

Application News

No. 01-00017-K

Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer LCMS™-9030

LCMS-9030 Q-TOF 질량분석기를 이용한 의약품의 불순물 분석

Analysis of Impurities in Pharmaceuticals Using LCMS-9030 Quadrupole Time-of-Flight Liquid Chromatograph-Mass Spectrometer

J. Nakazono, T. Iida

사용자 활용 포인트

- ◆ 이 시스템을 이용하여 의약품 중 불순물에 대한 매우 정확한 정성 분석이 가능하다.
- ◆ 분석 소프트웨어 LabSolutions Insight Explore™는 구성 추정, 구조식에 대한 데이터베이스 검색 및 단편 할당 분석에 사용할 수 있다.

■ 서론

의약품의 품질과 안전성을 보장하려면 의약품의 미량 불순물을 정성하는 것이 매우 중요하다. 의약품에 포함된 불순물의 구조식은 일본 약전(JP), 유럽 약전, 미국 약전 등의 공식 문서에 설명되어 있다. 일반적으로 불순물 분석에는 HPLC-UV법이 널리 사용되고 있지만, LC/MS/MS 등의 질량분석기를 이용한 구조 분석은 검출된 불순물을 정성하는 유용한 수단으로 주목받고 있다.

이 뉴스레터에서 사중극자 비행시간(Q-TOF) 질량 분석기 LCMS-9030(그림 1)과 LabSolutions Insight Explore 소프트웨어를 이용하여 몬테루카스트 나트륨(montelukast sodium)의 불순물에 대한 구조 분석의 예를 소개한다. 몬테루카스트 나트륨은 JP 17판에 기재되어 있으며, 기관지 천식 및 알레르기성 비염 치료약으로 사용된다.



그림 1. Nexera™ X3 and LCMS™-9030

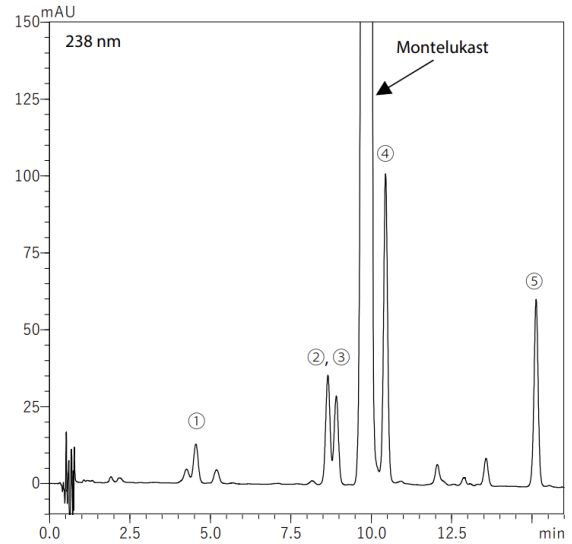


그림 3. 용액 A의 UV 크로마토그램

표 1. 분석 조건

[UHPLC conditions (Nexera X3)]	
Column	: Shim-pack Scepter™ Phenyl-120, 50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm*1
Mobile Phase A	: Water/Formic acid = 2000/3
Mobile phase B	: Acetonitrile/Formic acid = 2000/3
Flow Rate	: 0.25 mL/min
Time program (%B)	: 45% (0-3 min) → 65% (16 min) → 45% (16.1-25 min)
Oven Temp.	: 30 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Detection	: UV 238 nm
[MS conditions (LCMS-9030)]	
Ionization	: ESI, positive
Mode	: MS, MS/MS scan
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL temp.	: 250 °C
BH temp.	: 400 °C
Interface temp.	: 300 °C

*1: P/N 227-31063-03

■ 몬테루카스트 나트륨의 분석

일본 약전(JP)에 기재된 몬테루카스트 나트륨(그림 2) 조제방법에 따라 몬테루카스트 표준품을 사용하여 시스템 적합성 시험 용액 A(1 mg/mL)를 준비하였다. 표 1은 분석 조건을 나타내었다.

그림 3은 UV 크로마토그램을 보여준다. 주성분인 몬테루카스트는 머무름 시간이 약 10분에 용출되었으며, 그 전후에 ①~⑤의 불순물 피크가 검출되었다.

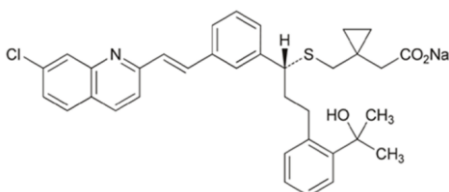


그림 2. 몬테루카스트 나트륨의 구조

■ 불순물의 조성 추정

UV로 검출된 머무름 시간에 해당하는 불순물 피크는 추출 이온 크로마토그램(XIC)에서 m/z 602.2126, 732.2579, 570.1864 및 568.2072로 관찰되었다. 그림 4는 용액 A의 총 이온 크로마토그램(TIC)과 각 불순물의 XIC를 나타내었다.

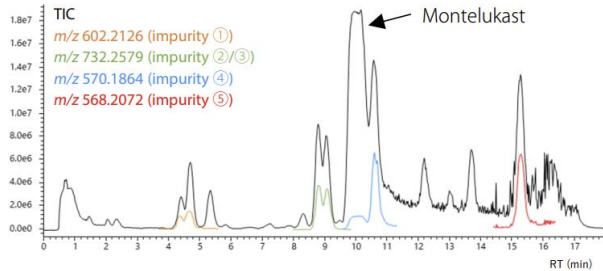


그림 4. 용액 A의 MS 크로마토그램

MS 스펙트럼을 바탕으로 Insight Explore를 사용하여 구성 추정을 수행했다. 예시로, 그림 5는 불순물 피크 ④ (m/z 570.1864)에 대한 구성 추정 결과이다. 가장 점수가 높은 화학식은 C₃₄H₃₂NO₃SCI인 것으로 나타났다.

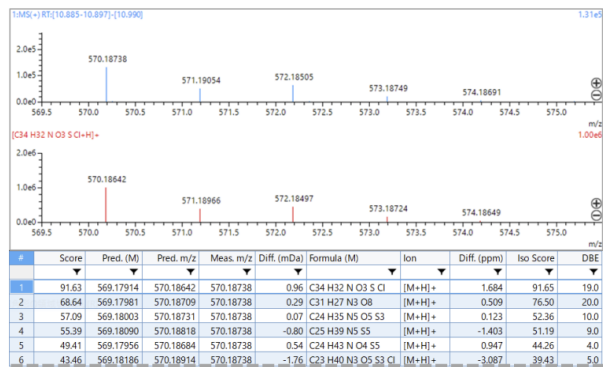


그림 5. 불순물 ④의 구성 추정 결과
(위: 관찰된 MS 스펙트럼, 가운데: 이론적인 스펙트럼, 아래: 화학식 후보)

■ 성분 검색 및 단편 할당

불순물 피크 ④의 구조식과 화학물명을 확인하기 위해 Insight Explore의 "Assign" 기능을 이용하여 분석을 진행하였다. 이 소프트웨어를 사용하면 화학식 정보를 기반으로 온라인 ChemSpider™ 데이터베이스에서 화합물을 목록화 할 수 있다. 그 다음, 화합물에 대해 할당을 수행하여 단편 예측을 통해 얻은 생성 이온과 측정된 MS/MS 스펙트럼에서 관찰된 생성 이온 간의 일치 정도(할당 점수)를 계산한다.

화학식 C₃₄H₃₂NO₃SCI에 대한 온라인 데이터베이스 검색에서 6개의 후보 화합물이 발견되었다(그림 6). 최상위 화합물은 Montelukast methyl ketone (ChemSpider ID 17623689) 이었다. 이 화합물은 JP에 기재된 불순물 E와 동일한 것으로 밝혀졌다 : [1-(((1R)-3-(2-Acetylphenyl)-1-{3-[(E)-2-(7-chloro-2-quinolinyl)vinyl]phenyl}propyl)sulfanyl)methyl)cyclopropyl]acetic acid.

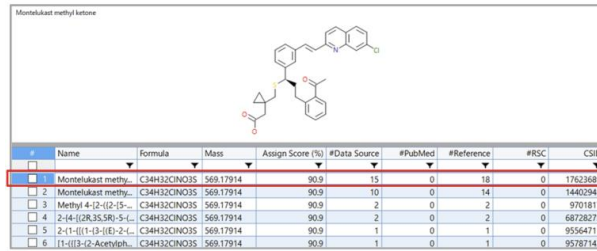


그림 6. C₃₄H₃₂NO₃SCI에 대한 ChemSpider 데이터베이스 검색 결과

다음으로, 그림 7은 "Assign" 기능에 의한 조각 이온의 자동 할당의 예를 보여준다.

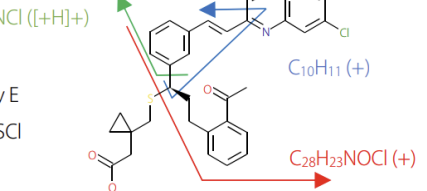
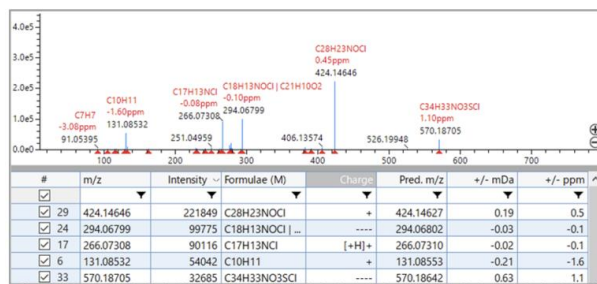


그림 7. 불순물 E에 대한 단편 할당 결과

마지막으로 불순물별 LCMS-9030 분석 결과를 표 2에 정리하였다. 또한, ④ 이외의 불순물 피크는 각각 JP에 기재되어 있는 불순물에 해당하는 것으로 나타났다. 또한, 이론 질량 값 대비 질량 오차 1mDa 이내의 높은 질량 정확도로 불순물 분석이 가능하였다.

표 2. 각 불순물의 LCMS-9030 분석결과

Impurity peak	HPLC RT (min)	JP listed impurities	[M+H] ⁺ theoretical	[M+H] ⁺ observed	Error (mDa)
①	4.55	A	602.2126	602.2132	0.59
②/③	8.65/8.92	C/D	732.2579	732.2584	0.52
-	9.97	Montelukast	586.2177	586.2179	0.15
④	10.45	E	570.1864	570.1874	0.96
⑤	15.13	F	568.2072	568.2079	0.70

■ 결론

Shimadzu 액체 크로마토그래프 및 LCMS-9030 사중극자 비행시간 질량 분석기와 분석 소프트웨어 LabSolutions Insight Explore를 사용하면 의약품에 포함된 불순물의 구조를 분석할 수 있다. 이 공정은 식품, 화학 산업 등 타 분야에서 제품 내 미량 불순물 분석에 도움이 될 것으로 기대된다.



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/

Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

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. See <http://www.shimadzu.com/about/trademarks/index.html> for details. 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.