

Agilent J&W CP-Select 624 Hexane의 용매와 hexane 이성질체의 우수한 분리

응용 자료

의약품 개발 및 제조, 식품 가공 및 포장

저자

John Oostdijk, Johan Kuipers,
Ramaprasad Ganni
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent J&W CP-Select 624 Hexane GC 컬럼은 최적화된 G43 고정상을 이용하여 Hexane 이성질체에서 Dichloromethane(DCM)을 분리합니다. 이 응용 자료는 인도의 의약품 및 식품 가공 산업에 적용된 분리 과정을 보여줍니다. 각 컬럼은 우수한 컬럼 간 재현성을 보장하는 시험용 특별 혼합물을 사용한 테스트를 거칩니다. 특정 DCM 분리와 마찬가지로, USP <467>은 Acetonitrile 및 Dichloromethane를 분리할 수 있으며 고정상의 모든 배치에서 테스트를 거칩니다. 컬럼 선택성은 다성분 혼합물을 사용한 2개의 시리즈를 타사의 컬럼 2개와 비교하여 확인합니다.

소개

CP-Select 624 Hexane GC 컬럼은 다음에 적용할 수 있습니다.

- 식품 - 식품 가공에서 Hexane 추출 용매
- 제약 - API 대량 제조에서 정제 및 가공에 사용되는 Hexane 용매

원료 의약품 제조 전반의 품질 관리를 수행하려면 반드시 고감도 분석법을 개발해야 합니다. 본문에서는 의약품 또는 식품으로부터의 추출 시 사용되는 Hexane 이성질체에서 유기 휘발성 불순물(잔류 용매)을 분리하는 방법을 설명합니다. 원료 의약품 및 의약품, 식품 가공 산업의 독성으로 인해 잔류 용매를 확인할 수 있는 빠르고 믿을만한 분석법이 필요합니다.



Agilent Technologies

원료 의약품, 부형제 또는 의약품의 잔류 용매 확인은 제약 업계에서 매우 어렵고 까다로운 분석 작업 중 하나로 알려져 있습니다. 또한 이러한 화합물을 물 또는 극성 용매에서 제거하는 것이 어렵기 때문에 의약품 제제의 극성 잔류 용매를 확인하기 위한 분석은 여전히 쉽지 않습니다. 의약품은 각 제조 단계별(원료, 중간 생성물, 최종 생성물)로 잔류 용매 유무를 확인할 수 있도록 분석되어야 합니다. Ethanol, Dichloromethane, Hexanes, Heptane과 같은 유기 용매는 제조 공정에서 자주 사용됩니다. 우수의약품 제조관리기준(GMP) 조건에 따라 새로운 원료 의약품(API)을 제조하기 위해서는 합성에 사용되는 다른 성분의 적합한 품질 관리가 요구됩니다. 따라서 GMP 합성 중 유기 용매 사용은 철저히 관리되어야 합니다. 헤드스페이스 가스 크로마토그래피는 고체, 액체, 기체 시료의 휘발성 및 준 휘발성 유기물 분석에서 가장 선호되는 기술입니다[1]. 식물 추출액에서 split 및 splitless 주입도 사용됩니다.

제조사 USP <467> 잔류 용매에 기술된 절차를 따라야 합니다[2]. USP G43 컬럼(624 상)을 사용하는 절차 A에 따라 Acetonitrile(ACN), Dichloromethane(DCM), *n*-Hexane, Cyclohexane와 같은 등급 2 잔류 용매는 표준 면적 이하여야 합니다. 면적이 더 클 경우, USP G16 상(Wax 상)을 사용하는 절차 B에 따라 시험을 해야 합니다.

G43 상의 미세 조정

6%의 Cyanopropyl Phenyl 및 94%의 Dimethyl Polysiloxane Film으로 된 고정상, 624 또는 G43 타입의 상(그림 1)이 있는 컬럼은 의약품의 잔류 용매 분석에 널리 사용됩니다.

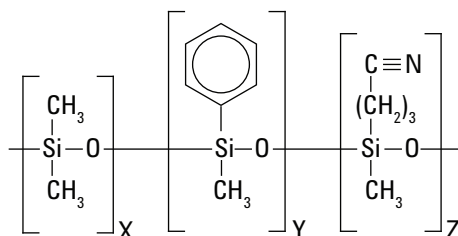


그림 1. 6%의 Cyanopropyl Phenyl 및 94%의 Dimethyl Polysiloxane으로 된 G43의 고정상 구조

Agilent는 G43 상의 허용 범위에 속하는 고정상을 개발하였습니다. 2-Methylpentane, Acetonitrile, Dichloromethane, 3-Methylpentane의 근접 용출 피크 간 가장 중요한 분리에 중점을 두었습니다. 그림 2에서 볼 수 있듯이 조성이 약간만 변하여도 분리에 영향을 미치기 때문에 최적화가 필요합니다.

ACN/DCM에 사용되는 분해능은 ≥ 1.0 이어야 하고 ACN 및 DCM은 2-MeC5 및 3-MeC5 Hexane 이성질체에서 분리되어야 합니다. 컬럼 B의 성능이 가장 우수했습니다.

Hexane 이성질체 및 DCM 분리

인도의 식품 및 제약 업계에서는 추출 및 정제 작업 시 Hexane을 용매로 사용합니다. 상업용 또는 산업용 Hexane은 다른 이성질체의 혼합물이기 때문에 Hexane 이성질체에서 Dichloromethane(및 기타 용매)을 분리할 수 있도록 우수한 선택성을 갖는 것이 중요합니다. 그림 3에 예시가 나타나 있습니다.

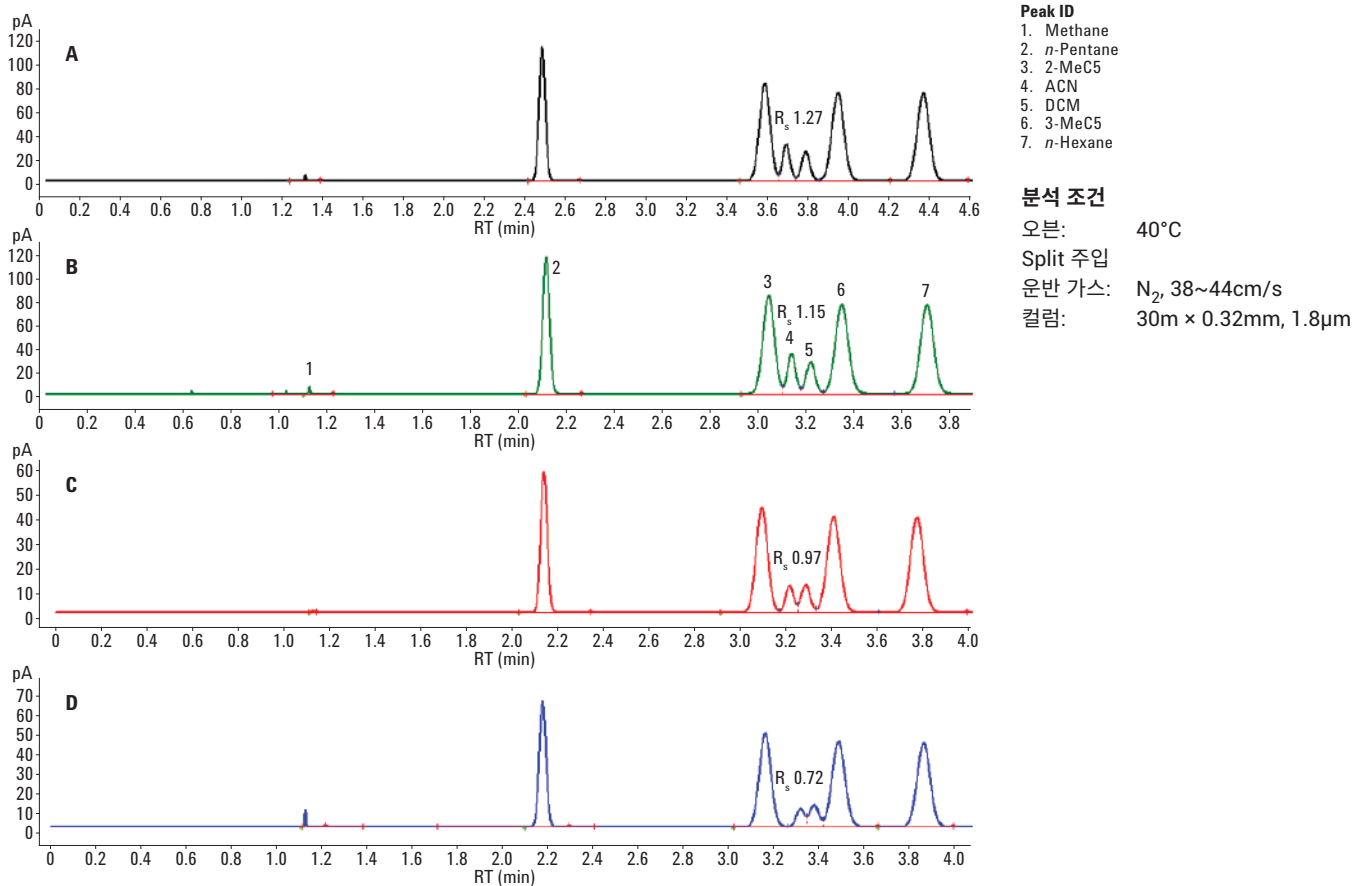


그림 2 미세 조정된 4개의 다른 G43 고정상이 Hexane 이성질체에서 Acetonitrile 및 Dichloromethane를 분리하는 데 영향을 미치고 있습니다.

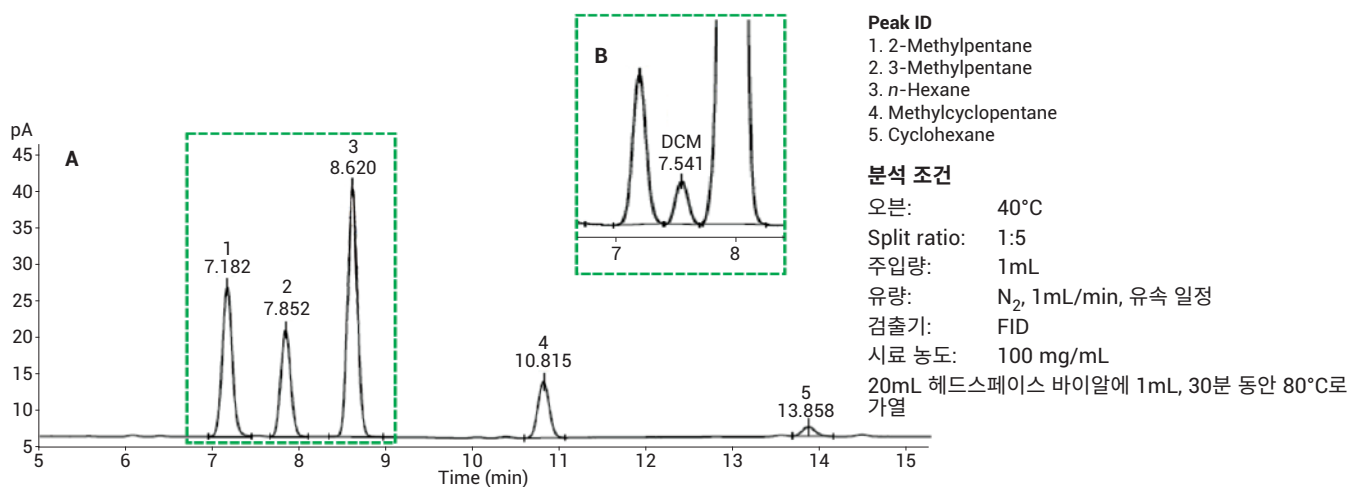


그림 3 Agilent J&W CP-Select 624 Hexane, 30m × 0.32mm, 1.8μm GC 컬럼(p/n CP9111)으로 헤드스페이스 분석을 사용한 Agilent 고객의 크로마토그램 A) 인도에서 추출에 사용한 일반 Hexane 이성질체 용매 B) 이성질체에서 분리한 Dichloromethane이 포함된 동일 Hexane 용매 2개의 기타 Hexane 이성질체(2,2-Dimethylbutane 및 2,3-Dimethylbutane)는 식별되지 않았습니다.

운반 가스 조건

624 타입 컬럼은 일반적으로 두꺼운 액상 필름으로 코팅되어 있어 GC 분석 초기에 용리되는 휘발성이 큰 용매에 대해 머무름과 향상된 분해능을 제공합니다. 그림 4의 H- \bar{u} 곡선은 30m × 0.32mm, 1.8 μ m 624 타입의 컬럼에서 다른 운반 가스를 이용하였을 때의 결과를 나타냅니다. USP <467>에 따라 헬륨 또는 질소의 선속도가 35 cm/s인 조건에서 컬럼을 사용하면 헬륨의 효율이 더 좋습니다. 하지만 질소는 헬륨이나 수소에 비해 최적의 선속도에서 높은 플레이트 수 또는 효율성을 제공하며 40°C, 1.8 μ m 필름일 때 테스트를 거친 상이 약 50% 증가합니다. 질소는 저렴한 운반 가스이며 최적의 상태에서 사용하면 근접 용리 화합물을 분리하는 데 이점이 있습니다. 반면 컬럼 효율이 높으면 질소의 최적 가스 속도(약 8cm/s)가 상대적으로 낮기 때문에 분석 시간이 더 오래 걸립니다.

실험

Split/Splitless Inlet 및 FID를 장착한 Agilent 7890A GC와 10 μ L 시린지를 장착한 Agilent 7693 자동시료 주입기를 사용하였습니다. 세부 조건은 그림 캡션을 참조하십시오.

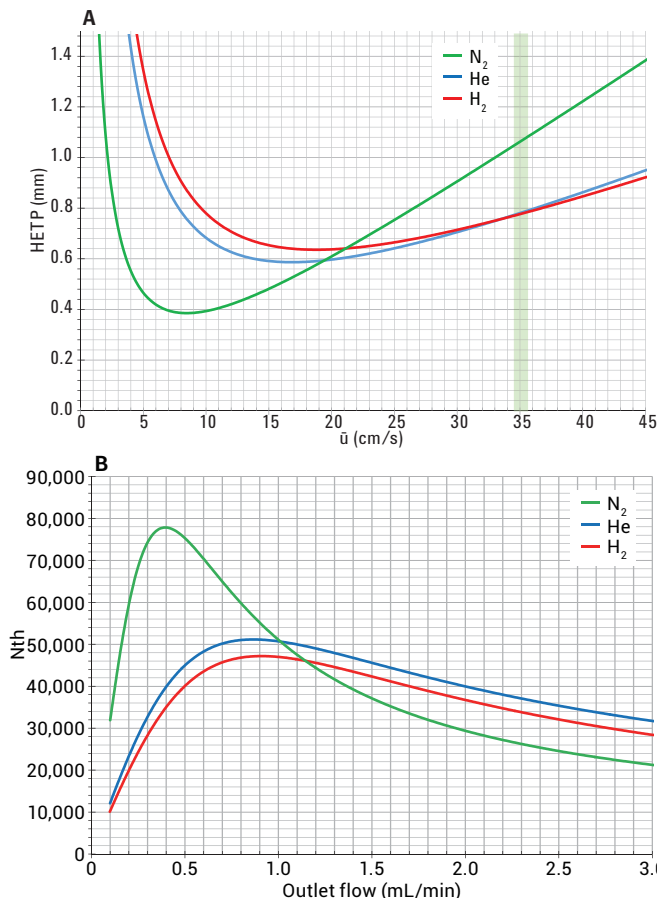


그림 4. 두꺼운 필름의 30m × 0.32mm, 1.8 μ m G43 컬럼이 40°C일 때의 Van Deemte 곡선(A)을 나타내며, 운반 가스로 헬륨(He), 수소(H₂), 질소(N₂)를 사용했습니다. USP <467> 분석법에서 헬륨 및 질소에 대해 명시한 바와 같이 녹색 영역의 평균 선속도는 35cm/s입니다. 헬륨 및 수소를 사용하면 효율성이 매우 뛰어나지만 질소를 사용하면 효율성이 떨어집니다. 최적의 속도(B)에서 질소를 사용하면 효율성을 더 높일 수 있지만 분석 시간이 증가합니다. 헬륨 및 질소의 경우, 약 2.2mL/min의 배출구 유속은 35cm/s에 해당합니다.

결과 및 토의

G43 상의 튜닝을 완료 및 최적화한 후, 표본 크로마토그램을 실행하여 상업적 용도로 사용되는 중요 용매의 재현성, 품질 관리, 성능을 확인하였습니다.

DCM 및 ACN에서 분리한 Hexane 이성질체

그림 5는 주요 응용을 보여줍니다. Dichloromethane뿐만 아니라 Acetonitrile도 알맞은 분해능을 사용하여 Hexane 이성질체 및 DCM에서 분리되었습니다.

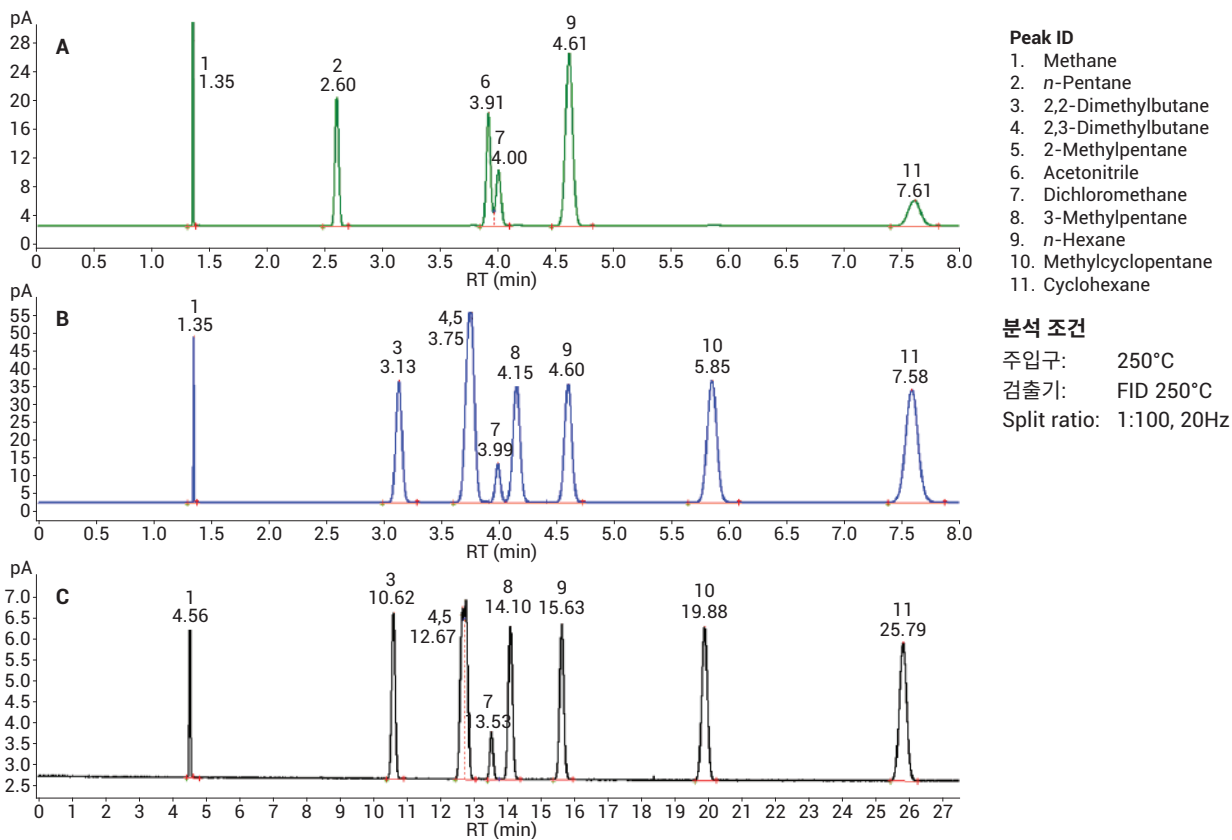


그림 5. Agilent J&W CP-Select 624 Hexane, 30m × 0.32mm, 1.8μm GC 컬럼(p/n CP9111)에서 질소를 운반 가스로 사용하여 40°C에서 Hexane Isomers, Acetonitrile, Dichloromethane을 분리 A) 37cm/s일 때 Acetonitrile 및 Dichloromethane의 혼합물, R_s 1.12. B). 37cm/s일 때 Hexane 및 Dichloromethane의 혼합물 C) B와 마찬가지로 최적의 평균 선속도인 8.4cm/s일 때 기록된 혼합물을 제외하고 분해능이 향상되었지만 분석 시간도 증가하였습니다. 성분은 늦게 용리되는 Toluene 용매에서 용해되었습니다(데이터 미제공).

다성분 혼합물을 사용한 재현성 비교

기타 잔류 용매 모니터링은 제약 및 식품 공정에서 중요한 부분이기 때문에 용리를 평가하고 타사의 624 컬럼과 비교 하였습니다(그림 6). Agilent 컬럼은 피크 순서 외에도 뛰어난 재현성을 보였습니다. 타사와 비교하여, 혼합물은 질소를 운반 가스로 사용하여 최적의 분해능을 보였습니다.

Agilent 컬럼은 2개의 시리즈에서 뛰어난 재현성을 보였습니다. 반면, 타사의 컬럼은 다른 선택성을 보였고 (C)의 경우 ACN 및 DCM가 USP <467>에 따라 충분히 분리되지 않았습니다.

다른 시리즈의 CP-Select 624 Hexane 컬럼 2개는 용매의 전 범위에 걸쳐 뛰어난 컬럼 간 재현성 및 거의 동등한 선택성을 보였습니다. 타사의 컬럼은 액상 극성 및 컬럼 제조에서 일관되지 않은 양상을 보이며 다양한 용매 분리 패턴이 나타납니다.

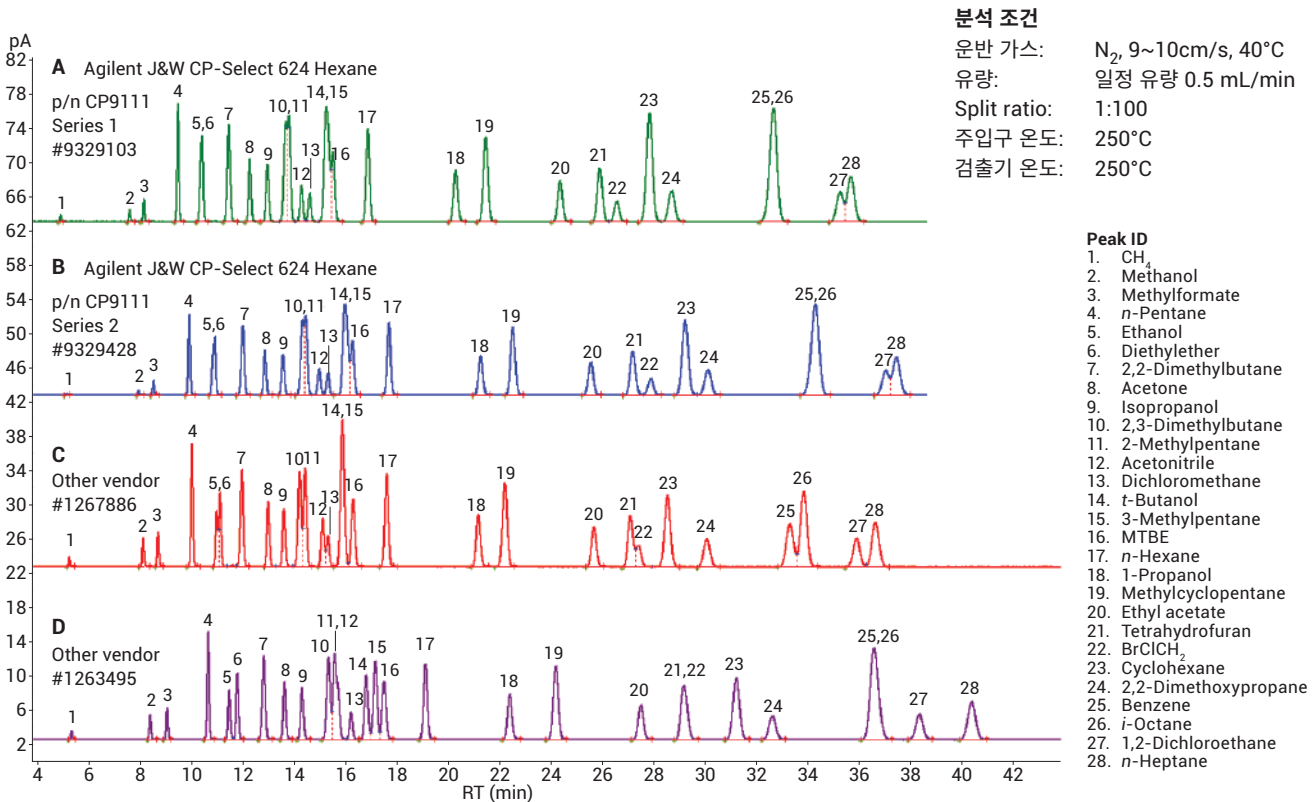


그림 6. Agilent J&W CP-Select 624 Hexane의 2개의 컬럼 (A and B, p/n CP9111) 및 타사의 2개의 컬럼(C and D)의 다성분 혼합물 크로마토그램

Agilent J&W CP-Select 624 Hexane을 이용한 품질 관리

각 CP-Select 624 Hexane 컬럼은 엄격한 사양의 중요 시험 혼합물을 사용한 QC 테스트를 거쳤습니다. 사양에는 분해능, Kovats 머무름 지수, 선택성 및 필름 두께, 비대칭성, 컬럼 간 재현성을 보장하는 효율성 등의 일반 사양이 포함되어 있습니다. 고정상의 폴리머 배치를 새것으로 교체할 때 배치의 차이를 최소화할 수 있도록 ACN 및 DCM처럼 특별히 더 세분화된 확인 절차를

적용하였습니다. 그림 7은 3가지 다른 규격의 컬럼에 대한 표준 QC 테스트 크로마토그램을 보여줍니다. Wide Bore 컬럼(0.32mm id)은 Megabore 컬럼보다 효율성이 뛰어납니다. 이미 시험 온도를 60°C로 하여 DCM을 Hexane 이성질체에서 분리하였기 때문에 QC 테스트 방법을 단축할 수 있습니다. Megabore 컬럼(0.53 mm id)의 경우, 시험 온도를 40°C로 설정하였습니다. 컬럼 파라미터를 정확하게 계산할 수 있도록 충분한 분해능을 제공하였습니다.

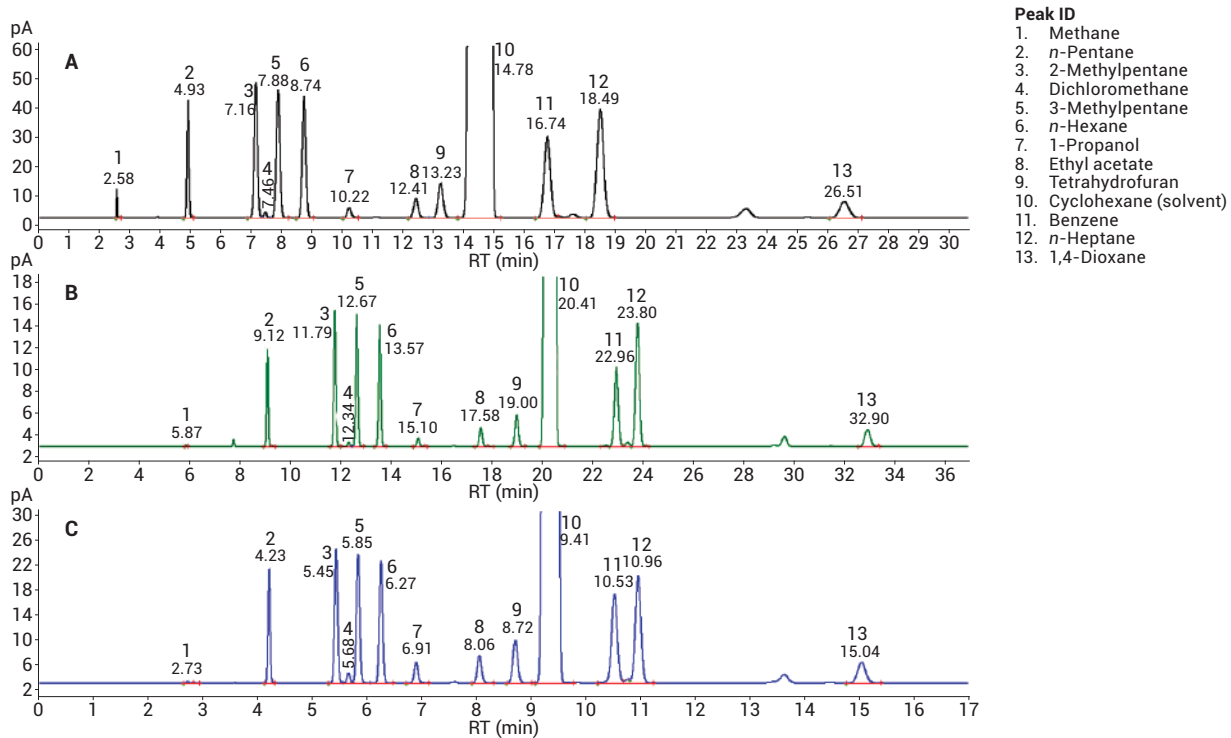


그림 7. 3가지 크기의 Agilent J&W CP-Select 624 Hexane GC 컬럼의 QC 테스트 크로마토그램 A) 40°C일 때 30m x 0.53mm, 3μm(p/n CP9113) B) 60°C일 때 60m x 0.32mm, 1.8μm(p/n CP9112) C) 60°C일 때 30m x 0.32mm, 1.8μm(p/n CP9111) 시험 혼합물 83(0.01%), split ratio 1:100 1μL, 수소 운반 가스, FID

60m Wide Bore Agilent J&W CP-Select 624 Hexane 컬럼을 사용한 추가 분리

매트릭스에서 분리하기 어려운 용매를 분리하려면 추가 분리가 필요합니다. 이 경우, 60m Wide Bore 컬럼을 사용할 수 있습니다. 증가한 분해능은 그림 8에 나와 있습니다. 헬륨은 30m 컬럼 대비 분석 시간을 단축하고 분해능을 향상시킵니다.

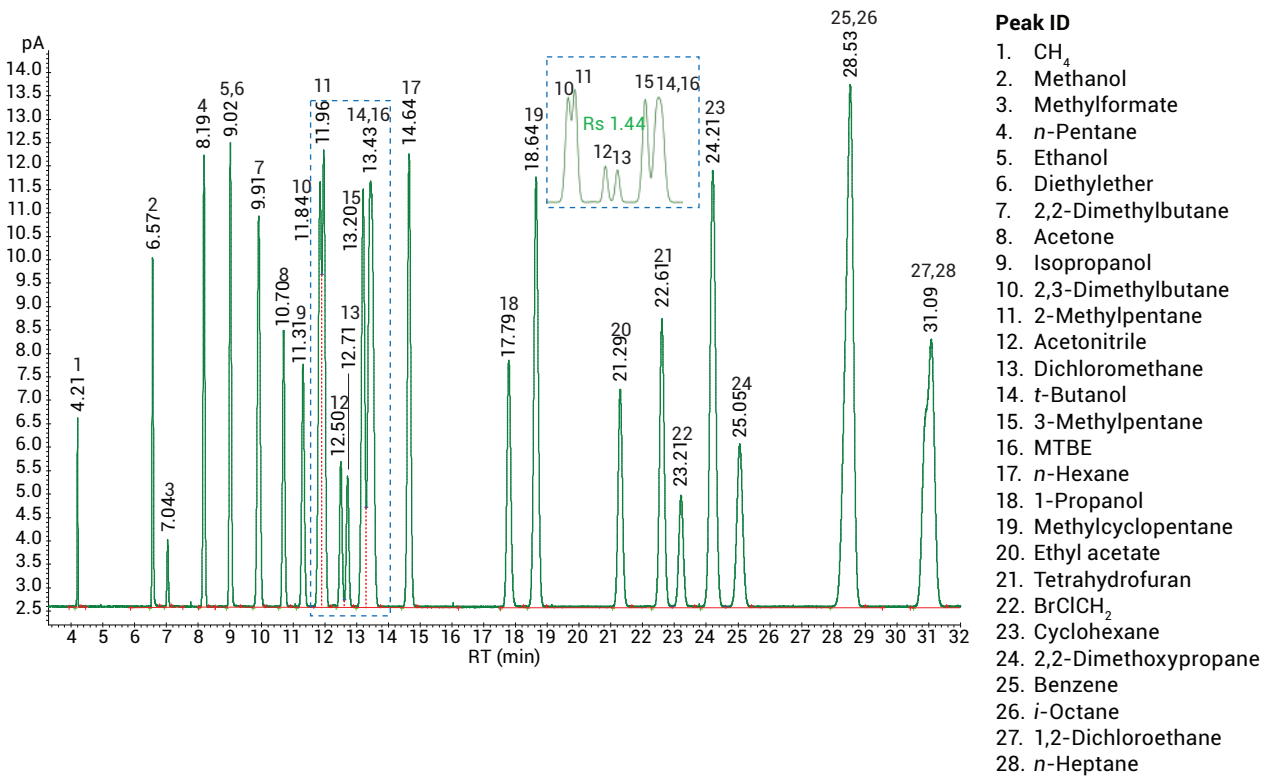


그림 8. Agilent J&W CP-Select 624 Hexane, 60m × 0.32mm, 1.8μm GC 컬럼(p/n CP9112)에서 다성분 혼합물 분리 헬륨 운반 가스, 일정 유량 1.64mL/min, 24cm/s, 40°C, 분석 시간 단축 및 최적 조건에서 질소를 사용한 60m 컬럼과 해당 분리 비교

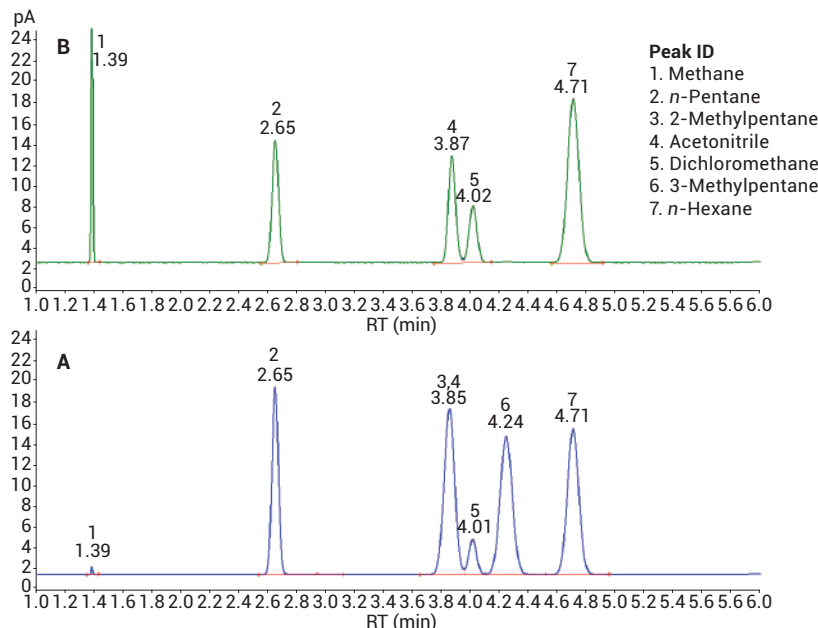


그림 9. A) Megabore Agilent J&W CP-Select 624 Hexane, 30m × 0.53mm, 3μm(p/n CP9113) GC 컬럼을 사용하여 Hexane 이성질체에서 Dichloromethane 분리 B) Overlay with a 표준 ACN 및 DCM로 오버레이 하여 ACN 및 2-Methylpentane의 동시 용리를 나타냄. 헬륨 운반 가스, 36 cm/s, ACN 및 DCM의 우수한 분해능을 나타냄, R_s 1.48 (USP <467> 사양 ≥1.0)

헬륨을 운반 가스로 사용한 Megabore Agilent J&W CP-Select 624 Hexane

업데이트된 USP <467> 지침(2015년 5월)에서 Megabore 규격에서 헬륨을 운반 가스로 사용하였습니다. 그림 9에 예시가 나타나 있습니다. ACN 및 DCM의 선택성이 향상되어 ACN가 2-Methylpentane와 공동 용리됩니다.

휘발성 US EPA 624 혼합물을 사용한 GC/MS 분석

특정 GC/FID 응용 외에도 CP-Select 624 Hexane을 GC/MS와 함께 사용할 수 있습니다. 그림 10은 2개의 다른 시리즈(p/n CP9111)에서의 624 휘발성 혼합물을 나타냅니다. 타사 컬럼은 다른 크로마토그램(데이터 미제공)을 보인 반면, 다른 시리즈에서도 동일한 선택성을 보였습니다.

결론

Agilent J&W CP-Select 624 Hexane 컬럼은 인도에서 적용된 것과 같이 Dichloromethane 및 Hexane 분석 전용으로 개발되었습니다. 본 응용에 사용되는 모든 컬럼은 개별적으로 시험을 거치고 보증됩니다. 또한 Hexane 이성질체에서 Dichloromethane을 분리하는 데 사용되는 모든 컬럼은 성능의 일관성을 완벽히 보장합니다.

참고문헌

- Gupta, A.; Singh, Y.; Srinivas, K.; Jain, G.; Sreekumar, V. B.; Prasad Semwal, V. Development and validation of a headspace gas chromatographic method for the determination of residual solvents in arterolane(RBx11160) maleate bulk drug. *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2010**, 2, 32-37.
- Anon. USP <467> Residual Solvents, USP 38 Chemical Tests, page 309-324, May 1, 2015. United States Pharmacopeia, Rockville, MD, USA.

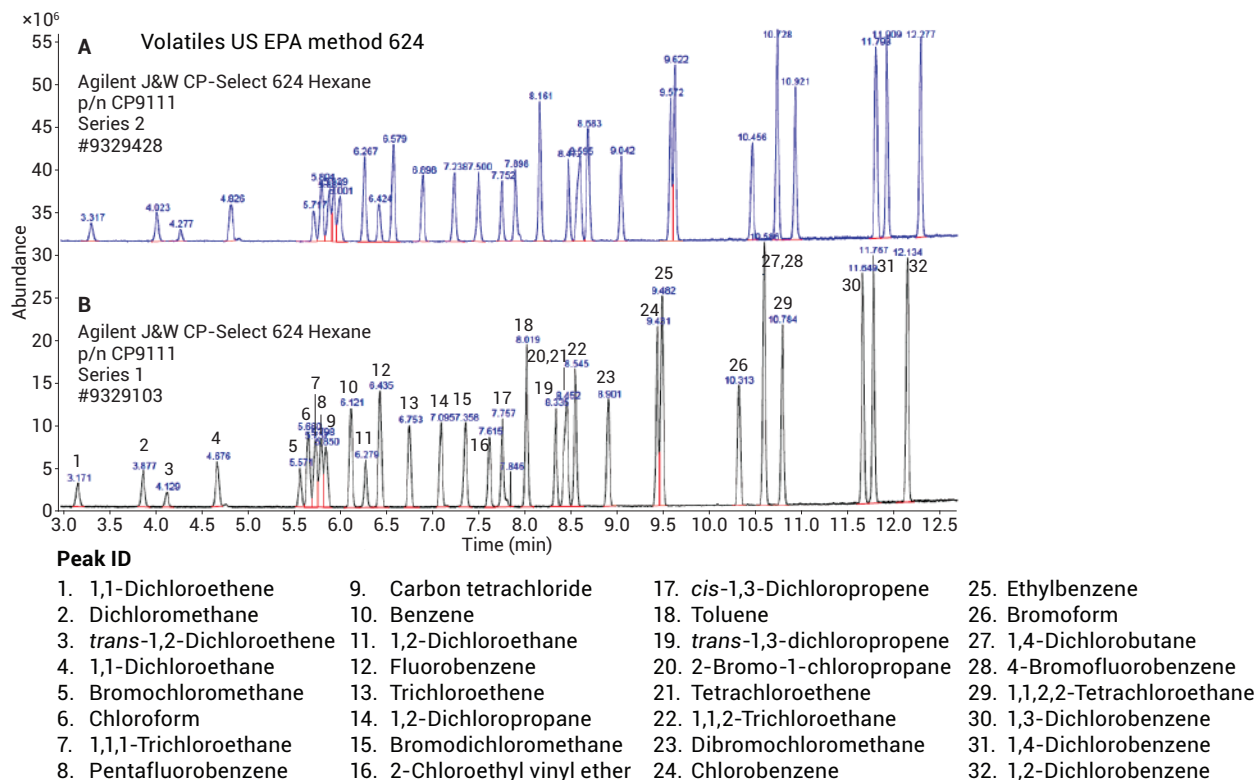


그림 10. 휘발성 US EPA method 624는 2개의 시리즈의 Agilent J&W CP-Select 624 Hexane, 30m × 0.32mm, 1.8μm(p/n CP9111)에서 뛰어난 재현성을 보여줌. Agilent 7890A GC/5977 MS, 오븐 40°C(3'), 15 °C/min >230°C, MSD *m/z* 35~260, 일정 유량 1.3mL/min, 헬륨 split 1:20 1μL Restek에서 희석한 표준물질의 표준 혼합물, 624 내부 표준품 혼합물(p/n 30023), 624 Surrogate 표준품 혼합물(p/n 30243), 휘발성 MegaMix, EPA Method 624(p/n 30497)

감사의 글

고정상의 합성에 도움을 주신 René Huisman 씨, Agilent Middelburg에서 컬럼 제작에 도움을 주신 Philip Dijkwel 씨, Rinus Witkam 씨, Jacco Scheele 씨, 그리고 물심양면으로 도와주신 프로젝트 멤버들에게 감사드립니다.

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트 제품에 대한 더 자세한 정보를 알아보시려면 www.agilent.com/chem을 방문하십시오.

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., 2015

한국에서 인쇄
2015년 11월 9일
5991-6144KO

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



Agilent Technologies