

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムと ELSD 検出による アミノグリコシド抗生物質の不純物分析

著者

Rongjie Fu and Adam Bivens
Agilent Technologies, Inc.

概要

アミノグリコシドは、強力で幅広く使用されている代表的な抗生物質です。アミノグリコシドとその不純物はいずれも高極性であるため、逆相クロマトグラフィー (RPLC) を用いて分析するのは非常に困難です。親水性相互作用液体クロマトグラフィー (HILIC) は、RPLC と比較してシステムや溶媒への変更を大幅に抑えつつ、これらの極性分子を分離する便利で高速なメソッドです。

はじめに

このアプリケーションノートでは、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、2.7 μm カラムを用いて、ネアミンを一般的なアミノグリコシド抗生物質であるリボスタマイシンから分離する方法を示します。

両方の化合物ともに UV シグナルが微弱であるため、検出には蒸発光散乱検出器 (ELSD) を使用しました。

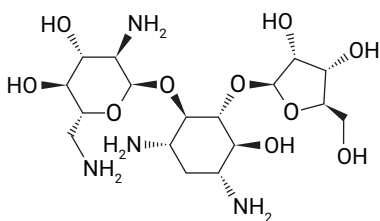


図 1. リボスタマイシンの構造

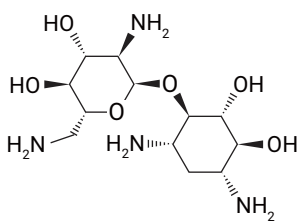


図 2. ネアミンの構造

実験方法

試薬および薬品

試薬はすべて、HPLC グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのアセトニトリルは J. T. Baker (センターバレー、ペンシルバニア州、米国) から購入しました。純水は、EMD Millipore Milli-Q Integral System (ダルムシュタット、ドイツ) を使用しました。酢酸アンモニウム、リボスタマイシン硫酸塩、およびネアミンは Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から入手しました。

実験器具と材料

- Agilent InfinityLab フィッティング
- カラム入口:** Agilent InfinityLab クイックコネクトフィッティング (p/n 5067-5965)
- カラム出口:** Agilent InfinityLab クイックターンフィッティング (p/n 5067-5966)
- Agilent Captiva エコノフィルタ、PTFE メンブレン、直径 13 mm、ポアサイズ 0.2 μm (p/n 5190-5265)
- バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL、100 個 (p/n 5182-0716)
- Agilent 圧着スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1,000 mL (p/n 9301-6526)
- Agilent InfinityLab セーフティキャップ、GL45、3 ポート、ベントバルブ x 1 (p/n 5043-1219)
- エッペンドルフピペットおよびリピーター
- 超音波洗浄器 (VWR、ラドナー、ペンシルベニア州、米国)
- Vortexer および Multi-Tube Vortexer (VWR、ラドナー、ペンシルベニア州、米国)

装置構成

- Agilent 1260 Infinity II バイナリポンプ (G7112B)
- Agilent 1260 Infinity II バイアルサンブラ (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II ELSD (G7102A)
- Agilent OpenLAB ソフトウェア

サンプル前処理

- サンプル 1:** 0.4 mg/mL リボスタマイシン硫酸塩と 0.2 mg/mL ネアミンの混合物を純水で調製し、アセトニトリル (ACN) で 50 % に希釈しました。
- サンプル 2:** 4 mg/mL リボスタマイシン硫酸塩に 2 % ネアミン (0.08 mg/mL) 水溶液をスパイクしました。

移動相前処理

酢酸アンモニウムを計量し、濃度 100 mM 水溶液に希釈しました。バッファは一度に 1 L 調製し、分解や微生物の発生を防ぐために定期的に交換しました。

分析条件

HPLC	
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z、2.1 \times 100 mm (p/n 685775-924)
移動相 A	100 mM 酢酸アンモニウム
移動相 B	アセトニトリル
流量	0.40 mL/min
カラム温度	25 $^{\circ}\text{C}$
注入量	2 μL
グラジエント	0~1 分、65 %B 1~5 分、65~55 %B 5~10 分 (停止)、55 %B 10~13 分 (分析後)、65 %B
ELSD	
ネブライザ温度	40 $^{\circ}\text{C}$
エバポレータ温度	40 $^{\circ}\text{C}$
ガス流量	1.6 SLM
データレート	40 Hz

結果

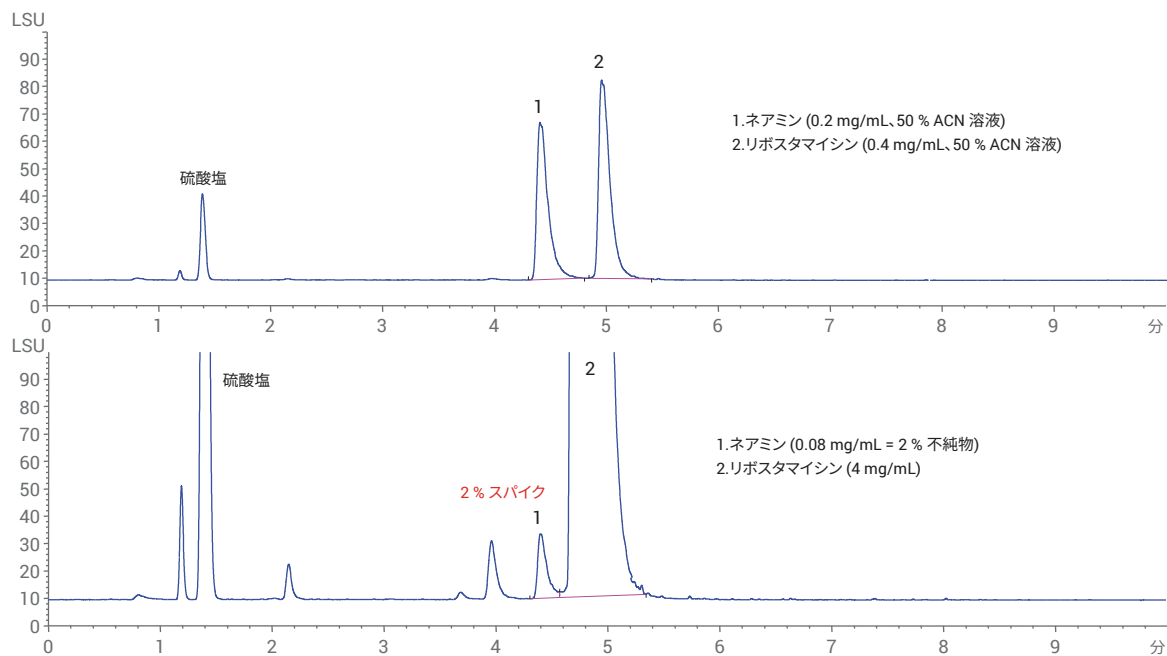


図 3. Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z LC カラムによるネアミンとリボスタマイシンの分離

結論

Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z カラムを用いて、ネアミンを含む不純物をリボスタマイシンから適切に分離しました。両性イオンベースの HILIC-Z 結合相により、優れた分離能とピーク形状の両方が得られました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2017, 2018
Printed in Japan, May 24, 2018
5991-8824JAJP

