

• 中药现代化论坛 •

药用植物生物技术与药材质量标准研究方法

张明生^{1,2}, 杨永华^{1*}, 谢波², 殷召静¹

(1. 南京大学生命科学学院 医药生物技术国家重点实验室, 江苏 南京 210093; 2. 贵州大学农学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:根据作者多年的研究经历及近年来国内外的研究进展, 结合我国中医药的优势, 从现代生物技术的产生与广泛应用、中药有效成分及药材质量控制研究的重要性出发, 系统地阐述了现代生物技术应用与药用植物研究的重要性及其发展趋势。着重从药用植物无性繁殖系的建立与快速繁殖、细胞次生代谢调控、药材质量标准体系的构建等方面, 详细介绍了药用植物生物技术及药材质量标准研究的具体方法, 以期为实现中药的安全、有效、稳定、可控和中药走向世界提供参考。

关键词:药用植物; 生物技术; 质量标准

中图分类号: R282.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)03-0321-05

**Biotechnology for medicinal plants and research method of quality
standard for medicinal materials**

ZHANG Ming-sheng^{1,2}, YANG Yong-hua¹, XIE Bo², YIN Zhao-jing¹

(1. State Key Laboratory of Pharmaceutical Biotechnology, College of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In accordance with the long-standing experiences together with the recent achievements at home and abroad, the significance and tendency of modern biotechnology for the study on medicinal plants were expounded systematically by the naissance and application of modern biotechnology combined the with the advantages of traditional Chinese medicine and by the importance of studying the active constituents of Chinese materia medica and quality control for medicinal materials. Being stressed on establishment of clone, rapid propagation, regulation of cell secondary metabolism for medicinal plants and construction of quality control system for medicinal materials, the biotechnological steps for medicinal plants and quality standard of medicinal materials are introduced. In this way, the industry of Chinese materia medica is promising with safety, efficiency, stability, and controllability and is orienting towards the international market.

Key words: medicinal plants; biotechnology; quality standard

中医药作为世界传统医药宝库中的一颗明珠, 是迄今为止世界上保存得最为完整的民族医药体系, 它以显著的临床疗效、浩瀚的医疗文献屹立于世界医疗之林。几千年来, 我国民族医药为保障各族人民的身体健康做出了不可磨灭的贡献。有专家预言, 21 世纪可能是中药的世纪, 天然药物将会得到更快的发展。中国加入 WTO 后, 中医药特别是中国民族医药面临着一次千载难逢的好机会, 民族医药作为

一种得天独厚的资源, 必将以其特有的优势为振兴民族经济、弘扬民族文化发挥积极作用。因此, 加强民族医药研究, 对加快民族地区经济发展和贯彻落实“西部大开发”战略, 具有深远的历史意义。

药用植物是中药材的主要来源, 其研究与利用在中国已有数千年的历史。据资料统计, 目前的药品中仅有 1/4 来自植物, 绝大部分为人体不能代谢的化学合成物质。进入 21 世纪, 药用植物在保障人类

收稿日期: 2004-07-23

基金项目: “十五”贵州省科技攻关重大项目[黔科合农字(2000)1142 号]

作者简介: 张明生(1963—), 男, 贵州遵义人, 仡佬族, 南京大学在读博士, 硕士研究生导师, 副教授, 主要从事植物逆境生理、植物生物化学与分子生物学、药用植物生物技术与珍稀药用植物资源可持续利用研究。

Tel: (025)83594374 E-mail: mshzhang@21cn.com

* 通讯作者 Tel: (025)83686305 E-mail: yangyh@nju.edu.cn

健康的社会医疗事业中的作用越来越重要。为战胜危及人类生命的癌症、艾滋病、心脏病等严重疾病,人们正在不断从植物中寻找新药源,因为在药用植物中包含着许多人们尚未认识和开发的具有新功能的结构,其中不少有望成为新的药物。然而,许多有独特生理活性的植物天然次生产物,在植物中的含量很低,利用微生物或化学方法不能或难以合成,并且受到资源和环境条件的限制,靠采集野生资源提取很难满足需要,因此用生物技术来工业化生产这些物质势在必行。生物技术的兴起,为我国药用植物的研究和发展提供了良机 and 手段。生物技术是依据生命科学的有关理论,利用生物学、物理学、化学、工程学等技术,从分子、亚细胞、细胞等水平对生物分子、细胞和生物个体按预定设计进行操作和改造,以更快、更有效地获得符合人们需要的生物分子(如酶)、细胞或细胞株系、生物个体或品种及其相应的产物和产品。借助生物技术,可使濒临灭绝的药用植物资源得以保存和繁殖,保持自然界生物的多样性;将那些数量极少而又有价值的新类型化合物进行扩增,满足临床的需求。生物技术的广泛应用,将彻底改变传统药用植物生产和加工技术,使之更适合新时代的要求。

中药有效成分是指中药中能够起到治疗疾病作用的化学成分,是几千年来我国传统中药治疗疾病的物质基础。中药有效成分的研究对中药现代化起决定作用,按照现代科学观点,如药材产地、真伪优劣、加工炮制、质量控制等,均应以其有效成分有无及含量高低为依据。中药是由众多化学组分所组成的复杂物质体系,传统测定一个或几个化学成分含量的方法无法对中药质量作出整体分析,已成为药物分析的一大难题。我国中药材种类繁多,来源复杂,仅民族药用植物就有11 140种之多,各地药材品种使用习惯不尽相同,同名异物、同物异名现象甚为普遍,购销中以假乱真、以劣充优的情况时有发生,质量差异很大。因此,只有对中药材进行现代意义的科学质量控制,建立起符合中药特色的质控技术体系,才能更好地保证中药饮片和中成药的质量,实现中药的安全、有效、稳定、可控,为中药走向世界奠定良好的基础。

1 国内外研究现状

1956年 Routie 和 Wicreu 首次利用植物细胞培养技术生产天然产物获得成功。经过几十年的发展,植物细胞培养技术已成为一门精细的实验科学,并正在发展成为一门新兴的科学技术及产业体系。日

本从20世纪60年代开始,利用薄层色谱、气相色谱、质谱、红外光谱、紫外光谱、核磁共振等先进仪器,对中药中的成分作了分析研究,并且成功地从中药中提取纯天然有效成分入药^[1]。由于中药与化学合成药比,毒性很小,因此在日本乃至全世界兴起了中药热。日本每年中药制剂生产总量高达 1×10^{11} t,然而,使用的中药基本是靠野生资源和进口(80%以上是从中国、韩国进口)。由于中药野生资源有限,同时有些植物极难栽培且与野生种遗传不一致,加工出来的中药材品质存在很大的差异,有效成分的含量也不稳定。为解决上述矛盾,日本从20世纪70年代开始,运用生物技术进行了药用植物的大量快速繁殖,利用基因导入技术进行植物基因转换,在次生代谢产物的应用研究方面也有所突破。20世纪80年代以来,以植物天然产物生产为目的的植物细胞培养研究取得了巨大进展。1983年日本紫草 *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. 细胞大规模培养的成功和紫草素工业化及商业化生产的实现,标志着植物次生代谢物细胞工程产业化的开始,进一步增加了人们对此领域研究的信心和热情。

近年来,指纹图谱已成为国际公认的控制中药或天然药物质量的最有效手段。因此,在积极吸收消化国际上这方面已有成果的同时,结合中药实际情况,广泛实践,及时总结,建立起符合中药特色的指纹图谱质控技术体系。在药材指纹图谱研究中,可通过化学指纹谱反映其化学信息,通过DNA指纹谱反应品种的遗传信息,最终实现整体评价的目的。指纹图谱技术是提升药材评价科学化、合理化、客观化标准的系统工程,不仅需要建立测定手段,而且还要探讨数据处理的新办法,使其更加完善,从而推动中药质量控制与国际接轨。

21世纪将是生命科学世纪,以重组DNA技术和单克隆抗体技术为标志而出现的生物技术成为高新技术群体中最引人注目的领域之一。在我国传统医药宝库——中草药的研究与开发中,生物技术必将展现出广阔的应用及发展前景。

2 药用植物无性繁殖系的建立及快速繁殖

2.1 愈伤组织的诱导及试管苗培养^[2,3]

2.1.1 培养材料的采集:根据研究材料的不同,可采集根、茎、叶、花、芽或种子的子叶等,也可利用花粉粒或花药,其中根尖不易灭菌,一般很少采用。

2.1.2 培养材料的消毒:材料→流水冲洗→蒸馏水冲洗→无菌纱布或吸水纸吸干材料表面的水分→消毒刀片将材料切成小块→材料放入70%酒精中浸

泡 30~60 s→材料移入漂白粉的饱和液或 0.1% 升汞水中消毒 10 min→无菌水冲洗材料 3~5 次→无菌保存备用。

2.1.3 制备外植体:将已消毒的材料,用无菌刀、剪、镊等,在无菌的环境下,剥去芽的鳞片、嫩枝的外皮和种皮胚乳等,叶片则不需剥皮。然后切成 0.2~0.5 cm 厚的小片(即为外植体)。在操作中严禁用手触动材料。

2.1.4 接种和培养:接种(无菌环境下将切好的外植体立即接在培养基上,每瓶接种 4~10 个)→封口(接种后,瓶、管用无菌药棉或盖封口,培养皿用无菌胶带封口)→培养(温度大多在 25 ℃左右,但要因材料种类及部位不同而区别对待)→愈伤组织的诱导或增殖→继代培养或根的诱导(继代培养形成的不定芽和侧芽等一般没有根,必须转到生根培养基上进行生根培养,1 个月左右即可获得健壮根系)→试管苗。

2.1.5 炼苗移栽:试管苗从无菌到光、温、湿稳定的环境进入自然环境,必须进行炼苗。一般移植前,先将培养容器打开,于室内自然光照下放 3 d,然后取出小苗,用自来水把根系上的培养基冲洗干净,再栽入已准备好的基质中,基质使用前最好消毒。移栽前要适当遮荫,加强水分管理,保持空气相对湿度在 98% 左右,但基质不宜过湿,以防烂苗。

2.2 胚性细胞悬浮培养与植株再生^[4]:胚性悬浮细胞系的建立→胚性愈伤组织的生长→胚性悬浮细胞系的保持→胚性悬浮细胞的体胚发生与植株再生。

2.3 胚性细胞突变体筛选:利用离体培养技术筛选具有某一目标特征的突变体,一般需经过以下程序。

2.3.1 建立长期具有高频率分代能力的无性系:作物不同基因型,同一基因型的不同外植体,以及同一外植体的不同生理状态,其诱导分化频率差异明显,也受到培养基种类、激素成分与浓度不同的影响,且随着继代次数的增加,分化频率显著下降。但筛选突变体往往需要反复继代培养,所以建立长期具有高频率分化能力的无性系就成为工作成败的重要一环。近年来由于离体技术的不断改进和提高,对于不同作物,通过选用不同发育阶段的外植体,不同种类培养基和激素配比,以及不同的培养方法,均可诱导出分化频率较高的愈伤组织,而且在多次继代后仍不失其分化能力。

2.3.2 愈伤组织变异系的筛选:愈伤组织无性系建立后,一般用 2 种方法进行愈伤组织变异系的筛选。一是直接选择法,即将愈伤组织直接置于一定诱变

条件(如射线、化学物质等)下诱导培养;二是间接选择法,即逐级增加诱变条件,每级处理培养一至数代不等,这样就可获得不同水平下产生的愈伤组织变异系。

2.3.3 愈伤组织变异系的稳定性分析:筛选得到的愈伤组织变异系还必须进行稳定性分析,才能确定其是否是变异体。稳定性分析是将对照和处理(培养 4~5 代)的愈伤组织分别在特定诱变条件下,培养 3 周后(此时组织已基本停止生长),以鲜重的相对生长量来表示,每个处理一般统计 8 瓶左右。

2.3.4 愈伤组织的分化和再生植株目标特征的鉴定:再生植株目标特征的鉴定,一般是以原正常愈伤组织中分化出的植株为对照,将处理的再生植株在一定条件下生长一段时间后,一并转移到某种条件下生长,分别计算植株各性状指标,最后综合评定。

2.4 脱毒苗的快速繁殖^[5]:外植体的接种→快速增殖→生根技术→试管苗移栽。

3 药用植物细胞次生代谢的调控

3.1 外植体的选择:不同外植体的愈伤组织诱导能力和诱导的愈伤组织合成次级代谢产物能力均不同,所以,在利用植物细胞悬浮培养生产次生代谢产物,选择能诱导出疏松易碎、生长快速且具有较高次生代谢产物合成能力的愈伤组织的外植体是非常重要的。

3.2 高产细胞系的选择:在外植体诱导出愈伤组织后,筛选生长快、次生代谢产物合成能力强的细胞系是植物细胞培养工业化的前提。目前,筛选高产细胞系的方法一般有:目测法、放射免疫法、酶联免疫法、细胞克隆、流动细胞测定法、琼脂小块法等^[6]。

3.3 培养条件的调控:物理因子主要包括光照、温度、pH 值、通气状况、接种量等^[7,8];化学因素主要包括培养基种类及激素影响,诱导子(茉莉酸甲酯、水杨酸、铜离子等)、诱导剂^[9](真菌提取液、葡聚糖、无机离子等)、前体物质、抑制剂的添加等。

3.4 培养方法

3.4.1 两步培养技术:根据生长及代谢的需求,调整培养基组分和培养条件,使生长和代谢均能在最适条件下进行,协调好细胞生物量增长与次生代谢产物积累之间的矛盾,从而提高目的产物的产率。

3.4.2 固定化培养技术:植物细胞固定化是将植物细胞包裹于一些多糖或多聚化合物上进行培养,并生产有用代谢物的技术。具有提高反应效率、延续反应时间及保持产物生产的稳定性等特点。

3.4.3 两相培养技术:两相培养技术是指在植物细

胞培养体系中加入水溶性或脂溶性的有机化合物,或者是具有吸附作用的多聚化合物,使培养体系由于分配系数不同而形成上、下两相。细胞在其中一相中生长并合成次生代谢物,这些次生代谢物又通过主动或被动运输的方式释放到胞外,并被另一相所吸附。这样由于产物的不断释放与回收,可以减少由于产物积累在胞内形成的反馈机制,有利于提高产物积累含量,并有可能真正实现植物细胞的连续培养,从而大大降低生产成本。

3.4.4 毛状根转化技术^[10]:毛状根是植物各器官受发根农杆菌感染后产生的病态组织。感染过程中,发根农杆菌 Ti 质粒 T-DNA 转移并整合到植物基因组中。具有激素自养、增殖速度快、次级代谢产物含量高且稳定等特点。

发根农杆菌 Ri 质粒是基因转移的天然载体,利用这种载体对植物进行转化。方法有植物体直接接种法、外植体接种法、原生质体共培养法。

植物体直接接种法^[11]是将植物种子消毒后,在合适的培养基上进行萌发,长出无菌苗。取茎尖继续培养,待无菌植株生长到一定时期,将植株的茎尖、叶片切去,剩下茎秆和根部,在茎秆上划出伤口,将带 Ri 质粒的农杆菌接种在伤口处和茎的顶部切口处,接种后继续培养被感染的植株。经过一段时间培养,在接种部位产生毛状根。这种方法是最为简便的,但它仅适合于可以用茎尖继代培养的植物。

外植体接种法^[12]是取植物的叶片、茎段、叶柄等无菌外植体,与农杆菌共同培养 2~3 d,将植物的外植体移到含有抗生素的选择培养基上经过不断继代培养,农杆菌被杀死,转化细胞产生愈伤组织,并可诱导产生毛状根。

原生质体共培养法^[13]是将愈伤组织按常规方法制备成原生质体,原生质体再生细胞与农杆菌混合共同培养,农杆菌对原生质体进行转化。在含有抗生素的选择培养基上对转化细胞进行筛选,可得到转化细胞克隆,最后在分化的培养基上得到完整植株。原生质体共培养法要求原生质体有较高的再生率,对那些原生质体培养还没有成功或再生率很低的植物难于使用这种方法。

3.4.5 冠瘿培养技术:通过根瘤农杆菌感染植物可以将其 Ti 质粒的 T-DNA 片段(含 tms 和 tmr 基因)整合进入植物细胞的基因组,诱导冠瘿组织的发生。冠瘿组织离体培养时也具有激素自主性、增殖速率较常规细胞培养快等特点,其次生代谢产物合成稳定性与能力较强,用来生产有用次生代谢产物有

着良好的开发前景。

3.4.6 反义技术:植物次生代谢是多途径的,是植物体内一系列酶促反应的结果。反义技术是根据碱基互补原理,通过人工合成或者是生物体合成的特定互补的 DNA 或 RNA 片段(或者是具化学修饰产物),抑制或封闭某些基因表达的技术。通过此技术,可以将反义 DNA 或 RNA 片段导入植物,使催化某一支代谢中的关键酶的活性受到抑制或增强。这样,目的化合物的含量可以提高,而其他化合物的合成途径则受到抑制。

4 药材质量标准体系的构建

4.1 GAP 种植规范:根据中药材 GAP 指南的具体要求并按 SOP 进行优选和种植。对药材生产从种质、环境、栽培方式、施肥、田间管理、采收加工、储存运输等方面进行规范和控制,从而生产出质量均一、高效、可控的优质药材。具体衡量指标就是植物的生物学特性、药材性状、解剖特征、化学成分等方面的主要指标稳定可控。因此,在进行药材的品质形成研究时,对能引起中药材品质变化的各种因素都必须进行考察,以确定各因素对药材品质的影响程度,从中优化出最佳的药材种质、种植地区、土壤条件、栽培工艺、肥水管理、采收时间、加工方法、繁殖方式等。

4.2 化学指纹图谱研究^[14,15]:化学指纹图谱分析不等同于一般的仪器分析,它通常由指纹图谱获取和指纹图谱鉴别计算两部分所组成。前者是指采用色谱、光谱以及联用等仪器分析方法,获取能表征样品化学组成特征的组分群体分析谱图或图像;后者是运用计算分析技术对所获得的谱图数据进行处理,通过筛选和简化,获得专属、宏观、整体的化学特征综合信息,并对样品化学组成的总体波动情况进行估测。因此,在获取了样品指纹图谱后,如何计算并评定各批次产品指纹图谱间的整体相似程度,定量描述它们各自化学组成的差异性和波动情况极为重要,即指纹图谱相似性计算是化学指纹图谱分析中的核心环节之一。

中药化学指纹图谱有两个特点:一是通过指纹图谱的特征性,能有效鉴别样品的真伪或产地;二是通过指纹图谱主要特征峰的面积或比例的制定,能有效控制产品的质量,确保产品质量的相对一致。

4.2.1 特征性的提取与分离:组份是天然产物利用的重要步骤。要把药材有效成分尽可能地提取出而尽可能少含杂质,分离纯净,并避免有效成分发生降解、变质。

提取液选择要根据被提取物质的性质,杂质的

共存性质、结构,溶剂的极性大小、价格、安全性及除去溶剂的方便性等。要得到较高的提取率,必须采取理想的提取方式,并考虑以下影响因素:提取液的种类和量的多少、材料的粉碎程度、温度、提取时间、提取次数、操作方式。

杂质去除要根据杂质的种类,采取不同的溶剂和方法,利用其与有效成分的不共溶性,使其与有效成分相分离。

有效成分的分离可根据产品的物理性质和不同要求,采用分馏、重结晶、色谱等方法进行分离。

4.2.2 定性定量分析:利用薄层色谱、高效液相色谱、气相色谱、质谱、红外光谱、紫外光谱、核磁共振等先进仪器,对药材成分进行分析研究。

4.2.3 农药残留量和有害元素的检测:按农药残留量和有害元素检测方法,对中药材样品进行测定,并对其方法学进行研究和验证。

4.3 DNA 指纹图谱研究^[16~18]:基因组制备→DNA 琼脂糖凝胶电泳及 DNA 浓度和纯度的测定→基因组 DNA 酶切→基因组 DNA 片段与人工接头的连接→预扩增反应→DNA 扩增→聚丙烯酰胺凝胶电泳及 AgNO₃ 染色→数据分析。

4.4 药材质量标准体系构建:根据上述各项研究结果,构建药材质量标准体系,并在实际应用中不断充实和完善。

5 结语

近年来,生物技术在农业、医药、环境、工业等领域已取得了极大的进展,而在药用植物研究和生产方面的应用仍处于初始阶段。迄今为止,中药材尤其是地道药材生物技术及其质量标准的研究仍然是中药研究中的一个薄弱环节。加入 WTO 后,我国中药现代化、产业化进程日益加快,中药若要被世界认同和接受,并与国际水平接轨,进行药用植物生物技术及其质量标准体系研究非常必要。生物技术在药用植物研究与开发中的应用主要包括以下几个方面:1)药用植物种苗或种子的工厂化生产;2)高产优质药用植物新品种的培育;3)药用植物种质保存及其种子库的建立;4)药用植物天然产物的工业化生产。

References:

[1] Sun L. Study advance on medicinal plants biotechnology in Japan [J]. *Spec Wild Econom Plant Res* (特产研究), 1998 (3): 43-46.
[2] Zhang M S, Xie B. A method on rapid propagation of *Lilium lancifolium* Thunb. [J]. *Seed* (种子), 2002(2): 86-87.

[3] Mischenko N P, Pedoreyev S A. Anthraquinone production by callus cultures of *Rubia cordifolia* [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70: 552-557.
[4] Yu S W, Zhu Y S, Yu Y J, et al. Elementary exploration about the cultural procedure for rapidly establishing cell embryogenic suspension clones [J]. *J Huazhong Agric Univ* (华中农业大学学报), 2001, 20(4): 325-328.
[5] Wen X S, Huo D L, Yang S L, et al. Multiplication of virus-free seedlings of *Rehmannia glutinosa* CV. 85-5 in vitro [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(5): 452-455.
[6] Ma Y F, Xu J H. The ways to enhance the production of secondary metabolites by plant cell culture [J]. *J Yunnan Univ* (云南大学学报), 2003, 25(Suppl): 142-145.
[7] Sheng C Z, Wang S F, Wang Y. Effect of pH on callus growth, PAL activity and paclitaxel content of plants of *Taxus* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(10): 929-931.
[8] Schlattmann J E, Koolhasas C M A, Vinke J L, et al. The role of glucose in ajmalicine production by *Catharanthus roseus* cell cultures [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1995, 47(5): 523-534.
[9] Gregorio G H, Victor M. Effect of acetylsalicylic acid on secondary metabolism of *Catharanthus roseus* tumor suspension cultures [J]. *Plant Cell Reports*, 1997, 16: 287-290.
[10] Wang Z B, Xu X L, Sun Z P, et al. Application of *Agrobacterium rhizogenes* Ri plasmid in medicinal plants biotechnology [J]. *Biotechnology* (生物技术), 2002, 12(3): 43-45.
[11] Kamada H, Okamura N, Satake M, et al. Alkaloid production by hairy root culture in *Atropa belladonna* [J]. *Plant Cell Reports*, 1986(5): 239-242.
[12] Sun J S, Chen W L. *Plant Biotechnology and Crop Improvement* (植物生物技术和作物改良) [M]. Beijing: Science Press, 1990.
[13] Wei Z M, Kamada H, Harada H. Transformation of *Solanum nigrum* L. protoplasts by *Agrobacterium rhizogenes* [J]. *Plant Cell Reports*, 1986, 5: 93-96.
[14] Li Y J, Wang R, Chen Z T, et al. Studies on quality control of crude drugs by fingerprint [J]. *New Drug Tradit Chin Med Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 192-195.
[15] Han G X, Wang L X, Zhang W D, et al. Study on chemical constituents of *Bletilla striata* (L.) [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报), 2002, 23(4): 443-445.
[16] Luo Z Y, Zhou G, Zhou S Q, et al. Construction of genomic DNA fingerprinting in *Panax ginseng* and *P. quinquefolium* by AFLP [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(8): 626-629.
[17] Sha M, Zhang D F, Meng S X, et al. Quality evaluation of Chinese materia medica *Sanguisorba* by NDA fingerprinting and HPLC fingerprinting [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2002, 37(11): 815-818.
[18] Zhang Y, Cao H. The latest progress in study of DNA molecular marker used in quality evaluation of Chinese medicinal materials [J]. *World Sci Tech—Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术—中医药现代化), 2003, 5(1): 39-47.

作者：[张明生](#)，[杨永华](#)，[谢波](#)，[殷召静](#)，[ZHANG Ming-sheng](#)，[YANG Yong-hua](#)，[XIE Bo](#)，[YIN Zhao-jing](#)

作者单位：[张明生, ZHANG Ming-sheng\(南京大学生命科学院, 医药生物技术国家重点实验室, 江苏, 南京, 210093; 贵州大学农学院, 贵州, 贵阳, 550025\)](#)，[杨永华, 殷召静, YANG Yong-hua, YIN Zhao-jing\(南京大学生命科学院, 医药生物技术国家重点实验室, 江苏, 南京, 210093\)](#)，[谢波, XIE Bo\(贵州大学农学院, 贵州, 贵阳, 550025\)](#)

刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年，卷(期)：2005, 36 (3)

被引用次数：5次

参考文献(18条)

1. [Sun L Study advance on medicinal plants biotechnology in Japan](#) 1998(03)
2. [Zhang M S;XieB A method on rapid propagation of Lilium lancifolium Thunb\[期刊论文\]-种子](#) 2002(02)
3. [Mischenko N P;Pedoreyev S A Anthraquinone production by callus cultues of Rubia cordifolia\[外文期刊\]](#) 1999
4. [Yu S W;Zhu Y S;Yu Y J Elementary exploration about the cultural procedure for rapidly establishing cell embryogenic suspension clones\[期刊论文\]-华中农业大学学报](#) 2001(04)
5. [Wen X S;Huo D L;Yang S L;etal Multiplication of virusfree seedlings of Rehmannia glutinosa CV. 85-5 in vitro\[期刊论文\]-中草药](#) 2002(05)
6. [Ma Y F;Xu J H The ways to enhance the production of secondary metabolites by plant cell culture](#) 2003(zk)
7. [Sheng C Z;Wang S F;Wang Y Effect of pH on callus growth, PAL activity and paclitaxel content of plants of Taxus L\[期刊论文\]-中草药](#) 2001(10)
8. [Schlatmann J E;Koolhasas C M A;Vinke J L The rode of glucose in ajamalicine production by Catharanthus roseus cell cultures\[外文期刊\]](#) 1995(05)
9. [Gregorio G H;Victor M Effect of acetylsalic acid on secondary metabolism of Catharanthus roseus tumor suspension cultures\[外文期刊\]](#) 1997(5)
10. [Wang Z B;Xu X L;Sun Z P Application of Agrobacterium rhizogenes Ri plasmid in medicinal plants biotechnology\[期刊论文\]-生物技术](#) 2002(03)
11. [Kamada H;Okamura N;Satake M Alkaloid production by hairy root culture in Atropa belladonna\[外文期刊\]](#) 1986(05)
12. [Sun J S;Chen W L 植物生物技术和作物改良](#) 1990
13. [WEI Z M;Kamada H;Harada H Transformation of Solanum nigrum L. protoplasts by Agrbacterium rhizogenes\[外文期刊\]](#) 1986
14. [Li Y J;Wang R;Chen Z T Studies on quality control of crude drugs by fingerprint\[期刊论文\]-中药新药与临床药理](#) 2001(03)
15. [Han G X;Wang L X;Zhang W D Study on chemical constituents of Bletilla striata\[期刊论文\]-第二军医大学学报](#) 2002(04)
16. [Luo Z Y;Zhou G;Zhou S Q;etal Consturction of genomic DNA fingerprinting in Panax ginseng and P.](#)

[quinquefolium by AFLP](#)[期刊论文]-[药学报](#) 2000(08)

17. [Sha M;Zhang D F;Meng S X](#) Quality evaluation of Chinese materia medica Sanguisorbae by NDA fingerprinting and HPLC fingerprinting[期刊论文]-[中国药杂志](#) 2002(11)

18. [Zhang Y;Cao H](#) The latest progress in study of DNA molecular marker used in quality evaluation of Chinese medicinal materials[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#) 2003(01)

本文读者也读过(10条)

1. [李刚](#), [姜晓莉](#), [杨粉团](#) 基于高产优质的药用植物化学调控理论与实践[会议论文]-2009
2. [陈美兰](#), [林淑芳](#), [邵爱娟](#), [陈敏](#) 药用植物受威胁及优先保护评价标准、指标以及方法的探讨[会议论文]-2010
3. [徐燕](#), [徐厚谦](#) 用循证医学方法提高中医药临床科研质量[期刊论文]-[甘肃中医学院学报](#)2003, 20(4)
4. [雷沛霖](#), [李婉婉](#), [原思通](#) 不同产地芫花药材质量标准分析[会议论文]-2007
5. [《生物产业技术》编辑部](#) 2009年上海国际生物技术与医药研讨会开幕[期刊论文]-[生物产业技术](#)2009(4)
6. [姜明伟](#), [崔志强](#) 论“全球化中医产业”[会议论文]-2005
7. [何丽云](#), [刘保延](#) 未病不简单等于亚健康[会议论文]-2008
8. [汪永喆](#), [刘畅](#), [张宇](#), [贾绍辉](#), [刘景晶](#), [方泰惠](#), [曹荣月](#) 生物技术专业本科生开放性实验的总结与收获[期刊论文]-[陕西教育（高教）](#)2009(5)
9. [石赞蓉](#), [孔令义](#), [Shi Yurong](#), [Kong Lingyi](#) 以前胡为例,探讨中药活性成分研究的思路与方法[期刊论文]-[世界科学技术-中医药现代化](#)2005, 7(1)
10. [胡变芳](#), [刘述兰](#), [HU Bian-fang](#), [LIU Shu-lan](#) 历山自然保护区毛茛科药用植物的研究[期刊论文]-[长治学院学报](#)2010, 27(5)

引证文献(5条)

1. [郭彬](#), [王勤](#), [梁华](#) 活血化淤外洗方的配制及临床疗效观察[期刊论文]-[中国基层医药](#) 2009(10)
2. [于晓辉](#) 高效液相色谱指纹图谱与近红外光谱在大黄活性成分研究中的应用[学位论文]硕士 2006
3. [谢静](#) 生物技术与药用植物次生代谢产物[期刊论文]-[西南军医](#) 2007(3)
4. [可成友](#), [高珍](#), [康宏玲](#), [吴晓芳](#), [金常雪](#) 北五味子植物化学成分及其活性的研究进展[期刊论文]-[辽宁农业科学](#) 2007(3)
5. [李刚](#) 甘草酸ELISA法建立及栽培甘草产量与品质调控机理研究[学位论文]博士 2005

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200503001.aspx