

Application News

No. SSK-LCMS-2601

Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LCMS™-8050RX

설트랄린 의약품 중 N-니트로소 설트랄린 불순물 분석법

LC-MS/MS Method for Determination of N-Nitroso Sertraline impurity in Sertraline API

사용자 활용 포인트

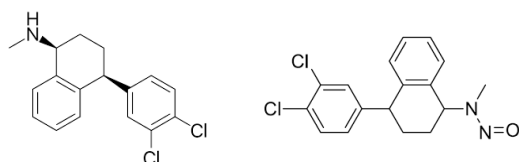
- ◆ Nexera X3 system과 LCMS™-8050RX를 이용하여 설트랄린 의약품 중 N-니트로소 설트랄린 불순물 분석이 가능하다.
- ◆ N-니트로소 설트랄린 불순물 에 대한 밸리데이션(직선성, 검출한계, 정량한계, 반복성, 회수율)을 진행하여 견고한 분석법임을 확인하였다.

■ 서론

설트랄린은 졸로푸트로 알려져 있는 선택적 세로토닌 재흡수 억제제(SSRI) 계열의 대표적인 항우울제이다. 뇌 내 세로토닌 수치를 높여 우울증, 불안 장애, 강박 장애(OCD), 외상 후 스트레스 장애(PTSD) 등을 치료하며, 성인뿐만 아니라 소아/청소년에게도 처방되는 효과적인 약물이다. 다른 세로토닌 관련 약물과 병용 시 세로토닌 증후군 위험이 있어 주의해야 한다. 우울증을 위한 설트랄린의 효력은 더 오래된 삼환계 항우울제의 효력과 비슷하지만 부작용이 훨씬 덜하기 때문에 많이 처방된다.

사르탄류에서의 니트로소아민 검출 이슈 이후 의약품에서 니트로소 구조가 결합한 불순물이 검출되고 있고, 이러한 불순물들에 대한 관리 감독의 비중이 높아지고 있는 추세이다. 설트랄린에서도 N-니트로소 구조가 결합한 N-설트랄린이 검출되었다. 식품의약품안전처에서 이러한 다양한 의약품에서 검출되는 N-니트로소 계열의 불순물에 대하여 의약품별 일일 허용치에 관한 자료를 배포하였다¹⁾. 자료에 의하면 N-니트로소 설트랄린의 경우 일일 최대 허용치가 100 ng/day로 설정 되어 있다.

이 뉴스레터에서는 LC-MS/MS를 이용하여 설트랄린 중 N-니트로소 설트랄린 불순물의 분리 분석법 및 불순물에 대한 직선성, 검출한계, 정량한계, 반복성 및 회수율 측정 결과를 소개하고자 한다.



Sertraline
Exact mass : 305.07 g/mol

N-Nitroso Sertraline
Exact mass : 334.06 g/mol

그림 1. 설트랄린 및 N-니트로소 설트랄린의 화학 구조

■ 분석방법

표준용액 조제 방법

N-니트로소 설트랄린 1 mg을 칭량한 뒤에 methanol 1mL 를 가하여 표준용액으로 사용한다. Methanol로 희석하여 표준용액으로 사용한다.

전처리 방법

설트랄린의 함량이 200 mg이 되도록 원료 또는 완제 의약품을 정확히 칭량한 뒤, 50 % (v/v) methanol 10 mL을 가하여 섞어준다. 그리고 난 후에 10분간 초음파를 진행하고, 다시 10분간 원심분리 후 상층액을 이후 멤브레인 필터로 여과한다.

처음 검액 일부는 버리고 나머지를 취하여 LC-MS/MS에 10 µL를 주입하여 분석한다.

분석조건

Shimadzu Nexera X3 LC 시스템과 LCMS-8050RX 질량분석기를 이용하였다. N-니트로소 설트랄린 불순물 분석에 대한 기기 분석조건 및 MRM 조건은 표 1에 나타내었다.

표 1. 기기 분석 조건

Liquid chromatograph Nexera X3	
Flow rate	0.8 mL/min
Mobile Phase	A) 0.1% Formic acid in water B) 0.1% Formic acid in methanol
Gradient	40 % B (0 - 0.5 min) - 70 % B (2 - 7 min) - 100 % B (10 - 12 min) - 40 % B (12.01 - 15 min)
Divert valve	7.0 - 12.0 min (to MS)
Column	Shim-pack GIST C18 (3.0 mm I.D. x 150 mm., 5 µm)
Column Temp.	40 °C
Injection Volume	10 µL
Mass spectrometer LCMS-8050RX	
Ionization method	ESI (Positive)
Nebulizing Gas Flow	3 L/min
Heating Gas Flow	10 L/min
Drying Gas Flow	3 L/min
Interface Temp.	250 °C
DL Temp.	250 °C
Heat Block Temp.	250 °C

MRM Transition

Name	Precursor ion (m/z)	Product ion 1 (m/z)	Product ion 2 (m/z)
N-Nitroso Sertraline	335.0	159.1	275.0

■ 결과 및 토의

설트랄린 의약품과 N-니트로소 설트랄린의 분리

표 1의 분석 조건으로 설트랄린 의약품과 N-니트로소 설트랄린 분리를 최적화하여 그림 2에 크로마토그램을 나타내었다. 설트랄린 의약품과 N-니트로소 설트랄린 피크의 검출 시간을 바탕으로 질량분석기의 오염을 최소화 하기 위해 방향 전환밸브를 이용하여 분석 대상 성분인 N-니트로소 설트랄린만 질량분석기에 도입되고, 설트랄린 의약품은 도입되지 않도록 하였다 (그림 2).

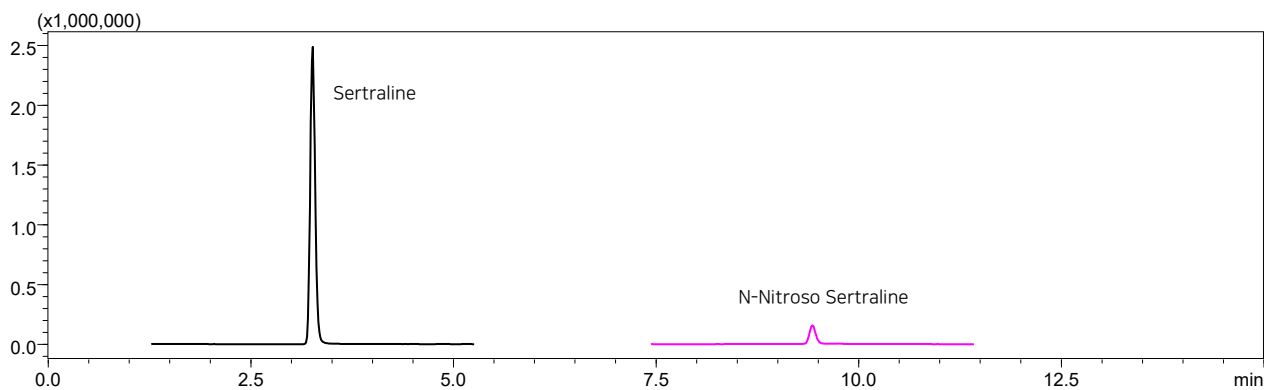


그림 2. 설프랄린(0.1 µg/mL)의 및 N-니트로소 설프랄린 (0.1 µg/mL)의 MS 크로마토그램

직선성

N-니트로소 설프랄린 검량선의 범위는 2 - 100 ng/mL 으로, 검량선의 결정계수 (r^2)는 0.99 이상으로 우수하였다 (그림 3).

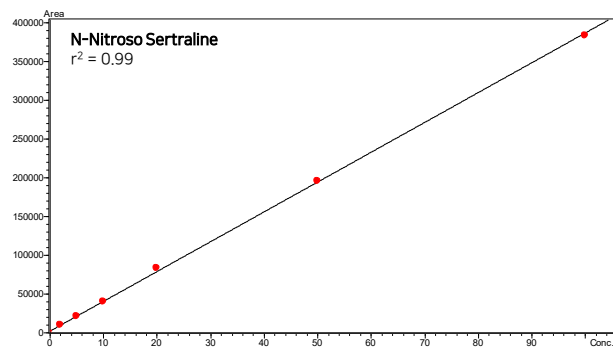


그림 3. N-니트로소 설프랄린 검량선

검출한계 및 정량한계

검출한계는 $S/N > 3$, 정량한계는 $S/N > 10$ 기준으로 측정하였다. 검출한계는 1 ng/mL, 정량한계는 2 ng/mL 으로, 그림 4에 크로마토그램을 나타내었다.

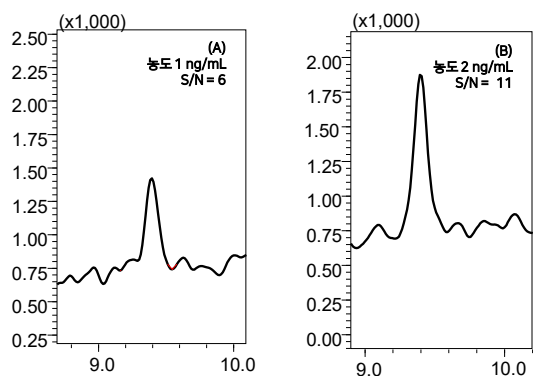


그림 4. N-니트로소 설프랄린 MRM 크로마토그램 (A: LOD, B: LOQ)

반복성

검량선의 정량한계 농도인 2 ng/mL의 N-니트로소 설프랄린 표준용액으로 반복성을 평가하였다. 6회 반복 분석 시 피크의 면적과 높이, 정확성을 측정하였고, 농도에 대한 %RSD는 8.8 %, 정확성은 105 % 였다(표 2).

표 2. N-니트로소 설프랄린 표준용액의 재현성

	N-Nitroso Sertraline 2 ng/mL		
	Area	Height	Conc.
# 1	1,159	8,726	2.17
# 2	1,157	7,346	1.81
# 3	1,219	8,048	1.99
# 4	1,337	9,318	2.33
# 5	1,301	9,287	2.32
# 6	1,206	8,158	2.02
Average	1,230	8,481	2.11
%RSD	5.5	8.3	8.8
Accuracy(%)	-	-	105

회수율

검량선 농도 범위 내에서 완제의약품인 설프랄린에 저농도 (5 ng/mL), 중농도 (20 ng/mL), 고농도 (100 ng/mL)가 되도록 N-니트로소 설프랄린 표준물질을 첨가하여 전처리 후 회수율 측정을 하였다. 저, 중, 고 농도에서 회수율은 84 ~ 89 %, % RSD는 0.7 ~ 10.4 % 의 값을 나타냈다 (표 3).

표 3. N-니트로소 설프랄린의 회수율 결과

	저농도 (5 ng/mL)	중농도 (20 ng/mL)	고농도 (100 ng/mL)
# 1	4.35	16.94	84.06
# 2	4.52	16.04	84.64
# 3	5.01	16.10	84.69
# 4	4.55	17.54	84.31
# 5	3.50	17.13	83.29
# 6	4.62	17.04	83.20
Average	4.43	16.80	84.03
% RSD	10.4	3.3	0.7
Recovery (%)	89	84	84

■ 결론

Shimadzu LCMS-8050을 이용하여 설프랄린 의약품에서 N-니트로소 설프랄린 불순물에 대한 LC-MS/MS 분석법을 확립하였다. 시험 결과 N-니트로소 설프랄린 검량선의 결정계수(r^2)는 0.99 이상이며, 검출한계는 1 ng/mL, 정량한계는 2 ng/mL 으로 확인하였다. 반복성의 경우 2 ng/mL 농도에 대해 % RSD가 8.8 %, 정확성은 105 % 였다. 회수율은 저, 중, 고 농도에서 84 ~ 89 % 이며, % RSD는 0.7 ~ 10.4 % 를 나타냈다.

■ 참고자료

1) 식약처 설정 니트로사민류 불순물 1일 섭취 허용량 목록(241204)



SHIMADZU

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.

SSK-LCMS-2601