

基于指纹图谱和特征标志物的化学模式识别评价不同产地甘草质量差异

李晴晴^{1,3}, 祝宇龙¹, 杨蓓蓓^{1,3}, 郭一凡¹, 王言^{1,2*}, 吴虹^{1,3,4*}

1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012
2. 安徽省活性天然产物重点实验室, 安徽 合肥 230012
3. 新安医学教育部重点实验室, 安徽 合肥 230038
4. 安徽省中医药科学院中药药效与安全性评价研究所, 安徽 合肥 230012

摘要: 目的 利用 UPLC 法指纹图谱结合化学计量学, 探索不同产地甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 的化学轮廓变化, 并筛选能够区分产地的特征标志物, 为具有统一属性的甘草质量评价提供科学依据和参考。方法 建立 5 个产地 30 批甘草药材的 UPLC 指纹图谱, 并进行方法学验证。通过相似度评价初步分析质量一致性, 进一步使用 SIMCA 14.0 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)、聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等化学计量学方法, 对不同产地甘草样品进行模式识别和差异区分。进一步结合变量权重值 (variable importance projection, VIP), 筛选关键差异标志物。最后, 对筛选出的 5 种特征标志物成分进行含量测定。结果 成功建立了 30 批甘草样品的 UPLC 指纹图谱, 各批次样品与对照图谱的相似度各不相同, 但均大于 0.849, 表明所用样品质量稳定的同时又存在差异性。化学计量学分析显示, 不同产地甘草样品存在明显聚类趋势, 且 PCA 和 HCA 结果一致, 证实了产地间的化学成分存在差异。OPLS-DA 模型有效区分了不同产地, 置换检验证实模型可靠。通过 VIP>1 筛选出区分产地的 5 种关键特征标志物。含量测定结果表明, 5 个特征标志物成分在不同产地甘草中的含量范围差异显著, 进一步验证了产地间化学成分的差异性。结论 建立的 UPLC 指纹图谱结合化学计量学 (PCA、HCA、OPLS-DA) 的分析方法, 能有效区分不同产地甘草, 并且甘草苷、甘草酸、蔗糖甘草苷、甘草查耳酮 B 和三色堇黄酮可作为关键的产地特征标志物。该方法体系为客观评价不同产地甘草的质量差异、鉴别其产地来源及后续质量标准提升提供了可靠的分析策略和数据支持。

关键词: 甘草; 特征标志物; 指纹图谱; 甘草苷; 甘草酸; 蔗糖甘草苷; 甘草查耳酮 B; 三色堇黄酮; 化学计量学; 质量差异
中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)13-5235-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.13.025

Chemical pattern recognition based on fingerprint chromatograms and characteristic markers for evaluating quality differences of *Glycyrrhiza uralensis* from different origins

LI Qingqing^{1,3}, ZHU Yulong¹, YANG Beibei^{1,3}, GUO Yifan¹, WANG Yan^{1,2}, WU Hong^{1,3,4}

1. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China
2. Anhui Province Key Laboratory of Bioactive Nature Products, Hefei 230012, China
3. Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Hefei 230038, China
4. Institute for Pharmacodynamics and Safety Evaluation of Chinese Medicine, Anhui Academy of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China

Abstract: Objective To explore the chemical profile variations of *Glycyrrhiza uralensis* from different origins and screen origin-specific characteristic markers by using UPLC fingerprinting integrated with chemometrics. This approach provides a scientific basis and reference for the quality evaluation of *G. uralensis* with unified attributes. **Methods** This study established

收稿日期: 2026-02-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82374117)

作者简介: 李晴晴 (2002—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药物质量控制与评价。E-mail: 18656291231@163.com

*通信作者: 王言 (1993—), 男, 校聘教授, 研究方向为中药及复方药理学与物质基础研究; 现代药物分析研究。

E-mail: awangyan@ahtcm.edu.cn

吴虹 (1967—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药抗炎免疫活性成分与作用机制相关性。

E-mail: wuhongprof@aliyun.com

UPLC fingerprints for 30 batches of *G. uralensis* collected from five origins and validated the analytical method. The quality consistency of the samples was preliminarily analyzed through similarity evaluation. Subsequently, chemometric methods such as principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis (HCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to identify the patterns and differences of *G. uralensis* samples from different origins by SIMCA 14.0 software. Further, the key discriminant markers were identified based on the variable importance projection (VIP) values. Finally, the contents of the five characteristic markers were determined. **Results** UPLC fingerprints of 30 batches of *G. uralensis* samples were established. The similarities between each sample batch and the reference fingerprint varied but all exceeded 0.849. This indicates that while the overall chemical profiles of the samples were generally consistent, quantitative differences existed. Chemometric analysis showed clear clustering trends for samples from different origins, and the consistent results of PCA and HCA confirmed the presence of chemical differences among the origins. The OPLS-DA model effectively distinguished different origins, and the permutation test confirmed the reliability of the model. Five key characteristic markers were selected based on $VIP > 1$. The content determination results indicated that the contents of the five characteristic markers in *G. uralensis* from different origins varied significantly, further confirming the differences in chemical components among the origins. **Conclusion** The UPLC fingerprint combined with chemometrics (PCA, HCA, OPLS-DA) analysis method established in this study can effectively distinguish *G. uralensis* from different origins, and glycyrrhizin, glycyrrhizic acid, liquiritin apioside, glycyrrhizin B, and violanthin can be used as key characteristic markers for origin discrimination. This analytical system provides a reliable strategy and data support for objectively evaluating the quality differences of *G. uralensis* from different origins, identifying their origin sources, and improving future quality standards.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; characteristic markers; fingerprint chromatogram; glycyrrhizin, glycyrrhizic acid; liquiritin apioside; glycyrrhizin B; violanthin; chemometrics; quality difference

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.或光果甘草 *G. glabra* L.的干燥根和根茎,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药等功效^[1]。甘草之名源于其味甘的特性,其干燥根和根茎为药用部位。中药甘草在中国已有超过两千年的应用历史,被誉为中药中的“国老”,在众多方剂中扮演着不可或缺的角色。甘草的主要化学成分包含三萜类和黄酮类等化合物,具有抗癌、抗炎和神经保护等药理作用^[2-4]。

甘草中三萜类和黄酮类^[5]成分多样,如甘草酸、甘草苷等,具有多种药理活性,是评价甘草质量的核心指标性成分。目前的相关研究方法较为单一或局限,王旭娜等^[6]倾向于采用单纯的高效液相色谱法进行分析,研究3个不同产地种质甘草中8种主要活性成分合成累积动态变化规律;国外也有研究员^[7]利用HPLC法研究甘草相关药理作用机制。单一方法的研究模式难以对甘草中结构多样、性质各异的活性成分进行同步分析,也未能充分揭示其之间的相互关系,影响了对甘草质量的全面评价。同时,传统质量控制方法也较为局限,并且质量控制体系仍存在一定的不足^[8],对不同产地间化学成分及质量差异关注不足,导致产地因素在质量标准中未能充分体现,制约了甘草药材的优质优用与产业规范化发展。为确保甘草药材及其制剂的疗效稳定

与用药安全,需要建立科学、有效的分析手段,研究不同产地甘草中可体现“道地性”的化学成分,为甘草后续研究提供有效支持。随着研究手段的日益创新,指纹图谱与化学计量学等方法成为评价中药质量的重要手段,指纹图谱可以分析化学成分整体性与一致性,反映整体质量;化学计量学则可以最大限度地提取有用信息,建立预测模型,最大化展现组间差异,二者结合可从“表面”到“深层”地挖掘信息^[9-11]。目前,二者相结合的方法已广泛应用于北苍术^[12]、玄参^[13]、菟藟子^[14]等中药材的产地鉴别和质量评价。

不同的生长环境、栽培方式与采收加工过程,共同造就了甘草产地间的多样性,并最终导致其活性成分质量与含量呈现显著差异^[15-16],也是甘草展现产地差异的根源。因此,本研究利用UPLC指纹图谱法系统分析不同产地甘草的整体相似性与一致性,再结合化学计量学方法,构建主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)的多层分析体系,深入揭示不同产地甘草间化学差异,辨识其特征标志物,从而为甘草的质量评价与标准化控制提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 材料

甘草药材主要来自具有代表性的4大主产区及主要进口来源国:新疆(S1~S6)、甘肃(S7~S12)、宁夏(S13~S18)、内蒙古(S19~S24)、俄罗斯(S25~S30),共30批,经安徽中医药大学药学院俞年军教授鉴定为甘草 *G. uralensis* Fisch.干燥的根和根茎。

对照品甘草酸(批号 Y02J11L113432,质量分数98%)购买于上海源叶生物科技有限公司,对照品甘草查耳酮 B(批号 N2415653053,质量分数98%),芹糖甘草苷(批号 N2415802245,质量分数98%),三色堇黄苷(批号 N2519800192,质量分数95%),甘草苷(批号 M23120802217,质量分数90%)购买自四川恒诚致远生物科技有限公司。甲醇、乙腈、甲酸均为色谱纯,水为超纯水。

1.2 仪器

ME204/02型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);3-18R台式高速冷冻离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);Milli-Q型超纯水机(美国 Millipore 公司);KQ-7-200DTD型超声波清洗器(巩义市予华仪器有限责任公司);RE-52AA型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);Acquity UPLC H-Class型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);RS-FS1411型多功能粉碎机(合肥荣事达小家电有限公司)。

2 方法与结果

2.1 指纹图谱的建立

2.1.1 对照品溶液的制备 分别精密称定甘草酸、甘草苷、三色堇黄苷、甘草查耳酮 B、芹糖甘草苷对照品适量,置于量瓶中加入色谱甲醇溶解,配制质量浓度均为 0.50 mg/mL 的对照品溶液。精密量取各对照品溶液 0.40、0.40、0.40、0.20、0.20 mL 定容至 2.00 mL 制成混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取冷冻干燥后的甘草样品粉末各 0.10 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入 10 mL 超纯水,超声提取(功率 300 W,温度 50 °C,20 min),离心(3 200 r/min,15 min),取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.1.3 色谱条件 使用 Waters 超高效液相色谱仪,ACQUITY UPLC BEH-C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)。流动相 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B);梯度洗脱(0~3 min,80%~75%A;3~7 min,

75%~68%A;7~16 min,68%~55%A;16~17 min,55%~80%A;17~20 min,80%A);柱温 35 °C;体积流量 0.3 mL/min,进样量 3 μL,检测波长 265 nm。

2.1.4 精密度试验 取甘草样品(S1)0.1 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积以及相对保留时间,并计算 RSD。以分离度良好、保留时间适宜的峰 19(甘草酸)为参照峰,计算得到各 20 个共有峰(峰 1~20)相对保留时间的 RSD 分别为 0.50%、0.55%、0.23%、0.27%、0.27%、0.24%、0.20%、0.12%、0.10%、0.09%、0.07%、0.07%、0.07%、0.08%、0.07%、0.06%、0.02%、0.02%、0.03%、均小于 0.6%,相对峰面积的 RSD 分别为 2.16%、2.52%、0.94%、0.75%、1.66%、1.35%、2.62%、3.20%、2.03%、0.75%、0.43%、1.54%、0.62%、0.78%、1.50%、0.40%、0.16%、2.28%、0.25%,均小于 3.3%,表明仪器精密度良好。

2.1.5 重复性试验 取同一批甘草样品粉末,按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次,以分离度良好、保留时间适宜的峰 19(甘草酸)为参照峰,记录峰面积以及相对保留时间计算 RSD。计算得到 20 个共有峰(峰 1~20)相对保留时间的 RSD 分别为 0.74%、0.71%、0.40%、0.40%、0.24%、0.25%、0.15%、0.19%、0.08%、0.06%、0.04%、0.05%、0.05%、0.06%、0.06%、0.05%、0.02%、0.02%、0.03%,均小于 0.75%,相对峰面积的 RSD 分别为 3.09%、2.26%、1.52%、2.07%、2.74%、2.94%、2.97%、2.29%、2.82%、2.01%、1.29%、2.18%、2.72%、3.28%、1.27%、2.38%、1.09%、1.00%、1.99%,均小于 3.1%,表明方法重复性良好。

2.1.6 稳定性试验 取同一批甘草样品粉末,按“2.1.3”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、16、24 h 进行测定,以分离度良好、保留时间适宜的峰 19(甘草酸)为参照峰,记录峰面积以及相对保留时间计算 RSD。计算得到 20 个共有峰(峰 1~20)相对保留时间的 RSD 分别为 0.41%、0.51%、0.52%、0.25%、0.30%、0.32%、0.79%、0.59%、0.50%、0.38%、0.37%、0.32%、0.13%、0.11%、0.16%、0.15%、0.07%、0.03%、0.06%,均小于 0.8%,相对峰面积的 RSD 分别为 1.12%、1.48%、1.13%、0.51%、0.69%、1.21%、0.86%、1.42%、0.81%、1.71%、0.57%、1.21%、1.92%、0.93%、0.55%、0.69%、0.35%、1.42%、1.45%,均小于 2%,表明甘草样品在 24 h 内保持稳定。

2.1.7 指纹图谱建立及相似度评价 将30批甘草样品按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,得到不同产地甘草UPLC色谱图,所得色谱图数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”^[17],以S12号样品色谱图为参照图谱,时间窗宽度为0.1,进行Mark峰匹配及多点校正,按照平均数法生成对照图谱,构建30批甘草样品叠加指纹图谱及对照图谱,结果见图1。通过指纹图谱与对照品色谱图进行比对,进行色谱峰指认。比对结果显示,

30批甘草样品中共匹配出20个共有峰,与对照品比对指认出5个主要特征峰:峰1、峰6、峰7、峰11、峰19。进一步相似度评价结果显示(表1),不同产地甘草样品与对照图谱相似度均大于0.849,但各批次与对照图谱之间的相似度又各不相同,表明各批次样品合格稳定但又存在差异。以上结果表明所建立的甘草样品指纹图谱精密、重复性、稳定性均良好,可用于甘草的质量评价与控制。

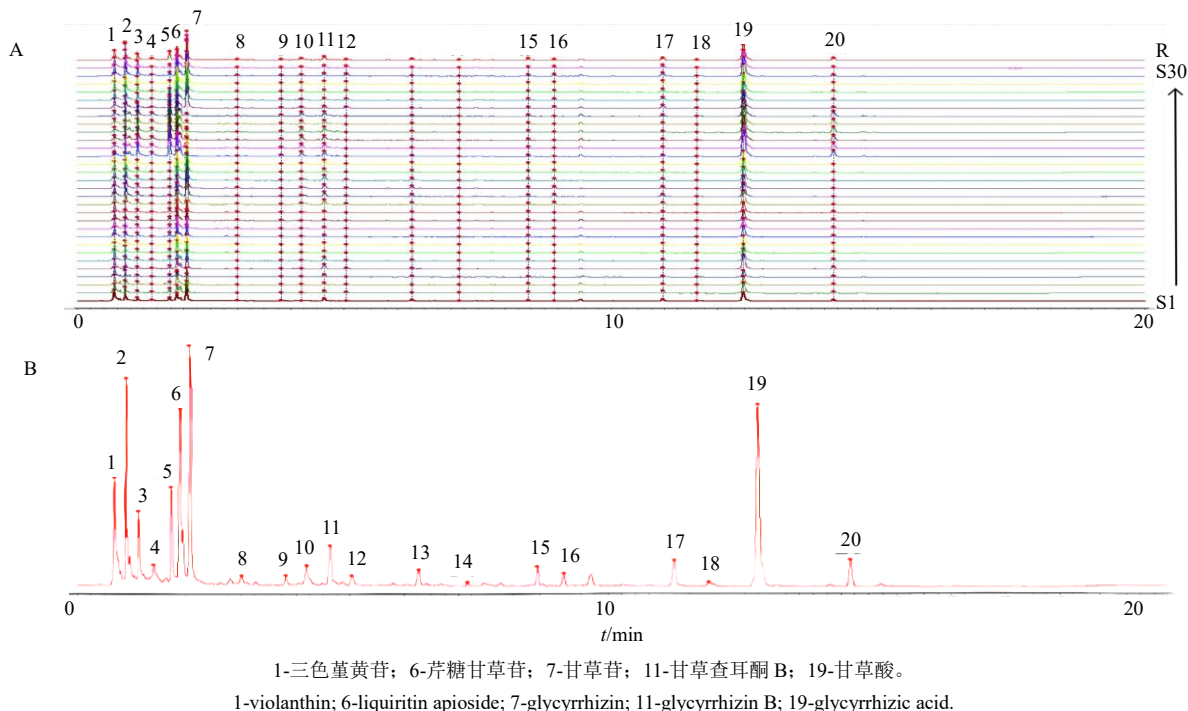


图1 30批甘草样品UPLC叠加指纹图谱和对照图谱(A)和甘草指纹图谱共有模式图(B)

Fig. 1 UPLC superimposed fingerprint spectra and control spectra of 30 batches of *G. uralensis* samples (A), and common pattern diagram of *G. uralensis* fingerprint spectra (B)

表1 30批甘草样品与对照图谱相似度评价结果

Table 1 Similarity evaluation results of 30 batches of *G. uralensis* samples with reference chromatogram

样品编号	相似度	样品编号	相似度
S1	0.966	S16	0.942
S2	0.971	S17	0.937
S3	0.973	S18	0.939
S4	0.907	S19	0.874
S5	0.984	S20	0.849
S6	0.969	S21	0.871
S7	0.981	S22	0.871
S8	0.981	S23	0.873
S9	0.989	S24	0.874
S10	0.989	S25	0.972
S11	0.986	S26	0.972
S12	0.988	S27	0.967
S13	0.937	S28	0.968
S14	0.938	S29	0.972
S15	0.941	S30	0.973

2.2 化学计量学分析

分析不同产地甘草中药指纹图谱结果可知,不同批次甘草样品所含化学成分存在着明显差异。因此,为了明确不同产地甘草主要化学成分差异所在,在指纹图谱分析的基础上,采用PCA和OPLS-DA等化学计量学^[18-19]方法,使30批不同产地甘草化学成分的差异更加直观。

2.2.1 PCA 初步探索数据,观察分析不同产地甘草样品主要成分的分布趋势,检测是否存在异常样品,对数据首先进行无监督模式的PCA^[18,20-21],探索数据整体结构,观察样品分布。

将甘草样品共有峰峰面积作为自变量,30批甘草样品为因变量,导入SIMCA 14.1软件进行PCA分析,主成分1(PC1)与主成分2(PC2)的贡献

率分别为 58.8%和 34.3%，方差累解释能力参数 R^2_X 和预测能力参数 Q^2 分别为 0.986 和 0.936，说明 2 个主成分可以有效反映数据差异性，可综合反映甘草样品的差异情况^[21]，绘制 PCA 得分散点图见图 2，结果显示 5 个产地甘草样品大致聚为 3 类：内蒙古（S19~S24）一类；新疆（S1~S6）和甘肃（S7~S12）较近可聚为一类；宁夏（S13~S18）和俄罗斯（S25~S30）则聚为一类。即 PCA 结果可表明不同产地甘草样品间存在差异，又由于产地气候，种植、采摘条件以及人工操作的不同使各产地之间差异性的高低也有所不同。

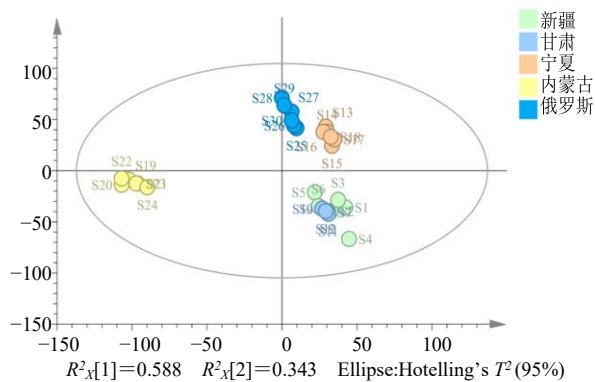


图 2 30 批甘草样品主成分分析得分图

Fig. 2 Principal component analysis score chart of 30 batches of *G. uralensis* samples

2.2.2 HCA 在 PCA 的基础上，进一步验证样品的聚类模式，HCA^[22]可以直观地表现出不同产地样品差异性，从而确认分组是否合理。数据同样导入 SIMCA 14.1 软件进行 HCA 分析得到 30 批甘草样品聚类分析结果，见图 3，从图中可知 30 批甘草样品合理地聚为 3 类：内蒙古（S19~S24）一类；新疆（S1~S6）和甘肃（S7~S12）一类；宁夏（S13~S18）和俄罗斯（S25~S30）聚为一类，聚类分析图直观且现象明显，可以较好地观察到样品之间的聚类情况，其聚类情况与 PCA 分析分类结果一致，证实不同产地甘草样品间所含成分存在一定的差异性^[23]。

2.2.3 OPLS-DA 采用有监督模式的 OPLS-DA^[24-25]聚焦到组间差异，可以将不同产地甘草样品的组间差异最大化，筛选出关键差异标志物如甘草酸、甘草苷等。

甘草样品数据进行处理后导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA 得到分析结果如下：OPLS-DA 得分图见图 4，分析结果可知 30 批甘草样品可以很好地被鉴别为 3 类：内蒙古（S19~S24）一类；新疆

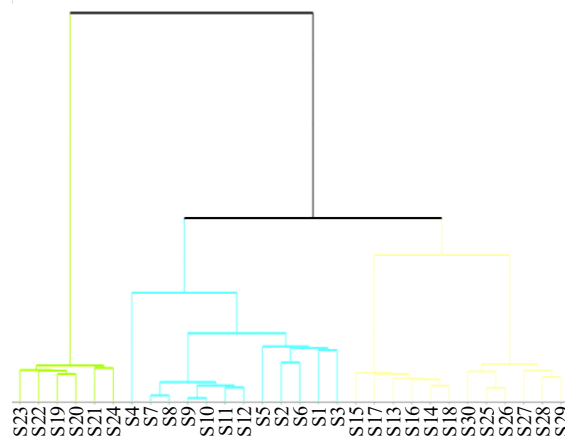


图 3 30 批甘草样品聚类分析结果图

Fig. 3 Cluster analysis result graph of 30 batches of *G. uralensis* samples

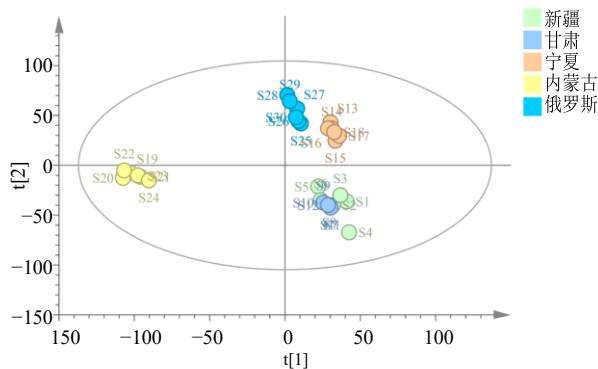


图 4 30 批甘草样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score chart of 30 batches of *G. uralensis* samples

（S1~S6）和甘肃（S7~S12）一类；宁夏（S13~S18）和俄罗斯（S25~S30），得到自变量拟合指数（ $R^2_X=0.98$ ）因变量拟合指数（ $R^2_Y=0.929$ ）以及模型预测指数（ $Q^2=0.894$ ），可知 $R^2_Y=0.929$ 与 $Q^2=0.894$ 均大于 0.5，且其差值为 0.035，小于 0.3，可以判断该模型拟合较好，预测能力良好，实验结果具有较高的可靠性。运用统计推断分析进行验证鉴别模型，经置换检验（图 5），分析可知置换后 Q^2 回归线与纵轴交点小于 0，且置换后的 R^2_Y 与 Q^2 显著低于原始模型，证明原始模型具有统计学意义^[26]。对以上数据的差异性进行整体分析变量重要性投影值（variable importance projection, VIP）^[27]（图 6），分析各特征峰（峰 1、峰 6、峰 7、峰 11、峰 19）的 VIP 值均大于 1，可以筛选作为差异标志物用于判断不同产地甘草样品的差异性。结合这一结果可

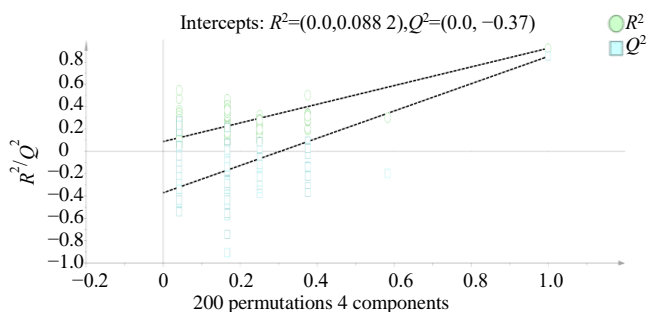


图 5 30 批甘草样品置换检验图

Fig. 5 Displacement test diagram of 30 batches of *G. uralensis* samples

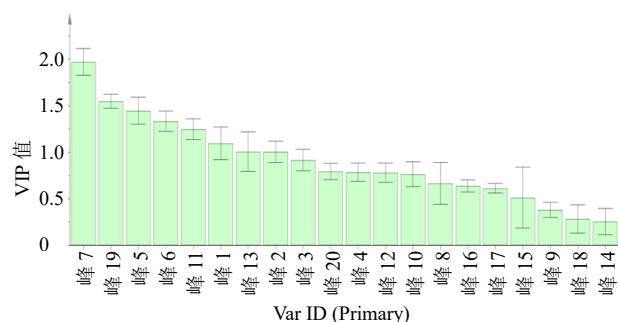


图 6 30 批甘草样品 VIP 值

Fig. 6 VIP values of 30 batches of *G. uralensis* samples

表 2 30 批甘草样品中 5 种化学成分线性关系考察结果

Table 2 Linear relationship investigation of five chemical components in 30 batches of *G. uralensis* samples

化学成分	回归方程	R ²	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
三色堇黄苷	Y=21 164 X-3 909.4	0.999 3	1.56~50.00
芹糖甘草苷	Y=37 980 X-11 058	0.999 8	1.56~50.00
甘草苷	Y=11 553 X-1 918.9	0.999 9	3.12~100.00
甘草查耳酮 B	Y=18 064 X-5 568.2	0.999 9	3.12~100.00
甘草酸	Y=6 542.1 X-2 841.2	0.999 8	6.25~100.00

耳酮 B、甘草酸的峰面积 RSD 分别为 2.24%、1.26%、2.63%、0.34%、0.10%，表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批甘草粉末，按“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积计算 RSD。结果显示三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、甘草酸的质量分数 RSD 分别为 2.92%、2.76%、0.76%、0.80%、1.86%，表明方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一批甘草粉末，按“2.1.3”项下色谱条件分别在 0、2、4、8、16、24 h 进行测定，记录峰面积计算 RSD。结果显示三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、甘草酸的峰面积 RSD 分别为 0.97%、1.21%、0.81%、0.76%、

以确定特征峰：峰 1（三色堇黄苷）、峰 6（芹糖甘草苷）、峰 7（甘草苷）、峰 11（甘草查耳酮 B）、峰 19（甘草酸）。根据 VIP 值排序为甘草苷 > 甘草酸 > 芹糖甘草苷 > 甘草查耳酮 B > 三色堇黄苷。

2.3 特征标志物定量分析

通过 VIP 值筛选，成功鉴定出三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、甘草酸为区分不同产地甘草的关键特征标志物，这 5 种成分均为甘草中重要的活性三萜类及黄酮类化合物，本实验对 5 个关键特征标志物进行定量测定。

2.3.1 混合对照品溶液的制备 同“2.1.1”项。

2.3.2 供试品溶液的制备 同“2.1.2”项。

2.3.3 线性方程的绘制 精密称取甘草酸、甘草苷、三色堇黄苷、甘草查耳酮 B、芹糖甘草苷对照品适量，用甲醇稀释 1、2、4、8、16 倍，配制成多个质量浓度系列的对照品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进行测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制标准曲线，进行线性回归，结果见表 2。

2.3.4 精密度试验 取同一批甘草药材粉末，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定 6 次，记录峰面积计算 RSD。结果显示三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查

耳酮 B、甘草酸的峰面积 RSD 分别为 2.24%、1.26%、0.28%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.7 加样回收率试验 取已知 5 种化合物成分含量的甘草样品 6 份，精密称定，每份 0.05 g，按样品各成分的含量加入等量的对照品甘草酸、甘草苷、三色堇黄苷、甘草查耳酮 B、芹糖甘草苷溶液，按“2.1.3”项下色谱条件，计算各成分的回收率以及 RSD。三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、甘草酸的平均加样回收率分别为 99.63%、99.32%、97.53%、101.33%、99.73%；RSD 分别为 0.43%、0.55%、0.66%、0.28%、0.74%。

2.3.8 样品含量测定分析 精密称取 30 批甘草粉末约 0.1 g，按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.3”项下色谱条件进样测定；由表 3 可知，三色堇黄苷、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、

表 3 30 批甘草药材中 5 种成分的含量测定结果

Table 3 Determination results of contents of five components in 30 batches of *G. uralensis* medicinal materials

批次	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)				
	三色堇黄苷	芹糖甘草苷	甘草苷	甘草查耳酮 B	甘草酸
S1	3.652	2.066	9.638	1.268	14.078
S2	4.025	2.226	7.072	1.476	14.542
S3	3.170	1.917	7.345	0.951	9.648
S4	3.642	1.739	2.909	1.559	11.772
S5	2.448	2.609	11.169	2.681	21.989
S6	3.947	2.495	6.741	2.225	18.989
S7	3.668	4.207	23.525	1.761	30.321
S8	3.836	4.250	25.073	1.446	31.138
S9	3.968	4.664	26.414	1.940	33.439
S10	3.628	4.184	24.074	1.753	30.038
S11	3.774	4.219	23.492	1.675	29.781
S12	3.898	4.267	24.626	1.554	31.152
S13	3.181	2.635	6.790	1.099	13.932
S14	2.954	2.398	6.655	0.886	14.361
S15	2.984	2.373	6.215	0.784	13.598
S16	3.274	2.663	7.238	1.102	15.337
S17	3.067	2.661	6.793	1.026	14.773
S18	3.114	2.583	7.064	9.071	15.366
S19	3.969	2.857	22.810	2.959	20.829
S20	3.864	2.703	20.870	2.446	19.714
S21	3.947	2.902	22.372	3.698	20.669
S22	4.009	2.851	22.278	2.694	20.596
S23	3.946	2.896	21.961	2.703	20.844
S24	3.874	2.770	2.147	2.616	20.325
S25	2.382	5.294	3.939	3.762	41.124
S26	2.210	5.768	1.776	3.387	41.974
S27	2.319	5.871	2.037	3.793	41.378
S28	2.184	5.160	3.911	3.661	40.648
S29	2.258	5.055	3.818	3.631	39.427
S30	2.186	5.478	1.625	3.274	38.969

甘草酸的质量分数范围分别为 2.184~4.025、1.739~5.871、1.625~26.414、0.784~9.071、9.648~41.974 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。综合以上分析，30 批不同产地甘草中 5 种成分含量差异显著，反映出明显的产地间变异趋势；局部上，同一产地来源的样品其各成分含量波动较小，说明产地内具有相对一致的化学成分组成；而不同产地间则表现出较大的含量差异。结合化学计量学分析结果（PCA、HCA 显示样品按产地聚类），表明地理因素是影响甘草化学成分含量变化的重要因素之一。

3 讨论

甘草作为一种用途广泛的中药材，其质量深受生长环境、气候条件等产地因素的影响，表现出显著的“道地性”差异。目前，关于甘草“道地性”

差异的相关研究尚不充分。为系统揭示不同产地甘草质量差异的关键特征标志物，从而为其质量评价提供客观依据，本研究采用 UPLC 指纹图谱结合化学计量学（PCA、HCA、OPLS-DA）的综合分析策略，对不同产地甘草中的 5 种化学成分进行了系统分析，并从整体性与特异性 2 个层面探讨了其质量差异的关键。

首先，UPLC 指纹图谱相似度分析结果显示，所有样品与对照图谱的相似度均高于 0.849。尽管各批次样品间相似度存在一定的波动，但该结果证实了不同产地甘草在主要化学成分组成上的一致性，其质量差异主要体现在各成分的含量层面。PCA 与 HCA 的无监督分析模型进一步揭示了这种差异的结构特征。结果显示，30 批样品被客观地

划分为3类地理群组。其中,内蒙古产地甘草(S19~S24)独自聚为一类,表现出鲜明的化学特征独立性,这可能与内蒙古独特的地理环境密切相关。新疆(S1~S6)与甘肃(S7~S12)产地甘草聚为一类,推测是由于地理上的邻近性(均位于西北地区)可能赋予了其相似地理条件,从而形成了相近的化学成分组成。宁夏(S13~S18)与俄罗斯(S25~S30)产地甘草聚为一类,这一结果颇具启发性,尽管地理位置相距较远,但2地可能存在某些相似的环境因子(如纬度、温度范围),从而影响了甘草中化学物质的合成与积累。

其次,为了精准定位造成上述差异的关键化学成分,研究引入了有监督的 OPLS-DA 模型。该模型不仅有效强化了组间差异,其严格的置换检验也证明了模型具有高度的可靠性与预测能力。通过 VIP 值筛选,成功鉴定出三色堇黄酮、芹糖甘草苷、甘草苷、甘草查耳酮 B、甘草酸为区分不同产地甘草的关键特征标志物。这 5 种成分均为甘草中重要的活性三萜类及黄酮类化合物,其 VIP 值排序(甘草苷>甘草>芹糖甘草苷>甘草查耳酮 B>三色堇黄酮)提示,在产地鉴别中,甘草苷和甘草酸的贡献度最大。这一发现与药典以甘草酸和甘草苷作为质量控制指标的理念相契合,更进一步明确了它们在质量差异中的指示作用。

最后,以 5 种特征标志物的定量分析结果,为化学计量学结论提供了坚实的量化证据。含量测定结果表明,不同产地间各成分含量差异显著。例如,甘草酸的含量在 9.648~41.974 $\mu\text{g/g}$ 波动,甘草苷的含量在 1.625~26.414 $\mu\text{g/g}$ 波动。这些特征物质的含量呈现显著的数量级差异,不仅直接证实了产地因素是影响甘草内在质量的关键变量,也科学解释不同产地的甘草为何在药理活性和临床应用效果上可能有所不同。

综上所述,本研究通过“整体指纹图谱相似度评价→无监督模式识别初步分类→有监督模式精准筛选标志物→多指标成分定量验证”的研究路径,层层深入地揭示了不同产地甘草化学成分的本质差异。与现有研究如吴涓江等^[28]利用 HPLC 特征图谱对不同产地甘草进行质量评价不同,我们利用了 UPLC 指纹图谱与化学计量学相结合的方法展开分析,在分析技术以及研究方向上都有所不同。这种基于 UPLC 指纹图谱与化学计量学相结合的分析模式,能够科学、有效地鉴别甘草产地,并筛选出

具有产地指示意义的质量标志物。同时,根据 VIP>1 为依据,结合现有研究的不足,本课题组在《中国药典》2025 年版甘草质量标准的基础上增加了 3 种化学成分定量测定,进一步拓展了本研究的化学信息维度,增强了结果的应用性与参考价值。筛选出的 5 种特征标志物具有产地指示意义,为“道地甘草”的科学内涵提供了化学物质基础层面的阐释。这些特征标志物的发现,可为后续甘草药材的质量分级标准制定提供参考,例如在《中国药典》现行标准基础上,可考虑根据不同产地特征标志物的含量范围建立分级标准,或将特征标志物纳入产地溯源的质量评价体系。需要指出的是,本研究尚未引入同一产地不同年份、不同采收期、不同加工方式等因素的系统对比,因此不能完全排除其他因素的干扰。但基于现有数据,可以认为产地因素在甘草质量评价中具有重要影响,后续研究可进一步结合多因素,全面解析甘草质量差异的形成机制。

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. 2025: 91.
- [2] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [3] 左振宇, 高焕芝, 化敏, 等. 甘草多糖通过调控 Nrf2 信号通路改善顺铂诱导的急性肾损伤 [J]. 中草药, 2025, 56(24): 9003-9014.
- [4] 周梓洋, 赵艺欣, 于静波, 等. 甘草活性成分及抗抑郁机制的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(11):
- [5] Fang Y, Lin Z K, Lv Y, et al. Isolation and preparation of flavonoids from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. using multi-dimensional chromatography for treating non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Mol Struct*, 2025, 1340: 142516.
- [6] 王旭娜, 何琦, 张乃晏, 等. 3 个不同产地种质甘草中 8 种主要活性成分合成累积动态变化规律的研究 [J]. 天津中医药, 2025, 42(9): 1168-1176.
- [7] Duan H, Wang W, Shi Y, et al. Anti-colorectal cancer actions of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. and its underlying mechanism via HPLC integration and network pharmacological approaches [J]. *Phytomedicine*, 2025, 138: 156370.
- [8] Fang D Y, Zhao X Y, Pan Y Q, et al. Screening criteria for high-quality *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. seeds from the Ordos Plateau [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 21955.
- [9] 刘萌, 崔岩, 杜昆泽, 等. 基于 UPLC 指纹图谱结合化学计量学方法对旋覆花与水朝阳旋覆花的鉴别标志物

- 筛选 [J]. 天津中医药大学学报, 2025, 44(11): 995-1003.
- [10] 胡姗姗, 施川, 陈荣, 等. 芩贝止咳颗粒 HPLC 指纹图谱建立及 5 种成分含量测定 [J]. 中成药, 2025, 47(12): 4108-4112.
- [11] 董雪, 李静, 汪电雷, 等. 基于指纹图谱和多指标成分定量结合化学计量法评价不同产地白术质量 [J]. 中草药, 2025, 56(23): 8746-8754.
- [12] 韩雨桐, 张涵淇, 徐天任, 等. 基于指纹图谱和多指标含量测定结合化学计量学的不同产地北苍术药材质量评价研究 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(24): 4682-4688.
- [13] 翟红伟, 胡辉, 陈前正, 等. UPLC 指纹图谱结合化学计量学评价玄参质量 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(10): 2488-2493.
- [14] 万欣亚, 邢益添, 何民友, 等. 基于指纹图谱和化学成分结合化学计量学对不同产地茺蔚子的质量评价 [J]. 中草药, 2025, 56(20): 7549-7555.
- [15] 吴新, 吴涛, 王冰清, 等. 不同产地甘草 UPLC 指纹图谱的建立及 6 种成分定量分析 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2518-2526.
- [16] Chen C Y, Zhong C F, Gao X, *et al.* *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. root-associated microbiota: The multifaceted hubs associated with environmental factors, growth status and accumulation of secondary metabolites [J]. *Environ Microbiome*, 2022, 17(1): 23.
- [17] 兰诗琦, 阿依达娜·沃坦, 李敏, 等. 基于 HPLC 指纹图谱、含量测定及化学模式识别评价哈斯日哈克胶囊质量 [J]. 中成药, 2025, 47(12): 4103-4107.
- [18] 李梅, 李扬, 马浩明, 等. 基于 UPLC-MS/MS 结合化学计量学的牡丹皮多成分定量及产地差异研究 [J]. 中药材, 2025, 48(11): 2820-2827.
- [19] Shi S J, Zhang K D, Tian N N, *et al.* Spectroscopic techniques combined with chemometrics for rapid detection of food adulteration: Applications, perspectives, and challenges [J]. *Food Res Int*, 2025, 211: 116459.
- [20] 曹文秀, 张艳珍, 迟明, 等. 基于主成分分析评价不同干燥方式黄芪的品质差异 [J]. 食品研究与开发, 2025, 46(20): 60-67.
- [21] 唐亚男, 张文丽, 闫婕, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和一测多评法结合化学计量学的黄连须质量评价研究 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8347-8356.
- [22] 魏佳仪, 张淦淘, 丁博文, 等. 基于主成分分析和聚类分析对不同采收期枸杞芽菜品质综合评价 [J]. 食品工业科技, 2025, 1: 17-29.
- [23] 荣昱, 程璐, 陈晓桐, 等. 基于 HPLC 结合化学计量学对不同采收期亳白芍化学成分动态累积规律的研究 [J]. 药物分析杂志, 2025, 45(10): 1782-1793.
- [24] 梁淇雅, 刘燕, 白杨, 等. 基于 OPLS-DA 模型分析不同冻结方式对青椒肉丝预制菜挥发性风味物质的影响 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(9): 342-352.
- [25] 郑文炜, 林雨佳, 郑傲梅, 等. 基于指纹图谱定性、多成分定量结合化学计量学与熵权-TOPSIS 法的健心颗粒质量评价研究 [J]. 中国药学杂志, 61(2): 209-218.
- [26] 杨丽, 汪晶, 王晓波, 等. 多指标定量联合 PCA、OPLS-DA 及 CRITIC-TOPSIS 评价不同产地银柴胡质量差异 [J]. 中医药信息, 2025, 42(10): 28-35.
- [27] 龙悦, 胡阳, 贺玲, 等. 基于多成分定量联合化学计量学的不同产地通关藤质量评价 [J]. 中国药科大学学报, 2026, 57(1): 46-53.
- [28] 吴涓江, 罗昱, 罗江溢, 等. 基于 HPLC 特征图谱及主要成分含量测定等方法对不同产地甘草进行质量评价 [J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(9): 175-180.

[责任编辑 时圣明]