含马兜铃酸中药及其检测研究进展

负凯祎¹, 徐志超^{1,2}, 宋经元^{1,2*}

1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 国家中医药管理局中药资源保护重点研究室, 北京 100193

2. 中药资源教育部工程研究中心, 北京 100193

* 联系人, E-mail: jysong@implad.ac.cn

收稿日期: 2018-11-17; 接受日期: 2018-12-26; 网络版发表日期: 2019-03-11

国家自然科学基金(批准号: 81874339)和中国医学科学院医学与健康科技创新工程本草基因组协同创新团队(批准号: 2016-I2M-3-016)资助

摘要 马兜铃酸类物质(aristolochic acids, AAs)由于具有不可逆转的肾脏毒性被列为I级致癌物, 主要来自马兜铃属、细辛属等马兜铃科植物。目前, 一些含AAs植物仍作为传统药物使用, 甚至用于食品行业, 对公众健康的利益-风险评估值得关注。本文综述了AAs的基本化学结构、含AAs中药及其基原物种鉴定、AAs含量检测方法及生物合成调控等研究进展。在此基础上, 提出控制AAs的方案和建议: 对潜在含AAs中药进行系统性质量评价研究; 强化流行病学调查, 指导公众健康生活; 寻找含AAs药材的替代品; 深入研究AAs生物合成途径, 降低中药材和中成药AAs含量等。本文为食品药品监管部门制定政策提供依据, 为科研人员进行新药和食品研发提供参考, 对保障消费者的知情权具有重要意义。

关键词 马兜铃酸, 中药, 致癌性, DNA条形码分子鉴定, 生物合成

2017年Cell^[1]和Science Translational Medicine^[2]发文称, 马兜铃酸类物质(aristolochic acids, AAs)导致的突变与肝癌发生密切相关, 引发广泛关注, 国内肖小河等人^[3]和张伯礼课题组^[4]认为尚无直接证据支撑AAs会引起肝癌, AAs与肝癌发生的相关关系有待进一步证实^[5]。曾有报道称AAs具有良好的抗肿瘤、抗菌、抗血小板聚集^[6]、增加吞噬细胞活性、治疗蛇咬伤^[7]等作用, 但比利时“减肥药事件”的出现, 促使研究人员发现AAs具有明显的肾毒性和致癌性^[8,9]。2012年国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将AAs及含AAs的植物列为I类致癌物^[10], 故AAs相关危害是值得关注的全球性公共卫生

问题。目前, 一些含AAs的植物仍存在于中药材及中成药, 如复方蛇胆川贝散、止嗽化痰丸、马兜铃等, 这些中药在市场上流通使用, 是否存在潜在安全隐患需引起消费者和监管部门的关注。本文从AAs的基本结构、来源植物、食品药品的分子鉴定、化学检测和生物合成调控等方面进行了综述, 提出了AAs监控建议, 为新药开发、食品和保健品研究提供重要警示。

1 AAs的基本结构

AAs主要包括马兜铃酸及其体内代谢物^[11]。马兜铃酸别名马兜铃总酸、增噬力酸, 是天然产物中发现

引用格式: 负凯祎, 徐志超, 宋经元. 含马兜铃酸中药及其检测研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 238–249

Yun K Y, Xu Z C, Song J Y. Traditional Chinese medicine containing aristolochic acids and their detection (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 238–249, doi: 10.1360/N052018-00274

图 1 马兜铃酸(A)和马兜铃内酰胺(B)的骨架^[12]
Figure 1 Skeletons of aristolochic acid (A) and aristololactam (B)^[12]

的第1类含硝基的有机物, 基本骨架为菲型结构(图1A和表1)^[12,13]. 马兜铃酸体内代谢物主要是马兜铃内酰胺(aristolactams, ALs)(图1B和表2)^[12].

AAs表现出结构的相似性和多样性, AAI (aristolochic acid I, aristolochic acid A)是结构最简单的含硝基菲酸, AAI的-OH和-OCH₃在骨架上不同位置的变化和组合可形成多种马兜铃酸类似物. AAIIa-6-O-β-glucoside(aristolochic acid IIIa-6-O-β-glucoside)与马兜铃苷(aristoloside)是自然界中仅有的两个含葡萄糖基

的AAs^[18]. 研究还发现AAs的环状结构、取代基组成及位置都与毒性关系密切, 如8位-OCH₃和10位-NO₂是决定毒性的关键, -OH可加强毒性. AAI(aristolochic acid I, aristolochic acid A)毒性最强, 对AAI结构的任何修饰, 如加成、消除和置换等都会急剧减小毒性, 如AAI的-NO₂被还原为H, 毒性会消失^[24].

AAs在体内通过硝基还原反应转化为结构更为稳定的ALs, ALs广泛存在于马兜铃属植物中, 与马兜铃属植物亚属的划分有一定关系. ALII(aristololactam II)结构最为简单, 在A环和D环上均无取代, Enterocarpam III的结构比较特殊, 在C-3位也有取代.

2 含AAs的中药材及中成药

AAs主要存在于马兜铃科(Aristolochiaceae)植物中, 该科植物共约8属600种, 主要分布于热带和亚热带地区, 以南美洲较多, 温带地区较少, 分为细辛亚科(Subfam. Asaroideae)和马兜铃亚科(Subfam. Aristolochioideae). 我国产4属, 71种、6变种、4变型, 除华北

表 1 马兜铃酸类化合物的结构

Table 1 Structures of aristolochic acid compounds

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	来源植物	来源部位	参考文献
Aristolochic acid I, Aristolochic acid A	OCH ₃	H	H	木通马兜铃(<i>Ar. manshuriensis</i>)	茎部	[14]
Aristolochic acid IIIa, Aristolochic acid C	H	H	OH			
7-hydroxy aristolochic acid I, Aristolochic acid VIIa	OCH ₃	OH	H	凤尾马兜铃(<i>Ar. cretica</i>)	根部	[15]
Aristolochic acid II, Aristolochic acid B	H	H	H			
Aristolochic acid IVa, Aristolochic acid D	OCH ₃	H	OH	美丽马兜铃(<i>Ar. elegans</i>)	茎部和根部	[16]
Aristoloside	OCH ₃	H	Glc			
Aristolochic acid F	H	OH	H	广防己(<i>Ar. fangchi</i>)	根部	[17]
Aristolochic acid G	OH	H	OH			
Aristolochic acid IIIa-6-O-β-glucoside	H	H	Glc	<i>Ar. baetica</i> ; <i>Ar. cinnabarina</i>	根部	[18]

表 2 马兜铃内酰胺类化合物的结构

Table 2 Structures of aristololactam compounds

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	来源植物	来源部位	参考文献
Aristololactam I	CH ₂		H	H	OCH ₃	H	<i>Ar. brevipes</i>	地上根	[19]
Aristololactam II	CH ₂		H	H	H	H	<i>Ar. argentina</i>	地上部分	[20]
Aristololactam AII	CH ₃	H	H	H	H	H	<i>Ar. constricta</i>	茎部	[21]
Aristolactam Ia N-β-D-glucoside	CH ₂		H	Glc	OH	H	<i>Ar. gigantea</i>	根茎	[22]
Enterocarpam III	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	<i>Orophea enterocarpa</i>	叶和嫩枝	[23]

和西北干旱地区外, 全国各地均有分布, 其中马蹄香属(*Saruma*)为我国特有属. 该科模式属是马兜铃属(*Aristolochia*, *Ar.*)^[25], 此属AAs含量最高. 表3列举了中国分布的马兜铃科植物.

中国是天然药物使用大国, 传统中药不少使用马兜铃科植物. 目前, 原国家食品药品监督管理局公布的收载于《中国药典》、部颁标准和地方药材标准的马兜铃科药材有24种(<http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1991/215894.html>)(表4), 含马兜铃属药材的已上市中成药口服制剂有43种(<http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL1991/215893.html>)(表5).

有文章报道在某些食物中也发现AAs, 如含ALs的鱼腥草(*Houttuynia cordata*), 如图2所示, 已被报道含有ALaII (aristololactam AII), ALBII (aristololactam BII, Cepharanone B), Piperolactam A, ALFII (aristololactam FII), 三白草内酰胺, 3,4-二甲氧基-*N*-马兜铃内酰胺等. 1992年, Pröbstle等人^[26]依次以正己烷、氯仿和甲醇为溶剂, 经索氏提取、半制备型反相高效液相色谱纯化以及核磁共振氢谱(¹H-NMR), 高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC), 傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR), 质谱(mass spectrometry, MS)等手段表征, 从*H. cordata*干燥地上部分发现3种ALs, 分别为ALBII, Piperolactam A和ALaII, 这是*H. cordata*中分离出ALs的第一份报告. 随后2份报告也得到了同样的结果, Kim等人^[27]采用干燥地上部分, 而陈少丹等人^[28]采用体积分数为50%的乙醇提取全草, 均利用大孔树脂AB-8柱色谱、硅胶柱色谱、Sephadex LH-20柱色谱、反相HPLC等色谱方法和ESI-MS, ¹H NMR, ¹³C NMR等波谱学方法进行分离和鉴定. 另有研究也发现了ALBII. Bauer等人^[29]采用¹H NMR, EI-MS, CI-MS, LC-MS等手段从地上部分的正己烷提取物中分离, Jong等人^[30]采用热甲醇提取地上部分3次, 经硅胶柱色谱分离并经UV,

IR, EIMS, 2D-NMR等色谱法确定结构. 此外, Chou等人^[31]采用硅胶柱色谱法提取全草, 采用FTIR, UV, EI-MS, 2D-NMR等技术表征, 结果鉴定出4种ALs, 即ALaII, ALBII, Piperolactam A, 3,4-二甲氧基-*N*-马兜铃内酰胺. Qu等人^[32]采用硅胶柱色谱、重结晶等方法进行分离纯化, 并利用化合物的理化性质和波谱数据鉴定结构, 得到5种ALs, 除已被多次报道的ALBII, ALaII, Piperolactam A外, 还获得了ALFII和三白草内酰胺, 其中ALFII是首次从蕺菜属(*Houttuynia*)植物分离得到.

已有文献报道AAs具有潜在毒性^[33,34], 且不同结构的AAs其毒性作用迥异, 应加强对鱼腥草的化学成分, 特别是其中所含类ALs及其潜在毒性的系统研究, 这将会为消费者提供更为权威的指导.

3 含AAs药材的鉴定及AAs的检测

近年来, 含AAs药材DNA条形码分子鉴定技术的建立突破了传统性状鉴别、显微鉴别和理化鉴别方法的限制. AAs的含量检测主要以HPLC法为主.

3.1 分子鉴定方法

DNA条形码技术能够追踪基原物种, 识别药材中的混伪品和替代品, 鉴定结果可靠, 操作流程简单、规范, 减少了对经验的过度依赖^[35,36].

目前, DNA条形码方法鉴定单味草药的报道较多. Wu等人^[37]利用基于ITS2和psbA-trnH序列的DNA条形码技术, 结合BLAST鉴定和邻接法, 成功鉴定了158个马兜铃科样品和131个非马兜铃科替代品. 马晓冲等人^[38]基于ITS2序列成功区分了60份木香、川木香、土木香、青木香、红木香样品, 并鉴别出川木香的2个基原物种. Li等人^[39]提取10份白英(*Solanum lyrati*)及含AAs替代品寻骨风(*Ar. mollissimae*)样品DNA后发现,

表3 中国产马兜铃科植物

Table 3 Species list of Aristolochiaceae in China

科	属	物种
细辛亚科	细辛属(<i>Asarum</i> , <i>As.</i>)	中国有30种、4变种、1变型
	马蹄香属(<i>Saruma</i>)	中国特有属, 仅1种植物
	线果兜铃属(<i>Thottea</i>)	中国海南岛产1种植物
马兜铃亚科	马兜铃属(<i>Aristolochia</i>)	中国产39种、2变种、3变型

表 4 可能含有马兜铃酸的马兜铃科药材

Table 4 Aristolochiaceae herbs potentially containing aristolochic acids

序号	药材名	基原植物
1	大叶青木香	大叶马兜铃(<i>Ar. austrozechuanica</i>)
2	大百解	土木香(<i>Ar. chuii</i>)
3	朱砂莲	四川朱砂莲(<i>Ar. cinnabarina</i>) 朱砂莲(<i>Ar. tuberosa</i>)
4	九月生(朱砂莲)	广西朱砂莲(<i>Ar. Tuberosa</i>)
5	天仙藤(马兜铃藤)	北马兜铃(<i>Ar. contorta</i>) 马兜铃(<i>Ar. debilis</i>)
6	马兜铃	北马兜铃(<i>Ar. contorta</i>) 马兜铃(<i>Ar. debilis</i>) 异叶马兜铃(<i>Ar. heterophylla</i>)
7	防己	川南马兜铃(<i>Ar. austrozechuanica</i>) 穆坪马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>)
8	汉防己	异叶马兜铃(<i>Ar. heterophylla</i>)
9	淮通	穆坪马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>) 木香马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>)
10	木防己 (水城木防己)	木香马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>) 卵叶马兜铃(<i>Ar. ovatifolia</i>) 木香马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>)
11	木香马兜铃	穆坪马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>) 藏马兜铃(藏木通)(<i>Ar. griffithii</i>)
12	大青木香	广西马兜铃(<i>Ar. kwangsiensis</i>)
13	冕宁防己	穆坪马兜铃(<i>Ar. moupinensis</i>)
14	寻骨风	绵毛马兜铃(<i>Ar. mollissima</i>) 短尾细辛(<i>Asarum caudigerellum</i>)
15	荜叶细辛	尾花细辛(<i>As. caudigerum</i>) 青城细辛(<i>As. splendens</i>) 双叶细辛(<i>As. caulescens</i>)
16	乌金七	双叶细辛(<i>As. caulescens</i>)
17	杜衡	杜衡(<i>As. forbesii</i>) 宜昌细辛(<i>As. ichangense</i>) 杜衡(<i>As. forbesii</i>)
18	湘细辛	小叶马蹄香(<i>As. ichangense</i>) 五岭细辛(<i>As. wulingense</i>) 北细辛(<i>As. heterotropoides</i> var. <i>mandshuricum</i>)
19	细辛	汉城细辛(<i>As. sieboldii</i> var. <i>seoulense</i>) 华细辛(<i>As. sieboldii</i>)
20	甘肃细辛	单叶细辛(<i>As. himalaicum</i>)
21	南坪细辛	单叶细辛(<i>As. himalaicum</i>)
22	毛细辛	单叶细辛(<i>As. himalaicum</i>)
23	金耳环	金耳环(<i>As. insigne</i>)
24	山慈菇	山慈菇(<i>As. sagittarioides</i>)

表 5 含马兜铃属药材的已上市中成药品种

Table 5 Listed Chinese patent medicines containing *Aristolochia* species

序号	药品名称	含马兜铃属药材
1	通迪胶囊	大青木香
2	复方胃痛胶囊	九月生
3	喘息灵胶囊	马兜铃
4	肺安片	马兜铃
5	复方蛇胆川贝散	马兜铃
6	鸡鸣丸	马兜铃
7	鸡苏丸	马兜铃
8	七十味松石丸	马兜铃
9	青果止嗽丸	马兜铃
10	润肺化痰丸(鸡鸣丸)	马兜铃
11	十三味疏肝胶囊	马兜铃
12	胃福颗粒	马兜铃
13	止嗽化痰丸	马兜铃
14	京制咳嗽痰喘丸	马兜铃
15	消咳平喘口服液	马兜铃
16	止嗽化痰胶囊	蜜马兜铃
17	二十九味能消散	木香马兜铃
18	二十五味绿绒蒿胶囊	木香马兜铃
19	二十五味绿绒蒿丸	木香马兜铃
20	二十五味松石丸	木香马兜铃
21	二十五味余甘子丸	木香马兜铃
22	二十五味竺黄散	木香马兜铃
23	风湿塞隆胶囊	木香马兜铃
24	风湿止痛丸	木香马兜铃
25	肝畅胶囊	木香马兜铃
26	九味牛黄丸	木香马兜铃
27	七味红花殊胜散	木香马兜铃
28	七味红花殊胜丸	木香马兜铃
29	清肺止咳丸	木香马兜铃
30	四味止泻木汤散	木香马兜铃
31	五味渣驯丸	木香马兜铃
32	和胃降逆胶囊	天仙藤
33	复方风湿药酒	寻骨风
34	复方拳参片	寻骨风
35	祛风除湿药酒	寻骨风
36	三蛇药酒	寻骨风
37	神农药酒	寻骨风
38	益肾蠲痹丸	寻骨风
39	杜仲壮骨胶囊	寻骨风
40	杜仲壮骨丸	寻骨风
41	保胃胶囊	朱砂莲
42	金朱止泻片	朱砂莲
43	朱砂莲胶囊	朱砂莲

图 2 南方种植的鱼腥草(网络版彩图)

Figure 2 *Houttuynia cordata* in the field of southern China (color online)

所有的DNA条形码(ITS, matK, rbcL, trnH-psbA和trnL-trnF)都能够从*Ar. mollissima*中区分*S. lyratum*, 2份白英样品来自*S. lyratum*, 3份来自替代品*Ar. mollissima*; 3份寻骨风样品来自*Ar. mollissima*, 2份来自替代品*S. lyratum*. 他们另一项研究也表明^[40], 叶绿体DNA基因座matK, rbcL, trnH-psbA和trnL-trnF可以区分真正的草药(粉防己、木通、木香)与混伪品(广防己(*Ar. fangchi*)、关木通(*Ar. manshuriensis*)、青木香(*Ar. debilis*)).

随着DNA测序技术飞速发展, 即继第一代测序技术(Sanger链终止法)后, 又出现了第二代(大规模平行测序)和第三代(单分子测序)测序技术, 使DNA技术实现多草药混合的中药制剂的物种溯源分析. Coghlan等人^[41]用第二代高通量DNA测序方法, 分析了澳大利亚海关截获的15种中药制剂, 结果鉴别出68种植物, 包括有毒的麻黄属(*Ephedra*)和含AAs的细辛属(*Asarum*)植物以及8种脊椎动物, 包括珍稀濒危动物亚洲黑熊(*Ursus thibetanus*)和赛加羚羊(*Saiga tatarica*), 而其中许多物种未被标示. Xin等人^[42]利用DNA条形码和单分子实时定量(single molecule, real-time, SMRT)测序方法, 对九味羌活丸及自制同配方制剂中的组分进行检测, 结果SMRT测序覆盖了ITS2和psbA-trnH区域的5416和4342个循环共有测序(circular-consensus sequencing, CCS)读数, 可灵敏地检测到中成药的所有成分, 包括马兜铃科的细辛, 并且识别出多种非处方物种和混伪品. Xin等人^[43]还利用宏基因组鸟枪测序技术精确鉴定出自制及市售龙胆泻肝丸中的所有物种信息, 并在3批市售样品中均发现处方非药典种小木通(*Clematis armandii*)、泽泻(*Alisma plantago-aquatica*)和竹叶柴

图 3 AAI可能的生物合成途径

Figure 3 The putative biosynthetic pathway of aristolochic acid I in plants

胡(*Bupleurum marginatum*), 在其中一批市售样品中还检测到曲霉属的一种真菌.

3.2 性状鉴别及显微鉴别

性状与显微鉴别是用感官来鉴定药材是否符合药用标准,系统观察和描述药材形状、色泽、大小、质地、气、味、显微等特征,主要进行品种鉴定。2015年版药典对马兜铃和3种来源的细辛等药材均进行了性状及显微鉴别^[44]。白梦娜^[45]在2015年版药典基础上,采用石蜡包埋技术和番红固绿染色法对川木通基原植物小木通、绣球藤与其主要混品粗齿铁线莲和小蓼花藤进行鉴定,显微鉴别能准确有效地将川木通与铁线莲属植物进行区分,而药材性状均比较相似。武尉杰等人^[46]对小木通和绣球藤的茎、叶、叶柄进行组织结构的比较显微鉴别,结果绣球藤茎年轮明显,叶主脉维管束外无厚壁纤维组成的环状结构,叶柄近轴面中心维管束两侧常可见两个小型次生维管束,均可与小木通区别。赵双艳^[47]对北细辛、杜衡和及己对比研究,结果药材性状及显微鉴别有很多不同,即北细辛、杜衡的根茎具有明显的环节,而及己无;三者根的初生木质部数量不同,并且北细辛石细胞散在,杜衡无石细胞和纤维,及己石细胞较多;北细辛和杜衡含有淀粉粒,而及己无。这两种鉴别方法对实验人员经验要

求较高,准确鉴定药材来源有一定难度.

3.3 化学方法

马兜铃科植物中含量最高、分布最广的AAs类成分是AAI, 所以对AAI的检测较多, 检测方法主要有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)和HPLC法。

3.3.1 TLC法

TLC法在早期AAs的检测中应用较多, 但该方法检出限较高、灵敏度低、误差较大, 主要用于简单的定性判断. 吕水平等人^[48]依据药典方法, 对5批通城虎药材进行TLC鉴别, 结果显示, 药材的乙醇提取物检出与AAI对照品和通城虎对照药材相应的荧光斑点. Agrawal等人^[49]开发出一种快速、高效的TLC法, 分析不同马兜铃科植物*Ar. indica*茎和*Apama siliquosa*根中的AAs, 发现在0.4~2.0 $\mu\text{g}/\text{spot}$ 内线性关系良好, 检测限和定量限分别为62.841和209.47 ng/spot , 说明该方法简便易行、准确方便, 可用于不同马兜铃科植物的质量评价研究.

3.3.2 HPLC法及液质联用技术

HPLC法的分离鉴别能力大大优于其他鉴定方法,且具有分离效能高、分析速度快、灵敏度高、重现性

好等优点, 现被广泛用于中药材的成分研究, 特别是在成分差别细微的单味中草药^[50-52]以及成分极为复杂的中药复方制剂领域^[53-57]。

在HPLC法基础上又发展出一门以HPLC为分离手段, MS为检测器的综合性分析技术——液相色谱-质谱(LC-MS)联用技术, 其不仅可用于药材中的AAs检测, 还可用于复方制剂及食品中AAs的含量检测。相比之下, 此法在药材检测方面应用最多。Tagami等人^[58]结合固相萃取和LC/MS法成功地检测出生药材中的AAI, 检测限为0.02 $\mu\text{g/mL}$ ($S/N=3$), 说明此法可用于生药材的质量评价。周慧等人^[59]利用体外肝微粒体代谢方法结合HPLC-MS/MS技术研究AAs的体外代谢, 结果表明, AAI在有氧条件下生成的代谢产物为AAIa(aristolochic acid Ia), 在厌氧条件下生成的代谢产物为ALI(aristolactam I), AAI在厌氧条件下生成了ALII, 其中ALs是AAs产生毒性的主要原因。Kong等人^[60]采用UHPLC-Q/TOF-MS法快速分析了来源于5种马兜铃科植物的19个样品, 结果鉴定出5种AAs和3种ALs。李功辉等人^[61]以马兜铃科药材及其易混药材为研究对象, 利用UPLC-QQQ-MS法建立复杂中药基质中AAI的定性定量测定方法, 研究表明, 不同种类药材中AAI的含量差异明显, 朱砂莲中为最高。Mao等人^[62]利用UHPLC-Q/TOF-MS和UHPLC-QqQ-MS法对北马兜铃(*A. contorta*)外果皮、内果皮、隔膜和种子4个部位进行分析, 鉴定出10种化合物(5种AAs和5种ALs), 且这4个部位的化学成分在数量和质量上均不同, AAI和AAII只在种子中积累。液质联用技术对复方制剂及食品的AAs检测也有相关报道。甘盛等人^[63]用HPLC/MS法建立了清血内消丸中AAI的限量检查法, 检测限为0.1 $\mu\text{g/L}$, 定量限为0.3 $\mu\text{g/L}$, 平均回收率为119.2%, 能满足AAI痕量残留的检测要求。张俐等人^[64]采用LC-MS法检测消风止痒颗粒中的马兜铃酸A, 结果全国4个厂家生产的87批制剂均未检出马兜铃酸A, 表明该品种目前用药安全情况良好。罗金文等人^[65]采用UPLC-MS/MS法成功测定保健食品中马兜铃酸A的含量, 最低检测限为0.2 $\mu\text{g/kg}$, 平均回收率为105.3%。Gu等人^[66]借助一个新的C18-SAX基SPE树脂, 采用UHPLC-Q/TOF-MS法同时测定大鼠血清中的AAI, AAI, AAIIIa(aristolochic acid IIIa, aristolochic acid C)和AAIVa(aristolochic acid IVa, aristolochic acid D)4种AAs成分, 检测限分别为3, 6, 0.09和1.5 ng/mL , 日内和

日间精密度分别小于1.1%和1.5%。

对AAs的检测, 除药典中规定的方法外, 早期研究人员还开发出紫外分光光度法^[67-70]、毛细管电泳法^[71]、酶联免疫法^[72]、极谱法^[73]等方法, 目前应用较少。

4 AAs的生物合成研究

AAs生物合成的最初前体为酪氨酸(tyrosine, Tyr), 酪氨酸脱羧酶基因(tyrosine decarboxylase, TyrDC)是Tyr代谢途径中的第1个关键酶基因, 如把该基因敲除, 可阻碍植物中AAs合成, 减少AAs的含量。

AAs生物合成研究主要集中在AAI, 而有机合成只有一篇文献报道。Spenser等人^[74]报道了*Ar. siphon*中可能的AAI生物合成途径, 认为千金藤碱这一阿朴菲生物碱是AAI的前体(图3)。为了进一步阐明AAI合成的碳流走向, Schütte等人^[75]应用同位素标记技术从藜芦醚开始合成全去甲劳丹碱, 并将其注入*Ar. siphon*茎中分离得到标记的AAI, 表明羧基碳来源于C-4位。Comer等人^[76]以Tyr、多巴、多巴胺和去甲肾上腺素作为特定的前体, 首次将多巴并入AAI的合成途径, 如图3所示, 指出Tyr是AAI生物合成的最初前体, 全去甲劳丹碱是合成中间体, 阿朴菲骨架杂环氧化裂解产生AAI; 并通过双标记法证明AAI硝基和活性分别来自Tyr的氨基及自身羧基。Sharma等人^[77]采用相似方法研究*Ar. bracteata*中AAs合成, 进一步证实了此合成途径。最近, Attaluri等人^[78]基于Suzuki-Miyaura偶联反应, 开发出一种从头合成AAs及其主要代谢物ALs的全合成方法, 指出成功的关键在于制备一个共同的环状前体。

明确AAs生物合成的关键途径, 有利于借助现代生物及有机合成学技术, 定向控制合成目标, 降低并去除含AAs药材的毒性。王潇晗^[79]初步对细辛中AAs生物合成途径进行研究, AAI含量与酶活性相关性分析表明乙酰辅酶A(acetyl coenzyme A, A-CoA)、单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)和TyDC可能是AAI生物合成途径中的相关酶, 酪氨酸激酶(tyrosine kinase, Tyk)则不一定。并通过诱导子Cu, Zn元素对相关酶的影响来调控细辛中AAs含量, 发现不同浓度 Cu^{2+} 对Tyk, A-CoA的活性和AAI的含量影响显著, 可能为酶的中心离子, 而对TyDC和MAO影响稍弱; 不同浓度 Zn^{2+} 对4种酶活性及AAI含量影响不显著。杨瑞仪等

人^[80]研究在源头上阻断AAs的合成, 避免各种中间产物的积累, 采用反转录聚合酶链反应和互补DNA (cDNA)末端快速扩增法从马兜铃中扩增出TyrDC全长cDNA, 为进一步构建基因打靶载体进行TyrDC基因敲除和去除AAs的基因工程改造奠定基础.

5 结论与展望

早在16世纪, 德裔瑞士医生帕拉塞尔苏斯就说: “治疗的艺术源于自然而非医生, 医生必须从自然出发, 保持开放的思想”. 大自然为人类提供了许多有效药物, 如青蒿素和喜树碱, 但也存在大量强致癌物, 如黄曲霉素和AAs. 如何充分利用大自然的馈赠, 使其有利于人们健康并防止危害, 成为科学工作者的努力目标. 砒霜, 有效成分As₂O₃, 水溶液无色无味, 属于剧毒药, 俗称“鹤顶红”, 而中国学者以毒攻毒, 发现砒霜可有效治疗急性早幼粒性白血病^[81], 拯救了许多白血病患者生命. 本文综述的AAs恰好是相反的案例, 从曾具有抗肿瘤作用变为强致癌物, 特提出以下建议供相关研究人员参考.

(1) 强化AAs检测技术及追溯含AAs产品的基原物种, 对潜在含AAs产品进行系统性质量评价研究. 鉴于AAs具有不可逆的肝肾毒性, 对市场上潜在含AAs的中药材、中成药、食品等产品, 应加强AAs检测技术的应用, 特别是追溯含AAs产品的基原物种, 建立联合形态识别、化学检测和分子鉴定的系统性质量评价技术, 对含AAs产品进行严格监控. 含AAs药品要严格按处方药进行管理, 在服用含AAs的中药材或中成药时, 必须遵医嘱, 严格控制剂量和疗程, 并定期检查肝肾功能; 企业在出厂含AAs药品时, 应清楚标注“本品含×××药材, 该药材含AAs, AAs可引起肝肾损害等不良反应”的警示信息, 保障消费者安全和知情权.

(2) 对AAs进行毒性评估时, 重点监控肾毒性, 密切监测肝毒性及致癌性, 兼顾AAs对全身其他组织器官的毒性作用. AAs引起肾毒性及泌尿系肿瘤毋庸置疑, 而小鼠、大鼠、比格犬整体动物实验和临床报告均证实AAs及含AAs草药对肝脏具有毒性或致突变作

用. 由于临床药物毒理学试验耗时长、所需样本量大, 且存在伦理学问题, 故国内外尚没有关于AAs毒性的长时间、大样本量研究. 因此, 在涉及AAs毒性动物实验研究和临床诊断中, 须重点监控肾毒性, 密切监测肝毒性及致癌性, 兼顾AAs对全身其他组织器官的毒性作用研究.

(3) 在我国针对较多使用含AAs中药材、中成药和食品等的人群, 强化流行病学调查, 指导公众健康生活. 我国东南与西南地区人群食用鱼腥草较多, 建议组织县级以上人民医院对本地区开展流行病学调查, 及时上报本地区人群健康状况, 有助于政府发布指导信息和相应政策保护公众健康. 消费者在购买含AAs食品及保健品时, 或在医生指导下使用含AAs药物时, 重点评估产品带来的收益是否大于副作用造成的损害, 增强自我保健意识.

(4) 深入研究AAs生物合成途径, 降低中药材和中成药AAs含量. 从最初前体Tyr开始阻断AAs合成, 会阻碍其他化合物的合成, 对植物自身的生长发育有何影响尚不清楚. 如能研究验证AAs生物合成途径下游所需关键酶编码基因功能, 以此作为抑制AAs生物合成的突破口, 将不影响其他化合物的合成, 可能是降低或去除药材中AAs最经济可靠的方法.

(5) 寻找含AAs药材的替代品, 替代药材资源如果短缺, 可对其进行保护和人工种植. 自2003年出现“龙胆泻肝丸事件”——即许多患者长期服用龙胆泻肝丸导致肾损害甚至肾衰竭、尿毒症后, 2003年4月1日, 原国家药品监督管理局印发《关于取消关木通药用标准的通知》, 决定用木通科木通替换关木通(<http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0844/9977.html>), 但木通科木通野生资源供不应求. 同样, 用于替换马兜铃科广防己的防己科防己也面临此问题(<http://samr.cfda.gov.cn/WS01/CL0844/10242.html>), 粉防己是中药防己的唯一来源, 自然(种子)繁殖成活率低, 分布地域狭窄, 入药部位根部生长缓慢, 野生资源破坏严重, 供不应求^[82]. 所以应加强替代药材的资源保护、人工栽培和规模化种植研究, 以实现药用植物资源可持续利用.

参考文献

- 1 The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2017,

- 169: 1327–1341
- 2 Ng A W T, Poon S L, Huang M N, et al. Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia. *Sci Transl Med*, 2017, 9: eaan6446
- 3 Gao Y, Xiao X H, Zhu X X, et al. Study and opinion on toxicity of aristolochic acid (in Chinese). *China J Chin Mater Med*, 2017, 42: 4049–4053 [高月, 肖小河, 朱晓新, 等. 马兜铃酸的毒性研究及思考. *中国中药杂志*, 2017, 42: 4049–4053]
- 4 Liang A H, Gao Y, Zhang B L. Safety issue and strategy of traditional Chinese medicines containing aristolochic acid (in Chinese). *Chin Food Drug Admin Mag*, 2017, 11: 17–20 [梁爱华, 高月, 张伯礼. 含马兜铃酸中药的安全性问题及对策. *中国食品药品监管*, 2017, 11: 17–20]
- 5 Bai Z F, Xu G, Wang J B, et al. Research progress in and countermeasures against carcinogenicity of aristolochic acids and their derivatives (in Chinese). *Prog Pharm Sci*, 2018, 42: 164–169 [柏兆方, 徐广, 王伽伯, 等. 马兜铃酸及其衍生物致癌性研究进展及应对措施. *药学进展*, 2018, 42: 164–169]
- 6 Chen M L, Zhu Z L. The advance on the studies of pharmacology of *Aristolochia* L. plants (in Chinese). *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2007, 18: 702–704 [陈孟兰, 朱正兰. 马兜铃属植物的生物活性和药理作用研究进展. *时珍国医国药*, 2007, 18: 702–704]
- 7 Bhattacharjee P, Bera I, Chakraborty S, et al. Aristolochic acid and its derivatives as inhibitors of snake venom L-amino acid oxidase. *Toxicon*, 2017, 138: 1–17
- 8 Vanherweghem J L, Tielemans C, Abramowicz D, et al. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs. *Lancet*, 1993, 341: 387–391
- 9 Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, et al. Identification of aristolochic acid in chinese herbs. *Lancet*, 1994, 343: 174
- 10 International Agency for Research on Cancer (IARC). A Review of Human Carcinogens. A. Pharmaceuticals. Geneva: WHO Press, 2012. 347–361
- 11 Li Y M, Li J, Yu F. Current situation and research progress on the nephrotoxicity of aristolochic acid compounds (in Chinese). *J Pharm Res*, 2017, 36: 534–537 [李一昂, 李霁, 于锋. 马兜铃酸类化合物使用现状及肾脏毒性研究进展. *药学研究*, 2017, 36: 534–537]
- 12 Kuo P C, Li Y C, Wu T S. Chemical constituents and pharmacology of the *Aristolochia* species. *Tradit Complement Med*, 2012, 2: 249–266
- 13 Yang Z C, Lu Y, Gu Y Q, et al. Progress in aristolochic acid carcinogenesis and its related metabolic enzymes (in Chinese). *Tradit Chin Drug Res Pharmacol*, 2014, 25: 765–769 [杨召聪, 陆茵, 顾亚琴, 等. 马兜铃酸I致癌作用及其与代谢酶关系的研究进展. *中药新药与临床药理*, 2014, 25: 765–769]
- 14 Chung Y M, Chang F R, Tseng T F, et al. A novel alkaloid, aristopyridinone A and anti-inflammatory phenanthrenes isolated from *Aristolochia manshuriensis*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 1792–1794
- 15 Georgopoulou C, Aligiannis N, Fokialakis N, et al. Acretoside, a new sucrose ester from *Aristolochia cretica*. *J Asian Nat Products Res*, 2005, 7: 799–803
- 16 Shi L S, Kuo P C, Tsai Y L, et al. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorg Med Chem*, 2004, 12: 439–446
- 17 Cai Y, Cai T G. Two new aristolochic acid derivatives from the roots of *Aristolochia fangchi* and their cytotoxicities. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58: 1093–1095
- 18 Wu T S, Damu A G, Su C R, et al. Chemical constituents and pharmacology of *Aristolochia* species. *Stud Nat Prod Chem*, 2005, 32: 855–1018
- 19 Navarro-García V M, Luna-Herrera J, Rojas-Briebesca M G, et al. Antibacterial activity of *Aristolochia brevipes* against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecules*, 2011, 16: 7357–7364
- 20 Priestap H A. Seven aristolactams from *Aristolochia argentina*. *Phytochemistry*, 1985, 24: 849–852
- 21 Zhang G, Shimokawa S, Mochizuki M, et al. Chemical constituents of *Aristolochia constricta*: antispasmodic effects of its constituents in guinea-pig ileum and isolation of a diterpeno–lignan hybrid. *J Nat Prod*, 2008, 71: 1167–1172
- 22 Holzbach J C, Lopes L M X. Aristolactams and alkamides of *Aristolochia gigantea*. *Molecules*, 2010, 15: 9462–9472
- 23 Nayyatip S, Thaichana P, Buayairaksa M, et al. Aristolactam-type alkaloids from *Orophea enterocarpa* and their cytotoxicities. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 5010–5018
- 24 Wang D P, Mao X C. Research progress on traditional Chinese medicine containing aristolochic acid. *J N Pharm*, 2014, 11: 97–98 [王德平, 毛晓春. 中药马兜铃酸的研究进展. *北方药学*, 2014, 11: 97–98]
- 25 Qiu H X, Lin Y R. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*. Beijing: Science Press, 1988. 159–160 [丘华兴, 林有润. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1988. 159–160]

- 26 Pröbstle A, Bauer R. Aristolactams and a 4,5-dioxoaporphine derivative from *Houttuynia cordata*. *Planta Med*, 1992, 58: 568–569
- 27 Kim S K, Ryu S Y, No J, et al. Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. *Arch Pharm Res*, 2001, 24: 518–521
- 28 Chen S D, Gao H, Lu C J, et al. Alkaloids and amides from *Houttuynia cordata* (in Chinese). *J Shenyang Pharm Univ*, 2013, 11: 846–850 [陈少丹, 高昊, 卢传坚, 等. 鱼腥草中生物碱和酰胺类成分的研究. *沈阳药科大学学报*, 2013, 11: 846–850]
- 29 Bauer R, Pröbstle A, Lotter H, et al. Cyclooxygenase inhibitory constituents from *Houttuynia cordata*. *Phytomedicine*, 1996, 2: 305–308
- 30 Jong T T, Jean M Y. Alkaloids from *Houttuynia cordata*. *J Chin Chem Soc*, 1993, 40: 301–303
- 31 Chou S C, Su C R, Ku Y C, et al. The constituents and their bioactivities of *Houttuynia cordata*. *Chem Pharm Bull*, 2009, 57: 1227–1230
- 32 Qu W, Wu F H, Li J, et al. Alkaloids from *Houttuynia cordata* and their antiplatelet aggregation activities. *Chin J Nat Med*, 2011, 9: 425–428
- 33 Li J, Zhang L, Jiang Z, et al. Toxicities of aristolochic acid I and aristololactam I in cultured renal epithelial cells. *Toxicol In Vitro*, 2010, 24: 1092–1097
- 34 Wei A H, Zhou D N, Ruan J L, et al. Study on the contents of aristolactams in *Piper wallichii* and their renal cytotoxicities. *J Food Drug Anal*, 2011, 19: 349–354
- 35 Xin T Y, Lei M Y, Song J Y. DNA barcoding of traditional Chinese medicine (in Chinese). *Mod Chin Med*, 2015, 17: 170–176 [辛天怡, 雷美艳, 宋经元. 中药材DNA条形码鉴定研究进展. *中国现代中药*, 2015, 17: 170–176]
- 36 Chen S, Pang X, Song J, et al. A renaissance in herbal medicine identification: from morphology to DNA. *Biotech Adv*, 2014, 32: 1237–1244
- 37 Wu L, Sun W, Wang B, et al. An integrated system for identifying the hidden assassins in traditional medicines containing aristolochic acids. *Sci Rep*, 2015, 5: 11318
- 38 Ma X C, Yao H, Wu L, et al. Molecular identification of Aucklandiae Radix, Vladimiriae Radix, Inulae Radix, Aristolochiae Radix and Kadsurae Radix using ITS2 barcode (in Chinese). *China J Chin Mater Med*, 2014, 39: 2169–2175 [马晓冲, 姚辉, 鄢兰, 等. 木香、川木香、土木香、青木香和红木香药材的ITS2条形码分子鉴定. *中国中药杂志*, 2014, 39: 2169–2175]
- 39 Li M, Au K Y, Lam H, et al. Identification of Baiying (herba *Solani lyrati*) commodity and its toxic substitute Xungufeng (herba *Aristolochiae mollissimae*) using DNA barcoding and chemical profiling techniques. *Food Chem*, 2012, 135: 1653–1658
- 40 Li M, Au K Y, Lam H, et al. Molecular identification and cytotoxicity study of herbal medicinal materials that are confused by *Aristolochia* herbs. *Food Chem*, 2014, 147: 332–339
- 41 Coghlan M L, Haile J, Houston J, et al. Deep sequencing of plant and animal DNA contained within traditional Chinese medicines reveals legality issues and health safety concerns. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1002657
- 42 Xin T Y, Xu Z C, Jia J, et al. Biomonitoring for traditional herbal medicinal products using DNA metabarcoding and single molecule, real-time sequencing. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 488–497
- 43 Xin T Y, Su C, Lin Y L, et al. Precise species detection of traditional Chinese patent medicine by shotgun metagenomic sequencing. *Phytomedicine*, 2018, 47: 40–47
- 44 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Vol I (in Chinese). Beijing: China Medical Science Press, 2015. 224–224 [国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2015. 224–224]
- 45 Bai M N. Study on the pharmacognosy of *Caulis Clematidis Armandii* and its substitutes (in Chinese). Dissertation for the Master's Degree. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2017 [白梦娜. 川木通及常用习用品的生药学研究. 硕士学位论文. 成都: 西南交通大学, 2017]
- 46 Wu W J, Wan M M, Cao Y H, et al. Study on quality standards of *Clematidis Armandii* (in Chinese). *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2015, 33: 313–315 [武尉杰, 万萌萌, 曹雨虹, 等. 川木通的质量标准研究. *中华中医药学刊*, 2015, 33: 313–315]
- 47 Zhao S Y. Identification of *Asarum heterotropoides* var. *mandshuricum*, *Asarum forbesii* and *Chloranthus serratus* (in Chinese). *Zhejiang J Tradit Chin Med*, 2014, 49: 223–225 [赵双艳. 细辛与杜衡和及己的鉴别研究. *浙江中医杂志*, 2014, 49: 223–225]
- 48 Chang S P, Li H, Jiang S Y, et al. Pharmacognostic identification of *Aristolochia fordiana* (in Chinese). *J Chin Med Mater*, 2016, 39: 523–526 [昌水平, 李华, 蒋三元, 等. 通城虎的生药鉴定. *中药材*, 2016, 39: 523–526]
- 49 Agrawal P, Laddha K. Development of validated high-performance thin layer chromatography for quantification of aristolochic acid in different species of the Aristolochiaceae family. *J Food Drug Anal*, 2017, 25: 425–429
- 50 Murali S, Francis M S, Rashmi T R. Determination of aristolochic acid I concentration in the four species of *Aristolochia* using HPLC. *J Cogn Psychother*, 2014, 6: 59–68
- 51 Li T F, Li L K, Zhang M L, et al. Determination of aristolochic acid in *Aristolochia Manshuriensis* with different processing methods by RP-HPLC (in Chinese). *China Med Her*, 2015, 12: 14–17 [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. 中国医药导报, 2015, 12: 14–17]
- 52 Wang Y, Chan W. Determination of aristolochic acids by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Agric Food Chem*, 2014, 62: 5859–5864
- 53 Shu X, Chen J, Lin S H, et al. Determination of limit of aristolochic acid A in Dahuang Qingwei Wan (in Chinese). *Chin J Hosp Pharm*, 2016, 36: 1512–1515 [舒翔, 陈军, 林世和, 等. 大黄清胃丸中马兜铃酸A的限量检测. 中国医院药学杂志, 2016, 36: 1512–1515]
- 54 Du X E, Fu L Q. Determination the limitation of aristolochic acid A in Jiuwei-Qianghuo pill (in Chinese). *Int J Trad Chin Med*, 2015, 37: 924–927 [杜仙娥, 付联群. 九味羌活丸中马兜铃酸A的限量检测. 国际中医中药杂志, 2015, 37: 924–927]
- 55 Qu X C, Ma L, Han F, et al. Limit test of aristolochic acid A in Yishenjuanbi Pill. *Adv Mat Res*, 2013, 634–638: 991–995
- 56 Zhou X H, Li Z H, Chen Y H, et al. Determination the limitation of aristolochic acid A in Mahuang Zhisou Wan by SPE-HPLC (in Chinese). *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2015, 21: 44–46 [周雪红, 李志浩, 陈银华, 等. SPE-HPLC法测定麻黄止嗽丸中马兜铃酸A的含量. 中医药导报, 2015, 21: 44–46]
- 57 Tian J Z, Liang A H, Liu J, et al. Risk control of traditional Chinese medicines containing aristolochis acids (AAs) based on influencing factors of content of AAs (in Chinese). *China J Chin Mater Med*, 2017, 42: 4679–4686 [田婧卓, 梁爱华, 刘靖, 等. 从马兜铃酸含量影响因素探讨含马兜铃酸中药的风险控制. 中国中药杂志, 2017, 42: 4679–4686]
- 58 Tagami T, Takeda A, Asada A, et al. A simple and selective detection method for aristolochic acid in crude drugs using solid-phase extraction. *J Nat Med*, 2013, 67: 838–843
- 59 Zhou H, Fu J, Cai Z W. Research of aristolochic acid I, aristolochic acid II and their metabolites in rat liver microsomes using HPLC-MS/MS (in Chinese). *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2017, 38: 30–36 [周慧, 付佳, 蔡宗苇. 基于HPLC-MS/MS法研究马兜铃酸I和马兜铃酸II的大鼠肝微粒体酶S9体外代谢. 质谱学报, 2017, 38: 30–36]
- 60 Kong D Q, Gao H Y, Li X, et al. Rapid determination of eight aristolochic acid analogues in five Aristolochiaceae plants by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole/time-of-flight mass spectrometry. *J Chin Phar Sci*, 2015, 24: 364–375
- 61 Li G H, Chen S, Wu L, et al. Determination of aristolochic acid I in traditional Chinese medicine by UPLC-QQQ-MS (in Chinese). *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2017, 23: 61–65 [李功辉, 陈莎, 邬兰, 等. UPLC-QQQ-MS测定中药材中马兜铃酸I的含量. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23: 61–65]
- 62 Mao W W, Gao W, Liang Z T, et al. Characterization and quantitation of aristolochic acid analogs in different parts of *Aristolochiae Fructus*, using UHPLC-Q/TOF-MS and UHPLC-QqQ-MS. *Chin J Nat Med*, 2017, 15: 392–400
- 63 Gan S, Han T, Liu H G, et al. Determination of aristolochic acid A in Qingxueneixiao pills by LC-MS-MS (in Chinese). *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2013, 16: 163–167 [甘盛, 韩婷, 刘华钢, 等. 液相色谱-质谱串联法测定清血内消丸中马兜铃酸A含量. 中国实验方剂学杂志, 2013, 16: 163–167]
- 64 Zhang L, Wang Y. LC-MS detection of aristolochic acid A in Xiaofeng Zhiyang granula (in Chinese). *Chin J Pharm Anal*, 2012, 32: 78–81 [张俐, 王玉. LC-MS法检测消风止痒颗粒中马兜铃酸A. 药物分析杂志, 2012, 32: 78–81]
- 65 Luo J W, Wu Y Y, Li Y H, et al. Determination of aristolochic acid A in health food by UHPLC-MS/MS (in Chinese). *Chin J Mod Appl Pharm*, 2013, 30: 186–189 [罗金文, 吴鸳鸯, 李樱红, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定保健食品中马兜铃酸A. 中国现代应用药学, 2013, 30: 186–189]
- 66 Gu J, Zhang P, Zhang F, et al. Determination of aristolochic acids in rat serum by high performance liquid chromatography-Q-TOF tandem mass spectrometry. *Anal Methods*, 2013, 5: 718–721
- 67 Zhang P. Determination of aristolochic acid A in different organs of *Valeriana jatamansi* by UV spectrophotometric (in Chinese). *Value Eng*, 2012, 31: 293–294 [张萍. 紫外分光光度法测定马蹄香植物不同器官中马兜铃酸A的含量. 价值工程, 2012, 31: 293–294]
- 68 Yu Y, Xiu L L, Wei X Z, et al. Determination of total aristolochic acid in different extracts of *Asarum heterotropoides* (in Chinese). *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2012, 18: 141–143 [于艳, 修丽丽, 魏新智, 等. 北细辛不同提取物中总马兜铃酸的含量测定. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18: 141–143]
- 69 Yu Y, Wang X R, Wei X Z, et al. Determination of total aristolochic acid content in three kinds of *Asarum* (in Chinese). *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2013, 15: 44–45 [于艳, 王晓荣, 魏新智, 等. 北细辛汉城细辛及华细辛中总马兜铃酸含量测定. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15: 44–45]
- 70 Liu X X, Wang L, Xiao H B. Content of total aristolochic acid in *Aristolochia debilis* from different localities (in Chinese). *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2017, 28: 74–76 [刘欣欣, 王莉, 肖红斌. 不同产地马兜铃药材中马兜铃总酸的含量. 时珍国医国药, 2017, 28: 74–76]

- 71 Fu X, Liu Y, Li W, et al. Analysis of aristolochic acids by CE-MS with carboxymethyl chitosan-coated capillary. *Electrophoresis*, 2009, 30: 1783–1789
- 72 Nan T G, He S P, Tan G Y, et al. Development of sensitive monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for renal toxicity ingredient aristolochic acid A in Chinese herb medicine (in Chinese). *Chin J Anal Chem*, 2010, 38: 1206–1210 [南铁贵, 何素平, 谭桂玉, 等. 中药致肾毒性成分马兜铃酸A单抗制备及酶联免疫分析方法的建立. *分析化学*, 2010, 38: 1206–1210]
- 73 Ioset J R, Raoelison G E, Hostettmann K. Detection of aristolochic acid in Chinese phytochemicals and dietary supplements used as slimming regimens. *Food Chem Toxicol*, 2003, 41: 29–36
- 74 Spenser I D, Tiwari H P. Biosynthesis of aristolochic acid. *Chem Commun (London)*, 1966, 0: 55
- 75 Schütte H R, Orban U, Mothes K. Biosynthesis of aristolochic acid. *Eur J Biochem*, 1967, 1: 70–72
- 76 Comer F, Tiwari H P, Spenser I D. Biosynthesis of aristolochic acid. *Can J Chem*, 1969, 47: 481–487
- 77 Sharma V, Jain S, Bhakuni D S, et al. Biosynthesis of aristolochic acid. *JCS Perkin I*, 1982, 40: 1153–1155
- 78 Attaluri S, Iden C R, Bonala R R, et al. Total synthesis of the aristolochic acids, their major metabolites, and related compounds. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27: 1236–1242
- 79 Wang X H. Biosynthetic related enzymes of aristolochic acid in *Asarum* (in Chinese). Dissertation for the Master's Degree. Changchun: Jilin Agricultural University, 2014 [王潇晗. 细辛马兜铃酸生物合成相关酶的初步探讨. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学, 2014]
- 80 Yang R Y, Zeng Q P. Cloning, sequencing and homologous analysis of tyrosine decarboxylase gene from *Aristolochia contorta* Bge (in Chinese). *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2005, 22: 152–156 [杨瑞仪, 曾庆平. 马兜铃酪氨酸脱羧酶基因克隆、测序及同源性分析. *广州中医药大学学报*, 2005, 22: 152–156]
- 81 Chen Z, Chen S J. Poisoning the devil. *Cell*, 2017, 168: 556–560
- 82 Guo W, Shen Z Y, Liu C S, et al. Resource investigation of wild *Stephania tetrandra* in Anhui and Jiangxi Province (in Chinese). *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2010, 25: 909–911 [芮未, 沈湛云, 刘春生, 等. 皖赣两省野生粉防己资源调查报告. *中华中医药杂志*, 2010, 25: 909–911]

Traditional Chinese medicine containing aristolochic acids and their detection

YUN KaiYi¹, XU ZhiChao^{1,2} & SONG JingYuan^{1,2}

¹ Key Lab of Chinese Medicine Resources Conservation, State Administration of Traditional Chinese Medicine of the People's Republic of China, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

² Engineering Research Center of Chinese Medicine Resource, Ministry of Education, Beijing 100193, China

Aristolochic acids (AAs), listed in class I carcinogen due to their irreversible renal toxicity, are mainly from Aristolochiaceae plants such as *Aristolochia* and *Asarum*. Up to now, some herbs containing AAs are still used as traditional Chinese medicine (TCM) or foods, so the assessment of benefit and risk for the public health deserves attention. Here, we summarize the basic chemical structure of AAs, TCM containing AAs and their species identification, the methods of AAs content detection, and biosynthetic regulation of AAs. Furthermore, we put forward the proposal of monitoring AAs: systematical quality evaluation of TCM containing AAs, strengthening epidemiological investigations, looking for alternatives to AAs-containing herbs, elucidating the biosynthetic pathways of AAs, etc. This review provides references for making regulatory policies and developing new drugs and foods, and would also be beneficial to protect consumers' right to know the truth.

aristolochic acids, traditional Chinese medicine, carcinogenicity, DNA barcoding identification, biosynthesis

doi: [10.1360/N052018-00274](https://doi.org/10.1360/N052018-00274)