

不同种源黄花蒿室内水培条件下青蒿素和青蒿乙素含量差异分析

程睿昉¹, 贺文瑞², 沈晓凤³, 向丽¹, 梁毓⁴, 孟莹⁵, 刘倩文¹,
凡贞洁⁶, 孙伟¹, 徐江^{1*}, 陈士林^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 成都中医药大学, 成都 611137;
3. 中国医学科学院·北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193; 4. 大理大学, 云南大理 671003;
5. 山东中医药大学, 济南 250399; 6. 河南科技大学, 河南 洛阳 471023)

[摘要] 目的:建立不同种源黄花蒿内青蒿素及青蒿乙素含量测定的方法,比较不同来源黄花蒿种质在水培均一化生长条件下青蒿素与青蒿乙素含量的差异,分析影响黄花蒿主要成分含量差异的关键因素。方法:黄花蒿种子采用随机排列水培混合培养,运用超高效液相色谱-串联质谱法,ACQUITY UPLC® BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相选择水-乙腈(95:5,含0.1%甲酸,A)-乙腈-水(95:5,含0.1%甲酸,B)进行梯度洗脱(0~3.5 min, 25%~1%A; 3.5~3.6 min, 1%~25%A; 3.6~5.0 min, 25%A),流速0.4 mL·min⁻¹,电喷雾离子源,正离子模式,检测不同种源黄花蒿中青蒿素及青蒿乙素的含量差异。结果:所建立的方法灵敏度高、分离度良好。不同种源黄花蒿在相同培养条件下,即25℃恒温下循环水培培养,青蒿素和青蒿乙素含量存在较大差异,其中青蒿素含量较高的黄花蒿种源产地是云南,质量分数达3 810.597 μg·g⁻¹;青蒿乙素含量较高的黄花蒿种源地是山西,质量分数1 691.747 μg·g⁻¹,青蒿素含量按照从高到低种源地排列依次为云南>海南>湖北>广西>浙江>山西>北京>山东>黑龙江>甘肃。相关性分析发现,以地域划分时,青蒿素含量与黄花蒿来源地的纬度呈显著负相关,但青蒿素与青蒿乙素含量均与经度无显著相关性。结论:同一培养环境不同种源黄花蒿内青蒿素及青蒿乙素含量存在显著差异,影响黄花蒿中青蒿素及青蒿乙素含量的主导因素可能是其遗传背景,提示改良青蒿品种是后续黄花蒿栽培中提升质量的关键因素。

[关键词] 黄花蒿; 青蒿素; 青蒿乙素; 水培; 种质; 超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS); 经纬度

[中图分类号] R22;R931;R28;O657 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)20-0145-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211547

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210419.1252.001.html>

[网络出版日期] 2021-04-19 16:24

Analysis on Content Differences of Artemisinin and Arteannuin B in Different Provenances of *Artemisia annua* Under Indoor Hydroponic Conditions

CHENG Rui-yang¹, HE Wen-rui², SHEN Xiao-feng³, XIANG Li¹, LIANG Yu⁴, MENG Ying⁵,
LIU Qian-wen¹, FAN Zhen-jie⁶, SUN Wei¹, XU Jiang^{1*}, CHEN Shi-lin^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;
3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;
4. Dali University, Dali 671003, China; 5. Shandong University of TCM, Jinan 250399, China;
6. Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China)

[收稿日期] 20210126(017)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09201005);成都中医药大学西南特色中药资源重点实验室开发研究基金项目(2020GZ2011016)

[第一作者] 程睿昉, 硕士, 助理研究员, 从事中药资源及分子育种研究, E-mail: rycheng@icmm.ac.cn

[通信作者] * 徐江, 博士, 副研究员, 从事中药基因组学及分子生物学研究, E-mail: jxu@icmm.ac.cn;

* 陈士林, 博士, 研究员, 从事中药基因组学及分子生物学研究, E-mail: slchen@icmm.ac.cn

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of artemisinin and arteannuin B in different *Artemisia annua* germplasms, compare the differences of the two compounds among different *A. annua* germplasm under the condition of hydroponic homogenization and explore the key factors affecting contents of principal compounds in different *A. annua* germplasms. **Method:** Seedlings from different *A. annua* germplasms were arranged randomly and fed in a hydroponic cultivation system. Contents of artemisinin and arteannuin B were detected by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) with multi-reaction monitoring mode and ACQUITY UPLC® BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), mobile phase was water-acetonitrile (95:5, containing 0.1% formic acid, A) and acetonitrile-water (95:5, containing 0.1% formic acid, B) for gradient elution (0-3.5 min, 25%-1%A; 3.5-3.6 min, 1%-25%A; 3.6-5.0 min, 25%A), the flow rate was set at 0.4 mL·min⁻¹. The content differences of artemisinin and arteannuin B in different provenances of *A. annua* were detected and analyzed statistically. **Result:** The established method had high sensitivity and good separation. A significant difference of artemisinin and arteannuin B contents was observed in different germplasms under the same culture conditions, that is, under the constant temperature of 25 °C in hydroponics. The provenance with higher artemisinin content was Yunnan, and the content was 3 810.597 μg·g⁻¹. The highest strain of arteannuin B was Shanxi provenance germplasm with the content of 1 691.747 μg·g⁻¹. According to the content of artemisinin, the provenances were arranged as follows: Yunnan, Hainan, Hubei, Guangxi, Zhejiang, Shanxi, Beijing, Shandong, Heilongjiang, and Gansu province germplasms. Correlation analysis showed that there was a significant negative correlation between artemisinin content and latitude of *A. annua*, but there was no significant correlation between contents of artemisinin and arteannuin B and longitude. **Conclusion:** The contents of artemisinin and arteannuin B among different *A. annua* germplasms were significantly different under the same culture environment, and the dominant factors affecting biosynthesis and accumulation of artemisinin and arteannuin B in *A. annua* may be the genetic background, suggesting that germplasm improvement is the key factor to improve the medicinal quality of *A. annua* in subsequent cultivation.

[Keywords] *Artemisia annua*; artemisinin; arteannuin B; hydroponics; germplasm; ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); longitude and latitude

青蒿为菊科植物黄花蒿 *Artemisia annua* 的干燥地上部分^[1],距今已有2 000多年的应用历史。葛洪的《肘后备急方》首次记载了黄花蒿具有治疗疟疾的作用^[2],还可治疗由疟疾引起的间歇性发烧、骨蒸和疲惫^[3],具有缓解中暑、止血、镇痛等活性^[4]。随着对青蒿研究的深入,发现其除了可治疗疟疾外,还可治疗肺结核^[5]、疥疮、急性惊厥等,具有抗病毒、抗真菌、抗炎、抗癌等作用^[5-8]。黄花蒿的主要有效成分青蒿素是目前抗疟特效药^[9]。疟疾是一类由疟原虫引起的严重危害人类健康及生命安全的寄生虫病,根据世界卫生组织发布的《2020年世界疟疾报告》^[10],全球感染疟疾的人数在2.3亿左右,死亡人数约为40万人,与之前相比,感染疾病人数及死亡人数虽略有下降,但疟疾仍是威胁人类健康的一类传染性疾病^[11]。近几年,全球青蒿素用量近180吨(1吨=1 000 kg),但由于野生黄花蒿中青蒿素含量低且质量不稳定,致使大部分原料不具备商业

价值,故出现青蒿素需求缺口大^[12]而青蒿素原料供不应求的现状^[13]。

在我国,黄花蒿天然群体呈现一定地域性^[14],高品质青蒿最适宜产区主要分布于秦岭淮河以南地区。不同基原黄花蒿因采收时间、气候环境、肥料等因素的不同,会对黄花蒿次生代谢物的积累产生影响,导致难以评价黄花蒿类群的品质^[15-16]。由于目前还无法实现青蒿素的体外生物全合成,因此,青蒿素的获取仍依赖于植物提取。但黄花蒿主要依靠人工栽培,质量良莠不齐,因此,培育优良药用植物新品种是保障优质药材生产的前提^[17],明确影响黄花蒿品质的主导因子是研究关键。

选择合理的评价指标对黄花蒿质量标准的评定至关重要。黄花蒿内发挥作用的成分为倍半萜类成分——青蒿素类化合物^[18],青蒿素的合成属于类异戊二烯的合成途径,起源于异戊烯基焦磷酸及二甲基丙烯基焦磷酸^[19-20],已有文献报道青蒿乙素

可能是合成青蒿素的前体物质^[21],说明青蒿乙素对于青蒿素的合成意义重大。因此,本研究拟对青蒿素及青蒿乙素2个成分进行定量分析。目前关于此二者含量测定的方法较多,主要有薄层色谱法(TLC),紫外分光光度法(UV)和高效液相色谱法(HPLC)等^[22]。本研究选择超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)进行检测^[23],一方面,TLC和UV等方法灵敏度较低且易受干扰;另一方面,青蒿素类化合物因其特殊的过氧桥结构而对紫外吸收不明显,需要经过衍生化处理,再进行HPLC分析,方法较为繁琐^[23];而液质联用技术将色谱对复杂样品的高分离能力及质谱的高选择性、高灵敏度等特性结合起来,比较适合用于这类无紫外吸收的化合物的定量分析。

古籍中对道地药材的形成与生态环境之间的关系已有初步认识和记载,认为药材品质与生态环境密切相关^[24],例如,《本草经集注》记载“诸药所生,皆有境界”。有学者收集全国各地黄花蒿中的青蒿素含量数据,分析了该成分含量与气候因子及地理分布之间的关系,结果表明青蒿素含量与日照、气温、降水量及产地纬度密切相关^[25]。根据物种多样性与气候数据库,研究人员认为黄花蒿适宜产区分布在北美洲东部、欧洲西部及亚洲东部^[26];在亚热带地区,其青蒿素质量分数在0.4%~0.7%^[27-28],在温带和寒带地区则<0.1%^[29-30]。然而,以上研究均未区分黄花蒿生长过程中的遗传因素、环境因素和人为因素,基于此,本研究拟采用随机分布水培方式,对不同种源黄花蒿叶片中的青蒿素及青蒿乙素含量进行测定,比较在相同环境下不同种源黄花蒿中这2种成分的差异,探讨同一环境及栽培模式下不同产地黄花蒿内青蒿素及青蒿乙素含量与其经纬度之间的相关性,以期为黄花蒿的育种提供数据支持。

1 材料

ACQUITY I-Class型高效液相色谱仪与Xevo TQ-S micro型三重四级杆串联质谱仪(美国Waters公司),XS105型1/10万电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],JXFSTPRP-GN型多样品组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司),BS210S型1/1万电子分析天平(德国赛多利斯公司),Milli-Q型超纯水机(美国Millipore公司)。青蒿素对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号CF201801,纯度≥98%),青蒿乙素对照品(上海瀚香生物科技有限公司,批号HX201810226,纯度≥98%),水为超纯水,

甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

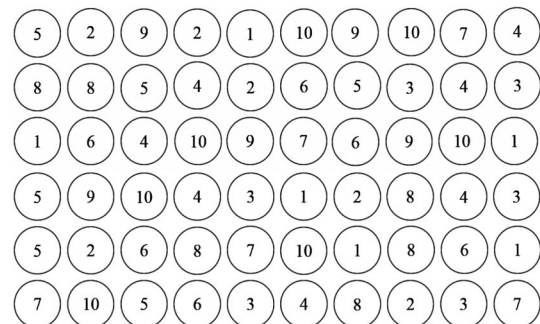
云南、山西、海南等10个地区的黄花蒿种子均由中国中医科学院中药研究所向两副研究员采集,运用水培方法将种子萌发为完整的植株,植株经中国中医科学院中药研究所向两副研究员鉴定为菊科植物黄花蒿*A. annua*,种子经DNA条形码技术再次验证鉴定。每个产地6个生物学重复,每个生物学重复进行3个技术重复,具体采集样本信息见表1。

表1 黄花蒿种子采样信息

Table 1 Sampling information of *A. annua* seeds

No.	产地	经度/°	纬度/°	质量分数(n=6)/μg·g ⁻¹	
				青蒿素	青蒿乙素
1	云南	102.716	25.052	3 810.597	384.629
2	山西	112.569	37.880	1 071.772	1 691.747
3	海南	109.845	19.039	3 702.952	325.771
4	甘肃	103.833	36.065	17.181	10.813
5	黑龙江	126.670	45.748	105.284	1 092.411
6	湖北	114.279	30.573	3 336.534	90.074
7	山东	117.009	36.663	860.521	1 380.204
8	广西	108.295	22.838	2 748.592	149.782
9	北京	113.641	34.758	1 035.802	1 357.668
10	浙江	120.160	30.272	1 359.466	1 086.604

首先筛选出干净的种子(部分种子带壳),不同地域的黄花蒿种子随机种于海绵盘,倒入适量水,使海绵充分吸水,待其发芽后放置于黑暗处,盖上保鲜膜,25℃恒温培养,长出根为止(根透过海绵)将其随机种到水培间循环水培养数周,生长一段时间后采集叶片;水培样品顺序见图1。



数字编号与表1中产地编号一一对应

图1 黄花蒿种子水培样本随机栽培

Fig. 1 Cultivation of *A. annua* seeds in hydroponic culture

2 方法与结果

2.1 色谱条件 使用Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm),流动相

水-乙腈(95:5,含0.1%甲酸,A)-乙腈-水(95:5,含0.1%甲酸,B)梯度洗脱(0~3.5 min,25%~1%A;3.5~3.6 min,1%~25%A;3.6~5.0 min,25%A),流速设定 $0.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,进样量 $1\ \mu\text{L}$ 。

2.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI),离子源温度 $500\text{ }^{\circ}\text{C}$,锥孔气及脱溶剂气均为氮气,脱溶剂气流速 $800\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$,锥孔气流速 $50\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$,毛细管电压 3 kV ,数据采集模式为多反应监测(MRM)模式,在正离子模式下采集,运用外标法计算每个化合物的含量;数据分析使用仪器自带 MassLynx 4.2 SCN977 及 TargetLynx 进行分析,数据统计运用R语言。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 取青蒿素对照品 5.0 mg ,精密称定后加入乙腈 1 mL ,配成 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 青蒿素对照品溶液;取青蒿乙素对照品 5.0 mg ,精密称定后加入乙腈 1 mL ,配成 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 青蒿乙素对照品溶液;分别取青蒿素及青蒿乙素对照品溶液适量,加入50%乙腈(含0.1%甲酸)稀释成青蒿素、青蒿乙素质量浓度均为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 收集叶片后进行冷冻干燥,运用组织研磨仪将样品研成极细粉(功率 50 Hz ,研磨时间 40 s)。称取 0.01 g 于 1.5 mL 的离心管中,加入80%甲醇(含0.1%甲酸) 1 mL ,超声 30 min (100 W , 40 kHz),以 $12\ 000\times g$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min ,吸取上清液至新的 1.5 mL 离心管中备用,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存;进样前取出样品平衡至室温,再用50%乙腈稀释10倍,待测。

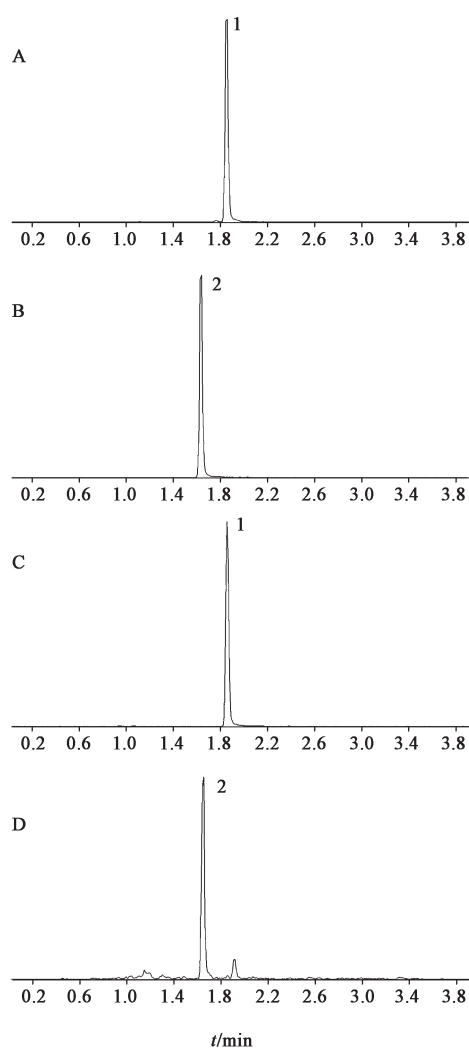
2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取2.3项下制备的溶液,按2.1和2.2项下条件测定,见图2。结果显示,各成分之间无干扰,该方法专属性良好。

2.4.2 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液适量,加50%乙腈(含0.1%甲酸)稀释,配成系列质量浓度的混合对照品溶液,按2.1和2.2项下条件测定。以对照品质量浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标轴,峰面积为纵坐标轴,绘制标准曲线,得青蒿素、青蒿乙素回归方程分别为 $Y=1.268\ 59X+17.808\ 5$ ($R^2=0.999\ 4$), $Y=4.172X+56.332\ 4$ ($R^2=0.999\ 6$),线性范围均为 $0.062\ 5\sim 2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4.3 精密度试验 取同一供试品溶液,按2.1和2.2项下条件连续进样6次,计算青蒿素及青蒿乙素峰面积的RSD分别为2.4%和2.5%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 分别精密称取同一份黄花蒿



A,B. 混合对照品;C,D. 供试品;1. 青蒿素;2. 青蒿乙素

图2 黄花蒿UPLC-MS/MS分析的总离子流

Fig. 2 Total ion chromatograms of *A. annua* by UPLC-MS/MS

样品6份,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.1和2.2项下条件测定,计算青蒿素和青蒿乙素平均质量分数为 $5\ 988.736, 1\ 041.428\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD分别为1.1%,5.1%,表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于制备后0,1,2,4,8,12,24 h按2.1和2.2项下条件测定,计算青蒿素和青蒿乙素峰面积的RSD分别为4.0%,2.3%,表明供试品溶液在24 h内稳定性较好。

2.4.6 加样回收率试验 精密称取已知指标成分含量的样品粉末 0.005 g ,共6份,分别加入青蒿素及青蒿乙素(质量浓度分别为 $0.982, 0.049\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的混合对照品溶液 1 mL ,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.1和2.2项下条件测定,计算青蒿素平均加样回收率103.82%,RSD 6.1%;青蒿乙素平均加样回收率102.51%,RSD 6.0%,表明该方法准确性良好。

2.5 样品测定 不同种源黄花蒿中青蒿素与青蒿乙素的质量分数见表1。结果发现不同种源黄花蒿水培后这2个成分的含量均存在较大差异,其中,青蒿素含量较高的种源地是云南,平均质量分数达到 $3\,810.597\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其次是海南,平均值 $3\,702.952\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;青蒿乙素含量最高的是山西,平均质量分数达到了 $1\,691.747\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其次是山东,平均值 $1\,380.204\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;甘肃采集黄花蒿种子经水培后青蒿素及青蒿乙素的含量均较低,质量分数分别为 $17.181, 10.813\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,分别为云南青蒿素及青蒿乙素含量的0.5%及2.8%,以及山西的1.6%及0.6%。由图3可知,湖北产地的黄花蒿与其他产地相比,其青蒿素含量波动较大,根据统计结果得标准差 $1\,758.445\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,这在研究中应当引起关注;源于北京的黄花蒿中青蒿素含量波动值较小,标准差 $269.584\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;青蒿乙素在山西及山东产地黄花蒿中的含量相对波动较大,标准差分别为 $338.004, 374.68\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。根据以上实验数据可以看出,不同产地黄花蒿中青蒿素、青蒿乙素含量具有很大差异,以青蒿乙素质量分数为纵坐标,青蒿素质量分数为横坐标,进行聚类分析,见图4,以青蒿乙素质量分数/青蒿素质量分数=0.5作为分界线(图中灰色虚线)。结果显示,10个产地的黄花蒿被自然分为2个类群,位于灰色虚线左边的产地有山西、北京、黑龙江、山东、浙江、甘肃,位于灰色虚线右边的产地为云南、海南、湖北、广西,这4个产地均位于秦岭淮河以南地区;聚类分析结果与其他学者发现的野生黄花蒿含量变化规律一致,具有明显的空间聚集特征^[25]。

2.6 相关性分析 黄花蒿中青蒿素、青蒿乙素含量与种源地的相关性分析见图5,6。结果发现青蒿素含量与种源地经度呈负相关($r=0.431$),但相关性不

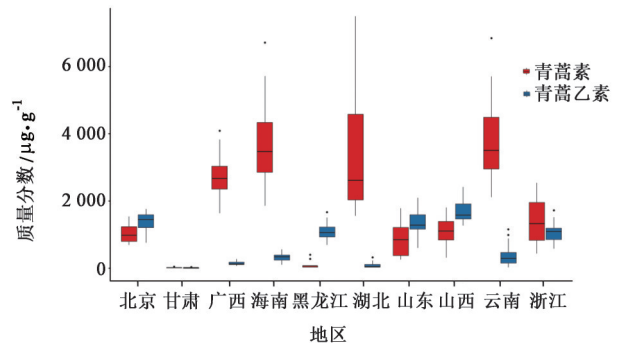


图3 不同种源黄花蒿中指标成分含量分布的箱式分析
Fig. 3 Box diagram of content distribution of index components in *A. annua* from different provenances

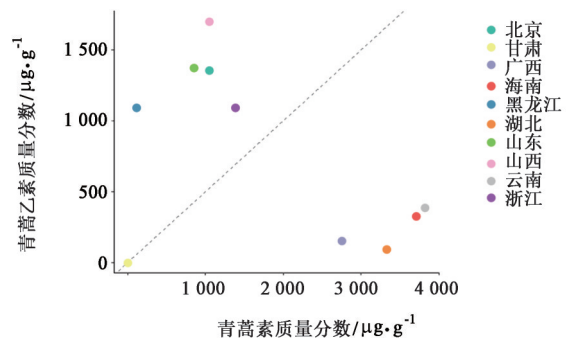


图4 不同种源黄花蒿的聚类分析
Fig. 4 Cluster analysis of *A. annua* from different provenances

显著;青蒿素含量与种源地纬度显著相关($r=0.851, P<0.01$),表明青蒿素含量与纬度变化密切相关。青蒿乙素含量与种源地经度、纬度均呈正相关(r 分别为 $0.516, 0.555$),但这种相关性均不显著。综上所述,不同种源的黄花蒿在同一培养环境下培养青蒿素与青蒿乙素的含量差异具有统计学意义,青蒿素与青蒿乙素含量与种源地纬度的关系相对于经度来说更加紧密一些,说明在培养环境一致的情况下,不同种源的黄花蒿中青蒿素及青蒿乙素的含量依然是有差别的。

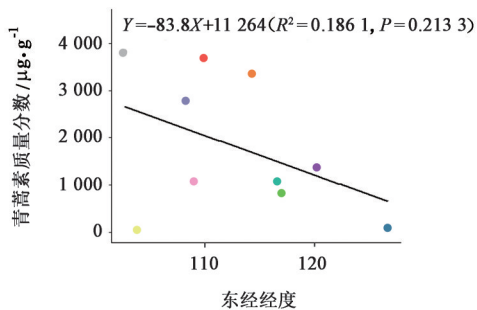


图5 黄花蒿中青蒿素含量与种源地经度的相关性分析

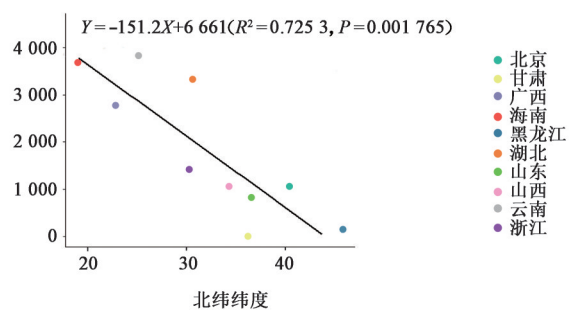


Fig. 5 Correlation analysis of artemisinin content in *A. annua* with longitude and latitude of provenance

3 讨论

为了比较不同种源黄花蒿中青蒿素及青蒿乙

素的含量,本研究将云南、北京、黑龙江、山东、山西、湖北等不同来源的黄花蒿种子置于同一环境下

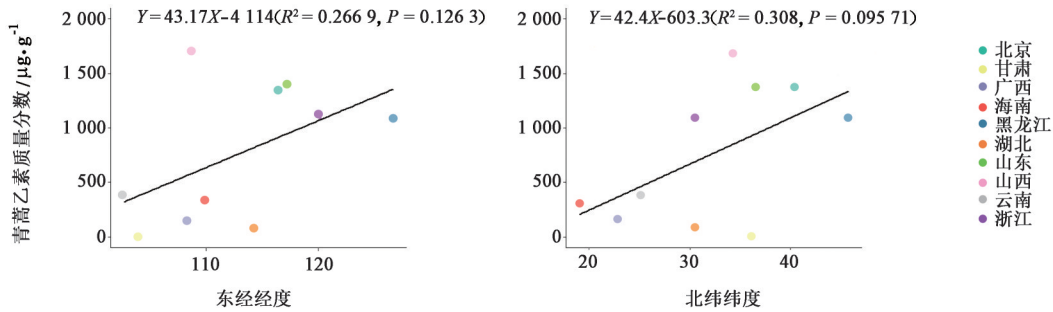


图6 黄花蒿中青蒿乙素含量与种源地经纬度的相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of artemisinin B content in *A. annua* with longitude and latitude of provenance

水培,然后建立基于UPLC-MS/MS快速测定其中2种化合物含量的方法,通过方法学考察,证明该方法专属性良好;根据含量测定结果,不同种源黄花蒿在同一培养环境下的青蒿素及青蒿乙素含量的差异具有统计学意义($P < 0.01$),以青蒿素含量为参考,种源地为云南及海南的黄花蒿质量较好,而来源于甘肃的质量较差;依据青蒿素质量分数与青蒿乙素质量分数的比值,运用笛卡尔坐标系将10个种源的黄花蒿分为2个类群,其中位于秦岭淮河以南的地区即青蒿素含量较高的地区聚为一类;为了进一步比较相关差异,对2种化合物的含量与不同种源地的经纬度作相关性分析,结果表明不同种源黄花蒿中青蒿素含量与纬度显著相关,与不同环境下所得研究结果一致^[25],具有明显空间聚集,但本文研究结果中青蒿乙素含量与种源地的经纬度未呈现显著相关性。

高品质药材的形成与环境饰变、遗传背景及人为因素密切相关。本研究考察了在同一培养环境下黄花蒿中青蒿素与青蒿乙素的含量差异,并进行相关性分析,结果表明在同一环境下生长的黄花蒿中青蒿素变化规律与不同环境下黄花蒿中青蒿素变化规律一致,推测其种质遗传背景对青蒿素及青蒿乙素的含量具有更为关键的影响,进一步解析不同种源遗传背景及相互之间的差异,可对后续黄花蒿的优良品种筛选提供依据。本研究将不同种源的黄花蒿置于同一环境下培养,探究了青蒿素、青蒿乙素含量与种源的关系,但高品质黄花蒿形成机制的阐释不太全面,仍需在环境饰变、遗传背景及人为因素方面进行深入研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:207.

[2] 向丽,张卫,陈士林. 中药青蒿本草考证及DNA鉴定[J]. 药学学报,2016,51(3):486-495.

[3] 韦记青,韦霄,蒋水元,等. 广西黄花蒿资源及发展策略[J]. 广西农学报,2005,20(3):24-26.

[4] FENG X C, CAO S J, QIU F, et al. Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. [J]. Pharmacol Ther, 2020, 216: 107650.

[5] MARTINI M C, ZHANG T B, WILLIAMS J T, et al. *Artemisia annua* and *Artemisia afra* extracts exhibit strong bactericidal activity against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. J Ethnopharmacol,2020,262:113191.

[6] DADDY N B, KALISYA L M, BAGIRE P G, et al. *Artemisia annua* dried leaf tablets treated malaria resistant to ACT and *i. v.* artesunate: case reports[J]. Phytomedicine,2017,32:37-40.

[7] LIU B, BUSSMANN R W, BATSATSASHVILI K, et al. Ethnobotany of the Mountain Regions of Central Asia and Altai [M]. Berlin: Springer International Publishing,2020:1.

[8] YAO W B, WANG F, WANG H. Immunomodulation of artemisinin and its derivatives[J]. Sci Bull,2016,61(18):1399-1406.

[9] 隋婧. 青蒿体外止血活性部位筛选及其应用研究[D]. 重庆:重庆大学,2009.

[10] World Health Organization. World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges[EB/OL]. (2020-11-30) [2021-01-25]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791>.

[11] MHARAKURWA S, THUMA P E, NORRIS D E, et al. Malaria epidemiology and control in Southern Africa[J]. Acta Trop,2012,121(3):202-206.

[12] 袁亚男,姜廷良,周兴,等. 青蒿素的发现和发展[J]. 科学通报,2017,62(18):1914-1927.

[13] 马进,向极钎,杨永康,等. 黄花蒿新品种选育现状及其系统选育研究进展[J]. 湖北农业科学,2014,53(19):4520-4524.

- [14] 张琴. 黄花蒿品质变异及生产区划[D]. 北京:北京协和医学院, 2018.
- [15] 丁丹丹. 黄花蒿中四种青蒿素类化合物含量的时空动态研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2019.
- [16] FATIMA K, ABBAS S R, ZIA M, et al. Induction of secondary metabolites on nanoparticles stress in callus culture of *Artemisia annua* L. [J]. *Braz J Biol*, 2021, 81(2): 474-483.
- [17] 陈靖, 周玉波, 张欣, 等. 黄花蒿幼嫩叶的化学成分[J]. *沈阳药科大学学报*, 2008, 52(11): 866-870.
- [18] BROWN G D. Cadinanes from *Artemisia annua* that may be intermediates in the biosynthesis of artemisinin [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(3): 637-641.
- [19] SCHRAMEK N, WANG H H, RÖMISCH-MARGL W, et al. Artemisinin biosynthesis in growing plants of *Artemisia annua*. A $^{13}\text{CO}_2$ study [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(2/3): 179-187.
- [20] 方欣, 卢山, 于宗霞, 等. 青蒿素的生物合成研究[J]. *科技导报*, 2015, 33(20): 31-35.
- [21] 曹海禄, 曹国番, 魏建和, 等. 遗传和环境因子对药用植物品质的影响[J]. *中草药*, 2007, 38(5): 785-788.
- [22] 陈士林, 向丽, 李琳, 等. 青蒿素原料生产与资源再生全球战略研究[J]. *科学通报*, 2017, 62(18): 1982-1996.
- [23] 张博, 孙秀丽, 郭云龙, 等. 液质联用技术分析不同产地不同年限人参的化学成分[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(8): 206-212.
- [24] 谢彩香, 宋经元, 韩建萍, 等. 中药材道地性评价与区划研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(6): 950-958.
- [25] 钟国跃, 周华蓉, 凌云, 等. 黄花蒿优质种质资源的研究[J]. *中草药*, 1998, 29(4): 264-267.
- [26] 张小波, 郭兰萍, 黄璐琦. 我国黄花蒿中青蒿素含量的气候适宜性等级划分[J]. *药学学报*, 2011, 46(4): 472-478.
- [27] 张琴, 文检, 郭杰, 等. 药用植物黄花蒿生产区划[J]. *植物保护学报*, 2018, 45(3): 503-510.
- [28] 陈昌婕, 罗丹丹, 苗玉焕, 等. 不同艾种质资源叶片品质的分析与评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(9): 129-136.
- [29] 陈士林, 孙奕, 万会花, 等. 中药与天然药物 2015~2020 年研究亮点评述[J]. *药学学报*, 2020, 55(12): 2751-2776.
- [30] 曹芳, 夏菁, 陈俞裴, 等. 黄花蒿羟甲基丁烯基-4-磷酸还原酶基因克隆与功能研究[J]. *药学学报*, 2016, 51(11): 1791-1798.

[责任编辑 刘德文]