

# 瓜蒌皮药材及其注射液中总氨基酸的含量测定方法研究

洪燕龙, 杜守颖, 杨 刚, 郑海云  
(北京中医药大学, 北京 100102)

**摘要:**目的: 建立瓜蒌皮药材及其注射液中总氨基酸的含量测定方法。方法: 比色法。结果: 精氨酸在 0.10008mg~0.50040mg 范围内线性关系良好, 平均回收率 98.76%,  $RSD=1.88\%$ , 结论: 本方法简便易行, 重复性好, 可作为瓜蒌皮药材及其制剂质量控制的一种方法。

**关键词:** 比色法; 瓜蒌皮; 总氨基酸

**中图分类号:** R284.2   **文献标识码:** B   **文章编号:** 1005-9903(2004)03-0010-03

瓜蒌皮是中医治疗胸痹之要药, 瓜蒌皮注射液可用于治疗冠心病, 解除或改善心绞痛、改善心电图, 对喘息型气管炎、肺心病哮喘有较好的镇咳祛痰和平喘作用<sup>[1]</sup>。据文献报道, 瓜蒌皮经阳离子交换所得部位能增加离体豚鼠心脏冠脉流量、扩张麻醉家兔微血管、保护急性心肌缺血大鼠<sup>[2]</sup>, 瓜蒌皮水醇提取物能明显延长大鼠常压缺氧、组织缺氧、特异性心肌缺氧小鼠的存活时间<sup>[3]</sup>。

目前为止, 国内外对瓜蒌皮做了比较深入的化学成分研究, 主要含有精氨酸、亮氨酸、谷氨酸、天冬氨酸等 17 种氨基酸和钾、钠、钙、镁、铜、锌、铁、锰等无机元素及其少量的挥发油、饱和脂肪醇等<sup>[4]</sup>。但是, 对瓜蒌皮及其制剂的质量标准研究很少, 为此我们建立了瓜蒌皮药材及其注射液中总氨基酸的含量测定方法—比色法, 并对该方法进行了考察。该方法简便, 快速, 稳定性较好, 可用于瓜蒌皮药材及其注射液中总氨基酸的含量测定。

## 1 仪器、试剂与材料

**1.1 仪器** 紫外分光光度计(日立 UV-2000), 十万分之一分析天平(METTLER-AE240)

**1.2 试剂** 精氨酸对照品购于北京化学试剂公司(分析纯, 纯度大于 99%, 批号 885-200001)。磷酸盐缓冲溶液: 95ml 1/15mol/L 的磷酸氢二钠溶液+ 5ml 1/15mol/L 的磷酸二氢钾溶液(pH= 8.0)。2% 茛三酮: 水合茛三酮 2.0g, 加水 50ml 0.080g 氯化亚锡搅拌溶解, 于暗处静置过夜, 过滤后, 加水定容至

100ml。其它试剂均为分析纯。

**1.3 材料** 瓜蒌皮药材及其注射液由上海第一生化药业有限公司提供。

## 2 方法与结果

**2.1 含量测定指标成分的选择** 瓜蒌皮注射液中主要含精氨酸、亮氨酸、谷氨酸、天冬氨酸等 17 种氨基酸, 精氨酸含量最高, 故以精氨酸为对照测定总氨基酸含量。

**2.2 供试品溶液及对照品溶液的制备**

**2.2.1 瓜蒌皮注射液供试品溶液的制备** 精密吸取本品 1ml 于 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 作为瓜蒌皮注射液供试品溶液。

**2.2.2 瓜蒌皮药材供试品溶液的制备** 精密称取瓜蒌皮 4g, 加水 100ml, 回流提取 2 次(2h, 1h), 滤过, 残渣用 20ml 水分 2 次洗涤, 洗涤液与滤液合并, 浓缩至约 2ml, 加 10ml 95% 乙醇, 搅匀, 冷藏 12h, 滤过, 滤液蒸干, 加少量水使溶解, 用 10% 的盐酸调节 pH 值至 3~4, 过阳离子交换树脂柱(1.2cm × 20cm), 待液面流至树脂面时, 用蒸馏水 100ml 淋洗, 再用 2mol/L 氨水洗脱, 流速 0.5ml/min。收集 200ml 氨水洗脱液, 水浴上蒸干, 残渣加水使溶解并转移至 50ml 量瓶中, 稀释至刻度, 作为瓜蒌皮药材供试品溶液。

**2.2.3 对照品溶液的制备** 精密称取精氨酸对照品 250.20mg 于 50ml 量瓶中, 加水制成每 ml 含 5.004mg 的溶液, 作为对照品溶液。

**2.3 测定波长的选择** 分别精密吸取对照品溶液 2ml、供试品溶液 1ml 于 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 各精密吸取 1ml 于 25ml 量瓶中, 随行空白一份,

分别加入 0.5ml 磷酸缓冲溶液, 0.5ml 2% 茛三酮溶液, 摇匀后置沸水浴中煮沸 15min, 取出以流水冷却至室温, 加水稀释至刻度, 摇匀, 显色, 在 400nm~700nm 测定吸收光谱, 供试品溶液与对照品溶液在 570nm 处均有最大吸收, 故选择测定波长为 570nm。

**2.4 线性关系考察** 分别精密吸取对照品溶液 (5.004mg/ml) 1ml 2ml 3ml 4ml 5ml 于 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度。各精密吸取上述溶液 1ml, 按“2.3 测定波长的选择”项下的方法显色, 在 570nm 下测定吸收度。以对照品精氨酸量 (mg) 为横坐标, 以吸收度为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为  $Y = 2.8267X - 0.1979$  ( $r = 0.9992$ )。结果表明氨基酸在 0.10008mg~0.50040mg 线性关系良好。

**2.5 稳定性实验** 精取瓜蒌皮注射液同一批号 (020718) 供试品溶液 1ml, 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色、测定, 每隔 15min 测定一次, 表明供试品溶液在 2h 内基本稳定,  $RSD = 0.6\%$ ,  $n = 9$ 。

**2.6 精密度试验** 精密吸取精氨酸对照品溶液 (5.004mg/ml) 2.5ml 于 50ml 量瓶中, 加水稀释至刻度。各精密吸取上述溶液 1ml 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色、测定。总氨基酸含量平均值为 11.668mg/ml,  $RSD = 0.6\%$ ,  $n = 6$ 。

**2.7 重复性试验** 精取瓜蒌皮注射液同一批号 (020718) 的供试品溶液 1ml, 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色、测定。总氨基酸含量平均值为 11.675mg/ml,  $RSD = 2.1\%$ ,  $n = 5$ 。

**2.8 回收率试验** 采用加样回收法。精密吸取已知含量的同一批号 (批号 020718 含量 11.675mg/ml) 的样品 0.5ml 共 5 份于 50ml 量瓶中, 分别精密加入精氨酸对照品溶液 (11.60mg/ml) 0.5ml, 用水溶解、摇匀、定容至刻度。精密吸取 1ml 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色、测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验 ( $n = 3$ )

序 号	样品中总氨基 酸的含量 (mg)	加入精氨酸 的量 (mg)	测出总氨基酸 的总量 (mg)	检出精氨酸 的量 (mg)	回收率 (%)
1	5.837	5.800	11.423	5.586	96.31
2	5.837	5.800	11.588	5.751	99.16
3	5.837	5.800	11.496	5.659	97.57
4	5.837	5.800	11.624	5.787	99.78
5	5.837	5.800	11.697	5.860	101.03

回收率平均值为 98.76%,  $RSD = 1.88\%$ , 本法具有良好的回收率。

**2.9 瓜蒌皮药材总氨基酸含量测定** 精密称取瓜

蒌皮 4g, 按“药材供试品溶液制备”项下制备样品, 精密吸取 1ml, 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色。测定, 结果见表 2。

表 2 不同产地瓜蒌皮药材总氨基酸含量测定结果 ( $n = 3$ )

编号	产地	氨基酸含量 $\bar{X}$ (mg/g)
1	河南	5.280
2	山东	2.672
3	江苏盐城	3.643
4	江苏南通	4.230

**2.10 瓜蒌皮注射液总氨基酸含量测定** 取瓜蒌皮注射液 1 支, 按“供试品溶液制备”项下制备样品, 精密吸取 1ml, 按“2.4 线性关系考察”项下的方法显色、测定样品 10 批, 结果见表 3。

表 3 不同批号瓜蒌皮注射液总氨基酸含量测定结果 ( $n = 3$ )

批号	含量 (mg/ml) 平均值
020412	12.272
020417	14.076
020418	11.582
020419	15.542
020423	9.874
020425	7.945
020426	8.600
020427	7.670
020428	8.243
020430	9.950

### 3 结果与讨论

**3.1** 用本方法测定瓜蒌皮药材及其注射液的总氨基酸含量, 简便、快速、稳定、灵敏性高, 可作为其质量控制的一种方法。但在药材的含量测定中存在着其它成分的干扰, 我们用阳离子交换树脂柱进行纯化, 有效地消除干扰成分的影响。

**3.2** 在瓜蒌皮药材供试品溶液的制备过程中, 考察了回流提取的次数和时间、过柱后洗脱液的收集量, 结果表明回流提取 2 次 (2h、1h) 已提取完全, 收集洗脱液 200ml 即可洗脱完全。

**3.3** 在含量测定的过程中, 曾选用水合茛三酮、乙二醇、醋酸缓冲液、三氯化钛显色的方法, 但此显色反应对三氯化钛的量要求苛刻, 如三氯化钛的量不合适, 加热后极易产生白色浑浊, 故未选用。

**3.4** 在瓜蒌皮药材及其注射液的总氨基酸含量测定中, 由表 2 和表 3 可以看出, 不同产地的瓜蒌皮药材其总氨基酸含量差别很大, 以河南的最高, 山东的最低; 瓜蒌皮注射液总氨基酸含量各批次差别亦较

大,提示产地不同,其质量差别较大,因此生产注射剂的原药材应固定产地,同时应注意控制制剂的质量。

#### 参考文献:

- [1] 上海市医药工业药物实验厂. 瓜蒌的研究 II [J]. 医药工业, 1975, (1): 15-21.
- [2] 杨海鹭, 欧阳静萍, 涂淑珍. 括蒌对家兔急性心肌缺血

再灌注的保护作用 [J]. 湖北医学院学报, 1991, 12(1): 129-131.

- [3] 昭春丽, 王世久. 瓜蒌皮抗缺氧作用的研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 1998, 15(1): 38-40.
- [4] 巢志茂, 何波. 瓜蒌的化学成分研究进展 [J]. 国外医学中医中药分册, 1998, 20(2): 7-10.