

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼과 ELSD 검출을 이용한 Aminoglycoside 항생제의 불순물 분석

저자

Rongjie Fu and Adam Bivens
Agilent Technologies, Inc.

개요

Aminoglycoside는 널리 쓰이는 강력하고 대표적인 항생제입니다. Aminoglycoside와 그 불순물은 모두 아주 높은 극성을 보유하고 있기 때문에 역상 크로마토그래피(RPLC)로 분석하기에는 매우 어렵습니다. 소수성 상호작용 크로마토그래피(HILIC)는 이러한 극성 분자들을 분리할 때 시스템 또는 용매를 최대한 변경하지 않으면서 RPLC에 비해 상대적으로 편리하고 빠른 분석법입니다.

소개

이 응용 자료에서는 어떻게 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.7µm 컬럼을 이용해 Aminoglycoside 항생제인 Ribostamycin에서 표적 불순물인 Neamine과 기타 불순물을 분리할 수 있는지에 대해 다루고 있습니다.

두 화합물의 UV 신호는 모두 약하기 때문에 ELSD가 사용되었습니다.

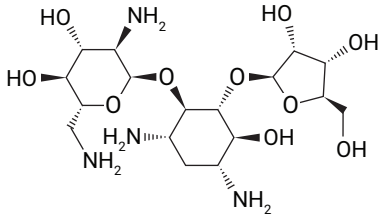


그림 1. Ribostamycin 구조

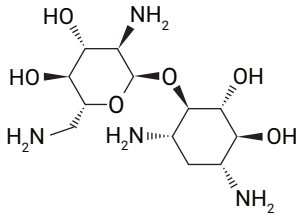


그림 2. Neamine 구조

실험

시약 및 화학물질

모든 시약은 HPLC 등급 이상입니다. HPLC 등급 아세트산 암모늄은 J. T. Baker(Center Valley, PA, U.S.A.)에서 구입하였습니다. 물은 EMD Millipore Milli-Q Integral System(Darmstadt, Germany)을 이용해 얻었습니다. 아세트산 암모늄, Ribostamycin 황산염, Neamine은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였습니다.

장비 및 재료

- 애질런트 InfinityLab 피팅
- **컬럼 주입구:** Agilent InfinityLab Quick Connect fitting (p/n 5067-5965)
- **컬럼 배출구:** Agilent InfinityLab Quick Turn fitting (p/n 5067-5966)
- Agilent Captiva Econofilter, PTFE membrane, 13 mm diameter, 0.2 µm pore size (p/n 5190-5265)
- Agilent Vial, screw top, amber, write-on spot, certified, 2 mL, 100/pk (p/n 5182-0716)
- Agilent bonded screw cap, PTFE/red silicone septa (p/n 5190-7024)
- Agilent InfinityLab solvent bottle, amber, 1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe cap, GL45, 3 ports, 1 vent valve (p/n 5043-1219)
- Eppendorf 피펫 및 repeater
- Sonicator (VWR, Radnor, PA, USA)
- 볼텍서 및 멀티튜브 볼텍서 (VWR, Radnor, PA, USA)

기기

- Agilent 1260 Infinity II binary 펌프 (G7112B)
- Agilent 1260 Infinity II vialsampler (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II multicolumn thermostat (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II ELSD(G7102A)
- 애질런트 OpenLAB 소프트웨어

시료 전처리

- **시료 1:** 물로 0.4mg/mL의 Ribostamycin 황산염과 0.2mg/mL의 Neamine 혼합물을 만든 후 아세토니트릴(ACN)로 50% 희석합니다.
- **시료 2:** 4mg/mL Ribostamycin 황산염에 2% neamine (0.08mg/mL)을 스파이킹 한 수용액이 되도록 만들었습니다.

이동상 준비

아세트산 암모늄 중량 측정 후 물을 이용해 100mM의 농도로 희석합니다. 완충용액은 한 번에 1L씩 준비하며, 변질 및 미생물 증식을 막기 위해 정기적으로 교체합니다.

기기 조건

HPLC 조건	
컬럼	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 2.1 × 100mm(p/n 685775-924)
이동상 A	100mM 아세트산 암모늄
이동상 B	아세토니트릴
유속	0.40mL/분
컬럼 온도	25°C
주입량	2µL
Gradient	0-1min 65% B 1-5min 65-55 %B 5-10min(stop) 55 %B 10-13min(postrun) 65 %B
ELSD 조건	
Nebulizer 온도	40°C
Evaporator temperature	40°C
가스 유속	1.6SLM
데이터 수집 속도	40Hz

결과

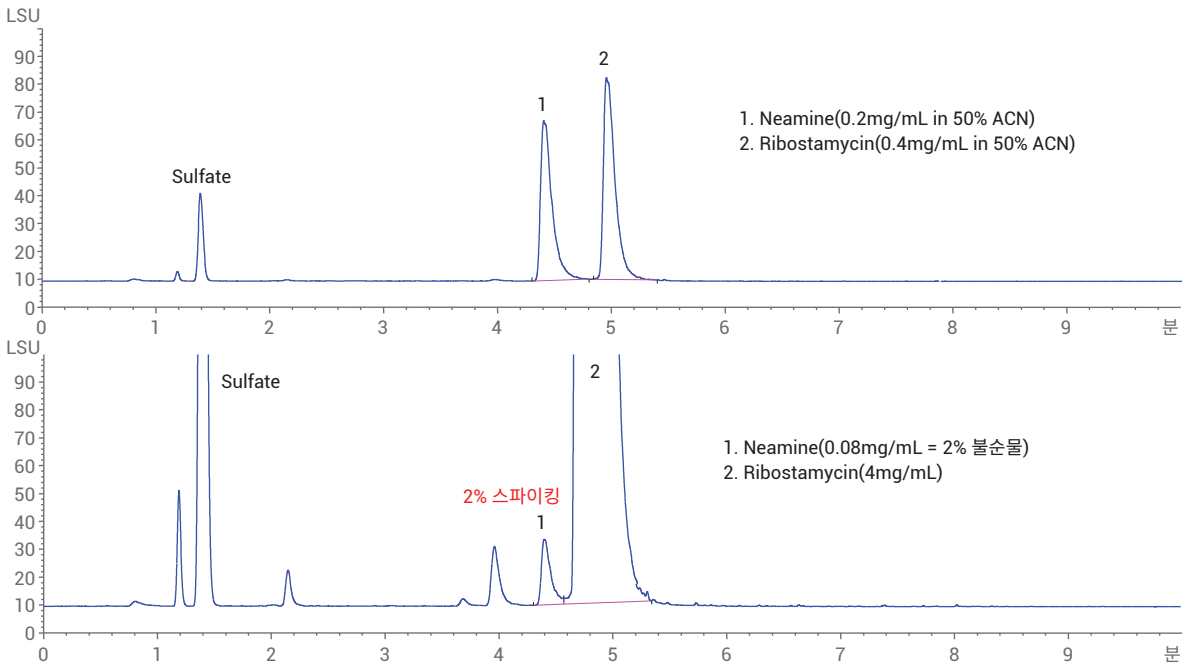


그림 3. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z LC 컬럼을 이용한 Neamine과 Ribostamycin의 분리

결론

실험 결과, Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 컬럼을 이용하여 주요 Ribostamycin 화합물에서 Neamine을 포함한 불순물을 성공적으로 분리할 수 있었습니다. 양쪽성 이온(zwitterion) 기반의 HILIC-Z 결합상은 우수한 분리능과 피크 모양을 나타냈습니다.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 5월 24일, 한국에서 인쇄
5991-8824KO

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

