

# UPLC-MS/MS 法同时测定复方半夏片中吡咯里西啶生物碱和马兜铃酸的含量及风险评估

谭春梅, 方翠芬, 王娟娟, 董婷, 张琳琳, 郑成, 陈碧莲\* (浙江省食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中成药质量评价重点实验室, 杭州 310052)

**摘要:**目的 建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)联用同时测定复方半夏片中3个吡咯里西啶生物碱和5个马兜铃酸的测定方法,并进行初步的风险评估。方法 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),以甲醇-乙腈(1:1)的混合溶液为流动相A,以含体积分数0.1%甲酸溶液和5 mmol · L<sup>-1</sup>甲酸铵为流动相B,梯度洗脱,流速为0.3 mL · min<sup>-1</sup>,柱温为30 °C,采用电喷雾离子源(ESI),多反应监测模式(MRM),正离子扫描。结果 3个吡咯里西啶在0.48 ~ 482.60 pg 内线性关系良好,5个马兜铃酸在0.51 ~ 538.51 pg 内线性关系良好,相关系数均大于0.99;平均回收率为60.4% ~ 120.5%,相对标准偏差(RSD)为2.1% ~ 9.7%;5批样品中均检出吡咯里西啶生物碱和马兜铃酸,阳性样品吡咯里西啶生物碱总含量为5.42 ~ 5.46 mg · kg<sup>-1</sup>,马兜铃酸总含量为1.04 ~ 1.70 mg · kg<sup>-1</sup>。结论 建立的方法操作简便、准确,可同时测定复方半夏片中3个吡咯里西啶生物碱和5个马兜铃酸的含量;初步的风险评估显示,复方半夏片的安全风险较低。

**关键词:**复方半夏片;吡咯里西啶生物碱;马兜铃酸;超高效液相色谱-串联质谱;含量测定;风险评估

doi:10.11669/epj.2024.17.011 中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)17-1637-06

## Simultaneous Determination of Pyrrolizidine Alkaloids and Aristolochic Acids in Fufang Banxia Tablets by UPLC-MS/MS and Risk Assessment

TAN Chunmei, FANG Cuifen, WANG Juanjuan, DONG Ting, ZHANG Linlin, ZHENG Cheng, CHEN Bilian\* (NMPA Key Laboratory for Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicine (Traditional Chinese Patent Medicine), Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for simultaneous determination of three pyrrolizidine alkaloids and five aristolochic acids in Fufang Banxia Tablets, and carry out preliminary risk assessment. **METHODS** ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) was used. The mixed solution of methanol-acetonitrile (1:1) was used as mobile phase A, and 0.1% formic acid solution and 5 mmol · L<sup>-1</sup> ammonium formate were used as mobile phase B. Gradient elution was performed at a flow rate of 0.3 mL · min<sup>-1</sup> and the column temperature was maintained at 30 °C. Electrospray ion source (ESI), multiple reaction monitoring mode (MRM) and positive ion scanning were used. **RESULTS** Three pyrrolizidine alkaloids showed a good linear relationship in the range of 0.48 - 482.60 pg, and five aristolochic acids showed a good linear relationship in the range of 0.51 - 538.51 pg. The correlation coefficients were higher than 0.99. The average recoveries were between 60.4% and 120.5%, with RSDs of 2.1% - 9.7%. Pyrrolizidine alkaloids and aristolochic acids were detected in all five batches, the total content of pyrrolizidine alkaloids was 5.42 - 5.46 mg · kg<sup>-1</sup>, and the total content of aristolochic acids in positive samples were 1.04 - 1.70 mg · kg<sup>-1</sup>. **CONCLUSION** The established method is simple and accurate, and can simultaneously determine the contents of three pyrrolizidine alkaloids and five aristolochic acids in Fufang Banxia Tablets. The preliminary risk assessment shows that the safety risk of Fufang Banxia Tablets is low.

**KEY WORDS:** Fufang Banxia Tablets; pyrrolizidine alkaloid; aristolochic acid; UPLC-MS/MS; content determination; risk assessment

复方半夏片由姜半夏、麻黄、远志(甘草水制)、桔梗、前胡、陈皮、白前、款冬花、细辛共九味药的细粉混合制成,具有止咳化痰的作用。其中款冬花和细辛两味含有两类内源性毒素的重要组成,款冬花

含有吡咯里西啶生物碱类成分(pyrrolizidine-alkaloids, PAs),细辛含有马兜铃酸类成分(aristolochic acid analogues, AAAs),而目前仅有复方半夏片中橙皮苷和麻黄碱等功效成分含量测定的报道<sup>[1-2]</sup>,未见

作者简介:谭春梅,女,硕士,副主任中药师 研究方向:中药质量控制  
中药质量控制 Tel:(0571)86459402

\* 通讯作者:陈碧莲,女,硕士生导师,主任中药师 研究方向:

其内源性毒素 PAs 和 AAAs 成分含量及其风险评估的报道。PAs 是植物体内产生的一种内源性毒素,为两分子鸟氨酸形成两个吡咯烷经叔氮原子稠合而成的一类生物碱。研究表明吡咯烷环的 1,2 位为双键的 PAs 有较强的肝毒性,可导致肝窦阻塞综合征,同时有基因毒性和致癌性,主要分布于菊科、紫草科和豆科<sup>[3]</sup>,动物采食含 PAs 的植物后会随食物链进入动物源性食品,对人类健康存在一定的风险<sup>[4-5]</sup>。目前《中国药典》2020 年版收载的常用药材千里光、紫草、款冬花、佩兰、野马追等含有较高的 PAs 含量<sup>[6-10]</sup>,而且 PAs 在中药提取和制剂制备过程中因其良好的稳定性,较易从药材向制剂转移,因此,含 PAs 药材的中成药制剂可能含有较高的 PAs<sup>[11]</sup>,如长期服用该类药材和中成药,极易存在较大的用药安全风险。AAAs 为硝基菲类化合物,包括马兜铃酸(aristolochic acids, AAs)和马兜铃内酰胺(aristolactams, ALs)两种结构类型,已被证实有肾毒性、致癌和致突变作用<sup>[12-15]</sup>,多国已禁用含有或疑似含有 AAAs 的药材和制剂<sup>[16-17]</sup>,我国也已禁止使用关木通、广防己、和青木香等 AAAs 含量高的药材,并将含马兜铃、寻骨风、天仙藤和朱砂莲的制剂严格按处方药管理<sup>[18]</sup>,目前《中国药典》2020 年版一部<sup>[19]</sup>不再收载马兜铃和天仙藤,仅收载细辛一味含马兜铃酸的药材,其马兜铃酸的报道较多<sup>[20-23]</sup>。因此,有必要对复方半夏片中该两类成分进行控制。

目前已有的研究均是单独测定款冬花中 PAs 或细辛中 AAAs,采用的方法主要有高效液相色谱法和液质联用法<sup>[24-25]</sup>,但复方半夏片中同时含款冬花和细辛,为提高检测效率,本研究建立了同时测定款冬花中千里光碱、千里光碱氮氧化物、克式千里光碱和细辛中 7-羟基马兜铃酸 A、马兜铃酸 D、马兜铃酸 II、马兜铃内酰胺 I、马兜铃酸 I 的方法,并针对这两类成分进行风险评估,实现该品种的质量安全控制。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

LC MS-8050 超高效液相色谱-串联四级杆质谱仪(日本岛津公司);XPE205 型电子天平(瑞士梅特勒公司);WIGGENS UA06MFDN 型超声波清洗器;MilliQ-Advantage A10(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 试剂

马兜铃酸 I 对照品(AA-I,批号:110746-201611,含量 98.9%,中国食品药品检验研究院);

马兜铃酸 II 对照品(AA-II,批号:DSTDM005801,含量 $\geq 98\%$ )和马兜铃内酰胺 I 对照品(AL-I,批号:DST220209-055,含量 98.99%)(成都德思特生物技术有限公司);马兜铃酸 D(AA-IV a,批号:wkq23071205,含量 $\geq 98\%$ )、7-羟基马兜铃酸 A(AA-VII a,批号:wkq23071108,含量 $\geq 98\%$ )、千里光碱(Sn,批号:wkq23060612,含量 $\geq 98\%$ )和千里光碱氮氧化物(SnNO,批号:wkq23070406,含量 $\geq 98\%$ )(含量测定用,四川维克奇);克式千里光碱(Sk,批号:16032,含量 99.3%)(含量测定用,上海施丹德);甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯)。5 批样品(批号分别为 220202 011、220201 034、220202 006、220202 013、230501 050,编号依次为 S1~S5)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  色谱柱(2.1 mm  $\times$  100 mm,1.7  $\mu\text{m}$ ),以甲醇-乙腈(1:1)的混合溶液为流动相 A,以体积分数 0.1% 甲酸溶液(含 5 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 甲酸铵)为流动相 B,梯度洗脱(0~8 min,8% $\rightarrow$ 20% A;8~15 min,20% $\rightarrow$ 40% A;15~20 min,40% $\rightarrow$ 50% A;20~22 min,50% $\rightarrow$ 60% A;22~24 min,60% A;24~30 min,60% $\rightarrow$ 80% A);流速为 0.3 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>;柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.2 质谱条件

电喷雾离子源(ESI),多反应监测模式(MRM),正离子扫描,雾化气流量 3 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>;加热气流量 10 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>;接口温度 300  $^{\circ}\text{C}$ ;DL 温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ;加热块温度 400  $^{\circ}\text{C}$ ;干燥气流量 10 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,离子对信息见表 1。典型色谱图见图 1。

### 2.3 对照品储备溶液配制

取 AA-I、AA-II、AL-I、AA-IV a、AA-VII a、Sn、SnNO、Sk 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 AA-I 0.1 mg、AA-II 0.1 mg、AL-I 0.1 mg、AA-IV a 0.2 mg、AA-VII a 0.2 mg、Sn 0.2 mg、SnNO 0.1 mg、Sk 0.05 mg 的对照品储备溶液。

### 2.4 供试品溶液

取装量差异项下内容物混匀,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入体积分数 70% 甲醇 25 mL,称定质量,放置过夜后超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)60 min,取出,放冷,再称定质量,用体积分数 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。

**表 1** 复方半夏片中吡咯里西啶生物碱类成分(PAs)和马兜铃酸类成分(AAAs)的质谱检测离子对

**Tab. 1** Detection parameters of MS for pyrrolizidine-alkaloids (PAs) and aristolochic acid analogues (AAAs) in Fufang Banxia Tables

Compounds	<i>m/z</i>		Collision energy/V
	Precursor ion	Product ion	
Sn	336.2	308.5 <sup>1)</sup> , 138.1	30
SnNO	352.2	118.1 <sup>1)</sup> , 136.1	30
Sk	336.2	168.2 <sup>1)</sup> , 122.2	26
AA-I	359.1	298.1 <sup>1)</sup> , 296.1, 324.1	12/15/20
AA-II	329.1	268.1 <sup>1)</sup> , 294.0	11/15
AL-I	294.0	279.0 <sup>1)</sup> , 251.0	22/35
AA-IVa	375.0	312.1 <sup>1)</sup> , 297.0	14/34
AA-VIIa	375.1	314.1 <sup>1)</sup> , 340.1, 312.1	14

注: Sn - 千里光碱; SnNO - 千里光碱氮氧化物; Sk - 克氏千里光碱; AA-I - 马兜铃酸 I; AA-II - 马兜铃酸 II; AL-I - 马兜铃内酰胺 I; AA-IVa - 马兜铃酸 D; AA-VIIa - 7-羟基马兜铃酸 A; <sup>1)</sup> - 定量离子。

Note: Sn - senecionine; SnNO - senecivernine N-Oxide; Sk - senkirkine; AA-I - aristolochic acid I; AA-II - aristolochic acid II; AL-I - aristolactam I; AA-IVa - aristolochic acid D; AA-VIIa - 7-hydroxyaristolochic acid A; <sup>1)</sup> - quantitative ion.

## 2.5 方法学考察

**2.5.1 基质效应考察** 复方半夏片由 9 味生粉药材制成,其他成分可能会对制剂中马兜铃酸类成分响应产生影响,本实验对基质效应进行了考察。对所有样品进行初步筛查,结果样品均检出 AA-I、AL-I、Sn 和 Sk,故取缺细辛和款冬花样品作为空白基质。分别配制体积分数 70% 甲醇稀释的对照品溶液和用空白基质稀释的对照品溶液 (10 ng · mL<sup>-1</sup>),分别进样分析,记录两种对照品溶液中各待测成分的响应,通过二者比值计算基质效应,结果 Sn、SnNO、Sk、AA-VIIa、AA-IVa、AA-II、AL-I、AA-I 的基质效应分别为 195%、117%、104%、165%、240%、117%、254%、132%,除 Sk 外均超出 90% ~ 110% 范围,表明基质对 AAAs 和 PAs 两类化合物均存在影响,须采用基质对照进行测定。

**2.5.2 专属性考察** 分别取基质混合对照品溶液、缺细辛阴性样品溶液、缺款冬花阴性样品溶液、复方半夏片供试品溶液,进样分析,记录色谱图。缺细辛阴性对照样品在与 AA-VIIa、AA-IVa、AA-II、AL-I 和 AA-I 色谱峰相应的位置无响应,缺款冬花阴性样品在与 Sn、SnNO 和 Sk 色谱峰相应的位置无响应,表明方法专属性良好,总离子流图见图 1。

**2.5.3 线性关系考察** 取对照品储备溶液,加空白基质逐级稀释,分别制成 Sn、SnNO、Sk、AA-VIIa、AA-IVa、AA-II、AL-I、AA-I 系列浓度对照品溶

液,进样分析,以色谱峰峰面积(*Y*)为纵坐标,质量浓度(*X*, ng · mL<sup>-1</sup>)为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程和线性范围。以定量离子色谱峰信噪比为 3:1 时对应的最低浓度为检出限(LOD),信噪比为 10:1 时对应的最低浓度为定量限(LOQ),结果见表 2,结果表明,各化合物在表 2 中相应范围内呈良好的线性关系。

**2.5.4 精密度实验** 精密吸取 Sn、SnNO、Sk、AA-VIIa、AA-IVa、AA-II、AL-I、AA-I 混合对照品溶液(质量浓度约 50 ng · mL<sup>-1</sup>),连续进样 5 次,记录峰面积,计算相对标准偏差(RSD)均不大于 3.0%,均满足要求,表明仪器精密度良好。

**2.5.5 重复性实验** 取回收率 10 ng · mL<sup>-1</sup> 水平的 6 份样品,进样分析,计算 6 份样品含量的 RSD(%),结果 Sn、SnNO、Sk、AA-VIIa、AA-IVa、AA-II、AL-I 及 AA-I 的 RSD 分别为 1.8%、1.8%、2.7%、2.4%、9.3%、7.1%、6.4%、7.5%,重复性符合要求。

**2.5.6 回收率实验** 精密称取复方半夏片(批号 220202006)各 1.0 g,分别加入一定量的回收用对照品溶液,按“2.4”项下方法平行制备 3 份低水平(5 ng · mL<sup>-1</sup>),6 份中水平(10 ng · mL<sup>-1</sup>),3 份高水平(15 ng · mL<sup>-1</sup>)溶液,按“2.1”“2.2”项下色谱、质谱条件进行分析,计算回收率和 RSD,结果见表 3,实验结果表明方法回收率符合要求。

**2.5.7 稳定性实验** 取回收率实验样品,分别于 0、2、5、10、15、24 h 进样分析,计算各成分峰面积的 RSD,结果 RSD 均小于 3.0%,表明样品溶液在 24 h 内稳定。

**2.5.8 样品测定** 取 5 批样品各 1.0 g,精密称定,按“2.4”项下制备供试品溶液,按“2.1”和“2.2”项下的色谱、质谱条件进行测定,结果见表 4。

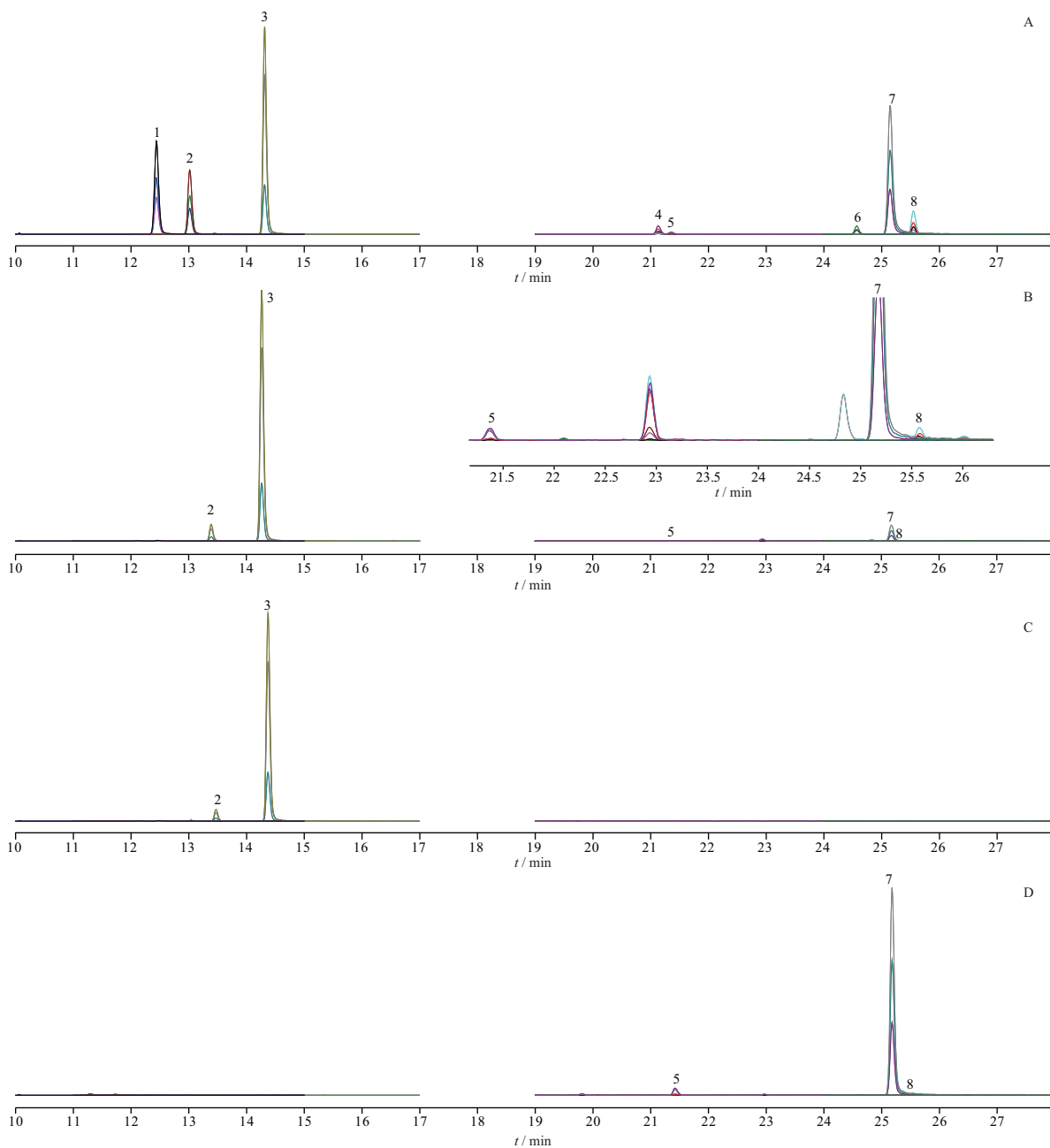
## 3 风险评估初探

欧洲食品安全局(EFSA)认为可以将暴露边界比(MOE)用于遗传物质和致癌物质的风险评估<sup>[26-27]</sup>,计算见公式 1~2。测定的 5 批样品均检出 PAs 和 AAAs,检出率为 100%,按公式计算后得 MOE 值见表 5。

$$EDI = (C \times M) / (bw \times 1\ 000) \quad \text{公式(1)}$$

$$MOE = BMDL/EDI \quad \text{公式(2)}$$

公式 1 中 EDI 为估计每日摄入量,单位为 μg · kg<sup>-1</sup> bw · d<sup>-1</sup>; C 为样品含量,单位为 μg · kg<sup>-1</sup>; M 为标准规定的日服用量,为 7.8 g; bw 为体质量,按 EFSA 推荐的 70 kg 计算; 1 000 为将单位 g



A - 混合对照品; B - 供试品; C - 缺细辛样品; D - 缺款冬花样品; 1 - Sn; 2 - SnNO; 3 - Sk; 4 - AA-VIIa; 5 - AA-IVa; 6 - AA-II; 7 - AL-I; 8 - AA-I。  
 A - mixed reference substances; B - test sample; C - negative sample without Asari Radix et Rhizoma; D - negative sample without Farfarae Flos; 1 - senecionine; 2 - senecivernine N-Oxide; 3 - senkirkine; 4 - 7-hydroxy aristolochic acid A; 5 - aristolochic acid IVa; 6 - aristolochic acid II; 7 - aristolactam I; 8 - aristolochic acid I.

图1 复方半夏片中 PAs 和 AAAs 的液相色谱串联质谱联用 (LC-MS/MS) 总离子流图

Fig. 1 LC-MS/MS total ion chromatograms of PAs and AAAs in Fufang Banxia Tables

表2 复方半夏片中 PAs 和 AAAs 线性关系结果

Tab. 2 The linearity, LODs and LOQs of PAs and AAAs in Fufang Banxia Tables

Compounds	Regression equation	<i>r</i>	Linear range/ng · mL <sup>-1</sup>	LOD/ng · mL <sup>-1</sup>	LOQ/ng · mL <sup>-1</sup>
Sn	$Y = 11\ 234.8X + 6\ 107.48$	0.999 9	0.51 - 102.66	0.02	0.05
SnNO	$Y = 9\ 607.41X + 1\ 747.77$	1.000 0	0.48 - 96.24	0.2	0.3
Sk	$Y = 29\ 274.8X + 68\ 630.9$	0.999 7	0.48 - 482.60	0.007	0.02
AA-VIIa	$Y = 1\ 688.95X + 395.932$	0.999 4	1.06 - 52.92	0.5	1
AA-IVa	$Y = 897.214X - 236.242$	0.999 7	1.98 - 49.44	0.3	1
AA-II	$Y = 1\ 091.88X - 412.874$	0.999 5	1.13 - 56.25	0.4	1
AL-I	$Y = 43\ 043.9X + 120\ 118$	0.999 9	2.15 - 538.51	0.06	0.2
AA-I	$Y = 3\ 545.13X + 167.79$	1.000 0	0.51 - 50.89	0.09	0.3

表3 复方半夏片中 PAs 和 AAAs 的回收率结果。%

Tab. 3 Results of recovery test of PAs and AAAs in Fufang Banxia Tablets. %

Compounds	Low level		Middle level		High level	
	Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD
Sn	60.4	1.0	74.0	1.8	72.7	1.9
SnNO	91.8	2.0	91.1	1.8	90.2	2.1
Sk	80.0	3.3	83.2	2.7	83.2	1.7
AA-VIIa	91.0	5.4	102.7	2.4	107.8	3.3
AA-IVa	67.8	9.5	112.0	9.3	115.2	4.2
AA-II	90.6	9.7	97.0	7.1	101.8	2.5
AL-I	86.8	8.0	115.5	6.4	120.5	2.6
AA-I	88.6	6.1	100.1	7.5	106.6	2.1

表4 复方半夏片中 PAs 和 AAAs 的测定结果。μg · kg<sup>-1</sup>

Tab. 4 The result of PAs and AAAs in Fufang Banxia Tablets.

Sample ID	Sn	SnNO	Sk	AA-VIIa	AA-IVa	AA-II	AL-I	AA-I
S1	19.0	0	5 444.3	0	1 065.4	0	542.9	92.0
S2	21.3	0	5 399.7	0	1 026.5	0	568.0	91.7
S3	17.9	1.4	5 427.7	0	1 003.9	0	602.8	98.1
S4	21.1	0	5 398.0	0	1 044.0	0	529.8	89.8
S5	6.9	25.4	5 405.5	0	453.4	0	509.3	78.8

折算为 kg; 公式 2 中 MOE 为暴露边界比; BMDL<sub>10</sub> 为基准剂量下限, EFSA 认为如果每日超过这个摄入量, 对身体有非常小但可以测出的致癌作用, EFSA 推荐 PAs 的设置值为 237 μg · kg<sup>-1</sup> bw · d<sup>-1</sup>[28], 由于 WHO 等权威机构未公布马兜铃酸类的每日允许摄入量 (ADI) 值, 本研究根据 Wu 等[29] 通过基准剂量法建模, 计算得出马兜铃酸 I 导致终末期肾病的 BMDL 为 0.42 g · d<sup>-1</sup> 计算。

但 MOE 是基于慢性终身暴露评价的结果, 而绝大部分人仅会于特定时间段或病情恶化时服用该类药物, 因此药物的实际消费周期应该更短, 大概为每年两周。Wang 等[26] 采用哈伯法则修正 EDI, 因此, MOE (两周/全年) 的计算公式可以表示为公式 3, 按公式 3 计算的 MOE 值结果见表 5。

$$MOE = BMDL_{10} \div (EDI \times 14 \div 365) = MOE \times 26$$

公式(3)

表5 复方半夏片中 PAs 和 AAAs 的暴露边界比(MOE)值

Tab. 5 MOE values of PAs and AAAs in Fufang Banxia Tablets

Sample ID	EDI/μg · kg <sup>-1</sup> bw · d <sup>-1</sup>		MOE values (life long time)		MOE values (shorter exposure)	
	PAs	AAAs	PAs	AAAs	PAs	AAAs
	S1	0.61	0.19	389	31 667	10 122
S2	0.60	0.19	392	31 933	10 201	830 265
S3	0.61	0.19	390	31 585	10 152	821 204
S4	0.60	0.19	392	32 369	10 205	841 595
S5	0.61	0.12	391	51 699	10 170	1 344 185

当 MOE 值大于 10 000 时认为是无风险, 1 000 ~ 10 000 为低风险, 100 ~ 1 000 为中风险, 小于 100 为高风险。认为仅在治疗阶段服用此类药物的风险较低。

## 4 讨论

### 4.1 检测方法的选择

复方半夏片中的 PAs 和 AAAs 为痕量组分, 有些成分无紫外吸收, 首选方法为高灵敏度的液质联用法。本研究采用 UPLC-MS/MS 法同时测定正离子模式下性质完全不同的 AAAs 和 PAs 两类成分共 8 个化合物的 MRM 离子对, 定量离子对峰形响应均较好, 分离度良好, 无其他杂质干扰, 能够准确测定复方半夏片中的 8 个化合物。

在 PAs 的测定中, 大部分需采用阳离子交换柱进行净化浓缩后进行测定, 操作较繁琐, 耗时较长, 本研究对前处理方法进行优化, 超声后直接进样即可准确测定 8 个化合物, 极大地简化了供试品前处理方法。

### 4.2 流动相的选择

考察了甲醇-5 mmol · L<sup>-1</sup> 含有体积分数 0.1% 甲酸的甲酸铵溶液和乙腈-5 mmol · L<sup>-1</sup> 含有 0.1% 甲酸的甲酸铵溶液作为流动相对 PAs 和 AAAs 的分离和响应影响, 结果在乙腈系统中, 各化合物的分离度良好, 但 AA-II 的响应较低, 在甲醇系统中, VIIa 和 AA-IVa 分离效果欠佳, 但 AA-II 的响应较好; 综合考察后, 以甲醇-乙腈 (1:1) 作为有机相, VIIa 和 AA-IVa 分离度较好, 且 AA-II 的响应也相对较好。

### 4.3 质谱条件的优化

对各化合物的碰撞能量等质谱参数进行优化, 确定最优的碰撞能, 但发现 AA-II 的响应仍相应较低, 后调整喷针位置 1 至 3 ~ 4 后, AA-II 的响应显著提升, 提示可通过调整喷针位置以提高部分化合物的响应。

### 4.4 小结

本研究建立的方法简便快捷, 通过色谱和质谱条件的优化, 极大地缩短了样品前处理时间, 能快速、准确地同时测定复方半夏片中 AAAs 和 PAs, 为复方半夏片的质量控制和安全监管提供技术参考。

## REFERENCES

- [1] ZHANG D X, ZHANG H W. Determination of Hesperidin in Compound Banxia Tablets by HPLC [J]. *Chin Pharm (中国药业)*, 2023, 32(3):84-86.
- [2] SHI G M, XIAO D H, CHEN Q, et al. Determination of Ephedrine in Fufang Banxia Tablets by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2003(10):92-93.

- [ 3 ] GAO J G, WANG C H, LI Y, *et al.* Advance on pharmacologic actions, toxicity and pharmacokinetics of pyrrolizidine alkaloids [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2009, 34(5):506-511.
- [ 4 ] HOOGENBOOM L A, MULDER P P, ZEILMAKER M J, *et al.* Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows[J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2011, 28(3):359-372.
- [ 5 ] EDGAR J A, ROEDER E, MOLYNEUX R J. Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: a potential threat to health [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 2719-2730.
- [ 6 ] ZHANG Y, YANG F F, CHEN H, *et al.* Analysis of pyrrolizidine alkaloids in *Eupatorium fortunei* Turcz. And their *in vitro* neurotoxicity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 151: 112151. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112151.
- [ 7 ] ZAN K, WANG Z, HU X W, *et al.* Pyrrolizidine alkaloids and health risk of three Boraginaceae used in TCM[J]. *Front Pharm*, 2023, 14: 1075010. DOI: 10.3389/fphar.2023.1075010.
- [ 8 ] LI S L, LIN G, FU P P, *et al.* Identification of five hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in a commonly used traditional Chinese medicinal herb, *Herba Senecionis scandentis* (Qianliguang) [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 591-602.
- [ 9 ] ZAN K, ZHANG R, LI Y L, *et al.* Research progress of quality control of pyrrolizidine alkaloids in *Farfarae Flos* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2021, 41(5):753-759.
- [ 10 ] ZAN K, HU X, LI Y, *et al.* Simultaneous determination of eight pyrrolizidine alkaloids in various parts of *Eupatorium lindleyanum* by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and risk assessments based on a real-life exposure scenario[J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(17):3237-3247.
- [ 11 ] LIU C Y, ZHANG Y, DONG A J, *et al.* Identification and quantification of pyrrolizidine alkaloids in Chinese medicine products containing *Farfarae Flos* and *Arnebiae Radix* [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2022, 24(6):1106-1113.
- [ 12 ] WU Y X, LIU J, DAI Z, *et al.* Research progress in safety and pharmacological activity of natural aristolactams [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2022, 57(16):1305-1315.
- [ 13 ] GAO Y, XIAO X H, ZHU X X, *et al.* Study and opinion on toxicity of aristolochic acid [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42(21):4049-4053.
- [ 14 ] BAI Z F, XU G, WANG J B, *et al.* Research progress in and countermeasures against carcinogenicity of aristolochic acids and their derivatives [J]. *Prog Pharm Sci* (药理学进展), 2018, 42(3):164-169.
- [ 15 ] ZHOU Q, JIANG L, SU T, *et al.* Overview of aristolochic acid nephropathy: an update[J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2023, 42(5):579-590.
- [ 16 ] ZHANG Z B, JIANG W Y, CAI S Q. Clinical and pharmaceutical development and its thought of Chinese herbal nephropathy induced by aristolochic acid [J]. *China Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(2):185-188.
- [ 17 ] RAO X R, LI S, LI X Y, *et al.* Analysis of two FDA notices on renal damage caused by *Aristolochia* Chinese herbal medicine [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2001, 8(2):82-86.
- [ 18 ] SONG H B, REN J T, YANG L, *et al.* Advance in studies on toxicity of aristolochic acid and analysis on risk factors [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2014, 39(12):2246-2250.
- [ 19 ] *Ch. P*(2020) Vol I (中国药典2020年版.一部)[S]. 2020: 240-242.
- [ 20 ] TIAN J Z, LIU S Y, GAO Y, *et al.* Risk assessment, safe medication and scientific supervision of traditional Chinese medicine containing aristolochic acids--toxicity is different among aristolochic acids, and detection and control of aristolochic acid I / II is critical[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2022, 47(14):3693-3700.
- [ 21 ] SUN H Z, WANG X L, DUAN J P, *et al.* Study on the detection and distribution of 6 aristolochic acids in *Asari Radix et Rhizoma* by UPLC-MS/MS [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2023, 43(7):1148-1155.
- [ 22 ] ZHOU Y, ZHENG C, DAI Z, *et al.* Simultaneous determination of seven aristolochic acid analogues in *Zhennaoning Capsules* by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2023, 58(21):1955-1961.
- [ 23 ] LIU H Z, CHENG X M, GUAN H D, *et al.* Rapid and simultaneous quantification of six aristolochic acids and two lignans in *Asari Radix et Rhizoma* using ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Methods Chem*, 2022, 2022: 5269545. DOI: 10.1155/2022/5269545.
- [ 24 ] LIU J, DAI Z, CHENG X L, *et al.* Research progress on detection and analysis of aristolochic acids [J]. *Drug Eval Res* (药物评价研究), 2019, 42(8):1644-1650.
- [ 25 ] Al-Subaie S F, Alowaiifeer A M, Mohamed M E. Pyrrolizidine alkaloid extraction and analysis: recent updates[J]. *Foods*, 2022, 11(23):3873. DOI: 10.3390/foods11233873.
- [ 26 ] WANG J, ZHANG M, CHEN L, *et al.* Determination of toxic pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese herbal medicines by UPLC-MS/MS and accompanying risk assessment for human health[J]. *Molecules*, 2021, 26(6):1648. DOI: 10.3390/molecules26061648.
- [ 27 ] ZAN K, LI Y L, WANG Y, *et al.* Risk assessment and fast determination of 28 pyrrolizidine alkaloids in honey by QuEChERS method and UPLC-MS/MS[J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2021, 41(12):2087-2094.
- [ 28 ] CHAN P. NTP technical report on the toxicity studies of Riddelline (CAS No. 23246-96-0) Administered by Gavage to F344 Rats and B6C3F1 Mice[J]. *Toxic Rep Ser*, 1993, 27, 1-D9.
- [ 29 ] WU F C, WANG T X. Risk assessment of upper tract urothelial carcinoma related to aristolochic acid. [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013, 22(5):812-820.

(收稿日期:2024-02-04)