

黃連解毒湯之藥理學研究

蔡輝彥 施學鈞 譚思濉 謝明村 *林麗英

中國醫藥學院 中國藥學研究所 藥理學科 *微生物學科

肝炎、高血壓及外界環境之壓力所造成人類疾病之治療，雖然醫學界和藥理專家不斷的研究與發現新藥，但迄目前對於這類疾病祇能治標性的控制，還不能根本性治癒，而且長期性的服藥，還要考慮到體質的改變和副作用的影響。我國數千年來一脈相傳之中醫藥，採用自然界之動、植、礦物以調整身體，平衡陰陽。因此從中醫藥中發展新的治療方法已成爲新的趨勢。

黃連解毒湯係我國數千年來著名的清熱、解毒、瀉火之劑；出典於唐·王燾著外臺秘要引崔氏方，由黃連、黃芩、黃柏、梔子等四味藥材所組成。本研究試就黃連解毒湯酒精提取物及水提取物探討一系列相關之藥理作用。獲得如下之結果：

1. 黃連解毒湯酒精提取物產率爲14.3%，水提取物產率爲11.6%。
2. 黃連解毒湯酒精提取物pH爲3.62，鈉離子濃度爲1.2mEq/l，鉀離子濃度爲4.6mEq/l；水提取物pH爲4.70，鈉離子濃度爲8.0mEq/l，鉀離子濃度爲75.6mEq/l。
3. 黃連解毒湯粗提取物經口投予，小白鼠 $>10\text{g/kg}$ ，大白鼠 $>15\text{g/kg}$ ，未見毒性。
4. 黃連解毒湯酒精提取物經由腹腔注射之LD₅₀，小白鼠爲0.65g/kg(0.18~2.30g/kg)，大白鼠爲1.11g/kg(1.03~1.19g/kg)；水提取物經由腹腔注射之LD₅₀，小白鼠爲1.35g/kg(1.04~1.76g/kg)，大白鼠爲2.21g/kg(2.06~2.37g/kg)。顯示水提取物毒性較低。
5. 黃連解毒湯可顯著的縮短巴比妥鹽誘發睡眠的開始時間及顯著的延長睡眠的持續時間，具有鎮靜作用。
6. 對中樞神經興奮劑pentylenetetrazol、picrotoxin及strychnine，黃連解毒湯酒精提取物對前二者有抗痙攣作用，水提取物對三者皆有抗痙攣作用。
7. 黃連解毒湯能顯著的減少小白鼠之自發運動量。
8. 黃連解毒湯不影響小白鼠之協調運動。
9. 黃連解毒湯不影響大白鼠之正常體溫。
10. 黃連解毒湯能顯著的延長對熱刺激之反應時間及顯著的抑制化學刺激法所引起疼痛之扭體次數，具有鎮痛效果，水提取物較酒精提取物之效果佳。
11. 口服黃連解毒湯酒精提取物對尿量之排泄有顯著意義的增加，水提取物則對尿量及尿中 Na^+ 、 K^+ 之排泄量在統計學上均有顯著意義的增加，顯示黃連解毒湯有利尿作用，水提取物之利尿作用優於酒精提取物。
12. 黃連解毒湯有顯著而持久的降血壓作用，酒精提取物之降血壓作用不因劑量的增大而加大，水提取物則呈現有劑量依存性(dose-dependence)。

13. 黃連解毒湯可顯著的抑制serotonin 所誘發之浮腫，水抽取物效果優於酒精抽取物。
14. 黃連解毒湯水抽取物有抑制致病性細菌生長效果，具有抗菌作用。
15. 黃連解毒湯能顯著的降低因四氯化碳所造成的GOT、GPT、LDH、Alk-P及Bilirubin total之升高。對於血清蛋白質之下降則有回升之傾向。顯示黃連解毒湯有保護肝損傷作用。

由以上之結果顯示黃連解毒湯水抽取物之藥理作用較酒精抽取物強且毒性亦較低，又黃連解毒湯之藥理作用廣泛，不影響正常體溫及協調運動，且具有降低自發運動量、鎮靜、鎮痙、鎮痛、抗菌、抗發炎、利尿、降血壓及抑制四氯化碳對肝臟之損害等作用。證之黃連解毒湯於中醫辨證凡屬於「實熱」、「熱毒」等「陽亢」證，如充血性炎症、狂躁症、不眠症、黃疸、肝炎、高血壓等適應症，可由本研究結果獲得藥理學上之印證。然其現代臨床研究尚待進一步探討。

前 言

肝炎及高血壓均包括在我國十大死亡原因之內，且因焦慮、失眠而意外自殺死亡者亦常發生。現我國正邁向已開發國家，社會結構亦激遽的轉變，且隨著人口的增加，工商的發達，競爭的激烈，生活方式的改變，緊張、焦慮、失眠幾為人人均有的經驗。又在美國每年有二千五百萬人為失眠所困擾，其中四至六百萬人在服藥治療⁽¹⁾，藥局所調配的處方，抗焦慮藥佔有一半以上，全人口有15%在接受治療⁽²⁾。1979年在美国有一億張抗焦慮藥處方⁽³⁾。可見在現代社會中普遍存在著精神方面的疾病。由每年國內大量進口鎮靜劑之資料顯見國內焦慮、失眠的病患有與日俱增的趨勢。現代神經精神藥物如巴比妥劑(barbiturates)、苯偶氮胍(benzodiazepines)等，對於焦慮、失眠之治療雖有很大的療效，但是仍有嚴重的副作用存在，如積蓄作用、中樞抑制、耐藥性、依賴性與影響正常睡眠等都是急待再克服的問題。

另高血壓亦因物質文明的發展而成了現代文明常見的疾病。根據統計研究指出，在台灣約有百分之十五的成年人患有高血壓，其中大多數的人並不知道自己患有高血壓，有些人雖然知道自己患有高血壓，可惜的是未能接受持續的治療。由此可見一般人對高血壓及其潛在的危險性缺乏認識。高血壓是一種常見也是常易被疏忽的疾病，如果沒有接受治療或治療不理想則發生腦中風、冠狀動脈疾病、心衰竭或腎衰竭的機會要比一般人高出許多。台灣地區十大死亡之原因中，腦血管疾病佔死亡原因的第二位⁽⁴⁾，高血壓則為其致病原因；其中原發性（本態性）高血壓其病因至今尚不清楚，佔所有高血壓的百分之九十，這類病人並無特殊潛在性的疾病。這類病人通常有高血壓的家族史且伴有肥胖、糖尿病、高脂血症、高尿酸症的機會較無高血壓的病人為高。另一為續發性高血壓，佔所有高血壓的百分之十，這類病人因有某種潛在性的疾病而引起高血壓。常見的續發性高血壓有腎臟疾病如腎動脈狹窄症、腎上腺瘤如嗜鉻細胞瘤、原發性腎皮質增多症、原發性留鹽激素增多症、多囊性腎等。某些潛在性的疾病可以藉外科手術治療血壓即可恢復正常，某些則須服用藥物控制血壓。高血壓的藥物治療如利尿劑、交感神經對抗劑、血管擴張劑等祇能控制血壓於正常範圍，而且需長期服用

，否則，停藥後血壓會反彈到服用前血壓，甚至更高。長期服用降血壓藥物，會改變體液及電解質，身體因代償性作用也會影響藥效，藥物長期服用所造成副作用對身體之影響也很大。

除了上述之外，台灣地區最嚴重的一個醫療問題就是一一B型肝炎。據估計全世界約有一億七千多萬的B型肝炎帶原者，而其中四分之三分布在亞洲及大洋洲，可以說B型肝炎帶原者中，中國人佔了很大的比例。據報告指出，台灣地區成人人口中的91.3% 都曾在十四歲以前感染過B型肝炎，並有近五分之一的成人人口為B型肝炎帶原者（約三百萬人）⁽⁵⁾，一般人口之帶原率為美國的一百倍，日本的十倍；顯示B型肝炎在我國屬高流行區，比例佔世界第一位。帶原者的危險性是因其可能將B型肝炎傳染給別人，本身也有慢性肝炎、肝硬化，甚至肝癌發生的可能性（肝硬化佔本省十大死亡原因第六位，肝癌是本省癌死亡率中佔男性癌病死亡的第一位，在女性則為第二位）。而90% 肝癌的病人，血液中皆有B型肝炎表面抗原HBsAg存在，慢性肝炎、肝硬化的病人也有85%之HBsAg 陽性率。由流行病學的研究發現⁽⁶⁾，世界HBsAg 帶原率高低的分布正好和肝癌發生的高低符合。有關帶原者的長期追蹤也發現，帶原者發生肝癌比率比非帶原者高。有關慢性肝炎病人的長期追蹤也發現，肝癌易發於慢性肝炎病人；這些研究指向慢性B型肝炎感染極可能是國人肝癌易發的原因（國人肝癌發生率高達25~30/100,000人口）。

不僅僅是病毒性肝炎，國內隨著經濟的繁榮、國民所得、生活的提高，酒類的消耗也日漸增加，酒精性肝炎在將來也許會更加常見。另外由於國內藥物管理制度的關係，民衆可以輕易的買到各種藥品，以及工業升級連帶的工人接觸各種化學製劑、溶劑的機會也增加，藥物性肝炎、中毒性肝炎亦應小心加以防範。

目前治療肝炎的方法包括最簡單的臨床休息、充份營養、免疫抑制法（如corticosteroid單獨或合併azathioprine使用）、免疫刺激法（BCG, levamisole）或transfer factor，以及最近發展尚在實驗中的抗病毒藥物如adenine arabinoside (Ara-A)和干擾素(interferon)等⁽⁷⁾。然而此等藥物，不是療效不顯著，就是副作用太強等缺點，且多在試驗階段，尚未獲得肯定的結論。即現代醫學對肝炎仍缺乏適當的藥物來治療。

如上所述，尋找有效且副作用少之治焦慮、失眠、高血壓乃至於肝炎的藥物，將是刻不容緩的事。而我國歷來一脈相傳之中醫藥有著悠久的歷史，它是中華文化豐富的遺產，是前人經驗、智慧的累積；維護了中華民族五千年來的民族保健。處於今日，它更是一塊尚待琢磨的璞玉，有待吾人開發、耕耘的無窮寶藏。在眾多的中醫藥治療方劑中，黃連解毒湯就是其中之一。

黃連解毒湯係我國數千年來著名的清熱、解毒、瀉火之劑，出典於唐·王燾著外臺秘要引崔氏方⁽⁸⁾，由黃連、黃芩、黃柏、梔子等四味藥材所組成，主治一切火熱，表裏俱盛，狂躁煩心，口燥咽乾，大熱乾嘔，錯語不眠，吐血衄血，熱甚發斑等症。這些症狀常見於肝炎、焦慮、失眠及本態性高血壓患者。對於本方劑關於此方面之研究尚未見報告。本研究以現代的科學技術及知識，進行一系列有關之藥理學研究，以期印證在臨床的療效。希望借此研

究有助於人類之健康福祉，並俾益於中醫藥之現代化。

實驗材料

本實驗所使用之中藥材係購自台中市全壽堂蔘藥行。經鑑定藥材來源(origin)如次：

黃連：*Coptis chinensis* FRANCHET (毛茛科 *Ranunculaceae*)

黃芩：*Scutellaria baicalensis* GEORGI (唇形科 *Labiatae*)

黃柏：*Phellodendron amurense* Rupr. (芸香科 *Rutaceae*)

山梔：*Cardenia jasminoides* ELLIS (茜草科 *Rubiaceae*)

將藥材分別洗淨，濕潤後切成飲片，乾燥以備抽取。本實驗將黃連解毒湯分別以水抽取及酒精抽取等二種不同製備方法，比較其急性毒性及對於各項藥理作用之影響。謹將此二種製備方法概述如下：

(1) 黃連解毒湯水抽取之製劑

將黃芩、黃連、黃柏、山梔之乾燥飲片，分別磨粉機研成粗粉，以3：2：2：1之比例混合後，取1000公克，置於10ℓ圓底燒瓶內，加入蒸餾水5000ml，在水浴中加熱溫度保持90°C，連續抽取4次，收集全部抽取液過濾混合，於60°C下減壓濃縮至呈黏稠狀，再放入烘箱中60°C乾燥，然後研成細粉備用。(抽取率為11.6%)

(2) 黃連解毒湯酒精抽取之製劑

將黃芩、黃連、黃柏、山梔之乾燥飲片，分別用磨粉機研成粗粉，以3：2：2：1之比例混合後，取1000公克，置於10ℓ圓底燒瓶內，加入95%酒精5000ml，在水浴中加熱溫度保持70°C，連續抽取4次，收集全部抽取液過濾混合，於50°C下減壓濃縮至呈黏稠狀，再放入烘箱中50°C乾燥至不含水份。(抽取率為14.3%)

以上二種製劑在實驗前分別用去離子水調配成不同濃度以供實驗之用。測定各抽取液之酸鹼度、鈉及鉀離子之含量(如表1)。製備之黃連解毒湯(Huang-Lien-Chiai-Tu-Tang)製劑簡稱H-T。藥物之給藥劑量均以所抽取之粗抽取物之重量表示。

實驗方法

(一) 急性毒性試驗及中毒症狀之觀察

本實驗使用體重18~25g之雄性ICR系小白鼠及體重180~220g之雄性S-D系(Sprague-Dawley)大白鼠，依Litchfield and Wilcoxon⁽¹²⁾方法測定藥物由腹腔及口服給藥後72小時內，可使實驗動物一半死亡之劑量及其95%可信限，以作為以下各實驗用藥劑量之指標，並觀察其中毒症狀。

(二) 對Pentobarbital sodium所誘發的睡眠時間之影響

使用體重18~22g之雄性小白鼠，實驗組口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各0.5g/kg，1.0g/kg後1小時，腹腔注射pentobarbital sodium 30mg/kg誘發睡眠。

觀察並記錄注射 pentobarbital sodium 後至小白鼠之正向反射 (righting reflex) 消失的時間 (onset) 及正向反射消失至恢復的時間 (sleeping time)。對照組則予以相同量之去離子水。

(三) 對小白鼠協調運動、肌肉鬆弛之影響

以懸垂法 (Traction test) 試驗，使用直徑 1mm，高約 30cm 之水平鐵絲，將小白鼠前肢掛在鐵絲上，在 5 秒內能至少一側後肢鈎上鐵絲正常，為選擇供做本實驗。經口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各 0.5g/kg，1.0g/kg 後每隔 30 分鐘測試一次，共測 5 次，記錄後肢鈎上鐵絲所需之時間。

(四) 對中樞神經興奮劑引起的痙攣之影響

使用體重 18~22g 之雄性小白鼠，口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各 0.5g/kg，1.0g/kg，給藥後 2 小時，再給各種中樞神經興奮劑：pentylenetetrazol (120mg/kg i.p.)、picrotoxin (10mg/kg s.c.) 及 strychnine (2mg/kg i.p.) 觀察記錄誘發小白鼠陣發性痙攣 (clonic convulsion) 的時間及陣發性痙攣至強直性痙攣 (tonic convulsion) 的時間 (即死亡)。對照組則予以相同量之去離子水。

(五) 對小白鼠自發運動量之影響

使用體重 18~25g 之小白鼠，每群 5 隻，6 群為一組，每組各口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各 0.5g/kg，1.0g/kg。使用「動物運動量測定裝置」(MK-ANIMEX Activity Meter Model SE, Muromachi Kikai Co.LTD.)，敏感度定為 $35\mu A$ 以期能完全記錄小白鼠之各種活動行為，包括走路、站起、整飾、嗤鼻等。給藥後 1 小時開始記錄，連續 3 小時。對照組則予以相同量之去離子水。

(六) 對正常大白鼠體溫之影響

使用體重 140~160g 之雄性大白鼠，實驗前三天將大白鼠移至實驗室之恆溫環境，實驗時，將大白鼠置於固定器 (holder) 內，以直腸體溫計 (探針外塗以甘油) 順勢輕輕插入直腸一定位置 (4 公分)，先量取直腸溫度在 $37.8\sim 38.9^{\circ}C$ 間之大白鼠供做實驗。實驗組口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各 1.0g/kg，每隔 30 分鐘測一次，共測 3 小時。對照組則予以相同量之去離子水。

(七) 鎮痛作用

1. 熱板法 (Hot Plate Method)

使用體重 18~22g 之雄性小白鼠，將小白鼠放置在鎮痛實驗箱的定溫 ($55\pm 0.5^{\circ}C$) 銅板上，並罩以透明之壓克力圓筒。實驗前，首先測出給藥前之反應時間 (reaction time)，5 分鐘後，再測一次反應時間；二次反應時間差在 5 秒以內者篩選出供做本實驗。

口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各 0.5g/kg，1.0g/kg，100 分鐘、120 分鐘及 140 分鐘後各測一次反應時間。對照組則予以相同量之去離子水。

2. 化學刺激法 (0.7% Acetic acid solution)

使用體重18~22g之雄性小白鼠，腹腔注射0.7%之 acetic acid solution (0.1ml / 10g)，10分鐘後觀察並記錄小白鼠之重複腹部肌肉收縮及所伴隨之後肢伸張 (writhing response) 次數10分鐘。

實驗組口服給予黃連解毒湯水提取物或酒精提取物各0.5g/kg，1.0g/kg，2小時後，測定實驗組對於扭體反應 (writhing response) 之抑制情形。對照組則予以相同量之去離子水。

$$\% \text{Protection} = 100 - \left(\frac{\text{Experimental}}{\text{Control}} \times 100 \right)$$

(八) 對大白鼠尿量、尿中pH值及Na⁺、K⁺含量之影響

使用體重180~220g之雄性大白鼠，分對照組 (給予相同量之去離子水) 及實驗組；實驗組又分二群，每群6隻，在實驗之前每隻大白鼠分別置於鐵籠內並禁食飼料24小時，但給予正常飲水。然後每群分別口服給予黃連解毒湯水提取物及酒精提取物各1.0g/kg；實驗中禁食飼料及飲水。

給藥後1小時給予各實驗動物去離子水0.5ml / 100g，給藥後1個半小時以大型漏斗連續5小時收集尿液。並以酸鹼度測定儀 (pH/Temp Meter; SUNTEX DIGITAL pH METER SP-5) 測定尿液之酸鹼度；以火焰光度比色計 (Flame photometer 343; Instrumentation Laboratory Inc) 測定尿液中之鈉和鉀離子濃度。

計算法：

① 尿液的排泄量：

$$V = \frac{U}{W} \times 100$$

V：代表5小時中每隻大白鼠100公克所排出之尿量

U：代表5小時中每隻大白鼠所排出之尿量

W：每隻大白鼠之體重

② 尿中Na⁺、K⁺之測定：

$$C = T \times \frac{U}{W} \times 100$$

C：代表5小時中每隻大白鼠100公克所排出Na⁺或K⁺之μEq

T：以火焰光度比色計測出之Na⁺或K⁺之μEq

U：代表5小時中每隻大白鼠所出之尿量

W：每隻大白鼠之體重

(九) 對麻醉大白鼠血壓之影響

使用體重250~280g之雄性大白鼠，分4組，每組6隻，以Urethane (1.0g/kg, i.p.) 麻醉後，自股動脈 (femoral artery) 處插入聚乙烯管 (polyethylene tubing; No.3) 以記錄血壓。動脈血壓之信息由壓力轉換器 (Statham P₂₃ pressure transducer) 輸至多項記錄器 MULTIPURPOSE RECORDER TWIN (MODEL RM-20, NIHON KOH-

DEN) 記錄之。動物穩定後，先記錄一段正常之血壓約30分鐘，然後分別由腹腔注射黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各0.25g/kg，0.5g/kg；觀察其對血壓之影響。

(十)對serotonin (1%)所誘發浮腫之影響

使用體重140~160g之雄性大白鼠，以1%serotonin 0.1ml右後足蹠皮下注射，注射後每15分鐘測其排水量一次至2小時；注射前1小時實驗4組各口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各0.5g/kg，1.0g/kg。對照組則予以相同量之去離子水。

(十一)抗菌試驗

採用Cylinder plate method，plate上先舖以20ml之nutrient agar當base medium，將待測之致病性細菌(test strain)0.1ml均勻混入0.65% soft agar(seed medium 4ml)，再將oxford cup 4個輕輕放在seed agar上，而後加入黃連解毒湯酒精抽取物及水抽取物(各0.2g/ml，0.02g/ml)至oxford cup，再放入incubator中培養，觀察並記錄抑菌圈(inhibition zone)之大小。

(十二)對四氯化碳誘發急性肝炎之影響

使用體重180~250g之雄性大白鼠。四氯化碳溶於等量之橄欖油製成50%(V/V)之濃度。投予劑量為1ml/kg，採腹腔注射。治療組(treatment)在四氯化碳投予前二小時及投予後五小時分別口服給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各0.5g/kg，1.0g/kg。空白組(blank)則不投予四氯化碳也不給予黃連解毒湯，只投予相同量之橄欖油及給予相同量之去離子水。對照組(control)只投予四氯化碳而不給予黃連解毒湯。比較組則不投予四氯化碳，只給予黃連解毒湯水抽取物或酒精抽取物各1.0g/kg。

在四氯化碳注射後24小時，以pentobarbital sodium(40mg/kg i.p.)麻醉，由腹腔動脈抽血，所取之血液室溫下放置5分鐘後分離血清(離心機Microfuge B. Beckman)測其GOT、GPT、LDH、Alk-P、Bilirubin Total、Bilirubin Direct、Total Protein及Albumin等值。

(十三)統計學分析

除特別標明者外，本研究所有結果的數據，皆以Student's t-test方法分析其間差異的顯著性。P值大於0.05時則認為其差異具統計學上之意義。

實驗結果

(一)急性毒性試驗及中毒症狀之觀察

小白鼠經口服給予黃連解毒湯酒精抽取物(以下簡稱為H-T.Alc)及黃連解毒湯水抽取物(以下簡稱為H-T.H₂O)劑量高至10g/kg，觀察72小時仍未見死亡，但活動性明顯的減少。經腹腔給藥後使小白鼠在72小時內一半死亡劑量(LD₅₀)及其95%可信限如表2所示。

大白鼠經口服給予H-T.Alc及H-T.H₂O劑量高至15g/kg，觀察72小時亦仍未見死亡，但活動性亦明顯的減少。經腹腔給藥後使大白鼠在72小時內一半死亡劑量(LD₅₀)及其

95%可信限如表3所示。

中毒症狀之觀察：

於實驗中觀察到實驗動物除活動性明顯減少外，亦見震顫、匍匐前進、步履不穩；死亡前呼吸急促、跳躍、抽搐、甩尾巴、掙扎而死；尿液呈深黃色。

(二)對Pentobarbital sodium 所誘發的睡眠時間之影響

如表4所示，黃連解毒湯對pentobarbital sodium所誘發睡眠的開始時間有顯著的縮短（分別為H-T. Alc 0.5g/kg $P < 0.05$ ，1.0g/kg $P < 0.01$ ；H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.01$ ，1.0g/kg $P < 0.001$ ），對於睡眠持續時間酒精提取物或水提取物均有很顯著的延長作用（皆為 $P < 0.001$ ）；其中，H-T.H₂O 1.0g/kg有50%實驗動物睡眠時間延長為對照組睡眠時間的兩倍。

(三)對小白鼠協調運動、肌肉鬆弛之影響

黃連解毒湯不影響小白鼠協調運動及肌肉鬆弛作用。

(四)對中樞神經興奮劑引起的痙攣之影響

黃連解毒湯對三種中樞神經興奮劑引起的痙攣之影響如表5、表6、表7所示。

對pentylenetetrazol (120mg/kg i.p.)所引起之陣發性痙攣發作時間(onset of clonic convulsion C.C.)，H-T.Alc 1.0g/kg與H-T.H₂O 0.5g/kg有相同的顯著延長作用($P < 0.05$)，H-T.H₂O 1.0g/kg則延長作用更為顯著($P < 0.01$)；而對強直性痙攣(tonic convulsion T.C.)，黃連解毒湯未見有顯著延長作用(H-T.H₂O 1.0g/kg雖有延長，但未達統計學上之顯著差異)。

對picrotoxin(10mg/kg s.c.)所引起之陣發性痙攣發作時間(C.C.)，H-T.Alc 0.5g/kg，1.0g/kg及H-T.H₂O 0.5g/kg皆有顯著的延長($P < 0.05$)；H-T.H₂O 1.0g/kg則能顯著的延長陣發性痙攣發作時間($P < 0.01$)及顯著的延長強直性痙攣($P < 0.05$)。

對strychnine(2mg/kg i.p.)所引起之強直性痙攣發作時間(C.C.)，H-T.Alc 未見有顯著之延長作用；H-T.H₂O 則有顯著之延長作用(0.5g/kg $p < 0.05$ ，1.0g/kg $P < 0.001$)。從強直性痙攣發作至死亡之時間，H-T.H₂O 1.0g/kg有30%實驗動物其延長時間為對照組者之兩倍以上。

(五)對小白鼠自發運動量之影響

如圖1所示。H-T.Alc 1.0g/kg及H-T.H₂O 0.5g/kg，1.0g/kg口服給藥2小時後，對小白鼠自發運動量有顯著之抑制作用（分別為 $P < 0.05$ ， $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）；而H-T.Alc 1.0g/kg及H-T.H₂O 1.0g/kg於口服給藥3小時後仍有顯著之自發運動量抑制作用（皆為 $P < 0.05$ ）。

(六)對正常大白鼠體溫之影響

如表8所示。黃連解毒湯對正常大白鼠之體溫無降溫作用。

(七)鎮痛作用

1. 熱板法 (Hot Plate Method)

如表 9 所示。除了 H-T.Alc 0.5g/kg 於口服給藥後 100 分鐘無顯著延長對熱刺激之反應時間 (reaction time) 外，黃連解毒湯無論酒精提取物或水提取物之高低劑量於口服給藥後 100~140 分鐘皆能顯著的延長熱刺激法所引起疼痛之反應時間。其中 H-T.H₂O 1.0g/kg 於 120 分鐘之延長熱反應時間幾乎為對照組時間之兩倍。

2. 化學刺激法 (0.7% Acetic acid solution)

如表 10 所示。H-T.Alc 0.5g/kg, 1.0g/kg 及 H-T.H₂O 0.5g/kg, 1.0g/kg 皆能顯著的抑制化學刺激法所引起疼痛之扭體次數 (writhing response), 分別為 H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.01$, 1.0g/kg $P < 0.001$; H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.001$, 1.0g/kg $P < 0.001$ 。而 H-T.H₂O 1.0g/kg 抑制化學刺激法所引起疼痛之保護率 (%Protection) 高達 66.1%。

(八) 對大白鼠尿量、尿中 pH 值及 Na⁺、K⁺ 含量之影響

如表 11 所示。對大白鼠口服黃連解毒湯並不影響其尿中 pH 值。酒精提取物 1.0g/kg 僅對尿量之排泄有顯著意義的增加 ($P < 0.05$)，而水提取物 1.0g/kg 對尿量及尿中 Na⁺、K⁺ 之排泄量在統計學上均有顯著意義的增加 (皆為 $P < 0.001$)。

(九) 對麻醉大白鼠血壓之影響

如圖 2 所示。對麻醉大白鼠腹腔注射黃連解毒湯，不論酒精提取物 0.25g/kg, 0.5g/kg 及水提取物 0.25g/kg, 0.5g/kg 給藥後 30 分鐘，均發現有血壓下降作用，且作用時間達 5 小時之久 (皆有統計學上意義)。H-T.Alc 0.25g/kg 於給藥後 2 小時可使大白鼠平均血壓下降約 13.2%，而後緩慢回昇；H-T.Alc 0.5g/kg 於給藥後 2 小時可使大白鼠平均血壓下降約 16.4%，但比 H-T.Alc 0.25g/kg 稍快些回昇；高低劑量下，酒精提取物不呈現劑量依存性 (dose-dependence)。H-T.H₂O 0.25g/kg 於給藥後 1 小時可使大白鼠平均血壓下降約 12.1%。而後慢慢回昇；H-T.H₂O 0.5g/kg 於給藥後 2 小時可使大白鼠平均血壓下降約 20.1%，而徐徐回昇；高低劑量下，水提取物呈現有劑量依存性 (dose-dependence)。

(十) 對 serotonin (1%) 所誘發浮腫之影響

如圖 3 所示。對大白鼠以 1% serotonin 0.1ml 右後肢足蹠皮下注射所誘發之浮腫，可見於 1 小時大白鼠右後肢足蹠浮腫的最嚴重 (足蹠平均增加之體積為 1.03ml)。口服黃連解毒湯能緩解浮腫現象，而於對照組浮腫最嚴重時呈現顯著之抑制浮腫作用 (H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.01$; H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.01$, 1.0g/kg $P < 0.001$)；H-T.H₂O 1.0g/kg 並且於誘發浮腫後 15 分鐘即呈現有顯著之抑制浮腫作用。

(十一) 抗菌試驗

如表 12 所示。黃連解毒湯水提取物高濃度 (0.2g/ml) 對傷寒桿菌 (*Salmonella typhi*)、副傷寒桿菌 (*Salmonella paratyphi A*) 及副痢疾桿菌 (*Shigella flexneri*) 有良好之抗菌作用，對肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 也有抗菌作用；對痢疾桿菌 (*Shigella*

dysenteriae)、大腸桿菌 (*Escherichia coli*)、變形桿菌 (*Proteus vulgaris*)、綠膿桿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)及金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 則無抗菌作用。而水提取物低濃度 (0.02g/ml) 及酒精提取物 (0.2g/ml, 0.02g/ml) 對上述菌種皆未見有抗菌作用。

(ㄅ) 對四氯化碳誘發急性肝炎之影響

(1) 麩胺酸草醯乙酸轉胺酶 (*glutamic oxaloacetic transaminase* GOT)

大白鼠腹腔注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後，血清之GOT呈急速之升高(對照組 Control)；而經口服黃連解毒湯提取物處理者(治療組 treatment)，其血清GOT與對照組相比較，均呈現了很顯著的改善作用(H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.01$ ；H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.01$)，並且隨用量之增加而呈現相關性之改善，高劑量組之GOT甚且回復至與不予藥物處理之正常空白組(blank)之GOT相等。在單獨以黃連解毒湯處理者(比較組)與空白組比較，GOT僅呈現些微降低而未達顯著差異(如表13)。

(2) 麩胺酸丙酮轉胺酶 (*glutamic pyruvic transaminase* GPT)

大白鼠腹腔注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後，血清之GPT呈急速之升高(對照組 Control)；而經口服黃連解毒湯提取物處理者(治療組 Treatment)，其血清之GPT與對照組相比較，均呈現了很顯著的改善作用(H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.001$ ；H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.001$)，並且隨用量之增加而呈現相關性之改善，高劑量組之GPT甚且回復至與不予藥物處理之正常空白組(Blank)之GPT相等。在單獨以黃連解毒湯處理者(比較組)與空白組比較，GPT僅呈現些微降低而未達顯著差異(如表13)。

(3) 乳酸去氫酶 (*Lactate Dehydrogenase* LDH)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之LDH約上昇一倍，治療組能使其升高之趨勢較為緩和，其中H-T.Alc 1.0g/kg與H-T.H₂O 1.0g/kg與對照組比較，呈現有顯著意義之降低效果(皆為 $P < 0.05$)，且回復至與空白組相等。比較組與空白組相比較僅呈現些微降低(如表13)，但無統計學上之意義。

(4) 鹼性磷酸酶 (*Alkaline Phosphatase* Alk-P)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之Alk-P上昇，治療組能使其升高之趨勢較為緩和，與對照組比較，均呈現有很顯著之改善作用(H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.001$ ；H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.05$, 1.0g/kg $P < 0.001$)，並且隨用量之增加而呈現相關性之改善，高劑量組之Alk-P甚且回復至比空白組稍低。比較組與空白組相比較僅呈現些微降低(如表13)，但統計學上無意義。

(5) 血清總膽紅素(Bilirubin Total)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之總膽紅素上昇，治療組能使其昇

高之趨勢較為緩和，與對照組比較，均呈現有很顯著之改善作用(H-T.Alc 0.5g/kg $P < 0.05$ ，1.0g/kg $P < 0.01$ ；H-T.H₂O 0.5g/kg $P < 0.05$ ，1.0g/kg $P < 0.01$)，並且隨用量之增加而呈現相關性之改善，低劑量組回復至與空白組相等，高劑量回復至比空白組低。比較組與空白組相比較，亦呈現有顯著意義之降低效果(皆為 $P < 0.05$)。(如表13)

(6)血清直接膽紅素(Bilirubin Direct)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之直接膽紅素上昇，治療組能使其昇高之趨勢較為緩和，但皆未達顯著意義。比較組與空白組比較幾近不變(如表13)。

(7)血清總蛋白質(Total Protein)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之總蛋白質有微降低之現象。治療組能使下降之趨勢回昇，但皆未達顯著差異。比較組與空白組比較呈現明顯上昇，但亦未達顯著差異(如表13)。

(8)血清白蛋白(Albumin)

對照組注射含橄欖油之50%四氯化碳24小時後血清之白蛋白有微降低之現象。治療組能使下降之趨勢回昇，其中，祇有H-T.H₂O 1.0g/kg呈現有顯著意義之昇高效果($P < 0.05$)。比較組與空白組比較呈現明顯之上昇，但皆未達顯著差異(如表13)。

討 論

黃連解毒湯中醫臨床上廣泛使用於各種感染、充血性炎症等諸熱性病；亦使用於狂躁症、不眠症等中樞神經系統疾病；此外，黃疸、痢疾、肝炎、青春痘，高血壓，蕁麻疹以及各種出血症等亦常使用。其組成藥材黃連、黃芩、黃柏及梔子雖有各別之現代藥理學上之研究，然整個方劑黃連解毒湯迄未見完整之報告。本研究乃就黃連解毒湯酒精提取物及水提取物探討其一系列相關之藥理作用，一則以印證古說，一則以作為臨床使用之依據；庶幾能為人類之健康福祉有所貢獻，並俾益於中醫藥之現代化。

本研究黃連解毒湯酒精提取物(H-T.Alc)產率為14.3%，水提取物(H-T.H₂O)產率為11.6%。從急性毒性試驗結果得知經口投予黃連解毒湯粗提取物，小白鼠>10g/kg，大白鼠>15g/kg，未見毒性；經腹腔注射小白鼠之LD₅₀ H-T.Alc為0.65g/kg(0.18~2.30)，H-T.H₂O為1.35g/kg(1.04~1.76)；大白鼠之LD₅₀ H-T.Alc為1.11g/kg(1.03~1.19)，H-T.H₂O為2.21g/kg(2.06~2.37)，可見水提取物毒性較低。

對於小白鼠之自發運動量，口服給予黃連解毒湯後有顯著之抑制，當劑量增大時其抑制作用呈現相關性增強，且水提取物之抑制效果較佳；此抑制作用可能與方劑中含有berberine之鎮靜、baicalin之抑制小白鼠自發運動量、phellodendrine之抑制中樞及梔子之鎮靜作用⁽⁸⁾有關。

對於小白鼠以巴比妥鹽誘發睡眠之影響，黃連解毒湯不僅能縮短睡眠之開始時間(onset)，亦能延長睡眠之持續時間；方劑中Berberine已被證實能延長Pentobarbital睡眠時間⁽⁹⁾。由實驗結果得知H-T.H₂O比H-T.Alc有較佳之延長睡眠時間(能使50%實驗動物睡眠時間延長兩倍)。

對於中樞神經興奮劑引起的痙攣之影響，黃連解毒湯能顯著的延長Pentylentetrazol(為GABA拮抗藥，主要作用在中樞神經之mesencephalic reticular formation MRF)⁽¹³⁾、picrotoxin(亦為GABA拮抗藥，在突觸前阻斷其抑制作用而誘發痙攣)⁽¹⁴⁾之痙攣發作時間；對strychnine(為glycine拮抗藥，在脊髓前側部解除運動神經原自我迴饋性之抑制)⁽¹⁴⁾所誘發之痙攣發作時間僅水提取物呈現有顯著之延長作用。顯示黃連解毒湯有良好之鎮痙效果，且水提取物效果優於酒精提取物。比起梔子流浸膏只能對抗pentylentetrazol引起之痙攣⁽⁸⁾，黃芩酞劑對抗strychnine引起之痙攣⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾，顯示方劑之鎮痙效果較廣。

在中醫理論認為⁽¹⁰⁾，諸熱瘡癤(病筋脈相引而急，名曰瘡，俗謂之瘡是也)，皆屬於火。諸躁狂越，皆屬於火。諸禁(瘡)慄鼓，如喪神守，皆屬於火。是皆屬於神經興奮性增高之現象，而黃連解毒湯之組成藥材皆為苦寒藥，寒能治熱，寒能瀉火；若以本方乃瀉火之劑而有鎮靜、催眠、鎮痙等抑制中樞作用而言，則古之瀉火與今之中樞抑制有關，則以瀉火之劑治療上述之火證殊為允當。由方劑考察知黃連解毒湯各別藥材皆不加以炮炙，服用法僅以水煎服，再參以本方水提取物毒性較低，中樞之抑制效果亦較為顯著之結果，以水當溶劑有其實際意義。

對於降血壓、利尿作用，黃連解毒湯腹腔注射麻醉大白鼠能引起顯著而持久的降血壓作用，水抽取物之降血壓效果隨劑量之加大而增大。由現代之藥理學，^{(15) - (18)}利尿劑是治療高血壓之重要途徑之一，可單獨使用於初期高血壓，或與其他藥配合，使用於各類高血壓。黃連解毒湯水抽取物之利尿作用強於酒精抽取物，水抽取物對 Na^+ 、 K^+ 之排泄亦有極為顯著之意義；經火焰光度計(flame photometer)測定粗抽取物之 Na^+ 、 K^+ 含量，發現水抽取物 K^+ 含量極高，依Brandis等人提出⁽¹⁹⁾，血中 K^+ 濃度上昇可抑制腎臟近曲小管對 Na^+ 之再吸收。Sato等人⁽²⁰⁾亦證實 K^+ 的投與，可使腎交感神經受到抑制，促進 Na^+ 排泄，細胞外液減少，有利尿降血壓作用。黃連解毒湯之降血壓利尿作用與方劑中含有小蘗鹼^{(40) - (44)}、黃芩苷之降血壓，黃芩苷元、漢黃芩素之利尿⁽³⁹⁾，及梔子之降血壓有關⁽⁴⁵⁾。

小蘗鹼可降低血清膽固醇，黃連之熱水浸液可使飼餵高膽固醇或切除甲狀腺後家兔升高之血清TC/TP值恢復正常或降低血脂質濃度⁽⁹⁾，黃芩能降低飼餵高膽固醇7週後之家兔血清TC/TP值⁽³⁸⁾，則黃連解毒湯是否有抗血脂作用有待進一步研究。

由實驗中觀察到黃連解毒湯有良好之利尿效果，未見有濕便之現象，即baicalin之緩下作用⁽³⁶⁾及geniposide之瀉下作用⁽³⁷⁾在黃連解毒湯裏並未呈現作用。是以，組方之方義，黃芩瀉肺火於上焦，黃連瀉胃火於中焦，黃柏瀉腎火於下焦，梔子通瀉三焦之火，使從膀胱而出。可視為本方利尿效果之古說。

對於serotonin所誘發浮腫之影響，黃連解毒湯能明顯的抑制浮腫的發生，即能抑制serotonin所引起的血管擴張，水分之通透性增加。此與方劑中所含之小蘗鹼、黃連之有抑制浮腫作用，⁽⁴⁸⁾baicalin、baicalein對大白鼠之耳毛細管之透過性抑制作用⁽¹¹⁾有關。再參酌以各別藥材之抗微生物作用，故黃連解毒湯對於各種感染、充血性炎證及青春痘等之治療，應可在臨床上作進一步的評估。

四氯化碳是目前研究最多的肝毒物質，對於四氯化碳引起肝損傷之機轉(mechanism)，根據muckler氏等⁽²¹⁾⁽²²⁾認為，四氯化碳毒性引起蛋白之合成降低，使得蛋白元B(apoprotein B)在粗內質網(rough endoplasmic reticulum RER)之合成受阻，因而使在平滑內質網(smooth endoplasmic reticulum SER)內脂質與蛋白元B不易形成極低密度脂蛋白(very low density lipoprotein VLDL)，於是肝臟合成之三甘油脂(triglyceride TG)不易藉由VLDL輸送出去，而積聚在肝臟造成脂肪肝(fatty liver)。一般認為⁽²³⁾⁽²⁴⁾四氯化碳與肝臟微粒體的藥物代謝酶系統(microsomal cytochrome p-450)反應，四氯化碳被代謝成有毒之自由基(free radical CCl_3)，它會和細胞膜之不飽和脂質(unsaturated lipids)反應形成脂質過氧化物(lipid peroxides)引起肝損傷。三甘油脂的不易排出，積聚於肝臟形成脂肪肝，肝臟就容易纖維化(fibrotic change)，導致肝硬化(cirrhosis)；尤其在四氯化碳與脂肪油同時存在時，更會促進對肝的毒性⁽²⁵⁾。

另外，據Recknagel⁽²⁶⁾等及Waller等之報告⁽²⁷⁾，在給予四氯化碳後肝臟微粒體結合鈣離子的活性顯著的被抑制；肝細胞內質網的迅速受損可能是四氯化碳肝毒所引起肝臟鈣含量

的早期昇高的原因。細胞的游離鈣離子濃度增加可能是因為內質網結合鈣離子的能力喪失有關。

本實驗結果顯示，黃連解毒湯口服給予注射含橄欖油之四氯化碳的大白鼠，其血清之GOT、GPT、LDH、AIK-P、Bilirubin Total等上昇之趨勢皆能顯著的被抑制，血清總蛋白質、白蛋白下降則有回昇之傾向。據研究指出⁽²⁸⁾，無論在體內或離體肝細胞，黃芩可降低四氯化碳所引起之GOT、GPT的升高，其有效成分主要存於極性較高的乙酸乙酯層及水層；推斷可能為baicalin或其他flavonoid衍生物有關。最近的研究指出⁽²⁹⁾，梔子之保肝成分為geniposide。geniposide除能減輕小鼠因四氯化碳引致之GOT及GPT增加外，亦能增加小鼠肝之重量（肝/體重之比值）及肝微粒體P-450之活性。因活化不同ATPase而改善肝細胞胞內之環境，如加強Na-pump，加強鈣之排出細胞外，加強粒線體之功能而減少化學性肝毒之毒性。另外由berberine、baicalin、baicalein及crocin、crocetin、genipin等之研究⁽³⁹⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾顯示，上述成分有促進胆汁分泌，抑制血中膽紅素出現之作用。一般而言，蛋白質的合成障礙是四氯化碳引起脂肪聚積，造成脂肪肝之原因⁽³⁰⁾。由肝組織脂肪變性顯著的減少及血清蛋白質、白蛋白之增加傾向看來，黃連解毒湯對四氯化碳引起之急性肝損傷之保護機轉(mechanism)可能是黃連解毒湯具有促進蛋白合成的能力，緩和了四氯化碳引起蛋白合成之降低，而使脂質與蛋白元B較易形成VLDL，而利於三甘油脂之輸送，減輕脂肪肝之形成。也可能是透過對肝細胞微粒體細胞色素P-450還原酶之抑制作用，減少因四氯化碳毒性所引起之脂質過氧化物，而達到防止肝損傷之效果。此外，也可能與促進鈣離子與酵素系統的結合有關。

從中醫免疫學觀點而言⁽³¹⁾，黃連、黃芩、黃柏、梔子等清熱解毒藥物可以抑制免疫反應，增強白細胞之吞噬功能，故可適用於中醫辨證屬於實熱或熱毒證者（免疫反應多呈亢進）。黃連解毒湯亦為中醫抑制免疫常用之方劑，本方除能明顯的促進白細胞吞噬作用外，尚能清除抗原，抑制免疫反應和促使淋巴細胞轉化。凡中醫辨證屬於“實熱”證（舌質紅苔黃，脈數而有力，“熱毒”證（有紅、腫、熱、痛表現）之免疫性疾病均可以本方為基礎，適當加入其他藥。由本研究之結果，黃連解毒湯可適於臨床對肝炎之治療。急性肝炎病患，約有40~50%病人，常有煩燥不安的症狀⁽³²⁾，黃連解毒湯又有抑制中樞興奮性增高之作用，故其對臨床肝炎病患之療效值得進一步的評估。

對於熱板法及化學刺激法所引起之疼痛，口服黃連解毒湯顯示有良好的鎮痛效果。此外，口服黃連解毒湯不會影響正常大白鼠之體溫，亦不會影響小白鼠之協調運動，在臨床使用上似較不會造成生理機能之變化。

綜合上述，黃連解毒湯之藥理作用頗廣，就整體而言，水抽取物較酒精抽取物效果好，毒性低。本實驗結果顯示黃連解毒湯有降低自發運動量，鎮靜、鎮痙、抗菌、抗發炎、降血壓、利尿及抑制四氯化碳對肝臟之損害，而不影響正常體溫及協調運動。

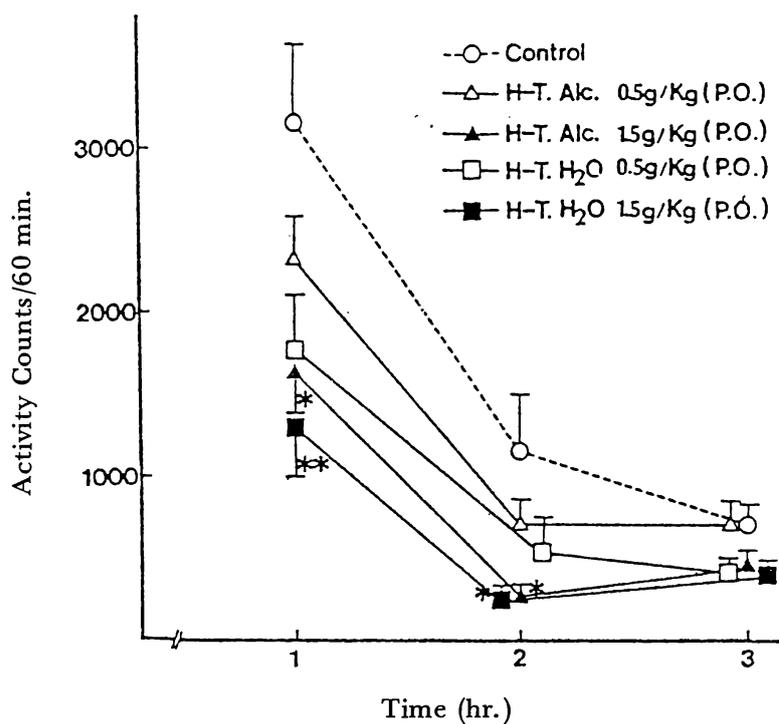


Fig. 1 Effects of H-T Extracts on the Locomotor Activity in Mice

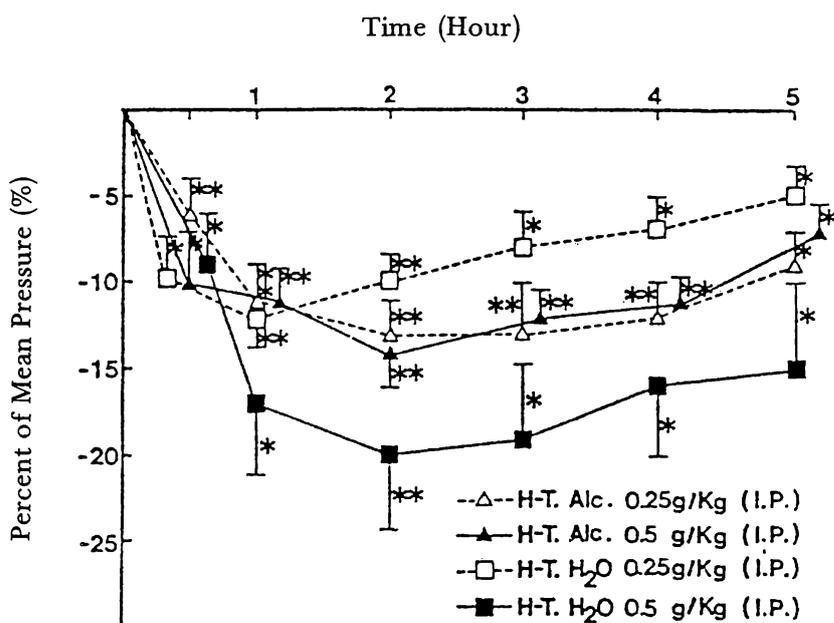


Fig. 2. Effect of H-T Extracts on the Percent of Mean Pressure (%) in Rats

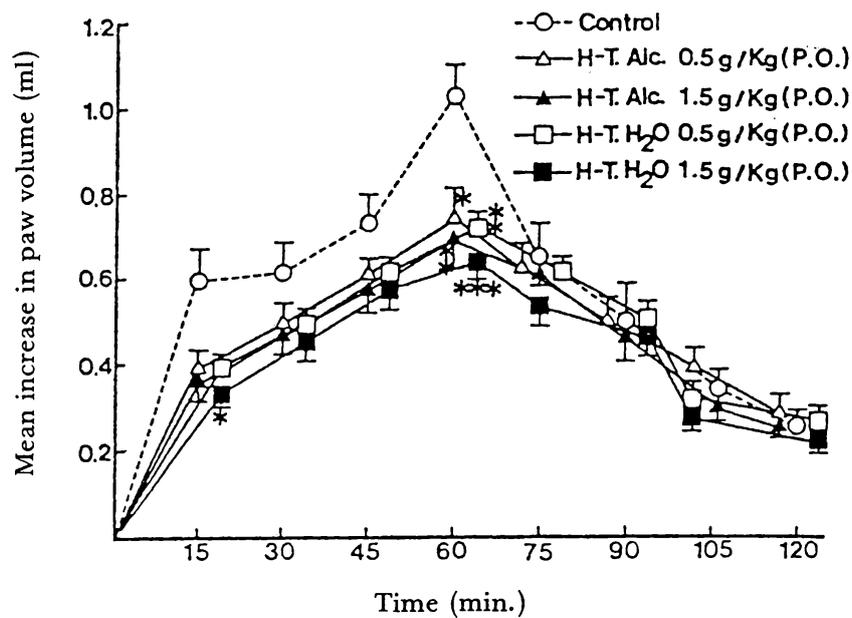


Fig. 3. Antiinflammatory activity of H-T Extracts on Serotonin(1%) induce Edema in Rats

Table 1. pH value and content of electrolytes of H-T extracts

Preparation of H-T	PH	Na ⁺ (mEq/l)	K ⁺ (mEq/l)
Water-extracted	4.70	8.0	75.6
Alcohol- extracted	3.62	1.2	4.6

Table 2. Acute toxicity of H-T extracts in mice

Drug	Route	LD50(g/Kg)	95% confidence limit(g/Kg)
H-T.Alc.	P.O.	>10.0	
	I.P.	0.65	(0.18~2.30)
H-T.H ₂ O	P.O.	>10.0	
	I.P.	1.35	(1.04~1.76)

Table 3. Acute toxicity of H-T extracts in rats

Drug	Route	LD50(g/Kg)	95% confidence limit(g/Kg)
H-T.Alc.	P.O.	> 15.0	
	I.P.	1.11	(1.03---1.19)
H-T.H ₂ O	P.O.	> 15.0	
	I.P.	2.21	(2.06---2.37)

Table 4. Effects of H-T extracts on the pentobarbital sodium induces hypnosis in mice

Drug	Dose(g/Kg)	No.of animals	onset (min.)	sleeping time (min.)	Incidence of pot.
Control		10	3.03±0.19	53.47±1.13	
H-T.Alc.	0.5	10	2.15±0.12*	67.39±2.14***	0
	1.0	10	2.32±0.09**	73.78±3.00***	0
H-T.H ₂ O	0.5	10	2.39±0.11**	71.02±2.73***	0
	1.0	10	2.10±0.13***	95.13±6.15***	5

Incidence of potentiation : two times of control

*P < 0.05 **P < 0.01 ***P < 0.001 (compared with control)

Table 5. Effects of H-T extracts on the pentylenetetrazol induced convulsion in mice

Treatment	Dose(g/Kg) P.O.	C.C.(min.)	T.C.(min.)	Incidence of pot.	D/N
Control		0.62±0.04	3.48±0.48		10/10
H-T.Alc.	0.5	0.64±0.02	3.61±0.86	1	10/10
	1.0	0.74±0.03*	3.32±0.69	1	10/10
H-T.H ₂ O	0.5	0.73±0.03*	3.76±1.53	1	10/10
	1.0	0.81±0.05**	4.95±0.88	3	10/10

Mean±S.E. *P < 0.05 **P < 0.01 (compared with control)

C.C.: onset of clonic convulsion

T.C.: time of C.C. to tonic convulsion(death)

Incidence of potentiation : two times of control

D/N: No. of death/No. of tested animal

Table 6. Effects of H-T extracts on the picrotoxin-induced convulsion in mice

Treatment	Dose(g/Kg) P.O.	C.C.(min.)	T.C.(min.)	Incidence of pot.	D/N
Control		5.94±0.21	3.73±0.32		10/10
H-T.Alc.	0.5	6.51±0.06*	4.63±0.37	0	10/10
	1.0	6.57±0.18*	4.46±0.47	0	10/10
H-T.H ₂ O	0.5	6.53±0.08*	4.42±0.37	0	10/10
	1.0	7.32±0.38**	5.22±0.63*	2	10/10

Mean±S.E. *P < 0.05 **P < 0.01 (compared with control)

C.C.: onset of clonic convulsion

T.C.: time from C.C. to tonic convulsion (death)

Incidence of potentiation : two times of control

D/N: No. of death/NO. of tested animal

Table 7. Effects of H-T extracts on the strychnine-induced convulsion in mice

Treatment	Dose(g/Kg) P.O.	T.C.(min.)	Time of Death(min.)	Incidence of pot.	D/N
Control		2.64±0.11	0.44±0.04		10/10
H-T.Alc.	0.5	3.31±0.54	0.65±0.15	0	10/10
	1.0	3.22±0.30	0.52±0.05	0	10/10
H-T.H ₂ O	0.5	3.34±0.26*	0.77±0.27	0	10/10
	1.0	3.63±0.25**	1.31±0.47	3	10/10

Mean±S.E. *P < 0.05 **P < 0.01 (compared with control)

T.C.: onset of tonic convulsion

Time of Death; time from T.C. to Death

Incidence of potentiation: two times of control

D/N: No. of death/No. of tested animal

Table 8. Hypothermic activity of H-T extracts in rats

Treatment	Dose(g/kg) P.O.	No. of animals	Rectal temp. before adm. (°C±S.E.)	Time after administration (min.)					
				30	60	90	120	150	180
Control		10	38.20 ±0.11	38.34 ±0.11	38.21 ±0.11	38.28 ±0.10	38.44 ±0.11	38.40 ±0.11	38.42 ±0.50
H-T.Alc.	1.0	5	38.18 ±0.10	38.32 ±0.13	30.36 ±0.08	38.28 ±0.12	38.24 ±0.11	38.30 ±0.10	38.44 ±0.05
H-T.H ₂ O	1.0	5	38.06 ±0.09	38.14 ±0.10	38.34 ±0.09	38.28 ±0.14	38.34 ±0.10	38.48 ±0.09	38.54 ±0.08

Table 9. Effects of H-T extracts on the heat-induced pain (Hot Plate Method) in mice

Treatment	Dose(g/Kg) P.O.	No. of animals	Reaction time(sec.) after administration		
			100 min.	120 min.	140 min.
Control		20	8.56±0.40	8.27±0.56	8.78±0.41
H-T.Alc.	0.5	10	8.87±0.82	12.61±1.21*	12.22±1.26*
	1.0	10	12.18±0.98**	14.96±1.87**	13.32±1.33**
H-T.H ₂ O	0.5	10	13.14±1.76*	11.38±1.16*	12.70±1.57*
	1.0	10	11.98±0.65***	15.45±1.76***	12.99±1.11**

*P < 0.05 **P < 0.01 ***P < 0.001 (compared with control)

Table 10. % Protection of H-T extracts on the 0.7% Acetic acid-induced writhing response in mice

Treatment	Dose(g/Kg) P.O.	frequency of writhing response	% protection
Control		41.3±0.89	
H-T.Alc.	0.5	34.8±1.73**	15.7
	1.0	28.8±0.73***	30.3
H-T.H ₂ O	0.5	33.2±0.97***	19.6
	1.0	14.0±0.65***	66.1

P < 0.01 *P < 0.001 (compared with control)

Mean±S.E. (n=10)

Table 11. Effects of H-T extracts on the volume, concentration of electrolytes and pH value of urine in rats

Treatment	Dose(g/Kg)	No. of animals	Urine volume (ml/5hr/100g)	Urine PH	Na ⁺ (uEg/5hr/100g)	K ⁺ (uEg/5hr/100g)
	P.O.					
Control		6	0.96 ±0.07	6.47 ±0.11	51.72 ±13.13	83.72 ±9.02
H-T.Alc.	1.0	6	1.34 ±0.11*	6.35 ±0.08	88.62 ±25.24	120.47 ±16.69
H-T.H ₂ O	1.0	6	1.94 ±0.16***	6.64 ±0.24	153.10 ±13.39***	188.62 ±10.41***

*P < 0.05 ***P < 0.001 (compared with control)

Table 12. Effects of H-T extracts on the antibacteria by using cylinder plate method

Test strain	Inhibition zone			
	H-T.Alc. 0.2g/ml	H-T.Alc. 0.02g/ml	H-T.H ₂ O 0.2g/ml	H-T.H ₂ O 0.02g/ml
Salmonella typhi	-	-	20mm	-
Salmonella paratyphi	-	-	18mm	-
Klebsiella pneumoniae	-	-	8mm	-
Shigella flexneri	-	-	15mm	-
Shigella dysenteriae	-	-	-	-
Escherichia coli	-	-	-	-
Proteus vulgaris	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-

Table 13. Effects of H-T extracts on CCl₄ -induced acute hepatitis in rats (n=6)

Liver function	GOT (U/L)	GPT (U/L)	LDH (U/L)	ALK-P (U/L)	Bilirubin total (mg/dl)	Bilirubin direct (mg/dl)	Protein total (g/dl)	Albumin (g/dl)
Treatment	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.	Mean ±S.E.
Blank	199.5 ±21.6	61.8 ±7.1	1091.7 ±214.9	148.8 ±13.6	0.48 ±0.03	0.32 ±0.03	6.42 ±0.24	3.42 ±0.09
Control	1169.2 ±241.3	367.8 ±65.2	2088.3 ±402.0	226.2 ±16.3	0.62 ±0.05	0.50 ±0.08	6.28 ±0.32	3.25 ±0.07
a) CCl ₄ +	477.3*	169.8*	1338.3	178.8*	0.48*	0.42	6.52	3.50
H-T.Alc. 0.5g/Kg	±43.7	±19.9	±181.7	±9.8	±0.03	±0.05	±0.16	±0.10
a) CCl ₄ +	196.3**	50.5***	981.2*	136.0***	0.41**	0.33	6.38	3.48
H-T.Alc. 1.0g/Kg	±21.0	±2.1	±214.0	±9.7	±0.04	±0.05	±0.16	±0.11
a) CCl ₄ +	465.7*	162.02*	1297.7	171.7*	0.47*	0.39	6.37	3.45
H-T.H ₂ O 0.5g/Kg	±31.8	±21.3	±195.3	±11.5	±0.03	±0.06	±0.16	±0.09
a) CCl ₄ +	197.5**	47.8***	1026.3*	131.5***	0.41**	0.32	6.72	3.63**
H-T.H ₂ O 1.0g/Kg	±15.0	±3.1	±202.8	±8.6	±0.04	±0.08	±0.22	±0.14
b) H-T.Alc. 1.0g/Kg	175.8 ±15.2	53.0 ±5.2	843.5 ±167.9	128.3 ±11.4	0.38* ±0.03	0.31 ±0.02	6.92 ±0.16	3.67 ±0.12
b) H-T.H ₂ O 1.0g/Kg	178.2 ±18.6	50.3 ±4.4	896.5 ±148.3	131.3 ±8.2	0.39* ±0.02	0.30 ±0.03	6.80 ±0.12	3.55 ±0.12

*P < 0.05 **P < 0.01 ***P < 0.001

a) compared with control

b) compared with blank

參考文獻

- (1) Clarke, D.F.: The pharmacist's role in counseling patients with insomnia, *NARD journal*, Nov. 67-71, 1981.
- (2) Wizwer, P.I.: The pharmacist's role in counseling patients with anxiety, *NARD journal*, Dec. 55-59, 1980.
- (3) Hasan, M.K., Mooney, R.P.: Once-a-day drug regimen for psychiatric patients, *AFP*, 24(4), 123-125, 1981
- (4) 蕭博文、尤泳智：台灣地區十大死因的預防，1-3，台灣省政府衛生處，1985。
- (5) 吳昭新、陳家和、江易雄、李元成、李懋華、葛應欽、胡惠德：B型肝炎病毒在台灣感染情況之研究。台灣醫學雜誌，79，767，1980。
- (6) 陳定信：B型肝炎與肝癌的過去、現在與未來。科學月刊，75-1，20-24，1986。
- (7) 蔡養德、王觀瑜：抗肝炎病毒藥物的新趨勢。臨床醫學，12(1)，72-79，1983。
- (8) 唐·王焘：外臺秘要（上），卷1，傷寒上，引崔氏方，71-72，國立中國醫藥研究所。
- (9) 中藥大辭典，（下）黃連(2107-2116)，黃芩(2092-2097)，黃柏(2097-2102)，（中）梔子(1747-1750)，1982，新文豐出版公司。
- (10) 明·方賢：太醫院奇良方，上冊，127-128，134，下冊，912，1972，旋風出版社。
- (11) 顏焜熒：常用中藥之藥理，黃連(218-229)，黃芩(163-167)，梔子(352-357)，1974，國立中國醫藥研究所。
- (12) Litchfield, J.T., Wilcoxon, F.: A simplified methods of evaluating dose effect experiments, *J. Pharmacol, Exp. Ther.* 96, 99-113, 1949.
- (13) Velasco, F., Velasco, M., Romo, R.: Push-pull perfusion of pentylenetetrazol in the brain stem of encephale isole cats, *Electroencephalogy, Clin. Neurophysiol.* 56(5), 521-527. 1983 (B.A. 77(7). 53493).
- (14) Johnston, G.A.R.: Neuropharmacology of amino acid and inhibitory transmitters. In, *The pharmacological basis of therapeutics*, 6th ed. (Gilman, A. G., Goodman, L.S., Gilman, A., eds) Macmillan Publishing Co., Inc. New York. 586-587, 1980.
- (15) Goodman, L.S., and Gilman, A.: *The pharmacological basis of therapeutics*, 744-751, Macmillan Publishing Co., Inc. New York, 5th ed. 1975.
- (16) Goth, A.: *Medical pharmacology principles and concepts*, 445-448, 9th ed. U.S.A. 1978.
- (17) Meyers, F.H., Jawetz, E., and Goldfien, A.: *Review of pharmacology*, 451-456, 6th ed. 1979.
- (18) Craig stitzel: *Modern pharmacology*, 337-368, Hwa zon Bood Co., LTD, 1982.
- (19) Brandis, M., Keyes, J., and Windhager, E. E.: Potassium-induced inhibition of proximal tubular fluid reabsorption in rats, *Am. J. Physiol.* 222, 421, 1972.

- (20) Sato, Y., Fujita, T. and Yamashita, K.: The mechanism for natriuretic and antihypertensive actions of potassium in DOCA-Salt hypertensive rats. *Folia Pharmacol. Japan*, 82, 117–130, 1983.
- (21) Smuckler, E.A., Iseri, D.A., and Benditt, E.P.: A defect in protein synthesis induced by carbon tetrachloride. *J. Exp. Med.*, 116, 55–72, 1962.
- (22) Smuckler, E.A., and Benditt, E.P.: Studies on CCl₄ intoxication, III. A subcellular defect in protein synthesis. *Biochemistry*, 4, 671–679, 1965.
- (23) Recknagel, R.O.: Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 19, 145–208, 1967.
- (24) Farber, J.L., and Gerson, R.L.: Mechanism of cell injury with hepatotoxic chemicals. *Pharmacol. Rev.* 36(2), 71S-75S, 1984.
- (25) Zimmerman, H. J., Kodera, Y., and West, M.: Effects of CCl₄ poisoning on the plasma levels of cytoplasmic and mitochondrial enzymes in animals with nutritional fatty metamorphosis. *J. Lab. Clin. Med.* 66, 324, 1965.
- (26) Recknagel, R.O.: A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Life Sci.* 33, 401–408, 1983.
- (27) Waller, R.L., Glende, E.A. Jr., and Recknagel, R.O.: Carbon tetrachloride and bromotrichloromethane toxicology: Dual role of covalent binding of metabolic cleavage products and lipid peroxidation in depression of microsomal calcium sequestration. *Biochem. Pharmacol.* 32, 1613–1617, 1983.
- (28) 蔡穎銘：黃芩對四氯化碳誘發肝炎之療效及其有效成分探討。中國醫藥學院中國醫學研究所七十三學年度醫學碩士畢業論文專輯，1985。
- (29) 陳介甫、蘇美貴、莊清堯：治肝炎中藥藥理作用之研究 II 國科會「免疫增強劑及抗肝炎中藥」專題研究計劃討論會論文摘要，34-47，1986。
- (30) 陳肇真：內科學（下冊），第322章，2013，1985，合記圖書出版社。
- (31) 中醫免疫學，35，44-47，53-54，56-58，1985，啓業書局。
- (32) Leon Schiff: Disease of liver, viral hepatitis. 544–554, *NBC (環球)*, 1975.
- (33) 北京市生理科學會64年學術年會論文摘要143(1964)。
- (34) 久保木、齊藤：日藥局，13，1011，1962。
- (35) 久保木、永田：藥局，14，968，1963。
- (36) 熊崎：岐阜醫紀，6，164，1958。
- (37) Kuhn, R., Winterstein, A., Wiegand, W.: *Helv.* 11, 716, 1928.
- (38) 青沼、三村、樽谷：藥誌77，1303，1957。
- (39) 熊琦平藏「藥理」岐阜醫紀，6，94：153：164：352：372，1958。
- (40) 入江：日新醫學，10，807，1921。
- (41) 內炭：日藥理誌，53，63，1957。
- (42) 兒玉：京都醫誌，13，575，1916。

-
- (43) Suzuki, S.: *Tohoku J. Exp. Med.* 36, 134, 1939.
- (44) Jang, C.S.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 71, 178, 1941.
- (45) 張、劉、林、李、胡：藥學學報，12，636，1965。
- (46) *Jap. J. Pharmacol.*, Vol. 2, No. 2, 102, Vol: 2, No. 2, 139, Vol. 3, No. 1; 1953.
- (47) *Jap. J. Pharmacol.* Vol. 50, No. 1, 25–26, 1954.
- (48) 藤村・澤田、後藤：日藥誌，90，782，1970。

THE PHARMACOLOGICAL STUDIES OF "HUANG-LIEN-CHIAI-TU-TANG"

Huei-Yann Tsai, Shae-Jiun Shyi, Tzu-Wei Tan, Ming-Tsuen Hsieh
**Li-Ying Lin*

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacology and
**Department of Microbiology, China Medical College,*
Taichung, Taiwan, R.O.C.

Hepatitis, hypertension and disease of environmental stress are common troublesome drugs can just control but not cure these diseases and all have their inevitable side effects. So, Looking for more desirable durgs from Chinese medicine has become the tendency of medico-pharmaceutical researches.

Huang-Lien-Chiai-Tu-Tang (H-T) is the famous formula about Ching-Reh (清熱), Chiai-Tu (解毒), Hsieh-Huoo (瀉火) for several thousand years in China. It was first reported by Wang Taur (王燾) of Tarnng Dynasty (唐朝) in his Waih-Tair-Mih-Yauh (外臺祕要) It's composed of Coptidis Rhizoma (黃連), Scuteliariae Radix (黃芩), Phellodendri Cortex (黃柏) and Gardeniae Fructus (梔子). The present study is attended to evaluate the basic pharmacological effects of H-T with modern research techniques in animals. The following results are obtained.

1. The product rate of H-T extracted with ethyl alcohol (H-T. Alc.) and with water (H-T. H₂O) is 14.3% and 11.6%, respectively.
2. The pH, [Na⁺] and [K⁺] are 3.62, 1.2 mEq/l, 4.6 mEq/l in H-T. Alc., and 4.70, 8.0 mEq/l, 75.6 mEq/l in H-T. H₂O, respectively.
3. The toxicities of H-T. Alc. and H-T. H₂O both are low, when they are administered by oral in mice and rats.
4. The LD₅₀ and 95% confidence limit of H-T. Alc. (i.p.) are 0.65 g/kg (0.18–2.30 g/kg) in mice and 1.11 g/kg (1.03–1.19 g/kg) in rats. Which of H-T. H₂O (i.p.) are 1.35 g/kg (1.04–1.76 g/kg) in mice and 2.21 g/kg (2.06–2.37 g/kg) in rats. These facts show that H-T. H₂O is less toxic than H-T. Alc. by intraperitoneal administration.
5. H-T significantly shortens onset and prolongs the duration time of sleep induced by pentobarbital sodium. This fact implies that H-T has sedative effect.
6. The convulsion induced by pentylenetetrazol and picrotoxin can be antagonized by H.T. Alc. The convulsion induced by pentylenetetrazol, picrotoxin and strychnine can be antagonized by H-T. H₂O.
7. H-T significantly decreases the locomotor activity in mice.
8. H-T does not influence the rectal temperature in rats.

9. H-T does not influence the relaxation of skeletal muscles in mice.
10. H-T significantly prolongs the reaction time induced by thermal stimulation and significantly inhibits the writhing response induced by acetic acid. These facts show that H-T has analgesic effect. In this effect, H-T. H₂O is stronger than H-T. Alc.
11. H-T. Alc. significantly increases the excretion of urine amount. H-T. H₂O significantly increases the excretion of urine amount, Na⁺ and K⁺. These facts show that H-T has diuretic effect. In this effect, H-T. H₂O is stronger than H-T. Alc.
12. H-T significantly lowers blood pressure, and which is lasted more than 5 hours in anesthetized rats.
13. H-T significantly inhibits edema induced by serotonin. In this effect, H-T. H₂O is stronger than H-T. Alc.
14. H-T. H₂O 0.2 g/ml can inhibit the growth of *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella pneumoniae* and *Shigella flexneri*.
15. H-T significantly decreases the increasing of GOT, GPT, LDH, Alk-P and Bilirubin Total induced by carbon tetrachloride in rats. The decreasing of serum protein has tendency of increasing. These facts show that H-T may protect the damage of liver.

From the above results, we find that the pharmacological effects of H-T are very wide. The pharmacological effects of H-T. H₂O are stronger and toxicity is lower. H-T does not influence normal body temperature and muscle tension. H-T decreases locomotor activity, and has sedative, anticonvulsive, analgesic, antibacterial, antiinflammatory, diuretic and hypotensive effects and inhibits the damage of liver induced by carbon tetrachloride.

These facts show that H-T used in Chinese medicine for several thousand years is deemed to be significantly. From these results in this study, it is valuable to research further in modern clinical uses.