

Time-of-Flight 질량 분석 검출을 이용한 Agilent 1260 Infinity 분석용 SFC 시스템

Method Scouting Wizard를 사용한 분석법 개발

저자

Stefan Bieber Analytical
Research Institute for
Non-Target Screening
(AFIN-TS) GmbH Augsburg,
Germany

Thomas Letzel Analytical
Research Group, Chair
of Urban Water Systems
Engineering, Technical
University of Munich (TUM)
Garching, Germany

Edgar Naegele and
Daniel Kutscher
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

개요

본 응용 자료는 Agilent 1260 Infinity 분석용 SFC 시스템을 이용하여 의약품의 아키랄 초임계 유체 크로마토그래피(SFC) 분리 분석법을 자동으로 개발하는 Agilent ChemStation Method Scouting Wizard 소프트웨어의 사용법을 설명합니다. SFC 시스템은 용매 선택 밸브와 컬럼 선택 밸브를 장착할 수 있어 최대 12개의 용매와 6개의 고정상으로 스크리닝 할 수 있습니다. ChemStation Method Scouting Wizard 소프트웨어를 이용하여 직접 간단한 분석법과 워크리스트를 생성할 수 있습니다. 그 결과, 포괄적이면서 시간을 크게 단축한 분석법 개발이 가능하였습니다.

소개

SFC를 이용한 응용은 계속 증가하고 있습니다. 이는 광범위한 화합물을 매우 효율적으로 분리해주는 SFC의 고유한 분리 특성 때문입니다¹. 액체 크로마토그래피(LC)에 사용되는 대부분의 아키랄 고정상은 폭 넓은 감도를 가지고 있어 SFC에 사용할 수 있습니다. 그러나 일반 LC에서와 달리 이동상의 압축률과 SFC의 머무름 메커니즘으로 인해 분석법 개발이 쉽지 않습니다. 그렇기 때문에, 아키랄 SFC 분석법 개발은 일반적으로 다른 고정상을 이용한 스크리닝과 시간을 단축해주는 다양한 이동상 조성, 첨가제, 압력 및 온도 조건을 결합하여 만들어집니다. 컬럼 및 이동상 스크리닝의 이점은 초기 응용 자료에 보고된 바 있습니다².

이 응용 자료는 time-of-flight 질량분석기(TOF MS)를 이용한 6개 의약품의 활성 화합물 분리를 위한 아키랄 SFC의 소프트웨어 지원 분석법 개발의 이점을 설명하고 있습니다. 분석법 개발에는 4개의 고정상 스크리닝과 10개의 유기 용매 이동상이 사용됩니다. ChemStation Method Scouting Wizard 소프트웨어를 이용하여 분리 분석법 뿐 아니라 세척 및 평형 단계를 생성할 수 있습니다.

실험

기기

Agilent 1260 Infinity 분석용 SFC 시스템은 다음의 모듈을 포함합니다.

- Agilent 1260 Infinity SFC II Control Module(G4301A)
- Agilent 1260 Infinity SFC Binary 펌프(G4302A)
- Agilent 1260 Infinity II SFC Multisampler(G4767A)
- 고압 SFC 플로우 셀이 장착된 Agilent 1260 Infinity 다이오드 어레이 검출기(G1315C)
- Agilent 1290 Infinity 향온 컬럼 장치(G1316C)

초기 기술 개요³는 Agilent 1260 Infinity II 분석 SFC 솔루션에 포함된 Agilent 1260 Infinity II SFC Multisampler(G4767A)의 성능을 설명합니다.

소프트웨어 지원 분석법 개발에 필요한 추가 부품

- Agilent InfinityLab Quick Change 12-포지션/13-포트 bio-inert 용매 selector 밸브(G4235A)가 장착된 Agilent 1290 Infinity 밸브 드라이브(G1170A)
- Agilent InfinityLab Quick Change 6-포지션/14-포트 밸브(p/n 5067-4142)

질량 분석 검출

- Agilent Jet Stream ESI 소스(G1958-65138)가 장착된 Agilent 6230 accurate-mass time-of-flight LC/MS(G6230B)
- 유속 보안을 위한 Agilent 1260 Infinity Isocratic 펌프(G1310B)

초기 기술 개요⁴에 SFC와 TOF MS 결합 분석을 위한 Jet Stream ESI 이온화 파라미터의 최적화 조건이 제시되어 있습니다.

기기 설정

1260 Infinity SFC Binary 펌프와 InfinityLab Quick Change 12-포지션/13-포트 밸브를 Agilent OpenLab CDS ChemStation Edition 소프트웨어에 구성하였습니다. 이 스크리닝은 최대 12 개의 용매 및 첨가제를 조합하였으며 OpenLab CDS ChemStation Edition 소프트웨어의 기기 구성 화면에 배치하였습니다. 1290 Infinity 향온 컬럼 장치에는 최대 6개의 고정상으로 스크리닝할 수 있는 InfinityLab Quick Change 6-포지션/14-포트 6 컬럼 선택 밸브를 장착하였습니다. 사용한 고정상은 OpenLab CDS ChemStation 컬럼 화면의 컬럼 표에 추가하였습니다. 모든 분석법은 ChemStation Method Scouting Wizard 소프트웨어를 사용하여 작성하였습니다(그림1).

SFC 시스템의 배출구는 6230 accurate-mass time-of-flight LC/MS의 Jet Stream ESI 소스에 연결하였습니다. 지속적인 질량 보정을 위해, 1260 Infinity Isocratic 펌프는 T-piece를 통한 SFC 배출구 선에 연결하였습니다. Purine 및 HP 921는 MS 재보정을 위한 기준 질량으로 사용되었습니다.

컬럼

- Agilent ZORBAX Bonus-RP, 2.1 × 150mm, 5µm(p/n 883725-901)
- Agilent Polaris NH2, 3.0 × 100mm, 3µm(p/n A2014100X030)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC, 3.0 × 100mm, 1.9µm(p/n 695675-301)
- Agilent ZORBAX Rx-SIL, 3.0 × 100mm, 1.8µm(rapid resolution HT; p/n 828975-301)

Step 3 of 8: Set up column screening

	Use	Name	Serial No.	Diameter [mm]	Length [mm]	Particle Size [µm]
	<input checked="" type="checkbox"/>	BonusRP	autolD-6	2.100	150.000	5.000
	<input checked="" type="checkbox"/>	Polaris NH2	autolD-7	3.000	100.000	3.000
	<input checked="" type="checkbox"/>	Poroshell HILIC	autolD-8	3.000	100.000	1.900
	<input checked="" type="checkbox"/>	Zorbax Sil	autolD-9-7	3.000	100.000	1.800



Step 8 of 8: Summary

You have set up method screening campaign "Column_Solvent_Screening_01" as summarized:

Description		Sequence		Solvent Usage																
#	Sample	Inj	Method	Type	Flow [mL/min]	Run Time [min]	Post Time [min]	Inj Vol [µL]	Vial	Column	Solvent(s)									
1			FlushBypass0001.m	Flush	1.000	17.50	0.00			Bypass	16.7 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 83.3 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
2			FlushBypass0002.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
3			Equilibration0001.m	Equilibration	2.000	1.56	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
4	Sample 2	1	Injection0001.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
5			Equilibration0002.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
6	Sample 2	1	Injection0002.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
7			Equilibration0003.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
8	Sample 2	1	Injection0003.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
9			Equilibration0004.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
10	Sample 2	1	Injection0004.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calib.: MeOH)									
11			FlushBypass0003.m	Flush	1.000	15.00	0.00			Bypass	100.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
12			FlushBypass0004.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
13			Equilibration0005.m	Equilibration	2.000	2.12	0.00			Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
14	Sample 2	1	Injection0005.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
15			Equilibration0006.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
16	Sample 2	1	Injection0006.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
17			Equilibration0007.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
18	Sample 2	1	Injection0007.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
19			Equilibration0008.m	Equilibration	2.000	2.81	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
20	Sample 2	1	Injection0008.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calib.: IPA)									
21			FlushBypass0005.m	Flush	1.000	15.00	0.00			Bypass	100.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
22			FlushBypass0006.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
23			Equilibration0009.m	Equilibration	2.000	1.56	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
24	Sample 2	1	Injection0009.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
25			Equilibration0010.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
26	Sample 2	1	Injection0010.m	Injection	2.000	8.00	0.00	1.000	Vial 3	Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									
27			Equilibration0011.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calib.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calib.: ACN)									

그림 1. Method Scouting Wizard 소프트웨어를 사용한 컬럼 용매 스크리닝의 설정 단계

소프트웨어

ChemStation Method Scouting Wizard 포함 C.01.07 SR3 버전 및 A.02.07 SR1 버전의 LC 및 LC/MS 시스템용 OpenLab CDS ChemStation Edition을 사용하여 SFC 시스템을 제어하고 분석법을 작성하였습니다. MS 데이터는

Agilent MassHunter Data Acquisition B 05.00을 이용하여 수집하였습니다. 데이터 평가는, Agilent MassHunter Profinder 버전 B.06.00 및 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 버전 B06.00 Sp1을 사용하였습니다.

화학품

모든 용매는 Merck에서, 모든 화학품은 Sigma-Aldrich에서 구입했습니다. 이산화탄소는 Westfalen Gas(Muenster, Germany)에서 구입했습니다.

이동상 조성

A: 이산화탄소

B: 표 1에 나열된 첨가제 함유 유기 용매

결과 및 토의

제시된 연구에서는, 6개의 의약품 활성 화합물에 대한 TOF MS 검출과 SFC 분리 분석법을 확립하였습니다. 이 연구의 목표는 충분한 머무름으로 분리능과 피크 모양을 갖춘 총 6개의 화합물 검출을 위한 고정상과 이동상의 적절한 조합을 찾는 것입니다. 이를 위해 일반적인 이동상 기울기 용리 분석법을 사용하여 4개의 고정상과 10개의 이동상 조성의 조합으로 스크리닝 하였습니다. 총 40개의 이동상 및 고정상 조합을 실험하였습니다. 각 이동상 및 고정상 조합에 대해 8분의 분석 시간과 충분한 세척 및 평형 시간을 두어, 전체 워크리스트를 약 11시간 내에 스크리닝할 수 있었습니다. 데이터는 조사된 화합물(배치 표적 성분 특징 추출)의 화학식에 기초하여 MassHunter Profinder를 사용하여 평가하였습니다. 화합물의 MS 검출을 위해서는, 두 개 이상의 특정한 이온과 10ppm 이상의 정확도를 가진 시그널이어야 합니다. 표 2에 데이터 평가 결과를 요약하였습니다.

표 1. 이동상 B의 첨가제

유기 용매	첨가제
Methanol	없음
Methanol	1% 물
Methanol	0.2% formic acid
Methanol	20mM ammonium acetate
Methanol	0.1% diethylamine
Isopropanol	없음
Isopropanol	1% 물
Isopropanol	0.2% formic acid
Isopropanol	0.1% diethylamine
Acetonitrile	없음

일반 이동상 기울기 용리

시간(분)	% B
0	5
4	40
6	40
7	5
8	5

시료

화합물	화학식	[M+H] ⁺	CAS 번호	화합물 용도
Primidone	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	219.11279	125-33-7	항경련제
Carbamazepine	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	237.10223	298-46-4	항간질제
Fenofibrate	C ₂₀ H ₂₁ ClO ₄	361.12010	49562-28-9	항고지혈증제
Nafcillin(sodium)	C ₂₁ H ₂₁ N ₂ NaO ₅ S	415.13220(Sodium 없음)	985-16-0	Beta-lactam antibiotic
Decoquinat	C ₂₄ H ₃₅ NO ₅	418.25878	18507-89-6	항원충제
Cloxacillin(sodium)	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₃ NaO ₅ S	436.07283(Sodium 없음)	642-78-4	Beta-lactam antibiotic

화합물을 acetonitrile에 용해하여 acetonitrile에 각각 50µmol/L의 시험 용액을 제조하였습니다.

SFC 분석

파라미터	값
용매 A	CO ₂
변형제 B	유기 용매와 첨가제의 10가지 조합
SFC 유속	2mL/분
역압 조절기	100bar, 60°C
온도	25°C
주입량	1µL

질량 분석법(ESI 양이온 모드)

파라미터	값
건조 가스 온도	275°C
건조 가스 유속	5L/분
Sheath gas 온도	275°C
Sheath gas 유속	6L/분
분무기 압력	45psi
캐필러리 전압	4,000V
Fragmentor	150V
Skimmer	60V

표 2. 다양한 고정상 및 이동상 조합으로 스크리닝된 화합물의 머무름 시간(RT). 검출되지 않은 화합물은 "-"로 표시하였습니다. 총 6개의 선택된 화합물의 효율적인 분리과 검출이 가능한 조합은 별표(*)로 표시됩니다.

고정상	이동상(CO ₂ 의 변형제)	Primidone RT(분)	Carbamazepine RT(분)	Cloxacillin RT(분)	Fenofibrate RT(분)	Nafcillin RT(분)	Decoquinatone RT(분)
ZORBAX Bonus-RP	Methanol	0.89	0.84	1.85	0.65	-	1.59
ZORBAX Bonus-RP	Methanol + 20mM ammonium acetate	0.86	0.79	1.54	0.63	2.10	1.52
ZORBAX Bonus-RP	Methanol + 1% 물	0.90	0.83	1.81	0.65	3.13	1.54
ZORBAX Bonus-RP	Methanol + 0.2% formic acid	0.90	0.84	1.80	0.64	3.13	1.55
ZORBAX Bonus-RP	Methanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Bonus-RP	Isopropanol	1.20	1.10	-	0.66	-	2.29
ZORBAX Bonus-RP	Isopropanol + 1% 물	1.18	1.10	-	0.64	-	2.17
ZORBAX Bonus-RP	Isopropanol + 0.2% formic acid	1.23	1.13	2.55	0.63	3.17	2.27
ZORBAX Bonus-RP	Isopropanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Bonus-RP	Acetonitrile	2.55	1.56	-	0.62	-	-
Polaris NH2	Methanol	1.80	1.45	5.56	0.73	-	2.00
Polaris NH2	Methanol + 20mM ammonium acetate	-	1.36	-	0.65	-	-
Polaris NH2	Methanol + 1% 물	1.81	1.46	-	0.62	3.24	1.89
Polaris NH2	Methanol + 0.2% formic acid	1.84	1.47	5.79	0.60	-	1.93
Polaris NH2	Methanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
Polaris NH2	Isopropanol	2.55	2.15	-	0.70	-	3.47
Polaris NH2	Isopropanol + 1% 물	2.55	2.14	-	0.67	-	3.26
Polaris NH2	Isopropanol + 0.2% formic acid	-	2.23	-	0.68	-	7.35
Polaris NH2	Isopropanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
Polaris NH2	Acetonitrile	-	4.52	-	0.69	-	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol	1.84	1.54	1.72	0.63	1.94	1.36
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol + 20mM ammonium acetate	-	-	-	0.60	3.63	-
*InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol + 1% 물	1.79	1.51	2.51	0.55	2.56	1.41
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol + 0.2% formic acid	1.83	1.53	1.60	0.61	1.79	1.38
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol + 0.1% diethylamine	-	1.45	-	-	-	1.39
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Isopropanol	-	2.18	1.53	0.56	1.70	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Isopropanol + 1% 물	2.28	2.03	1.54	0.60	1.70	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Isopropanol + 0.2% formic acid	2.43	2.20	1.39	0.59	1.54	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Isopropanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Acetonitrile	-	4.82	-	0.71	-	-
*ZORBAX Rx-SIL	Methanol	1.95	1.65	1.44	0.58	1.73	1.73
ZORBAX Rx-SIL	Methanol + 20mM ammonium acetate	1.95	1.64	2.99	0.53	-	1.55
*ZORBAX Rx-SIL	Methanol + 1% 물	1.95	1.63	2.44	0.56	2.62	1.53
ZORBAX Rx-SIL	Methanol + 0.2% formic acid	1.95	1.66	1.58	0.60	1.84	1.56
ZORBAX Rx-SIL	Methanol + 0.1% diethylamine	-	1.64	-	0.68	-	1.49
ZORBAX Rx-SIL	Isopropanol	2.49	2.28	1.55	0.64	1.81	3.97
ZORBAX Rx-SIL	Isopropanol + 1% 물	2.41	2.18	1.58	0.63	1.80	-
ZORBAX Rx-SIL	Isopropanol + 0.2% formic acid	2.55	2.35	1.49	0.63	1.69	-
ZORBAX Rx-SIL	Isopropanol + 0.1% diethylamine	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Rx-SIL	Acetonitrile	-	4.85	-	0.73	-	-

실험된 3개의 조합은 6개의 조사된 화합물에 대한 충분한 분리와 검출을 보여주었습니다. 1% 물이 함유된 methanol이동상과 InfinityLab Poroshell 120 HILIC 컬럼, 순수 methanol이동상, ZORBAX Rx-SIL 컬럼, 1% 물이 함유된 methanol과 ZORBAX Rx-SIL 컬럼의 조합을 사용하였습니다. 그림 2는 3가지 방법으로 분리된 화합물에 대한 추출 이온 크로마토그램(EICs)을 나타냅니다. 총 3개의 조합으로 3분 이내에 6개의 화합물을 분리할 수 있었습니다.

primidone, carbamazepine, fenofibrate 및 nafcillin의 경우, 모든 분리 설정 조건에 대해 충분히 대칭적인 피크 모양을 나타냈습니다. decoquinat과 cloxacillin는 methanol을 사용하여 ZORBAX Rx-SIL 컬럼에서 분리될 때 피크 테일링이 나타났습니다. 용매에 1% 물을 첨가한 결과 2개 화합물의 피크 모양이 개선되었습니다. EIC의 시그널 높이는 물 첨가의 영향을 거의 받지 않았습니다. ZORBAX Rx-SIL에서 분리된 화합물의 RT를 비교해보면 물과 같은 첨가제가 피크

모양뿐만 아니라 화합물의 머무름에도 영향을 준다는 것을 알 수 있습니다(표 3). 그러나 이런 영향은 거의 예측할 수 없으며, 화합물에 따라 다릅니다. primidone과 carbamazepine의 경우, 1% 물을 첨가할 경우 머무름이 약간 감소하는 반면 nafcillin과 cloxacillin의 경우에는 크게 증가하였습니다. 이는 분석법 스크리닝 과정에 다양한 첨가제의 필요성을 강조합니다. 종종 상호작용 분리에 영향을 미치는 이런 요인들은 SFC의 분석법 개발을 복잡하게 할 수 있습니다.

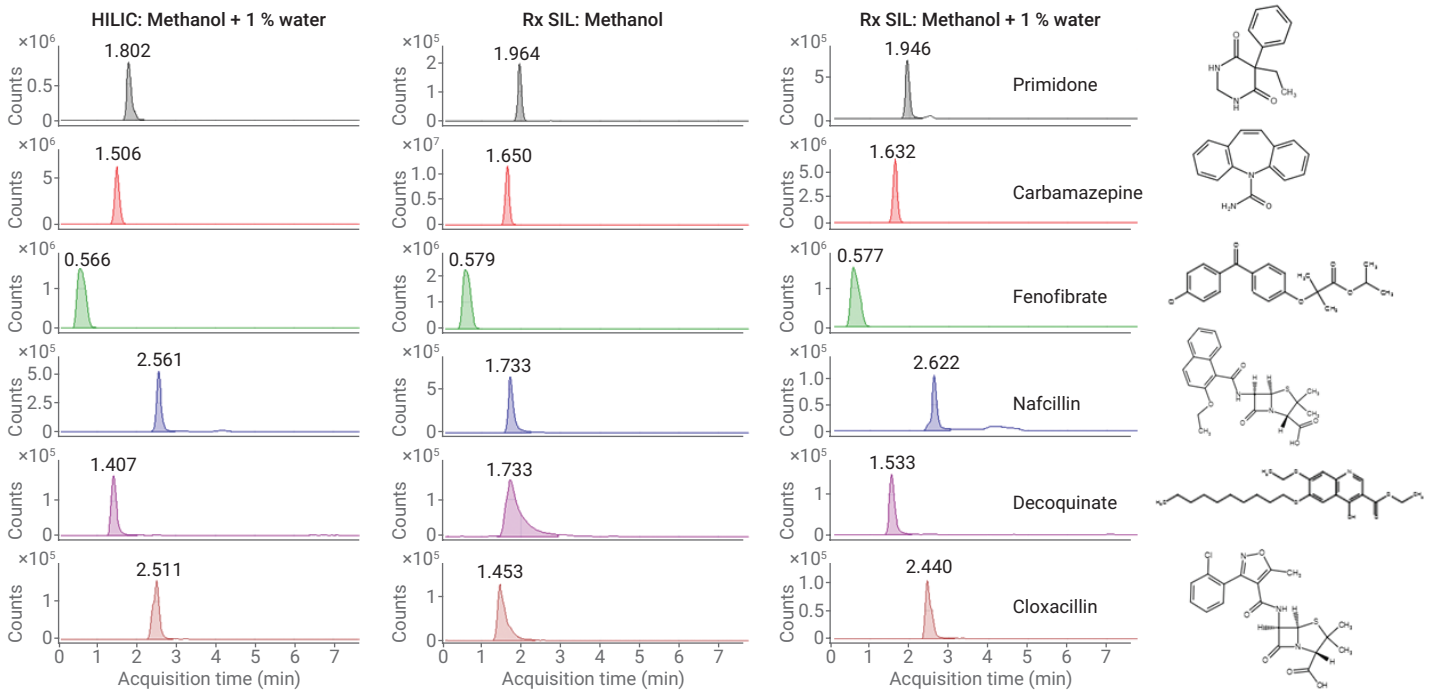


그림 2. methanol + 1% 물과 InfinityLab Poroshell 120 HILIC컬럼, methanol 과 Rx-SIL 컬럼 및 methanol + 1% 물과 Rx-SIL컬럼을 이용하여 SFC로 분리된, 6개 화합물의 추출 이온 크로마토그램(20ppm 질량 정확도)

표 3. Methanol 또는 methanol + 1% 물을 사용하여 ZORBAX Rx-SIL 및 InfinityLab Poroshell 120 HILIC로 분리한 화합물의 RT 및 피크 폭

컬럼	CO ₂ 의 변형제	Primidone		Carbamazepine		Cloxacillin		Fenofibrate		Nafcillin		Decoquinat	
		RT (min)	Width (min)	RT (min)	Width (min)	RT (min)	Width (min)	RT (min)	Width (min)	RT (min)	Width (min)	RT (min)	Width (min)
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	Methanol + 1% 물	1.80	0.10	1.51	0.10	2.51	0.07	0.57	0.24	2.56	0.07	1.41	0.11
ZORBAX Rx-SIL	Methanol	1.96	0.07	1.65	0.09	1.45	0.11	0.58	0.21	1.73	0.09	1.73	0.29
ZORBAX Rx-SIL	Methanol + 1% 물	1.95	0.08	1.63	0.09	2.44	0.07	0.58	0.21	2.62	0.08	1.53	0.10

결론

본 연구에서는 6개의 의약품 활성 화합물을 SFC/TOF-MS로 분리하고 검출하였습니다. 분석법 개발을 위해 40개의 고정상 및 이동상 조합을 사용하였습니다. 분석물질을 분리하기 위해 실험된 상 중에서 1%의 물 (및 ZORBAX Rx-SIL 무함유)을 첨가한 methanol과 2개의 실리카 상(InfinityLab Poroshell 120 HILIC와 ZORBAX Rx-SIL)이 가장 적합하였습니다. Method Scouting Wizard 소프트웨어를 이용하면 여러 고정상 및 이동상을 자동화된 방법으로 스크리닝할 수 있으며, 스크리닝 과정을 설정하기 위한 필요시간을 크게 절약할 수 있습니다. 이 소프트웨어는 분리 온도, 이동상 조성 및 기울기 용리 프로파일을 스크리닝하고 최적화하기 위한 옵션을 제공합니다. 또한 SFC에서의 분리에 영향을 주는 가장 중요한 파라미터를 고려하여, 신속하고 포괄적인 분석법 개발이 가능하도록 합니다.

감사의 글

2016년 SFC 시스템을 위한 Agilent Technologies와 Agilent Technologies, Inc. Research Project Grant에 감사를 표합니다. Andreas Borowiak, Thorsten Gebhardt, Patric Hörth, Uwe Kistler, Tom van de Goor는 지속적인 지원과 모든 상황의 일반 공개를 허락해준 데 대해 크게 감사하고 있습니다. Sylvia Große, Felix List, Wolfgang Schröder의 헌신에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bieber, S.; *et al.* RRLC-HILIC and SFC with Mass Spectrometry: Polarity Extended Organic Molecule Screening in Environmental (Water) Samples. *Analytical Chemistry* **2017**, *89*(15), 7907-7914.
2. Strategies for Column and Mobile Phase Selection with the Agilent 1260 Infinity SFC System, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-7147EN.
3. Supercritical Fluid Chromatography with Flexible Injection Volumes at Highest Precision – Performance Evaluation of the Agilent 1260 Infinity II SFC Multisampler in the Agilent Infinity II Analytical SFC Solution, *Agilent Technologies Technical Overview*, publication number 5991-7623EN.
4. Optimization of Jet Stream ESI Parameters When Coupling Agilent 1260 Infinity Analytical SFC System with Agilent 6230 TOF LC/MS, *Agilent Technologies Technical Overview*, publication number 5991-4510EN.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 10월 5일, 한국에서 인쇄
5994-0251KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr