

2.11 回收率试验:取批号为 20040201 折样品适量,共 6 份,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别加精密入 1 mL 683.8 $\mu\text{g/mL}$ 五味子醇甲对照品溶液,制备供试品溶液,进行测定,计算得平均回收率为 99.5%,RSD 为 2.28%。

2.12 样品测定:取 10 批样品,制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,采用外标法计算五味子醇甲的质量分数,结果见表 1。

3 讨论

本品制得的供试品溶液曾采用《中国药典》2005 年版一部收载的五味子测定项下的流动相甲醇-水

表 1 五子衍宗片中五味子醇甲的测定结果

Table 1 Determination of schisandrin in Wuzi Yanzong Tablets

批 号	五味子醇甲 ($\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$)	批 号	五味子醇甲 ($\mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$)
20040302	40.2	20040405	48.9
20040201	50.1	20040408	45.3
20040307	59.3	20040308	57.6
20040202	54.1	20040310	60.6
20040403	42.6	20040311	62.3

(13:7),五味子醇甲峰与其他峰分离度不好,相互干扰,经试验采用乙腈-0.5%磷酸溶液(45:55,pH 值为 2.1~2.3)为流动相供试品溶液主峰与其他峰分离较好。

柱前衍生-异硫氰酸苯酯法测定宁心宝胶囊中水解氨基酸

王 棘^{1,2},毕开顺¹

(1. 沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016; 2. 辽宁省食品药品检验所,辽宁 沈阳 110023)

宁心宝胶囊为新鲜冬虫夏草中分离得到的麦角菌科真菌虫草头孢 *Cephalosporium sinensis* Chen sp. Nov 经液体深层发酵所得菌丝体的干燥粉末制成的胶囊,具有提高窦性心率,改善窦房结、房室传导功能,改善心脏功能的作用,用于多种心律失常,房室传导阻滞,难治性缓慢型心律失常传导阻滞^[1]。现行标准规定了甾体化合物和氨基酸两项定性鉴别,并以每粒含氮量作为定量指标。随着大量虫草菌丝体发酵产品被开发,人工虫草产品中化学成分的整体水平接近于虫草子实体,水解后氨基酸的种类和数量也能从一个方面反映其质量优劣,这对确保其疗效是非常重要的^[2]。为了准确反映产品的内在质量,有必要对宁心宝胶囊水解得到的氨基酸进行研究。本实验建立了柱前衍生 RP-HPLC 法测定宁心宝胶囊中 16 种水解氨基酸,实验结果表明,本方法简便、快速、准确。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AD 高效液相系统,包括 SCL-10A_{VP} 控制器 LC-10AD_{VP} 泵,SPD-10A_{VP} 紫外检测器,SIL-10AD_{VP} 自动进样器,CTO-10A_{VP} 柱温箱,LC Solution 色谱工作站。

16 种氨基酸门冬氨酸(aspartic acid, Asp)、谷

氨酸(glutamic acid, Glu)、丝氨酸(serine, Ser)、甘氨酸(glycine, Gly)、组氨酸(histidine, His)、精氨酸(arginine, Arg)、苏氨酸(threonine, Thr)、丙氨酸(alanine, Ala)、脯氨酸(praline, Pro)、酪氨酸(tryptophan, Tyr)、缬氨酸(valine, Val)、蛋氨酸(methionine, Met)、异亮氨酸(isoleucine, Ile)、亮氨酸(leucine, Leu)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、赖氨酸(lysine, Lys)对照品(批号 624-200104,质量分数>98%,中国药品生物制品检定所)。异硫氰酸苯酯(批号 20020801,亭新化工试剂厂),乙腈为色谱纯,三乙胺、正己烷、乙酸钠均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:A(0.1 mol/L 乙酸钠水溶液)、B 乙腈-水(4:1),梯度洗脱:0~15 min,0~7%B;15~25 min,7%~23%B;25~35 min,23%~33%B;35~40 min,33%~100%B;检测波长:254 nm;体积流量:1.0 mL/min;柱温:36 $^{\circ}\text{C}$;自动进样,进样量 3 μL 。

2.2 样品处理:精密称取宁心宝胶囊内容物 250 mg,置 25 mL 水解罐中,加 6 mol/L 盐酸溶液 15 mL,充 N₂,于 110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 12 h,取出放冷,水解液倒

收稿日期:2007-12-06

作者简介:王 棘(1977—),女,辽宁沈阳人,主管药师,硕士研究生,1999 年毕业于沈阳药科大学药物制剂专业,从事生化药物分析。
Tel:13674279842 E-mail: nebula_sea@hotmail.com

入蒸发皿中,用 50 mL 水分次洗涤水解罐,洗液并入蒸发皿中,蒸干,残渣用水洗涤 3 次,每次 10 mL,合并洗液,滤过至 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。

2.3 衍生化方法:取对照品和供试品溶液各 0.5 mL,分别加 1 mol/L 三乙胺乙醇液 0.25 mL 和 0.1 mol/L PITC 衍生试剂 0.25 mL,室温放置 1 h,加正己烷 0.5 mL,充分混匀,放置 10 min,取下层,滤过,取 3 μ L 进样分析。

2.4 线性关系考察:分别取 16 种氨基酸对照品适

量,精密称定,置 50 mL 量瓶中,用水溶解并定容至刻度,制成质量浓度分别为 236.2、215.8、207.4、205.8、203.4、208.4、219.8、260.4、216.0、189.0、190.0、241.8、216.8、207.8、215.8、177.0 μ g/mL 的溶液,摇匀,备用。依次分别精密量取 16 种氨基酸对照品溶液 1.0、2.0、5.0、10.0、25 mL 置 25 mL 量瓶中,用水定容至刻度,摇匀,即得系列对照品溶液。分别吸取 0.5 mL 进行衍生。进样测定,以各氨基酸质量浓度对峰面积值作图,绘制标准曲线。结果表明,16 种氨基酸呈良好的线性关系,其回归方程见表 1。

表 1 16 种氨基酸的线性回归方程

Table 1 Linear regression equation of 16 amino acids

氨基酸	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μ g $\cdot$ mL ⁻¹)
Asp	$Y=7.321 \times 10^5 X-1.096 \times 10^4$	0.999 9	9.45~236.2
Glu	$Y=7.108 \times 10^5 X-1.431 \times 10^4$	0.999 9	8.63~215.8
Ser	$Y=1.182 \times 10^7 X-3.792 \times 10^4$	0.999 7	8.30~207.4
Gly	$Y=1.715 \times 10^7 X-8.330 \times 10^4$	0.999 7	8.23~205.8
His	$Y=8.250 \times 10^5 X-4.048 \times 10^4$	0.999 4	8.14~203.4
Arg	$Y=7.210 \times 10^5 X-2.020 \times 10^4$	0.999 7	8.34~208.4
Thr	$Y=1.004 \times 10^7 X-3.897 \times 10^4$	0.999 6	8.79~219.8
Ala	$Y=1.422 \times 10^7 X-7.942 \times 10^4$	0.999 5	10.42~260.4
Pro	$Y=1.185 \times 10^7 X-3.511 \times 10^4$	0.999 6	8.64~216.0
Tyr	$Y=7.961 \times 10^5 X-1.300 \times 10^4$	0.999 0	7.56~189.0
Val	$Y=1.232 \times 10^7 X-2.782 \times 10^4$	0.999 7	7.60~190.0
Met	$Y=9.410 \times 10^5 X-3.480 \times 10^4$	0.999 6	9.67~241.8
Ile	$Y=1.127 \times 10^7 X-4.397 \times 10^4$	0.999 5	8.67~216.8
Leu	$Y=1.014 \times 10^7 X-3.983 \times 10^4$	0.999 5	8.31~207.8
Phe	$Y=8.760 \times 10^5 X-1.017 \times 10^4$	0.999 1	8.63~215.8
Lys	$Y=1.833 \times 10^7 X-7.124 \times 10^4$	0.999 4	7.08~177.0

2.5 回收率试验:精密称取 6 份宁心宝胶囊(批号 20040702)内容物 10 mg,精密加入含 16 种氨基酸质量浓度均约为 0.04 mg/mL 对照品溶液 5 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸平均回收率和 RSD 分别为 103.9%(2.8%)、103.3%(2.5%)、97.4%(1.7%)、85.2%(2.2%)、100.0%(1.3%)、100.0%(1.3%)、94.7%(1.9%)、100.0%(1.5%)、93.2%(1.6%)、100.0%(1.3%)、97.6%(1.6%)、97.2%(1.1%)、98.4%(1.3%)、99.2%(1.9%)、92.5%(2.5%)、104.7%(2.5%)。

2.6 精密度试验:取氨基酸对照品溶液的衍生液,连续进样 5 次,分别测定峰面积,计算得门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸 16 种氨基酸的峰面积 RSD 分别为 2.2%、2.2%、1.5%、0.8%、1.6%、1.1%、

1.2%、0.7%、0.6%、0.8%、0.5%、0.8%、0.6%、0.6%、0.6%、0.7%。

2.7 重现性试验:取同一批(批号 05031501)宁心宝胶囊内容物 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸的质量分数,结果其 RSD 分别为 1.7%、1.4%、1.1%、1.8%、2.6%、1.4%、0.6%、0.9%、1.1%、1.0%、2.6%、2.6%、1.3%、1.4%、1.6%、1.1%。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 进样,测定峰面积,计算得门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸的 RSD 分别为 3.4%、3.4%、2.4%、1.5%、1.4%、2.1%、2.0%、1.4%、1.6%、1.3%、1.1%、1.7%、1.3%、1.4%、1.3%、1.8%。结果表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.9 样品测定:精密称取供试品(规格 0.25 g/粒),

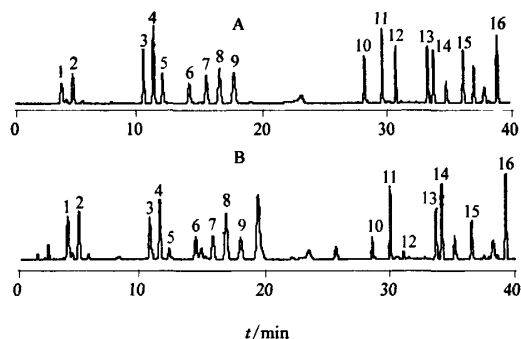
制备供试品溶液,进样测定,每份供试品重复进样 2 次,用峰面积按外标法定量。4 个厂家宁心宝胶囊的水

解氨基酸测定结果见表 2。16 种氨基酸对照品溶液和宁心宝胶囊中水解氨基酸的 HPLC 分离结果见图 1。

表 2 宁心宝胶囊的测定结果

Table 2 Determination of amino acid in Ningxinbao Capsula

批 号	质量分数/(mg·粒 ⁻¹)															
	Asp	Glu	Ser	Gly	His	Arg	Thr	Ala	Pro	Tyr	Val	Met	Ile	Leu	Phe	Lys
辽宁天龙药业有限公司(20020301)	6.163	5.273	2.784	4.563	1.187	3.715	3.068	4.452	3.488	1.434	3.303	0.773	2.692	4.169	2.837	3.671
昆明赛诺制药有限公司(05031501)	6.719	5.928	4.206	3.395	1.464	3.643	3.176	4.749	2.615	1.761	3.631	0.475	3.111	4.705	3.083	3.607
东北制药集团沈阳第一制药厂(050601)	7.948	7.895	4.220	3.811	1.703	4.442	3.817	5.480	3.065	2.482	4.526	0.807	4.028	6.238	3.833	4.709
锦州九洋药业有限责任公司(20040702)	6.409	6.016	3.534	3.153	1.385	4.032	3.159	4.562	2.644	1.919	3.747	0.677	3.300	5.144	3.167	3.997



1-Asp 2-Glu 3-Ser 4-Gly 5-His 6-Arg 7-Thr 8-Ala
9-Pro 10-Tyr 11-Val 12-Met 13-Ile 14-Leu 15-Phe
16-Lys

图 1 氨基酸对照品(A)和宁心宝胶囊(B)的 HPLC 图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of amino acids reference substances (A) and Ningxinbao Capsula (B)

3 讨论

由于宁心宝胶囊对心脏病的作用机制尚未十分明确,还有待更进一步的探讨和研究^[3]。为了更有效地控制好该品种的质量,确保其临床疗效,笔者用异硫氰酸苯酯(PITC)柱前衍生化 RP-HPLC 法测定其氨基酸。通过酸水解使其转化成游离氨基酸,比原有标准测其总氮量的方法更确切、全面,对控制其工艺稳定性提供了可靠依据。此法具有分析时间短、成本低、重现性好、稳定性好等优点,对控制该药品质量起到一定的作用。

参考文献:

- [1] 卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂第 11 册, 1996.
- [2] 王尊生,顾宇翔. 冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)菌丝体固体发酵粉化学成分的分析[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17 (3): 331-336.
- [3] 周建树,池景良,李鑫. 冬虫夏草的化学成分及药理功能研究进展[J]. 人参研究, 2005(1): 18.

HPLC 法测定黄体超泻痢丹中甘草酸

王 杰¹,黄可婧¹,吕曙华¹,樊 岩²

(1. 天津市药品检验所,天津 300070; 2. 天津工业大学,天津 300160)

黄体超泻痢丹为香港黄体超制药厂产品,其处方以甘草、赤石脂、茯苓等中药材组成,具有治疗急泻、湿滞泻、食滞泻、呕吐肚痛等功效。处方中甘草具有补脾益气,清热解毒,缓急止痛,调和诸药作用,与成品的功效相吻合。因此,本实验采用高效液相色谱法,以甘草酸为定量指标进行了测定,为该制剂的质量控制提供了保证。

1 仪器与试剂

日本岛津 2010A 高效液相色谱仪。

甘草酸铵对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 110731-200511),黄体超泻痢丹由香港标准

及检定中心提供,甲醇、冰醋酸、醋酸铵为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液-冰醋酸(67:33:1);柱温:30℃;体积流量:1 mL/min;检测波长:250 nm。理论板数按甘草酸峰计算应不低于 3 000。色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:取甘草酸对照品适量,精密称定,加流动相制成 0.1 mg/mL 的溶液,摇匀,

柱前衍生-异硫氰酸苯酯法测定宁心宝胶囊中水解氨基酸

作者：[王棘](#)，[毕开顺](#)
作者单位：[王棘](#)(沈阳药科大学药学院, 辽宁, 沈阳, 110016; 辽宁省食品药品检验所, 辽宁, 沈阳, 110023)，[毕开顺](#)(沈阳药科大学药学院, 辽宁, 沈阳, 110016)
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年，卷(期)：2008, 39(7)
被引用次数：2次

参考文献(3条)

1. [中药成方制剂](#) 1996
2. [王尊生](#); [顾宇翔](#) [冬虫夏草\(Cordyceps sinensis\)菌丝体固体发酵粉化学成分的分析](#)[期刊论文]-[天然产物研究与开发](#) 2005(03)
3. [周建树](#); [池景良](#); [李鑫](#) [冬虫夏草的化学成分及药理功能研究进展](#)[期刊论文]-[人参研究](#) 2005(01)

本文读者也读过(6条)

1. [黄哲昶](#). [隋玉荣](#). [李海生](#). [孙长海](#). [Huang Zhesu](#). [Sui Yurong](#). [Lee Haisheng](#). [SUN Changhai](#) [异硫氰酸苯酯柱前衍生法测定安尿通中3种氨基酸含量](#)[期刊论文]-[现代仪器](#)2005, 11(2)
2. [刘同享](#). [王要军](#). [刘世仁](#). [邹志强](#) [复方冬虫夏草多糖脂质体口服液治疗肝炎后肝硬化的疗效](#)[期刊论文]-[实用医药杂志](#)2005, 22(4)
3. [骆达](#). [李惠芬](#). [李秀兰](#). [周静](#). [杜凡](#). [王丽](#) [异硫氰酸苯酯衍生化-HPLC法测定龟甲中胶原蛋白](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2008, 39(6)
4. [李惠芬](#). [骆达](#). [张庆伟](#). [朱丽丽](#). [李鋆](#). [LI Hui-fen](#). [LUO Da](#). [ZHANG Qing-wei](#). [ZHU Li-li](#). [LI Jun](#) [柱前衍生化RP-HPLC法分析龟板中氨基酸](#)[期刊论文]-[中草药](#)2005, 36(11)
5. [陆芳芳](#). [孙伟](#) [冬虫夏草制剂在肾脏病中的应用](#)[期刊论文]-[吉林中医药](#)2009, 29(11)
6. [梁健](#). [孙国祥](#). [熊丽](#). [金杰](#). [董鸿晔](#). [毕开顺](#). [LIANG Jian](#). [SUN Guo-xiang](#). [XIONG Li](#). [JIN Jie](#). [DONG Hong-ye](#). [BI Kai-shun](#) [中药HPLC指纹图谱在线专家系统分离系统初步研究](#)[期刊论文]-[中南药学](#)2009, 7(3)

引证文献(2条)

1. [黄浩](#). [侯媛媛](#). [肖雪](#). [傅俊曾](#). [宋生有](#). [白钢](#). [罗国安](#) [邻苯二甲醛-9-氯甲酸苄甲酯柱前衍生HPLC法测定血必净注射液](#)[中氨基酸](#)[期刊论文]-[现代药物与临床](#) 2011(1)
2. [徐飞](#). [谭乐和](#). [陈鹏](#). [朱红英](#). [胡荣锁](#). [张翠玲](#) [OPA-FMOC柱前衍生反相高效液相测定糯米香茶叶片中的氨基酸](#)[期刊论文]-[热带作物学报](#) 2012(8)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807025.aspx