

多指标成分结合化学计量学综合评价甘肃产甘草的质量

侯 嘉¹, 郭鸿儒², 杨扶德^{1*}, 邵士俊³

1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室培育基地, 甘肃 兰州 730000

2. 兰州工业研究院, 甘肃 兰州 730070

3. 中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要:目的 选取甘肃代表性区域(河西、陇中、陇东地区)野生和栽培甘草进行多指标成分测定并结合化学计量学综合分析甘肃产甘草质量, 为评价适宜生产区域提供依据。方法 建立了多波长检测 HPLC 测定甘草样品中 7 种三萜类和黄酮类成分(甘草酸、甘草苷、异甘草苷、芹糖甘草苷、芹糖异甘草苷、甘草素、异甘草素)含量的方法, 结合因子和聚类分析综合评价甘肃代表性区域产甘草样品的质量。结果 因子分析中, 第 1 公因子与甘草酸、甘草苷、异甘草苷有较强的相关性, 第 2 公因子与甘草素、异甘草素有较强的相关性, 2 个公因子的方差累积贡献率达到 84.28%, 能较全面地反映甘草的质量; 聚类分析结果将 25 批不同区域甘草质量分为 3 类: I 类甘草质量最好, 主要是野生甘草及产自内蒙古杭锦旗的甘草; II 类甘草质量较好, 主要产自甘肃河西地区及甘肃陇西; III 类甘草质量较差, 主要产自甘肃陇中地区(白银)。结论 甘肃河西地区及陇西较适宜大力发展甘草产业。通过多指标成分结合化学计量法可用于进一步评价甘草质量, 判别适宜甘草生产的产地区划。

关键词: 甘草; 多指标成分; 因子分析; 聚类分析; 质量评价

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)16-3923-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.027

Comprehensive evaluation of quality of licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) in different growing regions of Gansu Province based on multi-index components combined with chemometrics methods

HOU Jia¹, GUO Hong-ru², YANG Fu-de¹, SHAO Shi-jun³

1. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality and Standard of Gansu Province, College of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Lanzhou Industrial Research Institute, Lanzhou 730070, China

3. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources, Key Laboratory of Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective In this study, the wild and cultivated licorice of Gansu representative regions (Hexi, Longzhong and Longdong) were measured and analyzed by multi-index components combined with chemometrics methods, which will provide scientific basis for the evaluation of the quality of licorice and the suitable producing areas in Gansu Province. **Methods** Seven main bioactive components (glycyrrhizin, liquiritin, isoliquiritin, liquiritin apioside, isoliquiritin apioside, liquiritigenin and isoliquiritigenin) in 25 batches of licorice samples were simultaneously determined by HPLC-DAD to comprehensively evaluate the quality of licorice combined with factor analysis and cluster analysis. **Results** Factor analysis showed that there was a strong correlation between the first common factor and glycyrrhizin, liquiritin and isoliquiritin; and between the second common factor and liquiritigenin, isoliquiritigenin. The variance contribution rate of two common factors was 84.28%, which reflected licorice quality overall. And cluster analysis showed that the quality of 3-year-old licorice (*Glycyrrhizae Radix*) cultivated in Hangjinqi of Inner Mongolia was the best, followed by that cultivated in Hexi and Longxi of Gansu Province. The quality of licorice in Longzhong of Gansu Province was

收稿日期: 2019-01-06

基金项目: 国家中医药行业科研专项课题: 国家基本药物所需中药材种子种苗繁育基地建设(财社〔2012〕13号); 甘肃省普通中医药科研项目(GZK-2011-63); 甘肃省科技厅“三区”人才科技支持项目(2016-13); 甘肃省高等学校科研项目(2015B-072)

作者简介: 侯 嘉, 副教授, 研究方向为中药品质研究。E-mail: houjia2012@163.com

*通信作者 杨扶德, 教授, 研究方向为中药品质研究。E-mail: gszfyfd@163.com

worse. **Conclusion** These results showed that it was more suitable to develop licorice planting in Longxi and Hexi area in Gansu Province. The overall evaluation of multi-index components and chemometrics has reference value for quality control of licorice and optimization its suitable planting areas.

Key words: licorice; multi-index components; factor analysis; cluster analysis; quality evaluation

甘草系豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 和光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根茎。《本草纲目》中记载^[1]：“诸药中甘草为君，治七十二种乳石毒，解一千二百草木毒，调和诸药有功，故有‘国老’之号”；具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效^[2]。

甘草在我国主要分布于内蒙古、甘肃、宁夏、新疆等省区^[3]，适宜生长在干旱半干旱的荒漠、沙漠边缘和黄土丘陵地带。甘肃由于其所处的地理环境，其气候条件尤为适合甘草的生长，为野生甘草的分布及人工种植甘草提供良好的自然环境基础。在“十三五”期间，甘肃将重点建设甘草、当归等十大陇药的道地中药材标准生产基地；目前，甘肃种植甘草主要以植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为主，全省各地均有甘草分布，主要集中在河西地区，以酒泉市、武威市为主；其次为陇中地区，以定西市、白银市为主；再次为陇东地区，以庆阳市为主；最后为陇南地区，种植甘草面积最少^[4]。因此，全面评价甘肃产甘草的质量，判别适宜甘草生产的产地区划将变得尤为重要。指标成分结合化学计量学方法能较好地评价甘草药材质量，优选甘草生产的适宜区域，但研究较少，仅见宋平顺等^[5]以甘草酸（glycyrrhizin，GL）、甘草苷（liquiritin，LQ）及总黄酮类成分结合主成分分析和聚类分析对甘肃产甘草的质量进行了综合评价，但未对甘草生产的适宜区域进行评价，因此，本研究以多指标成分结合因子分析和聚类分析进一步对甘肃代表性区域的甘草质量进行综合评价，优选出甘草生产的适宜区域，为甘草药材标准生产基地的建设提供科学依据。

甘草中有效成分主要为三萜皂苷类和不同类型的黄酮及其苷类化合物。三萜皂苷类包括 GL、甘草次酸等，药理研究表明，GL 具有抗炎、抗溃疡、抗病毒及保肝等多种药理活性^[6-10]，还是甘草中主要的甜味物质，广泛用作甜味剂以及食品和烟草中的添加剂^[11-12]。LQ、异甘草苷（isoliquiritin，ILQ）、芹糖甘草苷（liquiritin apioside，LA）、芹糖异甘草苷（isoliquiritin apioside，ILA）、甘草素

（liquiritigenin，LG）、异甘草素（isoliquiritigenin，ILG）均为甘草药材中代表性黄酮类成分，具有抗过敏、镇咳和利胆作用等多种药理活性^[13-14]。这些研究为甘草质量评价指标性成分的选择奠定了药效学基础。

本研究建立多波长检测 HPLC 同时测定甘草中 GL、LQ、ILQ、LA、ILA、LG、ILG 7 个主要成分含量的方法，结合因子分析和聚类分析研究了甘肃产甘草质量以及甘草在甘肃的适宜生产区域。

1 材料

1.1 仪器与试剂

美国 Agilent1200 型液相色谱仪（G1329A 自动控温自动进样器；G1315B 二极管阵列检测器（编号 20071033）；BX7200HP 超声清洗仪（上海新苗医疗器械制造有限公司，功率 250 W，频率 40 kHz）；TGL16M 冰冻离心机（湖南凯达科学仪器有限公司，）；JB/T5374-1991 十万分之一电子天平 [奥豪斯仪器（上海）有限公司]。

对照品 GL（批号 110731-201115）、LQ（批号 111610-201104）购自中国食品药品检定研究院，其质量分数大于 98%；LA（批号 FB-50001）、ILA（批号 FB-50002）、ILQ（批号 FB-31004）、LG（批号 FB-31001）、ILG（批号 FB-31002）购于上海永恒生物科技有限公司，质量分数均大于 98%。乙腈为色谱纯，其他试剂均为分析纯，HPLC 用水为杭州娃哈哈有限公司纯净水。

1.2 样品

分别采集了来自甘肃河西地区（酒泉、张掖、武威），陇中地区（白银、定西、天水），陇东地区（庆阳）野生和栽培甘草；以及新疆、内蒙古野生和栽培甘草共 25 份样品，经甘肃中医药大学中药鉴定学教研室杨扶德教授鉴定，均为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎，具体编号及产地信息见表 1。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）和 Zorbax Eclipse Guard C₁₈ 保护柱（20 mm×4.6 mm，5 μm）。流动相为 0.5%乙

表 1 甘草样品来源
Table 1 Origin of 25 investigated samples

编号	产地	经 (E)、纬 (N) 度	栽培或野生
XJ	新疆阿克苏	80.236 174°, 41.198 410°	野生
JQ1	酒泉瓜州县	95.678 433°, 40.470 704°	栽培 2 年
JQ	酒泉瓜州县	95.620 367°, 40.624 535°	野生
JQ2	酒泉金塔县	98.884 030°, 40.030 234°	栽培 2 年
JQ3	酒泉肃州区	99.003 244°, 39.546 934°	栽培 2 年
JQ4	酒泉肃州区	99.003 244°, 39.546 934°	栽培 3 年
ZY1	张掖高台县	99.498 187°, 39.378 225°	栽培 2 年
ZY	张掖甘州区	99.362 802°, 39.203 600°	野生
WW	武威古浪县	102.969 533°, 37.487 399°	野生
JY1	白银靖远县	104.581 506°, 36.307 880°	栽培 3 年
JY	白银靖远县	104.546 724°, 36.306 658°	野生
JY2	白银靖远县	104.605 010°, 36.385 051°	栽培 3 年
JY3	白银靖远县	104.530 348°, 36.527 100°	栽培 3 年
JY4	白银靖远县	104.575 115°, 36.432 221°	栽培 3 年
JT1	白银景泰县	103.970 823°, 37.167 289°	栽培 2 年
JT	白银景泰县	103.994 970°, 37.214 249°	野生
HN	白银会宁县	105.165 001°, 36.256 653°	野生
HNY	白银会宁县	105.014 373°, 35.516 658°	野生
LX1	陇西首阳镇	104.389 640°, 35.080 091°	栽培 2 年
LX2	陇西首阳镇	104.438 464°, 35.083 063°	栽培 2 年
LX3	陇西首阳镇	104.539 852°, 35.194 244°	栽培 3 年
TS	天水甘谷县	105.145 650°, 34.909 811°	野生
QY	庆阳宁县	107.912 906°, 35.413 272°	野生
NM1	内蒙杭锦旗	108.374 602°, 40.833 463°	栽培 3 年
NM2	内蒙杭锦旗	108.000 762°, 40.420 545°	栽培 3 年

酸水溶液 (A) - 乙腈 (B)。线性梯度洗脱: 0~6 min, 20%~30% B; 6~8 min, 30%~42% B; 8~14 min, 42%~50% B; 14~19 min, 50%~60% B; 19~21 min, 60%~80% B; 21~25 min, 80% B; 25~27 min, 80%~20% B。体积流量为 1.0 mL/min。检测波长 254、276、370 nm。柱温 35 °C, 进样量为 5 μ L。

2.2 供试品溶液的制备^[2,15]

精密称取样品粉末约 0.1 g 于离心管中, 精密加入 70%乙醇水溶液 1.5 mL, 称定质量。密封后在室温下 (温度 20~25 °C) 超声 30 min, 静置冷却后, 称重, 用 70%乙醇水溶液补足减失的质量, 摇匀。高速离心 4 min (10 000 r/min), 将上清液滤过, 残渣再按上述步骤重复提取 2 次, 将 3 次的上清液合并, 经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

2.3 混合对照品溶液的制备

精密称取 7 个对照品适量, 加入乙醇配制成 GL 1 975.2 μ g/mL、LQ 903.8 μ g/mL、LA 550.0 μ g/mL、ILA 510.0 μ g/mL、ILQ 480.0 μ g/mL、LG 64.0 μ g/mL、ILG 9.4 μ g/mL 的混合对照品溶液, 放于 4 °C 冰箱,

备用。

2.4 线性关系考察

精密量取上述混合对照品溶液, 用乙醇逐级稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液, 每个对照品设置 6 个不同质量浓度, 将各混合对照品溶液在“2.1”项色谱条件下进行测定, 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 对应的对照品质量浓度为横坐标 (X), 进行回归分析, 得回归方程、相关系数 (r) 及线性范围; 按信噪比 3:1 和 10:1 分别计算各成分的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)。结果见表 2。

2.5 方法学考察

为了考察方法的精密度、重复性和稳定性, 取编号为 JQ4 的甘草药材, 按照“2.2”项方法制备供试品溶液, 在“2.1”项色谱条件下进样测定, 计算 7 个成分的含量, 分别进行了日内 (1 日内 5 次) 及日间 (连续进样 3 d) 重复试验, 3 份样品的重复性实验及 7 个成分的加样回收率实验。以 7 个成分含量的 RSD 判定所建立方法的精密度、重复性及稳定性。结果见表 3。

表 2 7 个成分的线性关系

Table 2 Linearity correlations of seven analytes

化合物	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOD/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	LOQ/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
GL	$Y=6\,541.136\,11\,X-69.704\,33$	0.999 9	19.75~1 975.20	0.90	2.99
LA	$Y=9\,321.961\,06\,X+162.069\,36$	0.997 8	5.50~550.00	0.33	1.10
LQ	$Y=9\,802.734\,88\,X+259.415\,32$	0.990 2	9.04~903.80	0.59	1.98
LG	$Y=27\,033.103\,64\,X+6.803\,09$	0.999 3	0.64~64.00	0.06	0.20
ILA	$Y=10\,721.876\,06\,X+29.785\,31$	0.991 5	5.10~255.00	0.16	0.52
ILQ	$Y=15\,841.339\,05\,X+179.133\,74$	0.994 2	4.80~480.00	0.06	0.19
ILG	$Y=46\,656.526\,32\,X-9.944\,75$	0.996 4	0.37~9.36	0.04	0.14

表 3 定量测定方法精密度和重复性考察 ($n=3$)Table 3 Intra-day and inter-day precisions, repeatabilities and recoveries of analytes ($n=3$)

化合物	精密度 RSD/%		重复性 RSD/%	回收率	
	日内	日间		平均值/%	RSD/%
GL	1.02	2.92	3.34	98.22	1.70
LA	1.09	1.11	2.95	98.33	1.45
LQ	0.96	1.43	2.90	98.74	1.98
LG	0.95	1.79	0.68	97.89	1.13
ILA	1.34	1.85	2.66	97.33	0.41
ILQ	1.05	2.15	2.78	98.24	0.98
ILG	1.01	1.77	1.83	98.20	1.22

2.6 样品含量测定

取甘草药材粉末,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样分析,测定各成分的峰面积。以外标法计算 7 个分析物在药材中的含量。甘草中三萜皂苷类和黄酮类成分的 HPLC 图见图 1。

2.7 数据分析

数据用 SPSS 18.0 对甘草样品的指标成分进行因子分析和聚类分析,用 Origin 8.5 软件绘图。

3 结果与分析

3.1 方法学考察结果

线性关系考察结果表明建立的分析方法的灵敏度适用于 7 个指标成分的同时测定(表 2)。日内(1 日内 5 次)及日间(连续进样 3 d)精密度试验结果表明 7 个指标成分峰面积 RSD 分别为 0.95%~1.34%、1.11%~2.92%(表 3),表明建立的方法也具有较好的稳定性。重复性试验中,7 个指标成分含量 RSD 均小于 3.50%;加样回收率试验表明 7 个指标成分的回收率在 97.33%~98.74%,RSD 均小于 2.0%。表明方法的重复性和回收率良好。

3.2 甘肃不同区域产甘草的因子分析

在衡量甘肃不同区域生产的甘草药材质量时,

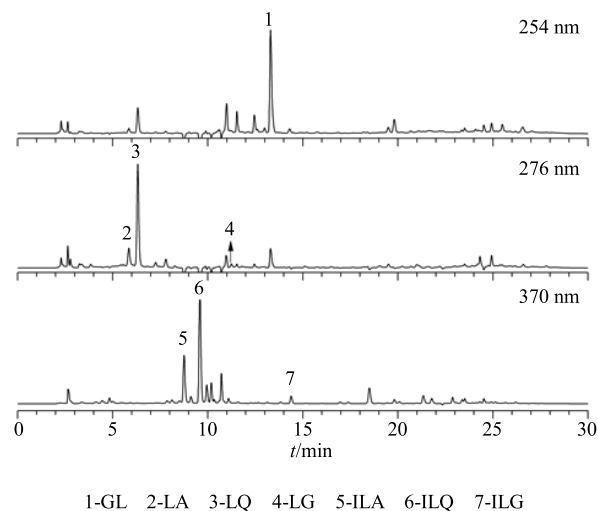


图 1 甘草中三萜皂苷类和黄酮类成分 HPLC 图

Fig. 1 Typical chromatograms of triterpenoid saponins and flavonoids in roots of *G. uralensis*

并不能仅仅比较一两项质控指标数据,而是应该从多指标进行多元分析,从化学成分各个方面综合考察,从而搞清甘肃不同区域种植甘草的质量,找出影响甘草质量的主要因素,为甘草药材质量的评价及控制制定依据。本实验测定了甘草中主要的 7 个有效成分 GL、LA、LQ、LG、ILA、ILQ、ILG 的含量,结果见表 4。

表 4 甘草 7 个指标成分的含量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 4 Determination of seven representative compounds in *G. uralensis* samples from different regions ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	GL	LA	LQ	LG	ILA	ILQ	ILG
XJ	21.84±1.77	14.29±1.17	10.60±0.92	1.35±0.12	5.22±0.40	0.68±0.10	0.22±0.02
JQ1	12.71±0.41	0.19±0.02	13.03±0.58	0.11±0.00	0.23±0.02	0.90±0.06	0.04±0.00
JQ	29.43±0.84	1.68±0.04	18.20±0.44	0.13±0.01	0.63±0.03	2.58±0.16	0.05±0.00
JQ2	17.20±0.95	2.61±0.25	2.72±0.35	0.39±0.03	1.16±0.09	0.02±0.00	0.04±0.00
JQ3	15.43±0.24	4.34±0.32	11.25±0.51	0.11±0.01	1.62±0.03	0.67±0.04	0.03±0.00
JQ4	23.49±0.60	5.24±0.11	11.73±0.26	0.28±0.00	2.06±0.04	1.22±0.03	0.07±0.00
ZY1	22.72±0.47	2.39±0.15	17.61±0.28	0.27±0.03	0.99±0.03	1.56±0.04	0.04±0.00
ZY	23.65±0.82	5.14±0.26	4.18±0.35	0.08±0.01	2.32±0.10	0.08±0.01	0.02±0.00
WW	35.02±1.27	4.75±0.15	25.14±0.86	0.42±0.02	1.75±0.02	2.66±0.12	0.07±0.00
JY1	46.25±3.99	6.67±0.64	33.27±2.78	0.48±0.03	3.06±0.21	3.47±0.33	0.12±0.01
JY	12.32±0.40	2.80±0.12	4.58±0.28	0.74±0.02	3.12±0.18	0.01±0.00	0.07±0.00
JY2	16.14±0.37	3.96±0.11	10.30±0.16	0.14±0.01	1.64±0.01	0.58±0.01	0.03±0.00
JY3	16.88±1.33	2.01±0.19	13.87±1.21	0.11±0.01	1.09±0.08	1.26±0.15	0.09±0.01
JY4	15.49±1.09	1.76±0.33	5.38±0.74	0.11±0.05	0.96±0.08	0.50±0.08	0.04±0.00
JT1	21.25±1.19	2.22±0.14	7.47±0.48	0.12±0.01	0.84±0.04	0.50±0.05	0.02±0.00
JT	16.55±0.09	2.16±0.04	7.06±0.06	0.26±0.00	0.92±0.01	0.38±0.01	0.04±0.00
HN	40.07±0.73	9.46±0.28	21.52±0.66	0.81±0.03	5.56±0.13	3.12±0.10	0.12±0.00
HNY	47.43±10.00	8.63±0.49	33.26±0.68	0.85±0.04	3.91±0.16	4.49±0.16	0.11±0.00
LX1	20.73±1.46	1.56±0.19	15.66±1.08	0.39±0.03	0.87±0.10	1.61±0.14	0.18±0.01
LX2	28.54±2.79	2.56±0.65	16.78±3.62	0.18±0.06	1.21±0.23	1.74±0.41	0.09±0.01
LX3	23.91±0.60	4.93±0.16	16.87±0.35	0.66±0.06	1.97±0.06	2.00±0.10	0.13±0.01
TS	50.52±4.21	8.30±0.74	31.42±2.93	1.48±0.08	4.57±0.39	4.87±0.50	0.14±0.02
QY	50.02±0.67	9.38±0.27	7.07±0.22	7.07±0.10	5.80±0.13	1.90±0.06	0.94±0.01
NM1	45.19±1.84	17.16±0.56	18.94±0.56	0.77±0.05	9.24±0.34	2.17±0.08	0.11±0.00
NM2	49.35±3.36	10.81±0.59	22.33±1.17	1.03±0.08	5.26±0.36	2.96±0.18	0.16±0.01

根据上述结果,本研究先采用因子分析综合评价方法,对甘肃省河西、陇中及陇东 3 个主要种植甘草的区域的 22 份甘草药材样品以及新疆和内蒙古的 3 份样品的质量进行分析。采用主成分法计算因子载荷图,根据因子载荷图可以看出各因子在各变量上的影响程度,旋转后的因子载荷图见图 2,从中可以看出,第 1 公因子在变量 LQ、ILQ 及 GL 上有较大载荷,说明 LQ、ILQ、GL 和第 1 公因子有较强的相关性,而 LQ、ILQ 和 GL 均为甘草中主要的苷类成分,因此第 1 公因子主要表现甘草中亲水性成分对甘草质量的影响;第 2 公因子在 ILG 和 LG 上有很大载荷,体现了甘草中黄酮类苷元在甘草药材质量中的作用,因此第 2 公因子主要表现甘草中亲脂性成分对甘草质量的影响。2 个公因子的

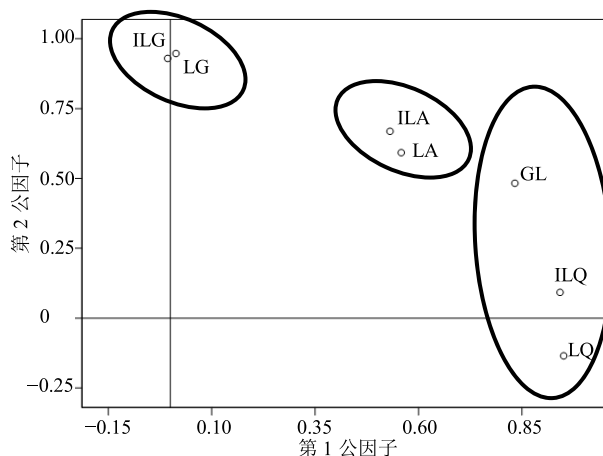


图 2 因子载荷图

Fig. 2 Factor loading graph

方差累积贡献率达到 84.28%，能够较全面地反映甘草的质量；因此按照各公因子对应的方差贡献率为权数计算综合因子得分（表 5），能够对甘肃不同区域产甘草的质量作出综合评价。

3.3 甘肃不同区域产甘草的聚类分析

为了能够更直观地显示甘肃不同区域所产甘草质量的差异，将不同区域所产甘草中的 7 个主要有效成分，又作了进一步的聚类分析，结果见图 3。结合因子分析和聚类分析的结果可以将 25 份主要来自甘肃不同区域的甘草样品的质量情况分为 3 类（表 5）：第 I 类：出产甘草质量最好的区域，也就是所产甘草中水溶性成分（GL、LQ 和 ILQ 等）和脂溶性成分（LG、ILG 等）含量均较高。这一类别包含了大部分的野生甘草，以甘肃庆阳（QY），天水（TS），白银会宁县（HNY、HN）出产的野生甘

表 5 不同区域种植及野生甘草质量因子及聚类综合分析

编号	产地	栽培或野生	综合因子得分	排名	聚类分析
QY	庆阳宁县	野生	1.60	1	I
NM1	内蒙杭锦旗	栽培 3 年	1.15	2	I
TS	天水甘谷县	野生	1.09	3	I
HNY	白银会宁县	野生	0.93	4	I
NM2	内蒙杭锦旗	栽培 3 年	0.88	5	I
HN	白银会宁县	野生	0.70	6	I
JY1	白银靖远县	栽培 3 年	0.67	7	I
XJ	新疆阿克苏	野生	0.36	8	I
WW	武威古浪县	野生	0.16	9	II
LX3	陇西首阳镇	栽培 3 年	-0.06	10	II
JQ	酒泉瓜州县	野生	-0.22	11	II
LX2	陇西首阳镇	栽培 2 年	-0.23	12	II
JQ4	酒泉肃州区	栽培 3 年	-0.26	13	II
LX1	陇西首阳镇	栽培 2 年	-0.33	14	II
ZY1	张掖高台县	栽培 2 年	-0.36	15	II
JY3	白银靖远县	栽培 3 年	-0.48	16	II
JQ1	酒泉瓜州县	栽培 2 年	-0.73	25	II
ZY	张掖甘州区	野生	-0.49	17	III
JQ3	酒泉肃州区	栽培 2 年	-0.51	18	III
JY2	白银靖远县	栽培 3 年	-0.54	19	III
JY	白银靖远县	野生	-0.57	20	III
JT1	白银景泰县	栽培 2 年	-0.64	21	III
JT	白银景泰县	野生	-0.68	22	III
JQ2	酒泉金塔县	栽培 2 年	-0.72	23	III
JY4	白银靖远县	栽培 3 年	-0.73	24	III

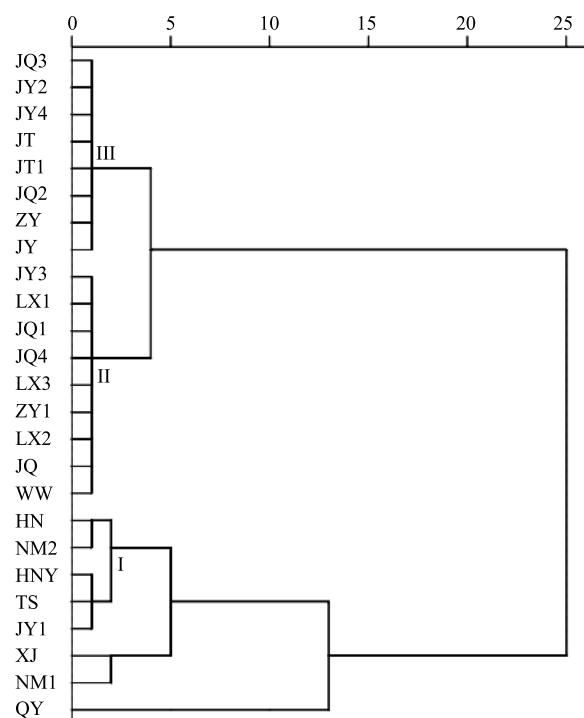


图 3 聚类分析树状图

Fig. 3 Hierarchical cluster analysis of cultivated or wild *G. uralensis* roots in different growing regions

草，以及内蒙古杭锦旗（NM1、NM2）、白银靖远县（JY1）栽培 3 年的甘草为代表。第 II 类：出产甘草质量较好的区域。以甘肃酒泉肃州区（JQ4）、酒泉瓜州县（JQ1）、张掖高台县（ZY1）、白银靖远县（JY3）和陇西首阳镇（LX3、LX1、LX2）为代表。第 III 类：出产甘草质量较差的区域。以甘肃白银景泰县（JT1），白银靖远县（JY2、JY4）为代表。

4 讨论

通过测定甘草中 7 个有效成分含量结合因子分析及聚类分析，从总体上看，野生甘草质量仍然最好，这也符合评价甘草药材质量的传统理论；但野生甘草为国家二级保护野生植物，禁止出售、收购，不能再作为药材使用，所以从上世纪 90 年代开始，我国开始在内蒙古、宁夏、甘肃等地种植甘草以满足日益增长的药用需求并防止沙漠化。内蒙古作为甘草的生境地和商品甘草及日本甘草（Tohoku-Kanzo）的主要来源产地，本实验中，其生产的甘草质量较好，可以媲美野生甘草。其次，甘肃酒泉以及陇西作为甘草主要生产基地，其生产的甘草质量较好，说明这些地区应通过品种选育、实施中药材规范化种植，增加生长年限进一步提高甘草药材质量。

通过本实验也发现甘草药材生产中存在的一些问题,甘肃白银靖远县生产的甘草质量差异较大,在聚类分析的 3 类中均有分布,说明同一区域种植相同年限的甘草药材中指标性成分含量差异较大,这与一些学者的研究结果相符。Kojoma 等^[16]观察了 100 株在相同栽培条件、相同生长环境下,栽培了 5 年的甘草根中 GL 和 LQ 含量分别有 10 倍和 20 倍的差异;Fujii 等^[17]发现野生甘草和栽培甘草中 GL 含量的变化差异为 0.06%~9.36%;Yang 等^[18]研究了甘草栽培 2 年后,5 种有效成分的变异系数为 19.19~51.31%;Yamamoto 等^[19]总结了产自中国西北省区(主要是内蒙古、甘肃、宁夏)的甘草的产量及质量情况,发现种植了 3 年的甘草药材中 GL 的含量不能达到日本药典要求。这些结果表明,在甘草药材的生产过程中,种质变异或栽培措施不规范已经成为影响甘草药材质量的主要因素,因此要保证甘草药材质量均一、稳定、可控,建立甘草药材标准化生产示范基地和良种繁育基地已势在必行。

参考文献

- [1] 刘衡如,刘山水.新校注《本草纲目》[M].北京:华夏出版社,2013.
- [2] 中国药典[S].一部.2015.
- [3] 王连喜,李剑萍,李琪,等.乌拉尔甘草研究现状与可持续利用对策[J].中草药,2009,40(3):496-499.
- [4] 马艳茹,甘肃地产商品甘草质量控制及等级相关性研究[D].兰州:甘肃中医学院,2012.
- [5] 宋平顺,卫玲,赵建邦,等.甘肃不同地域乌拉尔甘草质量的化学模式评价[J].中国中医药信息杂志,2012,19(8):61-63.
- [6] He J X, Akao T, Nishino T, et al. The influence of commonly prescribed synthetic drugs for peptic ulcer on the pharmacokinetic fate of glycyrrhizin from Shaoyao-Gancao-tang [J]. *Biol Pharm Bull*, 2001, 24(12): 1395-1399.
- [7] Nose M, Ito M, Kamimura K, et al. A comparison of the antihepatotoxic activity between glycyrrhizin and glycyrrhetinic acid [J]. *Planta Med*, 2007, 60(2): 136-139.
- [8] Rossum T V, Man R D. Glycyrrhizin as a potential treatment for chronic hepatitis C [J]. *Aliment Pharm Therap*, 1998, 12(3): 199-205.
- [9] Harada S. The broad anti-viral agent glycyrrhizin directly modulates the fluidity of plasma membrane and HIV-1 envelope [J]. *Bioch J*, 2005, 392(Pt 1): 191-199.
- [10] Fiore C, Eisenhut M, Krauss R, et al. Antiviral effects of *Glycyrrhiza* species [J]. *Phytother Res*, 2008, 22(2): 141-148.
- [11] Wang Z Y, Nixon D W. Licorice and cancer [J]. *Nutr Cancer*, 2001, 39(1): 1-11.
- [12] Hayashi H, Sudo H. Economic importance of licorice [J]. *Plant Biotechnol*, 2009, 26(1): 101-104.
- [13] Taniguchi C, Homma M, Takano O, et al. Pharmacological effects of urinary products obtained after treatment with Saiboku-To, a herbal medicine for bronchial asthma, on type IV allergic reaction [J]. *Planta Med*, 2000, 66(7): 607-611.
- [14] Lee Y K, Chin Y W, Bae J K, et al. Pharmacokinetics of isoliquiritigenin and its metabolites in rats: Low bioavailability is primarily due to the hepatic and intestinal metabolism [J]. *Planta Med*, 2013, 79(17): 1656-1665.
- [15] 张友波,徐鬼,杨秀伟,等. RP-HPLC 法同时测定不同产地甘草中 9 个主要成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 214-219.
- [16] Kojoma M, Hayashi S, Shibata T, et al. Variation of glycyrrhizin and liquiritin contents within a population of 5-year-old licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) plants cultivated under the same conditions [J]. *Biol Pharm Bull*, 2011, 34(8): 1334-1337.
- [17] Fujii S, Tuvshintogtokh I, Mandakh B, et al. Screening of *glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC. containing high concentrations of glycyrrhizin by eastern blotting and enzyme-linked immunosorbent assay using anti-glycyrrhizin monoclonal antibody for selective breeding of licorice [J]. *J Nat Med*, 2014, 68(4): 1-6.
- [18] Yang F L, Wang Q L, Wei S L, et al. Effect of genotype and environment on five bioactive components of cultivated licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) populations in northern China [J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(1): 75-81.
- [19] Yamamoto Y, Tani T. Growth and glycyrrhizin contents in *Glycyrrhiza uralensis* roots cultivated for four years in eastern Nei-Meng-gu of China [J]. *J Tradit Med*, 2002, 19: 87-92.