

# 委託研究計劃

## 牛樟芝子實體在大鼠的 90天亞慢性口服毒性試驗

### 試驗報告



鑫大埔生技實業股份有限公司與國立屏東科技大學 產學研究計畫

民國 105 年 4 月 15 日

## 簽署頁

計畫主持人：施玟玲  生物科技系 施玟玲教授

共同主持人：張清棟  獸醫學系 張清棟副教授

參與試驗人員：

施玟玲

施玟玲 微生物學博士/生物科技系教授

張清棟

張清棟 獸醫病理學博士/獸醫學系副教授/

獸醫病理專科醫師

李俊媛

李俊媛 檢驗員

林炳源

林炳源 博士

鍾冠緯

鍾冠緯 研究生

劉振旺

劉振旺 研究生

施法天

施法天 大學生

羅勝聰

羅勝聰 公司人員

# 計畫資料

委託廠商：鑫大埔生技實業股份有限公司

執行單位：國立屏東科技大學生物科技系/獸醫學系

協助單位：動物醫院檢驗科/動物醫院病理診斷科/實驗動物中心之動物疾病診

斷中心正壓動物室 (通過 AAALUC 國際認證)

執行期間：民國 104 年 9 月 1 日至民國 105 年 8 月 31 日

校內計畫編號：B10400381

計畫主持人：生物科技系 施玟玲教授

共同主持人：獸醫學系 張清棟副教授

參與試驗人員：

施玟玲 微生物學博士/生物科技系教授

張清棟 獸醫病理學博士/獸醫學系副教授/獸醫病理專科醫師

林炳源 博士

鍾冠緯 研究生

劉振旺 研究生

施法天 大學生

羅勝聰 公司人員

李俊媛 檢驗員

## 目 錄

封面	1
簽署頁	2
計畫資料	3
目錄	4
摘要	5
前言	6
試驗目的	7
材料方法與試驗結果	8-12
結論	13
參考文獻	13
表格	14-30

## 摘 要

牛樟芝來源複雜，鑑定不易，坊間認為具身體保健甚至治療疾病功效，為確保本牛樟芝子實體產品(液)之長期食用安全性，進行為期 90 天之大鼠餵食試驗，所有實驗設計符合 OECD408 規範，並進行單因子變異數分析(one-way analysis of variance)與事後比較(Post Hoc)。試驗結果說明如下 (1)試驗物質為鑫大埔生技實業股份有限公司提供之牛樟芝子實體萃取液樣本，在試驗期間，餵食 1250mg/kg、2500mg/kg 及 5000mg/kg 之餵食劑量下，另包括一組餵食水的空白控制組，未造成任何大鼠死亡。(2)每日 2 次之觀察，未造成大鼠行為官能之臨床反應異常，餵食樣本之雄鼠與雌鼠的體重增加率、飼料與飲水消耗量在統計學上與控制組無顯著差異。(3)實驗前後之眼科檢查，經獸醫病理專科醫師判定均無異常。(4)尿液檢驗未出現與餵食相關之異常現象。(5)血液學檢驗沒有出現與餵食有關之異常項目。(6)生化檢驗中出現與控制組顯著差異之項目，均落在大鼠參考值正常範圍中，與餵食無關，僅公鼠之球蛋白濃度隨餵食劑量增加而逐步遞減，這是與年齡有關的正常趨勢。(7)與血液凝固相關之 3 項檢驗顯示各組間無差異。(8)器官相對體重比率顯示各劑量與控制組間無統計差異。(9)臨床病理學上之肉眼觀察及組織病理觀察，控制組 1 隻雌鼠之甲狀腺細菌炎係因外傷導致，其餘所有分析項目皆無異常。(10)試驗樣本之 NOAEL 至少為 5000mg/kg，以安全係數 100 計算所得之 ADI 為 50 mg/kg。

## 前 言

牛樟芝，學名 *Antrodia camphorata*，是台灣特有生長在牛樟樹(*Cinnamomum kanehirae*)的心材內壁或潮濕表面上的真菌，外型呈板狀或片狀，表面呈現紅色；長久以來，原住民用來解宿醉或解除疲勞【1】，坊間認為長期食用有助預防甚至治療肝臟疾病、食物或藥物中毒、腹瀉、腹痛、高血壓、皮膚搔癢以及惡性腫瘤，以及緩解許多病理狀況【2-4】。

近年來牛樟芝相關學術研究報告快速累積，在牛樟芝化學組成方面，至少已有 78 種以上之化合物被鑑定，子實體中包含至少 39 種萜類(terpenoids)，以三萜類(triterpenoids)為主，含量在子實體中可達 50% 以上，子實體中另包含苯(benzoids)、木酚素(lignans)、苯醌(benzoquinones)、蘋果酸/琥珀酸(malic/succinic acid)衍伸物、多醣(polysaccharide)等【5-7】。2012 年的報告說明野生牛樟芝中所含三萜類比 submerged fermentation 多出 10-30 倍【8, 9】。

在生物及藥理活性研究方面，牛樟芝子實體及菌絲體粗萃物在體外及活體內實驗均顯示抗多種腫瘤細胞增生或誘導細胞凋亡之抗癌活性，與細胞因子如凋亡蛋白酶(caspases)、Bcl-2 家族蛋白質、轉錄因子 NF- $\kappa$ B、Akt、腫瘤抑制基因 p53、促分裂原活化蛋白激酶 Mitogen-activated protein kinases (MAPK) 等均有相關性與調控機制【10】。另外研究指出，大多是牛樟芝子實體，部分是菌絲體或固態培養，個別試驗水、甲醇或乙酸乙酯萃取物，幾乎都在細胞培養研究系統中，顯示抗發炎、免疫調節、抗氧化及保肝之功效。綜上所述，目前文獻說明不同培育方式取得之牛樟芝所含活性物質差異很大，不同萃取方式獲得之活性物質也具顯著差異性，其中最受矚目之三萜類是最主要的活性物質，生物性試驗均使用細胞培養，很少延伸至動物實驗，其毒性與安全性也大部分是細胞培養系統所得之細胞毒性，對實驗動物之 28 天或 90 天口服毒性試驗數據十分欠缺，更無法也有完整的人體試驗報告資料。

先前研究使用發酵培養之牛樟芝菌絲體進行在 Sprague Dawley (SD) 大鼠 90 天口服亞慢性毒性測試，遵照 OECD408 準則進行實驗設計與動物健康檢查，說明所試驗之菌絲體樣本的無毒性顯示劑量(no-observed-adverse-effect level; NOAEL)大於 3000mg/kg【11】。然而，牛樟芝子實體卻尚未被進行類似實驗。

目前牛樟芝可以人工培植，已有液態發酵(submerged fermentation)、椴木栽培(base-wood culture)及培養皿培育(dish culture)，這些產品都以能在市場上取得，不論如何加工製備，所宣稱之功效類似度極高，卻缺乏科學數據支持。

鑫大埔生技實業股份有限公司以牛樟椴木進行子實體之栽培，經數年培育，進行活性天然成分萃取，同時委託學術單位進行成分鑑定並建立製成之品管品保條件。為符合規定，本次與國立屏東科技大學生物科技系施玟玲教授及獸醫學習張清棟副教授簽訂產學研究案，進行在大鼠為期 90 天之餵食試驗，實驗內容與設計完全依照 OECD408 準則進行，並以 SPSS 軟體執行生物統計學分析。

### 試驗目的

為評估牛樟芝食品之安全性，依衛生福利部公告「部授食字第 1041302003 號」公告事項，進行 90 天餵食毒性試驗。本試驗目的在測試物質重複為期 90 天後對哺乳動物可能產生之毒性與其他影響，能提供更完善之安全及食用劑量設定依據。一般而言，在執行 90 天之試驗前須先經 28 天的短期重複試驗，作為 90 天長期試驗之劑量決定依據；鑫大埔生技實業股份有限公司之牛樟芝子實體樣本，過去並未進行 28 天之試驗，在本次 90 天之試驗中，依照 OECD408 準則之規範，期望能正確獲得無毒性顯示劑量(No-observed-adverse-effect level；NOAEL)，將依所得之數據資料，推估在人體的每日可接受攝取量(Acceptable Daily Intake；ADI)。

## 材料方法與試驗結果

### 牛樟芝子實體樣本

由鑫大埔生技實業股份有限公司提供，37.5 公克牛樟芝子實體粉碎物浸潤 75% 乙醇 1500 ml，萃取液每 100ml 中含 2.5 克牛樟芝，經減壓濃縮後每 100ml 中含 37.3 克牛樟芝，再以無菌水每日新鮮配置成 1250mg/kg、2500mg/kg 及 5000mg/kg 之餵食劑量，相當於每公斤體重餵食 0.47 克、0.94 克及 1.88 克子實體。

### 實驗動物計畫書之審查

本試驗執行之大鼠試驗，所有流程經國立屏東科技大學實驗動物照護及使用委員會審查核准通過，申請書編號 NPUST-104-052，核准日期為民國 104 年 9 月 29 日。

### 實驗動物分組與照護

80 隻，6 週齡之 Sprague-Dawley (SD) 大鼠以及飼料墊料均購自樂斯科生物科技股份有限公司，2015 年 10 月 15 日送達，立即進入國立屏東科技大學實驗動物中心動物室，進行體重記錄、編號與分組，每隻以打耳號方式標記。分組方式如表一，共 24 籠，編號 1 至 80，4 個組別，分別為控制組及餵食低、中、高劑量樣本之實驗組，控制組餵食與樣本等體積隻無菌水。飼養環境設置溫度 24°C，相對溼度 65%，光照時間設定為 12 小時亮 12 小時暗，每個鼠籠 3 隻或 4 隻大鼠，鼠籠外面會貼上標籤標上大鼠進入鼠房的日期、移出日期、實驗計畫名稱、動物來源、品系、性別、數量。飼料量及飲水量是每天早上 10 點灌食牛樟芝前記錄，第一周給予大鼠的飼料量每籠為 100g 飲水量為 200ml，第二周起將飼料量調整為每籠為 200g，飲水量則調整為 250ml，墊料則是固定 3 天固定更換一次墊料，墊料可鋪滿籠子底部，約 3 公分高。每周紀錄大鼠體重。其餘細節參考中華實驗動物學會出版之實驗動物管理與使用指南第三版資料。

### 餵食

動物飼養 7 天使其適應環境(105 年 10 月 15 至 105 年 10 月 22 日)；第 7-11 天使用餵食針執行餵食動作(105 年 10 月 22 至 105 年 10 月 26 日)，目的在讓實驗大鼠練習吞下餵食針，方便之後餵食樣本。每日上午 10 點，準備三種劑量之牛樟芝子實體樣本，餵食大鼠牛樟芝的管胃針，規格為 ST-F174 $\varphi$ 1.2 mm  $\times$  L 80 mm，使用 3ml 針筒，總體積為 1 ml，餵食針將樣本傳遞至胃中。餵食期間由 104 年 10 月 27 日起至 105 年 1 月 24 日止，共計 90 天整。餵食開始時大鼠為 8 週齡，公鼠體重平均 278.06 $\pm$ 10.61 克，母鼠平均體重 199.30 $\pm$ 7.56 克。

### 餵食前後眼科檢查

眼科檢查由本校獸醫學系張清棟副教授/病理科專科醫師執行，由學生雙手保定，病理專科醫師使用檢眼鏡(HEINE, Germany)檢查雙眼內外部構造，分別於實驗前(104 年 10 月 17 日)及餵食 90 天後(105 年 1 月 23 日)於實驗動物中心之檢查室進行檢查。檢查結果如表二、表三及附件一，顯示餵食前後所有大鼠眼科檢查無任何病變。

### 動物行為、反應觀察與存活情形

實驗期間，每日上午 9 點及下午 6 點，一天二次以肉眼觀察動物之行為、動作、姿勢、



呼吸反應、喊叫、毛髮狀況，一併粗估攝食飲水量、排泄物。所有實驗動物在試驗完成後全數存活。

### 體重、飲水及攝食量監測

自實驗動物到達日(104年10月15日)起，每週記錄至餵食第90天(105年1月24日)，計算各組雄性與雌性大鼠實驗前後體重增加率，飼料之消耗測量同時測量食物掉落量來換算實際食物消耗，飼料及飲水實驗數據經統計分析之計算，呈現每隻大鼠每天之消耗情況，與控制組相比，均無顯著差異。依國立成功大學醫學院實驗動物中心(<http://www.ncku.edu.tw/animal/ch/fw.html>)資料，正常大鼠食物消耗平均 10g/100g body weight/day，飲水 10-12ml/100g body weight/day，參考江碧玲發表之實驗動物飼養管理實習第十四章藥物投予與胃管灌食之資料，說明大鼠之採食量為 15g/100g body weight/day，飲水 15ml/100g body weight/day。本試驗結果顯示所有大鼠之體重增加、飲水及食物消耗量與正常範圍質一致。實驗結果如表四及表五，經單因子變異數分析顯示各組間無差異。

### 檢驗

依OECD408之規定，應執行之檢驗必要包括下列項目：

- (1)試驗前後以檢眼鏡進行眼科檢查。
- (2)體重變化記錄。
- (3)食物飲水消耗情形。
- (4)血液學檢查應包括血球容積比(haematocrit)、血色素(haemoglobin)、紅血球數(erythrocyte count)、總白血球及各種白血球數(total and differential leukocyte count)、血小板數(platelet count)、血液凝固時間(blood clotting time)。
- (5)尿液檢驗應包括外觀(appearance)、尿體積(volume)、滲透壓或比重(osmolality or specific gravity)、酸鹼值(pH)、尿蛋白(protein)、尿糖(glucose)及血球細胞(blood cells)。
- (6)血清生化檢查應包括鈉離子(sodium)、鉀離子(potassium)、葡萄糖(glucose)、總膽固醇(total cholesterol)、尿素(urea)、血尿素氮(blood urea nitrogen)、肌酸酐(creatinine)、總蛋白質(total protein)、白蛋白(albumin)，以及2種以上肝功能酵素，例如麩丙酮酸轉胺酶(alanine aminotransferase；ALT)、天冬胺酸轉胺酶(aspartate aminotransferase；AST)、鹼性磷酸酶(alkaline phosphatase)、丙麩氨轉肽酶(gamma glutamyl transpeptidase；GGT)或山梨糖醇脫氫酶(sorbitol dehydrogenase)。
- (7)肉眼病理檢查應包括屍體外觀(external surface of the body)、所有開口(all orifices)、顱腔(cranial cavities)、胸腔(thoracic cavities)、腹腔(abdominal cavities)、肝臟(liver)、腎臟(kidneys)、腎上腺(adrenals)、睪丸(testes)、附睪(epididymides)、子宮(uterus)、卵巢(ovaries)、胸腺(thymus)、脾臟(spleen)、大腦(brain)、心臟(heart)。
- (8)組織病理觀察應包括所有肉眼可見病變(all gross lesions)、腦部包含大腦/小腦/橋腦(brain including cerebrum, cerebellum and medulla/pons)、脊髓包含頸/中胸/腰(spinal cord at cervical, mid-thoracic and lumbar level)、腦下垂體(pituitary)、甲狀腺(thyroid)、副甲狀腺(parathyroid)、胸腺(thymus)、食道(esophagus)、唾液腺(salivary glands)、胃(stomach)、小腸大腸含貝爾節(small and large intestines including Peyer's patches)、肝臟(liver)、胰臟(pancreas)、腎臟(kidneys)、腎上腺(adrenals)、脾臟(spleen)、心臟(heart)、氣管(trachea)、肺臟(lungs)、主動脈(aorta)、子宮(uterus)、女性乳腺(female mammary gland)、前列腺(prostate)、膀胱(urinary bladder)、淋巴結

(lymph nodes)、周邊神經/脛骨神經(tibial nerve)、骨髓或骨髓穿刺(bone marrow or a fresh bone marrow aspirate)、皮膚(skin)、眼睛(eyes)。

依OECD408規定，至少在控制組及最高劑量組中須執行組織病理學觀察，若有與餵食相關反應則進行另外組別之觀察。以上之尿液、血液與血清檢體交由屏東科技大學動物醫院檢驗室執行，病理部分由獸醫學系病理室及病理專科醫師張清棟副教授/博士進行判讀。

### 尿液分析

解剖前二天(105年1月24-25)陸續收集12小時尿液於專用試管後立刻進行所有檢測，使用尿液分析儀(Clinitek STATUS, Bayer HealthCare)及試紙(Multistix<sup>®</sup> 10 SG, Siemens)，檢查項目有外觀顏色(Color)、比重(Specific Gravity; SG)、尿蛋白(Protein)、尿膽素原(Urobilinogen)、酸鹼值(PH)、酮類(Ketone)、膽紅素(Bilirubin)、尿糖(Glucose)、亞硝酸鹽(Nitrite)、尿潛血(Occult blood)，尿殘渣(urine sediment)則在 per high power field (HPF)下觀察紅血球(Red Blood Cell; RBC)、白血球(White Blood Cell; WBC)、上皮細胞(Epithelial Cells)以及三磷酸鹽結晶(Triple phosphate crystals)，涵蓋所有規定項目。結果如表六所示，與控制組一致，實驗組三個組別之大鼠尿液均呈現澄清黃色，酸鹼值範圍在PH5.5-8.5間。尿比重低於1.010或高於1.030視為超過正常值，在實驗組出現異常數低於控制組之異常數，說明未因餵食導致尿比重異常。尿蛋白雖在高劑量小鼠出現3個異常數，但是因尿蛋白多半是暫時的良性蛋白尿，這組小鼠也未出現尿潛血、酸鹼值也正常，這三個編號的小鼠在血清學中腎功能項目完全正常，因此排除病理性蛋白尿之可能性。酮類檢驗項目中，各組出現小鼠異常數並無差異，僅微量酮體出現，母鼠均為陰性，由於尿酮體可能源自糖尿病或飢餓，然所有試驗小鼠之尿糖正常，食物消耗量正常，說明此微量酮體在所有組別小鼠出現與餵食無關。亞硝酸鹽僅在控制組及低劑量各出現1個異常小鼠，程度上是微量反應，說明與餵食無關，由於引起尿道感染的細菌大部份可使尿液中的硝酸鹽(nitrate)轉變成亞硝酸(nitrite)而呈陽性反應，因此常用來當作尿道感染的篩檢，但在尿中白血球並無異常，故可排除尿道感染，其餘項目包括尿膽素原、膽紅素、尿糖、潛血在所有小鼠均呈現陰性的正常反應。尿殘渣中不應出現之紅血球與白血球均呈陰性，上皮細胞僅在控制組出現3個弱陽性，實驗組全為陰性，尿液中的扁平鱗狀上皮過多時通常表示該檢體受到其尿道周圍上皮組織的汙染，本身較無診斷價值，但量太多時應考慮檢體收集不當。酸性尿一般可見尿酸鹽、尿酸、草酸鈣，鹼性尿一般可見磷酸鹽、碳酸鈣、尿酸胺或磷酸銨鎂，在各組均普遍出現三磷酸鹽結晶，屬於正常結晶，所有檢體中並沒有出現病理性之膽紅素結晶、胱氨酸結晶、膽固醇結晶、酪氨酸結晶或白胺酸結晶。況且，尿液中的結晶隨濃度、溫度及PH值而改變，因此通常僅供參考，較無診斷價值。80隻小鼠原始數據如附件二。

### 採血及血液學與血清生化分析儀器

解剖前二天(105年1月24-25)陸續進行採血，禁食10小時後採血，採血前小鼠尾巴先以40°C溫水浸泡5分鐘，使用保定器須使小鼠完全無法移動，自尾靜脈採血，使用23G針頭，成年小鼠總血量約20-40ml，單次採血不超過2.5ml。血液學分析使用含K<sub>2</sub>EDTA抗凝劑，全自動血液分析儀Mythic 18(Orphee, Switzerland)執行檢驗；生化分析使用含Lithium Heparin抗凝劑，全自動乾式生化分析儀Dri-Chem 3500S (Fujifilm, Japan)執行。

### 血液學分析

血液學檢驗部分，單因子變異數分析(One-way analysis of variance；One-way ANOVA)結果顯示在公鼠與母鼠之平均紅血球血紅素量(MCH)及平均紅血球血紅素濃度(MCHC)在各組間出現顯著差異的不同，以及公鼠之血紅素濃度在各組並不相同，p 值小於 0.05，所有項目之 One-way ANOVA 如表七及表八，進一步以 Tukey 與 Scheffe 事後分析，獲得一致結果。

事後分析說明在公鼠中，MCH 及 MCHC 在控制組與低劑量組之間出顯差異，而在母鼠中，MCH 在控制組與低劑量組之間出顯差異，MCHC 各組間均無差異，公鼠之 Hb 在 ANOVA 中出現顯著差異，事後分析顯示在控制組與低劑量組中出顯差異。公鼠結果如表九，母鼠結果如表十。

MCH 指每個 RBC 內所含 Hb 的平均量，MCHC 指每升血液中平均所含 Hb 濃度，MCH、MCHC 及 MCV 三者搭配，協助對正常血球性貧血、大血球性貧血、小血球低色素性貧血及單純小血球性貧血之判斷；本試驗分析結果在各組間之 RBC 及 MCV 均無差異，所有試驗動物之 MCH 在 21.5-24.0pg，MCHC 在 36.2-37.5g/dL 的小範圍之內，公鼠之 Hb 在 14.3-18.6 範圍中。綜上所述，出現之差異均沒有劑量依賴性反應，僅在低劑量組出現，檢驗數據在大鼠血液學檢驗正常值範圍間【[http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistar-rats/rm\\_rm\\_r\\_hematology\\_crl\\_wi\\_br\\_sex\\_age.aspx](http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistar-rats/rm_rm_r_hematology_crl_wi_br_sex_age.aspx) 及 [http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistarhan/rm\\_rm\\_r\\_wistar\\_han\\_clin\\_lab\\_parameters\\_08.aspx](http://www.criver.com/files/pdfs/rms/wistarhan/rm_rm_r_wistar_han_clin_lab_parameters_08.aspx)】。80 隻大鼠原始數據如附件三。

#### 生化檢驗分析

生化檢測部分，ANOVA 結果顯示之顯著差異項目在公鼠如表十一，母鼠如表十二，公鼠出現 11 項，母鼠出現 5 項，繼續進行事後比較，在公鼠有 7 項，母鼠有 2 項在各組別間不全相同，結果如表十三與表十四，表格中以“\*”指出與控制組相比出現顯著差異之項目，並與大鼠血清檢驗正常值比較【[http://www.ncku.edu.tw/animal/eng/S.D\\_Serum\\_Biochemistry\\_Value\\_Rats.html](http://www.ncku.edu.tw/animal/eng/S.D_Serum_Biochemistry_Value_Rats.html) 及 <https://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html> 及 <http://www.ratfanclub.org/values.html>】。

在公鼠中，血清總蛋白(total serum protein；TSP)項目在低劑量與控制組中出現顯著差異，仍在正常值範圍中；球蛋白(globulin)在低劑量與控制組中出現顯著差異，低劑量組 albumin/globulin 比值範圍為 0.93-1.37，略低公鼠正常參考範圍 1.5-2.33，進一步參考 2009 年 Ziaias 等人發表的資料【12】，說明大鼠隨年紀增加 albumin/globulin 比值會隨之降低，60 天大鼠之 albumin/globulin 比值  $0.88 \pm 0.03$ ，本試驗大鼠犧牲時已達 20 週齡，albumin/globulin 比值下降屬正常現象；麩丙酮酸轉胺酶(alanine aminotransferase；ALT)在高劑量與控制組中出現顯著差異，值得說明的是，此項目異常升高可能是肝臟損傷，本試驗之高劑量組數值在正常值範圍，數值在各組中較低；三酸甘油酯(Triglyceride)在中與高劑量組出現低於控制組的顯著差異，仍在正常範圍中，數值比其他組別低，須說明本項目需合併總膽固醇、低密度膽固醇及高密度膽固醇協助鑑別高血脂症，在本試驗中總膽固醇在所有組別均呈現一致的正常結果；無機磷(Inorganic phosphorus；Ip)在中與高劑量與控制組出現顯著差異，仍在正常範圍中；鉀離子(potassium；K<sup>+</sup>)在高劑量與控制組出現顯著差異，仍在正常範圍中；氯離子(chloride；Cl<sup>-</sup>)在中劑量與控制組出現顯著差異，仍在正常範圍中。血液中含有各種電解質，不僅具有維持血液滲透壓的功能，而且各個離子還各自具有獨特的功能，是維持生命現象不可或缺的物質，鈉離子與氯離子反應攝取的食鹽量，鉀離子與神經傳導與肌肉收縮有關，鈣離子濃度能說明骨骼、副甲狀腺及腎臟狀態，血磷異常則相當複雜，需合併其他相關檢查協助診斷。

在母鼠方面，麩丙酮酸轉胺酶(alanine aminotransferase；ALT)在低劑量與控制組中出現

顯著差異，數值稍微偏低，在中與高劑量組中均正常，值得說明的是，臨床上關心的是肝功能指標 AST 與 ALT 異常上升與肝臟發炎狀態的相關性；血中尿素氮(Blood urine nitrogen；BUN) 在中與高劑量與控制組出現顯著差異，仍在正常範圍中，值得說明的是 BUN 表示蛋白質的代謝產物經腎臟分泌而由尿液排出於體外，因此血中尿素氮的濃度，能反應腎功能異常但無法代表異常程度，但是此項目專一性在判斷腎功能上遠比血清肌酸酐(Creatinine)差。80 隻大鼠原始數據如附件三。

#### 血液凝固檢驗

凝血檢驗之凝血時間(clotting time；CT)採用玻片法，凝血酶原時間(prothrombin time；PT)及部分凝血活酶時間(activated partial thromboplastin time；APTT)則使用 IDEXX Coag Dx Analyzer 分析儀。經 one-way ANOVA 計算後顯示，CT、PT 及 APTT 在公鼠或母鼠中，四組之間均無顯著差異，公鼠 CT 之 p 值為 0.322，公鼠 PT 之 p 值為 0.597，公鼠 APTT 之 p 值為 0.337；母鼠 CT 之 p 值為 0.620，母鼠 PT 之 p 值為 0.521，母鼠 APTT 之 p 值為 0.720，公鼠平均值及標準差如表十五，母鼠平均值及標準差如表十六。80 隻大鼠原始數據如附件三。

#### 犧牲解剖與臟器重量

餵食結束後，將大鼠犧牲剖檢(105 年 1 月 26-27)，立即以肉眼進行病理觀察，解剖當日由屏東科技大學獸醫學系 5 年級同學操刀，搭配協助人員，如表十七之分配，每位操刀同學負責解剖 10 隻大鼠，偕同人員立刻將所列之臟器秤重，並計算臟器相對體重比值。公鼠與母鼠之平均值與標準差結果如表十八與表十九所示，經 one-way ANOVA 統計學分析在各組間均無差異。表二十顯示 80 隻大鼠各個臟器重量。

#### 肉眼病理觀察

解剖時由操刀人員偕同張清棟副教授/獸醫病理專科醫師立刻進行肉眼病理觀察，結果如附件一 顯示，僅控制組第 14 號母鼠出現右邊甲狀腺腫大，其餘所有大鼠均未出現肉眼可見之病理變化。將進一步進行組織病理觀察。

#### 組織病理學觀察

將所列之臟器取出，秤重後以 10% 中性福馬林緩衝液固定保存，將含有組織的包埋盒，放入組織脫水機中依序將作固定、脫水、清洗及蠟浸潤之處理，處理後組織中的水份將會被石蠟所取代，再以旋轉式切片機切成 2-4 $\mu$ m 的石蠟薄片，經 haematoxylin and eosin stain (HE stain) 染色方法，利用自動染色機進行染色，再用自動封片機進行封片，由病理專科醫師判讀。詳細結果如附件一，控制組第 14 號母鼠出現右邊甲狀腺有球菌感染之發炎，故肉眼可見其腫大，病理專科醫師判斷係因由皮膚意外造成之穿刺所導致，與本試驗目的無關。

#### 生物統計

所有數據以平均值及標準差表示，使用單因子變異數分析(one-way analysis of variance，one-way ANOVA)之 Tukey 與 Scheffe 事後分析事後比較檢定法分析各組間之差異性是否存在，以  $p < 0.05$  作為顯著差異標準，以“\*”標示。

## 結論

綜合本試驗數據，鑫大埔公司之牛樟芝子實體萃取液在試驗濃度範圍及時間內不會造成器官系統不良或毒性現象，NOAEL 為 5000mg/kg，以安全係數 100 計算所得之 ADI 為 50 mg/kg。

## 參考文獻

1. *Antrodia camphorata* ("niu-chang-chih"), new combination of a medicinal fungus in Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 38:273-275, 1997.
2. Niuchangchih (*Antrodia camphorata*) and its potential in treating liver diseases. *J. Ethnopharmacol.* 121, 194-212, 2009.
3. *Antrodia camphorata* polysaccharides exhibit anti-hepatitis B virus effects. *FEMS Microbiol. Lett.* 209, 63-67, 2002.
4. The anti-cancer activity of *Antrodia camphorata* against human ovarian carcinoma (SKOV-3) cells via modulation of HER-2/neu signaling pathway. *J. of Ethnopharmacol.* 148, 254-265, 2013.
5. A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*. *Phytochem.* 39(3):613-616, 1995.
6. Triterpenoid-Rich Extract from *Antrodia camphorata* Improves Physical Fatigue and Exercise Performance in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012*, Article ID 364741, 8 pages, 1996.
7. Steroids and triterpenoids of *Antrodia cinnamomea*-A fungus parasitic on *Cinnamomum micranthum*. *Phytochem.* 41(5):1389-1392, 1996.
8. Antileukemia component, dehydroeburicoic acid from *Antrodia camphorata* induces DNA damage and apoptosis in vitro and in vivo models. *Phytomedicine.* 19(8-9):788-896, 2012.
9. Chemical profiling of the cytotoxic triterpenoid-concentrating fraction and characterization of ergostane stereo-isomer ingredients from *Antrodia camphorata*. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 25:58:182-192, 2012.
10. Review of Pharmacological Effects of *Antrodia camphorata* and Its Bioactive Compounds. *Evid-Based Compl. Alternat. Med.* 2011:212641, 2011.
11. A 90-day subchronic toxicological assessment of *Antrodia cinnamomea* in Sprague-Dawley rats. *Food. Chem. Toxicol.* 49(2):429-433, 2011.
12. Reference Values for Serum Proteins of Common Laboratory Rodent Strains. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 48(4): 387-390, 2009.

表一、實驗動物之分組方式。

第一組 (控制組)	(第 1 籠) 公	1	2	3		(第 4 籠) 母	11	12	13	
	(第 2 籠) 公	4	5	6		(第 5 籠) 母	14	15	16	
	(第 3 籠) 公	7	8	9	10	(第 6 籠) 母	17	18	19	20
第二組 (1250mg/kg)	(第 7 籠) 公	21	22	23		(第 10 籠) 母	31	32	33	
	(第 8 籠) 公	24	25	26		(第 11 籠) 母	34	35	36	
	(第 9 籠) 公	27	28	29	30	(第 12 籠) 母	37	38	39	40
第三組 (2500mg/kg)	(第 13 籠) 公	41	42	43		(第 16 籠) 母	51	52	53	
	(第 14 籠) 公	44	45	46		(第 17 籠) 母	54	55	56	
	(第 15 籠) 公	47	48	49	50	(第 18 籠) 母	57	58	59	60
第四組 (5000mg/kg)	(第 19 籠) 公	61	62	63		(第 22 籠) 母	71	72	73	
	(第 20 籠) 公	64	65	66		(第 23 籠) 母	74	75	76	
	(第 21 籠) 公	67	68	69	70	(第 24 籠) 母	77	78	79	80

表二、實驗前眼科檢查

大鼠眼科檢查報告單										
計畫名稱/執行單位	牛樟芝子實體在大鼠的 90 天亞慢性口服毒性試驗/國立屏東科技大學生物科技系									
委託廠商	鑫大埔生技實業股份有限公司									
檢查醫師	張清棟 獸醫病理學博士/獸醫學系副教授/獸醫病理專科醫師									
檢查日期/地點	民國 104 年 10 月 17 日 動物疾病診斷中心									
第一組 (控制組)	(第 1 籠)公	1	2	3		(第 4 籠)母	11	12	13	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 2 籠)公	4	5	6		(第 5 籠)母	14	15	16	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 3 籠)公	7	8	9	10	(第 6 籠)母	17	18	19	20
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第二組 (1250mg/kg)	(第 7 籠)公	21	22	23		(第 10 籠)母	31	32	33	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 8 籠)公	24	25	26		(第 11 籠)母	34	35	36	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 9 籠)公	27	28	29	30	(第 12 籠)母	37	38	39	40
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第三組 (2500mg/kg)	(第 13 籠)公	41	42	43		(第 16 籠)母	51	52	53	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 14 籠)公	44	45	46		(第 17 籠)母	54	55	56	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 15 籠)公	47	48	49	50	(第 18 籠)	57	58	59	60
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第四組 (5000mg/kg)	(第 19 籠)公	61	62	63		(第 22 籠)母	71	72	73	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 20 籠)公	64	65	66		(第 23 籠)母	74	75	76	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	
	(第 21 籠)公	67	68	69	70	(第 24 籠)母	77	78	79	80
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N

N: Normal

表三、實驗後眼科檢查

大鼠眼科檢查報告單										
計畫名稱/執行單位	牛樟芝子實體在大鼠的 90 天亞慢性口服毒性試驗/國立屏東科技大學生物科技系									
委託廠商	鑫大埔生技實業股份有限公司									
檢查醫師	張清棟 獸醫病理學博士/獸醫學系副教授/獸醫病理專科醫師									
檢查日期/地點	民國 105 年 1 月 23 日 動物疾病診斷中心									
第一組 (控制組)	(第 1 籠)公	1	2	3		(第 4 籠)母	11	12	13	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 2 籠)公	4	5	6		(第 5 籠)母	14	15	16	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 3 籠)公	7	8	9	10	(第 6 籠)母	17	18	19	20
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第二組 (1250mg/kg)	(第 7 籠)公	21	22	23		(第 10 籠)母	31	32	33	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 8 籠)公	24	25	26		(第 11 籠)母	34	35	36	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 9 籠)公	27	28	29	30	(第 12 籠)母	37	38	39	40
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第三組 (2500mg/kg)	(第 13 籠)公	41	42	43		(第 16 籠)母	51	52	53	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 14 籠)公	44	45	46		(第 17 籠)母	54	55	56	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 15 籠)公	47	48	49	50	(第 18 籠)	57	58	59	60
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N
第四組 (5000mg/kg)	(第 19 籠)公	61	62	63		(第 22 籠)母	71	72	73	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 20 籠)公	64	65	66		(第 23 籠)母	74	75	76	
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N			左: N 右: N	左: N 右: N		
	(第 21 籠)公	67	68	69	70	(第 24 籠)母	77	78	79	80
		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N		左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N	左: N 右: N

N: Normal



表四、公鼠之體重增加率、飼料與飲水消耗量

組別/公鼠	90 天體重增加(%)/隻	消耗飼料(g)/天/隻	消耗水量(g)/天/隻
第一組 (控制組)	65.65±3.90	24.00±8.87	43.77±15.25
第二組 (1250mg/kg)	65.86±2.65	24.66±9.57	48.27±20.79
第三組 (2500mg/kg)	65.95±4.83	24.05±8.94	43.85±18.25
第四組 (5000mg/kg)	61.91±3.11	22.51±7.46	39.33±12.76

“\*”表示與控制組相比 p 值小於 0.05 之顯著差異

表五、母鼠之體重增加率、飼料與飲水消耗量

組別/母鼠	90 天體重增加(%)/隻	消耗飼料(g)/天/隻	消耗水量(g)/天/隻
第一組 (控制組)	48.61±2.17	21.06±3.27	38.67±5.4
第二組 (1250mg/kg)	47.73±2.45	20.70±3.04	34.52±5
第三組 (2500mg/kg)	49.54±2.87	20.16±3.25	34.81±5.44
第四組 (5000mg/kg)	46.71±3.74	19.64±3.49	35.28±6.97

“\*”表示與控制組相比 p 值小於 0.05 之顯著差異

表六、尿液檢驗異常數

分析項目	異常說明	第一組	第二組	第三組	第四組
		(控制組)	(1250mg/kg)	(2500mg/kg)	(5000mg/kg)
		異常動物數 (雄鼠/雌鼠)			
顏色 Color	乳白/棕褐/紅/黏液	0\0	0\0	0\0	0\0
比重 SG (Specific Gravity)	<1.010 或>1.030	3\4	0\1	1\2	4\2
尿蛋白 Protein	++陽性	0\0	0\0	0\0	3\0
尿膽素原 Urobilinogen	+陽性	0\0	0\0	0\0	0\0
酸鹼值 PH	<5.5 或>8.5	0\0	0\0	0\0	0\0
酮類 Ketone	+陽性	5\0	7\0	6\0	6\0
膽紅素 Bilirubin	+陽性	0\0	0\0	0\0	0\0
尿糖 Glucose	+陽性	0\0	0\0	0\0	0\0
亞硝酸鹽 Nitrite	+陽性	1\0	1\0	0\0	0\0
潛血 Occult blood	+陽性	0\0	0\0	0\0	0\0
尿殘渣 (hpf)	白血球 WBC	>1 陽性	0\0	0\0	0\0
	紅血球 RBC	>1 陽性	0\0	0\0	0\0
	上皮細胞 Epithelial cell	+陽性	1\2	0\0	0\0
	三磷酸鹽結晶 Triple phosphate	+陽性	6\1	6\7	6\4

表七、公鼠血液學檢驗數據進行 One-way ANOVA 分析

血液學(公)	檢驗項目單位	p 值
Hematocrit ; PCV(Man)	%	0.13628616
Hematocrit ; PCV (Auto)	%	0.28224080
RBC	$\times 10^6/\mu\text{L}$	0.20222591
<b>Hemoglobin</b>	<b>g/dL</b>	<b>0.02807333</b>
MCV	fl	0.08595690
<b>MCH</b>	<b>pg</b>	<b>0.00056889</b>
<b>MCHC</b>	<b>g/dL</b>	<b>0.00028230</b>
WBC	/ $\mu\text{L}$	0.61998707
Lymphocytes	/ $\mu\text{L}$	0.23118309
Monocytes	/ $\mu\text{L}$	0.79604501
Eosinophils	/ $\mu\text{L}$	0.06159518
Basophils.	/ $\mu\text{L}$	0.40399257
PLT	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.56843670

表八、母鼠血液學檢驗數據進行 One-way ANOVA 分析

血液學(母)	檢驗項目單位	p 值
Hematocrit ; PCV(Man)	%	0.888595869
Hematocrit ; PCV (Auto)	%	0.755324694
RBC	$\times 10^6/\mu\text{L}$	0.916073106
Hemoglobin	g/dL	0.626257295
MCV	fl	0.186493755
<b>MCH</b>	<b>pg</b>	<b>0.024699889</b>
<b>MCHC</b>	<b>g/dL</b>	<b>0.016617216</b>
WBC	/ $\mu\text{L}$	0.051837218
Lymphocytes	/ $\mu\text{L}$	0.080039442
Monocytes	/ $\mu\text{L}$	0.105701873
Eosinophils	/ $\mu\text{L}$	0.111558878
Basophils.	/ $\mu\text{L}$	所有數據相同
PLT	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.519311458

表九、公鼠之血液學檢驗數據平均值及標準差

檢驗項目單位	單位	大鼠標準值	第一組	第二組	第三組	第四組
			(控制組)	(1250mg/kg)	(2500mg/kg)	(5000mg/kg)
			公鼠			
Hematocrit ; PCV(Man)	%	36-54	43.80±1.69	43.40±3.17	45.70±1.49	44.30±2.26
Hematocrit ; PCV (Auto)	%	36-54	46.06±2.01	44.78±2.59	46.46±1.54	45.68±1.06
RBC	×10 <sup>6</sup> /μL	6.76-9.75	7.478±0.33	7.45±0.30	7.65±0.33	7.69±0.20
Hemoglobin	g/dL	11-19.2	17.28±0.87	16.21±1.10*	16.95±0.56	16.56±0.40
MCV	fl	48-70	61.62±1.95	60.08±1.74	60.78±2.29	59.43±1.66
MCH	pg	18-23	23.12±0.93	21.74±0.72*	22.18±0.97	21.54±0.53
MCHC	g/dL	34-38	37.51±0.72	36.19±0.76*	36.49±0.66	36.25±0.49
WBC	10 <sup>3</sup> /μL	6.6-12.6	9.89±3.18	11.15±2.57	10.3±1.53	9.81±2.05
Lymphocytes	10 <sup>3</sup> /μL	4.78-9.12	8.60±2.89	9.83±2.66	7.65±2.77	7.60±2.50
Monocytes	/μL	30-180	131.80±236.94	178.90±165.55	125.40±165.30	201.10±192.22
Eosinophils	/μL	10-160	77.40±60.27	89.30±111.15	182.20±113.78	158.60±102.69
Basophils	/μL	0-30	0.00	0.00	0.00	0.00
PLT	×10 <sup>3</sup> /μL	638-1177	533.70±232.74	602.80	649.60±186.41	571.10±135.76

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十、母鼠之血液學檢驗數據平均值及標準差

檢驗項目單位	單位	大鼠標準值	第一組	第二組	第三組	第四組
			(控制組)	(1250mg/kg)	(2500mg/kg)	(5000mg/kg)
			母鼠			
Hematocrit ; PCV(Man)	%	36-54	41.00±2.98	40.70±1.42	41.10±3.03	40.30±1.95
Hematocrit ; PCV (Auto)	%	36-54	43.11±3.52	42.44±1.46	42.85±1.81	42.04±1.63
RBC	×10 <sup>6</sup> /μL	6.76-9.75	6.69±0.573	6.78±0.25	6.70±0.32	6.66±0.36
Hemoglobin	g/dL	11-19.2	16.03±1.38	15.54±0.63	15.57±0.88	15.78±0.60
MCV	fl	48-70	64.45±2.59	62.62±2.00	64.02±1.03	63.17±1.87
MCH	pg	18-23	23.98±1.25	22.92±0.49*	23.25±0.57	23.71±0.58
MCHC	g/dL	34-38	37.21±1.22	36.62±0.75	36.32±0.53	37.54±0.78
WBC	10 <sup>3</sup> /μL	6.6-12.6	6.74±1.86	6.10±2.38	8.96±2.62	7.90±2.44
Lymphocytes	10 <sup>3</sup> /μL	4.78-9.12	5.42±1.96	5.21±2.04	7.45±2.43	6.64±1.86
Monocytes	/μL	30-180	104.30±57.54	33.60±37.67	121.30±69.11	130.40±157.24
Eosinophils	/μL	10-160	83.60±75.36	54.60±31.36	162.70±143.06	106.20±108.81
Basophils	/μL	0-30	0.00	0.00	0.00	9.70±29.10
PLT	×10 <sup>3</sup> /μL	638-1177	501.60±151.22	556.00±157.87	463.40±222.96	454.70±72.11

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十一、公鼠血清生化檢驗之 One-way ANOVA 之分析結果

血清生化項目	檢驗項目單位	p 值
TSP	g/dL	0.016362507
Albumin	g/dL	0.388899744
Globulin	g/dL	0.002034435
AST	U/L	0.476519842
ALT	U/L	0.000676083
ALP	U/L	0.001091037
T. Bilirubin	mg/dL	0.395689509
Cholesterol	mg/dL	0.022787093
Triglyceride	mg/dL	0.000113362
Glucose	mg/dL	0.540151922
BUN	mg/dL	0.006559154
Creatinine	mg/dL	0.656690951
Ip	mg/dL	0.000118511
Ca <sup>2+</sup>	mg/dL	0.074675193
Na <sup>+</sup>	mEq/L	0.013656176
K <sup>+</sup>	mEq/L	0.015520796
Cl <sup>-</sup>	mEq/L	0.000795930

表十二、母鼠血清生化檢驗之 One-way ANOVA 之分析結果

血清生化項目	檢驗項目單位	p 值
TSP	g/dL	0.454968920
Albumin	g/dL	0.945749475
Globulin	g/dL	0.383660804
AST	U/L	0.221951579
ALT	U/L	0.004336238
ALP	U/L	0.494423882
T. Bilirubin	mg/dL	0.315077452
Cholesterol	mg/dL	0.908132280
Triglyceride	mg/dL	0.625245266
Glucose	mg/dL	0.110697614
BUN	mg/dL	0.007369929
Creatinine	mg/dL	0.278741395
Ip	mg/dL	0.009743901
Ca <sup>2+</sup>	mg/dL	0.382551904
Na <sup>+</sup>	mEq/L	0.024268533
K <sup>+</sup>	mEq/L	0.037790705
Cl <sup>-</sup>	mEq/L	0.165713278

表十三、公鼠血清生化檢驗之平均值與標準差

項目單位	大鼠標準值	第一組	第二組	第三組	第四組	
		(控制組)	(1250mg/kg)	(2500mg/kg)	(5000mg/kg)	
Total serum protein (TSP)	g/dL	5.6-7.6	6.66±0.46	7.27±0.46*	6.95±0.24	6.86±0.43
Albumin	g/dL	3.8-4.8	4.07±0.35	3.85±0.40	3.85±0.34	3.81±0.38
Globulin	g/dL	1.8-2.5	2.59±0.55	3.42±0.32*	3.10±0.49	3.05±0.37
AST	U/L	45.7-80.8	70.20±4.73	72.71±10.71	75.30±9.09	67.50±17.53
ALT	U/L	17.5-30.2	28.40±2.80	26.40±4.17	22.80±4.61	19.70±6.04*
ALP	U/L	86-247	357.00±98.38	384.80±126.64	236.50±30.43	247.40±87.15
T. Bilirubin	mg/dL	0.2-0.5	0.13±0.07	0.13±0.05	0.10±0	0.14±0.07
Cholesterol	mg/dL	40-130	66.10±14.39	80.50±18.22	72.60±20.26	58.10±7.78
Triglyceride	mg/dL	16-175	114.80±38.82	82.01±31.26	61.70±23.65*	54.10±11.70*
Glucose	mg/dL	50-160	203.70±49.46	189.10±60.57	178.30±32.28	177.90±29.90
BUN	mg/dL	15-21	16.70±1.30	16.21±3.36	15.43±1.91	18.97±1.64
Creatinine	mg/dL	0.2-0.8	0.27±0.05	0.29±0.12	0.24±0.11	0.28±0.08
Ip	mg/dL	3.11-11	6.24±0.74	7.47±1.17	8.36±1.48*	9.24±1.74*
Ca <sup>2+</sup>	mg/dL	5.3-13	9.82±0.49	10.56±0.86	9.93±0.64	9.93±0.65
Na <sup>+</sup>	mEq/L	140-150	140.10±3.14	141.50±3.24	139.6±1.84	137.60±1.35
K <sup>+</sup>	mEq/L	4.3-5.6	3.69±0.40	3.99±0.38	4.00±0.22	4.15±0.14*
Cl <sup>-</sup>	mEq/L	95-115	91.2±4.30	97.00±3.65*	91.70±2.11	91.50±2.84

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十四、母鼠血清生化檢驗之平均值與標準差

項目單位	大鼠標準值	第一組	第二組	第三組	第四組	
		(控制組)	(1250mg/kg)	(2500mg/kg)	(5000mg/kg)	
Total serum protein (TSP)	g/dL	5.6-7.6	7.83±0.69	7.67±0.54	7.87±0.31	7.54±0.42
Albumin	g/dL	3.8-4.8	4.77±0.47	4.66±0.26	4.73±0.43	4.75±0.51
Globulin	g/dL	1.8-2.5	3.06±0.54	3.01±0.61	3.14±0.36	2.79±0.25
AST	U/L	45.7-80.8	77.60±19.63	62.60±8.90	75.90±17.25	79.80±28.33
ALT	U/L	17.5-30.2	23.90±7.31	13.90±4.01*	22.00±8.91	16.20±4.73
ALP	U/L	86-247	110.80±47.04	149.00±53.01	151.80±101.24	130.50±49.61
T. Bilirubin	mg/dL	0.2-0.5	0.16±0.07	0.13±0.05	0.16±0.07	0.12±0.04
Cholesterol	mg/dL	40-130	87.40±13.49	91.40±23.34	87.90±15.69	85.40±19.96
Triglyceride	mg/dL	16-175	46.80±22.02	34.00±3.56	54.60±63.78	52.70±35.92
Glucose	mg/dL	50-160	153.30±21.05	164.60±28.67	144.80±17.62	166.60±18.92
BUN	mg/dL	15-21	14.47±2.15	16.37±1.90	17.59±3.32*	18.19±1.95*
Creatinine	mg/dL	0.2-0.8	0.27±0.08	0.28±0.08	0.34±0.08	0.31±0.10
Ip	mg/dL	3.11-11	6.58±0.95	7.38±1.38	7.36±1.05	5.86±0.94
Ca <sup>2+</sup>	mg/dL	5.3-13	10.18±0.90	10.21±0.36	10.57±0.51	10.20±0.38
Na <sup>+</sup>	mEq/L	140-150	137.70±1.70	137.60±1.51	139.50±1.51	138.90±1.52
K <sup>+</sup>	mEq/L	4.3-5.6	4.56±0.52	4.62±0.48	4.00±0.53	4.60±0.59
Cl <sup>-</sup>	mEq/L	95-115	88.60±4.65	88.90±2.02	90.90±3.14	91.40±2.91

與控制組相比“\*” p 小於 0.05



表十五、公鼠三項凝血試驗數據平均值與標準差

		第一組 (控制組)	第二組 (1250mg/kg)	第三組 (2500mg/kg)	第四組 (5000mg/kg)
項目單位 (秒)	大鼠標準值(秒)	公鼠			
Clotting time	60-300	117.9±89.4	122.10±93.2	60.70±30.6	111.60±84.10
PT	無資料	23.56±4.09	23.9±7.43	24.70±4.71	26.90±4.89
APTT	無資料	47.50±5.50	42.70±8.73	42.80±5.9	43.50±6.08

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十六、母鼠三項凝血試驗數據平均值與標準差

		第一組 (控制組)	第二組 (1250mg/kg)	第三組 (2500mg/kg)	第四組 (5000mg/kg)
項目單位(秒)	大鼠標準值(秒)	母鼠			
Clotting time	60-300	103.50±93.20	78.70±58.20	80.10±64.10	114.40±80.3
PT	無資料	26.10±3.38	23.50±2.32	25.70±6.41	24.10±4.84
APTT	無資料	46.40±5.42	42.70±9.19	44.70±5.79	44.90±7.63

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十七、解剖人員 8 名及協助人員 8 名大鼠解剖分配

大鼠解剖工作分配								
地點	獸醫學系病理解剖室							
指導教授	張清棟副教授/獸醫病理專科醫師							
日期	105 年 1 月 26~27 日							
大鼠編號	解剖人	助手	大鼠編號	解剖人	助手	大鼠編號	解剖人	助手
1	林智湧	林炳源	28	張宸甄	羅勝聰	55	謝宇涵	褚昱佳
2	沈芷萱	鍾冠緯	29	岳筠	羅筱涵	56	王念澄	劉清心
3	巫煦苓	劉振旺	30	黃珮雯	施法天	57	林智湧	林炳源
4	張宸甄	羅勝聰	31	林智湧	林炳源	58	沈芷萱	鍾冠緯
5	岳筠	羅筱涵	32	沈芷萱	鍾冠緯	59	巫煦苓	劉振旺
6	黃珮雯	施法天	33	巫煦苓	劉振旺	60	張宸甄	羅勝聰
7	謝宇涵	褚昱佳	34	張宸甄	羅勝聰	61	岳筠	羅筱涵
8	王念澄	劉清心	35	岳筠	羅筱涵	62	黃珮雯	施法天
9	林智湧	林炳源	36	黃珮雯	施法天	63	謝宇涵	褚昱佳
10	沈芷萱	鍾冠緯	37	謝宇涵	褚昱佳	64	王念澄	劉清心
11	巫煦苓	劉振旺	38	王念澄	劉清心	65	林智湧	林炳源
12	張宸甄	羅勝聰	39	林智湧	林炳源	66	沈芷萱	鍾冠緯
13	岳筠	羅筱涵	40	沈芷萱	鍾冠緯	67	巫煦苓	劉振旺
14	黃珮雯	施法天	41	巫煦苓	劉振旺	68	張宸甄	羅勝聰
15	謝宇涵	褚昱佳	42	張宸甄	羅勝聰	69	岳筠	羅筱涵
16	王念澄	劉清心	43	岳筠	羅筱涵	70	黃珮雯	施法天
17	林智湧	林炳源	44	黃珮雯	施法天	71	謝宇涵	褚昱佳
18	沈芷萱	鍾冠緯	45	謝宇涵	褚昱佳	72	王念澄	劉清心
19	巫煦苓	劉振旺	46	王念澄	劉清心	73	林智湧	林炳源
20	張宸甄	羅勝聰	47	林智湧	林炳源	74	沈芷萱	鍾冠緯
21	岳筠	羅筱涵	48	沈芷萱	鍾冠緯	75	巫煦苓	劉振旺
22	黃珮雯	施法天	49	巫煦苓	劉振旺	76	張宸甄	羅勝聰
23	謝宇涵	褚昱佳	50	張宸甄	羅勝聰	77	岳筠	羅筱涵
24	王念澄	劉清心	51	岳筠	羅筱涵	78	黃珮雯	施法天
25	林智湧	林炳源	52	黃珮雯	施法天	79	謝宇涵	褚昱佳
26	沈芷萱	鍾冠緯	53	謝宇涵	褚昱佳	80	王念澄	劉清心
27	巫煦苓	劉振旺	54	王念澄	劉清心			

表十八、公鼠之臟器相對體重比值

組別\公鼠	肝臟	腎臟與腎 上腺	睪丸與附 睪	子宮與卵 巢	胸腺	脾臟	大腦與小 腦及橋腦	心臟
第一組 (控制組)	16.58±2.17	4.06±0.81	6.45±1.60		0.34±0.14	0.77±0.11	2.16±0.13	1.74±0.17
第二組 (1250mg/kg)	12.81±4.21	3.27±1.31	6.82±2.47		0.30±0.09	0.61±0.10	2.10±0.17	1.35±0.34
第三組 (2500mg/kg)	10.56±2.47	2.62±0.63	9.04±4.35		0.25±0.05	0.56±0.10	2.01±0.07	1.30±0.29
第四組 (5000mg/kg)	14.91±3.66	3.65±1.09	6.66±2.25		0.29±0.12	0.73±0.13	2.21±0.17	1.79±0.37

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表十九、母鼠之臟器相對體重比值

組別\母鼠	肝臟	腎臟與腎 上腺	睪丸與附 睪	子宮與卵 巢	胸腺	脾臟	大腦與小 腦及橋腦	心臟
第一組 (控制組)	9.72±1.11	2.4±0.31		1.34±0.44	0.27±0.05	0.54±0.07	1.99±0.07	1.18±0.17
第二組 (1250mg/kg)	14.02±4.36	3.43±1.17		1.17±0.46	0.29±0.11	0.68±0.17	2.15±0.17	1.73±0.43
第三組 (2500mg/kg)	14.90±3.56	3.68±1.05		1.44±0.14	0.32±0.11	0.74±0.13	2.24±0.14	1.76±0.45
第四組 (5000mg/kg)	10.4±2.57	2.64±0.62		1.48±0.45	0.30±0.07	0.58±0.11	1.95±0.30	1.29±0.33

與控制組相比“\*” p 小於 0.05

表二十、80 隻大鼠之臟器重量

組別/性別	大鼠 編號	肝臟	腎臟與腎上腺	睪丸與附睪	子宮與卵巢	胸腺	脾臟	腦	心臟
第一組 (控制組) 公鼠	1	17.25	3.16	5.94		0.24	0.74	2.01	1.68
	2	17.17	4.34	7.09		0.33	1.05	2.15	1.77
	3	16.21	3.84	5.88		0.09	0.92	2.19	2.01
	4	14.65	4.04	5.43		0.57	0.75	2.14	1.33
	5	17.25	3.52	7.49		0.48	0.79	2.00	1.82
	6	15.35	3.36	5.41		0.30	0.69	2.07	1.82
	7	16.25	5.96	5.03		0.54	0.70	2.34	1.79
	8	20.14	4.42	5.79		0.29	0.73	2.42	1.74
	9	19.10	3.48	5.99		0.28	0.72	2.16	1.68
	10	12.46	4.56	10.49		0.31	0.69	2.14	1.78
第一組 (控制組) 母鼠	11	9.98	2.35		1.04	0.32	0.53	2.13	1.10
	12	11.36	2.97		1.44	0.28	0.66	1.90	1.12
	13	8.72	2.20		2.20	0.26	0.47	1.93	0.97
	14	10.22	2.52		1.10	0.27	0.67	1.97	1.18
	15	8.46	2.17		1.38	0.30	0.49	1.97	1.20
	16	11.41	2.11		1.61	0.19	0.53	2.04	0.98
	17	8.88	2.38		0.56	0.24	0.44	2.03	1.13
	18	9.92	2.95		1.05	0.32	0.52	2.04	1.46
	19	9.96	2.12		1.47	0.36	0.63	2.07	1.48
	20	8.34	2.29		1.60	0.20	0.52	1.90	1.19
第二組 (1250mg/kg) 公鼠	21	15.45	3.64	12.12		0.17	0.61	2.06	1.65
	22	14.33	3.83	5.96		0.27	0.76	2.13	1.85
	23	18.53	4.17	5.74		0.52	0.70	2.34	2.15
	24	19.38	2.73	5.19		0.24	0.86	2.42	2.21
	25	17.05	4.43	5.79		0.16	0.96	2.14	1.78
	26	18.42	5.84	6.93		0.43	0.86	2.42	2.44
	27	13.84	3.78	5.80		0.40	0.82	2.32	1.63
	28	13.80	3.69	5.80		0.23	0.66	2.30	1.58
	29	14.64	3.50	6.36		0.30	0.81	2.02	1.66
	30	14.65	3.98	5.51		0.42	0.70	2.19	2.02

續~

組別/性別	大鼠 編號	肝臟	腎臟與腎上腺	睪丸與附睪	子宮與卵巢	胸腺	脾臟	腦	心臟
第二組 (1250mg/kg) 母鼠	31	8.71	2.29		1.54	0.30	0.57	2.30	0.98
	32	10.04	2.40		1.34	0.22	0.52	2.03	1.22
	33	10.32	2.13		1.59	0.19	0.57	1.95	1.44
	34	11.45	2.49		2.46	0.34	0.66	2.07	1.33
	35	8.70	2.26		0.88	0.44	0.56	1.17	1.01
	36	9.25	2.71		1.38	0.30	0.51	2.00	1.12
	37	6.53	1.99		1.23	0.26	0.52	1.75	1.02
	38	9.80	2.66		1.48	0.28	0.41	2.03	1.17
	39	8.80	2.46		1.63	0.28	0.62	2.07	1.00
	40	8.32	2.13		1.73	0.40	0.60	1.90	1.26
第三組 (2500mg/kg) 公鼠	41	13.78	3.55	6.19		0.40	0.85	1.96	1.69
	42	20.64	5.65	6.93		0.46	1.29	2.18	1.98
	43	14.56	4.50	5.83		0.56	2.44	2.23	1.56
	44	16.08	5.20	6.03		0.28	1.00	2.20	1.63
	45	14.92	3.32	4.07		0.15	0.73	1.82	1.60
	46	17.12	4.08	5.14		0.50	0.83	2.16	1.73
	47	16.53	4.95	6.24		0.31	0.95	2.23	2.00
	48	11.13	3.15	4.49		0.19	0.56	2.12	1.39
	49	15.78	3.34	5.98		0.47	0.88	2.12	2.22
	50	28.76	6.48	7.62		0.83	1.08	2.24	2.34
第三組 (2500mg/kg) 母鼠	51	7.71	2.31		1.16	0.46	0.70	2.01	1.04
	52	8.11	2.56		1.21	0.33	0.62	2.03	1.04
	53	9.96	2.29		3.15	0.30	0.59	1.91	1.08
	54	10.64	2.56		0.91	0.37	0.54	2.07	1.29
	55	10.17	2.56		0.96	0.30	0.61	2.03	1.17
	56	9.37	2.00		1.21	0.25	0.55	1.95	1.01
	57	8.89	2.18		1.30	0.13	0.55	1.86	1.08
	58	10.96	3.32		2.08	0.48	0.56	2.03	1.29
	59	8.69	2.38		0.83	0.34	0.65	2.09	1.16
	60	8.87	2.86		1.32	0.31	0.62	1.95	1.11

續~

組別/性別	大鼠 編號	肝臟	腎臟與腎上腺	睪丸與附睪	子宮與卵巢	胸腺	脾臟	腦	心臟
第四組 (5000mg/kg) 公鼠	61	14.80	3.58	5.57		0.36	0.98	2.20	1.86
	62	12.59	3.94	5.27		0.56	0.80	2.13	1.52
	63	13.01	3.64	4.91		0.43	0.76	2.13	1.76
	64	19.08	4.33	4.51		0.29	0.92	1.90	1.99
	65	13.26	3.46	6.24		0.24	0.77	2.21	1.45
	66	16.70	4.51	6.38		0.32	0.84	2.08	1.70
	67	12.63	3.70	6.03		0.33	0.74	2.34	1.44
	68	12.53	3.57	5.75		0.29	0.75	2.14	1.75
	69	14.20	3.45	6.68		0.24	0.72	1.91	1.43
	70	12.17	3.47	2.64		0.41	0.76	2.04	1.57
第四組 (5000mg/kg) 母鼠	71	12.24	2.47		1.28	0.36	0.79	2.22	1.18
	72	9.67	2.47		1.29	0.29	0.40	1.91	1.13
	73	10.13	1.91		2.38	0.25	0.56	2.00	1.65
	74	7.93	2.59		1.89	0.25	0.40	1.87	1.01
	75	8.01	2.08		1.02	0.19	0.48	1.97	1.19
	76	9.95	2.31		1.10	0.31	0.62	1.98	1.33
	77	8.95	2.42		3.24	0.35	0.71	1.84	1.24
	78	9.30	2.77		1.51	0.35	0.64	1.97	1.19
	79	9.20	2.45		1.25	0.31	0.62	2.02	1.10
	80	9.52	2.09		0.93	0.83	0.61	1.89	0.97