

台灣金線連生技產品之毒理安全性評估

I. 台灣金圓酒對大鼠之口服急毒性試驗¹

蕭翌柱² 廖俊旺³ 吳明哲^{2,4}

摘 要

蕭翌柱、廖俊旺、吳明哲。2008。台灣金線連生技產品之毒理安全性評估 I. 台灣金圓酒對大鼠之口服急毒性試驗。台灣農業研究 57:183-192。

台灣金線連萃取物已知具有保肝、鎮痛、利尿、降血糖及降血壓等作用，唯以其萃取物為主要成分，或是配伍其他原料製成如「台灣金圓酒」之類的保健飲品，在上市販售前仍應進行對哺乳動物之安全性評估。本研究係依據安全性評估規範進行台灣金圓酒對大鼠 (SD 品系) 之口服急毒性試驗。供試酒樣品先以逆滲透水配製成溶液濃度，依體重最終經口投予大鼠的劑量總計為 5 g/kg，投予後連續觀察 14 天。結果全部鼠隻無中毒症狀或死亡，故其對大鼠之口服急毒性 LD₅₀ 值應大於 5 g/kg；另外，調查處理組雄、雌鼠第 0、7 及 14 天時體重及增重並無影響。檢查白血球及紅血球總數、血紅素、血球容積比、平均紅血球體積、平均血紅素及平均血紅素濃度、血小板及白血球分類等血液值均無與試驗物質有關之影響。血清肝腎酵素值天門冬酸轉氨酶 (AST)、氨基丙酸轉氨酶 (ALT)、尿素氮 (BUN) 及肌氨酸 (creatinine) 等項目亦無與試驗物質有關之影響。檢視體內臟器重量包括腦、心、肝臟、腎臟、脾臟、胸腺、腎上腺、睪丸及卵巢及等重量及百分比與對照組比較皆無明顯差異，切片鏡檢體內重要臟器均無因試驗物質引起之內眼及組織病理變化。由本試驗結果推論，每日以 5 g/kg 體重的台灣金圓酒劑量，經口持續餵食大鼠 14 日後，應未產生毒害作用。

關鍵詞：口服急毒性試驗、台灣金線連、草藥、大鼠、安全性評估。

前 言

約自 90 年代開始，歐、美、日等先進國家在維護其人民衛生與健康的政策上，已逐步由原本的治療醫學模式轉而重視預防及保健醫學，此正與中國傳統醫學一再強調的「攝生以治未病」觀念

-
1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2326 號。接受日期：97 年 8 月 8 日。
 2. 本所生物技術組助理研究員、研究員兼組長。台灣 台中縣。
 3. 國立中興大學獸醫病理生物學研究所副教授。台灣 台中市。
 4. 通訊作者，電子郵件：wu@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

不謀而合。有鑑於我國在藥用保健植物的採擷利用已累積有數千年以上的歷史，且對於藥材性味、配伍、歸經或炮製加工等知識多有闡述和記載，因此，中醫藥產業的進展和天然植物有效成分之開發利用也受到國際殷切的期盼並積極參與研究。例如，德國製藥廠即自中國進口大量銀杏葉原料，經萃取分離出銀杏苷等物質再製成高價保健產品行銷世界；日本也運用大型發酵設備，量產具有廣譜抑菌、清熱與解毒功效的紫草醌及小檗鹼（黃連素）等珍貴藥用成分；近年來，為配合世界衛生組織（WHO）全球治瘡需求，中國大陸更由古醫學典籍中篩選出抗瘡植物—青蒿，再配合生物反應器等現代設備探討青蒿素之量產技術（Liu *et al.* 1999）。

台灣整體經濟及生活水準已達到開發國家之列，社會大眾對於日常保健使用的中草藥製品接受度頗高，其中即包含以台灣金線連（*Anoectochilus formosanus* Hayata）為主要原料研製而成的茶包及飲品。台灣金線連是我國中、高海拔山區珍貴的原生植物，在分類學上屬於蘭科多年生地生蘭類，耆老們相傳其極具保健功效，故另有藥王、藥虎、烏人蔘和雉雞草等別名。國內、外學者曾在台灣金線連全植株中以甲醇、乙醇水溶液或純水為主要溶劑，萃取分離出金線連糖苷（kinsenoside）、金線連酮（kincenone）及天麻素（gastrodin）等有用成分，且測試其抗氧化能力足以媲美銀杏葉和兒茶素（Du *et al.* 1998; Wang *et al.* 2002; Tzeng 2005）；藥理研究顯示金線連糖苷對於減低體內過多脂肪及肝臟內三酸甘油酯（triglyceride）含量有明顯促進作用（Du *et al.* 2001）；金線連水萃液對於四氯化碳（CCl₄）所誘發的動物肝毒性，也具有好的保肝效果（Lin *et al.* 1993），並有明顯的鎮痛、降血糖、利尿及降血壓等作用（Liang *et al.* 1990）；此外，學者發現金線連全草以純水煮沸萃取得之樣本溶液，對於花生四烯酸（arachidonic acid）的新陳代謝具有相當的生理活性，可能在治療心臟血管疾病方面具有良好的功效（Huang *et al.* 1991; Mak *et al.* 1990）。

台灣金線連不但在藥效和藥理方面已獲得初步驗證，不同品種之特性比較也已完成，甚至於以 5 g/kg 最高限劑量的金線連全草水萃液餵食白鼠之急毒性試驗，在試驗期滿後並未被檢出臨床症狀（Liu *et al.* 1998）。但是，以其萃取物為主成分並調配其他原物料所研製的生技保健食品，在上市販售前仍應進行對哺乳動物之安全性評估，藉以建立產品安全資料。因此，本文主要目標，即在進行農業試驗所研發之台灣金線連養生酒製品（品名：台灣金圓酒）對於大鼠口服急毒性試驗，若能通過嚴格測試和安全評估，未來在此類產品進行技術移轉及量產之後，或能提供國人另一項養生保健產品的新選擇。

材料與方法

試驗規範

依據衛生署健康食品安全性評估-口服急毒性試驗規範，並符合美國環保署（USEPA）（*Health Effects Test Guidelines*, OPPTS 870.1100, *Acute oral toxicity*, US EPA 712-C-98-190. In: *OPPTS Harmonized Test Guidelines*, Series 870.3050, EPA712-C-00-366）及經濟合作暨開發組織（*OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*. Section 4: Health Effects. No. 420: *Acute Oral Toxicity-Fixed Dose Procedure*, No. 423: *Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method*, No. 425: *Acute Oral Toxicity-Up and Down Method*）等試驗規範進行口服急毒性試驗；實驗動物之使用規範則依據中華實驗動物學會之「實驗動物管理與使用指南」進行操作（Yu *et al.* 2005）。

供試酒樣品

「台灣金圓酒」外觀呈黃棕色，主要原料是由台灣金線連全草以 58% 乙醇萃取溶液並添加定量的桂圓等果品浸膏，以一定的比例調和台農 71 號香米酒（酒精濃度 58%，杏花村酒坊出品）和純水，製成含酒精濃度 52% 之供試酒樣品且儲存於室溫環境，試驗時以逆滲透水稀釋及配製。

供試動物

四週齡大鼠 (SD 品系) 購自樂斯科生技園區實驗動物培育及研發中心 (宜蘭, 台灣), 動物房溫度為 20–22°C 及 12 hrs 光/12 hrs 暗之光照週期。另購置鼠專用粒狀飼料 (LabDiet® 5001 Rodent diet, Purina Mills LLC, St. Louis, MO, USA) 作為正常飼料, 並以逆滲透水供其飲用, 經 1 週適應期後進行試驗。

口服急毒性試驗

口服急毒性試驗分為 5 g/kg 體重劑量組及對照組, 每組 10 隻大鼠 (雌雄各半), 編號以飽和苦味酸染劑於背部作標識。試驗樣品純度視為 100%, 以逆滲透水配置酒樣品之試驗濃度為 0.5 g/mL。試驗時, 取不鏽鋼胃管, 依大鼠體重經口餵食投予體積量為 10 mL/kg, 處理後每日觀察並每週稱體重 1 次, 至處理後第 14 天止。試驗結束時, 大鼠以 2% 異氟醚 (Isoflurane) (Halocarbon Laboratories, South Carolina, USA) 氣體麻醉後, 經腹主動脈採血並達完全放血後犧牲, 進行大體解剖, 檢查體內臟器之肉眼及組織病理變化。

血液學檢查

口服急毒性試驗結束後, 自麻醉的大鼠腹主動脈採集全血, 放入含 EDTA 抗凝血劑試管 (K3 EDTA syringes, Vacutainer, NJ, USA), 於血球計數儀 (Sysmex K-4500, Toa Medical Electronics Co., Ltd., Kobe, Japan) 檢測血液相, 包括紅血球數 (red blood cell count, RBC count)、血紅素 (hemoglobin, HGB)、血球容積比 (hematocrit, Hct)、平均紅血球體積 (mean corpuscular volume, MCV)、平均血球血色素 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均血球血色素濃度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) 及血小板 (platelet) 等項目。白血球分類 (differential leukocyte count) 則先以血液抹片, 經 Weigert's Iron Hematoxylin Stain Kit (A. J. P. Scientific Inc., NJ, USA) 染色後, 於光學顯微鏡 400 倍下, 計算白血球中淋巴球 (lymph)、嗜中性球 (neutrophil)、單核球 (monocyte)、嗜酸性球 (eosinophil) 及嗜鹼性球 (basophil) 之百分率。

血清生化檢查

自麻醉的大鼠腹主動脈採集全血, 放入離心機 (Kubota 2010, Tokyo, Japan) 以轉速 3,000 rpm (離心力 3,230 xg) 離心 15 mins, 取上清液血漿, 以血清生化儀 (Chiron Diagnostics Corporation, Oberlin, OH, USA) 檢測血清肝腎酵素值, 包括天門冬氨酸轉氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、氨基丙酸轉氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌氨酸 (creatinine) 等項目。

臟器病理檢查

大鼠經麻醉及放血犧牲後進行解剖, 秤腦、心、肝、腎、脾、胸腺、腎上腺, 睪丸及卵巢等臟器重量, 並以最後一週之最終體重作為體內臟器重量比之計算基準。在觀察肉眼病理變化方面, 先取臟器浸泡於 10% 中性福馬林溶液中固定 1 週, 經組織粗修與石臘包埋, 再以石臘組織切片機

(Leica RM 2145, Nussloch, Germany) 製成 2 μm 厚度之組織切片，經 Hematoxylin & Eosin (H & E) 染色後，於光學顯微鏡觀察組織病理變化。另依 Shackelford 等人 (2002) 發展之方法進行組織病理變化描述及病理評估，標準計分 5 個等級：1 = minimal (< 1%); 2 = slight (1–25%); 3 = moderate (26–50%); 4 = moderate/severe (51–75%); 5 = severe/high (76–100%)。

結果分析

試驗結束後，若處理組動物死亡數超過處理動物數半數 (50%)，以 Probit analysis 分析求取藥劑量與死亡率之迴歸方程式，以取得動物半數致死劑量 (LD_{50})。另外，試驗期間獲得的各項數值則分別計算其算術平均值及標準偏差 (Standard Deviation, SD) 並採用單因子變異數分析 (one-way analysis of variance) 及進行 Dunnet's t-test ($p < 0.05$)，以檢定對照組與處理組之間的差異。

結 果

口服急毒性試驗

表 1 結果顯示，供試樣品經口服投予大鼠並完成階段實驗後，全部鼠隻未有中毒症狀或死亡的情形發生；另外，供試對照組與處理組之雄鼠在第 7 天時之增重百分比分別為 $46.2 \pm 2.2\%$ 及 $41.7 \pm 1.3\%$ ，處理組雄鼠之增重百分比明顯低於對照組，但在第 14 天時測量其平均體重則分別為 $290.6 \pm 8.5 \text{ g}$ 及 $283.4 \pm 3.5 \text{ g}$ ；增重百分比分別為 $69.7 \pm 5.3\%$ 及 $60.8 \pm 4.0\%$ ，相較結果則已無明顯差異。若以雌鼠為測試對象，則在第 14 天時，對照組與處理組之平均體重分別為 $212.4 \pm 11.1 \text{ g}$ 及 $205.5 \pm 10.2 \text{ g}$ ，增重百分比為 $43.1 \pm 6.6\%$ 及 $42.0 \pm 0.3\%$ ，相較結果也無明顯差異。

血液學檢查

檢測供試大鼠之血液相，結果如表 2 所示，當紅血球數以 $10^6/\mu\text{L}$ 為計算單位時，對照組雄鼠的紅血球數平均為 6.8 ± 0.2 單位、處理組為 7.0 ± 0.7 單位，二者未有明顯差異；比較對照組與處理組雌鼠的紅血球數也未見明顯差異 (8.2 ± 1.7 與 6.8 ± 0.5 單位)。對照組雄鼠每 100 mL 血液中的血紅素含量為 $15.3 \pm 0.4 \text{ g}$ 、處理組則為 $15.4 \pm 1.5 \text{ g}$ ；供試雌鼠對照組與處理組的血紅素含量分別為 $18.4 \pm 3.4 \text{ g}$ 和 $15.6 \pm 1.0 \text{ g}$ 。計算血球容積比的數值顯示，對照組雄鼠為 $41.4 \pm 1.1\%$ ，處理組則

表 1. 餵食台灣金圓酒 14 天後之大鼠體重及增重變化^z

Table 1. Body weight and body weight gain of rats after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine for 0, 7 and 14 days^z

Treatment		Days after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine				
Sex	Oral dose (g/kg)	0 day MBW (g)	7 day		14 day	
			MBW (g)	BWG (%) ^y	MBW (g)	BWG (%)
Male	0 (control)	171.3 ± 2.4	250.5 ± 5.3	46.2 ± 2.2	290.6 ± 8.5	69.7 ± 5.3
	5	176.3 ± 5.1	249.9 ± 6.1	$41.7 \pm 1.3^*$	283.4 ± 3.5	60.8 ± 4.0
Female	0 (control)	148.4 ± 5.8	197.7 ± 11.9	33.1 ± 4.4	212.4 ± 11.1	43.1 ± 6.6
	5	147.6 ± 3.2	190.0 ± 5.8	28.7 ± 2.7	205.5 ± 10.2	42.0 ± 0.3

^z MBW: mean of body weight; BWG: Body weight gain. MBW (g) and BWG (%) are expressed as the mean \pm SD ($n = 5$). * $p < 0.05$ compared with control group.

^y BWG on the 7th day (%) = $(7^{\text{th}} - 0^{\text{th}})\text{BW (g)} / (0^{\text{th}})\text{BW (g)} \times 100$.

為 $42.7 \pm 5.0\%$ ；供試雌鼠對照組的數值為 $48.9 \pm 10.0\%$ ，處理組為 $40.5 \pm 3.5\%$ 。檢測雄鼠和雌鼠平均紅血球體積的結果，則不論是對照組或處理組，供試雄鼠和雌鼠的數值均介於 $59.6\text{--}60.9\text{ fL}$ ，彼此間未有明顯差異。另外，比較雄鼠和雌鼠血液中之平均血球血色素、平均血球血色素濃度及血小板等項目，不論是雄鼠或雌鼠，其對照組與處理組未見明顯差異。

供試大鼠血液經抹片後再染色鏡檢進行白血球分類，結果如表 3 所示，當白血球數以 $10^3/\mu\text{L}$ 為計算單位時，對照組雄鼠的白血球數平均為 9.7 ± 4.5 單位、處理組為 10.7 ± 2.5 單位；另外，計算對照組與處理組雌鼠的白血球總數則分別為 12.4 ± 6.5 和 8.0 ± 3.8 單位，彼此未有明顯差異。若調查白血球中淋巴球所佔的比率，則不論是雄鼠或雌鼠，其對照組與處理組之比率均介於 $77.2\text{--}84.0\%$ ，比較後未有明顯差異。鏡檢嗜中性球的含量顯示，對照組雄鼠為 $13.2 \pm 4.9\%$ ，處理組則為 $12.0 \pm 5.7\%$ ；供試雌鼠對照組的數值為 $13.4 \pm 7.7\%$ ，處理組則為 $11.8 \pm 2.2\%$ 。處理組雄鼠之單核球比例 ($4.4 \pm 1.6\%$) 與對照組 ($7.4 \pm 1.4\%$) 相較下有稍低情形，但對供試雌鼠而言，則不論是對照組或處理組皆無明顯差異 ($5.4 \pm 1.7\%$ 與 $4.0 \pm 1.9\%$)。本試驗中，鏡檢嗜酸性球及嗜鹼性球的含量皆趨近於 0% 。

血清生化檢查

以血清生化儀檢測大鼠血清肝腎酵素值，結果如表 4 所示，對照組雄鼠之天門冬酸轉氨酶每公升含量為 138.1 ± 23.5 國際單位 (U)，處理組則為 127.8 ± 12.1 U；供試雌鼠對照組的數值為 154.6 ± 21.5 U/L，處理組則為 113.9 ± 19.5 U/L，其數值較對照組低。另外，檢測其氨基丙酸轉

表 2. 餵食台灣金圓酒 14 天後之大鼠血液學變化^z

Table 2. Changes of hematological parameters of rats after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine for 14 days^z

Treatment		RBC	HGB	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
Sex	Dose (g/kg)	($10^6/\mu\text{L}$)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)	($10^3/\mu\text{L}$)
Male	0 (control)	6.8 ± 0.2	15.3 ± 0.5	41.4 ± 1.1	60.7 ± 1.1	22.4 ± 0.4	36.9 ± 0.5	1039.3 ± 51.6
	5	7.0 ± 0.7	15.4 ± 1.5	42.7 ± 5.0	60.9 ± 1.8	21.9 ± 0.7	36.0 ± 1.3	688.8 ± 509.5
Female	0 (control)	8.2 ± 1.7	18.4 ± 3.4	48.9 ± 10.0	59.8 ± 2.0	22.5 ± 0.5	37.7 ± 1.1	1014.8 ± 208.6
	5	6.8 ± 0.5	15.6 ± 1.0	40.5 ± 3.5	59.6 ± 1.8	22.9 ± 1.0	38.5 ± 1.2	1151.6 ± 127.7

^z RBC: red blood cell; HGB: hemoglobin; HCT: hematocrit; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; PLT: platelets. Data are expressed as the mean \pm SD (n = 5).

表 3. 餵食台灣金圓酒 14 天後之大鼠白血球分類變化^z

Table 3. Changes of white blood cells differentiation of rats after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine for 14 days^z

Treatment		WBC	Lymph	Neutrophil	Monocyte	Eosinophil	Basophil
Sex	Dose (g/kg)	($10^3/\mu\text{L}$)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	0 (control)	9.7 ± 4.5	78.8 ± 4.4	13.2 ± 4.9	7.4 ± 1.4	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4
	5	10.7 ± 2.5	83.6 ± 4.5	12.0 ± 5.7	4.4 ± 1.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Female	0 (control)	12.4 ± 6.5	77.2 ± 8.8	13.4 ± 7.7	5.4 ± 1.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	5	8.0 ± 3.8	84.0 ± 3.8	11.8 ± 2.2	4.0 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

^z WBC: white blood count; Data are expressed as the mean \pm SD (n = 5).

氨酶含量之變化，則對照組雄鼠每公升含量為 31.5 ± 4.7 U，處理組則為 28.5 ± 1.2 U；供試雌鼠對照組的數值為 22.9 ± 1.8 U/L，處理組為 20.4 ± 2.7 U/L，比較後未見明顯差異。測定雄鼠尿素氮含量，則對照組每 100 mL 的血清中含有 9.6 ± 1.0 mg，處理組為 8.9 ± 1.7 mg；供試雌鼠對照組與處理組的數值分別為 14.1 ± 2.2 mg/dL 和 14.1 ± 1.5 mg/dL。若檢測肌氨酸含量時，則不論是供試雄鼠或雌鼠，其對照組與處理組之含量均介於 $0.4\text{--}0.5$ mg/dL，比較後未有明顯差異。

臟器病理檢查

比較供試雄鼠及雌鼠體內臟器重量變化的結果如表 5 所示，對照組雄鼠腦部在試驗過程中，發育增加重量的百分比為 $0.64 \pm 0.03\%$ ，處理組為 $0.67 \pm 0.04\%$ ；供試雌鼠對照組的數值為 $0.86 \pm 0.05\%$ ，處理組則為 $0.93 \pm 0.04\%$ ，比較後並無明顯差異。綜觀其餘臟器的重量變化百分比可知，不論是供試雄鼠或雌鼠，對照組與處理組之心臟 ($0.33\text{--}0.4\%$)、肝臟 ($3.06\text{--}3.12\%$)、腎臟 ($0.71\text{--}0.75\%$)、脾臟 ($0.19\text{--}0.23\%$)、胸腺 ($0.19\text{--}0.29\%$)、腎上腺 ($0.02\text{--}0.03\%$)、睪丸 (0.93 ± 0.08 與 $0.93 \pm 0.06\%$) 及卵巢 (0.06 ± 0.01 與 $0.05 \pm 0.01\%$) 等增重比率，經比較後也無明顯差異；上述各項重要臟器經取出鏡檢，也無因試驗物質引起之肉眼及組織病理變化 (圖 1)。此外，在進行組織病理檢查時，肝臟出現極微至輕微之肝細胞局部散發性變性或壞死，此在對照組雌、雄鼠發生率均為 40%，另口服台灣金圓酒之處理組雄鼠發生率則為 20%，雌鼠則為 40%，據此推估應與試驗物質無關。

表 4. 餵食台灣金圓酒 14 天後之大鼠血清肝及腎臟功能指數變化^z

Table 4. Serum biochemistry changes in liver and renal function of rats after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine for 14 days^z

Treatment		AST	ALT	BUN	Creatinine
Sex	Dose (g/kg)	(U/L)	(U/L)	(mg/dL)	(mg/dL)
Male	0 (control)	138.1 ± 23.5	31.5 ± 4.7	9.6 ± 1.0	0.4 ± 0.0
	5	127.8 ± 12.1	28.5 ± 1.2	8.9 ± 1.7	0.5 ± 0.1
Female	0 (control)	154.6 ± 21.5	22.9 ± 1.8	14.1 ± 2.2	0.5 ± 0.0
	5	113.9 ± 19.5	20.4 ± 2.7	14.1 ± 1.5	0.5 ± 0.1

^z AST: aspartate aminotransferase; ALT: alanine aminotransferase; BUN: blood urea nitrogen. Data are expressed as the mean \pm SD (n=5).

表 5. 餵食台灣金圓酒 14 天後之大鼠臟器重量變化^z

Table 5. Organ weight changes of rats after feeding the Taiwan Jin-Yuan wine for 14 days^z

Treatment		Brain	Heart	Liver	Kidney	Spleen	Thymus	Adrenal gland	Testies/ovary
Sex	Dose (g/kg)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Male	0 (control)	0.64 ± 0.03^y	0.33 ± 0.02	3.08 ± 0.17	0.71 ± 0.04	0.20 ± 0.01	0.19 ± 0.04	0.02 ± 0.01	0.93 ± 0.08
	5	0.67 ± 0.04	0.36 ± 0.02	3.08 ± 0.44	0.75 ± 0.06	0.19 ± 0.03	0.22 ± 0.05	0.02 ± 0.00	0.93 ± 0.06
Female	0 (control)	0.86 ± 0.05	0.40 ± 0.03	3.12 ± 0.28	0.75 ± 0.04	0.20 ± 0.03	0.25 ± 0.06	0.03 ± 0.00	0.06 ± 0.01
	5	0.93 ± 0.04	0.40 ± 0.04	3.06 ± 0.31	0.73 ± 0.07	0.23 ± 0.03	0.29 ± 0.05	0.02 ± 0.00	0.05 ± 0.01

^z Organ weight (%) = [organ weight (g) / final body weight (g)] \times 100.

^y Data are expressed as the mean \pm SD (n = 5).

討 論

近年以來，學者們曾針對台灣金線連全草萃取物質進行有系統的藥效分析與急毒性研究，所獲得的試驗結果大多證明可將之歸類為無毒或少毒性的藥草。例如，測試台灣金線連水煎液對白鼠急毒性反應的研究顯示，若以相當於最高劑量之 5 g/kg 強迫餵食白鼠 7 天及 14 天後，調查雌、雄鼠之平均體重雖較對照組稍低，但試驗結束後，處理組之白鼠均未產生臨床症狀或

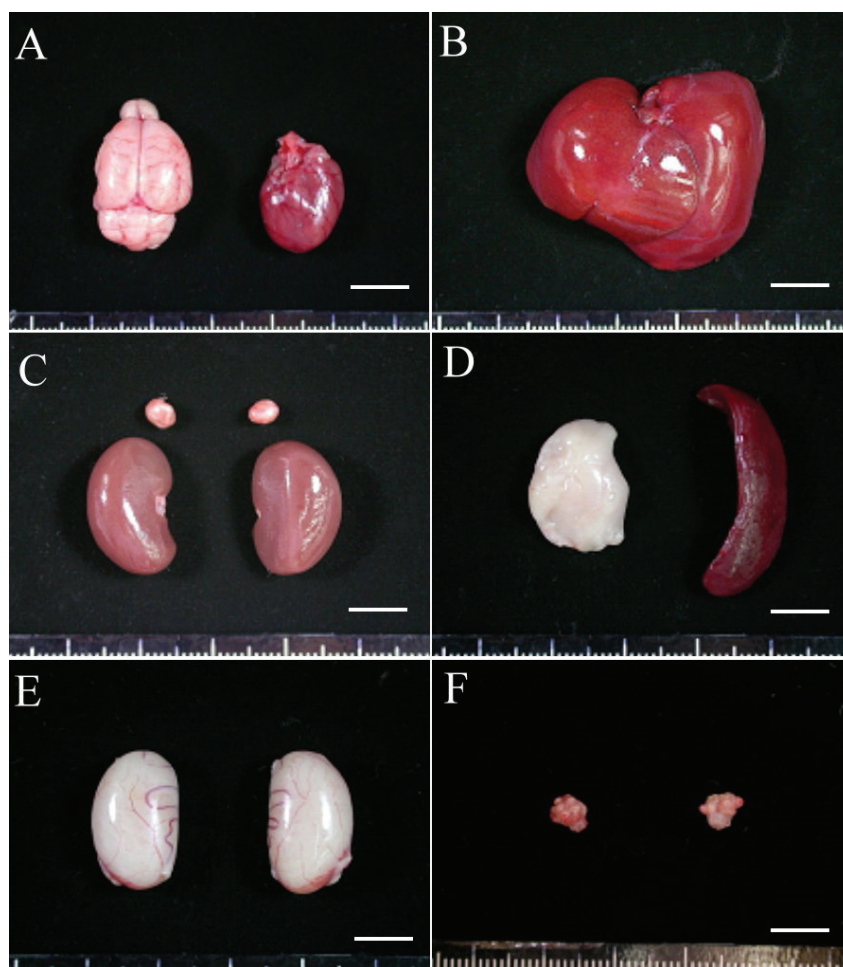


圖 1. 台灣金圓酒口服急毒性試驗處理組大鼠體內臟器之肉眼病理觀察圖片。

(A) 腦 (左) 及心臟 (右)，比例尺=1 cm；(B) 肝臟，比例尺=1.1 cm；(C) 腎上腺 (上) 及腎臟 (下)，比例尺=0.9 cm；(D) 胸腺 (左) 及脾臟 (右)，比例尺=0.9 cm；(E) 睪丸，比例尺=0.9 cm；(F) 卵巢，比例尺=0.9 cm。

Fig. 1. Gross findings of rats in the Taiwan Jin-Yuan wine acute oral toxicity test.

(A) brain (left) and heart (right), scale bar = 1 cm; (B) liver, scale bar = 1.1 cm; (C) adrenal gland (above) and kidney (below), scale bar = 0.9 cm; (D) thymus (left) and spleen (right), scale bar = 0.9 cm; (E) testis, scale bar = 0.9 cm; (F) ovary, scale bar = 0.9 cm.

死亡情形 (Liu *et al.* 1998); 另以台灣金線連水粗抽液連續 90 天經口投予大鼠飲用, 試驗顯示長期食用之安全劑量為 0.5 g/kg (約為鮮品 16.7 g/kg) (Lin *et al.* 2000a); 若由母鼠妊娠第 7 天起至產後第 28 天止, 每日投予台灣金線連水粗抽物劑量達 2.0 g/kg, 對其體重、攝食量及新生兒出生指數等無顯著影響, 也對於產後 4 天之新生兒生存指數、離乳指數、運動量和學習能力等無不良影響 (Lin *et al.* 2000b)。上述各項研究多是針對台灣金線連原料進行安全性評估, 本試驗則是以台灣金線連擬商品化之酒製品 (台灣金圓酒) 為材料, 進行對大鼠 (SD 品系) 之口服急毒性測試。供試樣品經口服投予大鼠並完成階段實驗後, 全部鼠隻也無中毒症狀或死亡的情形發生; 另外, 不論對照組與處理組之雄鼠或雌鼠, 在供試第 14 天時之平均體重和增重百分比相較並未發現明顯差異 (表 1); 在試驗結束後, 依序檢查雄鼠和雌鼠之血液值變化, 不論是白血球總數、紅血球總數、血紅素、血球容積比、平均紅血球體積、平均血紅素濃度以及白血球分類等也無明顯差異 (表 2); 若在白血球分類方面, 處理組雄鼠之單核球比例與對照組比較稍低 (表 3), 但淋巴球與單核球在正常大鼠比例分別為 70–90% 以及 0–10%, 因此, 在臨床上應無明顯病理意義。

在一項探討台灣金線連對於保護大白鼠活體肝臟的研究顯示, 台灣金線連之乙酸乙酯層能有效減輕對位乙炔胺基酚和 D-半乳糖氨誘發之大白鼠急性肝損傷, 除了可以降低血清中轉胺酵素濃度外, 並能降低肝細胞脂質過氧化產物數量, 換言之, 台灣金線連之乙酸乙酯層應具有最強之抗脂質過氧化、清除超氧自由基和保護肝臟細胞的效果 (Hung 2000)。研究口服台灣金圓酒之處理組雌鼠在血清肝腎酵素值方面變化之結果顯示, 天門冬氨酸轉氨酶含量較對照組雌鼠稍低, 但仍位於正常值 80.86–194.14 mg/dL 範圍內, 在臨床上應無明顯病理意義; 另氨基丙酸轉氨酶、肌氨酸及尿素氮值等項目均無與試驗物質有關之影響 (表 4)。比較體內臟器重量包括腦、心、肝、腎臟、脾臟、胸腺、腎上腺、睪丸及卵巢重量及百分比與對照組比較也無明顯差異 (表 5); 對照組與處理組之重要臟器也無因試驗物質引起之肉眼及組織病理變化 (圖 1)。

綜合上述各項試驗結果得知, 台灣金圓酒對於大鼠口服急毒性 LD₅₀ 值應大於 5 g/kg, 若以成人每人平均體重 70 kg 及每隻大鼠平均體重 200 g 為計算基礎, 再以動物體表面積比率換算成人之體表面積約為大鼠之 56 倍, 可換算出成人安全飲用量應設定於 56 g 為宜, 此項結果已初步完成食品安全性評估中之一項重要試驗, 未來將再進行另一項沙門菌回復突變之 Ames 試驗, 以使台灣金圓酒之食品安全性評估更為周全, 期望此一酒品未來在技術移轉合法酒莊商業量產之後, 可以提供國人另一種養生飲品並能增加國內稻農和果農們實質收益, 促進相關產業與農村經濟的發展。

引用文獻 (Literature cited)

- Du, X. M., N. Y. Sun, T. Tamura, A. Mohri, M. Sugiura, T. Yoshizawa, N. Irino, J. Hayashi, and Y. Shoyama. 2001. Higher yielding isolation of kinsenoside in *Anoectochilus* and its anti-hyperliposis effect. *Biol. Pharm. Bull.* 24:65–69.
- Du, X. M., T. Yoshizawa, and Y. Shoyama. 1998. Butanoic acid glucoside composition of whole body and *in vitro* plantlets of *Anoectochilus formosanus*. *Phytochemistry* 49:1925–1928.
- Huang, D. D., R. C. S. Law, and O. T. Mak. 1991. Effects of tissue-cultured *Anoectochilus formosanus* Hay. extracts on the arachidonate metabolism. *Bot. Bull. Aca. Sin.* 32:113–119.

- Hung, D. F. 2000. The mechanism study of hepatoprotective activity of *Boehmeria* species and *Anoectochilus* species. Master thesis, Kaohsiung Medical Univ., Kaohsiung. 95 pp. (in Chinese)
- Liang, W. L., R. C. Chen, Y. J. Chiang, C. H. Su, L. L. Yang, and K. Y. Yen. 1990. Study on *Anoectochilus* species I. Study on the physiological activities of Jin-Xian-Lian. *Formosan Sci.* 43:47–58.
- Lin, J. M., C. C. Lin, H. F. Chiu, and S. G. Lee. 1993. Evaluation of the anti-inflammatory and liver-protective effects of *Anoectochilus formosanus*, *Ganoderma lucidum* and *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *Am. J. Chin. Med.* 21:59–69.
- Lin, W. C., C. C. Shih, and Y. W. Wu. 2000a. Effects of crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* Hayata administered to pregnant and lactating rats on their offspring. *J. Chin. Med.* 11:79–86. (in Chinese with English abstract)
- Lin, W. C., C. C. Shih, Y. W. Wu, I. J. Chen, H. L. Chang, and C. T. Hsu. 2000b. Ninety-day oral toxicity study of crude aqueous extracts of *Anoectochilus formosanus* Hayata in rats. *J. Chin. Med.* 11:19–29. (in Chinese with English abstract)
- Liu, S. Y., T. W. Chang, J. Y. Wang, A. H. Chang, and S. C. Wang. 1998. Studies on the varietal characters and acute toxicity of *Anoectochilus* spp. *J. Agric. Res. China* 47:242–258. (in Chinese with English abstract)
- Liu, C. Z., Y. C. Wang, X. Z. Kang, Y. F. Ou, H. C. Ye, and G. F. Li. 1999. Artemisinin production by adventitious shoots of *Artemisia annua* in a novel mist bioreactor. *Acta Bot. Sin.* 41:524–527. (in Chinese)
- Mak, O. T., D. D. Huang, and R. C. S. Law. 1990. *Anoectochilus formosanus* Hay. contains substances that affect arachidonic acid metabolism. *Phytother. Res.* 4:45–48.
- Shackelford, C., G. Long, J. Wolf, C. Okerberg, and R. Herbert. 2002. Qualitative and quantitative analysis of nonneoplastic lesions in toxicology studies. *Toxicol. Pathol.* 30:93–96.
- Tzeng, S. H. 2005. Tissue culture of *Anoectochilus formosanus* Hayata and quantitative analysis of gastrodin. Master Thesis of National Chung-Hsing Univ., Taichung. 93 pp. (in Chinese with English abstract)
- Wang, S. Y., Y. H. Kuo, H. N. Chang, H. S. Tsay, K. F. Lin, N. S. Yang, and L. F. Shyur. 2002. Profiling and characterization of antioxidant activities in *Anoectochilus formosanus* Hayata. *J. Agric. Food Chem.* 50:1859–1865.
- Yu, Y. L., C. K. Cheng, B. J. Chen, M. J. Cheng, H. H. Cheng, W. J. Chang, H. H. C. Chen, C. C. Hong, P. J. Lee, S. C. Liang, K. S. Sheu, Y. Y. Sung, C. N. Weng, C. W. Tsai, C. S. Wang, M. H. Wang, L. S. Yen, C. K. Yu, and J. Y. L. Yu. 2005. A guidebook for the care and use of laboratory animals. The Chinese Society for the Laboratory Animal Science. 3rd Edition, Taiwan. 209 pp. (in Chinese)

Risk Assessment of the Bioproduct of *Anoectochilus formosanus* Hayata

I. Acute Toxicity of the Taiwan Jin-Yuan Wine in Rats¹

Yih-Juh Shiau², Jiunn-Wang Liao³, and Min-Tze Wu^{2,4}

Abstract

Shiau, Y. J., J. W. Liao, and M. Z. Wu. 2008. Risk assessment of the bioproduct of *Anoectochilus formosanus* Hayata I. Acute toxicity of the Taiwan Jin-Yuan wine in rats. *J. Taiwan Agric. Res.* 57:183–192.

Ethanol extracts of *Anoectochilus formosanus* Hayata (AF) have been known to protect liver injury, ease pain, diuretic, decrease hyperglycemia and hypertension. However, the safety of AF extracts along or in combination with other materials, such as Taiwan Jin-Yuan wine, is still needed to elucidate before marketing. The objective of this study was conducted to evaluate the acute oral toxicity of Taiwan Jin-Yuan wine in Sprague Dawley (SD) rats. Rats were single given with Taiwan Jin-Yuan wine at a limited dose of 5 g/kg body weight and consecutively observed for 14 days. Results revealed no poison symptom or death in the control and treated rats. The acute oral LD₅₀ of Taiwan Jin-Yuan wine inferred greater than 5 g/kg body weight in rats. No significant changes of body weight at intervals on day 0, 7 and 14 post-treatment. The hematological parameters of white and red blood cell counts, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, platelets and white blood differentiation were normal. Furthermore, serum biochemistry showed no alteration in liver and renal function of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, blood urea nitrogen and creatinine. The organ weights of brain, heart, liver, kidney, spleen, adrenal, testis and ovary had no significant changes between control and treatment groups. No gross and histopathological changes of rats after treated with Jin-Yuan wine was found in the acute oral toxicity test. This study concludes that there are no harmful effects on rats fed orally with AF-containing Taiwan Jin-Yuan wine at a daily dose of 5 g/kg body weight for 14 days.

Key words: Acute oral toxicity test, *Anoectochilus formosanus* Hayata, Medicinal herb, Rat, Risk assessment.

-
1. Contribution No.2326 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: August 8, 2008.
 2. Respectively, Assistant Researcher, Researcher and Director, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
 3. Associate professor, Graduate Institute of Veterinary Pathobiology, National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC.
 4. Corresponding author, e-mail: wu@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.