

투과 Raman 분광법을 이용한 염 형태의 불순물을 포함한 와파린 정제에 대한 정량 분석



저자

Julia Griffen
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 투과 Raman 분광법(TRS)을 이용해 20초 측정 시간에 0.5% w/w의 전체 Intact 정제 의약품 내의 와파린에 대해 정량하는 과정을 소개합니다¹. TRS는 시료 전처리 없이 두 가지 형태의 와파린을 구분 및 정량할 수 있습니다. 용매화가 형태 정보를 파괴할 수 있기 때문에 기존 크로마토그래피 기술은 이 점을 실현할 수 없습니다. TRS는 고체 경구 복용약의 함량 균일성 및 다형체 분석에 대한 빠르고 비파괴적인 자동 대규모 빠른 정량 분석을 가능케 합니다.

서론

순수한 와파린은 비정질 나트륨 염(WS) 및 결정형 클라스레이트(WSC) 형태로 존재합니다. 저장되는 동안에, 클라스레이트 형태는 비정질 나트륨 염으로 분리될 수 있으며, HPLC는 이와 같은 변화를 구분할 수 없습니다(두 형태가 모두 실험 결과에 나타남). 정제 내 약리 유효 성분(API)의 개별 형태에 대한 정량은 제품의 중요 품질

속성 중의 일부입니다. 비파괴적이고, 용매를 사용하지 않고, 폐기물을 생성하지 않으며, 적은 인력과 유익한 재료를 사용하는 두 가지 형태를 빠르게 정량하는 분석법을 사용합니다. 본 응용 자료는 가장 낮은 농도(1mg, 0.5% w/w)에서 와파린의 함량 균일성을 측정하고, 이 낮은 농도에서 두 가지 염 형태를 구분하는 방법에 대해 다룹니다.

실험

그림 1은 순수 와파린 형태의 Raman 스펙트럼을 보여줍니다. 두 가지 형태는 매우 유사한 스펙트럼을 가집니다. 미묘한 스펙트럼 차이는 피크 위치 및 강도에서 나타납니다.

- 680cm^{-1}
- 818cm^{-1}
- $1,030\text{cm}^{-1}$
- $1,420\text{cm}^{-1}$
- $1,460\text{cm}^{-1}$
- $1,635\text{cm}^{-1}$



그림 1. 와파린 나트륨 및 와파린 나트륨 클라스레이트 투과 Raman 스펙트럼, 계산된 스펙트럼 차이 표시

농도의 정확한 예측은 모든 제형 변화(구성 성분 및 물리적 요소)를 포함한 실험 계획 (DoE) 절차 후의 검량을 사용합니다. 그림 2에 나와 있듯이, 사용한 주요 변이체는 염료(강한 Raman 기여), 와파린 형태 (0.35~0.71% w/w) 및 유산이었습니다. 19개 검량 시료를 각각 7개의 압축 정제로 전처리하였습니다.

정제를 Beam Enhancer 측정 트레이(그림 3 참조) 내에 위치시켰으며, Agilent TRS100 Raman 의약품 정량 분석 시스템에서 스캔하였습니다. 시료의 수집 설정은 650mW 레이저 출력(830nm)이고 정제당 누적 총 수집 시간은 20초이었습니다.

Beam Enhancer는 정제 표면에서 반사된 레이저 광선을 정제에 다시 회수합니다. 결과적으로 시료를 통과하는 레이저 광선의 양이 더 많아지며, Enhancer가 없을 때보다 더 높은 투과 Raman 강도를 생성하였습니다².

3회 반복 분석을 통해 399개 스펙트럼을 얻었습니다(19개 시료 x 7개 정제 x 3회 스캔).

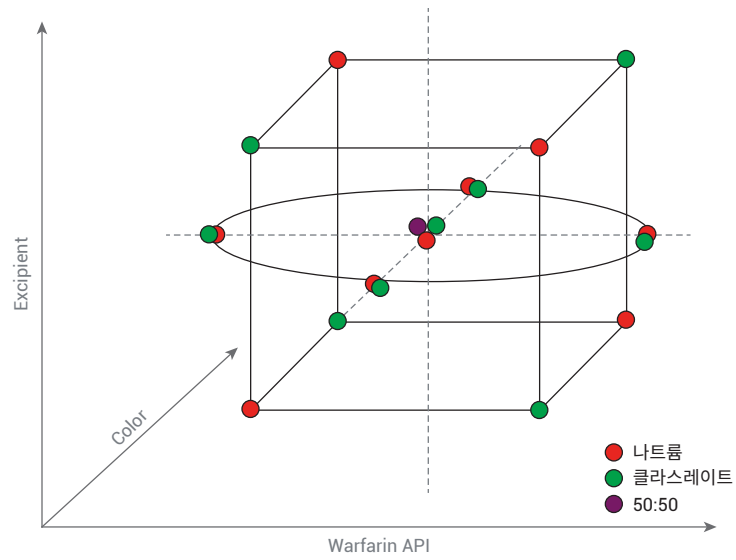


그림 2. 19개 시료의 DoE 중앙 입장체 설계

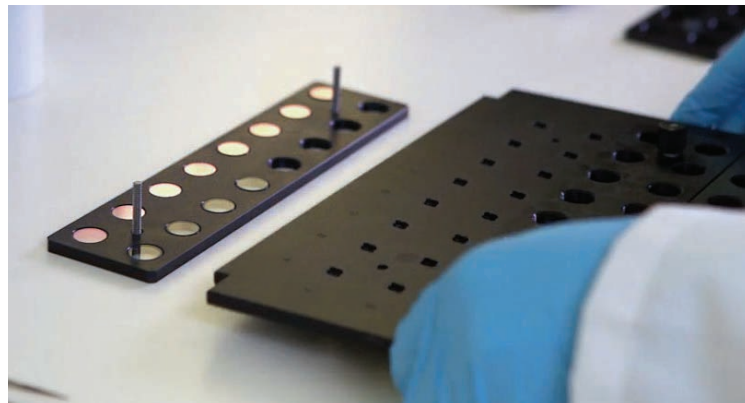


그림 3. Beam Enhancer 트레이 조립

결과 및 토의

그림 4는 검량 스펙트럼 결과를 보여줍니다. 검량 스펙트럼에 대해 베이스라인 및 정규화 교정을 적용한 후에, 와파린 염 농도 변화로 인한 확실한 스펙트럼 차이를 관찰할 수 있었습니다. 그림 5는 약 680cm⁻¹에서의 와파린 피크를 보여줍니다.

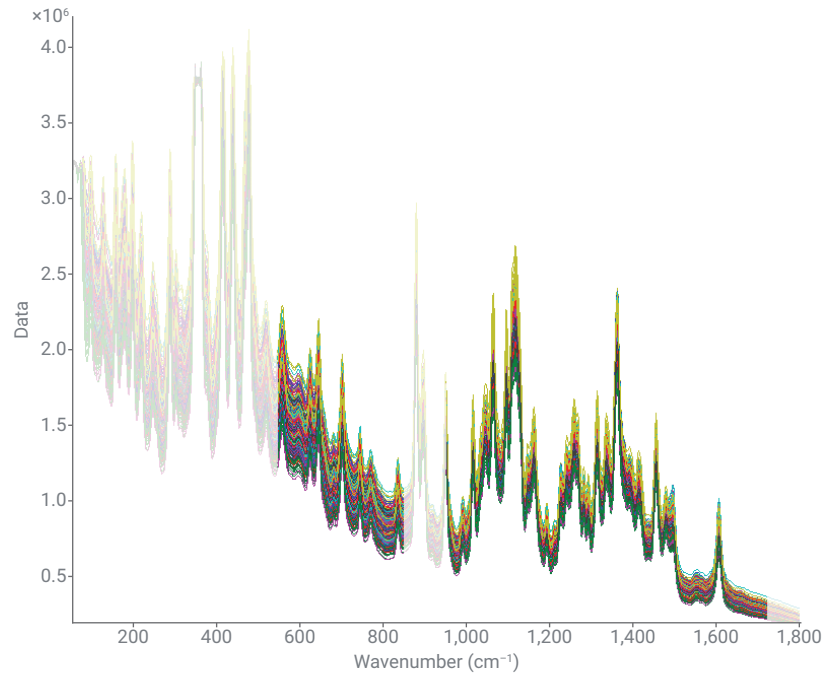


그림 4. 검량 시료의 399개 TRS 스펙트럼, 모델 구축에 사용된 스펙트럼 범위 표시

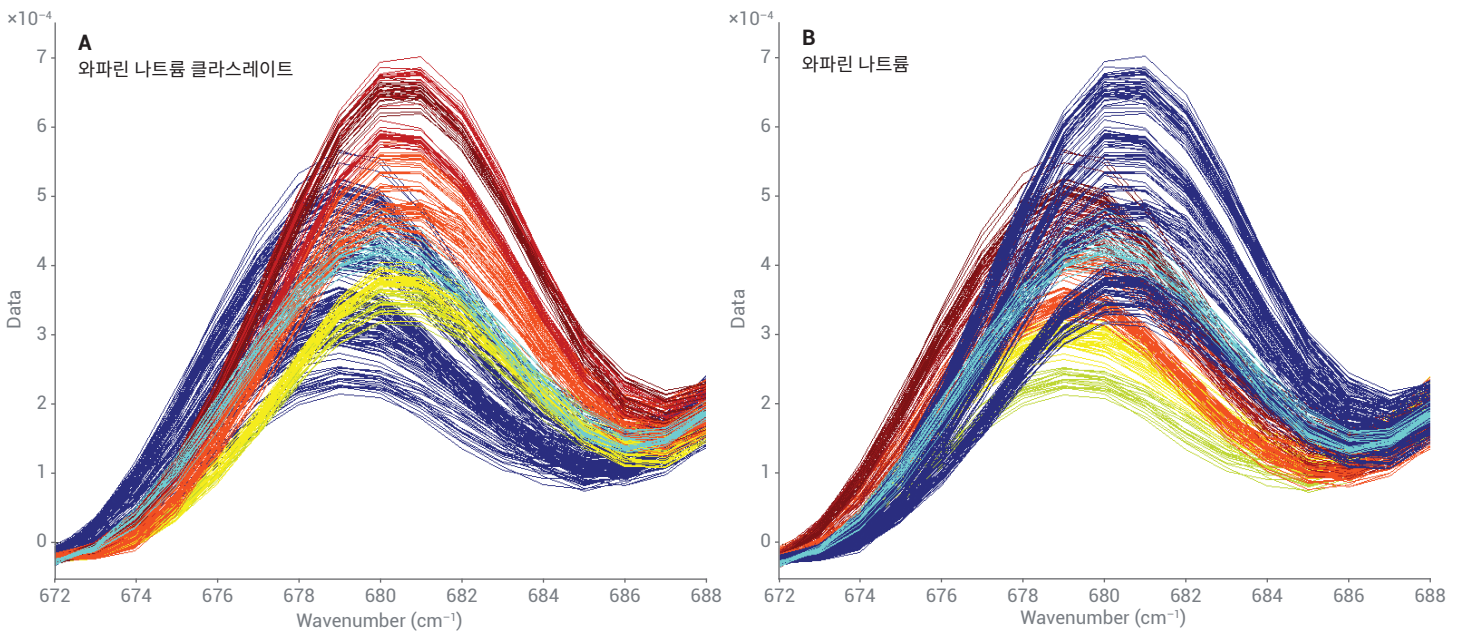


그림 5. 와파린 염 농도에 따라 색상으로 표시된 모든 399개 검량 스펙트럼을 보여주는 스펙트럼 구역 확대도(파란색은 낮은 농도, 빨간색은 높은 농도 표시). A) 681cm⁻¹에서의 피크는 와파린 나트륨 클라세이트의 농도 스펙트럼 변화를 나타냄. B) 679cm⁻¹에서의 피크는 와파린 나트륨의 농도 스펙트럼 변화를 나타냄

그림 6은 검량 스펙트럼을 사용하여 구축한 화학계량학 부분 최소 제곱(PLS) 모델을 보여줍니다. 최적화된 모델 파라미터는 500~850 및 950~1,750cm⁻¹의 스펙트럼 범위에 걸쳐 첫 번째 도함수, 정규화 및 평균 중앙 전처리를 사용하였습니다. R² = 0.99, RMSEC 및 CV = 0.019의 모델 성능은 우수한 모델 특성을 나타냅니다. RMSEC 및 CV는 ±0.019% w/w의 검량 오류를 나타내며, 공칭 농도로 정규화될 경우, 모델 오류는 4%입니다.

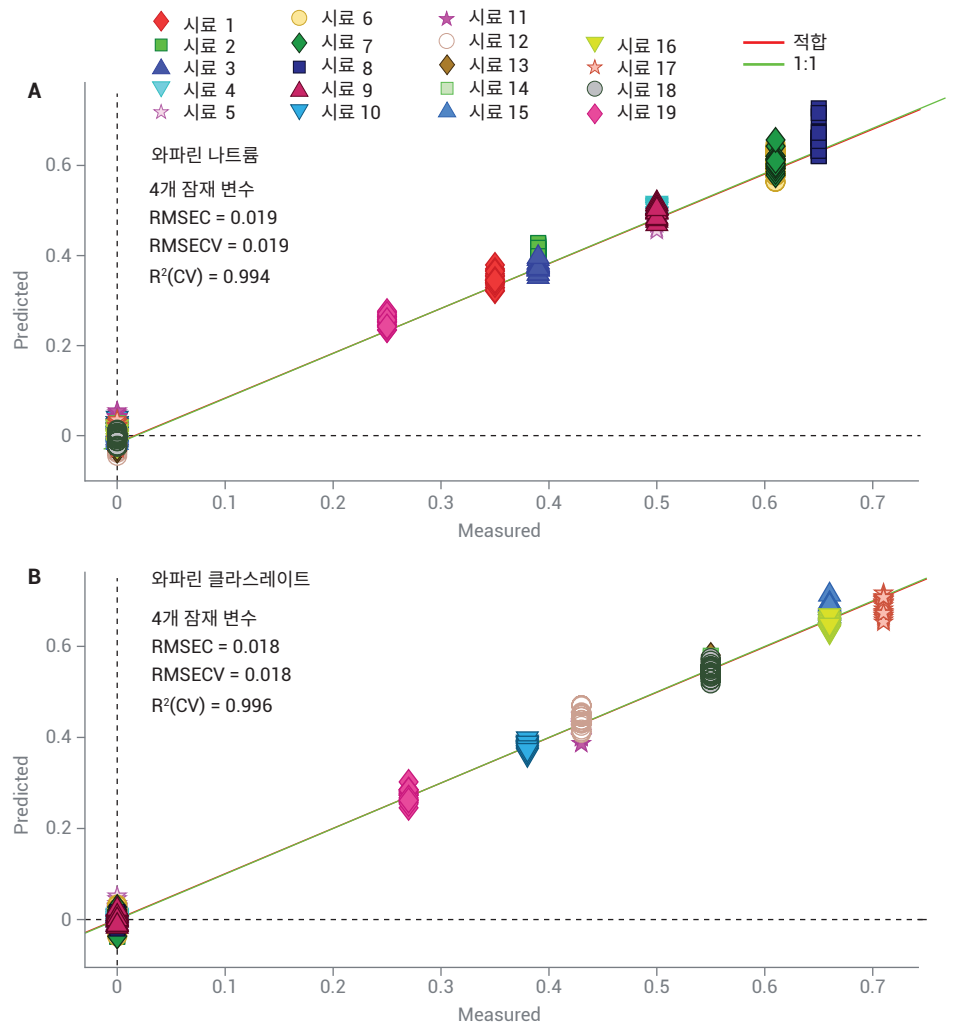


그림 6. 화학계량학 PLS 검량 모델

와파린 나트륨 클라스레이트를 포함하고 있고 와파린 나트륨을 포함하지 않는 것으로 예측된 placebo 시료 및 제품을 사용해 모델을 밸리데이션하였습니다(그림 7). RMSEP 결과는 $\pm 0.026\%$ w/w의 검량 오류를 나타내며, 공칭 농도로 정규화될 경우, 모델 오류는 5%입니다.

결론

이 응용 자료는 전체 Intact 정제 내의 와파린 나트륨 염을 구분하는 능력 뿐만 아니라, 두 형태가 모두 존재한 경우, 가장 낮은 농도 (1mg, 0.5% w/w)에서 정량을 할 수 있는 성능도 입증하였습니다.

배치별 생산 재료의 다양성 및 $1,400\sim 1,700\text{ cm}^{-1}$ 구역의 API와 겹치는 강한 Raman 활성 염료가 존재하기 때문에, 이 정제에 대한 분석은 특히 까다롭습니다. 이 연구의 제한성은 염 형태 혼합물을 포함하는 시료를 사용한 모델의 외부 밸리데이션입니다. 여기에는 더 심층적인 분석법 개발을 필요합니다.

이 작업은 의약품 QC 실험실의 함량 균일성 테스트에 적용할 수 있는 0.5% w/w 와파린 정량 TRS를 사용할 수 있는 능력을 입증합니다. 또한 정제 내 의약품 형태의 효능을 검증하기 위한 두 가지 형태의 정량에도 응용 가능합니다. 다른 응용 분야에는 WSC를 WS로 분해를 검사하기 위한 안정성 테스트 등이 포함합니다.

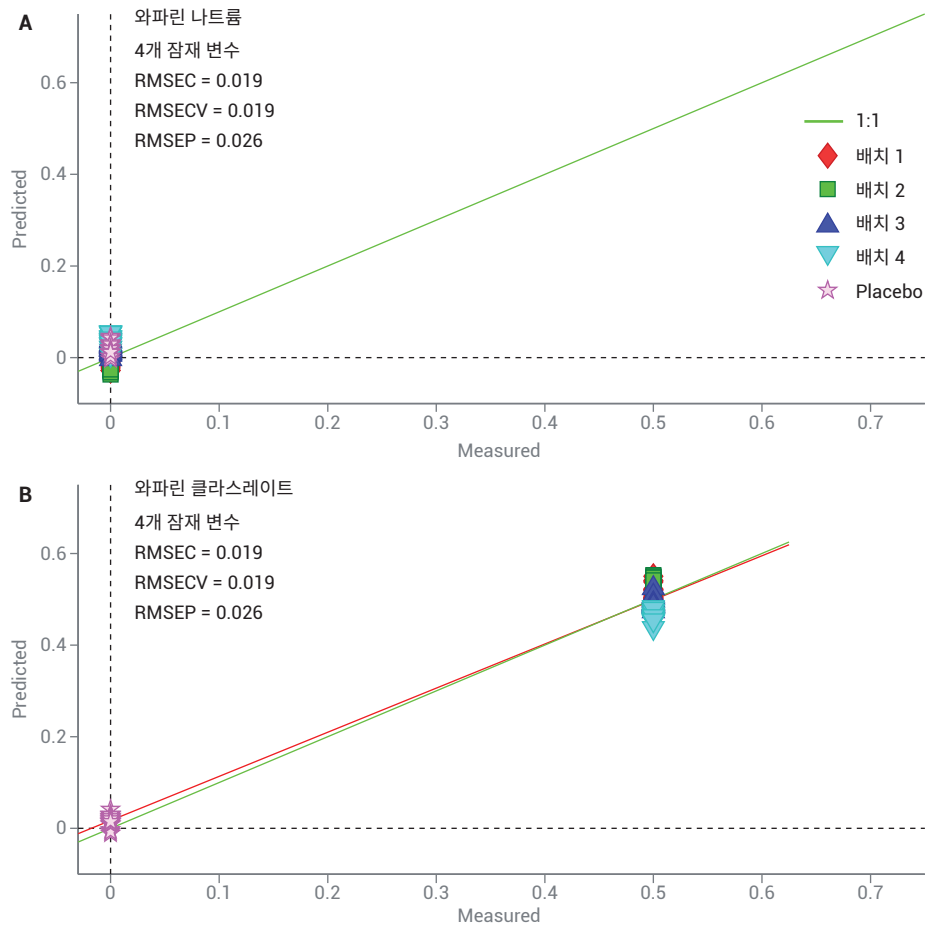


그림 7. 검증 시료, 생산 배치 및 placebo 시료 예측

참고문헌

1. Griffen, J. A.; Owen, A. W.; Matousek, P. Quantifying low levels (<0.5% w/w) of warfarin sodium salts in oral solid dose forms using Transmission Raman spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2018**, *155*, 276–283.
2. Matousek, P. Raman signal enhancement in deep spectroscopy of turbid media. *Appl. Spectrosc.* **2007**, *61*, 845–854.

www.agilent.com/chem/raman

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 5월 13일, 한국에서 인쇄
5994-0904KO

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