

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.07.033

马兜铃酸减毒与分离方法研究进展*

程 玉,余寒优,索 芳,任 青,张迎庆[△]

(湖北工业大学生物工程与食品学院制药工程系,湖北 武汉 430068)

摘要:目的 为相关中成药的质量检测提供借鉴,促进含马兜铃酸中药材的合理使用。**方法** 在传统炮制方法和配伍减毒增效的基础上,分析现代分离纯化技术在马兜铃酸减毒和富集分离纯化中的应用。**结果** 超临界流体萃取法、分子印迹法、吸附法、液液色谱法等多种现代分离技术可用于马兜铃酸的减毒与富集分离纯化。**结论** 现代分离纯化技术为马兜铃酸的减毒增效、富集分析等提供了多种可能。

关键词:马兜铃酸;中药材;减毒;分离;纯化;方法

中图分类号:R932;R283

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)07-0128-05

Research Progress on Attenuated and Separated Methods of Aristolochic Acids

CHENG Yu, YU Hanyou, SUO Fang, REN Qing, ZHANG Yingqing

(Pharmaceutical Engineering Department, Food and Bioengineering School, Hubei University of Technology, Wuhan, Hubei, China 430068)

Abstract: Objective To provide a reference for the quality detection of related Chinese patent medicines and to promote the rational use of Chinese medicinal materials containing aristolochic acids. **Methods** Based on the traditional processing methods and compatibility for attenuation and synergism, the application of modern separation and purification technology in the attenuation, enrichment, separation and purification of aristolochic acids were analyzed. **Results** Supercritical fluid extraction, molecular imprinting, adsorption and liquid-liquid chromatography could be used for the attenuation, enrichment, separation and purification of aristolochic acids. **Conclusion** Modern separation and purification technology provide a variety of possibilities for attenuation and synergism and the enrichment analysis of aristolochic acids.

Key words: aristolochic acids; Chinese medicinal materials; attenuation; separation; purification; method

马兜铃科植物在《神农本草经》《雷公炮炙论》《肘后备急方》《妇人大全良方》等文献中均有记载。其品种有600多种,分布广泛,在世界各地有数百个品种被用于治疗疾病,如马兜铃属在印度用于解蛇毒、缓解关节痛和发热,在巴西用于止泻、镇痛、消炎、抗癌等。我国含马兜铃酸的药材主要包括马兜铃科马兜铃属 *Aristolochia* L. 和细辛属 *Asarum* L., 如马兜铃、天仙藤、朱砂莲、细辛、关木通、青木香、广防己、寻骨风等^[1]。马兜铃科植物中的马兜铃酸具有强烈的致癌性和肾毒性^[2-3], 是3,4-次甲二氧基-10-硝基-1-菲酸衍生物,有多种基本组成结构。目前,有明确毒性作用的成分有马兜铃酸 I、马兜铃酸 II^[4], 其余部分的肾毒性及致癌性差异尚未明确。马兜铃酸 I、马兜铃酸 II 在体内硝基还原酶的作用下,一部分被还原为马兜铃内酰胺,进入肾小管上皮细胞,经长时间积累而导致毒性;另一部分在还原过程中进一步与DNA作用,形成加合物,直接损伤DNA,最终导致基因突变,产生毒性。流行病学证据表明,马兜铃酸能与DNA形成亲电加合物,并出现具有突变标识特征的碱基对“A:T→T:A颠换突变”,致人体患癌^[5-6]。据国际致癌物评价标准,确认马兜铃酸为一级致癌物^[7]。故各国均限制或禁止销售和使用含马兜

铃酸的中药材和中成药,我国也取消了关木通、青木香、广防己的药材标准,并对含马兜铃、寻骨风、天仙藤、朱砂莲的中药制剂按处方药的标准进行严格管理,并在药品标签和药品说明书中增加可引起肾脏损害的安全警示信息。2020年版《中国药典(一部)》剔除了天仙藤和马兜铃,仅收录细辛,规定药用部位为根和根茎,并对限度进行了严格规定。同时,提高了相关中成药制剂的药品标准,拟增加马兜铃酸限量检查,近年来关于马兜铃酸减毒的研究日益增多^[8-9]。为此,在马兜铃酸传统减毒方法的基础上,综述了现代分离纯化技术在马兜铃酸的减毒、固相萃取富集分析,以及在不同马兜铃酸组分标准品制备中的应用与研究进展,为含马兜铃酸中药材的合理使用和相关中成药的检测提供参考。现报道如下。

1 传统减毒方法

1.1 炮制减毒

炒焦、严建业等^[10]研究了细辛的不同炮制方法,马兜铃酸减毒效果按炒焦>碱醋制>盐制>碱制>醋制>米泔水制>甘草制>酒制>蜜制>姜制顺序依次降低。其中,炒焦工艺对细辛中马兜铃酸 I 的去除率最高,超过60%(质量分数)。

*基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目[201810500018]。

第一作者:程玉,女,在读大学本科,研究方向为制药工程,(电子信箱)1807066821@qq.com。

[△]通信作者:张迎庆,女,博士,教授,研究方向为生物制药工艺,(电子信箱)zhangyq@hbut.edu.cn。

醋炙:李天凤等^[11]对关木通进行姜炙、醋炙、蜜炙、甘草炙、碱制、炒炙、酒炙,以及碱蜜合制、碱酒合制、碱姜合制,并采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定各炮制品马兜铃酸的含量,计算其脱除率。结果关木通醋炙品中马兜铃酸含量较低,且其醋炙品水浸出物与醇浸出物的含量均较高。与其他方法相比,醋炙法更稳定。

蜜炙:章莹等^[12]分析不同产地马兜铃蜜炙后的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,发现蜜炙后马兜铃酸 I 含量降低了 36%,且最适蜜炙条件为加蜜量 30%(质量分数),蜜-水比例为 1:3(V/V),温度为 200℃,加热 25 min。

润洗、阴干:姜思奇等^[13]研究了北细辛饮片的炮制工艺与药材质量间的相关性。结果显示,北细辛药材润洗 5 min、24.6℃阴干 24 h,或润洗 5 min、25.0~35.0℃烘干 8 h,均可符合北细辛饮片要求。综合考虑后,将北细辛药材润洗 48 h,24.6℃阴干 48 h,马兜铃酸 I 的含量由 9.87 μg/g 降至 7.99 μg/g。故可将其作为北细辛饮片的减毒工艺。

发酵:发酵法通过微生物降解中药中有毒物质,与普通炮制方法相比优势显著,其工艺条件温和,无污染。曹艺等^[14]采用液体发酵技术,以关木通、青木香、马兜铃、寻骨风药材粉末为原料,在黑曲霉、米曲霉等 10 个菌种的发酵降解下进行生物转化脱毒。采用超高效液相色谱(UPLC)法测定发酵前后药材中马兜铃酸 I 的含量,结果表明,枯草芽孢杆菌可降低药材中马兜铃酸 I 的含量。LIU 等^[15]采用高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱法测定马兜铃植物根部与 6 种不同药用真菌经固态发酵所得发酵产物中马兜铃酸的含量,拟订色谱条件[色谱柱为 C₁₈ 柱,检测器为二极管阵列检测器,温度为 30℃,流动相为乙腈(A)-0.2%乙酸(B)]进样测定。结果发现,0~20 min 内出现了新的色谱峰,采用柱后分流法进行电喷雾离子化质谱(ESI-MS)负离子模型检测,推断出 7 个马兜铃酸成分。在发酵过程中,上述 7 种化合物含量均减少,说明发酵可有效减毒。此外,优化后的 HPLC-MS 法有助于马兜铃酸的含量测定。向薇^[16]从马兜铃根际土壤中获得 33 株纯培养菌株,经验证,其中 11 株均对马兜铃酸 I 有降解作用,在非优化条件下 48 h 内可最多降解 85.36%(质量分数)的马兜铃酸 I。将获得的降解菌株用于马兜铃酸 I 含量较高的青木香进行发酵炮制,再结合筛选得到的分子标志物进行肾毒性评价,效果较好。

1.2 配伍减毒

单味药:配伍的单味中药主要有补益类中药黄芪、冬虫夏草、当归、甘草等,活血类中药丹皮、丹参等,清热类中药生地、竹叶、黄连等,泻下类中药大黄等^[17]。马艳苗等^[18]通过 RP-HPLC 法考察了关木通配伍苦寒药黄连后马兜铃酸 I 的含量变化趋势。结果显示,不同

比例配伍组中马兜铃酸 I 的含量不同,特别是关木通与黄连配伍比例为 1:1.5(m/m)时,马兜铃酸 I 含量下降了 72%(质量分数)。提示“寒寒相配”的中药配伍形式有助于降低关木通中马兜铃酸 I 的含量,中药配伍减毒理论有一定科学依据。邵珠莹等^[19]采用超高效液相色谱-三重四极杆质谱串联(UPLC-TQD-MS)法探讨了关木通配伍干姜的减毒存效机制,结果显示,关木通-干姜(1:2,m/m)配伍组马兜铃酸 I 对大鼠急性肾功能的损伤程度显著低于生品组,且不影响对大鼠的利尿作用。

复方:汪潇晗等^[20]报道了复方(如龙胆泻肝汤、复方导赤散)与拆方配伍对关木通减毒作用的影响,发现复方配伍组中马兜铃酸溶出量较关木通单煎组显著下降。曹小帅等^[21]采用中成药制剂配伍来减毒,如脑灵片由黄精、红参、鹿茸等 11 味中药材组方,有补气血、养心肾功效,与关木通共煎后,测得的马兜铃酸 I 含量明显降低。

在传统中医基础理论指导下,中药配伍可实现减毒增效。按准确配伍用量,采用现代炮制技术能减少其大部分毒性成分,但尚需制订详细的量化指标及使用规范,以指导临床使用。

2 分离纯化方法

2.1 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法是利用超临界流体提取、分离有效成分的新技术。超临界流体的溶解性、渗透性及扩散性能均高,黏度低,通过改变压力或温度来调节其溶解能力,实现对不同成分高选择性地提取分离,多用于天然活性物质的提取分离^[22-24]。LIANG 等^[25]评价了超临界流体萃取法去除马兜铃和关木通中马兜铃酸的可行性,结果表明,萃取方式和夹带剂的摩尔分数是影响马兜铃酸萃取的主要因素。去除马兜铃酸的最适动态条件为容器压力 194 bar,温度 50℃,夹带剂浓度 0.2 摩尔分数,萃取 4 h。结果显示,马兜铃中马兜铃酸 I、马兜铃酸 II 的去除率分别为 65.2% 和 59.1%(质量分数),关木通中的去除率分别为 81.3% 和 81.2%(质量分数)。

2.2 分子印迹法

2.2.1 减毒

分子印迹是一种为获得在空间结构和结合位点上与特定目标分子相匹配的聚合物的技术,制备的分子印迹聚合物(MIP)对目标分子具有特异性和选择性,广泛用于中药研究^[26-27]。肖榕^[28]采用可逆加成断裂链转移聚合(RAFT)法制备了马兜铃酸分子印迹微球,并对其吸附性能进行研究。以马兜铃酸 I 为模板分子,丙烯酸为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,二硫代苯甲酸(4-氰基戊酸)酯为链转移剂,偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂,二甲基甲酰胺-水溶液(8:2,m/m)为致孔剂,采用 RAFT 技术制备 MIP,其收

率为63.42%。所得MIP对模板马兜铃酸I具有良好的特异性和选择性吸附能力,可至少重复使用6次。取25.0 mg MIP可吸附5.0 mL关木通乙醇提取物(马兜铃酸I质量浓度为0.0018 mg/mL),结果马兜铃酸I含量降至液相的检测限(6.47 ng/mL)以下,平均回收率为41.70%。结果表明MIP可用于去除天然产物中马兜铃酸I。

2.2.2 固相萃取富集

固相萃取是常用的样品分析检测前处理技术,通过固体吸附剂吸附液体样品中的目标物质,与其他干扰物分离,利用洗脱液或加热解吸附洗脱,达到目标化合物分离和富集的目的^[29]。目前,溶剂萃取-柱色谱分离法为常用的马兜铃酸富集检测方法,需多次抽取、萃取、脱色等,以及柱色谱分离,操作烦琐,耗时,成本高,富集效率不高,提取量受限。一般固相萃取材料采用C₁₈柱和C₈柱,对强保留杂质无法有效去除。MIPs合成的固相萃取材料因识别性能好、富集效率高而受到青睐。分子印迹技术用于马兜铃酸的分析检测预处理时,可从中药材浸取液中经固相萃取富集分离马兜铃酸,检测灵敏度高。

傅强等^[30]报道了从中成药龙胆泻肝丸中富集与检测微量马兜铃酸I的方法,首先进行硅胶活化,对硅胶表面进行氨基化改性,再在硅胶表面合成MIP;将所得MIP装柱,以甲醇活化,制备得到分子印迹-固相萃取柱,可用于检测富集中成药龙胆泻肝丸中的马兜铃酸I。该方法操作简单,且采用伪模板分子氧氟沙星代替马兜铃酸I,富集过程安全、环保,结合容量高,传质速率快,富集效率高。GE等^[31]也报道,以伪模板分子氧氟沙星代替马兜铃酸I制备的MIP作为固相萃取吸附剂,从中药材中分离富集马兜铃酸。结果显示,马兜铃酸I富集达16倍,其质量浓度在0.1~200.0 μg/mL范围内线性关系良好($R^2=0.9987$),回收率为64.94%~77.73%,精密度试验的 $RSD\leq 0.8\%$ 。

GE等^[32]合成了一种混合磁性介孔碳分子印迹聚合物(MMC@MIPs),用于从大鼠尿液样本中选择性识别马兜铃酸I、马兜铃酸II。以氯化胆碱/乙醇基深共晶溶剂和吡啶美辛分别作为洗脱剂和假模板分子,研究了制备材料的形貌、结构和表面基团,并筛选MMC@MIPs-MSPE工艺的最佳条件。结果表明,该方法回收率较好(86.7%~94.3%),标准偏差较小(<4.85%),在0.5~30 μg/mL质量浓度范围内线性关系良好(R^2 为0.9910~0.9960)。

LI等^[33]报道了MIP功能化的磁性碳纳米管(MCNTs)对马兜铃酸I的去除效果。通过一种简便、环保的溶胶-凝胶工艺获得MCNTs@AAI-MIPs,先用溶剂热法合成MCNTs,在乙醇和水的作用下,模板分子与

功能单体苯三甲氧基硅烷自组装,以正硅酸四乙酯为交联剂,在MCNTs上涂覆马兜铃酸I-MIPs膜,得到MCNTs@马兜铃酸I-MIPs。结果表明,印迹纳米复合材料分离速度快(10 s),吸附容量高(18.54 μg/mg),动态平衡时间短(15 min),选择性好,模板分子印迹因子为3.17,可从复杂的中药样品中有效、特异地提取马兜铃酸I。

陆雅婷等^[34]采用表面分子印迹技术制备了马兜铃酸I磁性MIPs,载体为经过硅壳改性后的Fe₃O₄,功能单体为甲基丙烯酸,交联剂为EGDMA,引发剂为AIBN,溶剂体系为乙腈-甲醇(3:1, V/V),且模板分子、功能单体、交联剂质量比为1:4:20,形成表面印迹层,得到对马兜铃酸I有特异性吸附作用的MIPs,印迹效率可达3.11,可用于实际样品中马兜铃酸I的富集和分析。

2.3 吸附法

2.3.1 减毒

孙博航等^[35]报道了采用离子交换法从中药材北细辛中获得无毒提取物的制备工艺。北细辛全草经热水煎煮提取,取滤液,冷却后调节pH值。采用阳离子、阴离子交换法,可去除北细辛药材中具有挥发性的黄樟醚,以及非挥发性的马兜铃酸、乌头碱、去甲乌头碱等有毒成分,能较好地保留有效成分,兼顾性强,工艺简单,能源消耗低,节约资源,生产过程清洁无污染。

2.3.2 固相萃取富集

张晓哲等^[36]大孔树脂法富集马兜铃酸预处理,采用自制价廉的大孔吸附树脂萃取柱,大孔吸附树脂填料为HPD-100/Diaion/AB-8,填料装填体积保持为上样溶液体积的2~5倍,以不高于40%甲醇或乙醇溶液除去杂质,以70%~100%甲醇或乙醇溶液洗脱富集马兜铃酸类化合物,回收率高,稳定性好,价格低廉,更适合微量马兜铃酸的富集和高灵敏测定。

FANG等^[37]报道了一种双离子液体固定化硅胶多相萃取马兜铃酸的方法,可从实际样品中分离马兜铃酸。结果显示,在60℃的流动相甲醇-水(60:40, V/V)中,与其他吸附剂相比,IM-BIM@Sil提取的马兜铃酸量最多(16.69 mg/g)。将该吸附剂用于马兜铃酸的多相萃取,经过提取8次,多次洗涤和洗脱,从9个真实样品中分离到 $(2.4\sim 70.9)\times 10^{-3}$ mg/g马兜铃酸,回收率为70.0%~110.6%, RSD 为3.5%~9.1%,表明方法准确性高。

CHEN等^[38]将双离子液体固定于一种金属-有机骨架ZIF-67制备成吸附剂,用于黄藤中马兜铃酸I固相萃取。吸附模型分析结果显示,在25℃下120 min内,固定化吸附剂的吸附量最高(50.9 mg/g)。固相萃取过程中每1 g药材可除去0.02 mg马兜铃酸I,回收率为96.2%~100.0%, RSD 为3.5%~4.0%。

SHU等^[39]将螺旋碳纤维与壳聚糖杂化材料作为固相萃取吸附剂,用于马兜铃酸分析检测的富集预处理。利用螺旋碳纤维的超强容量,并在表面修饰壳聚糖,壳聚糖带有大量氨基和乙酰氨基,在稀酸溶液中易质子化并以阳离子形式存在,能与有机酸通过静电相互作用形成复合物,并通过控制pH实现选择性吸附和脱附。壳聚糖改性螺旋碳纤维对马兜铃酸Ⅰ结合能力优良(77.72 mg/g),选择性高。采用固相萃取结合HPLC法对药用植物中马兜铃酸Ⅰ进行了富集和检测。马兜铃酸Ⅰ的质量浓度在0.5~150 mg/L范围内线性关系良好,回收率为73.61%~77.73%, $RSD < 5\%$ 。

SHU等^[40]报道了腺嘌呤修饰的磁性多壁碳纳米管用于基于多种相互作用的马兜铃酸的选择性提取。该吸附剂对马兜铃酸的吸附量为24.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$,建立了富集和检测中药中马兜铃酸的磁性固相萃取-高效液相色谱法。马兜铃酸Ⅰ的回收率为92.7%~97.5%,马兜铃酸Ⅱ的回收率为92.6%~99.4%, $RSD < 4\%$ 。

2.4 液液色谱法

为了分离毫克级的不同类型马兜铃酸,采用无固相支持的液液色谱技术,如逆流色谱(CCC)法和离心分配色谱(CPC)法均可适用于分离极性次级代谢产物,无论是在洗脱或pH区带精制和离子交换置换模式下均可进行。强离子交换模式离心分配色谱(SIX-CPC)法适用于分离离子化或可离子化的代谢产物,如羟基肉桂酸、迷迭香酸、硫代葡萄糖苷、花青素、皂苷或多肽。SIX-CPC法中交换剂为离子型,在任何pH下均保持正电荷(阳离子交换剂)或负电荷(阴离子交换剂),阴离子交换剂主要是苯扎氯铵、三辛基甲基氯化铵(Aliquat 336®)等季铵盐,离子型分析物形成稳定的离子对直接捕获到固定相中。无置换剂的流动相不能洗脱所提取的分析物,加入置换剂时分析物出现在流动相中。所有分析物沿柱以相同的速率移动,而移动速率取决于置换剂的浓度。SIX-CPC法会通过不同分析物与交换剂间形成离子对的差异实现高分辨纯化。ABDELGADIR等^[41]采用基于强离子交换置换的SIX-CPC法提取纯化的小苞马兜铃(*Aristolochia bracteolata* Lam.)的马兜铃酸,一步制备便可分离得到马兜铃酸Ⅰ、马兜铃酸Ⅱ、马兜铃酸Ⅲa。方法为采用双相溶剂系统甲基叔丁基醚-丙酮-甲醇-水(3:1:1:3, V/V/V/V),三辛基甲基氯化铵(Aliquat 336®)为有机固定相的阴离子交换剂,碘化钠为水流动相的置换剂。从5 g小苞马兜铃粗提物中分别得到45.5, 77.2, 35.1 mg马兜铃酸Ⅰ、马兜铃酸Ⅱ、马兜铃酸Ⅲa,纯度均大于95%(质量分数)。

段文娟等^[42]报道了一种基于pH区带逆流色谱技术的快速分离纯化马兜铃酸类化合物的方法,能对关木通药材中的马兜铃酸类化合物实现有效分离纯化。

该方法在普通制备型高速逆流色谱分离纯化有机酸类成分的应用基础上发展而来,并根据化合物解离常数(pKa)大小依次洗脱,尤其适合有机酸类物质的分离。pH区带逆流色谱法进样量分离效率均高,分离效果好,杂质易收集,可实现pH监控,待分离组分被高度浓缩。由于马兜铃酸类化合物苯环上连接的基团不同,化合物的pKa也存在一定差异,故可采用pH区带逆流色谱法进行富集与分离。具体方法:将关木通粉碎后使用乙醇加热回流提取,减压浓缩得浸膏,加水混旋,使用石油醚、乙酸乙酯萃取,减压蒸干得马兜铃酸总提取物;采用pH区带逆流色谱进行分离与富集,以石油醚-乙酸乙酯-正丁醇-水体系(5:5:1:6, V/V/V/V)为溶剂分层后在上相固定相和下相流动相中分别加入一定量的三氟乙酸和三乙胺,泵入高速逆流色谱仪后进行分离纯化,可在10 h内一次性制备4个纯度大于95%的马兜铃酸组分(马兜铃酸Ⅰ、马兜铃酸Ⅱ、马兜铃酸Ⅲa、马兜铃酸Ⅳa),制备成本低于现有技术,操作简便,效率高,且环保,明显优于现有硅胶柱色谱法或HPLC法。

3 结语

具有致癌性和肾毒性的马兜铃酸是中药材的常见成分,在传统减毒增效方法的基础上,现代分离纯化技术可达到减毒增效、富集分离纯化的效果。

参考文献

- [1] 梁爱华,高月,张伯礼. 含马兜铃酸中药的安全性问题及对策[J]. 中国食品药品监管, 2017(11):17-20.
- [2] 李一昂,李霖,于锋. 马兜铃酸类化合物使用现状及肾脏毒性研究进展[J]. 药学研究, 2017, 36(9):534-537.
- [3] NG AWT, POON SL, HUANG MN, et al. Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia[J]. Science Translational Medicine, 2017, 9(412):eaan6446.
- [4] 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.
- [5] HAN JY, XIAN Z, ZHANG YS, et al. Systematic Overview of Aristolochic Acids: Nephrotoxicity, Carcinogenicity, and Underlying Mechanisms [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10:648.
- [6] DRAČÍNSKÁ H, BÁRTA F, LEVOVÁ K, et al. Induction of cytochromes P450 1A1 and 1A2 suppresses formation of DNA adducts by carcinogenic aristolochic acid I in rats *in vivo* [J]. Toxicology, 2016, 344-346:7-18.
- [7] 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.
- [8] ZHOU Q, PEI J, POON J, et al. Worldwide research trends on aristolochic acids (1957-2017): Suggestions for researchers [J]. PLoS One, 2019, 14(5):e0216135.
- [9] 郭宁,赵雍,孙奕,等. 马兜铃酸类物质的生物标记物

- 与减毒策略研究进展[J]. 药学报, 2021, 56(4): 972-982.
- [10] 严建业, 王元清, 王 炜, 等. 细辛中马兜铃酸 A 与黄樟醚的炮制减毒方法研究[J]. 中草药, 2015, 46(2): 216-220.
- [11] 李天凤, 李连坤, 张美玲, 等. 反相高效液相色谱法测定不同方法炮制关木通中马兜铃酸的含量[J]. 中国医药导报, 2015, 12(21): 14-17.
- [12] 章 莹, 肖 榕, 黄 杰, 等. 不同产地马兜铃蜜炙前后 HPLC 指纹图谱分析[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(16): 1397-1402.
- [13] 姜思奇, 蔡广知, 赫一鸣, 等. 北细辛饮片炮制工艺与药材质量相关性研究[J]. 特产研究, 2019, 41(1): 17-21.
- [14] 曹 艺, 谭周进, 夏伯候, 等. 10 种微生物对含马兜铃酸 A 中药材的生物减毒研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(10): 1939-1944.
- [15] LIU XX, CAO J, PAN Y, et al. Fermentation of *Aristolochia debilis* by six different medicinal fungi and identification of aristolochic acid derivatives in their products by HPLC-ESI-TOF-MS[J]. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018, 31(3): 763-768.
- [16] 向 微. 马兜铃酸降解菌和肾毒性分子标志物的筛选及应用[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
- [17] 朱竹菁, 苏 励. 单味中药配伍含马兜铃酸中药后肾脏减毒作用的实验研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(4): 98-101.
- [18] 马艳苗, 王永辉, 宋美清, 等. 黄连与关木通配伍对马兜铃酸 A 含量的影响[J]. 山西中医, 2015, 31(7): 57-58.
- [19] 邵珠莹, 潘金火, 张月婵, 等. UPLC-TQD-MS 法探讨关木通配伍干姜减毒存效机制[J]. 中成药, 2018, 40(11): 2576-2579.
- [20] 王满晗, 张连学, 郜玉钢, 等. 含马兜铃酸中药减毒的研究进展[J]. 中草药, 2013, 44(22): 3241-3244.
- [21] 曹小帅, 潘金火. 关木通减毒方法的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(1): 73-76.
- [22] 孙亚伟. 超临界 CO₂ 流体萃取技术在生物碱萃取中的最新进展[J]. 中国药业, 2014, 23(14): 120-122.
- [23] 吕惠生, 周锦怡, 耿中峰, 等. 基于超临界流体色谱技术的赤芍活性组分分离工艺[J]. 高等化学工程学报, 2018, 32(2): 295-301.
- [24] 王志锋, 王 青. 超临界流体萃取技术在中药提取中的应用[J]. 科技与创新, 2018(14): 13-15.
- [25] LIANG Q, CHOW AHL, WANG Y, et al. Removal of toxic aristolochic acid components from *Aristolochia* plants by supercritical fluid extraction[J]. Separation and Purification Technology, 2010, 72(3): 269-274.
- [26] 徐 硕, 邝咏梅, 吴学军, 等. 分子印迹技术在中药研究中的应用[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(3): 422-425.
- [27] 刘 军, 任汝全, 张燕如, 等. 五种黄酮类分子印迹分离技术研究及应用进展[J]. 化工进展, 2019, 38(7): 3365-3376.
- [28] 肖 榕. RAFT 沉淀聚合制备马兜铃酸分子印迹聚合物及吸附性能研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2016.
- [29] 马茜文, 周 灿, 黄 品, 等. 分子印迹涂层的茉莉酸类植物激素固相微萃取应用[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2019, 41(4): 427-434.
- [30] 傅 强, 葛燕辉, 余 佩, 等. 从中成药龙胆泻肝丸中富集与检测微量马兜铃酸 A 的方法: CN106770784B[P]. 2019-06-28.
- [31] GE YH, GUO PQ, XU XY, et al. Selective analysis of aristolochic acid I in herbal medicines by dummy molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC[J]. Journal of Separation Science, 2017, 40(13): 2791-2799.
- [32] GE YH, SHU H, XU XY, et al. Combined magnetic porous molecularly imprinted polymers and deep eutectic solvents for efficient and selective extraction of aristolochic acid I and II from rat urine[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 97: 650-657.
- [33] LI F, GAO J, LI XX, et al. Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers functionalized carbon nanotubes for highly selective removal of aristolochic acid[J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1602: 168-177.
- [34] 陆雅婷, 苏志恒, 梁永红. 马兜铃酸 I 磁性分子印迹聚合物的制备[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(1): 183-188.
- [35] 孙博航, 吴立军, 高慧媛, 等. 北细辛无毒提取物的制备工艺: CN101991628B[P]. 2011-12-14.
- [36] 张晓哲, 肖红斌, 王 莉, 等. 一种富集马兜铃酸的预处理方法: CN106872247A[P]. 2017-06-20.
- [37] FANG LW, TIAN ML, YAN XM, et al. Dual ionic liquid-immobilized silicas for multi-phase extraction of aristolochic acid from plants and herbal medicines[J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1592: 31-37.
- [38] CHEN P, LI XM, YAN XM, et al. Solid-Phase Extraction of Aristolochic Acid I from Natural Plant Using Dual Ionic Liquid-Immobilized ZIF-67 as Sorbent[J]. Separations, 2021, 8(2): 22.
- [39] SHU H, GE Y, XU XY, et al. Hybrid-type carbon microcoil-chitosan composite for selective extraction of aristolochic acid I from *Aristolochiaceae* medicinal plants[J]. Journal of Chromatography A, 2018, 1561: 13-19.
- [40] SHU H, CHEN GN, WANG L, et al. Adenine-coated magnetic multiwalled carbon nanotubes for the selective extraction of aristolochic acids based on multiple interactions[J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1627: 461382.
- [41] ABDELGADIR AA, BOUDESOCQUE-DELA YE L, THERY-KONÉ I, et al. One-step preparative isolation of aristolochic acids by strong ion-exchange centrifugal partition chromatography[J]. Separation and Purification Technology, 2015, 156: 444-449.
- [42] 段文娟, 杨国红, 李 月, 等. 一种从关木通中快速分离纯化马兜铃酸类化合物的方法: CN110194758A[P]. 2019-09-03.

(收稿日期: 2021-04-08; 修回日期: 2021-09-05)