

서론

니트로사민류 분석에 있어 질량 분석법을 사용한 몇 가지 고감도 정량 분석법이 개발되어 왔습니다¹. 그러나 이러한 분석법은 시료당 몇 분이 소요되는 크로마토그래피 분리에 의존합니다. 빠르고 확실한 불순물 스크리닝 및 정량은 다양한 실험실을 위한 필수 분석 도구입니다. 고처리량 환경에서는 생산성을 보장하고 비용을 최소화하며 시료 적체를 없애는 방식으로 이러한 분석을 수행할 수 있어야 합니다. SPE-QQQ(Solid Phase Extraction Triple Quadrupole Mass Spectrometry)를 사용하면 분석 정확도(fidelity)를 손상시키지 않으면서 시료를 초고속으로 분석할 수 있습니다.

본 연구에서는 주입당 15초 이내에 한 패널의 니트로사민류를 동시 정량하는 방법을 설명합니다. 기존의 미국식품의약국(US FDA) 분석법²을 적용한 다음, 니트로사민류를 추가하여 패널 확장성의 적합성과 용이성을 평가했습니다.

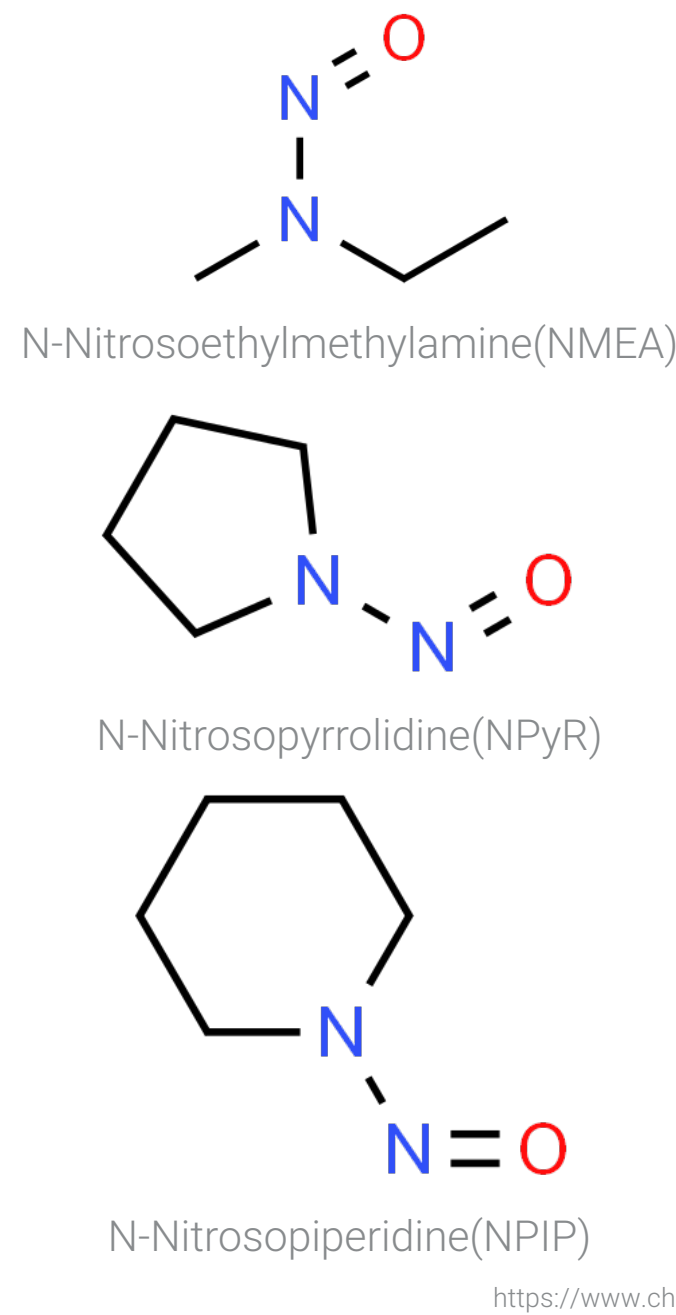


그림 1. 니트로사민류 불순물 분석을 위해 FDA의 RapidFire 분석법에 대한 개념 증명 추가물로 연구된 세 가지 니트로사민 화합물.

실험

기기

SPE-QQQ 분석을 위한 기기는 Ultivo TQ LC/MS와 결합된 RapidFire 고처리량 질량 분석 시스템으로 구성되었습니다. 염 및 시료에 존재하는 기타 간섭물질로부터 표적 분석물질을 분리하기 위해 흑연탄소 카트리지를 사용하여 온라인 고체상 추출(SPE)을 수행했습니다.



그림 2. Agilent Ultivo TQ LC/MS와 결합된 Agilent RapidFire 400 고처리량 질량 분석 시스템

화학물질 및 시약

니트로사민 표준물질, LC/MS 등급 메탄올 및 포름산을 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA.)로부터 구입했습니다.

분석법

주입당 15초 미만의 분석 시간을 달성하도록 트랩, 세척 및 용리의 자동화 주기를 최적화하였습니다.

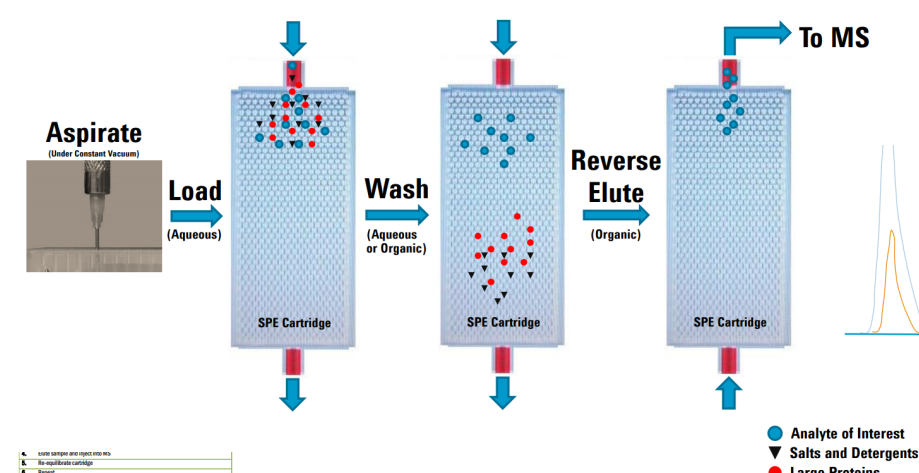


그림 3. RapidFire 주입 주기

기기 설정

RapidFire 조건

완충액 A: 물 + 0.1% 포름산
완충액 B: 메탄올 + 0.1% 포름산
SPE 카트리지: 흑연탄소, 타입 D (G9206A)

| 도/시 | 시간(ms) |
|-------|--------|
| 흡입 | 600 |
| 로드/세척 | 2000 |
| 용리 | 7000 |
| 재평형화 | 2000 |

Ultivo 조건

| 파라미터 | 값 |
|-----------|--------|
| 이온 모드 | APCI |
| 극성 | 양이온 |
| 건조 가스 온도 | 300°C |
| 건조 가스 유속 | 6L/분 |
| Nebulizer | 55psi |
| APCI 히터 | 350°C |
| APCI 니들 | 4µA |
| 캐필러리 전압 | 3000 V |

결과 및 토의

초고속 데이터 획득

시료당 약 12.5초의 속도로 주입하면서 TQ 질량 분석법으로 데이터를 획득했습니다. 그림 4는 15분 이내에 획득한 72회의 주입 결과를 보여줍니다. 캐리오버를 평가하기 위해 검량 수준 사이에 여러 번의 바탕시료 분석을 실행했습니다.

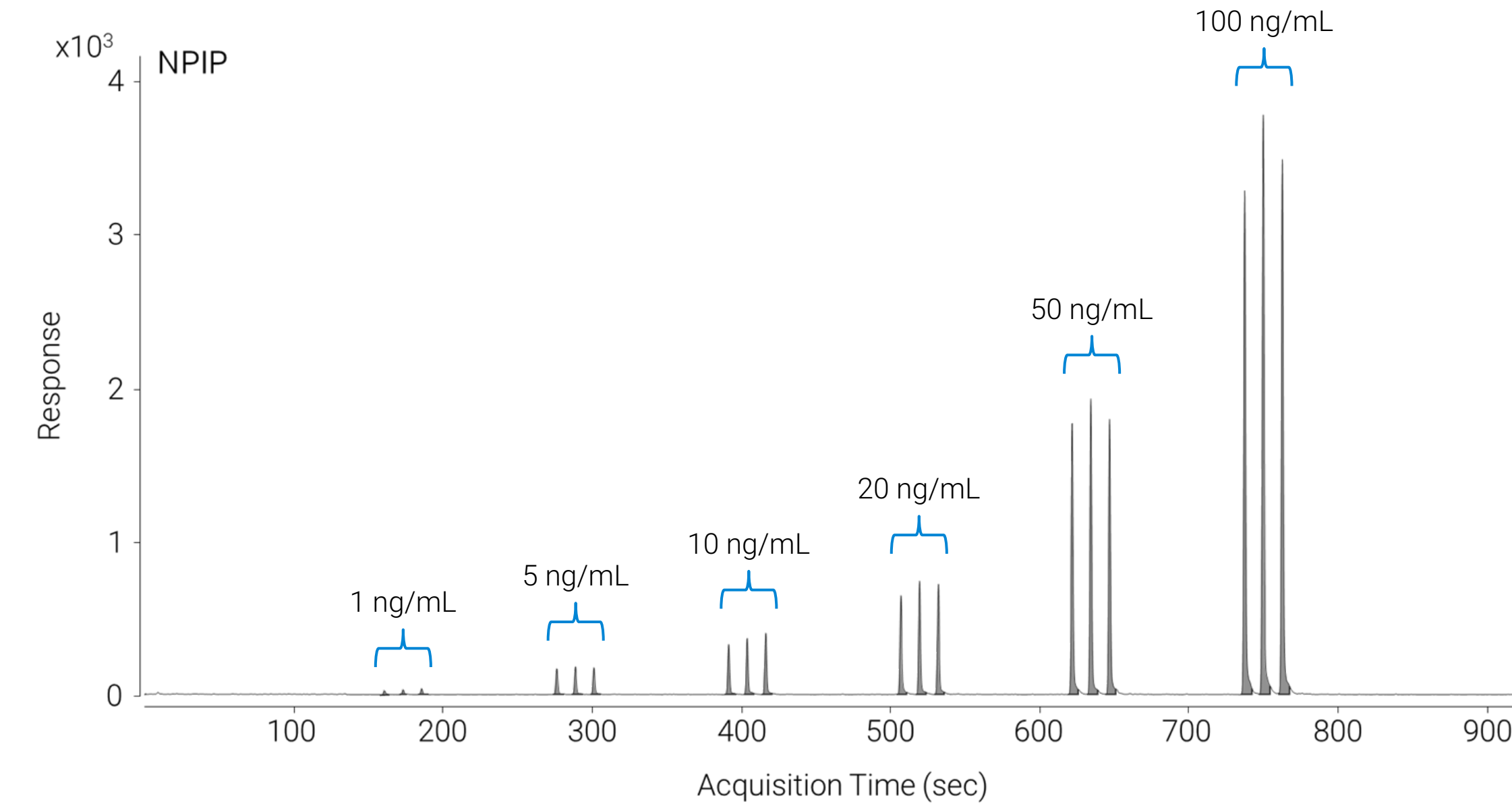


그림 4. NPIP에 대한 6 포인트 검량 곡선의 3회 반복 주입. 캐리오버 평가를 위해 각 검량 수준 사이에 6회의 바탕시료 주입을 수행했습니다

재현성 있고 정확한 결과

각 검량 물질을 3회 주입한 결과로부터 우수한 재현성을 입증하였습니다. 변동계수는 NPIP의 경우 4.5~9.0% 범위이며(그림 4) 모든 분석물질을 대표합니다. R² 범위는 0.997~0.999로, 직선성 또한 우수한 것으로 관찰됩니다(그림 5).

결과 및 토의

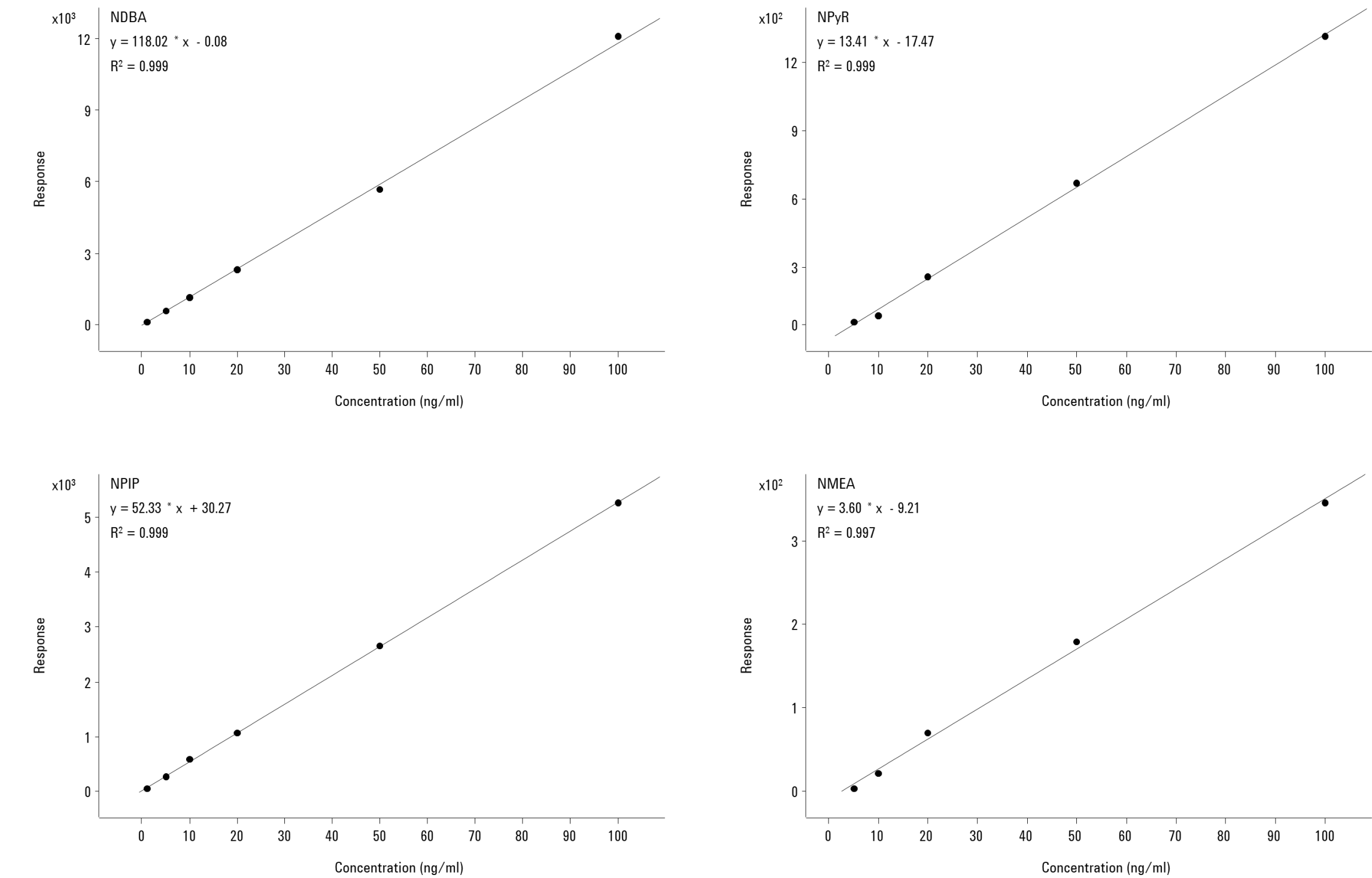


그림 5. NDBA 및 NPIP에 대한 1~100ng/mL의 검량. NPyR 및 NMEA에 대한 5~100ng/mL의 검량

결론

니트로사민류 불순물의 신속한 분석을 위한 미국 FDA의 분석법을 적용하여 일관된 결과를 얻었습니다. 추가적인 개념 증명 작업을 통해 대규모의 분석법 개발 없이 부가적인 니트로사민 분석물질을 간단히 추가할 수 있음을 입증하였습니다.

참고 문헌

- 1 FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls. (2019, November 13). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan>
- 2 Development and validation of a RapidFire-MS/MS method for screening of nitrosamine carcinogen impurities...in ARB drugs. (2019, July 24). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/media/125477/download>
- 3 Information about Nitrosamine Impurities in Medications. (2020, February 3). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>