

治療肝炎中藥方劑之藥理學研究

謝明村¹ 劉淑鈴² 王廷輔³ 哈鴻潛⁴ 張成國⁵

^{1,2}中國醫藥學院 中國藥學研究所

³中國醫藥學院 台中附設醫院

⁴中國醫藥學院 醫學系

⁵中國醫藥學院 中醫學系

台中市

本研究係探討中國醫藥學院附設醫院肝炎特別門診用於治療肝炎之中藥方劑：H₁（枳實梔鼓湯）、H₂（丹梔逍遙散）、H₃（甘露飲加味）、H₄（蠶桑合劑）及H₅（清·葉天士方）等五種方劑急性毒性試驗。結果小白鼠經口給予H₁~H₅各方劑10g/kg在一週內無死亡，顯示該等方劑口服殆無毒性。又H₂酒精提取物經由腹腔注射對於小白鼠之LD₅₀為3.85g/kg；其水提取物經由腹腔注射對於小白鼠之LD₅₀為5.80g/kg；顯示水提取物之毒性低於酒精提取物。

本研究又探討H₁~H₅等五種方劑對於實驗性高血脂大白鼠之影響。以血清中膽固醇，三甘油脂、高密度脂蛋白、SGOT及SGPT等濃度之變化為作用之指標，俾進一步瞭解其對於肝功能之影響。實驗結果僅H₃或H₅能降低高血脂大白鼠血清中膽固醇，提升高密度脂蛋白及降低SGOT濃度。由以上結果顯示：H₃或H₅可能阻斷膽固醇及三甘油脂帶回肝臟代謝排泄，使罹患冠狀動脈硬化之機會減少，及使肝功能趨於正常。

本研究再探討丹梔逍遙散對於實驗性肝炎大白鼠進行藥理學實驗，獲致結果：丹梔逍遙散酒精或水提取物對於四氯化碳誘發大白鼠之急性肝炎所引起血清GOT、GPT、鹼性磷酸酶、總膽紅素等之升高現象，具有顯著降低作用。丹梔逍遙散酒精或水提取物對於四氯化碳誘發大白鼠之亞急性肝炎所引起血清GOT之升高現象，具有降低作用。丹梔逍遙散酒精或水提取物對於實驗性肝炎之改善作用，以水提取物較酒精提取物效果顯著。丹梔逍遙散酒精或水提取物對於實驗性肝炎之改善作用，以誘發肝炎之前就給予丹梔逍遙散者較誘發肝炎之後再給予丹梔逍遙散者效果顯著。

關鍵詞：中藥方劑，肝炎，高血壓，四氯化碳。

※1. 中國醫藥學院教授 ※2. 中國醫藥學院·中國醫藥研究所博士

※3. 中國醫藥學院董事 ※4. 立夫獎學術組召集人

※5. 中國醫藥研究發展基金會總幹事

前 言

台灣地區最嚴重的一個醫療問題即為B型肝炎，據統計全世界有一億多人口為B型肝炎帶原者，而其中約四分之三分布在亞洲，且台灣地區成人人口有90%以上曾感染過A型肝炎，91.3%曾感染過B型肝炎，且約有五分之一成人人口為B型肝炎帶原者，帶原率為世界之冠¹，慢性肝病及肝硬化為台灣地區十大死亡之第六位²。又據臨床病理研究報告，肝硬化、肝癌中約有四分之三以上為B型肝炎帶原者³，顯示B型肝炎帶原者可能將病毒傳染給他人，本身亦可能轉為急性、猛爆性、慢性肝炎、肝硬化或肝癌等疾病⁴，自1069年開始發現B型肝炎病毒慢性感染是在台灣的慢性肝炎、肝硬化及肝癌的主因⁵。由於現今台灣經濟繁榮，工業急速發展，導致化學品、農藥之使用不當、工業重金屬之污染、醫藥品之濫用或長期酗酒等，都可能引起中毒性、藥物性或酒精性肝炎。又台灣B型肝炎病毒感染盛行，其感染先於分娩週邊期來自e抗原陽性母親，接著由打針感染，青春前期感染容易發生慢性感染，引起B型肝炎表面抗原(HBsAg)陽性者於30歲以內群有18%之多⁵。因此，病毒性及非病毒性肝炎成為在台灣一個急待預防與治療之疾病。

目前治療肝炎之方法，除休息及食物控制外，尚有免疫學療法（使用類固醇）、免疫預防法（使用高效價B型肝炎球蛋白）、及抗病毒藥物（如干擾素）⁶等。然而這些療法大都在試驗階段，未有確切結論，亦即現在臨床上對於B型肝炎仍缺乏適當之治療藥物⁴，雖然在台灣Beasley氏等研究證明B型肝炎球蛋白(HBIg)加B型肝炎疫苗，可有效預防生產週邊期來自e抗原陽性母親的感染⁷，但尋求有效治療B型肝炎藥物是刻不容緩之事。

中國醫藥為我國一脈相傳精湛文化之一，歷經四千餘年，維護了中華民族生命健康，是醫藥治療學之寶典，在眾多中醫藥典籍中，對於治療肝臟疾病有豐富詳實之記載。為克服在台灣地區氾濫的肝炎，維護國民健康，行政院衛生署委託中國醫藥學院自民國七十一年開始辦理「中醫藥與針灸對肝癌之療效」研究計畫，為期六年，由當時的中國醫藥學院附設醫院院長王廷輔領導「肝炎研究小組」執行。本研究計畫之臨床研究部份係以慢性活動性及持續性肝炎為研究對象，病人之來源由設於本校附設醫院之「肝炎特別門診」就診病人中篩選之。所有病人均經過臨床、實驗（生化及血清）或病理診斷。病人分三組（中醫藥組、針灸組、對照組）接受治療，治療以中醫藥組為主。納入本研究計畫之病人，定期門診，並做肝功能及血清學檢查，以明瞭病情之進展及療效。與臨床研究並行，由病理學組進行肝炎之臨床及實驗病理學研究；藥理學組則從事於治療肝炎之中藥方劑之藥理學研究。此研究計畫是我國台灣地區首次基礎與臨床、中醫與西醫合作的整合型研究。

本研究就本院附設醫院肝炎特別門診用於治療肝炎之中藥方劑：H₁（枳實樞鼓湯）、H₂（丹樞逍遙散）、H₃（甘露飲加味）、H₄（蠶桑合劑）及H₅（清·葉天士方）等五種方劑，首先測定其急性毒性，以做為實驗性肝炎實驗用藥劑量之指標及供臨床用藥劑量之參考。復以高膽固醇飼料誘發高血脂之雄性大白鼠，以探討H₁~H₅對高血脂大白鼠血清中cholesterol，triglyceride，HDL-C，SGOT及SGPT等濃度之影響，做為中藥對肝炎療效研究之一端。及採用對肝臟具有毒性之物質，四氯化碳誘發大白鼠急性、亞急性肝炎，做為肝炎實驗模式⁸，進行肝功能生化檢驗並探討其效果，以供臨床治療或預防肝病之參考。

材料與方法

材料

一、實驗方劑：

H₁：枳實樞鼓湯

H₂：丹樞逍遙散

H₃：甘露飲加味

H₄：蠶桑合劑

H₅：清·葉天士方

以上方劑皆由順天藥廠製成濃縮劑，用以做動物實驗。

二、實驗方劑之藥材來源

本實驗所使用之藥材均購自台中市全壽堂參藥行。經鑑定藥材來源如下：

1. 枳實樞鼓湯之藥材來源

枳實：Poncirus trifoliata(L.)R_{AF}(Rutaceae)

樞子：Gardenia jasminoides E_{LLIS}(Rubiaceae)

淡豆豉：Glycine max(L.)M_{ERR}(Leguminosae)

按1：1：1之比例組成。

2. 丹樞逍遙散之藥材來源

柴胡：Bupleurum chinense DC.(Umbelliferae)

當歸：Angelica sinensis D_{IELS} (Umbelliferae)

白芍藥：Paeonia lactiflora P_{ALLAS}(Ranunculaceae)

白朮：Atractylodes ovataD_E (Compositae)

茯苓：Poria cocos W_{OLF} (Polyporaceae)

甘草：Glycyrrhizza uralensis F_{ISCHER} et DC. (Leguminosae)

牡丹皮：*Paeonia suffruticosa* ANDREWS (Ranunculaceae)
 梔子：*Gardenia jasminoides* ELLIS (Rubiaceae)
 薑：*Zingiber officinale* ROSCOE (Zingiberaceae)
 薄荷：*Mentha arvensis* L. var *piperascens* MALINVAUD (Labiatae)
 按2：2：2：2：2：1：2：1：1：1之比例組成。

3. 甘露飲加味之藥材來源

生地：*Rehmannia glutinosa* LIBOSCH (Scrophulariaceae)
 麥冬：*Ophiopogon japonicus* KER-GAWL (Liliaceae)
 石斛：*Dendrobium nobile* LINDL (Orchidaceae)
 茵陳：*Artemisia capillaris* THUNB (Compositae)
 黃芩：*Scutellaria baicalensis* GEORGI (Labiatae)
 枳殼：*Poncirus trifoliata*(L.) RAF (Rutaceae)
 枇杷葉：*Eriobotrya japonica* (THUNB) LINDL (Rosaceae)
 甘草：*Glycyrrhiza uralensis* FISCHER et DC.(Leguminosae)
 紫丹參：*Salvia miltiorrhiza* BGE (Labiatae)
 按1：1：1：1：1：1：1：1：1之比例組成。

4. 蠶桑合劑之藥材來源

白扁豆：*Dolichos lablab* L. (Leguminosae)
 虎杖：*Polygonum cuspidatum* SIEB. et ZUCC (Polygonaceae)
 桑寄生：*Loranthus parasiticus* (L.) MERR (Loranthaceae)
 白朮：*Atractylodes ovata* DE (Compositae)
 丹參：*Salvia miltiorrhiza* BGE (Labiatae)
 旱蓮：*Eclipta prostrata* L. (Compositae)
 連翹：*Forsythia suspensa* (THUNB.) VAHL (Oleaceae)
 澤蘭：*Lycopus lucidus* TURCZ (Labiatae)
 蠶砂：*Bombyx mori* L.
 女貞子：*Ligustrum lucidum* AIT (Oleaceae)
 柴胡：*Bupleurum chinense* DC. (Umbelliferae)
 按1：1：1：1：1：1：1：1：1：1之比例組成。

5. 清·葉天士方之藥材來源

白朮：*Atractylodes ovata* DE (Compositae)
 白扁豆：*Dolichos lablab* L. (Leguminosae)
 茯苓：*Poria cocos* WOLF (Polyporaceae)
 黃耆：*Astragalus membranaceus* (FISCH.) BGE(Leguminosae)
 甘草：*Glycyrrhiza uralensis* FISCHER et DC. (Leguminosae)
 大棗：*Ziziphus jujuba* MILL var. *mermis* (BGE.) REHD

(Rhamnaceae)

薑：Zingiber officinale ROSCOE (Zingiberaceae)

按2：2：2：2：1：1：1之比例組成。

三、丹梔逍遙散抽取物之製備：

1. 丹梔逍遙散酒精抽取物之製備

將柴胡、當歸、白芍藥、白朮、茯苓、甘草、牡丹皮、梔子、薑、薄荷等乾燥藥材，依出典原方之比例，分別用磨粉機研成粗粉混合後，取1公斤置於10L圓底燒瓶內，加入95%酒精500ml，在水浴中加溫保持70°C，連續抽取4次，每次2至3小時，收集全部抽取液過濾混合，於50°C下減壓濃縮至呈黏稠狀，以50°C乾燥。抽取率為18%。（以下簡稱T.S._{Alc.}）

2. 丹梔逍遙散水抽取物之製備

本製備法藥材之處理同上。但溶劑為蒸餾水，水浴加溫保持90°C，以60°C乾燥。抽取率為30%。（以下簡稱T.S._{H₂O}）

四、實驗動物：

本實驗所使用之動物為體重18~25g之雄性ICR系小白鼠及體重200~250g之雄性Sprague-Dawley系大白鼠。

方法

一、急性毒性試驗

本實驗使用體重18g雄性ICR系小白鼠，依Litchfield及Wilcoxon⁹方法，測定抽取物經由口服(p.o.)或腹腔注射(i.p.)後，72小時內可使實驗動物一半死亡之劑量及其95%可信限，並觀察其中毒症狀。

二、對實驗性高血脂大白鼠之影響

1. 以體重200g之雄性大白鼠分3組，為對照組I 給予正常飼料8週；實驗組II飼以高膽固醇飼料，連續餵8週；實驗組III以高膽固醇給予8週，但第4周起給予分為5群，個別口服H₁、H₂、H₃、H₄、H₅五種方劑其劑量為1g/kg，每天1次，至第8週。

2. 高膽固醇飼料中含有cholesterol 2%及 cholic acid 0.5%，〔即福壽牌飼料1000g，cholesterol(Hayashi)20g，cholic acid(Sigma) 5g，花生油100c.c.混合均勻〕¹⁰⁻¹¹。實驗中每週固定時間以pentobarbital

麻醉後抽取各組(每群六隻)大白鼠之下腔主動脈取出血液，以測定血中cholesterol, triglyceride, HDL-C, SGOT, 及SGPT之濃度，連續至第8週。

3. 總膽固醇及SGOT、SGPT之測定方法

對於高血脂大白鼠各別給予治療肝炎用中藥H₁~H₅各組方劑，其血清中總膽固醇、SGOT、SGPT之測定方法如下：

- (1)Cholesterol：以強酸直接作用，產生顏色反應，即Liebermann-Burchard反應測定¹²。
- (2)Triglyceride：酵素法，利用glycerol-3-phosphate-oxidase作用方法測定¹³。
- (3)HDL-C：同上cholesterol之測定方法¹²。
- (4)Alkaline-phosphatase：以Bessey-Lowry-Brock法測定¹⁴。
- (5)SGOT：以Reitman-Frankel呈色法測定¹⁵。
- (6)SGPT：同上。

三、對四氯化碳誘發急性肝炎之影響

使用體重200~250g雄性Sprague Dawley 系大白鼠，四氯化碳溶於橄欖油製成50%CC₁₄(v/v)之濃度，腹腔注射1ml/kg。

- 1.對照組：注射50%CC₁₄，誘發急性肝炎。
- 2.治療組分成2組：
 - (1)注射50%CC₁₄後第1及第5小時，分別口服T.S._{Aic}(0.5g/kg、1.0g/kg)或T.S._{H₂O}(0.5g/kg、1.0g/kg)
 - (2)在注射50%CC₁₄前1小時及注射後第5小時，分別口服T.S._{Aic}(0.5g/kg、1.0g/kg)或T.S._{H₂O}(0.5g/kg、1.0g/kg)
- 3.正常組(Normal)給予等量橄欖油。

在四氯化碳注射後24小時，以pentobarbital sodium 40 mg/kg i.p. 麻醉，由腹腔動脈抽血，所採取之血液置室溫下約10分鐘後，分離血清(離心機Kubotaka 1000, 3000rpm. 10分鐘)測定其肝功能之生化值。

四、對四氯化碳誘發亞急性肝炎之影響

使用體重200~250g雄性Sprague Dawley 系大白鼠。四氯化碳溶於橄欖油製成50%CC₁₄(v/v)之濃度，腹腔注射1ml/kg。

- 1.對照組：每週一注射CC₁₄1次，連續8週。
- 2.治療組，每週一注射CC₁₄1次，連續8週。第3週起每週二至週日，1天1次分別口服T.S._{Aic} 0.5g/kg或T.S._{H₂O} 0.5g/kg，至第8週。
各組於第1、2、4、6、8週作抽血檢驗，採血方法同實驗二。

統計分析

本實驗結果之數據，均利用unpaired Student's t-test統計，並分析比較組間差異之顯著性，凡p值大於0.05以上時，則認定其差異在統計上無意義。

結 果

一、方劑急性中毒試驗及中毒症狀之觀察

1. 一般行為觀察：小白鼠經口服個別給予上述H₁~H₅方劑之懸浮液(0.5%CMC溶液)，以2.5，5，10g/kg等不同劑量投與後，在一週內無一隻動物死亡，亦無特殊症狀出現。
2. 小白鼠經腹腔給藥，在一週內一半死亡劑量(LD₅₀)及其95%可信限如表1。
3. 中毒症狀之觀察：小白鼠經腹腔給藥後，H₁~H₅之中毒症狀大致相同，均呈現活動性減低，四肢屈蹲，呼吸變快，因劑量之增加更快，呼吸困難，抽搐而死亡。

二、丹梔逍遙散急性中毒試驗及中毒症狀之觀察

小白鼠經口服(p.o.)給予丹梔逍遙散酒精提取物(T.S._{Alc.})或水提取物(T.S._{H₂O})劑量雖高至10g/kg，觀察72小時仍未見死亡，但活動性明顯減低。經腹腔給藥(i.p.)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。

中毒症狀之觀察：實驗觀察口服給藥後之小白鼠活動性明顯減少。腹腔給藥之小白鼠除活動性減少外，亦見步履不穩、跳躍、掙扎而死。

三、對於cholesterol之影響

雄性大白鼠飼以高膽固醇飼料，第2週起膽固醇含量皆有顯著升高，第四週起分別口服H₁~H₅

Table 1. LD₅₀ and 95% confidence limits of Chinese prescriptions used for hepatitis in mice

prescription	animal	route	LD ₅₀ (95% confidence limit)
H ₁	mice	p.o.	> 10 g/kg
H ₂	mice	p.o.	> 10 g/kg
H ₃	mice	p.o.	> 10 g/kg
H ₄	mice	p.o.	> 10 g/kg
H ₅	mice	p.o.	> 10 g/kg
H ₁	mice	i.p.	1.43 (0.999-2.048)g/kg
H ₂	mice	i.p.	2.1(1.398-3.154)g/kg
H ₃	mice	i.p.	1.6(1.116-2.293)g/kg
H ₄	mice	i.p.	1.475(0.42-1.938)g/kg
H ₅	mice	i.p.	0.96(0.349-2.636)g/kg

Table 2. Acute toxicity of T.S. extracts in mice

Drug	animal	LD ₅₀ (95% confidence limit) (g/kg)
T.S. _{Alc.}	p.o.	> 10
	i.p.	3.85(3.24~4.85)
T.S. _{H₂O}	p.o.	> 10
	i.p.	5.80(4.95~6.80)

五種方劑，其結果如圖1所示，給藥後血液中cholesterol之濃度，H₅在第六週(P<0.05)，第8週(P<0.01)呈現顯著的下降，且H₃在第8週(P<0.05)亦呈現下降，其他方劑對於血液中cholesterol之變化在統計學上無意義。

四、對於triglyceride之影響

雄性大白鼠飼以高膽固醇飼料，第4週起triglyceride含量有顯著上升現象，於第4週起分別口服H₁~H₅五種方劑，其結果如圖2所示，大白鼠血液Triglyceride含量無統計學上之意義。

五、對於HDL-C之影響

雄性大白鼠飼以高膽固醇飼料第2週起，HDL-C含量下降，第4週起分別口服H₁~H₅五種方劑，其結果如圖3所示H₃及H₅使血中HDL-C濃度在第8週呈現顯著上昇現象(P<0.05)，其他方劑則無統計學上之意義。

六、對於SGOT之影響

雄性大白鼠飼以高膽固醇飼料，第4週起SGOT之含量有顯著上昇現象，第4週起分別口服H₁~H₅五種方劑，其結果如圖4所示，給藥後血液中SGOT之濃度H₃在第6週(P<0.05)，第8週(P<0.01)呈下降現象，且

H₅在第6週(P < 0.01)，第8週(P < 0.05)亦呈現顯著下降，其他方劑則無統計學上之意義。

七、對於SGPT之影響

雄性大白鼠飼以高膽固醇飼料，第2週起SGPT濃度，有微上昇現象，但乏統計學上意義。第4週起分別口服H₁~H₅五種方劑，其結果如圖5所示，給藥後血液中SGPT之濃度H₄在第6週呈現上昇現象，但因偏差大，所以缺乏統計學上之意義；其他方劑則無統計學上之意義。

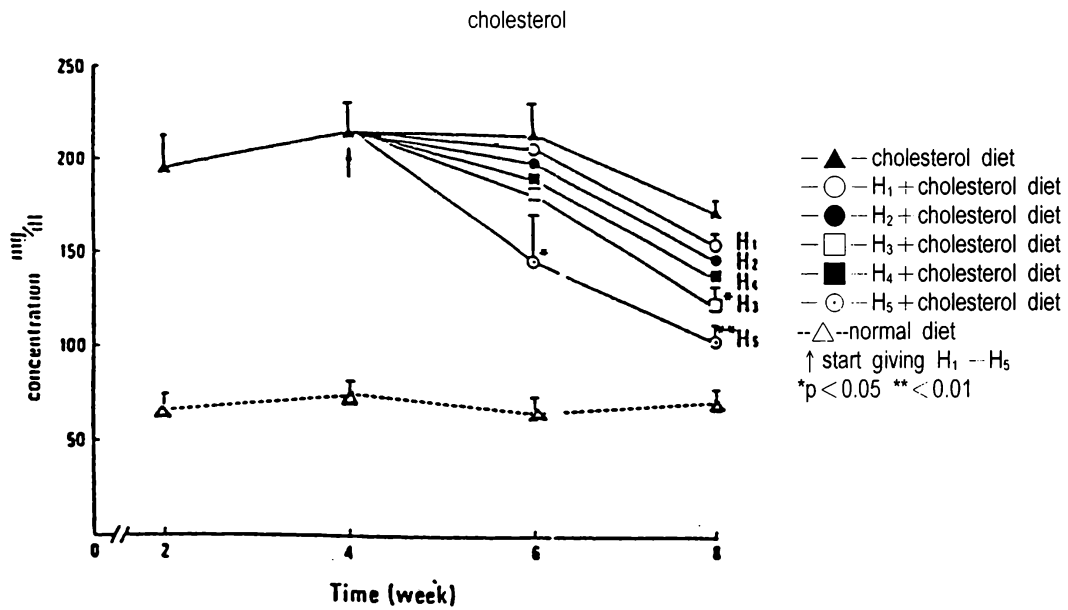


Fig. 1. Effects of H₁, H₂, H₃, H₄, H₅ on serum cholesterol in rats

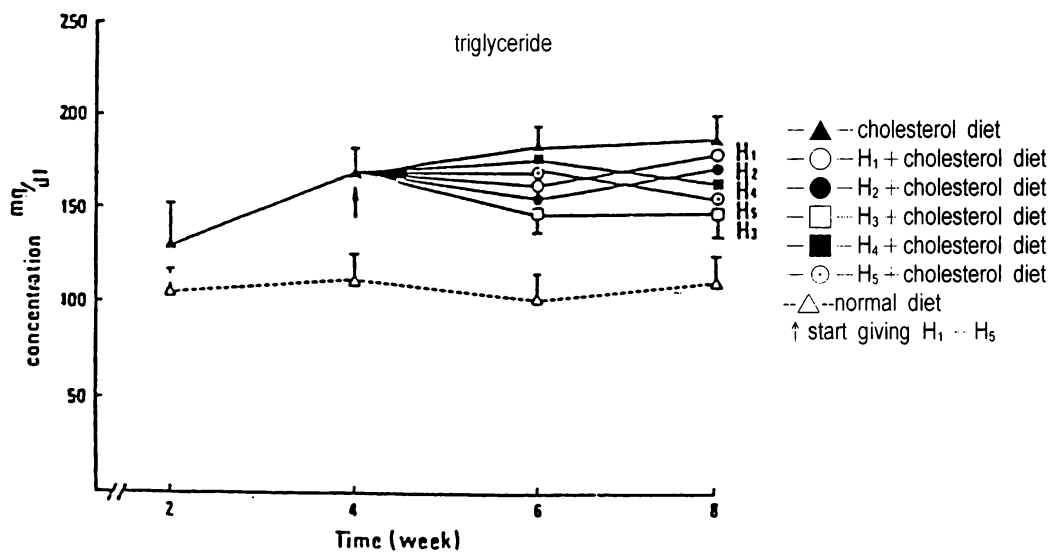


Fig. 2. Effects of H₁, H₂, H₃, H₄, H₅ on serum triglyceride in rats

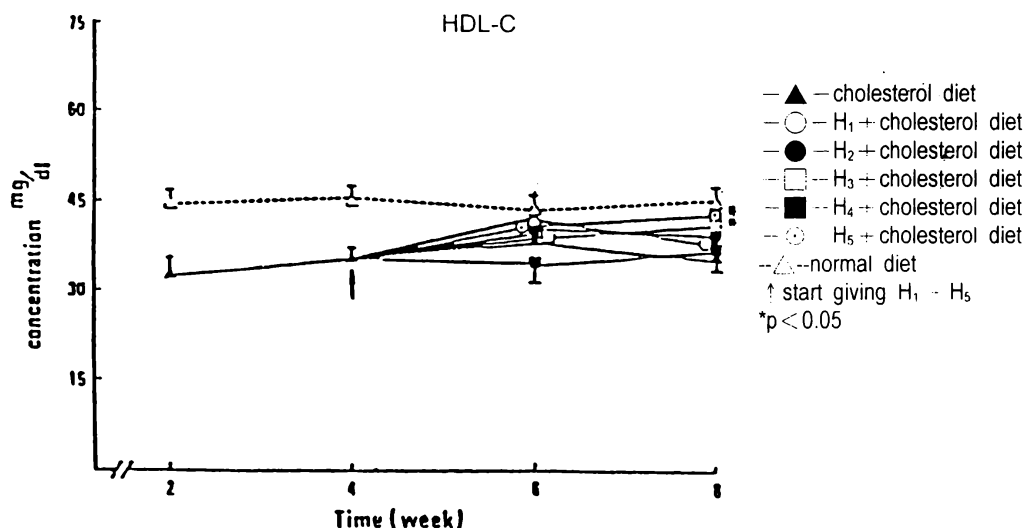


Fig. 3. Effects of H₁, H₂, H₃, H₄, H₅ on serum HDL-C in rats

八、對四氯化碳誘發急性肝炎之影響

如表3所示，注射四氯化碳之大白鼠，其血清GOT、GPT、鹼性磷酸糖(alkaline phosphatase, AIP)、膽紅素(bilirubin)等濃度急速升高。治療組(A)，口服丹梔逍遙散酒精提取物對GOT有顯著降低作用(0.5 g/kg, $p < 0.05$; 1.0 g/kg, $p < 0.001$)；水提取物 0.5g/kg對GOT有顯著降低($p < 0.001$)，且其1.0 g/kg對GOT ($p < 0.001$)、GPT ($p < 0.05$)、鹼性磷酸酶($p < 0.05$)等均有顯著降低作用。治療組(B)，酒精或水提取物對GOT、GPT、鹼性磷酸酶等均有很顯著之降低($p < 0.05 \sim 0.001$)，且隨劑量增加而呈相關之改善。

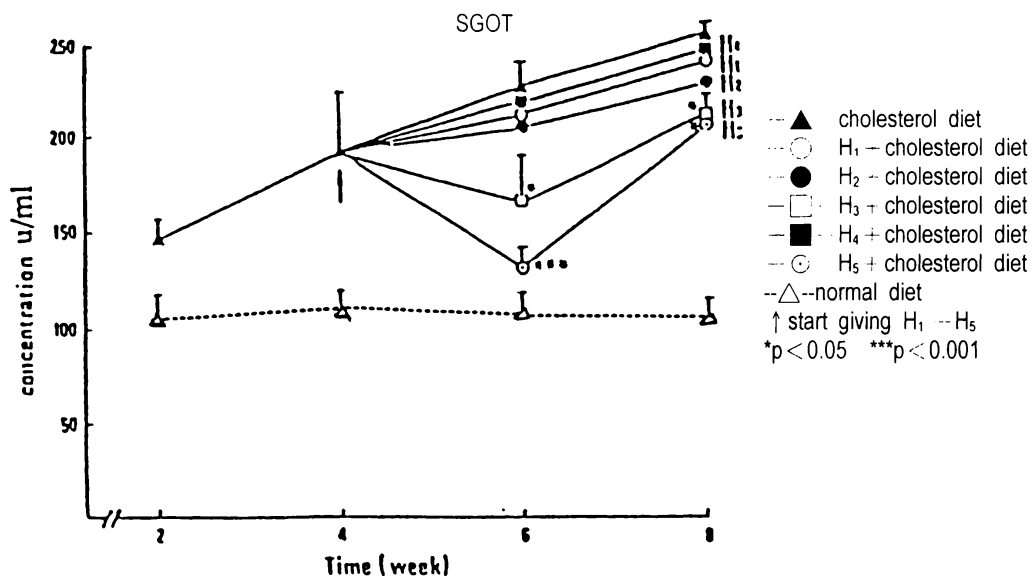
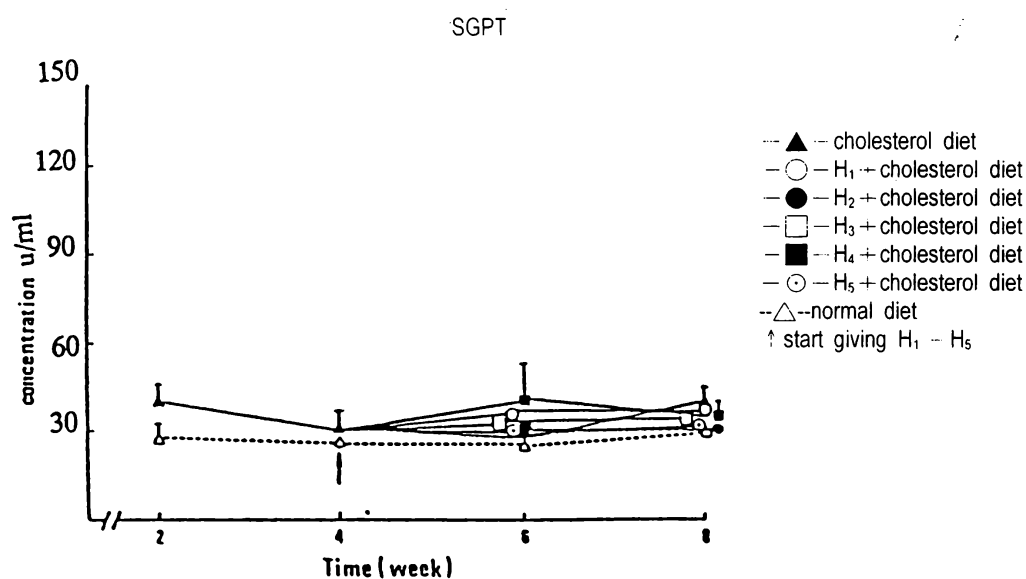


Fig. 4. Effects of H₁, H₂, H₃, H₄, H₅ on serum SGOT in rats

Fig. 5. Effects of H₁, H₂, H₃, H₄, H₅ on serum SGPT in rats

九、對四氯化碳誘發急性肝炎之影響

如表4所示，注射四氯化碳之大白鼠，第1週時血清GOT、GPT等已有升高現象，至第2週更明顯。於第3週開始口服丹梔逍遙散之酒精或水提取物。第4週時，酒精或水提取物僅對GOT有降低作用。(T.S._{AIC} p < 0.05; T.S._{H₂O} p < 0.01)。第6週時，酒精提取物對GOT有降低作用(p < 0.001)，而水提取物GOT(p < 0.001)及鹼性磷酸B (p < 0.001)均有降低作用。於第8週時，酒精提取物僅對總膽紅素有降低作用(p < 0.05)，而水提取物對GOT (p < 0.01)、GPT (p < 0.01)、及鹼性磷酸酶 (p < 0.01)、總膽紅素(p < 0.05)等均有顯著降低作用。

Table 3. Effects of T.S. Extract on CCl₄ -induced acute hepatitis in rats

Treatment	Dose (g/kg)	GOT (u/ml)	GPT (u/ml)	AIP (mg/dl)	Bilirubin total (mg/dl)	Bilirubin direct (mg/dl)
Normal		137.2 ± 6.0	27.9 ± 1.5	24.3 ± 2.6	0.39 ± 0.02	0.22 ± 0.04
CCl ₄		976.0 ± 56.5	238.5 ± 29.4	37.2 ± 2.6	1.01 ± 0.06	0.43 ± 0.07
Treatment A						
CCl ₄ + T.S. _{AIC}	0.5	809.5 ± 33.2*	209.0 ± 26.1	36.1 ± 2.5	0.93 ± 0.11	0.42 ± 0.07
CCl ₄ + T.S. _{AIC}	1	630.9 ± 41.6***	188.1 ± 26.7	31.8 ± 2.6	0.96 ± 0.06	0.44 ± 0.06
CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	0.5	706.3 ± 39.1***	207.4 ± 21.8	35.4 ± 2.4	1.00 ± 0.05	0.41 ± 0.07
CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	1	504.5 ± 47.6***	151.4 ± 23.6*	29.3 ± 2.3*	0.91 ± 0.07	0.44 ± 0.07
Treatment B						
T.S. _{AIC} + CCl ₄ + T.S. _{AIC}	0.5	357.8 ± 35.8***	60.3 ± 5.5***	30.7 ± 2.8	0.86 ± 0.06	0.40 ± 0.06
T.S. _{AIC} + CCl ₄ + T.S. _{AIC}	1.0	297.0 ± 35.9***	48.0 ± 4.5***	28.7 ± 2.3*	0.79 ± 0.07*	0.36 ± 0.04
T.S. _{H₂O} + CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	0.5	327.3 ± 40.6***	57.0 ± 4.9***	27.4 ± 2.7*	0.82 ± 0.06	0.39 ± 0.08
T.S. _{H₂O} + CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	1	248.7 ± 47.4***	35.0 ± 3.1***	26.9 ± 2.4**	0.79 ± 0.06*	0.37 ± 0.04

Mean \pm S.E. (n = 10)

*p < 0.05 **p < 0.01 ***p < 0.001

Compared with CCl₄Table 4. Effects of T.S. Extracts on CCl₄ -induced subacute hepatitis in rats

Treatment	Dose Weeks (g/kg)	GOT (u/ml)	GPT (u/ml)	AIP (mg/dl)	Bilirubin total (mg/dl)	Bilirubin direct (mg/dl)
CCl ₄	1	152.0 \pm 3.8	29.0 \pm 2.2	35.0 \pm 4.4	1.35 \pm 0.08	0.77 \pm 0.09
CCl ₄	2	198.7 \pm 9.8	35.5 \pm 3.1	46.1 \pm 4.9	1.89 \pm 0.27	0.40 \pm 0.10
CCl ₄	4	205.7 \pm 8.6	39.5 \pm 3.1	30.2 \pm 4.1	1.84 \pm 0.18	0.38 \pm 0.05
CCl ₄ + T.S. _{AIC}	0.5	173.8 \pm 7.2*	36.2 \pm 2.2	23.2 \pm 2.2	1.79 \pm 0.27	0.42 \pm 0.11
CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	0.5	171.3 \pm 5.5**	31.8 \pm 1.9	21.3 \pm 4.7	1.64 \pm 0.19	0.38 \pm 0.08
CCl ₄	6	210.3 \pm 3.9	42.0 \pm 2.7	49.6 \pm 6.8	1.69 \pm 0.13	0.35 \pm 0.02
T.S. _{AIC} + CCl ₄ + T.S. _{AIC}	0.5	170.8 \pm 4.4***	40.0 \pm 2.7	45.0 \pm 4.2	1.69 \pm 0.19	0.39 \pm 0.22
T.S. _{H₂O} + CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	0.5	169.8 \pm 3.5***	35.8 \pm 2.0	26.6 \pm 2.9**	1.50 \pm 0.07	0.34 \pm 0.07
CCl ₄	8	201.3 \pm 4.7	47.8 \pm 1.6	70.4 \pm 6.9	1.39 \pm 0.01	0.45 \pm 0.06
T.S. _{AIC} + CCl ₄ + T.S. _{AIC}	0.5	196.5 \pm 7.0	43.3 \pm 1.3	65.2 \pm 6.6	1.26 \pm 0.06	0.41 \pm 0.08
T.S. _{H₂O} + CCl ₄ + T.S. _{H₂O}	0.5	172.2 \pm 5.7**	38.0 \pm 1.9**	38.2 \pm 8.2**	1.30 \pm 0.03*	0.36 \pm 0.05

Mean \pm S.E. (n = 10)

*p < 0.05 **p < 0.01 ***p < 0.001

Compared with CCl₄ . respectively

討 論

中醫處方投藥劑量一向憑據經驗，並無數值依據，缺乏客觀的指標，本實驗針對本校與衛生署合辦「中醫藥治療肝炎之療效」研究計劃中所用方劑H₁~H₄及本校陳董事長立夫先生所提供之清·葉天士方H₅，為了較客觀的決定劑量，先實施LD₅₀試驗，急性毒性試驗方法有Behrens-Krber法，Van der Waerden法，及Litchfield-Wilcoxon法等，其中以Litchfield-Wilcoxon法較為準確，且英、美各國均採用此法，以測定藥物之急性毒性。本項實驗結果顯示：H₁~H₅各方劑經口服投與殆無毒性；然經腹腔給藥後，以H₂之毒性最低，H₁、H₃及H₄之毒性中等，而以H₅之毒性最強。由此結果可知，本研究所選用者均屬安全性高且對體內組織細胞並不具傷害之方劑。

在中醫臨床上治療黃疸、高血壓及動脈硬化症之方劑中一般含有柴胡、黃芩、枳實、生薑等藥材，而治療肝炎之處方中亦含有上述藥材。依齋藤及澀谷之研究報告指出柴胡之成份sailosaponin可抑制中性脂肪之吸收¹⁶；因此本實驗研究之重點在探討本校肝炎特別門診所用之方劑H₁~H₅是否會影響血清中血脂質之濃度。本實驗結果H₃及H₅二種方劑能使高血脂大白鼠之膽固醇

下降，又能使高密度脂蛋白上昇。據報告指出，血清中膽固醇及三甘油脂之含量與血管動脈硬化疾病之發生率有正向平行關係，而血清中高密度脂蛋白之含量則與其有負向平行關係；亦即血清中膽固醇及三甘油脂濃度可加速形成動脈血管之硬化，高密度脂蛋白之濃度有保護動脈血管硬化之作用。由本實驗顯示，H₃及H₅能提升高密度脂蛋白，即可能從周邊組織將膽固醇及三甘油脂帶回肝臟，代謝排泄，故能使罹患冠狀動脈硬化之機會減少，肝功能趨於正常。又從本實驗得知H₃及H₅方劑降低高血脂大白鼠血清中膽固醇比三甘油脂更顯著，所以H₃及H₅二方劑可能有阻斷三甘油脂與膽固醇合成之途徑。而於連續服用8週之cholesterol後，雖正常動物組之膽固醇有下降之趨勢，然三甘油脂則有明顯增加之現象，顯示此現象並非動物胃口變差及進食量減少之現象；另SGOT之含量亦增加，此是否與動物本身耐受性、SGOT含量或其他酵素之關係仍有進一步之探討。

逍遙散原方出自宋·太平惠民和劑局方所載之逍遙散，至明·薛己始加牡丹皮、梔子，稱加味逍遙散或丹梔逍遙散¹⁷；其方劑之組成，係以柴胡能疏肝解鬱為君，配合甘草之健脾胃、解毒為臣，及梔子清熱利膽為佐，加當歸、白芍藥、白朮、茯苓、牡丹皮、薑、薄荷為使，而產生協同作用並加強其治療肝臟疾病之效果。在中醫臨床主治肝鬱火旺而煩熱勞倦、食少嗜臥、脇痛、臍腹脹痛、吐血衄血等症，此與肝炎或肝硬化患者之發熱、疲倦、食慾不振、右季肋區痛、噁心嘔吐、腹水及出血等症狀相當。據本校與衛生署合辦「中醫對肝炎療效」之專題研究報告指出，丹梔逍遙散治療慢性B型肝炎患者，其臨床症狀有顯著之改善¹⁸。因此本研究運用對肝臟破壞之化學藥品—四氯化碳，引起肝傷害，造成急性或亞急性肝炎，以探討丹梔逍遙散對於實驗性肝炎大白鼠之療效。四氯化碳與肝微粒體(microsomal cytochrome p-450)之藥物代謝酶系統反應產生之有毒自由基再與細胞膜不飽和脂質反應，形成脂質過氧化物(lipid peroxides)¹⁹⁻²⁰；也能破壞細胞膜，使細胞內之酶及電解質釋出，鈣離子則進入細胞內堆積，造成肝傷害²¹。因而引起血清肝功能GOT、GPT等生化值上升。由實驗結果，丹梔逍遙散酒精或水抽取物對於四氯化碳引起血清GOT、GPT、鹼性磷酸酶等升高之現象，均能顯著降低；顯示丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發之急性肝炎，具有改善作用。其次，再探討丹梔逍遙散對於亞急性肝炎之療效。由於四氯化碳在肝中代謝數日後，其肝功能會趨近正常值範圍¹⁹。因此以長期連續注射四氯化碳使肝功能生化值不能恢復正常。實驗結果，丹梔逍遙散之酒精或水抽取物對血清GOT、GPT、鹼性磷酸酶、總膽紅素等之升高均有不同程度之降低。顯示丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發之亞急性肝炎，亦有改善作用。

據文獻指出，柴胡對於D-galactosamine所引起之炎症，有抗炎作用，其saikosaponine對於四氯化碳所引起GOT、GPT升高現象有降低作用²²⁻²³。

又甘草之glycyrrhizin、glycyrrhetic acid對於四氯化碳引起之GPT升高現象均有降低作用，而glycyrrhizin對於四氯化碳生成脂質過氧化物反應，有抗氧化作用²⁴。且梔子之geniposide對於四氯化碳所引起GOT、GPT之升高現象有降低作用，可增加肝微粒體p-450之活性，並能活化不同ATPase-450，而改善細胞內環境，加強鈣離子排出細胞外，減少化學藥品對肝臟之毒性²⁵，而梔子crocin、crocetin、genipin和geniposide均有促進膽汁排泄作用²⁶⁻²⁷。另外，白芍、白朮、甘草、牡丹皮等皆有抗炎作用²⁸⁻³⁰。因此，丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發之各種肝炎均有改善作用，可能綜合組成中柴胡、甘草、梔子、白芍、白朮、牡丹皮等之效果。至於，丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發之各種肝炎均有改善作用，是否與活化肝微粒p-450，加強細胞內鈣離子排出，抑制脂質過氧化物之形成，減輕炎症，減少膽固醇周圍發炎，改善細胞及膽管對膽汁之排泄功能有關，仍待今後進一步之探討。

最後，丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發實驗性肝炎之改善作用，均以水抽取物較酒精抽取物為顯著；因丹梔逍遙散組成藥材中對實驗性肝炎有效成分中saikosaponin、glycyrrhizin和geniposide等均屬配醣體(glycoside)，為極性頗高之化合物，水溶性極佳。另梔子對膽汁之排泄作用亦以水抽取物較強³¹。因此，丹梔逍遙散治療實驗性肝炎，以水抽取物之改善效果較佳，應係組成藥材中有效成分於水之溶出率較高，至於丹梔逍遙散組成藥材中有效成分之溶出率仍需進一步之研究。另丹梔逍遙散對於四氯化碳誘發之肝炎具改善作用，以誘發肝炎之前就給予丹梔逍遙散者較誘發肝炎之後再給予丹梔逍遙散效果顯著，此是否因誘導肝炎之前先給予丹梔逍遙散能增加體內之防禦能力？亦仍有待進一步之探討。

綜合上述之結果，本研究所選用者均屬安全性高且對體內組織細胞並不具傷害之方劑，其中以丹梔逍遙散及清·葉天士方具降低血清中膽固醇及三甘油脂，及預防四氯化碳誘發之急性或亞急性SGOT、SGPT上升之作用較佳；顯示，該二方劑具降脂、保肝之作用。至於未來則將擬以D-galactosamine誘發急性肝炎、 α -naphthylisothiocyanate誘發膽汁滯留性肝炎，硝酸鎘誘發猛爆性肝炎從事體外實驗，尋找有效治療肝炎之中藥方劑供臨床使用。

誌 謝

本研究承蒙行政院衛生署中醫藥委員會提供經費完成此實驗。

參考文獻

- 1.吳昭新、陳家和、江易雄、李元成、李懋華、葛應欽、胡惠德、
，A型及B型肝炎病毒在台灣感染之研究，臺灣醫學雜誌79：
694-699，1980。
- 2.施純仁，中老年人病防治工作簡報，衛生月刊1(5):1-15，1987。
- 3.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。
- 4.陳定信，病毒性肝炎討論會綜合報導，當代醫學9(1)：81-108，
1982。
- 5.宋瑞樓，在台灣控制肝細胞癌及肝硬化盛行有關的研究與措施及
其成效，台灣醫界1(1)：1-10，1997。
- 6.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。
- 7.Beasley RP, Hwang LY, Lee CY, Lan CC, Roan CH, Huang FY,
CHEN CL : Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus
infections with hepatitis B immunoglobulin and hepatitis B vaccine.
Lancet 2 : 1099-1102, 1983.
- 8.Recknagel RO. A new direction in the study of carbon tetrachlo-
ride hepatotoxicity Life Sci 33 : 401-408, 1983.
- 9.Litchfield JT, Wilcoxon F : A simplified methods of evaluating
dose effect experiments. J Pharmacol Exp Ther 96 : 99-113, 1949.
- 10.楊渝珍、程舸、孫家壽、奇數碳中鏈脂酸對食物膽固醇誘導的大
白鼠血清脂質和脂蛋白含量的影響，Acta Academia Medicine
3 : 85-86, 1982.
- 11.陳介甫、陳正益、蔡輝彥、張惠玲，十一種市售中藥之藥理作用
研究，中國醫藥學院研究年報，十一期，1980。
- 12.Richterich, R. and Colombo, L.P. (1981), Clinical Chemistry,
John Wiley, Toronto, pp.432-437.
- 13.MacDonald, R. P. (1970), Standard methods of clinical chemis-
try, vol 6, Academic press, New York, pp.215-225.
- 14.Kind, P.R.N. and King, E.J.(1954), Estimation of plasma phosph-
hastase by determination of hydrolysed phenol with antipyrine. J
Clin Pathol 7 : 322-330.
- 15.Reitman, S. and Frankel, S. (1957), A colorimetric method for

- the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 28 : 57-63.
16. 齋藤、澀谷，柴胡中 saikosaponin 對中性脂肪吸收之影響，東京醫科大學雜誌40 : 4, 1982。
 17. (清)汪詡庵，醫方集解，文光圖書公司，台北，pp.118，1972。
 18. 張恒鴻、鍾國俊、宋光迪、陳德榮、蔡順輝，慢性B型肝炎之中醫辨症及療效之評估，6-31，1986。
 19. Recknagel RO. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol Rev* 19 : 145-208，1987。
 20. Farber JL, Gerson RL, Mechanism of cell injury with hepatotoxic chemicals. *Pharmacol Rev* 36(2) : 71S-75S，1984。
 21. Waller RL, Glende EA, Recknagel RO. 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。
 22. 加藤正秀，柴胡劑の藥理學的研究(第6報)小柴胡湯のD-galactosamine 肝障害テストに對する作用，藥學雜誌104(7) : 798-804，1984。
 23. Hiroko A, Machiko S, Shizuo O, Shigeru A. Protective effect of saikosaponin-disolated from *Bupleurum falcatum* L. on CC14-induced liver injury in the rat. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 320 : 266-271, 1987.
 24. Hiroshi H. Chinese medicinal plants used against hepatitis. *Adv Chin Med Mat Res* 205-214, 1985.
 25. 陳介甫、蘇美貴、莊清堯，治肝炎中藥理作用之研究II國科會「免疫增強劑及抗炎中藥」專題研究計劃討論會論文摘要34-47，1986。
 26. *Jpn J Pharmacol* 2(2) : 102, 139 ; 3(1)1, 1953.
 27. *Jpn J Pharmacol* 50(1) : 25-26, 1954.
 28. 顏焜熒，原色生藥學，南天書局，台北，pp.76-224，1985。
 29. ヒキノヒロツ，白朮、蒼朮の生理活性，現代東洋醫學5(2)43- 50，1984。
 30. 原田正敏，牡丹皮の藥理，現代東洋醫學5(1)，48-52，1984。
 31. 中西醫結合治療肝炎肝硬化，啓業書局，台北，pp.110，1985。

PHARMACOLOGICAL STUDIES ON THE EFFECTS OF TRADITIONAL CHINESE PRESCRIPTIONS FOR HEPATITIS IN RATS

Ming-Tsuen Hsieh¹, Shu-Ling Liu², Ting-Fu Wang³, Hong-Chien Ha⁴
and Chung-Gwo Chang⁵

^{1,2}Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences,

³China Medical College Hospital,

⁴School of Medicine, China Medical College,

⁵Department of Chinese Medicine, China Medical College,
Taichung, Taiwan

(Received 16th May 1997, revised Ms received 28th June 1997, accepted
30th June 1997)

H₁ (Chih-Shih-Zhi-Szu-Tang) 、 H₂ (Dan-Zhi-Shiau-Yau-San) 、
H₃ (Kan-Lu Yin Chia-Wei) 、 H₄ (mixed Tsan-Sun prescription) and H₅ (Yeh-Tien-Shih prescription) are five traditional Chinese prescriptions usually used to cure hepatitis patient in the China Medical College Hospital. In the present study, we investigated the acute toxicity and the effects of the five Chinese prescriptions in the hyperlipidemia and carbon tetrachloride (CCl₄) -induced acute or subacute hepatic damage in rats. Firstly, the five Chinese prescriptions orally at 10g/kg did not induce death in mice.

Secondly, only H₃ and H₅ among the five Chinese prescriptions decreased the plasma cholesterol and SGOT levels, and increased the high density lipoprotein (HDL) levels in the hyperlipidemic rats. Therefore, H₃ and H₅ might reduced the happened frequency of atherosclerosis via the blockade of cholesterol and triglyceride absorption in the enterointestinal tract and the metabolism in liver.

Finally, T.S._{AIC} and T.S._{H₂O} could decrease the plasma GOT, GPT, alkaline phosphatase and total bilirubin increased by CCl₄ in rats. Therefore, H₂ improved the CCl₄-induced acute or subacute liver damage in rats, and the effects of T.S._{H₂O} were greater than those of T.S._{AIC}. Then, the improving effects of T.S._{AIC} and T.S._{H₂O} administered before CCl₄ -induced acute or subacute liver damage on CCl₄-induced acute or subacute liver damage are greater than those of T.S._{AIC} and T.S._{H₂O} administered after CCl₄ -induced acute or subacute liver damage.

Key Words : Chinese prescriptions, Hepatitis, Hyperlipidemia, Carbon tetrachloride.