

公開  
密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：100105Z500

# 農委會農糧署九十五年度科技計畫研究報告

資訊庫編號：953930

計畫名稱：  
(英文名稱) **土黨參安全性評估 (第1年/全程1年)**  
**Safety evaluation of *Codonopsis javaica* (Bl.) J.D.  
*Hooker* subsp. *japonica* (Maxim ex Mak.)  
*Lamoaners***

計畫編號： 95農科-10.1.5-糧-Z5

全程計畫期間： 95年10月1日至95年12月31日  
本年計畫期間： 95年10月1日至95年12月31日

計畫主持人：  
執行機關：  
彭文煌  
私立中國醫藥大學

## 摘要

本研究之目的在探討土黨參(金錢豹)之基原鑑定及安全性評估,建立其外部形態及內部構造之鑑別圖鑑,核糖體基因之 Internal transcribed spaces(ITS), ITS1 與 ITS2, 並將定序判別與國際基因庫 (Genbank) 登錄, 提供實際鑑定之參考依據。其次探討土黨參(金錢豹)之乙醇粗抽物, 經由口服投藥, 觀察、記錄其急性毒性及經重覆給予 28 天後對動物可能產生之毒性影響, 了解其毒性變化之產生, 同時測定無毒性顯示之劑量, 以利土黨參之開發與利用。

結果顯示, 土黨參(金錢豹)的花冠鐘狀, 長1~1.3cm, 漿果近球形, 熟時直徑1~1.2(~1.5)cm。其外部型態與一種大花金錢豹相似, 其花冠鐘狀, 長1~1.3cm, 漿果直徑1~2cm。土黨參(金錢豹)的ITS1與ITS2的基因序列已定序登錄於 The National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene bank 中, 編號為DQ889459, 土黨參(金錢豹)之基原為*Codonopsis javanica* subsp. *japonica*。土黨參(金錢豹)抽取物的小鼠口服急性毒性極小(> 10 g/kg), 顯示其口服急性毒性甚低。以0.3, 1.5 3.0 g/kg口服給予小鼠, 每天給藥一次, 連續給28天, 並未發現有中毒死亡情形, 一般劑量對小鼠體重、肝、腎、血液功能等生化值檢測亦未見有顯著變化, 但高劑量(3.0 g/kg, p.o.)對小鼠攝食量明顯降低, 增加sGOT及ALP的活性。

綜合以上結果顯示, 台灣栽培之土黨參(金錢豹)基原為*Codonopsis javanica* subsp. *japonica*。土黨參(金錢豹)之急性毒性甚低, 28天餵食三種不同劑量均未見死亡, 但高劑量則會影響小鼠食慾及肝功能。

## **Abstract**

The aims of this study are to evaluate the safety and original identification of Todangshen (abbr. TDS). To set up its external morphology and Internal transcribed spaces (ITS) of the ribosome gene, like ITS1 and ITS2. The sequence of ITS1 and ITS2 will identified with the international gene pool (Genbank); offer the reference basis that determines actually. In order to evaluating the safety of TDS, The acute median lethal dose (LD50) and sub acute safety were investigated.

The results shown that the campanulate corolla of TDS is 2-3 cm. The diameter of juicy fruit is 1-2 cm. The sequence of ITS1 and ITS2 was identified and had logged in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene bank. Its serial number is DQ889459. The oral acute LD50 of TDS was very large (> 10 g/kg). There were no significant toxicity after 28-days administration of TDS (0.3, 1.5 and 3.0 g/kg, p.o.) in mice.

From these results, we suggested that the origin of Todangshen is *Codonopsis javanica* subsp. *japonica*. TDS possessed lower acute toxicity and subacute toxicity.

## 壹、前言

土黨參[*Codonopsis javanica* (Maxim. Ex Makino) Lammers 1992 subsp. *japonica*]，又名金錢豹，是桔梗科金錢豹屬植物，生於山坡草地、灌叢中<sup>(1-2)</sup>。民間以根入藥，有補氣、止血、通乳的作用，用於虛勞內傷、肺虛咳嗽、脾虛泄瀉、乳汁不多、小兒遺尿等症。

本研究將依計畫收集野生種及栽培種土黨參(金錢豹)，進行其基原鑑定，建立其外部形態及內部構造之鑑別圖鑑，並建立土黨參(金錢豹)的核糖體基因之 Internal transcribed spaces(ITS)，ITS1與ITS2，並將定序判別與國際基因庫 (Genbank) 登錄，提供實際鑑定之參考依據。本研究計畫亦進行探討栽培種土黨參(金錢豹)之安全性評估，利用土黨參(金錢豹)之粗抽物，經由口服投藥，觀察、記錄其急性毒性及半數致死劑量。並測試土黨參(金錢豹)粗抽物，經重覆給予28天後對動物可能產生之毒性影響，了解其毒性變化之產生，同時測定無毒性顯示之劑量，以利土黨參之開發與利用。

## 貳、材料與方法

### 一、基原鑑定

本研究將所收集臺灣產之土黨參(金錢豹)(*C. javaica*)之原植物及調查的藥材，首先進行傳統外部形態之鑑別，如直觀分析法，傳統生藥學之「性狀經驗鑑別」，通過眼看、手摸、鼻嗅、口嗜、耳聽、水試、火試等進行鑑定，並將其鑑別依據及要點一一說明。<sup>(3-7)</sup>

其次進行顯微鑑定，即進行徒手切片，並以木化反應、碘試劑等對其內部組織構造觀察，以確定其基原，瞭解正品藥材在內部組織及內含物之相關鑑別要點，配合現代技術和儀器的使用，建立有效的鑑定圖鑑，並就將其鑑別依據及要點一一說明。期能使中藥的鑑定，朝著更為快速、準確的方向發展。將為中草藥材因來源分歧，品質不易控制，提供從外部形態及顯微數位影像鑑別圖鑑，能有效、快速、準確的瞭解正品之鑑別特點。本研究採照相或電腦描圖其性狀，製作為電腦之數位檔案，以提供研究或中藥業者在中藥基原鑑定一個較完整、有效、快速和可行之參考資料。<sup>(5-6)</sup>

### 二、核糖體基因鑑定

本研究將所收集臺灣產之土黨參(金錢豹)(*C. javaica*)之原植物及調查的藥材。經基原鑑定確定其基原後，進行 DNA 抽取、PCR 與定序判別，最後將其定序序列登錄於國際基因庫(Genbank)。

## 步驟一

### 1.植物 DNA 抽取<sup>(8)</sup>

↓磨碎植物 sample 成細粉狀，取量接近 0.1 mL 即可。

↓加入 extraction buffer 800  $\mu$ L (EB, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 50 mM EDTA-2Na pH 8.0 500 mM NaCl, 10 mM beta-mercaptoethanol), 及 120  $\mu$ L 20% SDS, 再加入適量的 PVP, 強力搖晃 50 次後, 接著以 65°C 水浴(或乾浴) 10 min。

↓加入 400  $\mu$ L of potassium acetate solution, 強力搖晃 50 次使之混合後冰浴 20 min。

↓Centrifuge 12 krpm at 4°C for 20 min, 抽上清液 500  $\mu$ L, 加入 1 ml isopropanol 使之沉澱, 然後搖晃使其均勻即可(不需要強力搖晃), 接著放入-20°C 靜置 5-10min

↓Centrifuge 12 krpm at 4°C for 15 min, 去除上清液, 倒立 10 min, 放在紙上使之乾燥。

↓加入 500  $\mu$ L TE buffer (Buffer B, TE=5:1)會有懸浮物產生。加入 500  $\mu$ L 之 phenol。

↓混合均勻後離心 (10 krpm 4°C for 5min)

↓取上清液到新 eppendorf, 加入 0.25 mL 的 chloroform (chloroform: isoamylalcohol=24:1)

↓再加入 0.25 ml 之 phenol, 混合均勻後離心(10 krpm 4°C for 5min)

↓取上清液到新 eppendorf, 加入 0.5 mL 的 chloroform, 混合均勻後離心(10 krpm 4°C for 5min)

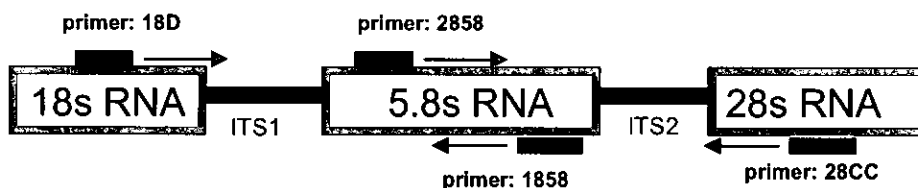
↓取上清液到新 eppendorf, 加入 0.9 ml 的絕對酒精和 0.15 ml of ammonium acetate (7.5 M)

↓混合液放入-20°C for 30 min 使之增加沉澱。

- ↓離心 12 krpm at 4°C for 15 min，去上清液，倒立乾燥 5~10 min(此步驟可直接加入 70% EtOH)
- ↓Rewash by used the 70% EtOH，放置室溫下 15 min
- ↓離心 10 krpm at 4°C for 5 min，去上清液後再次使之乾燥
- ↓加入 TE buffer (10 : 1) 0.2mL
- ↓已分光光度計測定 OD260 之吸光值，以定量 DNA 濃度與純度
- ↓將待測樣品放入-20°C 中保存備用。

## 2. 藥材基原鑑定-PCR 法

- ↓藥材基源之鑑別乃是利用核糖體基因之 Internal transcribed spaces (ITS), ITS1 與 ITS2 作為基原鑑定之依據，所使用引子係參考 Fu RZ et al.,<sup>(7-8)</sup> 王<sup>(9)</sup> 所發表論文並適當修飾，5' 端引子：(18D)：5'-CACACCGCCCGTCGCTCCTACCGA-3'，3' 端引子：(28CC)：5'-ACTCGCCGTTACTAGGTG AA-3'，PCR 放大之反應條件為：25  $\mu$ l 反應中包含 15 ng 模板 DNA，10 mM Tris-HCl (pH 8.3)，50 mM KCl，1.0  $\mu$ M each primer，0.2 mM dNTP，2.0 mM MgCl<sub>2</sub>，1.0 U Klen *Taq* DNA polymerase；反應循環為：one cycle of 94°C for 5 min, 50°C for 1 min and 72°C for 2 min; 40 cycles of 94°C for 1 min, 60°C for 1 min and 72°C for 1.5 min with a final extension of 72°C for 10 min。
- ↓經 PCR 擴增 ITS1/ITS2 序列後以 1%瓊脂電泳(agarose electrophoresis) 進行長度判別，經分離約 800 bp 之片段以 spin column 進行純化動作，再交由合作廠商進行以 Sanger 法之定序工作。經重覆至少三次不同採集地點之同種藥材，經序列比對無誤後，並於自然科學博物館寄存標本樣品後，於 Genbank 登錄序列。



## 步驟二

↓由於許多藥材經曬乾、烘乾、炮製等加工處理後，或染色體 DNA 抽取技術等因素，基因體序列常造成斷裂現象，所以當上述一步驟方法無法同時擴增 ITS1/ITS2 序列時，我們即利用兩步驟分段擴增法，第一組引子由 18D 與 1858 組成，用來擴增 ITS1 序列，第二組引子由 2858 與 28CC 組成，用來擴增 ITS2 序列，PCR 放大之反應條件為：25  $\mu$ l 反應中包含 15 ng 模板 DNA，10 mM Tris-HCl (pH 8.3)，50 mM KCl，1.0  $\mu$ M each primer，0.2 mM dNTP，2.0 mM MgCl<sub>2</sub>，1.0 U KlenTaq DNA polymerase；反應循環為：one cycle of 94°C for 5 min, 50°C for 1 min and 72°C for 2 min；40 cycles of 94°C for 1 min, 60°C for 1 min and 72°C for 1.5 min with a final extension of 72°C for 10 min。

↓經 PCR 擴增 ITS1/ITS2 序列後以 2%瓊脂電泳(agarose electrophoresis)進行長度判別，經分離約 500 bp 之片段以 spin column 進行純化動作，再交由合作廠商進行以 Sanger 法之定序工作。經重覆至少三次不同採集地點之同種藥材，經序列比對無誤後，並於自然科學博物館寄存標本樣品後，於 Genbank 登錄序列。



### 步驟三

↓植物標本製作與自然科學博物館寄存

↓全株植物採下後，先整理花瓣齊壓，放在吸水草紙上，然後將莖、葉整理好，每片葉要展平。有一部分葉要反放。如果莖、根太長超過標本夾的長度，可將莖或根折壓在紙上，完後在上面再鋪幾層吸水草紙，用木夾壓緊綁好，壓在標本夾內的標本每天要翻倒數次，每次換用乾燥的吸水草紙。

↓將製作好之標本填具相關資料後，寄存於國立自然科學博物館標本室，並取得流水編號，供Genbank登錄時使用。

## 二、實驗動物：

本研究使用之動物為國家實驗動物繁殖及研究中心提供之ICR系雄性小鼠，體重25?30公克。

## 三、急性毒性試驗

本實驗使用體重 20g~25g 之 I.C.R 雄性小鼠，將土黨參粗抽物經由口服投藥（8 個劑量，每個劑量 10 隻），連續觀察 72 小時，記錄中毒死亡情形，依 Litchfield and Wilcoxon 氏方法<sup>(10)</sup>，求得使實驗動物一半死亡之劑量及其 95%可信度。

## 四、28天餵食毒性試驗 (28-day feeding toxicity study)

目的是測試試驗物質經重覆給予 28 天後對動物可能產生之毒性影響，了解毒性變化之產生，同時測定無毒性顯示之劑量 (no-observed-adverse-effect level, NOAEL)。

本實驗使用 5-6 週齡之 I.C.R 雌雄性小鼠，每組各 20 隻，將 3 劑量土黨參粗抽物經由口服投藥，餵食體積為 10 ml/kg 動物體重，每天固定時間給予土黨參，連續 28 天，每天觀察動物至少二次(兩次時間間隔不得少於六小時)，以確定死亡情形。每天觀察試驗動物的臨床症狀一次以上，記錄試驗動物顯示的毒性作用，包括作用之開始及過程。定期測量動物的體重及食物消耗量。試驗開始給予試驗物質前，測量動物體重；試驗期間每週至少測量一次。試驗開始給予試驗物質前，測量食物消耗量；試驗期間每週至少測量一次。食物消耗量之測量可以每隻或每組為單位。當以胃管強迫餵食，若在技術上可給予之最大劑量(但不得超過 1000 mg/kg)，而未顯現任何毒性徵兆，則以此劑量做為最高劑量。

臨床病理檢驗：血液檢驗 (Hematology)：試驗動物須在試驗結束前採樣以進行血液檢驗，一般而言，全部動物均須進行血液檢驗，但可因實際情形考量，齧齒類動物每個劑量組至少選擇 10 隻 ICR 動物進行檢測。

血液檢驗項目應包括：hematocrit、hemoglobin、erythrocyte count、凝血因子 (例如 clotting time、prothrombin time、activated partial thromboplastin time 或 platelet count) 等之測量。視試驗需要而定。

血清生化檢驗 (Clinical Chemistry)：試驗動物須在試驗結束前採樣以進行血清生化檢驗。一般而言，全部動物均須進行血清生化檢驗，但可因實際情形考量，每個劑量組選擇 10 隻 ICR 動物進行檢測。血清生化檢驗內容應包括電解質的平衡、醣類的代謝、及肝與腎功能等。血清生化檢測項目包含 alkaline phosphatase、alanine aminotransferase、aspartate aminotransferase、gamma-glutamyl transferase、albumin、bilirubin (total)、creatinine、urea nitrogen、glucose 等。

尿液檢驗 (Urinalysis)：視試驗需要進行。每個劑量組選擇雄、雌至少各 10 隻動物，在試驗物質給予前後進行尿液檢驗一次以上。尿液檢驗項目：顯微鏡觀察尿沈渣，測量尿液之量、酸鹼值與比重，並測量尿液中之 protein、glucose、bilirubin 等的含量。

眼睛檢查 (Ophthalmological examination)：眼睛檢驗包括肉眼檢驗與鏡檢眼睛的外部及內部構造。最高劑量組及對照組的動物在試驗開始給予試驗物質前及試驗結束時進行眼睛檢查一次以上。若發現眼睛異常，則全部動物均須進行眼睛檢查。

組織病理檢驗：試驗期間死亡的動物須儘快進行解剖，肉眼檢查器官與組織之變化。若許可，主要臟器分別稱重並進行組織病理檢查，以尋求死亡的原因及毒性變化的性質 (如嚴重程度)。

一般器官與組織的組織病理檢驗及稱重之項目如下，但可依試驗性質之特性及肉眼檢查發現之異常變化而有所增減：①臟器稱重：liver、adrenals、kidneys、gonad 等分別稱重。②組織病理檢驗：adrenals、heart、kidneys、liver、spleen、及目標器官。

## 參、結果

### 一、土黨參外部型態

生於海拔 400~1800m 的向陽草坡或叢林中。草質纏繞藤本，長可達 2m，有乳汁，全體具白色粉霜。根莖極短，根肥大、肉質，有分枝，外皮淡黃色。葉通常對生，葉柄與葉片近等長；葉片卵狀心形，長 3~7cm，寬 1.5~6cm，先端鈍尖，基部心形，邊緣有淺鈍齒。

花 1~2 朵腋生，萼管短，與子房貼生，5 深裂，裂片三角狀披針形，長 1~1.5cm，花冠鐘狀，長 1~1.3cm，下部與子房連生，5 裂近中等，裂片卵狀三角形，向外反卷，外面淡黃綠色，內面下部紫色；雄蕊 5，線形，花絲窄線形，基部變寬；子房半下位，花柱無毛，柱頭通常 5 裂。

漿果近球形，熟時黑紫色，直徑 1~1.2(~1.5)cm。花期 8~9 月，果期 9~10 月，果期 9~10 月。



圖一、土黨參(金錢豹)之植物圖—花、果實



圖二、土黨參(金錢豹)之植物圖一根

## 二、土黨參 ITS-1, ITS-2 DNA 序列

實驗所得土黨參 ITS-1, ITS-2 DNA 之序列已登錄於 The National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene bank 中，編號為 DQ889459。

```
GGGCACCGCGAGTGTTCGGAT
CGCGCGACGTGGCGGTTCCCTGCCCGGACGTCCGCGAGAAGTCCACTGAACTTATCATTTAGAGGAAGGAGAAGTCC
TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCCGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCAAAGCAGAACGCCCGGAACACGTGAA
CAACACCGGGGACGGCGGCTTCCCGTGGCCCTTCCCGCTGGCGTGGCGCCACCCACTTGCCTGGGAGCATGGCTGC
GTCCGTGGGCCCAAACGAACCCCGCGCGATCCCGCCAAAGGAAAACCTTAACTCCAAGAGCGTCTTGTCTCCCGTCC
CCCCGTTCCGGTGGCGCGCGGTTGGCGGTTGCTTCTTAGTGGAAAATACGAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCG
GCTCTCCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGA
ACGCAAGTTCCGCGCGAAGCCGTTAGCGCGAGGGCACGTCTGCATGGGGTCAACGATCCGGTCCGCCCCCTTAAGGC
AAGGGGAGCGGATACTGGCTCCCGTGGCTCCGGCGCGGCTGGCTCAAAAACGGAGTCCCGCGGAAGGACCCACGAC
AAGTGGTGGTTGATAACAAGGCCCTCCGCTCCCGTGGTGGCACGCTCCCTGGCTGGGTTGGCTCTCGTGACCCGTGACGG
GTCTTCCCTGCTTACTTACTTAGTAGGCTTAAGCCTAAGGCGCTCCGACCGCGACCCCATGTTCAGGCGGGACTACCCGC
TGAGTTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAACTTAC
AAGGATTCACCA
```

圖三、土黨參 ITS-1, ITS-2 DNA 序列

LOCUS DQ889459 833 bp DNA linear PLN 18-SEP-2006  
DEFINITION *Codonopsis javanica* subsp. *japonica* 18S ribosomal RNA gene, partial  
sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene,  
and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S  
ribosomal RNA gene, partial sequence.  
ACCESSION DQ889459  
VERSION DQ889459.1 GI:114324634  
KEYWORDS .  
SOURCE *Codonopsis javanica* subsp. *japonica*

圖四、土黨參 ITS-1, ITS-2 DNA 序列登錄於 The National Center for  
Biotechnology Information (NCBI) Gene bank



### 三、土黨參乙醇粗萃取物之急性毒性：

I.C.R小鼠經口服土黨參乙醇粗萃取物(10 g/kg)，觀察72小時均未死亡。

表一、土黨參乙醇粗萃取物之急性毒性

	口服急性毒性 (LD <sub>50</sub> , g/kg)
土黨參乙醇粗萃取物	>10

四、土黨參乙醇粗萃取物之 28 天餵食毒性：

1. I.C.R小鼠經口服三種不同劑量 (0.3, 1.5, 3.0 g/kg) 之土黨參乙醇粗萃取物，每天給藥一次，連續給藥28天並觀察28天，均未見死亡。

表二、土黨參乙醇粗萃取物之 28 天餵食小鼠死亡之數

Groups	小鼠死亡之數/實驗隻數
CJSJ 0.3 g/kg	0/20
CJSJ 1.5 g/kg	0/20
CJSJ 3.0 g/kg	0/20

2. 土黨參乙醇粗萃取物 28 天餵食小鼠四週體重變化量：

表三、土黨參乙醇粗萃取物 28 天餵食小鼠之體重變化量

組別	平均體重 (g)			
	第一週	第二週	第三週	第四週
正常組	29.60±0.34	31.14±0.42	31.89±0.53	33.36±0.57
TDS 0.3 g/kg	30.95±0.63	32.74±0.56	33.98±0.63	34.69±0.69
TDS 1.5 g/kg	31.40±0.50	32.10±0.53	33.18±0.68	33.51±0.66
TDS 3.0 g/kg	31.60±0.50	33.78±0.75	34.22±0.95	34.48±0.93

3. 土黨參乙醇粗萃取物28天餵食小鼠食物消耗量：

表四、土黨參乙醇粗萃取物 28 天餵食小鼠之食物消耗量

組別	食物消耗量 (g)			
	第一週	第二週	第三週	第四週
正常組	350	298	293	285
TDS 0.3 g/kg	400	303	283	265
TDS 1.5 g/kg	340	287	270	260
TDS 3.0 g/kg	308	366	204	180

(每組 10 隻)

4. 土黨參乙醇粗萃取物28天餵食小鼠之血清生化值：

表五、土黨參乙醇粗萃取物 28 天餵食小鼠之血清生化值

組別	sGOT (U/L)	sGPT (U/L)	TG (mg/dl)	CHOL (mg/dl)	ALP (U/L)
正常組	107.76±10.47	40.57±5.36	270.63±9.70	123.64±6.21	89.30±3.10
TDS 0.3 g/kg	115.99±4.46	43.35±5.80	260.73±9.24	132.96±5.48	97.82±7.22
TDS 1.5 g/kg	121.93±10.88	51.08±6.12	282.85±9.13	119.12±4.92	95.80±4.09
TDS 3.0 g/kg	157.59±13.38*	51.46±5.96	276.24±8.37	121.14±5.90	123.62±8.35**

組別	BUN (mg/dl)	ALBU (g/dl)	UA (mg/dl)	GLUC (mg/dl)	CREA (mg/dl)
正常組	16.94±0.39	3.85±0.12	5.06±0.16	226.68±5.95	0.54±0.10
TDS 0.3 g/kg	16.89±1.54	3.54±0.11	5.07±0.34	208.47±9.70	0.71±0.06
TDS 1.5 g/kg	15.67±0.52	3.54±0.08	5.11±0.23	227.50±10.61	0.75±0.08
TDS 3.0 g/kg	15.22±1.09	3.72±0.06	5.10±0.12	229.22±8.07	0.64±0.07

5. 血液檢驗 (Hematology) :

表六、土黨參乙醇粗萃取物 28 天餵食小鼠之血液檢驗

組別	WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	RBC ( $10^6/\mu\text{l}$ )	HGB (g/dl)	HCT (%)	PLT ( $10^3/\mu\text{l}$ )
正常組	4.23±0.41	6.43±0.23	11.25±1.36	36.84±0.58	1114.25±57.20
TDS 0.3 g/kg	4.30±0.89	8.04±0.12	13.94±1.22	45.98±0.98***	1184.60±80.31
TDS 1.5 g/kg	3.98±0.26	7.80±0.14	13.37±1.27	43.92±0.91***	1179.33±44.56
TDS 3.0 g/kg	3.10±0.21	8.40±0.16	14.47±1.28	47.17±0.71***	1281.17±29.97

Data represented as mean±SEM (n=10). HGB: Hemoglobin

## 肆、討論

土黨參(金錢豹)外部型態特徵為草質纏繞藤本，長可達 2m，有乳汁，全體具白色粉霜。根莖極短，根肥大、肉質，有分枝，外皮淡黃色。葉通常對生，葉柄與葉片近等長；葉片卵狀心形，長 3~7cm，寬 1.5~6cm，先端鈍尖，基部心形，邊緣有淺鈍齒。花 1~2 朵腋生，萼管短，與子房貼生，5 深裂，裂片三角狀披針形，長 1~1.5cm，花冠鐘狀，長 1~1.3cm，下部與子房連生，5 裂近中等，裂片卵狀三角形，向外反卷，外面淡黃綠色，內面下部紫色；雄蕊 5，線形，花絲窄線形，基部變寬；子房半下位，花柱無毛，柱頭通常 5 裂。漿果近球形，熟時黑紫色，直徑 1~1.2(~1.5)cm。花期 8~9 月，果期 9~10 月，果期 9~10 月。生於海拔 400~1800m 的向陽草坡或叢林中。比對 Flora of Taiwan 資料顯示，台灣栽培種土黨參應為金錢豹 [*Codonopsis javanica* (Blume) Miq. subsp. *japonica* (Maxim. ex Makino) Lammers ]

土黨參(金錢豹)的 ITS1 與 ITS2 的基因序列已定序並登錄於 The National Center for Biotechnology Information (NCBI) Gene bank 中，編號為 DQ889459。另有一種大花金錢豹與其相似，區分其花冠鐘狀，長 2~3cm，漿果直徑 1~2cm。經比對其外部型態及 ITS-1 及 ITS-2 DNA 序列，土黨參之基原為 *Codonopsis javanica* subsp. *japonica*。

I.C.R 小鼠經口服土黨參乙醇粗萃取物(10 g/kg)，觀察 72 小時均未死亡。顯示其口服急性毒性甚低。I.C.R 小鼠經口服三種不同劑量 (0.3, 1.5, 3.0 g/kg) 之土黨參乙醇粗萃取物，每天給藥一次，連續給藥 28 天並觀察 28 天，均未見死亡。但土黨參乙醇粗萃取物高劑量組 (3.0 g/kg) 會造成血清中 GOT 與 ALP 上升，sGOT 是肝臟的酵素，會在肝受傷或發炎時升高，所以被視為肝功能的指標，而鹼性磷酸酶(ALP)亦是人體的一種酵素，普遍存在於細胞中，其中以肝、膽、骨骼中含量最多，因為 ALP 對肝膽的異常較敏感，所以 ALP 上升時，可能是肝或膽道系統有關。由實驗結果顯示土黨參乙醇粗萃取物高劑量可能會增加肝臟的負荷。

小鼠連續四週給藥後，血液檢驗項目中可知土黨參乙醇粗提取物會增加小鼠血液中的 Hematocrit。Hematocrit 是血容比或稱血球比容(Hct)是指紅血球在血液中所占的體積；這項檢驗可以反映紅血球狀態。在原則上，血容比值約為血紅素的三倍左右，血容比值偏低時，通常表示可能有貧血，偏高則可能有紅血球增生問題。此外，在脫水的狀態下，血容比也會上升。所以由實驗結果得知，土黨參乙醇粗提取物連續四週給藥後，會增加血液中 Hematocrit 的比值。小鼠連續四週給藥後，對於血小板數 (PLT) 無關，可見土黨參不會影響凝血系統。

綜合以上結果顯示，台灣栽培之土黨參(金錢豹)基原為 *Codonopsis javanica* subsp. *japonica*。土黨參(金錢豹)之急性毒性甚低，28天餵食三種不同劑量均未見死亡，但高劑量則會影響小鼠食慾及肝功能。

## 伍、結論

1. 從外部型態及ITS-1及ITS-2 DNA序列，土黨參之基原應為*Codonopsis javanica* subsp. *japonica*。
2. 從急性毒性試驗結果可得知，土黨參乙醇粗提取物經口服給予，均未具毒性(LD<sub>50</sub> >10 g/kg)。
3. 小鼠28天餵食毒性試驗，連續觀察28天未見異常現象，且小鼠均無死亡，可見其也未具有28天餵食毒性。
4. 小鼠四週平均體重變化量不大，平均每隻小鼠一週均增加2g左右。
5. 小鼠食物消耗量每組四週時間攝取量都很固定，但每週攝取量有下降的趨勢，特別是以高劑量組(3.0 g/kg)攝取量下降最為明顯。
6. 血清生化檢驗數據方面，連續四週給藥後，3.0 g/kg組中sGOT與ALP都有明顯上升。
7. 血液檢驗：連續四週給藥後，血液中的HCT有上升的趨勢。



## 陸、參考文獻

1. Morris, K.E., and Lammers, T.G., 1997. Circumscription of *Codonopsis*, and the allied genera *Campanumoea* and *Leptocodon* (Campanulaceae: Campanuloidea). I. Palynological data. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 38: 277-284.
2. 甘偉松：台灣藥用植物藥材誌一~三輯，國立中國醫藥研究所，台北，1980。
3. 楊再義：臺灣植物名彙，天然書社有限公司，1982。
4. 謝文全編：「臺灣產中藥材資源之調查研究(1-4)」，中國醫藥學院，2000。
5. 張永勳、陳益昇等編：臺灣藥用植物資源名錄，行政院衛生署中醫藥委員會，2003。
6. Fu, R.Z., Wang, J., Sun, Y.R., Shaw, P.C., 1998. Extraction of genomic DNA suitable for PCR analysis from dried plant rhizomes/roots. *Biotechniques* 25:796-8.
7. Fu, R.Z., Wang, J., Sun, Y.R., Shaw, P.C., 1998. Extraction of genomic DNA suitable for PCR analysis from dried plant rhizomes/roots. *Biotechniques* 25: 800-1.
8. Fu, R.Z., Wang, J., Zhang, Y.B., 1999. Differentiation of medicinal *Codonopsis* species from adulterants by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Planta Medica* 65:648-50.
9. 王建波，張文駒，陳家寬 核rDNA的ITS序列在被子植物系統與進化研究中的應用. *植物分類學報*, 1999, 37(4) : 409.
10. Litchfield, J.T., Wilcoxon, F., 1949. A Simplified methods of evaluating dose effect experiment. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96,99-113.