

編號：CCMP95-TP-005

行政院衛生署中醫藥委員會 95 年度
研究計畫成果報告

中草藥肝與腎毒理評估模式探討（整合型計畫）
Studies on Hepatotoxicity and kidney toxicity of
Chinese Herbal Medicines

計畫委託機關：行政院衛生署中醫藥委員會

計畫主持人：彭文煌

研究人員：蔡金川、張淑貞、賴銘淙、李宜璇、洪榮駿

執行期間：95 年 04 月 21 日至 95 年 12 月 31 日

＊＊ 本研究報告僅供參考，不代表本會意見 ＊＊

目錄

目次	-----	2
圖次	-----	3
表次	-----	6
附錄	-----	7

目次

摘要	8
ABSTRACT	9
壹、前言	10
貳、材料與方法	13
參、結果	18
肆、討論	22
伍、結論與建議	25
陸、參考文獻	26
柒、圖、表	29

表次

表 1. 三家八種市售中藥材萃取物之萃取率 -----	29
表 2. 三家八種市售中藥材萃取物之口服 50%急性毒性(LD50) -----	29
表 3. 甲家黑順片萃取物之口服 50%急性毒性(LD50)-----	30
表 4. 乙家黑順片萃取物之口服 50%急性毒性(LD50)-----	30
表 5. 丙家黑順片萃取物之口服 50%急性毒性(LD50)-----	30
表 6. 附子對沙門菌 TA98 之細菌毒性試驗 -----	31
表 7. 附子對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗 -----	31
表 8. 附子對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗 -----	32
表 9. 附子對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	32
表 10. 附子對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗 -----	33
表 11. 附子對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	33
表 12. 半夏對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	34
表 13. 半夏對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	34
表 14. 半夏對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗 -----	35
表 15. 半夏對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗 -----	35
表 16. 半夏對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗 -----	36
表 17. 半夏對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	36
表 18. 大黃對沙門菌 TA98 之細菌毒性試驗 -----	37
表 19. 大黃對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	37
表 20. 大黃對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗 -----	38
表 21. 大黃對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗 -----	38
表 22. 大黃對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗 -----	39
表 23. 大黃對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	39
表 24. 青蒿對沙門菌 TA98 之細菌毒性試驗 -----	40
表 25. 青蒿對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗-----	40

表 26. 青蒿對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗	41
表 27. 青蒿對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗	41
表 28. 青蒿對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗	42
表 29. 青蒿對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗	42
表 30. 旋覆花對沙門菌 TA98 之細菌毒性試驗	43
表 31. 旋覆花對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗	43
表 32. 旋覆花對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗	44
表 33. 旋覆花對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗	44
表 34. 旋覆花對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗	45
表 35. 旋覆花對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗	45
表 36. 射干對沙門菌 TA98 之細菌毒性試驗	46
表 37. 射干對沙門菌 TA98 回復突變菌落數之 Ames 試驗	46
表 38. 射干對沙門菌 TA100 之細菌毒性試驗	47
表 39. 射干對沙門菌 TA100 回復突變菌落數之 Ames 試驗	47
表 40. 射干對沙門菌 TA1535 之細菌毒性試驗	48
表 41. 射干對沙門菌 TA1535 回復突變菌落數之 Ames 試驗	48
表 42. 大黃對 HepG2 細胞生長之影響	49
表 43. 射干對 HepG2 細胞生長之影響	49
表 44. 旋覆花對 HepG2 細胞生長之影響	50
表 45. 半夏對 HepG2 細胞生長之影響	50
表 46. 附子對 HepG2 細胞生長之影響	51
表 47. 青蒿對 HepG2 細胞生長之影響	51
表 48. 大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	52
表 49. 射干大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	52
表 50. 旋覆花大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	53
表 51. 半夏大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	53
表 52. 附子大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	54

表 53. 青蒿大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響	54
表 54. 大黃對 MDCK 細胞生長之影響	55
表 55. 射干對 MDCK 細胞生長之影響	55
表 56. 旋覆花對 MDCK 細胞生長之影響	56
表 57. 半夏對 MDCK 細胞生長之影響	56
表 58. 附子對 MDCK 細胞生長之影響	57
表 59. 青蒿對 MDCK 細胞生長之影響	57

圖次

Fig. 1. 大黃 VS HepG2	58
Fig. 2. 射干 VS HepG2	58
Fig. 3. 旋覆花 VS HepG2	58
Fig. 4. 半夏 VS HepG2	59
Fig. 5. 附子 VS HepG2	59
Fig. 6. 菁蒿 VS HepG2	59
Fig. 7. normal (200X)	60
Fig. 8. normal (400X)	60
Fig. 9. 大黃 VS HepG2 (100X)	60
Fig. 10. 大黃 VS HepG2(400X)	60
Fig. 11. 旋覆花 VS HepG2(100X)	60
Fig. 12. 旋覆花 VS HepG2(400X)	60
Fig. 13. 半夏 VS HepG2 (200X)	60
Fig. 14. 半夏 VS HepG2 (400X)	60
Fig. 15. 附子 VS HepG2 (100X)	60
Fig. 16. 附子 VS HepG2 (400X)	60
Fig. 17. 青蒿 VS HepG2 (200X)	61
Fig. 18. 青蒿 VS HepG2 (400X)	61

附 錄

	頁碼
自我評估表-----	62
成果報告全文公開意願表-----	63
研究成果應用表-----	64
重要研究成果-----	66
職級學歷分析表-----	67

中草藥肝與腎毒理評估模式探討（整合型計畫）

彭文煌

中國醫藥大學 中國藥學研究所

摘要

本計畫擬以LD50試驗及28天餵食毒性試驗探討常用六味藥材（附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干）之小鼠口服急性毒性及口服給藥28天之肝腎毒性。並進行對沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98、T100及TA1535菌株回復突變致變異性之Ames試驗及對HepG2、MDCK、NRK-52E三種肝腎細胞株的細胞毒性試驗 (MTT test)。

本研究以四種等倍劑量中藥材萃取物口服給予小鼠，觀察小鼠之死亡隻數及死亡情形，再以Litchfield & Wilcoxon方法求其50%致死劑量；其次再每天給予小鼠中藥材萃取物一次，連續給予28天，觀察其28天之亞急性毒性，以探討常用六味藥材是否具有動物肝腎毒性；最後以MTT test、安姆氏試驗法(Ames test)，用 *Salomonella typhimurium* TA98、TA102、TA1535，以直接致突變劑NQNO(不需加S9混合物)與間接致突變劑B[a]P(需加S9混合物)來測試中草藥樣本之抗致突變性及肝腎細胞毒性。

結果顯示，採樣自台灣北中南三家大盤中藥代理商之常用八種藥材中黑順片之小鼠口服LD50急性毒性劑量分別為10.62 g/kg、11.95 g/kg及9.76 g/kg，其餘藥材之小鼠口服LD50劑量均大於10.0 g/kg，顯示此七種藥材之口服LD50急性毒性甚低。並將此八種藥材以一般常用劑量口服給與小鼠，每天給藥一次，連續給28天後並未見有小鼠死亡及體重顯著變化，顯示此八種藥材在一般劑量下並未見有亞急性毒性。細胞試驗結果顯示不論藥材之水萃取物經直接，或經S9作用後對TA98、TA100及1535之細菌回復突變菌數均無明顯增加，顯示附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干，六味藥材之水萃取物對沙門菌回復突變之Ames試驗並不具有致變異性(non genetic mutation in bacteria)。大黃、旋覆花、青蒿的水萃物在最高濃度(1 mg/ml)對HepG2造成細胞毒性，旋覆花在最高濃度(1 mg/ml)對MDCK造成細胞毒性，青蒿、大黃、射干、旋覆花在最高濃度(1 mg/ml)對NRK-52E造成細胞毒性。

關鍵詞【至少三項】：中草藥，肝毒性，腎毒性

Studies on Hepatotoxicity and kidney toxicity of Chinese Herbal Medicines

Wen-Huang Peng

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, China Medical University

ABSTRACT

The aims of this study were to investigate the oral 50% lethal toxicity and liver and kidney subacute toxicity for 28 administration of six species of common used Chinese Medicines (Aconiti Radix, Rhei Rhizoma, Pinelliae Rhizoma, Artemisiae Herba, Inulae Flos, Belamcandae Rhizoma) purchased from three dealer in TCM in mice. Secondary, we investigated the anti-mutagenic and liver and kidney cell lines toxicity by using the Ames test in TA98 · T100 and TA1535 cell lines and MTT test in HepG2, MDCK and NRK-52E cell lines.

This study investigated the hepatotoxicity and kidney toxicity of the eight species of common used Chinese Medicines by using oral 50% lethal toxicity and subacute toxicity in mice. We also investigated the anti-mutagenic effect of eight species of common used Chinese Medicines by using the NQNO and B[a]P mutagens to induce mutation in TA98 · TA102 · TA1535 cell lines (Ames test) and MTT test in HepG2, MDCK and NRK-52E cell lines..

The results shown that the oral 50% lethal toxicity of the eight species of common used Chinese Medicines purchased from three dealers in TCM are very low (>10 g/kg), except Aconiti radix which the oral 50% lethal dose was 10.62 g/kg · 11.95 g/kg and 9.76 g/kg, respectively. The 28 days feeding toxicity of the eight species of common used Chinese Medicines under the common dosage was very low in mice. In the Ames test, the eight species of common used Chinese Medicines did not induce mutation in the TA98, TA100 and TA1535 cell line, and possessed non genetic mutation in bacteria. Rhei Rhizoma, Artemisiae Herba, Inulae Flos (1 mg/ml) could induce cell toxicity in HepG2 · Artemisiae Herba (1 mg/ml) could induce cell toxicity in MDCK, Rhei Rhizoma, Artemisiae Herba, Inulae Flos, Belamcandae Rhizoma (1 mg/ml) could induce cell toxicity in NRK-52E ·

Keywords : Chinese Medicine, hepatotoxicity, Kidney toxicity,

壹、前言

本研究目標為協助衛生署中醫藥委員會，逐步建立國內中草藥更安全的使用環境，保障國民健康，形成一個有關中藥安全資料的技術平台，讓中藥的安全性，不再停留於古籍的記載上，而有更好的實證醫學證據。對於國內中草藥健康產業的發展與外銷推展，將形成一個「中草藥安全性」把關的重要基石。

本研究擬釐清中藥與肝/腎毒藥理相關機制，強化其實證基礎，規劃將研究成果匯集成資料庫，以利未來進行 pharmacovigilance/ post market surveillance，並提供衛生署中醫藥委員會政策推動方向，促進國人用藥安全。

因神農本草經下品藥記載多毒，不可久服，並參考衛生署中醫藥委員會之重要出版品⁽¹⁻¹⁵⁾。故本研究擬以本校附設醫院中藥局常用的下品藥挑選出常用六味藥材品項如下：附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干。將此六味藥材之水萃取物之 LD50 急性毒性及口服給藥 28 天之肝腎毒性，進行肝腎毒理探討。本研究成果可提供給臨床醫師及中藥管理者作為用藥參考。

各子計畫之規劃如下：

子計畫一：探討本經下品臨床常用之六種中草藥之 ICR 小鼠 LD50 及 28 天餵食之肝腎毒性。此子計畫由中國醫藥大學中國藥學研究所彭文煌副教授負責。

子計畫二：探討本經下品臨床常用之六種中草藥對肝腎細胞之毒性。此子計畫由中國醫藥大學學士後中醫學系蔡金川副教授負責。

行政院衛生署中醫藥委員會自九十三年一月起開始執行建構臺灣中用藥安全環境五年計畫(2004-2008)，國內中藥製造業者，於九十四年三月一日起全面實施中藥 GMP 制度，為建構中藥用藥安全之環境，產官學莫不全力以赴。本整合型計畫依據行政院衛生署中醫藥委員會九十五年度「中草藥肝腎毒理研究類」委託研究計畫招標重點（案號：0950000881），協助中醫藥委員會建構用藥安全防護網。

2003 年全國衛生醫療政策會議總結報告書⁽¹⁾中亦指出，醫療首要前題為病人安全，為減少醫療錯誤的發生，提供全國民眾安全就醫環境，建構病人安全資訊體系及用藥安全機制，為重要之行動綱領。

在台灣一般民眾認為中藥無毒性、無副作用，因此常有誤食而中毒之情況發生。最近大陸有許多篇中藥不良反應之綜述報導⁽²⁻¹⁴⁾，而比利時也曾有民眾服用含中草藥之減肥藥而導致腎衰竭之中毒報告⁽¹⁵⁻¹⁷⁾，顯示部份中草藥也有毒性，可能引起中毒或不良反應⁽¹⁸⁻²⁵⁾，過去曾有民眾因服用杏仁、八角蓮、雷公藤⁽²⁶⁾、曼陀羅等中草藥而引起中毒之報告。

近年來中藥中毒事件頻傳，經過比利時腎衰竭事件後，馬兜鈴酸引起慢性腎衰竭中毒引起廣泛地討論及研究，並此病稱為中草藥腎病(Chinese herbs nephropathy, CHN)^(15,16)，引起人們對中草藥會引起腎病的疑慮。2000年6月9日，美國藥品與食品管理局(FDA)，更命令停止進口、製造和銷售已知含有和懷疑含有馬兜鈴酸的原料和成品，引起世界各地對中草藥安全性之質疑。

因為肝臟是人體代謝中樞，幾乎所有的藥物或化學物質都會經由肝臟生物轉換後排泄出人體，在生物轉換過程中有可能造成肝臟傷害；根據文獻報告約有2-5%黃疸病患是因藥物引起，肝炎住院病患中10%也是因藥物造成的，猛暴性肝炎更高達25%。這些數據顯示在藥物種類急遽增加的今日，藥物引起肝臟傷害的重要性也與日俱增⁽²⁷⁻³²⁾。藥物一般皆經由肝臟代謝，因此中藥也可能引起藥物性肝損害或藥物性肝炎。

中藥引起肝損害的因素包括：(1)人們對中藥的潛在肝毒性認識不足；(2)劑量過大或療程過長；(3)炮製、用法與配伍；(4)傳統偏方、驗方在流傳過程中已喪失其原貌，導至用法、用量和組方不當；(5)中藥材的誤用或混用；(6)中西藥不當的併用，產生交互作用，引起不良反應；(7)個體差異等。

中草藥毒性可分為二種型式，第一種為間接健康危害，經由藥物交互作用而產生毒性。第二種為直接健康危害。目前在WHO數據庫中已有約九千例各國草藥不良反應的報告，報告中最常見的不良反應有：腹瀉、心動過速、過敏樣反應、肝炎、支氣管痙攣、驚厥、高血壓、循環衰竭、血小板減少、呼吸抑制等。藥品不良反應相當複雜，據統計藥物性肝損害占所有藥品不良反應的10-15%，僅次於皮膚粘膜損害和藥物熱，藥物性肝病佔所有黃疸患者之2-3%，佔急性肝炎患者中之10%，而老年肝病患者中，藥物性肝病之比例更高。

有些中草藥具有肝腎毒性，使用不當或體質特異者可能造成肝損傷。雖然疑似服用中草藥而導致肝傷害的個案時有所聞⁽¹⁵⁻¹⁹⁾；但由於中毒性肝炎的診斷困難，能被確立者並不多見。

肝臟是生物轉換、代謝的場所，所以人體服藥後大都是由肝臟來進行，也因此會有許多潛在的肝毒性及損傷機制。肝臟也可說是藥物吸收作用後在標的細胞重要的中繼站，大部份的藥物屬於非水溶性，然後依循一連串的代謝及生物轉換，形成水溶性物質，經由肝細胞表面的轉運蛋白，運送至血漿或膽汁中，以利腎臟排泄或膽汁分泌⁽⁷⁾。這些過程首先必須經 phase I 具有混合性功能的 cytochrome P450 的氧化或 methylation，再接下來則是 phase II 的 glucuronidation 或 sulfation 或 glutathion 作用；大部份的藥物肝毒性是 phase I 過程產生的毒性代謝物所致，但若 glutathion 耗竭，造成某些有害物質無法經由 glutathion S-transferase 去活化，也會造成肝毒性。具有肝毒性的藥物可以直接損害肝臟，如：經由自由基或代謝中間產物，造成細胞膜上脂質過氧化，此外藥物或其代謝物會破壞細胞膜或細胞分子結構，或阻斷生化反應路徑，均會造成肝細胞壞死；若膽管受損則造成膽汁鬱積；若阻斷脂質運送，抑制蛋白質合成，或干擾粒腺體進行脂肪酸氧化，則造成脂肪蓄積。

本計畫成果可以提供醫療保健藥品開發時藥物選擇及藥物用量之參考。

貳、材料與方法

一、子計畫一：中草藥肝與腎毒性之動物評估研究

本計畫依照期中報告審查委員意見，研究使用之六種中藥材（八種市售炮製品）均分別購自台灣北中南三家中藥大進口商，並以水萃取四次，分別過濾後再以冷凍乾燥法乾燥，分別得到八種市售炮製品之萃取物。

1、LD₅₀ 急性毒性試驗：

每個萃取物取四至五個劑量（等倍級數），每個劑量 10 隻雄性小鼠，分別口服給藥後觀察中毒症狀並紀錄死亡數，以回歸分析及開平方法求出每個藥材之 LD₅₀ 劑量⁽³³⁾，再依此劑量來找尋其慢性毒性實驗所需的劑量。

2、28 天慢性毒性試驗：

每個萃取物取以臨床常用量，每組 10 隻雄性小鼠，測試試驗物質經由重覆持續餵飼 28 天後對哺乳動物之潛在毒性，得知試驗物質之作用器官及毒性變化。檢測項目包括：血清生化檢查、尿液學檢查、肉眼及肝、腎病理觀察等。

全部實驗小鼠都在給藥 28 天期間死亡老鼠或第 28 天存活小鼠，以心臟採血方式檢測肝、腎臟的生化功能：BUN、Cr、albumin、MDA、serum creatinine (Scr)、SOD、GOT (AST)、GPT (ALT)、TG、Cholesterol。並取肝腎組織做切片染色判讀分析。其中 GOT (AST) 及 GPT (ALT) 檢測原理是依據 Reitman & Frankel (1957)⁽³⁴⁾ 及國際聯邦臨床化學 (FCC, 1986a, b) 的標準方法。

3. 肝、腎組織病理學的觀察

在實驗結束時，所有小鼠均予以犧牲，頸動脈採血後用於生化指數的檢測，最後再割取肝、腎臟。採取肝腎細胞，放入 10% 的中性福馬林中與 95% 酒精 (1:1) 固定，做進一步的病理染色。為了觀察肝腎細胞的受損等變化，因此將肝腎組織做 HE 染色法，此法的染色結果能長久保存，為黑白照片的最佳選擇，便於觀察肝腎組織的變化程度，此部分由賴銘淙博士執行染色及判讀等實驗工作。

4. 數據分析：

採用 SPSS 電腦統計套裝軟體進行單因子變異數分析(One-Way ANOVA)，並以 Scheffe's multiple range test 來檢定不同處理間顯著差異效果，凡 $P < 0.05$ 時則認為有統計意義。

二、子計畫二：中草藥肝與腎毒性之細胞評估研究

(一) 細菌致突變性⁽³⁵⁻⁴¹⁾

1 供試菌株

Salmonella typhimurium TA98、TA100 及 T1535 三種菌株原購自日本醱酵研究所 (Institute for Fermentation, Osaka 17-85 Juso-honmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka 532, Japan)。

2 培養基配製

(1) 液體營養培養基(Nutrient broth, NB)：細菌之液體培養基。

稱取 8g Difco[®] bacto nutrient broth (BD, USA)及 5 NaCl 配製 1000 ml，以 121°C、15 分鐘，高溫高壓滅菌，放入 4°C 保存。

(2) 固體全營養培養基(Nutrient agar plate, NA)：細菌之固體培養基。

稱取 15 g Difco[®] Agar(BD, USA)溶於 1000 ml NB 營養液，以 121°C、15 分鐘，高溫高壓滅菌。

趁熱分裝至無菌培養皿(20 ml/plate)，室溫下凝固後倒置，放入 37°C 烘乾，放入 4°C 保存。

(3) 50X Vogel-Bonner Salts 儲存液：配製細菌之最低營養需求用。

以 670 ml 逆滲透水加熱至 45°C，依序加入 10g MgSO₄·7H₂O、100 g Citric acid, monohydrate, 500 g K₂HPO₄ 及 175 g NaH₂NH₄PO₄·4H₂O，定量至 1000 ml。

以 121°C、15 分鐘，高溫高壓滅菌，回溫後放入 4°C 保存。

(4) 固體最低營養需求培養基(Minimal glucose agar plate, MA)：致變異性試驗用。

取 15 g Agar 加入 930 ml 逆滲透水，以 121°C、15 分鐘經高溫高壓滅菌。

加入 20 ml 無菌 50x VB salt 及 50 ml 無菌 40%葡萄糖混合均勻，待溶液降溫至 50°C，加入 3.15 ml 無菌 Ampicillin，倒入 10 cm 培養皿(20 ml/plate)，室

溫下凝固後倒置，放入 37°C 烘乾，放入 4°C 保存。

- (5) 軟性瓊脂培養基(Soft agar or Top agar)：致變異性試驗使用。
以 0.75% Agar 與 0.5% NaCl 混合均勻，分裝倒入 2 ml 試管。
以 121°C、15 分鐘經高溫高壓滅菌，放入 4°C 保存。
使用前再加熱溶解，於水浴槽內保持 50°C。

3. 試驗步驟

(1) 細菌毒性測試

測試藥材對細菌的毒性，選擇無細菌毒性濃度，作為 Ames test 測試的最高濃度。

附子、半夏、青蒿、旋覆花、射干最終濃度為 0.5、1 及 5 mg/plate，大黃最終濃度為 0.25、0.5 及 1 mg/plate，以逆滲透水配製測試樣品操作濃度(stock solution)。

取於 37°C 震盪培養箱培養 18 小時後之菌液，以無菌 PBS 緩衝液連續 10 倍稀釋成 10^{-6} /ml 及 10^{-7} /ml。

取 100 μ l 藥材，加入菌液 100 μ l，置於 NA plate 上，以三角玻棒塗抹均勻，最終濃度為 0.5、1、5 mg/plate 及對照組。

將塗抹均勻之 NA 培養皿倒置，於 37°C 震盪培養箱，經隔夜培養後取出計算菌落及記錄。

4. 肝臟活化酵素之製備

(1) 製備方法參考 Ames, 1971 及 Ames et al., 1975，將 Aroclor 1254 溶於玉米油中配成 200 mg/ml 之濃度，以 500 mg/kg 劑量腹腔注射於體重約 200 g 雄性大鼠 (*Rattus norvegicus*, Sprague-Dawley strain)，誘發肝臟活化酵素 (microsomal enzymes)，5 天後犧牲經無菌取肝臟，秤重後加 3 倍體積冰冷之 0.15 M KCl。

(2) 將組織剪碎研磨後，於 4°C 以 $9000 \times g$ 離心 10 分鐘，取上層液為 S9 肝臟活化酵素抽出液，蛋白質含量經定量後，以無菌水稀釋成 40 mg/ml 濃度，儲存於 -80°C 備用。

(3) 試驗前新鮮配製 S9 混合液與測試藥劑反應，每毫升 S9 混合液內含 100 μ l S9 肝臟酵素抽出液、4 μ mole -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (sodium salt)、5 μ mole glucose-6-phosphate (mono sodium salt)、8 μ mole $MgCl_2$ 、33 μ mole KCl 及 100 μ mole sodium phosphate buffer (pH 7.4)。

5. 致變異性測試⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾

- (1) 陽性藥劑對照組：不加肝臟活化酵素直接處理試驗菌株之陽性對照組為 1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 4-nitroquinoline- *N*-oxide (4-NQO) (Sigma-Aldrich Co., USA)；經 S9 活化代謝之陽性對照組為 5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 2-AA(Sigma-Aldrich Co., USA)。
- (2) 藥劑劑量：0.05、0.01、0.5、1 及 5 mg/plate 等 5 種，對照組為逆滲透水。
- (3) 取 100 μl 之藥材樣品操作濃度加入 0.2 ml 之 0.5 mM histidine(Merck, kGaA, Germany)與 0.5 mM biotin (Sigma-Aldrich Co., USA)混合液及 100 μl 菌液，加肝臟活化酵素處理者，另加 100 μl S9 混合液，再混入 45°C 之 2 ml 0.75 % 軟性瓊脂內含 0.5 % NaCl，混合後倒入 MA 培養皿待室溫凝固後，倒置於 37°C 培養箱中培養 48 小時。
- (4) 計算培養皿之回復突變菌落數，各劑量組為 3 個重覆數。

6. 統計分析

以統計分析軟體 Microsoft Excel 進行 pair Student's *t*-test，或以單向變方分析法(One-way ANOVA)之 Duncan's test 分析進行組間比較分析，其組間 2 倍以上之顯著差異水準為 $p < 0.05$ 。

(二) 細胞毒性試驗 (MTT test)⁽⁴²⁾

1. 材料與方法

- (1) 測試樣品：附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干，六味藥材之水萃取物
- (2) 供試細胞株：HepG2、MDCK、NRK-52E 原購自食品工業發展研究所生物資源保存及研究中心。
- (3) 材料：
 - 6 種中藥濾過液：青蒿、半夏、附子、射干、大黃及旋覆花
 - 已貼附 7 至 8 分滿細胞株的 96 well cell cluster(100 μl /well 細胞液)
 - 離心管
 - MTT solution(2mg/ml in PBS)
 - DMSO
 - ELISA Reader

(4) 步驟：

- 前一晚 loading 細胞株加至 96 well plate，濃度為 5×10^4 cells/ml，每一個 well loading 100 μ l。
- sample 稀釋：
 - Stock solution 濃度為 50 mg/ml (10% in DMSO)
 - 先以 blank DMEM 25 倍稀釋 stock solution，濃度為 2 mg/ml
 - 再連續 10 倍稀釋至 0.2 mg/ml 及 0.02 mg/ml
- Loading sample：
 - Control group：blank DMEM，100 μ l/well。
 - Treatment group：loading 各濃度 100 μ l/well，final concentration 為 1、0.1、0.01 mg/ml。
- 於 37°C 5%CO₂ incubator 中培養 24 小時後，倒掉上清液，以 PBS 洗兩次。加入 MTT solution 50 μ l/well (2mg/ml in PBS)，培養 3 小時。
- 3 小時後，倒掉上清液。loading DMSO 50 μ l/well，呈色均勻後，以 ELISA Reader 550nm 判讀 OD 值。

參、結果

一、子計畫一：中草藥肝與腎毒性之動物評估研究

1. 三家八種市售神農本草經下品藥中藥材之萃取率

北中南三家大盤商之法半夏、薑半夏、川大黃、酒大黃、青蒿、旋覆花、射干等粗萃取物之萃取率如表 1 所示，其中以薑半夏之萃取率最低，川大黃之萃取率最高。

2. 三家八種市售神農本草經下品藥中藥材之口服 50%急性毒性

如表 2-表 5 所示，北中南三家大盤商之法半夏、薑半夏、川大黃、酒大黃、青蒿、旋覆花、射干等粗萃取物口服給予 10 g/kg 均未見有中毒死亡的情形，而黑順片(附子)之口服 50%急性毒性劑量分別為 10.62 g/kg、11.95 g/kg 及 9.76 g/kg。

3. 三家八種市售神農本草經下品藥中藥材之口服 28 天餵食毒性

八種藥材以一般常用劑量口服給與小鼠，每天給藥一次，連續給 28 天後並未見有小鼠死亡及體重顯著變化，顯示此八種藥材在一般劑量下並未見有亞急性毒性。

二、子計畫二：中草藥肝與腎毒性之細胞評估研究

1. 分析各劑量組與細菌回復突變數增加之相關性(dose-response relationship)。

(1) 不論測試樣品是否經肝臟酵素(S9)活化處理，有 2 個以上劑量組之細菌回復突變數，高於無藥劑對照組 2 倍以上者，或各劑量組與回復突變數有顯著之線性相關者，可判定該供試樣品之致變異性結果為陽性反應。

表 6、表 7 結果，附子對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 8、表 9 結果，附子對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 10、表 11 結果，附子對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 12、表 13 結果，半夏對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 14、表 15 結果，半夏對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 16、表 17 結果，半夏對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 18、表 19 結果，大黃對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

表 20、表 21 結果，大黃對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 22、表 23 結果，大黃對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 24、表 25 結果，青蒿對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 26、表 27 結果，青蒿對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 28、表 29 結果，青蒿對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 30、表 31 結果，旋覆花對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 32、表 33 結果，旋覆花對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 34、表 35 結果，旋覆花對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 36、表 37 結果，射干對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 38、表 39 結果，射干對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

表 40、表 41 結果，射干對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria) 結果為陰性反應。

2. 細胞毒性試驗 (MTT test)

表 42 結果：大黃最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株有 25%的細胞毒性。

表 43 結果：射干最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。

表 44 結果：旋覆花最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株有 67%的細胞毒性。

表 45 結果：半夏最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。

表 46 結果：附子最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。

表 47 結果：青蒿最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株有 24%的細胞毒性。

表 48 結果：大黃在 0.1 mg/ml 濃度下約造成 15%的細胞毒性，但在 1 mg/ml 的濃度可見 O.D. value 上升，使細胞存活率不降反升，判斷應為樣品本身的色素干擾所致。

表 49 結果：射干在試驗最高高濃度(1 mg/ml)約造成 20%的細胞毒性。

表 50 結果：旋覆花在 0.1mg/ml 即可見到顯著性的細胞毒性(Table 6; Fig 6)，且有劑量相關反應(Dose dependent response)。

表 51 結果：半夏在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成細胞毒性。

表 52 結果：附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成細胞毒性。

表 53 結果：青蒿在試驗最高高濃度(1 mg/ml)約造成 20%的細胞毒性

表 54 結果：大黃在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 的細胞毒性。

表 55 結果：射干在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 的細胞毒性。

表 56 結果：旋覆花在 1mg/ml 對 MDCK 造成 48%的細胞毒性

表 57 結果：半夏在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。

表 58 結果：附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。

表 59 結果：附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。

肆、討論

結果顯示，採樣自台灣北中南三家大盤中藥代理商之常用八種藥材中黑順片之小鼠口服 LD50 急性毒性劑量分別為 10.62 g/kg、11.95 g/kg 及 9.76 g/kg，其餘藥材之小鼠口服 LD50 急性毒性劑量均大於 10.0 g/kg，顯示此七種藥材之口服 LD50 急性毒性甚低。

將此八種藥材以一般常用劑量口服給與小鼠，每天給藥一次，連續給 28 天後並未見有小鼠死亡及體重顯著變化，顯示此八種藥材在一般劑量下並未見有亞急性毒性。神農本草經下品藥雖記載多毒，不可久服。但只要炮製得宜，去其毒性成分並保留其有效成分，或將有毒成分經炮製後轉變成毒性低或無毒性成分，將可增加神農本草經下品藥之臨床可用率。

綜合表 6、表 7 結果，附子對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 8、表 9 結果，附子對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 10、表 11 結果，附子對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 12、表 13 結果，半夏對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 14、表 15 結果，半夏對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 16、表 17 結果，半夏對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 18、表 19 結果，大黃對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 20、表 21 結果，大黃對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 22、表 23 結果，大黃對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 24、表 25 結果，青蒿對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 26、表 27 結果，青

蒿對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 28、表 29 結果，青蒿對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 30、表 31 結果，旋覆花對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 32、表 33 結果，旋覆花對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 34、表 35 結果，旋覆花對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 36、表 37 結果，射干對沙門菌 TA98 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 38、表 39 結果，射干對沙門菌 TA100 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。綜合表 40、表 41 結果，射干對沙門菌 TA1535 菌株回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試(gene mutation in bacteria)結果為陰性反應。

細胞試驗結果顯示不論藥材之水萃取物經直接，或經 S9 作用後對 TA98、TA100 及 1535 之細菌回復突變菌數均無明顯增加，顯示附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干，六味藥材之水萃取物對沙門菌回復突變之 Ames 試驗並不具有致變異性，對細菌基因突變測試結果為陰性反應(non genetic mutation in bacteria)。

大黃最高濃度(1 mg/ml)對 HepG2 細胞株有 25%的細胞毒性。射干最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。旋覆花最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株有 67%的細胞毒性。半夏最高濃度(1mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。附子最高濃度(1 mg/ml)對 HepG2 細胞株不具有細胞毒性。青蒿最高濃度(1 mg/ml)對 HepG2 細胞株有 24%的細胞毒性。大黃在 0.1 mg/ml 濃度下約造成 15%的細胞毒性，但在 1 mg/ml 的濃度可見 O.D. value 上升，使細胞存活率不降反升，判斷應為樣品本身的色素干擾所致。射干在試驗最高高濃度(1 mg/ml)約造成 20%的細胞毒性。旋覆花在 0.1 mg/ml 即可見到顯著性的細胞毒性(Table 44; Fig 6)，且有劑量相關反應(Dose dependent response)。半夏在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成細胞毒性。附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成細胞毒性。青蒿在試驗

最高高濃度(1 mg/ml)約造成 20%的細胞毒性。

大黃在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 的細胞毒性。射干在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 的細胞毒性。旋覆花在 1mg/ml 對 MDCK 造成 48%的細胞毒性。半夏在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。附子在試驗最高高濃度(1 mg/ml)不造成 MDCK 細胞毒性。

伍、結論與建議

本計畫進行常用六味藥材（附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干）之小鼠口服LD50急性毒性及口服給藥28天之肝腎毒性。並進行對沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98、T100及TA1535菌株回復突變致變異性之Ames試驗及進行對HepG2、MDCK、NRK-52E三種細胞株的細胞毒性試驗 (MTT test)。獲得如下結論：

2. 採樣自台灣北中南三家大盤中藥代理商之常用八種藥材中黑順片之小鼠口服LD50急性毒性劑量分別為10.62 g/kg、11.95 g/kg及9.76g/kg，其餘藥材之小鼠口服LD50急性毒性劑量均大於10.0 g/kg，顯示此七種藥材之口服LD50急性毒性甚低。
3. 將八種藥材以一般常用劑量口服給與小鼠，每天給藥一次，連續給28天後並未見有小鼠死亡及體重顯著變化，顯示此八種藥材在一般劑量下並未見有亞急性毒性。
4. 細胞試驗結果顯示不論藥材之水萃取物經直接，或經S9作用後對TA98、TA100及1535之細菌回復突變菌數均無明顯增加，顯示附子、半夏、大黃、青蒿、旋覆花、射干，六味藥材之水萃取物對沙門菌回復突變之Ames試驗並不具有致變異性(non genetic mutation in bacteria)。
5. 大黃、旋覆花、青蒿的水萃物在最高濃度(1 mg/ml)對HepG2造成細胞毒性。
6. 旋覆花在最高濃度(1 mg/ml)對MDCK造成細胞毒性。
7. 青蒿、大黃、射干、旋覆花在最高濃度(1 mg/ml)對NRK-52E造成細胞毒性。

建議：

1. 神農本草經下品藥雖記載多毒，不可久服。本研究結果發現，只要炮製得宜，去其毒性成分並保留其有效成分，或將有毒成分經炮製後轉變成毒性低或無毒性成分，將可增加神農本草經下品藥之臨床可用率。
2. 宜將臨床常用之下品藥以本計畫之急性毒性試驗先評估其急性半數致死劑量 (LD50)，再以此劑量為基礎，進行28天亞急性毒性，以探討其無毒性劑量及致死劑量之致死病因，若有肝腎毒性，再以肝腎細胞培養以評估其肝腎毒性之機理。

陸、參考文獻

1. 李明亮：2003 年全國衛生醫療政策會議總結報告書，國家衛生研究院，2003。
2. 鍍陞東、曹昉睿、雷淑琴：我國 1915~1990 年中藥不良反應概況，中國中藥雜誌 1992，17(7)：435-438。
3. 袁惠南、譚德講：1992 年國內主要醫藥期刊有關中藥不良反應文獻綜述，中國中藥雜誌 1993，18(11)：643-647, 674。
4. 袁惠南、譚德講：1991 年國內主要醫藥期刊有關中藥不良反應文獻綜述，中國中藥雜誌 1992，17(11)：691-698。
5. 袁惠南、譚德講：1990 年國內主要醫藥期刊有關中藥不良反應文獻綜述，中國中藥雜誌 1991，16(10)：628-634。
6. 古雲霞、袁惠南：1993, 1994 年中藥不良反應文獻綜述，中國中藥雜誌 1995，20(8)：502-507。
7. 許冀陝：中藥不良反應，中國藥學雜誌 1995，30 (3):175-176。
8. 李宏、王艷梅：臨床常用中藥的不良反應及預防，中國民間療法 2004，12(8): 64-65。
9. 林向華、周杰華：358 例中藥不良反應回顧性分析，中國藥業 2004，13(4): 62-63。
10. 高益民：從龍膽瀉肝丸事件看如何正確對待中藥的不良反應，首都醫藥 6: 13-16，2003。
11. 蔡小燕：212 例中藥不良反應文獻分析，廣東藥學院學報 2003，20(3): 352-535。
12. 吳春萍：2000 年國內主要醫藥期刊報道的中藥不良反應，中國新醫藥雜誌 2003，2(5): 91。
13. 莫斌斌、符成海：260 例中藥不良反應文獻分析，中國新藥與臨床雜誌 2003，22(10): 625-626。
14. 蘇世奇、段虞珍：中藥不良反應文獻調查分析，中國現代醫學雜誌 2002，12(17): 72-73。

15. Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, Abramowicz D, Dratwa M, Jadoul M, Richard C, Vandervelde D, Verbeelen D, Vanhaelen-Fastre R, Vanhaelen M. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet* 1993, 341: 387-391.
16. Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanherweghem JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet* 1994, 343: 174.
17. Thomas Y K Chan, Juliana C N Chan : Chinese herbal medicines revisited : A Hong Kong perspective. *Lancet* 1993, 342 : 1532-1534.
18. Richard F. Keeler and Anthony T. Tu: Handbook of Toxins Plant and Fungal Toxins, Marcel Dekker, Inc., 1983.
19. 丁濤，黃暉：中草藥不良反應及防治，中國中醫藥出版社，1992。
20. 余朋千，睢文發：中藥的中毒與防治，重慶大學出版社，1993。
21. 王自齊：有毒化學品衛生與安全實用手冊，化學工業出版社，1993。
22. 陳冀勝，鄭碩：中國有毒植物，科學出版社，1987。
23. 梁華龍：中藥毒副作用及其處理，河南科學技術出版社，1994。
24. 蔣慶雨、齊永茂：中藥不良反應，中國中醫出版社。
25. 徐國鈞、陳金泉：香港常用有毒中藥圖鑑，商務印書館，1994。
26. 樑慶蓮：雷公藤的不良反應，*江西中醫藥* 1998，29(1): 54.
27. 黃枝優、趙秀川：馬兜鈴屬植物的腎毒性，*時珍國醫國藥* 2003，14 (4) : 248~249。
28. 左建平：馬兜鈴屬植物腎毒性研究進展，*中國藥業* 2003，12 (4) : 74~75。
29. 李瑛、曾彩虹：馬兜鈴酸腎毒性作用及其機制研究，*腎臟病與透析腎移植雜誌* 2003，12 (6) : 558~563。
30. 陳菊華：從馬兜鈴酸致腎損害談如何避免中藥不良反應，*中國藥業* 2003，12 (12) : 64~65。
31. 關小彬：警惕含馬兜鈴酸的中藥引起的腎損害，*新醫學* 2004，35 (5) : 305~306。

32. 左巍, 馮江敏, 王繼紅, 王沙西, 王力寧, 馬建飛, 周希靜: 中藥馬兜鈴對實驗性大鼠腎損害的研究, 遼寧中醫雜誌 2003, 30 (12): 1027~1029。
33. Litchfield J T & Wilcoxon F A., A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 1949, 96:99~113.
34. Frank, H., Link, B., Anaerobic metabolism of carbon tetrachloride and formation of catabolically resistant phospholipids. *Biochem Pharmacol* 1984, 33: 1127~1130.
35. 衛生署。1999。基因毒性試驗(genotoxicity study)。1、微生物基因突變分析--一般使用細菌基因突變測試法(gene mutation in bacteria)。「健康食品安全及功效評估方法」。衛署食字第 8803780 號。台北。
36. Ames, B. N. 1971. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. In: *Chemical Mutagens: Principles and Methods for Their Detection*. Vol. 1. pp. 267-282. A. Hollander. Plenum Press, New York and London.
37. Ames, B. N., McCann, J., and Yamasaki, E. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975, 31: 347-364.
38. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1998. Bacterial Reverse Mutation Test.. In: *OPPTS Harmonized Test Guidelines*, Series 870.5100, EPA 712-C-98-247, 13 pp. Washington, DC.
39. Maron, D. M., and Ames, B. N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983, 113:173-215.
40. Organization for Economic Cooperation and Development. 2001. Bacterial Reverse Mutation Test. In: *OECD Guideline for the Testing of Chemicals*. Section 4: Health Effects, No: 471, 14 pp., Adopted: 21th July, 1997.
41. You, B. Y. 1987. Short-term tests for the detection of chemical genotoxicity: I. *Salmonella* /microsome reversion assay, Ames test. ATD Tech. Bull. No.1, TACTRI. 15 pp. Taichung. (in Chinese).
42. Tada, H., Shiho, O., Kuroshima, K-I., Koyama, M., Tsukamoto, K., 1986. An improved colorimetric assay for interleukin 2. *J. Immunol. Methods* 93, 157.

柒、圖、表

表 1. 三家八種市售中藥材萃取物之萃取率

藥材名	甲家萃取率(%)	乙家萃取率(%)	丙家萃取率(%)
黑順片	14.6	13.4	15.1
法半夏	8.5	9.4	10.3
薑半夏	3.69	4.92	5.31
川大黃	40.22	39.27	41.35
酒大黃	29.41	27.28	30.63
青蒿	9.22	10.37	11.22
旋覆花	23.06	21.13	24.54
射干	7.61	7.12	8.73

表 2. 三家八種市售中藥材萃取物之口服 50%急性毒性(LD₅₀)

藥材名	LD ₅₀ (g/kg, p.o.)		
	甲家	乙家	丙家
黑順片	10.62	11.95	9.76
法半夏	>10	>10	>10
薑半夏	>10	>10	>10
川大黃	>10	>10	>10
酒大黃	>10	>10	>10
青蒿	>10	>10	>10
旋覆花	>10	>10	>10
射干	>10	>10	>10

表3. 甲家黑順片萃取物之口服50%急性毒性(LD₅₀)

劑量 (g/kg)	實驗動物數(隻)	死亡動物數(隻)	死亡率 (%)
15	10	9	90
12.5	10	7	70
11.25	10	6	60
10	10	4	40

LD₅₀=10.62 g/kg

表4. 乙家黑順片萃取物之口服50%急性毒性(LD₅₀)

劑量 (g/kg)	實驗動物數(隻)	死亡動物數(隻)	死亡率 (%)
15	10	8	80
12.5	10	6	60
11.25	10	4	40
10	10	3	30

LD₅₀=11.95 g/kg

表5. 丙家黑順片萃取物之口服50%急性毒性(LD₅₀)

劑量 (g/kg)	實驗動物數(隻)	死亡動物數(隻)	死亡率 (%)
15	10	9	90
12.5	10	8	80
11.25	10	6	60
10	10	5	50

LD₅₀=9.76 g/kg

表6. 附子對沙門菌TA98之細菌毒性試驗

Group	Blank control	附子 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA98 (10^{-6} /ml)	75±20.2	108±15.6	96±7.5	134.6±6.5
TA98 (10^{-7} /ml)	12.3±3.2	11.7±2.3	13.0±3.6	17.0±1.7

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表7. 附子對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	附子(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/without S9 activation	33.3±0.9	394.3±76.0	39.3±3.3	39.6±4.7	44.3±4.9

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	附子(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/with S9 activation	48.67±8.58	3382.7±276.4	45.3±4.1	52.0±10.0	56.3±6.6

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表8. 附子對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	附子 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA100 (10^{-6} /ml)	108.3±6.0	109.0±13.1	108.0±15.7	108.7±7.6
TA100 (10^{-7} /ml)	10.3±1.5	12.3±3.2	10.3±2.5	12.3±3.2

表9. 附子對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	附子 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/without S9 activation	210.7±3.4	503.3±77.2	198.0±8.0	211.3±4.2	237.7±5.2

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	附子(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/with S9 activation	192.3±6.6	1812.0±149.7	205.3±9.8	185.0±15.0	205.3±9.8

表10. 附子對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	附子 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA1535 (10^{-6} /ml)	148.3±6.1	161.7±10.5	169.0±20.0	171.3±8.6
TA1535 (10^{-7} /ml)	17.7±4.7	14.7±4.0	19.0±3.5	18.0±4.4

表11. 附子對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	附子(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/without S9 activation	22.7±3.1	1011.3±150.4	21.7±2.1	21.7±3.1	24.3±3.1
Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	附子(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/with S9 activation	17.7±1.2	1812.0±149.7	17.0±4.3	17.7±3.3	25.7±0.9

表12. 半夏對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	半夏 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA98 (10^{-6} /ml)	202.0±10.6	201.0±18.4	198.0±7.2	184.7±1.5
TA98 (10^{-7} /ml)	18.3±6.0	20.0±4.4	23.0±3.5	19.7±6.5

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表13. 半夏對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	半夏 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/without S9 activation	50.00±2.16	460.33±10.14	54.00±3.56	58.00±2.94	44.3±4.9

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	半夏 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/with S9 activation	58.3±5.7	3440.0±369.4	53.0±0.0	54.0±4.5	59.7±3.9

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表14. 半夏對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	半夏 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA100 (10^{-6} /ml)	138.3±2.1	132.3±1.2	146.0±20.9	127.0±2.6
TA100 (10^{-7} /ml)	15.3±3.5	14.3±2.5	14.7±4.0	15.7±1.5

表15. 半夏對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	半夏 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/without S9 activation	201.7±14.7	1448.0±80.2	187.0±6.5	202.7±6.3	194.3±5.7

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	半夏 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/with S9 activation	196.0±5.4	2661.3±269.7	188.7±9.5	194.7±9.6	201.7±6.6

表16. 半夏對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	半夏 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA1535 (10^6 /ml)	184.7±11.6	177.3±10.2	179.3±2.5	176.7±5.9
TA1535 (10^7 /ml)	20.0±4.6	20.7±5.1	17.3±3.2	17.7±5.5

表17. 半夏對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	半夏(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/without S9 activation	12.0±0.8	1011.3±150.4	12.0±1.4	10.7±2.5	12.7±2.1

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	半夏 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/with S9 activation	13.33±2.05	193.33±8.18	10.33±0.47	11.00±2.16	11.67±1.25

表18. 大黃對沙門菌TA98之細菌毒性試驗

Group	Blank control	大黃 (mg/plate)		
		0.25	0.5	1
TA98 (10^{-6} /ml)	230±14	213.7±36.7	231.7±12.7	236.3±44.5
TA98 (10^{-7} /ml)	23.3±4.2	21.3±1.5	23.7±6.8	24.3±6.0

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表19. 大黃對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	大黃(mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA98/without S9 activation	50.0±2.2	460.3±10.1	47.0±5.9	52.3±4.0	39.7±2.6
Group/ replicate	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	大黃(mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA98/with S9 activation	58.3±5.7	3440.0±369.4	53.3±3.7	53.3±2.6	47.3±3.7

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1 µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表20. 大黃對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	大黃 (mg/plate)		
		0.25	0.5	1
TA100 (10^{-6} /ml)	109.3±4.5	100.7±5.8	121.3±13.9	121.0±7.3
TA100 (10^{-7} /ml)	11.3±1.9	9.3±2.1	10.3±3.1	13.0±1.6

表21. 大黃對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO (positive control)	大黃 (mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA100/without S9 activation	201.7±14.7	1448.0±80.2	183.3±9.0	194.3±9.2	205.3±9.7

Group	Blank control	2-AF (positive control)	大黃(mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA100/with S9 activation	196.0±5.4	2661.3±269.7	196.7±4.2	189.3±4.8	199.7±11.7

表22. 大黃對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	大黃 (mg/plate)		
		0.25	0.5	1
TA1535 (10^{-6} /ml)	95.7±13.7	72.3±10.1	90.0±10.6	72.3±10.1
TA1535 (10^{-7} /ml)	7±2.16	9.33±1.25	6.67±1.70	10±3.27

表23. 大黃對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	大黃(mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA1535/without S9 activation	12.0±0.8	1011.3±150.4	11.7±2.4	14.3±1.7	13.0±2.4

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	大黃(mg/plate)		
			0.25	0.5	1
TA1535/with S9 activation	13.3±2.1	193.3±8.2	13.7±1.7	14.0±2.2	13.0±2.2

表24. 青蒿對沙門菌TA98之細菌毒性試驗

Group	Blank control	青蒿 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA98 (10^{-6} /ml)	95.7±13.7	85.3±6.2	88.7±6.6	96.7±6.1
TA98 (10^{-7} /ml)	9.3±1.25	7.0±0.8	9.0±0.8	11.7±3.3

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表25. 青蒿對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	青蒿(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/without S9 activation	37.33±0.94	376.67±21.70	40.33±2.62	39.00±4.90	44.3±4.9

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	青蒿(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/with S9 activation	60.67±3.30	2616.00±63.75	58.00±5.10	60.00±0.82	47.67±4.78

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1 µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表26. 青蒿對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	青蒿 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA100 (10^{-6} /ml)	205.7±15.6	189.7±10.3	200.7±17.2	198.0±23.3
TA100 (10^{-7} /ml)	15.3±4.9	21.3±5.7	24.7±4.5	21.7±2.1

表27. 青蒿對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	青蒿 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/without S9 activation	183.7±6.2	1900.0±190.3	208.7±23.3	196.3±8.2	186.0±5.0

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	青蒿(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/with S9 activation	184.0±8.0	2714.7±374.5	194.7±5.4	200.3±5.6	207.3±11.0

表28. 青蒿對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	青蒿 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA1535 (10^{-6} /ml)	95.7±13.7	85.3±6.2	88.7±6.6	171.3±8.6
TA1535 (10^{-7} /ml)	9.3±1.25	11.7±3.3	9.0±0.8	7.0±0.8

表29. 青蒿對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	青蒿(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/without S9 activation	41.0±1.6	1389.3±61.1	35.3±3.1	33.3±3.4	21.3±1.7

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	青蒿(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/with S9 activation	30.3±3.8	114.3±4.7	37.3±3.9	22.3±2.1	20.0±1.4

表30. 旋覆花對沙門菌TA98之細菌毒性試驗

Group	Blank control	旋覆花 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA98 (10^{-6} /ml)	178.7±11.7	220.0±14.7	246.0±12.1	213.0±25.5
TA98 (10^{-7} /ml)	24.7±4.0	29.7±5.1	25.7±6.1	29.7±6.1

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表31. 旋覆花對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group/ replicate	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	旋覆花(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/without S9 activation	37.3±0.9	376.7±21.7	31.3±4.0	40.0±5.1	39.3±4.8
Group/ replicate	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	旋覆花(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/with S9 activation	60.7±3.3	2616.0±63.7	45.3±5.6	48.7±9.2	62.7±2.9

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1 µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表32. 旋覆花對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	旋覆花 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA100 (10^{-6} /ml)	115±16.8	100.7±3.1	108.3±2.1	102.3±9.1
TA100 (10^{-7} /ml)	13.3±3.1	9.3±2.1	9±1.7	9.7±2.1

表33. 旋覆花對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group/ replicate	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	旋覆花 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/without S9 activation	183.7±6.2	1900.0±190.3	198.0±8.0	174.3±8.3	185.7±6.0

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	旋覆花(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/with S9 activation	184.0±8.0	2714.7±374.5	187.0±5.4	179.3±6.2	192.0±6.7

表34. 旋覆花對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	旋覆花 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA1535 (10^{-6} /ml)	148.3±6.1	161.7±10.5	169.0±20.0	171.3±8.6
TA1535 (10^{-7} /ml)	17.7±4.7	14.7±4.0	19.0±3.5	18.0±4.4

表35. 旋覆花對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	旋覆花(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/without S9 activation	41.00±1.63	1389.33±61.13	38.00±3.74	35.67±1.70	29.67±4.50
Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	旋覆花(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/with S9 activation	30.33±3.77	114.33±4.71	39.00±2.16	36.00±7.26	29.67±3.86

表36. 射干對沙門菌TA98之細菌毒性試驗

Group	Blank control	射干 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA98 (10^6 /ml)	308±11.8	293.0±14.0	274.3±9.5	292±58.6
TA98 (10^7 /ml)	35.3±3.5	35±5.6	29±4.4	32.7±4.7

Data are expressed as the mean±SD ($n = 3$).

Significant difference between the blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表37. 射干對沙門菌TA98回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	射干(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/without S9 activation	33.3±0.9	394.3±76.0	34.7±3.7	30.7±7.4	40.0±5.4

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	射干(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA98/with S9 activation	48.7±8.6	3382.7±276.4	40.7±2.9	49.7±4.2	47.0±0.8

Data are expressed as the mean±SD ($n = 5$).

¹⁾ 4-nitroquinoline-N-oxide, 1µg/plate, as positive control in assay without S9 activation.

²⁾ 2-aminofluorene, 5 µg/plate, as positive control in assay with S9 activation.

* Significant difference of colonies more than two folds of blank control and treated groups at $p < 0.05$.

表38. 射干對沙門菌TA100之細菌毒性試驗

Group	Blank control	射干 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA100 (10^{-6} /ml)	108.3±6.0	109.0±13.1	131.7±10.2	134±14
TA100 (10^{-7} /ml)	10.3±1.5	11±2	11.3±4.0	18.3±4.0

表39. 射干對沙門菌TA100回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	射干 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/without S9 activation	210.7±3.4	503.3±77.2	197.3±2.1	222.0±23.3	206.3±1.2

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	射干 (mg/plate)		
			0.5	1	5
TA100/with S9 activation	192.3±6.6	1812.0±149.7	199.7±5.2	195.0±12.8	236.0±16.3

表40. 射干對沙門菌TA1535之細菌毒性試驗

Group	Blank control	射干 (mg/plate)		
		0.5	1	5
TA1535 (10^{-6} /ml)	245.3±16.6	223.7±12.1	226±38.1	254.7±9.2
TA1535 (10^{-7} /ml)	24±1	19±5.3	25±13.5	17.7±5.0

表41. 射干對沙門菌TA1535回復突變菌落數之Ames試驗

Group	Blank control	4-NQO ¹⁾ (positive control)	射干(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/without S9 activation	22.7±3.1	1011.3±150.4	24.3±2.1	23.7±2.4	20.7±3.8

Group	Blank control	2-AF ²⁾ (positive control)	射干(mg/plate)		
			0.5	1	5
TA1535/with S9 activation	17.7±1.2	84.0±6.2	15.3±3.8	18.7±4.5	16.3±0.9

表 42.大黃對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.769	0.783	0.761	0.728	0.902	0.53
24-hours	0.78	0.85	0.856	0.858	0.901	0.595
1rd	0.788	0.813	0.842	0.834	0.937	0.556
OD550 nm	0.704	0.839	0.856	0.863	0.928	0.592
	0.684	0.786	0.779	0.799	0.847	0.581
	0.779	0.757	0.804	0.791	0.884	0.603
	0.873	0.804	0.87	0.791	0.924	0.599
	0.806	0.819	0.808	0.824	0.89	0.56
mean	0.77±0.05	0.81±0.03	0.82±0.04	0.81±0.04	0.90±0.03	0.58±0.03
T-test		0.174258	0.070296	0.163012	6.97E-05	5.5E-07
Viability%		104.87± 8.43	106.77± 7.47	105.53± 10.04	117.14± 7.52	75.04±6.73
T-test		0.148529	0.030961	0.166532	3.09E-05	5.12E-08

表 43.射干對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.78	0.737	0.723	0.722	0.764	0.801
24-hours	0.759	0.768	0.789	0.849	0.849	0.867
1rd	0.819	0.829	0.834	0.862	0.823	0.856
OD550 nm	0.706	0.772	0.876	0.825	0.875	0.848
	0.734	0.847	0.856	0.894	0.834	0.883
	0.772	0.82	0.869	0.815	0.842	0.811
	0.81	0.835	0.872	0.825	0.89	0.857
	0.828	0.83	0.835	0.886	0.875	0.814
mean	0.78±0.04	0.80±0.04	0.83±0.05	0.83±0.05	0.84±0.04	0.84±0.03
T-test		0.185445	0.034934	0.029844	0.005207	0.002893
Viability %		103.90± 5.96	107.53± 9.30	107.84± 8.47	109.06± 7.57	108.88± 8.27
T-test		0.10566	0.050249	0.028043	0.006893	0.008873

表 44. 旋覆花對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.764	0.728	0.61	0.767	0.81	0.275
24-hours	0.733	0.785	0.759	0.817	0.857	0.228
1rd	0.743	0.832	0.858	0.763	0.833	0.248
OD550 nm	0.764	0.819	0.801	0.751	0.846	0.237
	0.793	0.778	0.733	0.79	0.889	0.257
	0.795	0.796	0.802	0.818	0.8	0.266
	0.88	0.814	0.835	0.813	0.886	0.299
	0.87	0.848	0.773	0.77	0.876	0.289
mean	0.79±0.05	0.8±0.03	0.77±0.07	0.79±0.02	0.85±0.03	0.26±0.02
T-test		0.762798	0.53204	0.764693	0.02599	5.65E-13
Viability %		101.22±6.34	97.59±10.27	99.53±6.50	107.49±5.96	33.07±1.61
T-test		0.61874	0.54561	0.851503	0.005007	2.27E-22

表 45. 半夏對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.838	0.753	0.75	0.782	0.858	0.706
24-hours	0.764	0.773	0.812	0.803	0.803	0.743
1rd	0.775	0.772	0.829	0.788	0.84	0.755
OD550 nm	0.802	0.749	0.779	0.753	0.805	0.693
	0.78	0.783	0.783	0.71	0.795	0.702
	0.796	0.773	0.789	0.8	0.798	0.805
	0.836	0.804	0.81	0.782	0.832	0.737
	0.803	0.725	0.822	0.773	0.706	0.734
mean	0.80±0.02	0.77±0.02	0.80±0.02	0.77±0.03	0.80±0.04	0.73±0.03
T-test		0.022211	0.853708	0.097895	0.779186	0.001121
Viability %		96.00±4.15	99.83±5.27	96.91±4.63	100.73±5.57	92.00±5.99
T-test		0.022988	0.933373	0.099502	0.7325	0.002033

表 46. 附子對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.824	0.807	0.737	0.89	0.897	0.763
24-hours	0.824	0.782	0.768	0.933	0.947	0.816
1rd	0.892	0.889	0.833	0.985	0.844	0.784
OD550 nm	0.79	0.783	0.74	0.996	0.891	0.744
	0.792	0.801	0.765	0.995	0.915	0.8
	0.816	0.82	0.785	0.926	0.932	0.731
	0.792	0.802	0.751	0.984	0.909	0.818
	0.825	0.771	0.724	0.985	0.941	0.806
mean	0.82±0.03	0.81±0.03	0.77±0.03	0.96±0.04	0.91±0.03	0.78±0.03
T-test		0.487074	0.00484	1.94E-06	8.92E-05	0.044856
Viability %		98.49±2.71	93.13±2.90	117.56±6.74	111.22±6.57	95.66±5.49
T-test		0.164677	2.05E-05	7.38E-06	0.000483	0.042138

表 47. 青蒿對 HepG2 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
100ul/well	0.602	0.593	0.638	0.514	0.546	0.49
24-hours	0.592	0.603	0.56	0.56	0.593	0.42
1rd	0.569	0.583	0.572	0.596	0.508	0.459
OD550 nm	0.549	0.572	0.621	0.522	0.547	0.494
	0.538	0.592	0.575	0.594	0.631	0.445
	0.597	0.527	0.628	0.609	0.59	0.46
	0.62	0.517	0.629	0.634	0.601	0.406
	0.629	0.605	0.591	0.647	0.588	0.411
mean	0.59±0.03	0.57±0.03	0.60±0.03	0.59±0.05	0.57±0.04	0.45±0.03
T-test		0.446172	0.365823	0.905651	0.531756	8.14E-07
Viability %		98.11±8.14	102.71±6.03	99.67±7.20	98.29±8.14	76.70±8.77
T-test		0.549098	0.254146	0.904544	0.586989	2.81E-06

表 48.大黃對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.268	0.264	0.227	0.246
24-hours	0.255	0.266	0.206	0.245
	0.266	0.272	0.216	0.244
OD550 nm	0.269	0.257	0.225	0.244
	0.25	0.265	0.233	0.267
	0.27	0.257	0.235	0.251
mean	0.26±0.01	0.26±0.005	0.22±0.009	0.25±0.008
T-test		0.9	3.78E-05	0.022555
Viability (%)		100.3±4.17	85.09±4.19	95.01±5.54
T-test		0.88	1.24E-05	0.071

表 49.射干對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.268	0.246	0.249	0.222
24-hours	0.255	0.269	0.204	0.223
	0.266	0.255	0.213	0.227
OD550 nm	0.269	0.246	0.22	0.216
	0.25	0.246	0.202	0.225
	0.27	0.272	0.261	0.215
mean	0.263±0.007	0.256±0.010	0.225±0.022	0.221±0.004
T-test		0.249103	0.004809	9.84E-07
Viability (%)		97.29±4.94	85.37±6.77	84.26±3.73
T-test		0.24846	0.000691	2.7E-06

表 50. 旋覆花對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.268	0.254	0.137	0.109
24-hours	0.255	0.245	0.133	0.106
	0.266	0.243	0.14	0.098
OD550 nm	0.269	0.239	0.136	0.099
	0.25	0.239	0.14	0.103
	0.27	0.252	0.141	0.096
mean	0.26±0.007	0.25±0.006	0.1±0.003	0.1±0.004
T-test		0.0021	1.04E-11	2.1E-12
Viability				
(%)		93.33±2.54	52.4±1.7	38.78±2.4
T-test		0.0001	3.31E-14	7.36E-14

表 51. 半夏對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.274	0.245	0.261	0.276
24-hours	0.26	0.248	0.242	0.239
	0.246	0.24	0.249	0.24
OD550 nm	0.246	0.24	0.238	0.237
	0.245	0.24	0.242	0.257
	0.263	0.253	0.235	0.24
mean	0.26±0.01	0.24±0.005	0.24±0.008	0.25±0.01
T-test		0.06	0.1	0.37
Viability				
		95.68±2.94	95.74±3.84	97.1±4.76
T-test		0.008	0.03	0.2

表 52. 附子對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.274	0.248	0.251	0.236
24-hours	0.26	0.259	0.257	0.235
	0.246	0.259	0.255	0.234
OD550 nm	0.246	0.26	0.254	0.254
	0.245	0.24	0.258	0.258
	0.263	0.243	0.264	0.264
mean	0.26±0.01	0.25±0.008	0.26±0.004	0.25±0.01
T-test		0.5	0.88	0.26
<hr/>				
Viability (%)		98.58±5.78	100.5±4.5	96.7±6.89
T-test		0.59	0.80	0.31

表 53. 青蒿對 NRK-52E 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.274	0.25	0.264	0.217
24-hours	0.26	0.237	0.238	0.203
	0.246	0.239	0.245	0.197
OD550 nm	0.246	0.228	0.233	0.198
	0.245	0.221	0.246	0.219
	0.263	0.239	0.249	0.205
mean	0.26±0.01	0.236±0.001	0.25±0.009	0.2±0.008
T-test		0.01	0.16	1.27E-05
<hr/>				
Viability (%)		92.21±2.33	96.21±3.04	80.86±3.93
T-test		2.13E-05	0.019	7.17E-07

表 54. 大黃對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.224	0.272	0.285	0.321
24-hours	0.229	0.277	0.28	0.336
	0.231	0.261	0.277	0.328
OD550 nm	0.239	0.264	0.283	0.329
	0.213	0.252	0.266	0.287
	0.229	0.268	0.286	0.329
mean	0.228±0.009	0.266±0.008	0.280±0.007	0.322±0.017
T-test		2E-05	6E-07	4E-07
Viability (%)		116.86±4.38	122.93±3.35	141.35±4.38
T-test		3E-06	1E-08	5E-10

表 55. 射干對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.224	0.261	0.26	0.248
24-hours	0.229	0.26	0.249	0.248
	0.231	0.26	0.245	0.241
OD550 nm	0.239	0.271	0.239	0.229
	0.213	0.25	0.237	0.209
	0.229	0.253	0.247	0.239
mean	0.228±0.009	0.2592±0.007	0.2462±0.008	0.236±0.015
T-test		4E-05	0.0033	0.271
Viability		113.97±2.56	108.33±5.36	103.6±5.73
T-test		1E-07	0.0034	0.154

表 56. 旋覆花對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.224	0.24	0.252	0.087
24-hours	0.229	0.236	0.257	0.103
	0.231	0.237	0.274	0.103
OD550 nm	0.239	0.245	0.255	0.104
	0.213	0.222	0.254	0.177
	0.229	0.23	0.259	0.137
mean	0.228±0.009	0.235±0.008	0.259±0.008	0.118±0.033
T-test		0.15	7E-05	1E-05
Viability		103.3±2.24	113.7±4.65	52.47±16.59
T-test		0.004	3E-05	4E-05

表 57. 半夏對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.169	0.22	0.206	0.239
24-hours	0.173	0.219	0.202	0.259
	0.165	0.218	0.21	0.237
OD550 nm	0.216	0.224	0.224	0.249
	0.189	0.217	0.213	0.242
	0.189	0.227	0.219	0.269
mean	0.184±0.019	0.221±0.003	0.212±0.008	0.249±0.01
T-test		0.0008	0.0064	3E-05
Viability		121.25±10.74	116.37±8.05	136.74±12.69
T-test		0.0007	0.0006	3E-05

表 58. 附子對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.169	0.248	0.255	0.357
24-hours	0.173	0.236	0.243	0.416
	0.165	0.233	0.248	0.384
OD550 nm	0.216	0.24	0.256	0.368
	0.189	0.226	0.242	0.395
	0.189	0.238	0.246	0.449
mean	0.184±0.019	0.237±0.007	0.248±0.006	0.395±0.034
T-test		7E-05	1E-05	1E-07
Viability (%)		130.16±13.63	136.4±13.02	216.9±26.43
T-test		0.0003	4E-05	8E-07

表 59. 青蒿對 MDCK 細胞生長之影響

mg/ml	0	0.01	0.1	1
	0.169	0.214	0.201	0.226
24-hours	0.173	0.211	0.204	0.217
	0.165	0.205	0.214	0.234
OD550 nm	0.216	0.215	0.217	0.224
	0.189	0.206	0.206	0.22
	0.189	0.221	0.219	0.254
mean	0.184±0.019	0.212±0.006	0.21±0.007	0.229±0.013
T-test		0.005	0.009	0.0007
Viability		116.4±10.36	115.3±9.87	125.91±13.93
T-test		0.003	0.003	0.001

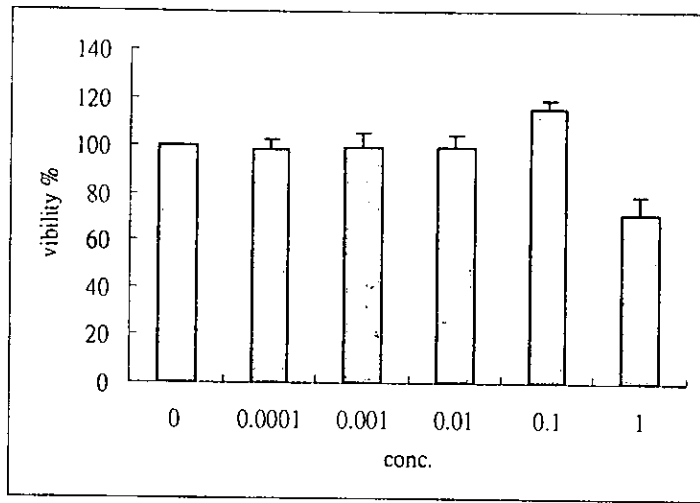


Fig 1. 大黃 VS HepG2

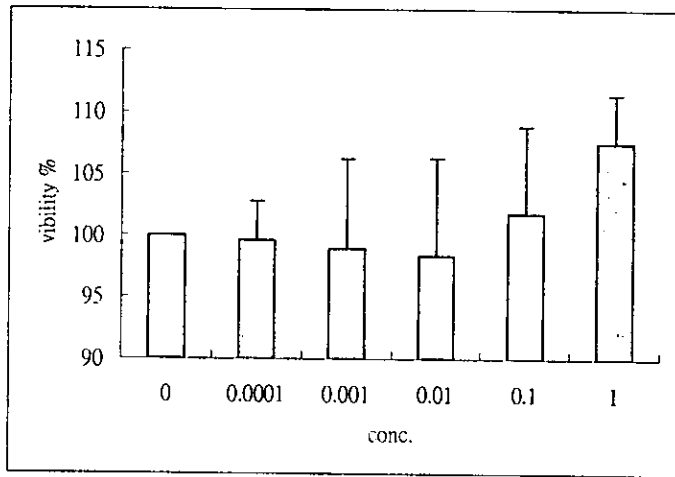


Fig 2. 射干 VS HepG2

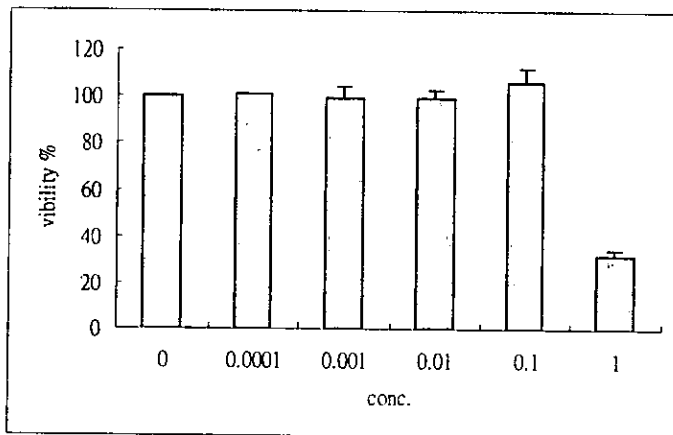


Fig 3. 旋覆花 VS HepG2

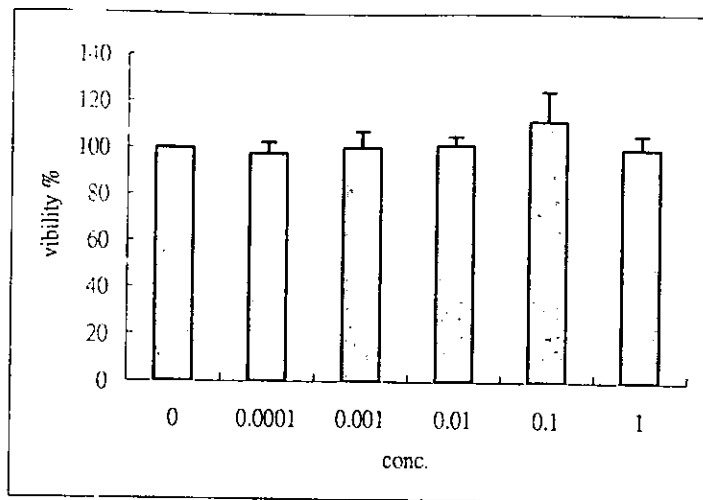


Fig 4. 半夏 VS HepG2

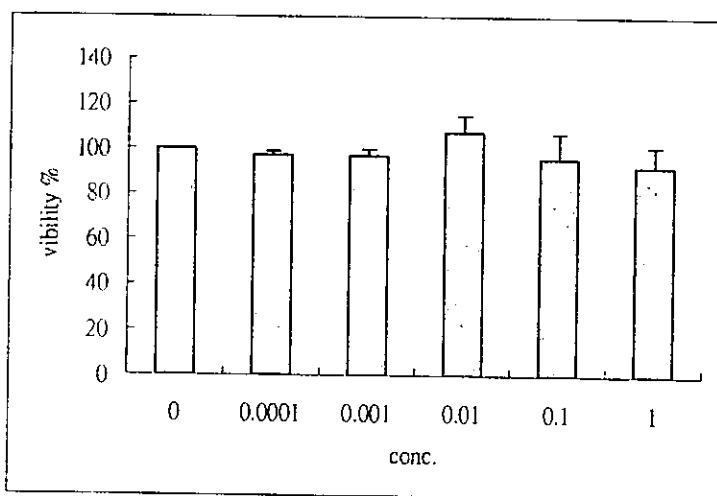


Fig 5. 附子 VS HepG2

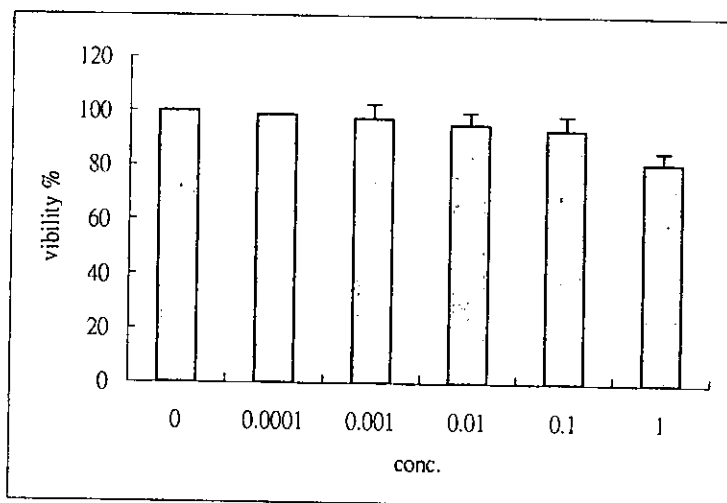


Fig 6. 菁蒿 VS HepG2

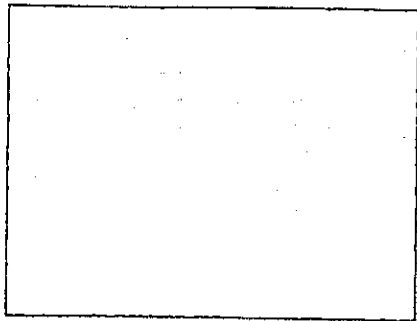


Fig 7. normal (200X)

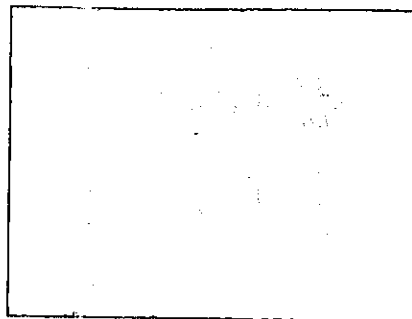


Fig 8. normal (400X)

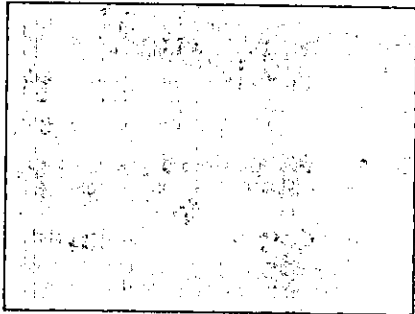


Fig 9. 大黃 VS HepG2 (100X)

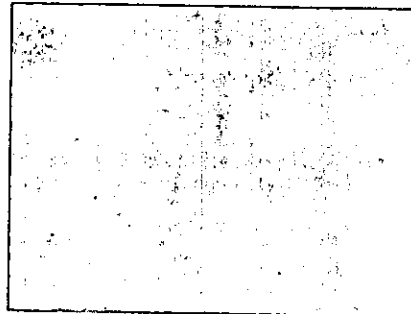


Fig 10. 大黃 VS HepG2(400X)

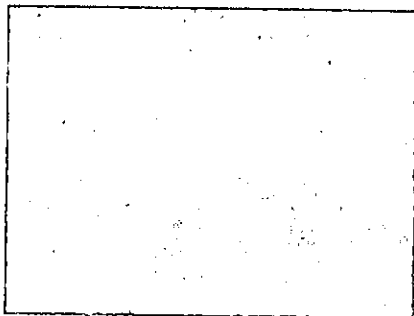


Fig 11. 旋覆花 VS HepG2(100X)

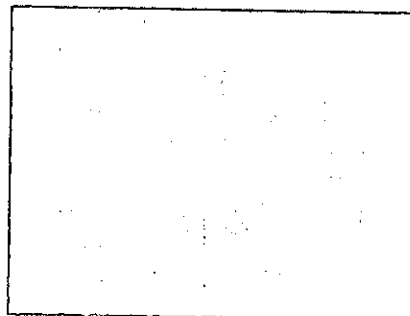


Fig 12. 旋覆花 VS HepG2(400X)

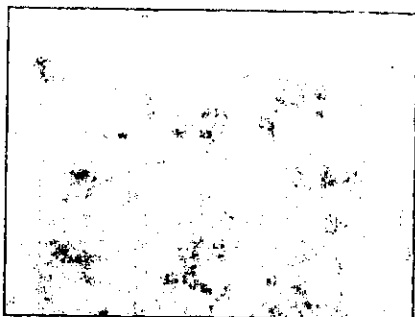


Fig 13. 半夏 VS HepG2 (200X)

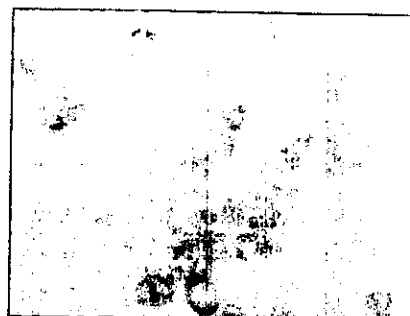


Fig 14. 半夏 VS HepG2 (400X)



Fig15 . 附子 VS HepG2 (100X)

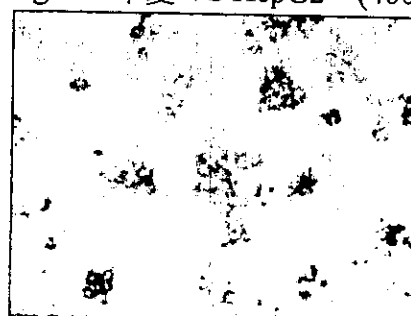


Fig 16. 附子 VS HepG2 (400X)

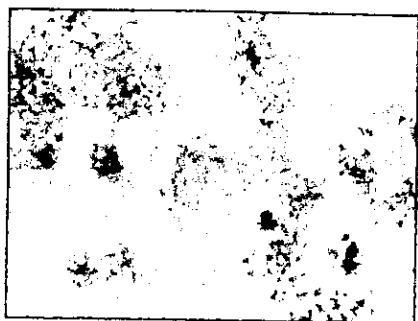


Fig17. 青蒿 VS HepG2 (200X)

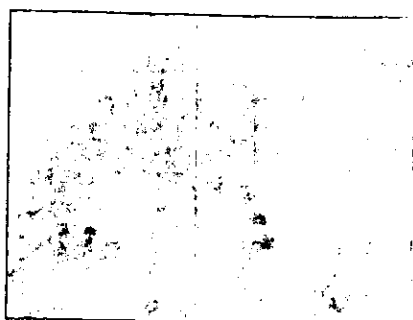


Fig 18. 青蒿 VS HepG2 (400X)

行政院衛生署中醫藥委員會 95 年度委辦研究計畫成果報告自我評估表

計畫名稱	中草藥肝與腎毒理評估模式探討 (整合型計畫)	計畫編號	CCMP95-TP-005
執行機構	中國醫藥大學	主持人	彭文煌
<p>自我評估項目：</p> <p>一、研究方法是否與原計畫之設計相同</p> <p><input type="checkbox"/> 完全相同 <input checked="" type="checkbox"/> 少部分不同 <input type="checkbox"/> 大部分不同 <input type="checkbox"/> 完全不同</p> <p><u>未”完全相同”者請說明不同之項目與原因：</u></p> <p>原計畫只探討一家藥商之藥材，期中報告依審查委員意見增為三家。</p> <p>二、研究成果內容與原計畫書目的之相符程度</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 完全相符 <input type="checkbox"/> 少部分不符 <input type="checkbox"/> 大部分不符 <input type="checkbox"/> 完全不符</p> <p><u>未”完全相符”者請說明不符之項目與原因：</u></p> <p>三、研究成果是否達成預期目標</p> <p><input type="checkbox"/> 已達成且超過預期目標 <input checked="" type="checkbox"/> 已達成預期目標 <input type="checkbox"/> 部分未達成 <input type="checkbox"/> 均未達成</p> <p><u>均請說明，未達成目標請務必說明原因：</u></p> <p>四、對該研究成果應用價值之自我評估：(可複選)</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 可列為中醫師或中藥從業人員在職繼續教育專題演講之內容</p> <p><input type="checkbox"/> 具出版專籍參考之價值</p> <p><input type="checkbox"/> 具發表於學術期刊之價值</p> <p><input type="checkbox"/> 具備申請專利或技術移轉之潛力</p> <p><input type="checkbox"/> 其他 _____</p> <p>五、其他</p>			
計畫主持人簽章		日期	

註：本表電腦檔案可於” <http://www.ccmp.gov.tw>” 上取得