

■在生物药品分析中的应用 (肽制剂催产素的氨基酸组成分析)

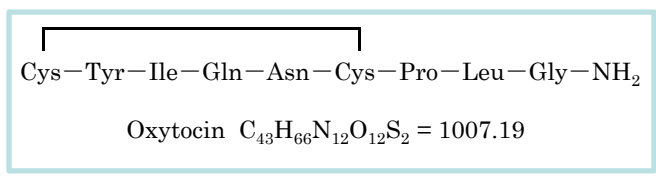
AS/AAA-005

催产素是由9种氨基酸组成的肽。评价肽制剂(如催产素)品质的一种测试方法是确认氨基酸的组成。

本报告中使用适合于L-8900型日立高速氨基酸分析仪的高效分离柱,依照日本药典的分析方法,分析测定了催产素的氨基酸组成。使用标准试剂催产素醋酸盐作为药品的试样。

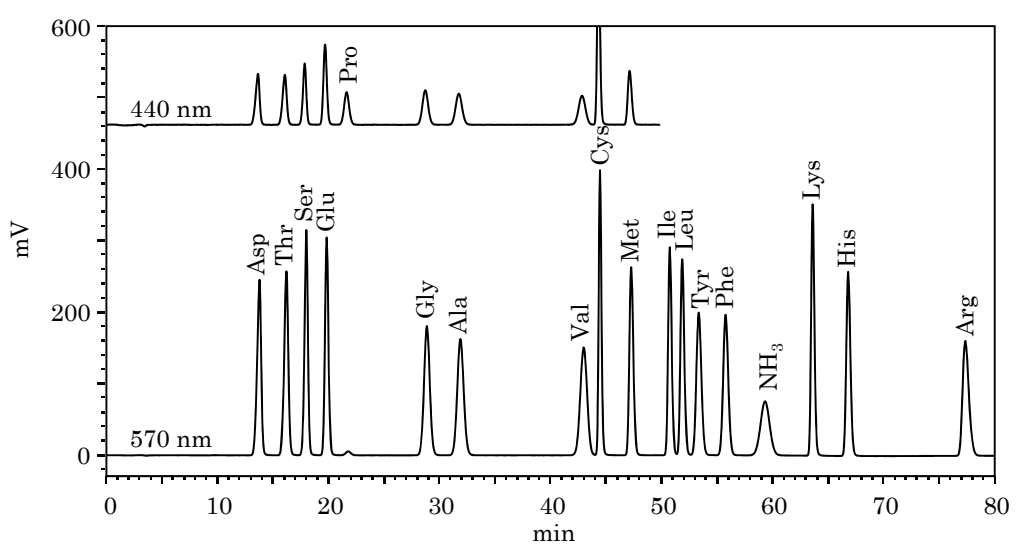


【L-8900型 日立高速氨基酸分析仪】



【催产素的结构式】

■标准样品测定例 (系统适用性的确认)



【氨基酸标准溶液测定例 (各 10 nmol/20 μL)】

(色谱图中标记的Cys表示胱氨酸(半胱氨酸的2聚体)。)

<标准分析色谱条件>

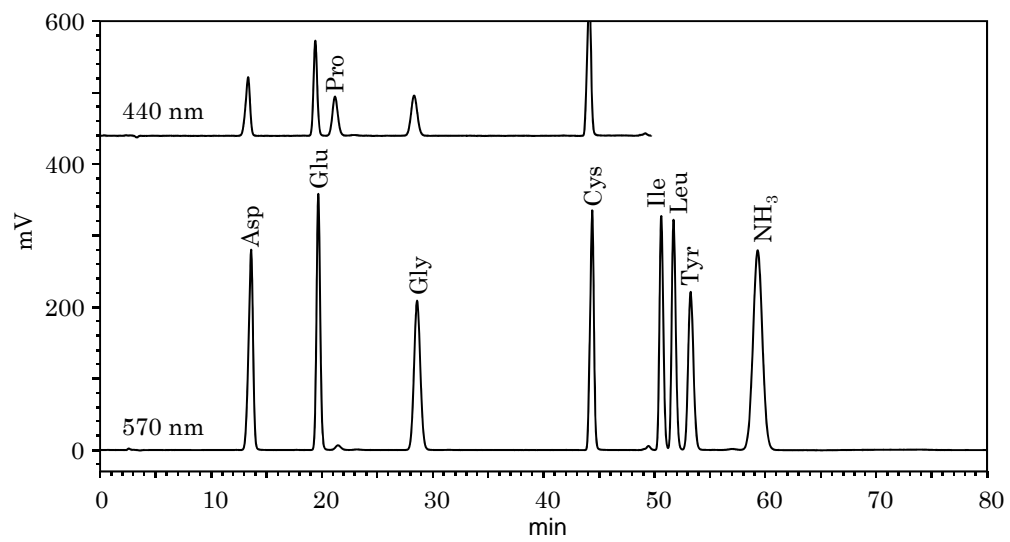
分析柱	: #2622 4.6 mm I.D. × 80 mm	反应液	: Ninhydrin coloring solution kit for HITACHI
脱氨柱	: #2650L 4.6 mm I.D. × 60 mm	反应液流速	: 0.3 mL/min
流动相	: PH-Buffer Kit	反应温度	: 130 °C
流速	: 0.26 mL/min	检测波长	: VIS 440nm、570 nm
柱温	: 57 °C	进样量	: 20 μL

(注) 根据药典对流动相进行了部分调整。

系统适用性项目		规定值	测定结果
系统性能	氨基酸洗脱顺序	依序为天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、胱氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸	如左侧所示
	分离度(苏氨酸-丝氨酸)	1.5 以上	2.93
	分离度(甘氨酸-丙氨酸)	1.4 以上	2.93
	分离度(异亮氨酸-亮氨酸)	1.2 以上	1.79
系统的重现性	天冬氨酸、脯氨酸、缬氨酸、精氨酸的各峰面积的相对标准偏差 (n = 3)	分别为 2.0 % 以下	0.07 %、0.41 % 0.37 %、0.09 %

【系统适用性】 洗脱顺序、分离度、峰面积及其相对标准偏差的结果均充分满足要求的规定值。

■催产素测定例 (组成氨基酸的鉴别)



【催产素的测定例】

(色谱图中标记的Cys表示胱氨酸(半胱氨酸的2聚体)。)

<组成氨基酸的鉴别>

成分名称	规定值 (相对于Leu的摩尔比)	测定结果
天冬氨酸 (Asp)	0.95 ~ 1.05	0.997
谷氨酸 (Glu)	0.95 ~ 1.05	0.995
甘氨酸 (Gly)	0.95 ~ 1.05	1.000
胱氨酸 (Cys)	0.80 ~ 1.05	0.935
异亮氨酸 (Ile)	0.80 ~ 1.10	0.963
亮氨酸 (Leu)	定为1	定为1
酪氨酸 (Tyr)	0.80 ~ 1.05	0.934
脯氨酸 (Pro)	0.95 ~ 1.05	1.007

<样品的预处理方法 (水解)>

- 样品 1mg
- | ← 6 mol/L 盐酸 1mL
- 脱气
- |
- 加热 115 °C、16 hr
- |
- 真空干燥
- |
- 使用2ml 0.02 mol/l的盐酸溶解
- |
- 过滤 孔径 0.2 μm
- |
- 氨基酸分析样品 (20 μL)

相对于理论值1 (定义亮氨酸摩尔值为1), 其他氨基酸相对于亮氨酸 (Leu) 的摩尔比为 0.93 ~ 1.01, 表明得到了理想的结果。

仪器配置: L-8900全自动氨基酸分析仪

注意: 本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。仪器只是研究用仪器, 而不是诊断、治疗或预防人或动物疾病的医疗仪器。