

## 基于 UPLC-MS/MS 同时定量分析半夏不同炮制品中 8 种潜在毒性成分

吕悦<sup>1,2,3,4</sup>, 张颖慧<sup>1,2,3</sup>, 孙宇婷<sup>1,2,3</sup>, 张良<sup>5</sup>, 张琳<sup>1,2,3,4\*</sup>, 祖元刚<sup>1,3</sup> (1. 东北林业大学化学化工与资源利用学院森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学化学化工与资源利用学院林业生物制剂教育部工程研究中心, 黑龙江哈尔滨 150040; 3. 东北林业大学化学化工与资源利用学院生物资源生态利用国家地方工程中心, 黑龙江哈尔滨 150040; 4. 黑龙江省林源活性物质生态利用重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150040; 5. 黑龙江中医药大学附属第二医院南院, 黑龙江哈尔滨 150060)

**摘要** [目的] 建立超高效液相串联质谱(UPLC-MS/MS)法同时测定半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分的含量, 并分析其潜在毒性成分的差异。[方法] 采用 UPLC-MS/MS 法测定半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分的含量并进行方法学考察。流动相为甲醇-水溶液, 梯度洗脱, 流速为 0.3 mL/min, 质谱离子源为电喷雾离子源(ESI), 检测模式为多反应监测(MRM), 以苦参碱(正离子)和野黄芩苷(负离子)作为内标物。采用多元统计分析方法对 8 种潜在毒性成分的含量与炮制方法的相关性进行评价。[结果] 8 种潜在毒性成分在各自范围内线性关系良好( $R^2 \geq 0.999$ )。经多元统计分析, 样品被聚集为 4 类, 并通过变量权重重要性排序(VIP)发现胆碱、盐酸麻黄碱和原儿茶酸为 4 类样品间的主要差异成分。[结论] 该方法快速、准确、灵敏度高、重现性好, 可用于半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分的含量测定, 为后续分析提供参考。

**关键词** 半夏; UPLC-MS/MS; 炮制品; 毒性成分; 含量测定

中图分类号 R283 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)03-0192-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.03.044



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Simultaneous Quantitative Analysis of 8 Potential Toxic Components in Different Processed Products of *Pinellia ternata* Based on UPLC-MS/MS

LÜ Yue<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Ying-hui<sup>1,2,3</sup>, SUN Yu-ting<sup>1,2,3</sup> et al (1. Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, School of Chemistry, Chemical Engineering and Eesource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. Engineering Research Center of Forestry Biological Agents, Ministry of Education, School of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 3. National Local Engineering Center for Ecological Utilization of Biological Resources, School of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 4. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Ecological Utilization of Forestry-based Active Substances, Harbin, Heilongjiang 150040)

**Abstract** [Objective] To establish an ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of eight potentially toxic components in *Pinellia ternata* and its processed products, and to analyze the differences of their potentially toxic components. [Method] The UPLC-MS/MS method was used to determine 8 potential toxic components in different processed products of *Pinellia ternata* and to conduct a methodological investigation. The mobile phase was methanol-water solution, gradient elution, flow rate was 0.3 mL/min, mass spectrometry ion source was electrospray ionization source (ESI), detection mode was multiple reaction monitoring (MRM), matrine (positive ion) and scutellarin (negative ion) was used as the internal standard. The multivariate statistical analysis method was used to evaluate the correlation between the contents of the 8 toxic components and the processing methods. [Results] The 8 potential toxic components had a good linear relationship within their respective ranges ( $R^2 \geq 0.999$ ). After multivariate statistical analysis, the samples were clustered into 4 categories, and through variable weighted importance ranking (VIP), choline, ephedrine hydrochloride and protocatechuic acid were found to be the main differences among the 4 types of samples. [Conclusion] The method is rapid, accurate, sensitive and reproducible. It can be used for the determination of 8 potential toxic components in *Pinellia ternata* and its processed products, and provide reference for subsequent analysis.

**Key words** *Pinellia ternata*; UPLC-MS/MS; Processed products; Toxic component; Content determination

半夏为天南星科植物半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Berit.] 的干燥块茎, 具有镇咳、祛痰、止呕等作用<sup>[1]</sup>。有报道半夏是有毒的, 主要表现为强烈的黏膜刺激性(胃、肠道及咽喉)和肝脏损伤。王丽<sup>[2]</sup>将半夏总生物碱富集物提取出来, 发现可导致小鼠肝损伤。中医药研究发现通过炮制可实现中药的减毒增效<sup>[3]</sup>。因此半夏生品多外用, 临床上以炮制品(清半夏、姜半夏和法半夏)为主。清半夏为生半夏经白矾溶液浸泡所得, 毒性低, 增强化痰作用; 姜半夏为生半夏与生姜、白矾同煮晾干所得, 毒性已减, 止呕作用增强; 法半夏为生半夏用甘草、石灰和白矾制后得到, 燥性较为和缓, 常用于

消食化痰<sup>[4-5]</sup>。经过不同方法炮制后, 半夏毒性明显降低, 但其主要毒性成分及含量还不是很明确。

半夏中所含化学成分种类很多, 其中生物碱类化合物被认为是主要有效成分之一, 但部分生物碱是有毒性的<sup>[6]</sup>。Zhai 等<sup>[7]</sup>采用 UPLC/Q-TOF-MS/MS 对 16 份生半夏、制半夏进行分析, 初步鉴定了溶血磷脂酰胆碱为特征标记物, 溶血磷脂酰胆碱可诱导炎症反应, 因此半夏中溶血磷脂酰胆碱的降低是解毒的主要原因之一。据文献报道, 尿酸<sup>[8]</sup>、原儿茶酸和原儿茶醛<sup>[9]</sup>被认为是半夏辛辣味本质, 对黏膜具有强烈刺激性。大黄酚是大黄中蒽醌类化合物, 有肝脏毒性以及致癌的风险<sup>[10]</sup>。有研究表明, 半夏经炮制后毒性会减弱, 这可能与在炮制过程中半夏毒性成分的含量变化密切相关<sup>[5]</sup>。

目前, 半夏的毒性研究主要集中在毒性成分的探析上, 但比较炮制前后半夏毒性成分含量变化的研究报道较少。

**基金项目** 中央高校基本科研业务费专项基金项目(2572015CA06); 林业公益性行业科研专项(201504701)。

**作者简介** 吕悦(1997—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 研究方向: 药用植物资源的开发与利用。\* 通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事药用植物资源的开发与利用研究。

**收稿日期** 2022-03-13; **修回日期** 2022-05-05

生物碱类成分紫外吸收较弱<sup>[11]</sup>,常规方法往往难以达到检测目的,因此液质联用法是生物碱类成分测定的首选。该研究通过查阅文献对半夏炮制品的化学成分进行筛选,筛选得到溶血磷脂酰胆碱、盐酸麻黄碱、葫芦巴碱、胆碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸和大黄酚这 8 种潜在毒性成分,采用超高效液相串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定半夏中 8 种潜在的毒性成分,并测定其在半夏不同炮制品中的含量,利用主成分分析(PCA)和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)<sup>[12]</sup>对炮制前后半夏中毒性成分含量进行分析,探讨这些潜在毒性成分含量变化与半夏不同炮制方法之间的相关性,为半夏炮制品的毒性评价和质量控制提供科学依据。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器** 1290-QQQ6460 型超高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司);UP-400S 超声波细胞破碎仪(上海熙扬仪器有限公司);ME104 电子天平(梅特勒公司);SUS 304 中药粉碎机(圣顺公司)。

**1.2 药材与试剂** 生半夏、姜半夏、法半夏、清半夏均购自四川成都康巴高原山珍中药材基地,经国药集团黑龙江省药材公司中药师张军鉴定均为正品。溶血磷脂酰胆碱(纯度≥98%)、苦参碱(纯度≥98%,内标物)均购自成都德思特生物有限公司;盐酸麻黄碱(纯度≥99%)、野黄芩苷(纯度≥98%,内标物)均购自中国食品药品检定研究院;葫芦巴碱(纯度≥98%)、胆碱(纯度≥90%)、原儿茶酸(纯度≥98%)、原儿茶醛(纯度≥98%)、尿黑酸(纯度≥98%)、大黄酚(纯度≥98%)均购自上海源叶生物有限公司;甲醇购自 J&K Scientific;水为娃哈哈纯净水。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 标准品溶液制备。**分别精密称取溶血磷脂酰胆碱、盐酸麻黄碱、葫芦巴碱、胆碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸、大黄酚的标准品各 10 mg,加一定量甲醇至 10 mL,得浓度为 1.0 mg/mL 的标准品溶液。取各标准品溶液等量,加甲醇得浓度为 2.0 μg/mL 的混合标准品溶液,再进一步稀释到不同浓度。精密称量野黄芩苷、苦参碱标准品各 5 mg,分别制得浓度为 1.0 mg/mL,作为内标溶液(IS)。取上述配制的不同浓度混合标准品溶液 500 μL,加入甲醇 490 μL、内标溶液 10 μL,混均,留存备用。

**1.3.2 样品溶液制备。**将生半夏、姜半夏、法半夏、清半夏粉碎,过筛(60 目),备用。取半夏不同炮制品粉末各 5.0 g,精密加入甲醇 50 mL,并向其中加入内标溶液 10 μL,超声波细胞破碎仪(功率 360 W)提取 30 min。连续提取 2 次,过滤,合并滤液。10 000 r/min 离心 10 min,取上清液进行 UPLC-MS/MS 测定。

**1.3.3 超高效液相色谱-质谱联用条件。**HPLC 色谱柱为 Waters ACQUITY UPLC HSST3(100 mm×2.1 mm,1.8 μm),流动相为甲醇-水溶液,进样量 4 μL,流速 0.3 mL/min,柱温 30 ℃。梯度洗脱程序为 0~6 min,25%~100% 甲醇;6~10 min,100% 甲醇。电喷雾离子源(ESI)作为质谱离子源,载气为氮气。扫描方式为正负离子同时检测,以多反应检测(MRM)模式扫描。其他质谱条件:干燥气流量为 11.0 L/min,毛细管电压为 3 000 V,离子源温度为 350 ℃,雾化气压力为 137.9 kPa。8 种潜在毒性成分以及内标物的 MRM 质谱参数见表 1。

表 1 8 种潜在毒性成分以及内标物的主要质谱参数

Table 1 Main mass spectrometric parameters of the 8 potential toxic compounds and IS

序号 No.	成分 Ingredient	扫描模式 Scan pattern	母离子 Parent ion ( <i>m/z</i> )	子离子 Daughter ion ( <i>m/z</i> )	裂解电压 Cracking voltage/V	碰撞能量 Collision energy//V
1	溶血磷脂酰胆碱	+	524.2	184.1	135	22
2	葫芦巴碱	+	138.1	92.1	135	26
3	盐酸麻黄碱	+	166.1	148.0	135	9
4	胆碱	+	104.1	60.3	135	19
5	苦参碱(IS)	+	249.3	148.2	135	45
6	原儿茶酸	-	153.0	109.1	135	13
7	原儿茶醛	-	136.2	108.1	135	32
8	尿黑酸	-	167.1	123.0	135	8
9	大黄酚	-	253.1	225.1	165	25
10	野黄芩苷(IS)	-	461.2	285.0	135	12

### 1.3.4 方法学考察。

**1.3.4.1 线性关系考察。**取不同浓度范围的各标准品溶液按照“1.3.3”的条件进行 UPLC-MS/MS 测定(平行测定 3 次)。以各标准品的浓度与 IS(正离子扫描模式的 IS 为苦参碱,负离子扫描模式的 IS 为野黄芩苷)浓度的比值为横坐标(*X*)、峰面积与 IS 峰面积的比值为纵坐标(*Y*)进行线性回归,计算各标准品的回归方程、相关系数和线性范围。

**1.3.4.2 检出限与定量限。**将线性范围最低浓度的标准品

溶液进行稀释,进样检测,定量限(LOQ)为信噪比  $S/N=10$  时的标准品浓度,检出限(LOD)为信噪比  $S/N=3$  时的标准品浓度。

**1.3.4.3 精密度试验。**取混合标准品溶液适量,按“1.3.3”的条件连续进样 6 次,得到 8 种毒性成分的 RSD 值,检测仪器精确度。

**1.3.4.4 重复性试验。**取生半夏样品 6 份,按“1.3.2”方法制备样品溶液,按“1.3.3”的条件测定样品中各成分的含量,

并计算各成分的RSD值,检测该方法的重复性。

**1.3.4.5 稳定性试验。**取生半夏样品6份,按“1.3.2”方法制备样品溶液,室温存放0、1、2、4、8、12、24 h,按照“1.3.3”的条件测定样品中各成分的含量,并计算各成分的RSD值,检查样品的稳定性。

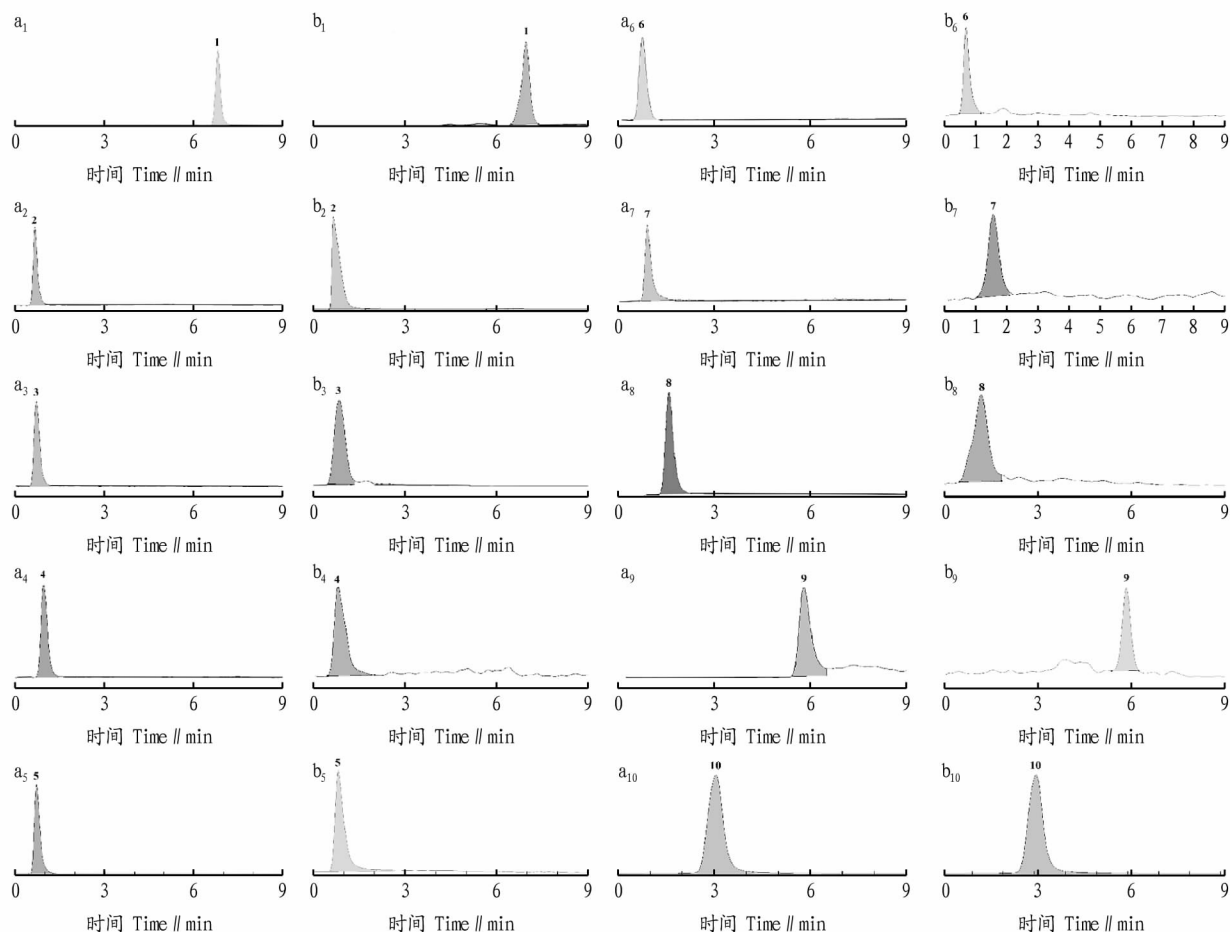
**1.3.4.6 加样回收率试验。**取6份含量已知的生半夏粉末,每份约2 g,将相应标准品溶液加至每份样品中,按“1.3.2”方法制备样品溶液,按“1.3.3”的条件测定样品中各成分的含量,并计算各成分的RSD值。

**1.3.5 半夏生品及其炮制品8种潜在毒性成分的含量测定。**取生半夏(SBX)、姜半夏(JBX)、法半夏(FBX)、清半夏(QBX)粉末,按照“1.3.2”方法制备样品溶液,按照“1.3.3”

条件进行测定,记录峰面积,计算半夏生品及其炮制品中8种潜在毒性成分的含量。

## 2 结果与分析

**2.1 对照品与样品的色谱图** 图1为半夏标准品和样品的UPLC-MS/MS的色谱图。如图所示,利用梯度洗脱法测定8种毒性成分,分离效果良好,出峰时间适中。在MRM模式下的色谱图显示,溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、苦参碱、尿黑酸、原儿茶醛、原儿茶酸、大黄酚、野黄芩苷的保留时间分别为7.068、0.642、0.825、0.992、0.822、0.696、1.279、1.182、5.828、2.999 min,各峰分离良好,标准品溶液与样品溶液目标峰的保留时间吻合,灵敏度高,峰形良好。



注:1. 溶血磷脂酰胆碱;2. 胆碱;3. 葫芦巴碱;4. 盐酸麻黄碱;5. 苦参碱;6. 尿黑酸;7. 原儿茶醛;8. 原儿茶酸;9. 大黄酚;10. 野黄芩苷。 $a_1 \sim a_5, b_1 \sim b_5$  为正离子模式; $a_6 \sim a_{10}, b_6 \sim b_{10}$  为负离子模式。

Note: 1. Lysophosphatidylcholine; 2. Choline; 3. Trigonelline; 4. Ephedrine hydrochloride; 5. Matrine; 6. Homogentisic acid; 7. Protocatechuic aldehyde; 8. Protocatechuic acid; 9. Chrysophanol; 10. Scutellarin.  $a_1 \sim a_5, b_1 \sim b_5$  are positive ion modes;  $a_6 \sim a_{10}$  and  $b_6 \sim b_{10}$  are negative ion modes.

图1 半夏标准品(a)和样品(b,生半夏)UPLC-MS/MS色谱图

Fig. 1 UPLC-MS/MS chromatogram of *Pinellia ternata* standard(a) and sample(b, raw *Pinellia ternata*)

## 2.2 方法学考察

**2.2.1 线性关系。**按“1.3.4.1”方法操作,结果见表2。从表2可以看出,8种潜在毒性成分在各自范围内具有良好的线性关系( $R^2 \geq 0.999$ )。

**2.2.2 检出限与定量限。**按“1.3.4.2”方法操作,结果见表

2。从表2可以看出,溶血磷脂酰胆碱、尿黑酸的定量限均为0.5 ng/mL,检出限均为0.1 ng/mL;盐酸麻黄碱和原儿茶醛定量限均为0.5 ng/mL,检出限均为0.2 ng/mL;葫芦巴碱定量限为0.4 ng/mL,检出限为0.1 ng/mL;胆碱、原儿茶醛和大黄酚定量限均为0.3 ng/mL,检出限均为0.1 ng/mL。

表 2 8 种潜在毒性成分的回归方程、决定系数、线性范围、定量限和检出限

Table 2 Regression equation, determination coefficient, linear range, quantitative limit and detection limit of 8 potential toxic components

序号 No.	成分 Ingredient	回归方程 Regression equation	决定系数 Determination coefficient ( $R^2$ )	线性范围 Linear range ng/mL	定量限 LOQ//ng/mL	检出限 LOD//ng/mL
1	溶血磷脂酰胆碱	$Y=181.94X+173.482$	0.999 9	0.5~200.0	0.5	0.1
2	葫芦巴碱	$Y=204.04X+47.330$	0.999 5	0.5~200.0	0.4	0.1
3	盐酸麻黄碱	$Y=3.175.8X+890.16$	0.999 6	0.5~200.0	0.5	0.2
4	胆碱	$Y=455.76X+446.91$	0.999 8	0.5~200.0	0.3	0.1
5	原儿茶酸	$Y=1.254.2X+48.918$	0.999 3	0.5~200.0	0.5	0.2
6	原儿茶醛	$Y=810.19X-90.082$	0.999 8	0.5~200.0	0.3	0.1
7	尿黑酸	$Y=246.41X+17.693$	0.999 1	0.5~200.0	0.5	0.1
8	大黄酚	$Y=32.699X-92.137$	0.999 9	0.5~200.0	0.3	0.1

**2.2.3 精密度试验。**按“1.3.4.3”方法操作,测得溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸和大黄酚的 RSD 值分别为 3.99%、3.02%、4.82%、3.78%、3.67%、6.78%、3.26%、5.66%,均不超过 10%,表明该仪器的精密度良好。

**2.2.4 重复性试验。**按“1.3.4.4”方法操作,测得溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸、大黄酚的 RSD 值分别为 1.74%、5.81%、3.09%、3.68%、2.19%、4.75%、3.64%、7.85%,均不超过 10%,表明该方法重复性良好。

**2.2.5 稳定性试验。**按“1.3.4.5”方法操作,测得溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸、大黄酚的 RSD 值分别为 3.94%、5.45%、4.67%、3.12%、3.86%、6.63%、3.76%、4.44%,均不超过 10%,表明样品溶液在室温下放置 24 h 基本稳定。

**2.2.6 加样回收率试验。**按“1.3.4.6”方法操作,测得溶血

磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸、大黄酚的 RSD 值分别为 1.83%、2.18%、2.28%、1.25%、2.46%、2.73%、3.90%、2.66%,均不超过 10%,表明该方法准确性良好。

**2.3 半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分的含量分析** 从表 3 可以看出,总体来看,半夏炮制前后 8 种潜在毒性成分的总量从高到低依次为生半夏>清半夏>姜半夏>法半夏。而在半夏不同炮制品中,生半夏中的溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、原儿茶酸和大黄酚最多,法半夏的最少,溶血磷脂酰胆碱、原儿茶酸和大黄酚的含量顺序为生半夏>清半夏>姜半夏>法半夏,盐酸麻黄碱的含量顺序为生半夏>清半夏>法半夏>姜半夏,胆碱、葫芦巴碱的含量顺序为生半夏>姜半夏>清半夏>法半夏,原儿茶醛的含量顺序为姜半夏>清半夏>生半夏>法半夏,尿黑酸的含量顺序为清半夏>法半夏>姜半夏>生半夏。

表 3 半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分含量测定结果

Table 3 Determination results of 8 potential toxic components in raw *Pinellia ternata* and its processed products

单位:mg/g

样品 Sample	溶血磷脂酰胆碱 Lysophosphatidylcholine	葫芦巴碱 Trigonelline	盐酸麻黄碱 Ephedrine hydrochloride	胆碱 Choline	原儿茶酸 Protocatechuic acid	原儿茶醛 Protocatechuic aldehyde	尿黑酸 Homogentisic acid	大黄酚 Chrysophanol	合计 Total
生半夏 SBX	0.838	0.371	1.627	9.510	2.990	0.160	0.128	0.005	15.629
姜半夏 JBX	0.413	0.347	0.245	3.431	0.892	0.241	0.166	0.002	5.737
法半夏 FBX	0.181	0.079	0.395	0.873	0.272	0.005	0.274	0.001	2.080
清半夏 QBX	0.766	0.233	1.243	2.079	1.845	0.234	0.331	0.004	6.735

## 2.4 多元统计分析

**2.4.1 主成分分析(PCA)。**主成分分析是一种多变量统计方法,用于分析多个变量之间的相关性<sup>[13]</sup>。该研究中,PCA 被用来分析半夏生品及炮制品之间毒性成分的差异。选取半夏生品及其不同炮制品各 5 份,按照“1.3.2”方法制备样品溶液,按照“1.3.3”条件测定半夏生品及其炮制品中溶血磷脂酰胆碱、胆碱、葫芦巴碱、盐酸麻黄碱、原儿茶酸、原儿茶醛、尿黑酸、大黄酚的含量。利用 Origin 9.1 软件对半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分含量进行 PCA 分析,得到 Score plot 图(图 2)。

由图 2 可知,按照 8 种潜在毒性成分含量来划分,半夏生品与其炮制品聚集成 4 类,表明他们之间存在一定差异

性。样品间相离越远表示差异性越大,姜半夏(JBX1~JBX5)和清半夏(QBX1~QBX5)分布的距离较小,表明姜半夏与清半夏的毒性成分含量差异较小。

**2.4.2 偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)。**为更好地观察生品与不同炮制品之间毒性成分的差异,采用监督模式识别方法的偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)。根据 PLS-DA 筛选出半夏生品及其炮制品潜在标志性差异成分<sup>[12]</sup>。利用 SIMCA 软件对炮制前后半夏的 8 种潜在毒性成分含量进行 PLS-DA。

由 PLS-DA 得分(图 3)可知,生半夏((SBX1~SBX5)、姜半夏(JBX1~JBX5)、清半夏(QBX1~QBX5)、法半夏(FBX1~FBX5)各自聚为一类,与 PCA 分析结果一致。FBX

和 JBX 相邻,表明它们毒性含量差异较小。与 PCA 结果比较可知,生半夏与其炮制品(JBX、FBX 和 QBX)明显区分,表

明生半夏与炮制品的毒性成分特征差异较大。

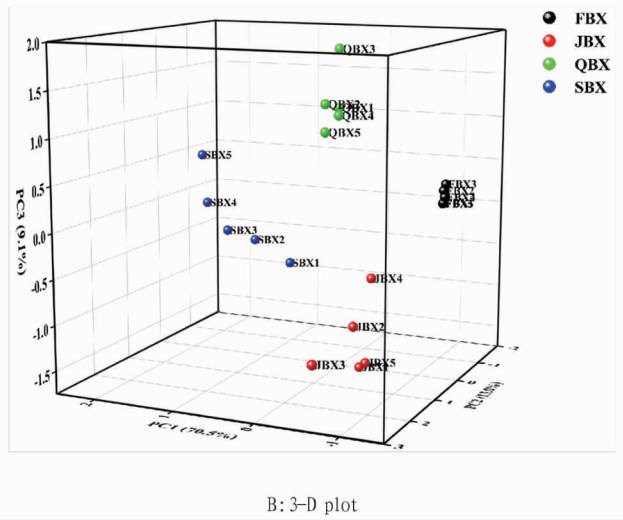
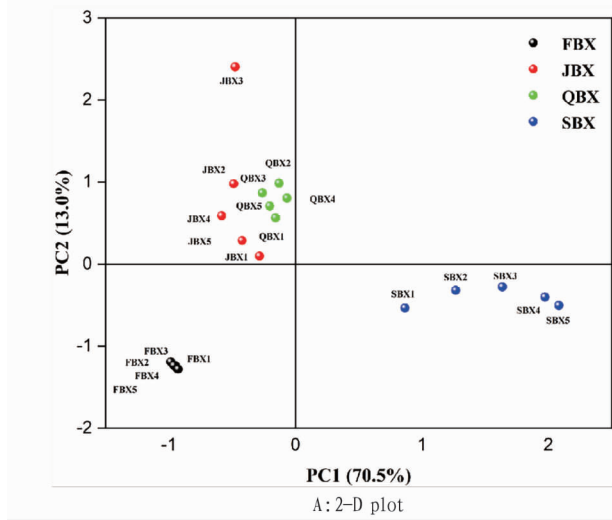


图 2 半夏生品及其炮制品中含量 PCA 分析后的 Score plot 图

Fig. 2 Score plot of content in raw and processed *Pinellia ternata* after PCA analysis

为进一步寻找对上述样本分类有较大贡献的成分,该研究以变量重要性投影值(variable importance in projection, VIP)>1.0(即该变量对整体模型的贡献度高于平均水平)为标准,筛选出胆碱、盐酸麻黄碱和原儿茶酸 3 种成分是对半夏生品及其炮制品差异贡献较大的指标性成分,也可能是半夏炮制后毒性降低的相关成分(图 4)。

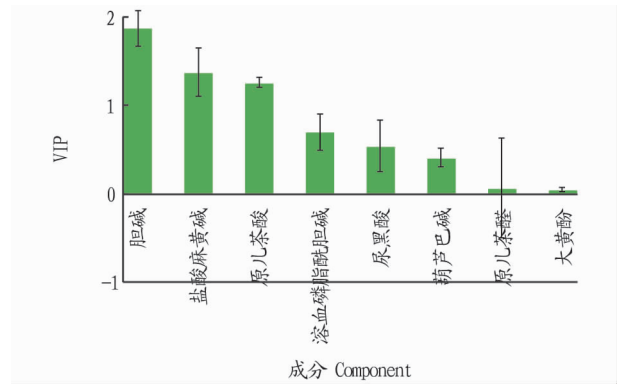


图 4 半夏生品及其炮制品中 8 种毒性成分的 VIP 值

Fig. 4 VIP values of 8 toxic components in raw and processed *Pinellia ternata*

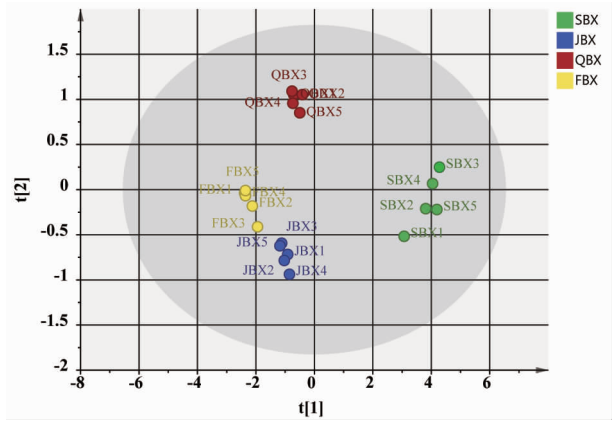


图 3 半夏生品及其炮制品的 PLS-DA 得分

Fig. 3 PLS-DA score of raw *Pinellia ternata* and its processed products

### 3 结论与讨论

该研究建立的 UPLC-MS/MS 分析方法,能够同时定量半夏生品及其炮制品中 8 种潜在毒性成分。试验过程中曾尝试过高效液相法测定,但因为溶血磷脂酰胆碱、盐酸麻黄碱的紫外吸收弱,且梯度洗脱过程中基线不稳定,而质谱具有灵敏度高、干扰性小等优点,所以采用 UPLC-MS/MS 为检测方法。在检测过程中,由于基质效应会引起检测信号发生变化,所以选择了合适的内标物来提高分析结果的准确度和精密度。另外 8 种潜在毒性成分性质相差极大,其中包括有机酸类和生物碱类,故采用多反应监测(MRM)法测定时,选

择正离子检测和负离子检测 2 种模式测定 8 种潜在毒性成分的 MRM 离子对,定量离子峰形良好,没有其他物质的影响,能够精准定量待测物质。该研究所建立的方法分离能力强、灵敏度高、定量分析结果可靠、检出限低,可用于半夏中 8 种成分的含量测定,为后续的分析奠定方法学基础。

该研究对半夏中 8 种潜在毒性成分进行定量分析,得出 8 种潜在毒性成分总含量从高到低依次为生半夏>清半夏>姜半夏>法半夏,与高昌琨等<sup>[14]</sup>研究所得的毒性强弱结果一致,但通过研究证明尿黑酸和原儿茶醛经炮制之后含量降低,推测其可能不是半夏中含有的毒性成分。经 PCA 和 PLS-DA 分析,生半夏与不同炮制品之间毒性成分含量差异较大,胆碱、盐酸麻黄碱和原儿茶酸是造成样品间毒性差异的主要成分,可能是生半夏中潜在的毒性成分。该研究所建立的方法简便、可靠、灵敏度高,结合多元统计分析可用于分析半夏潜在毒性物质的基础,为生半夏炮制减毒的机理提供了可靠的分析方法和理论依据。

(下转第 245 页)

节,应优先选择与农民参与能力相匹配的乡村旅游项目,尽量上马农民有能力参与的项目。其次,通过多种形式宣传教育,促使农民树立主动学习意识,形成终身学习的氛围。再次,发挥政府帮扶作用,政府应构建完善的农民培训体系,建立合适的培训平台,设计针对性培训内容,采用多元化培训手段,有计划地提高农民参与的意识与技能。最后,农民应积极主动地参与到农地旅游化利用过程之中,在实践中不断提高自己的参与能力。

### 3.2 赋予农民平等的参与决策权,为农民合理分享农地旅游化利用成果提供保障

#### 3.2.1 从制度上明确农民参与决策权的内涵与行使程序。

首先,明确界定农地旅游化利用中农民参与决策权的内涵。农民参与决策权至少应包括知情权、表决权及监督权3项基本权力<sup>[9]</sup>。知情权是参与决策权中的基础权力。完善农地旅游化利用信息公开制度,农地旅游化利用中重大事项及与农民利益相关事项的信息,都应及时无保留地向农民公开,让广大农民充分了解知晓相关信息。表决权是参与决策权中的核心权力。按照相关法律与规则赋予农民一定的表决权,让农民充分表达自己的诉求,提升农民的话语权。监督权是参与决策权中的保障权力。构建全过程全方位的监督体系,保障农民监督的主体地位,在利益受侵犯时可以发起复议和申诉,以有效防止其他利益主体侵犯农民的利益。其次,细化农民行使参与决策权的程序。详细规定土地流转与旅游开发两大阶段中农民的知情权、表决权及监督权行使条件、内容、方式和保障措施。

#### 3.2.2 提高农民的博弈能力。

首先,完善农地产权制度、村民自治制度等相关制度。在三权分置制度框架下,成立具有法人资格的农民集体经济组织作为农地集体所有权主体,建

立健全集体所有权使用机制,细化集体所有权使用程序,做实农地的集体所有权。同时,加强村民自治制度改革,规范村委会选举程序,明确村委会的职责,完善村委会决策程序和议事规则,健全对村委会的监督机制,使村委会成为真正代表农民利益的组织<sup>[10]</sup>。通过完善农地产权制度与村民自治制度,防止政府或村干部越俎代庖,侵害农民的合法权益。其次,提高农民的组织化程度。实践表明,在利益博弈中,组织代表参与权利的争取远比个人有效率和益处。因此,在农地旅游化利用中,应将农民组织起来,以集体的力量参与博弈。再次,构建政府与旅游开发商行为的约束机制。明确政府和旅游开发商在农地旅游化利用中的角色与职责,以法治方式约束政府公权力行使,以法治与德治相结合的方式规制旅游开发商行为。

### 参考文献

- [1] 夏锦文. 共建共治共享的社会治理格局:理论构建与实践探索[J]. 江苏社会科学, 2018(3): 53-62.
- [2] 侯恩宾. 从社会管理到共建共治共享社会治理:内涵、逻辑及其方式的转换[J]. 理论导刊, 2018(7): 60-67.
- [3] 姚树荣, 周诗雨. 乡村振兴的共建共治共享路径研究[J]. 中国农村经济, 2020(2): 14-29.
- [4] 付文凤. 基于主体贡献-风险的城乡建设用地增减挂钩增值收益共享研究:以江苏省为例[D]. 南京:南京农业大学, 2018.
- [5] 罗文斌, 谢海丽, 唐叶枝. 基于农民参与视角的乡村旅游高质量发展路径分析[J]. 农业展望, 2020, 16(12): 85-88, 93.
- [6] 朱冬亮. 农民与土地渐行渐远:土地流转与“三权分置”制度实践[J]. 中国社会科学, 2020(7): 123-144.
- [7] 宋丹彤. 乡村旅游发展中农民利益保障问题研究[D]. 保定:河北农业大学, 2021.
- [8] 杨晓蕾, 姚娟, 熊长江. 农牧民参与乡村生态旅游扶贫的意愿:以新疆阿克苏地区为例[J]. 农业展望, 2020, 16(4): 51-56.
- [9] 李南洁, 姜树辉. 乡村旅游开发中农民权益保障的长效机制研究[M]. 北京:经济科学出版社, 2017.
- [10] 张飞. 乡村旅游开发中农民分享土地增值收益现状及成因[J]. 社会科学家, 2020(1): 72-76.

(上接第 196 页)

### 参考文献

- [1] 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.
- [2] 王丽. 半夏肝毒性“量-时-毒”关系研究与毒性影响因素探讨[D]. 济南:山东中医药大学, 2010.
- [3] 袁海建, 贾晓斌, 印文静, 等. 炮制对半夏毒性成分影响及解毒机制研究报道分析[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4462-4468.
- [4] 王文化, 张颖, 张杰. 浅谈半夏的炮制方法与临床应用[J]. 淮海医药, 2014, 32(1): 78-79.
- [5] 修艳芹. 中药半夏的炮制方法及临床应用[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(83): 258-259.
- [6] 黄玉梅, 钟丝, 吴志坚, 等. 生半夏毒性物质基础初步探析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(11): 64-68.
- [7] ZHAI X Y, ZHANG L, LI B T, et al. Discrimination of toxic ingredient between raw and processed *Pinellia ternata* by UPLC/Q-TOF-MS/MS with

principal component analysis and T-test [J]. Chinese herbal medicines, 2019, 11(2): 200-208.

- [8] 王丽, 孙蓉. 与功效、毒性相关的半夏化学成分研究进展[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(5): 101, 17.
- [9] 王依明, 王秋红. 半夏的化学成分、药理作用及毒性研究进展[J]. 中国药房, 2020, 31(21): 2676-2682.
- [10] 竇志华, 许波, 施忠, 等. 大黄蒽醌类成分肝肾毒性和效应物质研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(10): 1214-1217.
- [11] 谷河, 周颖, 李耀磊, 等. 罗布麻叶中肝毒性成分吡咯里西啶生物碱的含量分析及其初步风险评估[J]. 中国药事, 2021, 35(7): 757-762.
- [12] 刘聪, 王丽霞, 杨晓芸, 等. 四制香附炮制前后 UPLC 指纹图谱比较及指标成分含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(15): 76-82.
- [13] 边甜甜, 司昕蕾, 牛江涛, 等. 花椒不同炮制品 GC-MS 指纹图谱与定量分析[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2050-2056.
- [14] 高昌琨, 吴琼, 张陆军. 半夏及炮制品对动物黏膜刺激性比较[J]. 安徽中医学杂志, 2001, 20(6): 49-50.

(上接第 201 页)

- [4] 唐贤明, 刘小霞, 孟凡同, 等. 海马齿和长茎葡萄蕨藻的营养成分分析及评价[J]. 热带生物学报, 2018, 9(2): 129-135.
- [5] 王波, 郑凤荣, 王欣, 等. 长茎葡萄蕨藻和冈村蕨藻的营养成分分析及评价[J]. 营养学报, 2018, 40(5): 515-517.
- [6] 王小兵, 罗蕊琪, 黄勃. 海葡萄蕨藻多糖 ASE 提取工艺研究[J]. 广东农业科学, 2013, 40(16): 104-106.
- [7] ZHANG M J, MA Y R, CHE X Y, et al. Comparative analysis of nutrient composition of *Caulerpa lentillifera* from different regions [J]. J Ocean

Univ China, 2020, 19: 439-445.

- [8] FAO/WHO. Energy and protein requirements [R]. FAO Nutrition Meeting Report Series, 1973.
- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [10] 杨旭昆, 汪禄祥, 叶艳萍, 等. 7 种云南产核桃中 17 种氨基酸含量测定与必需氨基酸模式分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(6): 1889-1894.