

# 使用 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱和 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统对 18 种抗生素进行有关物质分析



## 作者

陆予菲，夏敏，米健秋  
安捷伦科技（中国）有限公司

## 摘要

本文介绍了使用 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱及 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统对 18 种抗生素进行有关物质分析的结果。本实验使用《中国药典》建议的流动相，能够获得出色的分离度及稳定的分析结果。本文提供的相关图谱可作为抗生素 SEC 分析的参考。

## 前言

抗生素是临床常用的药物之一，较易发生过敏反应。抗生素中的高分子聚合物杂质是引发过敏反应的真正过敏原，因此严格控制抗生素药物中的高分子聚合物含量具有重要意义。聚合物含量通常照分子排阻色谱法测定。目前大多采用葡聚糖凝胶柱，但此类填料的机械强度差且柱效低，因此聚合物分析填料逐渐发展为球状亲水硅胶。

《中国药典》已有数个品种以有关物质 II 的检测项目形式收载了使用球状亲水硅胶 SEC 的方法<sup>1</sup>。目前市面上主要有两种类型的球状亲水硅胶基质：键合二醇基的硅胶 (USP L20) 和键合亲水涂层的硅胶 (USP L59)。较为传统的 USP L20 键合相由于存在较多的残留硅醇基，通常需要较高离子强度的流动相以克服非特异性相互作用。而 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱 (L59 型) 采用聚合物亲水涂层，残留硅醇基数目大幅减少，从而能够有效抑制非特异性相互作用，实现聚集体的准确定量分析。此外，2.7 μm 的填料粒径以及更大的孔容设计，都有助于进一步提升色谱分离效果。

## 实验部分

### 试剂和样品

无水磷酸二氢钠与十二水合磷酸氢二钠均购自 Sigma-Aldrich 公司。

实验用水取自 Merck Millipore Milli-Q 超纯水系统。

磷酸盐缓冲液：5 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:5 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (61:39)。

所有样品均为实际样品。样品均为市购产品。样品溶解于流动相后过 0.22 μm 滤膜。样品浓度均为 1 mg/mL。

### 仪器和设备

本实验采用 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统，该系统配备二极管阵列检测器。所用色谱柱为 Agilent AdvanceBio SEC 130Å, 7.8 × 300 mm, 2.7 μm (部件号：PL1180-5350)。

### 样品前处理

准确称取 10 mg 抗生素粉末状样品于 10 mL 离心管内，加入流动相 10 mL 后，超声 1 分钟。经 0.22 μm 滤膜过滤后，取续滤液进样分析。

### 色谱条件

色谱柱：AdvanceBio SEC 130Å, 7.8 × 300 mm, 2.7 μm (部件号：PL1180-5350)

流动相：5 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (含 5% 乙腈)，pH 7.0

进样量：5 μL

柱温：25 °C

流速：0.6 mL/min

等度运行

检测波长：254 nm

## 结果与讨论

本实验采用了 Agilent AdvanceBio SEC 色谱柱和 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统对阿莫西林、头孢氨苄、头孢丙烯、头孢地尼、头孢地嗪、头孢克洛、头孢拉定、头孢美唑、头孢米诺钠、头孢哌酮钠、头孢匹罗、头孢羟氨苄、头孢曲松钠、头孢噻肟钠、头孢他啶、头孢替唑钠、头孢西林钠、头孢唑肟钠共 18 种抗生素进行有关物质分析，并获得了分离结果，如图 1-16 所示：

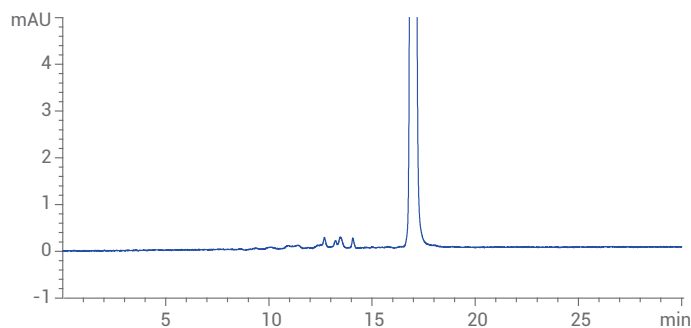


图 1. 阿莫西林在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

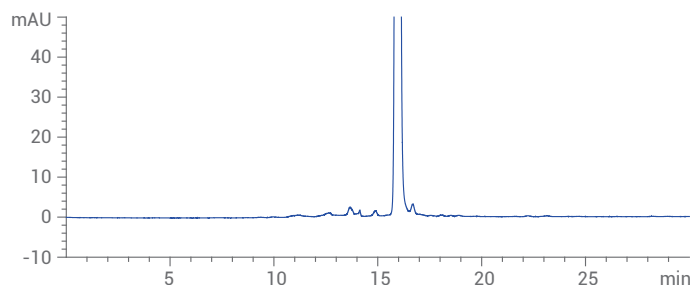


图 2. 头孢氨苄在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

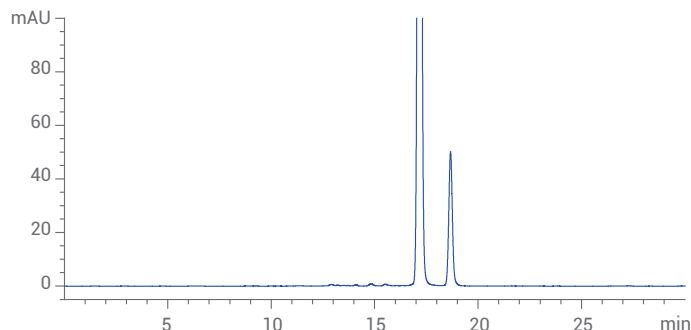


图 3. 头孢丙烯在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

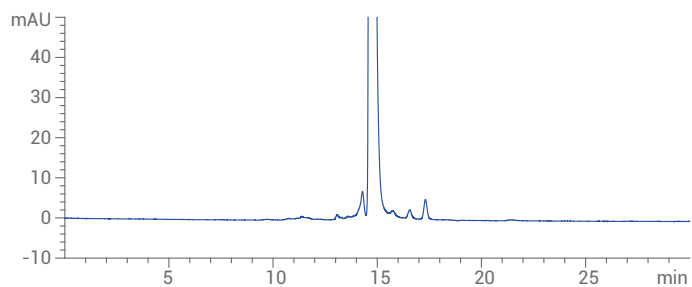


图 4. 头孢地尼在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

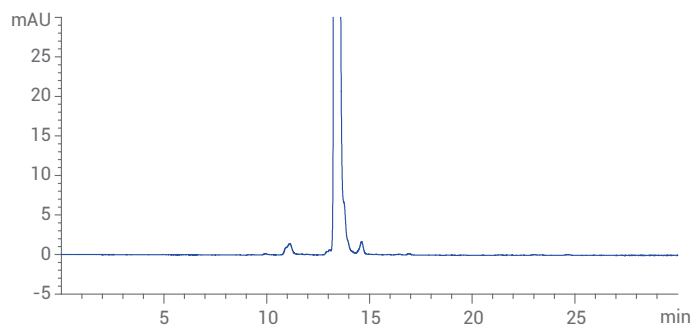


图 8. 头孢美唑在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

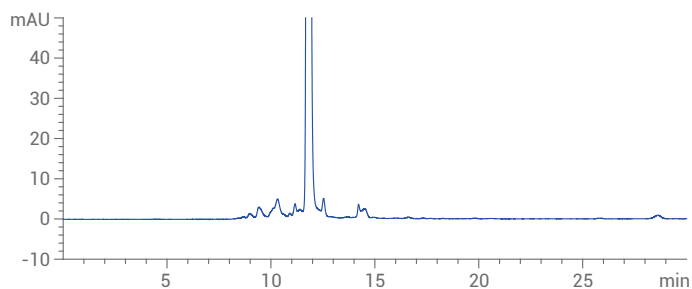


图 5. 头孢地嗪在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

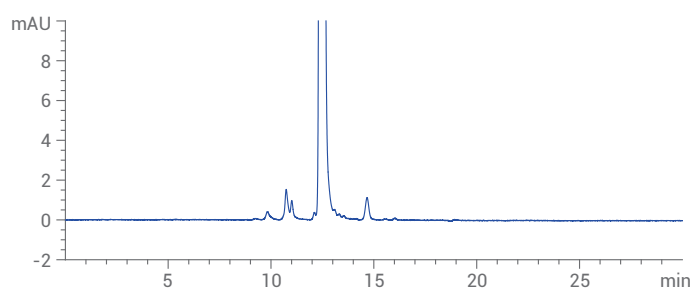


图 9. 头孢米诺钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

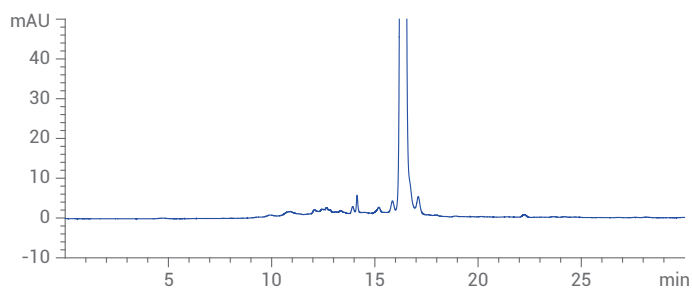


图 6. 头孢克洛在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

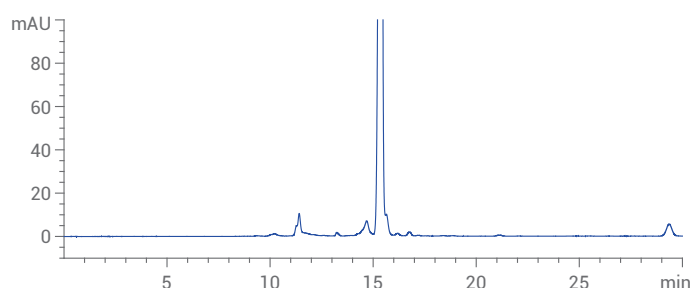


图 10. 头孢哌酮钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

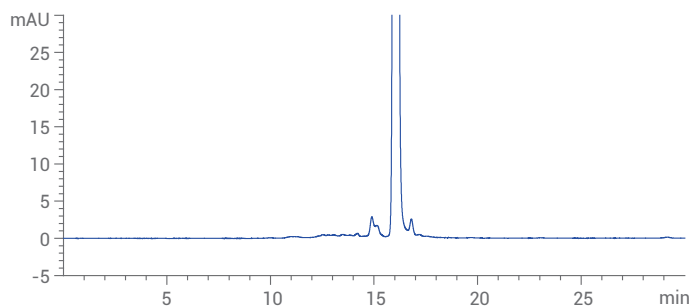


图 7. 头孢拉定在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

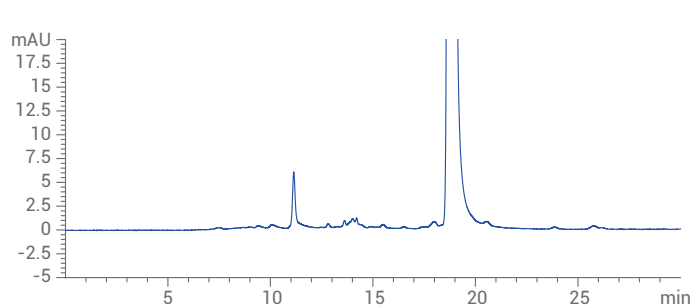


图 11. 头孢匹罗在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

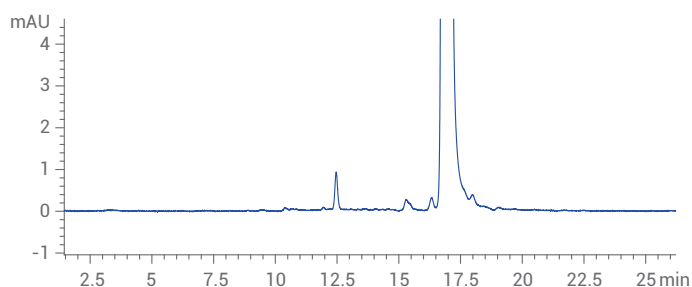


图 12. 头孢羟氨苄在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

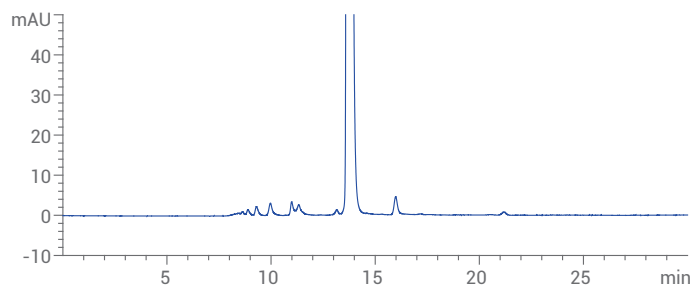


图 16. 头孢替唑钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

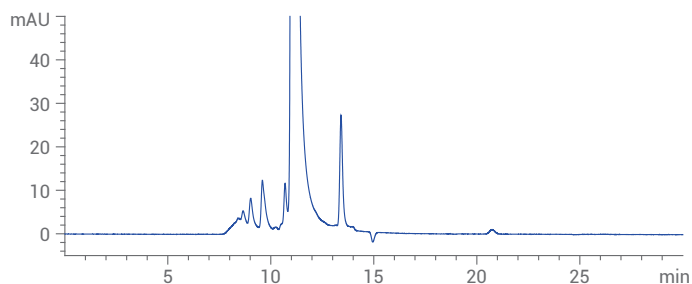


图 13. 头孢曲松钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

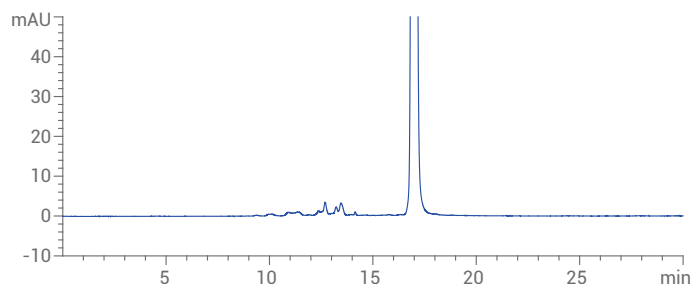


图 17. 头孢西林钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

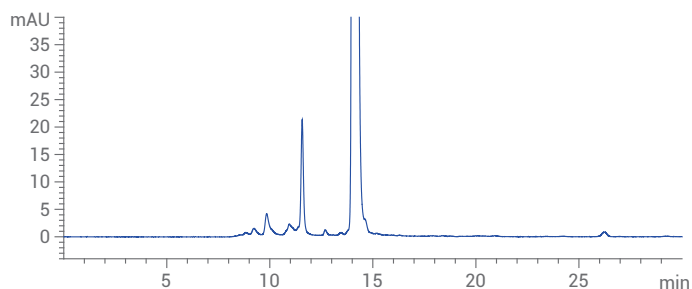


图 14. 头孢噻肟钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

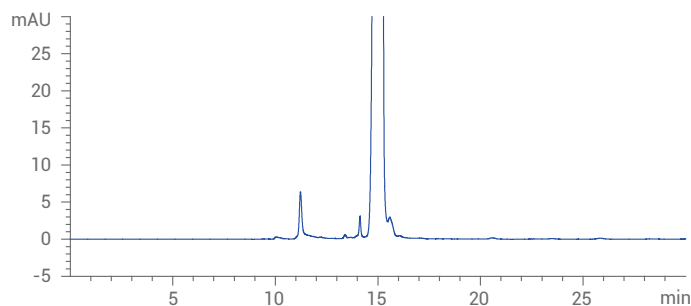


图 18. 头孢唑肟钠在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

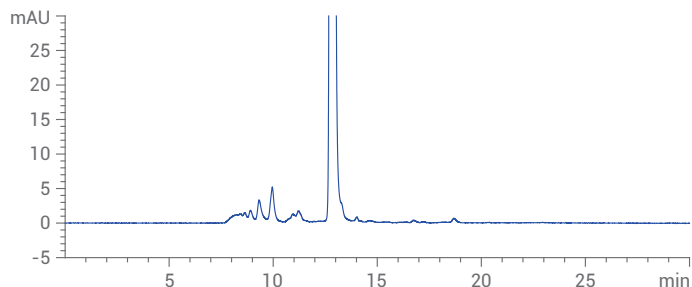


图 15. 头孢他啶在 AdvanceBio SEC 色谱柱上的分离结果

与 TSK G2000SWxl 相比, AdvanceBio SEC 色谱柱拥有更好的分离度与分离效率, 色谱柱塔板数是 TSK 同规格产品的近 2 倍。AdvanceBio SEC 色谱柱能耐受更高的压力, 机械强度更高, AdvanceBio SEC 色谱柱在前述条件下压力约为 100 bar, AdvanceBio SEC 色谱柱耐压 400 bar, 推荐操作压力不超过 200 bar, 色谱柱寿命明显延长。每份样品均重复进样 3 次, 保留时间无明显漂移, 结果重复性良好。

## 结论

本文使用 AdvanceBio SEC 130 , 7.8 × 300 mm, 2.7 μm 色谱柱, 采用《中国药典》现有球状亲水硅胶 SEC 柱的分析方法, 对 18 种抗生素进行了有关物质分析, 分离度与 TSK G2000SWxl 相比提升 20%; 传统 G-10 柱聚合物峰与主峰不能达到基线分离, 使用 AdvanceBio SEC 130 , 7.8 × 300 mm, 2.7 μm 色谱柱, 主峰相邻峰与主峰基本能实现基线分离, 获得了出色的分离度及稳定的结果。该方法可以作为各个生产企业及检测机构抗生素质量控制中有关物质 II 检项的参考。

## 参考文献

1. 《中国药典》2015 版, 第 249、254 页。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

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，2018  
2018 年 10 月 22 日，中国出版  
5994-0463ZHCN

