

포스터 재인쇄

ASMS 2019
WP277

MS 도입의 증가:

비전문가를 위해 설계된 자기 인식 질량 분석기

질량 검출을 통한 명확한 분석물질 확인으로 크로마토그래피 결과를 향상시키는 Agilent InfinityLab LC/MSD iQ SQ의 활용

Kyle Covert, PhD, Maggie A. Ostrowski, PhD
Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA

서론

UV 검출 기능을 가진 HPLC는 제약 실험실에서 가장 널리 사용하는 분석 기술입니다. 실험실에서 반응 동역학을 이해하고, 일상적인 제조 과정 제어를 수행하거나 혹은 출발물질, 중간산물 및 API에 대한 출하 시험을 진행하려는 경우 어디에서든지, HPLC는 작업의 핵심입니다. 크로마토그래퍼들은 효율성을 극대화하기 위해 끊임없이 더 짧은 그레디언트의 HPLC 분석을 필요로 하고 있습니다. 신뢰성이 높은 결과를 빠르게 얻으려면 질량 선택적 분석 기능을 추가하여 향상된 특이성과 감도로 분석물질을 명확하게 확인함으로써, 가장 파악하기 어려운 분석물질에 대해서도 확인 및 모니터링 할 수 있습니다.

질량 분석법(MS)은 화합물 분석에 신뢰성과 확실성을 제공합니다. 지금까지 많은 실험실들이 운영의 복잡성, 교육 과정의 어려움, 큰 기기 풋프린트, 높은 소유 비용 등으로 인해 일상적인 크로마토그래피 실험실에 질량 검출을 도입할 수 없었습니다. 최근 개발한 Agilent InfinityLab LC/MSD iQ 질량 선택 검출기는 이러한 도입 장벽을 극복하여 질량 정보에 액세스할 수 있는 기회를 열고, 분석 기술의 도입을 용이하게 합니다. InfinityLab LC/MSD iQ의 새로운 하드웨어와 소프트웨어 설계는 교육 과정을 최소화하고 확실한 질량 확인 기능을 제공하는 자가 작동 MS 검출 시스템을 제공합니다.

실험



그림 1. InfinityLab Flex Bench MS에 InfinityLab II Prime HPLC 시스템과 함께 설치된 InfinityLab LC/MSD iQ

실험

InfinityLab LC/MSD iQ 개요

애질런트의 LC/MSD iQ 질량 선택 검출기는 처음부터 쉬운 사용성 및 향상된 유연성을 제공함과 동시에, 견고하고 신뢰할 수 있는 운영을 위해 설계되었습니다. 효율성 극대화를 위해, 최적의 MS 파라미터가 LC 조건에 기반하여 자동으로 설정되어 크로마토그래퍼가 걱정 없이 질량 검출 작업을 수행할 수 있습니다.

모듈식 하드웨어 설계를 통해 HPLC 스택으로부터 SQ를 제거할 필요 없이 빠른 유지보수가 가능 합니다.

기기

- Agilent LC/MSD iQ SQ (G6160AA)
- Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Vial Sampler (G7129B)
- Agilent 1290 Infinity II 다중 컬럼 온도 조절 장치
- Agilent 1290 Infinity II 다이오드어레이 검출기

결과 및 토의

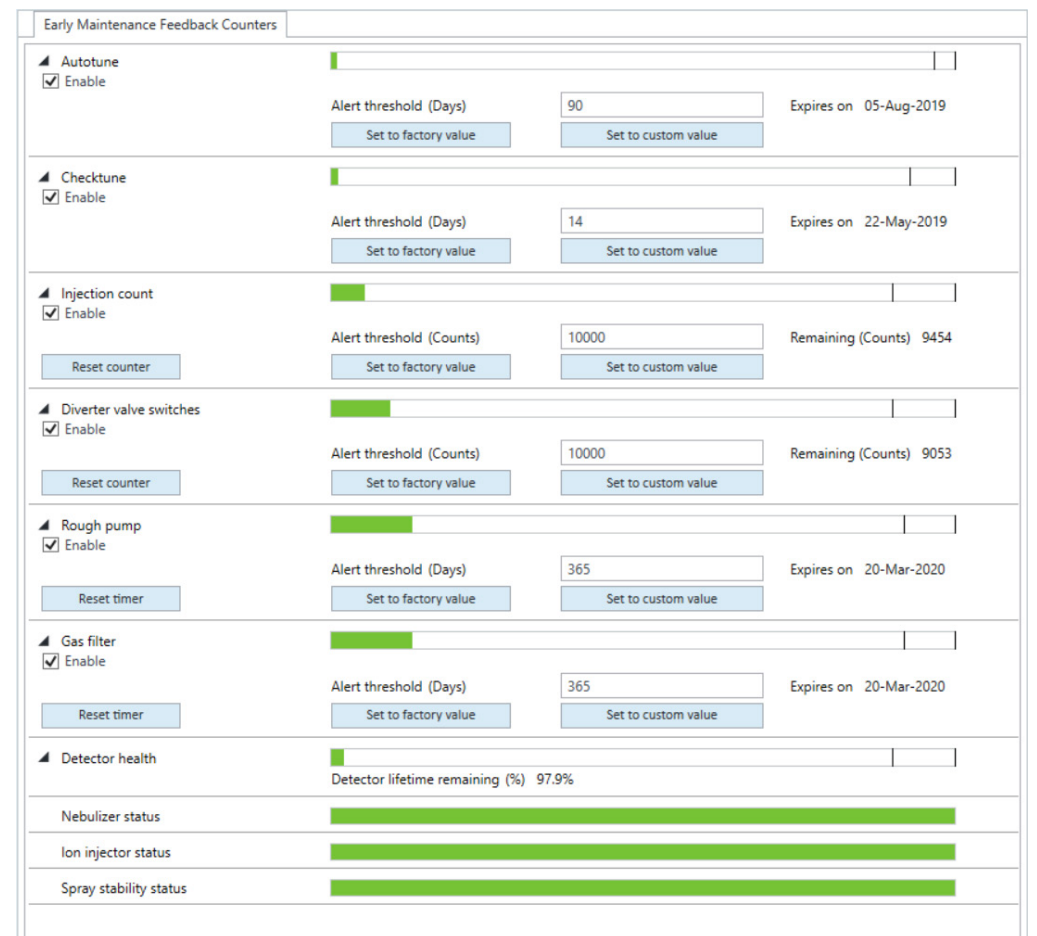


그림 2. 기기 조기 유지보수 피드백

- 기기의 조기 유지보수 피드백은 캐필러리 교체, 검출기 성능 및 기타 일상적인 유지보수를 예측하여 사용자에게 알려 줍니다.

자동 수집 및 정기 Autotune

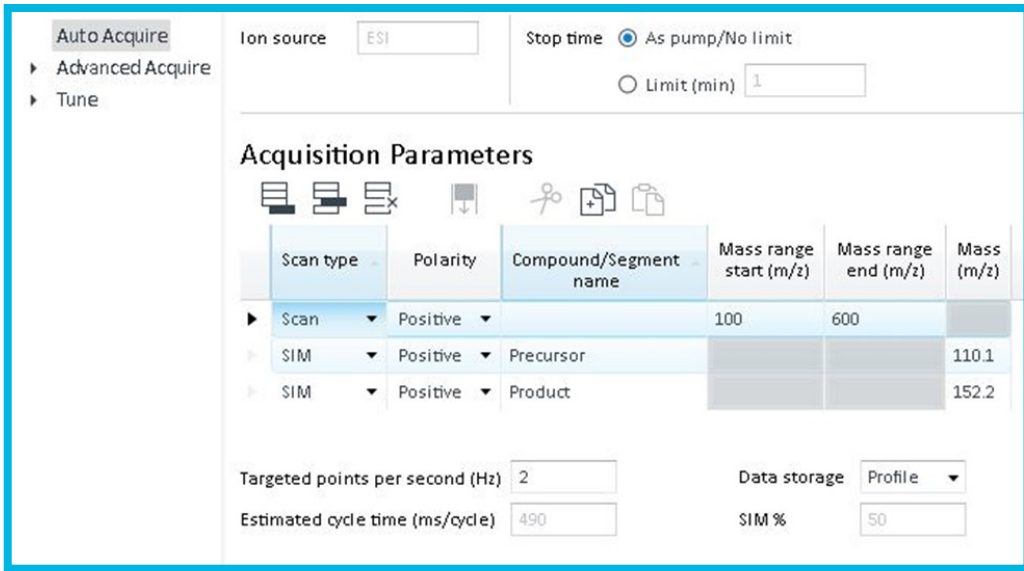


그림 3. 자동 수집 모드

- 새로운 자동 수집 모드는 LC 분석법 및 관심 분석물질에 기반하여 MS 파라미터를 자동으로 설정합니다.
- 사용자가 LC 분석법과 질량 범위(또는 SIM 질량)만 설정하면, 소프트웨어가 나머지 작업을 자동으로 처리합니다.

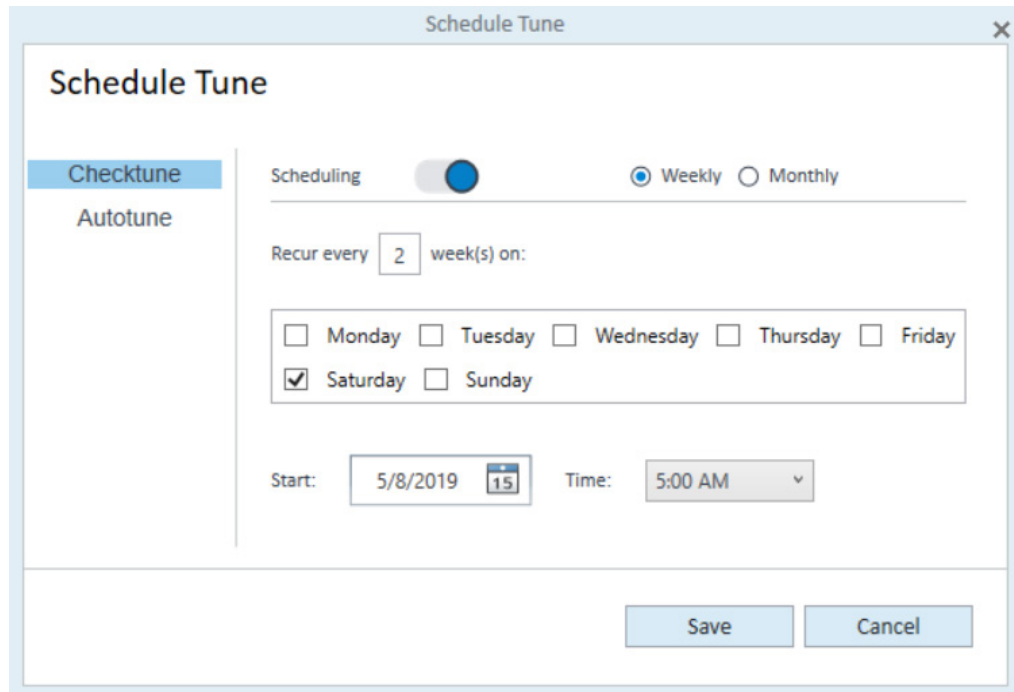


그림 4. 자동 튜닝 스케줄러

- 이제 Checktune을 자동으로 계획하여 성능 검증을 자동화 할 수 있습니다.
- 질량 분석기 내에 검량 용액이 내장되어 있어, 검량 용액 전달 시스템 밸브를 통해 전달되므로, 검량 혼합물을 사전 제조하거나 설정할 필요가 없습니다.
- Autotune도 예약할 수 있습니다. Autotune은 질량 축을 검교정하고 성능을 최적화합니다. 모든 이온 광학장치, 질량 필터 및 검출기 전압은 검량물질 피크에 대한 엄격한 기준을 충족하도록 최적화되며, 음이온 모드 및 양이온 모드에서 모두 5분 미만의 시간만을 소요합니다.

MS에 의한 감도 및 선택성 향상

요건이 더욱 엄격해지고 끊임없이 변화하는 규제 환경에서, UV 검출만으로는 많은 응용 분야에 충분한 감도를 제공하지 못할 수 있습니다. 예를 들어, 매우 낮은 검출 임계값을 가진 변이원성 불순물의 경우, 질량 검출기가 시료 내에 저농도로 존재하는 화합물을 검출하는 데에 매우 유용합니다 (그림 5).

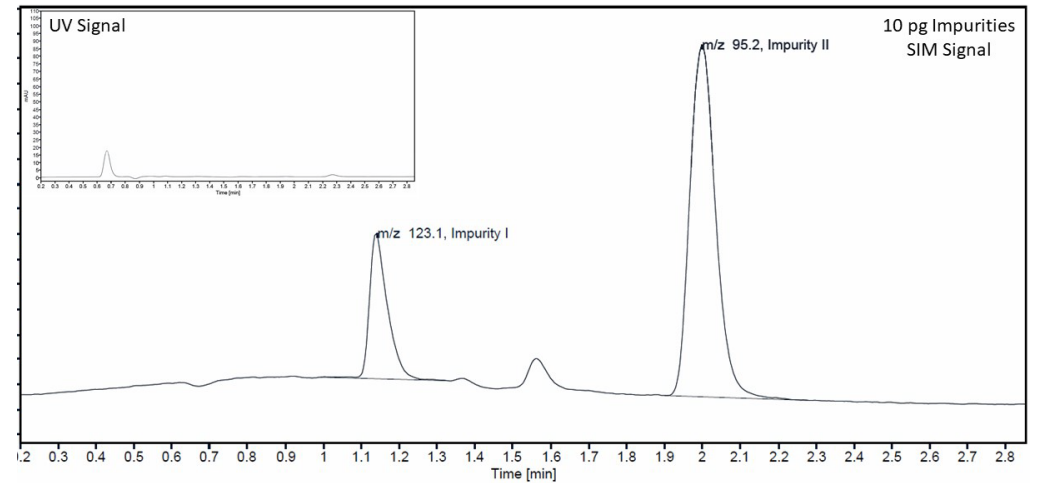


그림 5. UV 및 질량 검출에 의한 10pg 불순물 모니터링. UV 신호(압도)에서 불순물이 검출되지 않았으나, SIM 신호에서는 뚜렷하게 나타남.

- 질량 검출은 UV 검출 대비 100배 이상 감도가 높습니다.
- 선택 이온 모니터링(SIM) 모드인 경우, MS는 선택한 질량만을 필터링하는 데에 더 많은 시간을 사용함으로써 감도를 크게 향상시킬 수 있습니다.

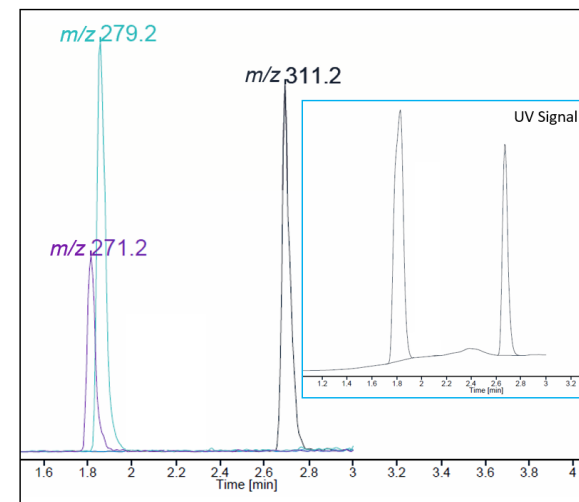


그림 6. 추출 이온 크로마토그램(EIC) 또는 SIM 모드에 의한 동시 용리 화합물의 쉬운 식별. UV 신호(압도)에 단 2개의 피크가 나타난 지점에서 질량 신호는 3가지 화합물을 확인

- 추출 이온 크로마토그램(EIC)은 하나의 크로마토그래피 피크가 얼마나 많은 선택 질량으로 이루어져 있는지를 보여주며, 따라서 선택성을 높입니다.
- 3개의 선택제 화합물의 질량을 선택한 결과, 그림 6의 동시 용리 피크를 2개 피크로 분리하였습니다.

OpenLab CDS – 수집, 데이터 분석 및 보고서 작성을 모두 하나의 패키지에

OpenLab CDS 소프트웨어는 자동화를 염두에 두고 설계되었으며, 직관적이고 빠르게 배울 수 있는 사용자 친화적인 인터페이스를 갖추고 있습니다 (그림 7). 기기 상태, 분석법 입력, 시료 제출 등은 모두 데이터 수집 탭에서 액세스 가능합니다. 데이터 분석 및 보고서 작성을 포함하여 수집과 완전히 통합되어 있기 때문에, 데이터의 처리와 보고를 시료 제출과 동시에 자동으로 진행할 수 있습니다. OpenLAB CDS는 US FDA 21 CFR Part 11, EU Annex 11를 비롯한 기타 유사 규제에 따른 데이터 무결성을 지원하는 완벽한 규제 준수 기능을 제공합니다.

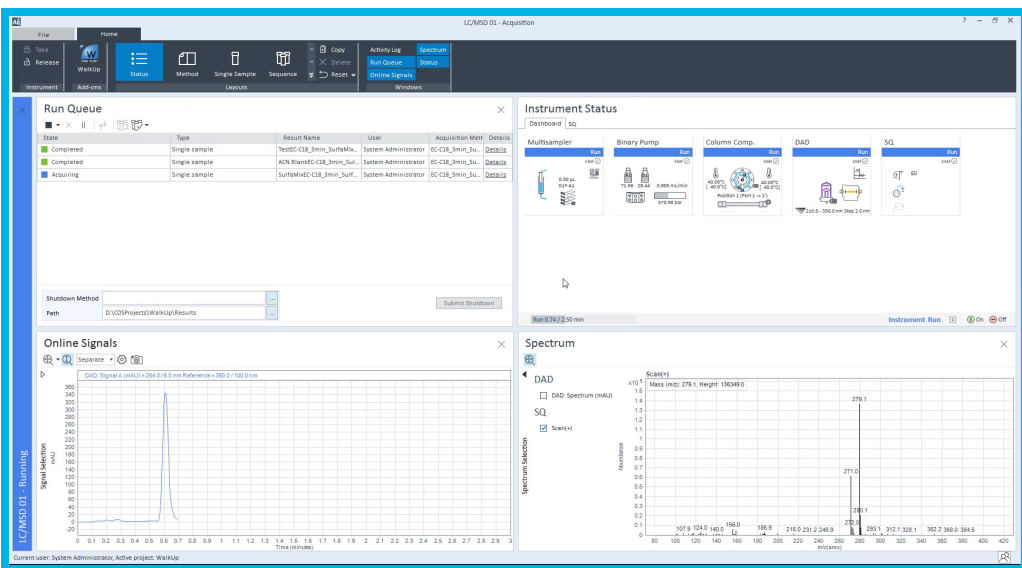


그림 7. OL CDS 데이터 수집 화면

- OL CDS는 배우기 쉬운 직관적 인터페이스를 제공합니다.
- 데이터 분석이 내장되어 있어, 데이터 수집의 실행 대기열에서 데이터 분석을 바로 시작할 수 있습니다.
- 단일 처리 분석법은 자동으로 데이터를 처리하고, 그림 8에서 볼 수 있듯이 분석이 끝난 후 즉시 보고서를 생성합니다.

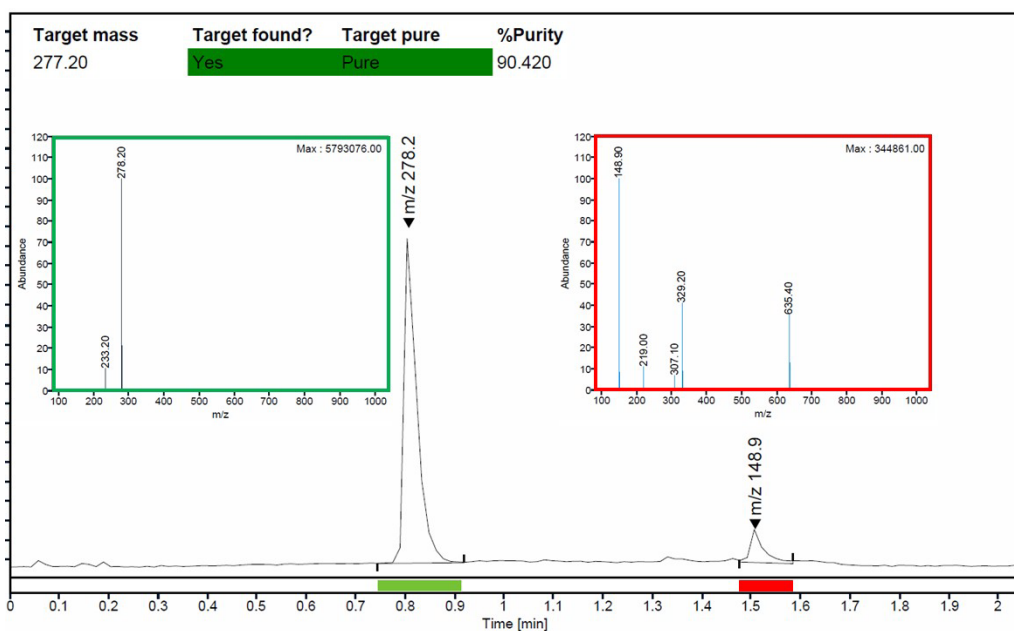


그림 8. LC/MSD iQ를 이용한 amitriptyline의 자동 시료 순도 분석 및 보고서. 분석 전에 amitriptyline의 표적 질량(277.20)을 입력하면 자동으로 보고서를 생성함

불순물 분석: 유명 브랜드의 OTC 의약품과 일반 OTC 의약품 사이에 차이가 있을까?

OL CDS와 LC/MSD iQ를 활용하여 유명 브랜드의 acetaminophen 의약품과 일반 acetaminophen 의약품의 불순물을 비교하는 실험을 수행하였습니다. 그림 9는 SIM 모드에서 검출한 5ng 수준의 불순물 표준물질을 보여줍니다. 유명 브랜드의 acetaminophen 정제와 일반 acetaminophen 정제를 메탄올에 용해하였으며, 검출된 불순물의 백분율은 표 1에 나와 있습니다.

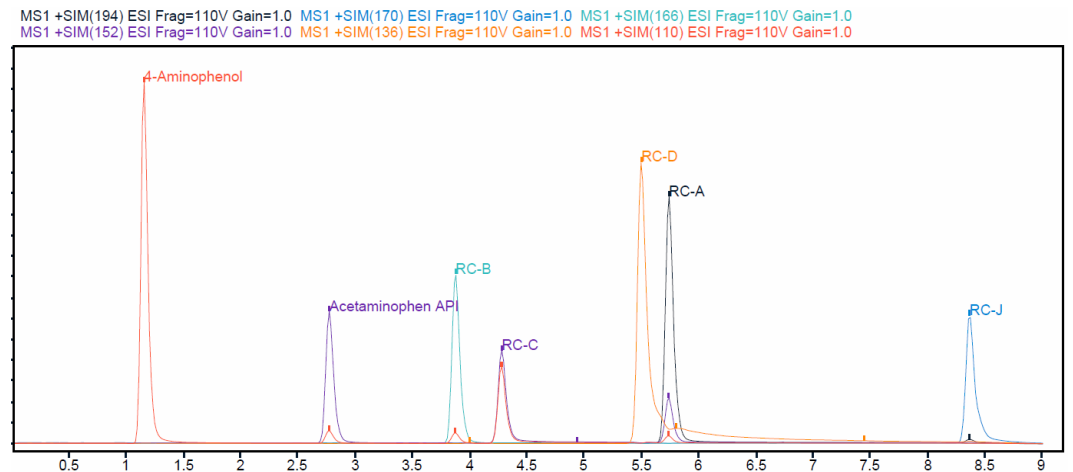


그림 9. Acetaminophen의 불순물 표준물질(5ng on column)에 대한 표적 분석

불순물	유명 브랜드	일반
A	0.0024%	0.0029%
B	0.0017%	0.0057%
D	0.0050%	0.0004%

표 1. Acetaminophen API 대비 검출된 불순물의 백분율

- LC/MSD iQ는 API 대비 수천% 낮은, 즉 10^{-6} 수준의 불순물을 검출할 수 있었습니다.
- 유명 브랜드 의약품과 일반 의약품 사이의 불순물 농도는 실제로 차이가 있습니다.

결론

- 애질런트의 새로운 InfinityLab LC/MSD iQ는 처음 접하는 사용자들에게 직관적인 질량 분석기를 제공하여 분석 결과의 확신을 극대화합니다.
- 이 기기는 크로마토그래퍼들을 고려하여 설계되었으며, 사용의 편리함과 견고성 및 신뢰성을 유지하면서도 질량 분석기의 복잡성을 줄였습니다.
- OpenLab CDS 소프트웨어의 사용을 통해, HPLC 스택에 질량 검출기를 추가하는 것은 이제 매우 쉬운 일이 되었습니다!