

容,尤其是对有毒中草药的炮制探索一条新的途径。

参考文献

1 北京同仁堂药酒厂. 中成药研究,1981,3(3):20
2 杨 锡,等. 中成药,1993,15(8):18
3 杨 锡,等. 中药材,1992,15(7):26
4 吴 皓,等. 中国中药杂志,1996,2(11):660
5 邓东云,等. 中国医院药学杂志,1987,(9):421
6 李光端,等. 中国中药杂志,1991,16(5):279
7 天津中药饮片厂. 新医药杂志,1977,(6):43
8 中国人民解放军五八医院制药厂. 中草药通讯,1975,6(3):26
9 中国人民解放军五八医院制药厂. 天津医药,1975,(9):461
10 林兆侯. 中华医学杂志,1958,44(7):653
11 上官贤. 中成药研究,1985,7(4):19
12 卢文清. 江西中医药,1988,19(3):18

13 薛建海,等. 中国中药杂志,1991,16(4):220
14 魏其才. 中成药,1990,12(11):17
15 刘成基,等. 中国中药材,1990,13(5):25
16 江 林. 中国中药杂志,1990,12(4):19
17 吴 皓,等. 中国中药杂志,1996,21(3):157
18 中医研究院中药研究所. 中草药,1985,16(4):21
19 王浴生,等. 中药药理与应用. 北京:人民卫生出版社,1983. 383
20 汤玉妹,等. 中成药,1994,16(9):21
21 杨守业,等. 中成药研究,1988,10(7):18
22 张作舟,等. 中药通报,1983,8(4):33
23 陶宗晋,等. 生理学报,1983,35(1):107
24 陶宗晋,等. 生物化学与生物物理学学报,1981,13(11):77
25 夏林纳,等. 上海第一医学院学报,1985,12(3):193

(1997-09-23 收稿)

中药贝母的组织培养研究概况

中国药科大学(南京 210038) 蔡朝晖* 李 萍 高山林

摘 要 概述国内贝母组织培养的研究,包括培养基、培养方法和条件,组培贝母鳞茎的生长特征、生物碱积累、化学成分和药理作用等,还对贝母组织培养的发展前景做了展望。

关键词 贝母 组织培养 化学成分 药理作用

贝母为百合科 *Liliaceae* 贝母属 *Fritillaria* L. 多种植物的鳞茎,有悠久的历史使用历史,是我国重要的中药材之一。据报道,目前我国贝母属植物有 61 种,50 变种,5 变型,按其临床功能分为两大类:川贝,清热润肺,化痰止咳;浙贝,清热化痰,开郁散结。贝母类商品药材依靠野生和栽培,而野生资源逐渐减少,在栽培生产上,由于贝母的有性繁殖年限较长,无性繁殖的系数较低,产量一直供不应求。为了缩短贝母的生产周期,提高无性繁殖系数,国内就贝母的组织培养做了大量工作,现就其研究情况做一简述。

80 年代中期前,贝母的组织培养工作大多是与栽培相结合,提供幼苗,以扩大繁殖系数,以后大多是将贝母的鳞茎接种后再直接或间接地形成新的鳞茎,不经过育苗移栽入大田。据报道,已在川贝母 *F. cirrhosa* D. Don^[1]、暗紫贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia^[2]、浙贝母 *F. thunbergii* Miq.^[3]、利川贝母 *F. lichuanensis* P. Li et C. P. Yang、平贝母 *F. ussuriensis* Maxim.^[4]、湖北贝母 *F. hupehensis* Hsiao et K. C. Hsia^[5]、皖贝母 *F. anhuiensis* S. C. Chen et S. F. Yin^[6]、太白贝母 *F. taipaiensis* P. Y. Li^[7]、伊贝母 *F. po-*

* Address: Cai Zhaohui, China Pharmaceutical University, Nanjing
蔡朝晖 女,助理研究员。1988 年获华东师范大学生物系植物生理专业硕士学位,同年分配至中国药科大学工作,长期进行药用植物组织培养的研究,现正在攻读生药学博士学位,前后发表论文 20 余篇。

dlidiflora^[8] 和 华 西 贝 母 *F. sichuanica* S. C. Chen^[9] 上获得成功,它们其中大多是经过愈伤组织后再分化出小鳞茎或直接由外植体上形成小鳞茎,文献当中已经报道了由伊贝母诱导出愈伤组织后形成胚状体再发育成小鳞茎^[10,11]。

1 方法和条件

1.1 外植体:从现有的资料来看,使用最多的外植体是鳞茎。发现采集鳞茎的时间与再生鳞茎的频率及数量有密切的关系。生根期采集的鳞茎的再生率为 7.8%,出苗盛期为 48.3%,开花盛期为 15.9%,果熟期为 0.1%。苗期鳞茎培养 2 个月后再生的小鳞茎为原接种数的 12.3 倍,而生根期和花期鳞茎再生的小鳞茎分别为原接种数的 6.8 倍和 5.3 倍。以种胚为外植体时,培养基中要加 GA 解除休眠才能形成愈伤组织^[12]。

1.2 培养基:贝母鳞茎多采用 MS 基本培养基。发现暗紫贝母鳞茎在 MS 培养基上的生长率明显高于在其它培养基上的生长率,分别为在 B₅、SH、67-V 培养基的 1.52、1.57 和 1.67 倍,且每升培养基增加的鳞茎鲜重和干重也是在 MS 培养基上增值最大,分别比位于第二位的 B₅ 培养基高出 79%和 58%^[13]。其它种贝母的培养也多采用 MS 为基本培养基,看来贝母鳞茎的诱导和生长需要较高的离子浓度。

我们对暗紫贝母的研究还表明,培养基中蔗糖浓度为 3%~5%时,鳞茎的生长率和生物碱含量较高,尤其是在 5%浓度时生长率和生物碱含量最高,过高或过低的蔗糖浓度都会大大影响生物碱的合成。由此看来,相比于其它植物,组培贝母鳞茎生长所需的蔗糖浓度偏高,这可能与贝母鳞茎中主要是淀粉,而淀粉的合成需要蔗糖的参与有关。培养基中添加酪氨酸和赖氨酸均可提高鳞茎的生长率,但不能促进生物碱的合成^[14]。

1.3 激素:贝母的鳞茎培养常用的激素有 2,4-D、NAA、IAA、KT 和 BA,不同种的贝母培养时所用激素见表 1。

表 1 培养不同种的贝母的培养基

种名	培养基	mg/L
卷叶贝母	/a	
暗紫贝母	MS+BA 1 ^b +IAA 1	
浙贝母	MS+2,4-D 1+NAA 1 或 ZT 1(诱导愈伤组织) H+2,4-D 1.5~2+NNA 1 或 ZT 1(分化鳞茎)	
利川贝母	MS+BA 1+IAA 1	
平贝母	MS+NAA 0.5~1(诱导愈伤组织) MS+NAA 0.5+KT 1 或 BA 4(分化鳞茎)	
湖北贝母	MS+NAA 1+BA 3	
伊贝母	MS+2,4-D 1+BA 0.2	
华西贝母	MS+NAA 1+2,4-D 1(诱导愈伤组织) ER+NAA 0.5+2,4-D 2(分化鳞茎)	
太白贝母	MS+NAA 2+KT 1 MS+2,4-D 2+BA 1(诱导愈伤组织)	
皖贝母	MS+NAA 0.25+BA 2(分化鳞茎)	

a:未见详细报道; b:激素浓度

从表 1 中看出,生长素和细胞分裂素配合使用时,贝母外植体多直接再生小鳞茎,而当仅用生长素类激素时,常常是先形成愈伤组织,而后转入分化培养基上形成小鳞茎。对于处于休眠期的外植体,在培养基中再附加一些 GA 不仅能提高愈伤组织诱导率,而且对生长也有良好的促进作用。

1.4 培养条件:对贝母培养条件的研究不多,一般均采用 20℃±1℃的散射光培养,培养温度较一般的植物外植体低。对暗紫贝母研究的结果表明^[15]:20℃温度下,其平均生长率稍高于 25℃时的生长率,但明显地高于 15℃的生长率,15℃和 20℃时的鳞茎中生物碱含量明显高于 25℃时的生物碱含量。光照或黑暗培养对生长率影响不大。

1.5 培养方法:贝母鳞茎培养大多采用固体培养,而根据文献^[15]报道,液体培养的生长率比固体培养的高 31%,在摇床上培养的暗紫贝母鳞茎每升培养基可产生生物碱 8.005 mg,比固体培养基高 30%。平贝母鳞茎的愈伤组织、湖北贝母的 1 个鳞茎切片在固体培养基上可产生 3~5 个芽,最多 7~8 个芽,而在液体培养基上则可产生几十个芽^[4,5]。这可

能是由于在液体培养基上营养能够被充分吸收的缘故。

2 外植体再生小鳞茎的途径

外植体再生小鳞茎有 3 条途径:一是先形成愈伤组织,后由特化了的愈伤组织表皮层细胞经多次分裂发育成不定芽,如华西贝母、皖贝母、浙贝母;二是由外植体表面直接长出小鳞茎或小芽,如暗紫贝母;三是由组织表层和内层一些特化了的胚性细胞经多次分裂发育成胚状体而形成小鳞茎,如伊贝母^[10,11]。根据现有的资料看,第一、二条途径较普遍,尤其是第二条途径,在短时间内可以得到大量的鳞茎,而如以再生植株为目的,则应选择第三条途径。

3 组培贝母鳞茎生长特征和生物碱的积累

暗紫贝母鳞茎切块在培养基上经过 20 d 静止适应阶段后开始恢复生长,30 d 后陆续从切口部位长出小鳞茎,经 20 d 后小鳞茎长成直径 0.5~1 cm,形状大小和野生暗紫贝母相似,培养 50 d 后生长减慢并逐渐停止。从生长率变化情况看,30~40 d 期间生长率净增长 0.688,40~50 d 期间净增长 0.797,是增长最快的时期,50~60 d 期间净增长仅为 0.22,60 d 以后营养已消耗殆尽,生长逐渐减慢。

从生物碱在整个培养期的积累看,从培养初期至后期始终保持在比较稳定的水平,这说明生物碱是伴随着生长过程同步进行合成积累的。从每升培养基可产生生物碱的数量来看,暗紫贝母鳞茎组织培养以 50 d 为适宜采收期^[2]。

4 组培贝母鳞茎的化学成分

对卷叶贝母、湖北贝母、暗紫贝母组培鳞茎的研究表明:组培鳞茎与原种鳞茎有相似的生物碱和皂甙组成,且一般总生物碱含量比原种鳞茎高。如组培卷叶贝母鳞茎的总生物碱含量平均值为 0.75%,相当于原种鳞茎的 2.6 倍,总皂甙含量平均值为 0.81%,相当于原种鳞茎的 1.6 倍^[16]。人体必需元素 K、Mg、Ca 等的含量在组培贝母中较高,而

一些对人体有害的元素如 Hg、Cd、As 等检测不出或含量比原种鳞茎中的低^[16]。这表明通过组织培养进行贝母生物碱的生产是可行的,在短期内可以得到大量产物。但研究表明:生物碱的合成累积仅局限于培养物组织内,而不能排入培养基,这表明贝母不适宜于用固定化细胞培养方法进行生产^[2]。

5 组培贝母鳞茎的药理作用

采用氨水引咳法对组培暗紫贝母鳞茎的祛痰作用进行研究,发现组培贝母和原种贝母鳞茎均具有显著的祛痰作用,给药后 60 min 作用最强,2 h 后作用下降;采用酚红排泄法进行的镇咳试验表明,组培贝母鳞茎的效果与原种鳞茎相同,在给药后 30 min 作用显著,2 h 后仍有显著作用,作用效果随着剂量加大而增强。因此认为组培贝母鳞茎能够替代原种鳞茎^[17]。

6 展望

综观以前的工作,贝母的组织培养集中在扩大繁殖系数方面,而在如何提高次生代谢产物含量方面做的工作较少,仅我们课题组在暗紫贝母方面做了一些工作^[2,13~15]。要达到室内生产贝母的目的,繁殖系数和次生代谢产物含量应是研究的两个重点。器官化的鳞茎培养虽有较高的次生代谢产物生产能力,但染色体不够稳定,需要不断地筛选高产细胞株。而最近受到普遍关注的毛状根培养技术不仅有较高的繁殖速度,而且有较强的次生代谢产物的生产能力,它集增殖和分化于一身。现已有 100 多种双子叶植物经转化获得了毛状根,而单子叶植物的基因转化较困难,报道较少。用根癌农杆菌转化竹子细胞和用发根农杆菌转化露水草均得到成功^[18,19],说明单子叶植物的基因转化是可行的,只是需要筛选合适的基因型和选择植物合适的感受态细胞^[20]。如果毛状根培养技术能够在贝母培养方面有所突破,必将推动贝母生物碱工厂化生产的研究和应用。

在提高次生代谢物含量方面,还可进行添加前体和诱导子的试验,因贝母生物碱(甾

体生物碱)的生源合成途径还不很清楚,因此要合适的前体还需要研究。

参考文献

- 1 陈和荣,等. 中药通报,1985,10(10):10
- 2 高山林,等. 中国药科大学学报,1992,23(3):144
- 3 苏 新,等. 植物生理学通讯,1990,26(5):19
- 4 周宝钧. 植物生理学通讯,1983,19(1):30
- 5 侯嵩生,等. 武汉植物学研究,1986,4(3):233
- 6 沈淑瑜,等. 植物生理学通讯,1987,23(1):32
- 7 衷维纲,等. 中草药,1982,13(9):40
- 8 郝玉蓉,等. 西北植物研究,1982,2(1):38
- 9 乔惠琳,等. 中药通讯,1986,11(3):10
- 10 郝玉蓉,等. 西北植物学报,1989,9(4):233

- 11 王仑山,等. 植物细胞工程应用基础研究新进展. 北京:学术期刊出版社,1988. 165
- 12 樊 君,等. 中药材,1992,15(4):6
- 13 徐德然,等. 中国药科大学学报,1992,23(5):304
- 14 蔡朝晖,等. 中国药科大学学报,1996,27(1):1
- 15 蔡朝晖,等. 中国药科大学学报,1992,23(6):367
- 16 钟凤林,等. 中草药,1992,23(4):180
- 17 朱丹妮,等. 中国药科大学学报,1992,23(2):118
- 18 陈 宽,等. 武汉植物学研究,1991,9(3):201
- 19 周立刚,等. 云南植物研究,1996,18(3):336
- 20 陶余敏,等. 植物生理学通讯,1992,28(6):402

(1997-11-11 收稿)

露蜂房的研究和应用

中国医学科学院

中国协和医科大学

药物研究所(北京 100050)

李 琳*

摘 要 蜂房的化学研究主要包括元素分析、黄酮类、有机酸类等小分子和大分子化合物,药理实验证实其有抗炎、镇痛、抗癌、抗菌等多种生理活性,临床应用也从外用逐渐得到发展。

关键词 露蜂房 化学成分 药理活性 临床应用

蜂房药用历史悠久,早在两千多年前的《神农本草经》就已有记载。蜂房历来多作外用,治疗外疡,在内科疾患方面应用较少。近年来,人们发现其对某些恶性肿瘤有一定的疗效,逐渐引起医务界重视。但从目前研究进展情况看,药物基原不统一,化学成分研究有待进一步深入,露蜂房中有效成分还有待确定。现对露蜂房及其各主要成分的研究做一综述。

1 药材基原及传统用药方法

历代中医药著作对药用蜂房的来源、形态描述不甚明了或有很大出入。《神农本草经》只说其“生山谷”。《雷公炮炙论》中指出了4种药用蜂房,并描述了形态,却没说明为何种蜂所营造。唐代《新修本草》,五代十国《蜀

本草》认为是大黄蜂巢。明代李时珍的《本草纲目》认为药用蜂房系多种野蜂之巢,其中以大黄蜂房质量较好。

近代文献对本品基原的记载也不尽相同。1990年版药典载:“本品为胡蜂科昆虫马蜂 *Polistes olivaceus*, 日本长脚胡蜂 *P. japonicus* Saussure 或异腹胡蜂 *Parapolybia varia* Fabricius 的巢”^[1]。但有的中药专著却认为“胡蜂科昆虫大黄蜂 *Polistes mandarinus* Saussure 或同属近缘昆虫的巢均可入药”^[2~4]。

蜂房可以生用也可炮制后应用,历代炮制方法多种多样。目前可将蜂房采得后晒干,或略蒸后除死蜂,蛹晒干剪成块生用。也可通过炒、蜜炒、煨等方法炮制后使用^[4]。

* Address: Li Lin, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing