

# 马兜铃酸类成分的靶向分离前处理技术和定量分析方法研究进展

闵心怡, 赵奕, 赵翔宇, 饶艳敏, 付海燕, 兰薇\*

(中南民族大学 药学院, 武汉 430074)

**摘要** 马兜铃酸(aristolochic acids, AAs)是一类广泛存在于马兜铃属(*Aristolochia* L.)及细辛属(*Asarum* L.)等马兜铃科植物中的硝基菲羧酸化合物。由于其显著的肾毒性和致癌性,对AAs进行高效、精准的靶向分离和定量分析对于评估相关药品安全性、保障公众健康至关重要。本文首先综述了近年来在靶向分离AAs前处理方法方面的最新进展,重点介绍了分子印迹聚合物吸附剂、磁性多孔吸附剂及其他新型吸附材料的应用,然后进一步系统总结了液相色谱法、色谱质谱联用法、光谱法、免疫分析法和电化学分析法等技术在AAs定量分析中的最新进展。通过对现有研究的梳理,为进一步优化马兜铃酸类成分的分析技术提供参考,积极推动新技术在药品质量控制、毒理学研究和安全评估方面的应用。

**关键词** 马兜铃酸;靶向分离;前处理;定量分析;吸附剂

中图分类号 R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1672-4321(2026)03-0342-11

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20260702

## Research progress on targeted enrichment pre-treatment and quantitative analysis methods for aristolochic acid components

MIN Xinyi, ZHAO Yi, ZHAO Xiangyu, RAO Yanmin, FU Haiyan, LAN Wei\*

(School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

**Abstract** Aristolochic acids (aristolochic acids, AAs) are a class of nitrophenanthrene carboxylic acid compounds widely found in plants of the Aristolochiaceae family, such as *Aristolochia* L. and *Asarum* L. Due to their significant nephrotoxicity and carcinogenicity, the efficient and precise targeted enrichment and quantitative analysis of AAs are crucial for assessing the safety of related pharmaceutical products and safeguarding public health. This paper first reviews the latest advancements in targeted enrichment pre-treatment methods for AAs in recent years, with a focus on the applications of molecularly imprinted polymer adsorbents, magnetic porous adsorbents, and other novel adsorbents. Subsequently, it systematically summarizes the recent progress in quantitative analysis techniques for AAs, including chromatography, chromatography-mass spectrometry, spectroscopy, immunoassay, and electrochemical analysis. By combing through existing research, this paper aims to provide a reference for further optimizing the analytical techniques for aristolochic acid components, and actively promote the application of new technologies in pharmaceutical quality control, toxicology research, and safety assessment.

**Keywords** aristolochic acids; targeted separation; pre-treatment; quantitative analysis; adsorbent

马兜铃酸(aristolochic acids, AAs)是一类硝基菲羧酸类有机化合物,广泛存在于马兜铃属(*Aristolochia* L.)和细辛属(*Asarum* L.)等植物中。这

些植物在传统中医药中具有祛痰、抗菌等多种药效。然而,自1993年比利时学者首次发现含AAs的中药与肾病及尿路癌存在关联以来<sup>[1]</sup>,AAs的毒理学特

收稿日期 2024-12-12

\* 通信作者 兰薇(1981-),女,副教授,博士,研究方向:中药分析与质量控制,E-mail: lanwei@mail.scuec.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(32372429)

性引起了广泛关注.后续研究进一步证实了AAs具有强烈的肾毒性、致突变性和致癌性,对公众健康构成了严重威胁.

鉴于此,准确高效地监控马兜铃酸在中药中的含量,对于保障中药的安全性和有效性至关重要.在我国,中药的安全性和有效性一直备受重视.针对马兜铃酸的毒性问题,国家药品监管局已经实施了一系列改革措施,包括加强监管力度、完善相关标准、指导临床合理用药以及推动科研创新<sup>[2]</sup>,以确保持含AAs中药材的安全使用.然而,由于AAs在中药材中常以微量或痕量存在,且中药材成分复杂,这使得靶向分离与多成分定量分析面临巨大挑战.随着分析化学和材料科学的不断进步,新型靶向分离与定量分析方法取得了显著进展,有效提高了检测灵敏度、准确性和效率,为研究AAs的毒性、制定风险控制策略以及保障中药安全提供了有力支持<sup>[3]</sup>.

本文综述了近年来AAs靶向分离与检测的新方法,详细比较了这些方法的优缺点,并展望了未来的发展趋势.旨在为中药安全研究提供参考,推动相关技术在药品质量控制、毒理学研究和安全评估方面的应用.

## 1 靶向分离AAs的前处理方法

中药及其制剂中的AAs常以痕量存在,且存在复杂的化学成分和基质干扰,因此探索高效的靶向分离前处理方法成为提高后续分析准确性和灵敏度的关键.近年来,AAs的靶向分离预处理方法取得了显著进展,研发了一系列新型固相萃取(solid-phase extraction, SPE)吸附剂,还发展了适用于AAs的超临界流体萃取法(supercritical-fluid extraction, SFE)、快速简便廉价高效耐用安全的样品前处理方法(QuEChERS)、多相提取法和电膜微萃取法(electromembrane-micro extraction, EME)等新预处理方法.

### 1.1 基于新型固相萃取吸附剂的前处理方法

#### 1.1.1 分子印迹聚合物吸附剂

分子印迹技术是一种通过模板分子与功能单体共聚合成具有特定空腔和识别位点的聚合物的方法.在聚合过程中,模板分子与功能单体之间形成多重相互作用(如氢键、静电作用、 $\pi$ - $\pi$ 共轭等),这些相互作用在聚合完成后被“记忆”在聚合物中.当模板分子被去除后,聚合物中留下与模板分子结

构互补的空腔,这些空腔能够特异性地识别并结合模板分子或其类似物.利用这种特异性识别能力,分子印迹聚合物被用作吸附剂,即分子印迹吸附剂.如:WANG等<sup>[4]</sup>以1,10-邻菲咯啉-4-羧酸为虚拟模板通过溶胶-凝胶法成功合成了一种虚拟分子印迹二氧化硅材料(MIS).该材料对AAI具有更高的吸附能力,并已成功应用于朱砂莲中马兜铃酸I(AAI)的靶向分离.

在分子印迹聚合物的基础上,通过引入磁性纳米颗粒可制成磁性分子印迹聚合物复合材料.它利用分子印迹技术制备具有特定识别能力的聚合物,同时利用磁性纳米颗粒的磁响应性实现快速、简便的分离.这种具有独特优势和广泛应用前景的先进材料在AAs分析中发挥着重要作用.如:LU等<sup>[5]</sup>以四氧化三铁纳米颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )为载体,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,2,2-偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂制备AAI磁性分子印迹聚合物(MIPs),印迹因子IF为3.11,依据该聚合物特异性吸附、易于分离等特点实现AAI快速分离以及专一、简便检测.XIONG等<sup>[6]</sup>采用表面印迹法合成了一种具有热敏和磁特性的分子印迹聚合物(TMMIPs).TMMIPs可通过调节温度实现AAI可控吸附和释放,同时采用磁分离,既可显著缩短洗脱时间,减少在洗脱过程中有机溶剂的消耗.该新型的分子印迹材料进一步扩展了AAI在复杂样品预处理的新策略.CAO等<sup>[7]</sup>成功研发了一种以铜为结合位点、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 为核心的新型金属介导磁性分子印迹聚合物(Cu-MIP),其最大吸附容量高达349.72 mg/g.这项研究不仅显著提升了AAI的去除效率,更重要的是,通过模拟工业规模的应用,打破了AAI去除技术仅限于实验室应用的局限.

#### 1.1.2 磁性多孔吸附剂

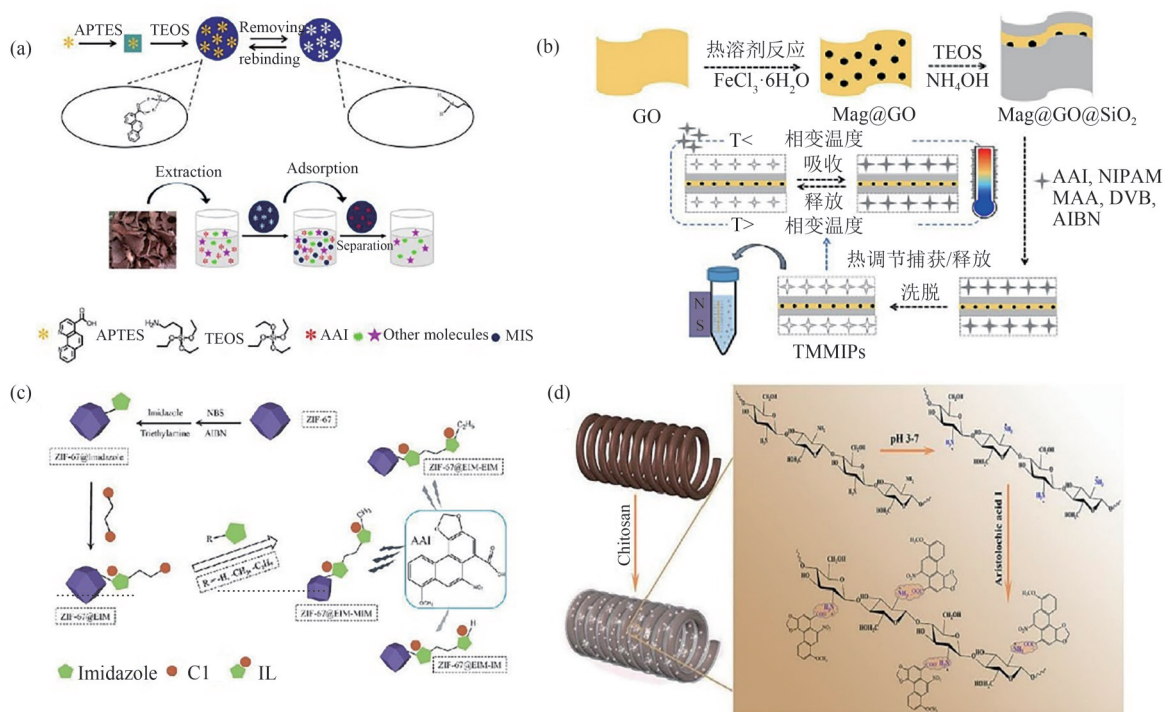
磁性多孔材料结合了磁性纳米颗粒和多孔材料的优点,既具有磁响应性,又具有高比表面积和孔隙率.这些材料可以通过物理吸附、化学吸附或离子交换等方式实现对目标分子的富集和分离.LIU等<sup>[8]</sup>合成了一种杂化磁性聚合物-多孔琼脂糖 $\text{MNs@SiO}_2\text{M@DNV-A}$ ,通过MSPE-HPLC法用于在血浆中有效富集马兜铃酸I(AAI)和马兜铃酸II(AAII),该方法灵敏度高,吸附容量大.JI等<sup>[9]</sup>合成了 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@SiO}_2\text{-TPM@StVp}$ 磁性微球,建立了MSPE-HPLC法对中药汤中AAI进行靶向分离与检测,预处理时间小于10 min,洗脱溶剂小于1.5 mL,成功应

用于 5 种单味中药汤和 3 种中药复方汤中 AAI 的测定. SHU 等<sup>[10]</sup>采用腺嘌呤包覆的磁性碳纳米管实现了高效的 AAs 靶向分离,其靶向吸附原理在于腺嘌呤同时具有氨基和共轭系统,使得腺嘌呤与 AAs 存在氢键、静电和  $\pi$ - $\pi$  共轭的多重作用机制. GUO 等<sup>[11]</sup>建立了一种 MSPE 结合超高压液相色谱-串联质谱的方法,用于小鼠血清和组织中 AAI 的分析,吸附量高达 93.1 mg/g. 该吸附剂合成简单,样品预处理速度快,检测方法灵敏度高,可用于复杂基质中痕

量 AAI 样品的检测.

### 1.1.3 其他新型吸附材料

除了磁性吸附剂和分子印迹聚合物外,还有其多种新型吸附材料(如金属有机框架(MOFs)材料、碳基或生物基吸附材料、离子液体修饰的材料等)在样品前处理、分离富集等领域发挥着重要作用(图 1). 这些新型吸附材料通常具有独特的结构和性质,能够满足不同应用场景的需求(表 1).



(a) 虚拟分子印迹二氧化硅材料; (b) 热敏磁性分子印迹聚合物 TMMIPs; (c) ZIF-67@EIM-MIM 吸附剂; (d) 壳聚糖修饰的碳微线圈 CMCs

图 1 新型吸附剂在靶向分离 AAS 前处理方法中的应用实例

Fig. 1 Examples of the application of novel adsorbents in targeted separation of AAS pre-treatment methods

CHEN 等<sup>[12]</sup>建立一种将双离子液体固定于 ZIF-67 有机金属框架材料作为固相吸附剂对 AAI 进行靶向分离的方法. 结果表明,在 25 °C、120 min 内, ZIF-67@EIM-MIM 吸附剂的吸附量较高,是一种理想的含 AAI 中药材的预处理材料. ZHANG 等<sup>[13]</sup>以 UiO-66-NH<sub>2</sub> 和 *N*-甲基丙烯酰胺(NMA)为单体通过原位聚合制备出了金属有机骨架(MOF)复合整体柱对中药中 AAI 进行靶向分离. 该方法将整体柱串联 C18 分析柱,可实现中药中 AAI 在线靶向分离和含量检测. SHU 等<sup>[14]</sup>合成了三聚氰胺修饰的金属有机骨架材料,制备成一种微型过滤器对 AAI 进行靶向分离,该方法已成功应用于 2 种中成药和 2 种中药材中 AAI 的检测.

SHU 等<sup>[15]</sup>还采用壳聚糖修饰的碳微线圈

(CMCs)对 AAI 进行靶向分离. 碳微线圈(CMCs)与 AAs 存在  $\pi$ - $\pi$  共轭作用,同时,壳聚糖中含有丰富的氨基,AAI 中含有羧基,两者通过静电作用形成络合物. 结果表明,CMC@CS 具有优秀的吸附能力和选择性,可有效地排除内源性杂质的干扰,高效地从中药材中靶向分离 AAI. 但是,壳聚糖在高温下易出现分解,仅适用于在 200 °C 以内对 AAs 的分析.

FANG 等<sup>[16]</sup>采用氯咪唑-乙基咪唑双离子液体固定于二氧化硅(Sil@IM-BIM)得到容量为 16.69 mg/g 的吸附剂. 该吸附剂成功应用于 5 种半夏属植物和 4 种含这些天然成分的止咳药中,提取分离得到 2.4~70.9  $\mu$ g/g 马兜铃酸.

### 1.2 其他靶向分离的前处理方法

ZHANG 等<sup>[17]</sup>用伯胺和仲胺(primary and

表1 固相萃取吸附剂在AAs靶向分离前处理中的应用

Tab. 1 Application of solid phase extraction adsorbents in the pretreatment of AAs targeting separation

吸附材料	吸附量/(mg/g)	LOD/( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率/%	RSD/%	参考文献
MIS	/	0.03	64.94~77.73	$\leq 0.8$	[4]
MIP	1.5	/	/	/	[5]
TMMIPs	8.51	0.27	79.03~99.67	5.78	[6]
Cu-MIP	349.72	0.006	50~68	/	[7]
MNs@SiO <sub>2</sub> M@DNV-A	40.75	0.002	92.2~95.3	1.4~3.5	[8]
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> -TPM@StVp	/	0.05	80.9~89.6	2.6~4.9	[9]
CNT/Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> -A	25.61	0.05	92.7~97.5	/	[10]
MNP@COF	93.1	1.84~2.21	94.3~109.1	0.2~0.8	[11]
UIO-66-NH <sub>2</sub> @NMA	35.4	0.1	91.1~106.5	0.9~6.1	[12]
MOF@MAA-MA	25.57	0.02	93.8~111.1	0.6~4.6	[13]
ZIF-67@EIM-MIM	50.9	0.02	82.9~90.1	3.5~4.0	[14]
CMC@CS	77.72	0.1	82.9~90.1	0.8~4.5	[15]
Sil@IM-BIM	16.69	/	70.0~110.6	3.5~9.1	[16]

secondary amine, PSA) 吸附剂开发了一种优化的 QuEChERS 来减少样品中非目标化合物的干扰。

MA 等<sup>[18]</sup> 开发了一步法胶束到环糊精扫集 (admicelle to cyclodextrin sweeping, ACDS) 方法, 用于分离和预浓缩有毒的马兜铃酸 (AAs)。该方法在临界胶束浓度和临界表面聚集浓度之间应用十六烷基三甲基氯化铵 (cetyltrimethylammonium chloride, CTAC), 使分析物被捕获到 CTAC 胶束中。在形成更稳定的包合物后, 可实现分析物的释放和预浓缩。该扫集方法可使分离效率得到提升, 灵敏度分离因子为 30~68, 已成功应用于马兜铃属 (*Aristolochia* L.) 和细辛属 (*Asarum* L.) 样品中 A、B、VII a、C 和 D 的测定。

HU 等<sup>[19]</sup> 以富含季铵盐和芳香环基团的小檗碱为原料, 以二甲氧基甲烷为交联剂经交联反应制备得到阴离子交换型高度交联聚合物, 再以聚丙烯腈为粘结剂将其制成吸附剂, 该吸附剂可用于快速高效萃取 AAs。

YAN 等<sup>[20]</sup> 首次发现并使用了 1-癸醇作为酸性化合物电膜萃取的高效支撑液膜 (supported Liquid membrane, SLM) 溶剂。所提出的电膜萃取系统用于从尿液样品中提取 AAI 和 AAII (回收率  $\geq 68\%$ )。采用尿液样品对电膜萃取结合液相色谱-质谱 (LC-MS) (即 EME-LC/MS) 的方法进行了评估, 证明电膜萃取可从复杂样品中分离出传统中药的生物活性成分, 以满足不同需求。

## 2 AAs 定量分析方法

### 2.1 色谱法

#### 2.1.1 高效液相色谱法

高效液相色谱法 (HPLC) 因其分离性能好、准确度和灵敏度高, 成为检测中药中 AAs 的主要方法。为了提高定量分析方法的准确度和灵敏度, 衍生化法被巧妙地应用到 HPLC 法中, 同时, 具有高灵敏度和选择性的荧光检测器 (FLD) 和电化学检测器 (ECD) 也被作为替代检测器。例如, WANG 等<sup>[21]</sup> 利用半胱氨酸中的巯基诱导脱硝反应, 使不发荧光的 AAs 转化为发荧光的马兜铃次酸 (aristollic acids, ATAs) 后用 HPLC-FLD 对 AAs 进行检测。另外, YUAN 等<sup>[22]</sup> 通过 Fe 粉将 AAs 转化成 ALs, 利用高效液相色谱耦合荧光检测器和二极管阵列检测器 (HPLC-FLD-DAD) 方法实现同时测定 6 种 AAs 和 5 种 ALs。此外, ZHANG 等<sup>[23]</sup> 建立了一种 HPLC-ECD 测定木香药材中 AAI 和 AAII 的方法。该方法基于 AAs 存在硝基苯基团, 因而 AAs 十分适合在还原模式下通过电化学检测器进行检测。结果表明, 在 -0.8 V 的检测电位下, AAI 和 AAII 在 10~50  $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围呈良好线性关系。

#### 2.1.2 二维液相色谱法

二维液相色谱法 (2D-LC) 是将两种不同分离机制的液相色谱分离系统以串联的方式结合起来的先进液相色谱技术, 可获得更好的峰容量和选择性以及更高的分离度和灵敏度。TAO 等<sup>[24]</sup> 构建了两种分别由样品定量环和捕集柱调节的 2D-LC 系统, 用

于检测细辛根及根茎中的痕量马兜铃酸I.在第一维(1D)和第二维(2D)色谱中,分别使用了Inertsil ODS-3 C18柱和Luna 3u Phenyl-Hexyl柱.对于2D-LC系统的捕集柱调制,选择了一种具有反相和离子交换混合模式的色谱柱.方法验证结果表明,这两种2D-LC方法在重复性、线性、日内/日间精密度、稳定性和准确性方面表现良好.通过两种2D-LC方法测定的三批细辛根及根茎中的AAI含量为0.466至0.812  $\mu\text{g/g}$ ,均低于中国药典中的限量要求.对这两种方法的综合比较表明,捕集柱调制获得了显著的溶质聚焦效应,与样品定量环调制相比,检测限降低了四倍,而基于样品定量环调制的方法在分析大批量样品时具有更高的分析效率.

### 2.1.3 液相色谱-质谱联用法

液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)技术结合了液相色谱的高分离效能和质谱的高选择性、高灵敏度.目前,从马兜铃属植物提取出来的AAAs化合物有160多种,由于一些成分难以获得对照品,采用HPLC法难以实现多个AAAs化合物的准确性与定量,而HPLC-MS技术在样品AAAs检测中具有灵敏度更高<sup>[25]</sup>,定性能力更强的优点.因此,HPLC-MS技术已经成功应用于中药材饮片、中成药、食品等不同样品中多种AAAs成分的检测.

张翠英等<sup>[26]</sup>用HPLC-DAD测北细辛、汉城细辛和华细辛果、叶、根及根茎中3种AAAs和2种ALs含量,并用灵敏度更高的HPLC-MS检验细辛根及根茎中AAI.结果显示,HPLC-DAD未在细辛根及根茎中检测到AAAs和ALs,但HPLC-MS发现4份细辛样品含微量AAI(0.4~2.4  $\mu\text{g/g}$ ),为细辛药用部位提供了数据支撑.欧爱芬等<sup>[27]</sup>通过超高效液相色谱-串联三重四极杆串联质谱(UPLC-QQQ-MS/MS)同时测定细辛中4种AAAs含量,发现细辛及细辛类中成药中含AAI和一定量AAIV.张万青等<sup>[28]</sup>使用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)实现了对复方半夏片中款冬花与细辛两类内源性毒素的测定,成功量化分析了其中3种吡咯里西啶生物碱成分及5种马兜铃酸成分的含量.

然而,MS在含量低或基质影响较大样品定量检测时,其检测结果并没有比紫外检测器的灵敏度高.张朝辉等<sup>[29]</sup>分析了影响MS灵敏度的原因,主要有离子源、检测模式、改性剂、基质干扰、质谱参数等方面.因此,在利用MS对AAAs定性定量分析时,可从以上方面考虑,探索适宜检测条件.值得注意的是,通过衍生化手段即利用 $\text{Zn}/\text{H}^+$ 诱导的硝化还

原,能将AAAs转化为电离效率更高的ALs,从而提高了MS检测的灵敏度<sup>[30-32]</sup>.CHAN等<sup>[30]</sup>通过实验验证,当AAAs转化ALs时,HPLC-MS/MS法比HPLC-FLD法灵敏度更高,该方法测定AAI和AAII检测限为0.02 ng/mL和0.04 ng/mL.

### 2.1.4 离子迁移谱-质谱联用法(IMS-MS)

IMS-MS法是将离子迁移谱和质谱联用,先利用离子迁移谱根据离子的迁移速度对离子进行初步分离,然后将分离后的离子引入质谱仪进行进一步的质荷比分析,为化合物的鉴定和结构分析提供更丰富的数据.ZHANG等<sup>[33]</sup>开发了一种TIMS-Q-TOF-MS作为超快速分析,快速表征血清中AAAs的方法.AAI、AAII、AAC、AAD、AL-I能在毫秒内分离和鉴定,且AAAs的定量分析具有良好的灵敏度和重现性.该方法经过验证并成功应用于大鼠中AAAs的药代动力学研究.

## 2.2 光谱法

### 2.2.1 荧光传感法

荧光传感法检测AAAs基本原理是AAAs与探针的相互作用可导致探针荧光发射信号的变化,其变化程度与AAAs的含量呈线性相关.并且这些探针还可能肉眼可见的颜色变化,实现AAAs的可视化检测,具有快速、简便的优势.不过,也存在容易被干扰、特异性不足等缺点.

LIU等<sup>[34]</sup>设计合成了一种新型荧光接枝共轭聚合物PPE-OB-PEG,其对AAAs具有较高的灵敏度和选择性.原理是PPE-OB-PEG作为电子供体,AAAs作为电子受体,能级相匹配时光致电子转移(PET)产生荧光猝灭,并且能在30 s内完成检测,可快速准确检测中药中AAAs.YE等<sup>[35]</sup>合成了分子印迹比例荧光探针(MIRF探针),基于分子印迹特异性识别AAI,还利用AAI对荧光探针有猝灭作用,530 nm下的探针荧光信号变化与AAI浓度在1.0~120.0  $\mu\text{mol/L}$ 呈现良好线性关系.同时,MIRF探针荧光颜色也发生了由黄色逐渐变为绿色再变为蓝色变化,具备现场可视化检测中药中AAI应用价值.DU等<sup>[36]</sup>成功研发了一种创新的比率荧光传感(图2),采用钙钛矿量子点技术构建的分子印迹聚合物.该传感不仅展现了对细辛中AAS的高灵敏检测能力,还同时能检测丁香酚.通过观察传感器所呈现出的色彩变化,用目视法对丁香酚与AAS的定性识别,并实现了半定量测量,这一进步极大地丰富了视觉检测手段的应用范畴.GUO等<sup>[37]</sup>基于Click反应合成含三唑的四羧基取代四苯乙烯化合物(TPE),组装得多孔发光

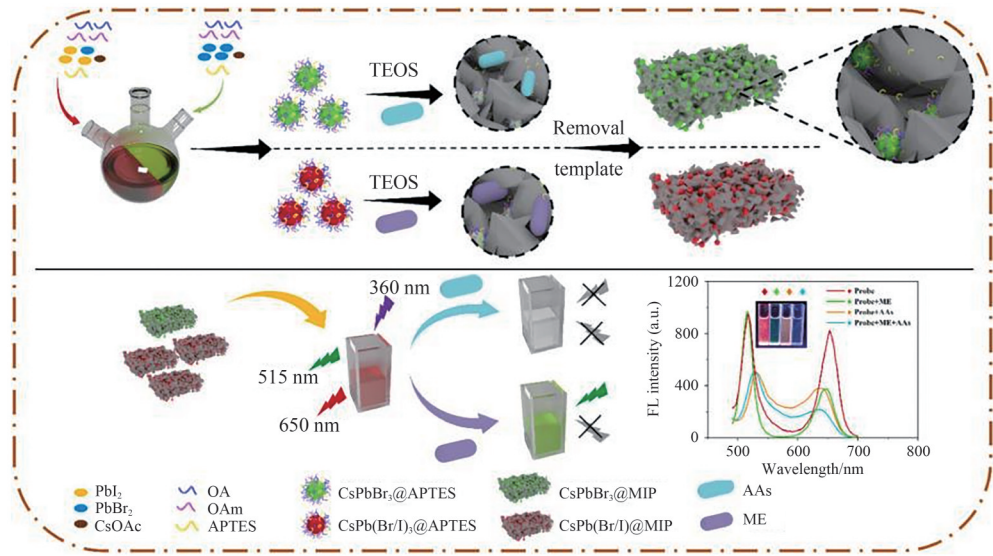


图 2 CsPbBr<sub>3</sub>@MIP 和 CsPb(Br/I)<sub>3</sub>@MIP 对丁香酚和马兜铃酸的检测示意图<sup>[36]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of the detection of eugenol and aristolochic acid by CsPbBr<sub>3</sub>@MIP and CsPb(Br/I)<sub>3</sub>@MIP<sup>[36]</sup>

金属框架 Zn<sub>3</sub>[(TCPTAPE)-(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>], 由于富氮三唑与含质子分析物之间的相互作用, AAI 导致了 TPE 荧光猝灭. 结果表明, 该方法淬灭效率为 96%、检测限为 1.02 μmol/L, 可选择性、灵敏地检测 AAI. SONG 等<sup>[38]</sup> 利用新型发光金属有机骨架 (Zn-MOF) 研制出一种可用于定量检测生物体液中痕量 AAI 的选择性纸传感器, 检测 AAs 快速、简单、低成本. WU 等<sup>[39]</sup> 设计一种溶菌酶修饰金纳米簇 (Lys-AuNCs) 的纸传感器对 AAI 进行检测. AAI 与溶菌酶存在相互作用, 当溶菌酶与 AAI 结合时使 Lys-AuNCs 明亮的红色荧光发生静态猝灭, 650 nm 下 Lys-AuNCs 处荧光变化与 AAI 浓度在 0.0375~3.0 mmol/L 内呈现良好的线性关系. 总的来说, 与大型仪器检测方法相比, 基于荧光分析检测平台具有简单、快捷优点, 在未来的食品、环境、药品有关 AAs 检测显示出巨大的潜力.

2.2.2 表面增强拉曼散射光谱法

表面增强拉曼散射光谱 (SERS) 法主要利用待测分子在纳米尺度的粗糙表面或颗粒体系所具有的异常光学增强现象, 已成功应用于 AAs 的检测. 若用普通拉曼光谱对目标物进行检测则灵敏度较差, 而基底增强材料是增强拉曼信号的关键.

GAO 等<sup>[40]</sup> 成功合成了具有核壳结构的牛血清白蛋白 (BSA) 修饰的银纳米颗粒 AgNPs@BSA. 该方法基于牛血清白蛋白含有大量的硫醇、胺和羧酸, BSA 与 AAI 可通过强非共价相互作用结合, 同时, 牛血清蛋白修饰的 AgNPs 表现出较高稳定性, 有利于 SERS 对 AAs 检测. 此外, GAO 等<sup>[41]</sup> 还建立了一种

SERS 与荧光光谱结合的双光谱法对 AAI 进行实时监测. 如图 3 所示, 以 Ag@Au 作为基底增强材料, 可以显著增强拉曼信号. 同时, 通过人蛋白血清和激光共聚焦实验表明 Fe<sup>2+</sup> 可渗透进入细胞膜, 将细胞内 AAI 转变成具有荧光特性 ALs, 通过荧光光谱法对其检测. 因此, 该方法具备检测内源性 AAI 的潜力. 而 OUYANG 等<sup>[42]</sup> 不仅利用 AAI 和 AAT 不同的 SERS 和荧光效应, 还借助石墨烯辅助分离与磁检索策略, 即 AAI 易被 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Ag 颗粒所吸附, 而 AAT 由于空间位阻较大, 导致吸附能力较弱. 因而, 分离提取后的 AAI 通过 SERS 法检测, 而 AAT 通过荧光光谱法检测. 结果表明, 与未加入 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-Ag 颗粒相比, SERS 检测灵敏度提高约 20 倍.

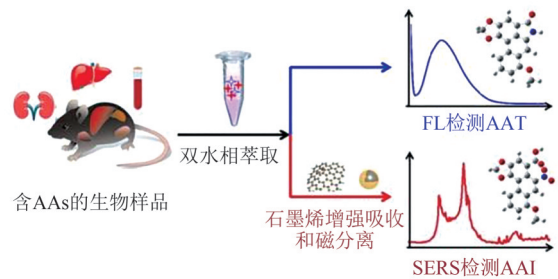


图 3 表面增强拉曼光谱法结合荧光光谱法对 AAs 的检测示意图<sup>[41]</sup>

Fig. 3 Schematic of the detection of AAs by surface-enhanced Raman spectroscopy combined with fluorescence spectroscopy<sup>[41]</sup>

2.2.3 其他光谱法

化学发光 (CL) 是利用化学反应过程中产生一定波长的光, 从而对目标化合物进行检测的方法. 化学发光具有灵敏度高、不需要复杂的仪器、无散射光干扰等优点. ORABY 等<sup>[43]</sup> 基于 AuNPs 对鲁米

诺-铁氰化钾体系的增强作用,采用简单、准确的顺序注射分析化学发光法对 AAI 进行检测.结果表明,鲁米诺-铁氰化钾-AuNPs-AAI 体系中测定 AAI 在 10~20000 ng/mL 浓度范围内呈现良好的线性关系.同时,该方法利用天然长叶薄荷和薄荷植物提取物绿色合成 AuNPs,因此可减少化学试剂的使用,实现更绿色环保的分析过程.

近红外光谱法(NIR)技术是一种对中药中 AAs 定性和定量分析新方法,具有快速、简单、无损、成本低等优点.CHEN 等<sup>[44]</sup>运用端到端一维卷积神经网络(1D-CNN)模型结合 NIR 来区分 AAs 及其类似物.孙伟明等<sup>[45]</sup>建立了一种 NIR 结合主成分分析法(PCA)对关木通、川木通以及含有不同浓度的 AAI 样本进行定性、定量分析.研究表明,所建立的定性模型能够对关木通、川木通和含有 AAI 样品准

确判别.

### 2.3 免疫分析法

免疫分析法是一种利用抗原和抗体特异性反应对目标化合物进行定性和定量的方法,具有高特异性、快速、灵敏度高等优点.不足在于抗体制备困难,活性无法保证,容易产生假阳性等问题.

#### 2.3.1 荧光免疫分析法

如图 4 所示,OU 等<sup>[46]</sup>通过合成 620 nm 红色发射碳点(rCDs),建立了一种抗 AAI 的荧光免疫分析法(FIA).该方法原理是 AAs 的包被抗原与单克隆抗体(mAb)结合后,酶标二抗的辣根过氧化物酶(HRP)可催化 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)形成 oxTMB,由于内滤效应使得 rCDs 发生荧光淬灭.该法与化学发光免疫分析法进行比较,加入红色发射碳点的荧光免疫分析法灵敏度提高了 5 倍.

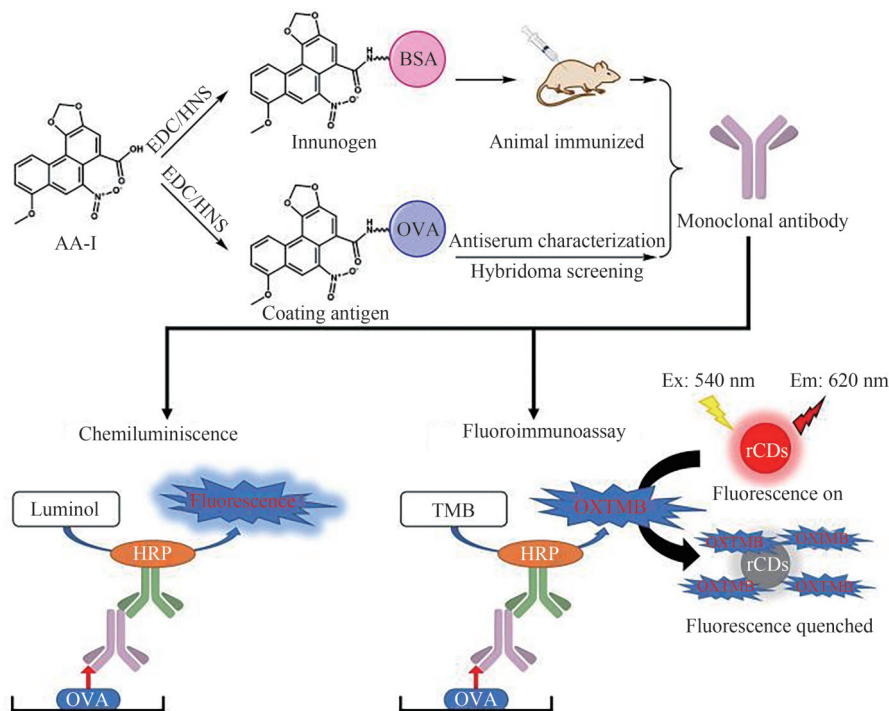


图 4 荧光免疫分析法检测 AAI 示意图<sup>[46]</sup>

Fig. 4 Schematic diagram of fluorescence immunoassay for AAI detection<sup>[46]</sup>

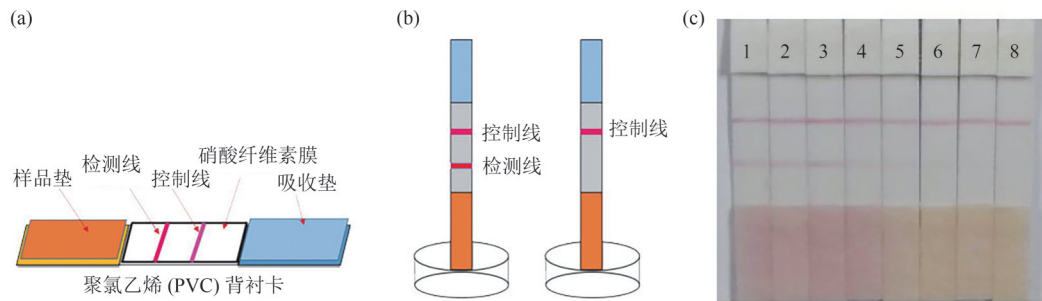
#### 2.3.2 酶联免疫分析法

CHEN 等<sup>[47]</sup>建立了一种基于竞争模式的胶体金免疫层析试纸条(ICS)对 AAI 进行检测的方法.该方法是基于 AAI 和检测线上包被抗原之间存在免疫竞争,当 AAI 与标记抗体结合时,导致较少的标记抗体与包被抗原结合,检测线颜色逐渐消失.结果表明,在最优条件下该方法对 AAI 的目视检出限为 6 ng/mL,灵敏度高,满足中药细辛的最大检出限 10 mg/kg 要求,可用于中药材中 AAI 的快速检测.免疫层析试纸条不需要任何专门的设备,适合于中药中

AAAs 快速现场检测和大量样品筛选.但是,目前只能通过试条显色进行半定量检测判断样品中 AAs 浓度是否超标.与此同时,LI 等<sup>[48]</sup>建立了一种用于中药中 AAI 快速检测的纳米金(GNP)免疫层析分析法(ICA)(图 5).结果表明,所研制的侧向流动 ICA 条目视检测限和截止限分别为 0.25  $\mu\text{g/g}$  和 0.5  $\mu\text{g/g}$ ,并且在 5 min 内可实现可视化检测.

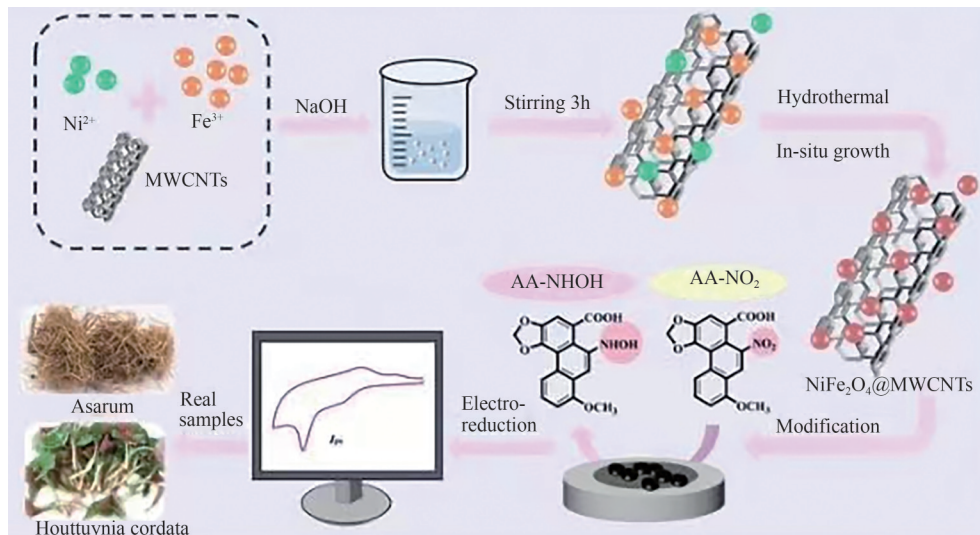
### 2.4 电化学分析法

电化学分析法是利用物质的电化学性质,测定化学电池的电位、电流或电量变化进行分析的方

图5 纳米金(GNP)免疫层析分析法检测AAI示意图<sup>[48]</sup>Fig. 5 Schematic diagram of Nano gold (GNP) immunochromatography for AAI detection<sup>[48]</sup>

法<sup>[49]</sup>. WANG等<sup>[50]</sup>采用了水热法合成一种二硫化钼/多壁碳纳米管( $\text{MoS}_2\text{/MWCNTs}$ )纳米复合材料修饰的玻碳电极方法,对中草药中AAs进行定量检测. 该方法是基于AAs存在硝基苯结构容易被还原,通过氧化还原反应用于AAs的定量分析. 结果表明,电化学传感器在 $0.2\sim 100\ \mu\text{mol/L}$ 的AAs浓度范围内呈现良好线性关系,检测限为 $0.06\ \mu\text{mol/L}$ ,是一种对中药中AAs快速、经济的定量检测方法. 随后, WANG等<sup>[51]</sup>又采用有序介孔碳(OMC)修饰玻碳电极(OMC/GCE)的电化学传感器对AAs进行检测. 结果表明,良好的介孔结构增强了电极比表面积和电子电导率,与单独的玻碳电极相比,有序介孔碳修饰玻碳电

极具有更高电化学活性,进一步扩展了电化学传感法在AAs检测中的应用. ZHOU等<sup>[52]</sup>采用复合模板法合成了碗状空心碳球BHC,并利用水热法在其表面原位生长了一层 $\text{MoS}_2$ . 成功合成了 $\text{MoS}_2\text{-BHC}$ 的电化学传感器. 基于 $\text{MoS}_2\text{-BHC}$ 传感器成功检测AAs,传感器的检测限为 $14.3\ \text{nmol/L}$ . JIANG等<sup>[53]</sup>创新性地使用一锅水热法在碳纳米管表面原位制备NFO(图6),首次将复合 $\text{NiFe}_2\text{O}_4\text{/MWCNTs}$ (NFO@CNTs)用于构建用于检测AAs的灵敏电化学传感器. NFO@CNTs表现出较强的电化学性能. 并成功应用于中草药中的AAs检测,这项工作也拓宽了镍铁氧体的应用,有望成为传感器的新型候选材料.

图6 构建用于检测AAs的灵敏电化学传感器 $\text{NiFe}_2\text{O}_4\text{/MWCNTs}$ 示意图<sup>[52]</sup>Fig. 6 Schematic diagram of the construction of a sensitive electrochemical sensor  $\text{NiFe}_2\text{O}_4\text{/MWCNTs}$  for the detection of AAs<sup>[52]</sup>

### 3 总结与展望

随着新型材料和分析技术的不断进步,AAs的靶向分离前处理和多成分定量分析方法取得了显著进展. 分子印迹吸附剂、磁性多孔吸附剂以及其他创新的前处理方法,为AAs的高效分离提供了多

样化选择. 同时,色谱法、光谱法、免疫分析法和电化学分析法等多种分析技术的应用,为AAs的定性和定量分析提供了高灵敏、高选择性的手段.

展望未来,AAs的靶向分离与多成分同时定量分析方法将朝着更加高效、精准、环保的方向发展. 在靶向分离方面,随着新型纳米材料和分子印迹技

术的不断突破,将开发出更多特异性高、吸附能力强、稳定性好的吸附材料,实现对 AAs 及其代谢产物的高效、选择性分离.同时,多模态分离技术的融合,如将磁性固相萃取与分子印迹技术相结合,将进一步提升分离效率和准确性.在多成分同时定量方面,LC-MS将继续发挥其核心作用,特别是高分辨质谱和串联质谱技术的应用,将实现对复杂基质中多种 AAs 及其代谢产物的同时定性和定量分析,大大提高检测能力和效率.此外,新兴的光谱技术如表面增强拉曼散射光谱(SERS)和荧光传感技术,因其高灵敏度和快速响应特性,有望成为 AAs 多成分定量分析的新工具,为检测方法的创新提供更多可能性.结合人工智能和机器学习算法,对检测数据进行智能分析和处理,将进一步提升分析效率和准确性,实现检测结果的自动化解读和预测.同时,注重开发环境友好型检测材料和试剂,减少有机溶剂的使用和废弃物的产生,符合绿色化学的发展趋势,为可持续发展贡献力量.综上所述,马兜铃酸的靶向分离与多成分同时定量分析方法将在技术创新、多学科交叉融合和绿色化学理念的指导下,不断取得新的突破和进展,为中药安全监管、毒理学研究和公众健康保障提供更加科学、高效的技术支持.

#### 参 考 文 献

- [1] 孙婉瑾,金实,姜楠,等.理气消痰片中马兜铃酸A的限量检查及急性毒性试验[J].湖北大学学报(自然科学版),2019,41(5):501-505.
- [2] 戴忠,刘静,郭日新,等.含马兜铃酸的中药现状及相关问题思考[J].中国现代中药,2024,26(8):1283-1293.
- [3] CAPRIOTTI A L, CAVALIERE C, LA BARBERA G, et al. Recent applications of magnetic solid-phase extraction for sample preparation [J]. Chromatographia, 2019, 82(8): 1251-1274.
- [4] WANG L, ZHANG C, CHEN Y, et al. Dummy molecularly imprinted silica materials for effective removal of aristolochic acid I from *Kaempfer dutchmanspipe* root extract [J]. Microchemical Journal, 2020, 152: 104463.
- [5] 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.
- [6] XIONG H, FAN Y, MAO X, et al. Thermosensitive and magnetic molecularly imprinted polymers for selective recognition and extraction of aristolochic acid I [J]. Food Chemistry, 2022, 372: 131250.
- [7] CAO Y, SHI H, LAN Z, et al. Efficient separation of aristolochic acid I from *Caulis aristolochiae manshuriensis* (Guan-mu-Tong) with copper mediated magnetic molecularly imprinted polymer [J]. Analytical Methods, 2023, 15(35): 4555-4562.
- [8] LIU X, LUO Y, FAN Y, et al. Magnetic quaternary ammonium polymer bearing porous agarose for selective extraction of aristolochic acids in the plasma [J]. Journal of Chromatography A, 2024, 1726: 464965.
- [9] JI F, JIN R, LUO C, et al. Fast determination of aristolochic acid I (AAI) in traditional Chinese medicine soup with magnetic solid-phase extraction by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1609: 460455.
- [10] SHU H, CHEN G, 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.
- [11] GUO W, SHI Z, ZHANG J, et al. Analysis of aristolochic acid I in mouse serum and tissues by using magnetic solid-phase extraction and UHPLC-MS/MS [J]. Talanta, 2021, 235: 122774.
- [12] CHEN P, LI X, YAN X, 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.
- [13] ZHANG M, LIU H, HAN Y, et al. On-line enrichment and determination of aristolochic acid in medicinal plants using a MOF-based composite monolith as adsorbent [J]. Journal of Chromatography B, 2020, 1159: 122343.
- [14] SHU H, CHEN G, WANG L, et al. Metal-organic framework grafted with melamine for the selective recognition and miniaturized solid phase extraction of aristolochic acid I from traditional Chinese medicine [J]. Journal of Chromatography A, 2021, 1647: 462155.
- [15] SHU H, GE Y, XU X Y, 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.
- [16] FANG L, TIAN M, YAN X, 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.
- [17] ZHANG J, WANG Y, 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.
- [18] MA X R, WU Y W, SHEN Q X, et al. One-step admicelle to cyclodextrin sweeping of toxic aristolochic acids by capillary electrophoresis [J]. Microchemical Journal, 2024, 200: 110480.
- [19] HU K, ZHANG Z Y, ZHAO D, et al. Berberine-based hypercrosslinked polymer: advanced solid-phase microextraction for high-throughput analysis of aristolochic acids in environmental water and herbal plants[J]. Talanta, 2025, 285: 127333.
- [20] YAN Y, HUANG C, SHEN X. Electromembrane extraction of aristolochic acids: New insights in separation of bioactive ingredients of traditional Chinese medicines [J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1608: 460424.
- [21] WANG Y, CHAN W. Determination of aristolochic acids by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(25): 5859-5864.
- [22] YUAN J, LIU Q, ZHU W, et al. Simultaneous analysis of six aristolochic acids and five aristolactams in herbal plants and their preparations by high-performance liquid chromatography-diode array detection-fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1182(1): 85-92.
- [23] ZHANG J, WEI Z, ZHANG A, et al. Detection aristolochic acids 1 and 2 in costustoot *via* electrochemical method and liquid chromatography [J]. International Journal of Electrochemical Science, 2016, 11(8): 6830-6837.
- [24] TAO X, CAO Q, ZHANG Y, et al. Two-dimensional liquid chromatography based on different modulations for the determination of aristolochic acid I in *Asari Radix* et *Rhizoma* [J]. Journal of Chromatography A, 2025, 1740: 465573.
- [25] CHAN C K, PAN G, CHAN W. Analysis of aristolochic acids in *Houttuynia cordata* by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2021, 56(4): e4652.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 张万青, 陈佩文, 刘潇潇, 等. UPLC-MS/MS检测伤风宁片中5个马兜铃酸成分[J]. 中国现代中药, 2024, 26(8): 1319-1325.
- [29] 张朝辉, 周娜姣, 刘星, 等. 药品、环境和食品中马兜铃酸分析检测方法的研究进展[J]. 分析化学, 2021, 49(11): 1792-1803.
- [30] CHAN C K, PAVLOVIĆ N M, CHAN W. Development of a novel liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for aristolochic acids detection: Application in food and agricultural soil analyses [J]. Food Chemistry, 2019, 289: 673-679.
- [31] CHAN C K, JASON CHAN K K, PAVLOVIĆ N M, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of aristolochic acids in soil samples collected from Serbia: Link to Balkan endemic nephropathy [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2020, 34(S1): e8547.
- [32] AU C K, ZHANG J, CHAN C K, et al. Determination of aristolochic acids in vegetables: Nephrotoxic and carcinogenic environmental pollutants contaminating a broad swath of the food supply and driving incidence of balkan endemic nephropathy [J]. Chemical Research in Toxicology, 2020, 33(9): 2446-2454.
- [33] ZHANG Y, HAN Y, DONG C, et al. Rapid characterization and pharmacokinetic study of aristolochic acid analogues using ion mobility mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2021, 413(16): 4247-4253.
- [34] LIU J L, XU C L, YANG T, et al. Developed a novel sensor based on fluorescent graft conjugated polymer for the determination of aristolochic acid in traditional Chinese medicine [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 222: 117239.
- [35] YE J, CAI X, ZHOU Q, et al. Molecularly imprinted ratiometric fluorescent probe for visual and fluorescent determination of aristolochic acid I based on a Schiff-base fluorescent compound [J]. Microchimica Acta, 2020, 187(11): 623.
- [36] DU Z, LI Y, ZENG C, et al. Dual-template molecularly imprinted double emission proportional fluorescence sensor based on CsPbBr<sub>3</sub> and CsPb(Br/I)<sub>3</sub> perovskite quantum dots for visual, selective and sensitive detection of methyl eugenol and aristolochic acid A [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2024, 417: 136189.
- [37] GUO C R, YING Y M, YU M, et al. Nitrogen-rich

- tetraphenylethene-based luminescent metal-organic framework for efficient detection of carcinogens[J]. ACS Omega, 2021, 6(3): 2177-2183.
- [38] SONG L, LIU M, TIAN F, et al. A novel luminescent metal-organic framework as a remarkable sensor for detecting aristolochic acids in biological fluids [J]. European Journal of Inorganic Chemistry, 2021, 2021 (17): 1695-1700.
- [39] WU S Q, YIN K P, SUN Y, et al. Gold nanoclusters-based paper sensor for the visualized detection of nephrotoxic aristolochic acids[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 340: 129792.
- [40] GAO Y, XUAN T, CHEN F, et al. Protein-docking strategy boosting Raman detection sensitivity for aristolochic acid I [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 304: 127223.
- [41] GAO C, ZHANG Q, MA L, et al. Dual-spectroscopic real-time monitoring of the reduction reaction between aristolochic acid I and  $\text{Fe}^{2+}$  and its bio-application [J]. Journal of Physical Organic Chemistry, 2021, 34(7): e4194.
- [42] OUYANG L, ZHANG Q, MA G, et al. New dual-spectroscopic strategy for the direct detection of aristolochic acids in blood and tissue [J]. Analytical Chemistry, 2019, 91(13): 8154-8161.
- [43] ORABY H F, ALARFAJ N A, EL-TOHAMY M F. Gold nanoparticle-enhanced luminol/ferricyanide chemiluminescence system for aristolochic acid-I detection in medicinal plants and slimming products [J]. Green Chemistry Letters and Reviews, 2017, 10(3): 138-147.
- [44] CHEN X, CHAI Q, LIN N, et al. 1D convolutional neural network for the discrimination of aristolochic acids and their analogues based on near-infrared spectroscopy [J]. Analytical Methods, 2019, 11(40): 5118-5125.
- [45] 黄婷, 赵如意, 徐文林, 等. 基于近红外光谱技术快速检测中药制剂中马兜铃酸含量的实验研究[J]. 福建医药杂志, 2019, 41(2): 122-126.
- [46] OU A F, CHEN Z J, ZHANG Y F, et al. Preparation of anti-aristolochic acid I monoclonal antibody and development of chemiluminescent immunoassay and carbon dot-based fluoroimmunoassay for sensitive detection of aristolochic acid I [J]. Foods, 2021, 10 (11): 2647.
- [47] CHEN X, HUANG T, HUANG Z, et al. Development of an immunochromatographic test strip for the rapid detection of aristolochic acid A in herbal medicinal materials [J]. Phytochemical Analysis, 2022, 33(3): 441-451.
- [48] LI S, WU X, SONG S, et al. Development of ic-ELISA and an immunochromatographic strip assay for the detection of aristolochic acid I [J]. Food and Agricultural Immunology, 2019, 30(1): 140-149.
- [49] WANG Y, MAMAT X, LI Y, et al. Glassy carbon electrode modified *via* molybdenum disulfide decorated multiwalled carbon nanotubes for sensitive voltammetric detection of aristolochic acids [J]. Electroanalysis, 2019, 31(7): 1390-1400.
- [50] 方涛, AWAIS I, 潘彦冰, 等. 电化学传感器用于检测抗寄生虫药物的应用进展[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 2025, 44(3): 343-356.
- [51] WANG Y, QIAO M, BAIKELI Y, et al. Soft-templated mesoporous carbon-modified glassy carbon electrode for sensitive and selective detection of aristolochic acids [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 385: 121550.
- [52] ZHOU M, TANG T, DENG X, et al.  $\text{MoS}_2$  nanosheets grown on bowl-shaped hollow carbon spheres as an efficient electrochemical sensor for ultrasensitive determination of nephrotoxic aristolochic acids in Chinese traditional herbs [J]. Analytical Methods, 2023, 15(28): 3449-3456.
- [53] JIANG H M, ZHANG M, LIU W J, et al. Carbon nanotube supported spherical nife-spinel heterostructure for sensitive electrochemical detection of aristolochic acid [J]. New Journal of Chemistry, 2024, 49(1): 273-280.

(责编&校对 姚春娜)