

# 不同产地甘草中核苷和碱基类成分分析与评价

谢明霞<sup>1</sup>,朱正清<sup>1</sup>,陈思<sup>1</sup>,  
杜可<sup>1</sup>,王芷<sup>1</sup>,郭东卫<sup>2</sup>,王汉卿<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>湖南中医药大学,长沙 410208;<sup>2</sup>湖南省脑科医院(湖南省第二人民医院),长沙 410021;<sup>3</sup>宁夏医科大学,银川 750004

**摘要:**为揭示不同产地甘草物质基础不同,本研究采用 UPLC-TQ/MS 测定 153 批不同产地甘草样品中 12 种核苷、碱基类成分含量,并利用主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)进行不同产地质量特征分析。研究结果显示,不同产地总核苷、碱基类成分含量宁夏>甘肃>内蒙古>新疆,产地之间存在显著差异( $P<0.05$ )。甘草核苷类成分以胞苷和鸟苷含量较高,二者占总核苷和碱基含量的 26.2%~47.8%;碱基类成分以腺嘌呤和鸟嘌呤较高,二者占总核苷和碱基含量的 19.3%~38.7%。基于测定的 12 种核苷、碱基类成分,PLS-DA 判别分析可以将不同产地的甘草分为两组,一组为宁夏和内蒙古产甘草,另外一组为甘肃和新疆产甘草,主要差异成分为鸟嘌呤、腺嘌呤、尿苷、胞苷和鸟苷。进一步采用 PLS-DA 分别分析两个组内不同产地的甘草质量特征显示,甘肃和新疆产甘草可以明确区分,宁夏和内蒙古产甘草不能准确区分。以上研究结果表明,不同产地甘草中核苷、碱基类成分存在差异,进而影响其质量特征。基于核苷、碱基类成分分析,宁夏和内蒙古产甘草质量一致度较高。本研究为揭示不同产地甘草质量存在差异提供了理论支持,为其合理开发利用奠定了基础。

**关键词:**甘草;核苷;碱基;产地;质量评价

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)1-0078-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.1.009

## Analysis and evaluation of nucleoside and nucleobase composition in licorice from different regions

XIE Ming-xia<sup>1</sup>, ZHU Zheng-qing<sup>1</sup>, CHEN Si<sup>1</sup>,  
DU Ke<sup>1</sup>, WANG Zhi<sup>1</sup>, GUO Dong-wei<sup>2</sup>, WANG Han-qing<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

<sup>2</sup>Brain Hospital of Hunan Province (The second People's Hospital of Hunan Province), Changsha 410021, China;

<sup>3</sup>Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

**Abstract:** To reveal the different material bases of licorice from different regions, UPLC-TQ/MS was used to determine the content of 12 kinds nucleosides and nucleobase components in 153 batches of licorice from various producing regions, and principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were used to analysis the quality characteristics. The results showed that the content of nucleosides and nucleobase in licorice from different regions is: Ningxia > Gansu > Inner Mongolia > Xinjiang, and there has a significant difference ( $P<0.05$ ). In nucleoside components, cytidine and guanosine had a higher content, and the total content of them accounted for 26.2%~47.8% of the total nucleoside and nucleobase content in licorice. In nucleobase content, adenine and guanine were higher, and the total content of them accounted for 19.3%~38.7% of the total nucleoside and nucleobase content in licorice. PLS-DA discrimination analysis could divide licorice from different regions into two groups based on the 12 kinds of nucleoside and nucleobase content. One is the licorice from Ningxia and Inner Mongolia, the other is from Gansu and Xinjiang. The main differential components were guanine, adenine, uridine, cytidine and guanosine. Further, the quality characteristics of licorice from different regions within the

收稿日期:2023-06-20 接受日期:2023-11-16

基金项目:湖南省教育厅科学研究重点项目(22A0259);湖南省中医药管理局科研项目(D2022053);湖南省临床医疗技术创新引导项目(2021SK50809);国家自然科学基金(82305037)

\*通信作者 Tel:86-951-6980178;E-mail:www@163.com

two groups were analyzed by PLS-DA, and the results showed that licorice from Gansu and Xinjiang can be clearly distinguished, while licorice from Ningxia and Inner Mongolia cannot be accurately distinguished. The above results illustrated that the nucleoside and nucleobase content in licorice from various regions was different, which will affect the quality characteristics. Based on nucleoside and nucleobase content, the quality of licorice from Ningxia and Inner Mongolia has a higher uniformity. This study provides theoretical support for revealing the differences in quality of licorice from different regions, and lays a foundation for its rational development and utilization.

**Key words:** licorice; nucleoside; nucleobase; producing regions; quality evaluation

中药甘草始载于《神农本草经》,来源于豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fishch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根茎<sup>[1]</sup>,为药食同源之品。据报道,市售 90% 以上的甘草药材其基原植物为甘草 *G. uralensis* Fishch.<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明,甘草具有抗病毒、抗炎、保肝、抗糖尿病、抗肿瘤等活性<sup>[3]</sup>。化学研究表明,甘草中主要含有黄酮类、三萜类、苯丙素类及多糖等成分,目前共计分离获得了 244 个化合物<sup>[4]</sup>。“诸药所生,皆有其境”强调了生态环境对药材品质影响,基于此,研究不同生境下药材中化学成分差异,对于评价药材质量,保障其疗效具有重要意义。野生和栽培甘草由于所受外界环境胁迫不同,课题组前期研究结果显示,二者之间淀粉、纤维等大分子物质及蔗糖、糖苷、蔗糖苷、甘草酸等黄酮、三萜皂苷类成分存在差异<sup>[5,6]</sup>。针对不同产地甘草中化学成分的研究,课题组报道了基于非靶标代谢组学结合化学计量学可以区分不同产地甘草<sup>[7]</sup>。核苷类成分是生命中必不可少的物质,是细胞的重要组成部分,是新陈代谢的核心<sup>[8,9]</sup>。核苷类似药物在人类健康中起着关键作用,这些小分子药物参与病毒或癌细胞生命周期中 DNA 或 RNA 复制过程中酶的相互作用,使其用于抗病毒、抗癌、抗菌等<sup>[10]</sup>。全面分析植物提取物中核苷类成分是研究植物中核苷的有效途径<sup>[11]</sup>。然而,目前尚缺乏对甘草中核苷、碱基类成分的研究,对于不同产地甘草中核苷、碱基类成分是否存在差异,进而影响其疗效尚未见报道。

本研究采用 UPLC-TQ/MS 测定不同产地甘草中核苷、碱基类成分含量,并基于其含量数据,采用主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA)分析不同产地甘草差异,为其合理开发利用奠定基础。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC 系统(Waters 公司); Xevo TQ-S 质谱仪(Waters 公司); MassLynx<sup>TM</sup> XS

质谱工作站(Waters 公司); BT125 型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); Milli-Q 超纯水系统(默克密理博公司); KQ-250E 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

### 1.2 材料

甘草药材采自宁夏、甘肃、内蒙古和新疆四个产区,采集三年生甘草的根和根茎,晒干,共计 153 批次,包括宁夏 45 个样本、甘肃 26 个样本、内蒙古 61 个样本、新疆 21 个样本,经宁夏医科大学药学院生药系王汉卿教授鉴定为甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fishch. 的根及根茎。

化学对照品:鸟嘌呤(Gua)(批号 BCBM438 0V)、胸苷(Thyd)(批号 041M0151)、2'-脱氧胞苷(2'-dC)(批号 AF9033002)、腺嘌呤(Ade)(批号 SLBF5824)、次黄嘌呤(Hyp)(批号 SLBD4750)、尿苷(Uri)(批号 SLBD3297)、胞苷-5'-环磷酸(C-5'P)(批号 SLBH2408V)、黄嘌呤(Xan)(批号 SLBD5517)、胞苷(Cytd)(批号 BCBL5271)、鸟苷(Guad)(批号 SLBF4484)、胞嘧啶(Cyt)(批号 SLBF0582)、胸腺嘧啶(Thym)(批号 WXBB0684)均购于 Sigma 公司,纯度  $\geq 98\%$ 。色谱级乙腈和甲酸购于德国默克公司,超纯水由 Milli-Q 超纯水仪自制,其他试剂均为国产分析纯。

## 2 方法和结果

### 2.1 供试品溶液制备

精密取甘草样品粉末(过 50 目筛)约 0.5 g,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 20 mL 水,室温超声提取(100 kHz)30 min,补足减失重量,13 000 r/min 离心 10 min,取上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜,续滤液备用。

### 2.2 对照品溶液制备

分别取各对照品适量,精密称定,加水配制成混合对照品储备溶液,Gua、Thyd、2'-dC、Ade、Hyp、Uri、C-5'P、Xan、Cytd、Guad、Cyt、Thym 浓度分别为 297.6、188.6、191.8、402.2、314.2、582.6、154.0、296.0、200.4、243.8、346.0、206.8  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品储

备液,上述储备液稀释制成不同浓度的对照品溶液。

### 2.3 色谱条件

参照文献方法<sup>[12]</sup>:ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);流动相 A 为 5 mmol/L 甲酸铵、5 mmol/L 乙酸铵和 0.2% 的甲酸水溶液,流动相 B 为 1 mmol/L 甲酸铵、1 mmol/L 乙酸铵和 0.2% 的甲酸乙腈溶液;梯度洗脱(0~3 min,10% A;3~9 min,10%→18% A;9~15 min,18%→20% A;15~16 min,20%→46% A;16~18 min,46% A);流速 0.4 mL/min;柱温 20 ℃,进样体积 1 μL。

### 2.4 质谱条件

多反应检测(MRM),电喷雾离子源采用正离子模式(ESI<sup>+</sup>),毛细管电压:3.0 kV,离子源温度 150

℃,脱溶剂气温度 550 ℃,脱溶剂气流量 1 000 L/h;锥孔气流量 50 L/h;碰撞气流量 0.15 mL/min,所测成分锥孔电压和碰撞能力与 MRM 匹配。

### 2.5 方法学考察

#### 2.5.1 线性关系、检出限和定量限

取“2.2 项”下不同浓度的混合对照品溶液,按 2.3 项色谱条件进行测定,以各对照品离子流峰面积( $y$ )与其浓度( $\mu\text{g/mL}$ , $x$ )绘制标准曲线,得线性回归方程和相关系数  $r$ 。检测限(LOD)和定量限(LOQ)分别以信噪比(S/N)为 3 和 10 计算。结果见表 1,LOD 和 LOQ 分别为 1.18~9.96 ng/mL 和 3.82~28.98 ng/mL,可以用于定量分析。

表 1 方法学考察

Table 1 Validation of the method for analysis compound

化合物 Component	线性方程 Linear equation	$r$	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g/mL}$ )	检测限 LOD (ng/mL)	定量限 LOQ (ng/mL)	精密度 Precision RSD (%)	重复性 Repeatability RSD (%)	稳定性 Stability RSD (%)	回收率 Recovery(%)	
									均值 Average	相对标准偏差 RSD
Gua	$y = 701\ 426x + 12\ 905$	0.999 7	0.037~2.976	9.96	29.0	3.28	2.43	4.24	95.12	4.2
Thyd	$y = 288\ 582x + 13\ 093$	0.999 4	0.024~1.886	6.18	18.5	2.16	2.94	3.25	99.16	4.6
2'-dC	$y = 1\ 652\ 273x + 106\ 732$	0.999 1	0.024~1.918	1.23	3.82	1.46	3.26	3.46	95.94	3.2
Ade	$y = 54\ 391x + 2\ 299.6$	0.999 9	0.050~4.022	4.68	15.1	2.32	1.35	4.61	95.83	4.2
Hyp	$y = 43\ 119x + 3\ 810.4$	0.999 4	0.039~3.142	1.18	3.92	2.01	2.12	2.86	94.32	4.5
Uri	$y = 982\ 640x + 164\ 529$	0.998 2	0.073~5.826	2.07	6.14	2.48	1.63	4.39	94.86	3.3
C-5'P	$y = 19\ 389x + 985.12$	0.999 4	0.019~1.540	4.81	15.9	3.24	4.23	2.82	101.5	2.5
Xan	$y = 8\ 912.6x + 405.82$	0.999 8	0.037~2.960	5.16	16.6	3.08	4.19	2.76	94.84	4.3
Cytd	$y = 15\ 703\ 887x + 894\ 9940.998\ 8$	0.998 8	0.025~2.004	3.45	12.0	2.26	2.04	3.25	95.32	4.7
Guad	$y = 833\ 597x + 62\ 941$	0.999 1	0.030~2.438	4.33	14.3	1.85	2.34	2.79	103.9	4.4
Cyt	$y = 3\ 559\ 131x + 17\ 757$	0.999 4	0.043~3.460	1.24	3.96	2.92	4.29	3.25	97.38	4.6
Thym	$y = 817\ 176x + 37\ 542$	0.999 8	0.026~2.068	6.06	19.4	3.61	3.85	4.68	95.65	4.8

#### 2.5.2 精密度、重复性、稳定性试验

**精密度试验:**取同一混合对照品溶液,按“2.3 项”色谱条件和“2.4 项”质谱条件连续进样 6 次,测定各成分峰面积,计算相对标准偏差(RSD)。结果见表 2,12 种核苷、碱基峰面积的 RSD 值均 < 5.0%,表明仪器精密度良好。

**重复性试验:**取供试样品宁夏产 6 号样本,按“2.1 项”平行制备供试品溶液 6 份,按“2.3 项”色谱条件和“2.4 项”质谱条件测定峰面积,计算各测定成分峰面积的 RSD。结果见表 2,表明该方法重复性良好。

**稳定性试验:**取供试样品宁夏产 6 号样本,按“2.1 项”制备供试品溶液,按“2.3 项”和“2.4 项”条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定峰面积,计算峰面积 RSD 值。结果见表 2,表明供试品样品在 24 h 内稳定。

#### 2.5.3 加样回收率试验

取已知各成分含量的样品宁夏产 6 号样本约 0.5 g,精密称定,根据样品中各成分含量的 80%、100% 和 120% 分别加入对照品,按“2.1 项”制备供试品溶液,按“2.3 项”色谱条件和“2.4 项”质谱条件测定峰面积,计算回收率。结果见表 2,回收率在

94.32% ~ 103.9%, RSD 值 < 5.0%, 表明该方法准确度良好。

## 2.6 不同产地甘草中核苷和碱基含量测定

本研究共测定了 12 种核苷、碱基类成分, 其中包括 5 种核苷 (Thym、2'-dC、Uri、Cyt、Guad)、6 种碱基 (Gua、Ade、Hyp、Xan、Cyt 和 Thym) 和 1 种核苷酸 (C-5'P), 色谱图见图 1, 含量测定结果见图 2, 不同产地甘草中核苷和碱基含量差异采用 Duncan's 多重比较分析。测定样品的核苷、碱基类总含量为 31.84 ~ 38.17 mg/100 g, 不同产地甘草中核苷、碱基类总含量宁夏 > 甘肃 > 内蒙古 > 新疆, 宁夏与甘肃产甘草中核苷、碱基类成分总含量显著高于内蒙古和新疆产甘草 ( $P < 0.05$ )。分析各核苷、碱基类成分含量, 结果显示: (1) 甘草中核苷类成分以 Cyt 最高, Gua 次之, 二者的含量分别为 5.001 ~ 11.185 mg/100 g 和 2.014 ~ 8.824 mg/100 g, 二者含量占核苷、碱基类总含量的 26.2% ~ 47.8%; Thyd 和 2'-dC 的含量相对较低, 其中 Thyd 的含量低于 0.5 mg/100 g, 2'-dC 的含量低于 1 mg/100 g。比较不同产地甘草之间核苷类成分含量差异, 五种核苷类成分在不同产地甘草中含量存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 均呈现为甘肃最高, 其中 Cyt、Guad 和 Uri 在不同产地甘草中的含量变化趋势基本一致, 内蒙

古和新疆产甘草中的含量显著低于甘肃和宁夏 ( $P < 0.05$ )。 (2) 甘草中碱基类成分以 Ade 和 Gua 含量较高, 含量分别为 2.003 ~ 7.595 mg/100 g 和 2.554 ~ 7.737 mg/100 g, 二者含量占核苷、碱基类总含量的 19.3% ~ 38.7%; 其余四种碱基的含量均低于 1 mg/100 g。比较不同产地甘草之间碱基类成分含量差异, 六种碱基的含量均存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 但不同产地间含量变化趋势不同。其中 Gua、Hyp 和 Xan 均以宁夏和内蒙古产甘草中含量较高, Gua 和 Xan 以甘肃显著低于其他产区 ( $P < 0.05$ ), Xan 含量在甘肃和新疆产甘草中无显著差异 ( $P > 0.05$ ); Ade 含量新疆 > 甘肃 ≈ 宁夏 > 内蒙古; Cyt 在内蒙古产甘草中的含量显著高于宁夏和甘肃 ( $P < 0.05$ ); Thym 以内蒙古产甘草中含量最高, 其他三个产区无显著差异 ( $P > 0.05$ )。综合考虑碱基类成分, 宁夏和内蒙古产甘草中含量较高。 (3) 研究中仅检测到了 C-5'P 一种核苷酸, 其含量为 2.349 ~ 9.856 mg/100 g, 占总核苷、碱基含量的 6.1% ~ 28.2%。各产地甘草中 C-5'P 的含量为新疆 > 甘肃 > 宁夏 > 内蒙古, 其中新疆与内蒙古产甘草中含量差异显著 ( $P < 0.05$ )。综上可知, 不同产地甘草中核苷、碱基类成分含量变化并不一致, 评价其质量差异需综合考虑各成分含量变化及占比。

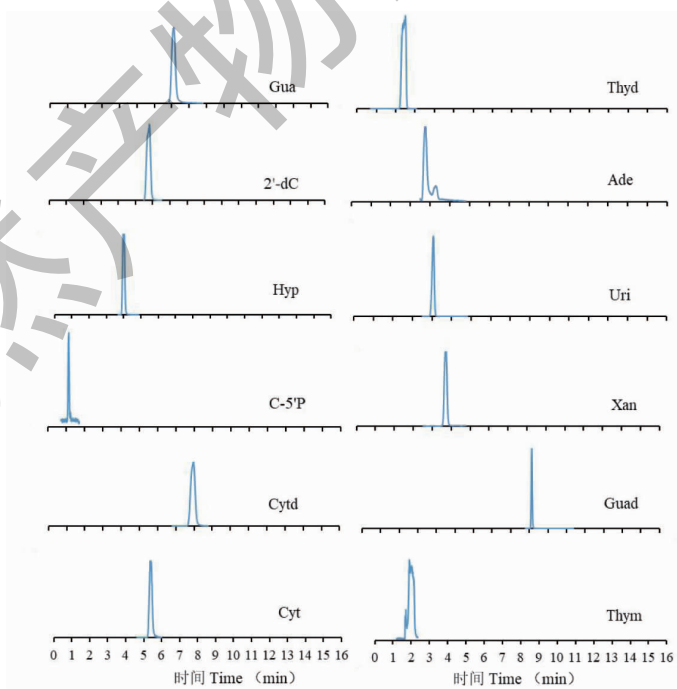


图 1 核苷和碱基类 UPLC-TQ/MS 色谱图

Fig. 1 UPLC-TQ/MS chromatogram of nucleoside and nucleobase

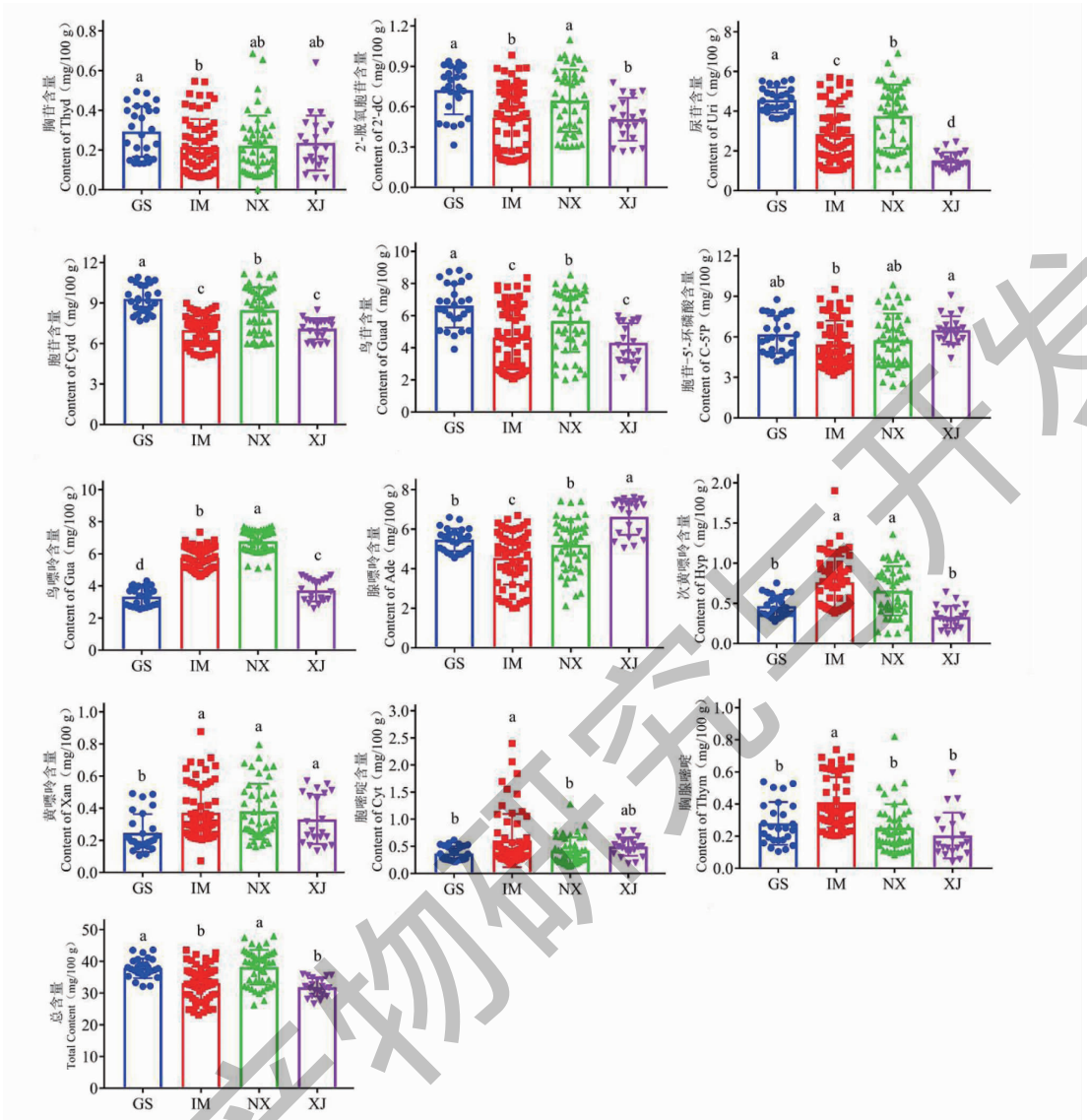


图2 不同产地甘草中核苷、碱基含量

Fig. 2 Nucleoside and nucleobase content in licorice of different regions

注:不同小写字母代表存在显著差异( $P < 0.05$ );GS代表甘肃,IM代表内蒙古,NX代表宁夏,XJ代表新疆(下同)。Note:The different lower-case letters represent significant differences ( $P < 0.05$ ). GS means Gansu, IM means Inner Mongolia, NX means Ningxia, XJ means Xinjiang (the same below).

## 2.7 PCA和PLS-DA分析

为分析不同产地甘草中核苷、碱基类成分特征,基于测定12种核苷、碱基含量,对153批次甘草进行主成分分析(PCA),结果显示,前两个主成分(PC1和PC2)累计贡献率达54.8%,各产地甘草样本间形成了聚类趋势,但不能将各产地样本明确区分(见图3A)。为进一步确定各产地样本间是否存在差异,对153批甘草样本进行偏最小二乘(PLS-DA)判别分析,模型结果显示, $R^2Y$ 为0.53, $Q^2$ 为0.501,均大于0.5,代表模型准确率较高,PLS-DA

判别结果见图3B。由图可知,不同产地的甘草可以分为两组,第一组(I)产自宁夏和内蒙古,第二组(II)产自甘肃和新疆。VIP图分析结果显示(见图3C),Gua、Ade、Uri、Cytd和Guad的VIP > 1,为不同产地甘草中主要差异的核苷和碱基类成分。

PLS-DA判别分析将不同产地甘草区分为两组,其中宁夏和内蒙古产区地理位置接近,被划分为了同一组;而甘肃主产区和新疆产区地理位置则较为接近,被划分为另外一组。为进一步判定各组内不同产地之间甘草中核苷、碱基类成分特征,再次采用



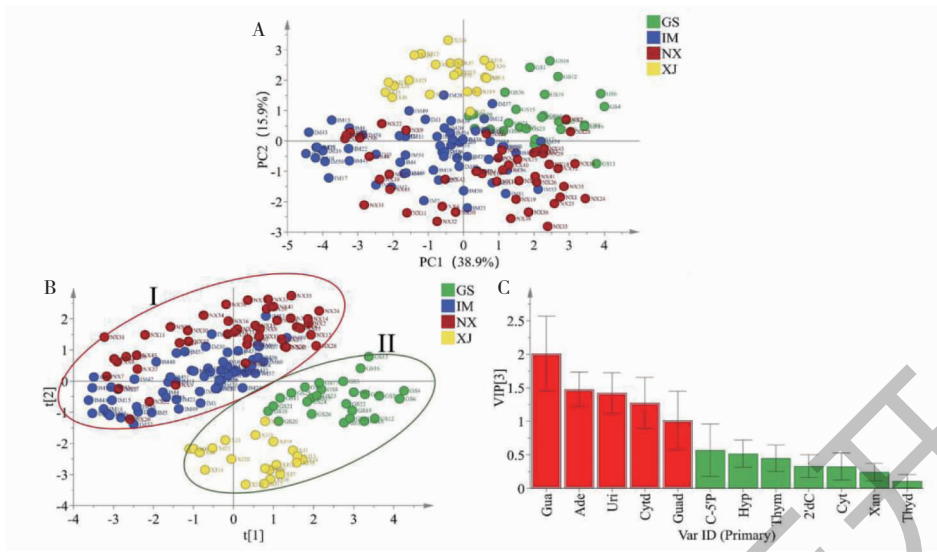


图3 不同产地甘草中核苷、碱基类成分 PCA 和 PLS-DA 分析

Fig. 3 PCA and PLS-DA analysis of nucleoside and nucleobase in licorice from different regions

注:A:PCA 得分图;B:PLS-DA 得分图;C:VIP 图。Note:A:PCA score plot;B:PLS-DA score plot;C:VIP plot.

PLS-DA 分别分析组 I 和组 II 中甘草样本,结果见图 4。PLS-DA 分析甘肃和新疆样本,判别模型显示  $R^2Y$  和  $Q^2$  分别为 0.948 和 0.939,接近于 1,表明模型准确率高,得分图显示(见图 4A),二者可以完全区分。双坐标(Biplot)图(见图 4B)显示,Ade、C-5' P、Xan、Gua 和 Cyt 与新疆样本的相关性较高,而 Thyd、Thym、Hyp、2'-dC、Guad、Cyt d 和 Uri 则与甘肃样本的相关性较高。进一步采用 VIP 图分析二者主

要的差异成分显示(见图 4C),Uri、Cyt d、Guad 和 Ade 的 VIP 值 >1,为主要差异成分。宁夏和内蒙古样本的 PLS-DA 分析结果显示,判别模型的  $R^2Y$  和  $Q^2$  分别为 0.565 和 0.454,  $Q^2 < 0.5$ ,模型相对较差。同时得分图显示(见图 4D),基于核苷和碱基类成分,PLS-DA 并不能完全区分宁夏和内蒙古样本,表明两个产地的核苷、碱基类成分含量一致度较高,样本较为相似。

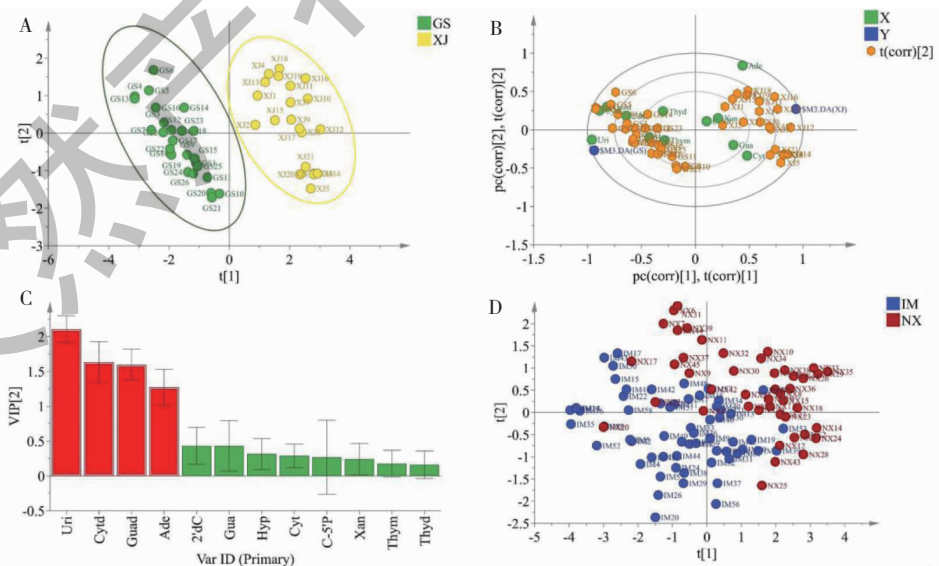


图4 不同组内甘草中核苷、碱基类成分 PLS-DA 分析

Fig. 4 PLS-DA analysis of nucleoside and nucleobase in licorice from the same group

注:A:GS 和 XJ 得分图;B:GS 和 XJ 的 Biplot 图;C:GS 和 XJ 的 VIP 图;D:NX 和 IM 得分图。Note:A:Score plot of Gansu and Xinjiang;B:Biplot of Gansu and Xinjiang;C:VIP plot of Gansu and Xinjiang;D:Score plot of NX and IM.

### 3 讨论与结论

中药材质量是保障临床用药安全和有效的基础,除遗传因素外,环境和人为等因素均可引起质量差异。道地药材形成逆境效应理论<sup>[13]</sup>的提出表明了环境胁迫对药材质量的影响。药材产地不同,其所受的环境因素不同,进而影响其质量,如已有研究表明,不同产地半边莲<sup>[14]</sup>、陈皮<sup>[15]</sup>、白芍<sup>[16]</sup>等药材质量存在差异。课题组前期研究结果表明,不同产地甘草中黄酮、三萜类等次生代谢产物存在差异<sup>[7]</sup>。然而,目前对不同产地药材的质量差异的研究多侧重于次生代谢物,对于其初生代谢产物,如氨基酸、核苷、碱基等成分的研究报道较少。本研究基于甘草中初生代谢物核苷、碱基类研究不同产地甘草质量差异,研究结果显示,不同产地甘草中核苷、碱基类成分含量为 31.84 ~ 37.83 mg/100 g,与枸杞子<sup>[17]</sup>中的含量相近,低于菊花中核苷、碱基的总含量(61.13 ~ 555.45 mg/100 g)<sup>[18]</sup>,但高于茯苓中核苷、碱基类成分的总含量(6.23 ~ 10.28 mg/100 g)<sup>[19]</sup>,由此可见,甘草中核苷、碱基类成分含量在药食同源中药材中处于中等水平。基于四个产地样本的 PLS-DA 判别结果显示,宁夏和内蒙古样本聚为一类,甘肃和新疆样本聚为另外一类,分析其可能原因,甘草产地经历了从甘肃等地到宁夏、内蒙古等地的变迁<sup>[20]</sup>,且从地理位置判断,甘草在甘肃和新疆的主产区的地理位置较为接近,而内蒙古和宁夏地理位置较为接近,地理位置相近的产区环境因子、生产加工等均较为相似,进而促进了药材质量特征的一致性。进一步的 PLS-DA 判别分析结果显示,甘肃和新疆样本可以区分,其可能原因是二者的主产区虽都属于大陆性气候,但在地形地貌、无霜期等方面依然存在差异,进而导致了药材中化学成分的积累差异。不同产地间主要的差异成分为 Gua、Ade、Uri、CytD 和 Guad,其中 Gua 可以通过控制基因转录作为一种连接生长和细胞能量状态的因子<sup>[21]</sup>;Ade 在免疫和炎症反应中发挥着重要作用<sup>[22]</sup>;Uri 和 Guad 作为中枢神经系统的调节分子,可以调节大脑中的不同生理和病理过程<sup>[23]</sup>;由此可知,以上差异性成分具有一定的生理、药理活性,其成分含量差异可能导致活性差异,进而影响其高效、合理利用。

本研究采用 UPLC-TQ/MS 测定了不同产地甘草中 12 种核苷、碱基类成分含量。研究结果显示,不同产地甘草中核苷、碱基类总含量存在显著差异( $P < 0.05$ ),且基于测定的核苷、碱基含量,采用

PLS-DA 判别分析可以将甘草样本进行产地划分,其中宁夏和内蒙古产的甘草中核苷、碱基类成分最为相似,各产地间主要的差异成分为 Gua、Ade、Uri、CytD 和 Guad。研究结果为揭示不同产地甘草质量存在差异提供了理论支持,为其合理开发利用奠定了基础。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 88-89.
- 2 Li X, Sun R, Liu U. Natural products in licorice for the therapy of liver diseases: progress and future opportunities [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 144: 210-226.
- 3 Shang Z, Liu C, Qiao X, et al. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine licorice (Gan-Cao): an update review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 299: 115686.
- 4 Liu G, Wu Yan, Liu YC, et al. Chemical constituents in *Glycyrrhiza uralensis*: a review [J]. *Mod Chin Med (中国现代中药)*, 2021, 23: 2006-2016.
- 5 Wang H, Song W, Tao W, et al. Identification wild and cultivated licorice by multidimensional analysis [J]. *Food Chem*, 2021, 339: 128111.
- 6 Di TY, Gao XJ, Zhang X, et al. Comparative identification studies on wild and cultivated *Glycyrrhiza uralensis* produced Ningxia based on index components and near-infrared spectroscopy [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2017, 42: 536-541.
- 7 Lu Y, Yao G, Wang X, et al. Chemometric discrimination of the geographical origin of licorice in China by untargeted metabolomics [J]. *Food Chem*, 2022, 380: 132235.
- 8 Girke C, Daumann M, Niopek-Witz S, Möhlmann T. Nucleobase and nucleoside transport and integration into plant metabolism [J]. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 443.
- 9 Witte CP, Herde M. Nucleotide metabolism in plants [J]. *Plant Physiology*, 2020, 182: 63-78.
- 10 To EE. Cell and tissue specific metabolism of nucleoside and nucleotide drugs: case studies and implications for precision medicine [J]. *Drug Metab Dispos*, 2023, 51: 360-368.
- 11 Straube H, Witte CT, Herde M. Analysis of nucleosides and nucleotides in plant: an update on sample preparation and LC-MS techniques [J]. *Cells*, 2021, 10: 689.
- 12 Wang H, Duan J, Guo S, et al. Development and validation of a hydrophilic interaction ultra-high-performance liquid chromatography with triple quadrupole MS/MS for the absolute

- and relative quantification of amino acids in *Sophora alopecuroides* L[J]. J Sep Sci, 2013, 36:2244-2252.
- 13 Huang LQ, Guo LP. Secondary metabolites accumulating and geoherts formation under environmental stress [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007, 32:277-280.
  - 14 Li ZY, Liu XX, Feng YW, et al. Study on quality evaluation of *Lobelia chinensis* Lour. from different habitats based on HPLC fingerprint and content determination [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2023, 35:1-12.
  - 15 Xiao JC, Yan BB, Wan XF, et al. Study on quality evaluation of *Citrus reticulata* from different origins by fingerprint and UPLC-MS/MS flavonoid content determination [J]. Chin Tradit Herbal Drugs(中草药), 2023, 54:3302-3311.
  - 16 Li QH, Zhang XW, Yan GL, et al. Quality evaluation of *Paoniae Radix Alba* from different habitats based on UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> combined with multivariate statistical method [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2023, 54:2243-2253.
  - 17 Lu YY, Guo S, Zhang F, et al. Nutritional components characterization of Goji berries from different regions in China [J]. J Pharmaceut Biomed, 2021, 195:113859.
  - 18 Chang XW, Zhang ZY, Yan H, et al. Discovery of quality markers of nucleobases, nucleosides, nucleotides and amino acids for *Chrysanthemi Flos* from different geographical origins using UPLC-MS/MS combined with multivariate statistical analysis [J]. Front Chem, 2021, 9:689254.
  - 19 Zhao QL, Bian XK, Shan CX, et al. Quantitative analysis of nutrients for nucleosides, nucleobases, and amino acids hidden behind five distinct regions-derived *Poria cocos* using ultra-performance liquid chromatography coupled with triple-quadrupole linear ion-trap tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2022, 45:4039-4051.
  - 20 Gao XJ, Zhao D, Zhao JJ, et al. Herbal textural research on *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23:193-198.
  - 21 Hesketh A, Oliver SG. High-energy guanine nucleotides as a signal capable of linking growth to cellular energy status via the control of gene transcription [J]. Curr Genet, 2019, 65:893-897.
  - 22 Fliegert R, Heeren J, Koch-Nolte F, et al. Adenine nucleotides as paracrine mediators and intracellular second messengers in immunity and inflammation [J]. Biochem Soc Trans, 2019, 47:329-337.
  - 23 Kovacs Z, Kekesi KA, Juhasz G, et al. Non-adenosine nucleoside inosine, guanosine and uridine as promising antiepileptic drugs: a summary of current literature [J]. Mini-Rev Med Chem, 2014, 14:1033-1042.
- 
- (上接第 101 页)
- 19 Yang JY, Shang LC, Zhang C. Extraction of polysaccharides and proteins from selenium-enriched *Ganoderma lucidum* mycelium and their *in vitro* antioxidant and antitumor [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2023, 35:453-459.
  - 20 Yao MX, Qian XJ, Qin HY. Effects of *Laminaria japonica* polysaccharides on the survival of non-small-cell lung cancer A549 cells [J]. Int J Polym Sci, 2019, 2019:1-9.
  - 21 Zubair M, Ekholm A, Nybom H, et al. Effects of *Plantago major* L. leaf extracts on oral epithelial cells in a scratch assay [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 141:825-830.
  - 22 Guo XY, Yu C, Liu Y, et al. Optimization of preparation process of *Polygonatum cyrtonea* Hua polysaccharide buccal tablets [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2023, 44:97-105.
  - 23 Li LH, Liu MX, Hu C, et al. Study on extraction of polysaccharides from ginger by ultrasonic assisted alcohol and alkali extraction [J]. Mod Food(现代食品), 2020, 26:163-165.
  - 24 Hu XQ, Wu YX, Li CJ, et al. Detection of main components and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides in cherry nuts [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:600-606.
  - 25 Feng SZ, Lu YF, Liu NY, et al. Effect of monosaccharide composition on antioxidant activity of algal polysaccharides [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:116-121.