

## 氨对 L-精氨酸 UV 法测定的影响

翁连进<sup>1</sup>, 甘林火<sup>1</sup>, 王士斌<sup>1</sup>, 蓝心仁<sup>2</sup>

(1. 华侨大学化工与制药工程系; 2. 华侨大学应用化学系, 福建泉州 362021)

**摘要:** 考察了不同浓度氨对 L-精氨酸坂口反应生成物的最大吸收波长及吸收度的影响。结果表明, 氨浓度增大, 该生成物的最大吸收波长红移且吸收度减小。因此测定前必须除去氨。

**关键词:** 氨; L-精氨酸; 坂口反应; 紫外分光光度

中图分类号: TQ460.7+2 0657.32

文献标识码: A

文章编号: 1001-8255(2004)09-0547-02

L-精氨酸(L-arginine, 1)是人体和动物体内的半必需氨基酸<sup>[1]</sup>, 也是生物体尿素循环的一种重要中间代谢物。临床上除作为复方氨基酸输液的主要组分之一外, 1及其盐类还广泛地用作氨中毒性肝昏迷的解毒剂和肝功能促进剂, 也是配制营养或特殊治疗用途的重要原料<sup>[2]</sup>。

基于坂口反应的 UV 法测定 1 含量是目前较简便易行的方法<sup>[3,4]</sup>, 与采用氨基酸自动分析仪相比, 它具有仪器投资少、费用低、检测速度快等优点。它是根据 1 的胍基在碱性介质中与甲萘酚和次氯酸钠生成红色生成物<sup>[5]</sup>, 在 1 浓度较低的情况下, 该生成物的吸收度与 1 的浓度成线性关系。在实际应用中发现, 氨的存在对该生成物的最大吸收波长( $I_{\max}$ )和吸收度(A)有较大影响, 这种现象未见报道。本文对此进行了考察, 并对测定方法进行了改进。

### 1 仪器与材料

UV-2401P型紫外可见分光光度计(日本岛津); Vis-7220型可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司)。

1(上海源聚生物科技有限公司, 生化试剂); 甲萘酚(上海化学试剂公司, 分析纯)。

### 2 方法与结果

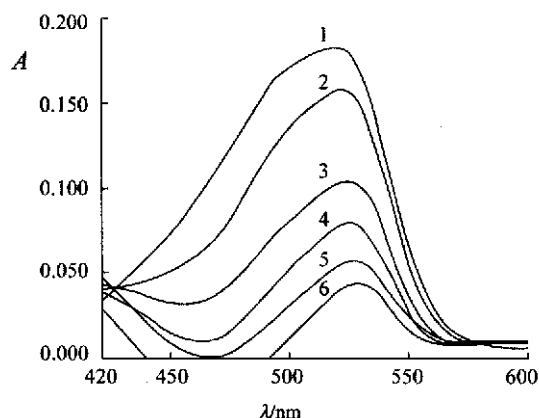
#### 2.1 实验方法

精密称取 1 约 2.9g, 共 6 份, 各置小烧杯中加适量水溶解, 移至 100ml 量瓶, 分别精密加入不同体积的氨水, 用水定容, 制成含不同浓度氨的系列 1 溶液。分别精密量取该系列溶液 1ml 置 200ml 量瓶

中, 用水定容。分别取 1ml 置 10ml 刻度试管中, 按文献<sup>[2]</sup>方法, 加入显色剂进行显色反应, 制得系列待测液。进行 UV 扫描。

#### 2.2 吸收光谱

图 1 为加入不同浓度氨的 1 坂口反应生成物的吸收光谱。由图可见, 对 0.0145mg/ml 1 溶液, 在不加氨的情况下,  $I_{\max}$  为 518nm, A 为 0.1827。随氨浓度增大至 3.0mol/L,  $I_{\max}$  红移至 528.5nm, 而 A 降至 0.045。



1 - 不加氨; 2 - 0.5mol/L 氨; 3 - 1.0mol/L 氨;  
4 - 1.5mol/L 氨; 5 - 2.5mol/L 氨; 6 - 3.0mol/L 氨  
图 1 不同浓度氨对 1 坂口反应生成物吸收光谱的影响  
(1 浓度 0.0145mg/ml)

#### 2.3 氨对 1 测定的影响及改进

实际生产中, 通常采用 3mol/L 的氨水洗脱离子交换树脂上的 1, 因此洗脱液中含有大量的氨。如果采用标准曲线法进行测定计算, 结果会有较大误差。因此, 必须采用内插法<sup>[3]</sup>。

由于氨是造成测定误差的主要原因, 因此应先除去氨后再测定。具体方法是: 精密量取 1 洗脱液 25ml, 加热近沸 30min, 直至蒸汽中用 pH 试纸检不出氨为止, 用水定容至 500ml, 按文献<sup>[3]</sup>方法进

收稿日期: 2003-08-08

基金项目: 国家自然科学基金(30370415)、国务院侨办科研基金(02QZR01)和福建省自然科学基金(E0310020)资助项目

作者简介: 翁连进(1969), 男, 博士, 副教授, 从事生化药物的分离提纯。

Tel: 0595-2693828

E-mail: ljweng6907@hotmail.com

行显色反应, 于 518nm 波长处测定 **1** 浓度。方法的回收率是 99.3% (直接测定法为 62.9%)。还曾考察加热时间对 **1** 含量的影响, 结果显示, **1** 含量无明显变化 ( $RSD$  为 0.06%)。因此本法可满足工业生产中定量分析的要求。

#### 参考文献:

[1] 单永红, 刘炳成. 精氨酸——一种多功能的生化药物[J]. 中

国生化药物杂志, 2001, 22(5): 265-267.

[2] Adrian Barbul. 精氨酸: 生物化学、生理学及治疗学意义[J]. 氨基酸杂志, 1987, 2: 39-43.

[3] 胡桂娟, 刘寄明, 刘嘉芬. 化学法测定精氨酸总量[J]. 落叶果树, 1995, 27(1): 22.

[4] 蒙绮芳, 赖碧清, 周锡梁. L-精氨酸测定方法的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 1998, 20(3): 1-4.

[5] 蔡武城. 生物物质常用化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1982. 48.

## Effect of Ammonia on UV method for Determination of L-Arginine

WENG Lian-Jin<sup>1</sup>, GAN Lin-Huo<sup>1</sup>, WANG Shi-Bin<sup>1</sup>, LAN Xin-Ren<sup>2</sup>

(1. Dept. of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Huaqiao University;

2. Dept. of Applied Chemistry, Huaqiao University, Quanzhou 362021)

**ABSTRACT:** Effect of ammonia on UV method based on Sakaguchi reaction for determination of L-arginine was investigated. The results showed that increased ammonia concentration caused the maximum wavelength red shift and decreased the absorbance. It is necessary to remove ammonia before determination.

**Key Words:** ammonia; L-arginine; Sakaguchi reaction; UV

## 贯叶连翘薄膜片中金丝桃素和金丝桃素类化合物的 HPLC 和 UV 测定

杨得坡, 甘良春, 王冬梅

(中山大学药学院生药学与天然药物化学实验室, 广东广州 510275)

**摘要:** 建立了 RP-HPLC 法和 UV 法分别测定贯叶连翘薄膜片中金丝桃素和总金丝桃素类的含量。RP-HPLC 法采用 ODS 柱, 流动相为 5% 甲醇(含 0.1% 磷酸, 三乙胺调至 pH 4.5)- 甲醇-乙腈(15:40:45), 检测波长 588nm。UV 法采用甲醇避光超声提取制备样品溶液, 588 nm 处测定。金丝桃素和总金丝桃素类的线性范围分别为 0.04~0.24 $\mu$ g 和 2~12 $\mu$ g/ml。平均回收率分别为 103.8% 和 103.3%。

**关键词:** 贯叶连翘; 薄膜片; 金丝桃素; 紫外分光光度; 高效液相色谱; 测定

**中图分类号:** TQ460.7+2; O657.32; O657.7+2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-8255(2004)09-0548-03

贯叶连翘(*Hypericum perforatum* L.)是藤黄科金丝桃属植物, 是一种抗抑郁植物药, 也是一味古老的中药<sup>[1]</sup>。其中金丝桃素(hypericin, **1**)和伪金丝桃素还具有抗逆转录病毒的作用<sup>[2]</sup>, 其后又有抑制 HIV 活性的报道<sup>[3]</sup>, 国外已完成抗艾滋病的 II 期临

床试验。大量研究表明, 总金丝桃素类(hypericins, **I**)、贯叶金丝桃素和黄酮类化合物是贯叶连翘抗抑郁的主要活性成分<sup>[4]</sup>。有文献报道用 UV 法测定 **I** 的含量<sup>[5]</sup>, 用 HPLC 法<sup>[6]</sup>、极谱法<sup>[7]</sup>和双波长 UV 法<sup>[8]</sup>测定 **1** 的含量。但贯叶连翘制剂中 **1** 含量测定的报道较少。本文建立了 UV 法和 RP-HPLC 法, 分别测定贯叶连翘薄膜片中有效成分 **I** 和 **1** 的含量。

### 1 仪器与试剂

TU-1800PC 型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器

收稿日期: 2003-10-09

基金项目: 国家教育部高等学校骨干教师资助基金项目(2000), 广州市科技局重大项目(2000)

作者简介: 杨得坡(1962), 男, 教授, 从事天然药物分析。

Tel: 020-84113967

E-mail: ls39@zsu.edu.cn