

# Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러, 8890/5977 GC/MSD 시스템을 이용한 N-Nitrosodimethylamine 및 N-Nitrosodiethylamine 분석

미국 FDA 지침에 따른 sartan 의약품의 불순물 분석

## 저자

Abbey Fausett  
Agilent Technologies, Inc.

## 개요

이 응용 자료에서는 Agilent 8890 GC를 이용해 미국 식품의약국(FDA) 분석법에 따라 sartan 제품의 불순물을 분석하는 방법을 설명합니다. 이 워크플로에는 Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러와 5977 GC/MSD도 이용하였습니다. 예상 검출 값에 해당하는 결과를 얻었습니다.

## 서론

세계보건기구(WHO)에 따르면 25세 이상 성인의 35%~46%는 고혈압을 앓고 있습니다<sup>1</sup>. 이 질병은 전 세계 10억 명 이상의 사람들에게 영향을 미칩니다<sup>2</sup>. Valsartan, losartan 및 기타 안지오텐신 II 수용체 차단제(ARB)는 전 세계적으로 널리 사용되고 비교적 저렴하기 때문에 고혈압 치료에 일반적으로 처방되는 의약품입니다. ARB의 작용 기전은 안지오텐신 II와 그 수용체 사이의 결합 과정을 억제하여 혈관 수축을 예방하고 효과적으로 혈압을 낮추는 것입니다.<sup>3</sup>

2018년 7월, 오염 위험으로 인해 valsartan 제품은 전 세계적으로 리콜되었습니다. 초기 오염물질은 N-Nitrosodimethylamin (NDMA)으로 식별되었습니다. 미국 FDA는 유통 전에 발암 물질로 의심되는 이 불순물에 대해 생산 시설에서 valsartan 제품을 스크리닝 하도록 절차 가이드를 배포했습니다.<sup>4</sup> 두 번째 오염물질은 리콜 직후에 확인되었으며 유럽 의약청에 의해 식별되었습니다.<sup>5</sup> NDMA와 같이 N-nitrosodiethylamine (NDEA)은 발암 가능성이 있는 것으로 분류되며 sartan급 의약품에 공통적인 테트라졸 고리를 합성하는 과정에서 2차 생성물로 만들어지는 것으로 여겨지고 있습니다. 이 새로운 불순물이 확인되고 테트라졸 고리와의 연관성이 제기되면서 초기 리콜은 생산 중인 모든 sartan까지 확장하게 되었습니다. 유럽 의약청의 보고에 따라 미국 FDA는 두 가지 오염물질을 단일 분석법으로 관리하기 위한 후속 규제 절차를 수립하였습니다. 수정 사항에는 서로 다른 GC 컬럼 케미스트리와 전처리 용매의 변경이 포함되어 있습니다<sup>6</sup>. 이 문서는 2019년 1월에 발행되었으며 헤드스페이스

샘플링을 장착한 GC/MS를 이용하여 원료 의약품과 완제품 분석 시 각각 0.10ppm 및 0.05ppm의 NDMA 및 NDEA에 대한 정량 한계(LOQ)를 설정하였습니다. FDA 절차가 Agilent 7890A GC에서 실행되기는 했지만 이 응용 자료는 Agilent 8890 GC 시스템이 7890 시스템과 동일한 뛰어난 성능을 발휘할 수 있음을 보여줍니다.

## 실험

순수한 NDMA 및 NDEA 표준물질은 MilliporeSigma (Burlington, MA, USA)를 통해 구입하였습니다. FDA 지침<sup>6</sup>은 순도 99.0% 이상의 1-methyl-2-pyrrolidinone (NMP)을 사용하는 것을 요구합니다. 그러나, 고순도 용매(99.7%, MilliporeSigma)를 사용한 결과, 제공된 조건을 따르는 경우 용매 불순물 중의 표적 화합물 분리능이 개선되었습니다. 이 분석은 추가적인 글로벌 규제 기관에 적용될 수 있기 때문에 시료 전처리에 저순도 용매가 사용되는 경우의 분리를 개선하기 위해 크로마토그래피 파라미터의 유연성은 다르게 나타날 수 있습니다. 이 평가에 포함된 데이터는 FDA 프로토콜을 벗어나지 않고 그대로 따랐습니다.

분석법 조건은 다음 표에 요약되어 있습니다. 이 작업은 고속 GC 오븐(240V)에서 수행되었지만 이러한 결과를 얻는 데에 이 옵션은 필수 요건이 아닙니다. 헤드스페이스 분석법 개발에 유용한 또 다른 옵션은 헤드스페이스 이송 라인 액세서리이며, 이는 구성을 변경하지 않고도 동일한 주입구에서 헤드스페이스와 액체 주입 기능을 모두 사용할 수 있습니다. 표 1에 분석에 사용된 소모품이 나와 있습니다. FDA 지침에 따라 검량 용액을 제조하였으며 1µg/mL의 추가 검량 용액도 준비했습니다.

## 분석법 조건

Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러 조건	
오븐 온도	130°C
루프 온도	180°C
이송 라인 온도	185°C
바이알 평형화	15분
주입 시간	1분
바이알 크기(mL)	20mL
바이알 진탕	레벨 5
채우기 모드	기본값
채우기 압력	15psi
루프 채우기 모드	기본값

Agilent 8890 GC 파라미터	
주입구(분할/비분할)	헬륨
온도	220°C
모드	분할
분할비	5:1
주입구 압력(초기)	7.33psi
오븐 유형	240V-고속 오븐
평형 시간	1분
오븐 프로그램	0.5분간 40°C 유지, 20°C/분으로 160°C까지 승온, 10°C/분으로 240°C까지 승온, 2분 유지 총 주기 시간: 16.5분
컬럼	Agilent J&W DB-1701, 30m × 250µm, 1.0µm
모드	일정 유속
유속	1mL/분

Agilent 5977 GC/MSD 조건	
이온화원 유형	Extractor
이온화원 온도	230°C
질량 필터 모드	선택 이온 모니터링(SIM)
NDMA m/z	74.00
NDEA m/z	102
렌즈 직경	6mm
사중극자 온도	150°C
NDMA 측정 시간	150
NDEA 측정 시간	150

표 1. 분석에 사용되는 소모품

품명	부품 번호
헤드스페이스 바이알(20mL)	5182-0837
바이알 캡	5183-4477
GC 라이너	5190-2295
GC 셉타	5183-4759
컬럼 DB-1701	122-0733
Extractor 렌즈(6mm)	G3870-20448

## 결과 및 토의

분리가 충분이 이루어졌으며, 용매와 매트릭스 중으로부터도 표적 피크가 잘 분리되었습니다. 그림 1은 크로마토그램의 예입니다.

머무름 시간은 FDA 규제에 제공된 것과 일치했습니다. 그림 2A 및 2B는 NDMA 및 NDEA에 대한 세 개의 가장 낮은 검량 포인트(0.025, 0.05 및 0.1 $\mu$ g) 오버레이를 보여줍니다.

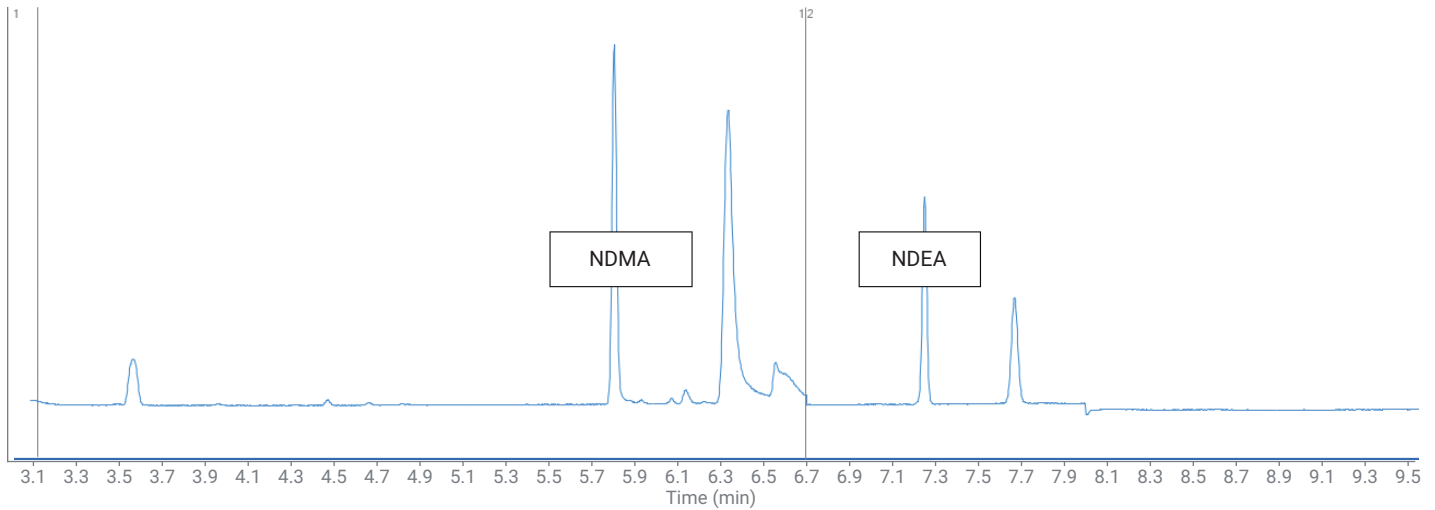


그림 1. NMP에서 NDMA와 NDEA의 1 $\mu$ g 표준 혼합물질의 선택 이온 모드에서 생성된 크로마토그램. NDMA의 머무름 시간은 5.80분이고 NDEA의 머무름 시간은 7.25분입니다.

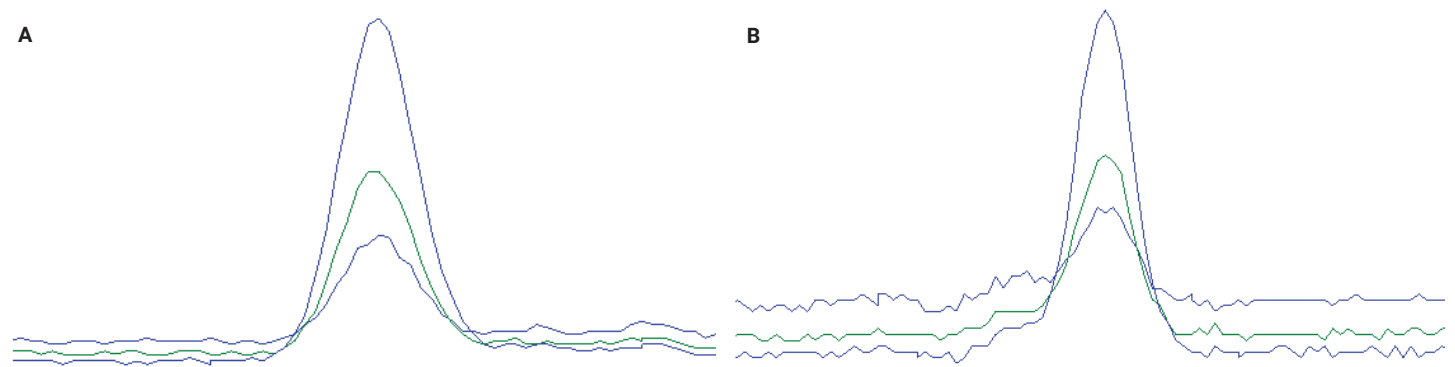


그림 2. 세 개의 가장 낮은 검량 포인트에서의 NDMA(A) 및 NDEA(B) 오버레이

Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어를 사용하여 두 개의 검량선을 생성했습니다. 곡선의 최하단에서 LOQ 및 검출 한계(LOD) 연구가 수행되었기 때문에 0.025µg 및 0.5µg의 표준물질 사이의 검량선에 대해 정량적 결과가 처리되었습니다. 전체 범위 곡선은 0.025µg에서 100µg까지 확장되며 역가중치로 0.995를 초과하는 선형 상관 관계가 있습니다. 그림 3A 및 3B는 이 기기에서 얻은 저농도 검량선 정보를 나타냅니다. LOD는 신호 대 잡음비가 3:1 이상인 컬럼에 주입된 최소량을 기록하여 정의됩니다. NDMA 및 NDEA 검량에서 0.025µg의 최저 포인트가 이 설정을 초과했습니다.

각 화합물에 대한 검량선을 생성한 후, 세 농도에서 표준물질을 5회 반복 분석했습니다. 표 2에 이러한 재현성 평가 결과를 요약하였습니다.

분석법 성능의 최종 평가로 매트릭스에서 스파이크 및 회수율 테스트를 수행했습니다. 사용된 LOQ를 표적으로 하여 각각 500mg의 용해된 valsartan 약물 정제를 함유한 세 바이알에 두 개의 가장 낮은 검량 표준물질을 스파이킹하였습니다. 배치 시료를 분석하여 스파이크 및 회수율 테스트 전에 NDMA 및 NDEA 화합물이 검출되지 않았음을 보여주었습니다. 표 3은 결과를 나타냅니다.

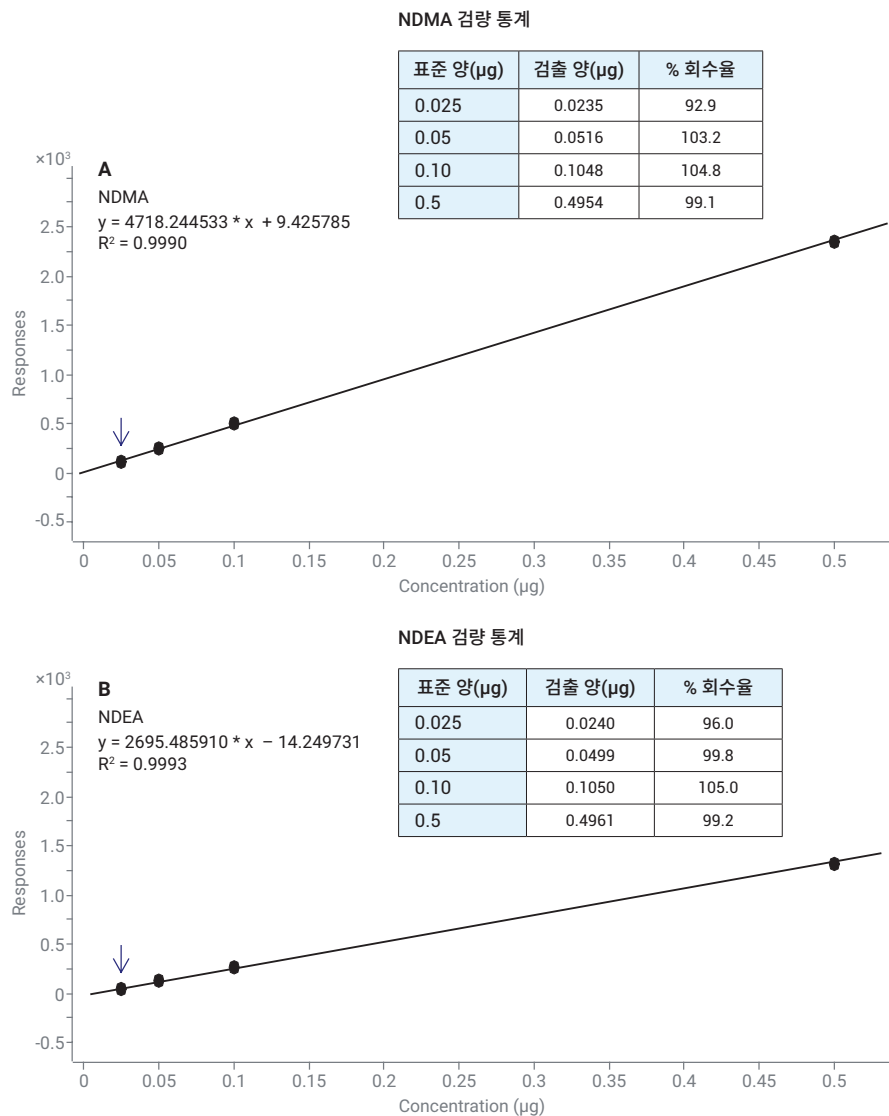


그림 3. 저농도 검량 범위에 대해 측정된 선형 회귀와 검량선에 대한 처리 후 검량 표준물질의 정확도

표 2. 표준물질의 재현성 통계(n = 5)

	0.025µg 표준물질		0.05µg 표준물질		0.1µg 표준물질	
	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA	NDMA	NDEA
평균 검출 양	0.0249	0.0248	0.0518	0.0506	0.1012	0.0988
%RSD	4.95	2.89	6.24	0.7	2.65	4.07

표 3. NDMA 및 NDEA 표적 화합물에 대한 세 반복 시료로부터 얻은 LOQ 측정 결과

	표적 LOQ	평균 회수율	평균 회수율
	1ppm	0.05ppm	0.10ppm
NDMA	0.10	0.056	0.11
NDEA	0.05	0.057	0.11

## 결론

Agilent 8890 GC는 의약품의 안전한 스크리닝에 필요한 견고하고 재현성 있는 성능을 기존 대비 더욱 넓게 확장시킵니다. Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러 및 Agilent 5977 GC/MSD를 8890 GC와 결합하여 사용하면 FDA 지침과 sartan 제품 내의 불순물에 대한 중요 분석의 예상되는 검출 값을 준수할 수 있습니다.

## 참고문헌

1. Global Health Observatory (GHO) data. [https://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/blood\\_pressure\\_prevalence\\_text/en/](https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence_text/en/) - Accessed 17 June 2019.
2. <http://www.bloodpressureuk.org/mediacentre/Newsreleases/1billionpeopleworldwidenowhavehighbloodpressure>
3. Barreras, A.; Gurk-Turner, C. Angiotensin II Receptor Blockers. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* **2003**, *16*(1), 123–126. doi:10.1080/08998280.2003.11927893
4. GC/MS Headspace Method for Detection of NDMA in Valsartan Drug Substance and Drug Products. *U.S. Food and Drug Administration*, FY18-176-DPA-S.
5. European Medicines Agency Report of NDEA.
6. Combined N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by GC/MS Headspace. *U.S. Food and Drug Administration*, FY19-005-DPA-S.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
2019년 09월 11일, 한국에서 인쇄  
5994-1132KO

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

