

它未见明显异常。

上述两项试验表明:本品毒性极低,临床应用剂量是安全的。

3.4 临床研究

为观察该药的临床疗效,以复聪胶囊的处方及临床剂量,制成片剂的形式给予耳聋患者,对突发性耳聋、感音神经性耳聋及小儿药物性耳聋进行临床观察,结果如下:

3.4.1 对突发性耳聋的疗效:天津南开医院用该药为主治疗 88 例突发性耳聋,治愈 29 例,显效 20 例,有效 23 例,总有效率 81.8%。对比西药治疗 75 例,治愈 15 例,显效 14 例,有效 19 例,总有效率 64%。表明该药为主治疗疗效比西药治疗($P < 0.01$)。

3.4.2 对感音神经性耳聋的疗效:中国人民解放军武警总队月坛医院、中国人民解放军 305 医院、杭州武警医院、长海医院、徐州空军后勤勤务学院医院、杭州西湖人民医院等用该药治疗感音神经性耳聋 200 例,结果痊愈 8 例,显效 52 例,有效 74 例,总有效率 67%。

天津南开医院用该药治疗感音神经性耳聋 310 例,轻度耳聋 31 例,中度耳聋 79 例,重度耳聋 148 例,全聋 52 例,其中 89 例用过耳聋左慈丸,75 例用过六味地黄丸,(所有病例军用过西药、中药及针灸治疗,疗效不理想)。结果有效率 28.8%,显效率 39.12%,痊愈 2.9%,总有效率 70.7%。说明该药疗效明显好于目前的耳聋常用药——耳聋左慈丸。

3.4.3 对小儿药物性耳聋的疗效:天津南开医院与军事医学科学院卫生研究所用该药治疗小儿药物性耳聋 30 例,治疗后显效 11 例,有效 8 例,总有效率 63.3%。

4 耳聋新药的市场前景

耳聋为一类多发的疑难病,耳聋药物治疗历来是世界医学界的难题。耳聋所产生的语言交流障碍还会带来心理上负担,加重抑郁、自我封闭倾向,进而产生一系列情致心理健康问题,给患者、家庭和社会带来重大负面影响。特别是老龄性耳聋,其发病过程与衰老密切相关,单从配带助听器及针灸治疗不能从根本上解决问题。中医有“肾主耳”,“肾虚则耳聋”的理论,以补肾填精,活血通窍,延缓衰老为治则进行药物预防和治疗是一条可行的途径,因此,耳聋中药新药具有标本兼治的优势和特点。据调查,我国现有 60 岁以上人 1.1 亿,到 21 世纪中叶,将达到 4.4 亿,人口老龄化的速度为人口增长速度的 2 倍,耳聋患者的相对人口和绝对人口都将大大增加;再者,噪声污染(包括环境噪声、工业噪声和娱乐噪声)加大,使噪声致聋的人群加大;其三,药物性耳聋多发在儿童和青少年中,听力障碍严重影响了儿童和青少年的自我成长和心理健康,已全社会共同关心此问题。目前,耳聋药物很少,几无新药上市,因此耳聋药物的开发具有现实性和前瞻性,产品投放市场后,可获得重大的经济效益和社会效益。

参考文献(略)

收稿日期:2000-08-28

厚朴道地性的遗传学证据

郭宝林¹, 吴 勤¹, 斯金平², 李家实¹(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 浙江省景宁县科委, 景宁 323500)

摘要:目的:利用 RAPD 技术探讨厚朴的道地性问题。方法:选择代表厚朴主要分布区的 11 个产地 33 个个体的材料作为样本,经 DNA 提取,用 74 个随机引物进行 PCR 扩增。结果:筛选到 17 个合适的引物,得到 116 条带,其中多态性带 105 条,计算样本间相似性系数,又进行了聚类分析,得到聚类图。结论:结果支持厚朴不应分为两个亚(变)种,而应分为三个地理宗;“川朴”及“温朴”有明显的遗传分化,且与有效成分相关,故其道地性主要由遗传因素决定。

中图分类号:R282.5 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2000)05-0314-03

厚朴是我国特有的珍稀保护植物,其皮、花等属国家二级保护中药材,来源于厚朴 *Magnolia officinalis* 及其变种凹叶厚朴 *M. officinalis* var *biloba*^[1]。商品厚朴历史上主要按产地分为川朴(产于湖北和四川,来源于厚朴)和温朴(产于浙江和福建,来源于凹叶厚朴)。一般来讲川朴最好,温朴次之,而其他产地的质量更差。多项研究表明,不同来源的药材厚朴酚、和厚朴酚的含量差异很大^[2-4];从一些研究中可看出,不同的采收部位、生长年限、树皮厚度及储藏时间等对酚类的含量有很大的影响^[5,6],因而以往研究结果对阐明道地性与含量之间的

关系参考意义十分有限。斯金平等新近的研究发现^[7],道地性与含量相关,也与形态呈现相关性,而且有一定的可遗传性,寻找更为可靠的证据以阐明厚朴的道地性成因,是进一步研究的关键。RAPD 技术是 90 年代以来发展起来的 DNA 指纹技术,可以对全基因组进行扫描,找到不同样本间在 DNA 水平上的遗传差异。其结果不受材料的生长环境及发育过程的影响,可以为药材的道地性提供最为直接的遗传学上的证据。

1 材料和方法

1.1 材料

1999 年 12 月 28 日采自浙江景宁 7 年生厚朴种源试验地, 共采 11 个种源的 33 个个体 (每个种源 3 个个体) 的厚朴叶芽, 经硅胶快速干燥。材料来源与以往的研究

有一定的连续性^[7-9], 包括了厚朴的主要产区和主要的叶型变化类型。参见表 1。

表 1 厚朴材料来源及叶型

序号	种源	叶片先端形状	序号	种源	叶片先端形状
1, 2, 6	江西庐山	2 裂可深达 6 厘米	19- 21	浙江遂昌	圆钝、微凸或微凹
3- 5	湖北五峰	圆钝小凸尖	22- 24	四川灌县	微凸、微凹或圆钝
7- 9	广西资源	2 钝圆浅裂或 2 裂	25- 27	浙江天台	圆钝、微凸或微凹
10- 12	浙江景宁	圆钝、微凸或微凹	28- 30	福建光泽	圆钝、微凸或微凹
13- 15	湖北鹤峰	圆钝小凸尖	31- 33	湖北恩施	圆钝小凸尖
16- 18	福建浦城	圆钝、微凸或凹缺			

1.2 仪器和试剂

离心机为 Heraeus 公司生产的 Biofuge Stratos, PCR 仪为 PERKIN ELMER 公司生产的 GeneAmp PCR System 9600, 电泳仪为 BIO- RAD 公司生产的 POWER PAC 300。

Taq 酶、DNA ladder (华美公司), dNTP、随机引物(上海 Sangon), EB (SIGMA), β- 巯基乙醇 (MERCK), Tris 碱 (GIBCO), EDTA (AMRESCO), 琼脂糖凝胶 (Spanish), 其他溶剂为分析纯。

1.3 DNA 提取

参照文献^[10]并加以改进, 将厚朴芽剥去外皮, 约 0.4 ~ 0.8g, 在液氮环境下研磨成细粉状。加入已预热的 2× CTAB (1%β- 巯基乙醇) 6 ml, 65℃ 恒温 45'; 期间振摇几次。取出放置至室温, 离心取上清液加 6 ml 氯仿- 异戊醇 (24 1), 离心, 重复此步骤至界面澄清。

取上清液加 2/3 体积的异丙醇, 20℃ 冷藏 1h, 12000 rpm 离心 15'。弃去上清液, 再分别用 75% 和 100% 乙醇将沉淀清洗一次, 晾干, 100μl TE 溶解。

1.4 PCR 扩增

25μl 反应体系。模板 DNA 5μl (5- 10ng), 10× Reaction Buffer 2.5 μl, 2.5 mM dNTP 2μl, 25 mM Mg2+ 2μl, ddH2O 12μl, Taq 酶 0.5μl (1.5U), 引物 1μl (15ng)。

PCR 扩增程序为: 预变性: 94℃, 10'; 扩增循环 (45 cycles): 94℃, 1'; 36℃, 1'; 72℃, 2'; 延伸: 72℃, 10'。从 S1- S74 筛选出 17 个引物, 分别是 S4, S10, S11, S17, S18, S20, S22, S27, S28, S29, S34, S37, S38, S39, S42, S43, S45。设不加模板的空白对照, 每个引物重复 2- 3 次。

2 结果

共得到 116 条带。对扩增条带进行统计, 每一位点有带记为“1” (强带和弱带同记), 无带记为“0”, 得到数据矩阵, 用 DICE 相似性系数计算相似性, 用 UPGMA 得到聚类图, 参见图 1。

3 结论和讨论

从图 1 可见, RAPD 结果明显地把 33 个样本聚为 3 群, 所划分的 3 个类群与叶形分化类型基本一致, 与表型性状相关性研究的结论基本吻合^[8,9]。其中典型厚朴的样本 (3- 5, 13, 15, 31- 33, 叶端呈小凸尖形) 分支的分辨率最好, 即该分支在遗传上与其他种源差别较大, 分支内不

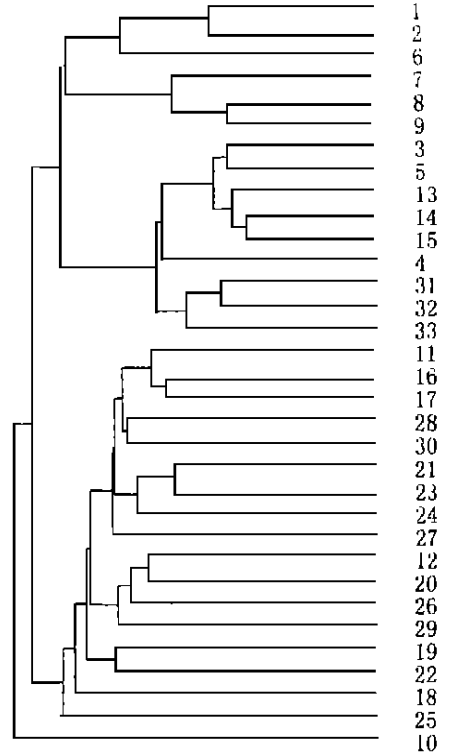


图 1 厚朴 33 个样本的 RAPD 结果聚类图 (样本来源可参见表 1)

同种源间有一定的遗传分化, 但种源内单株间表现比较一致; 典型凹叶厚朴群 (1, 2, 6, 7- 9, 叶端凹陷成两裂片) 的支持率较差, 但群内两个种源的样本遗传分化明显; 过渡类型的样本 (10- 12, 1- 30, 叶端由微尖至微凹, 出较大的变化), 包括四川灌县的样本 (22- 24), 则种源间差异不明显, 种源内单株间的遗传变异与种源间的差异相当, 形成一个复合的群体。斯金平依据叶型等其他性状建议将厚朴分为三个地理宗是合理的。而川朴属于典型的厚朴, 温朴属于过渡类型, 典型的凹叶厚朴仅局限分布于少数地区。

斯金平等认为, 传统产区的厚朴质量差异并非完全由当地的气候、土壤等环境因素作用于植物, 而是厚朴群体间已产生遗传分化, 形成了有遗传差异的种源, 传统观

点认为质量上乘的川朴(川东和鄂西产厚朴)实际上应归功于其地方品种,品种类型决定了厚朴的质量^[7]。从本项目研究结果可看出代表厚朴各道地产区的不同群体之间遗传差异明显,为“厚朴药材的道地性主要来源于遗传差异”给出了有力的遗传学上的支持。

厚朴药用历史悠久,药用部位是树皮、根皮和枝皮,由于市场的需求,厚朴的破坏性采挖,致使其野生资源逐渐减少,目前已近枯竭。因而野生资源的概貌已无法了解,据调查,现各地种植的厚朴大多来自当地的种源,因而本研究可代表当前药材厚朴的情况,并可基本代表历史上道地产区的情况。但由于各地的栽培历史及种质来源均无法细考,《中国植物志》等文献所记载的一些厚朴及凹叶厚朴分布区的资料无法指明其来源于野生或栽培;又由于厚朴和凹叶厚朴的唯一区别在于叶端的形态,模式产地(厚朴—湖北秭归,凹叶厚朴—江西庐山)之外的样本常被以往研究者归为其中的一个类型,而忽视了过渡或群内变异的存在。我们首次发现应分为三种类型,并证明这种分法是科学的,而其中的 RAPD 方法则是确定其归类的可靠方法。如四川灌县不是川朴的道地产区,但被《中国植物志》和《中国保护植物红皮书》中列为厚朴的分布区,我们的研究结果表明,四川灌县厚朴栽培基地的种类无疑应属于过渡类型,它能否代表当地的野

生类群,还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 化学工业出版社, 2000, 204~ 2052.
- [2] 宋万志, 崔建芳, 章观德. 厚朴类有效成分的含量测定几高效液相色谱图[J]. 天然产物研究与开发, 1990, 2(4): 1.
- [3] 陈德昌, 刘家旺. 厚朴和大叶木兰中厚朴酚与和厚朴酚的含量测定[J]. 药学学报, 1982, 17(5): 360
- [4] 苏世文, 许春泉, 隋长惠, 等. 中药厚朴及其类似品的有效成分分析[J]. 沈阳药学院学报, 1992, 9(3): 185
- [5] 赵中振, 胡梅, 唐晓军. 不同树龄三种厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量的研究[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(1): 15
- [6] 李宗, 张明, 林晓, 等. 闽产厚朴的质量研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(7): 15
- [7] 斯金平. 厚朴药材道地性的研究[J]. 中药材, 2000, 23(7): 373.
- [8] 斯金平, 刘饶, 蔡通爱, 等. 不同种源厚朴性状变异的初步研究[J]. 浙江林业科技, 1998, 18(3): 13~ 16.
- [9] 斯金平, 潘心平, 童再康, 等. 产地和树叶类型与厚朴质量关系的研究[J]. 中药材, 1998, 21(11): 541~ 543
- [10] 顾红雅, 瞿礼嘉, 明小天, 等. 植物基因与分子操作. 北京: 北京大学出版社, 1995 19~ 23

收稿日期: 2000- 08- 28

贵州药用植物种质资源可持续利用的研究

邹天才(贵州省植物园, 贵阳 550004)

摘要: 贵州地处亚热带高原山地型气候区, 具有温暖湿润、水热条件比较优越和光热水同期的环境优势, 发育和蕴藏着丰富的药用植物种质资源。据调查研究和核证统计, 贵州植物药品种 3924 种, 占中药资源品种的 91. 47%; 药用植物种质资源 275 科 1384 属 2987 种, 药用高等植物 2802 种, 占高等植物总数的 43. 1%, 并含有北温带、温带、南亚热带、甚至热带的植物类群和| 些过度成分, 其中如杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)、天麻(*Gastrodia elata* Bl.)、淫羊藿(*Epimedium grandiflorum* Monr.)、石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)、喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)等重要常用种类就有 465 种。但由于贵州 73% 的喀斯特地质地貌因水土流失和石漠化现象而造成的生态环境恶化致使| 些生态脆弱的珍稀和特有药用植物种类趋于濒危, 广布种也逐渐稀少, 再加上植物种类的分 布零散和| 些商人只顾眼前利益的乱采乱掘活动, 造成资源严重破坏和难于使药用植物的资源优势向经济优势转化, 解决贵州药用植物种质资源的有效保护和合理开发利用迫在眉睫。为此, 我们开展了贵州药用植物种质资源及其开发利用的现状与发展的调查研究, 重要药用植物种类的引种栽培和种苗扩繁与栽培技术, 药用植物种质资源利用与开发途径及产品评价等研究工作。提出了在对贵州药用植物种质资源实行有效保护和确保植物体药用质量的前提下, 合理高效的开发利用和推广大面积种植栽培, 走资源节约型、产品高科技的中药现代化发展路子; 科学区划为“1. 黔西北中山山地丘陵、2. 黔西南及黔南山原山地河谷、3. 黔东南中低山丘陵、4. 黔北及黔东北山原山地、5. 黔中山原地区”等 5 个区域类型, 分重点地开发药用植物种植和建立“商品药材生产基地、原料药材生产基地和食药两用绿色药材生产基地”及其 GAP 示范基地; 坚持资源开发的“针对性与实用性、综合性和创新性”原则, 采用种苗扩繁和推广栽培技术建立贵州优质无公害特色药材种植示范基地和生产基地, 分层次实施产品分级开发利用等, 这对于贵州药用植物种质资源的可持续利用和加快贵州中药现代化科技产业的可持续发展具有重要意义。

关键词: 贵州药用植物; 种质资源利用; 可持续发展

中图分类号: R281. 4

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0111(2000) 05- 0316- 08