

灯盏乙素药动学研究进展

居文政¹, 许美娟¹, 谈恒山²

(1. 南京中医药大学附属医院 临床药理科, 江苏 南京 210029; 2. 南京军区南京总医院, 江苏 南京 210002)

灯盏花是菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz. 的干燥全草, 主要分布于我国西南部, 被列为云南省重点种植的药材之一。灯盏花首载于《滇南本草》, 具有散寒解表、活络止痛等功效, 主治瘫痪、跌打损伤等^[1]。现代药理实验证明, 灯盏花具有抗脑缺血、抗心肌缺血等药理作用, 临床主要用于治疗心肌缺血损伤及脑血栓形成等心脑血管疾病^[2]。灯盏花素是灯盏花中提取的主要成分, 黄芩素苷(灯盏乙素, scutellarin), 即 4', 5, 6-三羟基黄酮-7-葡萄糖醛酸苷, 在灯盏花素中一般占 90% 以上, 是灯盏花治疗脑血管疾病所致瘫痪的主要有效成分。由于灯盏花资源丰富、提取物纯度高、临床疗效确切, 灯盏花素已被制成注射液、片剂、滴丸、脂质体等多种剂型, 作为灯盏花素中的主要有效成分灯盏乙素的药动学的研究也在不断完善, 现就其药动学研究进展进行综述。

1 生物样品分析方法

1.1 生物样品前处理方法: 目前灯盏乙素的生物样品前处理方法主要有蛋白沉淀法、液液提取法、固相萃取法等, 多用内标法进行定量, 主要用的内标有原儿茶醛、芦丁、黄芩苷、槲皮素等, 少数用的是外标法。

1.1.1 蛋白沉淀法: 是常见的生物样品前处理方法, 操作简便, 使用广泛。蒋学华等^[3-5]用甲醇沉淀法研究了灯盏花素在动物体内的药动学, 加入甲醇的量为血浆的 2~3.5 倍。刘清飞等^[4]研究了灯盏花素在犬与家兔体内的药动学, 采用了多种沉淀剂, 如甲醇、乙腈、三氯乙酸和高氯酸等进行去蛋白处理, 结果选用甲醇最佳。

1.1.2 液液提取法: 是文献报道^[6-16]的使用最多的灯盏花素的样品前处理方法, 提取溶剂主要是 4~20 倍体积的醋酸乙酯。Zhong 等^[15]比较了二氯甲烷、乙醚-醋酸乙酯(1:1)和醋酸乙酯的提取效果, 醋酸乙酯为最佳。由于灯盏乙素呈弱酸性, 因此在加提取溶剂前样品需要酸化来抑制其解离, 一般加入一定体积 10% 醋酸、1 mol/L 磷酸或 1 mol/L 盐酸。居文政等^[14]在研究灯盏乙素人体药动学时, 在血浆中加入等体积的 1 mol/L 盐酸后水浴, 将灯盏乙素水解成苷元后用乙醚提取。

1.1.3 固相萃取法: 刘奕明等^[17-19]采用固相萃取的方法测定血浆中灯盏乙素浓度, 血浆经 0.5% 磷酸酸化混合后上活化的 SPE 柱, 用水和少量甲醇洗去杂质后, 用甲醇洗脱, 收集洗脱液并吹干, 流动相溶解后测定其浓度。由于 SPE 操作

繁琐, 成本较高, 限制了其应用。

1.2 生物样品检测方法

1.2.1 高效液相色谱-紫外分光光度(HPLC-UV)法: 由于灯盏乙素在波长为 335 nm 处有较强的紫外吸收, 因此 HPLC-UV 法是使用最多的测定生物样品中灯盏乙素的方法。一般选用 Nucleosil、Diamondsil、Merk、Inersil 等型号的 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)柱, 也有选用 Shim-pack CLC-ODS-C₁₈(150 mm×6.0 mm, 5 μm)^[16]柱或 Hypersil C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱^[11]。流动相选用甲醇-乙腈-水(含磷酸或磷酸缓冲盐, pH 2~3.5)的三元系统居多, 也有选用甲醇/乙腈-水(磷酸调节 pH 3 左右)的二元系统。检测波长 334 nm 或 335 nm。文献报道^[16]的 HPLC-UV 法的最低定量限为 10 ng。

1.2.2 高效液相色谱-电化学检测(HPLC-ECD)法: 阮志鹏等^[10]建立了测定大鼠血浆中灯盏乙素浓度的 HPLC-ECD, 选用 Hypersil 的 C₁₈柱, 甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲液的流动相系统, 电化学检测器工作电压为 0.6 V, 线性范围 5~1 000 ng/mL。

1.2.3 液相色谱-质谱(LC-MS)联用法: 居文政等^[14]用 LC-MS 法测人血浆中灯盏乙素苷元浓度, 选用 Zorbax SB C₁₈(50 mm×2.1 mm, 3.5 μm)色谱柱, 流动相为乙腈-2 mmol/L 醋酸铵-甲酸(25:75:0.1)系统, 灯盏乙素苷元和内标槲皮素均为 [M+H]⁺, *m/z* 分别为 287.2 和 303.2, 线性范围 12.6~324 ng/mL。

1.2.4 液相色谱-质谱-质谱(LC-MS-MS)联用法: 随着生物样品中药物浓度的降低, 更高灵敏度的 LC-MS-MS 方法也被应用于灯盏乙素的人体药动学研究中。Shen 等^[19]用液相色谱对样品进行分离, 柱后分离进入质谱检测。质谱条件: 正离子 SRM 模式, 灯盏乙素 *m/z* 463.0→287.0, 内标黄芩苷 *m/z* 447.0→271.0。毛细管电压 4.0 kV, 碰撞气压力 1.5 mTorr, 碰撞能量 12 eV。灯盏乙素的最低定量限为 0.2 ng/mL。Chen^[20]等应用 LC-MS-MS 法测定了灯盏乙素和其代谢物异灯盏乙素(4', 5, 7-三羟基黄酮-6-葡萄糖醛酸苷)的人体血浆浓度, 线性范围分别为 0.2~50 ng/mL 和 0.5~400 ng/mL。居文政等^[21]也应用 UPLC-MS-MS 法对灯盏乙素在胃肠道的代谢物进行了研究。

1.2.5 其他方法: NMR、LC-MS⁰ 和二极管阵列(DAD)等方法也用于灯盏乙素及其代谢物的分析^[17,20,22]。

2 药动学研究

收稿日期: 2006-12-01

基金项目: 科技部“863”资助项目(2002AA22341i)

作者简介: 居文政(1965—), 男, 副主任药师, 博士, 主要从事中药制剂临床药代工作。

Tel: (025)86617141-80518(O) E-mail: njwz1008@jlonline.com

作为灯盏花素的主要有效成分,灯盏乙素因其广泛的药理活性与临床应用促使其药动学得到进一步深入的研究。

2.1 离体研究:居文政等^[21]研究了灯盏乙素在胃肠道的稳定性。结果发现灯盏乙素在强酸性环境和有 β -葡萄糖醛酸酶存在时,水浴后测不到原药,有苷元生成,与健康成年人的粪便厌氧共培养后也测不到原药,同样有苷元生成,提示灯盏乙素可能在胃液和肠道均不稳定,可以被酸、 β -葡萄糖醛酸酶和肠道菌群水解为苷元。Chen等^[20]研究发现灯盏乙素在生物样品中不稳定,在室温下放置5 min即可降解30%,在-20℃放置20 d可降解50%以上,主要是由于其结构中的酚羟基易氧化。因此建议在获取血浆或尿液后应立即加入抗氧化剂来增加其稳定性。根据Xing等^[22]有关黄芩苷稳定性

的报道,Chen等也发现用磷酸或甲酸将血浆或尿液的pH值调至2~3或是加入甲醇,可以抑制其降解,为建立可靠的测定生物样品中灯盏乙素浓度的分析方法提供参考。

2.2 整体研究

2.2.1 临床前药动学:灯盏花素及其制剂的临床前药动学研究主要以大鼠、小鼠、家兔和Beagle犬为对象,以血浆中灯盏乙素的浓度为指标,在一定剂量范围内,呈现线性药动学的特征,但是超出这一范围,可能呈现非线性药动学的特征^[11,12]。其绝对生物利用度不高(0.4%~5.05%),但是制成脂质体或用环糊精包裹后,能增加其AUC。部分药动学参数见表1和表2。除血药浓度法外,陈大为^[24]和杨强等^[9]又分别以药理效应法和尿药法对其药动学进行了研究。

表1 灯盏乙素药动学参数

Table 1 Pharmacokinetic parameters of scutellarin

受试对象	给药途径及剂量/(mg·kg ⁻¹)	t _{1/2} /h	C _{max} /C ₀	t _{max} /h	AUC _{0-∞} /(mg·L ⁻¹ ·h)	F/%	文献
小鼠	iv, 50	4.04±1.29	—	—	12.97±3.55	5.05	17
	ig, 150	3.41±1.23	0.49±0.14	4	1.97±0.53	—	—
大鼠	ig, 20	9.089	0.69	5.53	—	—	10
	iv, 10	4.07±0.7	54±9	—	4.7±0.9	—	18
家兔	iv, 20	4.8±1.9	119±11	—	10.0±1.8	—	—
	iv, 40	5.3±2.9	285±40*	—	37±4*	—	—
家犬	iv, 120 mg/只	0.87±0.48	—	—	10.0±2.2	—	3
Beagle犬	ig, 1.8 g/只	1.33±0.74	0.386±0.257	1.93±0.84	0.82±0.36	0.40±0.19	6
	iv, 90 mg/只	0.93±0.32	—	—	3.9±2.4	—	—
大鼠	iv, 10	0.84±0.41	—	—	11.05±2.68	—	11
	iv, 20	0.91±0.61	—	—	21.02±5.33	—	—
	iv, 40	1.02±0.72	—	—	45.71±9.53	—	—
家兔	iv, 26.1	0.173±0.323	—	—	21.2±8.7	—	5

与低剂量组比较,* P<0.05

* P<0.05 vs lower doses group

表2 灯盏花素制剂药动学参数

Table 2 Pharmacokinetic parameters of breviscapine preparation

药物	受试对象	给药途径及剂量/(mg·kg ⁻¹)	t _{1/2} /h	C _{max} /C ₀	t _{max} /h	AUC _{0-∞} /(mg·L ⁻¹ ·h)	文献
灯盏花素 β -环糊精包合物	大鼠	ig, 10.8	4.6±1.8*	0.328±0.031	3.00±0.21	1.547±0.210	16
灯盏花素脂质体	Beagle犬	iv, 28 mg/只	0.92±0.45	—	—	6.1±0.7	12
灯盏花素单脂质体	家兔	iv, 5	0.71±0.48	—	—	21.1±18.1	13

*平均滞留时间

* main retention time (MRT)

Lü等^[12]制备了灯盏花素脂质体,比较了脂质体和普通注射液在大鼠血液和脑组织中的药动学。灯盏花素制成脂质体后,明显增加了脑组织的药物浓度,血液中药物滞留时间也明显延长。Xiong等^[25]也比较了小鼠iv灯盏乙素水溶液和脂肪乳剂后其在血液及组织中浓度的差别,发现制成脂肪乳剂后血中浓度增加了33倍,心、肝、脾、肺和肾中浓度也增加了5~160倍,大大改善了其药动学过程,但是这种制剂是否会对肝、肾造成损害还在进一步研究中。

Zhang等^[22]研究了大鼠ig灯盏花素后胆汁和尿液中的代谢物,高麗敏等^[8]也研究了灯盏花素在正常和模型大鼠中的药动学及其血浆样品中主要代谢物,经HPLC-PDA、NMR和LC-MS-MS等技术推断大鼠血浆样品中的代谢物除了原药外,还有苷元,灯盏乙素脱羟基、甲基化及与硫酸等结合后的代谢物。丁存刚等^[24]在小鼠的血浆及肝、肠匀浆中还发现

了灯盏乙素苷元与两个葡萄糖结合的代谢物。

2.2.2 人体药动学:居文政等^[14]首先用LC-MS法研究了灯盏乙素在人体内的药动学,由于灯盏乙素生物利用度低,原型药物药时曲线难以获得,血中又主要以苷元和代谢物的形式存在,因此将血浆水解后测定总苷元的浓度,结果发现20名健康受试者单剂量口服灯盏花素片(120 mg)后约45%的受试者的药时曲线出现了双峰现象,主要药动学参数:t_{max}(7.0±2.3) h; C_{max}(0.91±0.47) mg/L; MRT_{0-24h}(8.0±1.1) h; AUC_{0-24h}(5.6±1.6) mg·h/L。Sheng等^[19]用灵敏度更高的LC-MS-MS法研究了20名健康志愿者口服60 mg灯盏乙素后的药动学,部分参数:C_{max}(12.02±2.23) ng/mL; t_{max}(5.9±0.8) h; t_{1/2}(2.27±0.58) h; AUC_{0-10h}(61.7±7.54) ng·h/mL。Chen等^[20]也研究了健康受试者口服60 mg灯盏乙素后的药动学,并首次鉴定了人血浆和尿液中的

代谢物,结果发现原型灯盏乙素的血药浓度极低,峰浓度低于 5 ng/mL,在尿液中发现了 4 个代谢产物 M1~M4,其中 M2 的峰度最高,经 MS、NMR 和 UV 等鉴定为异灯盏乙素,但在人血浆中只能测到 M2 和微量的原型药,因此最后测定了 M2 即异灯盏乙素的药动学参数,其主要药动学参数: t_{max} (7.85 ± 1.62) h; C_{max} (87.01 ± 29.14) ng/mL; $t_{1/2}$ (3.08 ± 0.55) h; MRT_{0-24h} (8.87 ± 2.10) h; AUC_{0-24h} (495.3 ± 151.4) ng · h/mL,部分志愿者 M2 的药时曲线也出现了双峰现象。

3 结语及展望

3.1 原型药口服生物利用度低:无论在动物和人体内灯盏乙素的绝对生物利用度均较低。分析原因,可能是由于其本身不易吸收及在胃肠道不稳定引起的。灯盏乙素在胃肠道是被动扩散的方式吸收^[13],但是其水溶性较差,不易通过肠上皮细胞而吸收。同时,研究^[21]发现灯盏乙素可被胃酸、肝肠微粒体中的酶及肠道菌群水解为苷元,使得能吸收入血灯盏乙素的量进一步减少。灯盏乙素本身的分子特性及其较强的首过效应可能是其生物利用度不高的主要原因。但是将灯盏乙素用脂质体、环糊精等制成特殊制剂后可以改善其本身的分子特性,促进其向各组织特别是靶组织的分布,延长其在血中的滞留时间,从而有利于药效的发挥。

3.2 双峰现象:灯盏乙素的药-时曲线在动物和人体上均出现了双峰现象,双峰现象产生原因多样,灯盏乙素可能更加复杂。部分灯盏乙素在胃酸及小肠上部上皮细胞内的 β -葡萄糖醛酸酶的作用下转化为苷元,苷元又在存在于小肠或肝脏的 UDP-葡萄糖醛酸转移酶的作用下生成原药灯盏乙素进入血液,加上少量吸收入血的原药形成药时曲线的第一个峰。未被吸收及代谢的灯盏乙素排至胃肠道下部时在肠道菌群的代谢下也形成苷元而被吸收;同时,血液中的灯盏乙素可能又随胆汁排至胃肠道,在酶及肠道菌群的作用下也再次被水解为苷元而吸收,这两部分吸收的苷元再次入血而形成药时曲线的第二峰。灯盏乙素的双峰现象可能是肝肠循环和多部位吸收引起的。这与许多黄酮类药物,如黄芩苷的过程相似^[27]。

3.3 灯盏乙素的代谢存在种属差异:研究发现,大鼠 ig 灯盏乙素后血浆中能测到原药(苷元与葡萄糖结合后又生成的),但是人口服后原药几乎测不到,而是与原药相对分子质量相同的异灯盏乙素浓度相对较高,Chen 等^[20]分析原因,可能是由于 UDP-葡萄糖醛酸转移酶选择的种属差异引起的。在人体内,相比 4'-,5-和 7-OH,葡萄糖基被优先加在灯盏乙素苷元的 6-OH 上,形成异灯盏乙素;而在大鼠等动物体内,葡萄糖基被优先加在了 7-OH 上,生成灯盏乙素,提示在研究黄酮类化合物时应注意其代谢的种属差异。

综上所述,作为灯盏花素中的主要有效成分灯盏乙素的药动学近几年来备受关注,由于其本身生物利用度低,体内过程复杂,代谢物多样化,其真正有效物质基础仍未阐明,因此选择何种物质作为与其药效相关药动学的靶物质仍在进一步研究中,灯盏乙素的药动学研究在血浆蛋白结合率、在 Caco-2 细胞上的转运情况、苷元与葡萄糖结合的发生部位及

灯盏乙素在体内的物料平衡情况仍有待进一步深入研究。

References:

- [1] Liu H, Yang X L, Xu B H. Advances in studies on *Erigeron breviscapus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 28 (1): 63-64.
- [2] Huang H B, Bao W F, Yang F F, et al. A study on chemical constituents of *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2005, 26(11): 1323-1325.
- [3] Jiang X H, Li S H, Lan K, et al. Study on the pharmacokinetics of scutellarin in dogs [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(5): 371-373.
- [4] Liu Q, F, Luo G A, Wang Y M, et al. Pharmacokinetics of breviscapine in dogs and rabbits following single intravenous administration [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2005, 28 (10): 913-916.
- [5] Li S H, Jiang X H, Yang Q, et al. Pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *J Biomed Eng* (生物医学工程杂志), 2003, 20(4): 692-694.
- [6] Ge Q H, Zhou Z, Zhi X J, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability to breviscapine in Beagles dogs [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2003, 34(12): 618-632.
- [7] Li S H, Jiang X H, Lan K, et al. Pharmacokinetics of scutellarin in dogs [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2003, 12(3): 127-130.
- [8] Gao H M, Wang Z M, Tian J. Pharmacokinetics and metabolites of scutellarin in normal and model rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2005, 40(11): 1024-1027.
- [9] Yang Q, Yang J Y, Li S C, et al. The relative bioavailability of breviscapine sustained-release tables in Beagle's dogs [J]. *West China J Pharm Sin* (华西药杂志), 2004, 19(3): 175-178.
- [10] Ruan Z P, Hua D, Yuan M. Determination of scutellarin and its pharmacokinetic study in rat by high performance liquid chromatography with electrochemical detection [J]. *J Changzhi Med Coll* (长治医学院学报), 2004, 4(18): 247-249.
- [11] Hao X H, Cheng G, Sun J, et al. Validation of an HPLC method for the determination of scutellarin in rat plasma and its pharmacokinetics [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38: 360-363.
- [12] Lu W L, Guo J X, Ping Q N, et al. Pharmacokinetics of breviscapine liposomes following intravenous injection in Beagle's dogs [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2006, 41 (1): 24-29.
- [13] Lu W L, Guo J X, Li J, et al. Distribution of liposomal breviscapine in brain following intravenous injection in rats [J]. *Int J Pharm*, 2005, 306: 99-106.
- [14] Ju W Z, Zhang J, Tang H S, et al. Determination of scutellarin in human plasma by LC-MS method and its clinical pharmacokinetics in Chinese healthy volunteers [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2005, 10 (3): 298-301.
- [15] Zhong D F, Yang B H, Chen X Y, et al. Determination of scutellarin in rat plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. *J Chromatogr B*, 2003, 796: 439-444.
- [16] Zhang H Y, Ping Q N, Guo J X, et al. Pharmacokinetics of breviscapine and its β -cyclodextrin complexes in rats [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2005, 40(6): 563-567.
- [17] Liu Y M, Lin A H, Chen H, et al. Pharmacokinetics of breviscapine in mice [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2005, 10(3): 310-313.
- [18] Liu Y M, Lin A H, Chen H, et al. Study on pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38(10): 775-778.
- [19] Shen Y L, Feng F. Sensitive liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of scutellarin in human plasma; Application to pharmacokinetic study [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 830: 1-5.

- [20] Chen X Y, Cui L, Duan X T, *et al.* Pharmacokinetics and metabolism of the flavonoid scutellarin in humans after a single oral administration [J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34 (8): 1345-1352.
- [21] Ju W Z, Chu J H, Tan R X, *et al.* Study on metabolites of scutellarin in gastrointestinal tract by UPLC-MS/MS method [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2006, 11(3): 292-295.
- [22] Zhang J L, Chen Q M, Li S Z, *et al.* Study on metabolism of scutellarin in rats by HPLC-MS and HPLC-NMR [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2003, 5(4): 249-256.
- [23] Xing J, Chen X Y, Zhong D F. Stability of baicalin in biological fluids *in vitro* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 39: 593-600.
- [24] Chen D W, Zhang Y Q, Zou Y S, *et al.* Study on pharmacodynamics and pharmacokinetics of breviscapin sustained-release pellets in rabbits [J]. *Chin J Pharm* (中国药理学杂志), 2003, 1(2): 63-67.
- [25] Xiong F, Wang H, Cheng J, *et al.* Determination of scutellarin in mouse plasma and different tissues by high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2006, 835: 114-118.
- [26] Ding C G, Ge Q H. Pharmacokinetics of scutellarin in mice [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2006, 37(1): 26-31.
- [27] Lu T, Song J, Xie L, *et al.* Simultaneous determination of baicalin and wogonoside by HPLC in rat plasma administered with Huangqin Decoction and its pharmacokinetic study [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(6): 870-873.

RAPD 技术在中药材鉴定中的应用进展

朱永宏, 李学敏, 韩宝玲

(天津天士力集团有限公司, 天津 300402)

随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术是 1990 年由 Williams 等发展起来的一项 DNA 分子标记技术。RAPD 技术是建立在 PCR 技术的基础上, 用一系列 (通常数百个) 不同的随机排列碱基序列的寡核苷酸单链 (一般为 10 bp) 作为引物, 对所研究的基因组 DNA 进行单引物扩增。模板 DNA 经 90~94 变性解链后在较低温度 (36~37 °C) 下退火, 这时形成的单链模板会有许多位点与引物互补配对, 在 72 °C 下, 通过链延伸, 形成双链结构, 完成 DNA 合成。重复上述过程, 即可产生片段大小不等的扩增产物, 通过电泳分离和显色便可得到许多不同的条带, 从中筛选出特征性条带。扩增产物片段的多态性反映了基因组 DNA 的多态性。如果基因组在这些区域内发生 DNA 片段插入、缺失或碱基突变就可能导致这些特定结合位点的分布发生相应的变化, 而使 PCR 产物增加、缺少或发生相对分子质量的改变。因此, 通过对 PCR 产物的检测即可测出基因组 DNA 在这些区域的多态性。进行 RAPD 分析时, 可用引物的数量很大, 虽然对每个引物而言, 其检测基因组 DNA 多态性的区域是有限的, 但是利用一系列引物则可以使检测区域几乎覆盖整个基因组。因此, RAPD 可以对整个基因组 DNA 进行多态性检测。

目前 RAPD 技术已经广泛地应用医学、农业、林业、畜牧水产业等多个领域。根据现代分子生物学的研究, 中药材 (除矿物药外) 所依赖的生物资源“物种”的多样性是由于其基因多态性的结果, 而基因多态性可在 DNA 分子诊断技术水平上检测, 这比在形态、组织和化学水平上检测更能代表其变异类型的遗传标记。这是 RAPD 技术应用于中药材鉴定的基础, 在这一方面, 学者也开展了大量的研究工作, 并取

得了很大的成绩。

1 药材道地性研究

中药十分讲究道地性, 道地药材是传统公认来源于特定产区的名优正品药材。然而, 道地药材的形态、性状与其他药材无明显区别, 故采用传统方法鉴别困难, 具有很大的主观性。另外, 中药道地产区变迁也十分普遍, 产生变迁的原因除对优质药材的进一步认识和有目的的选择外, 还有政治、文化和市场等诸多原因。因而, 仅仅根据地域来确定道地药材也是不可取的。

道地药材从生物学内涵讲是居群, 其一个重要特征是遗传特征, 应看成是一个具有共同基因库的由交配和亲缘关系联系起来的同一物种的个体群, 因此 DNA 分子标记技术可以用于道地药材的鉴别和道地性的研究。

Nakai 等^[1]用 RAPD 技术对淫羊藿属 8 种植物进行了 DNA 分析, 结果发现中国特有种箭叶淫羊藿和日本其他 7 种淫羊藿属内变异较大, 与形态学不符。此后, 应用 RAPD 技术对药材道地性的研究逐渐增多, 王培训等^[2]对不同产地的西洋参采用 RAPD 技术进行研究, 结果表明, 各地产的西洋参 DNA 指纹图谱基本一致; 胡珊梅等^[3]运用 RAPD 技术研究了金钱莲同种不同产地的遗传变异性; 胡珊梅等^[4]对福建、江西、四川产的泽泻进行 RAPD 研究, 结果发现同种异地药材所形成的不同居群具有不同的遗传特性; 高文远等对来自不同产地的当归进行分析, 结果表明样品地理分布距离越小, 遗传差异越小, 反之亦然。顾华等^[5]采用 RAPD 方法研究了来自山西襄城、长治、平顺、壶关、屯留及安泽 6 个地区 11 个连翘地方栽培品系的亲缘关系, 并用 HPLC 方法测定连翘主要指标成分——连翘苷量的变异情况。结果表明,