

樟芝菌株(CCRC 93032)發酵液對大鼠 28 天餵食的毒性作用

林文川¹ 郭淑卿² 吳岳文¹

中國醫藥學院¹藥理學科²中國藥學研究所

台中

(2001 年 8 月 6 日受理, 2001 年 9 月 12 日收校訂稿, 2001 年 10 月 2 日接受刊載)

本實驗主要探討樟芝菌株發酵濃縮液連續經口投予 28 天對雌、雄大鼠的毒性。樟芝菌株發酵濃縮液的劑量為每天投予 1、2 或 3 g/kg。血液學檢查：雄鼠 3 g/kg 組出現平均紅血球容積和平均紅血球血色素量降低的情形。血清生化學檢查：雄鼠 3 g/kg 組血中總蛋白質、葡萄糖、磷濃度及乳酸去氫 活性增加，雄鼠 2、3 g/kg 組和雌鼠 3 g/kg 組的血中鉀離子濃度明顯下降。尿液分析：雄和雌鼠 2、3 g/kg 組的尿中排出的鈉和氯離子量增加，雄和雌鼠 3 g/kg 組出現尿蛋白的隻數增加。雄鼠 3 g/kg 組肝臟及腎臟的相對重量增加，但並無實質上的病理組織變化。大鼠連續投予樟芝菌株發酵濃縮液，安全劑量在 2 g/kg 以下。

關鍵詞：樟芝菌株發酵液，急性毒性，28 日毒性。

前 言

樟芝又名牛樟菇 (*Antrodia camphorata*; Polyporaceae) 僅生長在台灣特有的牛樟樹上，是台灣目前市場上最昂貴的民間藥，宣稱有安神、保肝、抗癌、解酒、治療急性腹痛等功效¹。已有一些樟芝成分的研究²⁻⁵，但功效及毒性的相關文獻少見。

以樟芝菌株發酵已可量產，市場上也有相關的產品在販售。樟芝菌株有多種品系，其中 CCRC 93032 菌株是食品工業發展研究所取得專利的菌株。此菌株發酵液的功效及安全性仍未明。本研究探討 CCRC 93032 菌株發酵液的急性毒性及對大鼠 28 天餵食毒性作用，以瞭解高劑量長期投予的毒性作用，供該產品進一步開發的參考。

材料與方法

一、樟芝菌株發酵濃縮液製備

食品工業發展研究所使用 250 公升發酵槽進行菌株 *Antrodia camphorata* CCRC 93032 之發酵培養，並回收發酵液 160 公升。發酵液交給本研究室前經高溫滅菌以防菌種外流。發酵液經減壓低溫（50 °C 以下）濃縮 20 倍，每毫升濃縮液完全烘乾後所得固體重約為 450 毫克，即發酵濃縮液濃度約為 450 mg/ml，儲存於 -30 °C 備用。臨用時以水配成適當濃度使用。

二、動物

急性毒性試驗使用 SD 大鼠，雌、雄體重分別約為 168 公克及 165 公克。28 日餵食毒性試驗使用 SD 大鼠，雌鼠及雄鼠體重分別約為 185 公克及 182 公克。大鼠購自國科會動物中心。飼養室溫度控制在 23°C，明、暗各十二小時的環境。使用福壽牌大鼠飼料，飲水經過逆滲透處理。

三、急性毒性試驗

雌、雄分開，每組大鼠 6 隻，實驗前絕食一晚，但不絕水。經口投予一次樟芝菌株發酵濃縮液 (450mg/ml)，觀察中毒症狀及記錄十四天內體重變化和死亡情形。一半致死劑量 (LD50) 和 95 % 可信賴限依照 Li tchfield 及 Wilcoxon 二氏的方法計算⁶。

四、28 日餵食毒性試驗

雌、雄大鼠各分成四組，每組各十隻，分別經口投予樟芝菌株發酵濃縮液 1、2、3 g/kg 及飲水，投與體積為 1 ml/100 g，28 天後將動物犧牲。

投藥期間每天觀察動物兩次，每週稱體重一次，於投藥終了前以代謝籠收集 16 小時尿液作尿液分析。投藥終了，經一晚絕食後，在乙醚麻醉下，由腹腔動脈採血，供血液學及血清生化學檢查。取出主要臟器如腦、腦下垂體、胸腺、心臟、肝臟、肺臟、脾臟、腎臟、腎上腺、精囊、睪丸、前列腺、子宮、卵巢等，以冰冷生理食鹽水洗淨，吸乾水分稱重。主要臟器浸於 10% 中性福馬林溶液，以供病理切片檢查用。

五、血液學檢查

使用全自動血液分析儀 (Sysmex F-800, Japan)，檢測項目含紅血球計數、血紅素、血球容積、平均紅血球容積 (MCV)，平均紅血球血紅素濃度 (MCHC)，平均紅血球血紅素量 (MCH)，血小板計數、白血球計數及分類、凝血時間 (PT)、活化部分凝血活時間 (APTT)。

六、血清生化學檢查

使用生化自動分析儀 (Ciba-corning 550, USA) 測定，檢測項目包含麩氨酸草乙酸轉氨 (GOT)、麩氨酸丙氨基轉氨 (GPT)、乳酸去氫 (LDH)、 γ -麩氨醯轉移 (γ -GT)、總膽固醇 (T-Cholesterol)、三酸

甘油脂、總蛋白、白蛋白、球蛋白、總膽紅素 (T-Bilirubin)、葡萄糖、血中尿素氮 (BUN)、肌酸酐、尿酸、鈉、鉀、氯、鈣、磷。

七、尿液分析

使用尿液檢驗試紙 (Ames reagent strips for urinalysis; N-multistix SG-L; Japan)，測定酸鹼度、比重、蛋白質、尿膽素原、潛血、酮體、膽紅素、尿糖。另使用鈉 / 鉀 / 氯離子測定儀 (Shimadzu clinical ion meter CIN-104A; Japan) 測定尿中鈉、鉀、氯離子含量。

八、病理組織學檢查

主要臟器如心臟、肝臟、脾臟、腎臟、腎上腺、精囊、睪丸、前列腺、子宮、卵巢摘出後浸於 10 % 中性福馬林溶液。高劑量組及對照組的臟器固定後進行石臘包埋及切片製作，以蘇木青與伊紅染色法 (Hematoxylin and eosin stain) 染色，供病理檢查。發現有病理變化的該組織，中劑量組及低劑量組的組織全部進行病理切片檢查。

九、統計方法

本實驗所得之數據，均以單尾變異數分析 (one-way analysis of variance)，並進行 Dunnet 測試，以 P 值小於 0.05 認為有顯著差異。

結果與討論

一、急性毒性

急性毒性的實驗主要在求出一次投予高劑量的藥物造成實驗動物一半死亡的劑量，大鼠空腹最大量每 100 毫克重量約可投於予 3.5 毫升，藥物濃度 450 mg/ml，因此急性毒性試驗的劑量以 15 g/kg 為基準，若實驗大鼠完全沒有死亡，則不再進行。

雄鼠 6 隻，經口一次投予樟芝菌株發酵濃縮液 15 g/kg，觀察 14 天，沒有死亡情形。即雄鼠的一半致死劑量 (LD₅₀) 大於 15 g/kg。樟芝菌株發酵濃縮液投予當天明顯出現下痢情形。投予後第 1 及第 2 天，大鼠體重較控制組輕，第 3 天以後至第 14 天大鼠體重與控制組比較沒有差異。

雌鼠每組 6 隻，分別投予樟芝菌株發酵濃縮液 13、15 或 17 g/kg，觀察 14 天，投予當天死亡隻數分別為 1、2 或 5 隻，以後沒有死亡，由此得雌鼠的一半致死劑量及 95 % 可信賴限為 15.7 g/kg (14.3 ~ 17.1 g/kg)。樟芝菌株發酵濃縮液投予當天也明顯出現下痢情形。投予後 (13、15 g/kg) 大鼠體重與控制組比較，14 天內皆沒有明顯差異。

二、28 日連續餵食毒性作用

連續餵食毒性作用的實驗，使用最高劑量以一半致死劑量的 1/5 為原則，因此選用最高劑量為 3 g/kg，

而後遞減為 2 g/kg 和 1 g/kg。

Table 1. Body weight changes in rats orally treated with the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) for 28 days.

Weeks	Body weight (g)			
	Control	FEMAC (g/kg/day)		
		1	2	3
Males				
Before	183.6 ± 2.5	181.1 ± 1.9	181.2 ± 2.7	183.0 ± 2.0
1	239.1 ± 4.1	237.8 ± 3.3	241.2 ± 3.5	243.5 ± 3.3
2	290.6 ± 7.5	292.7 ± 4.6	298.1 ± 3.8	295.2 ± 5.1
3	330.6 ± 8.1	333.7 ± 6.2	338.0 ± 4.4	331.8 ± 7.0
4	358.6 ± 9.3	345.3 ± 7.1	356.6 ± 5.0	351.2 ± 9.0
Females				
Before	185.4 ± 3.9	184.7 ± 3.9	185.1 ± 3.4	182.3 ± 4.1
1	230.0 ± 2.7	231.5 ± 4.6	223.6 ± 3.0	226.3 ± 2.4
2	245.2 ± 3.9	248.4 ± 5.3	243.7 ± 3.5	239.9 ± 2.6
3	262.4 ± 4.2	266.1 ± 7.1	260.4 ± 3.6	255.8 ± 3.1
4	272.8 ± 4.2	277.6 ± 7.5	273.6 ± 3.7	265.8 ± 1.9

All values are means ± S.E. (n = 10).

(一) 體重

每組大鼠 10 隻，連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液 1、2 和 3g/kg，雌、雄大鼠皆無死亡情形。與控制組比較，體重也沒有明顯變化（表 1）。

(二) 血液學檢查

如表 2 所示，連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液，雄鼠 2 g/kg 組的白血球數目較控制組低，淋巴球比率沒有變化，若以血球數計，淋巴球數目低於控制組。控制組和 2 g/kg 組淋巴球數目分別為 9.1 ± 0.6 、 $6.3 \pm 0.4^{**}$ ($10^3/\mu\text{l}$; $**P < 0.01$)，對白血球和淋巴球數目的減少作用，不具用量依存性關係。3 g/kg 組的平均紅血球容積 (MCV)、平均紅血球血紅素量 (MCH) 輕微低於控制組。餘則無影響。

雌鼠 2 g/kg 組的紅血球數目輕微的低於控制組，但不具用量依存性關係。餘則無影響。

(三) 血清生化學檢查

如表 3 所示，連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液，雄鼠 3 g/kg 組的乳酸去氫 (LDH) 活性、及總蛋白質、葡萄糖、磷的含量較控制組高。乳酸去氫 存在於幾種組織包括心臟、腎臟、肝臟、紅血球、骨骼肌等⁷。樟芝菌株發酵濃縮液高劑量使雄鼠的腎臟、肝臟相對重量增加 (詳表 5)，乳酸去氫 活性上升是否與此有關有待進一步的實驗證實。然而在雌鼠 3 g/kg 組乳酸去氫 活性有意義下降，雌、雄鼠結果相反，原因不明。樟芝菌株發酵濃縮液減輕雌鼠心臟等臟器的傷害是否與性別有關，值得探討。

雄鼠 2、3 g/kg 組及雌鼠 3 g/kg 組的血中鉀離子濃度較控制組低，低血鉀症通常由腸道或腎臟疾病造成⁸，長期使用利尿劑也會有鉀離子缺乏的情形⁸。樟芝菌株發酵濃縮液高劑量雖使腎臟相對重量增加 (詳表 5)，但腎功能的生化檢驗正常，尿中鉀離子濃度也沒有明顯上升 (詳表 4)。在另外的排尿實驗，發現樟芝菌株發

酵濃縮液不但沒有利尿作用，反而有使尿量減少的作用（實驗結果尚未發表）。在急性毒性實驗，

Table 2. Hematological findings in rats treated orally with the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) for 28 days.

Parameters		Control	FEMAC (g/kg/day)		
			1	2	3
Erythrocytes ($10^6/\mu\text{L}$)	M	6.5 ± 0.1	6.7 ± 0.2	6.5 ± 0.1	6.7 ± 0.1
	F	6.8 ± 0.1	6.7 ± 0.1	6.6 ± 0.1*	6.8 ± 0.1
Hemoglobin (g/dL)	M	13.1 ± 0.2	13.5 ± 0.3	12.9 ± 0.1	13.3 ± 0.1
	F	14.2 ± 0.1	14.1 ± 0.2	13.9 ± 0.1	14.3 ± 0.1
Hematocrit (%)	M	38.5 ± 0.6	39.3 ± 1.0	38.0 ± 0.4	39.0 ± 0.5
	F	35.3 ± 0.3	35.3 ± 0.4	34.6 ± 0.3	35.4 ± 0.3
MCV (μ^3)	M	59.7 ± 0.4	58.5 ± 0.5	58.4 ± 0.5	58.1 ± 0.3*
	F	57.5 ± 0.3	58.1 ± 0.5	55.6 ± 3.0	57.8 ± 0.3
MCH (pg)	M	20.4 ± 0.1	20.1 ± 0.2	19.9 ± 0.3	19.8 ± 0.2*
	F	23.2 ± 0.2	23.2 ± 0.2	23.5 ± 0.2	23.2 ± 0.2
MCHC (g/dL)	M	34.1 ± 0.1	34.3 ± 0.1	34.0 ± 0.2	34.0 ± 0.2
	F	36.3 ± 0.2	36.0 ± 0.1	36.1 ± 0.1	36.3 ± 0.2
Platelets ($10^4/\mu\text{L}$)	M	880.4 ± 41.1	833.6 ± 48.4	826.6 ± 17.2	900.8 ± 18.5
	F	1030.3 ± 23.8	1042.8 ± 23.7	1000.1 ± 35.8	1031.4 ± 28.7
Leukocytes ($10^3/\mu\text{L}$)	M	12.1 ± 0.6	9.7 ± 0.8	8.9 ± 0.6*	11.5 ± 0.8
	F	15.2 ± 0.7	13.6 ± 0.6	13.7 ± 0.6	13.9 ± 0.6
Lymphocytes (%)	M	74.7 ± 2.1	74.3 ± 1.4	71.8 ± 3.2	72.4 ± 2.0
	F	76.2 ± 0.8	74.2 ± 0.7	75.5 ± 1.0	73.7 ± 1.3
Seg. Neu (%)	M	25.3 ± 2.1	25.7 ± 1.4	28.2 ± 3.2	27.6 ± 2.0
	F	23.8 ± 0.8	25.8 ± 0.6	24.5 ± 1.1	26.3 ± 1.3
PT (sec)	M	17.3 ± 0.3	17.8 ± 0.2	17.0 ± 0.7	18.0 ± 0.2
	F	15.8 ± 0.1	16.0 ± 0.1	16.5 ± 0.5	16.0 ± 0.1
APTT (sec)	M	43.6 ± 2.0	44.6 ± 1.7	39.3 ± 1.5	44.9 ± 1.6
	F	39.2 ± 1.3	37.9 ± 1.3	40.8 ± 1.0	39.4 ± 1.5

All values are means ± S.E. (n = 10) *P<0.05 compared with control group.

M: male; F: female; Seg. Neu: segmented neutrophil

樟芝發酵濃縮液明顯的引起下痢作用。由這些資料，可推測樟芝菌株發酵濃縮液的低血鉀作用是其對腸道作用所引起的。

(四)尿液分析

如表 4 所示，連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液，雄鼠 3g/kg 組出現蛋白尿隻數增加的情形。雄鼠與雌鼠 2、3 g/kg 組，尿中鈉、氯離子排出量明顯增加。樟芝發酵濃縮液本身含高量的鈉、鉀、氯離子（300 mg/ml 含 Na 591 mMol/L、K 402 mMol/L、Cl 147 mMol/L），因此使尿液中鈉、氯離子明顯增加，但鉀離子並沒有增加，可能是如上述，鉀離子主要經由腸道排出。

(五)臟器重量

如表 5 所示，連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液，雄鼠 3 g/kg 組的肝臟、和左、右腎臟的相對重
Table 3. Blood chemistry in rats treated orally with the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) for 28 days.

Parameters	Control	FEMAC (g/kg/day)			
		1	2	3	
GOT (U/L)	M	72.1 ± 3.3	67.2 ± 1.9	71.2 ± 3.5	75.7 ± .03
	F	89.9 ± 2.7	98.9 ± 1.8	89.4 ± 3.9	74.7 ± 2.5
GPT (U/L)	M	30.8 ± 1.3	26.7 ± 1.3	28.1 ± 1.4	26.3 ± 1.4
	F	26.1 ± 1.2	32.8 ± 7.6	21.9 ± 0.8	21.1 ± 0.7
LDH (U/L)	M	1415 ± 243	1686 ± 146	1847 ± 205	2724 ± 284**
	F	1430 ± 99	1289 ± 264	1426 ± 238	843 ± 94.3*
γ-GT (IU/L)	M	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0
	F	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1
ALP (IU/L)	M	153.5 ± 10.4	146.1 ± 8.3	154.6 ± 11.5	132.7 ± 8.0
	F	80.7 ± 5.1	87.8 ± 5.7	88.2 ± 7.0	80.3 ± 5.2
T-Cholesterol (mg/dL)	M	61.5 ± 3.1	60.0 ± 4.7	62.6 ± 2.0	61.7 ± 3.7
	F	44.9 ± 2.6	49.2 ± 2.7	38.4 ± 1.9	41.3 ± 6.6
Triglycerides (mg/dL)	M	69.3 ± 9.0	64.2 ± 7.2	57.2 ± 11.2	64.0 ± 4.3
	F	54.1 ± 4.9	58.2 ± 4.9	47.6 ± 4.9	41.3 ± 6.6
Total protein (g/dL)	M	6.14 ± 0.08	6.26 ± 0.09	6.18 ± 0.10	6.50 ± 0.10*
	F	6.37 ± 0.08	6.39 ± 0.11	6.21 ± 0.06	6.24 ± 0.10
Albumin (g/dL)	M	3.17 ± 0.04	3.18 ± 0.05	3.25 ± 0.05	3.31 ± 0.05
	F	3.12 ± 0.05	2.97 ± 0.07	2.97 ± 0.04	3.04 ± 0.06
Globulin (g/dL)	M	2.96 ± 0.08	3.08 ± 0.11	2.93 ± 0.10	3.19 ± 0.11
	F	3.24 ± 0.07	3.42 ± 0.13	3.24 ± 0.05	3.20 ± 0.04
T-Bilirubin (mg/dL)	M	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.17 ± 0.02
	F	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.02
Glucose (mg/dL)	M	76.6 ± 4.0	73.7 ± 3.3	77.4 ± 4	93.1 ± 2.8**
	F	100.7 ± 1.3	99.6 ± 2.3	97.4 ± 2.1	99.2 ± 2.4
BUN (mg/dL)	M	18.3 ± 1.1	19.2 ± 1.0	18.6 ± 0.7	17.0 ± 0.8
	F	24.4 ± 1.0	23.4 ± 1.2	22.4 ± 1.2	22.8 ± 0.9
Creatineine (mg/dL)	M	0.44 ± 0.01	0.47 ± 0.02	0.46 ± 0.01	0.42 ± 0.01
	F	0.53 ± 0.02	0.46 ± 0.02	0.49 ± 0.01	0.53 ± 0.02
Sodium (mEq/dL)	M	139.8 ± 0.5	141.2 ± 0.6	139.0 ± 0.4	140.8 ± 1.0
	F	136.9 ± 0.3	136.0 ± 0.4	135.6 ± 0.3	136.0 ± 0.6
Potassium (mEq/dL)	M	8.3 ± 0.1	8.0 ± 0.1	7.6 ± 0.2***	6.7 ± 0.1***
	F	6.3 ± 0.1	6.4 ± 0.2	6.0 ± 0.1	5.6 ± 0.2*
Chloride (mEq/dL)	M	106.3 ± 0.5	106.4 ± 0.4	105.1 ± 0.4	105.0 ± 0.6
	F	104.6 ± 0.2	104.1 ± 0.5	103.7 ± 0.6	107.7 ± 1.8
Calcium (mg/dL)	M	9.7 ± 0.1	9.6 ± 0.0	9.6 ± 0.1	9.6 ± 0.0
	F	9.9 ± 0.1	9.9 ± 0.0	9.5 ± 0.1	9.9 ± 0.2
Magnesium (mg/dL)	M	1.90 ± 0.06	1.87 ± 0.05	1.95 ± 0.03	2.08 ± 0.07
	F	2.11 ± 0.02	1.99 ± 0.03	1.98 ± 0.03	2.05 ± 0.05

Phosphorus (mg/dL)	M	6.9 ± 0.21	7.2 ± 0.1	7.1 ± 0.2	7.7 ± 0.1*
	F	6.6 ± 0.1	6.6 ± 0.2	6.7 ± 0.2	6.7 ± 0.4

All values are means ± S.E. (n = 10). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group.

M: male; F: female.

Table 4. Urinary finding in rats treated orally with the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) for 28 days.

Dose (g/kg/day)	Volume (ml/24 hr)	Na ⁺ (mMol/24hr)	K ⁺ (mMol/24hr)	Cl ⁻ (mMol/24hr)	pH	Specific gravity
Male rats						
Control	31.4 ± 2.7	3.7 ± 0.1	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.1	7.5 ± 0.2	1.010 ± 0.001
1	27.2 ± 2.5	4.0 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.6 ± 0.1	7.6 ± 0.2	1.009 ± 0.001
2	25.1 ± 2.3	4.6 ± 0.3*	4.0 ± 0.2	4.4 ± 0.2**	7.4 ± 0.2	1.011 ± 0.001
3	27.4 ± 1.9	4.5 ± 0.3*	3.5 ± 0.3	4.2 ± 0.2**	7.5 ± 0.2	1.010 ± 0.001
Female rats						
Control	23.5 ± 1.4	2.5 ± 0.2	2.6 ± 0.29	2.5 ± 0.3	7.4 ± 0.2	1.013 ± 0.001
1	20.7 ± 1.8	3.0 ± 0.1	3.3 ± 0.15	3.2 ± 0.1*	7.2 ± 0.1	1.015 ± 0.001
2	18.6 ± 1.9	3.4 ± 0.2*	3.0 ± 0.14	3.2 ± 0.2*	7.1 ± 0.2	1.014 ± 0.002
3	22.5 ± 2.2	3.4 ± 0.2*	2.8 ± 0.13	3.2 ± 0.2*	7.2 ± 0.2	1.018 ± 0.001

All values are means ± S.E. (n = 10). *P<0.05, **P<0.01 compared with control group.

Table 4 (continued)

Dose (g/kg/day)	Urobilinogen (Ehrlich U / dL)					Protein (mg / dL)					Occult blood				
	0	+	++	+++	-	±	+	++	+++	++++	-	±	+	++	+++
	0.1	1	2	4			30	100	300	1000					
Male rats															
Control	10	0	0	0	9	1	0	0	0	0	9	0	1	0	0
1	10	0	0	0	9	1	0	0	0	0	10	0	0	0	0
2	10	0	0	0	7	3	0	0	0	0	10	0	0	0	0
3	10	0	0	0	6	4	0	0	0	0	10	0	0	0	0
Female rats															
Control	10	0	0	0	9	1	0	0	0	0	9	1	0	0	0
1	10	0	0	0	8	2	0	0	0	0	10	0	0	0	0
2	10	0	0	0	9	1	0	0	0	0	10	0	0	0	0
3	9	1	0	0	5	5	0	0	0	0	10	0	0	0	0

Table 4 (continued)

Dose (g/kg)	Ketones (mg / dL)						Bilirubin				Glucose (g /dL)					
	-	±	+	++	+++	++++	-	+	++	+++	-	±	+	++	+++	++++
	5	15	40	80	160						0.1	0.25	0.5	1	2	
Male rats																
Control	9	1		0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0

1	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
2	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
3	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
Female rats																
Control	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
1	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
2	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0
3	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0

Table 5. Absolute and relative organ weights in rats treated orally with the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) for 28 days.

Item	Control	FEM AC (g/kg/day)			
		1	2	3	
Brain (g) (g/100 g b.w.)	M	1.97 ± 0.03 (0.55 ± 0.01)	1.89 ± 0.02 (0.54 ± 0.02)	1.94 ± 0.02 (0.55 ± 0.03)	1.92 ± 0.02 (0.55 ± 0.04)
	F	1.84 ± 0.03 (0.67 ± 0.01)	1.84 ± 0.02 (0.67 ± 0.02)	1.84 ± 0.01 (0.67 ± 0.01)	1.86 ± 0.02 (0.70 ± 0.01)
Pituitary (mg) (mg/100 g b.w.)	M	10.35 ± 0.56 (2.89 ± 0.14)	9.95 ± 0.37 (2.89 ± 0.09)	11.25 ± 0.40 (3.16 ± 0.11)	9.27 ± 0.30 (2.64 ± 0.10)
	F	14.41 ± 0.36 (5.28 ± 0.10)	14.71 ± 0.51 (5.31 ± 0.16)	15.29 ± 0.49 (5.59 ± 0.15)	15.05 ± 0.47 (5.66 ± 0.17)
Thymus (g) (g/100 g b.w.)	M	0.50 ± 0.04 (0.14 ± 0.01)	0.51 ± 0.02 (0.15 ± 0.01)	0.49 ± 0.03 (0.13 ± 0.01)	0.45 ± 0.03 (0.13 ± 0.01)
	F	0.45 ± 0.03 (0.17 ± 0.01)	0.52 ± 0.04 (0.19 ± 0.01)	0.46 ± 0.02 (0.17 ± 0.01)	0.43 ± 0.05 (0.16 ± 0.02)
Heart (g) (g/100 g b.w.)	M	1.14 ± 0.03 (0.32 ± 0.01)	1.13 ± 0.03 (0.32 ± 0.01)	1.15 ± 0.03 (0.33 ± 0.01)	1.18 ± 0.04 (0.34 ± 0.01)
	F	0.87 ± 0.02 (0.32 ± 0.01)	0.90 ± 0.03 (0.32 ± 0.01)	0.95 ± 0.02* (0.35 ± 0.01**)	0.85 ± 0.01 (0.32 ± 0.01)
Lung (g) (g/100 g b.w.)	M	1.69 ± 0.13 (0.47 ± 0.03)	1.74 ± 0.14 (0.50 ± 0.04)	1.48 ± 0.07 (0.42 ± 0.02)	1.65 ± 0.12 (0.47 ± 0.04)
	F	1.56 ± 0.06 (0.58 ± 0.02)	1.70 ± 0.17 (0.62 ± 0.07)	1.42 ± 0.06 (0.52 ± 0.02)	1.49 ± 0.08 (0.56 ± 0.03)
Liver (g) (g/100 g b.w.)	M	9.49 ± 0.33 (2.67 ± 0.05)	8.97 ± 0.29 (2.60 ± 0.05)	9.17 ± 0.29 (2.57 ± 0.05)	10.07 ± 0.29 (2.86 ± 0.04*)
	F	7.91 ± 0.19 (2.90 ± 0.07)	8.03 ± 0.24 (2.89 ± 0.05)	7.78 ± 0.18 (2.84 ± 0.06)	7.38 ± 0.18 (2.78 ± 0.06)
Spleen (g) (g/100 g b.w.)	M	0.98 ± 0.01 (0.26 ± 0.01)	0.91 ± 0.08 (0.26 ± 0.02)	0.78 ± 0.04* (0.22 ± 0.02)	0.87 ± 0.05 (0.25 ± 0.01)
	F	0.59 ± 0.01 (0.21 ± 0.01)	0.63 ± 0.03 (0.23 ± 0.01)	0.62 ± 0.02 (0.23 ± 0.01)	0.59 ± 0.01 (0.22 ± 0.00)
Kidney (L; g) (g/100 g b.w.)	M	1.20 ± 0.01 (0.33 ± 0.01)	1.18 ± 0.04 (0.34 ± 0.01)	1.16 ± 0.03 (0.33 ± 0.01)	1.27 ± 0.02 (0.36 ± 0.01*)
	F	0.88 ± 0.01 (0.32 ± 0.01)	0.92 ± 0.04 (0.33 ± 0.01)	0.89 ± 0.09 (0.32 ± 0.03)	0.90 ± 0.01 (0.34 ± 0.00)

Kidney (R; g) (g/100 g b.w.)	M	1.21 ± 0.04 (0.34 ± 0.01)	1.16 ± 0.05 (0.33 ± 0.01)	1.21 ± 0.02 (0.34 ± 0.01)	1.30 ± 0.03 (0.37 ± 0.01*)
	F	0.92 ± 0.02 (0.33 ± 0.01)	0.98 ± 0.04 (0.35 ± 0.01)	1.01 ± 0.02 (0.37 ± 0.01*)	0.94 ± 0.02 (0.35 ± 0.00)
Adrenal (L; mg) (mg/100 g b.w.)	M	27.2 ± 1.0 (7.62 ± 0.30)	25.0 ± 1.4 (7.26 ± 0.39)	26.2 ± 0.9 (7.32 ± 0.24)	29.0 ± 1.6 (8.31 ± 0.44)
	F	37.3 ± 1.2 (13.7 ± 0.41)	37.9 ± 1.2 (13.7 ± 0.52)	40.7 ± 0.9 (14.9 ± 0.30)	37.2 ± 1.3 (14.0 ± 0.52)
Adrenal (R; mg) (mg/100 g b.w.)	M	24.6 ± 0.6 (6.87 ± 0.22)	23.2 ± 1.2 (6.72 ± 0.32)	25.0 ± 1.0 (7.00 ± 0.26)	26.5 ± 1.3 (7.56 ± 0.39)
	F	32.4 ± 0.9 (11.90 ± 0.31)	33.5 ± 1.3 (12.10 ± 0.43)	36.2 ± 1.6 (13.25 ± 0.55)	31.3 ± 1.1 (11.76 ± 0.39)
Testis (L; g) (g/100 g b.w.)	M	1.81 ± 0.04 (0.51 ± 0.01)	1.85 ± 0.04 (0.54 ± 0.02)	1.82 ± 0.02 (0.51 ± 0.01)	1.82 ± 0.03 (0.52 ± 0.02)
	(R; g) (g/100 g b.w.)	M	1.75 ± 0.04 (0.50 ± 0.01)	1.87 ± 0.05 (0.54 ± 0.02)	1.82 ± 0.02 (0.51 ± 0.01)
Prostate (g) (g/100 g b.w.)	M	0.65 ± 0.02 (0.18 ± 0.01)	0.63 ± 0.04 (0.18 ± 0.01)	0.68 ± 0.04 (0.19 ± 0.01)	0.68 ± 0.03 (0.19 ± 0.01)
Seminal vesicle (g/100 g b.w.)	M	0.73 ± 0.03 (0.20 ± 0.01)	0.71 ± 0.03 (0.21 ± 0.01)	0.67 ± 0.03 (0.19 ± 0.01)	0.81 ± 0.02 (0.23 ± 0.01)
Uterus (g) (g/100 g b.w.)	F	0.49 ± 0.03 (0.18 ± 0.01)	0.50 ± 0.03 (0.18 ± 0.01)	0.62 ± 0.05 (0.23 ± 0.02)	0.54 ± 0.05 (0.20 ± 0.08)
Ovary (L; mg) (g/100 mg b.w.)	F	70.4 ± 3.6 (2.58 ± 0.12)	74.0 ± 2.1 (2.67 ± 0.07)	76.0 ± 3.8 (2.78 ± 0.14)	76.0 ± 2.1 (2.86 ± 0.08)
		(R; mg) (g/100 mg b.w.)	75.7 ± 2.9 (2.78 ± 0.11)	71.2 ± 2.0 (2.58 ± 0.07)	76.0 ± 3.7 (2.78 ± 0.14)

All values are means ± S.E. (n = 10). *P<0.05, **P<0.01 compared with control group. (): relative weight; b.w.: body weight; M: male; F: female; L: left; R: right

量較控制組高，但絕對重量沒有差異，對其餘臟器重量則沒有影響。

雌鼠 2 g/kg 組的心臟絕對和相對重量、右腎的相對重量較控制組高，但不具用量依存性。對其餘臟器重量則沒有影響。

(六)病理檢驗

連續 28 天經口投予樟芝菌株發酵濃縮液，3 g/kg 組進行病理切片檢查，雌鼠的心臟、肝臟、腎臟、脾臟、腎上腺、子宮、卵巢、等皆無變化。雄鼠的心臟、肝臟、腎臟、脾臟、腎上腺、精囊、睪丸等皆無變化，但有兩隻出現輕微的間質性腎炎。1 g/kg 及 2 g/kg 組的雄鼠沒有發現間質性腎炎的情形。

結 論

樟芝 (CCRC 93032) 發酵液的一半致死劑量，雄鼠大於 15 g/kg。雌鼠為 15.7 g/kg (14.3 – 17.1 g/kg)，大鼠連續投予樟芝發酵濃縮液，雌、雄大鼠皆明顯出現血鉀下降的情形，血鉀是否經由腸道排出，尚待進一

步證實。樟芝菌株發酵濃縮液 3 g/kg 組，雄鼠出現平均紅血球容積和平均紅血球血紅素量減少的情形，血中總蛋白、葡萄糖、磷含量增加，乳酸去氫 活性增加。樟芝發酵濃縮液安全劑量在 2 g/kg 以下。

誌 謝

本研究蒙衛生署補助經費 (DOH90-TD-1027)，食品工業發展研究所提供專利菌株樟芝發酵液，特此誌謝。

參考資料

1. 王伯徹，具開發潛力食藥用菇介紹，食品工業 32: 1-17，2000。
2. Cherng IH, Chiang HC. Three new triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. J Nat Prod 58: 365-371, 1995.
3. Cherng IW, Wu DP, Chiang HC. Triterpenoids from *Antrodia cinnamomea*. Phytochem 41: 263-267, 1996.
4. Chiang HC, Wu DP, Cherng IW, Heng CH. A sesquiterpene lactone, phenyl and biphenyl compounds from *Antrodia cinnamomea*. Phytochem 39: 613-616, 1995.
5. Wu DP, Chiang HC. Constituents of *Antrodia cinnamomea*. J Chin Chem Soc 42: 797-800, 1995.
6. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther 96:99-113, 1949.
7. Rodwell VW. Enzymes: General properties. In: Harper's Biochemistry. Murray RK, Granner DK, Mayers PA. Rodwell VW. (eds) Appleton & Lange, Connecticut, pp.1105-1138, 1988.
8. Schultz NJ, Chitwood-Danger KK. Body electrolyte homostasis. In: Pharmacotherapy: A pathphysiologic approach Dipiro, JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM.(eds). Appleton & Lange, Connecticut, pp.1105-1138, 1988.

J Chin Med 12(4): 293-303, 2001

EFFECTS OF 28-DAYS' REPEATED ORAL ADMINISTRATION OF THE FERMENTED EXTRACT OF MYCELIA OF *ANTRODIA COMPHORATA* (CCRC 93032) ON RATS

Wen-Chuan Lin¹, Shy-Ching Kuo² and Yueh-Wern Wu¹

¹*Department of Pharmacology,*

²*Chinese Pharmaceutical Science, China Medical College,
Taichung, Taiwan*

(Received 6th August 2001, revised Ms received 12th September 2001, accepted 2th October 2001)

Toxicity study was carried out by administering orally daily doses of 1, 2 and 3 g/kg of the fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) to groups of male and female rats for 28 days. Hematological analyses indicated that male rats given 3 g/kg showed significant decreases in mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH). Serum biochemical profiles indicated increased levels of total protein, glucose, phosphorus and activities of lactate dehydrogenase (LDH) were observed in male rats of the 3 g/kg group while decreased serum potassium was observed in male rats given 2 or 3 g/kg as well as female rats given 3 g/kg. Urinalyses showed increased levels in both sodium and chloride ions in both male and female rats of the 2 and 3 g/kg groups, increased incidence of proteinuria in the 3 g/kg groups of both sexes and increase in relative weights of the liver and kidneys in male rats given 3 g/kg although no accompanying histopathological changes were observed. In conclusion, the safety dose of fermented extract of mycelia of *Antrodia camphorata* (FEMAC) in rats following 28 days of oral administration appeared to be below 2 g/kg.

Key words: *Antrodia camphorata*, Acute toxicity, 28-day toxicity study.

Correspondence to: Wen-Chuan Lin, Department of Pharmacology, China Medical College, TEL: (04)22053366* 8306, FAX: (04)22053764, E-mail: wclin@mail.cmc.edu.tw.