

《中国药典》含吡咯里西啶生物碱的中药品种与用药安全

汤 俊^{1*}, 服部征雄²

(1. 武汉大学药学院, 组合生物合成与新药发现教育部重点实验室, 湖北 武汉 430071;

2. 日本富山大学和汉医药学综合研究所, 日本 富山 930-0194)

摘要: 吡咯里西啶类生物碱是一类分布广泛的天然有毒生物碱, 存在于许多中草药中, 一些品种还被历版《中国药典》所收载。为了掌握《中国药典》(2010 版) 中含这类生物碱的中药品种的收载情况, 本文进行了系统的整理和分析; 同时, 结合该类生物碱的研究现状及本实验室一些最新研究数据, 探讨安全性问题与对策。结果发现新版药典一部现存 9 种药材品种 (不包括饮片) 含有肝毒吡咯里西啶类生物碱, 并涉及数十种成方制剂; 由于大多数品种缺乏该类成分的安全限量检查, 其潜在的用药风险可能被忽视。建议开展相关基础研究和进行毒性评价, 从而进一步提升相关品种的安全性控制水平, 为临床安全用药提供保障。

关键词: 中国药典; 中药; 吡咯里西啶类生物碱; 安全限量; 安全性控制

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 07-0762-11

Pyrrolizidine alkaloids-containing Chinese medicines in the Chinese Pharmacopoeia and related safety concerns

TANG Jun^{1*}, HATTORI Masao²

(1. Key Laboratory of Combinatorial Biosynthesis and Drug Discovery, College of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2. Institute of Natural Medicine, University of Toyama, Toyama 930-0194, Japan)

Abstract: It has been well-known that many medicinal plants used in traditional Chinese medicine contain hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids (HPAs), and some even have been recorded in many editions of the Chinese Pharmacopoeia (ChP). In order to clarify the current status of these PAs-containing Chinese materia medica and proprietary Chinese formulae, the ChP 2010, the newest version, and the related safety issues were thoroughly investigated and analyzed on the current advances in research. Total nine crude drugs (not including the processed slices) were found to contain HPAs, which may be present in tens of Chinese proprietary drugs prepared with these crude drugs. Because of the lack of the alkaloid limitation in most monographs, their potential threats to human health may be underestimated. For this reason, attention should be drawn to the importance of the issue. The key point is to conduct the basic studies immediately on these PA-containing herbal plants or products, whose possible hazards need to be carefully assessed. Further efforts should also be made to elevate the criteria for quality control and ensure the drugs' safety in clinic for human health.

Key words: Chinese Pharmacopoeia; Chinese medicine; pyrrolizidine alkaloid; exposure limit; safety control

收稿日期: 2011-01-28.

基金项目: 武汉大学引进人才科研启动基金项目 (306276214).

*通讯作者 Tel: 86-27-68759923, Fax: 86-27-68759850, E-mail: tangj0205@hotmail.com

《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》) 2010 版,已于 2010 年 10 月 1 日起正式实施^[1, 2]。新版药典收载品种新增和修订的数量在历版中最多,前期的基础研究使中药标准的可控性、科学性和合理性进一步提升。值得注意的是药典一部较前版新增了 32 项毒性成分检查,即增加了许多中药品种有毒成分的检测并规定了其限量,以降低可能的药物不良反应和用药风险,凸显了对中药安全性问题的重视。其中,“千里光”项下规定药材中不得含有阿多尼弗林碱(adonifoline)或其含量不得超过 0.004%,这是因为该成分是一种有毒的吡咯里西啶类生物碱(pyrrolizidine alkaloids, PAs)^[2-4]。

PAs 是一类分布广泛的植物性毒素,大多具有肝毒性^[5-8]。该类成分可通过传统草药、茶剂、谷物、功能性食品或食物链的传递,如:奶制品、蜂蜜、禽蛋或肉类等被人类摄食,导致中毒甚至死亡,已引起世界各国食品与药品监管及研究机构的高度关注^[7-13]。

近些年来,我国学术界已在含 PAs 中草药的基原、化学成分、分析方法、毒理学以及流行病学等方面进行了研究,并初步了解 PAs 在许多中草药及其相关食品中的存在及对人类健康的危害,还有学者呼吁采取相应的对策^[14-26]。目前,已有个别品种(如千里光),从资源、成分、毒理、药(毒)代动力学以及质量控制方法研究直到成为法定标准,进行了大量而细致的研究工作^[4, 17-22]。但是,大部分品种因缺乏详尽的研究,未能建立有效的控制方法,使得本版药典仍然收载了一些含有 PAs 成分但缺少安全限量规定的品种,为临床应用留有隐患。为此,本文对有关品种进行了整理,对其用药风险进行了探讨,以期后续安全性评价研究、标准制定等提供参考。

1 PAs 与中草药

PAs 的种类众多,据统计,植物来源的 PAs 类成分已至 660 种^[7, 8, 18]。PAs 分子结构上主要由千里光次碱(necine base)和千里光酸(necic acid)组成,两者形成酯类。根据千里光次碱的结构,PAs 的结构类型可达 21 种^[5],其中 5 种为 1,2 位具有不饱和键的 PAs,即 (+)-retronecine、otonecine、(+)-heliotridine、(+)-crotanecine 和 (-)-supinidine(图 1)。PAs 常见有两种类型,分别为 retronecine 型和 otonecine 型。值得注意的是 retronecine 型 PAs 常以 N-氧化物的形式在植物中贮藏^[11]。常见的酯类结构类型包括:无酯基取代类、7-位或 9-位单酯取代类、7,9-二酯取代开环类、11 元大环双酯类、12 元大环双酯类、13 元大环双酯类等。研究表明,1,2 位双键结构是 PAs 产生毒性的

前提,同时有无酯基取代也很关键。同时满足两种条件的 PAs 往往具有较强的肝毒性,故又称肝毒吡咯里西啶生物碱(hepatotoxic PAs, HPAs),如 retronecine 型的野百合碱(monocrotaline)和 otonecine 型的 clivorine,经大量研究^[5, 6, 15, 24, 25]表明均有明显的肝毒性,而且还可能具有肺脏毒性、遗传毒性、神经毒性和胚胎毒性等,这些毒性与 PAs 的结构和性质有关且因动物种属、个体的差异而不同^[5-8, 24]。图 2 列举了目前研究较多且毒性较大的几种 HPAs 的化学结构及其急性毒性指标(LD₅₀)^[4, 5, 24, 25]。LD₅₀除有特别标注外,均为腹腔给予雄性大鼠后的测定值。

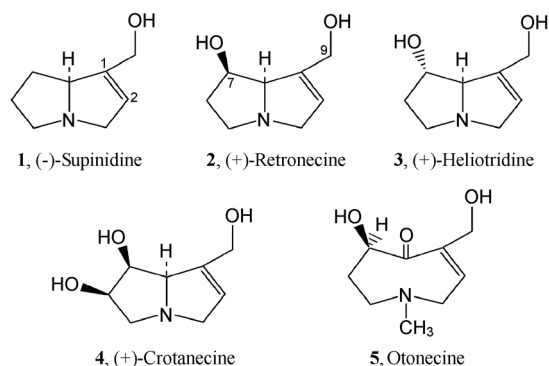


图 1 1,2 位不饱和千里光次碱的基本结构类型

含有 PAs 的植物种类繁多,据报道,全世界约有 3% 的有花植物(约 6 000 种)含有 PAs,主要集中于菊科、豆科和紫草科中^[10, 27]。此外,PAs 还通过食物链在某些非哺乳类动物,如:鳞翅目昆虫体内积累,并经过生物转化后发挥信息素及抵御天敌等作用^[28]。同样,膜翅目的蜜蜂对 PAs 类成分的耐受性也较强(50 μg/只),因此许多含有 PAs 的植物对蜜蜂的拒食作用有限,导致 PAs 通过蜜蜂采食该类植物花粉和花蜜在蜂蜜中积蓄^[10, 11]。需要指出的是,蜂蜜作为一正式中药品种已在多版《中国药典》中收载^[2]。据 Roeder^[8]的调查显示,在我国用于中药材的药用植物中有 38 种含有 HPAs,而据我国学者的统计此数字可达 50 种,详细介绍可参阅相关的专著与综述^[5, 14, 15, 27, 29]。

2 HPAs 的代谢与毒性

大量的实验与临床观察发现 HPAs 的毒性多发生于肝脏,如大量暴露时可导致急性中毒,其典型特征为肝小静脉闭塞病(HVOD),或称肝窦阻塞综合征(SOS),而长期少量摄入 HPAs 则造成慢性毒性,表现为肝巨细胞症和肝纤维化^[5-7, 19, 26]。但从细胞水平的实验来看多数 HPAs 原形的细胞毒活性并不大^[6, 30]。由于肝脏集中了生物体最为丰富的药物代谢酶(如

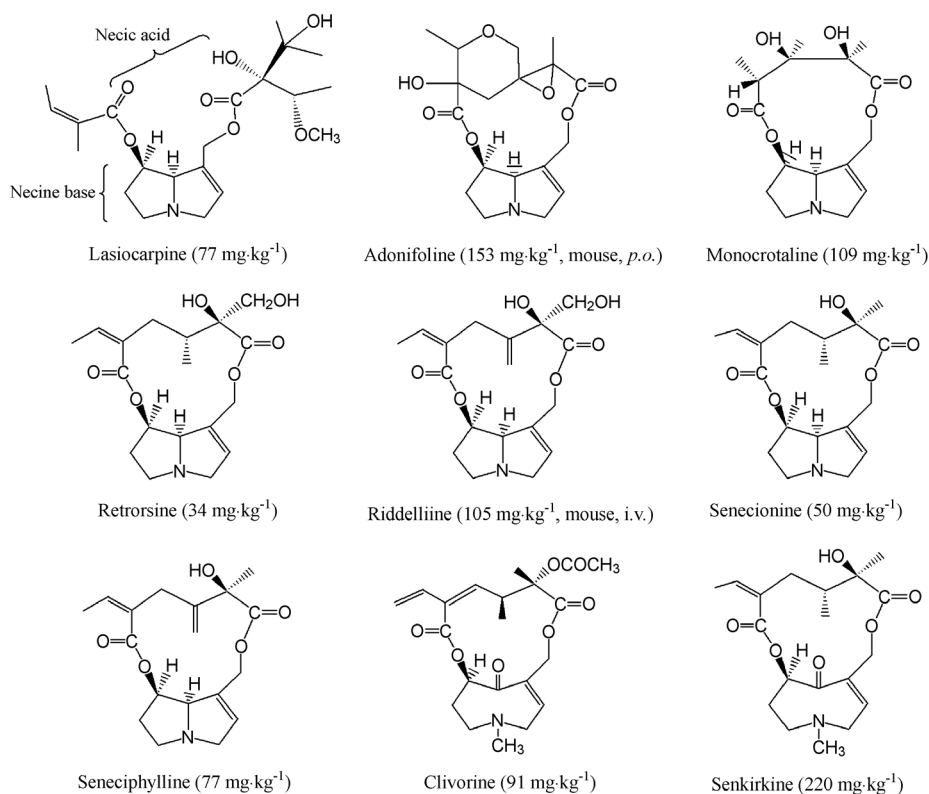


图2 一些常见肝毒吡咯里西啶生物碱的结构及其 LD₅₀ 值

细胞色素 P450 酶类), 故推测 HPAs 主要经过代谢产生毒性。后来的研究证实了 HPAs 代谢致毒的假说, 即目前大多数学者所认同的 HPAs 毒性是由其特殊的吡咯代谢物或称“代谢吡咯”(metabolic pyrroles)产生^[5, 24]。其特殊性在于与其他代谢产物(图3)相比具有不同的特点: 其一, 化学性质极为活泼, 且反应具有不可逆性, 是毒性产生的根源, 这一点可从化学方法合成的“化学吡咯”推知^[5, 31]; 其二, 极难从肝组织或血浆中直接检测, 或者只能测得其次生毒性代谢物(secondary toxic metabolites)^[23-26]。作者在大鼠体内实验中也发现, 某些来源于肝微粒体代谢的次生毒性代谢物(7-GSH-DHR)可在血浆中检出。这种特性或可解释为什么大多数 HPAs 的毒性靶器官首先在肝脏而非其他组织, 正是因为极少的“代谢吡咯”或者仅仅那些活性较低的次生毒性代谢物能游离于肝外而成为可循环代谢物(circulating metabolites)。

代谢吡咯的产生主要取决于肝 P450s 的代谢活化作用, 其过程涉及一系列的电子传递反应导致在 PAs 分子的双稠吡咯环上加一个氧原子, 形成 C-3 或 C-8 位的羟基(如 retronecine 型 PAs); 由于该氧化中间物极不稳定, 极易脱水形成高亲电性的脱氢 PAs, 即为吡咯代谢物(或初级毒性代谢物); otonecine 型的 PAs 经脱甲基后以相似的途径脱氢化(图3)。吡

咯代谢物生成后即进入细胞质基质中, 一部分与其中含巯基氨基酸、小分子肽类、蛋白质、酶以及 RNA 等一些重要生命物质抑或细胞亲核体发生反应, 一部分则迅速降解, 形成一系列的次生毒性代谢物, 如: 组织结合吡咯(tissue-bound pyrroles)、谷胱甘肽吡咯结合物(如 7-GSH-DHR)、吡咯醇(dehydroretronecine, DHR)等。这些“反应”导致了肝细胞在解毒中又不断的中毒, 其不可逆性最终造成肝细胞功能紊乱、坏死直至组织损伤^[5, 6, 24]。肺脏是某些 HPAs(如野百合碱)致毒的另一个重要的靶器官, 表现为肺动脉高压和肺静脉闭塞症, 其原因亦与吡咯代谢物有关, 但其产生的机制是否归于肺脏还是与肝脏代谢有关以及吡咯代谢物又如何从肝转运至肺部等尚不太清楚, 仍有待于阐明^[11, 32]。进一步的研究还发现, 如在长期暴露的情形下, HPAs 的吡咯代谢物还能进入细胞核与碱基以共价结合, 从而破坏 DNA 的结构或形成 DNA 交联(cross-linking)和 DNA 蛋白复合物(DPCs), 诱导基因的突变乃至癌变^[11, 24, 33]。研究显示, 这种与 DNA 交联的能力与 PAs 的结构有关, 以图2所示的几种化合物为例, 依次为 seneciphylline > riddelliine > retrorsine > senecionine > monocrotaline > retronecine^[24]。值得注意的是, 一些 HPAs 可能不经代谢产生毒性, 如 clivorine 在体内毒性可能存在直

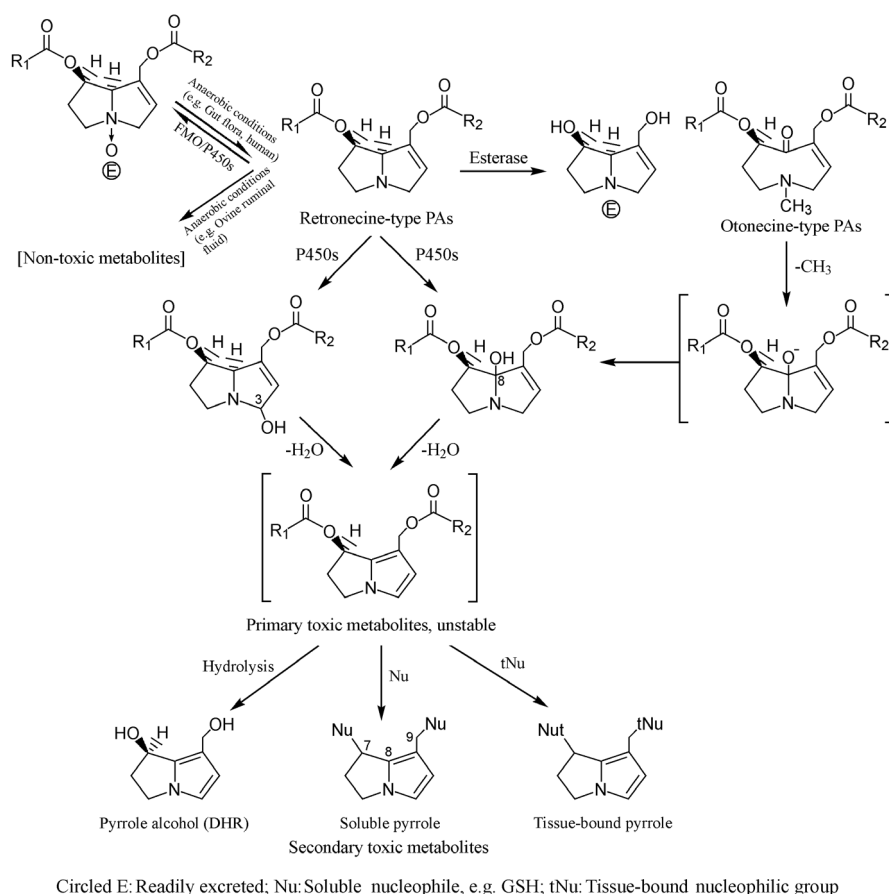


图3 HPAs 体内代谢活化与解毒途径

接和代谢致毒的双重机制^[25, 30], 其中前者涉及了某种如线粒体介导的细胞凋亡通路或与氧化损伤机制有关^[34]。

3 2010 版中国药典一部中含 HPAs 的中药品种及用药安全

表 1 列出了现版药典一部中收录的明确含有 HPAs 的药材及其成方制剂。其中, 包括蜂蜜有正式收录的药材品种 6 种 (其中 4 个品种含有饮片); 另附录收录了 3 种, 共计植物种类 10 种。

由表 1 可知, 款冬花、紫草 (软紫草) 成方用药较为普遍。前者归于止咳祛痰药, 常与紫菀合用^[35]。紫草多用于清热凉血、抗炎解毒, 其成方用药亦较多, 药典品种既有内服又有外用, 几乎各占一半; 此外, 紫草 (包括滇紫草) 还用于婴幼儿药品中 (表 1)。这两种药材均含有 HPAs 类成分^[8]。其中, 款冬花中千里光宁 (senecionine) 的含量可至 0.001% (g/g)^[8]。如按药典规定的最低用量 (5 g) 计算, 一次服药后该成分的摄入量可达 50 μg ; 如按治疗支气管哮喘的用量^[35], 每日的摄入量为 180 μg , 均远高于德国政府设定的安全限量 (1 μg)。同样, 千里光也有类似的问题^[8]。现版药典规定了阿多尼弗林碱的限量为 0.004%, 按此计

算, 即使药材用量为 15 g (药典规定为 15~30 g), 该成分的每日摄入量可达 600 μg 。但是, 根据世界卫生组织 (WHO) 国际化学品安全规划署 (IPCS) 的推算, PAs 拟产生 HVOD 的每日最低剂量为 15 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重^[22], 以上 PAs 的暴露水平可计算如下: 以 60 kg 的成人重量和千里光宁计, 款冬花最高为 3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 以阿多尼弗林碱计, 千里光为 10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (15 g 用量), 似均未超出 IPCS 推算的最小致毒剂量。然而, 若大量或过量使用千里光 (≥ 30 g), 则总 PAs 的暴露量很可能达到或超过 IPCS 的毒性限量; 再则, 以上药材中 PAs 的含 (限) 量是以药典标准或文献的数值为参照, 由于 PAs 的含量随药材的产地、采收期或贮藏时间的变化而不同, 而且, 在中成药或复方中含 PAs 的药材经炮制、煎煮或与其他药材混合制剂后, 其有毒 PAs 成分可能发生改变或含量的变化, 因此很难保证临床用药 HPAs 含量在安全限量之内。事实上, 随产地不同而含有不同 PAs 的药材相当普遍, 研究表明陕西太白山产千里光不含有阿多尼弗林碱, 而含有千里光宁、千里光菲灵和克氏千里光碱等 9 种 HPAs^[21]; 一些含 PAs 的药材经煎煮后其所含 PAs 可大量富集, 如大猪屎豆水提取物中野百合碱含量提高了近 5 倍^[36];

表1 2010版中国药典中含HPAs的中药品种。一：现版药典中无相关成方制剂；a：另有饮片；b：药典附录收载；c：与紫菀合用方；d：同属多种植物含有HPAs，推测该种亦含有；e：外用；f：据调查，分布于欧美各国含PAs的蜜源植物包括有：蓝蓟属 (*Echium*)、琉璃苣属 (*Borago*)、千里光属 (*Senecio*)、泽兰属 (*Eupatorium*) 的植物等，我国尚不清楚；g：同属多种植物，如单叶佩兰 (*E. japonicum* Thunb.)、华泽兰 (*E. chinensis* L.)、轮叶泽兰 (*E. lindleyanum* DC.) 和大麻叶泽兰 (*E. cannabinum* L.) 作为其地方习用品，除轮叶泽兰 (野马追) 外，均有含HPAs的报道^[8]

品名	拉丁名	来源	主要HPAs成分	成方制剂
千里光	<i>Senecionis Scandentis Herba</i>	菊科千里光属千里光 (<i>Senecio scandens</i> Buch.-Ham. ex D. Don) 的地上部分	Senecionine; Seneciphylline; Adonifoline	千柏鼻炎片
款冬花 ^a	<i>Farfarae Flos</i>	菊科款冬属款冬 (<i>Tussilago farfara</i> L.) 的花蕾	Senecionine; Senkirkine	二母安嗽丸 ^c ；川贝雪梨膏；止咳橘红口服液 ^c ；止咳橘红丸 ^c ；止嗽化痰丸；咳嗽顺片 ^c ；润肺止嗽丸 ^c ；橘红丸 ^c ；橘红颗粒 ^c
佩兰 ^{a, g}	<i>Eupatorii Herba</i>	菊科泽兰属佩兰 (<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz.) 的地上部分	Supinine; Rinderine; 7-Acetylinderine	—
野马追 ^a	<i>Eupatorii Lindleyani Herba</i>	菊科泽兰属轮叶泽兰或林泽兰 (<i>Eupatorium lindleyanum</i> DC.) 的地上部分	同属多种植物含有HPAs ^d	—
紫草 ^a	<i>Arnebiae Radix</i>	紫草科软紫草属新疆紫草 (<i>Arnebia euchroma</i> (Royle) Johnst.) 和内蒙紫草 (<i>A. guttata</i> Bunge) 的根	O ⁷ -Angeloylretronecine; O ⁹ -Angeloylretronecine (新疆紫草)	小儿肺热平胶囊；白蚀丸；白癜风胶囊；国公酒；复方青黛丸；消痤丸；消糜栓 ^c ；烫伤油 ^c ；康妇消炎栓 ^c ；紫花烧伤软膏 ^c ；紫草软膏 ^c
蜂蜜	<i>Mel</i>	蜜蜂科昆虫中华蜜蜂 (<i>Apis cerana</i> Fabricius) 或意大利蜂 (<i>Apis mellifera</i> Linnaeus) 所酿的蜜	取决于蜜源植物 ^f	各种蜜丸剂等
返魂草 ^b	<i>Senecionis Cannabifolii Herba</i>	菊科千里光属宽叶返魂草 (或称麻叶千里光, <i>Senecio cannabifolius</i> Less.) 和单叶返魂草 (或称单麻叶千里光, <i>Senecio cannabifolius</i> Less. var. <i>integrifolius</i> (koidz.) Kitag.) 地上部分	Senecicannabine (宽叶返魂草)	澳泰乐颗粒
一点红 ^b	<i>Emiliae Herba</i>	菊科紫背草属一点红 (<i>Emilia sonchifolia</i> (L.) DC.) 全草	Doronine; Senkirkine	花红片；花红颗粒
滇紫草 ^b	<i>Onosmae Radix</i>	紫草科滇紫草属滇紫草 (<i>Onosma paniculatum</i> Bur. et Franch.) 根部栓皮	同属多种植物含有HPAs ^d	小儿宝泰康颗粒

一些非处方类 (OTC) 中成药，如：用于止咳化痰的某蜜炼川贝枇杷膏中可检出微量的千里光宁及克氏千里光碱等 (待发表数据)。就后者而言，尽管 HPAs 的含量很低，如患者特别是婴幼儿长期摄食有关的中药 (如款冬花、紫草等) 及其制品，则 HPAs 的蓄积等用药风险依然存在。

值得注意的是，4 种植物药 (野马追、单叶返魂草、内蒙紫草和滇紫草) 尚无 PAs 成分的报道，但其同属植物多含有 PAs 成分^[37, 38]，推测这些品种可能含有 PAs 但有待于验证。其次，蜂蜜中含有 PAs 与否与蜜蜂采食的蜜源植物密切相关。据文献^[10]统计，分布于欧美各国含 PAs 的蜜源植物包括紫草科蓝蓟属 (*Echium*)、琉璃苣属 (*Borago*) 和聚合草属 (*Symphytum*)，菊科千里光属 (*Senecio*) 和泽兰属 (*Eupatorium*) 的植物。在我国，有关蜜源植物的调查研究很多，但对含 PAs 蜜源植物的调研却很少。偶见报道^[8, 39]称泽兰属植物华泽兰 (*Eupatorium chinense* L.) 作为一种野生蜜源植物。对于国产蜜源植物的种类、所含 PAs 类型和蜂蜜中所含的 PAs 结构、含量

以及毒性等研究，至今尚未见报道。

在成方制剂中，蜂蜜常不作为主要药味，但往往作为炮制原料 (如蜜款冬花、蜜百部、蜜麻黄等) 或者辅料炼制后添加至各种丸剂 (如十全大补丸、六味地黄丸、当归养血丸等)、片剂 (如安胃片)、合剂 (如孕康合剂、维血宁合剂)、口服液 (如小儿清肺化痰口服液) 和糖浆剂 (如乐儿康糖浆、百咳静糖浆) 中^[1, 2, 40]。由于药典未明确规范蜜蜂采食的地点与蜜源植物的种类，又因含 PAs 的植物分布广泛 (约占花植物的 3%)^[27]，蜜蜂在野外放养时采食含 PAs 植物花粉或花蜜的可能性会很大，事实上也是如此^[10]；再则，蜜蜂对 PAs 的耐受性^[41]很好，被 PAs 污染的可能性和几率也会很高。据国外的分析，一些蜂蜜产品的 PAs 含量高达 3.9 μg·g⁻¹^[11]。食用这种蜂蜜而不超过德国政府规定的 PAs 每日限量 (1 μg)，最多的食用量仅为 0.25 g。对欧美人来讲，实际的摄入量远在此数字之上^[10]。在我国，蜂蜜既为中药又是一种营养型食品，其应用极为普遍。虽然没有人均消费的统计，药典规定的用量也在 15~30 g 之间^[2]，如遇有高污染

的蜂蜜样品,同样有发生肝毒的危险。尽管 HVOD 是 HPAs 在大量暴露时表现出的急性毒性特征,虽不适用于长期少量地摄取 HPAs 的情形,但后者却可能导致基因突变,进而诱发癌症,这一点已从体外肝微粒体实验以及啮齿类动物的特殊毒性实验中得到佐证^[10, 11, 33]。

4 有关药典品种的代用品或地方习用品、民间草药及用药安全

我国除在临床上应用中药外,民间应用亦极为普遍。除了药典规定的正式药材品种(或称正品)外,民间习用或代用品的现象也很多,甚至还时有伪品出现。除上述的正品外,现将其他含 HPAs 的代用品总结于表 2。

表 2 表明紫菀的成方用药很普遍。研究发现山紫菀与紫菀具有类似的镇咳祛痰的作用,民间用药极为广泛,如四川、贵州等地习用的川紫菀,来自鹿蹄橐吾 (*Ligularia hodgsonii* Hook.)、川鄂橐吾 (*Ligularia wilsoniana* (Hemsl.) Greenm.) 等多种植物^[6, 14-16]。作者研究^[42]表明,川紫菀水提取物具有一定的急性肝毒性,且含有 clivorine、ligularine、hodgsonine 和 ligularizine 等 20 余种 otonecine 型的 HPAs 成分,其中,clivorine 含量高达 3.9 mg·g⁻¹ 水提取物,这与其肝毒性密不可分。由于橐吾属的植物种类多、分布广,各地用药的基原不尽相同,HPAs 的组成与含量相差较大,临床中毒或因剂量不同而程度不同或因病程较长而诊断不明,故其用药风险大且具有一定的突

发性^[15, 16, 43]。

菊三七与三七相似,具有良好的破血散瘀、止血、消肿的功效,现代中药学将两者同列为化瘀止血药^[35]。作者在研究中发现,将菊三七的水提取物以一定剂量给予 SD 大鼠后可引起血清 ALT 水平的显著升高和肝组织结合吡咯物的大量产生;进一步采用 LC-ESI-MSⁿ 技术对菊三七水提取物的 PAs 类成分进行分析,结果表明该提取物含有两种主要 HPAs 成分,即千里光宁和千里光菲灵,与文献^[44, 45]报道相符(图 4);经初步测定,其中千里光宁含量高达约 9.8 mg·g⁻¹ 水提取物。菊三七的临床用量为 6~10 g,水煎服^[35],以此推算,仅千里光宁单一成分的每日最大摄入量可达 30 mg (经实验,水提取物得率为 30%),换算为剂量则为 500 μg·kg⁻¹ (成人体重以 60 kg 计);以前述 IPCS 的估算产生 HVOD 的每日最低摄入量 15 μg·kg⁻¹ 体重为参照,即使在正常用量下,该草药引发 HVOD 的可能性也很大。事实上,菊三七的临床中毒事件时有发生,如有患者服药后轻则出现 HVOD^[26, 46],重则死亡^[47],这些毒性与所含 HPAs 不无关系。但也有报道^[48]认为 PAs 类成分是菊三七止血的有效成分,其作用在于改变血小板超微结构,诱导和激活了血小板的凝血因子,从而达到止血作用。显然,对菊三七而言,PAs 既是有效成分又为毒性成分,故其临床应用的风险极大。

另外,有些代用品的化学背景并不是很清楚,如异叶泽兰、异刺鹤虱等(表 2),同属植物均证实含有

表 2 一些新版药典收录的中药品种含 HPAs 的代用品或习用品。a: 东北产 *Ligularia fischeri* Turcz. 又称硬紫菀,四川、贵州等地产 *Ligularia hodgsonii* Hook. 等又称川紫菀; b: 本表所附成方均取自现版中国药典,其药材来源应为正品,一般正规医疗机构错用或误用的可能性较小,但民间草医或自医用药则难以确保; c: 异叶泽兰尚未见 PAs 的报道; d: 原植物为唇形科毛叶地瓜儿苗 (*Lycopus lucidus* Turcz. var. *hirtus* Regel); e: 异刺鹤虱尚未见 PAs 的报道; f: 原植物为菊科植物天名精 (*Carpesium abrotanoides* L.) 的成熟果实

品名	来源	主要 HPAs 成分	正品名 (拉丁名)	成方制剂 ^b
山紫菀	菊科橐吾属 (<i>Ligularia</i>) 的多种植物 ^a , 如: 鹿蹄橐吾、大黄橐吾等的根与根茎	Clivorine; Ligularine; Isoline	紫菀 (<i>Asteris Radix et Rhizoma</i>)	二母安嗽丸; 止咳宝片; 止咳橘红口服液; 止咳橘红丸; 庆余避瘟丹; 如意定喘片; 咳喘顺片; 复方蛤青片; 急支糖浆; 润肺止嗽丸; 蛤蚧定喘丸; 蛤蚧定喘胶囊; 橘红丸; 橘红颗粒
菊三七	菊科土三七属菊叶三七 (<i>Gynura segetum</i> (Lour.) Merr.) 的根	Senecionine; Seneciphylline	三七 (<i>Notoginseng Radix et Rhizoma</i>)	三七片; 三七伤药片; 三七血伤宁胶囊
泽兰	菊科泽兰属佩兰 (<i>Eupatorium fortunei</i> Turcz.)、单叶佩兰 (<i>E. japonicum</i> Thunb.) 和异叶泽兰 (<i>E. heterophyllum</i> DC.) 地上部分	Amabiline; Supinine; Echinatine; Rinderine; Intermedine; Lycopsamine ^c	泽兰 (<i>Lycopi Herba</i>) ^d	乙肝养阴活血颗粒; 四制香附丸; 前列欣胶囊; 前列通片; 调经止痛片
东北鹤虱	紫草科鹤虱属异刺鹤虱 (<i>Lappula heterocantha</i> (Ledeb.) Gurke)、鹤虱 (<i>L. myosotis</i> V. Wolf, 果实称赖毛子或粘珠子)、卵盘鹤虱 (<i>L. redowskii</i> (Hornem.) Greene) 的果实	Lycopsamine; Intermedine; Acetylintermedine; Acetyllycopsamine; Lasiocarpine ^e	鹤虱 (<i>Carpesii Fructus</i>) ^f	化积口服液

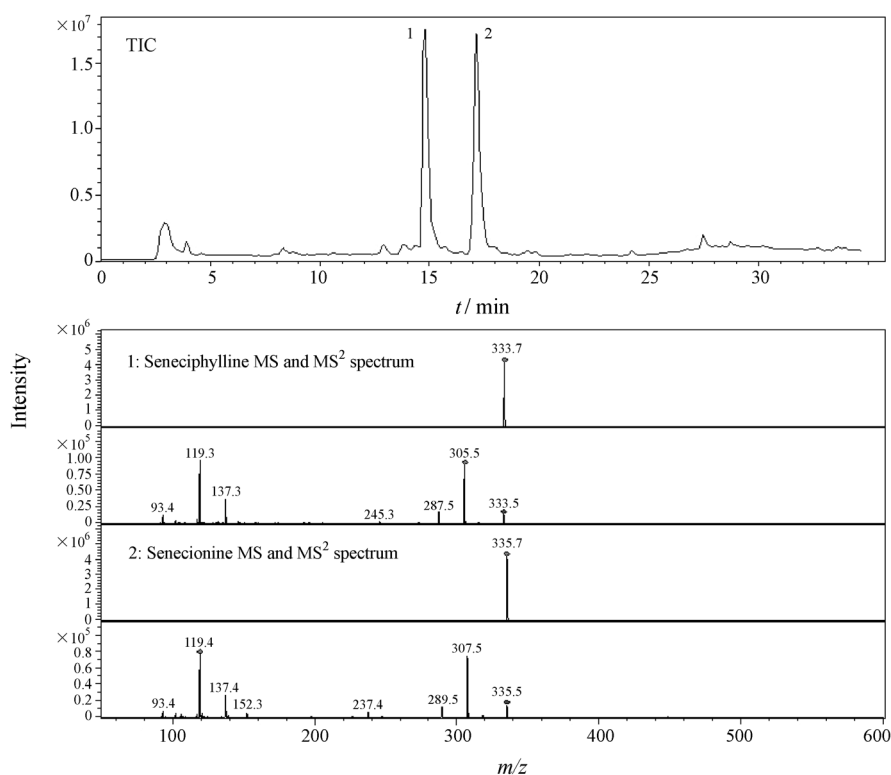


图4 菊三七水提取物的 LC-MSⁿ 分析

HPAs 类成分^[8, 49-51], 推测这些品种也可能含有但需要进一步研究。

值得注意的是是一些药典淘汰的品种中不乏含 PAs 的中草药。例如豆科猪屎豆属的农吉利 (*Crotalaria sessiliflora* L.) 和紫草科的硬紫草 (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.)。前者含有野百合碱, 曾在 1977 版中国药典中收载, 后被取消, 但地方上仍有作为草药用于皮肤癌的治疗。同属一些植物的种子甚或假冒沙苑子 (背扁黄耆或扁茎黄芪 *Astragalus complanatus* R. Br. ex Bunge 的种子) 使用, 如猪屎豆 (*C. pallida* Ait.)、光萼猪屎豆 (*C. zanzibarica* Benth.)、凹叶野百合 (*C. retusa* L.) 及崖州野百合 (*C. yaihsiensis* T. Chen) 等应引起警惕^[48, 52]。作者的研究表明, 一次性给予人用剂量的大猪屎豆 (*Crotalaria assamica* Benth.) 种子水提取物 (以药材剂量计约为 4 g·kg⁻¹ 体重) 后, 大鼠毒性反应明显, 出现肝腹水、肝脾肿大及部分肝空泡化等现象; 经分析其中主要成分为野百合碱, 含量高达 150 mg·g⁻¹ 水提取物^[36]。硬紫草曾在 1985、1990、2000 版《中国药典》中连续收载, 但从 2005 版起《中国药典》弃用此种, 主要因紫草的种内成分差别较大^[53]。研究表明该种含有 intermedine、myoscorpine 以及 hydroxymyoscorpine 等 HPAs 类成分, 总碱含量约为 0.02%, 较软紫草高^[8]。

毋庸置疑, 在探讨含 PAs 中药的用药安全时, 还需要考虑中药用药的特殊性及其成分的复杂性, 单纯以含 HPAs 多少作为其毒性存在及大小的理由有失偏颇。前述川紫菀、菊三七和大猪屎豆的例子中, 由于 HPAs 成分的含量较高, 这些中药及其制剂的肝毒性均较为明显, 似乎 HPAs 含量与肝毒性之间呈简单的量效关系, 但事实上并非如此。由前述可知, PAs 的致毒机制主要在于其代谢活化作用, 同时与其他代谢过程 (如 *N*-氧化和酯酶水解) 相互关联^[5, 6] (图 3)。作者通过体外代谢实验比较了单一 HPA 成分野百合碱与其含量相当的大猪屎豆药材水提取物在相同条件下代谢产物的差异, 结果发现, 尽管存在相同的代谢活化与解毒途径, 单一生物碱的代谢速率要远高于水提取物, 提示药材提取物中其他成分对于 PAs 代谢酶 (特别是 P450 酶系) 有干预作用, 抑制了毒性代谢吡咯以及 *N*-氧化物的产生^[54]。尽管水溶性的 *N*-氧化物易于排泄, 对于 PAs 在体内的解毒起着重要的作用, 然而, 这种解毒作用却可能因为肠内菌丛以及 NADPH-P450 还原酶的作用而减弱^[55, 56]。在大鼠体内实验中, 大猪屎豆水提取物中野百合碱的吸收入血与剂量相当的单体化合物同样迅速, 但其血药浓度相对较高, 且消除相明显长于后者, 并呈双峰现象, 从而证实提取物中其他组分及体内环境对野百

合碱的体内代谢及动力学过程有一定的影响(待发表数据)。对于 HPAs 含量较低的中药(药材或者成方),如紫草类、款冬花等及其众多的中成药或复方制剂(表 1 和表 2)来说,这种药物间的相互作用对 HPAs 代谢及其最终毒性的影响可能更为复杂。

5 含 PAAs 中药品种安全性控制的现状分析

综上所述,新版药典中一些中药品种确实含有 PAAs,且多为 HPAs(表 1 和表 2)。除了个别品种(如千里光),在质量标准中加强了有毒成分的控制,规定了其所含阿多尼弗林碱的限量(0.004%),绝大部分的中药品种(包括饮片和制剂)未对 HPAs 成分的限量控制。对于具有药食兼用的品种(如蜂蜜),相关的研究则更少。由于蜂蜜可作为食品或原料出现在人类食物链的各个环节,如被 HPAs 污染,则使人们长期摄入 HPAs 导致慢性或蓄积毒性特别是遗传毒性成为可能。

事实上,由于相关基础研究薄弱,许多中药品种的化学背景并不十分清楚;或者即使知道了一些 HPAs 的结构,其含量的高低、毒理学研究等也因缺乏足够的对照品未能及时开展,因此对这些品种可能存在的危害、用药的风险等知之甚少,如何确定合理的限量水平成为问题的焦点和难点。由于 PAAs 类成分紫外吸收较差,传统的 HPLC 方法难以满足微量甚至痕量成分的定性定量分析,如对款冬花中千里光宁含量(约 0.001%)的分析,因此现代研究中一直比较重视和首要考虑的几个问题是:含 PAAs 中药样品(包括复方制剂、生物样品等)的前处理,高精度的分析仪器和技术的运用(如 HPLC、GC-MS、LC-MS、UPLC-MS 以及各种高分辨质谱等)以及灵敏、专属和稳定的分析方法的建立等,这类问题已渗透于大量的质量控制和药(毒)理学研究中^[4, 16-18, 21, 23, 42, 45, 54-57]。

如果说药典正品含 PAAs 的问题还可以加以研究和控制,对于非药典品种,如部颁标准以及省级地方标准中收录的品种以及众多的药材代用品或习用品来说,类似的问题也许更多更难掌控。从品种鉴定、质量评价与临床应用来看,代用品所反映出的问题最为突出,一方面代用品的基原、化学成分、流通以及民间的用药情况(包括在各种偏方、验方或秘方中的使用)等很复杂,例如千里光的正品仅有一种(表 1),而在《中华本草》中收录的同属植物来源的地方或民间草药就有近 18 种之多^[58];另一方面,用药的风险也很大,一些品种如前述的山紫菀、菊三七等,不仅所含的 HPAs 种类多样,而且含量较高。这些品

种为民间或地方习用,监管不足^[14, 15],有时,非经处方用药误服滥用导致 HVOD 甚至死亡的现象也很严重^[46, 47]。此外,国际上对包括中药等天然药物或食品中 PAAs 限量的制定还没有统一的标准或参照,如尚未建立 PAAs 类成分的未观察到有害作用水平(或称最大无作用剂量)^[10, 11];再则,中药取自天然,PAAs 的含量随药材来源、加工炮制的不同而千差万别,且不论由人种、性别、年龄等个体差异可能引发的特异质反应,由药物本身带来非预期的不良或毒性反应风险势必很大,因此,如何规范管理和控制含 PAAs 中药品种的质量面临极大的挑战,仍需要大量的基础研究工作。

药品与食品的毒性与安全性问题已是一个国际性的议题,且已成为国内外医药界及管理部门首要关心的问题,包括中药等的天然、传统药物亦不例外。相比而言,在对待含 PAAs 药品或者食品的安全问题上,国外的做法相当严格^[8, 11, 13]。针对 PAAs 在人类食品及天然药物中的广泛存在和危害,许多国家或组织制定了相应的法规^[8-13]。例如,世界卫生组织(WHO)曾建议对蜂蜜和奶制品中 PAAs 的含量进行监测,并在 1989 年发布了有关吡咯里西啶生物碱的健康与安全指南^[11, 12]。德国卫生部门于 1992 年规定了含 PAAs 草药制品的每日容许摄入量,以 PAAs 及其 *N*-氧化物计不得超过 1 μg ,长期服用(超过 6 个月)时则不得超过 0.1 μg ,外用不得超过 10 μg ,孕妇及哺乳期妇女不得使用^[8, 11]。荷兰有关部门规定 1 kg 或 1 L 草药制品或提取物中总 PAAs 的含量不得超过 1 μg (即 1 ppb)^[11]。澳洲和新西兰食品管理部门规定了每人每天 PAAs 的摄入量不得大于 1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[11]。美国食品药品监督管理局(FDA)则禁止紫草科聚合草属(*Symphytum*)植物用于食品加工业^[13]。最近,欧盟委员会规定作为食品原料或添加剂的蓝蓟油(主要为紫草科车前叶蓝蓟 *Echium plantagineum* L. 的籽油)中不得检出 PAAs 类成分(以检测限为 4 ppb 计)^[11]。此外,欧盟对那些缺乏用药风险的评估及暴露限量或者根据现有的研究资料不足以证明其没有危险的品种,提出了“零容忍”(zero tolerance)的原则;这一原则特别适用于可能具有致癌、致突变性质的化合物,并首次施用于蓝蓟油中 PAAs 的控制^[11]。这些法规值得思考与借鉴。

6 结论与建议

针对 PAAs 建立的标准既要科学、合理、可控性强,又能保障用药安全有效,关键在于对相关中药的基原、化学、药理、毒理以及药(毒)代动力学等全面

系统的了解^[59]。为了避免产生类似于“马兜铃酸肾病”的事件^[29, 60], 同时为了能防患于未然, 建议有关药品监督管理部门予以重视, 建立相应的法规和监控体系, 收集并制定所有可能含有 PAs 中药品种的名录, 控制含 PAs 药材的采集、流通和使用, 加强有关药典品种的 GAP 种植以及制剂的 GMP 生产, 控制并减少 PAs 特别是 HPAs 在药品或食物链中的传递和积累; 其次, 对现版药典法定品种中含或可能含有 PAs 的种类开展基础研究, 运用化学、生物学及药(毒)理学的理论与方法从基原、药(毒)效物质基础、分析、致毒与解毒等多方面开展研究, 制定出科学合理的或因品种不同和产品等级(药材、中成药或复方制剂)不同而不一的限量标准及检测方法, 并能运用于相关中药的常规检验、毒性成分分析及不良反应监测中; 此外, 结合中医药学七情配伍、炮制减毒、辨证论治的特点全面分析含 PAs 中药的利弊, 综合评估这些品种对人类健康可能带来的危害和风险, 并制定积极客观的应对措施。

致谢: 本文有关研究工作曾得到上海中医药大学王峥涛教授及香港中文大学药理学系林鸽教授的支持与指导, 在此谨表谢意。

References

- [1] Qian ZZ, Dan Y, Liu YZ, et al. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2010 Edition): a milestone in development of China's healthcare [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2: 157-160.
- [2] State Pharmacopoeia Commission of the P. R. China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Chinese Edition 2010) (中华人民共和国药典) [S]. Vol I. Beijing: China Medicinal Science and Technology Press, 2010: 32.
- [3] Catherine GL, Grue MR, Liddell JR. Proton NMR spectroscopy of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37: 43-109.
- [4] Xiong AZ, Li Y, Yang L, et al. Simultaneous determination of senecionine, adonifoline and their metabolites in rat serum by UPLC-ESIMS and its application in pharmacokinetic studies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 50: 1070-1074.
- [5] Mattocks AR (Ed.). Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids [M]. London: Academic Press, 1986: 1-14, 136-155, 158-218.
- [6] Tang J, Akao T, Nakamura N, et al. *In vitro* metabolism of isoline, a pyrrolizidine alkaloid from *Ligularia duciformis*, by rodent liver microsomal esterases and enhanced hepatotoxicity by esterase inhibitors [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 1832-1839.
- [7] Stegelmeier BL, Edgar JA, Colegate SM, et al. Pyrrolizidine alkaloid plants, metabolism and toxicity [J]. *J Nat Toxins*, 1999, 8: 95-116.
- [8] Roeder E. Medicinal plants in China containing pyrrolizidine alkaloids [J]. *Pharmazie*, 2000, 55: 711-726.
- [9] Panter KE, James LF. Natural plant toxicants in milk: a review [J]. *J Anim Sci*, 1990, 68: 892-904.
- [10] Edgar JA, Roeder E, Molyneux RJ. Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: a potential threat to health [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50: 2719-2730.
- [11] Kempf M, Reinhard A, Beuerle T. Pyrrolizidine alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54: 158-168.
- [12] The International Programme on Chemical Safety. Pyrrolizidine Alkaloids Health and Safety Guide [R]. Health and Safety Criteria Guide 26. WHO: Geneva, 1989.
- [13] Food and Drug Administration. FDA advises dietary supplement manufacturers to remove Comfrey products from the market [EB/OL]. USFDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition, July 6, 2001 [2010-9-8]. <http://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/Alerts/ucm111219.htm>.
- [14] Zhao XG, Li ZM, Zhang M, et al. Studies on Chinese medicinal herbs: Shanzhiwan (Radix et Rhizoma Ligulariae) 1. Survey on resources and identification of original plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 1998, 29: 115-119.
- [15] Zhao XG, Wang ZT, Lin G, et al. Hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids and Chinese herbal medicines [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 1998, 29: 343-346.
- [16] Pu S, Xu D, Zhang M, et al. Detection of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids in *Ligularia* Cass. with LC-MSⁿ [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2004, 39: 831-835.
- [17] Zhang F, Wang CH, Wang W, et al. Quantitative analysis by HPLC-MS² of the pyrrolizidine alkaloid adonifoline in *Senecio scandens* [J]. *Phytochem Anal*, 2008, 19: 25-31.
- [18] Gao J, Wang C, Li Y, et al. Advance on pharmacologic actions, toxicity and pharmacokinetics of pyrrolizidine alkaloids [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2009, 34: 506-511.
- [19] Cai H, Sun F. Pyrrolizidine alkaloids-containing plants and hepatic veno-occlusive disease [J]. *Adverse Drug React J (药物不良反应杂志)*, 2007, 9: 229-234.
- [20] Liang AH, Ye ZG. General situation of the toxicity researches on *Senecio* [J]. *China J Chin Mat Med (中国中药杂志)*, 2006, 31: 93-97.
- [21] Li SL, Lin G, Fu PP, et al. Identification of five hepatotoxic

- pyrrolizidine alkaloids in a commonly used Chinese medicinal herb, *Herba Senecionis Scandentis* (Qianliguang) [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 591–602.
- [22] Lin G, Li SL, Li M, et al. Qianliguang (*Senecio scandens*) safety dilemma: dose is the key? [J]. *Planta Med*, 2009, 75: 1107–1111.
- [23] Tang J, Zhang M, Wang ZT, et al. Simultaneous determination of isoline and its two major metabolites using high performance liquid chromatography [J]. *J Anal Toxicol*, 2004, 28: 11–15.
- [24] Fu PP, Xia Q, Lin G, et al. Pyrrolizidine alkaloids-genotoxicity, metabolism enzymes, metabolic action, and mechanisms [J]. *Drug Metab Rev*, 2004, 36: 1–55.
- [25] Lin G, Tang J, Liu XQ, et al. Deacetylclivorine: a gender-selective metabolite of clivorine formed in female Sprague-Dawley rat liver microsomes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35: 607–613.
- [26] Lin G, Wang JY, Li N, et al. Hepatic sinusoidal obstruction syndrome associated with consumption of *Gynura segetum* [J]. *J Hepatol*, 2011, 54: 666–673.
- [27] Smith LW, Culvenor CCJ. Plant sources of hepatotoxic pyrrolizidine alkaloids [J]. *J Nat Prod*, 1981, 44: 129–152.
- [28] Meinwald J. Natural products as molecular messengers [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74: 305–309.
- [29] Feng Y. Basic and Clinical Toxicology of Chinese Medicines (基础与临床中药毒理学) [M]. Hong Kong: Commercial Press, 2009, 11: 143, 195.
- [30] Ji LL, Tan AM, Tang J, et al. Toxicity of several pyrrolizidine alkaloids on hepatocytes [J]. *Chin J Nat Med (中国天然药物)*, 2004, 2: 239–241.
- [31] Tang J, Zhang M, Wang ZT, et al. Identity of monocrotalic acid released from dehydromonocrotaline, a high chemically reactive pyrrolic ester [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2003, 34: 499–502.
- [32] Huxtable RJ. Activation and pulmonary toxicity of pyrrolizidine alkaloids [J]. *Pharmacol Ther*, 1990, 47: 371–389.
- [33] Xia Q, Chou MW, Kadlubar FF, et al. Human liver microsomal metabolism and DNA adduct formation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, riddelliine [J]. *Chem Res Toxicol*, 2003, 16: 66–73.
- [34] Ji L, Chen Y, Liu T, et al. Pyrrolizidine alkaloid clivorine induced mitochondrial-mediated apoptosis in hepatocytes and the protection of NAC [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 196, Supplement 1: S210.
- [35] Gao XM. Chinese Medicines (中药学) [M]. Beijing: People Health Press, 2000: 988–999, 1267–1270.
- [36] Jiang L, Cheng M, Gao Q, et al. Analysis of monocrotaline in seed of *Crotalaria assamica* Benth [J]. *China Pharm (中国药师)*, 2010, 13: 1743–1744.
- [37] Asada Y, Furuya T, Shiro M, et al. Studies on constituents of crude drugs. Part XIII. Senecicannabine, a new pyrrolizidine alkaloid from *Senecio cannabifolius* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1982, 23: 189–192.
- [38] Roeder E, Wiedenfeld H, Kröger R, et al. Pyrrolizidine alkaloids dreier *Onosma*-Sippen [J]. *Phyton*, 1993, 33: 41–49.
- [39] Gai XM, Wang P, Lei XY, et al. A survey of the wild honey and oil plants in eastern Fujian [J]. *Mod Agri Sci Tech (现代农业科技)*, 2008, 37: 67–70.
- [40] Xiong P. The application of *Mel* in the process of Chinese medicines and preparations [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res (时珍国医国药)*, 2005, 16: 35–36.
- [41] Johansen CA, Mayer DF. Pollinator Protection: A Bee and Pesticide Handbook [M]. Cheshire, Connecticut: Wicwas Press, 1990: 161.
- [42] Tang J, Hattori M. Pyrrolizidine alkaloid profile of the aqueous extract of *Ligularia hodgsonii* and its toxic implication [C]// Final Programme & Abstracts of 2010 China-Japan-Korea Symposium on Analytical Chemistry, October 31–November 2, 2010. Wuhan: Wuhan University Press, 2010: 105.
- [43] Han JW, Yang X, Zhou Y, et al. Research progress in the chemical composition and pharmacological action of *Ligularia* Cass [J]. *Acta Acad Med Nei Mongol (内蒙古医学院学报)*, 2010, 32: 214–217.
- [44] Yuan SQ, Gu GM, Wei TT. Studies on the alkaloids of *Gynura segetum* (Lour.) Merr [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 1990, 25: 191–197.
- [45] 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: 291–302.
- [46] Wu XJ, Zhang K, Yu MY, et al. Hepatic veno-occlusive disease induced by *Gynura segetum*: report of four cases [J]. *Chin J Hepatol (中华肝脏病杂志)*, 2007, 15: 151–153.
- [47] Liao JY. Acute liver failure death induced by Tu Sanqi intoxication: report of two cases [J]. *Med Pharm Yunnan (云南医药)*, 1993, 14: 188–189.
- [48] Liu HZ, Pang J, Wang ZL, et al. Studies of the effects of *Gynura segetum* and *Panax notoginseng* on the ultrastructure of platelets in guinea-pigs [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 1982, 17: 801–808.
- [49] Edgar JA, Lin HJ, Kumana CR, et al. Pyrrolizidine alkaloid composition of three Chinese medicinal herbs, *Eupatorium cannabinum*, *E. japonicum* and *Crotalaria assamica* [J]. *Am J Chin Med*, 1992, 20: 281–288.

- [50] Wiedenfeld H, Amarsanaa B, Altanchimeg D, et al. Pyrrolizidine alkaloid containing plants used in Mongolian traditional medicine: *Lappula myosotis* Moench [J]. Sci Pharm, 2005, 73: 139–145.
- [51] Zheng HJ, Zhan YH. Modern Chinese Materia Medica Identification Handbook (现代中药材鉴别手册) [M]. Beijing: China Medicinal Science and Technology Press, 2000: 751, 827, 840.
- [52] Guangdong Institute for Drug Control. Tu Shayuanzi cannot be used as Semen Astragali Complanati [J]. Acta Phytotaxon Sin (植物分类学报), 1977, 15: 63.
- [53] Qian ZZ, Qi P, Wang G. Main revisions on Chinese pharmacopoeia (2005 Edition) volumn I [J]. Drug Stand China (中国药品标准), 2005, 6: 25–30.
- [54] Tang J, Akao T, Hattori M. Identification of toxic PAs and *in vitro* microsomal metabolites of Zhu Shidou extract [C] // Proceedings of the 1st International Symposium on Functional Foods in Toyama 2010. Toyama: Northern Japan Press, 2010: 83–84.
- [55] Tang J, Wang ZT, Akao T, et al. Human intestinal microbiota mediate rapid reduction of isoline and monocrotaline *N*-oxides in Chinese herbal medicines [C] // Proceedings of the 2008 Shanghai International Symposium for Pharmaceutical Sciences. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine Press, 2008: 183–185.
- [56] Tang J, Hattori M. Role of NADPH-P450 reductase in the reverse of monocrotaline *N*-oxide in the microsomal metabolism of monocrotaline and its toxic implication [C] // Program and Abstract Book of 18th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2010: 287.
- [57] Zhou Y, Li N, Choi FFK, 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: 33–40.
- [58] Chinese Herbs Editor Board, the State Administrative Bureau of Chinese Medicine of China. Chinese Herbs (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999, 7: 942–953.
- [59] Wang ZT. Recent advances and a prospect on the future development of quality assessment of traditional Chinese medicines [J]. Chin J Nat Med (中国天然药物), 2006, 4: 403–410.
- [60] Feng Y, Zheng L, Tang J. The misuse of Aristolochia-related species (ARs) due to confused herbal names in Hong Kong [C] // Linnaeus and Medicinal Products, An International Conference on Drugs of Natural Origin in the Honour of Carl Linnaeus. Sweden: Uppsala University Press, 2007: 28.