DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.02.034

基于GC-MS结合多元统计方法分析野生地黄伴生土壤中挥发性有机物特征

刘雪[1],程梦娟[2],王丰青[3],龚海燕[2],刘庆普[2],雷敬卫[2],张娟[2],谢彩侠[1,2]
(1.河南中医药大学豫药全产业链研发河南省协同创新中心,河南 郑州 450046;2.河南中医药大学河南省中药质量控制与评价工程技术研究中心,河南 郑州 450046;3.河南农业大学农学院,河南 郑州 450046)

摘要:目的 对不同产区野生地黄伴生土壤中挥发性有机物(Volatile organic compounds,VOCs)进行分析,为探讨地黄药材不同产区之间差异的成因提供理论依据。方法 以道地与非道地产区的35批野生地黄伴生土壤作为研究对象,利用气相色谱-质谱联用(Gas chromatography-mass spectrometry,GC-MS)方法分析其二氯甲烷及乙酸乙酯部位中的VOCs,结合SIMCA 14.1、SPSS 24等统计软件对归一化后的数据进行多元统计分析,确定道地与非道地野生地黄伴生土壤VOCs的差异性。结果 35批野生地黄伴生土壤中二氯甲烷部位的VOCs主要有酯类、醇类、烷烃类、酚类成分,其中烷烃类、酚类、酯类的相对含量在道地与非道地产区中差异存在统计学意义;乙酸乙酯部位的VOCs主要为酯类、烷烃类、醇类、酚类、酰胺类、烯烃类成分,其中酯类、烷烃类、醇类、酚类、酰胺类、烯烃类的相对含量在道地与非道地产区中差异存在统计学意义;多元统计学分析表明,野生地黄土壤样品均按照道地产区与非道地产区各自聚为一类,烷烃类、酸类、酯类为引起两者特征差异的主要成分。结论 道地与非道地野生地黄土壤中所含的VOCs种类相似,但含量特征差异较大,烷烃类、酸类、酯类为主要差异性成分。

关键词:野生地黄;伴生土壤;挥发性有机物;气质联用
中图分类号:R284.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2026)02-0201-10

Analysis of Volatile Organic Compound Characteristics in Soil Associated with Wild Dihuang (Rehmannia glutinosa) Using GC-MS Combined with Multivariate Statistical Methods

LIU Xue[1],CHNEG Mengjuan[2],WANG Fengqing[3],GONG Haiyan[2],LIU Qingpu[2],LEI Jingwei[2],ZHANG Juan[2],XIE Caixia[1,2]
(1. Henan University of Chinese Medicine,Henan Province Collaborative Innovation Center for Research and Development of the Whole Industry Chain of Yu Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
2. Henan University of Chinese Medicine,Henan Provincial Engineering Technology Research Center for Quality Control and Evaluation of Traditional Chinese Medicine,Zhengzhou 450046,Henan,China;
3. College of Agronomy,Henan Agricultural University,Zhengzhou 450046,Henan,China)

Abstract:*Objective* To analyze the volatile organic compounds(VOCs) in the soils associated with wild Dihuang(Rehmannia glutinosa) from different regions,providing a theoretical basis for exploring the causes of differences in Dihuang(Rehmannia glutinosa) medicinal materials across these regions. *Methods* A total of 35 batches of wild Dihuang(Rehmannia glutinosa)-associated soils from the authentic and the non-authentic production areas were studied. The VOCs in the dichloromethane and ethyl acetate extracts were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). Multivariate statistical analysis was performed on the normalized data using software such as SIMCA 14.1 and SPSS 24 to identify differences in VOCs between the authentic and the non-authentic regions. *Results* The VOCs in the dichloromethane extracts primarily included esters,alcohols,alkanes and phenols,with significant differences in the relative contents of alkanes,phenols and esters between the authentic and the non-authentic regions. The ethyl acetate extracts mainly contained esters,alkanes,alcohols,phenols,amides and alkenes,with significant differences in these components between the regions. Multivariate statistical analysis indicated that soil samples were distinctly grouped by their region,with alkanes,acids and esters being the main contributors to the observed differences. *Conclusion* Although the types of VOCs in soils associated with wild Dihuang(Rehmannia glutinosa) are similar between the authentic and the non-authentic regions,their relative contents differ significantly,with alkanes,acids and esters being the primary differentiating compounds.

Keywords:wild Dihuang(Rehmannia glutinosa);associated soil;volatile organic compounds;GC-MS

基金项目:国家自然科学基金项目(82073952)
作者简介:刘雪(2001-),女,河南信阳人,硕士在读,研究方向:中药质量控制。
通讯作者:张娟(1982-),女,河南周口人,副教授,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药分析方法。E-mail:zj19820305@163.com。
谢彩侠(1977-),女,河南南阳人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中药质量控制。E-mail:nanyang.xcx@163.com。

地黄为玄参科(*Scrophulariaceae*)地黄属 *Rehmannia Libosch.* 植物地黄的新鲜或干燥块根,始载于《神农本草经》,是著名的"四大怀药"之一[1],至今已有千年的应用历史,具有清热凉血、止血作用、滋阴补肾等多种药理作用[2-3]。其道地产区为古怀庆府即如今河南焦作、武陟、孟津、博爱、沁阳、温县等地,据文献报道种植地黄适宜区域除道地产区外,还有山东西南部、安徽北部、山西南部等地[4-5]。"道地"是指经过中医临床长期应用优选出来的适合药材生产的地区,与其他地区相比所产的同种药材相比品质和疗效更好,且质量稳定,目前道地药材成为优质药材的代名词[6],具体表现为药材的"优形"和"优质"[7-8]。梁伟龙等[9]研究说明道地产区的白芍质量优于非道地产区,有研究表明道地与非道地产区的川芎品种相同,但是各自具为一类,道地川芎所含的微生物菌群更丰富稳定,研究者认为这是川芎道地药材优良品质形成的原因[10-11]。由此可见,生长于道地与非道地产区的同一种药材,其品质特征具有很大的差异。造成道地药材与非道地药材质量存在差异的因素主要包括药材本身的种质、生态环境、气候以及人类活动等[6],黄璐琦等[12]研究指出环境生态因子影响基因和表观遗传调控,又由于不同等位基因对环境的敏感性有比较大的差异,使得道地和非道地产区的药材以及来源于不同道地产区的药材表现出不同的品质特征。光照、温度、水分、空气、土壤作为构成环境生态条件的主要因子,与道地药材的生长发育、品质与药效密切相关[12-15],其中土壤与植物直接接触,为植物生长提供营养物质、水分及能量,土壤环境对植物的生长发育起着重要的作用[16]。

土壤包含多种有机物、水分、矿物质及微生物,挥发性有机物(Volatile organic compounds,VOCs)是土壤中一类特殊的信号物质,来源广泛,种类丰富,与土壤生态系统相互作用。研究表明土壤中的 VOCs 可以抑制病原菌生长或促进有益微生物增长[17],并且对土壤中生物体也有不同程度的影响[18],线虫、昆虫和蚯蚓是土壤微生物的一部分,担任分解有机物质的任务,VOCs 可对这些动物造成毒性作用,从而导致土壤中的有机废物无法降解,土壤结构不平衡影响微生物及植物生长。根际微生物也可以通过释放 VOCs 影响土壤中的细胞群落从而对药用植物的生长起到一定的影响作用[19-21],能够直接或间接促进药用植物的生长发育[22-23],是药用植物与根际之间的重要纽带[24],在改变微生物的种群结构方面起着重要作用[25-26]。由此说明,地黄的质量与其生长环境所在土壤中的菌群、有机物质、无机物质等有着密不可分的关系。

相较于栽培地黄,野生地黄大多生长于野外或路边,具有很强的耐旱、耐寒性能,不需要特别培育,对于土壤环境要求较少,在任何土壤或气候中均可存活,处于排水性较好且富含有机质的土壤中更利于野生地黄的生长,并且病害虫较少[3]。目前研究证实土壤中 VOCs 对植物生态系统和药材产量有一定的影响[17,27-29],然而关于野生地黄伴生土壤中 VOCs 特征研究罕见报道。因此本研究以不同产区的 35 批的野生地黄伴生土壤为研究对象,分析不同产地野生地黄伴生土壤中 VOCs 的整体质量特征差异,为探讨地黄药材道地性成因提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

ME204E 万分之一天平(梅特勒-托利多有限公司);气质联用色谱仪(Agilent 7890A-7000B);色谱柱:Agilent 122-5531 DB-5MS(30 m×250 μm×0.1 μm);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

乙酸乙酯(AR,天津致远化学试剂有限公司);二氯甲烷(AR,天津市富宇精细化工有限公司);乙酸乙酯、二氯甲烷(色谱纯,山东禹王制药有限公司)。

1.2 样品信息

本实验 35 批样品来自道地与非道地产区,河南、湖北、陕西、山西,其中河南居多,野生地黄与伴生土壤样品编号,详细信息见表 1。

表 1 野生地黄与伴生土壤样品信息

产区	序号	采集地点	土壤
非道地产区	1	河南省新乡市辉县市	Rs1
非道地产区	2	河南省洛阳市汝阳县	Rs2
非道地产区	3	河南省郑州市巩义市	Rs3
非道地产区	4	河南省漯河市临颍县	Rs4
非道地产区	5	河南省三门峡市卢氏县	Rs5
非道地产区	6	河南省平顶山市鲁山县	Rs6
非道地产区	7	湖北省十堰口市丹江口市均县镇	Rs7
非道地产区	8	河北省邯郸市丛台区	Rs8
非道地产区	9	河北省衡水市阜城县	Rs9
非道地产区	10	河北省衡水市景县	Rs10
非道地产区	11	山西省长治市沁县	Rs11
非道地产区	12	山西省运城市平陆县	Rs12
非道地产区	13	山西省临汾市隰县	Rs13
非道地产区	14	北京市平谷区	Rs14
非道地产区	15	天津市宝坻区	Rs15
非道地产区	16	陕西省商洛市丹凤县	Rs16
非道地产区	17	陕西省商洛市商南县	Rs17
非道地产区	18	陕西省商洛市镇安县	Rs18
非道地产区	19	山东省泰安市泰山区 1	Rs19
非道地产区	20	山东省泰安市泰山区 2	Rs20
道地产区	21	河南省济源市克井镇	Rs21
道地产区	22	河南省焦作市武陟县 1	Rs22
道地产区	23	河南省焦作市武陟县 2	Rs23
道地产区	24	河南省焦作市武陟县 3	Rs24
道地产区	25	河南省焦作市焦作北山 1	Rs25
道地产区	26	河南省焦作市焦作北山 2	Rs26
道地产区	27	河南省焦作市焦作北山 3	Rs27
道地产区	28	河南省焦作市沁阳市神农山 1	Rs28
道地产区	29	河南省焦作市沁阳市神农山 2	Rs29
道地产区	30	河南省焦作市沁阳市神农山 3	Rs30
道地产区	31	河南省焦作市沁阳市神农山 4	Rs31
道地产区	32	河南省焦作市修武县 1	Rs32
道地产区	33	河南省焦作市修武县 2	Rs33
道地产区	34	河南省焦作市修武县 3	Rs34
道地产区	35	河南省焦作市修武县 4	Rs35

1.3 实验方法

1.3.1 *供试品溶液制备*[17] 精密称取土壤样品 10 g,分别加入二氯甲烷或乙酸乙酯溶液 20 mL,400 W 超声提取 1 h,冷却至室温,过滤至蒸发皿,常温下挥干,分别用色谱二氯甲烷或乙酸乙酯定容至 1 mL,过 0.45 μm 微孔滤膜,即得供试品溶液。

1.3.2 GC-MS 条件 二氯甲烷部位:进样口温度 250 ℃;载气为氦气(99.999%),流速 1.0 mL·min^{-1};程序升温:50 ℃保持 2 min,以 10 ℃·min^{-1}升至 120 ℃,保持 1 min,以 5 ℃·

min^{-1}升温至180 ℃,保持5 min,以3 ℃ · min^{-1}升温至210 ℃,保持1 min,以5 ℃ · min^{-1}升温至240 ℃,保持6 min;进样量:2 μL;分流模式:不分流;溶剂延迟为5 min。

乙酸乙酯部位:进样口温度250 ℃;载气为氦气(99.999%),流速1.0 mL · min^{-1};程序升温:70 ℃保持1 min,以15 ℃ · min^{-1}升至160 ℃,保持10 min,以5 ℃ · min^{-1}升温至210 ℃,保持3 min,以4 ℃ · min^{-1}升温至250 ℃,保持5 min;进样量:5 μL;分流模式:不分流;溶剂延迟为7 min。

质谱条件:电离方式:EI;电子能量:70 eV;质量扫描范围:40~450 amu;采集方式:SCAN扫描。

1.3.3 *数据分析* 经Agilent mass hunter qualitative analysis软件对色谱图进行平滑处理后,以峰高比大于0.001为标准对峰进行过滤,以峰谷间连线为基线对色谱峰进行积分,利用"中药色谱指纹图谱相似度评价系统2004A版"软件生成35批样品的平均图谱,对其共有峰匹配结果采用面积归一化法进行分析,并结合NIST 11.0系统检索确定地黄伴生土壤中VOCs的相对含量(%)。利用SIMCA 14.1统计软件对归一化后的数据进行主成分分析(Principal components analysis,PCA)、层次聚类分析(Hierarchical clustering analysis,HCA)和正交偏最小二乘判别分析(Orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)以确定道地与非道地产区野生地黄土壤VOCs的差异。

2 结果与分析

2.1 不同产区野生地黄土壤二氯甲烷、乙酸乙酯提取物中VOCs鉴定

从35批地黄土壤二氯甲烷提取物中VOCs得到44个共有峰(见插页XXXⅦ图1),通过质谱库检索、人工图谱解析、文献核对等多种方法进行综合分析鉴定,确认了31种化合物(见表2)。44个共有峰中烷烃类有机物15个,醇类、酯类有机物各7个,醚类有机物3个,烯烃类、酰氯类有机物各2个,酚类、酮类、卤代烃、胺类、醌类、硅烷类、硫醇类、醛类有机物各1个。

从35批地黄土壤乙酸乙酯提取物中VOCs得到38个共有峰(见插页XXXⅦ图2),通过质谱谱库检索、人工图谱解析、文献核对等多种方法进行综合分析鉴定,确认了33种化合物(见表3)。38个共有峰中酸类有机物9个,烷烃类有机物8个,酯类有机物7个,醇类有机物各5个,卤代烃类有机物2个,酚类、蒽类、烯烃、硫醇、酰胺类、芳香烃类有机物各1个,还有1个未知共有峰成分。

2.2 不同产区野生地黄土壤二氯甲烷、乙酸乙酯提取物中VOCs含量分析

分别对不同产地野生地黄土壤二氯甲烷、乙酸乙酯提取物中VOCs数据进行归一化处理,计算各成分相对含量,按照官能团种类对各成分进行类别划分,比较不同产地土壤中各类VOCs相对含量(见插页XXXⅦ图3)。由结果可知,野生地黄土壤二氯甲烷提取物中烷烃类、酯类相对含量明显高于其他类化合物;乙酸乙酯部位醇类相对含量最高,其次为烃类、酸类化合物。

为了进一步分析不同产区野生地黄土壤中VOCs之间是否存有相关性,将不同提取部位含量测定数据导入Origin Pro 2022软件进行相关性分析,结果见插页XXXⅦ图4(A二氯甲烷,B乙酸乙酯)。其中红色表示两种成分呈现正相关性,蓝色表示两种成分呈现负相关性,颜色越深,相关性越强。其中,二氯甲烷提取物中酚类与醇类呈正相关($P<0.05$),烷烃类与酯类呈极显著负相关($P<0.01$)。乙酸乙酯提取物中酚类与、烷烃类、酰胺类均呈现正相关($P<0.05$),酚类与蒽类呈极显著正相关($P<0.01$),酚类与醇类呈现负相关($P<0.05$),酚类与烯烃呈极显著负相关($P<0.01$),酸类与烷烃呈现负相关性($P<0.05$),蒽类与烷烃、酰胺呈现正相关性($P<0.05$),蒽类与烯烃呈现极显著负相关($P<0.01$),烷烃与醇类呈现极显著性负相关($P<0.01$),烷烃与酰胺类呈现极显著正相关($P<0.01$),烯烃与醇类呈现正相关($P<0.05$),烯烃、醇类与酯类、酰胺类均呈现极显著负相关($P<0.01$),酯类与酰胺类呈现正相关($P<0.05$)。由此可见,不同提取物中各类成分存在不同的相关性,但是两种提取物中酯类均与酚类存在正相关性,与烷烃类存在负相关性。

表2 野生地黄土壤中二氯甲烷提取物中VOCs的综合鉴定

序号	保留时间	分子式	化学名称	类别
1	8.51	$C_{13}H_{28}$	3-甲基-5-丙基壬烷	烷烃
2	8.70	$C_9H_{10}O$	2,4-二甲基苯甲醛	醛类
3	9.56	$C_{16}H_{34}O$	正辛基醚	醚类
4	9.83	$C_{11}H_{14}$	2-甲基-1-苯基-1-丁烯	烯烃
5	11.86	$C_{15}H_{32}$	2,6,10-三甲基十二烷	烷烃
6	13.00	$C_{14}H_{20}O_2$	2,6-二叔丁基苯醌	醌类
7	13.27	$C_{20}H_{38}O$	脱氢异植物醇	醇类
8	13.69	$C_{13}H_{26}$	庚基环己烷	烷烃
9	13.97	$C_{14}H_{22}O$	2,4-二叔丁基苯酚	酚类
10	15.18	$C_{16}H_{34}O$	2-己基-1-癸醇	醇类
11	15.94	$C_{16}H_{34}$	正十六烷	烷烃
12	17.60	$C_9H_{16}O$	2-仲丁基环戊酮	酮类
13	18.13	$C_{15}H_{33}N$	N,N-二甲基十三烷胺	胺类
14	19.47	$C_{19}H_{38}O$	顺式-7,8-环氧-2-甲基十八烷	醚类
15	20.20	$C_{20}H_{42}$	植烷	烷烃
16	20.84	$C_{16}H_{34}S$	叔十六硫醇	硫醇类
17	21.08	$C_{16}H_{22}O_4$	邻苯二甲酸二异丁酯	酯类
18	21.22	$C_{18}H_{35}Cl$	油酰氯	酰氯
19	21.48	$C_{16}H_{48}O_6Si_7$	十六烷基七硅氧烷	硅烷
20	22.05	$C_{18}H_{37}Cl$	氯代十八烷	卤代烃
21	22.53	$C_{17}H_{34}O_2$	棕榈酸甲酯	酯类
22	22.98	$C_{16}H_{22}O_4$	邻苯二甲酸二丁酯	酯类
23	24.32	$C_{20}H_{42}$	正二十烷	烷烃
24	27.43	$C_{21}H_{44}$	正二十一烷	烷烃
25	29.06	$C_{18}H_{26}O_3$	对甲氧基肉桂酸辛酯	酯类
26	36.52	$C_{22}H_{42}O_4$	己二酸二异辛酯	酯类
27	39.91	$C_{25}H_{52}$	二十五烷	烷烃
28	40.31	$C_{24}H_{38}O_4$	邻苯二甲酸二辛酯	酯类
29	44.28	$C_{31}H_{64}$	三十一烷	烷烃
30	44.79	$C_{24}H_{38}O_4$	间苯二甲酸二辛酯	酯类
31	46.41	$C_{30}H_{50}O$	过氧化角鲨烯	烯烃

为了进一步分析不同产区野生地黄土壤中VOCs之间的差异性,将35批野生地黄伴生土壤按照道地产区与非道地产区进行分类,利用SPSS分别对二氯甲烷、乙酸乙酯提取物道地与非道地产区野生地黄土壤中各类VOCs相对含量进行差异性检验(见插页XXXⅦ图5)。结果表明,道地与非道地产区野生地黄伴生土壤二氯甲烷提取物中烷烃类、酚类、酯类相对含量存在显著性差异;乙酸乙酯提取物中酚类、蒽类、烷烃、烯烃、醇类、酯类相对含量差异存在统计学意义($P<0.05$)。

表 3 野生地黄土壤中乙酸乙酯提取物 VOCs 综合鉴定结果

序号	保留时间	分子式	名称	类别
1	7.62	$C_{14}H_{22}O$	2,4－二叔丁基苯酚	酚类
2	8.19	$C_{12}H_{24}O_2$	月桂酸	酸类
3	8.65	$C_{18}H_{37}Cl$	氯代十八烷	卤代烃
4	10.15	$C_{15}H_{14}O$	9,9－二甲基氧杂蒽	蒽类
5	11.33	$C_{14}H_{28}O_2$	肉豆蔻酸	酸类
6	11.55	$C_{17}H_{32}O_2$	10－顺－十七碳烯酸	酸类
7	12.28	$C_{21}H_{44}$	正二十一烷	烷烃
8	12.45	$C_{16}H_{34}O$	2－己基－1－癸醇	醇类
9	13.42	$C_{16}H_{34}S$	叔十六硫醇	硫醇
10	13.80	$C_{16}H_{22}O_4$	邻苯二甲酸二异丁酯	酯类
11	14.77	$C_{16}H_{30}O_2$	棕榈油酸	酸类
12	15.29	$C_{19}H_{34}O_2$	—	—
13	15.64	$C_{19}H_{32}$	2－苯基－十三烷	芳香烃
14	16.59	$C_{17}H_{34}O_2$	棕榈酸甲酯	酯类
15	17.57	$C_{16}H_{22}O_4$	邻苯二甲酸二丁酯	酯类
16	19.73	$C_{20}H_{42}$	正二十烷	烷烃
17	21.54	$C_{28}H_{48}O$	2－亚甲基－5α－胆甾烷－3β－醇	醇类
18	22.30	$C_{22}H_{46}O$	正二十二醇	醇类
19	22.64	$C_{18}H_{34}O_2$	油酸	酸类
20	23.47	$C_{19}H_{38}O_2$	异硬脂酸甲酯	酯类
21	24.47	$C_{18}H_{36}O_2$	硬脂酸	酸类
22	25.35	$C_{22}H_{46}$	二十二烷	烷烃
23	26.29	$C_{20}H_{34}O$	泪杉醇	醇类
24	28.18	$C_{14}H_{26}O_2$	丁位十四内酯	酯类
25	28.90	$C_{31}H_{64}$	三十一烷	烷烃
26	29.90	$C_{24}H_{50}$	正二十四烷	烷烃
27	32.50	$C_{25}H_{52}$	二十五烷	烷烃
28	32.90	$C_{24}H_{38}O_4$	邻苯二甲酸二辛酯	酯类
29	34.87	$C_{27}H_{50}O_6$	三辛酸甘油酯	酯类
30	38.20	$C_{22}H_{43}NO$	芥酸酰胺	酰胺
31	38.96	$C_{30}H_{50}$	角鲨烯	烯烃
32	39.67	$C_{24}H_{40}O_4$	熊去氧胆酸	酸类
33	42.27	$C_{30}H_{50}O_2$	白桦脂醇	醇类

2.3 道地产区与非道地产区地黄土壤 VOCs 差异性分析

为了从整体上分析道地产区与非道地产区野生地黄土壤 VOCs 的差异性，首先对归一化的数据进行 PCA 和 HCA 分析（见插页XXXⅧ图 6）。PCA 结果表明，在二氯甲烷提取物中，编号为 Rs13 的野生地黄土壤落在 95% 置信区间外，Rs21 与非道地产区并未分开；其余 33 个样品中，道地产区野生地黄土壤样品 Rs22～Rs35 分布在第二、三象限，距离较近，样品间差异较小，而非道地产区土壤样品间差异较大；HCA 结果也表明，除道地产区地黄土壤样品 Rs21 与非道地产区地黄土壤样品法分开外，其余样品均按照道地产区与非道地产区各自聚为一类。PCA 和 HCA 分析表明，在不同产地野生地黄土壤乙酸乙酯提取物中，除 Rs9 落在 95% 置信区间外，Rs21 与非道地产区地黄土壤样品无法分开外，其余样品均按照道地非道地产区各自具为一类，33 批样品间差异明显。

为了排除组内干扰，进一步分析道地产区与非道地产区野生地黄土壤 VOCs 差异，采用 OPLS－DA 对道地产区与非道地产区野生地黄土壤二氯甲烷提取物、乙酸乙酯提取物中 VOCs 特征进行分析，并利用 200 次 Permutations test 分别进行置换检验（见插页XXXⅨ图 7）。由结果可知，不同产地野生地黄土壤的二氯甲烷、乙酸乙酯提取物中 VOCs 均按照道地产区与非道地产区各自聚为一类，置换后的模型拟合程度指标 R^2 与模型预测新数据效果指标 Q^2 值均高于原始 R^2、Q^2 值，表明所建模型可靠，未出现拟合现象，拟合结果可信。

为了进一步筛选造成道地产区与非道地产区野生地黄土壤差异的 VOCs，利用建立的 OPLS－DA 模型筛选 VIP 值＞1 的 VOCs 成分（见插页XXXⅨ图 8）。此外，通过 t 检验计算 P 值，最终选择 VIP 值＞1 且 P＜0.05 的成分作为道地产区与非道地产区野生地黄土壤潜在差异 VOCs（见表 4）。由结果可知，野生地黄土壤二氯甲烷提取物中得到 19 个 VIP 值＞1 的 VOCs，主要为烷烃、醛类、醇类、胺类、醇类、酚类、烯烃、卤代烃、醚类，其中大多为烷烃类成分；乙酸乙酯提取物中得到 13 个 VIP 值＞1 的 VOCs，主要为酯类、酸类、酚类、醇类、醇类、烷烃、蒽类，其中大多为酸类与酯类成分。道地产区与非道地产区上述 VIP 值＞1 的成分 t 检验 P 值均小于 0.01，说明上述成分均为导致道地产区与非道地产区土壤 VOCs 差异的主要物质。

表 4 道地产区与非道地产区野生地黄土壤 VOCs 差异成分筛选

二氯甲烷提取物				乙酸乙酯提取物			
峰号	差异物种类	VIP 值	P 值	峰号	差异物种类	VIP 值	P 值
35	烷烃	1.643 0	0.000 0	15	酯类	1.805 0	0.000 0
37	烷烃	1.555 1	0.000 0	22	酸类	1.751 0	0.000 0
6	烷烃	1.538 1	0.000 0	28	酸类	1.459 4	0.000 0
34	烷烃	1.473 9	0.000 0	21	酯类	1.456 8	0.000 0
5	烷烃	1.459 5	0.000 0	20	酸类	1.455 4	0.000 0
38	烷烃	1.450 0	0.000 0	1	酚类	1.444 9	0.000 0
36	酯类	1.401 4	0.000 0	25	酯类	1.444 4	0.000 0
4	烯烃	1.382 8	0.000 0	18	醇类	1.381 3	0.000 0
26	卤代烃	1.344 4	0.001 1	5	酸类	1.223 9	0.000 0
3	醚类	1.298 1	0.000 0	24	醇类	1.198 2	0.000 0
32	烷烃	1.286 8	0.000 0	36	烷烃	1.124 6	0.000 0
24	硅烷	1.269 1	0.002 6	10	酯类	1.123 5	0.000 0
40	烷烃	1.268 8	0.000 9	4	蒽类	1.113 5	0.000 1
30	烷烃	1.262 5	0.000 0				
2	醛类	1.213 6	0.000 1				
8	醇类	1.103 0	0.000 7				
16	胺类	1.098 5	0.000 3				
11	醇类	1.094 1	0.000 1				
10	酚类	1.051 6	0.000 9				

3 结论与讨论

地黄作为四大怀药之一，其道地产区从最初的咸阳（今陕西长安县）到江浙（今江苏省徐州市、江苏省南京市）又到同州（今山西省大荔县），直到明代才开始确定河南怀庆（今河南焦作）为地黄道地产区[30]。研究表明地黄道地产区土壤 pH 值呈中性或微碱性且土壤肥沃，有机质含量多，光热充足，地表水和地下水资源丰富，水质良好[31]。这些地理环境、水分条件等与地黄生长习性相吻合，是道地地黄表现出优质、优形、优效的关键因素。土壤是植物生长发育的场所，土壤中的养分是植物生长的支撑，而土壤中所含物质较为复杂且多样[32]，主要有有机物、微生物及土壤水分等成分，其中 VOCs 在土壤中具有低极性、低沸、亲脂、易传播、易被感知等特点极易受到土壤理化性质的影响，土壤水分、质地、有机质、微生物、温度等因素对于 VOCs 含量及分布均会产生影响，研究表明含水量较多的土壤可降低 VOCs 的溶解度和扩散速度，增加土壤微生物的活跃

度[33-35]，而干燥土壤中 VOCs 挥发性更强，可快速地释放到大气中；土壤质地影响着土壤中 VOCs 含量，与沙土相比，粉土或黏土可降低土壤中 VOCs 的转输；土壤中有机质含量直接影响 VOCs 在土壤中的分布和迁移活动，土壤有机质含量越高、透气性越好、微生物数量越多时，释放的 VOCs 越丰富[18]；土壤温度影响 VOCs 的分布及含量，高温下 VOCs 挥发性和生物降解速度均增强，低温下则与之相反[36]。本研究以不同产区的土壤中 VOCs 作为分析对象，发现在二氯甲烷和乙酸乙酯两种提取物中不同产区土壤中的 VOCs 均表现出种类相似、含量不同的特点。不同产区土壤理化性质存在差异，而本研究发现 VOCs 的含量不同可能是造成土壤差异的因素之一，由此推测 VOCs 可能影响土壤环境，进而影响地黄质量。

土壤中 VOCs 来源广泛，植物和微生物均会释放 VOCs，在根际交互作用中起重要作用。VOCs 对整个土壤系统有着不同的调控作用，对土壤中生物活性、生物多样性以及生物的生长和繁殖都有着不同的影响，同时对土壤动物可能存在影响[18]，与植物或微生物的生长代谢密切相关[37]，而这些对于土壤系统的影响最终表现在种植植物的生长方面的影响[38-39]。本研究利用 GC-MS 和多元统计分析对不同产区的野生地黄伴生土壤进行分析，发现不同产区的 VOCs 按照道地产区与非道地产区各自聚为一类，在两种不同提取部位中，烷烃、醛类、醇类和酯类、酸类等成分为道地产区与非道地产区的主要差异性成分，并且酯类 VOCs 均与酸类、醇类 VOCs 存在一定相关性。由此推测，道地产区与非道地产区之间土壤差异性可能是这些 VOCs 联合作用的结果。研究表明，微生物群落中最大的类群是土壤细菌[40]，李伟峰等[17]研究发现 VOCs 对细菌群落结构均有不同程度的影响，其中对细菌群落结构影响较大的 VOCs 以酯类和醇类成分为主。酯类 VOCs 与地黄根际微生物群落分布具有相关性[41]，根际微生物有利于提高土壤酶活性，提高土壤养分转化速率，增加土壤有效养分含量，进而影响作物生长及养分吸收[37]。由上述知，本研究所筛选出 VOCs 差异性成分与植物生长存在关系，土壤中的 VOCs 与土壤环境相互影响，二者共同影响植物生长。研究表明，道地药材生长受到光照、水分、气候、土壤等多种因素影响，其中土壤环境是影响地黄药材道地性成因的关键因素之一[42]，由此推测 VOCs 可能是地黄道地性成因之一，与道地药材的形成存在关系，后续可针对道地与非道地产区之间地黄质量差异进行分析，结合本研究结论进一步探讨 VOCs 具体的影响机制。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020：1088.
[2] 赵婧含，李雪，吴文轩，等. 熟地黄的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报，2023，51(6)：110-114.
[3] 左敏，左静静. 野生地黄的驯化栽培与应用[J]. 农业与技术，2019，39(20)：93-94.
[4] 张小波，陈敏，黄璐琦，等. 我国地黄人工种植生态适宜性区划研究[J]. 中国中医药信息杂志，2011，18(5)：55-56，59.
[5] 李先恩，陈士林，魏淑秋，等. 地黄适生地分析及等级划分[J]. 中国中药杂志，2006，31(4)：344-346.
[6] 孙义新，魏源. 道地药材成因及其土壤元素基准探讨[J]. 安徽农业科学，2018，46(31)：8-11.
[7] 袁媛，黄璐琦. 道地药材分子生药学研究进展和发展趋势[J]. 科学通报，2020，65(12)：1093-1102.
[8] 孟祥才，沈莹，杜虹韦. 道地药材概念及其使用规范的探讨[J]. 中草药，2019，50(24)：6135-6141.
[9] 梁伟龙，林钦贤，王斌，等. 道地与非道地产区白芍药材质量的比较[J]. 中国现代应用药学，2020，37(24)：3000-3004.
[10] 姜涛，姚艺新，刘子祯. 道地与非道地川芎 UHPLC 指纹图谱结合化学计量学研究[J]. 中华中医药杂志，2021，36(8)：4899-4904.
[11] 王海，严铸云，何冬梅，等. 多产区川芎内生真菌菌群组成的 PCR-DGGE 分析[J]. 中国中药杂志，2013，38(12)：1893-1897.
[12] 黄璐琦，陈美兰，肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说[J]. 中国中药杂志，2004，29(6)：494-496，610.
[13] 赵露颖，施梦瑶，张巧艳，等. 道地药材品质特征及形成机制研究进展[J]. 中草药，2022，53(21)：6931-6947.
[14] CAO P，WANG G，WEI X M，et al. How to improve CHMs quality：enlighten from CHMs ecological cultivation[J]. Chin Herb Med，2021，13(3)：301-312.
[15] HAO D C，XIAO P G. Deep in shadows：Epigenetic and epigenomic regulations of medicinal plants[J]. Chin Herb Med，2018，10(3)：239-248.
[16] 郝匕台. 不同休牧时间对典型草原植物群落和土壤化学计量学特征的影响[D]. 呼和浩特：内蒙古大学，2019.
[17] 李伟峰，耿晓桐，龚海燕，等. 地黄生长过程中根际土壤挥发性有机物与细菌群落特征分析[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(22)：149-158.
[18] 蒋晓霞，葛福玲，张红波，等. 土壤中挥发性有机物的种类和含量及其对环境质量的影响研究[J]. 皮革制作与环保科技，2024，5(1)：37-39.
[19] MASSALHA H，KORENBLUM E，THOLL D，et al. Small molecules below-ground：the role of specialized metabolites in the rhizosphere[J]. Plant J，2017，90(4)：788-807.
[20] PIECHULLA B，LEMFACK M C，KAI M. Effects of discrete bioactive microbial volatiles on plants and fungi[J]. Plant Cell Environ，2017，40(10)：2042-2067.
[21] RAZA W，MEI X L，WEI Z，et al. Profiling of soil volatile organic compounds after long-term application of inorganic，organic and organic-inorganic mixed fertilizers and their effect on plant growth[J]. Sci Total Environ，2017，607-608：326-338.
[22] 王恩召. 水稻根区细菌挥发性有机物对病原菌的抑制作用[D]. 北京：中国农业科学院，2020.
[23] SILLO F，NERI L，CALVO A，et al. Correlation between microbial communities and volatile organic compounds in an urban soil provides clues on soil quality towards sustainability of city flowerbeds[J]. Heliyon，2024，10(1)：e23594.
[24] WANG Y，ZHU X，JIN Y，et al. Selection behavior and OBP-transcription response of western flower *Thrips*，*Frankliniella occidentalis*，to six plant VOCs from kidney beans[J]. Int J Mol Sci，2023，24(16)：12789.
[25] ZHOU X G，WANG J，JIN X，et al. Effects of selected cucumber root exudates components on soil *Trichoderma* spp. communities[J]. Allelopathy J，2019，47(2)：257-266.
[26] WU H M，WU L K，WANG J Y，et al. Mixed phenolic acids mediated proliferation of pathogens *Talaromyces helicus* and kosakonia sacchari in continuously monocultured *Radix pseudostellariae* rhizosphere soil[J]. Front Microbiol，2016，7：335.

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.02.035

射干苷通过PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导胃癌HGC-27细胞凋亡和自噬

刘鑫雨[1],王志强[2],姚宁宁[2],韩磊[2],陆玉成[2]
(1.广州中医药大学临沂市人民医院研究生培养基地,广东 广州 510405;2.广州中医药大学临沂市人民医院,山东 临沂 276000)

摘要:目的 探讨射干苷(Tectoridin,Tec)对人胃癌细胞HGC-27细胞自噬和凋亡的影响。方法 采用CCK-8和克隆形成检测细胞增殖能力,流式细胞术检测细胞凋亡率,自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-MA)用于检测自噬;蛋白免疫印迹法检测Beclin-1、Bcl-2、Bax和p53的蛋白表达;进行生物信息学方法预测其可能的靶点及信号通路,分子对接用于评估靶点与Tec的结合程度;蛋白免疫印迹法检测相关蛋白的表达水平。结果 Tec以时间和剂量依赖的方式抑制胃癌HGC-27细胞增殖,促进细胞的自噬和凋亡,上调自噬因子Beclin-1、凋亡因子p53、BAX的蛋白表达,减少凋亡分子Bcl-2的蛋白表达。蛋白互作(protein-protein interaction,PPI)网络可视化分析显示Tec与AKT1等靶点的亲和力强,KEGG富集分析表明Tec抑制胃癌的作用机制可能与PI3K/Akt/mTOR信号通路密切相关;PI3K/Akt/mTOR信号通路p-PI3K、p-Akt、p-mTOR的蛋白表达下调。结论 Tec可以通过抑制PI3K/Akt/mTOR通路诱导细胞凋亡和自噬来抑制HGC-27细胞的生长。

关键词:射干苷;胃癌;分子机制;自噬;凋亡
中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2026)02-0206-08

Tectoridin Induces Apoptosis and Autophagy in Gastric Cancer Cells Through PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway

LIU Xinyu[1],WANG Zhiqiang[2],YAO Ningning[2],HAN Lei[2],LU Yucheng[2]
(1. Graduate Training Base of Guangzhou University of Chinese Medicine at Linyi People's Hospital,Guangzhou 510405,Guangdong,China;
2. Linyi People's Hospital,Guangzhou University of Chinese Medicine,Linyi 276000,Shandong,China)

基金项目:国家自然科学基金项目(32100618);山东省中医药科技项目(M-2023131);徐州医科大学附属医院发展基金项目(XYFM202346)
作者简介:刘鑫雨(1996-),女,山东临沂人,硕士在读,研究方向:中药单体抗肿瘤。
通讯作者:陆玉成(1983-),男,山东临沂人,研究员,硕士研究生导师,博士,研究方向:中药抗肿瘤的分子机制。E-mail:luyu-20@163.com。

[27] 程梦娟,耿晓桐,张宝,等. 不同种质怀地黄生育期根际土壤挥发性有机物变化分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2022,50(10):87-96.
[28] 古力,陶晓赛,王丰青,等. 基于GC-MS代谢组学分析间作玉米下地黄根际土壤中挥发性有机物特征[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(10):102-108.
[29] 王光志,严铸云,马云桐,等. 川芎栽培地土壤有机物变化初步研究[C]//中药与天然药高峰论坛暨第十二届全国中药和天然药物学术研讨会论文集. 海口,2012:254-259.
[30] 薛亚,朱海青,张立超,等. 论地黄产地变迁、炮制方法与气候变化的关系[J]. 上海中医药杂志,2023,57(1):12-15,24.
[31] 刘跃红,闫小珍,焦振法,等. 焦作气候生态环境对四大怀药生长的影响[J]. 气象,2007,33(5):105-110.
[32] 李雨薇. 便携式土壤基础养分检测仪的设计与实现[D]. 哈尔滨:黑龙江大学,2021.
[33] MCCARTHY K A,JOHNSON R L. Transport of volatile organic compounds across the capillary fringe[J]. Water Resour Res,1993,29(6):1675-1683.
[34] SHEN R,PENNELL K G,SUUBERG E M. Influence of soil moisture on soil gas vapor concentration for vapor intrusion[J]. Environ Eng Sci,2013,30(10):628-637.
[35] JOHNSON P C,ETTINGER R A. Heuristic model for predicting the intrusion rate of contaminant vapors into buildings[J]. Environ Sci Technol,1991,25(8):1445-1452.
[36] 汪涛,袁飞云,宋阳,等. 基于RSEI的近30年来泸石高速公路路域生态环境质量评价[J]. 公路,2023,68(8):355-363.
[37] 李艳玲,宋阿琳,卢玉秋,等. 不同土壤玉米根际挥发性有机物组成和微生物群落特征[J]. 植物营养与肥料学报,2019,25(10):1633-1645.
[38] 唐仕欢,杨洪军,黄璐琦. 论自然环境因子变化对中药药性形成的影响[J]. 中国中药杂志,2010,35(1):126-128.
[39] 倪新兴. 中药材品质影响因素研究[D]. 南京:南京中医药大学,2015.
[40] 赵萌,印春生,厉成伟,等. Miseq测序分析围垦后海三棱藨草湿地土壤微生物群落多样性的季节变化[J]. 上海海洋大学学报,2018,27(5):718-727.
[41] RAZA W,LING N,YANG L D,et al. Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9[J]. Sci Rep,2016,6:24856.
[42] 陈敬忠. 基于关键种理论下根际微生物塑造大果木姜子道地性的潜在机制研究[D]. 贵阳:贵州大学,2023.