

第參章 研究方法與步驟

一、材料與方法

(一)藥材的製備

1. 藥材來源

中藥材主要購自於鴻翔蔘藥行(台灣省台北縣)，其藥材的來源與產地如下：

藥材	產地
生地黃	中國河南省
麥冬	中國四川省
火麻仁	中國四川省
人參	中國吉安市
桂枝	中國廣東省
生薑	台灣
炙甘草	內蒙古
大棗	中國長州
阿膠	中國山東省

2. 複方炙甘草湯處方

複方炙甘草湯的成份包括：生地黃 80 克、麥冬 15 克、火麻仁 15 克、人參 10 克、桂枝 15 克、生薑 15 克、炙甘草 20 克、大棗 10 克、阿膠 10 克等共九種中藥成份。

3. 水煮法

除了阿膠的中藥材外，將其餘八種中藥置入於棉袋中，浸泡於混合液濃度為 20% 的米酒 400 ml 與 600 ml 的水，浸泡須留意各藥材都完全浸泡在液面下，持續浸泡 8 小時以上才可烹煮。

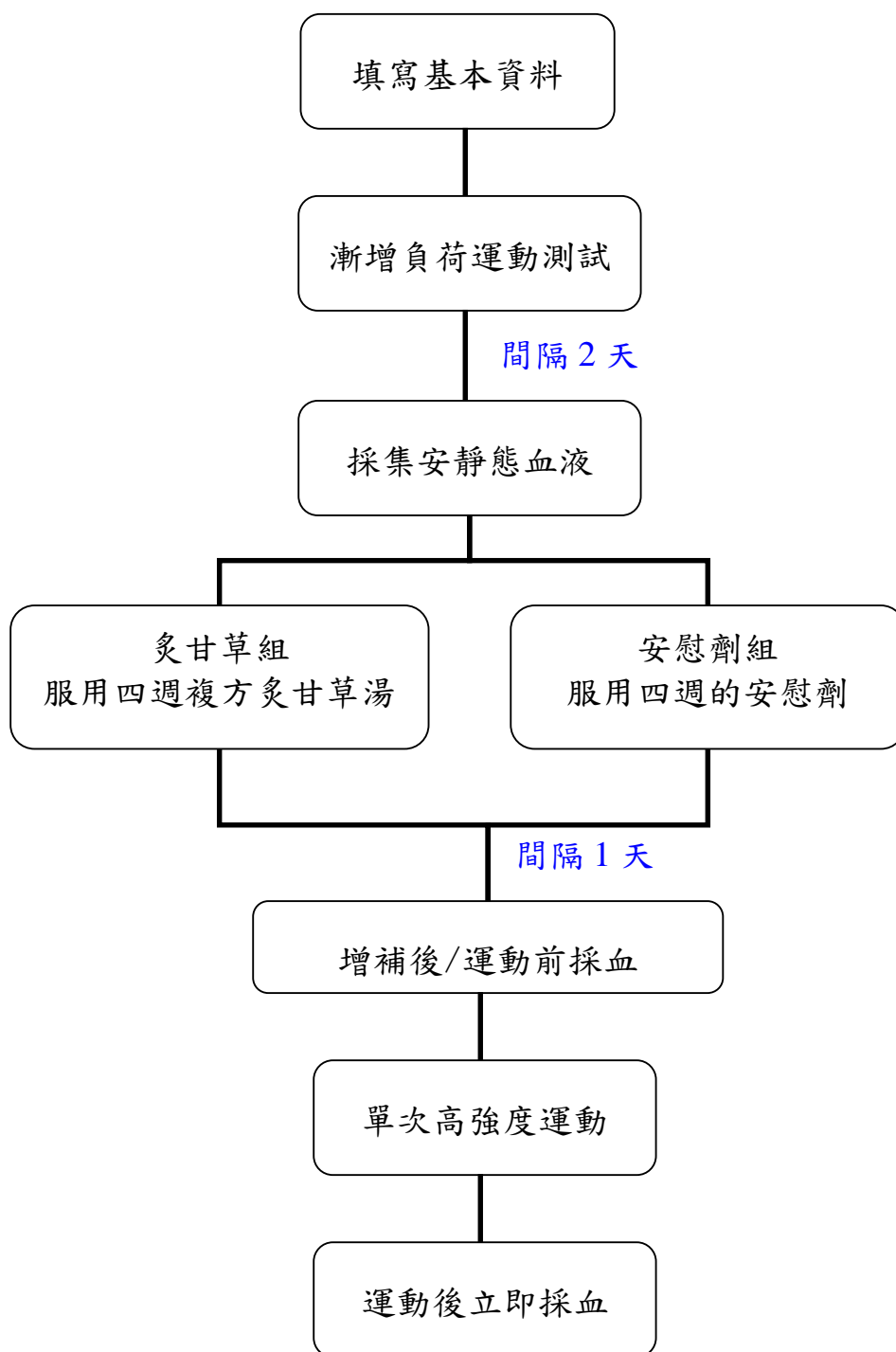
先以大火煮沸後再以小火繼續烹煮直至溶液體積達 500 ml。移除棉袋的中藥後，以濾紙過濾除去藥渣繼續烹煮使溶液濃縮至 190 ml。每一份中藥材以水煮法重覆烹煮兩次，再將兩次的濃縮液均勻混合為 380 ml。

(二)安慰劑製備

1. 安慰劑的製備

安慰劑為 20% 的米酒 400 ml、600 ml 水與天然食用焦糖色素(調色用)的混合液，製備方法與複方炙甘草湯的過程相同。

二、實驗流程



圖一 實驗流程圖

三、實驗設計

徵求 18 位健康無心血管疾病且規律運動之男性為受試者，每位受試者在實驗過程須填寫身體健康調查表(附錄一)、每日飲食調查表(附錄二)、受試者同意書(附錄三)與每日身體活動記錄表(附錄四)，並避免飲用刺激性飲料(咖啡、茶、可樂、巧克力等飲品)、藥物或營養品。

受試者在進行單次漸增負荷運動測試後，分派至炙甘草組 (Zhigancao group, ZG) 與安慰劑組 (placebo group, PG)。相隔二天後兩組採單盲設計進行四週的增補，每天服用複方炙甘草湯一次，並於增補後一天進行單次運動強度為 $85\% \dot{V}O_2\max$ 的運動至衰竭。

(一)漸增負荷運動測試

每位受試者先至室內的原地跑步機進行漸增負荷運動測試。遞增性運動測試開始的速度為 4 mile/hr 持續 5 分鐘，此後每 3 分鐘增加 1 mile/hr；當速度增加至 10 mile/hr 時，每階段改以增加坡度 2%，直到受試者衰竭(吳家慶，2005，頁 33)。以能量代謝系統(SensorMedics, Vmax 29, U.S.A.) 記錄運動時的呼吸變化，同時使用心率器記錄心率變化，於事後找出最大攝氧量 ($\dot{V}O_2\max$) 與 $85\% \dot{V}O_2\max$ 的運動強度。

(二)增補流程

ZG 與 PG 每天早上 8 點至 10 點間前往實驗室，分別服用 190 ml 的複方炙甘草湯或安慰劑，持續增補四週。

(三)單次高強度運動採用 Van Soeren and Graham (1998) 的方法

受試者於原地跑步機上進行 $85\% \dot{V}O_2\max$ 的運動強度至衰竭，同時採集氣體作事後分析。

四、血液樣本分析

(一)血清與血漿樣本：

受試者於漸增運動負荷測試前後、增補後及單次衰竭運動前後各採集受試者橈靜脈的血液 21 ml，分別置於真空管與含有 EDTA 或 heparin 的抗凝劑試管，於 4°C 下以 4,000 g 離心 10 分鐘，將其上清液(血清或血漿)取出備用。

(二)紅血球溶胞液 (erythrocyte lysate) 的製備：

將含有 EDTA 抗凝劑試管中的上清液完全取出後，移除紅血球上層之白血球，剩餘溶液為紅血球。先取 8 ml 的 HPLC-water (Sigma, U.S.A.) 置入離心管內，再加入 2 ml 的紅血球均勻混合，於 4°C 以 10,000 g 離心 15 分鐘後，取出上清液備用。

(三)血液生化分析：

紅血球溶胞液之樣本分析的項目為抗氧化酶活性，包括 CAT、GPx 與 SOD。血漿樣本分析項目為乳酸、血液脂質—LDL-C、HDL-C 與脂質過氧化物 (MDA)。血清樣本分析的項目為氧化態低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, oxLDL)。血液生化分析的詳細流程，請參見附錄五。

五、統計分析

實驗結果以 SPSS 13.0 分析軟體進行分析。所得的數據均以平均數 ± 標準誤表示；能量消耗、最大攝氧量與血漿 MDA 之組間差異以獨立樣本 *t* test 進行考驗。炙甘草組與安慰劑組在增補前、後或運動前、後之乳酸濃度、LDL-C 濃度、HDL-C 濃度、oxLDL 濃度、SOD 與 CAT 活性以混合設計雙因子 (組別×時序) 變異數分析 (ANOVA)，並以 LDS 法進行事後比較。組別與 MDA 濃度則以混合設計雙因子 (組別×時序) 共變數分析 (ANCOVA)，顯著水準定為 $\alpha = .05$ 。