

# 液质联用超滤法测定注射用复方荭草中原儿茶酸、异荭草素及野黄芩苷的血浆蛋白结合率

黄勇 陈慧 郑林 何峰 张治蓉 王永林\* (贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

**摘要:** 目的 测定注射用复方荭草中原儿茶酸、异荭草素及野黄芩苷的血浆蛋白结合率, 为临床安全用药提供参考。方法 以超高效液相色谱-质谱联用为检测手段, 结合超滤离心法, 由于基质背景的差异分别建立血浆样本及超滤液中的含量测定方法, 考察原儿茶酸、异荭草素及野黄芩苷与血浆蛋白的结合情况。结果 注射用复方荭草在人血浆中浓度为 5 ~ 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, 原儿茶酸、异荭草素及野黄芩苷与血浆蛋白的平均结合率分别为 (65.33  $\pm$  0.61) %、(85.97  $\pm$  0.43) %、(90.09  $\pm$  0.28) %。结论 原儿茶酸与血浆具有中等强度的结合, 异荭草素及野黄芩苷与血浆结合力较强, 它们与血浆蛋白结合能力在考察的浓度范围内无浓度依赖性。建立的方法灵敏度高, 重现性好, 操作简单, 能够满足定量分析测试要求。

**关键词:** 原儿茶酸; 异荭草素; 野黄芩苷; 血浆蛋白结合率; 超滤法; 液质联用; 基质效应

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2011)15-1200-05

## Determination of Plasma Protein Binding Rates of Protocatechuic Acid, Isoorientin and Scutellarin in Compound Hongcao Freeze-Dried Powder for Injection by Ultrafiltration Combined with UPLC-ESI-MS/MS

HUANG Yong, CHEN Hui, ZHENG Lin, HE Feng, ZHANG Zhi-rong, WANG Yong-lin\* (School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To determine the plasma protein binding rates of protocatechuic acid, isoorientin and scutellarin in Compound Hongcao freeze-dried powder for injection by ultrafiltration method for providing on the safe use of medication. **METHODS**

Ultrafiltration combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS) was employed to determine the protein binding rates of protocatechuic acid, isoorientin and scutellarin in the compound hongcao freeze-dried powder. When determining the concentrations of the 3 compounds, 2 kinds of matrix as plasma and buffer solution were chosen. **RESULTS** The average human protein binding rates of protocatechuic acid, isoorientin and Scutellarin were (65.33  $\pm$  0.61) %, (85.97  $\pm$  0.43) % and (90.09  $\pm$  0.28) % with the drug/plasma concentrations of 5, 10, 25, 50 and 100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively. **CONCLUSION** The current study shows the medium binding ability of protocatechuic acid and high binding ability of isoorientin and scutellarin to plasma protein. The method has high sensitivity, good reproduction, with simple management thus fulfilling the requirement. The plasma protein bindings of the three compounds were independent of the investigated concentrations.

**KEY WORDS:** protocatechuic acid; isoorientin; scutellarin; plasma protein binding rate; ultrafiltration; UPLC-ESI-MS/MS; matrix effect

注射用复方荭草(冻干粉针)为贵州民族用药基础上研制的中药新药,目前已完成Ⅲ期临床,本方由黔产荭草和灯盏细辛两味中药经现代制剂工艺研制而成,具有化瘀通络、活血止痛功能,临床用于冠心病、心绞痛、心血瘀阻证等<sup>[1-2]</sup>。研究表明,复方荭草(冻干粉针)的主要成分为黄酮类及酚酸类化合物,经药效学实验结果表明,该类化合物为其主要有效成分<sup>[3-4]</sup>。原儿茶酸为荭草中的可溶性酚酸类成

分,具有降低心肌耗氧量,提高心肌耐氧能力,减慢心率等药理作用<sup>[5]</sup>;异荭草素为荭草中萜类黄酮,药理学研究表明,其具有抗氧化、抗甲状腺作用;野黄芩苷为灯盏细辛中萜类黄酮,具有抗脑缺血、抗心肌缺血等药理作用<sup>[6-8]</sup>。

药物的血浆蛋白结合率是药动学的重要参数,是新药临床评价不可缺少的指标<sup>[9]</sup>。药物在体内与血浆蛋白的结合是一个动态平衡过程,游离型药

基金项目: 国家科技重大专项课题(2008ZX09101-021); 国家自然科学基金资助项目(30860366); 贵州省科技计划重大专项项目(黔科合重大专项字[2007]6010号)

作者简介: 黄勇,男,硕士,副教授 研究方向: 天然药物活性物质基础及药理学 \* 通讯作者: 王永林,男,教授,博士生导师 研究方向: 中药活性成分研究及新药开发 Tel: (0851) 6908899 E-mail: gywyl@gmc.edu.cn

物的浓度与药物的药效学、毒理学过程密切相关。药物血浆蛋白结合的变化可能引起药物体内一系列药动学参数的变化<sup>[10]</sup>。本实验采用超滤法测定注射用复方荜草(冻干粉针)中原儿茶酸、异荜草素、野黄芩苷等活性成分在人血浆中的蛋白结合率,拟为临床用药提供依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

超高效液相色谱 ACQUITY UPLC 系统,包括二元超高压溶剂系统、柱温箱、电喷雾三重四级质谱仪、Masslynx4.1 质谱工作站(Waters 公司); Allegra 64R 冷冻高速离心机(美国 Beckman 公司); MTN-2800D 型氮吹仪(天津奥特塞恩斯仪器有限公司); EL204 型电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); YM-10 型超滤离心管(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 药品与试剂

原儿茶酸、野黄芩苷、葛根素对照品(中国药品生物制品鉴定所,批号:809-200102,880-200001,0752-9605 纯度>99%);异荜草素对照品(自制,纯度≥98% 经 NMR、MS 鉴定,结构正确);注射用复方荜草冻干粉针,自制(规格 100 mg·支<sup>-1</sup>,批号:1001053);人血浆(贵州省血液中心,许可证号:07001);甲酸(色谱纯,纯度≥98%);甲醇、乙腈均为色谱纯;实验用水为超纯水;其他试剂均为分析纯。

## 2 实验方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Waters BEH C<sub>18</sub>(2.1 mm×50 mm,1.7 μm) 柱,保护柱: Waters Van Guard BEH C<sub>18</sub>(2.1 mm×5 mm,1.7 μm);流动相:A: 0.1% 甲酸乙腈,B: 0.1% 甲酸水,梯度洗脱: 0~0.5 min,A(10%);0.5~2 min,A(10%~30%);2~2.5 min,A(保持 90%);2.5~3.5 min,A(保持 10%)。流速:0.35 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:45℃;进样体积:1 μL。

### 2.2 质谱条件

采用电喷雾电离源,毛细管电压:3 kV,离子源温度:120℃;喷雾气与反吹气:氮气,去溶剂气流速:650 L·h<sup>-1</sup>,去溶剂气温度:350℃,反吹气流速为 50 L·h<sup>-1</sup>;碰撞气:氩气,碰撞气流速:0.16 mL·min<sup>-1</sup>;扫描方式为多反应离子监测(MRM),正离子模式(ESI<sup>+</sup>),用于定量的离子对为(*m/z*):152.8→109.0(原儿茶酸),449.2→299.1(异荜草素),

463.1→287.1(野黄芩苷),417.0→267.0(葛根素,内标),锥孔电压分别为:30,40,35,30 V,碰撞能量分别为:15,30,30,15 V。

### 2.3 溶液的配制

**2.3.1 对照品储备液的配制** 精密称取原儿茶酸、异荜草素、野黄芩苷、葛根素对照品适量,甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配制成质量浓度分别为 199.2,101.6,0.683.7 μg·mL<sup>-1</sup>的对照品储备液。内标葛根素配制成质量浓度为 9.0 μg·mL<sup>-1</sup>。将储备液置于 4℃ 储存备用。

**2.3.2 磷酸缓冲液(PBS)的配制** 精密称取 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.20 g,Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.88 g,KCl 0.20 g,NaCl 8.00 g,用少量蒸馏水溶解,溶液转移至 1 000 mL 量瓶中,蒸馏水定容至刻度,配制成 pH 7.4 的 PBS,于 4℃ 储存备用。

### 2.4 样品预处理方法

**2.4.1 血浆样品(超滤残液)处理方法** 精密移取血浆 200 μL,依次加入 50 μL 3 mol·L<sup>-1</sup>甲酸、补加 50 μL 甲醇、20 μL 葛根素内标溶液,加入 800 μL 甲醇沉淀蛋白,涡混 1 min,超声 5 min,于冷冻高速离心机 4℃,20 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 10 min,取上清液于 48℃ N<sub>2</sub>吹干。用 500 μL 甲醇复溶,涡混 1 min,超声 10 min 后,于 4℃,20 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 10 min,取上清液进样分析。

**2.4.2 缓冲液样品(超滤液)处理方法** 精密移取缓冲液 1 mL,依次加入 50 μL 3 mol·L<sup>-1</sup>甲酸、补加 50 μL 甲醇、20 μL 葛根素内标溶液,涡旋混合 1 min 后,于 48℃ N<sub>2</sub>吹干。用 500 μL 甲醇复溶,涡混 1 min,超声 10 min 后,于 4℃,20 000 r·min<sup>-1</sup>,离心 10 min,取上清液进样分析。

### 2.5 标准曲线的制备

**2.5.1 血浆中** 在空白血浆中加入原儿茶酸、异荜草素、野黄芩苷对照储备液,配制成原儿茶酸血浆质量浓度为 0.046,0.138,0.415,1.245,3.735,11.205 μg·mL<sup>-1</sup>,异荜草素血浆质量浓度为 0.248,0.744,2.231,6.693,20.080,60.240 μg·mL<sup>-1</sup>,野黄芩苷血浆质量浓度为 0.155,0.466,1.398,4.193,12.580,37.740 μg·mL<sup>-1</sup>的系列浓度,内标法定量,按“2.4”项下方法操作,以样品质量浓度为横坐标( $\rho$ ),以样品与内标物峰面积比值为纵坐标( $Y$ ),用加权最小二乘法进行回归计算,权重系数为( $1/\rho$ ),得线性回归方程:原儿茶酸:  $Y = 0.663\rho - 0.010$  ( $r = 0.996$ );异荜草素:  $Y = 0.439\rho - 0.033$  ( $r = 0.998$ );野黄芩苷:  $Y = 3.277\rho - 0.101$  ( $r = 0.998$ )。

结果表明,在测定范围内,线性关系良好。

**2.5.2 缓冲液(PBS)中** 在空白缓冲液中加入原儿茶酸、异荭草素、野黄芩苷对照储备液,配制成原儿茶酸质量浓度为 0.006, 0.018, 0.055, 0.166, 0.498, 1.494  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 异荭草素质量浓度为 0.025, 0.074, 0.223, 0.669, 2.008, 6.024  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 野黄芩苷质量浓度为 0.016, 0.047, 0.140, 0.419, 1.258, 3.774  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 其余操作同上,得线性回归方程:原儿茶酸:  $Y = 3.229\rho - 0.014$  ( $r = 0.994$ ); 异荭草素:  $Y = 2.496\rho - 0.043$  ( $r = 0.998$ ); 野黄芩苷:  $Y = 22.224\rho + 0.020$  ( $r = 0.991$ )。结果表明,在测定范围内,线性关系良好。

## 2.6 方法学验证

**2.6.1 测定方法的专属性** 在色谱条件及质谱条件下原儿茶酸、异荭草素、野黄芩苷等 3 种物质及内标的相对保留时间分别为 0.76, 1.68, 1.96, 1.4 min, 各成分间分离良好,未见空白血浆或缓冲液中杂质干扰,具有较好的专属性,分析条件可行。

**2.6.2 回收率及精密度考察** 分别在空白血浆及空白 PBS 中加入原儿茶酸、异荭草素、野黄芩苷对照品储备液,配制成高、中、低 3 个质量浓度的质控样品各 5 份,按“2.4”项下处理后进样,记录各物质

峰面积( $A_{\text{提取}}$ )及其与内标峰面积的比值( $R$ );另用甲醇配制相应高、中、低浓度的混合对照品溶液,加入内标,不经提取直接进样,记录各物质峰面积( $A$ )。将两组峰面积进行比较,即  $A_{\text{提取}}/A$  计算各物质的提取回收率(extraction recoveries);将  $R$  分别代入各自标准曲线,计算各标准物质浓度( $\rho_{\text{实测}}$ ),将实测浓度与已知加入浓度( $\rho$ )相比,即  $\rho_{\text{实测}}/\rho$  得方法学回收率(method recoveries)。

同上述法配制高、中、低 3 个质量浓度的质控血浆及缓冲液样品,按“2.4”项下平行操作,每个系列浓度做 5 份,日内连续进样,代入当日标准曲线中,分别计算各物质的浓度,计算日内 RSD;每个系列浓度做 3 份,连续重复做 3 d,代入当日标准曲线中,分别计算各物质的浓度,算日间 RSD。结果见表 1、2,显示 3 个化合物的精密度及回收率良好,方法学研究结果符合要求。

**2.6.3 稳定性** 考察了高、中、低 3 个质量浓度的质控样品在血浆及缓冲液中,分别室温放置 4 h,经处理后室温放置 24 h(自动进样器中稳定性)及反复冻融 3 次的稳定性。结果表明,血浆或缓冲液中高、中、低浓度的质控样品在上述 3 种条件下的 RSD 均小于 10%,样品稳定性良好。

表 1 原儿茶酸、异荭草素和野黄芩苷在血浆中的回收率及精密度.  $n = 5 \bar{x} \pm s$

Tab. 1 Recoveries and precision of the three compounds in human plasma.  $n = 5 \bar{x} \pm s$

Compound	Spiked Conc. $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Extraction recoveries/%	Method recoveries/%	Precision/%	
				Intra-day( RSD)	Inter-day( RSD)
Protocatechuic acid	0.138	100.10 $\pm$ 4.47	95.07 $\pm$ 5.44	4.35	5.35
	1.245	105.63 $\pm$ 4.76	97.18 $\pm$ 4.76	3.87	3.35
	11.205	100.16 $\pm$ 1.28	102.90 $\pm$ 1.18	2.05	2.12
Isoorientin	0.744	102.67 $\pm$ 4.82	96.97 $\pm$ 9.46	4.76	3.35
	6.693	101.77 $\pm$ 2.53	104.72 $\pm$ 4.66	4.00	1.00
	60.240	100.59 $\pm$ 3.13	107.66 $\pm$ 1.81	2.28	3.18
Scutellarin	0.466	95.70 $\pm$ 7.55	94.38 $\pm$ 1.56	4.11	3.42
	4.193	104.64 $\pm$ 4.65	105.37 $\pm$ 6.47	5.14	1.89
	37.740	93.88 $\pm$ 3.28	109.93 $\pm$ 3.58	3.83	2.24

表 2 原儿茶酸、异荭草素和野黄芩苷在缓冲液中的回收率及精密度.  $n = 5 \bar{x} \pm s$

Tab. 2 Recoveries and precision of the three compounds in buffer solution.  $n = 5 \bar{x} \pm s$

Compound	Spiked Conc. $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Extraction recoveries/%	Method recoveries/%	Precision/%	
				Intra-day( RSD)	Inter-day( RSD)
Protocatechuic acid	0.018	97.74 $\pm$ 2.48	96.67 $\pm$ 6.55	4.87	4.01
	0.166	106.33 $\pm$ 4.21	99.04 $\pm$ 5.89	5.42	4.47
	1.494	104.10 $\pm$ 2.69	102.66 $\pm$ 5.26	4.16	3.04
Isoorientin	0.074	99.30 $\pm$ 3.45	97.70 $\pm$ 3.14	6.10	5.74
	0.669	97.19 $\pm$ 9.19	94.83 $\pm$ 8.24	5.09	7.36
	6.024	95.56 $\pm$ 1.12	101.16 $\pm$ 3.26	4.04	3.19
Scutellarin	0.047	99.75 $\pm$ 4.43	95.32 $\pm$ 2.24	1.87	2.88
	0.419	98.48 $\pm$ 3.78	99.22 $\pm$ 6.08	4.23	7.29
	3.774	94.45 $\pm$ 5.48	106.96 $\pm$ 4.00	3.20	2.66

## 2.7 血浆蛋白结合率实验方法<sup>[11-12]</sup>

取 2 mL 空白血浆若干份,分别加入 100  $\mu\text{L}$  新配制的质量浓度分别为 5、10、25、50、100  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  注射用复方荜草溶液,涡混 30 s 后,置于 37  $^{\circ}\text{C}$  水浴中孵育 30 min,涡混均匀后,置于超滤离心管中,于高速冷冻离心机中,4  $^{\circ}\text{C}$ ,5 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,离心 25 min,分别精密移取离心管中溶液 200  $\mu\text{L}$ (超滤液,总浓度  $D_t$ )及超滤液 1 mL(游离浓度  $D_f$ ),按“2.4”项下处理样品,液质联用仪测定。将所得的结果带入标准曲线中分别计算药物与蛋白结合的总浓度以及游离药物浓度。根据公式蛋白结合率(%) =  $[(D_t - D_f) / D_t] \times 100\%$  计算血浆蛋白结合率,结果见表 3。

## 3 讨论

血浆蛋白结合率的测定方法主要有平衡透析法、超滤法、凝胶过滤法等,其中以前两种方法较为常用<sup>[13]</sup>。与平衡透析法相比,超滤法快速简便,通常仅需几十分钟之内就可收集超滤液进行游离浓度的测定,为测定血浆蛋白结合率方便、快捷、可行的方法。实验中建立的血浆与超滤液样品处理方法,分别为甲醇沉淀蛋白法及浓缩离心后直接进样,避免了常规为提高检测灵敏度而进行的液-液萃取复

杂的过程或固相萃取的高成本,经方法学验证及多次重复实验具有较好的回收率及重现性,能满足临床生物样品分析要求。

本实验对血浆超滤液及超滤液采取分别测定的方法,是在预实验及相关参考文献<sup>[14]</sup>基础之上制定的。预实验中发现血浆及超滤液中药物浓度差异较大,首先给线性范围的确定带来困难;其次,由于超滤液中无血浆蛋白而超滤液中大量含有,基质背景的差异会对质谱检测带来较大影响,故最终将两个背景的生物样本分别建立测定方法,单独测定其含量。使用磷酸缓冲液作为超滤液的基质背景是基于模拟人血浆中盐类成分考虑的。

从实验结果得出,在考察的质量浓度范围内,原儿茶酸、异荜草素及野黄芩苷 3 个化合物的血浆蛋白结合率无浓度依赖性,它们的平均蛋白结合率为  $(65.33 \pm 0.61)\%$ ,  $(85.97 \pm 0.43)\%$ ,  $(90.09 \pm 0.28)\%$ 。文献<sup>[15]</sup>报道的野黄芩苷单体的血浆蛋白结合率为 86%~92%,与注射用复方荜草中野黄芩苷的蛋白结合率基本一致,表明在本复方制剂中,各类复杂的化学成分对野黄芩苷在血浆中结合率影响较小。原儿茶酸及异荜草素单体或复方成分与人血浆蛋白结合率,目前尚无文献可以参阅。

表 3 原儿茶酸、异荜草素和野黄芩苷的血浆蛋白结合率,  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$

Tab. 3 Protein binding rates of protocatechuic acid, isoorientin and scutellarin in human plasma.  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm s$

Compound	Spiked Conc. $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Conc. $/\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$		Percent of binding $/\%$	Average percent of binding/ $\%$
		Total( $D_t$ )	Free( $D_f$ )		
Protocatechuic acid	5	0.123 $\pm$ 0.011	0.042 $\pm$ 0.001	65.95 $\pm$ 3.14	65.33 $\pm$ 0.61
	10	0.221 $\pm$ 0.025	0.076 $\pm$ 0.013	65.98 $\pm$ 3.05	
	25	0.441 $\pm$ 0.053	0.153 $\pm$ 0.015	65.12 $\pm$ 4.14	
	50	0.845 $\pm$ 0.104	0.294 $\pm$ 0.029	64.97 $\pm$ 2.83	
	100	1.659 $\pm$ 0.215	0.585 $\pm$ 0.063	64.62 $\pm$ 1.98	
Isoorientin	5	1.051 $\pm$ 0.080	0.141 $\pm$ 0.006	86.51 $\pm$ 0.51	85.97 $\pm$ 0.43
	10	2.183 $\pm$ 0.150	0.301 $\pm$ 0.070	86.27 $\pm$ 2.57	
	25	4.655 $\pm$ 1.050	0.651 $\pm$ 0.112	85.79 $\pm$ 1.91	
	50	7.090 $\pm$ 0.797	1.001 $\pm$ 0.152	85.83 $\pm$ 1.85	
	100	14.040 $\pm$ 0.780	2.041 $\pm$ 0.080	85.43 $\pm$ 1.06	
Scutellarin	5	1.441 $\pm$ 0.111	0.134 $\pm$ 0.010	90.45 $\pm$ 0.44	90.09 $\pm$ 0.28
	10	2.736 $\pm$ 0.161	0.265 $\pm$ 0.047	90.15 $\pm$ 1.96	
	25	5.644 $\pm$ 0.765	0.553 $\pm$ 0.099	90.23 $\pm$ 0.53	
	50	8.981 $\pm$ 1.010	0.895 $\pm$ 0.052	89.93 $\pm$ 1.34	
	100	14.457 $\pm$ 0.958	1.481 $\pm$ 0.038	89.71 $\pm$ 0.77	

## REFERENCES

[1] ZHENG S Z, WANG D Y, LIU W X, *et al.* The flavonoids of *Polygonum orientale* L[J]. *J Northwest Nor Univ( Nat Sci)* (西北师范大学学报:自然科学版), 1999, 35(4): 4-9.  
[2] LAN Y U, LIU L N, WANG Y L, *et al.* Study on RP-HPLC fingerprint of Compound Hongcao Injection[J]. *Chin Pharm J* (中国中药杂志) 2005, 30(6): 440-442.

[3] UMA D P, GANASOUNDARI A, VRINDA B, *et al.* Radiation protection by the ocimum flavonoids orientin and vicenin: mechanisms of action[J]. *Radiat Res*, 2000, 154(4): 455-456.  
[4] MUN IM A, NEGISHI O, OZAWA T. Antioxidative compounds from *Crota-laria sessiliflora* [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2003, 67(2): 410-411.  
[5] HAN Y, XIONG Z L, YANG C J, *et al.* Determination of proto-

catechuic acid in rat plasma by high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr* ( 色谱 ) ,2007 ,25 ( 2 ) : 207-210.

[ 6 ] ZHANG Y ,GAO R ,LIU J X , *et al.* Simultaneous determination the concentration of isoorientin ,orientin and scutellarin in healthy human plasma by solid phase extraction-HPLC [J]. *Chin J Clin Pharmacol* ( 中国临床药理学杂志 ) 2007 23 ( 4 ) : 299-303.

[ 7 ] LIN X ,CHU K D. Progress of pharmacological study on breviscapine [J]. *Strait Pharm J* ( 海峡药理学 ) 2005 ,17 ( 6 ) : 5-8.

[ 8 ] HUANG H B ,BAO W F ,YANG F F , *et al.* A study on chemical constituents of *Erigeron breviscapus* ( Vant. ) Hand. -Mazz [J]. *J Shenyang Pharm Univ* ( 沈阳药科大学学报 ) ,2005 ,26 ( 11 ) : 1323-1325.

[ 9 ] LI Q H ,CUI M Y ,SUI X F. Determination of protein-bound fraction of serum of syringopicroside [J]. *J Harbin Univ Commer* ( *Nat Sci Ed* ) ( 哈尔滨商业大学学报:自然科学版 ) 2008 ,24 ( 1 ) : 148-150.

[10] GUO B ,LI C. Progress in research and evaluation on drug-plas-

ma protein binding in pharmacology [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* ( 中国临床药理学与治疗学 ) ,2005 ,10 ( 3 ) : 241-253.

[11] WANG C H ,ZOU X G ,SUN D J , *et al.* Determination of plasma binding rate of harmine hydrochloride [J]. *Chin Hosp Pharm* ( 中国医院药学杂志 ) 2005 25 ( 2 ) : 99-101.

[12] ZHU M ,CHEN Y ,LIR C. Pharmacokinetics and system linearity of tea catechins in rat [J]. *Xenobiotica* ,2001 ,31 ( 1 ) : 51-60.

[13] JING C J ,CHEN X H ,LIU X , *et al.* Determination of the binding rate of rat plasma protein with salvianolic acid B [J]. *Acta Pharm Sin* ( 药理学学报 ) 2010 ,45 ( 3 ) : 343-346.

[14] WANG L ,REN J G. Determination of human plasma binding of EGGG by ultrafiltration [J]. *Chin Pharm J* ( 中国药理学志 ) ,2008 ,43 ( 20 ) : 1579-1581.

[15] TANG Y H ,ZHU H Y ,ZHANG Y Y , *et al.* Determination of human plasma protein binding of baicalin by ultrafiltration and high-performance liquid chromatography [J]. *Biomedical Chromatogr* ,2006 ,20 ( 10 ) : 1116-1119.

( 收稿日期: 2011-01-31 )

## 甘草中 50 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留量的分析方法研究

黄晓会<sup>1,2</sup> 薛健<sup>1\*</sup> 吴晓波<sup>1</sup> 佟鹤芳<sup>1</sup> 庞作正<sup>1</sup> 薛雯<sup>1</sup> 程猷<sup>1</sup> ( 1. 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所,北京 100193; 2. 宁夏医科大学研究生学院,银川 750004 )

**摘要:** 目的 建立甘草中 50 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留的气相测定方法。方法 以乙腈为提取剂,提取液用弗罗里硅土柱净化,乙酸乙酯-正己烷 ( 15: 85 ) 洗脱,采用 HP-5 与 DB1701 毛细管色谱柱双柱定性,以 HP-5 毛细管柱定量,GC-ECD 检测器进行检测。结果 样品 3 水平添加时的 50 种有机氯及拟除虫菊酯农药平均回收率在 70. 3% ~ 115. 6% ,相对标准偏差在 1. 1% ~ 13. 1% ,符合农药残留分析的要求。结论 本方法重复性及净化效果好,可用于甘草中 50 种有机氯及拟除虫菊酯类农药残留量检测。

**关键词:** 甘草; 毛细管气相色谱; 有机氯农药; 拟除虫菊酯农药

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494 ( 2011 ) 15-1204-05

### Study on Analysis Method for 50 Organochlorine and Pyrethroid Pesticides Residues in Glycyrrhiza

HUANG Xiao-hui<sup>1,2</sup> ,XUE Jian<sup>1\*</sup> ,WU Xiao-bo<sup>1</sup> ,TONG He-fang<sup>1</sup> ,PANG Zuo-zheng<sup>1</sup> ,XUE Wen<sup>1</sup> ,CHENG You<sup>1</sup> ( 1. *Institute of Medicinal Plant , Chinese Academy of Medical Science , Beijing 100193 , China*; 2. *College of Postgraduate , Ningxia Medical University , Yinchuan 750004 , China* )

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a gas chromatography method for the determination of 50 organochlorine and pyrethroid residues in Glycyrrhiza products. **METHODS** Organochlorine and pyrethroid pesticides were extracted from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. with acetonitrile. Then the extracts were cleaned up by alumina neutral-florisil column and eluted by mixed solvents of ethyl acetate and hexane ( 15: 85 ) . The extract was separated by HP-5 and DB1701 capillary dual-column and detected by electron-capture detector. **RESULTS** The average recoveries and RSDs ranged from 72. 9% to 115. 8% and 1. 1% to 13. 1% , respectively , at 3 levels of spiked mixed organochlorine and pyrethroid. **CONCLUSION** The method has good separation and repeatability and can be used in determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Licorice products.

**KEY WORDS:** Glycyrrhiza; capillary gas chromatography; organochlorine pesticide; pyrethroid pesticide

基金项目: 国家重大创新药专项资助项目 ( 2009ZX09502-027 2009ZX09308-006 2009ZX09308-001-4-5 )

作者简介: 黄晓会,女,硕士研究生 研究方向: 药物分析 \* 通讯作者: 薛健,女,研究员,硕士生导师 研究方向: 中药有效成分及污染物研究 Tel: ( 010 ) 62895076 E-mail: xuejian200@sina.com