

Application News

No. 03-GCMS-589-ENK

GCMS-QP™2050 Gas Chromatography Mass Spectrometer

GC-MS를 이용한 니페디핀 의약품 중 니트로벤젠 불순물 분석

Determination of Nitrobenzene Compounds in Nifedipine by GC-MS

사용자 활용 포인트

- ◆ 전처리를 제외한 직접 용해 방식을 사용하여 분석 효율을 크게 향상
- ◆ SIM(Selected Ion Monitoring) 측정 모드에서 니트로벤젠 화합물의 특성 이온을 모니터링 함으로써 매트릭스 성분의 간섭을 최소화

■ 서론

니페디핀(Nifedipine)은 혈관의 칼슘 채널을 차단하여 혈관을 확장시키는 디하이드로피리딘 칼슘 채널 차단제 (DHP CCB)로써 주로 고혈압과 협심증의 임상 관리에 사용된다. 니페디핀의 합성 경로는 2-니트로톨루엔(2-Nitrotoluene)을 출발 물질로 사용하여 중간체인 2-니트로벤질 알코올(2-Nitrobenzyl alcohol), 부산물인 2-니트로벤질 브로마이드(2-Nitrobenzyl bromide), 반응 생성물인 2-니트로벤잘데히드(2-Nitrobenzaldehyde) 및 잠재적 불순물(3-니트로벤잘데히드((3-Nitrobenzaldehyde) 및 4-니트로벤잘데히드(4-Nitrobenzaldehyde))는 모두 니트로벤젠 구조를 포함하고 있으며, 잠재적 유전독성 불순물로 모니터링 대상이 될 수 있다.

이전에 수행된 연구들에 따르면, 2-니트로벤잘데히드와 4-니트로벤잘데히드는 아메스 시험(Ames Test)에서 돌연변이를 유발하는 특성이 확인되었고, 2-니트로톨루엔은 동물 실험에서 발암성을 보인 바 있다. 따라서 ICH M7 가이드라인에서 제시한 독성 우려 임계값(TTC) 기반의 관리 접근법에 따라, 평생 복용하는 의약품에서 이러한 유전독성 불순물의 허용 노출량은 1.5 µg/day 이하로 제한하는 것이 권장된다.

본 뉴스레터에서는 GCMS-QP2050을 사용하여 니페디핀 중 여섯 가지 유전독성 불순물을 측정하는 방법을 소개하고 있다. 이 방법은 간편한 시료 전처리, 높은 감도 및 우수한 정밀도를 특징으로 하여 니페디핀 제제 내에 존재할 수 있는 여섯 종류의 니트로벤젠계 유전독성 불순물을 효과적으로 모니터링 할 수 있다.

■ 분석 조건 및 샘플 준비

분석에 사용된 장비는 GCMS-QP2050 시스템을 사용하였으며 분석 조건은 표 1에 나타냈다. 샘플은 50 mg의 니페디핀을 10 mL 갈색 메스플라스크에 넣고 에틸아세테이트에 녹여 준비한다.

■ 혼합 표준 용액의 크로마토그램

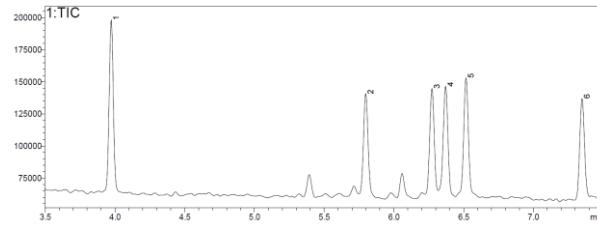


그림 1. 표준용액의 TIC 크로마토그램 (5 mg/L)

표 1. 분석 조건

System	: GCMS-QP2050
Column	: SH-I-5Si MS (30 m x 0.25 mm I.D., df=0.25 µm)
Column Temp. Program	: 100 °C (1 min) - 8 °C/min - 180 °C (2 min) - 20 °C/min - 250 °C (2 min)
Injection Temp.	: 250 °C
Injection Volume	: 1 µL
Carrier Gas Control Mode	: Constant linear velocity (36.5 cm/s)
Injection Mode	: Split
Split Ratio	: 10:1
Ionization Mode	: EI
Ion Source Temp.	: 230 °C
Interface Temp.	: 250 °C
Acquisition Mode	: SIM
SIM monitoring m/z	: Refer to Table 2

표 2. 6가지 니트로벤젠 화합물의 SIM 모니터링을 위한 특성 이온

No.	Compound	CAS	RT (min)	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion (m/z)
1	2-Methyl-1-nitrobenzene	88-72-2	3.968	120	91, 65
2	2-Nitrobenzaldehyde	552-89-6	5.795	121	93, 104
3	1-Bromo-2-nitrobenzene	577-19-5	6.267	201	155, 173
4	4-Nitrobenzaldehyde	555-16-8	6.375	151	105, 77
5	3-Nitrobenzaldehyde	99-61-6	6.522	151	105, 77
6	2-Nitrobenzyl alcohol	612-25-9	7.348	77	79

■ 검정 곡선

6가지의 니트로벤젠 혼합 표준 용액은 에틸아세테이트를 이용하여 5개의 농도 수준(20, 50, 100, 160, 200 µg/L)으로 제조하였다. 각 화합물의 검정 곡선은 그림 2와 같이 우수한 직선성 (>0.999)을 나타냈으며, 20 µg/L 농도의 6 가지 니트로벤젠 화합물 표준용액에 대한 SIM 크로마토그램은 그림 3에 나타냈다. 20 µg/L 표준 용액 데이터를 바탕으로, 각 대상물질의 기기 검출한계(IDLs)는 신호대잡음비(S/N)가 약 3에 해당하는 수준을 기준으로 산출하였다(표3).

표 3. 검정 곡선의 상관 계수(r) 및 기기 검출한계(IDLs)

No.	Compound	Calibration Correlation (r)	IDLs (µg/L)
1	2-Methyl-1-nitrobenzene	0.9997	0.326
2	2-Nitrobenzaldehyde	0.9997	0.357
3	1-Bromo-2-nitrobenzene	0.9995	0.496
4	4-Nitrobenzaldehyde	0.9995	0.377
5	3-Nitrobenzaldehyde	0.9996	0.263
6	2-Nitrobenzyl alcohol	0.9995	0.270

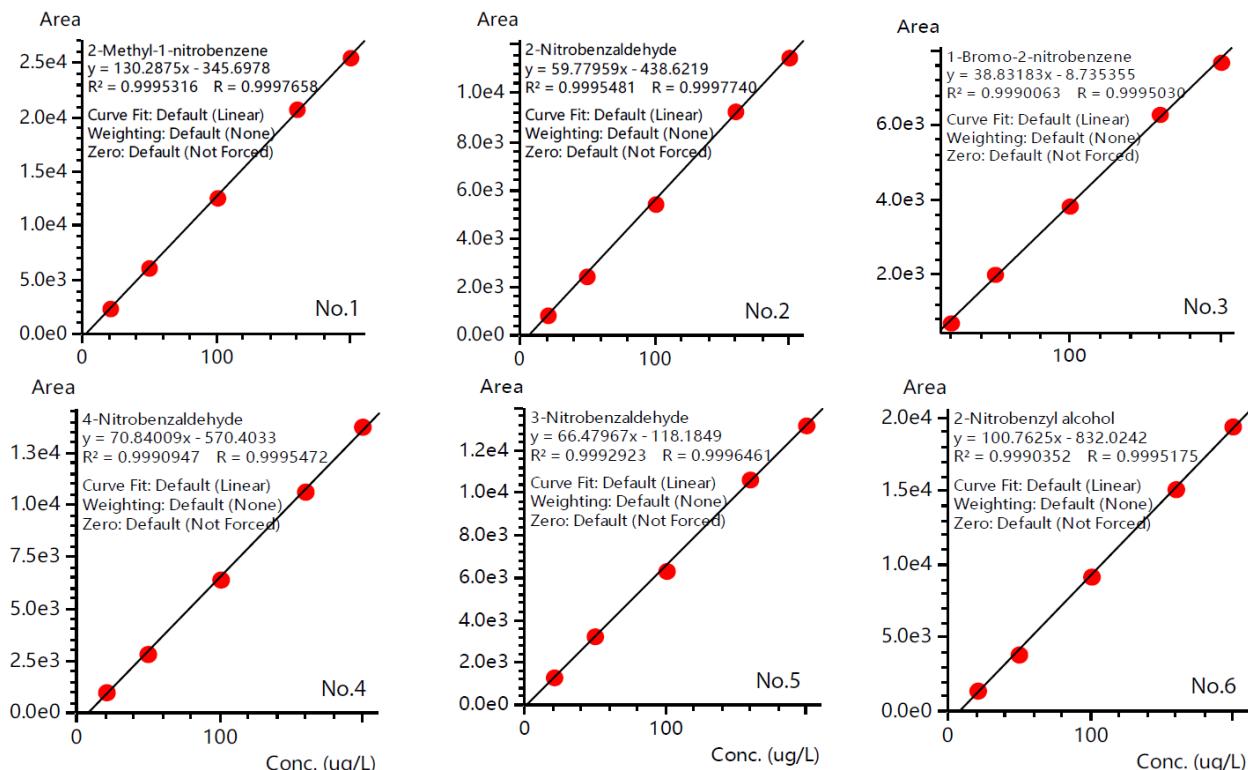


그림 2. 6가지의 니트로벤젠 화합물의 검정 곡선 (20-200 µg/L)

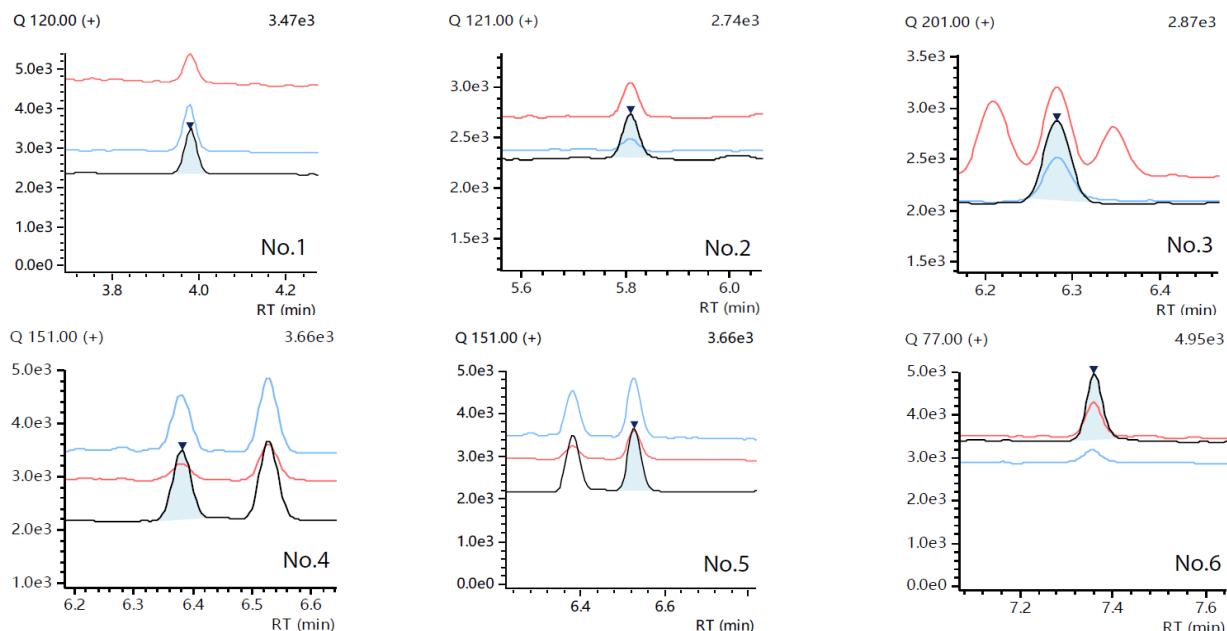


그림 3. 6가지의 니트로벤젠 화합물의 질량 크로마토그램 (20 µg/L)

■ 정밀도

50 µg/L 표준 용액을 기기의 정밀도를 확인하기 위해 6회 반복 분석했으며, 각 화합물의 피크 면적과 RSD% 값은 표 4에 나타났다.

■ 샘플 분석 및 회수율 평가

니페디핀 서방정(CR Tablets)은 앞서 설명한 샘플 분비 방법에 따라 분석하였으며, 그림 4에서와 같이 유전독성 불순물이 검출되지 않았다. 이후 분석법의 정확성을 검증하기 위해 0.005, 0.01, 0.032 µg/g의 세 농도 수준에서 회수율 실험을 수행하였으며, 해당 회수율 결과는 표 5에서 보여준다.

■ 결론

GCMS-QP2050 시스템을 사용하여 니페디핀 의약품에서 6가지의 니트로벤젠 유전독성 불순물을 정량하기 위한 GC-MS법이 확립되었다. 검정 곡선은 20-200 µg/L의 농도 범위 내에서 상관 계수(r) 0.999 이상의 우수한 직선성을 보였다. 정밀도는 50 µg/L 농도의 표준 용액을 6회 반복 측정하여 평가했으며, 모든 대상 물질에 대한 피크 면적이 상대 표준 편차(RSD) 4% 미만으로 나타났다. 회수율 평가는 실제 매트릭스에서 세 가지 농도 수준 0.005, 0.01, 0.032 µg/g에서 수행되었으며, 95.85%에서 117.64% 사이로 나타났다. 이 분석법은 단순화된 샘플 준비, 높은 감도(IDLs 0.263-0.496 µg/L), 우수한 정밀도를 보여준다.

표 4. 정밀도 결과

No.	Compound	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	RSD (%)
1	2-Methyl-1-nitrobenzene	3,958	3,917	4,098	4,218	3,953	4,034	2.80
2	2-Nitrobenzaldehyde	2,564	2,725	2,696	2,592	2,669	2,741	2.70
3	1-Bromo-2-nitrobenzene	1,985	2,022	2,045	1,991	1,898	2,078	3.10
4	4-Nitrobenzaldehyde	3,046	3,265	3,202	3,025	3,079	3,257	3.45
5	3-Nitrobenzaldehyde	3,426	3,470	3,453	3,417	3,476	3,623	2.16
6	2-Nitrobenzyl alcohol	4,474	4,244	4,427	4,321	4,429	4,433	1.98

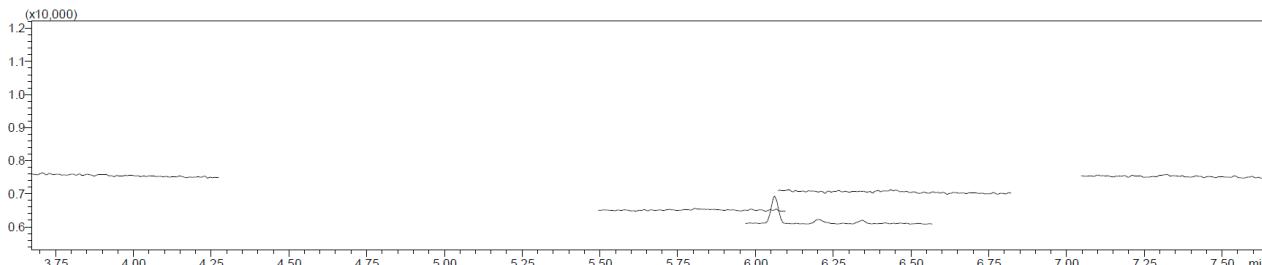


그림 4. 샘플의 질량 크로마토그램

표 5. 회수율 평가 결과 (n=3)

No.	Compound	0.005 µg/g		0.01 µg/g		0.032 µg/g	
		Result of Sample Testing (%)	RSD (%)	Result of Sample Testing (%)	RSD (%)	Result of Sample Testing (%)	RSD (%)
1	2-Methyl-1-nitrobenzene	95.85	3.93	104.59	1.95	106.01	4.08
2	2-Nitrobenzaldehyde	111.14	2.44	117.64	0.26	111.95	1.34
3	1-Bromo-2-nitrobenzene	100.61	3.82	116.74	4.27	108.69	3.34
4	4-Nitrobenzaldehyde	103.54	0.77	113.21	0.94	113.32	2.16
5	3-Nitrobenzaldehyde	106.00	5.24	114.92	3.07	113.96	2.78
6	2-Nitrobenzyl alcohol	107.61	4.92	113.06	4.13	105.13	0.83

GCMS-QP는 일본 및/또는 기타 국가에서 Shimadzu Corporation 또는 그 계열사의 상표입니다.

03-GCMS-589-ENK



Shimadzu Corporation

www.shimadzu.com/an/

Shimadzu Scientific Korea

www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.
This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2025 SHIMADZU group. All rights reserved.