

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0132-06

川续断属药用植物 6 种化学成分含量比较及聚类分析

陈大霞^{1,2,3,4}, 谭 均^{1,2,3}, 张 雪^{1,2,3}, 潘 媛^{1,2,3}, 李隆云^{1,2,3*}, 张 泽⁴¹重庆市中药研究院; ²重庆市中药良种选育与评价工程技术研究中心;³中国中医科学院中药资源中心重庆分中心, 重庆 400065; ⁴重庆大学生命科学学院, 重庆 400044

摘要:为评价川续断属 8 种药用植物的药用价值,采用高效液相色谱法测定川续断属 8 种药用植物干燥根中 6 种化学成分的含量,并对 6 种化学成分进行相关性分析、主成分分析及聚类分析。结果表明:6 种成分平均含量由高到低依次为川续断皂苷 VI > 当药苷 > 绿原酸 > 马钱苷 > 胡萝卜苷 > β -谷甾醇;在 8 种川续断属植物中川续断皂苷 VI 的含量变化幅度较大,其次是当药苷、马钱苷,其余的 3 种成分差异不大;显著相关的化学成分为当药苷与马钱苷;极显著相关的有川续断皂苷 VI 与当药苷、胡萝卜苷与 β -谷甾醇、胡萝卜苷与绿原酸及 β -谷甾醇与绿原酸;川续断和多裂续断的主成分分值较高,其次为康定续断和大头续断,其余 4 种较低;基于 6 种化学成分的聚类结果与传统分类相似度并不高。

关键词:川续断属; 化学成分; 含量变化; 聚类分析

中图分类号:R931.6

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.019

Compare and Cluster Analysis of Six Chemical Constituents in *Dipsacus* Medicinal Plants

CHEN Da-xia^{1,2,3,4}, TAN Jun^{1,2,3},
ZHANG Xue^{1,2,3}, PAN Yuan^{1,2,3}, LI Long-yun^{1,2,3*}, ZHANG Ze⁴,¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica; ²Chongqing Engineering Research Center
for Fine Variety Breeding Techniques of Chinese Materia Medica;³Chongqing Sub-center of National Resource, Center for Chinese Materia Medica, China
Academy of Chinese Medical Science, Chongqing 400065, China;⁴College of Life Sciences, Chongqing University, Chongqing 400044, China

Abstract: To evaluate the value of eight *Dipsacus* medicinal plants, we determined 6 chemical constituents in their dry roots by high performance liquid chromatography and carried correlation analysis, principal component analysis and cluster analysis. The results showed that the average content of six medicinal components from high to low were asperosaponin VI, chiratin, chlorogenic acid, loganin, daucosterol, β -sitosterol. The content of asperosaponin VI was changed greatly, followed by chiratin and loganin, but the rest of three components had little difference. Loganin and chiratin were significantly correlated. Asperosaponin VI and sweroside, daucosterol and β -sitosterol, daucosterol and chlorogenic acid, β -sitosterol and chlorogenic acid were extremely significantly correlated. The principal component scores of *D. asperoides* and *D. daliensis var multifidus* were higher, followed by *D. kangdingensis* and *D. chinensis*, the rest of four species were lower. Based on six chemical compositions, the clustering result is not high compared with the traditional classification.

Key words: *Dipsacus*; chemical constituents; changes of chemical constituents; cluster analysis川续断属 (*Dipsacus* Linn.) 为川续断科多年生

收稿日期:2018-05-07 接受日期:2018-05-30
 基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21);重庆市中药材产业技术体系建设项目(2018[5]号);重庆市“科技平台与基地建设”项目(cstc2014ptyjd10001);国家科技部科技人员服务企业行动项目(2009GJF10045);国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI06A11-09)

* 通信作者 Tel:86-23-89029118; E-mail:llongyun8@163.com

草本植物,中国有 20 种 3 变种,其中 9 种 2 变种可作药用。川续断 (*Dipsacus asperoides*) 是《中国药典》收录常用中药材续断的基原植物^[1], 大头续断、康定续断、大理续断等 8 种 2 变种的干燥根在民间作续断用^[2]。续断含有三萜皂苷类、生物碱类及环烯醚萜类等化学成分,《中国药典》从 2000 年版起,将三萜皂苷类化合物川续断皂苷 VI 作为评价续断药材

质量的定量指标,规定川续断皂苷 VI 的含量不得低于 2.0%^[1]。因此,对续断药材质量控制的研究报道多以川续断皂苷 VI 为主,也有研究者采用总皂苷^[3]、常春藤皂苷元^[4]、熊果酸^[5]、大花双参苷 A^[6]、绿原酸^[7]、总生物碱^[8]等其他化学成分评价续断药材质量。目前,我国川续断属药用植物化学成分含量分析的研究对象主要集中于川续断,重点评价不同产地^[3,9,10]、不同炮制方法^[8,11]、不同加工方法^[12,13]的质量差异,对川续断属药用植物其他物种关注较少。本文以我国川续断属植物分布中心——西南地区的 8 种药用植物干燥根为研究对象,采用 HPLC 法测定 6 种化学成分含量,为评价川续断属

种药用植物的药用价值及临床续断安全用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与测定的化学成分

收集分布于重庆、云南、四川、贵州、湖北的 8 种川续断属药用植物,采用 GPS 定位系统记录植物生长的海拔、经纬度,具体信息见表 1。于采收适宜期采挖鲜根,烘干后用于化学成分含量的测定。测定的 6 种化学成分为:三萜皂苷类成分川续断皂苷 VI、甾体皂苷类成分胡萝卜苷、环烯醚萜类成分当药苷和马钱子苷、酚酸类成分绿原酸及甾醇类成分 β -谷甾醇。

表 1 研究所用材料

Table 1 Materials used in the study

材料名称 Materials	拉丁名 Latin names	来源 Source	海拔 Altitude	经度 Longitude E	纬度 Latitude N
大头续断	<i>D. chinensis</i>	云南中甸 Yunnan Zhongdian	3270	099°24'7"	27°31'35"
深紫续断	<i>D. asperoides</i>	重庆南川 Chongqing Nanchuan	2012	107°06'46"	29°01'04"
日本续断	<i>D. japonicus</i>	贵州道真 Guizhou Daozhen	465	107°14'45"	29°02'35"
康定续断	<i>D. kangdingensis</i>	四川康定 Sichuan Kangding	2700	101°34'24"	30°00'58"
峨眉续断	<i>D. asperoides var. omiensis</i>	四川洪雅 Sichuan Hongya	1790	103°09'14"	29°18'18"
川续断	<i>D. asperoides</i>	湖北鹤峰 Hubei Hefeng	1370	110°34'24"	29°49'40"
多裂续断	<i>D. daliensis var. multifidus</i>	云南鲁甸 Yunnan Ludian	2930	099°14'22"	27°05'19"
大理续断	<i>D. daliensis</i>	云南大理 Yunnan Dali	2740	099°35'31"	26°12'11"

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪(岛津 LC-20A),包括自动进样器、柱温箱、DAD 检测器、真空脱气机、LCsolution 工作站及四元泵;数控超声波清洗仪(KQ-250DB)。

1.3 试药与试剂

试药:对照品购于成都曼思特公司,纯度 $\geq 98\%$,批号见表 2。试剂:水(高纯水)、乙腈(色谱纯)及其他试剂(分析纯)。

表 2 对照品相关信息

Table 2 The related information of control

对照品 Control	批号 Lot number	检测方法 Test method	对照品终浓度 Final concentration of control (mg/mL)
川续断皂苷 VI Asperosaponin VI	must-A0464	紫外光 UV	6.28
马钱子苷 Loganin	must-A0317	紫外光 UV	3.05
当药苷 Chiratin	must-A0392	紫外光 UV	3.11
绿原酸 Chlorogenic acid	must-A0022	紫外光 UV	0.2
胡萝卜苷 Dancosterol	must-A0640	蒸发光 UV	0.1
β -谷甾醇 β -Sitosterol	must-A0197	蒸发光 UV	0.1

1.4 色谱条件与系统适用试验

色谱柱:Ultimate XB-C₁₈ 柱(250 × 4.6 mm, 5

μm);用乙腈-0.01%乙酸水为流动相梯度洗脱,洗脱程序见表 3;检测波长川续断皂苷 VI 为 212 nm、

马钱苷为 240 nm、当药苷为 247 nm、绿原酸为 326 nm;柱温 35 °C;流速 1 mL/min;理论板数应不低于 5 000;ALLTEACH2000ES 蒸发光散射检测器使用分流模式,漂移管温度 60 °C,载气流速 2.5 L/min,进样体积为 10 μL。

表 3 梯度洗脱程序

Table 3 The program of gradient elution

时间 Time (min)	乙腈 Acetonitrile (%)	0.01% 乙酸-水 0.01% Acetic acid-water (%)
0~10	5~11.5	95~88.5
10~20	11.5~15	88.5~85
20~25	15~30	85~70
25~35	30~30	70~70
35~50	30~85	70~15

1.5 对照品溶液的制备

精密称取对照品,置量瓶中,加乙腈溶解至刻度,混匀,配成对照品溶液,终浓度见表 2。

1.6 供试品溶液的制备

精密称定川续断属药用植物干燥根细粉 0.5 g,置有塞的锥形瓶中,精密加入 30 mL 甲醇(50%),塞紧,称定重量,超声处理(100 W、40 kHz)30 min,

冷却后,再称定重量,并用甲醇补足减少的重量,混匀,过滤即可。

1.7 测定法

精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入高效液相色谱仪进行测定即可。

2 结果与分析

2.1 化学成分含量测定结果

川续断属 8 种药用植物的 6 种化学成分的含量检测结果见表 4。川续断皂苷 VI 的含量远高于其他 5 种化学成分,6 种成分平均含量由高到低依次为川续断皂苷 VI > 当药苷 > 绿原酸 > 马钱苷 > 胡萝卜苷 > β -谷甾醇。在 8 种川续断属植物中川续断皂苷 VI 的含量变化幅度较大,其次是当药苷、马钱苷,其余的 3 种成分差异不大。川续断皂苷 VI 的含量,以康定续断最高,其次是大理续断、多裂续断、川续断、大头续断,均达到《中国药典》规定的含量指标,而深紫续断、日本续断与峨眉续断差异不大,均较低,未达到《中国药典》要求。从当药苷含量的高低排序看,康定续断最高,其次为川续断、多裂续断、大理续断、大头续断,较低的还是峨眉续断、日本续断和深紫续断。

表 4 川续断属 8 种药用植物主要化学成分的含量

Table 4 The main chemical composition content of eight *Dipsacus* medicinal plant

材料名称 Materials	川续断皂苷 Asperosaponin (VI%)	胡萝卜苷 Daucosterol (%)	当药苷 Chiratin (%)	马钱苷 Loganin (%)	β -谷甾醇 Cupreol (%)	绿原酸 Chlorogenid acid (%)
康定续断 <i>D. kangdingensis</i>	4.4407	0.0283	1.0325	0.1044	0.0064	0.2013
大理续断 <i>D. daliensis</i>	3.9740	0.0241	0.7582	0.0330	0.0068	0.2134
多裂续断 <i>D. daliensis var. multifidus</i>	3.3288	0.0286	0.8028	0.1469	0.0069	0.2163
川续断 <i>D. asperoides</i>	2.2968	0.0338	0.8435	0.1923	0.0081	0.2560
大头续断 <i>D. chinensis</i>	2.3164	0.0320	0.5053	0.1193	0.0071	0.2231
深紫续断 <i>D. asperoides</i>	0.5744	0.0380	0.1093	0.0059	0.0087	0.2783
日本续断 <i>D. japonicus</i>	0.4817	0.0308	0.1648	0.0088	0.0071	0.2250
峨眉续断 <i>D. asperoides var. omiensis</i>	0.4613	0.0262	0.2871	0.0358	0.0060	0.1863
平均 Average	2.1718	0.0302	0.5629	0.0808	0.0071	0.2250

2.2 相关性分析

采用 SPSS 软件对川续断属药用植物所测 6 种化学成分进行相关性分析,结果见表 5。15 对化学成分组合中,大部分不相关,仅 5 对化学成分呈现极显著相关($P < 0.01$)或显著相关($P < 0.05$),且均为正相关。极显著相关的有川续断皂苷 VI 与当药

苷、胡萝卜苷与 β -谷甾醇、胡萝卜苷与绿原酸及 β -谷甾醇与绿原酸。显著相关的化学成分为当药苷与马钱苷。

2.3 主成分分析

主成分分析可以用尽可能少的因子来解释观测到的变量,其依据是主成分的特征根及贡献率。表

表 5 川续断属 8 种药用植物种的化学成分含量的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of chemical composition among eight *Dipsacus* medicinal plant

	马钱苷 Logamin	当药苷 Chiratin	川续断皂苷 VI Asperosaponin VI	β -谷甾醇 Cupreol	胡萝卜苷 Daucosterol	绿原酸 Chlorogenic acid
马钱苷 Logamin	1.000	0.721 *	0.541	0.060	0.076	0.038
当药苷 Chiratin	0.721 *	1.000	0.938 **	-0.272	-0.395	-0.283
川续断皂苷 VI Asperosaponin VI	0.541	0.938 **	1.000	-0.292	-0.421	-0.297
β -谷甾醇 β -Sitosterol	0.060	-0.272	-0.292	1.000	0.883 **	0.999 **
胡萝卜苷 Daucosterol	0.076	-0.395	-0.421	0.883 **	1.000	0.887 **
绿原酸 Chlorogenic acid	0.038	-0.283	-0.297	0.999 **	0.887 **	1.000

6 显示了主成分分析初始解对原有变量总体描述结果, 特征根大于 1 的前 2 个主成分累计方差贡献率

达 90.134% > 85%, 可代替原来的 6 个变量, 即 1 个 2 因子模型解释了试验数据 90.134% 的信息。

表 6 初始解对原有变量的总体描述

Table 6 General description of the original variables by the initial solution

主成分 Component	初始特征值 Initial eigenvalues		
	总值 Total	方差 Variance (%)	累计贡献率 Cumulative contribution rate(%)
1	3.385	56.421	56.421
2	2.023	33.713	90.134
3	0.468	7.793	97.927
4	0.098	1.629	99.556
5	0.027	0.443	99.999
6	0.000	0.001	100.000

表 7 主成分分析中的特征向量

Table 7 The feature vector in principal component analysis

主成分 1 Component 1	主成分 2 Component 2	分量来源 Contributor component source	分量编号 No. of component
0.482	0.258	胡萝卜苷 Daucosterol	X_1
0.467	0.329	绿原酸 Chlorogenic acid	X_2
0.463	0.338	β -谷甾醇 β -Sitosterol	X_3
-0.395	0.391	川续断皂苷 VI Asperosaponin VI	X_4
-0.390	0.477	当药苷 Chiratin	X_5
-0.164	0.574	马钱苷 Loganin	X_6

由表 7 可知, 在第 1 主成分特征向量中, 载荷量较高的成分包括 X_1 , X_2 , X_3 , 说明第一主成分是由这 3 种化学成分组成的 1 个综合指标, 即胡萝卜苷、绿原酸和 β -谷甾醇的含量对综合质量评价起到了最主要的作用, 重点反映川续断属药用植物的甾体皂

苷类、酚酸类及甾醇类化合物的含量; 在第 2 主成分特征向量中, 载荷量较高的成分包括 X_6 , X_5 , X_4 (马钱苷、当药苷和川续断皂苷 VI), 这 3 个指标重点反映川续断属药用植物的环烯醚萜类和三萜皂苷类化合物的含量。

据特征向量,得到主成分的函数表达式: $F_1 = 0.482ZX_1 + 0.467ZX_2 + \dots - 0.164ZX_6$; $F_2 = 0.258ZX_1 + 0.329ZX_2 + \dots + 0.574ZX_6$ (ZX_i 是原始变量 X_i 的标准化值)。

综合主成分分值越高,综合性状表现越好。从表7可以看到,川续断和多裂续断的主成分分值较高,其次为康定续断和大头续断,其余4种较低。

表8 主成分值及综合分值

Table 8 The component score and comprehensive score

物种 Species	F_1	F_2	F	综合排序 Comprehensive ranking
川续断 <i>D. asperoides</i>	2.246	1.556	1.988	1
多裂续断 <i>D. asperoides var multifidus</i>	-0.351	1.197	1.339	2
康定续断 <i>D. kangdingensis</i>	-1.263	1.484	0.282	3
大头续断 <i>D. chinensis</i>	0.312	0.233	0.228	4
深紫续断 <i>D. asperoides</i>	3.042	-1.509	-0.236	5
大理续断 <i>D. daliensis</i>	-1.538	0.387	-0.764	6
日本续断 <i>D. japonicus</i>	-0.169	-1.760	-0.818	7
峨眉续断 <i>D. asperoides var omiensis</i>	-2.278	-1.588	-2.020	8

2.4 基于化学成分的聚类分析

采用DPS数据处理系统,系统聚类参数设置为数据标准化处理,欧氏距离计算遗传距离、类平均法(UPGMA)聚类。基于6种化学成分的聚类图见图1,从图中可以看出,聚类结果与传统分类相似度并不高,在域值2.25处可将川续断属8种药用植物分为四类,其中深紫续断独为第I类,峨眉续断和日本续断聚为第II类,川续断独为第III类,多裂续断与康定续断先聚为一小类,随后与大理续断聚在一起,再与大头续断聚为第IV类。

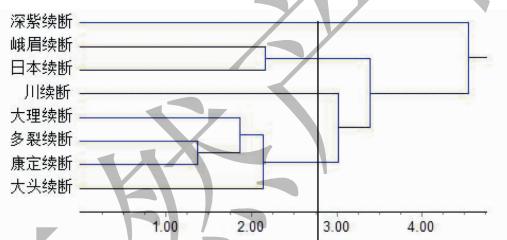


图1 基于6化学成分的川续断属药用植物聚类图

Fig. 1 Dendrogram of *Dipsacus* medicinal plant based on six chemical composition

3 讨论

本文测定的6种化学成分中,川续断皂苷VI又名木通皂苷D,在神经保护、心肌保护、预防骨质疏松、抗细胞凋亡、镇痛等方面药理作用广泛^[14]。续断在《神农本草经》中被列为上品,常用于腰膝酸软、跌打损伤、骨折等症,川续断皂苷VI是续断发挥

“续折接骨”功效的关键活性成分。从本文6种化学成分的含量测定结果看,川续断皂苷VI的含量明显高于其他5种成分,《中国药典》将其列为含量测定项下的有效成分是有其科学依据的。

作为续断药材基原植物的川续断,其干燥根中川续断皂苷VI含量低于康定续断、大理续断、多裂续断,但从主成分分析的结果看,川续断的主成分分值较高,综合质量评价较好。由此不难看出,单一指标成分评价药材质量存在一定的局限性,不少研究者提出了多指标评价药材质量的思路,在续断药材质量控制研究中已有报道,如董玉琼采用“有限成分组合质量标准”的思路,制订以总皂苷和川续断皂苷VI含量为指标的川续断质量标准草案^[15];朱净民采用多成分多指标的方法,以3种化学成分含量(马钱苷、当药苷、川续断皂苷VI)综合评价续断药材的质量^[16];本文亦证实通过多成分对续断质量进行综合评价是可行的。如果仅以川续断皂苷VI作为单一指标评价续断药材质量的标准,康定续断、大理续断、多裂续断和大头续断均达到《中国药典》规定的含量指标,可作为川续断的替代资源;如果从6种化学成分主成分分析的综合得分看,则多裂续断、康定续断、大头续断可作为替代资源。无论以川续断皂苷VI作为单一指标还是主成分分析的综合得分,深紫续断、峨眉续断与日本续断排名均靠后,且三者的川续断皂苷VI含量明显低于《中国药典》规定的含量指标,不适合作为续断的替代资源。从本文供试的8种川续断属药用植物的自然分布特点

看,川续断分布区域最为广泛,其余7个种多与川续断伴生,因此,在采挖野生川续断时,应进行仔细甄别,防止混入有效成分含量低的伴生种。

中国川续断属植物划分的化学证据已有文献报道^[17],主要根据化学成分的有无及含量高低进行物种分类,如日本续断区别于其他种在于不含川续断皂VI和绿原酸,但本文日本续断干燥根中的川续断皂苷VI含量虽然低,但能检测到,绿原酸含量与其余7个种差异并不大。刘京晶^[17]认为川续断与大头续断在分类型上相似,但比例上有差异,可作为分类依据,本文研究结果支持这一观点。以上研究为将化学成分作为川续断属植物分类的依据积累了一定的基础,但由于供试材料种类、来源的不同,结果存在一定的差异。本文供试材料扩大到8个种,其中康定续断、深紫续断均采集于模式地点,除了比较6种化学成分的含量差异外,还采用聚类分析方法进行更直观的亲缘关系的划分,基于6种化学成分聚类结果与传统的形态聚类相似度并不高,如传统分类将川续断与其变种峨眉续断聚为一小类,但本文的化学成分聚类及分子聚类^[18]均不予支持。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Phamacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010, 309.
- 2 Chen HB(陈虎彪), Ai TM(艾铁民). Medicinal plant resources of Dipsacaceae in China[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 1997, 22:650-651.
- 3 Liu Y(刘永), Wei YF(卫莹芳), Yan J(闫婕), et al. Determination of total saponins in *Dipsacus asperoides* from different habitats[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2009, 20:2767-2768.
- 4 Li JZ(李敬芝), Zhang CF(张春凤), Yang ZL(杨中林). Determination of hederagenin in *Dipsacus asperoides* by HPLC method[J]. Acta Chin Med Pharm(中医药学报), 2011, 39(6):62-64.
- 5 Jin XP(金小平), Liu JY(刘静幽), Ma D(马丹), et al. Content determination of ursolic acid in *Dipsacus asperoides* [J]. Herald Med(医药导报), 2010, 29:1481-1483.
- 6 Zhang JF(张吉发), Xiao F(肖峰), Luo H(罗鸿), et al. Determination of triplastoside A in teasel by RP-HPLC[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2014, 25: 539-540.
- 7 Zhang D(张丹), Tao YD(陶燕铎), Cao WG(曹纬国), et al. Determination total phenolic acid and chlorogenic acid of *Dipsacus asperoides* in Chongqing[J]. Chin Hosp Pharm J(中国医院药学杂志), 2011, 31:1463-1465.
- 8 Zhang D(张丹), Cao WG(曹纬国), Tao YD(陶燕铎), et al. Influence of different processing method on content of total alkaloids in *Dipsacus asperoides*[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2011, 22:2242-2244.
- 9 Yang ZL(杨中林), He ZJ(何执静). Comparison of akebia saponin D contents in Radix Dipsaci from different area[J]. Chin Med Matl(中药材), 2000, 23(2):68-69.
- 10 Wei YF(卫莹芳), Liu Y(刘永), Xie DW(谢达温), et al. Comparison of quality of *Dipsacus asperoides* from various habitats[J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2010, 25:173-174.
- 11 Fan YJ(樊媛洁), Zhai YS(翟永松), Wang MY(王满元). Effects of different processing methods on contents of asperosaponin VI and saperosaponin X in Radix Dipsaci[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(17):22-24.
- 12 Wang C(王初). Comparison of water-soluble extracts and akebia saponin D[J]. Chin Tradit Herba Drug(中草药), 2007, 38:865-866.
- 13 Tan BS(谭伯森), Li HQ(李惠琴), Huang FT(黄凤婷). The study on the effect of different sterilization to the content of asperosaponin VI on Chinese teasel root[J]. Moden Hospital Apr(现代医院), 2012, 12(4):72-73.
- 14 Li GR(李广润), Gong LL(宫丽丽), Lyu YL(吕亚丽), et al. Research progress on pharmacological action of asperosaponin VI[J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2014, 33:477-480.
- 15 Dong YQ(董玉琼). Evaluation of the germplasm resources and research of the quality standard in *Dipsacus asperoides* [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), 2007.
- 16 Zhu JM(朱净民). Study on the chemical composition and quality standard of *Dipsacus asperoides* [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), 2011.
- 17 Liu JJ(刘京晶). Pharmacognostic study of dipsaci radix [D]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College(北京协和医学院中国医学科学院), 2011.
- 18 Chen DX(陈大霞), Zhang X(张雪), Wang Y(王钰), et al. Analysis on genetic diversity and genetic relationship of medicinal species in *Dipsacus* from China by SRAP[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015, 40:2559-2564.