

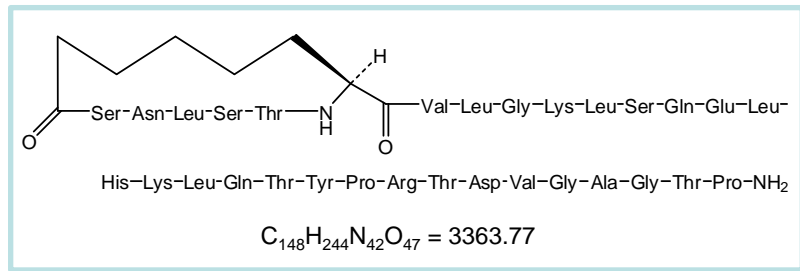
■在生物药品分析中的应用（肽制剂依降钙素的氨基酸组成分析）

AS/AAA-008

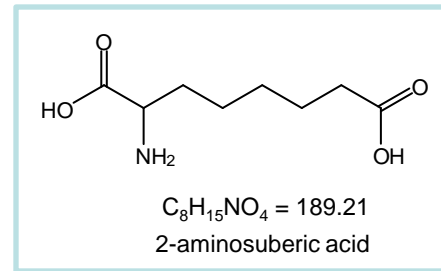
依降钙素是以提高降钙素的稳定性为目的而设计的合成多肽（分子量 3363.77）。由包含L-2-氨基辛二酸在内的31个氨基酸构成。作为此类肽制剂的一种品质评价方法，可以进行氨基酸组成鉴别。

此次，使用L-8900型日立全自动氨基酸分析仪，以日本药典（\*）规定的分析方法（使用3 μm填充剂的色谱柱）得到了依降钙素的氨基酸组成。本次试验所用依降钙素为市售制剂。

（\*）日本药典第16版（2011年4月1日起执行）

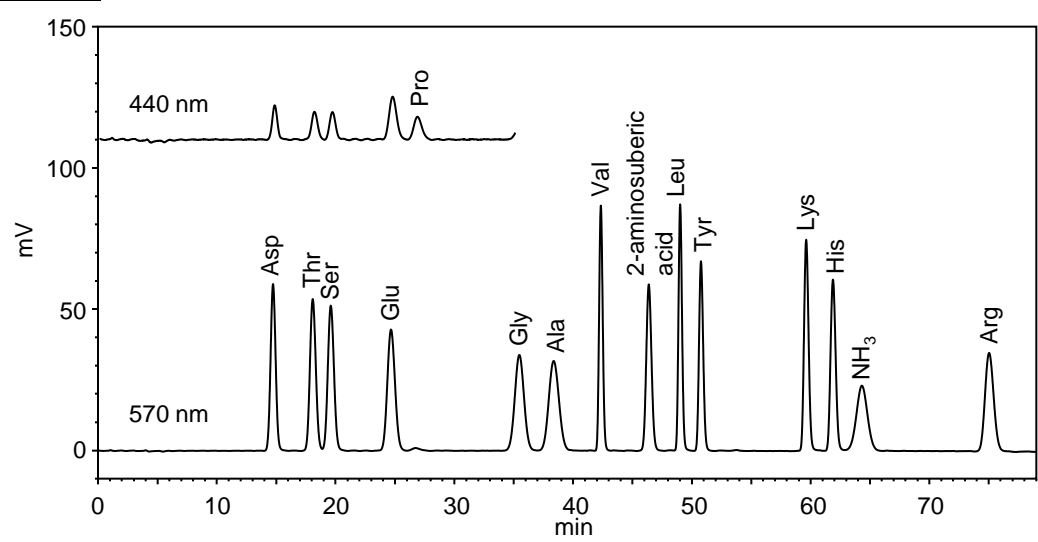


【依降钙素的结构式】



【2-氨基辛二酸】

■标准样品测定例



【14种氨基酸标准溶液的测定例（各 2 nmol/10 μL）】

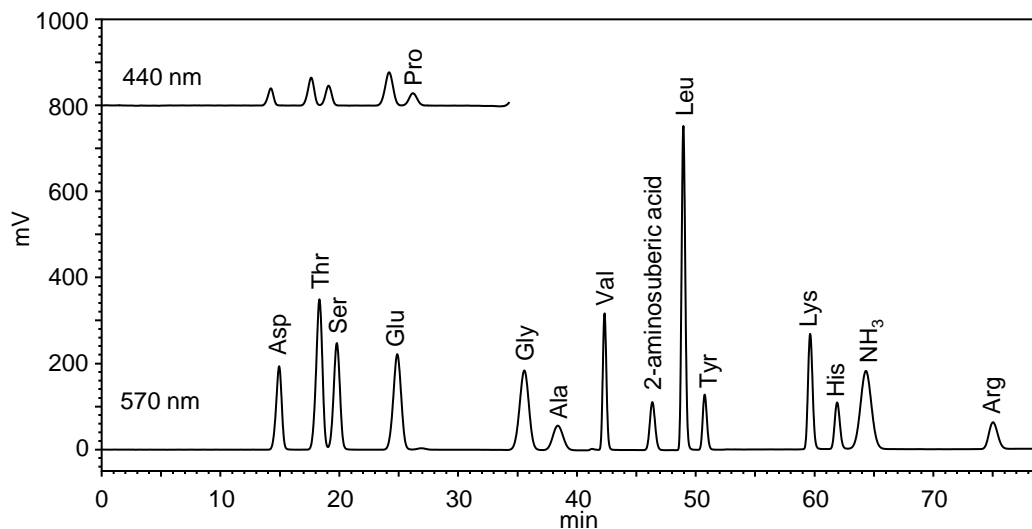
<标准分析法测定条件>

分析柱	: #2620M 4.6 mm I.D. × 80 mm	反应液	: Ninhydrin coloring solution kit for HITACHI
除氨柱	: #2650L 4.6 mm I.D. × 40 mm	反应液流速	: 0.2 mL/min
流动相	: 按照药典规定的组成配制 (4种溶液)	反应温度	: 130°C
流速	: 0.19 mL/min	检测波长	: VIS 440 nm, 570 nm
柱温	: 50 - 65 °C	进样量	: 10 μL

色谱柱的选择项目	规定内容	测定结果
14种氨基酸的洗脱顺序	依次为天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、2-氨基辛二酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸	如左侧所示
峰的分離	完全分离（分离度1.5以上）	分离度 1.61 ~ 13.06

得到了能够满足色谱柱选择要求的结果。另外，虽然药典中没有记载，但是峰面积的相对标准偏差（n = 3）为0.02 ~ 1.33%，得到了良好的重现性。

■依降钙素测定例（组成氨基酸的鉴别）



【依降钙素测定例】

<组成氨基酸的鉴别>

成分名	规定值 (相对于Ala的摩尔比)	测定结果
天冬氨酸 (Asp)	1.7 ~ 2.2	2.0
苏氨酸 (Thr)	3.5 ~ 4.2	3.9
丝氨酸 (Ser)	2.4 ~ 3.0	2.7
谷氨酸 (Glu)	2.7 ~ 3.2	3.0
甘氨酸 (Gly)	2.7 ~ 3.2	3.1
丙氨酸 (Ala)	定为1	定为1
缬氨酸 (Val)	1.6 ~ 2.2	2.1
2-氨基辛二酸	0.8 ~ 1.2	1.1
亮氨酸 (Leu)	4.5 ~ 5.2	5.0
酪氨酸 (Tyr)	0.7 ~ 1.2	1.1
赖氨酸 (Lys)	1.7 ~ 2.2	2.0
组氨酸 (His)	0.8 ~ 1.2	1.0
精氨酸 (Arg)	0.7 ~ 1.2	1.0
脯氨酸 (Pro)	1.7 ~ 2.2	1.9

<样品前处理（水解）>

样品 1 mg  
 | ← 苯酚盐酸溶液 (\*) 1 mL  
 脱气  
 |  
 加热 110 °C、24 hr  
 |  
 真空干燥  
 |  
 以1 mL, 0.02 mol/L 的盐酸溶解  
 |  
 过滤 Pore Size 0.2 μm  
 |  
 氨基酸分析样品 (10 μL)

(\*) 苯酚盐酸溶液: 将 0.2 g 苯酚溶解于 10 mL, 6 mol/L 的盐酸溶液中

其他各氨基酸相对于丙氨酸 (Ala) 的摩尔比均在  
 规定范围内, 得到了良好的结果。

仪器配置: L-8900型 日立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。