

헤드스페이스 GC/FID 및 Agilent J&W DB-Select 624UI를 사용한 스피로놀락톤 내의 잔류 용매 분석

응용 자료

의약품

저자

Yun Zou
Agilent Technologies Shanghai,
Ltd.

개요

본 응용 자료는 정적(static) 헤드스페이스 GC/FID를 사용하여 스피로놀락톤 내의 잔류 용매 분석 시 사용되는 Agilent J&W DB-Select 624UI GC 컬럼과 운반 가스로 사용되는 질소의 유용성을 중점적으로 설명합니다. 스피로놀락톤 API의 잔류 용매에는 methanol, ethanol, acetone, tetrahydrofuran, ethyl acetate, pyridine 및 N,N-dimethylformamide 등이 포함되어 있습니다. 본 분석법에 사용한 내부 표준물질은 1-propanol입니다. Ultra Inert 컬럼은 이러한 활성 화합물에 대해 훌륭한 피크 모양을 제공하며 이 분석법은 머무름 시간 및 피크 면적 모두에서 우수한 재현성을 보여주었습니다.

서론

대부분 국가에서 주로 Aldactone이란 브랜드명으로 판매되는 스피로놀락톤은 합성 스테로이드 항무기질코르티코이드(antimineralocorticoid) 시약으로 추가적인 항안드로겐 및 약한 프로게스토겐(progestogen)의 특성을 지닙니다. 이 약물은 일부의 간접적인 에스트로겐 및 글루코코르티코이드(glucocorticoid) 효과를 지니며, 주로 이뇨제(diuretic) 및 항고혈압제로 사용될 뿐 아니라, 체내에서 상승한 또는 불필요한 안드로겐 활성을 감소시키는 데에도 쓰입니다. 이는 주로 알도스테론(또는 무기질코르티코이드) 수용체의 경쟁적 대항제의 역할을 발휘하며, 칼륨 보전 이뇨제로 불리는 일종 의약품에 속합니다[1].



Agilent Technologies

중국 약전(2010)에 따르면, methanol, ethanol, acetone, tetrahydrofuran, ethyl acetate, pyridine 및 N,N-dimethylformamide는 제약업계에서 스피로놀락톤의 원료 의약품(API) 제조에 자주 사용되고 있습니다[2]. 이러한 유기 잔류 용매는 의약품 안전성을 확보하기 위해 모니터링되어야 합니다.

헬륨은 높은 비활성 및 비폭발성을 지니며 만족스러운 크로마토그래피 효율성을 제공하는 등 여러가지 원인으로 인해 GC에서 가장 인기 있는 운반 가스로 사용되고 있습니다. 그러나 헬륨 공급 감소 및 관련 비용의 상승에 대한 우려가 커져감에 따라, 많은 크로마토그래피 연구자들은 수소 및 질소와 같은 대체 가스의 사용을 고려하고 있습니다. 본 응용에서는 헤드스페이스 가스 크로마토그래피 및 Agilent J&W DB-select 624UI 컬럼을 사용한 스피로놀락톤 내의 잔류 용매 분석을 설명합니다.

실험

분석은 불꽃 이온화 검출기(FID)가 장착된 Agilent 7890 GC 및 Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러를 사용하여 수행하였습니다. Methanol, ethanol, acetone, tetrahydrofuran (THF), 1-propanol, ethyl acetate, pyridine 및 N,N-dimethylformamide(DMF)를 포함한 유기 용매는 J&K Chemical(중국 상하이)로부터 받았습니다. 순도 99.9 이상의 디메틸술폭시드는 Sigma-Aldrich(중국 상하이)에서 구입하였습니다.

표준 용액

내부 표준 용액(ISS)은 1-propanol을 디메틸술폭시드(DMSO)에 추가한 후 잘 섞어서 1mg/mL의 용액으로 제조하였습니다. 표준 원액은 잔류 용매 표준물질을 DMSO에 추가해 1mg/mL의 methanol, ethanol, acetone, ethyl acetate, 0.07mg/mL의 THF, 0.02 mg/mL의 pyridine 및 0.09mg/mL의 DMF를 함유하는 용액으로 제조하였습니다.

표준 용액을 만들기 위해 5mL의 원액을 20mL의 헤드스페이스 바이알에 옮겼습니다. 1mL의 ISS를 추가하여 DMSO로 10mL까지 희석시켰습니다. 바이알을 밀봉하였습니다.

시료 전처리

1g인 스피로놀락톤을 20 mL 헤드스페이스 바이알에 담아 정확히 중량을 측정하였습니다. 1mL의 ISS를 추가하여 DMSO로 10mL까지 희석시킨 후 바이알을 밀봉하였습니다.

스파이킹 시료 용액의 제조를 위해, 스피로놀락톤 1g의 무게를 측정하여 6개 20mL의 헤드스페이스 바이알에 넣고 내부 표준물질 용액 1mL을 각 바이알에 첨가하였습니다. 각 바이알에 원액 5mL을 옮겨 담고 10mL까지 DMSO로 희석시켰습니다. 그 다음 바이알을 밀봉하였습니다.

조건

컬럼:	Agilent J&W DB-Select 624UI, 30m × 0.53mm, 3µm (p/n 125-0334UI)
운반 가스:	질소, 일정 유속 모드, 4.5mL/분
오븐:	8분간 40°C 유지, 45°C/분으로 40 ~ 200°C까지 승온, 3분간 200°C 유지
시료 루프:	1mL
온도:	HS 오븐 80°C, 루프 110°C, 이송 라인 130°C
바이알 평형화 시간:	30분
주입구:	200°C, 분할비 3:1
검출기:	FID 250°C
시료 주입기:	Agilent 7697A 헤드스페이스 샘플러
기기:	Agilent 7890A GC

소모품

바이알:	편평한 바닥의 크림프 캡 헤드스페이스 바이알, 20mL, 100/pk(5182-0837)
바이알 캡:	헤드스페이스 크림프 캡 및 셉타, 20mm, 100/pk(p/n 5183-4477)
크림퍼:	수동 크림퍼, 20mm(p/n 5040-4669)
셉타:	비접착성 Bleed and Temperature Optimized (BTO)(p/n 5183-4757)
라이너:	직선형 Ultra Inert 라이너(p/n 5190-4047)
페룰:	Graphite 페룰, 10/pk(p/n 500-2118)
컬럼 너트:	0.45 ~ 0.53mm 컬럼 통용, 너트, 2/pk(p/n 5181-8830)

결과 및 토의

운반 가스는 GC 분리에 영향을 미칠 수 있습니다. 질소는 최고의 효율성을 제공할 수 있으나, 질소의 Van Deemter 곡선(그림 1)에 따르면 평균 선속도의 작은 변화는 효율성에 큰 변화를 가져올 수 있습니다. 최적 속도(U_{opt})는 평균 선속도 보다 약간 낮으며, 이는 분석 시간이 더 많이 소요한다는 의미입니다. 그러나 수소 및 헬륨과는 달리, 질소는 가장 저렴한 운반 가스이고 폭발 걱정 없이 바로 사용 가능합니다. 적절한 유속 사용 시, 질소는 많은 응용 분야에서 만족스러운 크로마토그래피 효율성 및 합리적인 분석 시간을 얻을 수 있으며 헬륨을 대체하는 운반 가스로 사용할 수 있습니다.

그림 2는 표준 스파이킹 시료 및 시료 용액의 크로마토그램을 보여줍니다. 서로 다른 잔류 용매의 표적 한계가 다양하기 때문에 표적 화합물의 농도 범위는 0.01 ~ 0.5mg/mL입니다. 시료 용액 내의 pyridine 양(평균 0.001mg/mL)은 한계

내에 검출되었습니다. 그림 2는 유속 4.5mL/분에서 질소를 운반 가스로 사용할 때, 이 응용의 분석 시간은 약 14분이라는 것을 보여줍니다. 모든 피크가 DB-Select 624UI 컬럼에서 잘 분리되었습니다. 컬럼의 Ultra-Inert 특성으로 인해, 표적 화합물의 피크는 뾰족하고 대칭적입니다.

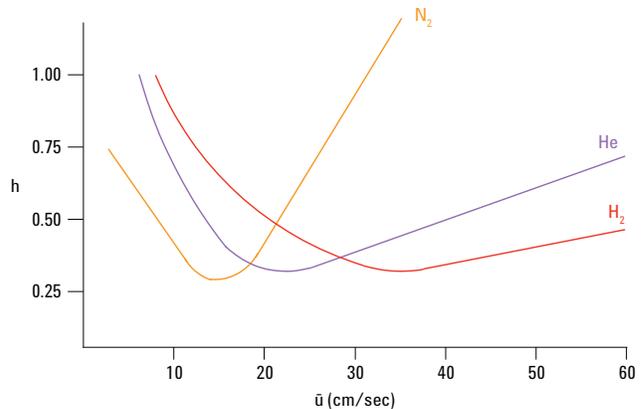


그림 1. 헬륨, 질소 및 수소의 Van Deemter 플롯

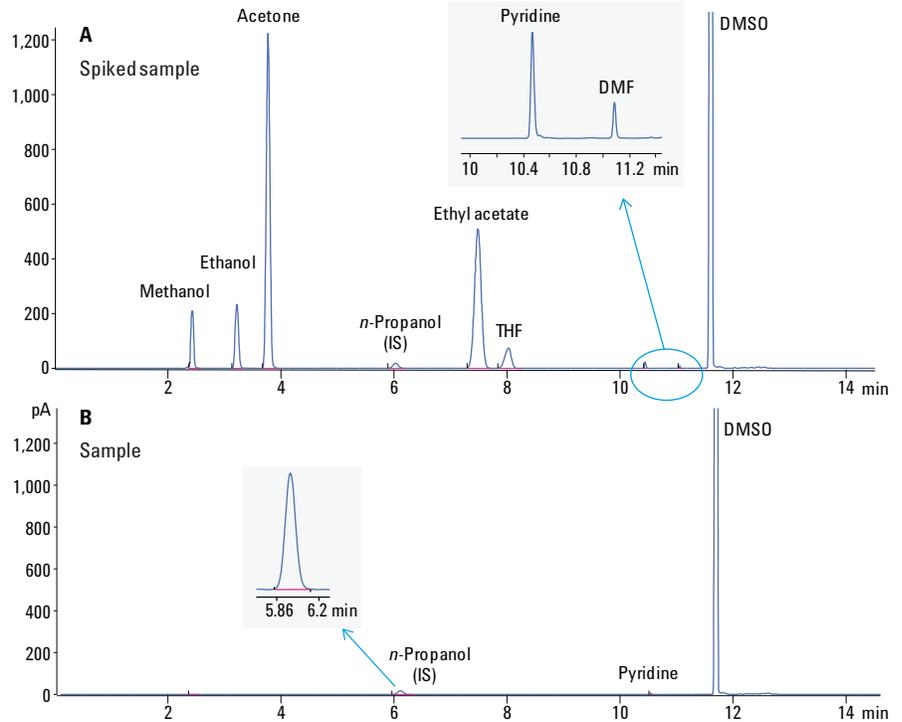


그림 2. Agilent HS/GC/FID 시스템 및 Agilent J&W DB-Select 624UI 컬럼을 사용한 표준 스파이킹 시료(A) 및 시료 용액(B)의 크로마토그램

표 1은 스파이킹 시료의 크로마토그램에서 피크 성능 및 재현성 결과를 보여줍니다. 표 1은 또한 효율성과 분리능을 보여줍니다.

각 화합물의 USP 테일링 인자는 1에 매우 근접하였습니다. 특히 주의해야 하는 것은 pyridine은 대부분의 GC 컬럼에서 테일링이 나타나지만, DB-Select 624UI 컬럼의 평균 USP 테일링값은 1.19입니다. 머무름 시간 및 면적(1.64% 이상의 RSD)의 우수한 재현성은 이 분석법의 높은 신뢰도를 의미합니다.

자세한 정보

본 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트 제품과 서비스에 대한 보다 자세한 정보는 www.agilent.com/chem을 방문하십시오.

표 1. 성능 및 재현성 결과

No.	Compound	Retention time (min)		Area (mAU*s)		Theoretical plate (N)	Resolution (Rs)	USP Tf
		RT	RSD (%) (n = 6)	Area	RSD (%) (n = 6)			
1	Methanol	2.43	0.04	801.66	1.11	8,456	/	1.07
2	Ethanol	3.22	0.04	974.77	1.22	12,281	7.25	1.04
3	Acetone	3.77	0.03	5585.24	0.85	14,915	4.72	1.01
4	1-propanol (IS)	6.03	0.02	144.69	0.74	16,177	14.65	1.04
5	Ethyl acetate	7.49	0.02	4329.34	0.56	17,353	7.13	1.00
6	Tetrahydrofuran (THF)	8.05	0.02	583.61	0.90	20,956	2.52	0.86
7	Pyridine	10.47	0.01	37.10	0.98	756,377	18.47	1.19
8	N,N-Dimethylformamide (DMF)	11.09	0.02	10.55	1.64	1,126,295	14.58	1.01

결론

본 분석법에서는 헤드스페이스 가스 크로마토그래피 및 Agilent J&W DB-Select 624UI 컬럼을 이용하여 스피로놀락톤 내의 잔류 용매를 분석하였습니다. 그리고 질소를 운반 가스로 사용하였습니다. DB-Select 624UI 컬럼은 alcohol 및 pyridine의 뾰족하고 대칭적인 피크로 훌륭한 비활성을 보여주었습니다. 스피로놀락톤 API의 잔류 용매 분석을 위한 본 분석법은 경제적이고 신뢰성이 있으며 훌륭한 성능 및 재현성을 지닙니다.

참고 문헌

1. F. Macdonald. Dictionary of Pharmacological Agents, pp. 1832–1833. CRC Press. (1997).
2. National Pharmacopoeia Committee. Chinese Pharmacopoeia. Chemical Industry Press, Beijing, PR China, 1171 (2010).

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2013
2013년 4월 2일
한국에서 인쇄
5991-2206KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies