

使用柱后衍生生化法分析伏格列波糖

伏格列波糖是一种治疗糖尿病的药物，该药物可以抑制在肠道中将二糖分解为单糖的 α -葡萄糖苷酶的活性，从而延缓糖类物质的消化吸收，改善餐后血糖。

由于伏格列波糖没有紫外吸收，因此，在日本药典第十七修正版中记载了使用 HPLC 柱后衍生生化法，采用牛磺酸 / 高碘酸钠试剂进行实验的方法（伏格列波糖纯度试验、伏格列波糖片定量方法）。

本文介绍了使用 Nexera™ 系列 HPLC，按照日本药典第十七修正版收录的“伏格列波糖片定量方法”进行分析的示例。

Y. Zhou

■ 伏格列波糖标准溶液分析

柱后衍生生化反应可以在化学反应箱 CRB-40 中进行，该模块可通过工作站 LabSolutions™ 进行控制。图 1 所示为 LabSolutions 上的显示画面。工作站能够将分析结果关联起来，包括分析方法、分析操作日志以及装置状态在内的项目，都可以由软件进行统一管理，并保证数据的完整性。

图 2 所示为本次分析的系统流程图。分析条件如表 1 中所示，1mg/L 的伏格列波糖标准溶液进样 50 μ L 后的色谱图，如图 3 所示。



图 1 LabSolutions 上的显示画面

表 1 分析条件	
< 分离 >	
系统	: Nexera lite
色谱柱	: Shim-pack™ GIST NH2 (150 mm×4.0 mm 内径, 5 μ m)* ¹
样品瓶	: Shimadzu Vials, LC, 玻璃* ²
流动相	: 磷酸钠缓冲液 (pH 6.5) / 乙腈 = 300: 600
流速	: 0.38 mL/min
柱温	: 25 °C
进样量	: 50 μ L
< 检测 >	
反应试剂	: 牛磺酸 / 高碘酸钠水溶液
流速	: 0.38 mL/min
反应温度	: 100 °C
检测器	: 荧光检测器 (RF-20Axs) Ex.350 nm, Em.430 nm

* 1: P/N 227-30301-06、* 2: P/N 227-34001-01

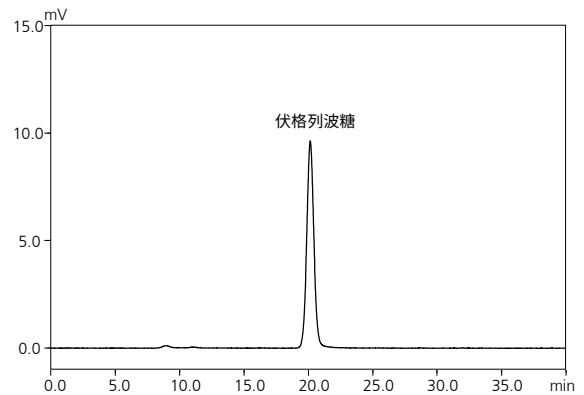


图 3 伏格列波糖标准溶液 (1mg/L) 的色谱图

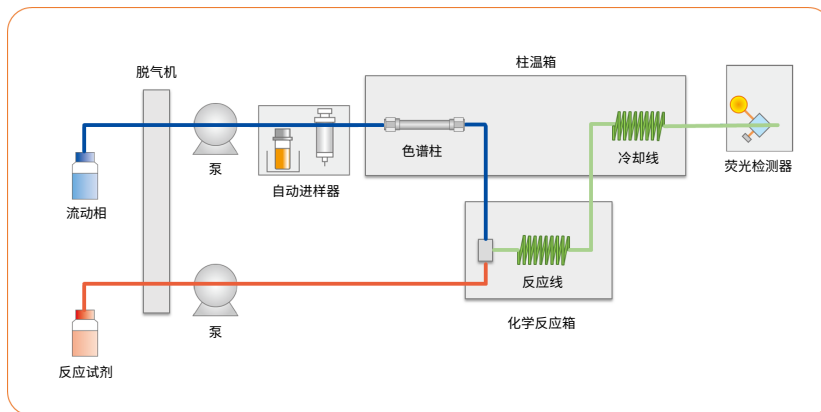


图 2 伏格列波糖片分析的流程图

■ 系统适用性试验

采用日本药典第十七修正版“伏格列波糖片定量方法”中规定的方法，进行“系统适用性”试验。

图4所示为含4g/L乳糖与40mg/L伏格列波糖的标准品溶液的色谱图，图5所示为用于评估系统重现性的伏格列波糖(40mg/L)标准溶液色谱图。

表2所示为系统适用性试验结果。乳糖与伏格列波糖的分离度为5.5，证实符合日本药典的标准(4以上)。伏格列波糖的峰面积值相对标准偏差(%RSD)为0.11%(n=6)，证实符合日本药典的标准(2%以下)。

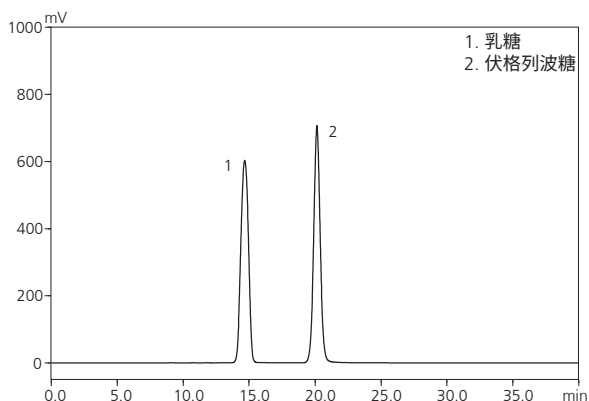


图4 乳糖(4g/L)、伏格列波糖(40mg/L)标准混合溶液的色谱图

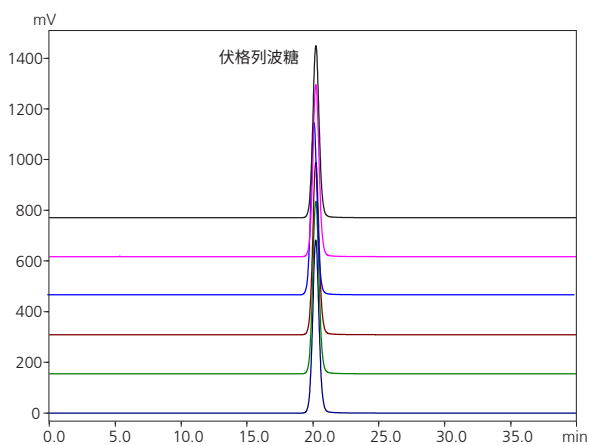


图5 伏格列波糖(40mg/L)标准溶液的色谱图

表2 系统适用性试验结果

检测项目	标准	结果	判定
分离度 (乳糖和伏格列波糖之间)	≥ 4	5.5	通过
峰面积相对标准偏差(%) (n=6)	≤ 2	0.11	通过

■ 线性

由浓度10、25、100、250、1000($\mu\text{g/L}$)的伏格列波糖标准溶液建立的校准曲线，如图6所示。在该浓度范围内线性良好， $r^2 = 0.9999$ 。

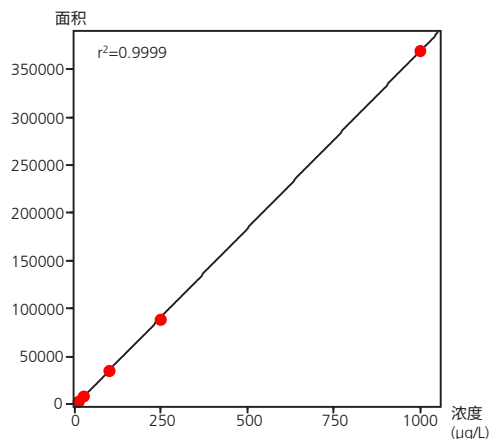


图6 伏格列波糖标准溶液的校准曲线
($10\mu\text{g/L} \sim 1000\mu\text{g/L}$)

■ 高灵敏度分析例

图7所示为 $10\mu\text{g/L}$ 伏格列波糖标准溶液色谱图，进样量 $50\mu\text{L}$ 。对低浓度点 $10\mu\text{g/L}$ 的伏格列波糖标准品溶液，重复进样6次，峰面积%RSD为2.5%，表明仪器具有良好的重复性。

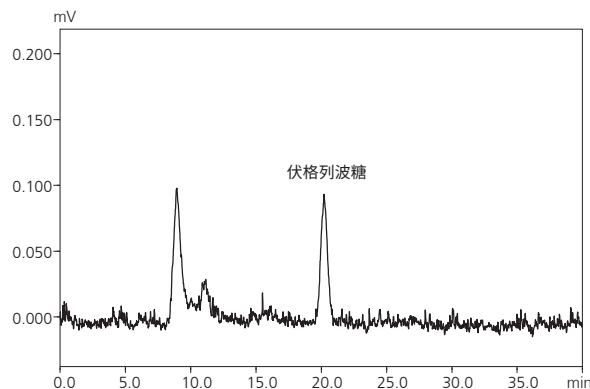


图7 伏格列波糖标准溶液的色谱图($10\mu\text{g/L}$)

■ 总结

本文使用Nexera系列HPLC，按照日本药典第十七修正版收录的“伏格列波糖片定量方法”对伏格列波糖进行了分析。通过系统适用性试验证实，系统性能和系统重复性均符合日本药典的标准。

另外，对 $10\mu\text{g/L}$ 的伏格列波糖标准溶液进行了6次重复分析，即使是如此低浓度的试样，也能保证良好的重现性。因此，Nexera系列HPLC不受试样浓度的限制，均可得到可靠性高的结果。

岛津应用云



Nexera、LabSolutions及Shim-pack是岛津制作所株式会社在日本和其他国家的商标。



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2020年10月