

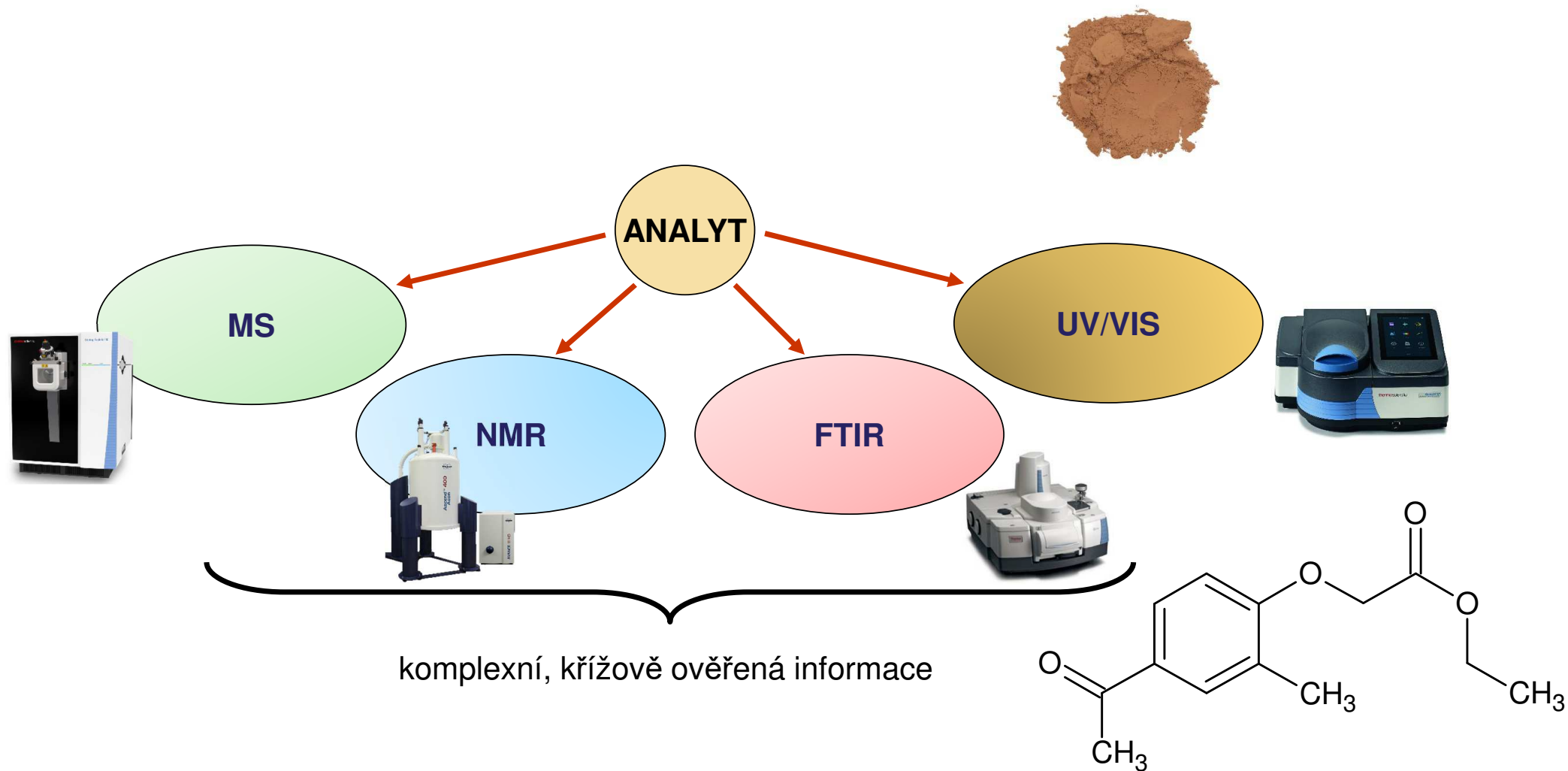
TIPY A TRIKY V CHARAKTERIZACI MINORITNÍCH ORGANICKÝCH LÁTEK

Lukáš Plaček

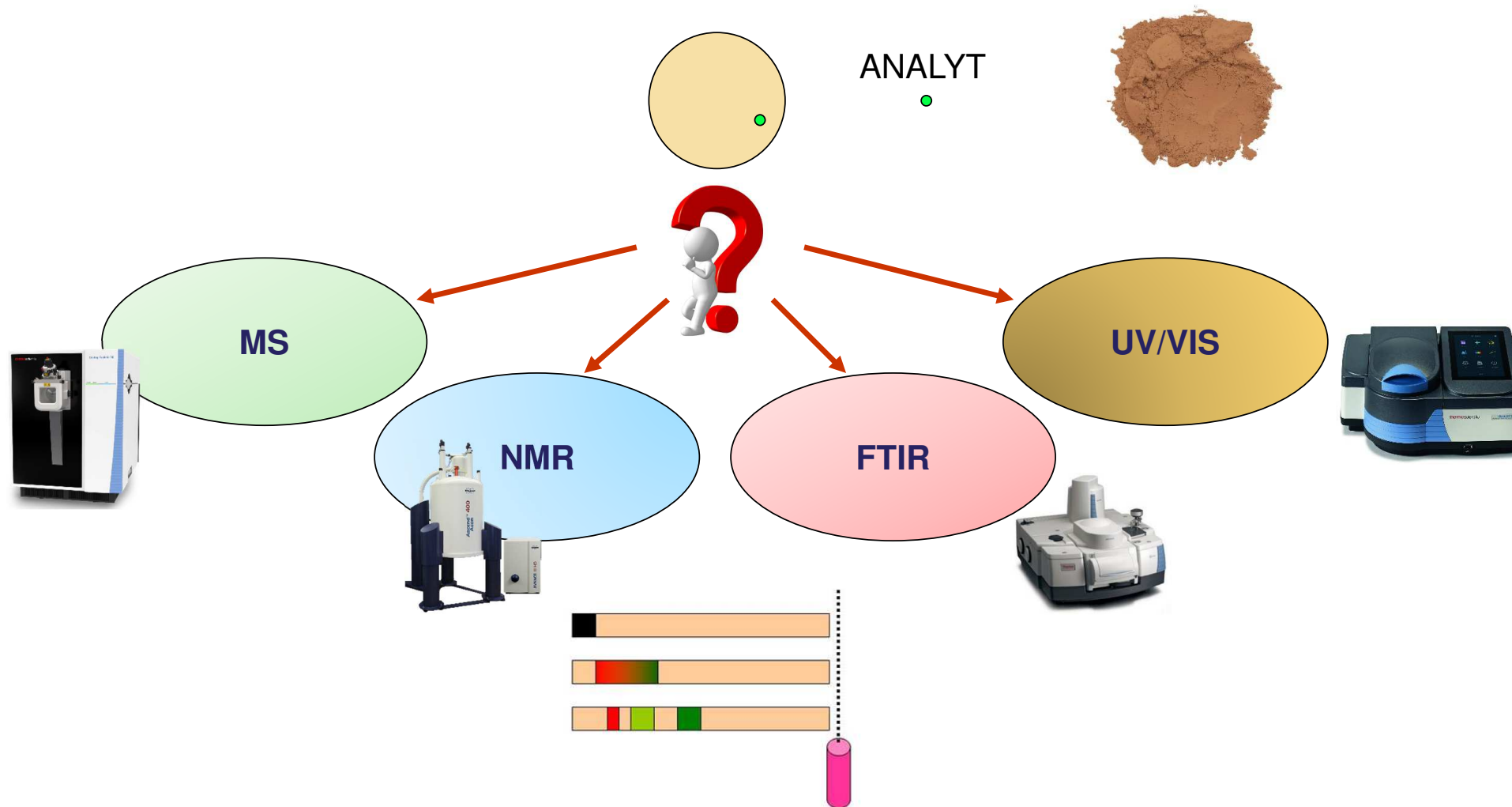


pragolab
authorized distributor
thermoscientific

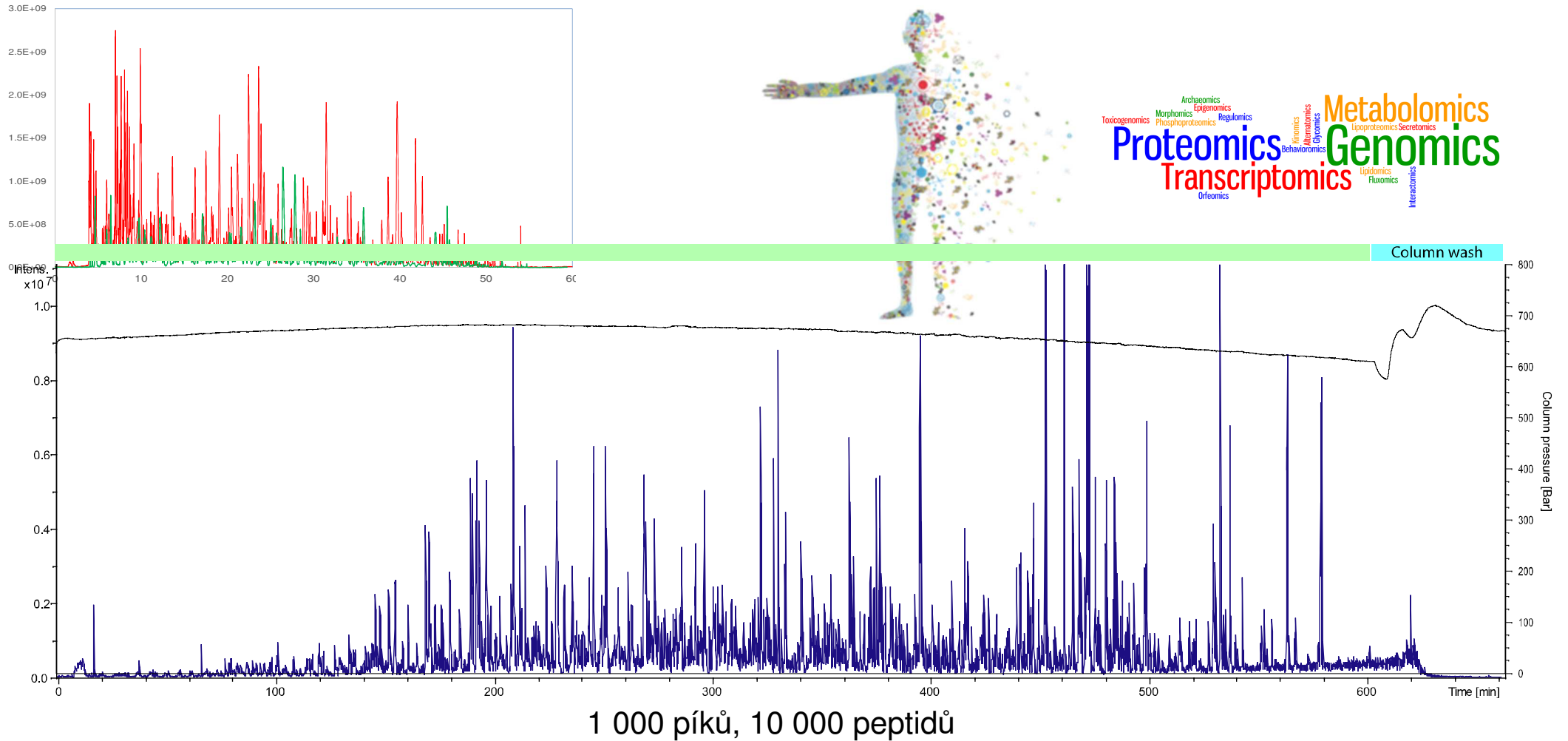
Strukturní analýza – klasické pojetí



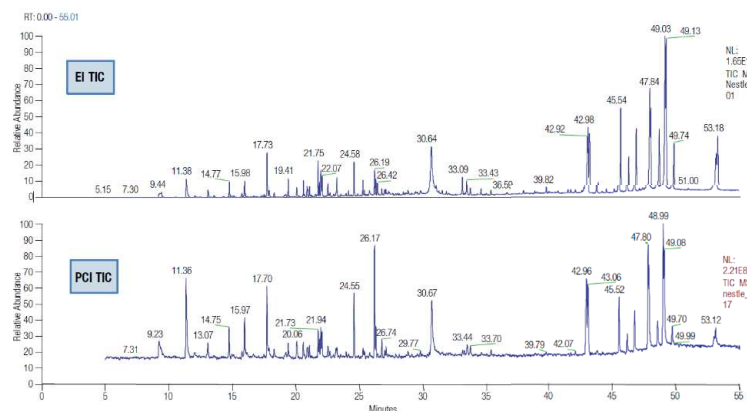
Strukturní analýza - výzvy



Kvalitativní analýza – maximální počet identifikací („omics“ či E/L)



Kvalitativní analýza – maximální počet identifikací („omics“ či E/L)



• Etiketa

- inkoust
- solvent
- lepidlo
- lak

• Obal

- změkčovač
- stabilizátor
- retardant hoření
- lubricant
- antioxidant
- pigment
- monomery

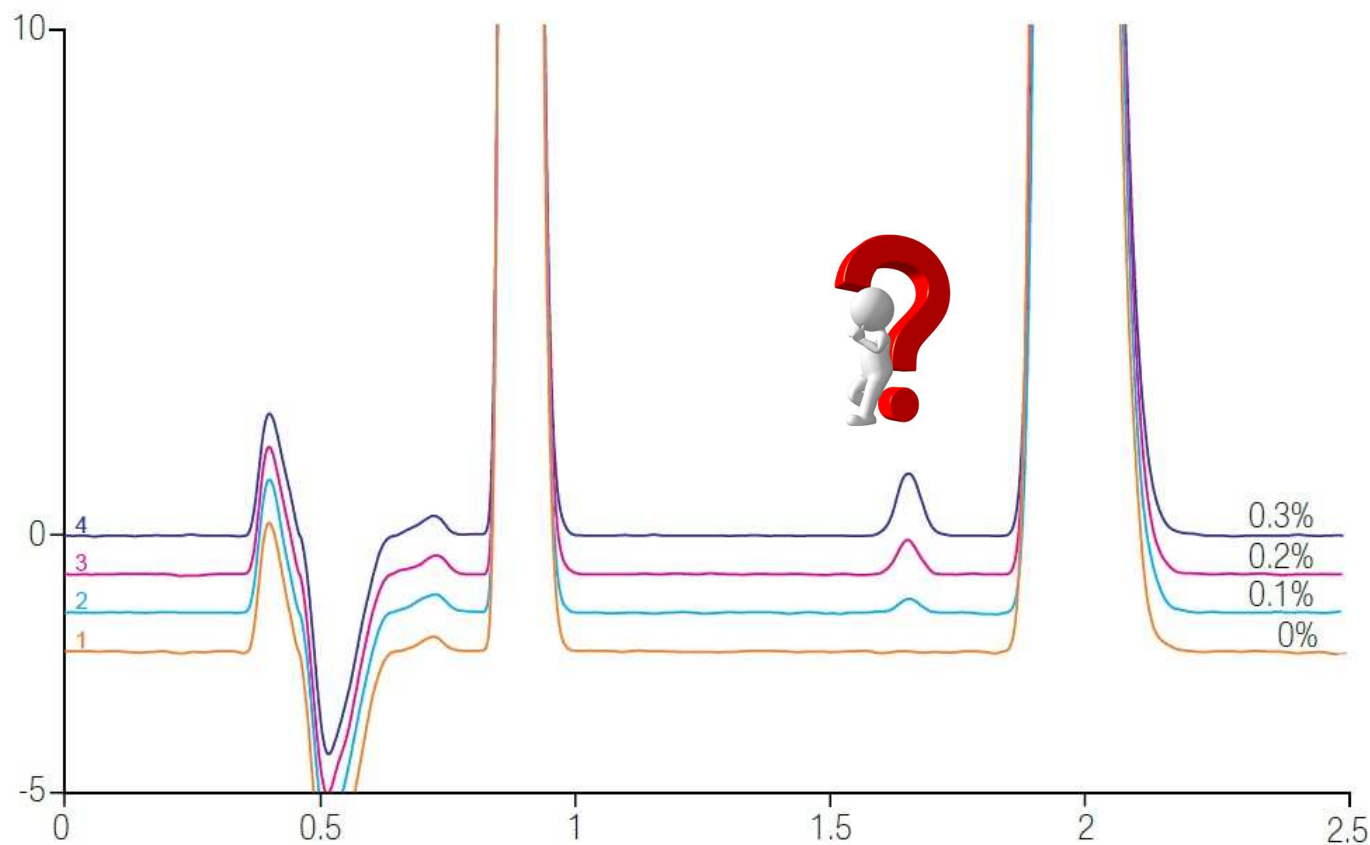


• Krabička

- sterilizační přísada
- konzervant
- potisk



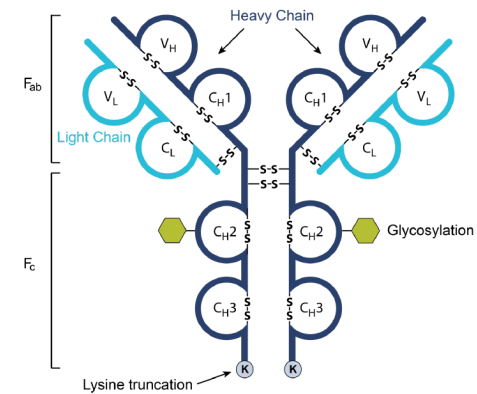
Komplexní strukturní popsání dané nečistoty



known unknowns

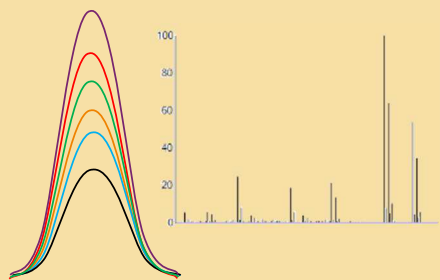


malé molekuly i biofarmaka



Orbitální iontová past, Orbitrap

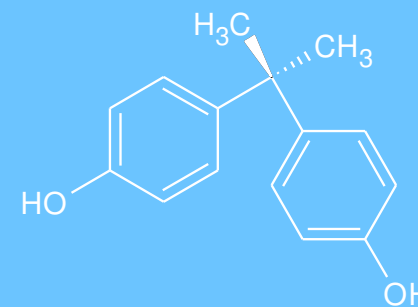
RT & m/z



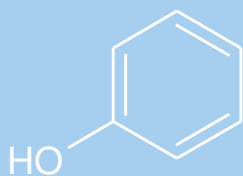
Elementární složení



Struktura



Sub-struktura



Název & CAS

4,4'-(propane-2,2-diyl)diphenol

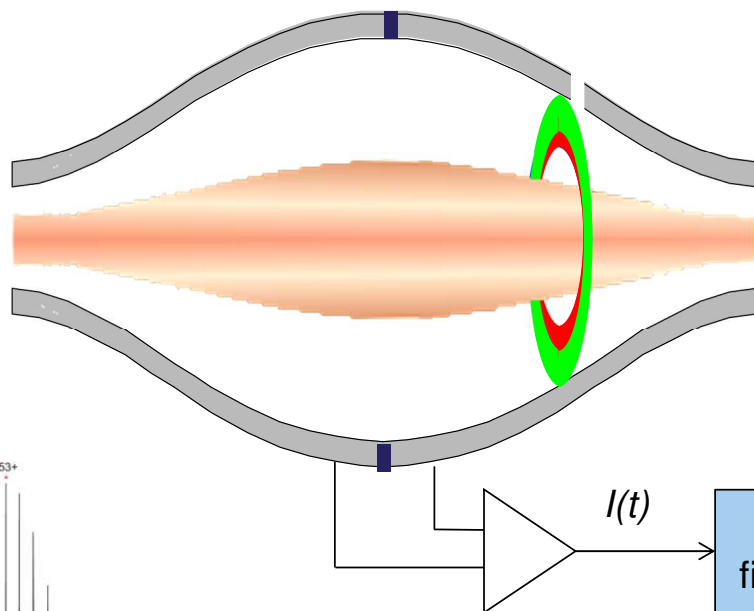
Bisphenol-A
80-05-7

Množství



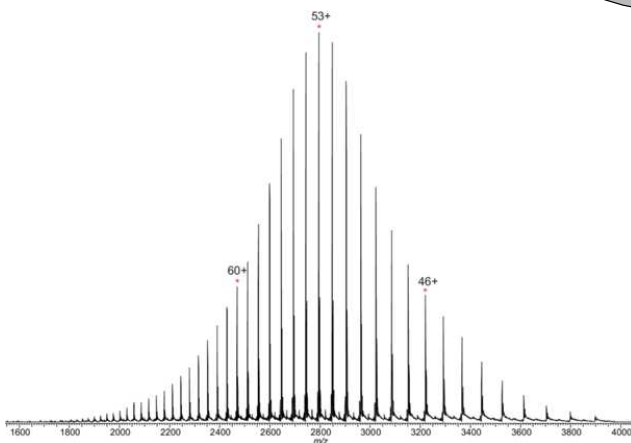
Orbitální iontová past, Orbitrap

pojem „skenování“ prosím s rezervou

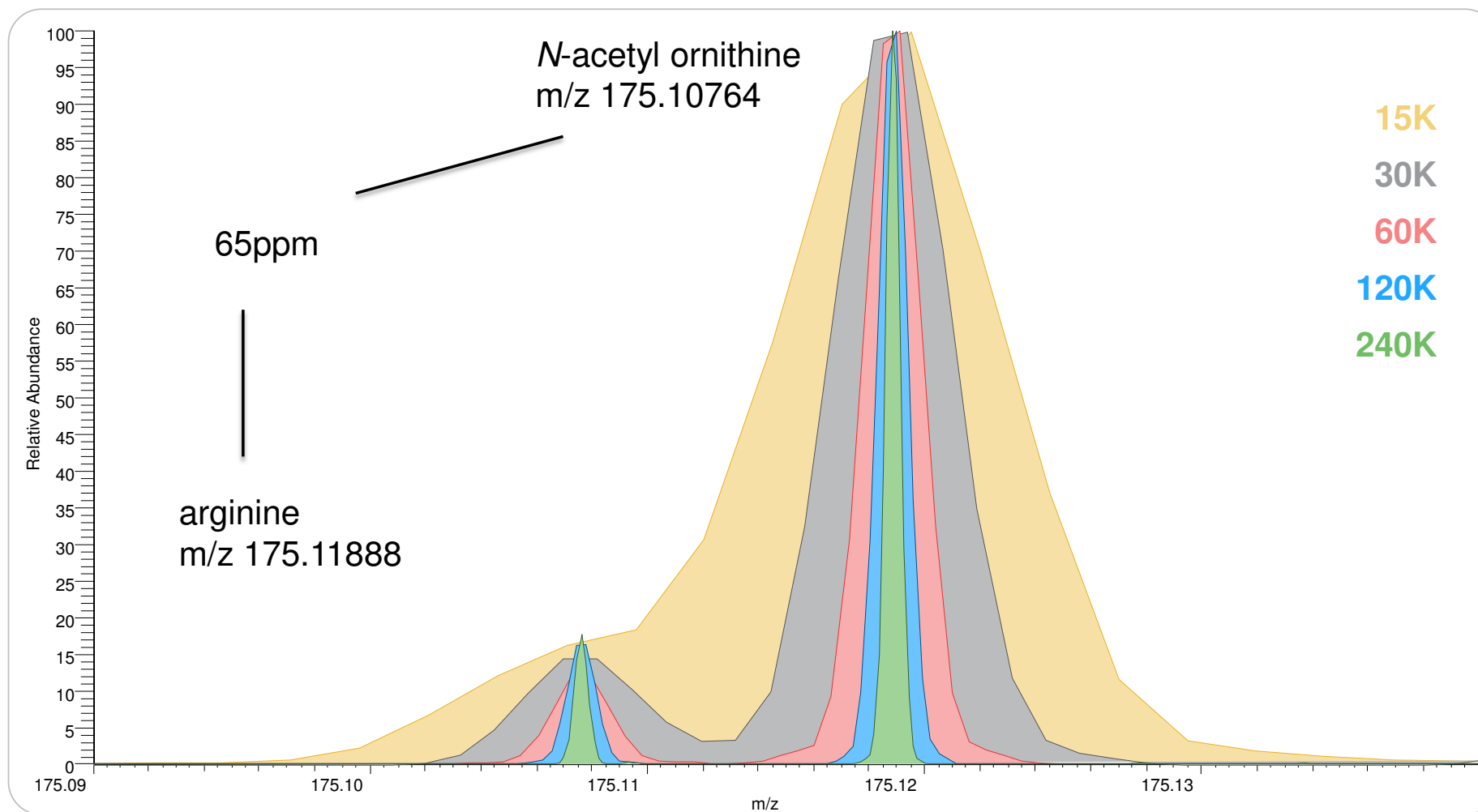

$$F(\omega_m) = \sum_{n=0}^{N-1} f(t_n) \exp\left(\frac{-inm}{N}\right)$$

+ zero filling
+ apodization
....

int(m/z)



Orbitální iontová past, Orbitrap



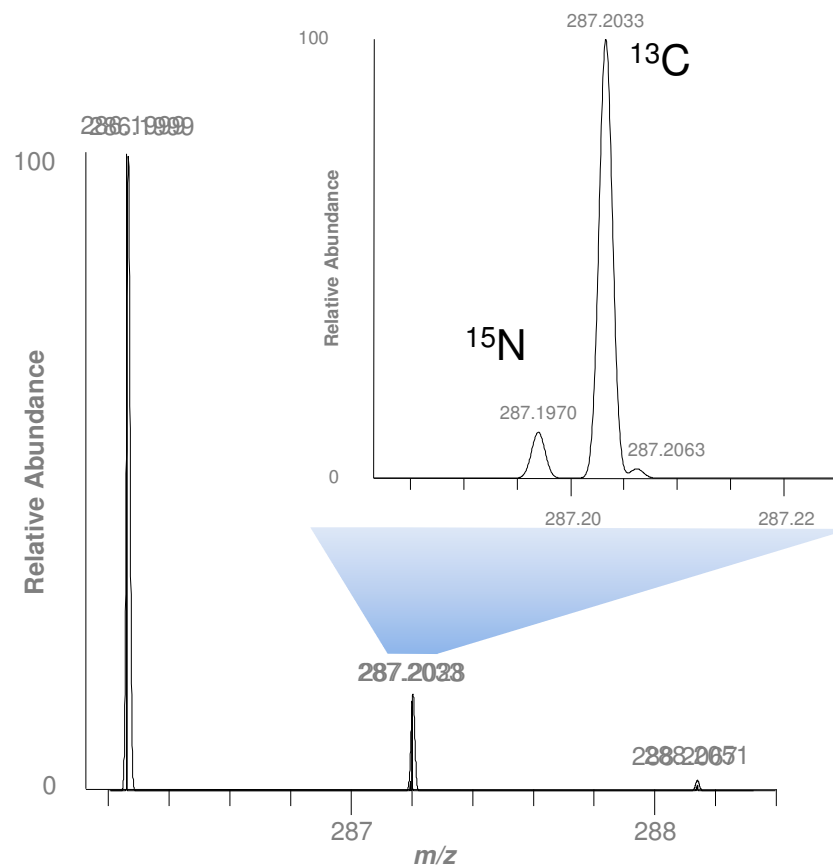
Orbitální iontová past, Orbitrap



or



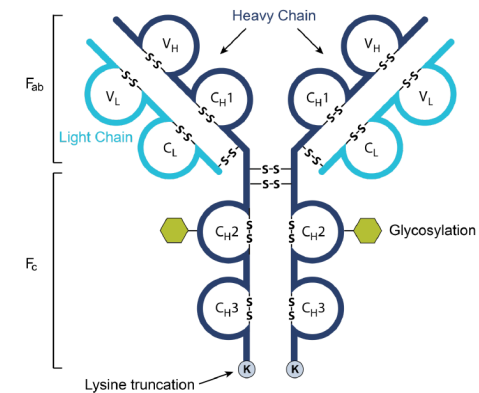
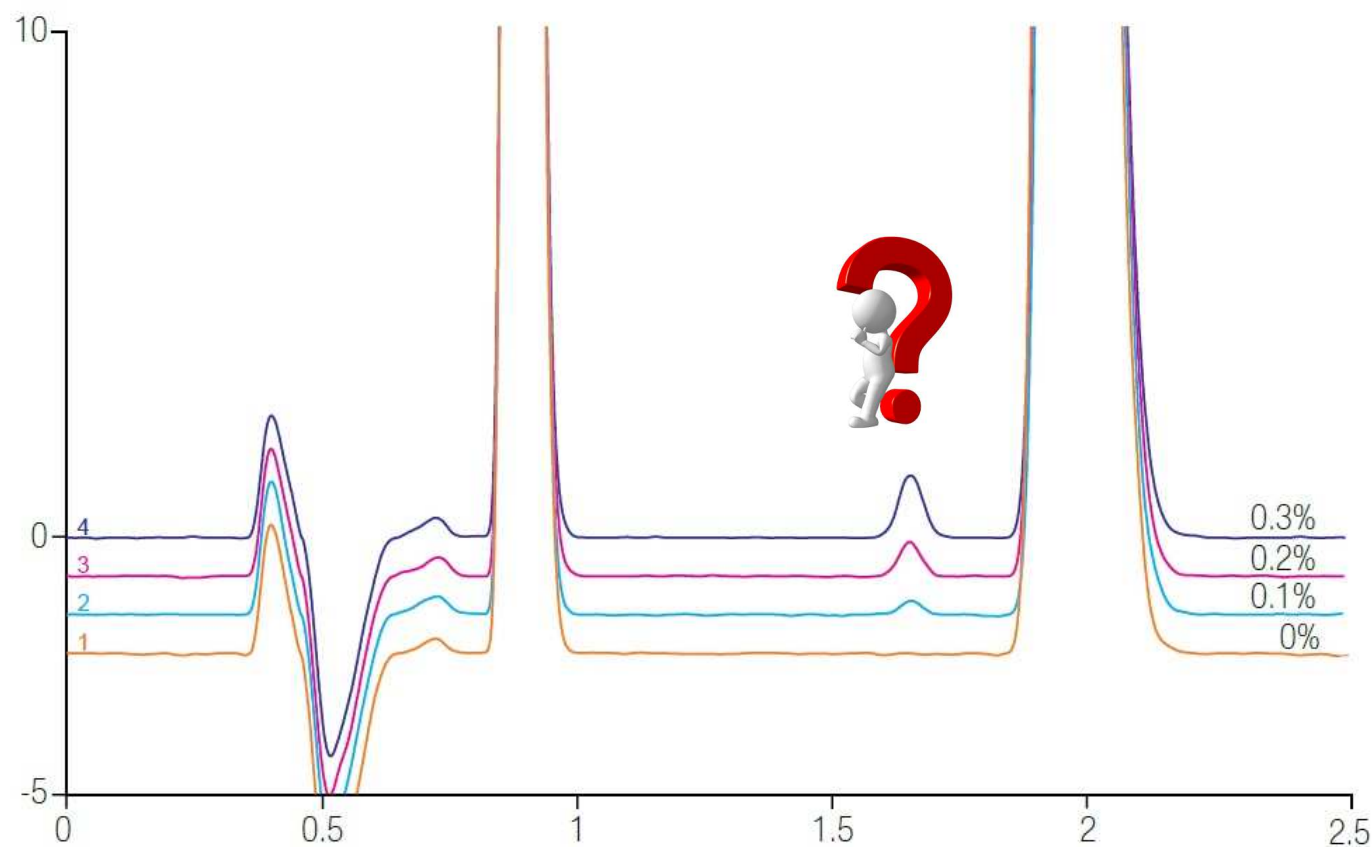
- přesná hmota a popis fragmentů nejsou jediné nástroje
- přesná hmota vede k elementárnímu složení
- velmi vysoké rozlišení značně pomůže ke zpřesnění elementárního složení



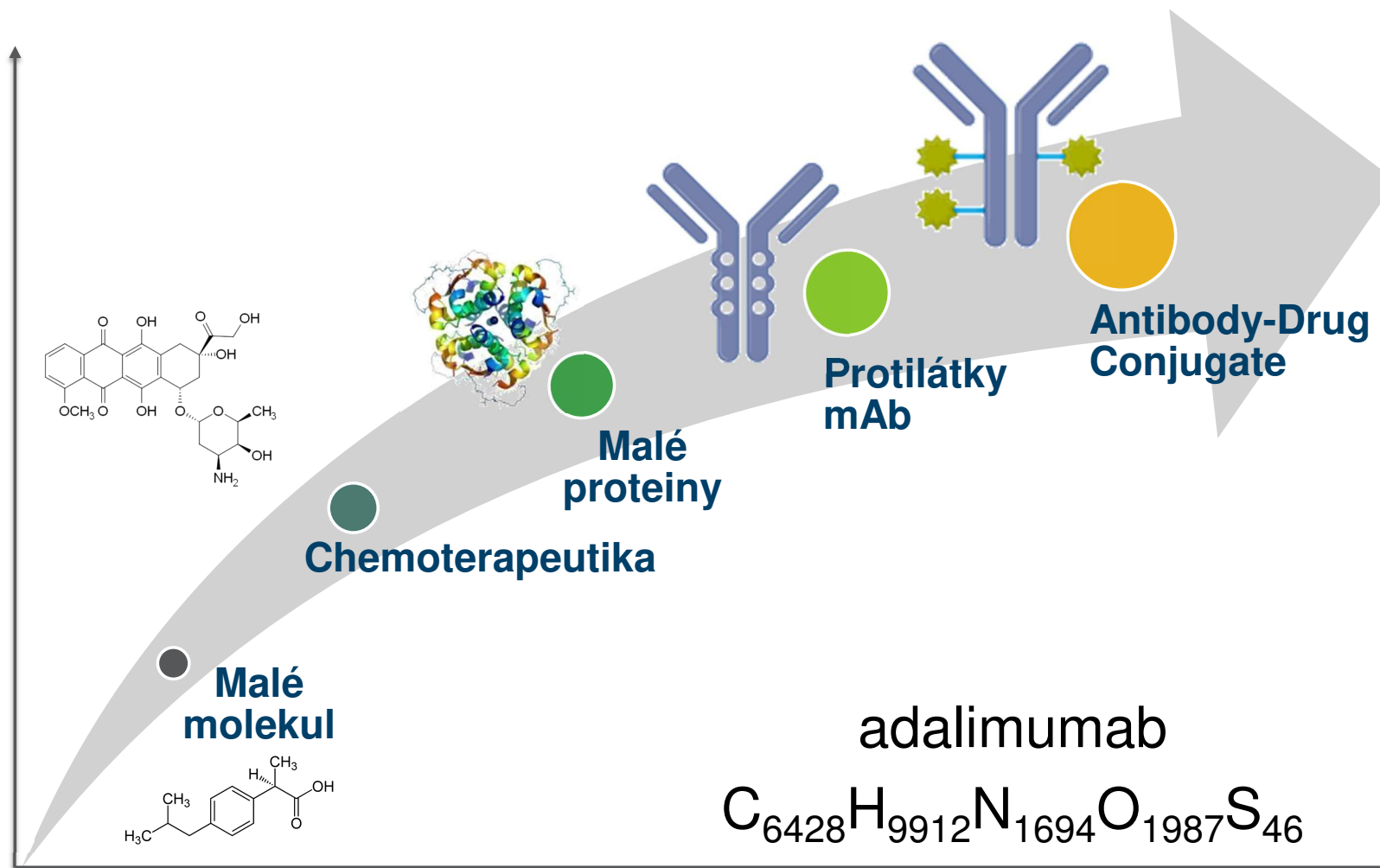
VHFRAM



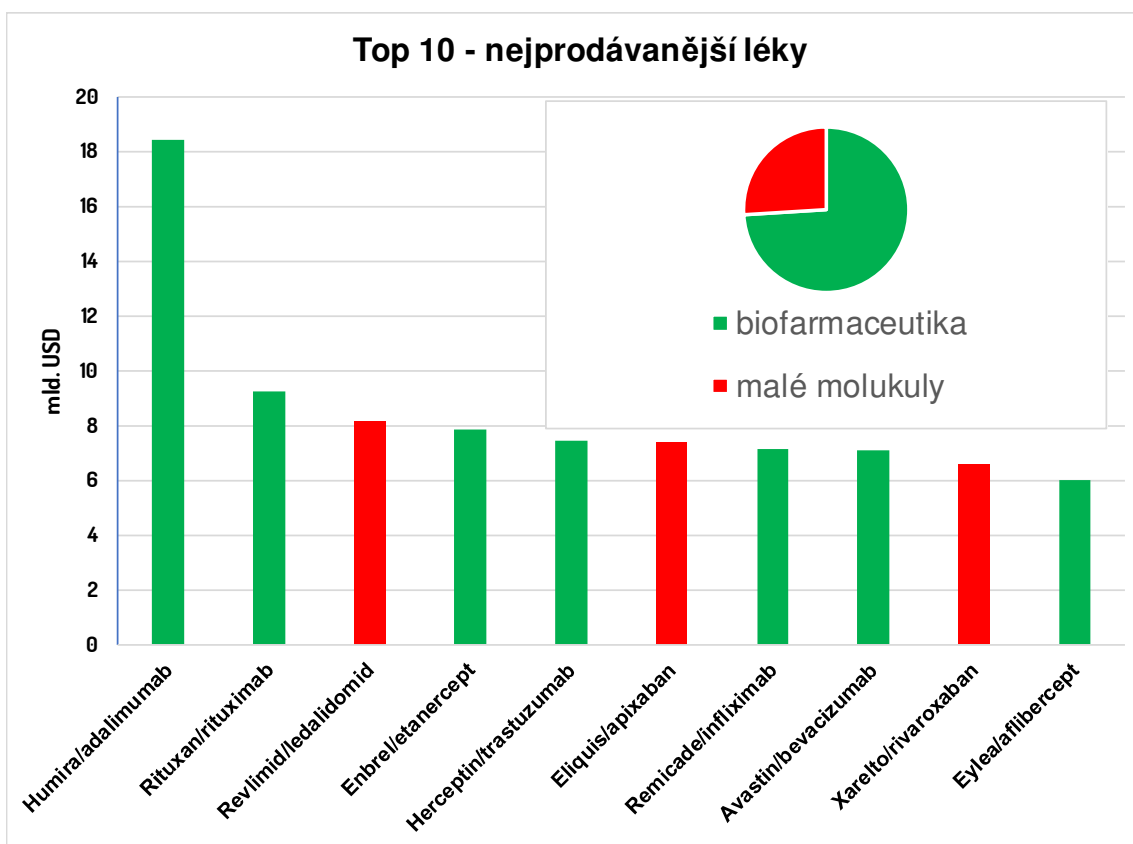
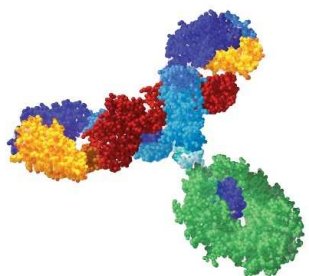
Achillova pata však není v MS, ale v separační technice



Achillova pata však není v MS, ale v separační technice



Achillova pata však není v MS, ale v separační technice

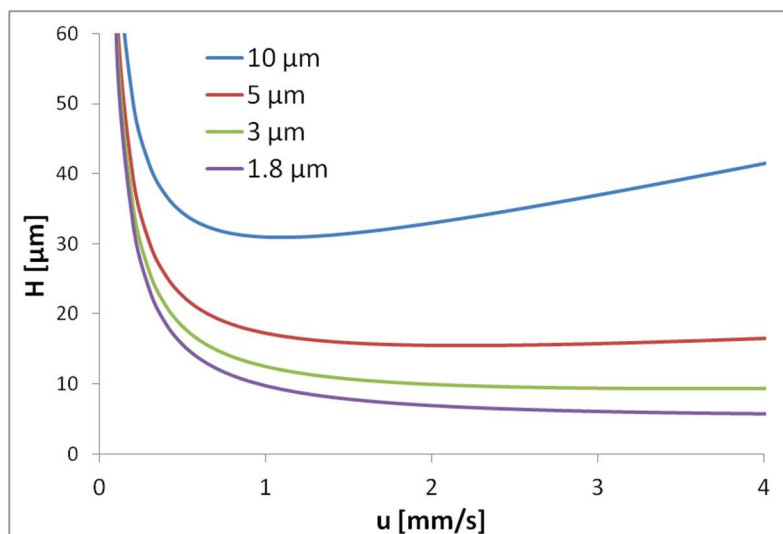


- UMAB
- XIMAB
- ZUMAB
- ERCEPT

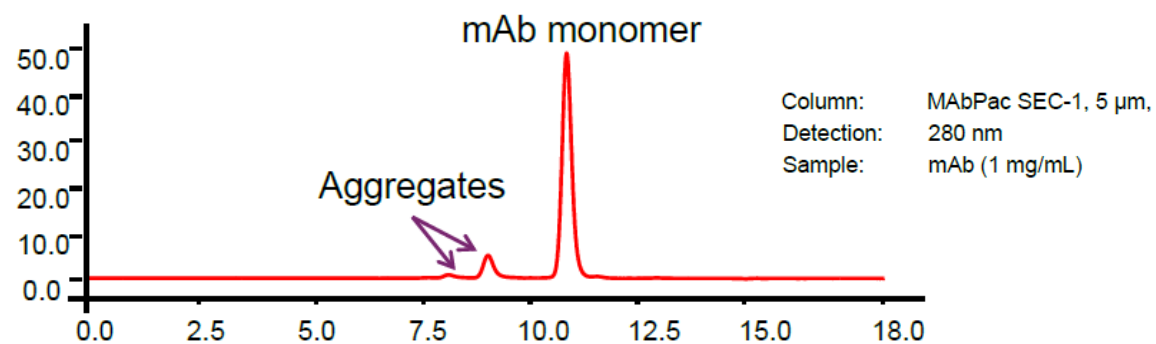
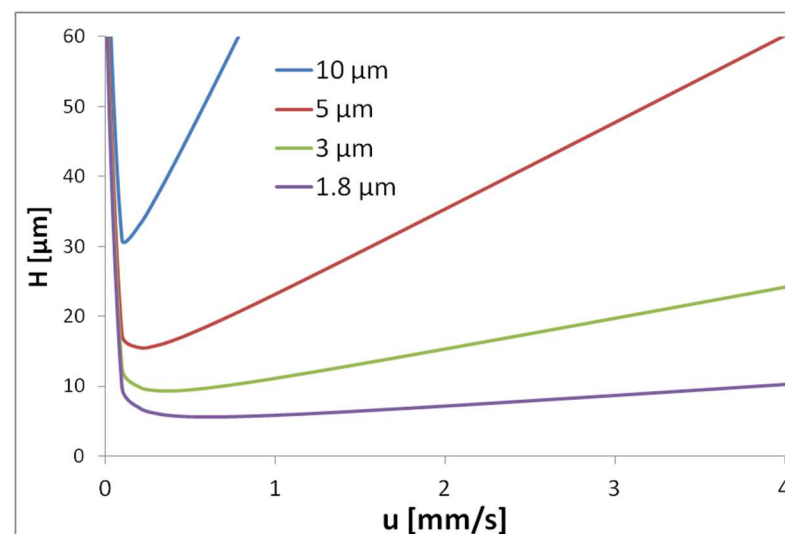


Achillova pata však není v MS, ale v separační technice

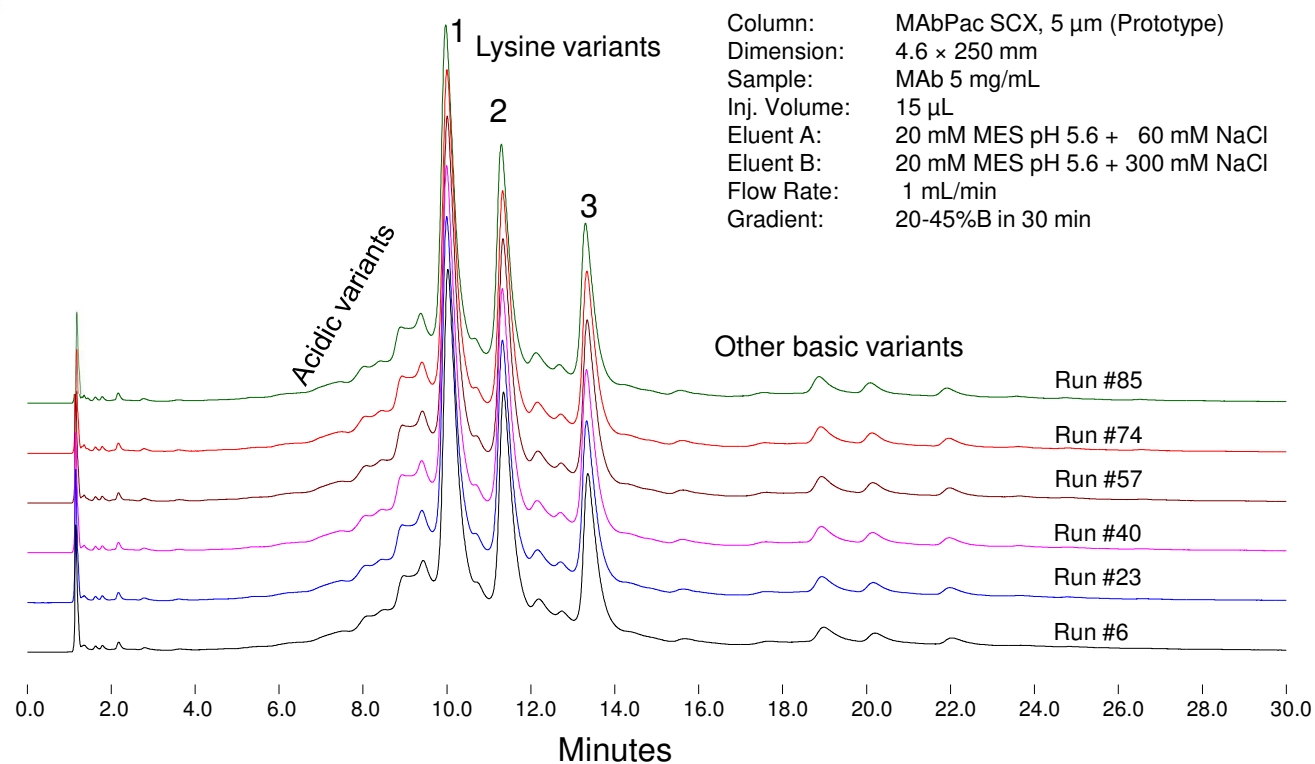
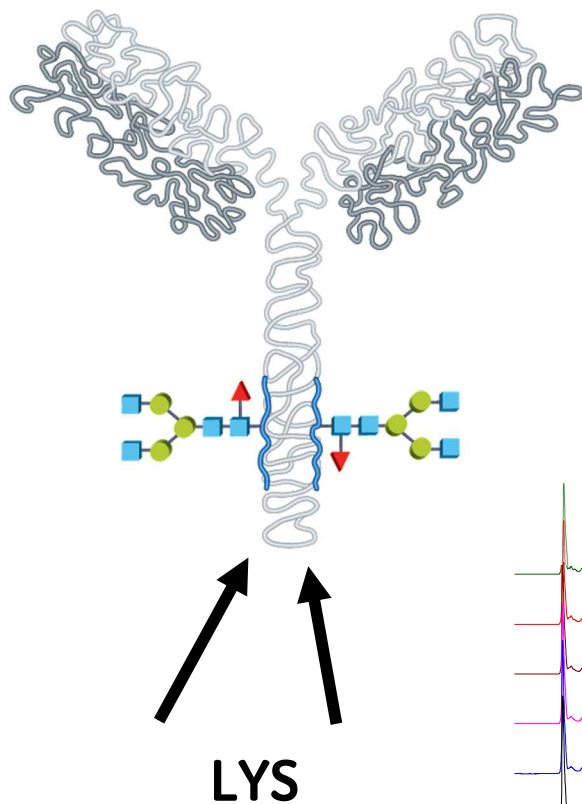
malé molekuly



mAb

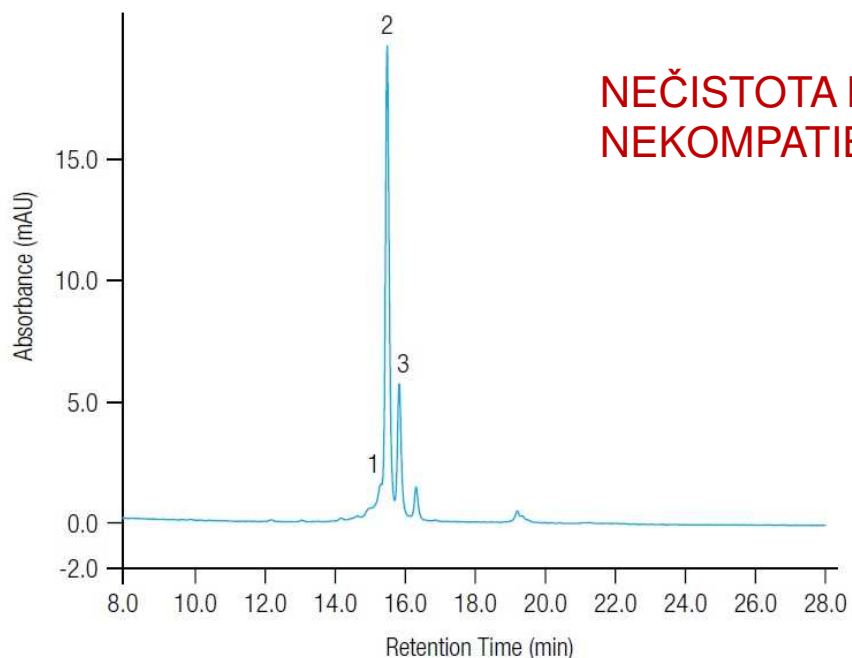


Achillova pata však není v MS, ale v separační technice



Achillova pata však není v MS, ale v separační technice

NEČISTOTA BÝVÁ V DRTIVÉ VĚTŠINĚ PŘÍPADŮ ODHALENA V PODMÍNKÁCH NEKOMPATIBILNÍCH S HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ

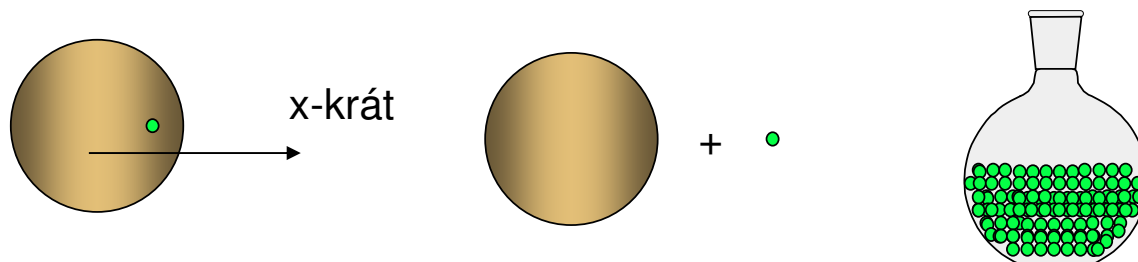


Column: **MABPac SCX-10**, 10 μ m
Format: 4 \times 250 mm
Mobile Phase A: 20 mM MES (pH 5.6) + 60 mM NaCl
Mobile Phase B: 20 mM MES (pH 5.6) + 300 mM NaCl
Salt Gradient: 0% B to 100% B from 1 to 31 min
Flow Rate: 1.0 mL/min
Inj. Volume: 5 μ L
Temp.: 30 $^{\circ}$ C
Detection: UV (280 nm)
Sample: Humira/adalimumab (5 mg/mL)

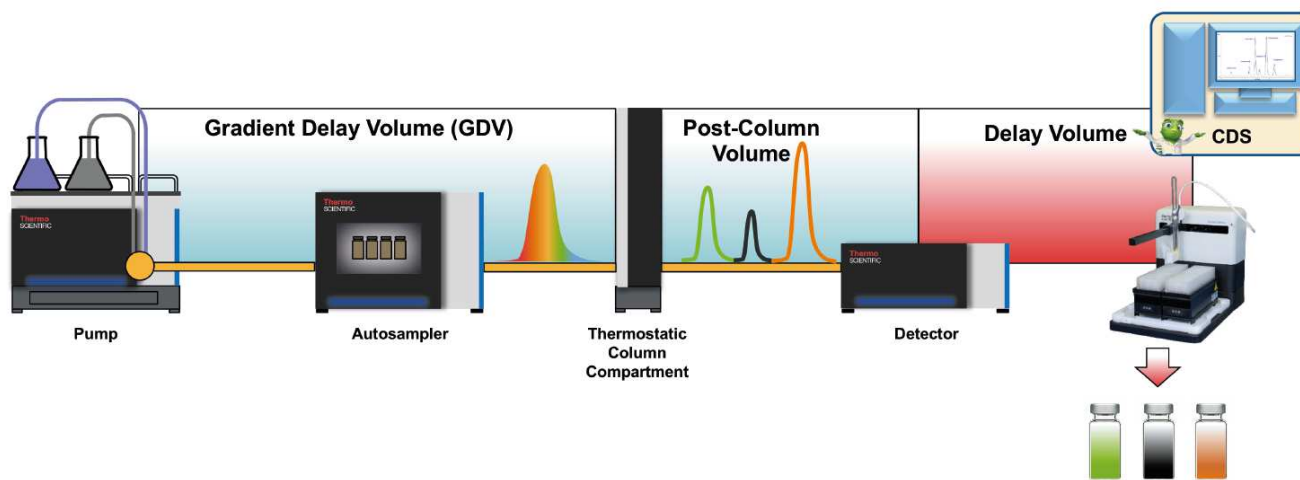
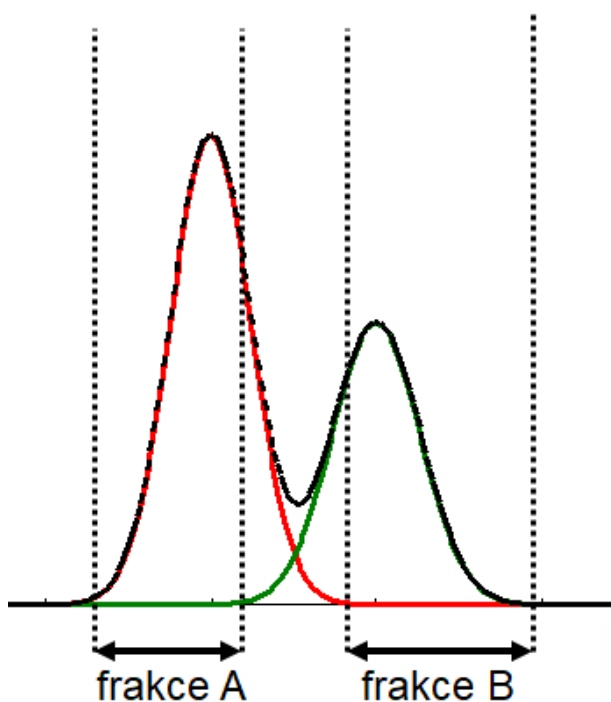
1. převedení metody na příznivější podmínky - (voda, MeOH, ACN)
2. sběr kýžené frakce pomocí (semi)preparativní LC, izolace
3. výřez eluující nečistoty a „vyčištění“ od mobilní fáze na druhém kanálu



Sběr frakce pomocí (semi)preparativní HPLC



případně x-násobné analytické separace se sběrem



nevýhoda: obsahuje nevhodnou mobilní fázi, nutná následná izolace
výhoda: možné použití NMR (bulková analýza)



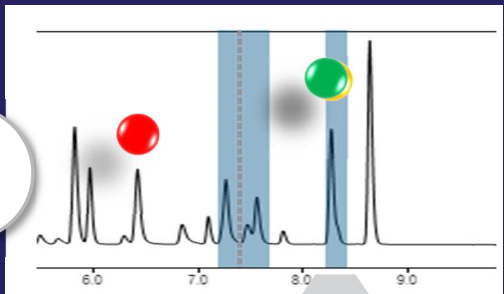
On-line výřez eluující nečistoty a „vyčištění“ od mobilní fáze na druhém kanálu



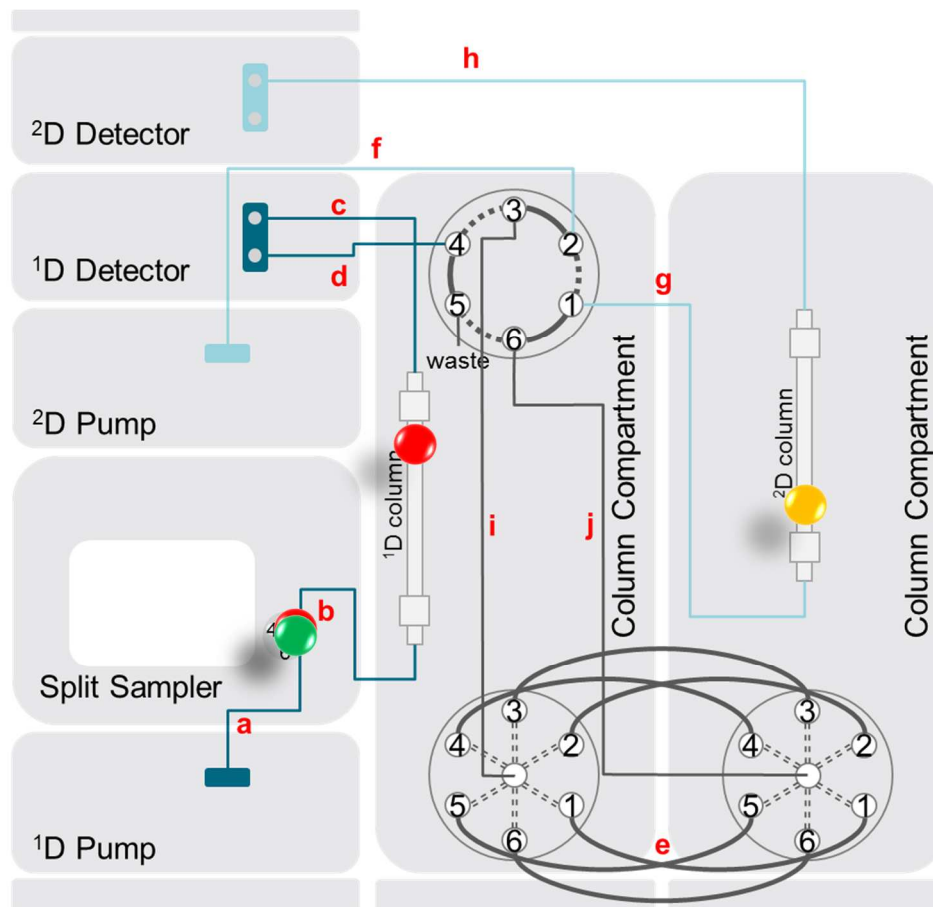
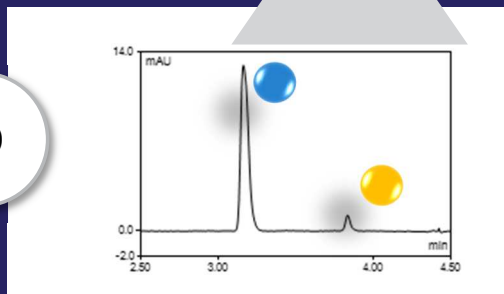
Dvourozměrná HPLC

Jak funguje 2D HPLC

1D



2D

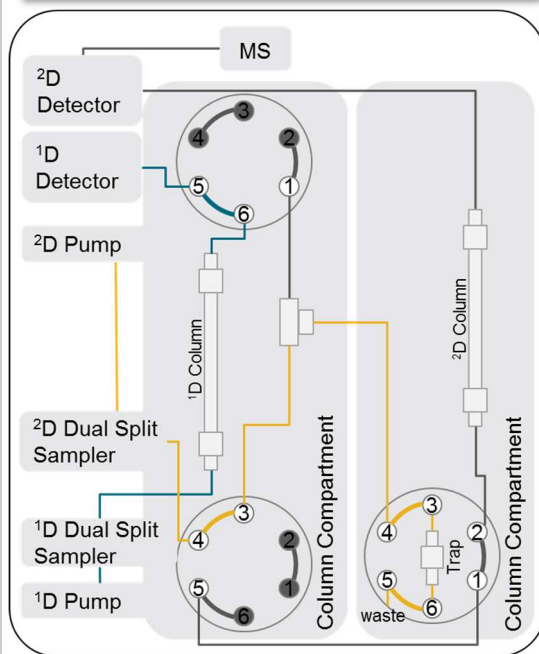


multiple heart-cut setup

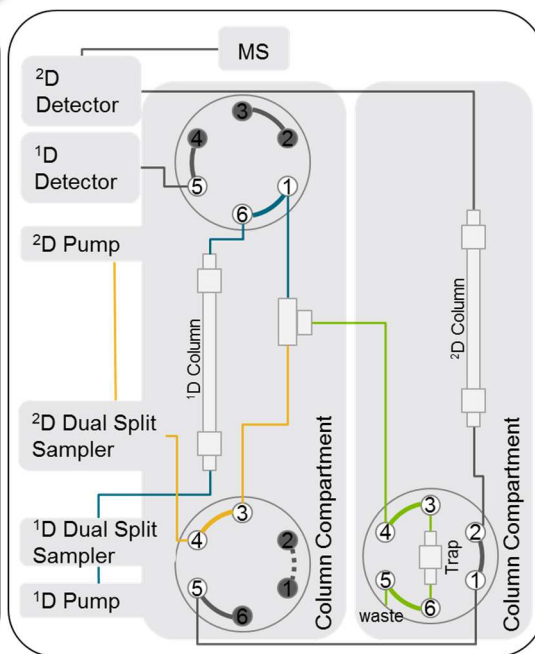


On-line výřez eluující nečistoty a „vyčištění“ od mobilní fáze na druhém kanálu

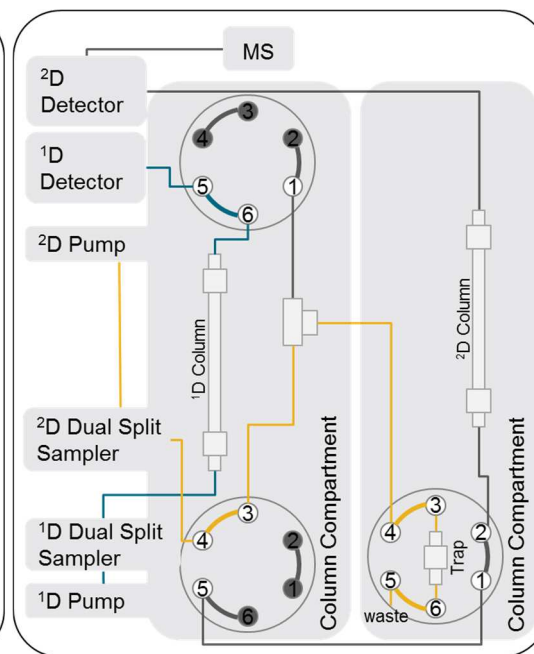
On-line výřez



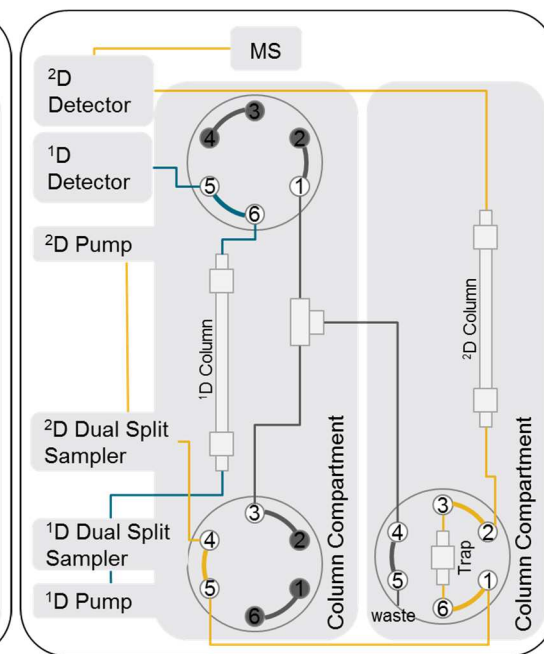
1D analysis / 2D idle



heart-cut w/ elution strength reduction and trapping



trap washing (optional)

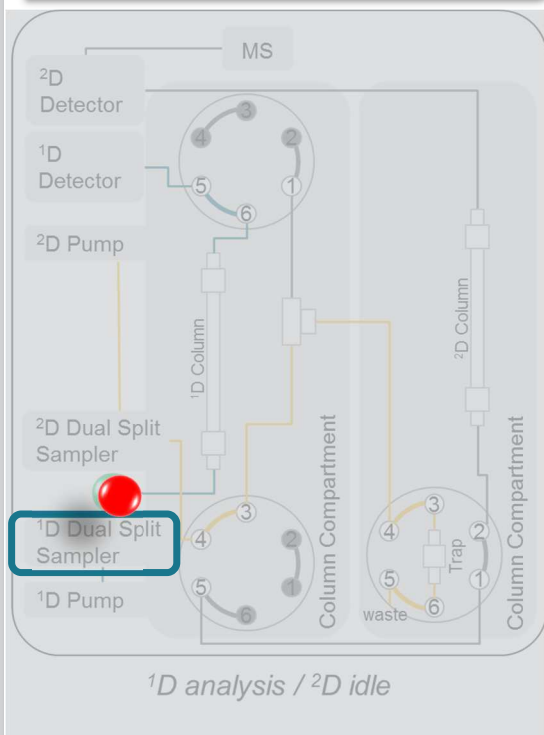


1D and 2D analysis

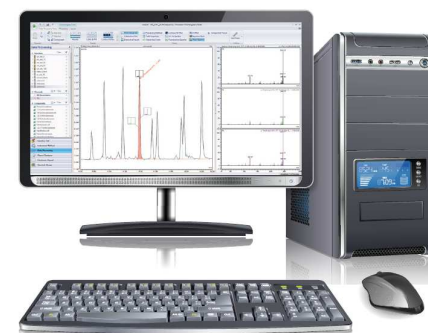
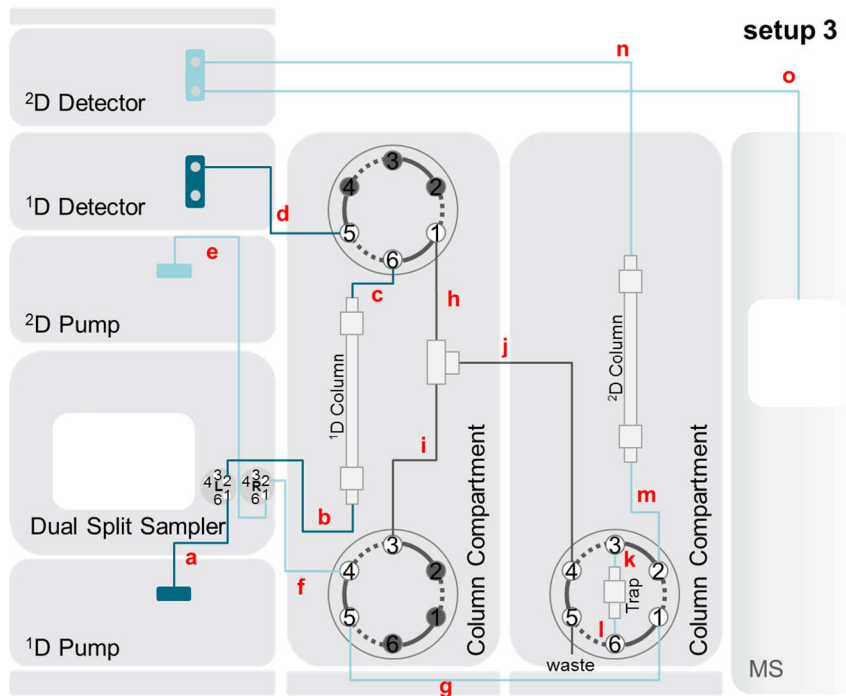


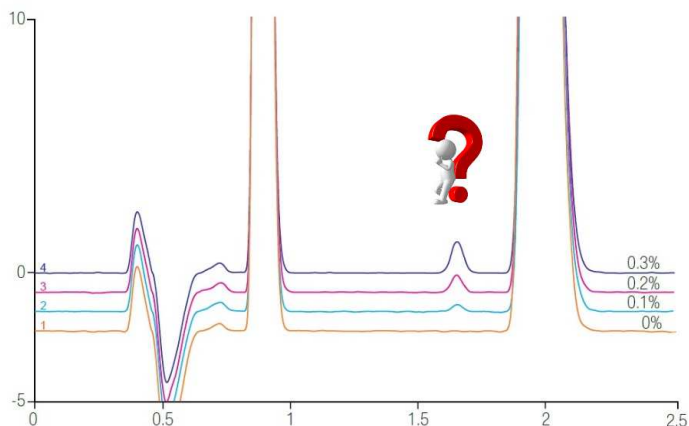
On-line výřez eluující nečistoty a „vyčištění“ od mobilní fáze na druhém kanálu

On-line výřez



Benefit: 2x HPLC bez manuálního předělání





1. převedení metody na příznivější podmínky -
(voda, MeOH, ACN)



2. sběr kýžené frakce pomocí
(semi)preparativní LC, izolace



3. výřez eluující nečistoty a „vyčištění“ od
mobilní fáze na druhém kanálu



www.pragolab.cz

 [linkedin.com/company/pragolab-s-r-o-](https://www.linkedin.com/company/pragolab-s-r-o-)

