

## HPLC에 의한 Dexibuprofen의 광학순도 모니터링

류재정\* · 전미경\* · 허규성<sup>‡</sup> · 김정아<sup>‡</sup> · 황정구<sup>§</sup> · 문귀임<sup>§</sup> · 오현숙<sup>§</sup>

경북대학교 화학교육과

<sup>†</sup>경산고등학교

<sup>‡</sup>LG 필립스 LCD

<sup>§</sup>경북대학교 대학원

<sup>§</sup>한국 식품의약품 안전청

(2004. 12. 1 접수)

## Monitoring of the Optical Purity for Dexibuprofen by HPLC

Jae Jeong Ryoo\*, Mi-kyeong Jeon<sup>†</sup>, Kyu Seong Huh<sup>‡</sup>, Jeong-A Kim<sup>‡</sup>, Jeong Gu Hwang<sup>§</sup>,  
Gwi Im Mun<sup>§</sup>, and Hyeon Suk Oh<sup>§</sup>

*Department of Chemistry Education, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea*

*<sup>†</sup>Gyeongsan High School, Gyeongsan 712-120, Korea*

*<sup>‡</sup>LG Philips LCD, Gumi 730-726, Korea*

*<sup>§</sup>Department of Chemistry, Graduate School, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea*

*<sup>§</sup>Korea Food and Drug Administration, Daegu 704-928, Korea*

(Received December 1, 2004)

**요 약.** 키랄 의약품들의 두 거울상 이성질체들은 종종 서로 다른 약리작용을 보여준다. 비스테로이드계 진통소염제인 이부프로펜은 하나의 키랄 중심을 갖는 키랄 의약품으로서, (S)-이부프로펜(덱시부프로펜으로 불림)이 (R)-이성질체 보다 효과적이며, 최근 우리나라에서 이 덱시부프로펜이 상용화되었다. 본 연구에서는 Chiralcel OD 칼럼을 키랄 정지상으로 그리고 헥산, 이소프로판올, 초산의 100:1:0.1 혼합용액을 이동상으로 사용하여 국내에서 상용화된 16개의 덱시부프로펜 시료의 광학순도를 조사하였다. 실험 결과 대부분 99% 이상의 높은 광학순도를 보여주었으며, 이때 상대표준편차도 상당히 작은 값을 보였다.

**주제어:** 키랄 의약품, 이부프로펜, 덱시부프로펜, HPLC 분리, 상대표준편차, 광학순도

**ABSTRACT.** Two enantiomers of chiral drugs often differ substantially in their pharmacological, toxicological pharmacokinetic profile. Ibuprofen is a nonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID) and has a chiral center. Between the two enantiomers of ibuprofen, (S)-ibuprofen (called dexibuprofen) is more effective, and the more active dexibuprofen was commercialized in our country recently. In this study, the optical purity of sixteen commercialized dexibuprofens prepared from nine Korean drug companies were examined by an optimized chiral HPLC condition. The Chiralcel OD column was used as a chiral stationary phase and the mixed eluent of hexane, isopropanol, and acetic acid as 100 : 1 : 0.1 was used as a mobile phase with a flow rate of 1.0 mL/min. Each data was obtained from an average value of at least three different experiments for each sample and the relative standard deviation of them appeared very small. Optical purity values of most commercialized dexibuprofens used in this study were higher than 99 percents.

**Keywords:** Chiral Drugs, Ibuprofen, Dexibuprofen, HPLC Separation, Relative Standard Deviation, Optical Purity

## 서 론

키랄 화합물을 구성하는 두 개의 거울상 이성질체 중 하나의 거울상 이성질체만이 원하는 생리활성을 나타내고 다른 거울상 이성질체는 원하지 않는 활성을 나타내는 경우가 많다.<sup>1,2</sup> 비마약성, 비스테로이드계 진통소염제로 현재 널리 이용되고 있는 2-arylpropionic acid 계통의 화합물들은 (S)-이성질체가 주된 약리작용을 나타내며, (R)-이성질체의 경우, 체내 대사과정에서 (S)-이성질체로 전환되는 과정에서 간장장애(hepatotoxicity)를 유발하는 것이 많이 알려져 있다.<sup>3</sup> 그러나 많은 의약품들은 순수한 광학 이성질체만을 포함하는 제품으로 얻는 것이 어렵기 때문에 이성질체들이 혼합된 라세미 혼합물로 사용되는 실정이다.

본 연구의 실험 대상 물질인 (R,S)-이부프로펜[(±)-(R,S)-2-(4-isobutyl phenyl) propionic acid](Fig. 1)은 대표적인 비스테로이드 계통의 진통 및 소염제로서 류마티즘, 암 등의 진통제 외에 여러 가지 용도로 널리 사용되는 치료약이다.<sup>4</sup> 이부프로펜(ibuprofen)의 순수한 (S)-이성질체가 라세미 이부프로펜에 비해 우수한 약리 효능을 나타내므로 라세미 형태의 이부프로펜을 분리하는 것이 필요하다.<sup>4</sup> 이부프로펜은 많은 나라에서 라세미 혼합물 상태로 시판되고 있으나 국내에서는 광학적으로 순수한 (S)-이성질체가 이미 시판되고 있다. 따라서 국내에서 시판되는 (S)-이부프로펜(덱시부프로펜)의 품질을 확인하여 양질의 의약품을 생산토록 유도하기 위해서는 이들 의약품의 신속하고 정확한 광학순도 모니터링이 필요하다.

광학이성질체의 광학순도를 측정하는 방법으로는 편광을 이용하는 방법<sup>5</sup>과 NMR을 이용하는 방법,<sup>6</sup> 크로마토그래피를 사용하는 방법 등이 있다.<sup>8</sup> 그러나 편광이나 NMR을 이용하는 방법은 오차범위가

넓어 정밀측정이 어려우며, 크로마토그래피법은 측정이 간편하고 정밀하기 때문에 많이 사용된다. 본 연구와 유사한 연구로서 이부프로펜과 같은 아릴프로피온산 계열의 비스테로이드성 소염진통제(NSAID)를 다양한 키랄 유도체화 시약으로 유도체화 한 상태에서 간접법으로 시행한 예가 많고,<sup>9,10</sup> 몇몇 키랄 칼럼 제조 회사에서 유도체화하지 않은 몇몇 비스테로이드계 소염진통제(NSAID)들을 분리한 예를 보고한 바도 있다.<sup>11,12</sup> 본 연구에서는 Chiralcel OD 칼럼을 키랄 정지상으로 그리고 핵산, 이소프로판올, 초산의 100:1:0.1 혼합용액을 이동상으로 사용하여 국내에서 상용화된 16개의 덱시부프로펜 시료의 광학순도를 조사하였다. 그리고 이때 각 시료들을 각각 3회 이상 분석하여 각 광학순도 배이타들의 상대 표준편차(relative standard deviation; RSD) 값도 구하였다.

## 실 험

### 기기 및 시약

본 실험에서 사용된 HPLC기기의 펌프는 JASCO사(일본)에서 제조된 PU-2080 Plus Intelligent HPLC Pump를 사용하였고, 자외선 검출기로는 JASCO사에서 제조된 UV-2075 Plus Intelligent UV/Vis Detector, 광회전도 검출기로는 JASCO사에서 제조된 OR-2090 Plus Chiral Detector를 사용하였다.

Merck사(독일)의 HPLC급 핵산, 이소프로판올을 이동상으로 사용하였고, 초산 등 그 밖의 시약은 Aldrich사(미국)로부터 구입한 등급 시약을 사용하였다. 시료로는 시판 중인 9개 제약회사의 덱시부프로펜 제제 16종을 구입하여 시료명을 각각 A1-A16으로 나타내었고, 이때 각 시료별 제조사명의 영문이름 첫 한 두 글자를 괄호에 옮기면 다음과 같다. A1(S), A2-A3(HL), A4-A5(J), A6-A7(D), A8(HB), A9(T), A10(K), A11-A14(A), A15-A16(HP). HPLC 분석용 시료를 제조하기 위하여 먼저 300 mg의 시료를 취하고, 이들을 각각 잘 과수가 3N HCl 100 mL와 100 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 녹인 후, 유기층에서 추출하였다. 추출한 용액내 물을 무수 MgSO<sub>4</sub>로 제거시킨 후 농축하고, 일회용 스프레이에 실리카겔을 채워 제작한 short path column을 통과시켜 강하게 머무는 화학종을 제거한 용액을 시료 용액으로 사용하였다.

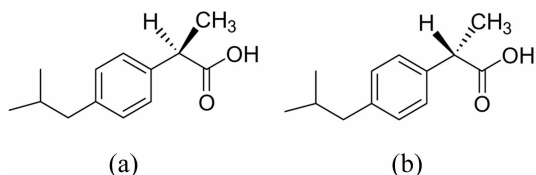


Fig. 1. Structure of (R)- and (S)-ibuprofen. (a) (R)-ibuprofen (b) (S)-ibuprofen (dexibuprofen).

## 키랄 HPLC 실험

### 라세미 이부프로펜의 분리 확인

키랄 칼럼 제조회사의 자료를 토대로 일본 Daicel사에서 제조된 Chiralcel OD 칼럼을 라세미 이부프로펜의 분리용 키랄 칼럼으로 사용하였고, 분리 확인 및 분리순서 확인용 시료로는 Aldrich사에서 구매한 광학적으로 순수한 것과 라세미 형태의 이부프로펜을 각각 순도 99%의 것을 구매하여 실험에 이용하였다. 전개용매로는 헥산 : 이소프로판올 : 초산의 100 : 1 : 0.1 혼합 용액을 사용하였고, 용매 흐름속도는 1.0 mL/min으로 실험하였으며, 시료주입량은 10  $\mu$ L, 검출기의 UV 흡광영역은 254 nm을 이용하였다.

### 덱시부프로펜의 광학 순도 측정

라세미 이부프로펜의 광학분할에 사용된 분석조건을 사용하여 16종의 덱시부프로펜 시료들을 각각 3회 이상 분석하여 그 결과에 대한 평균값으로, 광학순도 값을 얻었고, 이때 그 값들에 대한 상대 표준편차 값을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

### 라세미 이부프로펜의 분리 확인

라세미 이부프로펜의 분리에 효과적인 분석조건을 결정하기 위하여 키랄 칼럼 제조회사들의 라세미 이부프로펜 분리 예시들을 조사하여 실제 실험을 실시한 결과 각 칼럼 제조회사에서의 분석 결과와 적지 않은 차이가 나타났다. 이러한 차이점은 본 연구실에서 보유하고 있는 상업용 키랄 칼럼의 변질이 주된 원인으로 생각되었지만 간혹 제조사의 응용 자료보다 더 좋은 결과를 얻은 식도 있는 이전의 경험으로 볼 때 제조사들의 분석 자료들은 그대로 믿기보다 실제 확인이 필요하다. 분석결과 Chiralcel OD 칼럼을 사용하여 이동상으로 헥산 : 이소프로판올 : 초산의 100 : 1 : 0.1 혼합 용액을 사용하였을 때 기준선 분리가 잘 이뤄지는 것을 확인하였다(Fig. 2).

한편, 크로마토그램 상의 두 이성질체의 절대배열을 결정하기 위해 광학적으로 순수한 물질로 절대배열을 조사한 결과 14.47 min에 (R)-이부프로펜이, 15.92 min에 (S)-이부프로펜이 깨끗이 분리됨을 확인 할 수 있었다.

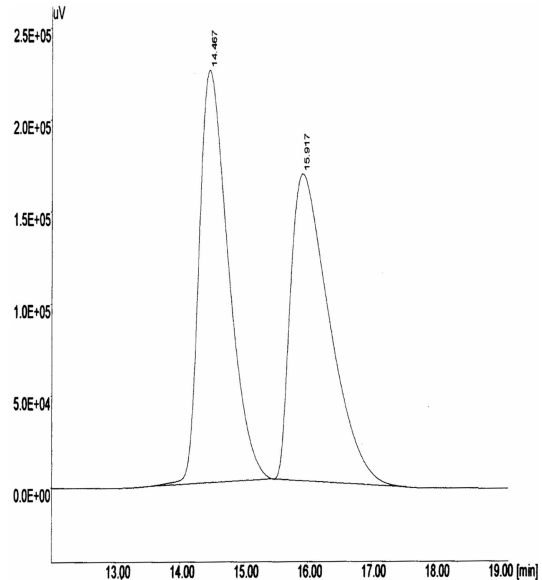


Fig. 2. Separation of racemic ibuprofen on Chiralcel OD Column, Mobile phase; hexane : isopropanol :  $\text{CH}_3\text{COOH}$  = 100:1:0.1, Flow rate; 1.0 mL/min.

### 시판되는 덱시부프로펜 시료들의 광학순도 모니터링

현재 국내에서 판매되고 있는 덱시부프로펜 의약품들의 광학순도를 측정하기 위하여 9개 제약회사 16개의 덱시부프로펜을 입수하여 유기층에서 추출한 후 유도제화 과정 없이 직접 시료로 사용하였다. 키랄 칼럼은 Chiralcel OD column을 이용하였고, 이동상으로 헥산 : 이소프로판올 : 초산의 100 : 1 : 0.1 혼합 용액을 사용하였으며, 이때 용매 흐름속도를 1.0 mL/min으로 하였다. 각 시료들을 각각 3회 이상씩 크로마토그래피 분석을 실시하여 크로마토그램 상의 면적 비를 토대로 그 평균값을 구하였다. 16개의 시료를 분석한 데이터 중에서 높은 광학순도와 낮은 광학순도를 보인 두 개의 시료에 대한 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다.

Fig. 3의 (a)는 시료 A7을 3회 측정 한 것 중의 하나를 나타낸 것이고, (b)는 시료 A16을 3회 측정 한 것 중의 하나를 나타낸 크로마토그램이다. Fig. 3(a)에서 볼 수 있듯이 14.83 min에 (R)-이부프로펜이, 16.16 min에 덱시부프로펜이 각각 0.07 : 99.91로 분리되어 99.8%의 광학순도를 보였다. 또한 다른 두 번의 데이터에서도 R : S 이성질체의 비율이 각각 0.08 : 99.92, 그리고 0.07 : 99.93로 나타나 이들의 상대 표준편차가

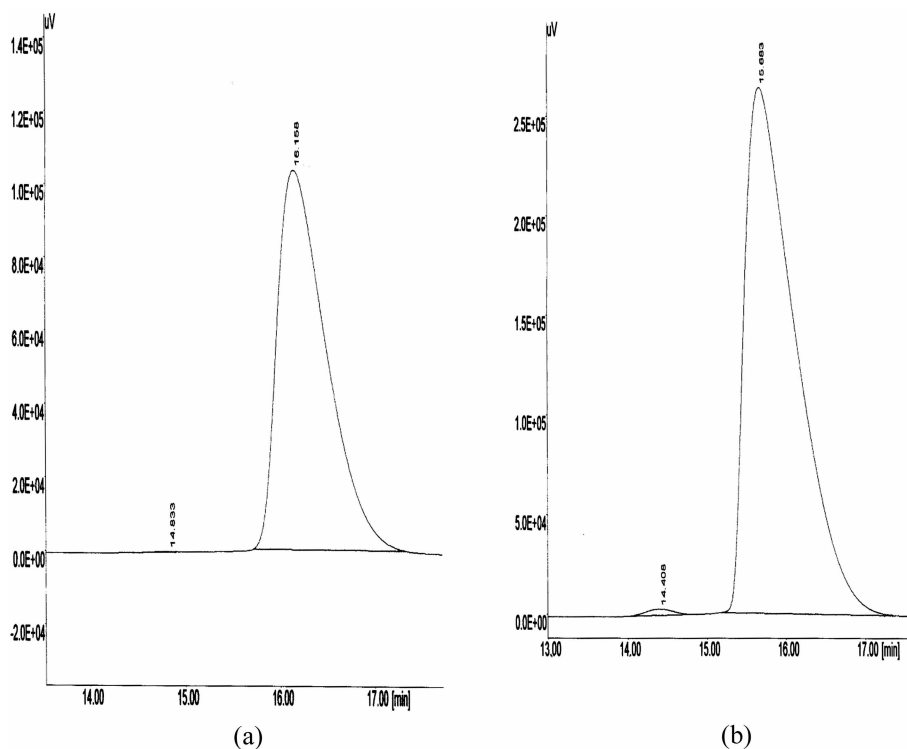


Fig. 3. Examples for separation of dexibuprofen samples on Chiralcel OD column. (a) Sample A7 (b) sample A16. Eluent; hexane : isopropanol :  $\text{CH}_3\text{COOH}$ =100:1:0.1, Flow rate; 1.0 ml./min, injection volume; 10  $\mu\text{l}$ ., Detection; UV 254 nm.

Table 1. Optical purity data of commercially available dexibuprofens

Sample <sup>1</sup>	Average <sup>2</sup>	Enantiomeric excess	RSD
A1	0.51 : 99.49	99.0%	3.6%
A2	0.36 : 99.64	99.3%	3.1%
A3	0.47 : 99.53	99.1%	2.4%
A4	0.41 : 99.59	99.2%	4.0%
A5	0.42 : 99.58	99.2%	1.7%
A6	0.26 : 99.74	99.5%	1.5%
A7	0.08 : 99.92	99.8%	0.7%
A8	0.45 : 99.55	99.1%	4.2%
A9	0.64 : 99.36	98.7%	0.6%
A10	0.68 : 99.32	98.6%	3.0%
A11	0.17 : 99.83	99.7%	1.2%
A12	0.27 : 99.73	99.5%	4.8%
A13	0.42 : 99.58	99.2%	0.6%
A14	0.34 : 99.66	99.3%	1.1%
A15	0.62 : 99.38	98.8%	3.4%
A16	0.61 : 99.39	98.8%	1.7%

<sup>1</sup>See experimental part

<sup>2</sup>Average ratio of (R)-isomer : (S)-isomer

0.7%로 아주 작은 값을 보여서 정밀한 광학순도 값을 보여주었으며, 실험결과 얻은 A7의 평균 광학순도는 99.8%이었다. 또한 Fig. 3(b)에서 보여진 바와 같이 14.41 min에 (R)-이부프로펜이, 15.68 min에 텍시부프로펜이 각각 0.62 : 99.38으로 분리되어 98.8%의 광학순도를 보였다. 또한 다른 두 번의 데이터에서도 R : S 이성질체의 비율이 각각 0.62 : 99.38, 그리고 0.59 : 99.41로 나타나 이들의 상대 표준편차가 1.7%로 비교적 작은 값을 보여서 정밀한 광학순도 값을 보여주었으며, 실험결과 얻은 A16의 평균 광학순도는 98.8%이었다. 이와 같은 방법으로 구한 16개 시료들의 분석 결과를 Table 1에 정리하였다.

Table 1에서 볼 수 있듯이 98.6-98.8%의 광학순도를 보인 A9, A10, A15, A16 4개의 시료를 제외한 모든 시료들의 광학순도가 99% 이상의 아주 높은 값을 보였다. 이때 상대 표준 편차(RSD)로 조사한 이 모든 데이터들의 측정오차도 0.6-4.8% 대로 상당히 낮은 값을 보여 측정 데이터들의 신뢰도가 매우 높을 알 수 있다.

## 결 론

국내에서 시판되고 있는 광학 이성질의약품 덱시부프로펜의 광학순도를 측정하기 위하여 키랄 칼럼 제조회사들의 자료를 토대로 덱시부프로펜의 거울상이성질체 혼합물인 이부프로펜의 광학분리를 실시하여 기준선 분리가 되는 분석 조건을 확인하였다. 이 분석 조건을 이용하여 국내 9개 제약회사에서 제조한 16개의 덱시부프로펜 시료의 광학순도를 크로마토그램상에서 피크의 면적비로 계산한 결과, 우리나라에서 시판되고 있는 덱시부프로펜을 원료로 하는 대부분의 의약품들이 99.0% 이상의 광학순도를 보여주고 있음을 확인할 수 있었다. 이때 실험 결과와 함께 얻은 각 측정값들의 상대 표준편차도 5.0% 미만의 작은 값을 보여주었으므로 실험방법에 대한 신뢰성도 매우 큼을 알 수 있었다.

본 연구를 통해 키랄 HPLC 방법을 이용하여 국내에서 생산 중인 덱시부프로펜의 광학순도 모니터링을 손쉽게 할 수 있음을 보여주었고, 연구결과 우리나라에서 생산되는 덱시부프로펜의 광학순도는 매우 높은 것으로 판명되었다. 따라서 본 연구는 양질의 덱시부프로펜 생산을 유도하는 데 기여할 수 있고, 나아가서 양질의 키랄 의약품을 개발하고, 생산하는 데에 적잖은 도움이 될 것으로 믿는다.

본 연구는 식품의약품안전청의 지원으로 수행되었습니다.

## 인 용 문 헌

1. Tan, S. C.; Jackson, S. H. D.; Swift, C. G.; Hutt, A. J. *J. Chromatography B* **1997**, *701*, 53.
2. Wnendt, S.; Finkam, M.; Winter, W.; Ossig, J.; Raabe, G.; Zwingenberger, K. *Chirality* **1996**, *8*, 390.
3. Marshall, E. *Science* **1985**, *229*, 1071.
4. Hutt, A. J.; Caldwell, J. J. *Pharm. Pharmacol.* **1983**, *35*, 693.
5. Shen, T. Y.. *Burger's Medicinal Chemistry*, 4th ed., Part III, Wiley-Interscience, New York, pp 1205-71.
6. Urbanova, M.; Setnicka, V.; Volka, K. *Chirality* **2000**, *12*, 199.
7. Wenzel, T.; Wilcox, J. *Chirality* **2003**, *15*, 256.
8. Perry, J.; Rateike, J.; Szczerba, T. *J. Chromatography A* **1987**, *389*, 275.
9. Davies, N. M. *J. Chromatogr. B* **1997**, *691*, 229.
10. Kaiser, D. G.; Giessen, G. J. V. *J. Pharm. Sci.*, **1974**, *63*, 219.
11. Asami, M.; Nakamura, K. I. *Chirality* **1995**, *7*, 28.
12. <http://www.registech.com/chiral/applications/lbuprofen.htm>.
13. [http://www.astecusa.com/applications/result\\_Mod.asp](http://www.astecusa.com/applications/result_Mod.asp).
14. <http://www.daicel.co.jp/chiral/application/main/0155.html>.