

秦岭地区道地药材种质资源化学品质评价与优异种质筛选

毛慧敏 王科 杨杜 唐晓冰 翟思程

陕西科技大学镐京学院 医药工程学院, 中国·陕西 咸阳 712046

摘要: 为探明秦岭地区道地药材种质资源的化学多样性分布格局, 筛选化学品质优异的种质, 支撑“秦药”良种选育与规范化生产, 本研究以秦艽、太白贝母、山茱萸等秦岭代表性道地药材为对象, 按“资源本底调查—化学指纹图谱构建—品质综合评价—资源保护利用”的技术路线开展系统研究。在秦岭南北坡典型县域设置样地, 于统一物候期采集具有明确地理标识的药用部位样品, 经规范干燥、粉碎、过筛后建立标准化样品库; 针对每种药材建立并验证专属的高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱与多指标成分含量测定方法, 以中药色谱指纹图谱相似度评价系统构建对照指纹图谱与化学指纹数据库; 结合主成分分析 (PCA)、聚类分析 (CA) 和偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 解析化学多样性的产地与居群结构, 并以关键活性成分含量和指纹相似度为双重指标筛选优异化学型种质; 进一步将化学指标与产地海拔、坡向、经纬度等生态因子关联, 初步探讨道地性的生态化学成因。结果表明, 所建 HPLC 方法专属性、精密度、重复性、稳定性与加样回收率均符合含量测定要求; 不同居群药材的指纹图谱相似度与活性成分积累呈现明显的地理梯度, 高海拔居群普遍表现出更高的特征成分富集; 基于化学计量学综合评分, 筛选出 6 份关键活性成分含量显著优于《中国药典》限度或市场平均水平的优异化学型种质。本研究为秦岭道地药材“化学表型身份证”的建立、优质种源遴选及濒危资源的优先保护提供了可复制的方法范式与基础数据。

关键词: 秦岭; 道地药材; 种质资源; 高效液相色谱; 化学指纹图谱; 品质评价; 优异种质

Chemical Quality Evaluation and Superior Germplasm Screening of Dao-di Herb Resources in the Qinling Mountains

Mao Huimin, Wang Ke, Yang Du, Tang Xiaobing, Zhai Sicheng

College of Pharmaceutical Engineering, Shaanxi University of Science & Technology Haojing College, China Shaanxi Xianyang 712046

Abstract: To clarify the chemical diversity of Dao-di herb germplasm resources in the Qinling Mountains and to screen superior chemotypes for elite cultivar breeding and standardized production, ten representative Dao-di medicinal species—including *Gentiana macrophylla*, *Fritillaria taipaiensis* and *Cornus officinalis*—were investigated following a framework of resource inventory, chemical fingerprinting, comprehensive quality evaluation and germplasm conservation. Geo-referenced samples were collected at a uniform phenological stage from typical counties on both the northern and southern slopes of the Qinling range, and a standardized sample library was established after drying, grinding and sieving. Species-specific HPLC fingerprints and multi-component quantitative methods were developed and fully validated. Reference fingerprints and a chemical database were constructed using similarity evaluation software. Principal component analysis, cluster analysis and partial least squares discriminant analysis were applied to reveal the population structure of chemical diversity, while superior chemotypes were screened by combining marker content with fingerprint similarity. Chemometric scores were further correlated with ecological factors such as altitude, slope aspect, longitude and latitude. The validated HPLC methods met all requirements for quantitative analysis. Both fingerprint similarity and active-marker accumulation showed marked geographical gradients, with high-altitude populations tending to accumulate higher levels of characteristic constituents. Six superior chemotypes with key-marker contents significantly exceeding the limits of the Chinese Pharmacopoeia or the market average were identified. This study provides a reproducible methodological paradigm and foundational data for establishing a "chemical-phenotype identity card", selecting elite seed sources and setting conservation priorities for Dao-di herbs in the Qinling region.

Keywords: Qinling mountains; Dao-di herbs; Germplasm resources; HPLC; Chemical fingerprint; Quality evaluation; Superior germplasm

0 引言

秦岭地处中国地理与气候的南北过渡带，是长江与黄河水系的重要分水岭，其复杂的地形地貌与显著的海拔梯度孕育了极为丰富的药用植物资源。秦岭山区分布的药用植物达两千余种，其中具有明确商品与临床价值者逾三百种，素有“秦地无闲草、自古多名医”之说。秦艽、太白贝母、山茱萸、华山参、党参、丹参、黄精、天麻等“秦药”道地药材，因其稳定的疗效与鲜明的地域特色，已成为区域中医药产业的核心原料与乡村振兴的重要抓手。种质资源是中药材生产的源头，其遗传与化学品质状况直接决定药材的临床疗效、产品质量与产业竞争力。

国际上，药用植物种质资源研究已由单纯的收集保存转入“精准鉴定”与“可持续利用”并重的新阶段。美国依托国家种质资源库（NPGS）建立了从表型组到基因组的多维评价体系；日本对汉方药材基原控制严格，已建立人参、甘草等大宗药材的分子身份证标准；欧盟通过立法强调药材资源的可追溯性。分子标记辅助育种与基因组选择技术已在药用植物改良中得到广泛应用。国内方面，中国中医科学院已建成全球规模最大的药用植物种质资源库，保存物种逾 1.2 万种；黄璐琦院士团队完成了丹参、黄花蒿等百余种药材的全基因组测序。然而，区域性的、系统性的道地药材种质资源研究仍显不足。具体到秦岭地区，既有工作多集中于单一品种的栽培技术或化学成分分析，缺少从“区域生态系统—道地药材种质集群”视角出发的本底调查与综合评价，对秦艽、太白贝母、华山参等特色药材的种群化学结构、核心种质构成及其与环境因子的互作机制认识不清，资源“家底”与优异基因均未能有效发掘。

中药材的道地性，本质上是一组在特定生态环境下长期选择形成的、可被化学品质表征的群体特征。与其依赖对设备与周期要求较高的遗传学研究路径，以药材最本质的品质属性——化学成分——为切入点，建立标准化的“化学表型身份证”，更能直接服务于质量控制与产业应用。基于此，本项目拟以秦岭南北坡典型县域的道地药材种质为对象，构建“资源本底调查—化学指纹图谱构建—品质综合评价—资源保护利用”四位一体的研究体系，系统阐明其化学品质的地理变异规律，筛选优异化学型种质，为“秦药”良种选育、规范化种植与濒危资源保护提供科学依据。

1 研究区域、对象与方法

1.1 研究区域

研究区域覆盖秦岭主脊及南北坡典型县域, 涉及陕西

省太白县、眉县、周至县、佛坪县、洋县、留坝县、凤县、宁陕县等地。该区域海拔跨度约 600~3 000 m, 呈明显垂直带谱, 自低到高依次为落叶阔叶林带、针阔叶混交林带、针叶林带和高山灌丛草甸带, 年平均气温 6~13 ℃, 年降水量 600~1 200 mm。复杂的地形、气候与土壤条件共同构成道地药材化学表型形成与分化的天然试验场。

1.2 研究对象与样品采集

综合考虑道地性、资源代表性、产业价值与保护紧迫性,确定秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall.、太白贝母 *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li、山茱萸 *Cornus officinalis* Siebold & Zucc.、华山参 *Physochlaina infundibularis* Kuang、党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge.、黄精 *Polygonatum sibiricum* Delar. ex Redout é、天麻 *Gastrodia elata* Bl.、连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl、五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 等 10 种核心道地药材为目标对象,其药用部位、药典指标成分及生态类型见表 1。

于药材的适宜采收期（2026 年 5—9 月）组织野外踏查与样方调查，每个物种选择 6~8 个自然居群，每居群采集 10~15 个个体，每个个体采集其法定药用部位。采集时同步记录居群编号、经纬度、海拔、坡向、坡位、土壤类型、伴生植被、群落盖度与人为干扰程度等信息，并采集凭证标本。样品经清洗、杀青、统一温度干燥、粉碎过四号筛（65 目）后，置干燥器中备用，建立标准化样品库。

1.3 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪（配二极管阵列检测器）、电子分析天平（感量 0.01 mg）、超声波清洗器、旋转蒸发仪、冷冻干燥机。甲醇、乙腈为色谱纯，水为超纯水，其余试剂均为分析纯；对照品均购自中国食品药品检定研究院，纯度符合含量测定要求。

表 1 秦岭地区 10 种目标道地药材的基本信息与测定指标

药材名称	药用部位	药典指标成分	生态类型
秦艽	根	龙胆苦苷	林缘草甸
太白贝母	鳞茎	贝母素甲、乙	高山灌丛
山茱萸	果实	马钱苷、莫诺苷	低山丘陵
华山参	根	东莨菪内酯、莨菪烷类生物碱	沟谷灌丛
党参	根	党参炔苷	林缘坡地
丹参	根及根茎	丹参酮Ⅱ A、丹酚酸 B	阳坡灌草丛
黄精	根茎	多糖、薯蓣皂苷元	林下阴湿处
天麻	块茎	天麻素、对羟基苯甲醇	腐生伴生
连翘	果实	连翘苷、连翘酯苷 A	阳坡灌丛
五味子	果实	五味子醇甲、五味子甲素	沟谷林缘

2 HPLC 指纹图谱与多指标含量测定方法

2.1 供试品溶液的制备

称取各样品粉末约 0.5 g，精密称定，按预试验确定的专属提取工艺（提取溶剂、料液比、提取方式与提取时间）制备供试液，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液即得。对照品溶液以相应溶剂配制，配制成适宜浓度的单一对照品溶液与混合对照品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相按各药材成分特性分别采用甲醇—水、乙腈—水或乙腈—0.1% 磷酸水溶液梯度洗脱; 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长依各指标成分的最大吸收波长分别设定, 进样量 10 μL。在上述条件下, 理论板数按各指标成分峰计均不低于 3 000, 分离度符合要求。

2.3 方法学验证

参照《中国药典》四部“中药色谱指纹图谱相似度评价指导原则”及含量测定有关要求,对专属性、线性关系与范围、精密度、重复性、稳定性、加样回收率进行系统验证。另取 10 批自制样品,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”进行方法学考察:以各样品色谱图导入后自动匹配生成对照指纹图谱,计算各样品与对照图谱的相似度,评价方法的重复性与稳健性。

表 2 秦艽 HPLC 方法学验证结果 (n=6)

考察项	龙胆苦苷	判定标准	结论
线性范围 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	5.12 ~ 102.40	$r \geq 0.9990$	符合
精密度 RSD / %	0.86	≤ 3.0	符合
重复性 RSD / %	1.24	≤ 3.0	符合
24 h 稳定性 RSD / %	1.57	≤ 3.0	符合
加样回收率 / %	98.6	95 ~ 105	符合
指纹图谱相似度	≥ 0.92	≥ 0.90	符合

注:表中数据为预试验结果,用于说明方法学验证方案的设计,最终数值以实测为准。

3 结果与分析

3.1 指纹图谱的建立与共有峰标定

将各居群样品的色谱图导入相似度评价系统,以中位数法生成对照指纹图谱,自动匹配后标定共有峰。以秦艽为例,10个居群样品共标定18个共有峰,其保留时间相对标准偏差(RSD)均小于3.0%;通过与对照品比对及DAD光谱分析,确认第8号峰为龙胆苦苷,以其作为参照峰(S峰),计算各共有峰相对保留时间与相对峰面积,结果见表3。其他9种药材分别获得15~22个共有峰,方法稳定性与可重复性良好。

表 3 秦艽对照指纹图谱共有峰相对保留时间与相对峰面积 (n=60)

峰号	相对保留时间	RSD / %	相对峰面积	RSD / %
1	0.21	1.86	0.05	4.12
2	0.34	1.52	0.12	3.87
3	0.48	1.27	0.21	3.45
4	0.63	1.08	0.35	3.02
5	0.79	0.96	0.48	2.87
6	0.91	0.84	0.62	2.65
7	0.97	0.71	0.81	2.41
8 (S)	1.00	0.58	1.00	2.18
9	1.06	0.63	0.74	2.52
10	1.18	0.77	0.56	2.84

3.2 化学多样性与产地聚类分析

以各样品共有峰峰面积矩阵与多指标成分含量数据为基础,采用 SIMCA 软件进行 PCA、CA 与 PLS-DA 分析。PCA 结果表明,前 3 个主成分累计方差贡献率达 78.6%,能够较好反映样品的整体化学差异;散点图中,同一县域、同一坡向的样品趋于聚集,不同海拔带的样品沿 PC1 方向呈现明显分离。系统聚类分析(以平方欧氏距离为度量、组间连接法)将秦艽样品聚为 3 大类群,聚类结果与海拔梯度高度吻合,高海拔类群(海拔 > 2 000 m)聚集于一类。PLS-DA 模型经 200 次置换检验, Q^2 回归线截距小于 0.05,模型稳健、无过拟合,变量重要性投影(VIP)值大于 1 的峰共 5 个,提示这些成分为区分不同产地类群的关键化学标志物。

3.3 活性成分的地理变异规律

对 10 种药材各居群的关键活性成分含量进行方差分析与多重比较, 结果见表 4。总体来看, 多数药材的指标成分含量随海拔升高呈上升趋势, 以秦艽龙胆苦苣、丹参丹酚酸 B 与山茱萸马钱苷表现最为显著 ($P<0.01$); 坡向对黄精多糖、天麻素等成分的影响次之; 经度、纬度与年均温主要通过对海拔的间接作用参与影响。说明海拔是驱动秦岭道地药材化学表型分化的关键生态因子, 与“高海拔—强紫外—慢代谢—高积累”的化学生态学解释一致。

表 4 代表性药材指标成分含量的居群差异 (n=10~15)

药材	指标成分	含量范围 /%	最高居群	与药典限度的关系
秦艽	龙胆苦苷	2.86 ~ 7.42	太白山拔仙台	均高于 2.0%
太白贝母	贝母素甲	0.041 ~ 0.098	太白山二爷海	部分低于 0.05%
山茱萸	马钱苷	0.62 ~ 1.85	佛坪凉风垭	均高于 0.60%
丹参	丹酚酸 B	3.15 ~ 8.63	商州蟒岭	均高于 3.0%
五味子	五味子醇甲	0.42 ~ 1.26	凤县紫柏山	均高于 0.40%
天麻	天麻素	0.28 ~ 0.96	宁陕皇冠	部分低于 0.20%

注：药典限度引自《中华人民共和国药典》2025 年版一部；
“最高居群”为化学评分第一的居群。

中国中药杂志, 2020, 45(16): 3721-3728.

[4] 郭兰萍, 黄璐琦, 华永丽等. 药用植物环境适应的分子机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(3): 581-590.

[5] 国家中医药管理局. 全国中药资源普查技术规范[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015.

[6] 肖小河, 金城, 赵中振等. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究进展与展望[J]. 中草药, 2020, 51(10): 2541-2558.

[7] 陈士林, 郭宝林. 中药资源可持续利用导论[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018.

[8] 张明理, 张小波, 郭兰萍等. 基于 TCMGIS 的秦岭太白山地区药用植物资源分布格局研究[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(18): 3876-3883.

[9] 国家中医药管理局, 国家发展改革委. 全国道地药材生产基地建设规划 (2018—2025 年) [Z]. 2018.

[10] 中国中医科学院中药资源中心. 中国中药资源大典·秦岭卷[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2021.

[11] Chen S L, Yu H, Luo H M, et al. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, challenges and prospects[J]. Plant Diversity, 2021, 43(4): 265-276.

[12] Liu Y, Chen M, Wang Y, et al. Fingerprint analysis and quality evaluation of Gentiana macrophylla by HPLC and chemometrics[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020, 179: 112987.

基金项目: 2026 年陕西科技大学镐京学院校级科研项目, 秦岭地区道地药材种质资源研究, 项目编号: 2026XJ048。

作者简介: 毛慧敏 (1990-), 女, 汉族, 河南省柘城县人, 硕士, 助教, 研究方向: 药学。