

編號：CCMP95-TP-007

中草藥指標、有效成分與標準品之研究 與開發

楊堉麟

中華醫事學院

摘 要

本計劃乃配合行政院衛生署中醫藥委員會中醫藥健康安全防护網計畫為任務導向，因此本計畫擬達成中草藥有效成分之研究與開發之標準化研究流程，並建立中草藥腎纖維化活體實驗模型，同時針對抗腎纖維化之有效成份/指標成份，訂定開發程序標準流程。

我們針對中醫藥委員會所規範之 23 種常用中藥材，初步篩選出抗腎纖維化之有效藥材 4 種，並進一步分離純化並鑑定後，搭配高通量中草藥晶片篩選平台，快速篩選出抗腎臟纖維化之有效成份，最後制定標準操作程序供委員會參考，並提供確認與建立 HPLC 檢驗規格。

我們以 23 種常用中藥材為材料，除完成基原鑑定外，進一步利用乙醇與水萃得到各中草藥粗萃取成分。並以酮體 β -hydroxybutyrate 誘導腎纖維母細胞 NRK-49F 分泌纖維蛋白 fibronectin 作為腎纖維化之體外模型，以此方式篩出抗腎纖維化有效之中草藥，包含當歸、山藥、麻黃、紅花。進一步試驗後，發現單方以紅花抗腎纖維化效果最佳，複方以當歸、山藥、麻黃、紅花四者合併效果最好（比例為 1:1:1:1）。同時，我們亦建立單側輸尿管結紮之腎纖維化活體模型，我們並在 SD 大鼠誘導成腎纖維化後，連續餵食紅花單方與複方共兩週，我們發現紅花於活體內，整體上有抑制腎纖維化的效果。單方與複方一、二星期餵食後，大鼠血漿 TGF- β 1 的濃度均顯著較控制組（左側輸尿管結紮）為低，顯示兩種中藥均可以壓制纖維化生長因子 TGF- β 1 的表現。同時，單方與複方中藥餵食後，血漿 creatinine 的濃度亦顯著較控制組為低。因此，我們以紅花水萃成分進行液相高效層析分析，並將萃取成分佈點於晶片上成為中草藥晶片，並結合抗纖維化特異性蛋白 BMP-2 的篩選，我們發現 HPLC 指紋圖之第 85 分鐘所對應的萃取區域可能具有抗纖維化的成分，我們進一步將該區域進行次層析，我們除了得到特性波峰指紋圖之外，我們亦發現本區域亦維持抗纖維化的活性。應用本研究之技術平台，可高效率地尋找出具有生物活性之天然物成分。同時，特性波峰指紋圖可作為具有抗腎纖維化有效成分意涵之指標成分。

關鍵詞：程序標準流程、有效成分、腎臟纖維化

Number: CCMP95-TP-007

Research & Development of Chinese Herb Active Fraction, Reference Standard and Index Fraction

Yang Yu-Lin

Chung Hwa College of Medical Technology

ABSTRACT

This project is based on the project “Protection network of Safety and Health of Chinese Herbal Medicine (CCMP)” conducted by the Committee on Chinese Medicine and Pharmacy. Hence, this study is to achieve the development of standard operation process (SOP) of effective components and reference standards of Chinese Herbal Medicine.

23 types of commonly used Chinese herbs listed by CCMP have been separated, purified and screened for their anti-fibrosis activity. Herbal chip platform has been used to high thorough-put screen bioactive fractions for inhibiting renal cell fibrosis. Finally, a standard operation protocol and a detailed protocol for high performance of liquid chromatography (HPLC) have been established and used as guidance and the reference for CCMP.

The identity of each Chinese herb has been verified. Extraction using water and methanol were used to separate the crude extracts from each herb. In vitro renal fibrosis model has been established using β -hydroxybutyrate-treated renal fibroblast (NRK-49F), which was characterized by up-regulating extracellular fibronectin. Using this approach, 4 species of herbs have been identified having potential anti-fibrosis activity, including *Angelica sinensis*, *Dioscorea alata*, *Ephedra sinica*, and *Carthamus tinctorius*. Moreover, *Carthamus tinctorius* has the best anti-fibrosis effects in 4 types of herbs. And compound prescription (*Angelica sinensis*, *Dioscorea alata*, *Ephedra sinica*, and *Carthamus tinctorius*: 1:1:1:1) have also been examined and having high anti-fibrosis effects as well. Additionally, unilateral urinary obstruction (UUO) model have been established to represent the *in vivo* renal fibrosis model. We observed that rats feed with *Carthamus tinctorius* or compound prescription for 2 weeks may generate beneficial environment in UUO rat model. Plasma TGF- β 1 and creatinine in either single or compound drug-treated rats have lower concentrations of TGF- β 1 comparing with UUO groups indicating either single or compound herbs may ameliorate renal fibrosis via suppressing the expression of TGF- β 1. Hence, 紅花 was further HPLC fractionated and spotted onto Chinese herbal chip following by hybridizing with bone morphogenic protein-2 (BMP-2), an anti-fibrosis target protein, to screen anti-fibrosis active fractions. We found that peaks corresponding to 85 minutes of HPLC profile of 紅花 may contain active fractions for suppressing renal

fibrosis. After HPLC subfractionation of these regions, a more resolved HPLC fingerprint for active fraction have been generated. The technical platform of this study is capable of efficiently screening active fractions from nature compounds.

Keywords: Active fraction, renal fibrosis, SOP

壹、前言

台灣中草藥市場整體而言每年約 150 至 250 億元，其中大部份(約 70%)用於食補，僅有 20%用於治病(科學中藥 13%，傳統中藥 7%)。中藥包含動物、植物、礦物共約 13,000 種以上，其中藥用植物佔 90%以上。目前仍有 85%的中藥生物活性尚未經研究，其中蘊含無限藥理活性與商機，值得探討研究。

台灣雖屬小島國，但是自然地理環境十分優越，兼具溫帶、亞熱帶及熱帶等不同氣候型態，孕育出豐富的生物多樣性，其密度之高堪稱世界僅見。台灣的維管束植物有 6,868 種，其中 1,551 種可作為藥用植物，可供發展成藥用及保健產品。台灣天然條件十分優越，氣候更兼具溫、亞熱及熱帶三帶，植物資源相當豐富，因而素有天然大植物園之美譽。據資料指出，台灣自生維管束植物多達 4,477 種，加上外來的 2,500 餘種，總數約近 7,000 種，其中不乏可利用之珍貴醫藥資源，可供開發為中藥及保健產品，且已有產品經證實療效甚佳。惟國人至今所需藥材多仰賴進口，其價格與品質無法確保穩定，嚴重影響醫療效果，且徒增病患不少負擔。就台灣現有或自國外引進之重要藥用植物進行開發利用，將對傳統醫藥之發揚、國民健康之維護及疾病之治療，有重大助益。利用現代檢測技術於動植物生產體系具有地區及全球之商機，而具有地區或全球市場價值之檢測技術之開發，亦將鼓勵學術和研究機構透過國家型計畫積極進行，以確保在技術研發與轉移上之世界先導地位。中草藥是我國進軍世界醫藥產業的可行途徑，是否能成為繼電子產業後之明星產業，國人也都寄與厚望。中國大陸挾廣大的人口及豐富的草藥原料，卻不能於國際市場得利的事實，是我們發展中草藥產業時應記取的教訓。

隨著人口族譜與疾病形態之演變，西方人慣用的治療手段已無法解釋及對付新的疾病現象，根據美國一份資料顯示，有大約 49% 的疾病使用西醫藥無法治療；大約 20%的病人服用西藥後因出現毒副作用反應而停藥。由化學合成藥難以治癒或效果不理想的雜症轉向中醫、中藥尋求治療方法，已成為現代醫藥發展的一個新趨勢。化學藥物的毒性及副作用大，易產生抗藥性；而中藥天然藥物的藥效緩和，適應多樣性，利於慢性病，在此方面具有無可比擬之優勢。“回歸自然”、“綠色消費”逐漸成為時尚，使天然植物藥理所當然成為現代醫療保健的良好選擇。加上，隨著各國對中草藥日漸重視，並放寬相關法規，促使中草藥產業嶄露商機。西元 2000 年全球植物製品年銷售額達 300 億美元，其中屬於天然藥物的中草藥，其年銷售額已逾 200 億美元，且每年仍以 10%的速度成長。為此，各國競相採用現代化技術研究開發傳統醫藥，進軍國際天然藥物市場。

但長久以來，台灣中草藥產業的發展存在若干問題，中藥廠之規模與資金較為薄弱，且多以維持傳統製造經營，科學化之意願不高。一般藥廠研發人才不足，而學界有關中藥之研究多為純化成分之化學與藥理學研究，與產業界之落差甚大。各學術研究機構之間與政府各部會未能充分合作與分工，造成資源之重複投資。因此政府於 1995 年 8 月 10 日行政院第 2443 次院會通過「加強生物技術產業推動方案」，其中列舉之優先發展產業中包括科學化中藥。1997 年 8 月經濟部訂定「加強生物技術產業推動方案」之發展策略，明定中藥科學化為 24 項重點發展項目之一。1997 年 4 月行政院生物技術產業策略 (SRB) 第一次會議選定中藥為具有發展潛力之優先課題。1998 年 6 月第二次生技 SRB 會議提議將中草藥產業列為國家發展項目，議定中草藥計畫整體規劃與產業發展推動。1999 年 3 月修正推動方案，將中草藥開發增列於研究發展項下實施。1999 年 5 月第三次生技 SRB 會議確立中草藥研究開發規劃，特別提議經濟部技術處對此項目提出五年計畫。2000 年 5 月第四次生技 SRB 會議中，經濟部技術處提出「中草藥產業技術發展五年計畫」。2001 年 5 月第五次生技 SRB 會議規劃利用國內各部會及上中下游之資源及人力，進行整合性開發，預計五年內投資台幣 21 億元，發展中草藥產品與技術，以推動國內中草藥之產業發展。

中藥與西藥最大之不同處，在於西藥是分子結構明確的化合物，經篩選有效後，再訂安全性，最後經臨床試驗，達到「對症下藥」的藥效，中藥則不同，中藥(材)的使用，有固有典籍資料佐證及五千年人類使用經驗的累積，同時符合國人藥食同源觀念。許多人相信中藥副作用較小，對於中醫藥的接受度逐漸提高，再加上全民健保也將中醫藥納入給付的範圍，因此，最近幾年臺灣中醫藥的使用及研究發展有明顯的進步及發展，惟因中藥材主要來自天然的動、植、礦物，成分複雜，其基原、產地、栽種與採收時間及貯存等是否適宜，均是影響藥材的品質及臨床療效，而臺灣因受產地限制，大多數中藥材皆由大陸進口，不但產地、品種追查困難，對於育種、種植過程、採收、乃至於炮製有關的資訊，更是難以著力，以致藥材品質掌控困難，無法穩定展現其療效，更成為台灣發展中藥科學化最大的隱憂。

傳統中草藥的來源均為天然物，組成分複雜，存在有相當的變異性，因此，結合傳統中藥的特點，建立科學化、現代化的評量基礎，使原料品管和藥效具有穩定性與再現性，佐以科學的驗證，且目前許多國家都積極推展藥材生產管理規範 GAP (Good Agricultural Practice) 的實施，為使藥材生產規範化和品質標準化，進而推展到世界各國可接受的標準，將是中草藥國際化的目標。由於中草藥種類複雜、品種繁多、使用歷史悠久、歷代本草的記載、經驗的傳承、各地區有不同的用藥名稱和使用習慣、加上藥材市場供貨的短缺往往造成類同品及代用品的不斷出現，都是導致於中

草藥的同名異物、同物異名等複雜性的主要因素，直接影響到品質、藥理作用、臨床應用的正確性及安全性。

加上歷史發展的侷限性，中醫中藥學在許多方面仍停留在「知其然而不知其所以然」的階段。經過長期的臨床實踐，中藥產品的療效雖然可由整體上予以肯定，但是因未能採用現代藥物臨床研究常用的「隨機分組」、「對照」、「雙盲」、「多點觀察」等嚴謹的科學實驗方法，其療效難以為現代醫學工作者及各國衛生行政主管部門所信服，此乃中醫藥產品多無法在歐美國家取得上市許可並以藥品販售之主因。

直到最近，各國政府（特別是歐美地區）開始積極制訂草藥管理法規，並逐漸重視植物類藥須具有安全性及有效性證明。例如，德國早在二十世紀初即要求草藥產品須向政府登記，惟實際審查作業是在 1978 年公佈 Medical Law 以後才開始，到 1994 年更對草藥分類分級，在草藥的安全性及有性上做更明確的規範，其草藥產品製備之化學、製造與管制 (Chemistry, manufacturing, and control, CMC) 標準化及高品質之典範，與成功市場拓展經驗值得我國各界效法。另外，醫藥產業霸主的美國，在 1994 年公佈“Dietary Supplement Health & Education Act (DSHEA)”，正式承認草藥產品市場不可忽視的地位，而後更在 2000 年公佈“Guidance for Industry Botanical Drug Products”草案，根據草案的規定，擁有悠久人類使用經驗的草藥可直接進入第二期臨床試驗，使廠商縮短研發時程，產品及早上市。

中藥的真材實料有效證明上非常重要，為了避免假冒，不能再靠傳統的眼看，口嚐，鼻聞和手摸，而要採用新而可靠的技術如 DNA 鑑定技術來做基源鑑定。在品種鑑定和產地產期註明之後，可以一、二項化學成分作為指標成分，例如在銀杏的有效成分未鑑定之前，德國藥廠用 Flavone Glycosides (25%) 和 Terpenes (6%) 作指標，獲得大家信任，值得採用。

本計劃乃配合行政院衛生署中醫藥委員會之建構中藥用藥安全環境五年計畫之分項子計畫之「建立亞太中藥標準品供應中心(機制)計畫」為主軸。因此本計畫，擬針對中醫藥委員會所規範之 23 種常用中草藥（人參、大棗、山藥、五味子、天門冬、半夏、甘草、生地黃、白芍藥、杜仲、防風、枇杷葉、紅花、桂枝、桔梗、茯苓、陳皮、麥門冬、麻黃、黃耆、黑棗、當歸及熟地黃），經初步篩選抗腎纖維化有效藥材數種，完成有效成分分析與程序制定、指標成分標準品開發與操作程序訂定等方向之研究。

23 種常用中草藥根據文獻記載，有許多初步對腎臟纖維化病變有所正面助益之中草藥，本計劃亦將審慎透過抗纖維之實驗確認後，進一步進行有效成分與指標成分的開發。同時，所初步篩選出之抗腎纖維化之中草藥，在進入指標成分(或抗腎纖維化有效成分)開發前，必先確認藥技中心或其他單位尚未進行研發，本計劃方列入指標成分標準品或有效成分開發項目。

預期本計畫的執行可將中藥加以現代化，亦即使其能與西洋邏輯思考模式相接軌，並符合科學之驗證精神，提供開拓市場及產業化之關鍵技術。藉由本計畫的執行，可提升台灣中藥廠之有效成分分析技術，將分析流程標準化，促成中藥新用，提升中藥材附加價值，亦可建構指標成分標準品之。使藥廠成本降低競爭力也提高，也提供了安全有效之藥品，也使民眾健康多一分保障。

因此，本計畫將針對中醫藥委員會所規範之 23 種中藥中或已被報導具有抗肝纖維化活性的常用中藥，篩選抗腎纖維化有效藥材數種，利用中草藥晶片篩選出抗纖維化之成分，並經分離純化鑑定後，得到抗腎纖維化之活性成分或指標成分標準品。完成中草藥的資料收集、資料補充、資料庫開發及文章之發表，可將中藥作業加以現代化，亦即使其能與西洋邏輯思考模式相接軌，並符合科學之驗證精神，提供開拓市場及產業化之關鍵技術。另一方面亦可結合中藥藥效開發，達到最佳效果與最低副作用。因此預計本研究成果可替國家節省一筆治療糖尿病尿毒症病人巨額的社會成本。

計畫完成後可提供中醫藥委員會所規範中草藥有效成分分析標準，對於促進中藥標準化、科學化、現代化和國際化，提高用藥的安全性和有效性，具有重大的意義和科學價值；並提供給中醫藥委員會制定政策及修正目前藥典內容的參考依據。本計畫預計可發展(1)中藥指標標準品(2)標準品指紋圖譜(3)個別標準品操作程序等技術標準，對於中藥材良好生產管理規範(GAP)、構建中藥標準化、產業化生產等目標都相當之重要，有其執行的必要性。除此之外，本計劃亦可促成以下效益。

有效成分分析技術與平台可提升台灣中藥作用機制之明瞭。作用機制清楚，可使藥廠有一致的標準發展中藥科學化，競爭力也提高，也提供了安全有效之藥品，也使民眾健康多一分保障。本計劃所完成有效成分分析技術將可提供中醫藥委員會作為訂定中草藥品質管制基準的參考以及提供藥廠多一種品質管控的技術。

貳、材料與方法

一、實驗儀器：

加熱包：NEWLAB MN1000

分析篩：KUANG YANG 4.4×10⁻⁵ m (mesh 325)

旋轉式減壓濃縮機：LABOROTA 4000/G3/WB (Heidolph)

冷卻循環水槽：EWCA-120PTS

冷凍乾燥機：KINGMECH FD-4.5-12P

血漿 TGF-β1 ELISA kit：

編號：KAC 1689

名稱：TGF-β1 immunoassay kit

廠牌：BIOSOURCE (生產國：USA)

血液生化分析儀：

HITACHI 7080 全自動生化分析儀

<http://www.hitachi-hitec.com/science/medical/7080.html>

尿液分析：

尿液分析試紙：Bayer Multistix 10 SG Reagent Strip

尿液分析儀：Bayer CLINITEK SATUS

二、中草藥萃取：

水草：取樣品 100g，加入水 1000ml，以 100°C 煮沸後（約 15~20 分鐘），再以 40°C 萃取 1 小時，以孔徑 325 目篩網過濾殘渣，將萃取液濃縮，取得 100 ml 之濃縮液，冷凍乾燥 12 小時（無添加輔形劑），冷凍乾燥後，取得粉末。

醇萃：取樣品 100g，置於燒瓶中，加入 70% 酒精 1000ml，用索式萃取裝置，以 100°C 煮沸後（約 15~20 分鐘），再以 40°C 萃取 1 小時，以孔徑 325 目篩網過濾殘渣，將萃取液濃縮，取得 100 ml 之濃縮液。取 90ml 冷凍乾燥 12 小時（無添加輔形劑），冷凍乾燥後取得粉末。

三、抗纖維生物活性分析：

我們使用(5 x 10⁵)老鼠腎纖維母細胞(NRK-49F)為研究材料，培養在培養皿。我們以 10mM 的β-hydroxybutyrate (β-HB)刺激 24 小時，將腎臟細胞誘導成纖維化狀態（圖二）。細胞則以分泌細胞外纖維蛋白（fibronectin）的程度來表示腎細胞纖維化的程度。並隨後以各種中草藥之萃取物刺激 48 小時。之後取細胞培養之上清液直接進行 fibronectin ELISA 之分析。將中草藥萃取成分（100 μg/mL）加入細胞培養基，在不同時間觀察細胞的變化。Fibronectin 的分析方式如下所述。我們將細胞分成兩組：第一、完全不處理組；第二、控制組，給予β-HB；第三、實驗組，給予β-HB 後，以中草藥

萃取液刺激 48 小時。我們將觀察此中草藥萃取成分參與於抗纖維功能是否是一普遍存在的現象。在這些研究過程中，同時建立標準研究方法與標準作業程序。

四、Fibronectin 纖維分析試驗

原理：人類細胞外纖維母蛋白 ELISA kit 是以固相三明治法來測體外(血清，尿液，細胞培養的上清液)的人類細胞外纖維母蛋白。抗體是用兩隻老鼠的單株抗人類細胞外纖維母蛋白的抗體，並用二步驟法偵測，其中一抗人類細胞外纖維母蛋白的抗體會先鑲在 96 wells plate 上，即為固相，而一些非專一性的連結可藉由 blocking buffer 洗掉，首先加入 sample and standard 並清洗後再加入標有 peroxidase (POD) 的抗人類細胞外纖維母蛋白的二級抗體，再加入受質反應 15 分鐘呈色後，再以 stop solution 終止反應。

步驟：Sample incubation：在 5 分鐘內加入 100ul 的 sample and standard，混合均勻後，在 37°C 下培養一小時。移除 sample and standard solution，再用 washing buffer(含有 0.1% Tween20 的 PBS)清洗 3 次後，拍乾。Antibody-POD conjugate incubation：各加入標有 POD 的抗體 100ul 後，混合均勻後，在 37°C 下培養一小時。移除 sample and standard solution，再用 washing buffer (含有 0.1% Tween20 的 PBS)清洗 3 次後，拍乾。Substrate incubation：各加入 100ul substrate solution，並在室溫下培養 15 分鐘後。再各加入 100ul Stop solution (1N H₂SO₄)，並在室溫下培養 15 分鐘後，終止反應。再以波長 450nm 測其 OD 值(加完 Stop solution 後一小時內測完)。

五、建立常用中草藥之草藥晶片(HerboChip)：

將所取得之標準中藥材乾燥粉化後，以高純度酒精或水萃取（方式依據傳統炮製法而定），將萃取物以 HPLC 分層，以時間分為 96 等分並打點於專利經片上。我們螢光標定以 thrombospondin-1 與 BMP-2 蛋白質（與腎纖維化密切相關的蛋白質），來與圖 A 的中草藥晶片進行雜交，並進一步篩選出可能的交互作用的成分，此成分甚至可進一步次分層(subfraction)，並訂出分子量與結構，並經過一系列的細胞與動物模式確認生物活性。

六、動物實驗模式之建立：

試驗系統：

(一)試驗動物：大鼠(雄性)

(二)品系：Sprague-Dawley

(三)供應來源：樂斯科生物科技股份有限公司

(四)動物週齡與體重：經過檢疫期後，於試驗開始時動物週齡約為 7 週(體重約為 180-230 克)。

- (五)檢疫與試驗分組：實驗用大鼠在確定無特定病原感染後即可進入實驗動物中心動物房，任意分配至各實驗組和對照組中。
- (六)動物(飼育籠)識別方法：動物採耳標方式編號。每只飼育盒附有識別卡，分別記載盒號、計劃代碼、試驗編號、性別、劑量組別與動物號碼，以茲識別。
- (七)動物飼養與照顧：進階生物科技動物試驗中心動物房為SPF等級，大鼠每3隻一盒，飼養於polycarbonate飼育盒中，盒上蓋不銹鋼籠蓋，飼料及飲水置於籠蓋上，飼料及飲水均為無限制供應。
1. 動物飼養室之環境溫度設定為 $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，相對濕度 $50 \pm 20\%$ ，光照／黑暗比例為12／12小時（早上8點亮/晚上8點暗）。
 2. 飼料：採用可高壓滅菌飼料(5010, Rodent LabDiet, PMI Feeds Inc. St. Louis, Mo, USA，粗蛋白 $\geq 23\%$ ，粗脂肪 $\geq 4.5\%$ ，粗纖維 $\leq 6\%$ ，灰份 $\leq 8\%$ ，量礦物質 $\leq 3\%$)。
 3. 飲水：飲用水為經高壓蒸氣滅菌機滅菌處理的RO水。
 4. 墊料：採用美國Beta Chip實驗鼠專用之木屑墊料(Beta-Chip, Northeastern. Inc., Warrensburg, NY)。

實驗設計：

- (一)以單側輸尿管結紮的方式，引發動物產生腎纖維化，再將試驗物質按照實驗設計給予各組動物連續經口餵食2週，試驗期間每日密切觀察動物的異常反應，並定期採集與分析血液及尿液樣本，試驗結束犧牲的動物皆進行解剖，並取出腎臟進行病理切片分析。
- (二)試驗物質製備：試驗物質3ml/0.25kg/1day
- (三)陰性對照組：動物進行單側輸尿管結紮手術後，每天餵食1次無菌水(3ml/0.25kg/1day)，連續餵食14天。此組將提供腎纖維化動物的生理數據。
- (四)試驗組1：動物進行假手術後，每天餵食1次試驗物質紅花，(3ml/0.25kg/1day)，連續餵食14天。
- (五)試驗組3：動物進行單側輸尿管結紮手術後，每天餵食1次試驗物質複方（紅花、當歸、麻黃、山藥）(3ml/0.25kg/1day)，連續餵食14天。
- (六)SD雄性大鼠，約7週齡，每組5隻，分為以下各組：(1)陰性對照組：動物進行左側輸尿管結紮手術。(2)實驗組A：動物進行左側輸尿管結紮手術後隔日起，每日餵食一次試驗物質A(紅花單方)，共餵食2週。(3)實驗組B：動物進行左側輸尿管結紮手術後隔日起，每日餵食一次試驗物質B(複方)，共餵食2週。所有實驗動物於輸尿管結紮手術前、手術後1週與2週時各收集一次血漿與尿液樣本。手術後2週時犧牲，取出兩側腎臟。並分析血漿樣本以進行血液生化檢驗，

並以ELISA檢測血漿TGF- β 1。同時分析尿液樣本以進行尿液分析。數據包含：(1)動物體重變化(2)動物攝食量變化(3)動物飲水量變化(4)尿液分析(5)血液生化分析(6)血漿TGF- β 1。

(七)試驗物質投予途徑：口服。採用8 cm大鼠專用餵食針餵食。

(八)試驗方法：

1. 動物麻醉後，結紮左腎輸尿管。假手術只需切開傷口，露出左腎，但不做任何處置即將左腎推回腹腔，進行縫合。
2. 餵食工作由手術後隔天即開始，每天餵食一次，持續餵食14天。空白對照組與陰性對照組餵食無菌水(3ml/0.25kg/1day)，實驗組則餵食試驗物質單方與複方 (3ml/0.25kg/1day)。
3. 餵食期間每週記錄1次動物體重變化與平均飲食量。
4. 所有實驗動物分別於手術前、餵食第7天與第14天時，採集1 ml 血液，混合3 μ l的heparin (Sigma H-0077或同質品，以生理食鹽水配製成890 U/ml)，離心(1500 \times g，4 $^{\circ}$ C，10分鐘)得到血漿後，以HITACHI 7080全自動生化分析儀檢測各種生化指數，並以ELISA檢測TGF- β 1。另外收集約0.5 ml尿液，以尿液試紙檢測尿液的生化指數。
5. 餵食14天後犧牲全部動物，剖腹並以肉眼觀察腎臟與其他主要器官是否有異常情況，並取下腎臟，固定後，切片以進行病理學觀察。

七、結果判定：

需包括結果判定標準與方法：

(一)以t-test進行統計分析，若 $p < 0.05$ 則視為具有顯著差異。

(二)對照綜合臨床觀察、生化檢驗、大體解剖、組織病理學檢查的結果，對試驗物質之作用做出評估。

八、利用分析性 HPLC 進行紅花萃取粉末之分析：

紅花乾燥之粉末（深棕色）秤重後，溶於水中，配置成最後溶液濃度為 20 gm/ml。在均勻混和之後，樣本以 12,000 rpm 高速離心十分鐘，同時以 0.45 μ m 濾膜過濾之。層析反應乃根據 Shimadzu 10AP HPLC 系統來進行。同時利用 TSK Gel ODS 80TM (TOSOH) 逆向管柱(250 \times 4.6mm)填充 5 μ m 膠體顆粒。下表說明，HPLC 進行的條件。主以 H₂O/EtOH 梯度以進行層析。流速為 0.75 ml/min。注射體積為 0.1 ml 每次 (run)。我們利用 UV 偵測器（波長設為：254nm.）進行分析。梯度參數如下。

分鐘	A(%)-Milli-Q	B(%)-EtOH
0	100	0
5	100	0
20	95	5
90	40	60
96	0	100
96.01	終止	

層析波峰以每分鐘以 0.75 ml/min/fraction 解析。由第 0 至第 96 分鐘。然後利用 SpeedVac 系統乾燥之。

九、利用機械佈點製造中草藥生物晶片：

層析乾燥粉末重新溶解於 50 μ l 50% DMSO 與 50 μ l OptiFix-I。每個萃取成分用 25 微升轉漬到 96-孔 U-形盤上。此後，利用機器 MicroGrid II (BioRobotics)以 0.4 μ m 固體尖端用來打點乾燥之萃取成分於 AGTChip-HTM 晶片上，以 10 X 10 的格式打點。用來傳遞化合物的探針乃以蒸餾水清洗兩次兩秒。隨後，浸於 EtOH 2 秒，緊跟著以熱流乾燥 2 秒。這些動作在探針進行吸取檢體之前必須完成。印打點完成之後，AGTChip-H 晶片乃於室溫放置 2 小時隨後，浸於 1M ethanolamine 以阻斷非專一性的訊號。這片子，隨後以 TBST (50mM Tris·HCl, 0.15M NaCl, 0.05% tween 20, pH 7.5)清洗三次，然後，置於蒸餾水清洗三次，並於無菌操作台通風下乾燥。

十、以 BMP-2，抗人類 BMP-2 單株抗體，與 biotinlyated anti-mouse IgG 抗體進行最優化的雜交反應條件。

以下樣本 BMP-2、抗-BMP-2 與 biotinylated anti-mouse 抗體溶於水中，分別達到最終濃度 100 μ g/ml (BMP-2), 1 μ g/ml and 1 μ g/ml (BMP-2 and biotinylated Ab)。我們利用 Opti-Fix-I 以進行隨後必要的稀釋。BMP-2 接下來由 20 μ g/ml 濃度兩倍連續稀釋，並利用機器手臂 MicroGrid II (BioRobotics)搭配 0.4 μ m 探針用來打印 BMP-2 稀釋液到 AGTChip-HTM 指定晶片的位置。這個晶片接下來以 TBST 溶液清洗三次。浸任於清水（蒸餾水）中三次並於 37 $^{\circ}$ C 乾燥。至於雜交，anti-BMP-2 抗體的濃度乃使用 4 μ g/ml 與 1 μ g/ml，同時 biotinylated anti-mouse Ab 與 Cy5-SA 均使用 5 μ g/ml。蛋白質以 TBST 進行稀釋。接下來，試劑乃置入晶片的反應槽中。AGTChip-HTM 反應槽之後乃覆蓋 22 \times 22mm 蓋玻片。接下來，慢慢將 anti-BMP-2 抗體至於反應槽中，每個井 20~25 μ l。接下來於室溫反應 2 小時，這晶片便以 TBST 溶劑清洗一次，隨後再用 TBST 清洗三次。最後用二次蒸餾水清洗四次。晶片於 37 $^{\circ}$ C 乾燥後，藉由 biotinylated anti-mouse Ab (5 μ g/ml)來進行雜交反應。反應後，以 Cy5-SA (5 μ g/ml)以相同雜交方式反應一次。最後，風乾的晶片以掃瞄儀 GenePix4000A slide scanner (Axon Instruments)處理過後，以 GenePix 4.0 軟體分析之。

十一、以抗纖維蛋白 BMP-2 篩選進行中草藥晶片 HerboChip® 對紅花 (Safflower) HPLC 可能活性成分之篩選

進行中草藥晶片活性成分篩選的流程與上述第十點過程相似。BMP-2 乃使用 5 μ g/ml 的濃度，anti-BMP-2 用 4 μ g/mL，biotinylated anti-mouse 抗體用 5 μ g/ml，Cy5-SA 用 5 μ g/ml。以上這些物質以上述順序進行反應（四層）雜交。簡述之，我們利用兩個玻璃蓋(22 mm \times 22 mm)覆蓋每個 HerboChip® 晶片上的反應槽，並事先加上溶於 TBST (5 μ g/ml in 50 mM Tris-HCl, pH 7.3, 0.15 M NaCl, and 0.05% Tween 20) 20 μ l 的 BMP-2 (4 $^{\circ}$ C) 並反應隔夜。這 HerboChip® 晶片隨後接由 TBST 清洗四次。並以水清洗四次，之後於 37 $^{\circ}$ C 烘乾晶片，接下來把兩個玻璃蓋覆上。我們使用 20 μ l 的 anti-CYP BMP-2 抗體(4 μ g/ml 溶於 TBST)，並加入於晶片上每個反應槽，於 37 $^{\circ}$ C 反應兩小時，清洗的步驟與剛剛所述一樣。包括與 biotinylated anti-mouse 抗體和 Cy5-SA 雜交的過程都一樣。最後置於 Laminarflow 乾燥。並以晶片雷射掃描儀(GenePix4000, Axon)分析之，並以 GenePix 4.0 軟體進行統計。

參、結果

本研究已建立以酮體誘導腎纖維母細胞(NRK-49F)過量產生纖維蛋白之實驗模式。利用本方法，可有效建立活體外腎臟纖維化的模型(圖二)。同時，我們篩選 23 種中草藥之萃取物對於腎纖維母細胞抑制纖維蛋白表現。可以看到四種中藥材(紅花、當歸、麻黃、山藥)可以顯著地抑制腎臟纖維母細胞產生纖維(圖三、圖四)。同時，我們發現四種中草藥之萃取物對於腎纖維母細胞抑制纖維蛋白表現上，似乎具有加成作用(也就是複方，圖五)。

我們建立活體動物實驗以進一步觀察中藥的效果。我們以輸尿管結紮手術(UUO)造成腎臟纖維化作為實驗模型(圖六)。我們發現，這模型可以顯著呈現腎臟纖維化的相關特徵(如腎臟肥大)。如圖七，腎纖維化試驗之陰性對照組之大鼠腹腔剖檢照片。照片中可見到暗紅色的右腎(正常腎)與淺褐色的左腎(病變腎)，左腎明顯腫大，且與周圍脂肪、腹壁肌肉甚至脾臟產生沾黏，腹腔正中央可見成暗紅色(照片中為偏藍色)的腹大靜脈與左腎靜脈。同時，腎纖維化試驗之陰性對照組大鼠左腎切開照片中，由於輸尿管結紮使尿液積在腎臟中，2 週後犧牲剖檢時，左腎已有明顯腫大。同時將左腎切開時，可見大量尿液流出，因已引發炎症反應，流出的尿液為含有膿樣液體的混濁狀，而非清澈液體。由於堆積大量尿液，腎臟的實質組織已被擠壓甚至消失，成為一空殼狀的囊。部分腎組織可見發炎與壞死、化膿的現象(如圖八)。

比較施行輸尿管結紮手術兩側組織切片低倍比較圖可以發現，1 週後之對側腎(正常)腎小球與腎小管構造緻密，而病變側腎小管因尿液堆積而膨脹(如圖九)。同時，施行輸尿管結紮手術兩側組織高倍切片比較下，1 週後之對側腎(正常)，而 1 週後之病變腎可發現腎小管膨脹且間質部有白血球浸潤發炎(圖十)。至於處理中藥對輸尿管結紮老鼠之效果，我們經由圖十一至圖十三可以看出，比較施不施行輸尿管結紮手術之大鼠，餵與中藥(單方與複方)之各組動物血漿 creatinine、creatinine kinase 與血漿 TGF- β 1 結果顯示，餵食單方/複方，具有稍微抑制血漿中 creatinine 的濃度的效果，特別是紅花對 creatinine kinase 的控制，具有顯著統計意義。同時餵食單方紅花該組，比起正常組與複方組均具有顯著抑制血漿中 TGF- β 1 濃度的效果。因 TGF- β 1 是體內最有效之纖維化抑制因子，故抑制血漿中 TGF- β 1 具有抗纖維化的意涵。至於是否針對腎臟有其抗纖維化的作用？需要進一步病理切片報告才可確認。

因紅花不論於活體內或外均初步具有抗腎纖維化的效應，故我們嘗試於紅花萃取物中，找出可能抗腎纖維的化學成分，並作為具有活性意義的指標成分。我們將紅花萃取物進行 HPLC 分析，萃取物秤重後溶於水中，配置成

最後溶液濃度為 20 gm/ml。層析反應乃根據 Shimadzu 10AP HPLC 系統來進行。同時利用 TSK Gel ODS 80TM (TOSOH) 逆向管柱(250x4.6mm) 填充 5 μ m 膠體顆粒。配合以 H₂O/EtOH 梯度以進行層析。流速為 0.75 ml/min。注射體積為每次 0.1 ml。訊號以 254nm 進行分析，HPLC 之圖形如圖十四所示。

在這些特性波峰內，到底哪些成分是紅花本身具有抗腎纖維化的成分？我們試圖利用中草藥晶片配合對腎臟纖維母細胞之抗纖維特性蛋白 (BMP-2)，以篩選出可能的活性區域。我們利用 BMP-2 乃使用 5 μ g/ml 的濃度、anti -BMP-2 用 4 μ g/mL、biotinylated anti-mouse 抗體用 5 μ g/ml 與 Cy5-SA 用 5 μ g/ml，並以上述物質以上述順序進行三到四層反應雜交。並於 TBST (5 μ g/ml in 50 mM Tris-HCl, pH 7.3, 0.15 M NaCl, and 0.05% Tween 20) 清洗四次，以水清洗四次，最後於 37°C 烘乾晶片。我們使用 20 μ l 的 anti-CYP BMP-2 抗體(4 μ g/ml 溶於 TBST)，並加入於晶片上每個反應槽，於 37°C 反應兩小時，清洗的步驟與剛剛所述一樣。包括與 biotinylated anti-mouse 抗體和 Cy5-SA 雜交的過程都一樣。最後以晶片雷射掃瞄儀分析之，並以 GenePix 4.0 軟體進行統計。結果顯示以本實驗條件，晶片上反應之現性狀況極佳 (如圖十五)。因此，我們利用紅花萃取物之 HPLC 各層析成分 (圖十四之 1 到 96) 佈點於晶片上，並以中草藥晶片進行活性成分篩選的結果。最後以晶片雷射掃瞄儀分析之，並以 GenePix 4.0 軟體進行統計。結果顯示，以本實驗條件，晶片上對應於 HPLC 77-80 與 86-89 的位置與抗纖維蛋白 BMP-2 有結合反應，而這部分恰巧包含數個特性波峰。顯示出這些位置所具有的化合物，極可能具有抗腎纖維化的潛力 (圖十六)。

為了進一步確認這區域抗腎纖維化的活性，我們針對圖十六中 76-95 層析位置再次濃縮分析，我們利用 Synergic Fusion-RP 80 (Phenomenex) 逆相管柱(250 x 4.6mm) 充填 5 μ m 膠體顆粒以分析，並以波長 254 nm 進行觀察，分析乃由 H₂O/EtOH 梯度進行。這層析結果乃分於 0-70 管內。以 0.75ml/fraction/min 為條件。之後的層析物以微量離心管裝妥後乾燥，準備隨後的纖維化分析生物活性。此外，上述 HPLC 所收集各特性波峰之乾燥成分，乃分別刺激腎纖維母細胞(NRK)，以探討纖維 fibronectin 合成的結果。我們發現 beta-hydroxybutyrate 仍可有效造成腎細胞纖維化，同時，更有意義的是圖 16 所對應藍色區塊 (也就是圖十七中的 a,b,c 三個特性波峰，40-45)，亦持續地呈現腎臟纖維抑制的作用。因此，未來本計畫將此區域 (a,b,c) 進行後續的分析，期待可以得到純化的化合物與結構 (圖十七)。

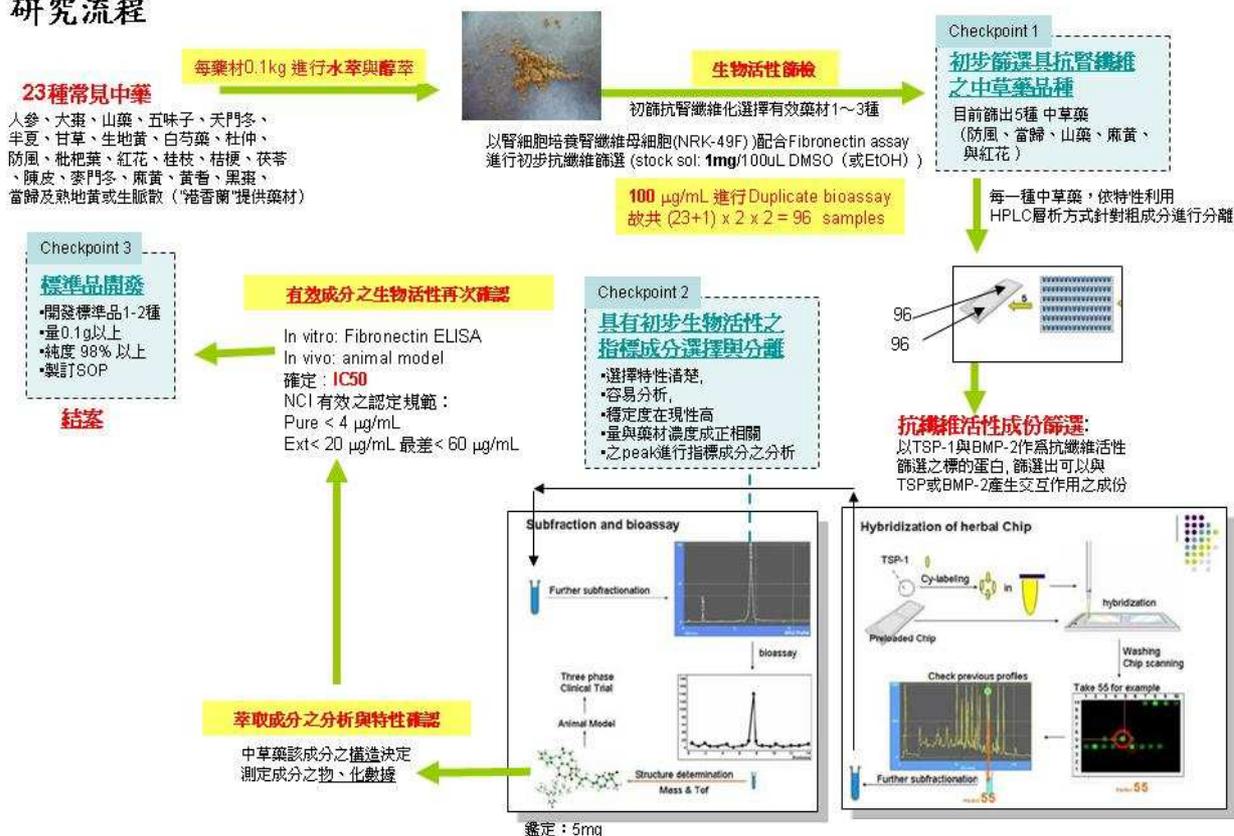
肆、討論

一、抗腎纖維化之中草藥有效成分可能不一定適合做為指標成分。

說明：本計畫乃針對 23 種常用中草藥，經過抗纖維之活體外抗纖維化實驗確認後，進一步進行有效成分與指標成分的開發。因有效成分與指標成分可能沒有一致性，也就是說有效成分常因穩定度與波形訊號不顯著（含量比例低）而不適合作為指標成分。或者，波形訊號顯著而穩定之指標成分，極可能不具有生物活性。

對策：本計畫擬調整有效成分與指標成分的實驗流程，試圖由中草藥晶片上找到更多可能的標的 fraction，期待在增加有效成分選擇範圍下，有更多機會挑選出合適的指標成分。修正流程如下。目前利用中草藥晶片，我們由 HPLC 圖形中，看到圖十七中 (a,b,c)，特異性的波峰，同時，此波峰亦持續具有腎纖維化之抑制效果，顯示本作法已可解決問題。因此，預期本計畫將有機會找到具有指標成分意義的有效成分。

研究流程



二、本研究案所初步篩選之四種抗腎纖維化有效中草藥，多已具有指標成分標準品

說明：目前，抗腎纖維化有效之四種中草藥(當歸、紅花、麻黃、山藥)，HPLC 之指標成分均已有開發(如下表所示)。

對策：現有指標成分或標準品多僅具分析上的指標參考價值，多無法於開發中同時亦兼顧生物活性上的價值。故，本案擬修正原計畫指標成分開發流程，將中草藥晶片活性分析置於指標成分開發之前(而非獨立並行)，如此，擬更有機會尋找出全新具有生物活性意義的指標成分。

表二、四種抗腎纖維化有效之中草藥所具有之指標成分

品名	指標成分 I	指標成分 II	Reference
當歸	vanillic acid	Ferulic acid	藥技中心 187 *#
紅花	serotonin	Adenosine	DOH84-CM-016, 藥技中心 212#
麻黃	Pseudoephedrine	ephedrine	
山藥	Diosgenin		藥技中心 52 #

* 藥技中心已建立指標成分 (<http://www.pitdc.org.tw/>) # 藥技中心已建立 HPLC 分析方法

伍、結論與建議

本計畫乃針對 23 種常用中藥，參酌中華中藥典之炮製方式，經初篩抗腎纖維化有效之四種中草藥，在有抗腎纖維化之有效成分前提下，分離純化出其指標成分。本計畫已針對 23 種常用中藥萃取，並以酮體 (β -hydroxy butyrate) 誘導腎纖維母細胞 NRK-49F 細胞株過量分泌產生纖維蛋白 fibronectin，作為腎纖維化之實驗模型，本計畫目前已利用 ELISA 等活體外試驗方法初篩出抗腎纖維化有效之中草藥四種，分別是當歸、山藥、麻黃、與紅花。其中，抗腎纖維化效果最佳的中藥是紅花。同時，我們已成功建立輸尿管結紮造成腎臟纖維化活體模式，並發現輸尿管結紮老鼠之腎臟纖維化相關指標極為顯著。同時，我們發現單方紅花可以降低血漿中纖維誘導生長因子 TGF-beta 的濃度，表示紅花亦可能於活體內具有抗腎纖維化的效果。因此，我們以紅花進行 HPLC 試驗。配合中草藥晶片後篩選後，我們成功篩選出數個具有生物活性之特性波峰。

因抗腎纖維化有效之四種中草藥(當歸、紅花、麻黃、山藥)中，HPLC 之指標成分均已有開發。同時，這四種中草藥經過 MDL 天然物化學結構資料庫分析，共發現有一百多種已知之化學物質。包括山藥 17 個 compounds，紅花 114 個 compounds，麻黃 19 個 compounds 與當歸 15 個 compounds，因此，可能這些已知的化合物也許具有腎纖維化抑制作用的角色。

另外，因中草藥晶片篩檢之成本極高，本研究因計畫經費有限，無法大規模進行中草藥晶片製作與篩選，故建議是否可以針對抗腎纖維化有效之成分分析，提供更為充足之預算與時間。相信，可以透過這平台，一定可以在這領域，發現數種具有抗腎纖維化生物活性之中草藥有效成分。

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 CCMP95-TP-007 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. Bremner J. D., Vythilingam M., Vermetten E., Anderson G., Newcomer J. W., Charney D. S., 2004. Effects of glucocorticoids on declarative memory function in major depression. *Biol Psychiatry*. 55, 811-815.
2. Brown E., Hopper L., Ho T., Gresham H., 1990. Integrin-associated protein: a 50-KD plasma membrane antigen physically and functionally associated with integrins. *J. Cell Biol.* 111, 2785-2794.
3. Chang et al., (2005 碩士論文, 臺北醫學大學): 人參 (*Panax ginseng*)、五味子 (*Schizandra chinensis*) 與銀杏 (*Ginkgo biloba*) 萃取物複方, 對 CCl₄ 誘發肝傷害老鼠肝功能, 抗氧化力及脂質代謝的影響、此複方可改善因 CCl₄ 誘發肝傷害老鼠之肝臟抗氧化能力, 並延緩肝纖維化之發生
4. Chang H. P., Ma Y. L., Wan F. J., Tsai L. Y., Lindberg F. P., Lee, E. H. Y., 2001. Functional blocking of integrin-associated protein impairs memory retention and decreases glutamate release from the hippocampus. *Neuroscience* 102, 289-296.
5. Chang W. T., Chen H. I., Chiou R. J., Chen C. Y., Huang A. M., 2005. A novel function of transcription factor α -Pal/NRF-1: Increasing neurite outgrowth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 334, 199-206.
6. Chang W. T., Huang A. M., 2004. α -Pal/NRF-1 regulates the promoter of the human integrin-associated protein/CD47 gene. *J. Biol. Chem.* 279, 14542-14550.
7. Chuan-Yen Chung (2004 碩士論文, 國立臺灣大學) 以 TGF- β 1 處理之 Hep 3B 與 HSC-T6 模式發現「黃耆」發酵液之抑制肝纖維化效果。
8. Czaja MJ, Weiner FR, Flander KC, Giambrone M-A, Wind R, Biempica L, Zern MA. 1989. In vitro and in vivo association of transforming growth factor- β 1 with hepatic fibrosis. *J Cell Biol* 108: 2477-2482.
9. Deak T., Bellamy C., D'Agostino L. G., Rosanoff M., McElderry N. K., Bordner K. A. 2005. Behavioral responses during the forced swim test are not affected by anti-inflammatory agents or acute illness induced by lipopolysaccharide. *Behav. Brain Res.* 160, 125-134.
10. Efiook B. J. S., Chiorini J. A., Safer B., 1994. A key transcription factor for eukaryotic initiation factor-2 α is strongly homologous to developmental transcription factors and may link metabolic genes to cellular growth and development. *J. Biol. Chem.* 269, 18921-18930.
11. Evans M. J., Scarpulla R. C., 1989. Interaction of nuclear factors with

- multiple sites in the somatic cytochrome c promoter: characterization of upstream NRF-1, ATF and intron Sp1 recognition sequences. *J. Biol. Chem.* 264, 14361-14368.
12. Evans M. J., Scarpulla R. C., 1990. NRF-1: a trans-activator of nuclear encoded respiratory genes in animal cells. *Genes & Dev.* 4, 1023-1034.
 13. glutamate receptor-binding in rat hippocampal CA3 area. *Neurosci. Lett.* 154, 73-77.
 14. Huang A. M., Wang H. L., Tang Y. P., Lee E. H. Y., 1998. Expression of Integrin-associated protein gene associated with memory formation in rats. *J. Neurosci.* 18, 4305-4313.
 15. Jacob W. F., Silverman T. A., Cohen R. B., Safer B., 1989. Identification and characterization of a novel transcription factor participating in the expression of eukaryotic initiation factor 2 α . *J. Biol. Chem.* 264, 20372-20384.
 16. Kelly D. P, Scarpulla R. C., 2004. Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes & Dev.* 18, 357-368.
 17. Krugers, H. J., Koolhaas, J. M., Bohus, B., Korf, J. 1993. A single social stress-experience alters
 18. Lindberg F. P., Gresham H. D., Schwarz E., Brown E. J., 1993. Molecular cloning of integrin-associated protein: an immunoglobulin family member with multiple membrane-spanning domains implicated in $\alpha_v\beta_3$ -dependent ligand binding. *J. Cell Biol.* 123, 485-496.
 19. Lowy, M. T., Gault, L., Yamamoto, B. K. 1993. Adrenalectomy attenuates stress-induced elevations in extracellular glutamate concentrations in the hippocampus. *J. Neurochem.* 61, 1957-1960.
 20. Magarinos, A. M., Garcia Verdugo, J. M., McEwen, B. S. 1997. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 14002-14008.
 21. McEwen, B., de Kloet, E., Rostene, W. 1986. Adrenal steroid receptors and actions in the nervous system. *Phy. Rev.* 66, 1121-1189.
 22. Poli G. 2000. Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med* 21: 49-98.
 23. Sapolsky, R. M., Kery, L., McEwen, B. 1985. Prolong glucocorticoid exposure reduces hippocampal neuron number: implications for aging. *J. Neurosci.* 5, 1228-1232.

24. Uno, H., Tarara, R., Else, J. G., Suleman, M. A., Sapolsky, R. M. 1989. Hippocampal damage associated with prolong and fatal stress in primates. *J. Neurosci.* 9, 1705-1711.
25. Virbasius C. A., Virbasius J. V., Scarpulla R. C., 1993. NRF-1, an activator involved in nuclear-mitochondrial interactions, utilizes a new DNA-binding domain conserved in a family of developmental regulators. *Genes & Dev.* 7, 2431-2445.
26. Wang H. L., Chang W. T., Li A. H., Yeh T. H., Wu C. Y., Chen M. S., Huang P. C., 2003. Functional analysis of connexin-26 mutants associated with hereditary recessive deafness. *J. Neurochem.* 84, 735-742.
27. Wang H. L., Chang W. T., Yeh T. H., Wu T., Chen M. S., Wu C. Y., 2004. Functional analysis of connexin-32 mutants associated with X-linked dominant Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurobiol. Dis.* 15, 361-370.
28. Woolley, C. S., Gould, E., McEwen, B. S. 1990. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Research* 531, 225-231.
29. 人參莖葉皂苷 (SSLG) 對實驗性肝損傷的影響。藥學學報。18(10): 726-730。
30. 中華人民共和國藥典委員會。1995。中華人民共和國藥典一部。廣東科技出版社,上海。
31. 中華中藥典
32. 中醫藥年報第 1-23 期
33. 中醫藥研究計畫成果報告中英文摘要彙編 85-93 年度
34. 中醫藥管理法規彙編 (2005)
35. 尹鐺、趙元鋁、許瑞玲。1992。茯苓對實驗性肝硬變的作用。山西醫學院學報。(2): 101-103。
36. 王本祥、崔景朝、劉愛晶。1983。
37. 王健、牛建昭、王維峰。2003。中醫藥抗肝纖維化的研究進展。中國醫藥研究叢刊。24: 61-76
38. 王國棟，1995 冬蟲夏草類防制腎臟病研究進展 遼寧中醫雜誌 22(2)：93-95
39. 台灣中草藥臨床試驗環境與試驗法規
40. 台灣原住民藥用植物彙編
41. 行政院衛生署中華藥典編修委員會。1995。中華藥典第四版，附錄 74-75 頁，行政院衛生署藥物食品檢驗局叢書出版社，台北。
42. 行政院衛生署中醫藥委員會。1985。中華民國中藥典範。行政院衛生署，

台北。

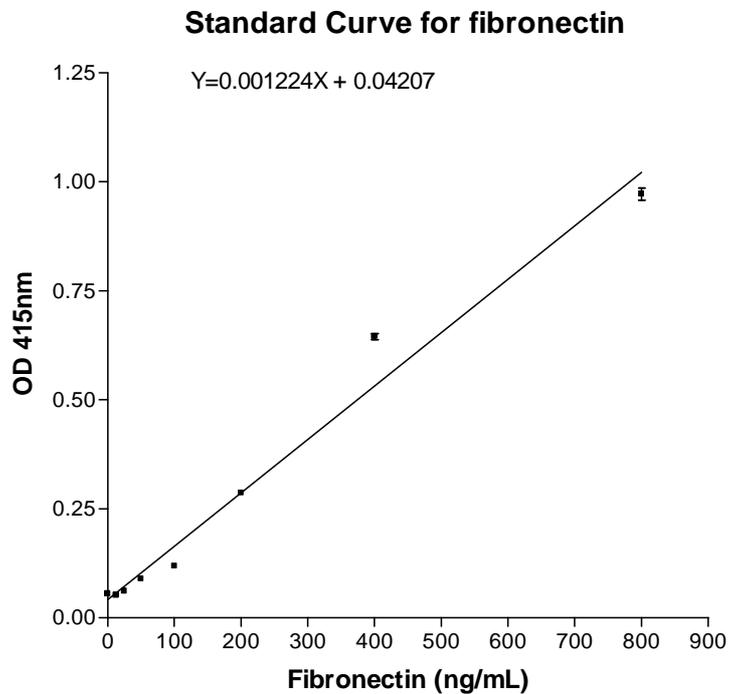
43. 行政院衛生署中醫藥委員會學術暨臨床應用研討會成果會彙編 (2004) (第一-五冊) -中醫學術暨臨床應用研討會成果彙編
44. 行政院衛生署新聞稿, 中華民國 93 年 9 月 16 日中醫藥委員會『全國走透透』-落實推動藥廠全面實施 GMP。
45. 吳永昌、吳天賞、林漢欽、徐鳳麟、張永勳、陳建志:中藥對照用指標成分物理化學資料彙編, 行政院衛生署中醫藥委員會編中華民國 91 年出版
46. 李昌誠。2002。中醫藥神經細胞分化促進劑及其分子機制之機制。中國醫藥學院、中國醫學研究所碩士論文。
47. 李恒,劉志奇,裘奇等.馬兜鈴酸 I 所致大鼠急性腎損傷的實驗研究,中華腎臟病雜誌,2002,18 (1):53-55.
48. 周令玫、林秀珍、黃成禹、溫國慶。1994。中藥材品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報, 12:104。
49. 林立偉。2001。補益劑對於 streptorodocin 誘發高血糖鼠學習障礙之影響。中國醫藥學院、中國藥學研究所碩士論文。
50. 林秀珍、賴齡、周令玫、曾信雄、溫國慶。1995。中藥材品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報, 13:288-295。
51. 林宜信:臺灣中醫藥整合與前瞻, 行政院衛生署中醫藥委員會中華民國 92 年 12 月出版, p103、p149-150。
52. 施志明等:建置中藥境外認證暨境內管制機制之政策評估成果報告, 行政院衛生署中醫藥委員會九十二年度科技研究發展計畫 (CCMP92-RD-047)。
53. 范純慧、李裕娟、胡景銘、黃成禹、溫國慶。1993。中藥材品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報, 11:199。
54. 展玉濤、李定國、魏紅山。2000。大黃素對大鼠肝纖維化形成的影響。中國中西醫結合雜誌。
55. 徐列明、劉平、劉成。1994。桃仁提取物合蟲草菌絲治療肝炎後肝硬化的病理和免疫組化研究。中醫雜誌。35(12): 737-739。
56. 秦玲等編著:中藥檢驗方法專輯。(十一),中藥濃縮製劑指標成分定量方法, 行政院衛生署藥物食品檢驗局, 中華民國 88 年出版
57. 馬紅、王寶恩、陳翌陽。1997。黃耆對肝纖維化治療作用實驗研究。中華肝臟病雜誌。5(1): 32-33。
58. 馬紅梅,張伯禮,范英昌等.當歸四逆湯加吳茱萸生薑湯和關木通的短期腎毒性實驗研究,中藥新藥與臨床藥理, 1999,10(3):156-158.
59. 國家藥典委員會編:中華人民共和國藥典一部, 化學工業出版社, 北京, 2000 年。

60. 陳建仁、林宜信等：中華中藥典，行政院衛生署中華民國 93 年 3 月出版。
61. 黃坤森、曾人和、林隆達、曾千芳。1989。市售藥材中總灰分及酸不溶性灰分之測定。藥物食品檢驗局調查研究年報，7：221-222。
62. 黃坤森、劉芳淑、盧芬鈴、林隆達、黃成禹、溫國慶。1991。中藥材品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，9：511。
63. 臺灣中醫藥發展策略與成果：行政院衛生署中醫藥委員會成立 10 週年紀念特輯
64. 臺灣中醫藥願景-行政院衛生署中醫藥委員會簡介
65. 臺灣常用藥用植物圖鑑一至三冊
66. 臺灣藥用植物資源名錄
67. 劉芳淑、徐雅慧、林宜蓉、賴齡、周令玫、羅吉方、林哲輝。2001。中藥材品質調查 (IV)。藥物食品檢驗局調查研究年報，19：106-118。
68. 劉芳淑、徐雅慧、林宜蓉、賴齡、羅吉方、林哲輝。2002。中藥材品質調查 (IV)。藥物食品檢驗局調查研究年報，20：162-177。
69. 劉芳淑、徐雅慧、賴齡、周令玫、羅吉方、溫國慶。2000。中藥材品質調查 (III)。藥物食品檢驗局調查研究年報，18：65-78。
70. 劉芳淑、賴齡、徐雅慧、曾信雄、溫國慶。1998。中藥材品質調查 (I)。藥物食品檢驗局調查研究年報，16：75-97。
71. 劉芳淑、賴齡、徐雅慧、曾信雄、溫國慶。1999。中藥材品質調查 (II)。藥物食品檢驗局
72. 劉耕陶 (1988) 五味子及其成分對動物肝臟的生化藥理作用。生理科學進展，19：197-203
73. 調查研究年報，17：138-152。
74. 鄭頌仁。1999。六味地黃丸改善大鼠學習障礙作用之研究。中國醫藥學院、中國藥學研究所碩士論文。
75. 竇德強、文曄、斐玉萍、陳英杰 (1997) 人參葉中減輕醋酸泼尼松副作用的活性成分研究。中國中藥雜誌，22：174-176

柒、圖表

醇萃				水萃			
品名	重量	品名	重量	品名	重量	品名	重量
1.人參	13.6g	13.紅花	15.7g	1.人參	15.5g	13.紅花	21g
2.大棗	25.5g	14.桂枝	2g	2.大棗	20.5g	14.桂枝	2g
3.山藥	3.3g	15.桔梗	11.4g	3.山藥	8g	15.桔梗	22.9g
4.五味子 SC	17.5g	16.茯苓	1.9g	4.五味子	14.3g	16.茯苓	5.2g
5.天門冬	32.8g	17.陳皮	20.5g	5.天門冬	26g	17.陳皮	19g
6.半夏	0.9g	18.麥門冬	17g	6.半夏	38.8g	18.麥門冬	42g
7.甘草 GU	16.5g	19.麻黃	6.5g	7.甘草	19.3g	19.麻黃	13.2g
8.生地黃	33.4g	20.黃耆	17.8g	8.生地黃	22g	20.黃耆	10g
9.白芍藥	6.2g	21.黑棗	20.5g	9.白芍藥	12g	21.黑棗	9g
10.杜仲	10.5g	22.當歸 AS	35.6g	10.杜仲	19.5g	22.當歸	9.2g
11.防風 SD	15g	23.熟地黃	25.8g	11.防風	6.2g	23.熟地黃	34.5g
12.枇杷葉	2.6g	24.生脈散	22.2g	12.枇杷葉	8.3g	24.生脈散	22.5g

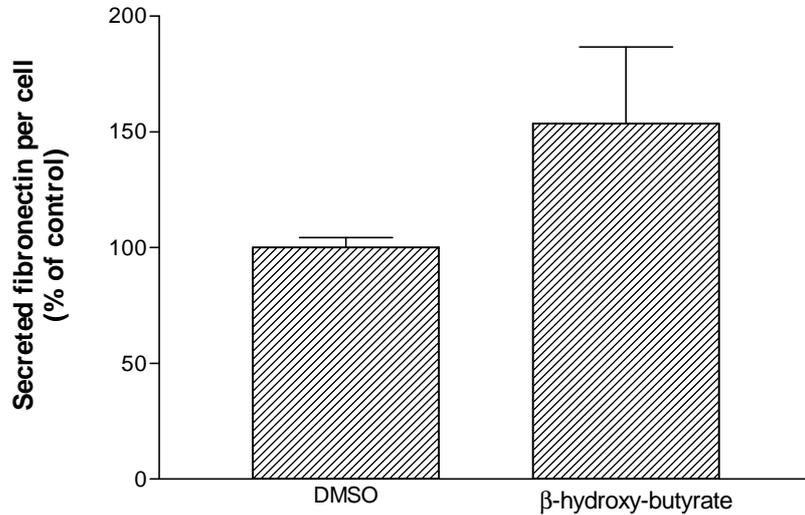
表一、中草藥萃取乾燥結果（操作過程與步驟如方法所述）



圖一、建立纖維蛋白之標準分析曲線

Effects of β -hydroxy-butyrate on fibronectin secretion

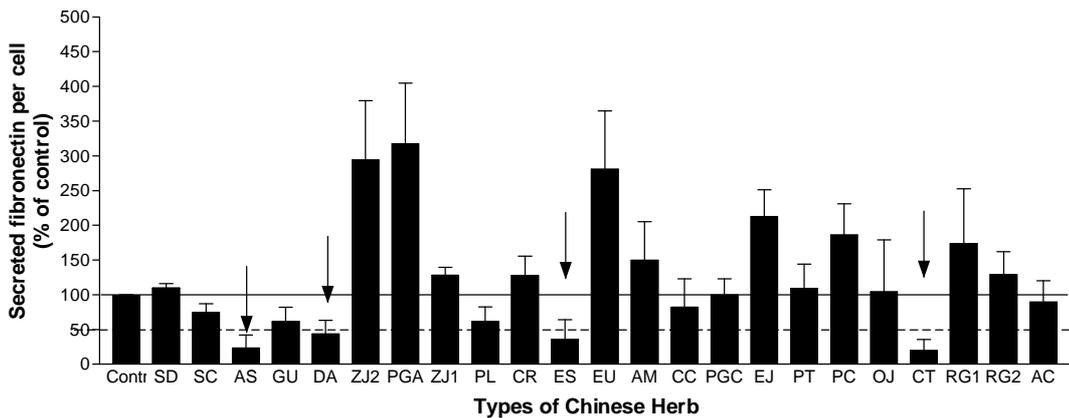
SC1d, SC3d in 10mM β -hydroxybutyrate in NRK-49F, a normal rat kidney fibroblast cell line.



圖二、建立以酮體誘導腎纖維母細胞(NRK-49F) 過量產生纖維蛋白之柱狀曲線。顯示利用本方法，可有效建立活體外腎臟纖維化的模型。

Effects of herbal fraction on fibronectin secretion

SC1d, SC2d in 10mM β -hydroxybutyrate, SC1d with 100 μ g/mL of each herbal ext. in NRK-49F, a normal rat kidney fibroblast cell line.

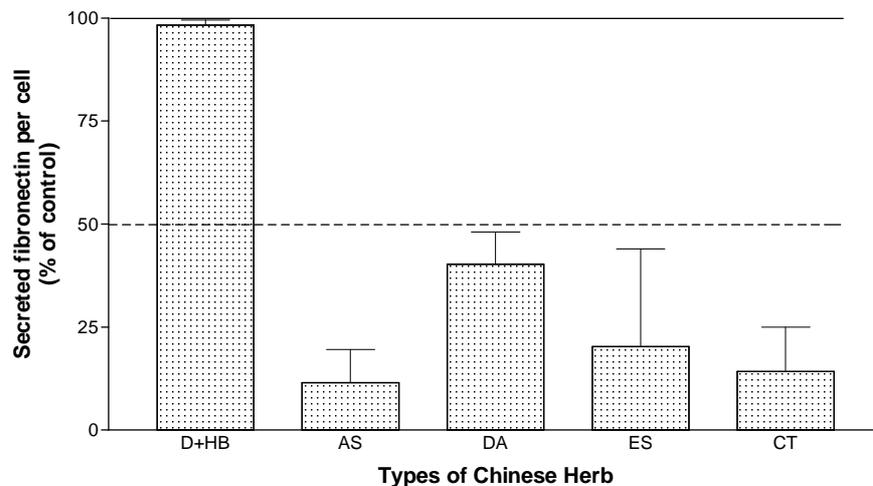


Positive candidate:

- AS: Angelica sinensis(Oliv.) Diels, 當歸
- DA: Dioscorea alata L., 山藥
- ES: Ephedra sinica Stapf, 麻黃
- CT: Carthamus tinctorius, 紅花

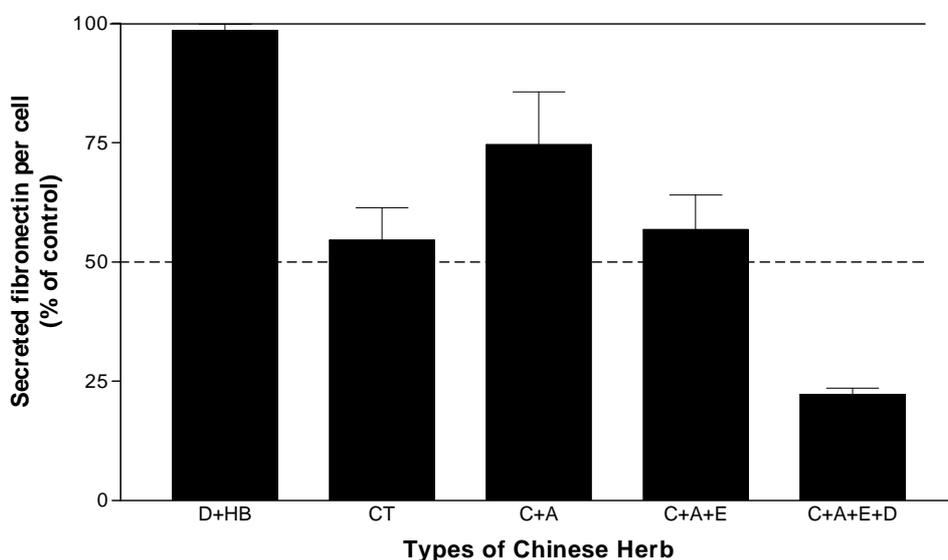
圖三、23 種中草藥之萃取物對於腎纖維母細胞抑制纖維蛋白表現之分析。本圖之 control 表示以 beta-hydroxybutyrate 刺激後細胞所產生的纖維程度。代號：CT：紅花、A：當歸、E：麻黃、D：山藥。可以看到上述四種中藥材可以顯著地抑制腎臟纖維母細胞產生纖維。

Effects of herbal fraction on fibronectin secretion
SC1d, SC2d in 10mM b-hydroxybutyrate, SC1d with 100mg/mL of each herbal ext. in NRK-49F, a normal rat kidney fibroblast cell line.

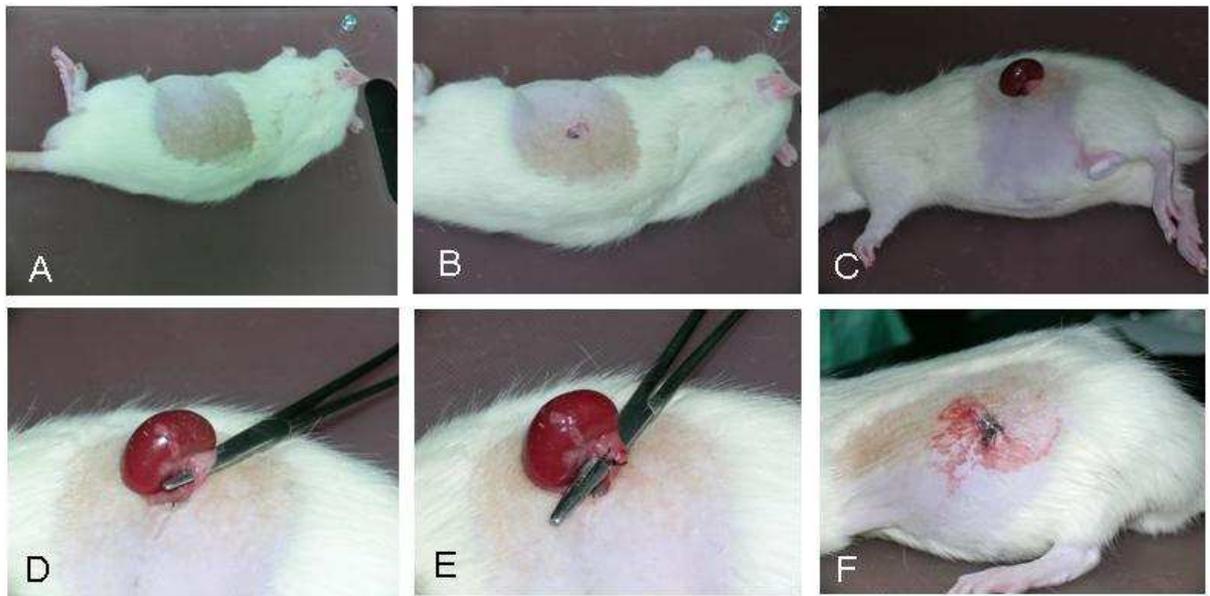


圖四、四種中草藥之萃取物（單方）對於腎纖維母細胞抑制纖維蛋白表現之分析。代號：CT：紅花、A：當歸、E：麻黃、D：山藥

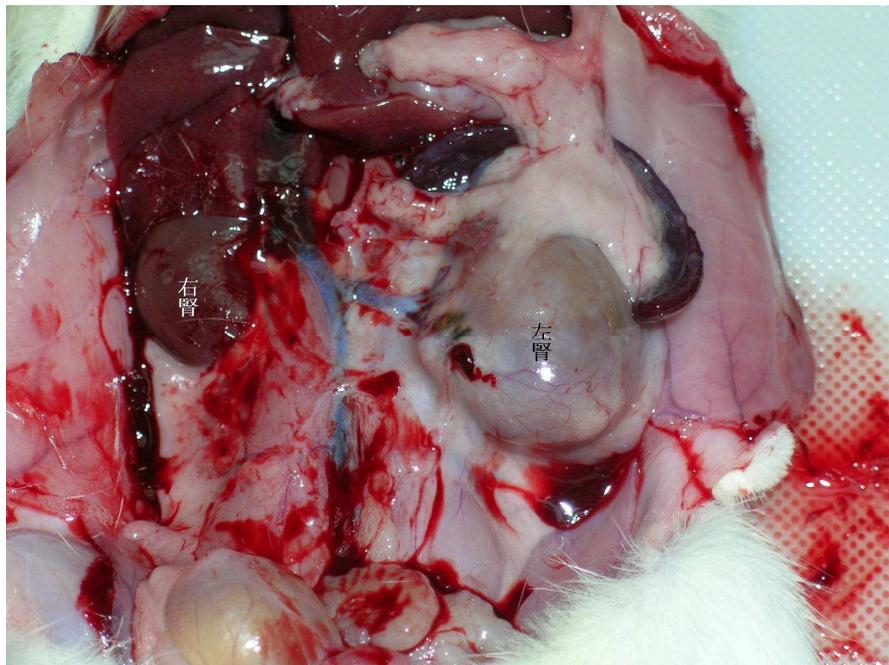
Effects of herbal fraction on fibronectin secretion
SC1d, SC2d in 10mM b-hydroxybutyrate, SC1d with 100mg/mL of each herbal ext. in NRK-49F, a normal rat kidney fibroblast cell line.



圖五、四種中草藥之萃取物（複方）加成作用對於腎纖維母細胞抑制纖維蛋白表現之分析。代號：CT：紅花、A：當歸、E：麻黃、D：山藥



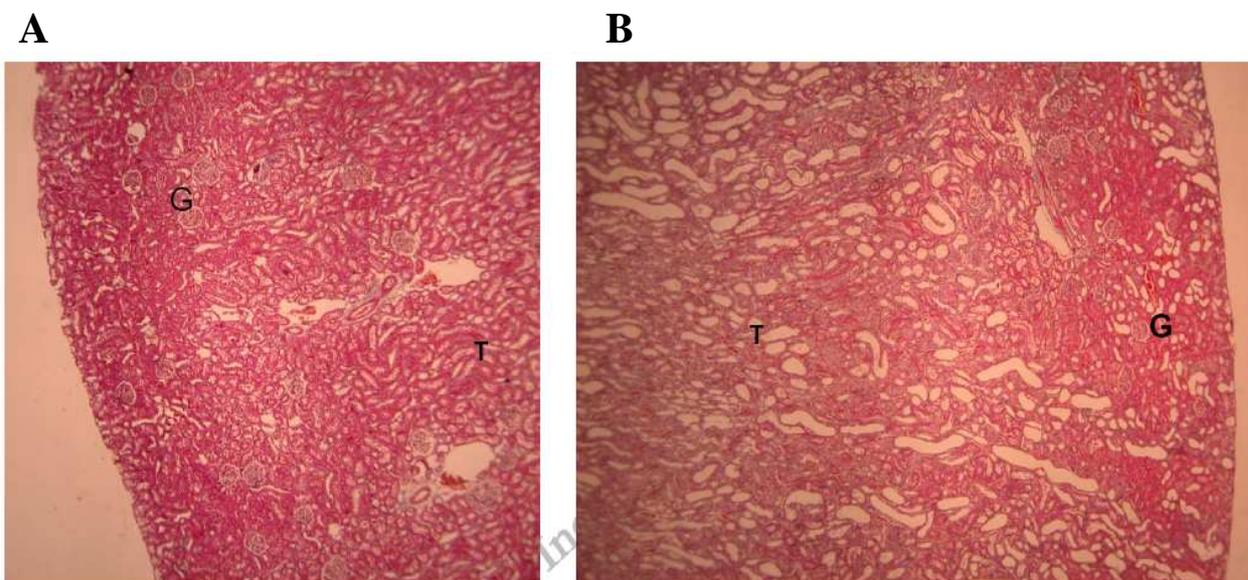
圖六、施行輸尿管結紮手術(以造成腎臟纖維化)的過程。(A)實驗老鼠先麻醉剃毛。(B)(C)以手術刀切開約 1cm 開口。(D)(E)(F)以鑷子將腎臟移出體外。



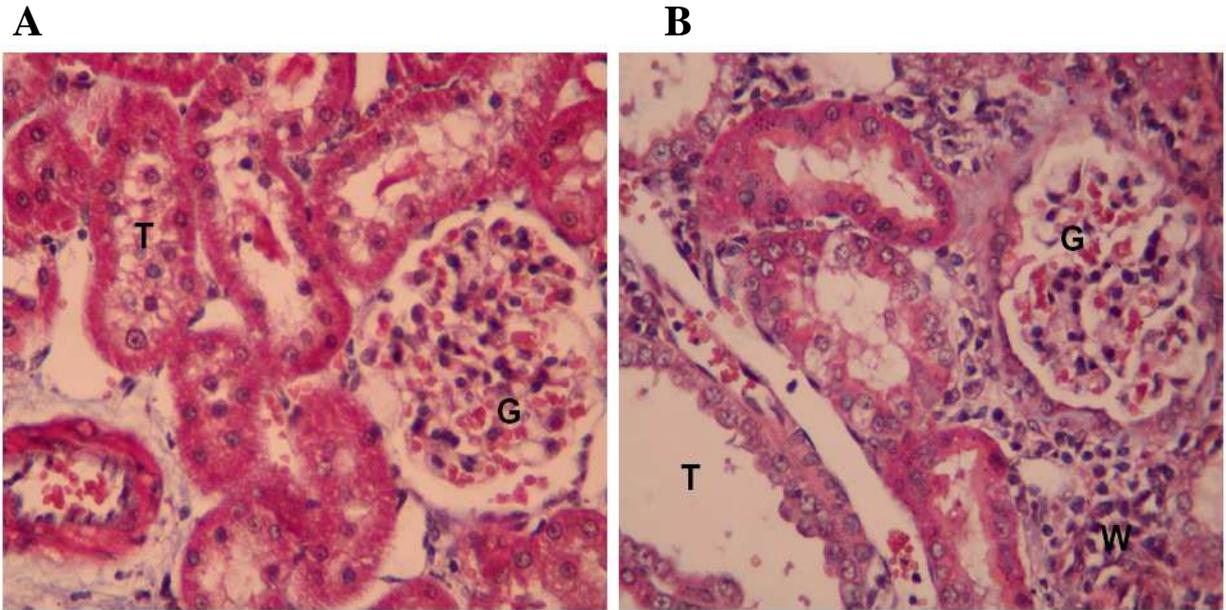
圖七、腎纖維化試驗之陰性對照組大鼠腹腔剖檢照片。其腸道已被移除，照片中可見到暗紅色的右腎(正常腎)與淺褐色的左腎(病變腎)，左腎明顯腫大，且與周圍脂肪、腹壁肌肉甚至脾臟產生沾黏，腹腔正中央可見成暗紅色(照片中為偏藍色)的腹大靜脈與左腎靜脈。右腎上方為暗紅色的肝臟。



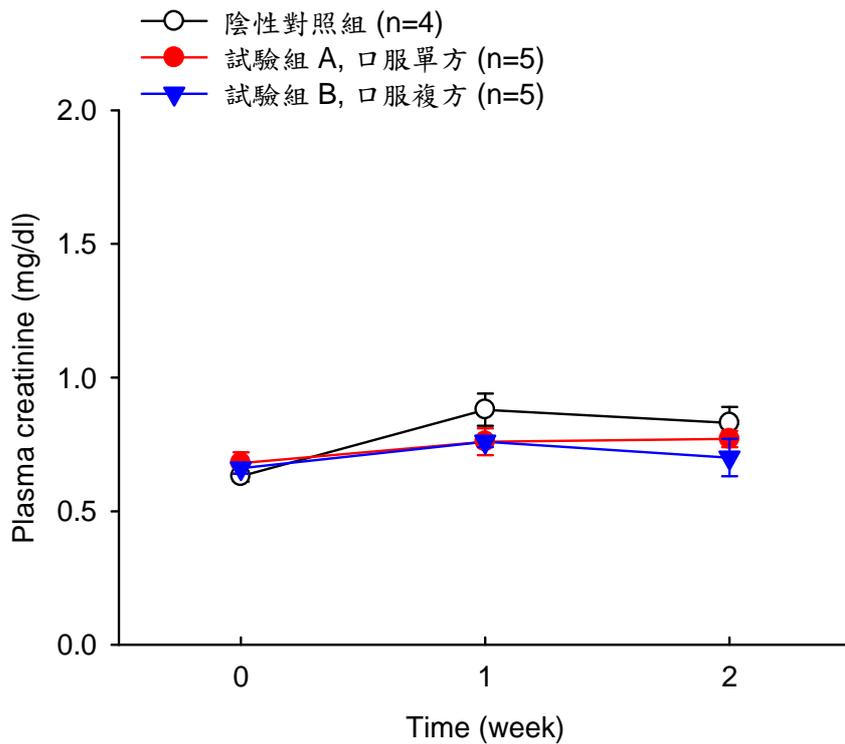
圖八、腎纖維化試驗之陰性對照組大鼠左腎切開照片。由於輸尿管結紮使尿液積在腎臟中，2 週後犧牲剖檢時，左腎已有明顯腫大(見上頁照片)。將左腎切開時，可見大量尿液流出，因為已引發炎症反應，流出的尿液為含有膿樣液體的混濁狀，而非清澈液體(照片中未呈現)。由於堆積大量尿液，腎臟的實質組織已被擠壓甚至消失，成為一空殼狀的囊。部分腎組織可見發炎與壞死、化膿的現象(照片下方)。



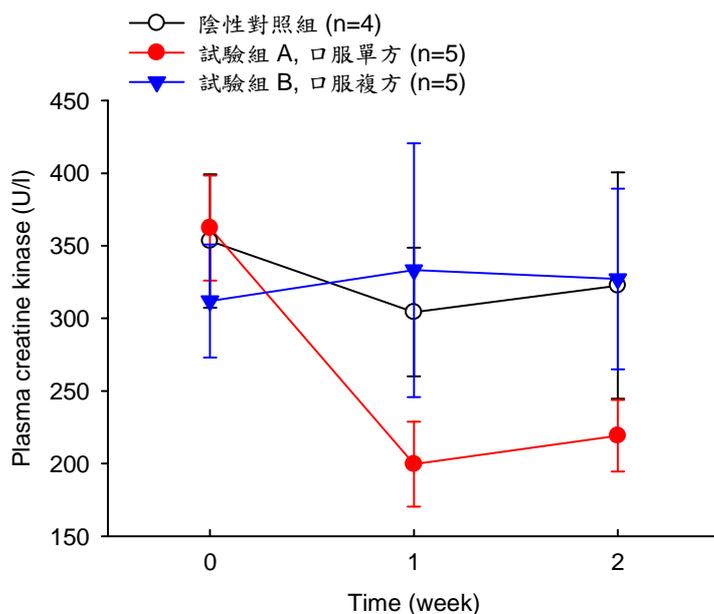
圖九、施行輸尿管結紮手術兩側組織切片低倍比較圖。A：1 週後之對側腎(正常)，40x放大，1 週後之切片圖，腎小球與腎小管構造緻密。B：腎小管因尿液堆積而膨脹，40x放大，G：腎絲球 T：腎小管



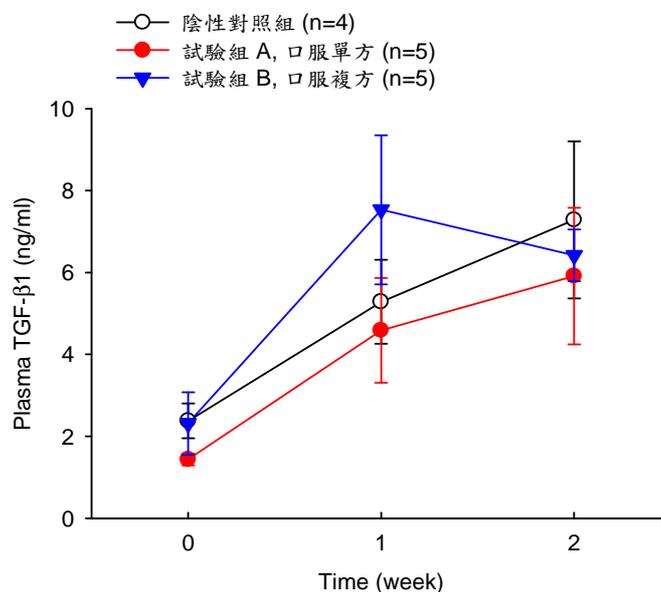
圖十、施行輸尿管結紮手術兩側組織高倍切片比較圖。A：1 週後之對側腎（正常），400x。B：1 週後之病變腎，400x 腎小管膨脹，間質部有白血球浸潤(發炎)。G：腎絲球 T：腎小管 W：白血球



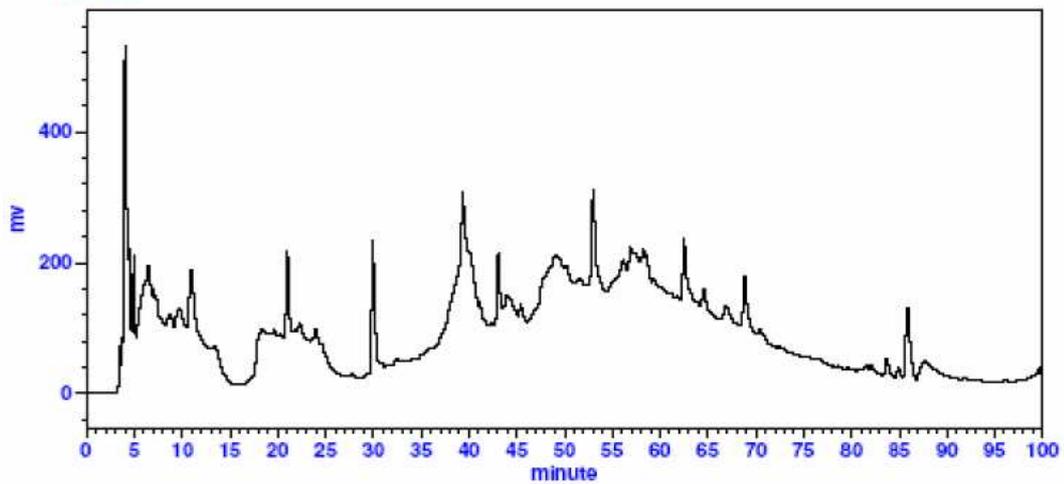
圖十一、施行輸尿管結紮手術之大鼠，餵與相關中藥之各組動物血漿 creatinine 的變化。陰性對照組（即輸尿管結紮且未經治療組），試驗組 A：表示餵食單方紅花，試驗組 B：表示餵食複方（紅花、當歸、麻黃、山藥）。結果顯示，餵食單方/複方，具有稍微抑制血漿中 creatinine 的濃度的效果。



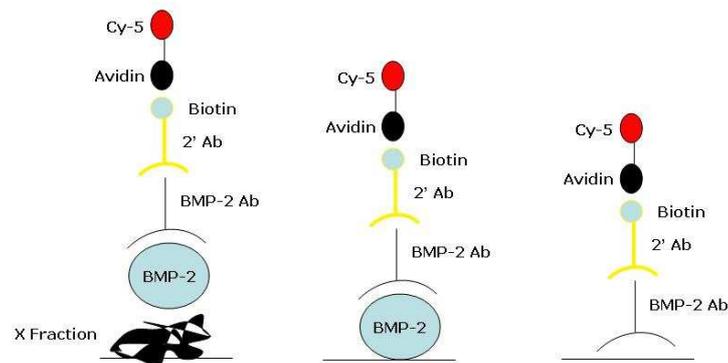
圖十二、施行輸尿管結紮手術之大鼠，餵與相關中藥之各組動物血漿 creatine kinase 的變化。陰性對照組（即輸尿管結紮且未經治療組），試驗組 A：表示餵食單方紅花，試驗組 B：表示餵食複方（紅花、當歸、麻黃、山藥）。結果顯示，餵食單方紅花，具有顯著抑制血漿中 creatinine kinase 活性濃度的效果。

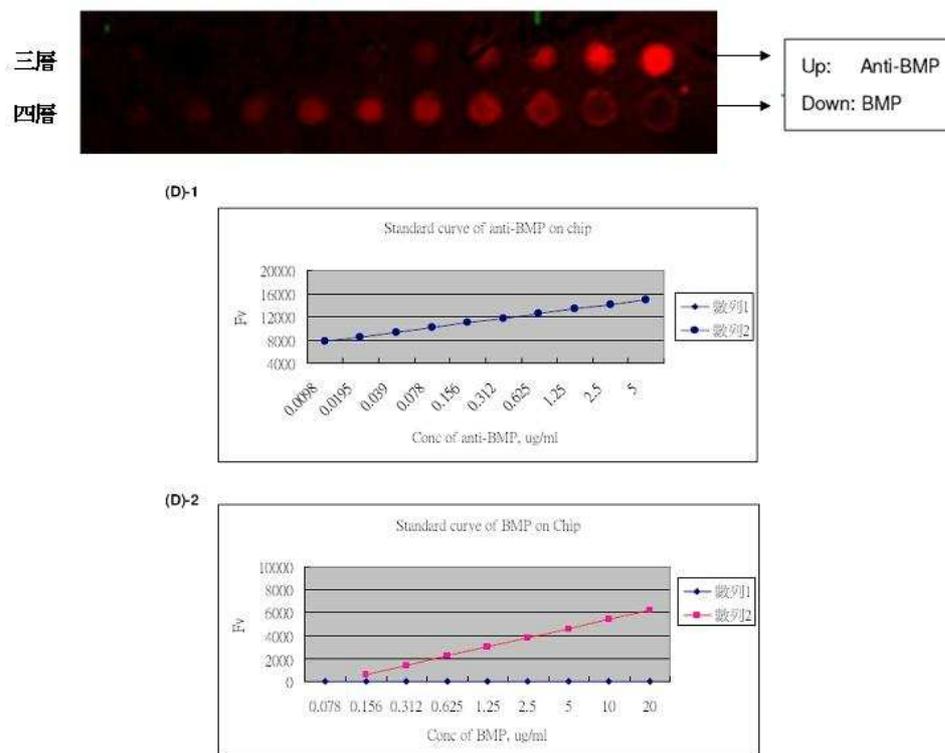


圖十三、施行輸尿管結紮手術之大鼠，餵與相關中藥之各組動物血漿 TGF-β1 的變化。TGF-β1 是血液中促進組織纖維化的最重要生長因子。陰性對照組（即輸尿管結紮且未經治療組），試驗組 A：表示餵食單方紅花，試驗組 B：表示餵食複方（紅花、當歸、麻黃、山藥）。結果顯示，餵食單方紅花，具有顯著抑制血漿中 TGF-β1 濃度的效果。

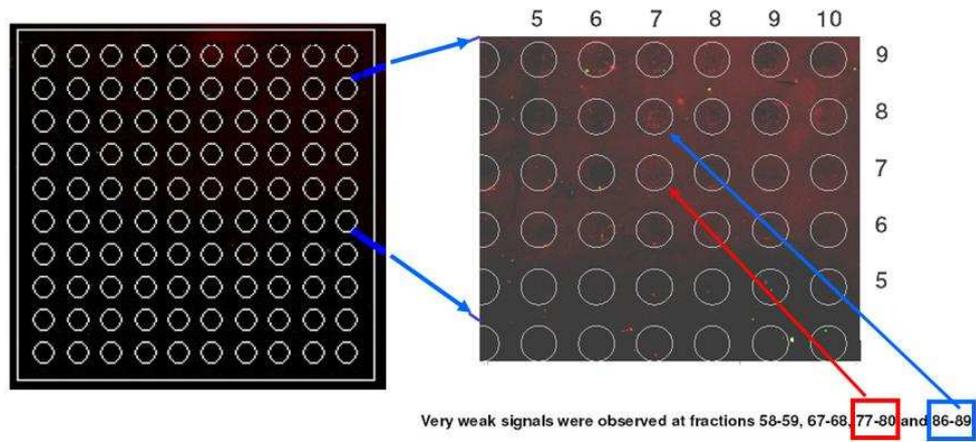


圖十四、紅花萃取物進行 HPLC 分析的結果。萃取物秤重後溶於水中，配置成最後溶液濃度為 20 gm/ml。層析反應乃根據 Shimadzu 10AP HPLC 系統來進行。同時利用 TSK Gel ODS 80TM (TOSOH) 逆向管柱 (250x4.6mm) 填充 5 μ m 膠體顆粒。主以 H₂O/EtOH 梯度以進行層析。流速為 0.75 ml/min。注射體積為 0.1 ml 每次 (run)。我們利用 UV 偵測器 (波長設為：254nm.) 進行分析。梯度參數如”方法”所述。

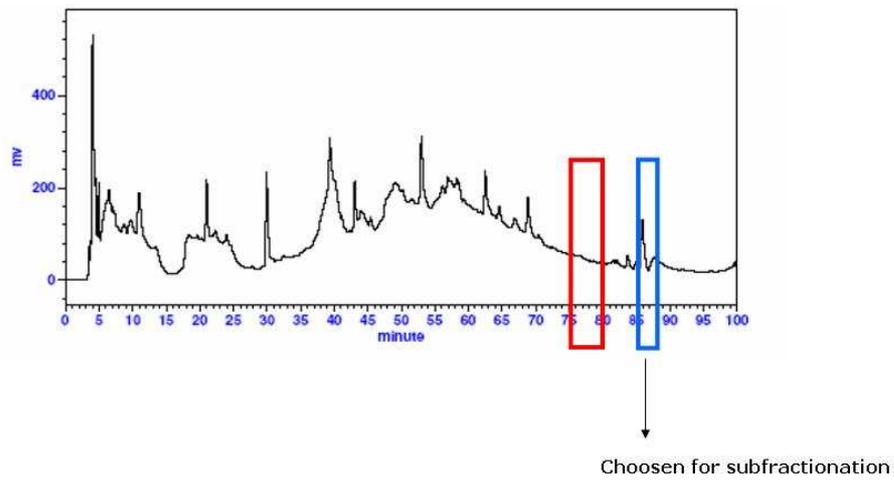




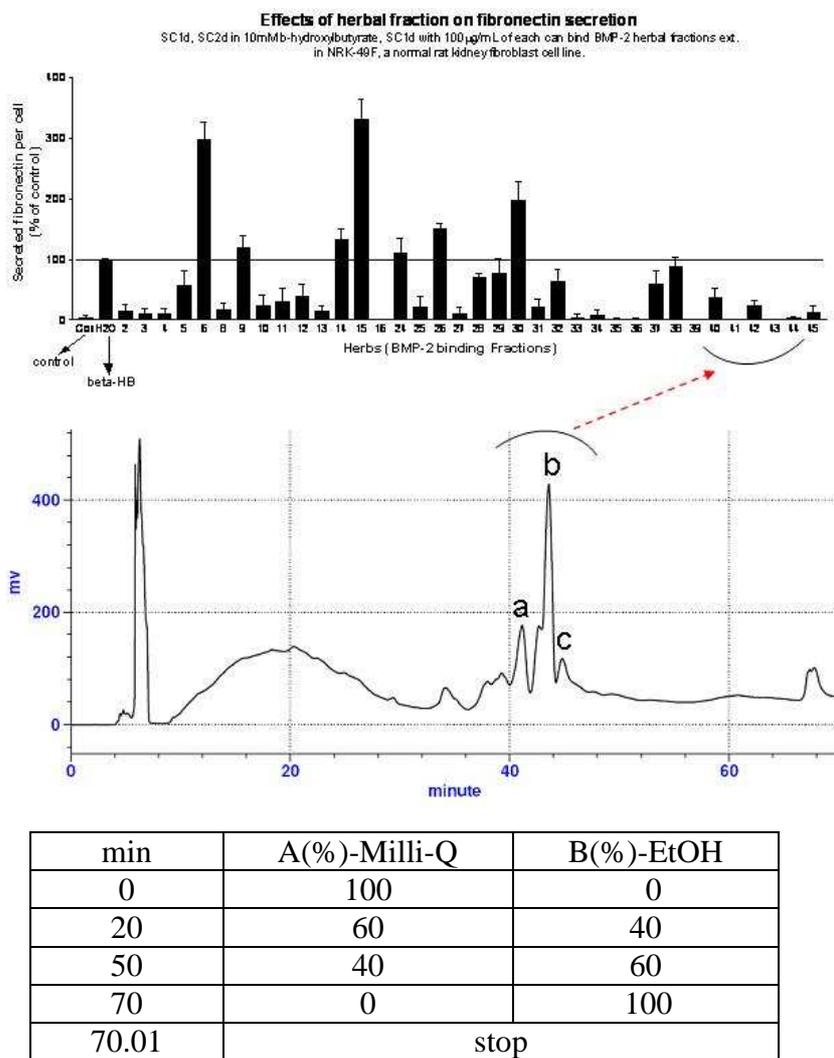
圖十五、紅花萃取物中草藥晶片進行活性成分篩選的標準曲線。BMP-2 乃使用 5 μ g/ml 的濃度, anti-BMP-2 用 4 μ g/mL, biotinylated anti-mouse 抗體用 5 μ g/ml, Cy5-SA 用 5 μ g/ml。以上這些物質以上述順序進行反應(四層)雜交。並於 TBST (5 μ g/ml in 50 mM Tris-HCl, pH 7.3, 0.15 M NaCl, and 0.05% Tween 20)清洗四次, 以水清洗四次, 最後於 37 $^{\circ}$ C 烘乾晶片, 接下來把兩個玻璃蓋覆上。我們使用 20 μ l 的 anti-CYP BMP-2 抗體(4 μ g/ml 溶於 TBST), 並加入於晶片上每個反應槽, 於 37 $^{\circ}$ C 反應兩小時, 清洗的步驟與剛剛所述一樣。包括與 biotinylated anti-mouse 抗體和 Cy5-SA 雜交的過程都一樣。最後以晶片雷射掃描儀分析之, 並以 GenePix 4.0 軟體進行統計。結果顯示, 以本實驗條件, 晶片上反應之現性狀況極佳。



Herbochip data mapped with HPLC profile



圖十六、紅花萃取物中草藥晶片進行活性成分篩選的結果。雜交與清洗的步驟與剛剛所述一樣。包括與 biotinylated anti-mouse 抗體和 Cy5-SA 雜交的過程都一樣。最後以晶片雷射掃瞄儀分析之，並以 GenePix 4.0 軟體進行統計。結果顯示，以本實驗條件，晶片上對應於 HPLC 77-80 與 86-89 的位置，與抗纖維蛋白 BMP-2 有微弱的結合反應，而這部分恰巧包含數個特性波峰。說明出，這些位置極可能具有抗腎纖維化化合物的潛力。



圖十七、紅花萃取物 HPLC 二次層析與相對應特性波峰之抗腎纖維化生物效應結果。下圖：乃為紅花之層析圖，針對圖十六中 76-95 層析位置再次濃縮分析，此圖乃於 Synergic Fusion-RP 80 (Phenomenex) 逆相管柱(250x4.6mm) 充填 5μm 膠體顆粒進行分析，並以波長 254nm 進行觀察，分析的條件乃由 H2O/EtOH 梯度進行。這層析結果乃於 0-70 管內完成。以 0.75ml/fraction/min 為條件。之後層析物，以微量離心管裝妥後乾燥，準備隨後的纖維化分析。上圖：為對應區域進行腎纖維母細胞(NRK)纖維 fibronectin 合成的結果。可以看到 beta-hydroxybutyrate 仍可有效造成腎細胞纖維化，同時，更有意義的是圖十六所對應藍色區塊(也就是本圖中的 a,b,c 三個特性波峰)，竟然很有意義地抑制腎臟細胞合成纖維。因此將此區域 (a,b,c) 進行後續分析應可得到正面的結果。

附錄：五種具有抗纖維化能力之中草藥所含的化學成分（依 MDL 資料庫）

一、山藥 (*Dioscorea alata*) 由 MDL CrossFire Commander 查詢到 17 個 compounds

山藥，又稱為田薯，為本土性山藥植物分佈最廣者。雖然在 *D.alata* 並無分離出許多化合物，但在過去文獻中，山藥的一般營養成份包含豐富之維生素、微量元素及多種必需 amino acid。

山藥除一般營養成份之外，尚含黏液質(mucin)、膽鹼(choline)、尿囊素(allantion)、薯蕷皂甘素(diosgenin)、固醇類皂素(steroid saponins)、山藥多醣、醣蛋白、多種抗養化酵素、澱粉酵素等特殊成份。

薯蕷皂甘素(diosgenin)：山藥塊莖含有豐富的固醇類皂素，經水解去掉糖基的配醣體(aglycone)稱為薯蕷皂甘素或薯蕷皂甘配基(diosgenin)，是山藥之主要活性成份，為 steroid saponins 之一種，diosgenin 之結構與膽固醇相似。經口服後，於肝臟代謝，經膽汁排除；這種固醇類的結構，在人體內可以轉化為其它重要的固醇類藥物相似，故為合成重要醫療用類固醇之基本原料。

山藥之藥理作用：

(一)調節或增強免疫功能

(二)抑制癌細胞

(三)調整腸胃功能

(四)調節女性荷爾蒙：山藥所含之diosgenin，因其結構似雌激素前驅物，而被認為可能有雌激素之作用。

(五)抗氧化作用：山藥水溶性多醣具體外抗氧化作用；山藥之甲醇萃取液在清除DPPH自由基能力、螯合亞鐵離子能力、還原能力及抑制共軛雙烯鍵生成能力均有顯著的抗氧化活性。

(六)降血糖作用

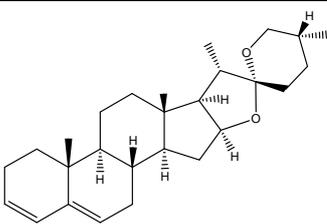
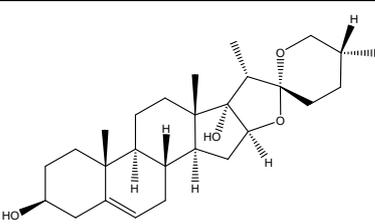
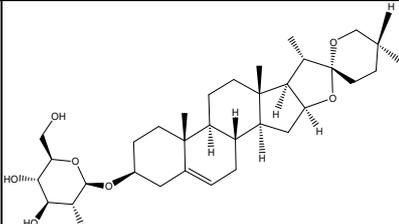
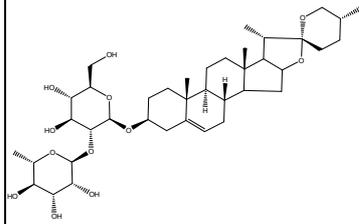
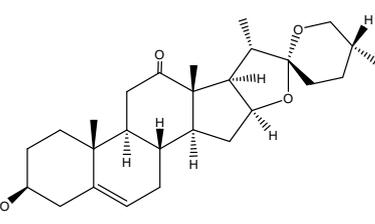
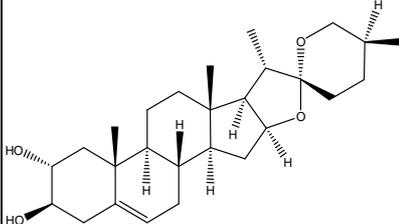
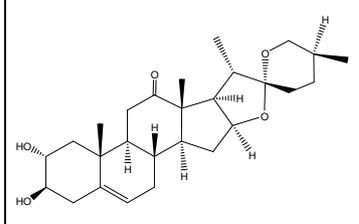
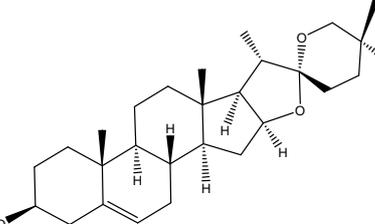
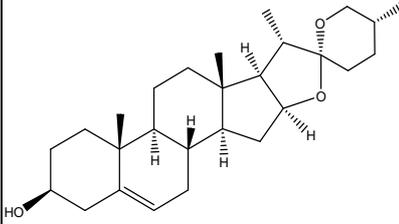
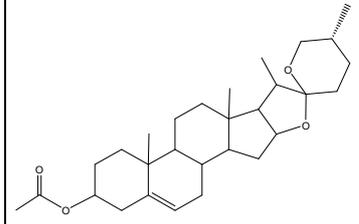
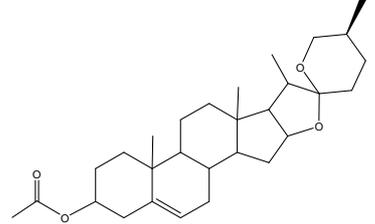
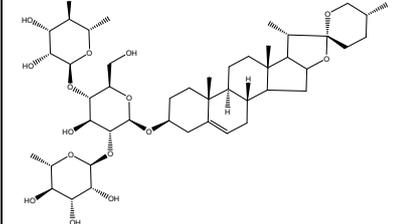
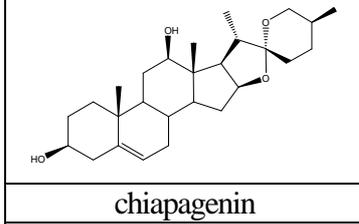
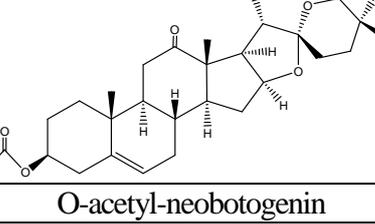
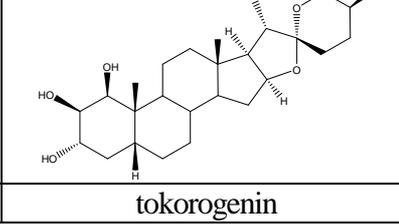
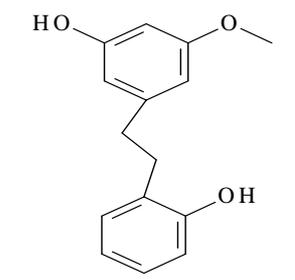
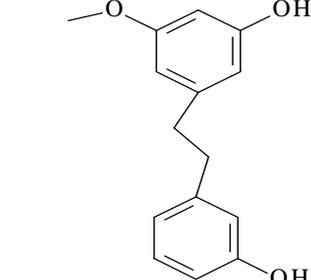
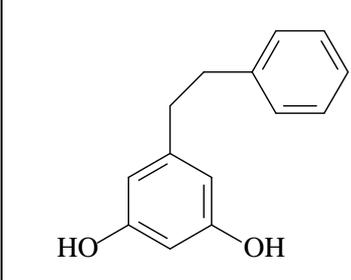
(七)降血脂作用

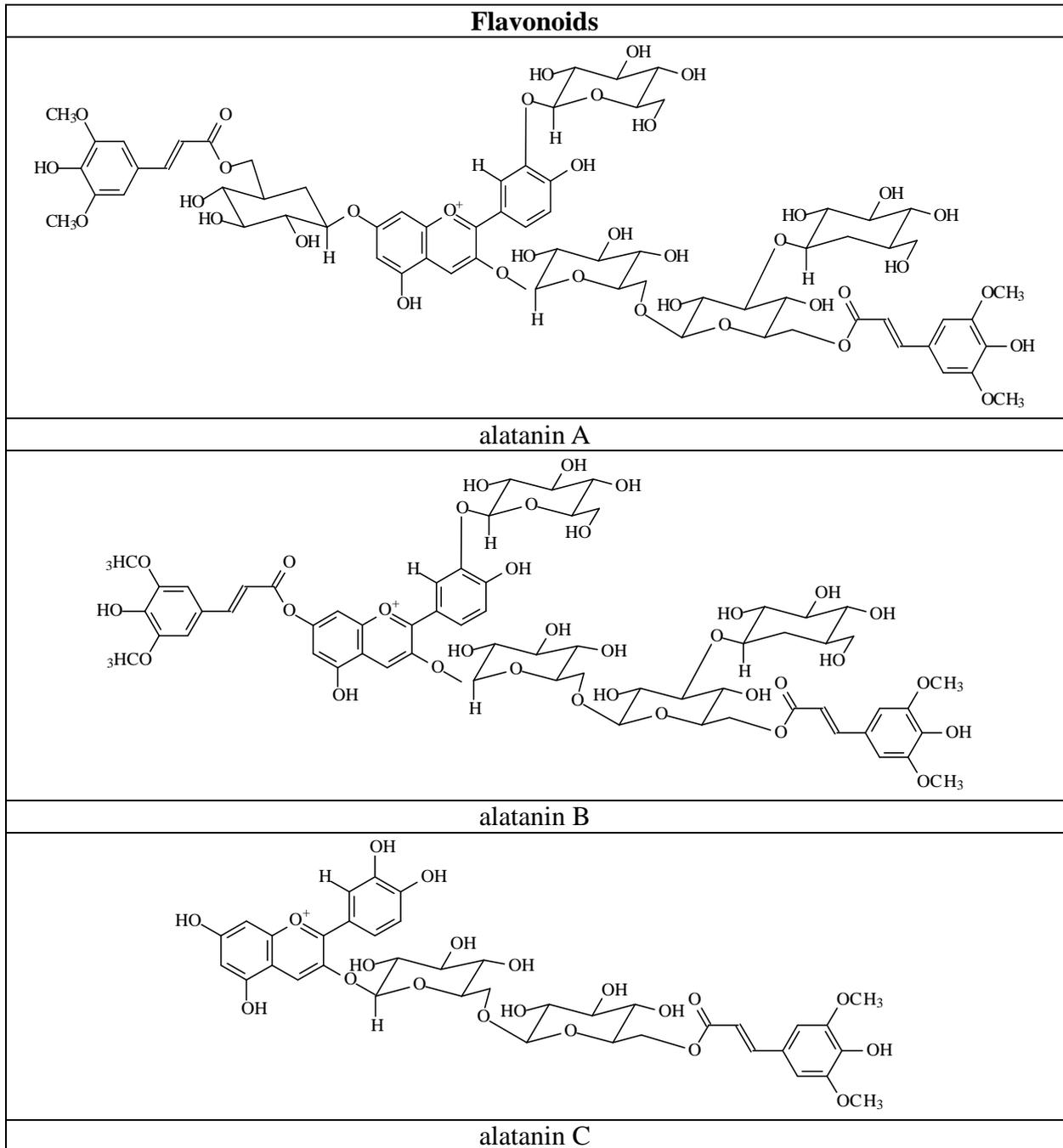
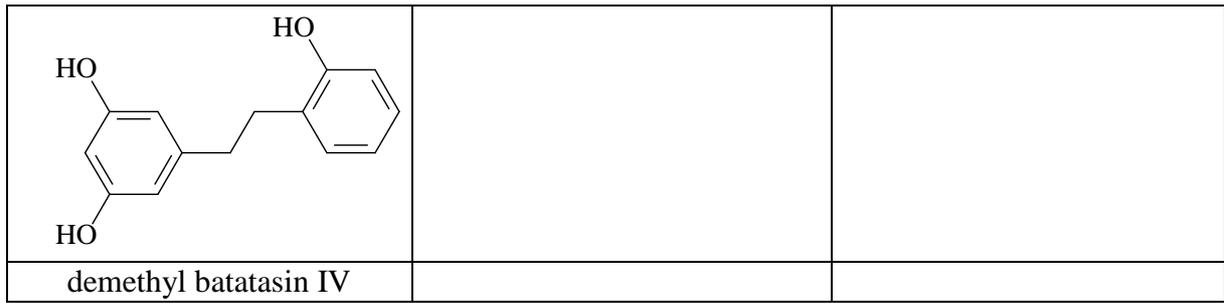
(八)降血壓作用

(九)解毒作用

(十)抗菌作用

部份代表結構如下：

Steroids		
		
(25 <i>R</i>)-spirosta-3,5-diene	(25 <i>R</i>)-spirost-5-ene-3β,17-diol	(25 <i>R</i>)-3β- <i>D</i> -glucopyranosyloxy-spirost-5-ene
		
dioscin prosapogenin A	botogenin	lilagenin
		
neokammogenin	yamogenin	diosgenin
		
diosgenin-acetat	yamogenin-acetat	dioscin
		
chiapagenin	O-acetyl-neobotogenin	tokorogenin
Phenolic		
		
batatasin IV	batatasin III	dihydropinosylvin



二、防風(*Saposhnikovia divaricata*)由MDL CrossFire Commander查詢到15個compounds

防風為繖形科 *Siler divaricatum* Benth et Hook. 的植物，治風寒感冒之頭痛目眩，常配荊芥，屬於辛溫發表輕劑，另亦應用於脊痛項強，風寒濕痺，骨節酸痛，四肢攣急，其祛風而不燥的特性，為風藥中潤藥。

其成份含有 coumarins, cimifugin, cimifugin glucoside, hamaudol, hamaidol glucoside, 5-O-methylvisamminol 其最主要的用部是為根與根莖。

部份代表結構如下：

Chromones		
cimifugin	<p><i>sec</i>-<i>O</i>-glucosylhamaudol: R₁=H, R₂=βGlc ledebouriellol: R₁=OH, R₂=angeloyl hamaudol: R₁=H, R₂=H divaricatol: R₁=OH, R₂=acetyl</p>	
Coumarins		
<p>isofraxidin: R₁=OH, R₂=OCH₃ scopoletin: R₁=OH, R₂=OH fraxidin: R₁=OCH₃, R₂=OH</p>	<p>psoralen: R₁=H, R₂=H xanthotoxin: R₁=H, R₂=OCH₃ bergapten: R₁=OCH₃, R₂=H imperatorin: R₁=H, R₂=OCH₂CHC(CH₃)₂ isoimperatorin: R₁=OCH₂CHC(CH₃)₂, R₂=H</p>	<p>(3'<i>S</i>)-hydroxydeltoin: R=OH deltoin: R=H</p>
<p>glycerol monolinoleate: R = -CO(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₄CH₃ glycerol monooleate: R = -CO(CH₂)₇CH=CH(CH₂)₇CH₃</p>		panaxynol
		falcarinone

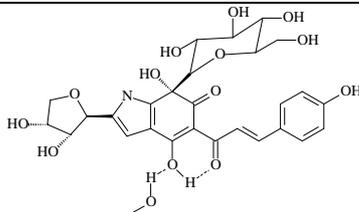
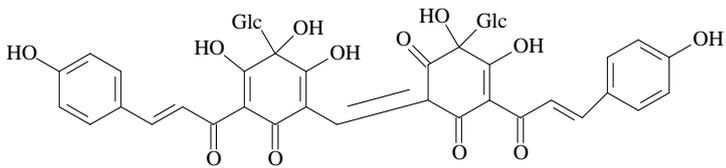
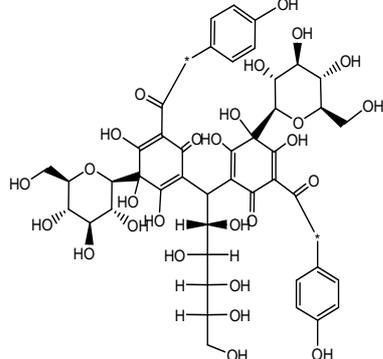
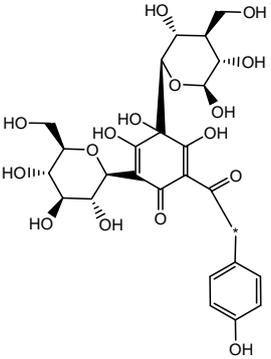
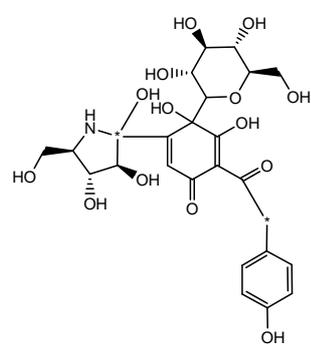
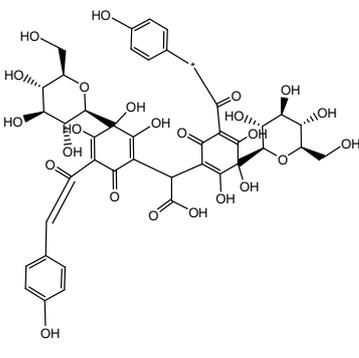
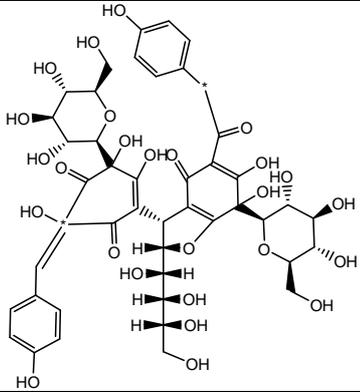
三、紅花(*Carthamus tinctorius*) 由MDL CrossFire Commander查詢到 114 個compounds

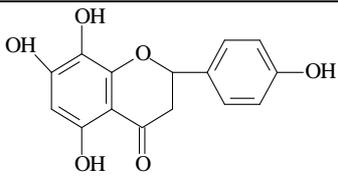
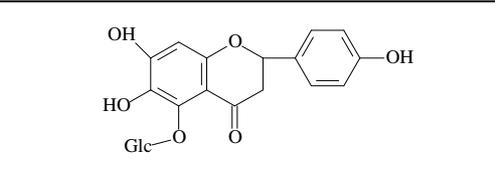
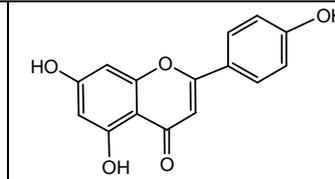
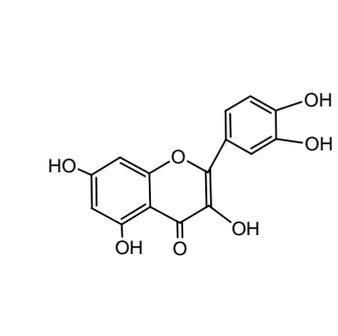
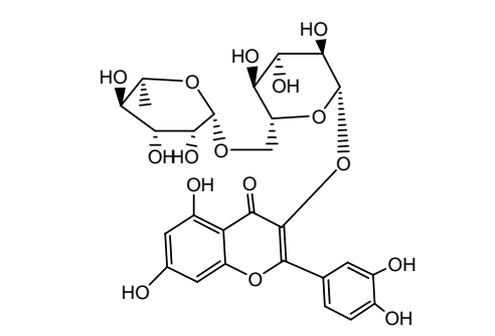
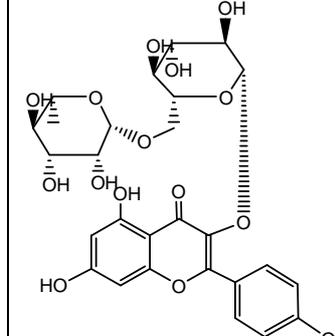
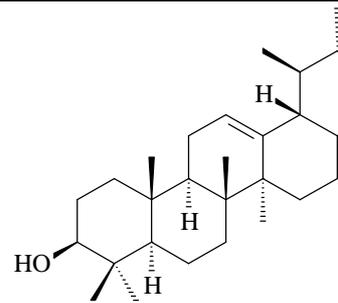
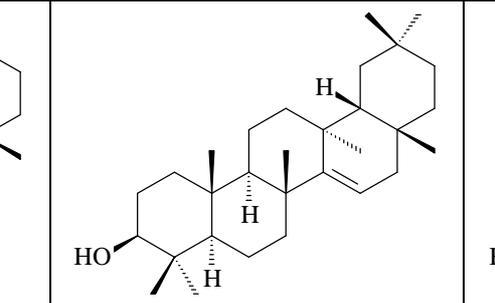
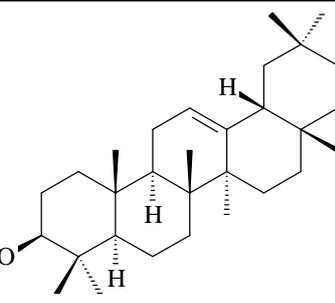
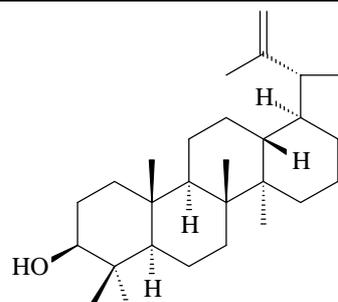
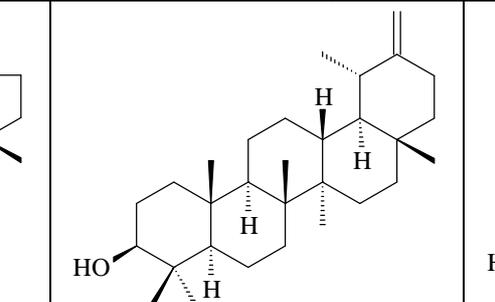
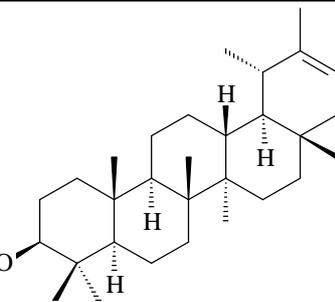
為菊科，原產埃及。紅花可入藥，有活血通絡之功效。紅花果實中之 safflower oil---linoleic acid 的含量特別多76.6-79.0%，長期食用這種油，可降低血液中的膽固醇，防止血管硬化。因此，可用它來治冠心病；由於紅花油中的亞麻酸量很低，所以是製作油漆的好原料。紅花在西藏東部、東南部以及南部地區均可大力栽培，並有很大的發展前途。

漢方：為驅瘀血藥，使用在腹痛，婦人痛，產前產後。

成份：色素，carthamin(紅色色素)，carthamidin(黃色色素)，fatty acid

部份代表結構如下：

quinones		
		
cartormin	carthamin (紅色色素)	
		
safflor yellow B	hydroxysafflor yellow A	tinctormine
		
precarthamin	anhydrosafflor yellow B	

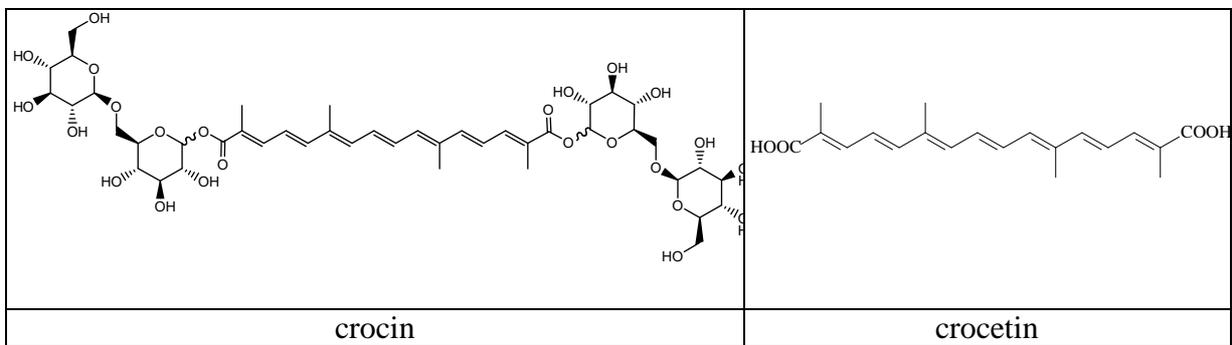
Flavonoids		
		
carthamidin	neocarthamin	apigenin
		
quercetin	quercetin-3-6- β -L-rhamnopyranosyl- β -D-glucosid	kaempferol-3-O-rutinosid
Triterpenes		
		
α -amyrin	taraxer-14-en-3 β -ol	β -amyrin
		
lupeol	taraxast-20(30)-en-3 β -ol	taraxast-20-en-3 β -ol

紅花與番紅花僅一字之差，所以在概念上常誤認為同物異名，也有人把西藏早已引起種栽培的紅花當作番紅花。其實，這是兩種完全不同的植物，紅花是屬雙子葉植物綱的菊科一年生草本植物，高達 1 米左右，頭狀花序中的每一朵管狀花呈桔紅色。而番紅花是屬單子葉植物綱的鳶尾科多年生草本植物，具鱗莖，花為表紫色或紫紅色。它們雖在活血通絡方面功能相似，但在系統演化、形態發育和其他用途等方面存在著很大的差異。

番紅花(*Crocus sativus L*)，又叫西紅花，原產西班牙，在伊朗、沙特阿拉伯等國家中也有悠久的栽培歷史。在國外，最初僅作為染料來栽培，后

來才認識到它是一種活血通絡、化瘀止痛的珍貴藥材。在醫學上常用它來治療血瘀引起的閉經、胸腹脅肋等疼痛，也治療創傷腫，特別是它的養血之功能早已聞名於世。正因如此，早在明朝番紅花就傳入我國，在《本草綱目》中已將它列入藥物之類。當然，就其養血功能而言，要遠遠超過草紅花。

番紅花是種很古老又傳統的藥材，西元前 23 世紀即有藥用及食用的記載，除了正可做為色素以外，也是種香辛料。番紅花的食用部份是取自於番紅花 (*Crocus sativus*) 花蕊中間的三個柱頭，由於 150,000 朵花蕊才能製成 1 公斤的成品，因此價格非常昂貴而且一直居高不下。其番紅花的主成份為 crocetin 和 crocin。其結構如下：

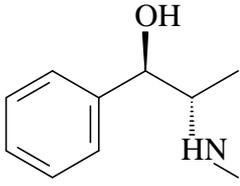
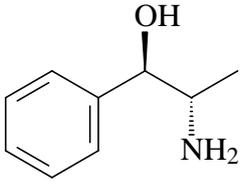
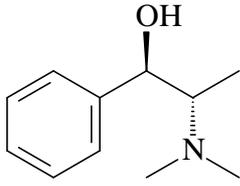
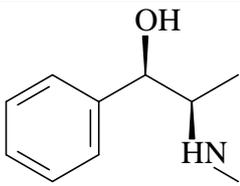
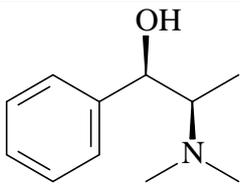
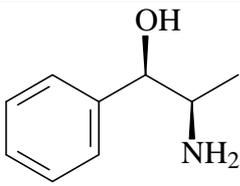


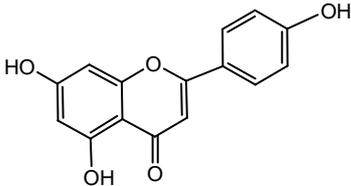
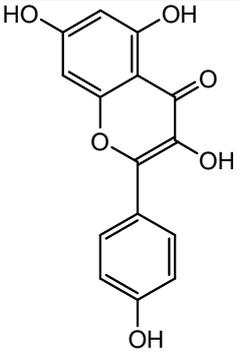
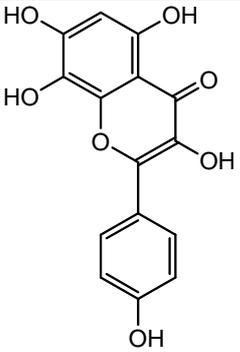
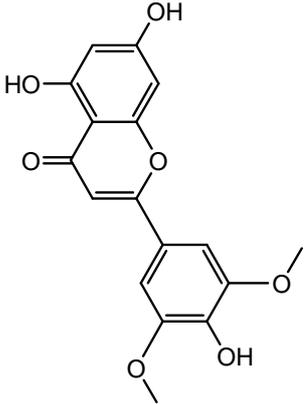
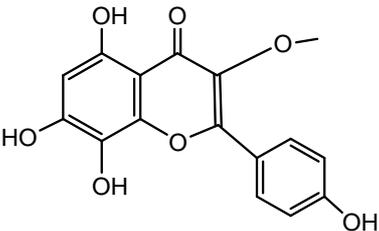
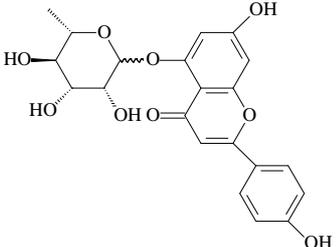
番紅花含多種類胡蘿蔔素色素，據理論推測新鮮植物之原番紅花素 (protocrocine) 於乾燥時分解為一分子之番紅花素 (crocine) 以及 2 分子之番紅花苦素 (picrocrocine)。番紅花素水解產生龍膽二糖與番紅花酸 (crocetin)，番紅花苦素則產生葡萄糖與番紅花醛。

四、麻花 (*Ephedra sinica*) 由 MDL CrossFire Commander 查詢到 19 個 compounds

- (一) Ephedrine 可以弛緩支氣管平滑肌，因為可以緩解痙攣故用在氣喘之治療。
- (二) 可興奮交感神經之末梢，引起血管收縮 (特別是內臟)，使血壓上升。
- (三) 呈現出對大腦有興奮作用，故對像 barbituric acid 衍生物等中樞抑制藥引起的中毒，有解毒作用。
- (四) 根含有 ephedradine 等 alkaloid，作用和 ephedrine 完全相反，有血壓下降，呼吸增大，末梢血管擴張作用，漢方上使用做為止汗藥。

部份代表結構如下：

phenylalkylamines		
		
(-)-ephedrine	(-)-norephedrine	(-)-methylephedrine
		
(+)-pseudoephedrine	(+)-methylpseudoephedrine	(+)-norpseudoephedrine

Flavonoids		
		
apigenin	kaempferol	3,5,7,8-tetrahydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)-chromen-4-one
		
5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxy-phenyl)-chromen-4-one	5,7,8-trihydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)-3-methoxy-chromen-4-one	apigenin-5-rhamnoside

Benzoic acid
4-(2-eicosyloxycarbonyl-vinyl)-benzoic acid
4-(2-docosyloxycarbonyl-vinyl)-benzoic acid

五、當歸(*Angelica sinensis*)由MDL CrossFire Commander查詢到15個 compounds

當歸為繖形科Umbelliferae，而最主藥的用部為根。它具有鎮靜、鎮痛、貧血、血行障礙等各種婦科疾患。

性狀：由主根分出許多大的支根，分歧成紡錘形像馬尾狀。具特有的強芳香味。味微甜後稍微辛。皮部組織中有多數的油室。

藥理：精油顯示對大腦有鎮靜、麻醉作用，對呼吸先亢進接著麻痺。對體溫與血壓有下降作用。Ligustilide, butylidene phthalide 等被認為有抗acetylcholine作用。

其他藥理作用：

(一)免疫作用

(二)抗炎作用：當歸成分正丁烯內酯及本內酯可鬆弛氣管平滑肌，對抗組織胺-乙醯膽鹼引起的支氣管氣喘。

(三)抗癌作用：當歸可廣泛用於各種腫瘤，尤其是婦科腫瘤，以氣血停滯、瘀血凝聚者最宜。對血虛羸瘦的中晚期癌症或手術、放療、化療後正氣虛弱之患者，亦可選用當歸，以扶正抗癌。

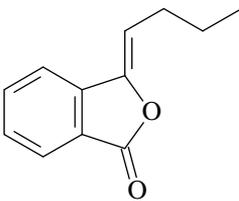
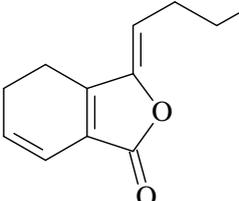
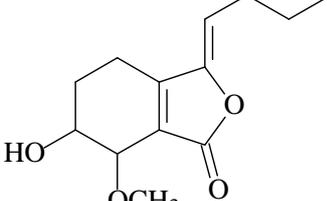
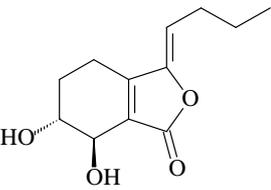
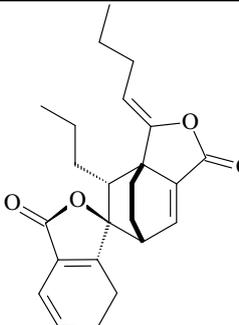
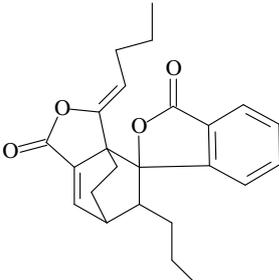
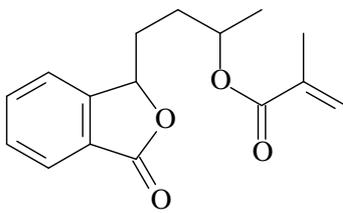
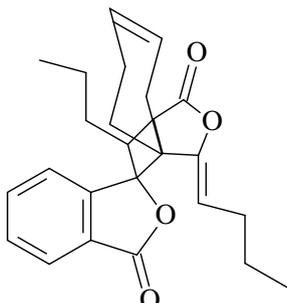
(四)除自由基

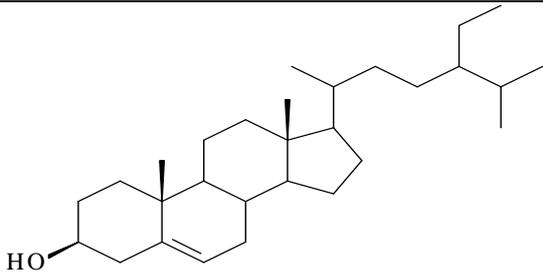
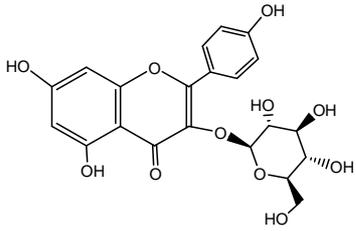
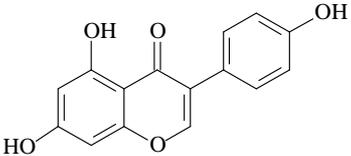
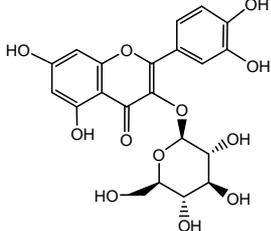
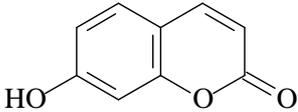
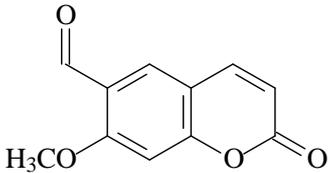
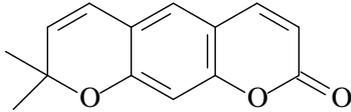
(五)防老抗老

(六)促進造血：當歸水浸液、阿魏酸鈉和當歸多醣，均能顯著促進血紅蛋白及紅血球的生成，有抗貧血作用。

當歸臨床用於治療慢性氣管炎、支氣管氣喘、鼻炎、急性缺血性腦中風、血栓閉塞性脈管炎、心律失調、高脂血症、蕁麻疹、白血球減少症。當歸也用於血虛諸證及婦女月經不調、痛經、經閉等。但當歸在孕婦、月經過多者要慎用，大便溏泄者慎用。

部份代表結構如下：

Phthalides		
		
butylidenephthalide	ligustilide	Z-6-hydroxy-7-methoxydihydroligustilide
		
senkyunolide I	ligustilide dimer	ansapirolide
		
10-angeloylbutylphthalide	sinaspirolide	

Steroid		
		
β -sitosterol		
Flavonoid		
		
3- β -D-glucopyranosyloxy-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-phenyl)-chromen-4-one	kaempferol	2-(3,4-dihydroxy-phenyl)-3- β -D-glucopyranosyloxy-5,7-dihydroxy-chromen-4-one
Coumarins		
		
umbelliferone	7-methoxy-2-oxo-2 <i>R</i> -chromene-6-carbaldehyde	xanthyletin

附件二、中藥材基原鑑定資料：

學名 (Botanical Name) : *Panax ginseng* C.A. Mey.
俗名 (Common Name) (中) : 紅人參
(英) : Red Ginseng Root
來源 (Source) : 為五加科植物人參 *Panax ginseng* C.A. Mey. 之乾燥根。
The dried root of *Panax ginseng* C.A. Mey.

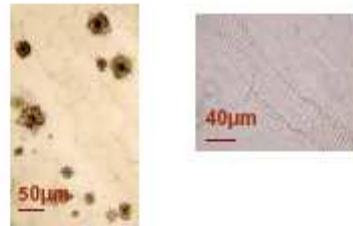
重點形態性狀鑑別

- 呈圓柱形，莖頭短。表面半透明，紅棕色，偶有不透明的暗褐色斑塊。具縱溝、皺紋及細根痕，上部可見環紋，下部有 2~3 條扭曲交叉的支根。斷面平坦，角質樣。中部有顏色較淺的圈心。氣微香而特異，味甘微苦。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓層為數列細胞。皮層窄。韌皮部寬，外側有裂隙，內側薄壁細胞排列較緊密，有樹脂道散在，內含黃色分泌物。每個韌皮束中有樹脂道 3~5 個徑向稀疏排列成一行，整個主根樹脂道稀疏環列成 3~5 層。形成層成環。木質部射線寬廣，導管多成單列，徑向稀疏排列。主為網紋或梯紋導管。薄壁細胞含草酸鈣簇晶及澱粉粒。



學名 (Botanical Name) : *Ziziphus jujuba* Mill.
俗名 (Common Name) (中) : 大棗
(英) : Jujube (Red)
來源 (Source) : 鼠李科 (Rhamnaceae) 植物棗 (*Ziziphus jujuba*) 的乾燥成熟果實。
The dried fruit of *Ziziphus jujuba*.

重點形態性狀鑑別

- 形狀：橢圓形或卵圓形，長 2~3.5 公分，直徑 1.5~2.5 公分。表面：暗紅色，有光澤，具不規則皺紋。果皮薄。果肉厚鬆軟，棕黃色或淡褐色。質地：肉質、柔軟。氣微香，味甜。



學名 (Botanical Name) : *Dioscorea alata* L.
 俗名 (Common Name) (中) : 田薯、參薯
 (英) : Yam
 來源 (Source) : 為薯蕷科 (Dioscoreaceae) 植物田薯 *Dioscorea alata* L.
 之塊莖。
 The tuber of *Dioscorea alata* L.

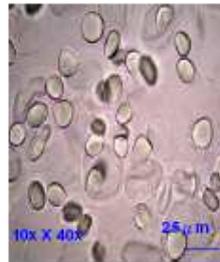
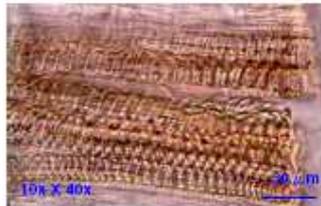
重點形態性狀鑑別

- 呈圓柱形，具分枝，長15-50cm。表面淡黃色至棕黃色，有縱皺紋及未除盡棕褐色栓皮殘留。質堅實，不易折斷。斷面白色粉性，不平坦。氣無，味甜，微酸。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓細胞1-2列，有橢圓形或線狀紋孔。黏液細胞橢圓形，以皮層多見，內含草酸鈣針晶束，長約43-116 μm。中柱鞘為2-4列石細胞組成的斷續環帶。紋孔細小而較密，孔溝明顯；有的胞腔內含草鈣方晶。澱粉粒類圓形或不規則卵圓形，直徑7-30 μm，長24-50 μm，臍點飛鳥狀，星狀或點狀，大的顆粒層紋明顯。



學名 (Botanical Name) : *Schizandra chinensis* (北五味子)
Schizandra sphenanthera (南五味子)
 俗名 (Common Name) (中) : 五味子
 (英) : Schizandra, Fructus
 來源 (Source) : 木蘭科 (Magnoliaceae) 植物五味子 (*Schizandra chinensis*、*Schizandra sphenanthera*) 之乾燥果實。
 The rhizome and fruit of *Schizandra chinensis*、*Schizandra sphenanthera*.
 附註 (Notes) : 用乾燥果實來鑑別。
 For identification, use the fruit only.

重點形態性狀鑑別

- 外觀：果實表面紫紅色或暗紅，皺縮，顯油潤，有的長面會出現“白霜”。形狀：呈不規則球形或扁球形。



重點顯微性狀鑑別

- 中果皮內石細胞明顯呈類長方形，薄壁細胞為類方形內含有澱粉粒。木質部導管為螺旋導管。



學名 (Botanical Name) : *Pinellia ternata* (Thunb) Breit.
 俗名 (Common Name) (中) : 半夏
 (英) : Pinellia Tuber
 來源 (Source) : 為天南星科 (Araceae) 植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb) Breit. 之塊莖。
 The dried tuber of *Pinellia ternata*.

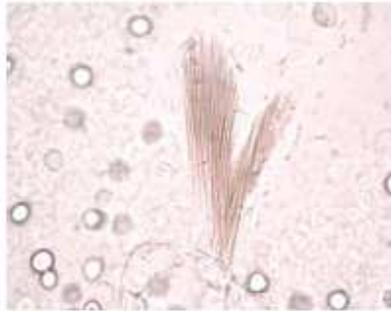
重點形態性狀鑑別

- 本品呈類球形,有的稍偏斜,直徑1~1.5cm。表面白色或淺黃色。頂端有凹陷的莖痕,圍密佈麻點狀根痕。下面鈍圓,較光滑。斷潔白,富粉性。質堅實。氣微,味辛辣,麻舌而刺喉。



重點顯微性狀鑑別

- 草酸鈣針晶束,極多。導管常數個成群排列,以螺旋導管為主。澱粉粒甚多,單粒,類圓形,半圓形或多角形,臍點裂縫狀,點狀或星狀,以2~4 複粒為多見。



學名 (Botanical Name) : *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.
 (*A. lucidus* Lindl., *A. gaudichaudianus* Kunth)
 俗名 (Common Name) (中) : 天冬
 (英) : Asparagus Tuber (Chinese asparagus)
 來源 (Source) : 為百合科 (Liliaceae) 植物天門冬 (*Asparagus cochinchinensis*) 的塊根。
 The tubercle of *Asparagus cochinchinensis*.

重點形態性狀鑑別

- 有塊根長紡錘形或圓柱形,稍彎曲。表面灰棕色或黃棕色,半透明,有深淺不等的縱溝紋及細皺紋,有黏性,皮部厚,中柱明顯。氣微,味微甘、苦。



重點顯微性狀鑑別

- 根被有時殘存,細胞壁稍增厚,略成波狀。皮層約佔根的2/3,外側常有石細胞斷續排列成環。解離組織中,可見石細胞長方形、長橢圓形。黏液細胞散在,內含草酸鈣針晶束。內皮層明顯。中柱初皮部束與木質部束相互間隔排列。髓部細胞中有黏液細胞散在,內含草酸鈣針晶束。



學名 (Botanical Name): *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.
 俗名 (Common Name) (中): 甘草
 (英): Licorice
 來源 (Source): 豆科 (Leguminosae) 植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) 的乾燥根及地下根莖。
 The dried root of *Glycyrrhiza uralensis*.

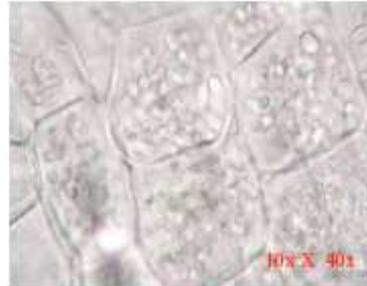
重點形態性狀鑑別

- 形狀: 圓柱形, 直徑: 0.6-3.5cm, 表面: 紅棕色, 棕色或灰褐色, 有明顯皺紋, 芽痕。斷面: 黃白色, 有粉性。形成層呈棕色環狀, 韌皮部射線略彎曲, 有放射狀間隙。木質部淺黃色。質堅實而重。氣微, 味甚甜而特殊。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓細胞呈紅色, 縱切面長方形, 排列整齊, 表面多角形, 大小均勻。薄壁細胞, 有明顯的細胞間隙, 內含草酸鈣方晶及澱粉粒。草酸鈣方晶呈雙錐形、長方形、類方形, 直徑 9-10 μm。澱粉粒眾多, 單粒呈類圓形、橢圓形, 直徑 3-14 μm。導管主要為緣孔紋導管。纖維束周圍的草酸鈣方晶形成晶鞘纖維。木質部, 由導管、木部纖維束、木部薄壁細胞、髓線細胞所組成。



學名 (Botanical Name): *Rehmannia glutinosa* Libosch.
 俗名 (Common Name) (中): 酒壺花
 (英): Rehmannia
 來源 (Source): 為玄參科 (Scrophulariaceae) 植物地黃 (*Rehmannia glutinosa*) 的塊根。
 The tubercle of *Rehmannia glutinosa*

重點形態性狀鑑別

- 多呈不規則的團塊或長圓形, 中間膨大, 兩端稍細。有的細長條狀, 稍扁而扭曲。表面灰黑色或棕灰色, 極皺縮, 具不規則的橫曲紋。體重, 質較軟而韌, 甘厚堅實, 斷面灰黑色, 棕黑色或烏黑色, 微有光澤, 具黏性。味微甜。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓層為數列木栓細胞。皮層薄壁細胞排列疏鬆; 數有多數分泌細胞, 內含橘紅色油滴。塊根的上端部位偶可見石細胞, 石細胞類圓形, 胞腔小, 層紋明顯。韌皮部分泌細胞較少, 形成層呈環。木射線寬廣; 導管稀疏, 斷續排列呈放射狀。



學名 (Botanical Name) : *Paeonia lactiflora* Pall.
 俗名 (Common Name) (中) : 白芍
 (英) : White Peony
 來源 (Source) : 毛茛科 (Ranunculaceae) 植物白芍 (*Paeonia lactiflora*) 的乾燥根。
 The dried root of *Paeonia lactiflora*.

重點形態性狀鑑別

- 呈圓柱形，長5~8cm，直徑1~3cm。表面淺棕色或類白色。表面光潔或有縱皺紋及細根根，偶有殘存的棕褐色外皮。質堅實，不易折斷。斷面類白色或微紅色，角質樣。形成層環明顯，射線放射狀。氣微，味微苦而酸。



重點顯微性狀鑑別

- 偶見殘存數層之薄膜性栓皮細胞。皮層最外方為1~3層厚壁細胞組成，其內為8~16層切線延長的薄壁細胞。形成層明顯，為2~多列扁平細胞，排列略成波狀圓環。木質部導管單獨或成群，伴隨有假導管及木纖維，由木部中心輻射排列。導管直徑40~75 μm。呈強木化反應，以有緣孔紋、孔紋及階紋導管為主。澱粉以皮部射線分布最多，主要為單粒，呈球形或卵形，臍點明顯，偶有2~3個單粒聚成之複粒。草酸鈣結晶在各部組織皆有，多數為簇晶，徑18~35 μm。



學名 (Botanical Name) : *Eucommia ulmoides* Oliv.
 俗名 (Common Name) (中) : 綠棉皮、扯綠皮
 (英) : Hardy Rubber Tree, Gutta-percha Tree
 來源 (Source) : 為杜仲科 (Eucommiaceae) 植物杜仲 (*Eucommia ulmoides*) 之樹皮。
 The dried bark of *Eucommia ulmoides*

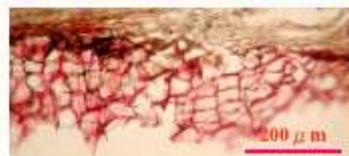
重點形態性狀鑑別

- 樹皮呈板片狀，兩端稍內卷，長短不一，厚1~6mm。外表淡灰棕色，未去粗皮者表面粗糙，有不規則槽溝及裂紋，有的附有灰綠色地衣，去粗皮者較平坦，有明顯的縱皺、裂痕。內表面暗紫色或紫褐色，平滑。質硬而脆，易折斷，折斷後有細密的銀白色絲狀物相連，絲富彈性，能拉至1cm以上才斷。氣微，味微苦，嚼之有膠狀殘留物。



重點顯微性狀鑑別

- 最外為厚的落皮層，落皮層內側有數層木栓細胞，排列整齊，壁厚，木化。其下可見栓內層。皮層細胞形狀不規則，內含色素，且木化，壁亦增厚，無細胞間隙。韌皮部占大部分，有5~7條橫向排列的石細胞環帶，每環帶有3~5列石細胞，細胞壁厚，木化，胞腔小，有放射狀孔溝及環形層紋。射線寬2~3列細胞，接近木栓層處，往往向一方偏斜。隨處可見白色絲狀團塊，尤以韌皮部內方為多。



學名 (Botanical Name): *Saposhnikovia divaricata*
 俗名 (Common Name) (中): 防風
 (拉丁文): *Saposhnikovia Radix*
 來源 (Source): 繖形科 (Umbelliferae) 植物防風 (*Saposhnikovia divaricata*) 的乾燥根
 The root of *Saposhnikovia divaricata*.

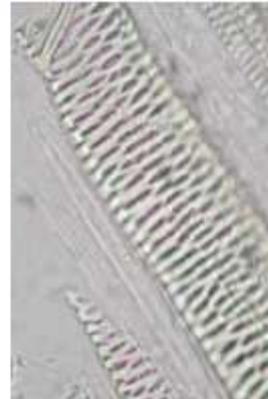
重點形態性狀鑑別

- 形狀：圓柱形或紡錘形，稍彎曲。長度：15 cm；直徑：0.5-2 cm，有密集細環節，像蚯蚓，環節上有。棕褐色毛狀殘基。表面：灰黃色或灰棕色，粗糙，有縱皺紋，並有多數突起的皮孔及點狀的細根痕。斷面：不平坦，皮部淺棕色，有裂隙，木部淺黃色，髓線放射狀。體輕，質鬆軟，易折。氣特異，味微甘澀。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓層由4-14層木栓細胞組成，壁薄。栓皮形成層由數層薄壁細胞組成。栓皮層為不規則形薄壁細胞組成，散列有多個分泌管。分泌管呈橢圓形，徑約20-75 μm，含金黃色物質。分泌管之周圍有分泌細胞圍繞。韌皮部占根部橫切面的1/2的面積，髓線由2-3列細胞組成。木質部寬廣，由導管、木質纖維、薄壁細胞及髓線細胞組成。導管不多，主要為網紋導管，徑21-64 μm，網孔細小。



學名 (Botanical Name): *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl
 俗名 (Common Name) (中): 枇杷
 (英): Loquat, Japanese plum
 來源 (Source): 為薔薇科 (Rosaceae) 植物枇杷 (*Eriobotrya japonica*) 之乾燥葉
 The dried leaf of *Eriobotrya japonica*

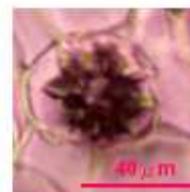
重點形態性狀鑑別

- 葉片長橢圓形，長12-30cm，寬4-9cm。葉端漸尖，基部楔形，邊緣有疏鋸齒，基部全緣。羽狀網脈，中脈在下表面極為突出。葉上表面平滑或稍皺縮，有光澤，棕綠色或灰綠色；下表面密被棕色絨毛。葉柄短或近無柄。托葉2片或破損。葉革質，氣無，微苦。



重點顯微性狀鑑別

- 葉橫切面：中脈處可見近環狀的外韌型維管束，中柱鞘纖維群排列或不連續的環，纖維壁木化，周圍薄壁細含草酸鈣方晶，形成晶纖維。內皮層緊靠中柱鞘外圍，由1-2層薄壁細胞組成，內含類圓形的澱粉粒。厚角組織位於中脈上、下表皮下方。黏液細胞橢圓形，縱向延長，散在於中脈薄壁組織中。葉內的柵狀組織僅存在於葉肉上表皮下方，通常為3-4列細胞，海綿組織疏鬆，草酸鈣方晶和晶纖維存在於柵狀組織中，而大形黏液細胞則存在於海綿組織中。



學名 (Botanical Name) : *Carthamus tinctorius* L.
俗名 (Common Name) (中) : 紅花
(英) : Safflower
來源 (Source) : 為菊科 (Compositae) 植物紅花 (*Carthamus tinctorius* L.) 之乾燥花。
The dried flower of *Carthamus tinctorius*.

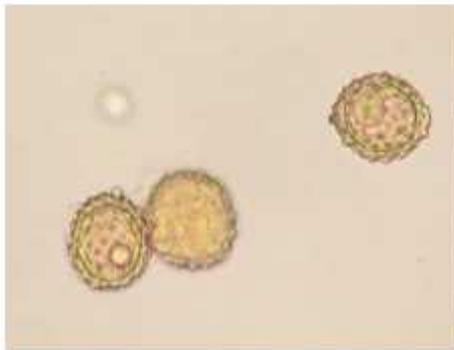
重點形態性狀鑑別

- 本品為不帶子房的管狀花。表面紅黃色或紅色。花冠筒細長，先端裂片呈披針形。雄蕊5枚，花藥聚合成管狀，黃色或微棕黃色。柱頭長圓柱形，頂端微分叉。質柔軟。氣微香，味微苦。



重點顯微性狀鑑別

- 花粉粒呈圓球形或橢圓球形，鮮黃色。外壁具短刺及網狀排列的疣狀雕紋。



學名 (Botanical Name) : *Cinnamomum cassia* Presl.
俗名 (Common Name) (中) : 桂枝
(英) : Cassia Twig
來源 (Source) : 為樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl. 之乾燥嫩枝。
The dried young stem of *Cinnamomum cassia* Presl..

重點形態性狀鑑別

- 本品呈長圓柱形或方形，多分枝，粗端直徑0.3~1cm。外表棕色至紅棕色，微有光澤，有縱條紋及小疙瘩狀的葉痕、枝痕、芽痕，皮孔點狀。質硬而脆，易折斷。斷面不平整，皮部紅棕色，木部黃白色。髓部略方形。微有清香氣，味甜，微辛。



重點顯微性狀鑑別

- 最外緣為外被角質層之表皮細胞，一列，呈長方形，顯方形，散見有單細胞之非線毛。木栓層3~5列，最內一列細胞外壁明顯增厚，內含棕色物質。皮層有石細胞及分泌細胞散在。中柱鞘由韌皮纖維束及半月形石細胞群，連成間斷之環層。形成層明顯。韌皮部有分泌細胞散在，分泌細胞較小。導管，主為有緣紋，亦有環紋及螺旋紋。木質部射線寬1~2列，細胞含棕色物及細小草酸鈣針晶。



學名 (Botanical Name) : *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.
 俗名 (Common Name) (中) : 鈴嚙花、土人參、道拉基
 (英) : balloon flower
 來源 (Source) : 為桔梗科 (Campanulaceae) 植物桔梗 (*Platycodon grandiflorum*) 之
 乾燥根
 The dried root of *Platycodon grandiflorum*

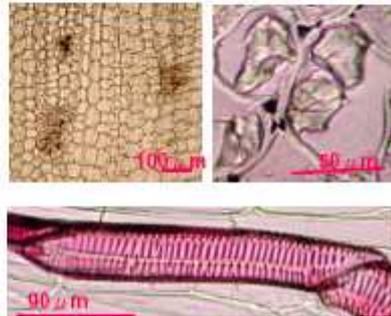
重點形態性狀鑑別

- 根呈圓柱形或紡錘形，略扭曲，偶有分枝，長6-25cm，直徑0.5-2.5cm。表面灰白色或淡黃白色，上端根莖部有半月形的莖痕；根上有橫紋，全體有不規則縱皺及溝紋，並有橫向皮孔樣的疤痕。質硬脆，易折斷，斷面略不平整，可見放射狀裂隙，皮部顯白色，形成層明顯，木質部淡黃色。氣微，味微甜後苦。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓層黃棕色。韌皮部寬廣，外側的韌皮射線彎曲，篩管群多壓縮頹廢，乳管成群散在，內含黃棕色顆粒狀物。內側的韌皮部中乳管群徑向排列成行。形成層成環，木質部射線寬，導管多角形，單個或數個相聚，呈放射狀排列。薄壁細胞中含菊糖結晶。



學名 (Botanical Name) : *Ziziphus jujuba* Mill.
 俗名 (Common Name) (中) : 黑棗
 (英) : Jujube, Chinese Date, Tsao
 來源 (Source) : 為鼠李科 (Rhamnaceae) 植物棗 (*Ziziphus jujuba*) 之成熟果實
 The matured fruit of *Ziziphus jujuba*

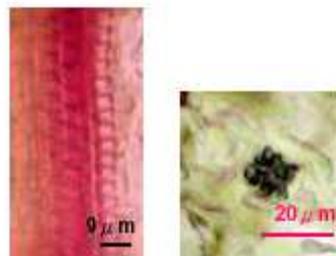
重點形態性狀鑑別

- 果實橢圓形或球形，長2-3.5cm，直徑1.5-2.5cm。表面棕黑色至烏黑色，略帶光澤，具不規則皺紋。基部凹陷，有短果柄。外果皮薄，中果皮棕黃色或淡褐色，肉質，柔軟，富糖性而油潤。果核紡錘形，兩端銳尖，質堅硬。氣微香，味甜。



重點顯微性狀鑑別

- 外果皮最外面為一系列切向排列的圓形或橢圓形表皮細胞，外被角質層；表皮內側有4-6列厚角細胞。中果皮由類圓形薄壁細胞構成，細胞間隙大，有的似分泌腔狀，散列不規則走向細小維管束；薄壁細胞含顆粒狀團塊和草酸鈣方晶及簇晶。



學名 (Botanical Name) : *Poria cocos* (Schw.) Wolf
 俗名 (Common Name) (中) : 云苓、松苓
 (英) : *Poria* (sclerotium of tuckahoe, china root, hoelen)
 來源 (Source) : 為多孔菌科 (Polyporaceae) 真菌茯苓 (*Poria cocos*) 的乾燥菌核
 The dried sclerotium of *Poria cocos*.

重點形態性狀鑑別

- 類球形、橢圓形或為不規則團塊，大小圓扁不一。外皮薄而粗糙，棕褐色至黑褐色，有明顯的皺紋。質堅實而重，難破碎。斷面顆粒性，有時具裂隙，外層淡棕色，內部白色，少數淡紅色。無臭，味淡。



重點顯微性狀鑑別

- 主要為菌絲、擔子柄和擔孢子交織而成的不規則團塊。菌絲細長稍彎曲，常分枝，大多無色，稀為淡棕色。擔孢子類圓形，大小不一，一般着生于擔子柄的頂端。另外，尚分布有棕色液團塊。



學名 (Botanical Name) : *Citrus reticulata* Blanco
 俗名 (Common Name) (中) : 紅橘、福橘、大紅袍、川橘、朱橘
 (英) :
 來源 (Source) : 為芸香科 (Rutaceae) 植物橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 之乾燥果皮
 The dried epicarp of *Citrus reticulata* Blanco

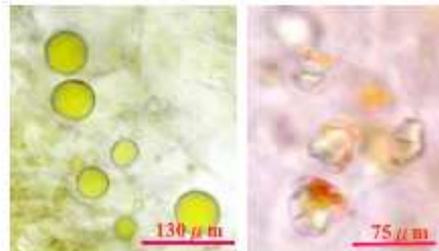
重點形態性狀鑑別

- 果皮常剝成數瓣，基部相連，有的破裂為不規則的碎裂片。皮厚0.5-1.5mm。外表橙紅色、黃棕色至棕褐色，久貯後顏色變深，有細皺紋及許多圓形小油點。內表面淡黃色。質硬而脆。氣香，味辛、苦。



重點顯微性狀鑑別

- 表皮細胞淡黃棕色呈多角形，壁稍厚。
- 氣孔類圓形，直徑20-25 μm，保衛細胞呈淡黃棕色，副衛細胞6-8個。
- 中果皮細胞類圓形或橢圓形，壁不均勻增厚，厚2-3 μm。
- 油室碎片及油滴隨處可見，淡黃棕色。草酸鈣方晶眾多，長10-30 μm。
- 薄壁細胞內含橙皮苷結晶。



學名 (Botanical Name) : *Ophiopogon japonicus* (L. f.) Ker-Gawl.
 俗名 (Common Name) (中) : 麥門冬
 (英) :
 來源 (Source) : 為百合科 (Liliaceae) 植物沿階草 *Ophiopogon japonicus* (L. f.) Ker-Gawl. 之乾燥根。

重點形態性狀鑑別

- 塊根呈紡錘形，兩端略尖，中部充實，直徑 3-6mm。表面黃白色或淡黃色，有不規則的縱皺紋。未乾透質柔軟，乾後質堅硬，易折斷。斷面黃白色，半透明，中央有細小中柱。氣微香，味微甜，具黏性。



重點顯微性狀鑑別

- 表皮為一系列薄壁細胞。外皮層細胞 3-5 列，壁木化，有的細胞含黃色油狀物。皮層細胞中含黏液質及針晶束，針晶長 20-50-88 μ m。內皮層外側為一系列石細胞，其內壁及側壁增厚，紋孔細密。內皮層細胞的壁均勻增厚，木化，有通過細胞。韌皮部束 16-22 個，位於木質部的弧角處。導管為孔紋、網紋及有緣孔紋，徑 14-26 μ m。



學名 (Botanical Name) : *Ephedra sinica*
 俗名 (Common Name) (中) : 麻黃
 (英) : Ephedra
 來源 (Source) : 麻黃科 (Ephedraceae) 植物單麻黃 (*Ephedra sinica*) 的地上莖質莖
 The stem of *Ephedra sinica*.

重點形態性狀鑑別

- 節上有膜質鱗葉二片，長 3-4mm，銳長三角形，先端灰白色。節基部紅棕色，體輕質脆，易折。髓部紅棕色。表面有細縱走稜線。氣微，味澀，微苦。



重點顯微性狀鑑別

- 表皮為一系列方形細胞，外壁甚厚，其外具有角質層，稜線有突出的瘤狀角質。兩稜線之間有內陷的氣孔。韌皮部外具有中柱鞘纖維。木質部導管成束，主要為螺旋紋導管。



學名 (Botanical Name) : *Astragalus membranaceus*
 俗名 (Common Name) (中) : 黃耆
 (英) :
 來源 (Source) : 豆科 (Leguminosae) 植物膜莢黃耆 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge) 和蒙古黃耆 (*Astragalus membranaceus* Bunge var. *mongholicus* (Bunge) P. K. Hsiao) 的乾燥根。
 The root of *Astragalus membranaceus*.

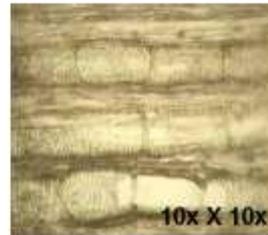
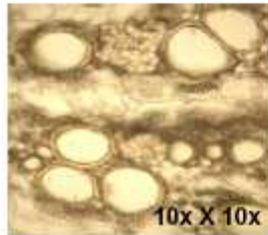
重點形態性狀鑑別

- 形狀：呈圓柱形。上端較粗，下端較細，偶有分枝。長：20-90 cm；直徑：1-3 cm。表面：淡黃棕色至深棕色，有明顯皺紋及橫長皮孔痕。斷面：呈纖維狀，略帶粉性；老根中空部分偶有枯朽，呈黑褐色或空洞狀。氣味特異，味道微甜，嚼之有豆腥味。



重點顯微性狀鑑別

- 韌皮部纖維壁厚，明顯分為兩層。韌皮部接近木栓層處呈現彎曲狀，有大形裂隙。根中央無髓，由木質部組成。木質部纖維存在導管間，多20-50個成束。



學名 (Botanical Name) : *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels
 俗名 (Common Name) (中) : 秦歸、西當歸、岷當歸
 (英) :
 來源 (Source) : 為繖形科 (Umbelliferae) 植物當歸 (*Angelica sinensis*) 之根。
 The root of *Angelica sinensis*

重點形態性狀鑑別

- 根略呈圓柱形，全長10-25cm，表面黃棕色或棕褐色，有縱皺紋及橫長皮孔。頭略膨大，直徑1.5-4cm，頂端殘留葉鞘和莖基。主根粗短，長1-3cm，直徑1.5-3cm，下部有2-10多條支根，多扭曲。質較柔韌，折斷面黃白色或淡黃棕色，皮部厚，有棕色油點，形成層呈黃棕色環狀，木部色較淡。有濃郁香氣，味甘、辛、微苦。



重點顯微性狀鑑別

- 主根橫切面：木栓細胞4-7列，韌皮部寬廣，多裂隙。有油室散在，外側較大，向內漸小，多為圓形，直徑25-120 μm，周圍分泌細胞6-9個，內含黃色樹脂狀物。韌皮束中有紡錘形薄壁細胞，壁上常有斜格狀紋理。形成層成環。木質部導管單個散在或數個相聚成放射狀排列，外方導管較密，向內漸稀。



學名 (Botanical Name) : *Rehmannia glutinosa* Libosch.
俗名 (Common Name) (中) : 酒壺花
(英) : Rehmannia
來源 (Source) : 為玄參科 (Scrophulariaceae) 植物地黃 (*Rehmannia glutinosa*) 的塊根
The tubercle of *Rehmannia glutinosa*

重點形態性狀鑑別

- 為不規則的塊狀，內外均呈漆黑色，有光澤，外表皺縮不平。斷面滋潤，中心部往往可看到光亮的油脂狀塊。粘性大，質柔軟。味甜。



重點顯微性狀鑑別

- 木栓層為數列木栓細胞。塊根的上端部位偶可見石細胞，石細胞類圓形，胞腔小，層紋明顯。韌皮部分泌細胞較少，形成層呈環。木射線寬廣；導管稀疏，斷續排列呈放射狀。



