竹沥半夏炮制前后HPLC指纹图谱及4种核苷类成分含量比较Δ

郑琳玉[1,2*]，朱伟豪[1,2]，罗美美[1,2]，梅春梅[1,2]，李伟东[1,2]，许　垒[3]，黄玉宇[4#]（1.南京中医药大学药学院，南京 210023；2.江苏省中药炮制重点实验室，南京　210023；3.苏州聚鑫堂药业有限公司，江苏 常熟　215500；4.南京中医药大学附属苏州市中医医院药学部，江苏 苏州　215009）

中图分类号　R284　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）21-2590-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.21.03

摘　要　目的　比较姜半夏与其竹沥炮制品的高效液相色谱（HPLC）指纹图谱及核苷类成分变化，为竹沥半夏的质量评价提供参考。**方法**　采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》建立10批姜半夏及其炮制品竹沥半夏的HPLC指纹图谱，并对其共有峰进行系统聚类分析（HCA）、主成分分析（PCA）和正交偏最小二乘-判别分析（OPLS-DA）；测定姜半夏与竹沥半夏中次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷共4种核苷类成分的含量。**结果**　10批姜半夏和竹沥半夏与其对应对照指纹图谱R的相似度均在0.851～0.990之间。2种样品共得到10个共有峰，并指认出了4个成分，分别为次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷。HCA、PCA、OPLS-DA结果均显示，姜半夏、竹沥半夏样品分别聚为一类，且OPLS-DA筛选出姜半夏与竹沥半夏4个差异性成分，根据变量重要性投影值排序依次为峰8、峰1、峰6（腺嘌呤）、峰10。含量测定结果显示，竹沥半夏中次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的平均含量较姜半夏分别下降了15.90%、12.00%、26.04%、22.18%，其中次黄嘌呤、腺嘌呤、鸟苷含量差异具有统计学意义（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　本研究建立的指纹图谱及含量测定方法操作简便、重复性好，可用于姜半夏和竹沥半夏的定性、定量分析；竹沥炮制姜半夏后4种核苷类成分的平均含量降低。

关键词　竹沥半夏；姜半夏；指纹图谱；含量测定；核苷类成分；质量控制

Comparison of HPLC fingerprint and contents of four nucleoside components before and after processing of Succus bambusae pinella preparata

ZHENG Linyu[1,2], ZHU Weihao[1,2], LUO Meimei[1,2], MEI Chunmei[1,2], LI Weidong[1,2], XU Lei[3], HUANG Yuyu[4]（1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China; 3. Suzhou Juxintang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Changshu 215500, China. 4. Department of Pharmacy, Suzhou TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Suzhou 215009, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the changes in high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint spectra and nucleoside components between Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine and its processed product Succus bambusae pinella preparata, providing a reference for the quality evaluation of the latter. **METHODS** HPLC fingerprint was established for 10 batches of Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine and its processed product Succus bambusae pinella preparata following the *Similarity Evaluation System of TCM Chromatographic Fingerprints (2012 Edition)*. Hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) were conducted on their common peaks. The contents of four nucleoside components, hypoxanthine, uridine, adenine, and guanosine, in both Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine and Succus bambusae pinella preparata were determined. **RESULTS** The similarity between the fingerprints of the 10 batches of Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine, Succus bambusae pinella preparata, and their corresponding reference fingerprints ranged from 0.851 to 0.990. A total of 10 common peaks were obtained for both samples, and 4 components were identified as hypoxanthine, uridine, adenine, and guanosine. The results of HCA, PCA and OPLS-DA showed that the samples of Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine and Succus bambusae pinella preparata were clustered into separate categories, with OPLS-DA selecting 4 differential components between them, ranked by variable importance projection values as peak 8, peak 1, peak 6 (adenine) and peak 10. The content determination results showed that the average contents of hypoxanthine, uridine, adenine and guanosine in Succus bambusae pinella preparata declined by 15.90%, 12.00%, 26.04% and 22.18% compared to Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine, respectively, with statistically significant differences in the contents of hypoxanthine, adenine and guanosine ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** The established fingerprint and content determination methods are simple to operate and have good repeatability, which are

Δ**基金项目**　2022年中央财政转移支付地方项目

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药制药技术与产品研发。E-mail：1205778367@qq.com

\# **通信作者**　主任中药师，硕士生导师。研究方向：医院药学。E-mail：Yuyuhuang-sz@163.com

suitable for qualitative and quantitative analysis of Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine and Succus bambusae pinella preparata. The average contents of the four nucleoside components decreased after the processing of Succus bambusae pinella preparata.

KEYWORDS Succus bambusae pinella preparata; Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine; fingerprint; content determination; nucleoside components; quality control

半夏为天南星科植物半夏*Pinellia ternate*（Thunb.）Breit.的干燥块茎，味辛、性温，有毒，具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效，临床上多用于治疗湿痰、寒痰、咳喘痰多等症[1]。半夏常用的炮制品有清半夏、法半夏、姜半夏和竹沥半夏，其中竹沥半夏是《江苏省中药饮片炮制规范（2020年版）》的新增品种，属于吴门医派流传的地方特色炮制品；其炮制方法为取净姜半夏加竹沥拌匀，待吸尽，干燥。辅料竹沥是禾本科植物粉绿竹*Phyllostachys glauca* McClure、毛竹*P. edulis*（Carrière）J. Houz.及同属数种植物的鲜杆经加热后自然沥出的液体，具有清热化痰、镇惊利窍的功效，临床上可治疗中风痰迷、痰热咳喘等症[2]。吴门医派多将竹沥半夏用于治疗热痰所致的肺热咳喘、胃热呕吐等与热痰相关的疾病，如宋爱人在胆胃痰热之不寐头晕的治疗方药中加入竹沥半夏[3]，陈莲舫也将竹沥半夏用以治疗痰湿之体合五志之火的不寐等[4]。

姜半夏主要含有核苷类、生物碱类、多糖类、姜辣素类等化合物[5]，其中核苷类成分是其主要的质控指标[6－7]。不同的炮制方法对半夏中核苷类成分的含量具有显著影响[8－10]。但是，关于竹沥半夏炮制前后的化学成分变化研究尚未见报道。目前对于竹沥半夏的质量控制仅限于水分测定、浸出物测定及薄层色谱鉴别等，缺乏对其化学成分的表征[11－12]。因此，有必要借助指纹图谱及指标成分含量测定等分析手段对竹沥半夏炮制前后质量控制指标进行综合研究。本课题组前期根据浸出物及指标成分次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的含量确定了竹沥半夏最佳炮制工艺[13]。本研究在此基础上建立姜半夏和竹沥半夏的指纹图谱，结合多元统计分析对竹沥半夏炮制前后的成分进行定性判别，并通过对次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷4种指标成分的定量分析，探讨竹沥半夏炮制前后核苷类化学成分的变化规律，旨在为竹沥半夏的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有：Waters e2695型高效液相色谱（HPLC）系统（美国Waters公司）、GENE SPEED 1736R型离心机[基因科技（上海）股份有限公司]、DHG-9140A型电热鼓风干燥器（上海精宏实验设备有限公司）、Quintix65-1CN型十万分之一天平（德国Sartorius公司）等。

1.2 主要药品与试剂

次黄嘌呤（批号SZ20220408，纯度≥98%）、尿苷（批号SZ20220102，纯度≥98%）、腺嘌呤（批号SZ20220122，纯度≥98%）、鸟苷（批号SZ20220316，纯度≥98%）的对照品均购自南京世洲生物科技有限公司；色谱级甲醇购自美国Tedia公司；分析级甲醇购自国药集团化学试剂有限公司；水为超纯水，其余试剂均为分析纯。

10批姜半夏饮片（编号J1～J10）购买于不同生产厂家，经南京中医药大学药学院李伟东教授鉴定均为真品；炮制辅料竹沥购自江西当地药材市场。10批姜半夏饮片的具体信息见表1。

表1 姜半夏饮片信息

编号	产品批号	生产厂家	产地
J1	D01-21060101	安徽润芙蓉药业有限公司	甘肃西和
J2	D01-21070101	安徽润芙蓉药业有限公司	甘肃西和
J3	D01-21070102	安徽润芙蓉药业有限公司	甘肃西和
J4	D01-21080102	安徽润芙蓉药业有限公司	甘肃西和
J5	D01-21100102	安徽润芙蓉药业有限公司	甘肃西和
J6	221201	安徽鑫泰药业有限公司	甘肃陇南
J7	221203	安徽鑫泰药业有限公司	甘肃陇南
J8	C5121220261	保和堂（亳州）制药有限公司	湖北荆门
J9	C5121220171	保和堂（亳州）制药有限公司	湖北荆门
J10	221202	保和堂（亳州）制药有限公司	河北安国

2 方法与结果

2.1 竹沥半夏的制备

根据本课题组前期实验中优选的竹沥半夏最佳炮制工艺进行制备，具体方法如下：取姜半夏100 g，加15 g竹沥拌匀1 h，待吸尽，44 ℃干燥至质脆时，取出放冷，即得[13]。所得竹沥半夏炮制品按炮制前饮片编号依次命名为Z1～Z10。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液的制备

分别称取次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷对照品适量，精密称定，置于容量瓶中，加15%甲醇溶解，配制成含次黄嘌呤10.28 μg/mL、尿苷20.00 μg/mL、腺嘌呤30.00 μg/mL、鸟苷24.20 μg/mL的混合对照品溶液，混匀备用。

2.2.2 供试品溶液的制备

取44 ℃干燥过夜的姜半夏和竹沥半夏粉末（过四号筛）各约1 g，精密称定，分别置于50 mL具塞锥形瓶中，精密加入15%甲醇10 mL，称定质量；超声（功率250 W，频率40 kHz）处理60 min，放冷，再次称定质量；用15%甲醇补足减失的质量，然后以12 000 r/min离心10 min，上清液经0.22 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，分别得到姜半夏和竹沥半夏的供试品溶液。

2.3 色谱条件

采用Kromasil 100-5-C_{18}色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm），以水（A）-甲醇（B）为流动相进行梯度洗脱（0～1 min，98%A；1～10 min，98%A→95%A；10～15 min，

95%A→85%A；15～20 min，85%A；20～25 min，85%A→90%A；25～27 min，90%A→98%A；27～30 min，98%A）；流速为1 mL/min；检测波长为260 nm；柱温为30 ℃；进样量为10 μL。

2.4 姜半夏和竹沥半夏指纹图谱的建立及分析

2.4.1 精密度试验

取Z1样品的供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件连续进样测定6次，记录色谱图。以6号峰（腺嘌呤）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.16%～0.28%（n=6）、相对峰面积的RSD为0.18%～0.21%（n=6），表明方法精密度良好。

2.4.2 稳定性试验

取Z1样品的供试品溶液，分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.3”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。以6号峰（腺嘌呤）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.38%～0.65%（n=6）、相对峰面积的RSD为0.49%～1.30%（n=6），表明该供试品溶液在室温放置24 h内稳定性较好。

2.4.3 重复性试验

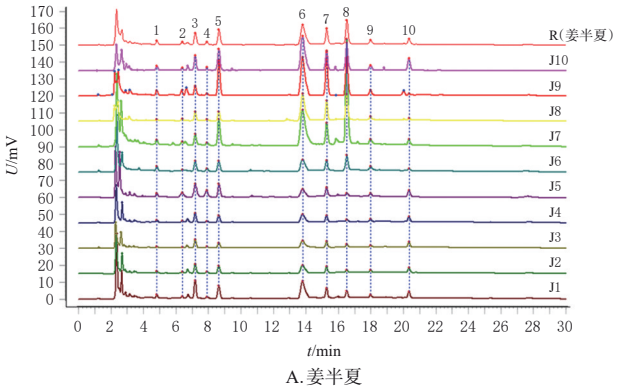
取Z1样品粉末适量，按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液，再按“2.3”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。以6号峰（腺嘌呤）为参照峰，计算得各共有峰相对保留时间的RSD为0.54%～0.94%（n=6）、相对峰面积的RSD为1.14%～1.73%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.4.4 指纹图谱的建立及共有峰的指认

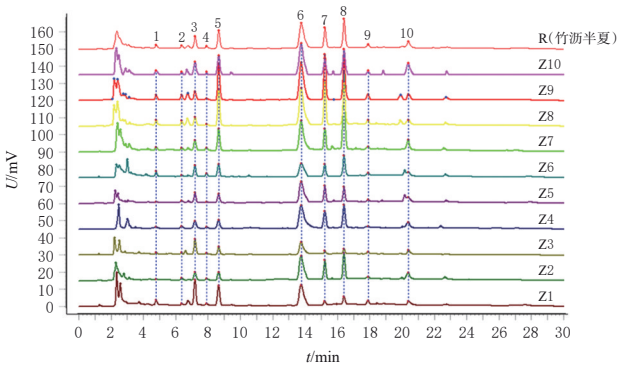
取不同批次姜半夏（J1～J10）和竹沥半夏（Z1～Z10）粉末分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。取上述各样品溶液及“2.2.1”项下混合对照品溶液，分别按“2.3”项下色谱条件进样测定，记录色谱图。将各样品的色谱图导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》，分别以J9和Z9样品的图谱为参照图谱，设置时间窗宽度为0.1 min，经多点校正后，进行Mark峰匹配，分别生成姜半夏和竹沥半夏的HPLC指纹图谱，并采用中位数法分别生成姜半夏和竹沥半夏的对照指纹图谱R，详见图1。结果显示，姜半夏、竹沥半夏指纹图谱共匹配出10个共有峰。通过将姜半夏和竹沥半夏的对照指纹图谱R分别与混合对照品溶液图谱（图2）比对，共指认出4个共有峰，分别为次黄嘌呤（3号峰）、尿苷（5号峰）、腺嘌呤（6号峰）、鸟苷（7号峰）。

2.4.5 相似度评价

以姜半夏和竹沥半夏的对照指纹图谱R为参照，采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）》进行相似度分析。结果显示，10批姜半夏图谱与其对照指纹图谱R的相似度为0.851～0.980，10批竹沥半夏图谱与其对照指纹图谱R的相似度为0.874～0.990，均大于0.850，表明本研究所建指纹图谱可用于姜半夏和竹沥半夏的整体质量控制。

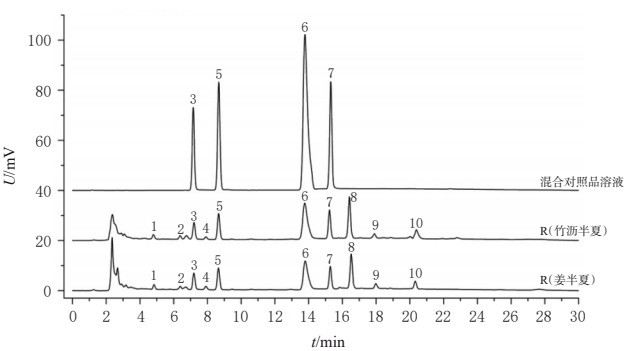


A.姜半夏



B.竹沥半夏

图1 10批姜半夏、竹沥半夏样品的HPLC指纹图谱及对照指纹图谱R



3：次黄嘌呤；5：尿苷；6：腺嘌呤；7：鸟苷。

图2 混合对照品溶液与竹沥半夏、姜半夏对照指纹图谱R的叠加图

2.5 姜半夏和竹沥半夏指数图谱的化学计量学分析

2.5.1 系统聚类分析

以姜半夏和竹沥半夏指纹图谱中的10个共有峰峰面积为变量，将其导入多元统计分析软件SIMCA 14.1中，经标准化处理后，采用组间Ward法，以欧氏距离平方和为测度，进行系统聚类分析（hierarchical cluster analysis，HCA）。结果显示，20批样品被聚为2类：姜半夏（J1～J10）聚为一类，竹沥半夏（Z1～Z10）聚为另一类。结果表明，所选特征峰可有效区分姜半夏和竹沥半夏，姜半夏和竹沥半夏化学成分存在差异，可以采用HCA法进行识别并分类。结果见图3。

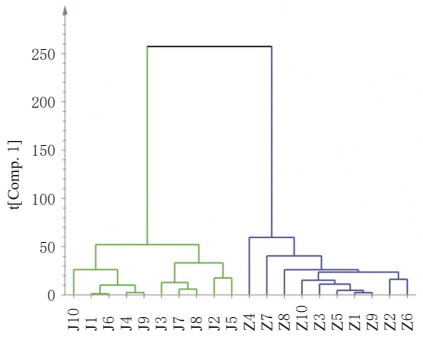


图3　姜半夏和竹沥半夏样品的HCA图

2.5.2　主成分分析

以姜半夏和竹沥半夏指纹图谱中的10个共有峰峰面积为变量，采用SPSS 26.0软件，以特征值及累计方差贡献率为依据，对其进行主成分分析（principal component analysis，PCA）。以特征值＞1为提取标准，共得到3个主成分因子，其特征值分别为4.040、2.426、1.387，累计方差贡献率为78.537%，提示这3个主成分能够揭示引起竹沥半夏炮制前后成分差异的信息。运用SIMCA 14.1软件对各样品进行无监督模式的PCA，根据PCA得分图（图4）发现，10批姜半夏、竹沥半夏区分较明显，与HCA结果一致。

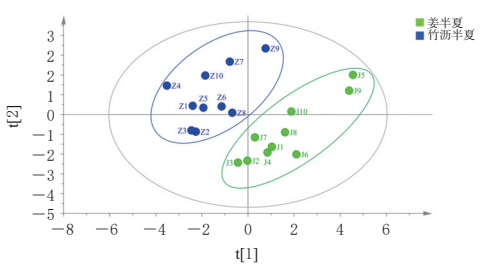


图4　姜半夏和竹沥半夏样品的PCA得分图

2.5.3　正交偏最小二乘-判别分析

以姜半夏和竹沥半夏指纹图谱中的10个共有峰峰面积为变量，将其导入SIMCA 14.1软件，采用有监督模式的识别方法对样品进行正交偏最小二乘-判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA），得分图见图5A。得分图中累积解释能力参数R^2X=0.832、R^2Y=0.769，预测能力参数Q^2=0.765，均大于0.5，表明建立的数学模型稳定且预测能力良好。通过200次置换检验，R^2和Q^2拟合直线在Y坐标轴的截距分别为0.386（Y＜0.4）和－1.140（Y＜0.05），表明所建立的模型可靠，无过度拟合现象，能够判别分析组间差异。结果显示，姜半夏和竹沥半夏样品可被明显分开，与HCA、PCA结果一致。进一步对变量重要性投影（variable importance projection，VIP）值进行分析，结果见图5B。以VIP值＞1筛选差异标志物，结果共筛选到4个差异标志物，分别为峰8、峰1、峰6（腺嘌呤）、峰10，说明这4个成分是姜半夏、竹沥半夏之间产生差异的关键性成分。将姜半夏、竹沥半夏各10批样品的1、6、8、10号峰峰面积导入GraphPad Prism 8.0.2软件进行t检验分析，检验水准α=0.05。结果发现，竹沥半夏中1、10号峰峰面积较姜半夏显著增加（P＜0.01）；6号峰（腺嘌呤）、8号峰峰面积较姜半夏有不同程度减少，但差异无统计学意义（P＞0.05）。

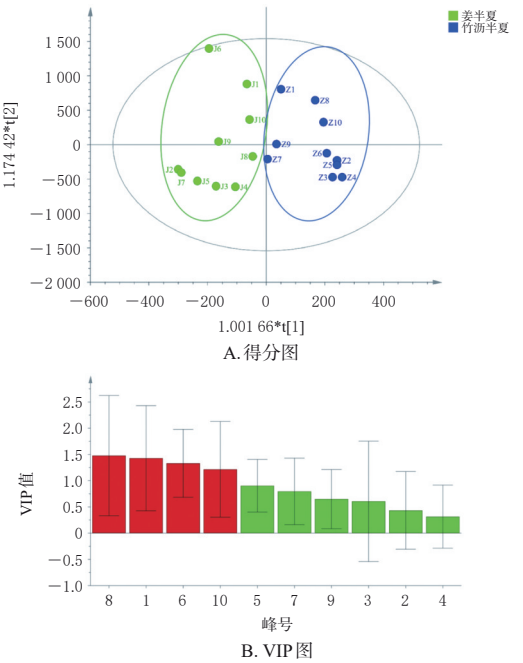
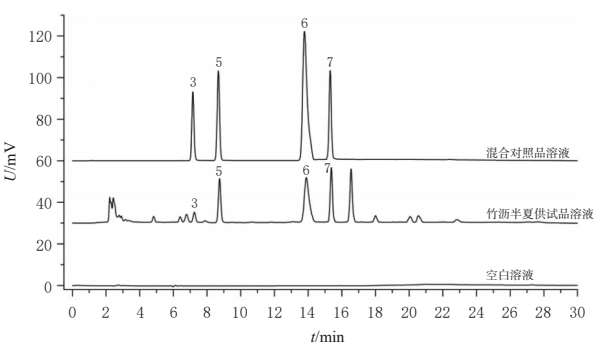


图5　姜半夏和竹沥半夏样品的OPLS-DA结果

2.6　姜半夏和竹沥半夏中核苷类成分的含量测定

2.6.1　专属性与系统适用性试验

取“2.2.1”项下混合对照品溶液、“2.2.2”项下竹沥半夏供试品溶液（Z9）和15%甲醇（空白溶液）各适量，分别按“2.3”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。结果显示，各待测色谱峰与其相邻峰间的分离度均大于1.5，理论板数均不低于10 000；在供试品溶液色谱图中，与混合对照品溶液色谱图相对应的位置上均有相同保留时间的色谱峰，且空白溶液对测定无干扰，详见图6。



3：次黄嘌呤；5：尿苷；6：腺嘌呤；7：鸟苷。

图6　混合对照品溶液、竹沥半夏供试品溶液和空白溶液的HPLC图

2.6.2　线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液0.5、1、2、4、6、8 mL，置于10 mL容量瓶中，用15%甲醇定容，然后按“2.3”项下色谱条件进样测定。以对照品溶液的质量浓度为横坐标（X）、色谱峰峰面积为纵坐标（Y）绘制标

准曲线，计算回归方程。结果显示，各成分在进样质量浓度范围内均与其峰面积线性关系良好（R^2>0.999 0），详见表2。

表2　4种核苷类成分的回归方程及线性范围

待测成分	回归方程	R^2	线性范围/(μg/mL)
次黄嘌呤	Y=31 445X+544.39	0.999 8	0.514～8.224
尿苷	Y=24 888X+2 723.30	0.999 6	1.000～16.000
腺嘌呤	Y=50 768X−26 087	0.999 4	1.500～24.000
鸟苷	Y=19 599X−4 250.20	0.999 5	1.210～19.360

2.6.3　精密度试验

精密吸取“2.6.2”项下混合对照品溶液（次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的质量浓度分别为2.056、4.000、6.000、4.840 μg/mL）10 μL，按“2.3”项下色谱条件连续进样测定6次，记录各成分的峰面积。结果显示，次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷峰面积的RSD分别为0.19%、0.19%、0.32%、0.25%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.6.4　稳定性试验

取“2.2.2”项下竹沥半夏供试品溶液（Z1），分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.3”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷峰面积的RSD分别为0.63%、1.19%、0.41%、0.56%（n=6），表明该供试品溶液在室温放置24 h内稳定性良好。

2.6.5　重复性试验

取竹沥半夏样品（Z1）粉末（过四号筛）6份，精密称定，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，并根据标准曲线计算各成分含量。结果显示，次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的平均含量分别为23.59、20.40、27.63、24.88 μg/g，RSD分别为0.65%、1.09%、0.60%、0.81%（n=6），表明该方法重复性良好。

2.6.6　加样回收率试验

取已知成分含量的竹沥半夏样品（Z1）约1 g，共6份，按照对照品加入量和样品中含量约1∶1的比例，分别精密加入次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷对照品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，然后按“2.3”项下色谱条件进样测定，记录各成分峰面积并计算其加样回收率。结果显示，次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的平均加样回收率分别为102.30%、99.01%、99.51%、101.42%，RSD分别为1.08%、0.47%、0.21%、0.86%（n=6），表明该方法准确度较好。

2.6.7　样品含量测定

精密称取姜半夏、竹沥半夏粉末各10批，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，然后按“2.3”项下色谱条件进样分析，通过标准曲线计算各样品中4种核苷类成分的含量。每个样品平行测3次，取平均值。将10批姜半夏、竹沥半夏中4种核苷类成分的含量导入GraphPad Prism 8.0.2软件进行统计分析，采用Wilcoxon检验对2种样品中鸟苷含量进行分析，采用t检验对2种样品中次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤含量进行分析，检验水准α=0.05。结果显示，竹沥半夏中次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的平均含量较姜半夏分别下降了15.90%、12.00%、26.04%、22.18%，其中次黄嘌呤、腺嘌呤、鸟苷含量差异具有统计学意义（P<0.05或P<0.01）。结果见表3。

表3　10批姜半夏和竹沥半夏中4种核苷类成分含量测定结果（n=3，μg/g）

编号	次黄嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷	编号	次黄嘌呤	尿苷	腺嘌呤	鸟苷
J1	31.21	27.28	40.45	28.16	Z1	23.70	20.63	27.75	24.74
J2	18.31	15.81	24.47	20.04	Z2	13.68	9.48	14.11	13.46
J3	16.33	10.71	20.25	19.61	Z3	13.18	7.88	13.68	12.47
J4	23.96	31.77	23.05	28.29	Z4	23.60	32.07	17.39	21.23
J5	20.67	64.90	97.11	66.89	Z5	14.07	17.53	35.57	32.97
J6	20.19	24.40	35.36	32.07	Z6	16.54	30.68	27.21	27.68
J7	16.34	18.44	51.79	43.64	Z7	18.84	47.04	62.40	50.66
J8	15.69	19.69	59.46	55.67	Z8	11.60	16.78	50.53	39.12
J9	15.51	81.26	92.42	119.43	Z9	13.16	77.50	78.47	98.56
J10	24.97	45.72	81.72	47.41	Z10	22.49	39.57	61.97	38.04
平均值	20.32	34.00	52.61	46.12	平均值	17.09[a]	29.92	38.91[b]	35.89[b]

a：与姜半夏平均值比较，P<0.01；b：与姜半夏平均值比较，P<0.05。

3　讨论

3.1　提取方法与色谱条件的考察

本研究对样品的提取条件进行了考察：比较了超纯水、15%甲醇、30%甲醇、50%甲醇、15%乙醇、30%乙醇、50%乙醇作为提取溶剂的提取效果，结果表明，以15%甲醇作为提取溶剂时各色谱峰的分离效果较好且响应值高；比较了超声、加热回流提取2种提取方法的提取效果，发现超声提取方式效果较好；比较了超声提取30、45、60 min的提取效果，发现超声提取60 min的竹沥半夏样品色谱峰的分离度较高、峰形对称，能够满足分析要求；比较了甲醇-水、甲醇-0.5%磷酸溶液、乙腈-水等流动相的分离效果，结果发现，当有机相为甲醇时，色谱峰分离效果优于乙腈；流动相为甲醇-水时可达到较好的洗脱效果。经查阅文献[14—15]，并结合全波长扫描结果发现，姜半夏、竹沥半夏样品在260 nm波长处色谱峰信息较丰富，且次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷的吸收较强，故本研究选择260 nm作为检测波长。

3.2　指纹图谱及化学计量学分析

本研究基于指纹图谱标定了姜半夏及其炮制品竹沥半夏10个共有峰，10批姜半夏和10批竹沥半夏各自的相似度均大于0.850，表明2种样品各批次间质量差异较小，整体质量相对稳定。化学计量学分析结果显示，姜半夏与竹沥半夏能有效区分开，说明姜半夏在用竹沥炮制过程中成分发生了显著变化。根据VIP值>1筛选得到了腺嘌呤及峰1、8、10对应的4种差异性成分，后续可将腺嘌呤作为竹沥半夏的质控指标。本课题组未来也将结合质谱技术对竹沥半夏与姜半夏中成分进行定性分析，并对峰1、8、10对应的化学成分作进一步研究。

3.3　核苷类成分选择及含量分析

核苷类成分是姜半夏及其炮制品的共有药效成分且为姜半夏止咳化痰的主要药效物质之一[10—11]。因此，

本研究选择各样品响应值较高并具代表性的次黄嘌呤、尿苷、腺嘌呤、鸟苷这4种核苷类成分进行含量测定。研究发现，半夏炮制后核苷类成分均有不同程度降低[8—9]。本实验也得出姜半夏经竹沥炮制后，4种核苷类成分含量均有所减少，与文献[8—9]具有相同的结论。这可能是由于姜半夏用竹沥拌匀后，浸润1 h使之均匀吸尽的过程中发生了成分的相互作用而导致核苷类成分含量下降。

综上所述，本研究建立的方法操作简便、重复性好，可用于姜半夏及竹沥半夏的定性、定量分析；竹沥炮制姜半夏后4种核苷类成分的平均含量降低。本研究结果为竹沥半夏质量控制提供了一定的参考。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：123.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China：part Ⅰ[M]. 2020 edition. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2020：123.

[2] 陶弘景. 本草经集注：辑校本[M]. 尚志钧，尚元胜，辑校. 北京：人民卫生出版社，1994：277.
TAO H J. Compendium of materia medica：collected annotations[M]. Edited by SHANG Z J，SHANG Y S. Beijing：People's Medical Publishing House，1994：277.

[3] 宋立人. 中国百年百名中医临床家丛书：宋爱人[M]. 北京：中国中医药出版社，2000：114-115.
SONG L R. One hundred Chinese clinical practitioners in a century：the collection of Song Airen[M]. Beijing：China Traditional Chinese Medicine Press，2000：114-115.

[4] 崔金涛，胡锡元. 陈莲舫经典医案赏析[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015：4.
CUI J T，HU X Y. Appreciation of classical medical cases of Chen Lianfang[M]. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2015：4.

[5] 杨丽，周易，王晓明，等. 炮制对半夏化学成分及药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2022，24(2)：49-53.
YANG L，ZHOU Y，WANG X M，et al. Research progress on chemical constituents variation in processing of Banxia（Rhizoma Pinelliae）[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med，2022，24(2)：49-53.

[6] 魏来，罗志勇，周强，等. 湖南产半夏及其炮制品中尿苷和鸟苷含量对比分析[J]. 时珍国医国药，2017，28(1)：116-118.
WEI L，LUO Z Y，ZHOU Q，et al. Comparative analysis of uridine and guanosine contents in Pinellia ternata produced in Hunan and its processed products[J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2017，28(1)：116-118.

[7] 杨冰月，李敏，敬勇，等. 半夏及其炮制品化学成分及功效的差异研究[J]. 中草药，2018，49(18)：4349-4355.
YANG B Y，LI M，JING Y，et al. Difference of chemical constituents and efficacy between crude and processed Pinelliae Rhizoma[J]. Chin Tradit Herb Drugs，2018，49(18)：4349-4355.

[8] 石琨群，王珏，刘欢欢，等. 半夏及其炮制品7种主要核苷类成分差异性分析[J]. 中国医院药学杂志，2023，43(11)：1232-1238.
SHI K Q，WANG J，LIU H H，et al. Differential analysis of 7 main nucleoside components in *Pinellia ternata* and its processed products[J]. Chin J Hosp Pharm，2023，43(11)：1232-1238.

[9] 李辰荃，郭朝晖，靳婉君，等. 炮制前后半夏多种核苷类成分变化研究[J]. 中药材，2023，46(7)：1664-1668.
LI C Q，GUO Z H，JIN W J，et al. Study on the changes of various nucleoside components in *Pinellia ternata* before and after processing[J]. J Chin Med Mater，2023，46(7)：1664-1668.

[10] 陈卫，张超，孙磊，等. 基于核苷类成分利用指纹图谱结合化学计量学方法鉴别4种半夏药材炮制品[J]. 药物分析杂志，2021，41(5)：919-928.
CHEN W，ZHANG C，SUN L，et al. Combination of fingerprint and chemometrics for identification of four processed products of Pinelliae Rhizoma based on nucleosides and nucleobases[J]. Chin J Pharm Anal，2021，41(5)：919-928.

[11] 楚玉，张科卫，陆兔林，等. 竹沥半夏质量标准研究[J]. 中药材，2017，40(3)：641-644.
CHU Y，ZHANG K W，LU T L，et al. Study on quality standard of *Pinellia ternata* in bamboo juice[J]. J Chin Med Mater，2017，40(3)：641-644.

[12] 杨潇，毕建洪，吴娟娟，等. 竹沥半夏中药炮制规范项目测定[J]. 广西民族大学学报（自然科学版），2016，22(4)：90-94.
YANG X，BI J H，WU J J，et al. Measurement of specification for processing of Chinese medicine Succus bambusae pinella preparata[J]. J Guangxi Univ Natl Nat Sci Ed，2016，22(4)：90-94.

[13] 罗美美，朱伟豪，郑琳玉，等. Box-Behnken响应面法优化竹沥半夏炮制工艺[J]. 时珍国医国药，2024，35(2)：352-355.
LUO M M，ZHU W H，ZHENG L Y，et al. The Box-Behnken response surface method to optimize the preparation technology of Succus bambusae pinella preparata[J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2024，35(2)：352-355.

[14] 周恒，曹依敏，苗水，等. HPLC法测定沪地龙中7个核苷类成分的含量[J]. 药物分析杂志，2018，38(1)：97-103.
ZHOU H，CAO Y M，MIAO S，et al. Determination of 7 nucleosides in Shanghai Pheretima by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal，2018，38(1)：97-103.

[15] 杨冰月，敬勇，赖月月，等. HPLC法同时测定半夏中5个代表性成分的含量[J]. 药物分析杂志，2019，39(11)：1992-1997.
YANG B Y，JING Y，LAI Y Y，et al. Simultaneous determination of five representative components in Pinelliae Rhizoma by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal，2019，39(11)：1992-1997.

（收稿日期：2024-07-12　修回日期：2024-10-08）
（编辑：林　静）