

Application News

No. L475

高效液相色谱
High Performance Liquid Chromatography

使用 Nexera-i 对头孢类抗生素进行快速高分离分析

High-Speed and High-Resolution Analysis by Nexera-i Analysis of Cephem Antibiotics

头孢类抗生素与青霉素、碳青霉烯类抗生素相同，是 β -内酰胺类抗生素的一种，被用于口服剂和注射液。通常，头孢类抗生素的副作用小，疗效高且毒性低，在抗感染治疗中占有十分重要的地位。应用报告 No. L348 中，介绍了使用超快速 LC 系统 Prominence UFLC 对头孢类抗生素进行快速高分离的分析示例。

本文将向您介绍使用新一体型超高效液相色谱 Nexera-i，对头孢类抗生素进行快速高分离的分析示例。

■ 头孢类抗生素标准样品的分析

Analysis of Standard of Cephem Antibiotics

头孢类抗生素有 50 种以上的类型。本次分析测定了其中 12 种成分（头孢拉定、头孢氨苄、头孢匹林、头孢唑啉、头孢羟氨苄、头孢噻吩、头孢孟多*、头孢克洛、头孢噻肟、头孢哌酮、头孢呋辛、头孢西丁）的标准混合溶液（各 50 mg/L）。图 1 中的上图为使用通用色谱柱 Shim-pack VP-ODS 得到的色谱图；下图为使用快速分析用色谱柱 Shim-pack XR-ODS II 得到的色谱图。表 1 为分析条件；图 2 为头孢类抗生素 12 种成分的结构式。

根据图 1 中的上图可知，检测大约 6 分钟的头孢克洛与头孢氨苄，分离度为 1.8，已达到基线分离的分离度 1.5。下图上上述成分的分离度约为 1.9。

另外，使用 Shim-pack XR-ODS II，可在保持分离的状态下将分析时间缩短 1/5，流动相的消耗量减少 1/4。该条件下的系统负载压力约为 55 MPa。因为 Nexera-i 具有 66 MPa 的耐压，所以可轻松实现快速化。

* 头孢孟多可确认到 2 个峰，分别作为头孢孟多 A 和头孢孟多 B。

表 1 分析条件
Analytical Conditions

色谱柱	: Shim-pack VP-ODS (250 mmL x 4.6 mmI.D., 4.6 μ m) Shim-pack XR-ODS II (150 mmL. x 3.0 mmI.D., 2.2 μ m)
流动相	: A) 0.1% 甲酸水溶液 B) 乙腈
时间程序	: [VP-ODS] B. Conc. 15% (0 min) \rightarrow 55% (35 min) \rightarrow 15% (35.01-50 min) [XR-ODS II] B. Conc. 15% (0 min) \rightarrow 55% (6.95 min) \rightarrow 15% (6.96-10 min) 实时进样 343 μ L
流速	: 0.7 mL/min (VP-ODS) 0.9 mL/min (XR-ODS II)
柱温	: 40 $^{\circ}$ C
进样体积	: 5 μ L (VP-ODS) 2 μ L (XR-ODS II)
检测器	: LC-2040PDA at 260 nm
流通池	: 高灵敏度 UHPLC 流通池（选配件）

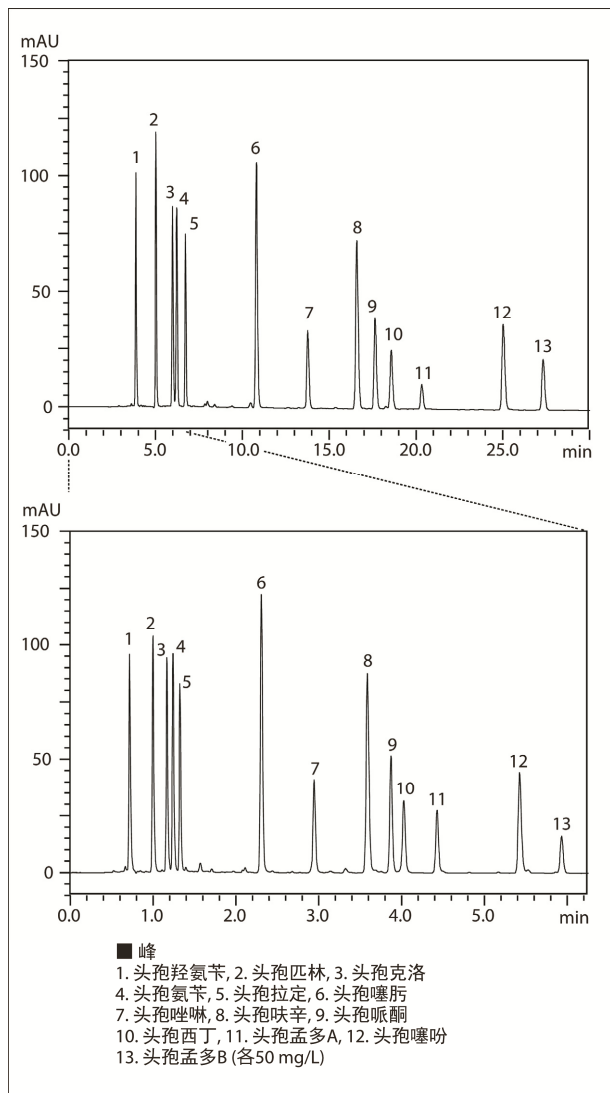


图 1 头孢类抗生素 12 种成分的色谱图

上图: Shim-pack VP-ODS

下图: Shim-pack XR-ODS II

Chromatograms of a Standard Mixture of 12 Cephem Antibiotics

Upper: Shim-pack VP-ODS

Lower: Shim-pack XR-ODS II

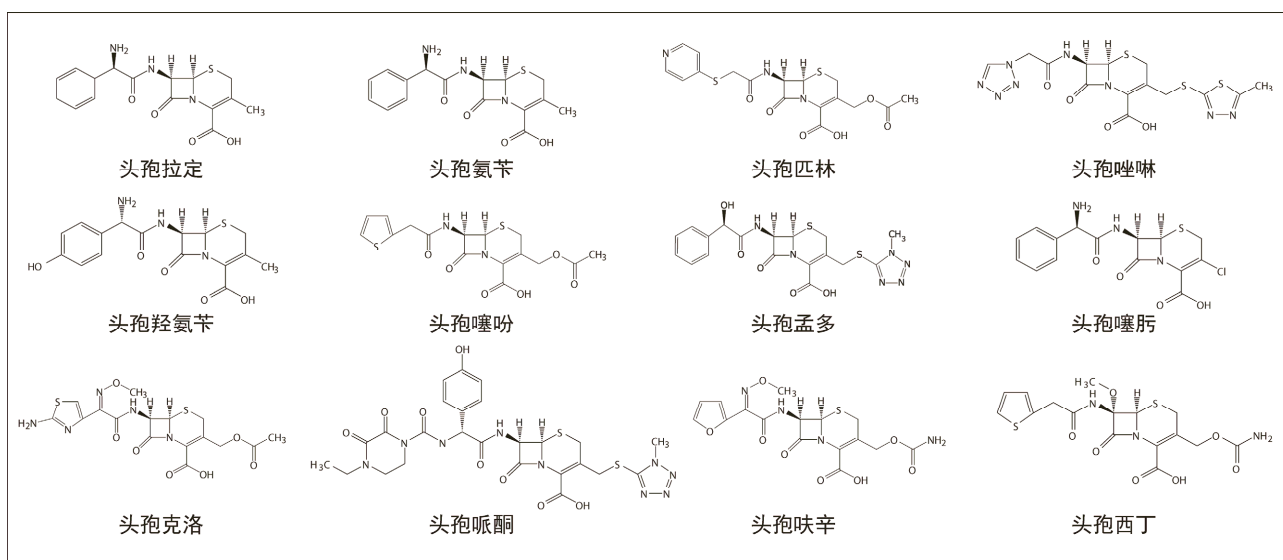


图2 头孢类抗生素 12 种成分的结构式
Structures of 12 Cephem Antibiotics

■ 吸收光谱 UV-VIS Spectra

图3为使用LC-2040C 3D得到的头孢类抗生素 12 种成分谱图。

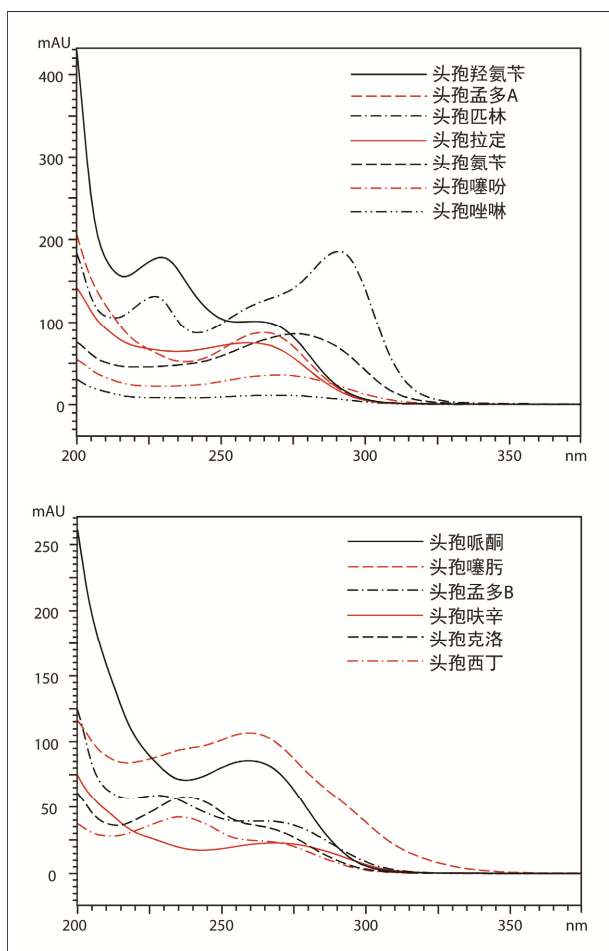


图3 头孢类抗生素 12 种成分的谱图
Spectra of 12 Cephem Antibiotics

■ 重复性 Repeatability

表2为使用Nexera-i对头孢类抗生素 12 种成分(各 50 mg/L)进行测定后,得到的保留时间和峰面积的 6 次重复性。分析条件与表1的XR-ODS II 相同。

由表可知, 12 种成分的保留时间与峰面积均得到了良好的重复性。

表2 头孢类抗生素的重复性
Repeatability of Retention Time and Peak Area of Cephem Antibiotics

ID#	化合物	保留时间	峰面积
		%RSD (n=6)	%RSD (n=6)
1	头孢羟氨苄	0.14	0.14
2	头孢匹林	0.09	0.17
3	头孢克洛	0.22	0.25
4	头孢氨苄	0.19	0.29
5	头孢拉定	0.24	0.29
6	头孢噻肟	0.07	0.10
7	头孢唑啉	0.06	0.09
8	头孢呋辛	0.05	0.07
9	头孢哌酮	0.05	0.11
10	头孢西丁	0.04	0.14
11	头孢孟多 A	0.04	0.17
12	头孢噻吩	0.03	0.09
13	头孢孟多 B	0.03	0.21