• 综　述 •

# 中草药中毒性吡咯里西啶类生物碱分析方法研究进展及控制现状

马跃新[1,2]，冯有龙[2]，吴嫣艳[2]，周娟娟[2]，张　莹[1,2]，杨　静[1,2]，曹　玲[2*]，黄　青[2*]

1. 南京中医药大学药学院，江苏 南京　210023
2. 江苏省食品药品监督检验研究院，江苏 南京　210019

**摘　要：**吡咯里西啶类生物碱（pyrrolizidine alkaloids，PAs）是一类种类繁多、分布广泛的植物内源性毒性成分，具有不同程度的肝毒性、遗传毒性和致癌性。目前已在约 3%的开花植物中鉴定出 600 余种 PAs 及其氮氧化物。对可能含有毒性 PAs 的中草药，尤其是《中国药典》2020 年版收录的品种进行了详尽梳理，对 PAs 的基本结构、植物来源和各国监管机构对其风险评估和限值制定情况，以及近年来分析方法的最新进展进行综述，并对其定性和定量分析中的难点进行讨论，对毒性 PAs 的监控提出建议，旨在为毒性 PAs 的检测研究、监管部门的政策制定提供警示和参考依据。

**关键词：**吡咯里西啶类生物碱；中草药；风险评估；限量；分析方法；安全性控制

**中图分类号：**R284.11　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2021)24 - 7645 - 13

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.028

# Toxic pyrrolizidine alkaloids in Chinese herbal medicine: Control status and advances in analytical method

MA Yue-xin[1,2], FENG You-long[2], WU Yan-yan[2], ZHOU Juan-juan[2], ZHANG Ying[1,2], YANG Jing[1,2], CAO Ling[2], HUANG Qing[2]

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019, China

**Abstract:** Pyrrolizidine alkaloids (PAs) is a kind of widely distributed endogenous toxic components of plants with hepatotoxicity, genotoxicity and carcinogenicity. More than 660 PAs/PAs *N*-oxide were identified so far, occurring in presumably 3% of all flowering plants. Chinese herbal medicines that may contain toxic PAs, especially the varieties included in *Chinese Pharmacopoeia* of 2020 edition were reviewed in this article, basic structures and plant origin of PAs, and risk assessment and limit setting by national regulatory authorities, and recent advances in analytical methods were summarized. The difficulties in qualitative and quantitative analysis were also discussed, suggestions on monitoring of toxic PAs were put forward in order to provide warning and reference for study on detection of toxic PAs and the policy making of supervisory department.

**Key words:** pyrrolizidine alkaloids; Chinese herbal medicine; risk assessment; limit; analytical methods; safety control

吡咯里西啶类生物碱（pyrrolizidine alkaloids，PAs）是已知最有效的天然植物性防御毒素之一，被用于抵御昆虫、食草动物等侵害，广泛分布于 6000 多种植物中，并可经食物链传递[1-2]。近年来，PAs 及其相应的氮氧化物（PA *N*-oxides，PANOs）已被证明表现出多种毒理学效应，包括肝毒性、遗传毒性和致癌性等[3-5]。在我国，由于可能含 PAs 类毒性成分的部分中草药在临床多有使用、民间习用较为广泛，相关的肝损伤如肝窦阻塞综合征等病例报道逐年增加[3,6]；因服用含毒性 PAs 的中草药或制品等

**收稿日期：**2021-04-28

**基金项目：**江苏省卫健委科研项目（LGY201810）；江苏省卫健委科研项目（LGY2019094）；江苏省药监局科研项目（20170201）

**作者简介：**马跃新（1997—），男，硕士研究生，研究方向为中药检验与分析。E-mail: mayuexin1997@hotmail.com

***通信作者：**曹　玲（1971—），女，主任药师，博士，主要从事药品的质量控制和质量标准研究。E-mail: clidc@sina.com

黄　青（1983—），女，副主任药师，博士，主要从事食品药品中高风险物质检测与安全性评价研究。E-mail: 67658869@qq.com

致的严重中毒病例在许多其他国家也有报道[7]，因此，其已引起各国食品药品监管机构的高度重视。

鉴于 PAs 具有种类多样性、分布广泛性、低摄入量下的高毒性特征，本文对 PAs 的基本结构、植物来源、《中国药典》2020 年版收录情况和各国监管机构对其风险评估和限值制定情况，以及近年来分析方法的最新进展进行综述，并对其定性和定量分析中的难点进行讨论，对毒性 PAs 的监控提出建议，旨在为毒性 PAs 的检测研究、监管部门的政策制定提供警示和参考依据。

## 1　PAs 的结构、分类及毒性

### 1.1　PAs 的结构类型

PAs 是由双稠吡咯烷衍生的氨基醇和植物中的有机酸经酯化形成的。PAs 的基本结构单元为千里光次碱（双稠吡咯环部分）和千里光次酸（有机酸部分），在植物中以游离生物碱及其氮氧化物形式存在，一种植物可能含有多种 PAs 和 PANOs，其基本结构见图 1。千里光次碱的吡咯环结构为 PAs 的母核，按照其 1,2 位不饱和双键存在与否，可分为饱和、不饱和型，图 2 列出了其中代表性化合物的结构，饱和型 PAs 主要为阔叶千里光次碱，不饱和型 PAs 主要有倒千里光裂碱型、天芥菜定型、奥托尼碱型、仰卧天芥菜定型、crotanecine 型 5 种[8]。千里光次酸一般为 5～10 个碳原子的一元酸或二元酸，可同千里光次碱 7 或 9 位的羟基形成单酯、开链双酯或大环双酯[9]（图 3）。

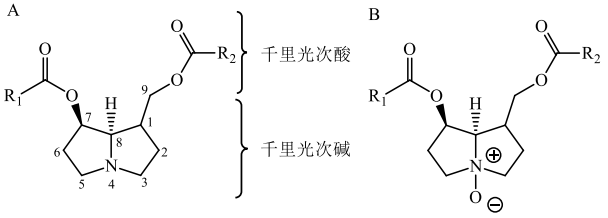



**图 1　PAs (A) 和 PANOs (B) 的基本结构**

**Fig. 1　Basic structures of PAs (A) and PANOs (B)**

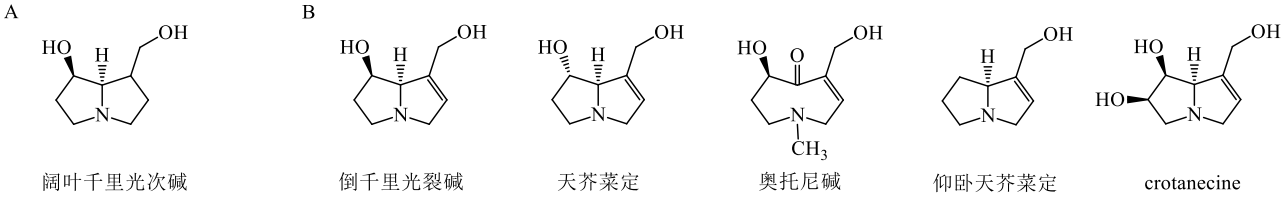



**图 2　代表性饱和 (A) 和不饱和型 (B) 千里光次碱的化学结构**

**Fig. 2　Chemical structures of representative saturated (A) unsaturated (B) necine base**

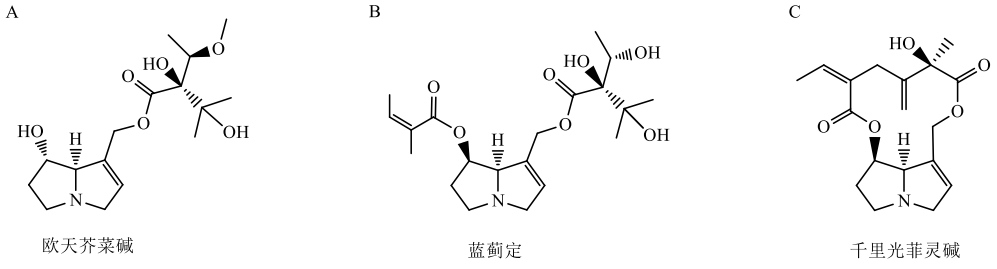



**图 3　代表性单酯型 (A)、开链双酯型 (B) 和大环双酯型 (C) 千里光次酸的化学结构**

**Fig. 3　Chemical structures of representative mono-ester (A), open-ring di-ester (B), and macrocyclic di-ester (C) necic acid**

### 1.2　PAs 的结构-毒性关系

PAs 的结构与其毒性密切相关。研究显示，吡咯环上的 1,2 位不饱和双键是其毒性必需基团，具有该类结构的 PAs（图 2-B），由于其直接靶器官为肝脏，通常有较强的肝毒性[10]，又称肝毒性吡咯里西啶生物碱（hepatotoxic PAs，HPAs），如倒千里光裂碱型的倒千里光碱、野百合碱，天芥菜定型的天芥菜碱和奥托尼碱型的山冈囊吾碱等。此外，这些 HPAs 还会引起肺、肾等器官毒性，致突变、致癌等[8,11]。

PAs 的毒性还受次酸上酯基的取代数目和空间位阻影响，一般认为，在 HPAs 中，大环双酯型 PAs 的毒性最强，其次是单酯型和开链双酯型[8]。PAs 与 PANOs 的毒性主要来自其在肝脏中形成的脱氢代谢产物脱氢吡咯（dehydropyrrolizidine alkaloids，DHPAs），化学结构见图 4，DHPAs 是一种活性的烷基化试剂，有很强的亲电性，与组织中亲核性的蛋

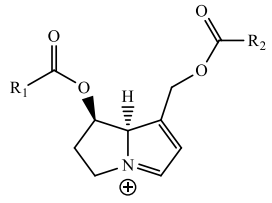


图 4 脱氢吡咯的化学结构

**Fig. 4 Chemical structure of DHPAs**

白质、核酸或酶结合，从而产生毒性效应[6]。

## 2 PAs 的植物来源

据报道，作为一种植物次生代谢产物，全世界不同地区的 6000 多种开花植物含有 PAs[12]。目前已鉴定出 660 多种 PAs 和 PANOs，其中约一半具有毒性，集中在菊科（Compositae）、紫草科（Boraginaceae）、豆科（Leguminosae）和兰科（Orchidaceae）植物中[12-13]。这些毒性 PAs 可能通过传统草药、膳食补充剂、功能性食品、饮料的直接摄入[14-15]或食物链的逐级传递，如牛奶、蜂蜜、肉类等被人体摄取[14,16]。

我国可能含有毒性 PAs 的药用植物众多，据 Roeder[17]的调查显示，有 38 种药用植物含有 HPAs。乔月[18]对《中国药典》2015 年版中 386 种中药的检测发现，271 种检出 HPAs（质量分数≥0.1 μg/kg），而受到影响的成方制剂可能更多。汤俊等[19]对《中国药典》2010 年版中含 HPAs 中药品种的统计发现，部分中药的民间代用品（如紫菀代用品山紫菀、三七代用品菊三七等）也含有 HPAs。因此，对上述研究及其他报道中含 HPAs 的药材品种、其中含有/检出的主要毒性成分及《中国药典》2020 年版中涉及的成方制剂进行了系统的整理和汇总（表 1）。可以看出，现行药典中的许多药材品种，包括民间的习用品或代用品，确实存在 HPAs 污染的潜在风险。

表 1 含有 HPAs 的中草药品种、基原及其成方制剂

**Table 1 Varieties, foundation and preparations of Chinese herbal medicines containing HPAs**

| 药材 | 基原 | 主要 HPAs 成分 | 成方制剂 | 文献 |
|---|---|---|---|---|
| 药典收录品种 | | | | |
| 蓍草 | 蓍 *Achillea alpina* L. | 克氏千里光碱、intermedine、intermedine 氮氧化物等 | 现版药典中无相关成方制剂 | 18 |
| 茵陈 | 滨蒿 *Arterisia scoparia* Waldst. et Kit.或茵陈蒿 *A. capillaris* Thunb. | 石松胺、intermedine、intermidine 氮氧化物等 | 乙肝宁颗粒、小儿肝炎颗粒、甘露消毒丸等 | 20 |
| 佩兰 | 佩兰 *Eupatorium fortunei* Turcz. | supinine、rinderine、7-acetylrinderine 等 | 津力达颗粒、暑湿感冒颗粒 | 17 |
| 野马追 | 轮叶泽兰 *E. lindleyanum* DC. | 克氏千里光碱 | 现版药典中无相关成方制剂 | 18 |
| 一点红 | 一点红 *Emilia sonchifolia* (L.) DC. | 石松胺、倒千里光碱、欧天芥菜碱等 | 花红片、花红颗粒 | 18,21 |
| 臭灵丹草 | 翼齿六棱菊 *Laggera pterodonta* (DC.) Benth. | 石松胺、石松胺氮氧化物、野百合碱等 | 灵丹草颗粒 | 18 |
| 千里光 | 千里光 *Senecio scandens* Buch. -Ham. | 阿多尼弗林碱、千里光宁碱、千里光菲灵碱等 | 千柏鼻炎胶囊、千喜片、千喜胶囊等 | 17,22 |
| 返魂草 | 麻叶千里光 *Senecio cannabifolius* Less. 和单麻叶千里光 *S. cannabifolius* Less. var. *integrifolius* (Koidz.) Kitag. | senecicannabine、jacobine、jacoline 等 | 澳泰乐颗粒 | 21,23 |
| 款冬花 | 款冬 *Tussilago farfarar* L. | 毛果天芥菜碱、蓝蓟定、千里光宁碱等 | 小儿肺咳颗粒、桔梗冬花片、清肺化痰丸等 | 24-25 |
| 紫菀 | 紫菀 *Aster tataricus* L. f. | 蓝蓟定、erucifoline、倒千里光碱等 | 二母安嗽丸、小儿肺咳颗粒、止咳宝片等 | 21 |

**续表 1**

| 药材 | 基原 | 主要 HPAs 成分 | 成方制剂 | 文献 |
|---|---|---|---|---|
| 药典收录品种 | | | | |
| 紫草 | 新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst.或内蒙紫草 *A. guttata* Bunge | $O^7$-angeloylretronecine、倒千里光裂碱、天芥菜碱 | 外伤如意膏、京万红软膏、紫金锭等 | 18,26 |
| 番泻叶 | 狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 或尖叶番泻 *C. acutifolia* Delile | 野百合碱、野百合碱氮氧化物、trichodesmine 等 | 荷丹片 | 27 |
| 飞扬草 | 飞扬草 *Euphorbia hirta* L. | intermedine、石松胺、千里光菲灵碱等 | 现版药典中无相关成方制剂 | 18 |
| 地锦草 | 地锦 *Euphorbia humifusa* Willd.或斑地锦 *E. maculata* L. | intermedine、石松胺、石松胺氮氧化物等 | 小儿泻速停颗粒、肠炎宁片、肠炎宁糖浆等 | 18 |
| 苦玄参 | 苦玄参 *Picria fel-terrae* Lour. | 克氏千里光碱、倒千里光裂碱、野百合碱等 | 万通炎康片、妇炎净胶囊 | 18 |
| 半枝莲 | 半枝莲 *Scutellaria barbata* D. Don | intermedine、intermedine 氮氧化物、石松胺氮氧化物等 | 抗骨髓炎片、金蒲胶囊、茵山莲颗粒等 | 18 |
| 蜂蜜 | 中华蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 或意大利蜂 *A. mellifera* Linnaeus | 取决于蜜源植物 | 常用辅料或炮制（蜜炙）用 | |
| 民间使用品种 | | | | |
| 胜红蓟 | 藿香蓟 *Ageratum conyzoides* L. | 石松胺 | 无相关成方制剂 | 17,28 |
| 白头婆 | 单叶佩兰 *Eupatorium japonicum* Thunb. | 石松胺、intermidine | 无相关成方制剂 | 28-29 |
| 菊三七 | 菊叶三七 *Gynura japonica* (Thunb.) Juel. | 千里光菲灵碱、千里光宁碱等 | 无相关成方制剂 | 17,30 |
| 山紫菀 | 蹄叶橐吾 *Ligularia fischeri* (Ledeb.) Turcz. | clivorine、ligularine、isoline | 无相关成方制剂 | 19 |
| 洋甘菊 | 西洋甘菊 *Matricaria recutita* L. | 蓝蓟定、intermedine、倒千里光碱等 | 无相关成方制剂 | 31 |
| 东北鹤虱 | 异刺鹤虱 *Lappula heteracantha* (Ledeb.) Guerke | 石松胺、intermedine、acetylintermedine 等 | 无相关成方制剂 | 19 |
| 牛至 | 牛至 *Origanum vulgare* L. | 天芥菜碱、蓝蓟定、毛果天芥菜碱氮氧化物等 | 无相关成方制剂 | 32 |

## 3 PAs 的检测分析

稳定高效的提取方法以及可靠、高选择性和高灵敏度的分析方法是解决含毒性 PAs 药品和食品安全性问题的基础。主要对含 PAs 样品的前处理、定性分析、定量分析 3 个最关键的方面进行介绍。

### 3.1 含 PAs 样品的前处理

**3.1.1** PAs 的提取 PAs（尤其 PANOs）是一类极性相对较强的碱性化合物，易溶于常用的提取溶剂如甲醇、乙醇和水。PAs 在酸性条件下成离子态，因此适当的酸（0.05～1.00 mol/L 稀硫酸或盐酸）化可提高提取效率[33]。早期也有使用极性较低的溶剂来提取 PAs，但由于 PANOs 极性较大，在相对非极性的溶剂（如二氯甲烷）中较难溶解，可能会留在水相，因此需在提取过程中或分离后还原氮氧化物来得到总游离碱[34]。迄今为止，应用最多的提取方法主要有索氏提取、浸渍、超声、回流、微波辅助萃取等[20,33,35-36]，这些方法基于浸渍和渗滤的基本原理，区别在于工艺实现方式和具体的萃取条件等。溶剂萃取的条件对 PAs 的回收率有很大影响，其中温度、溶剂性质（pH、p*K*a、离子强度等）、溶剂体积是影响萃取效率的重要参数[37]。

Lebada 等[38]比较了款冬在几种溶剂组成中提取克氏千里光碱和千里光宁碱的效果，发现 10 g 样品在 1 L、pH 为 2 的甲醇-枸橼酸水溶液（50∶50）

中回流加热 15 min 的产率最高；而在室温下用 pH 为 7 的水搅拌并用甲醇延长索氏提取时间（48 h）的效果最差。Schaneberg 等[39]也证实了索氏提取时间过长会导致 PAs 和 PANOS 减少，游离碱比例增高。Kopp 等[37]则采用了加速溶剂萃取的方法，考察了不同酸（磷酸、硫酸、甲酸、乙酸）和氨水在不同浓度（1%、5%）和不同温度下对千里光、款冬和聚合草中 PAs 回收率的影响，与传统萃取技术相比，加速溶剂萃取方法的提取时间（12～20 min）短、效率高、溶剂用量（20 g 样品仅需 30 mL）少。

**3.1.2** PAs 的富集和净化 在对 PAs 进行痕量分析时，待测物浓度往往很低，难以直接测定，通常需要在萃取后增加富集和净化步骤。固相萃取（solid-phase extraction，SPE）由于其易于操作、适用于复杂基质、固定相材料多样而被广泛使用，几种固相萃取填料如 $C_8$、$C_{18}$ 和强阳离子交换（strong cation exchange，SCX），均已得到成功应用[40]。$C_8$、$C_{18}$ 分离纯化目标 PAs 的同时，基质中的其他共提物较多，影响后续检测的选择性和灵敏度。而 SCX 由于专属性更强，目前已成为一种最常使用的工具，商业化的 SCX-SPE 柱已成功用于蜂蜜、高脂食品、中草药等复杂基质中 PAs 的痕量分析[21,41-42]，欧洲食品安全局在指导意见中也推荐使用 SCX-SPE 的方法对 PAs 提取物进行净化[43]。

SCX-SPE 的另一优点在于可以同时捕获 PAs 和 PANOs 并特定洗脱，使用流程一般包括活化、平衡、上样、洗涤、洗脱。先用甲醇预润湿 SPE 小柱，然后使用 0.05 mol/L 盐酸或稀硫酸（与样品溶液相似的溶液）来平衡小柱，样品提取物上样并用水/甲醇洗涤去除干扰化合物，最后通过施加碱性条件洗脱所有形式的 PAs。洗脱溶剂通常采用采用甲醇-10% 氨水（75∶25）的混合物或低温下氨饱和的甲醇。研究考察了不同 SCX-SPE 柱回收 PAs 的效率，回收率略有差异[44]，推荐使用硅胶基质的苯磺酸基填料。

**3.1.3** 其他技术 为了更好地从不同基质中提取 PAs，一些其他技术也被应用于含 PAs 样品的前处理过程，如分散液-液微萃取（dispersive liquid–liquid microextraction，DLLME）由于其萃取效率高、有机溶剂使用少等特点而极具潜力。Celano 等[45]建立了基于 DLLME 的超高效液相色谱-质谱法（ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry，UHPLC-MS）用于测定蜂蜜中的 PAs，回收率在 71%～102%，自述实际样品中的分析结果与 SPE 相当。QuEChERS 法也可用于测定多种基质中的 PAs[46]，但该方法必须用锌粉还原 PANOs。QuPPe 法则是 QuEChERS 的改进方法，当样品在酸性介质中用甲醇稀释后，可同时回收游离碱和氮氧化物[47]。Luo 等[24]将分子印迹聚合物（molecularly imprinted polymers，MIPs）作为固相微萃取（solid phase microextraction，SPME）涂层，建立了 PA-MIPs-SPME 与 UHPLC-MS 联用分析款冬花中 4 种 PAs 的方法，该法回收率（89.1%～104.7%）良好、具有较高的灵敏度，减少了有机溶剂的使用。上述方法尚未被广泛采用，其使用材料的批次差异性、方法的稳定性、重复性，是否适合于标准化的法定检验，还有待进一步验证。

### 3.2 PAs 的分析方法

PAs 的分析方法主要有分光光度法、薄层色谱法（thin-layer chromatography，TLC）、气相色谱法（gas chromatography，GC）、液相色谱法（liquid chromatography，LC）以及近年来发展起来的 GC-MS、LC-MS 联用技术。此外，核磁共振法（nuclear magnetic resonance，NMR）和免疫学方法等也有应用。分光光度法和 TLC 法检测 PAs 的原理都基于显色反应（如使用 Ehrlich 和 Mattocks 试剂），操作简便，早期常有应用，但存在检出限较高、灵敏度低等问题[48-49]。NMR 法灵敏度也是制约其应用于 PAs 定量分析的主要瓶颈，但其强大的定性分析能力，以及能对样品实现无损和无偏向性检测，使之常用于进一步鉴定 PAs 的结构[50-51]。酶联免疫吸附（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）法则多用于 PAs 的毒理学研究，在 PAs 暴露的临床诊断上具有很大潜力[52]。

PAs 紫外吸收较弱，紫外检测法难以满足微量/痕量分析的要求。GC 法可被应用于除 otonecines 型外的其他 PAs，但易发热分解和生物碱单酯形成二酯[33]。由于 PANOs 在挥发所需的温度下不稳定，因此不易使用 GC 进行分析。色谱-质谱技术的联用，在分析 PAs/PANOs 时，不但可以定性定量已知 PAs，还能提供未知 PAs 的相对分子质量、结构信息，由于其灵敏度高、重复性好等优点，已成为各国监管机构对 PAs 检测分析的首选方法。

**3.2.1** PAs 的定性分析 液相色谱-高分辨质谱联用技术是中草药、食品和生物样品中 PAs/PANOs 结构解析和确证最为有效的技术手段[15,35,53]。高分辨质谱（飞行时间/轨道阱质谱）因其超高分辨率下精

确质量数测定的优势，非常适用于未知 PAs 的结构解析、样品中 PAs/PANOs 高通量快速筛查等工作[30,53]。Crews 等[54]以高分辨率飞行时间（time of flight，TOF）质谱研究 PAs 在新疆千里光分解过程中的结构变化，并使用自建数据库对样品中已知 PAs 及其结构类似物进行自动搜索。Zhang 等[55]以超高效液相色谱-四极杆-轨道质谱技术（UPLC-Q-Orbitrap/MS），利用 PAs 特征碎片以平行反应监测模式筛选出合适的前体离子或产物离子，建立了用于在无对照品的情况下鉴定和半定量野百合中几种具有相同母核 PAs 的方法。将其总结为基于特征诊断碎片离子的 PAs 定性筛查策略。它以高分辨质谱的 $MS^n$ 模式研究 PAs 的质量碎裂模式；对已知不同类型 PAs 的二级特征离子进行归属，并用其对未知样品中 PAs 进行“钓取”和进一步鉴定；这些特征碎片离子还可作为平行反应监测模式下的定量离子，因此该策略具有很强的适用性。详细梳理了文献中报道的不同类型母核 PAs 对应的特征碎片离子（图 5）。其中 otonecine 型 PAs 在 *m/z* 122、150、168 处具有特征碎片离子[56]，阔叶千里光次碱型在 PAs *m/z* 122、140 处有特征碎片离子[56]（可用于区分毒性 PAs），倒千里光裂碱型 PAs 在 *m/z* 94、120、138 处有特征碎片离子[57]，根据 *m/z* 118、136 处的特征碎片离子，还可将倒千里光裂碱型 PAs 和 PANOs 区分开[36]。此外，PAs 在电喷雾电离源中易形成[2M＋H]$^+$二聚体，其相对丰度甚至可以达到 100%，也可用于区分 PAs 和 PANOs[58]。

### 3.2.2　PAs 的定量分析

（1）GC-MS 联用技术：对 PAs 的定量分析，常用 DB-1、DB-5、ZB-5 等类型的毛细管色谱柱[42,59,60]和电子电离模式。由于 PANOs 在挥发所需的温度下不稳定，不能直接进行分析，需要通过适当的还

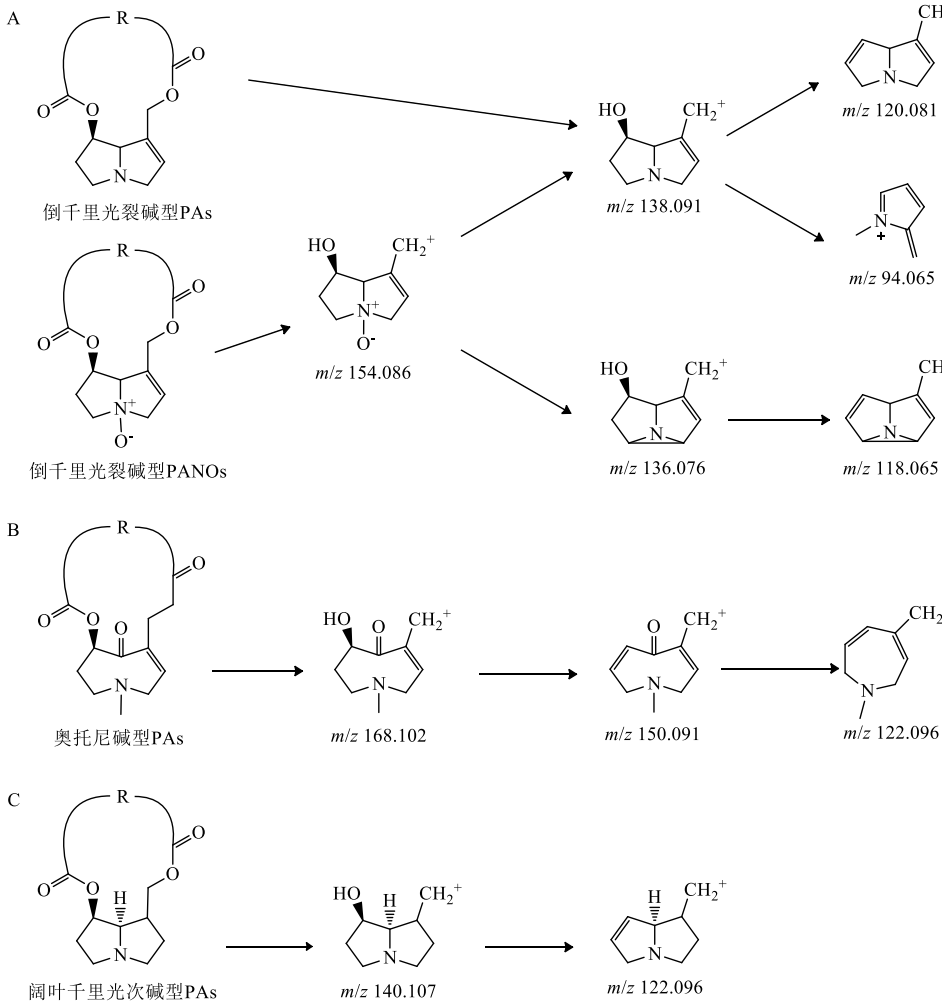



**图 5　倒千里光裂碱型 (A)、奥托尼碱型 (B)、阔叶千里光次碱型 (C) PAs/PANOs 的特征质量碎裂途径**

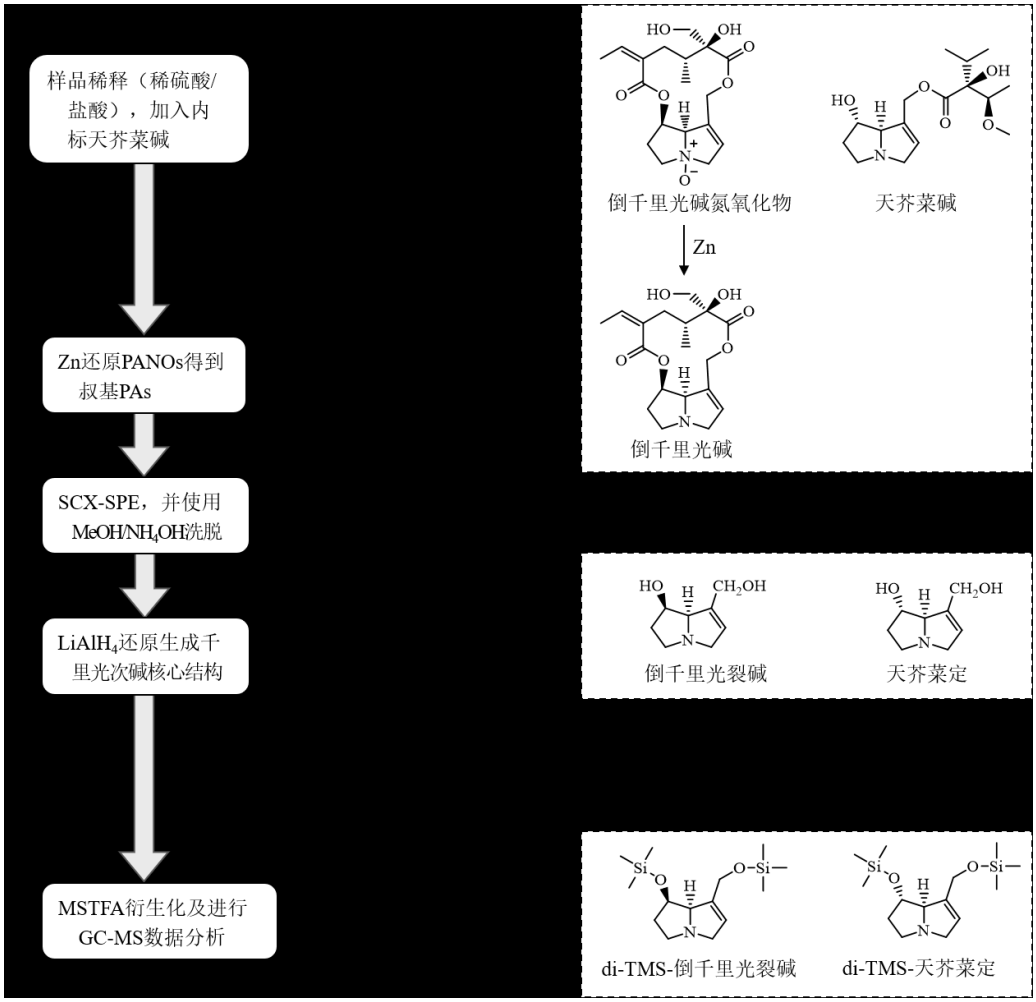
**Fig. 5　Mass fragmentation pathways of retronecine-type (A), otonecine-type (B), and platynecine-type (C) PAs/PANOs**

原和衍生化步骤将 PANOs 和 PAs 转换为相应的 PA 母核进行测定，由此产生了一种新的分析策略，称为求和参数法。

求和参数法最早由 Kempf 等[42,61]提出，其分析 PAs/PANOs 的具体步骤如图 6 所示，通过在前处理时将所有倒千里光裂碱型不饱和 PAs/PANOs 转化为相应的核心结构倒千里光裂碱（产生 1 个和参数），经衍生化后由质谱分析，此时产生的单一信号（*m*/*z* 155.095）可用内标定量，从而计算出样品中总 PAs 含量。样品中总 PAs 含量＝(天芥菜碱质量×0.52×分析物衍生物的峰面积)/(草药质量×内标衍生物的峰面积)，其中分析物衍生物和内标衍生物分别指 di-TMS-倒千里光裂碱和 di-TMS-天芥菜定；0.52 指倒千里光裂碱的转换因子，由于倒千里光裂碱的相对分子质量为 155，而大多数以倒千里光裂碱为核心结构的天然 PAs 和 PANOs 的相对分子质量在 299（石松胺）～413（蓝蓟定氮氧化物），因此在计算草药样品中 PAs 含量时，采用了一种保守的方法，选择了相对分子质量相对较小的石松胺与倒千里光裂碱的比值来将倒千里光裂碱的含量转换为总 PAs 含量。

求和参数法的优点在于漏检率低，在无需所有对照品的情况下就能更准确地反映出被分析产品的污染程度。近 10 年来，研究人员一直在尝试改进其前处理方法[60,62]，Kowalczyk 等[60]使用七氟丁酸酐（heptafluorobutyric anhydride，HFBA）进行衍生，70 ℃下 30 min 即可完成反应。

**（2）**LC-MS 联用技术：LC-MS 联用技术由于其灵敏度、稳定性和线性范围方面的优势，广泛用于 PAs 的定量分析。它能在一次分析运行中测定




A-关键步骤　B-分析过程中发生的化学反应

A-key steps　B-chemical reactions occurring in analysis procedure

**图 6　以倒千里光碱氮氧化物为例求和参数法分析 PAs/PANOs 的流程图**

**Fig. 6　Schematic diagram analyzing PAs/PANOs by the sum parameter method taking retrorsine *N*-oxide as an example**

PAs 的游离碱及其氧化物，且无需预还原 PANOs；也可以避免热不稳定化合物（如氮氧化物或二酯化生物碱）的分解；由于吡咯环部分的氮原子容易电离，基于 LC-MS 的方法非常灵敏。在液相分离部分，常用 $C_{18}$、$C_8$ 色谱柱和含有甲酸的水-乙腈作为流动相[36,63]。在离子化接口部分，目前电喷雾电离占主导地位，且几乎只使用正离子模式。随着技术的进步，目前报道的可同时定量的 PAs 种类也越来越多[35]。Chen 等[20]利用该技术建立了一种适用于茵陈蒿中 PAs 测定和风险评估的 UPLC-MS/MS 方法，使用了 34 种对照品，定量限（limit of quantitation，LOQ）在 0.1～0.5 μg/kg。Dzuman 等[32]开发了一种灵敏的 UPLC-MS/MS 方法，用于检测几种常见污染基质（牛至、凉茶等）中的 33 种 PAs/PANOs，LOQ 在 0.5～10 μg/kg，且方法的回收率良好。考虑到含 PAs 基质的复杂性、多样性，针对常见中药基质，整理并总结了 PAs/PANOs 的主要 LC-MS 条件以供参考（表 2）。

**表 2 常见基质中 PAs/PANOs 的主要 LC-MS 分析条件**

**Table 2 Major LC-MS conditions used for analysis of PAs/PANOs in common matrices**

| 样品 | 固定相 | 流动相 | 质量分析器 | LOD | LOQ | 检测 PA 种类数 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 茵陈 | $C_{18}$ | 水-甲醇（均含 0.05%甲酸和 2.5 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵） | 三重四极杆 | 0.01～0.20 μg·kg$^{-1}$ | 0.10～0.50 μg·kg$^{-1}$ | 34 | 20 |
| 一点红 | $C_{18}$ | 0.2 mmol·L$^{-1}$ 醋酸铵-0.1%甲酸甲醇 | 四极杆/飞行时间分析器 | 0.05～0.54 ng·mL$^{-1}$ | 0.15～1.77 ng·mL$^{-1}$ | 10 | 21 |
| 千里光 | $C_{18}$ | 0.2%氨水-乙腈 | 三重四极杆 | 0.26～11.00 pg·mL$^{-1}$ | 0.78～36.00 pg·mL$^{-1}$ | 7 | 64 |
| 款冬花 | $C_{18}$ | 0.1%甲酸和 0.2 mmol·L$^{-1}$ 醋酸铵-0.1%甲酸甲醇 | 三重四极杆 | 0.32～0.60 ng·g$^{-1}$ | 1.00～2.00 ng·g$^{-1}$ | 4 | 24 |
| 紫菀 | $C_{18}$ | 0.2 mmol·L$^{-1}$ 醋酸铵-0.1%甲酸甲醇 | 四极杆/飞行时间分析器 | 0.05～0.54 ng·mL$^{-1}$ | 0.15～1.77 ng·mL$^{-1}$ | 10 | 21 |
| 紫草 | $C_{18}$ | 0.2 mmol·L$^{-1}$ 醋酸铵-0.1%甲酸甲醇 | 四极杆/飞行时间分析器 | 0.05～0.54 ng·mL$^{-1}$ | 0.15～1.77 ng·mL$^{-1}$ | 10 | 21 |
| 番泻叶 | $C_{18}$ | 水-甲醇（均含 0.1%甲酸） | 三重四极杆 | 0.11～0.48 μg·L$^{-1}$ | 0.45～1.02 μg·L$^{-1}$ | 14 | 27 |
| 半枝莲 | $C_{18}$ | 水-甲醇（均含 0.05%甲酸和 2.5 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵） | 三重四极杆 | 0.01～0.16 μg·kg$^{-1}$ | 0.05～0.70 μg·kg$^{-1}$ | 32 | 18 |
| 蜂蜜 | $C_{18}$ | 0.1%氨水-乙腈 | 三重四极杆 | 无数据 | 0.10～1.00 ng·mL$^{-1}$ | 30 | 65 |
| 菊三七 | $C_{18}$ | 10 mmol·L$^{-1}$ 甲酸和 10 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵-乙腈 | 离子阱 | 无数据 | 无数据 | 20 | 30 |
| 洋甘菊 | $C_{18}$ | 水-甲醇（均含 0.5%甲酸和 2 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵） | 四极杆/线性离子阱 | 无数据 | 1.00 μg·kg$^{-1}$ | 30 | 31 |
| 牛至 | $C_{18}$ 和酰胺 | 水-甲醇（均含 0.2%甲酸和 2 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵） | 四极杆/线性离子阱 | 无数据 | 0.50～10.00 μg·kg$^{-1}$ | 33 | 32 |
| 茶叶和草药茶 | $C_{18}$ | 水-甲醇、水-乙腈（均含 0.1%甲酸和 5 mmol·L$^{-1}$ 甲酸铵） | 三重四极杆 | 0.10～5.00 μg·kg$^{-1}$ | 0.10～27.90 μg·kg$^{-1}$ | 44 | 35 |

PAs 定量分析的 1 个主要缺点仍然是缺乏商业上可用的对照品，因此常用单个可用 PA 生成校准曲线做相对定量。但由于 PAs 直接离子化效率的差异，其响应可能会非常不同，这种对照品的缺乏也导致了许多方法没有或不能得到适当的验证。鉴于上述问题，Cramer 等[1]在 GC-MS 求和参数法的基础上，建立了 LC-MS 求和参数分析策略。改变了 $LiAlH_4$ 的用量来同时还原 PANOs 含有单/双酯结构的 PAs 生成其核心结构（省去在酸性溶液中使用锌粉还原的步骤），以同位素标记的 7-*O*-9-*O*-二丁酰[9,9-$^2H_2$]-倒千里光裂碱作为内标进行定量，最终使样品制备和衍生化的时间减少了 30%；无需所有对照品，对核心结构总量进行准确定量；漏检率低，更准确地反映出被分析产品的污染总程度，这在监管方法中极具借鉴价值。

## 4 PAs 的限量标准与安全性控制现状

由于 PAs 在自然界的广泛存在和中草药消费量的增加，含 PAs 药品和食品的安全性已成为国内外

药品监管部门、相关机构共同关心的国际性议题。表 3 总结了截至目前已报道的 13 种可诱发大鼠肝脏肿瘤的 PAs 和 PANOs。其中毛果天芥菜碱、野百合碱、倒千里光碱、riddelliine 已被国际癌症研究机构划分在 2B 组（可能的人类致癌物）[66]。针对 PAs 在天然药物和食品中存在的危害，许多国家和机构制订了相应的法规，对其用药范围和用量做出了限制，因此，从 PAs 的肝毒性风险（即非致癌性影响）和致癌性风险评估方面进行了整理，见表 4。其中，对于 PAs 的肝毒性，主要采用无可见有害作用水平（no-observed-adverse-effect level，NOAEL）进行风险评估；对其致癌性风险，则采用了暴露边际（margin of exposure，MoE）方法进行评估。

**表 3 可诱发大鼠肝脏肿瘤的 PAs 和 PANOs**

**Table 3 PAs and PANOs that can induce liver tumors in rats**

| 化合物名称 | CAS | 分子式 | 精确相对分子质量 | 文献 |
|---|---|---|---|---|
| 倒千里光裂碱型 | | | | |
| 倒千里光碱 | 480-54-6 | $C_{18}H_{25}NO_6$ | 351.168 188 | 67 |
| 倒千里光碱氮氧化物 | 15503-86-3 | $C_{18}H_{25}NO_7$ | 367.163 102 | 67 |
| riddelliine | 23246-96-0 | $C_{18}H_{23}NO_6$ | 349.152 537 | 68 |
| 野百合碱 | 315-22-0 | $C_{16}H_{23}NO_6$ | 325.152 537 | 69 |
| 千里光宁碱 | 130-01-8 | $C_{18}H_{25}NO_5$ | 335.173 273 | 70 |
| 千里光菲灵碱 | 480-81-9 | $C_{18}H_{23}NO_5$ | 333.157 623 | 38 |
| jacobine | 6870-67-3 | $C_{18}H_{25}NO_6$ | 351.168 188 | 70-71 |
| symphytine | 22571-95-5 | $C_{20}H_{31}NO_6$ | 381.215 138 | 72 |
| 天芥菜定型 | | | | |
| 毛果天芥菜碱 | 303-34-4 | $C_{21}H_{33}NO_7$ | 411.225 702 | 73 |
| 天芥菜碱 | 303-33-3 | $C_{16}H_{27}NO_5$ | 313.188 923 | 74 |
| 奥托尼碱型 | | | | |
| clivorine | none | $C_{21}H_{27}NO_7$ | 405.178 741 | 75 |
| 克氏千里光碱 | 2318-18-5 | $C_{19}H_{27}NO_6$ | 365.183 838 | 72 |
| patasitenine | none | $C_{19}H_{27}NO_7$ | 381.178 752 | 76 |

目前我国在这方面的法规标准等较为少见，尚未对 PAs 的摄入量作出明确规定，仅《中国药典》2020 年版“千里光”项中对阿多尼弗林碱的含量作出了规定，要求不得超过 0.004%（即每克药材中含量≤40 μg）[83]。然而一些普查类研究[18]，对药典中 386 种药材的 32 种 PAs 成分筛查发现，检出 PAs 量折算药典规定用量，超出上述限值的药材有 18 种，其中紫草、款冬花、佩兰、野马追、千里光 5 个品种超标倍数在 10 倍以上。以紫草为例，检出 PAs 总量为 25.57 μg/g，药典规定用量 5～10 g 折算出摄入量在 127.85～255.70 μg；远高于 PAs 致癌性风险评估数据中 60 kg 体质量成人的最大允许摄入量为 0.42 μg/d。这对我国相关药材及其制剂中 PAs 的检测、安全限量标准制定以及监管提出了紧迫的需求。

值得注意的是，PAs 种类较多，其毒性大小不同，如果仅以简单的总量予以控制，未必适用于所有种类的中草药。而且由于目前尚缺乏更多的临床数据和统计学结果，故很难确定其最终限度。此外，并非所有 PAs 都有毒性，一些 PAs 已显示出了各种各样的药理活性[84]。在探讨含 PAs 中药的用药安全时，还需考虑中药用药的特殊性及中药成分的复杂性，不可忽视中医药在长期临床应用和实践中积累的真实世界数据和大量减毒或控毒增效方法。如上述提到的含 HPAs 的紫苑和款冬，张建伟等[85]通过

**表 4 不同国家/机构对于 PAs 的限量标准**

**Table 4 Limit standards for PAs made by different countries or institutions**

| 风险项目 | 国家/机构 | 年份 | 法规及限量 | 文献 |
|---|---|---|---|---|
| 肝毒性 | WHO | 1898 | 人体引起肝窦阻塞综合征的最低 PAs 日摄入量为 15 μg·kg$^{-1}$ | 77 |
| | 德国 | 1992 | 不饱和 PAs 的日摄入量外用不得超过 100 μg，内服不得超过 1 μg，每年含 PAs 药物使用时间不得超过 6 周 | 78 |
| | 英国 | 2003 | PAs 的可耐受日摄入量为 0.1 μg·kg$^{-1}$ | 79 |
| | 荷兰 | 2005 | PAs 的可耐受日摄入量为 0.1 μg·kg$^{-1}$ | 80 |
| 致癌性 | 英国 | 2008 | 不饱和 PAs 的日摄入量不超过 0.007 μg·kg$^{-1}$ | 79 |
| | 欧盟 | 2011 | 不饱和 PAs 的日摄入量不超过 0.007 μg·kg$^{-1}$ | 43 |
| | 德国 | 2013 | 不饱和 PAs 的日摄入量不超过 0.007 μg·kg$^{-1}$ | 81 |
| | 欧盟 | 2016 | 3 年的过渡期解决 PAs 污染，期间限量为 1 μg·d$^{-1}$；若污染无法及时解决，限量将变为 0.35 μg·d$^{-1}$ | 82 |

小鼠实验发现，两者配伍后急性毒性降低，款冬能明显降低紫菀的肝损伤作用。同时，中草药中 PAs 的含量根据产地、采收、储藏、炮制情况也各有不同。对于 PAs 安全限量标准的制定，关键在于对其化学性质、毒理、药理、基原植物和临床实际用药情况的系统认识，才能真正保障用药的安全性。

## 5 结语

中药的用药安全性一直是中医药传承和发展的重要基础和前提。近年来，随着分析技术手段的进步，越来越多潜在的高风险毒性成分被发现、并逐渐明晰其毒性作用机制。由于含 PAs 的植物在自然界分布极广、种类极多，且部分成分已被明确报道具有肝毒性和致癌性[86]，对这类中药中潜在的毒性成分进行分析和研究尤为重要。

PAs 紫外吸收差，HPLC 法无法用于微量/痕量级别的定性定量分析，GC-MS 和 LC-MS$^n$ 以其灵敏、专属和稳定的分析方法，近年来迅速发展并应用于大量的质量控制和毒理学研究中。其中面临的最主要问题是毒性 PAs 种类繁多，缺乏足够的商用对照品（尤其没有 PANOs 的商业来源）。目前最主流的研究手段集中于通过定量单个 PA，获得量化后 PA 的加和值，最多的同时检测 PAs 数量已近 50 种。但基于单一 PA 测定的量化值，取决于使用 PA/PANO 对照品种类的多少，存在高成本以及不可忽视的漏检风险。基于特征诊断碎片离子的筛查策略，以及基于还原成母核结构并衍生后检测的“总和参数”策略可以满足无对照品情况下的高通量筛查以及高度简化的 1,2-不饱和 PAs 的总和量化。

本文综述了对现有药典品种的测定结果，发现部分药典收录的中药中检出 HPAs，这其中还包括了一些常用品种。此外，其他非药典品种，包括地方标准品种、民间习用品、药食同源品种、膳食补充剂和茶饮中均有报道，长期摄入对公众健康有着不可忽视的风险。

目前，有关 PAs 类毒性成分的研究已具备一定基础。有关 PAs 类成分的摄入标准，多个国家与机构已设置了明确的限量标准与使用规定；而我国除了个别品种外，现行的标准与法规尚缺乏相应的参照和系统的检测要求。此现状应当引起有关部门的重视：开展更广泛的调查与研究，追溯所有可能含有 PAs 的基原物种；根据毒性 PAs/PANOs 在不同来源药材中的分布情况，建立高效快速的检测方法，进行系统性的质量评价；对潜在含毒性 PAs 产品，结合临床前及临床数据，制定出科学合理的限量标准；在中医药理论指导下，加强中药复方配伍规律的研究，以达到减毒增效的作用；建立相应的法规和监控体系，以保证传统常用中药材的用药安全。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] Cramer L, Schiebel H M, Ernst L, *et al*. Pyrrolizidine alkaloids in the food chain: Development, validation, and application of a new HPLC-ESI-MS/MS sum parameter method [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(47): 11382-11391.

[2] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), Knutsen H K, Alexander J, *et al*. Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements [J]. *Efsa J*, 2017, 15(7): e04908.

[3] Li N, Xia Q, Ruan J, *et al*. Hepatotoxicity and tumorigenicity induced by metabolic activation of pyrrolizidine alkaloids in herbs [J]. *Curr Drug Metab*, 2011, 12(9): 823-834.

[4] Wiedenfeld H, Edgar J. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants [J]. *Phytochem Rev*, 2011, 10(1): 137-151.

[5] 程敏, 汤俊, 高秋芳, 等. 川紫菀水提取物中主要生物碱成分 clivorine 分析及其对大鼠肝毒性初步研究 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2507-2511.

[6] Edgar J A, Molyneux R J, Colegate S M. Pyrrolizidine alkaloids: Potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease [J]. *Chem Res Toxicol*, 2015, 28(1): 4-20.

[7] Merz K H, Schrenk D. Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines [J]. *Toxicol Lett*, 2016, 263: 44-57.

[8] Fu P P, Xia Q S, Lin G, *et al*. Pyrrolizidine alkaloids: Genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic activation, and mechanisms [J]. *Drug Metab Rev*, 2004, 36(1): 1-55.

[9] Roeder E, Wiedenfeld H. Plants containing pyrrolizidine alkaloids used in the traditional Indian medicine: Including ayurveda [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(2): 83-92.

[10] Ruan J Q, Liao C S, Ye Y, *et al*. Lack of metabolic activation and predominant formation of an excreted metabolite of nontoxic platynecine-type pyrrolizidine alkaloids [J]. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27(1): 7-16.

[11] Luckert C, Hessel S, Lenze D, *et al*. Disturbance of gene expression in primary human hepatocytes by hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids: A whole genome transcriptome analysis [J]. *Toxicol In Vitro*, 2015, 29(7): 1669-1682.

[12] Smith L W, Culvenor C C J. Plant sources of hepatotoxic

pyrrolizidine alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 1981, 44(2): 129-152.

[13] Roeder E, Wiedenfeld H, Edgar J A. Pyrrolizidine alkaloids in medicinal plants from North America [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(6): 357-367.

[14] Fu P P, Chiang H M, Xia Q, *et al*. Quality assurance and safety of herbal dietary supplements [J]. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2009, 27(2): 91-119.

[15] Griffin C T, Gosetto F, Danaher M, *et al*. Investigation of targeted pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese medicines and selected herbal teas sourced in Ireland using LC-ESI-MS/MS [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2014, 31(5): 940-961.

[16] Edgar J A, Colegate S M, Boppré M, *et al*. Pyrrolizidine alkaloids in food: A spectrum of potential health consequences [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2011, 28(3): 308-324.

[17] Roeder E. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids [J]. *Pharmazie*, 2000, 55(10): 711-726.

[18] 乔月. 《中国药典》收录的药材中吡咯里西啶生物碱及其氮氧化物的分析检测研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2019.

[19] 汤俊, 服部征雄. 《中国药典》含吡咯里西啶生物碱的中药品种与用药安全 [J]. 药学学报, 2011, 46(7): 762-772.

[20] Chen L H, Wang J C, Guo Q L, *et al*. Simultaneous determination and risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in *Artemisia capillaris* Thunb. by UPLC-MS/MS together with chemometrics [J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1077.

[21] Luo Z, Li X, Wang L, *et al*. Development of UPLC-Q-TOF-MS coupled with cation-exchange solid-phase extraction method for the determination of ten pyrrolizidine alkaloids in herbal medicines [J]. *Anal Sci*, 2019, 35(12): 1317-1325.

[22] 熊爱珍, 杨莉, 杨雪晶, 等. UPLC-MS 同时测定千里光和欧洲千里光中阿多尼弗林碱和千里光碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 702-705.

[23] 马鸿雁, 杨莉, 王长虹, 等. 单麻叶千里光中肝毒吡咯里西啶生物碱的分离与鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 166-168.

[24] Luo Z, Chen G, Li X, *et al*. Molecularly imprinted polymer solid-phase microextraction coupled with ultra high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry for rapid analysis of pyrrolizidine alkaloids in herbal medicine [J]. *J Sep Sci*, 2019, 42(21): 3352-3362.

[25] 程晓叶, 张霞, 廖曼, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析款冬花的化学成分 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2390-2400.

[26] Smyrska-Wieleba N, Wojtanowski K K, Mroczek T. Comparative HILIC/ESI-QTOF-MS and HPTLC studies of pyrrolizidine alkaloids in flowers of *Tussilago farfara* and roots of *Arnebia euchroma* [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 20: 339-349.

[27] 陈丽华, 王钧篪, 乔月, 等. 基于UPLC-MS/MS同时测定番泻叶中吡咯里西啶生物碱的含量 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(7): 931-936.

[28] McLean E K. The toxic actions of pyrrolizidine (*Senecio*) alkaloids [J]. *Pharmacol Rev*, 1970, 22(4): 429-483.

[29] Mattocks A. *Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids* [M]. London: Academic Press, 1986: 1.

[30] Qi X, Wu B, Cheng Y, *et al*. Simultaneous characterization of pyrrolizidine alkaloids and *N*-oxides in *Gynura segetum* by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(2): 291-302.

[31] Kaczyński P, Łozowicka B. A novel approach for fast and simple determination pyrrolizidine alkaloids in herbs by ultrasound-assisted dispersive solid phase extraction method coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 187: 113351.

[32] Dzuman Z, Jonatova P, Stranska-Zachariasova M, *et al*. Development of a new LC-MS method for accurate and sensitive determination of 33 pyrrolizidine and 21 tropane alkaloids in plant-based food matrices [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(26): 7155-7167.

[33] Witte L, Ernst L, Adam H, *et al*. Chemotypes of two pyrrolizidine alkaloid-containing *Senecio* species [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2): 559-565.

[34] Oberlies N H, Kim N C, Brine D R, *et al*. Analysis of herbal teas made from the leaves of comfrey (*Symphytum officinale*): Reduction of N-oxides results in order of magnitude increases in the measurable concentration of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Public Heal Nutr*, 2004, 7(7): 919-924.

[35] Kaltner F, Stiglbauer B, Rychlik M, *et al*. Development of a sensitive analytical method for determining 44 pyrrolizidine alkaloids in teas and herbal teas via LC-ESI-MS/MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(27): 7233-7249.

[36] Avula B, Sagi S, Wang Y H, *et al*. Characterization and screening of pyrrolizidine alkaloids and *N*-oxides from botanicals and dietary supplements using UHPLC-high resolution mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2015, 178: 136-148.

[37] Kopp T, Salzer L, Abdel-Tawab M, *et al*. Efficient extraction of pyrrolizidine alkaloids from plants by

pressurised liquid extraction-A preliminary study [J]. *Planta Med*, 2020, 86(1): 85-90.

[38] Lebada R, Schreier A, Scherz S, *et al*. Quantitative analysis of the pyrrolizidine alkaloids senkirkine and senecionine in *Tussilago farfara* L. by capillary electrophoresis [J]. *Phytochem Anal*, 2000, 11(6): 366-369.

[39] Schaneberg B T, Molyneux R J, Khan I A. Evaporative light scattering detection of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Phytochem Anal*, 2004, 15(1): 36-39.

[40] Picron J F, Herman M, Van Hoeck E, *et al*. Analytical strategies for the determination of pyrrolizidine alkaloids in plant based food and examination of the transfer rate during the infusion process [J]. *Food Chem*, 2018, 266: 514-523.

[41] Yoon S H, Kim M S, Kim S H, *et al*. Effective application of freezing lipid precipitation and SCX-SPE for determination of pyrrolizidine alkaloids in high lipid foodstuffs by LC-ESI-MS/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 992: 56-66.

[42] Kempf M, Beuerle T, Bühringer M, *et al*. Pyrrolizidine alkaloids in honey: Risk analysis by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(10): 1193-1200.

[43] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed [J]. *EFSA J*, 2011, 9(11): 2406.

[44] Colegate S M, Edgar J A, Knill A M, *et al*. Solid-phase extraction and HPLC-MS profiling of pyrrolizidine alkaloids and their N-oxides: A case study of *Echium plantagineum* [J]. *Phytochem Anal*, 2005, 16(2): 108-119.

[45] Celano R, Piccinelli A L, Campone L, *et al*. Determination of selected pyrrolizidine alkaloids in honey by dispersive liquid-liquid microextraction and ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(31): 8689-8699.

[46] Martinello M, Borin A, Stella R, *et al*. Development and validation of a QuEChERS method coupled to liquid chromatography and high resolution mass spectrometry to determine pyrrolizidine and tropane alkaloids in honey [J]. *Food Chem*, 2017, 234: 295-302.

[47] Sixto A, Niell S, Heinzen H. Straightforward determination of pyrrolizidine alkaloids in honey through simplified methanol extraction (QuPPE) and LC-MS/MS modes [J]. *ACS Omega*, 2019, 4(27): 22632-22637.

[48] Damianakos H, Jeziorek M, Pietrosiuk A, *et al*. The chemical profile of pyrrolizidine alkaloids from selected Greek endemic Boraginaceae plants determined by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *J AOAC Int*, 2014, 97(5): 1244-1249.

[49] 梁威, 宋志钊, 文志云. 比色法测定广西产千里光药材中吡咯里西啶生物碱的含量 [J]. 药学研究, 2016, 35(9): 517-519.

[50] Ruiz-Vásquez L, Reina M, López-Rodríguez M, *et al*. Sesquiterpenes, flavonoids, shikimic acid derivatives and pyrrolizidine alkaloids from *Senecio kingii* Hook [J]. *Phytochemistry*, 2015, 117: 245-253.

[51] Colegate S M, Gardner D R, Betz J M, *et al*. Pro-toxic 1, 2-dehydropyrrolizidine alkaloid esters, including unprecedented 10-membered macrocyclic diesters, in the medicinally-used *Alafia cf. caudata* and *Amphineurion marginatum* (Apocynaceae: Apocynoideae and Apocyneae) [J]. *Phytochem Anal*, 2016, 27(5): 257-276.

[52] Li N, Zhang F, Lian W, *et al*. Immunoassay approach for diagnosis of exposure to pyrrolizidine alkaloids [J]. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 2017, 35(3): 127-139.

[53] Chung S W C, Lam C H. Development of an analytical method for analyzing pyrrolizidine alkaloids in different groups of food by UPLC-MS/MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(11): 3009-3018.

[54] Crews C, Driffield M, Berthiller F, *et al*. Loss of pyrrolizidine alkaloids on decomposition of ragwort (*Senecio jacobaea*) as measured by LC-TOF-MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(9): 3669-3673.

[55] Zhang W, Huai W, Zhang Y, *et al*. Ultra-performance liquid chromatography hyphenated with quadrupole-orbitrap mass spectrometry for simultaneous determination of necine-core-structure pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria sessiliflora* L. without all corresponding standards [J]. *Phytochem Anal*, 2017, 28(5): 365-373.

[56] 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(4): 591-602.

[57] Zhu L, Ruan J Q, Li N, *et al*. A novel ultra-performance liquid chromatography hyphenated with quadrupole time of flight mass spectrometry method for rapid estimation of total toxic retronecine-type of pyrrolizidine alkaloids in herbs without requiring corresponding standards [J]. *Food Chem*, 2016, 194: 1320-1328.

[58] Crews C, Berthiller F, Krska R. Update on analytical methods for toxic pyrrolizidine alkaloids [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 396(1): 327-338.

[59] Cramer L, Beuerle T. Detection and quantification of pyrrolizidine alkaloids in antibacterial medical honeys [J]. *Planta Med*, 2012, 78(18): 1976-1982.

[60] Kowalczyk E, Kwiatek K. Determination of pyrrolizidine

alkaloids in selected feed materials with gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2017, 34(5): 853-863.

[61] Kempf M, Wittig M, Reinhard A, *et al*. Pyrrolizidine alkaloids in honey: Comparison of analytical methods [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2011, 28(3): 332-347.

[62] Kowalczyk E, Kwiatek K. Application of the sum parameter method for the determination of pyrrolizidine alkaloids in teas [J]. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 2020, 37(4): 622-633.

[63] Skoneczny D, Zhu X, Weston P A, *et al*. Production of pyrrolizidine alkaloids and shikonins in *Echium plantagineum* L. in response to various plant stressors [J]. *Pest Manag Sci*, 2019, 75(9): 2530-2541.

[64] Zhou Y, Li N, Choi F F, *et al*. A new approach for simultaneous screening and quantification of toxic pyrrolizidine alkaloids in some potential pyrrolizidine alkaloid-containing plants by using ultra performance liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 681(1/2): 33-40.

[65] Picron J F, Herman M, Van Hoeck E, *et al*. Monitoring of pyrrolizidine alkaloids in beehive products and derivatives on the Belgian market [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(6): 5693-5708.

[66] World Health Organization & International Agency for Research on Cancer. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*: *Some Traditional Herbal Medicines*, *Some Mycotoxins*, *Naphthalene and Styrene* [M]. Lyon: IARC Press, 2002: 583.

[67] Schoental R, Hard G C, Gibbard S. Histopathology of renal lipomatous tumors in rats treated with the “natural” products, pyrrolizidine alkaloids and, -unsaturated aldehydes [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1971, 47(5): 1037-1044.

[68] Harris P N, Chen K K. Development of hepatic tumors in rats following ingestion of *Senecio longilobus* [J]. *Cancer Res*, 1970, 30(12): 2881-2886.

[69] Shumaker R C, Robertson K A, Hsu I C, *et al*. Neoplastic transformation in tissues of rats exposed to monocrotaline or dehydroretronecine [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1976, 56(4): 787-790.

[70] Schoental R, Head M A, Peacock P R. *Senecio* alkaloids: Primary liver tumours in rats as a result of treatment with (1) A mixture of alkaloids from S. *Jacobaea* Lin.; (2) retrorsine; (3) isatidine [J]. *Br J Cancer*, 1954, 8(3): 458-465.

[71] Cook J W, Duffy E, Schoental R. Primary liver tumours in rats following feeding with alkaloids of *Senecio jacobaea* [J]. *Br J Cancer*, 1950, 4(4): 405-410.

[72] Hirono I, Haga M, Fujii M, *et al*. Induction of hepatic tumors in rats by senkirkine and symphytine [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1979, 63(2): 469-472.

[73] Svoboda D J, Reddy J K. Brief communication: Laslocarplne-induced, transplantable squamous cell carcinoma of rat skin 2 [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1974, 53(5): 1415-1418.

[74] Schoental R. Pancreatic islet-cell and other tumors in rats given heliotrine, a monoester pyrrolizidine alkaloid, and nicotinamide [J]. *Cancer Res*, 1975, 35(8): 2020-2024.

[75] Lin G, Cui Y Y, Liu X Q, *et al*. Species differences in the *in vitro* metabolic activation of the hepatotoxic pyrrolizidine alkaloid clivorine [J]. *Chem Res Toxicol*, 2002, 15(11): 1421-1428.

[76] Hirono I, Mori H, Yamada K, *et al*. Carcinogenic activity of petasitenine, a new pyrrolizidine alkaloid isolated from *Petasites japonicus* Maxim [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1977, 58(4): 1155-1157.

[77] World Health Organization & International Programme on Chemical, Safety. Pyrrolizidine alkaloids: health and safety guide [R]. Geneva: WHO, 1989.

[78] Bundesgesundheitsamt (German Federal Health Bureau). Bekanntmachung über die Zulassung und Registrierung von Arzneimitteln [R]. Berlin: BfR, 1992.

[79] Committee on Toxicity. Statement on Pyrrolizidine Alkaloids in Food [R]. London: COT, 2008.

[80] Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. Advisory report on pyrrolizidine alkaloids in herb preparations [R]. Bilthoven: RIVM, 2005.

[81] Bundesinstitut für Risikobewertung. Pyrrolizidine alkaloids in herbal teas and teas [R]. Berlin: BfR, 2013.

[82] Herbal Medicinal Products Committee. Traditional herbal medicinal products with pyrrolizidine alkaloids: Transitional recommendations for risk management and quality control [R]. London: HMPC, 2016.

[83] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 35.

[84] Robertson J, Stevens K. Pyrrolizidine alkaloids: Occurrence, biology, and chemical synthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2017, 34(1): 62-89.

[85] 张建伟, 窦昌贵, 张勉, 等. 紫菀、款冬及其配伍的毒性及药效学研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(4): 405-411.

[86] 熊芬, 谷丽华, 杨莉, 等. 含吡咯里西啶生物碱中成药潜在风险评估 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5389-5400.

[责任编辑 崔艳丽]