

# 甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* FISCHER) 栽培及組織培養之質量研究

張宏祺<sup>1</sup> 郭昭麟<sup>2</sup> 蔡新聲<sup>3</sup> 陳忠川<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 中國醫藥大學 中國藥學研究所

<sup>2</sup> 中國醫藥大學 中藥資源學系

<sup>3</sup> 朝陽科技大學 生物技術研究所

## 中文摘要

甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* FISCH.) 爲豆科 (Leguminosae) 多年生草本植物，以根和根莖入藥，自古即爲我國常用中藥之一，文獻記載始於神農本草經，列爲上品。傳統用於清熱解毒、祛痰止咳、補脾和胃與調和諸藥等。近代多用於治療潰瘍、癌症及愛滋病等疾病。甘草甜素 (glycyrrhizin) 爲甘草的主要成分之一，含量約爲 6-14%，具有特殊甜味且甜度比等量蔗糖高 50 倍，而廣泛應用於醫藥、食品等工業；本研究乃嘗試甘草種子播種栽培及運用植物組織培養技術建立甘草癒合組織培養系統，並測定其所含成分 glycyrrhizin。

關鍵詞：甘草、甘草甜素、組織培養。

## 前言

數千年來，傳統中藥材以植物性藥物爲主。自國民政府遷台後，我國所需之藥材，至今仍多仰賴中國大陸進口；因此，中草藥之科學化與本土化向來爲我國政府積極努力與推動政策之一，尤其近年來生物科技的蓬勃發展更爲此政策帶來曙光。

甘草：自古即爲我國常用中藥之一，文獻記載始於神農本草經，列爲上品，歷代諸家本草皆有收載。陶弘景曰：「此草最爲眾藥之主，經方少有不用者。」，故素有『十方九草』之美譽。其應用歷史悠久，不但在我國，在世界

其他國家也廣泛應用。自從 20 世紀 40 年代發現甘草具有抗消化道潰瘍以後，至今各國學者已對其藥理作用及化學成分進行了深入研究（樓之岑，1995）。其運用已由傳統清熱解毒、祛痰止咳、補脾和胃與調和諸藥等轉而研究用於治療潰瘍、癌症及愛滋病等疾病。甘草甜素（glycyrrhizin）為甘草的主要成分之一，含量約為 6-14 % 不等，具有特殊甜味且甜度比等量蔗糖高 50 倍（熊輔信，2002），因而在醫藥食品工業，應用頗廣。

近年來由於甘草使用量大，造成大陸野生甘草面臨枯竭，中國大陸政府列為管控中藥材之一。我國限於自然環境之因素，多數藥材未能生產，但拜生物科技之賜，歷年來已從事多種中草藥之大量繁殖與二次代謝產物之研究。本研究即嘗試甘草種子播種栽培及運用植物組織培養技術建立甘草癒合組織培養系統，並對其成分 glycyrrhizin 做測定。

## 甘草之本草考察

### 一、藥名之考訂

甘草名出本經，別錄名曰國老，並有蜜甘、美草、蜜草、露草等稱，至綱目並引記事珠之說而錄靈通一名。

甘草以味甘得名，蜜甘、美草、蜜草等稱，均為此意；至於國老一稱，陶注及藥性論中有所注釋，陶注：「此草最為眾藥之主，經方少不用者，猶如香中有沉香也。國老，即帝師之稱，雖非君，為君所宗，是以能安和草石而解諸毒也。」藥性論：「諸藥眾中為君。治七十二種乳石毒，解一千二百般草木毒，調和使諸藥有功，故號國老之名矣。」

### 二、形態、產地、種類

#### (一)形態

嘉祐引爾雅：「藟，大苦。注：今甘草也，蔓延生，葉似荷，青黃，莖赤有節，節有枝相當。」

圖經：「春生青苗，高一、二尺，葉如槐葉，七月開紫花似奈，冬結實作角子如畢豆。根長者三、四尺，羸細不定，皮赤，上有橫梁，梁下皆細根也。謹按爾雅云：藟，大苦。釋曰：藟，一名大苦。郭璞

云：甘草也，蔓延生，葉似荷，青黃，莖赤有節，節有枝相當。或云：藟似地黃。」

衍義：「甘草，枝葉悉如槐，高五、六尺，但葉端微尖而糙澀，似有白毛。實作角生，如相思角，作一本生，子如小扁豆，齒嚙不破。」

故爾雅所述之藟應非甘草而為黃藥，而證類本草引本草圖經之藥圖，有汾州、府州及另一汾州甘草圖，並清代植物名實圖考一圖，以圖考之圖為清晰，其葉作奇數羽狀複葉，花作總狀花序之蝶形花，且圖經云開紫花，衍義曰葉端微尖而糙澀，似有白毛。綜如上述形態之概述，可能不出 *Glycyrrhiza glabra* LINNAEUS var. *glandulifera* REG. et HERDER 及 *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER 兩種，藤田路一博士於研究日本正倉院所保存之唐代輸入甘草，解剖鏡檢之結果為 *Glycyrrhiza glabra* LINNAEUS var. *glandulifera* REG. et HERDER。又日本古方藥品考有甘草圖，難波恒雄博士指其為 *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER，即東北甘草也。

## (二)產地

別錄：「生河西川谷積沙山及上郡。」

陶注：「河西、上郡不復通市，今出漢蜀中，悉從汶山諸夷中來。赤皮斷理，看之堅實者，是枹罕草，最佳。枹罕，羌地名。亦有火炙乾者，理多虛。又有如鯉魚腸者，被刀破，不復好。青州間亦有，不如。又有紫甘草，細而實，乏時可用。」

圖經：「甘草。生河西川谷積沙山及上郡，今陝西河東州郡皆有之。並收錄汾州、府州及另一汾州甘草圖。」

衍義：「今出河東西界。」

植物名實圖考：「余以五月按兵塞外，道傍轍中，皆甘草也，諦葉玩藟，卻車載之。聞甘、涼諸郡尤肥壯，或有以為杖者，蓋其地沙浮土鬆，根莖直下可數尺，年久則巨耳。」

河西泛指黃河以西之地，為今之陝西、甘肅、蒙古一帶。積沙山在古今地名大辭典中並無記載，但有積石山，亦在西北甘肅境內，本草學家均解釋為積沙之山地。上郡位今陝西省，而四川省古時為蜀

地，故簡稱曰蜀。汶山爲岷山南下之正支，主峰在四川茂縣東南處。枹罕即今甘肅省導河縣一帶，指古之青海、西藏一帶之地。青州即今山東一帶，當係泛指華北所出者。又黃河流經山西西境成南北線，故山西境內，在黃河以東者，統稱河東。汾州即今山西汾陽。府州即今陝西谷縣。故本草所記甘草，自西北迄西南青藏諸地，偶及華北一帶，爲甘草之主產地。

### (三)種類

陶注：「赤皮斷理，看之堅實者，是枹罕草，最佳。枹罕，羌地名。亦有火炙乾者，理多虛。又有如鯉魚腸者，被刀破，不復好。青州間亦有，不如。又有紫甘草，細而實，乏時可用。」

圖經「今甘草有數種，以堅實斷理者爲佳，其輕虛縱理及細韌者不堪，惟貨湯家用之。」

此二說相近也；本草中以西北產者爲主，但 *G. glabra glandulifera* L.及 *G. uralensis* FISCH. 兩種均屬紫花，全株有毛，且 *G. uralensis* FISCH. 在西北各地亦有出產，是以本草文獻中難於確認究屬何種也。

### 三、性味、藥能

本草經：「甘草。味甘，平。主五藏六府寒熱邪氣，堅筋骨，長肌肉，倍力，金瘡腫，解毒。久服輕身延年。」

別錄：「國老。無毒。溫中下氣，煩滿短氣，傷藏咳嗽，止渴，通經脈，利血氣，解百藥毒。爲九土之精，安和七十二種石，一千二百種草。」

嘉祐引藥性論：「主腹中冷痛，治驚癇，除腹脹滿，補益五藏，制諸藥毒，養腎氣內傷，令人陰痿。主婦人血瀝，腰痛，虛而多熱，加而用之。」又引日華子：「安魂定魄，補五勞七傷，一切虛損，驚悸，煩悶，健忘，通九竅，利百脈，益精養氣，壯筋骨，解冷熱，入藥灸用。」

至金元以降諸說極多，亦有生用、熟用之分及依藥用部位（頭、稍）之分而具有不同之功效。

#### 四、修治、禁忌、方用

##### (一)修治

別錄：「二月、八月除日，採根暴乾，十日成。」

證類引雷公：「凡使，須去頭尾尖處，其頭尾吐人。每斤皆長三寸，剉劈破作六、七片，使 器中盛，用酒浸蒸，從巳至午，出暴乾細剉。使一斤，用酥七兩塗上，炙酥盡爲度。又，先炮令內外赤黃用，良。」

品彙精要：「〔製〕炙去蘆頭，刮赤皮，生亦可用。」

本草綱目：「〔修治〕(時珍曰)方書炙甘草皆用長流水蘸溼炙之，至熟刮去赤皮，或用漿水炙熟，未有酥炙酒蒸者，大抵補中宜炙用，瀉火宜生用。」

今之甘草常用者爲生用及蜜炙兩種。

##### (二)禁忌

藥對：「惡遠志，反大戟、芫花、甘遂、海藻四物。」

藥性論：「甘草，君，忌豬肉。」

品彙精要：「〔禁〕中滿者勿服。」

故甘草雖有解百藥毒之說，十八反歌訣中「藻戟遂芫俱戰草」即雷公藥對所述，仍需注意。

##### (三)方用

圖經：「張仲景傷寒論有一物甘草湯、甘草附子、甘草乾薑、甘草瀉心等湯，諸方用之最多，又能解百毒，爲眾藥之要。孫思邈論云：有人中烏頭、芫豆毒，甘草入腹即定。方稱大豆解百藥毒，嘗試之不，乃加甘草爲甘豆湯，其驗更速。」

此外，外台秘要之救急瘦疾及綱目附方又增加新方二十，治療傷寒心悸、肺痿久嗽、赤白痢下、諸般癰疽等。而今日甘露飲、補中

益氣湯等極多種方劑均配伍甘草。

## 甘草之藥用植物學考察

全世界甘草屬 (*Glycyrrhiza* L.) 約 24 種。我國產約 11 種，其中有藥用價值(指含甘草甜素類成分者)約 8 種。中國藥典收載 3 種：甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* FISCH.)、脹果甘草 (*G. inflata* BATAL.) 和光果甘草 (*G. glabra* L.) 三種 (周榮漢, 1993)。

### 一、甘草屬植物之特徵：

多年生草本或半灌木，常有刺毛狀或鱗片狀腺體；奇數羽狀複葉，小葉多數，稀 3~5 片，全緣或有微齒，無小托葉；花組成腋生的總狀花序或穗狀花序；萼裂片近相等或上面 2 枚較短且基部合生；旗瓣狹卵形或長圓形，直，龍骨瓣急尖或鈍頭；雄蕊 10，二體(9+1)，藥室於頂端聯合，花藥不等大，其中有 5 枚較小；子房無柄，有胚珠 2 至多顆，花柱絲狀或稍粗，先端內彎；莢果卵形、長圓形或線形，腫脹或扁平，不開裂或遲 2 瓣裂，果瓣有刺毛狀腺體或小瘤狀凸起，稀平滑 (侯寬昭, 1982)。

1998 年出版中國植物誌將黃甘草 (*G. eurycarpa* P.C.LI) 歸入脹果甘草 (蕭培根, 2002)。

### 二、甘草之檢索表：

- 1、根和根莖甜或微甜，莢果線形、長圓形，含種子 2~9 枚，外面被鱗片狀腺點，刺毛狀腺體或光滑，較少有瘤狀突起；小葉橢圓形、長圓形、卵形，較少披針形
- 2、莢果扁平或膨脹，但不呈念珠狀，外面被鱗片狀腺點、刺毛狀腺體或瘤狀突起；小葉橢圓形或長圓形；植株較粗壯，高 30 cm 以上
- 3、莢果兩側壓扁，在種子同下凹或之字形曲折；在背腹面直、微彎或彎曲呈鐮刀狀至環狀
- 4、小葉橢圓形或長圓形
- 5、莢果彎曲成鐮刀狀或環狀，在序軸上密生成球形果穗，除被刺毛狀腺體外，尚有瘤狀突起……甘草 *Glycyrrhiza uralensis* FISCH.

- 5、莢果之字形曲折，形成長圓形的果穗，光滑或被疏散的白色茸毛  
 .....無腺毛甘草 *G. eglandulosa* X. Y. LI
- 4、小葉披針形或長圓狀披針形；莢果直或微彎，光滑或具刺毛狀腺體  
 .....光果甘草 *G. glabra* L.
- 3、莢果膨脹，直，種子間不下凹，被褐色腺點.....脹果甘草 *G. inflata* BATAL.
- 2、莢果念珠狀，光滑；小葉 5~9 枚；植株矮小，高 10~30 cm.....  
 .....粗毛甘草 *G. aspera* PALL.
- 1.根和根莖不甜；莢果長卵形或卵圓形，有種子 2 枚，外面被黃色剛硬的刺；  
 小葉披針形
- 6.總狀花序長圓形；莢果卵圓形，預端突尖，疏被剛硬刺.....  
 .....刺果甘草 *G. pallidiflora* MAXIM.
- 6.總狀花序近球狀；莢果長卵形，預端驟尖，密被剛硬的刺.....  
 .....雲南甘草 *G. yunnanensis* Cheng f.et L.K.Dai ex P.C.LI

### 三、大陸藥典收載之甘草簡介（國家中醫藥管理局，1998）：

依據中國藥典記載甘草藥材來源為豆科植物甘草（*Glycyrrhiza uralensis* FISCH.）、脹果甘草（*G. inflata* BATAL.）或光果甘草（*G. glabra* L.）三種的乾燥根及根莖。茲將其形態特徵及產地詳述於後：

#### （一）甘草：*Glycyrrhiza uralensis* FISCH.

多年生草本，高 30~80cm，罕達 1m。根莖圓柱狀，多橫走；主根甚長，粗大，外皮紅棕色至暗棕色或暗褐色。莖直立，稍帶木質，被白色短毛及腺鱗或腺狀毛。奇效羽狀複葉，托葉披針形，早落；葉片長 8~24 cm，小葉 5~17，小葉片窄長卵形，倒卵形或闊橢圓形至近圓形，兩面被腺鱗及白毛，下面毛較密。總狀花序腋生，較葉短，花密集，長 5~12 cm；花萼鍾狀，長約為花冠的 1/2，萼齒 5，披針形，較萼筒略長，外被短毛及腺鱗；花冠淡紫堇色，長 14~93 mm，旗瓣大，長方橢圓形，先端圓或微缺，下部有短爪，龍骨瓣直，較翼瓣短，均有長爪；雄蕊 10，9 枚基部連合，花絲長短不一，花藥大小亦不等；子房無柄，上部漸細成短花柱。莢果扁平，多數緊密排列成球狀，窄長，彎曲成鐮狀或杯狀，密被絨毛腺

瘤，黃褐色刺狀腺毛和少數非腺毛。種子 2~8，扁圓形或腎形，黑色光亮。花期 6~7 月，果期 7~9 月。

生於向陽乾燥的棕鈣土，含鹽分較少、土層深厚、排水良好的鈣質草原。在河岸沙質土生長良好。在土壤鹽分重或鹼灘地生長不良或不能生長。

分布於黑龍江、吉林、遼寧、河北、山東、山西、內蒙古；陝西、寧夏、甘肅；青海、新疆等省。

### (二)光果甘草：*Glycyrrhiza glabra* L.

植物體密被淡黃褐色腺點和鱗片狀腺體，常局部有白霜，不具腺毛。小葉片較多，約 19 片，窄長平直，長橢圓形或窄長卵狀披針形，兩面均淡綠色，上面無毛或有微柔毛，下面密被淡黃色、不顯明的腺點。花序穗狀；較葉為短，花稀疏。果序與葉等長或略長，莢果扁而直，多為長圓形，無毛，亦無腺毛，有時具少許不顯明的腺瘤。種子通常數目較上種為少。花期 6~8 月，果期 7~9 月。

生長於荒漠、半荒漠或帶鹽鹼草原、撩荒地，生長條件大體與甘草同，但生態幅度沒有甘草廣。

分布於新疆北部、青海、甘肅。分布歐洲以地中海為中心，為前蘇聯主要的甘草植物資源。

### (三)脹果甘草：*Glycyrrhiza inflata* BATAL.(*G. eurycarpa* P. C. LI ; *G. korshinskyi* auct non. *G. GRIG.*)

植物體局部常被密集成片的淡黃褐色鱗片狀腺體，無腺毛，有時有微柔毛或無毛。根與根狀莖粗壯木質，外皮褐色。小葉 3~7(~9)枚，卵形、橢圓形至長圓形，先端銳尖或鈍，基部近圓形，兩面被黃褐色腺點，下面有似塗膠狀光澤，邊緣或多或少波狀，乾時有皺褶。總狀花序腋生，具多數疏生的花；總花梗與葉等長或短於葉；花萼鍾狀，長 5~7 mm，萼齒 5，披針形，與萼筒等長；花冠紫色或淡紫色，翼瓣長橢圓形，翼瓣與旗瓣近等大，明顯具耳及瓣柄。莢果短小，直或微彎，橢圓形或長圓形，二種子間脹膨或與側面不同程度下隔，被褐色的腺點和刺毛狀腺體，無腺毛或疏被長柔毛。種子 1~4 枚。花期 5~7 月，果期 6~10 月。



一般生於河岸險地、農田邊、荒地，亦生長於鹽漬化壤土的蘆葦灘草地。

分布於內蒙古、新疆南部的塔里木盆地及東部哈密、吐魯番為中心，東達甘肅的酒泉和金塔一線以西地區。

## 甘草之栽培（謝鳳勛等，1994；方波等，2002）

甘草為多年生豆科作物，是主要藥用植物之一，素有十方九草“百藥之王”美稱，同時也是防風固沙，防止水土流失的天然植物資源，2000年中國將甘草列為國家緊控物資，不准隨意挖取野生甘草，因此人工栽培種植甘草越來越引起中國各級政府及廣大農民的重視。

### 一、甘草之生態習性與栽培技術：

#### (一)生態習性：

甘草分布於大陸性氣候帶，以其很深的根吸收地下水，來適應乾旱的環境條件，地上部分每年秋末死亡，根及根莖在土中越冬，翌年春3~4月從根莖上長出新芽，長枝發葉，5~6月枝葉繁茂，6~7月開花結果，9月莢果成熟。主要生長在鈣質土上，在荒漠草甸土和鹽化草甸土也可生長，能忍受輕度鹽鹼，最宜沙質或沙壤質土壤，在綠洲村庄附近、田邊、渠沿、路旁、果園荒地等零星分布。

#### (二)栽培技術：

##### 1.種子繁殖

一般於春季用苗床育苗，苗床應遺排水良好和向陽的地方，深翻土壤，施入腐熟堆肥，耙平後，作成寬90~120 cm，長300~450 cm的畦。選取優良充實的種子，用30℃左右的溫水浸2~3小時，然後條播或點播，條播，先在畦內按15 cm左右的行距開溝，將種子均勻撒入溝內。若點播株距約為3~5 cm。播後覆土5 cm左右，然後澆水，再覆蓋稻草，待發芽後除去覆草。移苗可於當年九月或翌年春天進行，按行距90 cm，株距30 cm栽種。

## 2.根莖繁殖

於春季或秋季將根挖出，粗根入藥，選出細根剪成半尺左右，有1~2個芽的根段，按90 cm的行距開溝，按半尺的株距將根段順序排列在溝內，溝深12~15 cm，覆土壓實，即可成活。

## 3.田間管理

種子發芽後，過密處應行間苗。生長期間，特別是苗期，應隨時注意鬆土和除草，一般可除草2~3次。肥料以腐熟的廐肥，過磷酸鈣及糞稀為主，於每年生長期間施用1~2次。在酸性土壤上可適量施用石灰，中和土壤酸性，促進根的發育。

## 4.採收加工

種子繁殖第三、四年根莖繁殖第二、三年後春季芒種前，秋季白露後，均可採收，以秋季為好。挖出後，趁鮮切去枝叉，鬚根及莖基，晒至半乾，按粗細分別紮成小捆，再晒至全乾。

# 甘草之生藥學研究

從甘草中分離出的成分有 triterpenoid saponins 類的 glycyrrhizin，其含量約為乾根重的 3.63-13.06 %，cumarins 類的 Glycycoumarin，flavonoids 類的 liquiritigenin、4',5-dihydroxy-3,7-dimethoxy flavone、licoflavonol、topazolin、formononetin、isoangustone A、4,2',4'-trihydroxy-chalcone、isoliquiritin、isoliquiritin apioside (朱緒民等, 2003; 陳志強, 2000) 另有生物鹼 quinoline 和 inoquinoline 類衍生物，總生物鹼含量平均為 0.29 % (張繼等, 2001)。賈世山等 (1994) 在甘草地上部分的活性成分和資源利用之研究中發現甘草的地上部分和地下部分相交叉重複的黃酮類化合物有 10 個，分別為：isoavoroside、schaftoside、pinocembrin、liquiritigenin 和 isoliquiritigenin 等 10 個化合物

張繼等 (1999) 研究甘草營養成分的分析，對甘草地下、地上部分分別進行了微量元素及營養成分的測試分析。結果發現，烏拉爾甘草中糖、蛋白質、脂肪含量較高，並且含有豐富的礦質元素。藍文孝 (1999) 在甘草成分抑菌性之研究中探討極性不同溶劑萃取物之抑菌圖譜，甲醇萃取物之抑菌活

性，並對甲醇萃取物之抑菌成分分離純化，純化之抑菌化合物進行抑菌性質測定。結果發現甲醇萃取物具有最佳之抑菌圖譜。

王靜竹等（1995）在甘草及其炮製品中甘草酸的含量測定之研究中發現蜜製法並未使甘草酸含量明顯減少。馮元忠及馮德誠（1994）以脹果甘草（*glycyrrhiza inflata*）、光果甘草（*G. glabra*）、烏拉爾甘草（*G. uralensis*）為對象，對 1-4 年生主根及根莖內部結構的變化及粉末作比較研究，提供為鑑別依據。經總（2000）發現市售甘草藥材雖有甲、乙、丙、丁各種等級，但同等級藥材間含量相差甚多，而各等級藥材間之含量並無顯著差異。甘草經蜜炙後，甘草酸之含量並無明顯差異。

在組織培養方面，Hayashi et al.（1990）指出從光果甘草（*Glycyrrhiza glabra*）細胞懸浮培養的細胞中分離出與 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid 相似的兩種成分，然而甘草中的主要成分 glycyrrhizin 未偵測到。Wei Li（2000）指出從光果甘草（*Glycyrrhiza glabra*）毛狀根培養中產生高量的黃酮類成分，但是在多數甘草品種中含有的 glycyrrhizin 並未偵測到。梁玉玲等（2000）曾對甘草基原植物之一的脹果甘草進行癒傷組織培養及甘草酸含量分析，其將脹果甘草的根、胚軸、子葉分別接種到含有不同激素組合的 MS 培養基上，在光照或黑暗下培養，將根接種到液體培養基中培養。結果發現不同的激素組合對癒傷組織生長和甘草酸質量的影響是不同的。

## 甘草之現代藥理研究

Kelloff 等（1994）指出甘草具有很多的藥理作用，包括有去毒、抗氧化、抗潰瘍、抗過敏和抗病毒等作用。而甘草酸類的藥理作用是多方面的，其應用已向抗病毒、抗愛滋病毒、抗癌、防癌、增強免疫力等領域拓展。因此，深入進行該類藥物的研究具有重要的意義（史桂蘭及胡志浩，2001）。

Hsiang 等（2002）對 glycyrrhizin 在 activator protein 1 的活動差異調節做了研究，結果可為 glycyrrhizin 在治療癌症的新化學療法中的生物活性提供佐證。王岳五等（2000）在甘草殘渣中 polysaccharide 抗腫瘤作用的研究中，證實自甘草殘渣中分離一種水溶性葡聚糖 polysaccharide，其急性毒性實驗證明其屬無毒物質。通過體內抑瘤實驗證明，polysaccharide 對小鼠 sarcoma-180 及艾氏腹水移植瘤皆有明顯抑制作用。

使用 glycyrrhizin 作為長期治療慢性 C 型肝炎病人，有防止 hepatocellular

carcinoma 的發展。glycyrrhizin 用在對干擾素無反應的慢性 C 型肝炎病人和各種原因不能用干擾素治療的那些人中特別有益 (Kumada, 2002)。Sekizawa 等 (2001) 研究 glycyrrhizin 增加患有 herpes simplex encephalitis 老鼠存活試驗中, 證明 glycyrrhizin 的刺激影響老鼠的防禦系統使能對抗一型單純疱疹病毒 (HSV-1) 的感染。glycyrrhizin 在機體不僅具有誘導干擾素及增強自然殺傷細胞活動功能, 且能抑制免疫缺陷病毒 (HIV) 增殖, 並具有免疫激活作用 (沈以鳳, 2000)。

Kimura 等 (2001) 研究 glycyrrhizin 和一些類似物透過表皮的成長因子感受器, 引起最初養殖成年老鼠的肝膽成長之影響, 結果顯示 glycyrrhizin 和一些類似物, 是結合 epidermal growth factor 感受器的初級肝膽有絲分裂, 其後刺激 tyrosine kinase/mitogen-activated protein kinase 這個感受器的路徑, 引起肝膽 DNA 合成和增殖。

生甘草可減輕關木通的急性腎臟傷害以及胃部傷害 (王麗香, 2002), 對小鼠蓖麻油性腹瀉亦有抑制作用 (朱自平, 1998); 甘草蜜製後增強了緩急止痛的功效, 其中蜜製甘草臨床效果優於生甘草 (彭智聰等, 1989)。

## 結果與討論

本研究材料, 經由林郁進博士收集自中國東北 吉林省 白城栽培基地。材料經外部形質鑑別、內部組織鑑別及利用顯微攝影技術紀錄觀察結果, 並製作生藥組織顯微照相圖, 作為本試驗甘草之基原依據。經文獻比對確認為甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* FISCHER)。

將經顯微鑑定確認無物之甘草, 切取其葉片經誘導形成癒合組織作為試驗之材料。另將取得的種子分別作無菌播種以獲得無菌苗備用及播種於試驗田間以獲得台灣栽種之藥材作為質量分析之用。

甘草葉片以清水洗淨, 於 70% 乙醇中浸泡 1 分鐘, 再以 0.5% 次氯酸鈉 (每 50 ml 滴加 Tween 20 一滴) 溶液於超音波振盪器消毒 10 分鐘, 移至無菌接種台後, 以無菌水清洗五次, 置於無菌濾紙上吸乾表面水分, 去除邊緣部分後切成約 0.7 cm<sup>2</sup> 大小, 接種於含有 0.5 mg/L BA 及 1 mg/L 2,4-D 之 MS 固體培養基中, 在黑暗下培養, 經 30 天後可誘導出之黃綠色癒合組織以原培養基繼代培養, 以形成出更多的癒合組織供本試驗探討各種不同因素影響之用。試驗結果發現甘草癒合組織之生長與繼代培養適宜的培養基組

合為全量的 MS 基礎鹽類添加 3 % sucrose、0.5 mg/l 2,4-D、0.5 或 1.0 mg/l BA、0.35 % gelrite 及 pH 5.7 ± 0.1 之培養基，以黑暗及 25 ± 1 °C 之恆溫下培養，會得到鬆軟且呈淡黃色的癒合組織。

將消毒過之甘草種子，接種於 MS 基礎鹽類培養基中，經 3 天後即長出根，待 30 天後切取甘草無菌苗之根為培植體，培養於含有 0.5 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D 之 MS 固體培養基中誘導癒合組織，以供本試驗探討不同培植體誘導出的癒合組織對誘導其 glycyrrhizin 成分上的差異。試驗結果顯示以甘草無菌苗之根為培植體，培養於含有 0.5 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D 之 MS 固體培養基中，誘導培養 30 天後根部漸漸膨大且長出黃綠色癒合組織。經 HPLC 分析顯示培養於含有 0.5 mg/L BA 及 0.5 mg/L 2,4-D 之 MS 固體培養基的根部來源的癒合組織與葉部來源的預合組織均未有 glycyrrhizin 成分的累積。

不同甘草檢品之 glycyrrhizin 含量：檢品經高效液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography)：幫浦：Waters 2695 Separations Module；自動注入器：Autosampler 717+；檢測器：Waters 996 Photodiode Array Detector；分析軟體：Waters Empower software；層析柱：MERCK 公司 LiChroCART®250-4 HPLC-Cartridge Lichrospher 100 RP-18 (5 μm)。前端加上管柱(MERCK 公司 LiChroCART®4-4 Lichrospher 100 RP-18 (5 μm)，以濾除雜質；分析條件：在室溫下以 acetonitrile：水 (含 1% acetic acid) = 36：64 為流動相，流速為 1 ml/min，檢測波長為 254 nm。檢測結果顯示甘草之野生品 (GUW；>5 年) 含量百分比達 2.45 % 為最高，其次依序為市售甘草之科學濃縮品 (GUS；約 2-3 年)、台灣進口之原藥材 (GUX；約 2-3 年)、甘草之台灣栽培品 (GUT；約 2 年)、甘草之栽培品 (GUF；約 2-3 年) 及市售甘草之飲片 (GUM；約 2-3 年)，其含量百分比依序為 1.75 %、1.43 %、1.24 %、0.93 % 及 0.77 %。試驗結果顯示甘草之台灣栽培品 (GUT；約 2 年) 在 glycyrrhizin 成分上有較多的積累。

## 參考文獻

1. 方波、李鑫、李龍 2002 甘草人工栽培技術 新疆農業科學 39 (3)：176-177。
2. 王岳五、張海波、呂杰、史玉榮、何敏、王雙石、丁友舫 2000 甘草殘渣中多糖 GPS 抗腫瘤作用的研究 南開大學學報(自然科學) 33 (4)：46-48。

- 3.王靜竹、陳定一、趙現紅 1995 甘草及其炮製品中甘草酸的含量測定 中國中藥雜誌 20 (9): 535。
- 4.王麗香 2002 生甘草對關木通誘發大鼠急性腎毒性之效應 中國醫藥學院 中國醫學研究所 台中。
- 5.史桂蘭、胡志浩 2001 甘草酸藥理作用及臨床應用研究進展 天津藥學 13 (1): 10-12。
- 6.朱自平、張明發、沈雅琴、王紅武 1998 生甘草和白癩皮對消化系統的藥理實驗研究 中國中西醫結合脾胃雜誌 6 (2): 95-96。
- 7.朱緒民、邸迎彤、彭樹林、王明奎、丁立生 2003 烏拉爾甘草中的化學成分 中草藥 34 (3): 198-201。
- 8.沈以鳳、徐虹 2000 艾滋病治療藥物應用 中國藥學雜誌 35(9): 631。
- 9.周榮漢 1993 中藥資源學 中國醫藥科技出版社 北京; 293-303。
- 10.國家中醫藥管理局 1998 中華本草(第四冊) 上海科學技術出版社 上海: 499-451。
- 11.張繼、姚健、郭守軍、楊永利、楊曉輝、孟紅梅 1999 烏拉爾甘草營養成分的分析研究 西北植物學報 19 (6): 181-184。
- 12.張繼、姚健、楊永利、王一峰、古麗萍、王永軍 2001 甘草生物鹼成分的分析及含量測定 西北植物學報 21 (6): 1259-1262。
- 13.梁玉玲、管延英、陽麗、王淑敏 2000 脹果甘草愈傷組織培養及甘草酸含量分析 河北大學學報(自然科學版) 20 (4): 365-368。
- 14.陳志強 2000 中藥材甘草成份分析 中原大學 化學研究所 中壢。
- 15.彭智聰、魯漢蘭、易生富 1989 甘草蜜製後對小鼠的止痛作用 中國中藥雜誌 (8): 22。
- 16.馮元忠、馮德誠 1994 甘草的生藥解剖學研究 石河子農學院學報 12 (1-2): 23-25。

17. 經總 2000 甘草之生物藥學研究 中國醫藥學院 中國藥學研究所 台中。
18. 賈世山、邱桂芬 1994 甘草地上部分的活性成分和資源利用 中草藥 25 (2) : 106-107。
19. 熊輔信、寸淑芬 2002 中藥現代研究薈萃 雲南科技出版社 昆明 ; 197-199。
19. 樓之岑、秦波 1995 常用中藥材品種整理和質量研究 (北方編) 第二冊 北京醫科大學、中國協和醫科大學聯合出版社 北京 ; 396-531。
20. 蕭培根 2002 新編中藥志 (第一卷) 化學工業出版社 北京 ; 259-279。
21. 謝鳳勛, 胡延松 1994 中藥原色圖譜及栽培技術 金盾出版社 北京 ; 166-167。
22. 藍文孝 1999 甘草成分抑菌性之研究 國立中興大學 食品科學系 台中。
23. Hayashi H, Fukui H, and Tabata M, 1990 Bio-transformation of 18 $\beta$ -glycyrrhetic acid and cell suspension cultures of *Glycyrrhiza glabra*, *Phytochemistry*, 29(7) : 2149-2152.
24. Hsiang CY, Lai IL, Chao DC, and Ho TY, 2002 Differential regulation of activator protein 1 activity by glycyrrhizin, *Life Sci.*, 70(14): 1643-1656.
25. Kelloff GJ, Crowell JA, Boone CW, Steele VE, Lubet RA, Greenwald P, Alberts DS, Covey JM, Doody LA, and Knapp GG, 1994 Clinical development plan: 18-beta-glycyrrhetic acid, *J. Cell Biochem. Suppl.*, 20: 166-175.
26. Kimura M, Inoue H, Hirabayashi K, Natsume H, and Ogihara M, 2001 Glycyrrhizin and some analogues induce growth of primary cultured adult rat hepatocytes via epidermal growth factor receptors, *European J. Pharmacol.*, 431(2): 151-161.
27. Kumada H, 2002 Long-term treatment of chronic hepatitis C with glycyrrhizin [stronger neo-minophagen C (SNMC)] for preventing liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma, *Oncology*, 62(1): 94-100.

28. Sekizawa T, Yanagi K, and Itoyama Y, 2001 Glycyrrhizin increases survival of mice with herpes simplex encephalitis, *Acta Virologica*, 45(1): 51-54.
29. Wei Li, Asada Y, and Yoshikawa T, 2000 Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hair root cultures, *Phytochemistry*, 55: 447-456.

### Summary

*Glycyrrhiza uralensis* FISCHER is an important Chinese medicinal plant of the family Leguminosae. The root (*Glycyrrhizae Radix* or Gan-cao) is one of the oldest and most frequently used medicinal herbs in the history of Chinese herbs. It was first recorded in the Shen-Nong-Pen-Ts'ao-Chin under upper category. It is used for removing heat and toxic materials, eliminating phlegm and relieving cough and moderating the potency of drugs. Recent studies have show that it has anti-ulcer, anti-cancer and anti-AIDS properties. The most important constituent of Gan-cao is glycyrrhizin (GL), which is present in quantities ranging between 6 –14 % in dried roots. GL is nearly 50 times as sweet as sucrose, and it also widely used in pharmaceutical, food industry and others.

To meet the demands of the pharmaceutical industries, *G. uralensis* is been imported from Mainland China, as it is not cultivated in Taiwan. Studies on this valuable medicinal plant have not been carried out in Taiwan. Tissue culture techniques could be an alternative for the production of compound in large scale. The present investigation was carried out with an objective to establish an efficient protocol for induction and proliferation of callus and also to analyze the calli by high performance liquid chromatograph (HPLC) for the presence of secondary metabolites.

Key word : *Glycyrrhiza uralensis* FISCHER, glycyrrhizin, tissue culture.