

투과 FTIR을 사용한 빠르고 간편하며 신뢰할 수 있는 액체 시료 측정

Agilent Cary 630 FTIR을 사용한 시메티콘(simethicone) 정량을 위한 DialPath 모듈과 기존 액체 셀 비교

저자

Fabian Zieschang
Wesam Alwan
Agilent Technologies, Inc.



서론

푸리에 변환 적외선(FTIR) 분광기는 제약 산업에서 일반적으로 사용되는 기술로, 완제의약품의 품질 관리에서 중요한 역할을 합니다. 그러나 분리형 또는 플로우 셀을 사용하는 경우 투과 FTIR을 사용하여 액체 의약품 시료를 정확하고 정밀하게 측정하기가 어려운 경우가 많습니다. 액체 분석에 이러한 셀을 사용할 때 복잡성과 잦은 실수 및 시간 지연을 일으키는 몇 가지 문제들이 있습니다.

- 셀이 파손되기 쉽고 스페이서와 윈도우는 조립하기 어려울 수 있음
- 셀의 설계상의 특징 때문에 재현 가능한 경로 길이를 얻기가 어려움
- 셀 누출이 쉽게 발생
- 기포가 분석을 방해할 수 있음
- 셀 청소 및 조립에 많은 시간 소요
- 끈적이고 점성이 있는 시료를 측정하기가 어려움
- 상당한 시료량 및 행금 용매 필요

Agilent Cary 630 FTIR 분광기를 위한 고유한 Agilent DialPath 샘플링 모듈은 기존의 플로우 또는 분리형 액체 셀의 필요성을 제거하여 액체 시료 분석을 단순화합니다. 그림 1(가운데) 및 그림 2와 같이 DialPath 모듈의 수평으로 배치된 두 윈도우 사이에 소량의 액체 시료 방울을 떨어뜨립니다. 두 윈도우 사이의 거리에 따라 광학 경로 길이가 결정됩니다.



그림 1. DialPath 모듈이 장착된 Agilent Cary 630 FTIR 분광기를 사용하면 간단한 세 단계만 거쳐 액체 시료를 분석할 수 있습니다.

DialPath 모듈에서 모듈 헤드를 돌려(“dialed-in”) 사전 설정된 세 가지 경로 길이를 즉시 선택할 수 있습니다. DialPath 모듈과 동일한 기술을 사용하는 Agilent Tumbler 모듈에서는 3개가 아닌 1개의 경로 길이를 사용할 수 있습니다. 두 모듈 모두 영구적으로 정렬되어 있으며 Cary 630 FTIR 엔진의 전면에 쉽게 부착됩니다. Agilent MicroLab 소프트웨어는 Cary 630 FTIR 엔진에 장착된 모듈을 자동으로 검출하고 올바른 설정을 적용하므로 경험이 없는 사용자도 몇 초 내에 모듈을 교체할 수 있습니다.

이 연구에서는 DialPath 모듈을 장착한 Cary 630 FTIR 엔진을 이용해 시판되는 항산제에서 시메티콘을 정량 분석합니다. 비교 목적으로 투과 시료 구획에 분리형 셀을 배치한 기존 FTIR 접근 방식을 이용해 데이터를 수집했습니다. 시메티콘의 정량은 USP-NF 모노그래프, USP43-NF38, 페이지 4044(1)에 설명되어 있습니다. 모노그래프에 따르면 약물 제제의 시메티콘 함량은 2mg/mL 시메티콘 표준 용액(2mg/mL은 100% 농도와 동일)과 비교한 시료의 농도 백분율로 결정됩니다.

실험

블랭크, 표준 및 대조군 시료 용액 준비

USP43-NF38은 알려진 시메티콘 표준에 상대적인 백분율 농도로 시메티콘 정량을 설명합니다. 시메티콘 USP 참조 표준물질을 사용하여 2mg/mL(100%) 시메티콘을 함유한 시메티콘 표준 용액을 준비했습니다. 약 25mg의 시메티콘 USP(CAS 8050-81-5)를 정확하게 칭량하고 50mL 스크류 캡 유리 원심 분리 튜브로 옮겼습니다. 12.5mL의 분광기 등급 톨루엔을 튜브에 첨가한 다음 25mL의 4.8M HCl을 첨가했습니다. 튜브를 5분 동안 손으로 흔들고 Vortex 믹서에서 5분간 교반했습니다. 다음으로, 튜브를 1500rpm에서 30분 동안 원심분리했습니다. 약 5mL의 유기물 상층액을 약 1g의 무수 황산나트륨이 들어 있는 50mL 스크류 캡 원심 분리 튜브로 옮겨 유기층에 남아 있는 수분을 제거했습니다. 튜브를 1분 동안 손으로 세게 흔들고 투명한 층이 얻어질 때까지 10분 동안 원심분리했습니다. 동일한 절차에 따라, 그러나 시메티콘 USP를 첨가하지 않고 블랭크를 준비했습니다. 높음, 낮음 및 범위 내 시료를 사용하여 분석법을 테스트하기 위해 81.2, 114.0 및 100.7% 농도의 시메티콘을 포함한 세 개의 대조군 시료도 준비했습니다.

시메티콘을 함유한 캡슐 제조

한 가지 유형의 시판 시메티콘 캡슐을 현지 약국에서 구입했습니다. 설명서에 각 캡슐의 시메티콘 함량이 100mg인 것으로 표시되어 있었습니다. 각 캡슐을 100mL의 4.8M HCl 및 50mL 톨루엔 혼합물에 용해하여 공칭 농도가 2mg/mL(100% 농도)인 용액을 얻었습니다. 추출도 시메티콘 표준 용액에 대해 설명한 것과 동일한 절차를 따랐습니다.



그림 2. Agilent Cary 630 FTIR 분광기에 장착된 DialPath 모듈의 시료 윈도우에 액체 시료를 놓습니다.

기기

이 연구에는 두 개의 Agilent Cary 630 FTIR 분광기를 사용했습니다. 첫 번째 Cary 630 FTIR에는 불화 칼슘 윈도우와 500마이크론 스페이서(Omni-cell, Specac Ltd., UK)가 있는 기존의 분리형 액체 셀에 적합하게 설계된 투과 모듈이 장착되었습니다. 두 번째 Cary 630 FTIR에는 경로 길이가 500마이크론인 Agilent DialPath 모듈이 장착되었습니다(그림 2).

액체 셀과 DialPath 모듈을 사용하는 두 개의 FTIR 분광기에서 동시에 분석하기 위해 시료를 두 개의 로트로 분할했습니다. 시료 사이의 잔류물이나 교차 오염을 최소화하기 위해 액체 셀을 다량의 톨루엔으로 세척했습니다. 형광에 몇 방울의 이소프로판올만 묻혀도 DialPath의 두 시료 윈도우를 깨끗하게 닦을 수 있었습니다. 데이터를 수집하고 시료 농도를 직접 계산하는 분석법을 만들기 위해 MicroLab 소프트웨어를 사용했습니다. 시료 용매의 흡광도를 보정하기 위해 각각 액체 셀과 DialPath의 블랭크를 기준으로 삼아 백그라운드를 측정했습니다. 데이터 수집 파라미터를 표 1에 요약했습니다.

표 1. 정량 측정을 위해 기존 액체 셀과 DialPath 모듈을 사용하는 FTIR의 데이터 수집 파라미터.

파라미터	설정
스펙트럼 범위(cm ⁻¹)	4000~650
백그라운드 스캔	64
시료 스캔	64
스펙트럼 분해능(cm ⁻¹)	2
백그라운드 수집	블랭크가 사용됨
경로 길이(마이크론)	500*

*USP43-NF38에 지정됨

결과 및 토의

정량 분석: 기존의 분리형 투과 셀과 DialPath

기존의 분리형 액체 셀을 장착한 구성과 DialPath 모듈을 장착한 구성의 두 Cary 630 FTIR 분광기를 사용하여 시메티콘 시료의 정량 분석을 수행했습니다. 약 1260cm⁻¹ 대역에서의 최대 흡광도를 정량에 사용했습니다. USP43-NF38 모노그래프에 따르면, 표준물질과 시료의 흡광도 값에 방정식 1(1)을 적용해 시메티콘의 농도 백분율을 계산할 수 있습니다.

방정식 1:

$$\text{백분율 농도} = \frac{A_u}{A_s} \cdot \frac{C_s}{C_u} \cdot 100\%$$

세부 사항:

$$\begin{aligned} \text{백분율 농도} &= A_u \cdot \frac{1}{A_s} \cdot \frac{C_s}{C_u} \cdot 100\% \equiv A_u \cdot \left(\frac{1}{A_s} \cdot \frac{C_s}{C_u} \cdot 100\% \right) \\ &\equiv A_u \cdot (\text{배수 인자}) \end{aligned}$$

A_u = 시료 용액의 흡광도

A_s = 표준 용액의 흡광도

C_s = 표준 용액의 세미티콘 농도

C_u = 시료 용액의 세미티콘 공칭 농도

백분율 농도의 자동 계산

지침 그림과 탐색하기 쉬운 디자인을 제공하는 MicroLab 소프트웨어에서 전체 분석 워크플로를 안내에 따라 진행할 수 있습니다. DialPath와 액체 셀을 사용하여 시메티콘 용액의 일상적 분석을 수행하기 위한 두 FTIR 분석법을 MicroLab 소프트웨어에서 생성했습니다. 이 분석법은 약 1260cm⁻¹에서 최대 흡광도를 자동으로 결정하고(단일 베이스라인 성분의 피크 높이 사용) 소프트웨어가 방정식 1에 따라 자동으로 계산을 적용합니다(그림 3 참조).

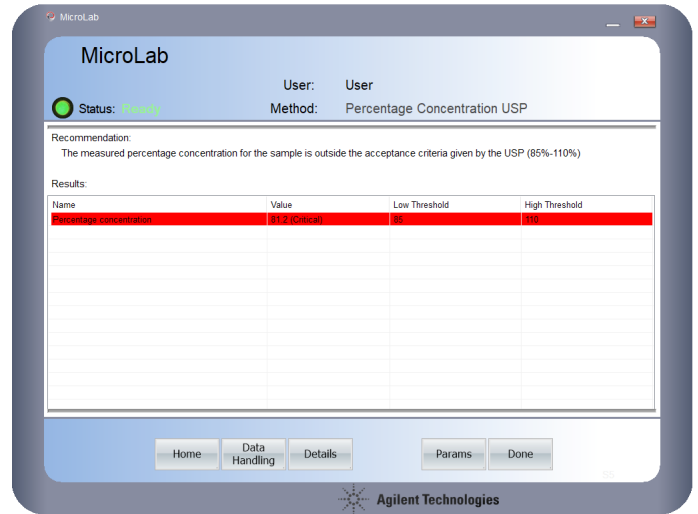
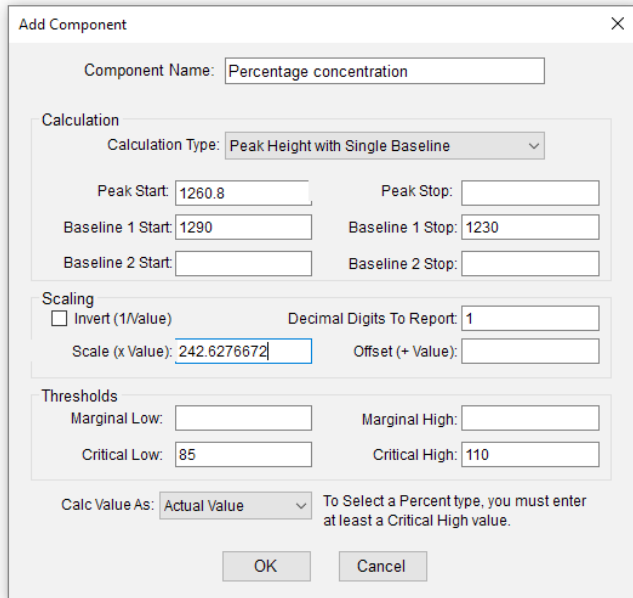


그림 4. MicroLab 소프트웨어를 사용하여 대조군 시료와 상업용 캡슐에 대한 백분율 농도를 결정했습니다. 분석법의 임계값 설정에 따라 데이터 수집 직후에 색상으로 구분된 실용적 결과가 보고됩니다.

그림 3. MicroLab 소프트웨어에서 “성분”은 측정된 스펙트럼에서 정량 결과를 계산하는 데 사용됩니다. 위에 표시된 성분은 대역의 최대값, 이 예에서는 약 1260.8cm⁻¹에서 흡광도 값(A_v)을 자동으로 결정합니다. 그런 다음 스케일(x 값)이 흡광도 값에 배수 인자를 적용하여 최종 결과를 제공합니다: 백분율 농도 = 흡광도 값(A_v) x 배수 인자(방정식 1에 설명되어 있음). 이 연구에서 DialPath의 배수 인자는 242.6276672입니다.

액체 셀과 DialPath 모듈을 사용하여 대조군 시료 1, 2 및 3의 농도 백분율을 결정하기 위해 두 개의 Cary 630 FTIR 분석법을 사용했습니다. 표 2의 결과를 보면 액체 셀보다 DialPath 액세스리를 사용하여 더 정확한 결과가 얻어진 것을 확인할 수 있습니다.

시료에서 시메티콘의 백분율 농도는 데이터 수집 직후에 보고됩니다. 결과가 85~110%의 USP 지정 허용 기준을 벗어나는 경우, 그림 4와 같이 81.2% 시메티콘이 포함된 대조군 시료 1에 대해 빨간색 플래그가 지정됩니다.

표 2. DialPath 장착 Cary 630 FTIR 및 투과 셀 장착 Cary 630 FTIR을 사용하여 측정된 세 가지 대조군 시료에서 세미티콘의 백분율 농도.

대조군 시료	이론적 세미티콘 백분율 농도(%)	DialPath 장착 Cary 630 FTIR		투과 셀 장착 Cary 630 FTIR	
		측정된 백분율 농도(%)	정확도(%)	측정된 백분율 농도(%)	정확도(%)
1	81.2	81.2	100	80.3	98.8
2	114.0	113.1	99.2	111.1	97.4
3	100.7	102.6	98.1	103.1	97.7

DialPath와 액체 셀이 장착된 두 대의 Cary 630 FTIR로 시판 캡슐의 시메티콘 농도 백분율을 측정한 결과, 측정값이 USP에 지정된 85.0~110.0%의 허용 범위 내에 있었습니다(표 3)(1). 이러한 결과는 USP 요구 사항에 따라 액체 약물 제제의 시메티콘 백분율 농도를 결정하는 데 DialPath가 적합한 샘플링 기술임을 시사합니다.

표 3. DialPath 모듈 및 투과 셀을 장착한 FTIR을 사용하여 얻은 시판 캡슐의 시메티콘 백분율 농도.

	DialPath로 측정된 백분율 농도(%)	투과 셀로 측정된 백분율 농도(%)
시판 시료 1	101.3	103.8
시판 시료 2	101.7	101.8
시판 시료 3	102.4	102.6

또한, DialPath 모듈을 장착한 Cary 630 FTIR의 성능을 정확도, 정밀도, 선형성 및 농도 범위 측면에서 평가했습니다.

측정 정확도

DialPath 측정의 정확도를 확인하기 위해 표준물질 첨가 분석법 테스트를 수행했습니다. 97.3% 시메티콘의 명목 백분율 농도를 가진 시료의 세 분취량에 정확한 부피의 고농도 시메티콘 표준 용액을 첨가하여 5, 10 및 15% 시메티콘으로 스파이킹했습니다. 스파이킹한 각 시료를 3회 측정했으며 다음 방정식에 따라 평균 회수율을 계산했습니다.

$$\text{방정식 2: \% 회수율} = (C_1/C_2) \times 100$$

C_1 = 측정된 백분율 농도

C_2 = 계산된 백분율 농도

표 4의 회수율 결과는 모두 100.5% 이내였으며, 이는 DialPath 모듈이 장착된 Cary 630 FTIR로 매우 정확한 측정이 가능함을 시사합니다.

표 4. 분석법의 정확도를 결정하기 위해 DialPath 모듈을 장착한 Cary 630 FTIR을 사용하여 세 가지 백분율 농도에서 시메티콘으로 스파이킹한 시메티콘 시료를 분석했습니다(n=3).

시료 백분율 농도(%)	스파이킹 백분율 농도(%)	계산된 백분율 농도(%)	측정된 백분율 농도(%)	평균 회수율 (%)
97.3	5.0	102.3	102.4	100.1 ± 0.2
97.3	10.0	107.3	107.8	100.5 ± 0.4
97.3	15.0	112.3	112.7	100.4 ± 0.1

측정 정밀도

DialPath 측정을 사용한 Cary 630 FTIR의 정밀도는 반복 가능성 연구를 통해 평가했습니다. 시메티콘 용액을 6개 부분으로 분할하고 각 부분을 개별적으로 분석했습니다. 시메티콘 흡광도 및 백분율 농도의 평균과 표준 편차를 계산하여 결과의 반복성을 평가했습니다(표 5). DialPath 모듈을 장착한 Cary 630 FTIR은 흡광도의 표준 편차가 0.0013이고, 농도 측정의 0.34%에 불과한 뛰어난 정밀도를 보여주었습니다.

표 5. 동일한 시료의 6회 측정을 통해 수행한 DialPath 장착 Cary 630 FTIR의 반복성 연구.

	흡광도	시료 백분율 농도(%)
시료 부분 1	0.4154	100.8
시료 부분 2	0.4144	100.5
시료 부분 3	0.4137	100.4
시료 부분 4	0.4167	101.1
시료 부분 5	0.4158	100.9
시료 부분 6	0.4178	101.4
평균	0.4156	100.9
표준 편차	0.0013	0.34

검량 선형성 및 농도 범위

DialPath 모듈을 사용한 분석물질 농도와 흡광도 판독값 사이의 선형성은 검량선을 생성하고 최소 제곱 회귀를 사용하여 곡선을 평가하는 식으로 입증했습니다. 적절한 희석을 통해 0~190% 농도 범위에서 5가지 세미티콘 농도에 대한 검량 표준물질을 준비했습니다. DialPath 스펙트럼 응답의 선형성을 평가하기 위해 세미티콘에 해당하는 피크 높이(1260.8cm⁻¹)를 사용했습니다. 이러한 측정은 검량선을 얻고 검량선으로부터 상관 계수(R²)를 계산하는 데 사용되었습니다. MicroLab Quant 소프트웨어를 사용하여 검량선을 생성하고 모든 통계 계산을 수행했습니다.

농도의 함수로 나타낸 세미티콘의 피크 높이(1260.8cm⁻¹) 플롯은 DialPath의 스펙트럼 응답이 상관 계수 R² = 0.9997의 우수한 선형성을 나타냄을 보여줍니다(그림 5).



그림 5. MicroLab Quant 소프트웨어를 사용한 DialPath의 선형성 평가. 검량선 및 상관 계수 계산은 소프트웨어에서 자동으로 수행됩니다. 획득한 결과는 문서화 목적으로 보고할 수 있습니다.

시료 처리량 및 리소스 사용

DialPath 모듈과 함께 Cary 630 FTIR을 사용한 세미티콘 정량은 액체 투과 셀을 사용한 분석에 비해 시료 처리량이 훨씬 더 높고 필요한 시료량이 극히 적으며 낭비되는 용매도 적습니다(그림 6 참조).

한 시간의 분석 시간 동안 DialPath는 액체 셀보다 두 배 많은 40개의 시료 추출 분석을 수행할 수 있었습니다. 데이터 수집 시간은 두 샘플링 기술 모두에서 약 1분이었습니다. 또한 DialPath에는 20µL의 세미티콘 시료 용액만 필요했지만 액체 셀에는 각 시료에 대해 5mL가 필요했습니다.

액체 셀의 경우, 교차 오염을 방지하기 위해 다음 시료를 주입하기 전에 여러 번 세척해야 합니다. DialPath는 형겅에 몇 방울의 용매를 묻혀 세척할 수 있으므로 용매 낭비가 줄고 용매와 및 폐기물 처리 비용이 절감됩니다. DialPath는 액체 투과 셀과 관련된 복잡성(예: 새 시료 도입시 매번 세척, 기포가 갇히지 않도록 보장, 조리개 플레이트의 적절한 취급)을 해소시켜주는 간단하고 사용하기 쉬운 샘플링 기술입니다. DialPath는 시료량, 시간 및 비용을 상당히 줄여줍니다.

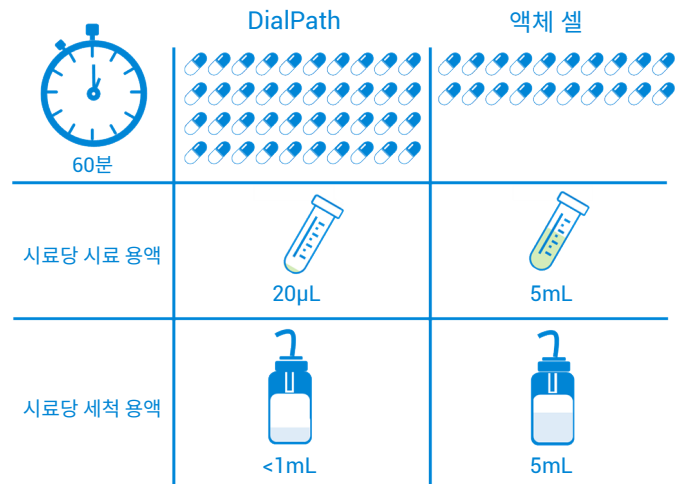


그림 6. DialPath 모듈을 장착한 Cary 630 FTIR과 전통적인 액체 투과 셀을 장착한 Cary 630 FTIR을 사용하여 60분 동안 세미티콘 추출물을 분석한 후 스코어보드.

결론

이 응용 자료에서는 액체 제약 시료의 신속한 정량 분석을 위해 고효율 투과 샘플링 액세서리(DialPath)를 장착한 Cary 630 FTIR을 사용했습니다.

DialPath 모듈을 장착한 Agilent Cary 630 FTIR의 뛰어난 성능과 분석 속도 및 혁신적 샘플링 덕분에 세미티콘 측정을 위한 정량 분석법을 빠르게 개발하고 배포할 수 있었습니다.

DialPath 장착 Cary 630 FTIR로 얻은 정량 데이터의 품질은 기존 셀 장착 Cary 630 FTIR에서 제공한 결과와 비슷하거나 더 우수했습니다. 그러나 DialPath의 경우 우수한 사용 편리성 덕분에 기존의 액체 셀을 사용하는 것에 비해 상당한 시간과 비용이 절약되어 제약 분야에 이상적인 것으로 입증되었습니다.

DialPath 장착 Cary 630 FTIR은 뛰어난 반복성과 함께 최대 190% 세미티콘의 높은 검량 선형성을 제공했습니다. 세미티콘 측정을 위해 얻은 분석 데이터의 탁월한 정확성과 정밀도는 기기, 분석법 및 분석 결과의 효율성을 입증했습니다.

Cary 630 FTIR은 유럽, 미국, 인도 및 일본 약전과 같은 글로벌 약전의 성능 요건을 충족합니다. MicroLab Pharma 소프트웨어 옵션을 이용하면 미국 FDA 21 CFR Part 11, EU Annex 11과 같은 국가 전자 기록 규정을 보다 수월하게 준수할 수 있습니다.

참조 문헌

1. Simethicone Emulsion. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP43-NF38-4044). DocID: GUID-4965A93F-3617-485C-87B4-1DFBDF33EC3F_4_en-US.

www.agilent.com/chem

DE44297.9470717593

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 04월 14일, 한국에서 인쇄
5994-3046KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com