

· 专论 ·

## 中药 DNA分子标识鉴定研究进展

中国人民解放军 302医院药学部 (北京 100039)  
海军总医院药剂科

肖小河\* 刘峰群 袁海龙 贺承山  
史成和

**摘要** 分子生物学技术在生药学中应用研究方兴未艾。综述了 DNA分子遗传标记技术在近缘易混淆生药鉴定、药材道地性研究、中药质量标准化、中医药古迹考证、药材种子种苗检测等方面的研究进展,并提出一些值得注意的问题以及今后可能的发展方向。

**关键词** 生药学 DNA分子遗传标记 分子生物学技术

### An Outlook on the Authentication of Traditional Chinese Drug (TCD) by DNA Molecular Markers

Department of Pharmacy, No. 302 Hospital of PLA (Beijing 100039) Xiao Xiaohe, Liu Fengqun, Yuan Hailong and He Chengshan

Department of Pharmacy, General Hospital of Navy Shi Chenghe

**Abstract** In view of the ever advancing molecular biology, the prospect to solve some problems on the identification of easily confusable species, the tracing of geo-herbal origin, the standardization of quality control criteria, the archaeological research of ancient remains and the examination of medicinal plant seeds and seedlings of TCD by DNA molecular markers were presented briefly.

**Key words** pharmacognosy DNA molecular markers molecular biological technique

当今生命科学不断取得重大突破,分子生物学和基因工程技术日趋成熟,从遗传物质 DNA分子水平检测生物遗传多样性并进行分类与鉴定已成为可能。DNA分子遗传标记原理比较简单。依据多态性的检测手段,分子标记可分为三大类: a. 基于传统 Southern杂交技术的分子标记如限制性内切酶片段长度多态技术(RFLP); b. 基于多聚酶链反应(PCR)的分子标记(PAPD) 随机扩增多态性 DNA(RAPD) 任意引物 PCR(AP-PCR) DNA扩增产物指纹(DAF)等; c. PCR-RFLP技术的结合即 AFLP技术。依据在基因组中出现的频率,又可将分子标记分为低拷贝序列和重复序列,重复序列包括串联重复和散布重复。DNA分子遗传标记技术具有快速、微量、特异性强的特点,且不受生长发育阶段、供试部位、环境条件的影响,已在中药鉴定学研究中展示了良好的应用前景,并保持强劲的发展势头。笔者综述了 DNA分子遗传标记技术在中药鉴定学中的应用发展。

#### 1 鉴定近缘生药品种

近几年 RFLP PCR PAPD AP-PCR AFLP 等 DNA分子遗传标记技术已广泛应用于近缘生药品种的整理研究。如 Wen等<sup>[1]</sup>对人参属 12种植物的 ITS区和 5.8 S-rRNA基因进行了序列分析,结果表明美洲东北部 2个种西洋参 *Panax quinquefolius* 与三叶人参 *P. trifolius* 中,西洋参与东亚种人参、竹节参 *P. japonicus* 三七 *P. notoginseng* 具有更近的亲缘关系,而且 ITS序列证明人参、西洋参和三七不是一个单系群(monophyly)。Shaw等<sup>[2]</sup>用 RAPD标记法对人参属 3个品种(人参 *Panax ginseng* 西洋参 *P. quinquefolius* 三七 *P. notoginseng*)和 4种伪品(桔梗 *Platycodon grandiflorum* 紫茉莉 *Mirabilis jalapa* 栝兰 *Talinum paniculatum* 商陆 *Phytolacca acinosa*)进行了有效鉴别。Ngan等<sup>[3]</sup>以保守的植物序列作引物,对核糖体 ITS1-5, 8S-ITS2的 DNA序列进行了扩增,并藉以鉴定人参属 6种药用植物(*Panax ginseng*,

\* Address: Xiao Xiaohe, Department of Pharmacy, No. 302 Hospital of PLA, Beijing

肖小河 男,1963年生。中国人民解放军第三〇二医院药学部副主任、副研究员、药学博士、硕士生导师。1985年湖南中医学院中药本科毕业,1988年于成都中医药大学获硕士学位,1998年于第二军医大学获博士学位。从事生药学特别是中药资源与道地药材研究多年。自1999年以来主要从事天然药物研究开发、中药药性理论与药效物质基础研究、军事本草药物调查整理等工作。负责和主研军内外科研项目约20余项,在全国核心期刊上发表学术论文60余篇。

*P. quinquefolius*, *P. notoginseng* *P. japonicus*, *P. trifolius*, *P. major*)以及 2 种常见的人参伪品(紫茉莉和商陆);利用 RFLP 标记技术对上述品种亦可进行有效的区分或鉴别。曹晖等<sup>[4-6]</sup>利用 18-24 个碱基的 6 种引物进行 AP-PCR 和用 10 个碱基的 OPC-6 引物进行 RAPD 扩增,获得了菊科地胆草属 2 种植物地胆草 *Elephantopus scaber* 白花地胆草 *E. mollis* 和假地胆草属 1 种植物假地胆草 *Pseudoelephantopus spicatus* 以及 4 种商品苦地胆药材 DNA 指纹图谱,同时测算了其 DNA 指纹图谱的相似系数,据此可区别中药苦地胆及其混淆品白花地胆草和假地胆草。Yamazaki 等<sup>[7-9]</sup>利用 OPD-2 和 OPE-2 引物进行 RAPD 扩增,获取甘草属 4 种药用植物光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* 甘草 *G. uralensis* 刺甘草 *G. echinata* 和刺果甘草 *G. pallidiflora* 的 DNA 指纹图;以 Bam HI DraI Eco1209I HinfI 和 HcoI 酶解后与水稻 rDNA 基因 pRR217 进行分子杂交和 RFLP 指纹图分析,建立其亲缘关系树,结果发现富含甘草甜素 (glycyrrhizin) 的品种光果甘草和甘草之间遗传关系非常相近,这两者与不含甘草甜素或含量极低的刺甘草和刺果甘草的遗传关系则较远,与传统植物分类研究结果吻合。国内外学者运用 RAPD RFLP AFLP 等分子标记法对淫羊藿属 *Epimedium*<sup>[11]</sup>、黄芪属 *Astragalus*<sup>[12,13]</sup>、木蓝属 *Indigoferae*<sup>[14]</sup>、黄连属 *Coptis*<sup>[15,16]</sup>、山麦冬属 *Liriope*<sup>[17,18]</sup>、贝母属 *Fritillaria* 桔楼属 *Trichosanthes* 铁线莲属 *Climatis*<sup>[19]</sup>、香茶菜属 *Isodon*<sup>[20]</sup>、姜黄属 *Curcuma*<sup>[21]</sup>、苍术属 *Atractylodes*<sup>[22-24]</sup>、大麻属 *Cannabis*<sup>[25-27]</sup>、沙参属 *Adenophora*<sup>[28]</sup>、紫苏属 *Perilla*<sup>[29]</sup>、天南星属 *Arisaema*<sup>[30]</sup>、百合属 *Lilium*<sup>[10]</sup>、澳茄属 *Duboisia*<sup>[31]</sup>、莴苣属 *Lactuca*<sup>[32]</sup>、柑橘属 *Citrus*<sup>[33]</sup> 等药用植物进行了较为系统的研究。

## 2 鉴定名贵易混淆生药品种

珍稀名贵中药是祖国传统医药宝库的精粹之一,同时亦是生药品种混乱及伪劣药材的高频区。不少珍稀品种如冬虫夏草、番红花、金钗石斛、囊鞘麝香、穿山甲、犀角、虎骨、天然牛黄、天然熊胆、蛤士蚂、海马、玳瑁等来源有限,采用 DNA 分子遗传标记技术鉴定,取样量少,避免了贵重样品的损耗,即使从动植物生物标本上直接取样也不会造成标本整体的破坏,因而具有独到的优势。Fushimi 等<sup>[34]</sup>通过变异等位基因扩增技术 (MASA) 对 mat K 基因片段测序发现,人参 *P. ginseng* 与西洋参 *P. quinque-*

*folius* 竹节参 *P. japonicus* 间的 mat K 基因片段上第 102 号核苷酸序列不同,以此来鉴别人参、西洋参,结果非常可靠。陈月琴等<sup>[35]</sup>采用末端终止法对杜仲大分子 rRNA 基因 (25SrDNA) 5' 端基因进行测序,根据序列中核苷酸的变化可有效地鉴别杜仲与其它相关类群。

## 3 鉴定动物类生药品种

DNA 分子遗传标记技术不仅对有形的动物药整体及破碎部分器官组织进行准确的鉴定,而且对以动物粉末、体液、分泌物和排泄物入药的生药及制剂进行有效的真伪鉴定、纯度检查与质量评价,如龟鳖胶囊、纯蛇粉、鹿血粉、犀角粉、水牛角粉和麝香等。

近年来国内动物药的 DNA 分子鉴定报道较多。如王亚胆等<sup>[36]</sup>从保存 9 年以上的药材龟板和鳖甲中提取出 DNA,并用细胞色素 b 基因片段的通用引物对 (引物间距 500 bp),通过 PCR 扩增到了长约 500 bp 的 DNA 片段,成功地对龟板和鳖甲进行了 DNA 指纹鉴定,为分子标记技术引进到中药鉴定提供了基础资料。王建云等<sup>[37]</sup>利用陈旧皮革的 DNA 提取技术从鸡内金、鸭内金提取 DNA,通过 PCR 技术,以线粒体 DNA 细胞色素 b (cyt-b) 通用引物中的 L1484I 和 H15149 为引物扩增片段,将扩增后的 DNA 用双脱氧链终止法测定其序列,表明鸡内金与鸭内金的 DNA 序列有明显差异,以此能准确鉴别鸡内金和鸭内金。王建云等<sup>[38]</sup>采用微量 DNA 提取技术,在梅花鹿血毛、鹿鞭、鹿茸、牛鞭、驴鞭中提取 DNA,以线粒体 DNA 细胞色素 b 通用引物 L1484I 和 H15149 扩增约 307 bp DNA 片段,扩增产物纯化后采用双脱氧链终止法测定其序列,结果证明梅花鹿血毛、血和鹿鞭的 DNA 序列完全一样,而所谓的“鹿茸”则与其有较大的差异。王义权等<sup>[39]</sup>将 RAPD 标记技术用于蛇类动物的分类学研究和鉴定,结果表明 RAPD 标记技术不仅能够用于蛇类动物种间系统演化、种内个体间遗传多样性,并且可以用于蛇类药材的鉴定。吴平等<sup>[18]</sup>应用 RAPD 分析能有效地鉴定海马类药材。熊丽娟等<sup>[40]</sup>用 DNA 序列分析法鉴别中药紫河车获得成功。

## 4 鉴定药材道地性

在中医药长期医疗实践中,道地药材一直是评价药材品质的独特的综合性标准。道地药材与非道地药材物种来源一致或十分相近,在形态、生药性状及化学成分等特征上具有高度相似性,因而道地药材的鉴别往往不容易,具有很大的主观性。

作为现代分子生物学技术重要的手段的 DNA 分子遗传标记方法,将使从居群和分子水平上阐明药材道地性的生物学实质成为可能。陈永久等<sup>[41]</sup>利用 RAPD 技术研究了冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* 的不同地理群体间的遗传分化现象,结果表明:来自同一地方的样品遗传差异甚微,同一区域不同地方的样品间遗传差异较大,不同区域的样品间遗传差异最大,这为冬虫夏草的药材道地性研究提供了分子水平的支持依据。肖小河<sup>[21]</sup>研究表明,RAPD 技术不仅能正确鉴别姜黄属不同种间群体,而且对种内等级亦能进行有效的刻划,可作为姜黄属药用植物的分类鉴定与道地性评价的新手段。陈林娇等<sup>[20]</sup>应用 RAPD 技术发现 2 个不同产地的狭基线纹香茶菜居群的扩增产物并不完全一致,如 D-20 引物广东瑶坪产的比广州产的多出一条 1263 bp 带,这为揭示道地药材的生物学本质提供了一些线索。

Mizukami 等<sup>[42]</sup>在对日本 5 个产地的北沙参 *Glehnia littoralis* 进行 RFLP 分析,发现其地理遗传多样性小,用 rDNA 作探针难以检测彼此间的差异,结果为药材道地性的研究提供新的启示。

### 5 鉴定野生与家种(养)生药

由于生态环境改变和人们生产活动的影响,生物的遗传特性及其生药品质在一定程度上产生了变化。产地和栽培对生药品质及药性产生巨大影响。在人类回归自然的呼声日益高涨的今天,人们普遍认为野生品比栽培品质更好,同时由于经济利益的驱使,以栽培品冒充野生品的现象时有发生,给临床使用及商品流通造成混乱。栽培品和野生品都来自同一个物种,植物形态、药材性状、化学成分、生物活性等往往无明显差异。DNA 分子遗传标记技术因不受药材的生境条件等因素的影响,在野生药材与其栽培品的比较研究方面具有良好的应用前景,如野山参 *Panax ginseng* 与园参和园参的 DNA 分子标记鉴别、栽培姜黄 *Curcuma longa* 与野生姜黄的鉴别、野生天麻 *Gastrodia elata* 与栽培天麻等。

### 6 鉴定特殊药材

当今人们从自然界获取药物的来源越来越多,而且来源越来越复杂,生药不再局限于传统生药的形式,如人工发酵产品(如冬虫夏草和灵芝菌丝体等)、海洋湖泊生物(鱼类、海藻类、螺旋藻类、软体动物类等)、土壤微生物类等已成为新一轮天然药物研究与开发的热点,将大大丰富祖国医药宝库;与此同时,生药新人工代用品(如塞龙骨代虎骨、水牛角代犀牛角等)以及新生掺伪品不断涌现,给生药鉴定带

来新的问题。采用 DNA 分子遗传标记技术能够在分子水平对任何来源的生药样品进行分析鉴定,且不受形态、来源等因素的影响,对来源于生物工程的样品同样可以进行分析鉴定。

### 7 生药质量标准化的 DNA 分子刻划

生药质量标准化目前多局限于化学成分的观察,但是品种的标准化应是质量标准化的前提和关键,特别是当今新资源不断出现,栽培品种不断退化,品种标准化尤为迫切。品种标准化应包括主流品种及其种下等级筛选和优化,传统生药学和药用植物栽培学难以进行快速准确的评价。此外,对相当多数的生药欲建立基于化学分析的质控方法和标准目前尚难以实现,但 DNA 分子遗传标记可从分子水平定性定量刻划生药主流品种及其种下等级的遗传背景差异,为生药品种标准化提供先进可行的技术和稳定可靠的标准。

在日本,茅苍术 *Atractylodes lancea* 和北苍术 *A. chinensis* 作苍术用,关苍术 *A. japonica* 和白术 *A. macrocephala* 作白术用,挥发油化学分析发现,苍术类主要含苍术素(atractylodin),而白术类主要含苍术酮(atractylon)《日本药局方》以此成分的差异作为白术与苍术的理化鉴别依据。然而日本市售苍术商品药材中含有白术类植物杂交的结果。Kohiyoma 等<sup>[22]</sup>采用 RAPD 方法对日本和中国野生或栽培的术类进行分析,发现日本栽培的茅苍术与中国产的 RAPD 指纹几乎一致,并 Mizukami 等<sup>[45]</sup>的 RFLP 分析结构相吻合。虽然存在含较高苍术酮的茅苍术,但未显示出茅苍术与白术或关苍术的杂交谱带,表明茅苍术存在种内变异。Gillan 等<sup>[27]</sup>对来源于 3 个组 17 份大麻 *Cannabis sativa* 样品同时应用 RAPD 与 HPLC 法鉴别,其中 2 组样品以 HPLC 法难以区分,但 RAPD 技术可有效地鉴别所有 3 组样品。Yamazaki 等<sup>[8]</sup>根据 RFLP 分析结果,建立了黄羽扇豆属 *Lupinus* 植物的分子系统发育树,并探讨了其与所含生物碱成分类型的相关性,在利用 DNA 分子遗传标记寻找和扩大生药资源方面进行了一些开拓性的工作。

### 8 鉴定中药原粉制剂

绝大部分中成药是经过化学提取而制成的不含原生药的中药制剂,但传统剂型如散剂、丸剂及现代剂型袋泡茶、片剂、胶囊等中成药仍含部分或微量生药如玉屏风散、大活络丸等,有的甚至为全原生药,如龟鳖胶囊、纯蛇粉、鹿血粉等。由于中成药的组成及成分复杂性,干扰因素多,用传统生药学方法鉴定

上述含生药中药制剂或鉴定全原生药制剂的真伪及纯度存有较大的难度, DNA分子遗传标记不仅能准确地鉴别中成药中的微量生药成分,而且有效地检测全原生药制剂纯度及质量。因而 DNA分子遗传标记技术在中成药鉴别与质量研究方面具有良好的应用前景。

RAPD标记技术首次用于复方中药制剂的研究是对玉屏风散中黄芪、白术、防风 3味生药的检查<sup>[16]</sup>,作者首先从 400个寡核苷酸随机引物中筛选 RAPD引物 OPP-10,含有 3组分的制剂总 DNA分子以 OPP-10为引物的 RAPD扩增产物能够分别标记这 3个组分, 200 bp DNA, 440 bp DNA, 500 bp DNA分子标记分别是黄芪、白术、防风 3组分的特殊 DNA片段,由此 3个组分得以检出。Hakamatsuka等<sup>[43]</sup>运用定量 PCR技术与灵敏度极高的反转录 PCR(RT-PCR)方法对复方中黄连建立了 DNA分子定量分析标准。上述研究证明, DNA分析技术完全可以用于含有生物粉末的中成药中的组分鉴定。

### 9 中医药古迹的 DNA分子辅助考证

人类使用中草药的历史已有几千年,前人为我们留下了浩如烟海的本草资料。如何从中获取到真实可靠的医药知识,对今天的天然药物的开发利用有极为重要的意义。中医药实物古迹(包括寺庙或博物馆珍藏标本、出土生药、生药化石等)是中医药文化和本草考证最有力的依据之一。DNA分子遗传标记能对微量或高度降解的 DNA样品进行分析,取样不损坏标本,对干燥、变形、变质的生药样品甚至动植物的化石进行有效的鉴定。因此,充分利用有限的中医药古迹实物,采用包括 DNA分子遗传标记在内的鉴定技术,系统地考察中药材品种延续和变迁及其规律和实质,将是今后本草考证的重要方向。

现代分子遗传标记技术用于古生物学及本草考证已取得进展。如 Golenberg等<sup>[44]</sup>从中新世木兰属植物 *Magnolia latahensis*的叶片化石中成功地提取了 cpDNA,并运用 PCR技术扩增出了 820个碱基的 rbcL基因片段,其中对 759个碱基进行了测序,发现与现在的 *M. macrophylla*的 rbcL基因片段有 97%的同源性。1958年在北京西郊太舟村挖掘到大量乌黑、坚硬的古莲子,取名为“太子莲”,经 C<sup>14</sup>测定,太子莲的寿命距今已久(580±70年),采用传统方法不能将它们与现代莲进行比较研究。采用 RAPD及微卫星(SSR)DNA多态性检测了“太子莲”与中国红花莲 *Nelumbo nucifera*遗传多样性及

莲的生物学特性、地理分布的关系<sup>[46]</sup>,结果表明:太子莲与河北、哈尔滨、湖南、江西等地的红花莲拥有共同的祖先,但仍有遗传差异,由此结合本草记述的莲的形态,可对古代医家所用莲子与现代所用的莲子进行科学的比较研究,从而得到准确的考证结果。

### 10 鉴定药用植物种子种苗纯度及雌雄

药用植物种子的纯度和雌雄的鉴定一般多采用田间种植试验,周期长,花费大。RAPD作为一种在分子水平上的遗传标记,能够依据基因组 DNA多态性进行种子纯度和雌雄检测,从而取得对栽培种子纯度和雌雄及质量的准确评价,防止劣质种子的流入及劣质药材的产生,减少经济损失。生药种子的纯度还直接影响品种的标准化,利用 RAPD技术检测生药种子的纯度和雌雄及其相关质量是十分必要和完全可能的。

### 11 结语

DNA分子遗传标记技术在中药鉴定及其相关研究方面具有独到的优势和广阔的应用前景,但目前尚处于探索阶段。各种 DNA分子遗传技术均存在一定的局限性,有待进一步规范和完善。中药分子鉴定实验有几个值得注意的问题: 1)目的基因的真实性与 DNA同源性; 2)DNA分子标记技术的稳定性; 3)分子生物的研究成本等。

现代分子生物学技术在中药学研究中方兴未艾。但目前 DNA分子遗传标记技术应用主要表现在中药鉴定方面,在中药学研究深度和广度方面尚存在很大的局限性。此外,目前常用于中药鉴定的 DNA分子遗传标记技术有 RFLP、RAPD、AP-PCR、AFLP等,但与已出现的几十种分子遗传标记技术相比,只是其中的一小部分。随着分子生物学的发展,新的分子标记技术还将不断问世。

利用 DNA分子遗传标记技术,开展有关药用动物遗传背景与化学成分相关性的研究,实现中药品种——质量标准化、基因工程生产天然活性成分及寻找和扩大新药源;开展中药重要性状包括品质、产量和抗性的分子标记,实现中药材分子育种及品质人工调控,将是中药分子鉴定学既富挑战又具现实意义的大课题。

### 参考文献

- 1 Wen J, Zimmer E A. Molec Phylogen Evol, 1996, 6: 167
- 2 Shaw P C, But P H. Planta Med, 1995, 61: 466
- 3 Ngan F, Shaw P C, But, P H, et al. Phytochemistry, 1999, 50: 787
- 4 曹 晖,毕培曦,邵鹏柱. J Chin Pharm Sci, 1996, 5: 186
- 5 曹 晖,毕培曦,邵鹏柱. 中药材, 1996, 19(12): 608

2.1 充分认识品种混乱的危害性:笔者在风景区调查中了解到,1994年春季有一老汉在药摊中购买了一个“何首乌”,回家炖鸡服食后不久便上吐下泻,中毒身亡,经取样鉴定,这种所谓的“何首乌”(当地人又称金钱吊乌龟)为防己科植物头花千金藤的块根。通过动物急性毒性实验证实,其水煎液给小鼠灌胃后,腹泻严重,鲜品和干品的LD<sub>50</sub>均小于50g/kg,最大耐受量与最小中毒量非常接近[陈吉炎,童玉玺,陈黎,等.中药材,1999,22(9):468]。死因系所含的轮环藤碱类衍生物具有肌肉松弛作用,过量后致使呼吸肌麻痹而亡。

2.2 规范风景区内的中药材销售:鉴于风景区药摊中草药品种质量难以保证,用量难以控制,甚至将有毒中药做补益药销售,不仅直接威胁到游客的用药安全,而且使中草药资源保护工作的难度增大,故建议在风景区内严禁无序采挖。同时,由有关部门建立规范的中药销售点,配备具有药材鉴别能力和炮制经验的专职药剂人员,定点销售,统一管理,以便在保证用药安全有效的同时,扩大武当山中草药在国内外的影响,保护有限的中草药资源。

2.3 开辟武当山中草药植物园区:武当山素有“天然药库”之誉,对武当山中药材资源的普查结果表

明:地道药材达617种,丰富的中草药资源把国家级风景区装点得更加多姿多彩。然而,资源数量是有限的,资源的再生不仅需消耗大量的人力、物力,而且再生周期长,某些珍稀濒危品种一旦灭绝,损失将无法弥补,可能会留下千古骂名。这就需要管理者在采取行之有效的保护措施的同时,兴建武当山中草药植物园区,对珍稀濒危品种以及既具观赏价值又具药用价值的品种进行重点培育。

2.4 提高保护意识,依法科学管理:1)要增强资源保护意识,不失时机地加以宣传、引导,使爱护风景区内一草一木成为当地居民和游客的自觉行动。2)充分认识保护资源与发展经济、当前利益与长远利益、局部利益与整体利益之间的辩证统一关系。使开辟中草药种植园区、发展园林经济与保护有限的中草药资源、生态资源相结合,旅游与购物相结合,以促进武当山旅游经济的发展。3)严格控制当地居民的数量,在便于管理的同时减少生活垃圾对环境造成的污染。4)普及法律常识,坚持依法管理,对破坏资源的人予以严厉打击。5)制定科学、规范的管理办法,并加以实施,做到持之以恒。

(2000-02-18收稿)

(上接第564页)

6 曹 晖,毕培曦,邵鹏柱.药学报,1996,31:543  
7 Yamazaki M, Sato A, Shimomura K, *et al.* Natural Med, 1995, 49: 448  
8 Yamazaki M, Sato A, Saito K, *et al.* Biol Pharm Bull, 1993, 16: 1182  
9 Yamazaki M, Sato A, Shimomura K, *et al.* Biol Pharm Bull, 1994, 17: 1529  
10 Yamagishi M. Theor Appl Genet, 1995, 91: 830  
11 Nakai R, Shoyama Y, Shirashi S. Biol Pharm Bull, 1996, 19: 67  
12 Liston A. Am J Bot, 1992, 79: 365  
13 Wojciechowski M F, Sanderson M J, Baldwin B G, *et al.* Am J Bot, 1993, 80: 711  
14 张 荣,邵建本,田学明,等.中草药,1996,27(7):686  
15 Cheng K T, Chang H C, Su C H, *et al.* Bot Bull Acad Sin (Taiwan) 1997, 38: 241  
16 Cheng K T, Tsay H S, Chen C F, *et al.* Planta Med, 1998, 64: 563  
17 吴 平,周开亚,张朝晖,等.药学报,1998,33(2):226  
18 吴 平,王义权,余伯阳,等.中草药,1998,29(1):37  
19 张 荣,张步振,叶 浩.中国中药杂志,1997,22(2):72  
20 陈林娇,屈良鸽,施苏华,等.中国中药杂志,1998,23(6):328  
21 肖小河.国产姜黄属植物的分类学与生药学研究[博士学位论文].上海:第二军医大学,1998  
22 Kohjyouma M, Nakajima S, Namera A, *et al.* Biol Pharm Bull, 1997, 20: 502  
23 Mizukami H. Biol Pharm Bull, 1995, 18: 1299  
24 Mizukami H, Shimizu R, Kohjyouma M, *et al.* Biol Pharm Bull, 1998, 21: 474  
25 Shirota O, Watanabe A, Yamazaki M, *et al.* Natural Med,

1998, 52: 160  
26 Miyahara M, Sugaya K, Tanimura A, *et al.* Natural Med, 1998, 52: 209  
27 Gillan R, Cole M D, Linacer A, *et al.* Sci Justice, 1995, 35 (3): 169  
28 葛 颂, Schaal B A,洪德元.植物分类学报,1997,35(5):385  
29 Ito M, Kato H, Oka Y, *et al.* Natural Med, 1998, 52: 248  
30 Konda H. Natural Med, 1996, 50: 185  
31 Mizukami H, Ohbayashi K, Kitamura Y, *et al.* Biol Pharm Bull, 1993, 16: 338  
32 Kesseli R, Ochoa O, Michelmore R. Genome, 1991, 31: 430  
33 Orford S I, Scott N S. Theor Appl Genet, 1995, 91: 1248  
34 Fushimi H, Komatsu K, Isobe M, *et al.* Biol Pharm Bull, 1997, 20: 765  
35 陈月琴,屈良鸽,周 惠,等.中国中药杂志,1998,23(12):707  
36 王亚明,周开亚,吴 平,等.药学报,1996,31(6):472  
37 王建云,王 文,宿 兵,等.中国药科大学学报,1996,27(1):471  
38 王建云,何广新,付 文,等.中国中药杂志,1997,22(10):579  
39 王义权,周开亚.药学报,1997,32(5):384  
40 熊丽娟,王建云,易建文.中国药学杂志,1997,32(增刊):41  
41 陈永久,王 文,杨跃雄,等.遗传学报,1997,24(5):410  
42 Mizukami H, Ohbayashi K, Umetsu K, *et al.* Biol Pharm Bull, 1993, 16: 611  
43 Hakamatsuka T, Tanaka N. Biol Pharm Bull, 1997, 20: 464  
44 Golenber E M, Giannasi D E, Clegg M T. Nature, 1990, 32: 563  
45 Mizukami H. Biol Pharm Bull, 1996, 19: 577  
46 邹喻萍,蔡美琳,王晓东,等.植物学报,1998,40(2):163

(1999-10-12收稿)