

編號：CCMP94-RD-048

抗肝纖維化新中草藥方劑之研發

林文川

中國醫藥大學

摘要

目前尚未為有很好的抗肝臟纖維化的藥物，而草藥被認為在抗肝纖維化很有潛力。在本研究，我們探討了台灣民間草藥 30 種對 thioacetamide (TAA) 誘發小鼠肝纖維化的效果。以 TAA 誘發小鼠肝纖維化，小鼠一週三次腹腔注射 TAA (200mg/kg) 連續 8 週，整過時程小鼠每天以管餵草藥萃取物。測定體重及肝臟 hydroxyproline 的含量，肝組織切片以 Sirius red 染色。以反轉錄聚合酶鏈鎖反應 (RT-PCR) 分析肝纖維化及損傷相關基因如膠原蛋白型 I (Collagen I)、轉型成長因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、鈣結合蛋白 (calcium binding protein, CABP)、內毒素結合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP)、胰島素成長因子結合蛋白 1 (insulin growth factor binding protein, IGFBP1)。這些基因表現以與內標 glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase 的比率表示，再經統計分析。TAA 誘發小鼠肝纖維化，會使肝臟的 hydroxyproline 含量增加及體重減輕。與 TAA 組比較，龍葵、大七層塔、香菇及刀傷草的處理能降低肝臟 hydroxyproline 含量及增加體重。反轉錄聚合酶鏈鎖反應的分析，TAA 會使肝組織的膠原蛋白型 I、轉型成長因子 β 1、鈣結合蛋白、內毒素結合蛋白、胰島素成長因子結合蛋白 1 的表現上升。與 TAA 組比較，龍葵的處理降低膠原蛋白型 I、轉型成長因子 β 1、鈣結合蛋白、內毒素結合蛋白、胰島素成長因子結合蛋白 1 的表現。結論：龍葵有意義的防止 TAA 誘發的肝纖維化。另外，我們也完成 30 種草藥的組織學鑑定及基因體見鑑定工作。

關鍵詞：thioacetamide、肝纖維化、龍葵

Number: CCMP94-RD-048

Development of a New Herbal Medicinal Formula for Anti-Liver Fibrosis

Wen-Chuan Lin

China Medical University

ABSTRACT

Currently there are no effective antifibrotic drugs. It is considered that herbal drugs have potential in the treatment of hepatic fibrosis. The present study, we examined the effects of 30 folks' herbs in Taiwan on liver fibrosis induced by thioacetamide (TAA) in mice. Mice hepatic fibrosis was induced by TAA. Mice were intraperitoneal injection with TAA (200mg/kg) three times per week for eight weeks, and mice were treated daily with herbal extract via gavagage throughout the whole experimental period. Body weight, liver weight and hepatic amounts of hydroxyproline were determined. Histochemical staining of Sirius red was performed. RT-PCR analysis for the transcription genes involved in liver fibrosis and injuries, namely collagen I and TGF- β 1, calcium binding protein (CABP), lipopolysaccharide binding protein (LBP), insulin growth factor binding protein 1 (IGFBP1). The transcript were normalized against that of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase and analyzed statistically. TAA caused liver fibrosis, featuring increase in hepatic hydroxyproline content, and decrease in body weight. Compared with TAA group, Solanum nigrum (SN), Ocimum basilicum, Glossocardia bidens and Ixeris laevigata treatment significantly reduced the hepatic hydroxyproline content and increased body weight. RT-PCR analysis showed that TAA treatment increased the expression of collagen I, TGF- β 1, CABP, LBP, IGFBP1. Mice treated with SN had reduced levels of collagen I, TGF- β 1, CABP, LBP, IGFBP when compared to the TAA group. In conclusion, SN significantly prevents TAA-induced hepatic fibrosis in mice. In addition, we also have finished

the anatomical and molecular biological identification of 30 herbs.

Keywords : thioacetamide, liver fibrosis, *Solanum nigrum*

壹、前言

慢性肝病與肝硬化是臺灣前十大死亡原因之一，且尚不包括肝癌的部份，肝炎患者如不能得到有效治療，就有可能發生肝纖維化，進而肝硬化。台灣地處亞熱帶，植物種類繁多，可供藥用的約兩千種，其中不乏流傳用於肝病處理的藥用植物，而民間用藥多為口耳相傳，缺乏藥用植物基原之鑑定與醫學臨床之驗證，對於國人健康危害甚大，甚至是造成肝炎的原因之一。

本計畫依據九十四年度中醫藥基因體相關研究徵求重點一：中醫藥基因體相關研究，其中第 3 點：建立基因體鑑定為研究平臺研發相關中藥-以防治肝病為例，來規劃本研究。本研究搜尋台灣民間用於肝病的草藥 30 種，先從傳統的的基原鑑定著手，進而進行基因體基原鑑定。以 thioacetamide 誘發小鼠肝纖維化的模式，評估這些草藥在預防肝纖維化進展的效果。對效果顯著的藥材如龍葵，就其肝臟檢體進行 RT-PCR 分析，探討相關基因的表現。

貳、材料與方法

一、基原鑑定

收集民間常用的保肝中草藥龍葵等 30 種，進行藥材之基原鑑定，包含植物分類學方法及顯微鑑定方法。

植物分類學方法：仔細觀察植物或藥材之各部分的形態，特別是花、果實、種子及營養器官的外部之形態特徵，參考臺灣植物誌(Flora of Taiwan)、中國植物誌、中國高等植物圖鑑、臺灣藥用植物資源名錄等書籍，必要時至各地核對已鑑定完成的標本或已由中草藥學者鑑定學名的藥材標本，確定其學名。

顯微鑑定的方法：根據觀察的對象和目的，以徒手切片，對藥物之根或根莖或特徵鑑別部位(如果實、種子、花等)，製作橫切片、縱切片觀察其組織及內含物(如樹脂道、澱粉粒、結晶等)等。以顯微鏡觀察植物或藥材之組織切片或粉末中的組織內含物等。將製得的組織薄片(約 10 μm 厚)先以水合氯醛液透化法製片，除去切片之雜質並達軟化恢復組織之目的以利鑑定，再滴加甘油水(甘油：水=1：1) 1-2 滴，封上蓋玻片，置於顯微鏡上鏡檢(必要時亦可進行木化反應、木化栓反應等染色，進行特徵組織之觀察)。並用測微尺測量欲鑑定得大小。最後記錄其結果，製做成鑑別圖鑑，作為日後鑑別比對之依據。

二、基因體基原鑑定

取 1-4 克組織，以液態氮研磨成粉末，置於離心管中於-20°C 待液態氮揮發。加入 15mL 之 Extraction buffer(EB, 100mM Tris-HCl pH 8.0, 50mM EDTA-Na pH 8.0, 500mM NaCl, 10mM beta- mercaptoethanol) 及 1mL 20% SDS，強力搖晃 50 次使之混合，接著以 65°C 水浴 10min (本步驟可加入 1% glutathione, 0.5mL 及約 1-1.5cm³ 之 PVP, polyvinyl polypyrrolidone)。加入 5mL 的 potassium acetate solution (K solution: 3M potassium acetate, 11.5% galatic acetic acid v/v)，強力搖晃約 50 次後冰浴 20min，再以不織布過濾，以等倍體積之異丙醇(isopropanol) 於-80°C 冰浴 5-10min，以 20,000×g 於 4°C 離心 15min，去上清液後稍微乾燥後加入 0.5mL 的 TE buffer (TE=5：1) 溶解 DNA 沉澱，以等體積之 phenol (pH 8.0) 混合萃取 DNA 後於 4°C 以 10,000rpm 離心 5min，收集上清液於新微量試管中，再以同樣方式用 0.25mL of

chloroform (chloroform: isoamylalcohol =24 : 1) and 0.25mL of phenol 萃取一次，再以 0.5mL of chloroform 再萃取一次，經轉移至新試管後，加入兩倍體積之絕對酒精與 1/10 總體積之 ammonium acetate(7.5 M)，經-20°C 冰浴 30min 後於 4°C 以 20,000×g 離心 15min，經去除上清液後，以 70% EtOH 清洗鹽類，經離心後於室溫乾燥 15min，加入 0.2mL 的 TE buffer (10 : 1) 與 10μL 的 RNase A (10mg/mL)，保存於-20°C 備用。藥材基因體基原之鑑別乃是利用核糖體基因之 Internal transcribed spaces (ITS)，ITS1 與 ITS2 作為基原鑑定之依據，所使用之引子係參考 Fu RZ et al.，所發表之論文並適當之修飾，5' 端引子：(18D) : 5'-CACACCGCCCCGTCGCTCCTACCGA-3'，3' 端引子：(28CC) : 5'-ACTCGCCGTTACTAGGTGAA-3'，PCR 放大之反應條件為：25μL 反應中包含 15ng 模板 DNA，10 mM Tris-HCl(pH 8.3)，50mM KCl，0.001% gelatin，1.0μM each primer，0.2mM dNTP，2.0mM MgCl₂，1.2U *Taq* DNA polymerase；反應循環為：one cycle of 94°C for 5min，45°C for 1min and 72°C for 2min；39 cycles of 94°C for 1min，55°C for 1min and 72°C for 1.5min with a final extension of 72°C for 10min。經放大訊息後以自動核酸定序儀定序之。

三、對 thioacetamide (TAA) 誘發 BABA/c 鼠肝纖維化的預防效果

(一) 試驗藥材製備

三十種藥草除繡球蘭及肝炎草使用鮮品外，餘皆為乾品。乾品稱重，加入適量的去離子水，煎煮四小時後，減壓濃縮至適當濃度，測其含水量，儲存於-30°C 備用，每種草藥的萃取率如表一。臨用時以去離子水稀釋成濃度 100 及 20mg/mL 的懸浮液，鼴鼠每 10 克體重投予 0.1mL，投予劑量為 0.2、1.0g/kg。繡球蘭及肝炎草鮮品直接加水榨汁使用。

(二) 動物

分 6 批由國家實驗動物中心購入 4-5 週齡雄性 BALA/c 鼠，經 1-2 週適應後開始實驗。每批分成 12 組，每組 10 隻，分別為控制組，TAA+H₂O 組一，TTA 加試驗物組十，每種試驗物組使用兩種劑量，即每批可進行 5 種藥材。所有動物的處理皆依本校動物管理委員會的規定進行。

TAA (200mg/kg ; Sigma) 溶於生理食鹽水，一週三次腹腔

注射投予，連續 8 週。試驗物質每天一次經口投予。投藥後滿一、三、六週，由眼窩採血供血清生化值測定。投藥驗終了，在乙醚麻醉醉下，由腹腔靜脈採血，迅速取下肝臟，以冰冷生理食鹽水洗淨、吸乾水分後稱重。肝臟分成四分，分別浸於 10% 中性福馬林功病理切片用，在 100°C 烘乾供肝臟纖維化程度測定，餘儲存於液態氮中。

(三) 血清生化學檢驗

血液取得後，靜置待其凝固後，以 4,700rpm 離心 15 分鐘，取血清供生化檢驗用。第八週最後犧牲時，在乙醚麻醉醉下由腹腔靜脈採血。第一、三、六、八週進行 GPT 檢驗。第八週另進行 total bilirubin 檢驗。檢驗使用市售檢驗試劑 (Roche)，以血清生化自動分析儀測定 (COBAS MIRA)。

(四) 肝臟組織含水量及膠原蛋白 (hydroxyproline) 含量測定

Hydroxyproline 的測定參照 Neuman and Logan⁽¹⁾的方法。肝臟乾組織水解後加 H₂O₂ 氧化，再以 *p*-dimethylaminobenzoaldehyde 呈色，於 540nm 測吸光值。Hydroxyproline 量以 μg/g wet tissue 表示之。

(五) 病理檢驗

肝臟組織經福馬林固定後，進行石臘包埋及切片製作，使用兩種染色法，一為一般的 H.E. stain (Hematoxylin and eosin stain)，另一種為膠原蛋白的特殊染色即 Sirius Red stain。

(六) 反轉錄聚合酶鏈鎖反應 (reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR)

1. RNA 之萃取：

Total RNA 的萃取是參照 Chomczynski et al.⁽²⁾所描述之方法進行，取適量肝組織於研鉢內，加入液態氮研成細粉，將研好之細粉秤取約 0.05-0.1g 於 eppendorf 內，加入 1mL TRI Reagent® (MRC) 於室溫下靜置 5 分鐘。使用 1mL 滅菌針筒以 20G 注射針頭反覆均質之。加入 0.2mL chloroform，上下混合約 15 秒，於室溫下靜置 3 分鐘；以 12,000g 於 4°C 離心 15 分鐘，取上清液至已滅菌的 eppendorf，加 0.5mL isopropanol 震盪混合均勻；於室溫下靜置 10 分鐘，以 12,000g 於 4°C 離心

10 分鐘。移除上清液，加 75% 酒精清洗 RNA pellet；於 4°C，以 7,500g 離心 5 分鐘去酒精，於無菌操作台風乾，使酒精蒸發（不可至全乾）。加 60μL 減菌水溶解已風乾之 RNA 沈澱，使用分光光度計（HITACHI, U-2001; Japan）以波長 260nm 及 280nm 測量吸光值，估算 RNA 的純度及濃度。檢測後將 RNA 調整為適當濃度，置於-80°C 冷凍備用。

2. 引子（Primer）的設計與合成：

進行反轉錄聚合酶鏈鎖反應時所需之引子如下。引子的合成委託神農有限公司。

mRNA	Primer sequence	
Collagen I	Sense	5' GGT CCC AAA GGT GCT GA TGG 3'
	Antisense	5' GAC AGC CTC ACC ACG GTC T 3'
TGF-β1	Sense	5' TAT AGC AAC AAT TCC TGG CG 3'
	Antisense	5' TGC TGT CAC AGG AGC AGTG 3'
CaBP	Sense	5' CAA GGA AAT CAC CAT GCC CTC T 3'
	Antisense	5' TTT GTG AGA TGC CAC ACC CAC T 3''
LBP	Sense	5':ACC CTT GAC CTG GAC TTG AC 3'
	Antisense	5' ACA GTG CCC GCT CTT AAA GT 3'
Leptin	Sense	5' CCT GTC TAC TCA TGC CAG CA 3'
	Antisense	5' TAG CAC CAC AAA ACC TGA TCC 3'
IGF	Sense	5' GCT CTG CTT GCT CAC CTT CAC 3'
	Antisense	5' CTC GGT CCA CAC ACG AAC TG 3'
IGFBP1	Sense	5' ACT CGG AAT TCC TCA TCG TC 3'
	Antisense	5' RGG TTA CAC AAT CAG CAT CGG 3'
IGFBP3	Sense	5' GAC ACC CAG AAC TTC TCC TCC 3'
	Antisense	5' CAT ACT TGT CCA CAC ACA CCA GC 3'
IGFBP4	Sense	5' AAG GGT AGG GAA ATA TGG GG 3'
	Antisense	5' GTG TGT GTC TGA GGA ATG GC 5'
GAPDH	Sense	5' TGT GTC CGT CGT GGA TCT GA 3'
	Antisense	5' CCT GCT TCA CCA CCT TCT TGA 3

TGF-β1: transforming growth factor β1

CaBP: calcium binding protein

LBP: lipopolysaccharide binding protein

IGF: insulin growth factor

IGFBP1: insulin growth factor binding protein 1

IGFBP3: insulin growth factor binding protein 3

IGFBP4: insulin growth factor binding protein 4

3. 洋菜凝膠電泳 (Gel electrophoresis) :

以 0.5X TBE buffer 配製 2% agarose gel，以微波爐加熱直到完全融化，待微溫（約 50°C）造膠、趕氣泡，待膠硬化加入 running buffer—0.5X TBE buffer，將 DNA 及 marker 分別置入 well 中以 100 伏特電壓進行電泳分析，約 100 分鐘後將膠取出以 ethidium bromide 染色，在紫外光燈下觀察，並以拍立得相機照相；將照片掃描後以 Scion Image 電腦軟體分析影像定量其光密度。以 GAPDH 作為內部對照，以其表現的量當作相對標準，將 RT-PCR 產物之 OD (Optical Density) 值當分子，Glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) 之 OD 值當分母，求其相對於 GAPDH 的 m-RNA 量。

四、統計分析

實驗所得數據均以單尾變異數分析 (one-way analysis of variance)，並進行 Dunnet 測試，以 P 值小於 0.05 認為有顯著意義。

參、結果

一、基原鑑定

本計畫收集民間常用的保肝中草藥 30 種，先以植物分類學的方法確認其學名，然後再以顯微鏡檢的方法，利用光學顯微鏡來觀察藥材之內部的細胞、組織構造、細胞內容物及其相關部位之特徵，確定其基原並製定其顯微鑑別的依據，經由藥材的內部組織構造之表皮、維管束排列、纖維及導管形態等差異，建立其基原鑑別之鑑定圖鑑。30 種保肝中草藥之中文名、別名、學名敘及鑑別圖如附件二。

二、基因體基原鑑定

如表 1 所示，ITS1、ITS2 兩者皆完成基因定序的藥材計有玉蝶梅等 14 種。只完成 ITS1 有半枝蓮 1 種，僅完成 ITS2 有虎咬癀等 3 種。兩者皆無法定序的有虎耳草等 10 種。定序結果如附件一。

三、對 thioacetamide (TAA) 誘發 BABA/c 鼠肝纖維化的預防效果

(一) 死亡率、體重變化

如表 2 所示，在六批試驗中 TAA 單獨的死亡率為 0 至 30%。大薊 (CJ；0.2、1g/kg) 及鈎仔茄 (SID；0.2、1g/kg)、山苧麻 (BF；0.2g/kg) 死亡率達 50%。每批皆以體重隨機分組，各組間平均重量沒有差異，一至六批控制組的起始體重分別為 20.4 ± 0.7 、 24.5 ± 0.8 、 25.0 ± 0.6 、 25.6 ± 0.4 、 24.0 ± 0.7 及 20.0 ± 0.4 公克。TAA 投予 8 週後體重皆較控制組輕，小本山葡萄 (VT；0.2、1g/kg)、龍葵 (SN；0.2、1g/kg)、倒吊風 (ST；0.2、1g/kg)、牛筋草 (EI；0.2g/kg)、大薊 (CJ；0.2g/kg)、大七層塔 (CB；1 g/kg)、鈎仔茄 (SID；0.2g/kg)、香菇 (GB；0.2g/kg) 及刀傷草 (IL；0.2、1g/kg) 的體重較 TAA 組重。

(二) 血清 GPT 及 total bilirubin

如表 3 所示，在六批試驗中 TAA 皆使小鼠一、三、六、八週的血清 GPT 值高於控制組，試驗藥物僅半枝蓮 (SB；0.2g/kg) 於第 3 週的 GPT 值低於 TAA 組，餘皆對 TAA 所誘發的 GPT 值沒有影響。第八週犧牲時也測定血清中 total bilirubin 濃度，TAA 能使血清中 total bilirubin 濃度明顯上升，試驗藥物只有土荊介

(SP；1g/kg)、野菇 (AI；1g/kg) 及龍葵 (SN；1g/kg) 有減少 total bilirubin 的作用，餘皆無法降低 TAA 所誘發的 total bilirubin 濃度 (表 2)。

(三) 肝臟絕對和相對重量、肝臟含水量及肝臟 hydroxyproline 含量

如表四所示，TAA 誘發的肝臟絕對重量在前三批 (A-C) 皆高於控制組，D 批與控制組比較沒有差異，E 及 F 批則低於控制組。但若以體重的相對重量來分析，則 6 批 TAA 誘發的肝臟相對重量皆高於控制組，且 6 批 TAA 誘發的肝臟含水量皆高於控制組。

試驗藥物中，肝臟絕對重量低於 TAA 組的有黃水茄 (SI；1 g/kg)。肝臟絕對重量高於 TAA 組的有桶交藤 (MR，1g/kg)、倒吊風 (ST；0.2、1g/kg)、牛筋草 (EI；0.2g/kg)、大薊 (CJ；0.2、1g/kg)、大七層塔 (CB，1g/kg)、鈕仔茄 (SID；0.2g/kg)、香菇 (GB；0.2g/kg)、刀傷草 (IL，1g/kg) 等。

相對重量高於 TAA 組的有丁豎朽 (ES，1g/kg)、白尾蜈蚣 (AB；0.2、1g/kg)、半枝蓮 (SB；0.2、1g/kg)、鼠尾癀 (JP，1 g/kg)、大薊 (CJ；0.2g/kg)。相對重量低於 TAA 組的有土荊芥 (SP，1g/kg)、黃水茄 (SI；1g/kg)、野菇 (AI；0.2g/kg)、龍葵 (SN；0.2、1g/kg) 等。

試驗藥物中，肝臟含水量高於 TAA 組的有黃水茄 (SI；1g/kg) 野菇 (AI；0.2g/kg)。肝臟含水量低於 TAA 組的有野菇 (AI；1.0 g/kg)、牛筋草 (EI；0.2g/kg)、大薊 (CJ；1g/kg)、鈕仔茄 (SID；0.2g/kg)、刀傷草 (IL，1g/kg) 等。

如表四所示，試驗藥物中，肝臟 hydroxyproline 含量高於 TAA 組的有肺炎草 (MB；1.0g/kg)、小金英 (IC；0.2g/kg)、土荊芥 (SP，1g/kg)。肝臟 hydroxyproline 含量低於 TAA 組的有白尾蜈蚣 (AB；1g/kg)、虎咬癀 (LEC；1g/kg)、鼠尾癀 (JP，0.2、1g/kg)、黃水茄 (SI；0.2g/kg)、龍葵 (SN；1g/kg)、大七層塔 (CB，1g/kg)、山苧麻 (BF；1.0g/kg)、香菇 (GB；0.2g/kg)、刀傷草 (IL，0.2、1g/kg) 等。

(四) 龍葵肝組織 RT-PCR 分析

RT-PCR 分析的產物 collagen I、TGF- β 1、CABP、LPB、Leptin、IGF、IGFBP1、IGFBP2、IGFBP3 等的條帶如圖 1 至 3 所示，經亮度分析以與 GAPDH 的比率表示之。TAA 明顯增加 collagen I、TGF- β 1 的表現，龍葵 (1g/kg) 可抑制這兩個 mRNA 的表現(圖 1)。TAA 增加 LPB、CABP 的 mRNA 表現，但對 Leptin 的表現沒有影響，龍葵 (1g/kg) 可抑制 LPB、CABP 的 mRNA 表現，對 Leptin 的 mRNA 表現沒有影響(圖 2)。TAA 增加 IGFBP1 的 mRNA 表現，但對 IGF、IGFBP3、IGFBP4 的 mRNA 表現沒有影響，龍葵 (1g/kg) 可抑制這 IGFBP1 的 mRNA 的表現，對 IGF、IGFBP3、IGFBP4 的 mRNA 表現沒有影響 (圖 3)。

(五) 龍葵肝組織的病理檢查

HE 染色可見 TAA 引起肝組織大量壞死 (圖 4)，Sirius Red 染色可見到 TAA 引起纖維化的情形 (圖 4)。龍葵 (1g/kg) 能減輕 TAA 引起的肝組織壞死及纖維化。

肆、討論

一、基原鑑定

五爪金英、木棉根、倒吊風、小本山葡萄、山苧麻等 5 種，由於藥材甚大或大部份由木部組成，因此顯微鏡檢無法顯示其特性，因此只針對其外部形態進行五官鑑定。

二、基因體基原鑑定

三十種保肝藥材之 ITS 基因體定序結果如上表所示，定序結果顯示，基因體資料中未完成定序的資料的原因多為定序到附生在藥材上之微生物，多為真菌類微生物，顯示藥材本身的乾燥保存條件影響微生物的滋生，干擾定序結果，另一原因為藥材本身如果是根部藥材，多以木質化的組織可供抽取的核酸物質不佳，或形成層已遭破壞者，其定序效果亦不佳，可見以 ITS 基因體定序為藥用植物鑑別仍有其限制性。藥材定序之確定有賴已建立之基因體資料庫，基因體資料庫以美國國家衛生研究院所登載的資料庫 (GenBank in National Center for Biotechnology Information) 最為齊備，它綜合世界上三大基因體定序資料庫之數據，包括歐洲與日本所建立的資料庫，其資料每日互相交換並更新，迄今總計有 144,297 筆 ITS 基因體資料已發表，搜尋資料庫發現，我們篩選的三十種保肝藥材中僅六種藥材具備 ITS 序列資料，本計畫中我們雖然定出二十三種藥材的完整 ITS 資料，與三種藥材之部份資料，但這些資料大部份並無標準資料或參考資料可供比對，在上述六種已公佈之藥材基因體序列中我們發現，如木棉根，我們的 ITS 基因體定序後與 GenBank 的的資料有 100% 的相似度（如下列表圖資料，以木棉根，root of *Bombax malabarica* 為例），再比對查詢過資料庫中的序列發現，我們的序列經 BLAST 之 local alignment 的方式比對後，其所得之分數 (Score, Bits: 656) 為 1300, E (Except) value=0.0, Identities=677/677 (100%), Gaps=0/677 (0%)，由 E value 可知，本序列與資料庫中之 *Bombax malabarica* 的 ITS 序列不重覆性低於 0.0 所以可知我們所定序出之序列為 *Bombax malabarica* 的可信度達 100%，另外，雖然 GenBank 中之藥材 ITS 基因體資料庫不齊備，但終能比對出同緣近屬之藥材，以半枝蓮 (*Scutellaria barbata*) 為例，我們的序列經 BLAST 之 local alignment 的方式比對後，其所得之分數 (Score, Bits : 314) 為 622, E (Expect) value=4e-175, Identities=460/502 (91%)，Gaps=5/502 (0%)，由 E value 可知，本序列與資料庫

中之 *Scutellaria baicalensis* 的 ITS 序列相似度 (Identities) 達 91%，而該序列在資料庫中可重覆被比對出之機率低於 4×10^{-175} ，所以可知我們所定序出之序列至少為黃芩屬 (SCUTELLARIA) 的近緣植物，顯示我們的數據有某些程度上之可信度，另外再配合外觀與組織切片的鑑別，可確定為半支蓮 (*Scutellaria barbata*)，本研究室將持續進行新鮮藥材的定序工作，並將標本寄存國立自然科學博物館，並將新鮮植物之定序資料與生藥材資料進行比對，並發表於美國國家衛生研究院的資料庫。

三、對 thioacetamide (TAA) 誘發 BABA/c 鼠肝纖維化的預防效果

TAA 的急性肝毒性試驗會引起很明顯的血中 GPT 等上升 (Jeong et al., 1999)。但在慢性實驗所誘發的 GPT 不高，因此無法明顯顯示試驗草藥的保肝效果。TAA 引起肝毒性明確的降低體重、肝腫大及肝臟膠原蛋白 (hydroxyproline) 增加，以體重及肝臟膠原蛋白增生綜合評估試驗草藥的效果，發現白尾蜈蚣、虎咬癀、鼠尾癀、黃水茄、龍葵、大七層塔、山苧麻、香菇和刀傷草等可以減少肝臟膠原蛋白含量。其中龍葵、大七層塔、香菇及刀傷草的小鼠體重較 TAA 組重，是較值得進一步開發研究。先以 RT-PCR 分析此四種草藥組肝組織 collagen I 的 mRNA 表現，其中以龍葵較顯著降低 collagen I 的表現，因此進一步分析龍葵的肝組織的基因表現。

四、龍葵減輕 TAA-誘發小鼠肝纖維化之 RT-PCR 分析

我們先前曾進行 TAA 肝纖維化 cDNA 基因微陣列的分析，結果顯示，TAA 誘發的肝纖維化，肝組織的 calcium binding protein (CABP)、lipopolysaccharide bindin protein (LBP) 及 insulin growth factor binding protein 1 (IGFBP1) 等三種結合蛋白的基因表現有增強的情形。在本研究，以 RT-PCR 的分析來進一步確認 TAA 肝纖維化確可使這三種結合蛋白的基因表現上升。龍葵的處理可以抑制 TAA 所引起的這三種結合蛋白的基因表現。

Lipopolysaccharide (LPS) 會刺激肝臟合成 LBP，血中的 LBP 能加強 LPS 和其接受體的結合 (CD14)，此作用將引起細胞激素的產生⁽³⁾。TAA 與 LBP 之間關聯的文獻很少，在本試驗結果顯示 TAA 可能經由提升 LBP 的表現而增強發炎反應。龍葵能抑制 TAA 引發的 LBP 表現。

CABP 與 calmodulin 或 Ca^{+2} -related protein 不同，存在於肝的 cytoplasma，可以調節鈣而影響肝細胞功能。在切肝的實驗，CABP 抑制了肝臟再生細胞核內 DNA 和 RNA 的合成，即 CABP 抑制細胞的增生⁽⁴⁾。TAA 與 CABP 之間關聯的文獻也很少，在本試驗結果顯示 TAA 可能經由提升 CABP 的表現而壓制肝細胞的修補作用。龍葵能抑制 TAA 引發的 CABP 表現。

瘦身激素 Leptin 最早的發現是由脂肪而來，作用於下視丘而抑制食欲⁽⁵⁾。最近的研究顯示肝臟的星狀細胞能產生 Leptin，與肝臟纖維化的產生有密切關係⁽⁶⁾。雖然有文獻指出，TAA 所引發的肝臟纖維化與 Leptin 有關⁽⁷⁾。但在本實驗並未發現 TAA 對肝臟 Leptin 的基因表現有所影響。在本實驗中，TAA 處理的小鼠體重明顯減輕，也應與 Leptin 無關，可能是來自 IGFBP1 的影響。龍葵對 Leptin 的表現也沒有影響。

IGF 在肝臟纖維化中所扮演的角色仍有很多爭議，IGF 可促進蛋白質及醣類的代謝，可改善肝硬化營養不良的情形⁽⁸⁾。另外，IGF 可以促進星狀細胞增生、活化產生膠原蛋白，會促進肝臟纖維化⁽⁹⁾。最近的研究指出，星狀細胞產生的 IGF 可以經由增強 hepatic growth factor 及減弱 TGF- $\beta 1$ 的作用而促進肝臟再生及降低肝臟纖維化⁽¹⁰⁾。在血中或細胞外液，IGF 是與其結合蛋白結合的，結合蛋白有 6 種之多，其中肝細胞可以產生 IGFBP1 和 IGFBP3，IGFBP3 也可以由 Kupffer cell 產生⁽⁸⁾。有文獻指出，TAA 的處理 4 週內會使 IGFBP1 的基因表現下降，對 IGFBP3 沒有影響⁽¹¹⁾。在大鼠的實驗，TAA 會使 Kupffer cell 及內皮細胞的 IGFBP3 的表現減弱，但使纖維母細胞的 IGFBP3 表現加強⁽¹²⁾。在本實驗 TAA 投予八週，引起肝臟 IGFBP1 的基因表現增加，但對 IGF、IGFBP3、IGFBP4 的表現沒有影響。IGFBP1 的表現增加可能減弱了 IGF 的營養作用，因此小鼠體重明顯下降，也可能使肝臟纖維化減輕，因所看到的 TAA 纖維化都不是很嚴重，這些仍有待進一步解明。龍葵能抑制 TAA 引起的 IGFBP 表現，此或與其能有較重的體重有關。

所有慢性肝損傷都會引起肝臟纖維化，肝臟纖維化最主要是細胞外基質增生，以 collagen I 最主要，collagen I 的增生需要星狀細胞的活化，TGF- $\beta 1$ 是活化星狀細胞最主要的細胞激素⁽¹³⁾，因此在本研究也探討了 collagen I 及 TGF- $\beta 1$ 的基因表現，確認 TAA 可以提升此兩者

的基因表現。龍葵能抑制 TAA 所增強的 collagen I 及 TGF- β 1 表現，更支持了其保肝的效果。

龍葵可能經由抑至 LBP 的表現減輕發炎，抑制 CABP 的表現，增加肝細胞再生，及抑制 IGFBP1 的表現，改善了小鼠的營養狀態，因此整體改善了纖維化的情形。至於是否能直接降解肝臟纖維化上待進一步探討。

伍、結論與建議

所完成的生藥鑑定圖鑑及基因體定序，可供日後學者研究比對用。
60 種草藥的護肝評估有幾種如龍葵等顯示效果，也有文獻指出龍葵對肝硬化病人的改善作用⁽¹⁴⁾，龍葵值得進一步探討。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會，計畫編號 CCMP94-RD-048 提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

1. Neuman RE, Logan MA. The determination of hydroxyproline. *J Biol Chem* 1950; 184: 299-306.
2. Chomczynski P, Sacchi N. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate–phenol–chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987; 162: 156-159.
3. Schumann RR, Latz E. lipopolysaccharide-binding protein. *Chem Immunol* 2000; 74: 42-60.
4. Yamaguchi M. Role of regeneration in calcium signaling. *Life Science* 2000; 66: 1769-80.
5. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763-70.
6. Ding X, Saxena NK, Lin S, Xu A, Srinivasan S, Anania FA. The role of leptin and adiponectin: A novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005; 166: 1655-69.
7. Honda H, Ikejima K, Hirose M, Yoshikawa M, Lang T, Enomoto N, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin is required for fibrogenic response induced by thioacetamide in the murine liver. *Hepatology* 2002; 36: 12-21.
8. Blomsma MC, de Knegt RJ, Dullaart RPF, Jansen LM. Insulin-like growth factor-I in liver cirrhosis. *J hepatolo*. 1998; 27: 1133-38.
9. Scharf JG, Knittlel T, Dombrowski F. Characterization of the IGF axis components in isolated rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 1998; 27: 1275-1284.
10. Sanz S, Pucilowska JB, Liu S. Expression of insulin-like growth factor I by activated hepatic stellate cells reduces fibrogenesis and enhances regeneration after liver injury. *Gut* 2005; 54: 134-141.
11. Gnainsky Y, Spira G, Paizi M. Halofuginone, an inhibitor of collagen synthesis by rat stellate cells, stimulates insulin-like growth factor binding protein-1 synthesis by hepatocytes. *J Hepatolol*. 2004; 40: 269-277.
12. Novosyadlyy R, Dargel R, Scharf JG. Expression of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding proteins during thioacetamide-induced

- liver cirrhosis in rats. *Growth Horm IGF Res* 2005; 15: 313-323.
13. Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clinica Chimica Acta* 2006; 364: 33-60.
14. Huseini HF, Alavian SM, Heshmat R, Heydari MR, Abolmaali K. The efficacy of lifer-52 on liver cirrhosis patients: A randomized, double blind, placebo-controlled first approach. *Phytomedicine* 2005; 12: 619-24.

柒、圖表

表 1 三十種藥材學名、縮名、基因體定序結果及水萃取率

編號	中文名	英文學名	縮名	ITS1	ITS2	萃取率
1	玉蝶梅	<i>Hoya carosa</i>	HC	✓	✓	1.0 %
2	肝炎草	<i>Murdannia bracteata</i>	MB	✓		0.4 %
3	小金英	<i>Ixeris chinensis</i>	IC	✓	✓	13.7 %
4	五爪金英	<i>Tithonia diversifolia</i>	TD	✓	✓	5.8 %
5	鬼針草	<i>Bidens pilosa</i>	BP	✓	✓	7.6 %
6	白花蛇舌草	<i>Hedyotis diffusa</i>	HD	✓	✓	10.3 %
7	黃花蜜菜	<i>Wedelia chinensis</i>	WC	✓	✓	13.3 %
8	丁豎朽	<i>Elephantopus scaber</i>	ES	✓	✓	8.9 %
9	白尾蜈蚣	<i>Ajuga bracteosa</i>	AB	✓	✓	15.9 %
10	半枝蓮	<i>Scutellaria barbata</i>	SB	✓	✓	11.4 %
11	虎耳草	<i>Saxifraga stolonifera</i>	SS	✓	✓	10.5 %
12	虎咬癀	<i>Leucas chinensis</i>	LEC		✓	6.2 %
13	鼠尾癀	<i>Justicia procumbens</i>	JP			6.6 %
14	石壁癀	<i>Cheilanthes chusana</i>	CC			4.2 %
15	半邊蓮	<i>Lobelia chinensis</i>	LOC			9.2 %
16	土荊芥	<i>Salvia plebeia</i>	SP	✓	✓	7.5 %
17	小本山葡萄	<i>Vitis thunbergii</i>	VT	✓	✓	5.5 %
18	黃水茄	<i>Solanum incanum</i>	SI	✓	✓	3.6 %
19	野孤	<i>Aeginetia indica</i>	AI	✓	✓	6.6 %
20	龍葵	<i>Solanum nigrum</i>	SN	✓	✓	7.0 %
21	桶交藤	<i>Mallotus rependus</i>	MR	✓	✓	3.8 %
22	倒吊風	<i>Saurauia tristyla</i>	ST			7.9 %
23	牛筋草	<i>Eleusine indica</i>	EI	✓	✓	2.2 %
24	大薊	<i>Cirsium japonicum</i>	CJ	✓	✓	15.9 %
25	大七層塔	<i>Ocimum basilicum</i>	CB	✓	✓	4.1 %
26	木棉根	<i>Bombax malabarica</i>	BM	✓	✓	2.7 %
27	鈕仔茄	<i>Solanum indicum</i>	SID	✓	✓	2.1 %
28	山苧麻	<i>Boehmeria frutescens</i>	BF	✓	✓	3.3 %
29	香菇	<i>Glossocardia bidens</i>	GB		✓	6.3 %
30	刀傷草	<i>Ixeridium laevigatum</i>	IL	✓	✓	10.7 %

✓：表示完成定序

表 2 三十種對 TAA 誘發體重變化、死亡率及血清 bilirubin 濃度的影響

Treatment	Dose (g/kg)	Body weight (g)	Death Ratio	Bilirubin (mg/dL)
Control (A)	-	27.7 ± 1.0	0/6	0.12 ± 0.02
TAA + H ₂ O	-	24.4 ± 0.8 [#]	0/10	0.23 ± 0.03 [#]
TAA + HC	0.2	26.8 ± 1.2	3/10	0.20 ± 0.03
	1.0	24.6 ± 0.7	3/10	0.28 ± 0.03
+ MB	0.2	25.6 ± 1.0	1/10	0.22 ± 0.02
	1.0	25.1 ± 0.5	0/10	0.28 ± 0.02
+ IC	0.2	25.1 ± 0.3	0/10	0.21 ± 0.02
	1.0	24.8 ± 0.5	1/10	0.23 ± 0.01
+ TD	0.2	24.6 ± 0.7	0/10	0.25 ± 0.03
	1.0	25.0 ± 0.6	1/10	0.23 ± 0.02
+ BP	0.2	25.8 ± 0.4	1/10	0.21 ± 0.02
	1.0	24.0 ± 0.6	0/10	0.23 ± 0.02
Control (B)	-	31.9 ± 0.9	0/6	0.11 ± 0.02
TAA + H ₂ O	-	25.7 ± 0.5 ^{##}	1/10	0.23 ± 0.02 ^{###}
TAA + HD	0.2	24.4 ± 0.7	1/10	0.29 ± 0.06
	1.0	25.3 ± 0.5	0/10	0.29 ± 0.04
+ WC	0.2	25.9 ± 0.6	2/10	0.35 ± 0.02
	1.0	27.0 ± 0.6	1/10	0.30 ± 0.06
+ ES	0.2	26.4 ± 0.8	4/10	0.40 ± 0.03
	1.0	24.6 ± 0.6	2/10	0.41 ± 0.03
+ AB	0.2	26.1 ± 0.3	1/10	0.37 ± 0.03
	1.0	25.6 ± 0.8	0/10	0.35 ± 0.04
+ SB	0.2	25.5 ± 0.7	0/10	0.36 ± 0.02
	1.0	25.3 ± 0.6	1/10	0.33 ± 0.02
Control (C)	-	32.8 ± 0.9	0/6	0.11 ± 0.02
TAA + H ₂ O	-	25.7 ± 0.5 ^{##}	1/10	0.23 ± 0.02 ^{###}
TAA + SS	0.2	25.5 ± 2.4	0/10	0.35 ± 0.06

表 2 (續)

Treatment	Dose (g/kg)	Body weight (g)	Death Ratio	Bilirubin (mg/dL)
	1.0	24.1 ± 1.1	0/10	0.32 ± 0.02
+ LEC	0.2	27.2 ± 2.4	1/10	0.24 ± 0.04
	1.0	26.3 ± 2.2	1/10	0.32 ± 0.03
+ JP	0.2	27.2 ± 1.7	3/10	0.19 ± 0.04
	1.0	25.3 ± 2.3	3/10	0.23 ± 0.07
+ CC	0.2	26.8 ± 1.1	2/10	0.40 ± 0.07
	1.0	26.3 ± 0.8	2/10	0.36 ± 0.06
+ LOC	0.2	17.3 ± 0.5 ***	1/10	0.30 ± 0.03
	1.0	18.5 ± 0.7 ***	3/10	0.33 ± 0.02
Control (D)	-	31.8 ± 1.2	0/6	0.19 ± 0.01
TAA + H ₂ O	-	22.3 ± 0.7 ***	1/10	0.35 ± 0.02 ***
+ SP	0.2	24.4 ± 1.0	3/10	0.39 ± 0.04
	1.0	23.9 ± 0.8	0/10	0.30 ± 0.01 *
+ VT	0.2	27.3 ± 0.9 ***	2/10	0.30 ± 0.03
	1.0	25.5 ± 1.1 *	3/10	0.28 ± 0.02 *
+ SI	0.2	22.9 ± 0.6	3/10	0.30 ± 0.02
	1.0	22.8 ± 0.8	2/10	0.36 ± 0.02
+ AI	0.2	22.7 ± 1.2	2/10	0.38 ± 0.02
	1.0	24.6 ± 0.7	2/10	0.29 ± 0.01 *
+ SN	0.2	25.8 ± 1.1 **	0/10	0.31 ± 0.03
	1.0	29.1 ± 0.9 ***	2/10	0.19 ± 0.01 ***
Control (E)	-	32.3 ± 1.3	0/5	0.16 ± 0.01
TAA + H ₂ O	-	16.9 ± 0.4 ***	2/10	0.23 ± 0.06 ##
+ MR	0.2	16.0 ± 0.8	2/10	0.24 ± 0.01
	1.0	17.6 ± 0.5	4/10	0.22 ± 0.02
+ ST	0.2	20.3 ± 1.0 **	3/10	0.25 ± 0.03
	1.0	21.7 ± 0.9 ***	3/10	0.23 ± 0.04

表2 (續)

Treatment	Dose (g/kg)	Body weight (g)	Death Ratio	Bilirubin (mg/dL)
+ EI	0.2	24.6 ± 0.7 ***	3/10	0.25 ± 0.02
	1.0	18.7 ± 1.0	3/10	0.23 ± 0.02
+ CJ	0.2	23.1 ± 1.5 ***	5/10	0.24 ± 0.01
	1.0	19.7 ± 1.2 **	5/10	0.18 ± 0.01
+ CB	0.2	17.6 ± 0.7	1/10	0.24 ± 0.03
	1.0	25.8 ± 1.3 ***	5/10	0.28 ± 0.02
Control (F)	-	27.6 ± 1.0	0/7	0.18 ± 0.01
TAA + H ₂ O	-	16.3 ± 0.8 ***	3/10	0.34 ± 0.04 ***
TAA + BM	0.2	17.9 ± 0.6	4/10	0.29 ± 0.02
	1.0	18.5 ± 0.8	3/10	0.29 ± 0.04
+ SID	0.2	20.9 ± 0.2 **	5/10	0.25 ± 0.01
	1.0	18.5 ± 1.4	5/10	0.34 ± 0.08
+ BF	0.2	18.3 ± 1.8	5/10	0.23 ± 0.02
	1.0	15.8 ± 0.8	2/10	0.28 ± 0.05
+ GB	0.2	19.6 ± 0.8 *	4/10	0.24 ± 0.01
	1.0	14.1 ± 0.5 *	3/10	0.25 ± 0.02
+ IL	0.2	19.5 ± 1.4 *	3/10	0.26 ± 0.02
	1.0	20.9 ± 0.7 ***	2/10	0.27 ± 0.01

All values are means ± S.E. ##P<0.01, ###P<0.001 compared with control group.

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with TAA + H₂O group.

表 3 三十種藥材對 TAA 誘發血清 GPT 的影響

Treatment	Dose g/kg	GPT (U/L)			
		Week 1	Week 3	Week 6	Week 8
Control (A)	-	41.2 ± 0.9	38.0 ± 2.7	42.6 ± 3.1	40.5 ± 5.0
TAA + H ₂ O	-	356.6 ± 87.1 ^{###}	173.3 ± 27.7 ^{###}	139.8 ± 19.0 ^{###}	109.4 ± 12.7 ^{##}
TAA + HC	0.2	303.7 ± 53.0	188.8 ± 46.8	140.6 ± 30.2	116.6 ± 9.2
	1.0	410.5 ± 143.2	125.0 ± 15.7	93.0 ± 5.0	114.3 ± 8.8
+ MB	0.2	466.4 ± 51.8	222.2 ± 23.0	137.0 ± 8.0	135.1 ± 27.3
	1.0	399.8 ± 69.2	168.9 ± 20.0	117.9 ± 7.1	109.8 ± 11.5
+ IC	0.2	342.6 ± 67.1	116.8 ± 13.0	143.1 ± 7.4	81.3 ± 7.2
	1.0	602.4 ± 87.9	125.3 ± 30.5	129.4 ± 8.7	173.2 ± 28.0
+ TD	0.2	305.3 ± 57.3	109.2 ± 10.5	185.3 ± 21.4	133.4 ± 18.0
	1.0	296.8 ± 117.1	145.8 ± 9.1	146.7 ± 11.0	101.3 ± 12.1
+ BP	0.2	185.3 ± 61.7	173.3 ± 23.7	156.0 ± 25.4	112.0 ± 17.8
	1.0	495.8 ± 137.5	246.9 ± 22.2	177.0 ± 16.4	97.6 ± 8.8
Control (B)	-	40.3 ± 1.5	41.3 ± 1.9	452.0 ± 4.2	42.2 ± 7.6
TAA + H ₂ O	-	332.9 ± 48.2 ^{###}	156.8 ± 7.1 ^{###}	153.5 ± 13.5 ^{###}	124.9 ± 9.7 ^{###}
TAA + HD	0.2	120.9 ± 11.7	209.8 ± 34.0	147.4 ± 14.4	128.9 ± 15.3
	1.0	208.4 ± 39.0	205.6 ± 37.6	231.6 ± 23.9	150.4 ± 20.4
+ WC	0.2	222.0 ± 34.6	157.0 ± 17.7	164.6 ± 15.6	117.0 ± 8.8
	1.0	228.0 ± 45.2	270.0 ± 87.2	234.5 ± 25.6	182.7 ± 45.4
+ ES	0.2	112.0 ± 5.8	120.7 ± 18.4	152.7 ± 11.5	118.0 ± 13.3
	1.0	236.0 ± 33.2	151.5 ± 29.1	177.5 ± 24.1	199.0 ± 58.4
+ AB	0.2	328.0 ± 43.5	172.0 ± 17.6	184.0 ± 17.1	132.4 ± 11.0
	1.0	235.2 ± 39.0	190.0 ± 25.2	146.0 ± 10.4	112.0 ± 9.8
+ SB	0.2	400.0 ± 35.1	109.2 ± 14.9 ^{**}	186.4 ± 13.2	117.2 ± 7.3
	1.0	184.0 ± 24.3	126.5 ± 15.4	257.3 ± 29.4	115.6 ± 14.5
Control (C)	-	41.3 ± 2.5	40.3 ± 1.9	42.0 ± 6.2	42.2 ± 7.6
TAA + H ₂ O	-	332.9 ± 48.2 ^{###}	156.8 ± 7.1 ^{###}	153.5 ± 13.5 ^{###}	124.9 ± 9.7 ^{###}

表3（續）

Treatment	Dose g/kg	GPT (U/L)			
		Week 1	Week 3	Week 6	Week 8
TAA + SS	0.2	548.4 ± 92.5	414.8 ± 72.4	204.9 ± 21.6	122.0 ± 18.1
	1.0	672.8 ± 268.7	206.4 ± 37.4	138.4 ± 6.0	156.4 ± 16.3
	0.2	985.3 ± 248.0	192.0 ± 21.5	139.5 ± 10.0	147.1 ± 20.5
	1.0	438.7 ± 51.8	257.8 ± 38.3	124.0 ± 8.1	139.6 ± 20.0
	0.2	174.9 ± 31.2	178.3 ± 30.7	166.7 ± 24.2	132.0 ± 14.3
	1.0	225.1 ± 43.1	119.4 ± 5.0	122.9 ± 17.4	106.3 ± 12.6
	0.2	458.7 ± 35.2	152.4 ± 11.0	153.5 ± 14.3	105.0 ± 7.7
	1.0	862.7 ± 150.4	363.6 ± 109.7	127.0 ± 10.3	107.5 ± 11.3
	0.2	583.2 ± 82.1	231.2 ± 20.6	194.5 ± 23.5	223.6 ± 96.7
	1.0	462.7 ± 95.7	165.5 ± 12.0	128.9 ± 21.8	120.6 ± 25.7
Control (D)					
TAA + H ₂ O	-	38.8 ± 2.6	38.0 ± 8.1	40.0 ± 14.2	41.2 ± 15.6
	-	325.7 ± 51.8	173.0 ± 15.0 ^{###}	137.4 ± 13.3 ^{###}	274.3 ± 35.2 ^{###}
	0.2	357.1 ± 80.9	365.0 ± 88.4	178.9 ± 27.9	481.1 ± 48.8
	1.0	300.8 ± 67.4	237.3 ± 66.9	109.2 ± 10.0	333.3 ± 72.1
	0.2	848.0 ± 134.5	389.7 ± 84.2	191.5 ± 58.5	421.1 ± 87.9
	1.0	245.3 ± 88.5	424.5 ± 205.2	154.3 ± 31.8	327.1 ± 36.2
	0.2	247.5 ± 54.1	176.7 ± 39.6	234.3 ± 39.9	365.5 ± 90.5
	1.0	350.4 ± 110.5	269.1 ± 80.2	110.0 ± 11.0	363.4 ± 105.7
	0.2	755.8 ± 188.6	258.2 ± 23.8	124.0 ± 12.2	330.3 ± 37.8
	1.0	302.5 ± 74.1	325.5 ± 52.8	154.5 ± 18.9	442.5 ± 89.4
+ SI	0.2	1124.0 ± 270.1	308.6 ± 63.2	157.2 ± 24.6	227.5 ± 19.0
	1.0	280.7 ± 61.7	183.6 ± 37.6	159.5 ± 26.4	319.0 ± 23.6
Control (E)					
TAA + H ₂ O	-	37.6 ± 2.9	35.3 ± 3.6	37.0 ± 7.9	35.2 ± 5.6
	-	251.8 ± 35.1 ^{##}	261.8 ± 34.3 ^{##}	96.6 ± 6.7 ^{##}	68.4 ± 6.2 ^{##}
	0.2	390.4 ± 69.7	313.6 ± 54.8	151.1 ± 74.4	120.0 ± 21.6
	1.0	452.0 ± 168.8	245.3 ± 41.0	89.8 ± 3.3	79.3 ± 10.1
	0.2	483.6 ± 124.9	260.0 ± 59.3	110.7 ± 5.3	133.7 ± 31.6

表 3 (續)

Treatment	Dose g/kg	GPT (U/L)			
		Week 1	Week 3	Week 6	Week 8
	1.0	556.9 ± 141.7	255.0 ± 47.7	112.5 ± 32.1	72.0 ± 10.1
+ EI	0.2	270.2 ± 27.9	233.5 ± 37.9	125.7 ± 12.7	111.0 ± 18.8
	1.0	313.3 ± 67.9	403.1 ± 52.9	95.0 ± 9.3	162.9 ± 84.4
+ CJ	0.2	458.7 ± 89.9	382.5 ± 80.3	111.3 ± 17.5	62.4 ± 14.4
	1.0	406.4 ± 112.9	208.6 ± 41.0	120.6 ± 5.6	65.6 ± 14.2
+ CB	0.2	262.0 ± 42.2	219.2 ± 21.4	98.8 ± 10.4	98.2 ± 27.9
	1.0	346.4 ± 43.8	304.0 ± 56.9	93.5 ± 11.0	123.0 ± 61.9
Control (F)	-	40.2 ± 2.6	39.9 ± 3.9	42.3 ± 3.7	39.2 ± 4.4
TAA + H ₂ O	-	185.8 ± 29.6 ^{##}	396.3 ± 66.9 ^{###}	126.5 ± 20.1 ^{##}	77.5 ± 9.1 ^{##}
+ BM	0.2	391.3 ± 75.5	307.3 ± 81.0	102.7 ± 16.7	201.7 ± 63.4
	1.0	186.8 ± 28.4	365.5 ± 38.5	159.4 ± 21.0	114.3 ± 20.7
+ SID	0.2	150.6 ± 31.2	460.0 ± 112.9	88.0 ± 17.4	79.0 ± 15.1
	1.0	120.0 ± 31.2	213.7 ± 24.8	113.3 ± 13.0	88.0 ± 13.8
+ BF	0.2	141.1 ± 16.7	498.3 ± 143.4	125.3 ± 17.2	98.0 ± 26.5
	1.0	190.9 ± 23.2	713.8 ± 190.5	128.0 ± 28.7	51.4 ± 8.1
+ GB	0.2	244.4 ± 24.8	348.7 ± 100.4	117.7 ± 29.2	139.2 ± 24.45
	1.0	249.0 ± 37.5	681.6 ± 141.9	158.4 ± 37.2	68.6 ± 11.8
+ IL	0.2	195.8 ± 40.9	276.9 ± 31.5	99.1 ± 12.6	97.1 ± 12.5
	1.0	146.2 ± 19.6	446.5 ± 46.7	103.4 ± 20.0	83.1 ± 7.1

All values are means ± S.E.##P<0.05, ###P<0.001 compared with control group.

**P<0.01 compared with TAA + H₂O group.

表 4 對 TAA 誘發絕對和相對肝臟重量、肝臟含水量及 hydroxyproline 含量的影響

Treatment	Dose (g/kg)	Liver (g)	Liver (g/100g BW)	Liver water (%)	HP (μg/gwet issue)
Control (A)	-	1.22 ± 0.05	5.2 ± 0.3	68.3 ± 0.8	357.7 ± 31.6
TAA + H ₂ O	-	1.65 ± 0.06 ^{###}	6.8 ± 0.2 ^{###}	72.3 ± 0.3 ^{###}	449.7 ± 23.6 [#]
TAA + HC	0.2	1.74 ± 0.07	6.5 ± 0.1	72.4 ± 0.3	469.5 ± 37.5
	1.0	1.68 ± 0.04	6.9 ± 0.2	72.0 ± 0.3	526.5 ± 48.9
+ MB	0.2	1.76 ± 0.05	7.0 ± 0.4	71.7 ± 0.4	463.6 ± 22.8
	1.0	1.63 ± 0.03	6.5 ± 0.2	72.3 ± 0.3	531.7 ± 31.6 [*]
+ IC	0.2	1.82 ± 0.05	7.2 ± 0.2	71.7 ± 0.2	523.7 ± 23.9 [*]
	1.0	1.59 ± 0.04	6.4 ± 0.1	71.9 ± 0.4	517.5 ± 29.1
+ TD	0.2	1.76 ± 0.06	7.1 ± 0.1	71.6 ± 0.5	515.1 ± 36.3
	1.0	1.67 ± 0.06	6.7 ± 0.2	72.7 ± 0.6	510.7 ± 32.2
+ BP	0.2	1.72 ± 0.03	6.7 ± 0.1	71.6 ± 0.2	475.0 ± 17.8
	1.0	1.71 ± 0.04	7.2 ± 0.2	72.3 ± 0.1	488.5 ± 24.5
Control (B)	-	1.41 ± 0.14	5.3 ± 0.6	69.2 ± 1.8	365.8 ± 9.4
TAA + H ₂ O	-	1.74 ± 0.04 ^{##}	6.8 ± 0.1 ^{##}	71.9 ± 0.7 ^{##}	441.6 ± 18.5 [#]
TAA + HD	0.2	1.79 ± 0.05	7.3 ± 0.1 [*]	72.4 ± 0.3	438.2 ± 43.7
	1.0	1.74 ± 0.04	6.9 ± 0.2	72.1 ± 0.2	465.8 ± 29.0
+ WC	0.2	1.84 ± 0.04	7.1 ± 0.1	71.6 ± 0.4	469.0 ± 41.9
	1.0	1.90 ± 0.07	7.0 ± 0.2	71.7 ± 0.5	502.3 ± 61.6
+ ES	0.2	1.86 ± 0.05	7.1 ± 0.1	71.6 ± 0.4	492.8 ± 60.3
	1.0	1.79 ± 0.07	7.3 ± 0.2 [*]	72.7 ± 0.4	447.6 ± 35.9
+ AB	0.2	1.91 ± 0.08	7.3 ± 0.3 [*]	72.4 ± 0.5	390.3 ± 12.5
	1.0	1.90 ± 0.05 [*]	7.5 ± 0.3 [*]	71.9 ± 0.3	376.9 ± 14.8 [*]
+ SB	0.2	1.91 ± 0.09	7.5 ± 0.2 [*]	71.9 ± 0.4	393.5 ± 35.9
	1.0	1.86 ± 0.07	7.3 ± 0.2 [*]	72.4 ± 0.3	421.4 ± 23.3
Control (C)	-	1.41 ± 0.14	5.2 ± 0.5	69.2 ± 0.7	352.9 ± 34.6
TAA + H ₂ O	-	1.74 ± 0.0 ^{###}	6.7 ± 0.1 ^{##}	71.9 ± 0.2 ^{##}	473.6 ± 22.0 [#]
TAA + SS	0.2	1.72 ± 0.05	6.8 ± 0.1	71.5 ± 0.3	476.3 ± 39.0

表4 (續)

Treatment	Dose (g/kg)	Liver (g)	Liver (g/100g BW)	Liver water (%)	HP (μg/gwet issue)
	1.0	1.69 ± 0.04	7.0 ± 0.2	72.7 ± 0.4	366.3 ± 26.5
+ LEC	0.2	1.73 ± 0.08	6.4 ± 0.1	72.1 ± 0.5	363.5 ± 26.5
	1.0	1.83 ± 0.04	7.0 ± 0.2	71.9 ± 0.2	341.4 ± 16.7*
+ JP	0.2	1.82 ± 0.03	6.7 ± 0.1	72.2 ± 0.3	307.9 ± 23.0**
	1.0	1.87 ± 0.07	7.4 ± 0.2*	71.9 ± 0.3	298.9 ± 28.0**
+ CC	0.2	1.93 ± 0.06	7.0 ± 0.2	72.0 ± 0.2	349.8 ± 37.0
	1.0	1.81 ± 0.02	6.9 ± 0.4	72.1 ± 0.4	347.5 ± 26.1
+ LOC	0.2	1.14 ± 0.08	6.6 ± 0.4	72.8 ± 0.5	371.8 ± 11.9
	1.0	1.32 ± 0.07	7.2 ± 0.3	71.9 ± 0.5	478.5 ± 54.7
Control (D)	-	1.63 ± 0.07	5.1 ± 0.1	63.1 ± 2.7	269.7 ± 24.7
TAA + H ₂ O	-	1.63 ± 0.06	7.3 ± 0.2###	71.1 ± 0.6###	442.6 ± 18.5###
+ SP	0.2	1.61 ± 0.17	6.6 ± 0.6	72.1 ± 0.6	457.4 ± 34.9
	1.0	1.49 ± 0.05	6.3 ± 0.2*	72.7 ± 0.5	530.0 ± 25.2**
+ VT	0.2	1.76 ± 0.04	6.5 ± 0.1	71.3 ± 0.5	519.6 ± 42.9
	1.0	1.62 ± 0.11	6.4 ± 0.5	71.6 ± 1.0	509.4 ± 52.3
+ SI	0.2	1.55 ± 0.05	6.8 ± 0.1	70.8 ± 0.8	371.5 ± 27.5*
	1.0	1.41 ± 0.07*	6.2 ± 0.2**	73.5 ± 0.3**	453.9 ± 23.6
+ AI	0.2	1.41 ± 0.10	6.2 ± 0.2**	74.5 ± 0.3**	430.3 ± 19.2
	1.0	1.73 ± 0.03	7.0 ± 0.1	67.1 ± .9***	461.8 ± 35.7
+ SN	0.2	1.60 ± 0.05	6.3 ± 0.3*	71.0 ± 1.0	425.3 ± 26.4
	1.0	1.53 ± 0.03	5.3 ± 0.2**	69.9 ± 2.2	339.6 ± 26.1**
Control (E)	-	1.46 ± 0.08	4.5 ± 0.1	67.6 ± 1.1	390.7 ± 26.0
TAA + H ₂ O	-	1.06 ± 0.04###	6.3 ± 0.1###	73.4 ± 2.0###	543.0 ± 23.4###
TAA + MR	0.2	1.17 ± 0.04	7.4 ± 0.4**	73.6 ± 0.3	589.2 ± 30.7
	1.0	1.21 ± 0.05*	6.9 ± 0.2*	74.2 ± 0.4	562.9 ± 42.7
+ ST	0.2	1.52 ± 0.08***	7.5 ± 0.3***	72.3 ± 0.5	531.7 ± 39.3
	1.0	1.47 ± 0.08***	6.9 ± 0.5	72.9 ± 0.2	482.2 ± 28.9

表4 (續)

Treatment	Dose (g/kg)	Liver (g)	Liver (g/100g BW)	Liver water (%)	HP (μg/gwet issue)
+ EI	0.2	1.68 ± 0.03 ***	6.9 ± 0.1 *	72.2 ± 0.2 **	527.3 ± 28.4
	1.0	1.16 ± 0.05	6.3 ± 0.2	73.2 ± 0.5	546.3 ± 31.0
+ CJ	0.2	1.73 ± 0.08 ***	7.5 ± 0.3 ***	72.6 ± 0.3	484.3 ± 36.1
	1.0	1.28 ± 0.11 *	6.6 ± 0.7	72.8 ± 0.3	566.0 ± 118.1
+ CB	0.2	1.13 ± 0.07	6.4 ± 0.2	73.2 ± 0.2	530.7 ± 32.6
	1.0	1.86 ± 0.04 ***	7.5 ± 0.3	70.4 ± 0.3 **	394.1 ± 23.9 **
Control (F)		1.47 ± 0.07	5.3 ± 0.1	68.0 ± 0.2	390.9 ± 18.9
TAA + H ₂ O		1.21 ± 0.07 #	7.4 ± 0.3 ###	73.3 ± 0.3 ###	711.0 ± 56.3 ###
+ BM	0.2	1.39 ± 0.05	7.8 ± 0.7	74.6 ± 0.3	587.4 ± 34.5
	1.0	1.44 ± 0.08	7.9 ± 0.7	73.6 ± 0.4	577.7 ± 41.6
+ SID	0.2	1.53 ± 0.11 *	7.3 ± 0.4	72.0 ± 0.4 *	469.3 ± 32.6
	1.0	1.45 ± 0.17	7.9 ± 0.7	71.6 ± 0.9	778.1 ± 158.0
+ BF	0.2	1.43 ± 0.16	7.8 ± 0.3	71.9 ± 0.4	770.6 ± 116.1
	1.0	1.01 ± 0.06	6.5 ± 0.5	74.0 ± 0.3	526.4 ± 51.8 *
+ GB	0.2	1.62 ± 0.06 **	8.3 ± 0.5	73.2 ± 0.5	484.4 ± 30.0 **
	1.0	0.98 ± 0.05	7.0 ± 0.4	73.9 ± 0.4	571.5 ± 46.4
+ IL	0.2	1.51 ± 0.14	7.7 ± 0.7	72.7 ± 0.4	506.8 ± 24.7 *
	1.0	1.68 ± 0.06 ***	8.0 ± 0.2	72.2 ± 0.3 *	531.7 ± 24.0 *

All values are means ± S.E. #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001 compared with control group. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with TAA + H₂O group. HP: hydroxyproline; BW: body weight

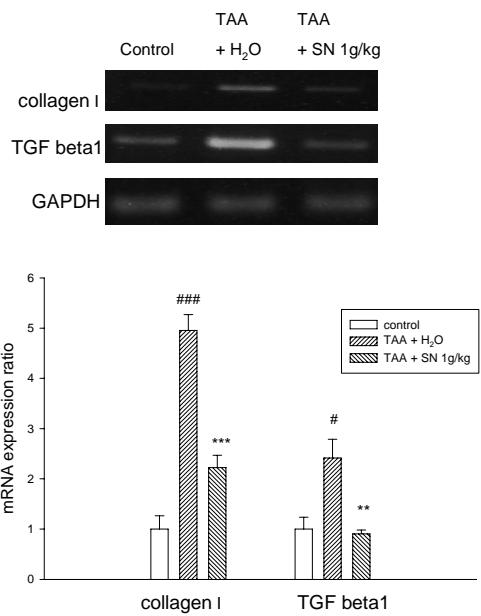


圖 1 龍葵 (SN) 對 TAA 誘發肝組織 collagen I 及 TGF-β1 mRNA 表現的影響

All values are means \pm SE. #P<0.05, ###P<0.001 compared with control group. **P<0.01, ***P<0.001 compared with TAA + H₂O group.

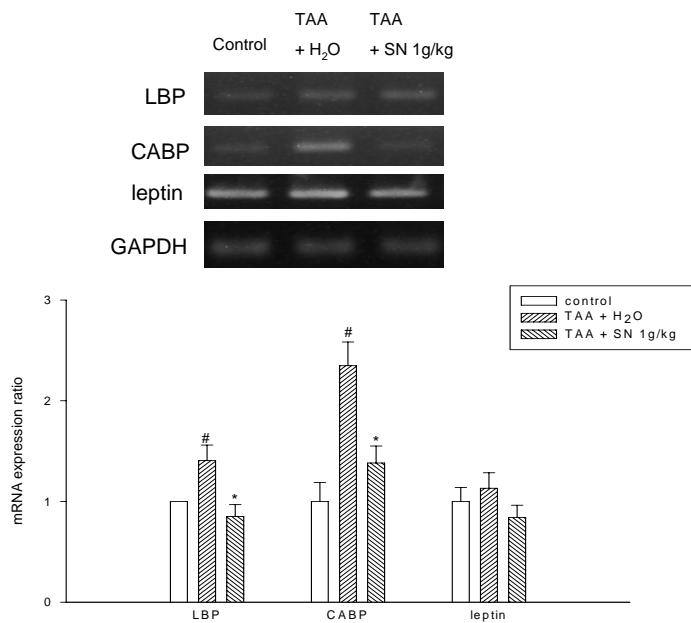


圖 2 龍葵 (SN) 對 TAA 誘發肝組織 LBP、CABP、及 leptin mRNA 表現的影響

All values are means \pm SE. #P<0.05 compared with control group. *P<0.05 compared with TAA + H₂O group.

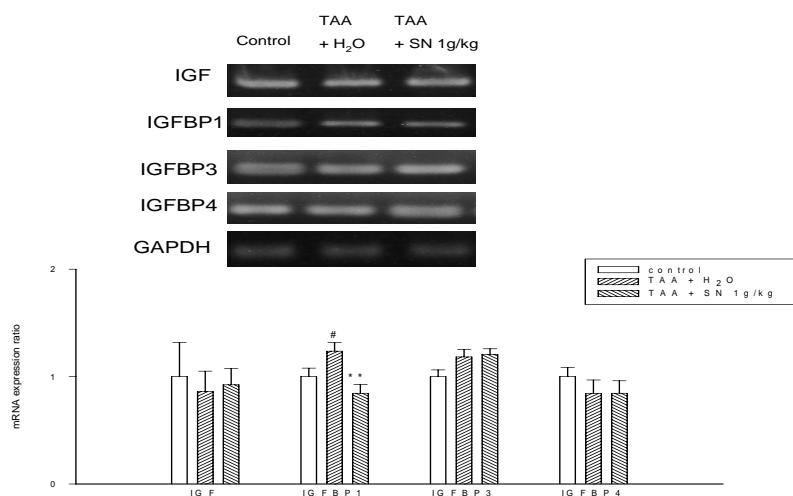


圖 3 龍葵(SN)對TAA誘發肝組織IGF、IGFBP1、IGFBP3、及IGFBP4 mRNA表現的影響

All values are means \pm SE. $^{\#}P<0.05$ compared with control group. $^{**}P<0.01$ compared with TAA + H₂O group.

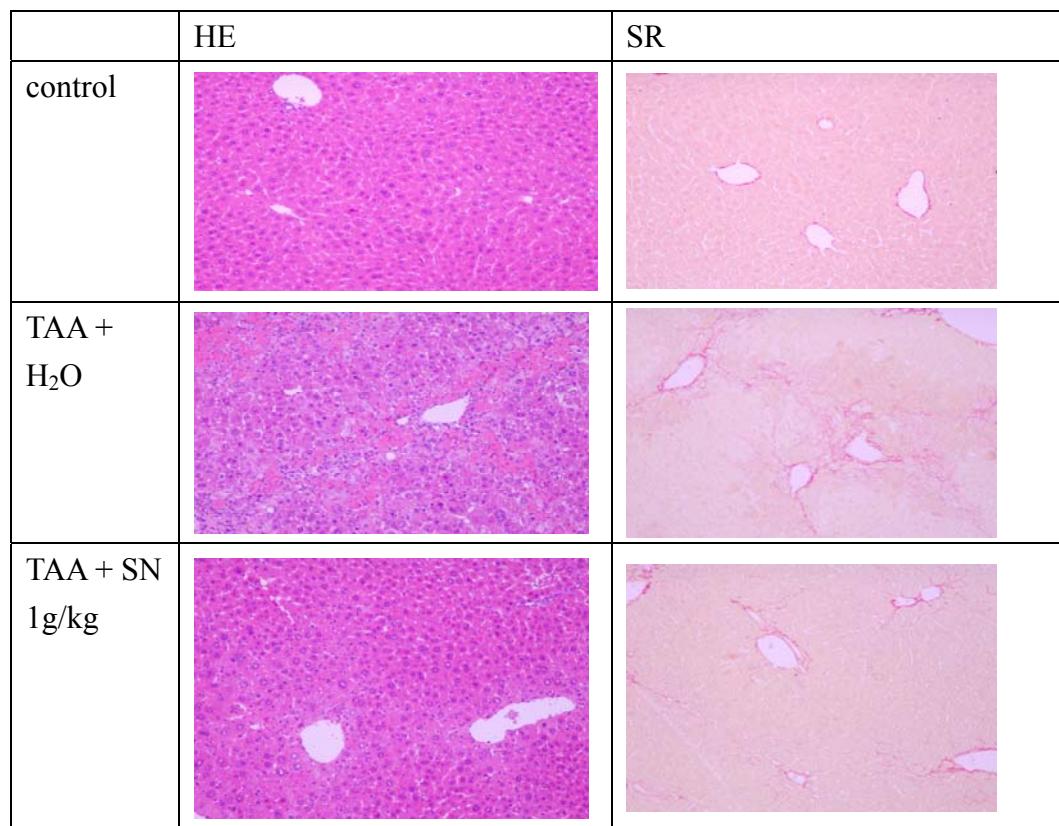


圖 4 龍葵(SN)改善TAA誘發肝組織的病變

附件一 基因體定序序列

結果

由 ITS1、ITS2 基因定序確定鑑別藥物基原有：

(一) 玉蝶梅，*Hoya carosa*

Hoya carosa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACATTCCA
CTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTGTAACAAGGTTCCGTAG
GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGACCGAAATTATATCGAAGCCGA
TTTACGGAGAACCATGTGAAATAAGCGGCGGCCGTCGCCCGCAAACG
GCCGTCCCCGTCGCTCCCCCCCCCGTCCGGACGGGGGCCGCTGGCGA
GGGCACGGGCGAAACCCCAAACCGGCGCAGATTGGCGCCAAGAGGGAGCTG
TATCCGAAAAAACACGAGCCCAGCATCGGGCCTCGTGGGTGGAGCGGT
GCTGCGCACCGCACGCATATGACACGACTCATCGACAATGGATATCCTCG
GCTCTCTGCATCGACTGAAGAGCGCAGCGAAATGCAAATACGTGGTGCCG
AATTGCAGAATCCGTNCGAACCATCGAGTCTTATGAACGCAAGTTGCGC
CCGAGGCCAATCGGTCGAGGGCACGTCAACCGCCTGGCGTCAAGCGTGT
TGCGCCGCTCCGTGCCGAGTCCCCACCATCCCACACGCAGTGGGGTGCG
CGGGCGAGGATCGGACGTGTCAGAGFTGGCTCCGTGCCATCGGTGC
GGCGGGCTGAAGAGCGGGTCATCGTCTCATTGCCACGAACAAACGAGATG
GGATCTGGATGAAAGCTGCCGCGGCCGAGGCCCGCTGTGCGTGC
CCCGAGAGAAGATTGCACCCCTTATCGCGCAGTCCCCATCCATGCGCC
GCCCGCGTGCAGGCCGCTCATGGAATCGACCCAGGTCAAGCGGGACTAC
CCGCTGAGTTAACATATCAATAAGCGG

(二) 肝炎草，*Murdannia bracteata*

Murdannia bracteata 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence

TGTCAGTGAGTGTCGGATCGCGCGACGGGGCGGTCCCCGCCGCGAC
GTCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTGTA
ACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAATCCA
CGAACGAGGACGACCCGAGAACCGTAGAAACCGAAACTCTTATTACAAA

CAAATCGCGCGGCTGGCGCCAAGGAACACTCATGCTGATGGGCGAGCG
CGGGTCCGCCCGCGCCGCCGCCGGTCGACGTCGAAAGACAAACTCGAAA
CGACTCTCGCAACGGATATCTCGGCTCTGCATCGATGAAGAACGTAGC
GAAATGCGATACTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGCAACCATCGAGCTT
T

(三) 小金英，*Ixeris chinensis*

Ixeris chinensis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence

GGTCAGTGAGTGTAGGATCGCGCGACGTGGCGGTTCGCCGCCGGCGA
CGTCGCGAGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGCGT
AACAAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGC
AATGCAGAACGACCTGTGAACATGTAATACAACATTGGTGTAGGGAGAT
GGGCCTTGGTCCTGATCTTAACATCTCCTGGCGTGCTGCATGGTGCCTC
TTTGGGCAACTTGTGAGTCTCGTCAGATCTAACAAACCCCCGGCACGGAA
TGTGCCAAGGAAAACAAAAATGAGAAGGACTTGACCTGTTCCCCCGTT
TGGGGGGTGTATACAGGTTTGGCCTCCTGAAATCACAAACAACCTCTCG
GCAACGGATATCTGGCTCACCATCAATAAAACGTACCAAAATGCAA
TTTGGGGTGAATTGCAAAATCCGTGAACCATCGTTTTTCAGCTTA
CGGAATCTCGGCTCTGTACGGAGATCTGGCTCTGAACCGATAAGTTTT
GAACGCCGGTTGCGCCCGCTCCATCCGGTTGAGGGCACGCCCTGCCGGC
GTCACGCATCGCGTCGTCCCCAACATACTCTCCCTATTGGTGTGCAT
GTTGATTGGGACGGAGATTGGCCTCCGTACTTCTGGTTCGGTTGGCCT
AAATAGGAGGCCCTCGGTGGATACACGGCTAGTGGTGGTTGTTAAGAC
CCTCGTATTGTGCTGTGTTGAGCTGTTAGGGAAACCCCTCACCAAAG
ACCCTATTGTATCGTCTTGGTACGATGCTCGACCGCGACCCCAGGTCA
GCGGGACTACCCGCTGAGTTAACATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAA
CTTACAAGGATTCACCTAGACGGGGCCAATTAAC

(四) 五爪金英，*Tithonia diversifolia*

Tithonia diversifolia 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCCGCCGGCGACGTCGCAGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGA
AGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATT
GTCGAACCCCTGCACAGCAGAACGCTAACCGTGAACAAGTCCAACACA
TCTGGCCTGCCAGGACCGAAGCGTTGTTCGGAACCGTGAAGCCTTG
TCGACGTGTGTTCCATTGATGCCCATACCTTGGTGCATCGTGGATGTT
ATGTTGACGAAATAACAAACCCCCGGCACGAGACGTGCCAAGGAAAACGA
AAATTAAAGGGCCCGTGCAGTTGCGCCCCGTTCGCGGTGTGCGNGTTGGA
TGTGGCTTCTTGTAAACTAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTC
TCGCATCGATGAAGAACGTTAGCGAAATGCGATACTGGTGTGAATTGAG
AATCCCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCCAAGCCATT
AGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGTGTACGCGATCNAAGCATCGTCAA
AGACAAACACACCGGGNTACTTAAGAACATCTACACTCAAGAAAGTAAA
CGCACAAACACGAGACGACTGTCTCACTACCCACCCACGTAGACGTGC
GTCCTCGTGAGGAGACTCCTATTAGCCAACCACGCCAGGGCACGGGAG
GACCAATCTCCGCCAACACAAGACAAACCTAGAAGGGATGCCTGTTGG
GGCGATGTGATGCGACCCCAGGTCAAGCAGGACTACCCGCTGAGTTAA
GCATATCAA

(五) 鬼針草，*Bidens pilosa*

Bidens pilosa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 26S ribosomal RNA gene, partial sequence

GAGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTCGTAACAAG
GTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAGGATCATTGTCG
AACCTGCAACAGCAGAACGACTCGTGAACATGTACTTAAACCTGGCATT
GCGAGGACCGAAGCTCTGTTGAGCCTCGTAAAGCCTTGTGACCTGC
GTTCATGGCGTCCCTGGGGCGTGGATGTAGGTGACACAACAAAC
AAATCGGCACAAACCGTGCACAGGAAACATTACATAAAGGGCCGTGCC
ATGTCGCCCCGTTACGGCAAGCGCGTGCACGTGGCCTCTTGTAAACCC
TAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTACGCATCGATGAAGAACG
TAGCAAAATGCGATACTGGTGTGAATTGAGAACATCCGTGAACCACCGA
GTTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAACGCTCTGGCCAAGGGCACGTCTG
CCTGGCGTCACGCATCACGTGCCCCCACCATCCATCCCTCAAGGGAC
ATGTTGGTGTGGGGCGGAGATTGGTCTCCTGTGCCATGGCACGGTTGGCC

TAAATAGAAGTCCCCTCATGAGTGACGCACGACTAGTGGTGGTTGATAAG
ACTGTCGTATCGTGTGCGTTCGTTCATGCGGGCTTGACTCCTTGTAA
AACCCACTTGTGTTGTCCTGTGACGATGCTTCGATCGCGACCCCAGGTCA
GGCGGGACTACCCGC

(六) 白花蛇舌草，*Hedyotis diffusa*

Hedyotis diffusa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGGCGACGTGGCGGTTGCCGCCGCGACGTCGCGAGAAGTCCACTG
AACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTG
AACCTGCGGAAGGATCATTGCGAACCTGCAAACGATCGCGAACACGTT
TTTATAAACCGCGGGCACGGACGGACTCCGTCTGGCGTTGCCCGC
ACCCAACAAAACCTCCGGCGGAAAGCGCCAAGGACTACACAAAAGGAT
CGTCCGCATCCCCCGGCGGTTCCGTTGGCGGGTGTGACGTGTCTGAAT
CGTATAACCAATACGACTCTCGCAACGGATATCTAGGCTCTCGCATCGA
TGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGAGAACATCCGTG
AACCATCGAGTTTGAAACGCAAGTTGGCCTCCGTCTCCTGGCAGCGCGGCC
GCACGCCTGCCTGGCGTCACGCATCGCCACCCCCCTGCAATGCGA
AGCGCGGGGTGACGGAAGTTGGCCTCCGTCTCCTGGCAGCGCGGCC
GCCTAAATTGAGTCCTCCGTTGGAGACGTCACGACTAGTGGTGGTTGA
AAACTTCATCCGATCGAAGCCGTGGCTTGGCAGCGCGGCC
AAAGACCCCTAGAGCCTCTCGAGGCCCTGACCGCGACCCCAGGTCAAGGCG
GGACTACCCGCTGAGTTAACGATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTT
AC

(七) 黃花蜜菜，*Wedelia chinensis*

Wedelia chinensis 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

AACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGCGAACCTGC
ATAGCAGAACACCTGTGAACACGTAAAACAACCGGCTTGCCTGGACCA
GTCAGTCTTTGTTGCGCCTGTGACGCCTGTCGACTGGTGTGTTGTG

TCCGCCACAGGGCATCATGGATAGTCAAGTTGACATAATAACAACCC
CCGGCACAAACACGTGCCAAGGAAAACAAAACATAAAGGGTCGGTCATGT
GACGCCCGTTGCGGTGCGCGCATTGCTCTGGCTTGTAAACT
TAACGACTCTCGCAAACGGATATCTCGGCTACGCATCGATGAAGAACG
TAGCAAAATGCGATACTGGTTGAATTGCAGAATCCCGTAACCACATCGAG
TTTTGAACGCAAGTTGCGCCYRAAGCCTCYGGTTGAGGGCACGTCTGCC
TGGCGTCACGCATCATGTCGCCCCACCAACCACCCCTACCCGGGATGC
GTTATGTGTTGGGCGGAGATTGGTCTCCTGTGCCATGCGTGCAGTTGG
CCTAAATAGGAGTCTCCTTRAGAGAGACCGAACAAAGACTTGTGGTGGTT
GATAACACAGTCGTCTCGTGTGCGTCGTGCTACGATGCTCGATCGCACCC
TTAAACGTACCCTCGTGCCTCGTACGATGCTCGATCGCACCC
CAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTAA

(八) 丁豎朽，*Elephantopus scaber*

Elephantopus scaber 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGCGACGTGGCGGTTGCCGCCGGGACGTCGCGAGAATTCCACTG
AACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTG
AACCTGCGGAAGGATCATTGCGATGCAACTCAAAATGAACCGTGAACAC
GCACTGAAAATATCGGGTTAGGTGAAACGGCCAGATGCTCGTCCAACCTA
TGCCCCGCTGACGGAATTATACGATGTCCTGACGGGGCTCGTAGAAGT
CTTGCCGGCGACATAACAAACCCGGCACGGAACGTGCCAAGGAATGAAA
AACTCAAGAAGGGTAGCGTGGCACATTGCGCATTGCAATTGTGCCCG
GGTCTATTGCCTTCGAAATCACAAACGACTCTCGAACGGATATCTCG
GCTCACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATACTTGGTGTGAATT
GCAGAACCCGTGAACCATCGGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCCAAGCC
ATTAGGCCGAGGGCACGTCTGCCCTGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCA
CCACGTCACGTCGTATCGTCGGCATGTCGTCGGGGCGGAGATTGGTCTC
CCATGCCGTCGCGTGTGGTGGCCAAATTGATGCCGCTTGATTGGCA
CACGACTATTGGTGGTTGAAAATACCCTCGGTCTAGAGTCGTGTTGCGAG
TCAACGGTAAAACGCCTCGTTAGAACCCGTGATGCATCGTATTGATGC
CTCGGACGCGACCCAGGTAGGCAGGGACTACCCGCTGAGTTAACATA
TCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(九) 白尾蜈蚣，*Ajuga bracteosa*

Ajuga bracteosa 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

AGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTGTAACAAGG
TTTCCGTAGGTGAACCTCGGAAGGATCATTGTCGAGACCTGCAACTGGC
AGACC GGCGAACACGTGTTAACCATCCC GGCGCTTGCCTCGCCTCGGCAT
GTCTCCTCGACCCCCCGTCGGTGC GGCGCTTGCCTCGCCTCGGC
CTAACAAACTCGGGCGCGGAATGCGCCAAGGAAA ACTCAAAGGATCGTCC
GCCCYGCCACCCCGTCGGATKGTGTTGGGGATGGACGCCTGTCGT
AATACCAAAAYGACTCTCGGAAACGGATATCTCGCTCTGCATCGATGA
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTG GTGAATTGCAAGAATCCC GTGAA
CCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCAAAGCCGT CAGGCC GAGGGC
ACGTCTGCCTGGCGTCACGCATCGCGT CGCCCCCTTCAGTGCTTCGGC
GCTCGTTGGGGCGGAGAATGGCCTCCGTGC GCCCCAGCGCCTGCGC
CGGTCCAATGCGTTCCCCCGGCTGACGCACGT CGC GACCAGTGGTGGTT
GATCAATCAACTCGCGTGCTGTCGTGGACTAGAGCGCGTTGTCCGTGCG
GAGAACAAACACAAGACCCAAAGGGTGCATTGCATTGCGCCTCCGA
CGCGACCCAGGTCAGGCGGGACTACCCGCTGA

(十) 半枝蓮，*Scutellaria barbata*

Scutellaria barbata 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGCGACGTGGCGGTTGCGCCGCCGCGACGTCGCGAGAACGTCCACTG
AACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTGTAACAAGGTTCCGTAGGTG
AACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCGAAAGCAGACCCGCGAAC
CGTGTCTTCACGACAAAAACACGCCCGCGAGGCCGGCGAGAGCGTC
CAACCCCGGGCTAACGAACCCGGCGGAAACCGCCAAGGAAAACCGA
AACGAAGCGTCCCCGCCCGTGC GTCCCGTCCGCGGATCGCGCGGGGT
GGCCGGACGTGATCGAATGTCATAACGACTCTCGCAACGGATATCTCG
GCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTGGTGTGAATT
GCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCCTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAG

CCATCAGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGCGTCACGCATCGCGTCGCTCC
CCGCACGCATCGCCTCGAGCGACGCCTATGTCGGGGGGCGGAGATTGGCC
TCCCGTGCGCCCGGTGCGCGGCCGAAATGCGATCCCCCGGCGACG
CACGCCCGACAAGTGGTGGTTGAGCCTCAACTCGCGTGCTGTCGGCG
CCAAGGCGTCGTCGTTGGAGAACACATCGATCGATGTTGGACCAA
CGGCCCTTAATAGAGCCATCGACCGCGACCCCAGGTCAAGCGGGACTACC
CGCTGAGTTAACCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(十一) 虎耳草，*Saxifraga stolonifera*

Saxifraga stolonifera 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence

GTGGCGGGTCGCTGCCTGCGACGTGCGAGAAGTCCATTGAACCTTAT
CATTAGAGGAAGGAGAACGTAACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGC
GGAAGGATCATTGTCGCCACCTGCTCAAAGCAGAACAACTTGTGAACAC
GTAATCGCAACCCTACGAACTAAAGGCGCTGTCTTCTTGGCATGCCGC
CCTTCGTTCCAATGTCGAGGCCTGCCCGGTGAACACGCAGCACCCGAA
CGCCCGTCGTTGAGCTGCGTTTCCGGTTGACTTGACATGAAACAA
AAACCCGGCGTGAATGCGCCAAGGAAATTAAAAGAATGTGCATCTGTT
CCGTGGTTGCTCGTGAACATTCGGAAGGATGTCATCTCTTGATGT
CTTTAATAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGA
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAAGAACCGTGAA
CCATCGAGTCCTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATCAGGCCGAGG
GCACGTCTGCCTGGCGTCACGCCCTCTCCGCTAAGGATTGGCGGGA
CTTGTGCGAGCAGAGATTGGCATCCCGTGCTTACGTCAAGCACGGTTG
CCTAAACACGAGTACCGGTGATGAAATTCA CGCCAAGTGGTGGTTCAT
AAACCTCAAGGGTTGCCAGTATGCCGTGGAAGCCATCACTCGGAA
AGCTCAATGGACACCTTGAACGTCTAAATTGATGCTATTGTCGCGACCC
CAGGTCAAGGCGGGATTACCCGCTGAATTAAAGCATATCAATAAGCGGAG
GAAAAGAAAACCTTAC

(十二) 虎咬瘍，*Leucas chinensis*

Leucas chinensis 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CCTGGCATACTGCATGCCTACGGAATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCG
GCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGG
ATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCT
CTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATA
TCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCT
AACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCTCGGCTCTCAACGGATATCT
CGGCTCTCAACCGACATCTCGGCTCCCTGGGGCATCTCGGCTCCCTGC
GGCGATCGCGACCCCCGGCCAGGCGGGACAACCCGCGCCTCGGGGACAT
ACCAATGAGCGGGAGGAAAAGACACTTACAAGGAGTCACCCAGGCCACTGG
CGACTACGAGCCCTCGCGAGGCCGGACC GTTGCGGGAGAAGATCCC
GGGGAAATAAGAAC TTGGGGCGA

(十三) 鼠尾癀，*Justicia procumbens*

Justicia procumbens without successful sequence data

(十四) 石壁癀，*Cheilanthes chusana*

Cheilanthes chusana without successful sequence data

(十五) 半邊蓮，*Lobelia chinensis*

Lobelia chinensis without successful sequence data

(十六) 土荊芥，*Salvia plebeia*

Salvia plebeia 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GGCGACGTGGCGGTTGCCGCCCGCGACGTCGCGAGAAGTCCACTGAA
CCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTGA
ACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCAAAGCAGACCGCGAACACG
TGTTAACACTGCCGGTGC CGCGTGGGGCAACCCCGTCTCGTAC
TCGGTCCCTGCCGGCGCGTCCCTGGGCGTGT CGTGC GGCTAACG
AACCCGGCGGAATGCGCCAAGGAATACTAATCGAAGCGTCCGCC
CTGTGCTCCGTTGCCGGTGTGCGGGGGACCGGATGTCTATCAAATG
TCAAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGA

ACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCA
TCGAGTCTTGAAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTAGGCCGAGGGCAC
GTCTGCCTGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCTCCCCACGTAAAGCG
TGGGTTGTGGGGCGGAAATTGGCCTCCCGTGTGCCTCGGTGCGCGGCT
GGGCCCATGTGATCCCTCTCGACACTCGTGTGACACGTGGGGGTG
AAAAACTCTCTCTTGTGTCGCGTCTGTCTATTATGGGCATCCA
TCTCTGAGACAATGGGGTGGGGGCCACGGTGCGCACCTTCTACAGC
GACACCCCGTGACGCGGGATTACCCGCTGA

(十七) 小山葡萄，*Vitis thunbergii*

Vitis thunbergii 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGAGGCGACGTGGCGGTTGCCGCCCGACGTCGCGAGAACGTCCACT
GAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTCATAACAAGGTTCCGTAGG
TGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCGAAAGCAGACCCGCGA
ACACGTGTCTTCACGACAAAAACAACGCCCGCGAGGCCGGCGAGAGC
GTCGCAACCCGCGGGCTAACGAACCCGGCGCGAACGCGCCAAGGAAA
ACCGAAACGAAGCGTCCCCGCCCGTGCCTCCGTCCGCGATCGCGCG
CGGGGTGGCCGGACGTCGATCGAATGTCATAACGACTCTCGGCAACGGA
TATCTCGGCTCTCGCATCGATGAGAACGTAAGGAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGG
TGTGAATTGAGAACATCCGTGAACCATCGAGTCTTGAAACGCAAGTTGC
GCCCGAAGCCATCAGGCCGAGGGCACGTCTGCCCTGGCGTCACGCATCG
CGTCGCCCCCGCACGCATGCCCTCGAGCGACGCCGATGTCGGGGCG
GAGATTGGCCTCCGTGCGCCCCGGTGCAGCGGCCGAAATGCGATC
CCCCGGCGACGCACGCCCGACAAGTGGTGGTTGAGCCTTAACACTCGCG
TGCTGTCGGCGCCAAGGCGTCGTCGTTGAGGAGAACACATCGATCG
ATGTTGGACCCAACGCCCTTAATAGAGCCATCGACCGCGACCCCAGGT
CAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTAACGATATCAATAAGCGGAGGAAAA
GAAACTTAC

(十八) 黃水茄，*Solanum incanum*

Solanum incanum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S

ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

TCGCGAGAAGTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTA
ACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGC
ACAGCAGAACGACCCCGCAACACGTTCAAACACCAGGGGAGCCGCGCG
YGCAGGGCGCTCCGRCGCCGCCCCCGCGTCTCCCCCTCGCCCCCTCTC
CGGGGGGCCAACGAACCCCAGCGAAAACCGCCAAGGAATACTCAA
CGAGAGCCCTCCGCCGTGCCCTGTCCCGGGGCTTGCGGGCGGATGCG
TGCTTCTTCGAAACCAAAACGACTCTCGAACGGATATCTCGGCTCT
CGCATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAG
AATCCCGTAACCATCGAGTCTTGAAACGCAAGTTGCGCCGAAGCCGT
CAGGCCGAGGGCACGTCTGCCCTGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCG
CACGTCGCTCGCGTCGCGGGGGCGGATACTGGCCTCCGTGCGCCTCG
CGCCCGGGCCGGCTAAATGCGAGTCCACGTCGACGGACGTCGCGGCA
AGTGGTGGTTGTAACTCAACTCTCTGGTGCCCGGCCAAAGCCCGTCG
CGCGTGCACGCTCCACGACCCCTGCCGGCGTAGCGCGCTCCGACCGCGA
CCCCAGGTCAGGCAGGACTACCCGCTGAGTTAACG

(十九) 野狐，*Aeginetia indica*

Aeginetia indica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGTCGCGAGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACG
TAACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGTAAAGTCGTAACAAGG
TTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGATTCCCTGAATAGGA
TAACTGTGAACATGTTTATATAGGATCGGTGTGAGGTAACCTCAC
AGTGATGCCCTACGCTCGTGTGCTCAGTGCAGGAAACAAACCC
GGCACGGAATGTGCCAAGGATAACTAAAGGACTGTCTTCTCATATGC
CTCGTTAGCGCGAAGCAGTGGGTTAAGATATGCCACAACGTGAACGAC
TCTTGACAACGGATATCTCGGTTCTCACAAACGATGAAGAACGTA
ATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTAACCACGAGTTTT
GAACGCAAGTTGCGCCTGAAGCTTCTTGCTGAGGGCACATCTGCCTGG

GTGTCATGCATCTTGTGATCCCTTCATTATAAGTTGGATGGTCGGA
TAATGGCCTCCGTATGTGTAAGCATGAGGTTGGTGAAATGGATTGCG
TGGCTTCCATTGTGATGGCAAGCATTGGTGAGAAATCTCTTGCTTT
GTGTTGACAGTGTGTTGTCCTCGAAGACCCAATGATGTGACATGGTTG
TGCCATAAAAGCGACCCCAGGTCAGATGGGATCACCCGCTGAGTTAA
GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(二十) 龍葵，*Solanum nigrum*

Solanum nigrum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCCGCCGGCGACGTCGCGAGAATTCCACTGAACCTTATCATTAGAGG
AAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCGTAGGTGAACTGCGAACGACATT
GTCGAAACCTGCAAAGCAGAACGACCGCGAACACGTTCAAACACCAGGG
GAGCAGCGCGCGCGGGTGCTTCGGCGTCCCTCCGCGCGCGTTCCCCCT
CGTCCCCGGCTCGTCCGGCGACTAACGAACCCCGCGCGAAAAGCGC
CAAGGAATACTTAAACTGAGAGGCCCTCCCGTCCGCGGGAG
TGTGCGGGGGGATGCGCGCTCTTTGAAACCAAAACGACTCTCGGCAA
CGGATATCTCGGCTCTCGATCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATAAC
TTGGTGTGAATTGCAGAACATCCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAG
TTGCGCCCGAACGCCATTAGGCCGAGGGCACGCTGCCTGGCGTCACGC
ATCGCGTCGCCCGAACGCCGCAAGCGTGTGGCGGATACTGGC
CTCCCGTGCCTAGAGCTCGTGGCTGGCTAAATGCGAGTCCACGTCG
ACGGACGTCGGCAAGTGGGGTGAAGACTCAACTCTTTGTGTCG
GGCTACAGCCCGTCGCGCGTCCGGACTCCAGACCCCTTAAGCGCTTAGG
CGCTCCGACCGCGACCCCAGTCGAGGGACTACCCGCTGAGTTAAAG
CAT

(二十一) 桶交藤，*Mallotus rependu*

Mallotus rependu 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGCGACGTGGCGGTCGCCGCCGGCACGTCGCAGAACGAGTCCA
CTAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGAGTCAACAAGGTTCCG
TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCTCTGCAGAAC
GACCCGCGAACACGTTACAATACATGCGCGGAGCGGGGGGGCTTA
TGCTCCCCGGATCCACCGATGCTGACGGGACGGATGGGGGGGCTTAT
GCTCCAAAACCATCCGCTCGGAGGCGAATAACCAACCCGGCGCA
GGTAGCGCCAAGGAATACGAACCAAAAGAGCACGCTGCCACAGTCC
CCGGAAACGGCGGCCCTGGGCACCGTGCACACTTTCAAAATCA
TAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTGCATCGATGAAGAA
CGCAGAAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGAGAACATCCCGTGAATC
ATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCGAAGCCTCCGGCCAAGGG
CACGTCTGCCTGGGTGTCACGCAACCGTTGCTCCAACCCCTTAGGG
GCACTGGGGCGGATGCTGGCCTCCCGCGCTGCTAGGCGCGCGC
TGGCCAAAAGCCGAGTTCCGGCGAGGGTTGCCACGACAATCGGTG
GTTGTAAGACCCTCTGAAACAGTCGTGCGGACAATCCTACGCCGCGA
GGGACCCCCGAGACCCCGATGCAGCCTGGACGGCATGCTCCGATCGC
GACCCCAGGTCAAGGCGGGACTACCCGCTGAGTTAACGATATCAATA
AGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(二十二) 倒吊風，*Saurauia tristyla*

Saurauia tristyla without successful sequence data

(二十三) 牛筋草，*Eleusine indica*

Eleusine indica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CCGCCGGCGACGTGCGAGAACGAGTCCACTGAACCTTATCATTAGAGG
AAGGAGAACGAGTCAACAAGGTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGAT
CATTGTCGTGACCCCTAAACCAAAACAAACCGTGAACATGTCATCCAT
GCTGCCGGCGATGGGTCTGACCCATCTCTTGGAACAGGGCGGCC
ACCTTCTTGTAGAAGGTGGTGGTCCAAAAGAACCTACGGCGCCGCA
TGGCGTCAAGGAAAACTAATATTGCTTGGCGGTGGTCCATTGGCA
TGCCGTATGTACCCGTGCAGTGATGCATTGTTAACGACATGACTC
TCGGCAACGGATATCTTGGCTCTGCATCGATGAAGAACGTTAGCAAA

ATGCGATACTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTAACCATCGAGTT
TTGAACGCAAGTTGCGCCCGAGGCCTTTGGTCGAGGGCACGTCTGC
CTGGCGTCACGTAAAAGACACTCCCTACCATTCTGGTGTGGAC
GTGGATTTGGCTCCTCATGCCTCGGGCGTGGTGGACAAAGATGGA
GCTGCCGGTTGTGCCGATCGCAGCACAAGGTGGATGACGAATGTTGT
TCTCACTGCTTGATCGAACAGCTCCGGTGTGCAATGGCTCTATG
GACCCATGGATTGAAGTGCATGTTATCAAACCGCGTCCCCAGGTCA
GTCGGGACTACCCGCTGAGTTAACGCATATCAATAAGCGG

(二十四) 大薊，*Cirsium japonicum*

Cirsium japonicum without successful sequence data

(二十五) 大七層塔，*Ocimum basilicum*

Ocimum basilicum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GGCGACGTGGCGGTTCGCCGCCCGACGTCGCGAGAAGTCCATTG
AACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGCTGAAACAGGTTCCGTAG
GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCAAAGCAGACCGCG
AACACGTGTTAACTCATCCCCGCCGATCGCGTGCAGGGCTAA
CGAACCCCCGGCGCGAAAGCGCCAAGGAAAAGTACGTAGCGTCG
GTCCCCCCCATTCCGTTCGCGGGTCTGCGGGGGATGCGGACGTCTAT
CGAATATCAAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATIC
GATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACTGGTGTGAATTGCAGAAC
CCGTGAACCATCGAGTCTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAACGCCATT
GGCGAGGGCACGTCTGCCTGGCGTCACGCATCGCGTCGCC
TTCCCCCGCGCACCGCGCTCGGACGGGGGACGGATATTGGCCTCCC
GTGCGCCCCGGTGCAGCGCCGGCCAAATGCGATCCCCCGCGACCC
GCGTCGCGACAAGTGGTGGTTGAAACATCTCAATCTCGCGTCTCGTC
GCGCTTCCGGTCTCGAGCGGGCTCCAAAATAACCCAAATGGTGC
GGCGTTACGCCCGCCCTCGACCGCGACCCAGGTCAAGCGGGATC
ACCCGCTGAGTTAACGCATATCAATAAGCGGAGGAGAACCTTAC

(二十六) 木棉根，*Bombax malabarica*

Bombax malabarica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGCGACGTGGCGGTTCGCCGCCGCGACGTGCGAGAAGTCCA
CTAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCG
TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAGAACTGTCCCGCAGACC
GACCCGTGAACTAGTTGTACACAAACATCGCGGGGGCGAGGGT
GCGTACGTGCCCGAGCCCCCTCGGTGCCCTGGCGTTCGCGACCTCG
ACCCGTCAGGCCTCGTGGCGGGCGGATGCGTGGTCGCGTCGCTTG
CGGCAGAACCAACGAACCCCCGGCGCGAGTCGCGCCAAGGAAACGGA
ATGACGAGGAGCACGTCCGCTGCCCGCCCCGCCGCGGTGCGCGT
GCGGGCAGCGCGTGTCTCCTCCGTGAAAATTAAAGAAACGACTC
TCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCGAA
ATGCGATACTGGTGTGAATTGCAGAACCGTGAACCATCGAGTCT
TTGAACGCAAGTTGCGCCCCGAGCCATTAGGCTGAGGGCACGCC
CTGGGTGTCACGCATCGTCGCCCCCTCCAATCCCTAGCCCTCGGG
GCGGGGACGAGGTGGGGCGGAAATGGCCTCCCGTGCCTCCCG
TCGCGGTTGGCCTAAAATCGGGTCCCAGGCGACAGCGTCGCGAC
GATCGGTGGTGTGCCTCGGCGCGCTCGTTCGCGGTGCGCGCG
TTTCGCTCGGCCGGACCCATCGAGACCCTACTCGCGTCGACGAGCG
ATGCTCGCATCGCGACCCAGGTCAAGCGGGACCACCGCTGAGTT
AAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(二十七) 小鉢仔茄，*Solanum indicum*

Solanum indicum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGGCGACGTGGCGGTTCGCTGCCGCCGACGTGCGAGAAGTCCA
TTAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGGTTCCG
TAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCAAGGCAGAAC

GACCCGCGAACACGTTCAAACACCGGGGGAGCCGCCCGCGCGTCTC
CCCCTCGCCCCCTTCGGGGGGCAAACGAACCCGGCGCGAAAAG
CGCCAAGGAATACTCAAACGAGAGCCCCCGCCCGCGCCCCATCCG
CGGGCGTGCAGGGCGGTGCGCGTGCCTTCGAAACCAAAACGAC
TCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGTAGCG
AAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTAACCACATCGAGT
CTTGAAACGCAAGTTGCAGCCCAAGCCATTAGGCCGAGGGCACGTCT
GCCTGGCGTCACGCATCGCGTGCAGCCCAACCACGTCACGTGATTC
GTCGGCATGTCGTCGGGGCGGAGATTGGTCTCCATGCCGTGCGT
GTGGTTGCCAAATTGATGCCGCTTGATTGGCACACGACTATTG
GTGGTTGAAAATACCTCGGTCTAGAGTCGTGCGAGTCAACGGT
AAAACGCCTCGTTAGAACCTGATGCATCGTGAATTGATGCCGCTCGG
ACGCGACCCCAGGTCAAGGCCGACTACCCGCTGAGTTAACATATC
AATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(二十八) 山茶麻，*Boehmeria frutescens*

Boehmeria frutescens 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

GGTGACGTGAGCGGTTCGCTGCCCGGACATCGCGAGAACGTCCACTG
AACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTAACAAGGTTCCGTAG
GTGAACCTGCGGAAGGATCATTGCGTAACCTGCCATGCAGAACAC
CCGCGAACATGTTATTAAATCTCTGGCGCGTTGTGGCCCTCGGG
GAGACAAACTCGCCTGTGTTGGGGCCCCGACTTAAAACAAAAT
CGGGCGCGGTATGCGCCAAGGAAACAATAAAAGATCGAGCCGCAACC
TCGAGGAAGGACCTGGCGTGTGCGGTGGTCGCTAAATGAAAT
GTCGTAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGA
AGAACGTAGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAACCGTG
AACCATCGGTTTGACGCAAGTTGCGCCGAAGCCGTTAGGCCGA
GGGCACGTCTGCCTGGCGTCACGCACCGTCGCCCTCCCCAAACC
AGTCTTTTGACGGGATTGGGTGGGGCGGATATTGGCCTCCGTGCG
AATGCGTGCAGGGCTGGCCAAAATCGAGTCCCCGGCTTGTGCG
GACATTGGTGGTGTGCGATCTTCGGTGCCCTGTCGCGCGCAAAGT

AGCTTAGCCGAGGGACTGTGAGCAAAGACCTAACCGCGCTTGAT
GGACCCATTGAGGCGCCCTCGACGCGACCCCAGGTCAAGGCGGGCTA
CCCGCTGAGTTAACATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACTTAC

(二十九) 香茹，*Glossocardia bidens*

Glossocardia bidens 5.8S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, complete sequence; 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

TAGCTCTACGGAATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTAACG
GATATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTAACGGATATCTCG
GCTCTAACGGATATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTAAC
GGATATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTAACGGATATCTC
GGCTCTAACGGATATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTCAA
CGGATATCTCGGCTCTAACGGATATCTGGCTCTAACGGATATCT
CGGCTCTACGGATATCTGGCTCTATGGATATCTGTGCTCT
TGGGACCTCGATGTTCTTTGGAGCAGGAAAATACTCTTGAATGA
GTTAACCTCTTGGAGAGCGGA

(三十) 刀傷草，*Ixeridium laevigatum*

Ixeridium laevigatum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence

CGCGCGACGTGGCGGTTGCCGCCGGCACGTCGCGAGAATTCCACT
GAACCTTATCATTAGAGGAAGGAGAACGTAACAAGGTTCCGTAGG
TGAACCTGCGGAAGGATCATTGTCGAAACCTGCAAGGCAGAACGACCCG
TGAACATGTACTTACAACTTGGTGAAGGGGAGATGGGCCTTAGAGCCCA
GATCTCGACATCTCCTGACGTGGTTGCATGGTGCATGTTGTGTA
ACATGTATTCTTGTCACTTAACAAACCCGGCACGGAATGTGCCAA
GGAAAACAAAAATTGAGAAGGACTTGTCCGTTGCCCGTTCGCGGTG
TGTATAATGGTCGTGTCCTCCTGGAATCACAAACGACTCTCGCAACG
GATATCTCGGCTCACGCATCGATGAAGAACGTAGCAAAATGCGATAACT
GGTGTGAATTGCAGAATCCCGTAACCATCGAGTTGAACCGATAACT
TTGCGCTCGAAAGTTGTCCCCGATCTAACCGGTAGAGGGCACGCCTGC

CTGGCGTCGCGCCTCTCGCGCCCCACCATGGTCTCCTAGTAGTTA
TCATGTTGTTGGGGCGGAGATTGGCCTCCCATGCTTGTGGTGC GGTTG
GCCTAAATAGGAGTCCCCTACGGTGGATACACGGCTAGTGGTGGTTGTT
AAGACCCTCGTCTTGCGGTGATGTGAGCTGCCAGGGAAACCCTCA
CCAAAGACCCCATTGCATTATCTTAGGACGATGCTCGACCGCGACCCC
AGGTCAGGCAGGACTACCCGCTGAGTTAACATATCAATAAGCGGAGG
AAAAGAAATTAC

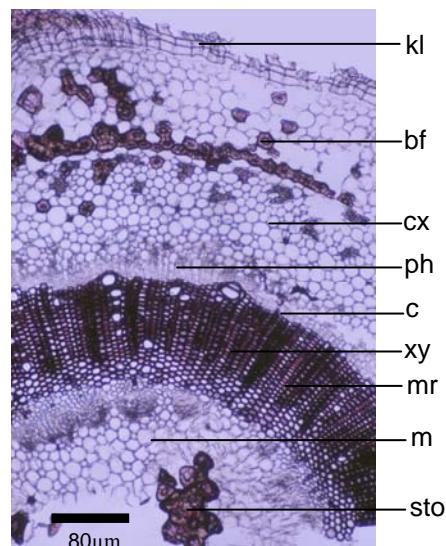
附件二、草藥組織顯微圖鑑

略字解

- bf bast fiber 勒皮纖維
bs vascular vundle sheath 維管束鞘
c cambin 形成層
cx cortex 皮（皮部）（皮層）
en endocarp 內皮
co collenchyma 厚角組織（細胞）
ep epidermis 表皮
h hair 毛
kl cork layer 桤皮層
m mark (pith) (medulla) 體
mr medullary ray 體線
ph phloem (leptome) 筛部
pxy xylem parenchyma 原生木部
st stone cell 石細胞
vb vascular bundle 維管素
vh hadrocentric vascular bundle 外篩維管素
xy xylem 木部



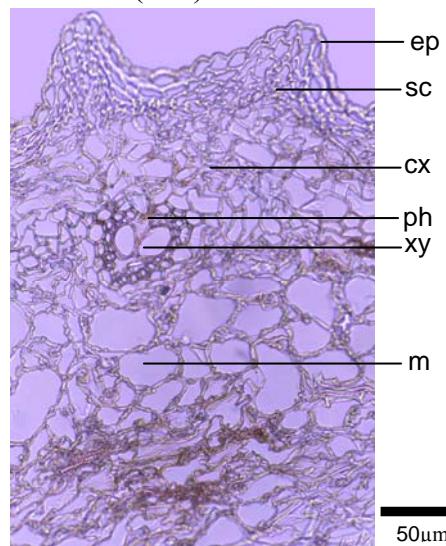
圖 1-1 繡球蘭之藥材



玉蝶梅（繡球蘭）*Hoya carnosa* (L. f.) R. BR.



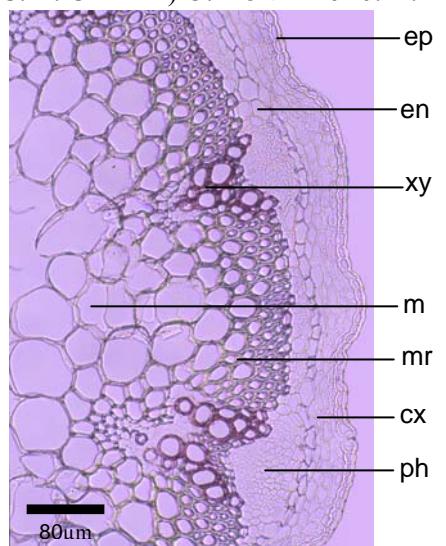
圖 2-1 肺炎草之藥材



大苞水竹葉（肺炎草）*Murdannia bracteata* (C. B. CLARKE) O. KUNTZE ex J. K. MORTON



圖 3-1 小金英之藥材



兔兒菜（小金英、山苦買）*Ixeris chinensis* (THUNB.) NAKAI.

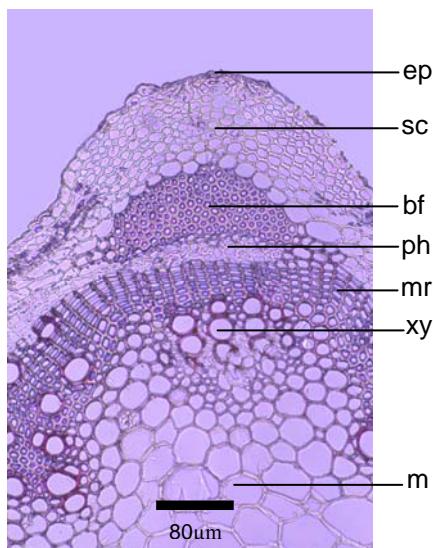


圖 4 五爪金英 *Tithonia diversifolia* (HEMSL.) A. GRAY



圖 5-1 鬼針草之藥材

圖 5-2 鬼針草藥材莖之組織圖 (125X)

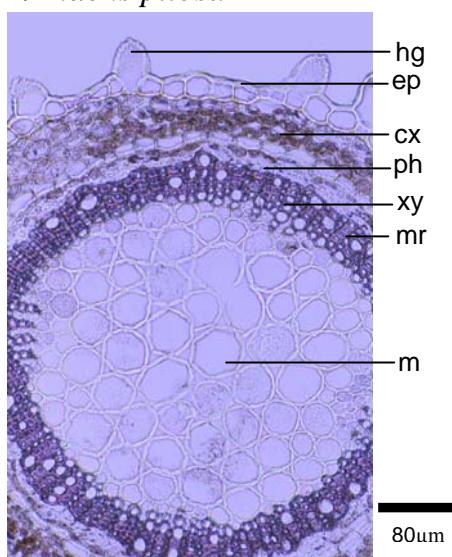


咸豐草 (鬼針草) *L. Bidens pilosa*



圖 6-1 蛇舌草之藥材

圖 6-2 蛇舌草藥材莖之組織圖 (125X)

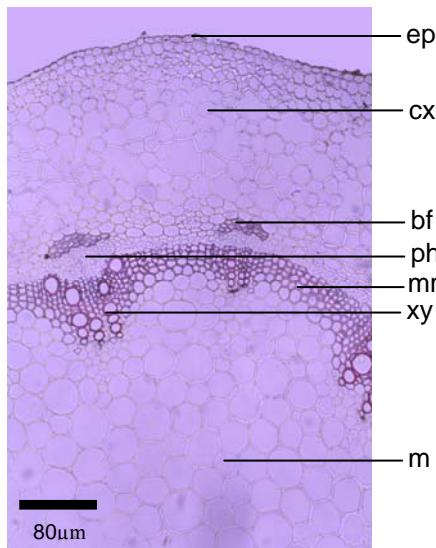


白花蛇舌草 (蛇舌草) *Hedyotis diffusa* WILID.



圖 7-1 黃花蜜菜之藥材

圖 7-2 黃花蜜菜藥材莖之組織圖 (125X)

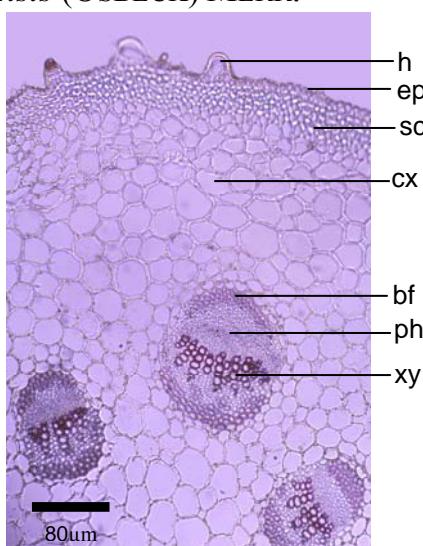


黃花蜜菜 *Wedelia chinensis* (OSBECK) MERR.



圖 8-1 丁豎朽之藥材

圖 8-2 丁豎朽藥材莖之組織圖 (125X)

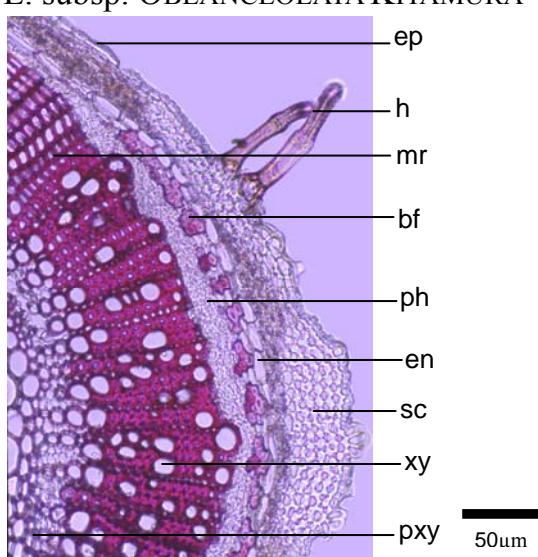


毛蓮菜 (丁豎朽) *Elephantopus scaber* L. subsp. *OBLANCEOLATA* KITAMURA



圖 9-1 白馬蜈蚣之藥材

圖 9-2 白馬蜈蚣藥材莖之組織圖 (200X)

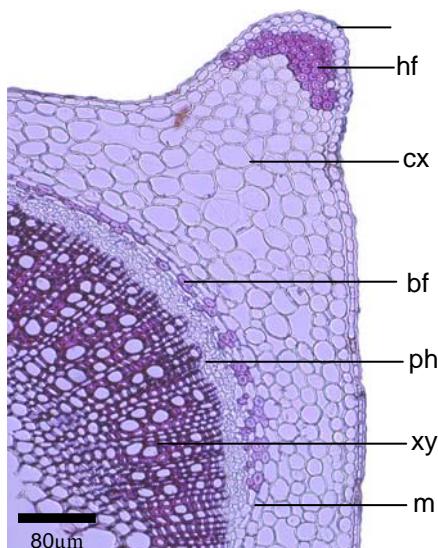


散血草 (白馬蜈蚣) *Ajuga bracteosa* WALLICH.



圖 10-1 半枝蓮之藥材

圖 10-2 半枝蓮藥材莖之組織圖 (125X)

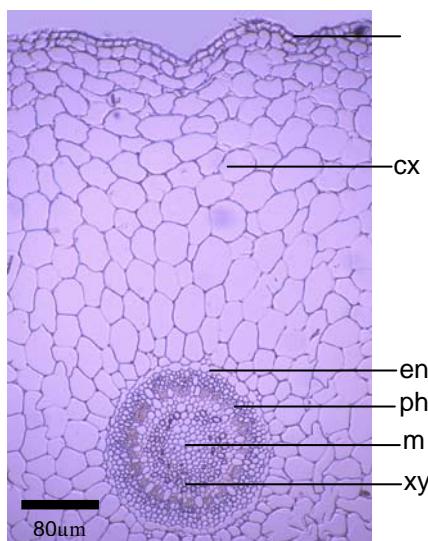


半枝蓮（向天盞）*Scutellaria barbata* D. DON.



圖 11-1 虎耳草之藥材

圖 11-2 虎耳草藥材莖之組織圖 (125X)

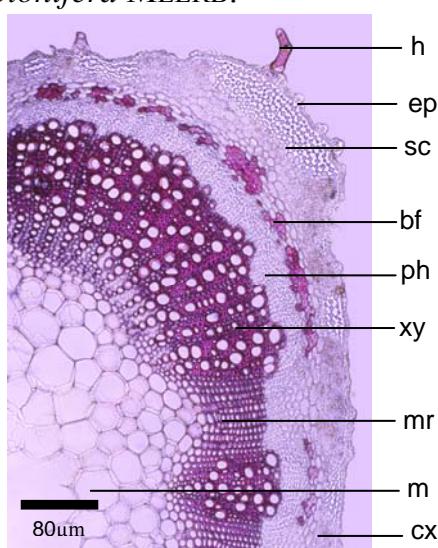


虎耳草 *Saxifraga stolonifera* MEERB.



圖 12-1 虎咬癀之藥材

圖 12-2 虎咬癀藥材莖之組織圖 (125X)

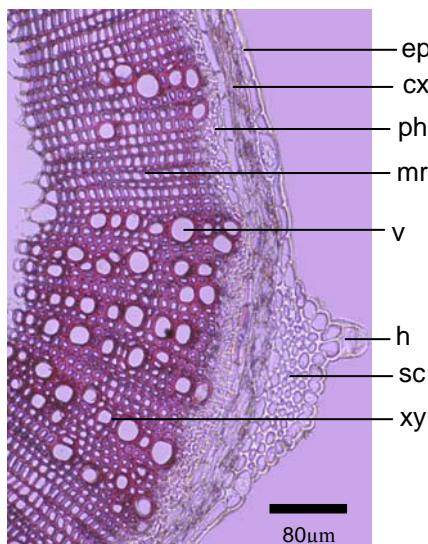


白花草（虎咬癀）*Leucas chinensis* (RETZ.) R. BR.



圖 13-1 鼠尾癀之藥材

圖 13-2 鼠尾癀藥材莖之組織圖 (125X)

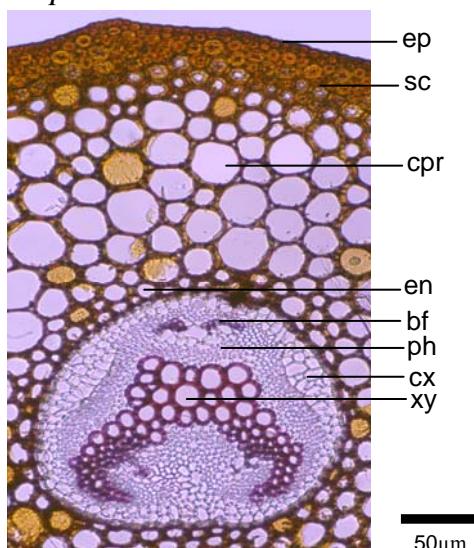


爵床 (鼠尾癀) *Justicia procumbens* L.



圖 14-1 石壁癀之藥材

圖 14-2 石壁癀藥材莖之組織圖 (200X)

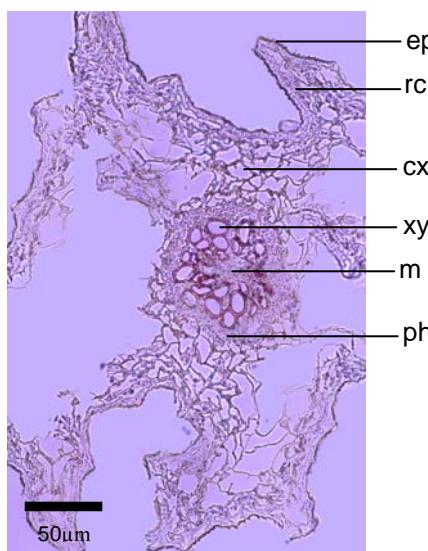


石壁癀 *Cheilanthes chusana* HOOK.



圖 15-1 半邊蓮之藥材

圖 15-2 半邊蓮藥材莖之組織圖 (200X)

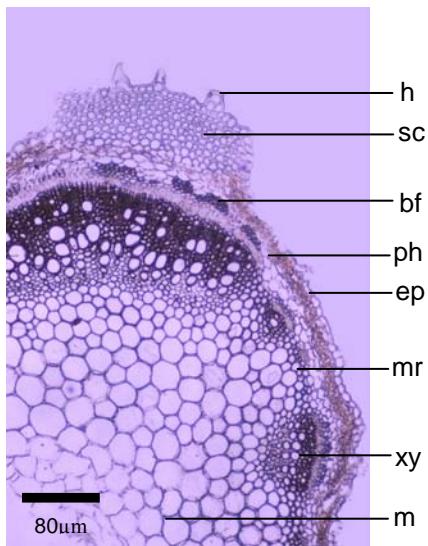


半邊蓮 *Lobelia chinensis* LOUR.



圖 16-1 土荊芥之藥材

圖 16-2 土荊芥藥材莖之組織圖 (125X)



荔枝草（土荊芥）*Salvia plebeia* R. BROWN

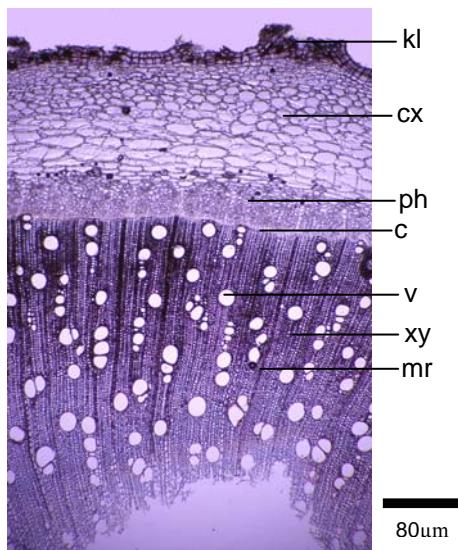


圖 17 小本山葡萄（小山葡萄）*Vitis thunbergii* S. et Z. var. *adstricta* (HANCE) GAGNEP.



圖 18-1 黃水茄之藥材

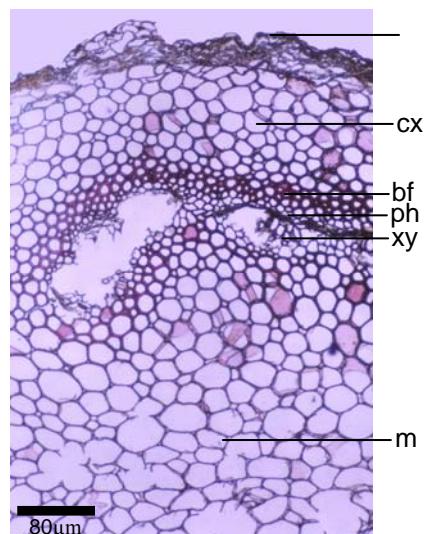
圖 18-2 黃水茄藥材莖之組織圖 (125X)



黃水茄 *Solanum incanum* LINN.



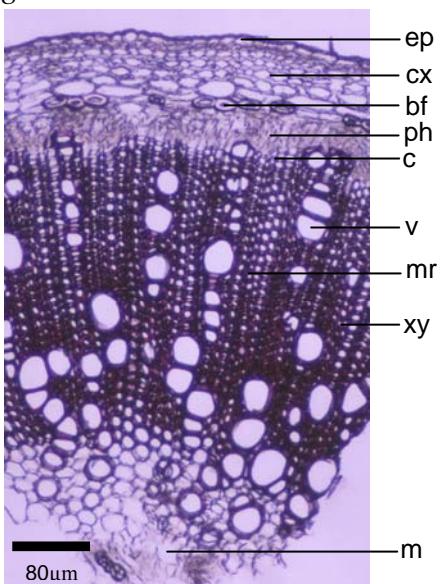
圖 19-1 官真癀之藥材



野孤（官真癀）*Aeginetia indica* L.



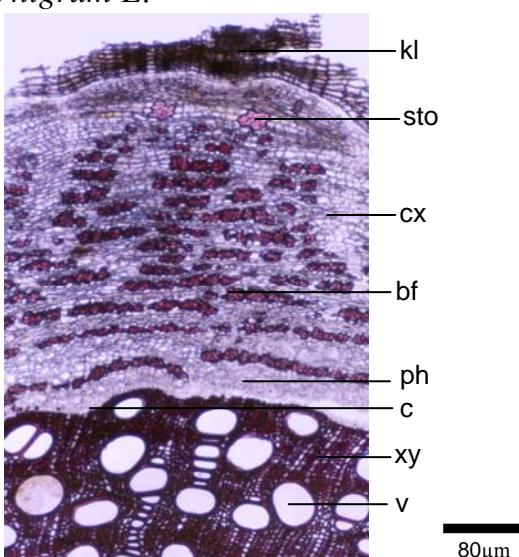
圖 20-1 龍葵之藥材



龍葵 *Solanum nigrum* L.



圖 21-1 桶交藤之藥材



扛香藤（桶交藤）*Mallotus repandus* (WILLD.) MULL.-ARG.

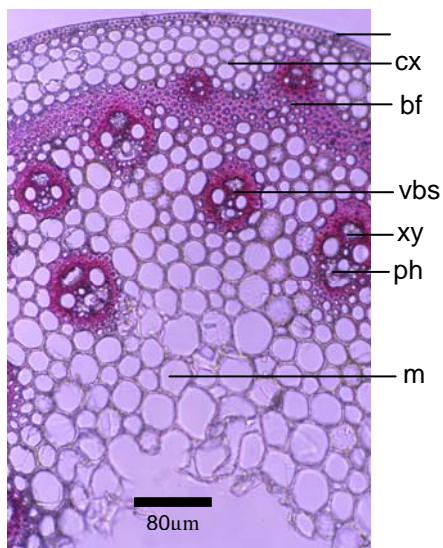


圖 22 倒吊風（水冬瓜）*Saurauia tristyla* DC. var. *oldhamii* (HEMSL.) FINET & GAGNCP.



圖 23-1 牛頓草之藥材

圖 23-2 牛頓草藥材莖之組織圖 (125X)

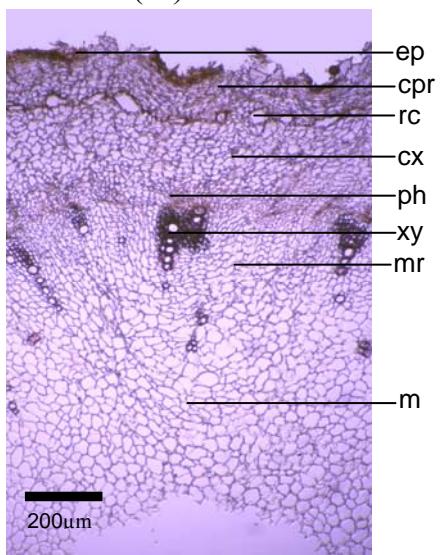


牛筋草（牛頓草）*Eleusine indica* (L.) GAERTH.



圖 24-1 雞角刺之藥材

圖 24-2 雞角刺藥材莖之組織圖 (50X)

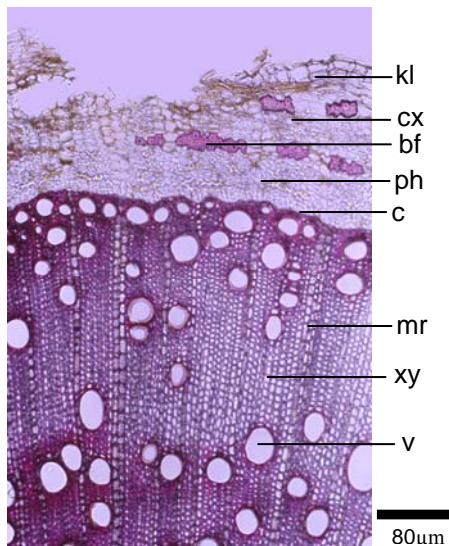


大薊（雞角刺）*Cirsium japonicum* DC.



圖 25-1 大七層塔之藥材

圖 25-2 大七層塔藥材莖之組織圖 (125X)



印度羅勒（大七層塔）*Ocimum basilicum* L.

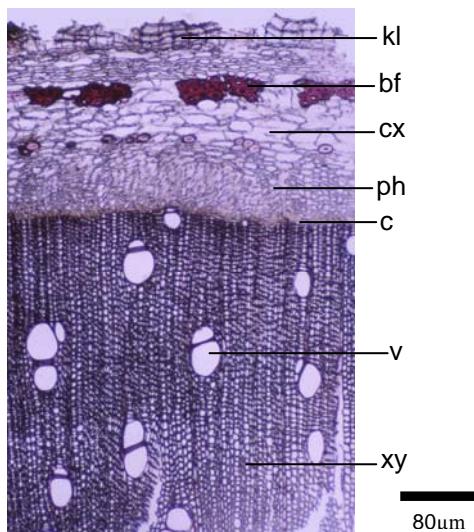


圖 26 木棉 *Bombax malabarica* DC.



圖 27-1 鈕仔茄之藥材

圖 27-2 鈕仔茄藥材莖之組織圖 (125X)



紫花茄（鈕仔茄）*Solanum indicum* L.

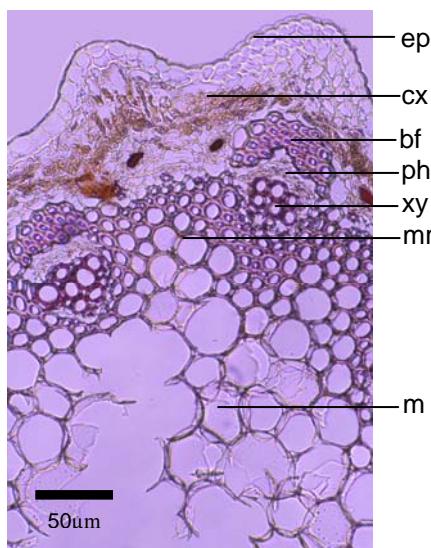


圖 28 山苧麻 *Boehmeria frutescens* THUNB.



圖 29-1 香茹之藥材

圖 29-2 香茹藥材莖之組織圖 (200X)

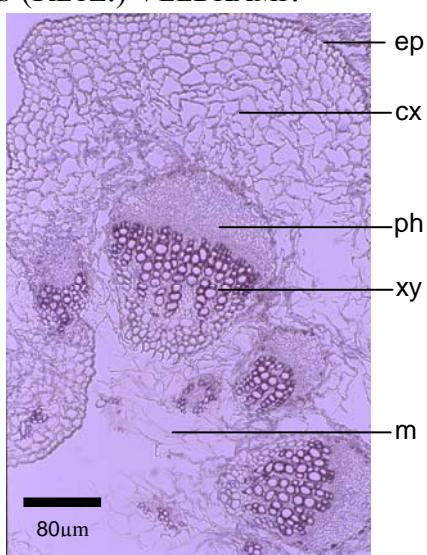


香茹 *Glossocardia bidens* (RETZ.) VELDKAMP.



圖 30-1 刀傷草之藥材

圖 30-2 刀傷草藥材莖之組織圖 (125X)



刀傷草 (三板刀) *Ixeris laevigata* (BLUME) SCHULTS-BIP. VAR. OLDHAMI.