

行政院衛生署中醫藥年報

張博雅題



第十期 第二冊



行政院衛生署中醫藥委員會

中華民國八十二年

行政院衛生署
中醫委員會 編

中醫藥年報

陳士夫題



七〇一〇一

行政院衛生署中醫藥年報第十期第二冊

1. 中藥炮炙之研究 (二)	周正仁	1	8033
2. 中藥複方製劑品質管之初步研究 (二)	楊禮明	14	8034
3. 中醫免疫調節劑之研究 (IV)	楊玲玲	55	8035
4. 慢性病之中藥方劑研究 (III)	顏焜熒	68	8036
5. 濃縮中藥品質管制之研究 (III) <i>8005</i>	楊玲玲	80	8037
6. 比較科學濃縮中藥與傳統煎劑對大白鼠離體器官引發 的藥效反應	黃啓剛	126	8038
7. 數種灸法對鼯鼠細胞免疫力影響的比較研究	郝道猛	138	8039
8. 中藥材之鑑定研究	陳忠川	156	8040
9. 中藥材試種暨推廣工作 <i>8009</i>	傅偉志	210	8041
10. 中藥材試驗栽培 <i>8010</i>	陳堯階	213	8042
11. 中藥材試種保育工作 <i>8011</i>	王漢茂	214	8043
12. 中藥材試種保育 <i>8012</i>	劉錫賢	216	8044
13. 高壓放電像術之探討	張福庚	220	8045
14. 中醫藥文獻電腦資訊化研究 (二) 金元四大家	陳逸光	232	8046
15. 中藥材儲存條件之研究 <i>8016</i> 甘草之安定性研究	沈建昌	238	8047
16. 台灣市售中藥材 HPLC 圖譜之鑑定	林雲蓮	245	8048
17. 中藥材 DNA 指紋圖譜之研究	顏焜熒	263	8049
18. 中醫外科常用中藥方劑之研究 (1) 如意金黃散之研 究	陳守誠	280	8050
19. 中藥品管制度之研究	陳建志	290	8051
20. 中藥毒理作用之測定	廖志飛	296	8052
21. 評估咳嗽中藥方劑對鬆弛天竺鼠氣管作用之研究	黃啓剛	317	8053
22. 中藥對疱疹病毒增殖抑制能力及機轉之研究	沈永紹	328	8054

23. 中藥對人類淋巴球姊妹染色分體交換的影響	陳博明	341	8051
24. 婦產科中藥方劑之藥理研究 —— 生化湯	許純森	345	8051
25. 台灣產石壁蕒藥材之生藥學研究	黃介宏	356	8051
26. 百合科薤白屬 (ALLIUM 屬) 中草藥之有效成分定量研究	吳金濱	383	8058
27. 中藥抗癌研究	陳家福	407	8059
28. 西施花降壓作用機轉之探討	蔡輝彥	415	8062
29. 棒錘瓜之抗發炎及抗血小板活性化因子之藥理學研究	林文川	428	8062
30. 以脈診儀協助中醫師診斷之可行性研究 (一)	王唯工	448	8062
31. 金銀花成份之藥理作用研究	張文昌	451	8063
32. 以試管內細胞培養病毒建立抗病毒中藥篩選研究	劉武哲	458	8063
33. 利用分子篩高效液態層析儀 (SE-HPLC) 分析真菌性中 藥材之 1-3-BETA 多醣體	蘇慶華	477	8063
34. 炎症和過敏疾患之中藥治療機轉之研究 (一)	邱慧芬	501	8063
35. 中藥對老鼠胚胎發育影響之研究	曾啓瑞	518	8063
36. 中藥材之鑑定研究	陳忠川	523	8063

中藥炮炙之研究 (二)

國立中國醫藥研究所

周正仁

中藥炮炙之研究 (二)

周正仁⁺ 蔡東湖⁺ 林麗純⁺ 陳建志⁺ 陳介甫⁺

⁺國立中國醫藥研究所 國立陽明醫學院藥理科暨研究所

摘 要

本研究延續去年計畫，繼續對市售中藥（延胡索、吳茱萸、甘草、芍藥、玄參、苦參）及其炮製品作指標成分含量變化的探討。

延胡索，分別以單、酒、醋炒來處理，由 HPLC 檢視其指標成份 tetrahydropalmatine (THP) 及 corydaline (Cor) 的含量，發現此三種炮炙方法對 THP 及 Cor. 含量均有負面影響特別是酒炒，THP 降低為原來的 0.22 倍，Cor. 為 0.26 倍，其次為單炒（THP 為 0.38 倍，Cor. 為 0.65 倍），醋炒（THP 為 0.56 倍，Cor. 為 0.60 倍）。

吳茱萸分別以單、酒、醋、炙炒等方法來炮炙，就指標成分 Dehydroevodiamine (DeHE) 而言，酒炒降低其含量為原來的 1/2，而醋炒處理後的 DeHE 約可保持原有的 93%，單炒、酒炒居中約 67%。就 evodiamine, rutaecarpine 而言，四種炮炙方法差異不大，約維持在 70~85% 之間。

甘草以蜜炙來處理，指標成分 glycyrrhizin 含量降為原來的 72%。

白芍經單炒、酒炒及焦炒等方法處理，其中指標成分 paeoniflorin 因焦炒而含量遽降為原來的 17%，而單炒、酒炒處理後，paeoniflorin 含量分別為原來的 73% 及 45%。另一指標成分 paeonol，在此次購得的白芍中，含量相當少，故其炮炙品的 paeonol 變化更是難以偵測。

玄參以鹽水炒、鹽水煮，及蒸來處理，其指標成分 harpagoside 除了鹽水煮會降低其含量外（為原來的 65%），其餘鹽水炒及蒸均會提高其抽提量，特別是蒸玄參，harpagoside 含量可高達原來的 2.04 倍。

苦參以單、酒、醋炒及蒸來處理，其指標成分 matrine 的含量會因酒炒而大量減少其含量為原來的 48%，醋炒也有相同情形、降為原來的 83%，而單炒處理與未經炮炙樣品沒有多大的差異，而蒸苦參其 matrine 的抽取量有少許的提高。

實驗部份

一、樣品及指標成分

延胡索、吳茱萸、甘草、芍藥、玄參、苦參等樣品係購於台北市中藥房。

所用指標成分：延胡索為 tetrahydropalmatine (謝明村教授惠贈)，corydaline；甘草為 glycyrrhizin；白芍為 paeonol, paeoniflorin；苦參為 matrine (購自 KISHIDA CHEMICAL CO., LTD)；及玄參為 harpagoside (購自 ROTH)。吳茱萸所用之指標成分為 dehydroevodiamine, evodiamine, rutaecarpine, 係得自原植物，並經光譜分析鑑定。

二、指標成分檢量線的製作

取各指標成分一相當量配成 50ml 的甲醇溶液，然後以吸量管分別取出 25ml, 12.5 ml, 6.25ml 的甲醇溶液，再稀釋成 50ml 的標定溶液，以下為各指標成分的相當量及配製後的濃度

指標成分	相當量 (mg)	配製後濃度 (μg/ml)			
延胡索					
THP	5.8	116.0	58.0	29.0	14.5
corydaline	5.5	110.0	55.0	27.5	13.8
吳茱萸					
DeHE	3.0	60.0	30.0	15.0	7.5
evodiamine	3.0	60.0	30.0	15.0	7.5
rutaecarpine	3.3	66.0	33.0	16.5	8.3
甘草					
Glycyrrhizine	0.5	10.0	5.0	2.5	1.3
芍藥					
paeoniflorin	5.2	104.0	52.0	26.0	13.0
paeonol	5.0	100.0	50.0	25.0	12.5
玄參					
harpagoside	0.5	10.0	5.0	2.5	1.3
苦參					
matrine	4.0	80.0	40.0	20.0	10.0

把以上各指標成分的四種配製濃度分別注入高效能液相層析儀，每次注射 $20\mu\text{l}$ ，從圖上取其對應面積可分別作出各指標成分的檢量線。

三、樣品之炮炙 (1-6)

1、延胡索 (Corydalis Tuber)

- 單炒—延胡索片炒至變色為止。
- 酒炒—加酒拌勻，炒至微黃色，烘乾。

(c) 醋炒—加醋悶透，用文火炒至微黃色。

2、吳茱萸 (Evodiae Fructus)

(a) 單炒、酒炒、醋炒方法均與延胡索之炮炙法相同。

(b) 炙吳茱萸—吳茱萸加入甘草湯液中，俟湯吸盡，不斷翻炒至微乾、取出、曬乾即得。

3、甘草 (Glycyrrhizae Radix)

蜜炙甘草—取甘草片，加煉熟的蜂蜜與開水少許，拌勻，置鍋內用文火炒至變為深黃色，不黏手為度、取出、放涼即得。

4、芍藥 (Paeoniae Radix)

(a) 酒白芍—取白芍片，用酒噴淋均勻，稍潤，置鍋內用文火微炒、取出、放涼即得。

(b) 炒白芍—白芍片，置鍋內用文火炒至黃色，即得。

(c) 焦白芍—白芍片，炒至焦黃色，即得。

5、玄參 (Scrophulariae Radix)

(a) 鹽水炒—將玄參片浸於鹽水後，略予炒熟。

(b) 鹽水煮—將玄參片用鹽水煮至水分全被吸收。玄參變黑後稍以日晒，使其成為半乾，悶透後除去蘆頭隨作切片即可。

(c) 蒸—置籠筐內蒸透，取出晾七成乾，悶潤至內外均呈黑色。

6、苦參 (Sophorae Radix)

(a) 炒—單炒、酒炒、醋炒。

(b) 蒸—生品，水蒸2~4小時。

四、樣品及炮炙品之配製

每一種生藥樣品及炮炙品各取3g經由切片機切細後，分別以甲醇加熱迴流萃取三次，配成 100ml 檢液以供分析用。

五、高效能液相層析條件：

1、延胡索

Apparatus: Waters associates 510 pump

Detector: Waters 990 photodiode array (203nm) detector

Column: Nucleosil 7 C18 (250×4.6mm)

Eluent: Solvent A: CH₃CN, Solvent B: 0.1% H₃PO₄

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 30 min,

Flow rate: 1ml/min

2、吳茱萸

Detector: Waters 990 photodiode array detector (254nm)

Column: Nucleosil 7 C18

Eluent: Solvent A: CH_3CN , Solvent B: 0.1% H_3PO_4

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 30 min.

Flow rate: 1ml/min

3、甘草

Detector: Waters 990 photodiode array detector (254nm)

Column: Nucleosil 7 C18

Eluent: Solvent A: CH_3CN , Solvent B: 0.1% HClO_4 / 0.1% NH_4OH , pH7.7

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 60 min.

Flow rate: 1ml/min

4、芍藥

Detector: Waters 990 photodiode array detector (275nm)

Column: Nucleosil 7 C18

Eluent: Solvent A: CH_3CN , Solvent B: 0.1% H_3PO_4

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 30 min.

Flow rate: 1ml/min

5、玄參

Detector: Waters 990 photodiode array detector (281nm)

Column: Nucleosil 7 C18

Eluent: Solvent A: CH_3CN , Solvent B: 0.1% H_3PO_4

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 30 min.

Flow rate: 1ml/min

6、苦參

Detector: Waters 990 photodiode array detector (202nm)

Column: Nucleosil 7 C18

Eluent: Solvent A: CH_3CN , Solvent B: 0.1% H_3PO_4

gradient: 10% Solvent A to 100% Solvent A in 30 min.

Flow rate: 1ml/min

結果與討論

一、各指標成分，配成標準溶液製作成檢量線，結果為

1、延胡索

THP $Y = -0.00097 + 0.000198X$, $r = 0.996$

Corydaline $Y = -0.0052 + 0.00021X$, $r = 0.999$

2、吳茱萸

Dehydroevodiamine $Y = 0.0001 + 0.0756X$; $r = 0.999$

Evodiamine $Y = 0.00124 + 0.2004X$, $r = 0.999$

Rutaecarpine $Y = 0.00032 + 0.04772X$, $r = 0.999$

3、甘草

Glycyrrhizin $Y = -0.00214 + 0.00788X$, $r = 0.999$

4、芍藥

Paeoniflorin $Y = 0.0019 + 0.0166X$, $r = 0.998$

paeonol $Y = -0.0038 + 0.0776X$, $r = 0.997$

5、玄參

Harpagoside $Y = 0.0001 + 0.0441X$, $r = 0.999$

6、苦參

Matrine $Y = 0.000623 + 0.02352X$, $r = 0.997$

表一 延胡索與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	THP (mg/g)	corydaline (mg/g)
未處理	甲醇	0.751	0.372
單炒		0.283	0.242
酒炒		0.166	0.095
醋炒		0.418	0.222

表二 吳茱萸與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	Dehydroevodiamine (mg/g)	Evodiamine (mg/g)	Rutaecarpine (mg/g)
未處理	甲醇	4.409	5.214	11.124
單炒		3.023	3.548	7.987
酒炒		2.147	4.023	9.109
醋炒		4.121	3.830	9.439
炙吳茱萸		2.926	4.644	9.560

表三 甘草與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	glycyrrhizin (mg/g)
未處理	甲醇	28.0
蜜炙甘草		20.2

表四 芍藥與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	Paeoniflorin (mg/g)
未處理	甲醇	24.94
炒白芍		18.13
酒白芍		11.33
焦白芍		4.36

表五 玄參與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	Harpagoside (mg/g)
未處理	甲醇	0.3003
蒸		0.6132
鹽水煮		0.1964
鹽水炒		0.3560

表六 苦參與炮炙品指標成分的定量分析

處理方式	萃取溶劑	matrine (mg/g)
未處理	甲醇	1.2087
單炒		1.2081
酒炒		0.5869
醋炒		0.7663
蒸		1.3167

表一顯示延胡索中 THP 的含量約為 Corydaline 的2倍，而單、酒、醋炒對 THP與 Corydaline 2 種指標成分含量而言，均有負面的作用，特別是酒炒，THP 降低為原來的0.22倍，corydaline 為0.26倍，其次為單炒（THP為0.38倍，corydaline為0.65倍，醋炒（THP為0.56倍，Corydaline 為0.60倍）。

由表二發現，吳茱萸含有相當多量的 *rutaecarpine* (11.124mg/g)，其次為 *evodiamine* (5.214mg/g)，*DeHE* (4.409mg/g)。吳茱萸分別以單、酒、醋、炙炒等方法來炮炙，就以上三指標成分而言均有負面作用；以 *DeHE* 而言，酒炒降低其含量為原來的1/2，醋炒處理約可保有93%，單、酒炒居中約67%；就 *evodiamine*，*rutaecarpine* 而言，四種炮炙方法差異不大，約維持在70~85%之間。

表三顯示甘草含有大量的 *glycyrrhizin* 28mg/g，經過蜜炙處理的甘草，其 *glycyrrhizin* 含量下降為72% (20.2mg/g)。

表四為白芍炮炙品的定量分析，結果發現炒焦後的白芍，其指標成分 *paeoniflorin* 遽降為原來的17%，而單炒、酒炒處理，*paeoniflorin* 含量分別為原來的73%及45%。另一指標成分 *paeonol*，在此次購得的白芍中，含量相當少，故其炮炙品 *paeonol* 變化更是難以偵測。

表五顯示玄參的指標成分 *harpagoside* 除了鹽水煮會降低其含量外（為原來的65%），其餘鹽水炒及蒸均會提高其抽取量，具有正面的意義，特別是蒸玄參，*harpagoside* 含量可高達原來的2.04倍，而鹽水炒也可達1.19倍。

表六為苦參炮炙品的定量結果，其中顯示酒炒，醋炒皆會降低指標成分 *matrine* 的含量，分別為48%和83%；而相反的，蒸苦參中 *matrine* 的含量有少許的提高；而單炒的結果與未經炮炙的樣品沒有多大的差異。

致謝

著者感謝衛生署中醫藥委員會支持本研究計畫，同時，感謝中國醫藥學院謝所長明村惠贈 *Tetrahydropalmatine* 標準品。

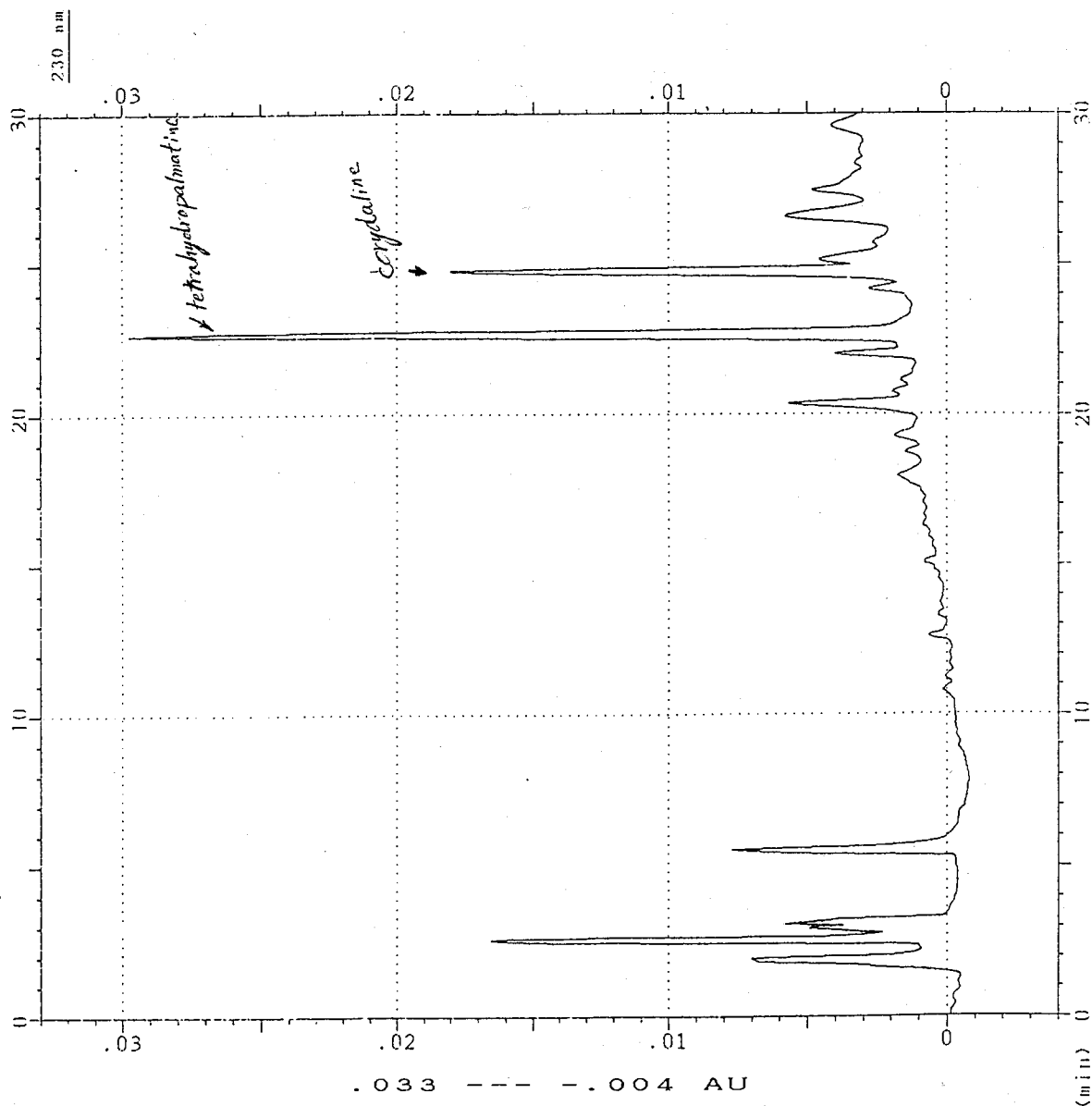
參考文獻

1. 行政院衛生署編：中華民國中藥典範，台北，七十四年出版。
2. 張賢哲，蔡貴花：中藥炮製學，中國醫藥學院，台中，一九八四。
3. 許鴻源：中藥之炮炙，新醫藥出版社，台北，一九八〇。
4. 顏焜熒：常用中藥之炮製，南天書局，台北，一九八二。
5. 許鴻源：陳玉盤，許順吉，許照信，陳建志，張憲昌：簡明藥材學，新醫藥出版社，台北，一九八五。
6. 雷公炮製藥性賦，文化圖書公司，台北，一九七〇。

M990 Chromatogram analysis

YEN-BK.DT3 05-22-1991 10:07:49
 Y-scale 0.037 AU/FS
 Sampling time 33 msec *4
 Sense high 4
 Resolution 3 nm
 Time range 0 --- 30 min
 Interval 3.2 sec
 Baseline OFF

Sample name yenhuso-blk
 Paper speed 5 mm/min
 Column mm ID * mm
 Packing material
 Mobile phase
 Flow rate ml/min
 Pressure

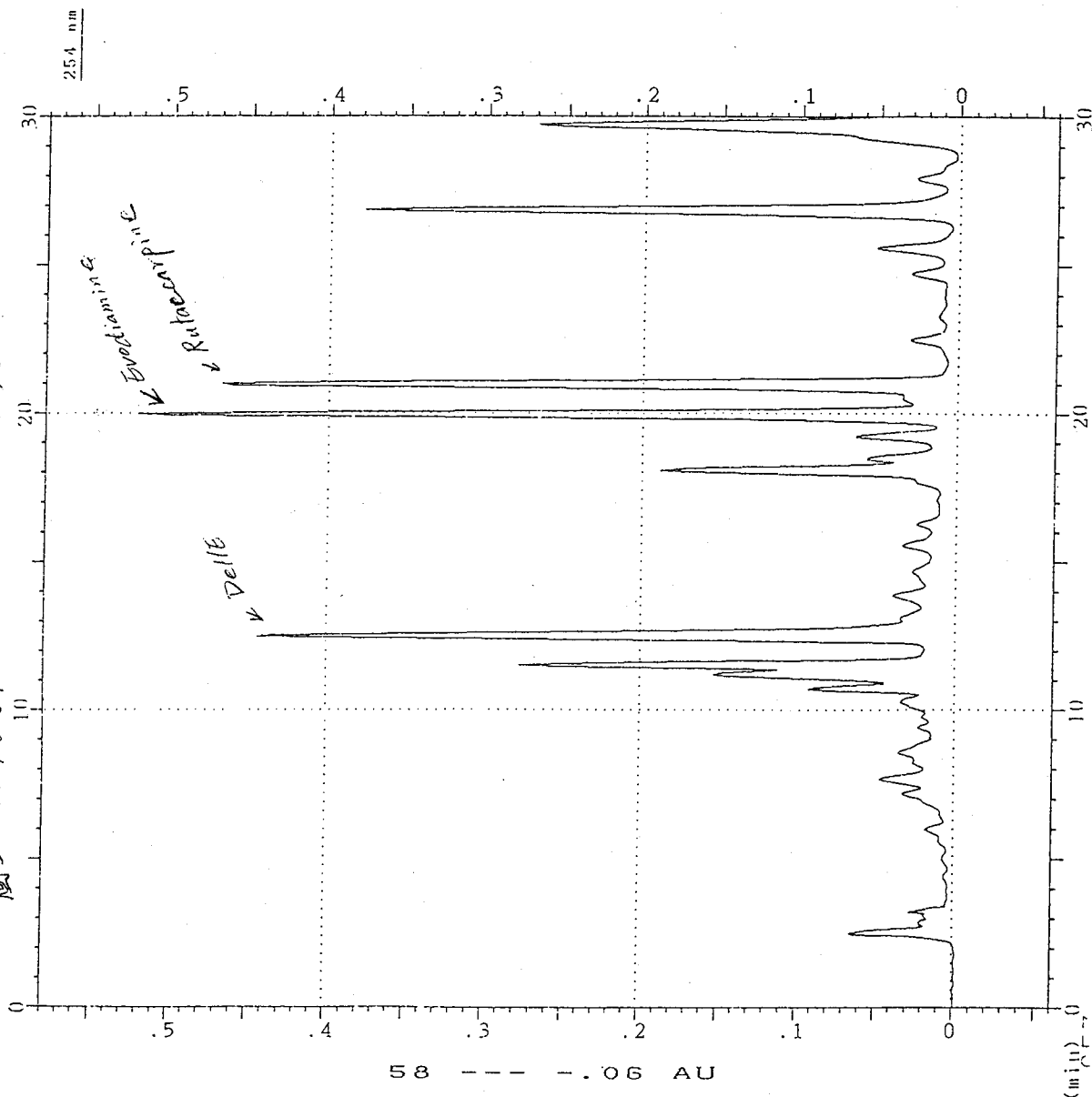


圖一：延胡索甲醇提取物之HPLC分析圖

M990 Chromatogram analysis

wu-blk.DT3 06-16-1991 13:21:10
Y-scale .64 AU/FS
Sampling time 35 msec *4
Sense high 4
Resolution 3 nm
Time range 0 --- 30 min
Interval 3.2 sec
Baseline OFF

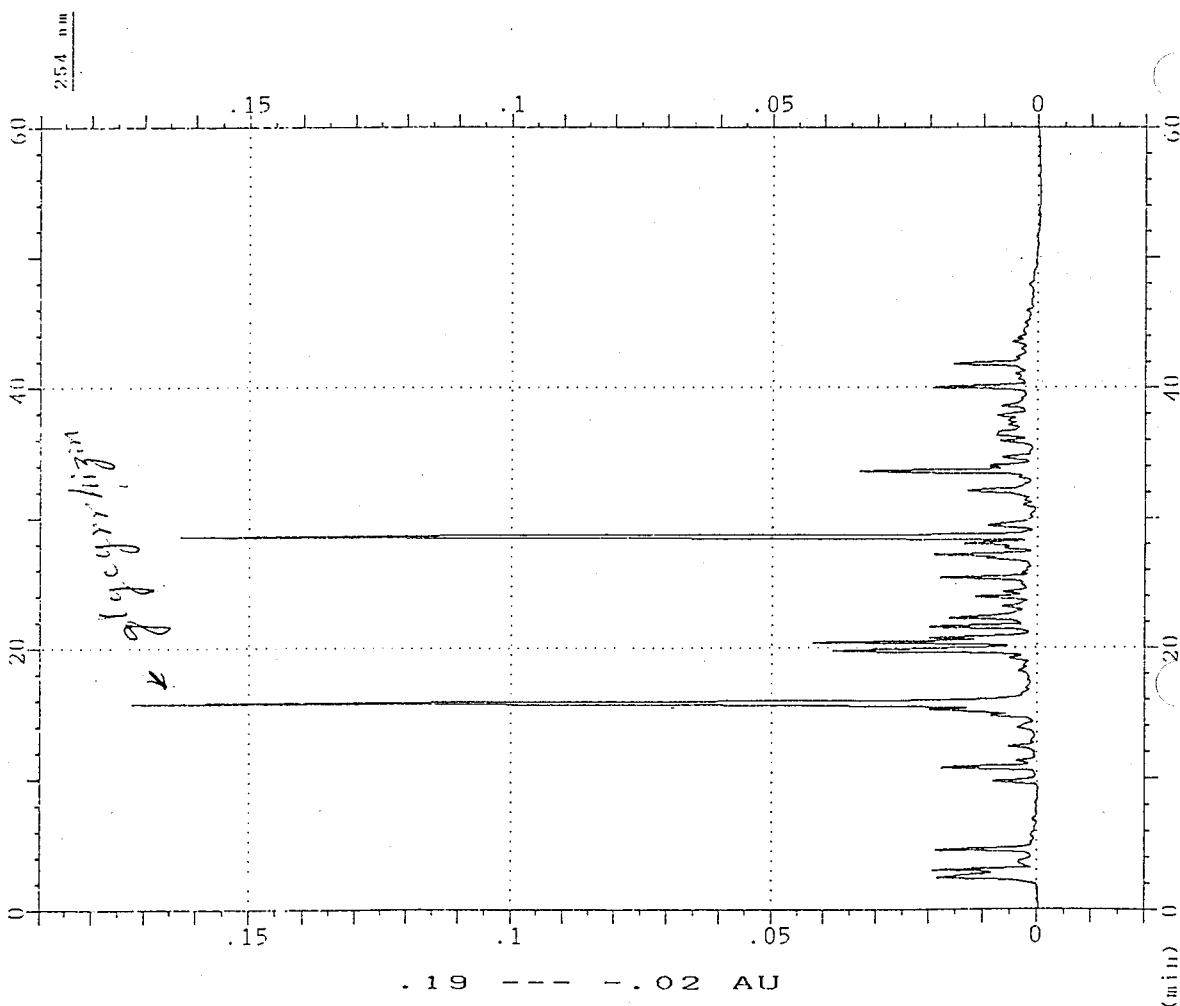
Sample name wuzuyu-blk20ul
Paper speed 5 mm/min
Column mm ID * mm
Packing material
Mobile phase
Flow rate ml/min
Pressure



圖二：吳萊、甲醇抽出物之HPLC層析圖

M990 Chromatogram analysis

gz-bee.DT3	05-17-1991 17:02:10	Sample name	gz-bee
Y-scale	.21 AU/FS	Paper speed	2 mm/min
Sampling time	34 msec *4		
Sense	high 4	Column	mm ID * mm
Resolution	3 nm	Packing material	
Time range	0 --- 60 min	Mobile phase	
Interval	3.2 sec	Flow rate	ml/min
Baseline	OFF	Pressure	

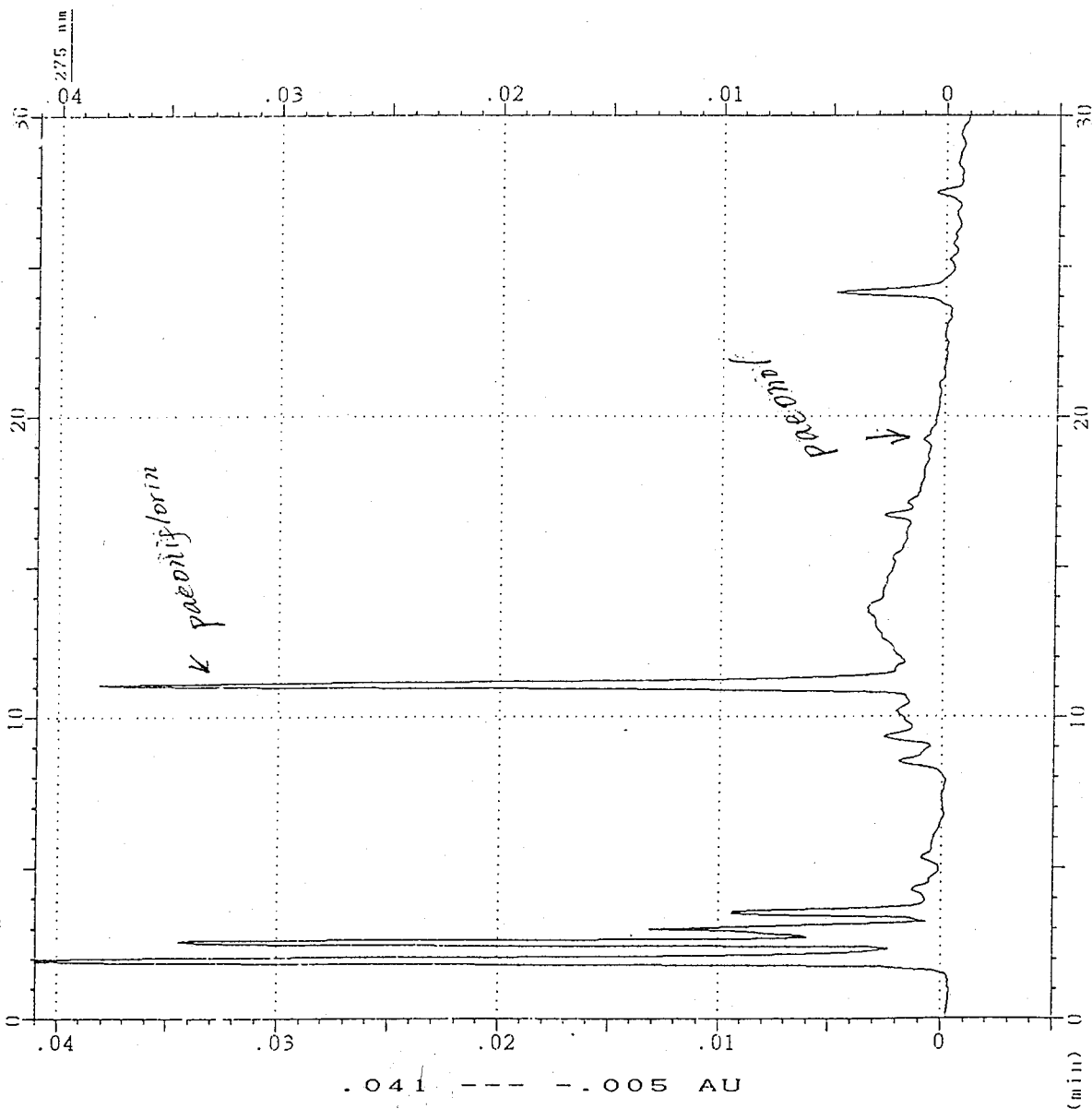


图三：蜜炙甘草甲醇提取物之HPLC层析图

M990 Chromatogram analysis

sau-blk.DT3 05-24-1991 18:15:18
 Y-scale .046 AU/FS
 Sampling time 32 msec *4
 Sense high 4
 Resolution 3 nm
 Time range 0 --- 30 min
 Interval 3.2 sec
 Baseline OFF

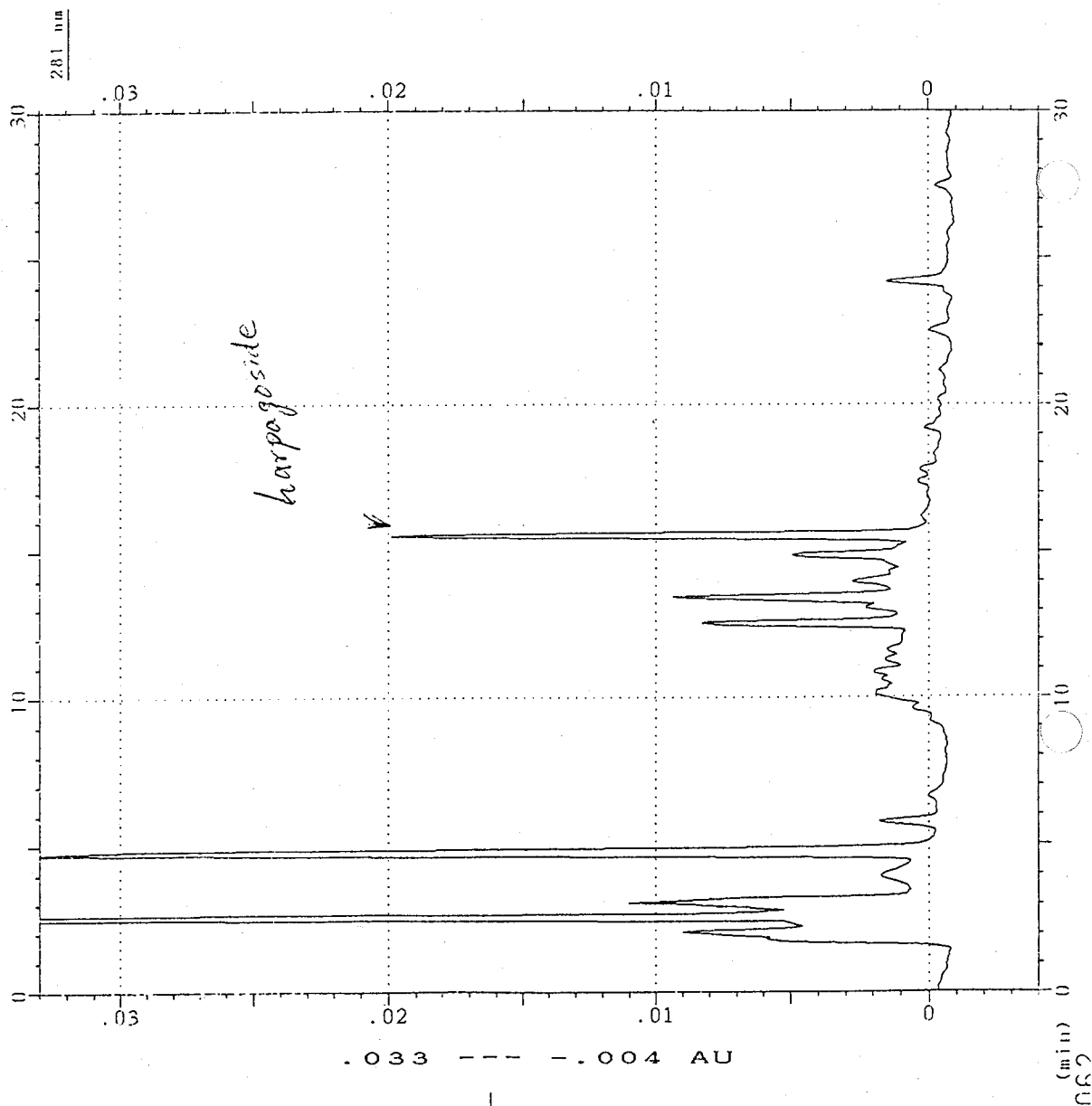
Sample name sauyao-blk
 Paper speed 5 mm/min
 Column mm ID * mm
 Packing material
 Mobile phase
 Flow rate ml/min
 Pressure



圖四：芍藥甲素抽出物之HPLC層析圖

M990 Chromatogram analysis

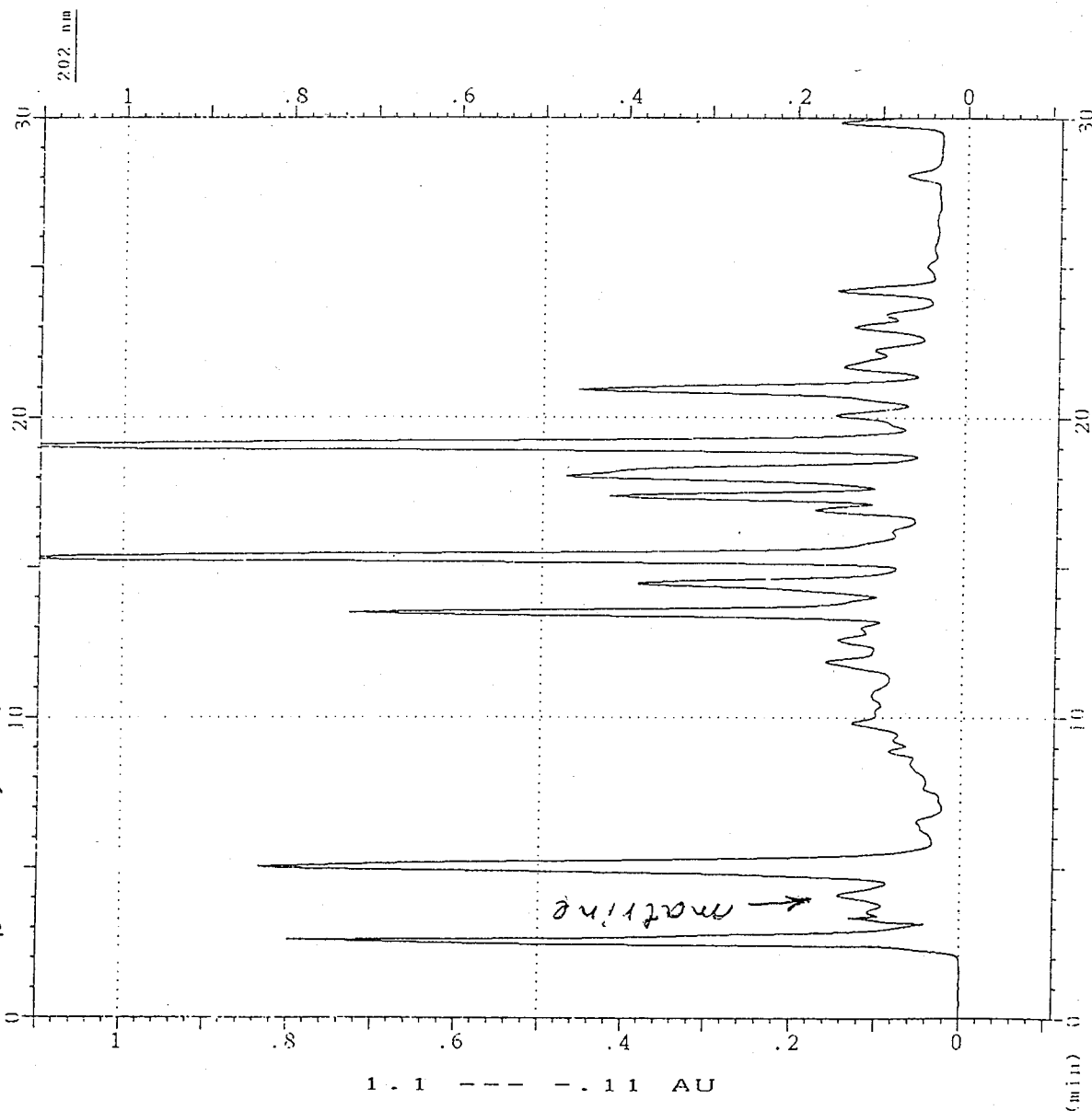
xuanblk.DT3	05-25-1991	14:11:26	Sample name	xuan-blk, 10ul
Y-scale	.037 AU/FS		Paper speed	5 mm/min
Sampling time	34 msec	*4	Column	mm ID * mm
Sense	high	4	Packing material	
Resolution	3 nm		Mobile phase	
Time range	0 --- 30 min		Flow rate	ml/min
Interval	3.2 sec		Pressure	
Baseline	OFF			



圖五：高參甲醇提取物之HPLC層析圖

M990 Chromatogram analysis

ku20.DT3	06-19-1991	14:12:18	Sample name	kusang, 20ul
Y-scale	1.21	AU/FS	Paper speed	5 mm/min
Sampling time	34	msec *4	Column	mm ID * mm
Sense	high	4	Packing material	
Resolution	3	nm	Mobile phase	
Time range	0 --- 30	min	Flow rate	ml/min
Interval	3.2	sec	Pressure	
Baseline		OFF		



圖六：五參甲醇抽出物之HPLC層析圖

中藥複方製劑品管之初步研究 (II)

國立中國醫藥研究所

楊禮明 · 李志雄 · 張家馴 · 陳介甫

摘 要

中藥係我國固有國粹，而中藥方劑之應用日益普及，為確保國民健康，中藥品管應日趨嚴格，斷不能因襲陳方，固步自封，故方劑中療效有效成分之確定，中藥品管科學化，藥理及臨床試驗均極待發展。

本研究依據醫方集解中篩選常用中藥方劑六種（附表），其藥材先依傳統方法鑑定基原及品質後，經專家依中藥典籍所述，酒洗（當歸），酒炒（白芍），土炒（白朮），炙（甘草）炮製等，配製成研究用標準方劑。參照中藥典範上所載一般純度試驗，包括乾燥減重，灰分，酸不溶性灰分，稀醇抽提物，化學呈色鑑別法，中藥材成分之 TLC，高壓液相層析及三次元高效能液相層析儀等來檢討中藥方劑所含有效成分以供品管客觀評價之參考。

結果顯示，中藥材因基原產地或季節不同而品質有異，其一般純度試驗中參照中藥典範上所載檢驗方法，若結果超出規定範圍，均分別抽購不同檢體重覆檢驗求取較客觀平均值。

結 論

- （一）中藥材經炮製處理後與原生藥之一般純度試驗結果不同。
- （二）人參、紅棗、茯苓、當歸、黃連、半夏、柴胡、陳皮等，中藥典範所載之乾燥減重規格範圍，須加以放寬。
- （三）中藥典範上所記載稀醇抽提物項之範圍不多，本研究結果可提供衛生署客觀參考規格。
- （四）應用於高壓液相層析及三次元高效能液相層析儀作進一步探討時發現中藥方劑各藥材化學成分間的相互干擾，故各成分之定性測定極為困難。

在研究中藥複方製劑之品管前，必須從單味藥材之品質開始。並配合方劑中標示藥材成分之薄層層析鑑別來提供中藥複方中有效成分之品管，期能藉此建立中藥品質評鑑客觀參考規格。

一、消遙散
(P.118)

北柴胡	九錢 (33.75gm)
當歸 (陝西、酒洗)	九錢 (33.75gm)
白芍 (杭州、酒炒)	九錢 (33.75gm)
白朮 (土炒)	九錢 (33.75gm)
茯苓 (雲南)	九錢 (33.75gm)
炙甘草	四錢半 (16.88gm)
煨薑	一錢七分 (10.13gm)
薄荷	一錢七分 (10.13gm)
藥重	5.49 兩 (206gm)

二、茵陳蒿湯
(P.249)

茵陳	二兩六錢 (135gm)
大黃 (四川)	一兩二錢 (45gm)
梔子 (炒)	六錢 (22.5gm)
藥重	5.4 兩 (203gm)

三、芍藥甘草湯
(P.115)

白芍 (杭州、酒炒)	二兩七錢 (101.25gm)
炙甘草	二兩七錢 (101.25gm)
藥重	5.4 兩 (203gm)

四、小柴胡湯

柴胡	一兩六錢八分 (63gm)
半夏	一兩五分 (39.38gm)
人參 (高麗天字三十支)	六錢三分 (23.63gm)
甘草	六錢三分 (23.6gm)
黃芩	六錢三分 (23.6gm)
生薑	六錢三分 (23.6gm)
紅棗	一錢八分九 (7.09gm)
藥重	5.43 兩 (203.62gm)

五、六君子湯

人參 (高麗天字三十支)	八錢 (30gm)
白朮 (土炒)	八錢 (30gm)
茯苓 (雲南)	八錢 (30gm)
炙甘草	四錢 (15gm)
陳皮 (廣東)	四錢 (15gm)
半夏	八錢 (30gm)
生薑	八錢 (30gm)
紅棗	六錢 (22.5gm)
藥重	5.4 兩 (202.5gm)

六、三黃瀉心湯

大黃 (四川錦紋)	二兩八錢 (105gm)
黃連 (四川雞爪連)	一兩四錢 (52.5gm)
黃芩	一兩四錢 (52.5gm)
藥重	5.6 兩 (210gm)

乾燥減重測定

	一次測試用藥量 (gm)	乾燥減重%	平均值	規定純度 (中華民國中藥典範)
一、消遙散				
1、北柴胡	5	12.0%, 11.5%	11.75%	13.0%
2、當歸	5	18.0%, 17.6%, 18.5%	11.85%	13.0%
3、白芍	5	11.5%, 10.7%	11.1%	13.0%
4、白朮(土炒)	5	14.25%, 13.4%	11.825%	
5、茯苓	5	19.60%, 18.6%, 19.4%	19.20%	20.0%
6、炙甘草	5	16.25%, 15.4%	15.825%	
7、煨薑	5	15.5%		
8、薄荷	5	12.75%, 11.80%	12.275%	13.0%
二、茵陳蒿湯				
9、茵陳	5	11.50%, 10.60%	11.05%	12.0%
10、大黃	5	10.25%, 11.40%	10.825%	13.0%
11、梔子	5	7.0%, 7.8%	7.4%	9.0%
三、芍藥甘草湯				
3、白芍	5	11.5%, 10.7%	11.1%	13.0%
6、炙甘草	5	16.25%, 15.4%	15.825%	
四、小柴胡湯				
1、柴胡	5	13.10%, 12.50%	12.8%	13%
12、半夏	5	13.50%, 15.25%, 14.25%	14.30%	14%
13、人參	5	9.25%, 8.50%	8.875%	9%
6、甘草	5	10.5%		12%
14、黃芩	5	12.0%, 12.25%	12.125%	13%
15、生薑	5	92.0%, 94.10%	93.05%	
16、紅棗	5	21.50%, 28.0%, 28.90%	26.13%	19%
五、六君子湯				
13、人參	5	9.25%, 8.50%	8.875%	9%
4、白朮(土炒)	5	14.25%, 13.40%	13.825%	
5、茯苓	5	19.60%, 19.40%, 18.6%	19.20%	20%
6、炙甘草	5	16.25%, 15.40%	15.825%	
17、陳皮	5	13.50%, 15.25%, 14.28%	14.34%	13%
12、半夏	5	13.50%, 15.25%, 14.25%	14.30%	14%
15、生薑	5	92.0%, 94.10%	93.05%	
16、紅棗	5	21.50%, 28.0%, 28.90%	26.13%	19%
六、三黃瀉心湯				
10、大黃	5	10.25%, 11.40%	10.825%	13%
18、黃連	5	7.75%, 10.0%, 8.75%	8.83%	13%
14、黃芩	5	12.0%, 12.25%	12.125%	13%

總灰分測定

	坩堝 (gm)	中藥取量 (gm)	坩堝+灰分(灰分) (gm)	總灰分 %	規定純度 (中華民國中藥典範)
一、消遙散					
1、北柴胡	26.411	2.031	26.482(0.071)	3.49%	6.5%
2、當歸	23.180	1.666	23.248(0.068)	4.08%	7.0%
3、白芍	23.159	2.011	23.214(0.055)	2.73%	6.5%
4、白朮(土炒)	20.236	1.992	20.328(0.092)	4.62%	
5、茯苓	23.534	1.942	23.540(0.006)	0.31%	1.0%
6、炙甘草	25.486	2.009	25.531(0.045)	2.24%	
7、煨薑	24.961	0.999	25.027(0.066)	6.60%	
8、薄荷	23.102	1.535	23.217(0.115)	7.49%	11.0%
二、茵陳蒿湯					
9、茵陳	21.779	1.011	21.840(0.061)	6.03%	9.0%
10、大黃	16.422	2.001	16.528(0.106)	5.30%	10.0%
11、梔子	20.827	2.019	20.904(0.077)	3.81%	6.0%
三、芍藥甘草湯					
3、白芍	23.159	2.011	23.214(0.055)	2.73%	6.5%
6、炙甘草	25.486	2.009	25.531(0.045)	2.24%	
四、小柴胡湯					
1、柴胡	21.780	2.003	21.865(0.085)	4.24%	6.5%
12、半夏	23.540	2.001	23.563(0.023)	1.15%	3.5%
13、人參	16.421	2.003	16.491(0.07)	3.50%	4.2%
6、甘草	20.831	2.006	20.911(0.08)	3.99%	7.0%
14、黃芩	23.179	2.001	23.264(0.085)	4.25%	6.0%
15、生薑	20.240	2.006	20.256(0.016)	0.80%	
16、紅棗	24.963	2.020	24.998(0.035)	1.73%	3.0%
五、六君子湯					
13、人參	16.421	2.003	16.491(0.07)	3.50%	4.2%
4、白朮(土炒)	20.236	1.992	20.328(0.092)	4.62%	
5、茯苓	23.534	1.942	23.540(0.006)	0.31%	1.0%
6、炙甘草	25.486	2.009	25.531(0.045)	2.24%	
17、陳皮	23.161	2.003	23.224(0.063)	3.145%	4.0%
12、半夏	23.540	2.001	23.563(0.023)	1.15%	3.5%
15、生薑	20.240	2.006	20.256(0.016)	0.80%	
16、紅棗	24.963	2.020	24.998(0.035)	1.73%	3.0%
六、三黃瀉心湯					
10、大黃	16.422	2.001	16.528(0.106)	5.30%	10.0%
18、黃連	26.413	2.004	26.447(0.034)	1.7%	4.0%
14、黃芩	23.179	2.001	23.264(0.085)	4.25%	6.0%

酸不溶性灰分測定

	坩 堝 (gm)	中藥取量 (gm)	坩堝+酸不溶性灰分 (酸不溶性灰分 gm)	酸不溶性灰分 (%)	平均值	規定純度 (中華民國中藥典範)
一、逍遙散						
1、北柴胡	26.411	2.031	26.430 (0.019)	0.935%	0.79%	3.0%
2、當歸	23.180	1.666	23.194 (0.014)	0.84%		1.0%
	21.615	2.014	21.630 (0.015)	0.74%		
3、白芍	23.159	2.011	23.168 (0.009)	0.447%	0.395%	0.5%
	16.420	2.038	16.427 (0.007)	0.343%		
4、白朮(土炒)	20.236	1.992	20.264 (0.028)	1.40%		
5、茯苓	23.534	1.942	23.536 (0.002)	0.102%		1.0%
6、炙甘草	25.486	2.009	25.496 (0.01)	0.497%		
7、煨薑	24.961	0.999	24.971 (0.01)	1.00%		
8、薄荷	23.102	1.535	23.120 (0.018)	1.17%		2.5%
二、茵陳蒿湯						
9、茵陳	21.779	1.011	21.791 (0.012)	1.19%		2.0%
10、大黃	16.422	2.001	16.435 (0.013)	0.65%		1.0%
11、梔子	20.827	2.019	20.841 (0.014)	0.69%		1.0%
三、芍藥甘草湯						
3、白芍	23.159	2.011	23.168 (0.009)	0.447%	0.395%	0.5%
	16.420	2.038	16.427 (0.007)	0.343%		
6、炙甘草	25.486	2.009	25.496 (0.01)	0.497%		
四、小柴胡湯						
1、柴胡	21.780	2.003	21.796 (0.016)	0.798%		3.0%
12、半夏	23.540	2.001	23.542 (0.002)	0.10%		1.0%
13、人參	16.421	2.003	16.430 (0.009)	0.45%		1.0%
6、甘草	20.831	2.006	20.839 (0.008)	0.40%		2.0%
14、黃芩	23.179	2.001	23.191 (0.012)	0.60%		1.0%
15、生薑	20.240	2.006	20.241 (0.001)	0.05%		
16、紅棗	24.963	2.020	24.969 (0.006)	0.30%		1.0%
五、六君子湯						
13、人參	16.421	2.003	16.430 (0.009)	0.45%		1.0%
4、白朮(土炒)	20.236	1.992	20.264 (0.028)	1.40%		
5、茯苓	23.534	1.942	23.536 (0.002)	0.10%		1.0%
6、炙甘草	25.486	2.009	25.496 (0.01)	0.497%		
17、陳皮	23.161	2.003	23.168 (0.007)	0.35%		1.0%
12、半夏	23.540	2.001	23.542 (0.002)	0.10%		1.0%
15、生薑	20.240	2.006	20.241 (0.001)	0.05%		
16、紅棗	24.963	2.020	24.969 (0.006)	0.30%		1.0%
六、三黃瀉心湯						
10、大黃	16.422	2.001	16.435 (0.013)	0.65%		1.0%
18、黃連	26.413	2.004	26.419 (0.006)	0.30%		1.0%
14、黃芩	23.179	2.001	23.191 (0.012)	0.60%		1.0%

稀醇抽提物測定

	中藥取量 (gm)	蒸發皿 (gm)	蒸發皿+抽提物 (抽提物 gm)	稀醇抽提物 (%)	平均值	規定純度 (中華民國中藥典範)
一、消遙散						
1、北柴胡	2.001	85.704	85.823(0.119)	5.95%	6.96%	11%
	2.004	84.350	84.499(0.149)	7.44%		
	2.002	87.197	87.347(0.150)	7.49%		
2、當歸	2.002	79.268	79.836(0.568)	28.4%	21.04%	30%
3、白芍	2.002	87.302	87.450(0.148)	7.4%		
4、白朮(土炒)	2.003	84.353	84.563(0.021)	10.5%		
5、茯苓	2.001	87.194	87.212(0.018)	0.9%		
6、炙甘草	2.001	82.154	82.594(0.44)	22.0%		
7、煨薑	2.004	81.673	81.687(0.014)	0.69%		
8、薄荷	2.004	85.288	85.478(0.19)	9.5%		
二、茵陳蒿湯						
9、茵陳	2.001	83.181	83.328(0.147)	7.35%	7.53%	15%
	2.004	87.302	87.452(0.15)	7.5%		
	2.003	83.181	83.336(0.155)	7.75%		
10、大黃	2.001	81.327	81.728(0.401)	20.04%	21.04%	30%
	2.002	82.154	82.596(0.442)	22.1%		
	2.002	84.350	84.770(0.42)	20.98%		
11、梔子	2.002	81.685	81.939(0.254)	12.7%	21.04%	30%
三、芍藥甘草湯						
3、白芍	2.002	87.302	87.450(0.148)	7.4%	22.0%	
6、炙甘草	2.001	82.154	82.594(0.44)	22.0%		
四、小柴胡湯						
1、柴胡	2.001	85.704	85.823(0.119)	5.95%	6.96%	11%
	2.004	84.350	84.499(0.149)	7.44%		
	2.002	87.197	87.347(1.150)	7.49%		
12、半夏	2.001	85.718	85.727(0.009)	0.45%	19.605%	14.0%
13、人參	2.003	85.298	85.682(0.384)	19.17%		
6、甘草	2.000	81.692	82.031(0.339)	16.95%		
14、黃芩	2.002	82.161	82.525(0.364)	18.18%		
15、生薑	2.007	79.274	79.287(0.013)	0.65%		
16、紅棗	2.008	81.330	81.878(0.548)	27.29%		
五、六君子湯						
13、人參	2.003	85.298	85.682(0.384)	19.17%	19.605%	30%
4、白朮(土炒)	2.003	84.353	84.563(0.21)	10.5%		
5、茯苓	2.001	87.194	87.212(0.018)	0.9%		
6、炙甘草	2.001	82.154	82.594(0.44)	22.0%		
17、陳皮	2.003	87.306	87.714(0.408)	20.37%		
	2.006	85.288	85.666(0.378)	18.84%		
12、半夏	2.001	85.718	85.727(0.009)	0.45%		
15、生薑	2.007	79.274	79.287(0.013)	0.65%		
16、紅棗	2.008	81.330	81.878(0.548)	27.29%		
六、三黃瀉心湯						
10、大黃	2.002	82.154	82.596(0.442)	22.1%	21.04%	30%
	2.002	84.350	84.770(0.42)	20.98%		
	2.001	81.327	81.728(0.401)	20.04%		
18、黃連	2.004	87.198	87.422(0.224)	11.18%		
14、黃芩	2.002	82.161	82.525(0.364)	18.18%		

	乾燥減重	規定純度	總灰分	規定純度	酸不溶性灰分		規定純度	稀酸抽提物		規定純度	化學呈色
			(%)		(%)			(%)			Screening Test
一、逍遙散											
1、北柴胡	11.75%	<13.0%	3.49%	<6.5%	0.935%	<3.0%	6.96%	>11.0%	Saponin		
2、當歸	17.87%	<13.0%	4.08%	<7.0%	0.79%	<1.0%	28.4%				
3、白芍	11.1%	<13.0%	2.73%	<6.5%	0.395%	<0.5%	7.4%		FeCl ₃ (+)		
4、白朮(土炒)	13.825%		4.62%		1.40%		10.5%				
5、茯苓	19.20%	<20.0%	0.31%	<1.0%	0.102%	<1.0%	0.9%		L.B. (+)		
6、炙甘草	15.825%		2.24%		0.497%		22.0%				
7、煨薑	15.5%		6.60%		1.00%		0.69%				
8、薄荷	12.275%	<13.0%	7.49%	<11.0%	1.17%	<2.5%	9.5%				
二、茵陳蒿湯											
9、茵陳	11.05%	<12.0%	6.03%	<9.0%	1.19%	<2.0%	7.53%	>15%	FeCl ₃ (+)		
10、大黃	10.825%	<13.0%	5.30%	<10.0%	0.65%	<1.0%	21.04%	>30%			
11、梔子	7.4%	<9.0%	3.81%	<6.0%	0.69%	<1.0%	12.7%				
三、芍藥甘草湯											
3、白芍	11.1%	<13.0%	2.73%	<6.5%	0.395%	<0.5%	7.4%				
6、炙甘草	15.825%		2.24%		0.497%		22.0%				

	乾燥減重	規定純度	總灰分 (%)	規定純度	酸不溶性灰分 (%)	規定純度	稀酸抽提物 (%)		化學呈色 Screening Test
四、小柴胡湯									
1、柴胡	12.8%	<13.0%	4.24%	<6.5%	0.798%	<3.0%	6.96%	>11.0%	Saponin
12、半夏	14.30%	<14.0%	1.15%	<3.5%	0.10%	<1.0%	0.45%		
13、人參	8.875%	<9.0%	3.50%	<4.2%	0.45%	<1.0%	19.17%	>14.0%	
6、甘草	10.5%	<12.0%	3.99%	<7.0%	0.40%	<2.0%	16.95%		
14、黃芩	12.125%	<13.0%	4.25%	<6.0%	0.60%	<1.0%	18.18%		FeCl ₃ (+)
15、生薑	93.05%		0.80%		0.05%		0.65%		
16、紅棗	26.13%	<19.0%	1.73%	<3.0%	0.30%	<1.0%	27.29%		Fehling (+)
五、六君子湯									
13、人參	8.875%	<9.0%	3.50%	<4.2%	0.45%	<1.0%	19.17%	>14.0%	Saponin
4、白朮(土炒)	13.825%		4.62%		1.40%		10.5%		
5、茯苓	19.20%	<20.0%	0.31%	<1.0%	0.10%	<1.0%	0.9%		Saponin
6、炙甘草	15.825%		2.24%		0.497%		22.0%		
17、陳皮	14.34%	<13.0%	3.145%	<4.0%	0.35%	<1.0%	19.605%	>30.0%	Flavon (+)
12、半夏	14.75%	<14.0%	1.15%	<3.5%	0.10%	<1.0%	0.45%		
15、生薑	93.05%		0.80%		0.05%		0.65%		
16、紅棗	26.13%	<19.0%	1.73%	<3.0%	0.30%	<1.0%	27.29%		Fehling (+)
六、三黃瀉心湯									
10、大黃	10.825%	<13.0%	5.3%	<10.0%	0.65%	<1.0%	21.04%	>30.0%	Dragendorff's (+)
18、黃連	8.83%	<9.0%	1.7%	<4.0%	0.30%	<1.0%	11.18%		
14、黃芩	12.125%	<13.0%	4.25%	<6.0%	0.60%	<1.0%	18.18%		FeCl ₃ (+)

中藥成分 T.L.C. 鑑別實驗結果：

取生藥粉末約 1.0gm 加甲醇 10ml 淬取，過濾、濃縮後供作檢液。

薄層層析條件：

(1) 層析板：Silica Gel 60 F₂₅₄

(2) 展開溶媒：A, MeOH : CHCl₃ / 1 : 9

B, MeOH : CHCl₃ / 1 : 4

C, n-butanol : H₂O : Glacial

Acetic acid / 7 : 2 : 1

D, n-hexane : AcOEt / 4 : 1

(3) 檢出方法：A、UV lamp 366 nm

B、UV lamp 254 nm

C、10% H₂SO₄, 110°C, 5min

D、茴香醛-硫酸發色液

(Anisaldehyde-Sulfuric acid)

105°C, 5min

E、氯化鐵發色液 (Ferric chloride)

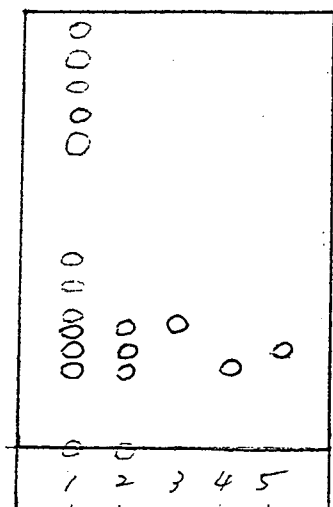
(4) 展開距離：7 cm

一. 消遙散

薄層層析條件:

層析板: Silica gel 60 F₂₅₄

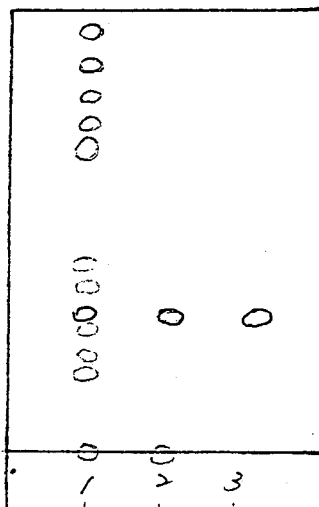
展開距離: 7 cm



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果: 10% H_2SO_4

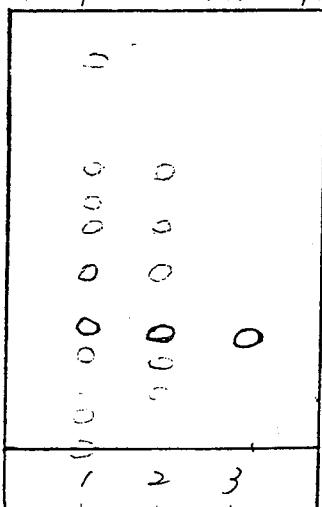
1. 消遙散散劑
2. 北柴胡
3. Sarsaponin a standard, Rf值約 0.28
4. Sarsaponin c standard, Rf值約 0.17
5. Sarsaponin d standard, Rf值約 0.21



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果: 10% H_2SO_4

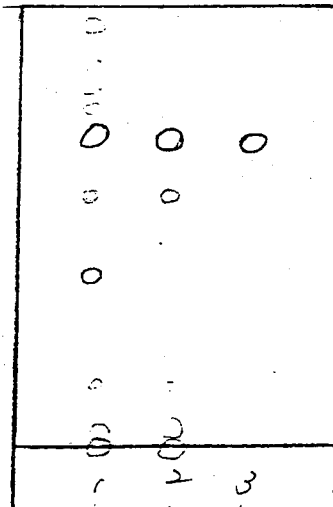
1. 消遙散散劑
2. 芍藥
3. Paeoniflorin standard, Rf值約 0.27



展開溶媒: $n\text{-butanol} : \text{H}_2\text{O} : \text{Glacial Acetic acid} / 7 : 2 : 1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 254 nm)

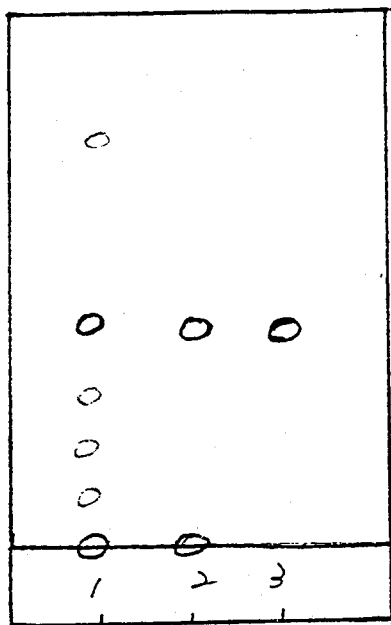
1. 消遙散散劑
2. 炙甘草
3. Glycyrrhizin, Rf值約 0.28



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 266 nm)

1. 消遙散散劑
2. 炙甘草
3. Glycyrrhetic acid, Rf值約 0.68



展開溶媒: $n\text{-hexane} : \text{AcOEt} / 4:1$
 檢出方法與結果: 茴香醛-硫酸發色
 液, 105°C , 5min .

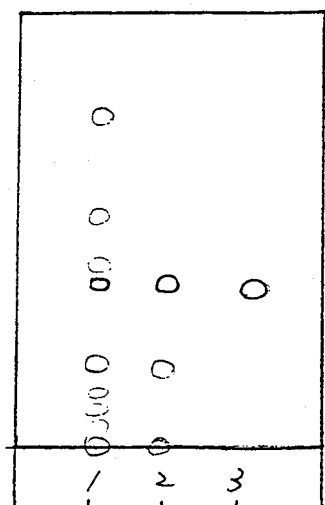
1. 消遣散劑.
2. 薄荷.
3. Menthol Standard, R_f 值約 0.4,
藍綠色.

二. 茵陳蒿湯

薄層層析條件:

層析板: Silica gel 60 F254

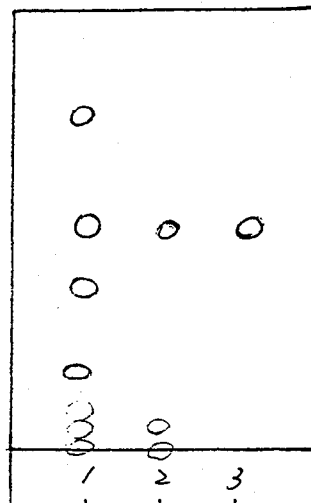
展開距離: 7 cm



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 9 = 1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 366 nm)

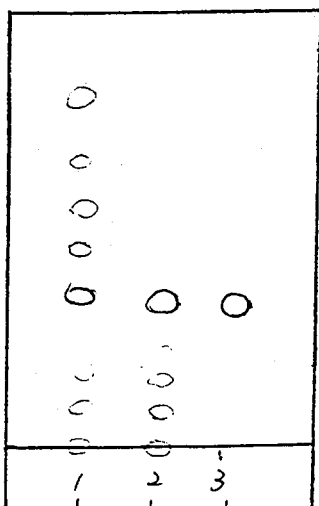
1. 茵陳蒿湯散劑
2. 茵陳
3. Capillarism standard, Rf值約 0.36.



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 9 = 1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 366 nm)

1. 茵陳蒿湯散劑
2. 大黃
3. Emodin standard, Rf值約 0.51.



展開溶媒: $\text{CHCl}_3 = \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 366 nm)

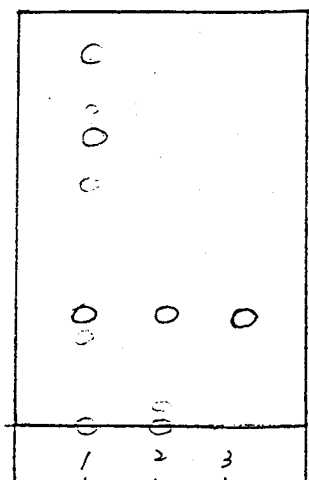
1. 茵陳蒿湯散劑
2. 梔子
3. Geniposide standard, Rf值約 0.32.

三、芍藥甘草湯

薄層層析條件：

層析板：Silica gel 60 F₂₅₄

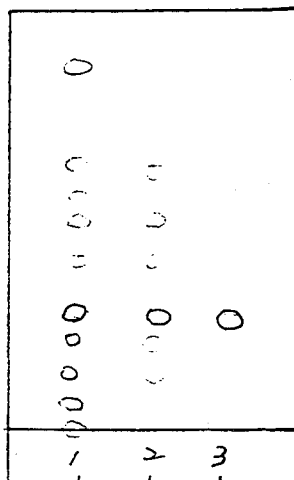
展開距離：7cm



展開溶媒： $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果：紫外線 (波長 366 nm)

1. 芍藥甘草湯散劑
2. 芍藥
3. Paeoniflorin standard, R_f值約 0.27.



展開溶媒： $n\text{-butanol} : \text{H}_2\text{O} : \text{Glacial}$

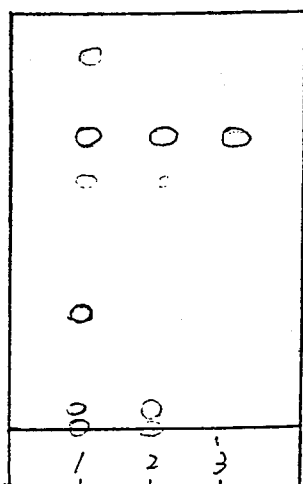
$\text{Acetic acid} / 7 : 2 : 1$

檢出方法與結果：紫外線 (波長 254 nm)

1. 芍藥甘草湯散劑.
2. 炙甘草
3. Glycyrrhizin, R_f值約 0.28.

t_{ic}

(0.4)



展開溶媒： $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} / 4 = 1$

檢出方法與結果：10% H_2SO_4

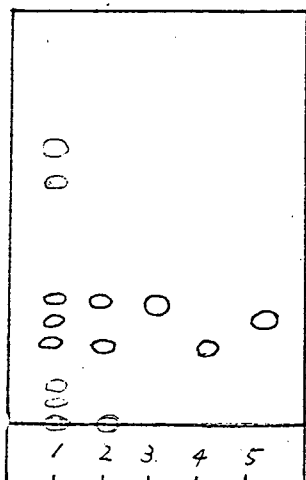
1. 芍藥甘草湯
2. 炙甘草
3. Glycyrrhetic acid, R_f值約 0.68

四. 小柴胡湯

薄層層析條件 =

層析板 = Silica gel 60 F₂₅₄

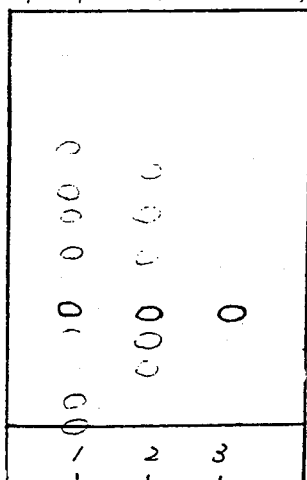
展開距離 = 7 cm



展開溶媒 = CHCl₃ = MeOH / 4 = 1

檢出方法與結果: 稀硫酸發色液 (10% H₂SO₄)

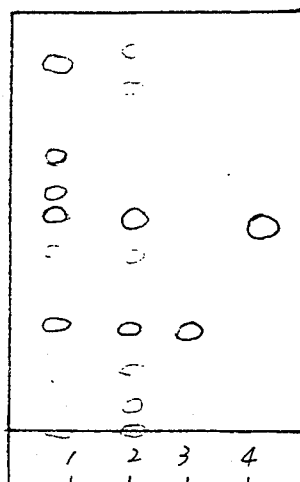
1. 小柴胡湯散劑
2. 柴胡
3. Saikosaponin a Standard, R_f值約 0.28
4. Saikosaponin c Standard, R_f值約 0.17
5. Saikosaponin d Standard, R_f值約 0.21



展開溶媒 = n-butanol = H₂O = Glacial Acetic acid / 7 = 2 = 1

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 254 nm)

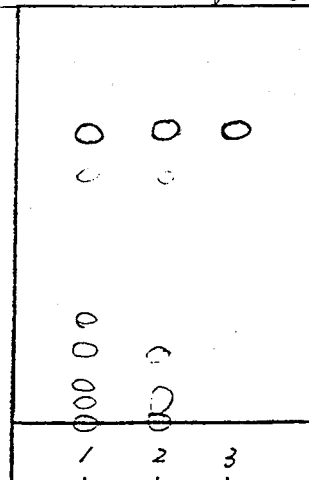
1. 小柴胡湯散劑
2. 甘草
3. Glycyrrhizin R_f值約 0.68



展開溶媒 = n-butanol = H₂O = Glacial Acetic acid / 7 = 2 = 1

檢出方法與結果: 稀硫酸發色液 (10% H₂SO₄)

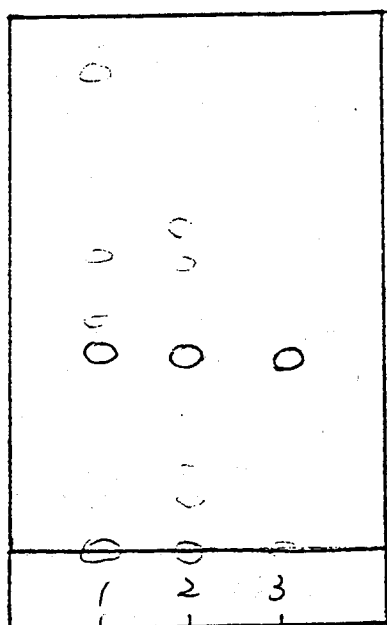
1. 小柴胡湯散劑
2. 人參
3. Ginsenoside Rb₁, R_f值約 0.24
4. Ginsenoside Rg₁, R_f值約 0.48



展開溶媒 = CHCl₃ = MeOH / 4 = 1

檢出方法與結果: 10% H₂SO₄

1. 小柴胡湯散劑
2. 甘草
3. Glycyrrhetic acid, R_f值約 0.68



展開溶媒： $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} / 9 = 1$

檢出方法與結果：氧化鐵發色液

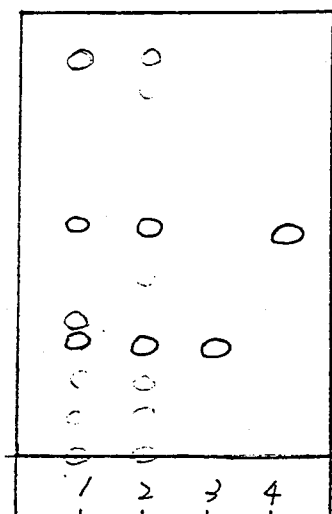
1. 小柴胡湯散劑
2. 黃芩
3. Baicalarin Standard, R_f 值約0.35, 暗綠色。

五. 文君子湯

薄層層析條件:

層析板: Silica gel 60 F₂₅₄

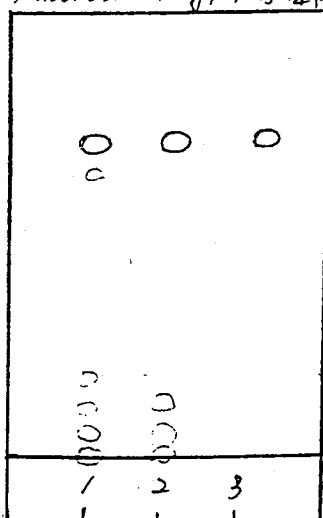
展開距離: 7 cm



展開溶媒: n -butanol: H₂O: Glacial Acetic acid
1/1/2=1

檢出方法與結果: 10% H₂SO₄

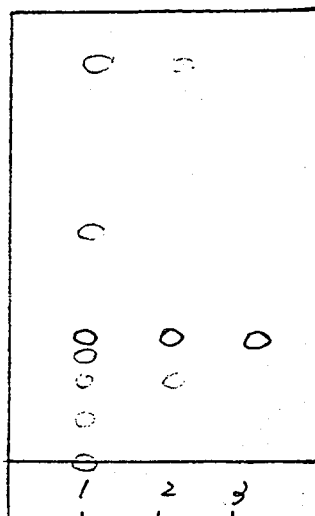
1. 文君子湯散劑
2. 人參
3. Ginsenoside R_{b1}, R_f值約 0.24
4. Ginsenoside, R_{g1}, R_f值約 0.98



展開溶媒: CHCl₃: MeOH / 4=1

檢出方法與結果: 10% H₂SO₄

1. 文君子湯散劑
2. 炙甘草
3. Glycyrrhetinic acid, R_f值約 0.68.



展開溶媒: 如左

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 254 nm)

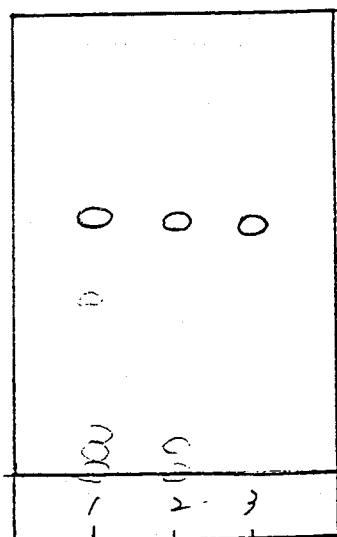
1. 文君子湯散劑
2. 炙甘草
3. Glycyrrhizin, R_f值約 0.28

三. 三黃瀉心湯

薄層層析條件:

層析板: Silica gel 60 F₂₅₄

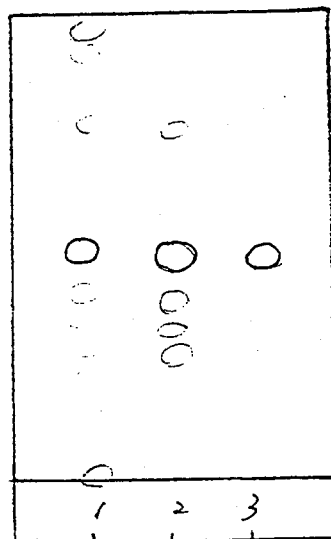
展開距離: 7cm



展開溶媒: $CHCl_3$: MeOH / $q=1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 366nm)

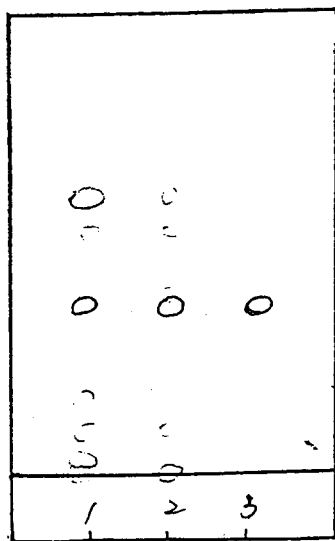
1. 三黃瀉心湯散劑
2. 大黃
3. Emodin Standard, Rf值約 0.51.



展開溶媒: n -butanol : H₂O : Glacial Acetic acid / $7:2:1$

檢出方法與結果: 紫外線 (波長 366nm)

1. 三黃瀉心湯散劑
2. 黃連
3. Berberine Standard, Rf值約 0.48, 黃色螢光.



展開溶媒: $CHCl_3$: MeOH / $q=1$

檢出方法與結果: 氯化鐵發色液

1. 三黃瀉心湯散劑.
2. 黃芩
3. Baicalin Standard, Rf值約 0.35, 暗綠色.

HPLC圖譜鑑定部份

摘要

市售中藥方劑中因含多味藥材，成分極為複雜，無法以普通化學定量法精確測定其成分含量，維其如此，所以至今一般中藥廠仍無適切可遵行之檢驗方法，做品質管制之依據。目前我國藥政工作正推行「優良藥品製造標準」及建立「藥品完全資訊與評估制度」，因此本報告乃針對此目的，進行中藥之檢驗研究，利用分離解析度較大的高效能液相層析分析法檢驗中藥複方成分，最後更進一步使用三次元 (3D) 高效能液相層析儀，並比對單離成分的紫外線全光譜，以確定指標成分分析之可信度。

緒言：

市售中藥會因產生品種不同，而有成分之差異，因此藥理作用有時也不盡相同而評價生藥的質量除了傳統上通過形態官能來把握生藥的特性外，目前已演進到使用儀器分析，以達到控制有效成份含有量和不純物而使用的定性定量測定法。應用層析分析法，可使檢驗的敏感度高到 10^{-6} — 10^{-9} g之程度因此對微量之分析有很大之幫助，目前我國藥政單位已界定一些常用中藥方劑之薄層層析圖譜對中藥之製劑有了初步的品管和規格之檢驗標準，然而中藥之複方成分相當複雜薄層分析法可能已不敷實際之定性、定量、分析要求，因此本研究改以具有較高解離度之高效能層析儀作為分析工具，以遂行中藥複方之檢驗品管工作。

實驗方法：

(I) 儀器裝置：

三次元 HPLC : Shimadzu HPLC Chromatograph

Pump : LC-6AD (兩台)

System Controller : SCL-6B

Photodiode Array Detector : Shimadzu SPD-M6A

NEC Pinwriter P5300

(II) 中藥處理程序：

各中藥複方方劑依比例配取約 5gm，粉碎後稱取 1gm 重方劑置于 Soxhlet extractor 中，用 $\text{MeOH}:\text{disH}_2\text{O}/1:1$ 連續萃取，濃縮後稀釋於 50ml 之定量瓶中，經過濾後取 3ml 作 HPLC 之檢體。

(III) 高效能層析分析條件：

管 柱：Interstil ODS-2 (5 μ , 4.6 mm \times 25 cm)

沖提溶液：[Exp. 1] Solvent A : 70% CH_3CN in H_2O

B : 0.1% H_3PO_4 in H_2O

Linear gradient from 4% solvent

A to 90% solvent A in 90 min.

[Exp. 2] Solvent A : CH_3CN

B : 0.05% H_3PO_4 in H_2O

Linear gradient from 4% solvent

A to 90% solvent A in 60 min.

[Exp. 3] Solvent A : 70% CH_3CN in H_2O

B : 0.1% H_3PO_4 in H_2O

Linear gradient from 4% solvent

A to 85% solvent A in 90 min.

流 速：1.20 mL/min

(IV) 中藥複方方劑：

選用消遙散、茵陳蒿湯、芍藥甘草湯等三種方劑，每種方劑之藥材，比率如下：

一、消遙散	北柴胡	九錢 (33.75gm)
(P. 118)	當歸 (陝西、酒洗)	九錢 (33.75gm)
	白芍 (杭州、酒炒)	九錢 (33.75gm)
	白朮 (土炒)	九錢 (33.75gm)
	茯苓 (雲南)	九錢 (33.75gm)
	炙甘草	四錢半 (16.88gm)
	煨薑	二錢七分 (10.13gm)
	薄荷	二錢七分 (10.13gm)
	藥重 5.49 兩 (206gm)	
二、茵陳蒿湯	茵陳	三兩六錢 (135gm)
(P. 249)	大黃 (四川)	一兩二錢 (45gm)
	梔子 (炒)	六錢 (22.5gm)
	藥重 5.4 兩 (203gm)	
三、芍藥甘草湯	白芍 (杭州、酒炒)	二兩七錢 (101.25gm)
(P. 115)	炙甘草	二兩七錢 (101.25gm)
	藥重 5.4 兩 (203gm)	

(V) 三次元 HPLC 圖譜分析如下列：圖一至圖三。

(VI) 本報告中所選用之三種複方其中二種，即消遙散、芍藥甘草湯均含有甘草之成分，而甘草中之主成分之一為甘草酸 (Glycyrrhizin)。因此利用甘草酸作為指標成分，很容易作精確的定性或定量。因為三次元的 HPLC 可作出任何分離波峰之紫外全光譜，因此對應于甘草酸之波峰亦可作出UV光譜（如圖一&三），確認對應之波峰為一單一成分（甘草酸），UVmax 均在 252nm，茵陳蒿湯以 Geniposide 為指標成分，其 UVmax 241nm（如圖二）

結 論：

利用三次元高效能層析儀，更能有效精確的作中藥複方品管檢驗，唯中藥複方成份複雜，因此要精確的作定量或定性分析，有賴標準品之搜集，除了部份標準品可購得外，大部份均需額外花費人力、時間，從單味藥材中抽取，因此希望能有相關規劃之計劃，作標準品之抽取、分離，俾利中藥複方指標成分之建立。

Exp. 4.

三消還散(工)

HPLC Condition

HPLC: Shimadzu LC-6AD
Column: Interstil ODS-2 (5 μ , 4.6 mm x 25 cm)
Mobile Phase: Solvent A: 70% CH₃CN in H₂O
B: 0.1% H₃PO₄ in H₂O
Linear gradient from 4% solvent A to
90% solvent A in 90 min.
Flow Rate: 1.20 mL/min
Detection: Photodiode Array UV detector (SPD-M6A)
Temperature: Ambient
Volume Injected: 20 μ L

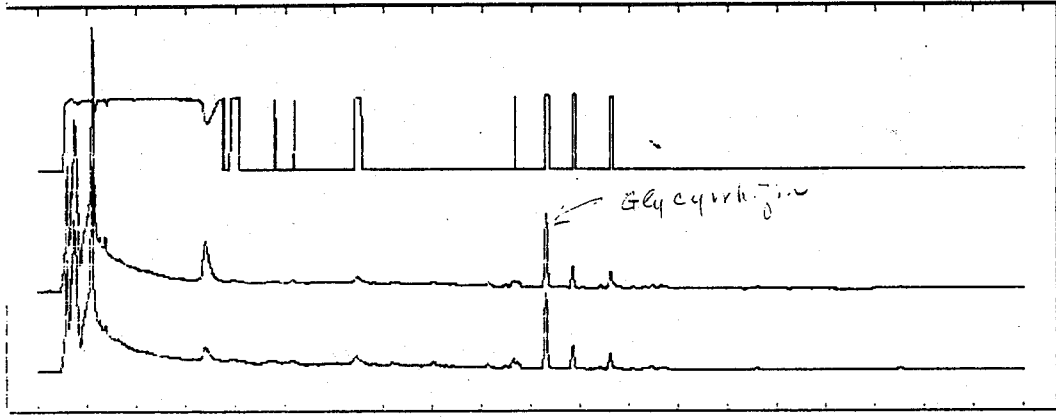
④ — [Result]

Glycyrrhizin (glycyrrhizic acid)

RT: 46.40 min

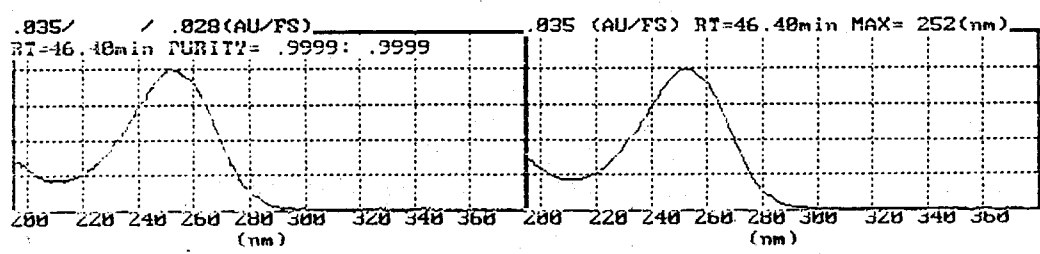
UV max at 252 nm.

*SPD-M6A POST ANALYSIS multi-chromatogram CH1 CH2 CH3
 CH1: 254-254(nm) CH2: 240-260(nm)



ABS./FS: .2 MIN/DIO: 4.5 TIME(min): -2.85 ABS.: 0.2000

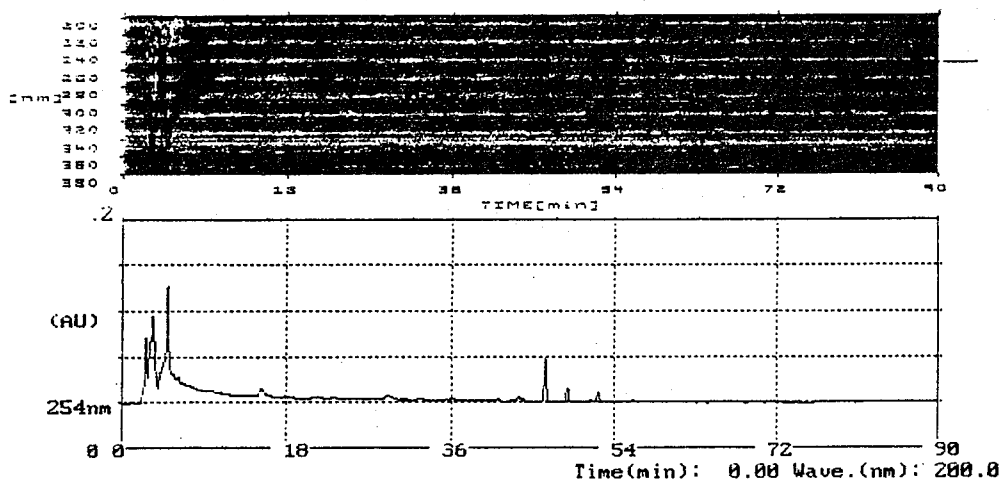
FILE NAME: YICEOL DATE:07-05-1991
 STORAGE TIME(min): 0 - 96.6 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



F7

*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

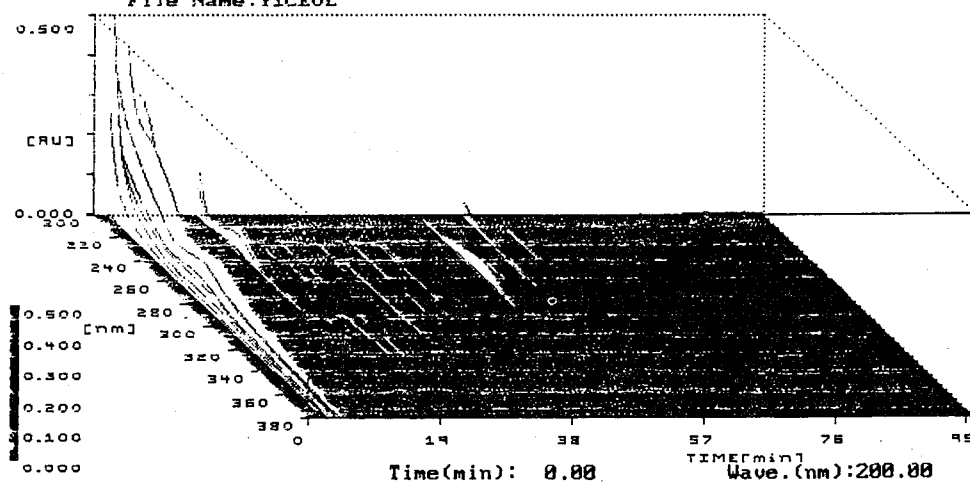
'HOME' ->Page2



FILE NAME: c:\VICEOL DATE:07-06-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 96.6 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:VICEOL

'HOME' ->Page2



FILE NAME: VICEOL DATE:07-06-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 96.6 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

三環雜質(II)

HPLC Condition

HPLC: Shimadzu LC-6AD

Column: Interstil ODS-2 (5 μ , 4.6 mm x 25 cm)

Mobile Phase: Solvent A: CH_3CN
B: H_2O

Linear gradient from 2% solvent A to
90% solvent A in 30 min.

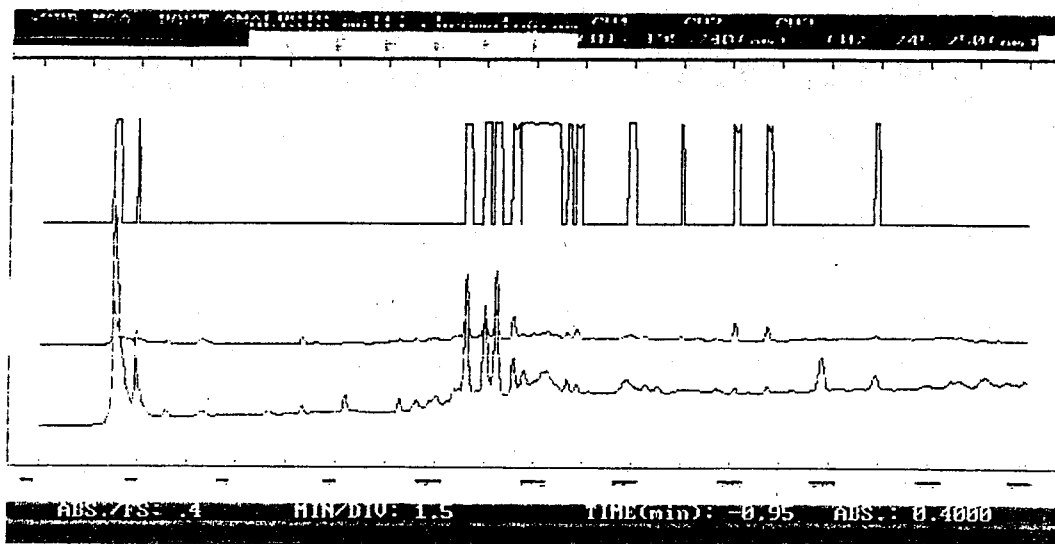
Flow Rate: 1.00 mL/min

Detection: Photodiode Array UV detector (SPD-M6A)

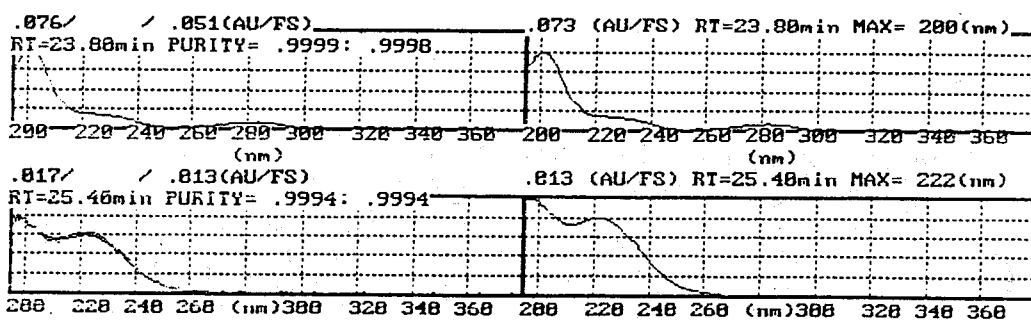
Temperature: Ambient

Volume Injected: 20 μL

酒造散



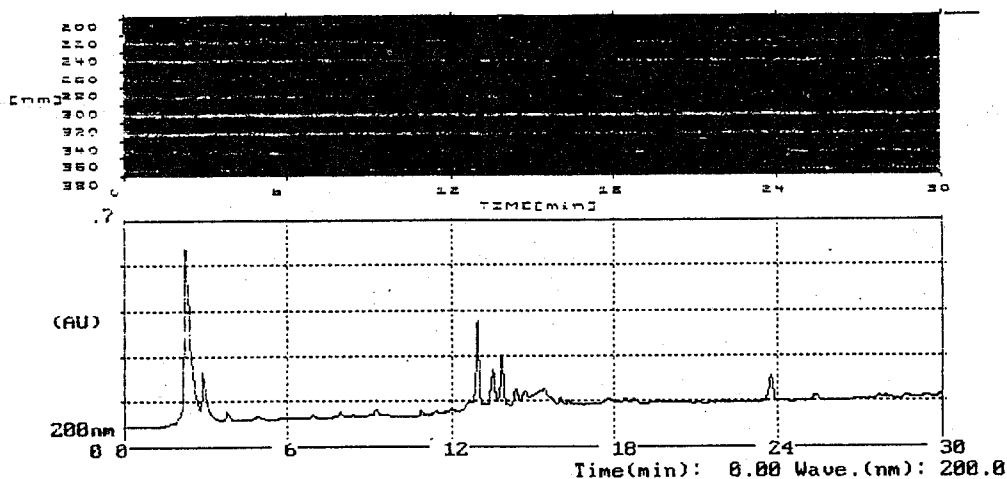
FILE NAME: YICE DATE: 07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s)



消遣散

*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

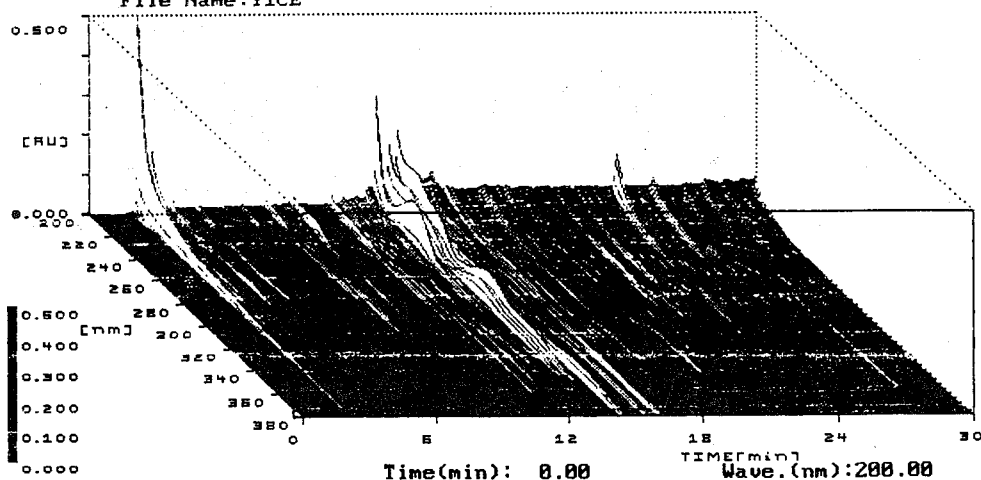
'HOME' ->Page2



FILE NAME: Y1CE DATE:07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s)

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:Y1CE

'HOME' ->Page2

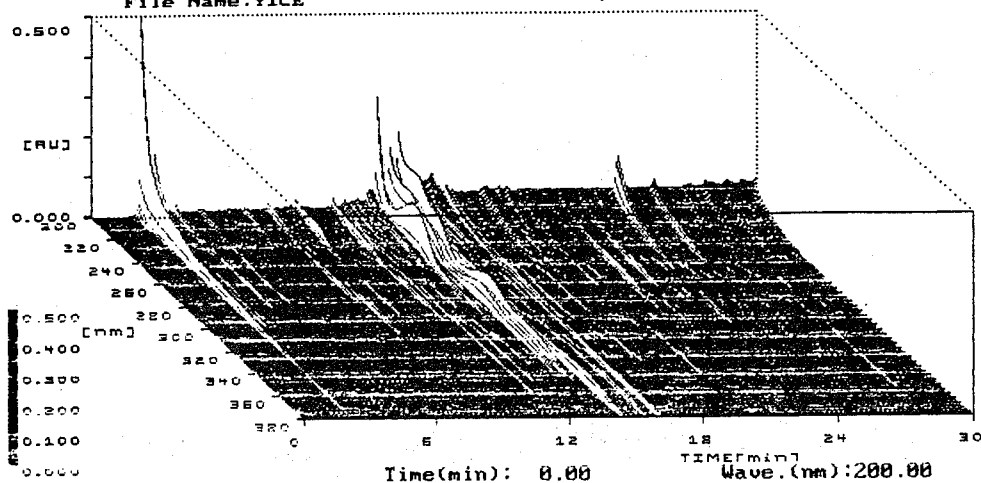


FILE NAME: Y1CE DATE:07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s)

有遷移

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name: VICE

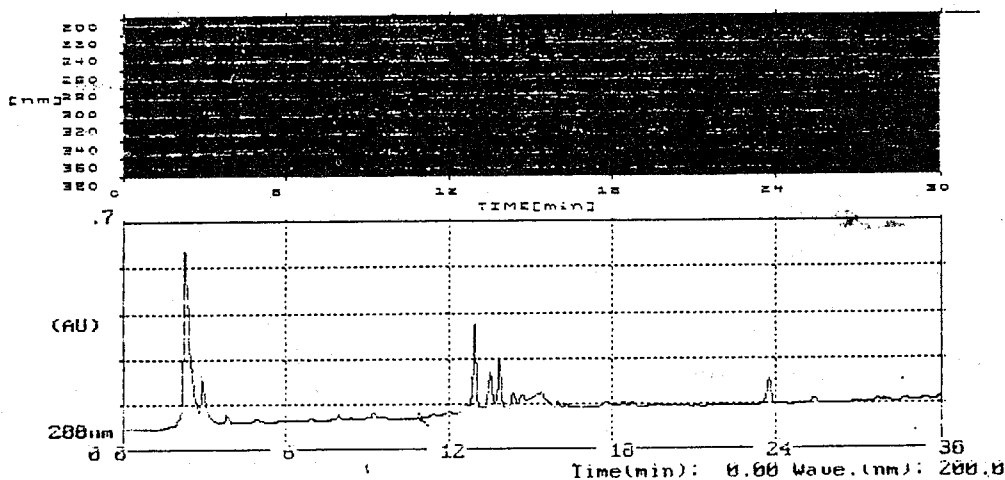
'HOME' -> Page2



FILE NAME: VICE DATE: 07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

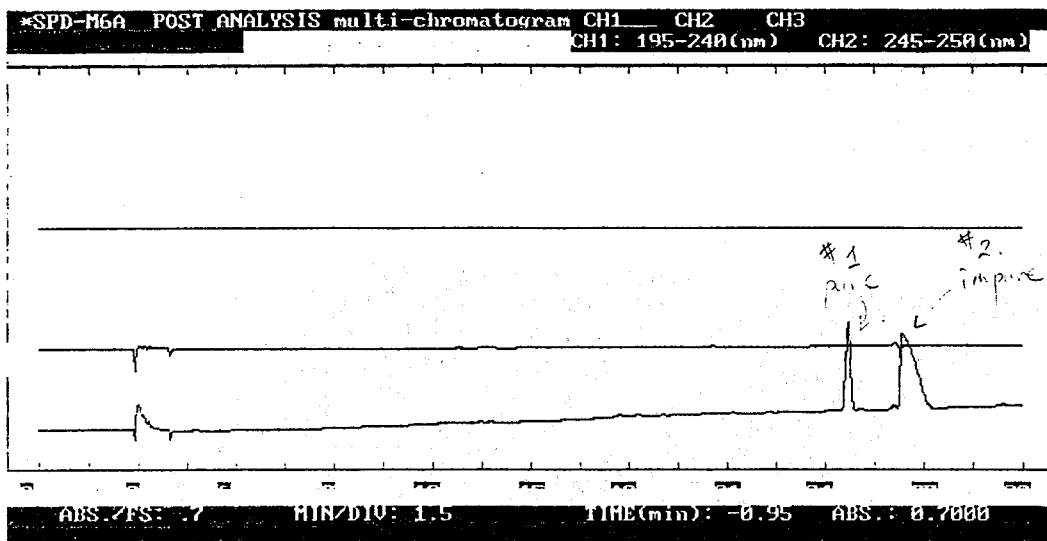
*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

'HOME' -> Page2

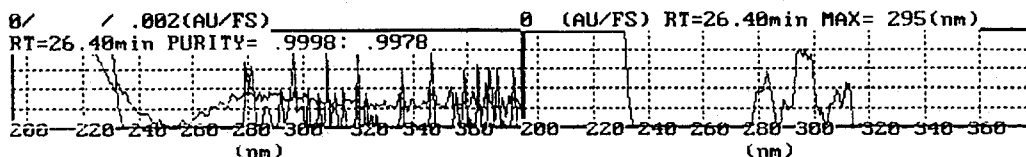
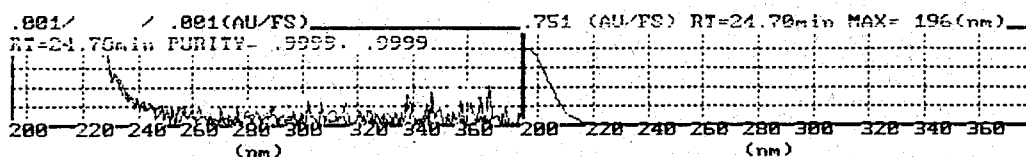


FILE NAME: VICE DATE: 07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

Menthol



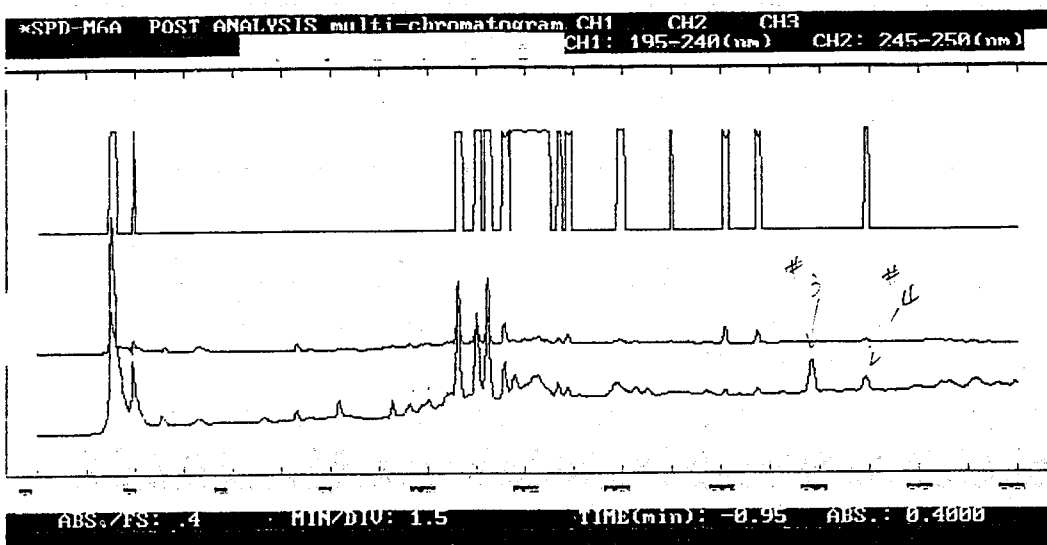
FILE NAME: YIM DATE: 07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 29.99 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 1.28



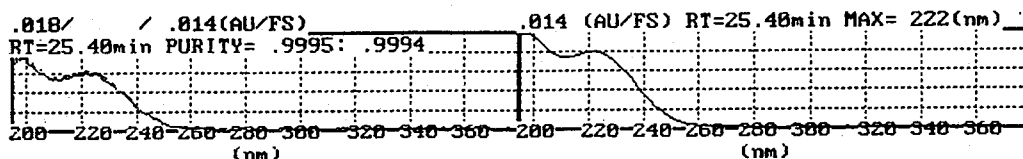
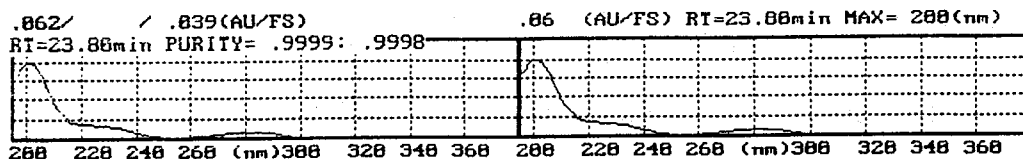
F7 -> PRINT, 'HOME' -> Page1

FILE NAME: YIM DATE: 07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 29.99 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 1.28

消選波



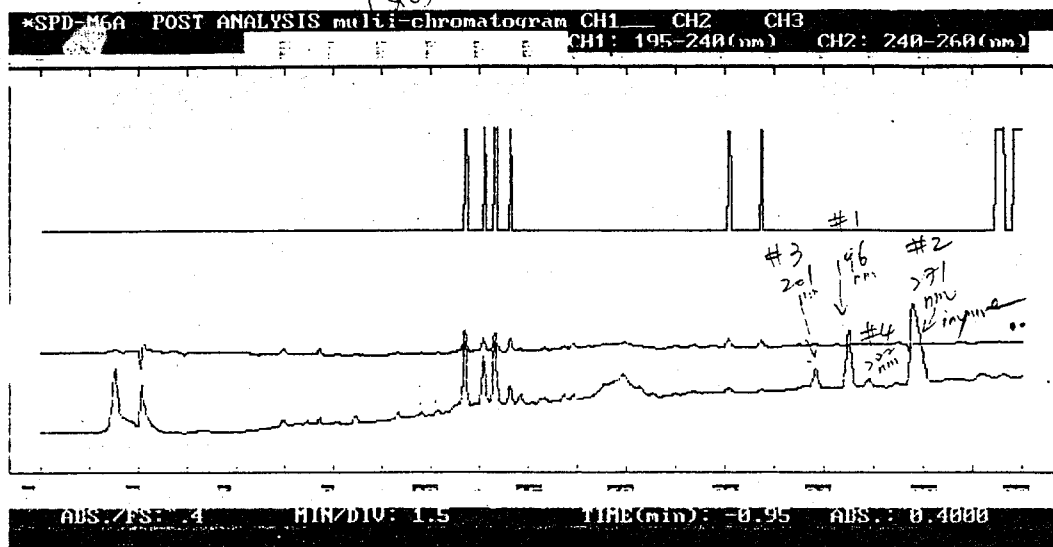
FILE NAME: YICE DATE:07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



F7 —> PRINT , 'HOME' —> Page1

FILE NAME: YICE DATE:07-05-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

消遙散 ext + Menthol (std)



FILE NAME: Y1MIX DATE: 07-06-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

即 消遙散, menthol 及 其 mixture 之 圖譜

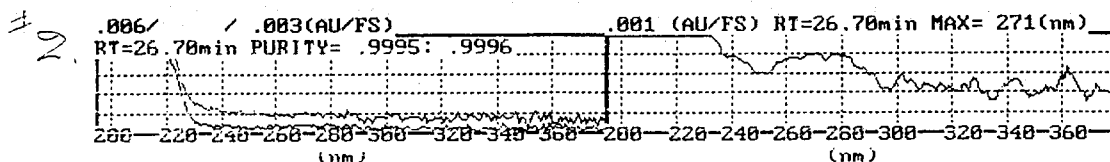
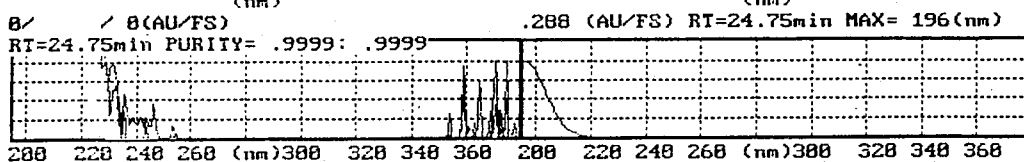
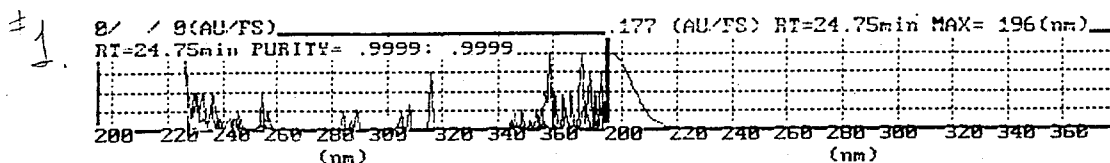
- (1) menthol (std) 有 two peaks, 標明 #1, #2 於各 uv pattern 及 max absorb data
- (2) 消遙散 #3, #4 各 uv pattern 及 max absorb data, 和 menthol 不同
- (3) (1)+(2) mixture 圖譜, 發現 four peaks. 請見分析圖

討論 ① 消遙散 Menthol 之 std. 有問題, 需再找較純者再試

② 另 try 在 裝 胡 胡 粉 tube 內 幾 滴 有 內容 物, 以 50 μ l MeOH 溶之. HPLC 分析 結果 僅 得 Baseline, no result *

③ 綜上, 消遙散 僅 以 "Glycyrrhizic" (std) 訂出 *

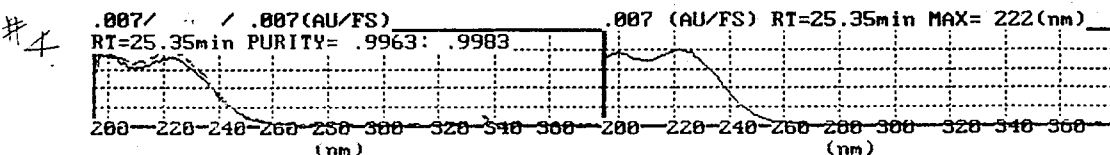
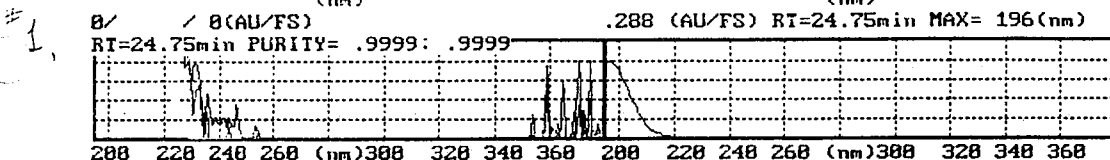
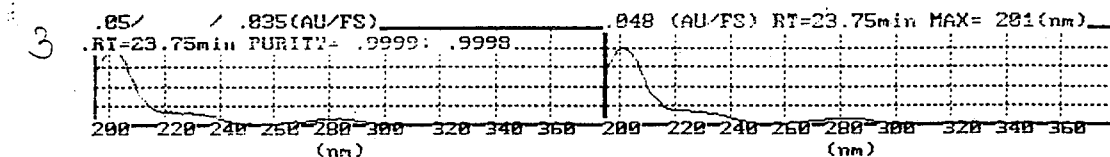
薄荷醇 ext + menthol



F7 --> PRINT , 'HOME' --> Page1

FILE NAME: Y1MIX DATE:07-06-1991

STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



F7 --> PRINT , 'HOME' --> Page1

FILE NAME: Y1MIX DATE:07-06-1991

STORAGE TIME(min): 0 - 30 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

Exp. 2

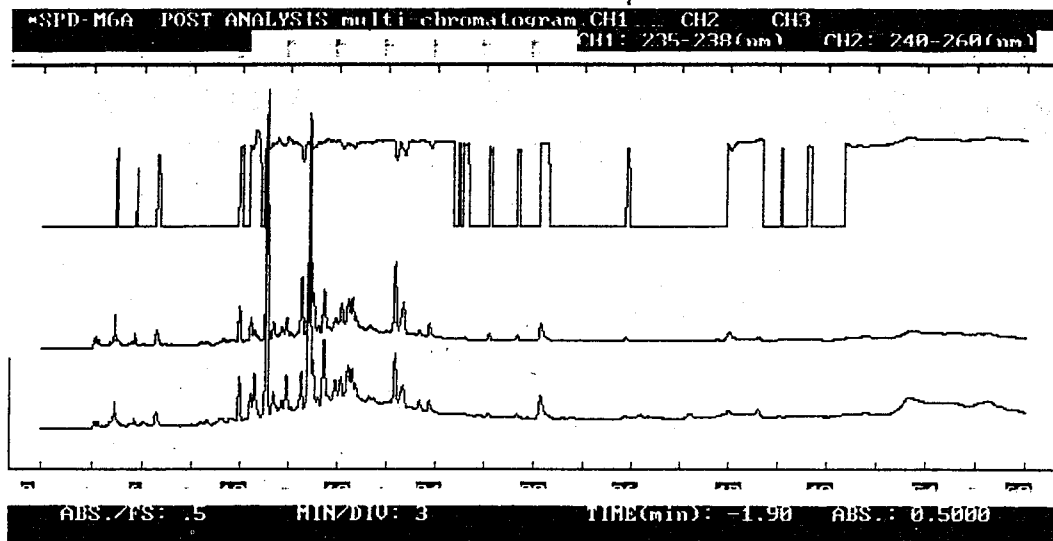
HPLC Condition

HPLC: Shimadzu LC-6AD
Column: Interstil ODS-2 (5 μ , 4.6 mm x 25 cm)
Mobile Phase: Solvent A: CH₃CN
B: 0.05% H₃PO₄ in H₂O
Linear gradient from 4% solvent A to
90% solvent A in 60 min..
Flow Rate: 1.20 mL/min
Detection: Photodiode Array UV detector (SPD-M6A)
Temperature: Ambient
Volume Injected: 20 μ L

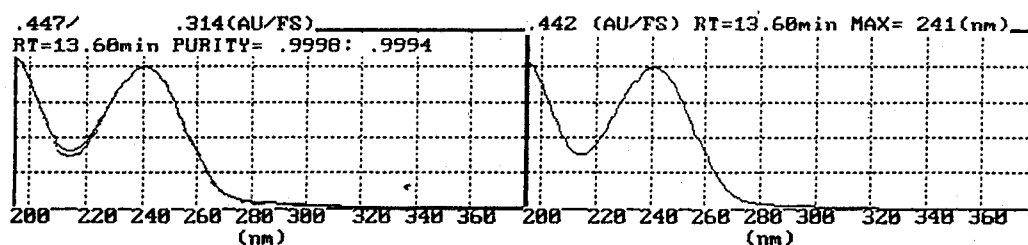
 =

[Result]

Geniposide RT: 13.6 min
UV max at 241 nm.



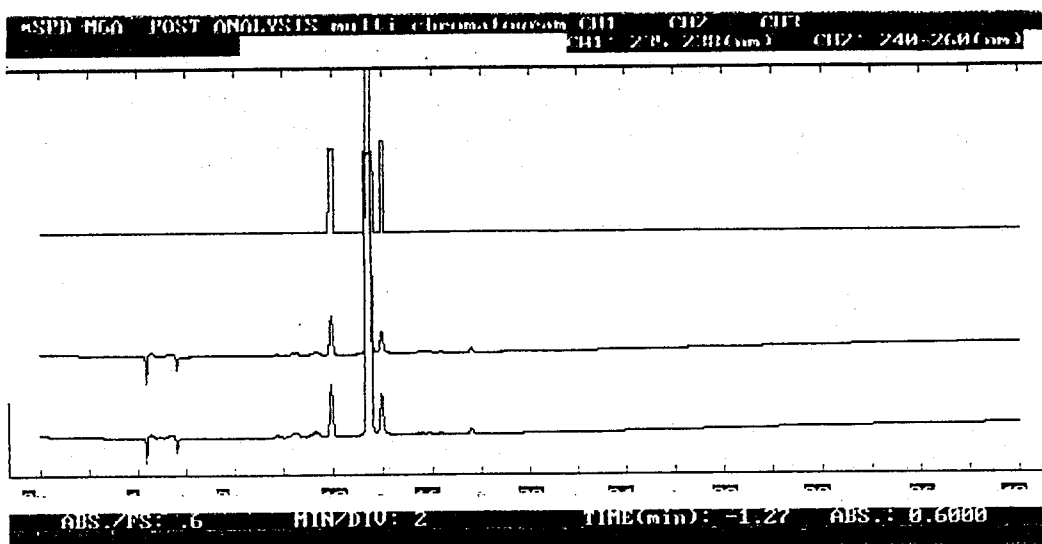
FILE NAME: c:Y260 DATE:07-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



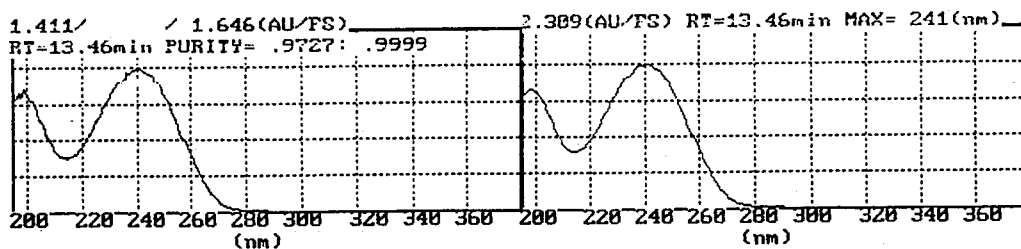
F7 —> PRINT , 'HOME' —> 'Page1

FILE NAME: c:Y260 DATE:07-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

Geniposide



FILE NAME: Y2GEN DATE:07-29-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 40 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

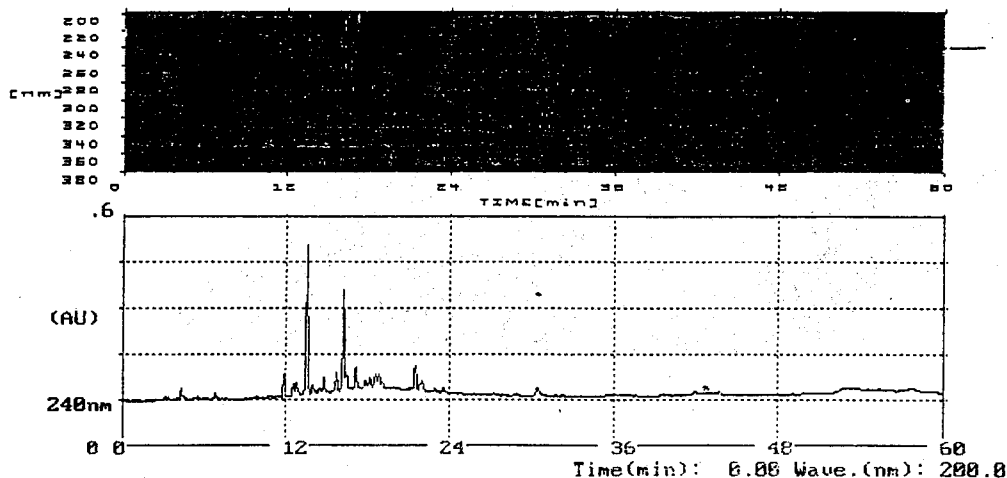


F7 —> PRINT , 'HOME' —> Page1

FILE NAME: Y2GEN DATE:07-29-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 40 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

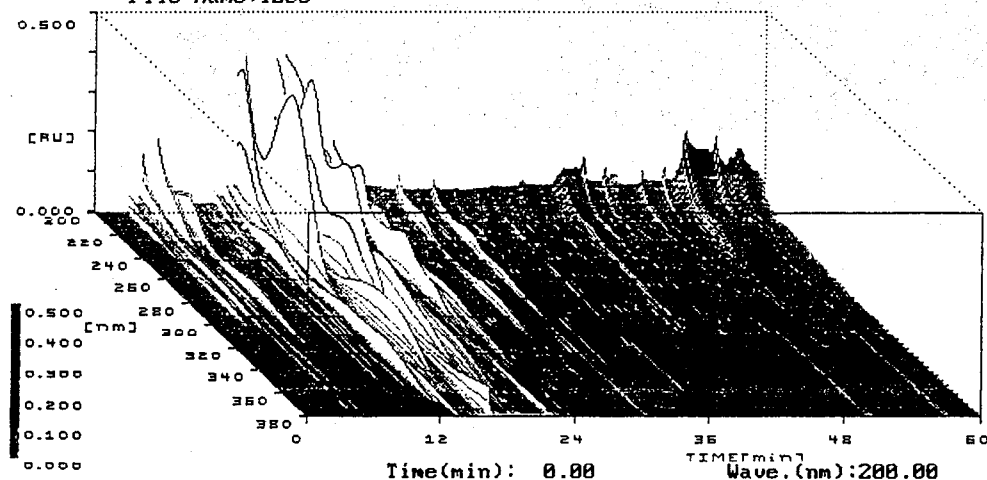
'HOME' ->Page2



FILE NAME: Y260 DATE: 07-30-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name: Y260

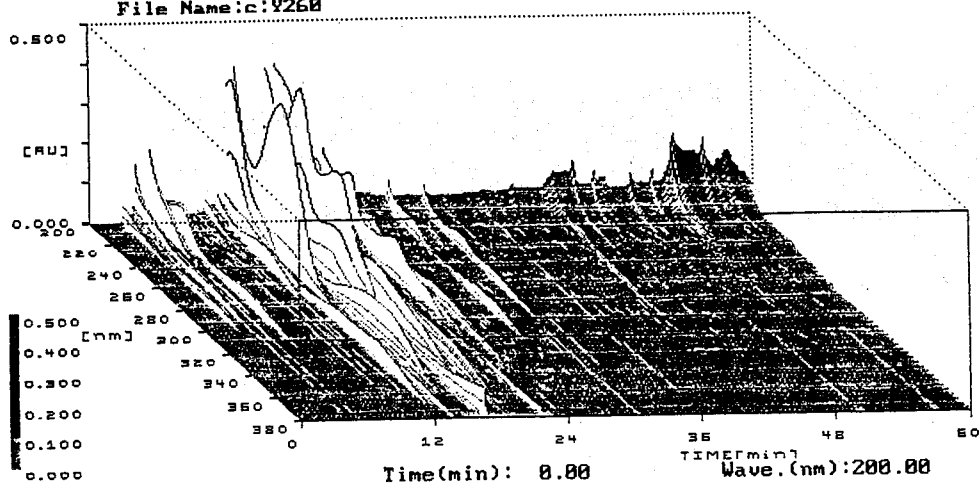
'HOME' ->Page2



FILE NAME: Y260 DATE: 07-30-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS: D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:c:Y260

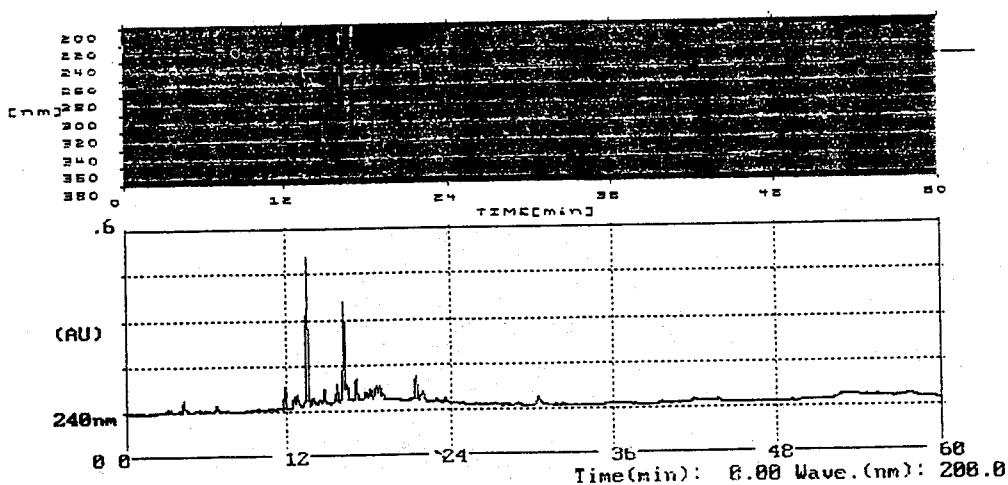
'HOME' ->Page2



FILE NAME: c:Y260 DATE:07-30-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

'HOME' ->Page2



FILE NAME: Y260 DATE:07-30-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 60 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

Exp. 3

芍藥甘草湯

HPLC Condition

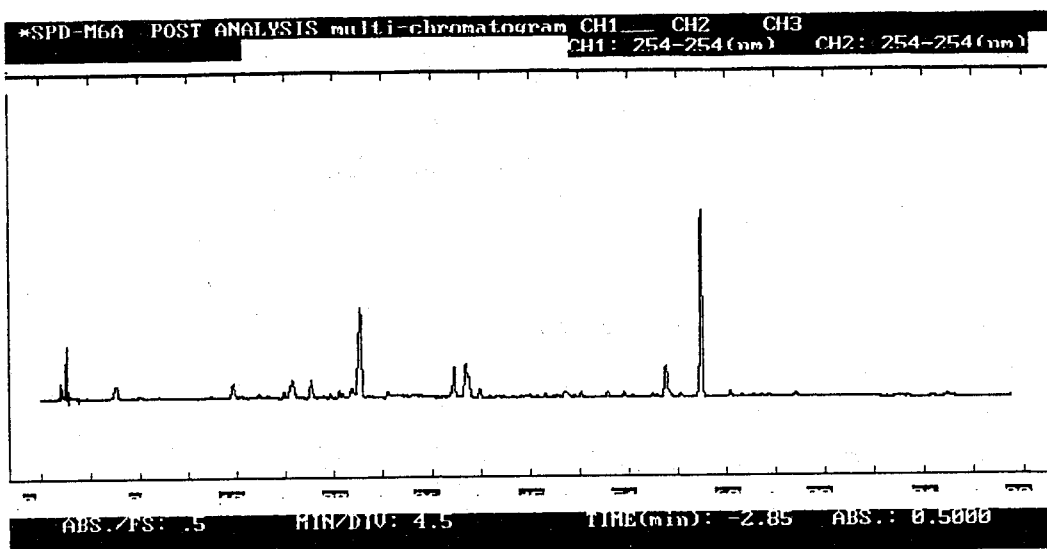
HPLC: Shimadzu LC-6AD
Column: Interstil ODS-2 (5 μ , 4.6 mm x 25 cm)
Mobile Phase: Solvent A: 70% CH₃CN in H₂O
B: 0.1% H₃PO₄ in H₂O
Linear gradient from 4% solvent A to
85% solvent A in 90 min.
Flow Rate: 1.20 mL/min
Detection: Photodiode Array UV detector (SPD-M6A)
Temperature: Ambient
Volume Injected: 20 μ L

[Result]

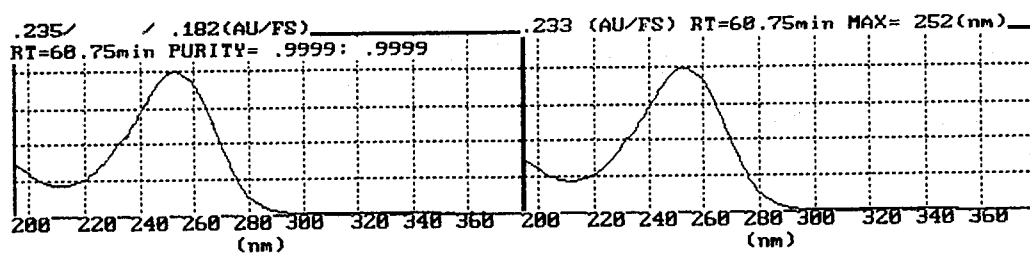
Glycyrrhizin (glycyrrhizic acid)

RT: 60.75 min

UV max at 252 nm.



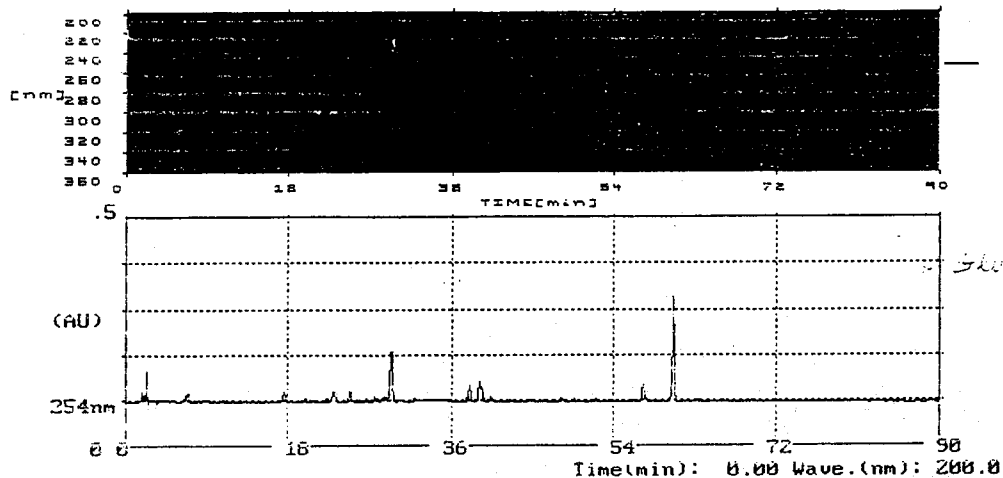
FILE NAME: c:Y3SOUK DATE:07-04-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 90 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



芳族化合物

*SPD-M6A POST ANALYSIS Contour Plot

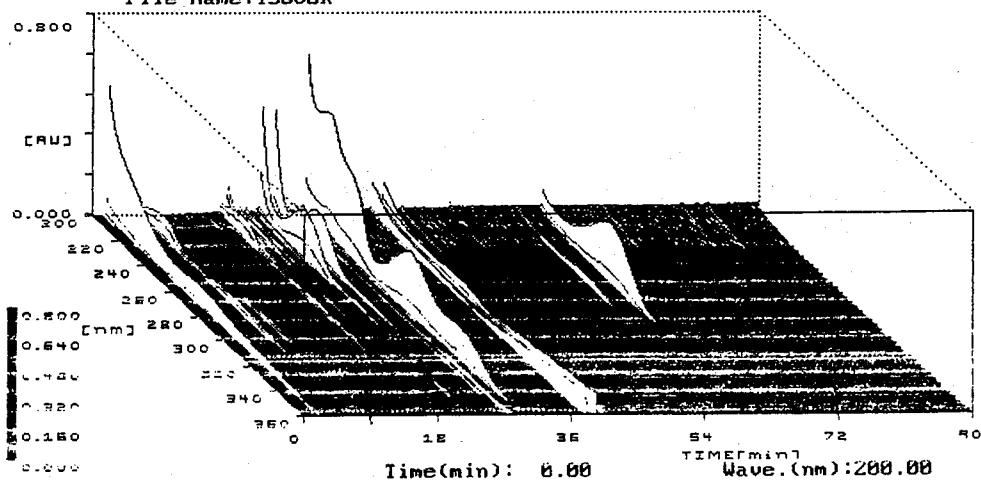
'HOME' -> Page2



FILE NAME: Y3SOUK DATE:06-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 90 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

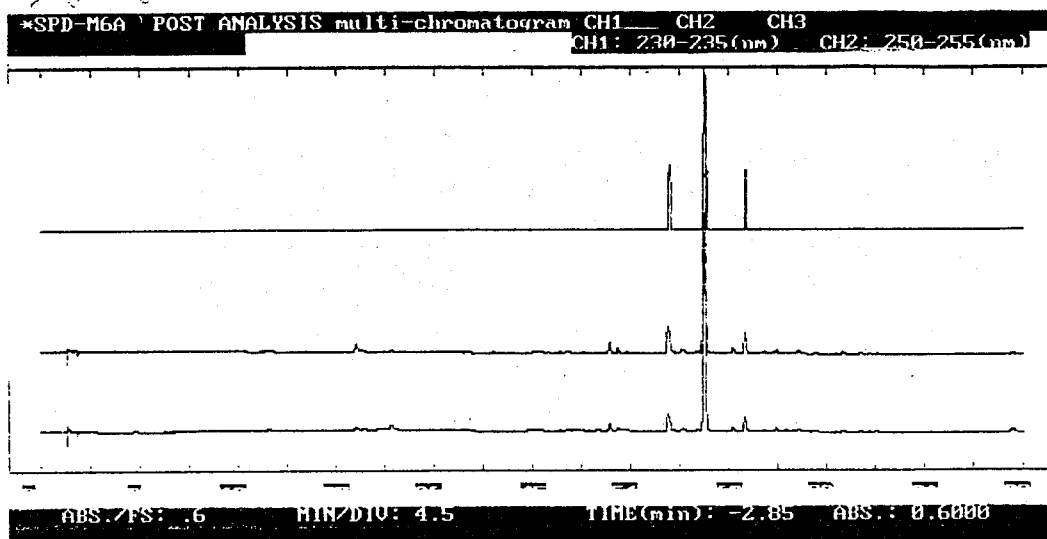
*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name: Y3SOUK

'HOME' -> Page2

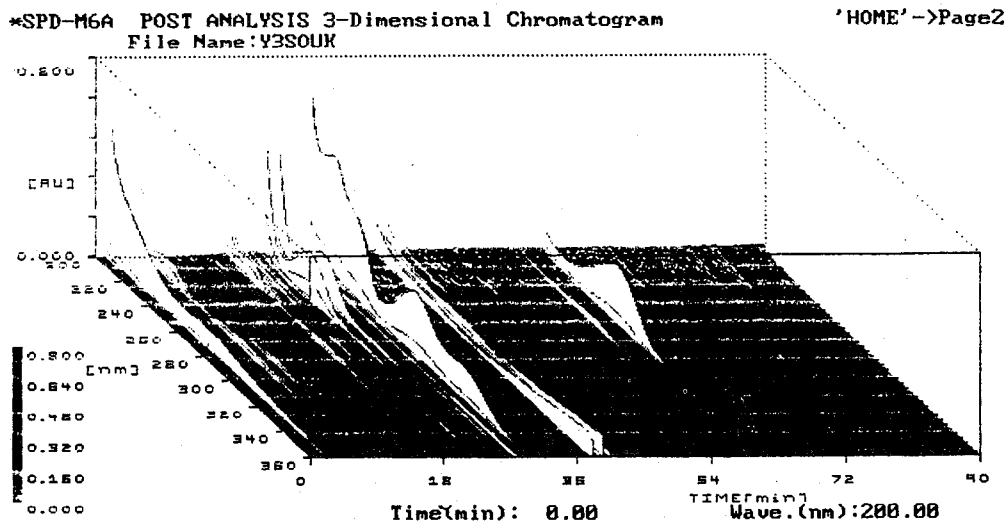


FILE NAME: Y3SOUK DATE:06-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 90 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

glycylglycine



FILE NAME: Y3GLY DATE:06-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 90 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2



FILE NAME: Y3SOUK DATE:06-26-1991
STORAGE TIME(min): 0 - 90 LAMP STATUS:D2 *** 195-380(nm) TIME CONST.(s): 2

中醫免疫調節劑之研究IV

台北醫學院藥學研究所生藥學科

顏焜熒 · 楊玲玲

摘要

傳統之中國醫藥無論在過去，還是在目前對免疫學發展有很大的貢獻。吾人認為疾病是人體正氣同病邪之相爭鬥，正氣之強弱乃決定於疾病之發生與否？此乃中國醫學中治療疾病用藥所謂之「扶正祛邪」法則。而具有「扶正祛邪」之藥物中包括傳統中藥中之補益、強壯方劑，即作用於免疫系統，並發揮其免疫疾病之防治作用。本研究闡明「中藥補益」方劑——清暑益氣湯、人參養榮湯、八味地黃丸、六味地黃丸、生脈飲，對免疫系統之調節作用。利用血球凝集試驗法以及直接螢光染色法，分別測定抗體力價，T 淋巴細胞及其亞群細胞之輔助性 T 細胞/ 抑制性 T 細胞 (Th / Ts) 之比值，以闡明補血、補氣方劑之免疫增強作用機制，並期開發有效之免疫中藥增強劑。

前言

癌症病人之免疫機能皆比正常人低，因此目前臨床上亦有使用免疫療法，即使促進調節細胞免疫性反應，以增加宿主防禦之藥物，即為各國醫療界共同研究開發之免疫增強劑 (immunopotentiator)。

臨床常用之免疫治療劑如 BCG, *Corynebacterium parvum*, OK-432, Lentinan 等已被證明具有免疫增強作用。而中藥之作用為多樣性的，並具有雙向調節之作用，配合西藥療法，中藥常可減輕副作用，緩和症狀及康復期之調理，甚至有時中藥之效果比西藥更具潛力，乃中藥具有整體概念和辨症治療，如重視整體調節即與現代免疫之觀點相吻合。

個體免疫系統之免疫反應機制主要可分為二種型式：體液性免疫反應 (Humoral immunity) 及細胞性免疫反應 (Cell-mediated immunity, CMI)。這兩種免疫機制皆由淋巴細胞所主宰。淋巴細胞依其來源之不同可分為 B 淋巴細胞 (B-lymphocyte, B-cell) 及 T 淋巴細胞 (T-lymphocyte, T-cell)。

T 淋巴細胞負責細胞性免疫反應，例如遲發型過敏反應 (Delayed type hypersensitivity, DTH)。移植排斥反應 (Graft rejection)，細胞促成性細胞毒作用 (Cell-mediated cytotoxicity, CMC) 及分泌淋巴激素 (Lymphokine)。T 細胞依

其功能之不同大至可分為三類 (1)輔助性 T細胞 (Help T-cell, Th) (2)抑制性 T細胞 (Suppressor T-cell, Ts) (3)細胞毒性 T細胞 (Cytotoxic T-cell, Tc) 輔助性 T細胞可促進細胞性免疫反應之進行；抑制性 T細胞與輔助性 T細胞之作用相反，當體內抑制性 T細胞增加時，免疫功能常出現低的現象，例如許多癌症病人，免疫功能常低於正常人而抑制性 T細胞則往往高於正常值。細胞毒性 T細胞主要負責體內受病毒 (Virus)、真菌 (Fungi)、分枝桿菌 (Mycobacteria) 及其他微生物入侵時，對這些微生物或受感染之細胞產生細胞毒殺作用，或組織移植時發生排斥現象，及對腫瘤細胞產生特異細胞毒 (Specific cytotoxicity) 等。

傳統醫學治療疾病用藥有所謂之「扶正祛邪」法則，而具有「扶正祛邪」之藥物中包括傳統中藥中之補益、強壯方劑，即作用於免疫系統，並發揮其免疫疾病之防治作用。本研究闡明「中藥補益」方劑—清暑益氣湯、人參養榮湯、八味地黃丸、六味地黃丸、生脈飲，對免疫系統之調節作用，利用血球凝集試驗法以及直接螢光染色法，分別測定抗體力價，T 淋巴細胞及 T 淋巴細胞及其亞群細胞之輔助性 T細胞 / 抑制性 T細胞 (Th / Ts) 之比值。以闡明補血、補氣方劑之免疫增強作用機制，並期開發有效之免疫中藥增強劑。

免疫增強劑、免疫抑制劑均屬免疫調節劑，臨床上身體之免疫機能低下者需改善使其免疫機能增加；相反的免疫機能亢進者，則需加以抑制，總之利用藥劑使其回復至正常狀態，即所謂免疫調節劑 (Immunomodulator)，而理想之藥物即期待恢復後，對正常之免疫狀態不發生影響。此免疫調節劑通常分為免疫增強劑 (Immunopotentiator) 及免疫抑制劑 (Immunoregulator)。

近年來由於免疫功能降低之癌症病人、B 型肝炎病人以及免疫功能不全之 AIDS 病人，已成為目前醫療上一大難題。如何增加其免疫力，是醫界正待解決之問題。而中藥補血、補氣藥物之「扶正」即在改善免疫力，增加抵抗力。人體之免疫系統之細胞性免疫，T 淋巴細胞是負責細胞反應之主要監視系統，而 T 淋巴細胞可毒殺由體外侵入之微生物或感染之細胞，對腫瘤細胞亦產生特異細胞毒，同時 T 細胞中輔助 T細胞可促進細胞性免疫反應，抑制 T細胞則降低免疫現象，因此本研究除測定補益方劑對 total T 淋巴細胞之作用外，T Helper cell 及 T Supressor cell 之比率亦十分重要一併測定。其它與免疫力有關之抗體力價，抗原反應等均一併加以測定。以闡明補益中藥方劑之免疫調節機理，開發有效之免疫增加物質以供臨床免疫功能不全病人之治療藥物。

實驗材料及方法

中藥材料：由台北市生藥市場購入下列各藥材，並經鑑定後提供下列調劑處方用

- | | |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 黃耆 | <i>Astragalus mongholicus</i> Bunge, Leguminosae |
| 2. 人參 | <i>Panax ginseng</i> , Araliaceae |
| 3. 白朮 | <i>Atractylodes ovata</i> De Candolle, Compositae |
| 4. 蒼朮 | <i>Atractylodes lancea</i> DC., Compositae |
| 5. 青皮 | <i>Citrus reticulata</i> Blanco, Rutaceae |
| 6. 陳皮 | <i>Citrus reticulata</i> Blanco, Rutaceae |
| 7. 甘草 | <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer et DC., Leguminosae |
| 8. 麥冬 | <i>Ophiopogon chekiangensis</i> K. Kimura |
| 9. 當歸 | <i>Angelica sinensis</i> Diels, Umbelliferae |
| 10. 黃柏 | <i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht, Rutaceae |
| 11. 澤瀉 | <i>Alisma orientale</i> Juzepczuk, Alismataceae |
| 12. 升麻 | <i>Cimicifuga dahurica</i> Maxim, Ranunculaceae |
| 13. 葛根 | <i>Pueraria lobata</i> Ohwi, Leguminosae |
| 14. 桂心 | <i>Cinnamomum cassia</i> Blume, Lauraceae |
| 15. 丹皮 | <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews, Paeoniaceae |
| 16. 五味子 | <i>Schisandra chinensis</i> Baillon, Schisandraceae |
| 17. 茯苓 | <i>Poria cocos</i> Wolf, Polyporaceae |
| 18. 遠志 | <i>Polygala tenuifolia</i> Willd, Polygalaceae |
| 19. 白芍 | <i>Paeonia lactiflora</i> Pallas, Paeoniaceae |
| 20. 山藥 | <i>Dioscorea batatas</i> Decaisne, Dioscoreaceae |
| 21. 知母 | <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge, Liliaceae |
| 22. 山茱肉 | <i>Cornus officinalis</i> Sieb et Zucc., Cornaceae |
| 23. 薑 | <i>Zingiber officinale</i> Roscoe, Zingiberaceae |
| 24. 棗 | <i>Zizyphus jujuba</i> Miller, Rhamnaceae |
| 25. 地黃 | <i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>hueichingensis</i> Chao et Shih, Scrophulariaceae |

一、調劑補益方劑：

(1) 清暑益氣湯 (出典：李東垣方)

黃耆	Astragali Radix	1 錢
人參	Ginseng Radix	1 錢
白朮 (炒)	Atractylodis Rhizoma	1 錢
蒼朮	Atractylodis Lanceae Rhizoma	1 錢
神麴	Massa Midicata Fermentata	1 錢
青皮 (麩炒)	Citri Viridi Pericarpium	1 錢
陳皮	Citri Reticulatae Pericarpium	1 錢
甘草 (炙)	Glycyrrhizae Radix	1 錢
麥冬	Ophipogonis Tuber	1 錢
五味子	Schisandrae Fructus	1 錢
當歸 (酒炒)	Angelicae Sinensis Radix	1 錢
黃柏 (酒炒)	Phellodendri Cortex	1 錢
澤瀉	Alismatis Rhizoma	1 錢
升麻	Cimicifugae Rhizoma	1 錢
葛根	Puerariae Radix	1 錢
薑	Zingiberis Rhizoma	適量
棗	Zizyphi Fructus	適量

(2) 人參養榮湯 (出典：和劑局方)

人參	Ginseng Radix	1 錢
白朮	Atractylodis Rhizoma	1 錢
黃耆 (炙)	Astragali Radix	1 錢
甘草 (炙)	Glycyrrhizae Radix	1 錢
陳皮	Citri Reticulatae Pericarpium	1 錢
桂心	Cinnamomi Cortex	1 錢
當歸 (酒炒)	Angelicae Sinensis Radix	1 錢
熟地黃	Rehmanniae Radix	7 分
五味子 (炒)	Schisandrae Fructus	7 分
茯苓	Hoelen	7 分
遠志	Polygalae Radix	5 分
白芍	Paeoniae Radix	5 分
薑	Zingiberis Rhizoma	適量
棗	Zizyphi Fructus	適量

- | | | |
|-----------|-----------------------|-----|
| (3) 八味地黃丸 | (出典：仲景方) | |
| 地黃 | Rehmanniae Radix | 8 兩 |
| 山茱肉 | Corni Fructus | 4 兩 |
| 山藥 | Dioscoreae Rhizoma | 4 兩 |
| 茯苓 | Hoelen | 3 兩 |
| 丹皮 | Moutan Radicis Cortex | 3 兩 |
| 澤瀉 | Alismatis Rhizoma | 3 兩 |
| 知母 | Anemarrhenae Rhizoma | 3 兩 |
| 黃柏 | Phellodendri Cortex | 3 兩 |
| (4) 六味地黃丸 | (出典：仲景方) | |
| 地黃 | Rehmanniae Radix | 8 兩 |
| 山茱肉 | Corni Fructus | 4 兩 |
| 山藥 | Dioscoreae Rhizoma | 4 兩 |
| 茯苓 | Hoelen | 3 兩 |
| 丹皮 | Moutan Radicis Cortex | 3 兩 |
| 澤瀉 | Alismatis Rhizoma | 3 兩 |
| (5) 生脈飲 | (出典：千金要方) | |
| 人參 | Ginseng Radix | 5 分 |
| 麥冬 | Ophiopogonis Tuber | 5 分 |
| 五味子 | Schisandrae Fructus | 7 粒 |

二、試驗動物

由台大醫學院動物中心提供ICR及近緣血清之Balb/C 種系老鼠。

三、方劑之抽取

調劑上列處方十日量，經粉碎後，用 10 倍量之水於 70℃ 之水浴下，迴流加熱 6 小時，趁熱過濾，抽取二次，合併濾液，濾液減壓濃縮、冷凍乾燥，以供下列生物活性測定用。

四、試液之調製

精稱各抽取物量，用超音波均質器使其溶解於 PBS 中，調製各種試驗濃度及劑量後，進行下列實驗用。

五、抗體力價之測定：利用微量血球凝集試驗方法測定之。

(a) 實驗動物：ICR雌性小鼠，八週齡，體重 $30 \pm 2g$ ，每組10隻。

(b) 投予藥物之時間，途徑，劑量：

於注射綿羊紅血球前3日，每隻小白鼠連續3日分別口服投予中藥處方，以人體重60公斤換算，相當於人體劑量之1倍。

對照組：投予Normal saline.

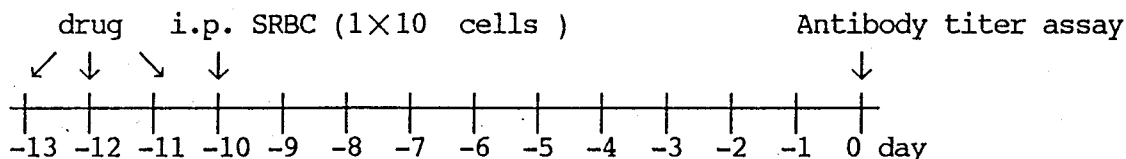
(c) 抗原綿羊紅血球 (Sheep red blood cell, SRBC)：每隻小白鼠

8

腹腔投予 1×10^8 cell / 0.2 ml.

投予綿羊紅血球後第10日作本實驗。

8



(d) 方法：1)眼靜脈採血，取血清，經 56°C 處理 30 分鐘，去補體活性。取 25ul 血清於 U 型底之 96槽微量盤中，以PBS 做 2 倍逐次稀釋，加入 25ul 0.25% 綿羊紅血球混合於室溫下反應 1小時即可判圖。

2)眼靜脈採血，取血清，經 56°C 處理 30 分鐘，去補體活性。取 25ul 血清於 U 型底之 96槽微量盤中，以0.1M之 2-Mercaptoethanol 做 2倍逐次稀釋，加入 25ul 0.25% 綿羊紅血球混合，於室溫下反應 1小時即可判圖。

(e) Silver 及 Dierich(1)等人曾證明 IgM很容易受 0.1M之2-Mercaptoethanol 破壞，而 IgG 不會。因此以0.1 M之2-Mercaptoethanol 之 PBS 溶液為稀釋劑時所測得之凝血力價為IgG 之力價。以 PBS 為稀釋劑所測得之力價為 IgM 加 IgG之力價。

六、T細胞及其亞群T淋巴細胞之測定：以流式細胞計數儀測定之。(2, 3)

(a) 實驗動物：純種血親 Balb/c 雌性小鼠，八週齡，體重 21 ± 2 g，
每組10隻。

(b) 試藥

Anti-Mouse Thy 1.2 FITC (Becton Dickinson)

Anti-Mouse Lyt -2 FITC (Becton Dickinson)

Anti-Mouse L3T4 PE (Becton Dickinson)

Lysing solution (Becton Dickinson)

(c) 儀器

流式細胞計數儀 (FACScan, Becton Dickinson)

(d) 投予藥物之時間，途徑，劑量：

1. 正常投藥組

依人之劑量(以人體重 60 公斤換算，相當於人體劑量之 1 倍)
連續口服投藥五天，第十天抽血作流式細胞計數儀檢測。

2. 治療組

Prednisolone 10 mg/ml 連續口服投藥五天，第六至第十天依人
之劑量連續口服投藥五天，第十五天抽血作流式細胞計數儀檢測。
對照組：投予Normal saline。

3. 預防組

依人之劑量(以人體重 60 公斤換算，相當於人體劑量之 1 倍)
連續口服投藥五天，第六至第十天連續口服投藥 Prednisolone
10 mg/ml五天，第十五天抽血作流式細胞計數儀檢測。

(e) 血液之處理

1. Add 20 ul of monoclonal antibody to a tube.

To this tube add 100 ul of whole blood.

2. Mix gently and incubate 15 minutes at room temperature.

3. Vortex tube gently, then add 2 ml of lysing
solution at room temperature. Vortex tube gently,
then incubate for 5 to 10 minutes at room temperature
in the dark.

4. Wash cells twice and analyze with flow cytometer.

七、資料分析：抗體力價測定以 GMT(Geometric Mean Titer)法計算之。
T 細胞數據分析以 $M \pm SD$ 之 Student's t Test 測定分析之。

結果與討論

1. 本實驗乃針對五種中國傳統之補益方劑所作之研究，其作用如表一所示：

方 劑	分 類	功 效	治 療 目 標	臨 床 應 用
人參養榮湯	氣血兩補	補氣血，益脾肺 養新營	脾肺俱虛，發熱、惡寒、四肢倦怠 呼吸困難、自汗，並有下痢傾向者	病後之體力衰弱、手脚厥冷、貧血 咯血、惊悸、失眠、健忘、喘咳等
六味地黃丸	補陰	滋陰補腎	因腎虛而有疲勞感，尤精力減弱、 陽痿、遺精、訴以腰痛等，並有多 尿、耳鳴、弱視、口渴。	性的衰弱、陽痿、遺精、腰痛、眼 睛疲勞視力減退、糖尿病症、慢性 腎炎、筋骨衰弱者。
知柏八味丸	補陰	滋陰降火	因腎虛機能不全而虛火上衝，上熱 下寒者，因熱性結核症而盜汗者	耳鳴、口渴、盜汗、結核性病
清暑益氣湯	清暑益氣	益氣生津、除濕 清熱	平常虛弱，在夏季因暑熱而倦怠甚 者，下痢、四肢煩熱、食慾不振、 自汗或呼吸困難者。	中暑、暑氣所起食慾不振，下痢、 全身倦怠、夏季消瘦。
生脈飲	補氣	保肺生脈、益氣 斂汗	因發熱而精神倦怠、四肢無力、呼 吸困難、口乾、流汗不止、津液枯 燥者。	性的衰弱、陽痿、遺精、腰痛、眼 腎炎、筋骨衰弱者。

2. 利用微量血球凝集試驗方法測定之抗體力價，其結果如表二所示，知柏八味丸有明顯提升 IgM 之作用，對 IgG 則無提升作用。其它四種方劑及 Levamisole、Prednisolone 對鼯鼠 (ICR) 抗體則無明顯影響。

3. 中藥補益方劑對正常小鼠(Balb/C) T細胞及其亞群細胞並無明顯影響，如表三所示，而 Prednisolone (10mg/kg)對 helper cell/ Suppressor ratio 有抑制作用。
4. 先用免疫抑制劑Prednisolone(10mg/kg)連續口服投藥五天，再投予中藥方劑五天，第十五天抽血檢測，其結果如表四所示，發現知柏八味丸、人參養榮湯及Levamisole(40mg/kg) 對受免疫抑制劑Prednisolone之小鼠T Help Cell 有明顯之增強作用($P<0.05$)，對Total T Cell亦呈明顯之增強作用($P<0.01$)。
5. 先連續口服投予中藥補益方劑五天，再投予免疫抑制劑Prednisolone(10mg/kg)連續口服投藥五天，第十五天抽血檢測，其結果如表五所示，發現投予六味地黃丸、清暑益氣湯及生脈飲較前五天只服生理食鹽水之小鼠，Help/Suppressor ratio 大很多($P<0.01$)，投予人參養榮湯之小鼠其Help/Suppressor 也有增加現象($p<0.05$)。

參考資料

1. M.D. Dierich, S. Ferrone, M.A. Pellegrino: Chemical modulation of cell surface by sulfhydryl compounds: Effect on C3b receptor. J Immunol 113: 940-950, 1974
2. R. A. Hoffman and W. P. Hansen: Immunofluorescent analysis of blood cells by flowcytometer. Int. J. Immunopharmac., 3 (3): 249-254, 1981.
3. R. A. Hoffman, P. C. Kung, W. P. Hansen, and G. Goldstein: Simple rapid measurement of human T lymphocytes and their subclasses in peripheral blood. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77 (8): 4914-4917, 1980.

表二 中藥補益方劑對鼯鼠(ICR)抗體之作用

Drug	n	Antibody Titer	Antibody Titer(ruin IgM)
N.S.	18	724	219
六味地黃丸	9	474	256
知柏八味丸	9	1393	215
人參養榮湯	9	645	299
清暑益氣湯	9	878	220
生脈飲	9	597	203
Levamisole 40 mg/kg	9	645	128
Prednisolone 10mg/Kg	9	512	81

表三 中藥補益方劑對正常鼯鼠(Balb/c) T細胞及其亞群細胞之影響

DRUG	N	Total T Cell		Suppressor T Cell		Help T Cell		Help/Suppressor	
		Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)
N.S.	180	69.01 \pm 7.42	100.0 \pm 10.8	13.87 \pm 2.48	100.0 \pm 17.9	54.80 \pm 5.82	100.0 \pm 10.6	4.04 \pm 0.85	100.0 \pm 21.0
六味地黃丸	10	71.55 \pm 4.00	103.7 \pm 5.8	13.03 \pm 1.83	93.9 \pm 13.2	58.38 \pm 5.21	106.5 \pm 9.5	4.61 \pm 0.43	114.0 \pm 10.7
知柏八味丸	10	70.80 \pm 2.96	102.6 \pm 4.3	13.12 \pm 1.84	94.6 \pm 13.2	58.21 \pm 3.88	106.2 \pm 7.1	4.59 \pm 0.82	113.4 \pm 20.3
人參養榮湯	9	64.19 \pm 2.23	93.0 \pm 3.2	13.60 \pm 0.71	98.1 \pm 5.1	54.35 \pm 2.95	99.2 \pm 5.4	4.00 \pm 0.22	99.0 \pm 5.4
清暑益氣湯	10	65.94 \pm 7.20	95.5 \pm 10.4	13.42 \pm 2.61	96.8 \pm 18.8	52.16 \pm 5.05	95.2 \pm 9.2	4.09 \pm 1.03	101.2 \pm 25.5
生脈飲	10	63.58 \pm 6.63	92.1 \pm 9.6	13.72 \pm 1.49	98.9 \pm 10.8	55.18 \pm 6.51	100.7 \pm 11.9	4.02 \pm 0.37	99.5 \pm 9.1
Levamisole	10	72.72 \pm 5.95	105.4 \pm 8.6	14.26 \pm 1.75	102.8 \pm 12.6	57.51 \pm 4.35	104.9 \pm 7.9	4.14 \pm 0.67	102.5 \pm 16.6
Prednisolone	18	73.47 \pm 7.41	106.5 \pm 10.7	15.44 \pm 2.67	111.3 \pm 19.2	57.23 \pm 6.02	104.4 \pm 11.0	3.80 \pm 0.47	94.1 \pm 11.7

* : p<0.05 ** : p<0.01 (data increase)

: p<0.05 ## : p<0.01 (data decrease)

Prednisolone : 10mg/kg

Levamisole : 40mg/kg

表四 中藥補益方劑對受免疫抑制劑Prednisolone之小鼠T細胞及其亞群細胞之影響 (治療組)

Drugs	N	Total T Cell		Suppressor T Cell		Help T Cell		Help/Suppressor	
		Mean ± S.D.	Mean±SD(%)	Mean±S.D.	Mean±SD(%)	Mean ± S.D.	Mean±SD(%)	Mean±S.D.	Mean±SD(%)
Prednisolone	34	60.93±7.37	100.0±12.1	13.42±1.91	100.0±14.2	47.74±6.68	100.0±14.0	3.61±0.59	100.0±16.3
六味地黃丸	7	64.87±11.14	106.5±18.3	14.04±3.08	104.6±23.0	47.89±7.35	100.3±15.4	3.64±1.02	100.8±28.3
知柏八味丸	7	69.68±3.21	114.4±5.3 **	14.42±1.74	107.4±13.0	54.54±3.80	114.2±8.0 *	3.80±0.66	105.3±18.3
人參養榮湯	7	70.38±6.58	115.5±10.8 **	14.86±2.00	110.7±14.9	54.13±5.52	113.4±11.6 *	3.62±0.31	100.3±8.6
清暑益氣湯	8	62.16±7.78	102.0±12.8	14.35±0.87	106.9±6.5	47.01±4.94	98.5±10.4	3.33±0.27	92.2±7.5
生脈飲	8	60.91±8.27	100.0±13.6	13.52±1.17	100.8±8.7	44.84±5.42	93.9±11.4	3.40±0.56	94.2±15.5
Levemisolone	11	69.92±7.73	114.8±12.7 **	14.64±1.55	109.1±11.6	52.40±6.22	109.8±13.6 *	3.55±0.38	98.3±10.5
N.S.	180	69.01±7.42	113.3±12.2 **	13.87±2.48	103.4±18.5	54.80±5.82	114.8±12.2 **	4.04±0.85	111.9±23.5 **

* : p<0.05 ** : p<0.01 (data increase)

: p<0.05 ## : p<0.01 (data decrease)

Prednisolone : 10mg/kg

Levemisolone : 40mg/kg

表五 中藥補益方劑對T細胞及其亞群細胞之影響 (預防組)

Drugs	N	Total T Cell		Suppressor T Cell		Help T Cell		Help/Suppressor	
		Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)	Mean \pm S.D.	Mean \pm SD(%)
Prednisolone	12	70.41 \pm 7.96	100.0 \pm 11.3	15.40 \pm 2.76	100.0 \pm 17.9	52.07 \pm 8.82	100.0 \pm 16.9	3.23 \pm 0.72	100.0 \pm 22.3
六味地黃丸	9	72.34 \pm 4.10	102.7 \pm 5.8	13.63 \pm 1.56	88.5 \pm 10.1	57.17 \pm 2.92	109.8 \pm 5.6	4.44 \pm 0.59	137.5 \pm 18.3 **
知柏八味丸	8	67.56 \pm 5.03	96.0 \pm 7.1	12.21 \pm 4.80	79.3 \pm 31.2	50.72 \pm 2.38	97.4 \pm 4.6	3.91 \pm 0.94	121.0 \pm 29.1
人參黃耆湯	9	65.02 \pm 8.49	92.3 \pm 12.1	13.23 \pm 2.53	85.9 \pm 16.4	49.75 \pm 5.16	95.5 \pm 9.9	3.92 \pm 0.77	121.4 \pm 23.8 *
清暑益氣湯	7	75.10 \pm 9.98	106.7 \pm 14.2	14.60 \pm 2.18	94.8 \pm 14.2	59.11 \pm 9.65	113.5 \pm 18.5	4.10 \pm 0.40	126.9 \pm 12.4 **
生脈飲	8	66.94 \pm 7.55	95.1 \pm 10.7	14.39 \pm 1.57	93.4 \pm 10.2	53.39 \pm 3.42	102.5 \pm 6.6	3.77 \pm 0.37	116.7 \pm 11.5 **
Levamisole	10	61.60 \pm 10.30	87.5 \pm 14.6 #	13.69 \pm 2.16	88.9 \pm 14.0	47.50 \pm 8.55	91.2 \pm 16.4	3.57 \pm 0.74	110.5 \pm 22.9
N.S.	180	69.01 \pm 7.42	98.0 \pm 10.5	13.87 \pm 2.48	90.1 \pm 16.1 ##	54.80 \pm 5.82	105.2 \pm 11.2	4.04 \pm 0.85	125.1 \pm 26.3 **

* : p<0.05 ** : p<0.01 (data increase)

: p<0.05 ## : p<0.01 (data decrease)

Prednisolone : 10mg/kg Levamisole : 40mg/kg

慢性病之中藥方劑研究III

台北醫學院藥學研究所·生藥學科

顏焜熒·楊玲玲

摘要

臺灣屬海島型氣候，早晚與午間之溫差大，山區氣候陰濕，關節炎乃為普遍疾病之一，尤其關節炎為一種循序漸進之慢性疾病，常使患者痛苦不堪，且尚未有適當而有效的藥物可加以控制，尤其目前所使用之各種合成藥物副作用甚多，本論文選擇中醫師常用之十種關節炎治療中藥方劑—麻黃湯、麻黃加朮湯、麻黃附子細辛湯、麻杏薏甘湯、越婢加朮湯、薏苡仁湯、防己黃耆湯、甘草附子湯、葛根湯、桂薑棗草黃辛附湯，依關節炎發炎之過程，進行血管通透度、抗浮腫、消炎、鎮痛、網狀內皮系統之吞噬作用，抗肉芽腫等之檢測，期望能對關節炎之常用中藥方劑，給予正確而科學化之評估。

Keywords: RA, 10 Chinese medicinal prescription, LD₅₀, analgesic effects, carrageenin, CFA edema, anti-granuloma effect, capillary permeability, phagocytic activity.

前言

關節炎之主要症候是腫脹與疼痛，此即屬於結締組織之炎症疾病，首先是左右對稱的關節滑膜之炎症，而後，關節方逐漸的發生關節破壞、變形、強直，其詳細之致病原因迄今仍未知，僅知是受外來異物侵入所引起。

根據美國關節炎基金會在1975年估計，僅在美國一地就有兩千萬人罹患關節炎，是僅次於心臟病的一種慢性病¹，而在1984年美國類風濕性關節炎病患，約有400～600萬²，此病在台灣雖尚未有確切的統計資料，但由於島國天氣，早晚與午間的溫差大，山區氣候較陰濕，關節炎是極普遍的疾病。

目前爲止，西洋醫學之治療尚未有適當的藥物僅能以藥物加以控制，其中以：

- (1)固醇劑最多，雖能達到抗炎和鎮痛的目的，但易造成關節變形，以及月亮臉、面皰樣疹、多毛、皮膚萎縮、皮下出血、骨萎縮、骨端壞死、精神障礙、副腎機能低下等副作用。
- (2)非固醇類抗炎劑，例如 Aspirin、Phenylbutazone、Indomethacin，能短期間緩和疼痛，然而長期投與則發生胃障礙、消化道潰瘍出血、肝障礙、腎障礙、皮疹，以及造血機能低下之副作用。
- (3)金製劑，如 Auranofin、Sod.gold-thiomalate、Sod.gold-thiosulfate，非具直接抗炎症效果之鎮痛，爲一免疫抑制作用，副作用亦多，如造成皮疹、水腫、口炎、角膜炎、氣管炎、腸胃炎、蛋白尿、血生成損害等。
- (4)免疫抑制劑及免疫調節劑，具有免疫抑制作用之抗癌劑，如 Cyclophosphamide、6MP、Azathioprine、Methotrexate 等，亦有造成口炎、腸炎、骨髓抑制、禿髮、抵抗力降低等副作用。

慢性關節炎風濕病在“金匱要略”第二篇“瘧濕喝”及第五篇“風歷節”項中說明，關節炎一般中國叫痺病，於黃帝內經中可見，而其原因乃爲濕毒進入關節所致，常用方劑如下：

- (a)麻黃湯
- (b)麻黃加朮湯
- (c)麻黃附子細辛湯
- (d)麻杏薏甘湯
- (e)越婢加朮湯
- (f)薏苡仁湯
- (g)防己黃耆湯
- (h)甘草附子湯
- (i)葛根湯
- (j)桂薑棗草黃辛附湯

關節炎爲一種自體免疫疾病，其發炎之過程，大致可分爲三期：

- (1)第一期（紅班浮腫期）：外來或內在的刺激物，如 Virus、Bacteria、Lymphokines 對組織的直接傷害，而引起組織發炎時，其所釋放之細菌毒素，組織本身的變性產物、補體複合體的反應產物、血漿凝固產生的物質

等，可造成白血球的趨化現象 (chemotaxis)，而移向發炎區，同時某些造成趨化現象的物質亦對局部微血管產生作用，促使白血球發生聚邊現象 (margination) 及透出 (diapedesis)，故血管通透性之增強作用被加以賦活。

(2) 第二期（白血球游走、疼痛、發熱期）：發炎局部之微血管由於單核球，嗜中性白血球等之大量游走而使血管透過性亢進，故血管內之水份減少，嚴重者引起血栓的形成，造成血行停止，因而引起組織之壞死。此外當某些特殊之抗原及抗體作用發生，會致使肥大細胞 (mast cell) 及嗜鹼性白血球破裂，因而釋出大量的組織胺 (histamine)、緩動素 (bradykinine)、serotonin、以及大量的溶酶體 (lysosomal enzyme)，這現象導致局部的血管及組織反應，而形成過敏現象。

(3) 第三期（修復期）：爲了要排出發炎物質及受傷害之組織，故產生緩慢而持久的巨噬細胞 (macrophage) 增殖、局部組織的細胞浸潤以及纖維芽細胞的增殖，當炎症逐步被修理後，毛細血管之新生使血行回復，浸潤細胞乃漸次消失，纖維芽細胞亦減少，損傷之組織形成斑痕，終至於消失。

本實驗乃根據以上方劑，針對初期關節炎之病變機理，選出十種方劑（表一）進行生物活性檢測。首先由半致死劑量之檢測瞭解其毒性之大小，再進行各項血液生化檢測，而後依次進行血管通透度、抗浮腫、消炎、鎮痛、網狀內皮系統之吞噬作用及抗肉芽腫等之檢測，以期瞭解各種方劑對各不同時期關節炎之影響。

Materials and Methods

I. Materials

二、方劑之抽取及試驗之調製：

研究室自行調劑 20 天量之處方，各處方生藥材料經由粉碎機粉碎粗粉後，加十倍體積之水，於 70 °C 下迴流抽取 2 次，每次 6 小時，趁熱過濾，合併濾液，用真空減壓濃縮機濃縮，再經冷凍乾燥機冷凍乾燥後，存放於 - 20 °C 冰櫃中保存，以供下列生物活性檢定用，各方劑抽取率如 Table 3 所示。

生物檢定前，精秤各處方之冷凍乾燥抽取物，分別溶解於適量體積之 Phosphate Buffer Solution (PBS) 中。

三、急性毒性實驗測定：

各處方之藥物精秤溶於 PBS 中，試驗之最高劑量為各處方之最高飽和劑量。利用 Litchfield-Wilcoxon method，腹腔注射各處方藥物給予健康正常之 ICR mice，每組 10 隻，測定其 LD₅₀。

四、鎮痛作用之測定：

取體重 20 ± 2 克之健康 ICR 系雄性小白鼠，於實驗前稱重並投予藥物 (I.P.)，對照組投予生理食鹽水，治療組投予 Aminopyrine(100mg/kg,I.P.)，投藥 30min 後以腹腔注射 0.7% 醋酸 (0.1ml/10gm B.W.)，並連續觀察 20min 內其身體扭轉反應之次數。

五、消炎作用之測定：

(1) 抗 Carrageenin 引起浮腫之消炎作用：

取體重 23 ± 2 克之健康 ICR 系雄性小白鼠，依體重投予藥物 (I.P.)，對照組投予生理食鹽水，治療組為 indomethacin(20mg/kg)，一小時後右後足蹠打生理食鹽水 50ul，左後足蹠部打 2% Carrageenin 50ul，30 分鐘後以厚度計測量兩足掌厚度，而後每小時測量一次，連續測定 8 小時並記錄之。

浮腫率之算法如下：

$$\text{浮腫率 (\%)} = \frac{(\text{左足浮腫厚度} - \text{左足原厚度}) - (\text{右足浮腫厚度} - \text{右足原厚度})}{\text{兩足原厚度平均值}}$$

(2) 佐劑引發關節炎之消炎作用：

取體重 23 ± 2 克之健康 ICR 系雄性小白鼠，先以厚度計測量兩足掌厚度，之後右後足蹠打生理食鹽水 50ul，左後足蹠部打 Complete Freund Adjuvant)50ul，再依體重投予藥物 (P.O.)，對照組投予生理食鹽水，治療組為 indomethacin(20mg/kg)，而後每天測量一次，並依體重投予藥物，治療組不再給藥，連續測量七天並記錄之。浮腫率之算法同上。

六、血管通透度之檢測：

取體重 23 ± 2 克之健康 ICR 系雄性小白鼠，稱重並投予藥物，對照組投予生理食鹽水，治療組投予 Aspirin(200mg/kg, I.P.)，投藥 30min 後以靜脈注射 4 % Evans blue(0.05 ml/10gm)，10min 之後再 I.P. 0.3ml 之 0.5 % Acetic acid，20min 後將老鼠撲殺，以蒸餾水洗出其腹腔內之色素，直到洗出液總量達 10ml 為止，於 610nm 波長下測定洗出液之色素含量。

七、抗肉芽組織作用之檢測：

取體重 23 ± 2 克之健康 ICR 系雄性小白鼠，先依體重腹腔注射 Pento-babital(40mg/ kg)，待其麻醉後先行除毛，再剪開其表皮將已滅菌之棉花球 (40 ± 0.4 mg，直徑約 7mm) 包埋至其皮下距傷口之遠部，以鋁製 Michel 夾 (12×2.5 mm) 夾傷口，最後傷口以優碘進行消毒，隔日起每日二次連續 4 日投與藥物，對照組不給藥，西藥治療組為 Hydrocortisone (6mg/kg，溶於 Olive oil 中)，注射於綿球附近之皮下，投予次數相同，最後一次投予後之隔日早上將老鼠加以撲殺並取出棉花球稱重。

結果與討論

關節炎之實際臨床症狀範圍很大，而目前治療之對象以風濕性疾病之關節炎為主，例如慢性關節炎之骨關節炎症，痛風性關節炎，乾癆性關節炎以及風濕熱之游走性關節炎。其致病之機理、原因迄目前尚未十分了解，而臨床上實際之症狀有慢性、進行性、破壞性及難治性之關節病變，使罹患者在生活中帶來極大之痛苦不堪，間接的亦成為社會之一大重負。因此目前醫學界研究之目標以關節炎診斷及治療為最重要，以期能闡明許多未知之病因，以及開發新的治療藥物。

中藥用於治療，其藥效緩和、副作用少，已廣受國人喜愛，常用之關節炎治療方劑，有待以生物科技之融入，加以評估其臨床前之藥理作用，以供臨床醫學家選藥之參考。

本研究選用臨床常用治療關節炎之中藥方劑十種，並針對初期關節炎病變之機理，進行毒性及生物活性檢測，其結果如下：

一、急性毒性：

各方劑之毒性試驗，採用 Litchfield-Wilcoxon 方法，腹腔注射各處分之水抽取物，每組 10 隻健康正常之 ICR 小白鼠，觀察投藥後 72 小時，並無死亡或其他異狀，各藥物之最高劑量為各處方水抽取物之最高飽和劑量，因此由 Table 3 之結果顯示各藥物之毒性均很小，安全性高。

二、鎮痛作用：

醋酸注射於腹腔所引起的身體扭轉反應 (writhing syndrome)，是近年來測試鎮痛效果最常用之生物檢定法。此種生理反應包括腳向內翻轉、背部弓起、身體旋轉、擺臀、縮腹等。此種對腹腔刺激所引起之疼痛與關節炎所引起之疼痛皆關於周邊疼痛 (peripheral pain)。治療對照組選用有顯著鎮痛作用之 Aminopyrine，各處方之鎮痛作用結果如 Table 4 所示。由 Fig.1 之條狀圖可明顯的看出 10 種常用方劑中之鎮痛效果顯示有意義者，依序為麻黃加朮湯 (42.7 %)、越婢加朮湯 (45.4 %)、甘草附子湯 (63.1 %)、桂薑棗草黃辛附湯 (69.5 %)、麻杏薏甘湯 (72.5 %)、薏苡仁湯 (73.6 %)，治療對照組之 Aminopyrin (14.9 %) 具有顯著之鎮痛效果。

三、消炎作用

關節炎紅腫為 RA 病人的普遍症狀，它屬於發炎的第二期，發炎是繼續導致關節損壞及病情惡化的主因，故測試藥物的抗炎效果，已成為對抗 RA 不可缺少的方法。目前所使用的引發浮腫方法很多，包括以 carrageenin adjuvant、collagen、formalin、serotonin 等。本實驗採用 carrageenin 及 adjuvant 為浮腫誘發藥物。

(1) 抗 Carrageenin 引起浮腫之消炎作用：

Carrageenin 引起浮腫的機制，主要由於其為一種多醣體 (polysaccharide) 的混合物，在組織中不易吸收而造成局部刺激，導致發炎反應，注射足蹠後 8 小時內即產生持續漸進之急速腫脹。以具有抑制作用之 Indomethacin (20mg/kg) 為治療對照組，實驗組腹腔注射人體相同劑量之水抽

取物，結果如 Table 5 所示，Fig.2-1～Fig.2-10 依序顯示各處方對於 Carrageenin 注射後連續 8 小時浮腫率之變化，Fig.2-11 及 Fig.2-12 則顯示各處方消炎作用之比較，其對於消炎作用有意義者為薏苡仁湯（第 3、4 小時）、防己黃耆湯（第 4、5、6、7 小時）、甘草附子湯（第 4、5、6 小時）桂薑棗草黃辛附湯（第 4、5、6 小時），治療對照組 Indomethacin 亦顯示有意義之消炎作用（第 4、7 小時）。

(2) 佐劑引發關節炎之消炎作用：

Complete Freund Adjuvant 注射足蹠後 24 小時即急速的發紅、腫脹，而 paw volume 會有顯著之增加，此即與臨床所見之一次炎症 (primary inflammation) 症狀相似，之後七日會產生一定之腫脹，而選用具有抑制作用之 Indomethacin 為治療對照組，實驗組連續口服 7 天人體相同劑量之水抽取物，結果如 Table 6 所示，Fig.3-1～Fig3-13 依序顯示各處方及 Indomethacin(5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg) 對於 CFA 注射後 7 天內浮腫率之變化，其對於消炎作用有意義者為麻黃附子細辛湯（第 2、6 天）、麻杏薏甘湯（第 7 天）、越婢加朮湯（第 4、5、6、7 天）、薏苡仁湯（第 6 天）、防己黃耆湯（第 4、5、6 天）、甘草附子湯（第 2、4、6、7 天）、葛根湯（第 3、5、6 天）、桂薑棗草黃辛附湯（第 4、6、7 天）、Indomethacin 5mg/kg（第 6、7 天）、Indomethacin 10mg/kg（第 4 天）、Indomethacin 20mg/kg（第 1、3、4 天）。

四、血管通透度之抑制作用：

關節炎之發炎過程中，牽涉的範圍包括凝血系統 (clotting system)，血管擴張系統 (kinin system)，補體系統 (complement system)，由於直接或間接使肥大細胞 (mast cell) 放出組織胺 (histamine)、加上另外產生的血管擴張素 (bradykinin)，皆會使局部的血管通透度增加。故檢測血管通透度之抑制率，即可瞭解其抗炎程度。本實驗藉注射醋酸進入腹腔使 kinin system 活化，便可引起血管通透度增加。而選用具有抑制作用之 Aspirin 為治療對照組，實驗組腹腔注射人體相同劑量之水抽取物，對毛細血管通透度之抑制作用檢測結果如 Table 7 所示。由 Fig.4 之條狀圖可明顯的看出 10 種常用方劑中對血管通透

度之抑制作用顯示有意義者，依次防己黃耆湯 (58.5 %)、葛根湯 (54.2 %)、桂薑棗草黃辛附湯 (67.3 %)、甘草附子湯 (74.9 %)。治療對照組之 Aspirin (67.9 %)，亦顯示有意義之抑制作用。

五、抗肉芽腫組織作用：

炎症過程之第三期（修復期），爲了排除發炎物質及受傷害的組織，因此吞噬作用被加以活化，免疫機構發生異常，而造成免疫複合體的大量貪食、吞噬細胞內不消化物質之釋出、游走性降低、巨噬細胞形成，因而產生浸潤、組織芽細胞並形成肉芽腫組織。目前所使用引發肉芽腫之方法，包括以蓖麻油、CHC、CCl₄、Formalin、Cotton pellet 等 Cotton pellet 引起浮腫之機制，主要由於其爲組織無法吸收之異物，在皮下可造成刺激，使吞噬作用加以活化，導致肉芽腫之生成。本實驗選用具有抑制作用之 Hydrocortisone 爲治療對照組，實驗組連續口服四天人體一倍、五倍、十倍劑量之水抽取物，每天二次，對於肉芽腫組織形成之抑制作用結果如 Table 8-1、Table 8-2、Table 8-3 所示，由 Fig.5-4 之條狀圖可明顯的看出 10 種常用方劑中，對肉芽腫組織形成之抑制作用顯示有意義者，依次爲麻杏薏甘湯 1 倍 (80.9 %)、麻杏薏甘湯 5 倍 (81.1 %)、葛根湯 5 倍 (85.0 %)、麻杏薏甘湯 10 倍 (86.7 %)、越婢加朮湯 5 倍 (87.4 %)、麻黃加朮湯 10 倍 (87.8 %)，治療對照組之 Hydrocortisone (81.7 %)，亦顯示有意義之抑制作用。

六、網狀內皮吞噬作用：

生體之貪食細胞能測定法，常用 Carbon Clearance, BCG 及 *Corynebacterium parvum*，有很強之活性化，此乃刺激細胞網狀內皮系統 (reticuloendothelial system, RES)，而 macrophage 活化貪食細胞能。

- | | |
|-----------------|--------------------|
| 1: 麻黃湯（傷寒論） | 6: 薏苡仁湯（明醫指掌） |
| 2: 麻黃加朮湯（金匱要略） | 7: 防己黃耆湯（金匱要略） |
| 3: 麻黃附子細辛湯（傷寒論） | 8: 甘草附子湯（金匱要略．傷寒論） |
| 4: 麻杏薏甘湯（金匱要略） | 9: 葛根湯（金匱要略．傷寒論） |

5:越婢加朮湯（金匱要略） 10:桂薑棗草黃辛附湯（金匱要略）

參考文獻

- 1)K. Y. Yen:"Diagram of Common Use Chinese Medicine Prescription", Southern Materials Centers, INC., Taipei (1984).顏焜熒：圖解常用中藥處方，台北南天書局(1984).
- 2)K.Y. Yen:"An Illustrated Pharmacognosy", Southern Materials Centers, INC., Taipei (1985).顏焜熒：原色生藥學，台北南天書局(1985).
- 3)E. Nakamura, M.Kimura:"Pharmacology Laboratory Manual", pp.108-110 Hirokawa Pub., Tokyo (1980).
- 4)Whittle B.A.:The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics, Brit, J. Pharmacol., 22, 246-253 (1964).
- 5)高木敬次郎，小沢光：藥物學實驗，pp.56(1969).
- 6)R.Vinegar, W.Schreiber and R.Hugo:Biphasic development of carrageenin edema in rates, J. Pharmac. Exptl. Therap., 166, 96-103 (1969).
- 7)J.H. Brown, J.W.Kissel and P.M. Lish:Studies on the acute inflammatory response I:Involvement of the central nervous system in certain models of inflammation, J. Pharmacol. Exp. Therap., 160,231-242 (1968).
- 8)E.Sugishita, S. Amagaya and Y. Ogihara:Anti-inflammatory testing methods:Comparative evaluation of mice and rats. J. Pharm. Dyn., 4, 565-575(1981)
- 9)S. Amagaya. E. Sugishita, Y. Ogihara, S. Ogawa, K. Okada, T. Aizawa:Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on anti-inflammatory activities, J. Pharm.Dyn.,7,923-928 (1984).
- 10)C.V. Winder, J.Wax and M.A. Been:Rapid foot volume measurements on unanaesthetized rats,and the questions of phenylbutazone effect on anaphylactoid edema, Arch. int. Pharmacodyn.,112,174-187(1957).
- 11)A.C. Basile, S. Hanada,J. A. A. Sertie and S. Oga:Anti-inflammatory effects

- of praseodymium, gadolinum and ytterbium chlorides, *J. Pharm.Dyn.*, 7, 94-100(1984).
- 12) H.Suba, H Yamauchi, and T.Iso: Potentiative effect of angiotensin converting enzyme inhibitor on carrageenin edema in rats and the role of tissue kininogen, *J.Pharm.Dyn.*, 7, 372-377 (1984).
 - 13) H.Suda, H Yamauchi, and T.Iso: Potentiative effect of a kininase inhibitor (YS980) on carrageenin induced oedema in rat hind paw and roles of plasma kininogen, *J.Pharm.Dyn.*, 34, 60-61 (1982).
 - 14) H.Suda, K.Nakata, T.Komura, H.Yamauchi and T.Iso: Potentiative effects of sulfhydryl compounds on carrageenin induced edema in rats (V), *Jpn.J. Inflammation*, 2, 459-460 (1982).
 - 15) Swingle, K.F., Jaques, L.W. and Kvam, D.C.: Differences in the severity of adjuvant arthritis in four strains of rats. *proc Soc.Exp.Biol.Med*, 132, 608- 612 (1969).
 - 16) Kohashi, O., Pearson, C.M., Beck, F.J.W. and Alexander, M.: Effect of oil composition on both adjuvant-induced arthritis and delayed hypersensitivity to purified protein derivative and peptidoglycans in various rat strain. *Infection and Immunity*, 17, 244-, (1977).
 - 17) Kohashi, O., Kohashi, Y., Kotani, S. and Ozawa, A.: A new model, of experimental arthritis induced by an aqueous form of synthetic adjuvant in immunodeficient rats (SHR and nude rats). *The Ryumachi*, 21, 149-156 (1981)
 - 18) Gery, I. and Waksman, B.H.: Studies of the mechanism whereby adjuvant disease is suppressed in rats repeated with mycobacteria, *Int.Arch.Allergy appl. Immunol.* 31, 54-68 (1967).
 - 19) Kayashima, K., Koga, T. and Onoue, K.: Role of T Lymphocytes in adjuvant arthritis, I. Evidence for the regulatory function of thymus derived cell in the induction of the disease. *J.Immunol*, 117, 1878-1882 (1976).
 - 20) Whitehouse, M.W., Orr, K.J., Beck, F.W.J. and Pearson, C.M.: Freund's adjuvants: relationship of arthritogenicity and adjuvanticity in rats to vehicle

composition. *Immunology*, 27, 311-330 (1980).

- 21) Gardner, D.L.: The experimental production of arthritis. *Ann Rheum Dis.*, 19, 297-317 (1960).
- 22) Sofia, D., Knobloch, L.C. and Vassar, H.B.: Inhibition of the primary lesion of adjuvant induced polyarthritis in rats (18-hour-arthritis test) for specific detection of clinically effective anti-arthritic drugs. *J. Pharm. Exp. Therap.*, 193, 918 (1975).
- 23) Newbould, B.B.: Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *Brit. J. Pharmacol.*, 21, 127-136 (1963).
- 24) Pearson, C.M.: Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvant, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 91, 95-101 (1956).
- 25) Pearson, C.M. and Wood, F.D.: Studies of arthritis and other lesions induced in rats by the injection of mycobacterial adjuvant. VII. pathologic details of the arthritis and spondylitis. *Am. J. Pathol.*, 42, 73-95 (1963).
- 26) 京極方久，安倍千之：關節炎デ動物，p178-184 (1985).
- 27) D.L. Wilhelm, P.J. Mill, E.M. Sparrow, M.E. Mackay and A.A. Miles: Enzyme-like globulins from serum reproducing the vascular phenomena of inflammation. IV. Activatable permeability factor and its inhibitor in the serum of the rat and rabbit, *Brit. J. Exp. Pathol.*, 39, 228-250 (1958).
- 28) J.F. Mustard, L.Z. Movat, D.R.L. Hachem and A. Senyi: Release of permeability factors from the blood platelet, *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 119, 988-991 (1965).
- 29) A. Kumagi, S. Yano, K. Takeuchi, K. Nishino, Y. Asanuma, M. Nanaboshi and Y. Yamaura: An inhibitory effect of glycyrrhizin on the antigranulomatous action of cortisone, *Endocrinology*, 74, 145-148 (1964).
- 30) H. Hikino, C. Konno, H. Takata, Y. Yamada, C. Yamada, Y. Ohizumi, K. Sugio, and H. Fujimura: Antiinflammatory principles of aconitum roots, *J. Pharm. Dyn.*, 3, 514-525 (1980).
- 31) S. Garratini: "Non-steroidal antiinflammatory drugs", *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1963.

- 32) R. Meier, W. Schuler and P. Desaulles: Zur Frage des Mechanismus der Hemmung des Bindegewebswachstums durch Cortisone, *Experientia*, 6, 467-471 (1950).
- 33) K. Shimizu, S. Amagaya, and Y. Ogihara: Combination effects of Shosaikoto (Chinese traditional medicine) and Prednisolone on the anti-inflammatory action, *J. Pharm. Dyn.*, 7, 891-899 (1984).
- 34) H. Matsuda, M. Kubo, T. Tani, I. Kitagawa and M. Mizuno: Pharmacological study on Panax ginseng C.A. Meyer (IX) Protective effect of red ginseng on infection (2) on phagocytic activity of mouse reticulo-endothelial system. *Shoyakugaku Zasshi* 41(2), 135-141 (1987).
- 35) Dugaiczky A., Boyer H.W., Goodman H.W.: *J. Med. Biol.*, 96, 171-184 (1975).

濃縮中藥品質管制之研究III

台北醫學院藥學研究所・生藥學科

顏焜熒・楊玲玲

前言

傳統之中國醫藥，日受各國醫療界之矚目，而中藥藥劑之應用也日益普及，爲了確保國民健康及用藥安全，現行之中藥，有待現代科學方法加以分析，並建立一品質標準化之規格。

中藥方劑爲中醫師臨床用於治病之主要藥物，由於工商社會之演變，人們生活形態的不同，昔日的丸、膏、丹、散逐漸被濃縮中藥劑型所取代，尤其近年來政府試辦公、勞保中醫院均限定以濃縮科學中藥爲主，飲片爲輔，七十五年科技顧問會議，衛生署鑑於中藥的成分，品質不均一，會影響中藥之療效及安全性，乃以中藥及方劑品質管制之研究爲未來研究重點之一。七十九年國建會更以中藥爲未來科學重點研究之一，中藥標準方及高品質、安全之中藥製劑更是今後推展全民健保之製藥目標。

然而由於單一藥材之薄層分析如日本藥局方上及藥檢局出版之中藥材檢定法上都有記載可供參考。而處方製劑由於構成藥物之種類繁多，成分之間相互干擾致使分析工作屢遭困難；另作成分鑑別，時常因標準品成分難入手，以致不能作比對及定性、定量，此二工作正困擾著一般中藥製劑之業者及中藥檢驗單位，有鑑於此本委員乃擬將中藥界常用之中藥方劑，配合中醫師臨床常用中藥之調查，以各藥材之主成分爲標準，利用薄層色層分析或高速液相層析(HPLC)法作定性及定量分析。

有鑑於此，中醫藥委員會爲配合國家政令之推動，本年度乃進行濃縮中藥方劑之品質管制。期間發一簡單、快速、經濟之分析法；以爲確保中藥製劑品質均一及有效之依據、參考；並期可解決目前製藥界面臨中藥品管之困難。

本研究分別進行常用中藥材——槐花及葛根，利用高速液相層析法(HPLC)進行含有中藥方劑之品質管制。全文分爲二部份，第一部份爲槐花、除槐花之指標成分 **Rutin** 加以分離精製外，槐花在臨床上依炮製方法之不同而療效互異，本部分以探討各種不同炮製對其指標成分 **Rutin** 之變化，以及

常用中藥方劑中 Rutin 之定量。

第二部份爲葛根，除由葛根中單離、精製其指標成分 Puerarin 外，並定量常用含葛根方劑之 Puerarin 量。

Part I

槐 花

Sophorae Flos

(*Sophora japonica* L.)

前 言

槐花爲豆科(Leguminosae) 植物槐 (Sophora japonica L.) 之乾燥花蕾。主要含有成分flavonoid、saponins、fatty acids等。

槐花收載於神農本草經木部上品，具清熱、涼血、止血，爲治療痔、腸、子宮炎症狀之出血及吐血、鼻血、喘血等症。並且常被用於高血壓、中風、腦溢血、血壓異常亢進及出血症等之預防及治療。槐花生用：清肝明目。炒黃：涼血。炒焦：增加止血效果。炒炭：止血。常含槐花之方劑有槐花湯、槐花散。

本實驗以 Rutin 爲指標成分測定，運用高速液相層析儀 (HPLC) 進行槐花中藥方劑之 Rutin 之定量。

Summary

A method for the determination of rutin in Sophorae Flos containing Chinese medicinal prescriptions were established by using high-performance liquid chromatography

實驗材料及方法

1. 中藥材

(1). 槐花

槐花爲豆科 (Leguminosae) 植物槐樹 (*Sophora japonica* L.) 之乾燥花蕾，由台北市生藥市場購入 3 公斤，揀去花梗及雜質後，淨重 2.91 公斤；供下列檢體之調製用。

(2). 青皮

爲芸香科 (Rutaceae) 植物福橘 (*Citrus tangerina* Hort.) 之未成熟果皮。

(3). 荊芥穗

爲唇形科 (Labiatae) 植物荊芥 (*Schizonepeta tenuifolia* Briquet) 之花穗。

(4). 蒲黃

爲香蒲科 (Typhaceae) 植物長苞香蒲 (*Typha angustata* Bory et Chaub) 的花粉。

(5). 薑

爲薑科 (Zingiberaceae) 植物薑 (*Zingiber officinale* Roscoe) 的乾燥根莖。

(6). 中藥方劑之調劑

Rx: 槐花湯 (出典: 張潔古方)

Rx: 槐花散 (出典: 證治準繩方)

槐花	13g
青皮	13g
荊芥穗	13g

槐花	26g
蒲黃	13g
薑	0.26g

(7). 藥材之抽取製備

依處方比例稱取藥材，以十倍量的水煮沸，加熱迴流一小時，趁熱過濾，抽取兩次，合併濾液，減壓濃縮，經冷凍乾燥後，經稱其量，存放於低溫冰櫃中保存備用。

2. 芸香甘標準品標準品之抽取，分離與精製

(1). 抽取與分離

槐花經粉碎，以十倍量甲醇，於 40℃ 水浴上迴流抽取兩次，趁熱過濾，合併濾液，於減壓下濃縮至十分之一體積量，經 Sephadex LH-20 柱狀層析，以甲醇為移動相，沖洗流析，可得 R-I 粗結晶。

(2). 精製

R-I 粗結晶經水再結晶除去雜質後，再溶於甲醇中，經由製備級 HPLC (Shimadzu LC-8A) 純化精製，即得純化物 (R-I)。

(如 Chart 1)

(3). Rutin 準品製備級 HPLC 精製之條件

Apparatus : Shimadzu LC-8A

Column : Shim-pack prep-ODS (20 mm id x 25 cm)

Detector : Shimadzu SPD-6AV UV-VIS SPECTROPHOTOMETRIC

DETECTOR (λ :255 nm) 15 min

Mobile phase : 90% MeOH / H₂O = 50/50 —————→ 80/20

Flow rate : 15 ml/min

Temperature : Room temperature

R-I

黃綠色針狀結晶。

(a) m.p: 190~192℃

(b) FAB-MS(m/z): 609(M⁻1)

(c) IR ν_{\max} cm⁻¹ (KBr):

3500~3000 (Broad -OH)

2937 (Saturated -CH)

1653 (C=O)

1598 (C-O)

(d) H-NMR (300 MHz, MeOH-d₄, δ)

1.10(3H,d,J=6.0Hz,Rha H-6)

3.22~3.79(11H,m,Glu,Rha 11H)

4.49(d,J=2.3 Hz)

4.56(s)

5.07(1H,J=7.3 Hz)

6.19(1H,d,J=2.4 Hz,H-6)

6.37(1H,d,J=2.4 Hz,H-8)

6.86(1H,d,J=8.4 Hz,H-5')

7.62(2H,m,H-2',6')

槐花 (Sophora japonica L.)
 | extd. \bar{c} MeOH 2x
 |
 MeOH ext.
 MeOH | Sephadex LH 20 column
 ↓ (repeated)
 Rutin crude crystal
 H₂O | recrystallization
 ↓
 90% MeOH / H₂O | preparative HPLC
 15min | ODS column
 =50/50 → 80/20 ↓
 Rutin

Chart 1 : Rutin標準品之製備

3. 藥材之炮製

(1). 遵古炮製法

本檢體係遵照一般傳統炮製方法,製成下列四種炮製品 :

- (a) 炒黃 : 槐花花蕾 100 公克,以文火炒 3 分鐘,並不停攪拌至檢體表面呈黃色均勻為度。
- (b) 炒焦 : 槐花花蕾 100 公克,以文火炒 6 分鐘,並不停攪拌至檢體表面呈微焦均勻為度。
- (c) 炒炭 : 槐花花蕾 100 公克,以文火炒 15分鐘,並不停攪拌,使傳熱均勻,炒至檢體表面全黑為止。(* 注意取出撥開,內部仍呈黃色)
- (d) 醋製 : 槐花花蕾 100 公克,噴以 3 % 醋酸 17 毫升,攪拌均勻,以文火炒至乾燥為止。

4. 濃縮製劑之製備

精稱各檢體,經銅臼粉碎後,過40號篩,加10倍量的水煮沸,加熱迴流一小時,趁熱過濾,抽取兩次,合併濾液,減壓濃縮,經冷凍乾燥後,精稱其量,存放於-20℃冰櫃中保存備用

5. 水份含量之測定

經粉碎過 40 號篩之檢體,在配製檢測溶液前,同時精稱適量檢體,利用 KARL-FISCHER 水份測定儀,測定水含量。

Rutin 成分之定量分析

(1). 標準品溶液之配製

精稱芸香苷於 25°C BUCHI TO-50 真空乾燥機，減壓乾燥 24 小時後。精稱 5.0 mg 於 10 ml 之定量瓶中，以甲醇稀釋至定容，成為 0.5 mg/ml 之儲備溶液，再稀釋成 0.1，0.05，0.025，0.005，及 0.001 mg/ml 五種不同之溶度，各以 10 μ l (n = 6) 定量注入 HPLC 分析，結果以 peak area 和濃度關係之線性迴歸方程式，製作標準檢量線。

(2). 試料溶液之調製

槐花花蕾用銅臼粉碎，經乾燥除去水分後，並經 40 號篩。傳統與改良式炮製品均以同法處理。

精稱各檢體粉末 5.0 mg，加甲醇溶液至 25 ml，於超音波振盪 30 分鐘抽取。經離心機 (4000 r.p.m.，10 分鐘) 離心後，再經 0.45 μ m millipore filter 過濾，濾液於定量瓶正確加至 25 ml 即為試料溶液。

(3). Rutin 標準品之分析定量條件

Apparatus : Shimadzu LC-9A

Column : Lichrosort RP-18 (5 μ m , 4 x 250 mm)

Detector : Shimadzu SPD-6AV UV-VIS SPECTROPHOTOMETRIC
DETECTOR (λ : 255 nm)

Mobile phase : CH₃CN : H₂O (0.06% H₃PO₄) 18.4 : 81.6

Flow rate : 15 ml/min

Temperature : Room temperature

(4). Rutin 之定量

$$\text{試料中芸香苷之含量 \%} = \frac{W_s}{W_t} \times \frac{H_t}{H_s} \times 100$$

Wt : 試料之稱取量 (mg)

Ws : 芸香苷標準品之稱取量 (mg)

Ht : 試料溶液芸香苷之 peak area

Hs : 標準品溶液芸香苷之 peak area

(5). Rutin 標準檢量線之製作

Rutin 標準品溶液 0.1，0.05，0.025，0.005 及 0.001 mg/ml 五種不同濃度，以 10 μ l 定量注入 HPLC 中，根據 peak area 和濃度關係之迴歸方程式製成標準檢量線。

Table-1 : 芸香甘濃度與 HPLC 所檢測 peak area 之關係

Concentration (mg/ml)	peak area	mean \pm sd	cv(%)
0.001	11262	11704.8 \pm 649.4	5.549
	12557		
	12325		
	10656		
	11963		
	11466		
0.005	61286	64984.7 \pm 2472.9	3.805
	64590		
	65123		
	62917		
	68457		
	67535		
0.025	328370	334978.5 \pm 13080.2	3.905
	320759		
	320438		
	355051		
	337658		
	347595		
0.05	639196	646520.5 \pm 18034.8	2.790
	631146		
	624394		
	667414		
	673470		
	643503		
0.1	1264936	1345449.5 \pm 59587.9	4.429
	1268788		
	1367003		
	1352288		
	1401443		
	1418239		

$$Y = 1.34222 \times 10^7 X - 5.1558 \times 10^3 \quad (r^2 = 0.9996)$$

STANDARD CURVE OF RUTIN

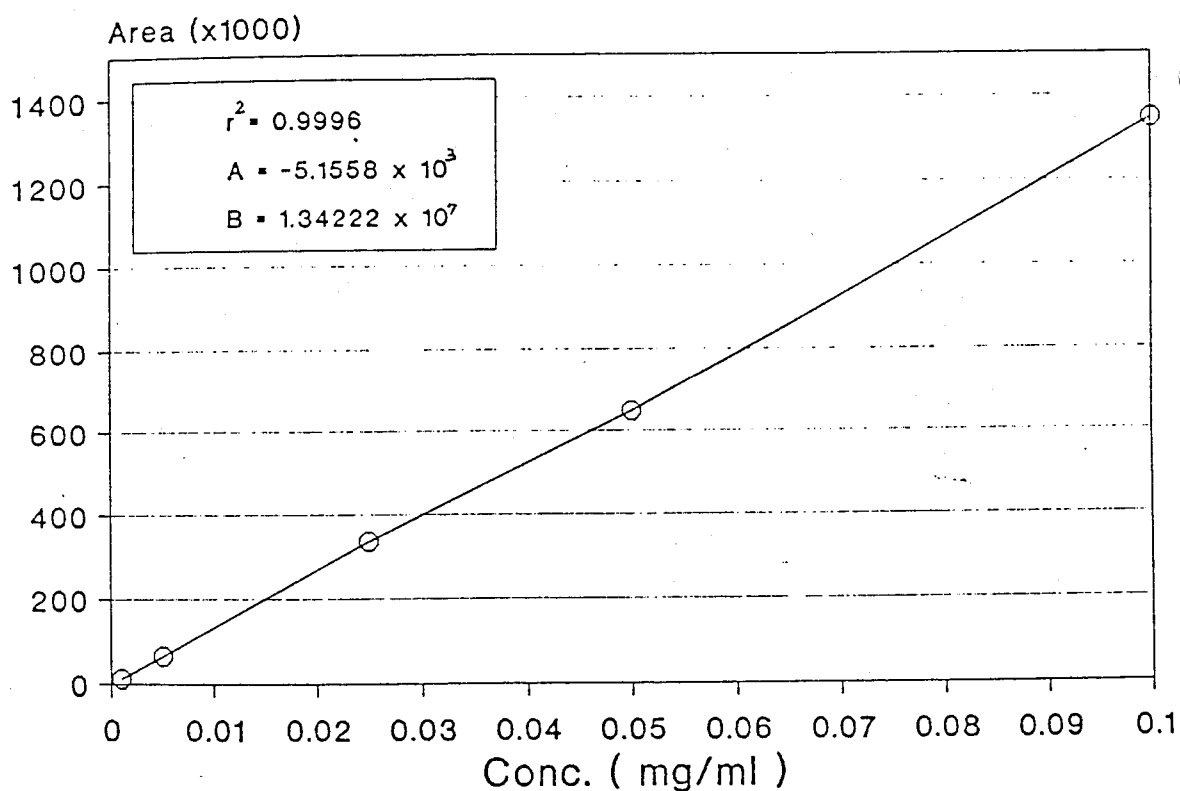


Fig-1 : Rutin 之標準檢量線

7. 精確性試驗

1. 日間精確性試驗

芸香苷標準品不同的三種濃度 0.05, 0.005, 及 0.001 mg/ml 於不同日, 以 10 μ l 定量注入 HPLC 中 (n = 5), 比照標準檢量線之標定方式, 操作五次, 得五次數據, 計算每一個濃度的數據平均值, 標準偏差, 以及分散係數。

2. 日內精確性試驗

芸香苷標準品不同的三種濃度 0.05, 0.005, 及 0.001 mg/ml 於同一日不同時間, 以 10 μ l 定量注入 HPLC 中, 比照標準檢量線之標定方式, 三種不同濃度各有六次定量分析, 計算每一個濃度的六個數據之平均值, 標準偏差, 以及分散係數。

結果與討論

1. 分析方法

- (1) 高效液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography , HPLC) 為目前被廣泛使用的一種精確優良的分析方法，它的操作簡便，分離效果良好，再現性佳，且定量準確，因此本實驗採用 HPLC 進行分析定量芸香苷在槐花炮製過程中的含量變化。(Fig.2-7)
- (2) 檢測方式則採用目前檢測類黃鹼類 (Flavonoid) 最普遍使用靈敏度佳，且穩定性良好，可測紫外光 (Ultraviolet) 吸收光譜的 UV 檢測器。先利用 UV 掃描器找出芸香苷在 UV 各波長的最大吸收，決定使用波長 259 nm 為檢測波長。
- (3) 為確保定量的準確性，本實驗同時採用目前新發展的 Photodiode Array UV-VIS 檢測器，利用預先記憶的芸香苷光譜圖 (Spectrum) 和欲檢測的層析圖之 peak 比對，作相似性試驗 (Similarity test) 以確定純度。(Fig.8-13)

2. 標準品之純度

根據薄層層析法(TLC)及高效液相層析法(HPLC)配合Photodiode Array UV-VIS檢測器，確定芸香苷標準品之純度。

(a) TLC

Sample: rutin(dissolved in LC grade MeOH)

Plate: Silica gel 60 F254

Mobile phase: EtOAc : Formic acid : Glacial acetic acid
: H₂O = 100 : 11 : 11 : 27

UV: 254nm

在層析片(plate)上僅呈現一點。(R_f= 0.52)

(b) HPLC

Sample: rutin(dissolved in LC grade MeOH)

Apparatus: Shimadzu LC-9A

Column: Lichrosort RP-18 (5μm, 4×250nm)

Detector: SPD-M6A PHOTODIODE ARRAY UV-VIS DETECTOR.

Mobile phase: CH₃CN:H₂O(0.06% H₃PO₄) = 18.4:81.6

Flow rate: 1ml/min

Temperature: Room temperature

在層析層上為單純一peak，並利用Photodiode Array UV-VIS檢測器，做此 peak之純度(Purity test)確定純度。

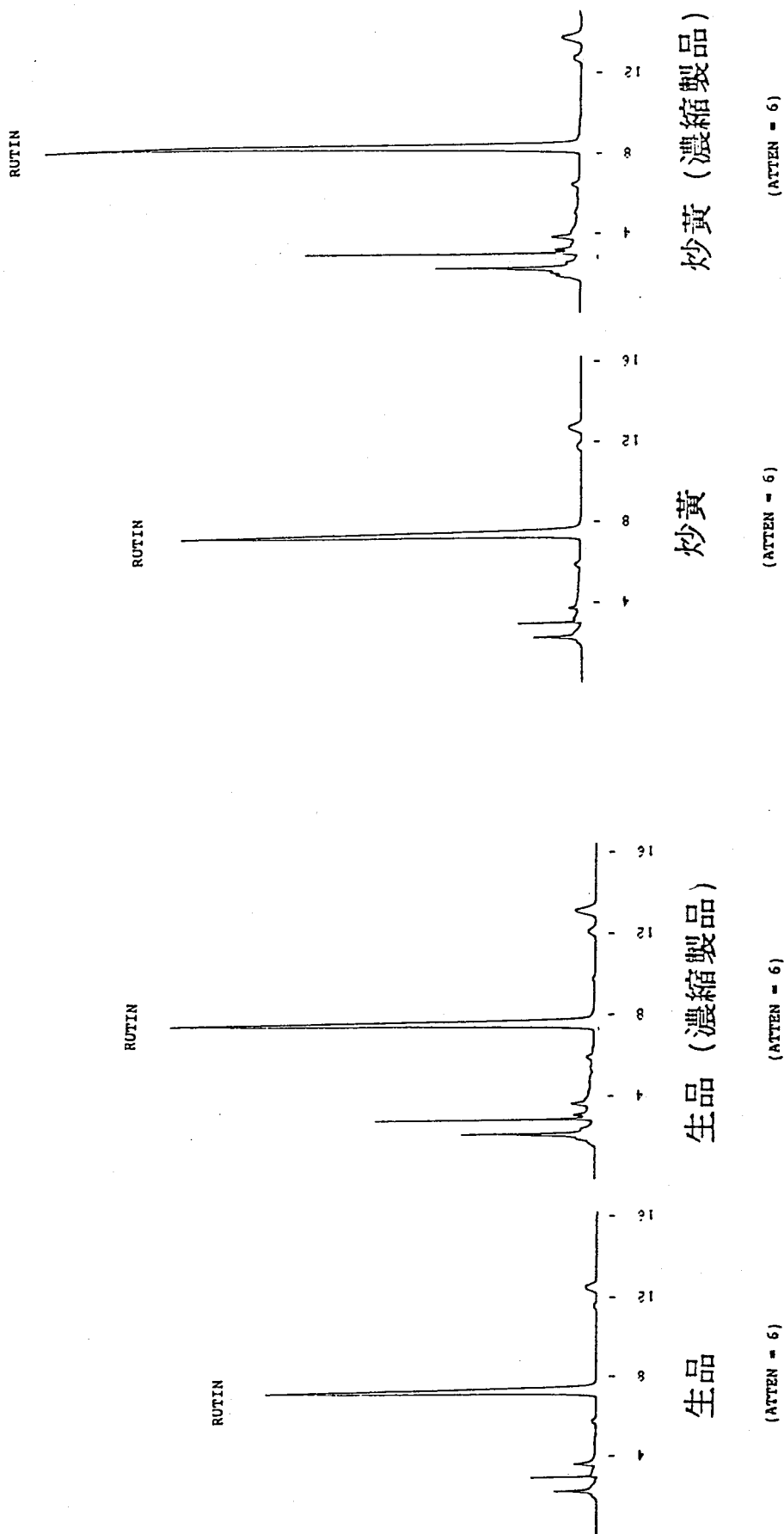


Fig-2, : 槐花生品之層析圖 (一)

Fig-3: : 炒黃槐花之層析圖

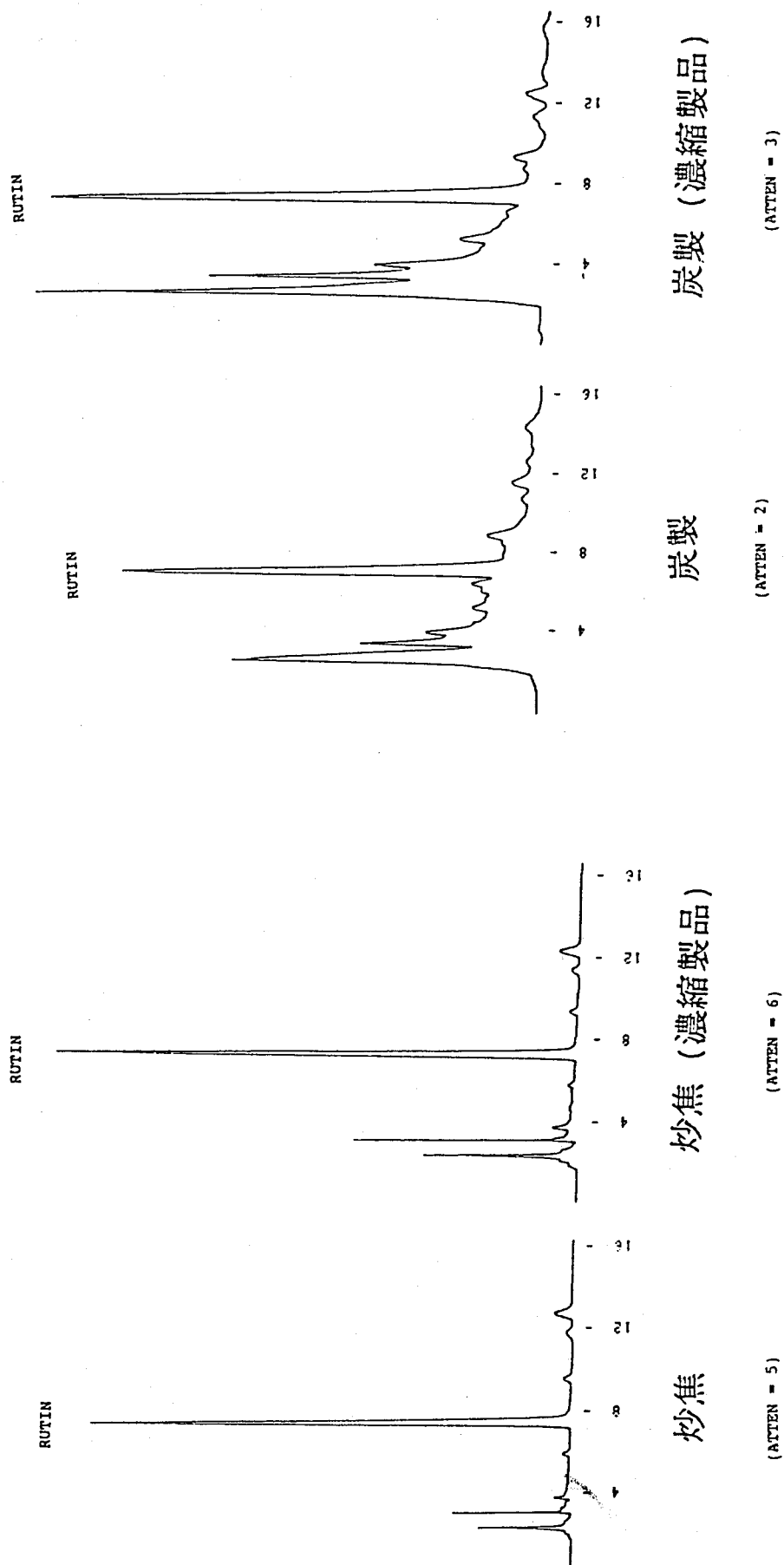


Fig-4' : 炒焦槐花之層析圖

Fig-5 : 炒炭槐花之層析圖

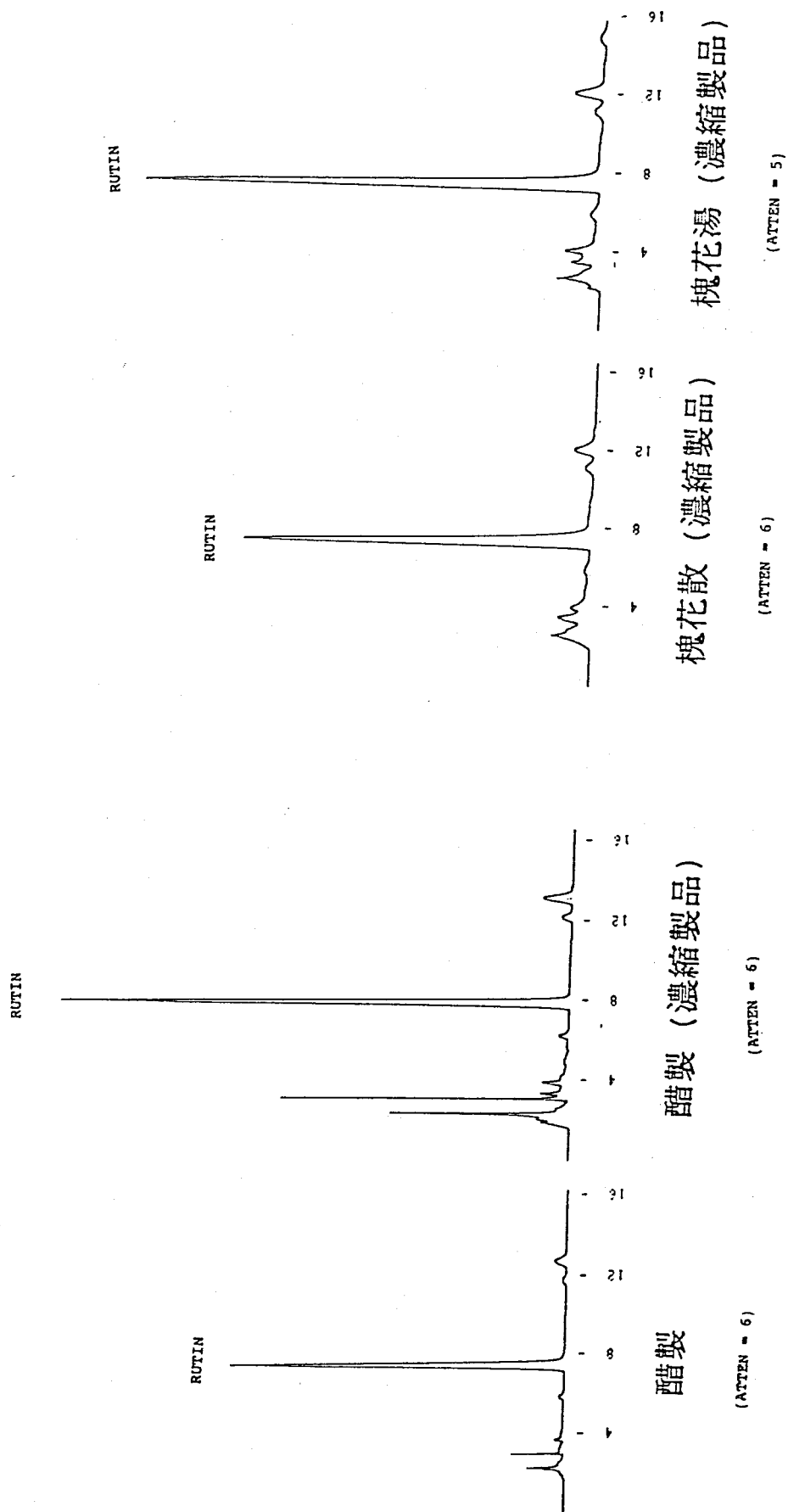
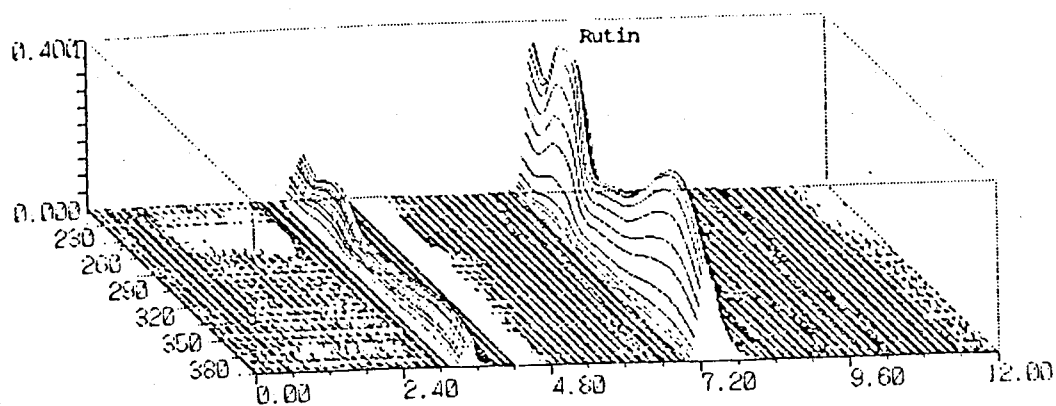


Fig-6 : 醋製槐花之層析圖

Fig-7 : 槐花湯及槐花散之層析圖 (一)

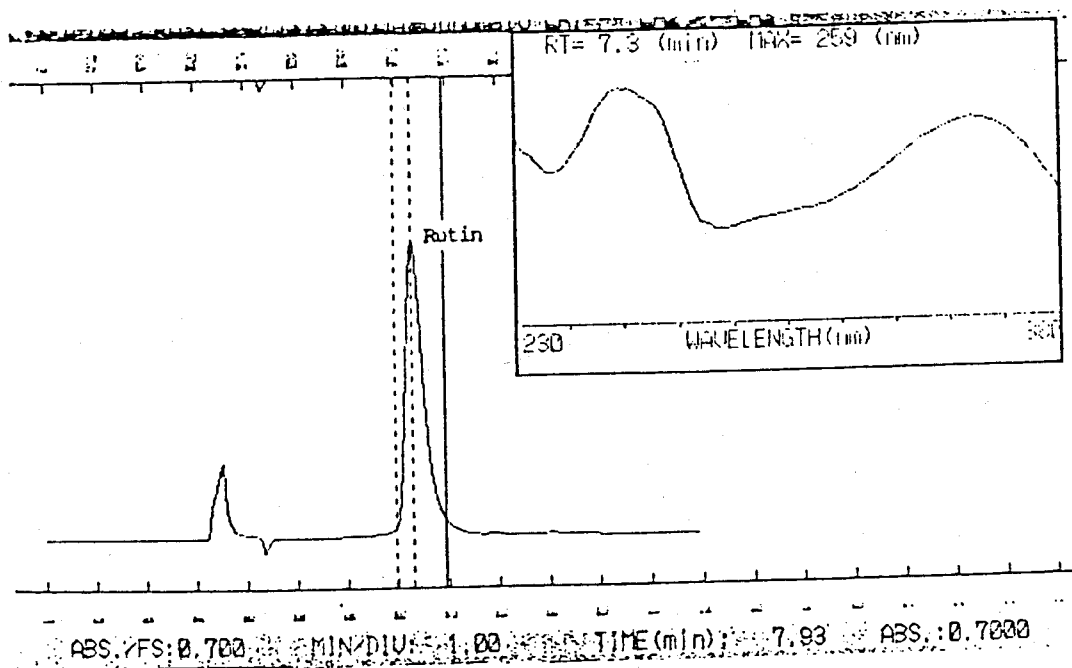
FILE NAME: 032414



カ-ツル POSITION --- TIME(min): 0.00 WAVELENGTH(nm): 230.00

Rutin 之三度空間層析圖

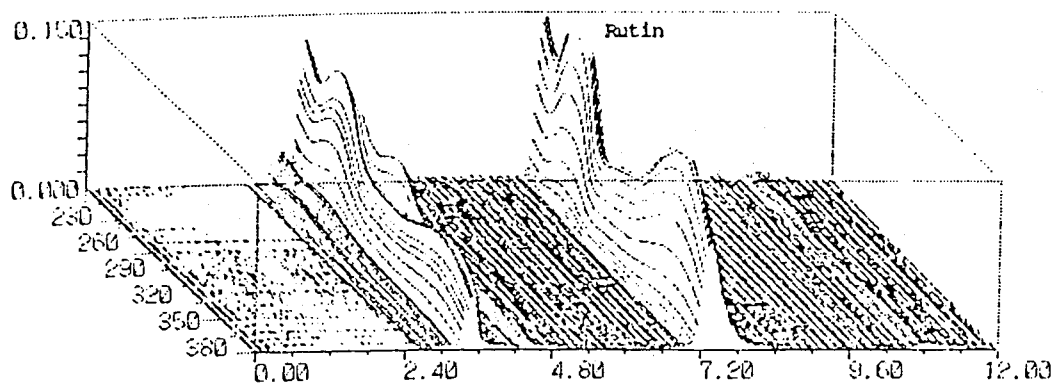
fig-8 : Rutin 之三度空間層析圖



Rutin 之層析圖

Fig-9 : Rutin 之層析圖

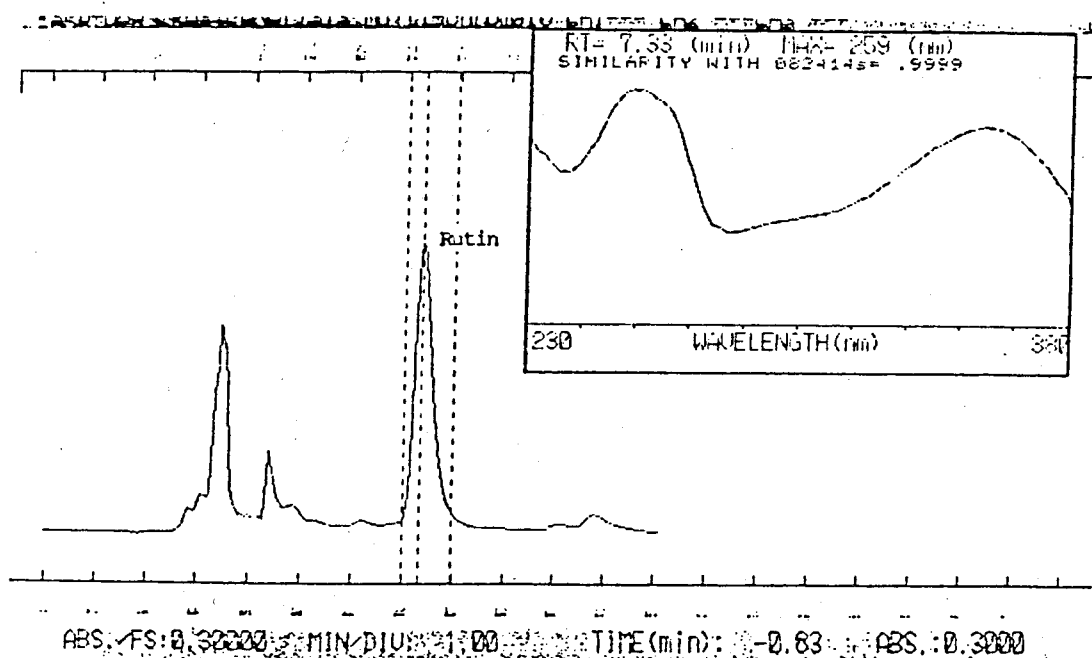
FILE NAME: 082411



カ-ル POSITION --- TIME(min): 0.00 WAVELENGTH(nm): 230.00

槐花之三度空間層析圖

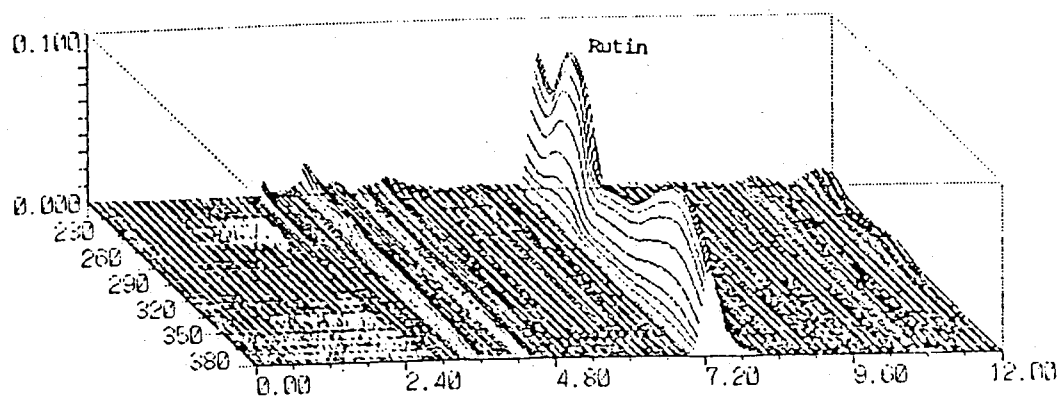
Fig-10 : 槐花之三度空間層析圖



槐花之層析圖

Fig-11 : 槐花之層析圖 (二)

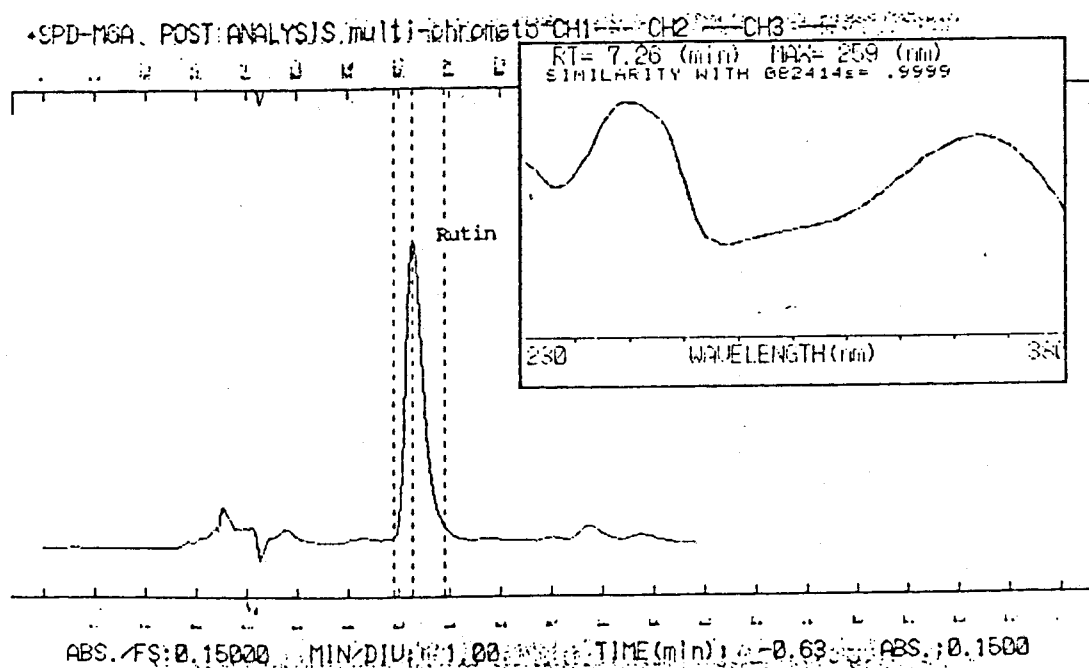
FILE NAME: 082407



为-波 POSITION --- TIME(min): 0.00 WAVELENGTH(nm): 230.00

槐花湯之三度空間層析圖

Fig-12 : 槐花湯之三度空間層析圖



槐花湯之層析圖

Fig-13 : 槐花湯之層析圖 (二)

3. 抽出溶媒

抽出溶媒則分別用不同溶媒抽提，將槐花花蕾以銅臼粉碎過 40 號篩，精稱 5.0 mg，分別以不同溶媒加至 25 ml，於超音波振盪 20 分鐘抽取。經離心機 (4000 r.p.m.，10 分鐘) 離心後，再經 0.45 μ m millipore filter 過濾，濾液於定量瓶正確加至 25 ml 即為檢測溶液，取此溶液，各以 10 μ l ($n = 3$) 定量注入 HPLC 分析結果。將抽出率加以比較 (如 Table 2. 所示)，結果以甲醇抽取率最高，因此本研究之定量抽出均用甲醇為抽出溶媒。 Fig-14

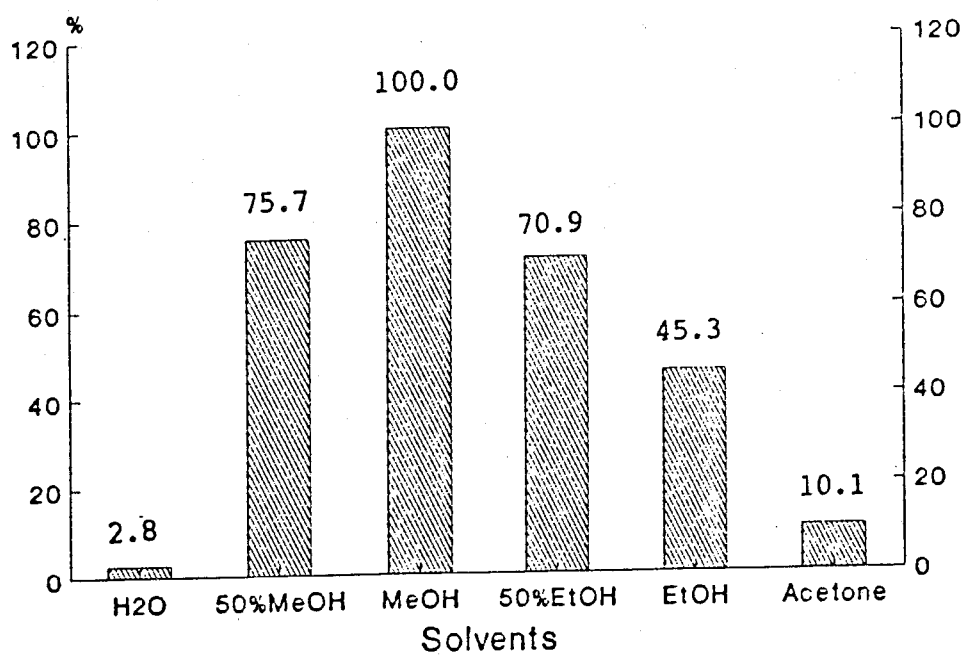
Table-2：不同溶媒對槐花中芸香苷抽出率之比較

Solvent	Area	n	Ratio (max. 100) %
H ₂ O	15385.0	3	2.8
50% MeOH	416111.6	3	75.7
MeOH	549830.3	3	100.0
50% EtOH	389829.6	3	70.9
EtOH	249073.3	3	45.3
Acetone	55533.0	3	10.1

4. 分析定量法之精確性探討

定量精確性之探討以不同日 (Interday) 及同日不同時 (Intraday) 的芸香苷標準品溶液進行定量分析，為評估分析定量方法的精確性。Table 3. 及 Table 4. 之結果發現不同日的三種不同濃度之分散係數 (C.V.) 分別是 8.135%，3.285%，2.702%，在同日不同時的三種不同濃度之分散係數分別是 3.936%，3.503%，及 2.113%，分散係數皆小於 10% 以下，因此具有良好之精確性。

Fig-14 : 不同溶媒對槐花生品之Rutin抽取率之比較



Conc. (mg/ml)	Area	Mean \pm sd	CV (%)
0.001	9919	11150.0 \pm 907.1	8.135
	11232		
	10352		
	12296		
	11951		
0.005	61479	61496.4 \pm 2020.1	3.285
	61303		
	60546		
	59012		
	65142		
0.05	629433	643049.2 \pm 17372.8	2.702
	671501		
	654755		
	626249		
	633308		

Table-4 : Intraday precision test for rutin

Conc. (mg/ml)	Area	Mean \pm sd	CV (%)
0.001	11535	11501.4 \pm 452.7	3.936
	11911		
	12076		
	10930		
	11055		
0.005	59997	63454.0 \pm 2222.5	3.503
	61835		
	66002		
	64250		
	65186		
0.05	625229	616707.2 \pm 13033.5	2.113
	604634		
	599984		
	635382		
	618307		

6. 濃縮製劑之產率

臨床醫師用藥，由於社會之變遷，同時為配合全民健康保險之推動，濃縮中藥製劑已為調劑藥。本研究各炮製檢體之抽取率

Table-5 傳統炮製法之產率

檢體	炮製前淨重 (g)	炮製後淨重 (g)	產率 (%)
炒黃	100.0	92.8	92.8
炒黃	100.0	81.6	81.6
炒黃	100.0	71.8	71.8
醋製	100.0	89.6	89.6

Table-6 : 槐花炮製檢體熱水抽提產率

檢體	炮製前淨重 (g)	炮製後淨重 (g)	產率 (%)
生品	50.0	21.61	43.22
炒黃	50.0	18.90	37.80
炒焦	50.0	19.86	39.72
炒炭	50.0	12.73	25.46
醋製	50.0	21.16	42.32

7. 水份含量之檢測

各檢體由於製備過程均易吸少部份之水份，因此欲進行含量測定，應先進行水份含量之檢測，方能進行正確的定量，其定量法採用 Karl-Fischer 水份測定儀，其結果如表 Table 7 及 Table 8 所示。

Table-7 : 槐花炮製檢體水份含量

檢體	水份含量 (%)			平均值	± 標準偏差	分散係數 (%)
生品	8.5064	7.8374	7.9573	8.0992	± 0.2918	3.6028
炒黃	7.9829	8.0109	8.3253	8.1064	± 0.1552	1.9145
炒焦	9.0112	9.5476	9.1151	9.2246	± 0.2323	2.5183
炒炭	8.9273	9.1166	8.9334	8.9924	± 0.0878	0.9764
醋製	6.9218	6.7325	6.5935	6.7493	± 0.1346	1.9943

Table-8 : 槐花濃縮製品水份含量

檢體	水份含量 (%)			平均值 ± 標準偏差	分散係數(%)
生品	5.8309	6.2767	6.3538	6.1538 ± 0.2305	3.7457
炒黃	5.3974	5.4613	5.8218	5.5602 ± 0.1868	3.3596
炒焦	6.2999	6.4897	6.6931	6.4942 ± 0.1606	2.4729
炒炭	4.5304	4.5352	4.6212	4.5623 ± 0.0047	0.9140
醋製	6.2584	6.2760	6.1987	6.2444 ± 0.0331	0.5301

8. 芸香苷之含量測定

- (1) 槐花及其炮製品依檢測溶液之調製，配製成 0.2 mg/ml，利用微量注射器，以 10 μ l 定量注入 HPLC 中，根據結果計算平均值、標準偏差及分散係數。若檢測結果低於檢量線檢測濃度，則檢測溶液之濃度調整為 0.4 mg/ml。結果如 Table 9 及 Table 10 所示。
- 根據結果發現分散係數皆低於 10%，而且大都在 5% 以下。

Table-9 : 槐花炮製檢體芸香苷含量

檢體	面積					平均值 ± 標準偏差	分散係數(%)
生品	586096	548669	521182	570012	554465	556084.8 ± 21773.7	3.92
炒黃	613045	590664	592270	616259	621465	608140.6 ± 11416.0	1.88
炒焦	520260	542452	488403	538913	509366	519878.8 ± 19865.8	3.82
炒炭	9735	8346	7685	8544	8073	8476.6 ± 692.1	8.16
醋製	558718	587254	613931	573882	639177	594592.4 ± 28745.5	4.83

Table-10 : 槐花炮製濃縮製品芸香苷含量測定

檢體	面積					平均值 ± 標準偏差	分散係數(%)
生品	882863	898180	885842	903243	911576	896340.8 ± 10723.9	1.20
炒黃	1070317	1130475	1049132	1049555	977850	1055465.0 ± 48879.9	4.63
炒焦	723736	759219	801542	779219	733648	759472.8 ± 28649.0	3.77
炒炭	105704	104464	107057	103887	95366	103295.6 ± 4112.0	3.98
醋製	803546	813827	863022	826531	785420	818469.2 ± 26024.8	3.18

- (2) 根據所計算出的 peak area 平均值，配合標準檢量線計算出每個檢體中芸香苷的含量（即含量 A），再利用原先測出各檢體的水份含量，計算各檢體在水份扣除情況下，芸香苷的實際含量（即含量 B），結果如 Table 11 及 Table 12 所示。其中：

$$(a) \text{ 含量 A (含水份槐花檢體之芸香苷含量) } \\ \text{平均面積換算所得之濃度 (mg/ml) } \\ = \frac{\quad}{\text{檢體溶液之濃度 (0.2 mg/ml) }} \times 100\%$$

$$(b) \text{ 含量 B (扣除水份槐花檢體之芸香苷含量) } \\ \text{含量 A } \\ = \frac{\quad}{(1 - \text{水份含量百分比}) }$$

Table-11：槐花炮製檢體中芸香苷之含量

檢體	平均面積	含量 A (%)	1-水份含量百分比	含量 B (%)
生品	556084.8	20.19	0.9190	22.75
炒黃	608140.6	22.85	0.9189	24.86
炒焦	519878.8	19.56	0.9078	21.55
炒炭	8476.6	0.51	0.9101	0.56
醋製	594592.4	22.35	0.9325	23.96

Table-12：槐花濃縮製品中芸香苷之含量

檢體	平均面積	含量 A (%)	1-水份含量百分比	含量 B (%)
生品	856340.8	33.59	0.9385	35.79
炒黃	1055465.0	39.51	0.9444	41.84
炒焦	759472.8	28.49	0.9351	30.46
炒炭	103295.6	4.04	0.9544	4.23
醋製	818469.2	30.68	0.9376	32.72

9. 槐花相關方劑之檢測

利用 HPLC 配合 Photodiode array 檢測器，並由相似性測試結果，槐花湯及槐花散經檢測其濃縮製品中芸香苷之含量，由 Table 13發現槐花湯為 27.44%，而槐花散為 35.69%。此項結果與原處方中槐花各佔1/3 及 2/3 之比例不同，可能是芸香苷於熱水之抽取程度不同所致。

Table-13 : 槐花方劑濃縮製品中芸香苷之含量

檢體	平均面積	含量 A (%)	1-水份含量百分比	含量 B (%)
槐花湯	674477.8	25.32	0.9216	27.44
槐花散	873127.4	32.72	0.9167	35.69

Part II

葛 根

Puerariae Radix

(*Pueraria lobata* Ohwi.)

前言

葛根爲豆科植物 *Pueraria lobata* Ohwi. 除去周皮之根，主要含有澱粉 10~14%，isoflavonoid-daidzin，daidzein，puerarin，puerarin-7-xyloside等¹ 及Kokonein puerarol，芳香族配醣體 pueroside A、B。

葛根爲中藥中有名之解熱，鎮痛，消炎，生津止瀉藥材，於『神農本草經』中列爲草部中品。臨床上用於發熱惡寒、頭痛感冒、扁桃腺炎等初期症及蕁麻疹 (Urticaria)、化膿性疾症、蓄膿症、肩胛痠痛等初期症狀最常用之中藥處方——『葛根湯』中之主藥。其他常用含葛根之方劑有『葛根黃連黃芩湯』、『升麻葛根湯』、『葛根湯』、『葛根黃芩湯』、『葛根解肌湯』、『柴葛解肌湯』。

葛根之抗 choline 作用物質爲 daidzein、daidzin² 及 puerarin³，本報告特以 puerarin 爲指標成分測定，運用高速液相層析法 (HPLC) 進行葛根中藥方劑之 puerarin 之定量。

Summary

A method for the determination of puerarin in *Puerariae Radix* containing Chinese medicinal prescriptions were established by using high-performance liquid chromatography

實驗材料及方法

一.

中藥材料

Name	Original Scitific Name	Name
升麻	<i>Cimicifuga dahurica</i> Maximowicz	Ranunculaceae 毛茛科
葛根	<i>Pueraria lobata</i> Ohwi	Leguminosae 豆科
山梔	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	Rubiaceae 茜草科
白芍	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	Paeoniaceae 牡丹科
柴胡	<i>Bupleurum chinense</i> De Candolle	Umbelliferae 繖形科
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Gerorgi	Labiatae 唇形科
黃連	<i>Coptis chinensis</i> Franch.	Ranunculaceae 毛茛科
木通	<i>Clematis armandi</i> Franch.	Ranunculaceae 毛茛科
麻黃	<i>Ephedra sinica</i> Stapf	Ephedraceae 麻黃科
桂枝	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Lauraceae 樟科
生薑	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae 薑科
大棗	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller	Rhamnaceae 鼠李科
羌活	<i>Notopterygium incisium</i> Ting	Umbelliferae 繖形科
桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i> A. De Candolle	Campanulaceae 桔梗科
白芷	<i>Angelica dahurica</i> (Fisch.) Benth. et. Hook.	Umbelliferae 繖形科
(炙)甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisher	Leguminosae 豆科
五味子	<i>Schisandra chinensis</i> Baillon	Schisandraceae 松藤科

試藥： MeOH

50% MeOH

70% MeOH

75% MeOH

H₂O

Acetonitrile

裝置： Shimadzu LC-9A

SPD-M6A Photodiode Array UV-VIS Detector

SPD-M6A UV-VIS Spectrophotometric Detector

C-R6A Chromatopac

Acer 910 Computer

減壓濃縮機(Buchi Rotavapor)

超音波振盪器(Branson 3200)

Ultraviolet Light

離心機(Eppendorf Centrifuge 5415C)

電動天平(Libor Aeu-210)

水浴鍋(Yamato Water Bath BS-20)

二. 含葛根處方之調劑：

下列處方依醫方集解中之出典，調劑一日之劑量。

處方一、『升麻葛根湯』 (出典：醫宗金鑑)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
升麻	1.00	Cimicifugae Rhizoma
葛根	1.00	Puerariae Radix
山梔	1.00	Gardeniae Fructus
白芍	1.00	Paeoniae Radix
柴胡	1.00	Bupleuri Radix
黃芩	1.00	Scutellariae Radix
黃連	0.50	Coptidis Rhizoma
木通	0.50	Hocquartiae Caulis
(炙)甘草	0.50	Glycyrrhizae Radix

處方二、『葛根黃連黃芩湯』 (出典：傷寒論方)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
葛根	8.00	Puerariae Radix
黃芩	3.00	Scutellariae Radix
黃連	3.00	Coptidis Rhizoma
(炙)甘草	2.00	Glycyrrhizae Radix

處方三、『葛根湯』 (出典：傷寒金匱方)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
葛根	4.00	Puerariae Radix
白芍	2.00	Paeoniae Radix
(炙)甘草	2.00	Glycyrrhizae Radix
麻黃	3.00	Ephedrae Herba
桂枝	2.00	Cinnamoni Ramulus
生薑	3.00	Zingiberis Rhizoma
大棗	12枚	Zizyphi Fructus

處方四、『葛根黃芩湯』 (出典：証治準繩方)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
葛根	2.00	Puerariae Radix
芍藥	1.00	Paeoniae Radix
黃芩	2.00	Scutellariae Radix
黃連	1.00	Coptidis Rhizoma
石膏	1.00	Gypsum Fibrosum
五味子	11粒	Schisandrae Fructus
(炙)甘草	0.50	Glycyrrhizae Radix

處方五、『葛根解肌湯』 (出典：沈氏尊生書方)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
葛根	3.00	Puerariae Radix
黃芩	2.00	Scutellariae Radix
麻黃	0.50	Ephedrae Herba
桂枝	1.00	Cinnamoni Ramulus
赤芍	1.50	Paeoniae Radix (Rubra)
(炙)甘草	0.80	Glycyrrhizae Radix

處方六、『柴葛解肌湯』 (出典：陶華方)

中藥名	用量(錢)	生藥名(拉丁名)
葛根	1.00	Puerariae Radix
芍藥	1.00	Paeoniae Radix
柴胡	1.00	Bupleuri Radix
黃芩	1.00	Scutellariae Radix
石膏	1.00	Gypsum Fibrosum
桔梗	1.00	Platycodi Radix
羌活	1.00	Notopterygii Rhizoma
白芷	1.00	Angelicae Dahuricae Radix
(炙)甘草	0.50	Glycyrrhizae Radix

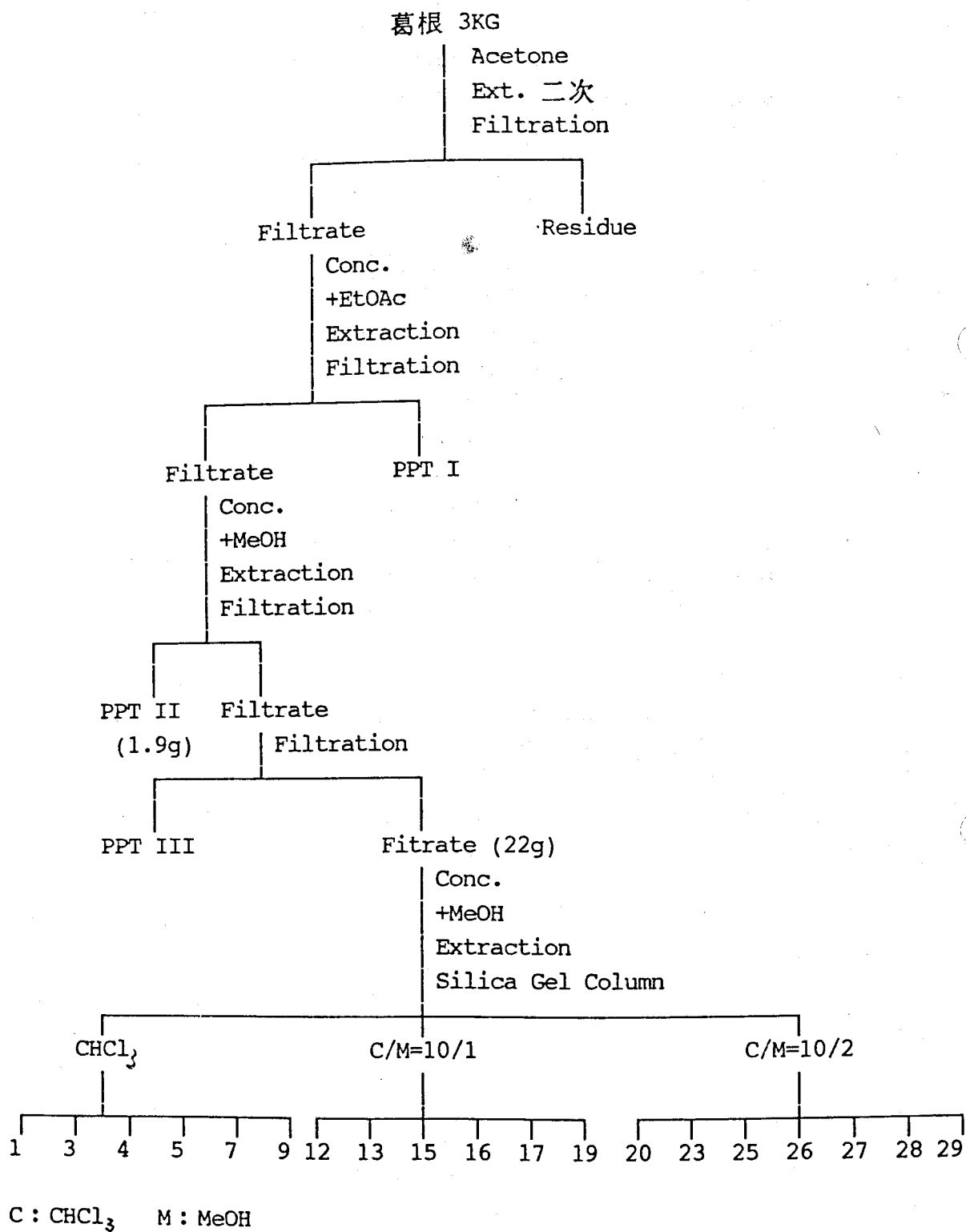
三. Puerarin 之抽取、分離、精製法

葛根3公斤，依Chart I之流程抽取，再經Column Chromatography分離再結晶精製後，得白色針狀結晶--P-1，P-1與Puerarin混合、mp不下降。比較 I.R. 與 NMR 之圖譜與 Puerarin 一致，所以確定 P-1 為 Puerarin。

Puerarin 純度試驗

經HPLC、TLC分析：HPLC 為single peak、TLC one spot

Chart I: 葛根中Puerarin之抽取



四. 高速液體色層分析：

(1) 條件：

檢出器：Shimadzu LC-9A

Column：RP-18 4 * 125mm(5um)

temp：25

Inj. Vol：10ul

M. Phase：10% Acetonitrile/H₂O

Flow Rate：0.8ml/min

Detector：SPD-M6A 、UV-251nm

Recorder：C-R6A

Slope：1500

Chart Speed：1 cm/min

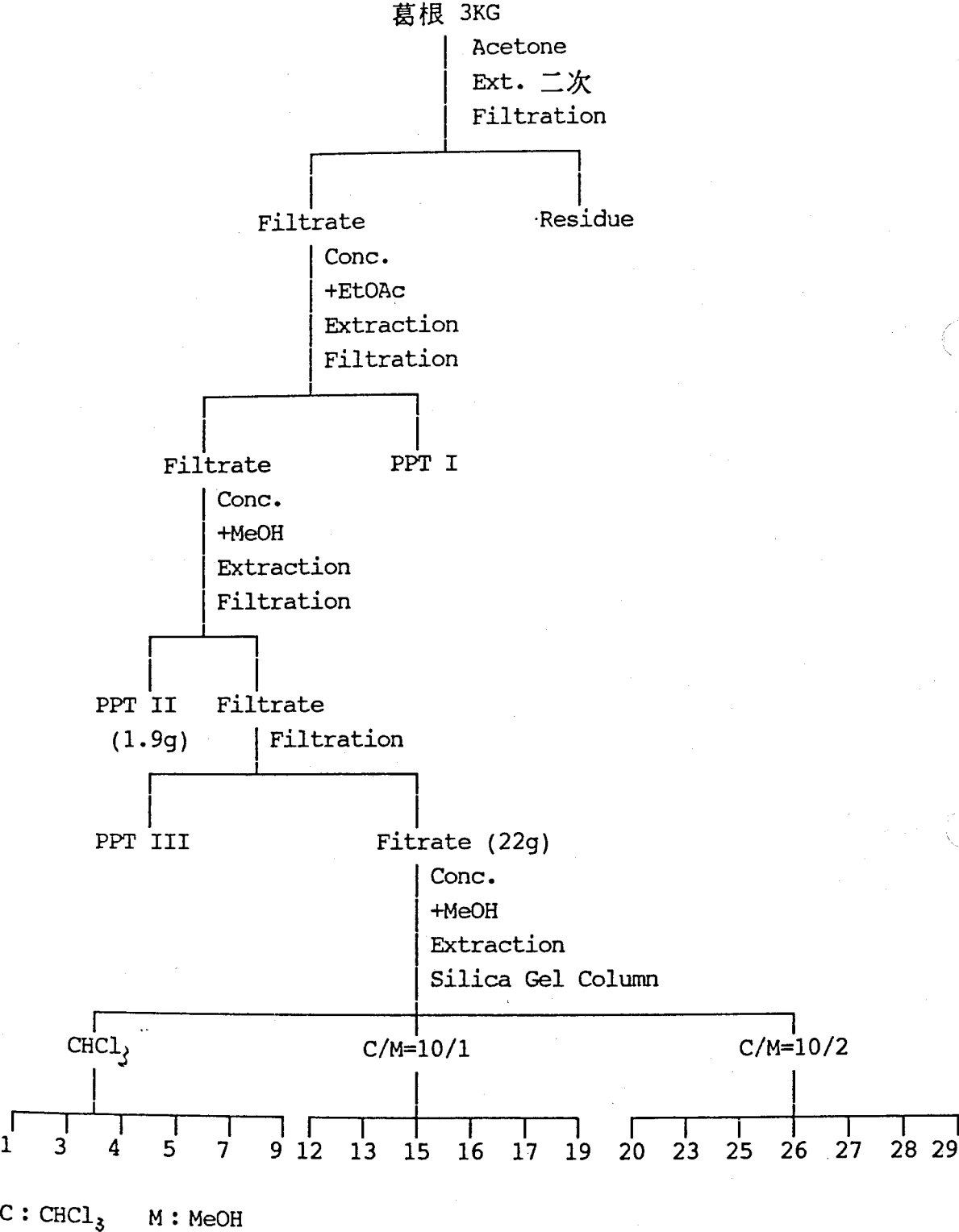
Attenuation：7

(2) HPLC 之定量法：

試料溶液之製作：

1. 精稱 Powder 1 g
2. 置 tube 中
3. 加 10 ml solvent
4. 70°C 20min 超音波振盪
5. 趁熱過濾至容積瓶
6. 加 solvent 至 10 ml
7. 離心 (或置 vial 中 離心)
8. 取上清液置 vial
9. 經 0.45um mem. filter 過濾
10. inj. 至 L.C.

Chart I: 葛根中Puerarin之抽取



四. 高速液體色層分析：

(1) 條件：

檢出器：Shimadzu LC-9A

Column：RP-18 4 * 125mm(5um)

temp：25

Inj. Vol：10ul

M. Phase：10% Acetonitrile/H₂O

Flow Rate：0.8ml/min

Detector：SPD-M6A 、UV-251nm

Recorder：C-R6A

Slope：1500

Chart Speed：1 cm/min

Attenuation：7

(2) HPLC 之定量法：

試料溶液之製作：

1. 精稱 Powder 1 g
2. 置 tube 中
3. 加 10 ml solvent
4. 70℃ 20min 超音波振盪
5. 趁熱過濾至容積瓶
6. 加 solvent 至 10 ml
7. 離心 (或置 vial 中 離心)
8. 取上清液置 vial
9. 經 0.45um mem. filter 過濾
10. inj. 至 L.C.

結果與討論：

一. 葛根中 Puerarin 抽出法之探討

(1) 抽出溶劑之比較

葛根用粉碎機粉碎，過40#篩後，以10倍體積之溶劑於有栓試管中抽取，以70℃、超音波振盪抽取20分鐘，趁熱過濾於10ml容積瓶中，經高速離心及過濾膜過濾，以作為檢測液。

抽取溶劑包括MeOH、50%MeOH、70% MeOH、75%MeOH、H₂O等，比較各種不同溶劑之抽取率。結果如下表：(Fig. 1)

Solvent	抽取率(Peak Area)
MeOH	4124766
50%MeOH	6376159
70%MeOH	7017247
75%MeOH	11214900
H ₂ O	4064766

(2) 抽出時間之比較

由以上實驗之結果得知75%MeOH抽取率最高，因此進一步測定抽出時間和Puerarin抽出量有密切的關係。以與(1)相同之抽出條件，以抽取5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min、35 min、40 min、45 min、50 min作為檢測液。打入HPLC之量為10ul。以上述 HPLC Puerarin 定量條件測定其抽取率，結果如下：(Fig. 2)

min	Peak Area
5	6740388
10	8844141
15	10785804
20	10795718
25	10871044
30	11357480
35	12044818
40	11233381
45	10184291
50	9709679

(3) 檢量線之作成(絕對檢量線)

取標準品共六種濃度：0.5mg/ml、0.25mg/ml、0.1mg/ml、0.05mg/ml、0.025mg/ml、0.01mg/ml

L.C.條件同上，結果如 Fig 3 所示

二. 含葛根方劑中Puerarin之定量

各方劑中 Puerarin 之含量如 Table 1 所示。

各方劑之三度空間圖如 Fig 4~Fig 9 所示。

References

- 1) T.Murakami, Y.Nishikawa, T.Ando: Chem Pharm. Bull. (Tokyo), 8, 688 (1960)
- 2). 柴田承二、村上孝夫、西川嘉廣；日本藥學雜誌，79，757 (1959)
- 3). 柴田承二、村上孝夫、西川嘉廣；Chem Pharma Bull (Tokyo) 1，134 (1959)

結果與討論：

一. 葛根中 Puerarin 抽出法之探討

(1) 抽出溶劑之比較

葛根用粉碎機粉碎，過40#篩後，以10倍體積之溶劑於有栓試管中抽取，以70℃、超音波振盪抽取20分鐘，趁熱過濾於10ml容積瓶中，經高速離心及過濾膜過濾，以作為檢測液。

抽取溶劑包括MeOH、50%MeOH、70% MeOH、75%MeOH、H₂O等，比較各種不同溶劑之抽取率。結果如下表：(Fig. 1)

Solvent	抽取率(Peak Area)
MeOH	4124766
50%MeOH	6376159
70%MeOH	7017247
75%MeOH	11214900
H ₂ O	4064766

(2) 抽出時間之比較

由以上實驗之結果得知75%MeOH抽取率最高，因此進一步測定抽出時間和Puerarin抽出量有密切的關係。以與(1)相同之抽出條件，以抽取5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min、35 min、40 min、45 min、50 min作為檢測液。打入HPLC之量為10ul。以上述 HPLC Puerarin 定量條件測定其抽取率，結果如下：(Fig. 2)

min	Peak Area
5	6740388
10	8844141
15	10785804
20	10795718
25	10871044
30	11357480
35	12044818
40	11233381
45	10184291
50	9709679

(3) 檢量線之作成(絕對檢量線)

取標準品共六種濃度：0.5mg/ml、0.25mg/ml、0.1mg/ml、0.05mg/ml、0.025mg/ml、0.01mg/ml

L.C.條件同上，結果如 Fig 3 所示

二. 含葛根方劑中Puerarin之定量

各方劑中 Puerarin 之含量如 Table 1 所示。

各方劑之三度空間圖如 Fig 4~Fig 9 所示。

References

1) T.Murakami, Y.Nishikawa, T.Ando: Chem
Pharm.Bull.(Tokyo), 8, 688(1960)

2). 柴田承二、村上孝夫、西川嘉廣；日本藥學雜誌，79，757(1959)

3). 柴田承二、村上孝夫、西川嘉廣；Chem Pharma Bull(Tokyo)
1，134(1959)

Puerariae Radix

(Solvent Effect)

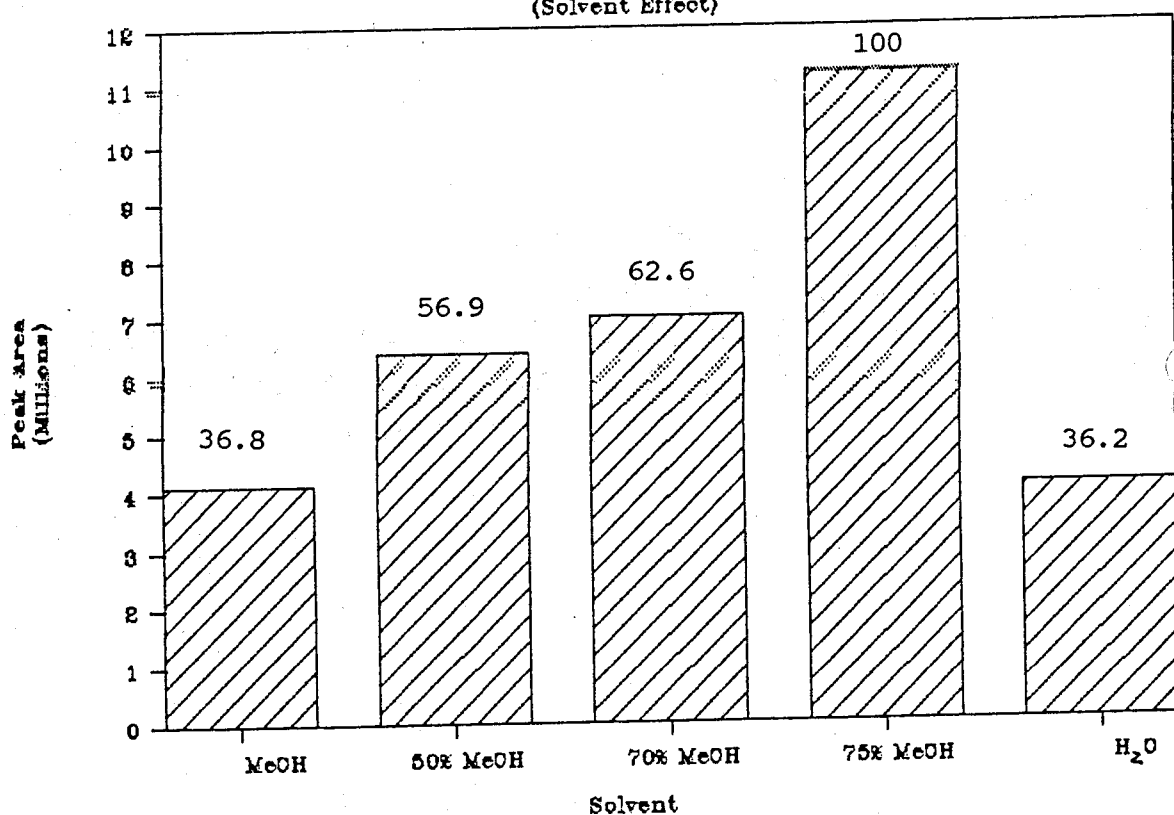


Fig 1. 葛根中 Puerarin 之定量：不同溶劑之粹取效果 (%)

Puerariae Radix

(Time Vs. Peak Area)

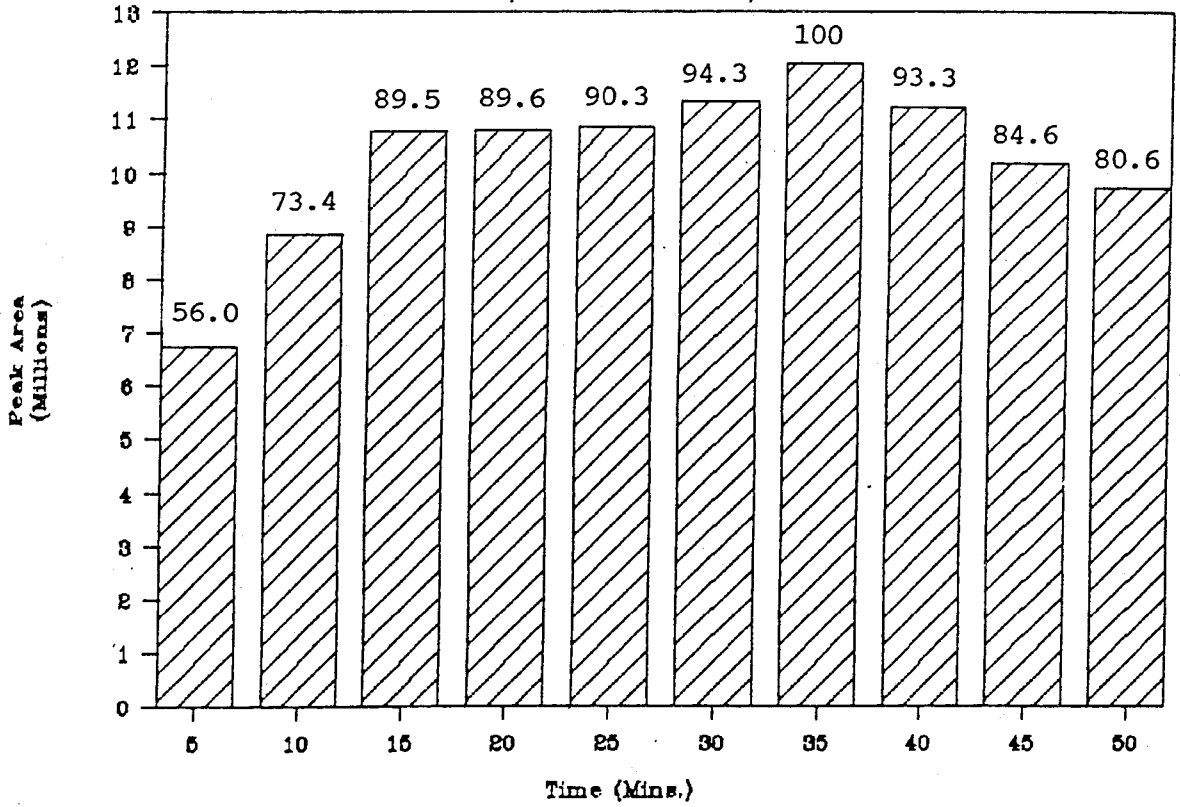


Fig 2. 葛根中 Puerarin 之定量：不同時間之粹取效果(%)

Calibration Curve (88.6.19)

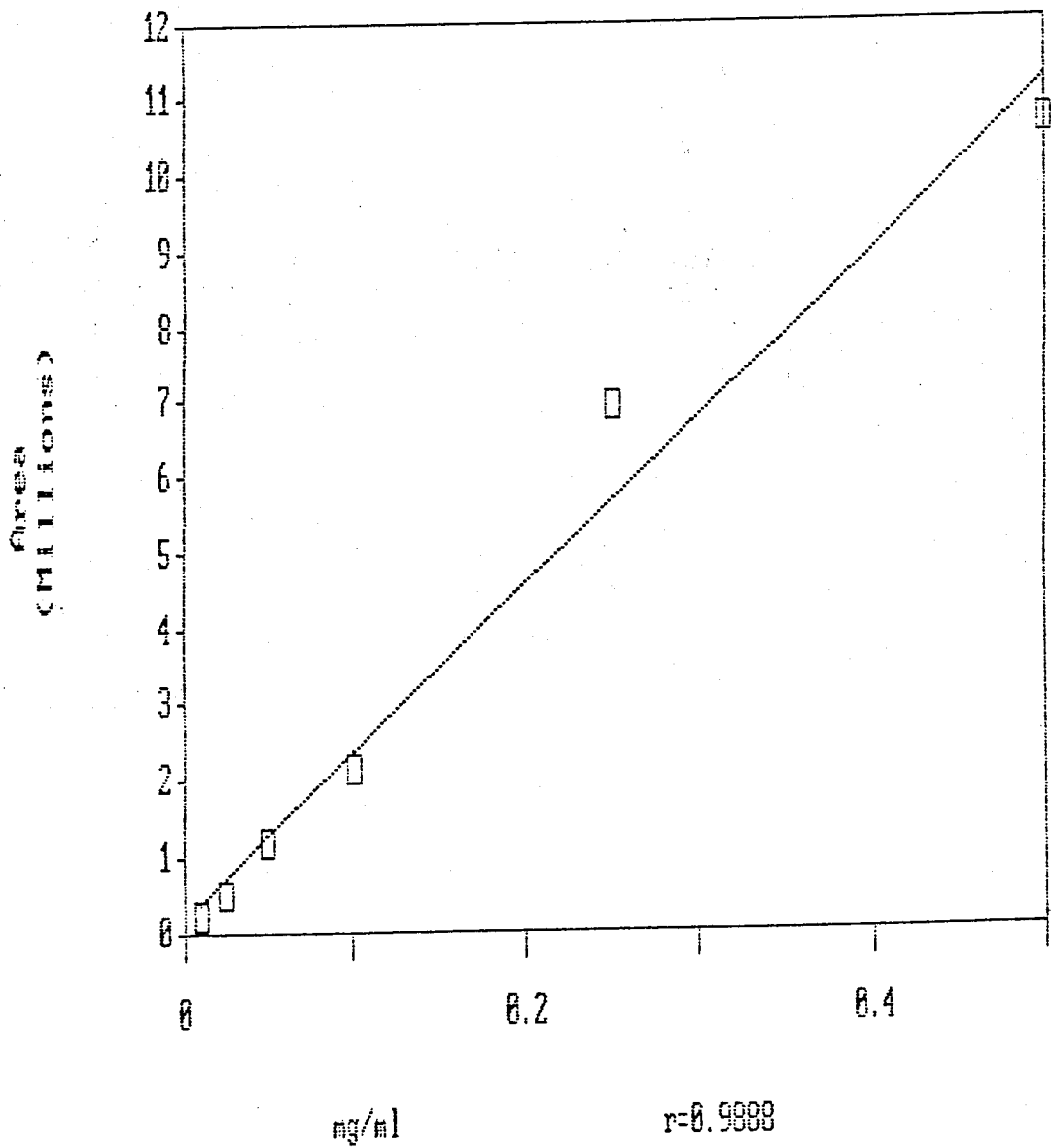


Fig 3. 葛根中 Puerarin 之定量：檢量線之製作

Table 1. 含葛根方劑中Puerarin之含量(%)

方 劑 名	理 論 值(%)	實 際 值(%)
升 麻 葛 根 湯	5.20	4.50
葛 根 黃 連 黃 芩 湯	19.40	20.40
葛 根 湯	9.00	8.10
葛 根 黃 芩 湯	9.80	10.80
葛 根 解 肌 湯	13.80	12.80
柴 葛 解 肌 湯	4.70	4.70

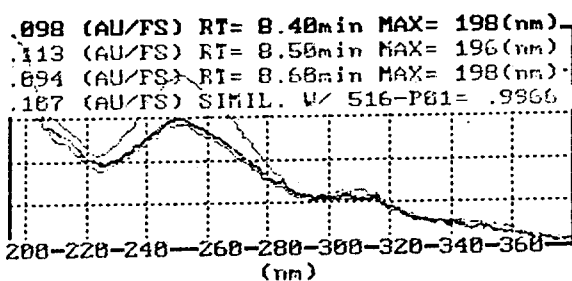
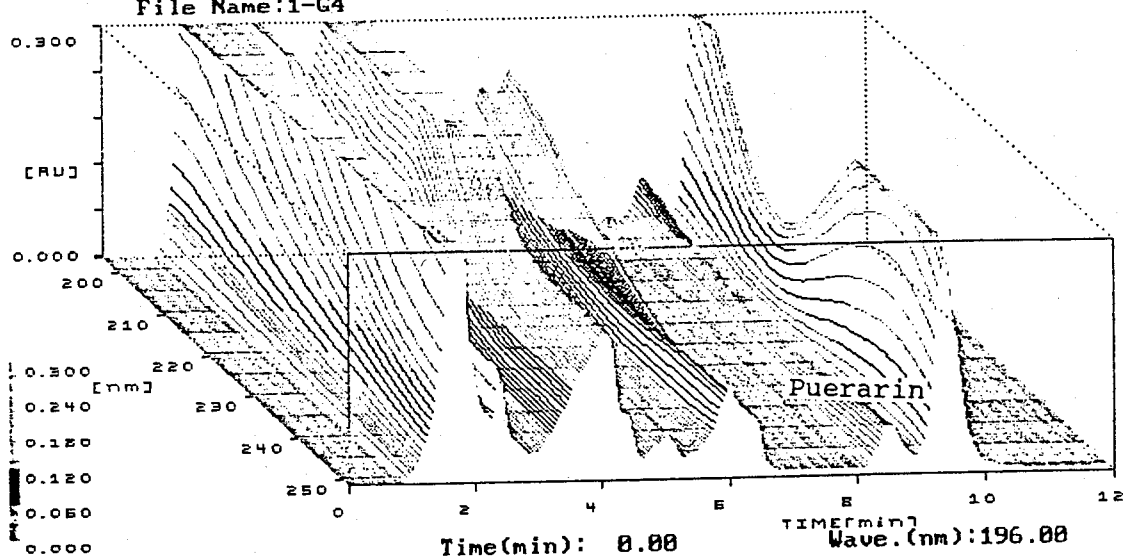


Fig 4. 方劑一：升麻葛根湯之三度空間圖

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:2-C4

'HOME' ->Page2

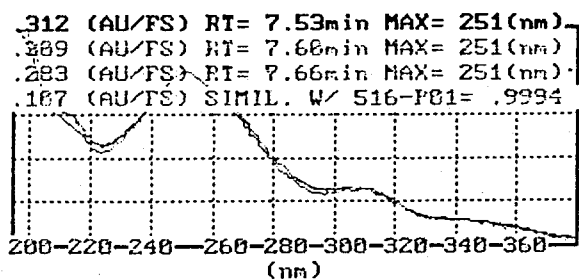
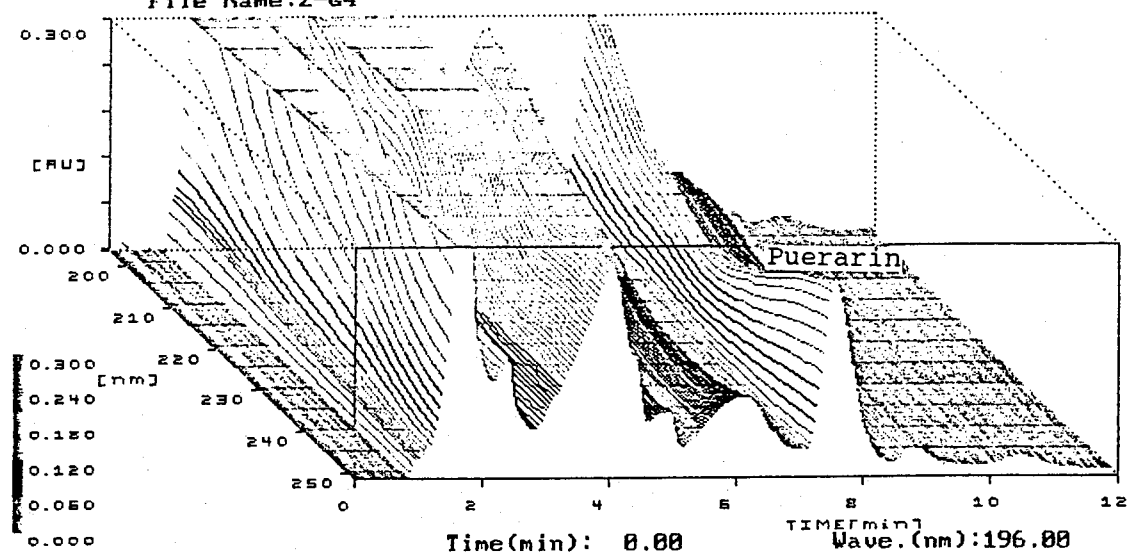


Fig 5. 方劑二：葛根黃連黃芩湯之三度空間圖

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:3-G4

'HOME' ->Page2

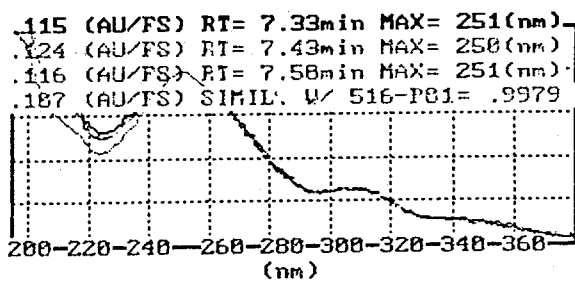
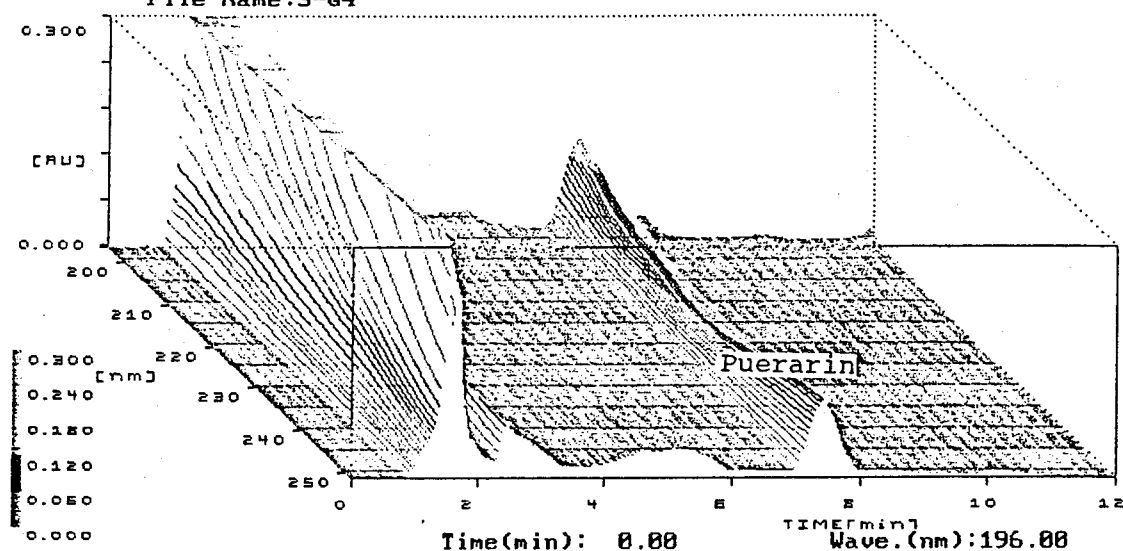


Fig 6. 方劑三、葛根湯之三度空間圖

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:4-G4

'HOME' ->Page2

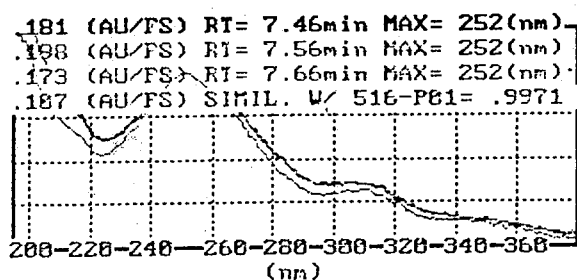
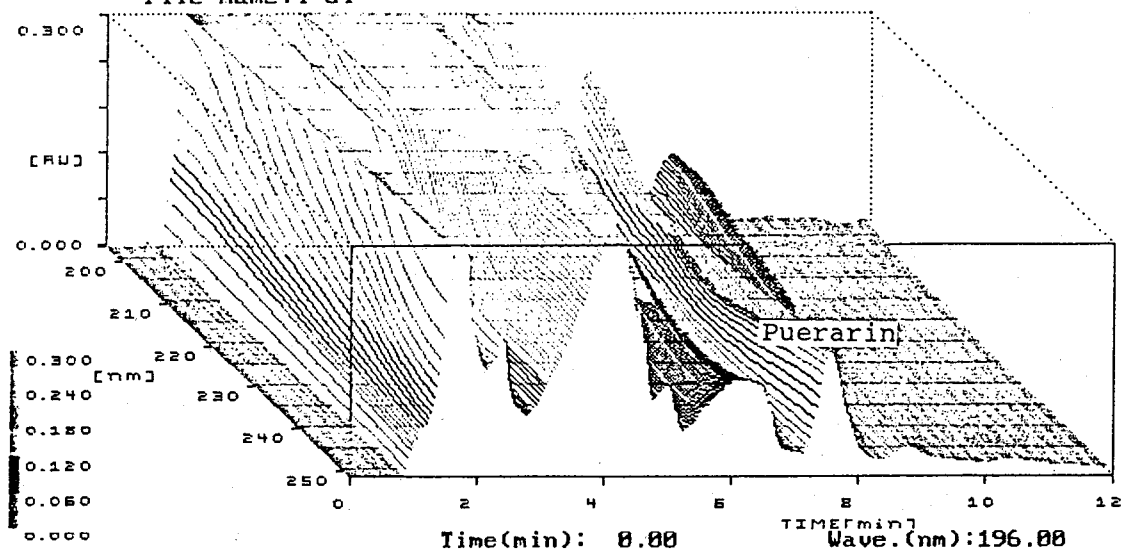


Fig 7. 方劑四：葛根黃芩湯之三度空間圖

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:5-G4

'HOME'→Page2

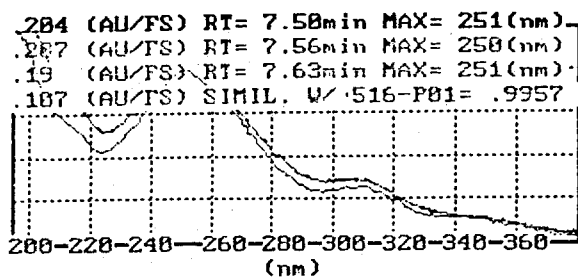
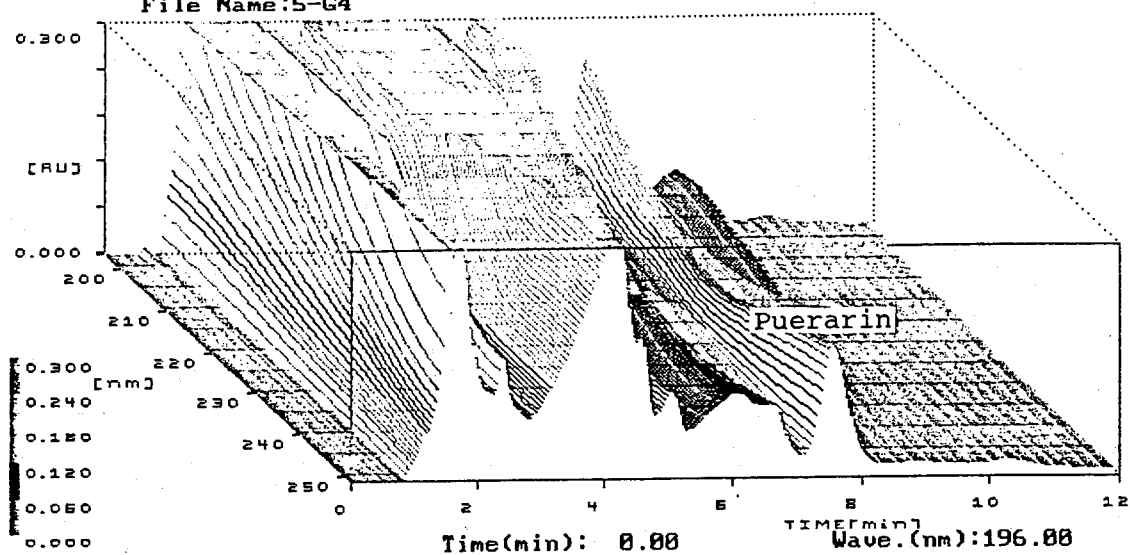
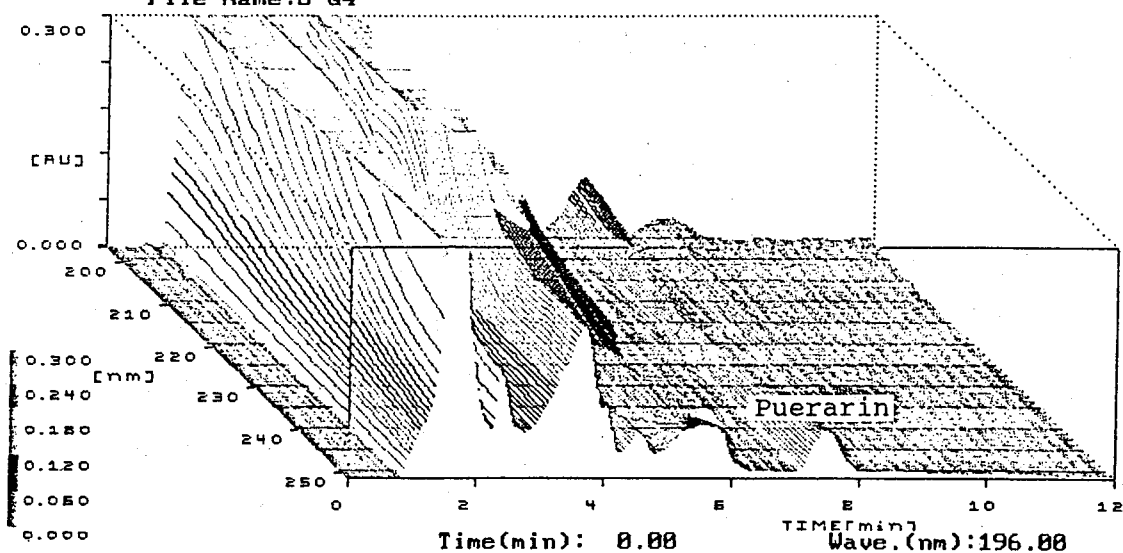


Fig 8. 方劑五：葛根解肌湯之三度空間圖

*SPD-M6A POST ANALYSIS 3-Dimensional Chromatogram
File Name:6-G4

'HOME' ->Page2



.111 (AU/FS) RT= 7.43min MAX= 196(nm)
.113 (AU/FS) RT= 7.58min MAX= 196(nm)
.155 (AU/FS) RT= 7.56min MAX= 196(nm)
.187 (AU/FS) SIMIL. Q/ 516-P81= .9952

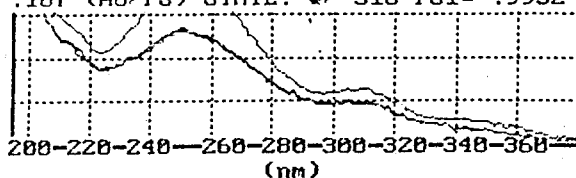


Fig 9. 方劑六：柴葛解肌湯之三度空間圖

比較科學濃縮中藥與傳統煎劑 對大白鼠離體器官所引發的藥效反應

陽明醫學院・藥理學科

黃啓剛・郭嘯天

摘要

傳聞科學濃縮中藥藥效較傳統煎劑差。為要確定科學濃縮中藥與傳統煎劑的藥效是否有差異，本計畫擬採用實驗動物去比較科學濃縮單方中藥以及傳統煎劑方式準備的同類單方中藥藥效，以確定科學濃縮中藥及傳統煎劑這兩種不同泡製方法是否會帶來藥效上的差別。研究方法採用傳統離體器官實驗方法去測量中藥對大白鼠離體右心房之心跳頻率，左心房之心收縮力及藥物導致大動脈收縮的影響。結果顯示，以香附為例，科學濃縮香附與香附生藥（磨粉或不磨粉）的藥效在同劑量情況下似未有明顯差異。鑑於臨床上科學濃縮香附的用量比香附生藥用傳統煎煮方式準備湯藥的用量小，這也許是科學濃縮中藥藥效較傳統煎劑差的原因之一。

計劃緣起

中藥有實際治病的效果，對我民族的健康有莫大的貢獻。中藥雖然面對現今西方醫藥的挑戰，但仍受廣大民眾的偏愛，它的存在必定有其臨床上的價值，並且經得起數千年歷史的考驗。由於現代社會形態的改變，繁忙的生活使傳統的煎煮中藥方式漸為簡便的科學濃縮中藥所取代。可是，科學濃縮中藥在臨床療效上似乎較傳統煎劑差。鑑於科學中藥有越來越多採用的趨勢，故此要了解科學濃縮中藥是否真如傳聞般的比煎劑有較差的療效。本研究擬以大白鼠血管，左右心房在離體實驗情況下完成以下實驗：

- (一) 比較科學濃縮單方中藥及單方中藥經傳統方式煎煮後，在同等藥量的情況下，研究以上提及的離體器官對這兩種不同方法處理過的中藥是否在藥效反應上有所改變。
- (二) 單方中藥經延長煎煮時間後，研究以上提及的離體器官藥效反應是否有所應改變。

研究方法及進行步驟如下：

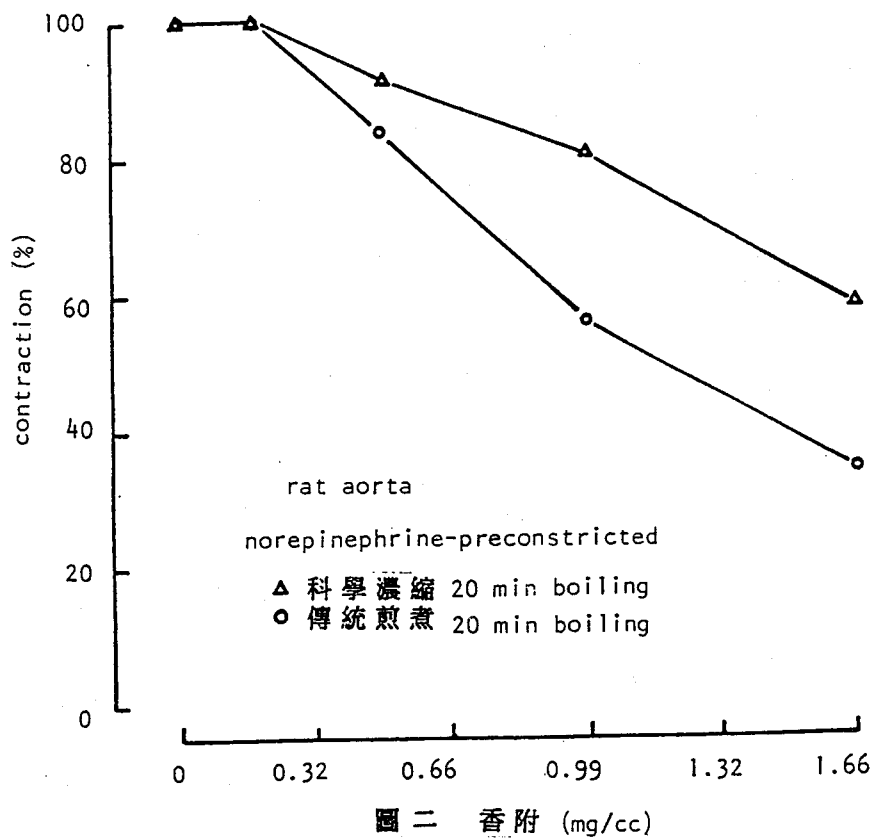
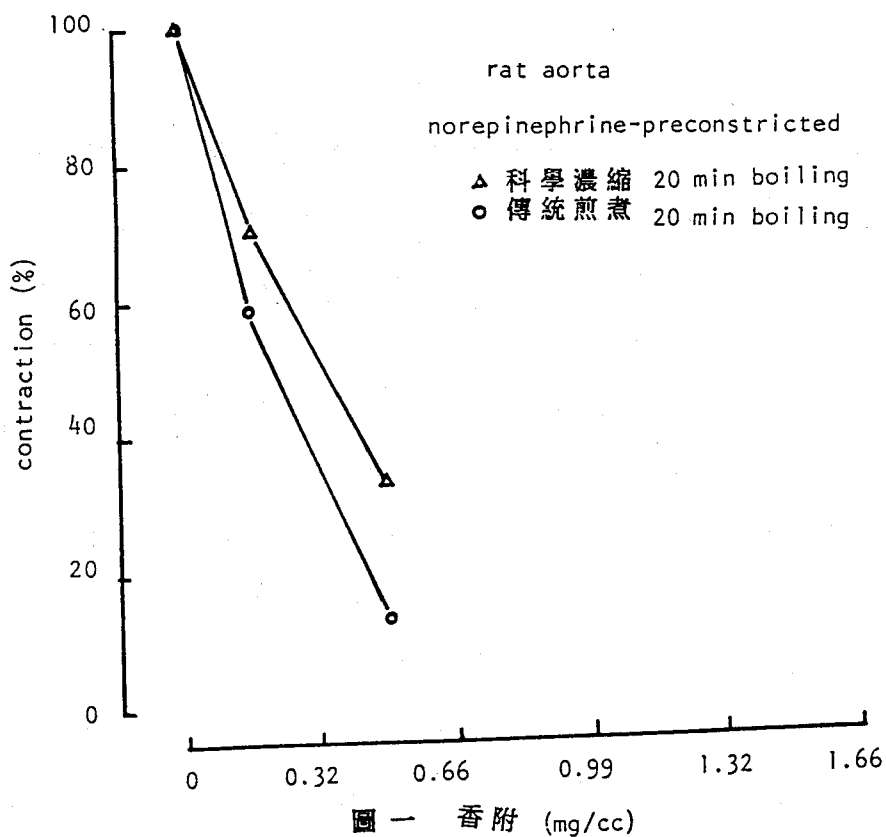
(一) 除了單方科學濃縮中藥外，對每一種單方中藥材先作磨粉，然後以中藥本身藥量為單位，把十公克中藥放進 100 ml 過濾水裡，經煮過二十分鐘後再加入足夠水至 100 ml 略煮過後經過濾紙過濾。

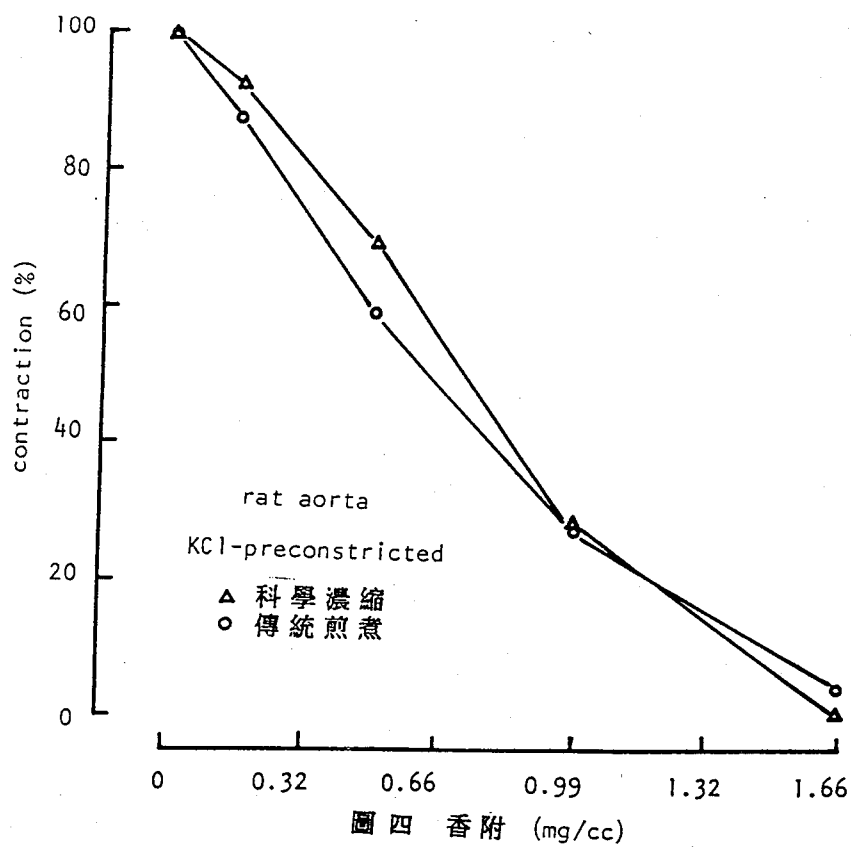
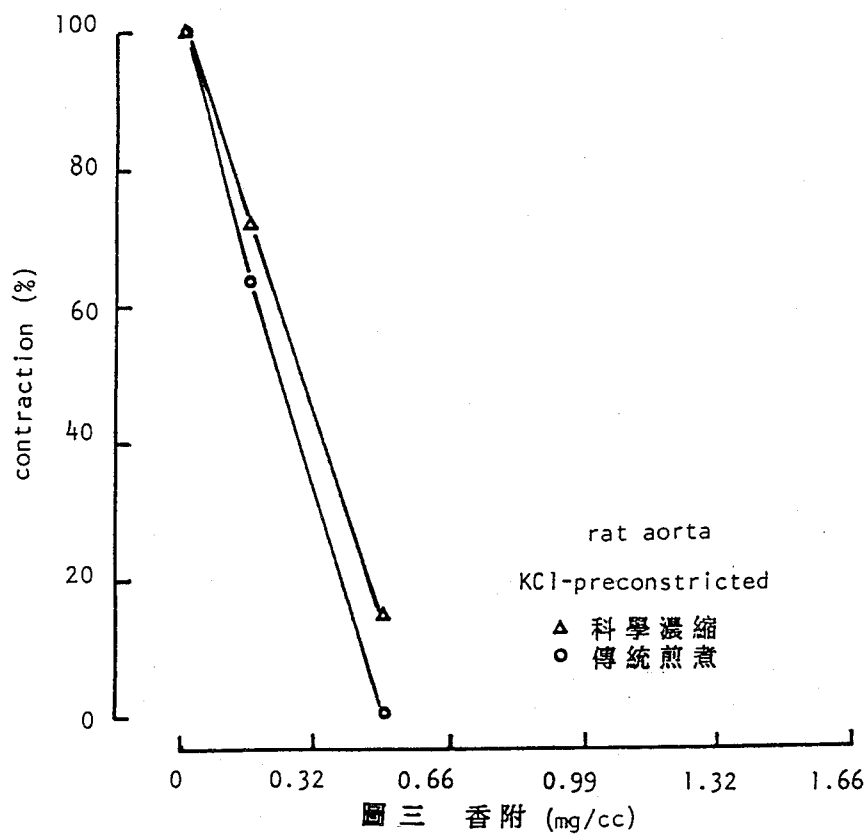
(二) 以傳統方法準備大白鼠離體大動脈，左右心房實驗。在給予中藥前，先以 Norepinephrine (1×10^{-5} M) 或以 KCL (60mm) 導致血管收縮，然後以過濾液打進離體器官槽內後記錄每次給藥後離體器官的反應。

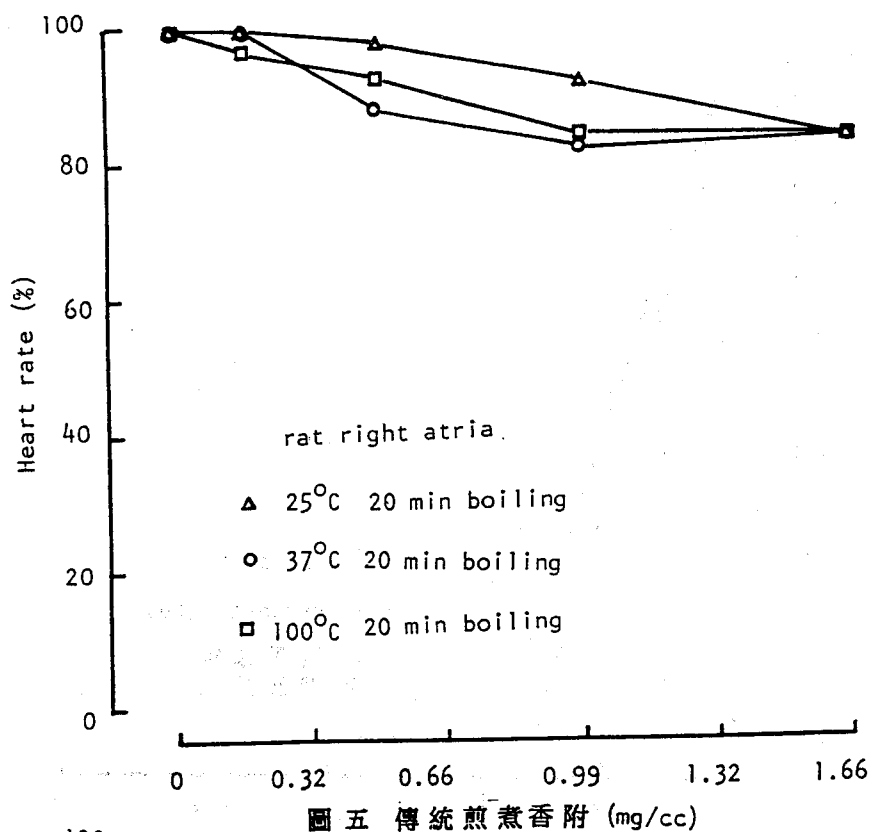
(三) 把單方中藥煮藥時間延長，以不同時間煎煮的單方中藥重覆離體器官實驗。

研究結果

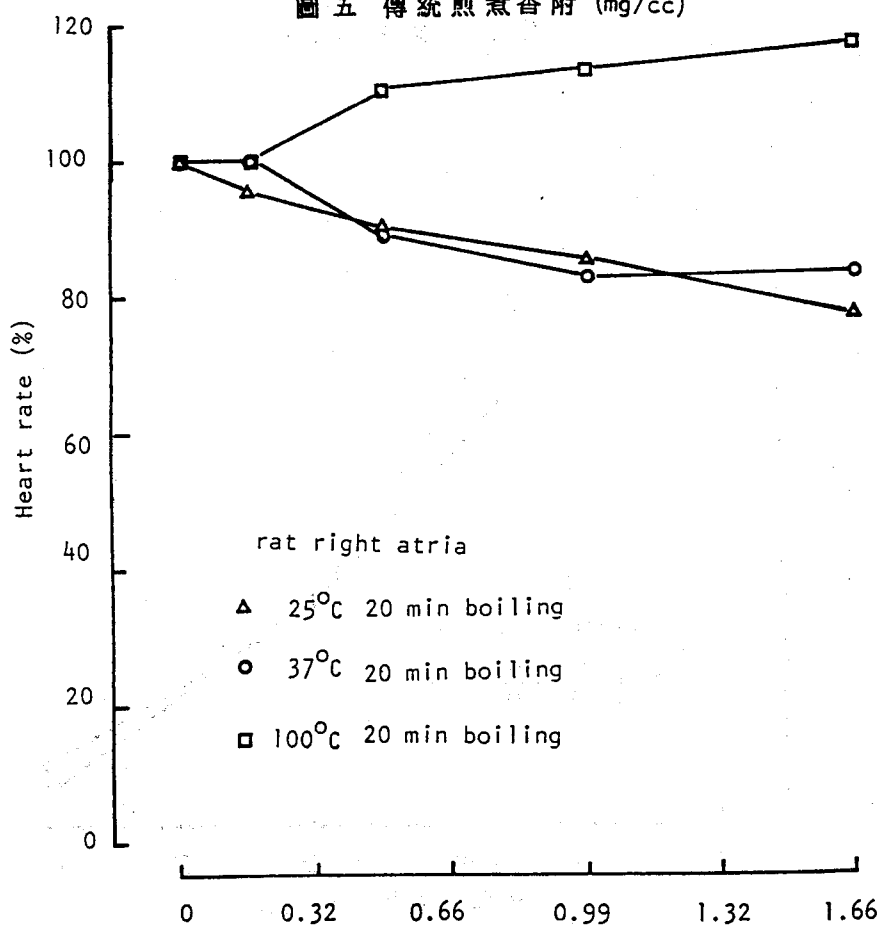
圖一顯示科學濃縮香附及粉狀香附生藥經二十分鐘在電爐上煮過後，對正腎上腺素所引發的血管收縮所產生的劑量鬆弛反應曲線圖。如香附的煎煮方法有些改變，即是香附溶液放進試管裡，然後泡在燒杯熱水中，並以電磁爐加熱煮沸至二十分鐘後才打進器官槽內，則香附的劑量鬆弛反應會較差（圖二）。如以 60 mM KCl 取代正腎上腺素導致血管收縮，無論是以電爐（圖三）或電磁爐（圖四）加熱，科學濃縮香附中藥與香附生藥經煎煮後的血管鬆弛效力也十分類似。對大白鼠心臟來說，香附對右心房跳動頻率也有影響。如香附生藥溶液經不同溫度處理二十分鐘後才打進離體心房，其對心跳有劑量減慢反應曲線出現（圖五）。圖六則表示科學濃縮香附中藥經不同溫度處理二十分鐘後對心跳的影響，這可以與圖五作比較。圖七與圖八分別表示香附生藥與科學濃縮香附對左心房收縮力的影響。圖九則以天竺鼠大動脈取代大白鼠大動脈作類似的實驗，結果顯示香附對大白鼠的鬆弛反應較對天竺鼠為強。圖十則以天竺鼠左右心房取代大白鼠左右心房作類似的實驗，結果也顯示香附對大白鼠左右心房跳動頻率及收縮力的劑量反應曲線圖較易產生 dose dependent 的現象。圖十一與圖十二則比較香附在有及沒有磨成粉末狀的情況下進行實驗，結果顯示香附經 5，20，60分鐘煎煮後，其作用並不因為煎煮時間的延長或是在原狀及磨成粉末的情況下對減慢心跳效果有明顯的差異。對影響左心房收縮力來說亦沒有明顯的差異圖十三及圖十四。



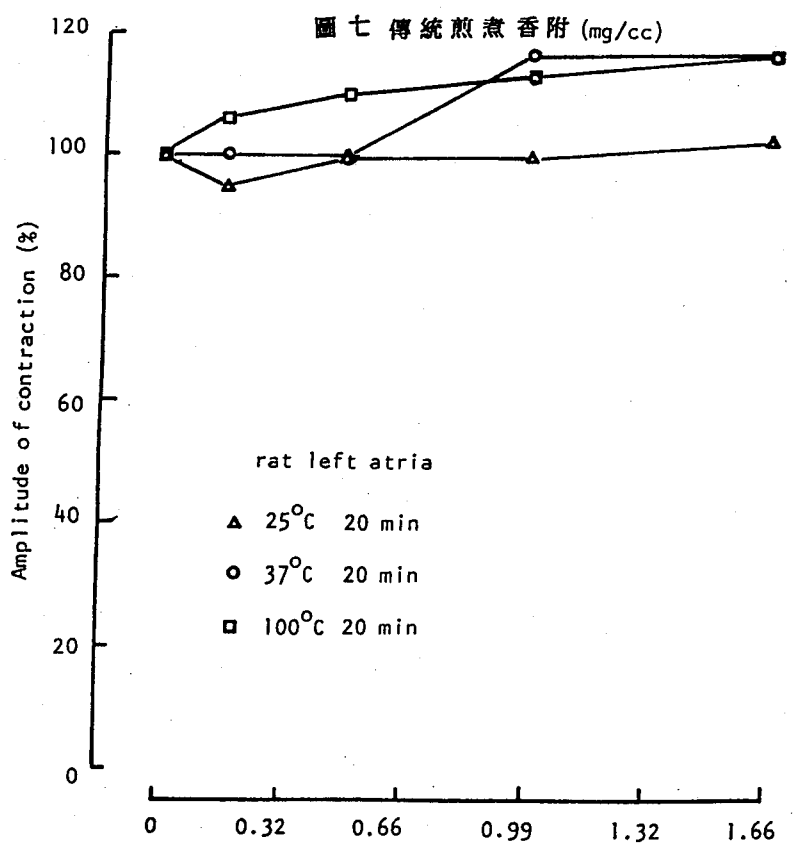
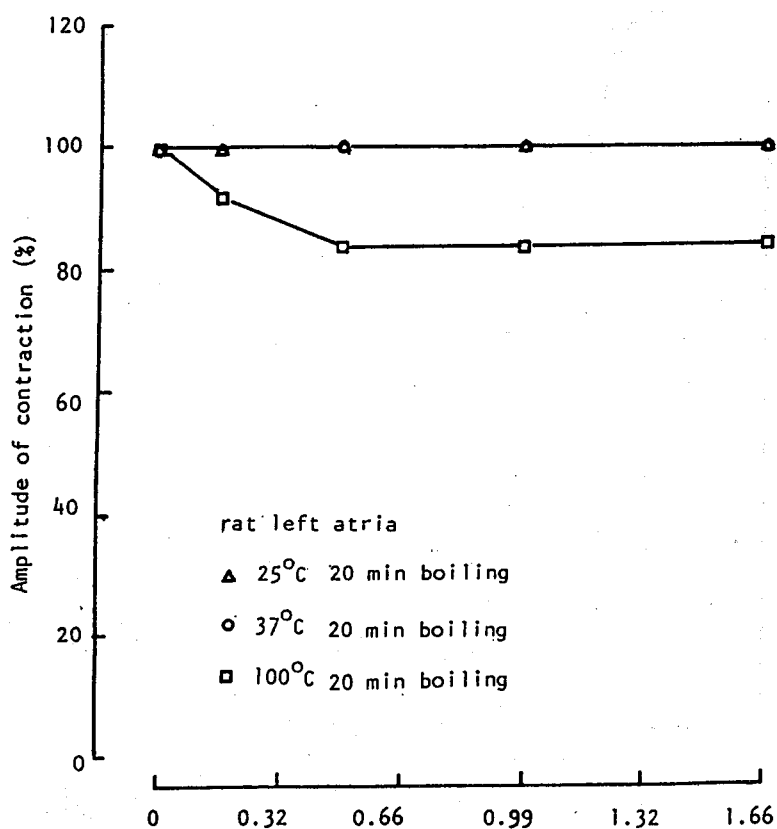




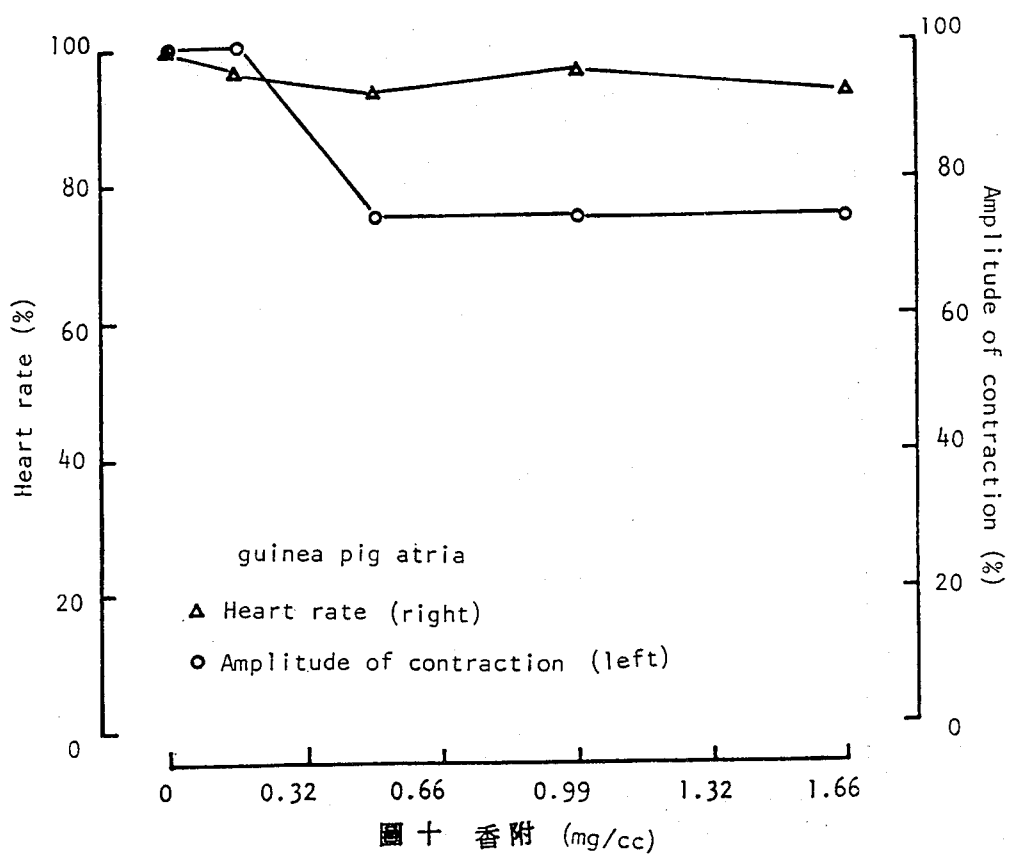
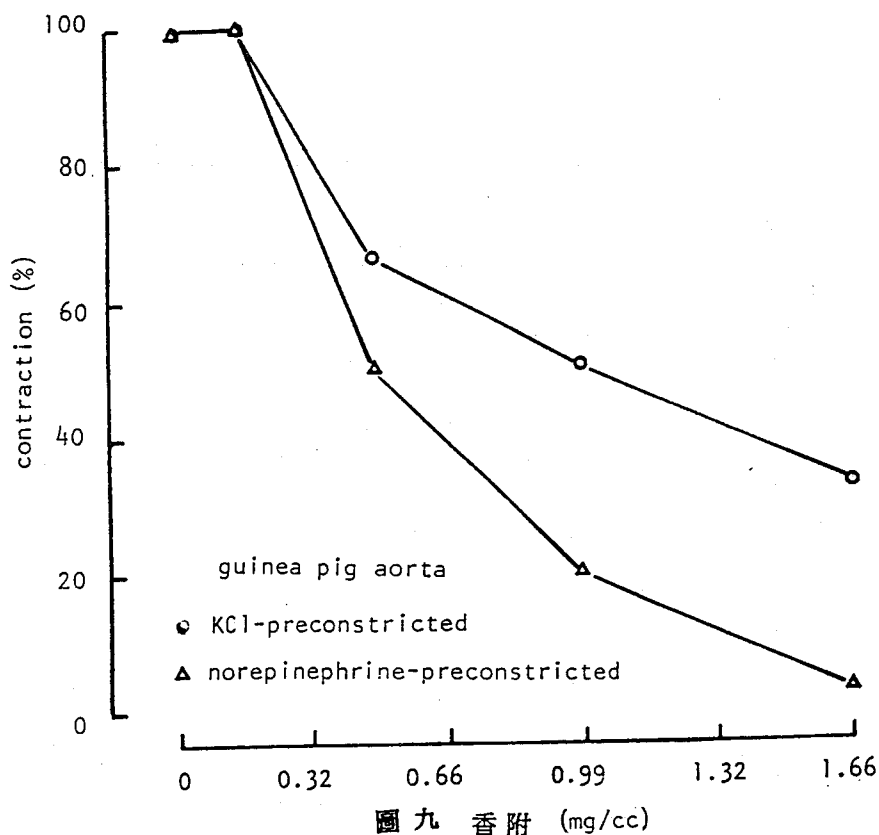
圖五 傳統煎煮香附 (mg/cc)

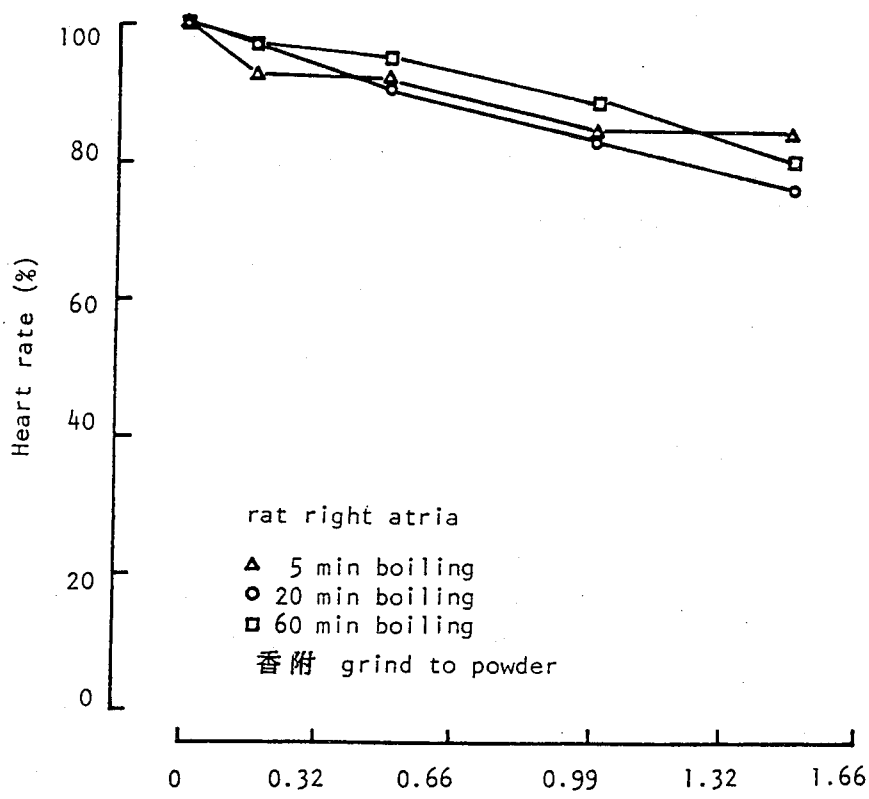


圖六 科學濃縮香附 (mg/cc)

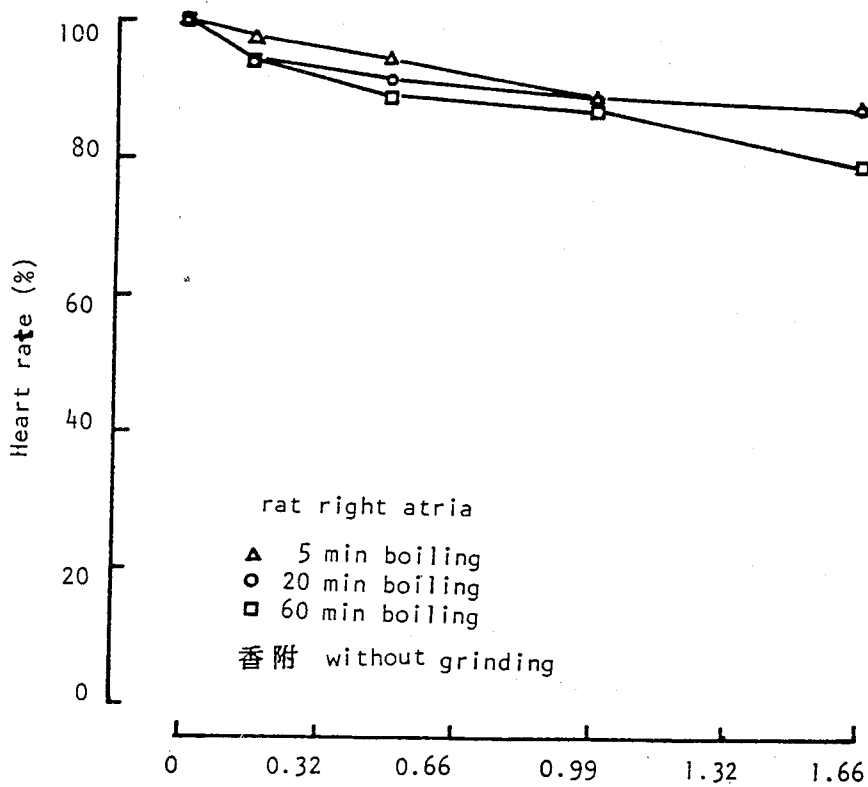


圖八 科學濃縮 香附(mg/cc)

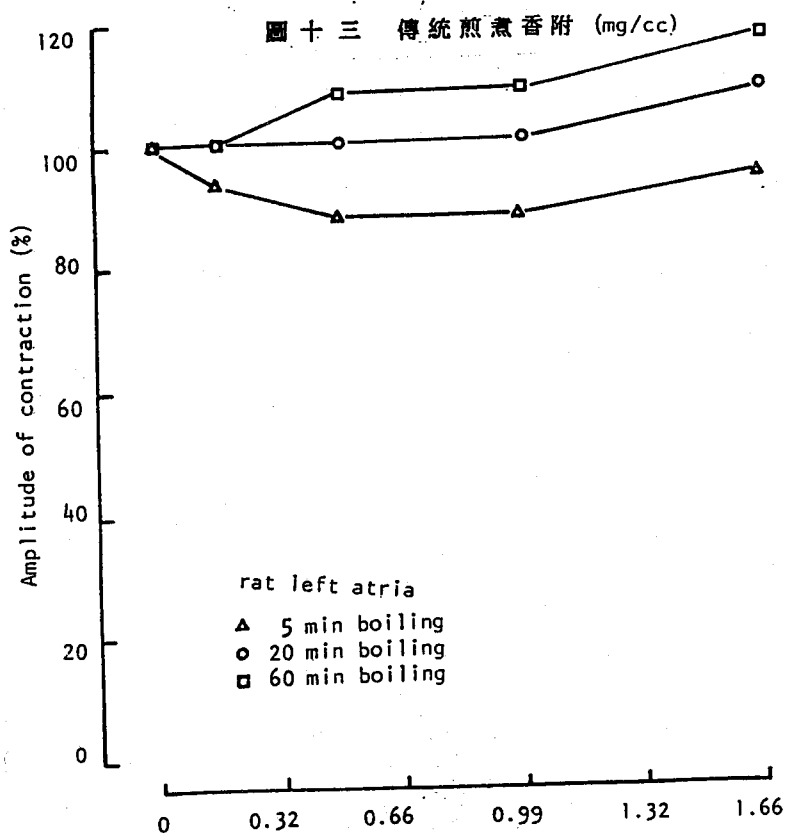
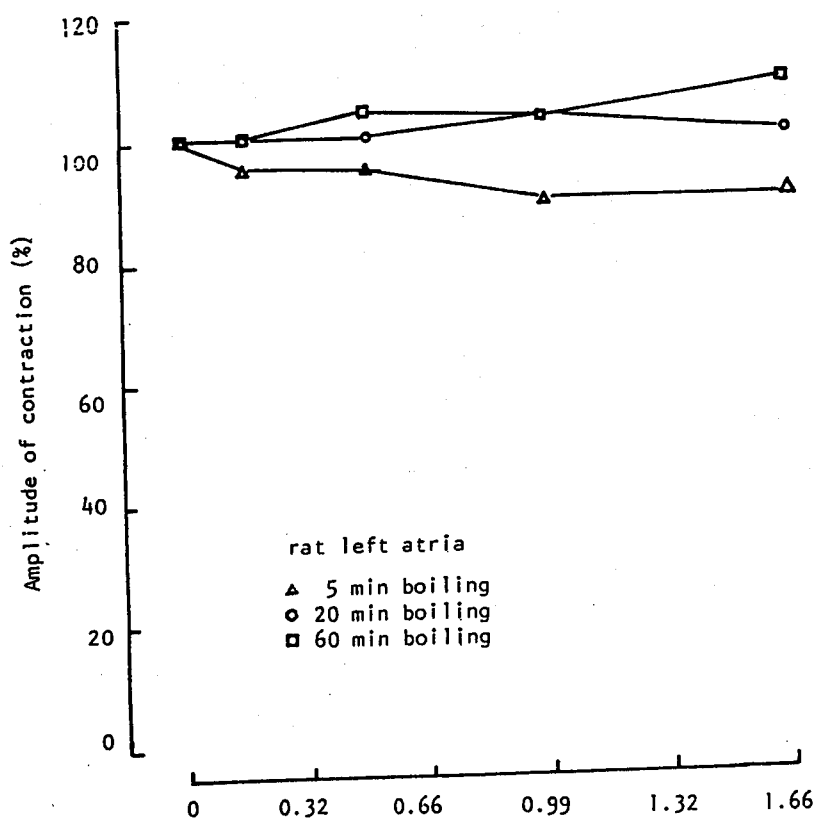




圖十一 傳統煎煮香附 (mg/cc)



圖十二 傳統煎煮香附 (mg/cc)



圖十四 傳統煎煮 香附 (mg/cc)

討論

本研究結果顯示大白鼠離體心臟血管實驗可用作比較科學濃縮中藥及傳統煎煮中藥的藥效。綜合以上研究結果顯示，同劑量的科學濃縮香附粉末及原狀或已磨成粉末的香附中藥經傳統方法煎煮後所產生的藥效似乎甚類似，因此可確定的是傳統煎煮的香附中藥所帶來的藥效並不比用科學方法濃縮處理過的香附差。

臨床上，科學濃縮香附的用量為成人每次服 0.4 至 1.2 克，如香附生藥以傳統中藥煎煮服用，若每次需 1 錢（約 3.75 克），則其劑量比科學濃縮藥粉量高出三倍，如本研究所得的結論是兩種不同中藥處理方法亦有類似的藥效來說，則傳統煎煮法的中藥藥效因藥量的增加而其藥效會比科學濃縮藥粉強的多。這也許是臨床上發現科學濃縮中藥較傳統煎劑差的原因之一。這亦可解釋臨床上用科學濃縮中藥藥粉，其劑量往往比標示的用量高出三、四倍。

本研究計畫原本申請的儀器經費全部被刪除，故此，其他的實驗無法進行。又因為原本所申請的助理人事費因打字漏打而未加入總金額內以至無法獲得助理協助實驗進行。研究經費延至本三三月底才可運用亦是本研究計畫慢下來的原因。

數種灸法對鼯鼠細胞免疫力影響的比較研究

國立清華大學

郝道猛

中文摘要

本研究旨在探討艾柱灸、香柱灸、隔薑灸及隔蒜灸等灸法對於照過 γ 射線鼯鼠細胞免疫力的影響。本研究選取6—8週之ICR種系的雄性鼯鼠300隻，分成6組。一組為正常對照組。一組為輻射對照組，僅接受4 Gy γ 射線的全身輻射。其餘四組為實驗組，於輻射後的第二天起，每天分別接受艾柱灸、香柱灸、隔薑灸及隔蒜灸等的處理，共灸10天，每次各灸6壯，或相當於6壯的時間。艾灸的部位在脊柱兩旁，相當於人的膀胱經上的腎俞、大腸俞、關元俞、小腸俞及膀胱俞等。於輻射後的第1,5,12,19,26及33天，分6次每次每組各犧牲動物6至8隻。檢查項目包括白血球總數及其分類計數，動物的體重，脾重及相對脾重，以及脾細胞對細胞增殖素如PHA, PWM, Con A及LPS的變形反應。

本研究結果顯示：各實驗組於接受輻射後，其白血球總數及淋巴球計數，均見大量降低，而後回升，其中以輻射對照組及香柱艾組的回升較慢，至輻射後33天尚未恢復正常。以艾柱灸、隔薑灸及隔蒜灸之恢復較快，於輻射後第33天已見恢復正常。各組的體重及脾重亦有類似的改變。至於各組的脾細胞對PHA, PWM, Con A及LPS的變形反應，亦以接受 γ 射線者的實驗組均見下降，而後逐漸回升，其中以輻射對照組、香柱組及隔蒜組的LPS的回升較慢，於輻射後第33天尚未見恢復正常。以接受艾柱灸及隔蒜灸處理之回升較快，於輻射後的33天已見恢復正常。

緒言

根據聯合國世界衛生組織(WHO)在1980年的正式公佈：針灸的適應症

在43種病病(1)。其實並不限於此數目，如近年來專門雜誌刊載的文獻指出：針灸對於戒煙及治療愛滋病也有些療效(2,3)。針灸對於免疫力的加強亦具有效果(4-7)，尤其是對於照過放射線而降低之免疫力的提升，具有明顯的促進效果(8-11)。

關於艾灸的形式，我國多採用艾柱灸，日本多採用艾粒灸，另外還有隔薑灸、隔蒜灸及紅外線灸等灸法，因為艾粒易於量化評估療效，故以往本研究室多用艾粒進行研究艾灸與免疫的關係，獲得一些結果(10-12)。最近發現艾粒灸對於照過 γ 射線動物的細胞免疫力，具有促進恢復的效果(13)。其實艾柱灸在免疫粒方面的效果亦應加以研究。另外，隔薑灸、隔蒜灸是否具有相同的效果？而且灸的療效是由於高溫的局部刺激，或是因艾產生之熱刺激引起的效果，二者之間對於動物的免疫反應，是否有差異？亦值得加以研究。艾灸的缺點就是對皮膚具有破壞作用，常讓病人不能忍受而放棄灸治療，應儘量避免對皮膚造成嚴重的損傷，故將灸後的皮膚及皮下組織取下，製成切片標本，經鏡檢及照相，以便比較這四種灸法對於皮膚及皮下組織造成損傷的程度加以評估。本研究之目的在探討這幾種灸法對動物免疫力的影響，並比較其促進細胞免疫力的高低。希望能找到一種效力較高而傷害較小的灸法，以供臨床醫學應用的參考。並藉分析動物的細胞免疫力，以探討艾灸治病的機制，藉以達成建立中醫治病的一些實驗性的理論。

材料與方法

一、實驗材料

本研究所用的實驗動物為6至8週大小的ICR種系的雄性鼯鼠，係購自台大醫院動物中心。動物所吃的飼料為福壽公司出產的鼠類實驗動物桿狀飼料。另供以充足的清潔飲水。動物房具有空調設備以維持其適當的溫度及濕度。

二、實驗方法

(一)分組：本研究選取8週大小的雄性鼯鼠420隻，分為6組。其中一組為正常對照組，另一組為輻射對照組，僅接受400 cGy γ 射線的全身輻射，另四組為實驗組，在接受 γ 射線處理之次日起，分別接受為期兩個療程（每個療程為期五天，中間休息一天）的艾粒灸、艾條灸及艾膏灸之處理。

(二)輻射條件：本研究所用的輻射源為天花板固定式(Picker牌55-226型)的銻-137 γ 射線。將接受輻射之鼯鼠裝在圓盤形的木盒內，置於可旋轉的台上，接受 γ 射線的全身照射，其源物距(S.S.D.)為33 cm，其劑量率為60 cGy/分鐘，每次照射之時間為6'40"，輻射之總劑量為400 cGy。

(三)艾灸條件：本研究採用的灸法分別為艾粒灸、艾條灸、艾膏及紅外線等。所選的穴位為膀胱經的穴位，相當於人的腎俞、關元俞、小腸俞及膀胱俞等，每次施灸6壯，或相當於6壯的時間。

(四)測定項目及方法：於輻射後的第1,5,12,19,26及33天，每組各犧牲動物6至8隻，採用血液鏡檢及塗片染色，測定各組動物的白血球總數及分類計數。另取脾臟剪碎過濾，製成的細胞懸浮液，用細胞增殖素如PHA，PWM，Con-A及LPS等處理。脾內的淋巴細胞培養18小時後，用 ^3H -thymidine同位素追蹤法(14)。以液體閃光計數計測定各樣品的CPM數，以此脾內淋巴細胞之變形反應，比較各種灸法對細胞免疫力的影響。

LYMPHOCYTE TRANSFORMATION TEST (MICROPLATE METHOD)

I. Murine Lymphocytes :

Lymphocytes were obtained from the spleen of different groups.

II. Lymphocyte culture medium :

RPMI-1640 (Flow), PH=7.2-7.4.

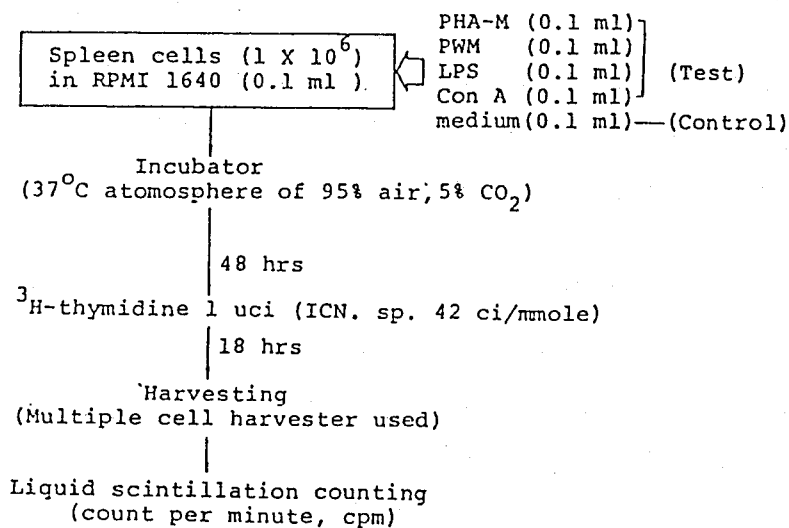
Contains :

1. Penicillin : 100 u/ml
 - Streptomycin : 100 ug/ml
 2. NaHCO_3 : 2 g/l
 3. Fetal Bovine serum (Deactivated by 56°C , 30 Min.)
- (GBICO)
- (GIBCO)

III. Mitogen response test :

1. PHA-M (Phytohemagglutinin M-form, GIBCO) : 40 ul/ml
2. PWM (Pokeweed Mitogen, GIBCO) : 2 ul/ml
3. LPS (Lipopolysaccharide B.E. coli 026:B6, Difco) : 40 ug/ml
4. Con A (Concanavalin A, Sigma) : 25 ug/ml

IV. Grouping :



V. Calculation :

$$\Delta\text{CPM} = \text{Test (cpm)} - \text{Control (cpm)}$$

Fig.1. IMMUNOCOMPETENCE ASSAY

結果

一、數種艾灸對鼯鼠白血球計數的影響：

將每次實驗測得有關白血球總數之數據，求得其平均值及其標準機差列於表 1 之內。結果顯示：正常動物之白血球計數在 8.3 至 $9.7 \times 10^3/\text{mm}^3$ 之間，各實驗組動物在接受 4 Gy 的 γ 射線後，其白血球總數迅速降低至 2.0 至 $2.1 \times 10^3/\text{mm}^3$ 之間，然後逐漸恢復，僅接受 γ 射線者，至 33 天才見完全恢復正常。經用艾柱灸，隔薑及隔蒜灸處理者，於輻射後第 26 天，已見其白血球總數恢復正常。

有關淋巴球計數的改變列於表 2。結果顯示：在輻射後動物淋巴球計數見大量降低，而接受艾灸處理者的恢復較快，其中以接受艾灸處理者的恢復最快，於輻射後第 33 天已見完全恢復，但接受香柱灸者卻未恢復。有關中性球計數的改變，列於表 3。結果顯示：動物在接受 γ 射線後，其中性球計數均稍降低，經各種艾灸處理後，其恢復較快，但至輻射後第 33 天，其與 RT 對照組間之差異不很顯明（表 3）。有關單胞球計數之數據列入表 4。結果顯示：動物在接受 γ 射後，各組的單胞球計數均下降，至輻射後第 5 天降至最低而後逐漸恢復，於輻射後第 33 天各實驗組均未見恢復正常。

二、體重及脾重：

動物在犧牲前所測得之體重，求其平均值及標準機差列於表 5，並於犧牲後取出脾臟秤重求其平均值及標準機差之數據列於表 6，另換算成相對脾重的數據列於表 7，結果顯示：在輻射後的第 5 天，各實驗組動物的脾重均見下降至最低，而後逐漸回升，以輻射對照組的回升最慢，至輻射後 33 天尚未見恢復正常。而以隔薑及隔蒜灸處理組的回升較快，至輻射後 33 天，已見恢復正常。

三、脾臟細胞對細胞增殖素的變形反應：

1. 對植物凝血素 (PHA-M) 的反應：在輻射後的第二天，各實驗組的變形反應均見明顯下降，而輻射對照組者，至輻射後第 12 天降至最低，而後見其恢復較慢，至輻射後第 33 天，才見未見恢復正常。其他各組接受艾灸處理者亦在此時恢復正常。然而接受香柱灸處理者卻未恢復正常（表 8）。

2. 對商陸素 (PWM) 的反應：在輻射後的第 5 天各實驗組的此項反應已明顯下降，輻射對照組於第 12 天降至最低，其恢復較慢，至輻射後第 26 天尚未見恢復正常。然而接受隔薑灸處理者的回升的較快，至輻射後 26 天，已見恢復至正常水準（表 9）。
3. 對白鳳豆素 (Con A) 的反應：在輻射後的第 5 天，各實驗組的此項反應均見下降，至輻射後第 12 天降至最低，而後逐漸回升，其中以輻射對照組的恢復最慢，至輻射後第 33 天尚未恢復正常。而經艾粒灸、隔蒜灸及隔薑灸處理者的恢復較快，於輻射後的第 33 天已見恢復正常（表 10）。
4. 對大腸桿菌脂多醣素 (LPS) 的反應：於輻射後的第 1 天，見均明顯下降，接受艾柱灸及 RT 對照組者，於輻射後第 12 天降至最低，而後回升，其中以隔薑灸、隔蒜灸及艾粒灸處理者的回升較快，於輻射後第 26 天已見恢復正常。而以 RT 對照組及艾香灸組的回升較慢，至輻射後第 33 天尚未見恢復正常（表 11）。

Table 1. Changes of leukocyte count ($10^3/\text{mm}^3$) in mice after treatment

Group	Treated condition		Days after treatment					
	Mode	Fraction	1	5	12	19	26	33
A	NC		8.37 ± 0.23	8.52 ± 0.27	9.22 ± 0.11	9.28 ± 0.01	9.32 ± 0.16	9.77 ± 0.10
B	RT	1	2.09 ± 0.07	1.92 ± 0.09	3.11 ± 0.07	4.59 ± 0.31	6.98 ± 0.12	9.75 ± 0.17
C	RT+ MTS	1 10	2.08 ± 0.07	2.01 ± 0.02	3.36 ± 0.28	4.74 ± 0.04	7.93 ± 0.31	10.02 ± 0.13
D	RT+ MIS	1 10	2.06 ± 0.15	1.92 ± 0.14	3.18 ± 0.09	4.78 ± 0.13	6.95 ± 0.10	9.73 ± 0.18
E	RT+ MGI	1 10	2.06 ± 0.15	1.92 ± 0.13	3.13 ± 0.08	4.77 ± 0.04	7.79 ± 0.10	10.10 ± 0.18
F	RT+ MGA	1 10	2.07 ± 0.13	2.00 ± 0.04	3.09 ± 0.08	4.71 ± 0.07	7.66 ± 0.26	10.14 ± 0.10

*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$ (Student's test, compared with RT group)

NC : Normal control, RT : Radiation treatment (4 Gy r-irradiation)
MMS : Moxibustion of moxa-stick (艾柱灸), MIS : Moxibustion of
incense-stick (香柱灸), MGI : Moxibustion of ginger (隔薑灸)
MGA : Moxibustion of garlic (隔蒜灸)

Table 2. Changes of lymphocyte count ($10^3/\text{mm}^3$) in mice after treatment

Group	Treated condition		Days after treatment					
	Mode	Fraction	1	5	12	19	26	33
A	NC		5.33 ± 0.21	6.00 ± 0.11	6.40 ± 0.08	6.72 ± 0.08	6.76 ± 0.31	6.97 ± 0.04
B	RT	1	2.13 ± 0.15	2.17 ± 0.18	3.18 ± 0.03	3.19 ± 0.09	4.66 ± 0.07	5.71 ± 0.03
C	RT + MMS	1 10	2.22 ± 0.10	2.21 ± 0.16	3.28 ± 0.07	3.28 ± 0.16	4.93 ± 0.04	6.59 ± 0.07
D	RT + MIS	1 10	2.14 ± 0.07	2.15 ± 0.12	3.16 ± 0.07	3.17 ± 0.10	4.70 ± 0.04	5.76 ± 0.04
E	RT + MGI	1 10	2.19 ± 0.04	2.16 ± 0.17	3.24 ± 0.02	3.32 ± 0.07	4.87 ± 0.03	6.59 ± 0.06
F	RT + MGA	1 10	2.22 ± 0.10	2.17 ± 0.08	3.22 ± 0.06	3.31 ± 0.06	4.86 ± 0.12	6.72 ± 0.05

Abbreviations and designations are the same as those in Table 1.

Table 3. Changes of neutrophilic count ($10^3/\text{mm}^3$) in mice after treatment

Group	Treated condition		Days after treatment					
	Mode	Fraction	1	5	12	19	26	33
A	NC		3.73 ± 0.10	3.68 ± 0.15	3.88 ± 0.39	4.10 ± 0.08	4.22 ± 0.20	4.18 ± 0.21
B	RT	1	1.21 ± 0.08	1.30 ± 0.13	1.70 ± 0.10	2.35 ± 0.23	3.00 ± 0.16	3.06 ± 0.16
C	RT+ MTS	1 10	1.19 ± 0.07	1.52 ± 0.05	1.70 ± 0.07	2.32 ± 0.41	3.04 ± 0.09	3.17 ± 0.06
D	RT+ MIS	1 10	1.15 ± 0.04	1.99 ± 0.08	1.63 ± 0.07	2.28 ± 0.37	3.04 ± 0.17	3.17 ± 0.06
E	RT+ MGI	1 10	1.18 ± 0.07	1.50 ± 0.08	1.86 ± 0.03	2.11 ± 0.26	3.13 ± 0.13	3.12 ± 0.36
F	RT+ MGA	1 10	1.19 ± 0.09	1.53 ± 0.11	1.70 ± 0.10	2.09 ± 0.16	3.08 ± 0.12	3.12 ± 0.05

Abbreviations and designations are the same as those in Table 1.

Table 4. Changes of monocyte count ($10^3/\text{mm}^3$) in mice after treatment

Group	Treated condition		Days after treatment					
	Mode	Fraction	1	5	12	19	26	33
A	NC		0.36 ± 0.12	0.44 ± 0.08	0.44 ± 0.07	0.53 ± 0.14	0.61 ± 0.06	0.70 ± 0.06
B	RT	1	0.26 ± 0.10	0.25 ± 0.04	0.20 ± 0.07	0.39 ± 0.09	0.41 ± 0.10	0.44 ± 0.06
C	RT+ MTS	1 10	0.28 ± 0.07	0.26 ± 0.05	0.31 ± 0.09	0.31 ± 0.11	0.43 ± 0.07	0.47 ± 0.16
D	RT+ MIS	1 10	0.28 ± 0.09	0.25 ± 0.05	0.29 ± 0.05	0.37 ± 0.14	0.39 ± 0.07	0.38 ± 0.08
E	RT+ MGI	1 10	0.25 ± 0.07	0.23 ± 0.08	0.37 ± 0.04	0.35 ± 0.06	0.45 ± 0.12	0.42 ± 0.08
F	RT+ MGA	1 10	0.24 ± 0.07	0.24 ± 0.12	0.34 ± 0.09	0.33 ± 0.05	0.47 ± 0.21	0.48 ± 0.05

Abbreviations and designations are the same as those in Table 1.

Table 5. Changes in Body Weight (g) of Mice After Treatment

Treated Condition	Days After Treatment					
	1	5	12	19	26	33
NC	22.51 ±2.05	26.00 ±2.02	28.60 ±2.91	30.00 ±3.80	32.00 ±3.67	32.00 ±3.20
RT	24.00 ±4.82	24.96 ±3.61	27.13 ±3.70	30.30 ±3.26	31.32 ±4.80	32.77 ±5.02
RT + MMS	24.86 ±3.41	26.50 ±3.10	28.60 ±3.30	29.40 ±2.80	31.40 ±2.60	33.00 ±2.70
RT + MIS	25.42 ±3.10	26.50 ±3.45	29.00 ±4.82	30.00 ±5.20	30.24 ±6.68	31.69 ±7.06
RT + MGI	25.82 ±3.14	27.40 ±3.00	28.60 ±2.40	29.30 ±2.50	31.50 ±2.30	32.30 ±2.40
RT + MGA	24.20 ±2.30	25.36 ±2.20	26.74 ±2.40	28.51 ±2.30	30.60 ±2.80	30.21 ±3.14

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ (Student's test, compared with RT group)

NC : Normal Control, RT : Radiation Treatment (4 Gy r-irradiation)

MMS : Moxibustion of Moxa-Stick (艾柱灸), MIS : Moxibustion of Incense-Stick (香柱灸), MGI : Moxibustion of Ginger (隔薑灸), MGA : Moxibustion of Garlic (隔蒜灸)

Table 6, Changes in Spleen Weight (g) of Mice After Treatment

NC	0.104 ±0.059	0.119 ±0.064	0.178 ±0.064	0.231 ±0.084	0.241 ±0.087	0.231 ±0.061
RT	0.123 ±0.072	0.130 ±0.082	0.159 ±0.061	0.158 ±0.042	0.190 ±0.023	0.205 ±0.073
RT + MMS	0.112 ±0.015	0.121 ±0.018	0.175 ±0.020	0.193 ±0.018	0.197 ±0.027	0.221 ±0.031
RT + MIS	0.131 ±0.016	0.155 ±0.021	0.182 ±0.018	0.200 ±0.024	0.200 ±0.022	0.215 ±0.026
RT + MGI	0.127 ±0.015	0.132 ±0.014	0.174 ±0.022	0.207 ±0.026	0.220 ±0.023	0.224 ±0.026
RT + MGA	0.132 ±0.018	0.148 ±0.016	0.176 ±0.025	0.219 ±0.023	0.228 ±0.029	0.232 ±0.025

Abbreviation and designations are the same as those in Table 5

Table 7. Changes in Relative Spleen Weight (g) of Mice After Treatment

Treated Condition	Days After Treatment					
	1	5	12	19	26	33
NC	0.426 ±0.302	0.460 ±0.203	0.632 ±0.197	0.790 ±0.164	0.763 ±0.210	0.732 ±0.247
RT	0.515 ±0.126	0.531 ±0.213	0.595 ±0.221	0.534 ±0.197	0.614 ±0.216	0.625 ±0.165
RT + MMS	0.551 ±0.011	0.566 ±0.235	0.623 ±0.210	0.666 ±0.151	0.710 ±0.247	0.662 ±0.162
RT + MIS	0.525 ±0.375	0.585 ±0.235	0.638 ±0.209	0.677 ±0.237	0.662 ±0.189	0.698 ±0.234
RT + MGI	0.502 ±0.110	0.492 ±0.232	0.611 ±0.302	0.716 ±0.434	0.708 ±0.169	0.703 ±0.173
RT + MGA	0.555 ±0.230	0.594 ±0.230	0.625 ±0.304	0.754 ±0.245	0.721 ±0.237	0.752 ±0.240

Abbreviation and designations are the same as those in Table 5.

Table 8. Changes in blastogenic responses of splenic cells (Δ cpm) stimulated by PHA after treatment

Treated	Days After Treatment					
Condition	1	5	12	19	26	33
NC	28010 ±9629	23040 ±4203	28089 ±9552	29906 ±9596	28796 ±9464	24062 ±12253
RT	*** 9357 ±6457	*** 3015 ±2500	*** 1345 ±1250	*** 5800 ±1239	*** 14239 ±12110	*** 23370 ±8760
RT + MMS	—	* 1362 ±1001	*** 3280 ±1231	*** 8688 ±2385	13467 ±5574	19162 ±5061
RT + MIS	—	* 1395 ±374	*** 3434 ±975	6564 ±3714	* 14111 ±11213	20570 ±10923
RT + MGI	—	2080 ±725	* 2708 ±864	*** 9775 ±2847	12009 ±9384	21437 ±1389
RT + MGA	—	2737 ±1214	*** 5617 ±1120	*** 8474 ±1370	18947 ±8751	27787 ±20137

* : $p < 0.05$; *** : $p < 0.01$ (Student's test, compared with RT group)

NC : Normal Control, RT : Radiation Treatment (4 Gy r-irradiation)

MMS : Moxibustion of Moxa-Stick (艾柱灸), MIS : Moxibustion of Incense-Stick (香柱灸), MGI : Moxibustion of Ginger (隔蒜灸), MGA : Moxibustion of Garlic (隔蒜灸)

Table 9, Changes in blasgenicmresponses of splenic cells (Δ cpm)
stimulated by PWM after treatment

Treated Condition	Days After Treatment					
	1	5	12	19	26	33
NC	26095 ± 17421	19500 ± 3412	23138 ± 9689	20054 ± 6523	19550 ± 7897	13300 ± 6948
RT	* 12812 ± 4354	*** 7130 ± 3801	*** 2343 ± 987	*** 6300 ± 1470	*** 6473 ± 1169	16306 ± 6120
RT + MMS	—	*** 2060 ± 661	* 3979 ± 2014	5500 ± 3215	6000 ± 737	12080 ± 9186
RT + MIS	—	*** 2978 ± 948	*** 4050 ± 631	5940 ± 862	*** 8406 ± 1801	14962 ± 4842
RT + MGI	—	*** 2456 ± 150	*** 3802 ± 387	*** 3085 ± 1251	9564 ± 8011	17213 ± 5703
RT + MGA	—	8427 ± 1362	*** 4520 ± 1643	4305 ± 4021	*** 11055 ± 1252	13389 ± 6199

Abbreviation and designations are the same as those in Table 8

Table 10. Changes in blastogenic responses of splenic cells (Δ cpm) stimulated by Con A after treatment

Treated	Days After Treatment					
Condition	1	5	12	19	26	33
NC	42770 ± 15432	38013 ± 1543	43621 ± 12432	37004 ± 9783	27682 ± 11421	40700 ± 20305
RT	28747 ± 7321 ***	16654 ± 5491 ***	8242 ± 745 ***	15401 ± 6147 ***	20568 ± 10024	32438 ± 3846
RT + MMS	—	15425 ± 7654	11600 ± 6850 ***	16987 ± 8324	19342 ± 9673	41300 ± 2418 ***
RT + MIS	—	14722 ± 9642	7212 ± 4328	14520 ± 7110	21289 ± 8324	41906 ± 1627 ***
RT + MGI	—	17514 ± 9814	9948 ± 1862	11498 ± 2998	21600 ± 11061	43723 ± 2750
RT + MGA	—	18020 ± 1214	9401 ± 1120	9696 ± 1370	20894 ± 8751 ***	41750 ± 20137

Abbreviation and designations are the same as those in Table 8

Table 11. Changes in blasgenicmresponses of splenic cells (Acpm) stimulated by LPS after treatment

Treated Condition	Days After Treatment					
	1	5	12	19	26	33
NC	10030 ±2153	9023 ±1831	8060 ±3155	11200 ±2470	7444 ±621	11707 ±1081
RT	1381 ±685	1673 ±1547	1927 ±246	4981 ±1140	9999 ±637	9802 ±4796
RT + MMS	—	904 ±198	750 ±204	2671 ±987	11281 ±1011	10645 ±3191
RT + MIS	—	1214 ±329	1543 ±672	6100 ±2100	8808 ±2804	8302 ±753
RT + MGI	—	984 ±267	1085 ±531	2491 ±1149	9960 ±859	10727 ±2179
RT + MGA	—	1053 ±563	877 ±475	2872 ±928	11331 ±10113	8987 ±1719

Abbreviation and designations are the same as those in Table 8

討論

Tsuzuki 曾發現：X 射線可使兔的白血球計數大量降低(15)年者等亦發現：中等劑量的輻射線會使白血球及淋巴球的計數明顯降低(16)，本研究結果亦顯示：鼯鼠在接受 400 C Gy 的 γ 射線全身輻射後，其週邊血內的白血球總數及淋巴球計數速降低。可能由於輻射線直接破壞血內的淋巴球(17)，也可能由於鼯鼠的骨髓細胞分裂受到抑制(18)，造血器官的核酸及蛋白質合成受到抑制(19)。曾有實驗證明 X-射線會抑制動物的體重增加(20)，而且其抑制的程度乃隨輻射線劑量的增加而加大(21)。而且較高劑量的輻射線對於鼠類的脾臟和胸腺亦有明顯的抑制作用(22,23)，而使脾的相對重量亦隨之而下降(24)。本研究結果亦顯示：400 C Gy 的 γ 射線對鼯鼠的體重，脾重及相對脾重，均有明顯的抑制作用。

游離輻射對動物的免疫力亦有明顯的抑制。在細胞免疫力中，輻射線對 B 淋巴球的抑制作用較 T 淋巴球者為大(25)，而且抑制性 T 細胞的輻射敏感度要較輔助性 T 細胞者為高(26)。本研究結果亦顯示：中等劑量的 γ 射線，對於藉 LPS,PHA,PWM 及 Con A 等細胞增殖素所分別引發的 B 及 T 淋巴球及其製造器官均有明顯的抑制作用(17,22,23)。

曾有研究報告指出：針灸可以幫助動物提升白血球及紅血球的計數(29)，並能提升淋巴球計數及增強白血球的吞噬能力(28,29)，作者等亦發現艾灸可促進動物週邊血內的白血球計數(30)，而且艾灸還能加強動物一些造血器官的功能(31)。本研究結果顯示：艾灸處理可以幫助鼯鼠因輻射而降低的白血球總數及淋巴球計數提早恢復正常，其中以接受隔薑灸及隔蒜灸處理組的恢復較快。而且還可幫助動物因輻射降低的體重，脾重及相對脾重。結果顯示：艾灸對於動物細胞免疫力的恢復具有促進作用。在數種艾灸處理中，以接受隔蒜灸及隔薑灸處理者回升為最快，其脾內淋巴細胞對 PHA,PWM,Con A 的變形反應，於輻射後第 33 天已見恢復至正常水準。然而接受 LPS 處理所引起的 B 淋巴球的變形反應，於輻射後第 26 天各組均見已恢復正常。艾灸促進動物細胞免疫力的機制，可能由於艾灸刺激皮膚的神經末梢，傳至週邊神經中及中樞神經系，再透過神經內分泌系統的調節，而增強造血器官的功能(31)。

中藥材之鑑定研究

行政院衛生署・中國醫藥學院

陳忠川

一、計劃摘要

本研究之目的在於辨明中藥之真偽與來源植物，利用顯微鏡以觀察內部構造、粉末特徵、繪圖，並敘述各藥材之內部，粉末組織之內容，並就市售中藥之來源植物，進行實際調查採集，綜合各方面之鑑定，做為標準品提供中藥材 GMP 之檢驗標準。

二、計劃緣起

目前臺灣各種藥商總計二萬餘家（包括中醫師、中藥廠、中藥商），其需要的中藥材甚龐大，而我國所用之中國藥材種類繁多而複雜，其藥材之真偽與品質之優劣，關係到病人健康甚巨，偽劣藥常遭致不良效果，為了藥材來源或真偽之鑑定，建立中藥品質評價資料。

臺灣市售中藥，經生藥學家調查研究，其結論簡述如下：(1)藥材來源單純，供應量充裕、價格便宜。(2)藥材之來源複雜，不同科屬之若干種植物，市場上均以同一名稱出現。(3)本省所產與進口藥材均用代用品或偽藥。本研究依行政院衛生署編訂中華民國中藥典範所載 360 種。經 77，78，79 三個年度科技發展專案計劃中藥材之鑑定研究已完成 52 種中藥材之鑑定研究，80 年度完成 24 種。以期樹立未來中藥材 GMP 之檢驗及標準依據，確定藥材使用時之真偽及確保療效。

三、研究計劃報告

1. 燈心草之組織描述及組織圖、粉末構造
2. 連翹之組織描述及組織圖、粉末構造
3. 薄荷之組織描述及組織圖、粉末構造
4. 鬱金之組織描述及組織圖、粉末構造
5. 桂枝之組織描述及組織圖、粉末構造
6. 漏蘆之組織描述及組織圖、粉末構造
7. 黃連之組織描述及組織圖、粉末構造
8. 貝母之組織描述及組織圖、粉末構造
9. 霍山石斛之組織描述及組織圖、粉末構造
10. 龍膽之組織描述及組織圖、粉末構造
11. 前胡之組織描述及組織圖、粉末構造
12. 淡竹葉之組織描述及組織圖、粉末構造
13. 荷葉之組織描述及組織圖、粉末構造
14. 白芍之組織描述及組織圖、粉末構造
15. 冬瓜子之組織描述及組織圖、粉末構造
16. 補骨脂之組織描述及組織圖、粉末構造
17. 茵陳蒿之組織描述及組織圖、粉末構造
18. 青蒿之組織描述及組織圖、粉末構造
19. 蛇床子之組織描述及組織圖、粉末構造
20. 薑黃之組織描述及組織圖、粉末構造
21. 黨參之組織描述及組織圖、粉末構造
22. 苦參之組織描述及組織圖、粉末構造
23. 瞿麥之組織描述及組織圖、粉末構造
24. 荊芥之組織描述及組織圖、粉末構造

1. 燈 心 草

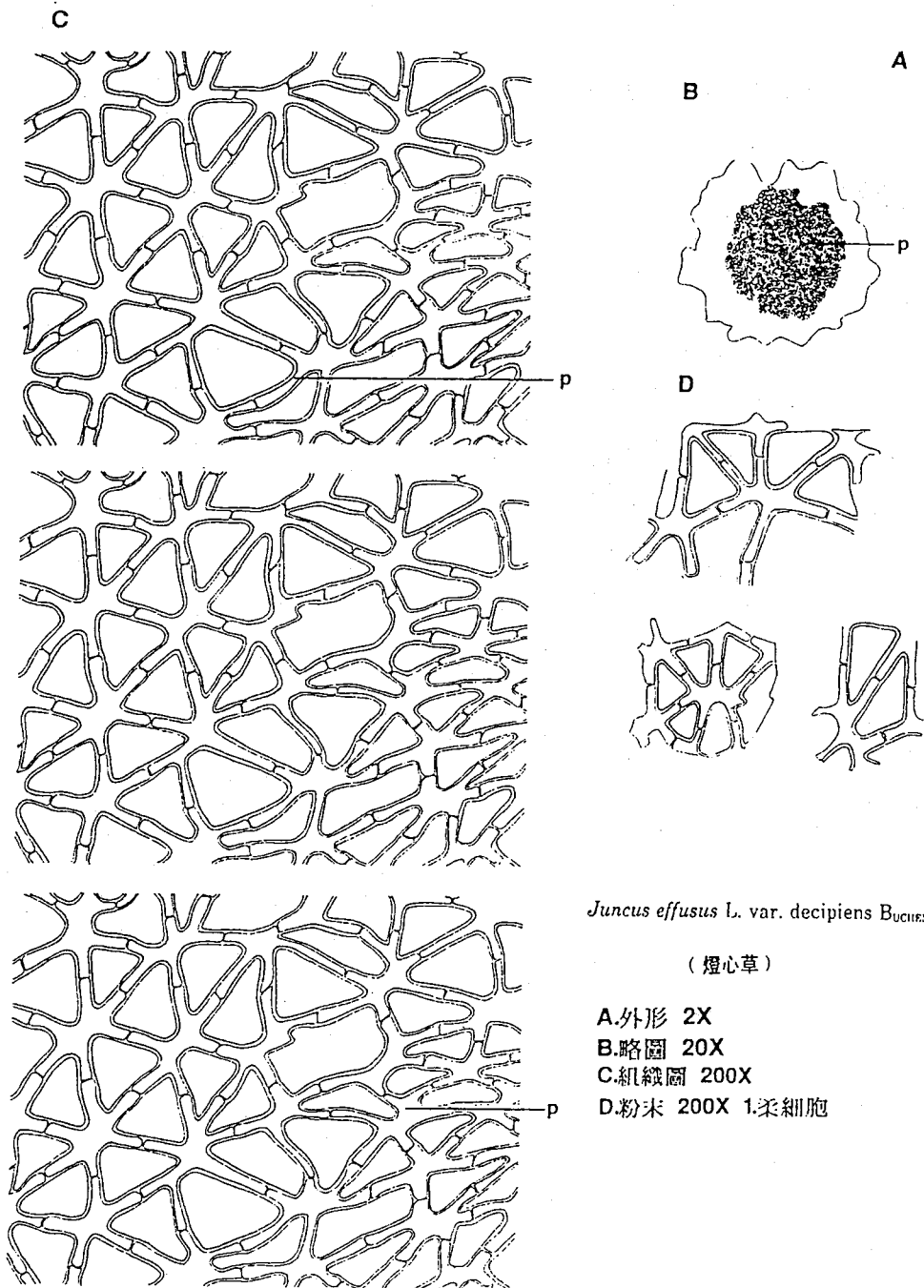
Junci Caulis Medulla

Juncus effusus L. var. *decipiens* BUCHEN. (Juncaceae)

組織鑑別：乾燥的莖髓，全部由星芒狀薄壁細胞所構成，彼此以星芒4~8，以5，6多見，徑5~75 μ ，壁稍厚，偶見細小紋孔。無澱粉粒。

粉末鑑別：粉末略帶黃白色，無味。星芒薄壁細胞呈不規則形，長12.5~75 μ ，寬5~12.5 μ ，星芒相接的壁菲薄。

1. 燈 心 草



Juncus effusus L. var. *decipiens* BUCHEN.

(燈心草)

- A.外形 2X
- B.略圖 20X
- C.組織圖 200X
- D.粉末 200X 1.柔細胞

2. 連 翹

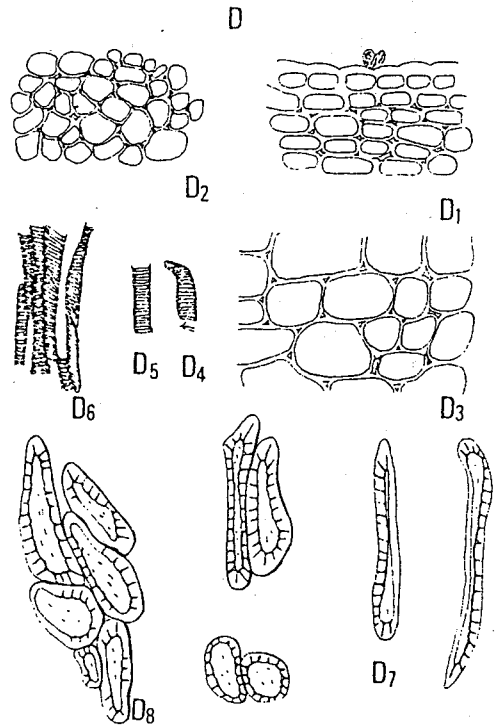
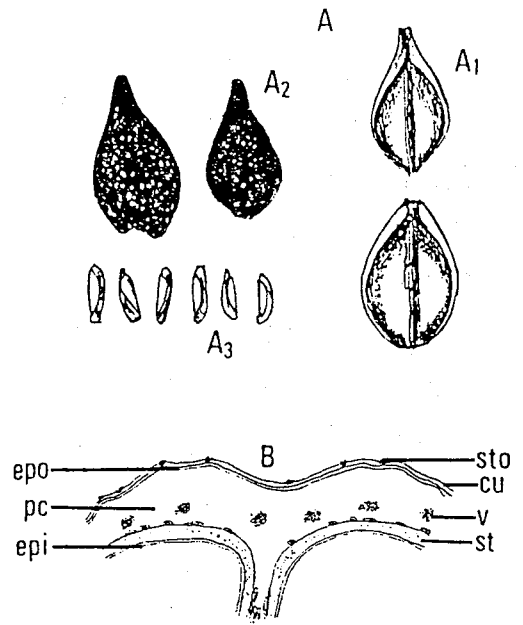
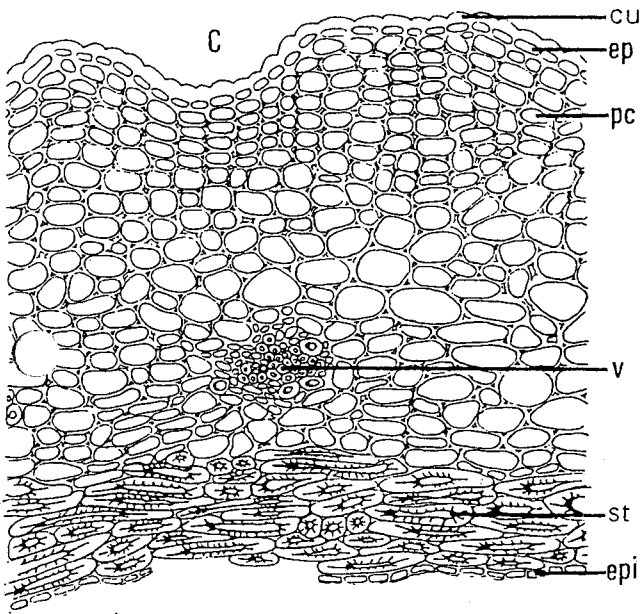
Forsythiae Fructus

Forsythia suspensa (T_{HUNB.}) V_{AHL} (Oleaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其果實橫斷面，最外緣爲外果皮之表細胞，外被厚角質層，細胞呈長方形、類方形，一列，壁增厚。中果皮幾佔果實全部，細胞呈長方形、類方形、類長方形、類圓形、類多邊形及不等形，具有明顯細胞間隙；近中央部份散有單個散生之維管束，維管束由韌部柔細胞、導管、石細胞所組成，細胞小，呈類方形、類長方形、類圓形及類多邊形；內側爲5~8層石細胞所組成，細胞呈不規則長條形、類長圓形、類方形及不等形，壁厚薄不一，層紋及胞腔明顯。內果皮爲一列之薄壁細胞，細胞呈長方形、類方形，常剝落。

粉末鑑別：粉末淡黃棕色，氣微弱，味淡。以顯微鏡檢視其粉末，外果皮表皮細胞，一列，外被角質層，細胞呈長方形，徑22~30 μ 。表面觀之表皮細胞，呈方形、長方形及類多邊形。中果皮細胞，呈長方形、方形、類多邊形、較大，徑14~110 μ ，具明顯之細胞隙。導管，主爲螺旋紋及環紋，徑12~16 μ 。石細胞，極多，單個散生或成群，細胞呈類長方形、類多角形、類三角形、類圓形、類方形及不等形，徑32~70 μ ，壁厚7~18 μ ，厚薄不一，孔紋疏密不一，孔溝隱約可見。內果皮纖維，極多，多成束，與石細胞上下層縱橫交錯，細胞呈短梭形、不規則形，孔溝較細，孔紋較少，長76~230 μ ，徑24~36 μ ，壁厚薄不一，與石細胞不易區別。

2. 連翹



Forsythia suspensa (T_{HUNB.}) V_{AHL.} (連翹)

A. 外形 1.5× A1 裡面 A2 外面 A3 散落之種子

B. 弱擴大圖 10×

C. 果實之橫斷面 150×

D. 解離要素 200× D1 外果皮表皮細胞，外被角質層 D2 表面觀之中果皮柔細胞 D3 中果皮柔細胞 D4 螺旋紋導管 D5 環紋導管 D6 連生導管 D7 內果皮纖維 D8 石細胞

3. 薄 荷

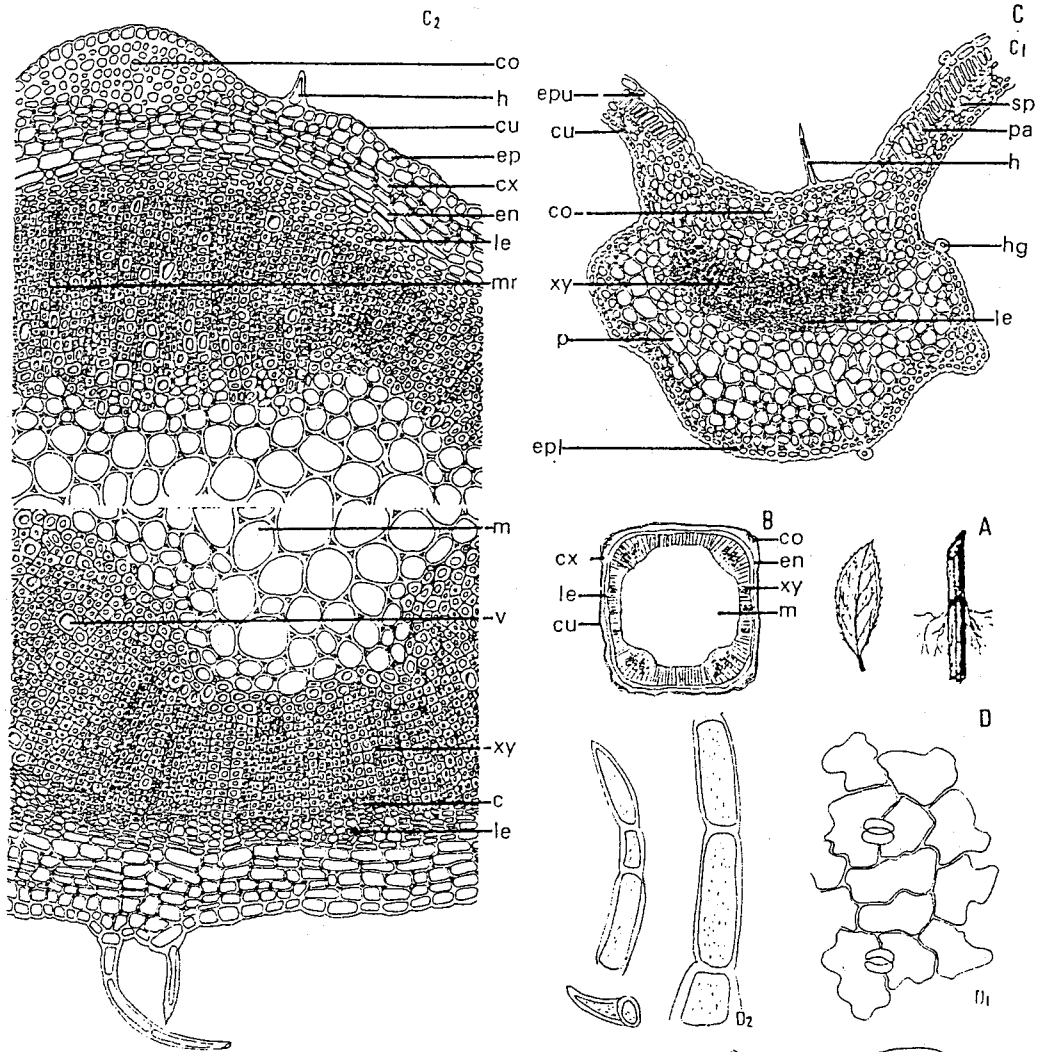
Menthae Herba

Mentha haploclyx BRIQ.

組織鑑別：(a) 以顯微鏡檢視其葉斷面，最外緣為表皮細胞，一行，呈長方形，類方形，外壁為增厚之角質層，可見表皮突生之腺毛及非腺毛，下表皮散見氣孔。中肋部分，於表皮間具3~6層厚膜組織及4~6層柔組織。中間為維管束，木質部位於上方，導管及髓線明顯，韌皮部位於下方，組織小而呈不規則形。兩側葉，珊狀組織，明顯，位於上方，細胞呈長條形排列緊密，海綿組織，明顯，位於下方，細胞呈類圓形、類方形及多邊形，排列鬆散具有氣室。(b) 以顯微鏡檢視其莖的橫斷面，最外緣外被角質層之表皮細胞，一行，呈長方形、類正方形，可見表皮突生之腺毛及非腺毛。皮層，4~6層，細胞呈長方形、正方形，具細胞間隙，四稜脊處為厚角組織。內皮層，一行，明顯，細胞呈長方形。韌皮部，4~8層，細胞較小，呈長方形、類方形、類圓形、多邊形、不等形。形成層，1~2層，不甚明顯。木質部，由導管及木部纖維、髓線細胞組成，呈類圓形、類多角形、不等形；導管於四稜脊處較發達；髓線寬狹不一。髓部由大型薄壁細胞組成，細胞呈類方形、類圓形、類多角形、多邊形及不等形，具明顯細胞間隙，中心常為裂隙。

粉末鑑別：粉末淡黃綠色，氣清香，味辛涼。以顯微鏡檢視其粉末碎片，葉表皮之表面觀，細胞呈不規則形，胞壁彎曲，有多數氣孔，散見腺毛及非腺毛跡痕。腺毛分由6~8細胞組成，徑60~95 μ ，側面觀扁球形柄極短之腺鱗及由單細胞組成，徑15~25 μ ，長20~35 μ ，柄由1~3個細胞組成，長8~22 μ ，呈橢圓形之小腺毛兩種。導管，主為有緣孔紋、網紋及階紋，偶見有螺紋，徑6~28 μ ，甚長。木部纖維，單個散生或成束，徑14~26 μ ，壁厚3~8 μ ，甚長，具明顯紋孔。莖表皮之表面觀，細胞呈類長方形，類方形，長多角形，散見氣孔及非腺毛。莖柔細胞，呈規則排列之長成~長條形。細胞內含物為橙皮甙，呈圓形、扇形、不規則形。

3. 薄 荷



Mentha haplocalyx B. Riq.

- A. 外形 1×
 B. 弱擴大圖 10×
 C. 莖及葉之橫斷面 150× C1 葉之橫斷面 C2 莖之橫斷面
 D. 解剖要素 200× D1 葉表皮之表面觀 D2 非腺毛
 D3 腺毛 D4 環紋導管 D5 有緣孔紋導管 D6 木部纖維
 D7 莖表皮表面觀 D8 莖皮層薄壁細胞 D9 橙皮甙結晶

4. 鬱 金

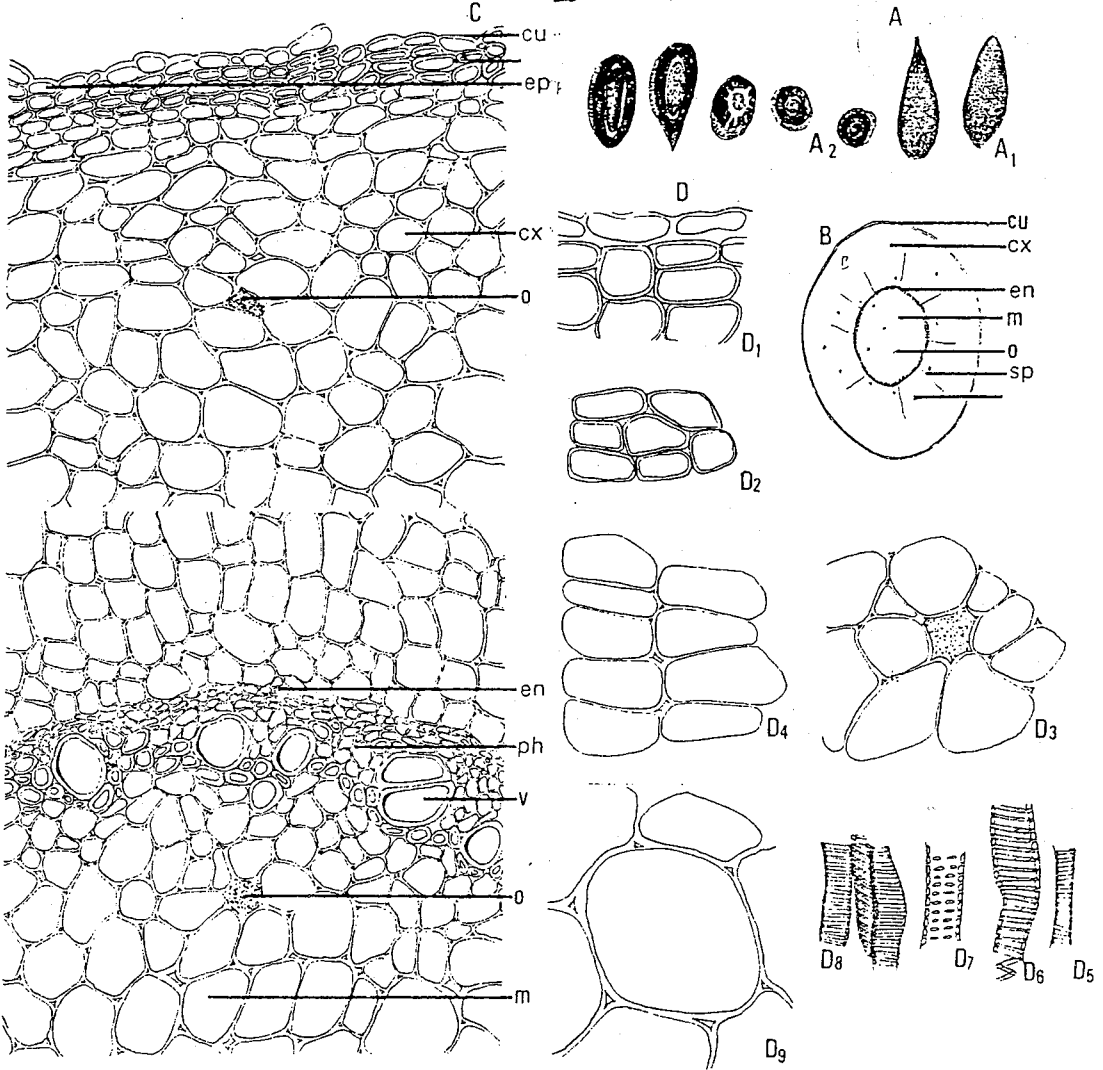
Curcumae Tuber

Curcuma aromatica SALISB. (Zingiberaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其塊根橫斷面，最外緣為外被角層之表皮細胞，呈類方形、類多邊形，一列。根被細胞呈長方形、類方形、類多邊形，弱木化，3~5層，淡黃色。外皮層，一列，細胞呈類長方形、類方形、類多邊形，外壁稍厚。皮層，寬廣，約佔1/2，細胞大，呈類方形、類長方形、類多邊形、不等形等，含多量之澱粉粒，具明顯細胞間隙。內皮，一列，明顯，細胞呈類長方形、類方形。中柱鞘，1~2層，細胞呈類長方形、類方形。韌皮部束，存於木質部間，由10~20個細胞組成，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及類多邊形等。木質部束，呈凹環狀排列，由8~16個導管、纖維組成，細胞呈類圓形、類方形及類多邊形，其中導管大而明顯。髓部，由大型的薄壁細胞組成，細胞呈類方形、類圓形、類長方形及類多邊形，具明顯之細胞間隙，含多量之澱粉粒，散布少許含金黃色油滴樣物質的腔中。

粉末鑑別：粉末淡黃~色棕黃色，微有薑氣香，味辛而苦。以顯微鏡檢視其粉末，縱觀表皮細胞，一列，外被淡棕黃色角質層，呈類方形，木栓細胞，微木化，細胞呈類方形、類長方形，淡黃棕色。皮層細胞，呈類長方形、類方形及類多邊形，徑28~280 μ 或更大，散布含有金黃色油滴樣物質之腔中。導管，主為環紋或螺旋紋，少數孔紋，徑22~168 μ 。髓部細胞，寬大，具明顯細胞間隙。

4. 鬱 金



Curcuma aromatica SALISB (鬱金)

- A. 外形1× A1完整之塊根 A2市場品切片之塊根
 B. 弱擴大圖6×
 C. 塊根橫斷面150×
 D. 解離要素200× D1含角質層的表皮細胞及根被細胞 D2表面觀之根被細胞 D3皮層柔細胞含油滴樣物質的腔 D4皮層柔細胞 D5環紋導管 D6螺旋紋導管 D7孔紋導管 D8透生導管 D9韌部細胞

5. 桂 枝

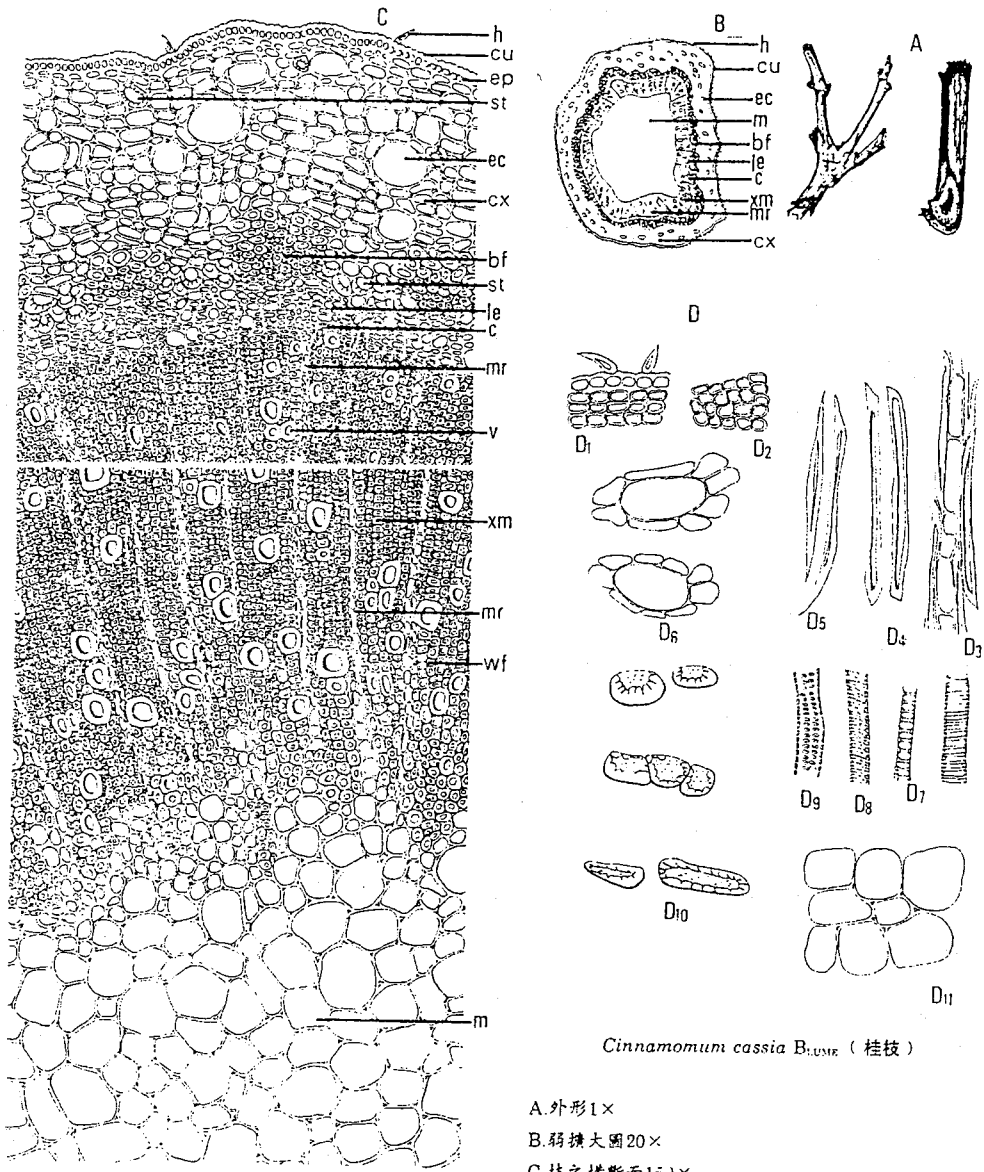
Cinnamomi Ramulus

Cinnamomum cassia BLUME (Lauraceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其莖枝橫斷面，最外緣爲外被厚角質層之表皮細胞，一列，呈長方形、類方形，散見有單細胞之非腺毛。木栓層，細胞呈類長方形、類多邊形，2~5層，最內一層外壁增厚。皮層，細胞呈類長方形、類方形、類圓形、類多邊形，散見有大型之油細胞，偶見單個散生之石細胞，8~12層。中柱鞘由韌皮纖維束及半月形石細胞群，連成間斷之環層。韌皮部，細胞較小，呈長方形、類方形、類圓形、類多邊形及不等形，散見有較大之油細胞，6~8層，髓腺不明顯。形成層，1~2層，細胞扁小，明顯。木質部，約佔1/2~2/3，由導管、木部纖維、髓線1~2列，明顯，內含細小草酸鈣針晶。中央爲髓部，約佔1/3~2/5，細胞呈類方形、類圓形、類長方形及類多邊形，壁稍厚，具明顯細胞間隙，內含澱粉粒。

粉末鑑別：粉末淡紅棕色，氣芳香，味微甘、辛，略帶粘液性。以顯微鏡檢視其粉末，表皮細胞外被角質層，棕黃色，一列，散生非腺毛，細胞呈長方形、方形。表面觀之木栓細胞，壁稍厚，微木化，細胞呈方形、長方形、類多角形，胞腔內含紅棕色物質。油細胞，大都破碎，完整個呈類圓形、類橢圓形，徑40~76 μ 或更大，外有6~8個細胞圍成。韌皮纖維，大多成束或單個散生，無色或棕色，細胞呈長梭形、紡錘形，略彎曲，末端銳尖、短尖或短圓，徑12~40 μ ，壁厚，木化，孔溝較細。木部纖維，極多，常成束，灰色，甚長，徑16~28 μ ，壁稍厚，木化，孔溝寬大。導管，主爲有緣紋，亦有環紋及螺旋紋，徑36~76 μ 。石細胞，多數，單個散生或成群，無色、淡黃色或棕色，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及短梭形，徑28~66 μ ，壁厚，有的三邊厚，一邊較薄，孔溝及孔紋明顯。髓部細胞，大型徑22~156 μ ，細胞呈方形、長方形、類圓形、類多邊形。

5. 桂 枝



Cinnamomum cassia B. UNIK (桂枝)

- A. 外形1×
 B. 弱擴大圖20×
 C. 枝之橫斷面150×
 D. 解離要素200× D1具非腺毛之被角質層的表皮細胞 D2表面觀之木栓細胞 D3含鞣酸細胞及木部纖維 D4木部纖維 D5韌皮纖維 D6油細胞圍成之分泌腔 D7環紋導管 D8螺旋紋導管 D9有緣孔紋導管 D10石細胞 D11髓部柔細胞

6. 漏 蘆

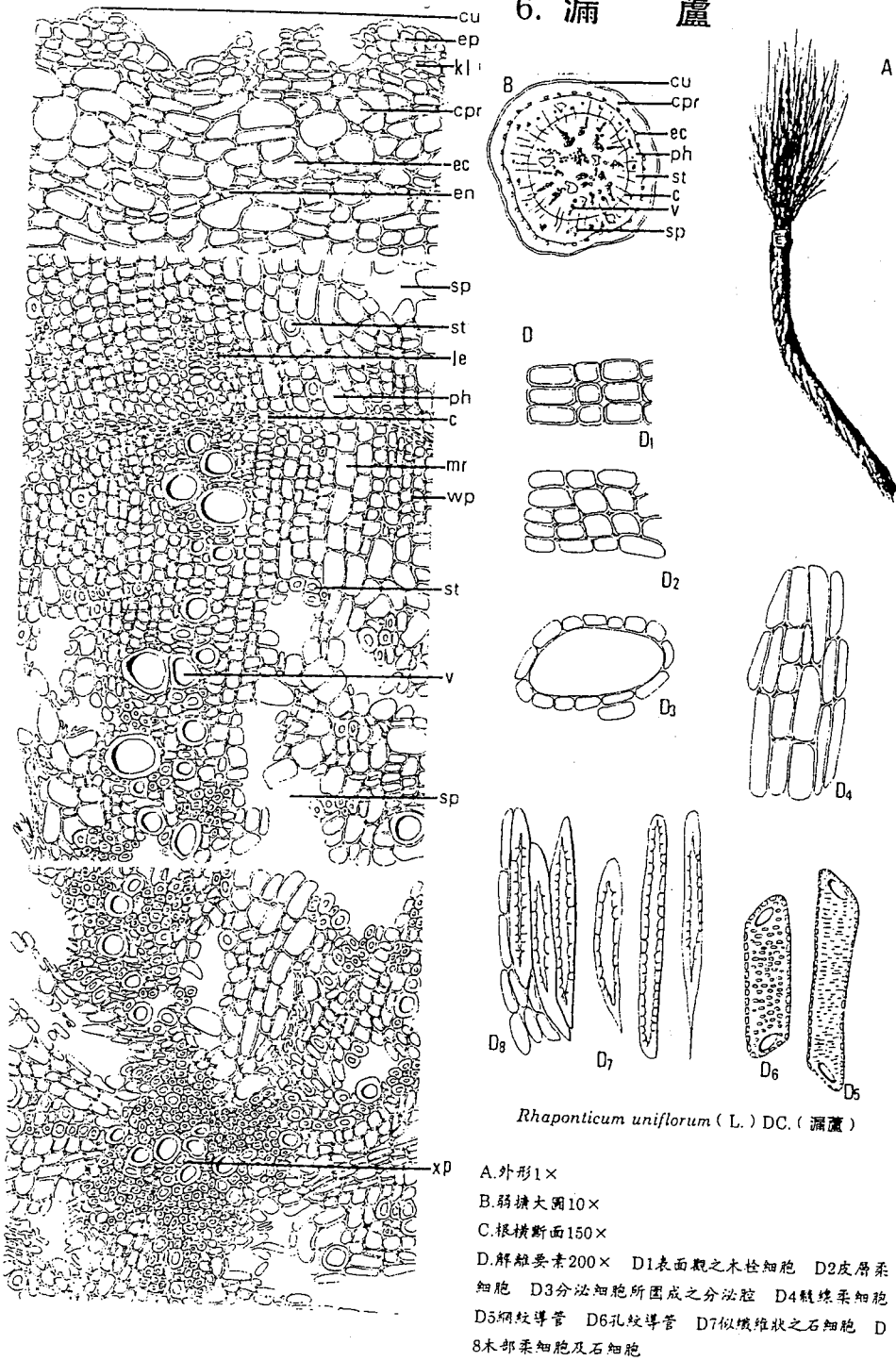
Rhapontii Radix

Rhaponticum uniflorum (L.) DC. (Compositae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根橫斷面，最外緣爲外被角質層之表皮細胞，一列，細胞呈類長方形、類方形，外部偶有破裂。栓皮層，3~5層，細胞呈類方形、類方形及類多邊形。初生皮層，由7~12層柔細胞組成，細胞呈類方形、類長方形、類圓形、類多邊形及不等形，具細胞間隙。其間在內皮附近，散生由6~10個分泌細胞所圍成之分泌腔，同心性排列，內含有深黃色~深棕褐色內容物。二次皮層，明顯，由16~20層柔細胞組成，細胞呈方形、長方形、類方形、長多邊形及類圓形，切線性排列，具有細胞間隙，散見有單個散生或2~6個成群之似纖維狀的石細胞，具明顯之髓線，偶見有裂隙。形成層，明顯，由2~3層柔細胞組成，呈扁平形。木部，廣闊，約佔1/2~2/3，具明顯大小不一之裂隙，由導管、木部似纖維狀石細胞、木部柔細胞、髓線細胞所組成；導管，巨大，單個散生或2~8個直向或棋向連生，徑29~142 μ ，長60~304 μ ，以有緣孔紋及孔紋爲主，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及類多邊形；木部石細胞，較小，壁厚，散生或伴導管成2~10個群生，徑14~24 μ ，長63~292 μ ，細胞呈類圓形、類方形及類長方形髓線，明顯，延生至皮層，細胞呈類方形、長方形、長橢圓形及不等形，其間伴有木部柔細胞，中央爲原生木部由導管及木部似纖維狀石細胞組成。

粉末鑑別：粉末棕黃色，氣特異，味微苦。以顯微鏡檢視其粉末，表面觀木栓細胞，微木化，細胞呈長方形、方形。皮層細胞，呈類方形、類長方形，具有明顯細胞間隙。油細胞，大都破碎，完整的呈類圓形、類橢圓形，徑52~120 μ ，外有6~12個細胞圍成。髓線柔細胞，呈長方形、方形及類長方形，具明顯細胞間隙。導管，主爲網紋及孔紋，大型，徑60~302 μ 。石細胞，單個散生或個成群，存於皮層及木部，黃色，細胞呈長稜形，長紡錘形，末端尖銳、圓鈍或尖鈍，具明顯孔溝及孔紋，徑12~40 μ ，長50~302 μ 或更長。

6. 漏 蘆



7. 黃 連

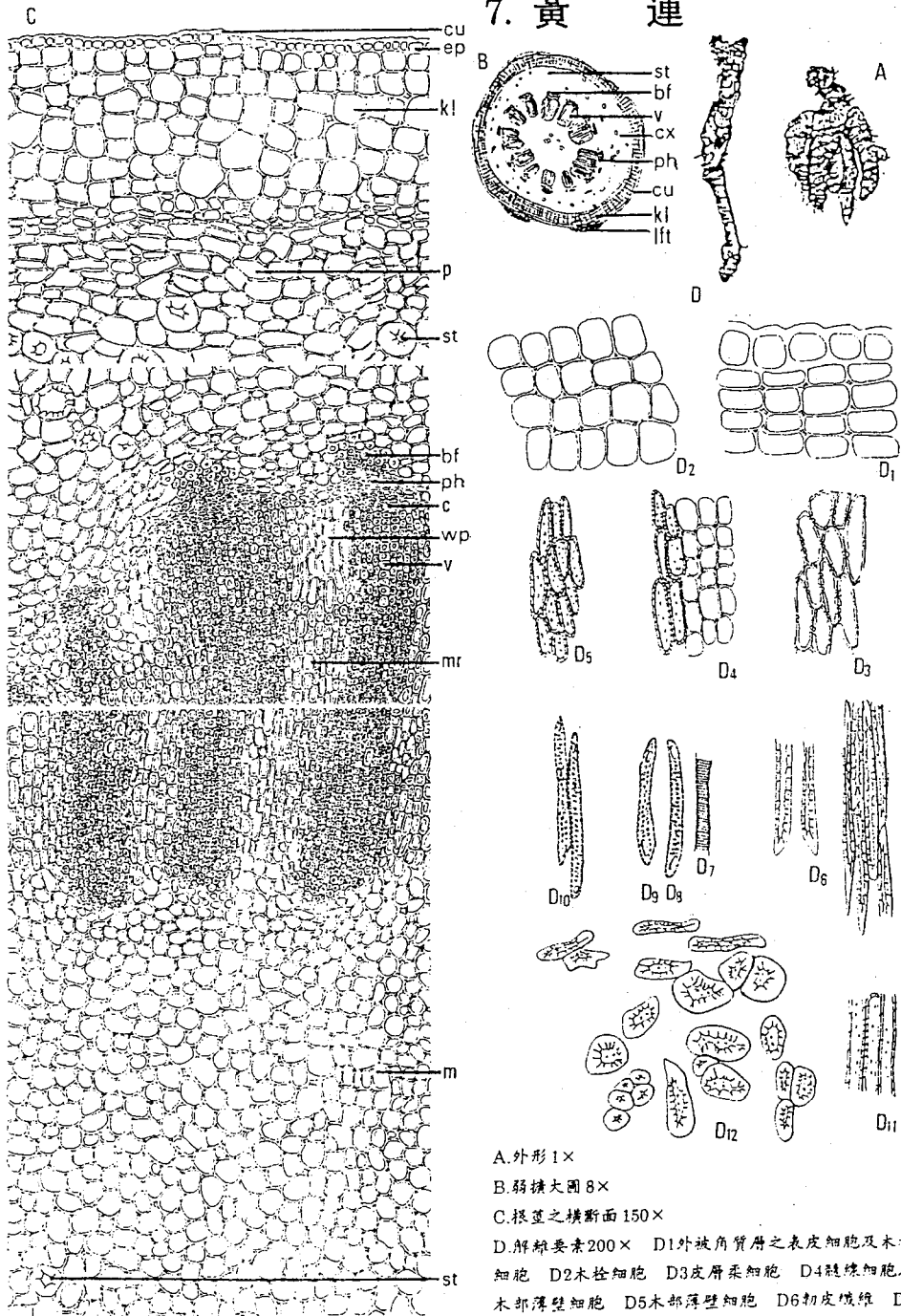
Coptidis Rhizoma

Coptis chinensis F_{RANCH.} (Ranunculaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根莖橫斷面，最外緣爲外被厚角質之表皮細胞，呈長方形、類方形，一列，徑 $20\sim 28\mu$ 。木栓層，細胞呈長方形、類方形、類多邊形， $7\sim 10$ 層，徑 $30\sim 41\mu$ ，其外偶附有鱗葉組織，與皮層界限不甚明顯。皮層，細胞呈長方形、類方形、類多邊形， $12\sim 18$ 層，徑 $28\sim 38\mu$ ，內容含有衆多細小之澱粉粒，散見有淡黃～金黃色之石細胞，單生或 $2\sim 8$ 成群，壁厚、層紋及胞腔明顯。維管束爲無限外韌型，約 $6\sim 9$ 個，作不連續的環狀排列。韌皮部，外方有多數淡黃色韌皮纖維束，偶伴有石細胞，細胞呈扁小之類長方形。形成層， $1\sim 2$ 列，約略可見，細胞呈扁小之長方形，但束間形成層不明顯。木質部，由導管、木部纖維、木部柔細胞、木部薄壁細胞、管胞所組成，細胞呈類方形、類長方形、類多邊形、不等形，木部柔細胞及木部薄壁細胞，內含有衆多細小之澱粉粒，髓線明顯寬狹不一。中央爲髓部，散見有數目不等的石細胞群，細胞呈類方形、類多邊形、類圓形、類長方形，內含澱粉粒。

粉末鑑別：粉末深棕黃色，氣微，味極苦。以顯微鏡檢視其粉末，表皮細胞，外被角質層，一列，淡黃色，徑 $20\sim 34\mu$ ，細胞呈方形、類方形、長方形。木栓細胞，黃棕，細胞呈方形、長方形，壁稍厚，具明顯細胞間隙。層柔細胞，徑 $36\sim 72\mu$ ，可見連珠狀紋孔或單紋孔，細胞呈類長方形、類長橢圓形及類長多邊形。髓線細胞，呈方形、長方形，具明顯細胞間隙，伴生有木部薄壁細胞。木部薄壁細胞，存於木部髓線連接處，細胞呈類方形、類長方形、類長多邊形，徑約 $30\sim 52\mu$ ，木化，壁稍厚，紋孔明顯。韌皮纖維，金黃色，多成束，有的外伴石細胞，較粗短，細胞呈長梭形、紡錘形，末端鈍圓、斜尖或狹細，長 $132\sim 188\mu$ ，徑 $28\sim 40\mu$ ，壁厚，紋孔稀疏，孔溝較粗。木部纖維，鮮黃色，成束，較寬，壁稍厚，木化，紋孔稀疏。導管，主爲孔紋，散見有緣孔紋、環紋、網紋、螺旋紋，均細小，徑 $6\sim 20\mu$ 。石細胞，鮮黃色，單個散生或數個成群。細胞呈類圓形、類方形、類多角形、類長方形、紡錘形及不等形，徑 $24\sim 66\mu$ ，長約 110μ ，壁厚，有明顯之孔溝、孔紋及層紋。

7. 黃連



Coptis chinensis FRANCH. (黃連)

- A. 外形 1×
 B. 根放大圖 8×
 C. 根莖之橫斷面 150×
 D. 解離要素 200× D1 外被角質層之表皮細胞及木栓細胞 D2 木栓細胞 D3 皮層柔細胞 D4 髓線細胞及木部薄壁細胞 D5 木部薄壁細胞 D6 初皮纖維 D7 環紋導管 D8 有環孔紋導管 D9 孔紋導管 D10 連生導管 D11 木部纖維 D12 石細胞

8. 貝 母

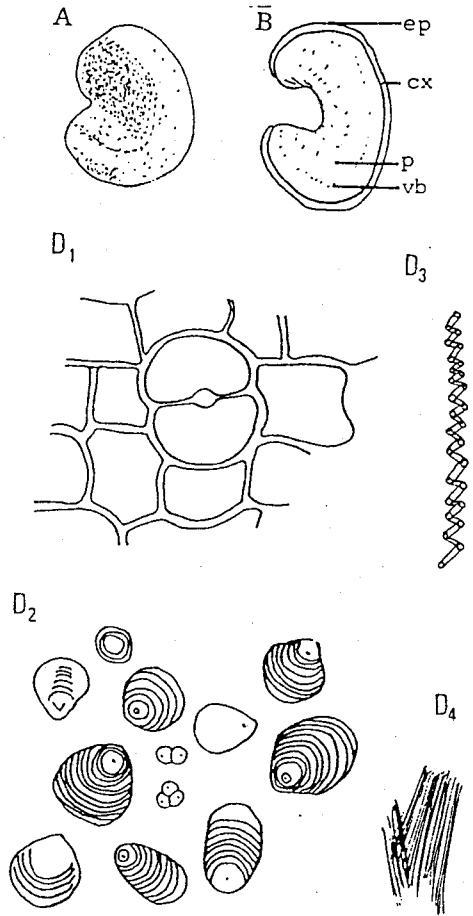
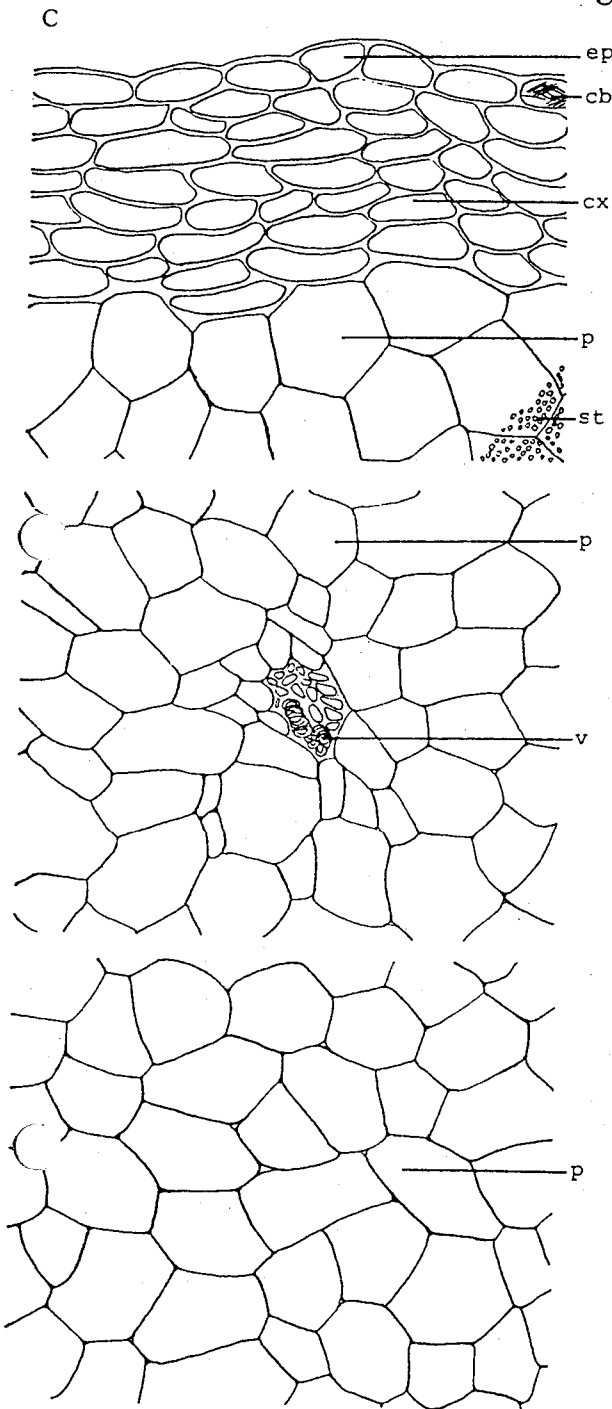
Fritillaria Thunbergii Bulbus

Fritillaria verticillata W_{ILLDENOW} var. *thunbergii* B_{AKER}. (Liliaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其橫斷面，最外部為表皮細胞，約4~7層。呈類長方形、多角形或長橢圓形。柔細胞中富含澱粉粒，單粒，大小差異甚大，外形呈卵圓形、長卵形、梨形或貝殼形，較大端大多平坦，較小端則尖實，徑5~56 μ ，長可達60 μ ，臍點大多不明顯，部分較明顯，呈點狀、短狀或馬蹄狀，位於較小端，較大澱粉粒可見明顯層紋，排列明顯而細密，維管束為外韌包圍型，導管以螺旋導管為主，徑約18 μ ，通常不木化。

粉末鑑別：粉末類白色；氣微；味微苦。澱粉粒極多，皆單粒，大小差異大，呈卵圓形、長卵形、型形或貝殼形，較端多平坦，較小端則先實，徑5~56 μ ，長可達60 μ ，臍點大多不明顯，部分較明顯，，呈點狀、短維狀或馬蹄狀，位於較小端，較大澱粉粒可見層紋，排列明顯且細密。草酸鈣針晶存於表皮或導管旁的薄壁細胞中，聚集成束或充塞於整個細胞中。導管細小，螺旋紋，通常不木化。

8. 貝 母



Fritillaria verticillata Willdenow var. *thunbergii* Baker. (貝母)

A、外形

B、略圖

C、組織圖 200 x

D、粉末及細胞內含物

D₁氣孔

D₂澱粉

D₃導管

D₄草酸鈣針晶

9. 金釵石斛

Dendrobii Caulis

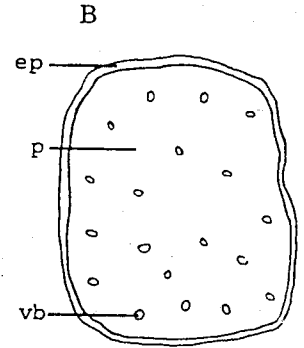
Dendrobium nobile LINDL.

組織鑑別：最外部爲表皮細胞，細胞排列整齊，呈扁長方形或扁五角形，外壁及側壁增厚，外被厚角質層，呈橙黃色，內接木栓層組織，由約3~6層細胞組成，細胞呈類圓形或不規則形，木栓化，壁較厚；皮層組織由類圓形或不規則形細胞組成，細胞大小不一，其間有細胞胞隙；中心柱寬廣，散生許多獨立性維管束，閉鎖並立型；纖維群由4~8層纖維細胞組成，壁甚厚，強木化。篩部呈類圓形，細胞數量少，呈圓形、類圓形或長橢圓形；導管呈四角形、五角形、六角形或多角形，壁厚，強木化；其中散在黏液細胞，呈類圓形；草酸鈣針晶束存於黏液細胞中。

粉末鑑別：粉末黃綠色；味微苦後甘，嚼之有黏性。表皮細胞縱斷面呈類長方形，壁稍厚，色素層橙黃色，厚約8~15 μ ，垂周壁連珠狀增厚，角質層表面有網狀裂紋；薄壁柔細胞甚大，直徑22~50 μ ，壁稍厚，紋孔類圓形而大，孔溝明顯；草酸鈣針晶束多存於薄壁細胞中，針晶較粗大，完整者長約170 μ ，直徑約2.5 μ ；束鞘纖維多成束或散離，幾近無色或淡黃色，呈長梭狀或細長，末端長尖，直徑8~33 μ ，壁厚3~10 μ ，木化；纖維束周圍黏液細胞呈類圓形或長圓形，含黏液質增，細胞縱向排列；導管以網紋及階紋爲主，直徑12~45 μ 。

9. 金釵石斛

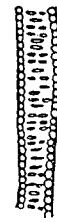
A 9. 金釵石斛



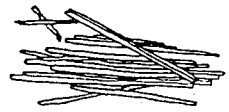
D₁



D₂



D₃



Dendrobium nobile LINDL. (金釵石斛)

A、外形

B、略圖 10 x

C、組織圖 200 x

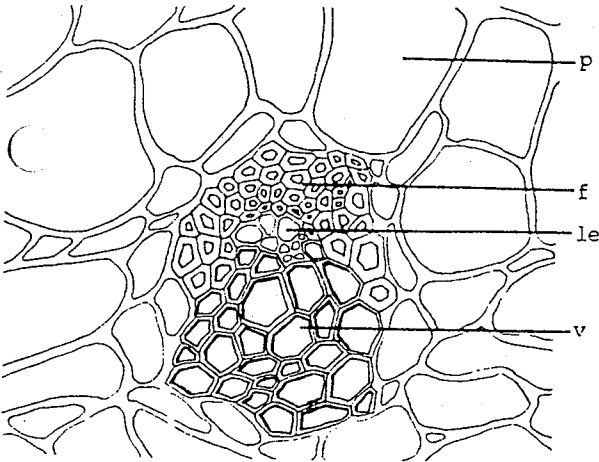
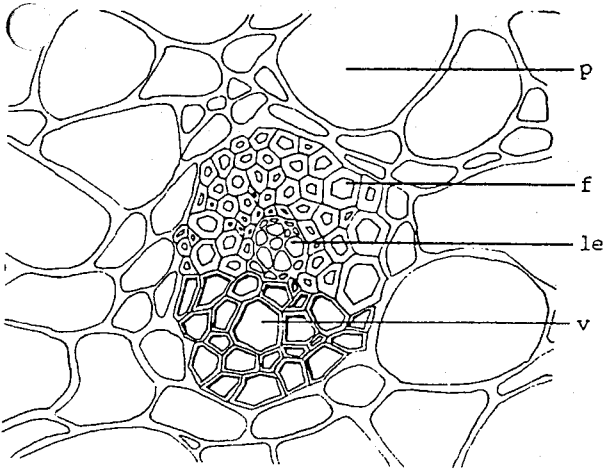
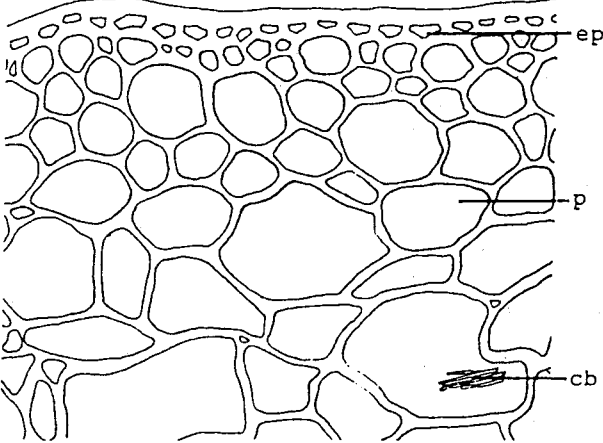
D、粉末及細胞內含物 250x

D₁纖維

D₂導管

D₃草酸鈣針晶束

C



10. 龍 膽

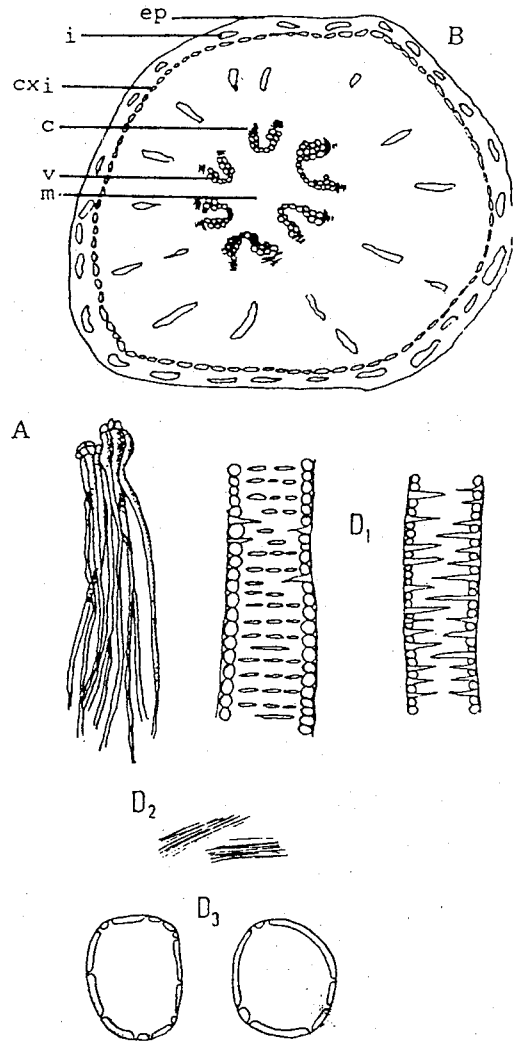
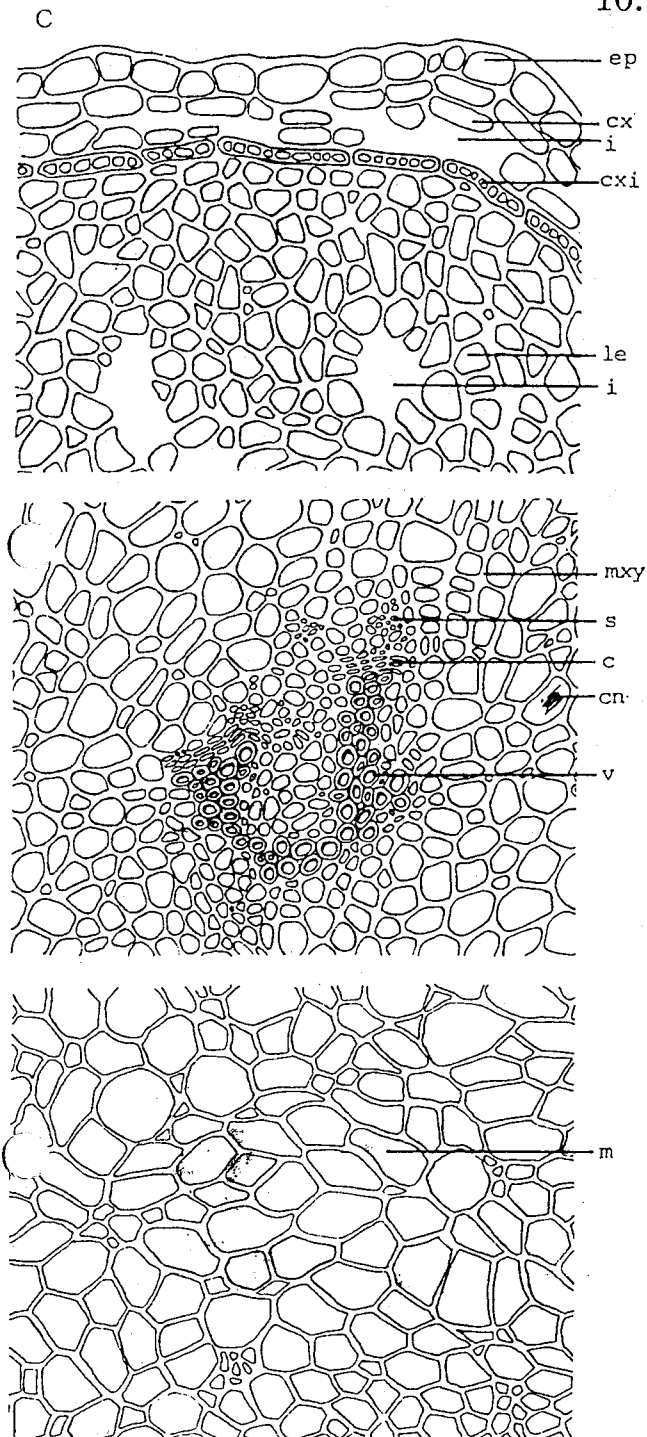
Gentianae scabrae Radix

Gentiana Scabra BUNGE (*Gentianaceae*)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根之橫斷面，最外部爲一層表皮細胞，呈長圓形，外壁稍厚，微木栓化，呈黃棕色。皮層細胞2~3層，呈類長圓形或扁長方形，細胞大小不一，有許多細胞間隙或裂隙；內皮層細胞一層，呈扁長圓形，長95~450 μ ，寬35~105 μ ，壁稍彎曲，微木栓化，每個細胞內有2~14個橫隔壁，將細胞分隔成3~15個小細胞，橫隔壁薄，小細胞呈類方形。篩部寬廣，由12~38層細胞組成，細胞類圓形、多角形或不規則形，由外而內細胞漸小，靠外側篩部存在許多不規則裂隙；偶散在由細小篩管組成之篩管群，尤以內側篩部近形成層處最明顯。形成層由2~4層細胞組成，呈長方形，切線性延長，壁較薄，有的不明顯。木部約6~8群，由導管群及木部薄壁細胞組成，導管及木部細胞以放射狀，不規則的交錯，導管類圓形常是V字形排列；髓線寬狹不一，細胞略呈放射狀延長。中央髓部細胞呈類圓形、或多角形，髓部不明顯。

粉末鑑別：粉末灰黃白褐色，微臭，味極苦。皮層中含極少數橢圓形或類圓形石細胞，長約126 μ ，寬約45~76 μ ，壁厚3~10 μ ，有時爲砂晶或板晶；另含有油滴及許多黃色或黃棕色內含物，尤以篩部最多，導管以階紋及網紋爲主，直徑約15~51 μ ，略彎曲；本品幾不含澱粉及韌皮纖維。

10. 龍 膽



Gentiana scabra BUNGE (龍膽)

A、外形

B、略圖 20 x

C、組織圖 150 x

D、粉末及細胞內含物 400 x

D₁導管

D₂針晶

D₃石細胞

11. 前 胡

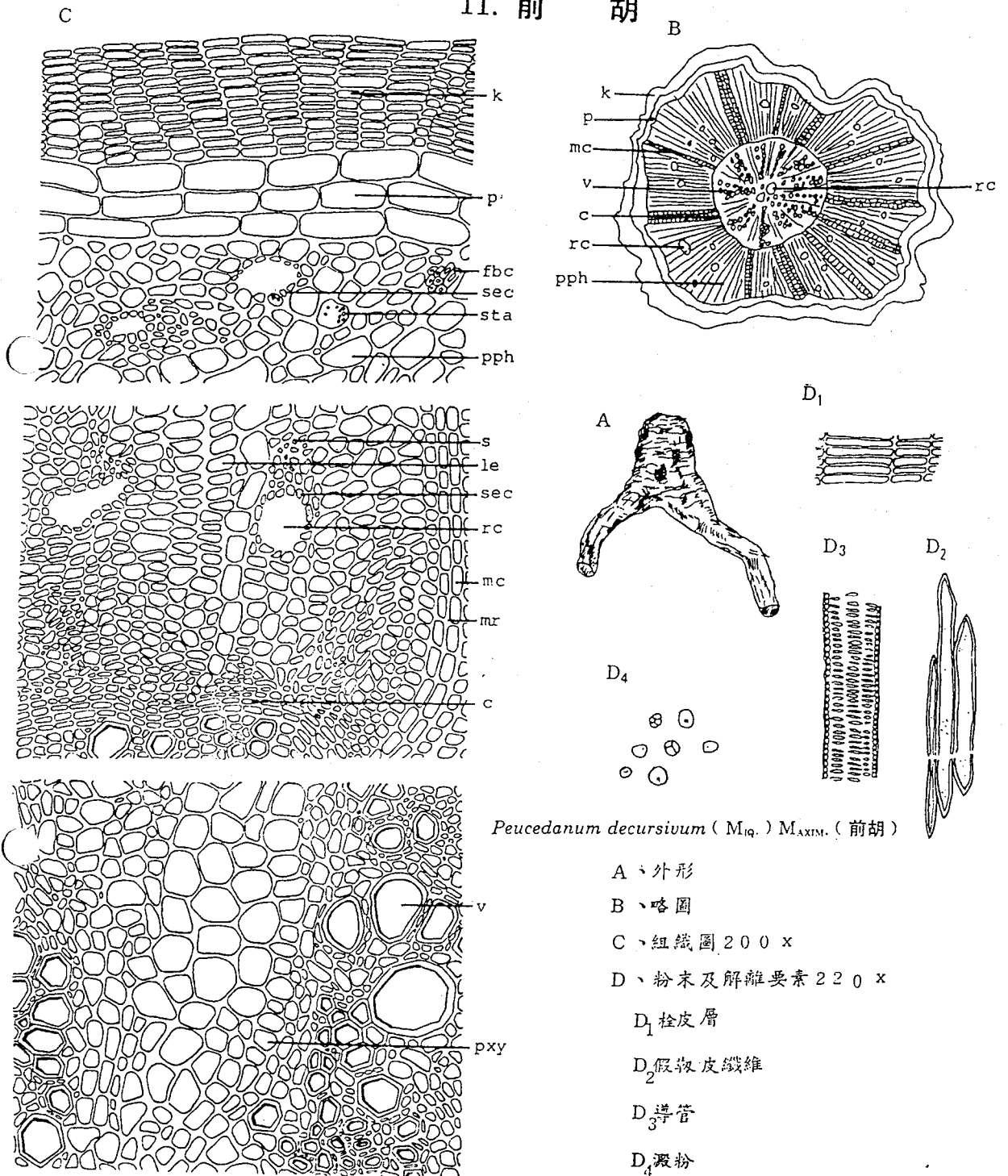
Peucedani Radix

Peucedanum decursivum (M_{IQ.}) M_{AXIM.} (Umbelliferae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根之橫繼面，最外部爲栓皮層，由8~15層栓皮胞組成，細胞呈扁長方形，切線性排列，磚紅色或黃褐色，木栓層外緣多破裂。皮層呈長方形，約3層。篩部寬廣約65~80層，細胞大小不一，近形成層處較小且密，呈長方形，類方形、長圓形或不規則形；樹脂道稀疏散在篩部中，大小不一，愈近形成層，內徑愈小，其周圍之分泌細胞約有8~13個；放射組織細胞呈長方形，1~3列，外端與篩部彎曲，直達於皮層；假韌皮纖維點狀散在，膜微厚；偶可見油管碎片及條狀黃色分泌物。形成層明顯，4~5層，呈扁平形，切線性排列。木部由導管、木部薄壁細胞及木部柔細胞組成，導管單個或數個成群，大小不一，是五角形、六角形或多角形，是不規則放射狀排列，主要爲網紋導管，導管周圍細胞較其他木部柔細胞之膜壁厚，且內徑較小。無髓，但相當於髓之部分散在2~3個樹脂道。

粉末鑑別：粉末淡紅棕色，氣芳香，味微苦辛。木栓細胞呈扁長方形，切線性排列整齊，長23~200 μ ，寬3~13 μ ，壁薄，外部細胞多破碎。導管主要爲網紋，直徑9~75 μ ，網紋孔狹細。澱粉粒多存在於篩部分泌細胞中，臍點明顯，單粒或複粒。

11. 前 胡



Peucedanum decursivum (Miq.) Maxim. (前胡)

A、外形

B、略圖

C、組織圖 200 x

D、粉末及解離要素 220 x

D₁ 栓皮層

D₂ 假parenchyma纖維

D₃ 導管

D₄ 澱粉

12. 淡竹葉

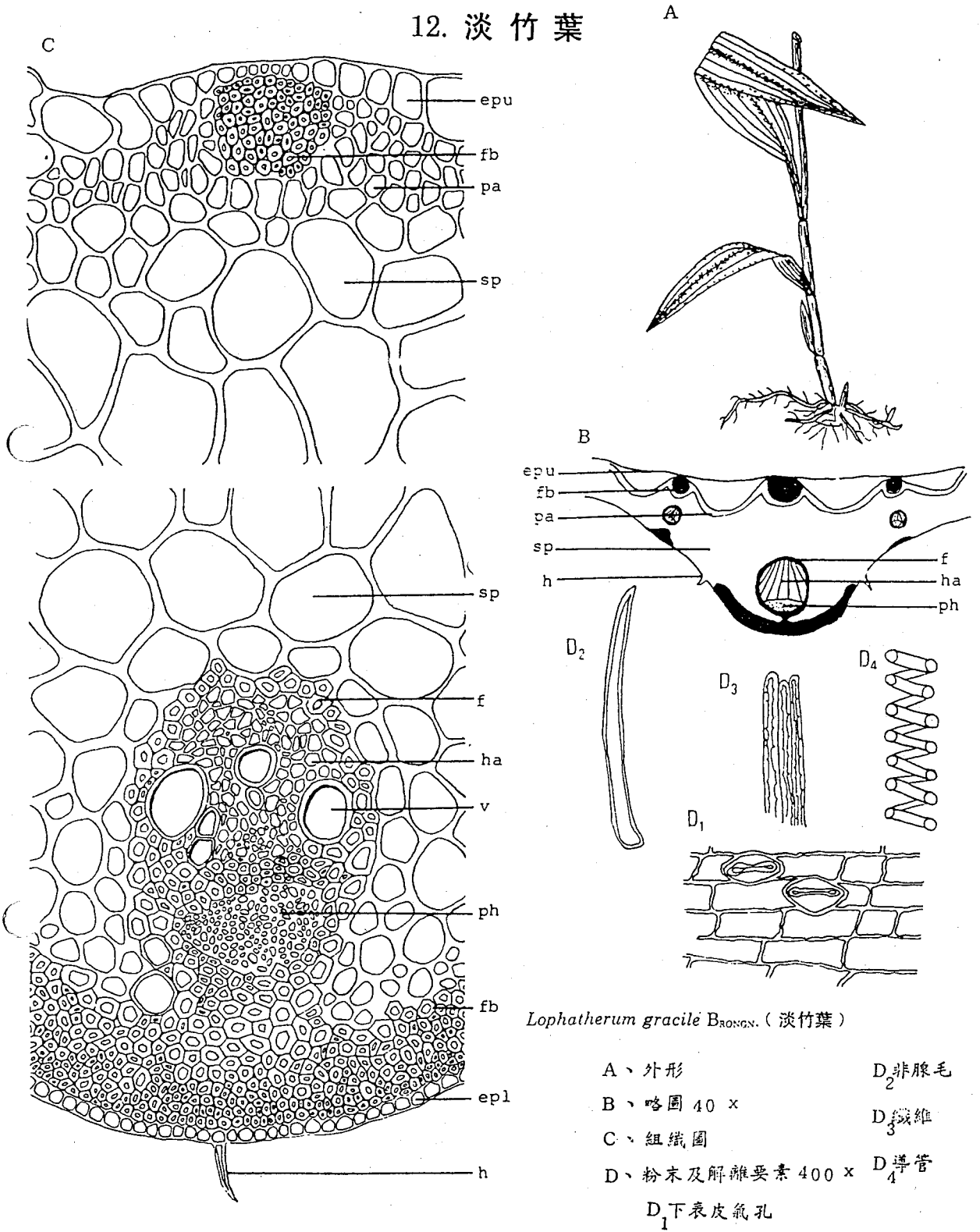
Lophatheri Herba

Lophatherum gracile BRONGN. (Gramineae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視葉之橫斷面，上表皮由一層長方形或類方形細胞組成，細胞大小不一，近纖維處細胞較小，遠離纖維處細胞較大，細胞垂直走向並呈扇形相連，外面平周壁角質化；下表皮由一系列長方形細胞組成，細胞小但彼此約略相近，垂周壁彎曲，外面平周壁角質化；氣孔多位於下表皮；非腺毛亦多位於下表皮，由單一細胞組成，常單個散離；葉肉組織由柵狀組織及海綿組織組成。柵狀組織為1~2層長圓柱形細胞組成，排列整齊；海綿組織由2~4列薄壁細胞組成，細胞壁略呈波狀彎曲；維管束閉鎖並立型，周圍被1~2層纖維包圍，呈類圓形；木部與篩部被1~3層纖維隔離，木部皆在上方，僅有導管數個，導管呈類圓形，篩部細胞較小，呈圓形、長圓形或圓多角形。

粉末鑑別：粉末呈灰綠色，味淡；上表皮細胞呈長方形或類方形，極少見氣孔或非腺毛，保衛細胞狹長，呈啞鈴狀，非腺毛常單個散離，多由一個細胞組成，呈鐮刀狀彎曲，先端銳尖；纖維細長多成束，長約至450 μ ，寬約7~25 μ ，壁厚約3~9 μ ，孔溝不明顯；導管類圓形，主要為螺旋紋。

12. 淡竹葉



13. 荷 葉

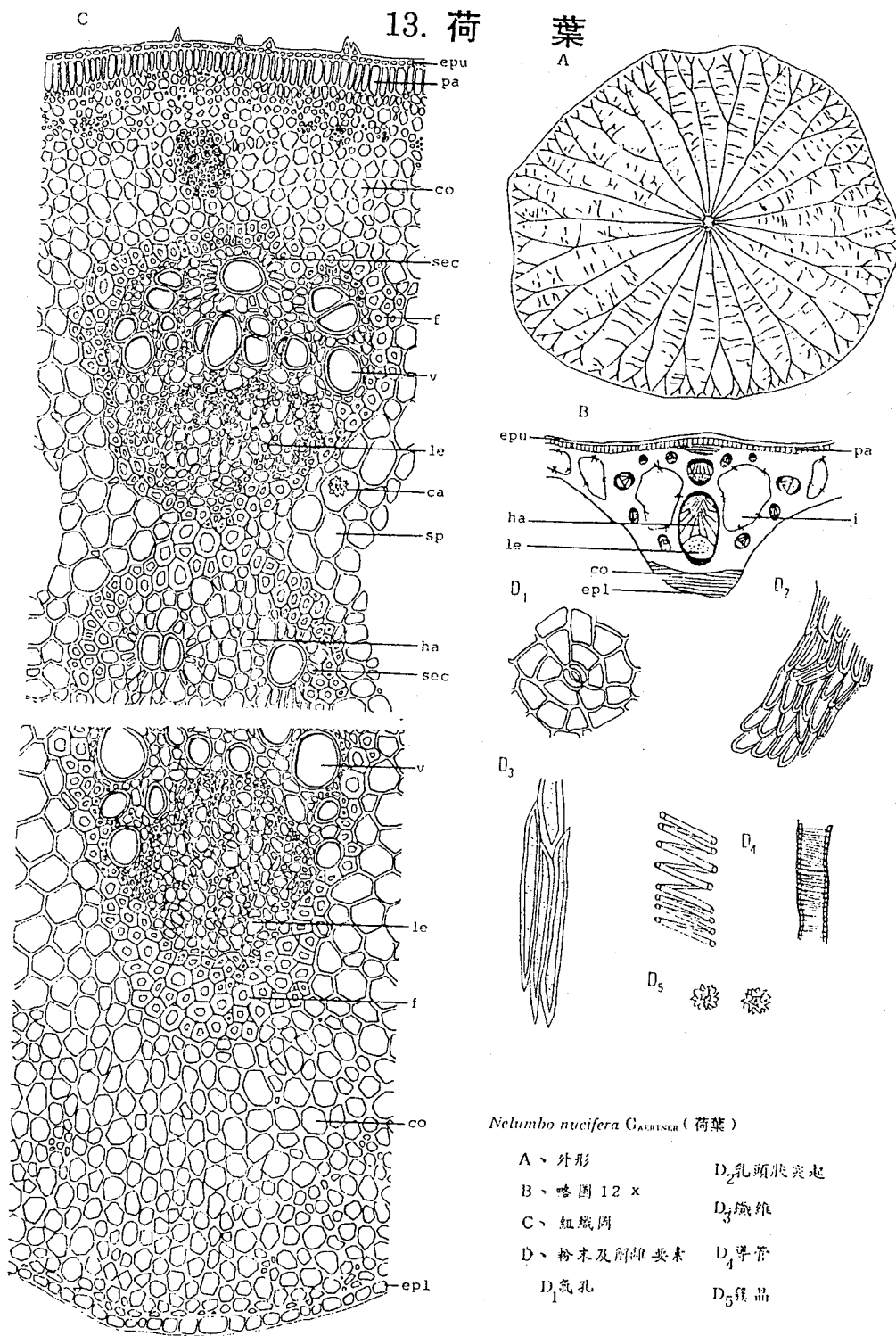
Nelumbo folium

Nelumbo nucifera GAERTNER (Nymphaeaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其橫斷面，上表皮由一層長方形扁平細胞組成，垂周壁彎曲，外壁平周壁角質化且有乳頭狀突起；下表皮由一層長橢圓形、不規則形或類圓形細胞構成，垂周壁彎曲，外壁平周壁有較厚角質層，無突起；葉肉組織為柵狀組織、厚角組織及海棉組織組成。柵狀組織1~數列，第一列呈長方形，其餘各列為圓形或長圓形；主脈的上下表皮內側皆有厚角組織；海棉組織疏鬆，細胞呈類圓形或圓多角形，直徑約13~24 μ ，內含許多草酸鈣簇晶，主脈維管束數個，中央兩個較大，上下排列，尤以下端維管束特大，閉鎖並立型，兩側並各有一個大型氣室，呈不規則形，維管束被1~4層纖維包圍成圓形、類圓形，接近上下表皮處纖維群層數較多，兩側較少，纖維細胞呈三角形、四角形及多角形，強木化；木部多位於維管束上方，僅中央大型維管束之木部位於中央，木部由單層細胞組成，細胞呈類圓形、多角形或長圓形，導管多單個散在，偶見2~數個導管並排相連，單個導管較，導管並連的導管皆呈半圓形，主要為螺旋紋，偶見環紋，強木化；篩部多位於木部下方，僅中央大型維管束之篩部位於木部之下方，篩部細胞大小不一，呈多角形、類圓形、長圓形或不規則形。

粉末鑑別：粉末灰綠色，氣微清香，味微苦；上表皮細胞呈多角形，具乳頭狀突起，氣孔密集，長圓形，直徑18~22 μ ，長約20~27 μ ，保衛細胞4~6個，上表皮下之柵狀組織明顯；下表皮細胞呈不規則形，偶見少數氣孔；導管以螺旋紋為主，少見環紋，寬8~83 μ ；纖維群細長，寬11~35 μ ，壁厚約3 μ 。

13. 荷 葉



Nelumbo nucifera GAERTNER (荷葉)

- A、外形
- B、略图 12 x
- C、組織图
- D、粉末及組織要素
- D₁乳孔
- D₂乳头状突起
- D₃纖維
- D₄導管
- D₅結晶

14. 白 芍

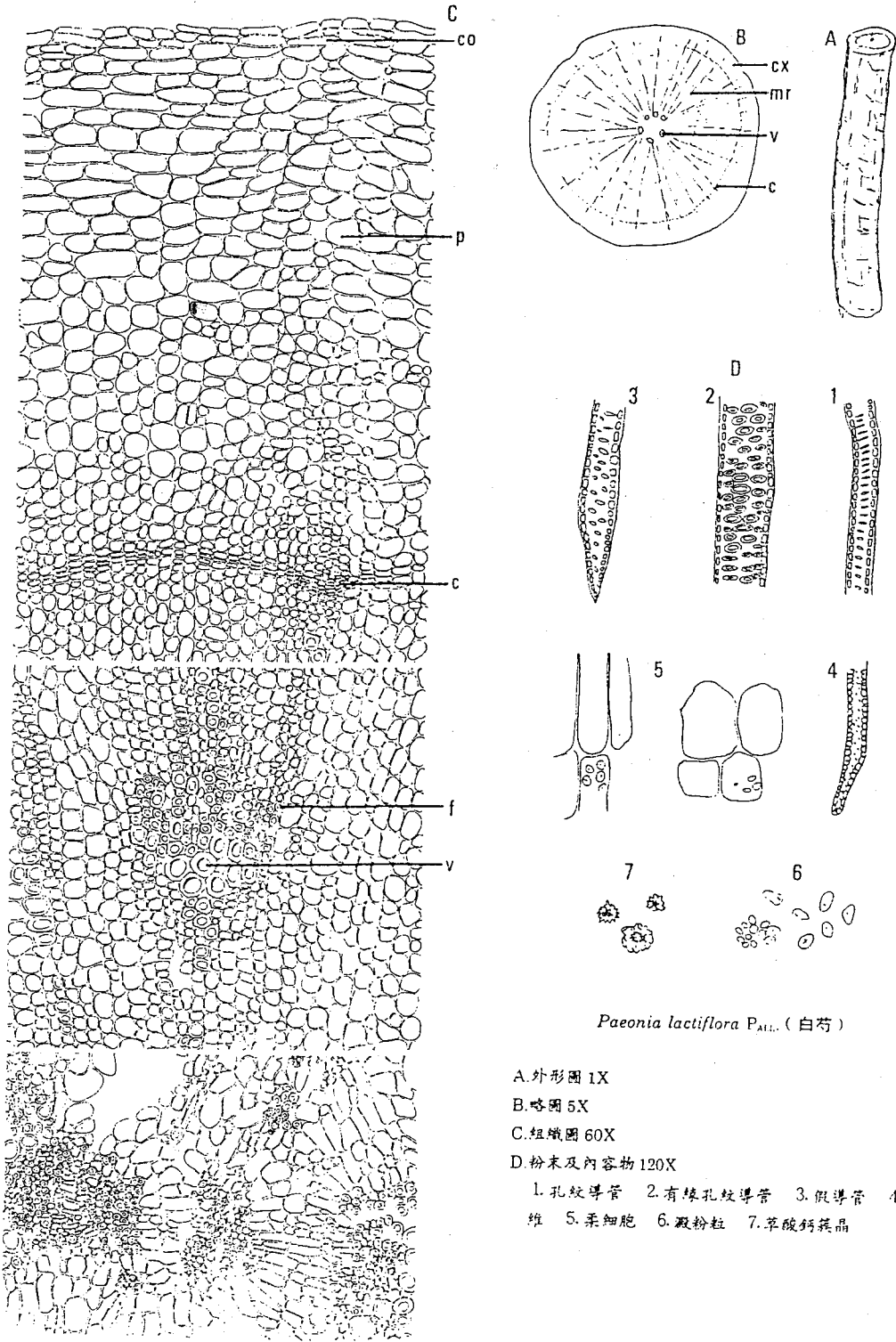
Paeoniae Radix

Paeonia lactiflora P_{ALL.} (Ranunculaceae)

組織鑑別：偶爾殘存數層之薄膜性栓皮細胞。皮層：最外方由1~3層厚壁細胞組成，其內為8~16層切線延長的薄壁細胞，細胞多呈長橢圓形。中部靠近韌皮處，常有6~15個厚角細胞成群排列，大小與形狀均不很規則。韌皮部：橫切面觀察，薄壁細胞較小，略成圓方形。篩管附近常有厚角細胞群分布。形成層：明顯，為2至多列扁平細胞，排列略成波狀圓環。木質部：導管單獨或成群，伴隨有假導管及木纖維，由木部中心輻射排列。導管直徑40~75 μ ，呈強木化反應。假導管口徑較小，20~40 μ ，呈木化反應。纖維，直徑15~32 μ ，弱木化。組織內含物有澱粉、草酸鈣結晶。澱粉以皮部射線分布最多，韌皮部及形成層較少。草酸鈣結晶在各部組織皆有，多數為簇晶。

粉末鑑別：粉末類白色。導管直徑40~75 μ 以有緣孔紋導管，孔紋導管及階紋導管為主。假導管直徑20~40 μ ，管壁有斜紋孔和階紋孔。木纖維直徑15~32 μ 壁厚略彎曲，紡錘形，具斜紋孔。柔細胞充滿澱粉粒，澱粉粒主要為單粒，呈球形或卵形，徑3~28 μ ，臍點明顯，偶有2~3個單粒聚成之複粒。草酸鈣簇晶，徑18~35 μ 。

14. 白 芍



Paeonia lactiflora P. All. (白芍)

A. 外形图 1X

B. 略图 5X

C. 组织图 60X

D. 粉末及内容物 120X

1. 孔纹导管 2. 有缘孔纹导管 3. 假导管 4. 纤维 5. 薄壁细胞 6. 淀粉粒 7. 草酸钙簇晶

15. 冬瓜子

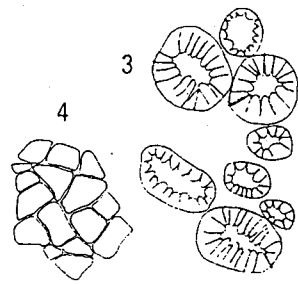
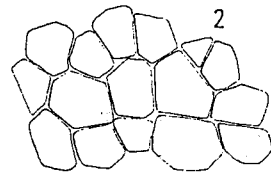
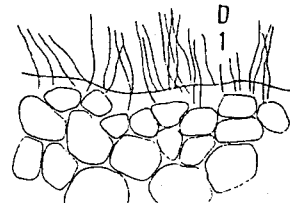
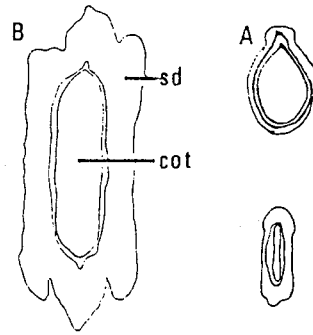
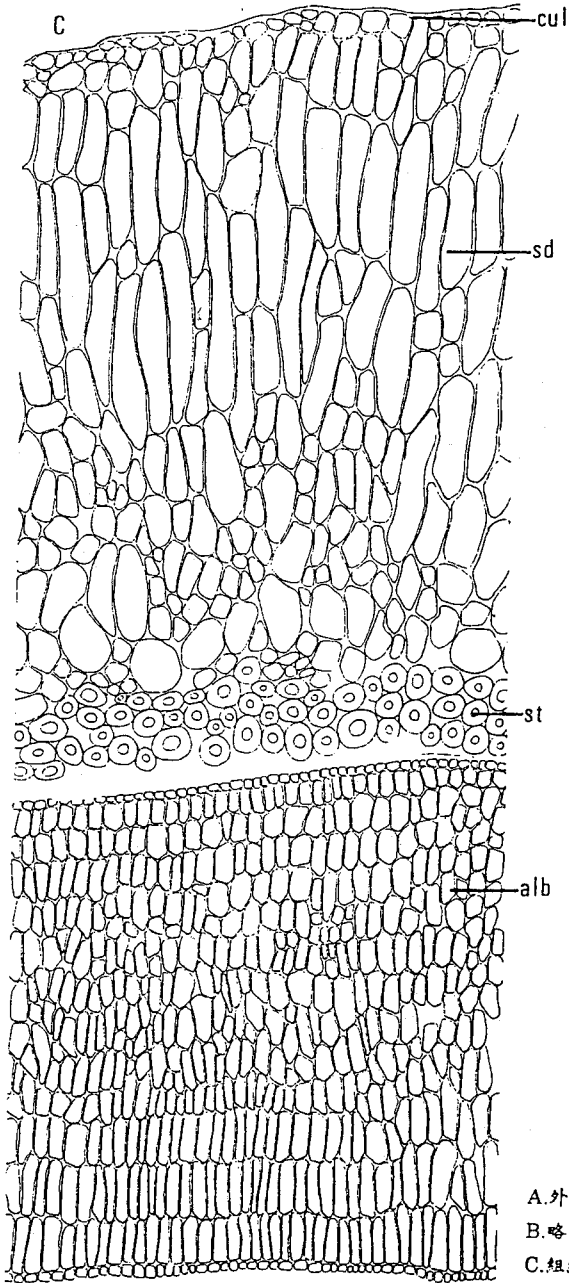
Benincasae Semen

Benincasa hispida COGN. (Cucurbitaceae)

組織鑑別：冬瓜子（中部）橫切面：最外層為一系列種皮表皮細胞，細胞呈類方形或類卵圓形，其外側被覆著角質層及多數的非腺毛。其內側為7~15層的種皮薄壁細胞，其中靠外側的細胞多呈長條形，較大型；靠內側的細胞則呈類卵圓形、類圓形或不規則形，略小。種皮細胞的最內側為二至四層的石細胞，壁甚厚，呈類圓形、類卵圓形、長橢圓形，直徑12~50 μ ，木化。子葉兩片，每片由約15層左右的細胞組成，其內外各為一系列排列緊密的薄壁細胞，呈類方形或類長方形。而較靠近種皮的十層左右的細胞則呈長條形，柵狀排列。子葉細胞充滿糊粉粒與油滴。不木化。

粉末鑑別：粉末呈黃棕色。種皮外常有多數的非腺毛，為單一細胞，呈長鞭毛狀。種皮表皮細胞之表面觀呈多角形。石細胞位於種皮的最內側，在子葉外形成環狀排列，紋理明顯，呈類圓形、類卵形、類長橢圓形，直徑12~50 μ 。子葉細胞充滿糊粉粒。

15. 冬瓜子



Benincasa hispida Cogn. (冬瓜子)

A. 外形圖 2X

B. 略圖 6X

C. 組織圖 120X

D. 粉末 50X

1. 種皮細胞及非腺毛側面觀 2. 種皮表皮細胞表面觀 3. 石細胞 4. 胚乳細胞

16. 補骨脂

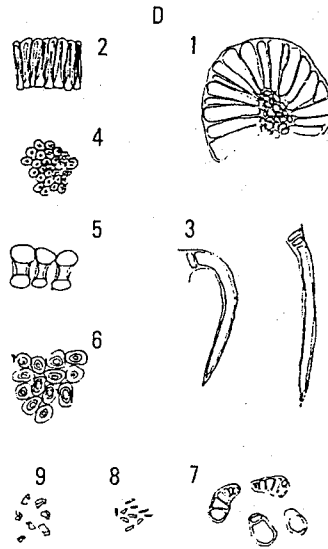
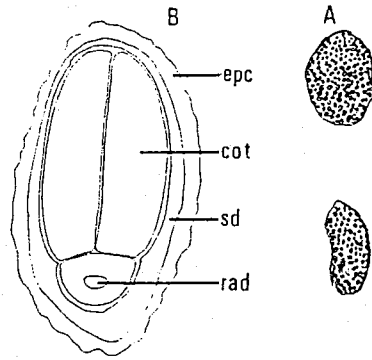
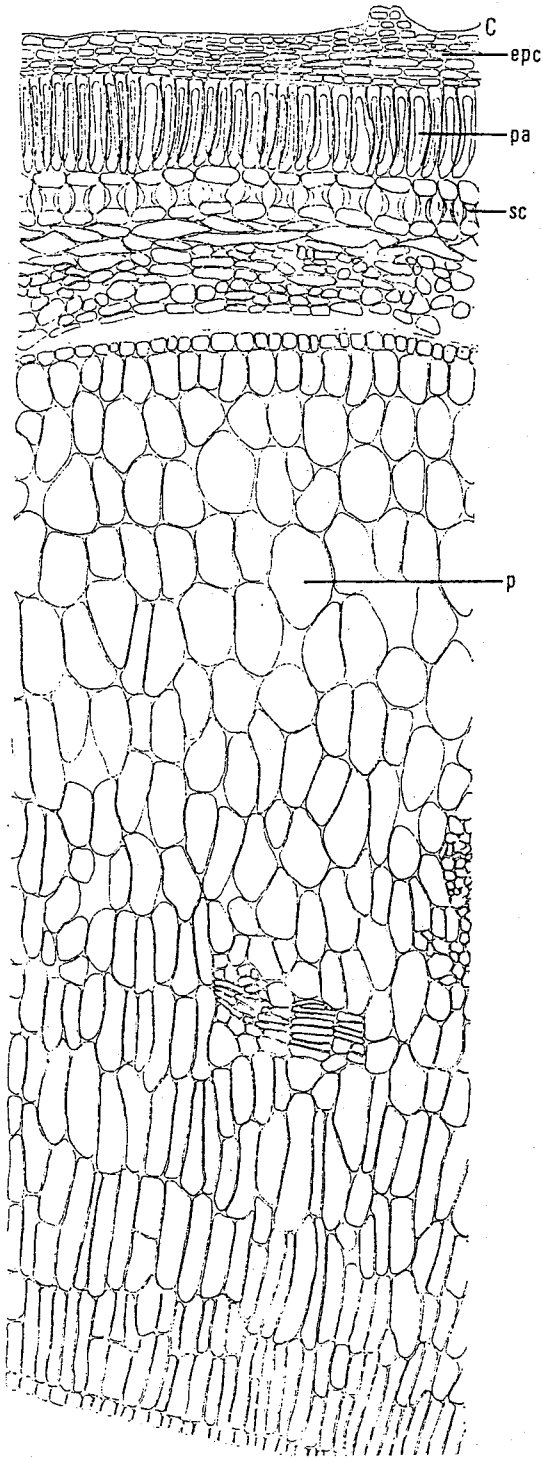
Psoraleae Semen

Psoralea corylifolia L. (Compositae)

組織鑑別：果實（中部）橫切面：果皮波狀彎曲，棕褐色，細胞壁皺縮，細胞界限不清楚。凹陷處表皮下有衆多扁圓形內生腺體（Intramural gland）及少數小形腺毛。內生腺體自果皮表皮向內著生，形大，由十數個至數十個細胞組成，直徑 $135\sim 200\mu$ ，細胞縱向延長，呈放射狀排列，腺毛頂部緊貼中果皮，表面觀呈類圓形，中央由多數多角形表皮細胞集成類圓形細胞群（腺體基部），直徑 $36\sim 72\mu$ 。小腺毛少數，頭部類卵圓形， $4\sim 5$ 個細胞，長 $30\sim 50\mu$ ，直徑 $10\sim 32\mu$ ，無柄。非腺毛長 $150\sim 480\mu$ ，直徑 $15\sim 22\mu$ ，頂部細胞特長。中果皮薄壁組織中有小型外韌維管束；薄壁細胞有含草酸鈣小柱晶。種皮外表皮爲1列柵狀細胞，長（徑向） $34\sim 66\mu$ ，寬（切向） $7\sim 14\mu$ ，側壁上部較厚，下部較薄，內含紅棕色物質。其內爲1列啞鈴狀支持細胞，長 $26\sim 51\mu$ ，上部較寬大，可見環狀增厚壁（側壁增厚部分）。支持細胞之內爲7~10層的薄壁細胞。子葉二片，每片由十多層細胞組成，內外各有一列排列緊密的薄壁細胞，子葉細胞靠近種皮的數層細胞呈類卵圓形，較大型，靠內側的數層細胞則呈柵狀排列。子葉細胞充滿糊粉粒與油滴。不木化。

粉末鑑別：粉末灰黃色，寬 $7\sim 14\mu$ ，細胞壁成V字型增厚。支持細胞呈啞鈴狀，中部細胞壁增厚，長 $26\sim 51\mu$ 。另有子葉細胞與非腺毛碎片。

16. 補骨脂



Psoralea corylifolia L. (補骨脂)

A. 外形圖 8X

B. 略圖 50X

C. 組織圖 300X

D. 粉末及內容物 180X

1. 內生腺體 2. 柵狀細胞側面觀 3. 非腺毛 4. 柵狀細胞頂面觀 5. 支持細胞側面觀 6. 支持細胞頂面觀 7. 腺毛 8. 草酸鈣小柱晶 9. 草酸鈣方晶

17. 茵陳蒿

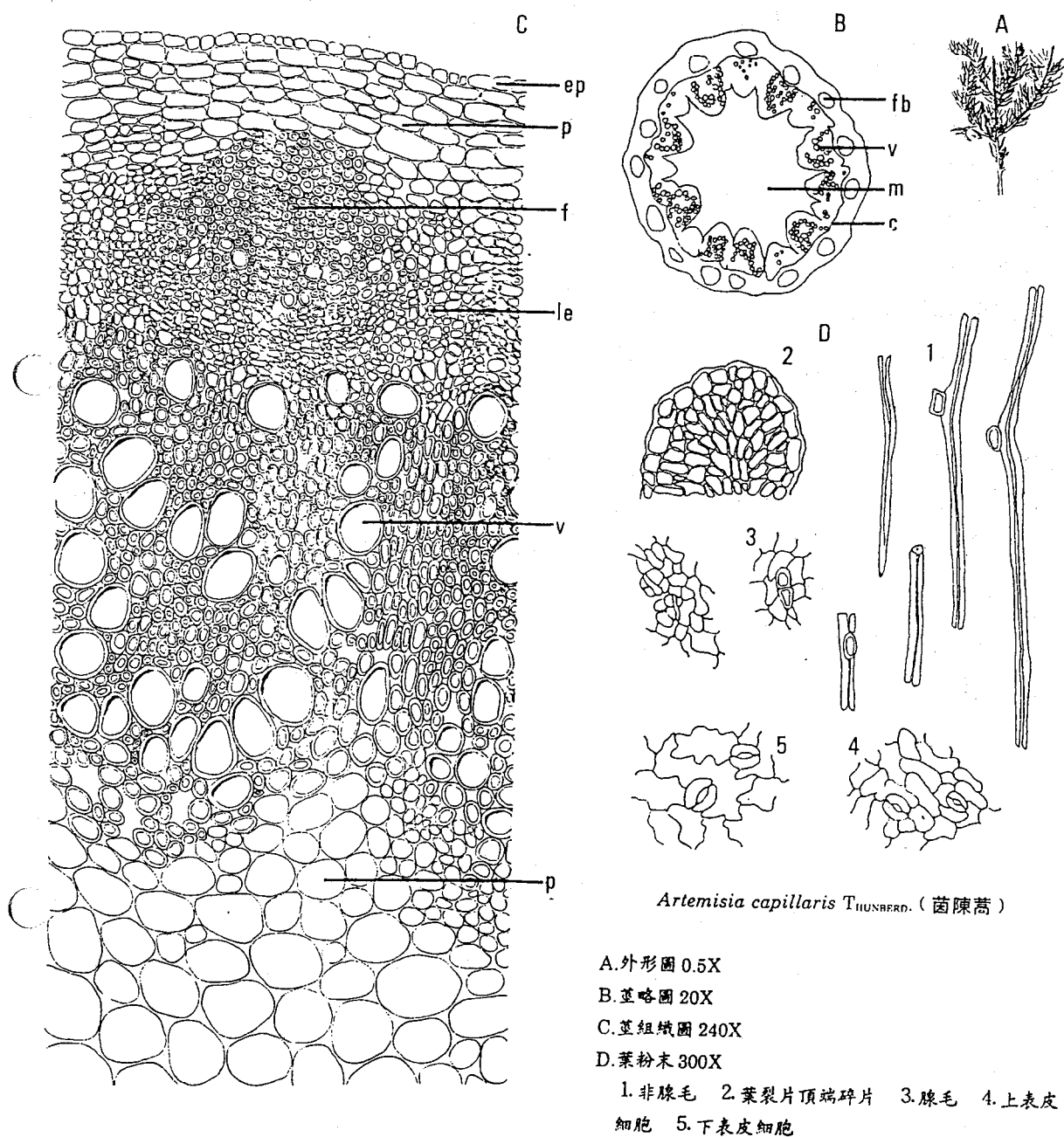
Artemisiae Capillaris Herba

Artemisia capillaris THUNBERG. (Compositae)

組織鑑別：茵陳蒿莖橫切面。最外側爲一列表皮細胞，細胞成切線性延長或類方形。其內爲6至8層的柔細胞，亦成切線性延長，不木化。再內側爲篩部，在篩部與皮部之間分布具有纖維束，每一纖維束由數十條以上之纖維組成，徑小， $5\sim 15\mu$ ，木化。篩部細胞較小型，形狀不規則。形成層不明顯。其內爲木部，木化，導管口徑大， $18\sim 75\mu$ ，伴隨有木纖維，徑 $10\sim 20\mu$ 。髓部排列成多角呈星狀，柔細胞大型，成類卵圓形。

粉末鑑別：茵陳蒿葉粉末呈灰綠色。上表皮細胞壁較平直，下表皮細胞壁波狀彎曲；上下表皮均有氣孔，爲不定式。葉片裂片頂端鈍圓或稍狹，表皮細胞較小，氣孔少見。腺毛少，頂面觀呈鞋底形，由6~8個細胞上下成對疊合而成，直徑 $15\sim 22\mu$ 。丁字形非腺毛衆多，大多碎斷似纖維狀，完整者頂端細胞極長，可至2mm，直徑 $5\sim 26\mu$ ，左右兩臂不等長，壁厚，木化，基部1~3個細胞，極扁短。

17. 茵陳蒿



18. 青 蒿

Artemisiae Apiaceae Herba

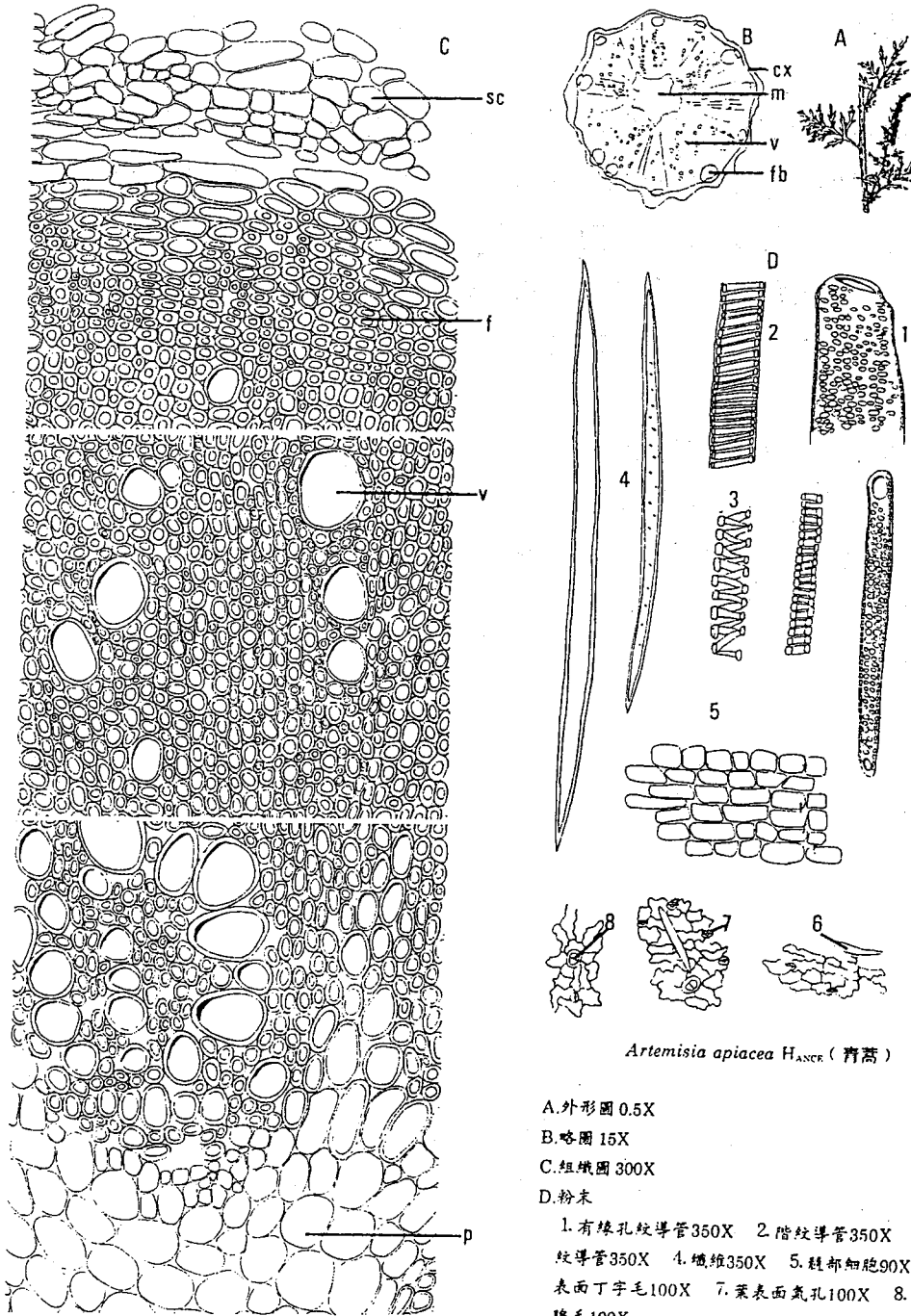
Artemisia apiacea H_{ANCE} (Compositae)

組織鑑別：青蒿莖橫切面。最外層爲一列表皮細胞，易碎裂，細胞呈扁平狀或類圓形、類卵圓形，外被角質層，不木化。其內方有二至七層略厚化之細胞，在莖呈稜狀凸起的部位有六至七層細胞，其他部位則只有二至三層細胞，細胞多呈類圓形，淺黃棕色，細胞內常有黃褐色的物質存在。再內方有二~六層扁橢圓形薄壁細胞，不木化；而在莖呈稜狀凸起的部位則有纖維束，纖維束由數十條以上之纖維組成，直徑約 $8\sim 18\mu$ ，弱木化。形成層不明顯。再內側爲木部，由數十層的木纖維及導管間雜組成。導管直徑相差很大，呈卵圓形或橢圓形，徑 $12\sim 65\mu$ ，強木化。木纖維口徑相近，約 $5\sim 20\mu$ ，弱木化。最內側爲髓部，外觀似星狀，由大型柔細胞組成，細胞呈類圓形，卵形，不木化。

粉末鑑別：青蒿莖粉末呈黃褐色。導管以有緣孔紋、階紋、螺旋紋爲主，徑 $12\sim 65\mu$ 。纖維壁薄，呈長紡錘形，具斜紋孔，直徑 $5\sim 20\mu$ 。

青蒿葉粉末呈灰綠色。表皮細胞形狀不規則。表皮密布丁毛，丁字毛柄細胞多爲2~3個，長 $93\sim 300\mu$ ，腺毛稀疏。

18. 青 蒿



Artemisia apiacea H_{ANCE} (青蒿)

A. 外形圖 0.5X

B. 略圖 15X

C. 組織圖 300X

D. 粉末

1. 有緣孔紋導管 350X 2. 階紋導管 350X 3. 螺旋紋導管 350X 4. 纖維 350X 5. 髓部細胞 90X 6. 葉表面丁字毛 100X 7. 葉表面氣孔 100X 8. 葉表面

19. 蛇 床 子

Cnidii Fructus

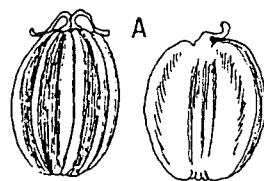
Cnidium monieri (L.) C_{USSON} (Umbelliferae)

組織鑑別：分果橫切面呈五角形，其鑑別要點爲：外果皮爲一列扁平的細胞，外被角質層。中果皮較厚，縱稜非常突出，中部有維管束。導管以網紋及環紋導管爲主，直徑 $5\sim 15\mu$ 。其周圍有厚壁木化網紋細胞。背面縱稜間各有橢圓形油管1個，接合面有油管2個，共有6個。內果皮由1列扁平細胞組成，壁呈連珠狀增厚。種皮爲1列淡黃棕色細胞，呈類方形、類長方形。胚乳細胞含大量澱粉粒及草酸鈣簇晶。

粉末鑑別：粉末呈黃棕色，具松節油樣香氣。鑑別點爲網紋細胞具條狀或圓形壁孔，壁木化。油管黃棕色，常已破碎。內胚乳細胞壁頗厚，有衆多草酸鈣簇晶，大小頗均勻，約 5μ 左右。導管以網紋導管、環紋導管爲主，直徑 $5\sim 15\mu$ 。內果皮細胞呈連珠狀增厚。

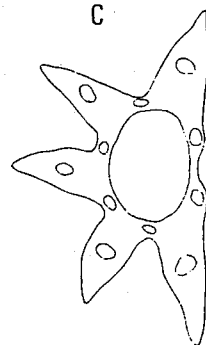
19. 蛇床子

B

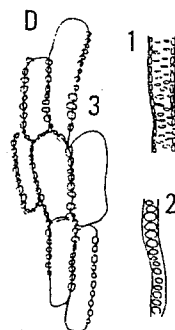


A

C



D



1

2

3

vb

cul

enc

sd

or

alb

Cnidium monieri (L.) CUSSEON (蛇床子)

A. 外形圖 18X

B. 組織圖 240X

C. 略圖 50X

D. 粉末 350X

1. 網紋導管

2. 網紋細胞

3. 果皮細胞

20. 薑 黃

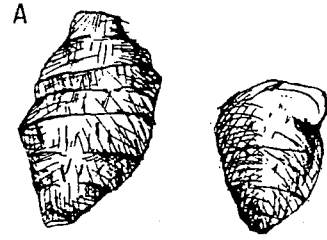
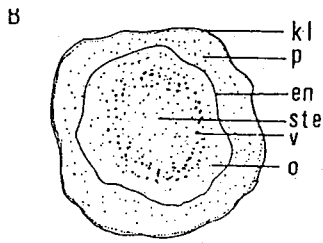
Curcumae longae Rhizoma

Curcuma longa I_{NN}. (Zingiberaceae)

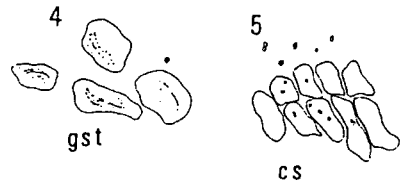
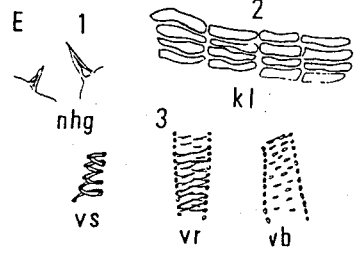
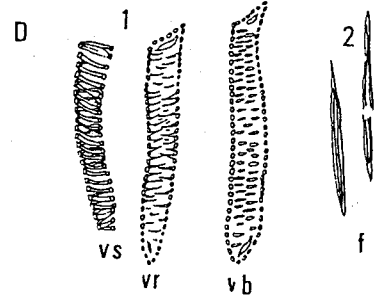
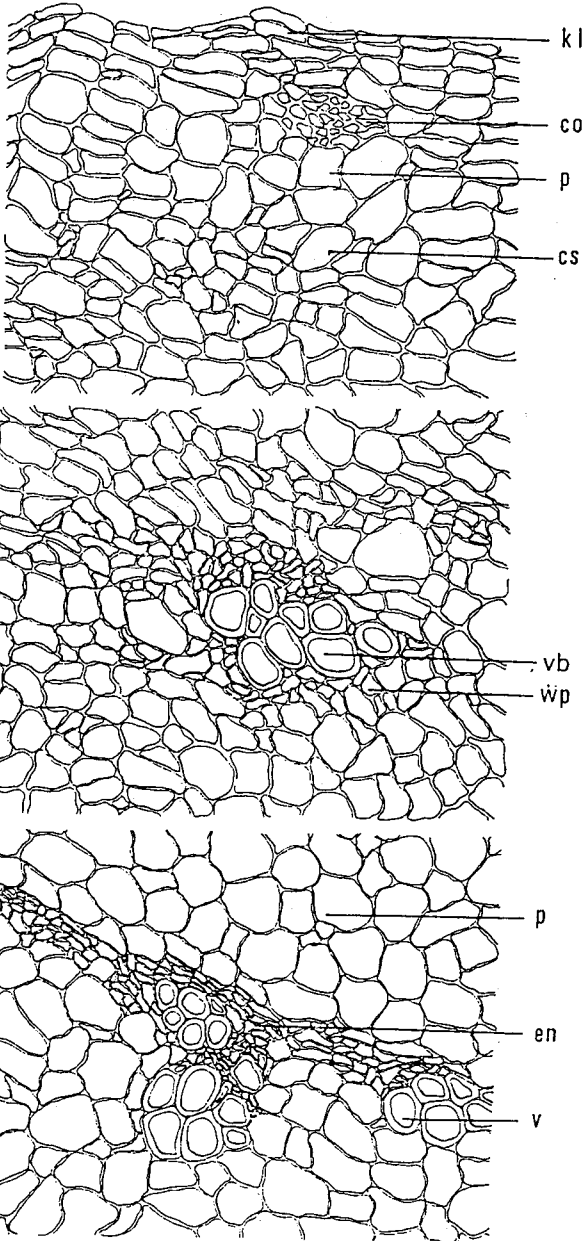
組織鑑別：木栓層為2~5層木栓細胞構成，或呈剝離痕跡，細胞呈類長方形，類長多角形。皮層柔細胞呈類長橢圓形，類長不規則形，或有細胞間隙，細胞內常存有黃色樣分泌物，維管束散生。內皮層細胞呈類長不規則形、類長方形，或有皺縮樣。中心柱內具外韌型維管束散生，導管5~8個，導管有網紋、螺紋、階紋，徑約15~90 μ m。愈近中心之細胞愈大，呈類圓形、類橢圓形。其皮層之薄壁細胞中常存有澱粉粒，呈類圓形、類長方形、類多角形，亦可見草酸鈣方晶，徑約5~10 μ m，呈類長方形、類方形。

粉末鑑別：本品為薑黃色之粉末，味香而特異。可見柔細胞呈類長橢圓形，內含有澱粉粒，遇試液則漸呈糊狀，少數薄壁細胞內充滿黃色~綠黃色之分泌物。導管為網紋導管，亦可見螺紋及階紋導管。具草酸鈣方晶，存於薄壁細胞中。木栓細胞呈淡黃色~黃棕色，多層。具單細胞非腺毛。

20. 薑 黄



C



Curcuma longa Linn. (薑黄)

- A. 外形 1x B. 略圖 30x
 C. 橫切面 200x
 D. 解離要素 200x: 1. 導管 2. 纖維
 E. 粉末 200x: 1. 非腺毛 2. 栓皮細胞 3. 導管
 4. 糊化澱粉 5. 方晶

21. 黨 參

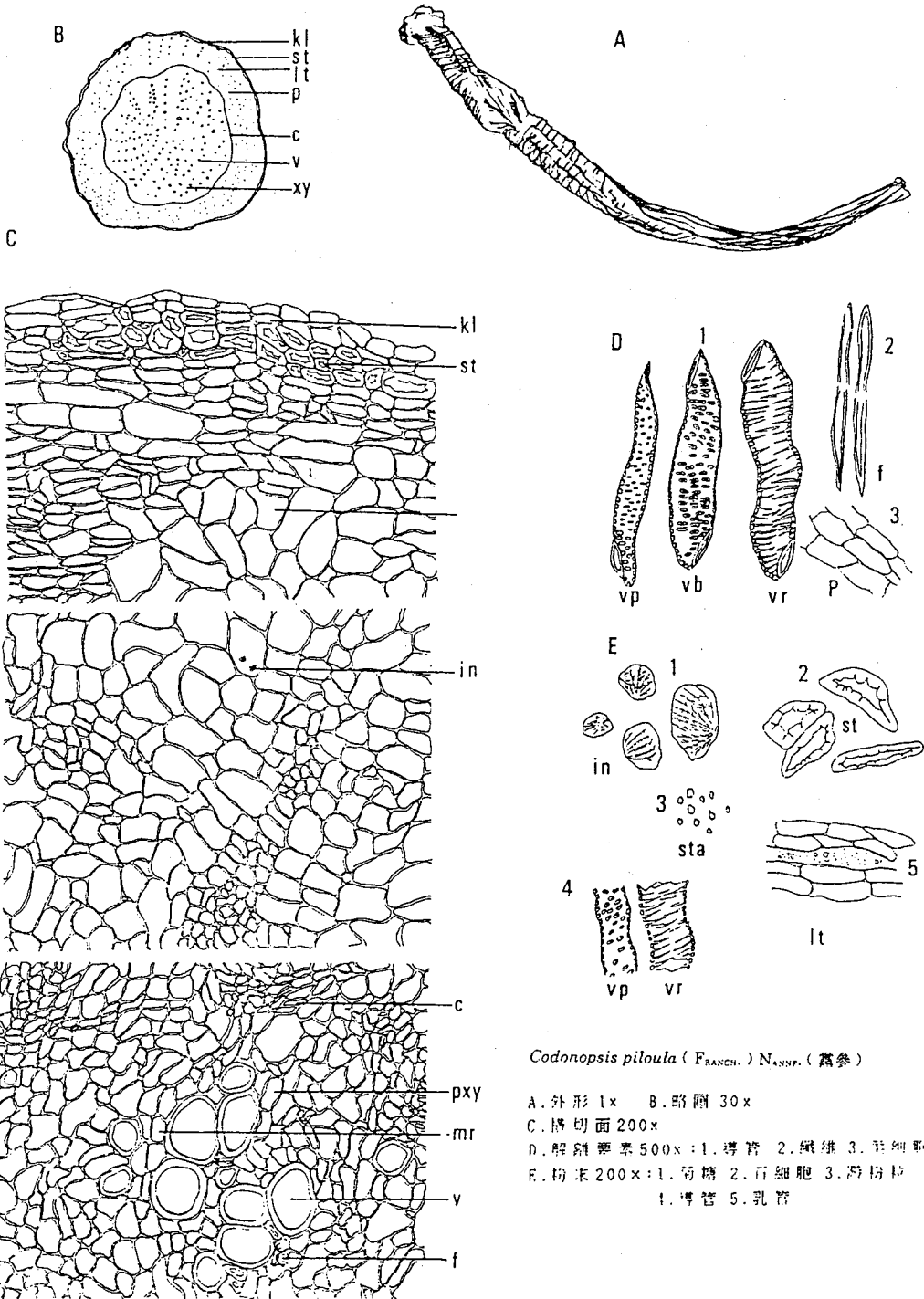
Codonopsis Rasix

Codonopsis pilosula (F_{RANCH.}) N_{ANNF.} (Campanulaceae)

組織鑑別：外側具有數列木栓層，細胞呈類圓形，類長方形、類多角形。或有細胞散生，弱木化，細胞呈長多角形、類長方形，徑約20~100 μ 。韌皮部寬廣，呈放射狀排列，外側可見裂隙。柔細胞中散有乳管道，內含淡黃色、米黃色之細顆粒樣物質。形成層成環。木質部由木部柔細胞、髓線、導管構成。導管單生或數個聚生，呈放射狀排列，主為有緣孔紋導管，亦可見孔紋導管及網紋導管，直徑約15~85 μ ，長75~100 μ 。亦可見菊糖及澱粉粒存於薄壁細胞中，菊糖呈扇形之團塊，具放射之條紋，明顯或不明顯；澱粉粒類圓形，單顆。

粉末鑑別：本品粉末呈黃白色，可見類多角形之木栓細胞，細胞呈類長多角形，或呈弱木化。可見扇狀團塊之菊粒，亦存有單粒類圓形之澱粉，徑長約2~8 μ 。導管主為有緣孔紋導管，亦可見網紋導管及孔紋導管，無色或淡黃色，徑長15~80 μ 。

21. 黨 參



Codonopsis piloula (FRANCH.) NANNF. (黨參)

- A. 外形 1× B. 略圖 30×
 C. 橫切面 200×
 D. 解離要素 500×: 1. 導管 2. 纖維 3. 篩細胞
 E. 粉末 200×: 1. 導管 2. 篩細胞 3. 澱粉粒
 4. 導管 5. 乳管

22. 苦 參

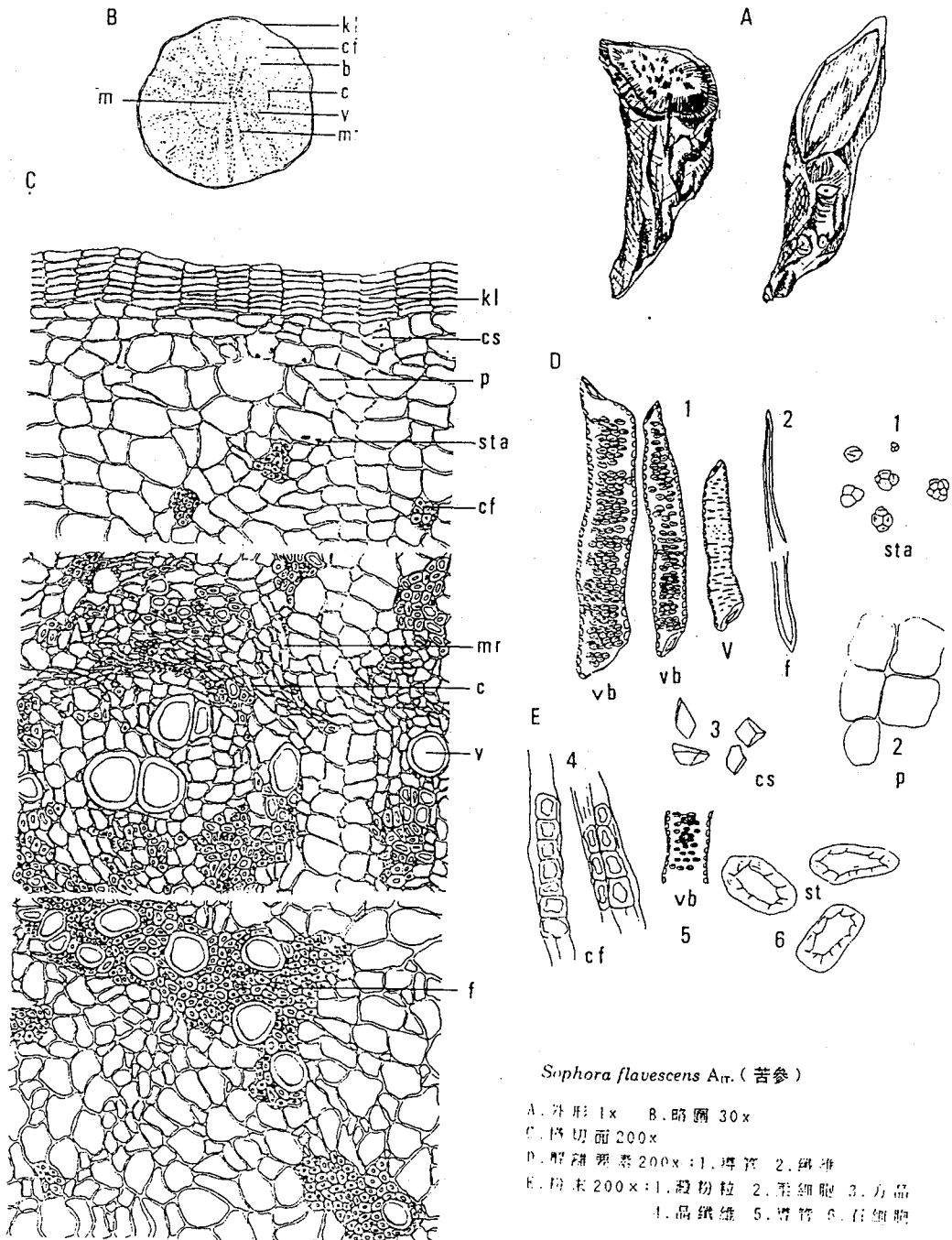
Sophorae Radix

Sophora flavescens AIT. Zucc (Leguminosae)

組織鑑別：栓皮層由4~12列細胞構成，細胞呈扁平狀，平整，外緣常折裂，有時栓皮剝落。皮層約由20~30層薄壁細胞，具纖維束，內或含草酸鈣方晶，由3~8個或10餘個成束散生，其皮層薄壁細胞內可見澱粉粒及草酸鈣方晶。形成層明顯或不明顯，約由2~11層細胞所構成，呈細小扁平。木質部自中央向外分叉為2~4束，導管1~2列，單生或成對雙生，主為網紋，有緣孔紋導管，徑約20~135 μ 。具4~17列髓線。中央為髓部，有少數導管及纖維束散生，薄壁細胞中亦可見草酸鈣結晶及澱粉粒。

粉末鑑別：本品呈淡黃色之粉末。木栓細胞，棕色或淡棕色，呈扁長方形，壁微皺縮。薄壁細胞，呈類橢圓形或類長方形，內含有草酸鈣結晶。纖維及結晶纖維，多數，成束，細長，約10~30 μ ，壁厚。纖維束周圍含草酸鈣方晶成結晶纖維。於薄壁細胞可見澱粉粒，單粒或複粒散生。

22. 苦 参



23. 瞿 麥

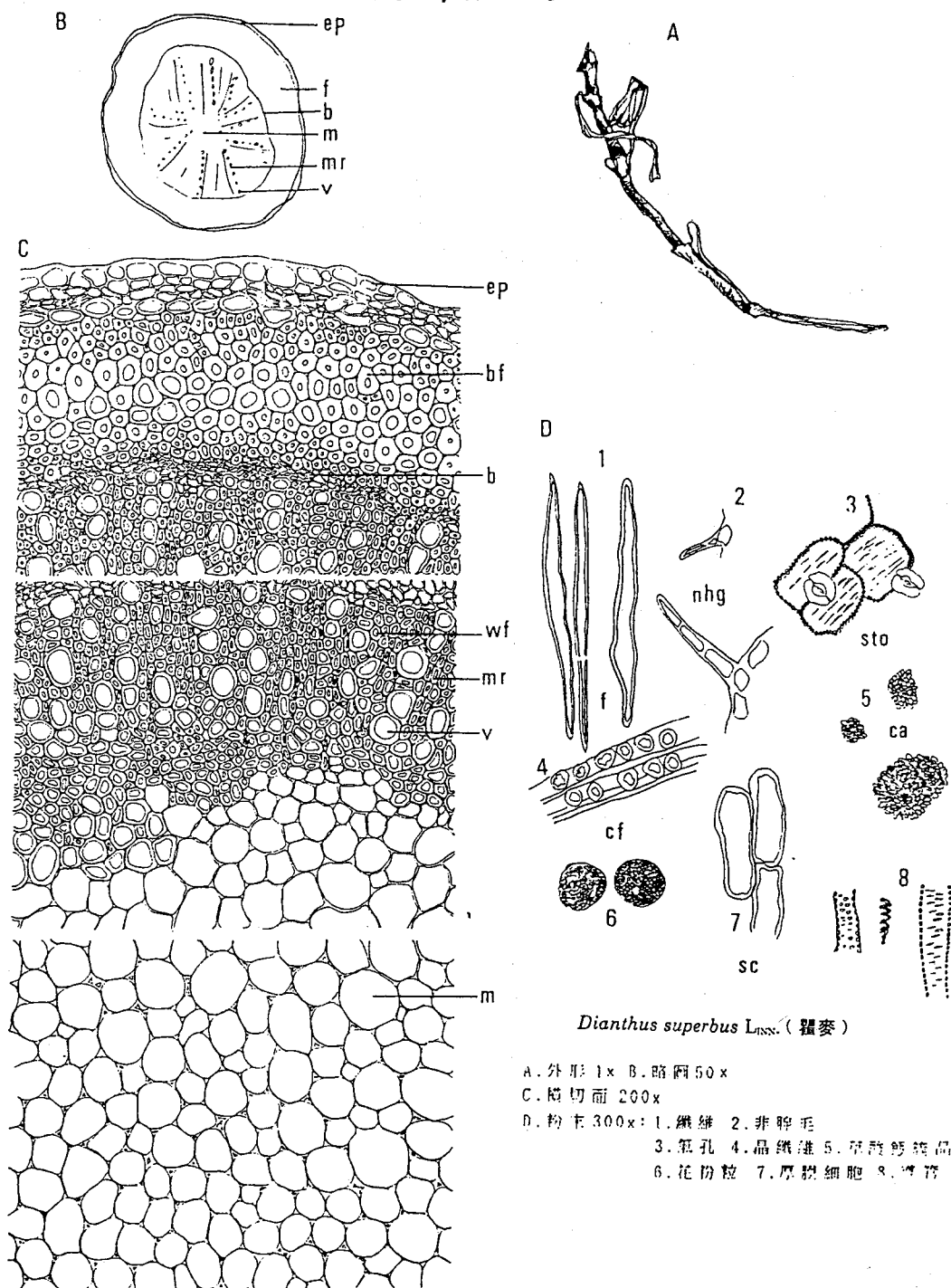
Dianthi Herba

Dianthus superbus L_{INN.} (Caryophyllaceae)

組織鑑別：表皮細胞爲不規則長方形細胞構成，壁稍增厚，具角質化。皮層細胞菲薄，細胞中常存草酸鈣簇晶，徑約 $5\sim 90\mu$ ，具稜角短尖或稍鈍圓。韌皮部細胞較菲薄，具有束狀纖維，纖維常存草酸鈣結晶，形成晶纖維，含晶細胞呈類圓形，壁稍厚，弱木化，散列或縱向成行。木質部由木化細胞所構成，導管常見孔紋導管，亦可見梯紋或螺紋導管，徑約 $5\sim 15\mu$ 。纖維有2種，一爲胞腔狹窄，兩端尖細者，徑約 $10\sim 25\mu$ ，另有兩端平直或尖斜者，徑約 $15\sim 40\mu$ 。中間爲髓部，其細胞呈圓形，胞壁稍厚，近中央處，則成空洞。

粉末鑑別：粉末爲黃綠色或黃棕色，氣微、味淡。可見纖維及結晶纖維，纖維大都成束，細長，邊緣平直或呈波狀，徑約 $10\sim 40\mu$ ，其含晶細胞常呈類圓形。可見厚壁細胞呈長方形或長條形，一端稍偏斜，徑約 $25\sim 100\mu$ ，弱木化。亦可見花粉粒。

23. 瞿 麥



Dianthus superbus Linn. (瞿麥)

A. 外形 1× B. 略圖 50×

C. 縱切面 200×

D. 粉末 300×: 1. 纖維 2. 非腺毛

3. 氣孔 4. 晶纖維 5. 草酸鈣結晶

6. 花粉粒 7. 厚壁細胞 8. 維管束

24. 荊 芥

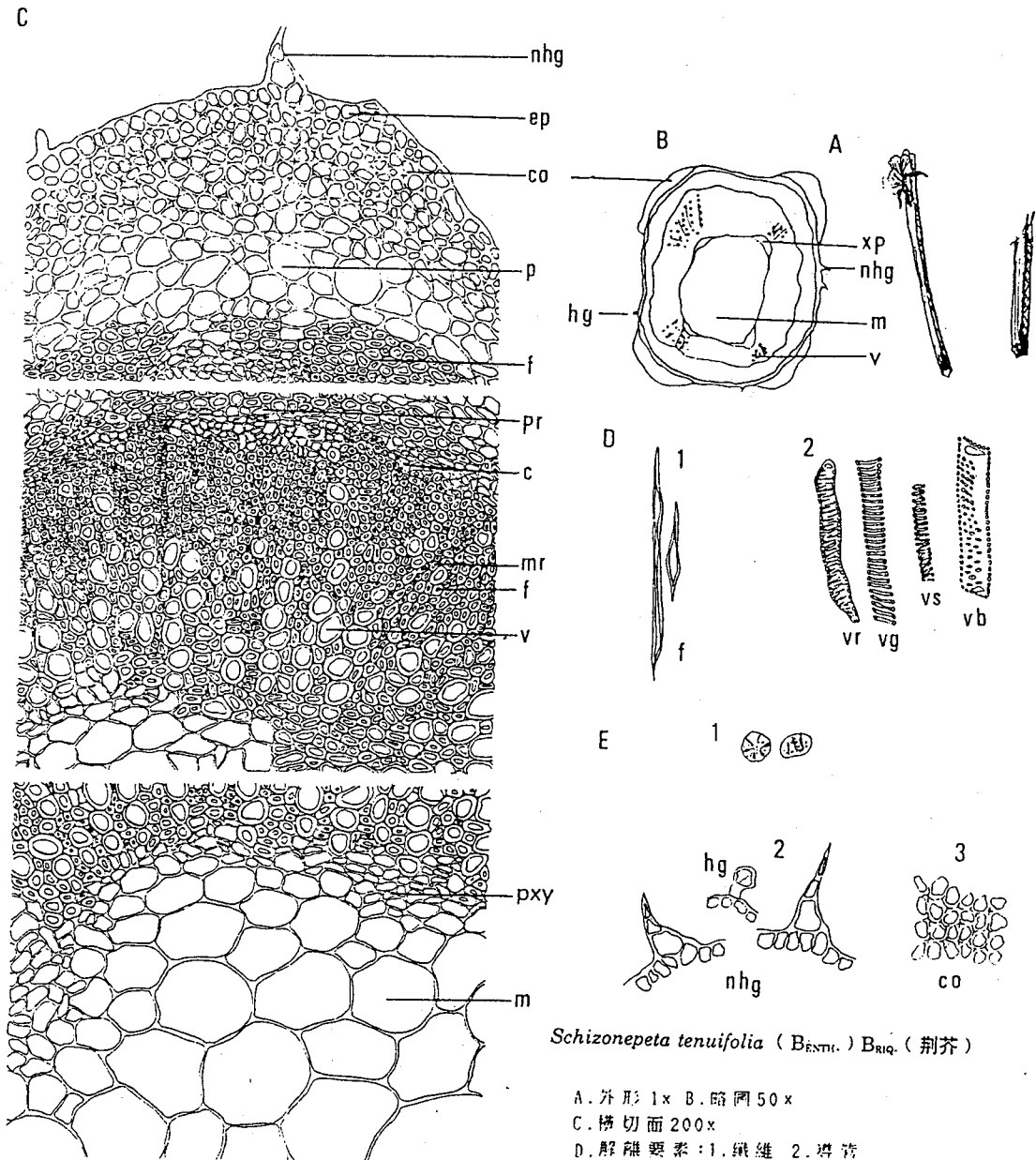
Schizonepetae Herba

Schizonepeta tenuifolia (B_{ENTH.}) B_{RIQ.} (Labiatae)

組織鑑別：表皮細胞呈類長方形、類長多角形，略角質化，具有腺毛，具1~2個細胞，非腺毛1~4個細胞。皮層狹窄，四角之稜角為厚組織，約3~10層，細胞縱向延伸。具有內皮層，環狀排列。韌皮部約由3~10層細胞所構成，細胞呈細長狀，類長橢圓形。形成層不明顯。木質部較韌皮部寬廣，由木部纖維及木部柔細胞、導管及髓線組成，木部纖維，長7~36 μ ，成束或散離。導管主要為網紋導管，亦可見有緣孔紋導管及螺紋、環紋導管，徑長9~30 μ ，髓線1~2列，小而壁略薄。髓占莖的大部份，並不規則之圓形，壁薄而有細胞間隙，中央較大，近周邊較小。

粉末鑑別：本品為黃棕色之粉末，具有芳香味。可見腺毛，具1~2個細胞，非腺毛1~4個細胞。纖維，成束或散生，無色或淡黃色，細長，徑約7~36 μ ，壁略厚。導管主為網紋導管，亦可見有緣孔紋、螺紋、環紋導管。表皮細胞，呈長方形、類方形、類長方形。

24. 荆 芥



Schizonepeta tenuifolia (Benth.) Briq. (荆芥)

A. 外形 1x B. 略圖 50x

C. 橫切面 200x

D. 解離要素: 1. 纖維 2. 導管

E. 粉末: 1. 花粉粒 2. 腺毛, 非腺毛

3. 厚角組織

四、生藥學術語之英語略字表

略號	術語	中文名
ag	aleurion grain	糊粉粒
alb	albumen	胚乳
b	bast	韌皮部
bf	bast fiber	韌皮纖維
bp	bast parenchyma	篩部柔組織
br	bract	苞葉
bs	vascular bundle sheath	維管束鞘
c	cambium	形成層
ca	clustered cyystal	集晶，簇晶
cb	crystal bundle	束晶，針晶束
cd	crystal sand	沙晶
cf	crystal fiber	結晶纖維
clx	calyx	萼
cm	cell membrane	細胞膜
cn	needle crystal,raphid	針晶
co	collenchyma (tous) (cell)	厚角組織 (細胞)
cot	cotyledon	子葉
cr	crystal	結晶
cs	single crystal	單晶
cu	cuticle	角皮
cul	cuticular layer	角質層
cx	cortex	皮，皮部，皮層
cy	cystolith	鐘乳體
em	embryo	胚

略號	術語	中文名
en	endodermis	內皮
enc	endocarp	內果皮
eo	essential oil	精油
ep	epidermis	表皮
epc	epicarp	外果皮
epl	lower epidermis	下面表皮
f	fiber	纖維
fb	fiber bundle	纖維束
gs	glandular scale	腺鱗
gst	gelatinized starch	糊化澱粉
h	hair	毛
ha	hadrome	木部
hg	glandular hair	腺毛
hi	hilum	臍點
i	intercellular space	細胞間隙
id	idibolast	異形細胞
in	inulin	菊糖
k	cork, (cork cell)	栓皮 (栓皮細胞)
kc	cork cambium (phellogen)	栓皮形成層
kl	cork layer	栓皮層
le	leptome	篩部
lt	latex tube	乳管
lv	lactiferous vessel	聯合乳管
m	mark, pith, medulla	髓
md	midrib, main nerve	主脈
mes	mesophyll	葉肉

略號	術語	中文名
mph	phloem medullary ray	篩部髓線
mr	medullary ray	髓線
muc	mucilage cell	粘液細胞
mxy	xylem medullary ray	木部髓線
o	oil drop	油滴
obs	obliterated sieve (portion)	退廢篩部
oc	oil cell	油細胞
or	oil (secreting) reservoir	油室
p	parenchyma (cell)	柔組織 (柔細胞)
pa	palisade parenchyma (tissue)	柵狀細胞 (組織)
pd	phelloderm (= cork cortex)	栓皮層
pg	phellogen (= cork cambium)	栓皮形成層
ph	phloem (= leptome)	篩部
pib	borderedpit	有緣膜孔
pph	phloem parehchyma	篩部柔組織
pr	pericycle	內鞘
pxy	xylem parenchyma	木部柔組織
rc	resin canal	樹脂道
s	sieve tube	篩管
sc	sclerenchyma (cell)	厚膜組織 (細胞)
sd	seed coat,spermoderm	種皮
sec	secetory cell	分泌細胞
sp	spongy tissue (parenchyma)	海綿狀組織
st	stone cell	石細胞
sta	starch grain	澱粉粒
ste	stele (= central cylinder)	中心柱
sto	stoma,stomata	氣孔

略號	術語	中文名
str	striation	層紋
v	trachea, vessel	導管
vb	vascular bundle	維管束
vbb	bicollateral v. b.	兩立維管束
vbc	concentric v. b.	包圍維管束
vbcx	cortical v. b.	內層內維管束
vbh	hadrocentric v. b.	外篩維管束
vbl	leptocentric v. b.	內篩包圍維管束
vbn	open v. b.	開放維管束
vbo	collateral v. b.	並立維管束
vbr	radial v. b.	放射維管束
vbs	closed v. b.	閉鎖維管束
vc	scalariform vessel	階紋維管束
vd	bordered pit vessel	重緣孔導管
ve	vein	脈(葉)
vg	ring vessel	環紋導管
vp	pitted vessel	孔紋導管
vr	reticulate vessel	網紋導管
vs	spiral vessel	螺旋紋導管
wf	wood fiber	木纖維
wp	wood parenchyma	木部柔細胞
x, xy	xylem	木部
xm	metaxylem	後生木部
xp	protoxylem	原生木部

中藥材試種暨推廣工作

行政院國軍退除役官兵輔導委員會嘉義農場

傅偉志

一、前言：

(一)本場自民國七十三年開始，依據衛生署發展中藥材委託計畫辦理中藥材試種，迄今已歷七年，試種淮山藥、土肉桂、槐樹等三個品種，其中以土肉桂最適宜本地之土壤氣候，現已擴大種植一公頃，並於七十九年度起與台灣省林業試驗所合作辦理試驗計畫。

(二)八十年三月間經衛生署召集有關學者專家研商，計畫籌設國家藥園四處，本場為其中之一，將原生藥園全面清理、規劃，並加以維護、增植，以供遊客觀賞並認識中藥植物，兼收觀摩、教學及宣揚國粹之目的。

二、工作項目：

(一)新植藥園位置遷移至原生藥園山麓下，種植土肉桂一公頃一、六〇〇株，加強撫育管理。

(二)原生藥用植物園聯絡道清理維護。

(三)藥用植物標本種苗蒐集五十個品系。

(四)成林樹七年生種子採收工作。

(五)配合林試所各項試驗工作。

三、重要工作執行成果：

- (一)擴大藥園面積二公頃，位於原生藥園山麓下，分區種植各項試驗藥用植物，計有牛樟樹、土肉桂，及土肉桂三五家系等區，並於該園區森林浴步道兩側種植樟樹，美化環境，冀望成林後成為林蔭隧道，形成整體之藥用植物觀賞區。
- (二)清除原生藥園內之雜樹、藤蔓，及有礙其生長觀瞻之植物，以維原生藥用植物之生長，新闢三條聯絡步道維護，與本場觀光建設森林浴步道相互連接，俾利遊客進入觀賞，及管理工作之執行。
- (三)新植土肉桂○. 五公頃，於七十八年定植八五○株，除經常性管理工作，並作定期中耕除草、肥培及缺株補植，八十年六月中旬施放有機肥料及過磷酸鈣改善土壤理化性質，防治根腐病（含成林樹），新植生長情況良好，最高株已達一公尺以上，年度計畫種植一公頃，因苗木供應短缺尚差○. 五公頃，俟苗木培育後繼續完全定植。

(四)與省林業試驗所合作計畫：

1. 土肉桂適宜性栽培試驗：

- (1)選取不同精油含量之土肉桂營養系三五個，分別在本場及東河農場、福山植物園、南澳農場四個不同地區進行土肉桂適應性栽培，每個地區○. 二公頃，四重覆，每個重覆內三五個營養系——五株不等。俟成林後進行研究分析，以決定環境因素與遺傳因素，對土肉桂葉部精油含量之影響。
- (2)八十年六月份經林試所在四個試區再次觀察其生長情形，以本場種植為最佳，部份營養系在一年內株高已達一公尺以上，現仍在繼續觀察中。

2. 土肉桂採種園之建立：

本場種植之土肉桂經四年撫育管理於七十七年三月開始開花，同年底採收第一批種子，其新鮮健壯之種子培育十天即開始發芽，發芽率高達98%以上，種子在4℃層積十個月內發芽率尚可保持80%以上，林試所陸續在本場採收種子經育苗截止目前已三千株以上，今年本場土肉桂經觀察萌芽、抽梢，俟明年開花繼續採收種子。

3.進行景觀綠化栽植：

土肉桂樹勢優美，春季不同營養系嫩葉呈現鮮紅、紅、淡紅、淡綠、淡黃不同之顏色，當陽光照射時更顯皎潔光亮，又土肉桂適宜修剪造形，可發展為庭園綠化及都市景觀樹觀，本場新植一公頃土肉桂未來成林後，將可配合觀光事業美化場區，與曾文水庫相互輝映，產生極高之觀賞價值。

(五)本場七年生土肉桂平均高度已至五公尺以上，地際直徑十三公分，經連續三年（七十七—七十九）結有種子，今年因受氣候影響尚未開花。

(六)本（八十）年度藥用植物標本蒐集五十個品種，均以盆栽方式管理，且因其日久部份品系標示不清，現正積極整理中。

四、建議事項：

(一)本場原生藥用植物園區之規劃及植物種類、名稱、用途之鑑定，請有關單位協助邀聘專家學者給予指導。

(二)請有關單位協助提供適宜本場種植之藥用苗木及蒐集不同品種藥用種苗，促使國家藥園早日成立。

(三)國家藥園開發計畫：

面積一〇公頃，海拔二三〇至三三六公尺間，最高點碧雲亭可鳥瞰曾文水庫及場區全景，該區原生藥園具有原始風貌土質屬壤土，水土保持良好，有利作物栽培，並有森林浴步道、登山步道及園區聯絡道，具有國家藥園發展之先天條件，為配合觀光事業之發展，請同意本場國家藥園之開發。

中藥材試驗栽培

行政院國軍退除役官兵輔導委員會清境農場

陳堯階

中藥材試驗栽培

本場自民國七十三年起執行中醫藥材試種及推廣工作迄今八年，先後引進中藥材種類有杜仲、黃柏、山慈菇、芍藥、金線蓮、土肉桂、金（紅）花、石蒜、刺五加、明日葉、八角蓮等各類藥材，經試種結果生長狀況良好，大都能適應本場風土栽培，茲就上類藥材觀察結果分述於附表中。

八十一年為在本場成立藥用植物標本園現已向各地收集的藥材累計有一、三〇〇株，種類達三五〇種之多，今後除加強現有藥材栽培管理外，期能再向大陸、韓國、日本等地引進正統中藥材試種，逐年完成國家級中藥植物標本園。

總合以上藥材種類繁多已委請中國醫學院謝明村所長、邱年永技正規劃分類（預定本年八月完成）。

中藥材試種保育工作

行政院國軍退除役官兵輔導委員會花蓮農場

王 漢 茂

一、緣起：

政府爲節省外匯暨配合國內中藥材殷切之需要，本場經行政院衛生署中醫藥委員會、林試所、退輔會等單位之協助與技術指導。於七十三年三月選定西寶分場中橫公路附近山區試種台灣黃蘗、杜仲、土肉桂、槐樹，以觀察其對本地區之適應性成長情形，俾供花蓮地區推廣種植之參考。

二、試種情形：（詳附調查表）

三、試種結果：

(一)台灣黃蘗：七十三年三月份定植，株高七〇～一〇〇公分，七十四至七十五兩年間生長快速，枝葉繁茂，但自七十六年至七十八年成長已趨緩慢，七十七年八月份發現，部份罹病枯死，情形嚴重。八十年四月份調查，成活率僅存二成。

(二)杜仲：品種有美國、匈牙利、韓國、日本等四品系，定植時株高七～二〇公分，初期因苗小，生長慢，管理不易，七十六年至七十八年生長快速，分枝多，試種品種以美國、匈牙利二品系生長最高（六公尺），韓國、日本次之。

(三)槐樹：七十三年五月份定植，株高二〇～四〇公分，經觀察槐樹適宜本地區種植，基幹最粗已達五十五公分。

(四)土肉桂：定植苗採塑膠袋育苗，搬運時根群受損傷，定植後成活率低，七十六年再由林試所供應穴植管苗，種植成活率高，植株健壯，八十年度再由林試所供苗一、〇〇〇株種植。

(五)本場所種植中藥七十三年定植後，初期（七十三～七十五年）以台灣黃蘗生長最佳，杜仲、槐樹次之，土肉桂較差，七十六年至七十九年生育觀察，以杜仲、槐樹最佳，土肉桂次之，台灣黃蘗較差（缺株多）。

四、檢討：

- (一)本場七十三年種植中藥，經七十六年台北醫學院，及省林試所來場抽樣鑑定，均具藥性，台灣黃蘗品質不比大陸差，其他中藥部份成份較低，是否與生長期短有關，現已種植七年，請衛生署再洽請有關單位來場抽樣鑑定分析，供參考之用。
- (二)八十年四月生育觀察，黃蘗、杜仲、槐樹萌芽日期有逐年延後現象，七十三年三月中旬開始萌芽，七十六年延後至三月下旬萌芽，七十八、七十九年於四月十二日開始萌芽，是否受氣溫影響，有待探討。

五、建議：

本場西寶分場中藥之試種區，於七十六年太魯閣國家公園管理處成立後，已列入國家公園轄區內，另泰來分場山坡地亦於七十八年列入東海岸風景區，期能在區內各擇一處廣種植各種中藥植物，使成觀光園，以兼具教學之功能。

六、結論：

中藥植物為長期性投資事業，種植後需五年以上才能採收，由於大陸產地中藥可間接進口，價格低廉，品質優良，故省產中藥無法與之競爭，若需保護省產中藥資源及推廣，請政府機關及專業單位列入造林及觀光獎勵範圍，以配合當前農林政策，發展精緻及休閒農業，改善農民生產結構，增加農民收益，促進農林繁榮。

中藥材試種保育

行政院國軍退除役官兵輔導委員會台東農場

劉錫賢

壹、前言

民國七十二年承行政院衛生署、台灣省林業試驗所等有關單位來場勘察，選定本場東河分場坡地試種土肉桂、黃柏、杜仲、槐樹及淮山藥等中藥材，滿懷憧憬，七年來悉心撫育管理，謹將試種保育工作報告如下。

貳、原有之中藥材試種保育概況

- 一、七十三年三月十七日於本場東河分場部後面山坡地定植土肉桂三九四株、杜仲二五株、黃柏二〇株、槐樹一四〇株，因苗木係用塑膠袋育苗，自台北遠途運輸受到震傷、及栽植季節適逢乾旱，成活甚差，經予補植，迄今土肉桂及槐樹均已成林，杜仲成長緩慢，其葯園除草、施肥等撫育管理工作，悉依計劃實施。
- 二、七十九年三月七日由林業試驗所提供全省卅七個家系土肉桂種苗在東河分場做區域適應性試驗，本場提供土地〇．二公頃種植二八八株，於該年四月十一日調查成活二八一株，成活率達九七．五％，惟近半年來，久旱未雨缺乏噴灌設施，迄本(80)年七月底再調查僅存五六株，成活率一九．四％。
- 三、桑寄生試種：利用休耕桑園，本場於七十八年元月向嘉義竹崎鄉農友購買桑寄生種子二公斤接種，因成活情形不理想，復於七十九年六月再購買種子四公斤，接種於分場部附近之桑樹株幹，亦因乾旱影響，現僅存二六株。
- 四、試種共存活生育情形：

參、本(80)年度擴大試種計劃執行情形

- 一、本年度於長良分場擴大試種土肉桂二公頃，於七九年十二月十五日向林試所運回種苗二、五〇〇株，八〇年三月七日第二次運回二、七〇二株，合計五、二〇二株，並換袋培育，因部份苗木根群發育尚未健全，截至七月底尚成活二、二七九株，現已完成定植〇．八五公頃計一、一一〇株，成活九七八株，成活率八八．一〇%，尚餘苗一、一六九株，因苗木弱小，仍需留置網室內培育，待成長適於種植時再行定植。
- 二、草本藥用植物試種：本年五月六日省農業試驗所提供柴胡九株、明日葉十一株、枸杞二〇株、麥門冬四個品系各二〇株，先於長良分場試種，待增殖後再移植東河分場標本園。

肆、設置觀光藥園

東河分場於去年七月由農委會等有關單位實勘後選定為休閒農業規劃區，即將於下年度開發，擬配合該計劃於八十一年度設置觀光藥園，將原有試種藥園周邊擴充為中藥標本園，面積一一二公頃，充實各種草本、木本品種，並將園內妥善規劃人行步道、水利灌溉系統以利撫育，該計劃下年度試種保育等經費預約計需六六萬八三〇〇元，請賜予補助辦理，如承支援本場將另行細部規劃報會。

伍、檢討分析

- 一、本場七年來試種藥材中以土肉桂成效最佳，適於擴大種植。唯該地區天氣乾旱，故灌溉設施，確屬必要。
- 二、黃柏：在連續高溫下容易枯死，現已全部枯死殆盡，不適宜低海拔地區栽培。
- 三、杜仲：生長較土肉桂緩慢，栽植七年樹高平均三五二公分，地際直徑五一〇公分，本年四月調查又枯死三株，本地區能否適應有待繼續觀察。

四、槐樹：較其他葯材生長快速，且成活率高，目前樹高五一三公分、地際直徑一六公分亦已成林，適於種植。

五、桑寄生：遇天氣乾旱阻礙生育、甚致枯死，現僅存二六株，有待撫育觀察。

六、淮山葯：係白肉棍棒圓筒形深根山葯，於七十七年元月採收量二〇一公斤，每株平均塊根重量一．二五公斤，因種植地土層不厚，心土均為石塊，坡地乾旱期長，土質較硬，塊根生育不規則，採收至為費工，不宜種植。

陸、建議

一、土肉桂試種成果良好，故本(80)年度再延伸至長良分場（平地）試種二公頃，因該分場土地甚多且灌溉方便，計劃逐步擴大栽種面積，惟其產品出路有待開發，近年來遇有外賓來場，本場以肉桂葉充當茶葉煮茶，品味頗受讚賞，且可治療胃疾，似可研製健康飲料—肉桂茶，罐裝或鋁鉚包，以供推廣飲用增進國民健康，擬請 貴會納入研究計劃研製提供指導，經實驗成功後再輔導在本地設置小型加工設施推廣產銷，以發展精緻農業。

二、東河分場獲選規劃為發展休閒農業區，設置觀光葯園為發展項目之一，亟待充實內涵，請協助規劃設計標本園工作，並請提供各種草本、木本中葯材種苗，藉以加強國人對中葯之認識，以增益保健及教學功能。

三、年度補助經費往年於年度開始後八—九個月始予撥付，執行期間過於短促，難有效執行，請配合年度開始，即予惠撥，以利計劃執行。

柒、結語

本場目前試種之中藥材種類，經 貴會延請專家學者多次蒞場勘察鑑定，咸認具有栽培價值，本場遂於本年度在長良分場擴大試種土肉桂二公頃、及草本藥用植物，以開發中藥材資源，減低進口依賴，及東河分場設立觀光藥園，旨在讓廣大民衆認識中藥，瞭解中藥保健功能，發揚國粹，增進全民健康，本場將全力以赴，今後尚請 貴會鼎力扶持。謝謝。

高壓放電像術之探討

三軍總醫院・醫學工程室

張福庚

在進行高壓放電照像時，環境空氣的濕度和密度對於高壓放電照像術之放電成像有很明顯的影響，而且不同照像底片的成像也有很大的差異

經過一序列的各種實驗及正常化分析，吾等發現在心臟血管疾病與中衝穴之放電圖譜間有顯著的關連。

由於始終有未知的變數存在，高壓放電照像在應用上仍有實際的困難，這些困難需要以後的研究者修正其中的未知變數予以解決。

During High-Voltage Emission Photography was taken, there were apparent effects of the shape and intensity of emission images when the humidity and the density of ambient air were changed and there were also significant differences among the images which were produced by using different types of films.

After a series of studies and normalization has been processed, we found that there were a close correlation between cardiovascular disease and P.9 emission topograph.

Because a lot of unknown variables factors were still present, many practical difficulties stand in the way of any attempt to discriminate between useful and misleading information on this study. These difficulties can only be overcome by future experimenters who can locate and correct the variable factors in this work.

摘要

本計畫在探討高壓放電照像術或稱克里安照像術 (Kirlian Photo-graphy) 或稱高壓放電照像術的基本理論及其臨床實用性。

本研究內容包括硬體測試及研製，環境影響測試，圖像分析技術及臨床評估。

壹. 測試及研製

一. 測試儀器

	品 名	廠 牌	型 號
測試儀器	示波儀 訊號產生儀 高壓表減棒 高壓電源供應器 數位電阻, 電感電容測量表 保溫箱	TEKTRONIC TEKTRONIC FLUKE H. P. GEN RAD NARCO	2445 FG 5010 80K 6525A 1689 C-86
照像器材	VEGA Kirlian SPECTROGRAPH X 光底片 感光像紙	GR IESHABER MANUFLODS DUPONT AGFA	ME-T-D 101B KERBI CRONEX 4 RAPITONE P1
影像設備	高畫質攝像儀 影像處理電腦主機 影像處理界面 影像處理軟體	JVC 精業電腦 I.T.I I.T.I	GR-40 CFA-386 PFG PLUS-512 IMAGE-PRO

二、過程及方法

- 1.對電源供應，振盪線路，高壓產生及絕緣電極板四部份做非破壞性測試，描繪基本特性。
- 2.製作各部線路，其放電時間，放電頻率，電壓均以可變電阻控制，以便做不同條件之放電試驗，選擇最佳之放電條件如（附圖一）。
- 3.指壓電極板之壓力－阻抗呈反比關係，照像時，手指觸壓力大小將影響指趾與面板之阻抗 (Impedence)，而使成像之虛實及面積變化。將數位電錶二探測極置於彈簧秤上，測量各手指在不同壓力下抗電阻值（附圖二）。
- 4.測定環境溫濕度及氣壓影響時，以密封之保溫箱內置克里安照相儀，溫濕度氣壓計，並以加溫器，噴霧器，除濕機，空壓機及真空幫浦輔助為之（附圖三），使箱內環境在控制下配合實際照像之可能環境做測試。模擬環境之溫度範圍在 15℃至 40℃，濕度範圍為 43%至 95%，氣壓範圍為 760 ± 20mmHg。

結果

1. 克里安照像術為高電壓，高頻率及低電流電場中包圍導體（人體）的暈狀放電，其高頻放電為一種複合波。

VEGA 與 KERBI 克里安照像術之基本特性

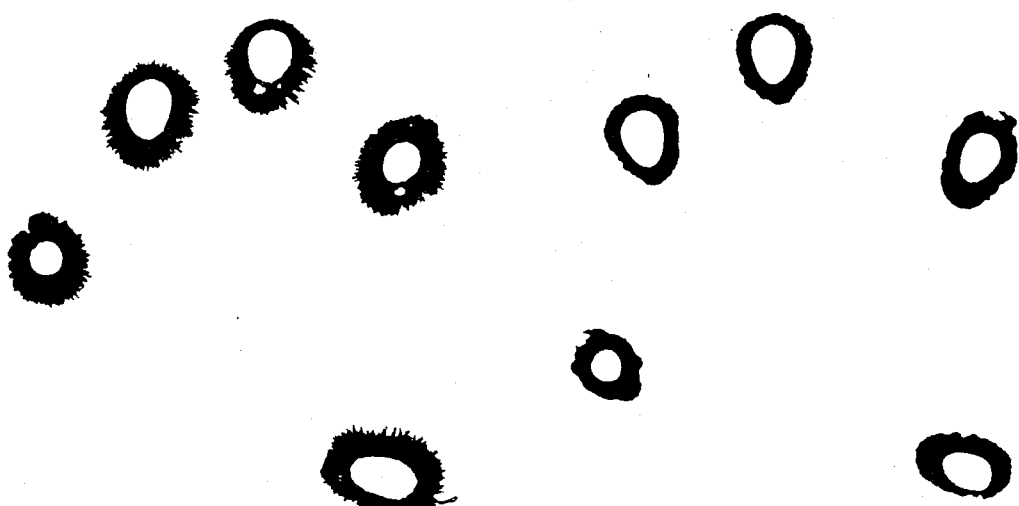
廠牌	V E G A	K E R B I
輸入電源	110V, 60Hz, 1 ϕ	110V, 60Hz, 1 ϕ
保險絲容量	2.0 A	2.5 A
電極板特性	單極接地	雙極隔離
放電時間	0 至 6 秒, 可調	2 秒, 固定
高壓線圈輸入端特性	300 V _{pp}	500 V _{pp}
輸出端電壓	16KV / 24KV	20KV / 25KV
放電方式	二絕源板迴路式	單絕源板

2. 不同指趾觸之壓力與電極板間阻抗變化，由向量阻抗計 (Vector Impedance Meter) 所測得其阻抗變化不一，但在 6 至 8 ounces 的壓力以上時阻抗變化趨於緩和，介於 3.5 至 5 Mega-Ohms 之間。為使照像時之阻抗標準化，且圖像之大小適中，以微動開關配合彈簧裝置成一壓力開關，指趾觸壓力在 4Kgs 以上始能觸發放電（相當於每隻手指壓力為 7 ounces），以保證照像品質。

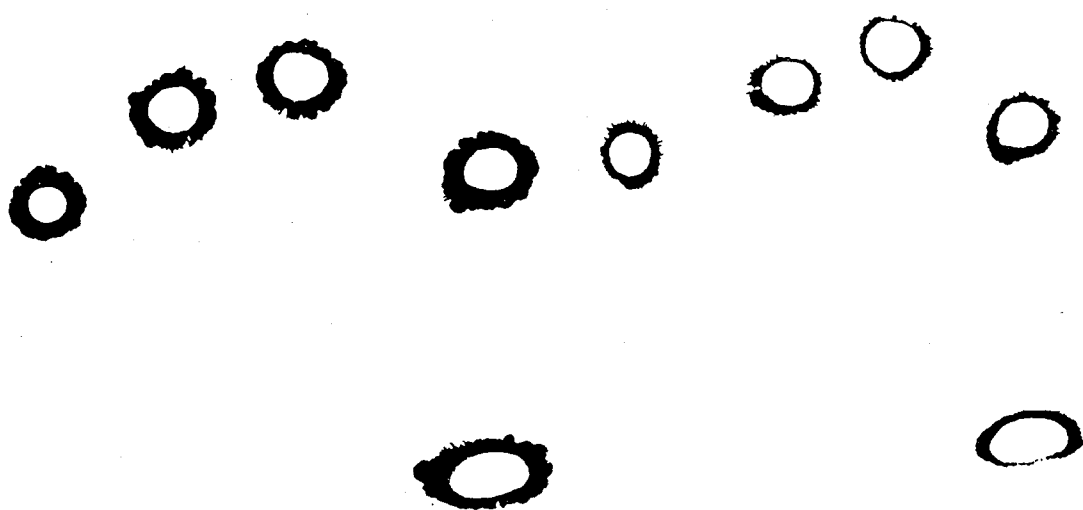
3. 試製高壓放電儀規格特性表

TSGH-1 克里安照像儀規格特性表	
輸入電源	110V, 60Hz, 1 ϕ
消耗功率	45W ~ 65W
輸出頻率	20K Hz ~ 25K Hz
放電時間	1 至 5 秒, 可調
絕緣板	0.8mm電路板銅面蝕洗
輸出端電壓	12KV ~ 15KV, 可調
輸出波形	複合波

4. 空氣之導電性受濕度影響，以致使放電圖像『陰』，『陽』，『虛』，『實』特徵改變（附圖六）。空氣密度在 $760 \pm 20\text{mmHg}$ 氣壓範圍內對成像無影響，但在空氣流動較快時，對『陽』有顯著的影響（附圖七）。



正常環境(左)與高速氣流(右)圖像比較



相對濕度43%(左)與95%(右)圖像比較

貳、圖像處理分析

一、標準化 (Normalization)

製作一標準點光源記號器（附圖八），該點亮度及曝光時間均為一定，故可設該參考點之亮度應為一定值。當指趾像取入電腦後，以其參考點值之與標準參考點數值之差（或正或負），將全部像素 (Pixel) 的值予以修正，（附圖九）所示。經過上述預處理後的影像可去除由於曝光時間，底片感光度，沖洗藥劑濃度，沖洗時間以及電腦取像技術等所產生的誤差。

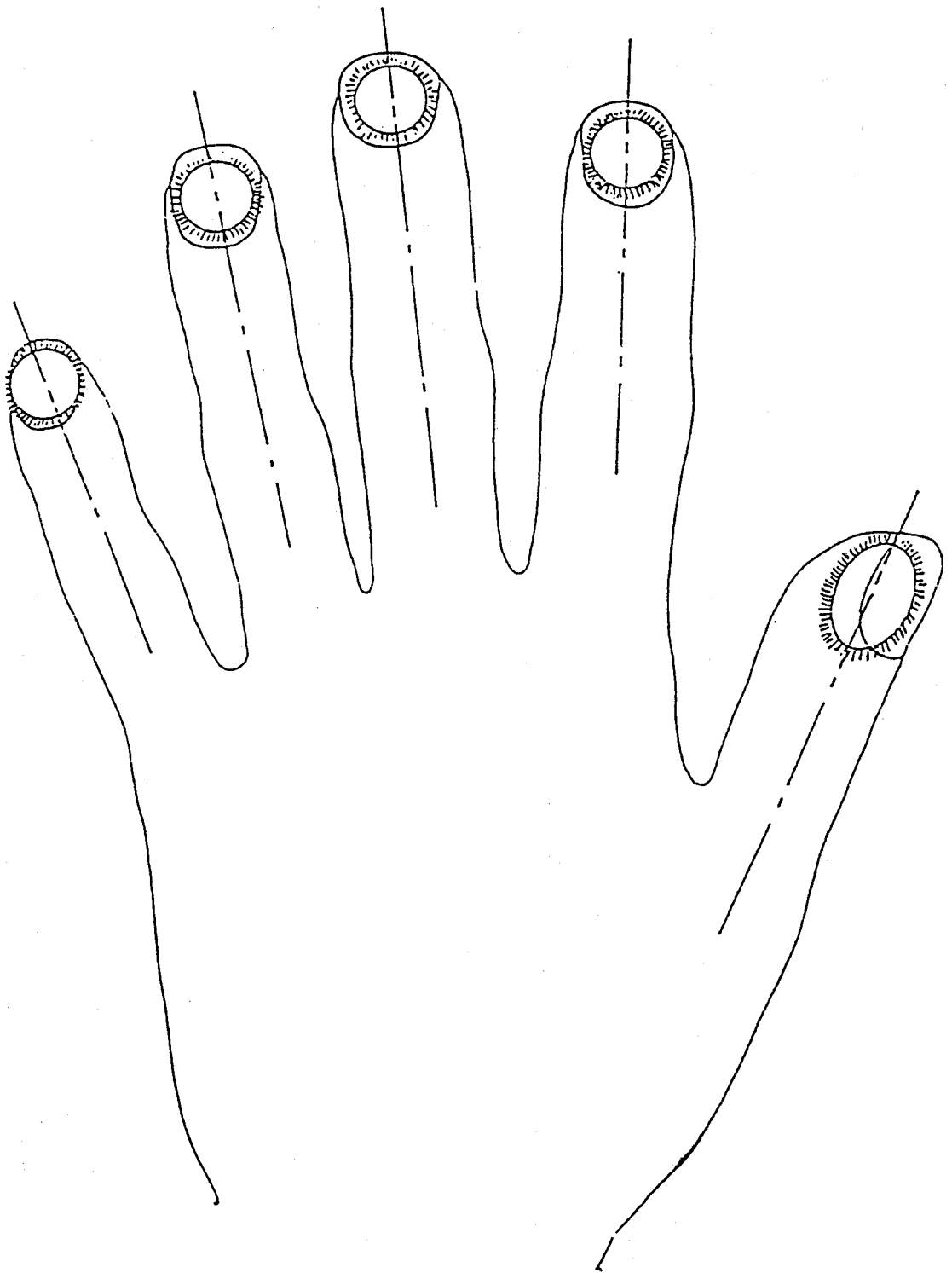
二、量化 (Quantification)

將圖像之每一像素 (Pixel) 之亮度以灰尺度 (Gray Scale) 賦予一數值，一區間內全部像素之平均灰度值即表示該區間內光亮度，該數值可用以計算與相互比較，傳統目測圖像判讀之『虛』，『實』等特徵即可以量來判斷。

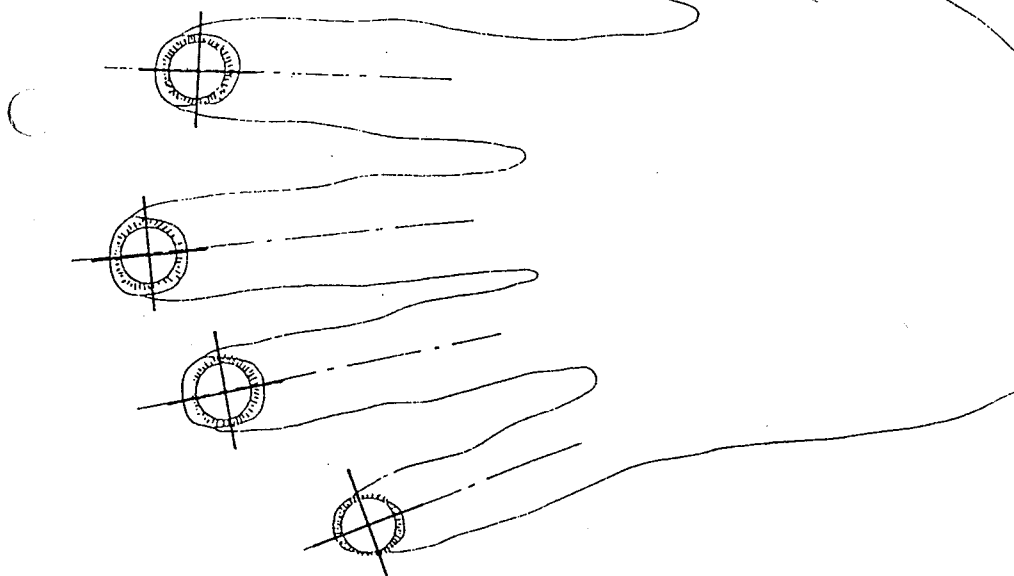
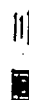
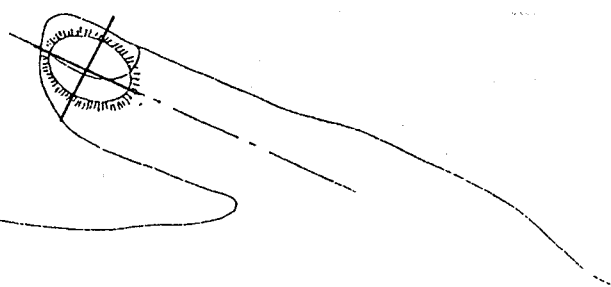
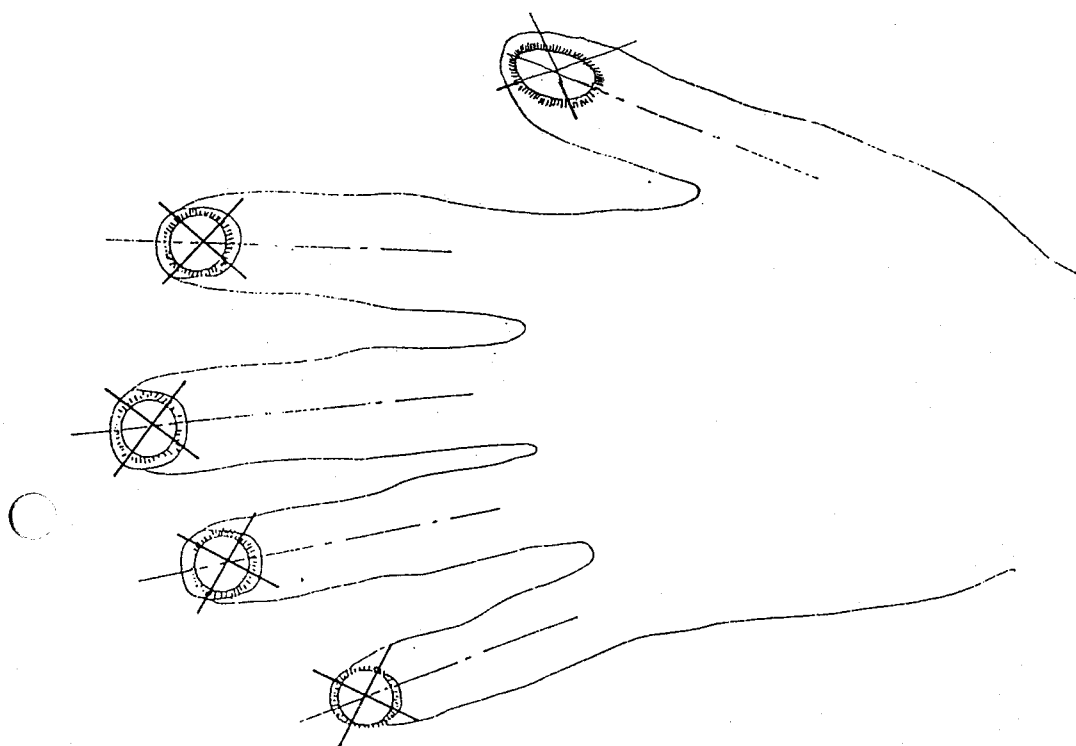
全部或各別指趾之虛實圖像可由密度分佈圖 (Histogram) 予以定量（附件十）。因在圖像輸入後即予標準化，消除了影響定量之因素，故密度分佈圖可用以做自體 (Inter-member) 比較及異體間 (Intra-mamber) 之數值比較與統計。

K I R L I A N T O P O G R A P H Y										
部位 定義 來源	姆 指		食 指		中 指		無 名 指		小 指	
針灸正經	肺		大腸		心包			三焦	心	小腸
REINHOLD VOLL	淋巴 管	肺	大腸	神經 變性	心包	過敏	實質 變性	三焦	心	小腸
PETER MANDEL	淋巴 管	上頷 竇	大腸	神經 變性	心包	淋巴 管	丘腦	內分 泌	心	小腸
ALAIN LERNER	肺	任脈	大腸	督脈	心包	任脈	督脈	三焦	心	小腸

FIGURE 2



□ =



克 里 安 照 像 記 錄 表																					
姓 名 :		李 衍 治				年 齡 :		52				性 別 :		男							
編 號 :		22				檢 查 日 期 :		790327				檢 查 時 間 :		10:00							
最終診斷 : (+) ; ERGOMETER EXERCISE ECG TEST: POSITIVE. THALLIUM-201 STRESS AND REDISTRIBUTION STUDY PARTIAL REPERFUSION DEFECT. MI & SCAR FORMATION.																					
手指 部位	姆 指				食 指				中 指				無 名 指				小 指				
	左半部		右半部		左半部		右半部		左半部		右半部		左半部		右半部		左半部		右半部		
I 型	C		A		B		C		B		B		D		D		B		A		
左手	C		A		B		C		B		B		D		D		B		A		
右手	A		B		B		A		B		B		B		A		A		B		
+ 型	↖	↗	↘	↙	↖	↗	↘	↙	↖	↗	↘	↙	↖	↗	↘	↙	↖	↗	↘	↙	
左手	D	C	B	A	B	B	C	B	B	B	B	B	D	D	D	D	A	A	A	B	
右手	A	D	A	B	B	B	A	A	A	B	A	B	B	B	A	B	D	A	D	B	
X 型	↑	←	→	↓	↑	←	→	↓	↑	←	→	↓	↑	←	→	↓	↑	←	→	↓	
左手	D	C	A	A	D	A	C	B	B	B	B	B	D	D	D	D	A	A	A	B	
右手	A	A	A	B	D	B	A	A	B	A	A	B	D	B	B	C	A	A	B	A	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> A : 正常 B : 微弱 </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> C : 超載 (毒性) D : 閉塞 (雙性) </div>																					

圖 五

KIRLIAN TOPOGRAPHY IN 3-D

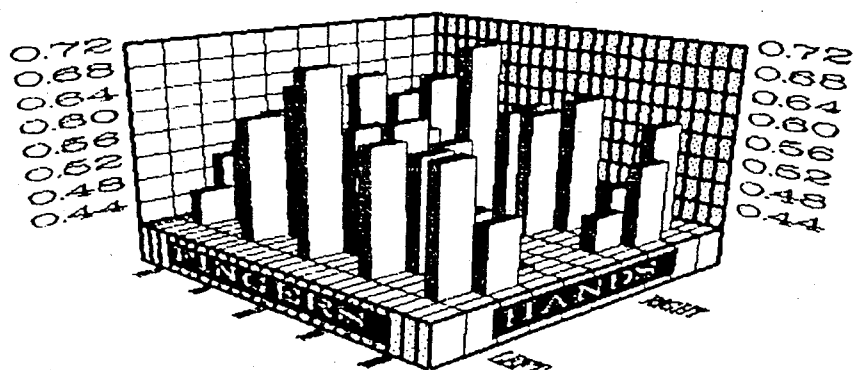


圖 八

KIRLIAN TOPOGRAPHY IN 3-D

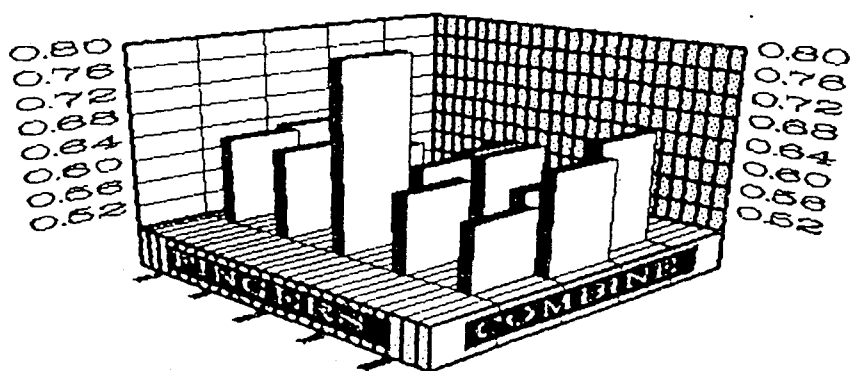


圖 九

分析與統計

應用克里安照像術的知名人物－愛倫．雷爾納 (Alian Lerner) 和彼得．孟岱爾 (Peter Mandel) 對於該診病技術均有其獨特理論，且融合了針灸技術後，使克里安照像術更顯重要。

臨床評估

一、樣本收集

1. 建立標準環境：溫度 $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 濕度 $60 \pm 5\%$ 。
2. 樣本數 117 人，男性 88 人，女性 29 人，年齡分佈自 24 歲至 78 歲，Normal 22 人。
3. 疾病分類計有心臟血管病變，惡性腫瘤（骨癌，肺癌，子宮癌，乳癌，鼻咽癌，肝癌，腸癌），內分泌及循環障礙（甲狀腺，淋巴病變），骨折。

二、分析與統計

1. 部位劃分。
2. 矩陣評估法

DECISION MATRIX of PERFORMANCE EVALUATION		DISEASE	
		PRESENT (+)	ABSENT (-)
DIAGNOSTIC	POSITIVE (+)	TP	FP
	NEGATIVE (-)	FN	TN

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{True Positive Decisions}}{\text{Cases with Disease}} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}}$$

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{True Negative Decisions}}{\text{Cases with Disease}} = \frac{\text{TN}}{\text{FP} + \text{TN}}$$

$$\text{Accuracy} = \frac{\text{Number of Decisions}}{\text{Number of Cases}} = \frac{\text{TP} + \text{TN}}{\text{TP} + \text{FP} + \text{FN} + \text{TN}}$$

3. 三度空間分部圖

三、結果

- 1.心臟血管疾病表徵出現於中沖部位。
- 2.強直性脊椎炎患者之手，腳部位圖像之灰度呈現極大之差異即閉塞，符合兩位學者所言骨折者之手腳部位圖像皆微弱或全無。
- 3.手術前後之圖像有差異。

結論

- 一、高壓放電照像乃藉由高電壓對人體（導體）放電所產生之圖像加以應用，該放電作用非人體自體發生，且變數甚多，故正常對照組（針對單一器官病變）不易定義。
- 二、本研究臨床實驗樣本之最終診斷結果為器官病變，其與中醫「病症」和「經絡」部份之關係不明確，其一對多或多對一之關係以及未知者使統計更加困難。

中醫文獻電腦資訊化研究（二）—— 金元四大家

中國醫藥學院中醫診斷學科

中國醫藥學院附設醫院中醫診斷科

陳逸光 · 方榮瑞 · 陳維苓 · 黃憲唐

李世滄 · 張福庚 · 巫真瓏 · 楊美蓮

摘要：

中醫古籍文獻自秦漢留存自今者七千餘種，可惜缺乏索引，若能配合現代電子資訊技術，將可提高研究中醫古籍者之興趣及便利，此中醫文獻資訊化之研究在國內中醫界尚屬首創，於七十九年度完成了黃帝內經。

本階段則選擇了近世紀醫學最具代表性之論著——金元四大家；本研究以醫統正脈全書為藍本，先將本書加上標點，分明段落後，再經人逐字輸入電腦。

以現今電子資訊索引技術開發了本研究《中醫古籍資訊二號》之金元四大家索引系統。電腦可在二分半鐘內搜索完一整套金元四大家之論著全十九部書。索引內容可經由螢幕及印表機列出。而且可作跳字搜索（模糊字彙檢索法）。並提供使用者一個簡單明瞭之使用視窗界面。

本系統之最大特色是(1)快捷(2)易學易用(3)原文不經修改，保持內容之完整性(4)可接受無窮盡之知識庫資料，而且不影響執行速度。試測結果顯示，本索引系統在實驗室執行之準確性達百分之百。

本研究計劃由行政院衛生署中醫藥委員會補助

一、緒言：

中國醫學自秦漢以降二千餘年間，存留至今之醫學文獻，據統計有七千多種。這個數目與知識爆發後的西方醫學文獻比較雖不十分龐大，但皆是歷代累積之智慧寶庫，可提供與目前西方醫學截然不同防治疾病的經驗和理論見解。中國書籍一向缺少句讀標點符號，亦無很好的索引造成翻閱不便。因此對古籍文獻的整理是發揚傳統醫學不可缺少的步驟。古籍數量對電腦儲存而言是微不足道，但卻是一項極其艱鉅的任務，因為古代印刷技術不發達加上戰爭頻繁，以致造成許多古籍散失，訛傳及文章次序編排錯誤等因素影響，使原本的真正面貌多已被歪曲；文獻中一個理論觀念可重覆在文章各處出現，到底原本如此或是編排錯誤，已無從察考，況且古代的文獻簡練古樸，往往一詞數義，數義一詞，錯別字及文字條理界限不清。以上種種因素，造成文獻瞭解的障礙，此一障礙使中醫資訊化來幫忙做資料整理更具深遠的意義。

歷代之古籍當中《黃帝內經》可說是中醫基礎醫學經典之作。其內容秉承易經，博采諸家，以陰陽形氣學說，臟腑經絡理論來說明人體生理病理現象；以五運六氣，天人相應立論，認識人體生長變化規律，歷代醫家有所成者，必有所宗。然而，歷代名家雖耗盡畢生精力研究校勘是書，亦難盡其意。朱丹溪在其所著《格致餘論》言其“詞簡義深，去古漸遠，衍文錯簡，仍或有之。”可見第一手資料之收集困難愈來愈嚴重。而在完成了黃帝內經索引系統後，我們選擇了近代最具代表性之著作——金元四大家，並計劃日後逐步完成整個中醫古籍之搜尋系統。

自五四運動後，文言文被語體文所取代，語言障礙又加深一層。況且在此工業社會時代人人都很忙碌，皆想花最少之時間獲取最多的知識。總無法把《中醫古籍》從頭到尾閱讀，作全盤深入瞭解。若果研究者僅需要在某一範圍中知其簡潔之概要，此則在目前中文電腦發展分析中文資訊科技是其專長，當今全力發展中醫電腦資訊是最合適的時期。然而，在國內國外尚無人著手。本計畫藉著電腦快速的資訊功能，將可帶給我們尋找及整理資料的便利。電腦是人類最忠實的僕人，而且不會疲倦，許多耗時繁雜的資料整理工作，電腦均能勝任，而且既快速又準確，將可大大提高研究者的興趣並可節省研究古籍者許多不必要的摸索時間。

本研究系統程式以 PASCAL 4.0 版編寫，在 AT 級之個人中文電腦下，完成金元四大家之搜索，時間約二分半鐘。而且提供一個簡便，明瞭之使用者視窗界面（見附錄一 P.3），易學易用。

二、材料與方法：

(一)硬體設備：

- 1.1 PC-AT 個人電腦一套（含四十 MB 硬碟機）。
- 1.2 EPSON LQ-1000C 印表機。
- 1.3 倚天中文卡“光電二號”。
- 1.4 醫統正脈全書。⁽¹⁾

(二)軟體設備：

- 2.1 MS-DOS 3.3 版⁽²⁾
- 2.2 倚天中文 1.6 版。支援“光電二號”漢卡⁽³⁾。
- 2.3 TURBO PASCAL 4.0 版。⁽⁴⁾
- 2.4 PE II 文字編輯套裝軟體。⁽⁵⁾

(三)建立金元四大家中文電訊資料庫：

- 3.1 以《明·王肯堂》《醫統正脈全書》為藍本，附加標點，分明段落，並統一規劃金元四大家之同義字（見附錄三）。
- 3.2 以中文輸入法逐字輸入電腦。
- 3.3 將倚天中文卡內欠缺之中文字彙，以中文造字法重新造字（見附錄二之造字表）。

(四)程式設計：

4.1 檔案管理：

- 4.1.1 文字檔案保護：以 PASCAL 程式開啓讀出原有之金元四大家文字檔案，編碼保護。

- 4.1.2 文字檔案讀取及解碼：以程式讀取檔案內容並加以解碼。

4.2 索引：

- 4.2.1 接受使用者所輸入之字列，並逐字與原文比對。

4.2.2 比對方法：

- 1)將文章內一行句子讀出，並以一行中之空格分裂前一句為一子句。並以此子句為單元，與使用者輸入之字彙逐一比對。
- 2)若使用者輸入之字彙在一個以上，其比對方法如下：
 - (1)先將第一個輸入字彙讀出，逐一比對子句內之字彙。
 - (2)若比對吻合，則繼續第二個字之比對，否則離開。以此方法搜索可隔字索引（見附錄一之模糊索引法 P.2）。

4.2.3 索引處理：若在文中找到使用者之索引字彙，則將該子句之出處（篇，章）及文中之頁數，行號存入 TEMPR。DAT 之檔案內（見附錄一 P.10）。

4.3 索引檔案存檔方式：

4.3.1 單檔：此即使用 PASCAL 中 RESET 指令，把 TEMPR.DAT 檔重新開始（見附錄一 P.11）

4.3.2 連檔：此即使用 APPEND 指令，將原有之 TEMPR.DAT 檔內容，合併予連結（見附錄一 P.11）。

4.4 使用者視窗界面：

為方便使用者使用本系統，因此以 PASCAL 程式編寫一個使用者視窗界面，對以上之各項功能選擇以視窗型式規劃，力求簡單、明瞭、美觀及使用方便。

三、結果：

(一)金元四大家資訊全文輸入：

- 1.1 金元四大家全文輸入〔見資訊化（出版中）〕
- 1.2 金元四大家字彙標準化（見附錄三）
- 1.3 金元四大家難字造字字典（見附錄二）

(二)使用者視窗界面及其功能使用（見附錄一 P.3 - 11）

(三)執行情況：

3.1 準確性：

3.1.1 隨機取樣：隨機抽取金元四大家本文中之某字或某句，然後進入本系統之索引項中，執行搜尋功能，並紀錄該字或該句是否能夠正確由電腦找出其出處、行及頁。（見附錄一 P.10）

3.1.2 試測結果：隨機抽取第 9、19、29、39... 189 以 9 為頁數之字或句，依上述隨抽樣之方法進行索引比對，以試測其搜索結果是否正確。經 100 次重覆試測，本索引系統之準備性達 100%。

3.2 執行速度：在 PCAT 硬碟中，本索引系統以單字或單句形式搜索整本金元四大家約二分半鐘。

四、討論：

(一)常言道『工欲善其事，必先利其器』，在過去中醫古籍之研究者，鑽研古籍，勤求古訓，盡畢生精力，校勘、注釋黃帝內經者衆，先哲們努力不懈之精神，真教人肅然起敬。然現代資訊科技之來臨，若中醫古籍之整理有現代電子資訊幫忙，對中醫研究者而言有若如虎之添翼，況且文獻索引此等工作對電腦而言是輕而易舉，但對人而言則繁瑣不堪。

(二)目前本研究所能提供的資訊項目，“黃帝內經+金元四大家”索引可供選擇，其功用有如一部電腦字典，雖然只能告訴使用者，何字出現於何處，卻能省掉研究者逐字閱讀，搜索之時間，若能將其節約之時間用於寫作之上，豈不是事半功倍。

(三)本研究之資訊程式設計部份，是以 PASCAL 語言編寫，捨套裝軟體而以語言程式取代之，原因如下：

1. 語言程式執行速度比套裝軟體快。
2. 用程式編寫之系統，操作控制權百分之百掌握在程式設計師，而用套裝軟體其系統控制之自由度會大打折扣，如本系統中之編碼功能於套裝軟體上則很難辦到。

(四)本研究中資料庫之搜索功能，只是使用了現代資訊技術中冰山之一角而已，中醫資訊化之開發潛力尚廣，如電腦輔助教學、診斷等多項資訊技術已於世界各國競相研發中，且成績斐然。若能運用此等尖端資訊技術於中醫基礎及臨床醫學中，將有助於中醫之發展。

(五)本系統資料庫之擴展性無可窮盡，在黃帝內經索引系統下增加金元四大家資料庫（長八十餘萬言）之索引項目，而且電腦搜索之執行速度，並未因資料庫之增加而減緩。

五、結論：

隨著資訊時代之來臨，中國醫學理應借助資訊技術發展一獨立之中醫資訊系統。有鑑於中醫古籍文獻之浩瀚，而索引目次又不堪使用之情況下，電訊索引刻不容緩。本研究即根據古籍文獻之特質，製發《中醫古籍資訊二號》對黃帝內經及金元四大家作一番電訊化整理、測試，綜合結果有下列四大特色：(1)準確快捷(2)易學易用(3)保留古籍文獻原貌的完整性(4)結構化的資料庫規劃管理，可跨越文獻資料庫不同之障礙，作無窮盡之索引延伸，而且電腦執行速度不會因資料庫增大而慢緩。

本研究是提供學者、專家們一套文獻索引工具，以本電腦系統進行搜索三分鐘，可相當於作付出十個工作天之時間，甚至更久。況且電腦不會疲倦，也不容許索引錯誤，可謂價廉而功大。我們希望五年內能夠完成傷寒論、金匱要略、難經、諸病源候論、本草、方劑…等多種中醫經典之索引、資料庫，以加速推動中醫資訊化之發展。

參考文獻：

- 1.明．王肯堂《醫統正脈全書》，新文豐圖書有限公司，1975
- 2.李士虎：MS-DOS 4.01磁碟作業系統與實歷，長諾圖書出版社，1989
- 3.倚天資訊技術資料編輯組：倚天中文系統，倚天資訊出版部，1988
- 4.王安邦：TURBO PASCAL 程式設計探討，儒林出版社，1985
- 5.施得勝：PE II 入門及設計大全，儒林出版社，1988

中藥材儲存條件之研究—甘草之安定性研究

國立中國醫藥研究所

沈建昌 · 蔡東湖

摘要：

在 37,45 和 55 °C 下，測定 18 α -甘草次酸和 18 β -甘草次酸的安定性。經由陣列二極體檢測器—高效液相層析儀來偵測藥物的分解是個有效的方法。同時測定和鑑定 18 α -甘草次酸和 18 β -甘草次酸在三個月中溫度在 37-55 °C 之安定情形。根據實驗結果可推測 18 α -甘草次酸和 18 β -甘草次酸在室溫 25 °C 下的儲架期分別為 9.2 年和 8.6 年。

Abstract

The stability of 18 α -glycyrrhetic acid(α GA)and 18 β -glycyrrhetic acid(β GA)were studies at 37,45 and 55 °C .The decomposition rate and conformation exchange were followed by a HPLC coupled with photodiode array detection.This method is useful for determination and UV spectra identification of α GA and β GA.These two chemicals appeared temperature stable under 37-55 °C within three month.we deduced that the shelf-life (t_{90}) of α GA and β GA in room temperature (25 °C) were 9.2 and 8.6 Years,respectively.

18 α -glycyrrhetic acid (α GA)和 18 β -glycyrrhetic acid(β GA)是甘草中具有藥理活性的兩種成份。一克的甘草中，其水層萃取液含有 5.9ug 的 α GA 和 95.3ug 的 β GA。在研究甘草之安定性的時候，對於其所含的一些主要成份的安定性應先加以探討。本文即是報告利用 HPLC 和光譜鑑定的方法，進行 α GA 和 β GA 的加速試驗以測定其安定性。

實驗部份：

藥品： α GA 和 β GA(Fig.1)從 Sigma購得。Perchloric acid(70 %)，ammonia solution(32 %)和 methanol購自 E.Merck。

儀器：分解實驗是在恆溫箱中進行。HPLC系統用兩個 Waters 510 Chromatographic pump和 Rheodyne 7125 injector。分離是採用 E.Merck 的 reversed-phase Lichrospher RP-18管柱(125 × 4mm id)前面裝有一個 Lichrospher RP-18 guard column(4 × 4mm i.d.)。mobile phase是用 80:20:0.4:0.4(v/v)的 methanol-water-ammonia solution-perchloric acid混合溶液，流速為 1mL/min。偵測器用 Waters M 990 photodiode array detector以獲得 HPLC 圖譜和 UV 光譜的資料。HPLC 圖譜以 254nm 波長的吸收來繪圖；UV 光譜是從 200 nm 到 380nm。

安定性試驗： α GA 和 β GA 分別裝於一些玻璃 vial 中，用 parafilm 密封，然後置於相對濕度 75 %，溫度分別為 37,45 和 55 °C (± 2 °C) 的三個恆溫箱中。每隔兩個星期至少取出兩個 α GA 樣品和兩個 β GA 樣品用 HPLC 偵測 α GA 和 β GA 的含量，總共進行十二週加速試驗。

結果與討論：

Fig.2A 是 α GA 的 HPLC 圖譜，其 retention time 為 7.9 分。Fig.2a 是 α GA 的 UV 光譜，最大吸收峰在 248nm。Fig.3B 的 HPLC 圖譜顯示 β GA 的 retention time 是 9.2 分，而其最大的 UV 吸收峰在 254nm(Fig.3b)。

因為 α GA 和 β GA 在較低的溫度下分解速率太慢，所以爲了要在較短時間內測定其安定性，就採取在較高溫度 (37-55 °C) 下進行加速試驗，求得各化合物在不同溫度下分解的 rate constant。

依照 Arrhenius 方程式，以 observed rate constant 的對數值 $\log k$ 對絕對溫度的倒數 $1/T$ 作圖可得出線性關係。²Fig.4 是 α GA 和 β GA 的 Arrhenius 圖，它們的 correlation coefficient 分別為 0.998 和 0.990。由 Arrhenius 圖可計算出在 37-55 °C 間 α GA 和 β GA 分解的 activation energy(E_a) 分別是 12.28Kcal/mol 和 11.51Kcal/mol，在室溫的儲架期 ($t_{90\%}$) 則分別為 9.2 年和 8.6 年。

參考文獻：

- (1) Tsai, T.H.; Chen, C.F. J. Chromatogr. 1991, 542, 521-525.
- (2) Connors, K.A. ;Amidon, G.L.; Kennon, L. "Chemical Stability of Pharmaceuticals" John Wiley & Sons, New York, 1979, pp.8-32.

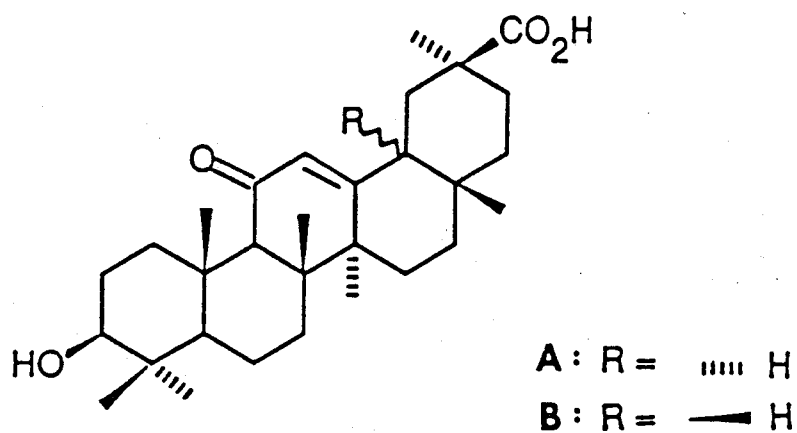


Fig. 1. Structure of aGA and BGA.

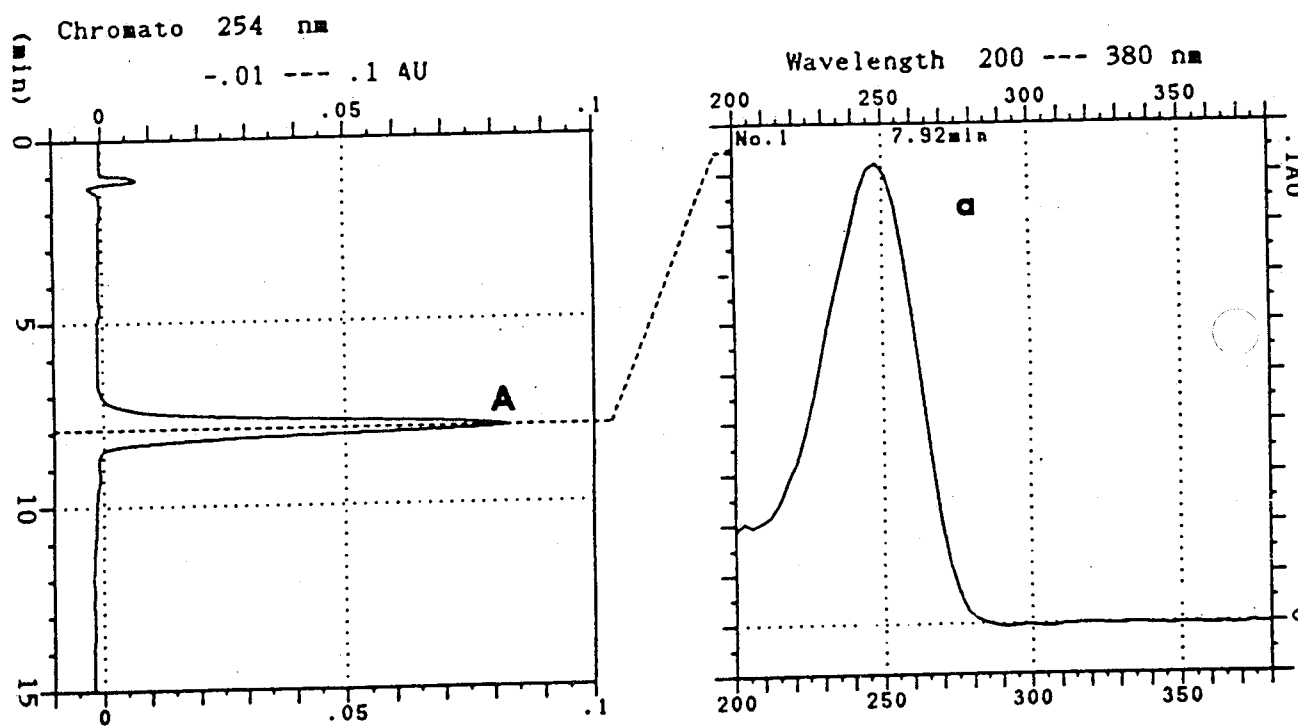


Fig. 2. Chromatogram and UV spectrum of aGA.

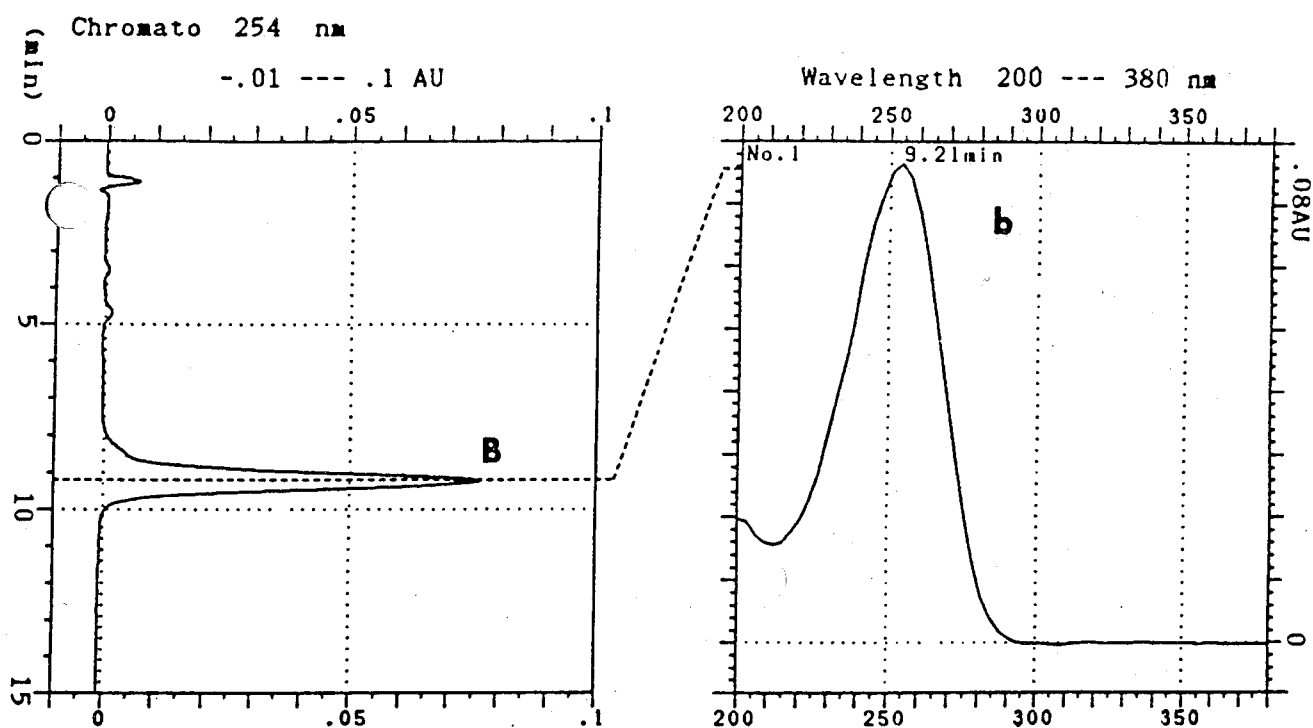


Fig. 3. Chromatogram and UV spectrum of BGA.

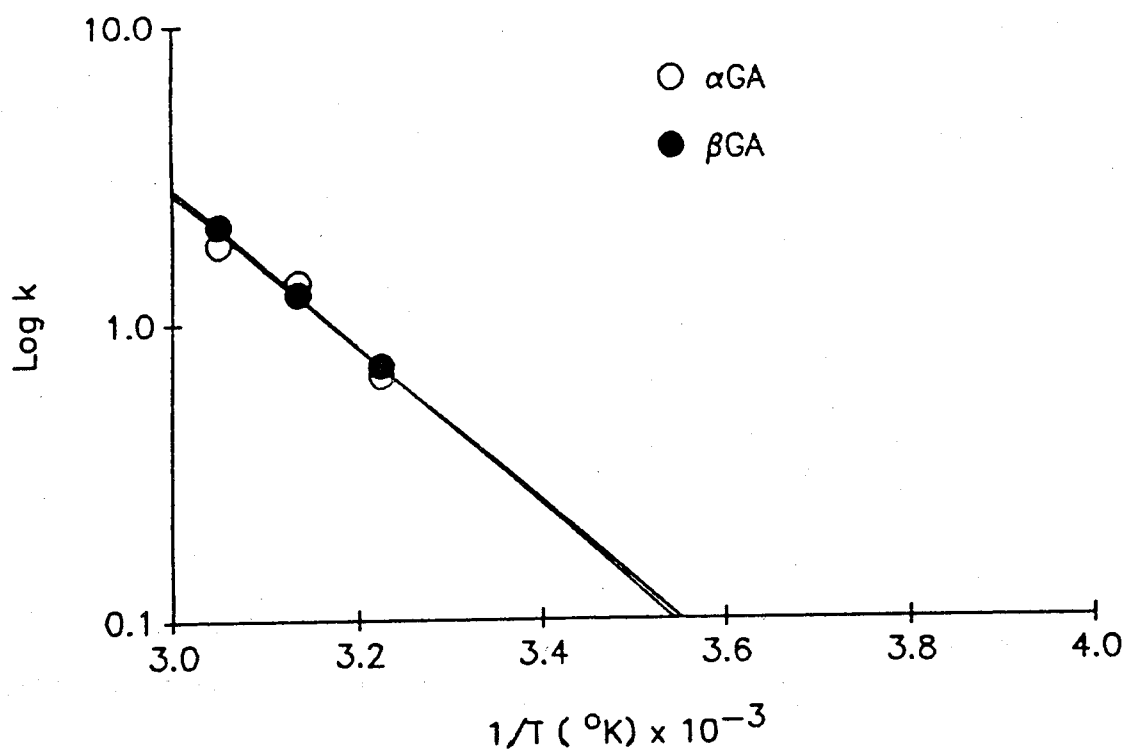


Fig. 4. Typical Arrhenius plot of $\log k$ against $1/T$.

臺灣市售中藥材 HPLC 圖譜之鑑定

國立中國醫藥研究所

林雲蓮

摘要

臺灣市售中藥材多仰賴進口，中藥材基原，商品及來源極為混亂，爲了解市售中藥材品質及成分含量，本計畫針對常用市售二十種中藥材，利用高效率液體層析儀 (HPLC)，以目前各種藥材常用之指標成分爲基礎，針對由全省各地購買之藥材作定量或定性分析，供中藥材品質評價參考，同時供藥政單位訂定中藥材標準參考。

前言

市售中藥方劑，因含多味藥材，成分較為複雜，在方劑成分之定量上，迄今仍有許多問題無法克服，而中藥材品質之良窳，亦影響成品中藥方劑之品質，中藥方劑的品質，必先從單味藥材之品質作一規範，即中藥材標準化必先從單味藥材之品質作一規範，本計畫乃利用高效率液體層析儀，針對常用市售二十種中藥材，每種藥材購自全省北、中、南十個不同定點之中藥店，進行成分分析，以各種藥材目前常用之指標成分爲基礎進行分析，探討簡便有效之高效率液相層析檢驗法，定出標準規格，以供建立中藥品管之參考。

材料與方法

一、材料：

(一)儀器裝置：

1. 減壓濃縮機
2. 紫外燈
3. 薄層分析板

4. 高效率液體層析儀

(二) 試藥與試液

1. 溶劑：甲醇、氯仿、甲苯、乙酸乙酯、氰甲烷、苯、丙酮、正丁醇、冰醋酸、磷酸、正己烷、磷酸二氫鉀。
2. 茴香醛－硫酸發色液 (Anisaldehyde- H_2SO_4 Spray reagent)：取 0.5ml 茴香醛，加入 9 毫升酒精，0.5 毫升硫酸，0.1 毫升醋酸混合而成。
3. 硫酸顯色劑：取適量濃硫酸配成 10 % 硫酸水溶液。
4. 氯化鐵顯色劑：取適量氯化鐵配成 10 % 甲醇或乙醇溶液。
5. Dragendorff 試劑：
溶液 A：取 0.85 克次硝酸鉍溶於 10 毫升醋酸及 40 毫升水之混合液中。
溶液 B：取 8 克碘化鉀溶於 20 毫升水中。
臨用前取 A 液 5 毫升，B 液 5 毫升，醋酸 20 毫升與水 100 毫升混合後使用。
6. 標準品：購自 Nacalai Tesque 公司。

(三) 檢體：

- | | |
|-----|------------------------------------------------------------------|
| 黃芩 | cutellariae Radix(Scutellaria baicalensis Georgi) |
| 黃蓮 | Coptidis Rhizoma(Coptis chinensis Wallich) |
| 綿茵陳 | Artemisiae capillaris Herba
(Artemisia capillaris Thnnberg) |
| 北茵陳 | Origanum vulgare Herba(Origanum vulgare L.) |
| 地黃 | Rehmanniae Radix et Rhizoma
(Rehmannia glutinosa Liboschitz) |
| 延胡索 | Corydalis Tuber
(Corydalis ambigua Chamisso et Schlechtendal) |
| 葛根 | Puerariae Radix
(Pueraria pseudo-hirsuta Tang et Wang) |
| 蒼朮 | Atractylodis Lanceae Rhizoma
(Atractylodes iancea DC) |
| 吳茱萸 | Evodia Fructus
(Evodia rutaecarpa Hookil et Thomson) |

山梔子	Gardeniae Fructus(Gardenia jasminoids Ellis)
龍膽	Gentianae Scabrae(Gentiane scabra Bunge)
人參	Ginseng Radix(Panax ginseng C.A.meyer)
甘草	Glycyrrhizae Radix (Glycyrrhiza uralensis Fischer et DC)
玄參	Scrophulariae Radix (Scrophularia niagpoensis Heinsley)
厚朴	Magnoliae Cortex (Magnolia officinalis Rehder et Wilson)
芍藥	Paeoniae Albifloree Radix (Paeonia albiflorapallas var trichocarpa Bunge)
牡丹皮	Moutan Radicis Cortex(Paeonia mountan Sims)
黃柏	Phellodendri Cortex (Phellodendron amurense Ruprecht)
柴胡	Bupieuri Radix (Bupleurum falcatum L.)
大黃	Rhei Rhizoma (Rheum officinale Baillon.)

各種藥材購自全省北，中，南各地，共十個中藥店。

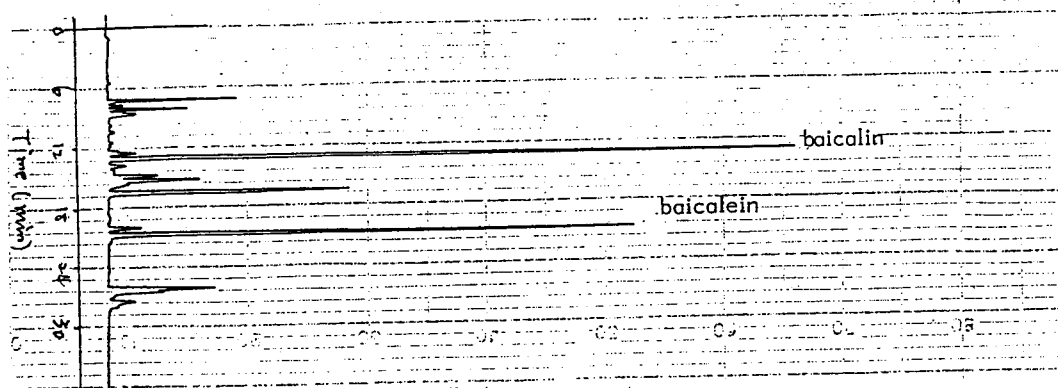
二、方法：

由各中藥店購買之十個不同地點藥材經比對和確認之後，各以 50 % 甲醇／水或甲醇在 Soxhlet。萃取裝置中迴流萃取 4 小時，然後濃縮至一定體積，於經 HPLC 分析前取適量經微過濾器（45 μ ）過濾後，進行 HPLC 及 TLC 分析。

三、結果：

1.HPLC 分析：

1.Scutellariae Radix(Scutellaria baicalensis Georgi)



Alcott 760 HPLC

column: Inertsil 4.6x250mm

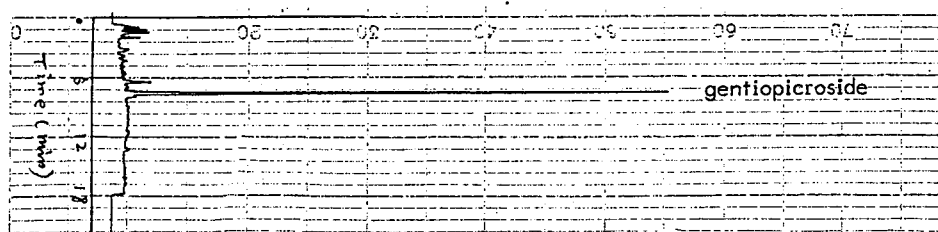
mobile phase: A: 0.1% H₃PO₄; B: 80% acetonitrile; A/B=80/20→0/100 linear

gradient; flow rate: 1.0ml/min; Detector: 280nm;

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
baicalin(mg/g)	13.44	7.65	11.46	5.43	10.47	6.51	7.76	14.21	13.31	18.68

$$y = 0.25 + 1.575x \quad r = 0.9996 \quad r^2 = 0.9992$$

2.Gentianae Scabrae(Gentianae scabra Bunge)



Alcott 760 HPLC

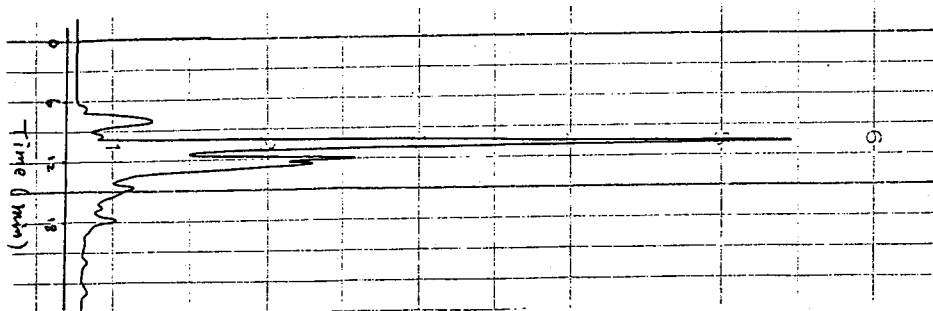
column: VERCOPAK 10 ODS ; mobile phase: A, 20% MeOH in H₂O; b, MeOH; A/B=100/0

--50/50, 10min, 50/50→0/100,22min; Chart speed:1/6 cm/min; Detector:UV 270nm.

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
gentiopicroside (mg/g)	56.92	65.59	61.04	61.63	49.16	71.41	56.78	114.37	45.63	54.07

$$y = 1.8167 + 0.45x \quad r = 0.9997 \quad r^2 = 0.9993$$

3. *Origanum vulgare* L



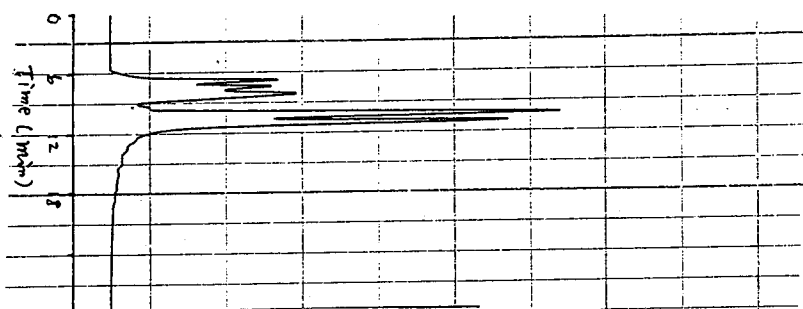
Waters 600E

mobile phase: $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_3\text{PO}_4=60:40:0.1\%$

Detector: UV 280nm

Column: VERCOPAK C_{18}

4. *Artemisiae Capillaris* Herb(*Artemisia capillaris*)



waters 600E

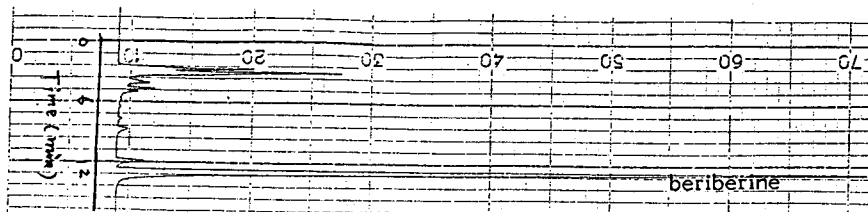
mobile phase: $\text{H}_2\text{O}:\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_3\text{PO}_4=60:40:0.1\%$

Detector: UV 280nm

Column: VERCOPAK C_{18}

兩者均不含 capillarsin

5. *Phellodendri* Cortex



Alcott 760 HPLC

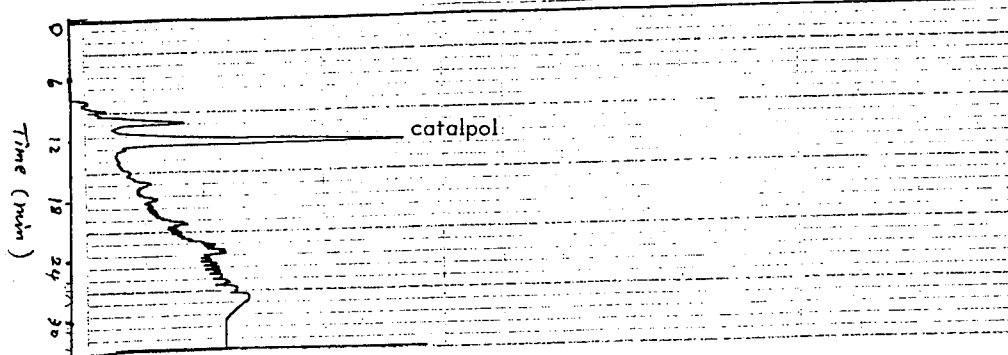
Column: Chemicosorb C_{18}

0.1 M KH_2PO_4 : $\text{CH}_3\text{CN}=50:50$ +SDS 0.5 g/l ; Chart speed: 1/6 cm/min

Detector: UV 267nm

	$Y=0.3+2.0786X$		$r=0.99993$		$r^2=0.99986$					
sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
berberine	30.165	7.178	4.234	3.175	36.487	9.410	29.097	4.109	3.310	4.147
(mg/g)										

6. Rehmannia Radix(Rehmannia glutinosa Liboschitz var. hueichingensis Chao et Shih)



Alcott 760 HPLC , Detector: low UV 203nm

Column: VERCOPAK C₁₈; mobile phase: A, H₂O , B, 2% CH₃CN in H₂O,

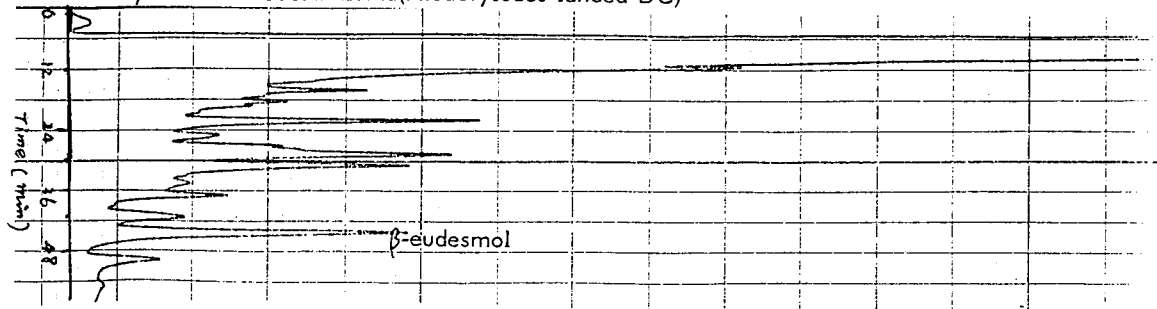
A/B= 100/0→45/55, 10min, 45/55→0/100, 20min, 0/100→0/100, 2 min
linear gradient,

Chart speed: 1/6 cm/min

$$Y=0.0696+1.7893X, \quad r=0.9999, \quad r^2=0.9997$$

Sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
catalpol	1.461	2.039	1.954	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
(mg/g)										

7. Atractylodes Lanceae Rhizoma(Atractylodes lancea DC)



Waters 600E , Column Chemcosorb C₁₈ ; Detector

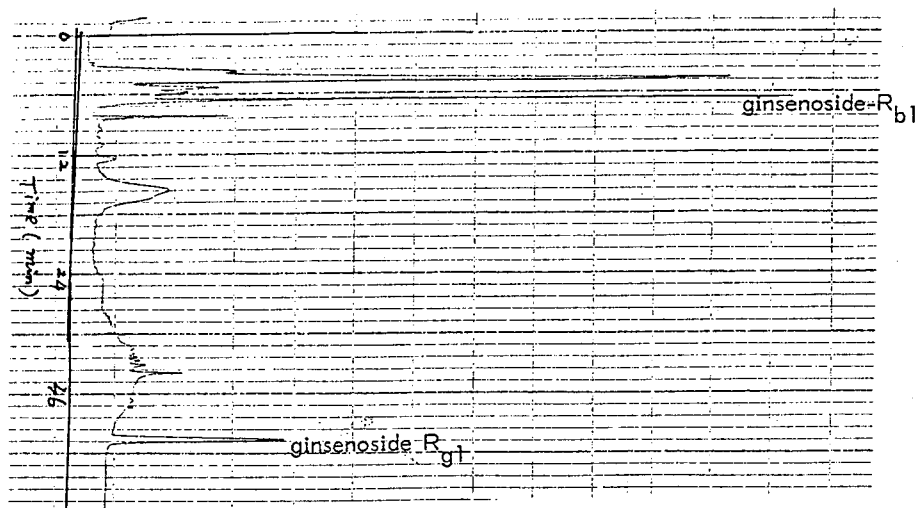
mobile phase: A, H₂O:CH₃CN:H₃PO₄=95:5:0.1%, B, H₂O:CH₃CN:H₃PO₄=10:90:0.1%

A/B: 100/0, 50min, 25/75, 10min, 0/100, 10min; flow rate: 0.5cc/min,

Chart speed: 1/12 cm/min

Detector: low UV 203nm

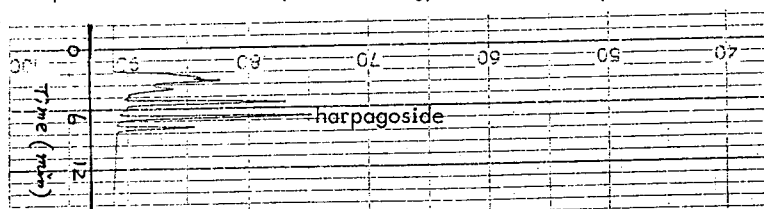
8. Ginseng Radix Rubra (Panax ginseng C.A. Meyer)



Alcott 760 HPLC; Detector: UV 203nm; Column: Chemcosorb C₁₈ 4.6x250mm
 Mobile phase: A, 10% acetonitrile in H₂O, B:30% acetonitrile in H₂O; A/B: 100/0
 20 min → 85/15 → 8 min → 0/100 → 22 min → 0/100

標準品不能依法定量。

9. Scrophulariae Radix (Scrophularia niagpoensis Heinsley)

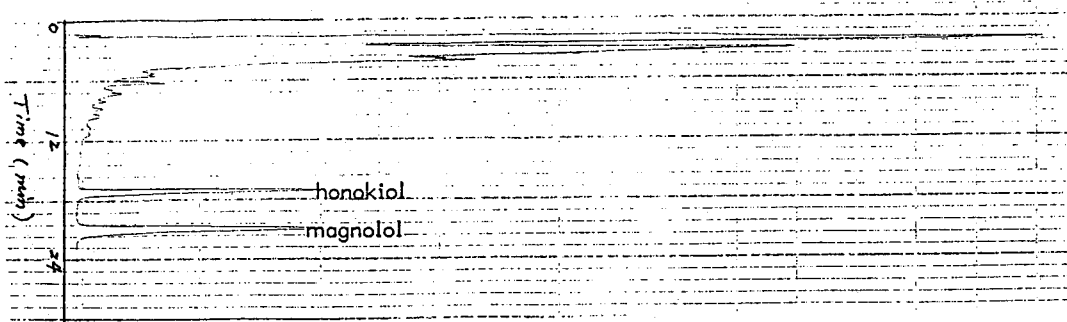


Alcott 760 HPLC ; Column Chemcosorb C₁₈ , 4.6 x250 mm
 Detector: UV 280nm; mobile phase: 30% CH₃CN in H₂O, flow rate: 0.5cc/min
 Chart speed: 1/6 cm/min

$$Y = 1.004 + 4.7786X \quad r = 0.9997 \quad r^2 = 0.9995$$

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
harpagoside (mg/g)	1.716	0.842	1.161	0.659	1.319	1.333	1.815	0.611	0.868	0.744

10. Magnoliae Cortex (Magnolia officinalis Rehd. et Wils.)



Alcott 760 HPLC, column: Chemcosorb C₁₈ mobile phase: CH₃CN:H₂O=55:45

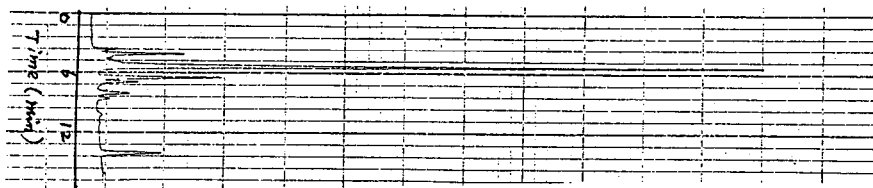
Detector: UV 254nm; flow rate: 1cc/min; chart speed: 1/6 cm/min

honokiol: $Y = -0.0194 + 2.3224X$ $r = 0.99997$ $r^2 = 0.99994$

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
honokiol (mg/g)	1.209	0.759	0.437	0.569	0.180	1.065	0.348	0.294	1.418	0.892
magnolol (mg/g)	0.699	0.632	1.835	3.745	2.556	11.168	2.618	0.275	3.924	9.039

magnolol: $Y = 0.2937 + 1.5841X$ $r = 0.9996$ $r^2 = 0.9993$

11. Puerariae Radix (Pueraria pseudo-hirsuta Tang et Wang)



Alcott 760 HPLC Column: Chemcosorb C₁₈

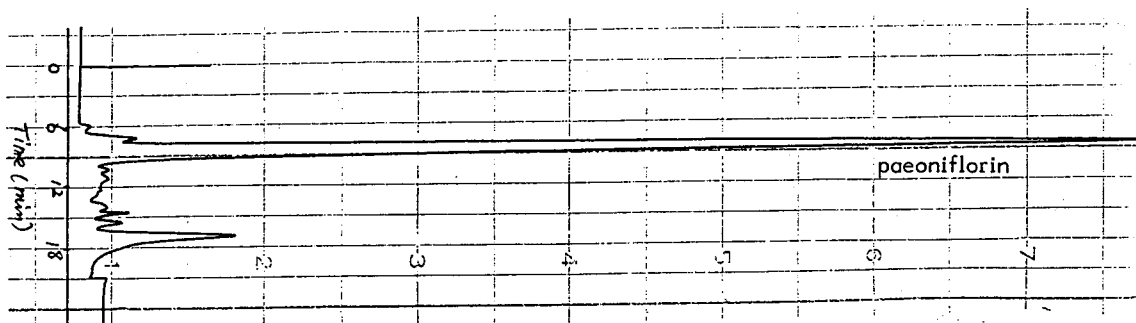
Detector: UV 249nm

Mobile phase: A: 0.05% H₃PO₄ in H₂O, B: CH₃CN: MeOH=40:60

A/B=40/60 → 30/70 → 0/100
20 min 10 min

標準品 daizein 和 puerarin 都很不純, 無法辨認及定量

12. Paeoniae Radix (Paeonia lactiflora Pallas)

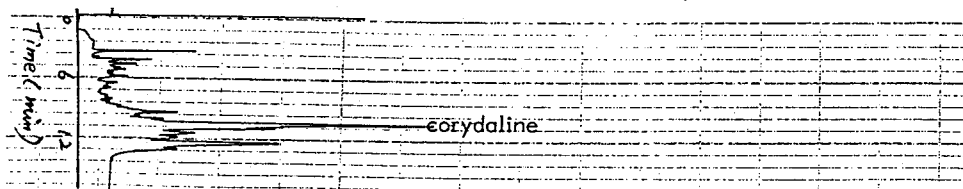


Waters 600E column: Chemcosorb C₁₈ mobile phase: CH₃CN: H₂O=40:60
 Detector: UV 229nm flow rate: 0.5cc/min chart speed: 1/6 cm/min

$$Y = 0.6429 + 4.1929X \quad r = 0.99996 \quad r^2 = 0.99992$$

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
paeoniflorin (mg/g)	9.332	37.810	26.349	30.622	31.556	39.307	9.415	40.957	21.539	18.140

13. Corydalis Tuber (Corydalis ambigua Chamisso et Schlechtendal)



Alcott 760 HPLC Column: Chemcosorb C₁₈ Detector: UV 280nm

Mobile phase: A: CH₃CN: H₂O: H₃PO₄: C₆H₁₅N = 5: 95: 0.1%: 0.01% (0.1ml/l),

B: CH₃CN: H₂O: H₃PO₄: C₆H₁₅N = 90: 10: 0.1%: 0.01%

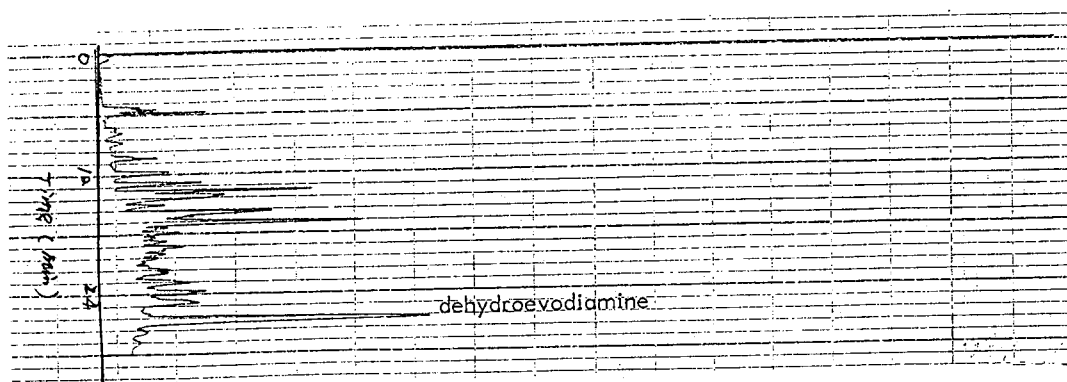
A/B: 100/0 → 60/40 → 0/100 → 0/100
 40 min 15 min 10 min

Flow rate: 0.5cc/min

Chart speed: 1/6 cm/min

標準品 corydaline 雜有相當量雜質未加含量

14. Avodia Fructus (*Evodia rutaecarpa*)



Alcott 760 HPLC

Column: Chemcosorb C_{18} 4.6x 250mm

Detector: UV 254 nm

Mobile phase: A: 5%CH₃CN in H₂O:0.1% H₃PO₄ + C₆H₁₅N(0.1cc/l)

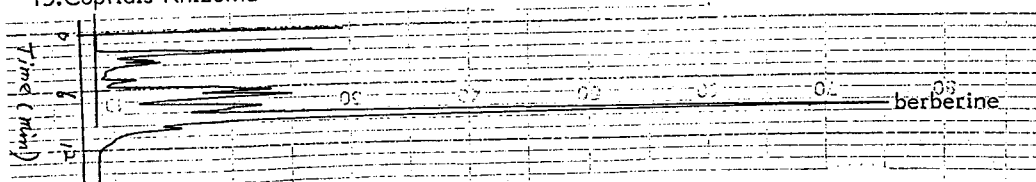
B: CH₃CN: H₂O: H₃PO₄: C₆H₁₅N =90: 10 :0.1% :0.01%(0.1 ml/l)

A/B: 100/0 → 60/40 → 0/100 → 0/100
40 min 15 min 10 min

Flow rate: 0.5 ml/min

Chart speed: 1/6 cm/min

15. Coptidis Rhizoma



Alcott 760 HPLC

Column: VERCOPAK C_{18}

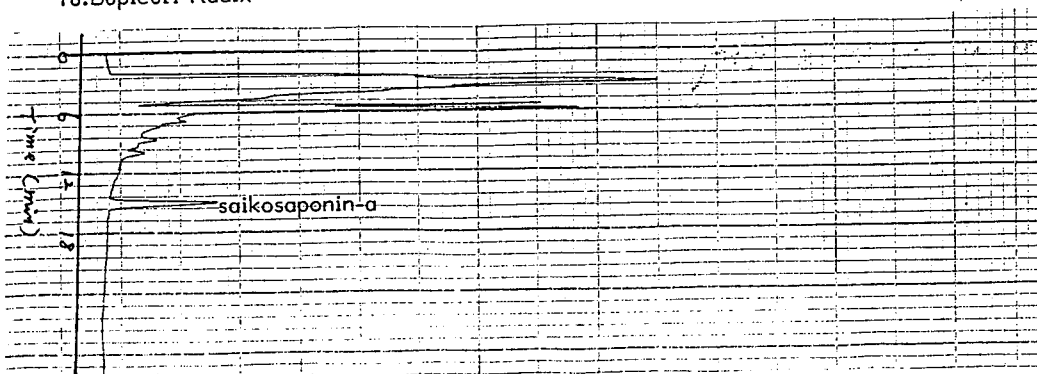
Detector: UV 267 nm

Mobile phase: 0.1M H₃PO₄: CH₃CN=50: 50 + SDS 0.5 g/l

Flow rate : 0.5 ml/min

Chart Speed: 1/6 cm/min

16. Bupleuri Radix



16.

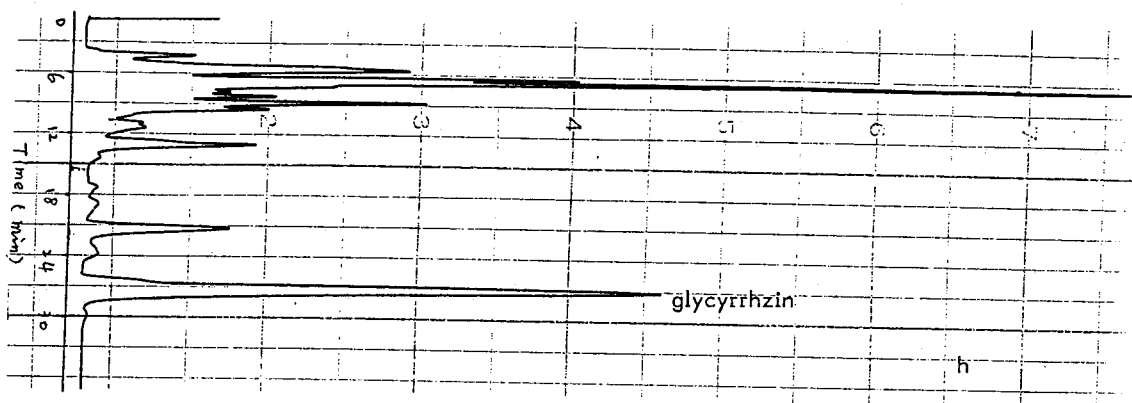
Alcott 760 HPLC

Column: Chemcosorb C₁₈

Mobile phase: A: 10% Acetonitrile, B: 39% acetonitrile

A → B
linear gradient

17. Glycyrrhizae Radix



Waters 600E Detector: UV 254 nm

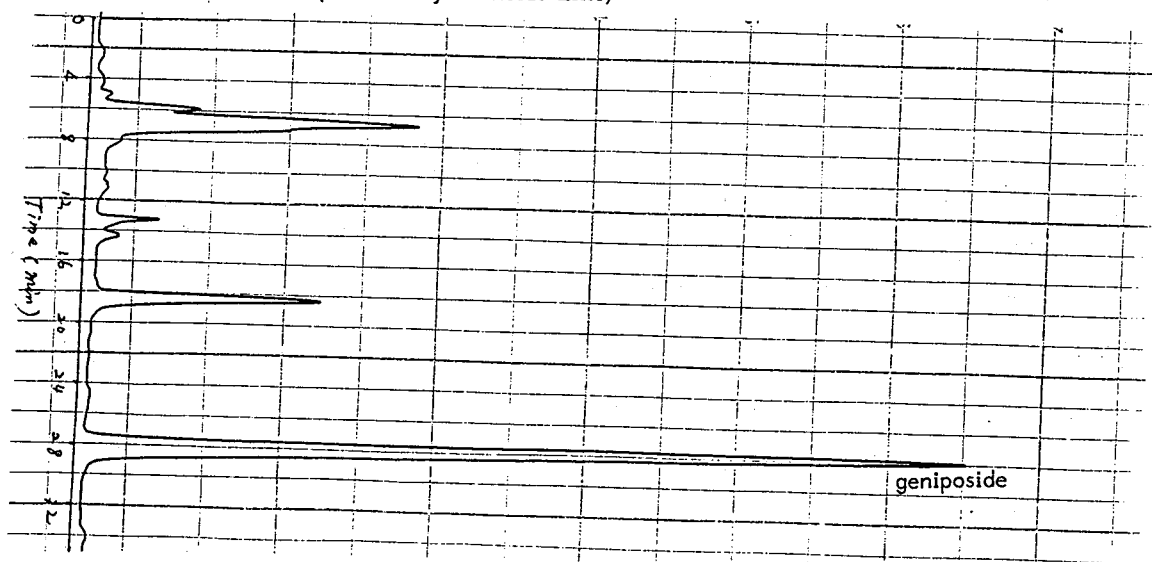
Column: VERCOPAK 4.6 x250 mm

Mobile phase: CH₃CN: H₂O: acetic acid= 40: 60: 1%

flow rate: 0.5cc/min

Chart speed: 1/6 cm/min

18. Gardeniae Fructus(Gardenia jasminoids Ellis)



Waters 600E

Column: Inertsil 5 ODS 4.6 x250 mm

Detector : UV 238 nm

mobile phase: A, H₂O; B, CH₃CN; A/B: 100/0 → 10min → 70/30

Flow rate: 0.6 ml/min

Chart speed: 1/4 cm/min

20 min → 0/100 → 2 min → 0/100

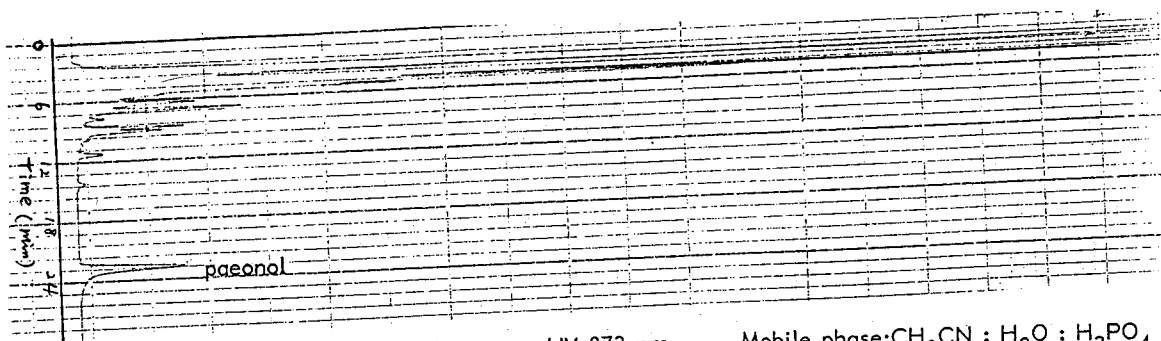
$$18. Y = 0.2211 + 0.6132X$$

$$r = 0.9990$$

$$r^2 = 0.9980$$

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
geniposide (mg/g)	45.949	30.918	51.557	77.718	71.086	44.630	63.833	79.167	50.571	67.21

19. Moutan Radicis Cortex (Paeonia moutan Sims)



Alcott 760 HPLC

Flow rate: 0.6 ml/min

Column: Nucleosil C₁₈

Detector: UV 273 nm

Chart speed: 1/6 cm/min

Mobile phase: CH₃CN : H₂O : H₃PO₄
= 40: 60: 0.1%

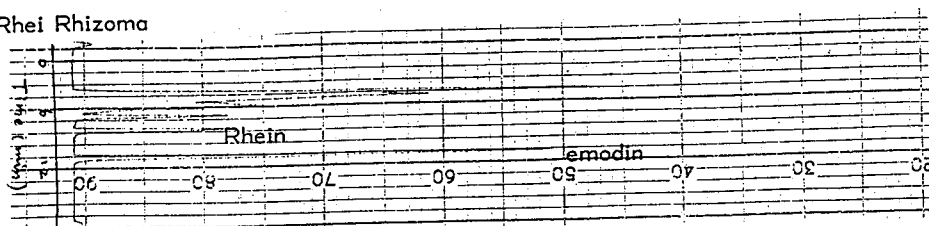
$$Y = -5215.56 + 13998.04 X$$

$$r = 0.9998$$

$$r^2 = 0.9997$$

sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
paeonol (mg/g)	27.797	5.839	1.235	7.810	6.150	2.849	4.157	2.789	1.979	3.959

20. Rhei Rhizoma



Alcott 760 HPLC

Detector: UV 254 nm

Column: Chemcosorb C₁₈, 4.6 x 250 mm

Mobile phase: CH₃CN : H₂O : H₃PO₄ = 75: 25: 0.1%

Flow rate: 0.6 ml/min

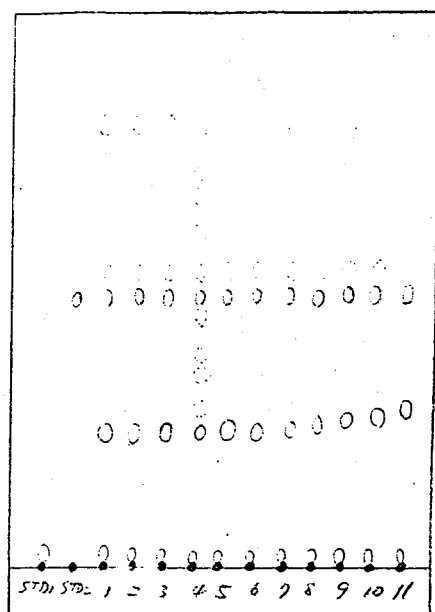
Chart speed: 1/6 cm/min

標準品都不能定量

2. TLC 329:

黄芩

Scutellariae Radix



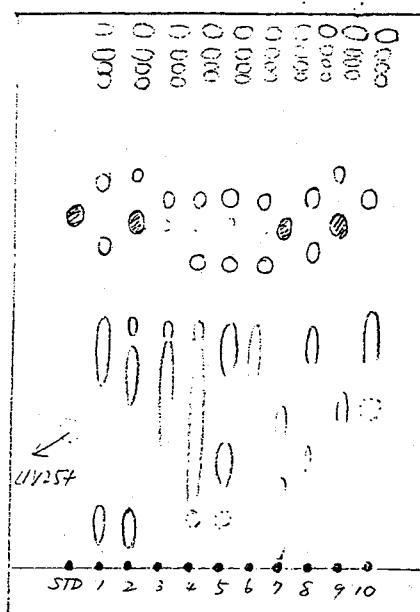
STD₁: baicalein, STD₂: wogonin

solvent system: Toluene:ethyl acetate:MeOH
=8:1:1

sprayer: 1% FeCl₃-MeOH

地黄

Rehmanniae Radix et Rhizoma

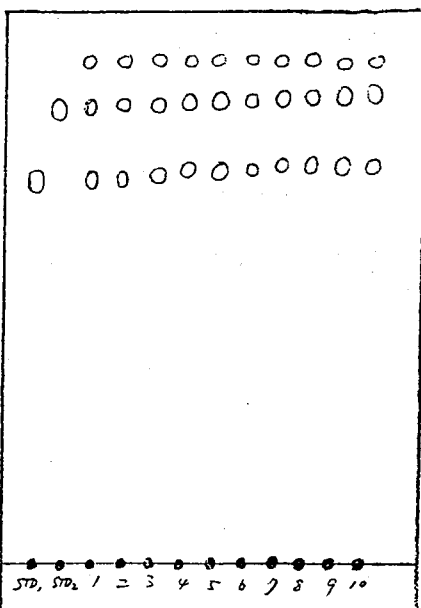


STD: catalpol

solvent system: CHCl₃:MeOH:H₂O=6:4:1

sprayer: p-anisaldehyde/H₃PO₄

延胡索 Corydalis Tuber



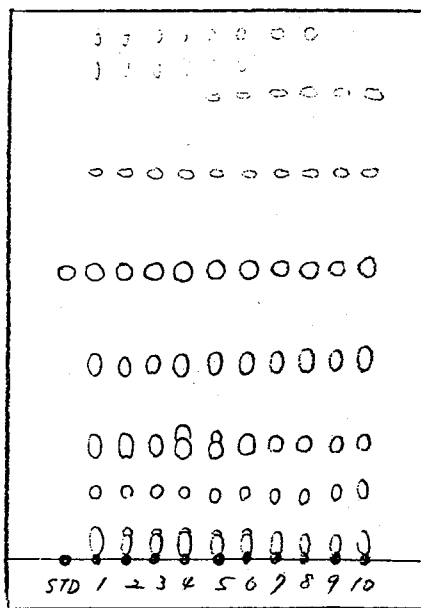
STD₁: corydaline

STD₂: tetrahydro-
palmatine

Solvent system: CHCl₃: MeOH=97.5%:2.5%

Sprayer: Dragendorff

山梔子 Gardeniae Fructus



STD: geniposide

Solvent system: p-anisaldehyde/ H₂SO₄

Sprayer: p-anisaldehyde/ H₂SO₄

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

0

0 0 0 0 0

57D 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Detection: UV, Dragendorff

10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0

11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

STD

Detection: UV , 10% H_2SO_4 Soln

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

8 8 8 8 8 8 8 8 8 8

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

8 8 8 8 8 8 8 8 8 8

0 8 8 8 8 8 8 8 8 8

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

8 8 8 8 8 8 8 8 8 8

0 0 0 0 0 0 0 0 0 0

57D 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

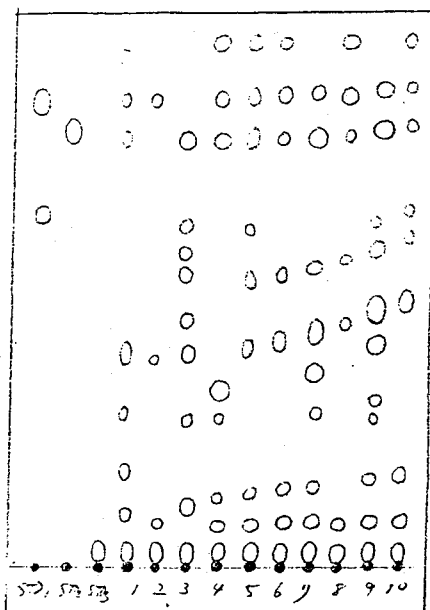
Sprayer: 10% H_2SO_4 soln

Dot Plot: Number of Books Read

Number of Books Read	Frequency (Number of Students)
5	2
6	1
7	3
8	2
9	1
10	1

Sprayer: p-anisaldehyde/ H_2SO_4

吳茱萸 *Evodia Fructus*



STD₁: dehydroevodiamine

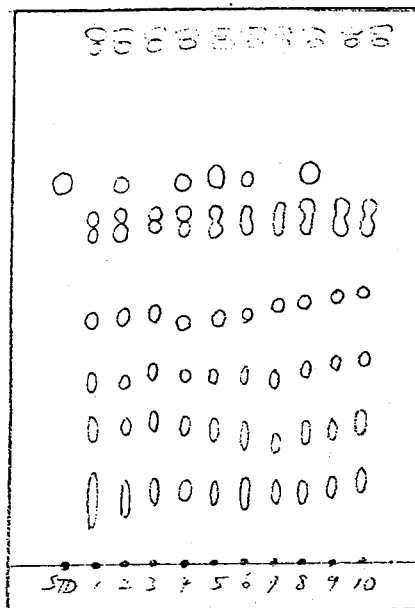
STD₂: evodiamine

STD₃: rutaecarpine

Solvent system: CHCl₃:MeOH=97.5: 2.5

Sprayer: Dragendorff

牡丹皮 *Moutan Radicis Cortex*

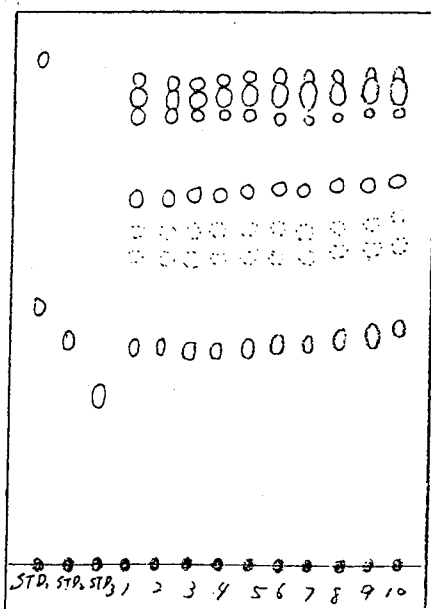


STD: Paeonol

Solvent system: n-hexane: EA=4: 1

Sprayer: p-anisaldehyde/ H₂SO₄

柴胡 *Bupleuri Radix*



STD₁: Saikosaponin-d

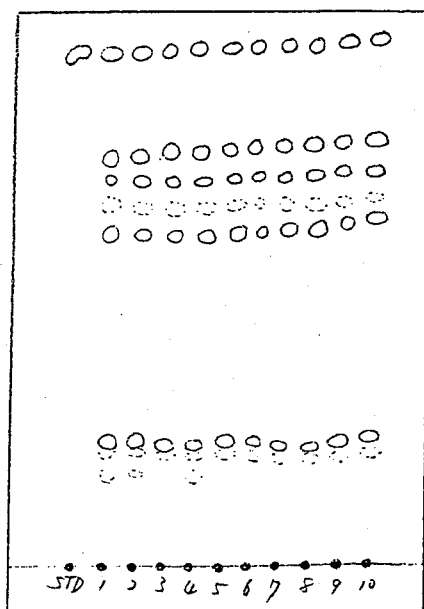
STD₂: Saikosaponin-a

STD₃: Saikosaponin-c

Solvent system :EA:MeOH :H₂O=10:2:1

Sprayer : 10% H₂SO₄

大黃 *Rhei Rhizoma*

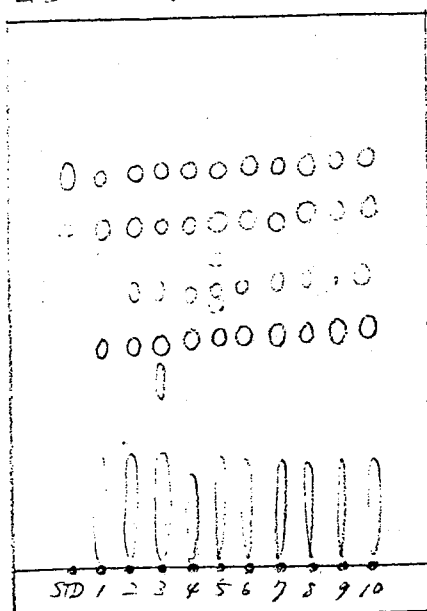


STD: emodin

Solvent system: EtOAc:MeOH:H₂O= 10: 2: 1

Sprayer: 1% FeCl₃/MeOH

玄参 Scrophulariae Radix

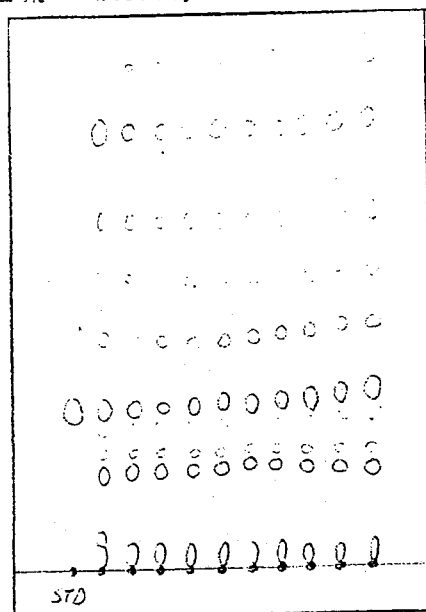


STD: harpagoside

Solvent system: n-butanol:acetic acid:H₂O
=4: 1: 5

Sprayer: p-anisaldehyde/H₂SO₄

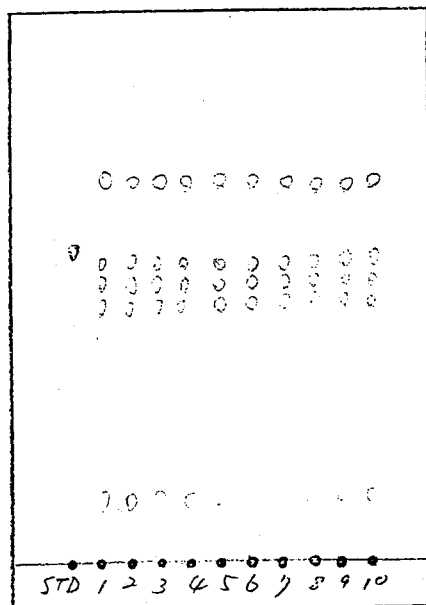
苍朮 Atractylodis Lanceae Rhizome



STD: b-eudesmol

Solvent system: n-hexane: EtOAc= 9: 1
Sprayer: p-anisaldehyde/H₂SO₄

北茵陳:Origanum Vulgare Herba

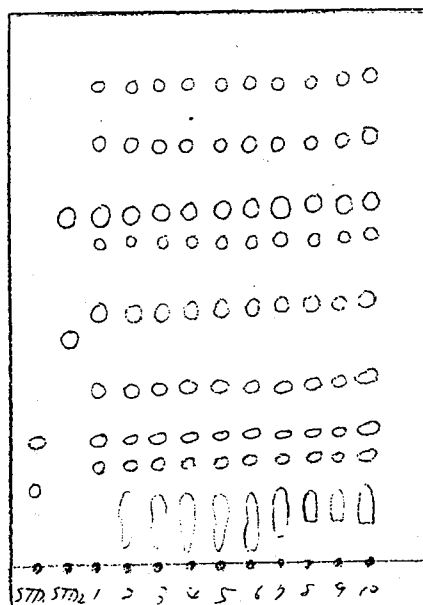


STD: capillarisin

Solvent system: n-hexane: CHCl₃:EtOAc
=4: 1 :1

Sprayer: 10% H₂SO₄

人參 Ginseng Radix

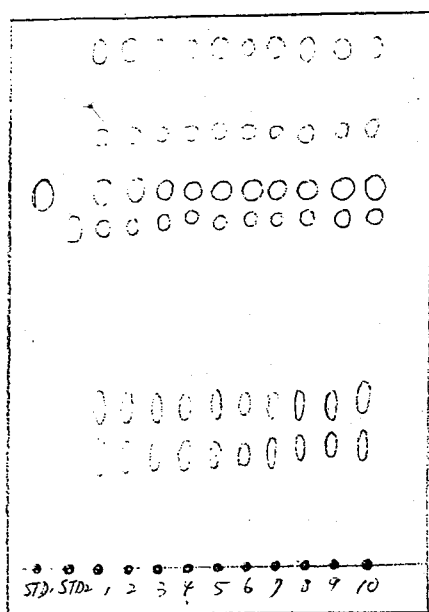


STD₁: ginsenoside R_{g1} STD₂: ginsenoside R_{g2}

Solvent system: n-butanol:acetic acid:H₂O=7:1:2

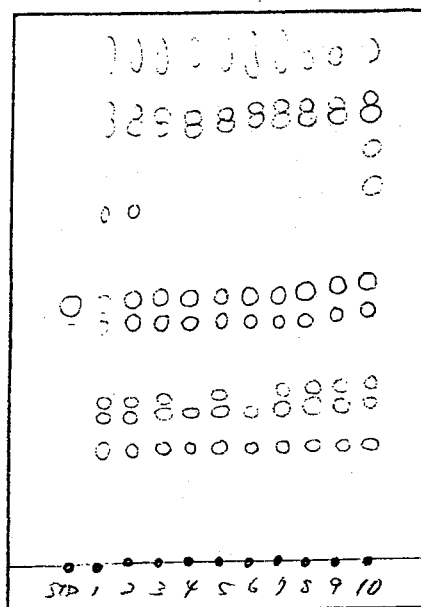
Sprayer: 10% H₂SO₄

厚朴 *Magnoliae Cortex*



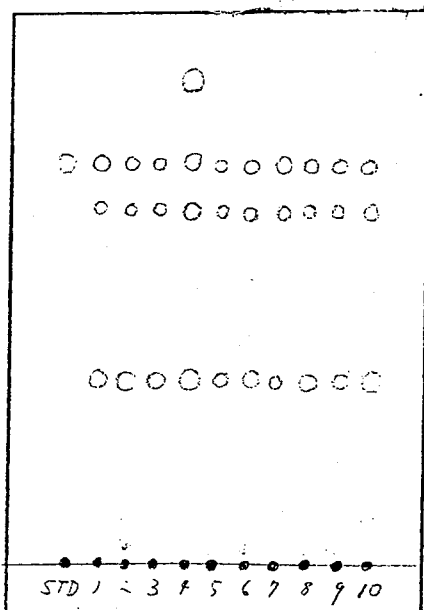
STD₁: honokiol STD₂: magnolol
Solvent system: CHCl₃:EA=6:1
Detection: UV

黄柏 *Phellodendri Cortex*



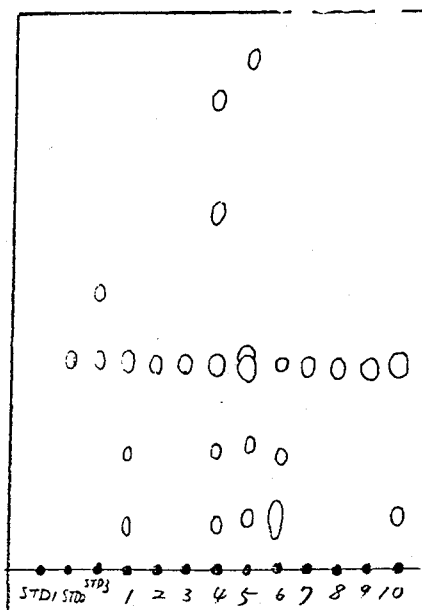
STD: berberine
Solvent system: n-butanol: acetic acid:H₂O
=7: 1: 2
Detection: UV, Dragendorff

芍药 *Paeoniae Albiflorae Radix*



STD: paeoniflorin
Solvent system: n-butanol:acetic acid:H₂O
=7: 1: 2
Sprayer: p-anisaldehyde/H₂SO₄

葛根 *Puerariae Radix*



STD₁: daizein STD₂: daizein
STD₃: puerarin
Solvent system:toluene: CHCl₃:acetone
=40: 25: 35
Detection: UV, 1% FeCl₃-MeOH

四、討論：

- 1.本計畫針對市售 20 種中藥，每種取 10 個樣品進行 TLC 及 HPLC 分析，由 HPLC 分析結果，顯示大部份藥材中指標成分的含量有很大的差異，此可能由於進口藥材生長，採收時間不同，以及品種或代用品不同所致。
- 2.茵陳由於市售藥材有兩種，北茵陳及綿茵陳，前者屬唇形科，後者屬菊科，經 HPLC 分析兩種所含成分也不同，而無論就 TLC 或 HPLC 分析顯示兩者均不含目前一般所使用之指標成分 capillarisin.
- 3.部份藥材如蒼朮及牡丹皮所含成分具揮發性，本計畫中所使用之萃提方式是熱萃取，其含量可能會有漏失，此外或許可考慮以 GC 取代 HPLC 進行定量。
- 4.部份指標成分純度不佳，雜質含量多，造成 HPLC 分析上指標成分峰之確認困難，同時發生定量誤差及難以定量等問題，值得當局注意。

中藥材 DNA 指紋圖譜

I. 省產烏臼及山藥

台北醫學院 · 生藥學科

顏焜熒 · 楊玲玲

摘要：

烏臼為省產峻下逐水藥，和本省固有種山藥之植物形態，成份均十分相近，本研究利用能代表其基因之DNA分下列二方法進行指紋圖譜之建立：

- (1) 葉綠體 DNA因其具有母系相傳 (maternal inheritance)之特性，故可由其限制酶多型性(restriction fragment length polymorphism; RFLP)做為植物品系鑑定、遺傳變異等方面之探討依據。其研究方法，首先是將葉綠體 DNA從植物葉綠體內分離出來後，用限制酶(restriction enzyme)切割，然後跑電泳，分離葉綠體 DNA片斷，以Hind III-digested λ DNA做為分子量的標定 (molecular weight standards)。DNA片斷用ethidium bromide 來染色，然後藉 UV illumination來觀察限制酶片斷圖譜 (restriction fragment patterns)。
- (2) 製備複雜基因體的指紋圖譜，可使用任意選擇的引子 (primers) 和聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction) 來完成。這不需要先知道 DNA的序列。這種研究 DNA多型性的方法簡稱 AP-PCR (Arbitrarily Primed Polymerase Chain reaction)。此法是將任意選擇的單一引子與經CTAB所純化的 total DNA在較低溫下進行煉合 (annealing)，進行三個循環的合成放大，然後進行較高溫下的煉合，進行 41 個循環的合成放大，得到 PCR 產物。然後跑電泳，將不同分子量及序列的 DNA片斷分開，便得到 total DNA 的指紋圖譜。

Key words: 烏臼, 山藥, 葉綠體 DNA, 限制酶片斷, Total DNA, PCR, 圖譜

前言：

藥材之鑑別方法，包括始於內部結構及外部形態之鑑別法，迄目前廣用之化學主成分分析鑑別法。形態、結構是經由光學顯微鏡之細胞形態學及微量化學顯微反應，然而近年來由於中藥在中國大陸由於政策之改變，藥農為達生產量提高之目的，忽略了品質的管制，且因地大物博，根據昆明植物研究院在 78 在日本生藥學會之報導，僅延胡索 *Corydalis* 就有四、五十種，中藥材之鑑別除以內部構造及外部型態學為主，近年來成分分析法如 TLC, HPLC 等色層分析亦廣泛被運用。但這些方法對品種皆近之近緣植物，因組成成分極為類似，往往不易鑑別之。今日之科技已漸進入細胞生物學之時代[10]，眾所皆知，DNA 序列最能代表植物品種的特異性，因此可利用分子生物學之基礎將中藥材之 DNA 進行實驗分析，藉此表現品種之特異性。因此本研究擬以細胞分化、分離法進行植物體器官之單離，此研究法在國外已進行略有成就，而國內尚未將中藥材以生物細胞學之方法進行品質鑑別。本年度擬進行省產峻下逐水藥材——烏墾及近緣植物山墾之 DNA 指紋圖譜探討研究方法首先是應用葉綠體的純化及染色體 DNA 限制 圖譜多行性之研究方法。因干擾成分的存在，妨礙葉綠體的純化及染色體 DNA 污染搭問題，使該研究方法不易進行。

由於新進 AP-PCR 技術的發展給與的啓示，本研究亦採用簡單、迅速的 AP-PCR 研究方法，並配合以 CTAB 萃取、純化 DNA 的方法，製得 AP-CPR DNA 指紋圖譜。在模板濃度、煉合溫度、循環次數、PCR 試劑的濃度皆固定的條件下，能備製特定的 AP-PCR DNA 指紋圖譜具有鑑別品種之間多型性的價值。

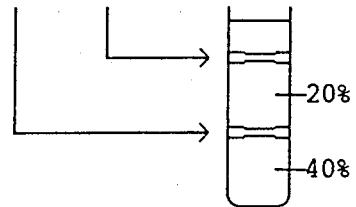
實驗材料及方法

(I) 材料: ^{烏桕}*Sapium sebiferum* Roxb. 及 ^{山欖}*S. discolor* (大戟科 Euphorbiaceae) 之嫩葉, 於實驗前採自台北醫學院藥園。除去葉脈, 放入冰桶中加入液態氮凍結, 存於液態氮中儲存。試驗時再取出適當之量進行下列 DNA 分離。精製用。

(II) 實驗步驟:

(一) 葉綠體 DNA 之製備: 11, 12, 13,) (Preparation of cpDNA)

1. 30g leaves + 250 ml Grinding buffer (GR buffer).
2. break in blade-razor for several times (about 6-7 times), 2-3 sec each.
3. 2 layers-miracloth filtrate.
4. spin 7K, 4°C, when reach 7K, then stop.
5. Pellet + 3 ml of GR buffer, resuspend completely.
註: Use micropipette to absorb and then inject for several times.
6. layer onto 20%-40% PBF-Percoll step gradient.
註: carefully drop the chloroplast suspension along the wall with the dropper. (operating on the ice.)
7. spin 8K, 30 min, 4°C (operating in swing bucket rotor).
8. take band (green layers) out. (there are two bands)



9. add 4×~6× vol GR buffer.
10. spin 10K, 5 min.
11. Pellet + 2 ml Extraction buffer (preheat at 80°C).
12. quick shake at 60°C for 5 min.
註: 加熱目的是在抑制 enzyme activity。
13. incubate at 60°C for 30 min.
14. add equal vol phenol extraction for 30 min, mix gently, at RT.
註: Phenol can denaturate and precipitate protein.
15. spin 13K, 20 min, at RT.
16. Take upper clear phase + 1/10 vol 3M NaOAc + 0.6 vol isopropanol, at RT, 5 min.
17. spin 13K, 10 min, at RT.
18. At 1 ml of 80% EtOH wash and quick spin, air dry.

- 1 9 . dissolve in 100 ul TE (pH 8.0) overnight at 4°C.
註: Tris (10 mM) + EDTA (10 mM) = TE (pH 8.0).
- 2 0 . Mix completely again, quick spin, then transfer to eppendorf tube.
- 2 1 . Add 0.5 ul (10 mg/ml) RNAase A to final conc. 50 ug/ml, at 37°C, 90 min.
- 2 2 . then add SDS (2.5 ul, 20% SDS to final conc. 0.5%) + proteinase K (0.5 ul 20 mg/ml to final conc. 100 ug/ml), at 37°C, 90 min.
註: SDS can promote the activity of the proteinase K.
- 2 3 . add TE (pH 8.0) 100 ul to final vol 200 ul. Centrifugation for a moment, make steam settle down.
- 2 4 . add equal vol phenol (1X), gently shaking.
- 2 5 . spin 13K, 5 min, at RT.
- 2 6 . take upper phase + 100 ul phenol and 100 ul chloroform.
註: 1. Phenol and chloroform → denaturated agent.
2. Chloroform 能促進分層。
- 2 7 . spin 13K, 5 min, at RT.
- 2 8 . take upper phase + 1/10 vol 3M NaOAc + 0,6 vol isopropanol mix well at RT.
- 2 9 . spin 13K, 10 min, at RT.
- 3 0 . wash with 80% EtOH (1 ml), quick spin, air dry.
註: 加入 EtOH 的目的是要洗除 NaOAc and isopropanol。
- 3 1 . dissolve in 25 ul T(10 mM)E(0.1 mM) (pH 8.0) overnight.

(二) 葉綠體限制酶片斷之製備:

(Preparation of restriction fragment patterns of cpDNA)

A. Preparation of cutted cpDNA samples:

- 1 . Take the samples from the freezer.
- 2 . gently shaking the tube, mix well.
- 3 . centrifugation (make the steam settle down).
- 4 . take 1 ul of sample (cpDNA) with micropipette.
(use the tip of micropipette to stir it for a moment , then absorb 1 ul of cpDNA suspension)

5. add following reagent:

1	upper DNA	1 ul
2	10×low salt	2 ul
3	1N NaCl	2.5 ul
4	d-H ₂ O	13.5 ul
5	Bam HI	1 ul
6	Tatal	20 ul

註: 1. Bam HI was prestored in freezer before using.

2. After adding Bam HI, stir it for a moment.

6. reaction for 3 hr.

7. take out and centrifugation.

8. add 2 ul of loading dye.

B. Preparation of uncutted DNA samples:

1. take 0.5 ul or 1 ul of cpDNA suspension.

2. add 2 ul of 10×low salt.

3. add 1N NaCl 2.5 ul.

4. add d-H₂O to 20 ul. (add 15 ul of d-H₂O)

5. add 2 ul of loading dye.

C. Electrophoresis:

1. add all of the asmples (including cutted and uncutted DNA samples) and marker into the well of gel.

2. start the electrophoresis (60V).

(三) 電泳試劑之調製:

A. Preparation of Gel: (0.8% Agarose gel)

1. 0.28 g of agarose + 3.5 ml of 10×TBE

2. add d-H₂O to total vol 35 ml

3. heat and make agarose dissolve.

註：在加熱前、須做 Mark 來標示 Agarose solution 的液面、待加熱後、solution 因蒸發而喪失少許水份、加 d-H₂O 到 Mark、來維持其濃度。（注意：須加熱到 Agarose 完全溶解為止。）

4. add 1.7 ul (10mg/ml) EtBr(Ethidium bromide) to final conc. 0.5ug/ml

5. cool down to about 50°C.

6. pour onto tray.

註：Ethidium bromide can be used to detect both single- and double-stranded nucleic acids (both DNA and RNA). However, the affinity of the dye for single-stranded nucleic acid is relatively low and the fluorescent yield is poor.

註：Tris-Borate (TBE):

Working solution: (1×)	Concentrated stock solution (5×)
0.089 M Tris-borate 0.089 M boric acid 0.002 M EDTA	Per liter: Tris base 54 g boric acid 27.5 g 0.05 M EDTA (pH 8.0) 20 ml

B. Preparation of marker:

λ H ^{ind} DNA (Predigested by Hind III)	3 ul
10×low salt	3 ul
1N NaCl	2.5 ul
d-H ₂ O	12.5 ul
Total	20 ul

1. heat at 65~70°C, 5-10 min.

註：The purpose of heating: prevent from forming circular DNA.

2. add 2 ul of 10×loading dye.

註：The purpose of adding loading dye:

1. We can detect the DNA by dying.

2. Because loading dye contains glycerol, it can increase the density of DNA suspension.

→ DNA is easy to settle down into the well of gel.

C. preparation of running buffer:

1. add 25 ml of (10×)TBE into cylinder.
2. add d-H₂O to total vol 250 ml.
3. add 12.5 ul EtBr (final conc = 0.5 ug/ml)
4. mix well.

D. Gel-Loading Buffers:

1. Buffer type: III
2. 6×buffer: 0.25% bromophenol blue
0.25% xylene cyanol
30% glycerol in H₂O
3. Storage temperature: 4°C

E. Buffers for Restriction endonuclease digestion:

1. Low-salt Buffer: (1×)
10 mM Tris:Cl (pH 7.5)
10 mM MgCl₂
1 mM dithiothreitol
2. Medium-salt Buffer: (1×)
50 mM NaCl
10 mM Tris:Cl (pH 7.5)
10 mM MgCl₂
1 mM dithiothreitol
3. High-salt Buffer: (1×)
100 mM NaCl
50 mM Tris:Cl (pH 7.5)
10 mM MgCl₂
1 mM dithiothreitol

F. Restriction enzyme digestion: (20 ul)

Buffer	10×low salt	1N NaCl
Low salt	2 ul	—
Med. salt	2 ul	1 ul (50mM)
High salt	2 ul	2.5 ul (125mM)

(四) Total DNA 之微量製備(mini preparation of total DNA)

1. take leaves 0.5 g.
2. Grind in liquid N₂ with cool mortar and pestle.
3. add extraction buffer, shaking 5 min at 60°C.
(Before adding extraction buffer, preheat it to 80°C.)
4. incubate at 60°C for 90 min.
(During the incubation, occasionally shaking, let mix well.)
5. spin 13K, 20 min, 4°C.
6. take supernatant, then add to eppendorf tube.
7. add phenol to full.
8. Gently shaking 30 min.
10. spin 13K, 10 min, 15°C.
(We can observe thick protein layer in the interface between the phenol layer and extraction buffer layer.)
11. add equal volume of phenol to supernatant.
 - a. *Sapium sebiferum*: add 600 ul of phenol.
 - b. *Sapium discolor*: add 520 ul of phenol.
12. Gently shaking 30 min.
13. spin 13K, 10 min, 22°C.
14. supernatant + equal volume of phenol.
 - a. *Sapium sebiferum*: add 450 ul.
 - b. *Sapium discolor*: add 520 ul.
15. gently shaking 20 min.
16. spin 15K, 10 min, 22°C.

17. Supernatant + equal volume of phenol (about 500 ul), gently shaking 20 min.
18. spin 13K, 10 min, 22°C.
19. supernatant + TE buffer (add to 500 ul).
20. add 500 ul of phenol, gently shaking 20 min.
21. spin 13K, 10 min, 22°C.
22. add 1/10 V of NaOAc and 0.6 V isopropanol.
23. spin 13K, 10 min, 4°C.
24. remove supernatant.
25. air drying.
26. add 200 ul of TE buffer, over night.
27. add 100 ul of TE buffer.
 - a. *Sapium sebiferum*: total volume = 350 ul.
 - b. *Sapium discolor*: total volume = 350 ul.
28. add 1.75 ul of RNase (10 ug/ul), then gently stir it with micropipette tip.
29. incubat at 60°C for 90 min.

(RNase can maintain its enzyme activity at 60°C.)
30. add SDS to 0.5% and proteinase K to 100 ug/ml.
31. incubate at 50°C for 2 hr.

(Proteinase K can maintain its enzyme activity at 50°C.)
32. add equal volume of phenol (about 360 ul), gently shaking for 20 min.
33. spin 13K, 7 min, 22°C.
34. supernatant + equal volume of phenol/CHCl₃.

(phenol/CHCl₃ = 1 : 1)
35. gently shaking for 15 min.
36. spin 13K, 7 min, 22°C.
37. supernatant + equal volume of phenol/CHCl₃.
38. spin 13K, 10 min, 21°C.
39. supernatant + 1/10 V NaOAc, mix well.
40. add 2 times volume of 100% ethanol, mix well, DNA and polysaccharide appear.
41. spin 13K, 10 min, 21°C, remove supernatant.
42. pellet + 80% of ethanol, washing, air drying.
43. add 30 ul of TE, then add 20 ul of TE (10:1), over night.
44. heat at 50°C, make it melt to liquid.

45. pipette 6 ul of sample to run electrophoresis.

- a. DNA sample 6 ul
- b. TE buffer 3 ul
- c. loading dye 2 ul

46. The result of electrophoresis:

(五) 山白與烏白 Total DNA 之抽取

(Extraction of S.s. and S.d. Total DNA)

1. Fresh leaves 3 g.
2. Grind in liquid N₂ with cool mortar and pestle.
3. Quickly transfer to a 50 ml orange top tube containing 9 ml preheated extraction buffer (80°C), mix thoroughly.
4. Incubate at 60°C, for 90 min, with occasionally shaking.
(The liquid portion become viscous.)
5. Put into Sigma rotor, swelling for 10 min, 5K.
6. Pipette supernatant, transfer to another 50 ml tube, add 5M NaCl to 0.7M and 1/10 vol 10% CTAB-0.7M NaCl.
7. Incubate 65°C for 10 min, cool to RT. (>20°C)
8. Extract with equal volume of CHCl₃^{iso}/isoamylalcohol (24:1) mix 30 min gently.
9. Spin at RT (>20°C), 15K for 10 min.
(We use Kubota 6800 rotor (RA-300) to spin.)
10. Supernatant + 1/10 vol 10% CTAB-0.7M NaCl + equal vol of CHCl₃^{iso}/iso-amylalcohol extraction again.
11. Spin for 10 min, 15K, RT.
12. Supernatant + 0.6 vol isopropanol, mix well.
13. Spin for 10 min, 13.5K, RT. (Sigma 2-MK rotor)
14. Remove supernatant, air drying.
15. Pellet + 5 ml H₂O; warm at 60°C, gently shaking till completely dissolve.
16. Then add 1/10 vol 3M NaOAc and 2*vol 100% ethanol (RT), large thread will form (precipitating DNA and polysaccharide), transfer thread with glass rod to a 10 ml tube containing 10 ml 80% ethanol, 15 mM NH₄ OAc.
17. After washing, short spin (13K) to remove any liquid. (Beckman J2-21 M/E)

18. Dry pellet gently, dissolve in 1 ml TE buffer, then store in 4°C, over night.
19. Take out, discovering that pellet has not completely dissolved in TE buffer; shaking at 37°C, promote to dissolve.
20. Add RNase to 50 ug/ml, at 37°C for 2 hr.
21. Then add SDS to 0.5% and proteinase K to 100 ug/ml, incubate at 37°C for 1 hr.
22. Dilute with TE to 10 ml.
23. Add 5M NaCl to final 0.7M conc.
24. Add 1/10 vol 10% CTAB-0.7M NaCl, keep temperature >20°C.
25. Add equal vol of CHCl₃-isoamylalcohol (24:1) extract for 10 min.
26. Spin for 10 min, RT, 13.5K. (Sigma 2-MK)
27. Supernatant + equal vol 1% CTAB in 50 mM Tris (pH 8.0), mix, set at RT, over night.
28. Spin for 10 min, 10K, RT. (Sigma-2MK)
29. Remove supernatant, air drying gently.
30. Add 2 ml 5M NaCl, gently mix for 1 hr.
31. Then add 8 ml of TE, warm to 60°C till dissolving completely.
32. Add 2*vol 100% ethanol. (at RT)
33. Spin for 20 min, 15K, RT.
34. Remove supernatant, add 5 ml of 80% ethanol and 15 mM NH₄ OAc, gently washing.
35. Spin for 20 min, 15K, RT.
36. Remove supernatant, air drying, then add 100 ul of TE, over night.
37. Add TE buffer to 500 ul, gently shaking for one day.
38. Spin, pipette it.
39. Add 1/10 vol NaOAc and 2*vol 100% ethanol, mix.
40. Remove supernatant, air drying.
41. Add 50 ul of TE buffer, over night.
42. Take 3 ul, check with 0.8% of agarose gel.

(六) ARBITRARILY PRIMED POLYMERASE CHAIN REACTION

PERKIN ELMER CETUS

761 Main Ave., Core Reagents

GeneAmp PCR Core Reagents

1. H ₂ O (PCR grade)	X ul
2. 10*PCR buffer	10 ul
3. dNTPs	8 ul
4. Primer (100 pmole/ul)	1 ul
5. MgCl ₂	16 ul
6. DNA	Y ul
7. Taq DNA polymerase	0.5 ul (2.5U)

*Total volume: 100 ul in 500 ul eppendorf tube.

*Overlay w/o 50 ul of mineral oil in 500 ul eppendorf tube.

*X+Y=65 ul.

**Use LFC program:

- 3 cycles: 94°C 5 min.
40°C 5 min.
72°C 5 min.
- 41 cycles: 94°C 1 min.
50°C 1 min.
72°C 2 min.

--then store in 4°C

--take 15 ul of sample, check with 1.5% agarose gel.

**Primer: M13 (Sequence: GTAAAACGACGGCCAGT)

結果：

一.葉綠體DNA之分離及指紋圖譜

- (1).在今年一月底,由山稻及烏桕葉抽取所得的葉綠體DNA經Bam HI限制切割後跑電泳,結果無法得到葉綠體DNA限制指紋圖譜,由圖GI,可看出抽取所得的葉綠體DNA受到細胞核內染色體DNA的污染(4)(3),所以經限制切割後,形成許多大大小小的DNA片段,因此跑出的電泳呈現連續帶狀,而非點型葉綠體DNA片段的指紋圖譜。

二.Total DNA 之分離及指紋圖譜

- (1)第一次嘗試備製total DNA的方法,是採用微量製備水稻total DNA的方法。經此方法所得的total DNA跑電泳後,由Fig2,可觀察到烏桕DNA的量極微,山稻DNA的量則較多些,但皆有被DNase分解現象。經檢討整個操作步驟,發現此乃phenol萃取純化過程不夠徹底,造成DNase的殘存。
- (2)再次重覆此DNA製備法,並將phenol萃取純化步驟重覆多次,期望能有效純化total DNA經改進的備製法所得total DNA,跑電泳後,得圖fig3可看出total DNA分解情形已減少,但DNA的量仍過少。雖然DNA得的量不夠多,仍嘗試進行AP-PCR,但結果不盡理想,得不到PCR產物。
- (3)烏桕和山稻因富含多糖類 (poly saccharide) 及雜質,不僅影響 total DNA的純化,同時亦會妨礙引子的煉合及 taq DNA polymerase 的合成能力。因此如何去除多糖類及雜質,是克服中點所在。過去常利用 cesium chloride density gradient 來萃取.純化植物 total DNA,來減少具有抑制酵素活性的多糖類,但此法昂貴且耗時,需要超高速離心機設備(2)。近年來,由Murray和Thompson(5) 及Taylor和Powell(6)所發展以TCAB來萃取核酸的方法。由於省時,便宜,不需要超高速離心設備即可進行,因而漸被廣泛採用。CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) 在 0.7M NaCl濃度下,能與多糖類 (polysaccharides) 及蛋白質錯合,在CHCl₃/isoamylalcohol 萃取下被除去。(7)DNA在此鹽濃度下,與CTAB形成可溶性錯合物,但當其鹽濃度減少,小於 0.4M NaCl 時, CTAB/nucleic acid complex會沉澱析出,而多糖類在此條件下仍呈溶解態,因此DNA便能與多糖類分離。基於 TCAB有此優異的特性,便採用CTAB來純化烏桕和山稻的total DNA,經此方法所得total DNA,藉跑電泳來檢視之如Fig.4.由該圖可看出萃取的DNA量相當多,且無明顯的分解現象,所以運用CTAB來純化烏桕和山稻 total DNA的方法相當有效。(4)上述方法取得純化的total DNA,依據DNA經 ethidium bromide 染色在UV下所顯示的螢光強度取6ul的total DNA跑AP-PCR,採用LFC program,所得AP-PCR產物,經跑電泳後,得圖Fig.5.,檢視之,烏桕的DNA無AP-PCR產物做出,而山稻DNA則只有部
桕 稻

分AP-PCR產物做出。(5)模板DNA的濃度(template DNA concentration)會影響AP-PCR產物的型式(the pattern of AP-PCR products)。因此嘗試取1ul, 2ul, 3ul, 6ul的Total DNA, 再做一次AP-PCR, 所得產物, 經跑電泳後, 得圖Fig. 6., 檢視之, 可發覺在1ul, 及2ul的DNA量下, AP-PCR的帶(bands)較明顯, 且數目較多, 這表示AP-PCR的合成反應較完全。(三)烏桕和山柃DNA指紋圖譜之建立由以上之實驗結果, 可知AP-PCR的DNA指紋圖譜具有template titration現象(1)依此原理, 亦取1ul, 2ul, 3ul的山柃total DNA, 作AP-PCR其產物與烏桕的1ul total DNA所作出AP-PCR產物, 在電泳上做比較, 得圖Fig. 7. 由此圖可看出山柃的total DNA的AP-PCR產物亦有template titration現象。以2ul及3ul total DNA的量所作出的AP-PCR產物指紋圖譜較完整, 與烏桕1ul 所total DNA所作出的AP-PCR指紋圖譜比較, 可看出兩者之間有所差別, 所以此實驗結果, 已初步達到以AP-PCR DNA指紋圖來鑑別烏桕和山柃之間品種差異的目的。

討論：

一. 關於植物葉綠體DNA(CP-DNA), 已有多種植物之葉綠體DNA, 已進行其限制圖譜之製作¹⁾。葉綠體為植物行光合作用, 細胞內之最小器官, 它具有獨自之DNA及遺傳情報系。葉綠體DNA為120--190 kb 之二個鎖之環狀分子²⁾³⁾及150--200個之遺傳子。因此是最常被使用之實驗材料。一般在禾本科植物如稻、米、小麥、玉米、等農作物, 以及茄科之香煙屬之植物, 均有許之文獻可查, 然而中藥材之鑑別上, 則尚未有研究報告。

二. 由植物細胞和由動物細胞及細菌, 分不離DNA略有不同, 分離植物細胞需特別注意下列幾點

- (1) 植物組織含有硬之纖維植, 需用較緩和小心之方法才不會破壞細胞。
- (2) 植物細胞中, 一般具有大的液胞, 當細胞受破壞後, 其中之有機酸會溶出, 因此大部分之PH質會顯著下降
- (3) 一般植物中DNA之含量均很低
- (4) 植物體中含有水溶性之多酚類及多糖類, 因此在DNA精製過程中常受影響

結論：

以外部型態, 內部結構, 及色層分析法來鑑別中藥材的品種, 各有其優點及價值, 但亦有其限制。因此另尋一條鑑別品種的方法是相當需要的。

經本研究結果之後, 認為AP-PCR基因指紋圖譜(AP-PCR genomic fingerprints) 是較理想。AP-PCR不需要特別設定的引子, 可在不考慮基因體的序列情形下, 任意選擇引子, 這使得AP-PCR的操作簡單化, 且省時。選用不同的引子, 可形成不同型式的AP-PCR, 基因體指紋圖譜, 而這些指紋圖譜能有有效的表現植物品系間的多型性。因此我們將預期AP-PCR基因指紋圖譜將是未來鑑別中藥材品種之間多型性差異的利器。

參考文獻：

1. John Welsh and Michael McClelland.(1990). Nucleic Acid Research, 18, 7213-7218.
2. Scott O. Rogers and Arnold J. Bendich.(1985) Plant Molecular Biology, 5, 69-76.
3. C. Lichtenstein and J. Draper (1988). Genetic Engineering of Plants: DNA Cloning Vol II, a [ractoca; a[[rpacj, edoted bu D M Glover, IRL press , Oxford. Washington, pl02-108.
4. W. Schuster, R. Hiesel, B. Wissinger, W. Schobel and A. brennicke (1988). Plant mitochondria and their genomes: Plant molecular biology, a practical approach, CH Shaw (ed), IRL press, Oxford. Washington, p85-88.
5. Murray HG. thompson WF: Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acid Res 8:4321-4325, 1980.
6. Taylor B, Powell A: Isolation of plant DNA and RNA. Focus 4:4-6, 1982.
7. Phillip A. Sharp (1987); Preparation and Analysis of DNA: Current Protocols in Molecular Biology, Frederick M. Ausubel et al (eds.). New York, 2.4.5.
8. Jo ann Bands and C. William birky, Jr.(1985). Proc. Natl. acad. Sci. USA 82,6950-6954.
9. D. B. Neale, M.A. Saghai-Marooof, R. W. Allard, Q. Zhang and A. Jorgensen (1988), Genetics, 120, 1105-1110.
10. Jeffrey D. Palmer: Chloroplast DNA and Phylogenetic Relationships, Plants vol II, p.63-76
11. Hui- lin Li et al (1977): Flora of Taiwan, vol III, p494-496
12. 衫浦昌弘:蛋白質.核酸.酵素, No.30, 288-307(1987)
13. Dyer, T.A. : in Chloroplast Biogenesis (eds, baker, N.R., Baker, J.) pp.23-69, Elsevier, Amsterdam (1984)
14. Palmer, J.D.: Ann. Rev. Genet, 19, 325-534(1985)

01-30-'91

(cut) (cut)
L. L. U. U. XH3

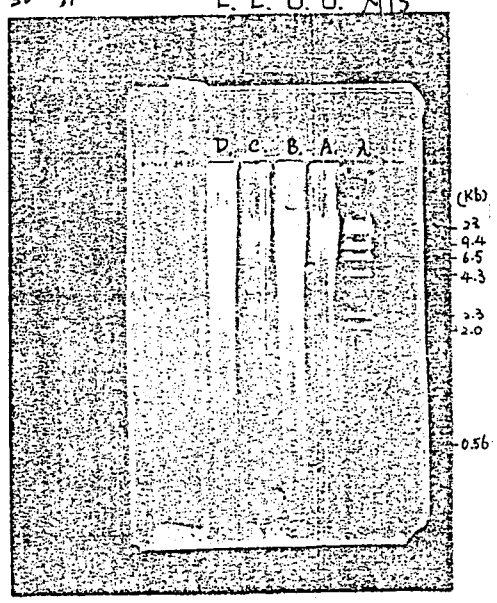


Fig. 1. 抽取烏桕 chloroplast DNA, 經 BamHI restriction enzyme 切割後, 經跑电泳後的照片。λ 是 Hind III-digested λ DNA, 做為 marker。A, B 是離心後, 上層 chloroplast 經 lysis 後的 DNA, A 的 DNA 未用 BamHI 切割, B 的 DNA 則經 BamHI 切割。C, D 是離心後, 下層 chloroplast 層, 經 lysis 後的 DNA, C 的 DNA 未用 BamHI 切割, D 的 DNA 則用 BamHI 切割。

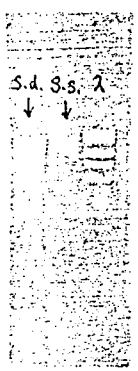


Fig. 2. 烏桕和山桕經 Mini preparation of rice total DNA 方法所得 total DNA, 經跑电泳後的照片。S.s 表烏桕, S.d. 表山桕。



Fig. 3. 烏桕和山桕經 Repeat Mini: Preparation of total DNA 後所得 total DNA, 經跑电泳後照片。

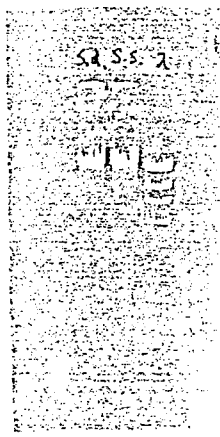


Fig. 4. 烏桕和山桕經 CTAB 萃取純化 total DNA 方法所製備的 total DNA, 經跑电泳後照片。

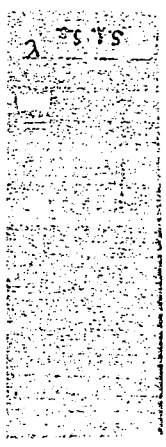


Fig. 5. 經 CTAB 純化後所得烏桕和山桕 total DNA, 經 AP-PCR 的反應, 所得產物, 經跑电泳後照片。

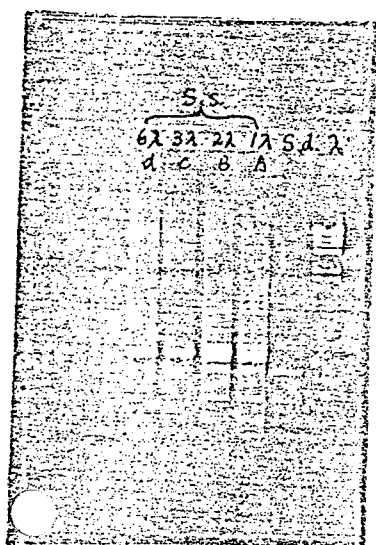


Fig. 6. 取 1μl, 2μl, 3μl, 6μl 的經 CTAB 純化法所得之烏桕 total DNA, 重做 AP-PCR 後, 其產物跑电泳之照片。S.d. 是上次取 6μl 的烏桕 total DNA 做 AP-PCR 的產物。

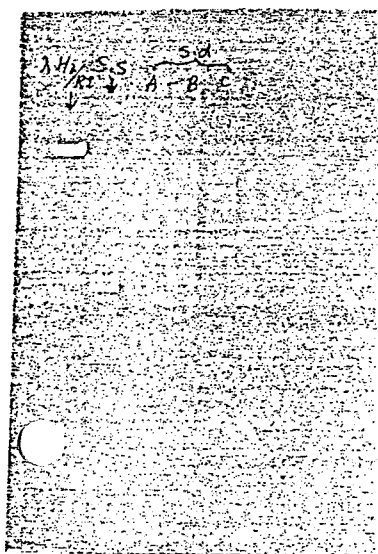


Fig. 7. A. B. C. 分別代表以 1μl, 2μl, 3μl 的經 CTAB 純化法所得之烏桕 total DNA, 重做 AP-PCR 的產物, 經电泳後之 fingerprints。S.S. 是 1μl 的烏桕 total DNA 做 AP-PCR 的產物。λH₃/RI 是 HindIII & EcoRI - digested λ DNA, 故為 marker。

中醫外科常用中藥方劑之研究 (1)

如意金黃散之研究

台北醫學院 · 醫學系

陳守誠

摘要

本研究在於建立中醫外科常用中藥方劑之生物活性檢測法，並以如意金黃散為本年度之研究方劑，外科正宗方中記載其可治療癰疽發背，肌膚赤腫等皮膚疾病。

以如意金黃散之處方及單味藥材分別加以水及 50 % 酒精抽取，經減壓濃縮，冷凍乾燥後置於 - 20 °C 之冰櫃中，分別對由病人取得並經分離培養之病原菌 *Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Candida albicans* 三種菌種檢測其抗菌效果。

實驗結果，對菌種而言 *Staphylococcus aureus*、*Pseudomonas aeruginosa* 較易受到藥材之抑制，對 *Candida albicans* 之抑菌效果較差；在 50 % 酒精抽取物中以大黃、黃柏的作用最好，次為如意金黃散、厚朴、天花粉及天南星；水抽取物中以黃柏之效果最好，次為大黃及厚朴、如意金黃散。綜合結果以黃柏之效果最好，次為大黃、厚朴、而如意金黃散效果稍差，但對其它的機轉是否有較好的作用，尚待進一步之實驗研究。

Key words: skin antibiotic *Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa*
Candida albicans Ru-yih-Jin-Hwang-Sann

前言

皮膚是防止外界細菌侵入及液體流出之主要身體器官，除此之外，對體溫調節也擔負有重要之生理機能，熱傷 (Burn) 及褥瘡 (長期臥病病人之床擦傷) 等都會造成皮膚之欠損，自家植皮 (Autograft) 雖能達到一定期間的作用，

但對創傷面均有待被覆保護，而目前臨床上之被覆保護材料中均含有抗菌劑之軟膏 Cream 或藥物，其作用主要是 (1)防止細菌之侵入及繁殖之感染 (2)防止液體之貯留及漏出 (3)消炎 (4)止痛

因此外傷傷口之癒合有賴感染之控制及預防，炎症肉芽增生之抑制皮膚組織生長之促進，以及人體自然能力之癒合，臨床上火傷、燙傷使用最頻繁之 Silver sulfadiazine 其作用僅在身體組織內釋放出 Sulfadiazine 而產生制菌效果，同時因易水解成一種銀鹽，全身性吸收不好，在施藥部位有燒灼感、出疹、搔癢、疼痛且 Sulaciazine 之吸收相當好，亦易達成反射性之不良作用，例如肝、腎功能之損傷。不但如此，而且對傷口癒合之表皮細胞再生均無作用。傳統中國醫學由古文獻之記載，例如醫宗金鑑，外科正宗均詳述有許多臨床中醫外科繁用而有效之藥物，然而由於缺少科學之考証和評估，今日之臨床醫師無法實際應用於治療實屬可惜；因此本計劃期能將傳統中醫藥以科技方法加以評估，開發成爲一合乎現代醫療之新製劑。

Materials and Methods

1.Materials

Chinese Name	Drng	Scientific Name	Family
1.大 黃	Rhei Rhizoma	Rheum palmatum L.	Polygonaceae
2.黃 柏	Phellodendri Cortex	Phellodendron wilsonii Hay. et Kanehira	Rutaceae
3.薑 黃	Curcumae Rhizona	Curcuma longa L.	Zingiberaceae
4.白 芷	Angelicae Dahuricae Radix	Angelica dahurica (Fisch.) Benth. et Hook.	Umbelliferae
5.天南星	Arisaematis Rhizoma	Arisaema consanguineum Schott.	Araceae
6.陳 皮	Citri Pericarpium	Citrus reticulate Blanco.	Rutaceae
7.蒼 朮	Atractylodis lancea Rhizoma	Atractylodes lancea(Thunb) DC.	Compositae
8.厚 朴	Magnoliae Cortex	Magnolia officinals Rehd. et Wils.	Magnoliaceae
9.甘 草	Glycyrrhizae Radix	Glycyrrhiza uralensis Fisch.	Leguminosae
10.天花粉	Trichosanthis Radix	Trichosanthes kcrilowii Maxim.	Cucurbitceae

II 方劑之抽取及試藥之調劑：

1. 研究室自行調劑處方，材料經由粉碎機粉碎粗粉後，加十倍體積之水或 50 % 酒精，於 70 % 下迴流抽取二次，每次六小時，趁熱過濾，合併濾液，用真空減壓濃縮機濃縮，再經冷凍乾燥機冷凍乾燥後，存放於 - 20 °C 冰櫃中保存，各藥材抽取率如 Table 2. 所示。
2. 生物檢定前，精稱各藥材之冷凍乾燥抽取物，分別溶解於適量體積之 Phosphote Buffer solution(PBS) 中，再經 membrane 無菌過濾處理。

III 菌種

1. 標準菌：由食品工業發展研究所菌種保存及研究中心購得

13957 *Staphylococcus aureus*
13278 *Pseudomonas aeruginosa*
22238 *Candida albicans*.

病原菌：由本學院附設醫院病人分離取得，計：

staphylococcus aureus 六支
Pseudomonas aeruginosa 六支
Candida albicans 三支

2. 菌種培養

菌種培養於 Heart infusion agar 上，依標準培養法培養，每隔一週將菌種作定期接種轉移，另一半之菌種以冷凍存放於液態氮筒中保存。

3. 抗菌活性檢測

A. 第一次篩選採用 paper disc diffusion method 進行 Screening 。

a. 每一 paper disc 加入 1mg 之藥材水或 50 % 酒精抽取物之 PBS 溶液風乾，於 UV 燈下滅菌後備用。

b. 每一 agar plate 加入 10^8 /ml 細菌數之培養液與 agar solution 均勻混合將含藥之 paper disc 貼於培養基上，放入 37 °C incubator 培養分別觀察 18hrs. 24hrs. 及 36hrs 抑菌圈變化。

B. 第二次篩選：

測定抗菌活性之最小有效用量，(minimal inhibitory concentration, MIC)

Table 2 Extractior Yield of Ru-Yih-Jin-Hwang-Sann

Drug 100g	H ₂ O	50% alc
Rhei Rhizoma	36.00%	39.13%
Phellodendri Cortex	24.32%	22.95%
Curcumae Rhizoma	13.30%	14.89%
Angelicae Dahurical Radix	21.22%	16.82%
Arisaematis Rhizoma	38.16%	16.23%
Citri Pericarpium	18.70%	12.31%
Atractylodis lancea Rhizoma	44.99%	38.39%
Magnoliae Cortex	6.75%	15.54%
Glycyrrhizae Radix	35.02%	33.75%
Ru-Yih-Jin-Hnang -Sann	30.53%	25.81%

結果與討論

皮膚是防止外界細菌侵入及體液漏出之主要身體器官，因此熱傷、褥傷等都會成皮膚之損害，對創傷面均需有被覆保護。而這些材料中，均含有抗菌劑，此外傷口之癒合有賴感染之控制及預防，病症內芽增生之抑制皮膚組織生長之促進，以及人體自然能力之癒合。

傳統中國醫學由古文獻之記載；如醫宗金鑑、外科正宗均有許多臨床中醫外科常用而有效之藥物，因缺少科學之考証和評估而無應用於臨床治療；本研究以“醫宗金鑑”所記載之如意金英散，作初期的探討。

如意金英散為中醫外科癰瘍瘡節等熱毒蘊結而產生之肌膚病變，其構成生藥為大黃、黃柏、薑黃、白芷、天南星、陳皮、蒼朮、厚朴、甘草、天花粉；具清熱瀉火解毒，消腫；白芷，薑黃疏風活血，止痛；天南星、蒼朮、厚朴、陳皮、甘草祛濕化痰，消腫止痛，因中藥方劑為多元性作用，可以彌補現代臨床外科之缺點。

Table 3 antibiotic activity of Ru-Yih-Jin-Hwang-Sann-form H20 ext.

Bacteriob/drug	大黃	黃柏	薑黃	白芷	天南星	厚朴	蒼朮	厚朴	甘草	天花粉	如意金黃散	Aspicillin
13057 <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
13278 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
22538 <i>Candida albicans</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 1 Sta.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Patient 2 Sta.	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 3 Sta.	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 4 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 5 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 6 Sta.	±	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 7 Psev.	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 8 Psev.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 9 Psev.	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 10 Psev.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 11 Psev.	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 12 Psev.	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 13 Can.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 14 Can.	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 15 Can.	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+

Table 4 Antibiotic activity of Ru-Yih-Jin-Hwang-Sann from 50% alc

Bacteria/Drug	大黃	黃柏	黃芩	白芷	天南星	陳皮	蒼朮	厚朴	甘草	天花粉	連翹	Aspirin
13957 <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	±	+
13276 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	±	+
22239 <i>Candida albicans</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 1 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 2 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 3 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 4 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Patient 5 Sta.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Patient 6 Sta.	+	+	-	-	-	±	-	+	-	-	+	+
Patient 7 Pseu.	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+
Patient 8 Pseu.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 9 Pseu.	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Patient 10 Pseu.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+
Patient 11 Pseu.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 12 Pseu.	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	+
Patient 13 Can.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Patient 14 Can.	-	+	-	-	-	±	-	+	-	-	-	+
Patient 15 Can.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Table 5. MIC of Pu-Yih-Jin-Hwang-Sann from H20

Bacterial/drug	大 黃	黃 柏	黃 芩	白 芷	天 南 星	陳 皮	蒼 朮	厚 朴	甘 草	天 花 粉	女 貞 子 黃 精
13257 <i>Staphylococcus aureus</i>	0.5mg	0.25mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg
13276 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	0.5mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
22238 <i>Candida albicans</i>	-	0.75mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 1 Sta.	-	0.25mg	-	-	-	-	-	-	-	-	0.75mg
Patient 2 Sta.	-	0.25mg	-	-	-	-	-	0.25mg	-	-	0.75mg
Patient 3 Sta.	-	0.5mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg
Patient 4 Sta.	0.75mg	0.25mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	0.75mg
Patient 5 Sta.	0.5mg	0.5mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	-
Patient 6 Sta.	0.75mg	0.25mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	0.75mg
Patient 7 Psev.	0.5mg	-	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	-
Patient 8 Psev.	0.75mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 9 Psev.	-	0.5mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 10 Psev.	0.5mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 11 Psev.	0.75mg	0.75mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 12 Psev.	-	-	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	-
Patient 13 Can.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 14 Can.	-	0.75mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 15 Can.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 6 MIC of Ru-Yih-Jin-Hwang-Sann from 50% alc

bacteria\drug	大黃	黃柏	薑黃	白芷	天南星	陳皮	蒼朮	厚朴	甘草	天花粉	如意金黃散
13957 <i>Staphylococcus aureus</i>	0.75mg	0.25mg	-	-	-	-	0.75mg	0.5mg	-	-	0.75mg
13278 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	0.5mg	-	-	0.75mg	-	-	0.75mg	-	-	-
22258 <i>Candida albicans</i>	-	0.75mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 1 Sta.	-	0.25mg	-	-	-	-	-	-	-	-	0.75mg
Patient 2 Sta.	-	0.5mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg
Patient 3 Sta.	-	0.25mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg
Patient 4 Sta.	0.5mg	0.75mg	-	-	-	-	-	0.25mg	-	-	0.75mg
Patient 5 Sta.	0.5mg	0.5mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	-
Patient 6 Sta.	-	0.5mg	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg
Patient 7 Psev.	-	-	-	-	0.5mg	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 8 Psev.	0.5mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 9 Psev.	-	0.75mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 10 Psev.	0.75mg	-	-	-	0.75mg	-	-	-	-	-	-
Patient 11 Psev.	-	0.75mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 12 Psev.	-	-	-	-	-	-	-	0.5mg	-	-	-
Patient 13 Can.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Patient 14 Can.	-	0.75mg	-	-	-	-	-	0.75mg	-	-	-
Patient 15 Can.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

本期研究，先進行如意金黃散之抗菌之篩檢、最小有效抑制濃度研究如下：

由表 3.4. 分別篩選出有抑菌效果之藥材分別為水抽取部份依序為黃柏、厚朴、大黃、如意金黃散，50 % 酒精抽取部份依序為黃柏、大黃、厚朴、天花粉如意金黃散、天南星，由表 5.6. 中得到上述藥材之最小抑制濃度 (MIC) 個別藥材之抗菌之效果較如意金黃散來得高。

依處方的作用而言，黃柏、大黃確具有抗菌作用，其餘藥材具止痛消腫等作用但對抗菌而言，效果較不好，因而如意金黃散對抗菌的效果亦較黃柏，大黃差。

由於皮膚的治療除了殺菌外，考慮到消炎，皮膚修補等多種因素，因此在本期研究中認為如意金黃散尚需進行深入的研究，才能確知此處方除了抗菌外還具那些作用，才得以推廣至臨床外科使用，也才能使中醫、中藥作用得以發揚光大。

中藥品管制度之研究

國立中國醫藥研究所

陳建志

中國藥材乃是積五千年來經驗知識的累積遺產，當今中藥已成為世界人士所趨向，尤其是我國國民使用中藥來保健已漸漸成為主流，同時臨近的亞洲各地區如日本、韓國、香港等亦大量使用，甚至歐美人士亦漸漸對中藥產生信心。

當今台灣中藥廠約萬餘家(包括中醫師、中藥商、中藥製造業者)，所需藥材數量甚大，而其所使用的藥材種類又多，藥材之真偽與品質之優劣及製造過程的品管，往往影響其療效，為了確保國民健康及中藥科學化之推行，建立良好的品管制度是相當重要的工作，因此本研究之工作次目有下列四點。

1. 收集國內、日本等地區中藥品管之法令規章。

2. 國內中藥廠中藥品管能力之調查。

3. 藥檢局品管儀器，人力之現況調查。

4. 台灣學術界研究中藥之專家學者之調查。

以八個月的時間，依照上述四個目標，進行研究調查，得到一些初步之結果，分述如下：

1. 收集國內、日本等地區中藥品管之法令規章：

國內現行的中藥品質管制規章，大抵仿照日本的生藥制劑之品質管制規章。在日本只有醫院及藥房有使用中藥，且大抵都是濃縮劑型，但國內患者均可在中醫院、中藥鋪、青草藥鋪購得生藥材、濃縮製劑及傳統劑型，因此我國的中藥品質管制要比日本來得困難。如果我們完全採用日本的那一套辦法，而自己不去創立適合國內之中藥品管制度，則非但無法解決國內中藥品質管制之問題，甚至會阻礙中藥之科學化。

2. 國內中藥廠中藥品管能力之調查：

此工作是本計劃之重心。

國內中藥材之消費市場主要分為三大類：一為已實施 GMP 之濃縮劑型及西藥劑型之中藥廠所使用之藥材，目前此類工廠約有 40 家。第二為傳統劑型之中藥廠，目前約有 300 家，大部份為中小型之工廠，甚或為家庭式之工廠。第三為坊間之中醫院、診所、中藥房及青草店等，購入為特定病人調劑處方所用之藥材。

進行中藥品管能力之調查，照理應包括上述三大消費市場，但考慮到人力、物力及時間等因素，因此只選定 GMP 廠及傳統劑型廠。調查方式是採直接至工廠拜訪。共發出 58 封信函請求安排日期前往拜訪，但只有 21 家中藥廠同意我前往，其中 GMP 廠 14 家，傳統劑型廠 7 家，在拜訪過程中，除了幾家大型 GMP 有讓我參觀現場外，其餘的大都只在會客室討論一些中藥之品管問題，因此無深入了解各廠之作業流程。雖如此，但從言談及觀察中，目前國內中藥廠之品管普遍存在下列幾個問題：

- (一) 老闆的品管概念普遍不足，有些傳統劑型廠很排斥現今所推行的中藥品管制度，但自己又拿不出一套較科學的品管方法，只相信以五官來辨識較準確。
- (二) 無法主動去推行中藥品管制度，而被動與觀望的態度普遍存在於各廠。
- (三) 品管人力嚴重不足。在所參觀的 21 家中藥廠中，竟然有 2 家傳統劑型廠沒有專業的品管人員，亦有 2 家傳統劑型廠只設品管人員一人。由此推斷，各中藥廠之產量與品管員數目很不成比例。
- (四) 品管人員的素質不齊，對中藥的概念很缺乏。這可能是各廠缺乏再職教育及品管人員流動率太大等因素所造成。

藥檢局品管儀器人力之現況：

衛生署藥檢局第三組是負責中藥品管制之相關業務，檢驗人員 24 人。儀器方面有七組高效液相層析儀，其中有二組配有自動取樣器；氣相層析儀有二台；紫外光檢測器儀有二台，原子吸光儀有一台，GC-mass 有一台，立體顯微鏡一台。

現今若想以上述之人力及儀器來管理錯綜複雜的中藥，那簡直是強人之所難。今後只有擴編人員，增加各分析儀器，檢驗人員應不斷地實施再教育，同時亦應增加博士學位人員(目前只有兩位)，以便研究開發中藥的檢驗方法。

4. 台灣學術界研究中藥之專家學者之調查：

天然物化學研究之專家學者－

- (1)台灣大學—郭悅雄、鄭玉瑕、陳春雄、李水盛、江雪卿。
- (2)台北醫學院—顏焜熒、楊玲玲、陳國棟、陳繼明、徐鳳麟。
- (3)陽明醫學院—何禮剛、葉小帆。
- (4)榮民總醫院—蕭明熙。
- (5)國立中國醫藥研究所—陳建志、林雲蓮、周正仁。
- (6)中國醫藥學院—郭盛助、邱泰惠、吳金濱、長永勳、李珮端。
- (7)靜宜大學—賴貞秀、黃克峰、鍾婷婷。
- (8)成功大學—吳天賞。
- (9)嘉南藥專—陳銘田、陳榮秀、陳榮才、張健雄。
- (10)高雄醫學院—陳益昇、林忠男、吳永昌、蔡燭力、桂昌益、
鍾美英、林俊清。
- (11)國防醫學院—林漢清、吳午龍。
- (12)師範大學—許順吉。

藥理學研究之專家學者—

- (1)台灣大學—鄧哲明、蘇銘嘉、黃慧貞。
- (2)台北醫學院—柯文昌。
- (3)陽明醫學院—陳介甫、陳慶鏗、沈友直、張仲明、蔣忠輔、
黃啟剛、廖志飛、楊行義。
- (4)榮民總院—楊春美、洪傳岳、周成功、林山陽。
- (5)國立中國醫藥研究所—許詩淵。
- (6)中國醫藥學院—謝明村、蔡輝彥。
- (7)成功大學—鄭瑞棠、張文昌。
- (8)高雄醫學院—陳英俊。
- (9)台中榮民總院—王繼平。
- (10)國防醫學院—林正一、顏茂雄。

由上面調查之結果，國內目前從事天然物化學研究之專家學者約 39 位，藥理學研究之專家學者約 25 位。

建議事項

一、人員方面

目前各藥廠的品管人員，大抵是來自藥專或化工科之畢業生，這些人員對中藥的認知普遍都很貧乏，因此應由製藥公會或學術單位施予再教育，以提升品管人員的素質。同時為確保品管工作的執行，品管人員的數量應作合理的規定，許可証的數量與品管人員的數量應有一適當的比例，如此才不致於有 30 幾張許可証之藥廠才只有一位品管人員。

目前各藥廠主管人員對中藥品管制度的認知程度，直接影響到中藥品管制度的推行，因此衛生署應時常招集中藥進口商、中藥店、中醫師及中藥廠之負責人，施予中藥品管制度之教育。

二、生藥材方面

生藥材為取自動、植、礦三界之天然物，影響其品質之因素甚多，諸如基原、產地、栽培、採收之季節、選品、炮製、運送及保存等，都是左右品質之變因，故在管理上實有困難，然近幾十年來由於中外學者，對中藥做了相當廣泛及深入之研究，已有相當多的成果被發表，在此建議衛生署應立即統合學術界及中醫藥界，就現有的文獻資料，擬定各生藥的規格，全面性的嚴格執行，尤其對中藥的進口，應確實執行。

至於生藥材的品管項目除藥典上所列項目外，本人還建議進行如下諸項目：

- (一)農藥殘留量之檢定—尤其是半衰期長之農藥如 DDT, BHC 及一些有機氯，均應檢測其含量。
- (二)重金屬的檢定—植物性及礦物性藥材，應測定 Pb, Hg 等金屬之含量
- (三)定量試驗—中藥藥效，歸因於其所含之有效成分，所以如能以有效成分之含量，作為藥材之品質評估，那是再好不過了。然而一種藥材，其有效成分種類之含量，尚無法全然了解之現階段，而以量較多，或較穩定或較易溶於水之某一成分來作為品質評估，而摒棄其他共存成分，似乎有欠合理，因此應結合學術，針對成分與藥效方面作深入探討，以尋找較具代表性之指標成分，以做為生藥品質評估之標準，如此才能確保中藥製品之療效。

(四)毒性的再評估—中藥材的急性毒性，大抵都可以從文獻資料上獲取，但慢性毒性之資料，則極缺乏，因此建議應針對各生藥材的慢性毒性做全面性的研究。同時亦應對各生藥材之化學組成做毒性之評估，含劇毒性成分之藥材，應考慮列入管制藥材。

三、製劑方面

製劑方面之品管項目，除藥典上所列項目外，本人還建議進行如下諸項目：

- (一)農藥殘留量之檢定—項目如同生藥材。
- (二)重金屬的檢定—項目如同生藥材。
- (三)藥效之評估—標準處方，宜委託學術界做藥效之評估，新申請之處方，應嚴格評估其藥效。
- (四)鼓勵自主設定定量成分—除規定之指標成分外，應鼓勵各廠自主設定定量成分，如此才能提升中藥科學化。
- (五)指標成分在不同的劑型中應有不同的含量規定—有些指標成分在不同劑型中會有不同程度之變化，如大黃中之 sennoside A 受熱易分解，因此 sennoside A 在濃縮劑型中及丸、散劑中之含量就不相同，故應研究不同劑型中指標成分之含量，進而定出合理之含量。

四、海峽兩岸應合作加強中藥藥品品質管制的工作—台灣中藥藥材大抵來自大陸，同時近年國人購買大陸藥的情形頗為普遍，但民眾常購買到假藥，為保障人民用藥權益，實應合作加強兩岸的中藥品質管制工作。衛生署應有必要實施赴大陸了解當地藥廠管理情形，若發現當地藥廠有不合格之處，應禁止其藥品進入國內，以保障人民健康，同時亦可維護國內藥廠的投資利益。

五、藥檢局第三組的人員應擴編，儀器應增加—人員至少要增加一倍以上，最好能成立一組專門從事品管的研究開發，儀器亦應相對增加。

六、與學術的合作應加強—國內學術界的人力已是相當的缺乏，因此衛生署在中藥的研究方面應做有系統的規劃，千萬不要流於形式，儘可能不要有重複的研究題材，以免人力與物力的浪費，同時衛生署亦應採取主動方式，請能勝任之學者來共同參與中藥的研究。

摘 要

中藥為取自天然物，其本身之成分相當複雜，在品質管制上就有所限制，然而再加上多數藥材組成用以治療之方劑，其品質管制則難上加難，又國內中藥材之消費市場，可分為三大類：

(一)已實施 GMP 之濃縮劑及西藥劑型之中藥廠。

(二)傳統劑型之中藥廠。

(三)為坊間之中醫醫院，診所及中藥房等。

如今若要統合這三大消費市場做品質管制，其所要投入之人力與物力一定相當龐大，滯礙難行之處一定相當多，有鑑於此，我們建議衛生主管單位，擬定一套根本解決之辦法，並透過立法院完成立法手續，確實實施。

現今藥政主管單位，所進行的中藥品管制度，大抵都仿照日本，其制度雖尚可，但仍有些部份需加強，因此建議如下：

(一)品管人員應加強培訓，而且對中藥進口商、中藥店、中醫師及中藥廠等之負責人，應經常施予中藥品質管制之教育。

(二)生藥材應進行農藥殘留量、重金屬的檢定。

(三)結合學術尋找藥效成分，以做為品質管制之指標成分，如此才能確保中藥製品之療效，同時應鼓勵自己設定其他指標成分。

(四)生藥材毒性的再評估，尤其慢性毒性應做全面性的研究，同時亦應對各生藥材之化學組成做毒性之評估，含劇毒性成分之藥材，應考慮列入管制藥品。

(五)標準處方藥效評估，宜積極進行。

(六)海峽兩岸應合作加強中藥藥品品質管制的工作。

(七)藥檢局第三組的人員應擴編，儀器應增加。

(八)與學術界的合作應加強。

中藥毒理作用之測定

國立陽明醫學院藥理學科暨研究所

廖志飛

摘 要

為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」中列有心臟血管藥理作用之三十種中藥：1.人參，2.山楂，3.大蓯，4.大棗，5.三七，6.仙茅，7.白茅根，8.地骨皮，9.全蠍，10.牡丹皮，11.防風，12.杜仲，13.決明子，14.車前子，15.吳茱萸，16.青箱子，17.海帶，18.桃仁，19.桑寄生，20.夏枯草，21.馬兜鈴，22.鉤藤，23.側柏葉，24.黃芩，25.黃連，26.黃精，27.菊花，28.葛根，29.當歸，30.獐牙，就其50%乙醇抽提物(25.黃連為熱水抽提物)，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。Ames test採用直接平板混合法；使用之菌種係 Salmonella typhimurium TA98 及 TA100，可分別測定引起框構位移(frameshift)及鹽基對置換(base-pair substitution)之突變物質；而以含大白鼠肝臟微粒體活化酵素之S9混合液當代謝性活化劑。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，則結果顯示，當測試劑量為每平板含相當於0.25公克原中藥材重量時，於TA98中有15.吳茱萸((+)與(-)S9)，20.夏枯草((+)與(-)S9)，21.馬兜鈴((-)S9)，及27.菊花((+)與(-)S9)；於TA100中則有21.馬兜鈴((-)S9)及24.黃芩((-)S9)。當劑量降為每平板含0.125公克時，除20.夏枯草(每平板含0.063公克於S9存在下對TA98還有作用)外，其餘均無作用。黃連之劑量為每平板含0.02公克對TA98亦有致突變能力。UDS assay採用人類成纖維細胞株(CRL1508)及液相閃爍計數(LSC)測定法。結果顯示，30種中藥(2-200 mg/ml)可濃度有關地

抑制氙標示之胸腺嘧啶甘 ([³H]thymidine) 併入成纖維細胞。於 10 mM Hydroxyurea 存在下之非排定 DNA 合成則只有 8.地骨皮 (10-20 mg/ml) 顯示有二倍增加，暗示 8.地骨皮會破壞 DNA。綜合上述，活體外測定結果暗示 8.地骨皮，15.吳茱萸，20.夏枯草，21.馬兜鈴，24.黃芩，25.黃連及 27.菊花具有致突變性。

Toxicological Testing of Chinese Drugs

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 *Coptidis Rhizoma* (CR) and the 50% ethanol extracts of 29 Chinese drugs such as *Ginseng Radix*, *Crataegi Fructus*, *Cirsii Japonici Herba*, *Zizyphi Fructus*, *Pseudoginseng Radix*, *Curculiginis Rhizoma*, *Imperatae Rhizoma*, *Lycii Radicis Cortex* (LRC), *Scorpion*, *Moutan Radicis Cortex*, *Saposhinkoviae Radix*, *Eucommiae Cortex*, *Cassiae Torae Semen*, *Plantaginis Semen*, *Evodiae Fructus* (EF), *Celosiae Semen*, *Laminariae Thallus*, *Persicae Semen*, *Loranthi Ramulus* (LR), *Prunellae Spica* (PS), *Aristolochiae Fructus* (AF), *Uncariae Ramulus et Uncus*, *Biotae Folium et Ramulus*, *Scutellariae Radix* (SR), *Polygonati Rhizoma*, *Chrysanthemi Flos* (CF), *Puerariae Radix*, *Angelicae Sinensis Radix*, and *Siegesbeckiae Herba* were tested by the *Salmonella*/microsome (Ames) test and the in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay. In the Ames test, direct plate incorporation method was applied on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 in the presence or absence of S9 mix. TA98 and TA100 are useful strains for the detection of mutagens which cause frameshift and base-pair substitution in the DNA, respectively. The Ames test is taken as positive when the number of revertants in test substance plates is more than 2 times those in the negative control plates. The results showed that at the dose of 0.25 g/plate Ef (+ and -S9), PS (+ and -S9), AF (-S9) and CF (+ and -S9) induced mutations in TA98; whereas AF (+ and -S9) and SR (-S9) induced mutations in TA100. However, these drugs except PS were negative at the dose of 0.125 g/plate. At the dose of 0.063 g/plate, PS still showed mutagenic activity in TA98 in the presence of S9 mix. CR showed mutagenic activity in TA98 at the dose of 0.02 g/plate. In the UDS assay, human fibroblast cells (CRL1508) and LSC determination were used. The results showed that 30 Chinese drugs (2-200 mg/ml) decreased [³H]thymidine incorporation into DNA in a dose-related manner. In the presence of 10 mM hydroxyurea, only LRC (10-20 mg/ml) induced 2-fold increase in UDS, suggesting that LRC could cause DNA damage. In summary, LRC, EF, PS, AF, SR, CR and CF were considered to have mutagenicity.

壹、緒言

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」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)。

貳、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(2)，本計畫先建立其中之兩種測試法，即沙門菌回復突變測試法 [Salmonella/microsome (Ames) test] 及活體外非排定合成測定法 [in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay]，來評估如附件一所示 30 種收錄於「中華民國中藥典範」中對於心臟血管有藥理作用之中藥(3)，是否具有致突變性之潛力。

甲．被測藥材抽提物之製備：

選用之藥材乃配合陳介甫教授執行衛生署「常用中藥毒性及生物活性之評估」五年計畫之第三年「測定降血壓藥物」計畫中所選自收錄於「中華民國中藥典範」中人參等三十種具有降血壓之藥材。取適量之藥材以10倍容積量之 50% 乙醇溶液在 60° C 之水浴槽中抽提三次。抽提物溶液在 50° C 以 Rotavapor (Buchi R) 減壓濃縮至乾。取適量之粗提取物以三次去離子水製備每毫升含相當 2.5 公克乾燥藥材之溶液。以 0.45 μ m 之無菌過濾器所得之濾液進行致突變性之測試。黃連熱水抽提物係取適量之黃連片經磨成粉狀以 5 倍容積之二次去離子水攪拌煮沸 30 分鐘抽提三次後經 Whatman 一號濾紙過濾之濾液經濃縮 (85° C) 及冷凍乾燥後所得之粉狀物 (100 g 黃連片約得 20 g 抽提物)。

乙．致突變性測試：

參考美國環境保護局 (EPA) 出版之 "Health Effects Test Guideline" (4) 中所述之致突變性測試 HG-Gene Muta-S. typhimurium 及 HG-DNA-Unsched Syn 及相關之資料，建立 (一) Salmonella/microsome (Ames) test 與 (二) in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay。

(一) Ames Test

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(frameshift)及鹽基對置換(base-pair substitution)之突變物質(5)。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。大白鼠肝臟微粒體活化酵素之S9 混合液之製備如下：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， $8\ \mu\text{mol MgCl}_2$ ， $23\ \mu\text{mol KCl}$ ， $5\ \mu\text{mol glucose-6-phosphate}$ ， $4\ \mu\text{mol NADP}$ 及 $100\ \mu\text{mol sodium phosphate}$ ，pH 7.4。

(二) 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 $6-13\times 10^4$ 細胞種植於6-well 之培養皿(2 ml Dulbecco's modified Eagle medium 中含 10% fetal bovine serum, 100 unit/ml penicillin, $100\ \mu\text{g/ml streptomycin}$ 及 0.37% sodium bicarbonate)中，於第四天

細胞可達到群集(confluence)，每培養皿含 $25-37 \times 10^4$ 細胞。測試時依序加入10 mM Hydroxyurea (阻斷細胞進入S phase)，視需要加入代謝性活化劑S9混合液 (0.2 ml)，被測樣品，及 $0.8 \mu\text{Ci/ml}$ [methyl-3H]thymidine (84.8 Ci/mmol , NEN-NET-027Z)，於培養箱 (5% CO_2 , 37°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°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玻離纖維濾片收集TCA 不溶之沉澱物，並以冰冷之5% TCA 沖洗濾片二次(6)。濾片以10 ml scintillation fluid Formula 989 (NEN-NEF-989)測放射性。

參、結果

甲. Ames Test

TA98菌株之自然突變數為 36 ± 3 (含S9)與 22 ± 1 (不含S9)，而TA100為 161 ± 18 (含S9)與 86 ± 9 (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 picrolonic 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 ($1 \mu\text{g}/\text{plate}$)使TA100 之突變數增為 $3,500 \pm 110$ 。29種中藥之50% 乙醇抽提物以單劑量($2.5 \text{ g}/\text{plate}$)測試其致突變能力，結果如表一所示。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 (7)，則於TA98 中有15.吳茱萸 ((+)與(-)S9)，20.夏枯草 ((+)與(-)S9)，21.馬兜鈴 ((-)S9)，22.鉤藤 ((-)S9)，24.黃芩 ((-)S9)及27.菊花 ((+)與(-)S9)；於TA100 中則有21.馬兜鈴((-)S9)，24.黃芩((-)S9)及27.菊花 ((-)S9)。15.吳茱萸對於TA98 不管是否有S9 存在下均有相似之致突變能力，但對於TA100 則均無顯著作用。20.夏枯草於S9 存在下對於TA98 有較強之致突變能力，但對於TA100則均無顯著作用。21.馬兜鈴於S9 不存在下對於TA98 或TA100 有致突變能力，但於S9 存在下則均無顯著作用。同樣地，24.黃芩於S9 不存在下對於TA98 或TA100 有致突變能力，但於S9 存在下則均無顯著作用。27.菊花於S9 不存在下對於TA98 或TA100 有致突變能力，但於S9存在下對於TA98有較強之致突變能力而對於TA100 則失去作用。至於菌落數少於空白對照組之藥物組則暗示此中藥抽提物可能對於沙門菌 TA98 或TA100 有殺菌作用。

25.黃連熱水抽提物及黃連主成份小檗鹼 (berberine)當劑量分別為 $0.02 \text{ g}/\text{plate}$ 及 $3 \text{ mg}/\text{plate}$ 時，對於TA98 均有致突變性；但於S9存在下則致突變性減弱或消失 (表一)。對於TA100 兩者則均有些殺菌作用。大劑量之25.黃連熱水抽提物 ($0.20 \text{ g}/\text{plate}$)對於TA98 亦有殺菌作用 (表一)。

為了證實15.吳茱萸，20.夏枯草，21.馬兜鈴，24.黃芩及27.菊花確有致突變能力，經以不同之劑量再測試，其結果如表二所示。與表一比較，於TA98 除24.黃芩((-)S)有異外其餘均吻合；而於TA100 除27.菊花((-)S9)有異外其餘亦均吻合。由表二知，除20.夏枯草外，其餘當劑量由0.25/plate 降一半為0.125 g/plate 時則均無顯著之致突變能力。於S9存在下，0.063 g/plate 之20.夏枯草對於TA98 還有顯著之致突變能力。

乙. UDS Assay

因非排定DNA 合成(UDS) 係以氙標示之胸腺嘧啶甘([3H]thymidine, 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 (8-9)。由表三之實驗結果知，10 mM Hydroxyurea 可抑制 97-99% 之[3H]TdR 併入細胞之DNA。以陽性對照藥物 4-nitroquinoline N-oxide (NQO)測試知 NQO (1 μ M)可30-50% 抑制[3H]TdR 併入DNA 但卻5-15 倍地增加於10 mM Hydroxyurea 存在下之[3H]TdR 併入DNA，即UDS (表三與表五)，顯示所建立之UDS Assay 可行。由表三及表四知，29 種中藥50% 乙醇抽提物於2-200 mg/ml 濃度及25.黃連熱水抽提物於0.2-20 mg/ml 濃度下均呈現與濃度有關地抑制[3H]TdR 併入DNA；但對於UDS 則呈現不規則之影響，其中以8.地骨皮(10-20 mg/ml) 對UDS呈現2-3 倍之增加，被懷疑對DNA 有破壞作用。由表五知8.地骨皮(10-20 mg/ml) 對UDS真的呈現2 倍多之增加，但當濃度為50 mg/ml時則未見增加，此可能與細胞已受廣泛傷害有關。細胞於此濃度下由原先之細長形變成圓形。20.夏枯草於20 mg/ml 時亦有相似之現象。

由表六知，於代謝性活化劑S9 混合液存在下與空白對照組比較，30 種中藥抽提物於測試之濃度下並未使UDS 增加。對照藥物benzo(a)pyrene 於1 mM下，不管是否有 S9存在均使UDS 降至30%，而另一藥物dimethyl-nitrosamine 於1 mM下亦未見UDS 增加 (表六)。

肆、討論

由文獻知，黃酮類化合物(flavonoids) 廣存在植物界，而目前已知大約有30 個黃酮(flavones) 對*Salmonella typhimurium* 具有致突變性(10)，其中以槲皮素(quercetin) 被研究最詳盡(11)。本計畫所測試30 種中藥中含有槲皮素者有2.山楂，19.桑寄生與23.側柏葉(12-13)，但於測試劑量(0.25g/plate)下對於TA98 與TA100 並未有明顯之致突變能力。反而含未知致突變物質成份之15.吳茱萸，20.夏枯草，21.馬兜鈴，24.黃芩及27.菊花顯示與測試劑量有關之致突變能力，其中以20.夏枯草最強。20.夏枯草含有rutin (quercetin-o-3-rutinoside)，但rutin 本身於Ames test 並無致突變性(14)，是否於抽提20.夏枯草成份時使rutin 分解成quercetin 而具致突變性或是其含有未知之致突變物質，則有待進一步之探討。

黃連及其主成份小蘗鹼對TA98 亦顯示具致突變性；小蘗鹼對TA98 具致突變性及於S9 混合液存在下喪失致突變性之結果與Nozaka 等人之報導(15) 吻合。至於那些在Ames test 中於所測試劑量下未顯示有致突變性之中藥，並不意謂其不含有致突變物質，因可能由於測試劑量太低或同時含有抗致突變成份(16) 與之互相拮抗，或著其具有殺沙門菌之成份(12-13) 而不適以Ames test 來測試其致突變能力。

UDS assay 係檢測被試樣品是否具有破壞哺乳類細胞內DNA 的潛力，因此UDS assay 比 Ames test 與所謂之安全性評估更有關係(17)。使用人類成纖維細胞(human fibroblast cell) 建立UDS assay是李志恆博士建議的，亦是第一次應用。經致突變劑4-nitroquinoline N-oxide(NQO) 測試，顯示所建立之測試法可行。而30 種中藥抽提物於測試之濃度下只有8.地骨皮(10-20 mg/ml) 對UDS 呈現2-3 倍之增加，顯示8.地骨皮含有會破壞細胞DNA之物質，此物質有待進一步之分離與探討。

於活體外試驗中，如欲檢試間接致突變物質，常需添加代謝性活化劑使其變成終致突變物質才能檢出。檢試之結果則常因使用之代謝性活化劑之不同及預處理時間之長短而有正負兩極之差異。使用在 Ames test 中廣為使用之標準代謝性活化劑S9 混合液 (5)，於建立之UDS 測試法中還未能靈敏地檢出已知之間接致突變劑benzo(a)pyrene 或 dimethylnitrosamine，因此調整代謝性活化劑S9 混合液之濃度及預處理之時間來改進UDS assay 之靈敏度，則還在探討中。

於S9 混合液不存在下，中藥15.吳茱萸，20.夏枯草，21.馬兜鈴，24.黃芩，25.黃連及27.菊花抽提物於Ames test 被測出具有致突變性，但於UDS assay 中未見其增加UDS，反而見UDS 有顯著之減少，是否這些中藥抽提物亦會破壞細胞DNA 但因同時抑制DNA 之修補而不能檢出 UDS，則有待使用其它測試法進一步之探討。

綜合Ames test 及UDS assay 之測試，中藥8.地骨皮，15.吳茱萸，20.夏枯草，21.馬兜鈴，24.黃芩，25.黃連及27.菊花之抽提物被認為具有致突變性。於活體內，這些中藥抽提物是否亦顯示具致突變性，則有待以活體小白鼠小核仁測試法 (in vivo micronucleus test in mice)來進一步確認 (7)。

伍、建議

經文獻檢索知某些中藥所含之黃酮類化合物 (10)或 isoquinoline 生物鹼 (15)具有致突變能力；而四種含樹皮素之醫用植物乙醇抽提物製劑已被報導具有致突變性(18)。本計畫實驗結果亦顯示某些中藥具有致突變性。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。

陸、誌謝

本計畫承蒙國立中國醫藥研究所所長 陳介甫教授啟發，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)之補助，在此一併誌謝。

柒. 參考文獻

1. Inveresk Research International: Regulatory Guidelines, Number 1-5, 1990 & 1991.
2. Aaron, C.S.: Evaluation of drug candidates in a battery of short-term genetic toxicology assays: Overview. Mutation Research 223: 105-109, 1989.
3. 行政院衛生署：中華民國中藥典範，1985.
4. United States Environmental Protection (EPA): Health Effects Test Guidelines. National Technical Information Service, 1982.
5. Maron, D. M. and Ames, B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research 113: 173-215, 1983.
6. Williams, G.M.: Detection of chemical carcinogens by unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures. Cancer Research 37: 1845-1851, 1977.
7. 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.
8. Yarbrow, 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.
9. 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.

10. MacGregor, J.T.: Genetic toxicology of dietary flavonoids. In Knudsen, I. (ed): Genetic Toxicology of the Diet. New York: Alan R. Liss, pp 33-43, 1986.
11. MacGregor, J.T. and Wilson, R.E.: Flavone mutagenicity in *Salmonella typhimurium*: dependence on the pKM101 plasmid and excision-repair deficiency. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 11: 315-322, 1988.
12. 江蘇新醫學院：中藥大辭典，商務印書館香港分館，1979.
13. Chang, H. M. and But, P.P.H.: Pharmacology and Applications of Chinese Materia Medica. 2 vols, Singapore: World Scientific Publishing Co Pte Ltd., 1986.
14. Rueff, J., Laires, A., Borba, H., Chaveca, T., Gomes, M.I., and Halpern, M.: Genetic toxicology of flavonoids: the role of metabolic conditions in the induction of reverse mutation, SOS functions and sister-chromatid exchanges. *Mutagenesis* 1: 179-183, 1986.
15. 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.
16. Lee, J. and Lin, J.Y.: Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. *Mutation Research* 204: 229-234, 1988.
17. Ray, V.A.: Application of microbial and mammalian cells to the assessment of mutagenicity. *Pharmacological Reviews* 30: 537-554, 1979.
18. 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.

附件一

被測藥材：

1. 人參 (Ginseng Radix) 為五加科人參 [*Panax ginseng* C.A. MEYER] 去鬚根之乾燥根 (564)
2. 山楂 (Crataegi Fructus) 為薔薇科山楂 [*Crataegus pinnatifida* BUNGE] 之乾燥成熟果實 (424)
3. 大薊 (Cirsii Japonici Herba) 為菊科大薊 [*Cirsium japonicum* DC.] 之乾燥全草或根 (494)
4. 大棗 (Zizyphi Fructus) 為鼠李科大棗 [*Zizyphus jujuba* MILL. var. *inermis* (BGE.) REHD.] 之乾燥成熟果實 (582)
5. 三七 (Pseudoginseng Radix) 為五加科三七 [*Panax Pseudo-ginseng* WALL. var. *notoginseng* (BURKILL)] 之乾燥根 (500)
6. 仙茅 (Curculiginis Rhizoma) 為石蒜科仙茅 [*Curculigo orchiodes* GAERTNER] 之乾燥根莖 (627)
7. 白茅根 (Imperatae Rhizoma) 為禾本科白茅 [*Imperata cylindrica* (L.) P. BEAUV. var. *major* (NEES) C. E. HUBB.] 去鬚根及膜質鞘之乾燥根莖 (489)
8. 地骨皮 (Lycii Radicis Cortex) 為茄科枸杞 [*Lycium chinense* MILL.] 之乾燥根皮 (127)
9. 全蠍 (Scorpion) 為蠍科昆蟲鉗蠍 [*Buthus martensi* KARSCH] 之乾燥蟲體 (336)
10. 牡丹皮 (Moutan Radicis Cortex) 為毛茛科牡丹 [*Paeonia suffruticosa* ANDR.] 縱切剝除木部之乾燥根皮 (123)
11. 防風 (Saposhinkoviae Radix) 為繖形科防風 [*Saposhinkovia divaricata* (TURCZ.) SCHISCHK.] 之乾燥根 (14)
12. 杜仲 (Eucommiae Cortex) 為杜仲科杜仲 [*Eucommia ulmoides* OLIVER] 之乾燥樹皮 (610)
13. 決明子 (Cassiae Torae Semen) 為豆科決明 [*Cassia tora* LINN.] 之乾燥種子 (91)
14. 車前子 (Plantaginis Semen) 為車前科車前 [*Plantago asiatica* LINN.] 之乾燥成熟種子 (249)
15. 吳茱萸 (Evodiae Fructus) 為芸香科吳茱萸 [*Evodia rutaecarpa* (JUSS.) BENTH] 之乾燥果實 (184)
16. 青葙子 (Celosiae Semen) 為莧科青葙 [*Celosia argentea* LINN.] 之乾燥成熟種子 (102)
17. 海帶 (Laminariae Thallus) 為昆布科海帶 [*Laminaria japonica* ARESCH.] 之乾燥葉狀體 (396)
18. 桃仁 (Persicae Semen) 為薔薇科桃 [*Prunus persica* (L.) BATSCH] 之乾燥成熟、去內果皮種仁 (530)
19. 桑寄生 (Loranthi Ramulus) 為桑寄生科桑寄生 [*Loranthus parasiticus* (L.) MERR.] 之乾燥枝葉 (598)
20. 夏枯草 (Prunellae Spica) 為唇形科夏枯草 [*Prunella vulgaris* LINN.] 之乾燥花序或果穗 (74)
21. 馬兜鈴 (Aristolochiae Fructus) 為馬兜鈴科馬兜鈴 [*Aristolochia debilis* SIEB. et ZUCC.] 之乾燥果實 (415)
22. 鉤藤 (Uncariae Ramulus et Uncus) 為茜草科鉤藤 [*Uncaria rhyncholphylla* (MIQ.) JACKS.] 之帶鉤枝條 (740)
23. 側柏葉 (Biotae Folium et Ramulus) 為柏科側柏 [*Biota orientalis* (L.) ENDL.] 之乾燥枝葉 (481)
24. 黃芩 (Scutellariae Radix) 為唇形科黃芩 [*Scutellaria baicalensis* GEORGI] 之乾燥根 (77)
25. 黃連 (Coptidis Rhizoma) 為毛茛科黃連 [*Coptis chinensis* FRANCH.] 除去鬚根之乾燥根莖 (80)
26. 黃精 (Polygonati Rhizoma) 為百合科黃精 [*Polygonatum sibiricum* REDOUTE] 之乾燥根莖 (603)
27. 菊花 (Chrysanthemi Flos) 為菊科菊 [*Chrysanthemum morifolium* RAMAT.] 之頭狀花序 (37)
28. 葛根 (Puerariae Radix) 為豆科葛 [*Pueraria lobata* (WILLD.) OHWI] 之塊根除去栓皮乾燥而得 (40)
29. 當歸 (Angelicae Sinensis Radix) 為繖形科當歸 [*Angelica sinensis* (OLIVER) DIELS] 之乾燥根 (595)
30. 豨薟 (Siegesbeckiae Herba) 為菊科豨薟 [*Siegesbeckia orientalis* L. var. *pubescens* MAK.] 之乾燥全草 (319)

表一、中藥抽提物對沙門菌致突變性之測定

被測藥物 (0.25 g/plate)	Revertants/plate			
	TA98		TA100	
	(+) S9	(-) S9	(+) S9	(-) S9
0. 空白對照組	36 ± 3	22 ± 1	161 ± 18	86 ± 9
1. 人參	36	13	71	38
2. 山楂	24	29	9	8
3. 大薊	21	35	100	69
4. 大棗	29	38	73	62
5. 三七	42	14	12	9
6. 仙茅	35	38	194	102
7. 白茅根	19	23	89	63
8. 地骨皮	48	33	130	55
9. 全蠍	47	27	109	60
10. 牡丹皮	29	29	98	26
11. 防風	44	30	117	134
12. 杜仲	39	4	112	112
13. 決明子	14	26	85	69
14. 車前子	35	30	120	84
15. 吳茱萸	93	65	173	131
16. 青箱子	52	15	93	46
17. 海帶	23	11	68	51
18. 桃仁	20	14	39	18
19. 桑寄生	36	33	86	77
20. 夏枯草	221	87	196	89
21. 馬兜鈴	48	47	236	214
22. 鉤藤	38	50	77	51
23. 側柏葉	28	31	90	100
24. 黃芩	52	57	186	233
26. 黃精	0	2	1	0
27. 菊花	148	69	214	173
28. 葛根	23	18	111	123
29. 當歸	47	36	112	101
30. 稀莖	14	40	94	62
0. 空白對照組	36 ± 5	18 ± 2	105 ± 23	88 ± 18
25. 黃連熱水抽提物				
0.02 g/plate	74	73	84	17
0.20 g/plate	67	0	72	0
B. 小蘗鹼 Berberine				
3 mg/plate	46	62	35	1

表二、不同濃度之中藥抽提物對沙門菌致突變性之測定

被測藥物	Revertants/plate			
	TA98		TA100	
	(+) S9	(-) S9	(+) S9	(-) S9
0. 空白對照組	32 ± 5	22 ± 2	163 ± 23	104 ± 18
15. 吳茱萸 (0.25)	70	46	228	200
(0.125)	42	25	154	129
20. 夏枯草 (0.25)	221	76	200	95
(0.125)	147	48	189	94
(0.063)	100	40	160	65
21. 馬兜鈴 (0.25)	33	72	195	225
(0.125)	34	17	230	163
24. 黃芩 (0.25)	44	36	144	224
(0.125)	31	27	57	151
27. 菊花 (0.25)	124	78	143	115
(0.125)	52	41	157	100

表三、中藥抽提物對[3H]thymidine併入人類成纖維細胞之影響

被測藥物	cpm/dish (% control)		Hydroxyurea (10 mM)	
	cpm/dish	(% control)	cpm/dish	(% control)
0. 空白對照組	19454±1005	(100± 5)	463±73	(100±16)
P. NQO (1 μ M)	6535±534	(34± 3)	2520±16	(544± 4)
2. 山楂 (20 mg/ml)	613±80	(3± 0)	130±7	(28± 2)
5. 三七 (20 mg/ml)	1882±55	(10± 0)	110±14	(24± 3)
8. 地骨皮 (20 mg/ml)	2168±58	(11± 0)	910±186	(197±40)
10. 牡丹皮 (20 mg/ml)	180±40	(1± 0)	113±3	(24± 1)
15. 吳茱萸 (20 mg/ml)	2404±345	(12± 2)	155±8	(34± 2)
19. 桑寄生 (20 mg/ml)	366±7	(2± 0)	65±7	(14± 2)
20. 夏枯草 (20 mg/ml)	520±27	(3± 0)	207±53	(45±11)
21. 馬兜鈴 (20 mg/ml)	7083±174	(36± 1)	260±10	(56± 2)
22. 鉤藤 (20 mg/ml)	567±15	(3± 0)	206±30	(45± 7)
24. 黃芩 (20 mg/ml)	3703±674	(14± 4)	225±1	(49± 0)
25. 黃連* (20 mg/ml)	105±19	(1± 0)	106±9	(23± 2)
26. 黃精 (20 mg/ml)	8458±9	(4± 0)	187	(40)
27. 菊花 (20 mg/ml)	391±4	(2± 0)	113±11	(24± 2)
28. 葛根 (20 mg/ml)	17475±1660	(90± 9)	347±13	(75± 3)
29. 當歸 (20 mg/ml)	3780±343	(19± 2)	159±7	(34± 2)
0. 空白對照組	19255±3685	(100±19)	418±24	(100± 6)
1. 人參 (20 mg/ml)	1141±1	(6± 0)	132±1	(32± 0)
3. 大蓯 (20 mg/ml)	12957±2708	(67±14)	331±24	(79± 6)
4. 大棗 (20 mg/ml)	29697±2269	(154±12)	376±7	(90± 2)
6. 仙茅 (20 mg/ml)	4482±411	(23± 2)	243±53	(58±13)
9. 全蠍 (20 mg/ml)	21032±2115	(109±11)	407±11	(97± 3)
14. 車前子 (20 mg/ml)	24624±1631	(128± 9)	471±1	(113± 0)
20. 夏枯草 (10 mg/ml)	4342±376	(23± 2)	207±13	(50± 3)
30. 稀莖 (20 mg/ml)	3797±210	(20± 1)	144±15	(34± 4)
0. 空白對照組	22212±148	(100± 1)	156±9	(100± 6)
P. NQO (1 μ M)	9890±240	(45± 1)	2369±130	(1519±83)
5. 三七 (5 mg/ml)	5450±107	(24± 1)	269±20	(172±13)
7. 白茅根 (20 mg/ml)	2555±308	(12± 1)	138±7	(88± 4)
8. 地骨皮 (10 mg/ml)	5966±155	(27± 1)	545±14	(349± 9)
10. 牡丹皮 (5 mg/ml)	2311±124	(10± 1)	168±7	(108± 4)
11. 防風 (20 mg/ml)	4598±257	(21± 1)	151±8	(97± 5)
12. 杜仲 (20 mg/ml)	2174±33	(10± 0)	182±12	(117± 8)
13. 決明子 (20 mg/ml)	4378±188	(20± 1)	322±26	(206±17)
16. 青箱子 (20 mg/ml)	12458±534	(56± 2)	215±12	(138± 8)
17. 海帶 (20 mg/ml)	14629±472	(66± 2)	257±26	(165±17)
18. 桃仁 (20 mg/ml)	14110±186	(64± 1)	262±15	(168±10)
19. 桑寄生 (5 mg/ml)	2245±109	(10± 1)	92±23	(59±15)
20. 夏枯草 (5 mg/ml)	11106±963	(50± 4)	301±3	(193± 2)
23. 側柏葉 (20 mg/ml)	3550±427	(16± 2)	140±13	(90± 8)
25. 黃連* (5 mg/ml)	132±3	(1± 0)	75±2	(48± 1)
26. 黃精 (5 mg/ml)	24577±1686	(111± 8)	263±6	(169± 4)
27. 菊花 (5 mg/ml)	4150±24	(19± 0)	94±12	(60± 8)

表三 (續)

0. 空白對照組	28879±93	(100± 0)	332±49	(100±15)
1. 人參 (5 mg/ml)	7172±230	(25± 1)	203±53	(61±16)
2. 山楂 (5 mg/ml)	9142±1426	(32± 5)	272±14	(82± 4)
3. 大蓯 (10 mg/ml)	14524±645	(50± 2)	284±3	(86± 1)
4. 大蓯 (25 mg/ml)	26378±773	(91± 3)	477±37	(144±11)
6. 仙茅 (5 mg/ml)	13933±2594	(48± 9)	305±4	(92± 1)
9. 全蠟 (50 mg/ml)	14640±323	(51± 1)	360±69	(108±21)
14. 車前子 (50 mg/ml)	11161±102	(39± 0)	283±27	(85± 8)
15. 吳茱萸 (5 mg/ml)	8055±626	(28± 2)	283±13	(85± 4)
20. 夏枯草 (5 mg/ml)	9770±798	(34± 3)	221±9	(67± 3)
20. 夏枯草# (5 mg/ml)	5335±1046	(18± 4)	579±64	(174±19)
20. 夏枯草* (5 mg/ml)	2376±121	(8± 0)	191±25	(58± 8)
21. 馬兜鈴 (10 mg/ml)	11457±216	(40± 1)	375±10	(113± 3)
22. 鉤藤 (5 mg/ml)	6875±47	(24± 0)	198±1	(60± 0)
24. 黃芩 (5 mg/ml)	9133±330	(32± 1)	215±18	(65± 5)
28. 葛根 (50 mg/ml)	6143±682	(21± 2)	157±2	(47± 1)
29. 當歸 (5 mg/ml)	23874±2894	(83±10)	270±22	(81± 7)
30. 稀莖 (5 mg/ml)	9796±23	(34± 0)	281±8	(85± 2)

0. 空白對照組	9875±2369	(100±24)	306±33	(100±11)
1. 人參 (2 mg/ml)	8975±873	(91± 9)	180±14	(59± 5)
2. 山楂 (2 mg/ml)	11439±11	(116± 0)	222±7	(73± 2)
5. 三七 (2 mg/ml)	10293±587	(104± 6)	242±3	(79± 1)
7. 白茅根 (2 mg/ml)	7987±808	(81± 8)	229±13	(75± 4)
8. 地骨皮 (2 mg/ml)	8434±2098	(85±21)	246±10	(80± 3)
10. 牡丹皮 (2 mg/ml)	3275±493	(33± 5)	187±10	(61± 3)
11. 防風 (2 mg/ml)	9202±2106	(93±21)	222± 5	(73± 2)
12. 杜仲 (2 mg/ml)	5191±847	(53± 9)	169± 4	(55± 1)
13. 決明子 (2 mg/ml)	7749±663	(78± 7)	231± 0	(75± 0)
15. 吳茱萸 (2 mg/ml)	3568±407	(36± 4)	167±13	(55± 4)
16. 青箱子 (50 mg/ml)	3197±559	(32± 6)	133±11	(43± 4)
17. 海帶 (50 mg/ml)	4722±597	(48± 6)	134±13	(44± 4)
18. 桃仁 (50 mg/ml)	8160±1094	(83±11)	224±15	(73± 5)
19. 桑寄生 (2 mg/ml)	1429±210	(14± 2)	124±19	(41± 6)
20. 夏枯草 (2 mg/ml)	11050±1167	(112±12)	251±25	(82± 8)
22. 鉤藤 (2 mg/ml)	7065±156	(72± 2)	226±24	(74± 8)
23. 側柏葉 (2 mg/ml)	12910±690	(131± 7)	323±25	(106± 8)
24. 黃芩 (2 mg/ml)	8427±981	(85±10)	205±7	(67± 2)
27. 菊花 (2 mg/ml)	4273±1449	(43±15)	125±9	(41± 3)
30. 稀莖 (2 mg/ml)	11370±1506	(115±15)	258±14	(84± 5)

0. 空白對照組	17351±1668	(100±10)	498±74	(100±15)
4. 大蓯 (50 mg/ml)	17581±2451	(101±14)	479±17	(96± 3)
9. 全蠟 (100 mg/ml)	3922±486	(23± 3)	202±36	(41± 7)
21. 馬兜鈴 (2 mg/ml)	15075±4430	(89±14)	447±67	(90±13)
25. 黃連* (0.2 mg/ml)	8333±2214	(48±13)	361±37	(72± 7)
(0.5 mg/ml)	4855±733	(28± 4)	273±19	(55± 4)
26. 黃精 (2 mg/ml)	14756±70	(85± 0)	399±69	(80±14)
28. 葛根 (5 mg/ml)	20799±3777	(120±22)	390±32	(78± 6)
29. 當歸 (2 mg/ml)	15423±2405	(89±14)	680±169	(137±34)

* 熱水抽提物

50%乙醇浸漬液

P. NQO = 4-nitroquinoline oxide

表四、不同濃度之中藥抽提物對[3H]thymidine併入人類成纖維細胞之影響

被測藥物	-HU / + HU (% of control)								
	濃度 (mg/ml)								
	0.2	0.5	2	5	10	20	50	100	200
1. 人參			91/59	25/61		6/32			
2. 山楂			116/73	32/82		3/28			
3. 大蓟					50/86	67/79			
4. 大棗						154/90	101/96		
5. 三七			104/79	24/172		10/24			
6. 仙茅				48/92		23/58			
7. 白茅根			81/75			12/88			
8. 地骨皮			85/80		27/349	11/197			
9. 全蠍						109/97	51/108	23/41	
10. 牡丹皮			33/61	10/108		1/24			
11. 防風			93/73			21/97			
12. 杜仲			53/55			10/117			
13. 決明子			78/75			20/206			
14. 車前子						128/113	39/85		
15. 吳茱萸			36/55	28/85		12/34			0.5/16
16. 青箱子						56/138	32/43		
17. 海帶						66/165	48/44		
18. 桃仁						64/168	83/73		
19. 桑寄生			14/41	10/59		2/14			
20. 夏枯草			112/82	42/130	23/50	3/45			0.2/9
21. 馬兜鈴			87/91		40/113	36/56			0.9/49
22. 鉤藤			72/74	24/60		3/45			0.5/14
23. 側柏葉			131/106			16/90			
24. 黃芩			85/67	32/65		14/49			0.4/24
25. 黃連*	48/72	28/55		1/48		1/23			
26. 黃精			85/80	111/169		4/40			
27. 菊花			43/41	19/60		2/24			0.3/13
28. 葛根				120/78		90/75	21/47		
29. 當歸			89/137	83/81		19/34			
30. 稀莖			115/84			20/34			

* 熱水抽提物

表五、不同濃度之地骨皮抽提物對[3H]thymidine併入人類成纖維細胞之影響

被测藥物	—		Hydroxyurea (10 mM)	
	cpm/dish	(% control)	cpm/dish	(% control)
0. 空白對照組	13357±607	(100± 5)	261±11	(100± 4)
P. NQO 1 μ M	6713±720	(50± 5)	1597±162	(612±62)
8. 地骨皮 10 mg/ml	4043±164	(30± 1)	529±107	(203±41)
20 mg/ml	2511±143	(19± 1)	591±15	(226± 6)
50 mg/ml	385±114	(3± 1)	216±44	(83±17)

P. NQO = 4-nitroquinoline oxide

表六、中藥抽提物在人類成纖維細胞對非排定DNA合成之影響

被測藥物	(-) S9		(+) S9	
	cpm/dish	(% of control)	cpm/dish	(% of control)
0.. 空白對照組	394±20	(100± 5)	341±19	(100± 6)
pc. DMN 1 mM	352±2	(89± 1)	326±0	(96± 0)
1. 人參 5 mg/ml	155±14	(39± 4)	218±9	(64± 3)
2. 山楂 5 mg/ml	216±25	(55± 6)	290±58	(85±17)
4. 大棗 20 mg/ml	288±29	(73± 7)	325±37	(95±11)
5. 三七 5 mg/ml	169±3	(43± 1)	249±15	(73± 4)
6. 仙茅 5 mg/ml	234±6	(59± 2)	244±53	(72±16)
11. 防風 20 mg/ml	142±2	(36± 1)	222±5	(65± 1)
13. 決明子 20 mg/ml	155±6	(39± 2)	183±15	(54± 4)
14. 車前子 20 mg/ml	269±27	(68± 7)	350±42	(103±12)
16. 青柏子 20 mg/ml	191±8	(48± 2)	283±29	(83± 9)
17. 海帶 20 mg/ml	200±16	(51± 4)	265±5	(78± 1)
18. 桃仁 20 mg/ml	278±9	(71± 2)	305±22	(89± 6)
20. 夏枯草 5 mg/ml	183±0	(46± 0)	198±7	(58± 2)
23. 側柏葉 20 mg/ml	146±19	(37± 5)	163±12	(48± 4)
26. 黃精 5 mg/ml	302±35	(77± 9)	342±33	(100±10)
28. 葛根 20 mg/ml	259±6	(66± 2)	219±4	(64± 1)
0. 空白對照組	455±21	(100± 5)	528±50	(100± 9)
10. 牡丹皮 2 mg/ml	181±6	(40± 1)	180±10	(34± 2)
12. 杜仲 2 mg/ml	368±28	(81± 6)	470±26	(89± 5)
15. 吳茱萸 2 mg/ml	347±15	(77± 3)	415±6	(79± 1)
19. 桑寄生 2 mg/ml	174±14	(38± 0)	186±12	(35± 2)
22. 鉤藤 5 mg/ml	314±1	(69± 0)	399±11	(76± 2)
25. 黃連* 0.2 mg/ml	349±13	(77± 3)	394±25	(75± 5)
27. 菊花 5 mg/ml	132±6	(29± 1)	168±4	(32± 1)
29. 當歸 5 mg/ml	431±16	(95± 1)	462±41	(88± 8)
0. 空白對照組	556±107	(100±19)	470±37	(100± 8)
3. 大蓴 10 mg/ml	318±1	(57± 0)	297±17	(63± 4)
7. 白茅根 10 mg/ml	312±38	(56± 7)	181±11	(39± 2)
8. 地骨皮 10 mg/ml	314±15	(56± 9)	350±40	(74± 9)
20 mg/ml	729±51	(131± 9)	296± 4	(63± 1)
9. 全蠍 50 mg/ml	273±34	(49± 6)	262±17	(56± 4)
21. 馬兜鈴 10 mg/ml	380±14	(68± 3)	348± 0	(74± 0)
24. 黃芩 5 mg/ml	293±6	(53± 1)	253±52	(54±11)
30. 稀莖 10 mg/ml	251±7	(45± 1)	189±21	(40± 4)

* 熱水抽提物

pc. DMN = dimethylnitrosamine

評估咳嗽中藥方劑對鬆弛天竺鼠氣管 作用之研究

國立陽明醫學院藥理學科

黃啓剛 · 敦嘯天

摘要：

西方醫學有報導具有鬆弛氣管平滑肌作用的西藥往往可改善咳嗽情況。本研究計畫擬評估治療咳嗽的中藥方劑對天竺鼠藥物導致的氣管收縮是否有鬆弛的能力。本研究採用天竺鼠離體氣管平滑肌為研究對象。研究方法包括以離體氣管在無中樞系統及神經反射的影響下去確定中藥方劑對氣管是否有直接鬆弛的作用。研究結果顯示有些方劑對藥物導致的天竺鼠氣管收縮有鬆弛能力，例如定喘湯、杏蘇散、華蓋散等。這研究不但可印證這些中藥方劑對氣管的作用，並且借此增進中西醫學在學術上的溝通。

計畫緣起

中醫藥在我國有數千年的歷史，對治療疾病有莫大的貢獻。雖然西方醫學在現今社會裡是治病的主流，但中醫藥在治病方面毫不遜色，況且中醫藥治病仍然普受民衆的喜愛。有鑑於此，利用西方科技去研究中藥如何有治病的能力及其特性，或可幫助了解中醫藥的奧秘及我們祖先在治病方面的智慧。

鑑於西方醫學有報導對具有鬆弛氣管平滑肌作用的西藥往往可改善咳嗽情況，本計畫擬研究在臨床上具有治療咳嗽的中藥方劑，其作用是否如西藥般有鬆弛氣管平滑肌的能力或是以另一種方法達到治療咳嗽的效果。本計劃擬採用天竺鼠離體氣管經藥物導致收縮後，研究具有治療咳嗽的中醫藥方劑是否有鬆弛氣管的能力。對有效鬆弛氣管的中藥方劑，我們希望進一步了解那些中藥具有鬆弛氣管的能力。本計畫要探討的中藥方劑分列如下：

- | | |
|-----------|----------|
| (一) 蘇子降氣湯 | (六) 參蘇飲 |
| (二) 止嗽散 | (七) 寧嗽散 |
| (三) 小青龍湯 | (八) 華蓋散 |
| (四) 杏蘇散 | (九) 麻黃湯 |
| (五) 定喘湯 | (十) 金沸草散 |

實施方法及進行步驟：

離體器官實驗

- (一)先把天竺鼠打昏，並立刻取氣管，切成三個圓圈，並以不銹鋼絲連接起來。
- (二)以傳統離體器官實驗方法在不斷輸進 95 % 氧 + 5 % 二氧化碳的 KREBS BICARBONATE 溶液中把氣管吊起來做實驗。
- (三)先加 Histamine, Bethanechol 或 KCl 導致氣管收縮，然後打進中藥方劑水溶液並記錄氣管鬆弛反應。增加中藥方劑水溶液濃度以建立 DOSE RESPONSE CURVE。

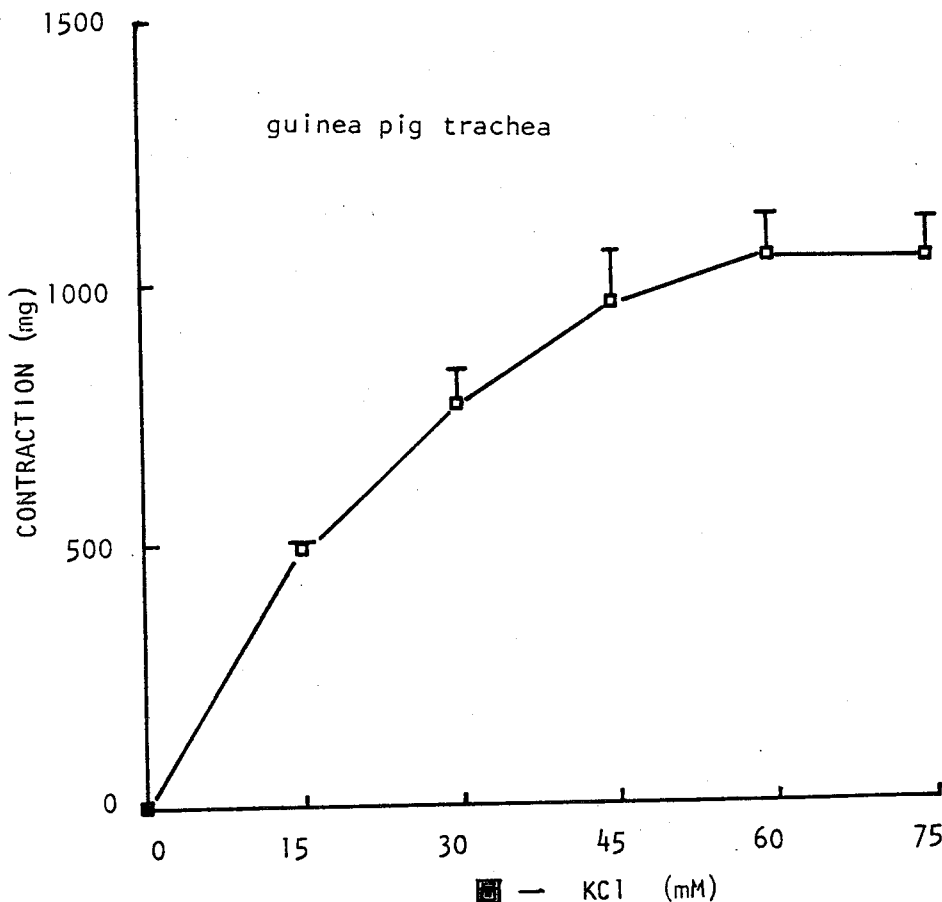
中藥方劑

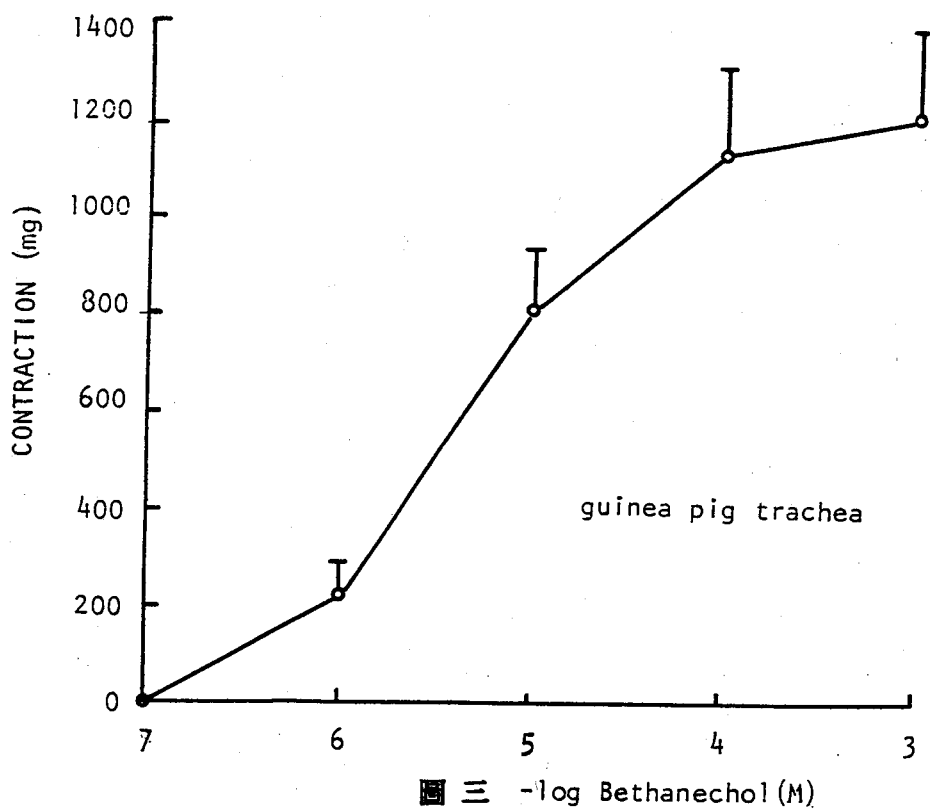
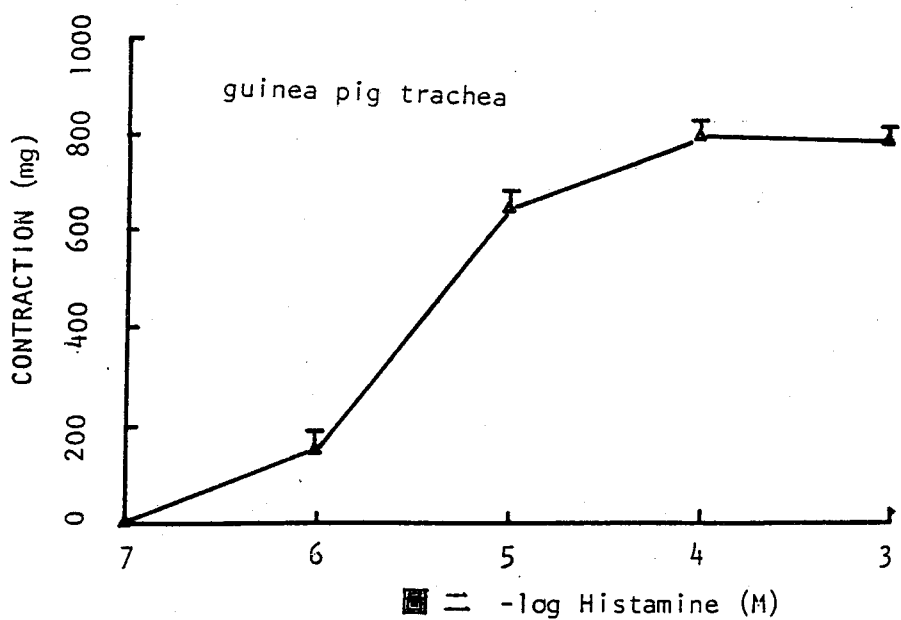
- (一)除科學濃縮方劑外，用傳統煎煮式準備的方劑湯藥，中藥材本身要先磨成粉狀。
- (二)已配備好的科學濃縮方劑以一定的重量比例，如 10 公克，放入燒杯 100ml 的過濾水裡，經 100 °C 煮過後加入足夠水至 100ml，略煮後經過濾備用。

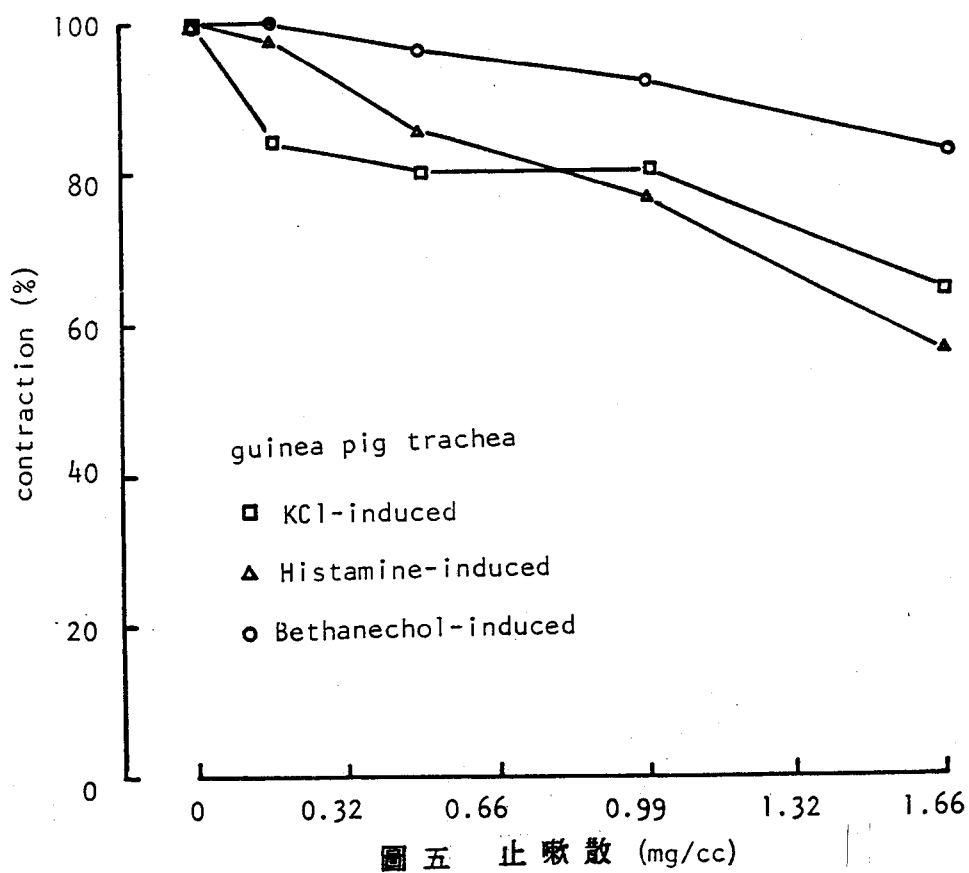
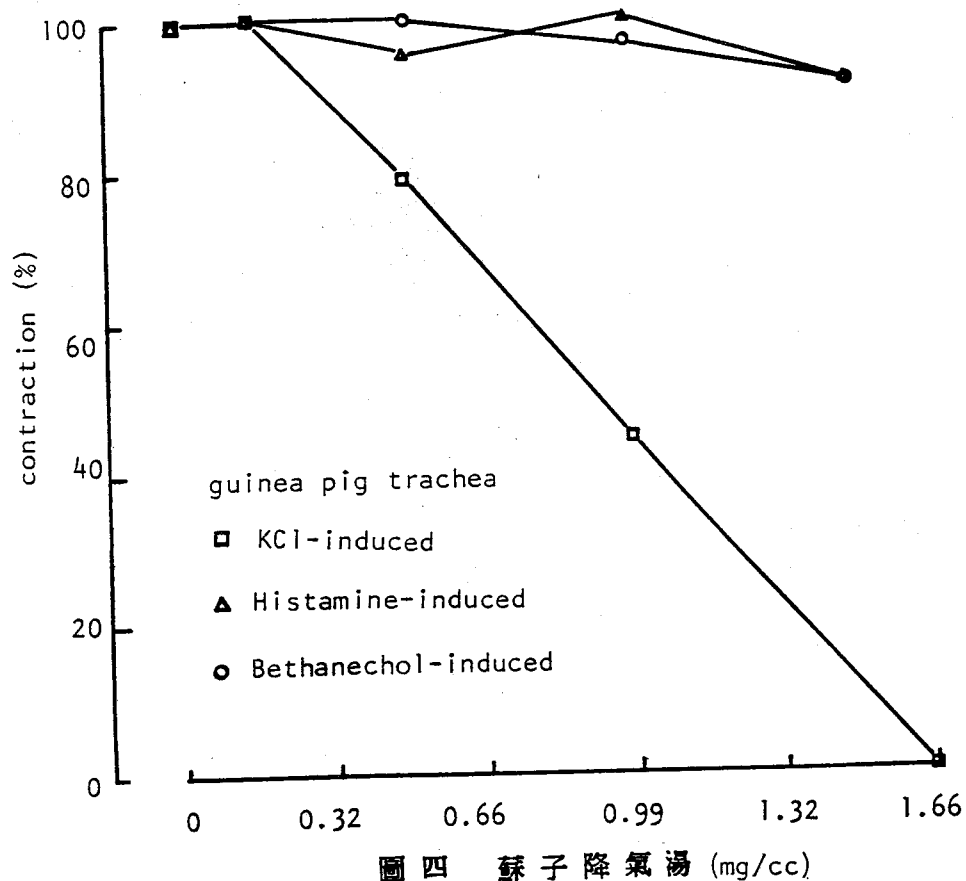
研究結果

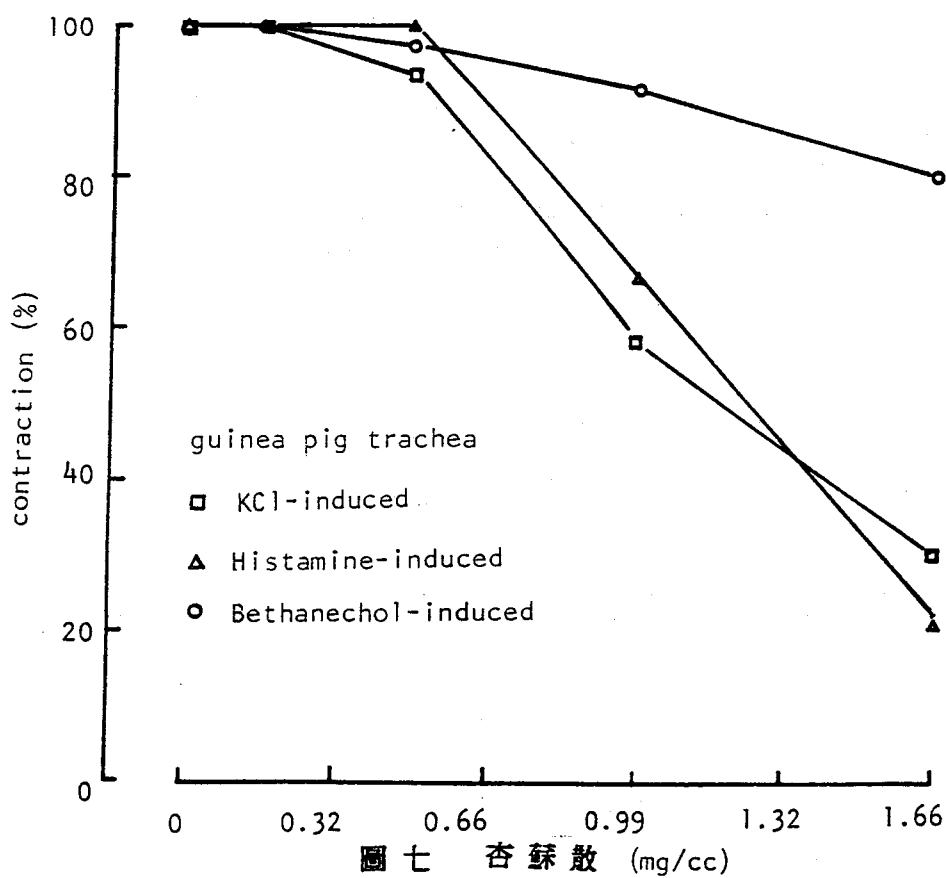
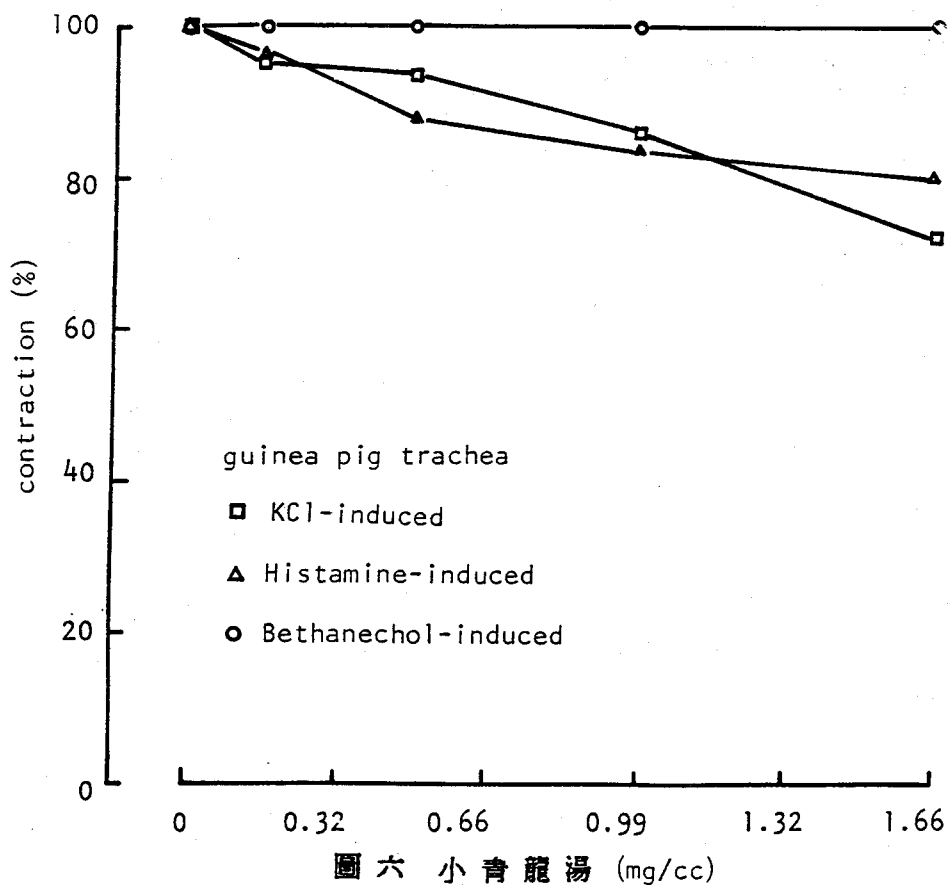
圖一至圖三顯示 Histamine, Bethanechol 及 KCl 的劑量反應曲線圖。以下是本研究所採用導致氣管收縮的劑量: Histamine, $1 \times 10^{-4}M$; Bethanechol, $1 \times 10^{-4}M$; KCl, 60mM。圖四至圖十三則為蘇子降氣湯、止嗽散、小青龍湯、杏蘇散、定喘湯、參蘇飲、寧嗽散、華蓋散、麻黃湯、金沸草散的劑量鬆弛反應圖。

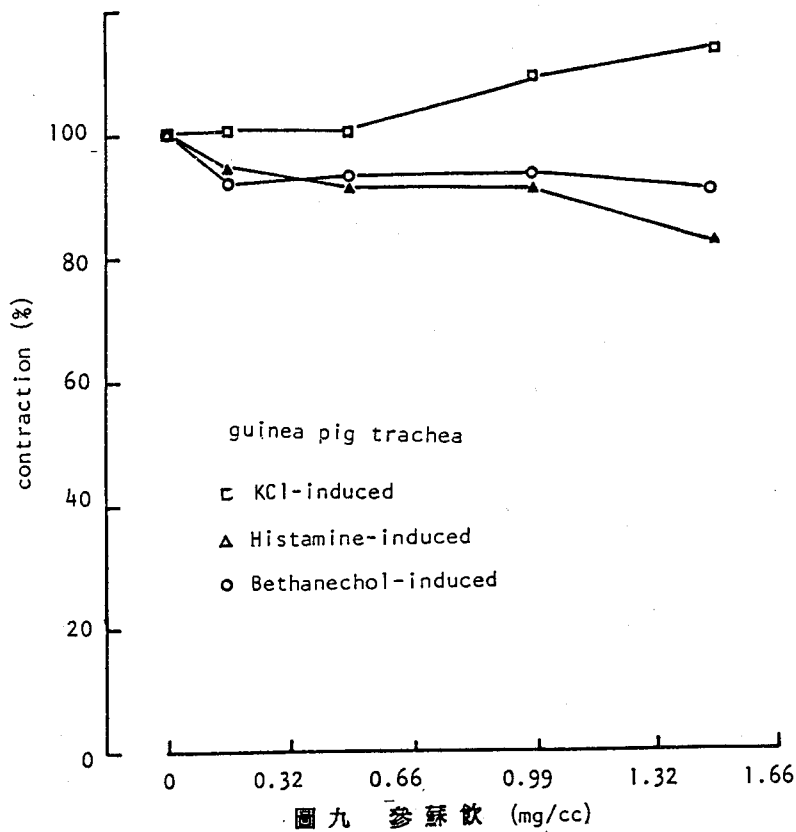
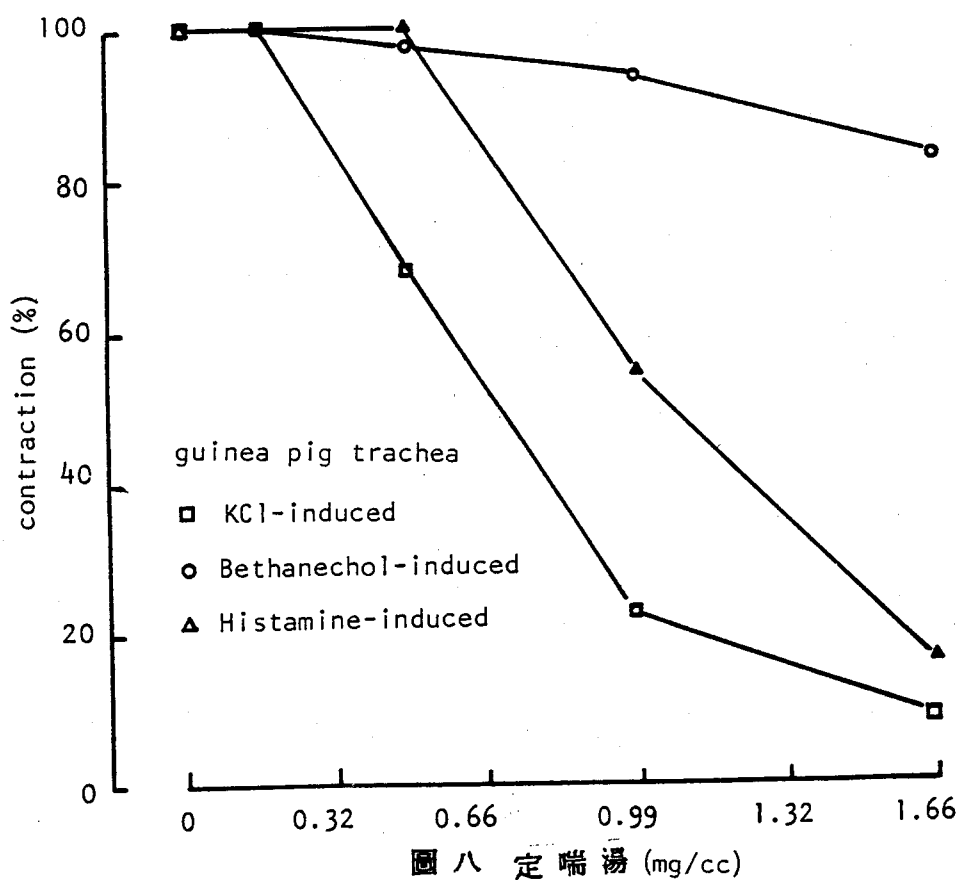
以對抗 KCl 所引發去化反應所帶來鈣離子擁進細胞的行動來說，蘇子降氣湯、杏蘇散、定喘湯、華蓋散等都有明顯的效果。以對抗 Histamine 所導致的氣管收縮來說，杏蘇散、定喘湯、華蓋散等都有明顯效果。以對抗 Bethanechol 所導致的氣管收縮來說，除了止嗽散、杏蘇散及定喘湯略有對抗作用外，這方面的反應並不明顯。

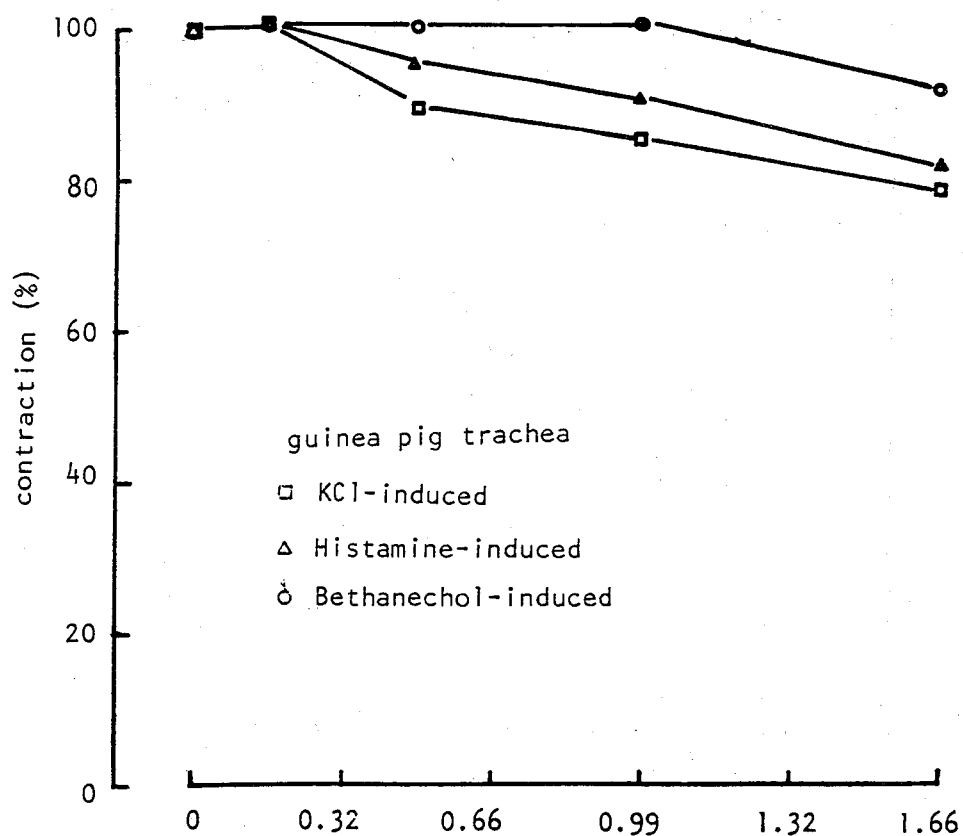




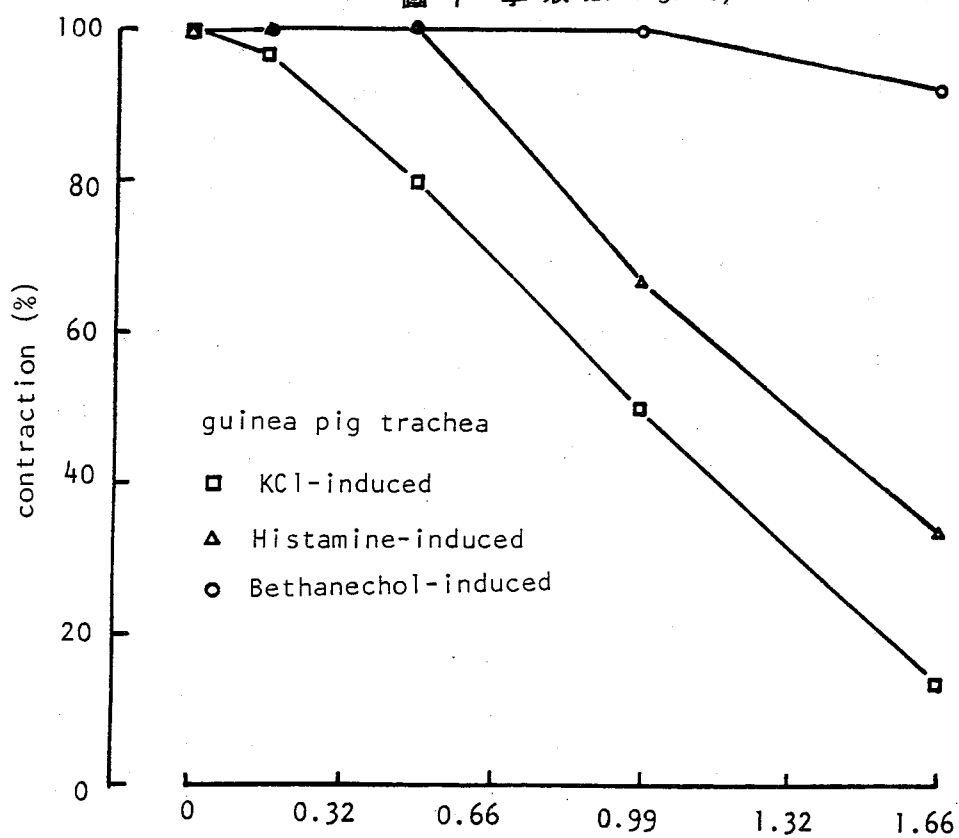




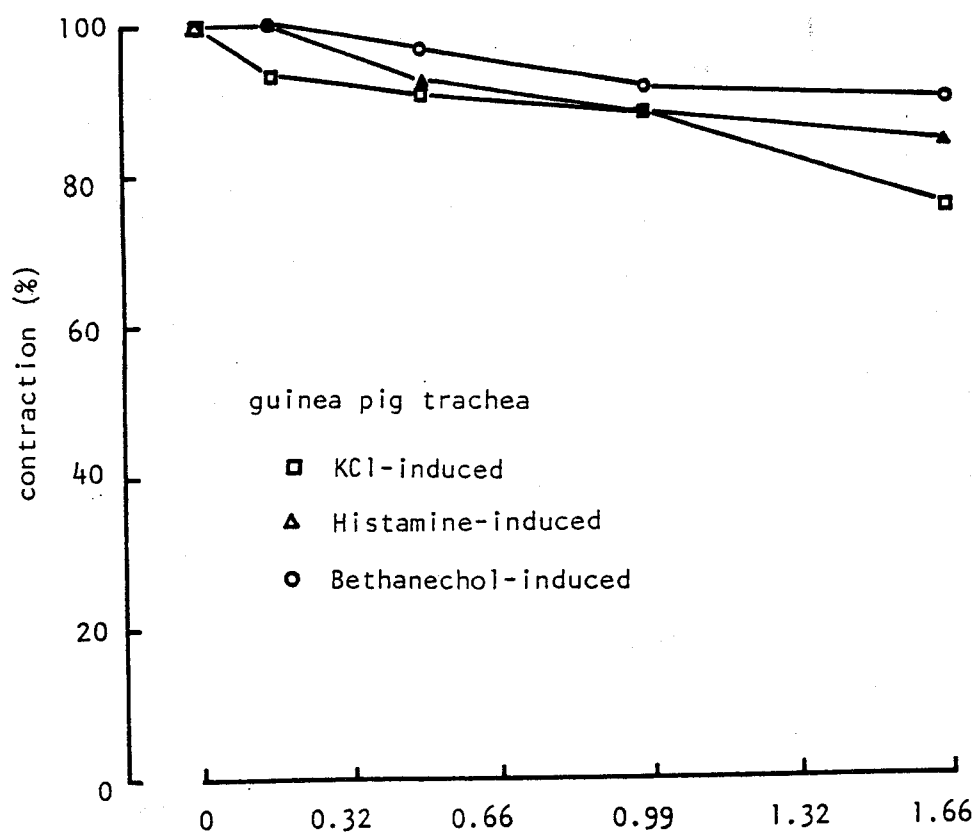




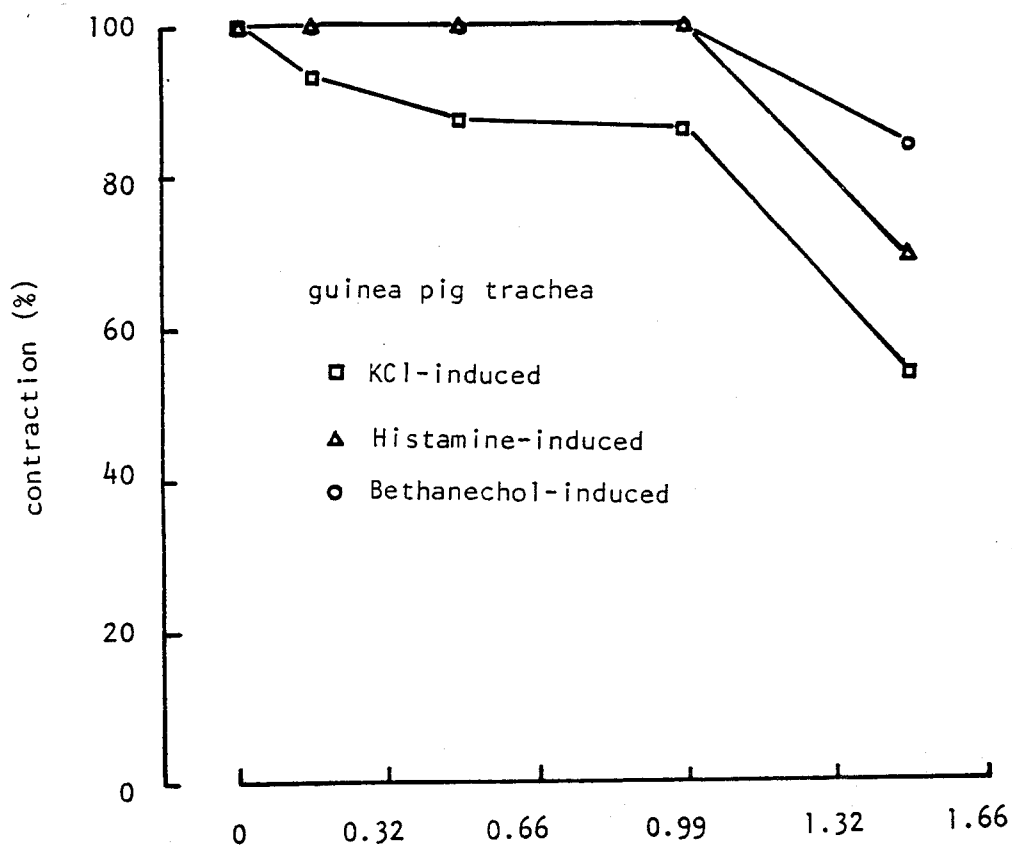
圖十 寧嗽散 (mg/cc)



圖十一 華蓋散 (mg/cc)



圖十二 麻黃湯 (mg/cc)



圖十三 金沸草散 (mg/cc)

討論

本計畫所研究的治療咳嗽中藥方劑確有鬆弛氣管的能力，但是各種方劑的功效不一樣，綜合以上結果顯示，鬆弛氣管效果的方劑有杏蘇散、定喘湯、華蓋散。本計畫由於儀器費用全被刪除，故此活體動物實驗無法進行。

生藥對疱疹病毒增殖抑制 能力及機轉之研究

國立台灣大學獸醫學系

沈永紹

摘要

本研究之目的為探討以細胞培養法為模式做為篩選具抗病毒效力之生藥試驗方法。嘗試以五十種生藥萃取物分別進行阻止第一型疱疹病毒（*Herpes Simples virus. typel. HSV-1*）吸附 Hela 細胞及抑制病毒在 Hela細胞內之增殖作用。

試驗結果顯示在阻止病毒（HSV-1）吸收作用方面，在高濃度1000ug/ml時，立即抗病毒效果中對細胞有毒性之生藥萃取物有七種（14%），而於室溫中作用1小時後抗病毒效果對細胞有毒性之生藥有13種（24%），兩者總計有十七種生藥對細胞具有毒性，不具毒性但無效者有八種。有毒性之生藥萃取物共有十七種（36%），不具毒性但無效者有八種，其餘廿五種則有顯著的效果。在廿五種高濃度有效萃取物中，其濃度降低至250ug/ml時則僅有十四種有效。濃度再降低至100ug/ml有效者有八種，濃度在10ug/ml時有效者僅有二種，這兩種生藥為烏臼鮮品及烏臼。在阻止病毒（HSV-1）在細胞內之增殖試驗結果，在高濃度1000ug/ml對細胞有毒性之生藥萃取物共有十四種（28%），不具毒性且無效者有十七種，其餘二十種有效萃取物在降低濃度250ug/ml時有效者有十四種，濃度在100ug/ml時有效者有八種，濃度低至10ug及5ug均有效者有二種，這二種草藥亦為烏臼鮮品及烏臼。

本試驗結果顯示有兩種生藥在極微劑量亦能產生抑制病毒增殖的效果，証明以細胞培養法作為偵測生藥萃取物對病毒抑制之能力極為快速，精確。值得以此一模式來篩選出更多具抗病毒增殖作用之生藥，而能發展出更多預防及治療病毒性疾病之生藥。

我國中醫生藥學已有悠久的歷史，中醫學是以整體觀念及辨証診治的理論為特點。方藥，針灸及病症防治技術，廣為一般民衆所接受。由於近代西方醫學的迅速發展而中醫學未能有效地以科學試驗證據來說明它的效果，對中醫學的發展受到限制。雖然西方醫學科技的突飛猛進，但對人類的許多疾病尤其慢性疾病的治療或預防尚無法有效地控制，例如癌症的防治以及一些病毒性疾病的治療等等。這些西醫科學無法解決的問題，有些卻在中醫學方面有神奇的效果出現，因而中醫學漸受重視，為了瞭解中醫學奧妙，最近已配合西方醫學的試驗科技進行中醫學療效的試驗。

近年來作者已有中藥抑制病毒繁殖的試驗報告，如對鴨B型肝炎病毒（DHBV）的抑制試驗發現有良好的效果（10），報告中指示以 DHBV 篩選抗親肝 DNA 病毒有效的中藥，發現有數種生藥如小金櫻及葉下珠之萃取物在試管中顯示有強烈的抑制病毒增殖之效果，這些萃取物對人的B型肝炎病毒（HBV）也有部份的抑制效力（11）。由此結果推測許多生藥可能對病毒性疾病的治療或預防有效果。

疱疹病毒為一種感染人類最廣泛的病毒性疾病，目前已知有病原性的有四十多種，其中以 Herpes Simplex Virus第一型（HSV1）及第二型（HSV2）感染最為普遍，它除了引起口唇及性器官的疱疹及皮膚型（皮蛇）病變外，也與許多其他疾病的發生有密切關係（1、2、3）。HSV主要由接觸感染，被感染的患者呈急性型，口唇及性器官部位發生潰瘍，恢復後病毒常成持續感染的狀況，潛伏在免疫系統較無法清除的部位如神經組織，特別在三叉神經或薦椎神經（4）這些潛伏感染的病毒，在宿主的免疫防禦略有減弱時，則又被活化起來，造成再發的病變（5）。目前對 HSV1 及 HSV2 的免疫預防，尚未發展出有效的疫苗，雖然在西藥方面已有些治療的藥物如 trifluorothymidine, Vidarabine 的報告（6.7），但此類藥物主要為抑制病毒核酸之

形成，毒性高無法長期使用，對於潛伏的病毒又未具殺滅能力，它們的功效僅為治標不治本。

本試驗選擇普通感染人類的疱疹病毒 HSV-1 做為工具來篩選具有抗病毒效力的中藥。試驗材料為選擇五十種中藥的萃取物在試管內初步進行研究阻止病毒對細胞的吸附及增殖的機制。

材料及方法

一、材料

1. 生藥萃取物：五十種中藥材之萃取物係由台北醫學院顏熒焜教授及楊玲玲教授提供。分別經 H₂O; 50% EtOH 及 80% Acetone 萃取後並以 50% DMSO 泡製成每 ml 含 10mg 之藥物含量（表四）。
2. 病毒：Herpes Simplex Virus type 1, (HSV1) 係由陽明醫學院劉武哲教授分讓，病毒力價為每 ml 含 $10^{6.0}$ TCID₅₀。
3. 細胞：Hela Cell 株，由國立預防醫學研究所林勝育副所長分讓。

二、方法：

1. 生藥萃取物阻止 HSV-1 吸附細胞作用的試驗：以兩種試驗方法來觀察，生藥萃取物抑制 HSV-1 吸附細胞膜的功能。
 - a. 五十種生藥萃取物以阿拉伯數字編號 1~50（表四），分別用 1000ug/ml 劑量與 HSV-1 (10^4 TCID₅₀/100ul) 病毒液混合，在室溫混合作用後立刻將混合液接種在廿四孔培養盤內長成之單層 Hela 細胞，每孔加入 100ul 混合液，每種萃取物用之二孔並在 5% CO₂ 37℃ 感作一小時，感作時每 10-15 分鐘搖動一次，使混合液均勻分佈在單層細胞上，感作一小時後，以 PBS 緩衝液洗滌三次，將未吸附的病毒混合液去除乾淨後，再加入細胞維持液，培養觀察細胞變化，七十二小時後判讀。

b. 同樣用五十種生藥萃取物分別用1000ug/ml劑量與HSV-1 (10^4 TCID₅₀/100ul) 病毒液混合，在室溫混合作用一小時後，再將混合液接種到廿四孔培養盤內三日於的單層細胞 (Hela Cell)，每孔含100ul 混合液，每種萃取物用二孔，並在 5% CO₂ 37℃ 定溫箱中感作一小時，感作時每10-15 分鐘搖動一次，使混合液均勻分佈在單層細胞上，感作1小時後以 PBS緩衝液洗滌三次，將未吸附的病毒及中藥萃取物清除乾淨後再加入不含藥物之細胞維持液，觀察培養細胞變化，七十二小時後判讀。

c. 具抗 HSV-1 效力之生藥萃取物最低有效濃度之探討：

由 (a) 及 (b) 兩試驗方法中篩選出有效的生藥，不具細胞毒性及有阻止病毒吸附細胞效力者，用 250ug、100ug、10ug、5ug、1ug、0.1ug不同濃度之劑量檢測，測定其最低有效之濃度。

2. 生藥抑制 HSV-1 在細胞內增殖的試驗：

以 HSV-1 (10^4 TCID₅₀/100ul) 病毒液接種單層 (Hela Cell) 細胞，在37℃感作一小時，後以PBS 緩衝液洗去殘留的病毒後，將不同濃度之物1000ug、250ug、100ug、10ug、5ug、1ug、0.1ug萃取物分別加入細胞維持液，培養於37℃定溫箱中並觀察細胞變化，七十二小時判讀。

結 果

1. 生藥阻止 HSV-1 吸附細胞作用之試驗結果：

a. 五十種藥物萃取物對 HSV-1 之立即抗病毒效果及對細胞毒性試驗結果詳列於表一。結果顯示，五十種萃取物在1000ug濃度下有抑制細胞吸附效果者共有20種 (40%) 編號分別為 1、7、8、12、14、15、19、26、27、29、31、33、36、40、42、46、47、48、49、50等。其餘未列出者為無效。

- b. 五十種葯物萃取物在與 HSV-1 於室溫作用一小時後，再接種有抑制吸附效果者詳列於表二。在濃度1000ug有效者共有廿種（40%）編號分別為5、8、11、12、14、15、19、24、25、26、27、29、31、35、36、42、46、47、48、49等。有毒性者十三種（26%）編號為6、7、13、18、20、21、23、32、33、34、37、38、40等。
- c. 由上述 a、b 二次篩選出之無毒有效之葯物二十五種中進行不同濃度之阻止及抑制病毒增殖作用結果詳列於表二。在濃度250ug 有效者，共有十四種，編號分別為5、8、12、14、15、16、27、31、35、36、46、47、48、49。在濃度10ug有效者共有八種，編號分別為8、12、14、36、46、47、48、49。二種，編號分為47、48而濃度低於5ug則無有效者。

2. 中草葯抑制 HSV-1 在細胞內增殖之試驗結果：

本項試驗結果詳列於表三。從五十種草葯萃取物中在1000ug濃度下，有效葯物共有十九種（38%），編號分別為1、7、8、12、14、15、19、26、27、29、31、35、36、40、43、47、48、49、50等，而有毒性者共有十四種（28%），編號分別為5、6、10、11、20、21、23、30、32、33、38、41、42、44等。進一步從十九種有效葯物中試驗較低濃度之抑制病毒增殖效果時，在250ug 濃度下十四種（28%）有效，編號分別為8、12、14、15、26、27、31、35、36、43、46、47、48、50等。在100ug 濃度下有效者八種（16%），編號為8、12、14、15、26、27、47、48等。在濃度10ug及5ug下有效者各有二種，編號均為47、48等。而濃度在1mg以下則無效果。

討 論

由五十種中草葯之萃取物在試管內進行抗HSV-1 病毒的增殖試驗結果發

現廿種萃取物在高濃度1000ug時對病毒吸附細胞的作用有明顯的阻止功效，使病毒無法進入細胞內增殖，而萃取物阻止病毒吸附細胞的作用在廿種中有十四種不論萃取物與病毒預先作用一小時或瞬間作用後立即接種細胞均有同樣的效果，其餘不相同的六種因對細胞毒性的關係而影響效力的判讀。在病毒吸附細胞後，再以1000ug濃度之萃取物加在病毒增殖液中時，五十種中有十九種可抑制病毒吸附細胞後的增殖作用，從三種方法試驗結果具有抗病毒增殖的有效藥物萃取物共有廿六種，其中對病毒吸附細胞及吸附後的增殖能力均有抑制效果者共有十三種，從這些試驗結果知道有多種中草藥的萃取物在試管內確實對抗病毒的增殖有明顯的效果。至於有關抗病毒的機制，本試驗僅初步針對 HSV-1 病毒在 Hela細胞內繁殖過程中各種步驟的第一步細胞的吸附來試驗，病毒的感染細胞靠與細胞的接受器吸附後，再進入細胞內進行第二步驟的繁殖（7.8）。中草藥萃取物能在瞬間或一小時的時間與病毒接觸後即可阻止病毒的吸附細胞，它阻止機制是因破壞或改變病毒或細胞的接受器或如抗體抗原的功效阻止它的結合尚無法瞭解，必須再進一的試驗。至於萃取物之濃度減低後，則有效抑制的藥物也隨著減少，顯然地也有劑量的相關性，這可能是因為 HSV-1 病毒的表面蛋白（抗細胞接受器）的種類不止一種，而且一種病毒表面蛋白分子，也有數種的感應點（domains），

因此在萃取物濃度減低後其有效的種類減少，是可想而知的，但在試驗的藥物中有二種，它的濃度降低至10ug尚有效，可見這二種藥物對抗病毒的增殖有顯著的效果，值得再進一步的探討。

病毒在吸附細胞後，HSV-1 係為有封套之病毒，病毒顆粒靠與細胞膜融合後進入細胞質內，這種作用時間極短病毒顆粒進入細胞質內脫去外殼蛋白，游離出病毒 DNA並被立即輸送到細胞核內進行轉錄（transcription）的步（8），本試驗中在病毒吸附細胞後，再將中藥萃取物添加在病毒增殖液中（細胞維持液），顯然地它的抑制病毒增殖的功能，應在抑制病毒 DNA 進行轉錄時或以後的繁殖步驟。這在目前已知的一些抗 HSV-1 的化學藥物的抗

毒機制中也有類似的報告 (9) ; Vidarabine 的抗毒機制雖不完全瞭解，但在細胞內立即被轉化為 Arabinosyl hypoxanthine，抑制病毒 DNA 的轉錄已略有所知，中草葯萃取物在細胞內如何抑制病毒的增殖，在它本身的化學成分尚未清楚前是無法瞭解的，但在本實驗室應用鴨肝細胞感染鴨 B 型肝炎病毒的系統來篩選抗親肝 DNA 肝炎病毒的有效中草葯時發現，中草葯萃取物對鴨 B 型肝炎病毒增殖的抑制功能，顯然與病毒的核酸聚合酶 (DNA Polymerase) 的活性有關 (12) 萃取物濃度減低時，有效抑制的種類亦也隨之減少，但在 5ug 濃度時，47 及 48 二種葯物還有顯著的效果，這與抑制病毒吸附細胞的結果一樣，可見這二種葯物在抗 HSV-1 病毒的潛力。在試驗過程中亦發現萃取濃度在 1000ug 時有廿一種草葯，對 Hela 細胞有強烈的毒性。本報告僅在試管內篩選有效抗病毒增殖的中草葯的初步試驗，以普遍感染人類的 HSV-1 病毒為對象，並以病毒在細胞內產生細胞病變的標準來判定它的效果，至於進一步抗病毒的機制及是否有動物體內亦有抗毒葯效的情形，必須再進一步試驗。

Table 1 The immediate antiviral effect and the toxicity of Chinese herbal extracts on Herpes Simplex Virus type 1 *

	Nos. of tested	Nos. of effective	Nos of showing toxicity
	1-50	1,7,8,12,14,15,19, 26,27,29,31,33,36, 40,42,46-50	6,9,10,11,13,23 25
Total	50	20(40%)	7(14%)

* Virus (10^4 TCID₅₀/100ul) incubated with 1000ug of tested drug immediately before inoculating the monolayer of Hela cells

*Each No. indicates one kind of Chinese herbal extracts.

Table 2 The antiviral effect and the toxicity of Chinese herbal extracts at different concentrations on Herpes Simplex Virus type 1* after 1 hr.(25° C) incubation (extracellular phase)

Doses (ug)	Nos. of tested	Nos. of effective	Nos. of showing toxicity
1000	50	5,8,11,12,14,15,19,24, 25,26,27,29,31,35,36, 42,46-49 (20=40%)	6,7,13,18,20,21,23 32,33,34,37,38,40 (13=24%)
250	20	5,8,12,14,15,26,27,31 35,36,46-49 (14=28%)	0
100	20	8,12,14,36,46-49 (8=16%)	0
10	8	47,48 (2=4%)	0
5	8	0	
1	2	0	0
0.1	2	0	0

* Virus (10^4 TCID₅₀/100ul) incubated with various doses of drugs one hour at room temperature before inoculating the monolayer of Hela cells.

*Each No. indicates one kind of Chinese herbal extracts.

Table 3 The antiviral effect and the toxicity of Chinese herbal extracts at different concentration * on Herpes Simplex Virus type 1 in Hela cells ** (intracellular phase)

Doses of extracts(ug)	Nos. of tested	Nos. of effective	No.of showing toxicity
1000	50	1,7,8,12,14,15,19,26,27,29,31,35,36,40,43,47-50 (19=38%)	5,6,10,11,20,21,23,30,32,33,38,41,42,44 (14=28%)
250	19	8,12,14,15,26,27,31,35,36,43,46-48,50 (14=28%)	0
100	19	8,12,14,15,26,27,47,48 (8=16%)	0
10	8	47,48 (2=4%)	0
5	8	47,48 (2=4%)	0
1	2	0	0
0.1	2	0	0

* Various dose of drugs was added in maintenance medium

** Nos. of Chinese herbal extracts show inhibition effect and toxicity on the growth of HSV-1 in Hela cells at different concentration at intracellular phase.

*** Each No. indicates one kind of Chinese herbal extracts.

表四：五十種生藥名稱及萃取方法

測試 序號	萃取溶劑	生藥名稱	重 量 (g)/ml	測試 序號	萃取溶劑	生藥名稱	重 量 (g)/ml
1	H ₂ O	蘇木	0.0102	26	50%EtOH	薑黃	0.0112
2	H ₂ O	小葉葡萄	0.0118	27	50%EtOH	大戟	0.0120
3	H ₂ O	莪木	0.0114	28	50%EtOH	郁李子	0.0117
4	H ₂ O	絲瓜絡	0.0116	29	50%EtOH	柴胡	0.0107
5	H ₂ O	小金櫻	0.0100	30	50%EtOH	附子	0.0105
6	H ₂ O	斑貓	0.0107	31	50%EtOH	桑寄生	0.0107
7	50%EtOH	厚朴	0.0112	32	50%EtOH	蒲桃(根皮)	0.0108
8	50%EtOH	枳實	0.0097	33	50%EtOH	厚朴(乾元)	0.0112
9	50%EtOH	小金英(果實)	0.0111	34	50%EtOH	穿山龍	0.0102
10	50%EtOH	仙鶴草	0.0124	35	50%EtOH	黃耆	0.0095
11	50%EtOH	女貞子	0.0107	36	50%EtOH	胡麻仁	0.0101
12	50%EtOH	兔絲子	0.0095	37	50%EtOH	葫蘆巴	0.0122
13	50%EtOH	巴豆	0.0102	38	50%EtOH	穿地龍	0.0098
14	50%EtOH	明玉竹	0.0125	39	50%EtOH	風不動	0.0100
15	50%EtOH	川紅花	0.0105	40	50%EtOH	蒼朮	0.0124
16	50%EtOH	何首烏	0.0119	41	80%Acetone	紫花羊蹄甲	0.0095
17	50%EtOH	麥門冬	0.0108	42	80%Acetone	蕃石榴(葉)	0.0118
18	50%EtOH	大金英(根)	0.0092	43	80%Acetone	長葉合歡(葉)	0.0099
19	50%EtOH	川七	0.0109	44	80%Acetone	毛苦蔕(枝)	0.0125
20	50%EtOH	雞血藤	0.0101	45	80%Acetone	南天簕(根莖)	0.0121
21	50%EtOH	牡丹皮	0.0110	46	80%Acetone	南天簕(葉)	0.0115
22	50%EtOH	番瀉葉	0.0109	47	80%Acetone	烏白(鮮品)	0.0095
23	50%EtOH	續隨子	0.0110	48	80%Acetone	烏白	0.0107
24	50%EtOH	綿茵陳	0.0107	49	80%Acetone	魚藤	0.0115
25	50%EtOH	北茵陳	0.0122	50	80%Acetone	大葉合歡(莖)	0.0100

註：(g)/ml:公克生藥/毫升50% DMSO

參考文獻

1. Cumstom,C.G.(1926) History of herpes from the earliest times to the 19th century. *Ann Med.History* 8:284-291
2. Brooks,S.L.; Rowe N.H., Drach J. C., Shipmen C.Jr.,and Young S.K. (1981) Prevalence of Herpes Simplex Virus Disease in a Profenional Population.*J.Am.Dent.Assoc.* 102 : 31-34
3. Chang T.W.; Fiumara N. J.and Weinstein L. (1974) Genital herpes same clinical and laboratory observations. *JAMA*,229:544-545
4. Cook.M.L.and Stevens J.G. (1976) Latent herpetic infections following experimental vireamia. *J.Gen.Virol*, 31:75-80
5. Douglas R.G., Jr.and Couch R.B. (1970) A prospective study of chranic humans. *J. Immunol.* 104:289-295
6. Kaufman H.E. (1980) Nesburn A.B.,and Maloney E.D. (1962) IDU therapy of herpes simplex. *Arch.OPhthalmol.* 67: 589-591.
7. Kaufman H.E. (1980) Antimetabolites in the management of herpes Simplex Keratitis. *Metab.Pediatr.Ophthalmol.* 4:175-177
8. Simons,K.;Garoff,H.,and Helenius. A. (1982) How an animal virus gets into and out of it host cell.*Sci. Am.* 246,46.
9. Shannon ,W.M.(1975) Adenine arabinoside: Antiviral activity in vitro In : *Adenine Arabinoside : An antiviral Agent.* Edited by D. Pavan-Langston, R. A. Buchanan,and C. A. Alford. Raven Press, New York.pp 1-43
10. 沈永紹. 建立篩選具抗B型肝炎病毒效力之動物模式：以鴨B型肝炎病毒為動物模式（二）－期末報告．
11. 張清華. 鴨B型肝炎病毒之研究．(1990)台灣大學博士論文。
12. 陳錚錚(1989)、章焜程(1991)台灣大學碩士論文

Studies on the Inhibition of Multiplication of Herpes Simplex Virus type 1 by the Extracts of Chinese Herbal Drugs

Yong-Shau Shien¹, Wei-Chuang Ho¹ and Shiow-Suey Lai¹

Kun-Ying Yen² and Ling-Ling Yang²

The purpose of this research is to use cell culture system as a model to screen the Chinese herbs with anti-herpes simplex virus type 1 (HSV-1). Fifty Chinese herbal drug extracts were tested for their effects on the inhibition of viral absorption and multiplication in the Hela cell.

The results indicated that there were 17 extracts (36%) which showed high toxicity to the Hela cells including 7 extracts (14%) of immediate treatment and 13 extracts (24%) of incubation treatment after one hour. There were 8 extracts without any toxicity and effect on the absorption of HSV-1 to the Hela cell at high concentrated dosage (1000 ug/ml). The rest of 25 extracts showed high effectiveness. Further studies on the 25 effective extracts at the lower dosages indicated that at concentraion of 250ug/ml, 14 extracts were effective. 8 and 2 extracts were effective at the concentrations of 100 ug/ml and 10 ug/ml, respectively. However, the results of inhibition on the viral multiplication in the Hela cell showed that at a high concentrated dosage (1000 ug/ml), 14 extracts had toxicity, 17 extracts had no toxicity and effect and 20 extracts had significant effect. At a low concentration (250 ug/ml), 14 out of 20 extracts were effective. Eight extracts were effective at concentration of 100 ug/ml and 2 extracts were still effective at the concentration of 10 ug/ml and 5 ug/ml, resoectively.

The experimental results indicated that two extracts at fairly low concentration still exhibited significant antiviral effect. Therefore cell culture system can be used as a model to screen the Chinese herbs with antiviral effect,rapidly and efficiently

-
1. Research Institute of Veterinary Science, National Taiwan University
 2. Dept. of Pharmacology, Taipei Medical College

中藥對人類淋巴球姊妹染色分體交換的影響

台北榮民總醫院內科部腫瘤科

陳博明

摘要：

姊妹染色體交換 (Sister chromatid exchange) 代表核酸複製時在一對染色體對等處之交換，可用於表示遺傳物質損傷之程度，是用以偵測遺傳毒性的一種可靠的方法。本研究針對五位正常人週邊血液淋巴球，在體外分別測試自然狀態及加入中藥萃取物時之 SCE 頻率。後者係取臭茉莉萃取物，依四種濃度：每毫升中加入 0.01mg，0.1mg，1mg 及 10mg 為之，並至少觀察 30 個分裂相統計之。結果顯示加入臭茉莉萃取物，並不影響正常人淋巴球之 SCE 頻率表現，但確有隨中藥濃度增高而增加 SCE 的趨勢，唯未達有意義的程度。結論是未來應再增加所測樣本數目，方能進一步了解是否中藥對 SCE 有其影響。另外，在癌症病人是否有同樣之情形，則有待下一年度之研究。

引言：

近年來，在先進國家中遺傳毒理學 (Genotoxicity) 受到相當的重視，主要原因是一般認為癌症甚至老化，皆於人體的遺傳物質有關，因此如何從人類的生活環境中，包括食物、空氣、飲水、醫藥、用品、工作與居住場所等檢查出有遺傳毒性的物理或化學因子，就成為衛生和環境當局的重要課題，經過多年的研究，已經確定 mutagen 突變劑以及大部的 carcinogens 致癌劑都會引起 DNA damage (DNA 傷害)，並且會增加 sister chromatid exchange (SCE) 姊妹染色分體交換的頻率 (frequency)，因此 SCE 是偵測遺傳毒性的一種靈敏且準確的方法，受試藥物只要低濃度 (low doses) 就能 induce SCE frequency 增加，然而中藥與國人日常生活息息相關，而且使用的頻率也很高，而國內外相關之研究卻極缺乏，本研究即針對數種國人常用之中藥進行體外測試，以了解中藥是否會對染色體造成傷害，或者有保護作用，以期對中藥提供科學之研究。

材料與方法：

取五位正常人周邊血液淋巴球，分別測定在自然狀態及加入中藥萃取物時之 SCE。

一、中藥之萃取：

由台北醫學院楊玲玲教授（藥學研究所生藥學科）提供之 100 多種中藥萃取物中，選擇臭茉莉 (*Clerodendron fragrans*)，採用四種不同濃度，分別為：每毫升中加入 0.01mg，0.1mg，1mg 及 10mg 萃取物。

二、姊妹染色分體 (sister chromatid exchange) 分析：

1. 由正常人或病人抽取周邊血約 10ml（內含 Heparin）
2. 將周邊血靜置 2～3 小時，取其棕黃層 (Buffy coat) 之細胞層，以 RPMI-1640 (20 % FCS，1 % PSN) 培養。
3. 同時加入 PHA (10ug/ml)，BrdU (Bromodeoxyuridine) (20um)，各種不同中藥→共同培養 72 小時。
4. 在 Harvest 前 2 小時加 colcemide，接著加 0.075mkcl (Hypotonic solution) 8 分鐘。
5. 再用 Fixer (Methanol:Acetic Acid=3:1) 固定，Wash 數次，便可滴在 microslide 上。
6. 接著用 Hoechst 33258 (0.5ug/ml) 染色 12 分鐘。
7. 取出、置於 sunshine 日照下 2 小時～4 小時，再用 3 % Giemsa stain 染色，便可在 microscope 顯微鏡下觀察，SCE（每個檢體需檢試 30 個 metaphase 計算其 SCE 之量，亦以相片為準）。

三、資料分析採用魏氏檢定 (the Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test)。

結果：

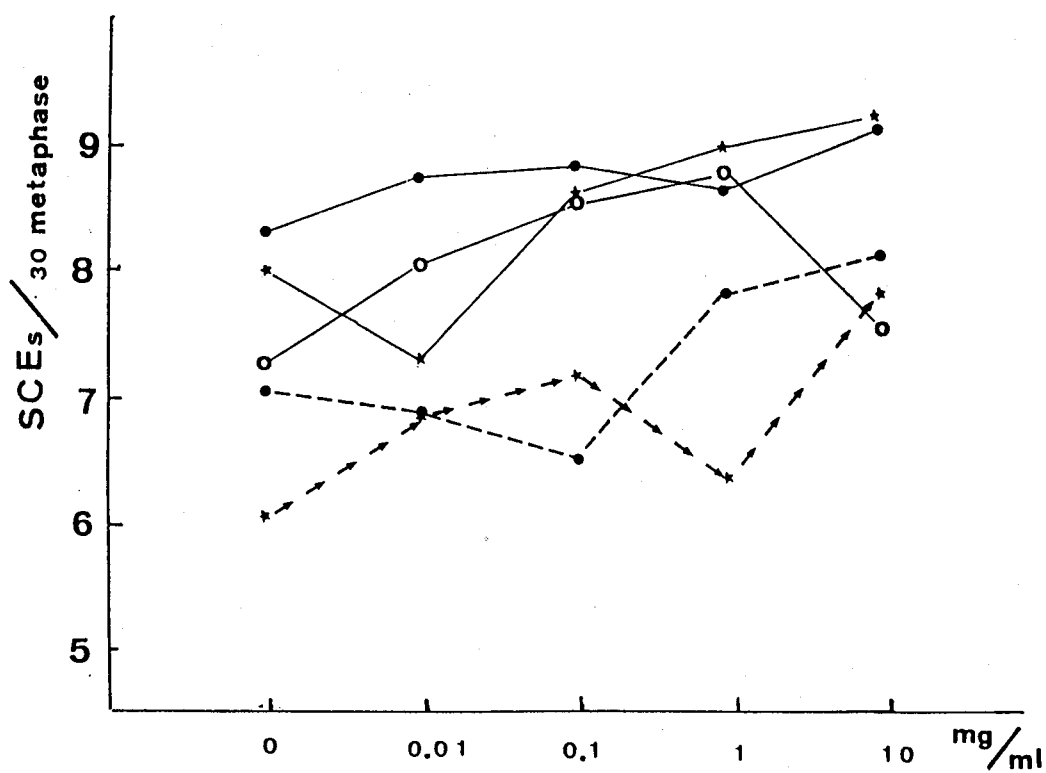
五例正常人淋巴球，在自然狀態（未加藥）及加入中藥之情況下，SCE 之頻率可以表 1 及圖 1 表示。

結果顯示四種濃度之臭茉莉並不影響正常淋巴球之 SCE ($P > 0.05$)。

表 1. 不同濃度之臭茉莉萃取物下五例正常人之姊妹染色體交換頻率

Case no. Conc. (mg/ml)	1	2	3	4	5	平均值 \pm SD
控制組	8.33	8.0	7.26	7.01	6.06	7.33 ± 0.89
0.01	8.75	7.45	8.0	6.89	6.85	7.58 ± 0.8
0.1	8.80	8.68	8.5	6.5	7.02	7.9 ± 1.06
1	8.68	9.06	8.75	7.76	6.46	8.14 ± 1.05
10	9.8	9.23	7.50	8.02	7.66	8.29 ± 0.80

圖 1. 不同濃度之臭茉莉萃取物下五例正常人之姊妹染色體交換頻率



討論：

本研究中所採用之樣本，均採自正常不吸煙之成人，因為曾有報告指出吸煙者 SCE 比不吸煙者平均高出 30 %。以往尚未有人針對中藥與 SCE 之關係深入探討。就本研究結果顯示無明顯影響而言，我們認為仍有極大之研究空間，其理由如下：

- (一)樣本數過少。限於人力，對 SCE 如此繁複之檢驗步驟及各種濃度之中藥萃取物，僅能做小規模之偵測，以致樣本數偏低。事實上在所有五例中，SCE 頻率確實有隨中藥濃度增加而升高之趨勢。我們認為很可能一旦病例數增加即會呈有意義之差別。
- (二)中藥萃取物之定量尚未標準化，其中有效之成分亦多不清楚，而其在人體內是否可達到如此高之濃度（如每毫升血中 10mg）極為可疑。但由於無一定之標準定量法，以致於結果缺乏客觀性。此部分有賴日後多方之配合研究。
- (三)可以建立 SCE 之實驗模式。

由於國內目前以 SCE 技術分析致癌物質尚乏有系統之統合，可藉此研究，一方面尋求建立自己的實驗室資料，一方面可與國內其他重要機構合作，以期建立一實驗模式，比照國外各種「環境致癌物保護組織或學會」的組織，提供國內環境保護方面的資訊，更加提昇環保品質。

因此本研究小組認為以此模式，繼續測試其它數種中藥，其至以癌症病人為樣本，探討中藥是否能藉某些機轉，促進修補或保護功能，因而影響 SCE 之表現，亦為一大研究課題。

婦產科中藥方劑之藥理研究 生化湯

台北醫學院 · 生藥學科 · 婦產科

許淳森 · 楊玲玲 · 顏焜熒

摘要

生化湯為我國婦產科常用產後之臨床方劑，首載於明朝傅山所著“傅青主女科”主要功用為通滯、和榮、補虛、消瘀，治產後兒枕骨痛及惡露不行，腹痛等症。處方是由當歸、川芎、桃仁、黑薑、炙甘草五種生藥組成。本研究主進行生化湯對離體天竺鼠子宮肌肉及迴腸之影響，以探究評估生化湯臨床應用之學理根據。物之調製則依民間用水煎煮及半酒水之原則，以水及15%酒精抽取物，探討不同溶劑之藥效，並進而以單味加減藥物方式探討中藥方劑組成生藥間之相關性和配佐之意義。試驗結果：對增進離體迴腸收縮之改善率(%)，單味中藥以桃仁最大(大於(611))，川芎最小(58)；減方中則以去黑薑及去甘草者最大，全方最小(200)。對增進離體子宮收縮之增進值(CM)，桃仁最大(3.4)，黑薑及甘草最小(0)；全方及減方皆有子宮收縮桃仁之減方最小(0.3)。依試驗結果得促進作用，其中以全方作用力最大(0.7)，世知，(1)生化湯(全方)確有子宮收縮之促進作用，其收縮促進力略緩和於ERGONOVINE者，(2)對迴腸收縮之副作用較其他減方為小，(3)桃仁為子宮收縮之主要組成，有其意義存在。

關鍵詞：生化湯、方劑、單方、加減藥、子宮肌肉收縮、迴腸收縮

前言

生化湯係依據傅青主女科記載。由當歸、川芎、桃仁、黑薑、炙甘草組成。方劑中之當歸、川芎、桃仁均為血藥，具有活血祛瘀，溫經止痛之作用，

臨床上多用於產後惡行不露，或行而不暢，小腹疼痛；另亦常用為產後之調經劑，亦可預防產後感染。因此具有生血化瘀，溫經止痛之作用，故名生化湯。此方在東方國度之日、韓雖亦使用中藥方劑治病，但產後則無使用生化湯之例，產後服用生化湯普遍用於我國南方各省，這是一具有“地域”性之產科方劑。本論文以傳統之療效，加以現代藥理之解析，以評估生化湯之療效及未來之應用。

中藥方劑宜以生藥學、現代藥理學及生物化學之方法，經由基礎實驗，解明其間之生理作用，方能使傳統中國醫學進入現代醫學之體系。生化湯具有生新血化瘀血之功能，主治產後營血虛滯之凝腹痛證。乃新產之後，營血必虛，理應大補，但有血瘀腹痛之後，純補則陳瘀不去，單破則新血不生，故營血虛滯之證，宜用生血化瘀之方劑。因此複用於產後惡露不行，瘀血內蓄作痛。特別能加速子宮復原，制止子宮收縮作痛，促進乳汁分泌，並能預防產褥感染等。因此本研究即擬針對傳統中醫之臨床療效，付之以現代藥理學之評估。

產後腹痛乃多屬子宮復原時子宮收縮之作痛，因此首先探討生化湯以及其構成諸生藥對離體子宮肌肉及迴腸之影響。

材料與方法

一、藥物

- (1)生化湯依其組成比率，當歸 160g．川芎 60g．桃仁 20g．黑薑 10g 及甘草（炙）10g．以 10 倍重量之蒸餾水迴流抽取，70-80 度 C 約 12 小時，共抽取兩次，過濾液濃縮後冷凍乾燥得其粗抽取物，求其抽出率。
- (2)生化湯之減方則依上之比率，分別把當歸、川芎、桃仁、黑薑及甘草去掉，得到五種處方。分別依上法用蒸餾水抽取，乾燥，求其抽出率。
- (3)另外分將當歸、川芎、桃仁、黑薑及甘草單味藥依上法用蒸餾水抽取，乾燥，亦求其抽出率。

二、實驗動物

天竺鼠，雌性未懷孕，體重約 250-350g。斷頸後取其子宮及迴腸 1cm 長，置於 organ bath 中待試。

三、測試藥物之調製

精秤各藥之冷凍乾燥物溶解於生理食鹽水，調配成 200mg/ml 之原液，取適當量加入 organ bath 中，使其中之濃度分別為 0.5, 1.0, 2.0 及 4.0mg/ml。對照藥物為 Acetyl choline chloride, Histamine 及 Ergonovine，分別調配成含 1mn/ml 之原液，亦加適當量入 organ bath 中，使其中之濃度分別為 1.2.5.10. 及 20mg/ml。子宮收縮試驗採用 Locke Solution（每 1l 含 NaCl 9.0g, KCl 0.42g, NaHCO₃, CaCl₂ 0.24g 及 glucose 1.0g，溶液之 PH 調為 7.5 ± 0.3）。離體回腸收縮試驗則用 Tyrode Solution（每 1l 含 NaCl 8.0g, KCl 0.2g, MgCl₂ 0.1g, CaCl₂ 0.2g, NaHCO₃ 1.0g, NaH₂PO₄ 0.05g 及 glucose 1.0g, PH 值為 7.5）

四、天竺鼠離體子宮收縮試驗

子宮標本以達發情期且無妊娠者作試驗，將其置於 Locke 溶液中，溫度維持 37℃，同時通以 95% O₂ + 5% CO 以 Isotonic Transducer 將收縮傳送至 polygraph 上記錄之。適宜調整 polygraph 之 sensitivity 及記錄紙之速度，當收縮穩定後再投與受試藥液，並以 Ach 及 ergonovine 等子宮收縮劑進行對照試驗。

五、天竺鼠離體迴腸收縮試驗

將迴腸標本置於 Tyrode 溶液中，organ bath 溫度維持在 37℃，通以 95% + 5% CO₂，亦以 Isotonic Transducer 傳送收縮信號，當收縮穩定後加入受試處方之藥液，本試驗並以 Ach 及 histamine 等迴腸收縮劑進行對照試驗。

結果與討論

一、生藥及處方水抽取物之抽出率：

生化湯及其減方或生化湯之組成單味藥，以水抽取後濃縮冷凍乾燥得其抽出率如表 1 及表 2。經由抽出率之數據可把使用之抽出物之劑量換算成原生藥之重量。由表中可知，湯方中以去川芎之生化湯－3 抽出率最好 45.1%，單味藥則以當歸之抽出率最好 56.3%。

表1：生化湯及其減方以水抽取冷凍乾燥之抽出率

湯方	生化湯-1	生化湯-2	生化湯-3	生化湯-4	生化湯-5	生化湯-6
成份	全方	去當歸	去川芎	去桃仁	去黑姜	去乾草
抽出率%	42.1	29.0	45.1	42.3	41.9	43.1

表2：生化湯成份單味藥以水抽取冷凍乾燥後之抽出率

單味藥	當歸	川芎	桃仁	黑薑	乾草
抽出率%	56.3	36.4	5.6	16.3	46.6

二、對離體天竺鼠迴腸收縮之影響：

單味藥對迴腸收縮作用之影響如圖 1 及表 3 所示。由圖可知，5 種生藥中以桃仁對迴腸收縮之促進作用最大且有彎縮現象，收縮之幅度已超過記錄紙上之限，改善率顯然大於 611 %。其次為黑薑抽出物，改善率為 450 %，當歸及川芎最小，分別之改善率為 67 及 58 %。

由以上之結果觀之，5 種生藥皆有迴腸蠕動之促進作用。生化湯水抽出物不同劑量及對照藥物對迴腸收縮之促進作用如圖 2 及表 4 所示。生化湯－1（全方）在 0.5-0.4mg/ml 四種劑量下，以 2.0mg/ml 對迴腸收縮之促進改善率最大為 160 %，故以下與減方之作用比較時即選此劑量為之。對照諸藥物中，以 Histamine 1ppm 之促進作用最大，4200 %，且有彎縮現象；Ach 之促進作用其次，改善率為 3200 %，可見此二藥物是迴腸之強力收縮促進劑；至於生化湯－1（全方則屬於緩和型促進劑。Ergonovine 對迴腸收縮促進作用之改善率為 0 %，因此 Ergonovine 屬於交感神經 L-Blocker，對副交感神經無作用，而迴腸肌肉主要受副交感神經之控制，因而推論，生化湯－1（全方）對迴腸收縮促進之原因，應屬於副交感神經之興奮所致。

生化湯及其減方對迴腸收縮之影響如圖 3 及表 5 所示。由表 5 可知，6 種處方對迴腸無皆彎縮現象；收縮促進改善作用以生化湯 5 及－6 最大為 500 %；而生化湯－2 之改善率 380 % 大於生化湯－4 之改善率 250 %，因此可能是生化湯－2 係去掉當歸之減方，而當歸之收縮促進作用不大，但其單味藥之水抽出率最多 (56.3 %)，故生化湯－2 之抽出物中含其他成份生藥之量必較多；至於生化湯－4 係去掉桃仁者，而桃仁者之作用最大，故生化－4 水抽出物之作用遂減少很多。生化湯－1 之全方對迴腸收縮促進之改善率為 200 %，應屬溫和型之促進劑，又因生化湯主要之臨床用途係當作子宮肌肉之收縮劑，故迴腸之收縮作用即變成其副作用，此點是我們所不希望者。依上所述，生化湯－1（全方）具有溫和之腸乳蠕動促進作用，對於產婦應屬利大於弊。

三、對離體天竺鼠子宮收縮之影響：

單味藥水抽出物 2ng/ml 劑量下對子宮收縮之影響如圖 4 及表 6 所示。由圖表可知，當歸川芎及桃仁對離體子宮皆有些彎縮現象，至於黑薑及甘草則無收縮作用。以收縮幅度之改善值觀之，桃仁最好為 3.4cm，當歸，川芎作用力相似，分別為 0.4、0.6cm。

生化湯－1（全方）水抽出物在不同劑量下，對子宮之收縮影響如圖5及表7所試。在所選之4種劑量下，以4mg/ml之濃度對子宮收縮之幅度改善率最大為255%；其次分別為2.0, 1.0及0.5mg/ml者，改善率則分別為44.33及28%；由此可知4種劑量皆有子宮收縮促進作用。於4.0mg/ml之劑量組產生較強之彎縮現象，故以下關於減方作用力比較之試驗劑量即採用2.0mg/ml者較為適當。

生化湯－1及－2水抽出物與對照藥物對離體子宮收縮之影響如圖6及表8所示。由其收縮幅度之改善值觀之，生化湯－1（全方）優於生化湯－2（去當歸），改善值分別為0.7及0.4cm。至於Ach之改善值最大為3.9cm優於Ergonovine為1.0cm，但Ach引起子宮之彎縮現象較大；此兩藥物對子宮之作用機序不相同，子宮受副交感神經所控制之muscarinic感受體較多，副交感神經之興奮對子宮收縮促進作用力比交感神經抑制所產生之促進作用力較大且作用較單純，Ach之作用主要控制子宮之副交感神經節（nicotinic感受體）及末梢（muscarinic感受體）有興奮作用，且其作用力勝過它對交感神經節（nicotinic感受體）之興奮作用，因此Ach能促進子宮的收縮，而Ergonovine雖屬於 α -blocker，但子宮上分佈之交感受體（ α 及 β 兩種）會因不同之動物品種或懷孕之有無，是至於懷孕之前，中，後期而有差異，故Ergonovine之作用事實上係靠其對子宮肌肉直接之興奮作用所致。

由表－8所示，生化湯－1（全方）對子宮收縮之改善值0.7cm，此值略緩和於Ergonovine者，但卻不如Ach作用之激烈；至於生化湯－1（全方）對子宮之作用機序，到底是對交感神經、副交感神經或對子宮肌肉之直接作用，需要進一步之探討。生化湯及其減方在2mg/ml之濃度下對離體子宮之影響如圖7及表9所示。由圖7可知，生化湯－1（全方及其減方(2-6)對離體子宮收縮之幅度頻率皆有促進作用，生化湯－1（全方）之促進作用最大。而由表9觀之，所有處方對子宮收縮之改善生化湯－1（全方）最大為0.7cm；至於其他減方對子宮皆有收縮促進作用原因係除了黑薑及甘草外其他之成份藥當歸、川芎及桃仁皆有或多或少之子宮收縮促進作用所致。綜合以上之結果得知，生化湯（全方）確有子宮收縮作用，且對迴腸收縮之副作用小，該湯方之組成，有其意義存在。

圖 1：單味藥水抽出物對天竺鼠迴腸自發性運動之影響。使用 Isotonic Transducer (2g) 記錄器 Sensitivity5，紙速度2;() 中為 organ bath 之含藥濃度，皆為 2mg/ml。

圖 2：生化湯－1 在不同劑量下及其他對照試驗藥物對天竺鼠迴腸收縮作用之影響。此為自發性運動，記錄之 sensitivity 為 5.0，紙速度 2，使用 Isometric Transducer，() 為 organ bath 中之藥物濃度。

圖 3：生化湯及其減方對天竺鼠迴腸自發性運動之影響。
使用 Isotonic Transducer,Sensitivity5,speed2；organ bath 中濃度皆為 2mg/ml。

圖 4：單味藥水抽出物對天竺鼠子宮（自發性）運動之影響。
使用 Isotonic Transducer(3g)，記錄之 Sensitivity 1，紙速度 2；() 表示 organ bath 中之含藥濃度，皆為 2mg/ml。

圖 5：生化湯－1 在不同劑量下對天竺鼠子宮收縮作用之影響。
此為自發性運動，使用 Isometric Transducer,sensitivity 為 5，紙速度為 2；() 為藥物在 organ bath 中之濃度 mg/ml。

圖 6：生化湯－1 及生化湯－2 與對照藥物 Ach 及 Ergonovine 對天竺鼠子宮收縮之比較。使用 Isometric Transitivity,Sensitivity5，紙速度 2；() 中為各藥物在 organ bath 中之濃度。

圖 7：生化湯及其減方對天竺鼠子宮收縮作用之比較。
使用 Isometric Transducer,sensitivity5，紙速度 2；各藥物在 organ bath 中之濃度皆為 2mg/ml。

表 3：單味藥水抽出物2mg/ml對離體天竺鼠迴腸收縮作用之改善率

生 藥		當 歸		川 芎		桃 仁		黑 姜	甘 草	
收	幅度cm	1.2	2.0	1.2	1.9	0.9	>6.4	1.0 5.5	0.6	1.3
	改善率%	67		58		>611		450	117	
縮	彎 縮	—		—		+		—	—	

投藥後收縮幅度-正常者

※取收縮圖上下距離最大值 ※※ 改善率= $\frac{\text{投藥後收縮幅度}-\text{正常者}}{\text{正常者}} \times 100$

※※※“-”表示無彎縮現象，餘類推。A：正常收縮 B：投藥後之收縮，餘類推。

表 4：生化湯-1水抽出物不同劑量與對照藥物對離體天竺鼠迴腸收縮作用之比較

藥 物		生化湯-1		生化湯-1		生化湯-1		生化湯-1		Histamine		Histamine		Ach		Ergonovine	
劑 量		0.5*		1.0*		2.0*		4.0*		2**		1**		1*		1*	
收 縮	幅度CM	0.4	0.4	0.4	0.6	0.5	1.3	0.5	1.2	0.3	4.5	0.1	4.3	0.1	3.3	0	0
	改善率%	0		50		160		140		1400		4200		3200		0	
	彎 縮	—		—		—		—		+		+		+		—	

表 5：生化湯及其減方(1-6)水抽取物在2mg/ml之劑量下，對離體天竺鼠迴腸收縮作用之比較。

藥 物		生化湯-1		生化湯-2		生化湯-3		生化湯-4		生化湯-5		生化湯-6	
縮 彎 縮	幅 度cm	0.4	1.2	0.5	2.4	0.3	1.7	0.4	1.4	0.4	2.4	0.4	2.4
	改善率%	200		380		467		250		500		500	
	彎 縮	—		—		—		—		—		—	

A. B. C. D：說明同表 3。

表 6：單味藥水抽出物在2mg/ml之劑量下對離體天竺鼠子宮收縮作用之比較。

生 藥		當 歸		川 芎		桃 仁		黑 姜		甘 草	
收 縮	幅度cm	0	0.4	0	0.6	0	3.4	0	0	0	0
	改善率%	0.4		0.6		3.4		0		0	
	彎 縮	+		+		+		—		—	

*取收縮上下距離最大值。A：正常 B：投藥後

表 7：生化湯水抽出物在不同劑量下對離體天竺鼠子宮收縮作用之比較

藥 物		生化湯-1		生化湯-1		生化湯-1		生化湯-1	
劑 量mg/ml		0.5		1.0		2.0		4.0	
收	幅度cm	2.5	3.2	3.3	4.4	1.8	2.6	0.8	2.6
	改善率%	28		33		44		225	
	彎 縮	+		-		+		+	

*取收縮上下距離最大值 **說明同表1：***#.表示彎縮程度較大
A. B：說明表 3

表 8：生化湯(1-2)水抽出物與對照藥物對離體天竺鼠子宮收縮作用之比較。

藥 物		生化湯-1		生化湯-2		Ach		Ergonovine	
劑 量mg/ml		4		4		1		1	
收	幅度cm	0	0.7	0	0.4	0	3.9	0	1.0
	改善率%	0.7		0.4		3.9		1.0	
	彎 縮	-		-		+		+	

*mg/ml **ug/ml A. B. C：說明同表 3 ***表示彎縮程度較大

表 9：生化湯及其減方(1-6)在2mg/ml 之劑量下對離體天竺鼠子宮收縮作用之比較

藥 物		生化湯-1		生化湯-2		生化湯-3		生化湯-4		生化湯-5		生化湯-6	
收 縮	幅 度cm	0	0.7	0	0.5	0	0.4	0	0.3	0	0.4	0	0.6
	改善率%	0.7		0.5		0.4		0.3		0.4		0.6	
	彎 縮	+		+		-		-		-		+	

(@ A. B. C. D: 說明同表 3

參考文獻：(略)

臺灣產石壁癩藥材之生藥學研究

大仁藥學專科學校・藥學科・生藥研究室

黃介宏・李哲夫

第一章 緒言

石壁癩 (*Cheilanthis Herba*) 在本省地區一向被視為治療肝炎，解毒及止血止瀉的一種民間藥材。惟考察臺灣藥用植物學與生藥學文獻資料，發現少有記載，經調查藥材行和青草藥店所用者有〔大號〕與〔小號〕石壁癩藥材，本研究就市售品及野外採得之相關植物，分別進行藥用植物分類學與生藥學之比較解剖觀察以就明其外形和構造上異同點，以鑑定基原，區別真偽，以保藥材品質，並期望對本省民間天然藥材資源開發有所助益。又，研究過程中，分別就市售品藥材進行水溶性和非水溶性抽取液的抗菌預試驗及所含成份之薄層色層分析 (Thin-layer chromatography) 預試驗以供爾後成份分離及藥理研究參考。

第一節 臺灣產石壁癩類藥材之藥用植物學考察

關於臺灣產〔石壁癩〕藥材相關基原植物，經由市售樣品，野外採集及文獻資料考察供計有二科二屬七種植物有關連，其檢索表如下：

1. 葉身 1-3 回二叉分支，小葉呈扇形至橢圓形，孢子囊群 (Sori) 沿小葉緣著生於由葉緣反卷內，不連續裂為三至數個——— 扇葉鐵線蕨 (*A. flabellulatum*)
1. 葉身 2-3 回羽狀複葉或三角形，葉面常有白色或黃色蠟質粉，孢子囊群著生於葉脈末端或側脈會合處並有葉緣反卷之假孢子囊群膜 (*Pseudindusium*) 覆蓋，小葉不呈扇形。
 2. 葉身常橢圓形或披針形，葉背面無蠟質粉覆蓋
 3. 葉身無毛茸，假孢子囊群膜經常存在
 4. 二回羽狀複葉，基部漸狹小——— 細葉啞米蕨 (*Cheilanthes*

mysurensis Wall.)

4. 三回羽狀複葉，基部不漸狹小——薄葉啞米蕨(*C. tenuifolia*(Burm.) Sw.)

3. 葉身密披毛茸，假孢子囊群膜常過熟脫落或稀少——毛啞米蕨(*C. hirsuta*(Poir.) Mett.)

2. 葉身成三角形，葉背下面有白色或黃色臘質粉

3. 假孢子囊群膜成間斷——深山粉背蕨(*C. farinosa*(Forsk.) Kaulf.)

3. 假孢子囊群膜成連續性，葉緣全緣——長柄粉背蕨(*C. argentea*(Gmel.) Kunze)

上述六種基原植物之外部植物形態分述如下：

(一) 鐵線蕨科 (*Adiantaceae*)

陸生蕨類，根莖 (*Rhizome*) 直立，斜生或匍匐，中心柱 (*Stele*) 為管狀中心柱或網狀中心柱，外被褐色至黑色鱗片。葉身一至數回羽狀複葉或掌狀複葉，稀單葉，葉片光滑或有毛，稀為粉白，葉脈遊離或稀為網狀，葉柄細長，葉基被有鱗片，暗色有光澤，孢子囊群著生在葉緣反捲形成的胞膜 (*Indusia*) 內並沿葉緣著生成連續或間斷的長形，點狀，圓形，腎形，成熟開口往內開，孢子囊頭狀，環蒸 (*Annulus*) 13-30 細胞厚，孢子四面型，光滑。

(1) 扇葉鐵線蕨 (*Adiantum flabellulatum* L.)

根莖短，直立或斜上，密被黃褐色之披針形鱗片；葉柄叢生，長 9-44 公分，直徑 2-3 公分，葉柄基部被有黃褐色鱗片，黑褐色而有光澤，圓柱狀且上面有縱溝，中上部溝內具有暗銹色短剛毛，葉身二分分支 2-4 回，長 8-17 公分，寬 8-23 公分，各軸上面密被短剛毛，小羽片歪狀橢圓形，倒卵形或扇形，長 0.8-1.2 公分，寬 0.8-1.5 公分，具短柄，柄上亦被有短剛毛，草質，葉上緣為細鋸齒；葉脈遊離，二分分支，先端不達葉緣；孢子囊群著生於葉緣反捲處之孢子囊群膜內，並成圓腎形或橢圓形；孢子囊之環蓋 14-22 個厚壁細胞組成，孢子黃色，略成三角形，37.5-49.0μ。

(二) 鳳尾蕨科 (*Pteridaceae*)

陸生蕨類，根莖直立或匍匐，管狀中心柱 (*Solenostele*) 或網狀中心柱 (*Dictyostele*) 密生鱗片；葉身單形或近二形葉，1-3 回羽狀複葉，或呈多樣分裂形，葉柄與根莖接合處無節狀突起；遊離脈，或網狀脈，不具有遊離小脈；

孢子囊群 (Sori) 圓形或長橢圓形，著生於葉脈末端遠側或葉脈頂端，或成連續性的聚合孢子囊群 (Coenosori) 並有葉緣反捲的假孢子囊群膜 (Pseudindusium) 保護，開口向內；孢子囊有縱行環蓋細胞；孢子四面體或稀左右對稱。

※ *Cheilanthes* Sw. (碎米蕨屬)

根莖短匍匐或直立，管狀中心柱，密被狹鱗片，小型葉，叢生，葉身狹長至廣三角形，二回羽狀至三回羽狀複葉，草質，有毛，鱗片稀為光滑，有時葉片表面多少覆蓋白色或黃色蠟質粉末，遊離脈；孢子囊群著生於葉緣的葉脈頂端，孢子囊位於葉脈端生長或往兩側分散和癒合，通常不連續，稀佔有整個小羽片緣，孢子囊群有葉緣反捲變形的假孢子囊群膜覆蓋，各自分離或多少有些連續性；環蓋 14-32 厚細胞，孢子四面體，光滑或粒狀稀網針狀紋路。本省 5 種。

(2) 細葉碎米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wall.)

根莖短，斜生，密生狹褐色鱗片，葉柄長 1.5-5 公分，暗褐色有光澤，近基部處有鱗片，兩側有翼狀突起並形成一縱溝；葉片 3-25 公分長，長橢圓卵形至線披針形，二回羽狀複葉，草質，光滑，頂羽片圓形，鈍鋸齒，下部羽片漸狹小；孢子囊群膜近相連但不癒合。

(3) 薄葉碎米蕨 (*Cheilanthes tenuifolia* (Burm.) Sw.)

根莖短，斜生，密被黃褐色鱗片，葉柄長 10-20 公分，暗紫色，密生有囊狀短褐毛，葉片 10-22 公分長，卵形，三回羽狀複葉，草質營養葉之頂羽片長橢圓形，鈍形，基部楔形孢子葉較狹長；孢子囊群著生在葉脈尾端，連續性近沿著葉緣，在近基部處則例外，孢子囊群由葉緣反捲形成之假孢子囊群膜覆蓋。

(4) 毛碎米蕨 (*Cheilanthes hirsuta* (Poir.) Mett.)

根莖短，斜生，密生鱗片，葉柄 3-5 公分長，暗紫色，正面有縱溝，葉片 5-8 公分長，倒披針形，二回羽狀複葉，上下表面密生毛茸，羽片長橢圓形，鈍形，全緣，假孢子囊膜不發育或缺乏。

(5) 深山粉背蕨 (*Cheilanthes farinosa*(Forsk.)Kaulf.)

根莖短，斜生，密生鱗片，葉柄4-15公分長，暗紫色，光澤，基部有鱗片，葉片5-10公分長，長橢圓形至披針形，二回羽狀複葉，草質，表面覆蓋有白色或黃色蠟質粉末，孢子囊群膜分離。

(6) 長柄粉背蕨 (*Cheilanthes argentea*(Gmel.)Kunze)

根莖短，斜生，密生小褐色鱗片，葉柄10-25公分長，暗紫色，光澤，基部散生有鱗片，葉片3-8公分長，3-8公分寬，五角形，草質，表面有白色或黃色蠟質粉末，假孢子囊群膜連續及葉緣全緣。

第二節 本省產〔石壁蕨〕藥材市售品調查及研究材料之採集與分布

(一) 市售品〔石壁蕨〕藥材採樣調查

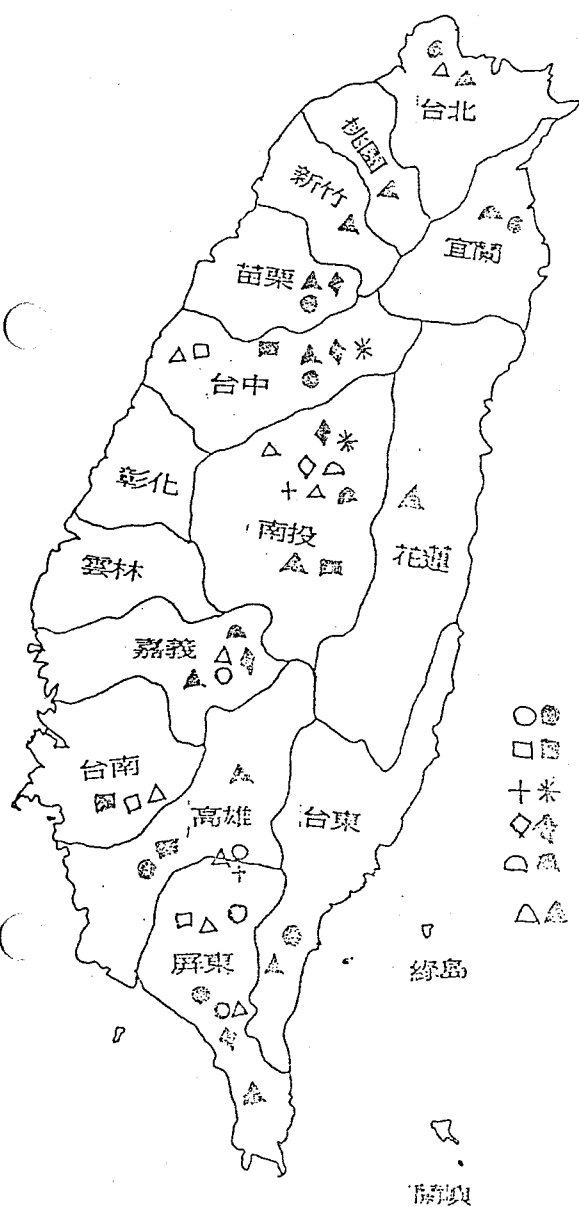
本研究期間進行市售石壁蕨藥材之使用情形，產量，採收，加工及價格等有關問題詳為調查，調查結果如下表：

藥材名	基原植物	查訪地點及時間	年產量	生產季節	價格(斤)
大號 石壁蕨	扇葉鐵線蕨 (<i>A. flabellulatum</i>)	1.高雄三鳳宮(79.6.15) 2.屏東水門蔡葉農(79.6.20) 3.嘉義新富山藥行及市區青草藥行 (79.7.10-79.7.12) 4.台中德泰隆藥材行.漢源草藥行 及市區青草藥店(79.7.25-26)	青草店零星 販賣	一年四季 以中南部為主 要產區	80元/公斤
小號 石壁蕨	細葉碎米蕨 (<i>Cheilanthes mysurensis</i>) 薄葉碎米蕨 (<i>C. tenuifoli</i>)	5.南投霧社區青草店(79.7.26-28) 6.臺北萬華青草藥店(79.8.20-25) 7.屏東潮州王長海(79.6.23) 8.斗南李水生草藥師	三地門藥材行 年產量100kg 中部青草店零 星販賣	中部一年四季 南部五-八月 以屏東,台中 南投為主要市 售區	150元/公斤

第三節 石壁癢研究材料之採集與生長分布

有關石壁癢藥材之基原植物經市售品藥材調查鑑定發現有〔大〕〔小〕號之區別外並得知其主要基原植物〔大號〕為鐵線蕨科 (*Adiantaceae*) 的鐵線蕨屬 (*Adiantum*) 的植物。而〔小號〕之基原植物則為鳳尾蕨科 (*Pteridaceae*) 之碎米蕨屬 (*Cheilanthes*) 植物，在研究材料採集過程中先查閱文獻資料記載再實地進行野外採集並注意生長環境之生態與分部，有關該相關之結果整理如下表：

採集地及時間	生態及生長環境	基原植物	文獻資料產地分部
台中: 獵古山 (80.1.20-24) 高雄: 茂林谷 (80.1.11) 屏東: 三地門, 霧寮, 瑪家, 壽卡 雙流森林公園 (79.8.10, 80.3.23, 80.4.25)	紅色土壤指標植物, 低海拔產業 道路坡地或次生樹林下, 常見簇 群聚落。	(1) 扇柄鐵線蕨 (<i>A. flabellulatum</i>)	台北: 大屯山, 新竹: 平埔, 桃園: 南溪 苗栗: 北山, 台中: 谷關, 台東: 大武 屏東: 南仁山, 嘉義: 阿里山, 高雄: 中興 南投: 關刀溪, 花蓮: Lintien-shan
高雄: 茂林谷 (80.1.11) 屏東: 雙流, 卑埔, (80.4.25)	本省中南部丘陵地至山區濕地草叢 中或路旁泥地。	(2) 細葉碎米蕨 (<i>C. mysurensis</i>)	台北: 大屯山, 宜蘭: 南澳, 苗栗: 台中: 梨山, 谷關, 南投: 泰山, 關刀溪 高雄: Liukuei, 屏東: 瑪家, 台東: 花蓮
台中: 獵古山 (80.1.20-24)	本省中南部丘陵地至山區濕地草叢 中或路旁泥地。	(3) 薄葉碎米蕨 (<i>C. tenuifolia</i>)	台中: 泰安, 大屯山, 南投: 施德池, 關刀溪 台南: 院前, 高雄: Liukuei
高雄: 茂林谷 (80.1.11)	河床地兩旁之石壁山坡, 路旁	(4) 毛碎米蕨 (<i>C. hirsuta</i>)	南投: 泰山, 溪頭, 台中: 泰安, 谷關
南投: 霧社-廣山 (79.7.24-26)	路旁砂石礫岩壁, 陰濕土壤疏林 海拔1000公尺左右	(5) 深山粉背蕨 (<i>C. farinosa</i>)	苗栗: 大湖, 台中: 谷關, 屏東: 無尾山 南投: 泰山, 溪頭, 嘉義: 阿里山
南投: 霧社-廣山 (79.7.24-26)	路旁砂石礫岩壁, 陰濕土壤疏林 海拔1000公尺左右	(6) 長柄粉背蕨 (<i>C. argentea</i>)	宜蘭: 冬山, 苗栗: 大湖, 南投: 泰山 嘉義: 東埔, 梅山, Kachisung, 花蓮: Hualien-shan



- A.) 細葉碎米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wall.)
- B.) 薄葉碎米蕨 (*C. tenuifolia* (Burn.) Sw.)
- + C.) 毛碎米蕨 (*C. hirsuta* (Poir.) Mett.)
- ◇ D.) 深山粉背蕨 (*C. farinosa* (Forsk.) Kaulf.)
- △ E.) 長柄粉背蕨 (*C. argentea* (Gmel.) Kunze)
- ▲ F.) 扇葉鐵線蕨 (*Aiantum flabellulatum* L.)

實心及米代表文獻資料
空心及十代表採集資料

第三章 實驗部份

第一節 市售品及採集研究材料之內部組織構造比較

(1) 扇葉鐵線蕨 (*Adiantum flabellulatum* L.)

鏡檢：以顯微鏡檢視根莖之橫切面，其表皮甚為明顯，外皮層比內皮層細胞大，柔組織與維管束之間有一段較透明的地帶，用木化反應後，明顯看出其為管狀中心柱，葉柄為柱狀原生中心柱，其間導管較細而密集，紋理多為螺旋紋與環紋相間，根莖皮層數為 15 層，厚度為 250u，孢子形狀三角錐形，光滑，徑 25u，孢子囊環蓋數為 18。

內容物：根莖經木化反應後，在內皮層處發現多處木質化現象，其它無特殊發現。

(2) 細葉碎米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wall.)

鏡檢：以顯微鏡檢視根莖之橫切面，很明顯的木栓化表皮層，內外皮層較不明顯的區分，柔組織層較薄，而不清楚，經木化反應後，有 Y 字型原生中心柱，葉柄為網狀中心柱，導管密集而紋理大多為螺旋紋，根莖皮層數為 11 層，厚度為 120U，孢子為球形，光滑，徑 30-35U，孢子囊環蓋數為 22。

內容物：以 Chloral hydrate 清潔切片後，無特殊發現。

(3) 薄葉碎米蕨 (*Chilanthus tenuifolia*(Burm.)Sw.)

鏡檢：以顯微鏡檢視根莖之橫切面，除了有明顯的木栓化表皮層外，其內外皮層亦為較不明顯的區分，柔組織層較細葉碎米蕨厚而明顯，經木化反應後，維管束有較清楚的篩管，為網狀中心柱，葉柄中心柱為 V 字型原生中心柱，其導管的紋理為明顯的螺旋紋與環紋，根莖皮層數 9 層，厚度為 80-85U，孢子形狀三角錐型，徑 48-51U，孢子囊環蓋數為 20。

內容物：以 Chloral hydrate 清潔切片後，無發現晶形存在。

(4) 深山粉背蕨 (*Cheilanthes farinosa*(Forsk.)Kaulf.)

鏡檢：以顯微鏡檢視其根莖橫切面，發現有較厚的木栓化表皮層，內外

皮層排列整齊面不易區分，柔組織層較厚而明顯，經木化反應後發現明顯的維管束，木部清晰而整齊，為網狀中心柱，而什柄中心柱為柱狀厚生中心柱，導管紋理多為螺旋紋排列，根莖皮層數為 12 層厚度 120u，孢子為圓球狀，淡黃色，徑 30u，孢子囊環蓋數為 16。

內容物：根莖橫切面清晰無任何雜質或內容物發現。

(5) 毛碎米蕨 (*Cheilanthes hirsuta*(Poir.)Mett)

鏡檢：以顯微鏡檢視其根莖橫切面，木栓化表皮層厚而明顯，外皮層細胞比內皮層細胞稍大，柔組織層厚而排列整齊，經木化反應有網狀中心柱，什柄亦有網狀中心柱，導管紋理多為明顯的螺旋紋，根莖皮層數為 16 層，厚度為 260u，孢子為鈍圓錐形，徑 45u，孢子囊環蓋數為 20。

內容物：根莖橫切面在外皮層有多處木質化細胞，而其他無特殊發現。

(6) 長柄粉背蕨 (*Cheilanthes argentea*(Gmel.)Kunze)

鏡檢：以顯微鏡檢視其根莖橫切面，表皮層易碎而較不完整，內外皮層密集而不易區分，柔組織層明顯易見，與維管束之間有一段較細而透明的環帶，經木化反應後可見管狀中心柱，而什柄為網狀中心柱，導管的紋理多為明顯的環狀排列，根莖皮層數為 10 層，厚度為 110u，孢子為小形球狀，徑 20-25u，孢子囊環蓋數為 12。

內容物：根莖橫切面以木化反應後，發現皮層部份幾乎全部呈現木質化現象，但改以 Chloralhydrate 清潔切片無發現無任晶形存在。

基原植物 形態、構造特徵	扁葉纖綠蕨 (<i>A. flabellulatum</i>)	細葉碎米蕨 (<i>C. mysurensis</i>)	薄葉碎米蕨 (<i>C. tenuifolia</i>)	深山粉背蕨 (<i>C. farinosa</i>)	毛碎米蕨 (<i>C. hirsuta</i>)	長柄粉背蕨 (<i>C. rostrata</i>)
根莖之鱗片、毛茸	鱗片狹披針形	鱗片因鱗片緣有齒狀突起	鱗片披針形	鱗片披針形先端尖銳	鱗片狹披針形	鱗片披針形
葉柄之鱗片、毛茸	鱗片披針形	光滑無鱗片與毛茸	鱗片廣披針形	葉身兩面和葉柄基部無毛茸	葉柄基部鱗片披針形	光滑
根莖之中心柱排列	管狀中心柱	Y字型原生中心柱	網狀中心柱	網狀中心柱	網狀中心柱	管狀中心柱
葉柄之中心柱排列	柱狀原生中心柱	網狀中心柱	V字型原生中心柱	柱狀原生中心柱	網狀中心柱	柱狀中心柱
導管或假導管	螺旋紋、環紋	螺旋紋	螺旋紋、環紋	螺旋紋	螺旋紋	環紋
根莖皮層數與厚度	15層,寬250 μ	11層,寬120 μ	9層,寬90-85 μ	12層,寬120 μ	16層,寬200 μ	12層,寬110 μ
孢子囊環數	18	22	20	16	20	12
孢子形狀	三角形,光滑,徑25 μ	球形,光滑,徑30-35 μ	三角形,光滑,徑48-51 μ	圓形,淡黃色,徑30 μ	鈍圓形,徑45 μ	小圓形,徑30-25 μ

圖 字 解

bp : 節部薄壁組織
c : 升力細胞
cx : 皮層
ep : 表皮
f : 纖維
i : 細胞間隙
k : 木栓皮細胞
kl : 木栓皮層
le : 節部
mph : 節部薄壁組織
mr : 氣管
mxy : 木質部薄壁組織

p : 維管束
ph : 節部
pxy : 木質部薄壁組織
s : 篩管
sec : 分泌細胞
vc : 環紋導管
vs : 螺旋紋導管
vp : 孔紋導管
wf : 木纖維
xp : 厚壁木質部
v : 管胞
xy : 木質部

第二節 市售石壁癩藥材之初步抗菌試驗

一、實驗藥材之製備：

- A)本實驗採用之〔石壁癩〕藥材購自三地門德安藥材行，並與親自前往南投縣廬山採集之細葉碎米蕨 (*Cheilanthes mysurensis Wallich*) 核對鑑定，確知同一種。
- B)以購乾燥全草每公斤用十二公斤的甲醇在室溫下浸置抽取（二次／七天），經減壓濃縮乾燥（45℃下）所得當做母液，並標號為CH。
- C)取CH部份乾燥品加入適量H₂O(50gm/500ccH₂O)給與盡量溶解，經過濾後區分為水溶性部份，標號CH-1及非水溶性部份，標號CH-2，再經減壓濃縮與予乾燥。

二、實驗方法：

- A)採用紙環法 (Paper disk method)
- B)實驗用之菌種選用革蘭氏陽性菌 (G(+))：枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)，金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)。革蘭氏陰性菌 (G(-))：大腸桿菌 (*Escherichia coli*)。
- C)使用之培養基為以 Nutrient agar 作基層凝固後，倒入事先混合之 0.2ml 菌種液（培養 24 小時）之 Soft agar 4ml，在 37℃ 下培養 24 小時，觀察不同濃度試劑對不同試驗菌之抑制效果（以抑制圈大小表之）。

三、實驗結果：

樣品	CH			CH-1			CH-2		
菌種 ^{mg/ml}	50	100	250	50	100	250	50	100	250
G(+) <i>Bacillus subtilis</i>	--	12	15	11	14	16	--	10	17
G(+) <i>Staphylococcus aureus</i>	--	--	19	--	10	13	--	--	15
G(-) <i>Escherichia coli</i>	--	--	--	--	--	11	--	--	--

*Diameter

--:no inhibition

+ :no growth (be inhibited, completely)

四、討論：

- A)由實驗結果顯示在低濃度 (50mg/ml) 時，三種抽出物 CH,CH-1 及 CH-2 對 *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 及 *E.coli* 均不具有抑制作用。
- B)高濃度 (250mg/ml) 時，CH，CH-1，CH-2 對革蘭氏陽性菌之 *Bacillus subtilis* 及 *Staphylococcus aureus* 有明顯抑制作用（抑制圈大小分別為 15mm 及 19mm）。
- C)三種抽出物之不同濃度對革蘭氏陰性菌 --*E.coli* 之抑制效果不佳。
- D)非水溶性抽出物之抗菌效果較水溶性抽出物者為佳，而真正具有抗菌效果及其之間的差異性，則有待更進一步將抽出物予以分離純化出所含成份後，再行深入探討及確認。

第三節 薄層色層法 (TLC) 預試驗所含成份

(一)取實驗材料各 20g 冷浸 MeOH 二天，過濾當檢液使用

甲)上述六種植物材料 TLC 法預試驗

A)細葉啐米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wall.)

B)薄葉啐米蕨 (*C.tenuifolia*(Burm.)Sw.)

C)毛啐米蕨 (*C.hirsuta*(Poir.)Mett.)

D)深山粉背蕨 (*C.farinosa*(Forsk.)Kaulf.)

E)長柄粉背蕨 (*C.argentea*(Gmel.)Kunze)

F)扇葉鐵線蕨 (*Aiantum flabellulatum* L.)

乙)實驗步驟：

(1)層析板：Silica gel 60 F254

(2)檢液點注量：適量

(3)展開溶媒：Benzene:Ethylformate:Formic acid(1:7:1)

(4)展開距離：6cm

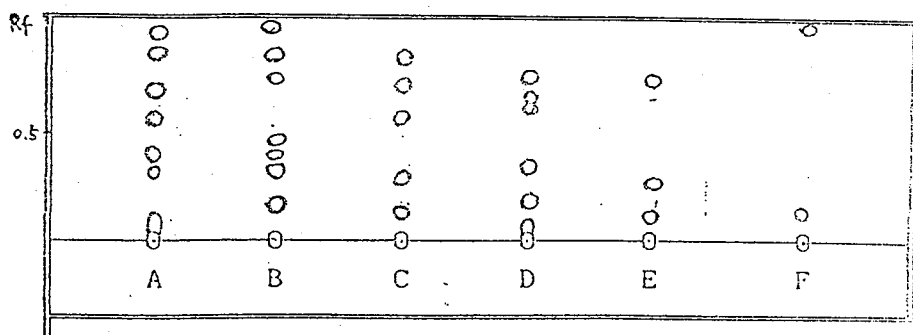
(5)檢出方法：(a)p-Anisaldehyde/ H_2SO_4 spray reagent，加熱烘乾

(b)FeCl₃(MeOH)spray reagent，加熱烘乾

* 呈色代號：

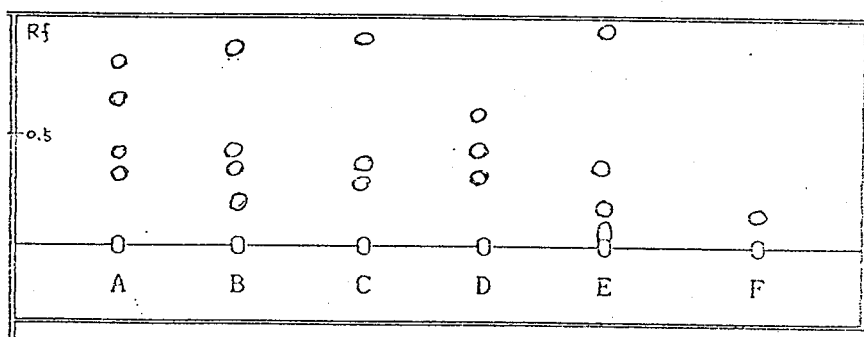
Dg	Lg	Y	O	Lv	p	G	*
墨綠	淡綠	黃	橘黃	淡紫	紫	綠	無色

(a) Anisaldehyde 部份



0.96 O 0.98 G 0.70 Y 0.73 Lv 0.71 G 0.93 P
 0.87 O 0.85 O 0.54 Y 0.63 * 0.19 G 0.11 Dg
 0.70 Lg 0.75 G 0.26 Y 0.35 * 0.10 G
 0.54 Lv 0.50 P 0.11 Y 0.17 Lg
 0.39 Y 0.40 Y 0.04 Lg
 0.33 Y 0.35 Y
 0.05 P 0.17 Y

(b) FeCl3 部份

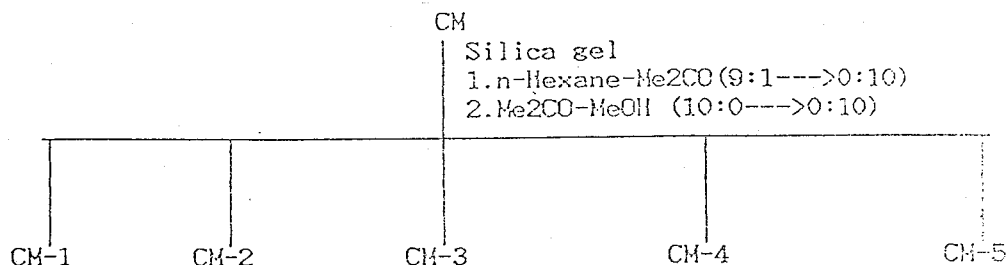


0.82 Dg 0.89* 0.91 Lg 0.59 * 0.91 Dg 0.11 *
 0.65 * 0.40Dg 0.36 Dg 0.43 * 0.36 Dg
 0.39 Dg 0.35Dg 0.29 Dg 0.29 Dg 0.19 *
 0.31 Dg 0.17Dg 0.16 Dg 0.10 *

薄層色層分析法預測試驗所含成份

(A) 實驗材料製備：

購買市售石壁蕨〔細葉碎蕨 (*Cheilanthes mysurensis*)〕10公斤以 MeOH 抽取三次經減壓濃縮後，進行 Column Chromatography (Silica gel)。



(B) 檢測條件：

(1) 層析板：Silica gel 60 F254 (Merk)

(2) 檢液點注量：無定量

(3) 展開溶媒：EtOAc-MeOH-H₂O (21:4:3)

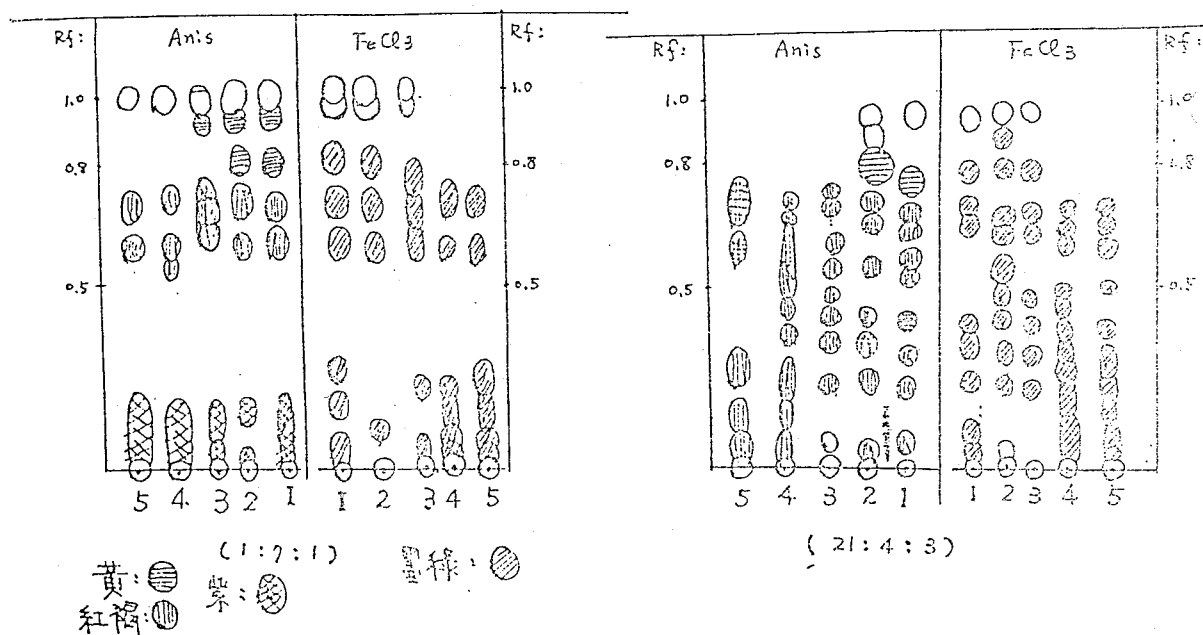
Benzene:Ethylformate:Formic acid (1:7:1)

(4) 展開距離：6 cm

(5) 檢出方法：(a) p-Anisaldehyde/H₂SO₄ spray reagent, 加熱烘乾

(b) FeCl₃ (MeOH) spray reagent, 加熱烘乾

(c) 初步結果：



第四章 討論

**結果討論：

- (1).〔石壁癩〕應屬於臺灣民間藥材，一般用於治療肝炎黃疸，消炎消腫。在市場調查中發現有〔大號〕與〔小號〕之區別，經外部形態與內部構比較鑑定後，其基原植物為：

大號石壁癩———扇葉鐵線蕨 (*Adiantum flabellulatum*)

小號石壁癩———細葉啐米蕨 (*Cheilanthes mysurensis*) (為主要基原)

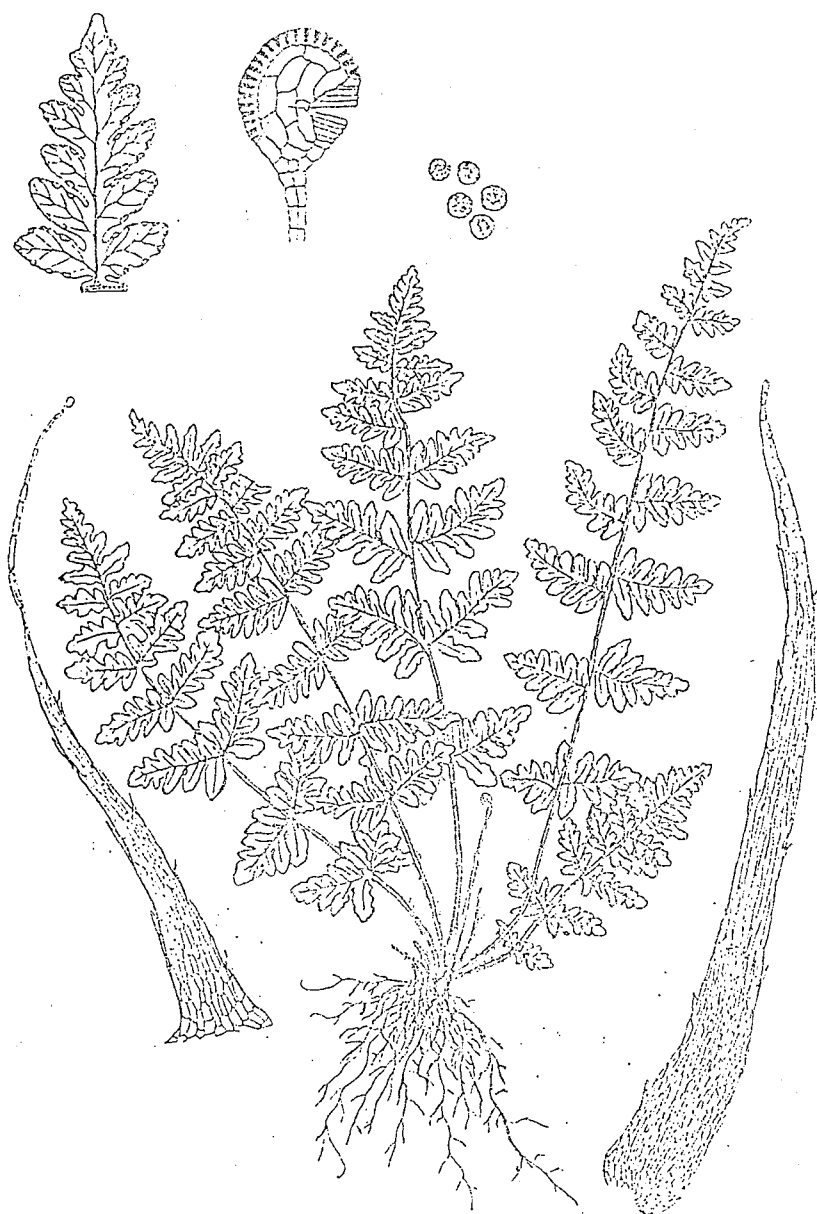
- (2).本省產 *Cheilanthes* 屬植物供有五種，連同扇葉鐵線蕨等六種的鑑定區別，吾人可以從外部形態分類及內部組織解剖予以確認。
- (3).石壁癩藥材基原植物經野外採集和文獻資料記載，在本省地區分布甚廣，生長良好惟其產量會受季節和雨量影響，又石壁癩藥材應用只限於民間青草藥店及本省藥材收購集散山產藥行，故年產量大約只有 500 公斤左右，價格則在 150 元／公斤。
- (4).石壁癩藥材以水抽取進行藥理實驗研究，已有報告指出（中國醫藥學院研究年報，Vo1.1980）具有降血壓，抑制浮腫及高濃度有抑制心跳，對於 CCl_4 造成之肝病變無明顯改善高濃度時更驅嚴重。至於抗菌方面經改以甲醇粹取並區分為水溶性與非水溶性重覆試驗，結果相類似，高濃度 (250mg/ml) 對革蘭氏陽性菌較有明顯抑制作用，而陰性菌則效果不明顯。
- (5).六種實驗材料經甲醇粹取後以 TLC 法預試驗發現有很大的差異，對基原植物的確任有所助益。
- (6).市售石壁癩藥材〔細葉啐米蕨 (*Cheilanthes mysurensis*)〕經初步管柱色層分離及薄層色層法檢示，在 $R_f=0.5-0.8$ (1:7:1 展開液) 或 $R_f=0.1-0.8$ (21:4:3 展開液) 中含有大量的類黃鹼素 (Flavonoids) 及其配糖體，確定的化學成份現在繼續分離與判定中，是否單一成份在藥理上會較有明顯的作用，將有待進一步研究。

參考文獻

1. 蔡輝彥，陳忠川，賴義雄，何秦秦：臺灣產民間藥細葉粹米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wellich) 賴斷頭草 (*Salvia plebeia* R. Brown) 狗尾蟲 (*Heliotropium indicum* L.)，私立中國醫藥學院研究年報第十一期，1980.
2. 邱年永，張光雄：臺灣藥用植物圖說 (108)，明通醫藥，第 137 期，1988.
3. 謝萬權：臺灣產鐵線蕨屬植物之分類，中華林學季刊，第二卷，第一期
4. 臺灣植物誌編委員會：Flora of Taiwan，第一冊，現代出版社，1976.
5. 謝萬權：蕨類植物，臺灣省立中興大學理工學院出版委員會印行，1969.
6. 田川基二：原色日本羊齒植物圖鑑，保育社，1985，ed.25th
7. 光田重幸：羊齒類的圖鑑，保育社，1986.
8. 甘偉松，那琦，江宗會：雲林縣藥用植物資源之調查研究，私立中國醫藥學院研究年報，第九期，1978.6.
9. 甘偉松：藥用植物學，國立中國醫藥研究所出版，1981.
10. Ogata, Icon. Fil. Jan. 4: p. 151, 156, 157. 8: 3630365. 1936.
11. Ching, Icon. Fil. Sin. 1935.
12. 甘偉松，那琦，廖勝吉：屏東縣藥用植物資源之調查研究，私立中國醫藥學院研究中國藥學研究所藥學碩士論文 (1982.6.10)
13. N. A. M. S. A. Ien, Journal of chromatography, 92, 467-472 (1974)
14. M. Aritomi and T. Kawasaki, Chem. Pharm. Bull., 18(11), 2327-2333 (1990)



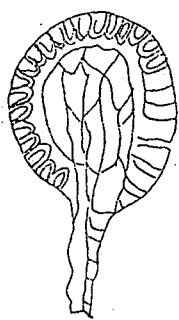
(1) 扇形鐵線蕨 (*Adiantum flabellulatum* L.)



(2) 細葉碎米蕨 (*Cheilanthes mysurensis* Wall.)

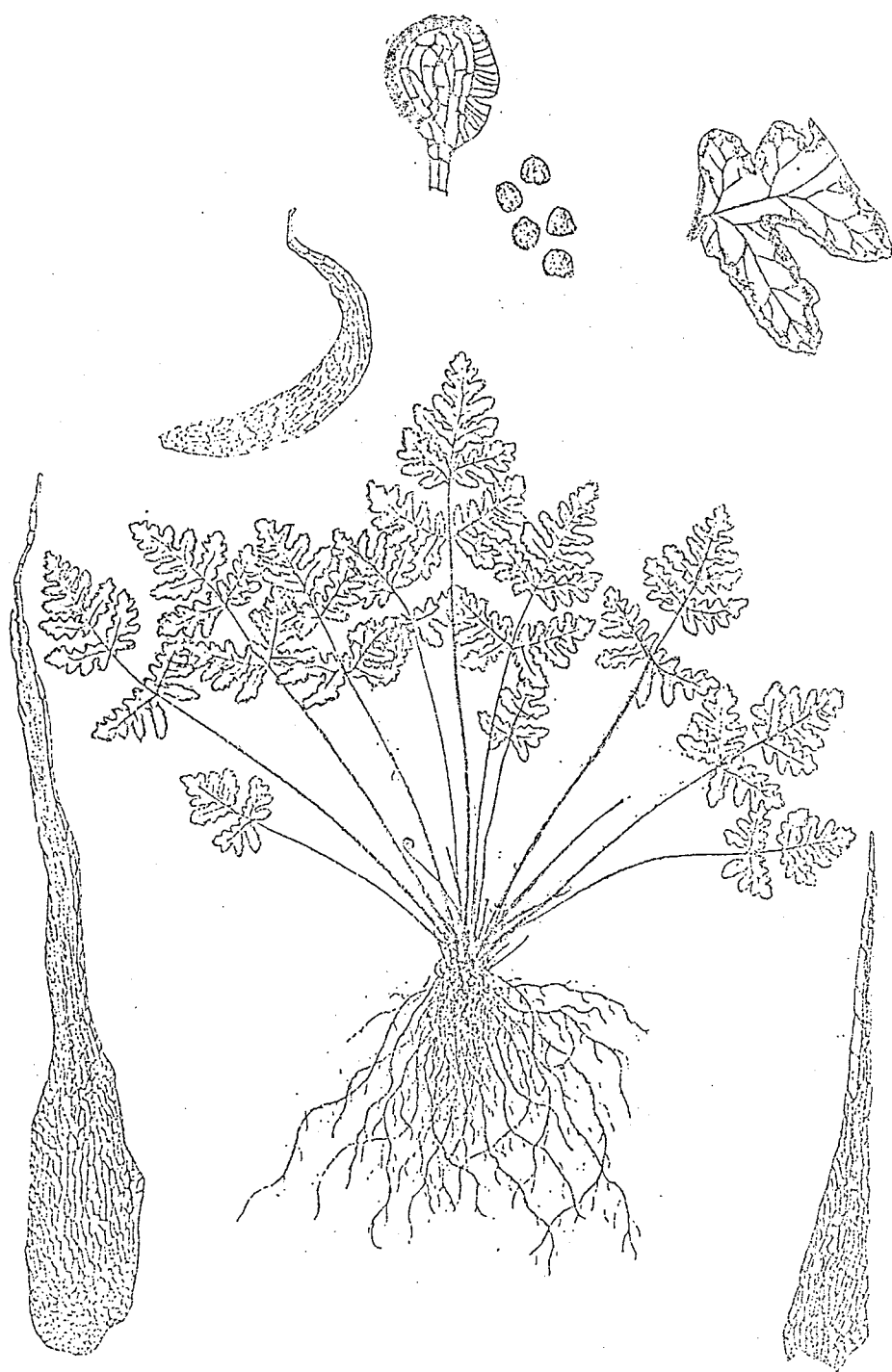


(3) 细叶蔓龙胆 (*Cheilanthes tenuifolia* (Burm.) Se.)



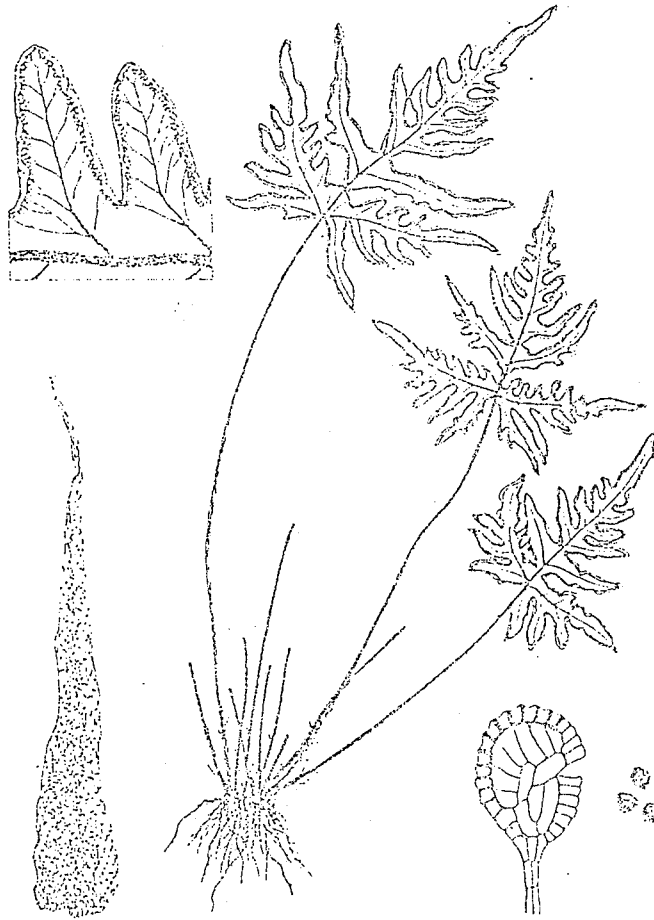
(4) 毛茛科 (Cheilanthes hirsuta (Poir.) Holt.)

< 2.0 >



(5) 深山粉背蕨 (*Cheilanthes farinosa* (Forsk.) Kaulf.)

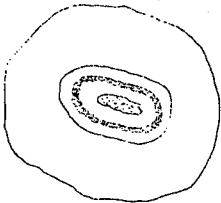
< 2 / >



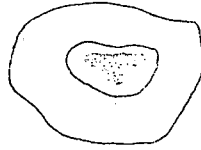
(6) 長柄粉背蕨 (*Cheilanthes argentea* (Gmel.) Kunze)

< 2.2 >

根莖之中心柱排列



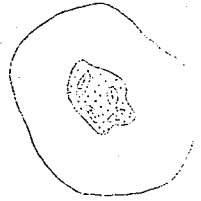
扇葉鐵線蕨



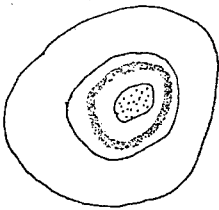
細葉碎米蕨



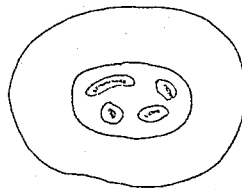
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨

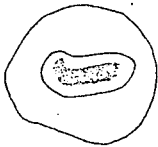


長柄粉背蕨



毛碎米蕨

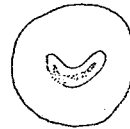
葉柄之中心柱排列



扇葉鐵線蕨



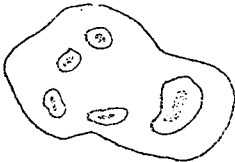
細葉碎米蕨



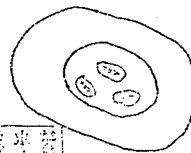
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨



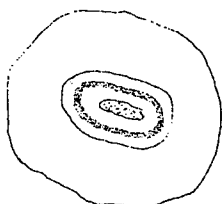
長柄粉背蕨



毛碎米蕨

< 23 >

根莖之中心柱排列



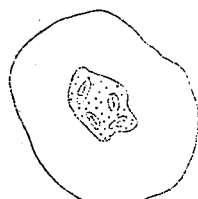
扇葉鐵線蕨



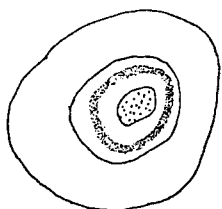
細葉碎米蕨



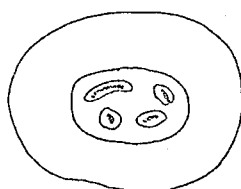
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨



長柄粉背蕨



毛碎米蕨

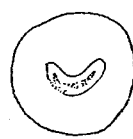
葉柄之中心柱排列



扇葉鐵線蕨



細葉碎米蕨



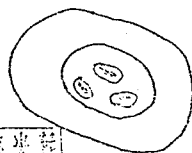
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨



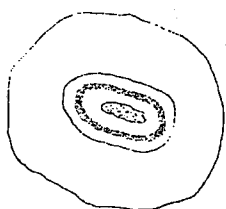
長柄粉背蕨



毛碎米蕨

< 23 >

根莖之中心柱排列



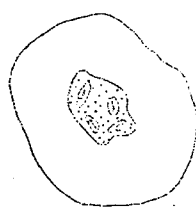
扇葉鐵線蕨



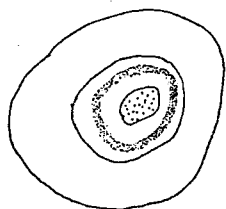
細葉碎米蕨



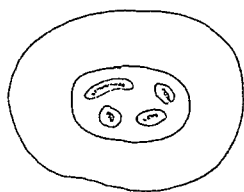
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨

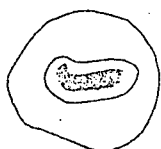


長柄粉背蕨



毛碎米蕨

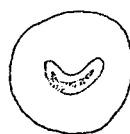
葉柄之中心柱排列



扇葉鐵線蕨



細葉碎米蕨



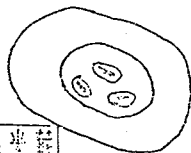
薄葉碎米蕨



深山粉背蕨



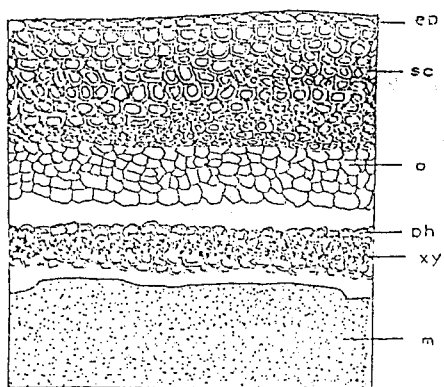
長柄粉背蕨



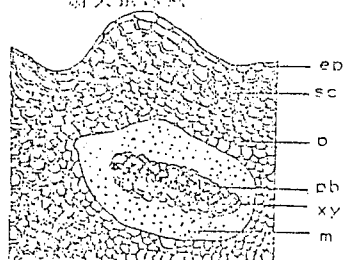
毛碎米蕨

< 23 >

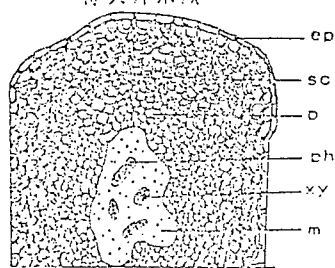
根莖之橫切面圖



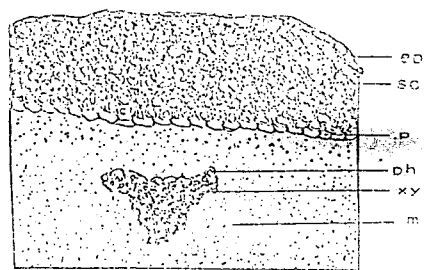
蘭葉微線莖



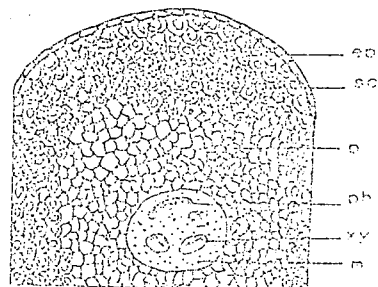
薄葉碎米蕨



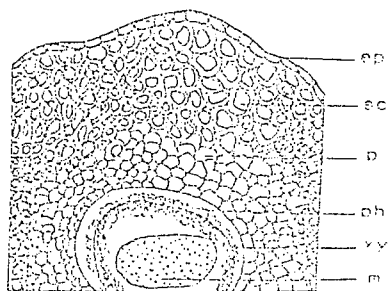
溪山粉背蕨



細葉碎米蕨

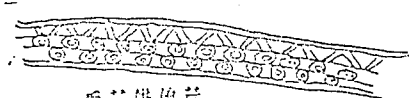


毛碎米蕨

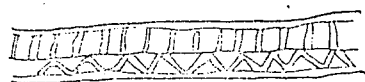


長柄粉背蕨

導管或假導管



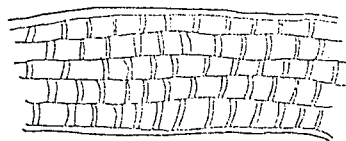
蘭葉微線莖



溪山粉背蕨



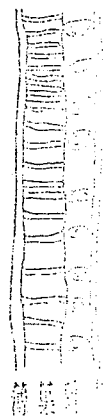
毛碎米蕨



細葉碎米蕨



長柄粉背蕨



蘭葉微線莖

Summary

A Pharmacognostical Study on Cheilanthis Herba of Taiwan

by

Jieh-Horng Hwang Che-Fu Lee

Department of Pharmacy

Ta-Jen Pharmaceutical College

Ping Tung, Taiwan, Republic of China

The Cheilanthis Herba(石壁蕒) is a famous folk medicine in Taiwan, which has been used for treatment of hepatitis, inflammation, bleeding and diarrhea. About its literature of pharmacognostical research in Taiwan has not been reported until at present. Therefore, we have been working on this subject matter and wish that would be helpful to the development of the natural sources of folk drugs in Taiwan.

As a result of our study:

- (1) From the market's investigation that we have found two kinds commercial goods, one is Large Cheilanthis Herba (大號石壁蕒) and another called Small Cheilanthis Herba (小號石壁蕒). The former comes from *Adiantum flabelatum*, and the second almost used the *Cheilanthes mysurensis* for its original plant.
- (2) The Cheilanthis Herba was limited by the growth's season (Spring and Summer), so, its products 500kg/year are not too much and its price is 150 NT/kg.
- (3) According to the Pharmaceutical botany, whichever the six may be original plants that will be easily distinguished from their morphological characters. As shown in the key of the species on the Cheilanthis Herba.
- (4) From the rhizomes, the base of stipes and scales internal structure, we can easily tell each other from stele arrangement, vessels, cortex and other

tissues. As shown in Table 1.

- (5) The antibiotic screening test of market's species (*C. mysurensis*), we have found which the high conc. (250mg/ml) of them-CH (MeOH extract), CH-1 (the non-water soluble extract of CH) and CH-2 (the water soluble part of CH) have emphatic inhibition for G(+)-*Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus*, but G(-)-*E. coli* could not be inhibited.
- (6) By means of TLC screening test that the samples used similary as process (5) -CH, CH-1 and CH-2. The results under the FeCl_3 , Anisaldehyde $-\text{H}_2\text{SO}_4$ spray reagents rich Flavonoids compounds have been found, so, we wish to keep on the research on its chemical constituents.

百合科薤白屬 (*Allium* 屬) 中草藥之 有效成份定量研究

行政院衛生署 · 中國醫藥學院藥學系

Quantitative determination of actived compounds in *Allium* genus
(*Liliaceae*) by HPLC

Abstract:

Keywords: HPLC, Allicin, Ajoene, *Allium* genus, *Liliaceae*.

The plants of *Allium* genus (*Liliaceae*) that contain *Allium bakeri*, *Allium fistulosum*, *Allium sativum*, *Allium tuberosum* and *Allium cepa* are distributed in Taiwan, which have been used worldwide as a folk medicine for prevention of stroke, coronary thrombosis, and atherosclerosis, as well as for treatment of various disease including infection and vascular disorders. Several components have been studied in this genus.

The work of this plan included to study of plants, synthesis, separation and purification of active compounds and quantitative determination of the components in *Allium* genus by HPLC.

1. Preparation of standard compounds.

The synthetic allicin and ajoene for standard compounds in the study: take Diallyl disulfide into prepared peracetic acid in room temperature and react for 30 minutes, separation and purification by silica gel column chromatography and low-bar reversed phase column chromatography, these compounds are determined by IR and NMR spectra.

2. Method of analysis: the HPLC method for quantitative analysis are described in the following:

Pump: Shimadzu LC-6A, two pump

UV-Vis: Shimadzu Spd-6AV

Data Processor: Shimadzu C-R3A

Column: Merck RP-8 (cat. 50832), 5 μ m, ID=4.0 \times 250mm

Operated temperature: room temperature

Flow rate: 1ml/min

Mobile phase: Methanol:Water:Acetonitrile=9:41:50

The retention time of ajoene was at 4.7 minutes, and the corrective value ($r=0.9999395938$) between 16.4 μ g/ml and 65.6 μ g/ml was corrected by calibration curve.

3. Preparation of sample: fresh preparation before analysis is needed.

4. Result and Discussion

The studies of quantitative determination of effective constituents in *Allium* genus (*Liliaceae*) mainly, which the result and discussion as the following:

Allicin: the component was changed daily in the plants of the genus.

Allium sativum-the first day contained 0.166%, second day from 0.133% to 0.092%, third

day from 0.058% to 0.049%, fourth day from 0.036% to 0.07% and the fifth day 0.017%

Immature garlic bulb-the first day contained 0.164%, second day from 0.09% to 0.07%, third day from 0.044% to 0.037% and fourth day from 0.025% to 0.024%.

Garlic roots-the first day contained 0.026% and second day from 0.019% to 0.016%

Fresh *Allium Cepa*, *Allium fistulosum* and *Allium bakeri* contained a little of allicin.

Ajoene: the component was changed daily in the plants of the genus too.

Garlic bulb-the first day show a little component, second day from 0.015% to 0.017%, third

day contained 0.017%, fourth day from 0.018% to 0.0195%, fifth day contained 0.019%,

sixth day 0.02%, eighth day from 0.02% to 0.025%, ninth day 0.021% and the tenth day

decrease to 0.017%, It could be found that the sixth day was the maximum in quantity.

Immature garlic bulb-the second day contained 0.020%, third day 0.022%, fourth day from

0.024% to 0.025%, fifth day 0.026%, sixth day 0.026%, eighth day from 0.025% to

0.023%, ninth day 0.023% and the tenth day 0.022%. It could be known that the content

of ajoene in immature garlic bulb was more than mature garlic bulb, and the maximum in quantity of ajoene was shown at the fifth day.

The ajoene content (0.046%) of fresh preparative *Allium cepa* was twice than garlic bulb. But it was converted to any other compounds which was difficultly detected at second day. Other plants contained a little ajoene and could not be detected. The activity of ajoene was more effective than allicin by the data of anti-platelet coagulation effects. (ajoene:ADP:ID50 = $166 \pm 38 \mu\text{m}$, collagen:ID50 = $196 \pm 64 \mu\text{m}$, allicin:ADP and collagen both over $400 \mu\text{m}$.)

From the above, it was shown that the fresh *Allium cepa* contain large ajoene.

The plants of the genus contained one common component which the component has the UV-254 nm of absorption peak at retention time of 1.4 minutes by the above mobile phase. It is necessary for more largely extraction, purification and deeply structure elucidation for the common component

壹.計畫緣起

中國藥材乃積五千年我國之醫學文化財產,種類繁多.同名異物,同物異名,不同科屬植物混用者比比皆是.

而台灣中藥使用甚鉅,進口種類及數量繁多,中藥材品質優劣,往往影響療效,為確保國民用藥安全,保障國民健康,建立中藥品質鑑定方法乃相當重要之工作.

現衛生署規定,申請中藥藥品查驗登記需檢附薄層層析檢驗資料,以確保中藥藥品與原料之相同,而且由國科會生命科學研究所與中國醫藥學院推動之中藥藥劑成分分析研習會乃進一步規劃中藥品質定量之工作.本研究首先針對同屬植物之成分定量,進而拓展各種中藥之成分定量以期樹立未來中藥GMP檢驗標準之資料,確定藥材真偽,分析所含成分量以確保療效.

貳. 計劃摘要

百合科薤白屬(*Allium*屬)植物本省出產有薤白 *Allium bakeri* Regel, 蔥 *Allium fistulosum* L. 大蒜 *Allium sativum* L. forma. *pekinense* Mak. 韭 *Allium tuberosum* Rottl 等常用中藥及洋蔥 *Allium cepa* L. 等食用及民間藥物, 本屬植物被研究已知含有數十種成份, 其中有效成份如: alliin, allicin, ajoene 等都具有抗凝血, 抗菌作用. 本實驗首先完成上述各種植物之形態, 藥理, 成份等考察, 並進行有效成分之合成, 純化. 利用合成的標準品以高效液相層析(HPLC)法進行各植物中所含成分之定量.

1. 標準品之獲得

allicin 及 ajoene 之合成: 取 Diallyl disulfide 加入預先準備好的 peracetic acid 室溫下反應30分鐘後, 中和停止反應, 以矽膠管柱層析, 逆相中壓管柱層析法分離, 純化, 經紅外線, 核磁共振圖譜等解析, 推定所得成份為 allicin, ajoene.

2. 分析方法的開發: 將上述合成所得 ajoene 做為指標成分, 利用高效液相層析儀在各種條件下進行檢討, 獲致結果如下:

裝置: 島津LC-6A two pump.

紫外線檢出器: 島津 Spd-6AV

資料處理機: 島津 C-R3A

層析管柱: Merck RP-8 (cat. 50832)

5 μ m. ID:4.0 \times 250mm

操作溫度: 室溫

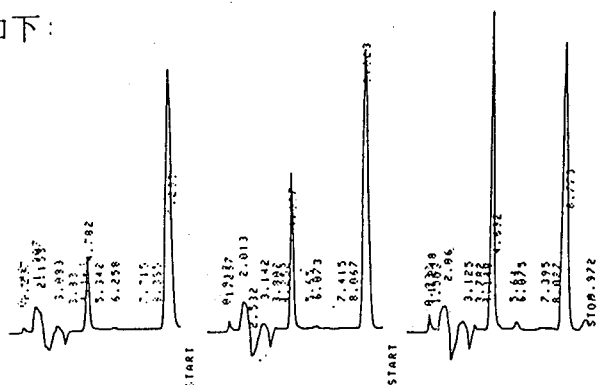
流速: 1毫升/分

移動相: 氰甲烷: 水: 甲醇 = 50: 41: 9

如圖 1, ajoene 於上述移動相之滯留時間為 4.7分鐘, 經檢量線校正時, 濃度於 16.4 μ g/ml 至 65.6 μ g/ml 的校正值 $r=0.9999395938$ (圖2)

3. 檢品之製備: 由於有效成份之不安定性質, 必需使用前新鮮配製並且就成份之不安定性質, 進行經時變化之觀察, 發現新鮮製備的大蒜檢品中只含 allicin, 經12小時後, 已有部分轉變為 ajoene, allicin 含量漸減, 至第六天已無法測出 allicin. ajoene

則於第八天顯示最大含量, 然後漸減, 轉變成其他成分, 洋蔥只能於新鮮配



製檢品中檢測出 ajoene, 並且於24小時內消失。至於蔥只可測得微量的 ajoene。薤白於新鮮配製檢品仍然檢測不出上述物質。

4. 結果與討論

本實驗探討百合科薤白屬 (*Allium* 屬) 植物之有效成分定量, 由於標準品之不安定性質, 必須定量前合成、純化; 所用檢品也需於檢測前新鮮配製, 再依經時變化加以討論結果如下:

Allicin: 大蒜中所含此成份的經時變化, 第一天 0.166%, 第二天 0.133% → 0.092%, 第三天 0.058% → 0.049%, 第四天 0.036% → 0.034%, 第五天 0.017%。

蒜白自第一天 0.164%, 第二天 0.09% → 0.07%, 第三天 0.044% → 0.037%, 第四天 0.025% → 0.024%。蒜鬚由第一天 0.026%, 第二天 0.019% → 0.016%。新鮮洋蔥及蔥, 薤白的檢品中僅含微量的 allicin。

Ajoene: 蒜頭的新鮮配製檢品中, 第一天只含微量, 第二天由 0.015% → 0.017%, 第三天 0.017%, 第四天 0.018% → 0.019%, 第五天 0.019%, 第六天 0.02%, 第八天 0.02% → 0.022%, 第九天 0.021%, 第十天降至 0.017%。由數據顯示 ajoene 的變化於第六天達最高量。

蒜白所含 ajoene 較高, 由第二天的 0.020%, 第三天 0.022%, 第四天 0.024% → 0.025%, 第五天 0.026%, 第六天 0.026%, 第八天 0.025% → 0.023%, 第九天 0.023%, 第十天 0.022%。由此可知蒜白的 ajoene 含量比蒜頭為高, 並且在第五天達最高含量。

洋蔥於新鮮配製檢品中含大量的 ajoene (0.046%), 為蒜白最高含量的兩倍, 但於兩天以後即轉化為其他化合物而不易檢測。其他蒜鬚, 蔥, 薤白只含微量, 於經時變化中無法檢測出來, 由抗血小板凝集反應之數據顯示, ajoene 的活性大於 allicin。 (ajoene: ADP: ID50 = $166 \pm 38 \mu\text{m}$; collagen: ID50 = $196 \pm 64 \mu\text{m}$, allicin: ADP, collagen: 皆大於 $400 \mu\text{m}$ 。)

以上實驗結果顯示, 洋蔥之鮮品含高量 ajoene。至於, 蔥, 薤白所含成份於本實驗 HPLC 移動相溶媒系統中滯留時間為 1.4 分時含有共同的吸收峰, 此共同成分之定量, 尚須進行大量抽取, 純化, 結構鑑定等步驟, 有待進一步之檢討。

參·計劃內容

第一章·序論

第一節：前言

中藥材中，常有利用百合科(*Liliaceae*)薤白屬(*Allium*屬)的各種植物當做藥材應用，例如：薤白，蔥白，大蒜，等係利用鱗莖，韭菜子，蔥子係利用種子。本屬植物在本省出產有薤白*Allium bakeri* Regel, 蔥*Allium fistulosum* L. 大蒜 *Allium. sativum* L. forma. *pekinense* Mak. 韭 *Allium tuberosum* Rottl 等常用中藥及洋蔥 *Allium cepa* L. 等食用及民間藥物，本屬植物被研究已知含有數十種成分，其中有效成分如：alliin, allicin, ajoene等都具有抗凝血，抗菌作用。本實驗首先完成上述各種植物之形態，藥理，成份等考察，並進行有效成份之合成，純化。利用合成的標準品以高效液相層析(HPLC)法進行各植物中所含成份之定量。

第二節：藥用植物學考察

百合科(*Liliaceae*)薤白屬(*Allium*屬)植物之各藥材，分別就其別名，來源，歷史，植物形態，產地，成分，藥理，介紹如下：

(1)大蒜 *Bulbus Alii*

[別名] 蒜頭，大蒜頭，葫。

[來源] 本品為百合科(*Liliaceae*)植物大蒜*Allium Sativum* L.的鱗莖。

[歷史] 李時珍經查考謂：是張騫使西域，始得大蒜葫，則小蒜乃中土舊有，而大蒜出胡地，故有葫名。

本品自古用為健胃，治瀉痢，止霍亂，解蘊(傳染病)及療癬藥物。本品可謂一種世界性的民間藥材。

[植物形態] 蒜為多年生草本，高約 30-60cm，地下有鱗莖。葉細長而扁，夏日開花，繖形花序，花小，淡粉紅色。

[產地] 全國各地都有，如江蘇，浙江，安徽，山西，河北等省。

1.採製：春夏採收，生長在肥厚多水的沙質土壤中，五月葉枯時採掘，用繩子將殘餘花莖連成束，掛高處陰乾。

[成分,藥理] 鱗莖含有揮發油約2%,油中所含的成份有大蒜辣素(allicin),大蒜氨酸,大蒜酵素(allinase),二硫化丙烯基 (diallyl disulfide),大蒜氨酸(cycloalliin).

藥理作用:

- 1.抑菌:對化膿性細菌,結核桿菌,痢疾桿菌,傷寒,副傷寒桿菌,霍亂弧菌等均有抑制作用
- 2.口服大蒜,由于直接刺激胃黏膜及反射地引起胃液中的鹽酸量增加,使胃蠕動加強.
- 3.大蒜中的二硫化丙烯基成份,對蚊蟲,家蠅的幼蟲有殺死作用.
- 4.對生殖細胞及腫瘤細胞的作用:體外試驗,可迅速殺死大鼠及豚鼠的精子.大蒜粗提物對大鼠腹瘤細胞具有抗有絲分裂的作用.
- 5.蒜制菌素(Allistatin)對大白鼠甲醛性關節炎有抑制作用.
- 6.大蒜中抗凝血成份有降低血鈣的作用.

(2)薤白 *Bulbus Allium Bakeri*

[別名] 野白頭,九白頭,薤白頭,野大蒜頭,小蒜頭.

[來源] 本品係百合科(*Liliaceae*)植物野薤 *Allium bakeri* Regel的乾燥根莖.

[歷史] 名醫別錄收載薤為中品.蘇恭謂:本品是韭類,葉似韭而闊,多白而無實,有紅白二種,白的補而美,紅的苦而無味.

[植物,形態] 野白頭為多年生草本,有臭味,具有皮鱗莖,部分成塊.葉不中空,根生或近生根,扁平狹,線狀或帶狀,莖頂生,繖形花序,花序下有1-3苞片合成的種苞.

[產地] 各地均有,如浙江寧波,江蘇南京,鎮江,蘇州及安徽等地.以浙江產者最優.

(1)採收:據各地氣候不同,採收季節亦不同.北方多在春季,南方多在夏秋季之間,但秋季產品比春季飽滿,質量比較好.

[成份,藥理] 本品含有一種糖類,稱大蒜糖(Scorodose),但是有關於薤白之藥理研究尚未見有科學價值之文獻.

(3)洋蔥 *Allium cepa* Linn.

[別名] 玉蔥,胡蔥,蔥頭.

[分布] 原產於伊朗,世界各地栽培.

[產地] 臺灣冬春間栽培,以屏東恆春半島產量尤多.

[形態] 越年生草本.具有強烈的辛氣味.鱗莖肥大球形或扁球形,葉圓柱形,

中空綠色被白粉，繖形花序，球形，有2-3片反捲的外苞片，花被六枚，呈二輪排列，花被片倒狀披針形，先端尖。雄蕊六枚伸出，花絲基部寬闊。雌蕊一枚，子房上位三室，花柱絲，柱頭小。蒴果，室被裂開含種子，扁平黑色。花期5-6月

[採集] 5-6月

[成分，藥理]

鱗莖含methyl disulfide, allyl disulfide, trisulfide, thiosulfinate, citrate, malate等。根，球莖，葉，ocoumaric acid, caffeic acid, ferulic acid, sinapic acid, pcoumaric acid, protocatechuic acid, polysaccharide A, polysaccharide B, quercetin, quercetin 3,4-diglucoside, thymine, 和多種胺基酸等。皮中含Kaempferol。洋蔥能抑制高脂肪飲食引起的血漿腦固醇升高，並能使纖維蛋白溶解活性下降。故可以用於動脈硬化症。動物實驗：可用於腸無力症和非痢疾性腸炎。能殺除金黃色葡萄球菌，白喉桿菌等。對於四氧嘧啶及腎上腺性高血糖病具有抗糖尿病的作用。民間利用為利尿劑及祛痰劑。

(4) 蔥 *Allium fistulosum* Linn.

[別名] 蔥仔『台灣通稱』，北蔥，水蔥。

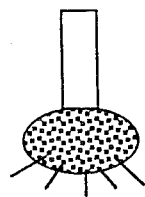
[分布] 原產西伯利亞，亞洲西部及西南部。世界各地廣為蔬菜栽培。

[產地] 臺灣全境普遍作蔬菜大量栽培。

[形態] 多年生草本。高20-45cm簇生，全體脆弱，具腥臭味，折傷有黏液流出。鬚根叢生，白色，具橫紋。鱗莖圓柱形，基部稍肥大，白色，鱗葉成層，具白色縱紋。葉基生，圓柱形，中空，繖房花序呈圓頭狀，子房三室。雄蕊六枚。

[採集，加工] 拔起後切去鬚根及葉，鮮用或曬乾用，稱蔥白『別錄』，蔥莖白『綱目』。切取鬚根，鮮用或曬乾用，稱蔥根『別錄』，蔥鬚『食療』。

[成分，藥理] 鱗莖含揮發油；內含allicin, allyl sulfide。脂肪油中含palmitic acid, stearic acid, arachidic acid, oleic acid, linoleic acid等。蔥白揮發油成分對於白喉桿菌，結核桿菌，痢疾桿菌，葡萄球菌及鏈球菌等有抑制作用。水浸劑在試管內對於多種皮膚真菌有抑制作用。



第二章實驗之部

第一節實驗用試藥與儀器

1. 溶媒

正己烷, 氯仿, 丙酮, 乙酸乙酯, 正丁醇, 甲醇, 等工業級溶媒, 均重蒸餾後使用. 高效液相層析儀 (HPLC) 使用之溶媒: 異丙醇, 氰甲烷, 甲醇, 水均為 LC Grade (臺偉, 皓峰). 測核磁共振 (NMR) 光譜所用之溶媒 d_1 -chloroform ($CDCl_3$) 為光譜級 (E. Merck).

2. 試藥

冰醋酸, 鹽酸, 硫酸, 碳酸氫鈉, 氫氧化鈉, 均為試藥一級. 醋酸酐, 30% 過氧化氫, Diallyl disulfide, Diethyl disulfide, 等為試藥特級.

3. 顯色劑 : 10% Sulfuric acid

4. 薄層層析 (Thin layer chromatography)

定性分析採用 Kieselgel 60 GF254 silica gel pre-coated aluminium plate, 厚度 0.2mm (E. Merck Art. 5735). 純化分離用 PTLC plate, silica gel 60 F254, 厚 1mm 及 0.5mm, 20cm × 20cm (E. Merck Art. 13792, 13794)

5. 管柱層析 (column chromatography)

擔體 (support) 包括 Kieselgel 60: 70-230 mesh, Kieselgel 60: 230-400 mesh (E. Merck Art. 7734, 9385). Fuji-Davison ODS-18 (chromatorex)

6. 高效液相層析 (High Performance Liquid Chromatography)

1). 溶媒輸送系統: Shimadzu LC6A, two pump

2). 層析管柱: Merck, C-18, (I.D. 4.6 × 150mm), 5μm

3). 紫外線檢出器: Shimadzu SPD-6AV

4). 資料處理機: Shimadzu C-R3A

5). Filter membrane: 溶媒用: Millipore HVLT 0.45μm

檢體用: Millipore SLHV 0.45μm

7. 紅外線光譜儀:

Shimadzu IR-440 spectrometer, 以溴化鉀粉末作為打片稀釋劑

8. 氫核磁共振儀及碳十三核磁共振儀:

JEOL FX-900 核磁共振儀以 TMS 為內部標準品, 並以值表示化學位移, 偶合常數單位為 Hz; s 表示單線峰 (singlet); d 表示雙線峰 (doublet); t 表示三線峰 (triplet); q 表示四線峰 (quartet); br 表示寬峰 (broad); m 表示多重峰 (multiplet).

9.氣相層析-質譜儀:

Hewlett-packard 5995 GC-MS system,離子電壓為75ev,MS(m/z,%)%表示裂片之強度
已做規整(normalization)

10.紫外線燈:CAMAG Universal UV lamp,波長254nm及366nm.

RAYTECH Model 88,波長254及366nm

11.電子天平:METTLER AJ150

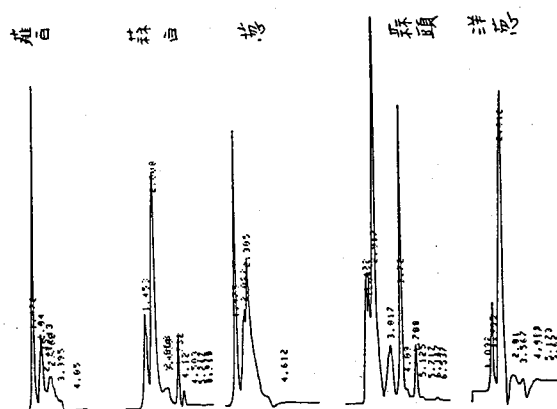
12.超音波震盪器:NEY,300ULTRA SONIK

第二節 檢品前處理

A.檢品(蒜頭, 蒜鬚, 蒜白, 薤白, 洋蔥, 蔥)

1.蒜頭前處理

- ↓取乾燥的蒜頭約兩克精秤
- ↓磨碎置25ml三角錐瓶, 在空氣中放置30分鐘
- ↓加入15ml甲醇液
- ↓置超音波震盪器, 抽取30分鐘
- ↓吸出溶液過濾, 置於50ml之容量瓶內
- ↓重覆三次
- ↓加入甲醇液, 精確定量50毫升
- ↓充分混合均勻
- ↓離心分離 3000rpm.20分鐘
- ↓分取上清液
- ↓以0.45 μ m濾膜過濾, 濾液做為HPLC檢品



↓離心分離 3000rpm,20分鐘

↓分取上清液

↓以0.45 μ m過濾,濾液做為HPLC檢品的溶液

3.蒜鬚之前處理

↓精稱蒜鬚約2克

↓磨碎置於25毫升三角錐瓶,在空氣中放置30分鐘

↓加入15毫升甲醇液

↓置超音波震盪器,抽取30分鐘

↓吸出溶液過濾,置於50毫升容量瓶內

↓重覆抽取三次

↓取少量的甲醇液洗淨濾紙上之濾液

↓加入甲醇液,精確定量50毫升

↓充分混合均勻

↓離心分離 3000rpm,20分鐘

↓分取上清液

↓以0.45 μ m過濾,濾液做為HPLC檢品的溶液

4.薤白前處理

↓取去尾的薤白鮮品,精稱約2克

↓磨碎置於25毫升三角錐瓶,在空氣中放置30分鐘

↓加入15毫升甲醇液

↓置超音波搖盪器,抽取30分鐘

↓吸出溶液過濾,置於50毫升容量瓶內

↓重覆抽取三次

↓取少量的甲醇液洗淨濾紙上之濾液

↓加入甲醇液,精確定量50毫升

↓充分混合均勻

↓離心分離 3000rpm,20分鐘

↓分取上清液

↓以0.45 μ m過濾,濾液做為HPLC檢品之溶液

5.洋蔥前處理

↓精稱鮮品洋蔥約2克

↓磨碎置於25毫升三角錐瓶,在空氣中放置30分鐘

↓加入15毫升甲醇液

- ↓置超音波震盪器, 抽取30分鐘
- ↓吸出溶液過濾, 置於50毫升容量瓶內
- ↓重覆抽取三次
- ↓取少量的甲醇液洗淨濾紙上之濾液
- ↓加入甲醇液, 精確定量50毫升
- ↓充分混合均勻
- ↓離心分離 3000rpm, 20分鐘
- ↓分取上清液
- ↓以0.45 μ m過濾, 濾液做為HPLC檢品之溶液

6. 蔥白前處理

- ↓取鮮品蔥白(洗淨, 晾乾), 精稱約2克
- ↓磨碎置於25毫升三角錐瓶, 在空氣中放置30分鐘
- ↓加入15毫升甲醇液
- ↓置超音波震盪器, 抽取30分鐘
- ↓吸出溶液過濾, 置於50毫升容量瓶內
- ↓重覆抽取三次
- ↓取少量的甲醇液洗淨濾紙上之濾液
- ↓加入甲醇液, 精確定量50毫升
- ↓充分混合均勻
- ↓離心分離 3000rpm, 20分鐘
- ↓分取上清液
- ↓以0.45 μ m過濾, 濾液做為HPLC檢品之溶液

B. 蔥之大量萃取

- ↓市售蔥3公斤, 去除綠色尾部
- ↓洗淨, 晾乾
- ↓稱重
- ↓切碎, 置5000毫升的三角錐瓶
- ↓加入3000毫升的甲醇溶液, 放置過夜
- ↓用Nylon布100-200mesh過濾
- ↓濾液置100毫升的茄形瓶濃縮
- ↓殘留物用甲醇洗, 放置過夜, 再過濾
- ↓濃縮
- ↓殘留物用甲醇洗, 加熱水浴45-50 $^{\circ}$ C抽取, 約3小時

↓再過濾濃縮至乾備用。

第三節·標定物質的合成

依文獻：合成大蒜主要有效成分 Allicin 及 Ajoene 加以純化後當作標準品，用於本實驗之定量分析。

(一)過氧醋酸之製備

↓醋酸酐(acetic anhydride) 45克加入茄形瓶加以攪拌

↓慢慢加入 30% H_2O_2 10克(drop by drop)

↓保持溶液在 35-40°C

↓滴完，暫時保持溫度

↓放置壹夜後備用。

(二)allicin及 ajoene之合成

↓取 Diallyl disulfide, 5克加入 200毫升茄形瓶內，再加入氯仿 20毫升

↓加入後攪拌，並且加入上述已製備之過氧醋酸 15毫升(drop by drop)

↓滴完後令反應 20分鐘

↓反應完全後，加入 $NaHCO_3$ 溶劑加以中和，轉入分液漏斗

↓加 n-hexane 至分液漏斗進行 partition。

↓振搖後取上層

↓如上述 partition 三次，合併上層溶液。

↓上層溶液經減壓濃縮抽乾後，以正己烷層進行 silica gel column chromatography。

(1) Allicin 之分離須於合成完成後，需立即進行管柱層析，否則 Allicin 容易轉變成 Ajoene 而不易取得：通常合成反應結束後，立即進行管柱層析，時間若配得當合成產率高，管柱層析以正己烷：異丙醇 = 98:2 (Fr. 1-28)，最後以氯仿沖提 (Fr. 29)，MeOH 沖提 (Fr. 30) 共 30 個分劃，經濃縮以 HPLC 分析結果比較合併得 A-1 (Fr. 1-13)，A-2 (Fr. 14-15)，A-3 (Fr. 16-17)，A-4 (Fr. 18)，A-5 (Fr. 19-30)。用 HPLC (Column: Merck Cat 50832 Lickrospher 100 RP-8 $5\mu m$, ID 40 × 250mm) 在測定 A-4 分劃在滯留時間 3.7 分處為單一吸收峰，立即濃縮存放於真空乾燥器中，以便進行定量分析。

(2) Ajoene 之合成須於反應後靜置幾小時，所得產率較高，所以通常於下午合成，隔天早晨才進行分離，分離時如同前述將正己烷濃縮，經矽膠管柱層析，以正己烷：異丙醇 = 98:2 沖提得 Fr. (1-26)，最後以氯仿 (Fr. 27)，甲醇 (Fr. 28) 洗下共得

28個分劃，經HPLC分析的結果比較後合併成B-1(Fr.1-9),B-2(Fr.10-13),B-3(Fr.14-16),B-4(Fr.17-26),B-5(Fr.27-28).用HPLC(Column:RP-8 5 μ m ID 40 \times 250mm)再測定，B-3分劃的滯留時間為4.7分，立即濃縮，存放在乾燥真空容器內，以便做定量分析之用。

(3)分離物之測定

由上述分離得分劃A-4,B-3.再以中壓 ODS-18逆相管柱層析法(mobile phase, n-hexane:THF=9:1),分離所得的油狀化合物，經測 IR及NMR，推定所合成的化合物為allicin和ajoene.

Ajoene:

IR(cm⁻¹ ν max):3000,1625(C=C),1420,1400,1220,1040(C-S-O-C),920

¹H-NMR:(δ ,inCDCl₃):6.38(1H,=CHSS),5.82(m,3H,=CHCH₂),

5.50(m,2H,CH₂=CHCH₂S-O)5.16(m,2H,CH₂=CHCH₂S),

3.54(m,4H,CH₂SOCH₂),3.33(d,J=7.32,2H,SSCH₂),

¹³C-NMR(lit.)(δ ,in CDCl₃):134.7,132.6,125.7,123.7,119.3,116.9,54.5,53.1,41.4

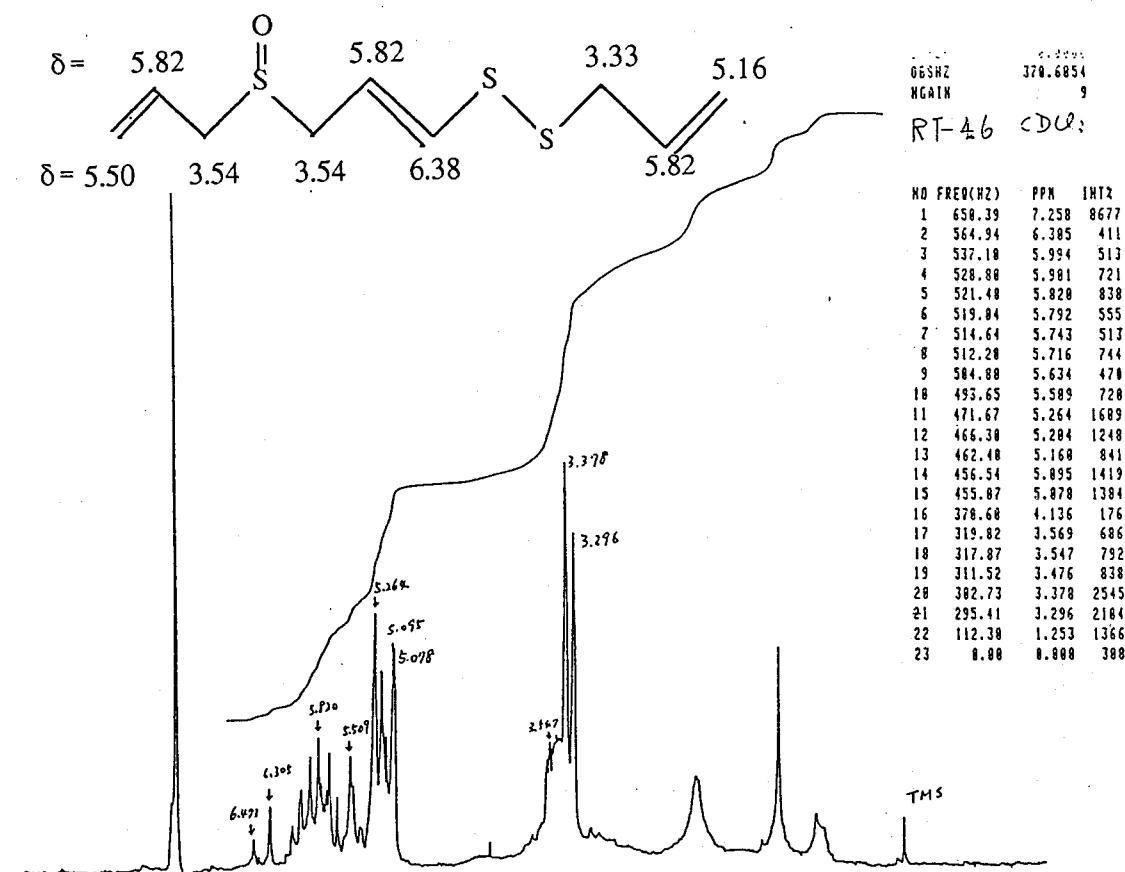


Chart 2: ¹H-NMR spectrum of ajoene

第四節·分析方法的開發

以合成所得的化合物(ajoene)為指標成分·利用高效液相層析(high performance liquid chromatography)管柱(逆相管柱 Merck RP-8, 5 μ m, Cat.No.50832 ID.40 \times 250nm)經各種配製的移動相比較對照結果·以 ACN:H₂O:MeOH=50:41:9為最好·其中 ajoene在滯留時間 (Retention time)4.7分呈單一吸收峰.(Chart 5)allicin的滯留時間為3.7分·再利用 ajoene為指標與大蒜檢品比對結果·新鮮配製大蒜檢液含少量 ajoene.但在滯留時間 3.7分處的 allicin吸收峰(Chart 6)·於空氣中置放幾小時後3.7分(allicin)的吸收峰減少·而4.7分(ajoene)的吸收峰增大·內部標準品(I.S. Internal Standard)經檢討結果以 Diethyl Disulfide在滯留時間9分鐘處有吸收峰·不影響檢品分析

由此確立分析方法如下:

檢出器:紫外線吸收光光度計(測出波長:254nm)

管柱: Merck Lichospher RP-8, 5 μ m, (Cat.NO.50832, ID= 40 \times 250mm)

管柱溫度:室溫

移動相:氰甲烷:水:甲醇=50:41:9

流量:每分鐘1毫升

1).Internal standard之配製

↓精稱100毫克 Diethyl Disulfide標準品

↓置於10毫升定量瓶內

↓加甲醇(LC級)精確定量10毫升

↓充分混合均勻

2).標準品溶液的配製

↓取 Ajoene標準品約8.2mg精稱

↓置於10ml定量瓶內

↓加甲醇(LC級)精確定量10ml

↓充分混合均勻

↓從上述內標之定量瓶,用吸管精取1ml各置於50ml定量瓶內

↓以0.45 μ m membrane filter過濾,所得濾液為檢品·

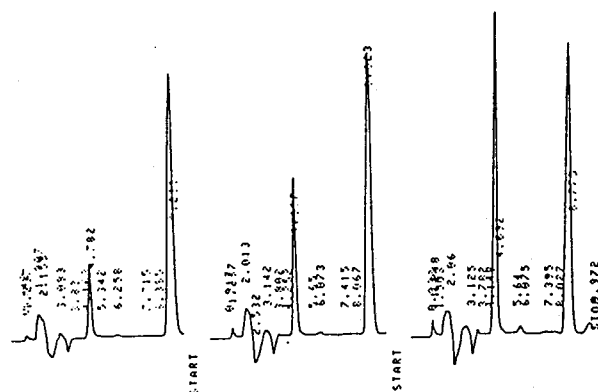


Chart 5: HPLC spectrum of ajoene (RT=4.7 min.)

Int. St.:RT=8.7 min.

第五節·檢品的定量及經時變化

以上述所合成之 Allicin及 Ajoene為定量天然物蒜頭,蒜白,蒜鬚,薤白,洋葱,蔥的含量比,

1).移動相溶液配製

↓量取適量的氰甲烷:純水:甲醇=50:41:9依照以上配製

↓充分混合均勻

↓以0.45μm membrane filter過濾

2).HPLC操作條件 sensitivity:0.05AUFs

FlowRate: 1.0ml/min

Detector: UV254nm

Column: Merck Cat.50832 , RP-8, 5μm, ID= 40× 250mm

Column temperature: room temperature

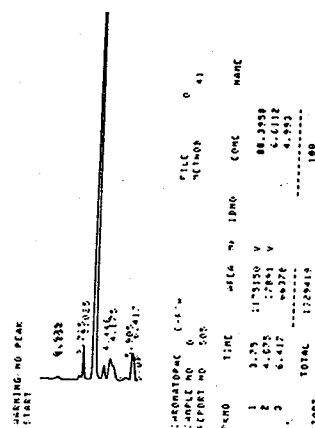


Chart 6: HPLC spectrum of allicin

(R.T.=3.75 min.)

3).標準曲線製作

↓如上述(本章第四節 -2)標準品溶液充分混合後,用吸管 (pipet)精確吸出 1ml,2ml,4ml

↓取三個50ml定量瓶分別加入1ml,2ml,4ml的Ajoene標準品溶液

↓精取內部標準品Diethyl Disulfide 1ml置各50ml定量瓶內

↓加甲醇(LC級)精確量50ml ↓充分混合均勻

↓以0.45μm membrane filter過濾↓各取20μl注入HPLC中分析

↓以對照標準品之波峰面積與內部標準品之波峰面積比與濃度間之關係求出標準曲線之線性迴歸方程及相關係數,經檢量線校正時, ajoene的濃度於16.4 μg/ml至65.6μg/ml的校正值 $r=0.9999395938$ (Chart 7).

LINEAR REGRESSION
By S. C. HUANG
Date: 11/29/89

No. =

3

Concentration	Peak area/height
0	0
1	0.2440217
2	0.4645775
4	0.925927

Regression
0.01334695
0.2411395714
0.4689141929
0.9244914357

Coefficient of determination : 0.9998791912
Coefficient of correlation : 0.9999395938

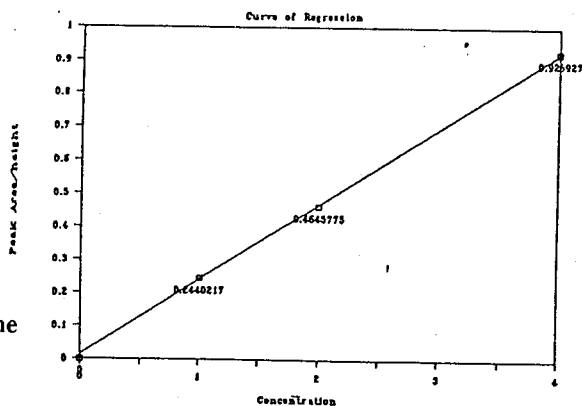


Chart 7: Calibration curve of ajoene

4). 計算方法:

各檢品所含 Allicin 和 Ajoene 的計算方法如下:

$$\frac{\text{檢品測定面積值} / \text{內標測定面積值}}{\text{標準品測定值} / \text{內標測定值}} \times \text{標準品溶液濃度 (mg/ml)} \times$$

$$\frac{\text{標準品溶液注入量 } \mu\text{l}}{\text{檢品溶液注入量 } \mu\text{l}} \times \frac{1}{\text{檢品溶液的濃度 (mg/ml)}}$$

5).天然物檢品(蒜頭, 蒜白, 洋蔥, 蒜鬚, 蔥)前處理:

天然物之定量, 其檢品須新鮮配製

檢品之前處理如同本章第二節所述

↓精稱蒜頭, 蒜鬚, 蒜白, 薤白, 洋蔥, 蔥各約2克

↓磨碎置50ml三角瓶內, 在空氣中置30分鐘

↓加入甲醇15毫升

↓置超音波震盪器, 抽取30分鐘

↓吸出溶液過濾, 置50ml定量瓶內

↓重覆三次後, 再加入內部標準品 Diethyl Disulfide 精取 1ml

↓加入甲醇精確定量 50ml

↓充分混合均勻

↓離心分離 3000rpm, 20分鐘

↓分取上清液

↓以0.45 μ m濾膜過濾

↓濾液作為HPLC檢品之溶液

↓取20 μ l注入HPLC中分析

↓各檢品每天早晚各分析乙次, 連續進行十天.

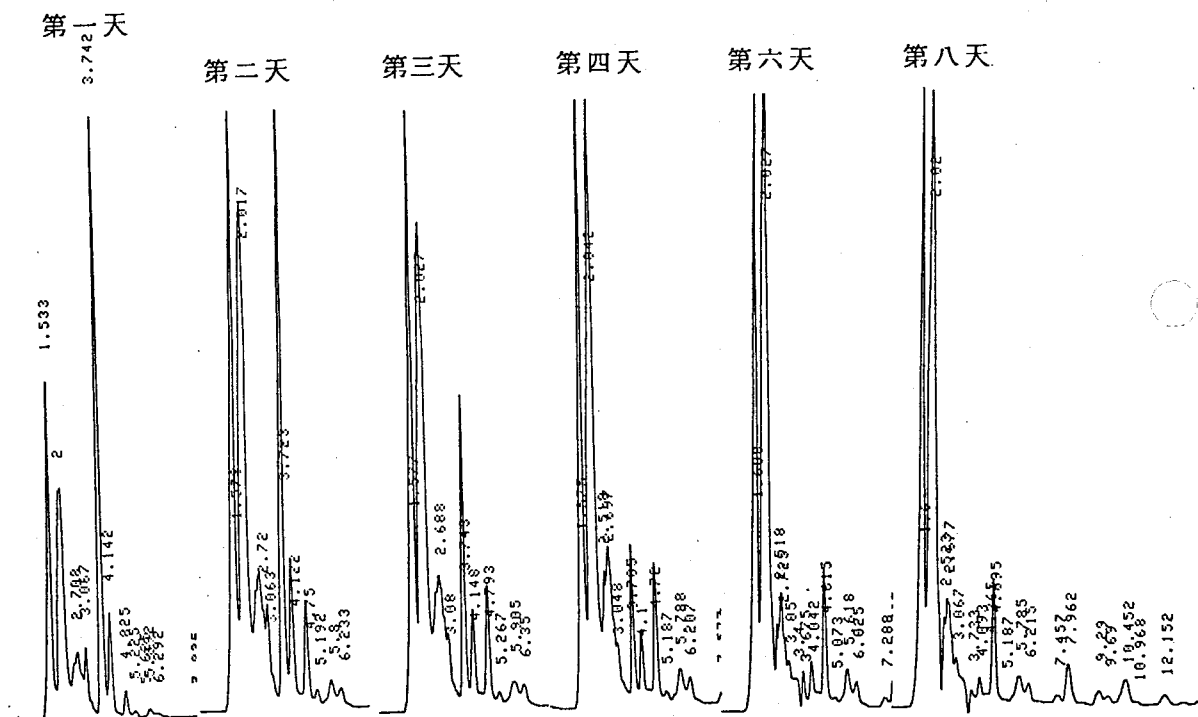


Chart 8: 大蒜成分之經時變化

2.075

8.844

4.15

3.742

5.205-023

6.755

2.7035

3.733

7.1058

6.1122

5.2246

5.783

7.052

2.072

6.782

1.735

5.278

7.335

2.817

4.108

5.213

401

甲醇=50:41:9,充分混和均勻,以0.45 μ m濾膜過濾,發現無滯留時間 1.47分之吸收峰,但在原點的濾液則有滯留時間 1.47分之成分

4.管柱色層層析法

管柱色層層析法之填充物為順相的矽膠凝體(silica gel 60),先用正己烷填充矽膠凝體,添加檢品後以正己烷:異丙醇=95:5,正己烷:異丙醇=2:1,正己烷:氯仿=1:1,氯仿:甲醇=1:1,甲醇之順序將管柱沖提乾淨

上述管柱層析分離之各檢品經 HPLC檢測結果發現,矽膠凝體使檢品分解,滯留時間 1.47分處的化合物消失,因此不宜利用順相層析法分離

(二)逆相TLC片鑑定

1.取蔥濃縮液約100mg加入70%甲醇液,置超音波震盪器震盪幾分鐘,使濃縮物完全溶解,濾液作為檢品溶液,取檢品溶液5 μ l點於RP-8,F254S薄層板上,然後以甲醇:水=1:2之混合溶媒展開約4.8cm,烘乾薄板,於紫外線(波長254nm)下照射時,在Rf值約0.3處有淡黃斑點,0.6處有淡橘色斑點。

2.為了確定上述二個吸收斑點是否含滯留時間 1.47分之吸收峰:

取蔥濃縮液約200mg加入70%甲醇水溶液5ml,置超音波震盪器震盪幾分鐘使濃縮液完全溶解,濾液作為檢品溶液,取檢品溶液0.5ml點於RP-8,F254S薄層板,然後以甲醇:水=1:2之混合溶媒展開約17cm,烘乾薄層板,於紫外線照射時有二吸收斑點,再重覆展開約19cm,烘乾薄層板後再於紫外線下照射時有二條吸收帶,刮下吸收帶,用Benzen:Acetone=1:1溶解,放置濾紙過濾,濾液作為HPLC檢品之溶液。

3.用HPLC來鑑定此二條吸收帶:

濾液以0.45 μ m濾膜過濾,取20 μ l注入HPLC中分析觀察,移動相為氘甲烷:水:甲醇=50:41:9,充分混合均勻,以0.45 μ m membrane filter過濾,發現有RT=1.47分之吸收峰,故取甲醇:水=1:2為逆相管柱色層層析的移動相。

HPLC操作條件:sensitivity:0.05AUFs

FlowRate: 1.0ml/min

Detector: UV254nm

Column: Merck Cat.50832, Lichrospher 100, RP-8, 5 μ m, ID= 40 \times 250mm

Column temperature: room temperature

4.逆相管柱色層層析法

由上述條件知道,滯留時間 1.47分吸收峰之成分能以逆相管柱色層層析法得到較好的分離效果,因此將蔥濃縮液經ODS-18 column chromatography,管柱直徑3.3公分,高 47公分,以甲醇:水=3:2(Fr.1-9),MeOH沖提 (Fr.10),再以

MeOH:CHCl₃=1:1沖提 (Fr.11),最後用 MeOH沖提 (Fr.12)共得 12個分劃。經濃縮後,以 HPLC分析結果,比較合併得(MH-1至MH-6)等六個分劃。用 HPLC分析結果,發現滯留時間 1.47分吸收峰分配於 Fr.MH-3,因此將 Fr.MH-3經中壓 ODS-18 column chromatography.管柱直徑3.5公分,高 100公分,以 60%甲醇沖提,約每50ml收集一個分劃。共7個分劃,最後用 100% 甲醇,氯仿沖提 (Fr.8-9),Fr.1 為 I-1,Fr.2-6合併為 I-2,Fr.7-9合併為 I-3,I-2再重複 ODS-18 column chromatography.以 50% 甲醇沖提,每5ml收集一個分劃。共八個分劃。100%MeOH沖提 (Fr. 9),經濃縮合併,將 Fr.1-3合併為 II -1,Fr.4-5合併為 II -2,Fr.6-7合併為 II -3,Fr.8-9合併為 II -4,流程圖如下:

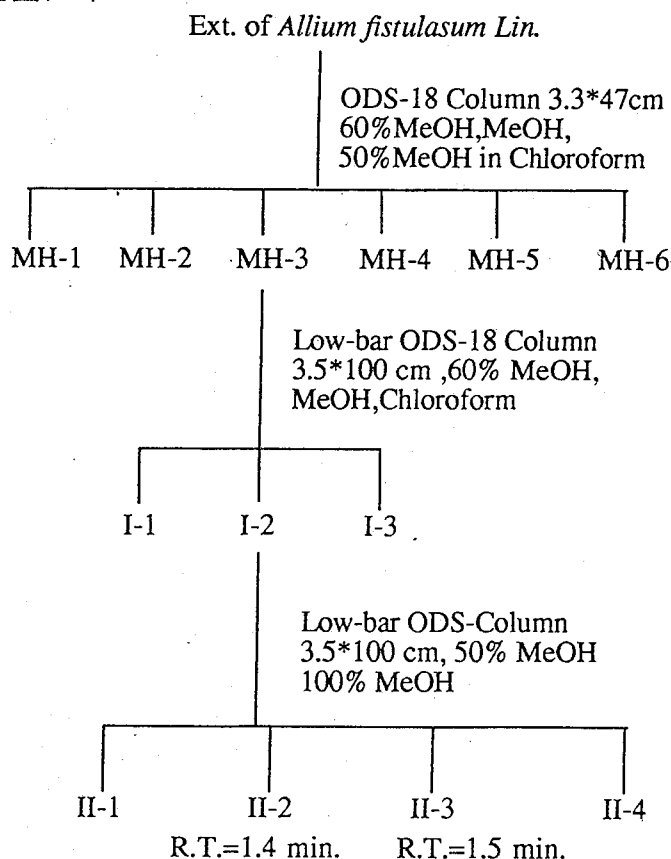


Chart 11: Separation of *Allium fistulosum* Lin.

5. 分離化合物之測定

經過上述分離步驟,取 II-2之化合物進行 HPLC測定,結果 II -2在滯留時間 1.4分處有吸收峰, II -3在滯留時間 1.5分處有吸收峰。但是兩者皆非單一吸收峰,因收率很少,若欲繼續純化,進行結構鑑定,需要更多的原料做提取,分離。有待以後加以檢討。

第三章.結果與討論

Allicin及ajoene來自百合科植物大蒜 *Allium sativum* L. 鮮莖, 蔥 *A. fistulosum* L. 鱗莖, 具有抗鏈球菌, 隱球菌和黴菌等抗菌作用, 抗血小板凝集作用, 能加強家兔的多核白細胞的吞噬作用, 臨床可治療痢疾, 百日咳, 肺結核, 頭癬及陰道滴蟲等症。

本實驗探討百合科薺白屬 (*Allium*屬) 植物之有效成分定量, 由於標準品 allicin 和 ajoene 性質不安定, 必須定量前合成, 純化; 所用檢品也需於檢測前新鮮配製, 本實驗完成 allicin 及 ajoene 之合成, 經純化, 分離, 構造式決定後, 供定量之標準品使用。

植物檢品依經時變化加以討論結果如下:

Allicin: 大蒜中所含此成分的經時變化: 第一天0.166%, 第二天0.133%→0.092%,

第三天0.058%→0.049%, 第四天0.036%→0.034%, 第五天0.017%。

蒜白自第一天0.164%, 第二天0.09%→0.07%, 第三天0.044%→0.037%, 第四天0.025%→0.024%。

蒜鬚由第一天0.026%, 第二天0.019%→0.016%。

新鮮洋蔥, 蔥, 薺白的檢品中僅含微量的 Allicin。

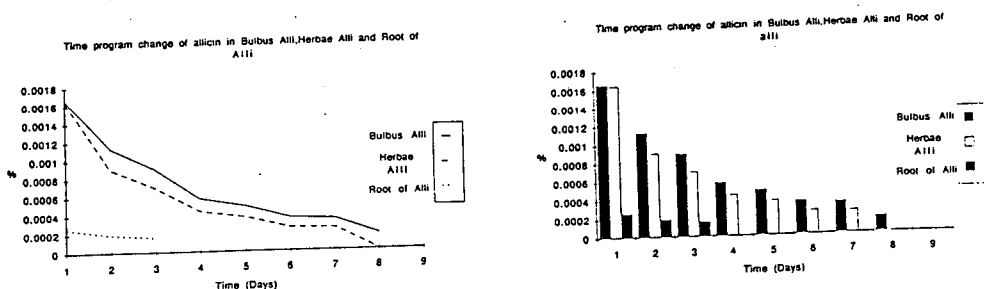


Chart 12 :大蒜, 蒜白, 蒜鬚中所含 Allicin 之經時變化

Ajoene: 蒜頭的新鮮配製檢品中, 第一天只含微量, 第二天由 0.015%→0.017%, 第三天0.017%, 第四天0.018%→0.019%, 第五天0.019%, 第六天0.02%, 第八天0.02%→0.022%, 第九天0.021%, 第十天降至0.017%由數據顯示ajoene的變化於第六天達最高量。

蒜白所含 ajoene 較高, 由第二天 0.020%, 第三天0.022%, 第四天0.024%→0.025%, 第五天0.026%, 第六天0.026%, 第八天0.025%→0.023%, 第九天0.023%, 第十天0.022%由此可知蒜白的 ajoene 含量比蒜頭為高, 並且在第

五天達最高含量
 洋蔥於新鮮配製
 檢品中含大量的
 ajoene(0.04%),為
 蒜白最高含量的
 兩倍.但於兩天以
 後轉化為其他化
 合物而不易檢測
 其他蒜鬚,蔥,薤白
 只含微量,於經時
 變化中無法檢測出來.

Time program change of ajoene in Bulbus Alli, Herbae Alli and Bulbus of Allum cepa

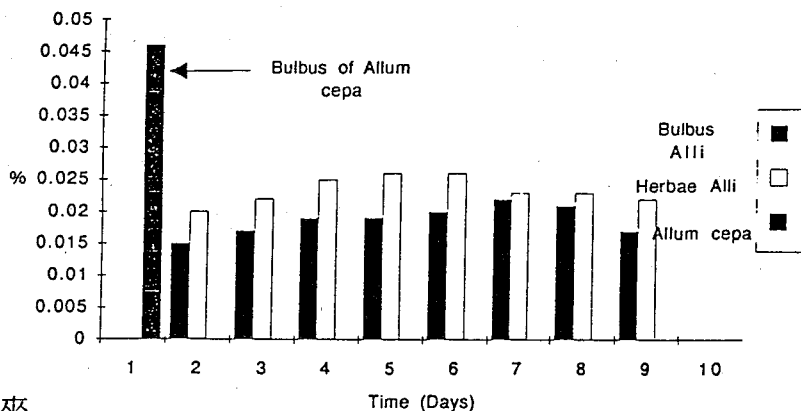
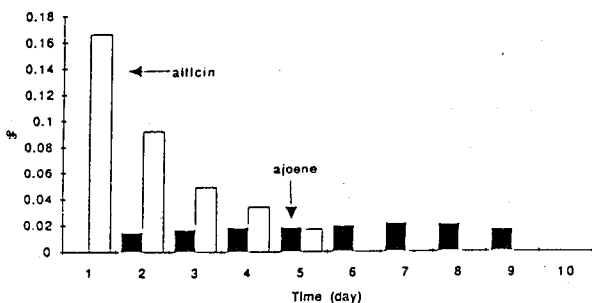


Chart 13 : 大蒜, 蒜白, 洋蔥中所含 Ajoene 之經時變化

Time program change of allicin and ajoene in Bulbus Alli



Time program change of allicin and ajoene in Bulbus Alli

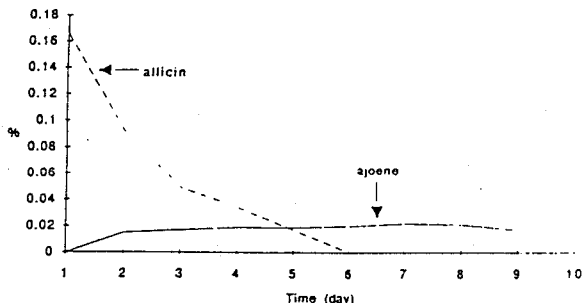
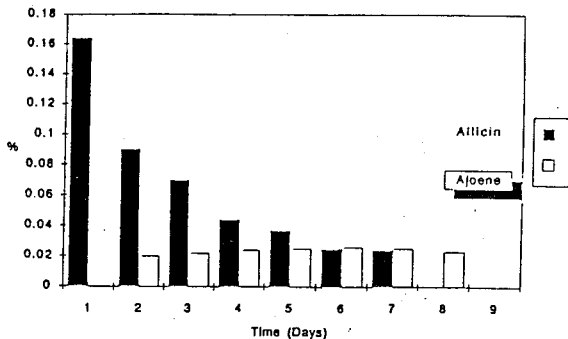


Chart 14 : 大蒜中所含 Allicin, Ajoene 之經時變化

Time program change of Allicin, Ajoene in Herbae Alli



Time program change of Allicin, Ajoene in Herbae Alli

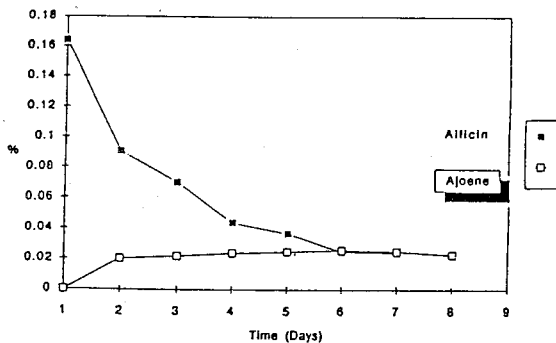


Chart 15 : 蒜白中所含 Allicin,Ajoene 之經時變化

由抗血小板凝集反應之數據顯示 ajoene 之活性大於 allicin. (ajoene: ADP: ID50 = 166 \pm 38 μ m, collagene: ID50 = 196 \pm 64 μ m, allicin: ADP, collagene 皆大於 400 μ m). 以上實驗結果 allicin 容易轉變成 ajoene. ajoene 在天然物之含量以洋蔥鮮品最高, 蒜白鮮品次之, 蒜頭鮮品中只含 allicin, 此化合物受 Allinase 或空氣中的氧氧化, 形成 Ajoene.

蔥, 蒜白所含成分於本實驗 HPLC 移動相溶媒系統中, 滯留時間為 1.4 分時含有共同吸收峰, 此共同成分之定量, 尚需進行大量抽取, 純化, 結構鑑定等步驟, 有待進一步之檢討.

參考文獻

1. Antiviral properties of garlic: In vitro effects on influenza B, Herpes Simplex and coxsackie viruses. *Planta Medica*, (1985), 5, 460,
Y. Tsai et al
2. Antifungal activity of ajoene derived from garlic.
Applied and Environmental Microbiology Mar. (1987), 53, 615.
S. Yoshida et al
3. Effects of garlic constituents on arachidonate metabolism. *Planta Medica* (1987) 305
H. Wagner et al.
4. The effect of garlic extracts on contractions of rat gastric fundus and human platelet aggregation
J. Pharm. Pharmacol., (1984), 36, 272
J.D. Calfen et al.
5. Activation of immunoresponder cells by the protein fraction from aged garlic extracts.
Phytotherapy Research. (1987), 1, 161.
Y. Hiroao et al.
6. Purification and properties of *Allium sativum* Lectin.
Acta Biochimica et Biophysica (1987), 19, 188.
S. Ce et al.
7. Antithrobotic Organosulfur Compounds from Garlic: Structural, Mechanistic, and Synthetic Studies. *J. Am., Soc.* (1986), 108, 7045
Eric Blocket al.
8. Products of Allicin Transformation: Ajoenes and Dithiins, Characterization and Determination by HPLC. *Planta Medica* (1990), 56, 202
Bernhard Iberl et al.

中藥抗癌研究

三軍總醫院醫學研究部

陳家福 · 吳晴華

世界各國之醫學史，均有憑藉一些累積之經驗，以達到治療疾病之方法，一直流傳至今，即所謂「傳統醫學」。它常使用了各種動、植、礦物當藥物，即所謂「民間藥」或有詳細記載之藥典方。中藥在中國之傳統醫學上具有相當之歷史與價值，而且目前仍頗受廣用。單單在臺灣，每年中藥材之消費估計將近百億元，尤其海峽兩岸關係改善以後，中藥之進口增加，中藥之消費額當不止此數。

中藥的使用，既然是一種經驗醫學，較少有系統性及科學化之研究與評估。本研究之目的在找出有抗癌作用之中草藥及方劑。本室依美國癌症研究院 30 年來使用之抗癌藥物篩選模式，在體外利用人類口腔上皮癌細胞株之細胞毒性檢定，在體內則利用 P388 淋巴性白血癌細胞之 CDF1 小鼠及人體惡性腫瘤移植於裸鼠身上等，作為篩選模式，利用中醫書籍、民間偏方，選擇具備類似抗癌藥理作用之中草藥，將收集所得之中草藥抽取物作一過篩，祈盼此研究獲得治療療效之中草藥，作為進一步臨床治療之參考。

肆、研究方法與材料

一、本研究萃取方法

1. 多汁的植物 (juicy material) 用果汁機搗拌此多汁的植物成為均勻懸浮液，加酒精適量，此抽取液經過過濾，減壓濃縮（其溫度不超過 50℃），使幾乎於乾燥，然後放在冷凍乾燥機或真空乾燥器中，將水份完全除掉，此乾燥抽取物可用抗癌選汰試驗。
2. 含纖維性乾燥植物 (Fibrous dried material) 抽取方法如下：

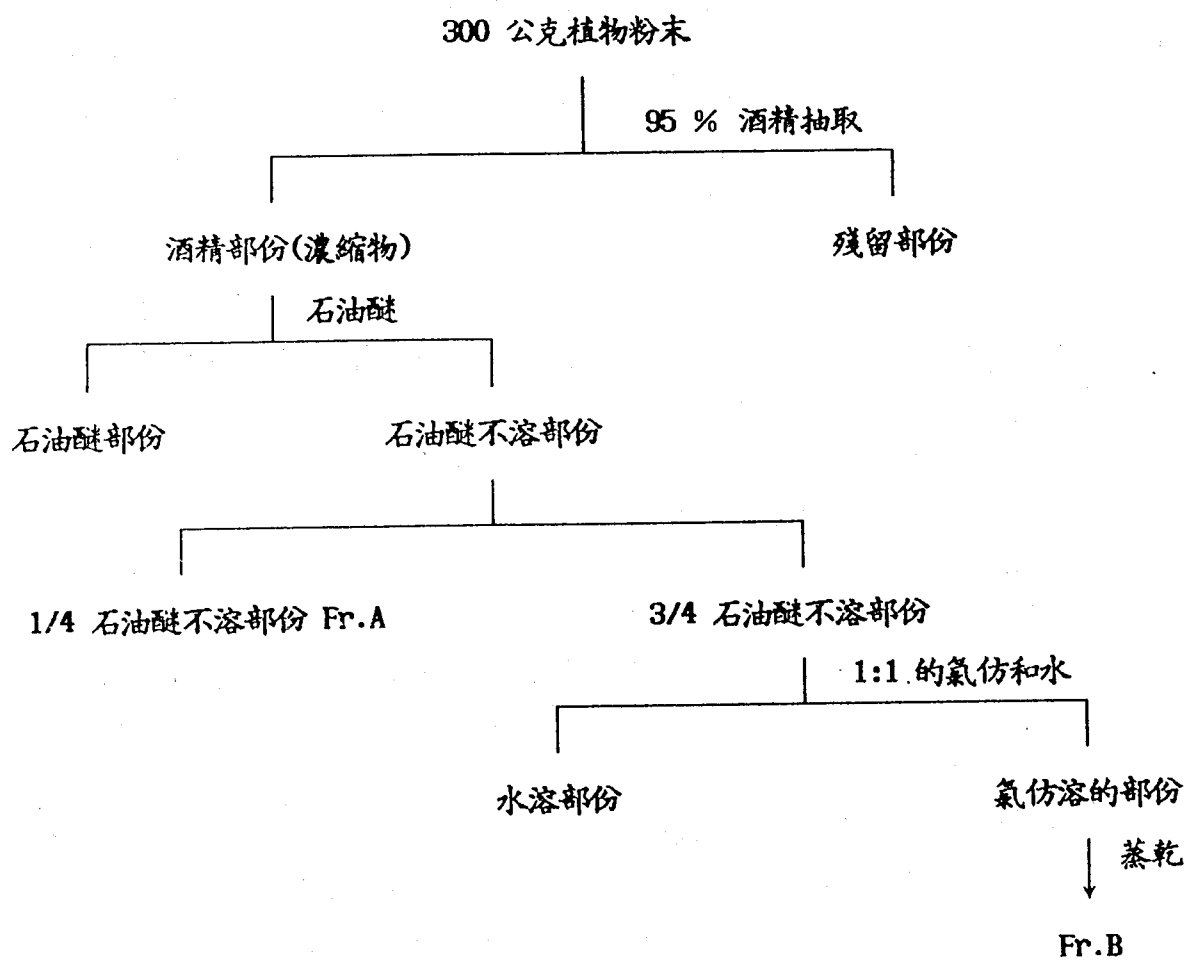


表 A、B 部份分別作抗癌選汰試驗

(b)人體癌生長於裸鼠身上之抗癌篩選試驗：

將人體癌細胞由胰蛋白酵素及食鹽水清洗後，注入裸鼠腋部皮下0.5ml（癌細胞總量為 $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ ），使產生固體瘤，經病理切片，確定無誤後；再經數代移植，選擇長出相似體積瘤之裸鼠，任意分組稱重，將欲篩選藥物配置成溶液，連續注射三次，每週測量腫瘤之長寬。其結果與對照組作一比較以便判定其療效。

伍、研究結果：

由國內其它研究單位供應，如北醫楊玲玲教授及本室依上方法中草藥粗抽出物作一過篩，歷經七個月，目前完成近40種中草藥體內、體外試驗，其結果如下：

中草藥名稱	抽取溶劑	腫瘤細胞	抗 癌 效 果*
沒 藥	95 % Alc.	KB	ED 50 6.5 X 10(1)
蕪 荑	95 % Alc.	KB	ED 50 2.9 X 10(1)
蕪 荑	CHCl3	KB	ED 50 8.4 X 10(1)
山 豆 根	95 % Alc.	KB	ED 50 2.8 X 10(1)
山 豆 根	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 105
百 芥 子	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
地 丁	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
地 丁	CHCl3	KB	ED 50 8.7 X 10(1)
瞿 麥	95 % Alc.	KB	ED 50 9.4 X 10(1)
瞿 麥	CHCl3	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
瞿 麥	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 21
黃 芩	95 % Alc.	KB	ED 50 7.3 X 10(1)
黃 芩	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 80
黃 芩	CHCl3	KB	ED 50 3.1 X 10(1)

中 草 藥 名 稱	抽 取 溶 劑	腫 瘤 細 胞	抗 癌 效 果
枳 實	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 102
枳 實	CHCl3	P388	200 mg/kg 119
枳 實	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
枳 實	CHCl3	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
澤 蘭	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 100
土 伏 苓	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 83.3
金 蠟	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 111
靈 芝	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 110
靈 芝	CHCl3	P388	400 mg/kg 105
靈 芝	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
靈 芝	CHCl3	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
地 黃	H2O	P388	400 mg/kg 104.5
黃 蓮	95 % Alc.	KB	ED 50 5.9 X 10(0)
甘 遂	95 % Alc.	P388	200 mg/kg 163
甘 遂	CHCl3	KB	ED 50 6.9 X 10(0)
茜 草	95 % Alc.	P388	200 mg/kg 163
茜 草	CHCl3	KB	ED 50 6.9 X 10(0)
芫 花	95 % Alc.	P388	10 mg/kg 166
蘭 嶼 裸 實	95 % Alc.	P388	200 mg/kg 153
蘭 嶼 裸 實	95 % Alc.	KB	ED 50 1.3 X 10(0)
川 練 子	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 90
荊 蔓 子	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 30
敗 醬 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 80

中 草 藥 名 稱	抽 取 溶 劑	腫 瘤 細 胞	抗 癌 效 果*
蒲 公 英	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 100
蘇 丹 片	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 50
葛 根	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 80
決 明 子	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 90
佉 鶴 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 80
夏 枯 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 90
散 血 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 103
散 血 草	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
苦 參	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 136
虎 杖	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 83
虎 杖	CHCl3	P388	400 mg/kg 90
半 枝 蓮	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 81.8
半 枝 蓮	CHCl3	P388	400 mg/kg 92.3
蛇 舌 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 30.8
蛇 舌 草	H2O	P388	400 mg/kg 92.3
紫 草	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 20
紫 草	CHCl3	P388	400 mg/kg 74
海 藻	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 105
細 葉 虎 刺	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 103
細 葉 虎 刺	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)
小 葉 朴	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 106
小 葉 朴	95 % Alc.	KB	ED 50 1.2 X 10(2)
牛 筋 藤	95 % Alc.	P388	400 mg/kg 108
牛 筋 藤	95 % Alc.	KB	ED 50 1.0 X 10(2)

抗癌效果*表示 KB 之 ED 50 (ug/ml) 小於 4 ug/ml 或 P388 之大於 T/C (%) 大於 130 % 則有效。

二、本研究之選汰試驗利用下述方法：

1. 體外篩選：

(a) 利用 dye exclusion 或 electronic particle counter 測定藥物細胞毒殺作用癌細胞株用 RPMI 及 5 % FCS 稀釋成 1×10^4 /ml 細胞，將其植入 24 孔徑之培養皿中，在 37 °C 溫箱中培養 2 天後，加入欲篩中草藥抽出物在培養四天，計算其細胞數，由細胞生長曲線求得 ED 50 若值 $\leq 20\mu\text{g/ml}$ ，則判斷有效。

(b) 利用 MIT 測定法作為篩選方法

實驗當天將癌細胞用適當之 RPMI-1640 稀釋，使每毫升含 1.6×10^4 /ml，植入 96- well 之培養皿中 (180ul/well)，再將要篩選的各種不同藥物且不同濃度加入 well 內 (20 ml/well)，放置 37 °C，5 % CO₂ 培養箱中培養 4 天，加入 MIT 溶液（配法：稱 MIT5mg 溶於 PBS 1 ml），每 well 加 20 ul MIT，然後再培養 4-6 小時後，用 micropipete 吸除上清液 180 ul/well（勿接觸到 well 的底層），加二甲亞楓 (DMSO) 200ul/ml，每一個 well 分別混合均勻，放置水浴振盪器搖動（速度 80-120 次 /mm），以波長 540nm 及 690nm 光譜分析儀測 O .D. 值。

篩選判定標準：

$$\text{吸光度比值} = \frac{\text{試驗組吸光度平均值}}{\text{對照組吸光度平均值}}$$

LD 50 定義：吸光度比值為 50 % 之劑量

2. 體內篩選：

(a) P388 淋巴性白血癌實驗：

將已接種 P388 淋巴性白血癌細胞之 DBA/2 小鼠，抽出其腹水稀釋成 1×10^6 /ml 後移植於實驗之 CDF1 小鼠腹腔內，欲測之中草藥抽出物，注入小鼠腹腔內 1 至 9 天，計算其平均存活天數 (median survival time) 再與其對照比較 (T/C) 若大於 130 % 則藥物有效。

陸、研究討論：

治癌的方法，一般採用手術摘除，或施行放射線治療，然而對已遍佈全身之癌或其本身無法施行手術者（如白血病），則採取化學療法。癌瘤之化學療法由於對病因未能徹底了解，故發展不如理想，近數十年來由於對於核酸及酵素之生化學研究，學者可應用核酸合成之知識，作為設計抗癌藥物分子之理論依據。多種現用之抗癌藥物如 methotrexate、5-fluorouracil、6-mercaptopurine、cytosin-arabioside 等，均屬經由推理設計而成之抗癌藥。但多種現今使用之抗癌藥物則純係由選汰法 (screening test) 產生，此等藥物包括抗生素及植物產品如：Dactinomycin、daunomycin、vincristine、colchicine 及其衍生物，podophyllotoxin 及其衍生物等，此類藥物純係由實驗

篩近 40 種中草藥，其中逐水消腫之芫花、甘遂、及清熱解毒藥黃連等，以及苦參、茜草、及敗醬草都被初步證實有細胞毒性作用或抗腫瘤作用，欲定進一步將人癌細胞株接種於裸鼠身上，做進一步證實抗癌效果，又荊蔓子及蘇丹片初篩有中毒現象 ($T/C \leq 85\%$)，故欲定減低劑量再測試。

抽取中藥初期使用水煮沸 25 至 30 分鐘，然後再取其抽出液濃縮乾燥，再測試抗癌活性，其缺點較難濃縮，並且時間稍久，易生霉，故後來採用美國國家癌症中心之方法抽取較為理想。

第一年計畫因基於時間（僅七個月），及人力（技術員需訓練）較受影響，故成效也未盡理想，欲定下半年度繼續並擴大篩選工作，並委託其它研究機構如：北醫楊玲玲教授提供中草藥，及方劑以利研究進行，有關測定中藥免疫增強劑之試驗，由於協同主持人陳豪勇博士之協助參與，現正積極進行中。

誌謝

本研究承蒙行政院衛生署中藥委員會（計畫編號：DOH-CD28）之資助，始得順利完成特在此僅致最深之謝意。

柒、參考文獻：

1. Finlay GJ, Baguley BC. The use of human cancer cell lines as a primary screening system for antineoplastic compounds. *Eur J Cancer Clin oncol* 1984;20: 957-54.
2. Simo TM, Kunishima DH, Vibert GJ, et al. Screening trial with the coordination gold compound auranofin using mouse lymphocytic P-388. *Cancer Res.* 1981;94-7.
3. Chia-fu Chen, Jing-Min Hwang, Wei Lee, Hsueh-Ching Ching, Jih-Chang Lin, Hour-Young Chen. Search for Anti-tumor agents from Chinese herbs 1. Anti-tumor screening method. *Chin Med J* 1988;41:177-184.
4. 鄧哲明中藥大型研究計畫簡介，生命科學簡訊，1991，3月；第五卷第三期，P8。

西施花降血壓作用機轉之探討

中國醫藥學院

蔡輝彥

壹. 序言:

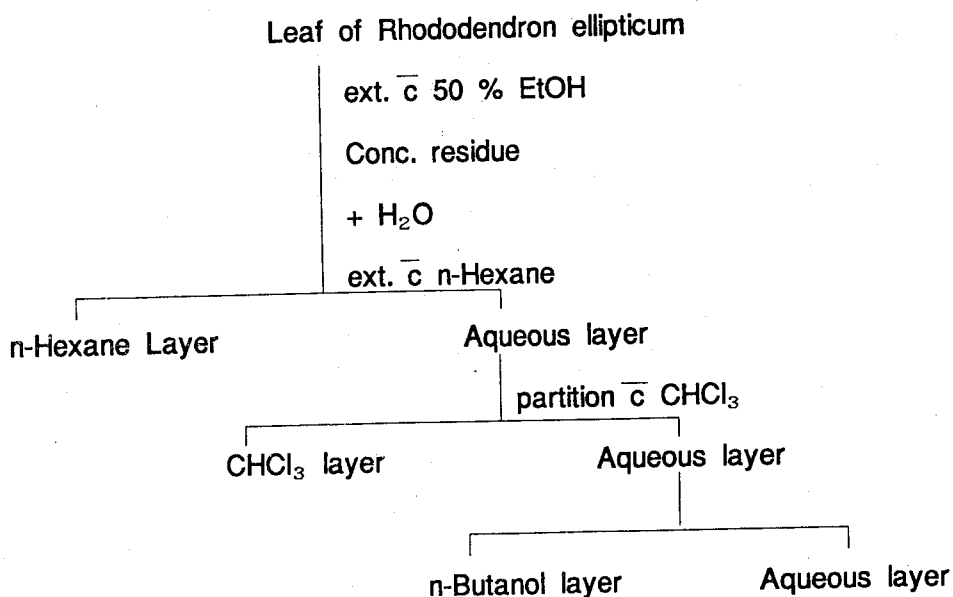
近年來，國人工作步調漸漸加快，生活日趨緊張，高血壓等心臟血管疾病罹患率有逐漸升高的趨勢，所以理想的高血壓治療劑的開發是刻不容緩的。

西施花 (*Rhododendron ellipticum* MAXIMOWICZ)，係台灣之民間用藥。為杜鵑花科(Ericaceae) 植物，台灣民間以本植物之葉用於治療高血壓。本研究室經藥物篩選，發現西施花 50 % 酒精水抽出物確實具有降低正常大白鼠血壓的作用，其有效成分可能在其正丁醇溶出層，故進一步探討其降血壓之作用機理，希望能得知其確實療效及作用原理，有助於理想的高血壓治療劑的開發。

貳、實驗材料及配製:

一、西施花之提取與分離:

採得西施花葉，陰乾後切片，以 50 % 乙醇溶液於室溫下浸泡一週，如此反覆抽取三次，經過濾，合併減壓濃縮得粗抽物。加水使成懸浮液，再以正己烷萃取三次，減壓濃縮至乾，得正己烷層。同上法，依序以氯仿、水飽合之正丁醇萃取，得氯仿層、正丁醇層及水層。(如圖一)



<圖一>

二、藥品之配製:

1. 西施花對血壓之影響:

西施花以生理食鹽水溶解，離心後取上清液由股靜脈給藥。

下列各藥分別以生理食鹽水溶解，由股靜脈給藥: atropine 1.0 mg/Kg/hr, phenylephrine 0.125 mg/Kg/hr, nifedipine 5 mg/Kg/hr, chlorpheniramine 3 mg/Kg/hr。

2. 西施花對青蛙腹直肌之影響:

Chlorpheniramine (Vena) (30 mg/Kg), indomethacin (9 mg/Kg)

，以生理食鹽水溶解，由腹腔給藥。

Frog-Ringer sol'n (Ca^{++} and Ca^{++} free):

(salts in g/5 liters)

NaCl 32.50

NaHCO_3 1.00

KCl 0.70

CaCl_2 0.79

Aeration air

Ach(10^{-5} M)以生理食鹽水溶解。

3. 皮膚滲透性實驗:

serotonin (5-HT 1 nM/site) , Histamine (His 50 nM/site)

分別以生理食鹽水溶解，用於皮膚視窗滲透性反應(Skinwindows test)。

三、實驗動物

雄性Wistar(200-250 g)或Sprague-Dawley(150-225 g)大白鼠，
餵食一般老鼠飼料，自由給水，於室溫下飼養。於實驗前十二小時禁食，但可自由給水。

雄性ICR 小白鼠，重18-25 g，飼養方式同上。

參、實驗方法:

一、急性毒性實驗:

實驗係採 Litchfield 和 Wilcoxon之方法，使用體重18-25 g ICR
系雄性小白鼠，全草粗抽出物腹腔給藥後，連續觀察 72 小時，記錄
其中毒及死亡情形，求得使小白鼠一半死亡之劑量及其 95 %可信度。

二、西施花對正常大白鼠血壓影響:

使用 200~250 g Wistar系之大白鼠，以Urethane(1.25 g/kg)
腹腔注射麻醉後，游離出股動脈和股靜脈，各插入內徑0.38 mm，外
徑 1.09 mm 之聚乙烯管 (Polyethylene tubing)，股動脈插管內充滿
Heparin 0.1 mg/ml Saline，另一端藉Pressure transducer接入GOULD
pressure processor amplifier 並以GOULD 2600S recorder記錄血壓
，等血壓平穩後，由股靜脈給藥，並記錄血壓之變化。(實驗組給予
用生理食鹽水配製的西施花，離心後取上清液給藥，對照組則給予同
量之生理食鹽水。)

三、西施花對預先投與藥物之大白鼠血壓的影響:

實驗如同一，僅於游離靜脈血管後，再度游離另一靜脈，接上自

動輸液設備 Perfusor (B. BRAUN) 並於實驗前持續投與 atropine 1.0 mg/kg/h, phenyephine 0.125 mg/kg/h, chlorpheniramine 3 mg/Kg/hr, nifedipine 5 mg/kg/hr 等藥物, 等血壓平穩後, 由股靜脈給藥。

四、西施花對離體青蛙腹直肌的影響:

青蛙以探針毀其腦及脊髓, 打開腹腔, 暴露腹直肌, 剪斷胸骨, 在劍突處剪斷附著於其上之一對腹直肌, 置於通有氧氣之 Krebs-Ringer 氏液中, 清洗乾淨。然後從正中分開二腹直肌, 取其中一塊, 二端縫線一端固定在 L 形管上, 上端連接描記槓桿。

將此標本置於含 10 毫升 Krebs-Ringer 氏液之 Magnus 氏器官槽 (Organ bath) 內, 槽內並通入氧氣, 以循環式水浴槽將器官槽內溫度維持在 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。藉 GOULD Isometric transducer 接入 GOULD transducer amplifier 並以 GOULD GOULD 2600S recorder 記錄腹直肌收縮、舒張情況。肌肉懸掛張力維持在 0.5 公克左右, 待平衡 90-120 分鐘血管張力穩定後給藥。其間每 15 分鐘更換 Krebs's ringer solution 一次。實驗前以 Norepinephrine 10^{-7} M 或 K^{+} 30 mM 使肌肉收縮, 記錄其最大收縮程度與收縮情形。

五、皮膚視窗滲透性反應 (Skin windows test) :

本實驗採 Otani 及 Hugli 皮膚視窗試驗經修飾的方法, 用體重 150-225 g Sprague -Dawley 系雄性大白鼠, 稱重分組後給藥, 30 分鐘後, 以 pentobarbital 30 mg/kg 體重腹腔注射麻醉, 腹部毛以電動剃毛機小心剃除, 並在腹部皮膚上用筆標示六分區, 由陰莖靜脈注入 2% Evans blue (0.15 ml/100 g), 兩分鐘後, 在各分區皮內給予 50 μl 之下列不同的致炎物質: Histamine (His 50 ng/site), serotonin (5-HT 1 nM/site) 及 saline。三十分鐘後犧牲之。取下直徑約 20 mm 的各分區滲藍皮膚, 將之剪碎, 並置於 3 ml 的 0.5 % sodium sulfate 及 7 ml 的 acetone 之混合液中萃取, 經二十四小時後, 以 600 g 的速度離心二十分鐘 (KUBOTA KA-100), 小心傾出上清液, 使用分光光

度計 (Bacharach coleman 35 spectrophometer) 在 620 nm 的波長下測其吸光度。

肆、實驗結果之統計分析：

本研究結果的數據，以 Unpaired Student's t-test 或 Paired Student's t-test 方法統計之，以分析其間差異的顯著性，凡 P 值小於 0.05 時，則認為其差異有統計意義。

伍、結果：

一、急性毒性實驗:(表一)

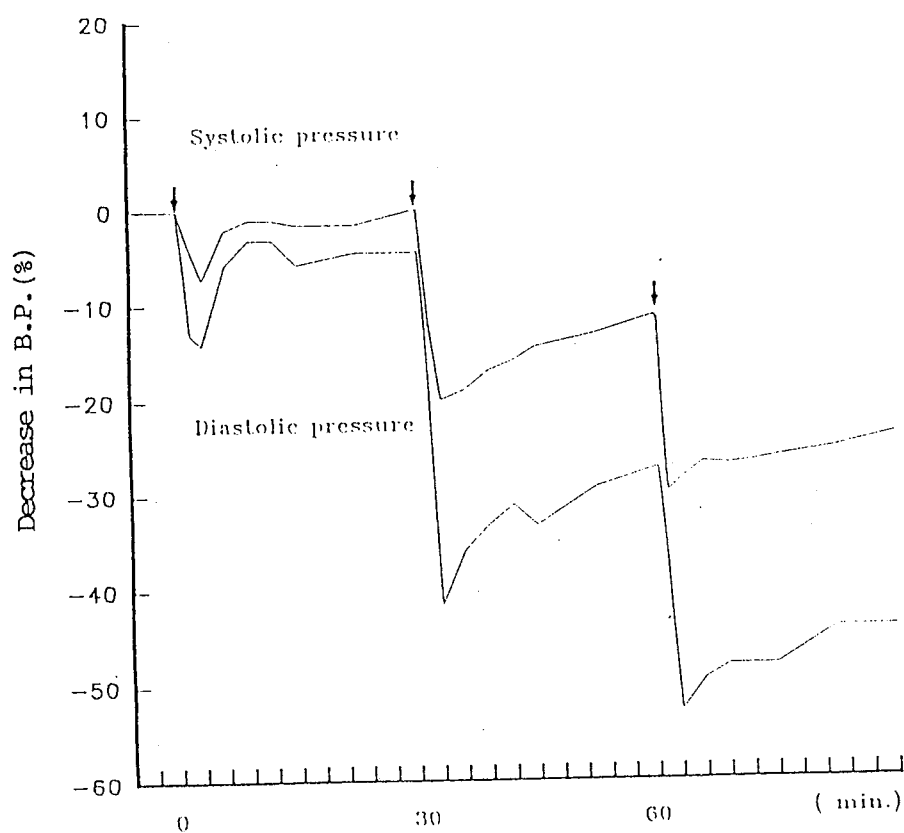
由腹腔給與西施花，作小白鼠之急性毒性試驗，其半數致死劑量為 485.00 mg/Kg，95 % 可信度為 394.62 - 593.10 mg/Kg

LD50 (mg/kg)	485.00
95% Confidence Limit (mg/kg)	394.60-593.10

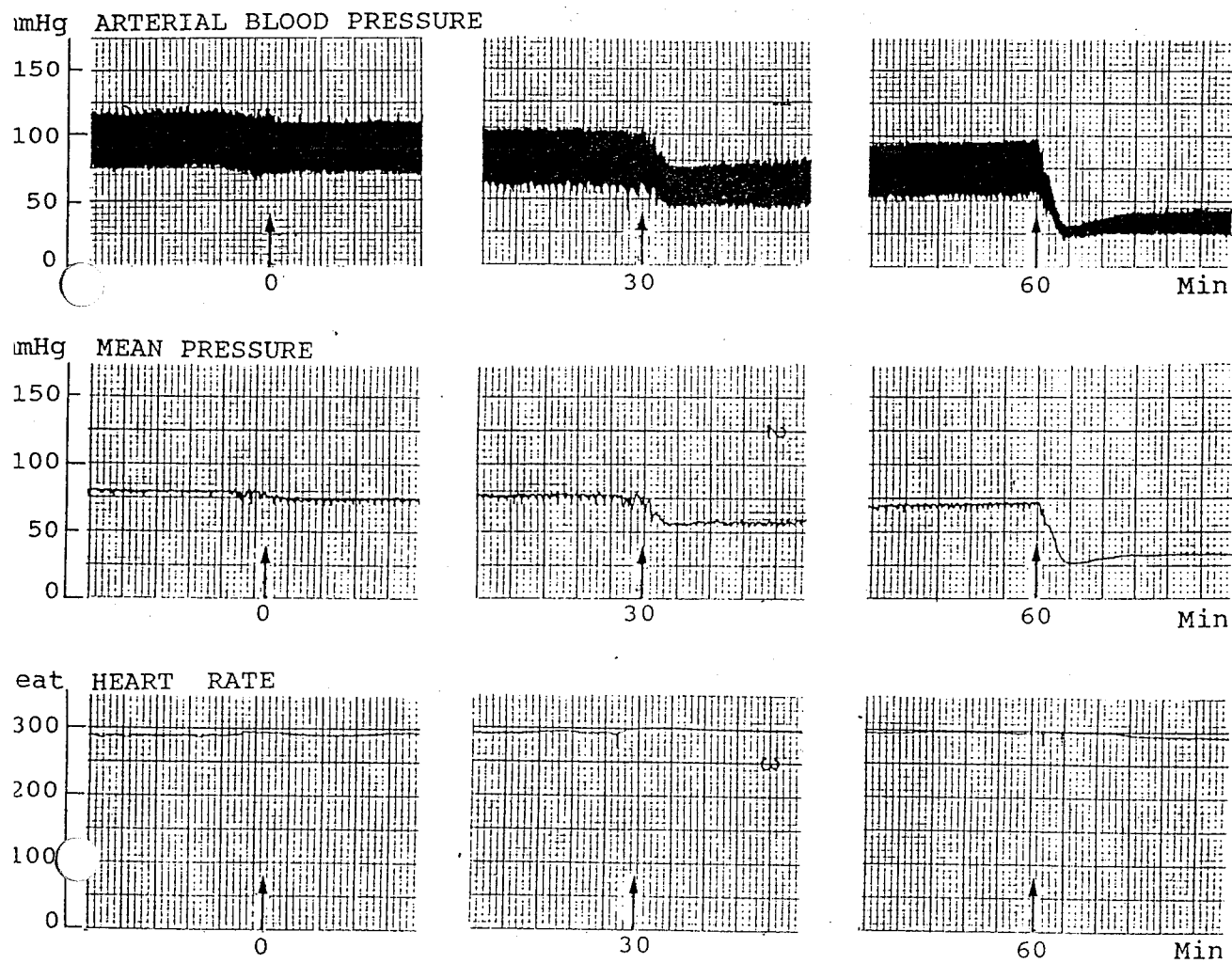
<表一>西施花對小白鼠之急性毒性實驗之影響

二、西施花對正常大白鼠血壓影響:(圖二、圖三、)

正丁醇層水溶部分具有降血壓之作用，其作用經多次靜脈給藥，比一次給藥之降壓作用強且持久(圖二)。對收縮壓及舒張壓均有下降之情形，且對心跳影響不大(圖三)。



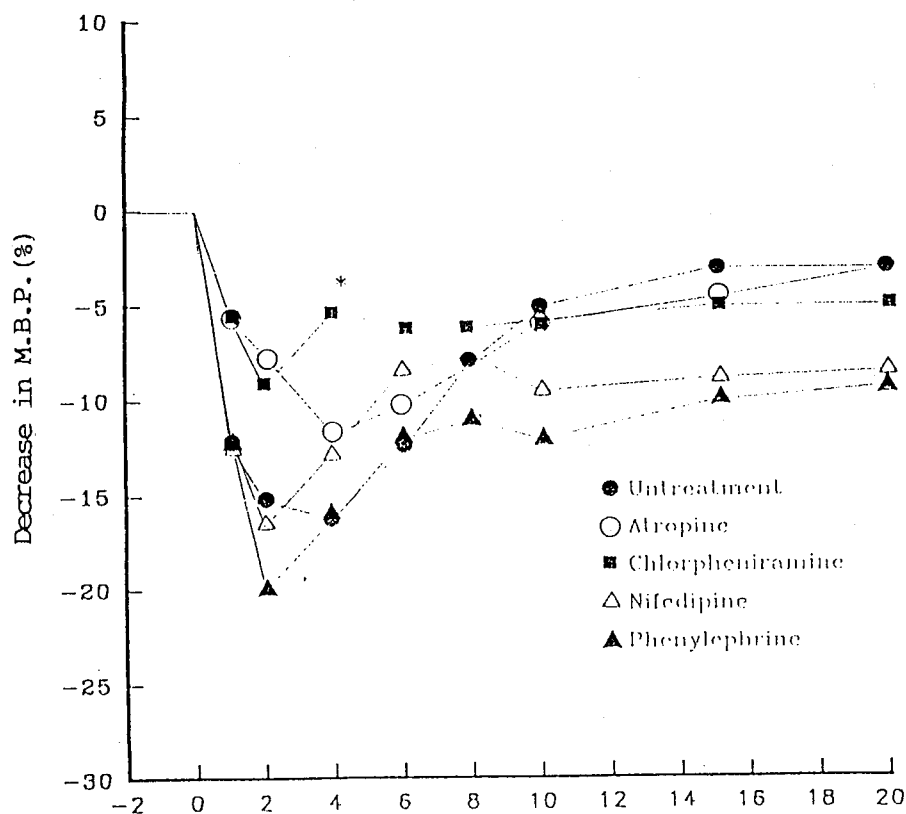
<圖二>西施花連續三次給藥，對正常大白鼠收縮壓及舒張壓之影響。



<圖三>西施花對大白鼠血壓及心跳之影響

三、西施花對預先投與藥物之大白鼠血壓的影響:(圖四)

事先連續給予下列藥物: Atropine 1.0 mg/Kg/hr, Phenylephrine 0.125 mg/Kg/hr, Chlorpheniramine 3 mg/Kg/hr, Nifedipine 5 mg/Kg/hr後, 再給予西施花; 其中Chlorpheniramine可拮抗西施花之降壓效果, 而其他藥物則無統計上之意義。

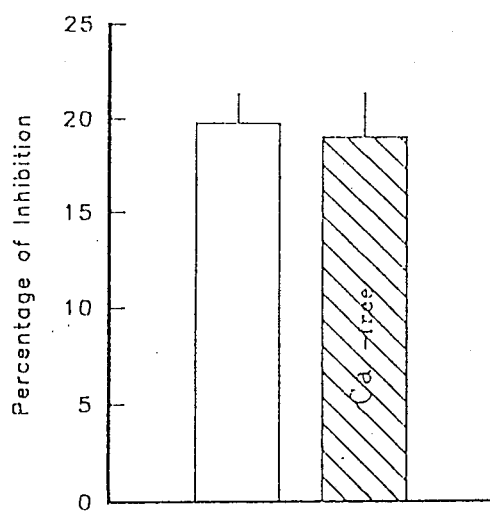


<圖四>西施花對預先投與藥物之大白鼠血壓之影響

藥物: Atropine 1.0 mg/Kg/hr, Phenylephrine 0.125 mg/Kg/hr
Chlorpheniramine 3 mg/Kg/hr, Nifedipine 5 mg/Kg/hr, saline

四、西施花對離體青蛙腹直肌的影響:(圖五)

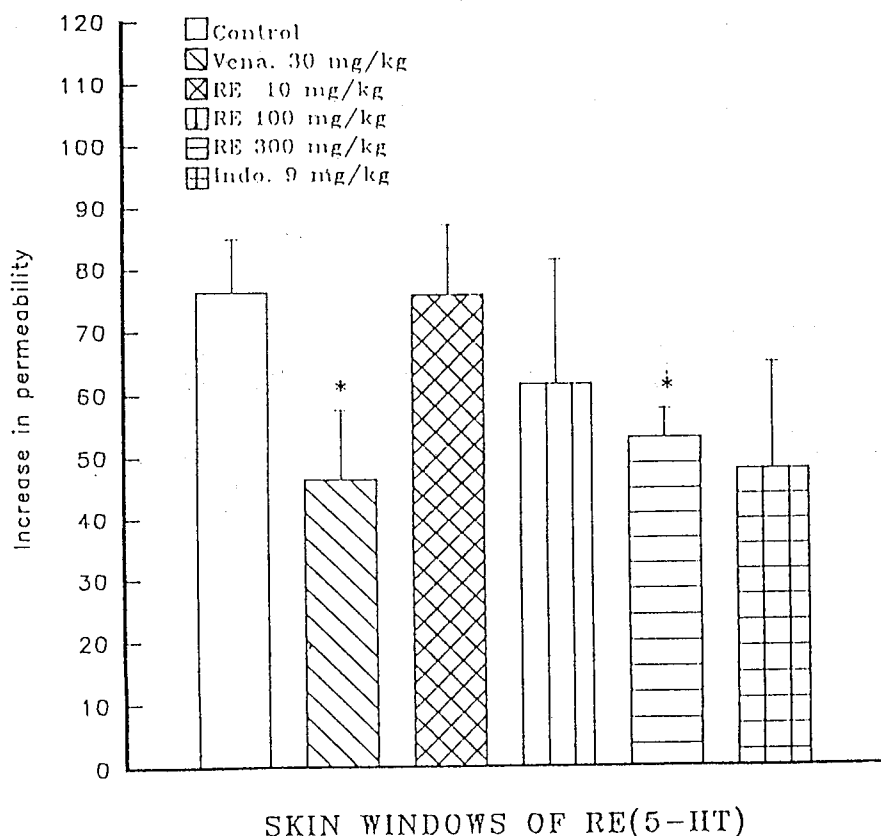
西施花可對抗 Acetylcholine 引起之離體青蛙腹直肌收縮。
其收縮作用並不受 Ca^{++} 之影響。



<圖五> Ca^{++} 之有無對西施花所對抗 ACh 引起之離體青蛙腹直肌收縮之影響

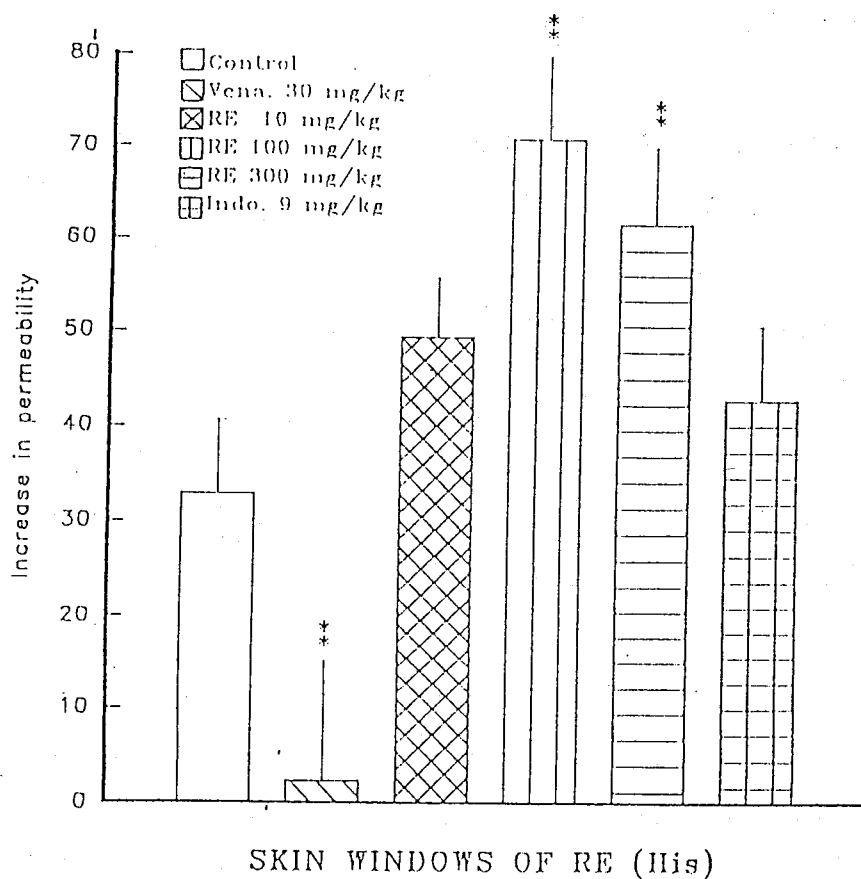
五、皮膚視窗滲透性反應 (Skin windows test) :(圖六、圖七)

事先投與三個不同劑量之西施花(IV)，會呈 Dose-Dependent 降低皮膚血管之通透性，對抗 5-HT 之作用。其中西施花 300 mg/Kg 及 Chlorpheniramine (Vena) 30 mg/Kg 具有統計上之異差，而其他則無統計上之意義(圖六)。



<圖六>西施花不同濃度對於 5-HT 所引起之皮膚視窗通透性改變之影響

事先給與三個不同濃度之西施花，對 Histamine 引起之皮膚血管通透性改變，有加成之作用；其中西施花 100 mg/Kg, 300 mg/Kg 具有統計上之意義。而 Chlorpheniramine (Vena) 可減少通透性，且具統計上之異差。



<圖七>西施花不同濃度對於 Histamine 引起之皮膚視窗滲透性改變之影響

陸、結論:

一、正丁醇層水溶部分對於小白鼠經腹腔給藥，其半數致死劑量(LD50)及95% 可信限為 485.00 mg/kg (394.62-593.10mg/kg) 。

二、正丁醇層水溶部分具有降壓之作用，其作用經多次靜脈給藥，比一次給藥之降壓作用強且持久。而在大劑量下(60mg/kg) 靜脈給藥大白鼠會因呼吸抑制而死亡。

三、正丁醇層水溶部分所致之降壓作用，不被 phenyephine, atropine 及nifedipine 所拮抗，但可被 chlorpheniramine 所抑制。

四、正丁醇層水溶部分10, 100, 300 mg/kg經口投與，可增加histamine 所致之大白鼠皮膚血管通透性。

五、正丁醇層水溶部分 0.3 mg/ml對於青蛙腹直肌收縮有抑制作用，此作用不受鈣離子濃度影響。

綜合以上之結果，西施花正丁醇層水溶部分之降壓作用，可能係間接經由組織胺游離所引起；而其對呼吸之抑制作用，除了與橫隔肌之抑制有關外，可能與組織胺游離及中樞之抑制有關，正進一步探討中。

柒、參考文獻:

1. D. C. Plug, Arch. ges. physiol. 40 : 480 (1887)
2. S. W. Hardikar, J. Pharmacol. exp. Thre. 20 : 17 (1922)
3. W. C. Lin, H. L. CHANG, T. W. TAN and H. Y. TSAI,
Chin. Med. J. , 32 : 443-7 (1983)
4. Y Kageyama ,H Juzuki ,K Arima and T. Saruta,
Hypertension, 10 : 375-382 (1987)
5. Goldblatt H ,Lynch J. H. ,Hanzal R. F. and Summerville W. W. ,
J. Exp. Med. , 59 : 347-380 (1934)
6. R. F. Furchgott and S. Bhadrakam,
J. Pharmacol. exp. Thre., 108 :129 (1953)
7. J. T. Litchfield and F. A. Wilcoxon,
J. Pharmacol. Exp. Ther., 96 : 99-113 (1949)
8. 謝明村,陳介甫,蔡宗統,
中國醫藥學院研究年報 Vol. 12 (1981)
9. A. Otani and T. E. Hugli,
Inflammation, 2 : 67-82 (1977)
10. R. P. Hof and U. T. Rueegg ,
American Journal of Medicine 86 (4A) : 50-6 (1989)

棒錘瓜之抗發炎及抗血小板活性化因子之藥理學研究

中國醫藥學院醫學系・藥理學系

林文川

(I) 棒錘瓜抗發炎作用之藥理學研究

摘要

棒錘瓜臺灣民間主要用於跌打損傷，本研究使用各種的發炎模式來探討其抗發炎作用。首先檢討棒錘瓜的甲醇粗提取物及其各種不同溶媒的提取物，對小白鼠腹腔注射醋酸引起血管滲透性亢進的作用，結果顯示甲醇粗提取物及乙酸乙酯提取物具抑制效果。因此對乙酸乙酯提取物做進一步研究。乙酸乙酯提取物對鹿角菜、福馬林引起的足蹠浮腫具抑制作用，但對化活物 48/80，緩動素則無效。另外，對鹿角菜引起的胸膜炎，能抑制滲出液體積、滲出蛋白質、前列腺素 E2 樣物質的產生及滲出液中白血球的移動。但是對於綿球肉芽增生則無抑制作用。這些結果顯示棒錘瓜對急性發炎的效果優於慢性發炎。

前言

棒錘瓜 (*Neoalsomitra integrifoliola*, Curcubitaceae) 臺灣民間用於發炎、肝炎及甲狀腺腫。本研究的目的是在於使用各種不同的實驗動物模式來探討棒錘瓜的抗發炎作用。

材料與方法

1. 棒錘瓜抽出物之製備

棒錘瓜的莖與葉在室溫陰乾後以甲醇抽取。經減壓濃縮後，抽出物分散

懸浮於蒸餾水中，而後再以不同的溶媒正己烷 (n-hexane)、乙酸乙酯 (ethyl acetate)、正丁醇 (n-butanol) 連續抽出，如圖 1。

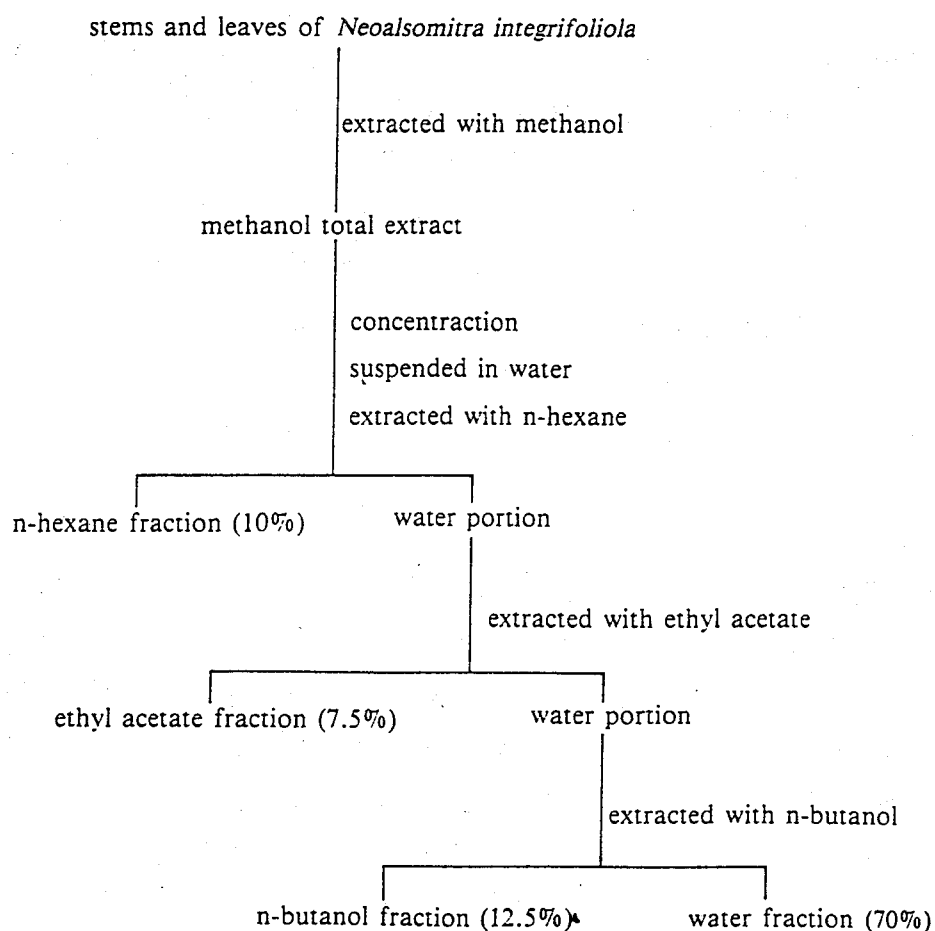


圖 1 .

2. 腹腔血管滲透性

使用 ICR 系小白鼠，體重約 20-24 公克。經口給與棒錘瓜的甲醇粗抽出物及其各種不同溶媒分層抽出物，經 40 分鐘後由尾靜脈注入藍色色素 (4 %

pontamine sky blue)，同時由腹腔注入 0.6 % 醋酸，經 20 分鐘後，將小白鼠屠殺之。剖開腹腔，以 10 毫升的生理食鹽水洗出色素，以分光光度計 (Perkin-Elmer;junior model 35) 在 590nm 下測其吸光度，腹腔血管滲透性以滲出色素的量表示之。

3. 足蹠浮腫

使用 SD 雄性大鼠，體重約 180-210 公克。足蹠體積以血管充盈度計 (Plethysmometer ;Ugo basile 7150) 測量。未給藥之前先測右腳足蹠體積。而後大白鼠經口給與乙酸乙酯抽出物，30 分鐘後在右腳足蹠部經皮下注入 0.1 毫升的致發炎劑。所用的致發炎劑有 1 % 鹿角菜 (carrageenan)、1 % 福馬林、0.1 % 緩動素 (bradykinin) 及 0.1 % 化合物 48/80 (compound 48/80)。足蹠體積在前 2 小時，每隔 30 分鐘測量一次，而後每 1 小時測量一次，共 3 次。浮腫以增加的體積表示之。

4. 胸膜炎

使用 SD 雄性大鼠，體重約 200-250 公克。經口給與乙酸乙酯抽出物，30 分鐘後由胸腔注入 0.15 毫升 1 % 鹿角菜。鹿角菜注入 3 小時後，在乙醚麻醉下大白鼠由頸部放血屠殺之，剖開胸腔，依 Vinegar 氏 (1) 的方法收集滲出液。測滲出液體積，滲出液中白血球的量以血小板計數器 (Platelet Counter;PL-110 Sysmex) 算出，滲出液蛋白質的量依 Lowry 法 (2) 測之。

又，胸膜炎滲出液中前列腺素 E₂ 樣物質，使用大鼠胃底部條片作生物檢定定量之。合併 5-10 隻大白鼠的胸腔滲出液，以鹽酸酸化至 pH 值為 3，而後以 6 倍量的乙酸乙酯抽出 2 次。溶媒以離心減壓濃縮器 (Eyela,CVE-100D) 濃縮之，乾燥物在作生物檢定前加入 1 毫升的 Krebs 溶液。大鼠胃條片依 Vane 氏 (3) 的方法製作，測定時依 Wills 氏方法 (4) 以 Krebs 溶液 (37 °C) 每分鐘 10 毫升的速度表面灌流之。Krebs 溶液的組成為 (mM): NaHCO₃ 25; NaCl 120、KCl 4.7、CaCl₂ 2.5、KH₂PO₄ 1.2、MgSO₄ 5.6 通氣體 95 % O₂-5 % CO₂。為確定是來自滲出液中前列腺素的收縮作用，在表面灌流液中加入前列腺素合成抑制劑 indomethacin (2.79 μ M)，及一些拮抗劑如 atropine (0.34 μ M)、pyrilamine (0.35 μ M)、phenoxybenzamine (0.33 μ M)，methysergide (0.56 μ M)

，propranolol($7.71 \mu\text{M}$)(5)。胃條片的收縮以等尺性訊息傳遞器(Ugo basile)記錄之。

5. 肉芽腫

使用SD系大鼠，體重200-250公克。在乙醚麻醉下，依Swingle氏(6)方法，在兩側鼠蹊部埋入事先經消毒過的棉球（重量為 $39 \pm 2\text{mg}$ ）。而後每天一次經口給與乙酸乙酯抽出物，經6天後在乙醚麻醉下，取出棉球，置於玻璃皿上，在 70°C 經一晚烘乾，冷卻後算出肉芽重量。

6. 統計方法

皆使用單尾變異數分析(ANOVA)及Dunnett試驗。

結果

1. 腹腔血管滲透性

如表一所示，小白鼠經口給於甲醇粗抽出物，對醋酸引起的腹腔血管滲透性亢進作用具用量依存性抑制作用。由圖一所示比例推算出，相對於甲醇粗抽物 200mg/kg 的各分層用量，經口投與，只有乙酸乙酯層具抑制作用，且顯示用量依存性。

Table 1. Effect of various extracts of *N. integrifoliola* on the vascular permeability increase induced by acetic acid in mice.

g	Dose (mg/kg)	Dye Leakage ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)	Inhibition (%)	No. of Animals
Saline	-	375.25 ± 56.08	-	10
MeOH ext.	50	317.13 ± 38.15	15.48	10
	100	$158.63 \pm 33.85^{**}$	57.72	10
	200	$107.40 \pm 12.88^{**}$	71.38	10
Saline	-	205.00 ± 40.78	-	8
n-Hexane ext.	20	166.72 ± 21.41	18.67	8
EtOAc ext.	15	$43.28 \pm 7.99^{**}$	78.88	8
n-Butanol ext.	25	216.56 ± 51.88	+5.60	8
Water ext.	140	127.34 ± 16.60	37.88	9
Saline	-	117.75 ± 16.60	-	8
EtOAc ext.	7.5	86.06 ± 8.27	26.91	8
	10	$58.25 \pm 8.19^{**}$	50.53	8
	15	$54.43 \pm 8.01^{**}$	53.77	8

All values are means \pm S.E.M. $^{**}p < 0.01$ compared with saline group.

2. 足蹠浮腫

如圖 2(A) 所示，口服乙酸乙酯抽出物 (10mg/kg) 顯示對鹿角菜所引起的足蹠浮腫具抑制作用，對照藥物 indomethacin(10mg/kg,p.o.) 也具抑制效果。

如圖 2(B) 所示，口服乙酸乙酯抽出物 (10mg/kg) 顯示對福馬林所引起的足蹠浮腫具抑制作用，但對照藥物 indomethacin(10mg/kg,p.o.) 卻不具效果。

如圖 2(C,D) 所示，口服乙酸乙酯抽出物對緩動素及化合物 48/80 所引起的足蹠浮腫無效。但對照藥物組織胺及血清素 (serotonin) 的拮抗劑 cyproheptadin(9mg/kg,p.o.) 可以很強的抑制化合物 48/80 所引起的足蹠浮腫。

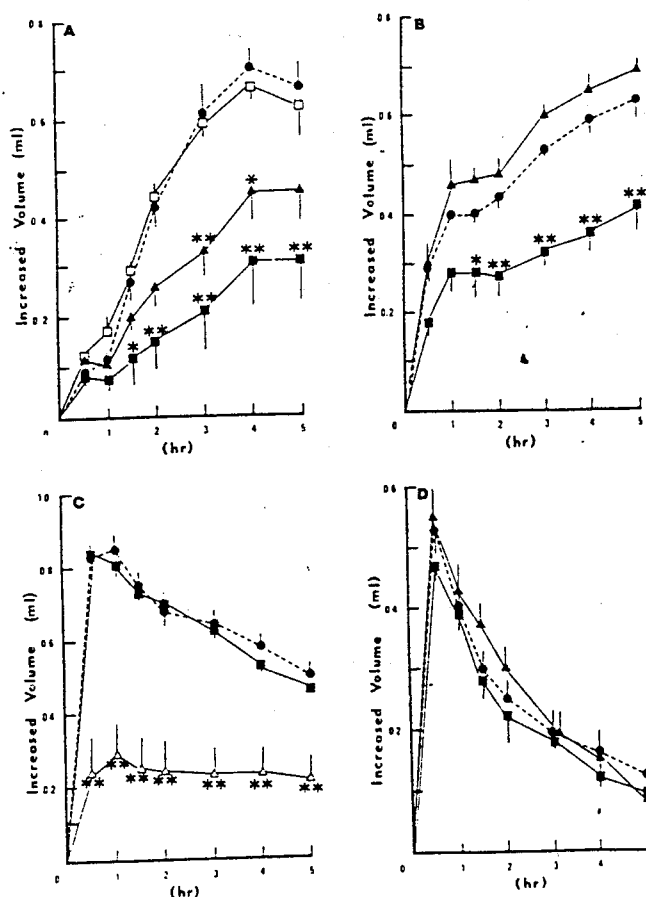


Fig. 2 Effect of EtOAc ext. on (A) carrageenan, (B) formalin, (C) compound 48/80 and (D) bradykinin induced rat paw edema. ● : saline, ■ : EtOAc ext. 10mg/kg, □ : EtOAc ext. 5mg/kg, ▲ : indomethacin 10mg/kg, △ : cyproheptadin 9mg/kg. All values are means \pm S.E. of 8 rats. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group.

3. 胸膜炎

對大鼠鹿角菜所引起的胸膜炎，如表二所示，乙酸乙酯抽出物 (5,10mg/kg) 及 indomethacin(10mg/kg) 皆顯示可以減少滲出液體積、滲出液中的蛋白質及白血球的量。

前列腺素 E2 標準品對大鼠胃條片的收縮作用具用量依存性。當用量在 0.05ng 及 0.5n g 之間時具直線相關 ($y=4.661x+0.846, r=0.994$)。

以大鼠胃條片來測胸腔滲出液中前列腺素 E2 樣物質的量，結果顯示口服乙酸乙酯抽出物 (5,10mg/kg) 具明顯抑制胸腔滲出液中前列腺素 E2 樣物質的產生 (圖 3 及表三)。

Table 2. Effect of EtOAc ext. on carrageenan-induced rat pleurisy.

Drug	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)	Total WBC Count ($\times 10^6$)	Total Protein Assay (μ g tyrosine)	No. of Animals
Saline	-	1.00 \pm 0.09	52.09 \pm 9.98	742.44 \pm 36.96	8
EtOAc ext.	5	0.38 \pm 0.12**	28.55 \pm 10.61	476.01 \pm 72.39**	8
	10	0.11 \pm 0.04**	18.11 \pm 6.09**	336.36 \pm 40.30**	8
Indomethacin	10	0.19 \pm 0.04**	15.39 \pm 3.63**	396.85 \pm 26.30**	8

All values are means \pm S.E.M. **p < 0.01 compared with saline group.

Table 3. Effect of EtOAc ext. on prostaglandin E2-like substances production in rat pleurisy.

Drug	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)	PGE2-like Substances (ng/rat)	No. of Animals
Saline	-	0.99 \pm 0.05	0.39 \pm 0.03 (3)	19
EtOAc ext.	5	0.30 \pm 0.05**	0.12 \pm 0.05** (3)	26
	10	0.11 \pm 0.06**	0.03 \pm 0.02** (3)	29

All values are means \pm S.E.. **p < 0.01 compared with saline group.

() represents no. of groups. Each group requires 5-10 rats. Pleural fluid is collected from the combination of those rats for each group.

PG: prostaglandin

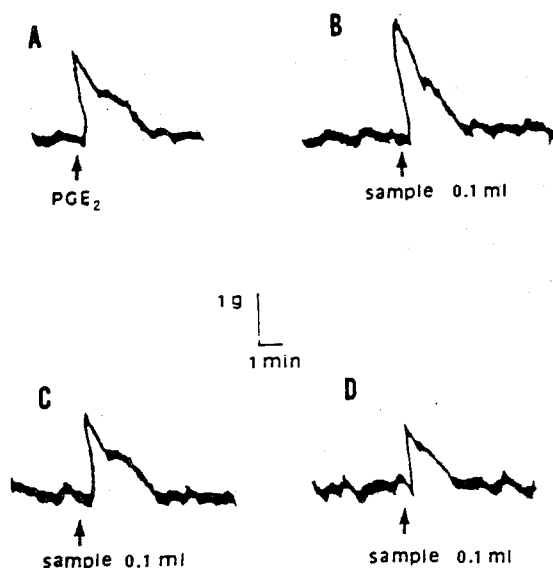


Fig. The bioassay of the crude extract from the sample and standard prostaglandin E₂ (PGE₂) on the rat stomach strip. (A) standard PGE₂ 0.1 ng, (B) control group, n = 5, (C) EtOAc ext. 5 mg/kg group, n = 8, (D) EtOAc ext. 10 mg/kg group, n = 10.

4. 肉芽腫

口服乙酸乙酯抽出物及 dexamethasone，對肉芽生成皆無抑制作用，控制組、dexamethasone(0.1mg/kg)及乙酸乙酯抽出物(2.5, 5.0, 7.5mg/kg)的肉芽重分別為 $23.7 \pm 1.2\text{mg}$, $22.4 \pm 2.1\text{mg}$, $22.0 \pm 1.1\text{mg}$, $25.8 \pm 1.9\text{mg}$, $23.7 \pm 1.2\text{mg}$ 。

討論

醋酸引起的小白鼠腹腔血管滲透性亢進作用實驗，顯示棒錘瓜甲醇粗提取物在劑量為 100mg/kg 及 200mg/kg 具抗發炎作用。為分離其有效成分，將甲醇粗提取物分散懸浮於蒸餾水中，而後連續用溶媒正己烷、乙酸乙酯、正丁醇抽出，和水層共四個分層中只有乙酸乙酯層具抑制腹腔血管滲透性亢進作用。這些結果顯示棒錘瓜抗發炎的活性成分存在於乙酸乙酯層中。

為了要進一步瞭解乙酸乙酯抽出物的抗發炎作用，因此檢討了乙酸乙酯抽出物對大鼠足蹠浮腫、胸膜炎及肉芽腫的抑制效果。

關於鹿角菜及福馬林引起的發炎已有一些文獻(7,8)指出，是由於促使一些化學傳遞物質釋出而導致急性發炎。乙酸乙酯抽出物可以抑制鹿角菜及福馬林所引起的足蹠浮腫。但對緩動素及化合物 48/80 不具作用。已知化合物

48/80 可促使肥大細胞放出組織胺 (9)，因此可知乙酸乙酯抽出物的抗發炎作用與緩動素及組織胺無關。

對大鼠胸膜炎，乙酸乙酯抽出物亦顯示具抗發炎作用，能減少滲出液的體積、滲出液中蛋白質、白血球及前列素 E2 樣物質的含量。然而對肉芽腫的形成則無抑制作用。這些結果顯示乙酸乙酯抽出物對急性發炎的效果優於亞急性發炎。

結論：棒錘瓜的抗發炎作用活性主要存在於乙酸乙酯層，其抑制作用機轉與前列腺素的產生有關。

(II) 棒錘瓜乙酸乙酯抽出物對血小板活性化因子 (PAF) 作用的拮抗

摘要

血小板活性化因子 (PAF) 在很多致命的病理上如：休克、氣喘、移植排斥及缺血所造成的傷害等佔很重要的角色。最近很多研究室致力於尋找 PAF 拮抗劑。前面的研究顯示棒錘瓜甲醇抽出物的乙酸乙酯分層具明顯的抗發炎作用，PAF 引發的發炎作用已有很深入的研究，因此本研究首先探討乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的種種發炎模式是否也有抑制作用，而後進一步探討乙酸乙酯抽出物與 PAF 之間相互作用的關係。獲得如下的結果：(1) 口服乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的皮膚滲透性有很好的抑制作用，但對緩動素及化合物 48/80 則無影響。(2) 對 PAF 和 arachidonic acid(AA) 的足蹠浮腫皆具抑制作用。(3) 對 PAF 注入後 30 分鐘引起的胸膜炎無影響，但對 6 小時後引起的發炎有抑制作用。(4) 可以抑制 PAF 引起的過敏性休克死亡。(5) 對 PAF 引起的大鼠降壓作用無影響。(6) 兔子體外血小板凝集試驗，對 collagen($20\ \mu\text{g/ml}$), AA($125\ \mu\text{M}$), thrombin(0.5U/ml), PAF(15pM), ADP($20\ \mu\text{M}$), A23187($2.5\ \mu\text{M}$) 等凝集劑引起的凝集作用皆具抑制效果，尤以對 collagen, AA 最為顯著。由這些結果顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的抑制作用，不是直接的作用，而是間接抑制 PAF 引起的化學媒介物質釋出。

前言

血小板活性化因子 (PAF) 在很多致命的病理上如：休克、氣喘、移植排斥及缺血所造成的傷害等佔很重要的角色 (10)。最近很多研究室致力於尋找 PAF 拮抗劑，第一個被發現的 PAF 拮抗劑銀杏內酯 (ginkgolides) 是由天然物獲得的 (11)。

臺灣民間藥棒錘瓜主要用於跌打損傷。先前的研究顯示棒錘瓜甲醇抽出物的乙酸乙酯分層具明顯抗發炎作用。PAF 引起的發炎作用已有很深入的研究 (12)，因此本研究首先探討乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的種種發炎模式是

否也有抑制作用，而後進一步探討其與 PAF 之間相互作用的關係。

材料與方法

1. 皮膚滲透性

使用 SD 雄性大鼠，體重約 200-250 公克。事先口服乙酸乙酯抽出物經 30 分鐘後，在乙醚麻醉下由陰莖靜脈注入色素 Evans blue，而後在腹部皮內注入致發炎劑 PAF($0.1 \mu\text{g}/\text{site}$)、緩動素 ($5 \mu\text{g}/\text{site}$) 及化合物 48/80($1 \mu\text{g}/\text{site}$)。經一小時後，在乙醚麻醉下，放血致死。取下直徑 20mm 大的滲藍皮膚，將之剪碎，於室溫下浸於 3 毫升 0.5 % 硫酸鈉及 7 毫升丙酮混合液中以溶出色素，24 小時後取出組織，溶液經 3000rpm 15 分鐘離心後，在 620nm 下測其吸光度。使用控制組皮膚的上清液來校正分光光度計的零點。

2. 足蹠浮腫

方法與前述相同，唯致發炎劑為 PAF($2.5 \mu\text{g}/\text{paw}$) 或 arachidonic acid(AA)。

3. 胸膜炎

方法與前述相同，唯致發炎劑為 PAF($1 \mu\text{g}/0.1\text{ml}/\text{rat}$)，大鼠屠殺時間為 PAF 投與後 30 分鐘或 6 小時。

4. 致死性

使用 ICR 系雄性鼯鼠，體種 20-25 公克。由尾靜脈注入 PAF($75 \mu\text{g}/\text{kg}$)。觀察 45 分鐘內的死亡率。乙酸乙酯抽出物及 dexamethasone 分別在 PAF 投與前 30 分鐘及 3 小時前口服投與。

5. 降壓作用

使用 SD 雄性大鼠，體重為 220-270 公克。在 urethane($1.35\text{g}/\text{kg}$ ，麻醉下，左頸動脈插入 PE 管，接於壓力訊息傳遞器 (Gould Statham P23XL)，頸動脈壓力變化以多用途生理計錄儀記錄之。右股靜脈插管供 PAF($0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$) 投與，

乙酸乙酯抽出物在 PAF 投與前 30 分鐘由經由皮下注射給與。

6. 血小板凝集作用

使用 2-3 公斤的家兔，以 3.8 % 檸檬酸鈉作為抗凝血劑，由耳動脈抽取全血，以 1:9 (v/v) 之比例混合之。以 1000rpm 的速度離心 10 分鐘，上層液為 platelet-rich plasma (PRP)，以血小板計數器 (sysmex PL-110) 計數血小板數目調整為 3×10^6 ，凝集的測定依 O' Brein 氏的混濁法 (13)。PRP 在加入凝集劑前一分鐘加入乙酸乙酯抽出物，凝集反應過程皆在 37 °C 下進行，凝集劑為 collagen ($20 \mu\text{g/ml}$)、AA ($125 \mu\text{M}$)、thrombin (0.5U/ml)、PAF (15pM)、ADP ($20 \mu\text{M}$)、A23187 ($2.5 \mu\text{M}$)。乙酸乙酯抽出物溶於 dimethyl sulfoxide (DMSO)，thrombin 溶於 50 % 的 glycerol 配成 100U/ml 的儲存溶液，collagen 在 25mM 醋酸下均質之以 1mg/ml 的濃度貯存於 -70 °C，A23187 溶於 DMSO。

7. 使用試劑

體內實驗時，乙酸乙酯抽出物以 1 % Tween 60 配成濃度為 0.5 至 10mg/ml。體外實驗時，乙酸乙酯抽出物溶於 DMSO，濃度介於 0.095 至 2.5mg/ml 之間。

血小板活性化物質 (PAF; 1-O-hexadecyl-2-acetyl-glycerol-3-phosphoholine)、緩動素 (bradykinin)、化合物 48/80 (compound 48/80)、cyproheptadine、arachidonic acid、dexamethasone、collagen (type I, bovine achilles tendon)、adenosine diphosphate、calcium ionophore A23187 (A23187) 及 thrombin 皆購自 Sigma 公司。除特別敘述外，皆溶於生理食鹽水。

8. 統計方法

以單尾變異數分析 (ANOVA) 及 Dunnett 試驗。致死性實驗以 X^2 -test 分析。IC50 及 95 % 可信賴限以 Litchfield and Wilcoxon 法求出 (14)。

結果

1. 皮膚滲透性

如表一所示，口服乙酸乙酯抽出物 (10mg/kg) 對於 PAF 引起的皮膚滲透性具抑制作用，但對緩動素及化合物 48/80 的滲透性則無影響。化合物 48/80 的滲透性可被 cyproheptadine(9mg/kg,p.o.) 抑制。

Table 1. Effect of EtOAc ext. on plasma extravasation response to PAF, bradykinin and compound 48/80 in rat skin.

Drugs	Dose (mg/kg)	μ g Evans blue/site		
		PAF	Bradykinin	Compound 48/80
Saline	-	128.9 \pm 7.8	46.4 \pm 3.8	66.7 \pm 4.8
EtOAc ext.	5	96.3 \pm 8.6	55.4 \pm 9.8	70.4 \pm 10.8
	10	72.5 \pm 11.5**	38.8 \pm 2.1	64.2 \pm 4.7
Cyproheptadine	9	-	-	16.2 4.3**

Values are mean response and standard errors expressed for groups of 6 rats. **p < 0.01 compared with saline group.

2. 足蹠浮腫

如圖 1 所示，大鼠後腳足蹠注射 PAF(2.5 μ g/paw) 或 AA(1mg/paw)，30 分鐘內可引起浮腫，90 分鐘達最高。口服乙酸乙酯抽出物 (10mg/kg) 或 dexamethasone(0.5mg/kg) 接可抑制 PAF 及 AA 引起的足蹠浮腫。

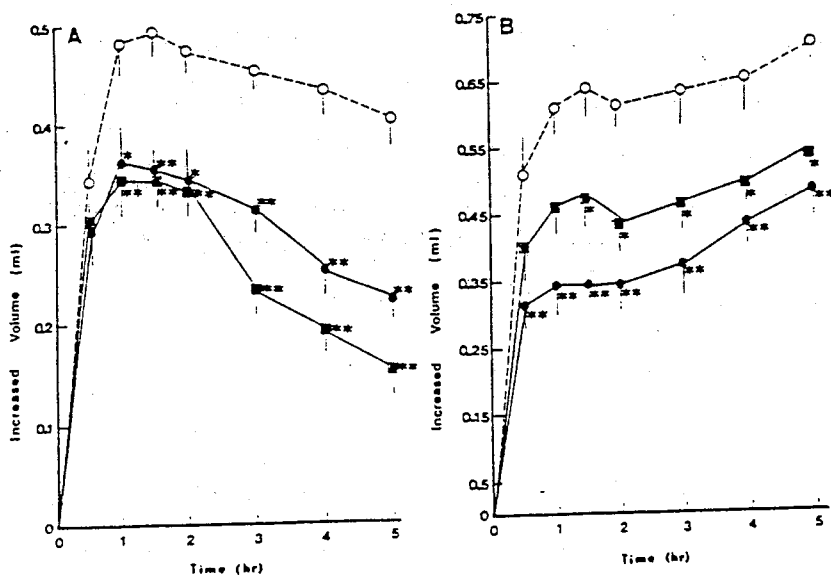


Fig. 1. Effect of EtOAc ext. on (A) PAF, (B) AA induced rat paw edema. ○ : saline, ● : EtOAc ext. 10 mg/kg, ■ : dexamethasone 0.5 mg/kg. All values are means \pm S.E. $p < 0.05$, $p < 0.01$ compared with control group.

3. 胸膜炎

如表二所示，PAF 注入大鼠胸腔，與生理食鹽水注入胸腔比較，30 分鐘後的滲出液增加較 6 小時後的增加明顯。白血球數在 30 分鐘後是減少，但 6 小時後則為上升。乙酸乙酯抽出物 (5,10mg/kg) 或 dexamethasone (0.5mg/kg) 對於注射 PAF 6 小時後的發炎有抑制作用，但對 30 分鐘後的發炎則無影響。

4. 致死性

如表三所示，鼯鼠以乙酸乙酯抽出物 (15mg/kg, p.o.) 前處理，可以改善 PAF 引起的死亡率。dexamethasone (1mg/kg, p.o.) 可以完全抑制 PAF 引起的死亡率。

Table 2. Effects of EtOAc ext. on the exudate volume and leucocyte numbers measured 30 min or 6 hr after injection of PAF into the pleural cavity.

Drugs	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)		Total WBC Counts ($\times 10^6$)	
		30 min	6 hr	30 min	6 hr
Native control	-	0.11 \pm 0.01	0.08 \pm 0.01	7.36 \pm 0.38	6.09 \pm 0.70
Saline	-	0.49 \pm 0.04##	0.15 \pm 0.03#	5.60 \pm 0.60#	8.78 \pm 0.66#
EtOAc ext.	5.0	0.39 \pm 0.05	0.03 \pm 0.01**	4.52 \pm 0.93	4.70 \pm 0.69*
	10.0	0.36 \pm 0.05	0.02 \pm 0.01**	5.50 \pm 0.69	3.17 \pm 0.90**
Dexamethasone	0.5	0.40 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01**	4.93 \pm 0.91	4.78 \pm 0.79*

Native control: saline instead of PAF was injected intrapleurally.

Values are mean responses and standard errors expressed for group of 8 rats. #p < 0.05, ##p < 0.01 compared with native control group. *p < 0.05, **p < 0.01 compared with saline group.

Table 3. Effect of EtOAc ext. on PAF-induced anaphylactic shock.

Drug	Dose (mg/kg)	Mortality % (death/test)	
Saline		67	(20/30)
EtOAc ext.	5	73	(11/15)
	10	40	(6/15)
	15	33	(5/15)*
Dexamethasone	1	0	(0/15)**

Values are presented as percentage of mortality. *p < 0.05, **p < 0.001 compared with saline group by χ^2 -test.

5. 降壓作用

在 urethane 麻醉下的大鼠，靜脈注射 PAF($0.1 \mu\text{g/kg}$)引起明顯的降壓作用。皮下注射乙酸乙酯抽出物 (10mg/kg)前處置，並不能抑制 PAF 引起的降壓作用。

6. 血小板凝集

乙酸乙酯抽出物對於血小板凝集劑如 collagen、AA、thrombin、PAF、ADP 及 A23187 引起的兔子血小板凝集皆具抑制作用。求出的 IC₅₀ 值如表四所示。以對 collagen、AA、thrombin 的抑制較為明顯，對 PAF、ADP、A23187 的抑制作用較不明顯 (圖 2)。

Table 4. Effect of EtOAc ext. on collagen-, AA-, thrombin-, PAF-, ADP and A23187-induced platelet aggregation in vitro.

Aggregating Agent	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	95% Confidence Limits
Collagen	4.1	3.2 - 5.3
Arachidonic acid	11.2	8.0 - 15.7
Thrombin	32.3	23.0 - 45.2
PAF	123.0	94.6 - 159.9
ADP	120.5	86.1 - 168.7
A23187	292.2	216.4 - 394.4

Platelets were incubated with EtOAc ext. or 0.5% DMSO at 37°C for 1 min, then collagen ($20 \mu\text{g/ml}$), AA ($125 \mu\text{M}$), thrombin (0.5 U/ml), PAF (15 pM), ADP ($20 \mu\text{M}$) or A23187 ($2.5 \mu\text{M}$) was added to trigger the aggregation.

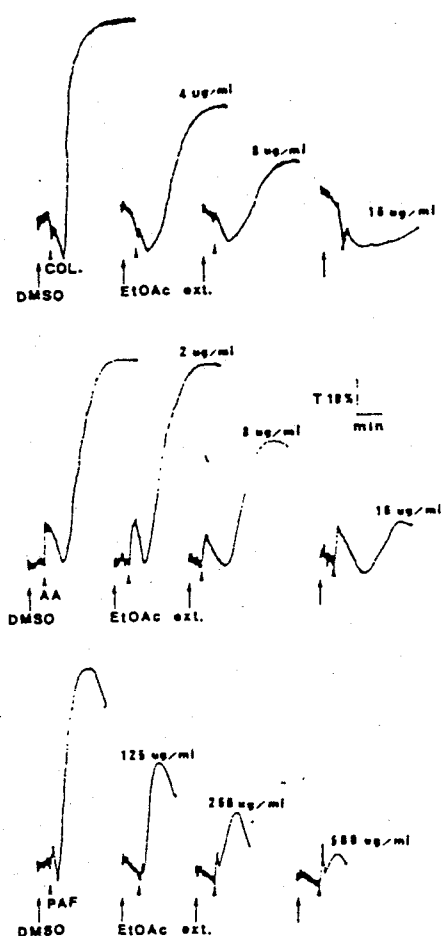


Fig. 2. Effect of EtOAc ext. on the aggregation of rabbit platelet-rich plasma induced by collagen (COL.), AA, PAF. Platelet-rich plasma was incubated with EtOAc ext. at various concentrations or 70 (0.5%) for 1 min, then collagen ($20\mu\text{g/ml}$), AA ($125\mu\text{M}$) or PAF ($15\mu\text{M}$) was added to trigger the aggregation.

討論

本實驗顯示，乙酸乙酯抽出物可以抑制PAF引起的種種發炎反應和過敏性休克造成的死亡，但對降壓作用則無影響。令人特別感興趣的是可以明顯的抑制collagen及AA所引起兔子血小板凝集。

已有文獻指出(15-17)，PAF、緩動素、化合物48/80可以增加大鼠皮膚的血管滲透性。乙酸乙酯抽出物可以抑制PAF引起的皮膚血管滲透性，但對直接作用於血管的緩動素及可釋出組織胺的化合物48/80則無抑制作用。這

些結果和先前對大鼠足蹠浮腫的實驗結果是一致的。顯示乙酸乙酯抽出物對緩動素及組織胺無作用。

對鼯鼠靜脈注射 PAF 引起的過敏性休克，已知可被類皮質糖及 PAF 拮抗劑所對抗 (18, 19)。口服乙酸乙酯抽出物也具保護作用。

PAF 的作用可經由其本身的接受體或經由其他化學媒介物質的釋出 (12)。因此乙酸乙酯抽出物拮抗 PAF 引起的發炎及致死性也可能是直接或間接的作用。

有文獻指出 (20,21)，PAF 和 AA 所引起的足蹠浮腫與 lipoxxygenase 的產物有關。乙酸乙酯抽出物對 PAF 和 AA 所引起的足蹠浮腫皆具抑制作用，顯示 lipoxxygenase 的產物包含在乙酸乙酯抽出物的作用機轉中。

對於 PAF 引起的大鼠胸膜炎，我們的結果與 Tarayre 等人 (22) 的結果一致。亦即 PAF 注入後 30 分鐘引起的滲出液增加較 6 小時後的增加為明顯。滲出液中白血球數在 PAF 注入後 30 分鐘為減少，而 6 小時後為上升。PAF 注入後 30 分鐘的胸膜炎被認為是 PAF 與其本身接受體作用的結果，與 PAF 引起化學傳遞物質釋放無關 (23)。乙酸乙酯抽出物的前處理，對於 PAF 注入後 30 分鐘的胸膜炎無影響，但對 6 小時後的胸膜炎則具抑制作用。此結果顯示乙酸乙酯抽出物拮抗 PAF 引起的胸膜炎與抑制 PAF 促使化學傳遞物質釋放有關。

PAF 引起的降壓作用可被 PAF 的拮抗劑 CV-3988 所拮抗 (15)。PAF 的降壓作用被認為主要是經由接受體的作用 (24,25)。PAF 引起的降壓作用不能被乙酸乙酯抽出物所對抗，顯示乙酸乙酯抽出物的作用機轉並不和 PAF 接受體相互作用。

有學者主張血小板凝集存在第三途徑，此途徑與 cyclooxygenase 代謝物及 ADP 無關 (26)。PAF 被認為是此第三途徑的凝集傳遞物質 (12)。PAF 拮抗劑如 BN 52021 能拮抗 PAF 引起的凝集，但對其他凝集劑如 thrombin、AA、ADP、A23187、collagen 等則無作用 (12)。乙酸乙酯抽出物對各種不同的凝集劑有不同程度的抑制作用，以對 collagen、AA、thrombin 的抑制作用較明顯，其次對 ADP、PAF。而對 A23187 最不明顯，顯示乙酸乙酯抽出物對鈣離子的直接拮抗作用很弱。這些結果也顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的拮抗作用不具專一性，也與先前抗發炎作用的研究一致，其作用與 AA 的產物有關。

最後，我們的實驗結果顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的抑制作用，可能與抑制 PAF 所引起的化學傳遞物質的釋出有關。干擾 eicosanoid 的合成是乙酸乙酯抽出物的主要作用之一。

參考文獻

- 1.Vinegar R,Traux JF,Selph JL.Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-induced pleurisy in rat.proc.Soc.Exp.Biol.Med.143:711-714,1973.
- 2.Lowry OH,Rosebrough NJ,Farr AL,Randall RJ.Protein measurement with the Folin phenol reagent.J.Biol.Chem.193:265-275,1951.
- 3.Vane JR.The use of isolated organ for detecting active substance in the circulating blood. Brit. J. Pharmacol. 23:360-373,1964.
- 4.Willis AL. Parallel assay of prostaglandin-like activity in rat inflammatory exudate by means of cascade suppression J. Pharm.Pharmac. 21:126-128,1969.
- 5.Harada Y, Tanaka K, Katori M. Non-specific antagonism against thromboxane A of 7-ethoxycarbonyl-6, 8-dimethyl-4-hydroxymethyl-1(2H)-(EG-626) in contraction of isolated smooth muscles. Prostaglandins 17: 957-966, 1979.
- 6.Swingle KF, Shideman FE. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. J. Pharmacol. Exp. Ther. 183:226-234,1972.
- 7.Rosa M.Biological properties of carrageenan.J.Pharm.Pharmac.,24:89-102, 1972.
- 8.Hunnskaar S,Hole,K.The formaline test in mice:dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain.Pain 30:103-114,1987.
- 9.Thon IL,Uvnas BU.Degranulation and histamine release,two consecutive steps in the response of rat mast cells to compound 48/80. Acta. Physiol. Scand.71: 303-315, 1967.
- 10.Braquet P, Paubert-Braquet M, Koltai M, Bourgain R, Bussolino F, Hosford D.Is there a case for PAF antagonists in the treatment of ischemic states. Trends. Pharmacol. Sci. 10:23-30, 1989.
- 11.Michel PF,Hosford D.Ginkgo biloba:from"living fossil"to modern therapeutic agent. In:Ginkgolides--chemistry,biology pharmacology and clinical perspectives. Braquet P(eds), Barcelona:J.R.Prous Science Publishers. Vol 1,pp. 1-7,1988.
- 12.Braquet P, Touqui L,Shen TY,Vargaftig BB.Perspectives in platelet- activating factor research. Pharmacol. Rev.39:97-145,1987.

- 13.O'Brien JR. Platelet aggregation II . Some results from a new method of study. *J. Clin. Path.* 15:452-455,1962.
- 14.Litahfield JT, Wilcoxon F.A simplified methods of evaluating dose-effect experminents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*96:99-113,1949.
- 15.Hayashi M, Kimura J, Oh-lshi S, Tsushima S, Nomura, H.Characterization of the activity of a platelet activating factor antagonist, CV-3988. *Japan.J. Pharmacol.*44:127-134,1987.
- 16.Fyee MC, Chahl LA.Mediators of the plasma extravasation response to silver nitrate in the rat skin, subplanter region and ankle joint. *J. Pharm. Pharmacol.* 41:46-49,1989.
- 17.Crunkhorn P, Willis P. Cutaneous reactions to intradermal prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.*41:49-56,1971.
- 18.Myers A,Ramey E, Ramwell P.Glucocorticoid protection against PAF-acether toxicity in mice. *Br. J. Pharmacol.*79:595-598,1983.
- 19.Terashita ZI, Imura Y,Shino A, Nishikawa K.A Iethal role of platelet activating factor in anaphylactic shock in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*243: 378-383, 1987.
- 20.DiMartino MJ, Campbell GK, Wolff CE, Hanna N. The pharmacology of arachidonic acid-induced rat paw edema. *Agents and Actions* 21:303-305,1987.
- 21.Cordeiro RSB, Silva PMR, Martins MA, Varagftig BB. Salicylates inhibit PAF- acether-induced rat paw oedema when cyclooxygenase inhibitors are ineffective.*Prostaglandins* 32:719-727, 1986.
- 22.Tarayer JP.Delhon A, Bruniquel F, Puech L,Tisen-Versailles J. Couziner JP. Exudative cellular and humoral reactions to platelet-activating factor (PAF-acether)in the pleural cavity of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 124:317-323, 1986.
- 23.Peers SH. Dexamethasone inhibits platelet activating factor-induced inflammation in the paw but not the pleural cavity of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 150:131-135,1988.
- 24.Kasuya Y. Pharmacological stubies of hypotensive effects of platelet-activating factor. In:*Advances in Prostaglandins, thromboxane, and Leukotriene Research.* Hayaishi O, Yamamoto S(eds), New York:Raven Press, Vol.15,pp.723-724, 1985.
- 25.Kamitani T, Katamoto M, Tasumi M, Katsuta K, Ono T, Kikuchi H, Numada

- S. Mechanism(s) of the hypotensive effect of synthetic 1-O-octadecyl-2-O-acetyl-glycero-3-phosphoryl-choline. *Eur. J. Pharmacol.* 98:357-366,1984.
- 26.Vargaftig BB. Carrageenan and thrombin trigger prostaglandin synthetase-independent aggregation of rabbit platelets:inhibition of phospholipase A2 inhibitors. *J. Pharm. Pharmacol.*29:222-228,1977.

以脈診儀協助中醫師診斷之可行性研究(一)

中央研究院物理研究所·南港·台北市

王唯工

(一)計畫緣起：(即計畫產生之原因或背景，例如：(1)政策、法令依據或上級指示；(2)問題狀況或發展需求等，屬專題研究之計畫並請說明國內外有關之研究情況。)

本計劃係響應中醫藥科學化之政策。配合衛生署研究中醫診斷標準化之目標，將已在生理(血液流體力學)上得到證明之臟器，共振理論應用到中醫之脈診。

國內外皆有以信號分析方法來研究脈波之圖形(如韓國有把脈機上市，中國醫藥學院有汪叔游主任製作把脈機)，而此計劃所製作之把脈機係主持人在生理上之新發現所引導而製成。其原理係內臟及穴道與心臟有共振情形，如得知內臟共振波之頻率即可由此振幅之大小，及頻率是否不準而得到臟腑健康情況之指標。

摘要

此脈診儀以器官共振波原理，並以生理實驗找出之各器官共振頻率為準則，設計出之分析工具。

在診斷之比較中，共做了三百多個例子。90%以上皆與受測者自覺症狀或其他醫師之診斷(中西醫)相關。而不能正確分析之主要原因為：

(1) 脈波不穩：

a. 心律不整。約二例，則此脈波儀之分析無法確實。

b. 波型不穩。約十例，因受測者心中不安，故波型變化很大，無法確實分析，此類受測者大多腎氣不足(恐傷腎也)。

(2) 近日內曾服藥。約十例，不論服用中藥或西藥至少在三日內都多少影響脈波波型。如一至二日未服藥，則常看到了兩種脈型交替發生。一種為

— 原有之脈，一種爲受藥物影響之脈。

過去我們也做了一些藥物對脈波之影響，發現以共振頻率分析脈波之影響與歸經之理論有極高之相關性。

研究方法

志願受測者在實驗室外先填寫自覺之症狀或已被醫師診斷之症狀後，靜靜的坐著約十分鐘後，進入實驗室，以坐姿或臥姿接受脈診之測量。測量時間每隻手約三分鐘。

研究發現

1. 此脈診儀可了解血液分佈狀況。

A. 由生理實驗已知腎氣下行，膽氣上行。所測廿餘位睡眠有困難者，皆有腎虛而膽熱之脈象，但僅膽熱者不一定睡眠有困難，如台大醫學系來所受測之三十餘位同學約八成也有膽熱之脈，但大多沒有睡眠的困難。由此看來膽熱也是用腦之人的共同特性，中醫治療失眠成方中有酸棗仁湯，而酸棗仁之藥效爲膽虛不眠。此處曾引起李時珍先生的質疑，認爲膽熱不可能好眠。由我們的觀察膽熱不眠的人是大多數（尤其加腎虛）。但如膽脈極虛則亦可能引起虛火而造失眠，這種失眠才是酸棗仁湯主治之証。這點推論還請專家指正。

B. 胃的毛病是受測者第二多的健康問題。而此類問題分成三大類：

- (1). 胃脈很強，則流到胃之血液過量，造成胃酸過多，是甚者胃糜爛。
- (2). 胃脈太弱，則食慾不振胃冷，而發痛。

以上兩型在中醫一爲胃實一爲胃虛，但在辨別時相當不容易（在西醫一爲胃酸過多，一爲胃酸過少），醫生大多給健胃仙之類的制酸劑，似乎並不恰當，因健胃仙根據我們的脈診是洩胃氣之藥，所以如果是胃實的人還可以用，胃虛之人則是雪上加霜，所以對胃虛者都建議停止服食健胃仙，多吃生薑、胡椒、丁香之類的作料，多吃熟食不喝冷飲，反有較好的效果。

- (3). 另一型爲胃實脾虛，此型則易得十二指腸潰瘍，生理上來說就是去胃的血太多，所以胃酸過多，而去脾的血少，則小腸的鹼性分泌液不足，不能中和由胃下來之酸汁。由中醫醫理來判斷，此型之人以補脾之方

劑治療效果應最好，此點也請專家指正。

- 2.此脈診儀可診斷經絡之健康狀況，約有廿餘例，可由脈診直接找到酸痛之經絡並循線找到相關穴道，以中醫復健方法，加以治療，治好後，則脈象恢復正常。
- 3.此脈診儀可判斷藥物之歸經特性。以純化後藥物或生藥抽取物注入老鼠腹腔以觀察脈波之變化。此項工作我們已從事五年，為中藥歸經之理論找到實驗之根據，而人食用藥物後其脈波之化，也曾觀察拾數例。對脈波之影響與老鼠有相似之作用。都與本草備要之記述相符。
- 4.此脈診儀可能協助流行病之診斷，在今年1-2月以後流行性感冒流行。而志願來測脈波者85%以上（包含我們自己及工作之助理）都呈現相同之脈型。3.5.6.9為-，2.4為+依脈理分析，則應有頭昏，嗜眠，腸胃不好，而手腳發燒之感覺，似乎也與受測者的感覺相符。雖然有些人沒有明顯症狀，但由脈象似乎已可知道，其人已感染同型之流行性感冒，因體質較強而自覺症狀不明顯。

結論及建議事項

- 1.脈診儀之診斷，可推斷血液流量之分配及阻力狀況，可量化中醫之診斷，並提高精準度。對病情之了解有非常之助益，並可進而指導治療方針。
- 2.脈診儀之診斷可了解器官之彈性，腫大或萎縮，在健康發生變化時之早期診斷上應有很大功用。
- 3.脈診儀除適合中醫師使用之外，也很適合家庭醫師使用，作為全身健檢之初檢工具，因為簡單、確實，又可以中藥做早期之治療，應可大量節省保健之費用。
- 4.脈診儀在跌打損傷之診斷上亦有定位及指導治療方針之功效。

金銀花成份之藥理作用研究

國立成功大學

張文昌

摘要

分離自金銀花之多酚類化合物對血小板凝集、血小板前列凝素生合成及由過氧化氫導致之內皮細胞損傷等作用已被研究。在人類血小板凝集之抑制作用上，methyl caffeate，3,4-di-O-caffeoylquinic acid 及 methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid 皆有強烈的效果。它們主要是抑制在由 ADP 導致的血小板凝集之第二波上。至於在血小板中由 calcium ionophore A23187 所引起之前列凝素生合成，則以 methyl caffeate 和 methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid 具有最強的抑制效果。methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid 直接抑制血小板微粒體中花生四烯酸轉變成前列凝素，然而 methyl caffeate 對血小板微粒體中之前列凝素並沒有任何重要的作用。在預防過氧化氫導致所培養的內皮細胞損傷方面，protocatechuic acid，methyl caffeate，methyl chlorogenic acid 及 luteolin 具有明顯的作用。在血小板活性的抑制作用及過氧化氫導致細胞損傷之細胞的保護作用能夠解釋分離自金銀花之多酚類化合物在血管功能中所扮演的可能性角色。

介紹

金銀花之花苞或新開之花具有甜味並以金銀花之名使用在中國之中藥。這種藥可以清除潛伏性頭痛，退熱，解毒，抗炎等作用，因此在處方中用來治療一般的發熱疾病，痢疾，炎腫，癰，傳染性腫脹。它的化合物中含有數種多酚類化合物包括 chlorogenic acid，isochlorogenic acid，neochlorogenic acid，4-O-caffeoylquinic acid，4,5 -dicaffeoylquinic acid，3,5-dicaffeoylquinic acid 及 3,4-dicaffeoylquinic acid 等 (1)。這些化合物有時被稱為 "caffetannins"。

血管內皮對氧化物損傷具極端敏感性，可促進發炎細胞中被活化的氧化代謝釋出 (2、3)。在多種環境之下過氧化氫是造成細胞嚴重損傷之一種重要的中間物。因此氧化性損傷在動脈硬化之發生可能扮演某一角色。

因動脈硬化而使內皮細胞損傷或使其功能不良，則血小板被活化而凝集。在這些由血小板生合成之產物中顯現出與血管穩定性有密切關係的是花生四烯酸之代謝物。花生四烯酸可轉變成 Thromboxane A_2 (TXA₂)，它是一個對血小板凝集具有非常影響力之誘發劑及血管收縮劑 (6)。

在目前的研究報告中，分離自金銀花之十個多酚類化合物對血小板凝集、血小板前列環素生合成及過氧化氫導致之內皮細胞損傷等作用已被研究。

材料及方法

化學物品

- Bovine- γ -globulin, adenosine 5'-diphosphate (ADP), arachidonic acid, calcium ionophore A23187
購自 - Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.
- TXB₂ standard 購自 - Ono Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan.
- Hydrogen peroxide 購自 - E. Merck, Darmstadt, F.R.G.
- [⁵¹Cr]Sodium chromate (386mCi/mg) & [5,6,8,9,11,12,14,15(n)-3H]thromboxane B₂ (180C_i/mmol) 購自 - NEN, Du Pont, USA
- Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) & fetal bovine serum (FBS) 購自 - GIBCO, NY, USA.
- 其它皆使用高度純化之試劑。

試驗化合物

在本研究中所有的試驗化合物都是分離自我們的實驗室。十個多酚類化合物是分離自金銀花。它們是 Chlorogenic acid (LJ-1), protocatechuic acid (LJ-2), methyl caffeate (LJ-3), methyl chlorogenic acid (LJ-4), 3,5-di-O-caffeoylquinic acid (LJ-5), methyl 3,5-di-O-caffeoylquinic acid (LJ-6), 3,4-di-O-caffeoylquinic acid (LJ-7), methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid (LJ-8), rutin (LJ-9), luteolin (LJ-10)。它們的結構已用 NMR 確認，如圖一所示。

血小板凝集試驗

用從未服食任何藥物的人類自願者之血液加入 3.8 % 檸檬酸鈉溶液 (9:1,v/v) 可維持二個星期。加入檸檬酸鈉溶液之血液在室溫下離心 $200 \times g$ 十分鐘可得到含血小板之血漿。一個 0.25ml 含血小板血漿之樣品在 37°C 之 NKK Hema Tracer 中因 25ul 的 ADP 而導致凝集。ADP 的最終濃度是 1×10^{-5} M。

血小板中內因性花生四烯酸轉變成 thromboxane

在 37°C 中五分鐘，人類血小板 (1×10^8 cells) 懸浮液在 1ml 不含鈣離子及鎂離子、內含 5.5mM 葡萄糖和 2mM 氯化鈣的磷酸鹽液 (pH 7.4) 中可被 3uM 鈣離子附著劑 A23187 (calcium ionophore A23187) 所激發。將血小板離心下來之後，在上清液內的 TXB_2 可藉由特殊的放射性免疫分析法偵測出。

血小板微粒體之配製

將血小板懸浮在 50mM Tris-HCl 緩衝液中並以型號 W-375 之超音波震盪器 (Heat System-Ultrasonics, Inc.) 震碎， $9,000 \times g$ 離心二十分鐘之後，使用 Beckman L8-80 超高速離心機將其上清液以 $105,000 \times g$ 再離心一小時。把所得的沈澱物懸浮在 50mM Tris-HCl 緩衝液中即為部份之微粒漿體。

血小板微粒體中 thromboxane 之合成

此分析方法已出現在以前之報告中 (7)。每一個試驗管中含有： $5 \mu\text{g}$ 花生四烯酸 (arachidonic acid)，1uM 血紅素 (hemoglobin) 及 0.2mg 微粒體 (microsome) 在有或沒有試驗化合物之一毫升的 50mM Tris-HCl 緩衝液中，pH 7.4。在 37°C 中繼續培養十分鐘。快速的加入適量的 1N 鹽酸將培養之混合物的酸鹼值調至三可停止反應。再以五毫升的乙酸乙酯 (ethyl acetate) 將混合物中的主產物萃取出來。最後的有機層用氮氣使其蒸發至乾。由血小板微粒體所形成的 TXB_2 可由特殊的放射性免疫分析法偵測出。

蛋白質測定

蛋白質濃度可由 Lowry 等方法測定出 (8)。以牛血清蛋白 (fraction V) 為標準品。

TXB₂的放射性免疫分析法

TXB₂特殊的放射性免疫分析法與以前所報告之方法相同 (7)。繼續在室溫下培養，隨後並分離出沒有與被標定抗原形成鍵結之部分。抗血清、被標定抗原及標準品皆稀釋在含有 0.1 % gelatin 之 0.05M Tris-HCl, pH 7.5 的標準放射性免疫分析緩衝液中。所培養的混合物 (0.4 毫升) 中含有 0.2 毫升的標準品或樣品，0.1 毫升的抗血清 (最終稀釋，1:3000) 及 0.1 毫升 [³H]TXB₂

(約 10,000cpm)。繼續培養一小時。所有的樣品皆取二份放在 10*75mm 玻璃試管中。由 γ -球蛋白加入覆有右旋醣之碳粉達到分離鍵結與無鍵結之抗原。 γ -球蛋白及覆有右旋醣之碳粉之配製方法如下。牛的 γ -球蛋白 (0.33 克) 先溶在 100 毫升中有 0.9 % 右旋醣之標準分析緩衝液中，然後加入碳粉 (3.3 克)，將此溶液攪拌一小時。在加入碳粉懸浮液之前，直接加一毫升的水到每一分析試管中。每一分析試管蓋上 Luckman LP/3S 之塞子，使 0.2 毫升碳粉懸浮液隔絕在管中。把試管上下震盪五次，靜置五分鐘後離心 100 × g 十分鐘。上清液中含有抗原抗體之鍵結在 LKB Rackbeta 之液態閃爍計數器中可被計數。

內皮細胞培養

如同以前之報告，內皮細胞分離自牛頸動脈 (9) 並維持在含有 10 % FBS 之 DMEM 中。目前實驗中是使用 15 到 25 代之細胞。

內皮細胞損傷試驗

如同先前之研究，內皮細胞之損傷可由 ⁵¹Chromium 之釋出加以判斷 (10)。生長培養液中單層細胞長滿 24 孔培養皿中並以 2uCi [⁵¹Cr]sodium chromate 標

記 18 小時。在 0.5 毫升 DMEM 中含有或沒有試驗化合物的細胞用 DMEM 沖洗二次後再以 2mM H_2O_2 處理六個小時。把培養的 DMEM 完全取走，則由受損細胞中釋出之 ^{51}Cr 放射活性可被 LKB 1282 Compugamma scintillation spectrophotometer 測定。結果以特殊之 ^{51}Cr -釋出計算方式表示，如下： $(A-B)/(C-D)*100\%$ ，A 表示因試驗化合物之 ^{51}Cr -釋出；B 表示自發性之 ^{51}Cr -釋出；C 表示最大量的 ^{51}Cr -釋出。自發性及最大量之釋出分別在細胞培養中使用溶媒及 0.1% Triton X-100 即可測出。

結果

多酚類化合物對血小板凝集之抑制作用

十個多酚類化合物對血小板凝集之作用研究是使用含血小板之血漿。並比較同時存在 aspirin 之作用。含血小板之血漿與試驗化合物在 37℃ 培養三十分鐘，然後用 $1*10^{-5}M$ ADP 誘發血小板凝集。在十個化合物試驗中，LJ-3，LJ-7 及 LJ-8 具有強力抑制作用，而 LJ-1，LJ-4，LJ-5，LJ-6 及 LJ-10 沒有任何有意義的作用（表一）。它們的抑制作用與 aspirin 之抑制作用相似。LJ-7 所影響之典型的血小板凝集現象如圖二所示。在人類富含血小板之血漿中，由 ADP 導致之血小板凝集的第二波可被多酚類化合物隨其劑量而抑制。

多酚類化合物對血小板中形成 thromboxane 之作用

由於數種多酚類化合物可明顯的抑制 ADP 所導致之血小板凝集，接下來便研究多酚類化合物對血小板中形成 thromboxane 之作用。此研究中 thromboxane 由內因性花生四烯酸形成，血小板以試驗化合物先培養過後再以 calcium ionophore A23187 處理。如表二所示，LJ-2，LJ-3，LJ-7，LJ-8，及 LJ-9 在 $10^{-4} M$ 濃度時可明顯抑制由 calcium ionophore 引起之血小板 thromboxane 生合成。在所試驗的五個多酚類化合物中，LJ-3 及 LJ-8 具有最強效之作用。LJ-3 及 LJ-8 對 thromboxane 生合成具劑量性抑制作用，且其在 $10^{-6} M$ 濃度仍有明顯作用。

多酚類化合物對血小板微粒體中 thromboxane 生合成之作用

爲了研究多酚類化合物直接抑制 thromboxane 生合成之酵素活性，以血小板微粒體爲酵素來源。結果如圖三所示。LJ-8 由 10^{-6} M 到 10^{-4} M 濃度能明顯抑制血小板微粒體中 thromboxane 之生合成。而 LJ-3 由 10^{-6} M 到 10^{-4} M 濃度沒有任何明顯作用。LJ-7，LJ-2 及 LJ-9 則沒有明顯作用，它們只有在 10^{-4} M 濃度才有作用。

多酚類化合物對過氧化氫導致之內皮細胞損傷之保護作用

爲了研究多酚類化合物對過氧化氫導致之內皮細胞損傷之保護作用，在過氧化氫處理培養過程中有試驗化合物之存在。當細胞培養在過氧化氫中六個小時，可以觀察到約 45 % 的細胞損傷。在所試驗的十個多酚類化合物中，LJ-2，LJ-3，LJ-4 及 LJ-10 對內皮細胞損傷顯現出明顯的保護作用（表三），這種保護作用具劑量抑制性。

討論

本研究中，分離自金銀花 methyl caffeate(LJ-3), 3,4-di-O-caffeoylquinic acid (LJ-7), methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid(LJ-8), rutin(LJ-9)，對 ADP 導致之血小板凝集有劑量性抑制作用（表一）。在富含血小板的人類血漿中，由 ADP 導致之凝集有二個波，因 ADP 所產生的凝集第二波已被認定與 thromboxane 之形成有關。所有多酚類化合物能抑制 ADP 導致之血小板凝集第二波的有效試驗如圖二所示。此結果令人想到 methyl caffeate, 3,4-di-O-caffeoylquinic acid, methyl 3,4-di-O-caffeoylquinic acid, 及 rutin 也許可以防止血小板中 thromboxane 形成。接下來所研究的是在含有 2mM 鈣離子之緩衝液中多酚類化合物對由 calcium ionophore A23187 導致 thromboxane 生合成之作用。methyl caffeate (LJ-3) 和 methyl-3,4-di-O-caffeoylquinic acid(LJ-8) 對 calcium ionophore 刺激之 thromboxane 生合成具最強效的抑制，而 protocatechuic

acid(LJ-2),3,4-di-O-caffeoylquinic acid(LJ-7),rutin(LJ-9)則較無效用(表二)。將多酚類化合物對由 calcium ionophore A23187 導致 thromboxane 生合成之抑制作用效果與對由 ADP 導致之血小板凝集抑制作用相比較。因此 thromboxane 生合成的抑制性能解釋多酚類化合物在富含血小板之人類血漿中對 ADP 導致第二波凝集具有有效的抑制作用。

在血小板中, thromboxane 經由分布在細胞微粒體中之 PGH_2 合成酵素及 thromboxane 合成酵素等 thromboxane 生合成酵素是由花生烯酸所形成。爲了研究在血小板 thromboxane 生合成中此抑制作用是由於直接抑制 thromboxane 生合成酵素的活性, 便研究在血小板微粒體中的 thromboxane 生合成。methyl 3,4-di-O-caffeoylquinatate(LJ- 8)在 thromboxane 生合成酵素活性上具劑量抑制性。此酵素活性的抑制作用與 calcium ionophore 導致 thromboxane 形成之抑制作用幾成比例關係。然而 methyl caffeate(LJ-3)在抑制 thromboxane 生合成酵素活性上並無任何明顯作用(圖三)。因此, 對 calcium ionophore 導致之 thromboxane 生合成抑制作用並未如預期般的抑制在 thromboxane 生合成酵素。也許是被血小板中細胞外鈣離子灌流所影響。未來研究將朝此方向發展。

以前曾證實了包括過氧化氫之活性氧能造成細胞毒素對內皮細胞的損傷(12)。由於氧化性損傷在粥動脈硬化上扮演某一角色, 培養中的內皮細胞暴露在過氧化氫之下能使用在研究其抑制血管內皮細胞中之氧化性損傷。在已研究的多酚類化合物試驗中, protocatechuic acid(LJ-4)及 luteolin(LJ-10)對過氧化氫所導致的細胞損傷具明顯的抑制性。細胞防護作用之藥理學上之機轉尚未被研究: 也許是由於一個抗氧化性的作用。在 catechins 之生物學上之作用之研究, 曾報告過一種抗氧化性之作用, 用過氧化油如 kimura 等來培育實驗用之大白鼠。報告了 chlorogenic acid 抑制 serum triglyceride, lipid peroxides, total cholesterol, glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvate transaminase 跟肝脂質過氧化物一樣。

總括而言, 血小板活性及細胞防護的抑制作用對過氧化氫導致之細胞損傷也許可以解釋分離自金銀花之多酚類化合物在維持血管均衡上所扮演的可能性角色。

以試管內細胞培養病毒建立抗病毒 中藥篩檢研究

國立陽明醫學院・醫事技術學系

台北榮民總醫院・檢驗部病毒室

詹前朕・劉武哲

摘要

本計劃選用 A 型流行感冒病毒培養於人類前單核細胞株 (HL-CZ) 8 天，每天收集細胞做免疫螢光抗體 (IFA) 染色，使用 A 型流行感冒病毒的兩種單株抗體：抗病毒核殼蛋白 (anti-NP) 及抗病毒血球凝集素 (anti-HA)，可做為判定細胞受病毒感染的指標，接種後次日起即呈現強陽性反應並可維持到第 3 天，在中藥材方面選用大蒜精溶液及金線蓮萃取液，在測知兩藥液的最低細胞毒殺濃度分的最低細胞毒殺濃度分別為：大蒜液 10 倍稀釋與金線蓮液 4.0mg/ml 之後，以稍低於此濃度的藥液與病毒懸浮液一起加入細胞培養中，在接種後的 1,3,5,7,9,12,24,48 小時分別收集細胞做成抹片並給予螢光抗體染色，初步的結果顯示：只接種病毒的陽性對照組，其平均感染率（螢光細胞率）為 59.7%，而加了大蒜液，金線蓮液及西藥 amantadine（陰性對照組）的平均感染率為 19.4%，33.6%，及 30.6%，初步推測這些藥液在 48 小時內可抑制病毒抗原在細胞內外的表現，至於病毒在細胞的感染是否完全受到了藥液的抑制（病毒 RNA 的複製情形），可由隨後的核酸聚合酶連鎖反應 (PCR) 偵測病毒 cDNA 之結果而得知，目前已知該病毒在 HL-CZ 細胞內複製，其 HA gene 在感染後 12 小時即可被測知，我們的研究模式可做為未來發展抗病毒篩檢研究之參考。

前言

自古相傳的一些食用植物或草藥是否具有預防及治療傳染病（特別是因病毒感染而引起的疾病）的效果，頗受國人及中醫藥界的關心，而事實上能

抗病毒 (anti-virus) 的西藥並不多見。中國民間相傳的大蒜 (garlic) 可用於感冒的預防與治療，本世紀來，西方的學者曾對大蒜中的兩種重要化學成分：蒜素 (allicin) 與蒜苷 (alliin)，作過許多詳盡的研究，不少古代與現代的醫者指出大蒜具有某些療效 (Block, 1985)。蘭科植物中的金線蓮 (*Anoectochilus formosanus hay*)，在台灣俗稱「藥虎」，中藥界指出它具有很強的藥理作用，服食後可消除或減輕一些病症。因此，本實驗擬以這兩種植物的抽取物，建立以試管內細胞培養病毒篩檢抗病毒中藥的模式。

流行性感冒病毒通常是造成人畜急性上呼吸道感染病症的主兇，台北榮總目前有分離出的五百多株病毒，故選用此病毒來進行實驗。我們的實驗在 1985 年起，已成功地建立一個細胞株，這是從一位白血病患者所分離出來的前單核球 (promonocyte) 細胞株，名為 HL-CZ。1990 年我們將此細胞株單株化 (Cloned)，其中一個單細胞株曾用於繁殖登革熱病毒 (dengue virus)，並發表於美國期刊上 (Liu 等人，1991)。本實驗所使用的另一單細胞株 (CCC-3)，經過實驗證實亦對流行性感冒病毒 A 型 Taiwan/86 (H_1N_1) 株具有感受性 (susceptibility)。故我們擬用 HL-CZ 細胞來培養流行性感冒 A 病毒 (influenza A virus)，試驗並評估自大蒜精商品及 50 % 甲醇所萃取的大蒜抽取液與金線蓮抽取液，對病毒是否有抗病毒作用，並與文獻中指出能抗流行性感冒病毒的西藥—Amantadine 作比較 (Hay 等人，1985；Sugrue 等人，(1990)。

在目前，一般的實驗室尚未有真正實用且方便的方法來做抗病毒的分析研究，以常用的病毒斑化成分分析 (plaque reduction assay) 為例，它雖可用但卻費時費事。在抑制劑 (inhibitory agents) 的存在下來定量病毒複製 (viral replication) 的方法有：核酸互交法 (nucleic acid hybridization) (Gadler 等人，1984；Swieskosz 等人，1987)，免疫螢光染色法 (immunofluorescence staining) (Telenti 與 Smith, 1989)、免疫過氧化酶染色法 (immunoperoxidase staining) (Howell 與 Miller, 1984)，酵素免疫分析法 (enzyme immunoassay) (Rabalais 等人，1987) 及其他方法 (vr McLaren 等人，1983；Prichard 等人，1990 之文獻) 等，這些抗病毒作用的分析方法仍有待標準化。本實驗乃是使用對流行性感冒病毒其有特異性的單株抗體 (monoclonal antibodies)，行免疫螢光抗體 (immunofluorescence antibody, IFA) 染色，作為中藥抗病毒作用分析的基本方法。

材料與方法

一、病毒與細胞培養

本實驗所使用的流行性感 A 型與 B 型病毒株分別是 A/Taiwan/86(H₁N₁) 與 B/Yamagata (山形)，從三天培養的初代猴腎細胞 (PMK)、犬腎細胞 (MDCK) 或雞胚胎 (embryonic egg) 中，收集到這些病毒 (Lathey 等人, 1986)。HL-CZ 的單細胞株 CCC-3 培養於塑膠的培養瓶內 (Corning culture flask)，以含有 10 % 胎牛血清、100units/ml 青黴素和 100mg/ml 鏈黴素之 RPMI-1640 培養基來培養。培養瓶置於 37 °C、5 % CO₂ 的孵育箱 (incubator) 中。

二、藥材抽取物的製備與細胞毒殺作用試驗

金線蓮購買自南投埔里某人工養殖實驗室，整株人工養殖的金線蓮 (包含根、莖、葉) 經過清洗與稱重後，以 50 % 的甲醇水溶液 (methanol-water) 萃取 24 小時三次，萃取液再經蒸餾以去除甲醇，裝瓶稱重後進行冷凍乾燥 16 小時。每一小瓶最後得到 0.123 ~ 0.125g 的金線蓮抽取物，加入 12.3 ~ 12.5ml 的 RPMI-1640 培養液而成為濃度 10mg/ml 的濃貯液 (stock solution)。

取商聖公司 (台中、台灣) 所出品的「大蒜精」 (garlic essence) 溶到熱水中，調整濃度為 1:5 倍稀釋 (1:5 dilution) 或 25W/V，經過 10,000 轉離心 10 分鐘而製成濃貯液。

取西藥 amantadine (PK-Merz, Germany) 膠囊中的粉末 1.379g (含有 100mg 的 amantadine-Sulfate)，溶到 40ml 的 RPMI-1640 培養液中，濃貯液的濃度為 53mM。上述的所有溶液必須通過 0.45 μ M 的濾菌膜 (Millipore) 使成為無菌狀態才能進行實驗。

大蒜與金線蓮的萃取液加到細胞培養中培養一週，以 0.5 % 的 trypan blue 染上死亡細胞後，用計數盤 (counting chamber) 計算細胞總數 (包括活細胞數)，如此這些萃取液對細胞的最低毒殺細胞濃度 (MCC, minimum concentration of cytotoxicity)，可被評估與訂定出來。

三、HL-CZ 細胞對流行性感 A 病毒的感受性

為了瞭解 HL-CZ 細胞對病毒的感受性如何，1ml 的細胞培養液 (culture fluid) 與 1ml 的病毒懸浮液在離心管中混合。接種病毒的濃度以血球凝集試驗單位 (hemagglutination unit, HAU) 表示，A 型病毒的 HAU 為 64，B 型病毒的 HAU 為 32。病毒接種後須經過 90 分鐘的吸附作用 (adsorption)，然後將溶液換到培養瓶 (25cm² flask) 中並加入新鮮的 RPMI-1640 培養基，培養於 37 °C 下 8 天，每隔 3 天加 1.5ml RPMI-1640 培養基。

在病毒接種後的第 1,2,4,6,8, 天，以血球凝集微量試驗來檢測病毒在培養液中的存在情形。病毒 HAU 的測定方法是取 $50\ \mu\text{l}$ 的培養上清液與等量的 0.5 % 天竺鼠紅血球懸浮液，混合於微量平盤內，搖晃幾下，在室溫下靜置 1 小時後觀察血球凝集的結果 (Liu 等人，1986b)。收集培養液時，取上清液做上述的血球凝集試驗，留下的細胞用磷酸鹽緩衝生理食鹽水清洗三次，最後調整細胞的數目為 5×10^6 個 /ml，滴 $15\ \mu\text{l}$ 細胞懸浮液於多孔玻片的孔內，待風乾後以 $-20\ ^\circ\text{C}$ 的冰內酮固定 10 分鐘。固定後的細胞玻片先以抗 A 型與 B 型病毒核殼蛋白 (nucleoprotein, NP)，以及抗 A 型病毒血球凝集素 (Hemagglutinin, HA) 之單株抗體 (monoclonal antibodies, Clonatec, Biosoft, Paris) 處理後，再染上帶有螢光的抗老鼠免疫球蛋白抗體 (anti-mouse Ig antibodies) (Brown 等人，1983；Walls 等人，1986)。最後以共焦距雷射掃描顯微鏡 (confocal laser scan microscope) (Zeiss, Germany) 來觀察細胞的螢光結果並攝影。

四、中藥萃取液的抗病毒分析

四瓶培養瓶各含有 1ml 的細胞培養液 (約有 $6 \sim 8 \times 10^6$ 個細胞)，加入 1ml 的 A 型病毒懸浮液 (HAU=64) 後再依各種不同藥液添加培養基而成爲不同的藥液濃度 (見表 2)，例如只加 2ml 培養基者爲對照組，加入 1.6ml 金線蓮濃貯液與 0.4ml 培養基而使得培養瓶中的金線蓮萃取液濃度爲 4mg/ml (MCC)，最後所有培養瓶的溶液總量均爲 4ml。在培養後的第 1,3,5,7,9,12,24 與 48 小時，收集細胞製成抹片，以 IFA 試驗檢測病毒抗原之表現。至於病毒 RNA 的複製 (replication) 是否受到了抑制，則以聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction) 來偵測。上述的每一組實驗至少執行三次。

五、病毒 RNA 的抽取

前述做完 IFA 試驗所餘之細胞懸浮液 1ml，經三次重覆的冷解凍後，以低速離心去除細胞碎片。取 1ml 的上清液加入含有 3.0M NaCl 的 75 % polyethylene glycol 6,000 (PEG) 0.5ml，充份混合後置於冰浴中 45 分鐘。接著 12,000rpm 高速離心 20 分鐘，去除上清液，以 PH8.0 的 TNE 緩衝液 (含有 0.01M Tris-HCl, 0.1M NaCl 以及 0.001M EDTA) (Maniatis 等人，1983) $50\ \mu\text{l}$ 來溶解沉澱物。加入等量 ($50\ \mu\text{l}$) 的已去離子水飽和的酚 (ion-free distilled water saturated phenol)，激烈振盪混合 1 分鐘後以高速離心 (12,000rpm) 5 分鐘分層。

取上層液至另一小管，原下層液再加入 50 μ l 的 TE 緩衝液，再重覆震盪。重覆三次收集 150 μ l 的上層液再經兩次等體積的酚／氯仿 (Chloroform)(1:1) 溶液上下搖晃混勻，取上層液，加入 1/10 體積的 3M 醋酸鈉 (sodium acetate, pH5.3) 和 2 倍體積之絕對酒精，混合均勻後置於 -20°C 中沈澱 3 至 4 小時，以高速離心 15 分鐘，傾去上清液，再以 70 % 酒精清洗並離心 5 分鐘，最後以 Speed Vac (Model SC-100, Savant Instrument Inc., USA) 離心真空抽乾。

六、以 PCR 增幅 HA1 基因

PCR 增幅之區域涵蓋了 HA 基因中之 HA1 的大部份 (Rajakumar 等人, 1990 ; Saiki 等人, 1988)，除了 WL-16 引子 (primer)(Clontech, USA) 外，再加入相對於 HA1 基因了端之定次序 (sequence) 的引子 P4 (Oligos etc, USA)。在總共 50 μ l 的反應液中，包括純化後的 RNA 溶於 20 μ l 0.5 % 的 diethylpyrocarbonate water (DEPC, Sigma, USA)，各 1 μ l (50 p. mole) 的引子 WL-16 與引子 P₄、0.5 μ l (14 units) 的 AMV 超級反轉錄酶 (AMV Super reverse transcriptase)(Molecular Genetic Resources, USA)、0.5 μ l (2.5 units) 的耐熱菌 *Thermus aquaticus* (Taq) DNA 聚合酶與 10 μ l 10 \times 的 Taq 緩衝液 (Promega, USA)，5 μ l 的 dNTP (2.5 mM, pH 7.0) 以及 12 μ l 的 DEPC 水。反應液最後覆蓋一層 150 μ l 的礦物油 (mineral oil)。病毒 RNA 的增幅過程，首先是反轉錄作用 (42°C 45 分鐘與 94°C 5 分鐘之反應) 合成 cDNA 後進入 PCR 程式，包含了 94°C 變性作用 (denaturation) 1 分鐘、 37°C 煉合 (reannealing) 2 分鐘及 72°C 引子延伸 (extension) 2 分鐘的加熱週期 30 次，使用的機器為 DNA Thermal cycler (Perkin Elmer Cetus, USA)。反應終止後，去除礦物油。吸取 5 μ l 的 PCR 產物在 2 % 洋菜膠 (agarose gel) 上進行電泳分析 (mini-gel electrophoresis) (Maniatis 等人, 1982)，使用的裝置為 Mupid-2 (Cosmo Bio. Co. LTD, Japan) 與 Tris/borate/EDTA buffer system。

結果

首先我們要知道 HL-CZ 細胞對流行性感 A 型與 B 型病毒的感受性如何。由表 1 可看出，細胞內的兩種病毒抗原 (NP 與 HA) 在感染後的 1 到 4 天均呈現

出陽性的 IFA 結果，初步認為 HL-CZ 細胞對 A 型病毒有感受性，而對 B 型病毒則少有感受性，因此選擇 A 型病毒來做實驗。

大蒜與金線蓮萃取液對細胞毒性的測定結果列於表 2。活細胞與細胞總數之計數與觀察，可以繪製出細胞的生長曲線圖 (growth curve) (圖 1 與圖 2)，由此資料可評估藥液對細胞的毒殺作用程度。100 倍稀釋 (1:100 dilution) 的大蒜液在 5 天之內對細胞均無毒性，但濃度提高 10 倍 (1:10 dilution) 時，明顯可看出培養 2 天後之活細胞百分率只有 63.8%，到了第 3 天則降至 19.7%。同樣的情形也見於金線蓮萃取液，濃度為 4mg/ml，培養 2 天之活細胞有 89.7%，到了第 3 天則降為 25%。沒有加藥的對照組細胞在 5 天的培養內，活細胞一直維持在 95% 以上。我們訂定在培養第 3 天時，使活細胞下降至 50% 以下之藥液濃度為 MCC，由此可知，大蒜液與金線蓮液的 MCCs 分別是 1:10 稀釋與 4mg/ml。

表 3 列出了以 IFA 試驗測定加了中藥之細胞螢光百分率結果，病毒的 NP 與 HA 抗原，在接種病毒與（或無）大蒜液、金線蓮液及 amantadine 之後的 1 到 48 小時可用 IFA 來偵測。在只接種病毒的陽性對照組中，於 7 小時及 12 小時 P.i.，約有 33.3% 的 NP 抗原與 75% 的 HA 抗原可被偵測出來，但加了藥液的實驗組，無論是大蒜液、金線蓮液或 amantadine 均顯示有某種程度的抑制作用，加了大蒜液的實驗組，在 24 小時 P.i. 內所測得之 NP 與 HA 抗原平均螢光細胞率為 18.4% 與 13%；加金線蓮液者為 NP 平均 30.8%、HA 平均 26.1%；加 amantadine 者為 NP 32.6% 與 HA 32.8%。同樣的 IFA 結果可維持到感染後 48 小時。圖 3 舉出兩張其有代表性的細胞免疫螢光相片，左圖為只接種病毒的對照組；右圖為加了大蒜液的實驗組。

爲了明白藥液的作用是否改變了細胞內病毒基因，我們將應用一種新的技術—PCR 以測定高濃度 (MCC) 藥液（大蒜與金線蓮）對細胞與病毒之作用後，病毒 HA 基因是否受到了抑制。初步的 PCR 結果列於圖 4，從圖 4 中可看出直接取病毒懸浮液 (Lane 5,6) 做 RT/PCR（一管式反轉錄酶/PCR）可在 1.07B 鹼基對 (base pair, bp) 處看到產物 (DNA band)。Lane 2 與 Lane 4 爲 blank 與沒種病毒的細胞溶解物，均無產物出現。Lane 1 是接種病毒 12 小時後之細胞溶解物，如圖中結果可看出除了特定的 1.078 處有產物外，多餘且非特定的產物亦出現在 281/271 鹼基對處。因此，尚待進一步的實驗來測陽

性與陰性 RT/PCR 的結果，以證實病毒的基因受藥液抑制之情形。

討論

IFA 試驗在本研究可為一種測定流行性感冒病毒在 HL-CZ 細胞內生長情形的簡便方法。雖然實驗的結果證明流行性感冒 A/Taiwan/86 (H1N1) 病毒在 HL-CZ 細胞內，可被偵測出來，但根據最新的文獻指出 (Ochiai 等人，1992)，以抗血球凝集素單株抗體 (anti- hemagglutinin McAb) 測定 A 型病毒經由 Fc receptor 感染鼠類巨噬細胞樣細胞株 (murine macrophage-like cell line) P388D1 時，發現病毒的複製可能會「流產掉」，無法自細胞釋出病毒顆粒。本實驗也有類似的情形（以 HA 測定細胞外的病毒顆粒之結果均為陰性反應），不過，病毒抗原在 HL-CZ 細胞之表現仍可被測得。至於 HL-CZ 細胞對兩種不同病毒之感受性差異如何，以及病毒顆粒是否真正無法自細胞釋出，有待使用更多的 A 型與 B 型病毒株做進一步的感受性試驗。目前所得之結論是 HA 試驗不適合用於分析流行性感冒病毒在 HL-CZ 細胞內之生長情形，而以特定、準確之單株抗體商品來做 IFA 試驗則可適用。

最低細胞毒殺濃度 (MCC) 之決定是主觀性的，每一種實驗若使用不同的病毒，細胞株及藥液，則有不同的決定標準，此可進一步研究而加以標準化。本實驗的決定方法是以在培養 3 天內使活細胞降至 50 % 以下之濃度為 MCC，HL-CZ 細胞對大蒜及金線蓮藥液的耐受性極強，即使使用如 MCC 之高濃度處理，除去死亡的細胞後再給予活細胞次培養仍可活下來。至於細胞形態的變化在本實驗沒有被討論。

由於在病毒的複製過程中，核殼蛋白的表現較早出現於細胞核內，使用共焦雷射掃描顯微鏡可觀察病毒抗原的分佈與從核內移轉至胞質內的情形，結果指出可明確地看到病毒抗原分佈在核外緣區 (perinuclear zone)，這是使用傳統螢光顯微鏡所無法清楚看到的。

對於建立一個體外細胞培養病毒系統來做中藥抗病毒研究模式來說，大蒜抽取液可能適合用來做實驗。大蒜液來自大蒜精商品，據廠商指出是以低溫萃取法來保存蒜苷與蒜素的活性，這兩種化學成分的藥理作用機轉將待進一步的研究。至於金線蓮方面，本實驗使用組織培養的植物來製備抽取液，

進一步的實驗將比較野生金線蓮抽取液的效果，並研究其抗感冒的成分。

誌謝

首先感謝中國醫藥學院醫技系鍾楚紅主任熱心提供我們大蒜精，以及台北榮總病毒室醫檢師蔡正賢在實驗上的協助。最後感謝衛生署之經費支持(DOH-CD34)才得完成本實驗。

表1 HL-C2细胞对流行性感冒病毒的感受性。

antigen detection		days post-infection				
HA or IFA*	virus strain	1	2	4	6	8
extra-cellular (HA)	influenza A	±	—	—	—	—
	influenza B	—	—	—	—	—
	control	—	—	—	—	—
intra-cellular (IFA)	influenza A	+++	++	++	±	+
	influenza B	±	—	—	—	—
	control	—	—	—	—	—

*HA — hemaagglutination with 0.5% guinea pig/RBC at R.T.

IFA— immunofluorescence antibody test with specific influenza A and B virus NP monoclonal antibodies (indirect methods).

表2 以不同濃度之中藥萃取液處理之HL-CZ細胞培養細胞計數。

concentration of		day(s) of cultivation					
Chinese herb extracts		0*	1	2	3	4	5
Garlic stock: (1:5 dilution)	1:100	95.4 ⁺	98.0	96.4	97.8	96.7	93.6
	1: 50	95.7	93.8	94.9	87.5	82.1	80.7
	1: 20	96.4	95.6	95.8	91.2	91.9	79.2
	1: 10	96.8	87.1	63.8	19.7	8.3	9.8
	1: 8	93.9	81.3	39.7	16.1	15.5	15.7
<i>A. formosanus</i> stock: (10mg/ml)	0.1	98.3	98.6	100	98.4	99.3	98.6
	1.0	96.8	95.5	98.2	99.1	97.2	96.9
	2.0	98.1	97.5	97.0	96.8	93.5	80.7
	3.0	94.6	95.5	82.6	59	48.6	16.8
	4.0	87.5	88.5	89.7	25	12.5	10.9
	5.0	96.7	93.0	64.1	22.8	14.4	6.8
HL-CZ (ccc-3)		98.5	98.4	95.7	98.1	98.2	98.8

*The cells were counted before treatment of extracts at the beginning of experiment.

+viability of the cells (%)

表3 HLC-2细胞培养病毒系统加入不同萃取液之免疫
荧光细胞阳性百分率。

time pi	virus control		Garlic*		A. formosanus*		Amantadine	
	NP	HA	NP	HA	NP	HA	NP	HA
1 hr	10.5	37.5	7.1	14.7	5.1	21.8	8.2	22.9
3 hrs	10.1	20.7	7.5	23.2	10.2	12.6	7.1	16.1
5 hrs	19.5	30.4	11.6	10.3	10.7	14.1	9.4	8.1
7 hrs	33.3	59.7	17.3	19.8	19.5	33.1	17.1	10.4
9 hrs	57.7	66.8	22.2	14.5	32.5	25.3	27.7	39.6
12 hrs	48.1	75	19.6	22.8	35.8	36	29.4	51.8
24 hrs	57.1	59.2	18.4	13	30.8	26.1	32.6	32.8
48 hrs	65.3	75.2	21.7	25	61.7	35.5	26.5	38.1

*The used concentrations (MCCs) of garlic, *A. formosanus* and Amantadine were 1:10 dilution, 4mg/ml and 0.53 mM, respectively.

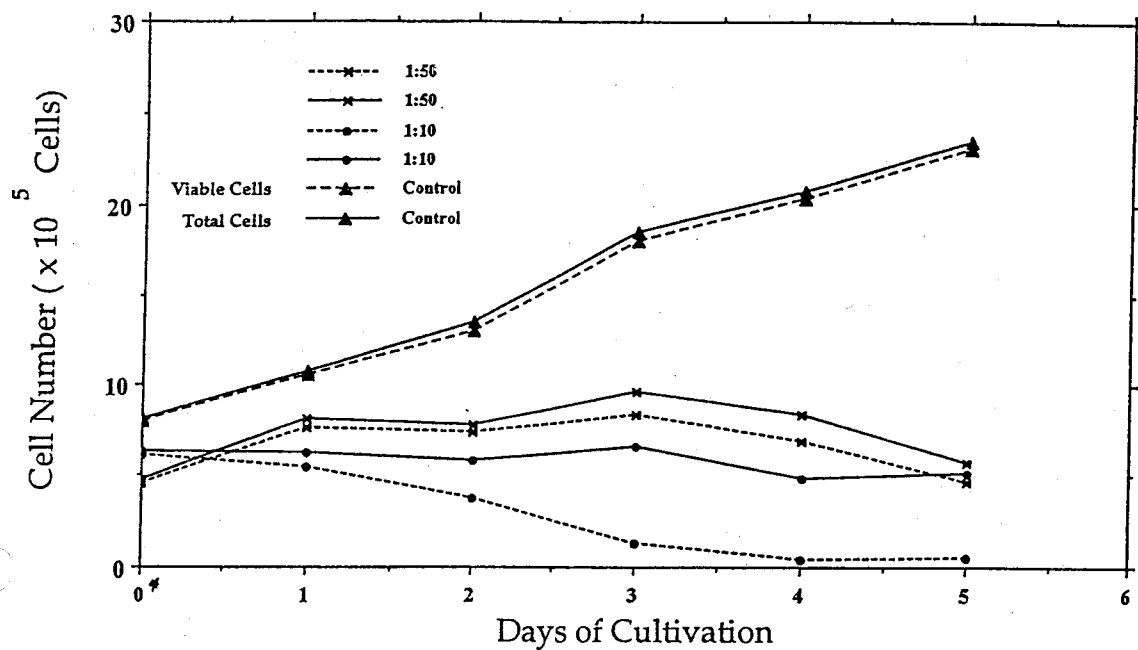


圖1 大蒜抽取液对HL-C2细胞生長曲線的影响。
 * 抽取液 (1:10 和 1:50 稀釋) 在实验開始首日细胞計數後即加入。

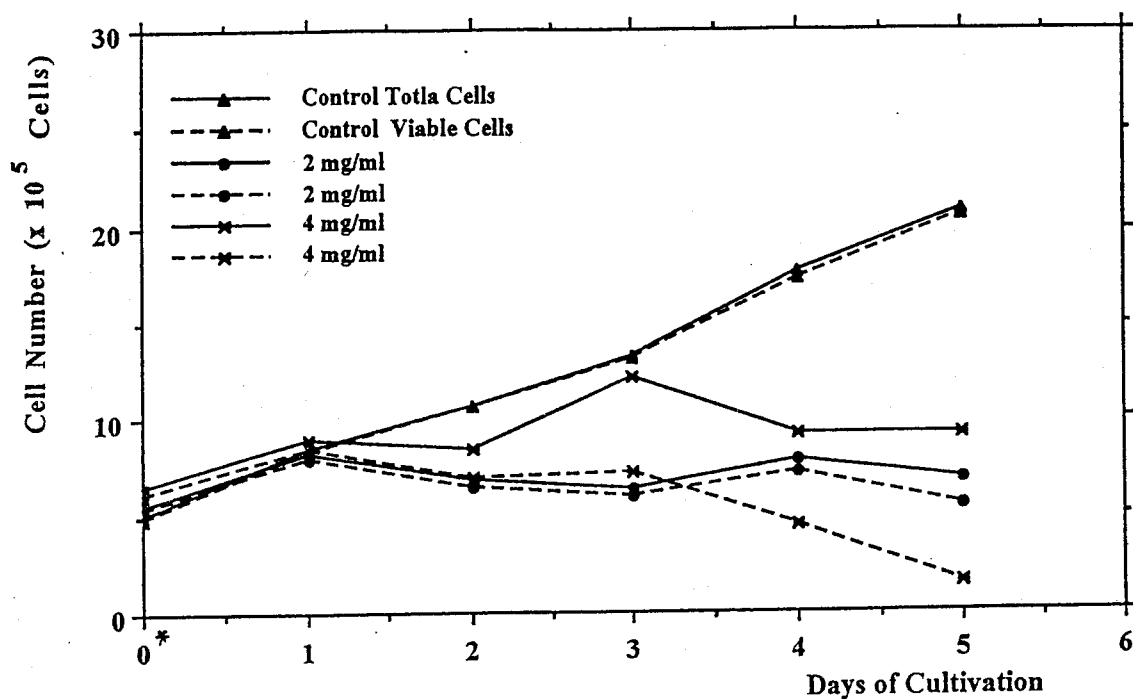


圖2 金線蓮抽取液對HL-C2細胞生長曲線的影響。

* 抽取液(4 mg/ml 及 2 mg/ml)在實驗開始的首日細胞計數後即加入

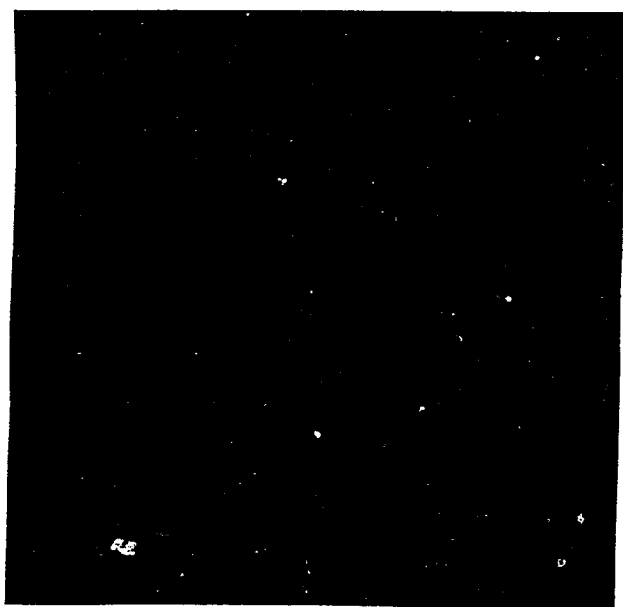
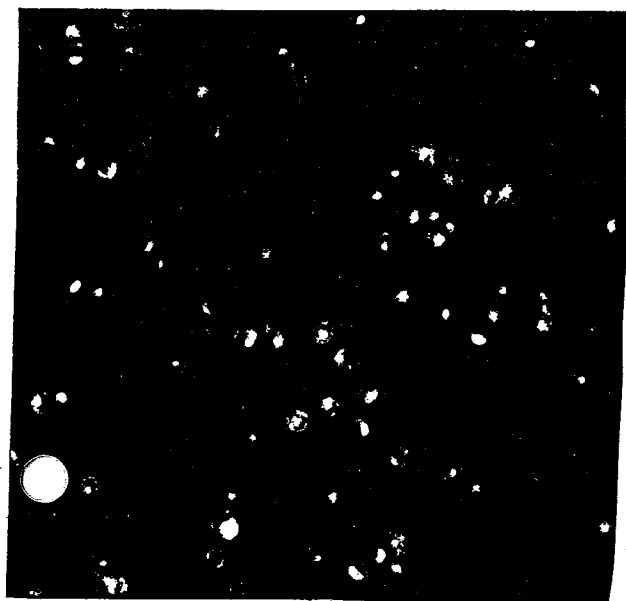


圖3 HL-C2細胞接種病毒(对照组,左圖)后再加入大蒜液(右圖),
9小時後之IFA(抗病毒HA之單株抗体)試驗結果相片。

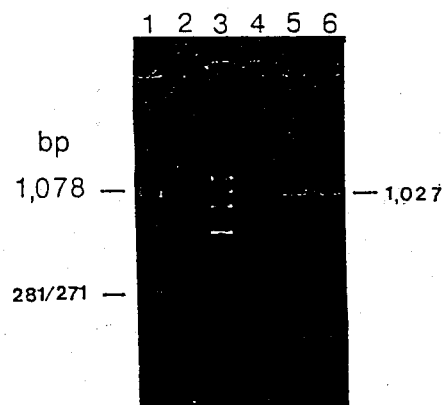


圖4 14 PCR 增幅 HAI 基因後經由洋菜膠电泳分析之產物。 ○

REFERENCES

- Block, E. (1985) The chemistry of garlic and onions. *Scientific American* 232(3), 94-99.
- Brown, L.E., Hinshaw, V.S. and Webster, R.G. (1983) Antigenic variation in the influenza A virus non-structure protein, NS1. *Virology* 130, 134-143.
- Cox, N.J., Black, R.A. and Kendal, A.P. (1989) Pathway of influenza A (H1N1) viruses from 1977 to 1986 as determined by oligonucleotide mapping and sequencing studies. *J. Gen. Virol.* 70, 299-313.
- Gadler, H., Larsson, A. and Solver, E. (1984) Nucleic acid hybridization, a method to determine effects of antiviral compounds on herpes simplex virus type 1 DNA synthesis. *Antiviral Res.* 4, 63-70.
- Hay, A.J., Wolstenholme, A.J., Skehel, J.J. and Smith, M.H. (1985) The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine. *EMBO J.* 4, 3021-3024.
- Howell, C.L. and Miller, M.J. (1984) Rapid method for determining the susceptibility of herpes simplex virus to acyclovir. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2, 77-84.
- Lathey, J.L., Van Voris, L.P. and Belshe, R.B. (1986) Superiority of tissue-culture-grown antigens over egg-grown antigens for serologic diagnosis of influenza B virus infections. *J. Med. Virol.* 19, 155-159.
- Liu, W.T., Chen, S.C., Lee, N., Tan, S.K., Liu, S.F., Dunn, P. and Chang, K.S.S. (1989) Establishment and characterization of a cell line of

- monocytic origin, HL-CZ, from human leukemia. J. Biomed. Lab. Sci. 4, 284-292.
- Liu, W.T., Wei, H.Y., Peng Y.C. and Wang, H.C. (1989) Influenza virus isolates in Taiwan, 1977-1988. J. Infect. Dis. Soci. ROC. 2, 1-8.
- Liu, W.T., Chen, C.L., Lee, S.S.J., Chan, C.C., Lo, F.L. and Ko, Y.C. (1991) Isolation of dengue virus with a human promonocyte cell line. Am. J. Trop. Med. Hyg. 44(5), 494-499.
- Lyon, J.A. and Hinshaw, V.S. (1991) Replication of influenza A viruses in an avian macrophage cell line. J. Gen. Virol. 72, 2011-2013.
- Maniatis, T., Fritsch, E. and Sambrooke, J. (1982) Molecular Cloning, 1st edit. Cold Spring Harbor laboratory, CSH, New York, p.187-193.
- McLaren, C., Ellis, M.N. and Hunter, G.A. (1983) A colorimetric assay for the measurement of the sensitivity of herpes simplex viruses to anti-viral agents. Antiviral Res. 3, 223-234.
- Mukaigawa, J., Hatada, E., Fukuda, R. and Shimizu, K. (1991) Involvement of the influenza A virus PB2 protein in the regulation of viral gene expression. J. Gen. Virol. 72, 2661-2670.
- Ochiai, H., Kurokawa, M., Matsui, S., Yamamoto, T., Kuroki, Y., Kishimoto, C. and Shiraki, K. (1992) Infection enhancement of influenza A NWS virus in primary murine macrophages by anti-hemagglutinin monoclonal antibody. J. Med. Virol. 36, 217-221.
- Prichard, M.N., Turk, S.R., Coleman, L.A., Engelhardt, S.L., Shipman, C. and Drach, J.C. (1990) A microtiter virus yield reduction assay for the

- evaluation of antiviral compounds against human cytomegalovirus and herpes simplex virus. *J. Virol. Methods* 28, 101-106.
- Rabalais, G.P., Levin, M.J. and Berkowitz, F.E. (1987) Rapid herpes simplex virus susceptibility testing using an enzyme-linked immunosorbent assay performed in situ on fixed virus-infected monolayers. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 946-948.
- Rajakumar, A., Swierkosz, E.M. and Schulze, T. (1990) Sequence of an influenza virus hemagglutinin determined directly from a clinical sample. *Proc. Natl. Sci. Acad. USA.* 87, 4154-4158.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T. Mullis, K.B., and Erlich, H.A. (1988) Enzymatic amplification of gamma-globin genomic sequence and restriction sites analysis for diagnosis of sickle cell anaemia. *Science* 230, 1350-1354.
- Sugrue, R.J., Bahadur, G., Zambon, M.C., Hall-Smith, M., Douglas, A.R. and Hay, A.J. (1990) Specific structural alteration of the influenza hemagglutinin by amantadine. *EMBO J.* 9, 3469-3476.
- Swierkosz, E.M., Scholl, D.R., Brown, J.L., Jollick, J.D. and Gleaves, C.A. (1987) Improved DNA hybridization method for detection of acyclovir-resistant herpes simplex virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 31, 1465-1469.
- Telenti, A. and Smith, T.F. (1989) Screening with a shell vial assay for antiviral activity against cytomegalovirus. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 12, 5-8.
- Walls, H.H., Harmon, M.W., Slagle, J.J., Stocksedale, C. and Kendal, A.P.

(1986) Characterization and evaluation of monoclonal antibodies developed for typing influenza A and B viruses. J. Clin. Microbiol. 23, 240-245.

利用分子篩—高效液態層析儀 (SE-HPLC) 分析真菌性中藥材之 1-3-BETA 多糖體

台北醫學院 · 中藥醫學研究中心

蘇慶華

中文摘要：

本研究以 SE-HPLC 為中心，分析包括茯苓、豬苓、雷丸以及冬虫夏草等真菌性藥材之可溶性多糖之分子量及含量分佈，並配合酸水解，酵素水解以及史密斯降解法作為糖組成及構造上之佐證，說明 SE-HPLC 在可溶性多糖分析上與傳統方法相比較，可達迅速分析之效果，並且說明不同真菌性藥材之多糖所呈現之差異。利用此一方法可分析分子量在 $30 \times 10^6 - 1 \times 10^5$ 範圍之多糖以及經由酵素水解後產生之小分子糖，並得知一般真菌藥材之中性可溶性多糖成分為 3-5 % (W/W) 之範圍。而屬於腹菌綱之真菌藥材在高分子 (2×10^6 以上) 多糖在組成及結構上無太大之差異，均由葡萄糖之 1-6 及 1-3-beta 價鍵組成，但在與低分子多糖 (2×10^5 以上) 之分配上則有顯著之差異，其中以雷丸之高分子糖較多。來自子囊菌之冬虫夏草則在組成上有異於腹菌綱及多孔菌，其係由 GALACTOSE 及 MANNOSE 之複雜構造組成。

一、前言：

以真菌為材料之中藥材，舉凡冬虫夏草、茯苓、豬苓及雷丸等，均有報告顯示，是以 1-3-BETA- 多糖為主鍵，並具 1-6-BETA 結合之聚合物，具有免疫上之功能，但此類多糖易與澱粉、糊精等不具生理活性之物質相混合，而造成分析時相互干擾之現象，尤其在許多靈芝產品中即有添加大量澱粉之情形。而以往分析 1-3-BETA- 多糖之方法主要以酒精 (50-75 %) 沉降物再溶解，以層柱 (離子交換低壓分子層柱) 分離，再以化學方法如甲基化 (METHYLATION)，SMITH 降解，再以氣相層析分析其糖之組成，糖鍵結合 (1-2, 1-3, 1-4, 或 1-6)，而 ALFA 或 BETA 之結合要用核磁共振儀或酵素水解

法來加以證明。本研究則擬用分子篩—高效液相層析法之特性，快速而穩定得達到分子量分析的目的。並結合化學方法與酵素水解法來證明 1-3- 多糖之存在，並利用 SE-HPLC 可得到分子量分佈之特性得知其含量。

HPLC 爲目前各研究案較爲普遍之儀器，因此，如能發展出一種能爲多數實驗室所普遍採用之方法，將對於此類物質之分析有所助益，而 SE-HPLC 與其它種類 HPLC 之差異，僅在層柱 (COLUMN) 上有所不同。而且所用之流動相亦只用去離子水 (DEIONIZED WATER)，適合例長之分析，故 SE-HPLC 已逐漸應用於質之分離及純化，並利用作爲分子量之決定 (誤差小於 10 %) 上採行。而在多糖方面則因偵測方法較爲困難，則較少採用。本研究將利用紫外線 (UV)-195NM，RI 及 PHENOL-H₂SO₄ 法，混合偵測可得到相當良好之效果。

至於分析的理論上 SE-HPLC (Size-exclusion, 或 gel-filtration, 或 gel-permeation 或 molecular-sieving 之 HPLC) 及因一些堅硬度強並足以支撐膠體之孔洞，適合在較高壓力下對於不同分子大小進行分離之填充物質業已開發，故以高速下得到可再現之層析圖，並且分析之樣品量可至數 mg，如配合適當之偵測器則可以快速的進行定性及定量之工作。當然配合其他前處理及其他酵素、化學方法則更有效的決定多糖之性質。

二、研究材料及方法：

真菌性中藥材將如圖一進行分析。

(一)藥材：選擇真菌性中藥材，豬苓、冬蟲夏草、茯苓、雷丸爲材料進行分析。

(二)粉碎：以磨粉機將藥材粉碎至 10-10um 之菌絲片段。

(三)萃取：以 0.01 M phosphate buffer, pH 7.0 萃取中性多糖。

萃取溫度 95 度 C, 12 hr，萃取比率取 1:200 可用 1-2 克材料進行。

(四)過濾、離心：除去藥材之菌絲片段、並以高速除去真菌包子。

(五)上清液直接注入 HPLC 分析，或進行酵素，酵素或酸水解。

(六)-1 酵素水解依 Pazur (1987) 方法進行，可知是否爲 alfa 或 beta form 或糖組成。

(六)-2 酸水解依 Chaplin (1987) 方法進行，可知單糖組成，分析由層柱純化之樣品。

(㉞)-3 Smith 降解，依 Pazur (1987) 方法進行，可知是否為 1-3- 結合鍵。

(㉟)移動項基本上為去離子，將依需要改變 pH 及離子強度。

(㊱)HPLC-pump 為 Shimadzu 4A，流速 3-4ml/min. 壓力為 30-40kg/cm²。

(㊲)注入器：附有 1ml 之 100 μ l，可注入 0.1 - 1.0ml 之樣品，視分析或純化而定。

(㊳)層柱為基本上以 Fructogel-TSK-HW-65(S)20-40UM 之膠體為填充物，自行充填密度及緩衝液視實驗而定，管柱以耐壓達 100KG/CM² 之 superformance column 1.6cm-2.6cm I. D \times 30-60 cm L 為原則。

(㊴)UV 偵測器：以 195nm 為測定碳水化合物之波長。

(㊵)RI 以放大信號比 1/82 進行偵測，RI 為非特異性之偵測器，故可作為相對量之參考值。

(㊶)Fraction collector 將收集每次之 eluent 進行 (㊴) phenol-H₂SO₄ 之碳水化合物測定 (Chaplin 1987) 以決定是否為糖類如純化進行時，可收集進行 (6-2) 及 (6-3) 之方法，偵測單糖組成及 1-3 結合鍵，或進行 (6-1) 之酵素水解。

三、研究結果：

(一)分子量之標準曲線及分子量分佈校正

由已知分子量之糊精對本研究所採用之層柱進行標準曲線及分子量校正之工作，所採用之糊精為 BLUE DEXTRAN (分子量 2×10^6)，DEXTRAN 四種分別為分子量 5.1×10^5 ， 2.5×10^5 ， 1.38×10^5 ， 6.3×10^4 (購自 Sigma) 以及葡萄糖 (Glucose)，其結果如圖二及圖三，分別利用 UV (195NM) 及折射率測定器 (RI) 以及化學比色法測定，顯示所用之層柱在分子量 5.0×10^4 至 2×10^6 之範圍內具有相當良好之分離效果，而單糖亦可在分離之尾端呈現出來。

本研究乃根據本特性進行多糖體之分析工作，而 SE-HPLC 之儀器配置及操作條件，則如圖四所顯示。

(二)對藥用真菌萃取液進行 SE-HPLC 之結果

以蒸餾水或者 pH7.0 之 0.2M 磷酸緩衝液進行藥用真菌多糖體之萃取，而以 SE-HPLC 分析之結果如圖五。由圖五所計算出來的各種藥用真菌多糖體之分子量於 (表一) 表示，其分子量則以平均分子量來表示。

基本上，在茯苓、豬苓及雷丸之水萃取液中，顯示，具兩個不同分

子量之多糖。而冬蟲夏草則為較複雜之單一分佈，其所涵蓋之範圍由 $6.0 \times 10^6 - 1.2 \times 10^6$ 。

一般而言，在分子量在 5×10^5 以上在文獻上具有免疫增強之生理活性，因此本研究乃對分子量較大的 F1 進行純化，以 3×10^5 之分子膜進行分割、經過冷凍乾燥後分別得到 5mg 之多糖，進行往後之分析工作。

(三) 多糖含量之測定

對水萃取液分析多糖含量時，以 SE-HPLC 流出液對多糖進行 PHENOL- H_2SO_4 測定，並 1-3-BETA 為主鏈之多糖 CURDLAN 作為標準品進行比較，其結果如（表二），而不論何種藥用真菌，其水萃取液均不含低分子糖，因此可以利用其萃取液進行含糖量之測定，其間差異甚小。（表二）

(四) 第二次萃取之結果

以等量之水進行，對第一次萃取之不溶物進行萃取，再進行 SE-HPLC 以及 PENOL- H_2SO_4 測定發現，在第二次萃取液中，所含之多糖已經很少（圖六），因此，如果以 100 倍溶液萃取多糖，可萃取約 95 % 之多糖，而不必再行第二次萃取。

(五) 糖類之組成

取一毫克之多糖以鹽酸 (0.2N) 進行糖類水解，分別以 TLC 及 GC 分析水解物，其結果如圖七、及圖八、所顯示，在茯苓、豬苓以及雷丸所得到之結果均相同，是由單一葡萄糖所組成，而冬蟲夏草所得到之結果則由半乳糖 (GALACTOSE) 及 MANNOSE 組成，並且以 MANNOSE 之含量較多，顯示冬蟲夏草所組成之多糖與其它三種多糖在糖的組成上有所不同。

(六) 史密斯降解法 (SMITH DEGREATION) 之結果

以 2mg 之 F1 進行史密斯降解，再以鹽酸水解，進行乙醯化 (ACETYLATION) 以 GC 分析，其結果如圖九，在茯苓水解物中含有較

大量之二碳及三碳產物，並且具有較少量之葡萄糖，這種結果顯示，構造上，茯苓之多糖乃以 1-6 為主，並且具有較少之 1-3 結合；而雷丸及豬苓則顯示在二碳、三碳及葡萄糖之比例十分接近，顯示其為以 1-3 為主之價鍵並有 1-6 之側鏈結構，與茯苓之結合方式不同。而冬蟲夏草之多糖則顯示出較為複雜之情況，其構造同時顯示具有 1-3，1-4，及 1-6 之結合，而由其 SE-HPLC 圖形也顯示其組成較為複雜。

(七) 酵素之水解

本研究利用 *alfa-amylase*, *beta-glucosidase* 以 *cellulase* 分別對茯苓、豬苓、雷丸及冬蟲夏草之多糖進行水解，經過 44 小時後再行 SE-HPLC 分析，理論上，如果真菌性之多糖能被以上三種酵素分解，則在 HPLC 之圖譜上呈現分子量改變之情形，也就是說原來的峰 (PEAK) 會有右移的現象，此四種多糖在處理前後之圖形分別列於圖十至圖十三。

在圖九中，可見茯苓之多糖在 ALFA-AMYLASE 中並沒有發生位移的現象，而在圖十一 II 中所多出之一峰，則為 ALFA-AMYLASE 中原本所添加做為安定性之糊精，並非水解產物，而圖十一 III 中則可顯看出原來的多糖經水解後含量減少，並多出一個單糖之測定峰，顯示經水解後，形成小分子糖，而在 CELLULASE 則無明顯之改變，這顯示茯苓之多糖結合鍵為 BETA 型。

相同之情形亦發現在豬苓、雷丸以及冬蟲夏草之水解物中（圖十、十一、十二），而 BETA-GLUCOSIDASE 同時具有水解 BETA 型 GALACTOSE 之能力，因此，在圖十三 - III 中，冬蟲夏草之多糖亦被水解而產生一寡糖測定峰。

四、討論：

由以上之分析結果顯示，在茯苓、豬苓、雷丸以及蟲及夏草之多糖，在結構及組成上有顯著之差異，包括：

(一) 在分子量之分佈上，茯苓及豬苓含有較多低分子量之多糖 ($2.2-2.5 \times 10^5$) 而含較少高分子多糖 (1×10^6)；相反的，在雷丸則含較多的高分子多糖（圖

五，表一及二），冬蟲夏草則呈現一連續性分子量分佈之多糖。

(二)在含量上則以豬苓之含量稍高，但可溶性多糖則佔真菌性藥材之3-5% (W/W)左右。

(三)基本上，茯苓、豬苓及雷丸這些屬於擔子菌亞腹菌綱之真菌具有共同性質之多糖，均由單一葡萄糖所組成，而以BETA-1-6為主，BETA-1-3為副之主鏈（圖八、九）而在分類上屬子囊菌之冬蟲夏草則由GALACTOSE及MANNOSE所組成，其組成較為複雜，包括BETA-1-3, 1-4, 及1-6之連結鍵，必需用更進一步的分析才能得到其詳細之構造，因此，本研究之分析亦可看出多糖成分與分類學上的一些關係。另外，由以前所作之分析亦可看出在靈芝多糖中，由史密斯降解之分析中，顯示為以GLUCOSE為主之1-3連結鍵，而以1-6為副之側鏈構（圖十四）則為多孔菌之主要結構。

以上這些分析足以顯示在腹菌綱，多孔菌，以及子囊菌在多糖之組成中有所差異。

(四)本研究中所採用之方法主要是利用SE-HPLC進行分析，其優點在於：

1. 以極少量之樣品即可快速得知分子量之分佈，本研究所用之分析量為0.2毫升，所含之多糖濃度為1-5mg/ml。
2. 以蒸餾水為分析時之移動相，在成本上十分節省。
3. 配合鹽酸水解，史密斯降解，以及酵素水解，可以得到其醣組成、大致上結合鍵之情形以及其 α -或 β -之構造，其所用的純化多糖在5-10毫克即已足夠。
4. 對於多糖之純化程度，可利用少量的樣品加以快速的分析，分析一個樣品，在本研究中為四十分鐘。

但本方法之限制在於：

1. 所分析的多糖分子量在 $3.5 \times 10^6 - 1 \times 10^5$ 之範圍，超出此一範圍則分析之結果準確度降低。
2. 具有對可溶性的多糖可進行分析。
3. 對於分析之效率，仍比一般HPLC稍差（一般在20 - 30分鐘），但此點

可經由改變膠體之硬度加以改善。

五、結論與建議：

利用 SE-HPLC 分析真菌性中藥材中之多糖成分可以達成：

1. 對可溶性多糖分子量，含量之分佈做迅速的分析。
2. 如配合酵素之水解，可以得知其糖類結合的形成。
3. 配合酸水解及史密斯降解則可更充分得知多糖構造上之資料。
4. 由以上分析可以區分不同真菌種類多糖之來源為腹菌綱（茯苓），多孔菌科（豬苓、雷丸、靈芝）或子囊菌（冬蟲夏草）。
5. 可利用 SE-HPLC 做為分離、純化多糖之良好工具。

根據以上方法之分析，建議除以 SE-HPLC 作為分析工具外，可進一步測試不同分子量之真菌性多糖，在生理活性上之功能。例如，抗腫瘤之活性與其分子量及糖結構上之差異，則可更進一步利用 SE-HPLC 來分析生理活性物質之可行性。

1. Chaplin, M. F. 1987 Monosaccharide. In M. F. Chaplin & J. F Kennedy (eds.), "Carbohydrate analysis", p.1-50. Irl press, Oxford.
2. Chihara, G. et al 1987. "Antitumor and metastasis-inhibitory activities of lentinan as an immunomodulator". Cancer Detection and Prevention Supplement. 1:423-443.
3. Miyazaki, T., et al 1974 "Chemical structure of antitumor polysaccharide, Coriolan, produced by Coriolus versicolor". Chem. Pharm. Bull. 22:1739.
4. Miyazaki, T. et al 1974. Studies on fungal polysaccharides. XX. "Galactomannan of cordyceps sinensis". Chem. Pharm. Bull. 25:3524-3328.

5. Miyazaki, T. and M. Ishijima 1981 "Studies on fungla polysaccharides". XXVII. "Sturctural examination of a water-soluble antitumor polysaccharide from Cordycpes ophioglossoides in mice". Jpn. J. Cancer Res. Chemi. Pharm. Bull 29:3611.
6. Ohmori, T. et al 1986 "Antitumor activity of protein-bound polysaccharide from Cordyceps sphioglossoides in mice". Jpn. J. Cancer Res. 77:1256-1263.
7. Pazur, J. H. 1987 "Neutral polysaccharide". In M. F. Chaplin & J. F. Kennedy (eds.) Carbohydrate analysis, p.71-74. Irl press, oxford.
8. Su, C. H., L.R. Hsu and T. C. Tung 1991 "Application of SE-HPLC on analyzing polysaccharides produced by mushrooms". In Maher(ed.)Science and Cultivation of Edible Fungi,p329-335. Balkema, Rotterdam.
9. Usi, T.et al 1981 "Antitumor activity of water sobluble beta-glucan elaborated by ganoderma applanatum". Agric. Biol. Chem. 45:323.
10. Welling, G. W. and J. F. Welling-Waster 1989 "Size-exlusion HPLC of protein". In Oliver (ed.), HPLC of macromolecules, p.77-89. Irl Press, Oxford.
11. Yamada, H. et al 1984 "Structure of a galactosaminoglycan from Cordyceps ophioglossoides", Carbohydrate Research 134:275-282.
12. Yanki, T. , et all 1986 "Correlation between the antitumor activity of Schizophyllan and its triple helix". Agr. Biol. Chem. 50:2415-2416.

表一、由真菌性藥材萃取可溶性多糖之分子量

Table 1. Average molecular weight of polysaccharides from medicinal fungi

	F ₁ [@]		F ₂ [#]	
	Ve/Vc	M.W.	Ve/Vc	M.W.
<u>Poria cocos</u> Hoelen	0.270	4.6x10 ⁶	0.624	2.5x10 ⁵
<u>Polyporus Umbellatus</u> Fungus Umbellatus	0.259	5.3x10 ⁶	0.675	2.0x10 ⁵
<u>Polyporus mylittae</u>	0.288	3.9x10 ⁶	0.507	5.1x10 ⁵
<u>Cordyceps sinensis</u>	0.25- 0.43	6.0x10 ⁶ 1.2x10 ⁶	---	---

@ First peak area in Fig. 5.

Second peak area in Fig. 5.

表二 真菌性藥材之多糖體含量

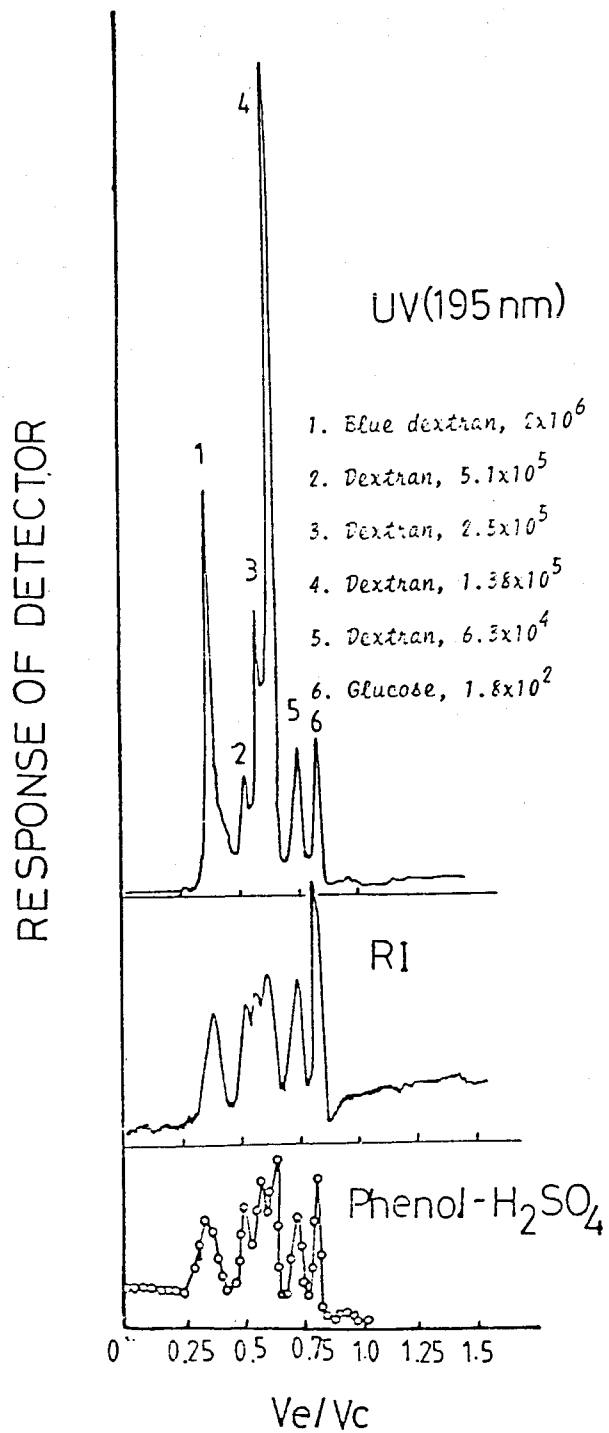
Table 2. Water soluble polysaccharide content of medicinal fungi

	F ₁	F ₂	(mg/g)@	
			Total a#	b¢
<i>Poria cocos</i>	7.83	22.85	30.68	32.52
<i>Polyporus umbellatus</i>	15.17	40.55	55.72	59.62
<i>Polyporus mylittae</i>	39.33	10.75	49.75	50.31
<i>Cordyceps sinensis</i>	35.72		35.72	35.09

@The carbohydrate content is expressed as glucose by phenol-H₂SO₄ method.

#Calculated by the summation of F₁ and F₂.

¢Determined directly to extract.



圖二 已知分子量之糊精在本研究方法中之分佈圖

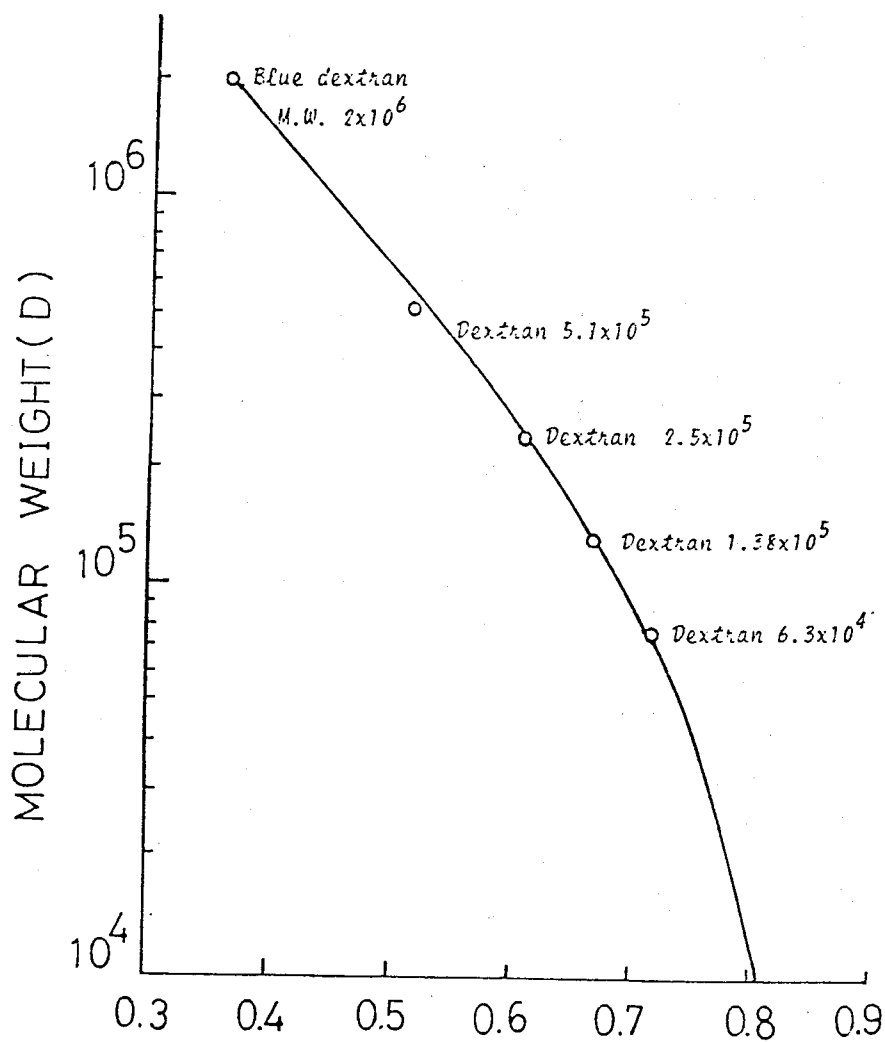


Fig. 2 Calibration curve of standard dextrans for Fructogel TSK-HW-65(S)

V_e/V_c

圖三 利用 TSK-HW(S) 膠體之多糖校正曲線

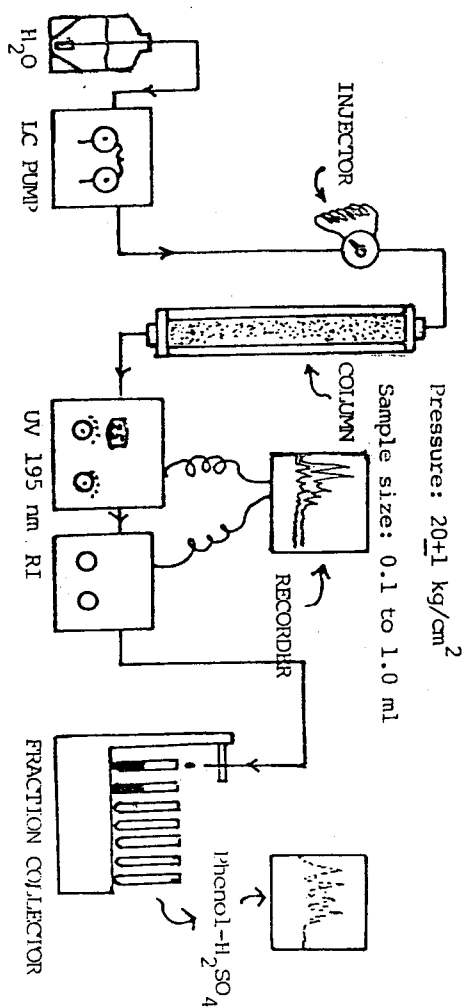
Column: Superperformance, Merck, 1.6cm I.D. x60cm
 Gel: TSK-HW 65(S), Merck, 120 ml

Mobile phase: Deionized H_2O

Flow rate: 3ml/min

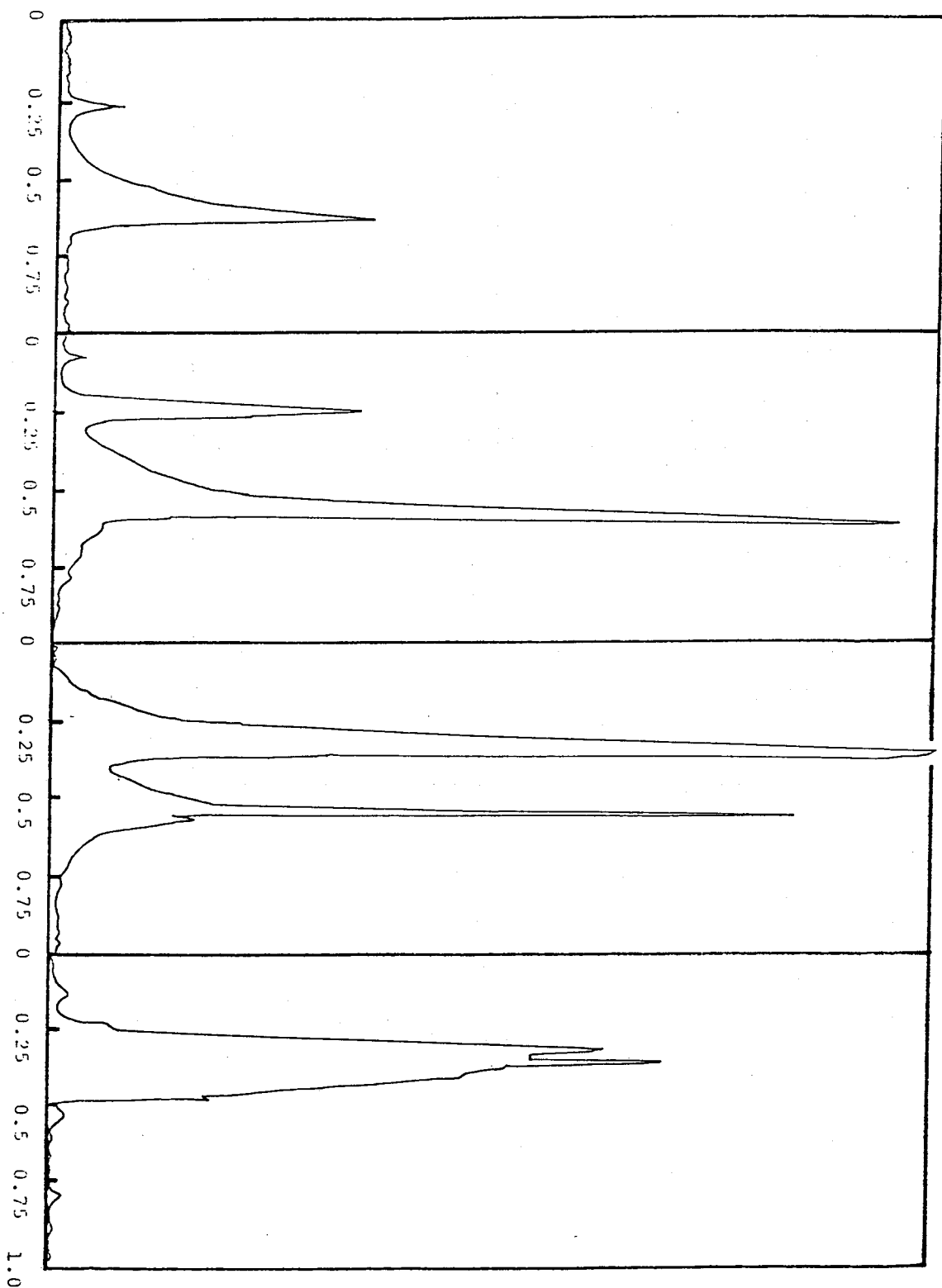
Pressure: $20 \pm 1 \text{ kg/cm}^2$

Sample size: 0.1 to 1.0 ml



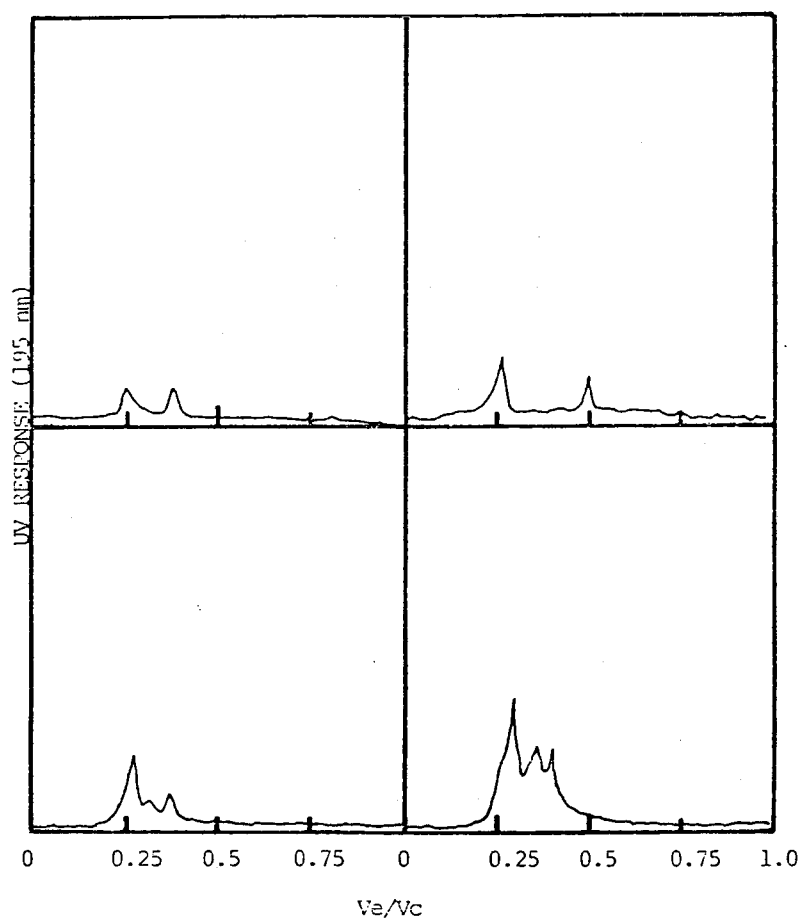
圖四 SE-HPLC 之條件及配置

UV RESPONSE (195 nm)

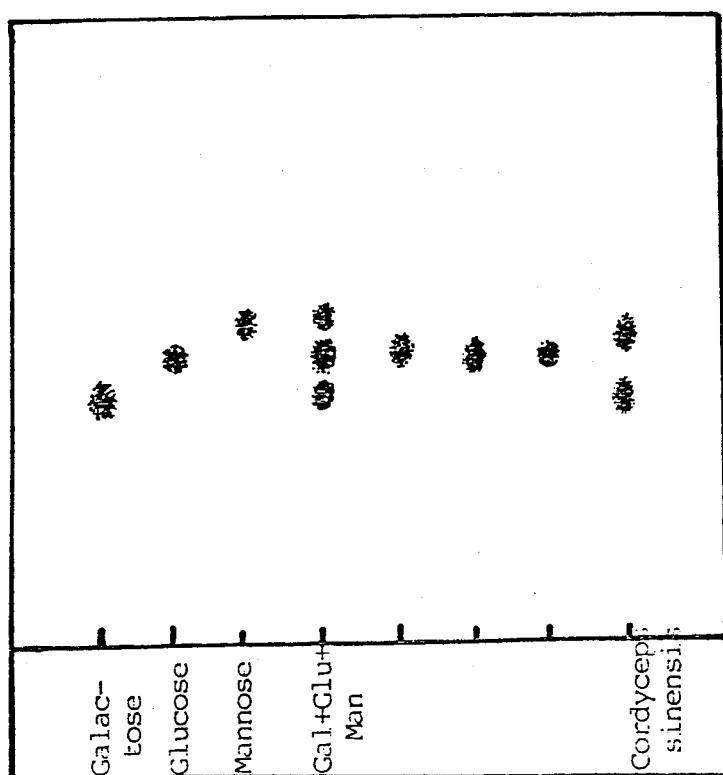


圖五 利川 SE-HPLC 分析與結構材料多糖之層析圖
(I. 茯苓 II. 豬苓 III. 雷丸 IV. 寧神散 V. 寧神散)

VC/Ve

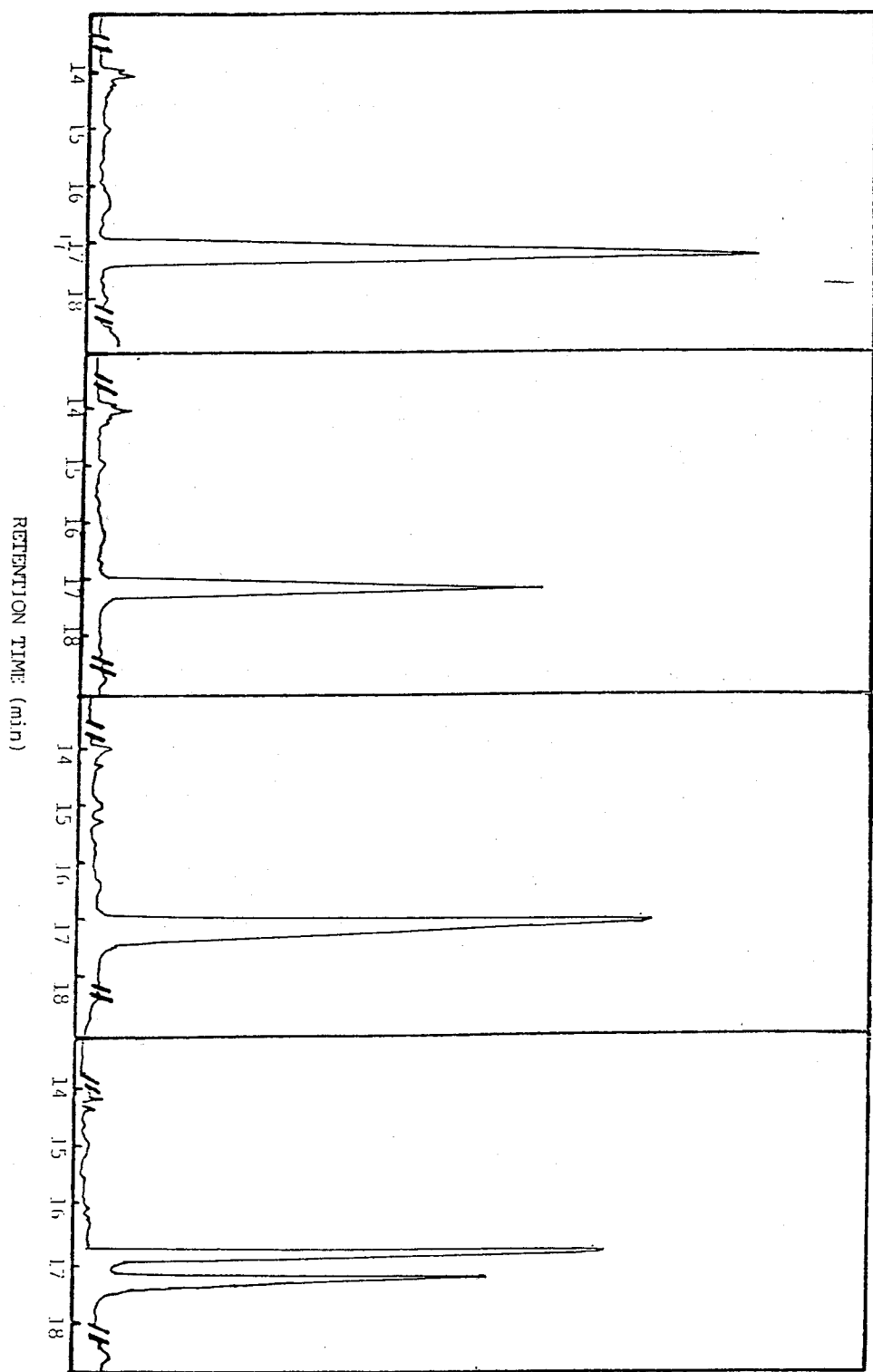


圖六 經第二次萃取後利用 SE-HPLC 分析多糖之層析圖
(I. 茯苓 II. 豬苓 III. 雷丸 IV. 冬虫夏草)

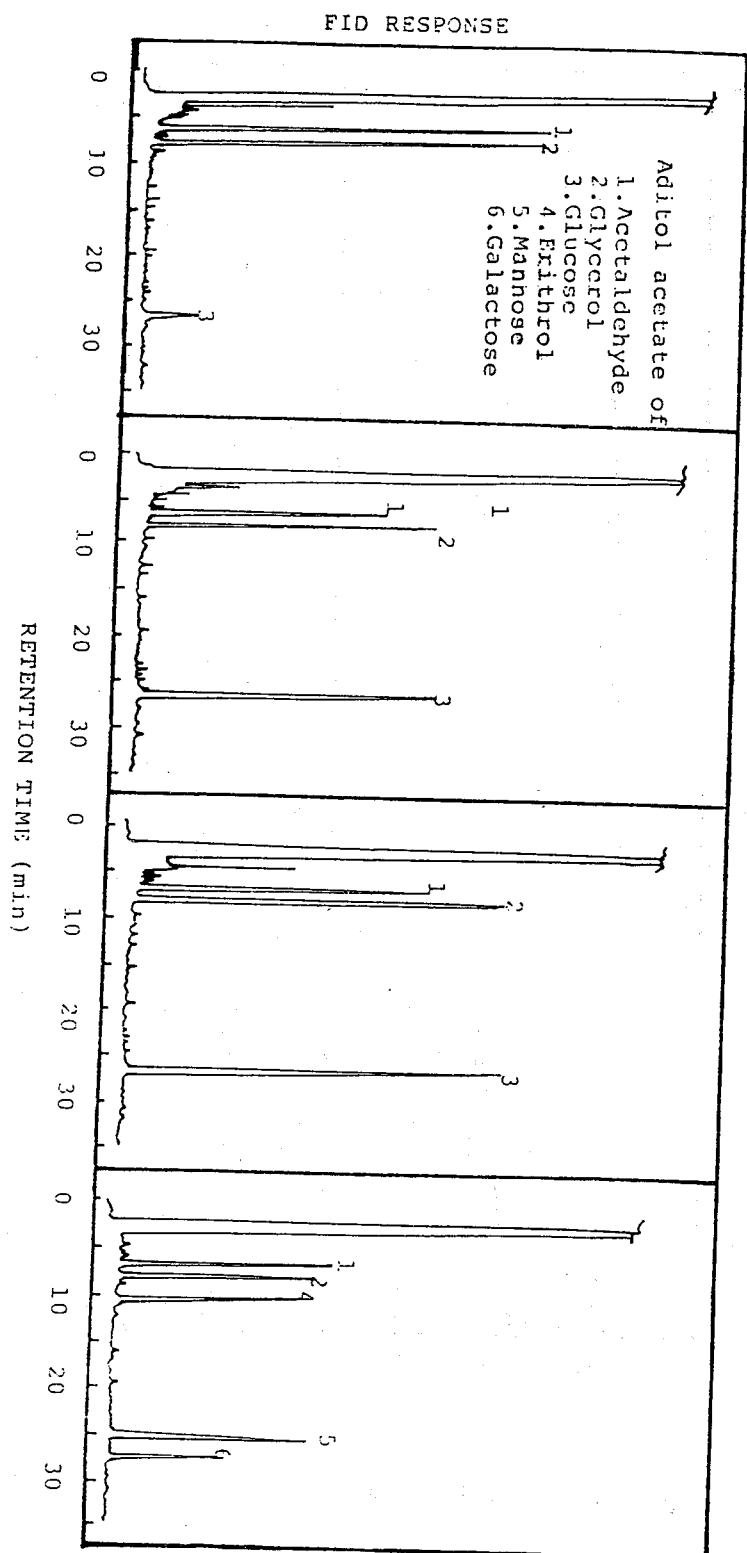


圖七 經鹽酸水解後之多糖以 TLC 分析單糖組成
(I. 扶苓 II. 豬苓 III. 雷丸 IV. 冬虫夏草)

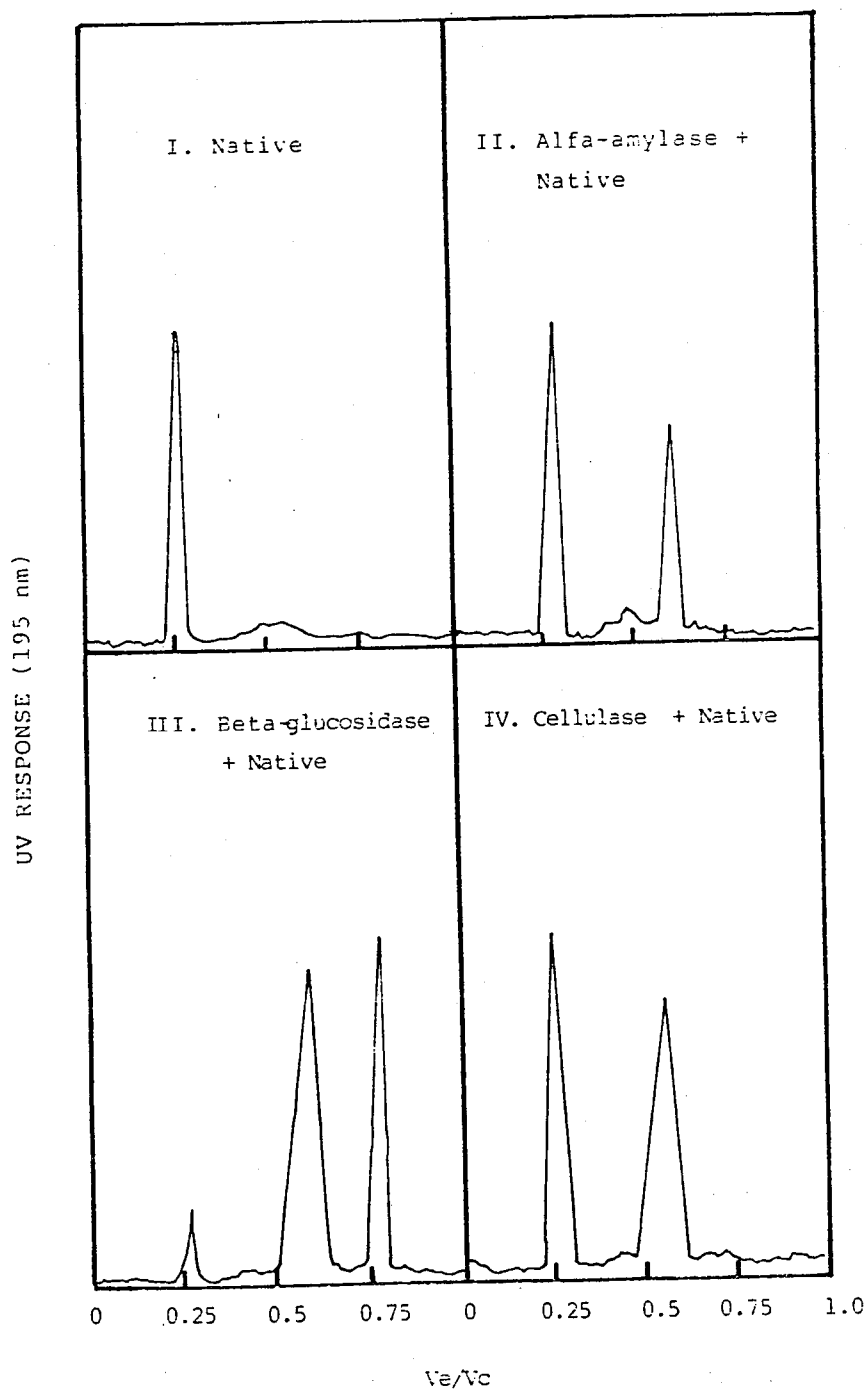
FID RESPONSE



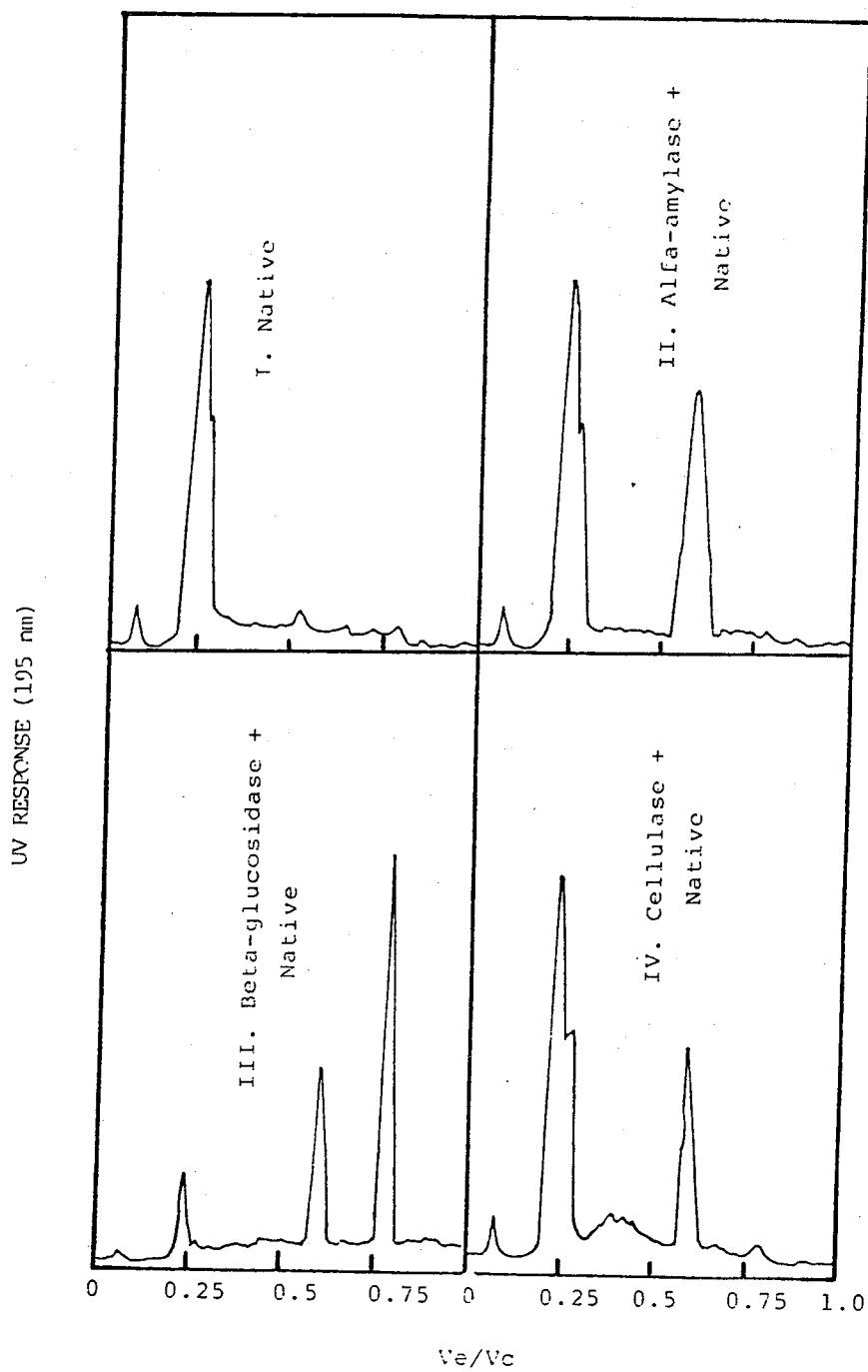
圖八 經鹽酸水解後之多糖乙醯化以 GC 分析單糖組成
(I. 茯苓 II. 豬苓 III. 雷丸 IV. 冬蟲夏草)



圖九 史密斯降解後之 GC 層析圖
(I. 茯苓 II. 豬苓 III. 雷丸 IV. 冬虫夏草)



圖十 以不同酵速水解茯苓多糖後以 SE-HPLC 分析之層析圖



圖六 以不同酵素水解豬苓之多糖後以 SE-HPLC 分析之層析圖

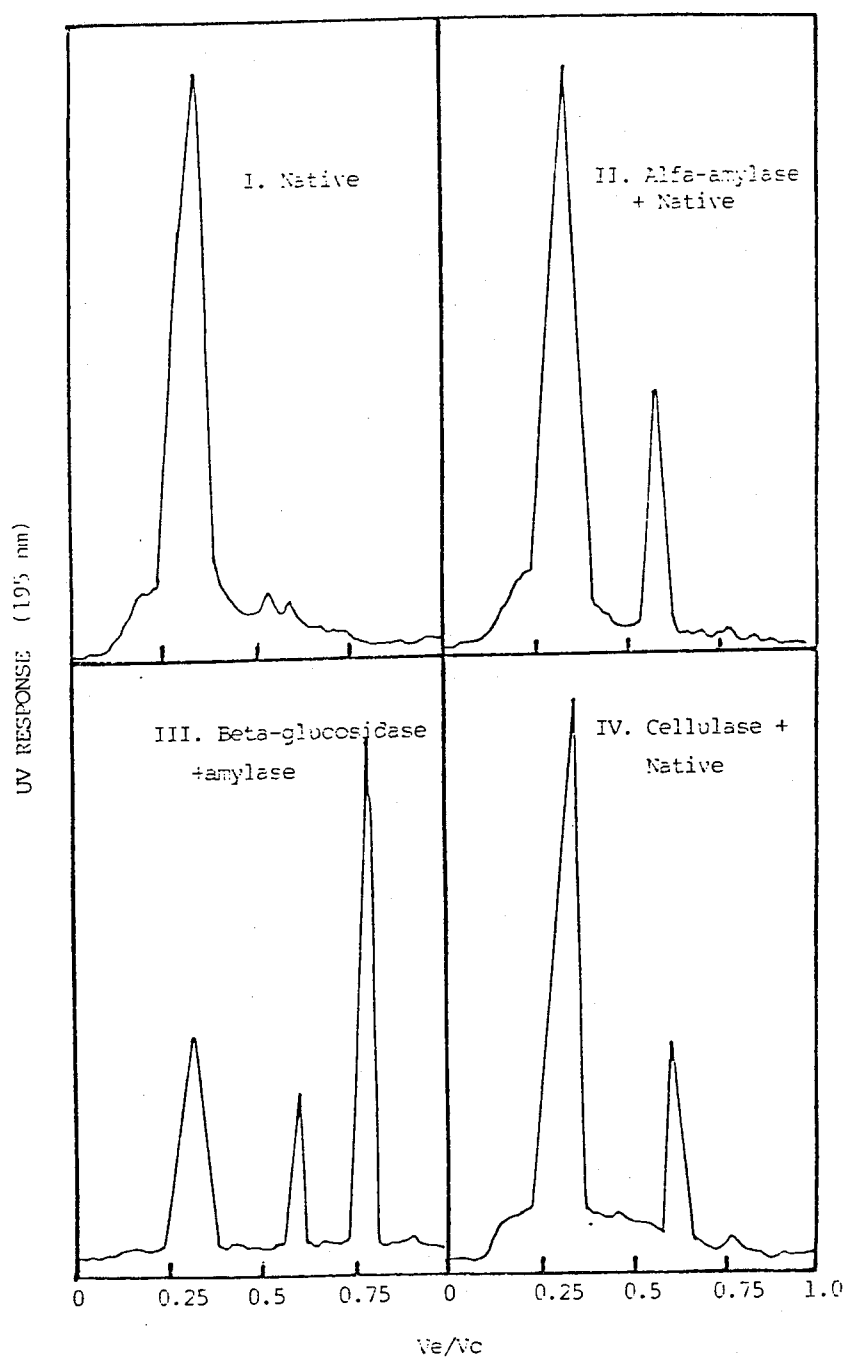


圖 4 以不同酵素水解雷丸之多糖後以 SE-HPLC 分析之層析圖

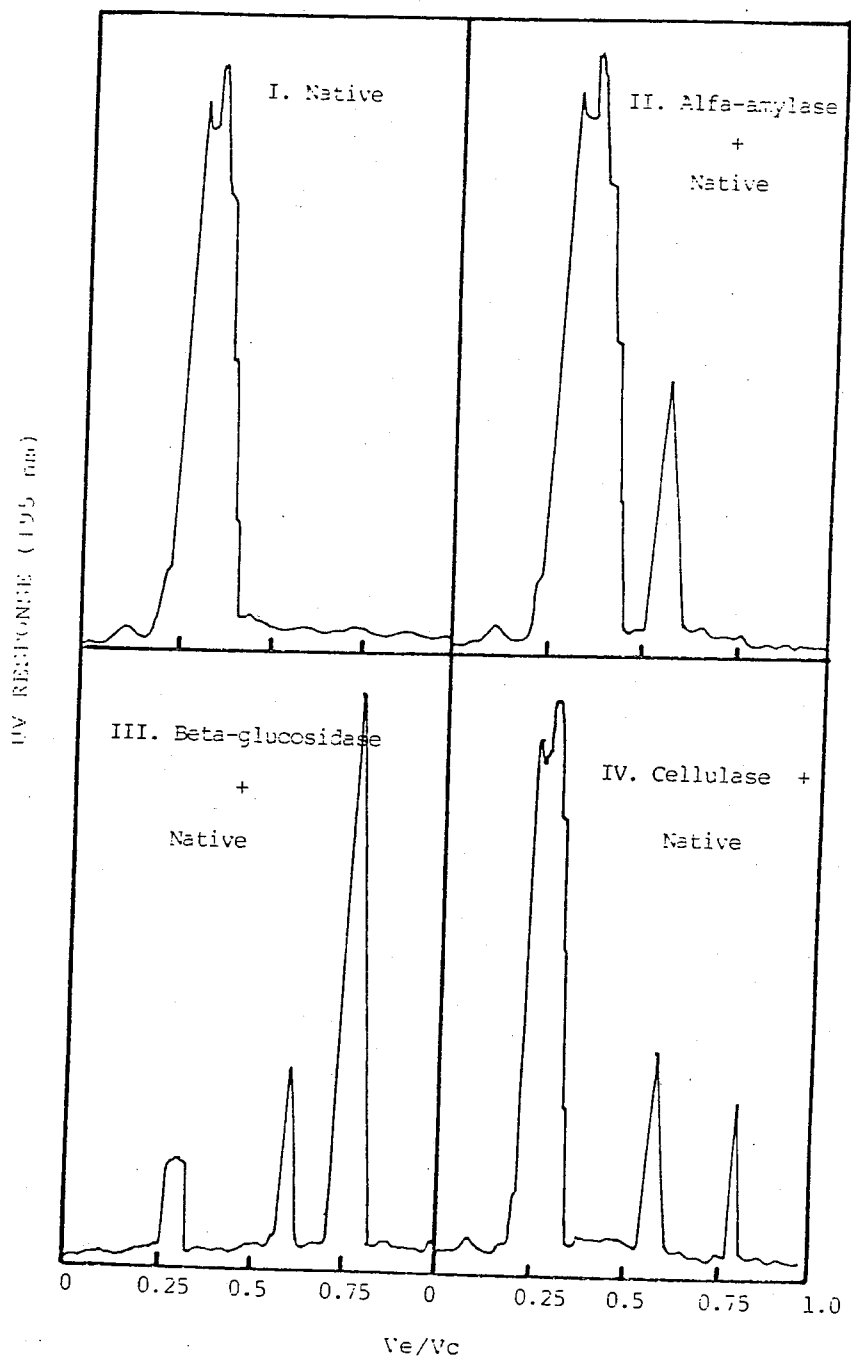


圖 4 以不同酵素水解冬虫夏草之多糖後以 SE-HPLC 分析之層析圖

1. Chaplin, M. F. 1987
Monosaccharide. In M. F. Chaplin & J. F Kennedy (eds.),
Carbohydrate analysis, p.1-50. Irl Press, Oxford.
2. Chihara, G. et al 1987.
Antitumor and metastasis-inhibitory activities of lentinan
as an immunomodulator. Cancer Detection and Prevention
Supplement. 1:423-443.
3. Miyazaki, T., et al 1974
Chemical structure of antitumor polysaccharide, Coriolan,
produced by *Coriolus versicolor*. Chem. Pharm. Bull.
22:1739.
4. Miyazaki, T. et al 1977.
Studies on fungal polysaccharides. XX. Galactomannan of
Cordyceps sinensis. Chem. Pharm. Bull. 25:3524-3328.
5. Miyazaki, T. and M. Ishijima 1981
Studies on fungla polysaccharides. XXVII. Sturctural
examination of a water-soluble antitumor polysaccharide
from *Cordyceps ophioglossoides* in mice. Jpn. J. Cancer Res.
Chemi. Pharm. Bull 29:3611.
6. Ohmori, T. et al 1986
Antitumor activity of protein-bound polysaccharide from
Cordyceps sphioglossoides in mice. Jpn. J. Cancer Res.
77:1256-1263.
7. Pazur, J. H. 1987
Neutral polysaccharide. In M. F. Chaplin & J. F. Kennedy
(eds.) Carbohydrate analysis, p.71-74. Irl Press,
Oxford.
8. Su, C. H., L.R. Hsu and T. C. Tung 1991
Application of SE-HPLC on analyzing polysaccharides
produced by mushrooms. In Maher(ed.) Science and Cultivation
of Edible Fungi, p329-335. Balkema, Rotterdam.
9. Usi, T. et al 1981
Antitumor activity of water sobluble beta-glucan elaborated
by *Ganoderma applanatum*. Agric. Biol. Chem. 45:323.
10. Welling, G. W. and J. F. Welling-Waster 1989
Size-exclusion HPLC of protein. In Oliver (ed.), HPLC
of macromolecules, p.77-89. Irl Press, Oxford.
11. Yamada, H. et al 1984
Structure of a galactosaminoglycan from *Cordyceps*
ophioglossoides, Carbohydrate Research 134:275-282.
12. Yanki, T. , et al 1986
Correlation between the antitumor activity of *Schizophyllan*
and its triple helix. Agr. Biol. Chem. 50:2415-2416.

4406-35

炎症和過敏疾患之中藥治療機轉之研究(一)

高雄醫學院 · 藥理學科

邱慧芬 · 林俊清 · 楊俊毓

摘要

將台灣產中藥木棉(*Bombax malabarica*)，山豆根(*Sophorae subprostrata*)，白花蛇舌草(*Hedyotis diffusa*)，赤芝(*Ganoderma lucidum*)，白毛藤(*Solanum lyratum*)之生藥抽取液以 1.0g/Kg 的劑量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山豆根 ($P < 0.005$)，赤芝 ($P < 0.005$)，白毛藤 ($P < 0.005$) 三者之藥效較為明顯，然而在第 2-4 小時內之浮腫抑制作用，則以山豆根 ($P < 0.005$) 之藥效較為顯著。

在 CCl_4 (3.0ml/Kg) 皮下注射導致之肝毒性中，木棉 ($P < 0.001$)，半隻蓮 ($P < 0.001$) 之藥效較大陸產北柴胡為明顯，而且木棉和半隻蓮對中心小葉性的壞死與肝細胞之脂肪變性現象都比北柴胡有較佳之保肝作用，本研究將繼續進行其他藥物之抗炎與保肝作用之實驗，以作為藥效之比較和深入的藥理作用機轉的探討。

總論

此篇報告是我們以 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，以篩選台灣產具有抗炎作用的藥物之一系列實驗的研究結果之一。

Carrageenan 是由 Irish sea moss (*chondrus crispus*) 所衍化出來的一種多醣體 (polysaccharide)，Winter et al (21) 曾在 1962 年將這種物質注入未經麻醉的大白鼠後肢腳掌以誘發局部浮腫反應，其觀察抗炎藥物之藥效，在臨床上具有強效抗炎作用之類固醇藥物 (Steroid) 可有效預防 Carrageenan 所誘導之浮腫，因此本實驗中以 Dexamethasone 做藥效的參考對照組，將木棉，山豆根，白花蛇舌草，赤芝，白毛藤等藥物注射組作藥效的比較，以評估其對

Carrageenan 所誘發之炎症浮腫之藥理作用。

在四氯化碳誘發肝急性的動物模式中，以木棉，半隻蓮，北柴胡等抽取液注入大白鼠，三天後抽血檢驗肝臟功能，及隨機抽樣採取肝小葉組織製成切片，在顯微鏡下觀察肝組織細胞之病理變化，以確立中藥之肝臟保護作用。

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 ± 25 克。

(2)材料：

(A) 抗炎症實驗：λ -Carrageenan 購自美國 Sigma 公司，另外生藥成分以熱水抽取木棉 (*Bombax malabarica*)，山豆根 (*Sophora subprostrata*)，白花蛇舌草 (*Hedyotis diffusa*)，赤芝 (*Ganoderma lucidum*)，白毛藤 (*Solanum lyratum*) 等生藥之水溶性成分，並濃縮至 1.0g/ml 的濃度。

(B) 肝臟保護作用實驗：以 Mark 公司四氯化碳 3.0ml/Kg 注入大白鼠皮下，並且同時給予木棉，半隻蓮，北柴胡，山豆根，白花蛇舌草，赤芝，白毛藤等生藥抽提液 1.0g/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 0.05ml 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)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 3.0ml/kg 背部皮下注射後，以 1.0g/kg 劑量同時給予木棉，半隻蓮，北柴胡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_4 溶劑) 作為對照組。

(5) 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) 所描述方法來操作，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 (1mm)，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。

(6) 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 P 值之下呈現統計學上的差異。

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，在經木棉，山豆根，白花蛇舌草，赤芝，白毛藤 1.0g/kg 1 小時前投予後，可使 Carrageenan 之浮腫率由 88 % 降到 39 % 減少 49 %，而山豆根和白花蛇舌草亦有相似之抑制作用（表一），另外在赤芝與白毛藤兩組亦觀察到強度的抗浮腫作用，因此各中藥抽取液均在不同的時間內，呈現不同程度之強效到中等程度藥效抗炎藥理作用，而彼此之間差異並不明顯 (ANOVA $P > 0.01$ 無顯著差異)，Dexamethasone 與木棉 (1.0g/kg) 的劑量比較後，雖然發現 Dexamethasone (2.0mg/kg) 對 Carrageenan 誘發的炎症反應有較強抑制作用，然而木棉之抗炎作用亦非常明顯，因為此

實驗中木棉與 Dexamethasone 劑量相異，因此繼續進行木棉不同劑量 (dose-response) 之抗炎藥效評估，其結果將在下次的報告中詳細說明。

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, 10-17,19,20)，在先前已發表的報告 (19,20) 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 (1, 4-6) 台灣產木棉及半隻蓮，山豆根，白毛藤，白花蛇舌草，赤芝，對 CCl_4 導致之肝毒性，均能有效地降低急性之 SGOT 和 SGPT 上升，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可在木棉及半隻蓮之肝組織見到改善的保護作用。

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，至於肝臟之保護作用則呈現木棉與半隻蓮，山豆根，白花蛇舌草均比柴胡還具有明顯的保肝作用，而更深入探討這些藥的抗炎作用機轉與藥理劑量反應及其在過敏作用中，對肥胖細胞之 histamine 釋出和 prostaglandins, leukotrienes 之合成的抑制效果為何 (22-33)，將在未來的實驗中繼續研究。

參考文獻

1. Shibata M., A. Isomura, T. Inoue and M. Nagai 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., Y.Suzuki, C.Konno, H.Hikino, I.Hashimoto and Y.Yagi 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., J.H. Lai and S.J. Shioh 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., A. Kumagai and Y. Yamamura Structure and actions of

saikosaponins isolated from *bupleurum falcatum* L. I. antiinflammatory action of saikosaponins. *Arzneim. Forsch.* 25, 1021, 1975.

5. Yamamoto M., A. Kumagai and Y. Yamamura Structure and action of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum* L. II. metabolic actions of saikosaponins, especially a plasma cholesterol-lowering action. *Arzneim. Forsh.* 25, 1240, 1975.

6. Marumoto M., T. Maeda, K. Shinozuka, M. Kato and E. Hayashi Effects of saiko-zai prescriptions including saiko (*Bupleuri Radix*), on experimental liver injury. *Shoyakugaku Zasshi* 15, 95, 1982.

7. Oshima Y., Y. Kawakami, Y. Kiso, H. Hikino, L.L. Yang and K.Y. Yen Antihepatotoxic principles of *Aeginetia indica* herbs. *Shoyakugaku Zasshi* 38, 198, 1984.

8. Yang L.L., K.Y. Yen, Y. Kiso and H. Hikino Antihepatotoxic principles of formosan plant drugs. *J. Ethnopharma*, 19, 103, 1987.

9. Kiso Y., M. Tohkin and H. Hikino Assay method for antihepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary-cultured hepatocytes. *J. Natu. Prod.* 46, 841, 1983.

10. Akahori a., M. Masui and M. Ando Change of serum glutamic oxaloacetic transaminase activities after administration of carbon tetrachloride to mice. *Chem. Pharm. Bull.* 26, 2316, 1978.

11. Kiso Y., S. Ogasawara, K. Hirota, N. Watanabe, Y. Oshima, C. Konno and H. Hikint Antihepatotoxic principles of *artemisia capillaris* buds. *Planta Medica* 122, 143. 1984.

12. Molander D.W. and M.M. Friedman Transaminase levels in experimental liver injury. Clin. Res. Proc. 4, 39, 1956.
13. Cornish H.H. and W.D. Black A study of CCl_4 II. the effect of CCl_4 inhalation on serum and tissue enzymes. A.M.A. Arch. Envirom. Heal. 1, 96, 1960.
14. Fry W.A., J.M. Smith and J.R. Suker Acute CCl_4 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 Ess., R.E. Thiers and B.L. Valles Mitochondrial function and metal content in carbon tetrachloride posioning. J. Biol. Chem. 237, 35, 1962.
16. Smuckler E.A., O.A. Iseri and E. P. Benditt A defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. J. Exp. Med. 116, 55, 1962.
17. Smuchker E.A. and E.p Benditt Studies on CCl_4 intoxication III. A Subcellular defect in protein synthesis. Biochemistry 4, 671, 1965.
18. Reitman S. And S. Frankel 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 tive Crude Drugs from Taiwan (I)." Am. J. Chinese Med., 16(3-4), 127-137, 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), 17-23, 1989.

21. Winter C. A., Risley E. A., and Nuss G. W.: Carrageenin- induced cedema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 544-547, 1962.
22. Madeleine Ennis, P.W. Ind, F. L. Pearce C. T. Dollery "Calcium antagonist and histamine secretion from rat peritoneal cells." Agent and action 13:144-148, 1983.
23. Shore P.A., A. Burkhalter and V.H. Cohn "A method for the fourometric assay of histamine in tissue." J. Phanracol. Exp. Ther. 127:182-186, 1959.
24. Gaetani D. And C.F. Laureui "High pressure liquid charmatography: Separation and dosage of imidazole base." IIFarmaco-ED-pr. Vol. 33:1, 1978.
25. Weiss B. "Techniquis for mesuring the interaction of drugs with calmodulin." Methods in Enzymology 102:171-185, 1983.
26. Levine L., Morcan R.A., Lewis R.A. :Radioimmuncoassay of the leukotrienes of slow reacting substance of anaphylaxis. Proc Natl Acad Sci USA 78:7692,1981.
27. Lindgren J.A. , Goetzl E.J. : A Sensitive and specific radioimmunoassay for leukotriene C4. FEBS LETTEPS, 152, p.83, 1983.
28. Goetzl E.J., Woods J.M., Gorman R.R.: Stimulation of human eosinophil and neutrophil polymerphonuclear leukocyte chemotaxis and random migration by 12-L-hydroxy-5,8,10,14-eicosa- tetraenoic acid. J.Clin Invest

59:179, 1977.

29. Goetzl E.J. , Picket W.C. :The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxy--eicosatetraenoic acids (HETES). J.Immunol, 125 pl785-91, 1960.
30. 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, p. 1261-1266, 1981.
31. Yabuno N.: Prostacyclin and thromboxane in cerebral vasospasm :effects of prostacyclin on experimentally -induced cerebral vasospasm. Acta Med. Okayama 38, P. 147-158, 1984.
32. Lawson, D. "Anti-immunoglobulin-induced histamine release secretion by rat peritoneal mast cell studied by immunofluorescent electron microscopy. J. Exp. Med. 142:391, 1975.
33. Burwen, S.J., B.H. Satir "Plasma membrane fold on the mast cell surface and their relationship to secretory activity." J. Cell Biol. 74:690, 1977.

<表一> 各中藥抽提液對 Carrageenan 誘發後肢浮腫之處理抑制作用

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	8.5 ±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*
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*
白花蛇舌草	1.0	9.99±0.79*	31.96±2.97	48.41±2.88	41.2 ±1.84*	40.95±1.48*	35.81±1.72*	30.13±2.73*
赤 芝	1.0	5.21±0.49*	14.62±3.23*	38.78±2.35*	52.38±5.24*	65.12±4.26*	53.69±2.85*	50.19±4.19*
白毛豚	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*

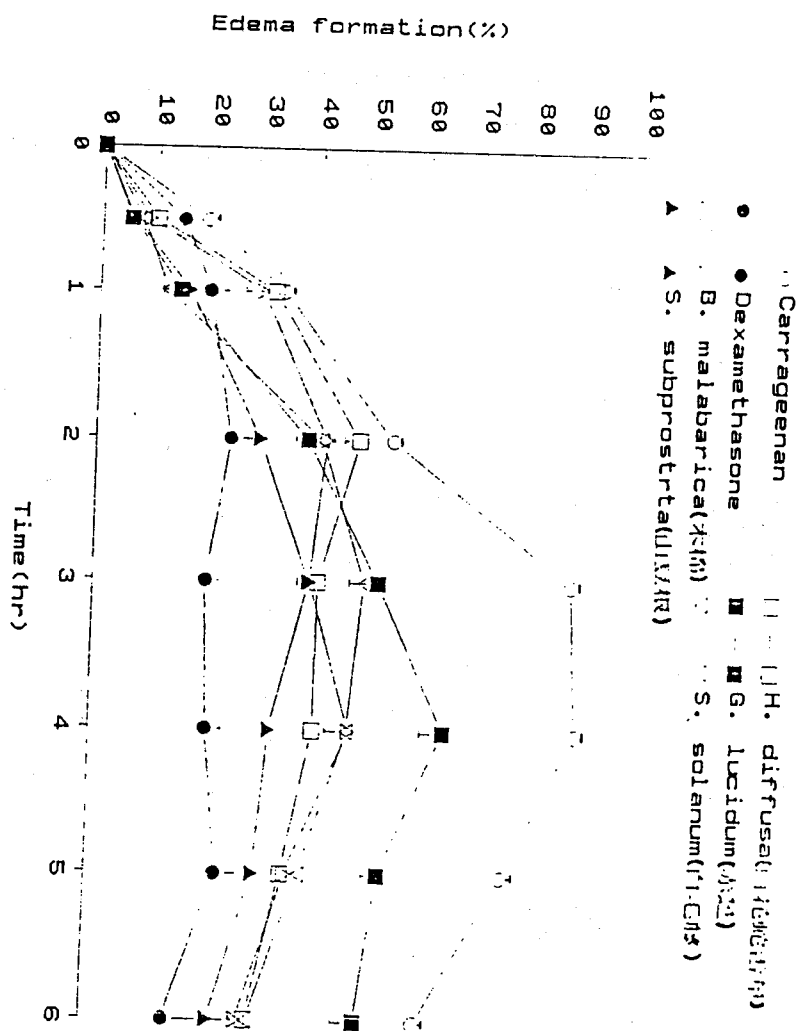
*P < 0.005 **P < 0.01 與 Carrageenan 對照組比較為顯著有意義差別 (t test)

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

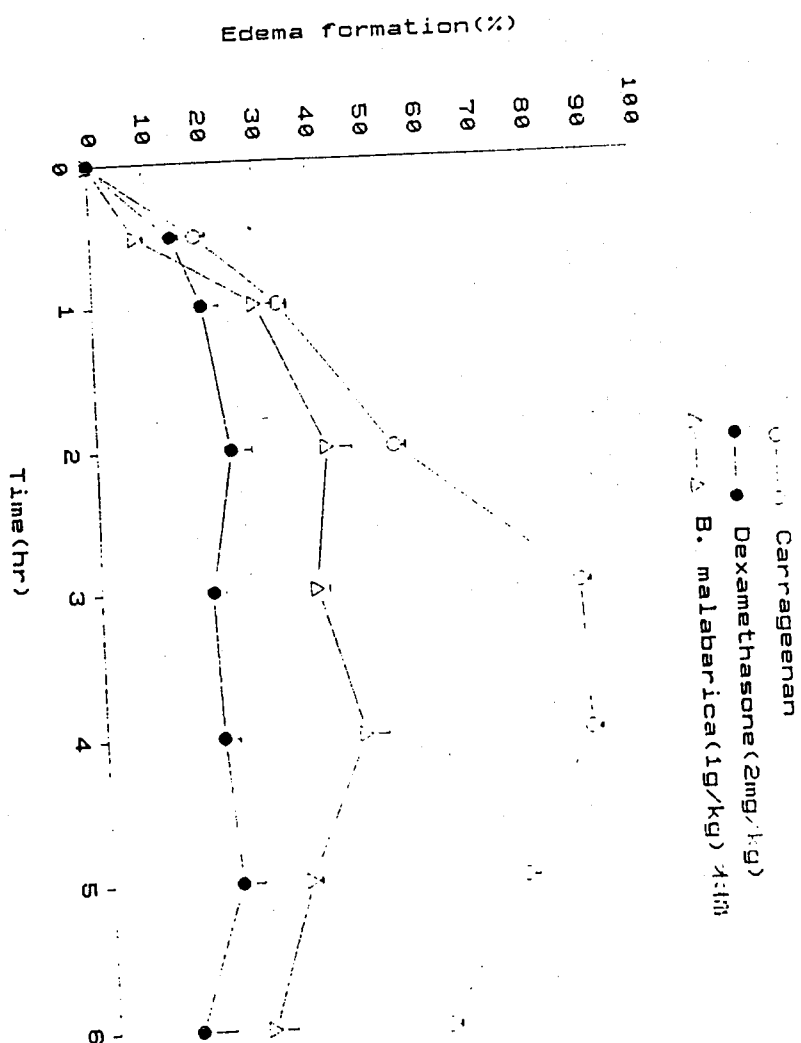
group \ liver function test	dose (ml/kg)	SGOT (IU/l)	SGPT (IU/l)
(1) normal rat	0	119.2± 2.7	50.8± 1.3
(2) CCL ₄ /olive oil	3.0	386.0±32	255.9± 4.8
(3) B. chinese (柴胡)	1.0	221.2±16.4*	147.6±22.6*
(4) B. malabarica (木棉)	1.0	153.0± 4.5****	67.0± 3.6****
(5) S. rivularis (半雙蓮)	1.0	162.3±12.3*	90.1± 6.6****
(6) S. subprostrata (山豆根)	1.0	288.6±23.6**	165.7±24.1*
(7) H. diffusa (白花蛇舌草)	1.0	344.0±22.9	218.0±10.6**
(8) G. lucidum (赤芝)	1.0	334.6±17.4	185.0± 6.5*
(9) S. lyratum (白毛藤)	1.0	206.0±28.0*	124.4±17.9****

*P < 0.01, **P < 0.05, ****P < 0.001

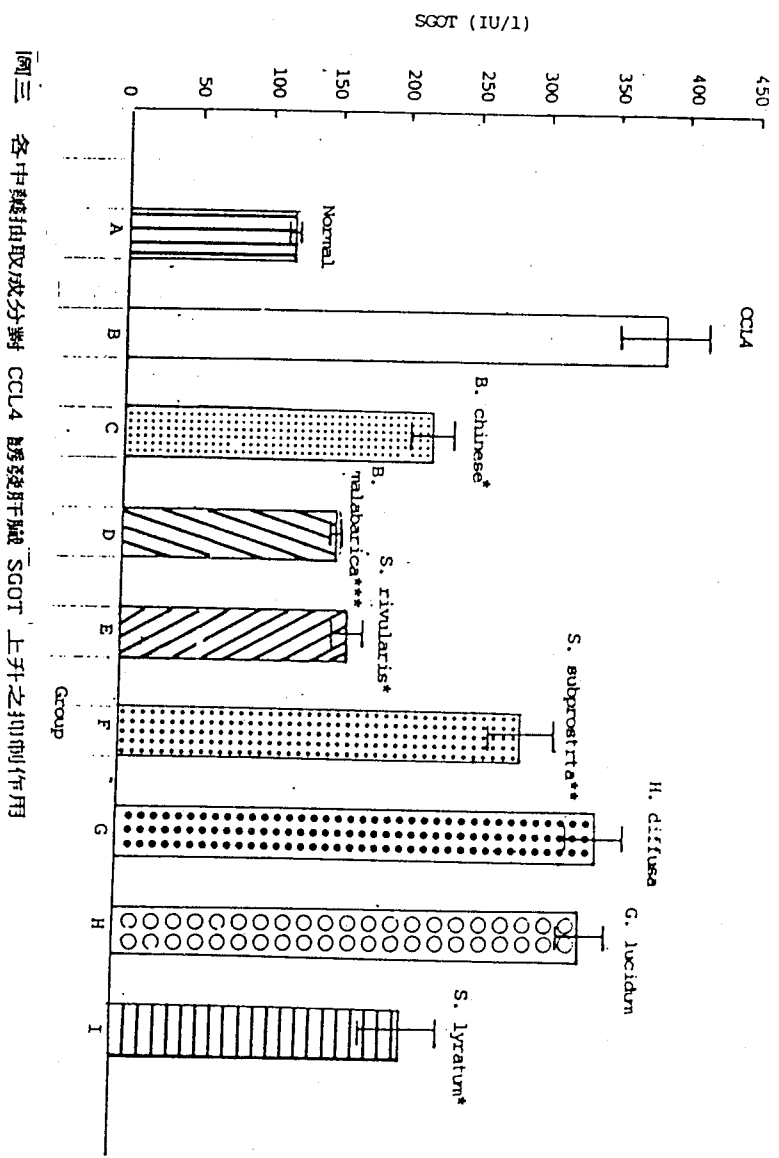
與 CCL₄ 對照組比較為顯著有意義差別 (t test)



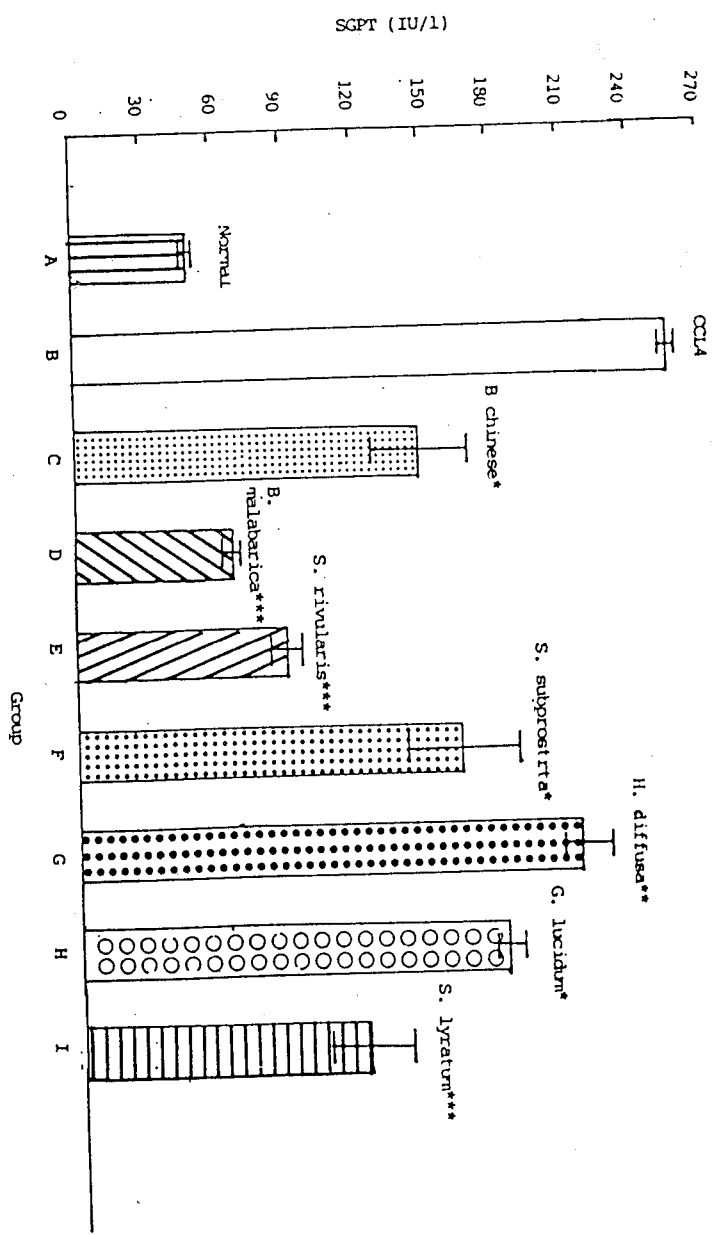
圖一 各中藥抽出液對 Carrageenan 誘發後足浮腫之藥理抑制作用



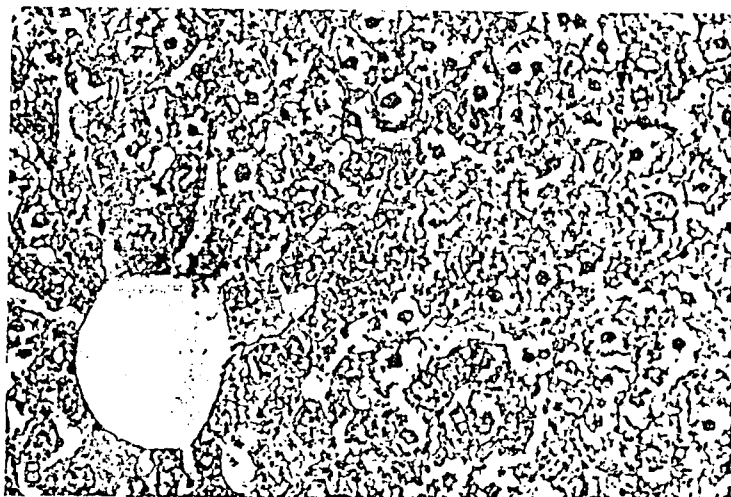
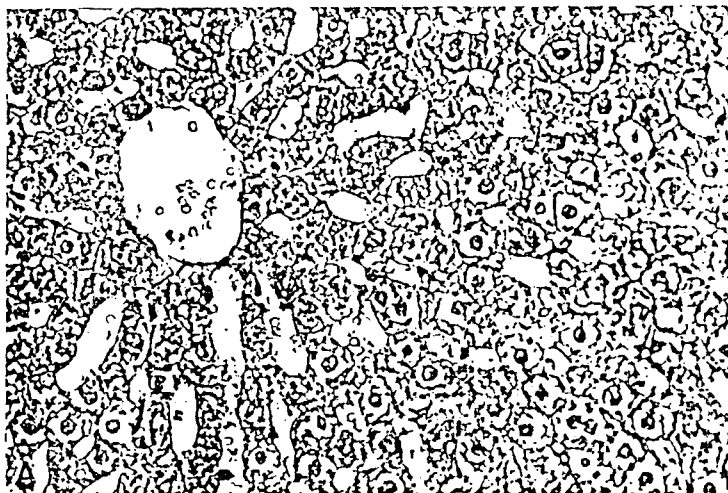
圖二 木作與 Dexamethasone 對 Carrageenan 誘發後肢浮腫之藥理抑制作用



圖三 各中藥抽出成分對 CCL4 誘發肝臟 SGOT 上升之抑制作用



圖四 各種藥材成分對 CCL4 誘發肝臟 SGPT 上升之抑制作用



图五



圖六

Fig 5. The hepatic fatty degeneration caused by CCL4-treated rat

(A) Normal rat

(B) Oliver oil group

(C) CCL4-injected group (50%, 3.0 ml/kg)

The histopathological changes induced by CCL4 were marked with fatty ballooning degeneration, diffused sinusoid enlargement and cell necrosis around the central vein area. The cytoplasm of hepatocytes are noted with liquid vacuoli. (H-E stain, 4,000x)

Fig 6. The histopathological protective effect of three drugs treatment on the CCL4-induced hepatic injury

(D) Bupleurum Chinese

(E) Bombax malabarica

(F) Scutellaria rivularis

The ballooning fatty change around the central vein, diffused sinusoid enlargement and necrosis of hepatic tissue were significantly depressed by B. malabarica and S. rivularis. In contrast, the B. chinese only showed a moderated improvement on CCL4-induced hepatic toxicity. All drugs were given S.C. as dose 1.0 g/kg. (H-E stain, 4,000x)

中藥對老鼠胚胎發育影響之研究

台北醫學院婦產科·藥學系

曾 啓 瑞 · 楊 玲 玲 · 簡 立 維 · 張 淑 如 · 陳 庵 君

摘要

爲研究傳統中藥對早期胚胎發育的影響，使用 ICR 小白鼠兩細胞胚胎，於 HTF+1 % BSA 培養基中，在 37 °C，5 % CO₂，95 % 空氣下培養，觀查 96 小時後變成囊胚期之比例。實驗之中藥方劑共分四組：I 四物湯（和劑局方）；II 四物湯（醫方集解）；III 當歸芍藥散；IV 黃芩湯。分別加入依傳統中藥使用方法所萃取之中藥方劑 1mg/ml, 0.1mg/ml, 0.01mg/ml 濃度的培養基者爲實驗組，只含有培養基者爲對照組。在對照及實驗組中使用了 515 和 1,771 個老鼠兩細胞胚胎。

對照組達到囊胚期的比例爲 $85.4 \pm 2.6 \%$ (Mean \pm S.E.)，實驗組依濃度高低順序則各組結果分別爲 I $9.4 \pm 2.8 \%$ ， $70.0 \pm 9.1 \%$ ， $45.0 \pm 5.0 \%$ ；II 13.9% ， $63.3 \pm 2.7 \%$ ， $47.7 \pm 5.1 \%$ ；III $6.4 \pm 3.7 \%$ ， $79.0 \pm 4.7 \%$ ， $67.7 \pm 8.6 \%$ ；IV $0.51 \pm 21.8 \%$ ， $54.4 \pm 14.8 \%$ 。

以上結果顯示四種實驗中藥均呈現對 ICR 小白鼠胚胎發育抑制的作用 ($p < 0.01$)，在 1mg/ml 濃度下即有明顯的反應出現，0.01mg/ml 濃度下此種現象仍然存在。兩種四物湯方劑在 0.01mg/ml 比 0.1mg/ml 濃度下有較爲明顯的胚胎抑制現象，顯示其中所含的成分對胚胎發育可能有不同的影響，即某些成分可能會對胚胎發育產生抑制作用，另外有一些成分可能會對胚胎發育有促進的作用。由於上述中藥方劑常被用於許多婦產科疾病的治療，上述的實驗結果顯示對早期胚胎發育會造成抑制作用，因此在早期懷孕婦女使用時應特別謹慎。

關鍵字：中藥、老鼠胚胎培養、早期懷孕

前言

藥物對早期懷孕的影響，一直是醫學上極為重視的課題，除了藥物可能造成胎兒的畸形問題外，在早期胚胎著床和胚胎發育過程中，是否有阻礙或是促進的功能，也是臨床上欲想知道的。而傳統中藥中有許多被認為具有調經補血，增加受孕能力或預防流早產的功能，至今仍為許多婦女所使用，但是其中具體的療效及真正的機轉如何，則大多不清楚。本實驗的目的則在於利用小白鼠的兩細胞胚胎體外培養方法，研究幾種常用中藥方劑對早期胚胎發育之影響。

材料與方法

一、藥材的萃取

四種中藥方劑，I 四物湯（和劑局方）；II 四物湯（醫方集解）；III 當歸芍藥散；IV 黃芩湯分別依傳統中醫之使用方法，加入十倍量之水，放於70℃水流中迴轉兩次，每次六小時，趁熱過濾，萃取三次後，合併濾液於40℃下減壓濃縮後，經冷凍乾燥後儲存在-20℃冰櫃中以備使用。

二、老鼠胚胎的取得

取8至12週正常排卵之ICR母小白鼠，腹腔注射5IU PMSG，48小時後再注射5IU HCG，以一對一方式置於公鼠籠中。48小時後，以頸椎脫臼法殺死母鼠，取其輸卵管，置於解剖顯微鏡下，以30號針頭刺破輸卵管後，沖出其中的兩細胞胚胎。

三、胚胎的培養

取卵前一天，準備好HTF+1% BSA之培養液，置於5% CO₂之保溫箱中，使其酸鹼值趨於穩定。取卵前三小時，將要測試的中藥方劑萃取物，分別加入培養液中成為1mg/ml，0.1mg/ml，0.01mg/ml之濃度，分置於培養皿中。取出之兩細胞胚胎，以10-20個胚胎分置於各個加中藥之培養皿中，在37℃，5% CO₂，95%空氣之保溫箱中培養，觀察96小時後，胚胎發育成囊胚期之比例。由於每隻老鼠可取得的胚胎數目及發育能力均不相同，每次實驗都將取得的胚胎混合後再平均分配，同時也留一組只加培養液者為對照組。

四、實驗數據的統計分析

每種中藥方劑各種濃度均做了一次以上的實驗，數據採用平均值±標準

誤 (Mean \pm Standard Error) 的表示方法。對照組的數值為各次實驗對照部分之總合計算。各組間並以 t-TEST 比較其統計學上的差別。

結果

實驗組四種中藥，總共使用了 1,771 個老鼠兩細胞胚胎，而對照組則使用了 515 個兩細胞胚胎。對照組達到囊胚期的比例為 $85.4 \pm 2.6\%$ (平均值 \pm 標準誤)，實驗組結果則如表所示。加入中藥後老鼠兩細胞胚胎發育至囊胚期的比例和對照組相比，均有顯著的降低現 ($p < 0.01$)，以高濃度 (1mg/ml) 時此種現象尤為明顯。四物湯 (和劑局方) 和四物湯 (醫方集解) 在三種濃度之間達到囊胚期的比例呈有意義的差別 ($p < 0.01$)，而以 0.1mg/ml 濃度者發育至囊胚期的比例為最高，但仍比對照組為低。當歸芍藥散和黃芩湯在 0.1mg/ml 和 0.01mg/ml 濃度之間對胚胎發育的抑制作用則沒有差別 ($p > 0.1$)。

討論

本實驗結果顯示，四種實驗中藥方劑均呈現對 ICR 小白鼠胚胎有發育抑制的作用，在 1mg/ml 濃度下即有明顯的反應出現，0.01mg/ml 濃度下此種現象仍然存在。

兩種四物湯方劑在 0.01mg/ml 比 0.1mg/ml 濃度下有較為明顯的胚胎抑制現象，顯示其中所含的成分對胚胎發育可能有不同的影響，即某些成分可能會對胚胎發育產生抑制作用，另外有一些成分則可能會對胚胎發育有促進的作用，而造成此種低濃度中藥方劑比高濃度下有較為明顯的胚胎發育抑制現象出現。中藥方劑內均含有多種成分，因此須做進一步各別分析，才能知道是何種成分有作用。當歸芍藥散和黃芩湯在 0.1mg/ml 和 0.01mg/ml 濃度之間則呈現較穩定的胚胎分裂抑制作用 ($p > 0.1$)。

傳統中藥對於適用範圍與療效上的描述較為籠統，例如：當歸芍藥散除可用來治療不孕症、月經異常和月經困難症外，也可適用於預防流產、早產和妊娠中毒症。此外由於這些方劑中所含的成分及其化學結構並不是十分清楚，使這些藥物在人體內代謝的情形也不得而知。本實驗僅就早期胚胎發育的影響，以動物實驗，體外培養的模式來探討，並不能以此結果直接應用於

臨床上。不過由於這幾種方劑在傳統中藥中常被用於許多婦產科疾病的治療，上述的實驗結果顯示對早期胚胎發育會造成抑制作用，因此對早期懷孕婦女的使用應特別謹慎。

參考文獻

- 1.Huang JC: Biopharmaceutical studies on active components of chinese traditional drugs. Abstracts of Chinese Medicines 2; 361-371,1988.
- 2.Yuan JR,Li YY,etal.:Experimental studies on the Siwu Decoction. Abstracts of Chinese Medicines 5;361, 1991.
- 3.Zhao Lw: Treatment of 206 cases of gynecological abdominal pain with Danggui Shaoyao Powder.Abstracts of Chinese Medicines 4;430,1990.
- 4.Xie CG, Wang XH, et al. :Treatment of dysmenorrhea with Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 4;54,1990.
- 5.Deng WL, Gong SR, et al.:Advance in pharmacological studies and clinical applications of Danggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 2;230. 1988.
- 6.Zang HY : Areview on the pharmacology and clinical applications of Daggui Shaoyao Powder. Abstracts of Chinese Medicines 2;229, 1988.
- 7.Huang L, LiuJF, etal. : A study on components and compound prescription of Huangqin Decoction. Abstracts of Chinese Medicines 5;397, 1991.
- 8.But PH: Chinese medicine for birth control. Abstracts of Chinese Medicines 2;247,1988.
- 9.游士勳，張錦清：補益方劑，實用中醫方劑學。

EFFECT OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE ON MOUSE EMBRYO DEVELOPMENT

ABSTRACT

To clarify the influence of traditional chinese medicine on early embryogenesis, the effect on mouse embryo development in vitro was studied. Two-cell ICR mouse embryos were cultured at 37 °C in 5 % CO₂, 95 % air with a HTF +1 % BSA medium. Four prescriptions including Siwu Decoction (Ho-Chi-Chu-Fang) (group A), Siwu Decoction(I-Fang-Chi-Chieh) (group B), Danggui Shaoyao Powder(group C) and Huangqin Decoction (group D) were investigated. Each water extract of Chinese medicinal prescriptions in a concentration of 1mg/ml, 0.1mg/ml and 0.01 mg/ml were added to nutrient media as the test group. The control group was culture medium only. A total of 515 and 1,771 mouse two-cell embryos were used in the control and test group respectively.

The percentage of progression to blastocyst stage at 96 hours in the control group was $85.4 \pm 2.6 \%$ (Mean \pm SE). In the test group, the percentages of blastocyst formation for 1 mg/ml, 0.1mg/ml and 0.01mg/ml were as follows: group A $9.4 \pm 2.8 \%$, $70.0 \pm 9.1 \%$, $45.0 \pm 5.0 \%$; group B 13.9% , $63.3 \pm 2.7 \%$, $47.7 \pm 5.1 \%$; group C $6.4 \pm 3.7 \%$, $79.0 \pm 4.7 \%$, $67.7 \pm 8.6 \%$; and group D 0% , $51.0 \pm 21.8 \%$, $54.4 \pm 14.8 \%$. All four drugs appeared to be associated with an inhibition of early embryogenesis in comparison with control ($p < 0.01$), especially at the concentrations of 1mg/ml. The higher percentage of embryos reached blastocyst stage at 0.1mg/ml than at 0.01mg/ml ($p < 0.01$) in two Siwu Decoctions suggests that components with different effects on embryogenesis may exist in these two prescriptions.

The demonstration of inhibition on mouse early embryogenesis in these four compound prescriptions indicates that they should be used cautiously during early pregnancy, especially they have been used in preventing abortion and many other gynecological and obstetrical diseases.

Key words: Chinese drugs, mouse embryo culture, early pregnancy

中藥材之鑑定研究

行政院衛生署・中國醫藥學院

陳忠川・謝明村・邱年永・謝文全

一、計劃摘要

本研究之目的在於辨明中藥之真偽與來源植物，利用顯微鏡以觀察內部構造、粉末特徵、繪圖，並敘述各藥材之內部，粉末組織之內容，並就市售中藥之來源植物，進行實際調查採集，綜合各方面之鑑定，做為標準品提供中藥材 GMP 之檢驗標準。

二、計劃緣起

臺灣各種藥商總計二萬餘家（包括中醫師、中藥廠、中藥商），其所需的中藥材甚龐大，而我國所用之中國藥材種類繁多而複雜，其藥材之真偽與品質之優劣，關係到病人健康甚巨，偽劣藥常遭致不良效果，為了藥材來源或真偽之鑑定，建立中藥品質評價資料。

臺灣市售中藥，經生藥學家調查研究，其結論簡述如下：(1)藥材來源單純，供應量充裕、價格便宜。(2)藥材之來源複雜，不同科屬之若干種植物，市場上均以同一名稱出現。(3)本省所產與進口藥材均用代用品或偽藥。本研究依行政院衛生署編訂中華民國中藥典範所載 360 種。經 77，78，79 三個年度科技發展專案計劃中藥材之鑑定研究已完成 52 種中藥材之鑑定研究，80 年度完成 24 種。以期樹立未來中藥材 GMP 之檢驗及標準依據，確定藥材使用時之真偽及確保療效。

三、研究計劃報告

1. 燈心草之組織描述及組織圖、粉末構造
2. 連翹之組織描述及組織圖、粉末構造
3. 薄荷之組織描述及組織圖、粉末構造
4. 鬱金之組織描述及組織圖、粉末構造
5. 桂枝之組織描述及組織圖、粉末構造
6. 漏蘆之組織描述及組織圖、粉末構造
7. 黃連之組織描述及組織圖、粉末構造
8. 貝母之組織描述及組織圖、粉末構造
9. 霍山石斛之組織描述及組織圖、粉末構造
10. 龍膽之組織描述及組織圖、粉末構造
11. 前胡之組織描述及組織圖、粉末構造
12. 淡竹葉之組織描述及組織圖、粉末構造
13. 荷葉之組織描述及組織圖、粉末構造
14. 白芍之組織描述及組織圖、粉末構造
15. 冬瓜子之組織描述及組織圖、粉末構造
16. 補骨脂之組織描述及組織圖、粉末構造
17. 茵陳蒿之組織描述及組織圖、粉末構造
18. 青蒿之組織描述及組織圖、粉末構造
19. 蛇床子之組織描述及組織圖、粉末構造
20. 薑黃之組織描述及組織圖、粉末構造
21. 黨參之組織描述及組織圖、粉末構造
22. 苦參之組織描述及組織圖、粉末構造
23. 瞿麥之組織描述及組織圖、粉末構造
24. 荊芥之組織描述及組織圖、粉末構造

1. 燈 心 草

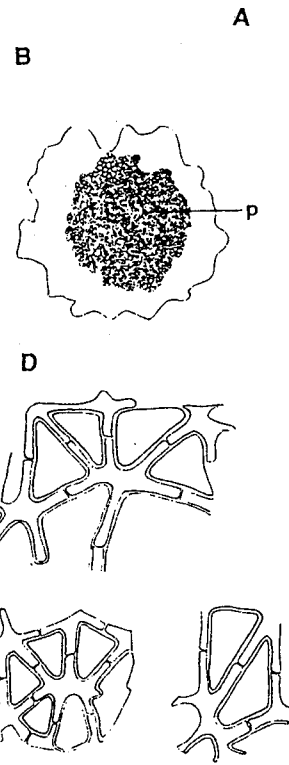
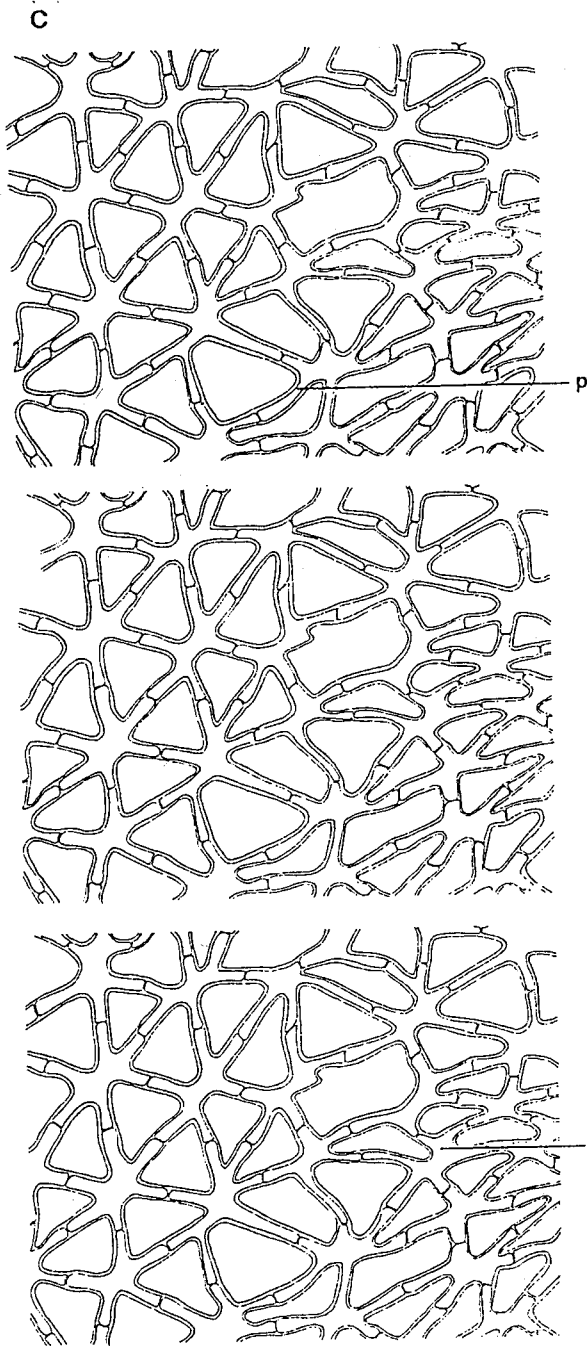
Junci Caulis Medulla

Juncus effusus L. var. *decipiens* BUCHEN. (Juncaceae)

組織鑑別：乾燥的莖髓，全部由星芒狀薄壁細胞所構成，彼此以星芒4~8，以5，6多見，徑5~75 μ ，壁稍厚，偶見細小紋孔。無澱粉粒。

粉末鑑別：粉末略帶黃白色，無味。星芒薄壁細胞呈不規則形，長12.5~75 μ ，寬5~12.5 μ ，星芒相接的壁菲薄。

1. 燈 心 草



Juncus effusus L. var. *decipiens* Buchen.

(燈心草)

- A. 外形 2X
- B. 略圖 20X
- C. 組織圖 200X
- D. 粉末 200X 1. 柔細胞

2. 連 翹

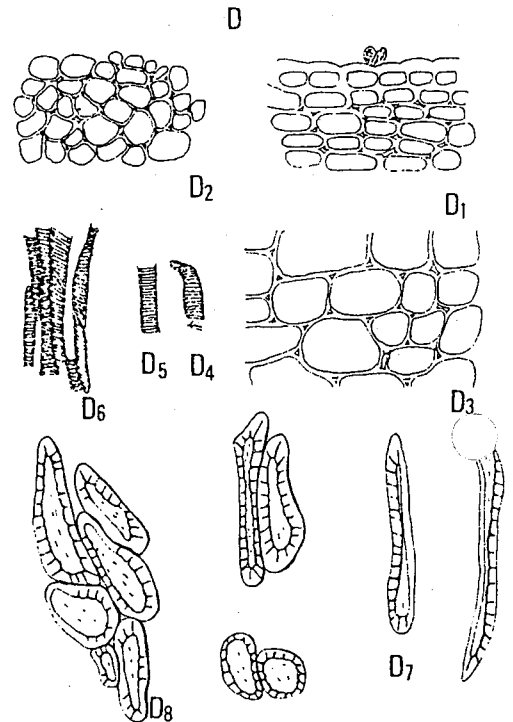
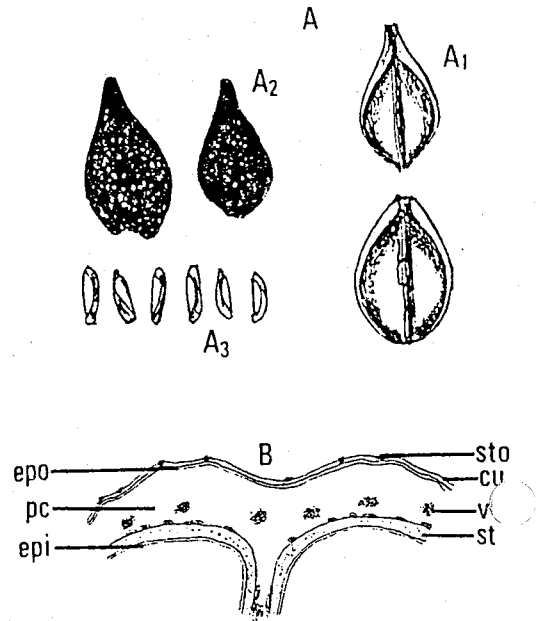
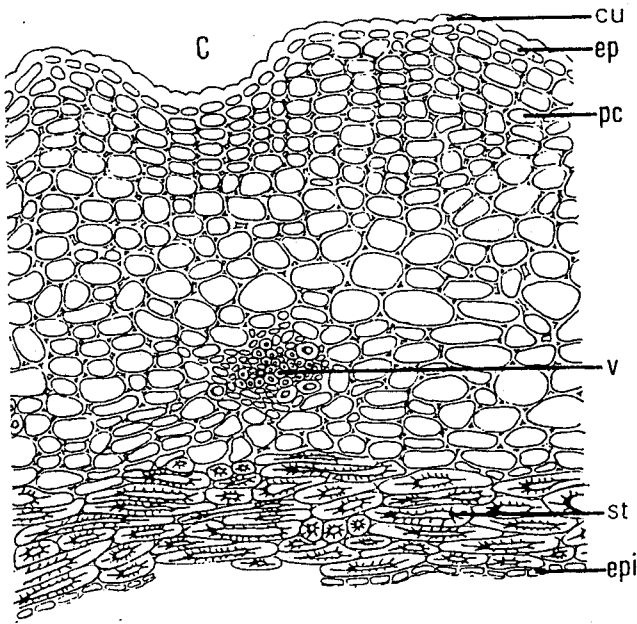
Forsythiae Fructus

Forsythia suspensa (T_{HUNB.}) V_{AHL} (Oleaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其果實橫斷面，最外緣爲外果皮之表細胞，外被厚角質層，細胞呈長方形、類方形，一列，壁增厚。中果皮幾佔果實全部，細胞呈長方形、類方形、類長方形、類圓形、類多邊形及不等形，具有明顯細胞間隙；近中央部份散有單個散生之維管束，維管束由韌部柔細胞、導管、石細胞所組成，細胞小，呈類方形、類長方形、類圓形及類多邊形；內側爲5~8層石細胞所組成，細胞呈不規則長條形、類長圓形、類方形及不等形，壁厚薄不一，層紋及胞腔明顯。內果皮爲一列之薄壁細胞，細胞呈長方形、類方形，常剝落。

粉末鑑別：粉末淡黃棕色，氣微弱，味淡。以顯微鏡檢視其粉末，外果皮表皮細胞，一列，外被角質層，細胞呈長方形，徑22~30 μ 。表面觀之表皮細胞，呈方形、長方形及類多邊形。中果皮細胞，呈長方形、方形、類多邊形、較大，徑14~110 μ ，具明顯之細胞隙。導管，主爲螺旋紋及環紋，徑12~16 μ 。石細胞，極多，單個散生或成群，細胞呈類長方形、類多角形、類三角形、類圓形、類方形及不等形，徑32~70 μ ，壁厚7~18 μ ，厚薄不一，孔紋疏密不一，孔溝隱約可見。內果皮纖維，極多，多成束，與石細胞上下層縱橫交錯，細胞呈短梭形、不規則形，孔溝較細，孔紋較少，長76~230 μ ，徑24~36 μ ，壁厚薄不一，與石細胞不易區別。

2. 連 翹



Forsythia suspensa (THUNB.) VAHL. (連翹)

A. 外形 1.5× A1 裡面 A2 外面 A3 散落之種子

B. 弱擴大圖 10×

C. 果實之橫斷面 150×

D. 解離要素 200× D1 外果皮表皮細胞，外被角質層 D2 表面觀
之中果皮柔細胞 D3 中果皮柔細胞 D4 螺旋紋導管 D5 環紋導
管 D6 連生導管 D7 內果皮纖維 D8 石細胞

3. 薄 荷

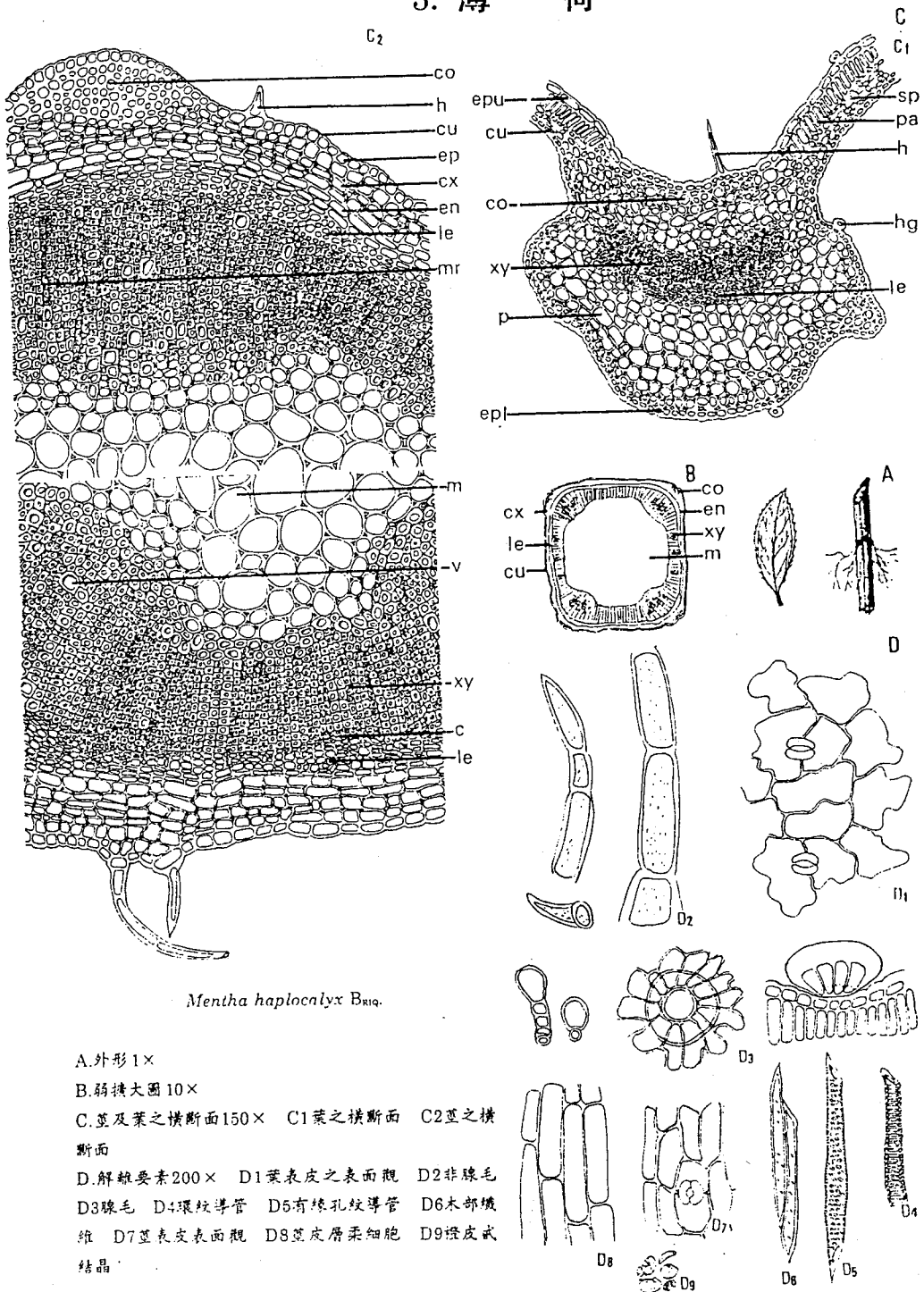
Menthae Herba

Mentha haploclyx B_{RIQ}.

組織鑑別：(a) 以顯微鏡檢視其葉斷面，最外緣為表皮細胞，一行，呈長方形，類方形，外壁為增厚之角質層，可見表皮突生之腺毛及非腺毛，下表皮散見氣孔。中肋部分，於表皮間具3~6層厚膜組織及4~6層柔組織。中間為維管束，木質部位於上方，導管及髓線明顯，韌皮部位於下方，組織小而呈不規則形。兩側葉，珊狀組織，明顯，位於上方，細胞呈長條形排列緊密，海綿組織，明顯，位於下方，細胞呈類圓形、類方形及多邊形，排列鬆散具有氣室。(b) 以顯微鏡檢視其莖的橫斷面，最外緣外被角質層之表皮，一行，呈長方形、類正方形，可見表皮突生之腺毛及非腺毛。皮層，4~6層，細胞呈長方形、正方形，具細胞間隙，四稜脊處為厚角組織。內皮層，一行，明顯，細胞呈長方形。韌皮部，4~8層，細胞較小，呈長方形、類方形、類圓形、多邊形、不等形。形成層，1~2層，不甚明顯。木質部，由導管及木部纖維、髓線細胞組成，呈類圓形、類多角形、不等形；導管於四稜脊處較發達；髓線寬狹不一。髓部由大型薄壁細胞組成，細胞呈類方形、類圓形、類多角形、多邊形及不等形，具明顯細胞間隙，中心常為裂隙。

粉末鑑別：粉末淡黃綠色，氣清香，味辛涼。以顯微鏡檢視其粉末碎片，葉表皮之表面觀，細胞呈不規則形，胞壁彎曲，有多數氣孔，散見腺毛及非腺毛跡痕。腺毛分由6~8細胞組成，徑60~95 μ ，側面觀扁球形柄極短之腺鱗及由單細胞組成，徑15~25 μ ，長20~35 μ ，柄由1~3個細胞組成，長8~22 μ ，呈橢圓形之小腺毛兩種。導管，主為有緣孔紋、網紋及階紋，偶見有螺紋，徑6~28 μ ，甚長。木部纖維，單個散生或成束，徑14~26 μ ，壁厚3~8 μ ，甚長，具明顯紋孔。莖表皮之表面觀，細胞呈類長方形，類方形，長多角形，散見氣孔及非腺毛。莖柔細胞，呈規則排列之長成~長條形。細胞內含物為橙皮甙，呈圓形、扇形、不規則形。

3. 薄 荷



A.外形1×

B.弱擴大圖10×

C.莖及葉之橫斷面150× C1葉之橫斷面 C2莖之橫斷面

D.解離要素200× D1葉表皮之表面觀 D2非腺毛 D3腺毛 D4環紋導管 D5有緣孔紋導管 D6木部纖維 D7莖表皮表面觀 D8莖皮層柔細胞 D9橙皮武結晶

4. 鬱 金

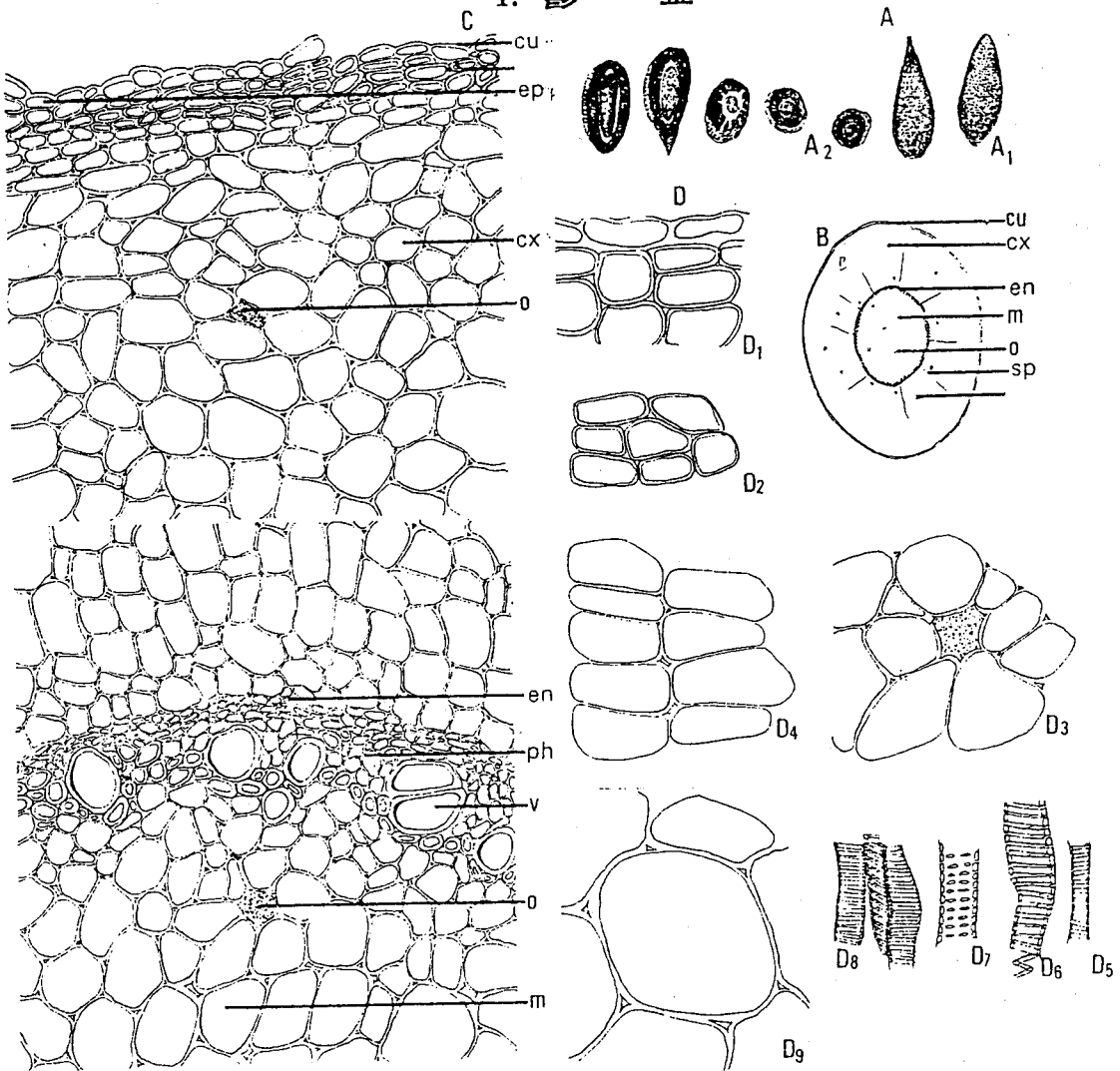
Curcumae Tuber

Curcuma aromatica SALISB. (Zingiberaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其塊根橫斷面，最外緣爲外被角層之表皮細胞，呈類方形、類多邊形，一行。根被細胞呈長方形、類方形、類多邊形，弱木化，3~5層，淡黃色。外皮層，一行，細胞呈類長方形、類方形、類多邊形，外壁稍厚。皮層，寬廣，約佔1/2，細胞大，呈類方形、類長方形、類多邊形、不等形等，含多量之澱粉粒，具明顯細胞間隙。內皮，一行，明顯，細胞呈類長方形、類方形。中柱鞘，1~2層，細胞呈類長方形、類方形。韌皮部束，存於木質部間，由10~20個細胞組成，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及類多邊形等。木質部束，呈凹環狀排列，由8~16個導管、纖維組成，細胞呈類圓形、類方形及類多邊形，其中導管大而明顯。髓部，由大型的薄壁細胞組成，細胞呈類方形、類圓形、類長方形及類多邊形，具明顯之細胞間隙，含多量之澱粉粒，散布少許含金黃色油滴樣物質的腔中。

粉末鑑別：粉末淡黃~色棕黃色，微有薑氣香，味辛而苦。以顯微鏡檢視其粉末，縱觀表皮細胞，一行，外被淡棕黃色角質層，呈類方形，木栓細胞，微木化，細胞呈類方形、類長方形，淡黃棕色。皮層細胞，呈類長方形、類方形及類多邊形，徑28~280 μ 或更大，散布含有金黃色油滴樣物質之腔中。導管，主爲環紋或螺旋紋，少數孔紋，徑22~168 μ 。髓部細胞，寬大，具明顯細胞間隙。

4. 鬱 金



Curcuma aromatica SALISB (鬱金)

- A. 外形1× A1完整之塊根 A2市場品切片之塊根
 B. 弱擴大圖6×
 C. 塊根橫斷面150×
 D. 解離要素200× D1含角質層的表皮細胞及根被細胞 D2表面觀之根被細胞 D3皮層柔細胞含油滴樣物質的腔 D4皮層柔細胞 D5環紋導管 D6螺旋紋導管 D7孔紋導管 D8透生導管 D9髓部細胞

5. 桂 枝

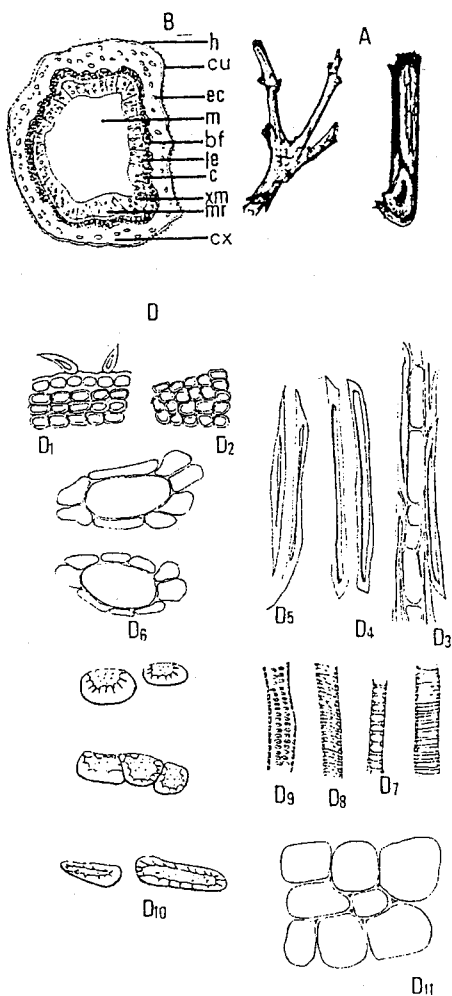
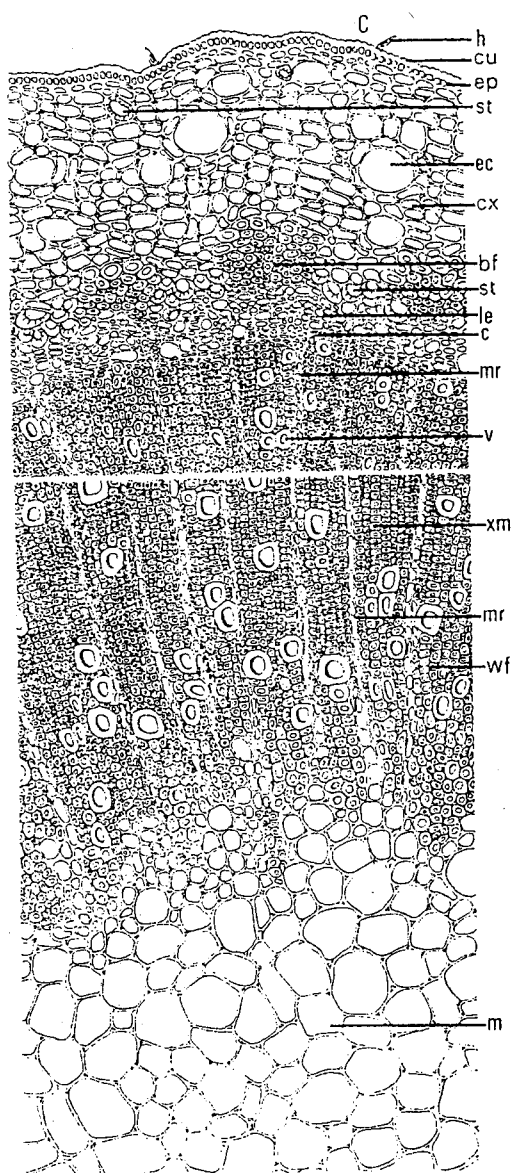
Cinnamomi Ramulus

Cinnamomum cassia BLUME (Lauraceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其莖枝橫斷面，最外緣為外被厚角質層之表皮細胞，一列，呈長方形、類方形，散見有單細胞之非腺毛。木栓層，細胞呈類長方形、類多邊形，2~5層，最內一層外壁增厚。皮層，細胞呈類長方形、類方形、類圓形、類多邊形，散見有大型之油細胞，偶見單個散生之石細胞，8~12層。中柱鞘由韌皮纖維束及半月形石細胞群，連成間斷之環層。韌皮部，細胞較小，呈長方形、類方形、類圓形、類多邊形及不等形，散見有較大之油細胞，6~8層，髓腺不明顯。形成層，1~2層，細胞扁小，明顯。木質部，約佔1/2~2/3，由導管、木部纖維、髓線1~2列，明顯，內含細小草酸鈣針晶。中央為髓部，約佔1/3~2/5，細胞呈類方形、類圓形、類長方形及類多邊形，壁稍厚，具明顯細胞間隙，內含澱粉粒。

粉末鑑別：粉末淡紅棕色，氣芳香，味微甘、辛，略帶粘液性。以顯微鏡檢視其粉末，表皮細胞外被角質層，棕黃色，一列，散生非腺毛，細胞呈長方形、方形。表面觀之木栓細胞，壁稍厚，微木化，細胞呈方形、長方形、類多角形，胞腔內含紅棕色物質。油細胞，大都破碎，完整個呈類圓形、類橢圓形，徑40~76 μ 或更大，外有6~8個細胞圍成。韌皮纖維，大多成束或單個散生，無色或棕色，細胞呈長梭形、紡錘形，略彎曲，末端銳尖、短尖或短圓，徑12~40 μ ，壁厚，木化，孔溝較細。木部纖維，極多，常成束，灰色，甚長，徑16~28 μ ，壁稍厚，木化，孔溝寬大。導管，主為有緣紋，亦有環紋及螺旋紋，徑36~76 μ 。石細胞，多數，單個散生或成群，無色、淡黃色或棕色，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及短梭形，徑28~66 μ ，壁厚，有的三邊厚，一邊較薄，孔溝及孔紋明顯。髓部細胞，大型徑22~156 μ ，細胞呈方形、長方形、類圓形、類多邊形。

5. 桂 枝



Cinnamomum cassia BLUNDE (桂枝)

A. 外形1×

B. 弱擴大圖20×

C. 枝之橫斷面150×

D. 解離要素200× D1具非腺毛之被角質層的表皮細胞 D2表面觀之木栓細胞 D3含縫線細胞及木部纖維 D4木部纖維 D5韌皮纖維 D6油細胞圍成之分泌腔 D7環紋導管 D8螺旋紋導管 D9有緣孔紋導管 D10石細胞 D11韌部柔細胞

6. 漏 蘆

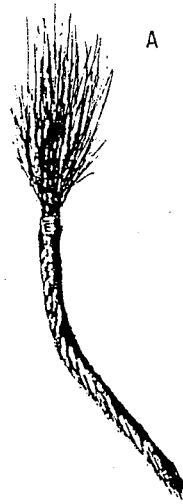
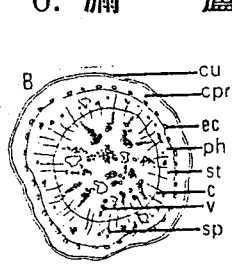
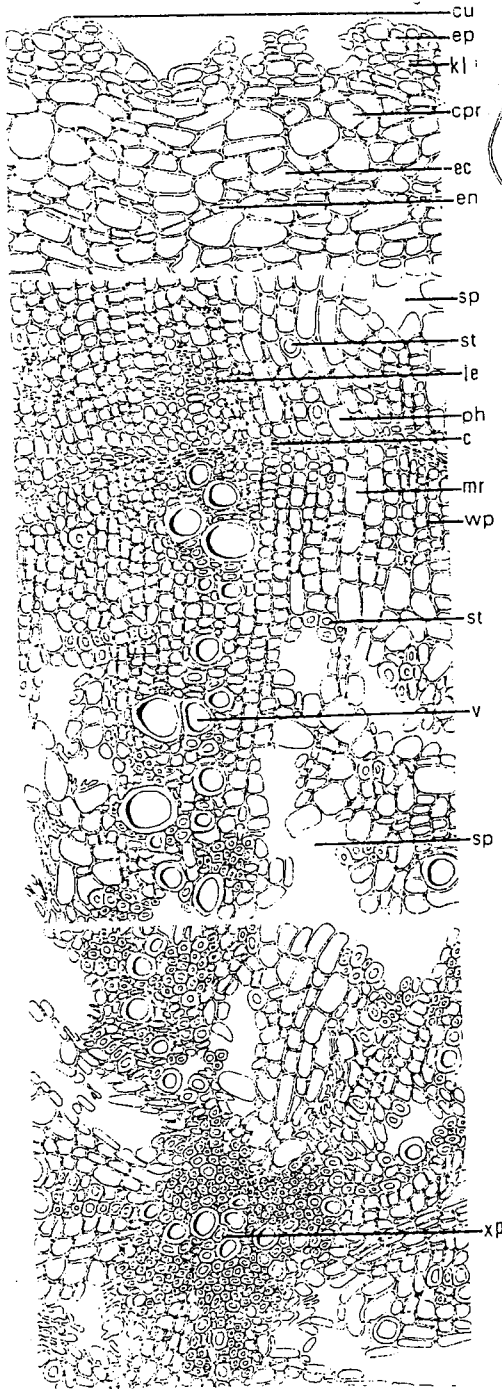
Rhapontii Radix

Rhaponticum uniflorum (L.) DC. (Compositae)

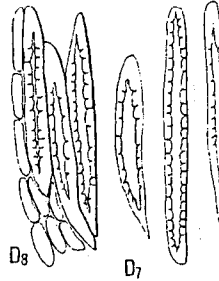
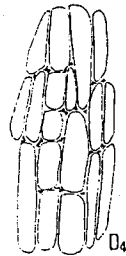
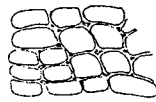
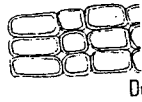
組織鑑別：以顯微鏡檢視其根橫斷面，最外緣為外被角質層之表皮細胞，一列，細胞呈類長方形、類方形，外部偶有破裂。栓皮層，3~5層，細胞呈類方形、類方形及類多邊形。初生皮層，由7~12層柔細胞組成，細胞呈類方形、類長方形、類圓形、類多邊形及不等形，具細胞間隙。其間在內皮附近，散生由6~10個分泌細胞所圍成之分泌腔，同心性排列，內含有深黃色~深棕褐色內容物。二次皮層，明顯，由16~20層柔細胞組成，細胞呈方形、長方形、類方形、長多邊形及類圓形，切線性排列，具有細胞間隙，散見有單個散生或2~6個成群之似纖維狀的石細胞，具明顯之髓線，偶見有裂隙。形成層，明顯，由2~3層柔細胞組成，呈扁平形。木部，廣闊，約佔1/2~2/3，具明顯大小不一之裂隙，由導管、木部似纖維狀石細胞、木部柔細胞、髓線細胞所組成；導管，巨大，單個散生或2~8個直向或棋向連生，徑29~142 μ ，長60~304 μ ，以有緣孔紋及孔紋為主，細胞呈類圓形、類方形、類長方形及類多邊形；木部石細胞，較小，壁厚，散生或伴導管成2~10個群生，徑14~24 μ ，長63~292 μ ，細胞呈類圓形、類方形及類長方形髓線，明顯，延生至皮層，細胞呈類方形、長方形、長橢圓形及不等形，其間伴有木部柔細胞，中央為原生木部由導管及木部似纖維狀石細胞組成。

粉末鑑別：粉末棕黃色，氣特異，味微苦。以顯微鏡檢視其粉末，表面觀木栓細胞，微木化，細胞呈長方形、方形。皮層細胞，呈類方形、類長方形，具有明顯細胞間隙。油細胞，大都破碎，完整的呈類圓形、類橢圓形，徑52~120 μ ，外有6~12個細胞圍成。髓線柔細胞，呈長方形、方形及類長方形，具明顯細胞間隙。導管，主為網紋及孔紋，大型，徑60~302 μ 。石細胞，單個散生或個成群，存於皮層及木部，黃色，細胞呈長梭形，長紡錘形，末端尖銳、圓鈍或尖鈍，具明顯孔溝及孔紋，徑12~40 μ ，長50~302 μ 或更長。

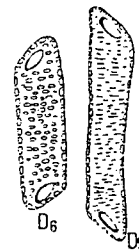
6. 漏 蘆



D



D7



D5

Rhaponticum uniflorum (L.) DC. (漏蘆)

A. 外形 1×

B. 弱擴大圖 10×

C. 根橫斷面 150×

D. 解離要素 200×

D1 表面觀之木栓細胞

D2 皮層柔細胞

D3 分泌細胞所圍成之分泌腔

D4 髓線柔細胞

D5 網紋導管

D6 孔紋導管

D7 似纖維狀之石細胞

D8 木部柔細胞及石細胞

7. 黃 連

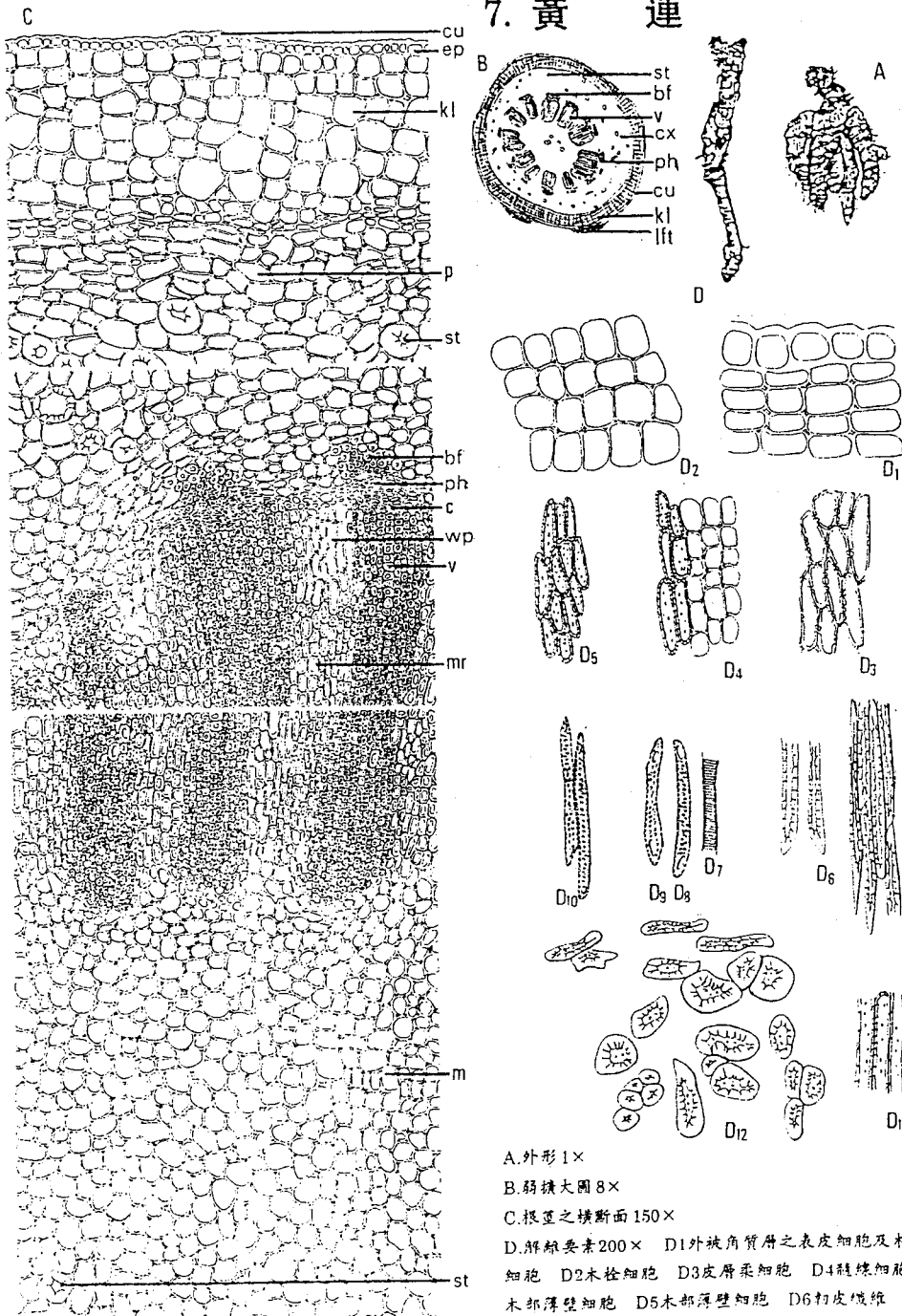
Coptidis Rhizoma

Coptis chinensis F_{RANCH.} (Ranunculaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根莖橫斷面，最外緣爲外被厚角質之表皮細胞，呈長方形、類方形，一行，徑 $20\sim 28\mu$ 。木栓層，細胞呈長方形、類方形、類多邊形， $7\sim 10$ 層，徑 $30\sim 41\mu$ ，其外偶附有鱗葉組織，與皮層界限不甚明顯。皮層，細胞呈長方形、類方形、類多邊形， $12\sim 18$ 層，徑 $28\sim 38\mu$ ，內容含有衆多細小之澱粉粒，散見有淡黃～金黃色之石細胞，單生或 $2\sim 8$ 成群，壁厚、層紋及胞腔明顯。維管束爲無限外韌型，約 $6\sim 9$ 個，作不連續的環狀排列。韌皮部，外方有多數淡黃色韌皮纖維束，偶伴有石細胞，細胞呈扁小之類長方形。形成層， $1\sim 2$ 列，約略可見，細胞呈扁小之長方形，但束間形成層不明顯。木質部，由導管、木部纖維、木部柔細胞、木部薄壁細胞、管胞所組成，細胞呈類方形、類長方形、類多邊形、不等形，木部柔細胞及木部薄壁細胞，內含有衆多細小之澱粉粒，髓線明顯寬狹不一。中央爲髓部，散見有數目不等的石細胞群，細胞呈類方形、類多邊形、類圓形、類長方形，內含澱粉粒。

粉末鑑別：粉末深棕黃色，氣微，味極苦。以顯微鏡檢視其粉末，表皮細胞，外被角質層，一行，淡黃色，徑 $20\sim 34\mu$ ，細胞呈方形、類方形、長方形。木栓細胞，黃棕，色細胞呈方形、長方形，壁稍厚，具明顯細胞間隙。層柔細胞，徑 $36\sim 72\mu$ ，可見連珠狀紋孔或單紋孔，細胞呈類長方形、類長橢圓形及類長多邊形。髓線細胞，呈方形、長方形，具明顯細胞間隙，伴生有木部薄壁細胞。木部薄壁細胞，存於木部髓線連接處，細胞呈類方形、類長方形、類長多邊形，徑約 $30\sim 52\mu$ ，木化，壁稍厚，紋孔明顯。韌皮纖維，金黃色，多成束，有的外伴石細胞，較粗短，細胞呈長梭形、紡錘形，末端鈍圓、斜尖或狹細，長 $132\sim 188\mu$ ，徑 $28\sim 40\mu$ ，壁厚，紋孔稀疏，孔溝較粗。木部纖維，鮮黃色，成束，較寬，壁稍厚，木化，紋孔稀疏。導管，主爲孔紋，散見有緣孔紋、環紋、網紋、螺旋紋，均細小，徑 $6\sim 20\mu$ 。石細胞，鮮黃色，單個散生或數個成群。細胞呈類圓形、類方形、類多角形、類長方形、紡錘形及不等形，徑 $24\sim 66\mu$ ，長約 110μ ，壁厚，有明顯之孔溝、孔紋及層紋。

7. 黃 連



Coptis chinensis FRANCH. (黃連)

- A. 外形 1×
 B. 根橫切面 8×
 C. 根莖之橫切面 150×
 D. 解離要素 200× D1 外被角質層之表皮細胞及木栓細胞 D2 木栓細胞 D3 皮層柔細胞 D4 韌皮細胞及木部薄壁細胞 D5 木部薄壁細胞 D6 初皮纖維 D7 環紋導管 D8 有緣孔紋導管 D9 孔紋導管 D10 連生導管 D11 木部纖維 D12 石細胞

8. 貝 母

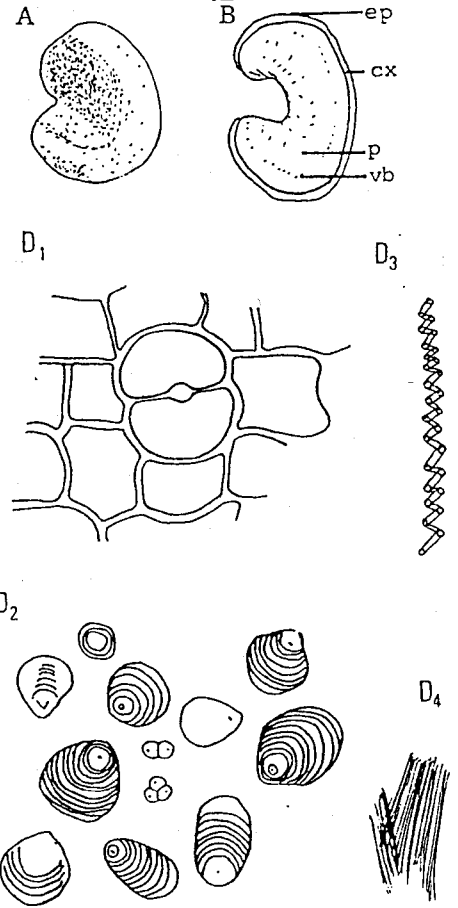
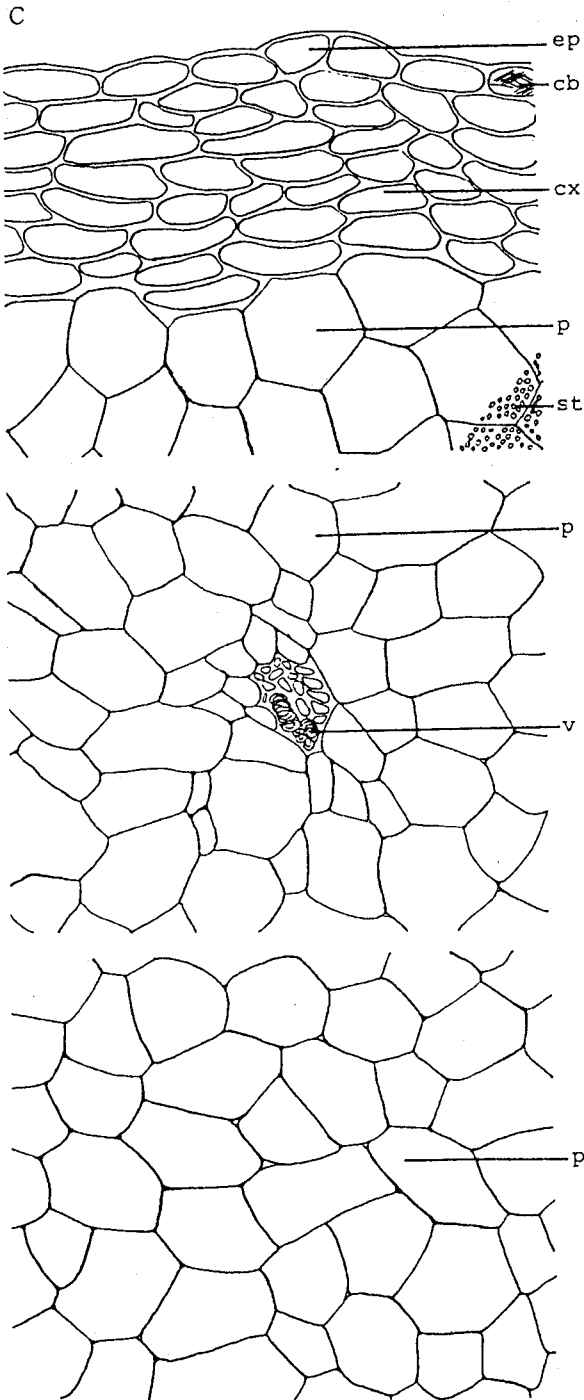
Fritillaria Thunbergii Bulbus

Fritillaria verticillata W^{ILLDENOW} var. *thunbergii* B^{AKER}. (Liliaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其橫斷面，最外部為表皮細胞，約4~7層。呈類長方形、多角形或長橢圓形。柔細胞中富含澱粉粒，單粒，大小差異甚大，外形呈卵圓形、長卵形、梨形或貝殼形，較大端大多平坦，較小端則尖實，徑5~56 μ ，長可達60 μ ，臍點大多不明顯，部分較明顯，呈點狀、短狀或馬蹄狀，位於較小端，較大澱粉粒可見明顯層紋，排列明顯而細密，維管束為外韌包圍型，導管以螺旋導管為主，徑約18 μ ，通常不木化。

粉末鑑別：粉末類白色；氣微；味微苦。澱粉粒極多，皆單粒，大小差異大，呈卵圓形、長卵形、梨形或貝殼形，較大端多平坦，較小端則尖實，徑5~56 μ ，長可達60 μ ，臍點大多不明顯，部分較明顯，呈點狀、短維狀或馬蹄狀，位於較小端，較大澱粉粒可見層紋，排列明顯且細密。草酸鈣針晶存於表皮或導管旁的薄壁細胞中，聚集成束或充塞於整個細胞中。導管細小，螺旋紋，通常不木化。

8. 貝母



Fritillaria verticillata Willdenow var. *thunbergii* Baker. (貝母)

A、外形

B、略圖

C、組織圖 200 ×

D、粉末及細胞內含物

D₁ 氣孔

D₂ 澱粉

D₃ 導管

D₄ 草酸鈣針晶

9. 金釵石斛

Dendrobii Caulis

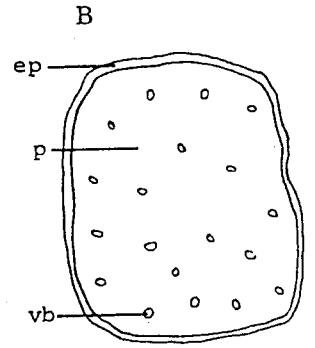
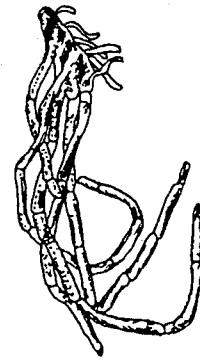
Dendrobium nobile LINDL.

組織鑑別：最外部爲表皮細胞，細胞排列整齊，呈扁長方形或扁五角形，外壁及側壁增厚，外被厚角質層，呈橙黃色，內接木栓層組織，由約3~6層細胞組成，細胞呈類圓形或不規則形，木栓化，壁較厚；皮層組織由類圓形或不規則形細胞組成，細胞大小不一，其間有細胞胞隙；中心柱寬廣，散生許多獨立性維管束，閉鎖並立型；纖維群由4~8層纖維細胞組成，壁甚厚，強木化。篩部呈類圓形，細胞數量少，呈圓形、類圓形或長橢圓形；導管呈四角形、五角形、六角形或多角形，壁厚，強木化；其中散在黏液細胞，呈類圓形；草酸鈣針晶束存於黏液細胞中。

粉末鑑別：粉末黃綠色；味微苦後甘，嚼之有黏性。表皮細胞縱斷面呈類長方形，壁稍厚，色素層橙黃色，厚約8~15 μ ，垂周壁連珠狀增厚，角質層表面有網狀裂紋；薄壁柔細胞甚大，直徑22~50 μ ，壁稍厚，紋孔類圓形而大，孔溝明顯；草酸鈣針晶束多存於薄壁細胞中，針晶較粗大，完整者長約170 μ ，直徑約2.5 μ ；束鞘纖維多成束或散離，幾近無色或淡黃色，呈長梭狀或細長，末端長尖，直徑8~33 μ ，壁厚3~10 μ ，木化；纖維束周圍黏液細胞呈類圓形或長圓形，含黏液質增，細胞縱向排列；導管以網紋及階紋爲主，直徑12~45 μ 。

9. 金釵石斛

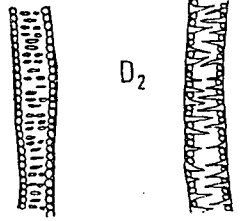
A 9. 金釵石斛



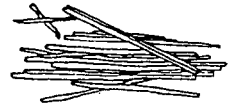
D₁



D₂



D₃



Dendrobium nobile LINDL. (金釵石斛)

A、外形

B、略圖 10 ×

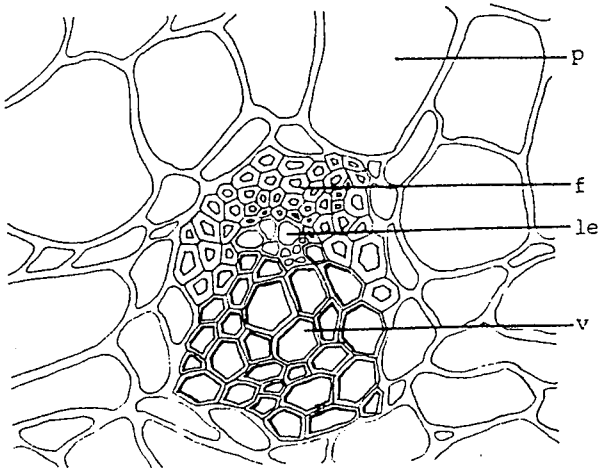
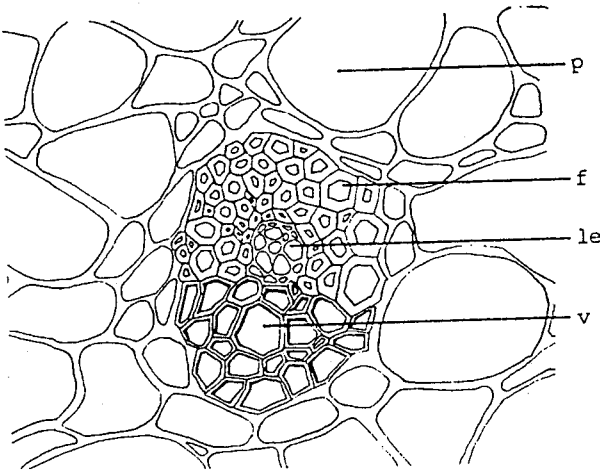
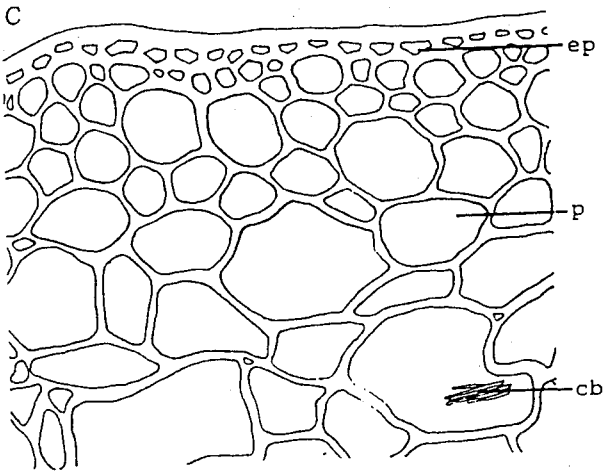
C、組織圖 200 ×

D、粉末及細胞內含物 250 ×

D₁ 纖維

D₂ 導管

D₃ 草酸鈣針晶束



10. 龍 膽

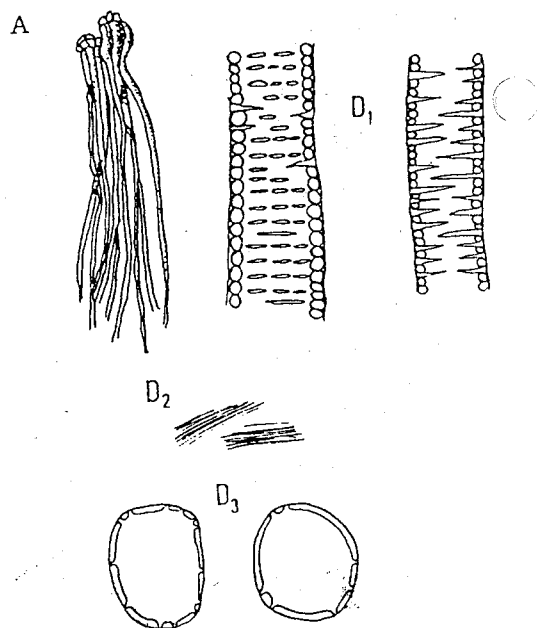
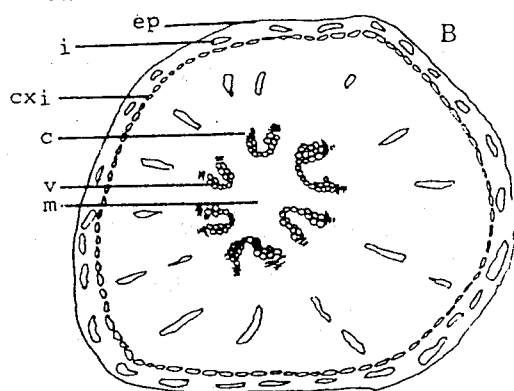
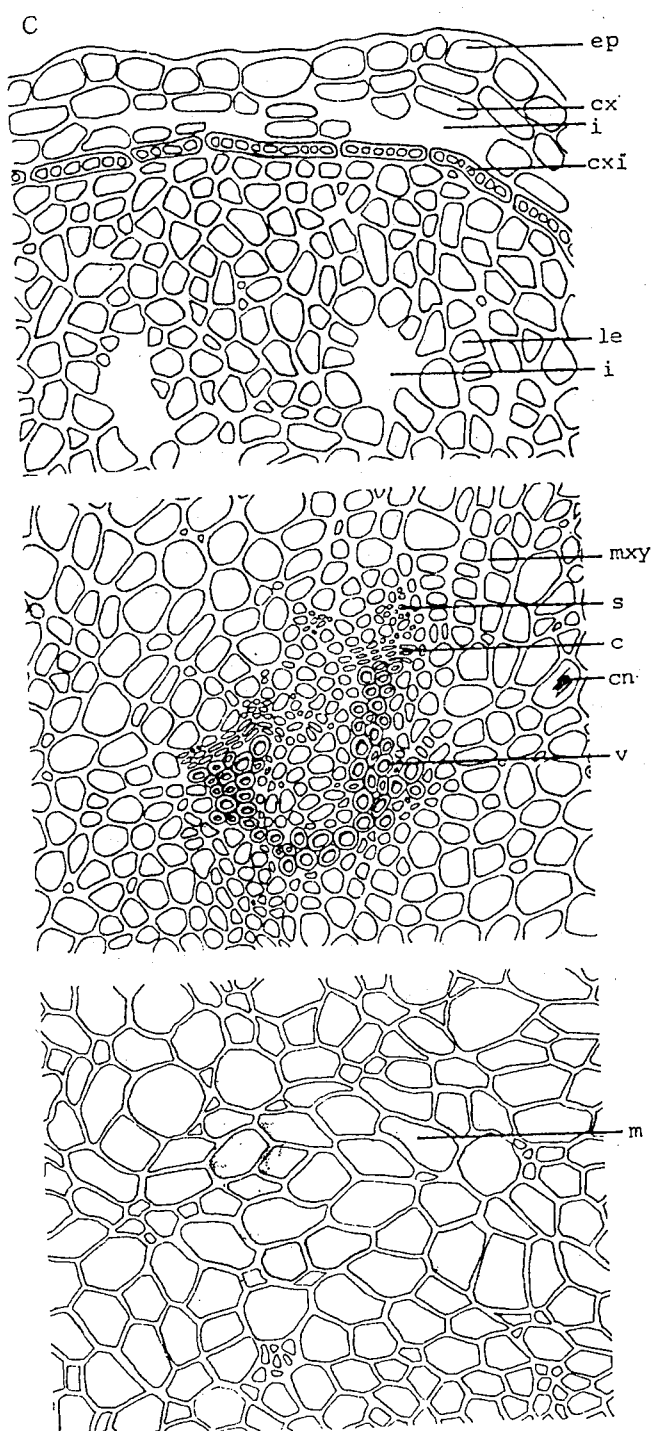
Gentianae scabrae Radix

Gentiana Scabra B_{UNGE} (*Gentianaceae*)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其根之橫斷面，最外部爲一層表皮細胞，呈長圓形，外壁稍厚，微木栓化，呈黃棕色。皮層細胞2~3層，呈類長圓形或扁長方形，細胞大小不一，有許多細胞間隙或裂隙；內皮層細胞一層，呈扁長圓形，長95~450 μ ，寬35~105 μ ，壁稍彎曲，微木栓化，每個細胞內有2~14個橫隔壁，將細胞分隔成3~15個小細胞，橫隔壁薄，小細胞呈類方形。篩部寬廣，由12~38層細胞組成，細胞類圓形、多角形或不規則形，由外而內細胞漸小，靠外側篩部存在許多不規則裂隙；偶散在由細小篩管組成之篩管群，尤以內側篩部近形成層處最明顯。形成層由2~4層細胞組成，呈長方形，切線性延長，壁較薄，有的不明顯。木部約6~8群，由導管群及木部薄壁細胞組成，導管及木部細胞以放射狀，不規則的交錯，導管類圓形常是V字形排列；髓線寬狹不一，細胞略呈放射狀延長。中央髓部細胞呈類圓形、或多角形，髓部不明顯。

粉末鑑別：粉末灰黃白褐色，微臭，味極苦。皮層中含極少數橢圓形或類圓形石細胞，長約126 μ ，寬約45~76 μ ，壁厚3~10 μ ，有時爲砂晶或板晶；另含有油滴及許多黃色或黃棕色內含物，尤以篩部最多，導管以階紋及網紋爲主，直徑約15~51 μ ，略彎曲；本品幾不含澱粉及韌皮纖維。

10. 龍 膽



Gentiana scabra BUNGE (龍 膽)

A、外形

B、略圖 20 x

C、組織圖 150 x

D、粉末及細胞內含物 400 x

D₁ 導管

D₂ 針晶

D₃ 石細胞

11. 前 胡

Peucedani Radix

Peucedanum decursivum (M_{IQ.}) M_{AXIM.} (Umbelliferae)

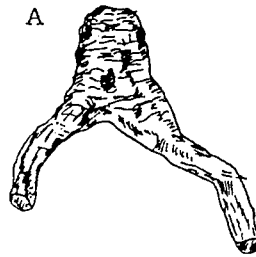
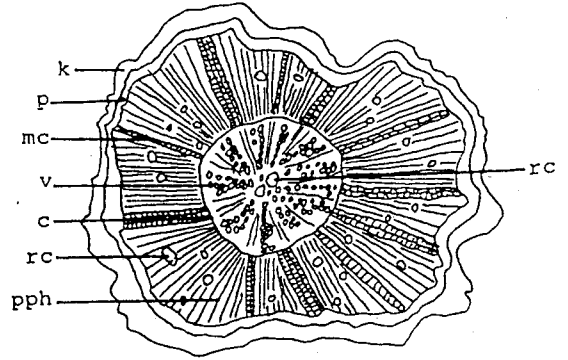
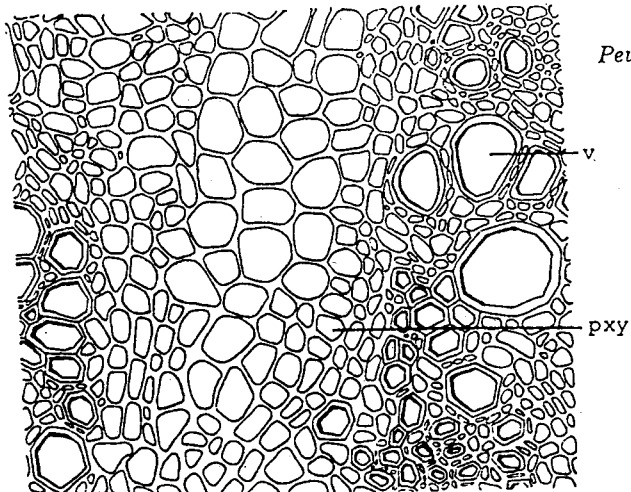
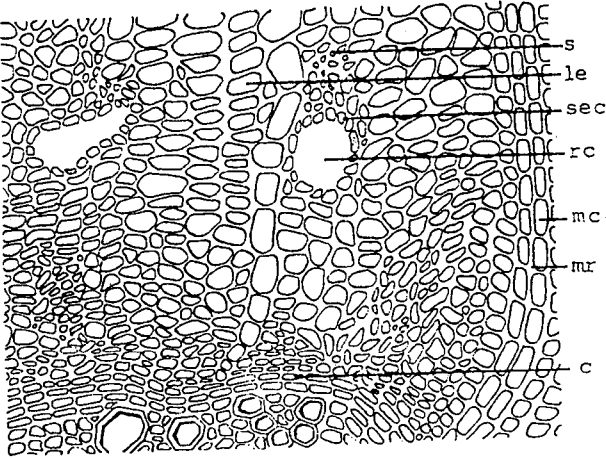
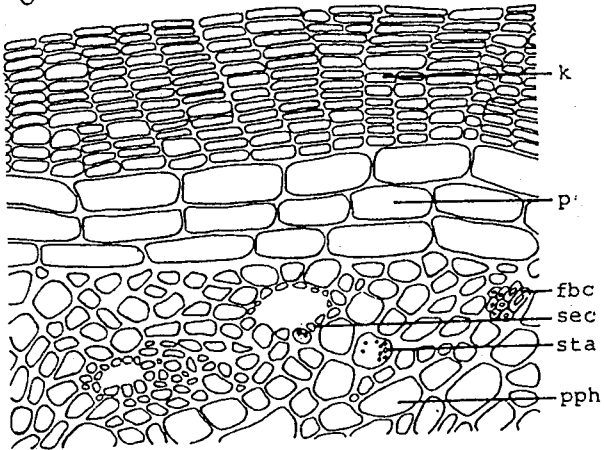
組織鑑別：以顯微鏡檢視其根之橫斷面，最外部為栓皮層，由8~15層栓皮細胞組成，細胞呈扁長方形，切線性排列，磚紅色或黃褐色，木栓層外緣多破裂。皮層呈長方形，約3層。篩部寬廣約65~80層，細胞大小不一，近形成層處較小且密，呈長方形，類方形、長圓形或不規則形；樹脂道稀疏散在篩部中，大小不一，愈近形成層，內徑愈小，其周圍之分泌細胞約有8~13個；放射組織細胞呈長方形，1~3列，外端與篩部彎曲，直達於皮層；假韌皮纖維點狀散在，膜微厚；偶可見油管碎片及條狀黃色分泌物。形成層明顯，4~5層，呈扁平形，切線性排列。木部由導管、木部薄壁細胞及木部柔細胞組成，導管單個或數個成群，大小不一，是五角形、六角形或多角形，是不規則放射狀排列，主要為網紋導管，導管周圍細胞較其他木部柔細胞之膜壁厚，且內徑較小。無髓，但相當於髓之部分散在2~3個樹脂道。

粉末鑑別：粉末淡紅棕色，氣芳香，味微苦辛。木栓細胞呈扁長方形，切線性排列整齊，長23~200 μ ，寬3~13 μ ，壁薄，外部細胞多破碎。導管主要為網紋，直徑9~75 μ ，網紋孔狹細。澱粉粒多存在於篩部分泌細胞中，臍點明顯，單粒或複粒。

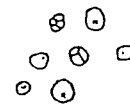
11. 前 胡

B

C



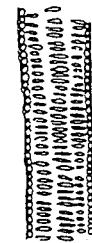
D₄



D₁



D₃



D₂



Peucedanum decursivum (Miq.) Maxim. (前胡)

A、外形

B、略圖

C、組織圖 200 ×

D、粉末及解離要素 220 ×

D₁ 栓皮層

D₂ 假木皮纖維

D₃ 導管

D₄ 澱粉

12. 淡竹葉

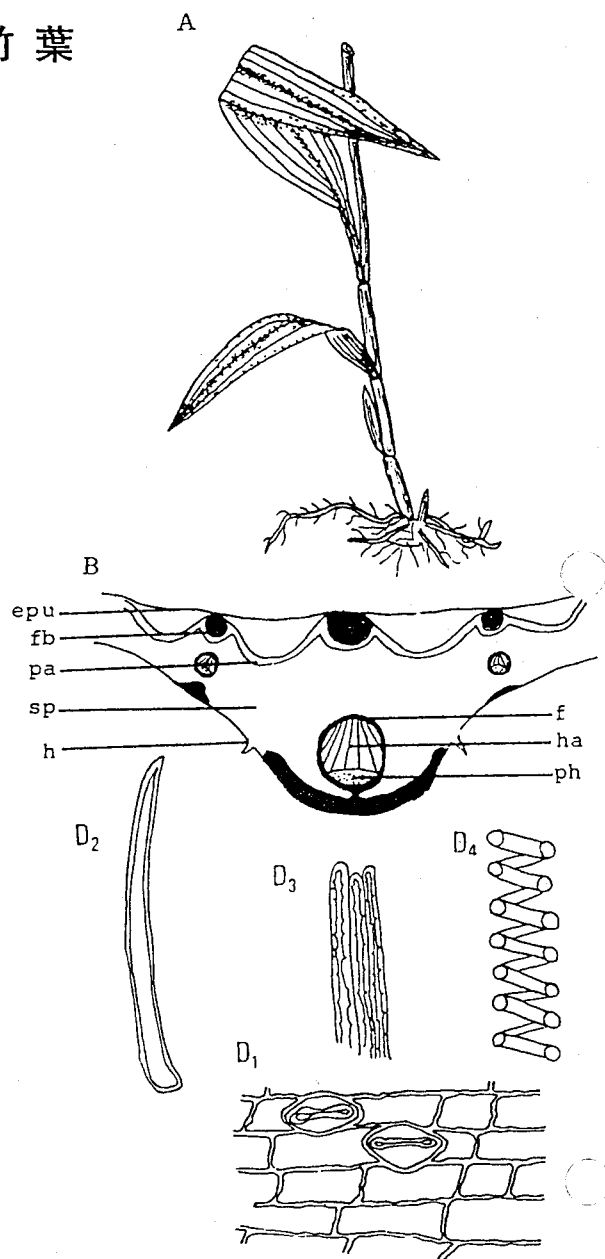
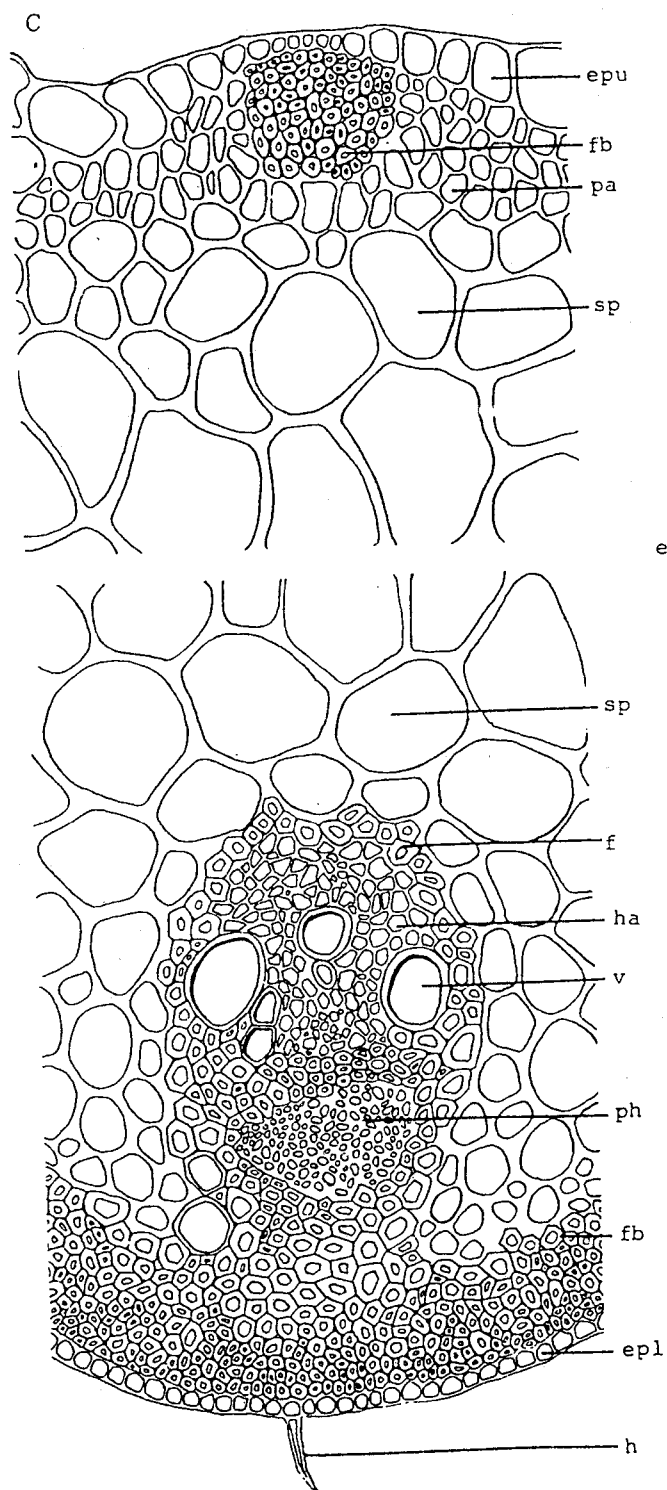
Lophatheri Herba

Lophatherum gracile BRONGN. (Gramineae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視葉之橫斷面，上表皮由一層長方形或類方形細胞組成，細胞大小不一，近纖維處細胞較小，遠離纖維處細胞較大，細胞垂直走向並呈扇形相連，外面平周壁角質化；下表皮由一列類長方形細胞組成，細胞小但彼此約略相近，垂周壁彎曲，外面平周壁角質化；氣孔多位於下表皮；非腺毛亦多位於下表皮，由單一細胞組成，常單個散離；葉肉組織由柵狀組織及海綿組織組成。柵狀組織為1~2層長圓柱形細胞組成，排列整齊；海綿組織由2~4列薄壁細胞組成，細胞壁略呈波狀彎曲；維管束閉鎖並立型，周圍被1~2層纖維包圍，呈類圓形；木部與篩部被1~3層纖維隔離，木部皆在上方，僅有導管數個，導管呈類圓形，篩部細胞較小，呈圓形、長圓形或圓多角形。

粉末鑑別：粉末呈灰綠色，味淡；上表皮細胞呈長方形或類方形，極少見氣孔或非腺毛，保衛細胞狹長，呈啞鈴狀，非腺毛常單個散離，多由一個細胞組成，呈鐮刀狀彎曲，先端銳尖；纖維細長多成束，長約至450 μ ，寬約7~25 μ ，壁厚約3~9 μ ，孔溝不明顯；導管類圓形，主要為螺旋紋。

12. 淡竹葉



Lophatherum gracile BRONGN. (淡竹葉)

- A、外形
B、略圖 40 ×
C、組織圖
D、粉末及解離要素 400 ×
- D₂非腺毛
D₃纖維
D₄導管
D₁下表皮氣孔

13. 荷 葉

Nelumbo folium

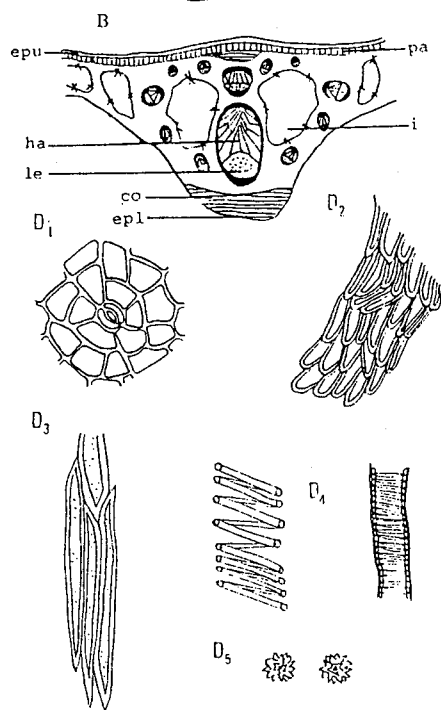
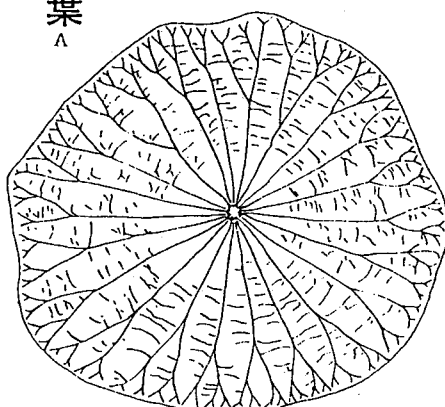
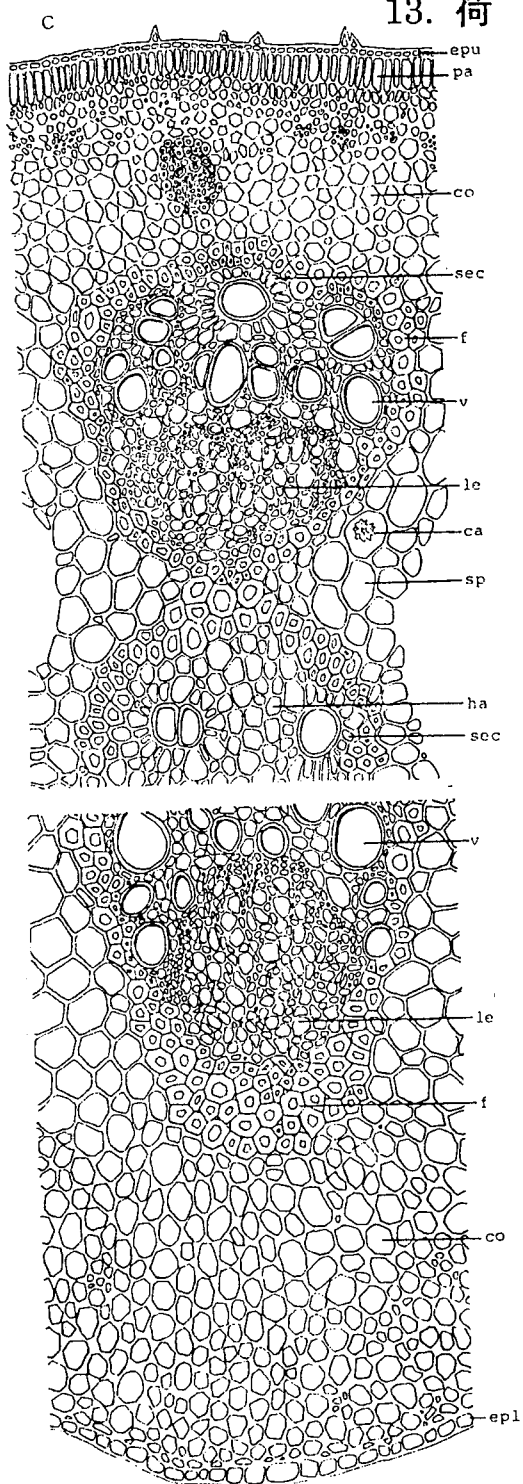
Nelumbo nucifera GAERTNER (Nymphaeaceae)

組織鑑別：以顯微鏡檢視其橫斷面，上表皮由一層長方形扁平細胞組成，垂周壁彎曲，外壁平周壁角質化且有乳頭狀突起；下表皮由一層長橢圓形、不規則形或類圓形細胞構成，垂周壁彎曲，外壁平周壁有較厚角質層，無突起；葉肉組織為柵狀組織、厚角組織及海棉組織組成。柵狀組織1~數列，第一列呈長方形，其餘各列為圓形或長圓形；主脈的上下表皮內側皆有厚角組織；海棉組織疏鬆，細胞呈類圓形或圓多角形，直徑約13~24 μ ，內含許多草酸鈣簇晶，主脈維管束數個，中央兩個較大，上下排列，尤以下端維管束特大，閉鎖並立型，兩側並各有一個大型氣室，呈不規則形，維管束被1~4層纖維包圍成圓形、類圓形，接近上下表皮處纖維群層數較多，兩側較少，纖維細胞呈三角形、四角形及多角形，強木化；木部多位於維管束上方，僅中央大型維管束之木部位於中央，木部由單層細胞組成，細胞呈類圓形、多角形或長圓形，導管多單個散在，偶見2~數個導管並排相連，單個導管較，導管並連的導管皆呈半圓形，主要為螺旋紋，偶見環紋，強木化；篩部多位於木部下方，僅中央大型維管束之篩部位於木部之下方，篩部細胞大小不一，呈多角形、類圓形、長圓形或不規則形。

粉末鑑別：粉末灰綠色，氣微清香，味微苦；上表皮細胞呈多角形，具乳頭狀突起，氣孔密集，長圓形，直徑18~22 μ ，長約20~27 μ ，保衛細胞4~6個，上表皮下之柵狀組織明顯；下表皮細胞呈不規則形，偶見少數氣孔；導管以螺旋紋為主，少見環紋，寬8~83 μ ；纖維群細長，寬11~35 μ ，壁厚約3 μ 。

13. 荷

葉



Nelumbo nucifera GAERTNER (荷葉)

- | | |
|-------------------|----------------------|
| A、外形 | D ₂ 乳头状突起 |
| B、略圖 12 x | D ₃ 纖維 |
| C、組織圖 | D ₄ 導管 |
| D、粉末及解離要素 | D ₅ 結晶 |
| D ₁ 氣孔 | |

14. 白 芍

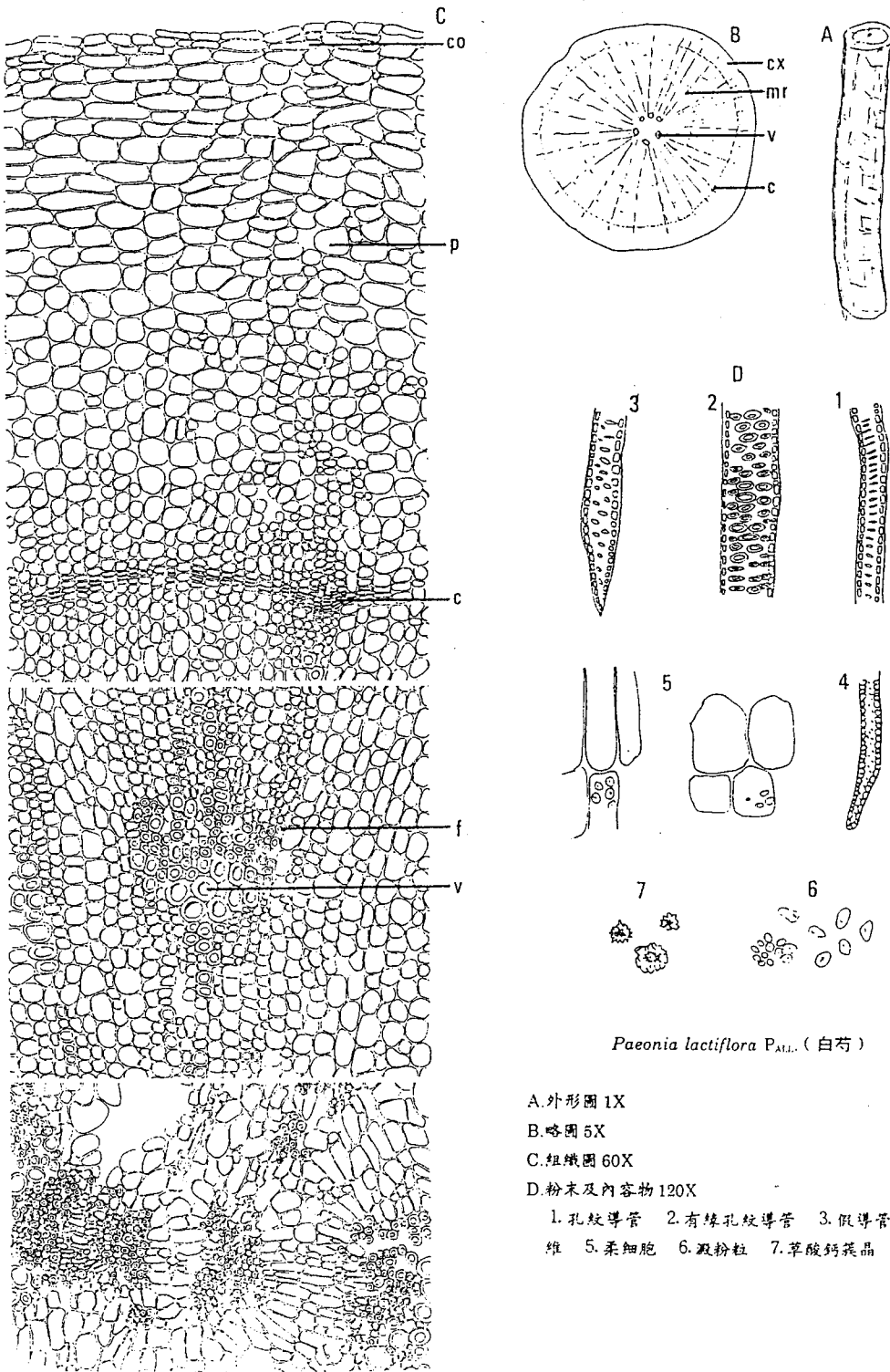
Paeoniae Radix

Paeonia lactiflora P_{ALL.} (Ranunculaceae)

組織鑑別：偶爾殘存數層之薄膜性栓皮細胞。皮層：最外方由1~3層厚壁細胞組成，其內為8~16層切線延長的薄壁細胞，細胞多呈長橢圓形。中部靠近韌皮處，常有6~15個厚角細胞成群排列，大小與形狀均不很規則。韌皮部：橫切面觀察，薄壁細胞較小，略成圓方形。篩管附近常有厚角細胞群分布。形成層：明顯，為2至多列扁平細胞，排列略成波狀圓環。木質部：導管單獨或成群，伴隨有假導管及木纖維，由木部中心輻射排列。導管直徑40~75 μ ，呈強木化反應。假導管口徑較小，20~40 μ ，呈木化反應。纖維，直徑15~32 μ ，弱木化。組織內含物有澱粉、草酸鈣結晶。澱粉以皮部射線分布最多，韌皮部及形成層較少。草酸鈣結晶在各部組織皆有，多數為簇晶。

粉末鑑別：粉末類白色。導管直徑40~75 μ 以有緣孔紋導管，孔紋導管及階紋導管為主。假導管直徑20~40 μ ，管壁有斜紋孔和階紋孔。木纖維直徑15~32 μ 壁厚略彎曲，紡錘形，具斜紋孔。柔細胞充滿澱粉粒，澱粉粒主要為單粒，呈球形或卵形，徑3~28 μ ，臍點明顯，偶有2~3個單粒聚成之複粒。草酸鈣簇晶，徑18~35 μ 。

14. 白 芍



Paeonia lactiflora PALL. (白芍)

A. 外形圖 1X

B. 略圖 5X

C. 組織圖 60X

D. 粉末及內容物 120X

1. 孔紋導管 2. 有緣孔紋導管 3. 假導管 4. 纖維 5. 柔細胞 6. 澱粉粒 7. 草酸鈣簇晶

15. 冬瓜子

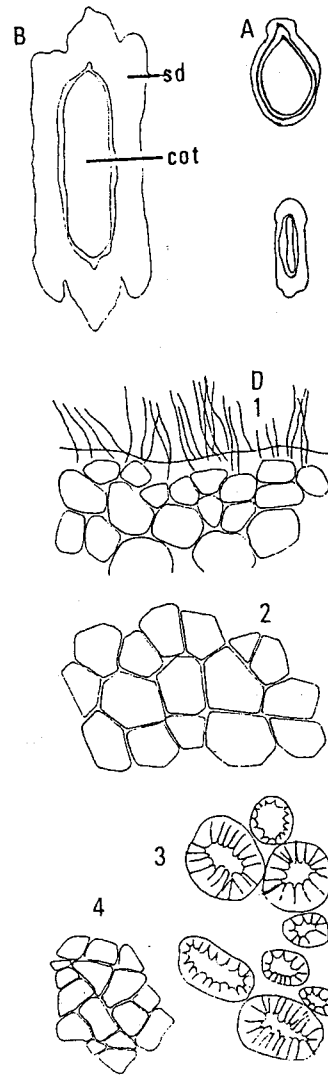
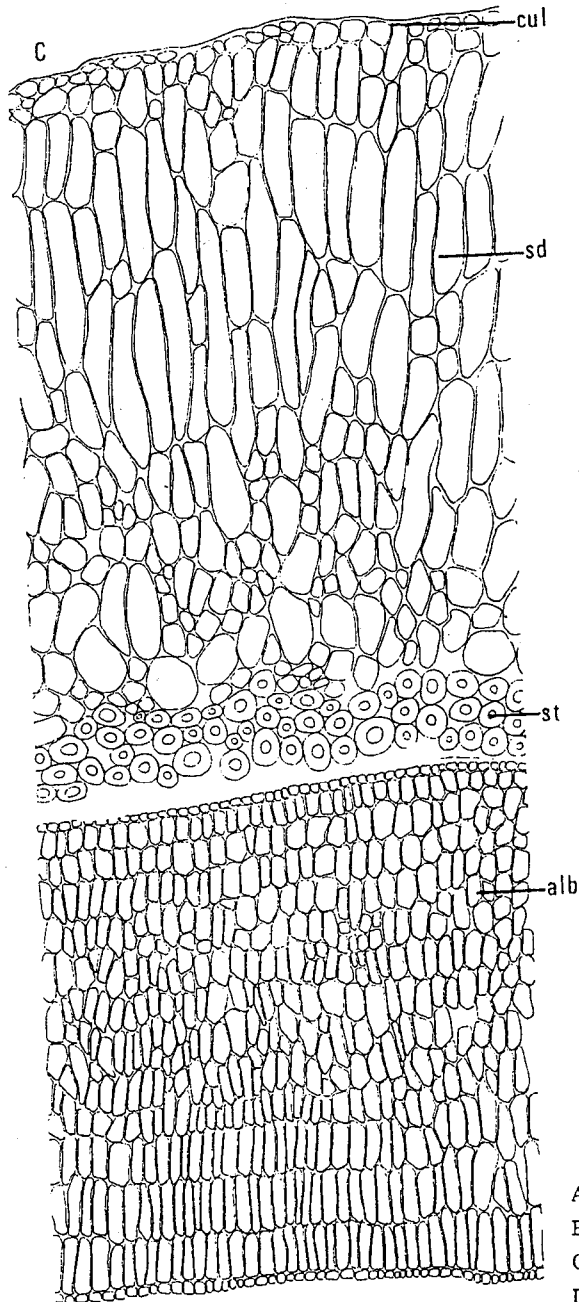
Benincasae Semen

Benincasa hispida COGN. (Cucurbitaceae)

組織鑑別：冬瓜子（中部）橫切面：最外層為一系列種皮表皮細胞，細胞呈類方形或類卵圓形，其外側被覆著角質層及多數的非腺毛。其內側為7~15層的種皮薄壁細胞，其中靠外側的細胞多呈長條形，較大型；靠內側的細胞則呈類卵圓形、類圓形或不規則形，略小。種皮細胞的最內側為二至四層的石細胞，壁甚厚，呈類圓形、類卵圓形、長橢圓形，直徑12~50 μ ，木化。子葉兩片，每片由約15層左右的細胞組成，其內外各為一系列排列緊密的薄壁細胞，呈類方形或類長方形。而較靠近種皮的十層左右的細胞則呈長條形，柵狀排列。子葉細胞充滿糊粉粒與油滴。不木化。

粉末鑑別：粉末呈黃棕色。種皮外常有多數的非腺毛，為單一細胞，呈長鞭毛狀。種皮表皮細胞之表面觀呈多角形。石細胞位於種皮的最內側，在子葉外形成環狀排列，紋理明顯，呈類圓形、類卵形、類長橢圓形，直徑12~50 μ 。子葉細胞充滿糊粉粒。

15. 冬瓜子



Benincasa hispida Cogn. (冬瓜子)

A. 外形圖 2X

B. 略圖 6X

C. 組織圖 120X

D. 粉末 50X

1. 種皮細胞及非腺毛側面觀 2. 種皮表皮細胞表面觀 3. 石細胞 4. 胚乳細胞

16. 補骨脂

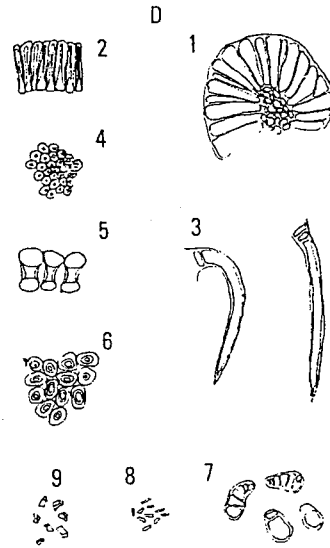
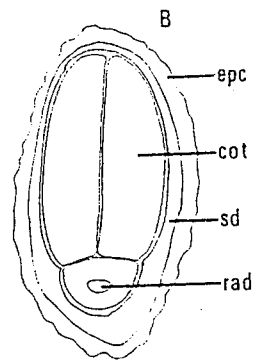
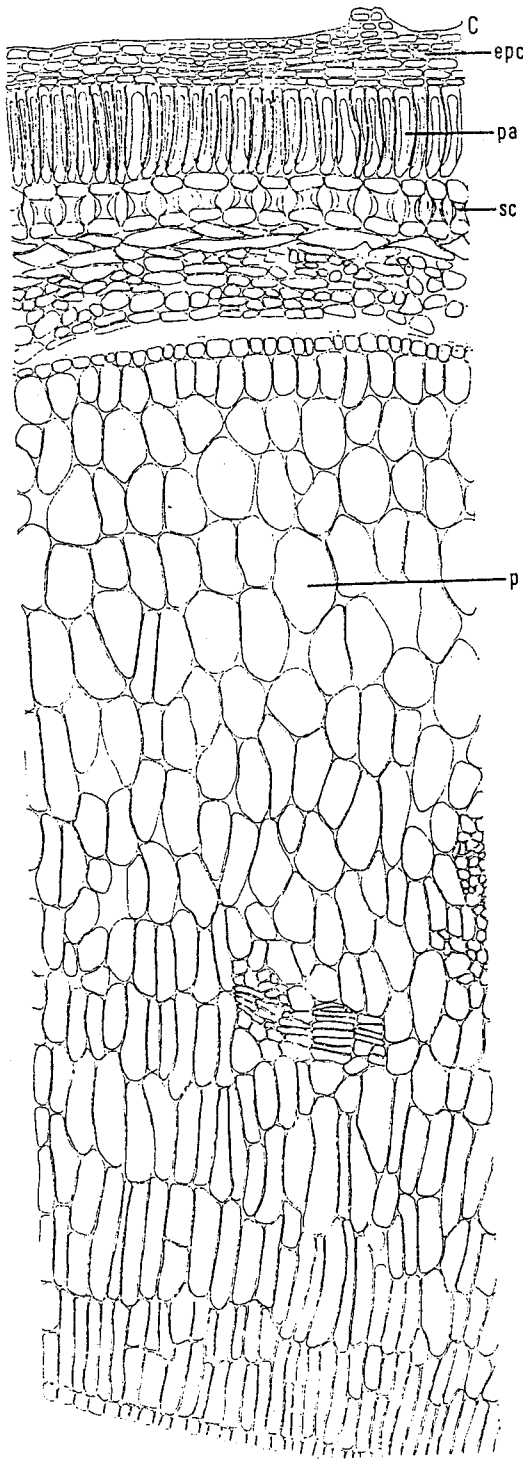
Psoraleae Semen

Psoralea corylifolia L. (Compositae)

組織鑑別：果實（中部）橫切面：果皮波狀彎曲，棕褐色，細胞壁皺縮，細胞界限不清楚。凹陷處表皮下有衆多扁圓形內生腺體（Intramural gland）及少數小形腺毛。內生腺體自果皮表皮向內著生，形大，由十數個至數十個細胞組成，直徑 $135\sim 200\mu$ ，細胞縱向延長，呈放射狀排列，腺毛頂部緊貼中果皮，表面觀呈類圓形，中央由多數多角形表皮細胞集成類圓形細胞群（腺體基部），直徑 $36\sim 72\mu$ 。小腺毛少數，頭部類卵圓形， $4\sim 5$ 個細胞，長 $30\sim 50\mu$ ，直徑 $10\sim 32\mu$ ，無柄。非腺毛長 $150\sim 480\mu$ ，直徑 $15\sim 22\mu$ ，頂部細胞特長。中果皮薄壁組織中有小型外韌維管束；薄壁細胞有含草酸鈣小柱晶。種皮外表皮爲1列柵狀細胞，長（徑向） $34\sim 66\mu$ ，寬（切向） $7\sim 14\mu$ ，側壁上部較厚，下部較薄，內含紅棕色物質。其內爲1列啞鈴狀支持細胞，長 $26\sim 51\mu$ ，上部較寬大，可見環狀增厚壁（側壁增厚部分）。支持細胞之內爲7~10層的薄壁細胞。子葉二片，每片由十多層細胞組成，內外各有一列排列緊密的薄壁細胞，子葉細胞靠近種皮的數層細胞呈類卵圓形，較大型，靠內側的數層細胞則呈柵狀排列。子葉細胞充滿糊粉粒與油滴。不木化。

粉末鑑別：粉末灰黃色，寬 $7\sim 14\mu$ ，細胞壁成V字型增厚。支持細胞呈啞鈴狀，中部細胞壁增厚，長 $26\sim 51\mu$ 。另有子葉細胞與非腺毛碎片。

16. 補骨脂



Psoralea corylifolia L. (補骨脂)

A. 外形圖 8X

B. 略圖 50X

C. 組織圖 300X

D. 粉末及內容物 180X

1. 內生腺體 2. 柵狀細胞側面觀 3. 非腺毛 4. 柵狀細胞頂面觀 5. 支持細胞側面觀 6. 支持細胞頂面觀 7. 腺毛 8. 草酸鈣小柱晶 9. 草酸鈣方晶

17. 茵陳蒿

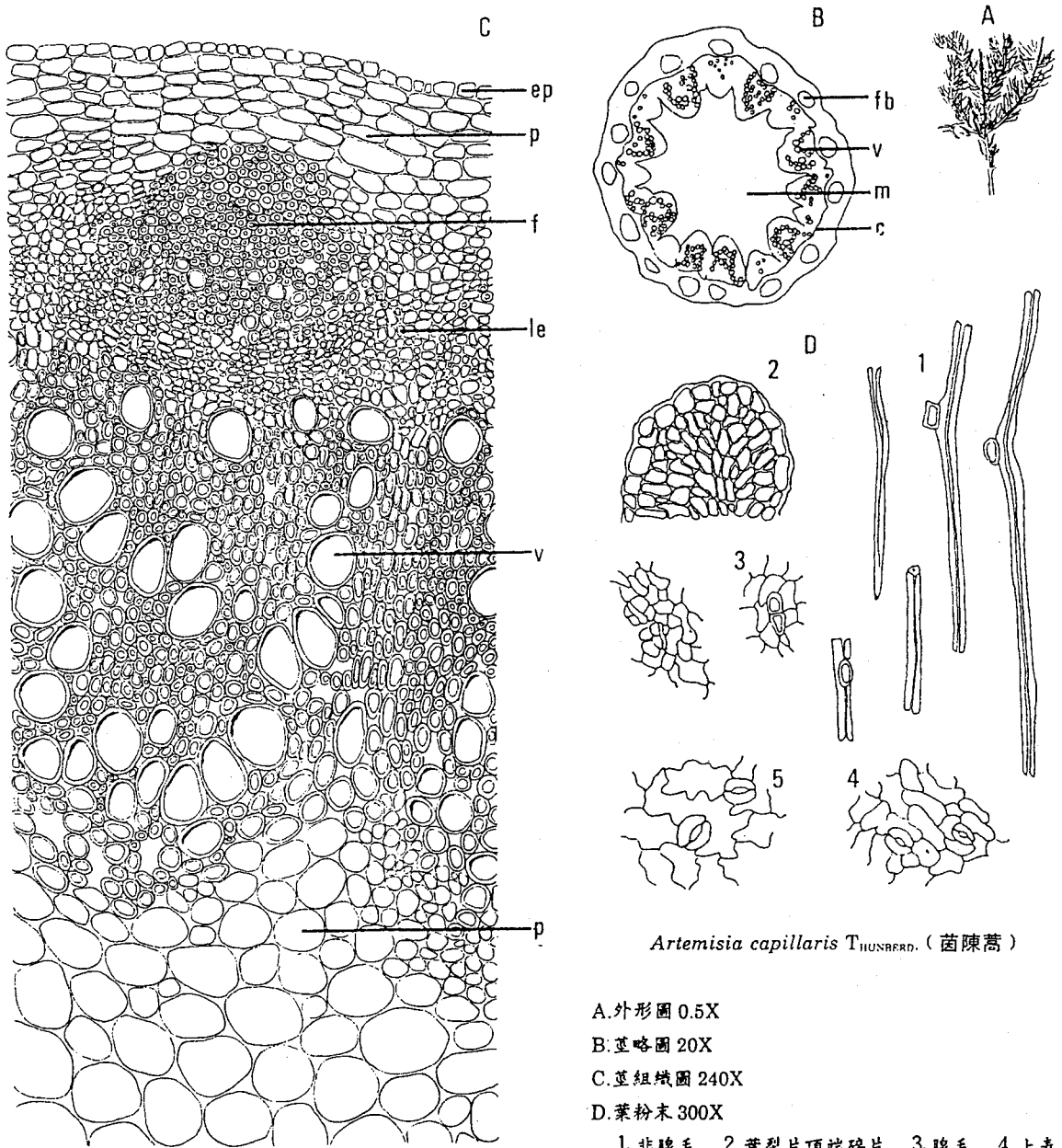
Artemisiae Capillaris Herba

Artemisia capillaris T_{HUNBERD.} (Compositae)

組織鑑別：茵陳蒿莖橫切面。最外側爲一列表皮細胞，細胞成切線性延長或類方形。其內爲6至8層的柔細胞，亦成切線性延長，不木化。再內側爲篩部，在篩部與皮部之間分布具有纖維束，每一纖維束由數十條以上之纖維組成，徑小， $5\sim 15\mu$ ，木化。篩部細胞較小型，形狀不規則。形成層不明顯。其內爲木部，強木化，導管口徑大， $18\sim 75\mu$ ，伴隨有木纖維，徑 $10\sim 20\mu$ 。髓部排列成多角呈星狀，柔細胞大型，成類卵圓形。

粉末鑑別：茵陳蒿葉粉末呈灰綠色。上表皮細胞壁較平直，下表皮細胞壁波狀彎曲；上下表皮均有氣孔，爲不定式。葉片裂片頂端鈍圓或稍狹，表皮細胞較小，氣孔少見。腺毛少，頂面觀呈鞋底形，由6~8個細胞上下成對疊合而成，直徑 $15\sim 22\mu$ 。丁字形非腺毛衆多，大多碎斷似纖維狀，完整者頂端細胞極長，可至2mm，直徑 $5\sim 26\mu$ ，左右兩臂不等長，壁厚，木化，基部1~3個細胞，極扁短。

17. 茵陳蒿



Artemisia capillaris THUNBERG. (茵陳蒿)

A. 外形圖 0.5X

B. 莖略圖 20X

C. 莖組織圖 240X

D. 葉粉末 300X

1. 非腺毛 2. 葉裂片頂端碎片 3. 腺毛 4. 上表皮細胞 5. 下表皮細胞

18. 青 蒿

Artemisiae Apiaceae Herba

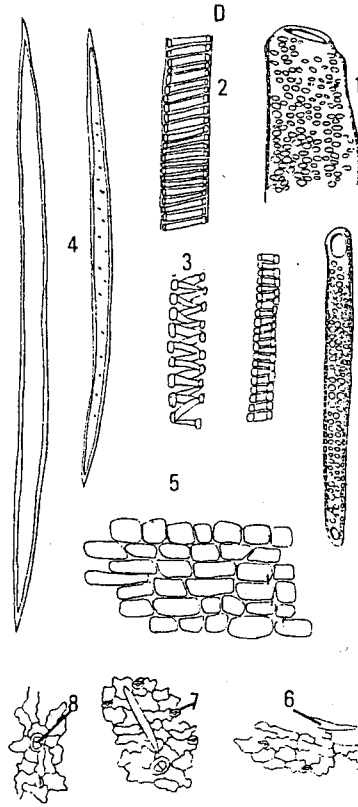
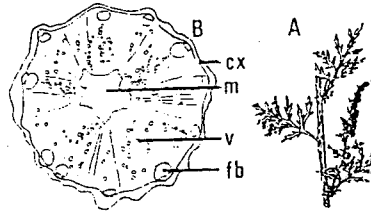
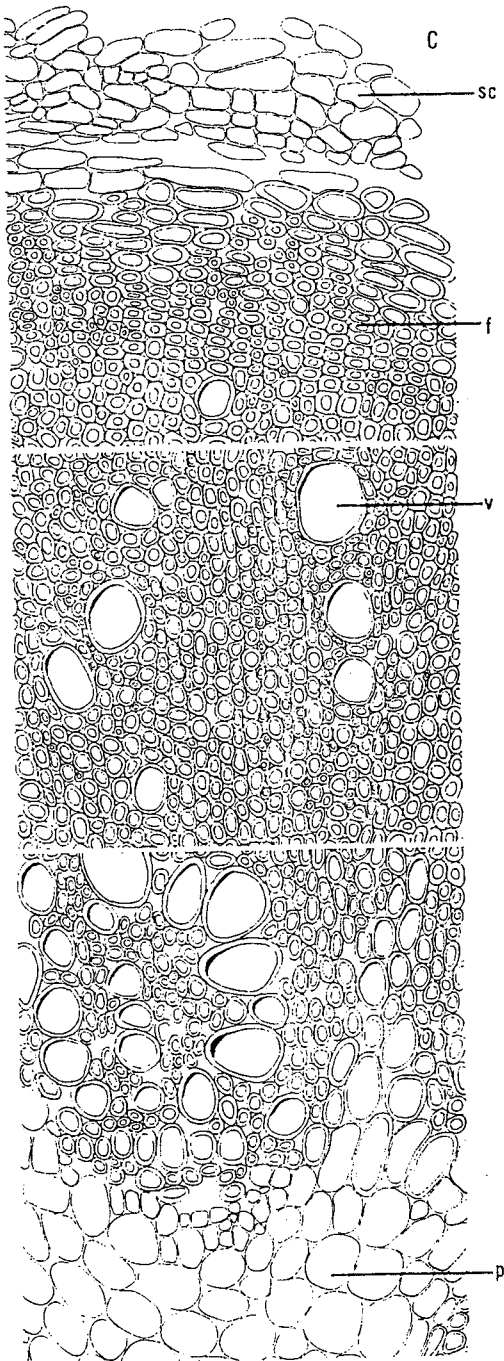
Artemisia apiacea H_{ANCE} (Compositae)

組織鑑別：青蒿莖橫切面。最外層爲一列表皮細胞，易碎裂，細胞呈扁平狀或類圓形、類卵圓形，外被角質層，不木化。其內方有二至七層略厚化之細胞，在莖呈稜狀凸起的部位有六至七層細胞，其他部位則只有二至三層細胞，細胞多呈類圓形，淺黃棕色，細胞內常有黃褐色的物質存在。再內方有二~六層扁橢圓形薄壁細胞，不木化；而在莖呈稜狀凸起的部位則有纖維束，纖維束由數十條以上之纖維組成，直徑約 $8\sim 18\mu$ ，弱木化。形成層不明顯。再內側爲木部，由數十層の木纖維及導管間雜組成。導管直徑相差很大，呈卵圓形或橢圓形，徑 $12\sim 65\mu$ ，強木化。木纖維口徑相近，約 $5\sim 20\mu$ ，弱木化。最內側爲髓部，外觀似星狀，由大型柔細胞組成，細胞呈類圓形，卵形，不木化。

粉末鑑別：青蒿莖粉末呈黃褐色。導管以有緣孔紋、階紋、螺旋紋爲主，徑 $12\sim 65\mu$ 。纖維壁薄，呈長紡錘形，具斜紋孔，直徑 $5\sim 20\mu$ 。

青蒿葉粉末呈灰綠色。表皮細胞形狀不規則。表皮密布丁毛，丁字毛柄細胞多爲2~3個，長 $93\sim 300\mu$ ，腺毛稀疏。

18. 青 蒿



Artemisia apiacea HANCE (青蒿)

A. 外形圖 0.5X

B. 略圖 15X

C. 組織圖 300X

D. 粉末

1. 有緣孔紋導管350X 2. 階紋導管350X 3. 螺旋紋導管350X 4. 纖維350X 5. 韌部細胞90X 6. 葉表面丁字毛100X 7. 葉表面氣孔100X 8. 葉表面

19. 蛇 床 子

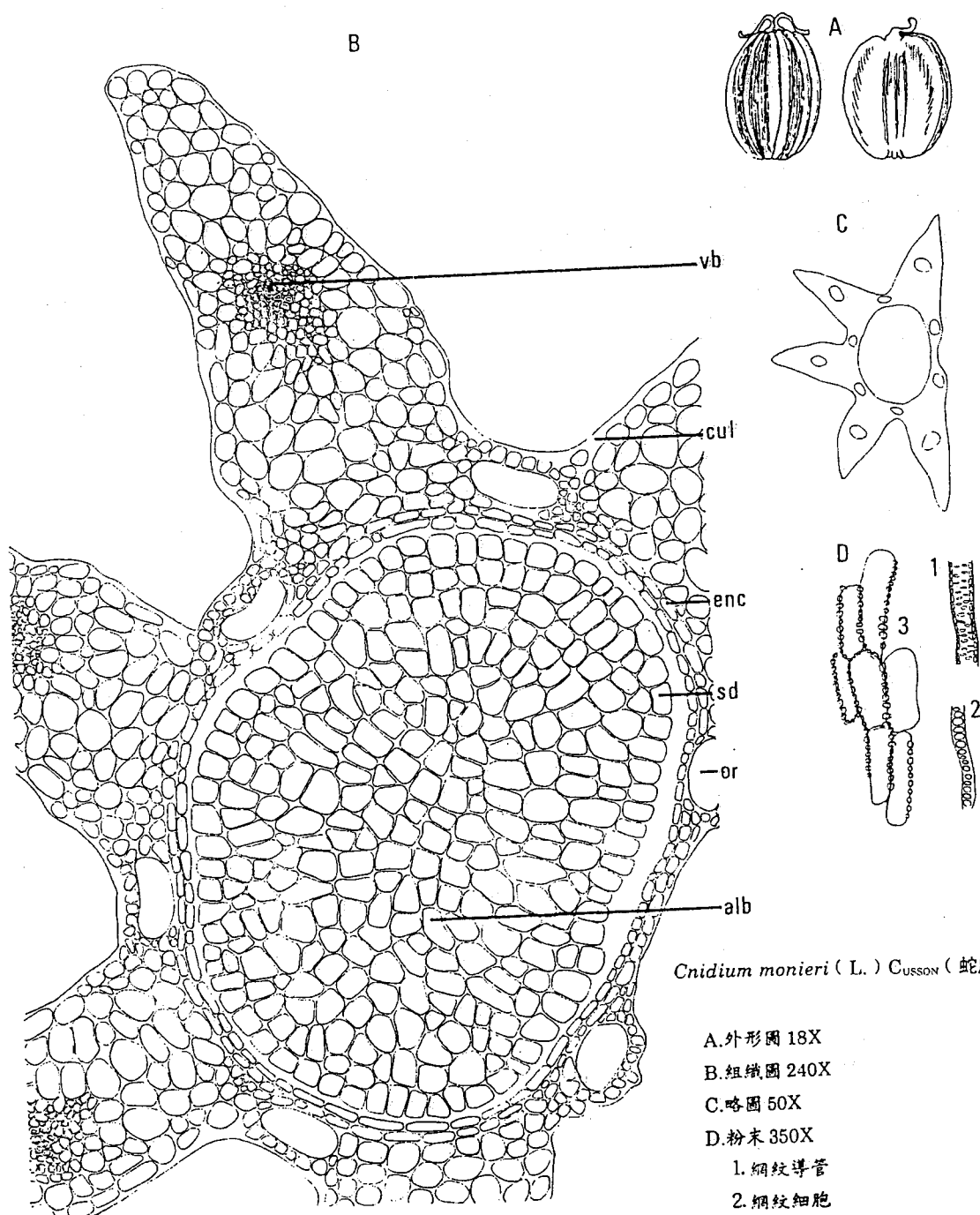
Cnidii Fructus

Cnidium monieri (L.) C_{USSON} (Umbelliferae)

組織鑑別：分果橫切面呈五角形，其鑑別要點為：外果皮為一系列扁平的細胞，外被角質層。中果皮較厚，縱稜非常突出，中部有維管束。導管以網紋及環紋導管為主，直徑 $5\sim 15\mu$ 。其周圍有厚壁木化網紋細胞。背面縱稜間各有橢圓形油管1個，接合面有油管2個，共有6個。內果皮由1列扁平細胞組成，壁呈連珠狀增厚。種皮為1列淡黃棕色細胞，呈類方形、類長方形。胚乳細胞含大量澱粉粒及草酸鈣簇晶。

粉末鑑別：粉末呈黃棕色，具松節油樣香氣。鑑別點為網紋細胞具條狀或圓形壁孔，壁木化。油管黃棕色，常已破碎。內胚乳細胞壁頗厚，有衆多草酸鈣簇晶，大小頗均勻，約 5μ 左右。導管以網紋導管、環紋導管為主，直徑 $5\sim 15\mu$ 。內果皮細胞呈連珠狀增厚。

19. 蛇床子



Cnidium monieri (L.) CURSON (蛇床子)

- A. 外形圖 18X
- B. 組織圖 240X
- C. 略圖 50X
- D. 粉末 350X
 - 1. 網紋導管
 - 2. 網紋細胞
 - 3. 果皮細胞

20. 薑 黃

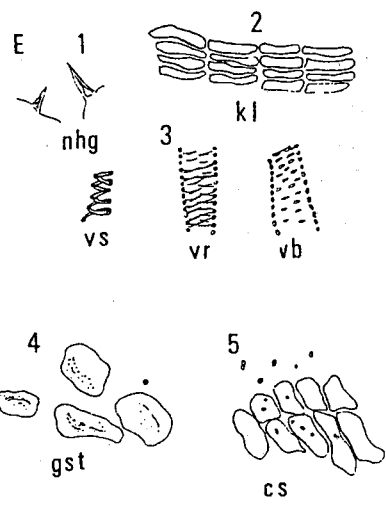
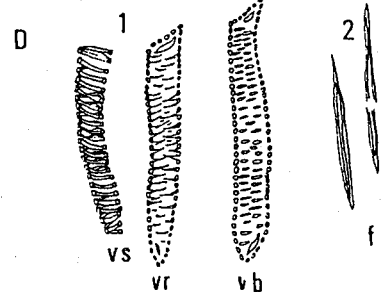
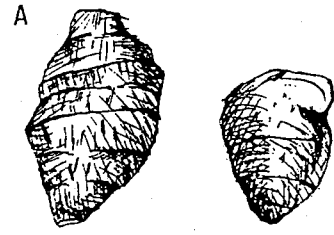
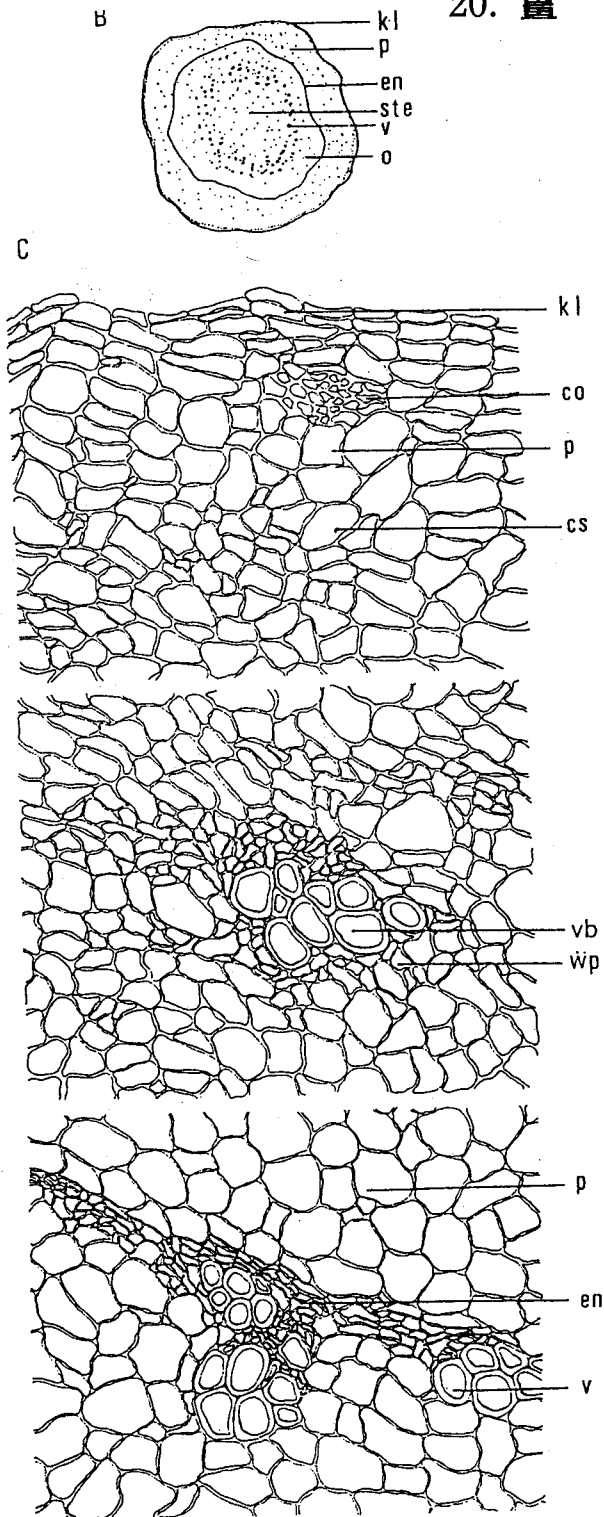
Curcumae longae Rhizoma

Curcuma longa I_{INN}. (Zingiberaceae)

組織鑑別：木栓層爲2~5層木栓細胞構成，或呈剝離痕跡，細胞呈類長方形，類長多角形。皮層柔細胞呈類長橢圓形，類長不規則形，或有細胞間隙，細胞內常存有黃色樣分泌物，維管束散生。內皮層細胞呈類長不規則形、類長方形，或有皺縮樣。中心柱內具外韌型維管束散生，導管5~8個，導管有網紋、螺紋、階紋，徑約15~90 μ m。愈近中心之細胞愈大，呈類圓形、類橢圓形。其皮層之薄壁細胞中常存有澱粉粒，呈類圓形、類長方形、類多角形，亦可見草酸鈣方晶，徑約5~10 μ m，呈類長方形、類方形。

粉末鑑別：本品爲薑黃色之粉末，味香而特異。可見柔細胞呈類長橢圓形，內含有澱粉粒，遇試液則漸呈糊狀，少數薄壁細胞內充滿黃色~綠黃色之分泌物。導管爲網紋導管，亦可見螺紋及階紋導管。具草酸鈣方晶，存於薄壁細胞中。木栓細胞呈淡黃色~黃棕色，多層。具單細胞非腺毛。

20. 薑 黃



Curcuma longa INN. (薑黃)

- A. 外形 1x B. 略圖 30x
 C. 橫切面 200x
 D. 解離要素 200x: 1. 導管 2. 纖維
 E. 粉末 200x: 1. 非腺毛 2. 栓皮細胞 3. 導管
 4. 糊化澱粉 5. 方晶

21. 黨 參

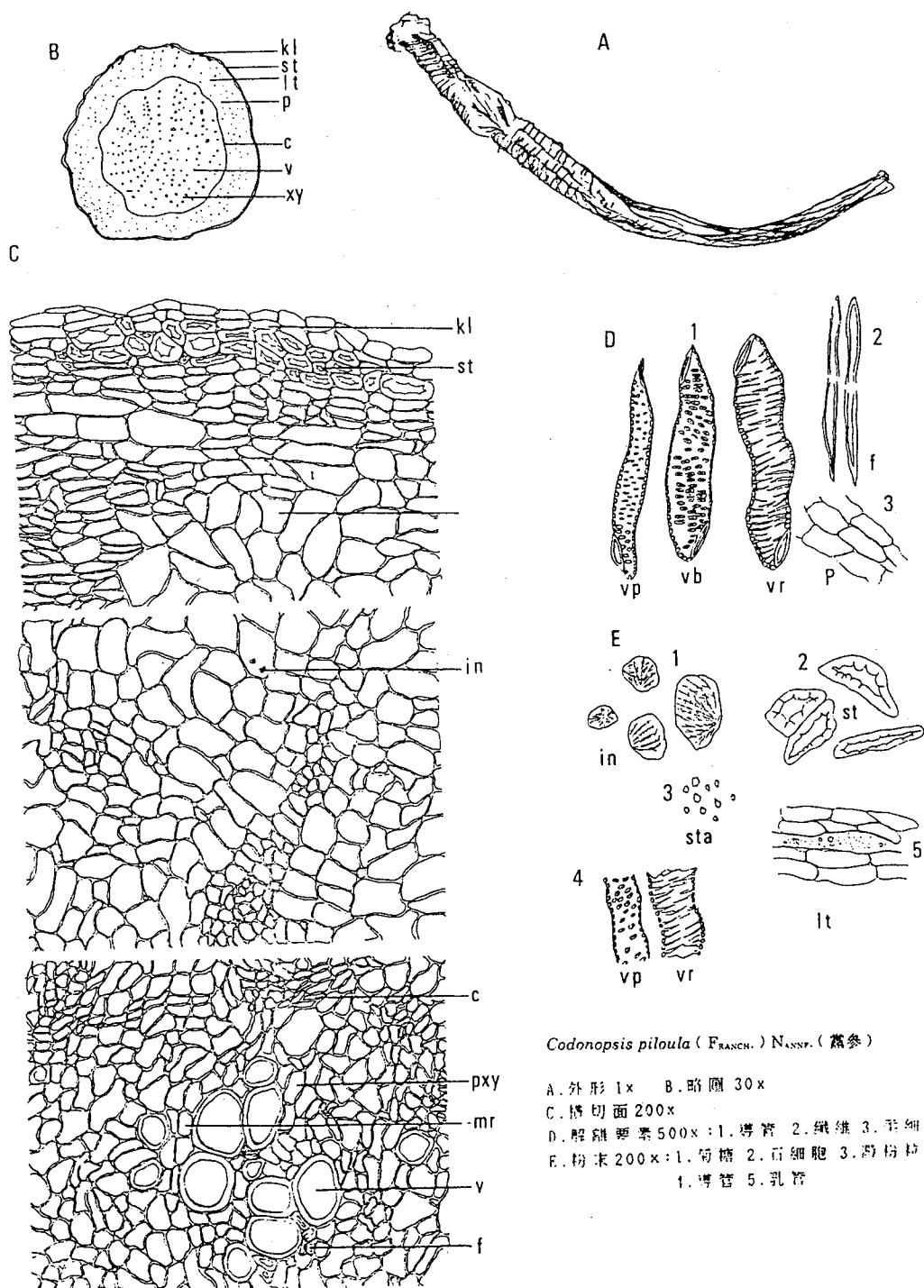
Codonopsis Rasix

Codonopsis pilosula (F_{RANCH.}) N_{ANNF.} (Campanulaceae)

組織鑑別：外側具有數列木栓層，細胞呈類圓形，類長方形、類多角形。或有細胞散生，弱木化，細胞呈長多角形、類長方形，徑約20~100 μ 。韌皮部寬廣，呈放射狀排列，外側可見裂隙。柔細胞中散有乳管道，內含淡黃色、米黃色之細顆粒樣物質。形成層成環。木質部由木部柔細胞、髓線、導管構成。導管單生或數個聚生，呈放射狀排列，主為有緣孔紋導管，亦可見孔紋導管及網紋導管，直徑約15~85 μ ，長75~100 μ 。亦可見菊糖及澱粉粒存於薄壁細胞中，菊糖呈扇形之團塊，具放射之條紋，明顯或不明顯；澱粉粒類圓形，單顆。

粉末鑑別：本品粉末呈黃白色，可見類多角形之木栓細胞，細胞呈類長多角形，或呈弱木化。可見扇狀團塊之菊粒，亦存有單粒類圓形之澱粉，徑長約2~8 μ 。導管主為有緣孔紋導管，亦可見網紋導管及孔紋導管，無色或淡黃色，徑長15~80 μ 。

21. 黨 參



Codonopsis piloula (FRANCH.) NANNF. (黨參)

A. 外形 1x B. 略顯 30x
C. 橫切面 200x
D. 解離要素 500x: 1. 導管 2. 纖維 3. 韌細胞
E. 粉末 200x: 1. 葡萄糖 2. 韌細胞 3. 澱粉粒
4. 導管 5. 乳管

22. 苦 參

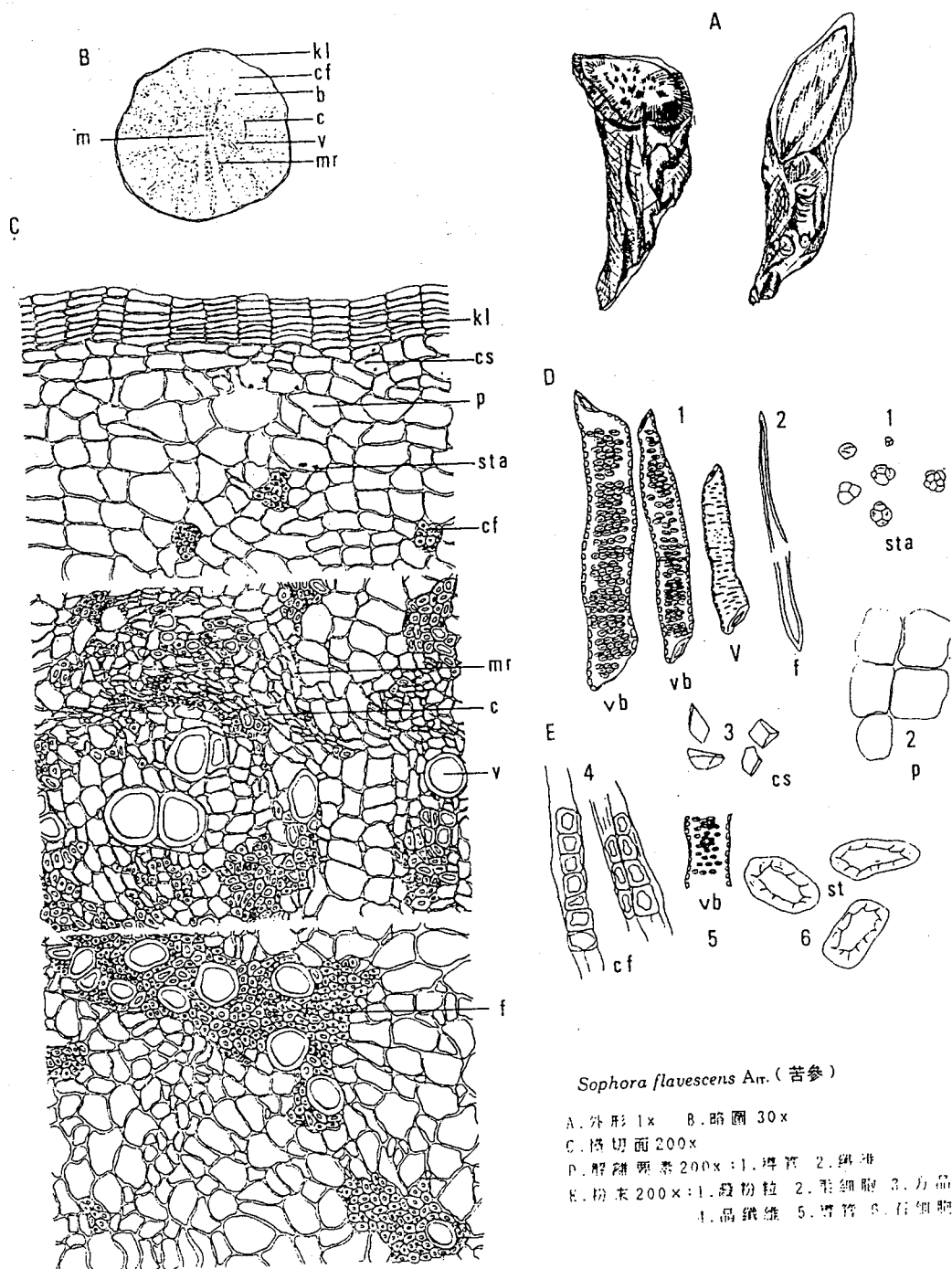
Sophorae Radix

Sophora flavescens AIT. Zucc (Leguminosae)

組織鑑別：栓皮層由4~12列細胞構成，細胞呈扁平狀，平整，外緣常折裂，有時栓皮剝落。皮層約由20~30層薄壁細胞，具纖維束，內或含草酸鈣方晶，由3~8個或10餘個成束散生，其皮層薄壁細胞內可見澱粉粒及草酸鈣方晶。形成層明顯或不明顯，約由2~11層細胞所構成，呈細小扁平。木質部自中央向外分叉為2~4束，導管1~2列，單生或成對雙生，主為網紋，有緣孔紋導管，徑約20~135 μ 。具4~17列髓線。中央為髓部，有少數導管及纖維束散生，薄壁細胞中亦可見草酸鈣結晶及澱粉粒。

粉末鑑別：本品呈淡黃色之粉末。木栓細胞，棕色或淡棕色，呈扁長方形，壁微皺縮。薄壁細胞，呈類橢圓形或類長方形，內含有草酸鈣結晶。纖維及結晶纖維，多數，成束，細長，約10~30 μ ，壁厚。纖維束周圍含草酸鈣方晶成結晶纖維。於薄壁細胞可見澱粉粒，單粒或複粒散生。

22. 苦 參



Sophora flavescens Arr. (苦參)

A. 外形 1× B. 斷面 30×

C. 橫切面 200×

D. 解離要素 200×: 1. 導管 2. 纖維

E. 粉末 200×: 1. 澱粉粒 2. 韌皮細胞 3. 方晶
4. 晶纖維 5. 導管 6. 石細胞

23. 瞿 麥

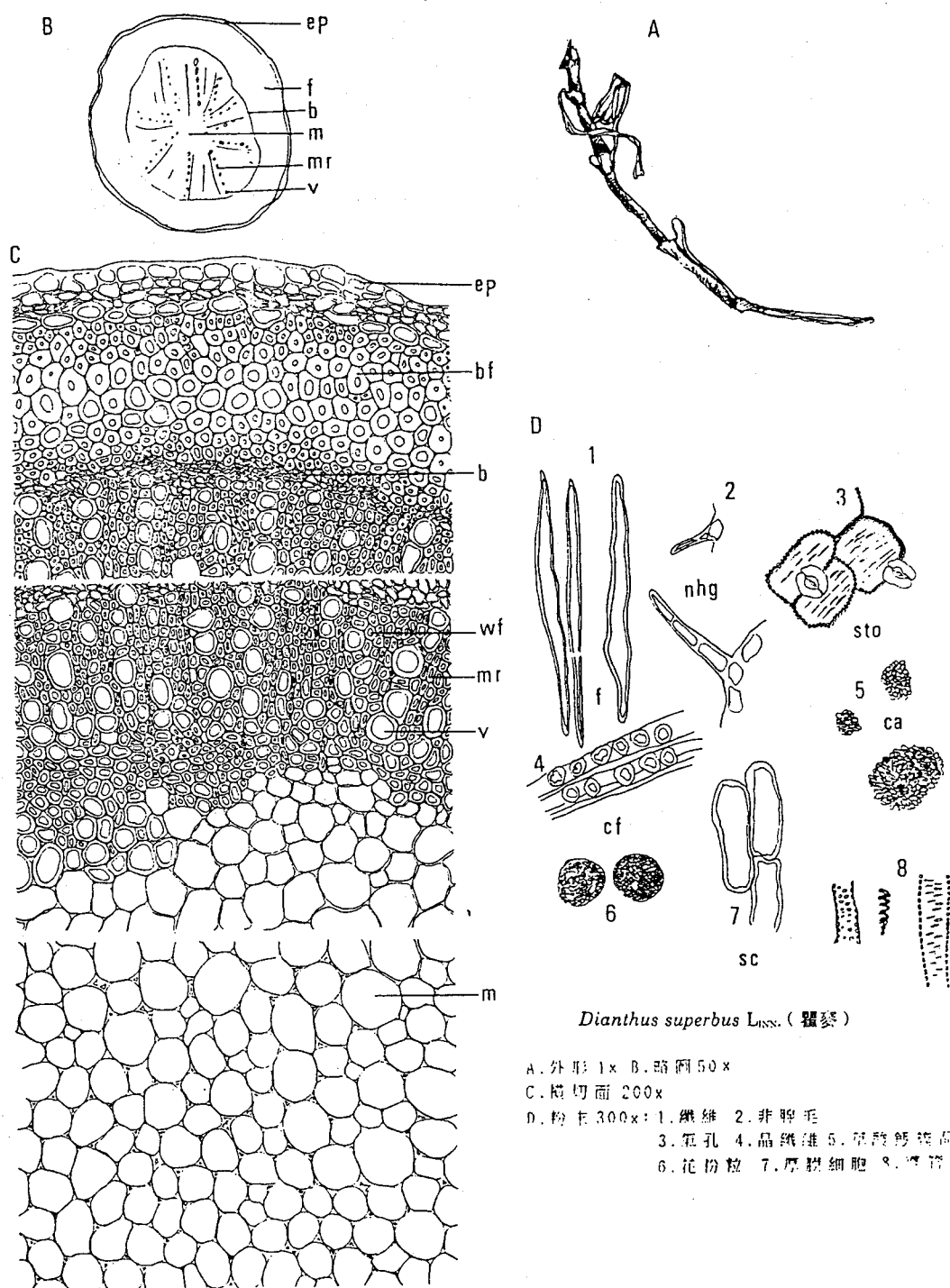
Dianthi Herba

Dianthus superbus L_{INN.} (Caryophyllaceae)

組織鑑別：表皮細胞爲不規則長方形細胞構成，壁稍增厚，具角質化。皮層細胞菲薄，細胞中常存草酸鈣簇晶，徑約 $5\sim 90\mu$ ，具稜角短尖或稍鈍圓。韌皮部細胞較菲薄，具有束狀纖維，纖維常存草酸鈣結晶，形成晶纖維，含晶細胞呈類圓形，壁稍厚，弱木化，散列或縱向成行。木質部由木化細胞所構成，導管常見孔紋導管，亦可見梯紋或螺紋導管，徑約 $5\sim 15\mu$ 。纖維有2種，一爲胞腔狹窄，兩端尖細者，徑約 $10\sim 25\mu$ ，另有兩端平直或尖斜者，徑約 $15\sim 40\mu$ 。中間爲髓部，其細胞呈圓形，胞壁稍厚，近中央處，則成空洞。

粉末鑑別：粉末爲黃綠色或黃棕色，氣微、味淡。可見纖維及結晶纖維，纖維大都成束，細長，邊緣平直或呈波狀，徑約 $10\sim 40\mu$ ，其含晶細胞常呈類圓形。可見厚壁細胞呈長方形或長條形，一端稍偏斜，徑約 $25\sim 100\mu$ ，弱木化。亦可見花粉粒。

23. 瞿 麥



24. 荊 芥

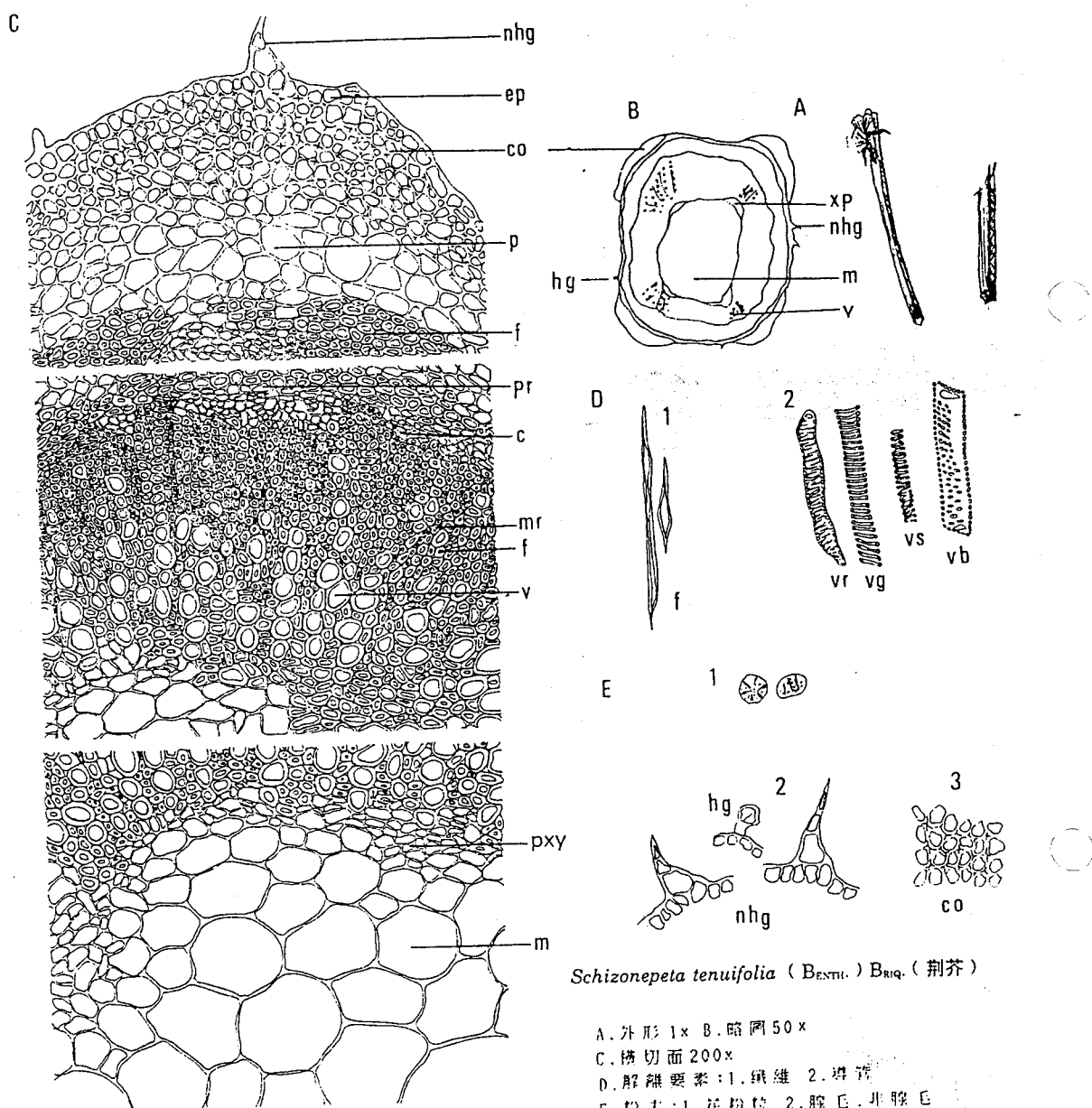
Schizonepetae Herba

Schizonepeta tenuifolia (B_{ENTH.}) B_{RIQ.} (Labiatae)

組織鑑別：表皮細胞呈類長方形、類長多角形，略角質化，具有腺毛，具1~2個細胞，非腺毛1~4個細胞。皮層狹窄，四角之稜角為厚組織，約3~10層，細胞縱向延伸。具有內皮層，環狀排列。韌皮部約由3~10層細胞所構成，細胞呈細長狀，類長橢圓形。形成層不明顯。木質部較韌皮部寬廣，由木部纖維及木部柔細胞、導管及髓線組成，木部纖維，長7~36 μ ，成束或散離。導管主要為網紋導管，亦可見有緣孔紋導管及螺紋、環紋導管，徑長9~30 μ ，髓線1~2列，小而壁略薄。髓占莖的大部份，並不規則之圓形，壁薄而有細胞間隙，中央較大，近周邊較小。

粉末鑑別：本品為黃棕色之粉末，具有芳香味。可見腺毛，具1~2個細胞，非腺毛1~4個細胞。纖維，成束或散生，無色或淡黃色，細長，徑約7~36 μ ，壁略厚。導管主為網紋導管，亦可見有緣孔紋、螺紋、環紋導管。表皮細胞，呈長方形、類方形、類長方形。

24. 荆 芥



Schizonepeta tenuifolia (Benth.) Briq. (荆芥)

A. 外形 1× B. 花 50×

C. 横切面 200×

D. 解離要素: 1. 纖維 2. 導管

E. 粉末: 1. 花粉粒 2. 腺毛 3. 厚角組織

四、生藥學術語之英語略字表

略號	術語	中文名
ag	aleurion grain	糊粉粒
alb	albumen	胚乳
b	bast	韌皮部
bf	bast fiber	韌皮纖維
bp	bast parenchyma	篩部柔組織
br	bract	苞葉
bs	vascular bundle sheath	維管束鞘
c	cambium	形成層
ca	clustered crystal	集晶，簇晶
cb	crystal bundle	束晶，針晶束
cd	crystal sand	沙晶
cf	crystal fiber	結晶纖維
clx	calyx	萼
cm	cell membrane	細胞膜
cn	needle crystal,raphid	針晶
co	collenchyma (tous) (cell)	厚角組織 (細胞)
cot	cotyledon	子葉
cr	crystal	結晶
cs	single crystal	單晶
cu	cuticle	角皮
cul	cuticular layer	角質層
cx	cortex	皮，皮部，皮層
cy	cystolith	鐘乳體
em	embryo	胚

略號	術語	中文名
en	endodermis	內皮
enc	endocarp	內果皮
eo	essential oil	精油
ep	epidermis	表皮
epc	epicarp	外果皮
epl	lower epidermis	下面表皮
f	fiber	纖維
fb	fiber bundle	纖維束
gs	glandular scale	腺鱗
gst	gelatinized starch	糊化澱粉
h	hair	毛
ha	hadrome	木部
hg	glandular hair	腺毛
hi	hilum	臍點
i	intercellular space	細胞間隙
id	idibolast	異形細胞
in	inulin	菊糖
k	cork, (cork cell)	栓皮 (栓皮細胞)
kc	cork cambium (phellogen)	栓皮形成層
kl	cork layer	栓皮層
le	leptome	篩部
lt	latex tube	乳管
lv	lactiferous vessel	聯合乳管
m	mark, pith, medulla	髓
md	midrib, main nerve	主脈
mes	mesophyll	葉肉

略號	術語	中文名
rnph	phloem medullary ray	篩部髓線
rnrr	medullary ray	髓線
rmuc	mucilage cell	粘液細胞
rnxy	xylem medullary ray	木部髓線
o	oil drop	油滴
obs	obliterated sieve (portion)	退廢篩部
oc	oil cell	油細胞
or	oil (secreting) reservoir	油室
p	parenchyma (cell)	柔組織 (柔細胞)
pa	palisade parenchyma (tissue)	柵狀細胞 (組織)
pd	phelloderm (= cork cortex)	栓皮層
pg	phellogen (= cork cambium)	栓皮形成層
ph	phloem (= leptome)	篩部
pib	bordered pit	有緣膜孔
pph	phloem parenchyma	篩部柔組織
pr	pericycle	內鞘
pxy	xylem parenchyma	木部柔組織
rc	resin canal	樹脂道
s	sieve tube	篩管
sc	sclerenchyma (cell)	厚膜組織 (細胞)
sd	seed coat, spermoderm	種皮
sec	secretory cell	分泌細胞
sp	spongy tissue (parenchyma)	海綿狀組織
st	stone cell	石細胞
sta	starch grain	澱粉粒
ste	stele (= central cylinder)	中心柱
sto	stoma, stomata	氣孔

略號	術語	中文名
str	striation	層紋
v	trachea, vessel	導管
vb	vascular bundle	維管束
vbb	bicollateral v. b.	兩立維管束
vbc	concentric v. b.	包圍維管束
vbcx	cortical v. b.	內層內維管束
vbh	hadrocentric v. b.	外篩維管束
vbl	leptocentric v. b.	內篩包圍維管束
vbn	open v. b.	開放維管束
vbo	collateral v. b.	並立維管束
vbr	radial v. b.	放射維管束
vbs	closed v. b.	閉鎖維管束
vc	scalariform vessel	階紋維管束
vd	bordered pit vessel	重緣孔導管
ve	vein	脈(葉)
vg	ring vessel	環紋導管
vp	pitted vessel	孔紋導管
vr	reticulate vessel	網紋導管
vs	spiral vessel	螺旋紋導管
wf	wood fiber	木纖維
wp	wood parenchyma	木部柔細胞
x, xy	xylem	木部
xm	metaxylem	後生木部
xp	protoxylem	原生木部

行政院衛生署中醫藥年報

第十期第二冊

編印者：行政院衛生署

地 址：台北市愛國東路100號

電 話：(02)3210151

印刷者：國堡印刷事業股份有限公司

地 址：三重市光復路2段88巷22弄6號

電 話：(02)9955617

中華民國八十二年六月 初版

ISBN 957-00-2585-9 (平裝)

檢討成績
日求精進

為
中醫藥年報題

許文友



統一編號

016204820023



行政院衛生署

健康是您的權利・保健是您的責任

ISBN 957-00-2585-9