

Application News

No. 01-00222-ENK

GC HS-20 NX/Nexis™ GC-2030 /GCMS-QP2020 NX Qualitative Analysis Using HS-GC-FID/MS when Testing for Residual Solvents in Pharmaceuticals— USP467: Water-Insoluble Samples — HS-GC-FID/MS를 이용한 의약품 중 잔류용매 분석 —USP467: 비수용성 시료—

미국 약전 일반시험법 <467> '잔류용매'에서는 의약품 중 잔류용매 분석 시, 불꽃이온화 검출기가 장착된 헤드스페이스 가스 크로마토그래프(HS-GC-FID)를 이용한다. 의약품 중 잔류용매는 인체에 미치는 위해도 평가에 따라 엄격하게 관리되며, Class 1, 2 및 3 용매로 분류된다. 의약품 중 이러한 잔류용매를 분석하려면 고감도의 분석 방법이 요구된다. GC-FID를 이용한 정성 분석은 일반적으로 표준물질이 필요하고 피크가 겹쳤을 때, 정확한 용매를 식별하는 것이 어려울 수 있다. 그러나 GC-MS는 질량 스펙트럼에 기초하여 시료 성분에 대한 정성적인 정보를 제공하기 때문에 대상성분 외에 알 수 없는 피크나 피크가 겹쳐 구분이 어려운 피크도 식별이 가능하며, 질량분석을 이용하여 오염 및 기타 문제의 원인도 조사할 수 있다.

이 뉴스레터는 헤드스페이스(HS-20NX)와 GCMS-QP2020NX를 이용하여 Class 1 및 2 용매의 비수용성 시료를 분석한 결과를 소개한다.



그림 1. GCMS-QP 2020 NX + HS-20 NX

➤ 시료조제

Class 1, Class 2A 및 Class 2B의 분석 표준물질은 미국 약전 일반시험법 <467>의 절차서 A에 따라 준비하였다. 용매용액은 DMF로 희석하였다. 클래스 2A 표준 용액에는 최근 국제의약품규제화위원회(ICH Q3C, R8)에서 class 2 용매로 분류하도록 권장된 tert-butyl alcohol(이하, t-BuOH) 및 Cyclopentyl methyl ether(이하, CPME) 첨가하였다.

➤ 장비구성 및 분석조건

미국 약전 USP 일반시험법 <467>(USP<467>) 비수용성 시료 분석 절차에 따라 헤드스페이스(HS-20NX)에 GCMS-QP2020NX(그림 1)가 장착된 장비를 사용하여 시험을 수행하였다. 분석조건은 표 1과 같다. GC-FID는 Nexis GC-2030, GC/MS는 GCMS-QP2020NX를 이용했으며 두 장비 모두 동일 컬럼을 사용해 분석하였다.

표 1. 비수용성 시료의 분석 조건

GC-MS Analysis Conditions (Procedure A)	
Model	:GCMS-QP2020 NX
Column	:SH-I-624 Sil MS (0.32 mm I.D. × 30 m, d.f.= 1.8 μm)
Column Temp.	:40 °C (20 min) - 10 °C/min - 240 °C (20 min) Total 60 min
Injection Mode	:Split 1 : 5
Carrier Gas Controller	:Constant linear velocity mode (He)
Linear velocity	:40 cm/sec
[FID-2030]	
Detector Temp.	:250 °C
FID H ₂ Flowrate	:32 mL/min
FID Make-up Flowrate	:24 mL/min (He)
FID Air Flowrate	:200 mL/min
[MS]	
Ion Source Temp.	:200 °C
Interface Temp.	:250 °C
Scan range	:m/z 30 to 250
Event time	:0.3 sec
HS Analytical Conditions (Procedure A)	
Oven Temp.	:80 °C
Equilibration Time	:45 min
Sample Line Temp.	:110 °C
Transfer Line Temp.	:120 °C
Vial Stirring	:Off
Vial Volume	:20 mL
Vial Pressurization Time	:1 min
Vial Pressure	:75.0 kPa (He)
Loading Time	:0.5 min
Needle Flush Time	:5 min
Injection Volume	:1 mL
Load Equilib. Time	:0 min

➤ Class 1 표준물질의 FID 분석

표 2는 Class 1 표준물질의 각 성분 별 S/N비를 보여준다. 이 결과들은 절차서 A의 시스템 적합성 테스트 기준인 1,1,1-Trichloroethane의 S/N 비 ≥ 5를 충족하였다.

표 2. Class 1 표준물질의 S/N비 (절차서 A)

Part No.	Compound	S/N Ratio*1 (n=6)
1	1,1-Dichloroethane	152
2	1,1,1-Trichloroethane	148
3	Carbon tetrachloride	12
4	Benzene	104
5	1,2-Dichloroethane	36

*1 S/N 비 및 RSD%는 참고용이며, 보증된 값이 아님

➤ 표준물질 분석 (비수용성 시료)

그림 2-4는 Class 1, Class 2A 및 Class 2B의 표준물질을 GC-FID와 GC/MS 이용해 분석한 크로마토그램을 각각 나타낸 것이다. GC-FID에 의해 검출된 피크를 질량 스펙트럼으로 검증할 때는 GC-FID와 GC/MS의 크로마토그램 상에서 가능한 한 피크 Retention time이 일치해야 한다.

GC-FID 및 GC/MS에서 동일한 컬럼을 사용해 일정한 Linear velocity mode에서 분석을 수행하였고, 이 때 모든 분석 대상의 Retention time이 일치하였다. 또한 Class 2A 표준용액에 첨가된 2개의 용매(그림 3: **붉은색으로 표시된 성분**)도 다른 분석물질로부터 분리되었음을 확인하였다.

(주의: 해당 그림에서 분리의 정도는 참고용이며, 보증되는 값을 의미하는 것은 아님)

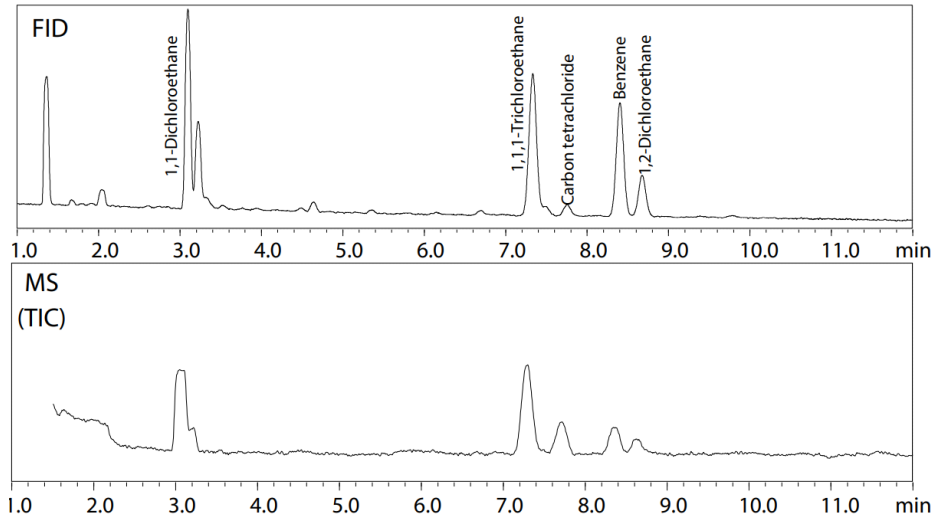


그림 2. 절차서 A의 Class 1 표준용액의 크로마토그램 (비수용성 시료)

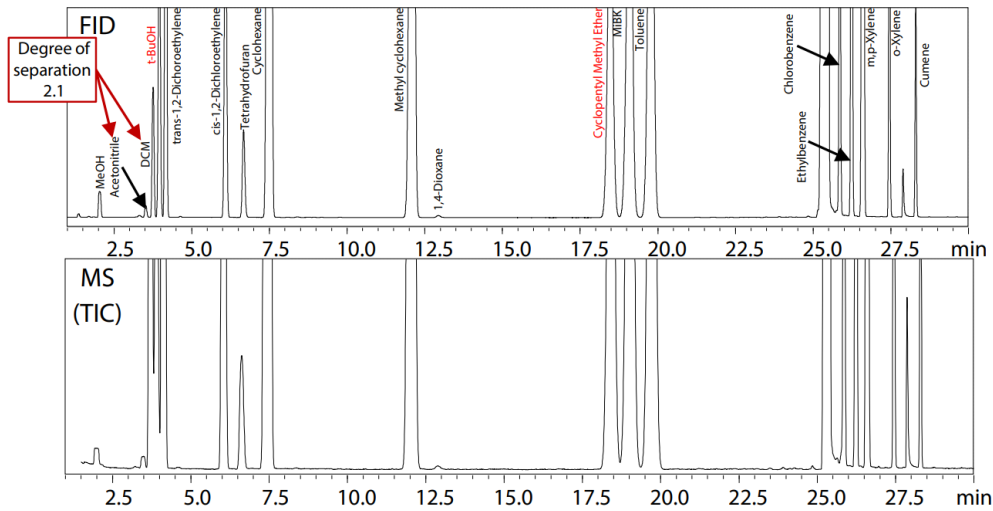


Fig. 3 Chromatogram of Procedure A Class 2A Standard Solution (Water-Insoluble)

그림 3. 절차서 A의 Class 2A 표준용액의 크로마토그램 (비수용성 시료)

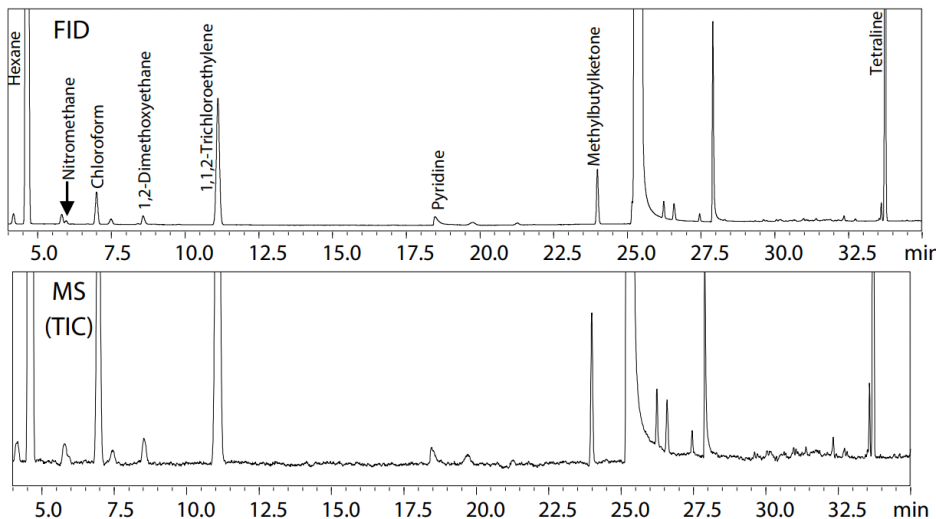


그림 4. 절차서 A의 Class 2B 표준용액의 크로마토그램 (비수용성 시료)

▶ 시료 분석 (비수용성 시료)

그림 5는 시험 용액으로 분석한 의약품의 TIC 크로마토그램이다. FID 분석에서는 표준물질과 동일한 잔류용매는 없는 것으로 나타났으나, 여러가지 알 수 없는 피크가 검출되었다. MS에 의해 알 수 없는 피크 a, b, c가 각각 L-menthone, menthol, menthyl acetate(c)인 것으로 나타났다(그림 6-8).

GC/MS는 대상 잔류용매 성분이 아닌 분석 중 검출된 미지의 성분에 대한 정성 분석이 가능하다. GCMS는 GC-FID로는 구별하기 어려운 성분들을 정성 분석할 수 있기 때문에 보다 안전하고 엄격한 품질 관리를 기대해볼 수 있다.

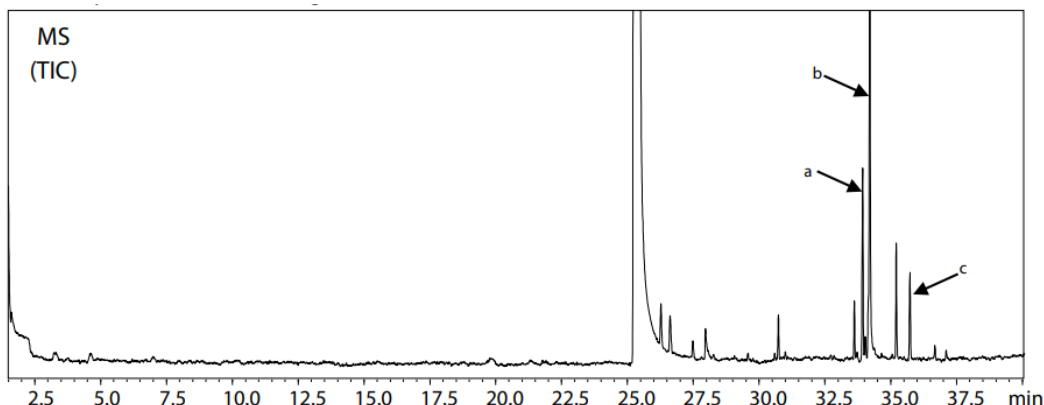


그림 5. 시험용액의 분석 크로마토그램 (비수용성 시료)

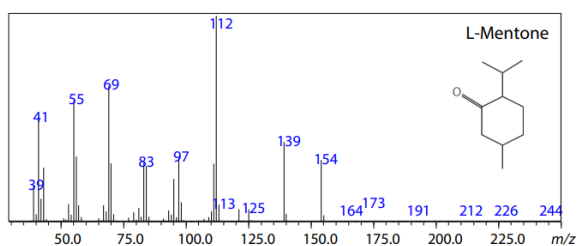


그림 6. 피크 a의 Mass spectrum

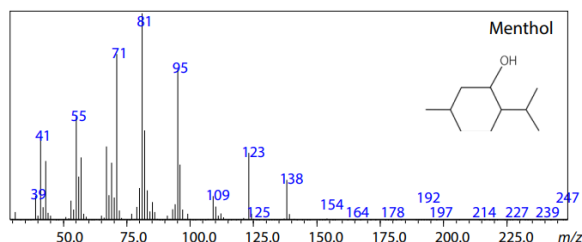


그림 7. 피크 b의 Mass spectrum

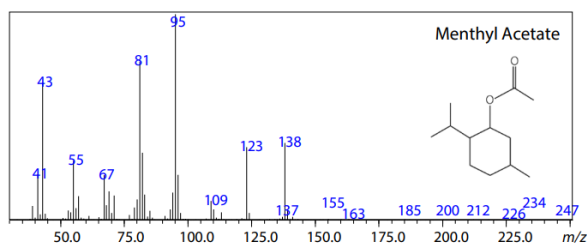


그림 8. 피크 c의 Mass spectrum

▶ LabSolutions GC/MS를 이용한 분석

GCMS-QP2020 NX는 LabSolutions 통합 분석 소프트웨어를 이용해 컨트롤된다. 그림 9에 분석 창의 예를 나타내었다. 소프트웨어는 보다 사용하기 쉬운 그래픽 아이콘을 사용한다. 소프트웨어는 GC-FID 분석과 GC/MS 분석을 모두 컨트롤하기 위해 사용할 수 있다. 또한 LabSolutions DB/CS는 데이터 위조, 데이터 대체 및 기타 문제를 방지하기 위한 데이터 무결성도 지원한다.



그림 9. LabSolutions™ GCMS의 분석화면

▶ 결론

HS-GC/MS 및 HS-GC/FID를 이용하여 의약품 중 잔류용매 시험을 수행하였다. ICH Q3C(R8)에 최근 추가된 Class 2의 t-BuOH와 CPME도 좋은 분리도를 보여주었다.

GC/MS는 잔류용매 분석 시, 분석 대상이 아닌 성분과 FID 분석으로는 구별이 어려운 미지의 성분에 대한 정성적인 정보를 제공할 수 있다.

LabSolutions DB/CS를 이용하여 데이터 무결성을 지원할 수도 있다.