

一测多评法定量分析半夏及其混伪品中的4种核苷类成分

王翠翠^{1,2}, 毕启瑞², 张建青², 杨琳², 姚帅², 果德安^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 中国科学院上海药物研究所, 中药标准化技术国家工程研究中心, 上海 201203

摘要:目的 建立一测多评法定量分析半夏 *Pinellia ternate* 及其混伪品天南星 *Arisaema erubescens*、水半夏 *Typhonium flagelliforme* 和虎掌南星 *Pinellia pedatisecta* 中尿苷、腺嘌呤、鸟苷及腺苷的含量方法。方法 利用高效液相色谱法, 采用 Shim-pack Scepter C₁₈-120 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 10% 乙腈-水, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 260 nm; 柱温 20 °C。以腺苷为内标, 建立尿苷、腺嘌呤和鸟苷的相对校正因子, 同时采用外标法和一测多评法定量多批次药材中 4 种成分的含量, 验证一测多评法的准确性和可行性。结果 尿苷、腺嘌呤、鸟苷及腺苷在各自线性范围内线性关系良好 ($r > 0.999 9$), 平均加样回收率 95.40%~104.02%, 一测多评法和外标法测得的含量无显著差异 (RSD < 3%), 不同产地的半夏中 4 种核苷含量显示有明显差异。除天南星外, 基于核苷的含量测定结果结合化学计量分析可以很好地区分半夏、水半夏和虎掌南星。结论 该方法简便准确度高, 可为半夏的质量控制和评价提供参考。

关键词: 一测多评; 半夏; 天南星; 水半夏; 虎杖南星; 混伪品; 核苷; 化学计量分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)19-6180-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.19.024

Quantitative analysis of four nucleosides in *Pinellia Rhizoma* and its adulterants by the quantitative analysis of multi-components by a single marker

WANG Cui-cui^{1,2}, BI Qi-ru², ZHANG Jian-qing², YANG Lin², YAO Shuai², GUO De-an^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. National Engineering Research Center of TCM Standardization Technology, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of uridine, adenine, guanosine and adenosine in *Pinellia ternate* and its adulterants, including *Arisaema erubescens*, tubers of *Typhonium flagelliforme* and *Pinellia pedatisecta* by quantitative analysis of multi-components by a single marker (QAMS). **Methods** The nucleosides were analyzed in Shim-pack Scepter C₁₈-120 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) by high performance liquid chromatography (HPLC); The gradient elution was carried out with the mobile phase composed of 10% acetonitrile-water at the flow rate of 1 mL/min and the detection wavelength of 260 nm, column temperature at 20 °C. Adenosine was used as the internal reference substances to establish the conversion factors of uridine, adenine and guanosine. At the same time, the contents of multiple batches of medicinal materials were determined by external standard method and QAMS to verify the accuracy and feasibility of QAMS. **Results** The results showed that uridine, adenine, guanosine and adenosine had good linear relationship in the ranges of the tested concentrations ($r > 0.999 9$), and the average recoveries were 95.40%–104.02%. There was no significant difference in the contents of uridine, adenine, guanosine and adenosine measured by QAMS and external standard method (RSD < 3%). The contents of four kinds of nucleosides in *Pinelliae Rhizoma* from different habitats showed significant variations. Except for *Arisaematis Rhizoma*, *Pinelliae Rhizoma*, tubers of *T. flagelliforme* and *P. pedatisecta* could be distinguished by the content of nucleoside combined with chemometrics. **Conclusion** The method has high accuracy and simple, which can provide a reference for the quality evaluation and control of *Pinelliae Rhizoma*.

Key words: single standard to determine multi-components; *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.; *Arisaema erubescens* (Wall.) Schott; *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume.; *Pinellia pedatisecta* Schott; adulterants; nucleosides; chemometrics

收稿日期: 2022-03-09

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (82130111); 国家自然科学基金青年项目 (82003940)

作者简介: 王翠翠 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准研究。Tel: 18337682088 E-mail: 20190392@njucm.edu.cn

*通信作者: 果德安, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药化学与现代质量标准研究。Tel: (021)50271516 E-mail: dagueo@simm.ac.cn

半夏是天南星科植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.的干燥块茎,有毒,具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结等功效^[1]。有报道表明核苷类成分为半夏降逆止呕的主要药效物质^[2],核苷类成分药理作用广泛,不仅是许多物质的代谢前体,而且在细胞生理学中也发挥多重作用^[3]。现阶段半夏的检测与定量多集中于生物碱、有机酸和核苷类成分,关于半夏混伪品的含量测定报道较少,且上述含量测定多采用外标法^[2,4-5],鲜有一测多评法用于半夏中核苷类成分的测定。一测多评法(quantitative analysis of multi-components by a single marker, QAMS)在被《中国药典》2010年版收录,并在美国药典和欧盟药典的中草药标准中得到广泛应用,大量文献报道了一测多评法的验证及其在中药分析和标准中的应用^[6-9]。本实验采用高效液相色谱法,建立了一测多评法测定半夏、天南星、水半夏和虎掌南星中尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷4种核苷类成分的含量,为半夏的质量控制和评价提供了参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity II 高效液相色谱仪(Agilent G7111B 四元泵, Agilent G7129A 进样器, Agilent G7115A DAD 检测器); P180H 型超声波水浴锅(德

国埃尔玛公司); A-14 型离心机(赛多利斯北京有限公司); Secura 125-1CN 型电子天平(赛多利斯北京有限公司); Quintix 224-1CN 型电子天平(赛多利斯北京有限公司); Milli-Q Integral 型超纯水系统(Millipore, Bedford 公司, 美国)。

1.2 试剂与药材

对照品尿苷(批号 8041, 质量分数 97.2%)、腺嘌呤(批号 5815, 质量分数 99.6%)、鸟苷(批号 3877, 质量分数 ≥98.0%)、腺苷(批号 5747, 质量分数 99.3%)均购于上海诗丹德标准技术服务有限公司,半夏对照药材(批号 121272-201806)购于中国食品药品检定研究院。乙腈(质谱级, Honeywell, 批号 UCCAIH), 超纯水。

11批半夏、5批水半夏、5批虎掌南星、3批天南星均来源于市售及饮片生产厂家(表 1),并经上海药物研究所中药标准化技术国家工程研究中心姚帅高级实验师鉴定为天南星科半夏属植物半夏 *P. ternate* (Thunb.) Breit.的干燥块茎,天南星为天南星科植物天南星 *Arisaema erubescens* (Wall.) Schott 的干燥块茎,水半夏为天南星科犁头尖属植物鞭檐犁头尖 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume.的干燥块茎,虎掌南星为天南星科植物虎掌 *Pinellia pedatisecta* Schott 的干燥块茎。

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

样品名称	样品编号	产地	收集时间	生产厂家
半夏	湖北	湖北	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	河南 1	河南	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	河南 2	河南	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	河南 3	河南	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	河南 4	河南	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	山东 1	山东	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	山东 2	山东	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	山东 3	山东	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	山东 4	山东	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	山东 5	山东	2020-07	伊春五加参药业有限责任公司
半夏	河北	河北	2021-11	市售
虎掌南星	虎掌 1	安徽	2021-11	市售
虎掌南星	虎掌 2	安徽	2021-11	市售
虎掌南星	虎掌 3	河北	2021-11	市售
虎掌南星	虎掌 4	贵州	2021-11	市售
虎掌南星	虎掌 5	云南	2021-11	市售
水半夏	水半夏 1	四川	2021-11	市售
水半夏	水半夏 2	甘肃	2021-11	市售
水半夏	水半夏 3	甘肃	2021-11	市售
水半夏	水半夏 4	四川	2021-12	市售
水半夏	水半夏 5	江西	2021-12	市售
天南星	天南星 1	河北	2021-11	市售
天南星	天南星 2	河北	2021-11	市售
天南星	天南星 3	湖北	2021-12	市售

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Shim-pack Scepter C₁₈-120 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水(A)-10%乙腈(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 83%~80% A, 10~20 min, 80%~40% A; 20~30 min, 40%~0 A; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 260 nm; 柱温 20 ℃; 进样量 20 μL。混合对照品和半夏样品的高效液相色谱图 (HPLC) 如图 1 所示。

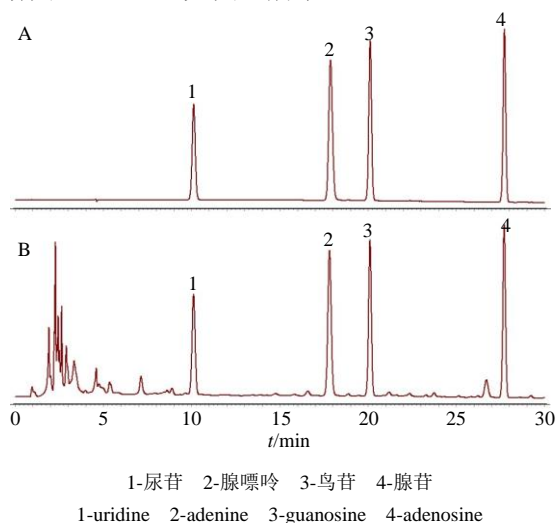


图 1 混合对照品 (A) 和半夏样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC profiles of mixed reference substances (A) and *Pinelliae Rhizoma* sample (B)

2.2 混合对照品溶液的制备

取尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷对照品适量, 精密称定, 加水制成含尿苷 11.01 μg/mL、腺嘌呤 7.86 μg/mL、鸟苷 17.86 μg/mL、腺苷 11.78 μg/mL 的混合对照品储备液, 4 ℃冰箱保存备用。

2.3 供试品溶液的制备

取半夏粉末 (过 4 号筛) 约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 25 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 1130 W、频率 37 kHz) 30 min, 冷却至室温, 再称定质量, 用纯水补足缺失的质量, 摇匀后 12 000 r/min 离心 10 min, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 分别精密吸取尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷对照品溶液及混合对照品溶液、半夏对照药材溶液和供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定。色谱峰的先后顺序为尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷, 单一对照品溶液、混合对照品溶液、半夏

对照药材溶液和供试品溶液的保留时间和最大紫外吸收波长一致, 表明方法专属性良好。

2.4.2 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品储备液 0.2、0.4、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置于 5 mL 量瓶中, 加水定容至刻度, 混匀。分别精密吸取上述系列溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进样分析。以 4 种对照品的质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 计算回归方程及相关系数 (r), 4 个成分在相应的质量浓度范围内线性关系良好, 结果见表 2。

表 2 4 个分析物的回归方程、线性范围、相关系数

Table 2 Regression equation, linear range and correlation coefficient of four compositions

成分	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
尿苷	$Y=46.385 X+0.407 8$	0.999 92	0.44~11.01
腺嘌呤	$Y=109.71 X+0.170 6$	0.999 92	0.31~7.86
鸟苷	$Y=43.288 X+1.303 8$	0.999 92	0.71~17.86
腺苷	$Y=63.329 X+1.002 9$	0.999 92	0.47~11.78

2.4.3 仪器精密度试验 精密吸取“2.2”项下对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 5 次, 测得尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷峰面积 RSD 分别为 0.11%、0.08%、0.04%、0.10%。

2.4.4 中间精密度试验 在不同日期、由不同人员分别取同一批样品 (河南 1) 3 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 使用不同的 3 台高效液相色谱仪测定含量, 3 次实验测得尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷的含量的 RSD 分别为 0.85%、1.53%、0.71%、0.66%。

2.4.5 重复性试验 取同一批样品 (河南 1) 6 份, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 测得尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷含量的 RSD 分别为 0.81%、0.54%、0.50%、0.52%。

2.4.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液和对照品溶液适量, 分别于 0、2、4、6、8、10、12、18、24 h 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 测得供试品溶液中尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷的峰面积 RSD 分别为 2.52%、2.95%、1.67%、1.37%, 保留时间 RSD 分别为 0.42%、0.30%、0.32%、0.30%; 对照品溶液中尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷的峰面积 RSD 分别为 0.15%、0.20%、0.17%、

0.24%，保留时间 RSD 分别为 0.44%、0.24%、0.23%、0.08%。

2.4.7 加样回收率试验 精密称取已测定的半夏药材粉末9份，每份0.5 g，分别加入低、中、高浓度对照品溶液（低、中、高浓度对照品加入量与所取供试品中待测成分含量之比分别为0.5：1、1：1、1.5：1），制备低、中、高3种浓度的供试品溶液，每个浓度平行制备3份样品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，计算回收率，尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷的加样回收率分别为 98.50%、104.02%、101.38%、95.40%，RSD 值分别为 0.79%、1.39%、1.71%、3.29%。

2.4.8 耐用性考察 考察了不同色谱柱（Shim-pack GIST C₁₈-AQ、Shim-pack Scepter C₁₈-120）、流动相初始比例（16%、17%、18%）、体积流量（1.1、0.9、1.0 mL/min）和检测波长（263、257、260 nm）对该方法的影响，测得4种成分的含量的RSD为0.02%~3.18%，表明方法耐用性良好。

2.5 相对校正因子计算

本实验采用斜率法^[7]，以腺苷为内参物。计算

公式为 $f_{k/s} = a_k/a_s$ ，式中 f 为相对校正因子， a_s 为内参成分斜率， a_k 为待测成分斜率。按“2.4.2”项下方法制备3条标准曲线，4种核苷的3条标准曲线的 r 均大于 0.999 8，再计算斜率得到相对校正因子，结果见表3。

表3 半夏中尿苷、腺嘌呤、鸟苷、腺苷的相对校正因子
Table 3 Conversion factors of uridine, adenine, guanosine, and adenosine in Pinelliae Rhizoma

标准曲线	$f_{尿苷/腺苷}$	$f_{腺嘌呤/腺苷}$	$f_{鸟苷/腺苷}$
标曲 1	1.372	0.579	1.461
标曲 2	1.365	0.577	1.463
标曲 3	1.395	0.566	1.463
均值	1.380	0.570	1.460
RSD/%	1.130	1.280	0.080

2.6 相对校正因子重复性考察

考察了3台高效液相色谱仪和2种不同色谱柱对校正因子的影响，结果显示尿苷、腺嘌呤、鸟苷对腺苷的相对校正因子和相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，表明使用不同仪器及色谱柱均具有良好的重现性，结果见表4。

表4 不同色谱仪和色谱柱的相对校正因子和相对保留时间

Table 4 Conversion factors and relative retention times at different instruments and different columns

仪器/色谱柱	$f_{尿苷/腺苷}$	$f_{腺嘌呤/腺苷}$	$f_{鸟苷/腺苷}$	$tR_{尿苷/腺苷}$	$tR_{腺嘌呤/腺苷}$	$tR_{鸟苷/腺苷}$
Agilent 1260 Infinity II	1.372	0.579	1.461	0.373	0.657	0.732
Agilent 1260 Infinity	1.379	0.583	1.463	0.372	0.658	0.732
Agilent 1260 Infinity II	1.384	0.584	1.452	0.365	0.651	0.725
RSD/%	0.850	0.150	0.850	0.160	0.250	0.270
Shim-pack GIST C ₁₈ -AQ	1.373	0.578	1.476	0.378	0.682	0.728
Shim-pack Scepter C ₁₈ -120	1.369	0.575	1.460	0.378	0.682	0.728
RSD/%	0.200	0.310	0.740	0.000	0.000	0.000

2.7 一测多评法与外标法多批次样品测定结果比较

取不同批次半夏、天南星、水半夏和虎掌南星，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，每种样品平行制备2份，计算平均含量。按“2.1”项下色谱条件分别采用外标法、一测多评法测定含量，见表5。结果2种方法测定结果无显著差异，表明一测多评法具有较高可信度。

2.8 化学计量学分析

本实验用半夏及其混伪品的多批次样品建立化学计量分析的共有模式，4个核苷类成分作为化学计量学分析的变量，统计汇总24批药材中4种核苷的含量，使用SIMCA 14.0和Origin 2022软件进行主成分分析和分层聚类热图分析。

结果如图2所示，结果表明，水半夏、虎掌南星和半夏、天南星可以较好地地区分，半夏与天南星的区分较差，其中半夏的聚类可根据产地大致分为2类，左上角5批半夏的产地均为中部地区，右下角6批半夏的产地均为东部地区。水半夏含有的4种核苷总量较少，为0.081~0.176 mg/g，虎掌南星的总质量分数为0.507~0.905 mg/g，在4种药材中总核苷质量分数最多，这与夏成凯等^[10]的研究结果一致，半夏和天南星的核苷总量分别为0.428~0.561 mg/g和0.377~0.493 mg/g。分层聚类热图可将水半夏、虎掌南星、中部地区半夏、天南星和东部地区半夏很好地聚成5类，与主成分分析结果一致，其中虎掌南星的腺苷含量较少，水半夏整体核

表5 半夏、天南星、水半夏和虎掌南星中4种成分的含量测定结果 (n=2)

Table 5 Contents of four components in *Pinelliae Rhizoma*, *Arisaematis Rhizoma*, tubers of *T. flagelliforme* and *P. pedatisecta* by external standard methods and QAMS (n=2)

样品名称	尿苷/(mg·g ⁻¹)			腺嘌呤/(mg·g ⁻¹)			鸟苷/(mg·g ⁻¹)			腺苷/(mg·g ⁻¹)
	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%	外标法	QAMS	RSD/%	外标法
河南 1	0.119	0.120	0.79	0.081	0.079	2.12	0.180	0.176	1.48	0.121
河南 2	0.078	0.079	0.79	0.072	0.070	2.12	0.168	0.165	1.48	0.123
河南 3	0.088	0.089	0.79	0.085	0.083	2.12	0.183	0.180	1.48	0.116
河南 4	0.079	0.080	0.79	0.068	0.066	2.12	0.156	0.153	1.48	0.129
湖北	0.086	0.087	0.79	0.082	0.080	2.12	0.166	0.162	1.48	0.109
河北	0.139	0.141	0.79	0.111	0.108	2.12	0.188	0.184	1.48	0.061
山东 1	0.162	0.164	0.79	0.106	0.103	2.12	0.193	0.189	1.48	0.051
山东 2	0.186	0.188	0.79	0.114	0.110	2.12	0.211	0.207	1.48	0.056
山东 3	0.167	0.169	0.79	0.102	0.099	2.12	0.199	0.195	1.48	0.068
山东 4	0.165	0.167	0.79	0.099	0.096	2.12	0.192	0.188	1.48	0.062
山东 5	0.178	0.180	0.79	0.101	0.098	2.12	0.179	0.176	1.48	0.063
天南星 1	0.108	0.109	0.79	0.094	0.091	2.12	0.130	0.128	1.48	0.049
天南星 2	0.170	0.172	0.79	0.106	0.103	2.12	0.156	0.153	1.48	0.065
天南星 3	0.107	0.108	0.79	0.093	0.091	2.12	0.149	0.146	1.48	0.076
虎掌 1	0.265	0.268	0.79	0.119	0.116	2.12	0.184	0.181	1.48	0.027
虎掌 2	0.282	0.286	0.79	0.121	0.117	2.12	0.175	0.172	1.48	0.024
虎掌 3	0.452	0.457	0.79	0.118	0.115	2.12	0.158	0.155	1.48	0.026
虎掌 4	0.508	0.514	0.79	0.166	0.161	2.12	0.221	0.217	1.48	0.013
虎掌 5	0.317	0.320	0.79	0.091	0.089	2.12	0.093	0.091	1.48	0.008
水半夏 1	0.054	0.054	0.79	0.041	0.040	2.12	0.021	0.020	1.48	0.033
水半夏 2	0.047	0.048	0.79	0.027	0.026	2.12	0.000	0.000	0.00	0.008
水半夏 3	0.058	0.058	0.79	0.059	0.057	2.12	0.029	0.028	1.48	0.033
水半夏 4	0.028	0.029	0.79	0.036	0.035	2.12	0.012	0.012	1.48	0.006
水半夏 5	0.034	0.034	0.79	0.032	0.032	2.12	0.010	0.010	1.48	0.028

量较少,中部半夏腺苷和鸟苷含量较高,天南星和东部半夏鸟苷含量较高。

3 讨论

本实验通过单因素实验考察了提取溶剂(水、20%甲醇、50%甲醇、甲醇)、提取方式(超声、回流)、超声时间(15、30、45、60 min)、提取体积(10、25、50 mL)和提取次数(1、2次),综合考虑提取效率和操作的简便性,最终选择 25 mL 水超声 30 min。

考察了不同色谱柱(Waters Atlantis T3、Kromasil Eternity XT-5-C₁₈、Shim-pack GIST C₁₈-AQ、Shim-pack Scepter C₁₈-120)和流动相(乙腈-水、甲醇-水、10%乙腈-水、10%乙腈-0.1%甲酸水、10%乙腈-0.1%磷酸水),综合考虑理论塔

板数、分离度和拖尾因子,最终选择 Shim-pack Scepter C₁₈-120 色谱柱及 10%乙腈-水。乙腈的峰形优于甲醇,同时考虑到方法在其他仪器上的重现性,故选择 10%乙腈作为流动相。因尿苷和腺苷的最大吸收波长为 260 nm,鸟苷和腺嘌呤的最大吸收波长分别为 252 nm 和 262 nm,故选择 260 nm 的检测波长。

在建立腺苷与其余 3 种成分间的相对校正因子的评价中,本实验考察了不同色谱柱、不同仪器,结果表明一测多评法与外标法测得的含量值之间没有显著性差异,表明建立的校正因子具有较好的可信度。根据内标峰的保留时间、相对保留时间和最大紫外吸收波长,能够准确判断目标峰的位置,结果表明,利用上述方法进行峰的定位可行。

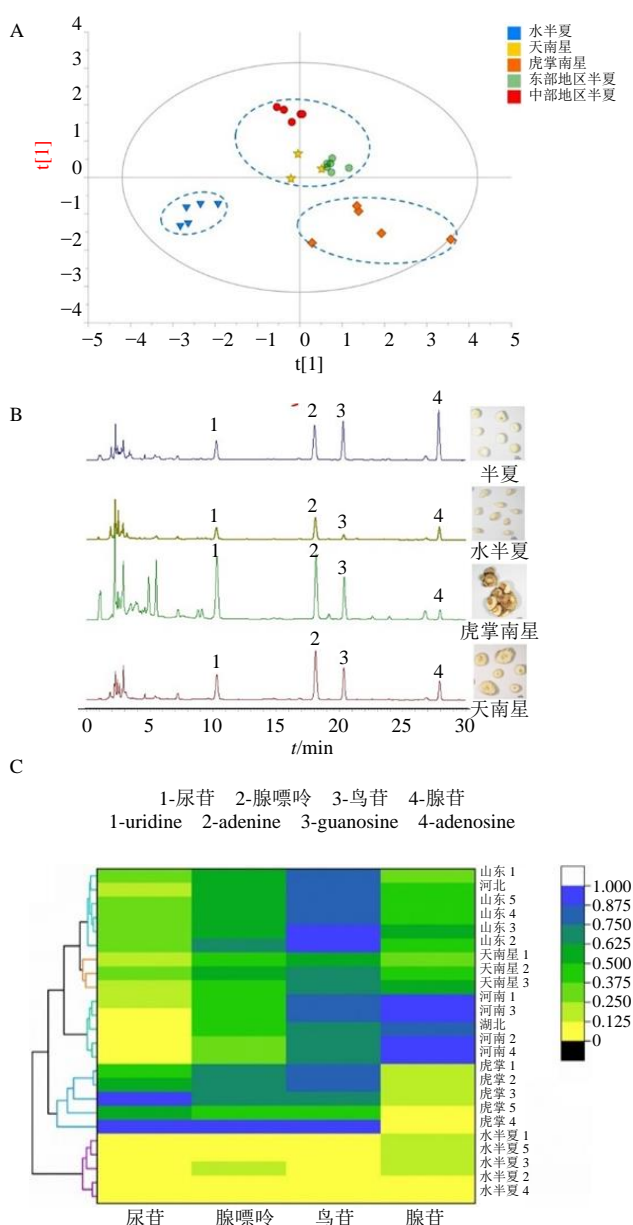


图 2 半夏及其混伪品的 4 种核苷含量主成分分析图 (A)、HPLC 图 (B) 和 4 种核苷含量分层聚类热图 (C)
 Fig. 2 Principal component analysis of four nucleosides content (A), HPLC profiles (B) and heat map with dendrogram of four nucleosides content (C) of *Pinellia Rhizoma* and its adulterants

主成分分析结果表明, 水半夏聚落较为紧凑, 而半夏、天南星和虎掌南星的聚落较为分散, 整体离散度较大, 这可能与产地不同有关, 不同土壤及气候对药材中核苷的含量影响较大。11 批半夏的尿苷质量分数为 0.079~0.188 mg/g, 腺嘌呤质量分数为 0.066~0.110 mg/g, 鸟苷质量分数为 0.153~0.207 mg/g, 腺苷质量分数为 0.051~0.129

mg/g, 在张勇等^[11]测得的 12 批半夏中相应的 4 种核苷含量范围内, 与王朋展等^[12]测定的 7 批半夏的腺嘌呤、鸟苷和腺苷含量范围一致。3 批天南星的 4 种核苷含量与夏成凯等^[10]测定的 1 批天南星相比, 后者尿苷含量低于本实验测得范围, 腺苷含量在本实验范围内, 没有检测到鸟苷, 王朋展等^[12]测定的 1 批天南星没有检测到腺苷, 测得的腺嘌呤、鸟苷和尿苷的含量均高于本实验所测; 5 批水半夏测得的 4 种核苷含量均低于王朋展等^[12]和夏成凯等^[10]测定的 1 批水半夏; 王朋展等^[12]测定了 3 批虎掌南星, 夏成凯等^[10]测定了 1 批虎掌, 尿苷、腺嘌呤和鸟苷的含量均在本实验测定的 5 批虎掌南星的范围内, 但腺苷含量均高于本实验, 而甄子萱等^[13]测得的 4 批掌叶半夏的腺苷含量在本实验范围内。导致上述差异的原因可能为产地不同, 同时样品批次过少, 测定结果有待多批次验证。

随着市场需求的增加、野生资源的减少及栽培技术的落后^[14-15], 市场流通中混有大批半夏同科近缘品种^[10, 12]。半夏及其 3 个混伪品天南星、水半夏和虎掌南星的传统鉴定方法主要包括性状鉴别、显微鉴别、薄层色谱、指纹图谱、红外光谱和 DNA 条形码^[16-19], 本实验通过主成分分析和分层聚类热图分析, 依据 4 种核苷含量可以很好地区分半夏、水半夏和虎掌南星, 但不能鉴别天南星和半夏。同时半夏产地较广, 不同产地对核苷含量影响较大, 样本量越大化学计量分析结果可信度越高, 本研究的实验结果有待进一步广泛收集样本进行验证。综上, 本实验建立的一测多评法在测定半夏中的尿苷、腺嘌呤、鸟苷和腺苷的含量时具有较高的重现性、稳定性和可靠度, 并能应用到半夏混伪品水半夏、天南星和虎掌南星的区分, 为半夏的质量控制提供参考。

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: 119.
 [2] 郝鹏飞, 吴琼, 张超云, 等. 超高效液相-质谱联用测定不同产地半夏中 10 种成分含量及质控指标筛选 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(1): 46-51.
 [3] Zhang J, Visser F, King K M, et al. The role of nucleoside transporters in cancer chemotherapy with nucleoside drugs [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(1): 85-110.
 [4] 文琼芳, 张严芳, 张景勃, 等. 高效液相色谱法同时测定半夏中的六种有机酸、三种核苷和麻黄碱 [J]. 中国

- 药学, 2016, 25(12): 906-913.
- [5] 李希凡, 韩红梅, 王志强, 等. 5 产区不同产地半夏主要化学组分含量测定及整体质量评价 [J]. 天津中医药, 2020, 37(3): 332-337.
- [6] Hou J J, Zhang J Q, Yao C L, *et al.* Deeper chemical perceptions for better traditional Chinese medicine standards [J]. *Engineering*, 2019, 5(1): 83-97.
- [7] Wang C Q, Jia X H, Zhu S, *et al.* A systematic study on the influencing parameters and improvement of quantitative analysis of multi-component with single marker method using notoginseng as research subject [J]. *Talanta*, 2015, 134: 587-595.
- [8] 黄远, 董福越, 李楚源, 等. 一测多评法测定板蓝根中 6 种化学成分的含量 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 845-851.
- [9] Zhang Y B, Da J, Zhang J X, *et al.* A feasible, economical, and accurate analytical method for simultaneous determination of six alkaloid markers in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* from different manufacturing sources and processing ways [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(4): 301-309.
- [10] 夏成凯, 杨葛俊, 刘耀武. HPLC 法测定不同产地半夏及其伪品中 4 种核苷 [J]. 中成药, 2020, 42(6): 1532-1536.
- [11] 张勇, 李传峰, 高桂花, 等. 半夏野生品和栽培品中 8 种核苷类成分的含量测定方法建立及差异分析 [J]. 中国药房, 2021, 32(13): 1583-1588.
- [12] 王朋展, 相美容, 李灿, 等. HPLC 法同时测定不同来源半夏及其伪品中 9 种核苷类成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 212-218.
- [13] 甄子萱, 葛淑俊. 不同产地掌叶半夏中 4 种核苷类成分和葫芦巴碱测定 [J]. 中药材, 2017, 40(12): 2820-2823.
- [14] Mao R J, He Z G. *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit: A review of its germplasm resources, genetic diversity and active components [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 263: 113252.
- [15] He Z G, Mao R J, Dong J E, *et al.* Remediation of deterioration in microbial structure in continuous *Pinellia ternata* cropping soil by crop rotation [J]. *Can J Microbiol*, 2019, 65(4): 282-295.
- [16] 朱艳华, 项凤莲, 任悦, 等. 半夏与其混淆品的鉴别及用药安全 [J]. 甘肃医药, 2016, 35(12): 943-945.
- [17] 王珏, 郭钰昕, 姚毅, 等. 基于 HPLC 指纹图谱的半夏及其伪品鉴别研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(2): 267-272.
- [18] Sun F, Chen Y, Wang K Y, *et al.* Identification of genuine and adulterated *Pinellia ternata* by mid-infrared (MIR) and near-infrared (NIR) spectroscopy with partial least squares - discriminant analysis (PLS-DA) [J]. *Anal Lett*, 2020, 53(6): 937-959.
- [19] Moon B C, Kim W J, Ji Y, *et al.* Molecular identification of the traditional herbal medicines, *Arisaematis Rhizoma* and *Pinelliae Tuber*, and common adulterants via universal DNA barcode sequences [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1): 1-14.

[责任编辑 时圣明]