

Application News

No. SSK-LCMS-2301

Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LCMS™-8050

이르베사르탄 원료의약품 중 Azido 불순물 분석법

LC-MS/MS Method for Detection and Quantitation of Azido Impurities in Irbesartan Drug Substance

■ 서론

변이원성 불순물로 알려진 아지도(Azido) 불순물 AZBT (Azidomethyl biphenyl tetrazole)가 고혈압 치료제인 이르베사르탄, 로사르탄, 발사르탄 등에서 검출됨에 따라 유럽의약품청(European Medicine Agency, EMA), 영국 의약품 및 의료제품 규제 기관(Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, MHRA), 캐나다 연방보건부(Health Canada)와 같은 관리 기관에서 의약품 회수를 진행하였다. 이에 국내 식품의약품안전처에서는 'LC-MS/MS를 이용한 사르탄류 원료의약품 중 AZBT 시험법^[1]'을 배포하는 등 원료의약품의 불순물 평가를 통해 의약품 안전성을 확보하고자 노력하고 있다.

아지도 불순물은 테트라졸 고리를 포함하는 사르탄 활성 제약 성분(API)의 합성 중에 형성될 수 있다. 사르탄에서 테트라졸 고리는 니트릴과 아지도 그룹 사이의 반응으로 형성되어, 부산물로서 미량 수준의 아자이드(azide) 불순물이 동반될 수 있다. 아지도 불순물에는 국내 규제 대상 성분인 AZBT 외에도 다양한 종류가 있는데, 본 뉴스레터에서는 아래 그림 1에서 보는 것과 같이 아지도 불순물 4 종(AZBT, AZBC, AMBBT, AMBBC)에 대해 LC-MS/MS를 이용한 동시 분석법을 소개하고자 한다.

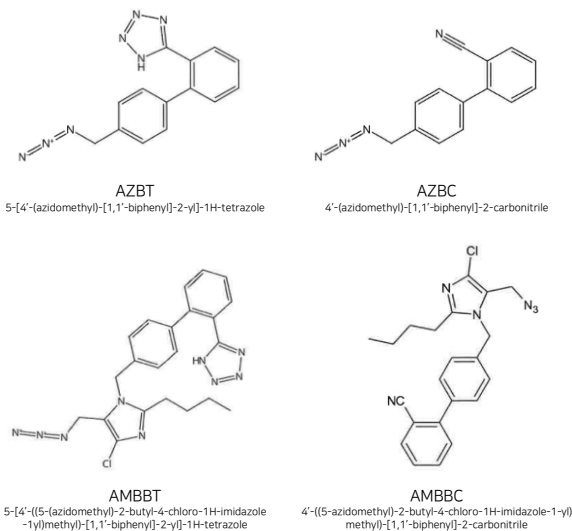


그림 1. 아지도 불순물 4 종의 화학 구조

■ 분석방법

시료 전처리 방법 및 분석 조건은 식품의약품안전처 시험법^[1]과 스위스의약품청(swissmedic)의 자체연구기관인 OMCL(Official Medicines Control Laboratory)의 분석법^[2]을 참고하였으며, 시료(원료)의 전처리는 그림 2와 같이 수행하였다. 기기 분석은 시마즈 LCMS-8050 질량분석기와 Shim-pack GIST C18 (3.0 x 100 mm., 3 µm) 컬럼을 사용하였으며, 분석 조건은 표 1과 같다.

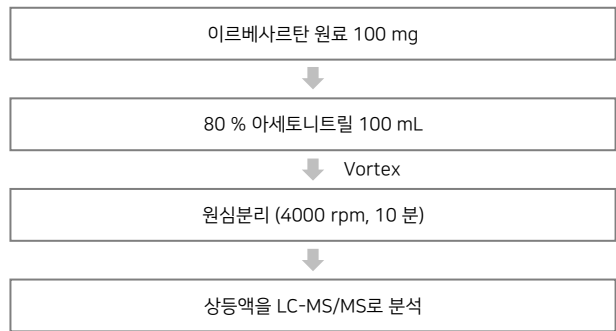


그림 2. 이르베사르탄 시료(원료) 전처리 방법

표 1. 기기 분석 조건

Liquid chromatograph Nexera X3

Column	: Shim-pack GIST C18 (3.0 mm I.D. x 100 mm L., 3 µm)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Mobile phase	: (A) 0.1 % Formic acid in Water : (B) 0.1 % Formic acid in 95% Acetonitrile
Gradient	: B 35% (0 min) – B 40% (5.5 min) - 100% (12-14 min) – B 35% (14.01-18 min)
Diverter valve	: 0 – 7.6 min (waste), 7.6 – 18 min (MS)
Oven temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 µL
Detector	: UV 254 nm
Mass spectrometer	LCMS-8050
Interface	: ESI
MS Mode	: Positive mode
Interface temp.	: 300 °C
DL Temp.	: 250 °C
Heat block Temp.	: 400 °C
Nebulizing Gas Flow	: Nitrogen, 3.0 L/min
Drying Gas Flow	: Nitrogen, 10.0 L/min
Heating Gas Flow	: Zero Air, 10.0 L/min

■ 결과 및 토의

이르베사르탄 원료와 아지도 불순물의 분리

이르베사르탄 원료와 아지도 불순물 4종의 분리는 그림 3과 같이 최적화하였다. 고농도의 이르베사르탄 원료는 밸브 전환을 통해

질량분석기로 주입되지 않도록 하고, 분석물질만 질량분석기로 도입시켜 기기 오염을 최소화하도록 설정하였다.

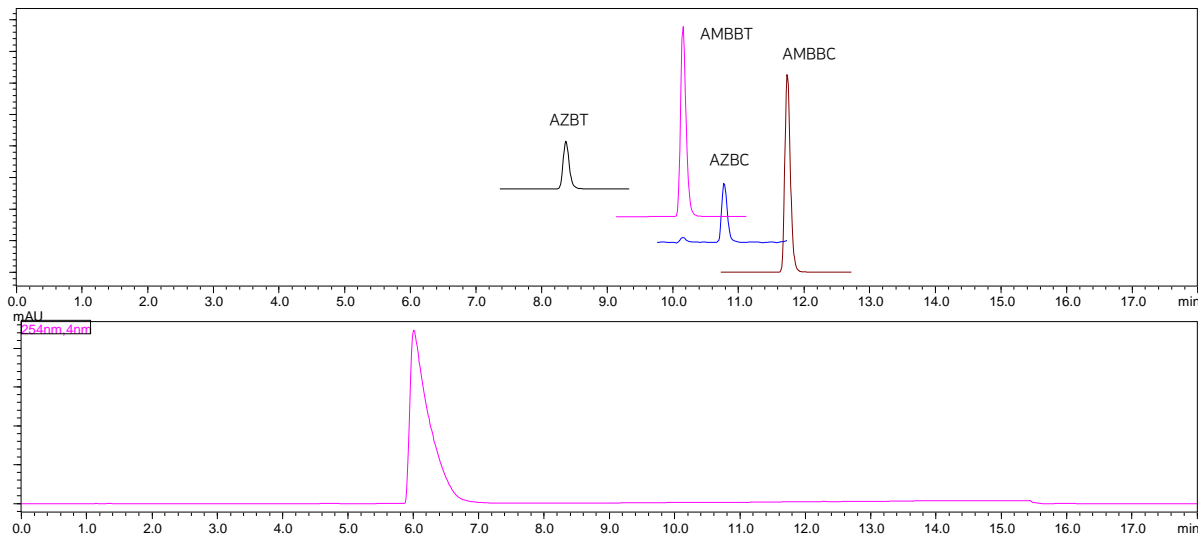


그림 3. 아지도 불순물 4종의 MS 크로마토그램(위) 및 이르베사르탄 원료의 UV 크로마토그램(아래)

아지도 불순물 정량 분석법의 성능 평가

검정곡선을 위한 아지도 불순물 표준물질 4종은 80 % 아세트니트릴로 용해하여 조제하였다. 농도는 (0.5 - 50) ng/mL 범위로 작성하였으며, 검정곡선 결정계수는 $r^2 > 0.99$ 로 나타났다(그림4). 검출한계(이하, LOD) 및 정량한계(이하, LOQ)는 LabSolutions™ 소프트웨어를 이용하여 S/N=3, S/N=10으로 산출하였으며, 정량한계는 성분에 따라 (0.03-0.5) ng/mL 수준으로 나타났다(표 2).

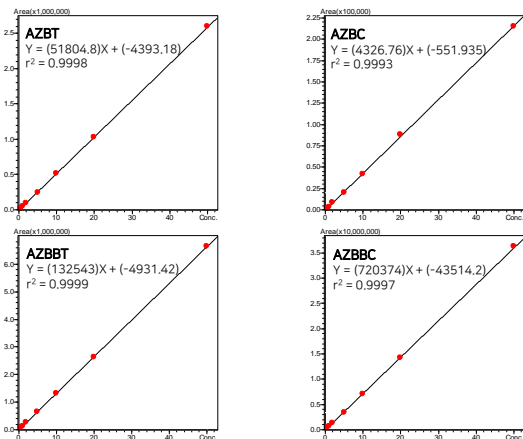


그림 4. 아지도 불순물 4종의 검정곡선

표 2. 아지도 불순물 4종의 LOD 및 LOQ

농도 (ng/mL)	AZBT	AZBC	AMBBT	AMBBC
LOD	0.03	0.2	0.03	0.01
LOQ	0.1	0.5	0.1	0.03

이르베사르탄 원료 중 아지도 불순물 회수율 평가

회수율 평가를 위해 이르베사르탄 원료에 표준용액을 저농도(1 µg/g), 중농도(20 µg/g), 고농도 (40 µg/g)로 첨가하여, 시료를 각각 3 개씩 준비하고, 그림 2와 같이 전처리한 후 분석을 수행하였다. 회수율은 농도별 3 개 시료의 평균 농도로 계산하였으며, (95-111) % 수준으로 나타났다.

표 3. 이르베사르탄 원료 중 아지도 불순물의 회수율(%), n = 3

회수율 시료	AZBT	AZBC	AMBBT	AMBBC
저농도 (1 µg/g)	103	111	102	101
중농도 (20 µg/g)	105	104	100	97
고농도 (40 µg/g)	108	105	101	95
평균	105	107	101	98

■ 결론

시마즈 LCMS-8050 질량분석기를 이용하여 이르베사르탄 원료 중 아지도 불순물 4종(AZBT, AZBC, AMBBT, AMBBC)에 대한 정량 분석법을 확립하였다. 아지도 불순물 4 종의 검정곡선은 (0.5-50) ng/mL 범위에서 $r^2 > 0.99$ 이상으로 우수하였으며, 정량한계는 성분에 따라 (0.03-0.5) ng/mL 수준으로 나타났다. 회수율은 3 개의 농도 수준에서 평가되었으며, 그 결과 (95-111) % 범위로 우수하게 나타났다.

■ 참고문헌

1. LC-MS/MS를 이용한 사르탄류 원료의약품 중 AZBT 시험법, 식품의약품안전처 (2021)
2. Genotoxic substances in sartans, OMCL Swissmedic (2021)

