

· 中药工业 ·

液质联用法测定鹭鸶咯丸中马兜铃酸类成分[△]谭乐俊¹, 于新兰², 林林¹, 于凤蕊¹, 牛艳¹, 林永强^{1*}, 戴忠^{3*}

1. 山东省食品药品检验研究院 国家药品监督管理局胶类产品质量评价重点实验室/山东省中药标准创新与质量评价工程实验室/中药配方颗粒共性技术山东省工程研究中心, 山东 济南 250101;

2. 新疆维吾尔自治区药品检验研究院, 新疆 乌鲁木齐 830002;

3. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

[摘要] 目的: 为明确鹭鸶咯丸是否含有马兜铃酸 I 等马兜铃酸类成分, 建立其马兜铃酸类成分的液质联用检测分析方法。方法: 采用岛津 Shim-pack Velox C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm), 以甲醇-0.1% 甲酸溶液 (含 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵) 为流动相梯度洗脱; 电喷雾正离子模式 (ESI⁺), 多反应监测 (MRM) 模式, 对鹭鸶咯丸中 7 个马兜铃酸类成分进行初步筛查, 并建立 3 个马兜铃酸成分的液质联用检测方法。结果: 15 批鹭鸶咯丸样品中检出马兜铃酸 I (0.003~0.011 μg·g⁻¹)、马兜铃酸 IV a (0.169~0.260 μg·g⁻¹) 和马兜铃内酰胺 I (0.036~0.169 μg·g⁻¹), 进样量在相应范围内线性关系良好 ($r \geq 0.9999$), 平均加样回收率分别为 96.1% (RSD 为 1.63%)、99.4% (RSD 为 1.27%)、96.4% (RSD 为 2.98%), 精密度及方法重复性均良好。结论: 所建立的方法准确、灵敏、可靠, 可用于鹭鸶咯丸中 7 个马兜铃酸类成分的筛查, 且可用于上述 3 个马兜铃酸成分的分析, 可为鹭鸶咯丸的质量控制及其安全使用提供参考。

[关键词] 鹭鸶咯丸; 液质联用; 马兜铃酸 I; 马兜铃酸 IV a; 马兜铃内酰胺 I; 安全性**[中图分类号]** R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)09-1985-07**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20221228002**Determination of Aristolochic Acids in Lusika Pills by Liquid Chromatography-mass Spectrometry**TAN Le-jun¹, YU Xin-lan², LIN Lin¹, YU Feng-rui¹, NIU Yan¹, LIN Yong-qiang^{1*}, DAI Zhong^{3*}

1. Shandong Provincial Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Gelatin Products, Shandong Engineering Laboratory for Standard Innovation and Quality Evaluation of TCM, Shandong Engineering Research Center of Generic Technologies for Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Jinan 250101, China;

2. Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Drug Control, Urumqi 830002, China;

3. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of aristolochic acids including aristolochic acid I in Lusika Pills with liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). **Methods:** Shimadzu Shim-pack Velox C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) was used for the gradient elution with methanol-0.1% formic acid solution (containing 5 mmol·L⁻¹ ammonium formate) as the mobile phase. The electrospray ionization in positive ion mode (ESI⁺) and multiple-reaction monitoring (MRM) mode were used for initially screening of 7 aristolochic acids. Furthermore, the LC-MS method was established to detect 3 aristolochic acids. **Results:** Aristolochic acid I (0.003-0.011 μg·g⁻¹), aristolochic acid IV a (0.169-0.260 μg·g⁻¹), and aristololactam I (0.036-0.169 μg·g⁻¹) were detected in all the 15 batches of samples. The established method showed good linearity within the corresponding range ($r \geq 0.9999$). The average recovery of the three components was 96.1% (RSD of 1.63%), 99.4% (RSD of 1.27%), and 96.4% (RSD of 2.98%), respectively. The established method

[△] **[基金项目]** 山东省重点研发计划重大科技创新工程项目 (2021CXGC010511); 山东省重点研发计划项目 (2020RKB24001); 山东省人文社会科学课题 (2021-YYGL-44)

* **[通信作者]** 林永强, 主任药师, 研究方向: 药品质量评价和质量标准; Tel: 0531-81216521, E-mail: 13864067104@163.com
戴忠, 研究员, 研究方向: 中药质量控制; Tel: 010-67095268, E-mail: daizhong@nifdc.org.cn

showed good precision and repeatability. **Conclusion:** The established method is accurate, sensitive, and reliable and can be applied to the screening of aristolochic acids and determination of the above three components in Lusika Pills. The findings can provide a scientific basis for the quality control and safe application of Lusika Pills.

[Keywords] Lusika Pills; liquid chromatography-mass spectrometry; aristolochic acid I; aristolochic acid IV a; aristololactam I; safety

鹭鸶咯丸是由麻黄、苦杏仁、石膏、甘草、细辛、炒紫苏子、炒芥子、炒牛蒡子、瓜蒌皮、射干、青黛、蛤壳、天花粉、炙栀子和人工牛黄15味中药组成的中药复方制剂,具有宣肺、化痰、止咳的功效,用于痰浊阻肺所致的顿咳、咳嗽,症见咳嗽阵作、痰鸣气促、咽干声哑;百日咳见上述证候者^[1]。

鹭鸶咯丸处方中含有辛温解表药细辛,研究表明细辛中含有痕量的马兜铃酸类成分^[2-7]。马兜铃酸类成分是一系列结构类似的确基菲类化合物,包括马兜铃酸和马兜铃内酰胺2种结构类型,天然存在于马兜铃属(*Aristolochia*)及细辛属(*Asarum*)等马兜铃科植物中。自1993年马兜铃酸肾毒性报道以来,马兜铃酸安全性问题一直备受关注。目前,国内外已有大量研究证实,马兜铃酸具有肾毒性、致癌和致突变作用^[8-12]。2008年,国际癌症研究机构将马兜铃酸列为I类致癌物,并于2012年将含有马兜铃酸的植物列为I类致癌物^[13-15]。因此,我国也相继采取了一系列控制风险的措施,将细辛药用部位由全草修改为根和根茎,且《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020年版对细辛中马兜铃酸I的限度(<0.001%)做了规定^[1]。

鉴于马兜铃酸类成分对人体的严重危害性,确定鹭鸶咯丸中是否含有毒性成分马兜铃酸I等马兜铃酸类成分,进一步加强鹭鸶咯丸的风险评估至关重要。本研究建立了基于多反应监测(MRM)的液质联用检测方法,同时快速筛查鹭鸶咯丸中是否含有马兜铃酸I、马兜铃酸II、马兜铃酸IIIa、马兜铃酸IVa、马兜铃酸VIIa、马兜铃内酰胺I和马兜铃内酰胺BII 7个马兜铃酸类成分,并快速准确测定马兜铃酸I、马兜铃酸IVa和马兜铃内酰胺I 3个成分的含量,为其安全性研究提供参考,也为其他含细辛中成药中马兜铃酸类成分的检测提供技术参考。

1 材料

1.1 仪器

LCMS-8050型三重四级杆液相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司);CP225D型十万分之一电子天平

(德国Sartorius公司);KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);FW100型高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)

1.2 试药

对照品马兜铃酸I(中国食品药品检定研究院,批号:110746-201912,纯度:99.1%);马兜铃酸II(批号:P13J10F90613,纯度:99.4%)、马兜铃酸VIIa(批号:Z02S11S123212,纯度:99.2%)、马兜铃内酰胺I(批号:P27N10S104067,纯度:98.4%)均购自上海源叶生物科技有限公司;马兜铃酸IIIa(批号:ZZS-20-190-A6,纯度:99.73%)、马兜铃酸IVa(批号:ZZS-20-602-A6,纯度:98.15%)、马兜铃内酰胺BII(批号:ZZS-20-190-A6,纯度:97.0%)均购自上海甄准生物科技有限公司;甲醇、甲酸、甲酸铵均为色谱纯。

鹭鸶咯丸共15批,涉及2家生产企业(A、B)的15批样品(编号分别为A001~A013, B001、B002)。

2 方法与结果

2.1 超高效液相色谱-质谱法(UPLC-MS/MS)分析条件

2.1.1 色谱条件 采用岛津Shim-pack Velox C₁₈色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm),以甲醇(A)-0.1%甲酸溶液(含5 mmol·L⁻¹甲酸铵, B)为流动相梯度洗脱(0~5 min, 36%~50%A; 5~11 min, 50%~70%A; 11~13 min, 70%A);流速为0.3 mL·min⁻¹;进样量为2 μL。

2.1.2 质谱条件 采用质谱检测器,电喷雾正离子模式(ESI⁺),进行MRM;接口温度:300 °C;脱溶剂温度:520 °C;加热气流量:10 L·min⁻¹。7个马兜铃酸类成分的质谱参数见表1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 7个成分混合对照品溶液的制备 分别精密称取马兜铃酸I、马兜铃酸II、马兜铃酸IIIa、马兜铃酸IVa、马兜铃酸VIIa、马兜铃内酰胺I和马兜铃

表1 鹭鸶咯丸中7个马兜铃酸类成分的监测离子对及碰撞电压

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	第一级四极杆电压 ($Q1$) /V	碰撞电压 (CE) /V	第四级四极杆电压 ($Q3$) /V
马兜铃酸 I	359.0	298.2	-13	-12	-21
		296.2	-13	-14	-15
马兜铃酸 II	329.0	268.1	-22	-11	-29
		293.9	-22	-12	-21
马兜铃酸 III a	345.0	284.1	-12	-12	-20
		282.0	-13	-15	-20
马兜铃酸 IV a	375.0	312.1	-13	-16	-22
		297.0	-10	-34	-21
马兜铃酸 VII a	375.0	314.1	-25	-12	-23
		340.0	-13	-14	-25
马兜铃内酰胺 I	294.9	279.6	-20	-27	-19
		251.0	-20	-36	-18
马兜铃内酰胺 B II	280.0	264.0	-20	-25	-20
		219.1	-10	-30	-24

内酰胺 B II 对照品适量, 加 70% 甲醇制成质量浓度为 $20 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合溶液, 即得。

2.2.2 对照品储备液的制备 精密称取对照品马兜铃酸 IV a、马兜铃酸 I、马兜铃内酰胺 I 9.33、19.90、18.24 mg, 分别置 100、500、250 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得到相应的对照品储备液, 质量浓度分别为 91.58、39.44、71.79 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.3 3个成分混合对照品溶液的制备 分别精密量取马兜铃酸 IV a、马兜铃酸 I 和马兜铃内酰胺 I 对照品储备液 20、5、10 μL , 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

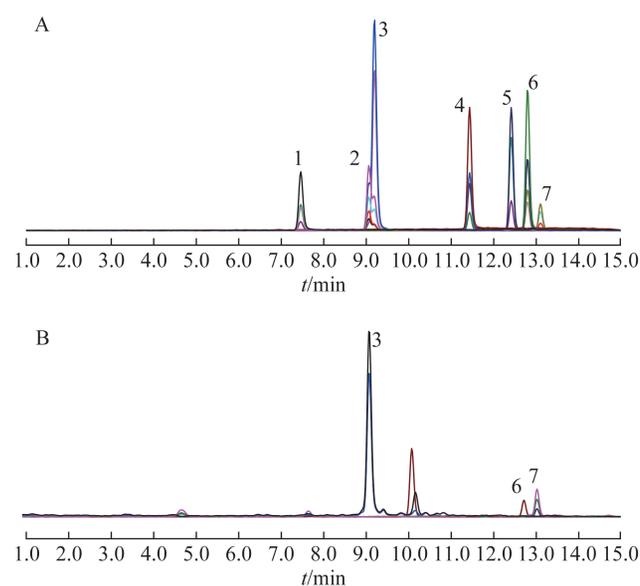
2.2.4 供试品溶液的制备 取本品 15 g, 加硅藻土 7.5 g, 研细, 混匀, 取 6 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (250 W, 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.5 阴性样品溶液的制备 取处方中除去细辛的其他药味, 按处方比例制成缺细辛阴性样品, 按 2.2.4 项下方法制得缺细辛阴性样品溶液。

2.3 马兜铃酸类成分的筛查

分别精密吸取 7 个成分混合对照品溶液与 15 批供试品溶液各 2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 按 2.1 项下条件进行测定。结果收集到的 15 批鹭鸶咯丸中未检出马兜铃酸 II、马兜铃酸 III a、马兜

铃酸 VII a 和马兜铃内酰胺 B II, 检出马兜铃酸 I、马兜铃酸 IV a 和马兜铃内酰胺 I (图 1)。

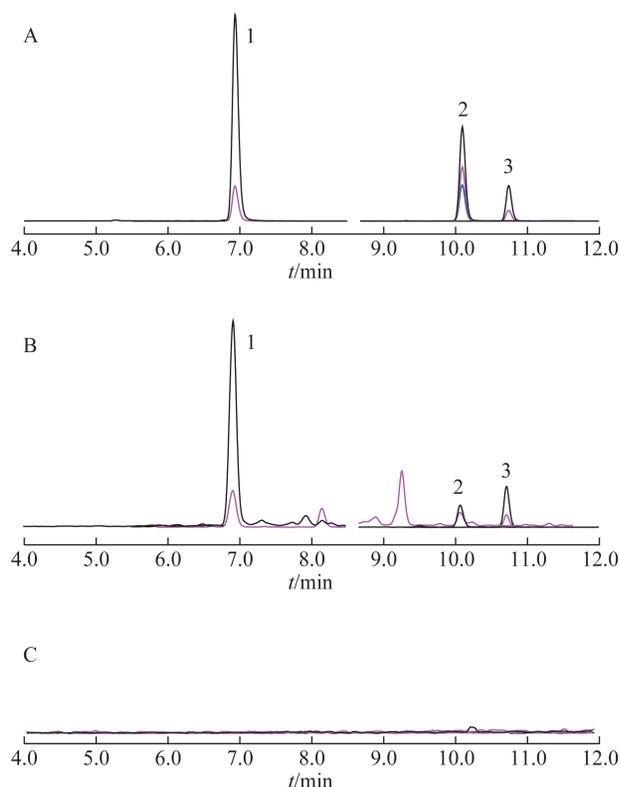


注: A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 马兜铃酸 III a; 2. 马兜铃酸 VII a; 3. 马兜铃酸 IV a; 4. 马兜铃酸 II; 5. 马兜铃内酰胺 B II; 6. 马兜铃酸 I; 7. 马兜铃内酰胺 I。

图1 混合对照品和鹭鸶咯丸 MRM 色谱图

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性考察 分别精密吸取 2.2 项下的混合对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 进行测定。结果供试品色谱中, 在与对照品色谱保留时间相同的位置上, 有相应色谱峰, 而阴性样品色谱中无相应色谱峰。说明处方中其他药味对测定结果无干扰 (图 2)。



注: A. 对照品; B. 鹭鸶咯丸; C. 阴性样品; 1. 马兜铃酸IVa; 2. 马兜铃酸I; 3. 马兜铃内酰胺I。

图2 鹭鸶咯丸专属性MRM色谱图

2.4.2 线性关系考察 分别精密量取2.2项下的马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I对照品储备液20、10、20 μL , 置10 mL量瓶中, 加70%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得到对照品浓溶液; 分别精密量取对照品浓溶液10、20、50、100、200、500、1000 μL , 置1 mL量瓶中, 加70%甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得到3个成分的系列质量浓度对照品溶液。分别精密吸取上述系列质量浓度对照品溶液各2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 测定峰面积积分值。以对照品进样量为横坐标(X), 峰面积积分值为纵坐标(Y), 进行线性回归, 回归方程分别为马兜铃酸IVa: $Y=14\ 022X+6771$ ($r=1.000\ 0$), 进样量为1.83~183.15 μg 时与峰面积线性关系良好; 马兜铃酸I: $Y=28\ 875X-2158$ ($r=0.999\ 9$), 进样量为0.39~39.44 μg 时与峰面积线性关系良好; 马兜铃内酰胺I: $Y=2882X-803$ ($r=0.999\ 9$), 进样量为1.44~143.59 μg 时与峰面积线性关系良好。

2.4.3 检测限(LOD)和定量限(LOQ) 当马兜铃酸IVa、马兜铃酸I、马兜铃内酰胺I质量浓度分别为0.18、0.20、0.72 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 3个成分的信

噪比(S/N)约为3, 计算出3个成分的LOD分别为1、1、4 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

当马兜铃酸IVa、马兜铃酸I、马兜铃内酰胺I质量浓度分别为0.46、0.39、2.86 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 3个成分的S/N约为10, 计算出3个成分的LOQ分别为3、2、18 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

2.4.4 基质效应考察 分别精密量取2.2项下马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I对照品储备液20、5、10 μL , 置10 mL量瓶中, 加阴性样品溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得到阴性加标溶液。

分别精密吸取2.2项下混合对照品溶液和以上阴性加标溶液各2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 按2.1项下条件进行测定。综合3个待测成分的检测结果, 溶剂加标响应与基质加标响应的比值(基质效应)均为90%~110%, 表明基质基本无影响, 可以采用溶剂配制对照品溶液用于检测。

2.4.5 精密度试验 精密吸取2.2项下的马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I混合对照品溶液2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 连续进样6次, 测其峰面积积分值, 马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I峰面积的RSD分别为1.02%、1.67%、1.66%, 表明仪器精密度良好。

2.4.6 重复性试验 按照2.2.4项下方法, 平行制备6份供试品溶液, 分别精密吸取2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 测定。马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I含量的RSD分别为0.68%、0.01%、1.04%。表明该方法的重复性良好。

2.4.7 加样回收率试验 精密称取已测知马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I含量的鹭鸶咯丸样品(A012)15 g, 加硅藻土7.5 g, 研细, 混匀, 取3 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入等量的马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I对照品溶液, 按2.2.4项下方法平行制备6份供试品溶液, 分别精密吸取2 μL , 注入液相色谱-质谱联用仪, 测定。结果马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I的平均回收率分别为99.4% (RSD为1.27%)、96.1% (RSD为1.63%)、96.4% (RSD为2.98%), 表明该测定方法的准确性良好(表2)。

2.4.8 稳定性试验 取2.4.6项下同一份供试品溶液, 分别于0、5、10、15、20、25 h测定3个成分的峰面积积分值, 结果马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I峰面积的RSD分别为1.46%、2.43%、

表2 马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I的加样回收率试验结果

成分	取样量/g	样品中含量/ng	对照品加入量/ng	测得量/ng	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
马兜铃酸IVa	2.044 2	0.445 6	0.458 0	0.906 7	100.68	99.4	1.27
	1.999 8	0.436 0	0.458 0	0.894 1	100.02		
	2.004 2	0.436 9	0.458 0	0.881 4	97.05		
	2.030 2	0.442 6	0.458 0	0.900 2	99.91		
	2.001 4	0.436 3	0.458 0	0.890 5	99.17		
	2.003 0	0.436 7	0.458 0	0.893 0	99.63		
马兜铃酸I	2.044 2	0.020 4	0.023 7	0.042 8	94.51	96.1	1.63
	1.999 8	0.020 0	0.023 7	0.042 9	96.62		
	2.004 2	0.020 0	0.023 7	0.042 4	94.51		
	2.030 2	0.020 3	0.023 7	0.043 1	96.20		
	2.001 4	0.020 0	0.023 7	0.043 4	98.73		
	2.003 0	0.020 0	0.023 7	0.042 8	96.20		
马兜铃内酰胺I	2.044 2	0.351 6	0.323 1	0.651 9	92.94	96.4	2.98
	1.999 8	0.344 0	0.323 1	0.655 4	96.38		
	2.004 2	0.344 7	0.323 1	0.661 7	98.11		
	2.030 2	0.349 2	0.323 1	0.671 9	99.88		
	2.001 4	0.344 2	0.323 1	0.661 0	98.05		
	2.003 0	0.344 5	0.323 1	0.645 0	93.01		

2.23%，表明供试品溶液在25 h内稳定性良好。

2.5 样品测定

15批鹭鸶咯丸样品分别按2.2.4项下方法制备供试品溶液，按2.1项下条件进样测定，结果A厂家样品均检出马兜铃酸IVa、马兜铃酸I和马兜铃内酰胺I，B厂家样品未检出马兜铃酸I。马兜铃酸IVa质量分数为0.17~0.26 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (A001~A013、B001、B002)、马兜铃酸I质量分数为0~0.01 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (A001~A013)、马兜铃内酰胺I质量分数为0.04~0.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (A001~A013、B001、B002)，见表3。

3 讨论

3.1 检测方法的选择

鹭鸶咯丸由15味中药粉末加炼蜜制成，成分复杂多样，另细辛中马兜铃酸类成分的含量较低^[3,6]，且细辛处方量仅占比1.1%，进而选择灵敏度高、专属性强、基于MRM模式的液质联用技术进行同时检测与分析。

3.2 分析条件的优化

筛选的7个马兜铃酸类成分中马兜铃酸VIIa与马兜铃酸IVa为同分异构体，两者色谱保留行为基本一致，质谱参数优化后定量离子相近，为实现两者的

表3 鹭鸶咯丸中3个马兜铃酸类成分质量分数测定结果 (n=15)

编号	批号	$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$		
		马兜铃酸IVa	马兜铃酸I	马兜铃内酰胺I
A001	20015043	0.19	0.01	0.04
A002	20015044	0.19	0.01	0.04
A003	20015045	0.17	0.01	0.04
A004	20015103	0.19	0.01	0.05
A005	20015104	0.22	0.01	0.05
A006	20015105	0.23	0.01	0.05
A007	20015283	0.17	0.01	0.04
A008	20015284	0.26	0.01	0.07
A009	20015285	0.20	0.01	0.05
A010	20015300	0.21	0.01	0.05
A011	21015348	0.22	0.01	0.13
A012	21015349	0.22	0.01	0.17
A013	21015350	0.19	0.01	0.07
B001	122442	0.26	<LOQ	0.08
B002	122443	0.20	<LOQ	0.08

准确测定，先后分别以乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液（含5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵）为流动相，发现流动相组成对组分的峰形、分离度和灵敏度均有影响。以甲醇-0.1%甲酸水溶液（含5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸铵）为流动相梯度洗脱时待测组分可避免相互干扰，峰形和灵敏度更好，故选择该色谱条件。

3.3 制备方法考察

为保证马兜铃酸类成分能被提取完全,以检出的马兜铃酸Ⅳa、马兜铃酸Ⅰ和马兜铃内酰胺Ⅰ3个马兜铃酸类成分作为指标,对供试品溶液的制备方法进行考察,包括样品的均匀化程度(样品与硅藻土比例1:0、1:0.5、1:1)、不同提取溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇)、不同提取方式和时间(超声15、30、60 min,回流30、60 min)。结果采用样品与硅藻土比例1:0.5,研细,加入70%甲醇超声处理30 min的方法能简便且快速的将鹭鸶咯丸中马兜铃酸Ⅳa、马兜铃酸Ⅰ和马兜铃内酰胺Ⅰ3个马兜铃酸类成分提取完全。

3.4 色谱柱耐用性的考察

本研究在相同的色谱条件下,考察了Thermo Hypersil GOLD C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.9 μm) Shim-pack Velox C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm)和Shiseido CAPCELL CORE C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 2.7 μm) 3个不同品牌色谱柱,结果表明,不同品牌色谱柱对马兜铃酸Ⅳa、马兜铃酸Ⅰ和马兜铃内酰胺Ⅰ3个成分的检测基本无影响,适用范围广。

3.5 样品结果分析

通过初步筛查和表3结果可知,15批样品均未检出马兜铃酸Ⅰ、马兜铃酸Ⅲa、马兜铃酸Ⅶa和马兜铃内酰胺BⅡ,检出马兜铃酸Ⅰ(0~0.01 μg·g⁻¹)、马兜铃酸Ⅳa(0.17~0.26 μg·g⁻¹)和马兜铃内酰胺Ⅰ(0.04~0.13 μg·g⁻¹)。在已发现的马兜铃酸类成分中,因取代基不同使其作用靶标不同,从而毒性差异较大,较明确有肾毒性和潜在致癌性的主要为马兜铃酸Ⅰ和马兜铃酸Ⅱ,马兜铃酸Ⅳa和马兜铃内酰胺Ⅰ均未表现明显毒性^[15-16]。按《中国药典》2020年版(一部)细辛药材中含马兜铃酸Ⅰ的含量限度(0.001%)计算,鹭鸶咯丸中折合马兜铃酸Ⅰ限度为0.055 μg·g⁻¹,全部样品均在安全范围内。由于细辛中马兜铃酸Ⅳa和马兜铃内酰胺Ⅰ的安全风险指数不明确,对其安全性认识局限,无限量标准^[16],故暂不制定鹭鸶咯丸中马兜铃酸Ⅳa和马兜铃内酰胺Ⅰ的限度,后续会对鹭鸶咯丸中这2个指标成分的安全性做进一步研究。

4 结语

本研究采用基于MRM的液质联用技术对鹭鸶

咯丸中痕量马兜铃酸类成分进行了筛查与分析,建立的方法准确、灵敏、可靠,可为鹭鸶咯丸的安全性研究提供基础数据,也可为本品及其他含细辛中成药品种的相关研究提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:1878-1879.
- [2] 薛燕,童湘晖,王峰,等. 细辛饮片中马兜铃酸A痕量检查方法的建立[J]. 药物分析杂志,2010,30(5):842-846.
- [3] 梁晟,杨青,李瑞莲,等. UPLC-MS/MS法测定13种中成药中的马兜铃酸A[J]. 华西药学杂志,2020,35(1):78-81.
- [4] 张翠英,俞捷,刘广学,等. 3种马兜铃酸和2种马兜铃内酰胺在北细辛、华细辛及汉城细辛不同部位的分布及含量分析[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2019,21(7):1295-1305.
- [5] 张晓婉,黄健,宋冬梅,等. 不同年限及不同干燥方法的辽细辛中主要成分的含量测定[J]. 中国现代中药,2018,20(9):1110-1113.
- [6] 朱振兴. 细辛药材不同部位中马兜铃酸A含量的高效液相色谱法测定[J]. 时珍国医国药,2015,26(10):2394-2395.
- [7] 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.
- [8] 曾美怡,李敏民,赵秀文. 关于马兜铃酸类成分的毒性反应[J]. 中药新药与临床药理,1995,6(2):48-50.
- [9] HAN J Y, XIAN Z, ZHANG Y S, et al. Systematic overview of aristolochic acids: Nephrotoxicity, carcinogenicity, and underlying mechanisms [J]. Front Pharmacol,2019,10:648.
- [10] YE J, QIAN Z Z, XUE M, et al. Aristolochic acid I aggravates renal injury by activating the C3a/C3aR complement system [J]. Toxicol Lett, 2019, 312: 118-124.
- [11] MARTÍNEK V, BÁRTA F, HODEK P, et al. Comparison of the oxidation of carcinogenic aristolochic acid I and II by microsomal cytochromes P450 *in vitro*: Experimental and theoretical approaches [J]. Monatsh Chem,2017,148(11):1971-1981.
- [12] 负凯祎,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.
- [13] 朱文静,张立丹,周玥,等. 马兜铃酸及马兜铃科中药临床使用风险差异研究[J]. 中国药物警戒,2022,19(11):1213-1217.
- [14] 高月,肖小河,朱晓新,等. 马兜铃酸的毒性研究及思

- 考[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4049-4053.
- [15] 田婧卓, 刘素彦, 高月, 等. 论含马兜铃酸中药的风险评估、安全用药与科学监管: 马兜铃酸种类不同毒性各异, 检控马兜铃酸 I/II 是关键[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(14): 3693-3700.
- [16] LIU S Y, XIAN Z, ZHAO Y, et al. Quantitative determination and toxicity evaluation of aristolochic acid analogues in *Asarum heterotropoides* F. Schmidt (Xixin) and traditional Chinese patent medicines [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 761593.

(收稿日期: 2022-12-28 编辑: 王笑辉)