—反應關係，出現之臨床徵狀包括厭食，體重減輕，鎮靜，自發性運動之抑制，行動不穩，反應遲鈍，運動失調，攣縮，心跳減速，眼睛分泌物增加，眼紅甚至眼簾閉合等。在血液學方面有血小板之異常增加與白血球數之異常減少，在臨床生化方面血液中之麩胺酸草醋酸胺基轉酶 (GOT)，麩胺酸丙酮酸胺基轉酶 (GPT)，鹼性磷酸酶 (ALP)，乳酸脫氫酶 (LDH) 與全蛋白 (TP) 等之活性均異常增加，但尿液尿素氮 (BUN) 却減少。劑量組動物授予硃砂 12 週時之生體剖析發現腎臟、肝臟、腦、心臟、脾臟、肺臟等之重量明顯減輕，且部份有心臟硬化，肝臟與腎臟萎縮及色淡，肝臟組織鬆弛之現象等。且劑量組之死亡之三隻動物經屍體剖檢發現有兩隻動物之肝臟，腎臟與脾臟有明顯之結節，浮腫，腸

及胃部嚴重發炎甚至壞死等。

授予硃砂後，至第24小時大鼠自尿中排出之汞量是空白對照組之18～20倍，96小時時腎臟，肝臟與腦中之汞含量分別是對照組之22～25倍，11～15倍及17～18倍。若長期授予硃砂，在腎臟，腦與肝臟中汞之蓄積量與攝食之硃砂量及攝食之期間成正的相關性其蓄積量以腎臟為最多，腦次之肝臟再次之。第20週時之蓄積量，未授予者均在0.001ppm以下，惟劑量組動物器官中蓄積量分別為腎臟6.5ppm-19.3ppm，腦0.09ppm-0.87ppm，肝臟0.04ppm-0.58ppm。另外長期授予硃砂之大鼠出現明顯之不穩定性，惟以腦幹誘發電位方法偵測時並未發現對神經之傳導有顯著之影響。由以上之結果顯示若動物長期授予硃砂，將出現亞慢性毒性。

## 一. 緒 言

硃砂(cinnabar)又名辰砂，在我國已有上千年的藥用歷史，本品為常用中藥，始載於神農本草經中，主要成份是硫化汞(HgS)，朱色，藥理作用是鎮靜，安神，解毒等功效，在中藥書籍如“山海經”，“神農本草經”將其列為上品(1,2,3)。對於硃砂毒性的認識，經過逐步探討與研究之過程，儘管“神農本草經”記載“久服通神明，不老”，“名醫別錄”認為“無毒”，但隨著時間的推移，歷代醫家以無數慘痛的教訓中，認識到硃砂“入火則熱而毒，能殺人”，“獨用多用令人呆納”，近年來，國內外雜誌也不斷有關硃砂毒性的臨床報導與中毒之案例。例如“硃砂引起慢性汞中毒”，“因長期服用含硃砂的安宮牛黃丸而導致汞中毒性腎病”，“嬰兒由於服用至寶錠等含朱砂中藥造成類似急性汞中毒症狀”，“腦震盪患者服用含硃砂之中藥70-80劑，每劑約含硃砂6-7g，最大量10g，因有中毒徵狀出現經測定結果尿汞量達0.3mg/l，而診斷為慢性汞中毒”，“頭部傷者服用含硃砂共約269克之中藥而導致慢性汞中毒”等(4)。由以上案例顯示硃砂之應用價值與潛在之毒性實應重新考慮。

進幾年來隨著人們對汞與其化合物之毒性已有深切的認識，並且已對它在中成藥中之污染與使用極為關切，甚至已考慮限制或禁止使用，硃砂是難溶於水其溶解度為 $1.0 \times 10^{-5}$  g/100ml，如此低之溶解度，不但無法發揮其藥理作用，當然也不足以發揮毒理效應。硃砂之藥效與毒理究竟安在？實有待積極剖析，在中藥藥典中之記載，關於用於中成藥之汞化合物，除了偶而使用作為緩瀉劑之昇汞(Hg Cl<sub>2</sub>)外，硃砂是常應用於全身治療之含汞中藥藥材，它在中醫治療之記載中是屬於安神藥(tranquilizers)，此與鎮靜催眠藥(sedation-hypnosis drugs)或安定藥類似，其義意似乎說明硃砂具有鎮靜效果(2)，但是依據實驗之資料顯示雖小鼠口授之劑量達1.2mg/20g(小鼠)，但對小鼠並未出現顯之催眠(hypnosis)，鎮靜(sedation)與抗驚厥效果，惟長期連續授予硃砂之藥劑，雖不能使授予閾下劑量(threshold dose)之異戊巴比妥鈉(amobarbital sodium)之小鼠入睡，但能使催眠劑量(hypnotic dose)之異戊巴比妥鈉之催眠時間延長，此現象並非醫療效果，而是因為汞在體內之蓄積而影響肝臟與腎臟對異戊巴比妥鈉之代謝功能而延緩自尿中排泄之結果(5)，小鼠授予硃砂後經4-10日，並未發現麩胺基硫(glutathione)與UDP glucuronyl transferase(UDPGT)活性有明顯改變，但相反的若授予氯化亞汞(Hg Cl)時，卻異外出現甲狀腺素(Thyroid hormones)之T<sub>3</sub>之活性未下降但T<sub>4</sub>明顯下降，腎臟之麩胺基硫(GSH)與UDPGT卻明顯增加(6,7,8,9)，又小鼠長期連續授予硃砂後在肝臟與腎臟與血液中均檢出較高量之汞(5)，此現象對於長期服用硃砂之病患而言，應仔細考慮硃砂在體內蓄積後可能引發之中毒。含硫化汞之礦物性中藥-硃砂之毒性實應積極評估。

## 二. 材料與方法

### 一. 動物試驗：(10, 11)

#### 1. 試驗之動物：

- (1). 約 180-230g 之啮齒動物之大鼠。
- (2). 每一組使用相同數目之雄性及雌性大鼠，而雌性大鼠均未生產過且未曾受孕者。
- (3). 試驗動物之數目均考慮試驗結束後仍有足夠之試驗動物存活以供對毒性反應做有意義之評估，並偵測每個試驗組雌性與雄性在試驗期每四週均犧牲 5 隻試驗動物，供測定汞危害內臟，血液之情形，汞在腎臟，肝臟及腦中之蓄積，及觀查其毒性效應，因此試驗開始時即將每組動物之數目增加為 60 隻，雌雄分組，每 5 隻一籠共 96 籠 480 隻，試驗時除劑量組之飼料中含不同濃度之硃砂外，均採用正常之飼養方法與給水。

#### 2. 投藥方式：

將朱砂(硫化汞 99% 以上)混入飼料中以自由攝食方式授予試驗動物。

#### 3. 劑量之選擇：

硃砂濃度之決定是依據中藥藥典中有關硃砂之用法用量之規定與曾經發生之硃砂中毒案例中有關中毒劑量計之，及預測試驗動物於亞慢性試驗過程中可能出現動物之劑量與反應之效應關係，另外再考慮此劑量能否推算出無反應劑量等，因此將朱砂混入飼料中使其最終濃度為 50mg/kg, 500mg/kg, 5000mg/kg 等三種劑量組及對照組 (0mg/kg) 等共分四組。對照組之試驗方法除授予未混合硃砂之飼料外其餘均與試驗組完全一樣。

4. 試驗期間：20週。

5. 試驗觀察：

(1). 臨床檢查：

(a). 每天仔細檢查試驗動物一次。分開記錄所有試驗動物之死亡，毒性徵狀與其出現之時間，及後續發生之種種情形。

(c). 所有試驗動物每週稱體重一次，並分開記錄之。

(d). 飼料之消耗量每日均記錄一次，並計算試驗動物之成長時期之食物效率 (food efficiency)。

(e). 試驗中死亡，體弱及快死亡之試驗動物，立即進行屍體剖析或分離飼養，以明動物死亡原因及減少試驗動物之損失。

(2). 血液學上之檢查：

每個試驗組及對照組，每4週及在試驗結束時做血液學之檢查以確定對造血功能，或毒害血液或器官之毒性，檢查項目包括血球容積比 (HCT)，血紅素濃度 (HGB)，血容積 (MCV)，紅血球數目 (RBC)，白血球總數 (WBC)，血小板數 (PLT) 等。

(3). 臨床生化學上之檢查：

試驗組及對照組在試驗前，每4週及在試驗結束時進行臨床生化學檢查，每試驗組及對照組逢機選取5隻試驗動物，檢查項目包括總蛋白質 (TP)，白蛋白 (albumin)，鹼性磷酸酶 (ALP)，天門冬胺酸轉胺酶 (GOT)，丙胺酸轉胺酶 (GPT)，乳酸脫氫酶 (LDH)，葡萄糖 (glucose)，尿素氮 (BUN) 等。

(5). 眼科學上之檢查：

試驗開始前及試驗中及試驗結束後均以裂隙燈做此項檢查，選取最高劑量組進行檢查。如果發現眼睛有變

化時，則再進行次高劑量每隻動物之檢查。

(6). 病理檢查：

(1). 屍體剖檢與組織病理檢查：

(a). 試驗中死亡，及因體弱而處死的動物均做屍體剖驗。

(b). 每個試驗組及對照組在試驗前，每4週及在試驗結束時均選取最少5隻做主要器官如腦，肝臟，腎臟，心臟，脾臟，脾臟與腸胃等之檢查檢查項目包括重量，及其可觀察之病變。有病變之器官或組織以適當之溶液保存，供組織病理檢查。

(2). 試驗結束時進行之各項檢查

(a). 對照組及最高劑量組之試驗動物。

(b). 有明顯病變之所有試驗動物。

(c). 所有試驗動物之腦，肝臟，腎臟，心臟，脾臟，肺臟及腸胃等。

(d). 最高劑量組之試驗動物的某些器官產生病變，則其它次劑量組之試驗動物之相同器官都需做此檢查。

二. 汞之分析 (12)

1. 試劑之配製 (試藥均 E. Merck, 測汞用者)。

(1). 攜帶氣體 (carrier gas) - 銨 (Ar)。

(2). 去離子水 (deionized water) - 實驗均用此種水。

(3). 0.1% 氯化亞錫 ( $\text{SnCl}_2$ ) 溶液

取 60ml 之硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 溶液 (濃硫酸: 水 = 1:2, v/v), 加入 1.0g 之氯化亞錫 ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 溶解後加水至 1000ml (使用前配製)。

(4). 0.5% 硫酸溶液。

取 5ml 濃硫酸加水使成 1000ml。

(5). 汞標準溶液之。

取 0.1ml 之汞標準溶液 (1000mg/l), 加水至 1000ml, 使

成濃度100ppb,再依此分別配製成濃度為5ppb,25ppb,50ppb,100ppb及20ppb,30ppb,50ppb之汞標準溶液供作檢量線之用。

## 2. 檢液之配製

(1).分別精確稱取授予各種劑量之試驗動物之研碎腎臟,肝臟與腦各2g,分置於分解燒瓶中,加5ml之水與10ml之濃硝酸,旋轉分解燒瓶至氣泡不再產生,後套入消化裝置中,靜置4小時,後徐徐加入20ml之濃硫酸。

(2).加熱至80℃,48小時,分解液呈淡黃色澄清液時,冷卻,加25ml之水及約3ml之10%尿素溶液。再加熱沸騰10分鐘,冷卻,加0.5g之高錳酸鉀充分混合,紫紅色不消失,冷卻後滴加10%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液至紫紅色消失,最後以20ml之硫酸溶液(1→100)洗滌裝置內部及玻璃接合部位。

(3).洗液併入分解燒瓶中,過濾,定容至100ml成為檢液。

## 3. 汞偵測儀

原子吸光光譜分析儀(Atomic absorption spectrophotometer, Hitachi, Z-6100 polarized zeeman)

## 三. 試驗動物之穩定性與活動性之測定

### 1. 活動性測定

逢機選取每劑量組與對照組之雌,雄性各20隻分置於暗箱中測定其活動性。

### 2. 穩定性之測定

逢機選取每劑量組與對照組之雌,雄性各20隻分置於轉輪上,以測定其穩定性。

## 四. 神經傳導之測定

逢機選取每劑量組與對照組之雄性10隻,經pentobarbital麻醉後以腦幹誘發電位儀(Neuropack-11, Nihon Kohden)測定之。

### 三. 試驗結果

#### 一. 死亡率：

經20週實驗結果發現，硃砂之劑量與試驗動物死亡之相關性 (Cinnabar-related deaths)，在高劑量時之試驗末期，硃砂濃度為較高者，如5000mg/kg雌，雄各一隻死亡，500mg/kg雄性有一隻死亡，經屍體剖析時發現死亡之雄性動物之腎臟，肝臟，脾臟出現明顯的結節，而且亦出現上述臟器與腸胃等之嚴重發炎與浮腫，如圖一。

#### 二. 器官與體重：

試驗動物之體重，攝食量及內臟之發育與授予之硃砂濃度與劑量之間有明顯劑量-反應效應之關係 (dose-response relationships)，劑量組之試驗大鼠，第五週以後即有明顯之飼料消耗量減少，至第十週後更為明顯之厭食徵兆，如表一，表二，在體重方面，在第十週之前雖然體重隨試驗時間之增加而增加，但自在第十週以後即開始明顯的減輕，如表三，表四。硃砂之攝食量自第五週以後亦開始明顯的減少，如表五，表六。另外腎臟，肝臟，腦，心臟，脾臟與肺臟重量與大鼠之體重比亦顯著減少，如表七至表十四，因此硃砂對於臟器發育有顯著之影響。

劑量組大鼠因授予硃砂後所出現之明顯之臨床徵狀，雄性較雌性嚴重，這些徵狀包括屬於中樞神經系自發運動之抑制，行動不穩，鎮靜，反應遲鈍，癱縮，歪頭，知覺減弱，運動失調等，甚至有心跳減速，眼睛分泌物增加，紅腫終至閉合等現象，如圖二，圖三，圖四，圖五。而在內臟方面，腎臟，肝臟，心臟不但出現明顯之體積減少也出現明顯顏色變淡甚至有肝臟鬆弛與部分心臟縮小及硬化等異常現象，如表十五，表十六及圖六，圖七。

### 三．血液學：

血球方面劑量組與對照組比較之，從第四週開始白血球之量即開始減少如表十八，血小板數增加如表十九，然而紅血球數並無明顯之差異如表十七，另血球容積比如表二十一，血容積如表二十二與血紅素如表二十四均未出現顯著之影響。在臨床生化方學面之GOT，如表二十三，GPT，如表二十四，LDH，如表二十五與TP，如表二十六均出現異常之增加，此現象顯示硃砂對肝功能與肝細胞之傷害有明顯之劑量與反應關係。血液中BUN明顯減低，如表二十七與ALP之活性，如表二十八與albumin量，如表二十九均明顯增加，此與肝臟急性與慢性病變與腎臟病變有密切關係。

### 四．汞在內臟中之滯留活性與蓄積量

以原子吸光光譜分析儀測定內臟中之汞時之標準檢量線如圖八，單一劑量授予後尿中排出之汞量如表三十，從劑量組收集之排出尿與對照組（未檢出或檢出量低於1ppb，均以1ppb計）比較汞之含量有明顯差異，至第六小時約為對照組之4.5-5.0倍，24小時增加至約18.5-20.0倍為最高，至96小時尚有約1.0-1.5倍，又授予後120小時，汞滯留在內臟之量如表三十一其滯留活性依序為腎臟>腦>肝臟，而汞之含量依序分別約為對照組之22-25倍，11-16倍，18-19倍，且在雄性臟器內之滯留量比雌性高，由此結果顯示雖然硃砂之溶解度極微但是在消化道中可能因酸性環境之影響與酵素之作用而促使其仍有多量解離之汞離子而吸收。

長期連續授予硃砂時，內臟中汞之蓄積量如表三十二與表三十三，其蓄積之量與授予之硃砂量及授予時間之長短有正的相關性，其蓄積量亦依序為腎臟>腦>肝臟，在腎臟中之蓄積量，硃砂濃度50mg/kg者第四週為0.089-0.123ppm，第12週達0.831-1.854ppm，至第20週時更高達6.421-8.446ppm，

砒砂濃度500mg/kg者，第四週為0.079-0.306ppm，第12週達5.387-6.048ppm，而至第20週時更高達13.893-15.721ppm，砒砂濃度5000mg/kg者，第四週0.807-0.814ppm，第12週達6.439-9.683ppm，而至第20週時更高達16.796-19.295ppm。

在腦中之蓄積量，砒砂濃度50mg/kg者，第四週為0.010-0.039ppm，第12週達0.021-0.074ppm，第20週時更高達0.087-0.090ppm，砒砂濃度500mg/kg者第四週為0.035-0.040ppm，第12週達0.092-0.182ppm，至第20週時更高達0.302-0.144ppm，濃度5000mg/kg者第四週為0.043-0.273ppm，第12週達0.163-0.597ppm，而至第20週時更高達0.531-0.866ppm。

在肝臟之蓄積量，砒砂濃度50mg/kg者，第四週為0.005-0.013ppm，第12週達0.011-0.021ppm，第20週時更高達0.039-0.072ppm，砒砂濃度500mg/kg者第四週為0.009-0.022ppm，第12週達0.051-0.067ppm，至第20週時更高達0.093-0.100ppm，濃度5000mg/kg者第四週為0.026-0.099ppm，第12週達0.093-0.301ppm，而至第20週時更高達0.164-0.574ppm。又長期連續授予砒砂至第4週時雄性之攝食量依砒砂濃度50mg/kg, 500mg/kg, 5000mg/kg之序別，分別37.25mg, 382.9mg與3868.5mg而腎臟中汞蓄積量分別為0.123ppm, 0.036ppm與0.814ppm，腦中汞蓄積量分別為0.039ppm, 0.040ppm與0.273ppm，肝臟中汞蓄積量分別為0.005ppm, 0.009ppm與0.026ppm，第12週砒砂攝食量分別99.09mg, 961.80mg與10077.0mg，而腎臟中汞蓄積量分別為1.854ppm, 5.387ppm與9.683ppm，腦中汞蓄積量分別為0.074ppm, 0.182ppm與0.597ppm，肝臟中汞蓄積量分別為0.021ppm, 0.051ppm與0.301ppm。如表五與表三十二。而雌性大鼠砒砂之攝食量及內臟中汞之蓄積量與雄性大鼠類同，如表六與表三十三。由以上結果顯示砒砂在動物之腸胃內解離後之汞離子經吸收後雖有部分隨著尿液排出體外，但仍有

高量蓄積於內臟內，其蓄積量雌雄性雷同均隨攝食之時間與硃砂攝食量之增加而增加，這些臟器之蓄積活性以腎臟為最高其蓄積量比腦或肝臟可高出數十倍之多。

#### 五．穩定性與活動性

劑量組之動物經測定結果，雖然在活動性方面並未出現非常顯著之劑量-反應之關係，如圖九。但是穩定性方面卻出現顯著之劑量-反應關係，如圖十，惟其影響之程度雄性似乎比雌性高。另在腦幹傳導功能方面，以誘發電位電腦分析儀測定結果，劑量組與對照組並無顯著之差異，如表三十四。

### 四 討 論

汞是一種 non-essential cumulative toxic elements (13)，其存在方式有三種基本形式，1). 元素汞 (elemental mercury)，2) 無機汞化物 (inorganic mercurial compounds) 與 3). 有機汞化物 (organic mercurial compounds)，這三種形式化合物之生物活性與毒性均有差異，元素汞 (Hg) 又稱 quicksilver 或 hydrargyrum，其毒性常以汞蒸氣之形態出現於職業環境中，而無機汞有以亞汞離子 ( $Hg^+$ ) 之鹽類存在者，它可以緩慢溶解於水或體液中而產生  $Hg^+$  與  $Hg$  或  $Hg$ ，有機汞有兩種型態存在，如長鏈之烷基 (alkyl) 與芳香基 (aryl) 之汞化合物及短鏈之烷基汞化合物，例如甲基汞 (methyl mercury)，乙基汞 (ethyl mercury) 等，當短鏈雙烷基 (dialkyl) 汞化合物脫去一烷基時將可增強其毒性，甲基汞對實驗動物或人類之胎兒均具毒性效應，若懷孕期 (gestation period) 授予甲基汞時將可導致胎兒死亡 (fetal death)，胎兒之生長受阻 (growth

retardation of the fetuses), 畸形胎兒 (gross malformation of the fetuses), 甚至死胎 (stillbirth) (14, 15, 16, 17), 又無機汞與甲基汞於行生體內 (in vivo) 植入前 (preimplantation) 時之毒性有極大之差異 (18)。

汞化合物之毒性可因汞存在方式之不同而異, 例如慢性授予 (chronic exposure) 汞蒸氣, 致毒之目標器官 (target organ) 是中樞神經 (19, 36), 中毒時可能出現之臨床徵狀如震顫 (tremor), 齒齦炎 (gingivitis), 興奮益增 (erethism) (insomnia, shyness, memory loss, emotional liability, nervousness 與 anorexia), 而汞中毒時之臨床徵狀有迷走神經虛弱感 (vague feelings of weakness), 疲倦 (fatigue), 厭食 (anorexia), 體重減輕 (weight loss), 腸胃傷害 (gastrointestinal disturbance) 等, 若慢性低量授予亦會導致短暫記憶喪失 (shortterm memory deficits), 集中力喪失 (poor concentration) 與完全精神運動性技巧衰退 (decrements in performance of psychomotor skills) (20)。

在有機汞之毒理方面, 短鏈之烷基汞化合物如甲基汞或乙基汞, 芳香基汞化合物, 如 phenyl mercuric acetate, 或長鏈之烷基汞化合物, 短鏈之烷基汞化合物為脂溶性或揮發性, 因此經由吸入 (inhalation), 攝食 (ingestion) 或皮膚曝露均有很高的吸收率, 又由生物學之證據觀之甲基汞可經由胎盤而聚積在胎兒內, 另又可隨母乳而分泌 (21), 在人體中常蓄積於腦等組織中, 而雖然在肝臟與腎臟中較少但其量均比無基汞中毒時多。另極少量之甲基汞容易與硫共價鍵接合 (covalently bonds) 而形成 mercaptides:  $RHg-SR'$  (R 是蛋白質), 結果而造成 sulfhydryl enzyme 之不活化, 進而阻斷細胞之代謝, 甚至也造成細胞膜之傷害 (cell membrane damage), 汞亦可與初級胺 (primary amine) 及次級胺 (secondary amine), 醯胺 (amide), 羧基 (carboxyl) 與磷酸基 (phosphoryl groups) 起反應。甲基汞亦可抑制 acetylcholine's synthesis

最後步驟之含 sulfhydryl 之酵素 -choline acetyltransferase 之催化活性 (19)。汞亦能自膽汁中與麩胺基硫成鍵合型態排出，亦可能與 cystine 形成複合物，經由血流柵門 (blood-barrier) 而傳遞，此現象可能類似內生受質 (endogenous substrate)，結果造在 cerebellar granular layer 之神經傷害，甲基汞中毒時腎臟毒害之徵狀為蛋白尿 (albuminuria) 與腎臟衰竭 (renal failure)，但很少出現腸胃徵狀。二價有機汞 (organic mercurial) 可刺激可刺激黏膜而導致口咽 (oropharynx)，鼻咽 (nasopharynx) 之疱疹 (blister)，乙基汞常造成噁心 (nausea)，嘔吐 (vomiting)，腹瀉 (diarrhea)，腹部痙攣 (abdominal cramps)。苯基汞 (phenyl mercury) 可誘發胃炎 (stomatitis)，齒齦變色 (gum discoloration) 甚至導致嗜中性白血球減少症 (neutropenia)。二價汞利尿劑 (mercurial diuretics) 可誘發血小板減少 (thrombocytopenia) 與粒性白血球缺乏症 (granulocytosis) (19)。

無機二價汞鹽致毒原因通常係因意外或蓄意之攝入而發生為主要途徑，又攝食後除自尿及糞便中排出者外，亦可發現少量存在唾液與汗水中，而滯留體內之無機汞鹽在生體內之半衰期 (half-life) 為 40-60 天 (22)，惟其在體內之吸收視汞鹽之種類而定，若易溶解解離者，通常有 7-16% 之口授劑量會被吸收，當攝入後會大量停滯且附在腸胃黏膜中，若不易溶解者則可能因氧化或強酸作用之關係而成為易溶解之汞鹽終導致吸收之增加，惟很少會通血液-腦部柵門 (blood-brain barrier)，無機汞 (inorganic mercury) 解離產生汞離子易蓄積在腎臟中，其蓄積時出現特異地積存於腎管近端 (proximal renal tubule) 之終端部分 (terminal portion)，在此產生細胞膜之毒害作用 (toxic effect on the membrane) 另外亦有少部分積存於肝臟，脾臟與腦組織中 (22)。若急性授予無機汞鹽 (如氯化汞) 最初產生口，喉頭，食道與胃粘膜之局部腐蝕效應 (local corrosive effects)，甚至造成嚴重壞死 (23)，中毒

者可在幾小時內休克(chock), 體液及電解質之流失(fluid and electrolyte losses), 致周圍血管衰竭(peripheral vascular collapse)而死亡(23), 另外亦有造成排泄器官之傷害者, 中毒時之臨床徵狀包括因汞鹽造成之蛋白質沈澱致引起之腸炎, 腹痛, 噁心, 嘔吐, 血容積過少(hypovolemia)與便血(hematochezia)等, 惟其慢性中毒之徵狀與汞元素同, 另外亦會引起臨床前精神運動性(subclinical psychomotor)與神經肌(neuromuscular)之改變, 此現象似乎造成不易確知整個慢性無機汞中毒之效應(24, 25)。

其實由許多研究結果顯示, 攝食有機汞化合物或各種形式之無機汞之化合物後, 均可自器官或組織中測得多量汞之蓄積(26, 27, 28, 29, 30, 31, 32), 基於此觀點, 自上述之研究結果不難導出攝食硃砂時出現之汞之毒性。

硫化汞( $\text{HgS}$ )是屬於無機汞, 是硃砂(cinnabar)之主成份, 又稱red vermillion或chinese red, 在中國是常用之傳統礦物性中藥, 而在在外國卻常作紋身(fattoos)之用。硃砂因硫化汞之溶解度極低( $1.0 \times 10^{-6} \text{ g/100ml}$ ), 因此經由腸胃之吸收率亦低(9, 33) 惟由試驗結果已很明顯地當動物攝入硃砂後, 汞可自腸道吸收甚至高量蓄積於臟器中, 雖然硫化汞不易溶解, 但在胃中因鹽酸之作用而造成相當量之硫化汞轉化為可溶性汞鹽, 而利汞之吸收, 雖然由此試驗中尚無法正確地計算汞之吸收量, 但是由授予單一劑量授予硃砂後, 至第24小時大鼠尿中之汞含量增加18-20倍為最高, 96小時時腎臟, 肝臟與腦中之汞含量分別增加22-25倍, 11-15倍及17-18倍。若長期授予硃砂, 在腎臟, 腦與肝臟中汞之蓄積量亦隨攝食之硃砂量及攝食之期間之增加而增加, 其蓄積量尤以腎臟為最多, 腦次之肝臟再次之, 至第4週時即有明顯之蓄積情形, 此時亦出現明顯之可觀查之臨床徵狀, 第12週以後汞之蓄積量已高達近10至10數ppm, 而且亦出現更明顯之劑量-反應之毒性效應。即使在 小鼠授予硃砂之試驗中發現, 實驗組之肝臟與腎臟中之含汞

量分別比對照組增加9倍與20倍(37), 實驗還發現, 服用硃砂後硃砂中的汞不但可以被吸收, 而且停藥一週後, 各臟器中之汞含量仍高於對照組, 若人每日三次授予5劑硃砂製劑時, 24小時尿中之汞量比未授予者多出約4-5倍, 48小時是2-3倍(未示試驗數據)。

若由汞之人體動力學(the kinetic of mercury in man)(34)觀之, 由尿中之排泄, 及部分與血液中之成分, 器官或組織結合之量計之, 確切之汞吸收量應該還更多, 再說汞化合物在生體內之半衰期不易建立, 若以志願者吸汞蒸氣15分鐘之實驗, 其平均之生物半衰期為58日而言攝入之汞在生體中減少之速度似乎極低(35), 此現象顯示若長期服用硃砂, 在體內所造成之毒害應是明顯且不容忽視。

此外實驗時出現之毒性效應有顯著的劑量-反應關係(dose-response relationships), 其臨床徵狀包括厭食, 體重減輕, 自發性運動之抑制, 行動不穩, 反應遲鈍, 鎮靜, 運動失調, 攣縮, 心跳減速, 眼睛分泌物增加, 眼紅甚至眼簾閉合等。生體剖析發現腎臟, 肝臟, 腦, 心臟, 脾臟, 肺臟之重量明顯減輕, 部份有心臟硬化, 肝臟與腎臟縮小色淡, 肝臟組織鬆弛之現象等。且高劑量之三隻死亡動物中經剖析有兩隻動物之肝臟, 腎臟與脾臟有明顯之結節, 腫脹及腸胃部嚴重發炎等。在血液學方面白血球數之異常減少與血小板數之異常增加, 但紅血球, 血紅素量, 血球容積比與血容積卻無明顯之改變, 在臨床生化方面GOT, GPT, LDH與鹼性磷酸酯酶等之活性與全蛋白有顯著且異常之增加, 但血中尿素氮卻相對減少等以上之反應顯示長期服用硃砂除在器官或組織中有高量之蓄積外吸收之汞也造成嚴重傷害了肝臟, 腎臟甚至血球之組織與功能, 甚至亦嚴重影響中樞神經之反應, 又雖然組織中之汞尚無法減低麩胺基硫(GSH)之活性, 惟據1992年Teh等之研究顯示組織中之汞亦無法減少T-3, 但是卻有減少T-4之活性觀之, 若長期吸收少量之汞可能干擾甲狀腺細胞(thyroidal cell)或者丘腦下部-腦下垂體

(hypothalamus-pituitary axis)之活性(8)。

中成藥之硃砂導致人體中毒的機理究竟是什麼？純品硃砂的主要成份是硫化汞( $\text{HgS}$ )，其中含汞86.2%，硫13.8%。近年來有許多研究資料都以不同角度證實了硃砂所含的可溶性汞及游離汞對人體之巨大毒副作用，尤其對小兒的成長更為不利。據實驗報導，朱砂無論其產地或炮製方法如何，均含有一定量的可溶性汞及游離汞及其它如鋅，鎘，銅等重金屬之存在。經朱砂可溶性汞的試驗證明，硃砂在人工胃液中溶出的可溶性汞中含有二價汞離子，游離汞在人工胃液中也有部份溶解，在鹼性的腸道環境中汞鹽本來是不易溶解吸收，但在腸道微生物作用下，能使無機汞及有機汞轉化為毒性較大的甲基汞或二甲基汞，再經消化器官吸收後與血液中的血紅蛋白和血漿蛋白相結合，並隨血液循環進入各種器官，其中以腎臟為最高，其次為肝臟，心臟與腦。這些汞離子對巖基具有高度的親合力，而體內一些具有重要作用的生物活性其活性中心是巖基，如細胞色素氧化酶，丙酮酸酶，琥珀酸脫氫酶等，汞和巖基結合後使失去活性致使正常代謝作用發生障礙，進而出現有關病變。

硃砂之主成份硫化汞溶解時可解離而產生硫離子( $\text{S}^{2-}$ )與汞離子( $\text{Hg}^{+2}$ )，雖然正常人之腸道中常因細菌之解酶作用而有多量硫離子與硫化氫之存在但是其量與硫化汞溶解時解離產生之硫離子量比較實微不足道，此現象似乎可充分解釋硃砂對人體之種種反應與毒性應是汞離子，或其它硃砂內之可溶性汞，重金屬與不純物所致。二價汞離子極易與蛋白質結合，它對某些酵素有極高之選擇性抑制作用，另外汞吸收後很容易在體內蓄積進而誘發肝，腎與肺之功能性障害。

由於汞在體內的半衰期為40-60天，因此有蓄積中毒的可能性，長期內服含朱砂的藥物，生體可因長久低濃度汞的作用而出現大大腦損傷，表現為失眠，煩燥，記憶力減退，腎臟受損，並可能出現蛋白尿。過量內服朱砂，還可能出現急性汞中毒，對中樞神經有短

暫興奮作用，但很快被抑制作用代替，產生心臟衰弱，休克或中樞神經麻痺而死亡。其實若硃砂本品用作煎劑亦易釋出汞而引發中毒，甚至無論以何種途徑如遇碘化鉀，碘町，海藻，昆布等亦可能發生相互作用產生碘化汞而出現毒性，同時增加汞鹽之溶解度，故可增加汞之吸收而更增加其中毒之機會，另外含汞中藥之使用亦應考慮食鹽之攝入量。

儘管硃砂內服劑量在各類藥物籍中都嚴格規定，如在中國大陸規定之用量為每次不得超過1g，但是汞量仍可高達862mg左右，另中醫使用硃砂安神丸，磁朱丸等來治療疾病時，服用時間都較長硃砂安神丸含朱砂量達20%，若按每日2丸計算，則每日服入可溶性汞量可能高達0.754毫克。若據有關文獻，二價汞鹽致人中毒的劑量為5毫克，若按理論值推算，服用朱砂安神丸一周即可達到中毒量，若肝與腎功能正常，則其中一部份可以被排泄若肝腎功能不健全，尤其是腎臟功能障礙時，汞即可在體內蓄積而中毒。

長期以來，國人對中藥的副作用認識不足，習慣上認為中藥“副作用小，安全可靠”具有盲目利用中成藥的現象，中藥真的安全嗎？由以上事實不難引起我們對服用含硃砂類中藥製劑的警惕，而我國許多之中藥書籍或中藥藥典中收載的中成藥處方中，有甚多含有硃砂，尤其值得一提的是硃砂在小兒用之中成藥中，應用廣泛，大陸藥典中所載小兒用中成藥中如小兒至寶錠，小兒百壽丸，保元丸約32%含硃砂，及臺灣等含硃砂的藥物如小兒萬病回春丹，牛黃散，小兒驚風散，八寶粉（民間驗方）已成為家庭小兒必備良藥。兒童對重金屬的生理屏障滲透性較成人高，體內結合較牢固，排泄緩慢，固經常服用朱砂，將會造成諸多不良影響，因此在臨床應用中，我們應對硃砂及含硃砂方劑採取謹慎態度，慎防因服用硃砂而導致嚴重之中毒。

## 五. 參考資料

1. 李時珍,本草綱目,1981,國立中國醫藥研究所, p301。
2. 中華人民共和國藥典,1985,人民衛生出版社,p110。
3. 中國方藥學,1985,啓業書局, p780。
4. 蔡幼清. 1984. 朱砂引起慢性汞中毒. 島縣人民醫院:428頁。
5. 時鈞華, 魏文章. 1984. 應重新考慮朱砂內服的藥用價值, 藥學通報, 11:26-28。
6. Sin, Y. M., W. F. Teh., M. K. Wong. and P. K. Reddy. 1990. Effect of mercury sulphide on glutathione and thyroid hormones. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 49:847-854.
7. Tan, M. C., Y. M. Sin, K. P. Wang. 1990. Mercury-induced UDPG-glucuronyltransferase (UDPGT) activity in mouse kidney. Toxicology:81-87
8. Sin, Y. M. and W. F. Teh. 1992. Effect of long term uptake of mercury sulphide on thyroid hormones and glutathione in mice. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 49:847-854.
9. Sin, Y. M., W. F. Teh. and M. L. Wong. 1989. Absorption of mercury chloride and mercury sulphide and their possible effects on tissue glutathione in mice. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42:307-314.
10. Yakuyo Jiho Co. Ltd. 1984. Toxicity test guideline. Tokyo Japan.
11. Gleason, M. N., R. E. Gosselin, H. C. Hodge and R. P. Smith. 1969. Clinical toxicity of commercial products, 3rd. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
12. Agemian, H. and A. S. Y. Chau. 1976. An improved digestion

- method for the extraction of mercury from environmental samples. Analyst. 100:91-95.
13. Recommended health based limits in occupational exposure to heavy metal. 1980. Report of a WHO study group, Technical report series, No. 674. Geneva. p102-15.
  14. Inouye, M., K. Murao and Y. Kajiwara. 1985. Behavioral and neuropathological effects of prenatal methylmercury exposure in mice. Neurobehav.Toxicol.Teratol.7:227-232.
  15. Yasuda, Y., A. R. Datu, S. Hirata and T. Fujimoto. 1985. Characteristics of growth and palatal shelf development in ICR mice after exposure to methylmercury. Teratology. 32:273-286.
  16. Fuyata, M., T. Fujimoto and S. Hirata. 1978. Embryotoxic effect of methylmercury chloride administered to mice and rats during organogenesis. Teratology, 18:353-366.
  17. Su, M. and G. T. Okita. 1976. Behavioral effects on the progeny of mice treated with methylmercury. Toxicol Appl. Pharmacol. 38::195-205.
  18. Kajiwara, Y. and M. Inouya. 1987. Effects of maternal treatment with methylmercury on the manifestation of cleft lip in CL/Fr mice. Congenital Anomalies 27:17-22.
  19. U.S.P.H.S. Health effects. Chapt 2 in: Toxicological profile for mercury. Agency for toxic substances and disease registry. U.S. Public Health Service. Atlanta GA: CDC, 1989:13-95.
  20. U. S. P. H. S. Regulations and advisories. Chapt 7 In: Toxicologic profile of mercury. Agency for toxic substances and disease registry. U. S. Public Health

Service. Atlanta, GA: CDC, 1989:123.

21. Amin-Zaki, L. 1974. Intrauterine methylmercury poisoning in Iraq. *Pediatrics*, 54:587-595.
22. Laundry, T. et al. 1984. Death after peritoneal cavage with mercuric chloride solution: case report and review of the literature. *Br. Med. J.* 289:96-98.
23. Winek, C. L. et al. 1981. Fatal mercuric chloride ingestion. *Clin. Toxicol* 18:261-266.
24. Miller, J. M. et al. 1975. Subclinical psychomotor and neuromuscular changes in workers exposed to inorganic mercury. *Am. Ind. Hyg. Asso.* Oct:725-733.
25. Roseman, K. D. et al. 1986. Sensitive indicators of inorganic mercury toxicity. *Arch. Environ. Heath.* 208-215.
26. Norseth, T. and T. W. Clarkson. 1970a. Studies on biotransformation of 203-Hg labeled methyl mercury chloride in rat. *Arch. Envirn. Health* 21:717-727.
27. Norseth, T. and M. Clarkson. 1971b. Biotransformation of methylmercury salts in the rat studies by specific of inorganic mercury determination. *Biochem. Pharmacol.* 19:2775-2783.
28. Norseth, T. and M. Brendeford. 1971. Intercellular distribution of inorganic and organic of mercury in rat liver after exposure to methylmercury salts. *Biochem. Pharmacol.* 30:1101-1107.
29. Norseth, T. 1972. Biotransformation of methyl mercuric salts in the rat with chronic administration of methyl mercuric cysteine. *Acta. Pharmacol. Toxicol.* 31:138-148.
30. Magoos, L. and W. H. Butler. 1976. The kinetics of methyl

mercury administered repeated to rat. Arch. Toxicol. 35:25-39.

31. Omata, S. Sato, K. Sakimura and H. Sugano. 1980. Time-dependent accumulation of inorganic mercury in sub-cellular fractions of kidney, liver and brain of rats exposed to methylmercury. Arch. Toxicol. 44:231-241.
32. Komsta-Szumaska, E., M. Czuba, K. R. Reuhl and D. R. Miller. 1983. Demethylation and excretion of methyl mercury by the guinea pig. Environ. Res. 32:247-257.
33. Sin, Y. M., Y. F. Lim and M. K. Wong. 1983. Uptake and distribution of mercury in mice from ingesting soluble and insoluble mercury compounds. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 31:605-612.
34. Tsalev, D. L. and K. Zaprjanov. 1983. Atomic absorption spectrometry in occupation and environmental health practice Vol. 1 Analytical aspect and health significance. CRC. Press Inc. p158-169.
35. Hursh, J. B., T. W. Clarkson, M. G. Cherian, J. J. Vostal and R. V. Mallie. 1976. Clearance of mercury (Hg-197, Hg-203) vapor inhaled by human subjects, Arch. Environ. Health, 31:302-309.
36. World Health Organization. 1976. Environmental Health Criteria, Mercury, Geneva: p20-21.
37. Yeoh, T. S., H. S. Lee and A. S. Lee. 1989. Gastrointestinal absorption of mercury following oral administration of cinnabar in a traditional Chinese medicine. Asia Pacific J. Pharmacol. 4:69-73.

## 六. 誌 謝

本研究之完成承財團法人聯合檢驗中心借用血液檢測儀，臺大醫院神經科張主任揚全之協助測定神經傳導活性，臺大醫學院毒理研究所研究生梁揚鴻，李建宏協助測定穩定性與活動性，及本研究計畫顧問蕭水銀教授之指導與協助方得完成謹致萬分謝忱。

表一．雄性大鼠長期授予砒砂時之飼料消耗情形 1)

週別	飼料消耗量 (g)			
	0	50	500	5000 2)
3)		4)		
0	189.6 ± 10.5	183.6 ± 10.6	182.9 ± 13.1	188.7 ± 12.4
1	193.0 ± 9.1	185.2 ± 10.3	187.7 ± 17.2	192.9 ± 7.0
2	188.3 ± 4.3	185.4 ± 4.7	197.6 ± 5.1	192.1 ± 4.3
3	187.2 ± 7.2	188.6 ± 8.1	201.3 ± 7.1	196.8 ± 9.1
4	185.1 ± 8.8	185.8 ± 4.8	191.4 ± 7.4	191.8 ± 8.1
5	185.7 ± 12.4	168.1 ± 16.8	160.4 ± 6.7	175.7 ± 7.8
6	187.2 ± 9.8	164.0 ± 8.3	160.3 ± 6.9	177.3 ± 15.2
7	191.6 ± 7.0	162.1 ± 5.9	159.2 ± 7.3	168.1 ± 7.1
8	194.4 ± 10.8	159.3 ± 14.1	148.5 ± 6.0	159.3 ± 10.4
9	197.6 ± 6.4	153.0 ± 11.0	134.7 ± 5.9	163.1 ± 3.7
10	185.5 ± 12.2	145.2 ± 7.3	128.2 ± 9.5	135.4 ± 5.2
11	189.9 ± 7.1	138.9 ± 9.8	134.5 ± 8.3	132.2 ± 9.3
12	190.0 ± 10.1	145.8 ± 8.3	131.6 ± 5.5	130.5 ± 2.1
13	191.3 ± 7.4	143.3 ± 10.3	124.1 ± 8.9	128.5 ± 7.4
14	194.5 ± 9.7	142.6 ± 10.6	120.0 ± 9.8	122.8 ± 8.3
15	194.8 ± 5.5	146.2 ± 6.8	118.0 ± 8.1	120.8 ± 12.4
16	195.6 ± 4.8	142.2 ± 9.7	115.6 ± 6.9	118.6 ± 4.3
17	196.3 ± 6.9	145.7 ± 6.5	114.7 ± 3.9	116.1 ± 6.6
18	196.3 ± 10.6	141.8 ± 4.6	118.4 ± 8.4	115.0 ± 7.3
19	197.4 ± 11.5	142.4 ± 7.6	113.8 ± 9.6	112.8 ± 5.9
20	197.8 ± 9.9	138.7 ± 8.4	110.7 ± 9.8	101.4 ± 11.7

1). 砒砂授予方式是自由攝食

2). 飼料中之砒砂濃度 (mg/kg)

3). 尚未授予砒砂

4). 飼料消耗量之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20

表二．雌性大鼠長期授予矽砂時之飼料消耗情形 1)

飼料消耗量 (g)				
週別	0	50	500	5000 2)
3)	4)			
0	129.4 ± 10.7	129.8 ± 6.90	128.6 ± 11.6	131.9 ± 20.3
1	128.1 ± 12.8	128.9 ± 8.2	130.0 ± 12.4	130.0 ± 12.6
2	130.1 ± 6.0	131.2 ± 15.8	132.3 ± 8.9	128.1 ± 12.2
3	126.2 ± 5.9	129.8 ± 11.9	128.4 ± 17.1	121.7 ± 11.3
4	126.2 ± 12.1	126.5 ± 7.9	125.8 ± 16.3	119.6 ± 12.0
5	126.8 ± 5.6	122.2 ± 8.9	122.1 ± 13.9	115.1 ± 7.1
6	128.1 ± 9.3	121.8 ± 5.9	118.5 ± 7.6	103.6 ± 10.8
7	128.3 ± 5.9	119.8 ± 6.5	111.0 ± 5.3	105.7 ± 9.5
8	129.6 ± 13.8	121.5 ± 10.4	117.7 ± 8.1	107.2 ± 6.3
9	124.9 ± 4.5	119.5 ± 7.1	116.7 ± 10.3	101.7 ± 7.3
10	126.8 ± 7.2	114.2 ± 8.3	98.5 ± 6.6	98.7 ± 6.3
11	118.4 ± 10.4	112.3 ± 10.9	98.1 ± 10.3	99.3 ± 5.6
12	125.4 ± 6.3	114.7 ± 11.5	96.1 ± 8.8	98.2 ± 8.2
13	128.9 ± 11.3	117.3 ± 6.7	95.1 ± 10.8	97.0 ± 7.4
14	126.3 ± 8.5	119.7 ± 10.6	94.0 ± 8.2	97.6 ± 8.5
15	130.2 ± 5.8	120.9 ± 9.4	95.7 ± 4.4	96.6 ± 9.8
16	131.8 ± 7.4	116.6 ± 10.4	95.6 ± 5.9	95.3 ± 9.8
17	128.3 ± 9.2	118.9 ± 8.7	94.5 ± 7.9	94.3 ± 7.5
18	129.3 ± 11.7	116.8 ± 5.9	94.4 ± 9.3	92.0 ± 3.6
19	132.4 ± 10.8	117.4 ± 9.3	92.8 ± 10.1	92.0 ± 3.8
20	132.5 ± 6.3	119.7 ± 7.4	90.7 ± 7.8	90.4 ± 8.6

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 飼料中之矽砂濃度 (mg/kg)

3). 尚未授予矽砂

4). 飼料消耗量之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20

表三．雄性大鼠長期授予矽砂時之重量變化情形 1)

週別	重量 (g)			
	0	50	500	5000 2)
3)	4)			
0	209.9±12.3	217.9±12.6	220.4±19.8	219.7±20.6
1	267.9±29.5	289.8±23.0	277.8±22.4	272.1±12.7
2	328.5±16.2	321.8±12.1	311.6±12.4	312.2±22.7
3	352.4±29.4	368.9±23.3	352.6±21.2	361.5±19.2
4	385.8±23.8	390.5±22.8	395.5±28.2	395.1±25.7
5	403.3±18.5	400.1±28.0	406.2±22.9	405.2±29.3
6	416.0±29.3	412.5±25.1	415.3±14.2	414.6±22.6
7	438.0±36.4	440.6±26.1	434.1±24.6	428.2±21.2
8	448.9±29.0	446.4±25.8	443.1±37.1	439.5±26.8
9	450.4±30.2	445.3±25.3	446.3±27.6	452.2±28.6
10	453.9±41.1	445.1±25.6	444.9±48.8	451.1±32.8
11	455.9±34.1	441.9±23.8	445.4±34.6	446.4±23.9
12	456.1±43.6	435.7±27.8	442.8±36.8	437.1±38.2
13	458.6±32.5	440.1±24.7	442.3±51.1	426.7±50.3
14	463.7±45.9	447.5±24.7	440.1±30.4	422.4±42.1
15	471.2±47.7	448.1±27.8	437.1±41.8	421.0±40.7
16	499.5±39.0	452.9±26.2	433.9±46.7	413.2±30.6
17	520.3±34.1	449.4±48.8	428.8±38.6	407.8±35.7
18	520.3±34.5	449.4±38.8	418.8±38.6	400.2±39.2
19	311.4±26.5	452.4±27.5	413.8±40.6	396.4±42.6
20	542.8±28.9	458.7±38.4	407.7±39.6	387.4±31.8

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 飼料中之矽砂濃度 (mg/kg)

3). 尚未授予矽砂

4). 體重之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20

表四．雌性大鼠長期授予矽砂時之重量變化情形 1)

週別	重量 (g)			
	0	50	500	5000 2)
3)	4)			
0	202.9±16.8	192.9±15.9	202.4±15.8	206.7±17.7
1	213.6±19.2	206.5±16.0	215.8±17.5	213.9±15.4
2	225.3±30.3	216.2±18.1	225.5±17.6	216.2±14.9
3	233.9±21.4	228.5±18.2	235.6±19.2	221.5±19.1
4	239.6±18.6	233.9±18.6	234.5±17.1	228.5±15.7
5	245.1±18.5	237.4±20.9	245.1±20.1	241.3±17.8
6	255.7±20.1	247.0±19.1	254.8±20.3	244.5±15.8
7	257.5±20.7	269.1±20.8	258.1±18.6	252.9±17.6
8	267.0±20.6	276.5±20.9	266.0±18.3	258.1±26.4
9	267.7±20.9	258.2±19.4	268.3±21.1	254.1±19.6
10	269.9±20.1	261.7±18.8	265.8±21.1	251.9±17.1
11	272.1±22.9	264.4±21.6	265.5±19.5	250.6±17.9
12	275.8±23.6	275.5±23.1	265.3±24.1	244.7±17.3
13	278.4±26.7	278.2±21.5	263.9±21.5	242.7±18.6
14	281.2±22.3	284.5±23.7	262.8±23.6	242.0±18.8
15	289.3±47.7	287.5±24.9	261.5±13.3	240.7±20.9
16	292.1±21.7	288.4±20.4	254.7±23.3	240.0±20.2
17	298.0±23.2	293.9±26.2	250.9±23.3	233.7±21.8
18	302.8±24.5	298.4±27.9	245.7±28.6	228.6±14.7
19	311.4±26.5	306.7±37.3	228.8±17.6	217.4±28.5
20	322.5±28.4	317.7±23.6	220.9±39.8	210.6±30.8

1)．矽砂授予方式是自由攝食

2)．飼料中之矽砂濃度 (mg/kg)

3)．尚未授予矽砂

4)．體重之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20

表五. 雄性大鼠長期授予硃砂時之硃砂攝食量 1)

週別	硃砂攝食量 (mg)			
	0	50	500	5000 2)
0 3)	0	0	0	0
1	0	9.26 4)	93.85	964.5
2	0	9.27	92.70	960.5
3	0	9.43	100.65	984.5
4	0	9.29	95.70	959.0
	(0)	(37.25) 5)	(382.9)	(3868.5)
5	0	8.41	80.20	878.5
6	0	8.20	80.20	886.5
7	0	8.11	79.75	840.5
8	0	7.97	74.25	796.5
9	0	7.65	67.35	815.5
10	0	7.26	64.10	677.0
11	0	6.95	67.25	661.5
12	0	7.29	65.80	652.5
	(0)	(99.09)	(961.8)	(10077.0)
13	0	7.16	62.05	642.5
14	0	7.13	60.00	614.0
15	0	7.31	59.00	604.0
16	0	7.11	57.80	603.0
17	0	7.29	57.35	580.0
18	0	7.09	59.20	575.0
19	0	7.12	56.90	564.0
20	0	6.94	55.35	507.0
	(0)	(156.24)	(1429.45)	(14766.5)

1). 硃砂授予方式是自由攝食

2). 飼料中之硃砂濃度 (mg/kg)

3). 尚未授予硃砂

4). 硃砂攝食量之平均值 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20

5). ( ) = 硃砂攝食量之累計值

表六．雌性大鼠長期授予硃砂時之硃砂攝食量 1)

週 別	硃砂攝食量 (mg)			
	0	50	500	5000 2)
0 3)	0	0	0	0
1	0	6.45 4)	65.00	650.0
2	0	6.56	66.15	640.5
3	0	6.49	64.20	608.5
4	0	6.33	62.90	598.0
	(0)	(25.92) 5)	(228.25)	(2497.0)
5	0	6.11	63.05	575.5
6	0	6.09	59.25	518.0
7	0	5.99	55.50	528.5
8	0	6.08	58.85	536.0
9	0	5.98	58.35	508.5
10	0	5.71	49.25	493.5
11	0	5.62	49.05	496.0
12	0	5.74	48.05	491.0
	(0)	(73.24)	(669.6)	(6644.0)
13	0	5.87	47.55	485.0
14	0	5.99	47.00	488.0
15	0	6.05	47.85	483.0
16	0	5.83	47.80	476.5
17	0	5.95	47.25	471.5
18	0	5.84	47.20	460.0
19	0	5.87	46.40	460.0
20	0	5.99	45.35	452.0
	(0)	(120.63)	(1046.0)	(10420.0)

- 1). 硃砂授予方式是自由攝食
- 2). 飼料中之硃砂濃度 (mg/kg)
- 3). 尚未授予硃砂
- 4). 硃砂攝食量之平均值 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 20
- 5). ( ) = 硃砂攝食量之累計值

表七．長期授予矽砂(0mg/kg飼料)後雄性大鼠臟器之發育情形

臟器 種類	臟器重量(g)					
	0	4	8	12	16	20
體重(W)	3)					
	244.3 ±12.3	287.4 ±34.8	412.2 ±33.4	432.1 ±30.2	452.2 ±26.1	490.2 ±42.9
腎臟(N)	1.84 ±0.16	2.20 ±0.20	2.92 ±0.11	3.07 ±0.16	3.18 ±0.25	3.42 ±0.18
N/W(%)	4)					
	0.75	0.77	0.71	0.71	0.70	0.70
肝臟(L)	10.08 ±0.35	12.86 ±0.86	16.72 ±1.27	17.51 ±0.84	18.19 ±1.22	19.88 ±0.72
L/W(%)	4.42	4.47	4.05	4.05	4.02	4.06
腦(B)	1.23 ±0.06	1.52 ±0.07	1.82 ±0.10	1.98 ±0.06	2.02 ±0.03	2.26 ±0.22
B/W(%)	0.50	0.53	0.44	0.46	0.45	0.46
心臟(H)	1.02 ±0.20	1.13 ±0.16	1.38 ±0.18	1.42 ±0.09	1.52 ±0.15	1.68 ±0.06
H/W(%)	0.42	0.39	0.34	0.33	0.34	0.34
√ 脾臟(S)	0.62 ±0.07	0.71 ±0.08	0.89 ±0.04	0.92 ±0.01	0.98 ±0.09	1.02 ±0.06
S/W(%)	0.25	0.25	0.22	0.21	0.22	0.21
肺臟(U)	1.21 ±0.24	1.48 ±0.11	1.82 ±0.15	1.96 ±0.14	2.07 ±0.17	2.20 ±0.15
U/W(%)	0.50	0.51	0.44	0.45	0.46	0.45

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值(mean)±標準偏差(SD),動物隻數(n)=5

4). 臟器重量(g)/體重(g)

表八. 長期授予砒砂 (0mg/kg飼料) 後雌性大鼠臟器之發育情形

臟 器	重 量 (g)					
種 類	0	4	8	12	16	20 2)
體重 (W)	3)					
	234.6 ±12.3	253.2 ±14.9	282.1 ±21.3	301.9 ±12.2	327.2 ±21.1	348.6 ±31.4
腎臟 (N)	1.71 ±0.09	1.91 ±0.46	2.24 ±0.44	2.30 ±0.17	2.47 ±0.11	2.62 ±0.24
N/W(%)	4)					
	0.73	0.76	0.79	0.76	0.76	0.75
肝臟 (L)	9.45 ±0.70	9.86 ±0.66	9.84 ±0.27	11.10 ±1.06	12.19 ±0.82	12.88 ±0.74
L/W(%)	4.03	3.89	3.49	3.67	3.73	3.69
腦 (B)	1.73 ±0.06	1.74 ±0.07	1.82 ±0.10	1.98 ±0.06	2.02 ±0.03	2.26 ±0.22
B/W(%)	0.74	0.69	0.65	0.66	0.62	0.65
心臟 (H)	0.82 ±0.05	0.86 ±0.09	0.91 ±0.09	0.96 ±0.11	1.01 ±0.09	1.12 ±0.07
H/W(%)	0.35	0.34	0.32	0.32	0.31	0.32
脾臟 (S)	0.58 ±0.07	0.58 ±0.08	0.68 ±0.04	0.73 ±0.01	0.79 ±0.09	0.82 ±0.06
S/W(%)	0.25	0.23	0.24	0.24	0.24	0.24
肺臟 (U)	1.20 ±0.06	1.22 ±0.08	1.38 ±0.07	1.38 ±0.09	1.49 ±0.06	1.55 ±0.04
U/W(%)	0.51	0.48	0.49	0.46	0.46	0.45

1). 砒砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

4). 臟器重量 (g) / 體重 (g)

表九．長期授予砒砂 (50mg/kg飼料)後雄性大鼠臟器之發育情形

臟 器 種 類	重 量 (g)					
	0	4	8	2	16	20
體重 (W)	3)					
	224.6 ± 12.3	281.2 ± 26.4	360.3 ± 18.1	423.2 ± 29.3	458.7 ± 22.3	482.0 ± 32.9
腎臟 (N)	1.92 ± 0.14	2.37 ± 0.16	2.80 ± 0.08	3.12 ± 0.15	3.18 ± 0.21	3.22 ± 0.16
N/W (%)	4)					
	0.85	0.84	0.78	0.74	0.69	0.67
肝臟 (L)	11.08 ± 0.35	12.86 ± 0.45	13.42 ± 0.87	13.67 ± 1.09	14.14 ± 0.56	14.37 ± 0.68
L/W (%)	4.93	4.57	3.73	3.23	3.08	3.00
腦 (B)	1.54 ± 0.04	1.80 ± 0.17	1.88 ± 0.11	1.92 ± 0.05	1.92 ± 0.18	1.94 ± 0.09
B/W (%)	0.69	0.64	0.52	0.45	0.42	0.40
心臟 (H)	1.08 ± 0.20	1.18 ± 0.16	1.24 ± 0.18	1.42 ± 0.09	1.50 ± 0.15	1.58 ± 0.06
H/W (%)	0.48	0.42	0.34	0.34	0.33	0.33
脾臟 (S)	0.72 ± 0.07	0.74 ± 0.08	0.78 ± 0.04	0.82 ± 0.01	0.84 ± 0.09	0.82 ± 0.06
S/W (%)	0.32	0.26	0.22	0.19	0.18	0.17
肺臟 (U)	1.65 ± 0.24	1.82 ± 0.11	1.90 ± 0.15	1.89 ± 0.14	1.88 ± 0.17	1.92 ± 0.15
U/W (%)	0.73	0.65	0.53	0.45	0.41	0.40

1). 砒砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

4). 臟器重量 (g) / 體重 (g)

表十. 長期授予矽砂 (50mg/kg飼料) 後雌雄性大鼠臟器之發育情形

臟 器 種 類	重 量 (g)					
	0	4	8	12	16	20 2)
體重 (W)	3)					
	214.3 ±14.7	226.7 ±39.0	239.5 ±20.9	283.0 ±16.4	330.8 ±12.4	351.7 ±11.4
腎臟 (N)	1.86 ±0.06	1.99 ±0.11	2.13 ±0.47	2.10 ±0.31	2.23 ±0.22	2.16 ±0.31
N/W(%)	4)					
	0.87	0.88	0.89	0.74	0.67	0.61
肝臟 (L)	9.04 ±0.41	9.79 ±1.28	9.97 ±0.80	9.06 ±0.52	9.75 ±1.64	9.82 ±0.88
L/W(%)	4.22	4.32	4.16	3.20	2.95	2.79
腦 (B)	1.63 ±0.08	1.63 ±0.03	1.65 ±0.18	1.81 ±0.05	1.83 ±0.38	1.87 ±0.08
B/W(%)	0.76	0.72	0.69	0.64	0.55	0.53
心臟 (H)	0.85 ±0.03	0.86 ±0.07	0.82 ±0.02	0.91 ±0.18	0.58 ±0.01	0.62 ±0.06
H/W(%)	0.40	0.38	0.34	0.32	0.18	0.18
脾臟 (S)	0.52 ±0.04	0.56 ±0.03	0.60 ±0.04	0.68 ±0.02	0.58 ±0.01	0.62 ±0.06
S/W(%)	0.24	0.25	0.25	0.24	0.18	0.18
肺臟 (U)	1.19 ±0.07	1.29 ±0.08	1.32 ±0.06	1.29 ±0.07	1.46 ±0.24	1.48 ±0.21
U/W(%)	0.56	0.57	0.55	0.46	0.44	0.42

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值(mean)±標準偏差(SD), 動物隻數(n):5

4). 臟器重量(g)/體重(g)

表十一．長期授予矽砂(500mg/kg飼料)後雄性大鼠臟器之發育情形

臟器 種類	臟器重量(g)					
	0	4	8	12	16	20
體重(W)	3)					
	246.3 ±10.8	302.4 ±19.3	403.7 ±18.1	433.7 ±17.3	462.4 ±29.3	457.4 ±21.7
腎臟(N)	2.14 ±0.28	2.52 ±0.19	2.56 ±0.21	2.71 ±0.19	2.68 ±0.29	2.67 ±0.21
N/W(%)	4)					
	0.87	0.83	0.63	0.62	0.58	0.58
肝臟(L)	12.24 ±0.49	14.98 ±0.81	15.31 ±0.67	15.61 ±0.44	15.13 ±0.61	15.01 ±0.12
L/W(%)	4.97	4.95	3.80	3.60	3.27	3.28
腦(B)	1.63 ±0.22	1.78 ±0.10	1.89 ±0.16	1.98 ±0.23	1.86 ±0.11	1.80 ±0.07
B/W(%)	0.66	0.59	0.47	0.46	0.40	0.39
心臟(H)	1.16 ±0.08	1.28 ±0.06	1.32 ±0.08	1.41 ±0.10	1.37 ±0.12	1.26 ±0.09
H/W(%)	0.47	0.42	0.33	0.33	0.30	0.28
脾臟(S)	0.71 ±0.06	0.80 ±0.08	0.88 ±0.09	0.76 ±0.01	0.80 ±0.07	0.88 ±0.05
S/W(%)	0.29	0.26	0.22	0.18	0.17	0.19
肺臟(U)	1.88 ±0.01	2.26 ±0.28	2.05 ±0.02	1.81 ±0.05	1.79 ±0.08	1.84 ±0.01
U/W(%)	0.76	0.75	0.51	0.42	0.39	0.40

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值(mean)±標準偏差(SD),動物隻數(n)=5

4). 臟器重量(g)/體重(g)

表十二. 長期授予砒砂 (500mg/kg飼料) 後雌性大鼠臟器之發育情形

臟 器 種 類	重 量 (g)					
	0	4	8	12	16	20 2)
體重 (W)	3)					
	220.5 ±10.8	231.1 ±20.2	252.2 ±30.6	294.9 ±18.1	308.3 ±22.6	311.4 ±18.9
腎臟 (N)	1.82 ±0.08	1.87 ±0.09	1.75 ±0.05	1.71 ±0.21	1.84 ±0.38	2.03 ±0.28
N/W(%)	4)					
	0.78	0.81	0.69	0.58	0.60	0.65
肝臟 (L)	8.94 ±0.09	9.53 ±1.12	8.51 ±0.67	8.847 ±0.77	9.63 ±1.07	9.09 ±0.71
L/W(%)	4.05	4.12	3.37	3.00	3.12	2.92
腦 (B)	1.60 ±0.07	1.64 ±0.12	1.82 ±0.16	1.81 ±0.11	1.82 ±0.06	1.90 ±0.11
B/W(%)	0.73	0.71	0.72	0.61	0.59	0.61
心臟 (H)	0.97 ±0.06	0.99 ±0.08	0.79 ±0.03	0.89 ±0.06	0.92 ±0.14	0.84 ±0.07
H/W(%)	0.44	0.43	0.31	0.30	0.33	0.27
脾臟 (S)	0.55 ±0.06	0.55 ±0.08	0.52 ±0.09	0.53 ±0.01	0.60 ±0.07	0.62 ±0.05
S/W(%)	0.25	0.24	0.21	0.18	0.19	0.20
肺臟 (U)	1.38 ±0.01	1.56 ±0.28	1.22 ±0.02	1.26 ±0.05	1.20 ±0.08	1.22 ±0.01
U/W(%)	0.63	0.68	0.48	0.43	0.39	0.39

1). 砒砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n): 5

4). 臟器重量 (g) / 體重 (g)

表十三．長期授予矽砂(5000mg/kg飼料)後雄性大鼠臟器之發育情形

臟器 種類	臟器重量(g)					
	0	4	8	12	16	20
體重(W)	3)					
	232.6 ±20.4	284.9 ±12.1	.2 ±24.4	435.5 ±13.3	408.8 ±13.8	386.7 ±21.6
腎臟(N)	2.38 ±0.17	2.56 ±0.21	2.70 ±0.25	2.35 ±0.21	2.26 ±0.18	2.16 ±0.24
N/W(%)	4)					
	1.02	0.90	0.74	0.54	0.55	0.56
肝臟(L)	12.32 ±0.79	13.42 ±0.84	15.06 ±1.06	14.29 ±0.92	12.62 ±0.86	11.98 ±0.25
L/W(%)	5.30	4.71	4.12	3.28	3.08	3.10
腦(B)	1.72 ±0.05	1.84 ±0.07	1.96 ±0.10	1.79 ±0.07	1.77 ±0.07	1.67 ±0.02
B/W(%)	0.74	0.65	0.54	0.41	0.43	0.43
心臟(H)	1.23 ±0.02	1.36 ±0.06	1.48 ±0.04	1.46 ±0.06	1.22 ±0.02	1.13 ±0.01
H/W(%)	0.53	0.48	0.41	0.34	0.30	0.29
脾臟(S)	0.71 ±0.05	0.78 ±0.02	0.90 ±0.03	0.78 ±0.02	0.70 ±0.04	0.65 ±0.04
S/W(%)	0.31	0.27	0.25	0.18	0.17	0.17
肺臟(U)	1.84 ±0.10	2.27 ±0.09	1.98 ±0.12	1.57 ±0.08	1.44 ±0.07	1.45 ±0.06
U/W(%)	0.79	0.80	0.54	0.36	0.35	0.37

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值(mean)±標準偏差(SD),動物隻數(n)=5

4). 臟器重量(g)/體重(g)

表十四．長期授予矽砂(5000mg/kg飼料)後雌性大鼠臟器之發育情形

種 類	臟 器 重 量 (g)					
	0	4	8	2	16	20
體重 (W)	3)					
	211.5 ± 20.4	222.7 ± 12.1	253.2 ± 24.4	293.6 ± 13.3	285.2 ± 13.8	281.7 ± 21.6
腎臟 (N)	1.90 ± 0.05	1.91 ± 0.06	1.87 ± 0.08	2.07 ± 0.17	1.83 ± 0.07	1.80 ± 0.61
N/W(%)	4)					
	0.90	0.86	0.74	0.71	0.64	0.64
肝臟 (L)	8.02 ± 0.24	8.84 ± 0.15	7.20 ± 1.28	8.04 ± 0.83	8.65 ± 0.68	8.23 ± 0.82
L/W(%)	3.79	3.97	2.84	2.74	3.03	2.92
腦 (B)	1.72 ± 0.05	1.74 ± 0.07	1.70 ± 0.10	1.78 ± 0.07	1.74 ± 0.07	1.72 ± 0.02
B/W(%)	0.81	0.78	0.67	0.61	0.61	0.61
心臟 (H)	0.82 ± 0.02	0.81 ± 0.06	0.76 ± 0.04	0.89 ± 0.06	0.95 ± 0.02	0.95 ± 0.01
H/W(%)	0.39	0.36	0.30	0.30	0.27	0.26
脾臟 (S)	0.69 ± 0.07	0.62 ± 0.03	0.51 ± 0.05	0.68 ± 0.05	0.66 ± 0.04	0.62 ± 0.08
S/W(%)	0.33	0.28	0.20	0.23	0.23	0.22
肺臟 (U)	1.37 ± 0.09	1.37 ± 0.12	1.38 ± 0.14	1.48 ± 0.17	1.28 ± 0.05	1.26 ± 0.02
U/W(%)	0.65	0.62	0.55	0.50	0.49	0.45

1). 矽砂授予方式是自由攝食

2). 臟器重量之測定週次

3). 臟器重量之平均值(mean) ± 標準偏差(SD), 動物隻數(n)=5

4). 臟器重量(g)/體重(g)

表十五．長期授予砒砂後雄性大鼠臨床上之異常徵狀

異常徵狀	1) 0			2) 50			500			5000		
	4	12	20	4	12	20	4	12	20	4	12	20 3)
中樞神經系：												
自發運動抑制	-	-	-	-	-	-	-	6	12	-	20	20
行動不穩	-	-	-	-	-	-	-	6	12	-	20	20
鎮靜	-	-	-	-	-	-	-	6	12	-	20	20
反應性：												
遲鈍	-	-	-	-	-	-	-	6	12	6	20	20
攣縮	-	-	-	-	-	-	-	6	10	6	16	16
歪頭	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	4	4
知覺減弱	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	20	20
運動失調：	-	-	-	-	-	-	-	2	6	-	20	20
呼吸器系：												
心跳減速	-	-	-	-	-	-	-	4	8	-	12	16
皮膚體毛：												
皮膚腫瘤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
體毛易脫落	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	11
眼睛：												
分泌物增加	-	-	-	-	2	2	-	4	8	4	12	12
眼紅	-	-	-	-	2	2	-	6	8	-	12	12
眼簾閉合	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	6	8
生體剖析：4)												
腎臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	5	5
顏色較淺	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	5	5
肝臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	5	5
顏色較淺	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	5	4
鬆弛感	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	5	5
光澤失	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	5	5
心臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	4	4
硬化	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	4	4
腦：	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脾臟：	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
屍體剖析：												
死亡隻數	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
腎臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
肝臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
脾臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
腸胃發炎	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-

1)．授予之砒砂濃度 (mg/kg飼料)

2)．每日觀察之20隻實驗動物中在臨床上出現異常徵狀之隻數

3)．實驗之週次

4)．每組每四週生體剖析之實驗動物均5隻

表十六. 長期授予砒砂後雌性大鼠臨床上之異常徵狀

異 常 徵 狀	1) 0			2) 50			500			5000		
	4	12	20	4	12	20	4	12	20	4	12	20 3)
中樞神經系：												
自發運動亢進	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2	2
自發運動抑制	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	12	12
行動不穩	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	8
鎮靜	-	-	-	-	-	-	-	6	6	-	10	12
反應性：												
遲鈍	-	-	-	-	-	-	-	6	6	-	12	14
攣縮	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	8	8
歪頭	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
知覺減弱	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	8	10
運動失調：	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	10	12
呼吸器系：												
呼吸抑制	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心跳加速	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	2
心跳減速	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	12	16
皮膚體毛：												
皮膚腫瘤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
體毛易脫落	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	8	12
眼 睛：												
分泌物增加	-	-	-	-	2	2	-	4	8	-	8	10
眼紅	-	-	-	-	2	2	-	4	8	-	8	10
眼簾閉合	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2
生體剖析： 4)												
腎臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	3	4
顏色較淺	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	3	3
肝臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	4	4
顏色較淺	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	5	5
鬆弛感	-	-	-	-	-	-	-	2	4	-	3	5
光澤失	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	5	5
心臟：												
體積縮小	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	3	3
硬化	-	-	-	-	-	-	-	2	3	-	3	3
腦：												
脾臟：	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
屍體剖析：												
死亡隻數	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
腎臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肝臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
脾臟紅腫	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
結節	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1). 授予之砒砂濃度 (mg/kg飼料)

2). 每日觀察之20隻實驗動物中在臨床上出現異常徵狀之隻數

3). 實驗之週次

4). 每組每四週生體剖析之實驗動物均5隻

表十七．授予砒砂後大鼠血液中之紅血球數 (RBC)

砒砂 濃度 (mg/kg)	紅血球數 (RBC) ( $\times 10^6$ /ul)					
	0	4	8	12	16	20 1)
雄 性						
	2)					
0	7.26 $\pm 0.21$	7.41 $\pm 0.48$	7.40 $\pm 0.29$	7.52 $\pm 0.84$	7.52 $\pm 0.72$	7.38 $\pm 0.36$
50	8.01 $\pm 0.48$	7.54 $\pm 0.98$	7.33 $\pm 0.72$	7.62 $\pm 0.57$	7.70 $\pm 0.87$	8.02 $\pm 0.36$
500	7.44 $\pm 0.71$	7.40 $\pm 0.10$	7.82 $\pm 0.39$	8.05 $\pm 0.21$	7.48 $\pm 0.69$	8.02 $\pm 0.87$
5000	7.68 $\pm 0.32$	7.88 $\pm 0.34$	7.67 $\pm 0.13$	7.84 $\pm 0.12$	7.98 $\pm 0.59$	8.02 $\pm 0.72$
雌 性						
	2)					
0	7.01 $\pm 0.12$	6.95 $\pm 0.48$	7.09 $\pm 0.29$	6.67 $\pm 0.84$	6.95 $\pm 0.72$	6.87 $\pm 0.36$
50	6.84 $\pm 0.28$	6.48 $\pm 0.87$	6.50 $\pm 0.40$	7.63 $\pm 0.14$	7.12 $\pm 0.25$	7.45 $\pm 0.34$
500	6.79 $\pm 0.28$	6.82 $\pm 0.78$	6.61 $\pm 0.21$	7.77 $\pm 0.10$	7.21 $\pm 0.22$	7.31 $\pm 0.42$
5000	6.58 $\pm 0.17$	6.53 $\pm 0.54$	7.29 $\pm 0.29$	7.17 $\pm 0.15$	7.74 $\pm 0.20$	7.72 $\pm 0.38$

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表十八. 授予砒砂後大鼠血液中之白血球數 (WBC)

砒砂 濃度 (mg/kg)	白血球數 (WBC) ( $\times 10^3$ /ul)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	11.84 $\pm 0.83$	12.03 $\pm 0.12$	11.14 $\pm 0.23$	10.88 $\pm 0.45$	11.22 $\pm 0.83$	10.97 $\pm 0.24$
50	11.71 $\pm 0.26$	10.60 $\pm 0.12$	10.82 $\pm 0.49$	9.07 $\pm 0.89$	7.58 $\pm 0.83$	7.89 $\pm 0.25$
500	12.40 $\pm 0.48$	11.13 $\pm 0.12$	7.30 $\pm 0.79$	7.20 $\pm 0.90$	7.28 $\pm 0.94$	7.42 $\pm 0.74$
5000	10.92 $\pm 1.12$	8.43 $\pm 0.60$	8.03 $\pm 1.08$	7.24 $\pm 0.64$	7.13 $\pm 0.55$	7.08 $\pm 0.83$
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	8.24 $\pm 0.58$	8.40 $\pm 0.37$	7.86 $\pm 0.13$	7.97 $\pm 0.58$	8.02 $\pm 0.37$	7.84 $\pm 1.01$
50	8.82 $\pm 0.58$	7.03 $\pm 0.37$	7.10 $\pm 0.13$	7.13 $\pm 0.19$	6.20 $\pm 1.83$	6.64 $\pm 0.16$
500	9.04 $\pm 0.86$	6.85 $\pm 0.65$	6.47 $\pm 0.29$	6.27 $\pm 0.28$	5.87 $\pm 0.35$	5.44 $\pm 0.12$
5000	8.59 $\pm 0.70$	5.97 $\pm 0.27$	6.27 $\pm 0.33$	5.00 $\pm 0.20$	4.62 $\pm 0.57$	5.02 $\pm 0.47$

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表十九. 授予砒砂後大鼠血液中之血小板數 (PLT)

砒砂 濃度 (mg/kg)	血小板數 (PLT) ( $\times 10^9$ /ul)					
	0	4	8	12	16	20 1)
雄 性						
	2)					
0	811.4 $\pm 18.7$	824.5 $\pm 21.0$	829.9 $\pm 32.2$	816.7 $\pm 36.4$	808.6 $\pm 47.9$	802.4 $\pm 23.3$
50	802.4 $\pm 30.7$	823.7 $\pm 72.7$	814.7 $\pm 45.0$	847.7 $\pm 62.3$	844.6 $\pm 53.2$	851.8 $\pm 27.7$
500	812.8 $\pm 46.3$	889.3 $\pm 19.3$	934.0 $\pm 28.7$	966.5 $\pm 36.4$	898.7 $\pm 56.7$	954.2 $\pm 38.4$
5000	821.3 $\pm 37.2$	853.3 $\pm 64.2$	888.7 $\pm 29.3$	984.0 $\pm 36.7$	1025.0 $\pm 21.2$	997.5 $\pm 28.6$
雌 性						
	2)					
0	796.6 $\pm 41.5$	812.7 $\pm 68.9$	778.2 $\pm 42.8$	798.7 $\pm 56.8$	776.8 $\pm 51.7$	782.3 $\pm 44.6$
50	794.3 $\pm 51.6$	811.7 $\pm 62.3$	808.6 $\pm 56.3$	822.4 $\pm 42.9$	861.6 $\pm 58.6$	912.8 $\pm 46.7$
500	788.5 $\pm 46.3$	829.3 $\pm 36.4$	914.0 $\pm 48.3$	926.5 $\pm 46.7$	1012.7 $\pm 61.9$	998.2 $\pm 38.4$
5000	801.3 $\pm 37.2$	833.3 $\pm 64.2$	888.7 $\pm 29.3$	1002.0 $\pm 36.7$	992.8 $\pm 21.2$	985.5 $\pm 28.6$

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean)  $\pm$  標準偏差 (SD), 動物隻數 (n)=5

表二十. 授予硃砂後大鼠血液中之血紅素量 (HGB)

硃砂 濃度 (mg/kg)	血紅素量 (HGB) (g/dl)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	14.04 ± 0.84	14.40 ± 1.02	13.90 ± 0.87	14.03 ± 0.63	13.91 ± 0.90	14.18 ± 1.05
50	14.38 ± 0.93	15.02 ± 1.18	14.34 ± 1.37	14.60 ± 1.04	13.92 ± 0.70	14.02 ± 0.51
500	13.96 ± 1.26	14.40 ± 0.81	13.80 ± 0.57	14.73 ± 0.42	13.98 ± 0.38	14.21 ± 0.26
5000	14.96 ± 0.87	14.63 ± 0.36	14.43 ± 0.57	13.57 ± 1.01	13.93 ± 0.55	14.18 ± 0.94
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	14.03 ± 0.52	13.83 ± 0.82	14.01 ± 0.48	14.06 ± 0.83	13.66 ± 0.52	13.89 ± 0.89
50	13.96 ± 0.74	13.83 ± 0.46	13.03 ± 0.41	14.40 ± 0.28	13.72 ± 0.48	14.04 ± 0.33
500	14.26 ± 1.82	13.30 ± 0.66	14.06 ± 0.64	14.40 ± 0.28	14.00 ± 0.24	13.83 ± 0.84
5000	13.98 ± 0.53	12.98 ± 0.69	14.12 ± 0.47	13.80 ± 1.10	13.90 ± 1.02	13.78 ± 0.74

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n): 5

表二十一．授予矽砂後大鼠血液中之血球容積比 (HCT)

矽砂 濃度 (mg/kg)	血球容積比 (HCT) (%)					
	0	4	8	12	16	20. 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	40.08 ± 2.68	39.48 ± 3.06	38.90 ± 2.16	39.76 ± 2.36	38.92 ± 3.17	39.16 ± 2.18
50	40.30 ± 3.40	38.73 ± 3.42	39.18 ± 3.41	40.02 ± 3.12	38.62 ± 2.74	39.03 ± 2.93
500	39.86 ± 2.42	39.91 ± 2.01	38.37 ± 1.42	40.65 ± 2.32	38.91 ± 2.29	38.89 ± 3.26
5000	39.20 ± 2.84	40.26 ± 1.88	39.91 ± 3.81	40.33 ± 2.48	41.14 ± 2.72	41.88 ± 1.36
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	36.17 ± 1.79	36.83 ± 3.54	35.44 ± 2.92	37.40 ± 2.68	34.68 ± 1.78	34.52 ± 2.29
50	36.20 ± 2.59	36.03 ± 1.49	39.42 ± 5.41	37.77 ± 3.12	38.62 ± 1.79	39.03 ± 4.98
500	38.35 ± 3.95	39.03 ± 2.82	40.12 ± 3.26	38.57 ± 8.21	38.26 ± 4.679	39.06 ± 1.60
5000	37.53 ± 2.76	37.33 ± 1.38	38.35 ± 2.75	38.57 ± 1.28	38.08 ± 4.26	39.14 ± 4.82

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表二十二. 授予砒砂後大鼠血液中之血容積 (MCV)

砒砂 濃度 (mg/kg)	血容積 (MCV) (fl)					
	0	4	8	12	16	18 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	56.61 ±1.83	55.67 ±1.74	52.12 ±1.16	52.16 ±1.27	50.87 ±1.80	51.72 ±1.66
50	52.31 ±2.02	52.81 ±2.47	53.75 ±1.41	50.90 ±1.17	50.24 ±3.87	51.17 ±2.03
500	51.94 ±2.31	53.91 ±3.36	49.13 ±2.79	49.89 ±1.21	50.03 ±2.71	50.38 ±2.64
5000	52.30 ±2.60	51.22 ±2.68	52.10 ±1.68	51.52 ±1.41	50.93 ±2.07	51.74 ±2.71
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	53.41 ±3.82	52.03 ±1.14	53.61 ±3.18	52.97 ±4.20	53.82 ±1.79	52.94 ±3.18
50	52.76 ±3.47	54.45 ±4.57	52.47 ±1.62	52.67 ±3.45	53.07 ±4.24	54.47 ±3.21
500	54.24 ±2.10	53.35 ±1.85	53.13 ±2.49	51.53 ±2.66	53.20 ±1.50	53.38 ±4.29
5000	51.38 ±1.46	52.83 ±3.57	53.80 ±2.29	53.54 ±2.10	52.93 ±4.28	52.74 ±1.26

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表二十三．授予硃砂後大鼠血液中之GOT

硃砂 濃度 (mg/kg)	血液中之GOT(u/l)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	68.51 ± 5.46	62.72 ± 8.42	59.33 ± 9.82	68.38 ± 4.70	62.33 ± 8.25	61.47 ± 8.28
50	63.41 ± 6.40	64.45 ± 4.82	82.52 ± 4.50	79.33 ± 10.89	84.38 ± 10.3	79.88 ± 6.74
500	65.74 ± 8.82	63.67 ± 8.65	83.42 ± 4.50	115.67 ± 59.69	124.07 ± 29.48	132.14 ± 30.75
5000	64.60 ± 16.28	85.33 ± 12.55	80.33 ± 15.58	144.20 ± 41.51	157.33 ± 30.38	152.49 ± 21.40
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	63.50 ± 7.45	64.07 ± 6.28	62.51 ± 8.40	68.42 ± 6.20	68.32 ± 6.82	65.38 ± 9.74
50	60.34 ± 2.08	59.33 ± 3.01	63.48 ± 7.29	76.00 ± 3.00	79.38 ± 4.03	85.32 ± 9.37
500	60.26 ± 7.92	58.33 ± 4.32	78.34 ± 5.41	83.337 ± 4.49	98.37 ± 9.20	121.54 ± 8.31
5000	58.66 ± 4.92	60.67 ± 8.65	78.74 ± 6.37	115.67 ± 49.67	124.32 ± 19.48	149.40 ± 26.87

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值(mean) ± 標準偏差(SD), 動物隻數(n)=5

表二十四．授予砒砂後大鼠血液中之GPT

砒砂 濃度 (mg/kg)	血液中之GPT(u/l)					
	0	4	8	12	16	20 1)
雄 性						
	2)					
0	25.85 ± 4.02	26.72 ± 3.82	25.40 ± 7.15	24.38 ± 4.70	25.82 ± 7.20	26.44 ± 7.93
50	25.27 ± 2.15	42.51 ± 2.50	52.33 ± 10.08	51.92 ± 2.68	54.92 ± 8.17	49.93 ± 9.82
500	23.92 ± 3.82	52.33 ± 6.46	51.01 ± 2.87	49.00 ± 7.14	57.67 ± 7.03	59.79 ± 6.89
5000	24.41 ± 6.22	56.33 ± 5.65	65.34 ± 6.01	72.14 ± 8.35	82.12 ± 8.93	79.86 ± 9.86
雌 性						
	2)					
0	25.26 ± 2.78	27.67 ± 4.49	24.67 ± 7.15	23.92 ± 2.28	25.96 ± 3.48	26.30 ± 5.97
50	24.87 ± 3.72	25.26 ± 3.21	26.30 ± 4.82	34.92 ± 4.83	45.13 ± 6.81	49.38 ± 7.29
500	25.12 ± 2.32	24.98 ± 7.26	39.17 ± 5.27	40.67 ± 6.65	48.33 ± 8.18	50.21 ± 7.74
5000	26.38 ± 3.62	26.27 ± 5.21	55.15 ± 6.33	45.01 ± 4.56	56.67 ± 6.98	63.47 ± 5.68

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值(mean) ± 標準偏差(SD), 動物隻數(n) = 5

表二十五 授予矽砂後大鼠血液中之LDH量

矽砂 濃度 (mg/kg)	血液中LDH量 (u/l)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	238.22 ± 28.76	241.87 ± 42.17	238.69 ± 50.82	250.82 ± 33.68	249.89 ± 36.80	251.64 ± 40.25
50	246.17 ± 36.82	250.12 ± 27.28	247.12 ± 32.02	258.16 ± 19.78	248.92 ± 18.79	239.67 ± 37.25
500	239.98 ± 29.88	268.88 ± 31.58	388.73 ± 48.31	422.48 ± 31.23	459.94 ± 26.78	521.15 ± 23.73
5000	249.34 ± 50.12	382.57 ± 39.23	459.88 ± 52.60	626.11 ± 29.78	701.53 ± 38.96	684.62 ± 50.17
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	243.52 ± 16.72	227.34 ± 21.56	265.77 ± 30.71	244.72 ± 21.48	234.92 ± 16.39	233.38 ± 20.77
50	244.47 ± 21.74	234.52 ± 30.26	226.28 ± 18.73	310.38 ± 27.36	229.74 ± 26.38	266.62 ± 21.74
500	241.32 ± 18.93	263.38 ± 42.47	363.63 ± 37.64	338.21 ± 21.73	381.28 ± 16.74	438.94 ± 30.16
5000	252.02 ± 38.71	333.67 ± 48.26	438.75 ± 54.06	481.08 ± 28.15	506.74 ± 24.62	572.39 ± 42.56

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表二十六 授予砒砂後大鼠血液中全蛋白質量(TP)

砒砂 濃度 (mg/kg)	全蛋白質量(TP) (g/dl)					
	0	4	8	12	16	28 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	6.02 ± 0.26	5.98 ± 0.31	6.14 ± 0.18	5.92 ± 0.61	6.01 ± 0.31	6.08 ± 0.70
50	5.74 ± 0.55	5.96 ± 0.33	6.08 ± 0.42	6.24 ± 0.48	6.52 ± 0.643	6.53 ± 0.81
500	5.68 ± 0.26	6.06 ± 0.27	3) *			
				7.82 ± 0.86	8.42 ± 0.58	7.93 ± 0.63
5000	6.10 ± 0.64	6.46 ± 0.85	7.93 ± 0.27	7.80 ± 0.94	8.98 ± 0.68	9.21 ± 0.85
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	5.43 ± 0.38	5.79 ± 0.23	5.64 ± 0.58	5.87 ± 0.38	5.42 ± 0.51	6.02 ± 0.74
50	5.26 ± 0.85	6.07 ± 0.13	6.13 ± 0.23	5.94 ± 0.26	6.61 ± 0.24	6.88 ± 0.21
500	6.01 ± 0.24	5.75 ± 0.20	6.64 ± 0.14	6.79 ± 0.44	7.08 ± 0.74	6.98 ± 0.42
5000	5.86 ± 0.64	6.18 ± 0.32	6.83 ± 0.31	6.87 ± 0.59	7.28 ± 0.56	7.62 ± 0.25

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值(mean) ± 標準偏差(SD), 動物隻數(n)=5

3). 測定時失誤

表二十七. 授予硃砂後大鼠血液中尿素氮 (BUN)

硃砂 濃度 (mg/kg)	血液中尿素氮 (mg/dl)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	26.71 ± 1.36	25.88 ± 2.12	23.47 ± 1.30	24.01 ± 2.16	23.20 ± 3.51	23.24 ± 2.10
50	26.38 ± 4.12	24.46 ± 2.36	24.91 ± 2.01	23.96 ± 1.86	24.02 ± 2.77	20.83 ± 1.76
500	28.45 ± 3.12	26.31 ± 1.46	22.56 ± 2.37	20.19 ± 2.01	21.63 ± 1.86	16.74 ± 2.58
5000	27.15 ± 2.80	26.54 ± 2.91	23.38 ± 1.01	18.04 ± 2.80	15.53 ± 3.44	12.72 ± 5.45
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	24.54 ± 2.33	22.68 ± 1.69	23.02 ± 1.86	22.52 ± 2.23	22.24 ± 2.15	21.67 ± 3.20
50	23.88 ± 2.13	24.03 ± 2.84	23.29 ± 3.12	21.86 ± 2.43	22.16 ± 3.21	19.08 ± 2.92
	3)					
500	24.30 ± 2.49	*	21.48 ± 3.01	20.08 ± 1.86	16.90 ± 2.08	17.28 ± 3.12
5000	24.60 ± 2.12	23.36 ± 2.74	21.64 ± 2.11	17.81 ± 3.13	14.16 ± 4.02	15.44 ± 2.39

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

3). 測定時失誤

表二十八：授予矽砂後大鼠血液中之鹼性磷酸酯酶 (ALP)

矽砂 濃度 (mg/kg)	鹼性磷酸酯酶 (ALP) (u/l)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	42.63 ± 1.66	38.43 ± 3.45	39.32 ± 3.84	40.61 ± 4.07	38.42 ± 3.79	36.98 ± 2.80
50	40.63 ± 3.23	38.42 ± 2.67	49.27 ± 4.37	50.45 ± 1.97	56.12 ± 2.48	54.37 ± 3.26
500	39.98 ± 2.56	52.38 ± 1.89	56.02 ± 3.54	63.85 ± 2.90	59.87 ± 3.48	68.94 ± 4.80
5000	44.73 ± 3.24	53.82 ± 4.83	72.60 ± 6.03	69.89 ± 4.28	74.32 ± 4.36	86.06 ± 5.68
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	38.54 ± 3.16	36.78 ± 4.35	36.56 ± 2.57	35.61 ± 3.76	35.13 ± 4.87	36.67 ± 3.26
50	39.47 ± 2.64	38.42 ± 2.67	36.67 ± 3.65	35.13 ± 2.58	40.12 ± 1.98	36.87 ± 4.34
500	38.80 ± 3.24	40.22 ± 4.52	48.07 ± 3.54	66.24 ± 5.33	64.53 ± 5.7	68.94 ± 4.80
5000	36.09 ± 5.61	42.81 ± 4.66	53.79 ± 7.10	64.79 ± 5.83	80.12 ± 6.82	76.93 ± 7.75

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表二十九. 授予砒砂後大鼠血液中之白蛋白 (albumin) 量

砒砂濃度 (mg/kg)	白蛋白量 (g/dl)					
	0	4	8	12	16	20 1)
<b>雄 性</b>						
	2)					
0	2.57 ± 0.16	2.75 ± 0.62	2.22 ± 0.71	2.27 ± 0.52	2.33 ± 0.47	2.39 ± 0.20
50	2.40 ± 0.08	2.73 ± 0.20	2.59 ± 0.07	2.38 ± 0.20	2.58 ± 0.31	2.67 ± 0.32
500	2.20 ± 0.31	3.01 ± 0.22	3.58 ± 0.43	3.95 ± 0.68	4.27 ± 0.75	5.15 ± 0.26
5000	2.58 ± 0.59	2.87 ± 0.58	3.80 ± 0.48	4.20 ± 0.82	5.87 ± 0.48	6.43 ± 0.12
<b>雌 性</b>						
	2)					
0	2.57 ± 0.16	2.75 ± 0.62	2.22 ± 0.71	2.27 ± 0.52	2.33 ± 0.47	2.39 ± 0.20
50	2.40 ± 0.08	2.73 ± 0.20	2.59 ± 0.07	2.38 ± 0.20	2.58 ± 0.31	2.67 ± 0.32
500	2.20 ± 0.31	3.01 ± 0.22	3.58 ± 0.43	3.95 ± 0.68	4.27 ± 0.75	5.15 ± 0.26
5000	2.58 ± 0.59	2.87 ± 0.58	3.80 ± 0.48	4.20 ± 0.82	5.87 ± 0.48	6.43 ± 0.12

1). 測定週次

2). 檢測值係平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), 動物隻數 (n) = 5

表三十. 授予砒砂後大鼠尿中汞之排泄量 1)

試 驗		汞 含 量 (ppb)				
組 別	性 別	6	10	24	72	96 2)
對照組 (C)		3)				
	雄	—	—	—	—	—
	雌	—	—	—	—	—
		4)				
實驗組 (E)	雄	4.5 ± 0.1	8.7 ± 0.2	20.2 ± 0.4	3.7 ± 0.2	1.4 ± 0.3
	雌	4.9 ± 0.3	10.4 ± 0.6	18.4 ± 1.1	2.9 ± 0.4	1.3 ± 0.1
E/C		5)				
	雄	4.5	8.7	20.2	3.7	1.4
	雌	4.9	10.4	18.4	2.9	1.3

- 1). 實驗動物之平均體重  $230 \pm 18\text{g}$ , 單一劑量授予之砒砂劑量為  $500\text{mg/kg}$  (體重);
- 2). 測定時間 (小時)
- 3). 未檢出或  $1\text{ppb}$  以下
- 4). 實驗結果均為平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD),  $n=5$
- 5). 實驗值 / 可檢出之最低值 ( $1\text{ppb}$ )

表三十一．授予硃砂後大鼠臟器中汞之滯留活性 1)

試 驗 組 別	性 別	汞含量 (ppb)		
		腎 臟	肝 臟	腦
對照組 (C)	雄	— <sup>2)</sup>	—	—
	雌	—	—	—
實驗組 (E)	雄	25.3 ± 2.17 <sup>3)</sup>	15.8 ± 0.08	18.6 ± 0.86
	雌	22.1 ± 0.68	11.2 ± 0.76	17.6 ± 1.21
E/C	雄	25.3 <sup>4)</sup>	15.8	18.6
	雌	22.1	11.2	17.6

1)．實驗動物之平均體重  $230 \pm 18\text{g}$ ，單一劑量授予之硃砂劑量為  $500\text{mg/kg}$  (體重)，測定時間第120小時

2)．未檢出或1ppb以下

3)．實驗結果均為平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD),  $n=5$

4)．實驗值/可檢出之最低值 (1ppb)

表三十二. 長期授予硃砂後雄性大鼠臟器中汞之蓄積量

硃砂濃度 (mg/kg)	臟器名稱	汞含量 (ppm)					
		0	4	8	12	16	20 (1)
0	腎臟	—	—	—	—	—	—
	肝臟	—	—	—	—	—	—
	腦	—	—	—	—	—	—
50	腎臟	—	0.123 ±0.009	0.593 ±0.042	1.854 ±0.087	2.946 ±0.084	8.446 ±0.059
	肝臟	—	0.013 ±0.001	0.020 ±0.003	0.021 ±0.003	0.039 ±0.007	0.072 ±0.059
	腦	—	0.039 ±0.004	0.070 ±0.008	0.074 ±0.006	0.079 ±0.005	0.087 ±0.007
500	腎臟	—	0.306 ±0.013	1.017 ±0.039	5.387 ±0.140	8.823 ±0.237	13.893 ±0.382
	肝臟	—	0.022 ±0.008	0.031 ±0.008	0.051 ±0.006	0.084 ±0.010	0.100 ±0.009
	腦	—	0.040 ±0.009	0.135 ±0.004	0.182 ±0.005	0.215 ±0.010	0.302 ±0.026
5000	腎臟	—	0.814 ±0.021	1.639 ±0.048	9.683 ±0.082	13.915 ±0.160	19.295 ±0.297
	肝臟	—	0.099 ±0.005	0.226 ±0.022	0.301 ±0.032	0.389 ±0.050	0.574 ±0.083
	腦	—	0.273 ±0.042	0.409 ±0.021	0.597 ±0.034	0.626 ±0.078	0.866 ±0.030

1). 測定汞含量之週次

2). 未檢出或檢出量在0.001ppm以下

3). 試驗結果均為平均值(mean)±標準偏差(SD), n=3

表三十三. 長期授予硃砂後雌性大鼠臟器中汞之蓄積量

硃砂濃度 (mg/kg)	臟器名稱	汞含量 (ppm)					
		0	4	8	12	16	20 1)
0	腎臟	—	—	—	—	—	—
	肝臟	—	—	—	—	—	—
	腦	—	—	—	—	—	—
50	腎臟	—	0.089 ±0.004	0.286 ±0.003	0.831 ±0.07	2.259 ±0.11	6.421 ±0.13
	肝臟	—	0.005 ±0.001	0.008 ±0.003	0.011 ±0.002	0.021 ±0.004	0.039 ±0.009
	腦	—	0.010 ±0.004	0.014 ±0.003	0.021 ±0.007	0.058 ±0.010	0.090 ±0.004
500	腎臟	—	0.079 ±0.009	0.323 ±0.050	6.048 ±0.234	8.172 ±0.188	15.721 ±0.238
	肝臟	—	0.009 ±0.001	0.042 ±0.006	0.067 ±0.009	0.074 ±0.007	0.093 ±0.007
	腦	—	0.035 ±0.006	0.065 ±0.014	0.092 ±0.063	0.105 ±0.041	0.144 ±0.039
5000	腎臟	—	0.807 ±0.009	1.401 ±0.037	6.439 ±0.129	10.561 ±0.228	16.796 ±0.198
	肝臟	—	0.026 ±0.005	0.056 ±0.009	0.093 ±0.010	0.124 ±0.027	0.164 ±0.013
	腦	—	0.043 ±0.020	0.079 ±0.019	0.163 ±0.033	0.277 ±0.034	0.531 ±0.049

1). 測定汞含量之週次

2). 未檢出或檢出量在0.001ppm以下

3). 試驗結果均為平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), n=3

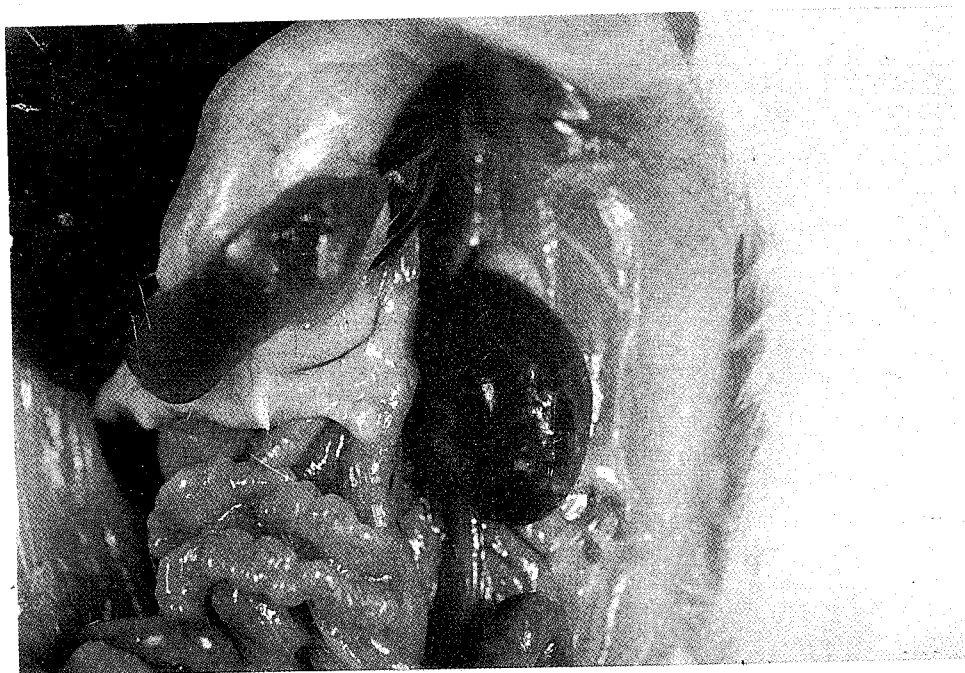
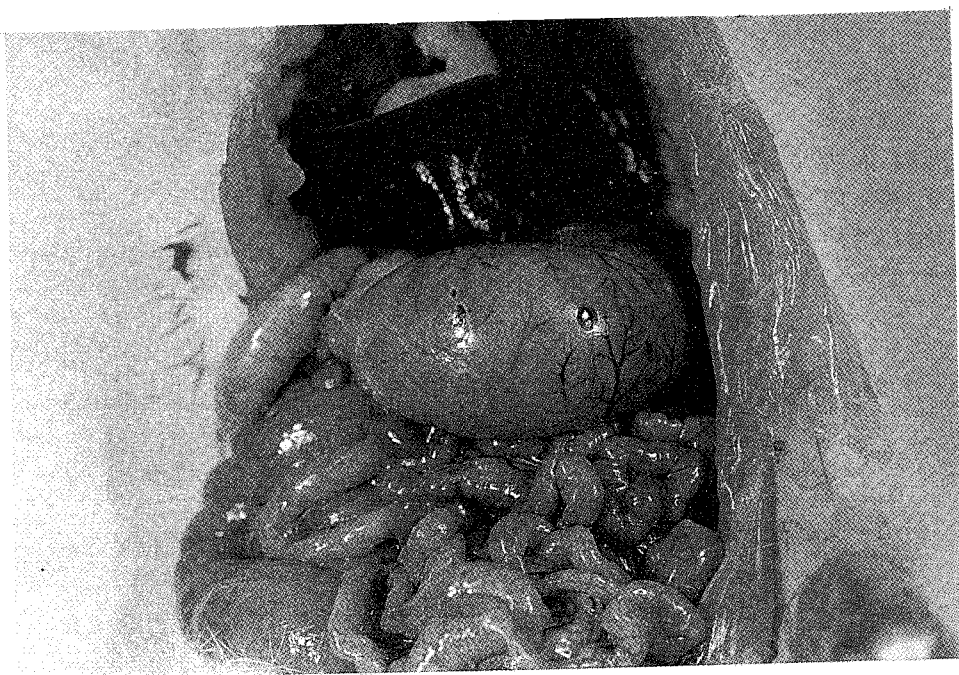
表三十四．大鼠授予砒砂後神經傳導之傷害情形

飼料中砒 砂濃度 (mg/kg)	測定項目		
	Absolute Latencies		Interpeak Latencies 1)
	IA 2)	V	IA-V
0	1.76 ± 0.08	5.41 ± 0.25	3.64 ± 0.25
50	1.75 ± 0.08	5.47 ± 0.19	3.72 ± 0.17
500	1.77 ± 0.11	5.43 ± 0.19	3.67 ± 0.24
5000	1.84 ± 0.11	5.47 ± 0.29	3.64 ± 0.30

1)．測定時間：第十八週

2)．試驗結果均為平均值 (mean) ± 標準偏差 (SD), n=5

由以上Brain-stem auditory evoked potential (BAEP) 之研究中顯示授予砒砂十八週後各劑量組之受測動物之Brain-stem function 似乎無顯著影響



圖一．授予硃砂後死亡大鼠內臟之病變  
屍體剖析之動物均於試驗中病危或死亡者  
A. 腸,胃與肝臟均紅腫,胃潰爛  
B. 腎臟,肝臟,脾臟均紅腫結節,腸與胃腫脹

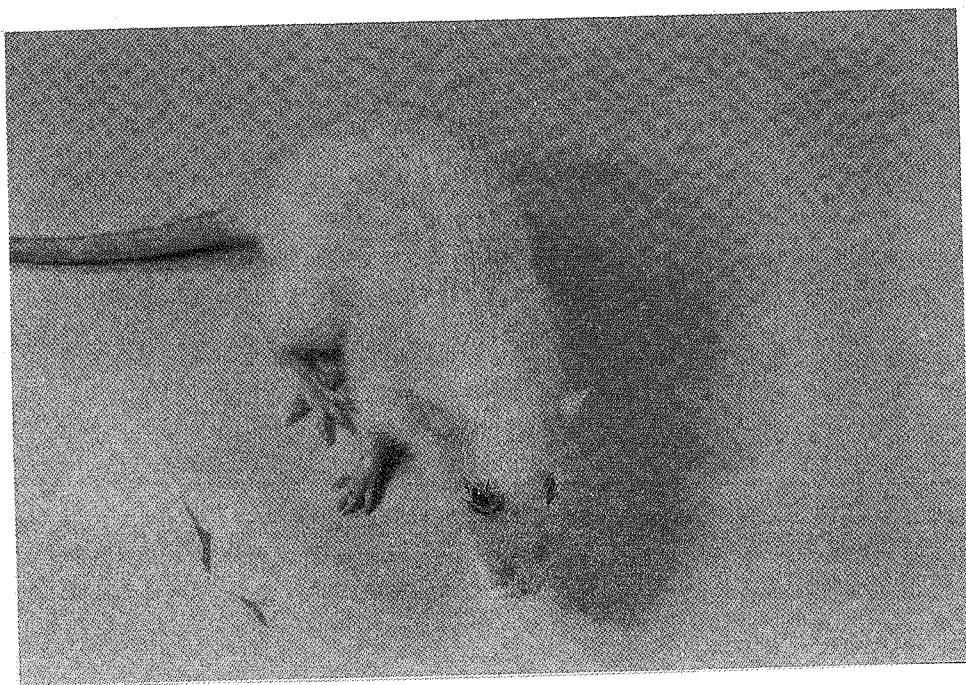


圖二．授予硃砂後出現之臨床徵狀

A. B. 均攣縮, 鎮靜, 行動遲緩

觀察時間: 試驗期每日觀察

觀察動物: 每試驗組與對照組雌, 雄性各二十隻



圖三．授予硃砂後出現之臨床徵狀

A. 行動不穩，眼睛紅腫

B. 行動不穩

觀察時間：試驗期每日觀察

觀察動物：每試驗組與對照組雌，雄性各二十隻



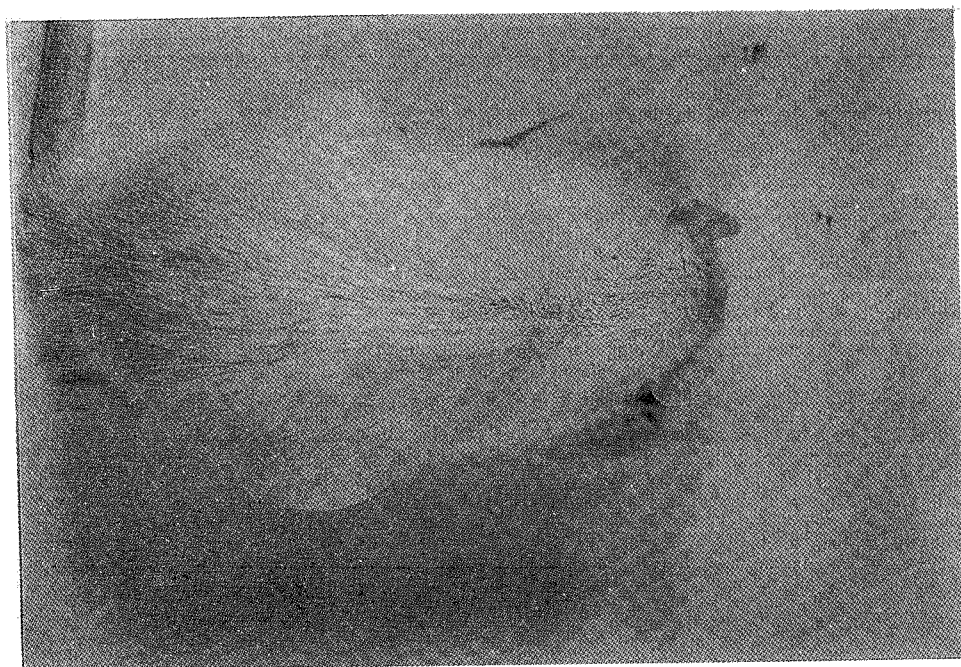
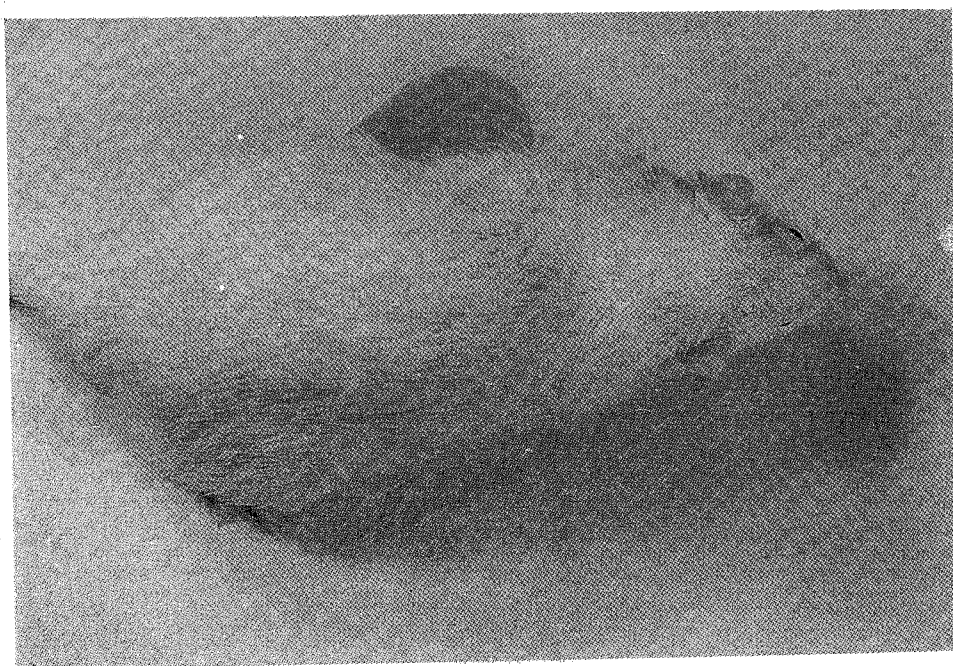
圖四．授予硃砂後出現之臨床徵狀

A. 眼睛紅腫,分泌物增加,行動不穩

B. 眼簾閉合,鎮靜

觀察時間:試驗期每日觀察

觀察動物:每試驗組與對照組雌,雄性各二十隻



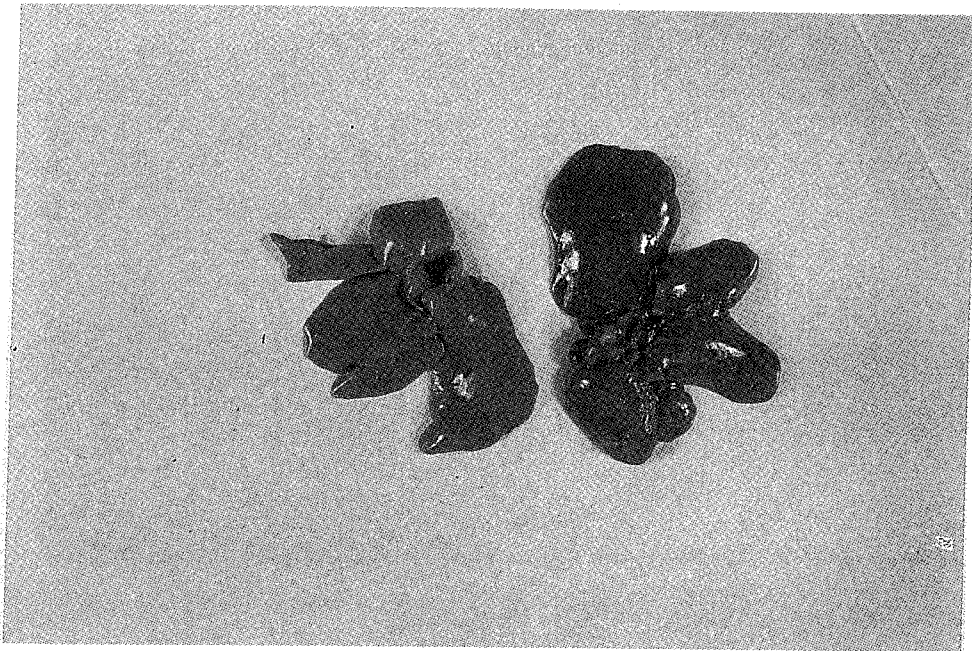
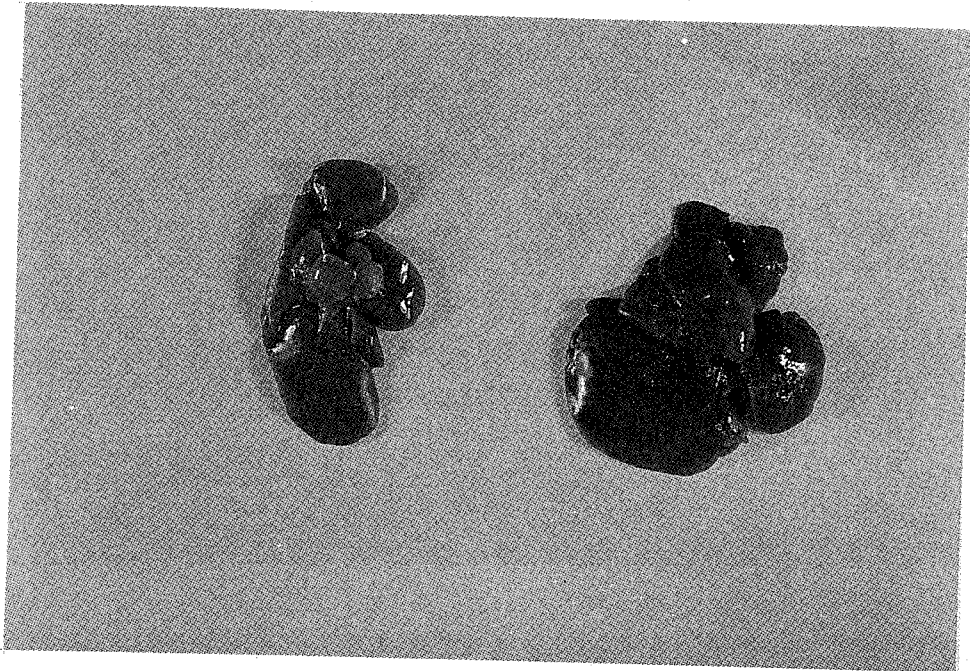
圖五．授予硃砂後出現之臨床徵狀

A. 頭歪, 行動不穩

B. 攣縮, 鎮靜, 腹部皮內腫瘤

觀察時間: 試驗期每日觀察

觀察動物: 每試驗組與對照組雌, 雄性各二十隻

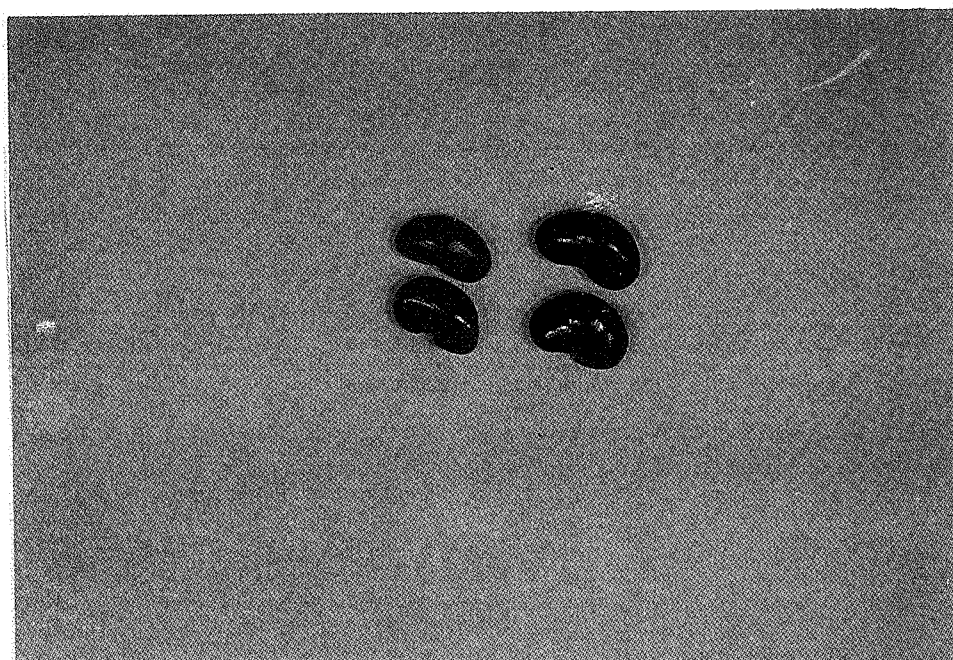
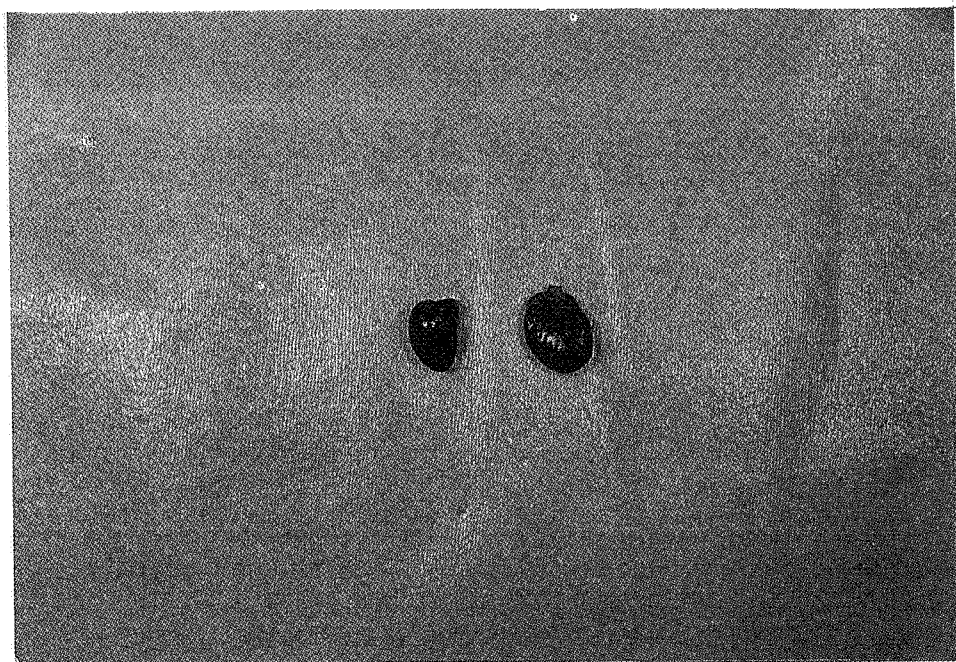


圖六．授予硃砂後肝臟出現之病徵

A. B: 左-劑量組均體積縮小, 顏色較淡. 右-正常

觀察時間: 試驗期每四週生體剖析時觀察

觀察動物: 每試驗組與對照組雌, 雄性各剖析五隻



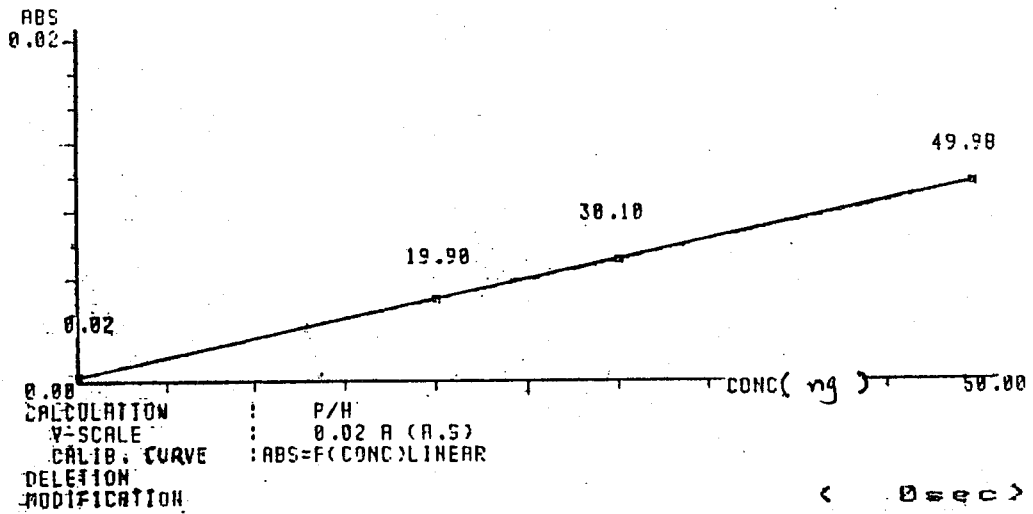
圖七. 授予硃砂後內臟出現之病徵

- A. 左-劑量組之心臟體積縮小, 硬化現象; 右-正常  
 B. 左-劑量組之腎臟體積縮小, 顏色較淡, 光澤失;  
 右-正常

觀察時間: 試驗期每四週生體剖析時觀察

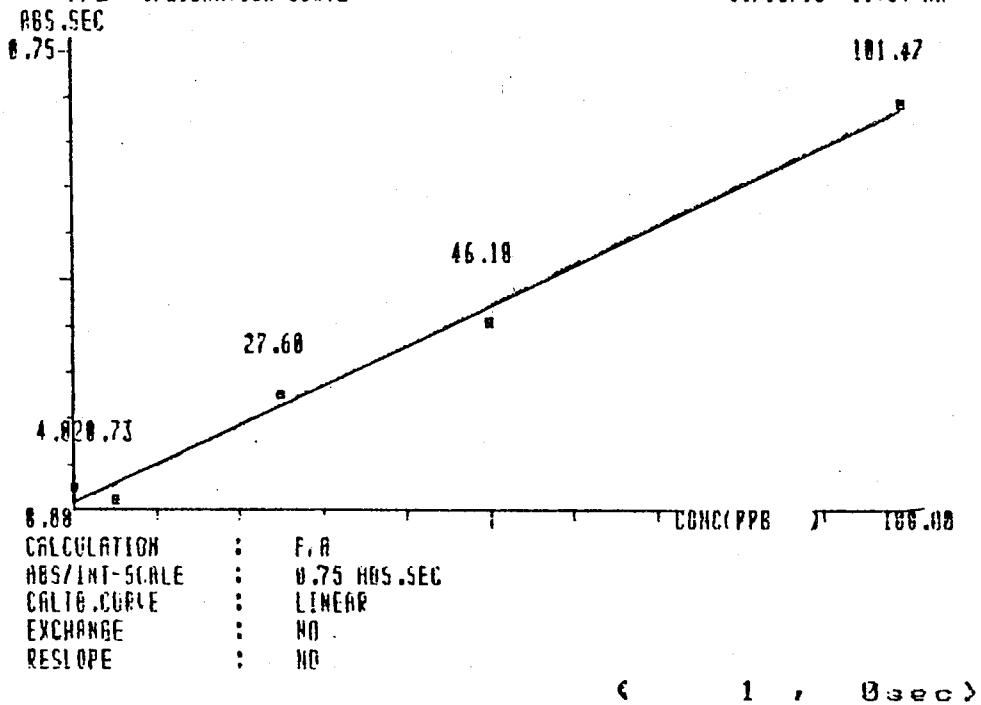
觀察動物: 每試驗組與對照組雌, 雄性各剖析五隻

# Hg CALIBRATION CURVE

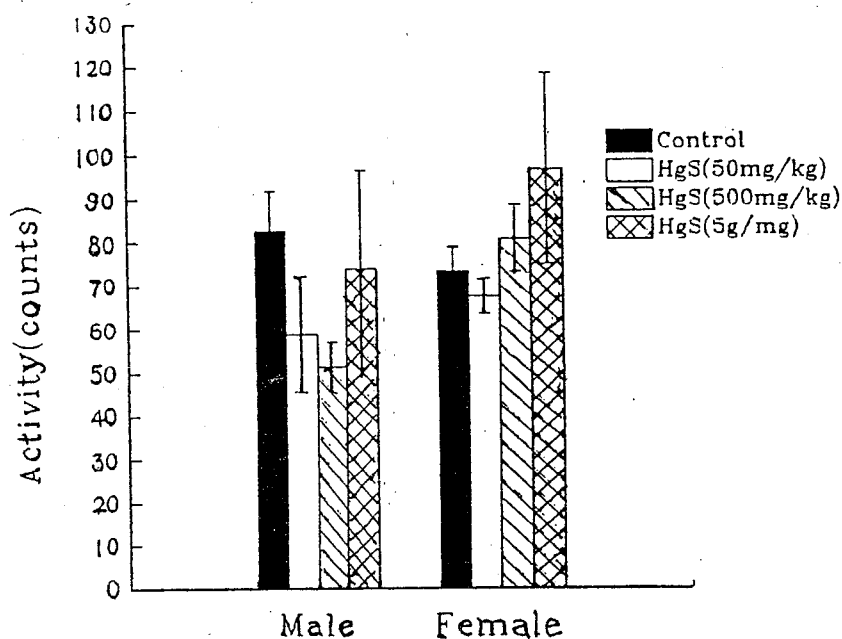


## \*\* Hg CALIBRATION CURVE \*\*

06/13/93 11:04 AM

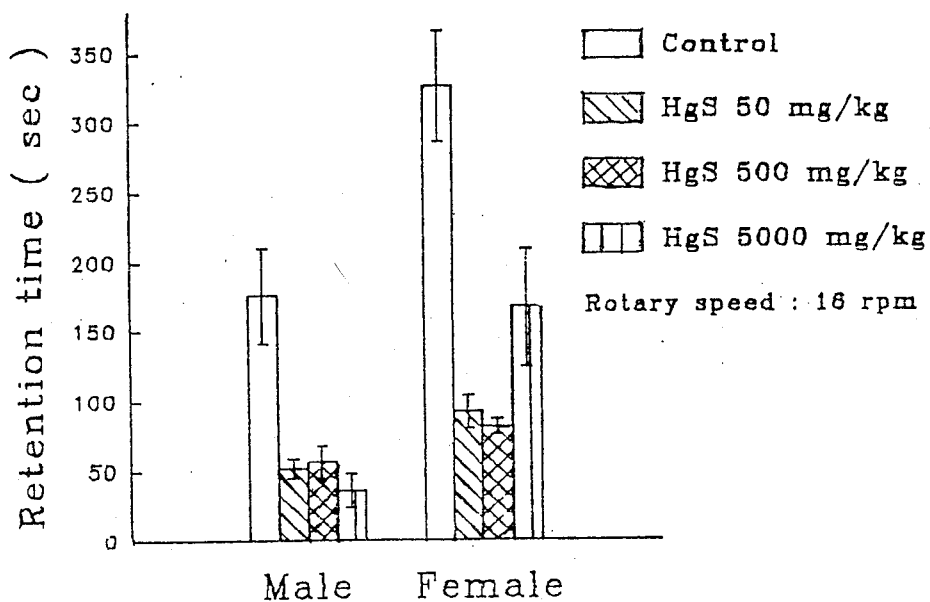


圖八．汞定量之標準檢量線



圖九. 授予硃砂後大鼠之活動性  
 測定時間: 第十八週  
 測定動物: 每試驗組與對照組雌, 雄性各二十隻

### Rotary Test



圖十. 授予硃砂後大鼠之穩定性  
 測定時間: 第十八週  
 測定動物: 每試驗組與對照組雄性大鼠各二十隻

# 國家藥園母園地點初步選定

胡大維

中國文化大學

## 摘 要

本計畫乃承續「國家藥園規劃之可行性研究」計畫，旨在勘查及選定一海拔適中，氣候涼爽，交通便捷之國家級藥用植物園預定地點，以供為藥用植物之長期研究及計畫推廣的永久基地。

工作項目計依土地權屬、取得方式、環境因子、母園設置優缺點等條件作全省初步調查，計勘查有如下地點：1. 臺灣土地銀行所屬農場 2. 台糖各地農場 3. 宜蘭縣政府國有林地 4. 台東、知本、延平、卑南、太麻里及達仁等鄉的私有地 5. 行政院退輔會各地農場 6. 埔里國有林班地 7. 嘉義梅山鄉私有地 8. 文化大學位於烏來南勢溪旁的華林園區。

勘察結果，認為以文化大學之華林園區，最具國家級藥園設立之條件，其優點如下：

1. 自然條件優良，該地規劃為水源保護區，故原有之植被保存良好，其中野生植物中，即有不少原生藥用植物。
2. 雖屬保護區，但在不妨害水土保持之情況下，小規模之栽植試驗工作，仍可允許。
3. 現在栽植之銀杏、杜仲、肉桂、土肉桂及黃檗等樹種均已可供研究試驗之用。
4. 交通方便，地近台北市僅 20 餘公里，對工作人員之生活條件適宜，對教

育推廣工作亦較便利。

5. 取得之條件較為可行，向文化大學購買或長期合作使用洽商之可能性較高。

### 一. 計畫緣起：

於民國八十一年度由主持人謝明村教授實施完成之“國家藥園規劃之可行性研究”計畫，經提出報告認為國家藥園，不僅極有設置之必要且可行性甚高。惟現時有國軍退除役官兵輔導委員會之支援，在該會所管轄之花蓮西寶、台東東河、嘉義及清境等四個農場試種部份珍貴之藥用植物—杜仲、台灣黃蘗、土肉桂、槐及山藥等五種中藥，經八年來的觀察，各農場均有提出簡報，其試驗成果極佳，已可測知各種中藥之地區適應性。惜缺乏有系統及有規模之進一步推展方案，其關鍵在於國家藥園之母園尚未設立，一切長期之研究及推廣計畫，不易著手進行，故在本計畫中特就母園設置之地點進行初步之勘查及選定，俾使國家藥園之設置計畫得以落實。

### 二. 計畫目的：

向林務局、國家公園管理處、台糖公司、土地銀行、文化大學及其它有關土地所有機關接洽調查有無適當土地供為設置藥園之用，並對可能做為藥園之地點提出調查及評估報告。

### 三. 工作項目：

在上述各機構接洽調查，可能供為設置國家藥園之公私土地若干處，分別就下列各項背景資料，詳予蒐集分析。

1. 土地權屬：公有或私有。
2. 取得方式：撥用、贈予或價購。
3. 環境因子：位置、地形、海拔高、土壤、氣溫、降雨量、水源、受風情形及交通條件。
4. 將來設置母園時，優點及缺點的評估。

此項報告，不僅可供長程計畫，設置永久性之國家藥園之參考，亦可供為短程及中程計畫，用地商借取用之參考。

### 四. 初步勘查資料分析：

自本年(82年)2月開始迄今，已對全省各地可能設置國家藥園之預定地點，作全面初步調查，其詳細情形如下：

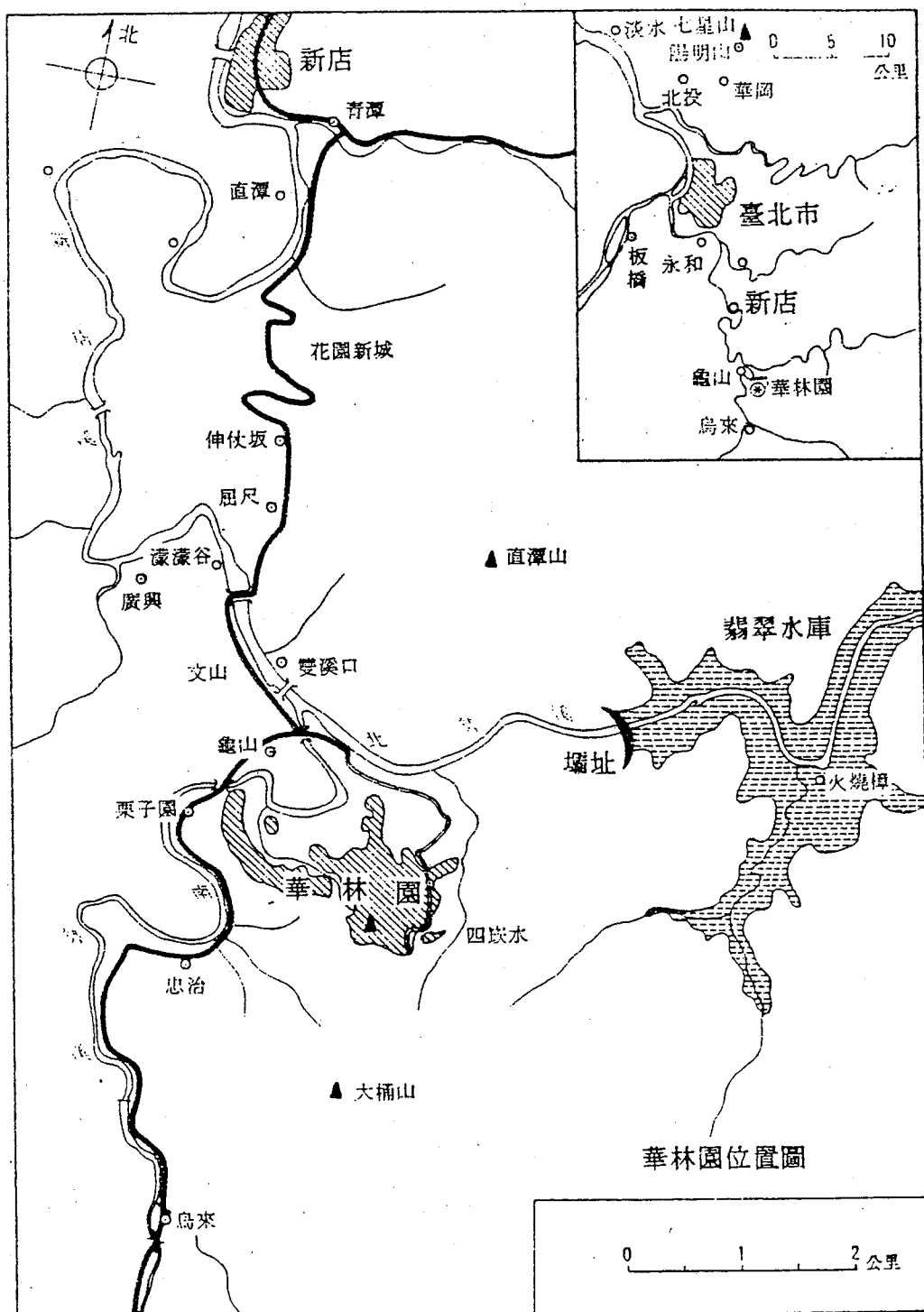
1. 台灣土地銀行所屬農場，包括南澳、南化、達仁等農場，均曾到現場勘察，並曾與該行負責土地經營人員洽談，該行土地全為國有，不能讓售，撥用之可能性亦不高，僅可採"合作"方式經營。且各農場多半地處偏僻鄉野，交通不便，故並非適宜之選擇。
2. 台糖各地之農場如后里糖廠，土地有 100 公餘公頃，如經正式核準，可以讓售但讓售地價太高，並不合經濟條件，台糖在花蓮縣境，亦有新土地開發區，土地售價稍低，可以進行繼續交涉，惟如藥園設於東部地區，交通仍為一重大問題，故並非最好的選擇。
3. 宜蘭縣政府國有林地，有希望撥用，地點約在雙連埤附近，氣候潮濕多雨，但距台北較近，且將來北宜國道改善之後，交通應屬便利，可以考慮進行繼續交涉。
4. 台東延平鄉、卑南鄉、太麻里鄉及達仁鄉等地區亦均有到現場勘察，該區多為零星分散之私有地，難作整體經營。知本福澤農場，雖面積較大，但目前產權糾紛不斷，且交通不便，故以台東方面而言殊少合宜之土地。
5. 退輔會各農場，現正對經營之形態，亟思有所展，將來似可擇目標地區，商議以"合作"方式經營或撥讓，但亦多在交通不便地區。
6. 在埔里鎮屬之國有林班土地有 200 餘頃，僅可出讓權利，每公頃之價格約為 50 萬元。將來產權問題不易解決，故不宜採用。
7. 嘉義縣梅山鄉龍眼村之私有地 20 公頃，索價高，且交通亦不便利。
8. 文化大學位於新店之華林園區，全面積 93 公頃，位於水源保護區，但作輕度之開發，仍有可能，故極應予以洽商購買。學校當局亦曾口頭允予考慮讓售，故在本報告中提出華林園區之詳細資料擬請參考，並就將來設置為國家藥園時作初步之規劃，一併提請參考。

## 五. 中國文化大學華林園區設置母園模式評估

華林園區為中國文化大學私有地，原為遷校之用，後因翡翠水庫之興建，做為整個大台北地區主要水源，為避免集水區內大量土地開發建設所造成污染，影響民生用水的供應，故將水庫鄰近土地規畫為水源保護區，禁止從事農林業以外的建設。本區位於台北縣新店市龜山東側，南界烏來鄉、南勢溪與北勢溪在本園之北交會，合流後為新店溪，台北至烏來公路班車經過本園西端，龜山站到台北 23 公里，到烏來 8 公里。另有產業道路自龜山萬年橋過南勢溪直達本園東側約 5 公里，交通稱便。翡翠水庫壩址在本園東北約 2 公里處，地理位置相當優良。

本園現有土地計四筆，面積合計 93.475 公頃，東西延展約二千餘公尺，南北寬約一千四百公尺，以東區為最大，最完整佔總面積 75%。西區狹長，向西北延伸至龜山新烏公路橋旁，面積約佔 22%。東西兩區間有一非屬本園所有的大水溝，西北向流入南勢溪。其餘二小區，合計面積不及 3%，分別位於東西兩側。茲將本區之地形、地質、氣候與土壤四項摘述於後提供參考：

- (一) 地形：本區最高點在東區南側邊界處，為海拔 470 公尺。最低處在西側公路旁，海拔 70 公尺。相對高度差達 400 公尺。全區高度以介於 300 至 350 公尺間所佔面積最廣 (22.5%)，350 至 400 公尺次之 (21.6%)。(表一)，由高度分析結果，可以知本區地勢略向西北傾斜。高度自南分別向東、西、北三向遞減。主要稜線位於東區，呈南北走向，支脈向西延伸，朝南勢溪沿岸徐降。



表一 華林園區高度分析統計表

高 度 (公尺)	面 積 ( % )	高 度 (公尺)	面 積 ( % )
0 — 100	0.9	300 — 350	22.5
100 — 150	4.7	350 — 400	21.6
150 — 200	7.4	400 — 450	11.7
200 — 250	9.5	450 以 上	2.0
250 — 300	19.5		

本區地形坡度經測計分析結果：(表二)全區平均坡度為 $22^{\circ} 31'$ 。有三分之二面積的坡度在 $15^{\circ}$ 至 $30^{\circ}$ 之間，而小於 $10^{\circ}$ 及大於 $35^{\circ}$ 之面積約為5%以下，故可確定：本園區為一低丘陵地形，適合利用為農業之開發用地。

表二 華林園區坡度分析統計表

坡 度 ( $^{\circ}$ )	面 積 ( % )	坡 度 ( $^{\circ}$ )	面 積 ( % )
0 — 5	0.2	25 — 30	18.9
5 — 10	4	30 — 35	14.2
10 — 15	12.4	35 — 40	2
15 — 20	25.9	40 — 45	0.5
20 — 25	21.7	45 以 上	0.2

(二)地質：本區屬大桶山層，為漸新世至中新世時所形成。可分為上下兩層：下層以暗灰色厚砂岩為主，並含有少許硬頁岩之夾層。上層以暗灰色堅緻的硬頁岩與砂質頁岩為主，並參雜有少量砂岩或泥質粉砂岩。本區地質大致呈東北至西南走向，傾斜角大約在 $30^{\circ}$ 至 $40^{\circ}$ 之間。

(三)氣候：本區年平均氣溫為 $21^{\circ}$ 度。七月平均溫度為 $28^{\circ}$ 度，一月份平均溫度為 $15^{\circ}$ 度，與台北相若。年降雨量達 108公釐，以夏雨為多秋雨次之。夏雨較多是因為夏季多熱雷雨與颱風所致。本區相對濕度多在80-90% 間，年平均相對濕度為85% 較臺北市之80% 為高。方向以東風為主。若干地區因受地形影響可有其它風向，但所佔的比率甚低。一般而言，本區除颱風之外一般風速均不大。

由上述氣候資料可知本區：夏熱冬涼、雨量豐沛、夏雨顯著、風速不大，濕度高、蒸發量少。為一明顯之暖熱重濕型氣候。

(四)土壤：本區土壤係由砂岩與頁岩風化而來，其厚度多在半公尺至一公尺左右，屬於黃壤土，粒度中等。土壤之酸鹼度分析結果其pH值約在6.6至 6.9之間，係屬中性土壤。

華林園區目前因翡翠水庫之限建故無法做農業以外的開發，全區均呈現天然林的狀況，植被相資源相當豐富，初步調查共計有約 210種本土植物在此地生長。現今為中國文化大學森林系管理此地，並從事些許育苗工作和試驗地的照料。苗圃地與試驗地的經營總面積約3 公頃，試驗地中最為重要者為本省保存土肉桂(*Cinnamomum osmophloeum*)種源最多的土肉桂採穗園及杜仲，黃藤、菊山藥試驗地。

國家藥園母園若設置於此，宜以現今森林系苗圃地為中心，因此地海拔高度適中，氣候涼爽，交通便捷，產業道路可通行大貨車，水資源設施已架設完成，並有深井一口以應付乾旱季節。電力設施也沒有問題，電話通訊亦已具備。許多極具價值的藥用植物種源已在此受到保存。在此區域亦擁有較多的平地可設立研究室、溫室、苗圃等基本設施再進而推廣至他處成立藥用植物栽培區。于本區開發成母園的困難處可能在平緩地的不集中，坡度地需較多的人力、經費支出，另外北部地區勞力價格較高亦為隱憂，但相信這些因素的克服並不難。

華林園區開發為國家藥園母園的整體配置依現有設施與當地地形、坡度、植物資源等在此建議可籌設為：

- (1) 行政區域(附圖A區):設立辦公室、停車場及門口警衛。
- (2) 研究室(附圖B區):從事植物分類、繁殖、成份分析等科學研究工作。
- (3) 溫室苗圃(附圖C區):種源收集、馴化、育苗、教育、展覽等工作。
- (4) 木本藥物區(附圖D區):栽植黃蘗、杜仲、銀杏等屬於木本類的著名藥用植物。
- (5) 灌木藥物區(附圖E區):栽植如十大功勞、黃梔子、枸杞等灌木類的著名藥用植物。
- (6) 藤本藥物區(附圖F區):栽植如山藥、胡頹子等爬藤類的藥用植物。
- (7) 草本藥物區(附圖G區):栽植如杭菊、地黃、桔梗等草本類藥用植物。
- (8) 天然藥物資源保護區(附圖H區):因地形坡度較高，不宜開發可保留原生藥用植物的種源生育地。

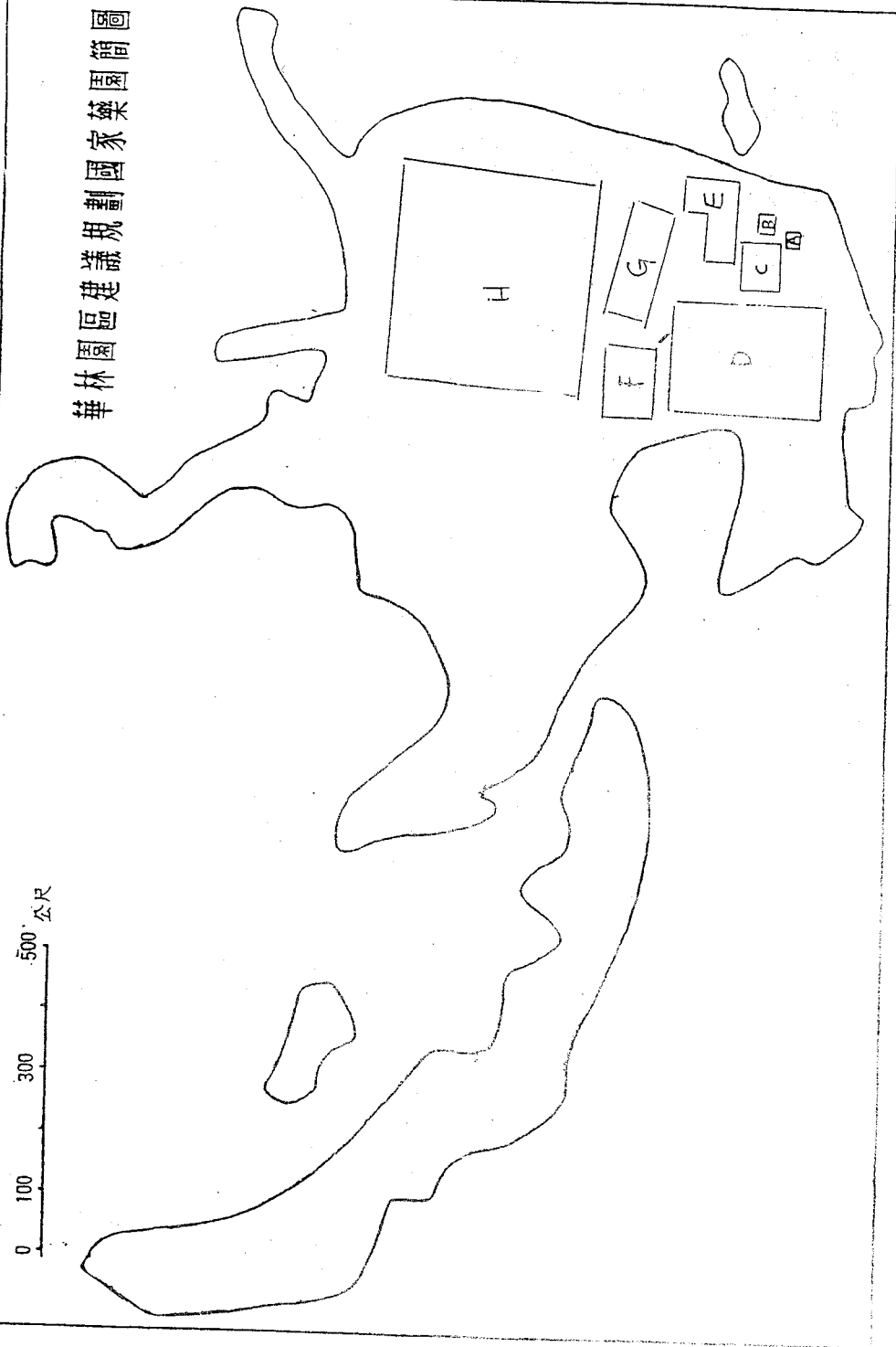
將來以本藥園為中心，可聯繫台北及台中各地之中醫藥專家對重要藥用植物進行研究，先廣泛蒐集或採購有關藥用植物資源與培育的文獻，並將全球各地植物園資料予以建立檔案，並透過訪問或以通訊方式與各重要植物園建立藥用植物種子交換與技術交流關係。對本省稀有藥用植物進行野外採集並予栽培，無法大量取得種子之苗木，改行扦插繁殖，並探討其發根情形，從培育苗木篩選品系，以為推廣及研究之用。

預計初步進行引進繁殖栽培之藥用植物如下列各項：

銀 杏	<i>Gingo biloba</i> L.
杜 仲	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.
肉 桂	<i>Cinnamomum cassia</i> presl
台灣土肉桂	<i>Cinnamomum osmophloeum</i> Kanehira
雷公藤	<i>Tripterygium wifordii</i> Hook. F.
昆明山海棠	<i>T. hypoglancum</i> (Levl.) Levl. ex Hutch
八角蓮	<i>Dysosma pleianthum</i> Hance
喜樹(旱蓮)	<i>Camptotheca acuminata</i> Dcne.

# 華林園區建議規劃國家公園範圍圖

0 100 300 500 公尺



狗尾蟲  
 美登木  
 台灣黃藥  
 吳茱萸  
 山茱萸  
 羅漢果  
 厚朴  
 辛夷  
 盤龍參  
 半夏  
 刺五加  
 槐  
 沙仁  
 甜茶  
 香椿

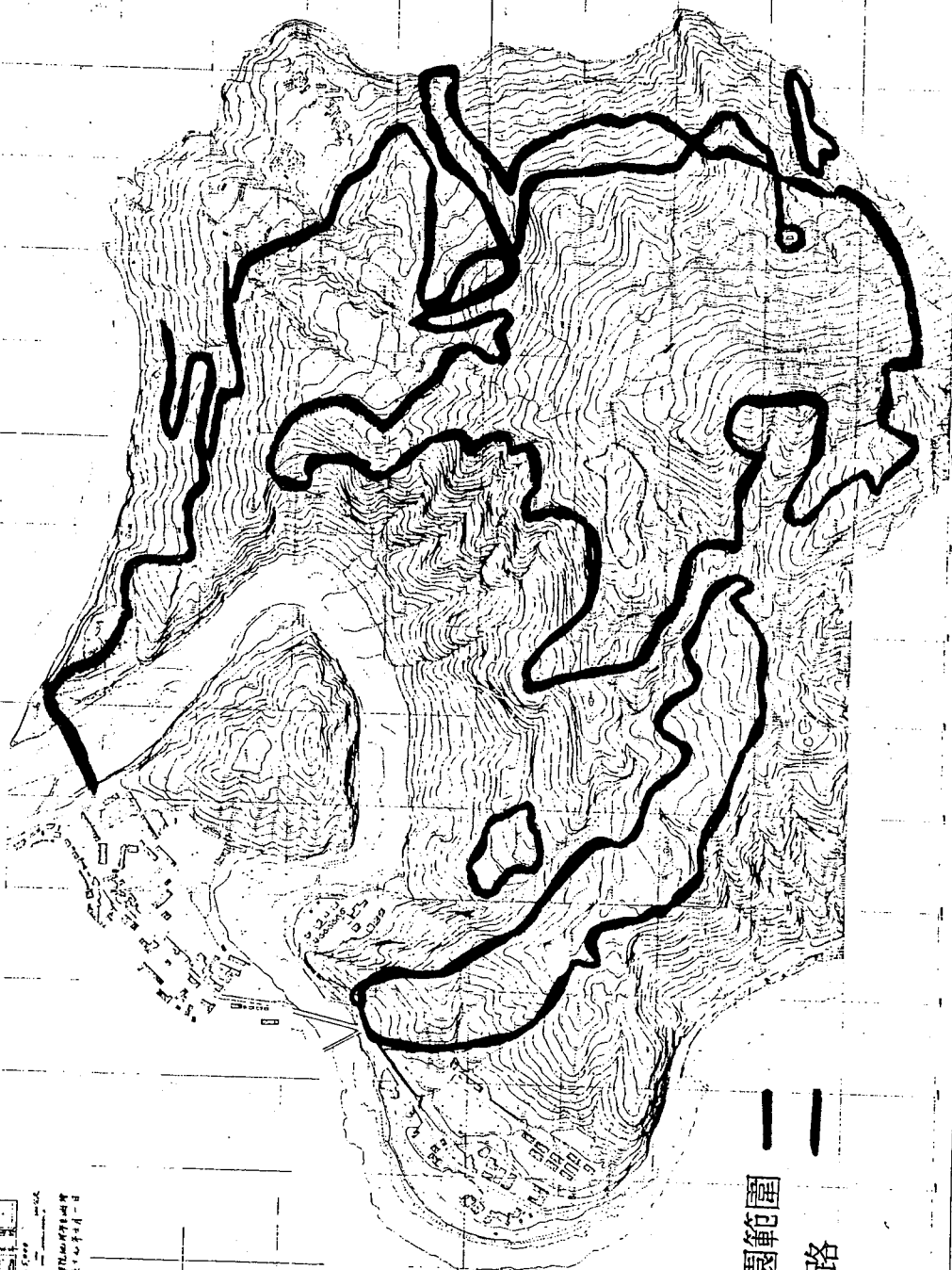
*Heliotropium indicum* L.  
*Maytenus hookeri* Loes.  
*Phellodendron wilsonii* Hay. et Kaneh.  
*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth.  
*Cornus officinalis* Benth.  
*Momordica grosvenori* Swingle  
*Magnolia officinalis* Rehd et Wils.  
*Magnolia liliflora*  
*Spiranthes sinensis* (Pers) Ames  
*Typhonium flagelliforme*  
*Acanthopanax trifoliatum*  
*Sophora japonica* L.  
*Amomum villosum* Lour.  
*Rubus suavissimus* S. Lee  
*Toona sinensis*

所培育之苗木提供各研究單位與輔導會農場或民間推廣使用。

# 中國文化學院華林園地形圖

●	華林園範圍
—	道路
○	水溝
△	山頂
▽	山底
□	房屋
■	樹木
...	其他

中國文化學院華林園地形圖  
中華民國三十八年四月一日



華林園範圍

道路



# 設立藥用植物標本園暨 原生藥用植物撫育管理

傅偉志

行政院國軍退除役官兵  
輔導委員會 嘉義農場

## 摘 要

### 一、藥用植物標本園之設立：

(一)盆栽管理：蒐集本省各藥用植物 33 個品種管理試種，先以盆栽方式，期以達到相當量品系，以配合國家藥園之發展。

(二)土肉桂母樹園九年生種子採收，培育實苗，作為場區庭園綠化。

### 二、原生藥用植物撫育管理：聯外道路之開闢，全園縱貫闢建寬三公尺之小徑，以利園區管理工作。

### 三、配合台灣省林業試驗所研究試驗：

(一)土肉桂集約經營試驗與精油分析利用研究。

(二)苗木扦插技術轉移及提供標本園用苗木。

### 重要工作執行成果：

一、藥園種植面積二公頃，位於原生藥園山麓下，分區種植各項試驗，計有牛樟樹、土肉桂及土肉桂 35 家系等區，並於該園區森林浴步道兩側種植樟樹，美化環境，冀望成為林陰隧道，形成整體之藥用植物觀賞區。

二、藥園除經常性管理工作，並作定期中耕除草、肥培生長情況良好，最高株已達三・五公尺以上。

三、原生藥用植物園區內之雜樹、藤蔓及有礙其生長觀瞻之植物，均予以清除，使園區內確保原始風貌，以維原生藥用植物之生長。

四、藥用植物標本蒐集工作：由台灣省藥用植物學會嘉義支會及台中霧峰台灣藥用植物園提供價購 33 個品種均以盆栽方式管理，並洽請嘉義農專教授指導。

五、資續辦理林試所試種研究工作：適應必扛栽培試驗及土肉桂採種園之建立。

行政院 國軍退除役官兵 輔導委員會 嘉義農場八十二年度設立藥用植物標本園暨原生藥用植物撫育管理

工作計劃執行成果報告

一、前言：

(一) 本場自民國七十三年開始，依據行政院衛生署發展中藥材委託計劃，辦理中藥材試種，迄今已歷九年，試種准山藥、土肉桂、槐樹等三個品系，其中以土肉桂最適宜本地區土壤氣候，現已擴大種植二公頃，並於七十九年度起與台灣省林業試驗所合作，辦理試驗計劃，至八十一年度止，因受經費來源限制已停辦理。

(二) 八十年三月間經衛生署召集有關學者專家研商，本場列為計劃籌設國家藥園之一，以增國民認識中藥之教育效果，本場亦正發展觀光遊憩事業，來場遊客日增，曾議及將碧雲亭地區原生藥用植物全面清理、規劃、增植、維護，以供遊客觀賞及具教學效果，並發揚我國故有藥學之精髓。

## 二、工作項目：

(一) 土肉桂母樹園九年生及新植二年生之撫育管理工作，並加強園區內缺株補植工作，使該區早日成林。

(二) 加強土肉桂苗木馴育，經常育有苗木，供田間及環境美化植栽用。

(三) 藥用植物標本園繼續蒐集種苗、種子、田間以科屬區分規劃設計。

(四) 配合林試所各項試驗工作：(1) 適應性栽培試驗。(2) 土肉桂採種園之建立。(3) 進行景觀綠化栽植。

(五) 原生藥用植物園區內雜樹、藤蔓清理，聯絡道維護，解說牌設立。

(六) 採收土肉桂種子。

## 三、實施方法及步驟：

(一) 藥用植物標本園之設立：

(1) 盆栽管理：蒐集本省各藥用植物33個品種管理試種，先以盆栽方式，期以達到相當量品系，以配合國家藥園之發展。

(2) 土肉桂母樹園九年生種子採收，培育實苗，作為場區庭園綠化。

(一) 原生藥用植物撫育管理：聯外道路之開闢，全園縱貫開建寬三公尺之小徑，以利園區管理工作。

(二) 聯合台灣省林業試驗所研究試驗：

(1) 土肉桂集約經營試驗與精油分析利用研究。

(2) 苗木扦插技術轉移及提供標本園用苗木。

#### 四 重要工作執行成果：

(一) 藥園種植面積二公頃，位於原生藥園山麓下，分區種植各項試驗，計有牛樟樹、土肉桂及土肉桂35家系等區，並於該園區森林浴步道兩側種植樟樹，美化環境，冀望成為林陰隧道，形成整體之藥用植物觀賞區。

(二) 藥園除經常性管理工作，並作定期中耕除草、肥培生長情況良好，最高株已達三、五公尺以上。

(三) 原生藥用植物園區內之雜樹、藤蔓及有碍其生長觀瞻之植物，均予以清除，使園區內確保原始風貌，以維原生藥用植物之生長。

(四) 藥用植物標本蒐集工作：由台灣省藥用植物學會嘉義支會及台中霧峰台灣藥用植物園提供價購33個品種均以盆栽方式管理，並洽請嘉義農專教授指導。

#### 五 建議事項：

(一) 試種藥用植物，僅負責撫育管理田間經常性之工作，缺乏對該藥用植物名稱、藥效之常識，對藥用植物標本園之設立，請衛生署邀請專家學者協助規劃與指導。

(二) 本場業經觀光局、省旅遊局指定為風景特定位區，每年接受補助經費開發遊憩場所，提供全國同胞最佳遊憩去處，請將本場規劃為國家藥園，以發揮我國中藥事業。

(三) 請有關單位續予支持補助計畫經費，以利計畫持續推動，並補助興建一座藥用植物標本園溫室。

(四) 本計畫八十三年度已停止補助，前八十二年度補助經費不足，且缺乏專業人員，又經費短絀，如不能獲得專案補助，請同意終止合約。

# 中藥材之種植與推廣

陳堯階

行政院輔導委員會清境農場

## 摘 要

本場位居海拔 1,800 公尺，溫帶地區年平均溫度 16℃，自民國七十三年起種植中藥材，藥用植物，杜仲、黃柏、芍藥、金線蓮、紅花、石蒜、刺五加、明日葉、愛玉、重樓、八角蓮、山慈菇、百合等，生長良好。最近陸續引進木香、荊芥、白朮、王不留行、五味子等，擬逐年建立藥用植物標本園。

行政院 國軍退除役官兵 清境農場八十一年中藥材試種栽培成果報告  
輔導委員會

本場位居海拔一、八〇〇公尺溫帶地區，平均溫度攝氏十六度，自民國七十三年起試種中藥材多種藥用植物如杜仲、黃柏、芍藥、金線蓮金（紅）花石蒜、刺五加、明日葉、愛玉、藤三七、重樓、八角蓮、山慈姑、印度百合等，試種結果生長良好，極適合本場地區栽培。

八十一年位於本地花卉栽培區邊成立藥用植物標本園，並收集各類藥材一、三〇〇餘株定植園中，經二年來照顧，管理除部份不適合冷涼地栽培，冬季因溫度低無法過冬死亡外，其餘均生長良好今後除加強現有藥材栽培管理外，並盼能和中國醫藥學院中藥研究所達成建教合作而發揮教學之目地。

過程中承由謝所長明村引進黃柏、木香、荊芥、白木、王不留行、五味子等種植於園內，並得台灣大學高木村技正多次現場指導，今後擬逐年引進實用高價藥材作物，建立完整的國家級中藥植物標本園。

# 中藥材試種保育工作

韓覺非 彭享榮

行政院國軍退除役官兵輔導委員會台東農場

## 摘 要

(一)本場八年來試後中藥材以土肉桂成果良好，並經林葉試驗所採樣分析土肉桂葉精油主要成分含量 3, 10, 12 號品系土肉桂于 9, 11 月份所含桂皮醛均高於 80 % 之紀錄，土肉桂葉片經委請台東區農業改良場研製土肉桂茶（粉末茶葉包優良土肉桂品系並擴大延伸至長良分場試種二公頃。

(二)栽植土肉桂初期應設置遮蔭設備或間種高莖作物蔭蔽為佳。

(三)本場以不同時期定植土肉桂觀察結果，以冬季定植成活率較佳，如 80 年 11 月定植者成活達 97 %，栽植當年生長緩慢須小心撫育，至第二年以後始能正常。

(四)平地栽植土肉桂以配合農機作業行株距  $3 \times 1.5\text{m}$  或  $3 \times 2\text{m}$  較為理想。

本場試種之中藥材經中藥界專家多次蒞場勘察鑑定咸認具栽培價值均依年度計劃撫育管理，旨在發揚國粹，讓國人認識中藥，瞭解中藥保健功能，增進全民健康，希望有關單位早日研訂發展中藥推廣方案，本場將全力配合努力以赴。並配合東河休閒農業，增闢藥園，提供國人休閒觀光認識中藥。

# 台東農場八十年度中藥材試種撫育工作報告

## 一、前言：

為保育中藥國粹，本場在民國七十二年由行政院衛生署中藥委員會邀請全省有關單位來場勘察選定東河分場山坡地於民國七十三年三月種植土肉桂、黃蘗、杜仲、槐樹及淮山藥等五種中藥材，先後已達七年均悉心撫育管理，謹將試種保育工作報告如下。

## 二、試種保育經過：

### (一)土肉桂

- 1、73年3月由林業試驗所提供種苗以1x2公尺行株距種植692株，現存活210株(30.3%)平均株高505公分，地際直徑11.9公分，胸徑8.5公分。
- 2、79年3月與林業試驗所合作試種全省37個家系土肉桂在東河分場做區域適應性試驗301株，行株距2x3公尺，因80年乾旱成活不理想截至80年7月成活56株(18.6%)平均株高132公分，地際直徑1.14公分。80年10月補植260株，共計存活108株，於81年2月27日再行補植。
- 3、80年度於本場長良分場平地水田擴大試種土肉桂2公頃，於79年12月及80年3月先後由台北林業試驗所運回土肉桂扦插苗5,202株，並換袋培育，因苗木根群發育尚未健全，截至80年5月成活苗3,282株(63%)並選擇健康苗木於80.9.26., 80.11.22.等三批定植2,428株於81年2月21日調查成活株數2,278株(成活率93.8%)，其餘苗木仍留置網室內培育，於81年3月中旬定植600株完成種植面積2公頃。80年扦插者存活2008株，平均樹高120公分，地際直徑2.2公分。

(二)杜仲：73年3月試種55株，存活13株，平均樹高352公分，地際直徑5.1公分，胸徑2.9公分，因未修側剪枝分叉多細長，致胸徑細小，有待繼續觀察。

- (三)槐樹：73年3月試種149株，現存活27株，平均株高513公分，地際直徑16.2公分，胸徑6.81公分，適宜本地區栽植，惟開花少。
- (四)黃蘗：73年3月試種20株，因東河地區乾旱期長發育慢容易枯死，於77年11月全部枯死，不宜低海拔地區種植。
- (五)淮山藥：係白肉根棒圓筒形深根山藥，本場東河分場曾於75年試種，因土層薄，山坡地乾旱期較長，土壤較硬，塊根生長不規則，採收至為費工，如需種植選擇沙地，土層較厚壤土，或以膠管導引塊根種植較為理想。
- (六)桑寄生：本場東河分場利用休耕桑樹於78年元月購買桑寄生種籽接種於桑樹及桂花樹上，因成活情形不理想，現存活26株，繼續觀察其適應情形，並培育至開花結果，再行採種繁殖。
- (七)草本藥用植物試種：80年5月省農業試驗所提供柴胡、枸杞、麥門冬等數株，先於長良分場試種，增殖後移植東河分場藥用標本園。

### 三、檢討分析：

- (一)本場八年來試種中藥材以土肉桂成果良好，並經林業試驗所採樣分析土肉桂葉精油主要成分含量3.10.12.號品系土肉桂於9.11.月份所含桂皮醛均高於80%之紀錄，土肉桂葉片經委請台東區農業改良場研製土肉桂茶（粉末茶葉包沖泡熱開水）。多年來本場除提供林試所採取扦插穗外妥善加以管理，保存優良土肉桂品系並擴大延伸至長良分場試種二公頃。
- (二)栽植土肉桂初期應設置遮蔭設備或間作高莖作物蔽蔭為佳。
- (三)本場以不同時期定植土肉桂觀察結果，以冬季定植成活率較佳，如80年11月定植者成活達97%，栽植當年生長緩慢須小心撫育，至第二年以後始能正常。
- (四)平地栽植土肉桂以配合農機作業行株距3x1.5m或3x2m較為理想。

#### 四、結論：

本場試種之中藥材經中藥界專家多次蒞場勘察鑑定咸認具有栽培價值均依年度計劃撫育管理，旨在發揚國粹，讓國人認識中藥，瞭解中藥保健功能，增進全民健康，希望有關單位早日研訂發展中藥推廣方案，本場將全力配合努力以赴。並配合東河休閒農業，增闢藥園，提供國人休閒觀光認識中藥。

台東農場中藥材生育調查表										表一
試種藥材	栽植日期	栽植株樹	存活株數	生 育 調 查			調查日期	備 註		
				株高(公分)	地際直徑(公分)	胸徑(公分)				
土 肉 桂	73.3.17. 73.11.17	692	210	505	11.9	8.5	82.2.10			
土 肉 桂	79.3.7.	301	56	174	2.56		82.2.10	81.2.27.補植		
土 肉 桂	80.5.9. 80.9.26. 80.11.22	2,278	2008	120	2.2		81.2.10			
黃 藥	73.3.17	20	0				77.11.12	全部枯死		
杜 仲	73.3.17.	55	13	352	5.2	3.0	82.2.10			
槐 樹	73.3.17.	149	27	513	16.5	6.9	82.2.10			
淮 山 藥	73.5.21.	160	保留種苗				77.1.10	生產塊根 201 公斤		
桑 寄 生	78.1.7 79.1.5	估計0.3 公頃	26				82.2.10	觀察中		

台東農場長良分場 80. 年定植土肉桂成活調查表						
調查日期	種植日期	種植株數	成活株數	成活率%	目前生育狀況	表二
81. 2. 21	80. 5. 9	1,098	995	90.61		
81. 2. 21	80. 9. 26	610	583	95.57		
81. 2. 21	80. 11. 22	720	700	97.20		
82. 02. 15	80. 5 ~ 11		2,008	86.00	平均株高 120~150CM	

## 中醫藥年報 第十二期第三冊

編者：行政院衛生署中醫藥委員會

發行人：蘇貫中

發行所：行政院衛生署中醫藥委員會

地址：台北市羅斯福路一段七號十樓

電話：(02)3967765

傳真：(02)3914900

印刷：匯鈞企業股份有限公司

地址：台北市信義路三段九九巷一號

電話：(02)755-2253

中華民國八十五年五月出版

統一編號

016204850035



健康是您的權利 保健是您的責任

ISBN 957-00-7313-6 (第三冊：平裝)