

編號：CCMP97-RD-001

# 中草藥資源永續使用之探討研究

黃冠中

中國醫藥大學

## 摘 要

近十年來中草藥之相關產業已成為世界各國最具潛力的新興產業，例如：中藥新藥的申請，保健食品的研發，訴求以天然來源作為化妝保養品等等。因此對於中草藥資源永續使用與研究是需要投入更多的研究項目以提供產業相關應用。本次計畫分為兩個主題，第一子計畫以濕地植物供藥用之調查、種植與活性評估為主，提供更多具有活性應用價值的植物之研究資料；第二子計畫為誘導枇杷癒傷組織之活性成分研究，提供活性成分經由植物組織培養之生產技術平台。

子計劃一：濕地植物供藥用之調查、種植與活性評估

藥用植物是傳統醫藥最主要之基礎，栽培藥用植物地區遍及大陸與台灣各地。利用濕地藥用植物的抗氧化活性分析，根據其資料，評估濕地藥用植物在保健食品的應用上。本計畫擬出版台灣濕地藥用植物圖鑑和進行 30 種台灣濕地藥用植物抗氧化分析，利用水萃物和甲醇萃物分析其抗氧化活性，並分析其多酚類、類黃酮和黃酮醇成分多寡。

由結果發現其中水豬母乳(*Rotala rotundifolia* (Wallich ex Roxb.) Koehne)、燈心草(*Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buchen.)、泥花草(*Lindernia antipoda* (L.) Alston)、蒲黃(*Typha orientalis* Presl)、碎米莎草(*Cyperus iria* L.)和水柳(*Salix warburgii* O. Seem.)等濕地植物，其抗氧化物和多酚類成分均具不錯之效果和含量。因此建議可以廣泛種植濕地藥用植物如：水豬母乳、燈心草、泥花草、蒲黃、碎米莎草和水柳等濕地植物，可提供為未來於抗氧化之保健食品開發時之參考。

子計劃二：誘導枇杷癒傷組織之活性成分研究

枇杷為薔薇科植物 *Eriobotrya japonica* Lindl.，常用於止咳，清肺和降氣化痰。其所含的主要成分有揮發油、三萜酸類、黃酮類、多酚類等。藥理作用指出三萜酸類成分具有良好的抗炎止咳、降血脂、降血糖、抗病毒和抗腫瘤等活性。因此本研究利用組織培養方法評估癒傷組織的誘導生產三萜酸類之可行性。

結果指出將枇杷葉的種子經發芽後，接種於的 MSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基下可以誘導出淡黃色之癒傷組織。接著利用此癒傷組織分別再接種於不同培養條件下。結果顯示，以葉子誘導的癒傷組織接種於的 MS 或 LS BA 2.5 mg/L+NAA1mg/L 培養基下在暗培養的條件下培養 30 天生長的速度最快且細胞

乾重最重。且添加蛋白水解物，酵母抽出物也是有助於生長與二次代謝產物之累積。在目前培養的條件得知-癒傷組織的成分含量顯高於栽種含量的 8.21 倍，且生長時間只需要 30 天。

關鍵詞：藥用植物、抗氧化、多酚類、三萜酸、枇杷、組織培養

Number: CCMP97-RD-001

# The Research of Sustainable Use of the Chinese Medicine Resource

Guan-jhong Huang  
China medical univeristy

## ABSTRACT

In recently decades, the herbal related enterprises had become a kind of the most shining star among the worldwid industries. For example, the traditional herb applied in new drug expansion, functional food development, the demands of natural source utilization in cosmetics and etc. Thus, it is worth a while to invest more for the requirements of sustainable use in Chinese herbal resource. In the project, there were separated into two topic; one was focused on the investagation of pharmaceutical application, cultivation, the assessment of activie components in wetland plants and another was aim at the research of the efficacy ingredients produced from induced callus of loquat, and then proposed the technique base of medicinal component produce by plant tissue culture.

Topic 1: The Medicinal Investigation of Planting and Activity Analysis of Wetland Plants

The medicinal plant is the foundation of the traditional medicine. Therefore, we investigated the wetland medicinal plants and then analyzed the antioxidant activity. According to its results, we evaluated that the wetland medicinal plants applied to the health foods. The plan is aimed to publish an illustrated handbook about the Taiwan wetland for medicinal plants and carries on 30 kinds of Taiwan wetland medicinal plant antioxidante analysis. We used water and methanol extracts to analyze its antioxidant and its polyphenols, flavanones and the flavonols.

In the result we discovered that, *Rotala rotundifolia* (Wallich ex Roxb.) Koehne、*Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buchen., *Lindernia antipoda* (L.) Alston, *Typha orientalis* Presl, *Cyperus iria* L. and *Salix warburgii* O. Seem., their antioxidant activities and the contents of total polyphenols are very good. Therefore, we suggested that the wetland of the medicinal plant may widely be planted, and provide the references for the development of health foods in the future.

Topic 2: The active ingredients study in calli induced from loquat

The origin of Loquat was *Eriobotrya japonica* Lindl. .According to

pharmacologic reported that triterpenes could provide with several efficacy on anti-inflammation, relieve a cough, hypolipidemic, hypoglycemic, anti-virus, anticancer and so on. In the study, we elevated the utilization of the plant tissue culture method to induce callus to produce triterpenes.

In the beginning, planted the seed of loquat on the BA2.5mg/L+NAA1mg/L MS medium with the sterile condition, and then obtained lemon yellow callus. The following were to utilize the induced calli transplanted to a variety of cultured condition. The result revealed that the primary induced callus inoculated darkly in BA 2.5 mg/L+NAA1mg/L MS or LS medium for 30 days would growth fast and get the most mass in dry weight. Besides, the addition of protein hydrolyte and yeast extract were both better for growth and the accumulation of secondary metabolite. The yield of experimental condition had exhibited the content from callus striled cultured for 30 days was 8.21 times than the original plant wild cultured.

Keywords: Medicinal plant, Antioxidant, Polyphenols, Triterpenes, Loquat, Tissue culture

編號：CCMP97-RD-001

# 子計畫一：中草藥資源永續使用之探討 研究-濕地植物供藥用之調查、種植與活 性評估

黃冠中  
中國醫藥大學

## 摘 要

藥用植物是傳統醫藥最主要之基礎，栽培藥用植物地區遍及大陸與台灣各地。近年來由於發現大部分的化學合成藥劑難免都有副作用，而且對於幾種慢性疾病如老化、癌症、肝炎、高血壓及糖尿病等，仍不能提出有效根治之道，因此傳統醫藥的價值與重要性，也再度引起世人的普遍注意。

台灣自然環境十分優越，植物資源相當豐富。但近年來因開墾快速，台灣許多濕地遭受破壞，使得多種濕地植物遭受瀕臨滅絕危機，其中不乏可資利用之珍貴生藥資源，可供藥用及保健利用，因此對於濕地藥用植物調查刻不容緩，利用濕地藥用植物的抗氧化活性分析，根據其資料，評估濕地藥用植物在保健食品的應用上。

本計畫擬出版台灣濕地藥用植物圖鑑和進行 30 種台灣濕地藥用植物抗氧化分析，利用水萃物和甲醇萃物分析其抗氧化活性，並分析其多酚類、類黃酮和黃酮醇成分多寡。

由結果發現其中水豬母乳(*Rotala rotundifolia* (Wallich ex Roxb.) Koehne)、燈心草(*Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buchen.)、泥花草(*Lindernia antipoda* (L.) Alston)、蒲黃(*Typha orientalis* Presl)、碎米莎草(*Cyperus iria* L.)和水柳(*Salix warburgii* O. Seem.)等濕地植物，其抗氧化物和多酚類成分均具不錯之效果和含量。因此建議可以廣泛種植濕地藥用植物如：水豬母乳、燈心草、泥花草、蒲黃、碎米莎草和水柳等濕地植物，可提供為未來於抗氧化之保健食品開發時之參考。

關鍵詞：藥用植物、抗氧化、多酚類

# The Research of Sustainable Use of the Chinese Medicine Resource - The Medicinal Investigation of Planting and Activity Analysis of Wetland Plants

Guan-jhong Huang  
China medical univeristy

## ABSTRACT

The medicinal plant is the foundation of the traditional medicine. The medicinal plants cultivated in the mainland and Taiwan. In recent years, the chemical medicament has the side effect unavoidably. Moreover, the several kind of disease like agings, cancer, hepatitis, hypertension and diabetes and so on, still could not the effective controlled. Therefore, the value and importance of traditional medicine also attract to people's attention once again.

The Taiwan natural environment is very superior and the plant resources are quite rich. But in recent years, the earth was reclaimed fast and many wetlands suffered the destruction in Taiwan. Many kinds of wetland plants suffered to be on the verge of extinction. Many plants might be used the precious medicinal resources and might supply for medicinal plants and the health foods. Therefore, we investigated the wetland medicinal plants and then analyzed the antioxidant activity. According to its results, we evaluated that the wetland medicinal plants applied to the health foods.

The plan is aimed to publish an illustrated handbook about the Taiwan wetland for medicinal plants and carries on 30 kinds of Taiwan wetland medicinal plant antioxidantive analysis. We used water and methanol extracts to analyze its antioxidant and its polyphenols, flavanones and the flavonols.

In the result we discovered that, *Rotala rotundifolia* (Wallich ex Roxb.) Koehne, *Juncus effusus* L. var. *decipiens* Buchen.、*Lindernia antipoda* (L.) Alston, *Typha orientalis* Presl, *Cyperus iria* L. and *Salix warburgii* O. Seem., their antioxidant activities and the contents of total polyphenols are very good. Therefore, we suggested that the wetland of the medicinal plant may widely be planted, and provide the references for the development of health foods in the future.

Keywords: Medicinal plant, antioxidant, polyphenols

## 壹、前言

### 一、濕地的定義與功能

依據國際濕地保護公約(拉姆薩公約, Ramsar Convention), 濕地係指「沼澤、沼泥地、泥煤地或水域等地區, 不管其為天然或人為、永久或暫時、死水或活水、淡水或海水、或兩者混合、以及海水淹沒地區, 其水深在低潮時不超過 6 公尺者」。構成濕地三要素為: 濕土、水域與水生植群, 而濕地植物更是扮演著最基礎也最重要的角色。根據研究指出, 濕地生態系統的總生產力高居地球生態系中的第二位, 而濕地的「生物多樣性」僅次於熱帶雨林, 沒有熱帶雨林的臺灣, 濕地更擔負起維護臺灣豐富生態的重要角色。濕地像是老天賜予大地的神奇大海綿, 具有調節洪水、保護土壤、生物繁衍棲息、觀光休閒等功能, 也間接提供生活所需的資源與保護。(林春吉, 2002)

### 二、濕地植物與生物多樣性

濕地植物在自然生態系中, 是構成食物鏈的基本生產者。濕地植物之枯枝、落葉等, 慢慢地會被生活在爛泥層中之微生物分解成有機碎屑, 再被食底棲動物如彈塗魚、田螺等吸食, 接著又被較高層的消費者如鳥所捕食, 而這些動物又引來另一批捕食者, 而未被吸收的有機碎屑則向下滲透至無氧泥層, 遭厭氧菌分解。就在生物相互綿密的關係中, 形成複雜龐大的食物網。換言之, 在這水與陸交錯的濕地生態系中, 孕育出多樣性的生物, 並將水中生態系與陸地生態系相連結, 而濕地植物便是這一連串微妙能量循環中最基礎的啟動者。

### 三、濕地植物的四大家族

濕地植物之生長形態會因生育環境的不同而有所改變, 一般依葉片與水面的相對位置及生活習性, 分為四大類:(李松柏, 2002; 2005)

挺水性	為四大家族中數量最多者, 通常生長在水邊或水位較淺地方, 其根固定在土裡, 葉片或莖挺出水面。例如: 針蘭、東亞黑三稜等。
沉水性	植株完全沉浸在水中, 根系固定在土裡, 葉片隨波搖曳, 植物體一旦離開水域, 便無法存活。葉片通常呈線形, 以利流水環境中生活, 例如: 龍鬚草、水蘊草等。
浮葉性	本家族多生長於水較深且靜止或緩速水域, 根莖定著於水中泥土裡, 葉片通常呈寬大圓形或橢圓形, 由長葉柄支撐, 平貼水面上, 例如: 蓴菜、臺灣萍蓬草等。
漂浮性	葉子浮貼水面, 但其根莖沒有固定在土裡而是在水中, 所以植物體會隨水四處漂行, 繁殖力驚人, 例如: 布袋蓮、滿江紅等。

### 四、保護濕地植物

臺灣四面環海, 濕地為重要的生活環境之一, 也是生活品質的重要指

標。濕地生態系雖有自然淨化的能力，然污染一旦越過此界限，就會危害生物多樣性，破壞生態平衡。目前臺灣在濕地的保護與管理上，仍在起步的階段，近來臺灣民間已自發性組成環境保護團體如荒野保護協會，該會多年來努力於推動自然棲地保護相關法規，並成立第一個以本土濕地植物為搶救與庇護對象的「濕地植物庇護中心」，使得濕地與水生植物的價值一一彰顯，引起社會大眾與政府重視。

#### 五、臺灣的水域環境與濕地植物生育地類型

臺灣為一高山島嶼，河川短而湍急。河川上游地質不適於植物著根；中下游亦佈滿不穩定的卵石底層。因此，臺灣河川並不適於成為大多數水生植物的生育地。基本上，水生植物的生育地型態可依水體流動情況，區分為靜止水域(Stagnant water)及流動水域(Flowing water)；依形成因素可分為天然水域與人工或半人工水域；依鹽度區分則有淡水(Fresh water)海水(Sea water)以及半鹹水域(Brackish water)；就地理分布來說，台灣約有 80% 的水生種類分布在北部及東北部的池塘、稻田與灌溉溝渠中，其餘種類則零星散布於中南部的相似環境。整體上，臺灣水生植物的主要生育地類型有如下幾類：(楊遠波、趙怡姍, 2006)

##### (一)平原或低海拔池塘：

這類的地形大多數分布於桃園、新竹及苗栗縣一帶的河階地及蘭陽平原及高雄縣境內的低海拔帶。以桃園地區的池塘為例，其用途蓄水灌溉外也是蓄養淡水經濟魚類的場所。早期對天然池塘的利用與管理方式僅為季節性地疏浚水草或修剪邊緣的雜草，此對池中的生態並沒有顯著的影響甚至有著正面的調節演替過程的功用。目前低海拔的天然池塘環境所面臨的危機除了快速優養化、水泥化、垂釣化外，廢土的傾倒掩埋則是立即且難以挽回的迫害。臺灣的稀有水生植物中，有大半的種類分布於此，如臺灣萍蓬草、桃園石龍尾、烏蘇里聚藻、杉葉節節菜、異葉石龍尾及數種水蓑衣等。

##### (二)稻田及水田廢耕地：

水稻為一種挺水植物。而水稻田是東亞地區重要的景觀和糧食的生產場地，也是重要的濕地生態環境。早年農業藥劑污染尚未普遍的時期，水稻田的確提供了許多原本棲息於淺水區域之動植物的一個優良棲所。水稻田遭受人為干擾，如經常性的除草或間歇性的放水，這些干擾對於減緩水質優養化有著正面的效果。因此，對於生活史短暫的淡水生物的生長和繁衍，反而提供了有



利因素。臺灣的水稻田雖然廣布於全島的低丘陵地、平地或是山間盆地，但是水生植物種類較為豐富的區域在於臺北縣與宜蘭縣境內。嘉南平原雖然有著廣大的水稻栽培土地面積，由於土地利用型式較臺北縣和宜蘭縣來的密集，加上近年雨量較不穩定，水生植物無論就種類及個體數量上已無法日據時代的採集紀錄相提並論；其中的大部份，仍屬常見的水生植物，如慈姑、鴨舌草、陌上菜、多花水荳、圓葉節節菜、青萍、大萍及水馬齒等等。至於在臺北縣境內水稻田的廢耕地，則生長稀有淺水性的水生植物，如印度茨藻、日本茨藻、水車前、澤瀉、墨西哥節節菜與擬紫蘇草等。

### (三)其它水生作物栽培區：

茭白筍田、菱角田、荷田及水芋田是獨特的水生作物產業。這些作物的環境與稻田的差別在於其栽培期較長，水位較水稻田深，因而伴生其中的水生植物種類與水稻田的淺水性植物有些不同。目前所知，茭白筍的栽培面積以南投縣的埔里鎮最大，另外在臺北縣與宜蘭縣有少量的分布。菱角田與荷田則以臺南縣最為知名。此外，臺灣另有零星小面積的觀賞性睡蓮與藥用芡實栽培區。

### (四)湖沼：

臺灣具有水生植被的湖沼本不多，加上被大量且稠密地放養經濟性魚種或四周加蓋美麗的小橋流水人工建造物，因此臺灣目前並沒有穩定而豐富的湖沼水生植被。過去，臺灣最具規模的天然淡水湖泊當屬南投縣的日月潭，但經建造水庫及在長久的觀光經營，因水泥化而日趨乾燥；湖水水域遭受優養化之後，湖中水土植被已蕩然無存。其中臺灣原產的子午蓮、印度荇菜、水社穀精草與線葉眼子菜在近五十年來已無採集紀錄。位於內湖的大湖公園在日據時代具有相當可觀的水生植物資源，至少在 1970 年代池中仍有日本篔藻與金魚藻的生長。雖然目前大湖的水生植物只剩下一些長相不佳的布袋蓮，但是過往的繁榮或許可由周邊山區小水塘的植物種類得窺一二。位於新竹尖石鄉與宜蘭大同鄉交界的鴛鴦湖中所產的東亞黑三稜及其它稀有的莎草科與茜草科水生植物而聞名。不過鴛鴦湖的湖水冰冷，在水生植物的豐富度方面還不及宜蘭縣南澳山區的神祕湖。

(五)水庫：

許多天然湖沼中的水生植被也幾乎因為水庫的興建而破壞殆盡。不過在臺灣唯一的例外卻是位於南投水里的明潭水庫。明潭水庫的周邊生長了相當茂密的三白草與某種水蓼屬，由於每隔數小時的抽蓄發電使得水位變化相當劇烈，因此在高水位時段，所有的植物甚至包括岸邊的水柳都被湖水淹沒，但在低水位時段，所有的「水草」卻都露出水面。因為湖水的含沙量大，水生植物生長雖茂密其葉上有厚厚的泥土，此也堪為一景。

(六)溪流：

臺灣的溪流環境污染已經極為惡化，目前臺灣大部份的溪流環境仍可發現一些水生植物，但主要仍為耐污力稍強的馬藻、黑藻及聚藻。另外，中部某些情況尚可的小溪流中，可見的有長柄石龍尾、盤腺蓼、眼子菜及龍鬚草這些不尋常的水生植物。至於中海拔的溪流中，可常見到引進歸化的豆瓣菜蔓延水面。此外，有些經常生長於河床上的植物，在豐水期間亦能發育出沉水葉片以適應環境的改變，例如菊科的蒂馬蘭。

(七)灌溉溝渠：

經常伴隨於稻田或農業地帶的灌溉溝渠提供了溪流性生物另一種場所。但是日前長在灌溉溝渠中的生物面臨了溝渠加蓋、農藥污染與水泥化的危機，對原本在溪流中已生存不易的淡水生物不啻是雪上加霜。目前宜蘭縣與桃園縣境內的灌溉溝渠仍有為數不少的水生植物，種類則以眼子菜科、小二仙草科與爵床科植物為主，在屏東縣境內的椰子園有少數的灌溉渠中仍有少量的品萍 (*Lemna trisulca*) 這是一種在整個東亞地區已呈瀕危狀態的沉水性浮萍科植物。

(八)河口：

河口環境的鹽度與水位變化較大，因此生長的水生植物多半以挺水性的莎草科與禾本科植物為主，例如分布於西部河口地區的雲林莞草以及香蒲科植物。至於沉水植物方面，則有馬藻、角果藻與流蘇菜三種植物分布於臺灣東南部的港口溪溪口。

(九)鹽田與鹹水魚塢：

這是一類較不受注意的水生植物生育地，通常分布於西南沿海，尤以嘉義與台南縣沿海最為普遍。鹽田的鹽度通常遠高於海水，不過在臺灣的鹽田或其堤岸經常可見到的海馬齒與鹹蓬在海

水或鹽鹵水下仍然能夠生長良好。流蘇菜(*Ruppia maritima*)則為這個地區少數之一的沉水植物，其對鹽鹵水的耐受程度較海馬齒更高。

#### (十)海域：

海生的維管束植物俗稱海草(Sea grasses)，會開花結果，截然不同於藻類。由於多年前海岸地區的管制及採集上的困難，臺灣的海草相與分布一直到近年才有比較清楚的輪廓。一般來說，海草的生長海域可由河口延伸至六至二十公尺的淺海中，底床由泥質淺灘到珊瑚礁底床都有。在臺灣含離島地區已確認記錄的海生植物約有 8~10 種。在中部及西南部的泥質海床可發現少量的甘藻(*Zostera japonica*)。南部與東南部的珊瑚礁海域則有為數不少的泰來藻屬(*Thalassia*)、二藥藻屬(*Halodule*)、鹽藻屬(*Halophila*)的植物。

### 六、臺灣水生植物的多樣性

截至目前為止，臺灣水生維管束植物的種類分屬於 65 科 132 屬約 296 個分類群，其中單子葉部份以莎草科及禾本科為主；雙子葉部份則以玄參科與千屈菜科的種類最為豐富。有許多的水生雙子葉植物在文獻中很少提及，它們的水生特性或對淹水的適應力，因此在水生的種數似乎是寥寥無幾，臺灣產水生植物的特有率並不高，這是一個相當合理的現象，主要有兩個原因：

- (一)臺灣的特有或子遺分布型物種多分布於中高海拔，而臺灣的水生植物多分布於平原與低海拔地區；
- (二)中海拔湖沼內所產的水生植物幾乎皆為東亞廣布種；
- (三)臺灣雖為海島，但屬於大陸島(Continental island)且非單一或獨立隔離的生物地理區，並位於亞洲東部候鳥的遷移中繼站，因此在基因交流潛在性高和封閉性低的情況下，形成特有種的機率並不高。

目前所知臺灣的特有水生植物分類群僅有臺灣萍蓬草、臺灣水韭、臺灣菱與數種穀精草科(Eniocalaceae)植物，其中萍蓬草屬可能因種子不利於藉由鳥類傳播。就整個亞洲來說，地區性的特有率極高，因此其分布型屬於隨著地質上的更迭而緩慢散布，而非二次地由候鳥廣泛傳播。不過候鳥傳播與臺灣南北明顯的氣候差異卻是形成臺灣水生植物相當豐富的原因之一。

### 七、水生植物所面臨的危機與保育：

臺灣的稀有水生植物種類與所受威脅來源已漸明朗，有關水生植物的保育事件亦漸受到媒體的重視以及大眾的注意。至目前為止，約有 100 種

以上的臺灣產水生植物面臨絕的危機。部份中大型種類可能早在 1950 年代前即告消失或絕種，例如水驚、日月潭的鬼菱與原生的睡蓮。近年來，因生育地的一夕消失，而於野外近乎滅絕的水生植物種類至少有桃園石龍尾、異葉石龍尾、彎果茨藻以及澤蕃椒。如果目前的情況繼續進行，未來五年內將於臺灣地區消失的水生植物恐怕將有數十種包括田蔥、長葉茅膏菜、絲葉石龍尾、許多小型的莎草科、燈心草科及狸藻科植物。由於平地淡水環境多半位於人類聚落或寸土寸金的都市周遭，在現實上很難如保護區或國家公園一般可採取保護措施。很不幸的是，絕大部份的水生植物生育地並不在這些區域內，因此似乎僅能在預期絕滅的心態下看待這些植物的生存。事實上，甚至是在國家公園範圍內的生育地，在過去十年間，除了某些地區曾受到研究人員與計畫經費的投注以外，其它的水域則在觀光化的經營方式下遭到嚴重的破壞。除了上述的環境壓力，臺灣的水稻轉作與廢耕面積逐漸擴大，亦是所有臺灣淡水生物所正面對的嚴重生存瓶頸。

另一項值得憂慮的問題是外來水生植物的引入與歸化問題，布袋蓮在臺灣所造成的，生態為害情況即是一例。另外，原產南美的人厭槐葉蘋的歸化及危害潛力也開始受到注意。事實上，在臺灣曾進口過的約二百種水生觀賞植物中，已逸出野外成歸化狀態的約有三十五種之多，例如原產泰國，自歐洲引進的繖花水蓼衣(*Hygrophila corymbosa*)、水蘊草(*Egeria densa*)及已相當泛濫的穗蓴(*Cabomba*)及粉綠狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)，在臺灣某些地區皆已相當棘手且改變水域的植被結構與食物鏈組成。外來水生植物遠較外來陸生植物更難以對付的原因在於：

- (一) 水生植物多可行無性繁殖，只要有合適的環境與植物片段就可生長成群。
- (二) 水生植物在水域中的區塊消長波動極大，再加上某些植物化學競爭作用，外來種可輕易在本土植物休眠或被清除的空窗期侵入本土水生植物原所佔有的生態棲位(niche)。
- (三) 水生植物的天敵極少，尤其是植食性昆蟲。部份挺水植物雖有昆蟲啃食，但對其族群的影響極為有限。沉水植物僅有非常少的植食性昆蟲取食，如水螟蛾亞科(Nymphulinae)。

然而目前為止在臺灣的外來沉水植物上，並未有並未有任何的水螟蛾幼蟲被發現，可見本土生物尚無法運用這些植物成為其食物資源。外來水生植物對本土生態與農業灌；既系統的危害已在世界各地被報導。除了眾所皆知的布袋蓮與人厭槐葉萍以外，美國與澳洲每年花費在外來水生植物控制的經費上已十分可觀，但是不論是生物防治或物理防治，似乎仍然無

法憾動部份強勢種類在水域中的擴展。

#### 八、計畫目的：

藥用植物是傳統醫藥最主要之物質基礎，栽培歷史淵源流長，栽培地區更遍及大陸與台灣各地，部分地區如四川、雲南、浙江、河南等地之特有藥材，更是遠近馳名。近年來由於發現大部分的化學合成藥劑難免都有副作用，而且對於幾種慢性疾病如老化、癌症、肝炎、高血壓及糖尿病等，仍不能提出有效根治之道，因此，天然藥用植物的利用正日受重視，而傳統醫藥的價值與重要性，也再度引起世人的普遍注意(林宜信等, 2003)。

台灣雖偏處一隅，但是自然條件十分優越，境內高山平原湖泊處處氣候更兼具溫、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，其中不乏可資利用之珍貴生藥資源，可供藥用及保健利用，有的經證實療效不錯。惟國人至今所需藥材多依靠進口，其價格與品質因為無法確保穩定，徒增病患不少負擔，及影響醫療效果(甘偉松, 1991；姚榮鼎, 1996)。

為配合行政院衛生署中醫藥委員會濕地植物供藥用之調查、種植與活性評估政策需要，本計畫將以本草典籍常用濕地藥用植物為主，積極進行調查藥用植物之種類、評估與開發利用。此項工作將整合國內學術研究單位與民間業者，就現存濕地藥用植物之現況進行調查，研商其研發方向與目標，使整合成完整體系。將對傳統醫藥之發揚、國民健康之保健維護及疾病之治療或將有重大助益。

## 貳、材料與方法

研究方法及進行步驟：

為配合行政院衛生署中醫藥委員會濕地植物供藥用之調查、種植與活性評估政策需要，本計畫將以本草典籍常用濕地藥用植物為主，積極進行調查藥用濕地植物之種類、評估與開發利用。

### 一、樣品萃取及製備

試驗材料選取濕地植物三十種分別利用水萃和甲醇萃取。水萃是以 100°C 的一次水，煮沸 2 hr 以獲得初萃液，過濾收集濾液，並將殘留物再加一次蒸餾水煮沸 2 hr 後過濾，收集並混合所有濾液，於 55°C 減壓濃縮至固形物約 10% (w/v)，於 -85°C 冷凍後以真空冷凍乾燥法獲得水萃物冷凍乾燥粉劑。甲醇萃取是以甲醇淹沒濕地植物泡製一星期，於 55°C 減壓濃縮至固形物，重複三次，濃縮至固形物獲得甲醇萃取物。

### 二、抗氧化力測定之相關分析

#### (一)總酚類含量測定(Ragazzi and Veronese, 1973)

總酚量(total phenolic contents)之測定係採 Folin-Ciocalteu 法，以標準品進行檢測。將 0.5 mL 的 Folin-Ciocalteu 試劑(1 N)與 0.05 mL 不同濃度樣品或標準品於微量離心管中混合均勻，而後加入 1 mL 7.5% 之 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液於室溫反應 30 min 後，以分光光度計測量波長 730 nm 吸光值，並根據吸光值與標準品濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式。將樣品吸光值代入即可算出每克樣品於標準品相對量，並以此表示各水萃物之凍乾樣品中酚類化合物的總量。

#### (二)類黃酮化合物之定量分析(Lamaison and Carnet, 1990)

類黃酮化合物之定量分析(Flavonoid contents)之測定以 rutin 為標準品進行檢測。100 μL 不同濃度樣品或標準品於微量離心管中加入 100 μL 2% (w/v) methanolic AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 溶液於室溫反應 10 min 後，以分光光度計測量波長 430 nm 吸光值，並根據吸光值與 rutin 濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式。

#### (三)黃酮醇化合物之定量分析(Arnous et al. 2001)

黃酮醇化合物之定量分析(Flavonol content)之測定以 catechin 為標準品進行檢測。40 μL 不同濃度樣品或標準品於微量離心管中加入 200 μL 0.1% (w/v) *p*-dimethylaminocinnamaldehyde in MeOH/HCl (3/1, v/v) 溶液於室溫反應 10 min 後，以分光光度計測量波長 640 nm 吸光值，並根據吸光值與 catechin 濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式。

#### (四)清除 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基能力之測定

(Yamaguchi et al, 1998)

參考Yamaguchi等人之試驗方法，取1,000  $\mu\text{L}$  DPPH乙醇溶液(0.2 mM)與50  $\mu\text{L}$ 樣品混合均勻，避光反應30 min，之後以分光光度計測量517 nm吸光值。當DPPH自由基被清除愈多時，其吸光值則會下降愈多，利用相對於空白對照組的吸光值減少百分比，可判斷各樣品清除DPPH自由基能力之強弱。

(五) Trolox當量的抗氧化能力(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC)測定(Re et al., 1999)

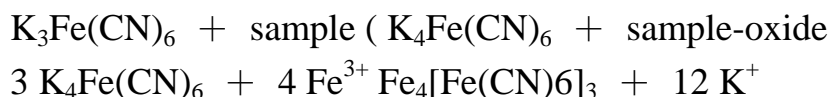
參考Re等人的方法，將0.25 mL peroxidase (4.4 U/mL), 0.25 mL 2, 2-azino-bis[3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS, 100  $\mu\text{M}$ ), 0.25 mL  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50  $\mu\text{M}$ )以及1.5 mL去離子水混合均勻，反應10 min產生安定藍綠色之陽離子自由基，將0.1 mL之樣品液或標準品(Trolox)與0.9 mL之TEAC試劑混合後，於室溫反應10 min，以分光光度計測量734 nm之吸光值，根據吸光值與Trolox濃度之關係求出標準曲線之迴歸方程式，將樣品吸光值代入即可獲得樣品之TEAC值。

(六) 還原力(reducing powder)之測定(Yen and Chen, 1995)

200  $\mu\text{L}$ 之不同濃度之純化TIs加入200  $\mu\text{L}$ 之0.2 M phosphate buffer, pH 6.6和200  $\mu\text{L}$ 之1% potassium ferricyanide，混和後於50°C下反應20 min，再加入200  $\mu\text{L}$ 之1% TCA溶液，於6000 rpm離心10 min後，取上清液 100  $\mu\text{L}$ ，再加入水100  $\mu\text{L}$ 和20  $\mu\text{L}$ 之0.1%  $\text{FeCl}_3$  (以3.5% HCl配製)，混和均勻後在室溫反應10分鐘，測700 nm之吸光。

### 【原理】

利用普魯士藍(Prussian blue;  $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )的生成量作為樣品還原過氧化物的能力，進而分析樣品的抗氧化效果。藉由赤血鹽(potassium ferricyanide, PFC;  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ )還原成黃血鹽( $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ )，黃血鹽再與三價鐵離子作用形成普魯士藍，在700 nm測普魯士藍的含量，其吸光值越高表示樣品還原力越強。



### 三、統計分析

本實驗均以三重複的平均值計算，並以 Scheffe's multiple range test 來檢定不同處理間顯著差異效果， $p < 0.05$  時則有統計意義。

## 參、結果

### 一、台灣濕地植物藥用植物之抽取

採集台灣濕地植物藥用植物三十種，其學名、科名、水生類型、效用表列於（表一），濕地植物藥用植物分別以水萃和甲醇溶劑萃取，其水萃和甲醇萃取產率如表二，其範圍為0.8~63.3%不等（表二）；與其使用與所含之成分類型有關。

### 二、台灣濕地植物藥用植物萃取物之Trolox當量的抗氧化能力(Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC)測定

採集台灣濕地藥用植物三十種之水萃萃取物對Trolox當量的抗氧化能力分析，發現水豬母乳( $1,753.41 \pm 76.99 \mu\text{M Trolox/mg}$ )、燈心草( $971.14 \pm 49.68 \mu\text{M Trolox/mg}$ )、碎米莎草( $762.04 \pm 33.80 \mu\text{M Trolox/mg}$ )和水柳( $657.57 \pm 18.37 \mu\text{M Trolox/mg}$ )等植物均具有不錯之效果（表三）。

台灣濕地藥用植物之甲醇萃取物對Trolox當量的抗氧化能力分析，發現發現燈心草( $2,074.35 \pm 116.19 \mu\text{M Trolox/mg}$ )、水柳( $931.45 \pm 84.14 \mu\text{M Trolox/mg}$ )、碎米莎草( $769.41 \pm 53.57 \mu\text{M Trolox/mg}$ )和蒲黃( $651.22 \pm 14.95 \mu\text{M Trolox/mg}$ )等植物均具有不錯之效果（表四）。而其他濕地藥用植物的Trolox當量的抗氧化能力較不理想。

### 三、台灣濕地植物藥用植物萃取物之DPPH自由基清除作用

採集台灣濕地藥用植物三十種之水萃萃取物對DPPH自由基清除作用分析，發現其 $EC_{50}$ 分別為水豬母乳( $94.89 \pm 0.30 \pm 76.99 \mu\text{g/mL}$ )、水柳( $112.69 \pm 0.28 \mu\text{g/mL}$ )、泥花草( $189.14 \pm 4.55 \mu\text{g/mL}$ )和碎米莎草( $194.45 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$ )等植物均具有不錯之效果（表五）。而水萃萃取物之DPPH自由基清除作用標準品為glutathione (GSH)其清除DPPH自由基的 $EC_{50}$ 為 $71.77 \pm 2.09 \mu\text{g/mL}$ 。

採集台灣濕地藥用植物三十種之甲醇萃取物對DPPH自由基清除作用分析，發現其 $EC_{50}$ 分別為燈心草( $108.95 \pm 4.47 \mu\text{g/mL}$ )、泥花草( $144.61 \pm 2.53 \mu\text{g/mL}$ )、碎米莎草( $167.18 \pm 0.64 \mu\text{g/mL}$ )和蒲黃( $208.01 \pm 1.46 \mu\text{g/mL}$ )植物均具不錯之效果（表六）。而甲醇萃取物之DPPH自由基清除作用標準品為BHT其清除DPPH自由基的 $EC_{50}$ 為 $139.56 \pm 2.96 \mu\text{g/mL}$ 。

### 四、台灣濕地植物藥用植物萃取物之還原力的測定

採集台灣濕地藥用植物三十種之水萃萃取物之還原力的分析，發現其還原力分別為水柳( $1.635 \pm 0.006$ )、水豬母乳( $1.608 \pm 0.005$ )、泥花草( $1.604 \pm 0.069$ )和碎米莎草( $1.563 \pm 0.001$ )等植物均具有不錯之效果（表七）。而水萃



取物之還原力的測定標準品為glutathione (GSH)其還原力為  $1.806 \pm 0.007$ 。

採集台灣濕地藥用植物三十種之甲醇萃取物對之還原力的分析，發現水柳( $1.68 \pm 0.002$ )、泥花草( $1.66 \pm 0.01$ )、芡( $0.76 \pm 0.12$ )碎米莎草( $0.58 \pm 0.03$ )和蒲黃( $0.46 \pm 0.02$ )等植物均具有不錯之效果（表八）。而水萃取物之還原力的測定標準品為BHT其還原力為 $0.27 \pm 0.02$ 。

#### 五、台灣濕地藥用植物水萃取和甲醇萃取物之多酚類、異黃酮和黃酮醇含量表

測定台灣濕地藥用植物水萃取物之多酚類成分含量，發現多酚類含量分別為水豬母乳( $565.92 \pm 4.45$  mg CE/g drug weight)、泥花草( $389.25 \pm 19.12$  mg CE/g drug weight)、碎米莎草( $385.67 \pm 5.62$  mg CE/g drug weight)、水柳( $302.89 \pm 21.19$  mg CE/g drug weight)和蒲黃( $230.50 \pm 1.41$  mg CE/g drug weight)等植物均具有多量的多酚類（表九）。

測定台灣濕地藥用植物甲醇萃取物之多酚類含量表成分含量，發現發現水柳( $551.50 \pm 17.57$  mg CE/g drug weight)、蒲黃( $494.17 \pm 10.13$  mg CE/g drug weight)、燈心草( $489.75 \pm 53.28$  mg CE/g drug weight)、泥花草( $356.70 \pm 17.32$  mg CE/g drug weight)和碎米莎草( $345.25 \pm 9.81$  mg CE/g drug weight)等植物均具有多量的多酚類（表十）。

測定台灣濕地藥用植物水萃取物之異黃酮成分含量，發現異黃酮含量分別為蒲黃( $53.92 \pm 5.44$  mg RE/g drug weight)、水豬母乳 ( $46.24 \pm 0.39$  mg RE/g drug weight)、水柳( $34.20 \pm 1.36$  mg RE/g drug weight)、碎米莎草( $29.73 \pm 0.51$  mg RE/g drug weight)和海茄冬葉( $27.55 \pm 0.27$  mg RE/g drug weight)等植物均具有多量的異黃酮（表九）。

測定台灣濕地藥用植物甲醇萃取物之異黃酮含量表成分含量，發現發現大葉穀精草( $74.55 \pm 1.50$  mg RE/g drug weight)、假扁蓄( $72.174 \pm 3.33$  mg RE/g drug weight)、蒲黃( $71.89 \pm 0.42$  mg RE/g drug weight)、水柳( $70.34 \pm 2.43$  mg RE/g drug weight)和碎米莎草( $46.88 \pm 0.47$  mg RE/g drug weight)等植物均具有多量的異黃酮（表十）。

測定台灣濕地藥用植物水萃取物之黃酮醇成分含量，發現黃酮醇含量分別為碎米莎草( $14.04 \pm 0.88$  mg CE/g drug weight)、假扁蓄( $13.47 \pm 0.47$  mg CE/g drug weight)、水柳( $5.54 \pm 0.18$  mg CE/g drug weight)、水豬母乳( $4.50 \pm 0.27$  mg CE/g drug weight)和蘋( $3.97 \pm 0.27$  mg CE/g drug weight)等植物均具有多量的黃酮醇（表九）。

測定台灣濕地藥用植物甲醇萃取物之黃酮醇含量表成分含量，發現覆瓦狀莎草( $14.36 \pm 1.28$  mg CE/g drug weight)、碎米莎草( $13.41 \pm 0.87$  mg CE/g

drug weight)、蒲黃( $7.04 \pm 0.10$  mg CE/g drug weight)、水柳( $6.6 \pm 0.31$  mg CE/g drug weight)和大葉穀精草( $6.15 \pm 0.86$  mg CE/g drug weight)等植物均具有多量的黃酮醇(表十)。

#### 六、台灣濕地藥用植物之活性萃取物之分析

經由上述之抗氧化活性篩選和萃取物之多酚類、異黃酮和黃酮醇含量,發現台灣濕地藥用植物水萃取物,其中以水豬母乳、燈心草、泥花草、碎米莎草和水柳植物均具有很強的自由基清除能力和多量的多酚類。而在台灣濕地藥用植物甲醇萃取物,其中以水柳、蒲黃、燈心草、泥花草和碎米莎草植物均具有很強的自由基清除能力和多量的多酚類。

#### 七、採集濕地藥用植物進行其萃取物製備與活性與多酚類成分分析

結果發現台灣濕地藥用植物水萃取物和甲醇萃取物之多酚類成分與其總抗氧化活性結果無法呈線性關係,顯示其活性成分除了多酚類成分外,亦可能為其他類型之成分(圖一和圖二)。

#### 八、台灣濕地藥用植物種植之分析

經由上述之抗氧化活性篩選和萃取物之多酚類、異黃酮和黃酮醇含量,發現台灣濕地藥用植物水萃取物,其中以水豬母乳、燈心草、泥花草、碎米莎草和水柳濕地植物均具有很強的自由基清除能力和多量的多酚類。而在台灣濕地藥用植物甲醇萃取物,其中以水柳、蒲黃、燈心草、泥花草和碎米莎草濕地植物均具有很強的自由基清除能力和多量的多酚類。利用此方法來評估濕地藥用植物藥用價值,因為氧化是所有疾病的根源,多酚類是一種抗氧化劑,特徵是擁有多種苯酚的功效。由以上結果分析台灣濕地藥用植物可推薦水豬母乳、燈心草、泥花草、蒲黃、碎米莎草和水柳等濕地植物廣泛種植。

#### 九、台灣濕地藥用植物圖鑑:

濕地藥用植物的調查和圖鑑的編修。根據所調查的資料約有一百二十種之濕地植物具有藥用,再參考相關諸多文獻,將調查所得之重要濕地藥用植物依中文名、別名、學名、科名、分布、辨識特徵、藥用部位及效用等項編寫,搭配實地調查所拍攝之彩圖,以匯聚成冊。祈望對於有興趣於濕地藥用植物的學者或民眾能有所助益(如下圖之臺灣水生藥用植物圖鑑(封面和樣張))。



臺灣水生藥用植物圖鑑  
行政院衛生署中醫藥委員會編印

# 臺灣水生藥用植物圖鑑

植物圖鑑

台灣萍蓬草原生地



行政院衛生署中醫藥委員會編印  
Committee on Chinese Medicine and Pharmacy  
Department of Health, Executive Yuan



行政院衛生署中醫藥委員會編印  
Committee on Chinese Medicine and Pharmacy  
Department of Health, Executive Yuan



G P N : 1009504415  
定價：新臺幣320元

96 | 臺灣水生藥用植物圖鑑

蘋科 Marsileaceae



## 蘋

*Marsilea minuta* L.

別名：南國田字草、田字草、水蠶酸、四葉草、四寶草、四銀菜、芥菜、破銅錢。

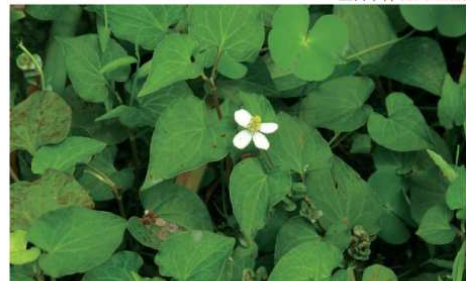
分布：臺灣全境海拔500公尺以下的鄉間水塘、溝渠及稻田。

形態：多年生草本植物，具匍匐根莖，根莖多分枝，有節，節上長出1至數枚葉。葉為掌狀複葉，具長柄，小葉4片，十字對生，倒三角形，長與寬1~3公分，先端渾圓，全緣或微波狀。孢子囊果生於葉柄基部，2~3枚叢生。孢子囊果堅硬，上有一尖、一鈍2瓣齒，內含孢子囊群約15個，每個孢子囊群內有大、小2種子囊，子囊着生於托部。孢子期於夏、秋間。

藥用：全草能清熱、除煩、祛痰、利尿、解毒、消腫、涼血、止血，治瘧疾自赤、牙痛、吐血、衄血、尿血、熱淋、腳氣水腫、腎炎、肝炎、糖尿病、白帶、月經不調、陰道炎、癰疽腫毒、跌打、蟲蛇咬傷等。

編註：本植物若長於水分充裕的環境時，呈水生，植物體長自水底，但若水分不足時，則呈陸生，長在乾潤的地面上，此時其根莖的節間也會變得較短，葉柄及小葉亦較小。

三白草科 Saururaceae



## 魚腥草

*Houttuynia cordata* Thunb.

別名：蕺菜、臭陸草、魚腥草、九節蓮、手藥、狗貼耳、狗粘米。

分布：臺灣全境低海拔山區。

形態：多年生草本，全株具腥臭味，高達60公分，根莖粗長，莖直立，無毛。單葉互生，柄長2~3公分，葉片闊卵形或卵形，長4~9公分，寬3~6公分，基部心形，先端銳尖形，全緣，穗狀花序生於莖頂，花小而密生，淡黃色，兩性，無花被。總苞片4枚，倒卵形，呈花瓣狀，白色，宿存。蒴果近球形，先端開裂，花柱宿存。種子卵形。花期5~6月。

藥用：全草能清熱解毒、利尿消腫、鎮咳祛痰，治肺炎、肺膿瘍、咳吐血、水腫、痔瘡、痰熱喘咳、子宮頸炎、癰疽、淋病、白帶、尿道炎、疥癬、濕疹、香港腳、痰心疔等。

編註：本植物的地下根莖粗長，可用於炒食，口感絕佳。

臺灣水生藥用植物圖鑑 | 97

## 肆、討論

利用抗氧化方法來評估濕地藥用植物藥用價值，因為氧化是所有疾病的根源，多酚類是一種抗氧化劑，特徵是擁有多種苯酚的功效。超過 4,000 種不同的多酚類可以抵抗導致神經退化性疾病、肝炎、阻礙哺乳動物腫瘤的出現及生成、抗衰老及一些心血管疾病的氧化。多酚類的主要來源是可供攝取的，多在植物營養素食物中可以找到。例如大部份的莢果、果實(如：蘋果、黑莓、香瓜、櫻桃、蔓越莓、葡萄、梨、覆盆子及草莓)、蔬菜(如：綠色花椰菜、捲心菜、芹菜、洋蔥及香芹)等都有豐富的多酚類。在體內不同自由基必須不斷從細胞中被移除，以維持健康的代謝功能。由於自由基與離子運輸系統有關連，它們有著氧化傳訊的角色。尤其是血小板涉及在復修傷口，而血液內環境穩定時可以釋放自由基吸引血小板到受傷的位置。這亦與免疫系統有關係，因需要補充白血球。當多酚類抗氧化劑降低自由基的形成時，它們的抗發炎性能力可改善內皮細胞的健康(Ames, 1983; Gey, 1990; Smith et al., 1996; Diaz et al., 1997)。由結果發現濕地藥用植物多酚類成分與其活性結果無法呈線性關係，顯示其活性成分除了酚性成分外，亦可能為其他類型之成分，需進一步的深入研究。

## 伍、結論與建議

本計劃進行台灣濕地藥用植物之收集，以現代科學抗氧化方法測試其功效評估，進行多酚類、異黃酮和黃酮醇含量成分含量試驗，發現其中水豬母乳、燈心草、泥花草、蒲黃、碎米莎草和水柳等濕地植物，其抗氧化物和多酚類成分均具不錯之效果和含量。因此建議可以廣泛種植濕地藥用植物如：水豬母乳、燈心草、泥花草、蒲黃、碎米莎草和水柳等濕地植物，可提供為未來於抗氧化之保健食品產品開發時之參考。

## 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 CCMP97-RD-001 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. 林春吉 2002 臺灣水生植物(1~2 冊) 台北市：田野影像出版社。
2. 李松柏 2005 臺灣水生植物地圖 台中市：晨星出版有限公司。
3. 李松柏 2007 臺灣水生植物圖鑑 台中市：晨星出版有限公司。
4. 李時珍(明) 1994 本草綱目 臺北市：國立中國醫藥研究所。
5. 姚榮鼎 1996 臺灣維管束植物植種名錄 南投縣：國立臺灣大學農學院實驗林管理處。
6. 甘偉松 1991 藥用植物學 臺北市：國立中國醫藥研究所。
7. 林宜信、張永勳、陳益昇、謝文全、歐潤芝等 2003 臺灣藥用植物資源名錄 臺北市：行政院衛生署中醫藥委員會。
8. 楊遠波、趙怡姍 2006 墾丁國家公園水生植物圖鑑 屏東縣：墾丁國家公園。
9. 邱年永、張光雄，1983~2001，原色臺灣藥用植物圖鑑(1~6 冊)，臺北市：南天書局有限公司。
10. 謝文全等，2002~2004，臺灣常用藥用植物圖鑑(1~3)，臺北市：行政院衛生署中醫藥委員會。
11. Ames, B. N. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*. **221**: 1256-1264.
12. Gey, K. F. 1990. The antioxidant hypothesis of cardiovascular disease: epidemiology and mechanisms. *Biochem. Soc. Trans.* **18**: 1041-1045.
13. Smith, M. A., G. Perry, P. L. Richey, L. M. Sayre, V. E. Anderson, M. F. Beal, and N. Kowal. 1996. Oxidative damage in Alzheimer's. *Nature*. **382**: 120-121.
14. Diaz, M. N., B. Frei, J. A. Vita, and J. F. Keaney. 1997. Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N. Engl. J. Med.* **337**: 408-416.
15. Ragazzi, E., and G. Veronese. 1973. Quantitative analysis of phenolics compounds after thin-layer chromatographic separation. *J. Chromatogr.* **77**: 369-375.
16. Lamaison, J. L. C., and A. Carnet. 1990. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm. Acta. Helv.* **65**: 315-320.
17. Arnous, A., D.P. Makris, and P. Kefalas. 2001. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged

- red wines. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5736-5742
18. Yamaguchi, T., H. Takamura, T. Matoba, and J. Terao. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1,-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**: 1201-1204.
19. Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**: 1231–1237.
20. Yen, G.C. and H.Y. Chen. 1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* **46**: 849-854.

## 柒、圖、表

表一、本研究計畫進行活性分析之30種濕地藥用植物名錄(李時珍(明), 1994 邱年永、張光雄, 1983~2001; 謝文全等, 2002~2004)

編號	中文名	學名	科名	水生類型	效用
1	蘋(田字草) (*)	<i>Marsilea minuta</i> L.	蘋科 Marsileaceae	挺水性	全草能清熱、糖尿病、白帶、月經不調等。
2	水柳	<i>Salix warburgii</i> O. Seem.	楊柳科 Salicaceae	挺水性	枝葉能利氣、行血、解熱，治跌打損傷、皮膚病等。
3	小葉冷水麻	<i>Pilea microphylla</i> (L.) Liebm.	蕁麻科 Urticaceae	挺水性	全草能清熱解毒、祛火降壓、肝炎、無名腫毒、跌打損傷、糖尿病等。
4	假蒟蒻	<i>Polygonum plebeium</i> R. Br.	蓼科 Polygonaceae	挺水性	全草能利尿通淋、殺蟲止癢、惡瘡疥癬、淋濁、蛔蟲病等。
5	蓮子草	<i>Alternanthera sessilis</i> (L.) R. Br.	莧科 Amaranthaceae	挺水性	全草能清熱、利尿、解毒，治咳嗽吐血、痢疾等。
6	芡	<i>Euryale ferox</i> Salisb.	睡蓮科 Nymphaeaceae	浮葉性	種仁(藥材稱芡實)能固腎澀精，治遺精、白濁、帶下等。
7	水豬母乳	<i>Rotala rotundifolia</i> (Wallich ex Roxb.) Koehne	千屈菜科 Lythraceae	挺水性	全草能消腫、利尿、解毒，治水腫、淋病、經痛、牙齦腫痛等。
8	水線草	<i>Hedyotis corymbosa</i> (L.) Lam.	茜草科 Rubiaceae	挺水性	全草能清熱、解毒、活血、利尿、腸癰、瘧疾、跌打損傷等。
9	海茄苳	<i>Avicennia marina</i> (Forsk.) Vierh.	馬鞭草科 Verbenaceae	挺水性	樹皮含鞣質，為收斂劑。
10	石莧	<i>Phyla nodiflora</i> (L.) Greene	馬鞭草科 Verbenaceae	挺水性	全草能清熱解毒、散瘀消腫帶狀皰疹、濕疹、不孕症等。
11	泥花草	<i>Lindernia antipoda</i> (L.) Alston	玄參科 Scrophulariaceae	挺水性	全草能清熱解毒、咽喉腫痛癰疽疔毒、跌打損傷、腦震盪等。
12	大安水蓑衣	<i>Hygrophila pogonocalyx</i> Hayata	爵床科 Acanthaceae	挺水性	全草能消炎，治傷口不癒。
13	澤瀉(*)	<i>Alisma orientalis</i> (Sam.) Juzep.	澤瀉科 Alismataceae	挺水性	塊莖能清熱、利濕，治皮膚疱疹、小便淋痛、水腫、蛇傷等。
14	水蘊草	<i>Egeria densa</i> Planch.	水蘊科 Hydrocharitaceae	沈水性	無記載。
15	布袋蓮	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	雨久花科 Pontederiaceae	漂浮性	全草能清熱解毒、除濕祛風、利尿消腫，治中暑煩渴、腎炎水腫、小便不利、高血壓等。
16	燈心草	<i>Juncus effusus</i> L. var. <i>decipiens</i> Buchen.	燈心草科 Juncaceae	挺水性	莖髓能清熱、利尿、安神，治心煩少眠、淋症、小便不利等。



編號	中文名	學名	科名	水生類型	效用
17	鴨跖草	<i>Commelina communis</i> L.	鴨跖草科 Commelinaceae	挺水性	全草能清熱解毒、咽喉腫痛、尿路感染、跌打損傷等。
18	大葉穀精草	<i>Eriocaulon sexangulare</i> L.	穀精草科 Eriocaulaceae	挺水性	花序能清熱、退翳。
19	輪繖莎草	<i>Cyperus alternifolius</i> L. subsp. <i>flabelliformis</i> (Rottb.) Kukenthal	莎草科 Cyperaceae	挺水性	帶根全草能行氣、活血、解毒，治療血作痛、蛇蟲咬傷等。
20	異花莎草	<i>Cyperus difformis</i> L.	莎草科 Cyperaceae	挺水性	帶根全草能行氣、活血、通淋，治熱淋、跌打損傷、吐血等。
21	覆瓦狀莎草	<i>Cyperus imbricatus</i> Retz.	莎草科 Cyperaceae	挺水性	無記載。
22	碎米莎草	<i>Cyperus iria</i> L.	莎草科 Cyperaceae	挺水性	全草能祛風除濕、調經利尿，治風濕筋骨痛、經閉、砂淋等。
23	水虱草	<i>Fimbristylis littoralis</i> Gaud	莎草科 Cyperaceae	挺水性	全草能清熱利尿、解毒消腫，尿赤、咳嗽痰喘、跌打損傷等。
24	短葉水蜈蚣	<i>Kyllinga brevifolia</i> Rottb.	莎草科 Cyperaceae	挺水性	全草能清熱利濕、止咳化痰、散風舒筋、痢疾、瘡瘍腫毒、皮膚搔癢等。
25	斷節莎	<i>Torulium odoratum</i> (L.) S. Hooper	莎草科 Cyperaceae	挺水性	無記載。
26	稗	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) Beauv.	禾本科 Gramineae	挺水性	全草能止血、生肌，治金瘡、損傷出血、麻疹等。
27	石菖蒲(*)	<i>Acorus gramineus</i> Soland.	天南星科 Araceae	挺水性	根莖能開竅化痰、理氣止痛、祛風除濕、噤口下痢、神昏癲癩、健忘耳聾等。
28	水芙蓉 (大萍)	<i>Pistia stratiotes</i> L.	天南星科 Araceae	漂浮性	全草能祛風、解毒，治感冒水腫、皮膚搔癢、麻疹不透等。
29	紫萍(*)	<i>Spirodela punctata</i> G. F. W. Meyer	浮萍科 Lemnaceae	漂浮性	全草能發汗、利濕、祛風、清熱、熱渴、煩躁、小便不利、腎臟炎、流鼻血等。
30	蒲黃(*)	<i>Typha orientalis</i> Presl	香蒲科 Typhaceae	挺水性	花粉能止血、化瘀、治吐血、崩漏、外傷出血、痛經、腕腹刺痛、跌打腫痛、血淋澀痛等。

上述植物之排列採《臺灣植物誌(第2版)》之順序。(\*)表示《本草綱目》有收載。

表二、台灣藥用水生植物有三十種水和甲醇萃取物之萃取率(%)

編號	中文名	水抽取物之萃取率 (%)	乙醇抽取物之萃取率(%)
1	蘋 (田字草)(MM)	37.03	11.27
2	水柳 (SW)	14.63	15.44
3	小葉冷水麻(PM)	4.96	10.76
4	假蒟蓄(PP)	45.99	17.31
5	蓮子草(AS)	15.91	12.14
6	芡(EF)	14.44	1.43
7	水豬母乳(RR)	4.24	12.31
8	水線草(HC)	21.19	10.66
9	海茄苳根(AM-R)	17.84	24.37
	海茄苳葉(AM-L)	5.47	5.83
10	石莧(PN)	7.86	9.18
11	泥花草(LA)	63.33	34.03
12	大安水蓑衣(HP)	12.84	6.41
13	澤瀉	43.33	14.84
14	水蘊草(ED)	20.77	3.42
15	布袋蓮(EC)	14.35	13.05
16	燈心草(JE)	13.04	11.34
17	鴨跖草	11.76	14.21
18	大葉穀精草(ES)	12.45	2.53
19	輪繖莎草	11.24	26.76
20	異花莎草	23.22	17.84
21	覆瓦狀莎草	36.33	9.79
22	碎米莎草(CI)	11.07	7.62
23	水虱草(FL)	10.52	3.92
24	短葉水蜈蚣(KB)	12.18	4.4
25	斷節莎(TO)	39.83	12.76
26	稗(EC)	6.77	6.39
27	石菖蒲(AG)	12.96	8.37
28	水芙蓉 (大萍) (PS)	70.18	21.58
29	紫萍(SP)	13.96	11.42
30	蒲黃(TA)	19.7	0.89

表三、台灣濕地植物藥用植物水萃取物之總抗氧化能力測定

植物名稱	TEAC (mM Trolox/mg $\pm$ SD)
水豬母乳(RR)	1753.41 $\pm$ 76.99
燈心草(JE)	971.14 $\pm$ 49.68
碎米莎草(CI)	762.04 $\pm$ 33.80
水柳(SW)	657.57 $\pm$ 18.37
短葉水蜈蚣(KB)	462.67 $\pm$ 9.49
稗(EC)	448.98 $\pm$ 6.41
海茄苳(根)(AM-R)	381.85 $\pm$ 13.07
海茄苳(葉)(AM-L)	376.17 $\pm$ 10.42
假蒟蓄(PP)	364.04 $\pm$ 1.07
紫萍(SP)	360.25 $\pm$ 7.70
蒲黃(TB)	344.13 $\pm$ 5.48
泥花草(LA)	320.35 $\pm$ 2.80
水虱草(FL)	311.73 $\pm$ 3.71
水線草(HC)	283.58 $\pm$ 4.45
小葉冷水麻(PM)	165.44 $\pm$ 0.38
石菖蒲(AG)	159.52 $\pm$ 2.57
蓮子草(AS)	156.38 $\pm$ 9.48
異花莎草(CD)	132.00 $\pm$ 4.83
鴨跖草(CC)	113.02 $\pm$ 1.96
覆瓦狀莎草(CI)	112.35 $\pm$ 4.74
布袋蓮(EC)	102.13 $\pm$ 2.66
石菴(PN)	97.04 $\pm$ 1.53
蘋(田字草)(MM)	94.27 $\pm$ 4.82
大葉穀精草(ES)	77.58 $\pm$ 3.57
大安水蓑衣(HP)	69.40 $\pm$ 0.94
輪繖莎草(CA)	47.23 $\pm$ 3.66
水蘊草(EP)	37.10 $\pm$ 2.17
斷節莎(TO)	32.71 $\pm$ 0.71
芡(EF)	14.58 $\pm$ 1.11
澤瀉(AO)	12.33 $\pm$ 3.44
水芙蓉(大萍)(PS)	7.52 $\pm$ 3.64

表四、台灣濕地植物藥用植物甲醇萃取物之總抗氧化能力測定

植物名稱	TEAC (mM Trolox/mg $\pm$ SD)
燈心草(JE)	2074.35 $\pm$ 116.19
水柳(SW)	931.45 $\pm$ 84.14
碎米莎草(CI)	769.41 $\pm$ 53.57
蒲黃(TB)	651.22 $\pm$ 14.95
芡(EF)	350.73 $\pm$ 4.13
短葉水蜈蚣(KB)	342.52 $\pm$ 10.91
泥花草(LA)	311.23 $\pm$ 16.05
小葉冷水麻(PM)	248.17 $\pm$ 34.50
石菖蒲(AG)	225.65 $\pm$ 9.45
大葉穀精草(ES)	222.65 $\pm$ 0.86
斷節莎(TO)	203.67 $\pm$ 52.57
蘋(田字草)(MM)	196.25 $\pm$ 13.50
海茄苳(根)(AM-R)	177.00 $\pm$ 2.13
假蒟蓄(PP)	175.44 $\pm$ 9.47
水豬母乳(RR)	159.90 $\pm$ 15.52
蓮子草(AS)	148.46 $\pm$ 6.64
布袋蓮(EC)	143.33 $\pm$ 6.39
紫萍(SP)	104.17 $\pm$ 5.36
鴨跖草(CC)	96.13 $\pm$ 7.69
水虱草(FL)	87.17 $\pm$ 5.02
石莧(PN)	86.21 $\pm$ 12.58
輪繖莎草(CA)	81.77 $\pm$ 4.10
水線草(HC)	56.73 $\pm$ 7.18
海茄苳(葉)(AM-L)	54.15 $\pm$ 2.11
大安水蓑衣(HP)	43.38 $\pm$ 5.03
稗(EC)	39.56 $\pm$ 20.28
水芙蓉(大萍)(PS)	34.79 $\pm$ 2.63
覆瓦狀莎草(CI)	27.35 $\pm$ 4.81
澤瀉(AO)	19.08 $\pm$ 7.96
異花莎草(CD)	15.33 $\pm$ 16.20
水蘊草(EP)	5.69 $\pm$ 7.58

表五、台灣濕地植物藥用植物水萃取物之DPPH自由基清除作用

植物名稱	水萃取物 EC <sub>50</sub> 值 (µg/mL)
GSH	71.77 ± 2.09
水豬母乳 (RR)	94.89 ± 0.307
水柳 (SW)	112.69 ± 0.28
泥花草 (LA)	189.14 ± 4.55
碎米莎草 (CI)	194.45 ± 0.32
海茄苳葉 (AM-L)	271.71 ± 1.28
假篇蓄 (PP)	301.52 ± 4.62
短葉水蜈蚣 (KB)	379.52 ± 2.52
海茄苳根 (AM-R)	404.19 ± 1.18
紫萍 (SP)	432.20 ± 4.63
燈心草 (JE)	456.88 ± 3.88
蒲黃 (TA)	533.59 ± 4.92
稗 (EC)	548.23 ± 4.62
水線草 (HC)	668.89 ± 8.62
水虱草 (FL)	810.61 ± 6.58
蓮子草 (AS)	844.69 ± 6.42
石菖蒲 (AG)	896.90 ± 7.60
異花莎草 (CD)	1125.67 ± 1.22
蘋 (田字草)(MM)	1400.48 ± 3.2
大安水蓑衣 (HP)	1520.06 ± 5.25
覆瓦狀莎草 (CI)	1882.64 ± 3.92
水芙蓉 (大萍) (PS)	>2,000
斷節莎 (TO)	>2,000
小葉冷水麻 (PM)	>2,000
石菟 (PN)	>2,000
澤瀉 (AO)	>2,000
輪繖莎草 (CA)	>2,000
鴨跖草 (CC)	>2,000
布袋蓮 (EC)	>2,000
水蘊草 (ED)	>2,000
芡 (EF)	>2,000
大葉穀精草 (ES)	>2,000

表六、台灣濕地植物藥用植物甲醇萃取物之DPPH自由基清除作用

植物名稱	甲醇萃取物 EC <sub>50</sub> 值 (µg/mL)
BHT	139.56 ± 2.96
水柳 (SW)	59.58 ± 0.33
燈心草 (JE)	108.95 ± 4.47
泥花草 (LA)	144.61 ± 2.53
碎米莎草 (CI)	167.18 ± 0.64
蒲黃 (TA)	208.01 ± 1.46
覆瓦狀莎草 (CI)	242.55 ± 3.11
芡 (EF)	307.35 ± 1.61
小葉冷水 (PM)	423.14 ± 5.61
異花莎草 (CD)	489.04 ± 3.82
短葉水蜈蚣 (KB)	523.55 ± 0.091
蘋(田字草)(MM)	613.76 ± 1.67
海茄苳根 (AM-R)	713.99 ± 0.24
水豬母乳 (RR)	721.89 ± 3.91
石莧 (PN)	789.26 ± 5.84
蓮子草 (AS)	946.79 ± 8.39
石菖蒲 (AG)	1045.51 ± 0.69
紫萍 (SP)	1094.73 ± 12.61
澤瀉 (AO)	>2,000
大葉穀精草 (ES)	>2,000
大安水蓑衣 (HP)	>2,000
輪繖莎草 (CA)	>2,000
鴨跖草 (CC)	>2,000
布袋蓮 (EC)	>2,000
水蘊草 (ED)	>2,000
假蒟蓄 (PP)	>2,000
水芙蓉(大萍)(PS)	>2,000
斷節莎 (TO)	>2,000
稗 (EC)	>2,000
海茄苳葉 (AM-L)	>2,000
水線草 (HC)	>2,000
水虱草 (FL)	>2,000

表七、台灣濕地植物藥用植物水萃取物之還原力的測定

植物名稱	Reducing power $\Delta 700$ (Mean $\pm$ SD)
GSH (200ug/ml)	1.806 $\pm$ 0.007
水柳(SW)	1.6352 $\pm$ 0.006
水豬母乳 (RR)	1.608 $\pm$ 0.005
泥花草 (LA)	1.604 $\pm$ 0.069
碎米莎草 (CI)	1.563 $\pm$ 0.001
假蒟蓄 (PP)	1.186 $\pm$ 0.027
海茄苳(葉)(AM-L)	1.109 $\pm$ 0.005
海茄苳(根)(AM-R)	1.010 $\pm$ 0.015
短葉水蜈蚣 (KB)	0.743 $\pm$ 0.012
紫萍 (SP)	0.713 $\pm$ 0.005
稗 (EC)	0.625 $\pm$ 0.020
蒲黃 (TB)	0.584 $\pm$ 0.006
燈心草 (JE)	0.555 $\pm$ 0.003
水線草 (HC)	0.552 $\pm$ 0.015
蓮子草 (AS)	0.457 $\pm$ 0.009
水虱草 (FL)	0.404 $\pm$ 0.010
異花莎草 (CD)	0.391 $\pm$ 0.011
石菖蒲 (AG)	0.363 $\pm$ 0.007
石菴 (PN)	0.3349 $\pm$ 0.020
大安水蓑衣 (HP)	0.310 $\pm$ 0.010
蘋(田字草)(MM)	0.273 $\pm$ 0.005
覆瓦狀莎草 (CI)	0.266 $\pm$ 0.017
鴨跖草 (CC)	0.227 $\pm$ 0.004
布袋蓮 (EC)	0.172 $\pm$ 0.012
輪繖莎草 (CA)	0.133 $\pm$ 0.004
大葉穀精草 (ES)	0.094 $\pm$ 0.006
小葉冷水麻 (PM)	0.081 $\pm$ 0.032
斷節莎 (TO)	0.087 $\pm$ 0.002
芡 (EF)	0.068 $\pm$ 0.005
澤瀉 (AO)	0.049 $\pm$ 0.005
水芙蓉(大萍) (PS)	0.020 $\pm$ 0.001
水蘊草 (EP)	0.019 $\pm$ 0.001

表八、台灣濕地植物藥用植物甲醇萃取物之還原力的測定

植物名稱	Reducing power $\Delta 700$ (Mean $\pm$ SD)
BHT(200ug/ml)	0.27 $\pm$ 0.02
水柳(SW)	1.68 $\pm$ 0.00
泥花草(LA)	1.66 $\pm$ 0.01
芡(EF)	0.76 $\pm$ 0.12
蘋(田字草)(MM)	0.69 $\pm$ 0.02
碎米莎草(CI)	0.58 $\pm$ 0.03
異花莎草(CD)	0.51 $\pm$ 0.02
蒲黃(TB)	0.46 $\pm$ 0.02
覆瓦狀莎草(CI)	0.41 $\pm$ 0.03
鴨跖草(CC)	0.40 $\pm$ 0.01
石菖(PN)	0.36 $\pm$ 0.03
假篇蓄(PP)	0.36 $\pm$ 0.02
海茄苳(根)(AM-R)	0.36 $\pm$ 0.02
大葉穀精草(ES)	0.32 $\pm$ 0.01
短葉水蜈蚣(KB)	0.29 $\pm$ 0.08
小葉冷水麻(PM)	0.29 $\pm$ 0.018
斷節莎(TO)	0.27 $\pm$ 0.05
布袋蓮(EC)	0.26 $\pm$ 0.01
燈心草(JE)	0.26 $\pm$ 0.05
水豬母乳(RR)	0.25 $\pm$ 0.01
蓮子草(AS)	0.19 $\pm$ 0.02
輪繖莎草(CA)	0.17 $\pm$ 0.01
澤瀉(AO)	0.15 $\pm$ 0.02
紫萍(SP)	0.10 $\pm$ 0.04
大安水蓑衣(HP)	0.09 $\pm$ 0.02
水線草(HC)	0.06 $\pm$ 0.00
海茄苳(葉)(AM-L)	0.06 $\pm$ 0.01
水芙蓉(大萍)(PS)	0.04 $\pm$ 0.01
水蘊草(EP)	0.04 $\pm$ 0.01
石菖蒲(AG)	0.04 $\pm$ 0.01
稗(EC)	0.03 $\pm$ 0.01
水虱草(FL)	0.01 $\pm$ 0.01



表九、台灣濕地植物藥用植物水萃取物之多酚類、異黃酮和黃酮醇含量表

植物名稱	*總多酚類 mg CE/g	**異黃酮類 mg RE/g	*黃酮醇類 mg CE/g
水豬母乳(RR)	*565.92 ± 4.45	**46.24 ± 0.39	*4.50 ± 0.27
泥花草(LA)	*389.25 ± 19.12	**22.68 ± 0.57	*2.23 ± 0.02
碎米莎草(CI)	*385.67 ± 5.62	**29.73 ± 0.51	*14.05 ± 0.88
水柳(SW)	*302.89 ± 21.19	**34.20 ± 1.36	*5.54 ± 0.18
蒲黃(TA)	*230.50 ± 1.41	**53.92 ± 5.44	*2.89 ± 0.01
短葉水蜈蚣(KB)	*215.92 ± 1.23	**9.54 ± 0.44	*1.69 ± 0.01
水線草(HC)	*157.50 ± 7.53	**17.04 ± 0.67	*0.71 ± 0.01
蓮子草(AS)	*137.67 ± 3.81	**26.44 ± 0.53	*1.56 ± 9.11
石菖(PN)	*137.04 ± 4.13	**16.76 ± 0.10	*1.61 ± 0.01
海茄苳葉(AM-L)	*109.25 ± 1.67	**27.55 ± 0.24	*0.34 ± 0.02
稗(EC)	*108.33 ± 9.26	**14.88 ± 1.33	*2.93 ± 1.98
蘋(田字草)(MM)	*102.41 ± 6.93	**12.42 ± 0.61	*3.97 ± 0.15
海茄苳根(AM-R)	*102.1 ± 7.55	**7.78 ± 0.07	*0.42 ± 0.01
石菖蒲(AG)	*91.50 ± 1.25	**13.81 ± 4.93	*2.06 ± 0.14
布袋蓮(EC)	*90.12 ± 7.26	**9.97 ± 0.23	*1.14 ± 0.00
大葉穀精草(ES)	*88.62 ± 0.91	**9.57 ± 0.25	*1.25 ± 0.02
水虱草(FL)	*87.50 ± 20.02	**14.16 ± 0.36	*3.13 ± 0.08
小葉冷水麻(PM)	*81.67 ± 3.59	**10.00 ± 0.40	*0.05 ± 0.00
大安水蓑衣(HP)	*81.25 ± 9.11	**7.86 ± 0.08	*1.22 ± 0.01
紫萍(SP)	*67.67 ± 11.58	**21.37 ± 1.27	*0.81 ± 0.02
假篇蓄(PP)	*64.10 ± 10.48	**17.22 ± 0.25	*13.47 ± 1.22
斷節莎(TO)	*43.91 ± 0.55	**3.11 ± 0.04	*2.39 ± 0.04
燈心草(JE)	*37.33 ± 10.37	**8.79 ± 2.88	*0.38 ± 0.01
異花莎草(CD)	*37.66 ± 10.16	**5.51 ± 0.53	*0.85 ± 0.05
覆瓦狀莎草(CI)	*30.73 ± 7.01	**0.39 ± 0.37	*0.74 ± 0.08
芡(EF)	*28.16 ± 0.49	**3.28 ± 0.21	*1.93 ± 0.02
鴨跖草(CC)	*25.89 ± 5.76	**5.72 ± 0.20	*0.21 ± 0.04
水蘊草(ED)	*24.66 ± 0.10	**5.85 ± 0.09	*1.05 ± 0.00
輪繖莎草(CA)	*19.95 ± 0.93	**4.63 ± 0.05	*0.56 ± 0.12
水芙蓉(大萍)(PS)	*17.91 ± 0.10	**3.33 ± 0.04	*0.85 ± 0.00
澤瀉(AO)	*8.47 ± 1.81	**3.71 ± 0.05	*0.38 ± 0.11

\*mg CE/g =mg catechin equivalent/g drug weight

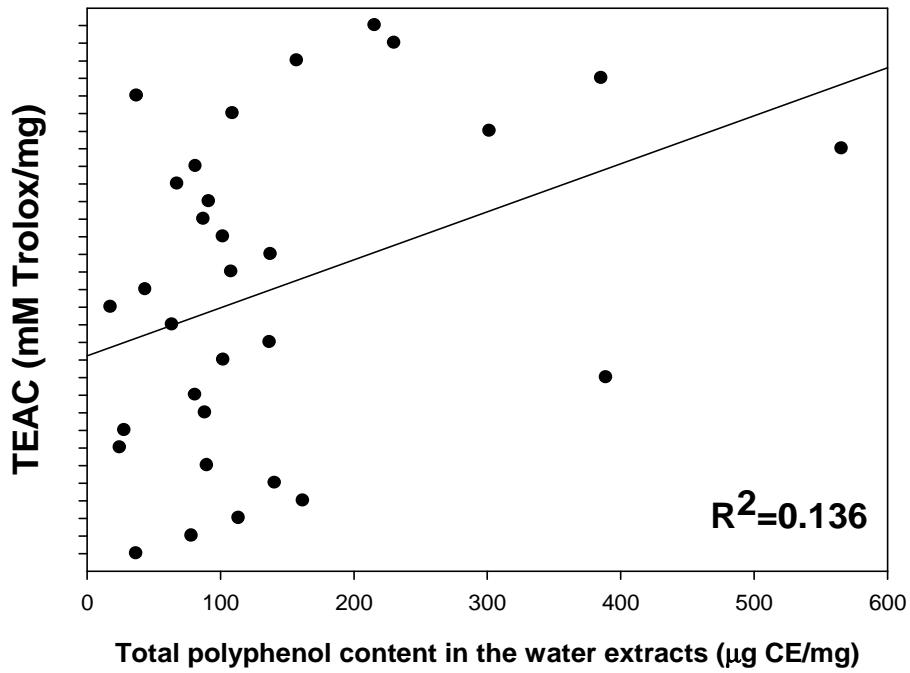
\*\* mg RE/g =mg catechin equivalent/g drug weight

表十、台灣濕地植物藥用植物甲醇萃取物之多酚類、異黃酮和黃酮醇含量表

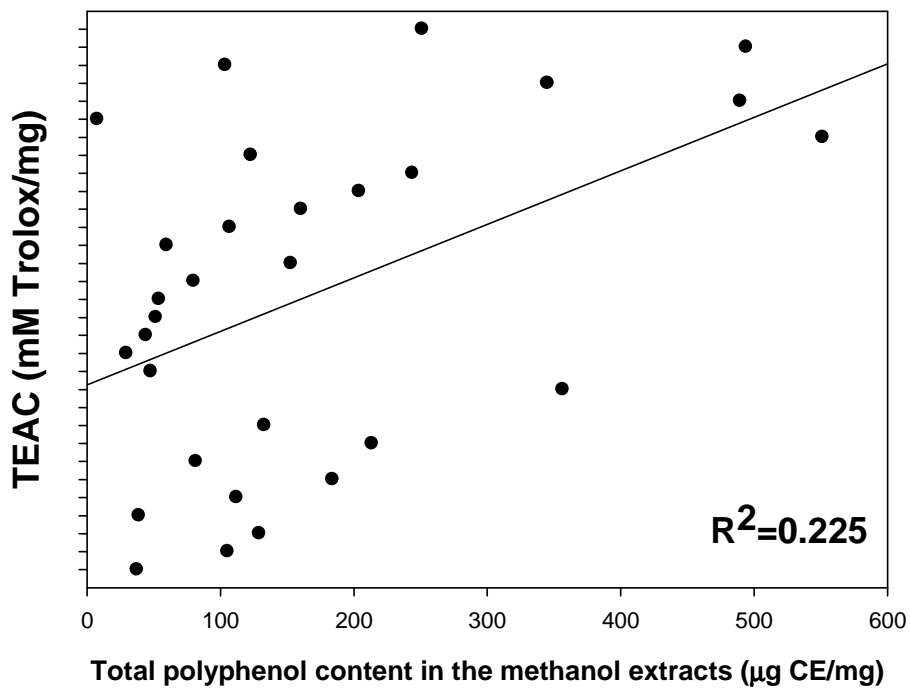
植物名稱	*總多酚類 mg CE/g	**異黃酮類 mg RE/g	*黃酮醇類 mg CE/g
水柳 (SW)	*551.50 ± 17.57	***70.34 ± 2.43	*6.62 ± 0.31
蒲黃 (TA)	*494.17 ± 10.13	***71.89 ± 0.42	*7.04 ± 0.10
燈心草 (JE)	*489.75 ± 53.28	***30.16 ± 5.07	*1.60 ± 0.05
泥花草 (LA)	*356.70 ± 17.32	**35.21 ± 2.42	*2.12 ± 0.01
碎米莎草 (CI)	*345.25 ± 9.81	***46.88 ± 0.474	*13.41 ± 0.87
短葉水蜈蚣 (KB)	*251.25 ± 1.90	***41.86 ± 2.19	*3.85 ± 0.26
小葉冷水麻 (PM)	*244.08 ± 14.43	***14.78 ± 3.38	*5.98 ± 0.78
芡 (EF)	*213.58 ± 7.29	**16.70 ± 2.31	*3.43 ± 0.01
紫萍 (SP)	*204.00 ± 4.39	***20.84 ± 1.53	*3.77 ± 0.29
布袋蓮 (EC)	*184 ± 19.12	**25.60 ± 6.30	*3.08 ± 0.06
石菖蒲 (AG)	*160.58 ± 61.15	**19.98 ± 31.55	*1.38 ± 0.01
蓮子草 (AS)	*152.83 ± 11.30	***24.07 ± 18.78	*3.79 ± 0.38
大葉穀精草 (ES)	*133.02 ± 5.12	**74.55 ± 1.50	*6.15 ± 0.86
鴨跖草 (CC)	*129.16 ± 4.99	**21.21 ± 0.24	*1.36 ± 0.0084
水豬母乳 (RR)	*122.92 ± 3.67	***28.14 ± 5.48	*2.43 ± 0.33
覆瓦狀莎草 (CI)	*112.07 ± 10.79	**26.11 ± 9.91	*14.36 ± 1.28
水虱草 (FL)	*107.08 ± 4.12	***19.16 ± 5.42	*2.00 ± 0.37
輪繖莎草 (CA)	*105.58 ± 13.19	**20.51 ± 3.02	*3.84 ± 0.05
水線草 (HC)	*103.67 ± 1.46	***26.02 ± 6.49	*2.57 ± 0.16
水蘊草 (ED)	*81.79 ± 18.52	**12.5.11 ± 5.41	*2.95 ± 0.0053
稗 (EC)	*80.08 ± 8.80	***24.21 ± 10.61	*2.00 ± 0.38
海茄苳根 (AM-R)	*59.76 ± 3.27	***42.08 ± 1.22	*0.46 ± 0.01
斷節莎 (TO)	*54.06 ± 11.80	**12.27 ± 2.27	*3.33 ± 1.56
大萍(水芙蓉) (PS)	*51.79 ± 1.12	**20.22 ± 2.58	*4.97 ± 0.12
蘋 (田字草) (MM)	*47.81 ± 9.58	**12.05 ± 3.84	*1.45 ± 0.08
假篇蓄 (PP)	*44.32 ± 11.38	**72.174 ± 3.33	*2.819 ± 0.39
異花莎草 (CD)	*39.01 ± 6.05	**15.31 ± 0.68	*2.29 ± 0.02
澤瀉 (AO)	*37.45 ± 0.28	**6.25 ± 1.93	*0.94 ± 0.0093
石菖 (PN)	*29.53 ± 4.71	**11.10 ± 1.86	*2.68 ± 0.10
大安水蓑衣 (HP)	*18.053 ± 8.56	**1.19 ± 0.53	*2.54 ± 1.34
海茄苳葉 (AM-L)	*7.69 ± 24.50	***18.34 ± 24.74	*1.49 ± 0.16

\*mg CE/g =mg catechin equivalent/g drug weight

\*\* mg RE/g =mg catechin equivalent/g drug weight



圖一、台灣濕地植物藥用植物水萃取物之總多酚類和 TEAC 總抗氧化能力之相關係數



圖二、台灣濕地植物藥用植物甲醇萃取物之總多酚類和 TEAC 總抗氧化能力之相關係數分析

## 子計畫二：中草藥資源永續使用之探討 研究-誘導枇杷癒傷組織之活性成分研究

吳金濱  
中國醫藥大學

### 摘 要

#### 研究目的：

枇杷為薔薇科植物 *Eriobotrya japonica* Lindl.，常用於止咳，清肺和降氣化痰。其所含的主要成分有揮發油、三萜酸類、黃酮類、多酚類等。藥理作用指出三萜酸類成分具有良好的抗炎止咳、降血脂、降血糖、抗病毒和抗腫瘤等活性。但是由天然抽取含量不高。因此本研究利用組織培養方法評估癒傷組織的誘導生產三萜酸類之可行性。

#### 研究方法：

經由無菌苗誘導產生癒傷分別接種於接種於不同培養條件下。所獲得之細胞以溶媒萃取出後，利用高效液相層析方法分析細胞所含五種三萜酸化合物。

#### 結果與討論：

將枇杷葉的種子經發芽後，接種於的 MSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基下可以誘導出淡黃色之癒傷組織。接著利用此癒傷組織分別再接種於不同培養條件下。結果顯示，以葉子誘導的癒傷組織接種於的 MS 或 LS BA 2.5 mg/L+NAA1mg/L 培養基下在暗培養的條件下培養 30 天生長的速度最快且細胞乾重最重。且添加蛋白水解物，酵母抽出物也是有助於生長與二次代謝產物之累積。在目前培養的條件得知癒傷組織的成分含量顯高於栽種含量的 8.21 倍，且生長時間只需要 30 天。

關鍵詞：三萜酸、枇杷、組織培養

Number: CCMP97-RD-001

# The Research for Traditional Herbal Resource Sustainable Utilization-The Active Ingredients Study in Calli Induced from Loquat

Jin bin Wu

China Medical University

## ABSTRACT

### **Aim:**

The origin of Loquat was *Eriobotrya japonica* Lindl. and it was usually applied to relieve a cough and treated as a expectorant for lung. The major components were included volatile oils, triterpenes, flavonoids, polyphenols and etc. According to pharmacologic reported that triterpenes could provide with several efficacy on anti-inflammation, relieve a cough, hypolipidemic, hypoglycemic, anti-virus, anticancer and so on; however, the extract yield from crude plant was very little. In the study, we elevated the utilization of the plant tissue culture method to induce callus to produce triterpenes.

### **Method:**

We took the sterile cultured plant to induce the callus and then inoculated in various medium. In the period of time, determining the ratio and content of five triterpene compound in the extract from the callus cultured in different condition by high performance liquid chromatography (HPLC).

### **Results & Discussion:**

In the beginning, planted the seed of loquat on the BA2.5mg/L+NAA1mg/L MS medium with the sterile condition, and then obtained lemon yellow callus. The following were to utilize the induced calli transplanted to a variety of cultured condition. The result revealed that the primary induced callus inoculated darkly in BA 2.5 mg/L+NAA1mg/L MS or LS medium for 30 days would growth fast and get the most mass in dry weight. Besides, the addition of protein hydrolyte and yeast extract were both better for growth and the accumulation of secondary metabolite. The yield of experimental condition had exhibited the content from callus striped cultured for 30 days was 8.21 times than the original plant wild cultured.

Keywords: Triterpenes, Loquat, Tissue culture

## 壹、前言

本計畫以開發本土藥用植物資源為目的，特別是枇杷為台灣中部太平市的特產作物，因此本研究利用本土藥用植物資源，在中草藥資源永續使用之研究上利用組織培養快速取得原植物體有效成分為研究目標。枇杷為薔薇科植物 *Eriobotrya japonica* Lindl. 的乾燥葉，常用於止咳，清肺和降氣化痰。其所含的主要成分有揮發油、三萜酸類、倍半萜類、黃酮類、多酚類、有機酸類等等。藥理作用指出三萜酸類成分(Tormentic acid, Maslinic acid, Corosolic acid, Oleanolic acid and Ursolic acid)具有良好的抗炎止咳<sup>(1-7)</sup>、降血脂、降血糖<sup>(8-12)</sup>、抗病毒和抗腫瘤等活性<sup>(13-14)</sup>。但是由天然抽取含量不高，且容易受生長地區及季節變化影響其成分。此外在萃取有效成分的步驟中，又受到大量葉綠素的干擾不易排除<sup>(14)</sup>。因此若能利用組織培養獲得癒傷組織大量生產二次代謝產物，就能比自然植株生長快速且不受氣候之影響<sup>(15-17)</sup>，也能大量減少萃取有效成分時所耗費大量的溶劑與時間。為利用枇杷資源作為三萜酸類成分的發酵培養以及工業生產和各種藥理活性利用上提供產業上的價值。

## 貳、材料與方法

### 材料

台中縣頭汴坑枇杷果園成熟枇杷種子

### 試藥

滅菌水/1%次氯酸鈉/酸鹼調整液 HCl(1N) /NaOH (1N)/培養基：

MS (Murashige-Skoog medium), LS (Linsmaier – Skoog medium), White, B5 (Gamborg's B5 medium), N6 medium, SNN medium

植物生長調節劑：NAA( $\alpha$ -naphthaleneacetic acid)、2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid)、BA (6-benzyladenine)、K(kinetin)水晶洋菜/二次水/ HPLC 級的甲醇/酒精/冰醋酸

### 儀器

蒸餾水製造器/電子天平/超音波振盪器/無菌操作台/殺菌斧/pH 檢測儀/高效液相層析儀/恆溫水浴鍋/離心濃縮機/烘箱/-4°C 冰箱

### 方法

#### 一、癒傷組織誘導與培養方法：

##### (一)無菌苗建立：

採集自台中縣頭汴坑枇杷果園成熟種子，置於水龍頭下以流水沖洗30分鐘後取出，以70%酒精浸泡1分鐘，再浸泡於含0.01% Tween 20的1%次氯酸鈉溶液，在超音波震盪器中表面消毒15分鐘後，移入無菌操作台，以滅菌水清洗3~4次，將種子培養於添加30g/L 蔗糖之MS培養基，2~3週後種子開始發芽，以發芽後2個月大試管種子苗之葉片，莖，根作為試驗材料。

##### (二)癒傷組織誘導方法：

將種子苗之葉片，莖，根切成0.3公分大小後，分別移入以MS基本配方含2.5 ppm BA與1 ppmNAA添加3%蔗糖及0.3% gelrite之固態培養基，經過一各月後由傷口處長出白色的癒傷組織。

##### (三)癒傷組織培養方法

1. 培養基的配製：以 MS 等無機鹽類及有機成分為基本配方，添加3%蔗糖及0.3% gelrite，NAA、2,4-D、BA、kinetin 各類植物生長調節劑，用 1N NaOH(aq)及 HCl(aq)將 pH 值調至  $5.70 \pm 0.01$ ，然後以  $121^\circ\text{C}$  進行高壓滅菌 15 分鐘後即可。
2. 培養環境：接種後，將材料置於  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  之恆溫、黑暗下培養。
3. 接種方法：以三角瓶為培養容器，內含 100 ml 培養基，每各三

角瓶接種 1.5 公克癒傷組織，經 30 天培養後進行萃取與分析。(每個試驗都重複 10 次)

4. 評估癒傷組織生長和成分變化在不同植物生長調節劑，培養基種類，培養環境，不同植物生長調節劑，碳源濃度，水解酪蛋白物，酵母抽出物等條件下之變化。

二、HPLC 分析定量癒傷組織中 Tormentic acid, Maslinic acid, Corsolic acid, Oleanolic acid 及 Ursolic acid 等指標含量。

(一) 高效液相層析儀(HPLC)之分析條件

層析管：HyPURITY C-18 column (5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250mm)

移動相：A, Methanol; B, 0.15% acetic acid aqueous; A: B=85:15, v/v

流速：0.5 mL/min

檢測器：折射檢測器

(二) 檢量線

1. 配製標準品

分別秤取純化的五種三萜酸化合物(Tormentic acid, Maslinic acid, Corsolic acid, Oleanolic acid 及 Ursolic acid)精稱 1mg 作為標準品，溶於甲醇，配成 1ml 標準品母液(1000ppm)，再分別稀釋成 750ppm、500ppm、250、150ppm。

2. 五種指標成分之各種濃度其檢量液經 HPLC 分析後，所得之 area 數據(重複三次分析之平均值)進行直線回歸，繪成檢量線並得回歸直線之方程式。

3. 癒傷組織之萃取製備

精稱癒傷組織 1g，研碎，加入 20ml 乙醇加熱抽 70 $^{\circ}$ C 共回流 6 小時(三次)，濃縮三次萃取得抽出物(mg)。



## 參、結果

- 一、五種三萜酸類化合物指標成分 HPLC 如圖 1 所示，可以在移動相：甲醇：0.15% 酸水溶液= 85：15，流速：每分鐘 0.5 毫升。檢測器為折射檢測器(RI)，層析管柱：HyPURITY C-18 column (5  $\mu$  m, 4.6  $\times$ 250mm) 之條件下將五種成分同時作分析。另一方面，收集台灣不同產區活性成分含量其結果如表 1 顯示，台灣本產之枇杷葉在不同地區所含的各成分含量皆有所不同。以桃園產之枇杷葉(TA=0.57%，MA =0.15%，CA=0.28%，OA=0.1%，UA=0.47%)最接近市場品(TA=0.52%，MA=0.13%，CA=0.24%，OA=0.1%，UA=0.45%)所含三萜酸類化合物的含量。
- 二、將經表面消毒過的枇杷種子分別接種於MS培養基中，發芽後2個月大試管種子苗之葉片，莖，根進行癒傷組織之誘導，如圖2所示。根，莖，葉在MS培養基中添加BA 2.5mg/L與NAA1mg/L，皆可以於傷口處誘導淡黃色癒傷組織。
- 三、將鮮重約 1.5g 不同部位誘導之癒傷組織分別接種於 MS BA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中，經暗培養 30 天後葉，莖，根癒傷組織之誘導，如圖 3 所示細胞生長相當快速。檢測其細胞乾重與有效成分變化，結果如圖 4 所示以葉誘導來的細胞乾重最重(乾重=1.28g)與有效成分最高(總五種三萜酸類化合物=144mg/g)。其次為莖(115mg/g)大於根(82mg/g)。因此選擇葉部癒傷組織作為下一階段的實驗材料。
- 四、葉部的癒傷組織分別接種於 MSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中於暗培養與亮培養環境，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 5 所示：暗培養之細胞生長(乾重=1.28g)與有效成分含量有 2 倍以上的增加量。而在照光的條件下(乾重=0.51g；總五種三萜酸類化合物 98 mg/g)是不利於細胞的生長與有效成分累積。
- 五、葉部癒傷組織分別接種於 MSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中，觀察其生長曲線和有效成分變化如圖 6 所示，結果得知：0-9 天為細胞生長誘導期，9-24 天為細胞對數生長期，24-42 天進入定常期。最佳的成分收穫的時間為 30 天，最適當繼代培養細胞時間為 20 天。
- 六、葉部癒傷組織在 MSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中添加不同蔗糖濃度下，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 7 所示：隨著添加蔗糖濃度越高生長與增加萃取重量也隨之增加(蔗糖濃度=10g/L，乾重=0.4 g，萃取重量=0.1 g；蔗糖濃度=20g/L，乾重=0.8g，萃取重量=0.2 g；蔗糖濃度=30 g/L，乾重=1.3 g，萃取重量=0.6 g；蔗糖

濃度=40g/L，乾重=1.2g，萃取重量=0.5g；蔗糖濃度=50g/L，乾重=1.6g，萃取重量=0.8g)是有助於生長與增加萃取重量，但是以最佳的有效成分累積還是選擇 30g/L 最適宜。

七、葉部癒傷組織在不同培養基種類下添加 BA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 8 所示：MS 培養基與 LS 培養基中有助於癒傷組織且細胞重量最重(MS 培養基乾重=1.28 g；LS 培養基乾重=1.22 g)，而 MS 培養基與 White 培養基在成分的含量的較高於其他培養基(MS 培養基總五種三萜酸類化合物 144.9mg/g；White 培養基總五種三萜酸類化合物 122.0mg/g)。

八、葉部癒傷組織在 LS 培養基中添加不同植物生長調節劑濃度下，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 9~圖 12 所示：

(一)在含有 2.5mg/L BA 的濃度配合不同濃度的 NAA，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化結果如圖 9 所示：癒傷組織在 NAA 濃度為 1mg/L 時生長重量最佳(乾重=1.22 g)。在 NAA 濃度為 2.5 mg/L 時成分的含量有最高含量累積(乾重=1.07 g；總五種三萜酸類化合物 113.7 mg/g)。

(二)在含有 2.5mg/L BA 的濃度配合不同濃度的 2,4-D，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化結果如圖 10 所示：癒傷組織在有 2,4-D 時生長狀況差(乾重=0.28g 到 0.57g 之間)。但是成分的含量上，隨著 2,4-D 濃度增加總三萜酸含量增加，其中又以 corosolic acid (CA)的累積量隨 2,4-D 濃度增加而增加(2,4-D 濃度=0.5 mg/L，CA= 15.5 mg/g；2,4-D 濃度=1 mg/L，CA= 25.7 mg/g；2,4-D 濃度=2.5 mg/L，CA= 26.8 mg/g；2,4-D 濃度=5 mg/L，CA= 38.3mg/g；2,4-D 濃度=10 mg/L，CA= 41.3 mg/g)。

(三)在含有 2.5mg/L K 的濃度配合不同濃度的 NAA，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化結果如圖 11 所示：癒傷組織在 NAA 濃度為 0.5 mg/L 時生長重量最佳(乾重=1.41g)。在 NAA 濃度為 1mg/L 時成分的含量有最高含量累積(乾重=0.87g；總五種三萜酸類化合物 75.9 mg/g)。

(四)在含有 2.5mg/L K 的濃度配合不同濃度的 2,4-D，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化結果如圖 12 所示：癒傷組織在有 2,4-D 時生長狀況差(乾重=0.45g 到 0.76g 之間)。但是成分的含量上，隨著 2,4-D 濃度增加總三萜酸含量增加，其中又以 corosolic acid (CA)的累積量最高(CA=32.9mg/g 到 49.1mg/g 之間)。

- 九、葉部癒傷組織在 LSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中添加不同水解酪蛋白濃度下，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 13 所示：少量水解酪蛋白是有助於生長重量，但是濃度越高時反而抑制細胞的生長。在有效成分累積方面，添加了加水解酪蛋白會增加有效成分的含量。因此選擇在培養基中加入水解酪蛋白濃度=1g/L 是最適宜(乾重=1.43 g；總五種三萜酸類化合物 141.5 mg/g)。
- 十、葉部癒傷組織在 LSBA2.5mg/L+NAA1mg/L 培養基中添加不同酵母抽出物濃度下，經暗培養 30 天後檢測其乾重與有效成分變化，結果如圖 14 所示：少量添加酵母抽出物是有助於生長重量，但是濃度越高時反而抑制細胞的生長。在有效成分累積方面，添加了加酵母抽出物會增加有效成分的含量。因此選擇在培養基中加入酵母抽出物濃度=1g/L 是最適宜(乾重=1.34g；總五種三萜酸類化合物 103.5 mg/g)。

## 肆、討論

枇杷為薔薇科植物 *Eriobotrya japonica* Lindl. 的乾燥葉,常用於止咳清肺和降氣化痰。其所含的主要成分有揮發油、三萜酸類、倍半萜類、黃酮類、多酚類、有機酸類等等。藥理作用指出三萜酸類成分(Tormentic acid, Maslinic acid, Corosolic acid, Oleanolic acid and Ursolic acid)具有良好的抗炎止咳、降血脂、降血糖、抗病毒和抗腫瘤等活性。經由本次研究,收集台灣不同產區(包含:花蓮/桃園/苗栗/台中/南投/彰化/台東/市場品)的枇杷葉利用高效液相層析法分析所含三萜酸的含量,結果顯示由天然採收的含量不高(總三萜酸含量約 8mg/g 到 16 mg/g 之間)且容易受生長地區及季節變化影響其成分。此外在萃取有效成分的步驟中,又受到大量葉綠素的干擾不易排除。因此若能利用組織培養的技術獲得癒傷組織大量生產二次代謝產物,將有機會生產三萜酸類成分。

經由收集到的枇杷種子消毒滅菌後由根莖葉成功誘導枇杷的癒傷組織後,利用此細胞接種於不同植物生長調節劑,培養基種類,培養環境,不同植物生長調節劑,碳源濃度,水解酪蛋白,酵母抽出物等條件下評估癒傷組織生長和成分變化。在枇杷細胞生長速度方面:以含有高鹽類的培養基 MS 或是 LS 的培養基時細胞生長速度最快。而植物生長調節劑為影響癒傷組織生長之重要因素之一。一般常以 Cytokinin (K, BA)與 anxin (NAA, 2, 4-D)配合使用。結果顯示以含有 BA 配合 NAA 的生長比添加 K 或是 2, 4-D 植物生長調節劑對細胞生長較佳。此外在暗培養環境下,添加水解酪蛋白與酵母抽出物是最常加入癒傷組織生長培養基中氨基酸的來源,具有促進細胞分裂之功能。在本實驗中少量添加這兩種養分也有助於細胞生長。不同蔗糖濃度方面,糖是培養基中含量最多的有機物質,主要提供植物生長所需碳源及調節滲透壓結果發現,當隨著蔗糖濃度增加時癒傷組織生長的重量增加,碳源不夠時癒傷組織生長不良。

在二次代謝產物的含量方面:在枇杷不同部位皆可以成功誘導之癒傷組織,但是以有效成分來比較時以葉部誘導的癒傷組織最適合有效成分的累積。而從生長曲線來看成分的累積主要是在 24-30 天之間可觀察到成分快速的累積。所以以 30 天為一個最適合採收有效成分的時間。在植物生長調節劑方面在含有 2, 4-D 培養基,特別以 corosolic acid 的成分累積最佳。而以 NAA 培養基,特別以 tormentic acid 與 corosolic acid 的成分累積最佳。原植物的含量比例以 tormentic, corosolic acid 與 ursolic acid 的成分累積最多。五種三萜酸的含量比例,隨著不同的培養條件個別累積的含量也不相

同。假如需要其中某一項成分時，就可以利用不同培養條件來生產所指定的成分；此外五種酸的結構相近，但是結構之間沒有相互影響。反而在分子量小的 oleanolic 與 ursolic acid 的培養時間月久對於的成分累積是比較有利的。暗培養條件下添加適當濃度比例的水解酪蛋白與酵母抽出物也有助於含量累積。蔗糖濃度方面，隨著蔗糖濃度增加細胞生長重量增加但是含量累積並沒有隨著增加。由上述結果可以知道二次產物的增加與細胞培養條件息息相關，想要獲得大量的有效成分就必須先了解癒傷組織對於這些培養基與營養物質的提供，培養的環境與成分表現的時間點等等相關影響因素。在這樣的基礎條件下作為下一步進行懸浮培養時調控生長細胞與有效成分的重要指標。

## 伍、結論與建議

目前建立之固態培養方法所得到的細胞成分含量，遠高於由各種不同地區栽種的含量。結果顯示經由台灣本產枇杷種子誘導出的癒傷組織所生產五種三萜酸的產率，在目前培養的條件得知癒傷組織的成分含量（總三萜酸含量約 100 mg/g 到 150 mg/g 之間）明顯高於栽種含量的 8 倍以上，且生長時間只需要 30 天。比較栽種之枇杷葉受到不同地區之氣候條件，栽種時間長與栽種方法的不同所含的有效成分的差異性相當大且含量不高；提取有效成分方面需要消耗大量的有機溶劑與能源。此外食品衛生上，由於枇杷是具有經濟價值的水果，因此在栽種時需要噴灑農藥才能確保枇杷水果的採收量及美觀，這樣收集枇杷葉時又會產生與重金屬殘留問題。因此選擇利用組織培養方法生產所需的三萜酸在中草藥資源永續使用之研究發展上是值得開發利用之植物資源。但是固體培養癒傷組織是無法於培養時控制營養液的比例而且培養空間受限導致無法同時大量表現有效成分。因此也希望未來繼續在之前研究枇杷癒傷組織固態培養之最好調控條件的基礎下，進行液態懸浮培養探討獲得大量生產細胞及有效成分的可行性。

## 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CCMP97-RD-001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. 何英姿: 枇杷葉有效成分提取及藥理作用研究進展. *Journal of Guangxi University of Technology* 2007; 8 : 81-84.
2. Yan Huang , Jun Li , Qi Cao , Shi-Chun Yu, Xiong-Wen Lv , Yong Jin , Lei Zhang , Yu-Hong Zou , Jin-Fang Ge: Anti-oxidative effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf in chronic bronchitis rats. *Life Sciences* 2006 ; 78 : 2749–2757.
3. 林玉霖, 林文津, 林力強: 枇杷葉的研究現狀與開發前景. *中藥材* 2006; 29: 1111–1114.
4. (中國) 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會 中華本草 第四卷 上海: 上海科技出版社, 1999: 1401.
5. 江蘇新醫學院編; 中藥大辭典: 上冊, 上海科技出版社, 2000: P1248
6. 王立為, 劉新民, 餘世春: 枇杷葉抗炎和止咳作用研究. *中草藥* 2004; 35: 174–176.
7. 鞠建華, 周亮, 林耕: 枇杷葉中三萜酸類成分及其抗炎、鎮咳活性研究. *中國藥學雜誌* 2003; 38: 752–757.
8. Norihiro BANNO, Toshihiro AKIHISA, Harukuni TOKUDA, Ken YASUKAWA, Yosuke TAGUCHI, Hiroyuki AKAZAWA, Motohiko UKIYA, Yumiko KIMURA, Takashi SUZUKI, and Hoyoku NISHINO: Anti-inflammatory and Antitumor-Promoting Effects of the Triterpene Acids from the Leaves of *Eriobotrya japonica*. *Biol. Pharm. Bull.* 2005 ; 28: 1995–1999.
9. De Tommasi N , De Simone F , Cirino G: Hypoglycemic effect of sesquiterpene glycosides and polyhydroxylated triterpenoids of *Eriobotrya japonica* . *Planta Med.* 1991 ; 57: 414–416.
10. Noreen W , Wadood A , Hidavat H K: Effect of *Eriobotrya japonica* on blood glucose levels of normal and alloxan diabetic rabbits. *Planta Medica.* 1988; 54: 196–199.
11. Somova, L.O., Nadar, A., Rammanan, P., Shode, F.O., 2003. Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. *Phytomedicine.* 10 : 115–121.
12. Toshihiro MIURA, Naoya UEDA, Koutaro YAMADA, Mitsuo FUKUSHIMA, Torao ISHIDA, Tetsuo KANEKO, Futoshi MATSUYAMA,

- and Yutaka SEINO: Antidiabetic: Effects of Corosolic Acid in KK-Ay Diabetic Mice. *Biol. Pharm. Bull.* 2006; 29:585–587.
13. Hideyuki Ito , Eri Kobayshi , Yoshie Takamatsu : Polyphenols from Eriobotrya japonica and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines . *Chem Pharm Bull* 2000 ;48:687–693.
14. Shoko Taniguchi , Yoko Imayoshi , Eri Kohayshi : Production of bioactive triterpenes by Eriobotrya japonica. *Phytochemistry* 2002 ; 59:315–323.
15. 劉謙, 張永清: 利用藥用植物組織培養生產次生代謝產物的研究進展: *Qilu Pharmaceutical Affairs* 2006;25: 350–353.
16. 吳宗賢, 王亞男: 台灣三角楓癒合組織誘導及細胞懸浮培養. *Quarterly Journal of Chinese Forestry* 2003 ; 36: 39–49.
17. 張淑華, 何政坤, 蔡錦瑩: 台灣紅豆杉之細胞培養與紫杉烷類生產. *台灣林業科學* 2004 ; 19: 43–42.

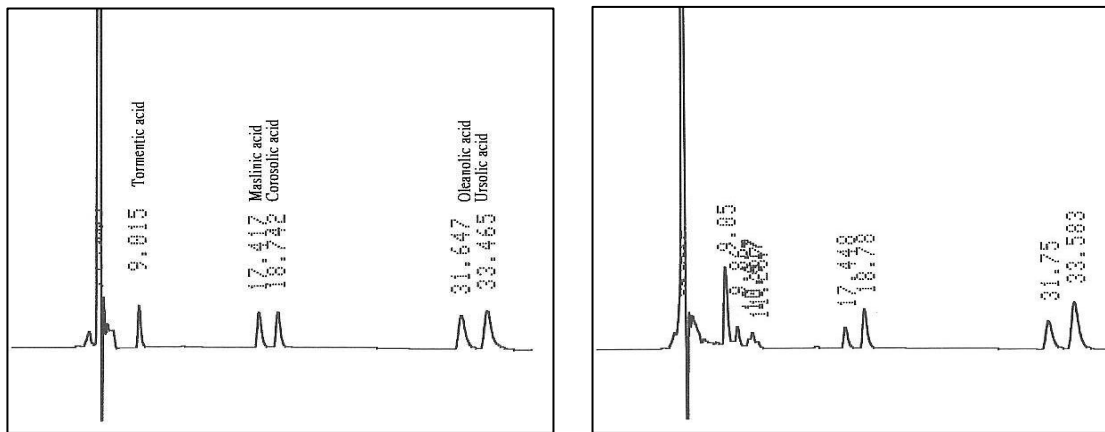


柒、圖、表

表 1、台灣本產之枇杷葉在不同地區所含的各成分含量

代號	地區	含量 (%)				
		tormentic acid	maslinic acid	corosolic acid	oleanolic acid	ursolic acid
001	花蓮	0.37 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.34 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.54 ± 0.01
002	花蓮	0.18 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.18 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.35 ± 0.01
003	桃園	0.57 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.28 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.47 ± 0.03
004	苗栗	0.29 ± 0.02	0.10 ± 0.00	0.13 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.39 ± 0.01
005	台中	0.38 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.26 ± 0.01
006	南投	0.36 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.41 ± 0.01
007	南投	0.33 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.67 ± 0.01
008	彰化	0.23 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.39 ± 0.02
009	台東	0.27 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.06 ± 0.00	0.34 ± 0.01
010	市場品	0.52 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.45 ± 0.01

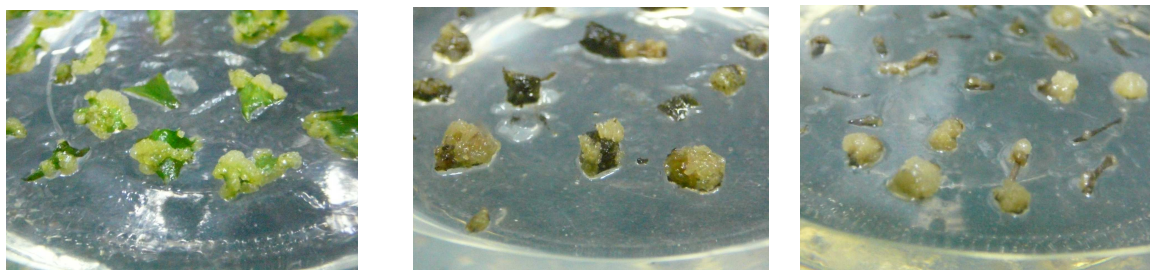
圖 1、枇杷三萜酸類 HPLC 的指紋圖譜



三萜酸標準品

枇杷葉中萜酸

圖 2、葉，莖，根在 MS 培養基中添加 BA 2.5mg/L 與 NAA1mg/L 中誘導淡黃色癒傷組織



葉部誘導癒傷組織

莖部誘導癒傷組織

根部誘導癒傷組織

圖 3、經暗培養 30 天後葉，莖，根癒傷組織生長情形



葉部癒傷組織

莖部癒傷組織

根部癒傷組織

圖 4、不同部位誘導之癒傷組織與成分變化

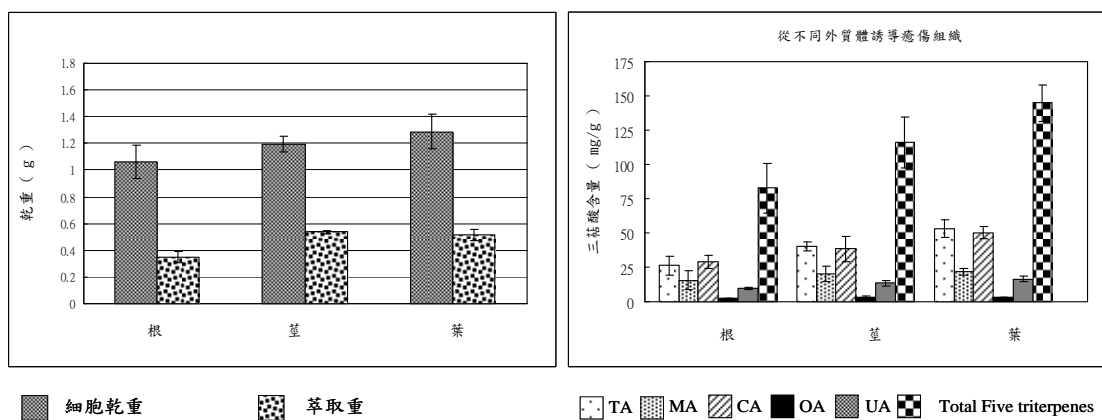


圖 5、暗培養與亮培養環境與成分變化

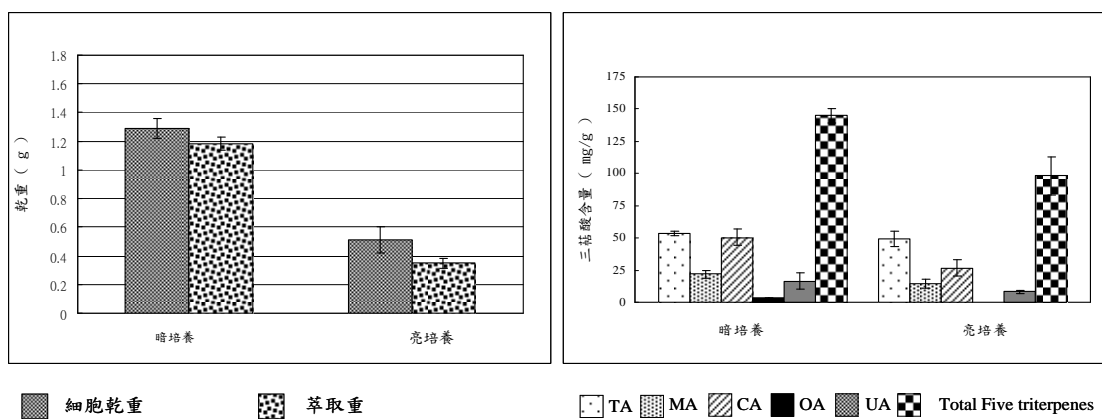


圖 6、葉的生長曲線與成分變化

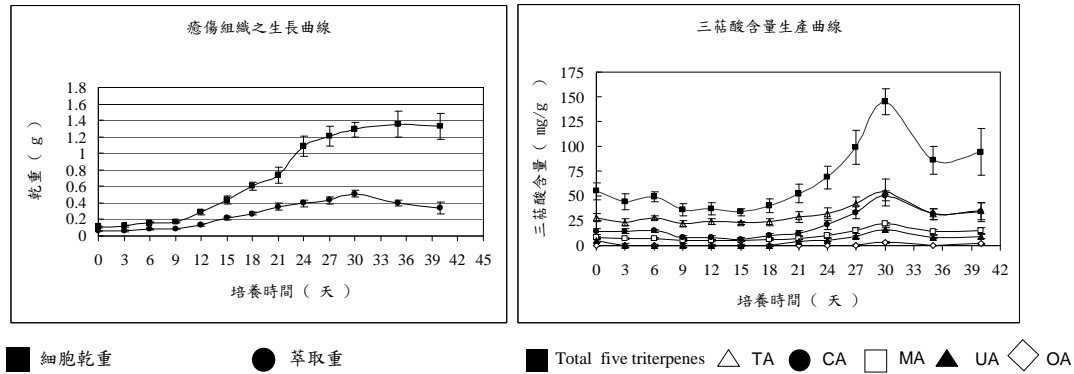


圖 7、不同蔗糖濃度下與成分變化

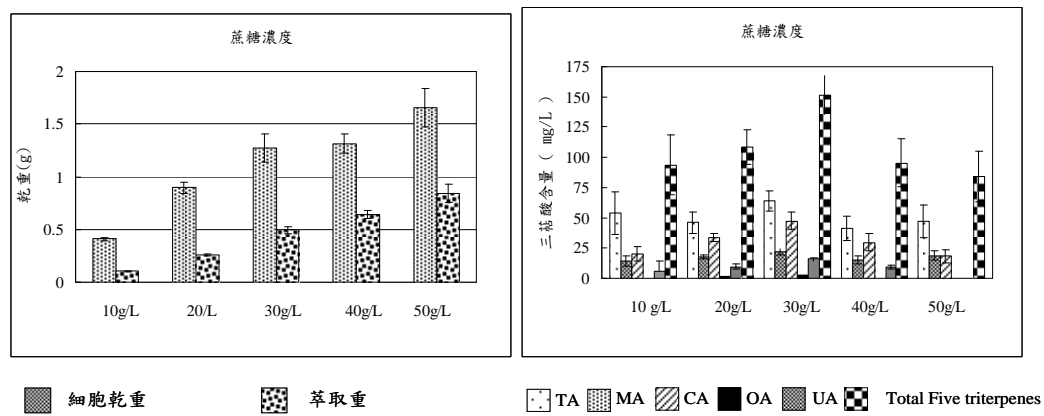


圖 8、不同培養基種類與成分變化

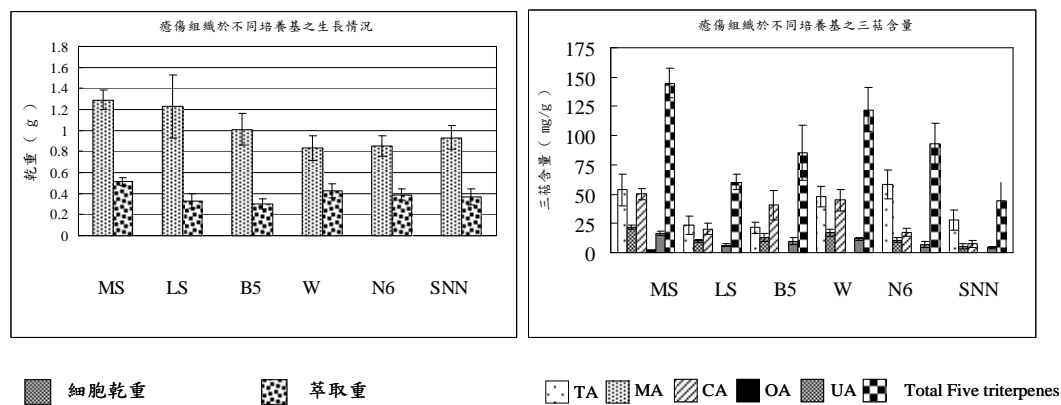


圖 9、含有 2.5mg/L BA 的濃度配合不同濃度的 NAA 與成分變化

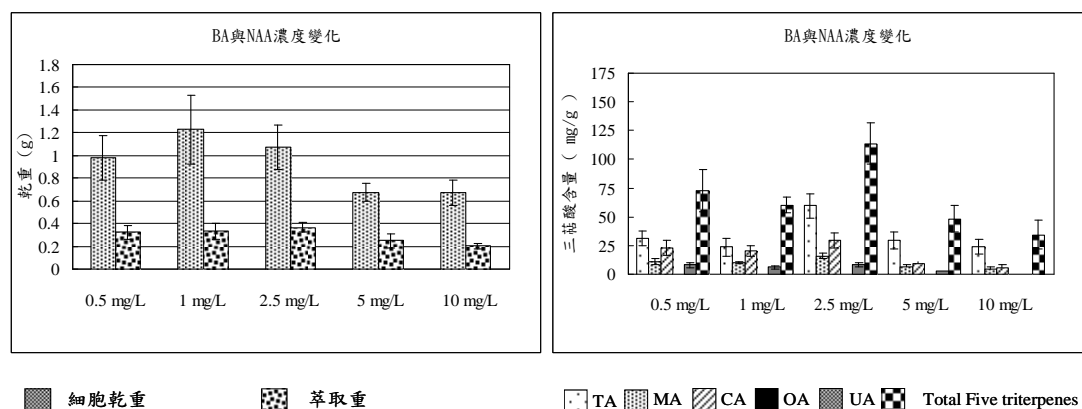


圖 10、含有 2.5mg/L BA 的濃度配合不同濃度的 2,4-D 與成分變化

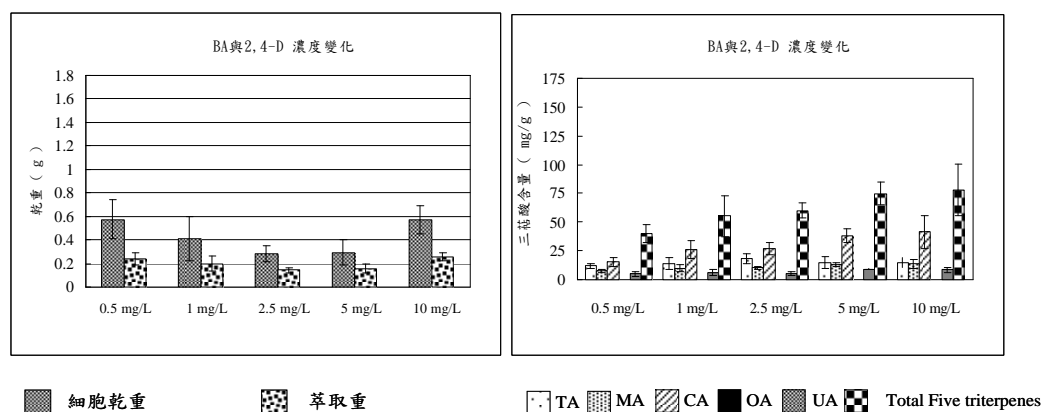


圖 11、含有 2.5mg/L K 的濃度配合不同濃度的 NAA 與成分變化

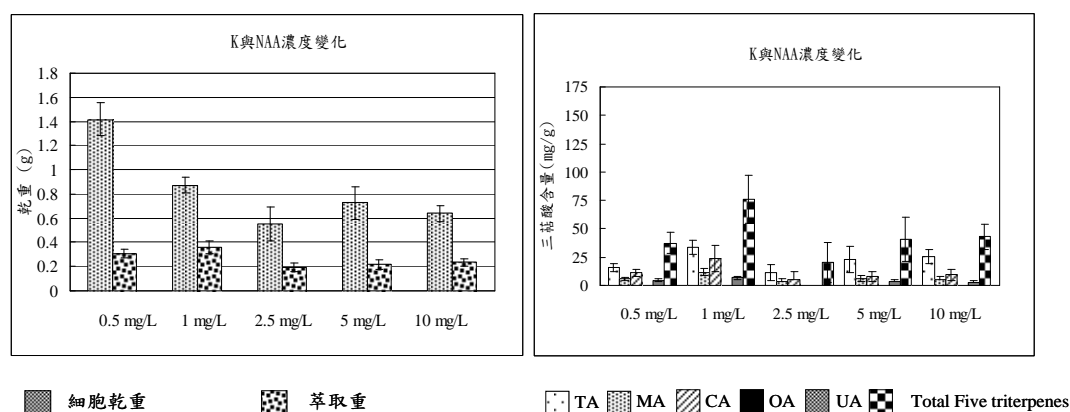


圖 12、含有 2.5mg/L K 的濃度配合不同濃度的 2,4-D 與成分變化

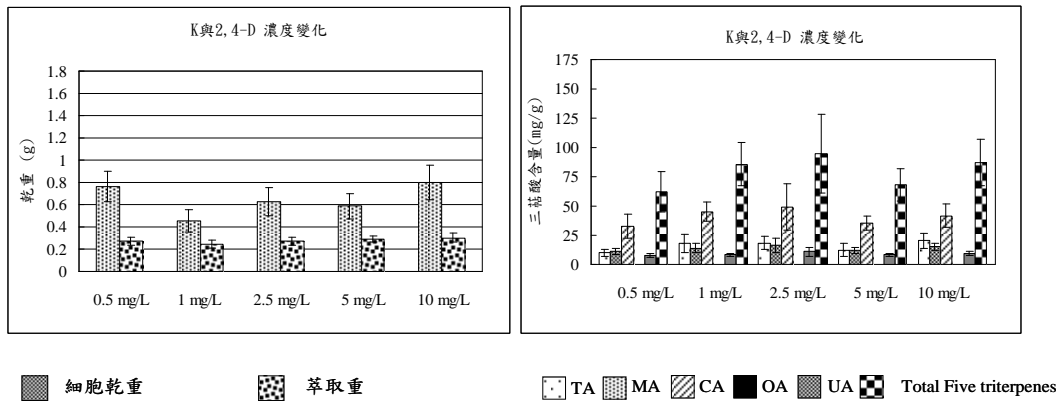


圖 13、不同水解酪蛋白濃度與成分變化

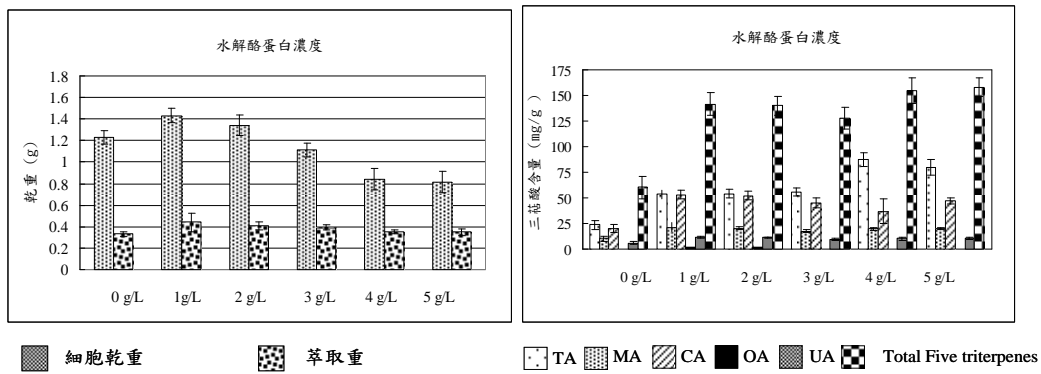


圖 14、不同酵母抽出物濃度與成分變化

