

如何高效测定伏格列波糖？科诺美液相色谱-柱后衍生-荧光法来助力

前言：伏格列波糖是一种降糖药物，适用于改善糖尿病餐后高血糖。伏格列波糖是一种 α -糖苷酶抑制剂，它可以抑制肠道内双糖酶（如蔗糖酶、麦芽糖酶和乳糖酶）的活性，从而减缓碳水化合物的分解和吸收。这样可以减少血糖的上升速度，有助于控制餐后血糖水平。由于伏格列波糖没有紫外吸收，所以在药典中采用了柱后衍生-荧光检测器检测的方法。

本应用参考《中国药典》伏格列波糖分析方法，采用氨基色谱柱、以磷酸盐缓冲液和乙腈为流动相进行分离，用牛磺酸与高碘酸钠溶液为衍生液进行柱后衍生反应，最终用荧光检测器进行检测。方法自动化程度高，稳定性好，灵敏度高，过程简便易操作，适用于伏格列波糖片中伏格列波糖的含量测定。

一、实验部分

1. 仪器

Leaps 高效液相色谱仪：四元低压梯度泵 P40，自动进样器 A10C，柱温箱 C10，荧光检测器 D50，柱后衍生装置 R10（1500 μ L 反应器）

2. 溶液配制

磷酸盐缓冲液：取二水合磷酸二氢钠 1.56 g 与磷酸氢二钠 3.58 g，加水 1000 mL 使溶解，用磷酸或氢氧化钠试液调节 pH 值至 6.5。

辛烷磺酸钠溶液：称取 0.12 g 辛烷磺酸钠，加入 37 mL 磷酸盐缓冲液，再加入 63 mL 乙腈。

荧光反应液：取牛磺酸 6.25 g 与高碘酸钠 2.56 g，加水溶解并稀释至 1000 mL。



标准储备液 (1 mg/mL): 精确称取伏格列波糖, 用辛烷磺酸钠溶液溶解, 制成 1 mg/mL 的伏格列波糖储备液。

标准曲线溶液: 用辛烷磺酸钠溶液稀释标准储备液, 分别得到浓度为 0.1 µg/mL、0.2 µg/mL、0.5 µg/mL、1 µg/mL、5 µg/mL、10 µg/mL 的标准曲线溶液。

3. 色谱条件

流动相: A: 磷酸盐缓冲液 37 %; B: 乙腈 63 %

流速: 0.8 mL/min

色谱柱: Lotus NH₂ 4.6 mm*250 mm, 5 µm

进样量: 100 µL

柱温: 40 °C

荧光检测器: 激发波长: 350 nm、发射波长: 430 nm

衍生液: 荧光反应液, 流速: 0.8 mL/min, 衍生温度: 120 °C

冷却管: 2 m, 室温 (25 °C)

二、实验结果

1. 标准谱图



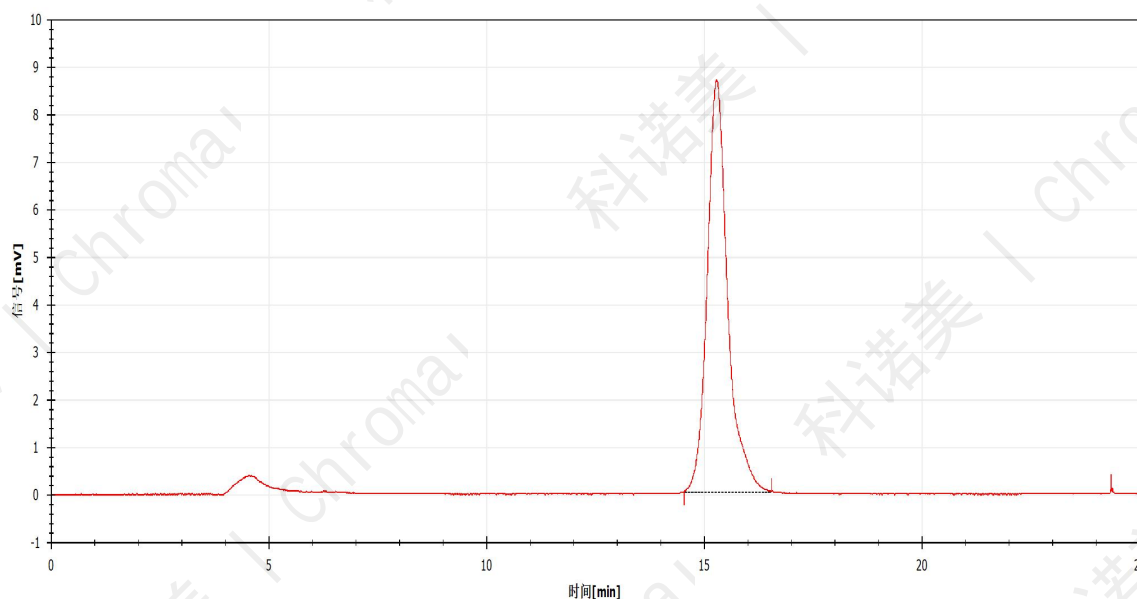


图 1 伏格列波糖典型色谱图

2. 线性及检出限

依次将标准曲线溶液 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 按浓度从低到高进样，以浓度-峰面积绘制标准曲线。伏格列波糖在线性范围内相关系数大于 0.9999。

表 1 线性及检出限结果表

化合物	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	线性方程	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
伏格列波糖	0.1~10	$y = 147.5583x - 2.6008$	0.9999	0.0012

3. 精密度

将 2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度溶液重复进样 6 次，计算保留时间与峰面积的精密度，结果如表 2 所示。



表 2 精密度结果表

化合物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
伏格列波糖	0.15%	1.14%

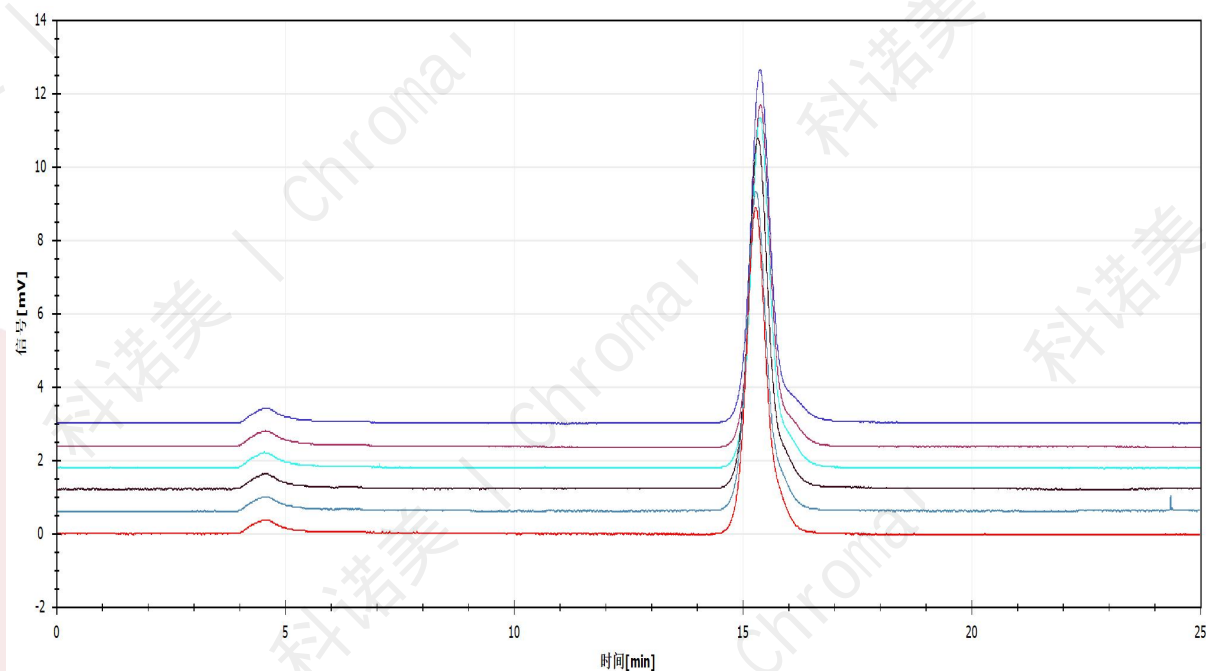


图 2 伏格列波糖精密度色谱图

三、结论

本应用方案采用 Chromai Leaps 超高效液相色谱仪，搭配 R10 柱后衍生装置，参考《中国药典》，使用荧光检测器对伏格列波糖含量测定方法进行方法学考察。在线性范围内，线性相关系数大于 0.9999；保留时间精密度为 0.15 %，峰面积精密度为 1.14 %；检出限为 0.012 $\mu\text{g/mL}$ ，



满足药典要求。



电话：010-80429960

网址：www.chromai.com