**使用Ultra IBD 柱实现盘尼西林和头孢菌素类抗生素LC-MS的极好分离**

**简介：**

抗生素是世界上最广泛使用的药物。无论是作为处方药、动物的原料添加剂还是用做清洁剂，在这个文明世界中的每一个人，在日常生活中都会直接或者间接地暴露在抗生素中。然而抗生素的滥用已经导致抗药菌迅速滋生。在危地马拉有12,500人死于志贺氏菌发热，其原因可以追踪为菌株的一个简单突变。研究表明细菌将一个简单的质粒组合进RNA序列中，结果变成对四种不同的抗生素都产生抗药性。这个阐述了由于适应性产生的抗性所带来的危害。为了与抗性菌抗争，就必须创造出新的抗生素衍生物以战胜细菌新的防卫机制。抗生素的检测分析，最典型的是使用HPLC柱来分析盘尼西林和它们结构相连的头孢菌素类。然而，很多衍生物的相似性可能需要进行额外的反应才能有效地分离相关的化合物。Restek Ultra IBD柱利用极性和疏水作用可更好地分离这些化合物。

**背景：**

盘尼西林和头孢菌素抗生素类代表了世界范围内近60%的抗生素。这些抗生素含有一个硫原子，处于一个五元或者六元环中，附在一个四元ß-内酰胺环上。它们是由利用经选择的真菌或者链霉菌属菌物种的发酵过程产生的。产生衍生物最常用的两种方法：

1. 生物合成过程：真菌或细菌通过基因工程产生一种新的衍生物，或者在发酵过程中原料发生改动，产生生物合成的变体。
2. 半合成过程：来自于生物合成过程的材料被转化成化学衍生物。盘尼西林衍生物是通过盘尼西林G 或者V创造出来的，然而头孢菌素则是由头孢菌素C或头孢素C创造出来的。

但是生物合成不会产生纯的抗生素。即使清理了发酵醪液之后，仍会有一些副反应产物。很多副产物与主要分析物有密切关系（Figure 1）。然而，理想产物是在半合成过程中产生的。盘尼西林V可以通过化学中间体被转化成阿莫西林，而且仅仅是结构上稍有不同（Figure 2）。相似的反应同样也会发生在头孢菌素衍生物的生产中。苯基环上缺少一个氢负离子是头孢拉啶与它的副产物头孢氨苄唯一的结构差异（Figure 3）。半合成过程用于制备像头孢拉啶的衍生物。

不幸的是，很多盘尼西林和头孢菌素类是对酸不稳定，以至于如果样品溶解在中性介质中，只能用液相色谱分析法来分析这些分子。而且在柱子中的分析时间会被延长，在一个非中性PH的流动相条件下，可能会导致分析物的降解。当分析分析物的痕量时，尤其是用LC-MS进行分析，pH维持在7.4，对稳定性和准确定量可能会起到重要的作用。

**分析讨论**

Restek Ultra IBD相在盘尼西林和头孢菌素类的LC-MS分析中，与C18柱相比，适应性更广。Ultra IBD柱可以在流动相中有高达45%有机溶剂的反向模式中保留头孢菌素II。传统的C18柱则会损失所以保留近35%的有机溶剂（A conventional C18 column loses all retention near 35% organic solvent.）。与C18柱不同的是，IBD可在HILIC模式中与拥有被改变了的功能团的分析物发生极性反应。它能在流动相中有机溶剂量超过50%的HILIC模式中保留一种化合物，例如头孢菌素II，这可以提高LC-MS检测的灵敏度（Figure 4）。

IBD柱也具有其他的色谱的好处。无论在反向还是HILIC模式（Figure 5）中，头孢菌素II极好的峰型，提高了灵敏度，改良了定量。而且，头孢菌素和头孢菌素II的保留基本上都不会受pH的影响。如果水解作用造成不利影响，这个在分析过程中，允许控制pH范围从2.5-8，以获得头孢菌素和盘尼西林的最佳稳定性。IBD柱独特地混合了疏水性和极性的特征，能更好地密切相关的化合物。

**总结：**

像头孢菌素和盘尼西林这类紧密相关的化合物，要获得最佳的分离，可能会需要多于一种的相互作用。Restek IBD相仅仅使用简单的流动相就可提供那些相互作用。极好的峰型、加强的分离度和较宽的pH范围使之成为对用HPLC或LC-MS对盘尼西林衍生物和以头孢菌素为基础的抗生素进行分析的理想选择。

**Ultra IBD 柱（USP L68）**

色谱性能

Restek IBD柱是一种极性嵌入柱，表现为带有强氢键连接，很可能是目前为止适用性最广的柱子。这款柱子，带有独特的极性集团，甚至对酸类具有保留性和选择性。它的分离强碱的峰型对称。Restek IBD与100%水性流动相兼容，可以被用于反相货HILIC条件下，再高浓度的邮寄流动相中保留强极性的离子化合物。