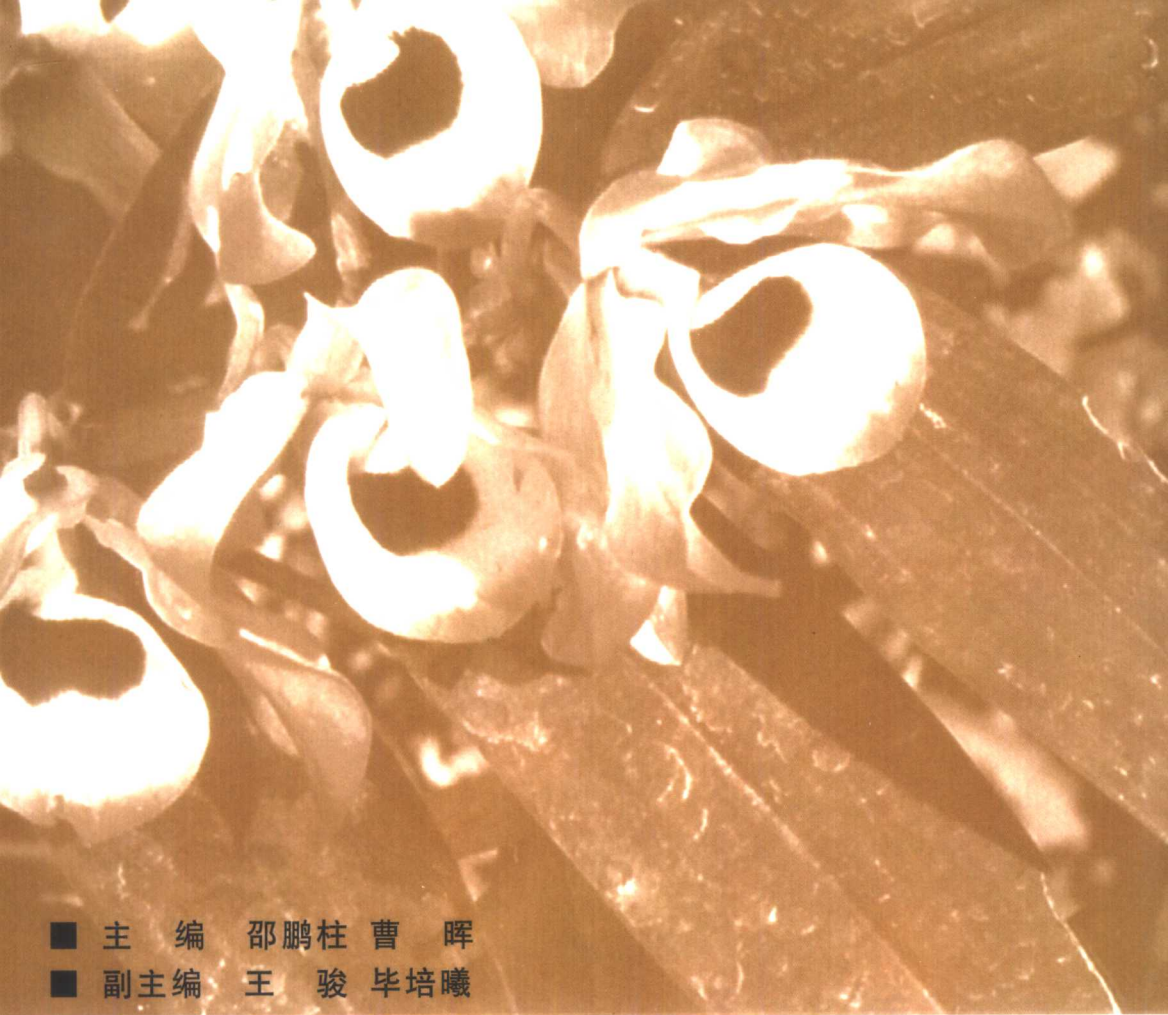




■ 主 编 邵鹏柱 曹 晖
■ 副主编 王 骏 毕培曦

中药分子鉴定

GCATTTTGT TGCTCCGTGT CTCGTCACCC ATCAATGGAT GTGCTGGCGA
GCA TTTGT C TCCGTGT CTCTCCG ATCGA CGAT GTTTAGCCA
GGCTCGGAT GTGCACGGTG GCCCGTCGTG CCCCTCGGTG CGGCGGGCTT
GGTGGGAT GTGCATGGAG GCCCGTCGTG CGCCTTCGTG CGGCGGGCTG
GAGCGGGT CGCCATCTCG TTGGTTGCGA ACAATAAGGG GTGGATTAAA
ATAGCGGGT TATCTTGTCG TTCGTTCCCA CCAATAAAGG GTGGACTAAA

 复旦大学出版社

中药分子鉴定

主 编 邵鹏柱 曹 晖

副主编 王 骏 毕培曦

复旦大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

中药分子鉴定/邵鹏柱,曹晖主编. —上海:复旦大学出版社,
2004.8

ISBN 7-309-04062-7

I. 中… II. ①邵…②曹… III. 中药鉴定学 IV. R28

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 054834 号

中药分子鉴定

邵鹏柱 曹 晖 主编

出版发行 复旦大学出版社

上海市国权路 579 号 邮编 200433

86-21-65118853(发行部) 86-21-65109143(邮购)

fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>

责任编辑 傅淑娟

装帧设计 马晓霞

总 编 辑 高若海

出 品 人 贺圣遂

印 刷 上海华业装潢印刷厂

开 本 787 × 960 1/16

印 张 22

字 数 305 千

版 次 2004 年 8 月第一版第一次印刷

印 数 1—3 100

书 号 ISBN 7-309-04062-7/R · 852

定 价 44.00 元

如有印装质量问题, 请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

内 容 提 要

中药用于疾病防治已有数千年的历史。最近的科学研究证明了许多中药的药理和临床应用价值。遗憾的是由于中药现代品质监控技术的不足,导致其声誉下降,并限制了中药的应用范围。无论是在药材市场或文献报道中,常常发现中药存在同名异物或同物异名现象。为了建立起中医药应用的健全体系,有必要加强对中药材原料和产品的品质监控。

《中药分子鉴定》着重介绍常用的 10 余种基本分子生物学分析手段及其在中药分子鉴定中的应用。内容包括 3 大部分共 14 章。第一部分综述了中药分子鉴定的现状,简要介绍了其应用范围,列出了分子技术的常规方法实验步骤及其操作注意事项、常用的仪器设备与试剂。第二部分详细描述了应用分子标记方法鉴定中药的原理与操作步骤。第三部分介绍了中药分子鉴定的应用前景,评价了各种分子技术在中药鉴定领域的优势和局限性,并探讨了这些技术的发展趋势和未来可能的应用范围及价值。书后有 2 个附录《中药分子鉴定的生物信息学知识》和《部分中药分子鉴定论文题录》,后者系编者整理、收集国内外的有关原始文献资料综合而成,截至 2004 年 5 月底,希望它能够为用户提供参考。

本书对中药鉴定学、生药学、中药资源学等方面的科研、教学以及中药材产供销、经营管理、药品检定等有关工作人员都有一定的参考价值。

作者名录

(按姓氏笔画排列)

- | | |
|-------|--|
| 小松かつ子 | 国立富山医科药科大学和汉药研究所药效解析中心
(日本富山) |
| 水上元 | 名古屋市立大学药学部(日本爱知) |
| 王 骏 | 香港中文大学生物化学系及中医中药研究所(中国
香港特别行政区) |
| 王义权 | 厦门大学生物系(中国福建厦门)/南京师范大学遗
传资源研究所(中国江苏南京) |
| 刘大卫 | 香港中文大学生物系(中国香港特别行政区) |
| 毕培曦 | 香港中文大学生物系及中医中药研究所(中国香港
特别行政区) |
| 张艳波 | 香港中文大学生物化学系(中国香港特别行政区) |
| 邵鹏柱 | 香港中文大学生物化学系及中医中药研究所(中国
香港特别行政区) |
| 周开亚 | 南京师范大学遗传资源研究所(中国江苏南京) |
| 郑可大 | 台北医学大学生物化学系(中国台湾台北) |
| 夏惠茵 | 香港中文大学生物化学系(中国香港特别行政区) |
| 郭宝林 | 中国医学科学院药用植物研究所(中国北京) |
| 曹 晖 | 国家中药现代化工程技术研究中心(中国广东珠
海)/中国中医研究院中药研究所(中国北京) |
| 黄家乐 | 香港中文大学中医中药研究所(中国香港特别行政区) |
| 游仲辉 | 香港中文大学中医中药研究所(中国香港特别行政区) |
| 颜辉娥 | 香港中文大学中医中药研究所(中国香港特别行政区) |

前 言

中药用于疾病防治已有数千年的历史。最近的科学研究证明了许多中药的药理和临床应用价值。遗憾的是由于中药现代品质监控技术不足,导致其声誉下降,并限制了中药的应用范围。无论是药材市场或是文献报道,常常发现中药存在同名异物或同物异名现象。对中药正确鉴定的挑战是中药的混淆代用和故意伪制,有些情况甚至导致中毒。为了建立起中医药应用的健全体系,有必要加强对中药材原料和产品的品质监控。为此,许多国家已经开始实施对中药(尤其是进口中药)的品质标准规范管理。正因为大多数中药来源于动植物,因此基于 DNA 分析技术的分子鉴定方法可成为中药四大鉴定方法(基原鉴定、性状鉴定、显微鉴定、理化鉴定)的重要补充。相对于表型标记鉴定方法,分子标记鉴定技术具有更加准确、可靠的特点。由于基因组中 DNA 序列的排列多样性,细胞核、叶绿体以及线粒体 DNA 常常能够提供鉴定一个物种丰富的分子标记信息。

《中药分子鉴定》是在新加坡 World Scientific Publishing Co. Ltd. (世界科技出版公司)2002 年 8 月出版的 *Authentication of Chinese Medicinal Materials by DNA Technology* 基础上编著完成的。该英文版由香港中文大学生物化学系邵鹏柱教授倡议,由邵鹏柱教授、王骏教授和毕培曦教授 3 人主编,并联合国内外 10 位学者完成之。作为介绍分子标记技术在中药鉴定方面应用的第一部国际性出版物,英文版汇聚了当时中日两国包括港台地区该领域专家们的开拓性研究成果。全书 12 章着重介绍中药分子鉴定常用的十余种分子生物学的基本分析手段。

由于种种原因,英文版从 1997 年策划到 2002 年正式出版,历时较长。考虑到近 3 年多来中药分子鉴定研究的快速发展,在这次组织编著《中药分子鉴定》时一方面将内容扩增到 14 章,即新增

第三章“中药分子鉴定的 DNA 提取方法”和第十三章“生物芯片技术在中药石斛鉴定中的应用”。另一方面,请作者补充了最新的研究成果,并大幅补充、增加第一章和第十四章的内容。书后并增加了 2 个附录“中药分子鉴定的生物信息学知识”和“部分中药分子鉴定论文题录”,罗列了我们从事中药分子鉴定研究以来,陆续收集的国内外有关资料和原始文献(截至 2004 年 5 月底)。

曹晖和邵鹏柱(第一章)综述了中药分子鉴定的现状,简要介绍了其应用范围。颜辉娥和游仲辉(第二章)列出了分子技术的常规方法实验步骤及其操作注意事项、常用的仪器设备与试剂。郭宝林和曹晖(第三章)介绍了中药分子鉴定的前处理关键技术“中药材 DNA 提取方法”。

第四~七章描述了各种基于聚合酶链反应(PCR)技术开发的 DNA 指纹分析方法在鉴定各种生物个体基因型差异中的应用,这些指纹分析技术并不需要预先了解生物个体 DNA 序列信息的背景资料。曹晖等(第四章)应用两种相似的 DNA 指纹技术:随机扩增的多态性 DNA(RAPD)和随机引物聚合酶链反应(AP-PCR)鉴定地胆草类和人参类药材及其混淆品。郑可大(第五章)应用 RAPD 技术对含 3 味中药材(黄芪、防风、白术)组成的“玉屏风散”组分成功进行了 DNA 分子鉴定。王骏等(第六章)通过基于 RAPD 指纹技术的序列特异扩增区(SCAR)方法鉴定了人参与西洋参及其伪品,这一方法可以克服基于随机扩增 PCR 技术的非特异性缺点。夏惠茵等(第七章)采用直接扩增长度多态性(DALP)方法鉴定了人参与西洋参,这一方法的独特性在于根据 M13 测序引物的 5' 末端设计出特异引物,使得 DALP 指纹中的特异扩增条带能够很快被测序,并用于 PCR 引物设计。

夏惠茵等(第八章)采用一种高度稳定而有效的扩增限制性片段长度多态性(AFLP)指纹技术鉴定了人参与西洋参。该技术结合了 PCR 的高效性与普通限制性片段长度多态性(RFLP)的可靠性两者优点。AFLP 引物 3' 末端含有一个可变核苷酸,它选择性扩增限制性片段不同区域。同时,他们还探讨了另一种直接扩增微卫星区 DNA 多态性(DAMD)方法用于鉴定人参与西洋参。

第九~十二章主要涉及应用特异引物对中药进行 DNA 测序鉴定。王义权和周开亚(第九章)利用线粒体 *cyt b* 基因和 12S rRNA 基因序列分析方法鉴定了蛇类、龟板、鳖甲、海马、蛤蚧、鹿茸、哈蟆油等动物药材。刘大卫等(第十章)应用 rDNA 基因 ITS2 区域序列分析技术鉴定石斛类中药及其伪品,并探讨了其在商品石斛类干品药材鉴定的应用价值。水上元(第十一章)运用 5S rRNA 基因间隔区和 *trnK* 基因序列分析方法鉴定了日本“大和当归”和术类药材,并利用 PCR-RFLP 手段快速鉴定了白术与苍术基原。小松かつ子(第十二章)采用 18S rRNA 基因和 *matK* 基因序列分析方法鉴定了川芎类和人参类药材,利用 PCR-RFLP 和扩增变异分辨系统(ARMS)手段进行了人参类生药的快速鉴定。张艳波等(第十三章)采用生物芯片技术鉴定了石斛类药材和复方中的石斛品种。

邵鹏柱和曹晖(第十四章)全面评价了各种分子技术在中药鉴定领域的优势和局限性,并探讨了这些技术的发展趋势和未来可能的应用范围及价值。

中药分子鉴定的研究依赖先进的实验方法,而最好的方法又来源于反复的修改与验证。本书的一个特点和优势是书中介绍的诸多技术实验方法均经具有实践经验的中外学者反复使用和验证,因此结果可靠并且重复性好。其中一些方法更是由作者或其实验室所创造或改进的,尤为本书添色不少。

我们希望《中药分子鉴定》通俗易懂且适合一般读者的需要,对国内外从事中药分子鉴定研究和在校学习的读者应用中药分子鉴定技术亦有所裨益。然而,由于各位作者背景的差异,所述的仪器设备和实验方案可能有特定用途;另外,所述方法可能与其他方法重复。但是各作者在每章都列出了原始参考文献,这样不会影响每个独立方法的有效性。

为了适应非分子生物学背景的读者应用分子标记方法鉴定中药,我们的作者在每项 DNA 技术章节中详细描述了该项技术的原理与操作步骤。同时,我们希望本书所介绍的分子技术能够在中药鉴定应用中具有推广价值,并将能够促进这一充满前景领域

的研究进展。

此外,需要指出的是,许多分子生物学实验室出于方便,常常使用商品试剂盒。本书介绍的众多商品试剂盒及其使用方案仅仅反映了作者的个人喜好,读者可以根据自己的方便、需要找到替代产品。本书没有得到书中列出的任何公司的任何资助,也无意为任何商品做广告。

本书是香港中文大学与国家中药现代化工程技术研究中心“CUHK-NERC 中药标准化及研发联合实验室”合作项目的一个部分。我们要特别感谢各章节的作者们,为本书提供了他们在中药分子鉴定方面的第一手宝贵资料。其次,要感谢香港中文大学中医中药研究所梁秉中教授的热情鼓励与支持,感谢为本书出版付出辛勤劳动的国家中药现代化工程技术研究中心苏勉诚博士、张林海女士和梁洁川小姐,感谢香港中文大学理学院为庆祝香港中文大学成立 40 周年而资助本书的出版。最后,我们感谢新加坡世界科技出版公司及上海复旦大学出版社在本书的出版中给予的协助。

因时间紧迫,本书疏忽与错漏在所难免。非常欢迎同行专家和读者对中药分子鉴定技术提出新方法以及对本书的意见和批评,你们的努力对本书再版时质量的提高至关重要。

邵鹏柱 曹 晖 王 骏 毕培曦

2004 年 5 月

目 录

第一章 中药分子鉴定概况	1
第一节 引言	1
第二节 基于分子杂交的 DNA 方法	6
第三节 基于 PCR 的 DNA 指纹方法	8
第四节 DNA 测序方法	13
第五节 基因探针和特异 PCR 鉴定技术	19
第六节 应用前景	21
第七节 小结	23
第二章 分子技术的一般方法与仪器	33
第一节 概述	33
第二节 DNA 提取方法	34
第三节 电泳方法	38
第四节 PCR 产物试剂盒纯化方法	41
第五节 DNA 修饰方法	42
第六节 克隆方法	43
第七节 质粒 DNA 的热循环测序方法	45
第八节 相似度指数分析	46
第三章 中药分子鉴定的 DNA 提取方法	49
第一节 引言	49
第二节 DNA 提取技术	50
第三节 DNA 提取的常见问题及解决方案	57
第四节 DNA 提取实例	64

第四章 随机引物聚合酶链反应技术在中药鉴定中的	
应用	73
第一节 引言.....	73
第二节 材料和方法.....	81
第三节 结果.....	84
第四节 结论.....	90
第五章 复方中药组分的 DNA 鉴别	95
第一节 引言.....	95
第二节 材料和方法.....	99
第三节 结果.....	100
第四节 讨论.....	101
第五节 RAPD 应用前景.....	102
第六节 发展方向.....	103
第六章 序列特异扩增区技术在中药鉴定中的应用	109
第一节 引言.....	109
第二节 材料与方法.....	110
第三节 结果.....	113
第四节 讨论.....	116
第五节 SCAR 技术前景和结论	116
第七章 直接扩增长度多态性技术在人参与西洋参鉴定中的	
应用	119
第一节 引言.....	119
第二节 材料和方法.....	121
第三节 结果.....	124
第四节 讨论.....	125
第五节 DALP 的应用前景.....	126

第八章 扩增片段长度多态性技术在人参与西洋参鉴定中的应用	129
第一节 引言	129
第二节 材料与方法	131
第三节 结果	134
第四节 讨论	139
第五节 AFLP 技术展望	140
第九章 DNA 分子标记技术在动物类中药鉴定中的应用 ...	143
第一节 引言	143
第二节 材料与方法	148
第三节 结果	155
第四节 讨论	174
第十章 核糖体 DNA 内转录间隔区序列标记技术在药用石 斛类药材鉴定中的应用	181
第一节 引言	181
第二节 材料和方法	182
第三节 结果	185
第四节 讨论	187
第十一章 5S rRNA 与 <i>trnK</i> 基因测序技术在中药鉴定中的 应用	193
第一节 引言	193
第二节 5S rRNA 非转录间隔区基因鉴定生药 “当归”	194
第三节 <i>trnK</i> 基因鉴定生药“苍术”和“白术”	198
第四节 结论	206

第十二章 18S rRNA 与 <i>matK</i> 基因测序技术在中药鉴定中	
的应用	211
第一节 引言.....	211
第二节 材料与方法.....	215
第三节 结果.....	218
第四节 讨论.....	223
第十三章 生物芯片技术在中药石斛鉴定中的应用	229
第一节 引言.....	229
第二节 材料和方法.....	233
第三节 结果和讨论.....	237
第十四章 DNA 技术在中药鉴定应用中的展望	249
第一节 应用分子鉴定的结论.....	249
第二节 获取稳定的分子数据方法.....	250
第三节 分子鉴定新方法.....	251
第四节 分子鉴定的应用前景.....	255
第五节 分子标记在其他领域的应用.....	256
附录 I 中药分子鉴定的生物信息学知识	259
附录 II 部分中药分子鉴定论文题录	263
中文药名索引	297
分子技术词汇索引	313
动植物拉丁学名、药材英文名索引	317

第一章 中药分子鉴定概况

曹 晖 邵鹏柱

第一节 引言

中医药在中国应用已有数千年的历史。由于中药作用的多靶点特征,中医药被认为特别适宜治疗心血管病、哮喘以及其他慢性病等现代疾病,此外,从中药里开发的各种保健品正符合人类“回归自然”的历史潮流。根据目前的一份调查统计,中国发现具有药用价值的动植物和矿物超过10 000种,其中大约 10%是中医常用的药物。中药的偶然混淆使用或故意掺伪、制伪常常干扰中医的治疗效果,甚至导致危及生命的中毒事故。在 1989 年,两名香港人在服用含龙胆草(*Gentiana rigescens*)的药汤发生严重的脑神经损害。经过化验,该龙胆草系错用了毒性中药鬼臼(桃耳七, *Podophyllum hexandrum*)。此后香港还发生了误用鬼臼为威灵仙类(*Clematis*)的 14 例神经中毒事件(But 等,1996)以及误使有毒的抗胆碱药物洋金花(*Datura metel*)代用凌霄花(*Campsis grandiflora*)的 4 例中毒事故(But,1994)。在比利时曾报道因汉防己(*Stephania tetradra*)被误用广防己(*Aristolochia fangchi*)而导致许多肾脏中毒事故(Vanherweghem 等,1993; Vanhaelen 等,1994)。

1

一、中药鉴定的一般方法

中药中毒的一个重要原因是中药品质检测系统的缺失。传统的鉴定方法主要依靠外观性状特征,形态学鉴定主要是形、色、气、味、质地等性状检测,该方法简便、直接,缺点是主观性强,其准确性完全取决于检测者的经验判断,且难以鉴定加工炮制后的碎片或粉末药材。现在则从生物分类学(基原鉴定)、组织学(显微鉴定)、化学

(理化鉴定)角度建立比较客观的中药鉴定标准。同时,随着科学技术的发展,细胞学(染色体分析)、酶学(同工酶分析)、生化学(蛋白质分析及效价评价)、血清学(免疫测定)等生物技术亦逐渐应用到中药鉴定中来。表 1-1 列出了不同中药鉴定方法的比较。

表 1-1 各种鉴定方法的技术要求与成本比较

鉴定方法	技能水平	成本
性状检测	+++	+
蛋白质分析	+++	+++
薄层色谱(TLC)	++	++
HPLC/CE/MS	+++++	+++++
DNA 分析	+++	+++

“+++++”:表示最高程度;“+”:表示最低程度

1. 组织学方法

显微鉴定常用于检测中药及其制成品的细胞或组织特征。例如,人参(*Panax ginseng*)与伪品商陆(*Phytolacca acinosa*)的显微鉴定,由于人参与商陆根横切面均呈典型的双子叶植物根特征,由外到里的结构分别为外表皮层、韧皮部、形成层、带导管和纤维的木质部及中央髓部。但是人参根在形成层附近有树脂道,在韧皮部存在不规则的裂隙,射线细胞含草酸钙结晶,而商陆根无此特征因而得到区别(Hu, 1976; Kubo 等, 1980; Tani 等, 1980)。由于组织特征的相似性问题,解剖学分析不能提供解决相近种药材鉴定的手段,同时组织结构易受地理环境、生长期、储存条件诸多因素的影响,从而影响到鉴定的准确性。

2. 化学方法

中药的化学成分常常可以用来作为很好的鉴定指标,薄层色谱(TLC)和高效液相色谱(HPLC)技术已经成为中药鉴定的常规标准方法。例如,人参类药材的 HPLC 分析常以人参皂苷作为鉴定指标,人参(*Panax ginseng*)仅见 Rf,三七(*Panax notoginseng*)仅见 R1 而无 Ro,而西洋参(*Panax quinquefolius*)含较多的 Rb1。

因此, HPLC 分析已经用于鉴定香港市场上 17 个品牌西洋参茶和 7 个牌子人参茶(Lang 等, 1993)。最近, 毛细管电泳技术(CE)被开发用于麻黄类(*Ephedra*)、黄连类(*Coptis*)、人参类(*Panax*)等药材基原鉴定和品质评价(Liu 等, 1993, 1994; Chuang 等, 1995)。为了提高分析的灵敏性, 许多仪器分析技术如 HPLC、气相色谱(GC)与质谱(MS)分析和它们的连用手段如 FD-MS、252Cf-PD/MS、LC-MS 等被用于中药鉴定(Schulten, 1982; Elkin 等, 1993; Wang 等, 1999; Chan 等, 2000)。在大多数液相色谱条件下, 存在于人参的人参皂苷 Rf 和存在于西洋参的 24(r)-假人参皂苷 f-11 两种成分, 由于相同的保留时间而难以区别, 但是利用 HPLC-MS 方法就很容易将这两种成分区别开来(Chan 等, 2000)。

不管情况如何, 化学分析方法有其局限性。因为中药活性成分的含量受到其生理条件、采收时间、储藏等诸多因素影响。同时, 对化学成分相似的近缘种难以区分。此外, HPLC, CE, MS 等化学分析仪器设备价格昂贵, 非一般实验室能够负担。

3. 生物化学方法

采用凝胶电泳技术进行蛋白质谱带数目、宽窄、位置以及染色程度分析, 可获得很多信息, 从而达到中药鉴别的目的。如人参和西洋参及其 5 种伪品沙参(*Adenophora stricta*)、蔓生百部(*Stemona japonica*)、桔梗(*Platycodon grandiflorum*)、紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)、商陆(*Phytolacca acinosa*)通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)图谱可以达到鉴别目的(曾明等, 1990)。但是, 蛋白质电泳图谱类型主要是依靠肉眼直观比较, 人为区分的, 在一定的程度上影响了结果的准确性。

同工酶的变异非常丰富, 结构的差异直接来源于基因的差异, 并能够稳定遗传。因此, 用它可以鉴定许多从外部形态上难以鉴别的遗传变异。其次, 由于同工酶分析系采用酶活性染色和电泳检测, 非酶类成分不被显示, 电泳图谱往往比蛋白质电泳图谱简洁、清晰。20 世纪 60 年代开始, 同工酶分析常被用于农作物和动物的居群遗传变异、地理变异类型、物理遗传连锁作图和基因分型鉴别等。在中药鉴别方面, 有人报告采用谷氨酸脱氢酶(GD)、磷

酸葡萄糖异构酶(PI)等4种同工酶鉴别淫羊藿(*Epimedium diphyllum*)及其他品种(Koga等,1991);还有人参与西洋参的过氧化酶(POD)、酯酶(ES)等4种同工酶酶谱鉴定(孙非等,1993; Zuravle等,1999),灵芝(*Ganoderma sinensis*)及其类似菌株的POD和ES同工酶的亲缘关系等分析报告(兰进和徐锦堂,1998)。

由于DNA链上平均只有30%碱基变异可以改变氨基酸电荷结构而产生差异,进而影响酶的电泳迁移率(Crawford,1990),这意味着同工酶多态性存在一定的局限性,这是为什么有些在形态上变异大的品种,其同工酶是单态性的(Parker等,1998)。此外,其还有一个缺点,即为防止酶失活,条件比蛋白质分析要求高。取样与染色体分析一样,必须是新陈代谢活跃的部位,这也限制了同工酶分析在干燥药材鉴别上的应用。

中药有许多具有抗原决定簇结构的大分子如多糖类、蛋白质等,用它们制成特异性抗体(抗血清)进行中药定性定量分析是一种高度选择性的血清学鉴定方法,使得血清学特征在中药复方制剂(成药)中特定的药材(如动物药)鉴定上具有极大的开发利用价值。而且,一个氨基酸链上的单个变异可以改变与野生型被体的亲和力,所以抗体还可以用来鉴别种特异性(species-specific)和多态性蛋白质以及同工酶等。例如,利马原甲藻(*Prorocentrum lima*)和喙状原甲藻(*P. rostratum*)的抗体能相互鉴别(Lopez-Rodas和Costas,1999);制备人参皂苷Rf对牛血清蛋白反应的单克隆抗体可用于人参粗提物和体液中Rf的定量分析(Nah等,2000);一种对中药甘草类(*Glycyrrhiza*)具有特异性的抗体由于不与其他生药相互作用,因此可以采用酶联免疫法(ELISA)测定复方制剂中甘草的组分量(Bai等,1997)。又有报告采用免疫化学方法鉴别虎骨、豹骨(丁培贤和贺天笙,1989;冯振波等,1992)。采用酶联免疫法确证出长牡蛎(*Ostrea gigas*)特征蛋白抗原,制备免疫抗血清成功地对中药复方制剂海王金牡蛎制剂(胶囊)中的药材牡蛎进行了鉴别和含量测定(吴谦等,1996;1997)。其缺点是免疫测定试验周期长,所需动物量大等。