

# 臺灣市售牛膝類藥材之藥理學研究

張永勳<sup>1,2</sup> 何玉鈴<sup>1</sup> 蔡輝彥<sup>1,2</sup> 謝明村<sup>1</sup> 陳忠川<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 中國醫藥學院 中國藥學研究所

<sup>2</sup> 中國醫藥學院附設醫院 藥劑部

台中

(1997年9月18日受理，1997年9月28日收校訂稿，1997年9月29日接受刊載)

牛膝藥材的基原頗為複雜，商品名稱及來源亦很混亂，臺灣市售之牛膝藥材以牛膝 (*Achyranthes bidentata* BLUME，市售稱懷牛膝)、川牛膝 (*Cyathula officinalis* KUAN，市售稱杜牛膝)、味牛膝 (*Strobilanthes forrestii* DIELS，市售誤稱川牛膝) 三種為主。

本研究根據牛膝之臨床應用，在治療腰膝酸痛方面做了鎮痛試驗；消癰腫方面做了抗炎試驗；在活血化瘀、引血下行方面做了對大白鼠正常血壓作用的影響及抗血小板凝集試驗，來評估並比較市售三種牛膝類藥材之藥理活性。

藥理結果顯示在鎮痛及抗炎方面，三種牛膝皆有鎮痛及抗炎作用，其中以牛膝效價最佳，其次為川牛膝，味牛膝效價最差；對大白鼠正常血壓作用的影響，僅有牛膝具有降血壓作用；在抗血小板凝集方面則以川牛膝效果最好，此與中醫臨床用川牛膝長於活血化瘀之理論一致。

因此從基原與藥理活性評估，臺灣充當川牛膝使用之味牛膝之其藥理活性最差，不應充當牛膝使用。

**關鍵詞：**牛膝、川牛膝、味牛膝、鎮痛、抗炎、降血壓。

## 前 言

市售中藥材之基原頗為複雜，商品名稱及來源亦很混亂，且常有代用品或膺偽品充斥其間，因而造成中毒或誤用的情形發生，因此有必要對基原較複雜之藥材加以釐清。

目前市售各種中藥製劑大都依中醫古籍之固有成方為依據，然而所依據之醫書不同，同一方名之

組成及主治往往有很大差異，衛生署有鑑於此，於最近擬出中藥標準方 337 個；但是標準處方中之組成藥材，常因市場品之不同，而影響該方之療效主治，因此對其基原也有必要加以統一。

牛膝，為莧科植物 *Achyranthes bidentata* B<sub>LUME</sub> 的乾燥根，神農本草經列為草部上品，以降歷代諸家本草均有記載。自古用根，具有補肝腎，強筋骨，逐瘀通經，引血下行之功能。用於腰膝酸痛，筋骨無力，經閉癥瘕，肝陽眩暈等症<sup>1</sup>。

大陸地區牛膝類藥材其基原相當混亂<sup>2,3</sup>，目前臺灣市售牛膝藥材以牛膝（*Achyranthes bidentata* B<sub>LUME</sub>，市售稱懷牛膝）、川牛膝（*Cyathula officinalis* K<sub>UAN</sub>，市售稱杜牛膝）及味牛膝（*Strobilanthes forrestii* D<sub>IELS</sub>，市售誤稱川牛膝）為主。其中臺灣市售所稱之川牛膝並非大陸藥典所記載之川牛膝<sup>1</sup>，而是爵床科 (Acanthaceae) 植物，腺毛馬藍 (*Strobilanthes forrestii* D<sub>IELS</sub>) 的乾燥根及根莖，即一般所謂的味牛膝；而臺灣市面上極少被使用，在市售被稱為杜牛膝者，才是川牛膝（*Cyathula officinalis* K<sub>UAN</sub>，莧科）之乾燥根。因而本研究就臺灣市售三種牛膝類藥材，除另文以生藥組織學、植物化學等方法加以鑑別外，本文以鎮痛、抗發炎、對大白鼠正常血壓作用的影響及抗血小板凝集試驗等藥理學方法，加以研究比較。

藥理結果顯示在鎮痛及抗炎方面，三種牛膝皆有鎮痛及抗炎作用，其中以牛膝效價最佳，其次為川牛膝，味牛膝效價最差；對大白鼠正常血壓作用的影響，僅有牛膝具有降血壓作用；在抗血小板凝集方面則以川牛膝效果最好，此與中醫臨床用川牛膝長於活血化瘀<sup>4</sup>之理論一致。

## 材料與方法

### 一、臺灣市售牛膝類藥材之蒐集

民國八十三年二月至六月間到全省各地二十家中藥房或中藥批發商抽購各種牛膝類藥材，並經北京中國中醫研究院中藥研究所謝教授宗萬及南京中國藥科大學徐教授國鈞鑑定，市售稱懷牛膝之藥材為莧科植物牛膝 (*Achyranthes bidentata* B<sub>LUME</sub>) 的乾燥根，市售稱杜牛膝之藥材為莧科植物川牛膝 (*Cyathula officinalis* K<sub>UAN</sub>) 的乾燥根，而市售稱川牛膝之藥材則為爵床科植物腺毛馬藍 (*Strobilanthes forrestii* D<sub>IELS</sub>) 的乾燥根及根莖。

### 二、藥理實驗藥材之抽取

將市售三種牛膝藥材：牛膝（市售稱懷牛膝）、川牛膝（市售稱杜牛膝）、味牛膝（市售誤稱川牛膝）各 1 kg，以甲醇萃取得粗抽液，經過濾、合併、減壓濃縮得其甲醇粗抽物，分別重 337.3 g，296.6 g，39.0 g，並計算其抽取率。牛膝產率為 33.73%，川牛膝產率為 29.66%，味牛膝產率為 3.90%。本研究所用之測試劑量或濃度均以粗抽物之重量計。

牛膝及川牛膝均以甲醇粗抽物溶於 0.9% 生理食鹽水溶液；味牛膝則先加數滴 Tween 80，再加 0.9% 生理食鹽水溶液配製所需濃度。

### 三、實驗動物

ICR 系雄性鼯鼠購自行政院國科會實驗動物中心（台北），並飼養於本院基礎醫學大樓動物中心，室溫維持 22 ~ 24 °C，正常餵食。

Wistar 系雄性大白鼠購自國立臺灣大學動物中心（台北），並飼養於本院基礎醫學大樓動物中心，室溫維持 22 ~ 24 °C，正常餵食。

### 四、試劑

Urethane, Heparin, Formalin,  $\lambda$ -carrageenin, Indomethacin 均為購自誠心堂化學股份有限公司之 SIGMA 產品。

### 五、儀器

1. 電子天平：OHAUS GALAXY™ 160。
2. 多用途生理綜合記錄儀：Gould 2600。
3. 排水量測定器：7150 plethysmometer。
4. 超音波振盪器：SONOREX SUPER RK 1028 BH。

### 六、急性毒性實驗<sup>5</sup>

採 Litchfield and Wilcoxon 之方法，使用體重 20 ~ 30 g ICR 系雄性鼯鼠，牛膝（簡稱 NX-1）、川牛膝（簡稱 NX-2）、味牛膝（簡稱 NX-3）甲醇粗抽物經腹腔給藥後，連續觀察 72 小時，記錄其中毒及死亡情形，求得鼯鼠半數致死劑量及其 95% 之可信度。

### 七、對正常大白鼠血壓之影響<sup>6</sup>

選用 Wistar 系雄性大白鼠，體重 200 ~ 300 公克，以 urethane 1.35 g/kg) 由腹腔注射麻醉，將其固定於手術板上。游離出股動脈 (femoral artery) 及股靜脈 (femoral vein)，以 PE-50 管 (polyethylene tube-50) 行股動脈、股靜脈插管（靜脈管內充填 0.9% 生理食鹽水，動脈管內充填 Heparin 0.1 mg/ml 生理食鹽水以防凝血）。動脈管接於壓力訊息傳遞器 (pressure transducer) 並經由傳送放大器 (process amplifier) 傳輸，記錄動物之心跳速率 (heart rate) 與平均動脈壓 (mean arterial pressure)，靜脈管留待給藥使用。待大白鼠血壓穩定，分別經由股靜脈緩慢注射牛膝、川牛膝、味牛膝之甲醇粗抽物 750 mg/kg，連續觀察其血壓、心跳變化一小時。

### 八、鎮痛實驗<sup>7</sup>

採用 20 ~ 30 g ICR 雄性鼯鼠，隨機分組，每組 8 隻，稱重後以腹腔注射給藥，牛膝及川牛膝對照組給予生理食鹽水作對照，味牛膝對照組給予加數滴 Tween 之生理食鹽水作對照。實驗組則分別腹腔注射給予不同劑量 (100, 500, 1000, 1500 mg/kg) 之牛膝、川牛膝、味牛膝之甲醇粗抽物，30 分鐘後於鼯鼠右後足背皮下注射 25  $\mu$ l 之 1% formalin，觀其舔右後足所花時間，每五分鐘記錄一次結果，其中 0 ~ 5 分鐘稱前期 (early phase)，15 ~ 40 分鐘稱後期 (late phase)，觀察紀錄 40 分鐘。

## 九、抗炎實驗<sup>8</sup>

選用 180 ~ 250 g Wistar 系雄性大白鼠，每組 7 隻，於右後足跟作記號，並測量給藥前之體積，而後腹腔給予不同濃度 (500, 1000, 1500 mg/kg) 牛膝、川牛膝、味牛膝之甲醇粗抽物，對照組則給予 indomethacin 4 mg/kg，半小時後於右後足蹠後皮下注射致炎劑 0.1 ml 1%  $\lambda$ -carrageenin，誘發足蹠浮腫後，連續以 plethysmometer 測其排水量，每 30 分測一次，連續五小時，比較生理食鹽水組及給藥組間之差異，其中浮腫率計算如下：

$$\text{浮腫率(edema rate)} = \frac{B-A}{A} \times 100\%$$

A：注射前之排水量

B：給藥後測得之排水量

## 十、抗血小板凝集試驗<sup>9</sup>

### 1. 血小板凝集引發劑

- (1) Thrombin：溶解在 50 % glycerol，以 100 NIH units/ml stock solution。
- (2) Collagen (Type I bovine achilles tendon)：溶於 25 M 醋酸水溶液中，於 4 °C 研磨成均勻的懸浮液後，以 1 mg/ml 的濃度分裝，於 -70 °C 中貯存，使用前再解凍研磨均勻。
- (3) Platelet-activating factor (PAF)：溶於 Chloroform 中，使用前以 0.9 % NaCl 稀釋之。
- (4) Arachidonic acid (AA)：以去離子水稀釋備用。

### 2. 血小板懸浮液之製備

兔子耳靜脈抽出血液，與 100 mM EDTA 以 1 : 14 (v/v) 的比例混合，在室溫下立即以 90 xg 離心 10 分鐘。取出上層富血小板血漿後，再以 500 xg 離心 10 分鐘後，將下層血小板以含有 EDTA (2 mM) 及 bovine serum albumin (BSA, 3.5 mg/ml) 的 Tyrode 溶液懸浮之，並於相同轉速下離心 10 分鐘，所得血小板以不含 EDTA 的 Tyrode 溶液懸浮。離心後，再以 Tyrode 溶液懸浮，並以 Coulter counter (Model ZM) 計數，調整血小板之數目為  $4.5 \times 10^8$  個/ml，最後加入 1 mM  $\text{Ca}^{2+}$  靜置 30 分鐘後，再進行實驗。

Tyrode 溶液除含 BSA 外，其它組成如下 (mM)：

NaCl (136.9)，KCl (2.7)， $\text{MgCl}_2$  (2.1)， $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (0.4)， $\text{NaHCO}_3$  (11.9)，glucose (11.1)。

### 3. 血小板凝集反應的測定：

測定方法為混濁度法 (turbidimetric method)。所有玻璃儀器為 siliconized。在未加入樣品前先置一分鐘，轉速 900 rpm，加入樣品三分鐘後，再加入引發劑，六分鐘後觀察結果。為排除溶媒 (DMSO) 影響，其在血小板懸浮液之濃度為 0.5 %。

## 十一、統計方法

本實驗結果之數據，均利用單相變異數分析法 (one-way ANOVA) 分析其變異數，再以 Scheffe test 檢定其間差異之顯著性，凡 P 值小於 0.05 時，則認為差異有統計意義。

# 結 果

## 一、急性毒性實驗

由腹腔給予牛膝、川牛膝及味牛膝之甲醇粗抽物作小鼠急性毒性實驗，結果顯示，牛膝及味牛膝之半數致死劑量 (95% 可信度) 分別為 3.65 (2.98-4.49) g/kg 及 4.00 (3.11-5.14) g/kg；然川牛膝腹腔注射給予 5.00 g/kg 時，尚未見死亡。

## 二、對大白鼠正常血壓之影響

待大白鼠血壓穩定，分別經由股靜脈緩慢注射牛膝 (簡稱 NX-1)、川牛膝 (簡稱 NX-2) 及味牛膝 (簡稱 NX-3) 之甲醇粗抽物 750 mg/kg 後，連續觀察 60 分鐘血壓變化如 Fig. 1-A 所示：NX-1 於 2 分鐘血壓下降 57.48%，15 分鐘以後約下降 30%，持續至 60 分鐘；而 NX-2 及 NX-3 則無明顯血壓變化。同時亦可觀察心跳速率變化如 Fig. 1-B 所示，其中 NX-1 於給藥 2 分鐘後心跳速率減少 62.14%，6 分鐘後恢復給藥前心跳速率；而 NX-2 及 NX-3 則無明顯心跳速率變化。

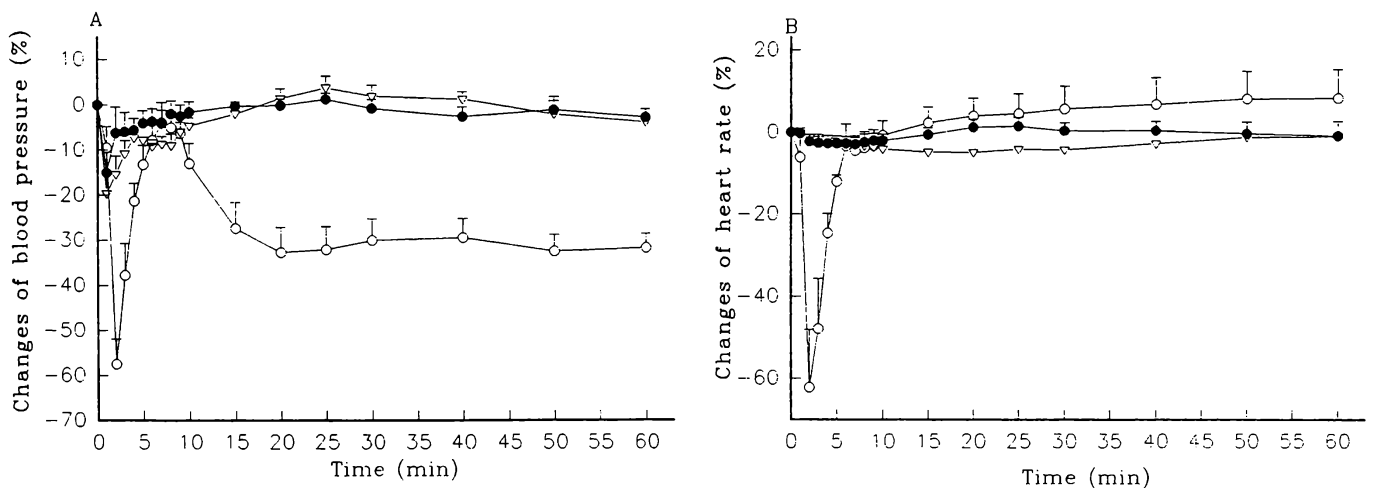


Fig. 1. The effects of methanol extracts of NX-1, NX-2, and NX-3 administered intravenously on blood pressure (A) and heart rate (B) in rats. Data are shown as mean  $\pm$  S.E. (n=7).  $\circ$ - $\circ$ : nx-1 (*Achyranthes bidentata*, 750 mg/kg),  $\bullet$ - $\bullet$ : NX-2 (*Cyathula officinalis*, 750 mg/kg), and  $\nabla$ - $\nabla$ : nx-3 (*Strobilanthes forrestii*, 750 mg/kg).

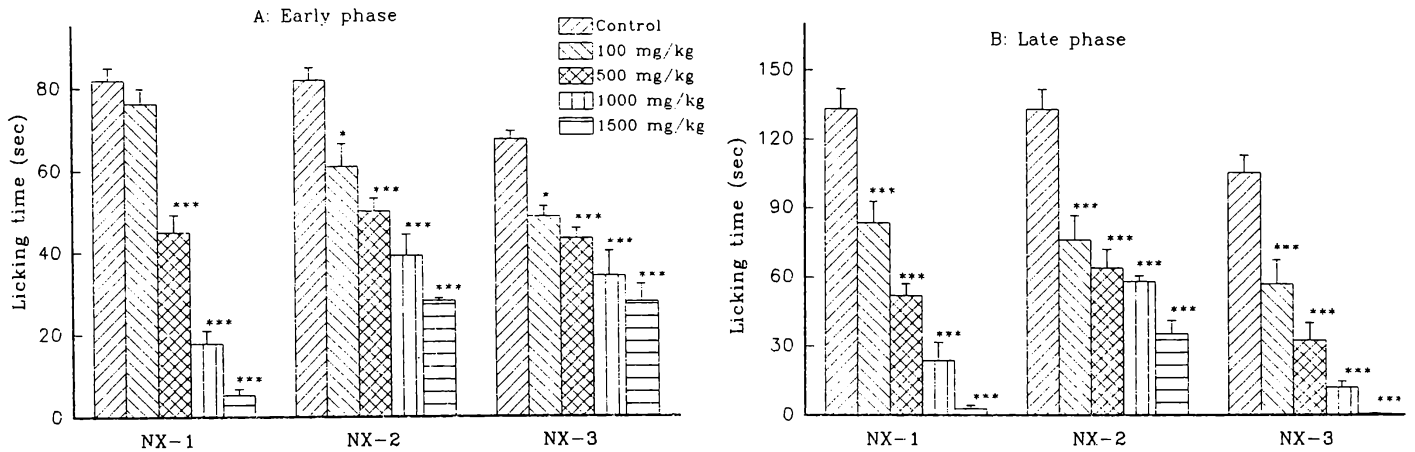


Fig. 2. The effects of methanol extracts of *Achyranthes bidentata* (NX-1), *Cyathula officinalis* (NX-2), and *Strobilanthes forrestii* (NX-3) administered intraperitoneally on the early phase (A) and late phase (B) in formalin test in mice. Data are shown as mean  $\pm$  S.E. (n=8) \*P<0.05, \*\*\*P<0.01 as compared with the control (one-way ANOVA measures followed by Scheffe test)

### 三、鎮痛實驗

NX-1、NX-2 及 NX-3 之甲醇粗抽物，經腹腔分別給予 20 ~ 30 g ICR 雄性小鼠，100, 500, 1000, 1500 mg/kg 四個劑量。在生理食鹽水對照下，三種牛膝藥材對於 formalin 誘發舔足的前期反應時間，自 100 mg/kg 到 1500 mg/kg 呈現劑量依存性的抑制作用，其中以 NX-1 抑制作用最強（如 Fig. 2-A）；而三種牛膝藥材對後期舔足總反應時間亦自 100 mg/kg 到 1500 mg/kg 呈現劑量依存性的抑制作用，以 NX-3 味牛膝抑制作用較強（如 Fig. 2-B）。

### 四、抗炎實驗

本實驗依 Winter 等人<sup>8</sup> 修飾後之方法，先測給藥前足蹠體積，再以腹腔分別注射 NX-1、NX-2 及 NX-3 之甲醇粗抽物。結果顯示三種牛膝在 500 mg/kg 均無抑制作用；在 1000 mg/kg 劑量下，NX-1 於 3 小時浮腫抑制率為 35.10%，NX-2 為 16.42%，NX-3 為 28.63%；於 1500 mg/kg 劑量時，NX-1 於 3 小時浮腫抑制率為 48.47%、NX-2 為 23.57%，NX-3 為 36.19%（分別如 Fig. 3, 4 和 5）。Indomethathin 於 3 小時浮腫抑制率為 34.26%，與 NX-1 在 1000 mg/kg 及 NX-3 於 1500 mg/kg 劑量下作用相當，而 NX-1 在 1500 mg/kg 劑量下其浮腫抑制率則高於 Indomethathin。

### 五、抗血小板凝集試驗

在抗血小板凝集試驗中，NX-1 對於 Thrombin、Collagen、Platelet-activating factor (PAF)、Arachidonic acid (AA) 四種血小板凝集引發劑所引起之血小板凝集如 Table 1 所示均無抑制作用，NX-2 對 Collagen 及 Arachidonic acid (AA) 所引起之血小板凝集有抑制作用，NX-3 則對 Thrombin 所引起之血小板凝集則有抑制作用。

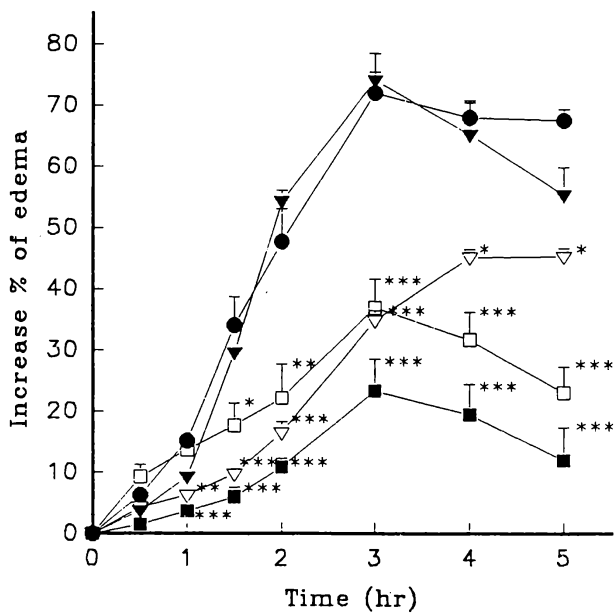


Fig. 3. The effects of methanol extracts of *Achyranthes bidentata* (NX-1) on rat's hind paw edema induced by  $\lambda$ -carrageenin. (● Control, ▽ Indomethacin, ▼ 500 mg/kg, □ 1000 mg/kg, ■ 1500 mg/kg). Data are shown as mean  $\pm$  S. E. (n=7) \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 as compared with the control (one-way ANOVA measures followed by Scheffe test).

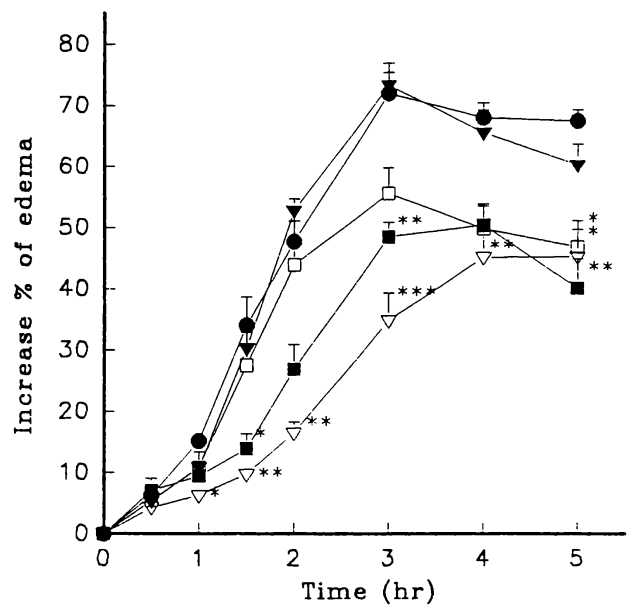


Fig. 4. The effects of methanol extracts of *Cyathula officinalis* (NX-2) on rat's hind paw edema induced by  $\lambda$ -carrageenin. (● Control, ▽ Indomethacin, ▼ 500 mg/kg, □ 1000 mg/kg, ■ 1500 mg/kg). Data are shown as mean  $\pm$  S. E. (n=7) \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 as compared with the control (one-way ANOVA measures followed by Scheffe test).

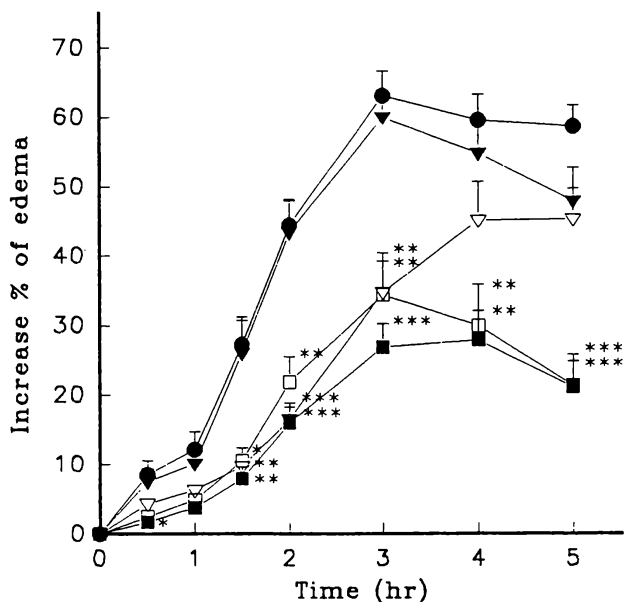


Fig. 5. The effects of methanol extracts of *Strobilanthes forrestii* (NX-3) on rat's hind paw edema induced by  $\lambda$ -carrageenin. (● Control, ▽ Indomethacin, ▼ 500 mg/kg, □ 1000 mg/kg, ■ 1500 mg/kg). Data are shown as mean  $\pm$  S. E. (n=7) \*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 as compared with the control (one-way ANOVA measures followed by Scheffe test).

Table 1. Antiplatelet Effect (% Aggregation) of NX-1, NX-2 and NX-3 on Thrombin, Arachidonic acid, Collagen and Platelet-activating factor-induced aggregation

Agent	Thr 0.1 U/ml	AA 100 $\mu$ M	Col 10 $\mu$ g/ml	PAF 2 nM
Control	89.6 $\pm$ 0.7(3)	86.3 $\pm$ 0.9(5)	85.9 $\pm$ 1.3(5)	88.5 $\pm$ 0.5(3)
NX-1 1 mg/ml	88.5 $\pm$ 0.8(3)	80.8 $\pm$ 3.8(3)	81.3 $\pm$ 2.5(3)	87.9 $\pm$ 0.6(3)
NX-2 1 mg/ml	89.2 $\pm$ 0.6(3)	72.9 $\pm$ 4.2(3)*	72.9 $\pm$ 3.4(3)**	86.3 $\pm$ 0.7(3)
NX-3 1 mg/ml	86.3 $\pm$ 0.4(3)*	87.2 $\pm$ 1.9(3)	78.4 $\pm$ 2.9(3)	85.6 $\pm$ 0.8(3)

Data presented as Mean $\pm$ S.E. (n)

\*: P<0.05; \*\*: P<0.01

## 討 論

牛膝的主要功能之一是活血化瘀，引血下行，而活血化瘀藥是指以疏通血脈，祛除血瘀為主要功效的藥物，臨床上用於治療血瘀證<sup>10</sup>。按中醫的認識，血行應“如水之流”，“行有經紀”。如血行失去了“如水之流”的正常之度，而變為“血凝而不流”或“血泣則不通”，或失去了其“行有經紀”的正常之度，而變為“血不歸經”或“離經之血”，都屬於血瘀證。活血化瘀就是使血行失度恢復正常<sup>11</sup>。活血化瘀的主要藥理作用有：(1)調節循環功能，(2)改善血液流變性，(3)抗血栓，(4)調節結締組織代謝，抑制結締組織異常增生，(5)調節免疫功能，改善基體狀態，(6)影響脂質代謝等<sup>10</sup>。但本研究在心臟血管之實驗中發現，僅有牛膝對大白鼠正常血壓具有降壓作用，川牛膝及味牛膝則對血壓無影響。

在觀察血壓變化同時亦可觀察心跳速率變化。牛膝雖使血壓下降，但並無造成反射性心跳加快，依報導其降壓作用與組織胺之釋放有關，對心臟抑制及週邊血管擴張亦有作用<sup>12</sup>；而投予牛膝的大白鼠在血壓下降同時，亦可觀察到唾液大量分泌，每公斤體重平均約 1.78 ml，川牛膝及味牛膝則未見此現象。造成血壓下降及唾液分泌的原因是否與副交感神經有關，其真正機轉有待進一步研究。

至於對於血液的影響，在抗血小板凝集試驗中，牛膝對於 Thrombin、Collagen、Platelet-activating factor (PAF)、Arachidonic acid (AA) 四種血小板凝集引發劑，所引起之血小板凝集均無抑制作用；川牛膝則對 Collagen 及 Arachidonic acid (AA) 所引起之血小板凝集則有抑制作用；味牛膝則對 Thrombin 所引起之血小板凝集則有抑制作用，此實驗結果與中醫臨床用川牛膝長於活血化瘀<sup>4</sup>之理論一致。

依中醫典籍之記載，牛膝具有補肝腎、強筋骨之作用<sup>1,13</sup>肝腎不足會造成腰膝酸痛。本研究進一步以 formalin 舔足實驗進行鎮痛試驗方面探討。formalin 舔足實驗最早是由 Dubuisson 和 Dennis 於 1977 年提出<sup>7</sup>，其對許多類鎮痛藥物的篩選是有效且可靠的模式。當由皮下注射稀釋過之 formalin 於大白鼠、貓<sup>7</sup>、鼯鼠<sup>14,15</sup>或靈長類動物<sup>16</sup>可觀察到兩相疼痛反應；皮下注入 formalin



於人類皮膚，4-5 分鐘時會引起強烈且尖銳的灼熱感，接下來 30-60 分則有持續的疼痛感，若表現於鼯鼠則因足掌受到注入的 formalin 刺激引起疼痛而有舔足或頓足的行爲表現<sup>17</sup>，最初注入的 formalin 於 0-5 分造成的痛反應 (initial pain) 所花費的舔足時間稱之爲前期 (early phase)，與中樞之作用較有關聯，主要是因直接刺激痛覺接受體造成 substance P, bradykinin 釋出而有痛反應；而於 15-30 分所花費的舔足時間則稱之爲後期 (late phase)，與周邊疼痛物質的釋放有關，主要是因發炎反應造成一些化學傳遞物 (chemical mediators) 如 histamine、serotonin、prostaglandin 及 kinin 由受損組織細胞釋放出引起<sup>1</sup>。Formalin 在所有集合的神經元 (convergent neurons) 會產生不同的雙向興奮反應，一是注射 formalin 0-10 分鐘，神經產生放電 (mean maximum 22 spikes/sec)；一是於注射 formalin 後 20-65 分，持續延長興奮反應 (mean maximum 12 spikes/sec)<sup>1</sup>。簡言之，以 formalin 誘發小白鼠造成疼痛而有舔腳的行爲反應，可對發炎性及非發炎性疼痛的鎮痛藥物活性及作用機理作一有效的評估<sup>20</sup>。另外，以 formalin 誘導產生的痛反應，其濃度大小佔很重要因素，當於 0.02-0.2 % 時僅誘導出前期舔腳反應，以光學顯微鏡作組織鑑定，其對組織的改變微小；而於 1 % 或更高之 formalin 濃度時可誘導出前期及後期舔腳反應，若注入 formalin 5 %，30 分後在組織鑑定上可發現有急性發炎反應，顆粒球破壞及腫脹均可見<sup>21</sup>。本研究以 1 % formalin 誘導出兩相痛反應，結果發現牛膝對於 formalin 誘發舔足的前期反應時間具有較強之抑制作用，而對後期舔足總反應時間則以味牛膝抑制作用較強。

牛膝於文獻中亦記載具有消癰腫作用<sup>1</sup>，“腫”是發炎的徵兆之一，在此方面以大白鼠足蹠浮腫實驗 (Hindpaw edema test)，來評估市售三種牛膝類藥材之消炎作用。早在兩千年前就已有入嘗試研究發炎反應：Celsius (30 A.D.) 描述四種發炎的徵兆：紅、腫、熱、痛<sup>22</sup>。其實，炎症乃是身體對傷害所採取的防禦措施，主要病徵是血管擴張，血流量增加造成充血現象而發紅；水分漏入組織引起水腫；血管擴張又血流量增加就有熱感，而腫脹的壓迫或體內 kinin，或其它相關物質對神經末梢作用就引發疼痛，故炎症外表可見紅、腫現象；而炎症區血流量增加，致水分、電解質或血漿內蛋白質滲入到組織內等，都是血管性反應的表現。

用於評估抗炎藥之許多篩選方法中，常以注射大白鼠致炎劑後能產生抑制浮腫之能力爲先決條件，最常使用之致炎物，包括鹿角菜膠 (carrageenin)、酵母 (yeast)、福馬林 (formalin)、右旋糖 (dextrose) 及蛋白 (albumin)。1962 年 Winter 等人<sup>8</sup> 使用 0.05 ml, 1 %  $\lambda$ -carrageenin 注射大白鼠足蹠，結果引發足蹠腫脹，並於注射後連續量得 3 小時後浮腫體積；1963 年以此分析 indomethacin 之抗炎作用，遂成爲一種普遍研究抗炎活性之實驗；之後，1964 年 Niemegeers 等人<sup>8,23</sup> 支持此實驗模式，用其作臨床抗風濕活性藥物之事先篩選；與其它誘發水腫之致炎劑相較，其優點是在發炎過程中爲局部刺激引起和抗原反應無關，且在毒性劑量下反應性佳，無全身性作用，再現性高。事實上，carrageenin 注入足蹠所引起之浮腫是雙相性反應<sup>24</sup>，注射  $\lambda$ -carrageenin 後，在不同時間有不同物質釋放而引起發炎，即 0-1.5 小時或 20 分至 1 小時內 (first phase) histamine、serotonin、PAF (platelet activating factor) 會游離出來；1.5-2.5 小時 (second phase)，kinin 類物質會釋放；2.5 小時之後 (third phase)，prostaglandin 及 leukotriens<sup>25</sup> 會放出。由本

實驗顯現牛膝、川牛膝及味牛膝之甲醇粗抽物，腹腔投與大白鼠後，均可見有抑制效果，而以牛膝效果最佳，其次為味牛膝、川牛膝。

但市售三種牛膝藥材之甲醇粗抽物之產率為牛膝 33.73% ，川牛膝 29.66% ，味牛膝 3.90% ；因此若以原藥材之劑量來說，在鎮痛試驗方面不論前期或後期，皆以牛膝之抑制作用最強，其次為川牛膝，味牛膝之效價最差，且三者均有劑量依存性的抑制作用；而在抗炎試驗方面亦以牛膝之抑制作用最強，其次為川牛膝、味牛膝。

藥理結果顯示在鎮痛及抗炎方面，三種牛膝皆有鎮痛及抗炎作用，其中以牛膝效果最佳，其次為川牛膝，味牛膝效果較差。因此從基原與藥理活性評估，臺灣充當川牛膝使用之味牛膝，不應再充當牛膝使用。

## 誌 謝

本研究承蒙臺大醫學院藥理研究所鄧哲明教授代測抗血小板凝集試驗、國科會 NSC-85-2331-B-039-001 經費補助，特此致謝！

## 參考文獻

1. 中華人民共和國衛生部藥典委員會，中華人民共和國藥典 1990 年版一部，人民衛生出版社，北京，pp. 27，58-59，1990。
2. 衛生部藥品生物製品檢驗所、中國科學院植物研究所，中藥鑒別手冊第二冊，科學出版社，北京，pp. 105-114，1981。
3. 謝宗萬，中藥材品種論述中冊，上海科學技術出版社，上海，11. pp. 1-21，1984。
4. 李學杲，中藥性用類比辨異，學苑出版社，北京，pp. 78，1991。
5. Litchfield JT, Wilcoxon FA. Simplified method of evaluating dose effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther* 96 : 99-113, 1949.
6. Tsai HY, Chiang RT, Tan TW, Chen HC. The effects of *Vandellia cordifolia* on renal functions and arterial blood pressure. *Am J Chin Med* 17(3-4) : 203-210, 1989.
7. Dubuisson D, Dennis SG. The formalin test : a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4: 161-174, 1977.
8. Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Antiinflammatory Assay* 544-547, 1962.
9. Chang YS, Kuo SC, Weng SH, Jan SC, Ko FN and Teng CM. Inhibition of Platelet Aggregation by Shikonin Derivatives Isolated from *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston

- Planta Medica* 59 : 401-404, 27. 1993.
10. 李奇, 中藥藥理研究方法學, 人民衛生出版社, 北京, pp. 493-29, 633, 1993。
  11. 李儀奎, 中藥藥理實驗方法學, 上海科學技術出版社, 上海, pp. 49-147, 1991。
  12. 江蘇新醫學院, 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 上海, pp. 417-20, 1988。
  13. 張賢哲, 本草備要解析, 中國醫藥學院出版組, 臺中, pp. 28-30, 1988。
  14. Wheeler AH, Porreca F, Cowan A. The rat paw formalin test : comparison of noxious agents. *Pain* 40 : 229-238, 1990.
  15. Hunskaar S, Berge OG, Hole K. Dissociation between antinociceptive and antiinflammatory effects of acetyl salicylic acid and indomethacin in the formalin test. *Pain* 25 : 125-132, 1986.
  16. Alreja M, Mutalik P, Nayar U, Manchanda SK. The formalin test: a tonic pain model in the primate. *Pain* 20 : 97-105, 1984.
  17. Steinar H, Kjell H. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods* 14 : 69-76, 1985.
  18. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 38 : 347-352, 1989.
  19. Dickenson AH, Sullivan AF. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat : differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain* 30 : 349-360, 1987.
  20. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory. *Pain* 30 : 103-114, 1987.
  21. Rosland JH, Tjolsen A, Mahle B, Hole K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain* 42 : 235-242, 1990.
  22. John V, Regina B. Inflammatory and the mechanism of action of anti-inflammatory drug. *FASEB J* 89-96, 1987.
  23. Massino R. Biological properties of carrageenin. *J Pharm Pharmacol* 224 : 89-102, 1972.
  24. Vinegar R, Schreiber W and Hugo R. Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 166(1) : 96-166, 1969.
  25. Holsapple MP, Yim GKW. Therapeutic reduction of ongoing carrageenin induced inflammation by lipo-oxygenase, but not cyclo-oxygenase inhibitors, *Inflammation* 8 : 233, 1984.

## PHARMACOLOGICAL STUDIES ON NIUXI SPECIES IN TAIWAN

Yuan-Shiun Chang<sup>1,2</sup>, Yu-Ling Ho<sup>1</sup>, Huei-Yann Tsai<sup>1,2</sup>, Ming-Tsuen Hsieh<sup>1</sup> and Chung-Chuan Chen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College,*

<sup>2</sup>*Department of Pharmacy, China Medical College Hospital, China Medical College, Taichung, Taiwan*

(Received 18<sup>th</sup> September 1997, revised Ms received 28<sup>th</sup> September 1997, accepted 29<sup>th</sup> September 1997)

Niuxi has been used as an important drug in Chinese medicine since ancient times. However, the origins and commercial species of Niuxi are complicated and often misused in Taiwan. Three major species are *Achyranthes bidentata* BLUME (NX-1), *Cyathula officinalis* KUAN (NX-2) and *Strobilanthes forrestii* DIELS (NX-3).

According to the Chinese ancient literature of successive generations, Niuxi can quicken the blood and transform stasis, free the channels and hasten birth, disinhibit the joints, strengthen the sinew and bones, supplement the liver and kidney, conduct blood downward, disinhibit water and free strangury. These indications imply that Niuxi may possess hypotensive, antiplatelet aggregation, analgesic, anti-inflammatory and antitumor effects. The origin of Niuxi is *Achyranthes bidentata* (Amaranthaceae). However, people mistake the root of *Strobilanthes forrestii* (Acanthaceae) for the root of *Cyathula officinalis* (Amaranthaceae) in Taiwan. Therefore, we compared the above mentioned pharmacological effects of the methanol extracts of the three commercially available Niuxi species.

The results showed that all three species exhibited analgesic and antiinflammatory effects. NX-1 showed strongest effect followed by NX-2 and NX-3 showed least effect. Only NX-1 showed hypotensive effect, whilst NX-2 and NX-3 did not. NX-2 inhibited the platelet aggregation induced by arachidonic acid and collagen.

Our results showed that NX-3 exhibited least biological activity among the three, and should not be used to substitute either *Achyranthis Radix* or *Cyathulae Radix*.

**Key Words:** *Achyranthes bidentata*, *Cyathula officinalis*, *Strobilanthes forrestii*, Hypotensive, Analgesic, Anti-inflammatory.