

ISET 포함 Agilent 1260 Infinity II Prime LC

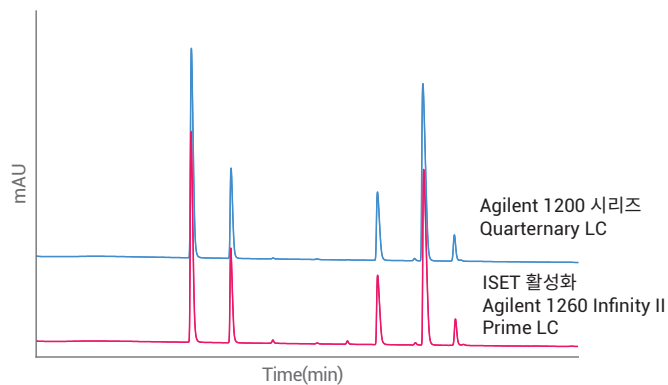
Antihistaminic(항히스타민) 약품 분석에서 Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC 에뮬레이션하기

저자

Clarissa Dickhut,
Melanie Metzlaff
Agilent Technologies, Inc.
Waldbronn, Germany

개요

애질런트의 ISET(Intelligent System Emulation technology)를 이용하면 Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC 등 전통적인 LC 시스템의 분석법을 Agilent 1260 Infinity II Prime LC로 원활하게 이전할 수 있습니다. 이 응용 자료는 5개 Antihistaminic(항히스타민) 약품 분석에서 ISET가 나타내는 이점에 대해 설명합니다. 1200 시리즈 Quaternary LC의 원본 데이터를 다른 실험에서 측정한 머무름 시간 및 분리능과 비교했습니다. ISET 기술을 통해 두 시스템 모두에서 재현성 높은 결과를 얻을 수 있었습니다.



소개

전통적인 HPLC 시스템의 분석법을 Agilent 1260 Infinity II Prime LC와 같은 UHPLC 시스템으로 이전하는 것은 중요한 일이며, 수많은 실험실, 특히 엄격한 규제를 준수해야 하는 실험실에서 매우 중요한 문제입니다. UHPLC 시스템은 전통적인 HPLC 시스템에 비해 더 낮은 시스템 지연량(delay volume)을 가지며, 보통 상이한 펌프 혼합 양상을 보입니다. 이와 같은 특성은 기기 간 분석법 이전에서 머무름 시간(RT)과 분리능의 차이로 이어질 수 있습니다. 시간 및 비용이 많이 소모되는 기존 분석법 재밸리데이션을 방지하려면 실험 시작 단계에서 등용매를 유지하거나, 추가 지연량(delay volume)을 설치하는 등의 방법을 사용할 수 있습니다¹. 그러나 이러한 방법으로는 지연량(delay volume)의 차이만이 고려될 뿐, 두 분석 펌프의 혼합 양상 차이는 반영할 수가 없습니다.

애질런트의 ISET(Intelligent System Emulation technology)는 원활한 분석법 이전 및 유사한 크로마토그래피 결과를 약속드립니다². ISET를 이용하면 지연량(delay volume) 차이 및 펌프 혼합 양상 차이가 제대로 반영되어 분석법 변경이나 LC 시스템 변경은 필요하지 않습니다.

이 응용 자료는 5개 Antihistaminic(항히스타민) 약물 혼합물의 분리기에 대해 설명합니다. 우선 Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC로 약물 혼합물을 분석한 다음, 기존 LC의 분석법을 Agilent 1260 Infinity II Prime LC로 이전시켰습니다. 분석법을 이전할 때 ISET 기능의 사용 유무에 따른 두 가지 조건에서 실험을 각각 수행했습니다. 여기에 ISET의 fine-tuning 옵션을 활용하여 분석법을 이전하는 실험을 추가해, 분석법 이전이 어떻게 최적화될 수 있는지를 시연했습니다. 측정된 머무름 시간과 분리능을 1200 시리즈 Quaternary LC의 결과와 비교해 보았습니다.

실험

기기

Antihistaminic(항히스타민) 약물 분석을 위해 다음 기기가 사용되었습니다.

Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC:

- Agilent 1200 시리즈 Quaternary Pump(G1311A)
- Agilent 1200 시리즈 Autosampler(G1329A)
- Agilent 1200 시리즈 Thermostatted Column Compartment(G1316A)
- Agilent 1200 시리즈 Diode Array Detector(G1315D)

Agilent 1260 Infinity II Prime LC:

- Agilent 1260 Infinity II Flexible Pump(G7104C)
- 통합형 시료 냉각기(Option #100) 장착 Agilent 1260 Infinity II Multisampler(G7167A)
- Agilent 1260 Infinity II Multicolumn Thermostat(G7116A)
- Agilent 1260 II Diode Array Detector(G7117C)

소프트웨어

Agilent OpenLAB CDS 2.2(M8413A)

시료

각 농도가 150ng/μL인 5가지 Antihistaminic(항히스타민) 약물 혼합물(용출 순서대로 배열): tripelenamine, chlorpheniramine, tetracaine, promethazine, cetirizine.

화학품

용매는 전부 LC 등급 용매를 사용했으며, 초순수는 0.22μm의 membrane point-of-use cartridge(Millipak)를 장착한 Milli-Q Integral 시스템에서 얻었습니다. Antihistaminic(항히스타민) 약물은 미국 세인트루이스의 씨그마알드리치에서 구입하였습니다.

표 1. Antihistaminic(항히스타민) 약물 혼합물 분석 크로마토그래피 파라미터

파라미터	값
컬럼	Agilent ZORBAX SB C18, 4.6 × 75mm, 3.5μm(p/n 866953-902)
이동상	A) 0.1% TFA in water B) acetonitrile
유속	0.8mL/min
Gradient	10 to 55 %B in 10min
중지 시간	12min
Post time:	5min
주입량	5μL with 3 seconds needle wash(50% acetonitrile in water)
컬럼 온도	25°C
검출	232/8nm, Ref. Off, 20Hz

결과 및 토의

5가지 Antihistaminic(항히스타민) 약품은 1200 시리즈 Quaternary LC(3.5 μ m 입자로 충전된 4.6 × 75mm컬럼 이용)에서 전통적인 분석법을 통해 분석되었습니다. 우선, ISET를 비활성화시킨 상태로 분석법을 1260 Infinity II Prime LC로 이전하였습니다. 예상한 대로 5가지 분석물의 초기 머무름 시간이 모두 변경되었습니다. 그 다음, ISET 기능을 활성화한 상태로 분석법을 이전시켜 보았습니다. 그림 1은 1200 시리즈 Quaternary LC를 이용한 기존 크로마토그램과 ISET 기능을 활성화 및 비활성화한 상태에서 분석법을 1260 Infinity II Prime LC로 이전했을 때 얻은 두 크로마토그램을 비교한 결과입니다.

ISET 사용 시, Antihistaminic (항히스타민) 약품의 RT는 기존 크로마토그램과 일치했으며, 머무름 시간 편차는 3% 미만으로, 5%의 ISET 사양을 만족했습니다². 반면에 ISET를 사용하지 않을 경우에는 머무름 시간이 약 5 ~ 11% 가량 변경되었습니다.

머무름 시간을 최고로 일치하게 하기 위해 ISET의 fine-tuning 기능을 활성화하였습니다. 50 μ L의 지연량(delay volume) 오프셋이 모든 피크의 머무름 시간을 약간 앞당겼습니다. 그림 2는 기존 크로마토그램과 ISET fine tuning 기능을 활성화 및 비활성화한 상태에서 분석법을 1260 Infinity II Prime LC로 이전했을 때 얻은 두 크로마토그램을 비교한 결과입니다.

fine tuning 기능 적용 결과, 5가지 Antihistaminic(항히스타민) 약품의 머무름 시간은 0.5% 이하의 RT 변경률을 보이며 기존 크로마토그램과 매우 유사하게 나타났습니다. 표 2는 실험에서 나타난 머무름 시간을 정리해서 보여줍니다.

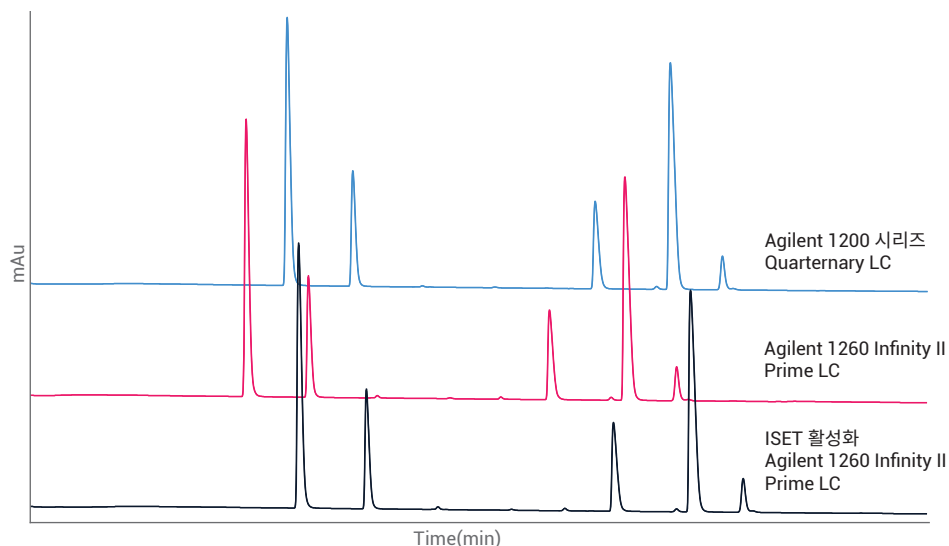


그림 1. Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC(푸른색), ISET를 비활성화시킨 상태(붉은색) 및 활성화시킨 상태(검은색)로 분석법 이전 후 Agilent 1260 Infinity II Prime LC의 Antihistaminic(항히스타민) 약품 분석 결과

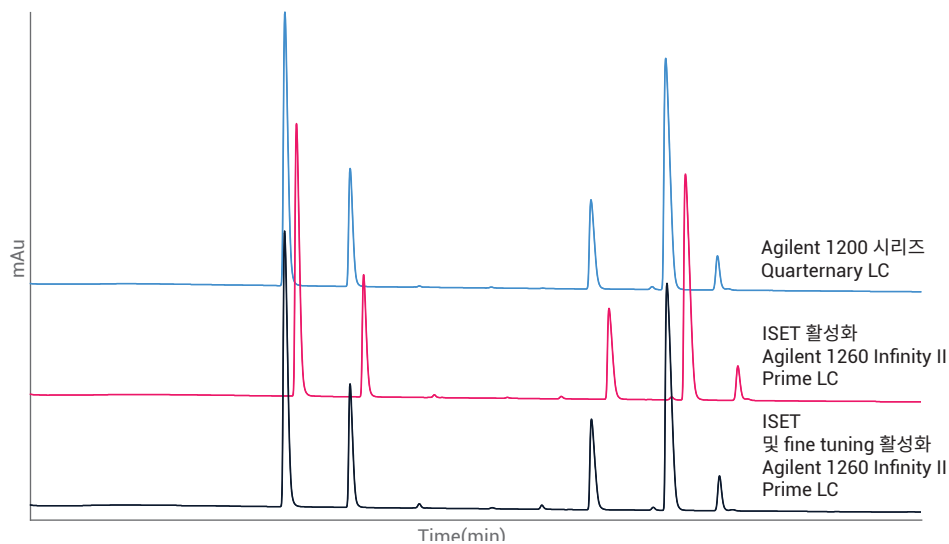


그림 2. Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC(푸른색), ISET를 활성화시킨 Agilent 1260 Infinity II Prime LC(붉은색), ISET 및 fine tuning 기능을 활성화시킨 Agilent 1260 Infinity II Prime LC(검은색)로 Antihistaminic(항히스타민) 약품을 분석한 크로마토그램 오버레이

표 2. Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC, ISET 비활성화 Agilent 1260 Infinity II Prime LC, ISET 활성화 Agilent 1260 Infinity II Prime LC, ISET 및 fine tuning 활성화 Agilent 1260 Infinity II Prime LC를 이용한 여러 Antihistaminic(항히스타민) 분석의 머무름 시간

Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC		
RT(min)	RT(min)	ISET 활성화 RT(min)	ISET 및 fine tuning 활성화 RT(min)
4.51	4.02	4.64	4.50
5.28	4.75	5.43	5.27
8.11	7.58	8.33	8.13
8.99	8.46	9.23	9.02
9.60	9.06	9.84	9.64

그림 3은 머무름 시간 변경 측정치를 보여줍니다.

1200 시리즈 Quaternary LC, ISET와 fine-tuning 기능을 사용한 1260 Infinity II Prime LC로 얻은 결과의 머무름 시간, 면적, 분리능의 정밀도를 비교했습니다. 이 값의 측정을 위해 두 LC 시스템에서 연속 10회의 실험을 반복했습니다(표 3). 두 시스템 모두 우수한 정밀도를 보였으며, 1260 Infinity II Prime LC가 머무름 시간 및 면적 정밀도 면에서는 조금 더 나은 결과를 나타냈습니다.

결론

애질런트의 ISET(Intelligent System Emulation technology)는 전통 HPLC 시스템의 분석법을 Agilent 1260 Infinity II Prime LC로 원활하게 이전할 수 있게 합니다. ISET 기능은 사용하기 쉬우며, 기기나 분석법의 변경 없이도 매우 일치한 크로마토그램을 얻을 수 있습니다. Antihistaminic(항히스타민) 약물 분석에 쓰이는 분석법은 Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC에서 1260 Infinity II Prime LC로 이전되었습니다. 1260 Infinity II Prime LC의 ISET와 fine-tuning 기능을 활성화시킴으로써 머무름 시간 편차를 0.5% 이하로 유지해 뛰어난 일치성을 보였습니다. 또한 분석법 이전을 통해 머무름 시간 및 면적 정밀도가 향상되었으며, 1260 Infinity Prime LC는 동종 최고의 성능을 증명했습니다.

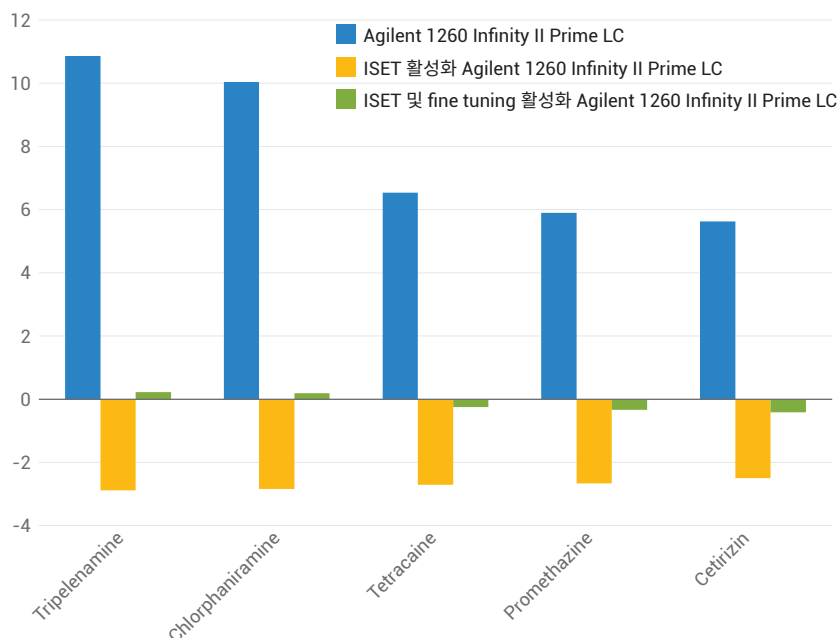


그림 3. Agilent 1200 시리즈 LC 시스템의 원본 데이터와 ISET 활성화/비활성화 및 fine tuning 추가 활성화 시 Agilent 1260 Infinity II Prime LC의 머무름 시간 편차

표 3. Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC와 Agilent 1260 Infinity II Prime LC의 머무름 시간, 면적 정밀도, 분리능 비교

	RSD RT(%)		RSD 면적(%)		분리능	
	Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC	Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC	Agilent 1200 시리즈 Quaternary LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
Tripelenamine	0.06	0.03	0.091	0.052	–	–
Chlorphaniramine	0.05	0.03	0.111	0.052	8.06	8.34
Tetracaine	0.02	0.03	0.139	0.052	27.78	28.56
Promethazine	0.02	0.02	0.095	0.074	7.05	7.24
Cetirizine	0.02	0.01	0.135	0.072	5.47	5.59

참고문헌

1. Gratzfeld-Huesgen, A. Transferring methods to the Agilent 1290 Infinity LC using Intelligent System Emulation Technology (ISET) – Analysis of metoclopramide hydrochloride and its impurities, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-9692EN, **2014**
2. Agilent 1290 Infinity II with ISET, *Agilent Technologies User Manual*, part number G4220-90313, **2015**

www.agilent.com/chem

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지할 수 없습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
2017년 12월 1일 한국에서 인쇄
5991-8786KO

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