

編號：CCMP96-RD-046

六味地黃丸內含物精緻化的研究

尤文正、鄭瑞棠

弘光科技大學

摘要

糖尿病是因胰島素作用異常所致血糖偏高的一種新陳代謝疾病，臨床上，第二型糖尿病佔糖尿病患者的 90% 以上，胰島素抗阻性(insulin resistance)是造成第二型糖尿病的原因之一，因此，藉由改善胰島素抗阻性來改善第二型糖尿病是當今重要的方向。本計畫主要研究目的包括：不同成分之六味地黃丸精緻化藥物之製備；六味地黃丸內含藥物熟地黃以生地黃取代後之藥效差異；以及精緻化六味地黃丸對第二型糖尿病動物之胰島素敏感性分析。

為達成計畫成果，本計畫採用之研究方法包括：利用 STZ 誘導第一型糖尿病大鼠；利用高果糖飼料誘導胰島素阻抗大鼠，動物空腹後餵食傳統六味地黃丸等藥品，再於不同時間抽血測量血糖變化；以腹腔注射 glucose，觀察不同藥物成分之葡萄糖耐受性之影響；以及以靜脈注射 Insulin 方式觀察不同藥物成分對胰島素敏感性之影響。

本計畫結果顯示精緻化的六味地黃丸對正常大鼠，第二型糖尿病大鼠，胰島素阻抗大鼠均有較佳的藥效，但對第一型糖尿病大鼠並無顯著的降血糖效果；但是精緻化六味地黃丸增加糖尿病大鼠對胰島素的敏感性的效果較傳統六味地黃丸為佳。研究結果顯示精緻化的六味地黃丸，對於糖尿病的治療更具潛力，而且，可透過增加胰島素敏感性的機制來達成。以目前市場價值及開發新藥的優勢地位，值得進一步廣泛的研究生地黃的作用機制及其安全性。

關鍵詞：六味地黃丸、精緻化、胰島素阻抗

A Study on the Elaboration of Liu-Wei-Die-Huang-Wan

Wen-Jen Yu, Juei-Tang Cheng
Hung Kuang University

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease caused by impaired insulin action, and 90% diabetic patients belong to type II diabetes. Because insulin resistance is a major of type II diabetes, it is the main target to treat type II diabetes by improving insulin resistance. The aims of this study are to elaborate different compositions of Liu-Wei-Die-Huang-Wan, to clarify the efficacy of elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan, and to study the insulin sensitivity and insulin resistance in the diabetic animal model fed with elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan.

Several methodologies were applied in this study for evaluation the effects of elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan including establishment the IDDM and Insulin resistant rats by STZ injection and high fructose diet respectively, fasting blood sugar examination for the hypoglycemic effects of elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan, intraperitoneal injection of glucose for the glucose tolerant effects of elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan, and intravenous injection of insulin for the evaluation of insulin sensitivity affected elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan.

In this study, the hypoglycemic effect of elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan was confirmed in the normal Wistar rats, Zucker rat, and high-fructose diet fed rats (insulin resistant), however, no significant hypoglycemic effect was found in the IDDM rats. In spite of fail to decrease the blood sugar in IDDM animal, the improvement of insulin sensitivity was superior to that of traditional Liu-Wei-Die-Huang-Wan. More profound hypoglycemic effect should be addressed on the elaborated Liu-Wei-Die-Huang-Wan.

Keywords: Liu-Wei-Die-Huang-Wan, elaboration, Insulin resistance

壹、前言

地黃，來源於玄參科植物地黃(*Rehmannia glutinosa* Libosch.)的塊根。最早載於《神農本草經》，名乾地黃，製法未述。地黃臨床入藥分為：鮮地黃、乾地黃、熟地黃、生地黃炭、熟地黃炭等。地黃經過不同的炮製方法加工後，其性味、功效亦發生相應的改變。本計畫欲探討六味地黃丸治療糖尿病（即中醫所稱的消渴症），方劑中所含的地黃是否會因地黃的炮製方法不同，也就是說生地黃與熟地黃對於的療效是否有所影響，在此先列出生地黃與熟地黃的差異¹。

生地黃，為地黃乾燥根，歷史上有陰乾、蒸乾、日乾、火乾等多種製法，目前主流製法一般採集鮮根，用無煙火烘炕至乾。張景岳在《景岳全書·本草正》中指出：“生地黃味甘氣涼，氣薄味濃，陰也；鮮者更涼，乾者微涼。能生血補血，涼心火退血熱，去煩躁骨蒸，熱痢下血，止嘔血衄血，脾中濕熱，或婦人血熱而經枯，或上下三消而熱渴，總之其性頗涼，若脾胃有寒者用宜斟酌”²。熟地黃是古時蒸乾地黃演變而來，蒸製是熟地黃炮製的主流方法。歷史上記載較詳者，當推《雷公炮炙論》《千金要方》《本草圖經》。古時熟地黃炮製品性量標準是“光黑如漆，味甘如飴糖。“熟地黃，味甘微苦，味濃氣薄，沉也，陰中有陽。本草言其入手足厥陰少陰經，大補血衰，滋培腎水，填骨髓，宣真陰，補腎中元氣兼療藏血之經……秉至陰之德，氣味純靜，故能補五臟之真陰而又於多血之藏為最要，……諸經之陰血虛者非熟地不可。”。古今對其基本功能的認識一致：均以補血滋陰，益精填髓為功，故被譽為『狀水之主，補血之君』。²

地黃從歷史上生、乾混用，陰乾、蒸乾不分，逐漸演變成鮮地黃、生地黃、熟地黃三個相對獨立的藥用品種，經歷了漫長的認識過程³。在這一過程中，首先應是炮製加工過程引起藥物內在質的變化；然後，地黃炮製品內在質的變化經過許多醫藥學家長期的實踐探索逐步被認識，最終形成了地黃各炮製品相對獨立的藥性、功效和臨床應用內容。然而，地黃透過炮製，究竟在那些方面發現了質的變化，至今仍未認識清楚。這無疑是我們必須面對並要加以解決的問題。

地黃的化學成分包括環烯醚萜類、苷類、醣類、胺基酸以及微量元素。藥理學研究指出，地黃具有增強免疫功能、影響心腦血管系統、刺激造血系統、抗腫瘤作用、抗衰老作用、保護胃粘膜炎、抑制中樞神經系統、改善腎功能以及降血糖作用⁴⁻⁶。現代醫學對於地黃降血糖與治療糖尿病的研究包括：地黃低聚糖可明顯降低四氧嘧啶(Alloxan)糖尿病大鼠的血糖，增加肝糖元含量，降低肝葡萄糖-6-磷酸酶(G-6-P)活性⁶。地黃低聚醣對正常大鼠血糖無明顯影響，但可部分預防葡萄糖及腎上腺素引起的高血糖症。切斷

腎上腺素後，地黃低聚糖對葡萄糖性高血糖的預防作用消失，提示地黃低聚糖不僅可以調節實驗性糖尿病的糖代謝紊亂，亦可調節生理性高血糖狀態。生地黃煎劑、浸劑或醇提取物能明顯降低家兔正常血糖和由腎上腺素、氯化銨引起的高血糖，懷地黃根莖的熱水提取物中乙醇沉澱組分，主要由果膠多糖組成，對正常和鏈脲佐菌素(Streptozotocin; STZ)誘導小鼠的高血糖均有降低作用。地黃中的地黃苷-D 亦具有降低糖尿病模型小鼠血糖的趨勢。由此可見地黃對於治療糖尿病的確有治療潛力⁷。

糖尿病在中醫理論裡稱為消渴症，臨床上多按上消、中消、下消論治。上消主肺燥，中消為胃火，下消多腎陰虛。故治療上以滋陰降火為原則。但糖尿病臨床表現複雜多變，症候常交叉併現，病症多虛實夾雜，變化無常^{8,9}。近代中醫臨床用藥，也經常使用生地黃來治療糖尿病。曾有中醫學者將糖尿病的治療歸納出八類法則，包括潤肺清胃、滋肝益腎、補氣健脾、化瘀除濕、活血化瘀、溫腎壯陽、潤腸通腑以及疏肝解郁八法¹⁰，此八大類法則的用藥，經常使用生地黃。另一方面，學者曾針對張仲景應用地黃的特點整理出：生地黃即鮮地黃，其清熱生津突出，主要用於百合病、狂妄証、心動悸証，辨證為陰虛內熱者，其用量較大，並多取汁服用；而乾地黃為今生地黃，以滋陰養血、涼血止血為主，常用於各種虛勞病、消渴、便血、婦人轉胞以及婦人下血三証，多屬慢性久病之虛證或婦科疾患，用量較小，常入於丸劑。由此可見生地黃確為中醫自古至今常用的治療藥物¹¹。

然而，第二型糖尿病屬中醫“消渴”病範疇，糖尿病人基本病機為陰虛，而尤以腎陰虛為主，臨床上常以六味地黃丸治療之¹²。六味地黃丸最早記載於宋代醫家錢乙所著的《小兒藥證直訣·卷下》，稱地黃圓，系東漢醫聖張仲景《金匱要略》中的腎氣丸衍化而成，由熟地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、牡丹皮、白茯苓六味藥成方。六味地黃丸自成方以來，其應用得到了不斷地發展，目前在臨床糖尿病的治療上有著廣泛的應用，並取得了肯定的療效。六味地黃丸重用熟地黃、山藥補腎健脾，益氣養陰生精。許多報導均已指出，六味地黃丸對治療第二型糖尿病、改善胰島素抗阻(insulin resistance; IR)有顯著的效果^{13,14}。但對照古今中醫使用地黃治療糖尿病的原則發現，生地黃以及六味地黃丸中含有的熟地黃，顯然是因為不同的辨證而採用不同炮製的地黃。

中醫講究辨證論治，方劑也可隨著症狀的不同進行加減，只要調動其中幾味藥的成分與劑量，就可以針對不同症候的患者，中醫中藥的可貴之處在此可得到最好的體現。中藥製劑品質的精緻化可就兩個層次來探討，一種是減方達到相同的效果，另一種則是改變部分配方或製程，達到更好的效果。以六味地黃丸目前在臨床上的使用方法，將配方中的熟地黃改變成生地黃可能可以得到更佳的效果，達到中藥製劑精緻化的目的。此外，

本實驗室過去的研究也證實六味地黃丸的山藥可能在降低胰島素阻抗的功能上較其他成分重要¹⁵，因此，本研究也同時探討減方之六味地黃丸是否亦可達到相同的功效。其中，丹皮在臨床的應用主要在抗發炎作用；而澤瀉與茯苓均具利尿滲溼之效，又以澤瀉較佳，因此，本研究亦同時探討減去丹皮與茯苓二味藥後之地黃丸的效果，是否可作為中藥精緻化的參考。

中醫治療講究在望聞問切的基礎上辯證施治，遵循『虛則補之、實則瀉之，寒則溫之、熱則寒之』的用藥規律，因而在不能明辨病機的情況下盲目用藥不但無法調和陰陽平衡，反而會加重病情¹⁶。本研究團隊在過往的研究中，已經證明六味地黃丸對於胰島素抗阻有非常顯著的治療效果¹⁷⁻²⁰，但是能否將六味地黃丸在全面應用在糖尿病臨床治療上，仍然存在著待解決的問題，例如針對第一型糖尿病患的治療，效果並不如預期有效；中醫治病精髓在辯證施治，但目前對於糖尿病的症候尚缺乏統一標準，因此六味地黃丸若能針對不同類型的糖尿病都有功效，將可成為理想且精緻化的糖尿病治療用藥。

貳、材料與方法

一、藥物精緻化流程

本計畫將委託 G.M.P. 藥廠配合本研究，配製本計畫所使用的藥物：

- (一) 傳統六味地黃丸：藥方組成包括熟地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、茯苓、丹皮。
- (二) 精緻化六味地黃丸(一)：藥方組成包括生地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、茯苓、丹皮。
- (三) 精緻化六味地黃丸(二)：藥方組成包括生地黃、山茱萸、山藥、澤瀉、丹皮。
- (四) 材料規格分析：本計畫所使用之藥材規格，將委託藥檢局張獻昌教授進行藥材分析鑑定。藥材的成分分析，則是利用 HPLC 分析地黃主要成分，包括梓醇(catalpol)及菜豆糖(stachyose)在傳統與精緻化之六味地黃丸含量的差異性。分離 Catalpol 所使用的 mobile phase 為 acetonitrile : H₂O = 2:98, flow rate 為 1 ml/min; 分離 stachyose 之 mobile phase 為 0.35 N NaOH, flow rate 為 0.4 ml/min。

二、藥物精緻化與否對糖尿病療效的影響評估

(一) 胰島素抗阻性大鼠 (IR-rat) 的誘導

八週大的 Wistar 雄性大鼠購自國立成功大學醫學院動物中心，將大鼠給予 60% 果糖飼料，使自由攝食約 20 天²¹。以腹腔注射 pentobarbital 30mg/kg 將之麻醉後，自腹腔注射 10mg/kg 的 Tolbutamide 測試，於給藥前及 90 分鐘後，抽取尾靜脈血，利用葡萄糖試劑 (Glucose kit) 測量血糖值。當 Tolbutamide 原有的降糖作用消失，即視為「胰島素抗阻性大鼠」。

(二) 胰島素依賴型糖尿病大鼠 (STZ-rat) 的誘導

將 8 週大的 Wistar 雄性大白鼠絕食 72 小時後，由股靜脈注射 streptozotocin (STZ) (60.0 mg/kg)²²。經 72 小時後，抽取靜脈血，利用葡萄糖試劑 (glucose kit) 測量血糖值。當老鼠的血糖值大於 350mg/dL，並有糖尿病三多症狀出現(多吃、多喝、多尿)，即視為胰島素依賴型糖尿病大鼠。

(三) 實驗動物分組

本研究實驗動物分成兩大部份，包括胰島素抗阻性大鼠 (IR-rat) 以及胰島素依賴型糖尿病大鼠 (STZ-rat)，兩部份皆將大鼠分為 (a) 正常 Wistar 大鼠組、(b) IR-rat 或 STZ-rat 對照組、(c) IR-rat 或 STZ-rat 實驗組 (給予傳統含有熟地黃的六味地黃丸)、(d) IR-rat 或 STZ-rat 實驗組 (給予精緻後含有生地黃的六味地黃丸)，(e)

IR-rat 或 STZ-rat 對照組(給予熟地黃材料對照組)，(f) IR-rat 或 STZ-rat 對照組(給予生地黃材料對照組)，及(g)減方之六味地黃丸共七組。藥物以餵管方式口服投予，給藥期間皆為一週。

(四) 胰島素抗阻試驗，Homeostasis model assessment-insulin resistance (HOMA-IR)

HOMA-IR 是臨床上用來評估胰島素抗阻性的方法之一。將胰島素抗阻性大鼠絕食約八個小時後抽血，測禁食狀態下的血糖及胰島素濃度。將血糖(mmol/l)及胰島素濃度(U/ml)相乘後再除以常數(22.5)即為 HOMA-IR 值，作為評估胰島素抗阻性的依據²³。

測血糖的方法如下：將所抽到的血液，以 13,000 rpm，離心 3 分鐘，取上層的血清 10 μ l，加入葡萄糖反應試劑 1.0ml，混合均勻後，於 37 $^{\circ}$ C 恆溫水槽中反應 5 分鐘後利用血糖機(Quik-lab chemistry analyzer)測量血中葡萄糖值。

胰島素濃度測定的方法如下：使用 Mercodia rat insulin ELISA kit，送入 Microreader，用波長 450 nm 讀取吸光值，求得 sample 中胰島素濃度。

(五) 葡萄糖耐受性試驗(Glucose tolerance test)

為了有效地評估藥物是否可改善胰島素抗阻性，利用外給葡萄糖，在果糖誘發的胰島素抗阻性大鼠身上進行葡萄糖耐受性試驗 (Glucose tolerance test)，並藉由 glucose-insulin index 進一步來看胰島素抗阻性是否獲得緩解。在實驗的前一晚先將果糖大鼠絕食，並分成控制組和給藥組。控制組於尾靜脈注射同體積的 Saline，而給藥組分別以餵管給予果糖大鼠不同製程的六味地黃丸。15 分鐘後，再以腹腔注射的方式給予各組老鼠葡萄糖 1g/kg，以此為零點。然後，收集 0，30，60，90，120 分鐘後的血液，測量血糖及胰島素的變化²⁴。

(六) 胰島素分泌

為評估六味地黃丸對於促進胰島素分泌的反應性，斷食一夜的正常大鼠餵管給予不同劑量之六味地黃丸後，於 pentobarbital (30 mg/kg，腹腔注射)麻醉下，在 90 分鐘的時間點，抽取尾靜脈血，進行血胰島素含量的測量。

(七) 資料分析

結果均將以平均值 \pm 標準差(SD)來表示。資料以 t-test (two tail) 比較兩組間的差異；或以 OneWay ANOVA 分析各組間的差異。若 P 值在 0.05 或以下者，則屬於有顯著差異。

參、結果

一、精緻化六味地黃丸之製備

本計畫製備之六味地黃丸，每 26 克成分比例如下：熟地黃 8.3 g，山茱萸 4.2 g，牡丹皮 3.1 g，山藥 4.2 g，茯苓 3.1 g，澤瀉 3.1 g。進行精緻化時，乃將上述比例之熟地黃置換為同量之生地黃。減方則是利用澱粉等比例置換欲減去之單味藥。

二、傳統六味地黃丸(含熟地黃)對大白鼠及 STZ 糖尿病大白鼠的降血糖作用

將禁食的大白鼠，空腹八小時後，以 pentobarbital 麻醉，經口給與不同劑量的傳統六味地黃丸(10、15、20、26、52 mg/kg)。經 90 分鐘後，發現在正常大白鼠，傳統六味地黃丸降血糖作用在 10 mg/kg 的劑量即可產生(圖一)，血糖值由原先 92.4 ± 1.4 mg/dl 降至 82.8 ± 3.2 mg/dl，降血糖的百分率達 10.5 ± 1.8 %，且以劑量相關的型式出現降血糖作用，而在 26 mg/kg 的劑量時，呈現最大降血糖作用。另外，在 STZ 糖尿病大白鼠，給予傳統六味地黃丸最高有效劑量 26 mg/kg，仍看不到降血糖作用，血糖值由原先 369.5 ± 1.2 mg/dl 變成 372.0 ± 3.6 mg/dl，幾乎等於沒有作用(圖二)。

三、傳統六味地黃丸對第二型糖尿病老鼠(Zucker Fatty rats)的降血糖作用

傳統六味地黃丸可使正常大白鼠產生降血糖作用達百分之廿五(圖二)，然而對 STZ 引致的第一型糖尿病動物模式卻無作用。因此，本計畫繼續探討傳統六味地黃丸對於第二型糖尿病動物模式(Zucker Fatty rats)是否具有降血糖的作用。結果顯示，第二型糖尿病老鼠空腹八小時後，以 pentobarbital 麻醉，經口灌食不同劑量的傳統六味地黃丸(10、15、20、26、52 mg/kg)。經 90 分鐘後，發現在第二型糖尿病老鼠，傳統六味地黃丸降血糖作用在 15mg/kg 的劑量即可產生，血糖值由原先 98.9 ± 1.5 mg/dl 降至 90.8 ± 3.0 mg/dl，降血糖的百分率達 8.2 ± 1.6 % ($P < 0.05$) (圖三)，且以劑量相關的型式出現了降血糖的作用。顯示傳統六味地黃丸對於第二型糖尿病老鼠具有明顯的降血糖作用。

四、傳統六味地黃丸對刺激胰島素分泌的作用

傳統六味地黃丸具有降低正常大鼠及第二型糖尿病大鼠血糖的作用，本計畫亦同時分析傳統六味地黃丸是否具有增加胰島素分泌的作用，結果顯示，正常大鼠在斷食後再餵食傳統六味地黃丸，血液胰島素的含量會顯著的增加，而且呈劑量相關性。同時血中 C-peptide 的濃度增加趨勢也相仿，顯示傳統六味地黃丸確實可以增加內生性的胰島素分泌(圖四)。

五、六味地黃丸之減方藥與單味藥對降血糖的作用

為了解六味地黃丸複方中何者為降血糖之重要成分，本計畫特別委託廠商製備不同減方藥及單味藥，以了解減去某單味藥後六味地黃丸對於降血糖的影響。不同減方藥餵食空腹之正常大鼠後，測量 60、90 及 120 分鐘後的血糖變化，結果發現，大部分減方藥降血糖的作用似乎較完整的六味地黃丸略低，但並無統計上的顯著差異(表一、二)。唯有減去山茱萸組別，幾乎沒有降血糖的作用，因此，傳統六味地黃丸成分，山茱萸似乎在降血糖作用扮演重要的角色。本計畫進一步將六味地黃丸之單味藥分別餵食空腹之正常大鼠，結果發現，山茱萸單味藥具有最佳之降血糖作用(表三)，其次為熟地黃。

六、精緻化六味地黃丸之降血糖作用

本計畫及本實驗室過去的研究發現，傳統的六味地黃丸似乎對改善第一型糖尿病患者血糖並無太大幫助，因此，利用生地黃重新製備精緻化之六味地黃丸，並分析其降血糖之功效。結果發現，精緻化的六味地黃丸，對第一型糖尿病的血糖改善與傳統六味地黃丸並無顯著差異(圖五)，然而，在正常及第二型糖尿病大鼠則發現精緻化六味地黃丸具有較佳的降血糖作用(圖六、七)，若單獨餵食第二型糖尿病大鼠生地黃及熟地黃單味藥，結果也發現生地黃具有較佳的降血糖功能(圖八)。

七、精緻化六味地黃丸對第一型糖尿病胰島素敏感性測試

雖然生地黃取代熟地黃的精緻化六味地黃丸對第一型糖尿病的血糖無顯著的改善，但對於其胰島素敏感性的作用仍屬未知。本計畫將第一型糖尿病大鼠(STZ-rats)分成三組，分別餵食 20mg/kg 體重的傳統六味地黃丸、精緻化六味地黃丸，以及相同的劑量的生理食鹽水，餵食六十分後，靜脈注射 0.1 IU 胰島素，胰島素注射後卅分鐘，測量血糖值，依同樣方法持續注射 0.5 IU 及 1 IU 胰島素，測量胰島素注射卅分鐘後之血糖變化。結果顯示，傳統六味地黃丸(熟地黃)配合胰島素之注射，產生降血糖的作用顯著優於餵食生理食鹽水再注射胰島素的組別($37.76 \pm 6.03\%$ vs $24.00 \pm 12.31\%$)(圖九)。而精緻化六味地黃丸(生地黃)配合胰島素降血糖的作用，則又比傳統生地黃的組別更好($48.00 \pm 14.39\%$ vs $37.76 \pm 6.03\%$)(圖九)。若分別將生地黃與熟地黃餵食三天，可以發現熟地黃組在三天後對於胰島素的敏感性似乎較第一天為差(圖十)，反觀生地黃組在餵食三天後對胰島素的敏感性仍與第一天相近，顯示生地黃增加胰島素敏感性的時間可維持較久(圖十一)。

八、精緻化六味地黃丸之葡萄糖耐受性實驗

精緻化之六味地黃丸具有改善第二型糖尿病的血糖，然而是否亦可改善胰島素阻抗的作用？本計畫利用生地黃及熟地黃單味藥餵食第二型糖尿病大鼠七天，觀察試驗前後葡萄糖耐受性的反應。結果發現，無論是生地黃或是熟地黃，均可改善第二型糖尿病大鼠葡萄糖耐受性(圖十二、十三)。

肆、討論

中醫藥的精緻化與規格化，是將中華民族歷史悠久的經驗醫學發揚光大所必經的途徑。吾人以為，中醫藥的精緻化可分為質的改變與量的加減兩個方向進行，然而無論如何變化，勢必有不能兼顧之處，這也與中醫藥行醫時用藥需視四診心法結果斟酌加減方有關。

本計畫針對傳統六味地黃丸進行藥品成分精緻化的研究，結果發現，在質的變化上，利用生地黃精緻化取代傳統六味地黃丸熟地黃的成分，雖然仍不能解決傳統六味地黃丸對第一型糖尿病束手無策的問題，然而就增加胰島素敏感性的功能而言，精緻化六味地黃丸顯著的較傳統六味地黃丸為優。同時，對第二型糖尿病大鼠的降血糖作用，精緻化的六味地黃丸效果也顯然勝過傳統地黃丸的功能；而單獨使用生地黃與熟地黃作測試其結果亦相符，顯示以生地黃取代熟地黃在傳統六味地黃丸的角色似乎可發揮藥品更好的效果。唯長期服用精緻化的六味地黃丸，是否會造成肝腎功能的額外負擔，仍值得進一步探討。

在傳統六味地黃丸減方後對正常大鼠降血糖的研究結果顯示，除了減去山茱萸之外，其餘各種減方藥對降血糖作用的改變並不明顯。而各單味的降血糖測試結果顯示山茱萸及熟地黃對於降血糖的效果名列前茅。目前本實驗室的初步研究顯示，山茱萸降血糖的作用可能是透過刺激胰島素分泌及藉由副交感神經的 M3 受體作用達成²⁵，但詳細機制值得進一步研究。

根據美國聯邦政府藥物暨食品管理局(Food and Drug Administration, FDA)於 2000 年公告的「植物性藥品規範草案(FDA Botanical Drug Products Guidance, Drafted Aug.5, 2000)」²⁶，認為傳統中草藥在人體使用之經驗具一定之歷史，其安全性方面的疑慮較小，此類的植物新藥研發可從人體臨床 Phase II 開始。也就是說，這項公告不僅減少了植物性新藥開發的耗時耗費，使更多有效的植物新藥可以提早問世以增進人類的健康；對台灣中醫藥相關產業而言，更是一項利多。根據世界衛生組織(WHO)的估計，2002 年全球中藥的產值約 650 億美金，若依每年 10% 的成長速率，今年全球相關產業約有 1000 億的產值。

本計畫結果顯示傳統六味地黃丸雖然對第一型糖尿病大鼠沒有顯著的降血糖效果，但是會增加糖尿病大鼠對胰島素的敏感性；將熟地黃置換成生地黃的精緻化六味地黃丸，效果又更佳，顯示精緻化的六味地黃丸，對於糖尿病的治療更具潛力，而且，可透過增加胰島素敏感性的機制來達成。以目前市場價值及開發新藥的優勢地位，值得進一步廣泛的研究生地黃的作用機制及其安全性。

伍、結論與建議

綜上所述，本計畫認為生地黃具有替代熟地黃做為新型式六味地黃丸開發為糖尿病治療藥物的潛力。此外，希望政府機關可以針對本項研究發現做延伸的研究，包括生地黃改善胰島素阻抗的分子機制，以及精緻化六味地黃丸的安全性評估等，相信可造福更多糖尿病患者。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會計畫編號 CCMP96-RD-046 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

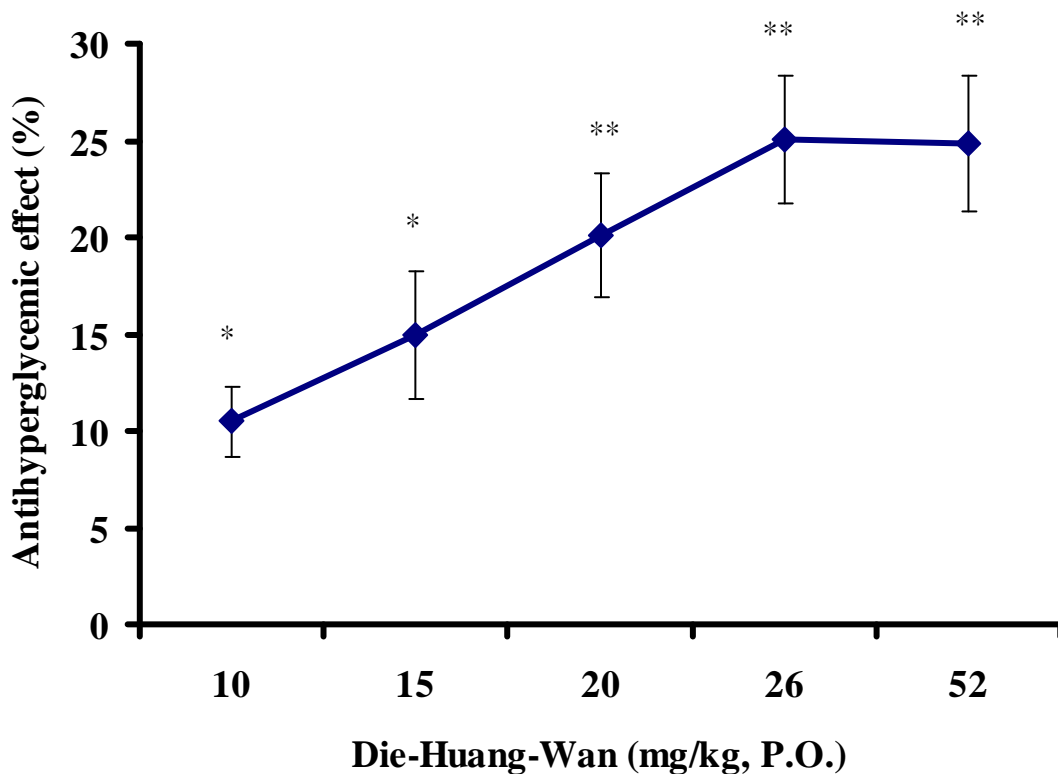
陸、參考文獻

1. 王莉 地黃論異 浙江中醫雜誌 2006; 41: 580-581.
2. Yi W. The discuss about zhang zhong-jing Radix Rehmaniae using. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine 2006; 12: 942-943.
3. 劉麗娜, 李寅超, 馮靜 地黃制用源流 中醫研究 2006; 19: 20-22.
4. 曾艷, 張汝學 地黃化學成分及藥理研究進展 中成藥 2006; 28: 609-611.
5. Anh NT ST, Franke K. Phytochemical studies of Rehmannia glutinosa rhizomes. Pharmazie 2003; 58: 593-595.
6. Zhang R ZJ, J ia Z Hypoglycemic effect of Rehmannia glutinosa oligosaccharide in hyperglycemic and alloxan-induced diabetic rats and its mechanism. J Ethnopharmacol 2004; 90: 39-43.
7. Li Jun ZL, Zhang Zhenling. Recent development of Radix rehmanniae. Journal of Henan University of Chinese Medicine 2005; 20: 79-83.
8. 胡豔麗 中醫治療二型糖尿病腎病研究進展 河北中醫 2006; 28: 635-637.
9. 路志敏, 馬艷東 中醫藥治療二型糖尿病近況 河北中醫 2002; 24: 221-224.
10. 徐竺婷, 金群雷. 中醫辨治糖尿病八法 遼寧中醫學院學報 2004; 6: 106-107.
11. 徐佩英, 丁學屏 治療糖尿病經驗 上海中醫藥雜誌 2006; 40: 5-7.
12. 薛耀明, 羅仁 六味地黃丸在糖尿病治療中的應用與研究 現代中西醫結合雜誌 2005; 14: 1925-1927.
13. 郝賢, 楊豐源 二型糖尿病胰島素抵抗的實驗與臨床研究進展 中國初級衛生保健 2006; 20: 60-61.
14. Tai TY. Effect of Liu-Wei-Di-Huang-Wan on metabolic control in type 2 diabetic subjects—A multi-center, double-blinded, placebo-controlled study. Yearbook of Chinese Medicine and Pharmacy 2004; 22: 41-60.
15. Hsu JH, Wu YC, Liu IM, Cheng JT. Dioscorea as the principal herb of Die-Huang-Wan, a widely used herbal mixture in China, for improvement of insulin resistance in fructose-rich chow-fed rats. J Ethnopharmacol 2007: 112:577-84.
16. 王如沾 糖尿病中要篩選組方思路 山東中醫雜誌 1996; 15: 536-537.
17. Cheng JT, Liu IM, Chi TC, Su HC, Chang CG. Stimulation of insulin release

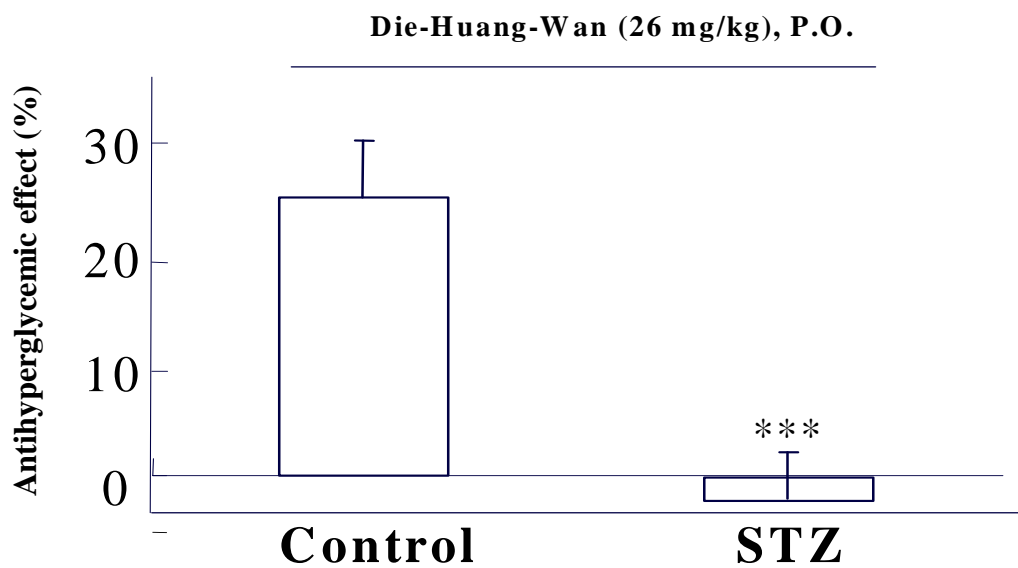
- in rats by Die-Huang-Wan, a herbal mixture used in Chinese traditional medicine. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 2001; 53: 273-276.
18. Liou SS, Liu IM, Hsu JH, Wu YC, Hsu SF, Chen JT. Release of acetylcholine by Die-Huang-Wan to enhance insulin secretion for lowering plasma glucose in Wistar rats. *Auton Neurosci* 2002; 100: 21-26.
 19. Liou SS, Liu IM, Hsu SF, Cheng JT. Corni fructus as the major herb of Die-Huang-Wan for lowering plasma glucose in Wistar rats. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 2004; 56: 1443-1447.
 20. Wu YC, Hsu JH, Liu IM, Liou SS, Su HC, Cheng JT. Increase of insulin sensitivity in diabetic rats received die-huang-wan, a herbal mixture used in Chinese traditional medicine. *Acta pharmacologica Sinica* 2002; 23: 1181-1187.
 21. Josefa NC RM, Francisco PV, Victoria C, Lius MP, Juan T, Vicente L. Effects of losartan on blood pressure, metabolic alterations, and vascular reactivity in the fructose-induced hypertension rats. *Hypertension* 1995; 26: 1074-1078.
 22. Chang SL LJ, Chi TC, Liu IM, Cheng JT. An insulin-dependent hypoglycaemia induced by electroacupuncture at the Zhongwan (CV12) acupoint in diabetic rats. *Diabetologia* 1999; 42: 250-255.
 23. Borona ETG, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zenere MB, Monauni T, Muggeo M. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23: 57-63.
 24. Spraul MAE, Bogardus C, Ravussin E. Muscle sympathetic nerve activity in response to glucose ingestion. Impact of plasma insulin and body fat. *Diabetes* 1994; 43: 191-196.
 25. Iismaa TP, Kerr EA, Wilson JR, Carpenter L, Sims N, Biden TJ. Quantitative and functional characterization of muscarinic receptor subtypes in insulin-secreting cell lines and rat pancreatic islets. *Diabetes*. 2000; 49:392-398.
 26. <http://www.fda.gov/cder/guidance/4592fn1.htm>

柒、圖、表

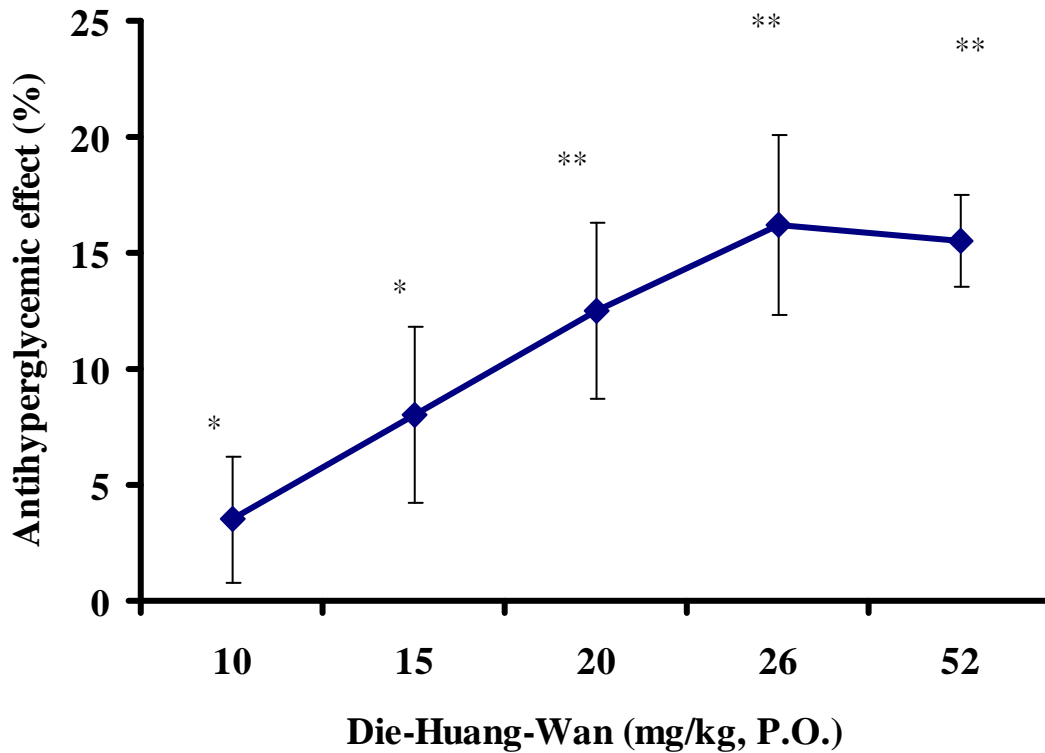
圖一、不同劑量之傳統六味地黃丸對正常大鼠之降血糖作用，
* $p < 0.05$; ** $P < 0.01$ vs baseline, N=8



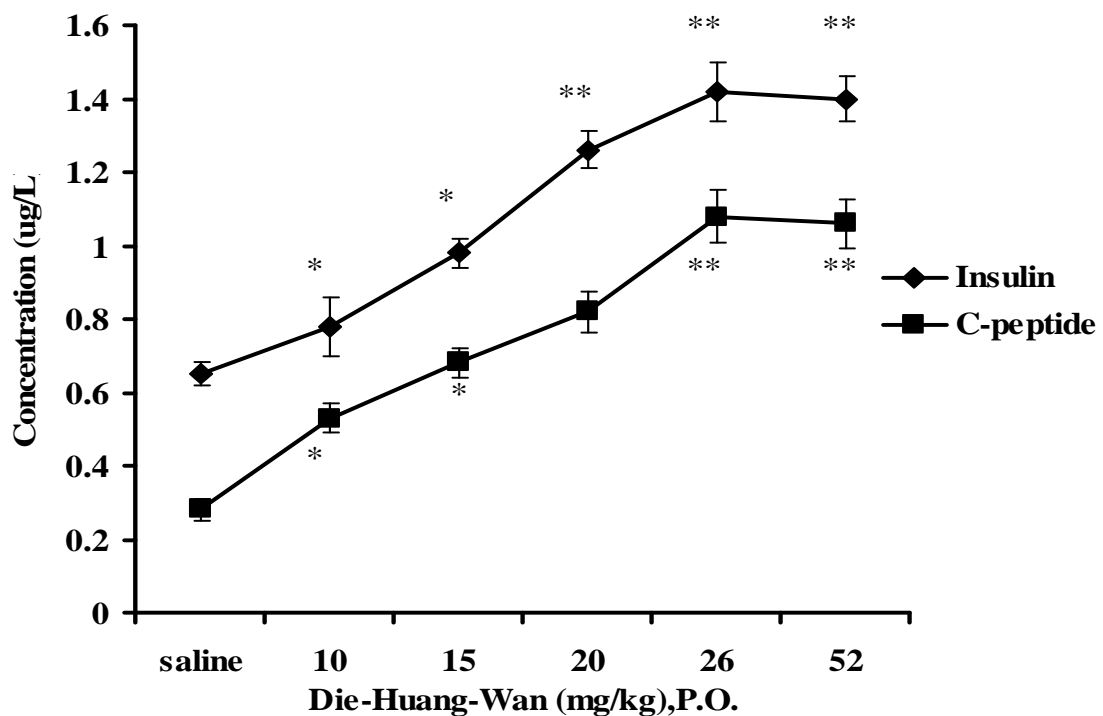
圖二、傳統六味地黃丸在第一型糖尿病大鼠(STZ)降血糖作用。
*** $P < 0.001$ vs control, N=8



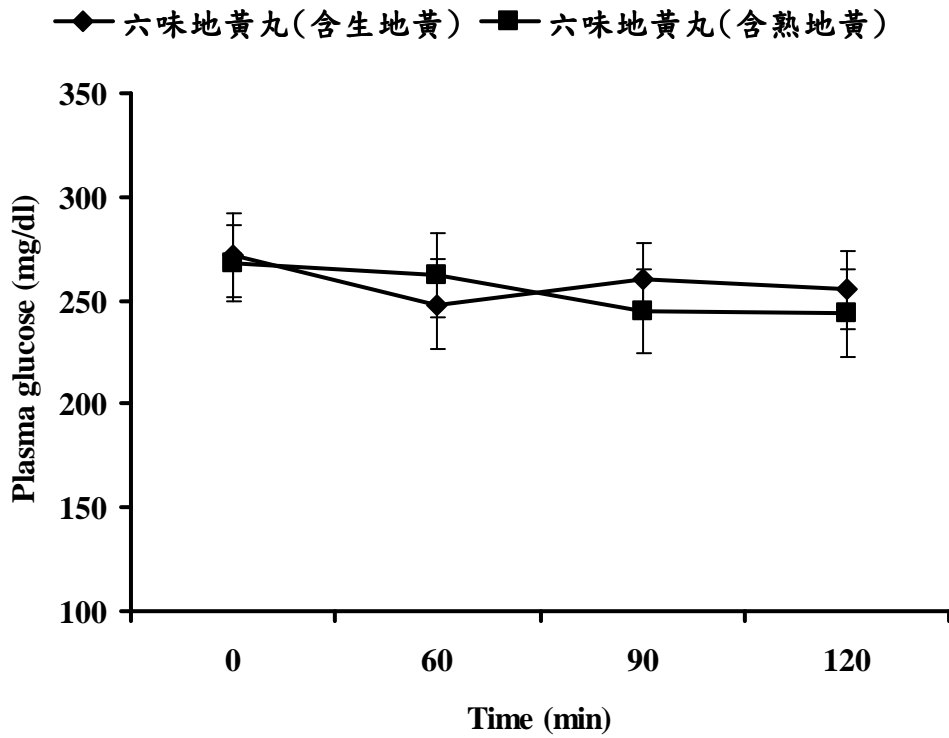
圖三、不同劑量之傳統六味地黃丸對第二型糖尿病大鼠之降血糖作用，
*p<0.05; **P<0.01 vs baseline, N=8



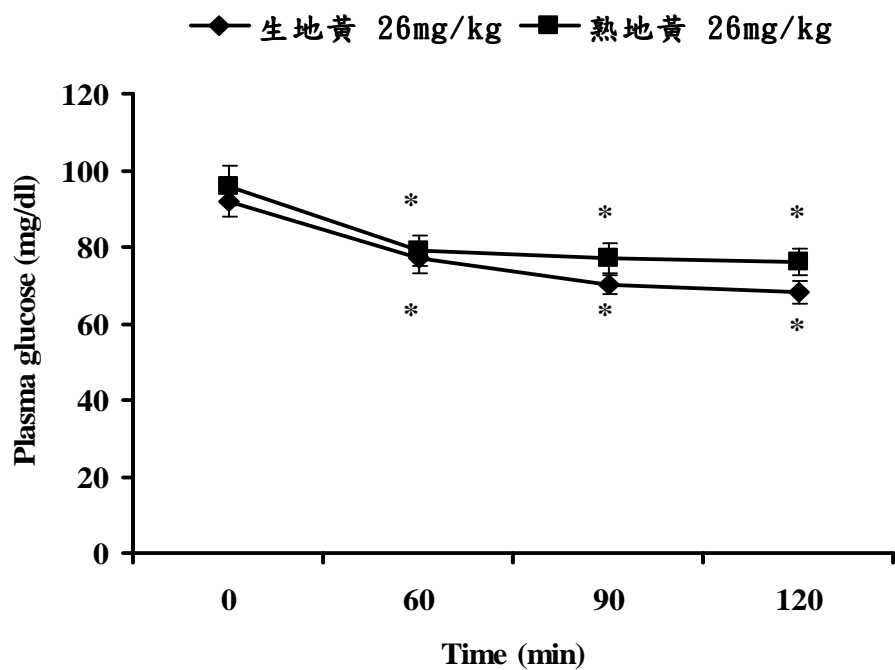
圖四、不同劑量之傳統六味地黃丸對正常大鼠胰島素分泌之影響。
*p<0.05; **P<0.01 vs saline, N=8



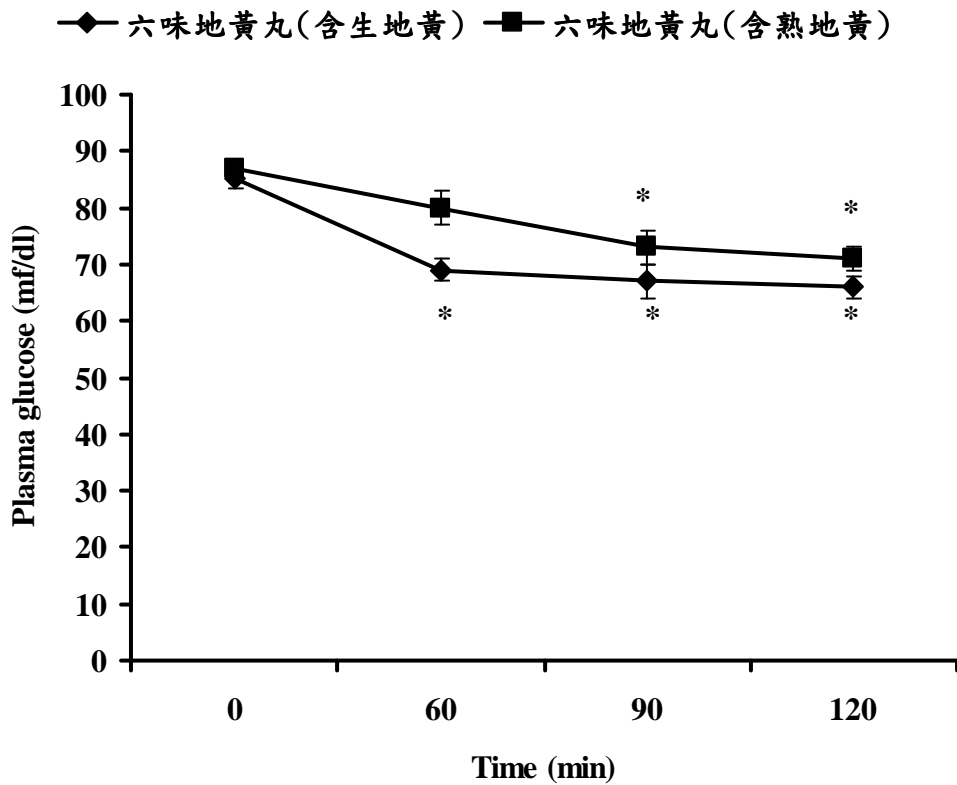
圖五、傳統六味地黃丸(含熟地黃 26mg/kg)與精緻化六化地黃丸(26mg/kg)對第一型糖尿病大鼠降血糖作用之比較。N=8



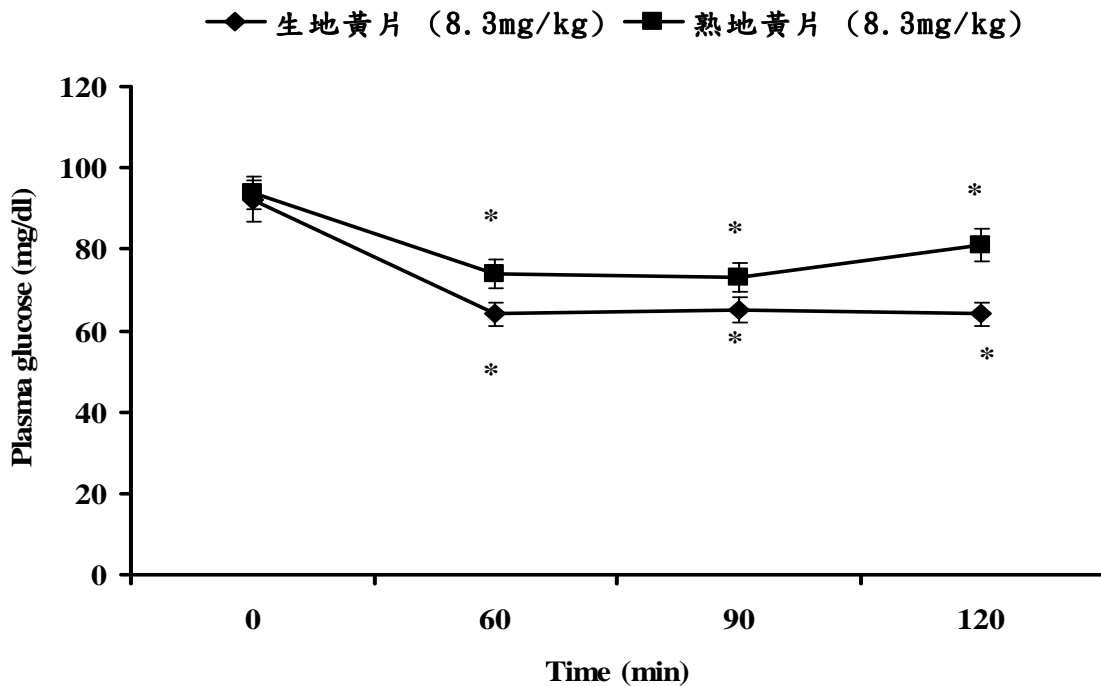
圖六、傳統六味地黃丸(含熟地黃 26mg/kg)與精緻化六化地黃丸(26mg/kg)對正常大鼠降血糖作用之比較。*p<0.05 vs 0', N=8



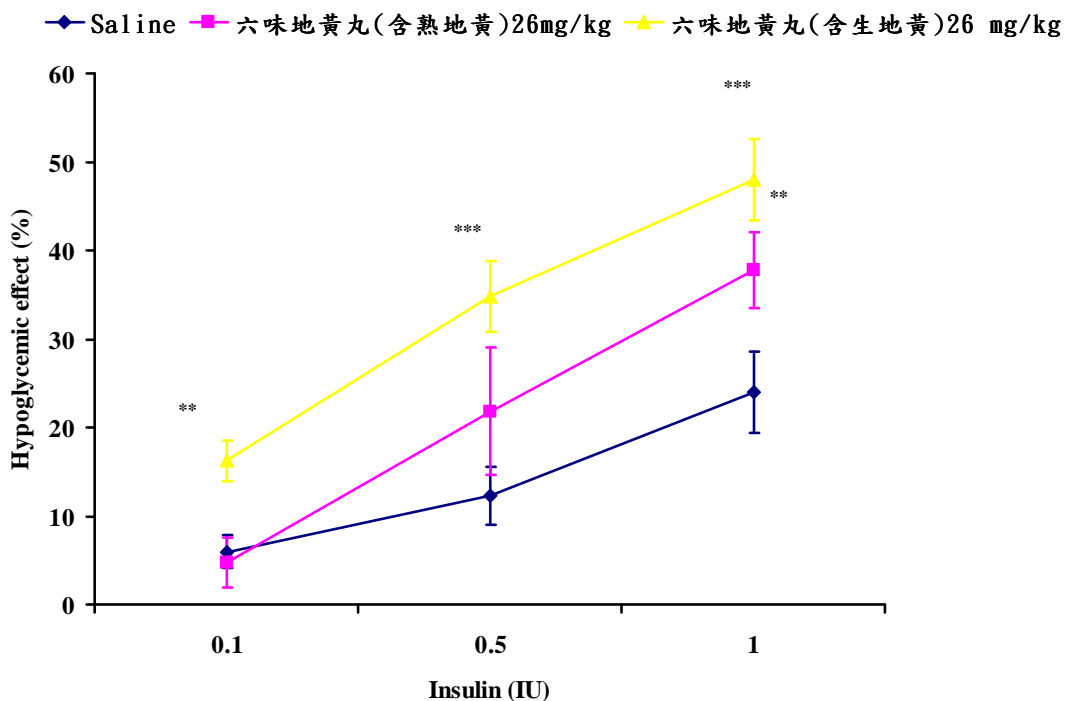
圖七、傳統六味地黃丸(含熟地黃 26mg/kg)與精緻化六化地黃丸(26mg/kg)對第二型糖尿病大鼠降血糖作用之比較。* $p < 0.05$ vs 0', N=8



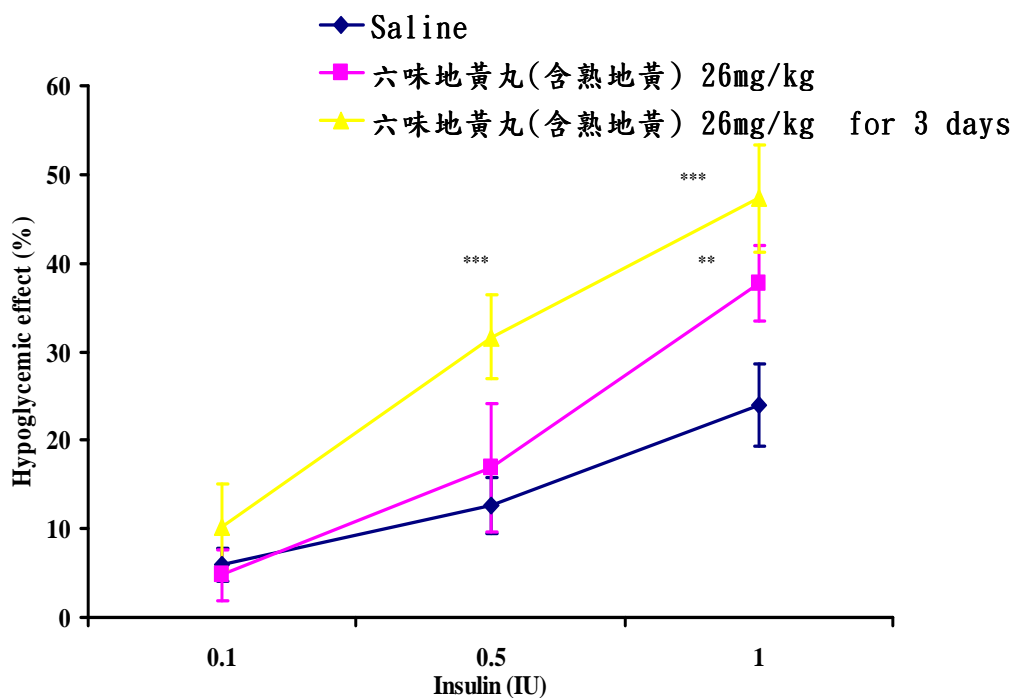
圖八、熟地黃片(8.3 mg/kg)與生地黃片(8.3 mg/kg)對第二型糖尿病大鼠降血糖作用之比較。* $p < 0.05$ vs 0', N=8



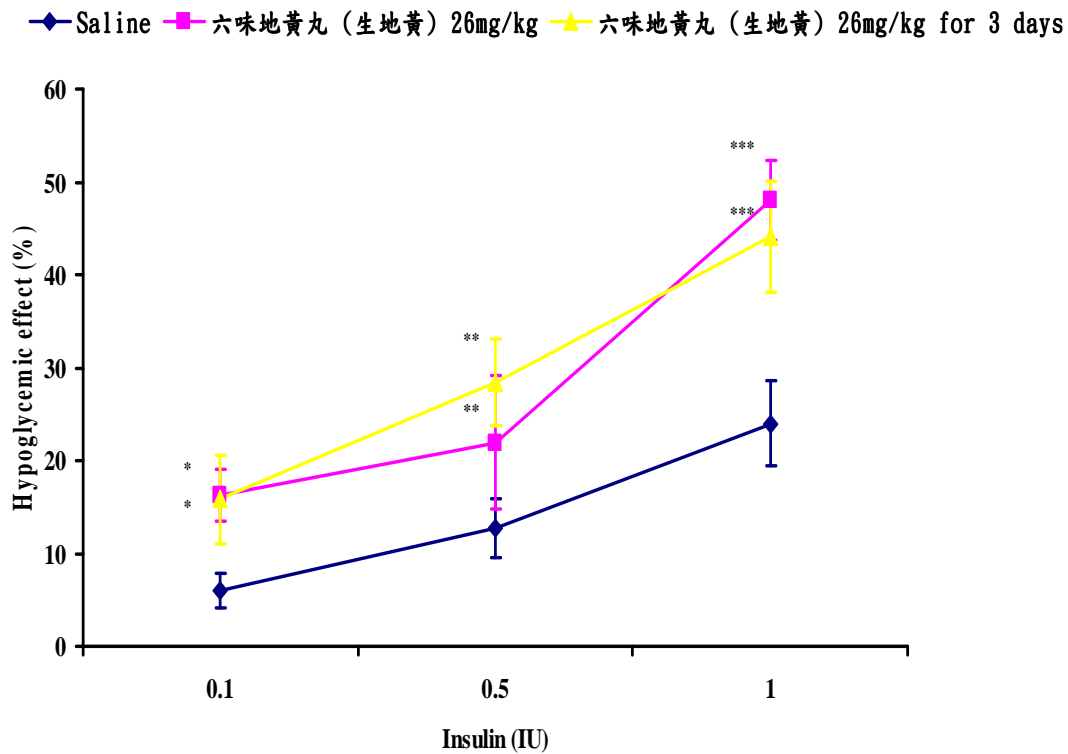
圖九、傳統六味地黃丸(含熟地黃 26mg/kg)與精緻化六化地黃丸(26mg/kg)對第一型糖尿病大鼠胰島素敏感性之比較。 **p<0.01; ***p<0.001 vs saline group, N=8



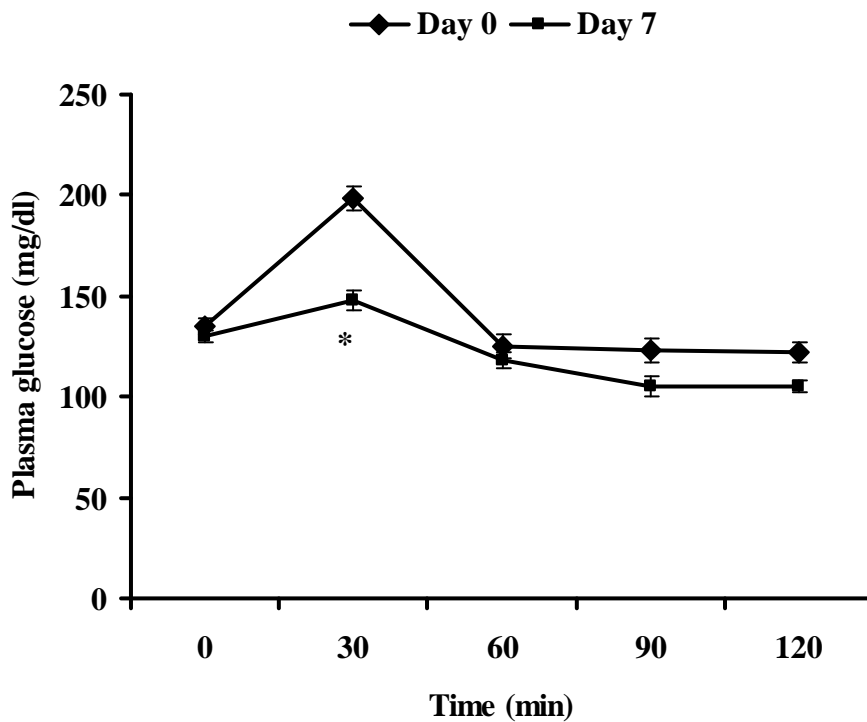
圖十、第一型糖尿病大鼠餵食傳統六味地黃丸(含熟地黃 26mg/kg)三天後之胰島素敏感性。 **p<0.01; ***p<0.001 vs saline group, N=8



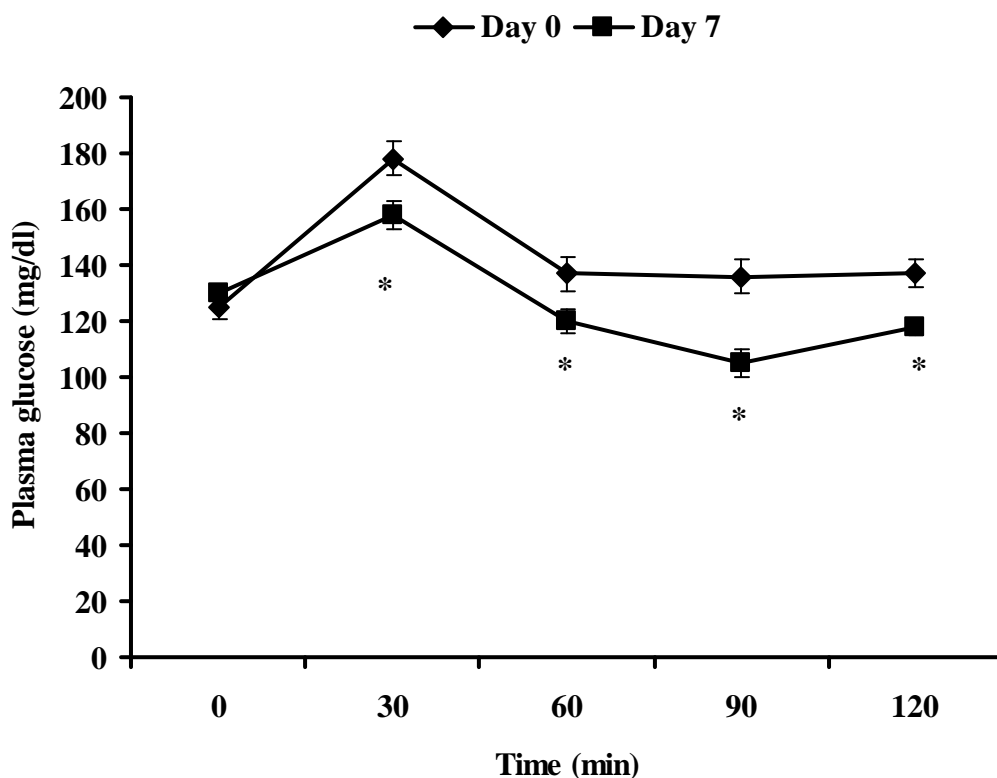
圖十一、第一型糖尿病大鼠餵食精緻化六味地黃丸(含生地黃 26mg/kg)三天後之胰島素敏感性。 **p<0.01; ***p<0.001 vs saline group, N=8



圖十二、第二型糖尿病大鼠餵食熟地黃 8.3mg/kg 七天後葡萄糖耐受性之影響。 *p<0.05 vs day 0, N=8



圖十三、第二型糖尿病大鼠餵食生地黃 8.3 mg/kg 七天後葡萄糖耐受性之影響。*p<0.05 vs day 0, N=8



表一、傳統六味地黃丸(10mg/kg)減去等比例單味藥對正常大鼠之降血糖作用百分比**p<0.05 vs 六味地黃丸，N=8

	60 分	90 分	120 分
六味地黃丸	7.8 ± 3.4	10.5 ± 1.8	8.6 ± 3.2
去熟地黃	7.4 ± 2.3	8.7 ± 3.8	9.4 ± 2.0
去澤瀉	9.2 ± 3.4	14.3 ± 2.0	13.0 ± 4.8
去丹皮	10.3 ± 2.6	11.9 ± 2.7	9.4 ± 3.6
去茯苓	12 ± 3	10.0 ± 1.4	10.7 ± 2.2
去山藥	7.5 ± 4.2	14.2 ± 4.1	14.2 ± 4.3
去山萸萸	0.8 ± 3.7**	0.7 ± 2.2**	0.7 ± 2.3**

表二、傳統六味地黃丸(26mg/kg)減去等比例單味藥對正常大鼠之降血糖作用百分比**p<0.05 vs 六味地黃丸，N=8

	60 分	90 分	120 分
六味地黃丸	19.5 ± 4.0	25.1 ± 3.3	18.5 ± 4.1
去熟地黃	14.6 ± 3.3	18.4 ± 4.1	14.4 ± 2.6
去澤瀉	19.3 ± 3.4	22.3 ± 2.1	16.7 ± 5.0
去丹皮	17.3 ± 2.8	20.9 ± 2.0	15.5 ± 1.6
去茯苓	18.8 ± 3.5	18.8 ± 2.9	17.1 ± 2.7
去山藥	17.9 ± 3.2	18.8 ± 5.1	21.4 ± 4.1
去山萸萸	1.1 ± 3.4**	2.0 ± 3.1**	1.7 ± 2.5**

表三、傳統六味地黃丸(26mg/kg)或等比例單味藥對正常大鼠之降血糖作用百分比，N=8

	60 分	90 分	120 分
六味地黃丸(26mg/kg)	19.5 ± 4.0	25.1 ± 3.3	18.5 ± 4.1
熟地黃(8.3mg/kg)	4.2 ± 3.3	11.9 ± 4.7	7.8 ± 4.3
澤瀉(3.1mg/kg)	5.8 ± 4.3	7.2 ± 3.1	5.8 ± 4.8
丹皮(3.1mg/kg)	3.9 ± 3.7	7.0 ± 2.1	4.2 ± 3.4
茯苓(3.1mg/kg)	5.8 ± 4.0	7.7 ± 2.1	7.9 ± 3.0
山藥(4.2mg/kg)	5.9 ± 3.0	6.7 ± 4.2	4.7 ± 4.1
山萸萸 94.2mg/kg)	11.4 ± 2.6	21.3 ± 3.1	16.8 ± 4.5

