

应用纪要

借助采用MaxPeak™技术的CORTECS™ Premier色谱柱快速分析头孢菌素和相关药物

Brianna R Clements, Paul D. Rainville

Waters Corporation

摘要

头孢菌素是一类用于治疗感染的药物，其中有一些可以治疗严重的细菌感染。因此，用于头孢菌素质量控制测试的方法必须高效、精密和准确。在本应用中，我们开发了一种借助采用MaxPeak高性能表面(HPS)技术的CORTECS Premier色谱柱来分析头孢菌素的方法，并将该设置与传统不锈钢色谱设置进行了比较。该方法可在两分钟内提供线性、可重现且准确的结果。

优势

- 该方法可在两分钟内完成对常见头孢菌素的分析并提供结果

- 与传统不锈钢系统和色谱柱相比，采用MaxPeak技术的CORTECS Premier色谱柱改进了色谱性能，使峰高增加了40%
- 该方法能够定量实际药物样品，可应用于头孢菌素药物质量控制领域

简介

头孢菌素是一类用于治疗感染的药物¹。头孢菌素药物有五代，其中包括唯一对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA)有效的药物。头孢菌素是一类非常重要的药物，它们的质量控制测试必须准确高效。在本应用中，我们开发了一种借助采用全新MaxPeak高性能表面(HPS)技术的CORTECS Premier色谱柱快速分离和定量头孢菌素的RPLC方法。此外，我们还展示了Premier色谱柱技术与标准不锈钢方法相对头孢菌素分析的改进。

有研究发现，不锈钢硬件会与含羧酸盐的分析物（例如头孢菌素）相互作用，不利于色谱分析²。随着不锈钢系统不断老化和腐蚀，尤其是在使用RPLC中常用的酸性流动相时，这些相互作用变得更加明显。沃特世公司近期发布了采用全新MaxPeak HPS技术的Premier系列产品。MaxPeak HPS技术已被证明可以通过防止这些不需要的金属和分析物相互作用来缓解其中的一些挑战^{3,4,5}。

本研究将RPLC-UV与MaxPeak HPS技术相结合，与传统不锈钢方法相比，显著改进了头孢菌素的色谱分析。我们开发了一种快速分析方法，并证明了该方法的线性、重现性和准确性。

实验

分离方法的样品描述

头孢匹林、头孢克洛和头孢氨苄购自Sigma Aldrich（威斯康辛州密尔沃基）。使用100%水作为稀释剂，将所有头孢菌素制成浓度为1 mg/mL的单标储存液。然后将标准储备液稀释，并以20 µg/mL的浓度合并成头孢菌素混标。储备液储存于2 °C~8 °C下，在分析之前平衡至室温。

线性样品描述

配制头孢氨苄曲线标准储备液，浓度为1 mg/mL，并使用100%水稀释到10 mL容量瓶中。然后使用储备液制备各种校正标样，浓度范围：1 µg/mL~100 µg/mL。储备液储存于2 °C~8 °C下，在分析之前平衡至室温。

方法条件

液相色谱条件

本研究使用了两种仪器设置。ACQUITY™ Premier设置用于展示MaxPeak HPS技术，传统ACQUITY UPLC不锈钢装置用于与Premier装置进行比较。每个系统都使用相同的仪器条件运行，只是组件不同。

仪器设置

系统设置	Premier MaxPeak HPS	传统不锈钢
液相色谱系统:	ACQUITY™ Premier LC系统	ACQUITY UPLC™ I-Class系统
检测:	Waters™ Arc™ Premier 2998光电二极管阵列检测器, 254 nm	Waters™ 2998光电二极管阵列检测器, 254 nm
色谱柱:	CORTECS™ Premier C ₁₈ ⁺ 2.1 x 50 mm, 1.6 µm	CORTECS™ C ₁₈ ⁺ 2.1 x 50 mm, 1.6 µm
柱温:	30° C	
样品温度:	室温	
进样体积:	1.4 µL	
流速:	0.8 mL/min	
流动相A:	0.1%甲酸的去离子水溶液	
流动相B:	0.1%甲酸的乙腈溶液	

梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
初始	0.5	95	5	6
2.00	0.5	80	20	6
2.10	0.5	95	5	6
2.20	0.5	5	95	6
3.00	0.5	95	5	6
4.00	0.5	95	5	6

数据管理

色谱软件

Empower™ 3软件Build 3471

结果与讨论

分离方法的结果

该方法可分离和保留三种常见的头孢菌素并具有重现性。进样10次后，头孢菌素的峰面积和保留时间%RSD均≤5%（表1和表2）。下面的10次进样的叠加色谱图清楚地展示了方法性能（图1a）。

峰面积 重现性	头孢匹林 ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)	头孢克洛 ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)	头孢氨苄 ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)
平均值	66537	35450	70676
标准偏差	161	32	64
%RSD	0.24	0.09	0.09

表1. 头孢菌素混标的峰面积计数表 (含%RSD)

保留时间 重现性	头孢匹林 (min)	头孢克洛 (min)	头孢氨苄 (min)
平均值	0.94	1.10	1.35
标准偏差	0.00	0.00	0.00
%RSD	0.08	0.07	0.08

表2. 头孢菌素混标的保留时间表 (含%RSD)

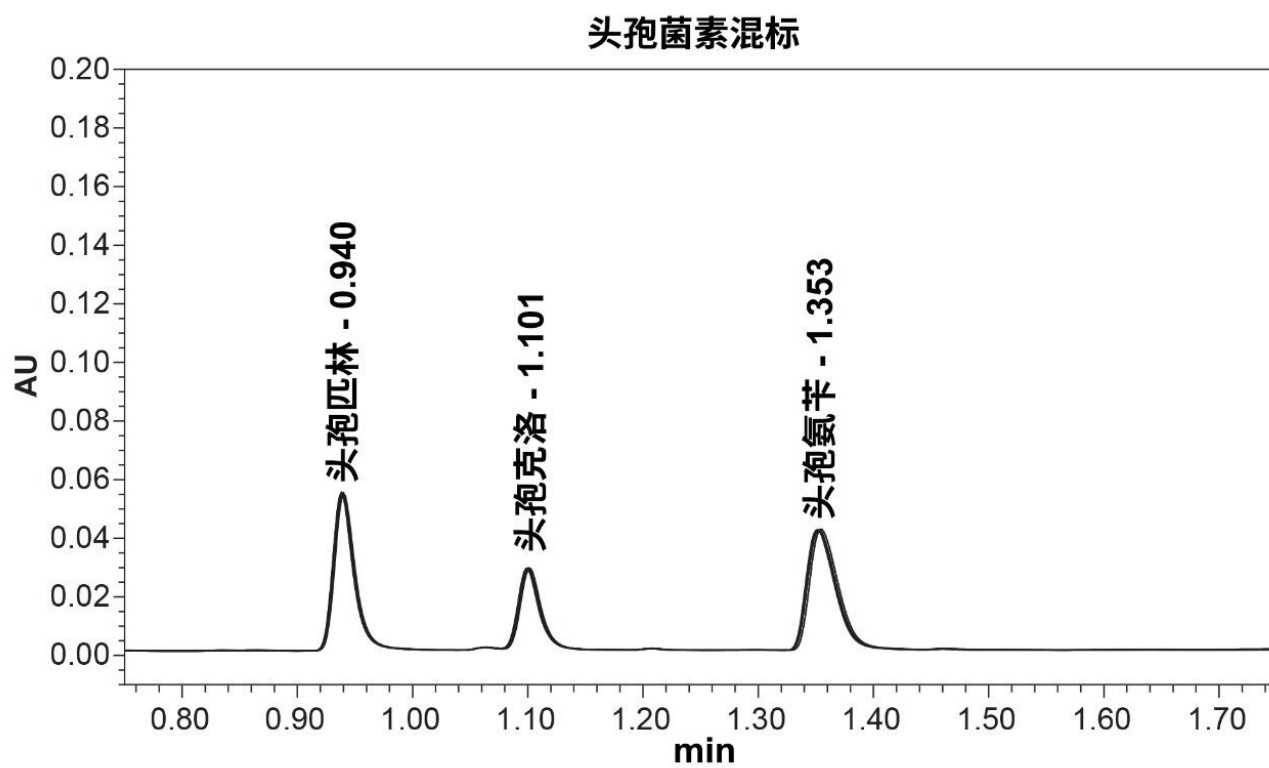


图1a.头孢菌素混标10次进样的叠加色谱图

线性结果

对头孢氨苄进行线性分析以证明该方法的定量适用性，收集的线性数据表明该方法可以用于质量控制测试（图2）。

头孢氨苄校正图

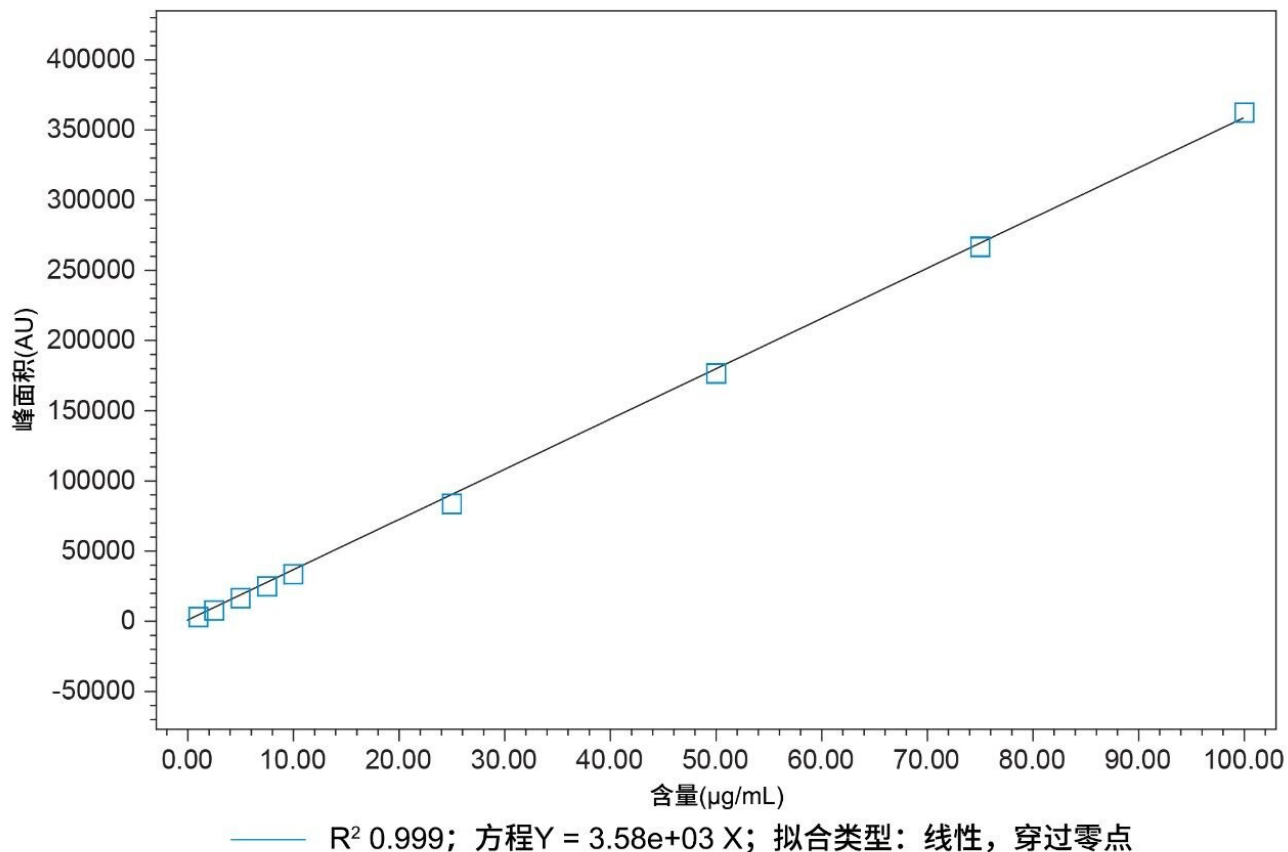


图2. 头孢氨苄的九点校正曲线，浓度范围：1 µg/mL~100 µg/mL。曲线的 R^2 值 ≥ 0.999 。

系统比较结果

将该方法转移到不锈钢系统上，来展示采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier色谱柱对头孢菌素分析的改进。在每种仪器设置中各进样10次相同的头孢菌素混标。如下面的图3a和3b所示，该方法在两套系统上都成功运行。

图3a和3b的色谱数据分别详见表3和表4。本研究清楚地展示了采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier色谱柱的优势。在两套系统中，Premier系统可使峰高信号增加高达40%。显然，与传统不锈钢设置相比，该技术在保留性、分离度和峰对称性方面对头孢菌素分析有明显改进。

头孢菌素名称	保留时间 (min)	峰面积 (AU)	峰高	USP分离度 (半峰高处)	USP拖尾因子
头孢匹林	0.94	66623	53721		1.36
头孢克洛	1.10	35469	27833	5.09	1.30
头孢氨苄	1.35	70703	41068	6.51	1.46

表3.图3a的色谱数据

头孢菌素名称	保留时间 (min)	峰面积 (AU)	峰高	USP分离度 (半峰高处)	USP拖尾因子
头孢匹林	0.91	65874	38357		1.55
头孢克洛	1.06	34366	19509	3.32	1.44
头孢氨苄	1.30	74801	35342	4.77	1.41

表4.图3b的色谱数据

样品定量结果

为证明该方法的定量应用，我们制备了浓度为50 µg/mL的头孢氨苄药物样品。定量分析所得到的样品浓度为49.27 µg/mL，回收率为98%（图4）。

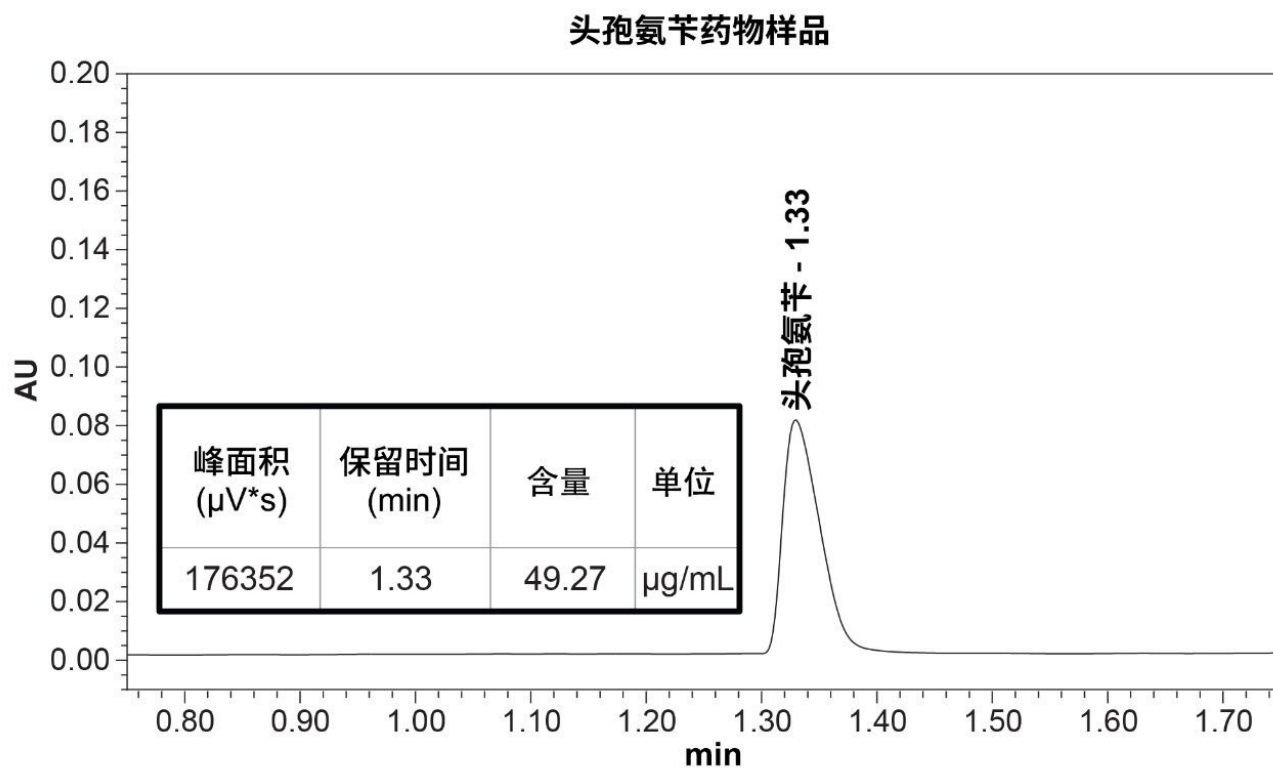


图4.头孢氨苄药物样品的色谱图，展示了该方法的定量潜力。

结论

本研究表明，与传统不锈钢色谱仪器和色谱柱相比，借助采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier色谱柱改进了头孢菌素的分析。该方法非常高效，每次进样后不到两分钟即可提供分析结果并且具有重现性。此外，该方法具有良好的线性，可对头孢菌素进行准确的定量分析。总之，与传统不锈钢色谱设置相比，采用MaxPeak HPS技术的CORTECS Premier色谱柱增强了头孢菌素分析。

参考资料

1. Bui T, Preuss CV. Cephalosporins [Internet]. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [2022年9月1日引用]. 参考网站: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/>.
2. Walter T, Trudeau M, Simeone J, Rainville P, Patel A, Lauber M, Kellett J, DeLano M, Brennan K, Boissel C, Birdsall R, Berthelette K. Low Adsorption UPLC Systems and Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces: The ACQUITY Premier Solution. Waters Corporation; Available from: [720007128 <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007128en.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007128en.pdf) , 2021 May.
3. Layton C, Rainville P. 使用MaxPeak Premier技术改进抗病毒药物稳定性方法的色谱性能. 沃特世应用纪要; [720007487ZH](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007487ZH), 2022年1月
4. Shah D, Smith K, Yang J, Hancock P. 使用ACQUITY UPLC H-Class PLUS和ACQUITY QDa质谱检测器分析各种饮料中的14种有机酸. 沃特世应用纪要; [720007289ZH](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007289ZH), 2021年8月.
5. 沃特世公司. CORTECS色谱柱, 应用文集. 参考文件: [720004739ZH <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004739en.pdf>](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004739ZH) , 2012年.

特色产品

ACQUITY Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135077739>>

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

2998光电二极管阵列(PDA)检测器 <<https://www.waters.com/1001362>>

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/10190669>>

MaxPeak Premier解决方案 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135071970>>

[720007750ZH](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720007750ZH), 2023年1月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)