

★综述★

生物样品中甘草酸及其代谢产物检测方法的研究进展

田莉^{1,3}, 刘江杰², 高晓黎^{1*}

(1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830054 2. 武警兵团指挥部医院, 乌鲁木齐 830063)

3. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830054)

摘要: 对国内外采用高效液相色谱、气相色谱、高效液相色谱-质谱、气相色谱-质谱联用技术和酶联免疫技术等方法检测生物样品中甘草酸及其代谢物甘草次酸的含量进行了综述, 为甘草酸类制剂的进一步开发和体内监测提供参考。

关键词: 甘草酸; 甘草次酸; 生物样品; 检测方法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)02-0340-06

Progress in the detection of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in biological specimens

TIAN Li^{1,3}, LIU Jiang-jie², GAO Xiao-li¹

(1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University Urumqi 830054, China)

2. Wujing Xinjiang Groups command post Hospital Urumqi 830063 China

3. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054 China)

Abstract This article reviewed the detection methods of glycyrrhizin and its metabolins glycyrrhetic acid in biological specimens by HPLC, GC, LC-MS/MS, GC-MS methods, enzyme-linked immunosorbent assay etc. in domestic and abroad. Such methods will provide with reference for the developments of glycyrrhizin preparation and clinical monitoring.

Key words glycyrrhizin, glycyrrhetic acid, biological specimens, detection

甘草酸 (glycyrrhizin) 是中药甘草的主要作用成分, 具有保护肝细胞膜、抗炎、免疫调节、类固醇样及抑制病毒增殖、灭活病毒等作用。甘草酸为五环三萜类化合物, 其分子结构中含一分子甘草次酸 (glycyrrhetic acid) 和两分子葡萄糖醛酸, 在体内经 β -葡萄糖醛酸酶作用水解成甘草次酸进入循环, 口服给药后, 甘草酸少量以原形而大部分以代谢物形式吸收, 由于甘草酸的血药浓度常在检测限以下, 多以代谢产物甘草次酸作为评价其体内过程的主要指标。甘草酸和甘草次酸极性差别大, 血浆蛋白结合率均在 90% 以上^[1], 因此, 提取方法、检测方法和检测条件的选择对检测结果影响很大。本文对近年在生物样品中甘草酸及其代谢产物主要检测方法的研究进展做一综述。

1 高效液相色谱法

高效液相色谱 (HPLC) 法具有柱效高、分离速度快、适用范围广和操作方便等优点, 是应用最为广泛的检测生物样品中甘草酸及其代谢产物的主要方法。

1.1 国内研究进展

我国于 20 世纪 90 年代初开始用 HPLC 法检测给予甘草酸后在生物体内的过程, 近 10 年国内的研究者对此进行了较深入的研究, 对生物样品中甘草酸的检测情况总结于表 1。

国内研究者采用 HPLC 法主要对小鼠、大鼠和健康人体的血浆和组织匀浆^[3] 中的样品进行检测, 均为单剂量给药。给药剂量大于 $300 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 可检测出甘草酸, 可见甘草酸具有第一关卡效应, 只

* 通讯作者 Tel: (0991)4312411 E-mail: gxl@tefeng.com

表 1 国内检测生物样品中甘草酸及其代谢产物的 HPLC 分析条件
Tab 1 HPLC analysis conditions of glycyrrhizin and its metabolins in the domestic

检测对象 (detection objective)	给药方式及剂量 (administration and dosage)	色谱柱 (column)	流动相及流速 (mobile phase and flow rate)	内标 (internal standard)	UV 检测 波长 (wavelength) /nm	最低检测限 (detection limit) / μg $\cdot \text{mL}^{-1}$	文献序 号 (R ef series)
plasma of mice GL	iv, 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ GL injection	ODS C_{18} (5 μm , 4 6 $\text{mm} \times 250\text{mm}$)	$\text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3\text{CN} - \text{ice HAc}$ (60: 23: 16: 1); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	hydrocortisone (氢化可的松)	252	1	2
plasma and homoge- nate of mice $\alpha -$ or $\beta - \text{GL}$	iv, 53 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ $\alpha - \text{GL}$ or $\beta - \text{GL}$ injection	ODSIII (5 μm , 4 5 $\text{mm} \times 150\text{mm}$)	$\text{CH}_3\text{CN} - \text{phosphate buffer}$ (containing 0.23 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2HPO_4 , 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA; pH 7.4) (15: 85); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	external standard method (外标 法)	250	/	3
plasma of rat GL	ig, 600 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Intersil ODS - 3 (5 μm , 4 6 $\text{mm} \times 150$ mm)	$\text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O} - \text{HAc}$ (88: 11: 1); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	diphenyl (联苯)	250	0.228	4
plasma of rat GL and GA	ig, 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	ODS C_{18} (5 μm , 4 6 $\text{mm} \times 200\text{mm}$)	$\text{CH}_3\text{OH} - 5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ tetrabutylammonium bromide solution (GL: 80: 20; pH 3.6; 0.8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; GA: 90: 10; pH 3.6; 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	GL: diphenyl (联 苯); GA: methyl glycyrrhetate (甘 草次酸甲酯)	GL: 258 GA: 248	0.3	5
plasma of rat GL and GA	sublingually (舌下静 注), monoammonium gly- cyrrhizinate and its lipe- somes, 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	YMC- Pack ODS- A (5 μm , 6.0 $\text{mm} \times 150$ mm)	$\text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O} - \text{ice HAc} - 5\%$ NH_4Ac (77: 23: 1: 0.5); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	progesterone (黄 体酮)	250	2 ng	6
homogenate of rat α - or $\beta - \text{GL}$	tail (尾部静注), 21 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ $\alpha - \text{GL}$ or $\beta - \text{GL}$	ODS (5 μm , 4 5 $\text{mm} \times$ 150mm)	$\text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O} - \text{ice HAc} - \text{triethyl-}$ amine (75: 24: 1: 0.5); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	biphenyl (联苯)	250	/	7
plasma of healthy volunteer 18 $\alpha - \text{GL}$	iv, 200 mg magnesium iso- glycyrrhizinate	Hypersil ODS2 (5 μm , 4 6 $\text{mm} \times 300$ mm)	$\text{CH}_3\text{CN} - 0.23 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ phos- phate buffer (pH 7.4) (21: 79); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	external standard method (外标 法)	250	0.1	8
plasma of healthy volunteer GL and GA	ig, GL tablet or liposome (contain 1 g GL)	C_{18} (10 μm , 4 $\text{mm} \times$ 250mm)	$\text{CH}_3\text{OH} - \text{H}_2\text{O} - \text{HAc} - \text{triethyl-}$ amine (87: 12.15: 0.3: 0.55; pH 5.4); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	/	254	0.1	9
plasma of healthy volunteer GA	ig, extractum glycyrrhizae lipidum	Nova- Pak C_{18} (4 6 μm , 3 9 $\text{mm} \times 150$ mm)	$\text{CH}_3\text{CN} - 2\%$ HAc (55: 45); 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	/	254	31.38 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	10

注 (note): GL: 甘草酸 (glycyrrhizin); GA: 甘草次酸 (glycyrrhetic acid)

有在高剂量 ig 给药 100~ 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后, 才能在血浆中检测到甘草酸; iv 后可检测出甘草酸和甘草次酸。文献报道多以甲醇或乙腈^[9] 除蛋白提取样品, 范益等^[3] 用二氯甲烷提取甘草次酸, 最低的检测浓度为 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 吴琳华等^[10] 用氯仿热回流提取, 沉淀蛋白和提取药物同时完成, 检测限为 31.38 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 灵敏度高于其余方法。检测波长范围 250~ 258 nm, 内标选择有氢化可的松、联苯、黄体酮和甘草次酸甲酯, HPLC 法可作为简便、

快速测定生物样品中甘草酸和甘草次酸的定性定量方法。

1.2 国外研究进展

国外于 20 世纪 70 年代末开始用 HPLC 法进行甘草酸的药动学和药效学等方面研究, 日本学者在这方面有较多探索, 吴锡铭^[11] 对此进行了综述。近 10 年, 随着 HPLC 的不断发展, 以 HPLC 法进行甘草酸的体内研究日渐深入, 更趋完善, 对生物样品中甘草酸的检测情况总结于表 2。

表 2 国外进行生物样品中甘草酸及代谢产物的 HPLC分析条件
Tab 2 HPLC analysis conditions of glycyrrhizin and its metabolins in abroad

检测对象 (detection objective)	给药方式及剂量 (administration and dosage)	流动相及流速 (mobile phase and flow rate)	色谱柱 (column)	柱温 (column temp) /℃	内标 (internal standard)	UV检测 波长 (wavelength) /nm	最低检测限 (detection limit) / μg• mL ⁻¹	文献 序号 (R ef series)
plasma and liver ho- mogenate of mice (α -, β-)GL and GA	ig, 10 mg• kg ⁻¹	CH ₃ OH - H ₂ O - 25% ammonia so- lution - 60% perchloric (GL: 53: 47 : 0.5: 0.5: 0.8 mL• min ⁻¹ , GA: 80 : 20: 0.5: 0.5: 1.0 mL• min ⁻¹)	Nucleosil 5 C ₁₈ (5 μm, 4.6 mm × 250 mm)	40 ℃	/	254	/	12
plasma of rat GL and GA	ig, 100 mg• kg ⁻¹	CH ₃ OH - CH ₃ CN - H ₂ O - HAC (GL: 24: 29: 47: 1 GA: 58: 18: 24: 1). 0.8 mL• min ⁻¹	Hypersil C ₁₈ (5 μm, 4.6 mm × 250 mm)	room temp	GL: Diphenyl(联 苯); GA: Nan- drolobne phenyl- propionate(苯丙 酸去甲睾酮)	254	GL: 0.5 GA: 0.2	13
plasma and gastrointes- tinal tract of rat GL and GA; bile GL	ig, 200 mg• kg ⁻¹ GL; iv, 100 mg• kg ⁻¹ GL or 20 mg • kg ⁻¹ GA	GL: CH ₃ OH - pH4.2 phosphate buffer (68.5 mmol• L ⁻¹ NaH ₂ PO ₄ - 38.2 mmol• L ⁻¹ H ₃ PO ₄) (5 : 2); GA: CH ₃ CN - 10 mmol• L ⁻¹ NH ₄ Ac (1: 1). 1 mL• min ⁻¹	Inertsil ODS- 2 (5 μm, 4.6 mm × 150 mm)	/	/	245	/	14
incubation mixtures of rat feces GL, GA and its metabolites	incubation of gly- cyrrhizin with rat feces	containing aqueous phosphoric acid and acetonitrile by gradient system. 0.2 mL• min ⁻¹	TSK gel ODS - 80TSQA (5 μm, 2.0 mm × 150 mm)	25 ℃	/	254	0.2 μmol	15
rat and human plasma GL and GA	ig ①160 or 480 mg • kg ⁻¹ GL; ② 2092 or 6276 mg• kg ⁻¹ licorice extract	CH ₃ CN - H ₂ O (GL: 36: 64: 1 mL• min ⁻¹); CH ₃ OH - H ₂ O (GA: 83: 17: 0.85 mL• min ⁻¹)	/	room temp	paraben (对 羟 基苯甲酸酯)	251	GL: (rat 0.15 human 0.25) GA: 0.15	16
serum of rabbit GL; Feces of rabbit GA and 3- dehydroglycyrrhetic acid	ig, 150 mg• kg ⁻¹ GL	CH ₃ CN - 1% HAC (GL: 36: 64: GA and 3- dehydroglycyrrhetic acid 67 : 33). 1 mL• min ⁻¹	LCChrospher 100 RP- 18e(5 μm, 4.0 mm × 250 mm)	/	GL: propylpara- ben(对 羟 苯 甲 酸丙酯); GA: 2- methylanthra- quinone (2- 甲 基蒽醌)	248	/	17
dog plasma 18α- and 18β- GA	GA and GL were added directly dog plasma	H ₂ O - CH ₃ OH - 60% perchloric acid (45: 55: 0.5 adjust pH 8.0 by 25% ammonia solution). 0.8 mL• min ⁻¹	Nucleosil ODS(5 μm, 4.6 mm × 150 mm)	50 ℃	indone thacin(吲 哚美辛)	254	/	18
plasma of patients with chronic hepatitis C in- fection GL	iv, a single dose or multiple doses	CH ₃ CN - citrate buffer 0.6 mL• min ⁻¹	ChromSpher - 5C ₈ (5 μm, 3mm × 200 mm)	ambient temp	propylparaben (对羟苯甲酸丙 酯)	250	0.5	19
urine of healthy volun- teer GL; plasma of healthy volunteer GA and GAMA	ig, 100 mg GL	CH ₃ CN - H ₂ O (67: 37, containing 2 mmol• L ⁻¹ tetra- n- anylammon- ium). 1.1 mL• min ⁻¹ ;	Capcell 5C ₁₈ SG120 (6 mm × 150 mm)	45 ℃	capric acid (癸 酸);	excitation 33 emission 395	0.5	20
human serum GL	ig therapeutic dose (80 mg GL)	CH ₃ CN - H ₂ O (37: 63, pH 2.0 ad- justed with perchloric acid). 0.1 mL• min ⁻¹	Capcell Pak C ₁₈ UG120 (5 μm, 4.5 mm × 150 mm)	40 ℃	butylp - hydroxybenzoate (丁基 p- 羟基 苯甲酸甲酯)	254	0.1	21

注 (N ote): GL: 甘草酸 (glycyrrhizin); GA: 甘草次酸 (glycyrrhetic acid); GAMG: 甘草次酸单葡萄糖醛酸 (glycyrrhetic acid mono- glucuronide)

采用 HPLC 法对生物样品中甘草酸及其代谢物的研究国外比国内作了更多的探索, 实验对象有小鼠、大鼠、狗、家兔、健康人体及丙型肝炎患者, 生物样品来源于血浆、血清、组织匀浆、胆汁及排泄物等, 大多数采取单剂量 ig 或 iv , 也有多剂量 iv ^[19] 或厌氧条件下温孵^[15], 而生物样品的提取方法、内标的选择均与国内文献有较大不同。因此, 国外对甘草酸及其代谢物的体内分析在实验对象的选择、样品处理方法以及检测条件等方面都远比国内作了更多的探索, 为今后采用 HPLC 法更有效地进行甘草类制剂的体内过程研究提供了参考。

2 气相色谱法

气相色谱 (GC) 法在甘草酸的生物样品检测中应用较少。吕坚等^[22]建立了生物样品中微量 18α - 和 18α - 甘草酸、甘草次酸的气相色谱测定法, 色谱条件为: 1001 型气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器, $3\text{ m} \times 3\text{ mm}$ 螺旋形硅烷代玻璃柱, 固定液为 1.5% SE-30 (SERVA), 酸洗白色担体 (SERVA, 80~100 目), 柱温 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, 检测器 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$, 汽化室 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$, 高纯氮 (99.99%) 作载气, N_2 流速为 $40\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 血浆样品以硫酸、去氢胆酸提取, 氯仿萃取, 碱化后测定, 检测灵敏度高, 适用于生物样品中微量甘草酸差向异构体的含量测定。Kerstens 等^[23]建立和确证了一个灵敏、定量的 GC 法监测口服甘草产品后尿排泄产物中的 18β - 甘草次酸, 可用于监测其他生物样品中的甘草次酸。色谱条件为: 惠普公司 5890 气相色谱仪 (Palo Alto, CA, USA), 自动进样器, 火焰离子检测器 (FID), W COT- 熔融硅土毛细管柱, 氦气作载气, 流速为 $1\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。样品前处理复杂, 18β - 甘草次酸和 18α - 甘草次酸的内标为五氟苯甲酯 / 三甲基硅醚衍生物, ChromPerfect 作为计算机控制的数据处理过程的窗口, 整个过程采用程序升温。陈威等^[24]用 GC 法测定人血浆中甘草酸立体异构体 (α 体和 β 体) 及其苷元的浓度, 并计算在不同浓度血浆中的蛋白结合率。色谱条件: 色谱柱为硅烷化螺型玻璃柱 ($2\text{ m} \times 3\text{ mm}$) 内填 SE-30; 检测器: 氢火焰离子化检测器; 载气: 氮气, $30\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: $300\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样室温度: $320\text{ }^{\circ}\text{C}$; 检测室温度: $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

3 联用技术分析

联用技术 (液质联用或气质联用) 是近 10 年才开始的, 尤其 LC-MS/MS 在定性定量方面都显示了无与伦比的优越性, 其特点为高分辨率, 低噪音, 分析时间短, 可以研究结构和碎片反应, 并可直接分

析多组分混合物, 而其用于甘草类制剂的体内过程研究到近 3 年才有报道, 可达 ng 级。

丁黎等^[25]建立了人血浆中甘草次酸的 LC-MS 测定法, 并研究其在健康志愿者的药代动力学, 口服甘草酸二铵胶囊 100 mg 后, 血样经乙酸乙酯提取后, 进行 LC-MS 分析, 色谱柱为 Lichrospher ODS ($5\text{ }\mu\text{m}$, $100\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$), 流动相为乙腈- $10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵水溶液 ($90:10$), 内标为熊果酸, 检测离子为 m/z 469.5 (甘草次酸)、 m/z 455.5 (内标), 裂解电压为 200 V 。按常规剂量给药, 最低定量限为 $0.1\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 此法灵敏、准确、简便, 首次报道了甘草次酸在中国人体内的药代动力学参数, 适于临床药代动力学研究。Lin^[26]等采用 LC-MS/MS 法同时检测人血中甘草酸和它的主要代谢产物甘草次酸的浓度, 流动相: 乙腈- 0.1% 甲酸和 $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵水溶液 ($50:50\text{ v/v}$); 流速: $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 内标 α -常春藤苷。多反应离子监测 (MRM) 进行定量分析, 电喷雾离子化的正离子模式检测, 检测离子为 m/z $823 \rightarrow 453$ (甘草酸), m/z $471 \rightarrow 177$ (甘草次酸), m/z $752 \rightarrow 456$ (内标)。最低检测限均为 $10\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。此法稳定、准确、灵敏, 可作为二者的体内含测方法。包元武^[27]对小柴胡汤给药后甘草酸及其代谢产物在大鼠体内的药代动力学进行研究, 运用 LC-MS/MS 技术建立了同时检测生物样品 (包括尿、粪和血浆) 中甘草酸、甘草次酸单葡萄糖醛酸苷和甘草次酸的定量分析方法, 美国 Thermo Finnigan 公司 Surveyor 高效液相色谱仪串联三重四极杆质谱仪 (配有电喷雾离子源 (ESI) 以及 Xcalibur 1.4 数据处理系统)。色谱柱为 Zorbax XDB-C₁₈ ($50\text{ mm} \times 2.1\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 柱温: 室温; 流动相: A 为乙腈-水 ($10:90\text{ v/v}$, 含 0.02% 甲酸铵); B 为乙腈-水 ($50:50\text{ v/v}$, 含 0.02% 甲酸铵); 梯度洗脱, 流速: $0.3\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$ 。质谱的检测方式为正离子检测, 内标为酮若芬。Kerstens 等^[23]用 GC-MS 联用分析了尿液中的甘草次酸, 有助于诊断甘草的滥用, 采用了 Hewlett-Packard 5890 气相色谱仪串联 70-250S 质谱仪 (Micromass Inc., Manchester, UK), 用 12.5 m Hewlett-Packard 柱进行色谱分离, 18β -甘草次酸浓度在 GC 检测限附近或检测限下时采用 GC-MS 联用, 18β -甘草次酸的特征离子为 m/z 483 GC-MS 检测限为 $3\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 而尿液中 GC 检测限为 $10\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

4 免疫分析法

寺泽捷年^[28]早在 1985 年就用免疫分析法进行了大鼠体内甘草次酸的代谢研究。利用抗甘草皂苷单克隆抗体以 Western 印迹法免疫染色检测了甘草次酸的葡萄糖苷酸。Shan 等^[29]用酶联免疫吸附测定甘草甜素, 使用抗甘草酸单克隆抗体和一种 eastern 印记技术测定甘草次酸和葡萄糖醛酸苷。俄国研究者 Feduk 等^[30]建立了一个试验性的酶免疫测定试剂盒在药动学研究时检测甘草酸, 使用新试剂盒检测小鼠、豚鼠 *p* 或 *w* 给药后血浆中甘草酸的浓度与 HPLC 的检测结果一致。Putalin 等^[31]建立了一种快速检测甘草酸的免疫色谱法, 是基于一种竞争性的免疫定量分析, 使用抗甘草酸的单克隆抗体和一种检测剂 (涂有抗甘草酸的单克隆抗体的胶体金颗粒), 可快速有效地筛选植物、生物样品和食品中存在的甘草甜素, 检测限为 $250 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Sakai 等^[32]在装有表面细胞质基因组共振的免疫传感器上使用抗甘草酸的单克隆抗体和甘草酸牛血清白蛋白结合物, 可灵敏地、选择性地检测甘草酸, 并评价亲和力和参数。Zeng^[33]等建立了一种专属、灵敏的酶联免疫吸附分析 (ELISA) 测定甘草酸, 定量研究了几个中药方剂中的甘草酸在大鼠体内的初步药动学, 相比 HPLC 法, ELISA 具有检测限低、高专属性、和无需样品前处理等优点。

综合上述分析方法, 目前色谱技术在甘草酸的生物样品检测中仍占主导地位; 液质联用技术具有高灵敏度 (达 ng 级)、快速、准确、简便的特性, 在对甘草酸的体内过程进行定量分析的同时还可对成分的结构进行解析, 有与无与伦比的优越性, 但其昂贵的费用也制约了其广泛使用; 酶联免疫吸附法相比 HPLC 法具检测限低、高专属性和无需样品前处理等优点, 但费用昂贵; GC 法具检测限低、高专属性等特点, 但样品前处理复杂。因此, 具有高效、快速、适用范围广、简便、经济等特性的 HPLC 法, 尽管灵敏度低于液质联用技术, 但依然是国内外使用最广泛的检测生物样品中甘草酸及其代谢产物的方法。

人体和动物口服甘草酸类制剂后, 甘草酸及其代谢产物的体内药时特征并无确切共识, 差异可能由于分析方法的差异。随着科学技术的发展, 应用先进技术手段建立有效而实用的原位、在体、实时、在线和高灵敏度、高选择性的新型动态分析测定方法, 应是甘草有效成分体内测定技术发展的趋势。笔者希望通过此综述, 为不断提高和完善甘草酸的体内检测方法提供更广阔的思

路, 为甘草类制剂的进一步开发, 体内过程研究及临床监测提供参考。

参考文献

- 1 HE Ping (贺平), JIA Sui-wang (贾随旺), WU Meng-chao (吴孟超), *et al*. The pharmacokinetics of glycyrrhizin in mice and its binding to human plasma protein (小鼠甘草酸的药代动力学及其与入血浆蛋白结合率). *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 1998, 14(1): 89
- 2 ZHANG He-ping (张和平), HE Ping (贺平), LIL in-fang (李琳方), *et al*. HPLC determination for trace glycyrrhizic acid in the blood (血液中微量甘草酸的 HPLC 测定). *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 1997, 28(8): 373
- 3 FAN Yi (范益), DING Jian-hua (丁建华), LU Su-yi (刘苏怡), *et al*. Studies on distribution in mice tissues of α -glycyrrhizic acid and β -glycyrrhizic acid (α -与 β -甘草酸在小鼠体内分布的研究). *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2004, 9(6): 619
- 4 HUANG Xi (黄熙), ZHANG Li (张莉), WANG Li-li (王丽丽), *et al*. Determination of ammonium glycyrrhizinate in rat plasma by RP-HPLC (反相高效液相色谱法测定大鼠血中的甘草酸铵). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2001, 21(4): 233
- 5 XIANG Qi (项琪), CHENG Gang (程刚), CHEN Ji-min (陈济民). Pharmacokinetics and bioavailability of paeonia and glycyrrhizae Rad. decoction in rats (芍药甘草汤在大鼠体内药代动力学研究). *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(9): 615
- 6 LI Xiao-guang (李晓光), ZHA I Sui-di (翟所迪). Study of the in vitro and in vivo pharmaceutical behaviors of monoammonium glycyrrhizinate liposome (甘草酸单铵脂质体体内药理学研究). *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2003, 12(11): 915
- 7 ZENG Chun-xiang (曾春香), YANG Qing (杨晴), HU Q in (胡琴). Distribution and metabolism of magnesium isoglycyrrhizinate and compound glycyrrhizin in rats' tissues (异甘草酸镁与复方甘草酸苷在大鼠体内分布和代谢的比较研究). *J China Pharm* (中国药房), 2006, 17(20): 1543
- 8 SHEN Jin-fang (沈金芳), PANG Xiao-yun (潘晓云), SUN Li (孙黎). Pharmacokinetics of intravenous magnesium isoglycyrrhizinate in human (异甘草酸镁注射液人体内药动学研究). *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2005, 40(10): 769
- 9 YUAN Qiong-ying (袁琼英), LU Hou-yu (刘厚钰), ZHOU Kang (周康), *et al*. Pharmacokinetics of glycyrrhizin liposome and glycyrrhizin (甘草甜素脂质体和甘草甜素的药动学比较). *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2005, 14(7): 904
- 10 WU Lin-hua (吴琳华), WU Wei-hang (吴伟航), LIU Hong-mei (刘红梅), *et al*. Determination of glycyrrhetic acid in human plasma by HPLC (高效液相色谱法测定人血浆中甘草次酸浓度). *Chin J Inf TCM* (中国中医药信息杂志), 2005, 12(6): 9
- 11 WU Xi-ming (吴锡铭). Progress in the pharmacokinetics and pharmacology of ammonium glycyrrhizinate (甘草酸铵的药动学和药效学等的研究进展). *Chin Pharm Bull* (药学通报), 1987, 22(8): 449
- 12 Shibata N, Shinokawa T, Jiang ZQ, *et al*. Characteristics of intestinal

- absorption and disposition of glycyrrhizin in mice *Biopharm Drug Dispos*, 2000, 21: 95
- 13 GaoQT, CHEN XH, BiKS. Comparative pharmacokinetic behavior of glycyrrhetic acid after oral administration of glycyrrhizic acid and Gancao—Fuzi—Tang *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(2): 226
- 14 Wang Z, Kurosaki Y, Nakayama T, *et al*. Mechanism of gastrointestinal absorption of glycyrrhizin in rats *Biol Pharm Bull*, 1994, 17(10): 1399
- 15 Okamura N, Miyachi H, Choshi T, *et al*. Simultaneous determination of glycyrrhizin metabolites formed by the incubation of glycyrrhizin with rat feces by semi-micro-high-performance liquid chromatography *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(5): 658
- 16 Raggi MA, Maffei F, Buganelli F, *et al*. Bioavailability of glycyrrhizin and licorice extract in rat and human plasma as detected by a HPLC method *Pharmazie*, 1994, 49(4): 269
- 17 Ching H, Hou YC, Hsü SL, *et al*. Influence of honey on the gastrointestinal metabolism and disposition of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in rabbits *Biol Pharm Bull*, 2002, 25(1): 87
- 18 Koga K, Ohmachi K, Kawashina S, *et al*. Determination of 18 α -glycyrrhizin and 18 β -glycyrrhizin in dog plasma by high-performance liquid chromatography *J Chromatogr B*, 2000, 738(1): 165
- 19 van Rossum TGJ, Vullo AG, Hop WCJ, *et al*. Pharmacokinetics of intravenous glycyrrhizin after single and multiple doses in patients with chronic hepatitis C infection *Clin Therap*, 1999, 21(12): 2080
- 20 Yamamura Y, Kawakami J, Santa T, *et al*. Pharmacokinetic profile of glycyrrhizin in healthy volunteers by a new High Performance Liquid Chromatographic Method *J Pharm Sci*, 1992, 81(10): 1042
- 21 Ishiwata S, Nakashita K, Niizeki M, *et al*. Determination of serum concentrations of glycyrrhizin in humans by semi-micro high-performance liquid chromatography after administration of a therapeutic dose *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(8): 904
- 22 LÜ Jian (吕坚), WU Xi-ming (吴锡铭), ZHOU Qing (周晴), *et al*. Determination of the epimeric ratio of 18H-glycyrrhizin in rat plasma by GC (气相色谱法测定大鼠血浆中 18-H 甘草酸差向异构体含量). *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 1993, 28(9): 552
- 23 Kerstens MN, Eguillaume CPE, WOLTERS BC, *et al*. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of urinary glycyrrhetic acid: an aid in diagnosing liquorice abuse *J Int Med*, 1999, 246: 539
- 24 CHEN Wei (陈威), FU Shao-wei (付少伟), HE Xiao (何晓). In vitro plasma protein binding of 18H-glycyrrhizin in human by GC (气相色谱法测定甘草酸 α 体、 β 体及其苷元的人血浆蛋白结合率). *Strait Pharm J* (海峡药理学), 2005, 17(4): 59
- 25 Ding L, Huang X, Yang J, *et al*. Determination of glycyrrhetic acid in human plasma by LC-ESI-MS *J Pharm Biol Anal*, 2006, 40: 758
- 26 Lin ZJ, Qiu SX, Wufuer A, *et al*. Simultaneous determination of glycyrrhizin, a marker component in radix glycyrrhizae and its major metabolite glycyrrhetic acid in human plasma by LC-MS/MS *J Chromatogr B*, 2005, 814: 201
- 27 BAO Yuan-wu (包元武). Studies on analysis method of saikosaponin derivatives in Xiaochaihu-tang and pharmacokinetics of glycyrrhizin and its metabolites (小柴胡汤中柴胡皂苷类化合物的分析方法学研究及甘草酸及其代谢产物的药代动力学研究): [Doctor Thesis (博士论文)]. Shanghai (上海): Graduate School of Chinese Academy of Science (中国科学院研究生院), 2005
- 28 Katsutoshi T (寺泽捷年). Metabolism study of glycyrrhetic acid II—metabolism in rat (甘草次酸体内代谢研究 II—大鼠体内代谢). *Foreign Med Sci (TCM Sect)* (国外医学中医中药分册), 1987, 9(2): 31
- 29 Shan SJ, Tanaka H, Shoyama Y. Enzyme-linked immunosorbent assay for glycyrrhizin using anti-glycyrrhizin monoclonal antibody and an eastern blotting technique for glucuronides of glycyrrhetic acid *Anal Chem*, 2001, 73(24): 5784
- 30 Feduk NV, Ilcheva TN, Ofkin SE, *et al*. Immunoassay test-system for detection of glycyrrhizic acid *Exp Klin Farmakol*, 2001, 64(5): 66
- 31 Putak W, Tanaka H, Shoyama Y. Rapid detection of glycyrrhizin by immunochromatographic assay *Phytochem Anal*, 2005, 16(5): 370
- 32 Sakai T, Shinahara K, Torimaru A, *et al*. Sensitive detection of glycyrrhizin and evaluation of the affinity constants by a surface plasmon resonance-based immunosensor *Anal Sci*, 2004, 20(2): 279
- 33 Zeng HJ, Yu BY, Liu JH, *et al*. Determination of glycyrrhizin in Chinese prescriptions and biological samples by enzyme-linked immunosorbent assay *Anal Chim Acta*, 2006, 564(2): 173

(本文于 2007 年 12 月 27 日收到)