

ICS 67.050
CCS C 25

T/GDPA

广 东 省 药 学 会 团 体 标 准

T/GDPA XXXX—2026

中药中吡咯里西啶类生物碱的检测 液相色
谱-串联质谱法

Detection of pyrrolizidine alkaloids in traditional Chinese medicine
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

(征求意见稿)

在提交反馈意见时, 请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2026-XX-XX 发布

2026-XX-XX 实施

广东省药学会 发 布

前　　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由广东省药品检验所提出。

本文件由广东省药学会团体标准委员会归口。

本文件起草单位：广东省药品检验所、暨南大学。

本文件主要起草人：张万青、刘潇潇、王磊、郑文燕、黎尼平、陈佩文、林渝舒、梁晓宇、陈高翩、连晓吟。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。



引 言

本标准中的被测物质是一类植物次生代谢产物，也是一种天然毒素，摄入高剂量吡咯里西啶类生物碱（PAs）可能导致肝脏损伤，这类毒素引起肝窦阻塞综合征（HSOS）的病例每年均有报道，因此对其进行有效的检测非常重要。

目前，国内没有专门测试药材及饮片（植物类）中多种吡咯里西啶类生物碱的技术标准。本标准采用液相色谱-串联质谱法测定27种PAs，为PAs种类判定和含量测定提供检测方法。



中药中吡咯里西啶类生物碱的检测 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了中药中蓝酮定、蓝酮定氧化物、芝麻菜叶千里光碱氧化物、欧天芥菜碱、欧天芥菜碱氧化物、天芥菜碱、欧天芥菜碱氧化物、印美定、印美定氧化物、千里光碱、千里光碱氧化物、毛果天芥菜碱、毛果天芥菜碱氧化物、石松胺、石松胺氧化物、野百合碱、野百合碱氧化物、倒千里光碱、倒千里光碱氧化物、千里光宁、千里光宁氧化物、千里光菲灵碱、千里光菲灵碱氧化物、春光千里碱、春光千里碱氧化物、克氏千里光碱、毛束草碱的液相色谱-串联质谱法检测方法。

本标准适用于一点红、菊三七、千里光、广东土牛膝、消炎利胆片中上述27种吡咯里西啶类生物碱的检测，其他中药可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
GB/T 8170 数值修约规则与极限数值的表示和判定
中华人民共和国药典

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

中药 traditional Chinese medicine

包括：中药材、中药饮片、中成药、中药配方颗粒。

4 方法提要

供试品用酸水提取，用混合阳离子交换固相萃取柱净化富集，用液相色谱-串联质谱法检测，离子源为电喷雾（ESI）离子源，正离子扫描模式，利用多反应监测（MRM）模式，在选定的工作条件下，用十八烷基硅烷键合核壳硅胶为填充剂色色谱柱分离，外标法定量，计算供试品中吡咯里西啶类生物碱的质量分数。

5 试剂和材料

5.1 一般要求

本方法所用试剂，除另有规定外，均为色谱纯，实验用水为GB/T 6682规定的一级水。

5.2 试剂

- a) 甲醇（CH₃OH）；
- b) 甲酸（HCOOH）；
- c) 甲酸铵（HCOONH₄）；
- d) 硫酸：分析纯；
- e) 氨水：分析纯；

- f) 0.05mol/L 硫酸溶液: 取硫酸 3mL, 缓缓注入适量水中, 冷却至室温, 加水稀释至 1000mL, 摆匀;
- g) 8%氨水 - 甲醇溶液: 取氨水 160mL, 缓缓注入适量甲醇中, 冷却至室温, 加甲醇稀释至 500mL, 摆匀;
- h) 50%甲醇: 取甲醇 50mL, 缓缓注入适量水中, 冷却至室温, 加水稀释至 100mL, 摆匀;
- i) 0.05%甲酸溶液(含 10mmol/L 甲酸铵): 取 0.5mL 甲酸, 0.63g 甲酸铵, 缓缓注入适量水中, 加水稀释至 1000mL, 摆匀;
- j) 0.05%甲酸的甲醇溶液(含 10mmol/L 甲酸铵): 取 0.5mL 甲酸, 0.63g 甲酸铵, 缓缓注入适量甲醇中, 加甲醇稀释至 1000mL, 摆匀。

5.3 材料

- a) 微孔过滤膜(有机相): 0.22 μm ;
- b) PCX 固相萃取小柱(200 mg/6 mL)。

5.4 标准物质

27种吡咯里西啶类生物碱混合对照: DIKMA, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。标准物质名称、化学分子式、CAS号见表A.1。

5.5 标准曲线溶液配制

5.5.1 混合对照品贮备溶液的配制

精密量取27种吡咯里西啶类生物碱混合对照适量, 用甲醇制备制成浓度为1000ng/mL的混合对照品贮备溶液。

5.5.2 混合标准工作溶液的制备

精密量取混合对照品贮备溶液适量, 用甲醇制成浓度为5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL的系列混合对照品溶液。

6 仪器和设备

- a) 液相色谱-串联质谱仪: 三重四极杆串联质谱; 配备离子源为电喷雾(ESI)离子源。
- b) 色谱柱: 十八烷基硅烷键合核壳硅胶为填充剂(Agilent Poroshell 120 EC-C18, 柱长为 150mm, 内径为 3mm, 粒径为 2.7 μm)。
- c) 超声波清洗器: BRANSON M8800H-C, 功率 250W, 频率 40kHz。
- d) 高速冷冻离心机: Thermo ST16R, 最高 15200r/min。
- e) 分析天平: 感量 0.1mg。
- f) 量瓶: 20mL、10mL、5mL。
- g) 微量移液器: 100–1000 μL 量程、20–200 μL 量程。

7 方法

7.1 供试品溶液的制备

取100g供试品粉碎, 混合均匀, 过三号筛, 密封保存备用。精密称定取供试品粉末3.0g, 置于100mL具塞离心管中, 加入0.05mol/L硫酸溶液50mL, 称重, 超声处理30min, 放至室温, 再称定重量, 用0.05mol/L硫酸溶液补足减失的重量, 离心5min (4000r/min), 精密吸取上清液10mL进行固相萃取柱萃取。固相萃取柱先分别用5mL甲醇和5 mL 0.05mol/L硫酸溶液活化, 上样后, 分别用10mL甲醇和10mL 8%氨水-甲醇溶液洗脱, 收集氨水-甲醇溶液洗脱液, 减压浓缩至约1mL, 用50%甲醇稀释至5mL, 用0.22 μm 滤膜过滤, 即得。

7.2 液相色谱-串联质谱法测定

7.2.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: 用十八烷基硅烷键合核壳硅胶为填充剂(Agilent Poroshell 120 EC-C₁₈，柱长为150mm，内径为3mm，粒径为2.7μm或等柱效)；
- b) 流动相: 以0.05%甲酸溶液(含10mmol/L甲酸铵)为流动相A，以0.05%甲酸的甲醇溶液(含10mmol/L甲酸铵)为流动相B，梯度洗脱程序见表1；
- c) 流速: 0.6mL/min；
- d) 柱温: 35°C；
- e) 进样量: 1-5μL。

表1 梯度洗脱程序

时间(min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0-5	92→90	8→10
5-5.1	90→82	10→18
5.1-18	82→79	18→21
18-21	79→40	21→60
21-24	40	60

7.2.2 串联质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源(ESI)；
- b) 质谱扫描模式: 正离子扫描模式；
- c) 监测模式: 多反应监测(MRM)；
- d) 毛细管电压: 2.0kV；
- e) 去溶剂温度: 450°C；
- f) 离子源温度: 150°C；
- g) 待测化合物参考保留时间、监测离子对、碰撞能量(CE)见附录B。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

7.3 测定方法

7.3.1 定性测定

供试品色谱中如果检出色谱峰的保留时间与对照品一致, 并且在扣除背景后的质谱图中, 所选择的2个监测离子对均出现, 而且所选择的监测离子对峰面积比与对照品的监测离子对峰面积比一致(相对比例>50%, 允许±20%偏差; 相对比例>20%-50%, 允许±25%偏差; 相对比例>10%-20%, 允许±30%偏差; 相对比例<10%, 允许±50%偏差), 则可判断供试品中检出该化合物。

7.3.2 定量测定

取供试品溶液和相应的混合标准工作溶液, 做校准曲线, 以色谱峰面积定量, 按外标法计算, 供试品溶液中待测化合物的响应值均应在仪器检测的定量线性范围内, 超过线性范围的应适量稀释再分析。

7.4 空白试验

除不加供试品外, 均按上述步骤进行。

8 结果

供试品中吡咯里西啶类生物碱的含量按式（1）计算：

式中：

X_i ——供试品中被测组分的含量, 单位为mg/kg;

C_i ——从标准曲线上得到的待测溶液中吡咯里西啶类生物碱的浓度, 单位为ng/mL;

f -----稀释倍数;

m ———供试品的质量, 单位为克 (g)。

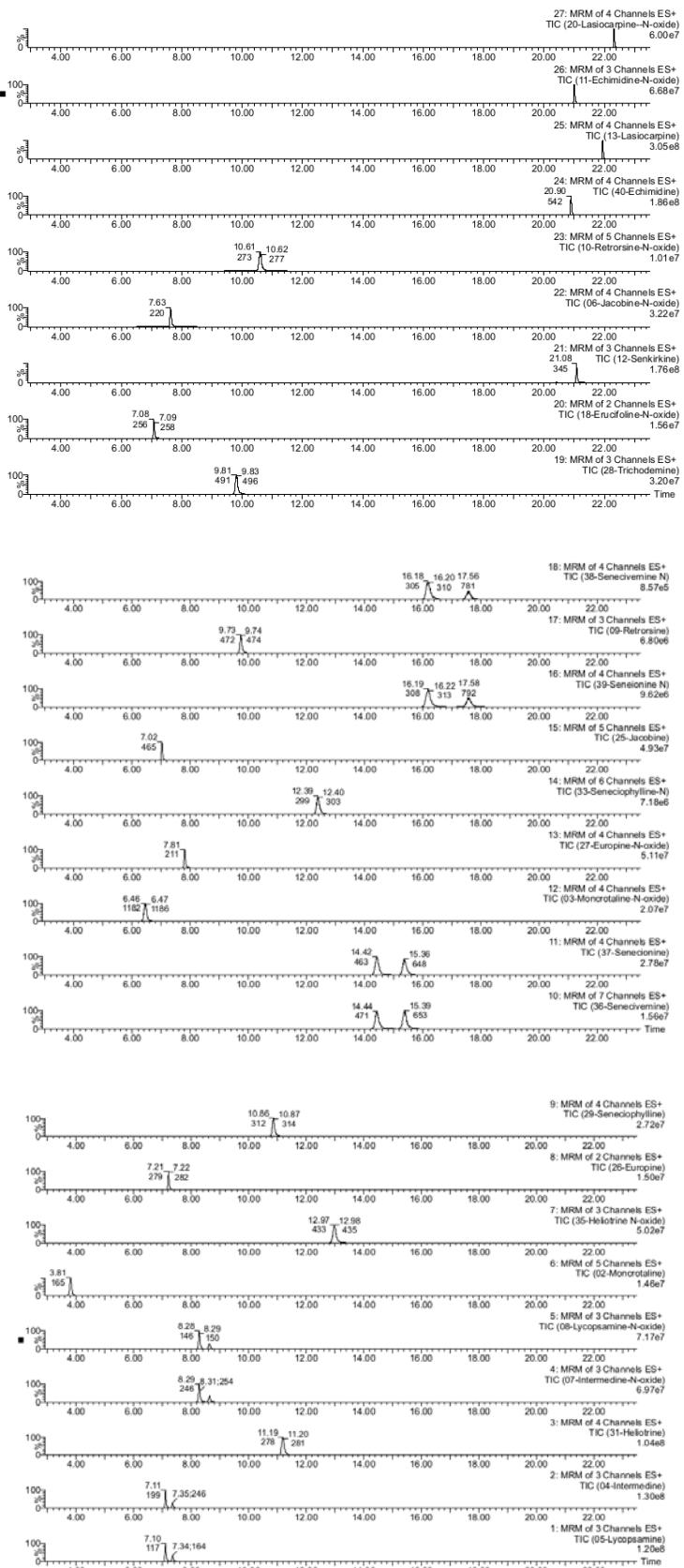
9 精密度

在重复条件下, 取两次独立测定的算术平均值作为结果, 其绝对差值不得超过算术平均值的10%。

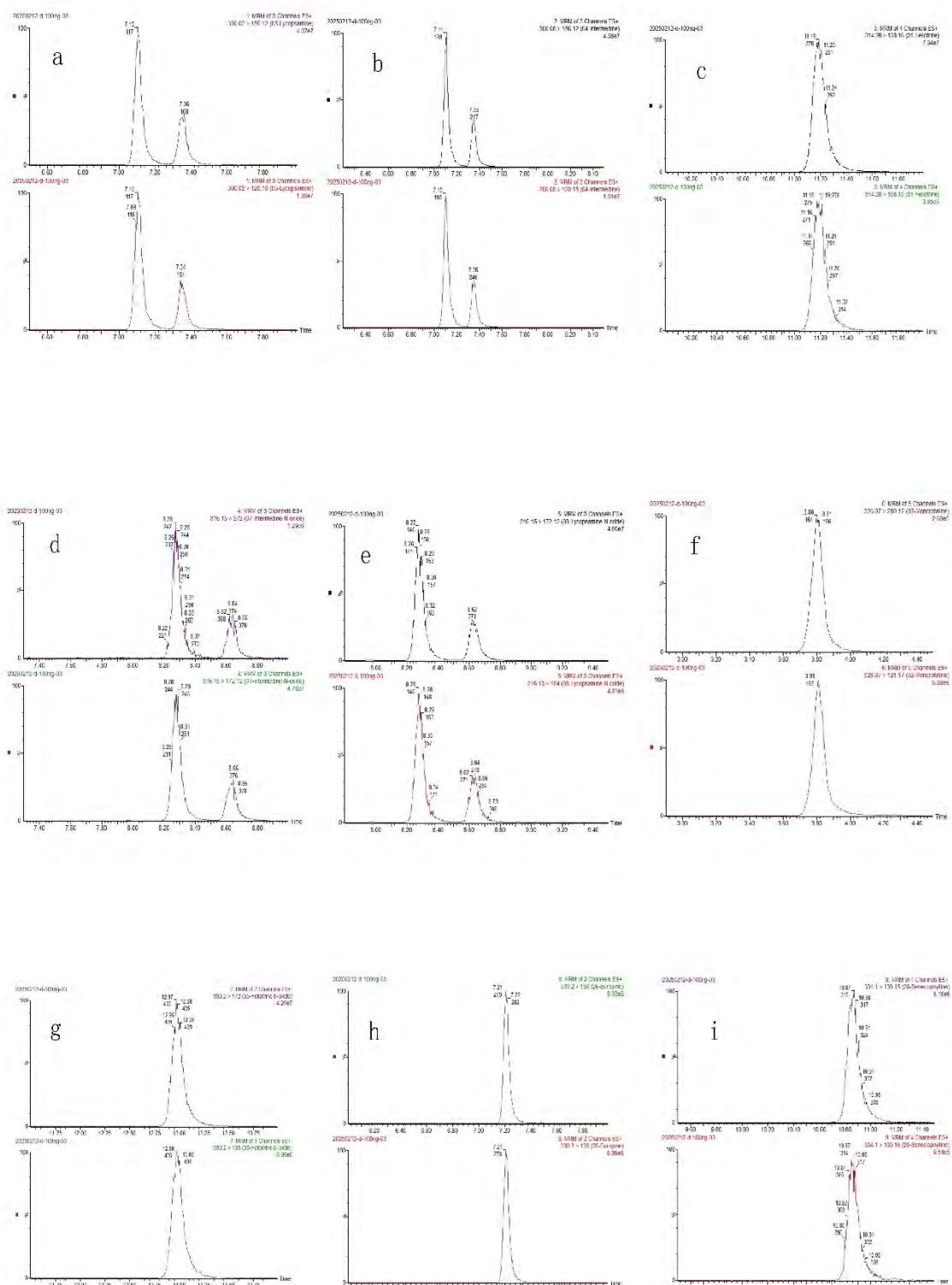
附录 A
(资料性)
27 种吡咯里西啶类生物碱检测相关信息

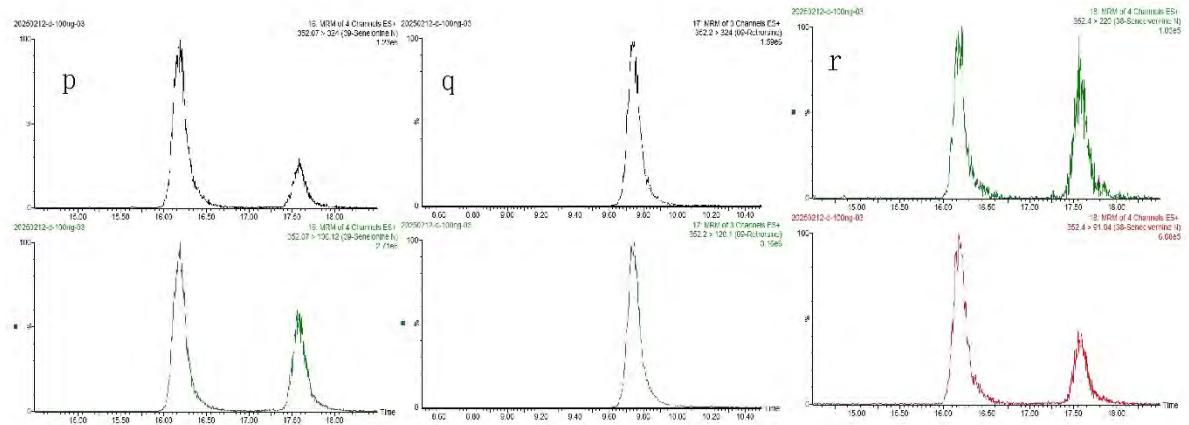
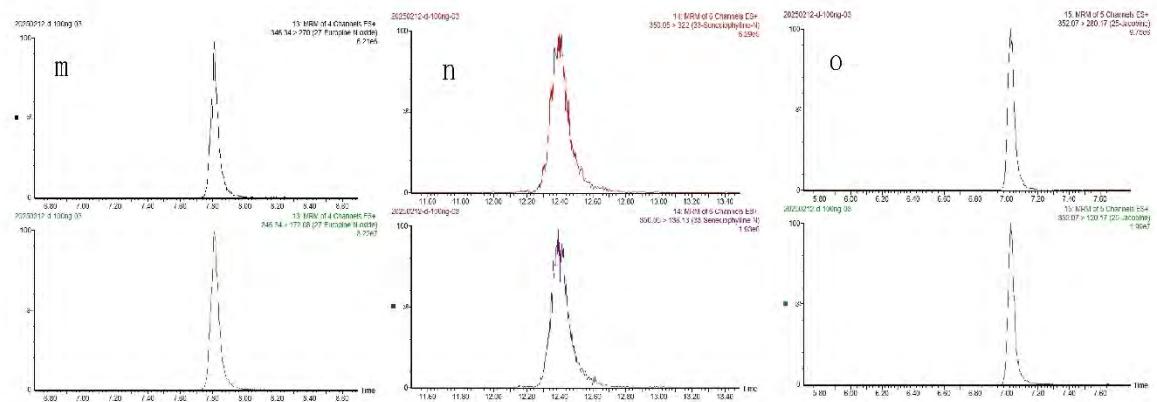
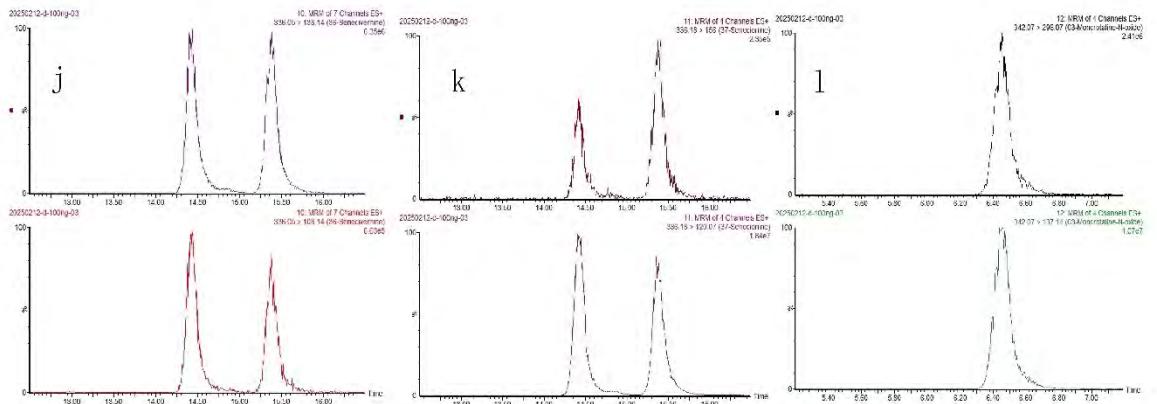
表A.1 27 种吡咯里西啶类生物碱标准物质信息

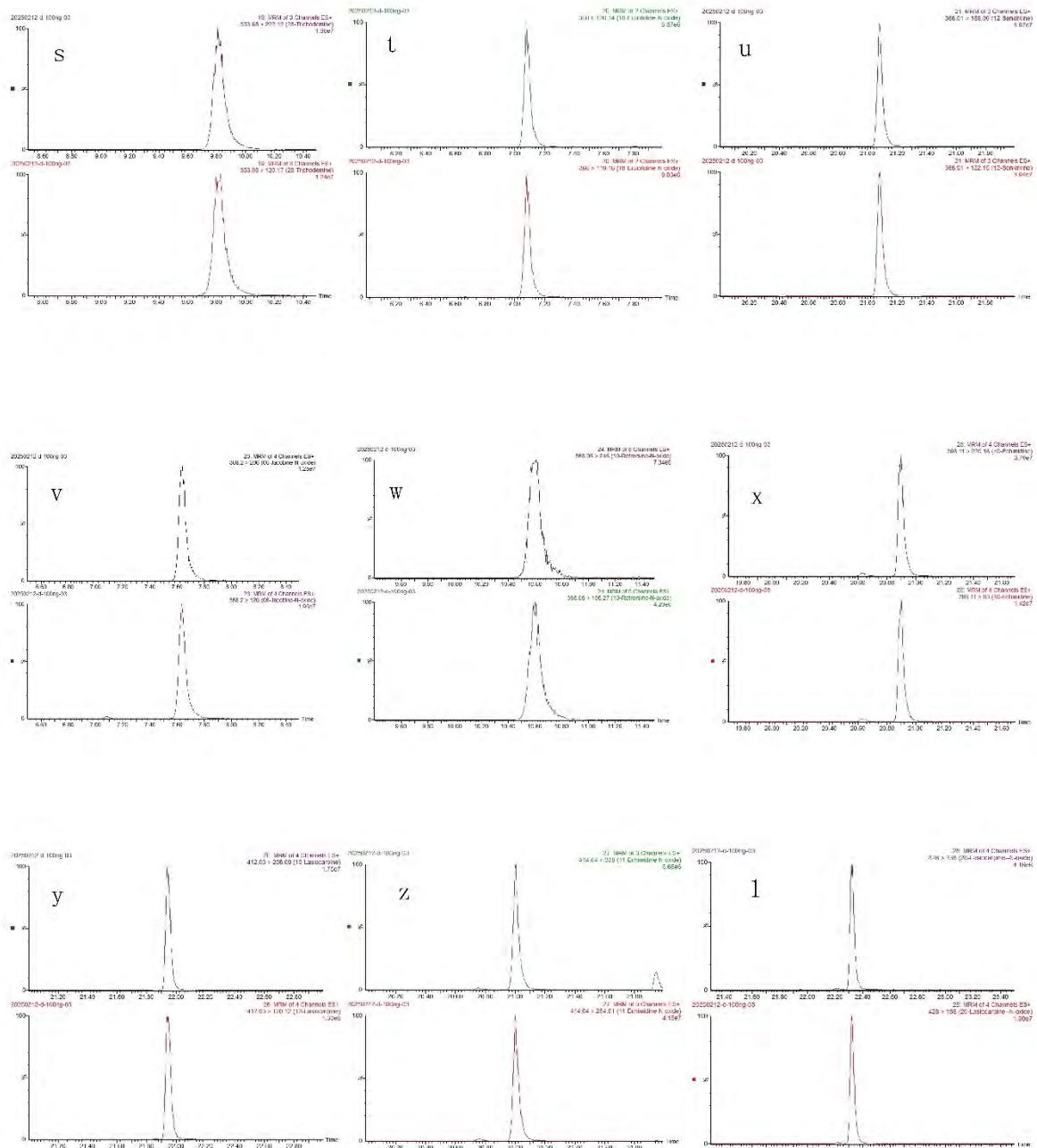
英文名	中文名	CAS 登记号	分子式	分子量
Echimidine	蓝蓟定	520-68-3	C ₂₀ H ₃₁ NO ₇	397.46
Echimidine N-oxide	蓝蓟定氧化物	41093-89-4	C ₂₀ H ₃₁ NO ₈	413.46
Erucifoline N-oxide	芝麻菜叶千里光碱氧化物	123864-94-8	C ₁₈ H ₂₃ NO ₇	365.38
Europine	欧天芥菜碱	570-19-4	C ₁₆ H ₂₇ NO ₆	329.39
Europine N-oxide	欧天芥菜碱氧化物	65582-53-8	C ₁₆ H ₂₇ NO ₇	345.39
Heliotrine	天芥菜碱	303-33-3	C ₁₆ H ₂₇ NO ₅	313.39
Heliotrine N-oxide	天芥菜碱氧化物	6209-65-0	C ₁₆ H ₂₇ NO ₆	329.39
Intermedine	印美定	10285-06-0	C ₁₅ H ₂₅ NO ₅	299.36
Intermedine-N-oxide	印美定氧化物	95462-14-9	C ₁₅ H ₂₅ NO ₆	315.36
Jacobine	千里光碱	6870-67-3	C ₁₈ H ₂₅ NO ₆	351.39
Jacobine N-oxide	千里光碱氧化物	38710-25-7	C ₁₈ H ₂₅ NO ₇	367.39
Lasiocarpine	毛果天芥菜碱	303-34-4	C ₂₁ H ₃₃ NO ₇	411.49
Lasiocarpine N-oxide	毛果天芥菜碱氧化物	127-30-0	C ₂₁ H ₃₃ NO ₈	427.49
Lycopsamine	石松胺	10285-07-1	C ₁₅ H ₂₅ NO ₅	299.36
Lycopsamine-N-oxide	石松胺氧化物	95462-15-0	C ₁₅ H ₂₅ NO ₆	315.36
Monocrotaline	野百合碱	315-22-0	C ₁₆ H ₂₃ NO ₆	325.36
Monocrotaline-N-oxide	野百合碱氧化物	35337-98-5	C ₁₆ H ₂₃ NO ₇	341.36
Retrorsine	倒千里光碱	480-54-6	C ₁₅ H ₂₅ NO ₆	351.40
Retrorsine-N-oxide	倒千里光碱氧化物	15503-86-3	C ₁₈ H ₂₅ NO ₇	367.39
Senecionine	千里光宁	130-01-8	C ₁₈ H ₂₅ NO ₅	335.39
Senecionine N-oxide	千里光宁氧化物	13268-67-2	C ₁₈ H ₂₅ NO ₆	351.39
Seneciophylline	千里光菲灵碱	480-81-9	C ₁₈ H ₂₃ NO ₅	333.39
Seneciophylline N-oxide	千里光菲灵碱氧化物	38710-26-8	C ₁₈ H ₂₃ NO ₆	349.39
Senecivernine	春光千里碱	72755-25-0	C ₁₈ H ₂₅ NO ₅	335.39
Senecivernine N-oxide	春千里光碱氧化物	101687-28-9	C ₁₈ H ₂₅ NO ₆	351.39
Senkirkine	克氏千里光碱	2318-18-5	C ₁₉ H ₂₇ NO ₆	365.43
Trichodesmine	毛束草碱	548-90-3	C ₁₈ H ₂₇ NO ₆	353.41



图A.1 27种吡咯里西啶类生物碱的总离子流图







注: a. 石松胺; b. 印美定; c. 天芥菜碱; d. 印美定氧化物; e. 印美定氧化物; f. 野百合碱; g. 天芥菜碱氧化物; h. 欧天芥菜碱; i. 千里光菲灵碱; j. 春光千里碱; k. 千里光宁; l. 野百合碱氧化物; m. 欧天芥菜碱氧化物; n. 千里光菲灵碱氧化物; o. 千里光碱; p. 千里光宁氧化物; q. 倒千里光碱; r. 春千里光碱氧化物; s. 毛束草碱; t. 欧天芥菜碱氧化物; u. 克氏千里光碱; v. 千里光碱氧化物; w. 倒千里光碱氧化物; x. 蓝蓟定; y. 毛果天芥菜碱; z. 蓝蓟定氧化物; 1. 毛果天芥菜碱氧化物。

图A.2 27种吡咯里西啶类生物碱的提取离子流色谱图

附录 B
(资料性)
各化合物保留时间、监测离子对及碰撞电压(CE)参考值

编号	中文名	英文名	保留时间(min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (eV)	离子化 模式
1	蓝蓟定	Echimidine	20.9	398.1	120.2	25	+
					220.2	15	+
					238.1	25	+
2	蓝蓟定 N-氧化物	Echimidine N-oxide	21.1	414.0	254.0	25	+
					352.1	24	+
3	芝麻菜叶千里光碱-氮氧化物	Erucifoline N-oxide	7.1	366.0	119.2	30	+
					136.1	30	+
4	欧天芥菜碱	Europine	7.2	330.2	138.0	40	+
					156.0	40	+
5	欧天芥菜碱 N-氧化物	Europine N-oxide	7.8	346.3	111.1	40	+
					172.1	25	+
6	天芥菜碱	Heliotrine	11.2	314.3	108.2	35	+
					120.2	30	+
					138.2	20	+
					156.1	25	+
7	天芥菜碱 N-氧化物	Heliotrine N-oxide	13.0	330.1	153.1	45	+
					181.1	30	+
					207.1	30	+
8	印美定	Intermedine	7.1	300.1	120.2	25	+
					138.1	20	+
					156.1	30	+
9	印美定 N-氧化物	Intermedine-N-oxide	8.3	316.2	138.2	25	+
					172.1	25	+
					162.2	25	+
10	千里光碱	Jacobine	7.0	352.1	105.2	30	+
					120.2	30	+
					155.1	30	+
					162.2	25	+
11	千里光碱 N-氧化物	Jacobine N-oxide	7.6	367.9	190.1	18	+
					249.0	35	+
12	毛果天芥菜碱	Lasiocarpine	21.9	412.0	120.1	45	+
					220.1	22	+
					238.1	22	+

上表 (续)

编号	中文名	英文名	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (eV)	离子化 模式
13	毛果天芥菜碱 N-氧化物	Lasiocarpine N-oxide	22.3	410.0	106.2	30	+
					120.2	30	+
					136.1	30	+
14	石松胺	Lycopsamine	7.3	300.0	120.2	25	+
					138.1	20	+
					156.1	28	+
15	石松胺 N-氧化物	Lycopsamine-N-oxide	8.7	316.2	138.2	23	+
					172.1	25	+
16	野百合碱	Monocrotaline	3.8	326.1	121.2	20	+
					164.1	20	+
					194.1	20	+
17	野百合碱 N-氧化物	Monocrotaline-N-oxide	6.5	342.1	119.2	25	+
					137.1	25	+
					236.1	25	+
18	倒千里光碱	Retrorsine	9.7	324.1	120.1	20	+
					138.1	20	+
19	倒千里光碱 N-氧化物	Retrorsine-Noxide	10.6	368.1	136.3	40	+
					248.9	25	+
					156.0	30	+
20	千里光宁	Senecionine	15.4	336.2	108.2	35	+
					120.1	25	+
					138.1	30	+
					156.0	30	+
21	千里光宁 N-氧化物	Senecionine N-oxide	17.6	352.1	118.1	25	+
					136.1	35	+
					220.1	25	+
22	千里光菲灵碱	Seneciophylline	10.9	334.1	105.2	50	+
					120.2	26	+
					138.2	28	+
23	千里光菲灵碱 N-氧化物	Seneciophylline N-oxide	12.4	350.1	106.1	30	+
					120.1	25	+
					136.1	30	+
					154.1	25	+
24	春光千里碱	Senecivernine	14.4	336.1	108.1	25	+
					120.2	25	+
					138.1	30	+
					156.0	40	+

上表 (续)

编号	中文名	英文名	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (eV)	离子化 模式
25	春千里光碱 N-氧化物	Senecivernine N-oxide	16.2	352.4	91.0	40	+
					252.1	15	+
26	克氏千里光 碱	Senkirkine	20.1	366.0	122.2	30	+
					150.1	25	+
					168.1	25	+
27	毛束草碱	Trichodesmine	7.8	354.0	120.2	35	+