

Agilent 1260 Infinity II SFC システムと TOF MS 検出器

メソッドスカウティングウィザードによるメソッド開発

著者

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

概要

このアプリケーションノートでは、Agilent ChemStation メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを用いて、Agilent 1260 Infinity II SFC システムで医薬品の超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) 分離メソッドを自動的に開発する方法をご紹介します。SFC システムに溶媒選択バルブとカラム選択バルブを取り付けて、最大 12 種類の溶媒と 6 種類のカラムを用いてスクリーニングできるようにしました。ChemStation メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを使用すると、直感的かつシンプルに分析メソッドを作成できます。これにより、非常に時間効率に優れたメソッド開発が実現します。

はじめに

SFC のアプリケーションは増え続けています。これは主に、広い範囲の化合物を高効率に分離する SFC 独自の分離特性によるものです¹。液体クロマトグラフィー (LC) で知られているほぼすべてのカラムを SFC で使用でき、広い選択性を提供しています。しかし、SFC 独自の移動相の圧縮率と保持機構のために、従来の LC で知られているメソッドとの類似点がなく、メソッド開発が困難な作業となることがあります。このため、アキラル SFC メソッド開発では一般的に、さまざまなカラムとモディファイア、モディファイアへの添加剤、圧力、温度でスクリーニングしたものを組み合わせますが、これには時間がかかることがあります。カラムと移動相によるスクリーニングの利点は、以前にアプリケーションノートで説明しました²。

このアプリケーションノートでは、6 種類のアキラル医薬品活性化化合物を分離する SFC のメソッド開発に、メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを用いる利点について解説します。検出器には飛行型質量分析装置 (TOF MS) を使用しました。メソッド開発には 4 種類のカラムと 10 種類の有機溶媒のスクリーニングを検討しました。分離メソッドとともにフラッシングと平衡化のステップを、ChemStation メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを使用して作成しました。

実験方法

装置構成

Agilent 1260 Infinity II SFC システムを次のモジュールで構成しました。

- Agilent 1260 Infinity SFC II コントロールモジュール (G4301A)
- Agilent 1260 Infinity SFC バイナリポンプ (G4302A)
- Agilent 1260 Infinity II SFC マルチサンブラ (G4767A)
- 高圧 SFC フローセル付き Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G1315C)
- Agilent 1290 Infinity サーマスタットカラムコンパートメント (G1316C)

以前の技術概要³で、Agilent 1260 Infinity II 分析 SFC ソリューションに含まれる Agilent 1260 Infinity II SFC マルチサンブラ (G4767A) の性能を解説しています。

ソフトウェア支援メソッド開発に必要な追加部品

- Agilent 1290 Infinity バルブドライブ (G1170A)、Agilent InfinityLab クイックチェンジ 12 ポジション/13 ポートバイオイナート溶媒セレクトバルブ (G4235A)
- Agilent InfinityLab クイックチェンジ 6 ポジション/14 ポートバルブ (p/n 5067-4142)

質量分析検出器

- Agilent 6230 Accurate-Mass TOF LC/MS (G6230B)、Agilent Jet Stream イオンソース (G1958-65138)
- Agilent 1260 Infinity イソクラティックポンプ (G1310B)、メークアップ用

以前の技術概要⁴で、SFC と TOF MS を組み合わせる場合の Jet Stream ESI イオン化パラメータの最適化について解説しています。

機器の設定

1260 Infinity SFC バイナリポンプと InfinityLab クイックチェンジ 12 ポジション/13 ポートバルブを、Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition ソフトウェアでクラスタリングしました。今回のスクリーニングでは、最大 12 種類の溶媒/添加剤の組み合わせを使用し、OpenLab CDS ChemStation Edition ソフトウェアの Instrument Configuration 画面で割り当てました。1290 Infinity サーマスタットカラムコンパートメントは、InfinityLab クイックチェンジ 6 ポジション/14 ポートの 6 カラム選択バルブが取り付けられており、最大 6 種類のカラムを用いてスクリーニングを実行できました。使用したカラムは OpenLab CDS ChemStation のカラム表に追加されました。すべてのメソッドは ChemStation メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを使用して作成しました (図 1)。

SFC システムのアウトレットラインは、6230 Accurate-Mass TOF LC/MS の Jet Stream イオンソースに接続しました。質量キャリアレーションを継続的に行うために、1260 Infinity アイソクラティックポンプを T ユニオン経由で SFC のアウトレットラインに接続しました。プリンと HP 921 を MS 再キャリアレーションのリファレンス質量として使用しました。

カラム

- Agilent ZORBAX Bonus-RP、2.1 × 150 mm、5 μm (p/n 883725-901)
- Agilent Polaris NH2、3.0 × 100 mm、3 μm (p/n A2014100X030)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC、3.0 × 100 mm、1.9 μm (p/n 695675-301)
- Agilent ZORBAX Rx-SIL、3.0 × 100 mm、1.8 μm (ラピッドレゾリューション 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

B

Solvents on channel B:

- 01: MeOH (Calb.: MeOH)
- 02: IPA (Calb.: IPA)
- 03: ACN (Calb.: ACN)
- 04: 20 mM NH4Ac in MeOH (Calb.: MeOH)
- 05: MeOH + 1% H2O (Calb.: MeOH)
- 06: MeOH + 0.2% FAc (Calb.: MeOH)
- 07: IPA + 1% H2O (Calb.: IPA)
- 08: IPA + 0.2% FAc (Calb.: IPA)
- 09: MeOH + 0.1% DEA (Calb.: MeOH)
- 10: IPA + 0.1% DEA (Calb.: IPA)
- 11:
- 12:

Select All Invert

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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 83.3 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
2			FlushBypass0002.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
3			Equilibration0001.m	Equilibration	2.000	1.56	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
5			Equilibration0002.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
7			Equilibration0003.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
9			Equilibration0004.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B01: MeOH (Calb.: MeOH)									
11			FlushBypass0003.m	Flush	1.000	15.00	0.00			Bypass	100.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
12			FlushBypass0004.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
13			Equilibration0005.m	Equilibration	2.000	2.12	0.00			Zorbax Sil (autolD-9-7)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
15			Equilibration0006.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
17			Equilibration0007.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
19			Equilibration0008.m	Equilibration	2.000	2.81	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B02: IPA (Calb.: IPA)									
21			FlushBypass0005.m	Flush	1.000	15.00	0.00			Bypass	100.0 % B03: ACN (Calb.: ACN)									
22			FlushBypass0006.m	Flush	1.000	2.50	0.00			Bypass	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: ACN)									
23			Equilibration0009.m	Equilibration	2.000	1.56	0.00			BonusRP (autolD-6)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: ACN)									
25			Equilibration0010.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Polaris NH2 (autolD-7)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: 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 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: ACN)									
27			Equilibration0011.m	Equilibration	2.000	3.37	0.00			Poroshell HILIC (autolD-8)	95.0 % A: CO2 (Calb.: CO2 [pre-compressed]), 5.0 % B03: ACN (Calb.: ACN)									

図 1. メソッドスカウティングウィザードソフトウェアを使用した、カラム溶媒スクリーニングのセットアップステップ

ソフトウェア

LC および LC/MS システム用 OpenLab CDS ChemStation Edition バージョン C.01.07 SR3 と ChemStation Method Scouting Wizard バージョン A.02.07 SR1 を使用して、SFC システムを制御し、メソッドを作成しました。MS データは Agilent MassHunter

Data Acquisition B 05.00 を用いて取得しました。データ解析には、Agilent MassHunter Profinder バージョン B.06.00 と Agilent MassHunter Qualitative Analysis バージョン B06.00 SP1 を使用しました。

試薬

溶媒はすべて Merck から購入し、化学物質はすべて Sigma-Aldrich から購入しました。二酸化炭素は Westfalen Gas (ミュンスター、ドイツ) から購入しました。

移動相の組成

A: 二酸化炭素

B: 表 1 に記載の添加剤を含む有機溶媒

結果と考察

この実験において、6 種類の医薬品活性化合物について SFC 分離メソッドと TOF MS 検出を確立できました。本研究の目的は、カラムと移動相の最適な組み合わせを発見して、6 つの化合物すべてを十分な分離とピーク形状で検出できるようにすることでした。このために、4 種類のカラムと 10 種類の移動相組成を、共通のグラジエントメソッドを用いてスクリーニングしました。合計で、40 種類の組み合わせをテストしました。カラムと移動相の組み合わせごとにかかる 8 分間の分析時間と、適切なフラッシングおよび平衡化にかかる時間を踏まえて、約 11 時間ですべての分析メソッドをスクリーニングできました。データは MassHunter Profinder で対象の化合物の組成式を基に評価しました。化合物を適切に抽出するために、2 つ以上のマススペクトルピークと 10 ppm 以上の精度をもつ化合物のみ抽出するようにしました。表 2 に データ評価の結果をまとめています。

表 1. 移動相 B 中の添加剤

有機溶媒	添加剤
メタノール	不使用
メタノール	1 % 水
メタノール	0.2 % 酢酸
メタノール	20 mM 酢酸アンモニウム
メタノール	0.1 % ジエチルアミン
イソプロパノール	不使用
イソプロパノール	1 % 水
イソプロパノール	0.2 % 酢酸
イソプロパノール	0.1 % ジエチルアミン
アセトニトリル	不使用

共通の移動相グラジエント

時間 (分)	% B
0	5
4	40
6	40
7	5
8	5

サンプル

化合物	分子式	[M+H] ⁺	CAS 番号	化合物の用途
プリミドン	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	219.11279	125-33-7	抗けいれん薬
カルバマゼピン	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	237.10223	298-46-4	抗てんかん薬
フェノフィブラート	C ₂₀ H ₂₂ ClO ₄	361.12010	49562-28-9	抗高脂血症薬
ナフシリン (ナトリウム塩)	C ₂₁ H ₂₁ N ₂ NaO ₅ S	415.13220 (ナトリウムを除く)	985-16-0	βラクタム系抗生物質
デコキネート	C ₂₄ H ₃₅ NO ₅	418.25878	18507-89-6	抗原虫薬
クロキサシリン (ナトリウム塩)	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₃ NaO ₅ S	436.07283 (ナトリウムを除く)	642-78-4	βラクタム系抗生物質

化合物はアセトニトリルに溶解し、アセトニトリル中にそれぞれ 50 μmol/L 含まれるように調製しました。

SFC メソッド

パラメータ	設定値
溶媒 A	CO ₂
溶媒 B	有機溶媒と添加剤の 10 種類の組み合わせ
SFC 流速	2 mL/min
背圧レギュレータ	100 bar, 60 °C
温度	25 °C
注入量	1 μL

質量分析メソッド (ESI ポジティブモード)

パラメータ	設定値
ドライガス温度	275 °C
ドライガス流量	5 L/min
ソースガス温度	275 °C
ソースガス流量	6 L/min
ネブライザ圧力	45 psi
キャピラリー電圧	4,000 V
フラグメンタ	150 V
スキマ電圧	60 V

表 2. カラムと移動相のさまざまな組み合わせでスクリーニングされた、化合物の保持時間 (RT)。化合物が検出されなかった場合は「-」で示しています。6 種類すべての化合物を効率的に分離し検出できた組み合わせにはアスタリスク (*) マークを付けています。

カラム	モディファイア	プリミドン RT (分)	カルバマゼピン RT (分)	クロキサシリン RT (分)	フェノフィブラート RT (分)	ナフシリン RT (分)	デコキネート RT (分)
ZORBAX Bonus-RP	メタノール	0.89	0.84	1.85	0.65	-	1.59
ZORBAX Bonus-RP	メタノール + 20 mM 酢酸アンモニウム	0.86	0.79	1.54	0.63	2.10	1.52
ZORBAX Bonus-RP	メタノール + 1 % 水	0.90	0.83	1.81	0.65	3.13	1.54
ZORBAX Bonus-RP	メタノール + 0.2 % 酢酸	0.90	0.84	1.80	0.64	3.13	1.55
ZORBAX Bonus-RP	メタノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Bonus-RP	イソプロパノール	1.20	1.10	-	0.66	-	2.29
ZORBAX Bonus-RP	イソプロパノール + 1 % 水	1.18	1.10	-	0.64	-	2.17
ZORBAX Bonus-RP	イソプロパノール + 0.2 % 酢酸	1.23	1.13	2.55	0.63	3.17	2.27
ZORBAX Bonus-RP	イソプロパノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Bonus-RP	アセトニトリル	2.55	1.56	-	0.62	-	-
Polaris NH2	メタノール	1.80	1.45	5.56	0.73	-	2.00
Polaris NH2	メタノール + 20 mM 酢酸アンモニウム	-	1.36	-	0.65	-	-
Polaris NH2	メタノール + 1 % 水	1.81	1.46	-	0.62	3.24	1.89
Polaris NH2	メタノール + 0.2 % 酢酸	1.84	1.47	5.79	0.60	-	1.93
Polaris NH2	メタノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
Polaris NH2	イソプロパノール	2.55	2.15	-	0.70	-	3.47
Polaris NH2	イソプロパノール + 1 % 水	2.55	2.14	-	0.67	-	3.26
Polaris NH2	イソプロパノール + 0.2 % 酢酸	-	2.23	-	0.68	-	7.35
Polaris NH2	イソプロパノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
Polaris NH2	アセトニトリル	-	4.52	-	0.69	-	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール	1.84	1.54	1.72	0.63	1.94	1.36
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール + 20 mM 酢酸アンモニウム	-	-	-	0.60	3.63	-
*InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール + 1 % 水	1.79	1.51	2.51	0.55	2.56	1.41
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール + 0.2 % 酢酸	1.83	1.53	1.60	0.61	1.79	1.38
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	1.45	-	-	-	1.39
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	イソプロパノール	-	2.18	1.53	0.56	1.70	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	イソプロパノール + 1 % 水	2.28	2.03	1.54	0.60	1.70	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	イソプロパノール + 0.2 % 酢酸	2.43	2.20	1.39	0.59	1.54	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	イソプロパノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	アセトニトリル	-	4.82	-	0.71	-	-
*ZORBAX Rx-SIL	メタノール	1.95	1.65	1.44	0.58	1.73	1.73
ZORBAX Rx-SIL	メタノール + 20 mM 酢酸アンモニウム	1.95	1.64	2.99	0.53	-	1.55
*ZORBAX Rx-SIL	メタノール + 1 % 水	1.95	1.63	2.44	0.56	2.62	1.53
ZORBAX Rx-SIL	メタノール + 0.2 % 酢酸	1.95	1.66	1.58	0.60	1.84	1.56
ZORBAX Rx-SIL	メタノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	1.64	-	0.68	-	1.49
ZORBAX Rx-SIL	イソプロパノール	2.49	2.28	1.55	0.64	1.81	3.97
ZORBAX Rx-SIL	イソプロパノール + 1 % 水	2.41	2.18	1.58	0.63	1.80	-
ZORBAX Rx-SIL	イソプロパノール + 0.2 % 酢酸	2.55	2.35	1.49	0.63	1.69	-
ZORBAX Rx-SIL	イソプロパノール + 0.1 % ジエチルアミン	-	-	-	-	-	-
ZORBAX Rx-SIL	アセトニトリル	-	4.85	-	0.73	-	-

テストした組み合わせのうち3つで、6種類の化合物の分離と検出について適切な結果が得られました。この3つの組み合わせは、InfinityLab Poroshell 120 HILIC カラムと1%水を含むメタノール、ZORBAX Rx-SIL カラムとメタノールのみ、1%水を含むメタノールでした。図2は、この3つの異なる分離の抽出イオンクロマトグラム (EIC) を示しています。3つの組み合わせすべてで、6種類の化合物を3分未満で分離できました。プリミドン、カルバマゼピン、フェノフィブラート、ナフシリンについては、すべてのメソッドで左右対称の

ピーク形状が得られました。デコキネートとクロキサシリンについては、ZORBAX Rx-SIL カラムとメタノールを使用したときにピークテリングが見られました。1%水を移動相溶媒に加えたものでは、この2つの化合物のピーク形状が改善されました。EICのピークの高さは、1%の水の添加にはほとんど影響されませんでした。ZORBAX Rx-SIL の分離における化合物の保持時間の比較では、水などの添加剤はピーク形状に影響を及ぼすだけでなく、化合物の保持時間にも影響を及ぼすことが示されました(表3)。しかし、これらの影響を予測することは難しく、化合物依存が大きい

ことがわかりました。プリミドンとカルバマゼピンでは、1%の水の付加で保持時間がわずかに早くなっています。一方、ナフシリンとクロキサシリンでは大きく遅くなっています。つまり、異なる添加剤をメソッドのスクリーニング手順に含める必要があることが判明しました。相互作用し分離に影響するこれらの要素によって、SFCのメソッド開発が複雑になる場合があります。

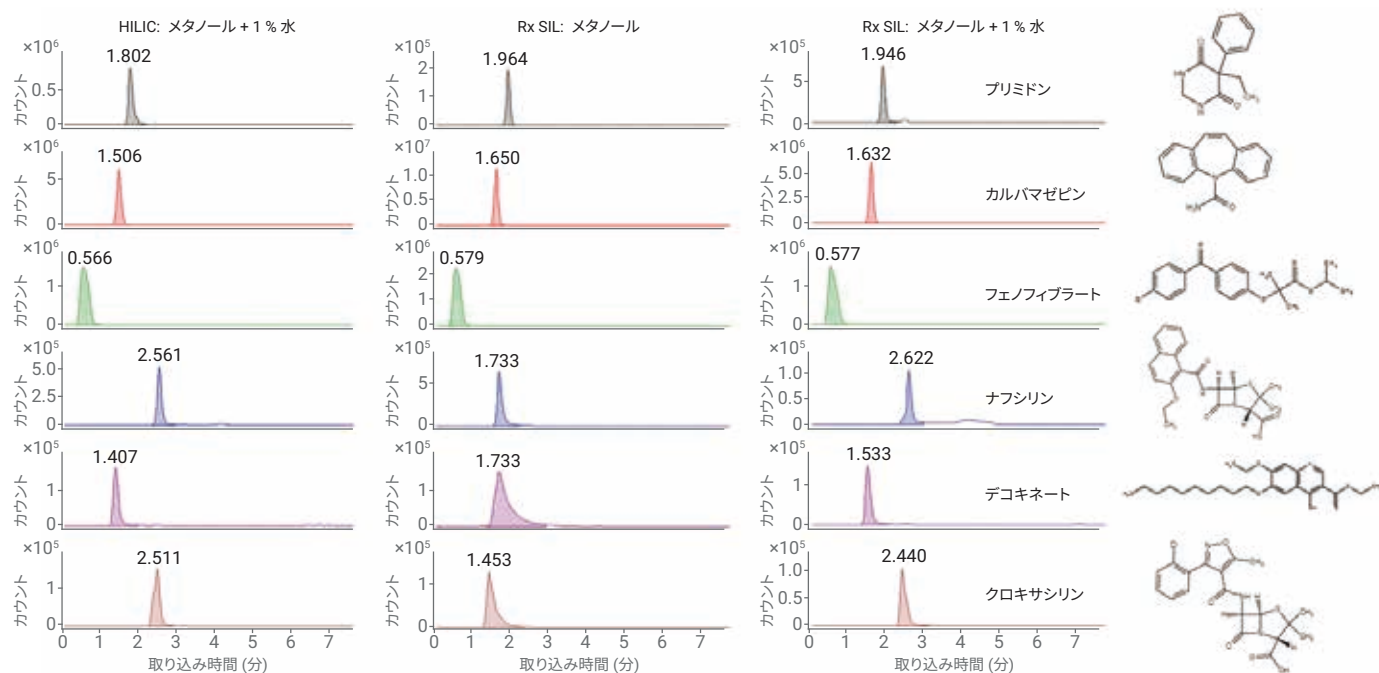


図2. InfinityLab Poroshell 120 HILIC とメタノール + 1% 水、Rx-SIL とメタノール、Rx-SIL とメタノール + 1% 水を使用して SFC で分離した、6種類の調査対象化合物の抽出イオンクロマトグラム (20 ppm の質量精度)

表3. ZORBAX Rx-SIL および InfinityLab Poroshell 120 HILIC でメタノールのみ、またはメタノール + 1% 水を使用して分離した化合物の保持時間 (RT) およびピーク幅

カラム	モディファイア	プリミドン		カルバマゼピン		クロキサシリン		フェノフィブラート		ナフシリン		デコキネート	
		RT (分)	ピーク幅 (分)	RT (分)	ピーク幅 (分)	RT (分)	ピーク幅 (分)	RT (分)	ピーク幅 (分)	RT (分)	ピーク幅 (分)	RT (分)	ピーク幅 (分)
InfinityLab Poroshell 120 HILIC	メタノール + 1% 水	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	メタノール	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	メタノール + 1% 水	1.95	0.08	1.63	0.09	2.44	0.07	0.58	0.21	2.62	0.08	1.53	0.10

結論

本研究では、6種類の医薬品活性化合物をSFC/TOF-MSによって分離し、検出しました。メソッド開発ではカラムと移動相の40種類の組み合わせを検討しました。2つのシリカカラム (InfinityLab Poroshell 120 HILIC と ZORBAX Rx-SIL) はいずれも、移動相溶媒と1%の水を含むメタノール (ZORBAX Rx-SILではメタノールのみ) の組み合わせが、分析対象化合物の分離に最も適していることが明らかになりました。メソッドスカウティングウィザードソフトウェアにより、カラムと移動相の複数の組み合わせを高度に自動化された方法でスクリーニングできるため、スクリーニングに必要な時間を大幅に短縮することができます。また、カラム温度、移動相の組成、グラジエントプロファイルをスクリーニングして最適化することもできます。このため、高速かつ包括的なメソッド開発が可能となり、SFCにおいて分離に影響を及ぼす重要なパラメータを検討できます。

謝辞

SFC システムの貸与および2016年のAgilent Technologies, Inc. 研究プロジェクト助成金に対してアジレントテクノロジーに感謝の意をお伝えします。Andreas Borowiak氏、Thorsten Gebhardt氏、Patric Hörth氏、Uwe Kistler氏、Tom van de Goor氏には、継続的にご支援いただき、さまざまな状況で全面的にご対応くださったことに心より御礼申し上げます。Sylvia Große氏、Felix List氏、Wolfgang Schröder氏のご貢献に感謝いたします。

参考文献

1. Bieber, S.; *et al.* RRLLC-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.

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. 2018
Printed in Japan, October 5, 2018
5994-0251JAJP