

不同产地甘草 UPLC 指纹图谱的建立及 6 种成分定量分析

吴新¹, 吴涛¹, 王冰清¹, 王晨¹, 廖香莲^{1,2}, 肖玲超¹, 殷涛¹, 张帆¹, 胡力飞^{1,3*}

1. 湖北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 湖北 黄石 435100

2. 湖北师范大学 生命科学学院, 湖北 黄石 435002

3. 湖北工业大学 生命科学与健康工程学院, 湖北 武汉 430068

摘要: **目的** 建立甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 超高效液相色谱 (UPLC) 指纹图谱及多成分定量分析方法, 并结合化学计量学进行不同产地甘草的质量分析和评价。**方法** 采用 UPLC 法建立 30 批不同产地甘草的指纹图谱, 使用 OriginPro 2024 及 SIMCA14.1 软件进行 Pearson 相关性分析、聚类分析 (cluster analysis, CA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA) 和接受者操作特征曲线分析, 并对甘草中 6 种成分进行定量测定。**结果** 建立的 UPLC 指纹图谱共标定了 23 个共有峰, Pearson 相关性分析表明各共有峰之间具有复杂的相关性, CA 和 PCA 均表明, 8 个产地样本分布较为独立集中, 部分甘肃样本与其它省份样本间有一定相似性, 但样本整体被分为甘肃、内蒙古、新疆 3 大类, 23 个共有峰被分为 5 组; OPLS-DA 则可实现对 3 省产地样本的有效区分, 并筛选了 10 个差异性标志物; 3 省甘草样本中 6 个定量成分间的差异情况与 OPLS-DA 分析结果相近。**结论** 建立的甘草 UPLC 指纹图谱及多指标定量分析方法稳定、可靠, 结合化学计量学分析可用于甘草药材的产地质量评价和产地选择提供参考。

关键词: 甘草; 超高效液相色谱; 指纹图谱; 化学计量学; 定量分析; 蔗糖甘草苷; 甘草苷; 芒柄花苷; 异甘草苷; 甘草素; (S)-甘草酸

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)07-2518-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.07.025

Establishment of UPLC fingerprint and quantitative analysis of six components in *Glycyrrhiza uralensis* from different origins

WU Xin¹, WU Tao¹, WANG Bingqing¹, WANG Chen¹, LIAO Xianglian^{1,2}, XIAO Lingchao¹, YIN Tao¹, ZHANG Fan¹, HU Lifei^{1,3}

1. Hubei Provincial Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Huangshi 435100, China

2. College of Life Science, Hubei Normal University, Huangshi 435002, China

3. School of Life and Health Sciences, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China

Abstract: Objective To establish the ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) fingerprint and multi-component quantitative analysis method of *Glycyrrhiza uralensis*, and to combine with chemometrics for the quality analysis and evaluation of *G. uralensis* from different origins. **Methods** The fingerprints of 30 batches of *G. uralensis* from different origins were established by UPLC. Pearson correlation analysis, cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and receiver operating characteristic curve analysis were performed using OriginPro 2024 and SIMCA14.1 software. A total of six components in *G. uralensis* were quantitatively determined. **Results** A total of 23 common peaks were calibrated in the established UPLC fingerprint. Pearson correlation analysis revealed a complex correlation between the common peaks. The results of the CA and PCA analyses indicated that the distribution of samples from the eight origins (cities) was relatively independent and concentrated. Some samples from Gansu province exhibited similarities with samples from other provinces, however, all samples could be classified into three categories (provinces): Gansu, Inner Mongolia, and Xinjiang. The 23 common peaks could

收稿日期: 2024-10-02

基金项目: 湖北省科技重大专项 (2020ACA007); 湖北省科技重大专项 (2022ACA003); 黄石市揭榜制科技项目 (2023A005)

作者简介: 吴新 (1992—), 男, 工程师, 从事中药资源及中药新药研究。E-mail: 1005100709@qq.com

*通信作者: 胡力飞 (1984—), 男, 博士, 高级工程师, 从事中药新药及天然药物研究。E-mail: lfyhu@hotmail.com

be divided into five groups. OPLS-DA can effectively distinguish between the samples from three provinces, and 10 differential markers were screened. The differences between the six quantitative components in *G. uralensis* samples from three provinces were similar to the results of the OPLS-DA analysis. **Conclusion** The established UPLC fingerprint and multi-index quantitative analysis method of *G. uralensis* are stable and reliable. Combined with chemometric analysis, it can be used to provide a reference for the quality evaluation and selection of origin of *G. uralensis*.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; UPLC; fingerprint; chemometrics; quantitative analysis; liquiritin apioside; liquiritin; ononin; isoliquiritoside; liquiritigenin; (S)-glycyrrhizic acid

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为我国常用的药食同源中药品种之一, 有悠久的历史, 可缓解药物毒性、烈性, 有“十方九草”之说, 是药品、食品、日化等行业的重要原料, 同时其提取物也是中药进出口大品种之一^[1-3]。甘草为国家重点保护野生药材物种名录之一, 其野生资源日趋枯竭, 人工种植的甘草已成为市场流通药材的主要来源, 主要分布于甘肃、内蒙古、新疆等地^[4-5]。甘草含有三萜皂苷类、黄酮类等多种活性成分, 具有抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗氧化、减毒等多种功效^[6-12]。

随着对甘草成分研究的不断深入, 甘草 HPLC 指纹图谱、多成分含量测定及不同年限之间的成分对比均有研究^[5, 13-14], 但基于 UPLC 法对甘草同时进行指纹图谱和多成分含量测定研究相对较少; 且在良好色谱分离条件下, 指纹图谱所提供的多变量信息能为不同产地的中药质量对比研究提供良好的数据支持。本研究以甘肃、内蒙古、新疆不同产地共计 30 批甘草为研究对象, 建立 UPLC 指纹图谱并开展化学计量学分析, 探究产地与成分差异之间的关联性, 同时对其中的 6 个成分进行定量分析, 以期对甘草原料质量评价及产地选择提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Agilent 1290 Infinity II 超高效液相色谱仪 (美国安捷伦有限公司); Shim-pack Scepter C₁₈-120 液相色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm, 日本岛津有限公司); XS-105DU 型电子分析天平 (梅特勒托利多科技有限公司); PURELAB classic 纯水机 (英国 ELGA 公司); SK8200HP 型超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

甘草苷 (批号 111610-202209, 质量分数 95.2%)、甘草酸铵 (批号 110731-202122, 质量分数 94.4%), 均购自中国食品药品检定研究院; 芹糖甘草苷 (批号 DST211025-139, 质量分数 99.05%)、甘草素 (批号 DST200326-010, 质量分数 99.61%),

均购自成都德思特生物技术有限公司; 芒柄花苷 (批号 CFN99136, 质量分数 ≥98%), 购自武汉天植生物技术有限公司; 异甘草苷 (批号 N16GB168197, 质量分数 98.2%), 购自上海源叶生物科技有限公司; 乙腈 (色谱级, 美国 Fisher chemical 公司); 水为超纯水; 其余试剂为分析纯。

1.3 材料

30 批甘草药材样品为 2022 年 12 月采集自甘肃、内蒙古、新疆 3 个省/自治区 8 个产地, 经劲牌持正堂药业有限公司孙代华研究员鉴定为豆科植物甘草 *G. uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎, 采集产地信息如表 1 所示。

表 1 甘草样品产地信息

Table 1 Origin information of *G. uralensis*

编号	产地来源	编号	产地来源
S1	甘肃省酒泉市	S16	甘肃省定西市
S2	甘肃省酒泉市	S17	甘肃省定西市
S3	甘肃省酒泉市	S18	甘肃省定西市
S4	甘肃省酒泉市	S19	甘肃省定西市
S5	甘肃省武威市	S20	内蒙古自治区巴彦淖尔市
S6	甘肃省武威市	S21	内蒙古自治区巴彦淖尔市
S7	甘肃省武威市	S22	内蒙古自治区巴彦淖尔市
S8	甘肃省武威市	S23	内蒙古自治区鄂尔多斯市
S9	甘肃省白银市	S24	内蒙古自治区鄂尔多斯市
S10	甘肃省白银市	S25	内蒙古自治区鄂尔多斯市
S11	甘肃省白银市	S26	内蒙古自治区鄂尔多斯市
S12	甘肃省白银市	S27	新疆维吾尔自治区阿克苏市
S13	甘肃省兰州市	S28	新疆维吾尔自治区阿克苏市
S14	甘肃省兰州市	S29	新疆维吾尔自治区阿克苏市
S15	甘肃省兰州市	S30	新疆维吾尔自治区阿克苏市

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

分别精密称取芹糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸铵对照品适量, 加 70% 乙醇制成质量浓度分别为 1 610.55、2 385.76、819.67、905.01、549.85、2 550.94 μg/mL 的对照品储备液; 分

别精密吸取 6 个对照品储备液 0.20、0.20、0.10、0.10、0.10、0.40 mL 置于 5 mL 量瓶中，加 70%乙醇稀释至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取本品粉末(过三号筛)约 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 70%乙醇 25 mL，密塞，称定质量，超声处理(功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min，放冷，再称定质量，用 70%乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.3 色谱条件

色谱柱: Shim-pack Scepter C₁₈-120 (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 流动相为乙腈(A)-0.05%磷酸溶液(B)，梯度洗脱(0~4 min, 17%~19%A; 4~17 min, 19%~35%A; 17~30 min, 35%~43%A; 30~31 min, 43%~46%A; 31~40 min, 46%~60%A); 检测波长 0~26 min 为 237 nm, 26~40 min 为 355 nm; 体积流量为 0.3 mL/min; 柱温 30 °C; 进样量 2 μL。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取甘草样品(S1)，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件测定 6 次，以峰 17(甘草酸)为参照峰(S)，结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别为 0.02%~0.37%和 0.20%~0.83%，均小于 2.0%。

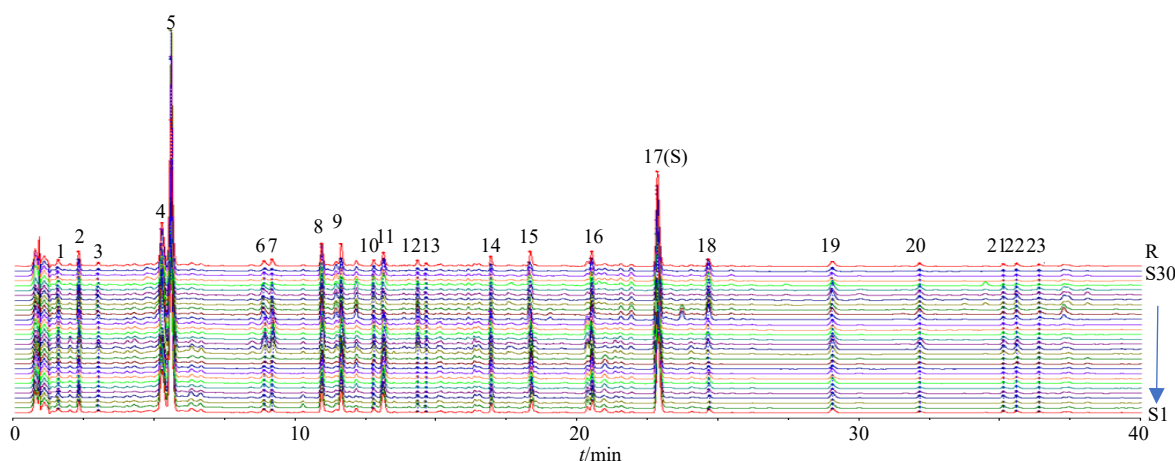
2.4.2 重复性试验 取甘草样品(S1)，按“2.2”项下方法制备成 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱

条件测定，以峰 17(甘草酸)为参照峰 S，结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值分别为 0.01%~0.41%和 0.28%~1.82%。

2.4.3 稳定性试验 取甘草样品(S1)，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、16、24 h 测定，以峰 17(甘草酸)为参照峰，结果显示各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 值分别为 0.02%~0.40%和 0.44%~1.54%，均小于 2.0%。

2.5 指纹图谱的建立和相似度评价

取 30 批甘草药材样品按上述方法测定，将色谱图数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”，采用中位数法及多点校正后进行色谱峰匹配，共标定了 23 个共有峰，分别生成甘草样品的叠加图谱和对照指纹图谱(图 1); 通过与对照品比对指认了其中 6 个色谱峰，分别为蔗糖甘草苷(4 号峰)、甘草苷(5 号峰)、芒柄花苷(8 号峰)、异甘草苷(9 号峰)、甘草素(11 号峰)、甘草酸(17 号峰, S 峰)。各批次样品共有峰相对保留时间 RSD 值为 0.07%~0.54%，30 批样品指纹图谱与对照指纹图谱(R)的相似度均在 0.947 及以上，各批次样本间相似度在 0.896 及以上(图 2)，样本间有较好的一致性，其中甘肃样本间(S1~S19)、内蒙古和新疆样本间(S20~S30)的相似度均相对较高，甘肃样本与内蒙古、新疆样本相似度相对较低，可能与各产地样本的成分含量差异有关。所建立的指纹图谱可用于评价甘草的质量。



4-蔗糖甘草苷; 5-甘草苷; 8-芒柄花苷; 9-异甘草苷; 11-甘草素; 17-(S)-甘草酸。

4-liquiritin apioside; 5-liquiritin; 8-ononin; 9-isoliquiritoside; 11-liquiritigenin; 17-(S)-glycyrrhizic acid.

图 1 30 批甘草 UPLC 指纹图谱及对照指纹图谱(R)

Fig. 1 UPLC fingerprints of 30 batches of *G. uralensis* and its reference fingerprint (R)

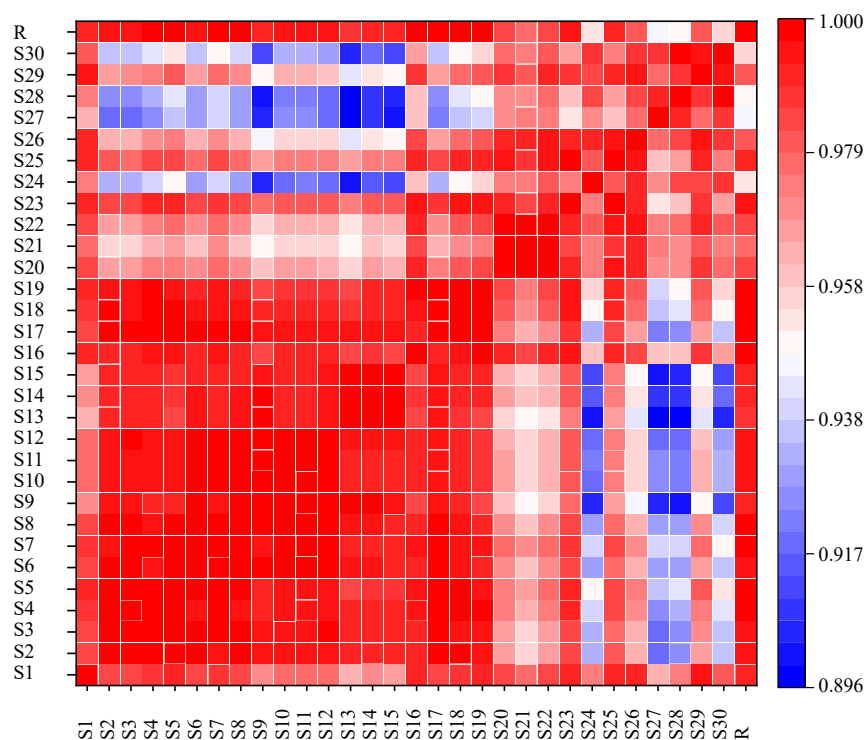


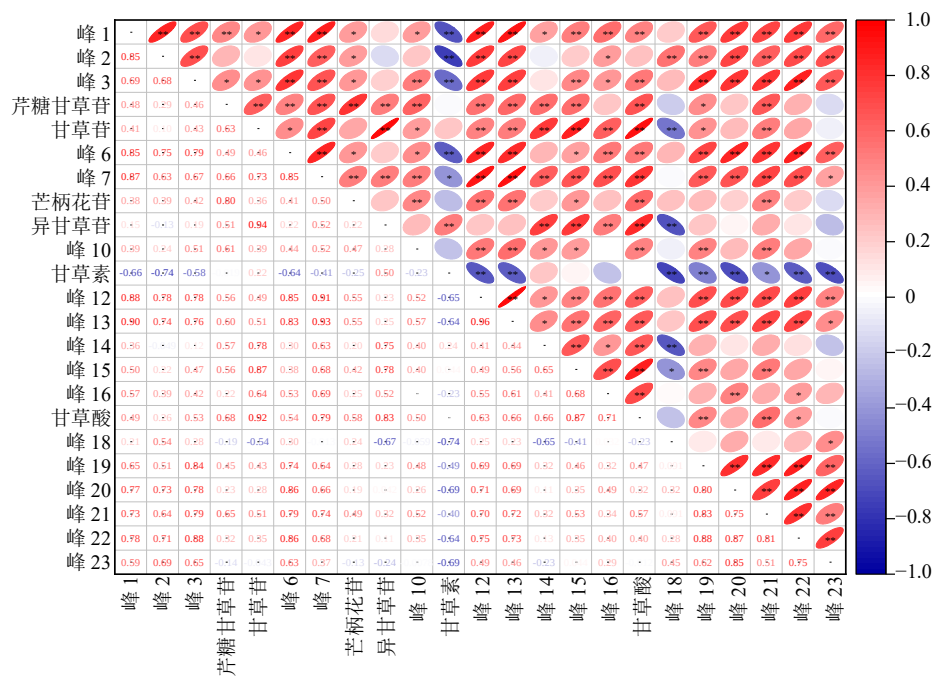
图 2 30 批甘草 UPLC 指纹图谱相似度评价结果

Fig. 2 Similarity evaluation results of UPLC fingerprints of 30 batches of *G. uralensis*

2.6 化学计量学分析

2.6.1 相关性分析 为进一步揭示甘草各成分间的关联程度,采用 OriginPro 2024 软件以 30 批甘草

药材的 23 个共有峰作为变量进行 Pearson 相关性分析,甘草中 23 个成分之间具有复杂的相关性(图 3),结果表明,253 组相关性数据中,有 219 组呈



* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$.

图 3 甘草各成分的 Pearson 相关性分析

Fig. 3 Pearson's correlation analysis of various components of *G. uralensis*

正相关, 34 组呈负相关; 且有 178 组具有显著性 ($P < 0.05$)。甘草中大部分色谱峰之间呈正相关, 如峰 2、峰 3、芹糖甘草苷、甘草苷、峰 6、峰 7、峰 10、峰 12、峰 13、峰 15、甘草酸、峰 19、峰 21 相互之间呈显著性正相关。而甘草素则与多个成分呈显著性负相关, 但与异甘草苷呈显著性正相关。

2.6.2 聚类分析 (cluster analysis, CA) 以 23 个共有峰面积为变量, 采用 OriginPro 2024 软件对 30 批甘草进行 CA, 以 Ward 聚类方法结合 Euclidean 距离计算对 30 批甘草样品进行 CA, 以 Ward 聚类方法结合 Pearson 相关性对 23 个共有峰进行聚类分析, CA 结果见图 4。结果表明, 当判定距离为 8 时, 30 批样本可被分为 5 类, 其中甘肃定西和酒泉样本

S1、S2 和 S4 聚为一类; 甘肃武威、白银样本与酒泉样本 S3 聚为一类; 新疆样本聚为一类; 甘肃兰州样本聚为一类; 内蒙古巴彦淖尔和鄂尔多斯样本聚为一类; 同时, 新疆样本与除兰州之外的甘肃样本均较为相近, 在判定距离为 20 时可聚为一类。23 个共有峰被聚为 5 个组别, 峰 1、2、3、6、7、12、13、19、20、21、22 和 23 为第 1 组; 峰 18 为第 2 组; 芹糖甘草苷、芒柄花苷和峰 10 为第 3 组; 峰 14、15、16 和甘草苷、异甘草苷、甘草酸为第 4 组; 甘草素为第 5 组。从聚类热图中可见, 30 批甘草与 23 个共有峰的聚类之间有一定的关联性, 表明不同产地甘草的分类可通过所含化学成分的差异进行区分。

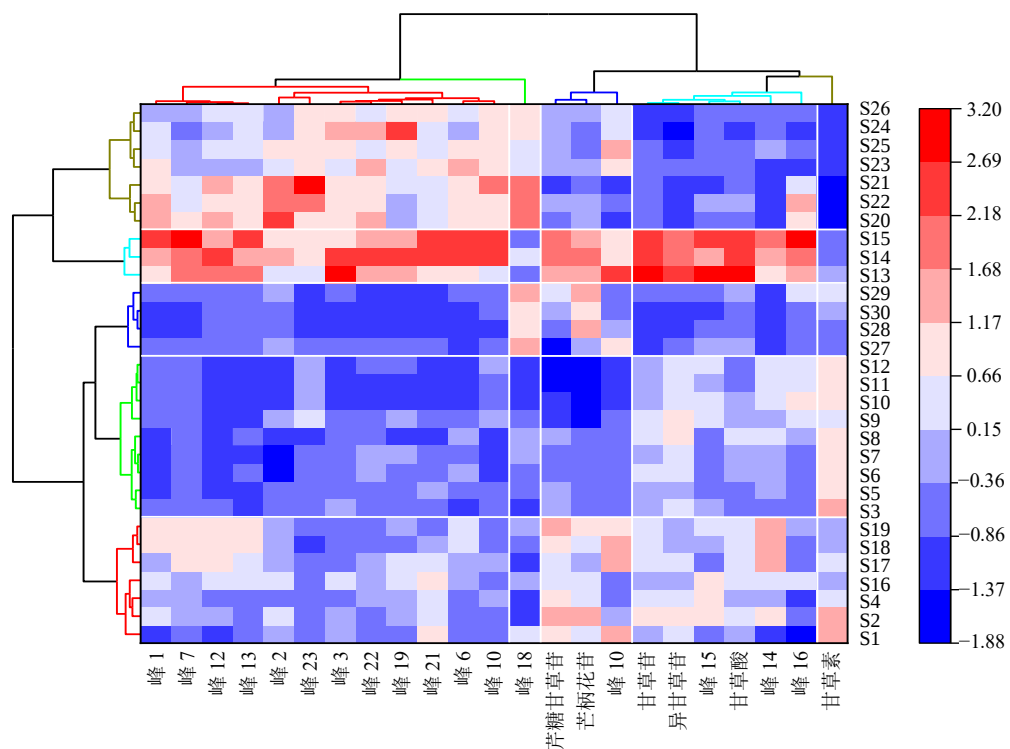


图 4 30 批甘草聚类分析结果

Fig. 4 Results of cluster analysis of 30 batches of *G. uralensis*

2.6.3 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 以 23 个共有峰面积为变量, 采用 OriginPro 2024 软件对 30 批甘草进行 PCA, 计算相关矩阵的特征值、特征向量和分值。确定了特征值 > 1 的 4 个主成分, 4 个主成分的累积方差贡献率为 88.00%。第 1 主成分 (PC1) 解释了总方差的 52.49%, 第 2 主成分 (PC2) 解释了总方差的 22.46%, 第 3 主成分 (PC3) 解释了总方差的 7.59%, 第 4 主成分 (PC4) 解释了总方差的 5.47%; 以 PC1、PC2、PC3 及成分

载荷值绘制了 30 批甘草样本的双标图 (图 5)。各产地甘草样本分布较为集中, 虽然甘肃各产地样本存在一定差异, 但与内蒙古和新疆能有效区分。各变量的主成分载荷分布情况与聚类分类结果相一致, 峰 18 和甘草素分布较为独立, 其他变量可分为 3 组。与聚类分析结果相近, 各产地甘草样本分类与各批次间的成分差异相关, 可能与各产地环境、气候等因素有关。

2.6.4 正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial

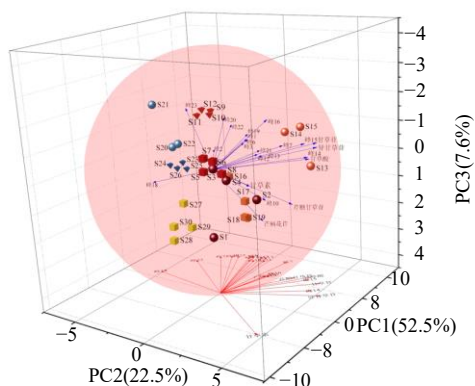


图 5 PCA 双标图

Fig. 5 PCA biplot

least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 及接受者操作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 分析 采用 SIMCA14.1 软件对 30 批甘草样本及 23 个共有峰变量进行 OPLS-DA 分析, 结果表明, 通过 OPLS-DA 可实现对甘肃、内蒙和新疆 3 个省份产地样本的有效区分。分析中的自变量拟合指数 (R^2_X) 为 0.863, 因变量拟合指数 (R^2_Y) 为 0.881, 模型预测指数 (Q^2) 为 0.788, R^2 和 Q^2 均超过了 0.5, 表明该模型拟合结果可接受; 同时通过 200 次置换检测, R^2 和 Q^2 回归线与纵轴的截距均小于 0.3 和 0.05, 说明模型不存在过拟合^[15], 所建立的模型有效, 认为该结果可用于甘草产地及变量分析, 相关分析结果如图 6、7 所示。共有峰变量 VIP 值及排序情况如图 8 所示, 以 VIP 值大于 1 为阈值, 筛选出 10 个贡献值较大的成分, 依次为峰 18、异甘草苷、峰 23、甘草素、峰 14、峰 22、甘草苷、峰 20、峰 19 和峰 2; 判断 10 个 VIP 值大于 1 的成分为区分甘肃、内蒙古和新疆样本的代表性差异成分。同时运用 ROC 测试该模型的分能力, 利用曲

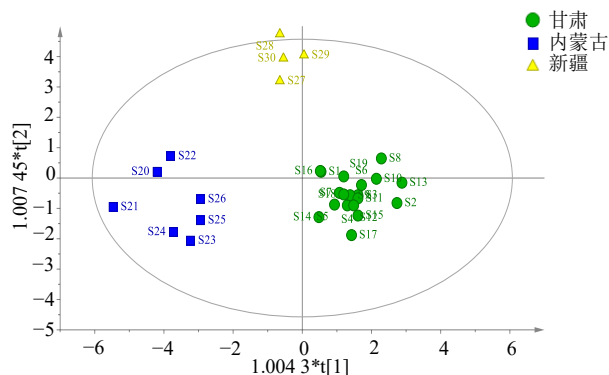


图 6 OPLS-DA 得分图

Fig. 6 OPLS-DA score plot

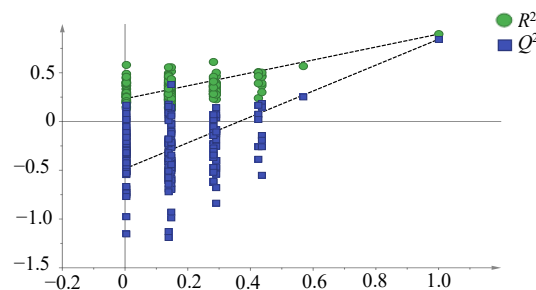


图 7 OPLS-DA 模型置换验证图

Fig. 7 OPLS-DA model permutation test diagram

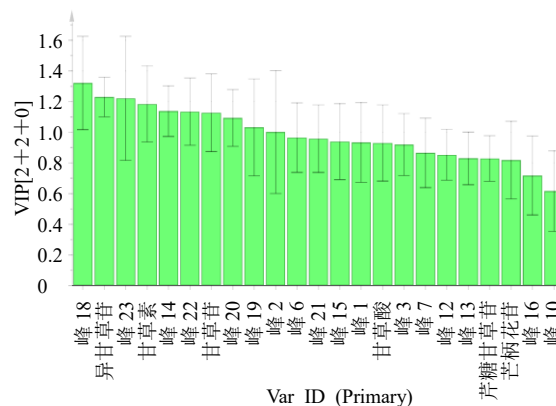


图 8 OPLS-DA 模型 VIP 值

Fig. 8 VIP value of OPLS-DA model

线下面积 (AUC) 进行评估, 当 AUC 在 0.9 及以上时被认为有较高的准确性^[16], 该 OPLS-DA 模型 ROC 如图 9 所示, 所得 AUC 均为 1, 表明该模型分类能力较强, 3 个省份的成分差异可能与不同地域甘草的生长环境相关。

2.7 甘草多成分定量测定

2.7.1 线性关系考察 分别取“2.1”项下对照品储备液适量, 加 70%乙醇制成含芦糖甘草苷、甘草苷、

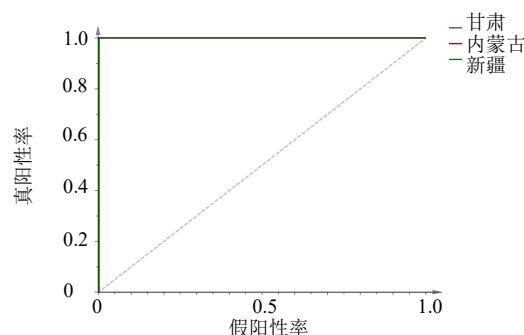


图 9 OPLS-DA 模型的 ROC

Fig. 9 ROC of OPLS-DA model

芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸分别为 322.11、477.15、81.97、90.50、54.98、510.19 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，分别稀释 2.5、5、10、20、40 倍，制成 6 个不同质量浓度的混合对照品溶液，按“2.3”项下色谱条件测定，记录峰面积，以质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，得到回归方程及线性范围；并以信噪比 10:1 确定定量限 (LOQ)，结果如表 2 所示。所得相关系数 (r) 均在 0.999 2 及以上，表明 6 个成分线性关系良好。

2.7.2 精密度试验 取甘草样品 (S1)，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件测定 6 次，计算各待测成分的峰面积的 RSD 值，结果

显示，蔗糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸 6 个成分峰面积 RSD 值分别为 0.20%、0.15%、0.11%、0.09%、0.14%、0.23%，表明仪器的精密度良好。

2.7.3 重复性试验 取甘草样品 (S1)，按“2.2”项下方法平行制备成 6 份供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件测定，计算各待测成分含量的 RSD 值，蔗糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸 6 个成分质量分数的 RSD 分别为 0.69%、0.41%、0.90%、0.83%、0.64%、0.70%，表明该方法重复性良好。

2.7.4 稳定性试验 取甘草样品 (S1)，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件分

表 2 各成分线性关系及定量限

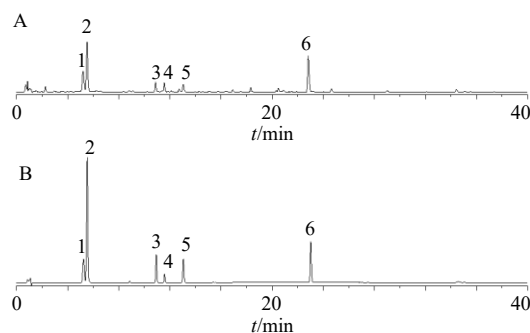
Table 2 Linear relationship and limit of quantification (LOQ) of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
蔗糖甘草苷	$Y=7.274 X-3.408$	0.999 9	8.05~322.11	0.11
甘草苷	$Y=9.180 X+71.95$	0.999 6	11.93~477.15	0.14
芒柄花苷	$Y=14.208 X-3.862$	0.999 9	2.05~81.97	0.19
异甘草苷	$Y=3.629 X+9.572$	0.999 7	2.26~90.50	0.08
甘草素	$Y=22.58 X-1.054$	0.999 9	1.37~54.98	0.01
甘草酸	$Y=2.720 X+12.42$	0.999 8	12.75~510.19	0.49

别在 0、2、4、8、16、24 h 进样分析，计算各待测成分的峰面积的 RSD 值，结果显示蔗糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸 6 个成分峰面积 RSD 值分别为 1.01%、1.13%、0.87%、1.37%、0.75%、0.60%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7.5 加样回收率试验 精密称取已测含量的甘草样品 (S1) 6 份，每份约 0.1 g，按对照品与样品含量比为 1:1 的比例加入蔗糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸对照品溶液适量，按“2.2”项下要求平行制备成 6 份供试品溶液，按照“2.3”项下的色谱条件进样分析，计算蔗糖甘草苷、甘草苷、芒柄花苷、异甘草苷、甘草素、甘草酸的平均加样回收率分别为 97.24%、99.85%、102.18%、102.04%、97.39%、98.42%，RSD 分别为 0.89%、1.03%、0.74%、1.03%、0.93%、1.10%，表明本方法加样回收率良好。

2.7.6 含量测定结果 取 30 批甘草样品，按“2.2”项下方法制备成供试品溶液，每批样品测定平行 2 份，按“2.3”项下色谱条件进样测定，混合对照品溶液及代表性样品色谱图如图 10 所示，根据标准曲线计算 6 个成分的含量。结果如表 3 所示，6 个



1-蔗糖甘草苷; 2-甘草苷; 3-芒柄花苷; 4-异甘草苷; 5-甘草素; 6-甘草酸。
1-liquiritin apioside; 2-liquiritin; 3-ononin; 4-isoliquiritoside; 5-liquiritigenin; 6-glycyrrhizic acid.

图 10 甘草样品 (A) 及混合对照品 (B) UPLC 图

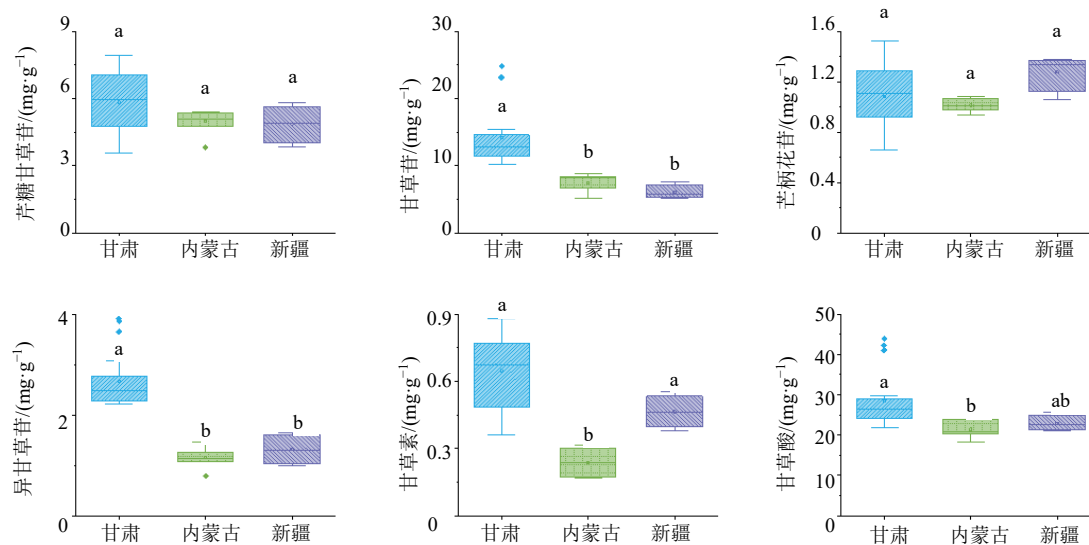
Fig. 10 UPLC chromatograms of *G. uralensis* sample (A) and mixed reference substance (B)

成分的质量分数 (平均值) 由高到低依次为甘草酸、甘草苷、蔗糖甘草苷、异甘草苷、芒柄花苷和甘草素。

各产地之间的多成分含量比较情况如图 11 所示，3 个产地样本间蔗糖甘草苷和芒柄花苷均无显著性差异；甘肃样本的甘草苷、异甘草苷与内蒙古、新疆样本间呈显著性差异；内蒙古样本甘草素与甘肃、新疆样本间呈显著性差异；甘肃样本甘草酸与内蒙

表 3 甘草药材样品含量测定结果 ($n=2$)
Table 3 Content determination results of *G. uralensis* samples ($n = 2$)

编号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)					
	蔗糖甘草苷	甘草苷	芒柄花苷	异甘草苷	甘草素	甘草酸
S1	7.073	10.216	1.258	2.364	0.853	26.640
S2	7.129	15.464	1.410	3.077	0.882	29.100
S3	5.363	11.476	0.971	2.491	0.774	21.848
S4	6.476	12.965	1.169	2.292	0.648	25.550
S5	5.547	10.887	0.998	2.230	0.797	23.031
S6	4.753	12.868	0.940	2.664	0.762	26.412
S7	4.918	11.701	0.929	2.441	0.719	25.713
S8	4.927	12.849	0.922	2.629	0.742	26.453
S9	4.399	14.572	0.753	2.774	0.670	26.098
S10	3.900	11.806	0.698	2.491	0.769	24.196
S11	3.556	10.717	0.656	2.317	0.758	22.030
S12	3.754	11.202	0.660	2.250	0.673	22.076
S13	7.012	24.836	1.396	3.861	0.483	43.924
S14	7.716	23.093	1.524	3.910	0.396	42.216
S15	7.904	23.197	1.452	3.650	0.363	41.030
S16	5.932	11.990	1.251	2.225	0.478	29.632
S17	6.255	14.050	1.108	2.497	0.607	27.331
S18	6.809	13.282	1.219	2.280	0.483	28.065
S19	7.453	13.264	1.287	2.245	0.457	28.886
S20	4.758	8.427	1.070	1.255	0.175	23.990
S21	3.828	7.163	0.936	1.136	0.170	21.973
S22	5.062	8.137	1.082	1.126	0.174	23.823
S23	5.307	8.757	0.985	1.458	0.302	20.901
S24	5.398	5.176	0.979	0.786	0.315	18.243
S25	5.365	8.220	1.009	1.268	0.235	20.900
S26	5.075	6.623	1.032	1.081	0.284	20.280
S27	3.823	5.750	1.057	1.653	0.452	25.586
S28	4.630	5.166	1.377	0.999	0.380	21.060
S29	5.799	7.606	1.348	1.483	0.555	23.039
S30	5.188	5.724	1.319	1.129	0.471	21.980



不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。
Different letters indicate significant differences, $P < 0.05$.

图 11 不同产地甘草多指标成分含量对比图

Fig. 11 Comparative diagram of multi-index components in *G. uralensis* from different origins

古样本间有显著性差异,与新疆样本间无显著性差异。

3 讨论

甘草成分复杂多样,成分与药材基原、生长年限、生长环境等相关^[13],本研究通过对不同色谱柱

及色谱条件进行了考察,建立了 30 批不同产地甘草 *G. uralensis* 的 UPLC 指纹图谱,并确定了与指纹图谱相同色谱条件的多成分定量分析方法。30 批样本与对照指纹图谱相似度均在 0.947 及以上,仅

两批次新疆样本(S26、S27)与甘肃样本S13相似度低于0.9(分别为0.896、0.897),整体上不同产地甘草的指纹图谱相似度均较高,所提供不同产地甘草间的成分差异信息较为有限,但指纹图谱结合化学计量学则可提供更多的质量参考信息。

通过对不同产地甘草样本及其共有峰进行化学计量学分析,可以更全面地了解不同产地甘草的质量差异。Pearson相关性分析表明甘草中大部分色谱峰相互之间均呈正相关,其中甘草素的相关性比较有点,其与多个成分之间呈显著性负相关,但与其与异甘草苷之间呈显著性正相关,且与甘草苷呈正相关。CA和PCA分析结果较为相近,8个产地甘草样本分布均较为集中,其中新疆样本与除兰州之外的甘肃样本较为相近,呈一定的地域趋势;但所有样本整体上可被分甘肃、内蒙古、新疆3大类,23个色谱峰则可被分为5组。OPLS-DA可实现甘肃、内蒙古、新疆3地样本的有效区分,并筛选了10个贡献值较大的差异性色谱峰,依次为峰18、异甘草苷、峰23、甘草素、峰14、峰22、甘草苷、峰20、峰19和峰2,ROC则表明该OPLS-DA模型对产地的分类能力较强。

定量分析结果表明,3个产地(省/自治区)样本间的蔗糖甘草苷和芒柄花苷差异均不显著,而其它成分均有不同的显著性差异关系。其中异甘草苷、甘草素、甘草苷均为以指纹图谱为变量的OPLS-DA模型所筛选出的差异性成分,且3个成分之间的相关性均为正相关,在生物合成途径上均可由异甘草素合成而来,不同产地的甘草成分差异可能与环境对其黄酮类成分合成和积累的影响有关^[17],相关工作还有待进一步研究。

综上所述,本研究采用UPLC法建立了不同产地甘草的指纹图谱,该方法可同时实现6个成分的定量测定,方法快速高效,且能体现不同产地甘草间的成分差异,可为甘草的质量分析及应用提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2020:88.
- [2] 程蒙,李颖,池秀莲,等.甘草提取物国际贸易竞争力分析[J].中草药,2020,51(7):1970-1976.
- [3] 胡力飞,梅菊,吴涛,等.基于化学计量学对不同产地甘草的质量评价[J].食品工业,2024,45(3):318-322.
- [4] 蔡广知,赵凌,王莎莎,等.甘草药材等级标准分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(10):148-153.
- [5] 陈佳,张权,杨蕊,等.不同生长年限甘草主要成分含量测定及多元统计分析[J].药物分析杂志,2020,40(7):1185-1196.
- [6] Huang X Q, You D W, An T Z, et al. Glycyrrhizic acid attenuates the malignant biological properties of nonalcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma [J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(10): 4677-4688.
- [7] Srivastav A K, Rajput P K, Jaiswal J, et al. *In vitro* and *in silico* investigation of glycyrrhizic acid encapsulated zein nanoparticles: A synergistic targeted drug delivery approach for breast cancer [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 266(Pt 2): 131368.
- [8] Liu X, Ou X J, Zhang T T, et al. *In situ* neutrophil apoptosis and macrophage efferocytosis mediated by Glycyrrhiza protein nanoparticles for acute inflammation therapy [J]. *J Control Release*, 2024, 369: 215-230.
- [9] van Dinteren S, Meijerink J, Witkamp R, et al. Valorisation of liquorice (*Glycyrrhiza*) roots: Antimicrobial activity and cytotoxicity of prenylated (*Iso*)flavonoids and chalcones from liquorice spent (*G. glabra*, *G. inflata*, and *G. uralensis*) [J]. *Food Funct*, 2022, 13(23): 12105-12120.
- [10] AL-Hmadi H B, Majdoub S, El Mokni R, et al. Metabolite profiling, enzyme inhibitory activity and antioxidant potential of different extracts from *Glycyrrhiza foetida* Desf. (Fabaceae, Galegeae, Glycyrrhizinae) [J]. *Fitoterapia*, 2024, 173: 105792.
- [11] Yu C W, Xiang Y L, Zhang M, et al. Glycyrrhizic acid alleviates *Semen strychni*-induced neurotoxicity through the inhibition of HMGB1 phosphorylation and inflammatory responses [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2024, 19(1): 21.
- [12] Ni L L, Miao P, Jiang J, et al. *Glycyrrhiza uralensis* promote the metabolism of toxic components of *Aconitum carmichaeli* by CYP3A and alleviate the development of chronic heart failure [J]. *PLoS One*, 2022, 17(6): e0270069.
- [13] 贾梦楠,李天娇,包永睿,等.基于“质-量”双标的甘草质量分析方法研究[J].中草药,2023,54(22):7306-7312.
- [14] 杨耘,卢雪蕊,宋平顺,等.甘草HPLC指纹图谱及抗氧化活性的谱效关系[J].药物分析杂志,2022,42(4):607-617.
- [15] Yu D X, Guo S, Zhang X, et al. Combining stable isotope, multielement and untargeted metabolomics with chemometrics to discriminate the geographical origins of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) [J]. *Food Chem*, 2023, 426: 136577.
- [16] Yoon D, Shin W C, Oh S M, et al. Integration of multiplatform metabolomics and multivariate analysis for geographical origin discrimination of *Panax ginseng* [J]. *Food Res Int*, 2022, 159: 111610.
- [17] 周定定,李辉虎,汤兴涌,等.甘草酸和甘草苷生物合成与调控的研究进展[J].生物技术通报,2023,39(5):44-53.

[责任编辑 时圣明]