

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

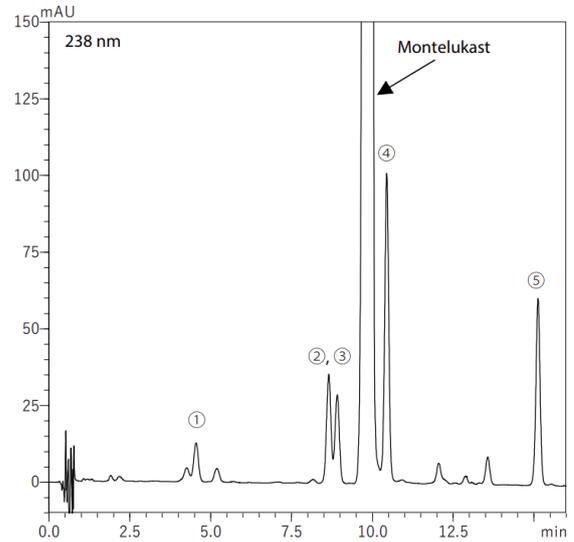


그림 3. 용액 A의 UV 크로마토그램

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.

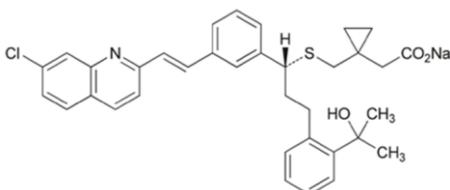


그림 2. 몬테루카스트 나트륨의 구조

■ 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.

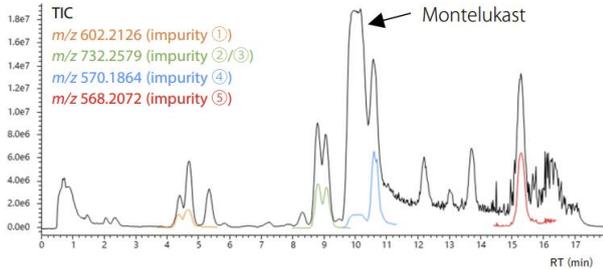


그림 4. 용액 A의 MS 크로마토그램

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.

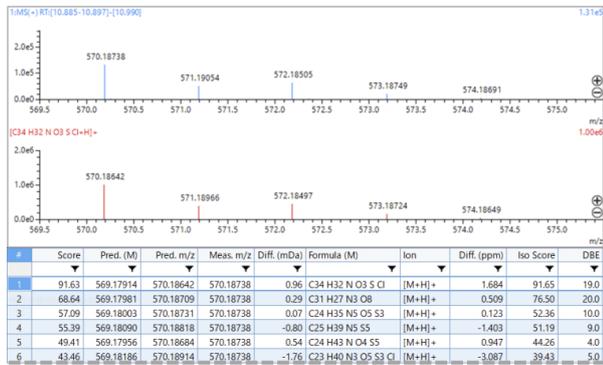


그림 5. 불순물 ④의 구성 추정 결과
(위: 관찰된 MS 스펙트럼, 가운데: 이론적인 스펙트럼, 아래: 화학식 후보)

■ 성분 검색 및 단편 할당

불순물 피크 ④의 구조식과 화합물명을 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.

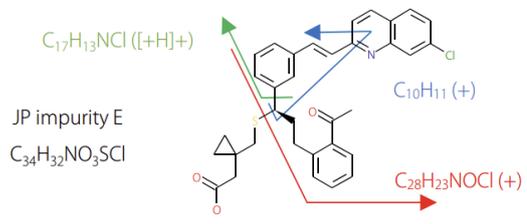
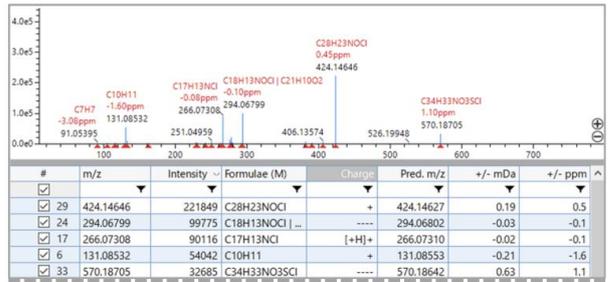


그림 7. 불순물 E에 대한 단편 할당 결과

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.