

龙胆泻肝丸（片）中 5 种重金属元素测定与风险评估

黄炳泉，周云峰，邓杰华，黄招光，吴 喆，杨建冬
(宜春市检验检测中心，江西 宜春 336000)

摘要：目的 测定龙胆泻肝丸（片）中镉（Cd）、汞（Hg）、铜（Cu）、砷（As）、铅（Pb）的含量，并对其进行风险评估。**方法** 采用电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）法测定 5 种重金属元素的含量，靶器官毒性剂量（TTD）风险评估法对其可能所致安全风险进行考量，并拟定残留量限度。**结果** 5 种重金属元素在各自范围内线性关系良好（ $r \geq 0.999\ 3$ ），平均加样回收率 92.30%~98.98%，RSD 3.89%~5.92%。丸剂、片剂叠加风险值分别为 2.93、1.71，均超过安全阈值（1.00）。48 批样品中有 6 批 Hg 超标，9 批 Pb 超标，7 批 As 超标。**结论** 龙胆泻肝丸（片）整体上可能会对人體产生一定的非致癌风险，故需考虑提升该制剂质量标准，补充重金属元素限量检查法。
关键词：龙胆泻肝丸（片）；重金属元素；风险评估；电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）
中图分类号：R927.2 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2023)04-1275-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.041

龙胆泻肝丸（片）是由龙胆、黄芩、泽泻、盐车前子、地黄、柴胡、栀子（炒）、木通、酒当归、炙甘草 10 味药材组成的中药复方制剂，具有清肝胆、利湿热功效^[1-3]。2003 年，龙胆泻肝制剂的肾毒性事件使其用药安全性受到广泛关注^[4-5]，国家药品监督管理局取消了原处方中关木通（含马兜铃酸）的用药标准，换成木通科属植物木通，以降低其安全风险。研究表明，人体摄入过量的重金属也会导致肾和其他组织器官损伤甚至癌变^[6-10]，故有必要对龙胆泻肝制剂的外源性污染物质重金属进行安全风险分析。

据 2020 年版《中国药典》可知，以镉（Cd）、汞（Hg）、铜（Cu）、砷（As）、铅（Pb）为代表的重金属是中药最主要外源性污染物之一，目前有无比山药丸、妇必舒阴道泡腾片、活血止痛胶囊、蚝贝钙咀嚼片、银黄清肺胶囊、紫雪散对上述重金属进行限量要求^[2]，但未对龙胆泻肝丸（片）中重金属残留量进行检查。龙胆泻肝丸（片）以根或根茎入药的药味占处方比例的 80%，这些药味的根和茎易富集和吸收重金属^[11-17]，为了考察该类制剂重金属残留量水平，本实验采用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）测定镉（Cd）、汞（Hg）、铜（Cu）、砷（As）、铅（Pb）5 种重金属元素的含量，并进行安全风险评估，以为其他中药复方制剂的外源性毒性物质限度控制提供参考依据。

1 材料

电感耦合等离子体质谱仪（型号 Nexlon 305D，美国 PerkinElmer 公司）；微波消解仪（型号 MARS 6 240/50，美国 CEM 公司）。

Cd 标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 19C021-1）、

Hg 标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 B1810088）、Cu 标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 19C019-1）、As 标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 B1903035）、Pb 标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 B1912122）均来源于坛墨质检标准物质中心；金（Au）标准液（质量浓度 1 000 mg/L，批号 23-2AUY1）及铟（In）、锂（Li）、铽（Tb）、钇（Y）、铋（Bi）、钪（Sc）、钬（Ho）内标液（质量浓度 10 mg/L，批号 CL50-034CRY1）均由美国 Perkin Elmer 公司提供。柑橘叶成分分析标准物质〔批号 GBW10020，Cu 标示值（6.60±0.50）mg/kg，As 标示值（1.10±0.20）mg/kg，Cd 标示值（0.17±0.02）mg/kg，Pb 标示值（9.70±0.90）mg/kg，Hg 标示值（0.15±0.02）mg/kg〕均购于中国地质科学院地球物理地球化学勘查研究所。龙胆泻肝制剂为 2021 年江西省评价性抽验品种，其中丸剂 40 批，片剂 8 批，来源于 25 个厂家，抽样地点覆盖江西省 11 个地级市。

2 方法与结果

2.1 工作参数 ICP-MS 射频功率 1 200 W；辅助气体流量 1.2 L/min；雾化气体流量 0.93 L/min；吸液泵速 30 r/min；灯管位置采样深度 0.50 mm；检测器数据采集模式跳峰，采集次数 3 次，扫描模式 Standard（标准）。

2.2 溶液制备

2.2.1 混合内标检测溶液 精密量取 In、Li、Tb、Y、Bi、Sc、Ho 内标液适量，10% 硝酸制成各重金属元素质量浓度为 10 μg/L 的溶液，即得。

2.2.2 混合标准溶液 精密量取各重金属元素标准液适量，10% 硝酸溶液稀释成分别含 Hg 0.2、0.4、1、4、6 μg/L，Cu 10、30、40、100、200 μg/L，As 1、2、4、10、40 μg/L，Pb 1、4、10、40、100 μg/L，Cd 1、2、4、

收稿日期：2022-08-09

基金项目：江西省药品监督管理局科研项目（2019JS24，2021KY24）

作者简介：黄炳泉（1966—），男，副主任医师，从事中药学研究。Tel: 13970509713，E-mail: 1472949533@qq.com

10、40 μg/L 的溶液，即得。

2.2.3 供试品、对照样品、试剂空白溶液 将本品研细或剪细，分别称取约 0.5 g 至消解罐中，加 8 mL 硝酸，置于微波消解仪中进行消解，程序见表 1，将消解液转移至 50 mL 量瓶中，用水多次清洗消解罐，合并洗液后移入量瓶中，加入 1 μg/mL Au 标准溶液 200 μL，加水稀释至刻度，摇匀，离心，取上清液，即得。另取柑橘叶成分分析标准物质约 0.5 g（称取前在 60℃下恒温干燥 4 h），精密称定，同法制备对照样品溶液；不加样品，同法制备试剂空白溶液。

表 1 微波消解程序

步骤	功率/W	温度/℃	升温时间/min	停留时间/min
1	1 600	140	5	4
2	1 600	160	5	8
3	1 600	190	5	25

2.3 线性关系考察 取“2.2.2”项下混合标准溶液适量，在“2.1”项工作参数下进样测定，同时通过吸液泵在线加入混合内标检测溶液。同位素⁶³Cu、⁷⁵As 以⁸⁹Y 为内标，²⁰²Hg、²⁰⁸Pb 以²⁰⁹Bi 为内标，¹¹¹Cd 以¹¹⁵In 为内标，以各重金属元素质量浓度为横坐标（*X*），其与内标计数值的比值为纵坐标（*Y*）进行回归，并以元素信号响应值 3 倍标准偏差对应的质量浓度为检出限，测定空白溶液 12 次，结果见表 2，可知各重金属元素在各自范围内线性关系良好。

表 2 各重金属元素线性关系

元素	回归方程	<i>r</i>	线性范围/ (μg·L ⁻¹)	检出限/ (μg·L ⁻¹)
Cu	<i>Y</i> =0.180 5 <i>X</i> +0.107 4	0.999 3	10~200	0.43
As	<i>Y</i> =0.020 3 <i>X</i> +0.002 3	0.999 8	1~40	0.08
Cd	<i>Y</i> =03 5 <i>X</i> +0.000 3	0.999 9	1~40	0.06
Hg	<i>Y</i> =04 6 <i>X</i> +0.000 5	0.999 6	0.2~6	0.08
Pb	<i>Y</i> =0.075 3 <i>X</i> +0.083 7	0.999 8	1~100	0.12

2.4 精密度、重复性、稳定性试验 取同一份含 Hg 1 μg/L、Cu 40 μg/L、As 4 μg/L、Pb 10 μg/L、Cd 4 μg/L 的混合标准溶液，在“2.1”项工作参数下进样测定 6 次，测得各重金属元素响应值 RSD 为 1.8%~2.3%，表明仪器精密度良好。平行称取 6 份本品（批号 20201104），每份 0.5 g，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项工作参数下进样测定，测得各重金属元素含量 RSD 为 2.3%~3.4%，表明该方法重复性良好。取同一份供试品溶液，于 0、0.5、1、2、4 h 在“2.1”项工作参数下进样测定，测得各重金属元素含量 RSD 为 2.7%~4.5%，表明溶液在 4 h 内稳定性较好。

2.5 加样回收率、准确性试验 取各重金属元素含量已知的本品（批号 20201104）约 0.25 g，精密称定，置于消解罐中，精密加入混合标准溶液（含 10 μg/L Hg、500 μg/L Cu、200 μg/L As、200 μg/L Pb、10 μg/L Cd）5 mL，按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项工作参数下进样测定，计算回收率。结果，Cu、As、

Cd、Hg、Pb 平均加样回收率分别为 94.24%、98.98%、92.76%、92.30%、96.86，RSD 分别为 5.92%、5.32%、3.89%、4.74%、4.89%，符合 2020 年版《中国药典》四部指导原则 9101（药品质量标准分析方法验证指导原则）要求。再对柑橘叶成分分析标准物质中各重金属元素标示含量进行测定，结果见表 3，可知测得值基本均在标示值范围内，表明该方法准确性良好。

表 3 各重金属元素标示含量测定结果（*n*=2）

元素	实测值/(mg·kg ⁻¹)	标示值/(mg·kg ⁻¹)
Cu	6.90	6.10~7.10
As	1.11	0.90~1.30
Cd	0.14	0.15~0.19
Pb	9.98	8.80~10.60
Hg	0.11	0.13~0.17

2.6 样品含量测定 取 48 批样品，按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项工作参数下进样测定，计算含量，结果见表 4。由此可知，8 批片剂中 Hg、Cu、As、Pb、Cd 平均含量分别为 0.08、3.27、1.15、0.75、0.17 mg/kg，而 40 批丸剂中分别为 0.10、7.44、0.67、1.16、0.20 mg/kg，有一定差异，可能与这 2 种剂型制备工艺、药味原料来源不同有关。

2.7 风险评估 药用植物由于自身生长习性或人工栽培干预，难以实现对其进行重金属零残留、零污染控制^[18]，故以中药材为原料的中药复方制剂会存在一定量的残留。在口服中药制剂时，会将以 Hg、Cu、As、Pb、Cd 为代表的重金属元素带入体内，易在肾脏、肝脏、皮肤等器官组织中蓄积，超过一定限度时则引起损伤，造成毒副反应^[19]。为了有效评价龙胆泻肝丸（片）安全性，本实验采用靶器官毒性剂量法^[20-21]对上述制剂所含重金属元素进行风险评估，计算日均暴露量（ADD）、危害系数（HQ）、风险指数（HI，若 HI≤1.00，表明重金属元素暴露量低于产生不良反应的阈值，非致癌风险较低；若 HI>1.00，表明中药制剂健康风险应予以关注）^[22-24]，公式分别为 ADD=*F*×*C*/*BW*、HQ=ADD/TTD、HI=ΣHQ=HQ₁+HQ₂+……+HQ_{*n*}，其中 *F* 为药品每日服用量，丸剂为 12 g，片剂为 5.4 g；*C* 为重金属元素残留量，采用平均值计算，单位为 mg/kg；*BW* 为人体体质量，国际通用标准中成年人为 55.9 kg，龙胆泻肝丸测定结果见表 5，可知肾脏、血液、神经、睾丸、心血管为 2 种或 2 种以上重金属元素共同作用的靶器官，叠加 HI 为 2.930，大于 1.00。同法测得龙胆泻肝片的叠加 HI 为 1.71，也大于 1.00。综上所述，龙胆泻肝丸（片）中 5 种重金属元素整体含量所致的毒性效应超过安全风险阈值，对成年人可能具有一定的健康风险。

2.8 重金属元素残留限量拟定 “2.7”项下结果显示，各重金属元素含量均可能处在一个较高水平，故有必要对其残留量拟定上限阈值（MRL）。联合国粮食及农业组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会（JECFA）发布的重金属健康指导值^[25-26]规定，As、Cu、Hg、Pb、Cd 每

表 4 各重金属元素含量测定结果 (mg/kg, n=2)

生产企业	剂型	批号	Cu	As	Cd	Hg	Pb
Y1	片剂	200611	3. 92	0. 54	0. 10	0	0. 61
Y2	片剂	190765	2. 98	5. 37	0. 14	0. 02	0. 83
Y3	片剂	19120005	3. 17	0. 38	0. 13	0. 31	0. 64
Y4	片剂	20200503	4. 07	0. 56	0. 07	0	0. 83
Y4	片剂	20200801	3. 32	0. 61	0. 09	0	0. 52
Y5	片剂	1903005	4. 21	0. 91	0. 14	0. 11	0. 70
Y6	片剂	410078	2. 83	0. 52	0. 62	0. 18	1. 43
Y7	片剂	210201	1. 63	0. 28	0. 07	0. 01	0. 43
Y8	丸剂	20082135	7. 98	0. 51	0. 19	0. 04	0. 78
Y9	丸剂	471036	7. 39	0. 53	0. 21	0. 08	1. 08
Y9	丸剂	471053	7. 45	0. 43	0. 18	0. 10	0. 70
Y9	丸剂	113009	2. 89	0. 18	0. 07	0. 02	0. 27
Y9	丸剂	113010	3. 49	0. 18	0. 07	0	0. 26
Y9	丸剂	471048	7. 80	0. 48	0. 18	0. 02	0. 78
Y9	丸剂	471059	7. 34	0. 43	0. 16	0. 04	0. 53
Y9	丸剂	471058	9. 29	0. 39	0. 19	0. 07	0. 60
Y9	丸剂	471054	7. 02	0. 37	0. 18	0. 39	0. 87
Y9	丸剂	471060	7. 32	0. 41	0. 19	0. 04	0. 64
Y10	丸剂	20200415	6. 79	0. 60	0. 15	0. 54	0. 73
Y11	丸剂	2009136	3. 10	0. 23	0. 06	0. 18	0. 33
Y12	丸剂	20120604	12. 94	0. 77	0. 18	0. 03	1. 78
Y13	丸剂	13200512	7. 44	0. 91	0. 24	0. 01	1. 65
Y13	丸剂	13200607	7. 28	0. 89	0. 21	0	1. 31
Y13	丸剂	13201005	8. 10	1. 13	0. 33	0. 01	2. 42
Y13	丸剂	13200617	7. 96	0. 85	0. 22	0	1. 97
Y13	丸剂	13201013	8. 71	1. 02	0. 33	0. 01	2. 15
Y13	丸剂	13201016	8. 69	0. 91	0. 36	0. 01	2. 13
Y13	丸剂	13201011	8. 36	1. 08	0. 38	0. 01	2. 54
Y13	丸剂	13201014	8. 51	0. 98	0. 39	0	1. 81
Y14	丸剂	20201004	7. 31	0. 84	0. 18	0. 01	1. 42
Y15	丸剂	2012050	6. 97	1. 04	0. 19	0	1. 03
Y16	丸剂	200413	6. 76	0. 64	0. 21	0. 05	0. 92
Y16	丸剂	200902	7. 42	0. 82	0. 20	0. 06	0. 72
Y17	丸剂	20C15	3. 74	0. 46	0. 13	0. 04	0. 93
Y18	丸剂	190904	7. 90	0. 94	0. 19	0. 01	1. 95
Y19	丸剂	22190926	10. 32	0. 53	0. 20	0. 41	0. 47
Y20	丸剂	20201003	6. 64	0. 42	0. 13	0. 11	0. 73
Y20	丸剂	20210302	7. 31	0. 49	0. 19	0. 20	0. 67
Y20	丸剂	20201109	6. 77	0. 44	0. 13	0. 10	0. 86
Y21	丸剂	121004	8. 26	0. 46	0. 20	0. 15	1. 25
Y22	丸剂	20201104	11. 04	3. 01	0. 20	0. 16	3. 73
Y23	丸剂	2001506	7. 48	0. 99	0. 20	0. 02	1. 59
Y23	丸剂	2003212	6. 76	0. 63	0. 16	0	1. 08
Y24	丸剂	2012062	7. 95	0. 39	0. 29	0. 20	0. 86
Y24	丸剂	2009048	7. 21	0. 42	0. 24	0. 32	0. 93
Y24	丸剂	2002011	7. 37	0. 50	0. 21	0. 33	1. 11
Y24	丸剂	2011058	7. 35	0. 39	0. 20	0. 41	0. 69
Y25	丸剂	20200702	7. 30	0. 41	0. 27	0. 02	0. 67

表 5 龙胆泻肝丸中各重金属元素 TTD、HQ、HI 测定结果

靶器官	As		Cd		Pb		Hg		Cu		HI 重金属
	TTD	HQ	TTD	HQ	TTD	HQ	TTD	HQ	TTD	HQ	
肾脏	90	0. 002	0. 2	0. 215	0. 63	0. 395	2	0. 011	—	—	0. 623
血液	0. 6	0. 240	0. 8	0. 054	4. 17	0. 060	—	—	—	—	0. 354
神经	0. 3	0. 479	0. 2	0. 215	4. 17	0. 060	—	—	—	—	0. 754
皮肤	0. 3	0. 479	—	—	—	—	—	—	—	—	0. 479
睾丸	—	—	3	0. 014	16. 67	0. 015	—	—	—	—	0. 029
心血管	0. 3	0. 479	5	0. 009	1. 3	0. 192	—	—	—	—	0. 680
肝脏	—	—	—	—	—	—	—	—	140	0. 011	0. 011
HI 靶器官	1. 679		0. 507		0. 722		0. 011		0. 011		2. 930

注:—表示未检测出。

日允许摄入量（ADI）分别为 2.1、50、0.57、3.6、0.83 μg/kg，按公式 $MRL = ADI \times BW \times 10\% / F^{[27]}$ 计算，成年人口服龙胆泻肝丸时耐受的 MRL 分别为 0.27、23.29、0.98、1.68、0.39 mg/kg，而口服龙胆泻肝片时分别为 0.59、51.76、2.17、3.73、0.86 mg/kg。按照上述阈值，本实验 48 批样品中有 6 批 Hg 超标，9 批 Pb 超标，7 批 As 超标，超标率分别为 12.5%、18.8%、14.6%，表明部分企业生产的样品中一些重金属元素含量可能会超过人体耐受值。

3 讨论

药品首先需要保证安全，对人体无毒害，同时在对处方中原料所含毒性成分进行控制时，外源性污染有害物也不能忽视。重金属元素属于有毒有害物质^[28]，故对中药制剂中其残留量进行安全风险评价有助于分析经口暴露的毒性效应，从而评估药品安全性。传统风险评估法^[29]只考虑重金属对最敏感靶器官的作用，但一种重金属一般同时具有 1 个临界暴露剂量和多个靶器官毒性剂量，而本实验采用的 TTD 法将其他靶器官产生的影响也考虑在内，可较全面地反映重金属所致安全风险。

在拟定龙胆泻肝丸（片）中各重金属元素最大限量值时发现，不少批次样品中 Pb、As、Hg 含量超标，其原因可能是方中以根或茎入药的原料（龙胆、黄芩、泽泻、地黄、柴胡、木通、酒当归、炙甘草）占处方药味大多数，制成制剂后上述重金属元素含量可能会有叠加效应，另外部分生产企业未足够重视重金属外源性污染带来的健康安全问题，没有严格把关每批药品从生产到运输等各方面环节的质量情况，导致出现超标现象。

4 结论

本实验所采用的电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）法操作简便，分析速度快，准确度高，能同时测定龙胆泻肝丸（片）中 Pb、Cd、As、Cu、Hg 5 种重金属元素的含量，对提升该类制剂质量标准具有一定的参考意义。

参考文献：

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准（中药成方制剂第十一册）[S]. 1996；42.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：2020 年版一部[S]. 北京：中国医药科技出版社，2020；809.

[3] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准（中药成方制剂第十二册）[S]. 1997；36.

[4] 刘 静，刘 汇，姚令文，等. 龙胆泻肝丸中马兜铃酸 I 的液质联用法检测分析[J]. 世界科学技术（中医药现代化），2019，21(7)：1306-1311.

[5] 张 娜，张庆莉，任 翔. 龙胆泻肝丸肾损害报告[J]. 中国医药学报，2004，19(11)：698-699.

[6] 李存金，谢 婷，周云峰，等. 右归丸中 5 种重金属元素的含量分析[J]. 中国药房，2021，32(19)：2377-2382.

[7] Sanders A P, Mazzella M J, Malin A J, *et al.* Combined exposure to lead, cadmium, mercury, and arsenic and kidney health in adolescents age 12-19 in NHANES 2009-2014[J]. *Environ Int*, 2019, 131：104993.

[8] 史生辉，董得喜，李生有，等. 测定不同产地宽筋藤中 5 种重金属[J]. 中成药，2018，40(8)：1786-1789.

[9] Aaseth J, Alexander J, Alehagen U, *et al.* The aging kidney—as influenced by heavy metal exposure and selenium supplementation[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(8)：1078.

[10] 罗浚凤，谭琳山，翁 瑕，等. 莪术和山芝麻水煎液中 Cd、Zn 的形态分析[J]. 中成药，2020，42(8)：2095-2100.

[11] 于 丽，顾俊杰，张 宁，等. 电感耦合等离子体质谱法测定芦荟、人参、五味子、龙胆草中 5 种重金属含量[J]. 食品安全质量检测学报，2020，11(16)：5751-5754.

[12] 张爱琛，杨 月，刘建伟，等. 基于健康风险评价的种植黄芩中重金属的安全限值研究[J]. 生态环境学报，2019，28(3)：587-594.

[13] 卿 艳，齐景梁，赵春艳，等. 泽泻饮片中重金属及有害元素污染评价[J]. 现代中药研究与实践，2021，35(3)：56-60.

[14] 黄 霞，王晓燕，李振国，等. 地黄饮片中外源性有害物质残留情况分析[J]. 中华中医药学刊，2020，38(11)：113-117.

[15] 吴建杰，骆骄阳，谷善勇，等. 柴胡饮片中重金属生物可给性研究及其风险评估[J]. 中国中药杂志，2018，43(22)：4479-4485.

[16] 郑 琪，南铁贵，袁 媛，等. 9 种市售药材中重金属含量调查[J]. 中国实验方剂学杂志，2015，21(3)：14-17.

[17] 白雯静，姬良亮，王月玲. 甘草、黄芪、党参中 27 种重金属及微量元素含量变化的研究[J]. 食品安全质量检测学报，2021，12(4)：1448-1455.

[18] 左甜甜，王 莹，张 磊，等. 中药中外源性有害残留物安全风险评估技术指导原则[J]. 药物分析杂志，2019，39(10)：1902-1907.

[19] 苏章轩，张恺东，刘潇潇. ICP-MS 法测定胃苏颗粒中 6 种有害元素的含量[J]. 今日药学，2020，30(9)：625-628.

[20] Wilbur S B, Hansen H, Pohl H, *et al.* Using the ATSDR guidance manual for the assessment of joint toxic action of chemical mixtures[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2004, 18(3)：223-230.

[21] US ATSDR. Guidance Manual for the Assessment of joint toxic action of chemical mixtures [EB/OL]. [2021-11-20]. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ipga.html>.

[22] US ATSDR. Guidance Manual for the Assessment of joint toxic action of chemical mixtures [EB/OL]. [2021-10-18]. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-11/ip11-a.pdf.html>.

[23] 左甜甜，申明睿，金红宇，等. 累积风险评估方法在 5 种植物类中药材中铅和镉联合暴露评估中的应用[J]. 中国药事，2020，34(9)：1020-1027.

[24] US ATSDR. Guidance Manual for the Assessment of joint toxic action of chemical mixtures [EB/OL]. [2021-10-25]. <https://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-06/ip06-a.pdf.html>.

[25] Joint FAO /WHO Expert Committee on Food Additives. Summary report of the seventy-third meeting of JECFA [EB/

OL]. [2021-11-19]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/jecfa-reports/en.html>.

[26] Joint FAO /WHO Expert Committee on Food Additives. Summary report of the seventy-second meeting of JECFA[EB/OL]. [2021-11-21]. <http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/summary72.pdf?ua=1>.html.

[27] 聂黎行, 查祎凡, 左甜甜, 等. 基于 ICP-MS 和对照制剂的牛黄清胃丸中重金属及有害元素残留量测定及风险评估[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1): 82-87.

[28] 刘丽君, 韩静磊, 钱益斌, 等. 利用靶器官毒性剂量法(TTD)和证据权重分析法(WOE)评估固化飞灰中重金属非致癌健康风险[J]. 环境化学, 2019, 38(5): 1014-1020.

[29] US EPA. Risk assessment guidance for superfund, vol. I: human health evaluation manual [EB/OL]. [2022-02-20]. https://www.epa.gov/sites/production/files/documents/rags_a.pdf.

6 种中成药对 SARS-CoV-2 3CLpro 和 PLP 活性的抑制作用

刘衍梁¹, 韩雨秀¹, 王含雪¹, 杜瑞坤^{1,2}, 容蓉^{1,3}, 叶冬雪^{1,2,3,4}, 齐冬梅^{1,2,3,4}, 刘孝云^{1,2,3,4*}, 杨勇^{1,2,3,4*}

(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 山东省中医药抗病毒工程研究中心, 山东 济南 250355; 3. 中医药经典理论教育部重点实验室, 山东 济南 250355; 4. 中医药基础研究山东省重点实验室, 山东 济南 250355)

摘要：目的 研究治疗新型冠状病毒肺炎不同时期的 6 种中成药对 3C 样蛋白酶（3CLpro）和木瓜样蛋白酶（PLP）的抑制作用，探讨其干预新型冠状病毒肺炎的机制。**方法** 经镍柱纯化获得原核表达且纯度高的 3CLpro 和 PLP。基于荧光共振能量转移原理，建立 3CLpro 和 PLP 活性检测的药物筛选模型，分别以 3CLpro 抑制剂依布硒、PLP 抑制剂 GRL0617 验证筛选模型的有效性。在此基础上，开展针对新型冠状病毒肺炎临床不同时期（医学观察期、轻型、普通型、重型、危重型）的代表性 6 种中成药靶向抑制 3CLpro 和 PLP 活性的研究。**结果** 金花清感颗粒、疏风解毒胶囊、热毒宁注射液、血必净注射液、痰热清注射液对 3CLpro 具有较强的抑制作用（抑制率>80%），同时疏风解毒胶囊、痰热清注射液、热毒宁注射液对 PLP 也具有较强的抑制作用（抑制率>80%）。**结论** 金花清感颗粒等 6 种中成药对 3CLpro 或 PLP 都有较强的抑制作用，这可能是它们针对新型冠状病毒肺炎临床不同时期发挥抗 SARS-CoV-2 的内在机制。另外，疏风解毒胶囊、痰热清注射液、热毒宁注射液对新型冠状病毒 2 个靶蛋白酶活性的抑制作用都较强，可能具有潜在抗病毒活性。

关键词：中成药；新型冠状病毒；3CLpro；PLP；荧光共振能量转移；抗病毒

中图分类号：R373 **文献标志码：**B **文章编号：**1001-1528(2023)04-1279-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.042

新型冠状病毒（SARS-CoV-2）属于 β 型冠状病毒，是一种有包膜的单链正义 RNA 病毒，病毒的基因组 RNA 含有大约 30 000 个碱基^[1]。SARS-CoV-2 进入宿主细胞后，分解并释放出病毒 RNA，借由宿主细胞的核糖体翻译产生 2 种多聚蛋白 pp1a 和 pp1ab，随后被 3C 样蛋白酶（3CLpro）和木瓜样蛋白酶（PLP）切割，产生 16 种成熟的非结构蛋白，组成复制-转录复合物^[2]，以完成后续病毒基因组的复制和结构蛋白的合成。3CLpro 对病毒复制所需

要的功能蛋白的成熟起到剪切、加工的重要作用，同时，3CLpro 进化保守且人体缺乏其同源蛋白酶。PLP 除调控病毒复制与转录之外，还可以催化去泛素化以及从宿主蛋白中移除干扰素刺激基因 15^[3-4]，以帮助冠状病毒逃避宿主的先天免疫反应，PLP 在冠状病毒的进化过程中高度保守且不易发生突变。因此，3CLpro 和 PLP 是广谱抗新型冠状病毒药物开发的重要靶标。到目前为止，已有报道的 3CLpro 抑制剂有博赛泼维、GC-376、钙蛋白酶抑制剂 II、

收稿日期：2022-08-02

基金项目：国家自然科学基金项目（81873220）；山东省自然科学基金项目（ZR2021LZY012）；自主培养创新团队项目（2021GXRC028）；山东省中医药科技项目（2020Q001）；山东省重点研发计划（重大科技创新工程）（2020CXGC010505）

作者简介：刘衍梁（1997—），女，硕士，从事中药抗病毒机制研究。Tel: 17854111125, E-mail: liuyanliangww@126.com

*** 通信作者：**刘孝云（1990—），女，博士，讲师，从事病毒致病机制及其抑制剂发现研究。Tel: 15634006362, E-mail: yunliu1123@163.com

杨勇（1972—），男，博士，教授，从事中药抗病毒机制研究。Tel: 13953102044, E-mail: yy7204@163.com