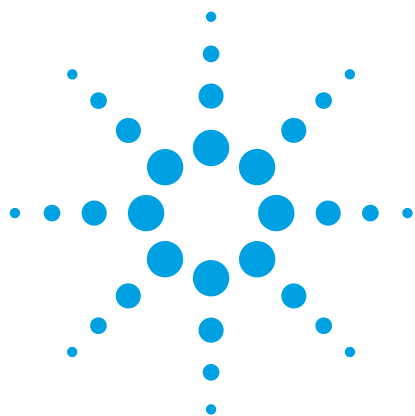




将头孢拉定 USP 方法从传统的 5 μm 色谱柱转移到 Poroshell 120 色谱柱

应用简报

小分子药物与仿制药

作者

Rongjie Fu
安捷伦科技公司
中国上海

摘要

根据美国药典 (USP) 关于头孢拉定分析的指导原则，在传统的 5 μm 色谱柱上运行头孢拉定方法。将方法转移到表面多孔的 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱上，在符合 USP 第 621 章指导原则的同时还能够显著节省溶剂和时间。使用 Poroshell 120 EC-C18 色谱柱能满足所有的系统要求。

前言

人们十分热衷于将液相色谱方法从 5 μm 填料色谱柱转移到诸如亚 2 μm 和 2.7 μm 表面多孔填料色谱柱等小颗粒填料的色谱柱上。2.7 μm 表面多孔填料色谱柱具有同亚 2 μm 全多孔填料相似的高柱效。这主要归因于更短的传质距离和更窄的粒径分布。此外，更大粒径导致更低背压，使得这类色谱柱能运用到几乎任何液相色谱系统上。转移较大颗粒填料色谱柱方法的好处是极大地节省了时间和成本，因为表面多孔填料色谱柱能够在较快流速下实现最佳运行，并且能用更短的柱长获得相似的分离度 [1]。

本应用简报描述了传统 5 μm 色谱柱的头孢拉定 USP 分析方法 [2]，然后将该方法转移到了更短的 2.7 μm 表面多孔 Poroshell 120 EC-C18 色谱柱上。按照 USP 色谱系统要求将分析进行了对比。



Agilent Technologies

材料与amp;方法

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。标准品购自 USP。醋酸钠、乙酸和甲醇购自北京百灵威科技有限公司。

HPLC 分析采用 Agilent 1200 系列高分离度快速液相色谱 (RRLC)，配有 G1312B SL 型二元泵、G1376C SL 型自动液体进样器 (ALS)、G1316B SL 型柱温箱 (TCC) 和 G1316C SL 型二极管阵列检测器 (DAD)。

结果与amp;讨论

图 1 显示了 USP 头孢拉定分析的系统适用性结果。上方是使用 ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm, L1 填料) 色谱柱，按照 USP 指定方法进行分析所得的色谱图。头孢拉定和头孢氨苄在 20 min 内轻松得到分离，并且二者的分离度为 10.6，远远高出 USP 的 2.0 分离度要求。

随后，将方法转移到 Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 (4.6 × 50 mm, 2.7 μm)，如图 1 中下方色谱图所示。分析仅耗时 3.5 min，两种化合物的分离度为 9.1，仍然符合 USP 要求。

条件

- 色谱柱:
- Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱, 4.6 × 50 mm, 2.7 μm 粒径 (部件号 699975-902)
- Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱, 4.6 × 250 mm, 5 μm 粒径 (部件号 959990-902)
- 流动相:
- 水:甲醇: 0.5 M 醋酸钠: 0.7 N 乙酸 (782:200:15:3)
- 温度:
- 30 °C
- 流速:
- 1.0 mL/min
- 进样量:
- 4.6 × 250 mm 色谱柱, 10 μL
- 4.6 × 50 mm 色谱柱, 2 μL
- 检测器:
- UV 254 nm

根据 USP 所述头孢拉定分析方法，使用两种色谱柱测定了 USP 色谱系统要求。表 1 列出了 USP 色谱系统要求和在两根色谱柱上所得的测定结果。在两种色谱柱上运行的方法均符合 USP 色谱系统要求。

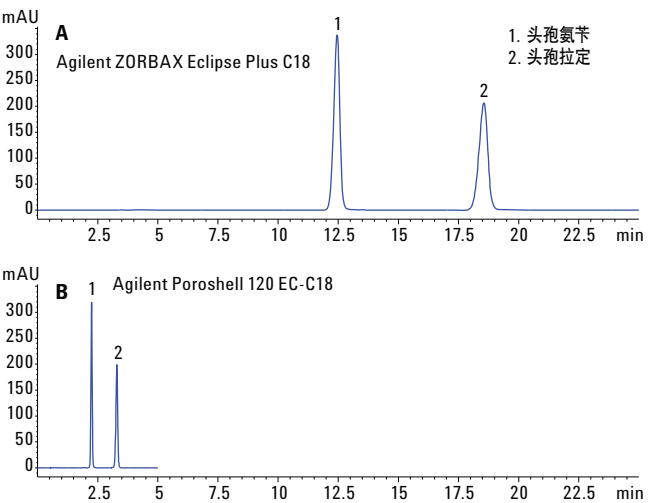


图 1. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱和 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱进行 USP 头孢拉定分析的系统适用性结果

表 1. USP 色谱系统要求和头孢拉定的测定结果

USP 要求	5 μm 色谱柱	2.7 μm 色谱柱
头孢氨苄峰和头孢拉定峰之间的分离度不低于 2.0	10.6	9.1
头孢氨苄的相对保留时间大约为 0.8， 头孢拉定为 1.0	头孢氨苄: 0.7 头孢拉定: 1.0	头孢氨苄: 0.7 头孢拉定: 1.0
重复进样的相对标准偏差不超过 2.0%	0.12%	0.14%

要获得可靠的 HPLC 结果，柱间重现性非常重要。图 2 显示了不同批次的 Poroshell 120 色谱柱所得的色谱图。两种化合物的保留时间和分离度展示了良好的重现性。

结论

可将使用 5 μm 色谱柱的传统 USP 头孢拉定分析方法成功转移到表面多孔的 Agilent Poroshell 120 色谱柱上。对较大颗粒填料色谱柱进行方法转移的好处包括大幅节省时间和成本。两种方法均符合 USP 所有色谱系统要求。

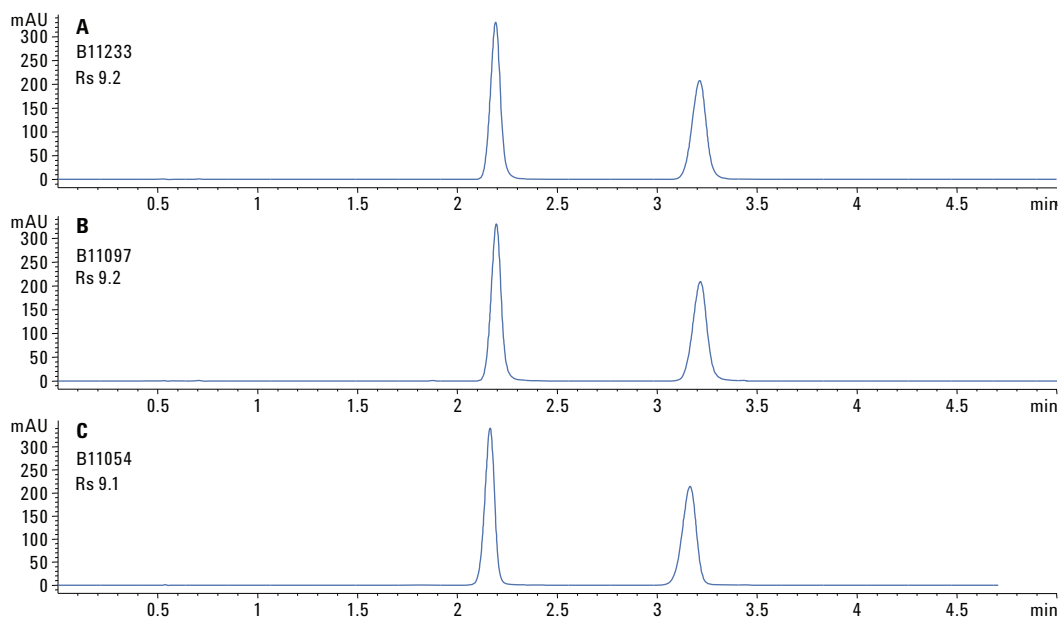


图 2. 3 个不同批次 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 (4.6 $\times$ 50 mm, 2.7 μm) 分析所得的色谱图

参考文献

1. A. Mack “采用安捷伦 *Poroshell 120 EC-CN* 色谱柱对苯海拉明和伪麻黄碱进行USP 方法分析”，应用简报，安捷伦科技，出版号 5991-1687CHCN (2013)
2. Anon. Cephadrine. USP30-NF25. United States Pharmacopeia, Rockville, MD, USA (2006)

更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013
中国印刷
2013 年 10 月 8 日
5991-3356CHCN



Agilent Technologies