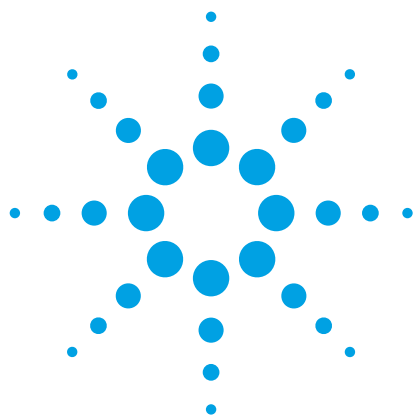




将头孢唑肟 USP 方法从传统的 5 μm 色谱柱转移到 Agilent Poroshell 120 色谱柱

应用简报

小分子药物与仿制药

作者

Rongjie Fu
安捷伦科技（上海）有限公司

摘要

根据美国药典 (USP)，头孢唑肟是在传统的 5 μm 色谱柱上进行分析的。将该方法转移到表面多孔的 Agilent Poroshell 120 色谱柱上，可显著缩短分析时间并节省溶剂，同时仍符合美国药典 <621> 章指南的规定。使用 Poroshell 120 色谱柱能满足所有的系统要求。

前言

人们对将液相色谱方法从 5 μm 粒径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非常关注。2.7 μm 表面多孔填料与亚 2 μm 全多孔填料具有相似的高柱效。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优点是可以极大程度地节省时间和成本，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，并且可使用更短的色谱柱却能获得相似的分离度 [1]。

本应用简报描述了基于传统 5 μm 色谱柱的头孢唑肟 USP 分析方法 [2]，然后将该方法转移到较短的 2.7 μm 表面多孔 Poroshell 120 色谱柱上。按照 USP 色谱系统要求将分析进行了对比。



Agilent Technologies

材料与方法

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或分析纯级。头孢唑肟和水杨酸的标样均采购自 USP。一水柠檬酸、磷酸氢二钠和乙腈均购自北京百灵威科技有限公司。

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

条件

色谱柱:	Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱, 4.6 × 75 mm, 2.7 μm 粒径 (部件号 697975-902) Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4.6 × 100 mm, 2.7 μm (部件号 695975-902) Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱, 4.6 × 250 mm, 5 μm 粒径 (部件号 959990-902)
洗脱液:	缓冲液, pH 3.6 (1.42 g 一水柠檬酸和 1.73 g 磷酸氢二钠溶于 1000 mL 水): 乙腈 (90:10)
进样量:	4.6 × 250 mm 色谱柱, 10 μL 4.6 × 100 mm 色谱柱, 4 μL 4.6 × 75 mm 色谱柱, 3 μL
流速:	2.0 mL/min
柱温:	25 °C
检测器:	紫外, 254 nm

结果与讨论

图 1 显示了 USP 头孢唑肟分析的系统适用性结果。最上方的色谱图是使用 USP 中规定的 4.6 × 250 mm, 5 μm 的 L1 填料分析柱 (在本实验中即为 ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱) 进行分析的结果。头孢唑肟和内标水杨酸能够在 12 min 内轻松得到分离, 并且二者的分离度为 22.6, 远远高出 USP 所要求的 4.0。

然后将方法转移到 4.6 × 100 mm, 2.7-μm Poroshell 120 EC-C18 色谱柱上。如图 1 的中间色谱图所示, 整个分析只用了 4 分钟, 并且二者的分离度为 25.2, 完全符合 USP 的要求。如图 1 中的下方色谱图所示, 可使用较短的 4.6 × 75 mm, 2.7-μm Poroshell 120 EC-C18 色谱柱, 即能获得更快的分析速度, 这同样符合 USP <621> 章的规定。

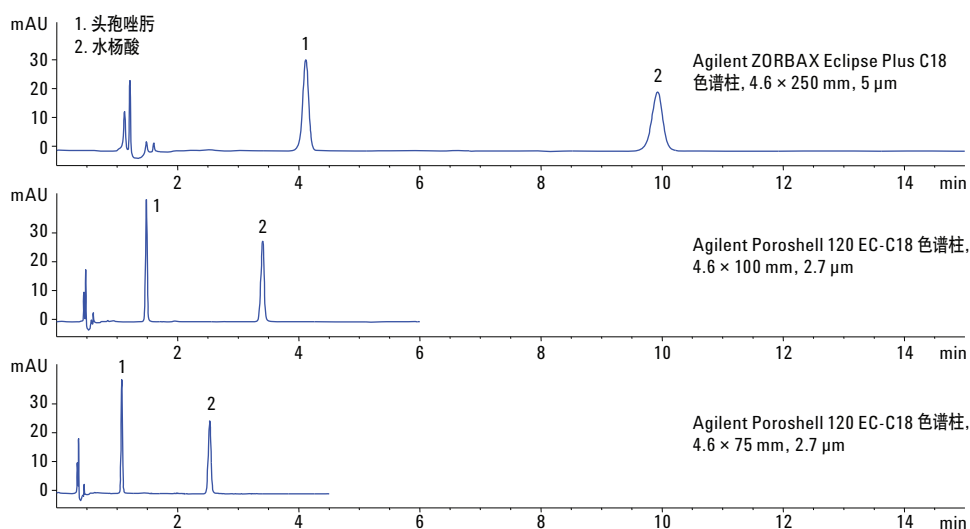


图 1. 使用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱和 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱进行 USP 头孢唑肟分析的系统适用性结果

根据 USP 所述头孢唑肟分析方法，分别测定了使用不同色谱柱时所有的 USP 色谱系统要求。表 1 列出了 USP 色谱系统要求和三根色谱柱上所测的结果。在三种色谱柱上运行的方法均符合 USP 色谱系统要求。

要获得可靠的 HPLC 结果，柱间重现性非常重要。图 2 显示了使用两批不同 Poroshell 120 色谱柱分析所得的色谱图。两种化合物的保留时间和分离度显示出卓越的重现性。

表 1. USP 色谱系统要求和相应的头孢唑肟的测定结果

USP 要求	安捷伦色谱柱		
	4.6 × 250 mm	4.6 × 100 mm	4.6 × 75 mm
分析物色谱峰测得的柱效不低于 2000 的理论塔板数。	8245	12982	9834
分析物色谱峰的拖尾因子不高于 2。	0.92	1.00	1.06
分析物和内标色谱峰之间的分离度不低于 4。	22.6	25.2	22.9
重复进样的相对标准偏差不大于 2%。	0.13%	0.12%	0.14%

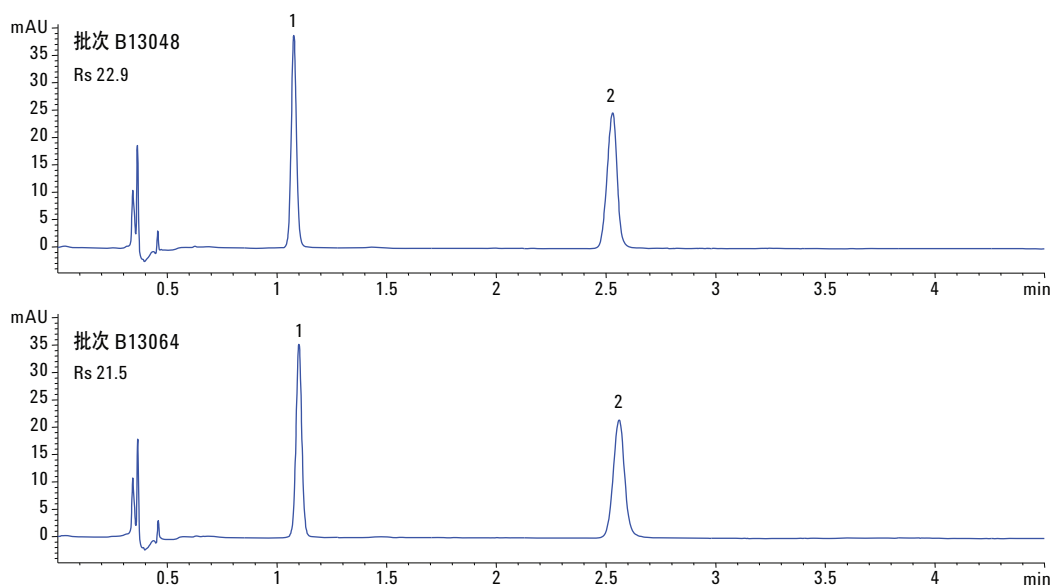


图 2. 在两批不同 Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4.6 × 75 mm, 2.7 μm 色谱柱上分析头孢唑肟和水杨酸的色谱图

结论

可将使用 5 μ m 色谱柱的传统 USP 头孢唑肟分析方法成功转移到表面多孔的 Agilent Poroshell 120 色谱柱上。将较大颗粒填料色谱柱方法进行转移的优势包括大幅节省时间和成本。两种方法均符合 USP 对色谱系统的所有要求。

参考文献

1. A. Mack “使用 Agilent 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. Cefprozil. USP35-NF30, 2574. United States Pharmacopeia, Rockville, MD, USA (2012)

更多信息

这些数据代表典型结果。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。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013
中国印刷
2013 年 12 月 3 日
5991-3717CHCN



Agilent Technologies