

超高效液相色谱-串联三重四极杆串联质谱法 测定细辛中的 4 种马兜铃酸

欧爱芬^{1,2}, 黄嘉乐³, 董杨静², 赵肃清^{1*}

(1. 广东工业大学生物医药学院, 广东广州 511400) (2. 广州城市职业学院食品科学与美食养生学院, 广东广州 510405) (3. 广州检验检测认证集团有限公司, 广东广州 511440)

摘要: 该研究建立了超高效液相色谱-串联三重四极杆串联质谱法 (UPLC-QQQ-MS/MS) 同时测定细辛中 4 种马兜铃酸的分析方法。样品用 70% 甲醇溶解, 通过超声提取, 采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm×1.8 μm) 色谱柱, 以 0.1% 甲酸水溶液-甲醇为流动相梯度洗脱分离, 流速 0.3 mL/min, 柱温 40 °C, 采用电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式扫描, 多反应监测模式 (MRM), 对马兜铃酸 A, 马兜铃酸 B, 马兜铃酸 C, 马兜铃酸 D 进行检测。结果表明马兜铃酸 A, 马兜铃酸 B, 马兜铃酸 C, 马兜铃酸 D 在 4~100 μg/L 浓度范围内线性关系均良好 ($r \geq 0.995$), 检出限分别为 3.00 μg/kg、5.00 μg/kg、25.00 μg/kg、20.00 μg/kg, 加标回收率在 91.97%~106.40% 之间, RSD≤4.24% (n=9)。该方法专属性强, 准确度和精密度高, 线性范围广, 适用于细辛中马兜铃酸 A, 马兜铃酸 B, 马兜铃酸 C, 马兜铃酸 D 四种物质的同时检测, 检测结果表明, 细辛及含细辛的中成药中含有一定量的马兜铃酸 A 和马兜铃酸 D, 均不含有马兜铃酸 B 和马兜铃酸 C, 该数据对细辛日常食用及药用安全、以及细辛类中成药的质量控制提供科学依据。

关键词: 马兜铃酸; 超高效液相色谱-串联质谱法; 细辛

文章编号: 1673-9078(2022)05-296-303

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.5.0788

Determination of Four Aristolochic Acids in Asarum by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-tandem Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry

OU Aifen^{1,2}, HUANG Jiale³, DONG Yangjing², ZHAO Suqing^{1*}

(1.School of Biomedical and Pharmaceutical Sciences, Guangdong University of Technology, Guangzhou 511400, China)
(2.School of Food Science and Dietetics, Guangzhou City Polytechnic, Guangzhou 510405, China)
(3.Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co. Ltd., Guangzhou 511400, China)

Abstract: In this study, an analytical method for the simultaneous determination of four aristolochic acids in asarum by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-QQQ-MS/MS) was established. The samples were dissolved with 70% methanol, extracted ultrasonically, and separated on a Waters ACQUITY UPLC HSST3 chromatographic column (2.1 mm×100 mm×1.8 μm) using 0.1% formic acid in water-methanol as the mobile phase in gradient elution. The flow rate was 0.3 mL/min, and the column temperature was 40 °C. Aristolochic acid A, aristolochic acid B, aristolochic acid C and aristolochic acid D were analyzed using electrospray ionization (ESI), positive ion mode scanning and multiple reaction monitoring mode (MRM). Results showed that aristolochic acid

引文格式:

欧爱芬,黄嘉乐,董杨静,等.超高效液相色谱-串联三重四极杆串联质谱法测定细辛中的 4 种马兜铃酸[J].现代食品科技,2022,38(5): 296-303,+80

OU Aifen, HUANG Jiale, DONG Yangjing, et al. Determination of four aristolochic acids in asarum by ultra-high performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 296-303, +80

收稿日期: 2021-07-24

基金项目: 广州市科技计划项目 (202102080001); 广东大学科技创新战略专项 (pdjh2020b1153); 广东省药品监督管理局科技创新项目 (2021TDZ09; 2021YDZ06)

作者简介: 欧爱芬 (1986-), 女, 博士在读, 讲师, 研究方向: 食品安全, E-mail: ouaifen@gcp.edu.cn

通讯作者: 赵肃清 (1969-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 药物安全, E-mail: sqzhao@gdut.edu.cn

A, aristolochic acid B, aristolochic acid C and aristolochic acid D showed good linear relationships within the concentration range of 4~100 $\mu\text{g/L}$ ($r \geq 0.995$). The detection limits were 3.00 $\mu\text{g/kg}$, 5.00 $\mu\text{g/kg}$, 25.00 $\mu\text{g/kg}$ and 20.00 $\mu\text{g/kg}$, respectively, with the spiked recoveries ranging from 91.97% to 106.40% and $\text{RSD} \leq 4.24\%$ ($n=9$). The method had high specificity, accuracy, precision and wide linear range, and is suitable for simultaneous determination of aristolochic acids A, aristolochic acid B, aristolochic acids C, aristolochic acids D in asarum. The test results show that asarum and asarum-containing Chinese traditional medicine had certain amounts of aristolochic acid A and aristolochic acid D, but did not contain aristolochic acid B and aristolochic acid C. The data provide a scientific basis for safe daily consumption and medicinal use of asarum, and the quality control of asarum-containing Chinese traditional medicines.

Key words: aristolic acids; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; asarum

马兜铃酸是一类硝基菲羧酸, 主要存在于马兜铃科的马兜铃属和细辛属植物中^[1-4]。在我国马兜铃科植物经过炮制解毒入药已有几千年历史, 在南朝时期唐甄所著的《药性论》中, 就有马兜铃的入药记载, 如马兜铃性平, 能主肺气上急, 坐息不得, 主咳逆连连不可止^[5,6]。1964年, 吴松寒^[7]对2例急性肾衰竭的患者进行诊断发现, 均是因为大剂量服用关木通所导致。1992年, 比利时病理医师对两位肾功能不全者的患者研究发现, 他们均在同一家减肥诊所接受减肥治疗, 随后研究人员对他们服用的减肥胶囊进行成分检测, 被证实减肥胶囊种含有马兜铃科植物广防己。同时也从受害者的肾组织种分离出马兜铃-DNA加合物, 该事件被国际医学界关注, 继而对马兜铃酸展开全面研究, 并被称为“马兜铃酸肾病”^[8-10]。2012年国际癌症研究组织将马兜铃酸及含有马兜铃酸的植物被列为一类致癌物^[11,12]。近年, 对多瑙河地区性家族性肾病研究发现, 马兜铃酸随着植物腐烂进入土壤后能够抵制植株中酶体系及土壤微生物对其的分解作用, 被土壤种植的植物吸收而产生富集^[13,14], 因此马兜铃酸不单是一种药源性疾病, 同时还是环境污染所致的食源性疾病。2020年版《中国药典》收录的细辛, 不单作为中药材用于中医, 并且在民间作为一种煲汤食材用于温肺止咳化痰、益气祛风、散寒止痛的食疗方法。

目前马兜铃酸的检测方法主要是色谱, 包括薄层色谱、高相液相色谱、液质联用等, 其中薄层色谱主要用于定性^[15,16]; 高相液相色谱可以用于定性和定量^[17-20], 但是由于中药材成分的复杂性, 在分离过程中很难排除其他成分的干扰, 存在一定的局限性; 液质可以准确地用于定性和定量, 但是目前关于液质检测马兜铃酸的含量, 主要集中在含量较高毒性最强的马兜铃酸 A 上^[21-26]。随着对马兜铃酸结构进一步研究后发现, 马兜铃酸主要结构除了马兜铃酸 A 以外, 还有马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D, 其结构差异主要是甲氧基或者羟基的位置不同^[27]。马兜铃酸的毒性与其结构有关, 硝基是马兜铃酸类衍生物中最主要

的毒性基团, 此外羟基的存在可以使马兜铃酸的毒性进一步加强, 其中马兜铃酸 A 的毒性最强, 马兜铃酸 B 也具有一定毒性, 而其他成分的肾毒性和致癌性差异尚不明确^[28]。因此建立同时测定马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D 的液质方法, 并对目前市售细辛及含有细辛的 8 种中成药中四种马兜铃酸含量进行分析, 对细辛的食用及药用安全, 以及含细辛中成药的质量控制具有重要意义。

超高相液相色谱 (UPLC) 相对于高效液相色谱, 其可以在工作压力超过 6000 psi 或工作温度超过环境温度下应用, 可以使用填充颗粒更小的色谱柱, 不仅可以实现更高的分辨率, 同时还能缩短整体的分析时间。质谱分析具有灵敏度高, 准确性好, 定性和定量能同时准确检测等优点。三重四级杆质谱仪利用母离子和子离子的共同特征, 定量选择性好。因此, 本文建立了同时快速测定中药材中马兜铃酸 A、B、C、D 四种物质的超高相液相色谱串联三重四级杆质谱法 (UPLC-QQQ-MS/MS), 并对 9 个样品中四种物质的含量进行测定。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甲醇、甲酸, 均为色谱纯, 德国 Merck 公司; 马兜铃酸 A (CAS: 313-67-7), 罗恩试剂; 马兜铃酸 B (CAS: 475-80-9)、马兜铃酸 C (CAS: 4849-90-5)、马兜铃酸 D (CAS: 17413-38-6) 标准品均购于中国广州测试中心; 9 种试验用药, 市售。

岛津 LC-30A 超高效液相色谱仪, 日本岛津; 高效液相色谱-串联质谱仪, 美国 AB Sciex 公司; AB Sciex 5500 三重四级杆质谱仪, (配备电喷雾离子源 (ESI), software version: Analyst.7.1), 美国 AB SCIEX 公司; 十万分之一电子天平, 美国梅特勒公司; 高速台式冷冻离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 涡漩振荡仪, 德国 IKA 公司; 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱条件

表1 流动相梯度洗脱程序表

Table 1 Mobile phase gradient elution program

时间/min	甲醇/%	0.1%甲酸水/%
1.0	45.0	55.0
3.0	75.0	25.0
5.0	75.0	25.0
6.0	45.0	55.0
7.0	45.0	55.0

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1

mm×100 mm×1.8 μm); 流动相: 甲醇, 含 0.1%甲酸水溶液, 梯度洗脱。梯度洗脱参数见表 1; 流速: 0.3 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样体积: 5 μL。

1.2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源 (ESI+源); 检测方式: 多反应监测 (MRM); 扫描方式: 正离子模式扫描^[29]; 气帘气 (CUR): 30 μL/min; 离子化电压 (IS): 5500 V; 离子源温度 (TEM): 550 °C; 喷雾器 (GS1): 50 psi; 辅助加热器 (GS2): 50 psi; 碰撞气 (CAD): 9 psi; 碰撞池入口电压 (EP): 10 V; 碰撞池出口电压 (CXP): 13 V; 倍增光电压 (CEM): 2100 V; 采用多反应监测 (MRM) 模式采集数据, 质谱参数见表 2。

表2 马兜铃酸 A、B、C、D 质谱分析参数

Table 2 The MS condition for determination of four aristolochic acids

化合物	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/V
马兜铃酸 A	4.26	359.100	298.100*	65	16
		[M+H] ⁺	324.100	65	20
马兜铃酸 B	4.06	329.000	294.100*	65	20
		[M+H] ⁺	268.000	65	18
马兜铃酸 C	2.66	345.200	282.000*	60	23
		[M+H] ⁺	310.000	60	23
马兜铃酸 D	3.03	375.000	297.000*	65	43
		[M+H] ⁺	312.000	65	23

注: *定量离子对。质谱条件仅供参考, 当采用不同质谱仪器时, 仪器参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化到最佳。

1.2.3 对照品溶液的制备

(1) 标准储备液: 精密称取马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D 各 0.0050 g (精确至 0.00001 g), 置于 100.00 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 50.00 mg/L 标准储备液, 4 °C 保存。

(2) 混合标准中间液: 分别准确量取 0.20 mL 马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D 上述标准储备液, 置于 10.00 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D 浓度为 1.00 μg/mL 的混合标准中间液, 4 °C 保存。

(3) 混合标准工作液: 准确吸取 4 种马兜铃酸标准中间液 4.00、20.00、40.00、60.00、80.00、100.00 μL, 分别用 70% 甲醇水定容至 1.00 mL, 配制得到 4.00、20.00、40.00、60.00、80.00、100.00 μg/L 系列浓度标准工作曲线。临用前配制。

1.2.4 样品溶液的制备

(1) 液体试样: 选取 10 支混合均匀, 精密量取 1.00 mL 液, 置于 50.00 mL 容量瓶中, 用 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 超声 30 min, 放冷, 用 70% 甲醇定

容至刻度, 用 0.22 μm 有机系滤膜过滤, 作为供试品溶液。

(2) 固体试样: 取 10 片或者适量研磨成粉状后, 精密称取 1.00 g 试样, 置于 50 mL 容量瓶中, 加入 40 mL 70% 甲醇, 超声 30 min, 放冷, 用 70% 甲醇定容至刻度, 用 0.22 μm 有机系滤膜过滤, 作为供试品溶液。

2 结果与讨论

2.1 流动相系统的选择

马兜铃酸 A、B、C、D 是一类硝基菲羧酸, 结构类似, 为了获得四种目标物最好的分离分析效果, 考察了甲醇-0.1 甲酸水溶液、乙腈-0.1 甲酸水溶液以及二氯甲烷-0.1 甲酸水溶液作为流动相进行分析。结果显示, 甲醇和乙腈由于极性大, 具有较好分离效果; 而二氯甲烷极性较小, 无法有效洗脱吸附在色谱柱上的待测物。但是, 考虑到环境污染, 人员健康问题, 最后选用了甲醇作为流动相, 对马兜铃酸类物质进行检测。

2.2 色谱柱的选择

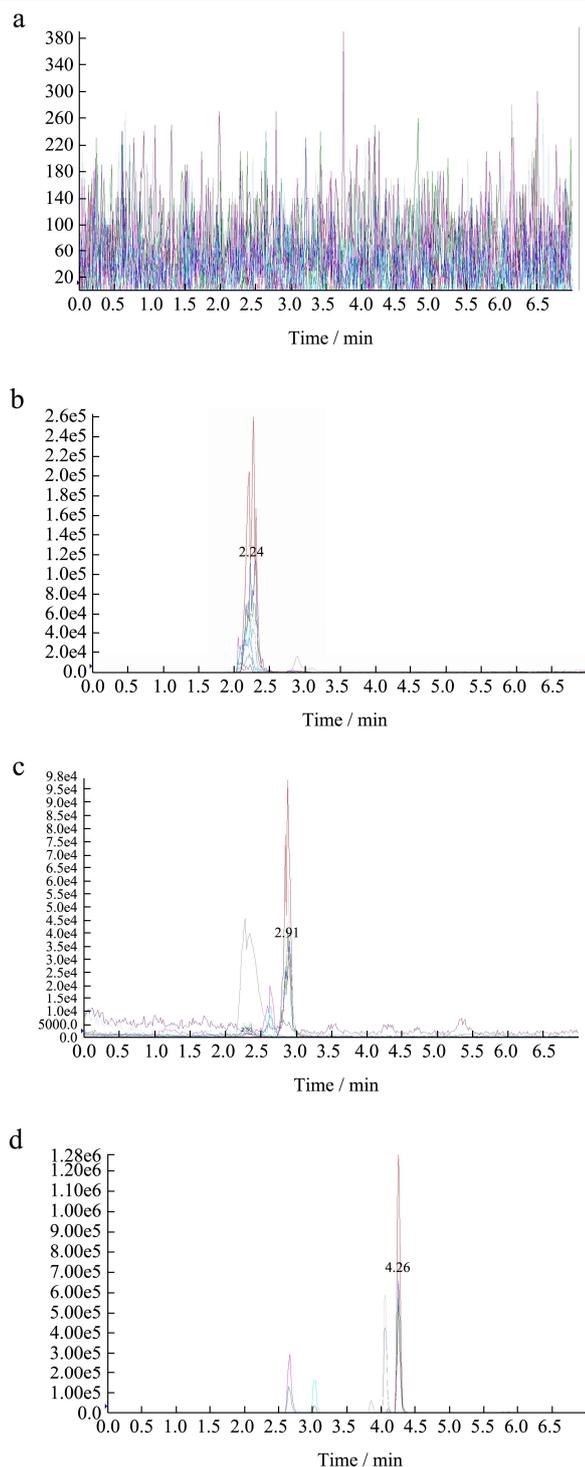


图1 不同色谱柱的总离子流 (TIC) 色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of different chromatographic column

选用了 Welch AQ-C18 (4.6 mm×100 mm, 5 μm)、Phenomenex Luna NH2 (4.6 mm×100 mm, 3 μm)、Phenomenex KinetexC18 (4.6 mm×100 mm, 2.6 μm)、Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm×1.8 μm) 等常用的 4 种液相色谱柱。通过对四种物质的混合标准溶液进行进样分析发现, NH2 柱 (图 1a) 对马兜铃

酸类物质的保留较强, 无法达到预期实验效果; AQ-C18 (图 1b) 柱及 C18 (图 1c) 对马兜铃酸类物质的分离能力较差; T3 (图 1d) 对 4 马兜铃酸类物质的分离效果较理想, 故选用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm×1.8 μm) 作为四种物质的分离色谱柱。

2.3 线性关系

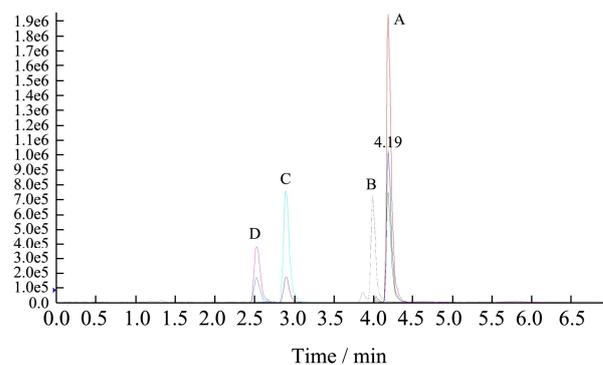
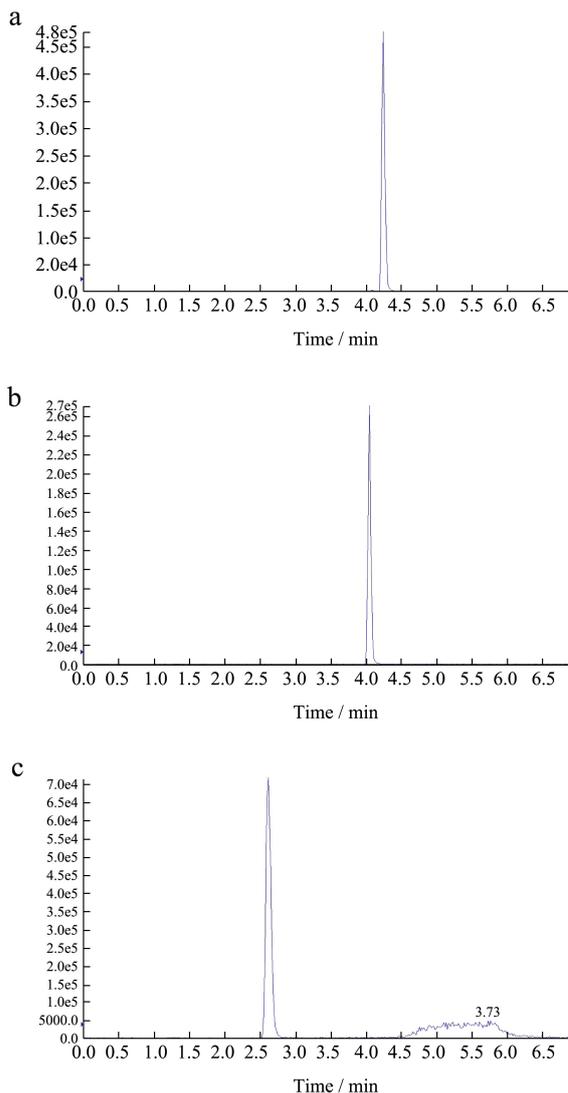


图2 多反应监测总离子流图

Fig.2 Dynamic MRM chromatogram



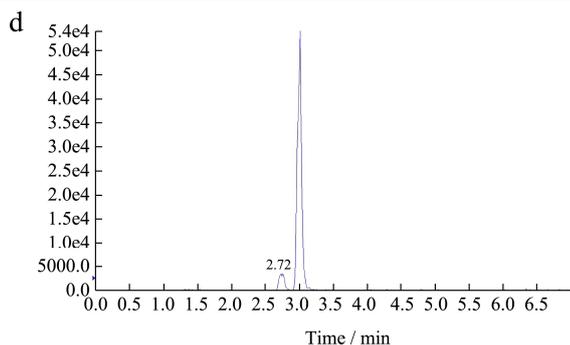


图3 各组分的MRM色谱图

Fig.3 MRM Chromatogram of each component

将 1.2.3 中配制的混合标准工作液在 1.2.1 与 1.2.2 项条件下测定 (图 2、图 3), 出峰的先后顺序依次是马兜铃酸 C、马兜铃酸 D、马兜铃酸 B、马兜铃酸 A, 以标准品溶液的浓度为横坐标, 以色谱峰面积为纵坐标进行线性拟合, 马兜铃酸 A、B、C、D 的线性方程分别为: $y=0.2133x+0.2227$ ($R^2=0.999$); $y=0.0916x+0.0615$ ($R^2=0.9981$); $y=0.0575x+0.0245$ ($R^2=0.999$); $y=0.0081x-0.0079$ ($R^2=0.9967$)。四种物质在 4.00~100.0 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性关系良好, 相关系数均在 0.995 以上。并以信噪比 ($S/N=3$) 来确定马兜铃酸 A、B、C、D 最低检出限, 分别为 3.00、5.00、25.00、20.00 $\mu\text{g/kg}$ 。

2.4 精密度

将浓度为 40 $\mu\text{g/L}$ 混合标准工作液重复进样 6 次进行检测, 结果如表 3。测得马兜铃酸 A、B、C、D 的峰面积 RSD 分别为 1.41%、1.54%、1.73%、1.26%,

表明该仪器精密度良好。

2.5 稳定性

取细辛粉末适量, 按 1.2.4 固体试样制备供试品溶液, 在 0、2、4、8、12、24 h 对样品进行测定^[30], 记录色谱峰面积, 并计算各组分的含量。结果如表 4, 马兜铃酸 B 和马兜铃酸 C 均未检出, 马兜铃酸 A 和马兜铃酸 D 的 RSD 值分别为 1.22%、0.67%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6 重复性

取同一批次细辛药材磨成粉末, 精密称取 6 份, 按 1.2.4 固体试样制备供试品溶液, 并进行测定, 记录色谱峰面积, 并计算各组分的含量。结果如表 5, 马兜铃酸 B 和马兜铃酸 C 均未检出, 马兜铃酸 A 和马兜铃酸 D 的 RSD 值分别为 1.42%、0.31%, 表明该方法重复性好。

2.7 加样回收

取同一批次细辛药材磨成粉末, 精密称取 9 份样品, 加入一定量的混合标准中间液, 配制成高、中、低的加标溶液, 按 1.2.4 制备供试品溶液, 进行测定, 其中马兜铃酸 D 在 1.2.4 的基础上再稀释 10 倍进行测定, 计算其加标回收率及 RSD, 结果如表 6 所示。结果表明, 四种物质的 3 个不同浓度加标回收率均在 91.97%~106.40%之间, RSD 均小于 4.24%, 可满足检测要求。

表 3 精密度实验结果 (n=6)

Table 3 The results of precision (n=6)

化合物	马兜铃酸 A	马兜铃酸 B	马兜铃酸 C	马兜铃酸 D
浓度/ $(\mu\text{g/L})$	39.36	38.21	39.44	39.93
RSD/%	1.41	1.54	1.73	1.26

表 4 稳定性实验结果 (n=6)

Table 4 The results of stability (n=6)

化合物	含量/ $(\mu\text{g/kg})$						RSD/%
	0 h	2 h	4 h	8 h	12 h	24 h	
马兜铃酸 A	859	866	886	858	874	873	1.22
马兜铃酸 B	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/
马兜铃酸 C	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/
马兜铃酸 D	27289	27272	27270	27254	27297	27281	0.67

表 5 重复性实验结果 (n=6)

Table 5 The results of repeatability (n=6)

化合物	马兜铃酸 A	马兜铃酸 B	马兜铃酸 C	马兜铃酸 D
含量/ $(\mu\text{g/kg})$	874	未检出	未检出	27264
RSD/%	1.42	/	/	0.31

表6 加标回收率 (n=9)

Table 6 The results of recovery (n=9)

样品	化合物	本底值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定值/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
马兜铃酸 A		879.0	250	1118	99.03	97.67	4.24
			1000	1748	93.03		
			4000	4926	100.96		
马兜铃酸 B		未检出	250	266	106.40	102.72	3.40
			1000	1023	102.30		
			4000	3978	99.45		
马兜铃酸 C		未检出	250	248	99.20	97.86	3.76
			1000	937	93.70		
			4000	4027	100.68		
马兜铃酸 D		27279	5000	31849	98.67	95.59	3.54
			10000	35834	96.12		
			20000	43483	91.97		

表7 9种中药材的检测结果

Table 7 Test results of 9 kinds of Chinese medicinal materials samples ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{g}/\text{kg}$, n=3)

样品	检测物质			
	马兜铃酸 A	马兜铃酸 B	马兜铃酸 C	马兜铃酸 D
细辛	879.0 \pm 1.23	未检出	未检出	27279 \pm 3.23
消肿止痛酊	未检出	未检出	未检出	139.8 \pm 1.34
九味羌活丸	24.65 \pm 0.34	未检出	未检出	49.06 \pm 1.23
追风透骨丸	161.8 \pm 2.64	未检出	未检出	778.9 \pm 4.12
万通筋骨片	61.78 \pm 1.54	未检出	未检出	563.0 \pm 3.67
养血清脑颗粒	796.3 \pm 3.34	未检出	未检出	275.9 \pm 1.45
辛岑颗粒	未检出	未检出	未检出	54.17 \pm 0.67
感特灵胶囊	52.93 \pm 1.31	未检出	未检出	587.9 \pm 2.43
复方南星止痛膏	26.44 \pm 0.98	未检出	未检出	460.0 \pm 4.21

2.8 样品测定

精密称取适量样品,按 1.2.4 制备供试品溶液,用外表法计算四种物质的含量,结果见表 7。从结果可以看出含有细辛及细辛类中成药中除了含有马兜铃酸 A 还有一定的马兜铃酸 D,且都不含有马兜铃酸 B 及马兜铃酸 C,细辛中成药中马兜铃酸 A 和马兜铃酸 D 两种成分的含量均低于细辛原材料。

3 结论

3.1 本文建立了超高相液相色谱串联三重四级杆质谱法,用于同时测定样品中四种马兜铃酸(马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D)含量,在 4~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度范围内线性关系均良好($r\geq 0.995$),检出限分别为 3.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、25.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、20.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$,加样回收率在 91.97%~106.40%之间, $RSD\leq 4.24\%$ (n=9)。该方法专属性强,准确度和精密

度高,线性范围广,适用于样品中四种马兜铃酸的同时检测。并用该方法对目前市售的细辛及 8 个含细辛中成药进行了这四个成分的含量测定,细辛及 8 个含细辛的中成药均含有不同程度的马兜铃酸 A 或马兜铃酸 D,均未检出马兜铃酸 B 和马兜铃酸 C。同时细辛中成药中马兜铃酸 A 和马兜铃酸 D 的含量均低于细辛药材,且细辛及细辛中成药中马兜铃酸 A 的含量均低于《中国药典》规定的每克含量不得超过 0.001%,符合安全使用标准。2007 年,李伟等^[31]对细辛及养血清脑颗粒中马兜铃酸 A 进行测定,发现细辛中含有微量的马兜铃酸 A,而以细辛为原料的养血清脑颗粒中却没有检测到马兜铃酸 A,因为中成药在配伍和提取制剂过程中具有减毒增效的作用。2017 年,李功辉等^[32]采用 UPLC-QQQ-MS 对不同药材中的马兜铃酸 A 进行测定,其中细辛类药材中马兜铃酸 A 的含量均小于 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

3.2 目前从马兜铃科植物中提取的含马兜铃酸类结

果的化合物有 160 多个,最基本的结构有马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C、马兜铃酸 D 四种,在细辛及含细辛的中成药中除了检出马兜铃酸 A 外,还含有一定量的马兜铃酸 D。2018 年,丁慧等^[33]采用 UPLC-MS/MS 对天仙藤、青木香、马兜铃、寻骨风、朱砂莲五种药材中的四种马兜铃酸含量进行测定,结果显示四种物质在五种药材中的含量有较大的差别。这提示我们在研究细辛类中药材在食用及药用的安全性时,不能只关注马兜铃酸 A,还应该关注马兜铃酸 D。

参考文献

- [1] 俞凯祎,徐志超,宋经元.含马兜铃酸中药及其检测研究进展[J].中国科学:生命科学,2019,49(3):238-249
YUN Kaiyi, XU Zhichao, SONG Jingyuan. Traditional Chinese medicine containing aristolochic acids and their detection [J]. Science China Life Sciences, 2019, 49(3): 238-249
- [2] 时丽芳.基于信息计量学的国内外马兜铃酸研究状况分析及预测[D].太原:山西医科大学,2018
SHI Lifang. Analysis and prediction of research status of aristolochic acid at home and abroad based on information metrics [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2018
- [3] 宋亚刚,苗艳艳,苗明三.含马兜铃酸中药毒性分析[J].中华中医药杂志,2018,33(5):1950-1954
SONG Yagang, MIAO Yanyan, MIAO Mingsan. Analysis on toxicity of traditional Chinese medicine containing aristolochic acid [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2018, 33(5): 1950-1954
- [4] 周跃华,周娟,黄莎莎,等.部分马兜铃科药材中马兜铃酸 A 的含量测定研究[J].药物分析杂志,2008,28(7):1075-1080
ZHOU Yuehua, ZHOU Juan, HUANG Shasha, et al. RP-HPLC determination of aristolochic acid A in some Aristolochiaceae Chinese herbal medicine [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008, 28(7): 1075-1080
- [5] 朱国旺.总局新闻发言人介绍含马兜铃酸药品使用安全性情况[J].中国食品药品监管,2017,11:15-16
ZHU Guowang. A spokesman for the general administration introduced the safety of drugs containing aristolochic acid [J]. China Food and Drug Administration, 2017, 11: 15-16
- [6] 朱国旺.回答有关马兜铃酸安全性问题[N].中国中医药报,2017-11-01(01)
ZHU Guowang. The safety of aristolochic acid [N]. China Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017-11-01(01)
- [7] 吴松寒.木通所致急性肾功能衰竭二例报告[J].江苏中医,1964,10:12-13
WU Songhan. Report of 2 cases of acute renal failure caused by *Aristolochia manshuriensis* [J]. Jiangsu Journal of Traditional Chinese Medicine, 1964, 10: 12-13
- [8] Ang L P, Ng P W, Lean Y L, et al. Herbal products containing aristolochic acids: a call to revisit the context of safety [J]. Journal of Herbal Medicine, 2021, 28: 100447
- [9] Bojan J, Živka D, Volker M, et al. Balkan endemic nephropathy and the causative role of aristolochic acid [J]. Seminars in Nephrology, 2019, 39(3): 284-296
- [10] 刘湾.中药不良反应病案数据库的建立与分析[D].郑州:河南大学,2015
LIU Wan. Establish and analysis of the research document database of adverse reactions medicine [D]. Zhengzhou: Henan University, 2015
- [11] 褚春晓,朱国福.马兜铃酸肾病研究进展[J].中成药,2020,42(9):2407-2412
CHU Chunxiao, ZHU Guofu. Research progress of aristolochic acid nephropathy [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(9): 2407-2412
- [12] 马红,黄超,王方园,等.马兜铃酸致癌作用的分子毒理学关键点[J].世界科学技术-中医药现代化,2019,21(7):1287-1294
MA Hong, HUANG Chao, WANG Fangyuan, et al. Molecular toxicological key points of carcinogenesis of aristolochic acid [J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2019, 21(7): 1287-1294
- [13] Chan C K, Tung K K, Pavlovic N M, et al. Remediation of aristolochic acid-contaminated soil by an effective advanced oxidation process [J]. Science of the Total Environment, 2020, 720: 137528
- [14] Lavinia P D, Alexandra T L G, Punesco V, et al. Aristolochic acid I: an investigation into the role of food crops contamination, as a potential natural exposure pathway [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2021, 2: 1-16
- [15] 刘玠,笔雪燕,褚利娟,等.TLC 对复方制剂中马兜铃酸限量检查方法学研究[J].现代生物医学进展,2010,10(24):4755-4757
LIU Jie, BI Xueyan, CHU Lijuan, et al. Limit test of aristolochic acid in the compound preparations by thin-layer chromatography [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2010, 10(24): 4755-4757
- [16] 黄蘅.炎见宁片中防己的薄层色谱鉴别[J].中国当代医药,2010,17(24):55-56

- HUANG Heng. Identification of radix *Stephaniae tetrandrae* in Yanjianning tablets by TLC [J]. China Modern Medicine, 2010, 17(24): 55-56
- [17] 刘青芝,王立国,张艳. 辛芩片和不同规格辛芩颗粒中马兜铃酸 A 检查方法的统一[J]. 药学研究, 2018, 37(9): 511-512, 554
- LIU Qingzhi, WANG Ligu, ZHANG Yan. Unifying limit test method for aristolochic acid A in Xinqin tablets and different specifications of Xinqin granules [J]. Journal of Pharmaceutical Research, 2018, 37(9): 511-512, 554
- [18] 邱婧,童达,李瑞莲. HPLC 测定二十五味余甘子丸中的马兜铃酸 I [J]. 华西药理学杂志, 2019, 34(6): 635-637
- QIU Jing, TONG Da, LI Ruilian. Determination of aristolochic acid I in Ershiwuwei Yuganzi pills by HPLC [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2019, 34(6): 635-637
- [19] 侯帅红,李晶晶,韩林涛,等. 细辛不同药用部位马兜铃酸的含量测定[J]. 湖北中医药大学学报, 2018, 20(6): 42-44
- HOU Shuaihong, LI Jingjing, HAN lintao, et al. Determination of aspartic acid in different medicinal parts of asarum [J]. Journal of Hubei University of Chinese Medicine, 2018, 20(6): 42-44
- [20] 王莉萍,官炜,邓小晨. HPLC 法同时测定龙胆泻肝丸中 10 个成分的含量[J]. 中药材, 2018, 41(8): 1923-1925
- WANG Liping, GUAN Wei, DENG Xiaochen. Simultaneous determination of 10 components in Longdanxiegan pills by HPLC [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2018, 41(8): 1923-1925
- [21] Chi K Ch, Guanrui P, Wan Ch. Analysis of aristolochic acids in *Houttuynia cordata* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2021, 56(4): e4652-e4652
- [22] Zhang J H, Wang Y N, Sun J, et al. QuEChERS pretreatment combined with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determination of aristolochic acids I and II in Chinese herbal patent medicines [J]. RSC Advances, 2020, 10(42): 25319-25324
- [23] Liu J, Liu Y, Wu Y X, et al. Rapid analysis of aristolochic acid analogues in traditional Chinese patent medicine by LC-MS/MS [J]. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2020, 2020: ID8823596
- [24] 陈奕君,王伟,肖红斌. 基于液相色谱-质谱联用的清肺排毒汤中痕量马兜铃酸 I 的监测及定量分析[J]. 药理学报, 2020, 55(8): 1903-1907
- CHEN Yijun, WANG Wei, XIAO Hongbin. Monitoring and quantitative analysis of trace aristolochic acid I in a Qing-Fei-Pai-Du decoction using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2020, 55(8): 1903-1907
- [25] 梁晟,杨青,李瑞莲,王银红. UPLC-MS/MS 法测定 13 种中成药中的马兜铃酸 A [J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(1): 78-81
- LIANG Sheng, YANG Qing, LI Ruilian, et al. Determination of aristolochic acid A in 13 kinds of traditional Chinese patent medicines by UPLC-MS/MS [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 35(1): 78-81
- [26] 于巧红,郭晓,王萌,等. 17 种市售中成药中马兜铃酸 A 的生物药剂学分类研究[J]. 中成药, 2020, 42(6): 1596-1599
- YU Qiaohong, GUO Xiao, WANG Meng, et al. Study on biopharmaceutics classification of aristolochic acid an in 17 kinds of proprietary Chinese medicines sold in the market [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2020, 42(6): 1596-1599
- [27] 陈淑桢,董亚萍,文文,等. 马兜铃酸肝脏致癌性争议及药物安全性思考[J]. 第二军医大学学报, 2021, 42(1): 1-7
- CHEN Shuzhen, DONG Yaping, WEN Wen, et al. Liver carcinogenicity caused by aristolochic acids: controversy and drug safety [J]. Academic Journal of Second Military Medical University, 2021, 42(1): 1-7
- [28] 刘静,郭日新,戴忠,等. 马兜铃酸类成分研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(7): 1280-1286
- LIU Jing, GUO Rixin, DAI Zhong, et al. Research progress on aristolochic acids [J]. World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, 2019, 21(7): 1280-1286
- [29] 陈振贺,滨田尚树. 马兜铃酸和/或马兜铃内酰胺的分析方法[P]. 上海市: CN112432990A, 2021-03-02
- CHEN Zhenhe, BINTIAN Shangshu. Analytical methods of aristolochic acid /aristolochic lactam [P]. Shanghai: CN112432990A, 2021-03-02
- [30] 黄群,徐刚,杨改红,等. 一测多评法测定马兜铃中 4 个马兜铃酸类成分含量[J]. 中药材, 2014, 37(9): 1616-1619
- HUANG Qun, XU Gang, YANG Gaihong, et al. Determination of four aristolochic acids in aristolochia by quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2014, 37(9): 1616-1619

(下转第 80 页)