

Application News

No. 03-LCMS-053-K

Liquid Chromatography Mass Spectrometry LCMS-2050

LCMS-2050을 이용한 의약품 중 5종 유전독성 아릴설폰산 불순물의 동시 분석

Simultaneous Determination of Five Genotoxic Aryl Sulfonate Impurities in Pharmaceuticals by LCMS-2050

Tao Liu
Shimadzu (China) Co.,LTD.

사용자 활용 포인트

- ◆ LCMS-2050 단일 사중극자 질량분석기를 이용하여 의약품에 포함된 5종 유전독성 방향족 설폰산 불순물을 정량하는 새로운 분석법을 개발하였다.
- ◆ 이 분석법은 전처리가 간편하고, 넓은 범위에서의 직선성과 높은 정확도를 보인다.

■ 서론

유전독성 불순물(GTIs)은 세포의 DNA를 직접적 또는 간접적으로 손상시켜 유전자 변이를 유발하거나 생체 내 돌연변이를 촉진하는 물질을 의미한다. GTIs는 극미량으로도 인체 유전물질에 손상을 줄 수 있으며, 이는 결국 유전자 변이를 일으키고 종양 발생을 촉진할 위험이 있다. 이러한 잠재적 위험성으로 인해, 원료의약품(API)이나 완제의약품에서 GTIs의 존재 여부를 철저히 모니터링하는 것이 필수적이다.

제약산업에서는 약물의 활성 성분이 알킬 술폰산염, 벤젠술폰산염, 파라톨루엔술폰산염, 하이드록시에틸 술폰산염 형태로 존재하거나 약물 합성 과정에서 술폰산 계열 시약이 사용될 경우에 술폰산 에스터를 잠재적인 유전독성 불순물(GTI)로 간주한다. 설폰산 에스터 계열의 GTIs는 치환기에 따라 알킬설폰산 에스터와 아릴설폰산 에스터로 분류된다.

기존 연구에서는 GC-MS, GC-FID, LC-MS/MS 등을 이용한 설폰산 에스터 GTIs의 정량분석법이 보고된 바 있으며, 이 과정에서 복잡한 유도체화 전처리가 필요할 수 있다. 이 뉴스레터에서는 LC-MS를 활용하여 아릴설폰산 에스터 계열의 GTIs 5종을 정량 분석하였다. 이 분석법은 간단한 전처리 과정과 높은 분석 정확도를 특징으로 하며, 의약품 중 아릴설폰산 에스터 계열의 유전독성 불순물 검출을 위한 참고 자료로 활용될 수 있을 것이다.

■ 시료 전처리

45 mg의 시험 의약품 분말을 정확히 취하여 1 mL 부피 플라스크에 넣고, 메탄올을 사용하여 눈금까지 채운 후 충분히 흔들어 혼합하였다. 이후, 10분간 초음파 처리를 수행한 뒤 부피 플라스크를 꺼내 실온에서 냉각시켰다. 다시 메탄올을 추가하여 최종 부피를 맞춘 후, 균질하게 혼합하였다. 이후, 0.22 µm 나일론 필터로 여과하여 기기 분석에 사용하였다. 혼합 표준 원액(100 mg/L)을 취하여 메탄올로 단계적으로 희석하여, 최종적으로 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 µg/L 농도의 표준용액을 조제하였다. 이러한 표준용액을 이용하여 정량 분석을 수행하였다.

■ 분석조건

분석 조건은 표 1에 정리되어 있다. 본 실험에서는 Nexera XR UHPLC 시스템과 광다이오드 어레이 검출기(PDA)를 단일 사중극자 질량 분석기 LCMS-2050과 결합하여 사용하였다. LCMS-2050 가열된 DUIS™(Dual Ion Source)를 적용하여 이온화 과정을 진행하였으며, 이는 ESI(Electrospray Ionization)와 APCI(Atmospheric Pressure Chemical Ionization)의 장점을 결합한 기술이다.

표 1. 분석 조건

System	: Nexera™ XR
Column	: Shim-pack™ GISS C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9 µm)*1
Detection	: PDA at 190 to 800 nm
Temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 µL
Mobile phases	: A-5 mM ammonium formate in water B-methanol
Flow rate	: 0.3 mL/min
Mode	: Gradient elution
Time program (%B)	: 35%(0 min) → 50%(3.5 min) → 90%(4.5-7 min) → 35%(7.01-9 min)
FCV Valve Position	: 0 (0 min) → 1(2.8 min) → 0(7 min) ^{†2}
System	: LCMS-2050 (DUIS Positive)
Mode	: SIM
Interface Voltage	: 2.0 kV
Nebulizing gas	: 3 L/min
Drying gas	: 7 L/min
Heating gas	: 5 L/min
DL temp	: 100 °C
Desolvation temp	: 150 °C

표 2. SIM 조건

ID	Compound	Polarity	m/z
1	Methyl benzenesulfonate	+	190.04
2	Ethyl benzenesulfonate	+	204.06
3	Methyl p-toluenesulfonate	+	204.06
4	Ethyl p-toluenesulfonate	+	218.08
5	Isopropyl toluene-4-sulphonate	+	232.09

*1 P/N: 227-30048-02

*2: "1"는 질량분석기로 연결되는 것을 의미하고 "0"은 폐액으로 전환되는 것을 의미함

■ 크로마토그래피 조건 최적화

액체 크로마토그래피 조건을 최적화하는 과정에서 다양한 이동상을 비교하였다. 그 결과, 5 mmol/L 포름산암모늄 수용액과 메탄올을 이용한 그래디언트 용리 조건에서 분석 대상 물질이 상대적으로 높은 감도를 보이는 것으로 확인되었다. 또한, 주성분 중 유전독성 불순물의 함량이 극미량이므로, 정밀한 분석과 높은 감도를 유지하기 위해서는 불순물만을 선택적으로 질량 분석기에 도입하는 것이 중요하다. 이를 위해, 유로 전환 밸브를 활용하여 주성분과 부형제가 고농도로 질량 분석기에 유입되어 오염을 유발하는 것을 방지하고, 불순물만 질량 분석기로 유입되도록 설정하였다.

■ 회수율

특정 의약품에서 아릴설폰산 에스터의 5종 유전독성 불순물은 모두 검출되지 않았다. 따라서, 다양한 농도의 표준용액을 특정 의약품에 첨가하여 회수율 시험을 진행하였으며, 각 첨가 시료는 세번 반복하여 측정하였다. 회수율은 표 4에 나타내었으며, 회수율 결과는 중국약전 2020년 판의 요구사항을 충족하였다.

■ 결론

LCMS-2050을 이용하여 의약품 중 5종 유전독성 불순물 아릴설폰산 에스터의 함량을 측정하는 새로운 분석법을 확립하였다. 검정곡선 5 - 500 µg/L의 농도 범위에서 5종 유전독성 불순물 아릴설폰산 에스터의 상관계수는 모두 0.994 이상이었다. 서로 다른 세 농도의 혼합 표준용액을 의약품에 첨가했을 때, 각 성분의 회수율은 110.5%-115.3% 범위였다. 이 분석법은 간단한 전처리, 뛰어난 특이성, 높은 감도를 특징으로 하며, 의약품 중 5종 유전독성 불순물 아릴설폰산 에스터의 함량 측정을 위한 참고 자료를 제공할 수 있다.



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.

03-LCMS-053-K