

• 药材与资源 •

基于 ITS2 序列的市售木通药材及其混伪品的分子鉴定

穆威杉¹, 谢红波¹, 赵 晴¹, 史萌萌¹, 胡志刚², 魏妙洁³, 刘金欣^{1,3*}, 石林春^{3*}

1. 承德医学院 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000

2. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065

3. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

摘要:目的 建立基于核糖体内部转录间隔区 2 (internal transcribed spacer 2, ITS2) 序列的木通药材 DNA 条形码鉴定方法, 对市售木通药材进行物种分析。方法 收集河北、安徽、贵州等地的样品总计 45 份, 其中木通药材及其混伪品的原植物样品 18 份, 市售木通药材样品 27 份。通过提取 DNA、聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增、双向测序获得 ITS2 序列, 基于邻接 (neighbor joining, NJ) 系统发育树和单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点进行物种鉴定分析。结果 基于木通药材及其混伪品原植物 ITS2 序列构建的 NJ 树分析结果表明, 木通药材正品及其混伪品在 NJ 树上聚为独立的分支, 木通药材正品及其混伪品在 NJ 树上可明确区分; 基于 NJ 树对 27 份市售木通药材的物种分析表明, 市售样品中仅有 4 份为正品木通, 2 份为小木通, 21 份为粗齿铁线莲, 正品率为 14.8%。结论 基于 ITS2 序列的 DNA 条形码技术可以准确区分中药材木通及其混伪品, 市售木通药材物种较混乱。

关键词: 木通; 市售药材; ITS2; DNA 条形码; 鉴定

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)07-2108-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.07.021

Molecular identification of commercially available *Akebiae Caulis* and its adulterants based on ITS2 sequence

MU Wei-shan¹, XIE Hong-bo¹, ZHAO Qing¹, SHI Meng-meng¹, HU Zhi-gang², WEI Miao-jie³, LIU Jin-xin^{1,3}, SHI Lin-chun³

1. Hebei Key Laboratory of Research and Development of Chinese Medicine, Chengde Medical University, Chengde 067000, China

2. College of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China

3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Objective A DNA barcoding identification method based on internal transcribed spacer 2 (ITS2) sequences was established to analyze the species of commercially available Mutong (*Akebiae Caulis*). **Methods** A total of 45 samples from Hebei, Anhui, Guizhou provinces and other places were collected, including 18 samples of original plants samples and 27 samples of commercially available medicinal materials. Their ITS2 sequences have been obtained after DNA extraction, polymerase chain reaction (PCR) amplification and bi-directional sequencing. Species identification analysis were based on neighbor-joining (NJ) phylogenetic tree and single nucleotide polymorphisms (SNPs). **Results** The results of NJ phylogenetic tree constructed by the original plants of *Akebiae Caulis* and its adulterants showed that the authentic *Akebiae Caulis* and its main adulterants gathered into independent branches. The authentic *Akebiae Caulis* and its adulterants could be clearly distinguished by the NJ phylogenetic tree. Based on the NJ tree, the analysis of the species of 27 commercial samples showed that only four samples were *Akebiae Caulis*, two

收稿日期: 2021-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81703659); 河北省教育厅青年拔尖人才项目 (BJ2016002); 河北省高校重点学科建设项目 (冀教高[2013]4 号); 承德医学院重大项目科研专项 (KY2020003)

作者简介: 穆威杉 (1997—), 女, 硕士研究生, 从事中药资源与鉴定相关研究。Tel: (0314)2290474 E-mail: muweishan1997@126.com

*通信作者: 刘金欣, 副教授, 从事中药资源与鉴定相关研究。Tel: (0314)2290474 E-mail: liujx_23@163.com

石林春, 副研究员, 从事中药资源与鉴定相关研究。Tel: (010)57833194 E-mail: linchun_shi@163.com

samples were *Clematis armandii*, and 21 samples were *Clematis argenfilucida*. The authenticity rate of commercially available medicinal materials was 14.8%. **Conclusion** The DNA barcoding based on the ITS2 sequence can accurately distinguish *Akebiae Caulis* and its adulterants. The varieties of commercially available *Akebiae Caulis* are more chaotic.

Key words: *Akebiae Caulis*; commercial medicinal materials; ITS2; DNA barcoding; identification

木通为临床常用药材。据《中国药典》2020 年版记载^[1], 中药材木通为木通科植物木通 *Akebia quinata* (Thunb.) Decne.、三叶木通 *A. trifoliata* (Thunb.) Koidz. 或白木通 *A. trioliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels) Rehd. 的干燥藤茎。近代以来木通药材的使用情况十分混乱, 易将木通与川木通、关木通混淆使用^[2]。1954 年任仁安^[3]调查发现木通类商品以马兜铃科关木通为主, 但由于关木通含有马兜铃酸会引发肾损伤^[4-5], 2003 年关木通已被国家食品药品监督管理局禁用^[6]。在关木通被禁用之后, 川木通成为木通类药材的主流商品^[7-8]。川木通为毛茛科铁线莲属植物小木通 *Clematis armandii* Franch. 或绣球藤 *C. montana* Buch.-Ham. 的干燥藤茎^[1]。木通药材长期依赖于野生资源, 市场供应不足^[9], 而川木通资源丰富且具有较高利润, 市场上存在川木通代替木通的现象^[7]。木通类药材虽名称相近, 但木通、川木通、关木通的原植物来源于不同的科属, 其化学成分、药理作用及临床应用均存在差异^[10-11]。若临床中将木通与川木通、关木通混淆使用, 不仅药效难以保证, 临床用药安全也将存在隐患。

《中国药典》2020 年版收载的木通药材鉴别方法主要为性状鉴定法、显微鉴定法及薄层色谱法^[1]。性状鉴定与显微鉴定依赖于鉴定人员的专业知识和鉴定经验, 同时中药材的性状或显微特征可能因其基原与产地不同而存在一定差异^[12], 加上木通类药材均以藤茎入药, 性状相似, 利用性状及显微特征对木通药材进行鉴别存在一定困难。利用薄层色谱法对木通药材进行鉴定时, 木通药材的甲醇和乙酸乙酯提取物为多种化学成分的混合物^[13], 对木通苯乙醇苷 B 的检测易受其他化学性质相似成分的影响, 同时孙萍等^[14]研究发现木通与川木通同样含有较多相似的化学成分。DNA 条形码技术利用基因组中一段公认的、相对较短的 DNA 序列进行物种鉴定^[15], 不受时间、气候、植物发育阶段等的影响, 具有准确、快速、易于操作等优势, 是对传统中药鉴定方法的有效补充^[16]。目前 DNA 条形码技术已广泛用于动物、植物、真菌等生物类群的物种鉴定^[17-19]。当前, “中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则”、“DNA 测序技术指导原则”已收载于《中国药典》

2020 年版^[20], 基于测序技术的 DNA 分子鉴定方法将成为中药鉴定学的重要发展方向。

本研究以木通药材为研究对象, 通过收集木通及其混伪品的原植物样品, 利用基于 ITS2 序列的 DNA 条形码技术构建中药材木通及其混伪品的鉴定方法; 并应用该技术对市售木通药材进行物种分析, 为保障木通药材的临床用药安全提供技术支持。

1 仪器、试剂与材料

1.1 仪器与试剂

SQP 型电子天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司); MM400 型球磨机 (德国 Retsch 公司); 手动移液枪 (德国 eppendorf 公司); VORTEX-5 型涡旋混合器 (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 1-14 型离心机 (德国 Sigma 公司); Nanodrop One 型超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); T100 型聚合酶链反应 (PCR) 仪 (美国 Bio-Rad 公司); DYY-6C 型电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); Gel DocTMXR+ 型凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司); 天根植物 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司]; 2×Taq PCR Master Mix 试剂 (北京艾德莱生物科技有限公司); AL2000 DNA Maker (北京艾德莱生物科技有限公司); 琼脂糖 (BIOWEST 公司); 引物 [生工生物工程 (上海) 股份有限公司]。

1.2 材料

本研究共收集 45 份实验样品, 包括 18 份原植物样品和 27 份市售药材样品。原植物样品采集自湖北、吉林、重庆等地, 并经由湖北中医药大学药学院胡志刚教授和中国医学科学院药用植物研究所石林春副研究员鉴定; 市售药材样品收集自河北、安徽、广西等地的药材市场、药房或药店。详细信息见表 1、2。

2 方法

2.1 DNA 提取、PCR 扩增和序列测定

原植物样品的称样量为 10 mg, 药材样品的称样量为 30 mg, 使用球磨机进行研磨, 使用天根植物 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取, 利用超微量分光光度计测定 DNA 的浓度和吸光度比值 (A_{260}/A_{280})。PCR 扩增的引物、反应程序依据中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则^[15]并略作调整,

表 1 木通及其混伪品原植物样品采集信息及其 ITS2 序列的 GenBank 登录号

Table 1 Information of original plant samples of *Akebiae Caulis* and its adulterants, and their ITS2 GenBank accession numbers

样品编号	物种名	拉丁名	来源	登录号
BZYP001	木通	<i>Akebia quinata</i>	江西九江	MT534353
BZYP002	木通	<i>A. quinata</i>	江西九江	MT534352
BZYP003	木通	<i>A. quinata</i>	江西九江	MT534351
BZYP004	三叶木通	<i>A. trifoliata</i>	江西九江	MT534350
BZYP005	三叶木通	<i>A. trifoliata</i>	江西九江	MT534349
BZYP006	白木通	<i>A. trifoliata</i> var. <i>australis</i>	湖北武汉	MT534348
BZYP007	白木通	<i>A. trifoliata</i> var. <i>australis</i>	湖北武汉	MT534347
BZYP008	白木通	<i>A. trifoliata</i> var. <i>australis</i>	湖北武汉	MT534346
BZYP009	小木通	<i>Clematis armandii</i>	重庆城口	MT534358
BZYP010	小木通	<i>C. armandii</i>	重庆城口	MT534359
BZYP011	绣球藤	<i>C. montana</i>	湖北十堰	MT534360
BZYP012	绣球藤	<i>C. montana</i>	湖北十堰	MT534361
BZYP013	关木通	<i>Aristolochia manshuriensis</i>	吉林通化	MT534342
BZYP014	关木通	<i>A. manshuriensis</i>	吉林通化	MT534341
BZYP015	关木通	<i>A. manshuriensis</i>	吉林通化	MT534340
BZYP016	粗齿铁线莲	<i>Clematis argenticulida</i>	江西九江	MT534355
BZYP017	粗齿铁线莲	<i>C. argenticulida</i>	江西九江	MT534356
BZYP018	粗齿铁线莲	<i>C. argenticulida</i>	江西九江	MT534357

表 2 市售木通药材样品信息及其 ITS2 序列的 GenBank 登录号

Table 2 Information of commercially available *Akebiae Caulis* medicinal materials and their ITS2 GenBank accession numbers

样品编号	样品来源	登录号
MTYC001	贵州省毕节市某药店	MT534379
MTYC002	贵州省毕节市某药店	MT534380
MTYC003	贵州省毕节市某药店	MT534381
MTYC004	贵州省毕节市某药店	MT534382
MTYC005	贵州省毕节市某药店	MT534343
MTYC006	北京某药房	MT534383
MTYC007	北京某药房	MT534384
MTYC008	河北承德某药店	MT534362
MTYC009	河北安国药材市场	MT534344
MTYC010	河北安国药材市场	MT534370
MTYC011	河北安国药材市场	MT534371
MTYC012	河北安国药材市场	MT534363
MTYC013	四川成都药材市场	MT534365
MTYC014	四川成都某药店	MT534366
MTYC015	四川成都某药店	MT534367
MTYC016	四川成都某药店	MT534368
MTYC017	四川成都某药店	MT534369
MTYC018	安徽亳州某药店	MT534374
MTYC019	安徽亳州药材市场	MT534375
MTYC020	安徽亳州药材市场	MT534376
MTYC021	安徽亳州药材市场	MT534345
MTYC022	山东菏泽药材市场	MT534372
MTYC023	山东菏泽药材市场	MT534373
MTYC024	重庆某药店	MT534364
MTYC025	江苏宿迁某药店	MT534377
MTYC026	陕西宝鸡某药店	MT534378
MTYC027	广西玉林药材市场	MT534354

使用 25 μ L 的反应体系进行 PCR 扩增, 以 1% 的琼脂糖凝胶电泳对 PCR 产物进行检测。将 PCR 产物纯化后, 使用 AB1 3730XL 测序仪进行双向测序。

2.2 数据分析

利用 CodonCode Aligner v.8.0.2 软件去除测序峰图两端的低质量区, 并完成校对和拼接, 基于隐马尔可夫模型 (hidden markov model, HMM) 注释获得 ITS2 条形码序列区间^[21]; 利用 MEGA X 软件^[22]完成多序列比对及 NJ 系统发育树的构建, 并设置 Bootstrap 为 2000 检验各分支的支持率; 采用建树法和 SNP 分析完成物种鉴定。

3 结果与分析

3.1 DNA 提取、PCR 扩增及测序

根据“2.1”项中的 DNA 提取方法完成 45 份样品的 DNA 提取。DNA 检测结果显示, 45 份样品 DNA 质量浓度的平均值为 178.9 ng/ μ L, A_{260}/A_{280} 在 1.8~2.05, 表明所有样品均成功提取质量较高的 DNA, DNA 提取成功率为 100%。将提取的 DNA 模板加入 25 μ L 的 PCR 体系中, 按照设置好的扩增程序进行 PCR 扩增, 所得到的 PCR 产物在电泳胶图上的条带单一且明亮, 长度在 500 bp 左右。18 份原植物样品及 27 份市售木通药材样品的 PCR 产物经过双向测序, 所有样品的 ITS2 序列均获得较高质量双向测序峰图, 部分样品的 ITS2 序列在个别碱基位点存在不同程度的测序套峰, 如在第 87 位存在 AC 套峰、103 位

和 170 位存在 AG 套峰、201 位存在 TC 套峰 (图 1)。经 CodonCode Aligner 软件校对拼接, 切除 5.8 S rRNA 和 28 S rRNA 区域后得到 45 条 ITS2

条形码序列, 质量分析表明符合《中国药典》2020 年版的“DNA 测序技术指导原则”, 可满足后续分析需要。

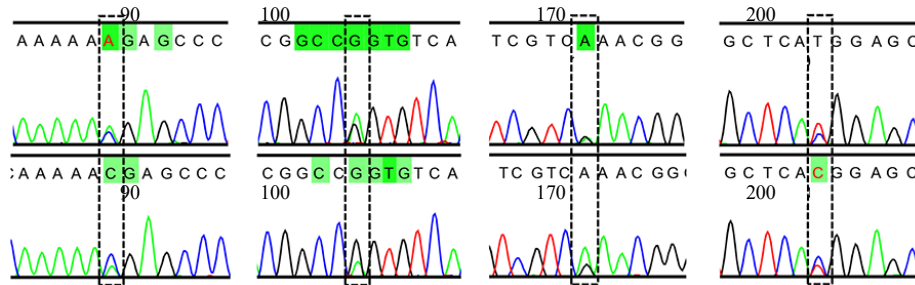


图 1 部分样品的局部测序峰图

Fig. 1 Local sequencing peak of some samples

3.2 木通及其混伪品原植物的 DNA 条形码分析

18 份原植物样品均可成功获得 ITS2 序列。木通、三叶木通、白木通的 ITS2 序列共 8 条, 比对后长度均为 216 bp, 平均 GC 含量为 67.28%, 共有 2 种序列类型 A1 和 A2, A1 为木通, A2 为三叶木通或白木通, 其中第 190 位可以作为木通与三叶木通、白木通的特异性 SNP 鉴定位点, 木通在该位点的碱基为 G, 而三叶木通或白木通在该位点均为 T, 木通可以与三叶木

通、白木通相互区分。白木通作为三叶木通的亚种, 无法与三叶木通清晰区分。小木通、绣球藤的 ITS2 序列各 2 条, 比对后序列长度均为 222 bp, GC 含量为 66.50%~68.30%, 平均 GC 含量为 67.40%; 获得粗齿铁线莲的序列 3 条, 比对后序列长度为 222 bp, GC 含量为 68.90%; 关木通的 ITS2 序列共 3 条, 比对后长度为 274 bp, GC 含量为 71.2%。木通及其混伪品原植物 ITS2 序列的变异位点见图 2。

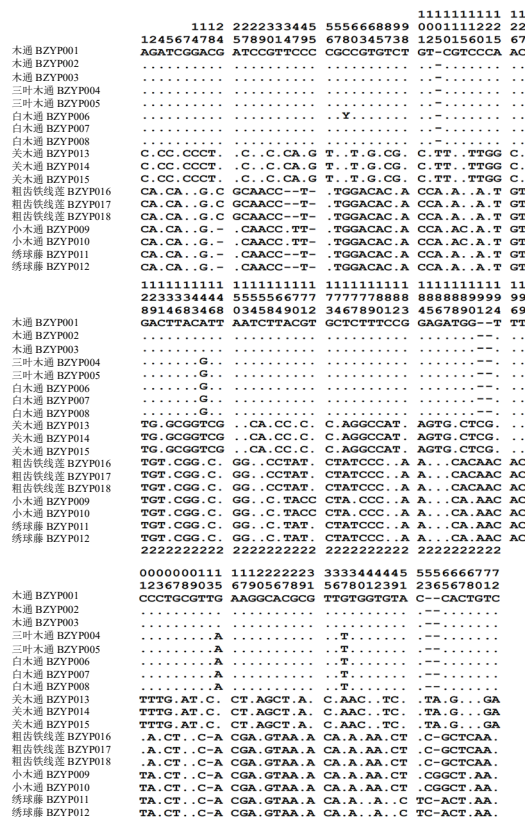


图 2 木通及其混伪品种内种间 ITS2 序列比对

Fig. 2 Intraspecific and interspecific alignment of ITS2 sequences among *Akebiae Caulis* and its adulterants

经系统发育树分析，木通药材的基原植物木通、三叶木通、白木通及其混伪品在邻接系统发育树上分别聚为独立的分支，同为毛茛科的小木通、绣球藤、粗齿铁线莲序列聚为一大支，各物种间可明显区分，关木通单独聚为一支，木通药材正品及其混伪品在 NJ 系统发育树上可明确区分（图 3），表明基于 ITS2 序列构建的 NJ 系统发育树可有效鉴别木通药材基原植物及川木通、粗齿铁线莲、关木通等易混品。

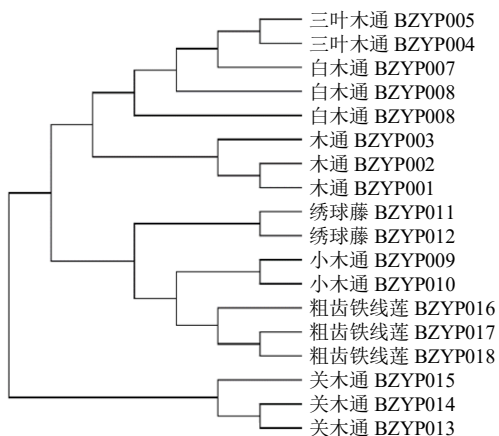


图 3 基于 ITS2 序列构建的木通药材及其混伪品的 NJ 系统发育树

Fig. 3 NJ phylogenetic tree constructed with original plant samples of *Akebiae Caulis* and its adulterants based on ITS2 sequences

3.3 基于 DNA 条形码技术的市售药材物种鉴定

本研究从药材市场、药店和药房共收集 27 份市售木通药材样品，均可成功获得 ITS2 序列，将市售药材与木通及其混伪品原植物获得的 ITS2 序列共同构建 NJ 系统发育树（图 4），以对市售木通药材进行物种分析，结果表明：在 27 份市售木通药材样品中，21 份与粗齿铁线莲的原植物样品聚为一支，占比 77.8%，2 份与小木通的原植物样品聚为一支，占比 7.4%，4 份与木通药材的基原植物聚为一支，正品率为 14.8%；木通药材混伪品存在于市场流通的各个环节，在药材市场、药店和药房均发现木通药材的混伪品存在。

4 讨论

4.1 木通药材品种混乱，DNA 条形码技术可用于市场上木通药材的物种分析

本草文献对木通的记载不明确。《本草纲目》^[23]中记载“有细细孔，两头皆通，故名通草，即今所谓木通也”。谢宗万认为木通科木通属、野木瓜属、八月瓜属，毛茛科铁线莲属、马兜铃科马兜铃属等多种科属植物的藤茎均符合上述特征^[24]。清代《植物名实图考》^[25]中“小木通”项下提到“藤本能利水者，多以木通名之”，而木通与川木通均具有“利尿通淋”的功效。由于木通类药材性状功效相似，

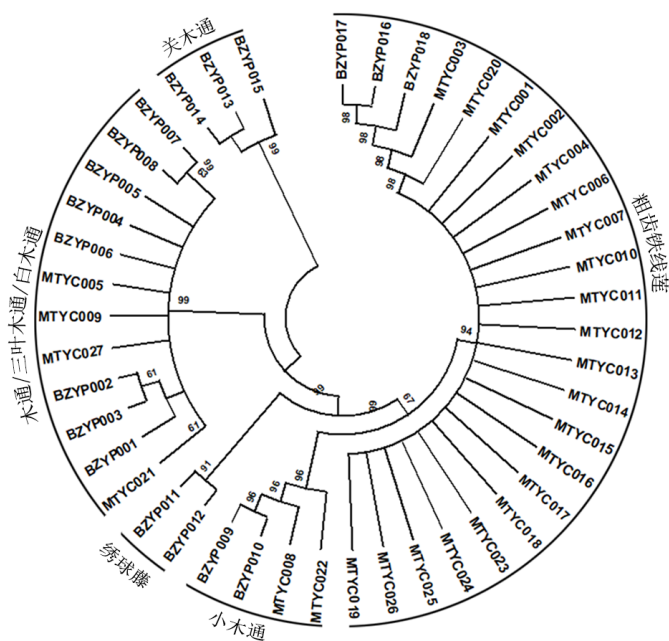


图 4 基于 ITS2 序列构建的市售木通药材 NJ 系统发育树

Fig. 4 Species identification of commercially available *Akebiae Caulis* medicinal materials based on NJ phylogenetic tree constructed using ITS2 sequences

不同地区的用药习惯差异, 市场上的木通药材存在一物多名、同名异物等现象。1996年出版的《全国中草药汇编》记载, 在江苏及四川等地存在将正品木通当作“海风藤”使用的情况^[26]。木通产于安徽大别山、湖南武陵山、河南伏牛山及桐柏山脉、湖南、湖北、江浙等地^[9], 多为自产自销, 野生资源蕴藏量有限, 栽培木通的主要目的是获取其果实, 俗称“八月炸”“八月瓜”“中华肾果”等, 味道甘甜清润, 营养价值高^[27-28], 种植户砍藤获取木通药材的动力不足。此外,《中国药典》中收录的“预知子”为木通的干燥近成熟果实, 市场价格一般为木通药材的1~3倍, 木通果实入药也在一定程度上使得木通藤茎获取受限。木通药材北方药源不足, 而关木通在东北地区产量大, 价格较低, 逐渐推广销售至全国^[2], 在2003年关木通被禁用之后, 市场上存在较广泛川木通代替木通的现象。另外, 根据国锦琳等对川木通商品的调查发现, 市场上存在大量粗齿铁线莲作为川木通商品流通的情况^[29]。川木通的混伪品也出现在木通药材中。

本研究基于 ITS2 序列对收集的 27 份市售木通药材鉴定表明, 仅有 4 份为正品木通, 混伪品包括川木通与粗齿铁线莲, 与其他学者相关的市场调查结果一致^[7,29], 表明基于 ITS2 序列的 DNA 条形码技术可以区分中药材木通、川木通、关木通和粗齿铁线莲, 可用于市场上木通药材的物种分析。但由于 ITS2 序列通常作为物种水平的鉴定条形码, 在本研究中无法实现亚种或变种水平的鉴定, 需要筛选新的辅助条形码或者采用叶绿体全基因组^[30]来实现木通的种内物种鉴定。

4.2 DNA 条形码技术与高通量测序技术相结合可用于中成药中木通成分的物种分析

木通是小儿金丹片、龙胆泻肝丸、排石颗粒等 28 种中成药的处方成分。但历版《中国药典》对“木通类”药材的记载情况存在变化。《中国药典》1963 年版^[31]同时收录了木通、川木通及关木通 3 种木通类药材, 随后在《中国药典》1977 年版^[32]、1985 版^[33]、1990 年版^[34]、1995 年版^[35]、2000 年版^[36]中只收录了关木通和川木通, 由于木通药源短缺, 未被收录其中^[37], 木通逐渐淡出市场^[2]。2002 年, 木通再次被《中国药典》2000 年版增补版收录。1977 版和《中国药典》1985 年版一部的药材及饮片部分虽未收录木通, 但成方制剂和单方制剂部分收录的导赤丸、龙胆泻肝丸的处方成分一直规定为木通。

在《中国药典》1990 年版所收录的导赤丸、龙胆泻肝丸的处方中, 直接以关木通取代木通。1993 年, 比利时出现因使用含中草药的减肥药而导致肾衰竭的事件^[38], 1996 年, 研究者从受害者的肾组织中分离出马兜铃酸-DNA 加合物^[39]。随着研究的深入, 人们逐渐明确了导致此类肾病的罪魁祸首为马兜铃酸, 由于关木通含有马兜铃酸成分, 在 2003 年国家药品监督管理局通知取消关木通药用标准(国药监注[2003]121号)后,《中国药典》2005 年版^[40]及此后各版药典只收录川木通和木通。导赤丸、龙胆泻肝丸等成方制剂的处方成分也将关木通修改为木通。可见由于木通药材的混乱, 导致含木通的成方制剂也存在处方成分混乱的情况。但药典中含木通中成药的处方成分仅存在木通与关木通更替的情况, 并未将川木通与两者混淆。

本研究所收集的样品中发现, 各地药材市场和药店销售的木通药材中, 将川木通及其混伪品当作木通来使用的情况较严重, 木通的流通商品以粗齿铁线莲和小木通为主, 而正品木通却较少。Xin 等^[41]通过对 3 份市售龙胆泻肝丸样品研究发现, 一份样品同时检测到正品三叶木通和混伪品小木通, 其余两份仅检测出小木通, 说明中成药中存在将川木通代替木通使用的现象。本研究以木通及其混伪品原植物参考样品为基础, 表明基于 ITS2 序列的 DNA 条形码技术可准确鉴定木通及其混伪品。但由于中成药成分复杂, 针对单一物种鉴定的 DNA 条形码技术无法满足多组分中成药的鉴定。随着测序技术的发展, 可将高通量测序与 DNA 条形码技术相结合, 即 DNA metabarcoding 技术^[42-43]和 shotgun metagenomics 技术^[41], 用于含木通中成药的成分鉴定, 从而保证中成药的投料准确与临床疗效, 为木通药材及其中成药监管提供技术支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 236.
- [2] 黄和平, 黄璐琦, 王键, 等. 木通基源考证、药用沿革与资源 [J]. 中成药, 2013, 35(11): 2488-2490.
- [3] 任仁安. 商品木通的生药学鉴定 [J]. 药学报, 1954(1): 23-30.
- [4] Lord G M, Tagore R, Cook T, *et al*. Nephropathy caused by Chinese herbs in the UK [J]. *Lancet*, 1999, 354(9177): 481-482.
- [5] Gillerot G, Jadoul M, Arlt V M, *et al*. Aristolochic acid nephropathy in a Chinese patient: Time to abandon the

- term “Chinese herbs nephropathy” ? [J]. *Am J Kidney Dis*, 2001, 38(5): E26.
- [6] 国家药品监督管理局. 关于取消关木通药用标准的通知 [EB/OL]. [2003-4-1]. <http://www.chinalawedu.com/falvfagui/fg22598/28332.shtml>.
- [7] 黄得栋, 晋玲, 林丽, 等. 木通及川木通流通使用情况调查分析 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(3): 1-4.
- [8] 万德光, 国锦琳. 川木通的本草考证及道地性考证 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2696.
- [9] 李丽, 陈绪中, 姚小洪, 等. 三种木通属植物的地理分布与资源调查 [J]. 武汉植物学研究, 2010, 28(4): 497-506.
- [10] 郑立红, 李淑莉. 三种木通的鉴别研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(10): 1410-1411.
- [11] 张怀阳. 木通、关木通、川木通的应用鉴别 [J]. 中医临床研究, 2019, 11(4): 13-15.
- [12] 宁宏. 中药饮片质量监管现状问题的分析 [J]. 继续医学教育, 2017, 31(7): 159-160.
- [13] 郭林新. 三叶木通化学成分及生物活性研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2017.
- [14] 孙萍, 罗国安. LC-MS 鉴定木通、川木通与关木通 [J]. 中药材, 2004, 27(12): 898-901.
- [15] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [16] 陈士林. 中药 DNA 条形码分子鉴定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 6-7.
- [17] Xing B P, Lin H S, Zhang Z L, *et al.* DNA barcoding for identification of fish species in the Taiwan Strait [J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0198109.
- [18] Chen S L, Yao H, Han J P, *et al.* Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8613.
- [19] Schoch C L, Seifert K A, Huhndorf S, *et al.* Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(16): 6241-6246.
- [20] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 236.
- [21] Keller A, Schleicher T, Schultz J, *et al.* 5.8S-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation [J]. *Gene*, 2009, 430(1/2): 50-57.
- [22] Kumar S, Stecher G, Li M, *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Mol Biol Evol*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [23] 明·李时珍. 本草纲目: 校点本 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 1316-1319.
- [24] 谢宗万. 通草与木通品种的本草考证 [J]. 中药通报, 1986, 11(5): 13-15.
- [25] 清·吴其浚. 植物名实图考长编 [M]. 新 1 版. 北京: 中华书局, 1963: 461-462.
- [26] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 (上册) [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 663-664.
- [27] 李祥, 王芸, 郭晓成, 等. 西安市鄠邑区三叶木通果实的化学成分 [J]. 贵州农业科学, 2019, 47(10): 101-104.
- [28] 杨树忠. 八月瓜的营养价值与栽培技术 [J]. 基层农技推广, 2015, 3(8): 24.
- [29] 国锦琳, 万德光, 唐远, 等. 川木通的资源分布与商品初步调查 [J]. 成都中医药大学学报, 2007, 30(1): 44-46.
- [30] Shi L C, Chen H M, Jiang M, *et al.* CPGAVAS2, an integrated plastome sequence annotator and analyzer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W65-W73.
- [31] 中国药典 [S]. 一部. 1963: 26.
- [32] 中国药典 [S]. 一部. 1977: 49.
- [33] 中国药典 [S]. 一部. 1985: 23.
- [34] 中国药典 [S]. 一部. 1990: 169.
- [35] 中国药典 [S]. 一部. 1995: 89.
- [36] 中国药典 [S]. 一部. 2000: 129.
- [37] 张玉珠. 木通与川木通关木通的鉴别与应用 [J]. 实用中医内科杂志, 2009, 23(9): 87-88.
- [38] Vanherweghem J L, Depierreux M, Tielemans C, *et al.* Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: Association with slimming regimen including Chinese herbs [J]. *Lancet*, 1993, 341(8842): 387-391.
- [39] Schmeiser H H, Bieler C A, Wiessler M, *et al.* Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(9): 2025-2028.
- [40] 中国药典 [S]. 一部. 2005: 126.
- [41] Xin T Y, Su C, Lin Y L, *et al.* Precise species detection of traditional Chinese patent medicine by shotgun metagenomic sequencing [J]. *Phytomedicine*, 2018, 47: 40-47.
- [42] Zhang G X, Liu J X, Gao M, *et al.* Tracing the edible and medicinal plant *Pueraria montana* and its products in the marketplace yields sub species level distinction using DNA barcoding and DNA metabarcoding [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 336.
- [43] 石林春, 刘金欣, 魏妙洁, 等. 基于 DNA metabarcoding 技术的如意金黄散处方成分鉴定研究 [J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(4): 490-497.

[责任编辑 时圣明]