

근적외 분광분석법을 이용한 나프록센 정제의 정량분석

김도형 · 우영아 · 김효진[#]

동덕여자대학교 약학대학

(Received May 6, 2004; Revised January 12, 2005)

Quantification of Naproxen in Pharmaceutical Formulation using Near-Infrared Spectrometry

Do Hyung Kim, Young Ah Woo and Hyo Jin Kim[#]

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Wolgok-Dong 23-1, Sungbuk-Gu, Seoul 136-714, Korea

Abstract — Near-infrared (NIR) spectroscopy has been widely applied in various field, since it is nondestructive and no sample preparation is required. In this paper, NIR spectroscopy was used for the determination of naproxen in a commercial pharmaceutical preparation. NIR spectroscopy was used to determine the content of naproxen in intact naproxen tablets containing 250 mg (65.8% nominal concentration) by collecting NIR spectra in the range of 1100~1750 nm. The laboratory-made samples had 46.1~85.5% nominal naproxen concentration. The measurements were made by reflection using a fiber-optic probe and calibration was carried out by partial least square regression (PLSR). Model validation was performed by randomly splitting the data set into calibration and validation data set (63 samples as a calibration data set and 42 samples as a validation data set). The developed NIR calibration gave results comparable to the known values of tablets in a laboratorial manufacturing process with standard error of calibration (SEC) and standard error of prediction (SEP) of 1.06% and 1.04%, respectively. The NIR method showed good accuracy and repeatability. NIR spectroscopic determination in intact tablets allowed the potential use of real time monitoring for a running production process.

Keywords □ near-infrared spectroscopy, naproxen, partial least square regression

나프록센은 비스테로이드성 소염진통제(Non-steroidal anti-inflammatory drugs)로서 류마티스성 관절염, 강직성 척추염, 골관절염(퇴행성 관절질환), 급성통풍성 관절염 등에 사용한다. 나프록센의 정량에는 액체크로마토그래프법을 사용하고 있으나 시료의 전처리 시간이 긴 단점이 있다. 근적외 분광분석법을 도입함으로써 이러한 단점을 보완함과 동시에 실시간 분석이 가능하게 되어 보다 신속하고 효율적인 분석을 할 수 있으며, 기존의 분석법에 비해 시약 및 용매 등을 거의 필요로 하지 않는다. 또한 근적외 분광분석법은 시료의 조제가 간편하고, 신속한 측정 및 다성분의 동시분석과 반복측정이 가능한 비파괴적 분석 방법이다.

이러한 이점이 있기 때문에 근적외 분광분석법을 이용하여 여러 가지 제형에서 활성 성분 및 부형제를 분석하는 연구가 계속되고 있으며, 최근에는 단순히 분말 형태의 검체를 실험하는 것

이 아니라 정제를 비파괴적으로 분석하는 방법에 관한 연구가 진행되고 있다. 스페인의 Blanco는 다양한 의약품을 대상으로 산제나 정제의 확인 및 정량에 관한 연구를 진행하였다. 검체를 반사 모드로 측정하였고 PLSR로 정량 모델을 개발하였다. 또한 library의 correlation coefficient와 maximum distance를 이용하여 미지검체를 확인하였다. 이 두 방법 모두 주성분 공간에서 표준 스펙트럼의 평균 스펙트럼과 미지 스펙트럼의 거리를 사용하였다.¹⁻⁵⁾ 영국의 Moffat은 근적외 분광분석법을 이용하여 주로 정제의 주성분을 분석하였다. 그 외에도 정제를 근적외 분광분석법으로 측정할 때의 최적 검체 측정 상태를 구축하기 위해 부형제를 측정할 때의 검체 컵의 지름, 검체 두께, 검체 컵 소재 등을 조사하였고 정제를 투과 및 반사 모드로 측정하는 등의 노력을 하였다. 그리고 이를 바탕으로 의약품의 근적외정량분석법 검증에 관한 ICH(International Conference on Harmonization) 가이드라인을 제시하였다. 이 때 Moffat은 Blanco와 마찬가지로 PLSR, Multiple Linear Regression(MLR), correlation coefficient, maximum distance 등의 정량, 정성 분석 알고리즘을 사용하였다.⁶⁻¹⁰⁾

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4525 (팩스) 02-943-9578
(E-mail) hyojkim@dongduk.ac.kr

본 연구에서는 근적외 분광분석법을 나프록센 정제의 주성분 함량시험에 응용하는 것을 목적으로 휴대용 분광분석기를 이용하여 스펙트럼을 신속히 수집하고 정량 모델을 만든 후 그 정량 모델의 검증을 실시하였으며 일상분석을 통하여 실제적인 적용의 가능성을 살펴보았다.

실험 방법

시료

의약품의 정량 모델을 구축하기 위한 시료로 나프록센 정제를 선택하였다. 나프록센 정제(380 mg)는 주성분인 나프록센을 65.8%, 부형제인 유당과 젤라틴화 옥수수전분을 각각 19.4%, 10.0% 가량 함유하며 결합제인 폴리비닐 피롤리돈과 봉해제인 크로스카멜로스 나트륨 그리고 활택제인 스테아린산 마그네슘을 소량 함유하도록 하였다. 주성분의 정량을 위해 나프록센의 함량 250 mg에 대해 85%~115%가 되도록 혼합하였다. 실험에 사용한 나프록센과 기타 첨가제들은 제약급 원료의약품을 사용하였다. 정량 모델 작성을 위해 7가지 주성분 함량 당 15정씩 105정을 타정하고, 분석법의 검증을 위해 각 함량별로 2정씩 총 14정을 타정하여 총 119개의 정제시료를 준비하였다.

기기 및 측정 방법

나프록센의 측정에는 근적외선 분광광도계(Handheld HN1100, SpectronTech Co., Ltd, Korea)를 이용하였다. 근적외분광분석의 측정은 ChemoHN1100(SpectronTech Co., Ltd, Korea)을 이용하여 기록하였고 수집한 스펙트럼을 Unscrambler v7.5(CAMO ASA, Norway)를 사용하여 PLSR로 다변량 분석하였다. 본 연구에서는 광섬유 프로브(microParts, Germany)를 사용하여 확산반사 모드로 시료를 측정하였다(Fig. 1).

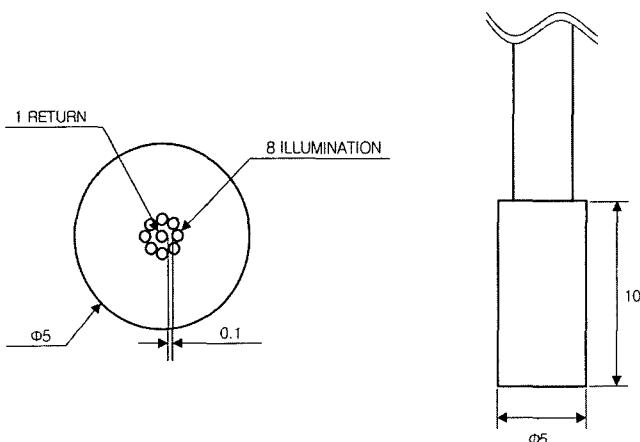


Fig. 1 – Schematic diagram of fiber optic probe.

분말상 나프록센 및 첨가제를 사용한 기초실험

타정하기 전의 분말을 막자와 막자사발을 이용하여 충분히 혼합하고 vortex mixer로 10분 동안 혼합한 후 스펙트럼을 수집하였다. 이 스펙트럼은 1100~1750 nm의 파장 범위에서 매 회 30번 측정하여 이것을 평균 내어 얻어졌고 스펙트럼 당 2 nm 간격으로 326 data point를 수집하였다.

나프록센 정제를 사용한 정량분석

타정한 나프록센 정제는 원형의 흰색 정제이다. 광섬유 프로브에 정제를 고정할 수 있는 holder를 끼워 효과적으로 측정할 수 있도록 하였다. 측정조건은 분말 실험과 같이 하였다. 모델 작성을 위한 105개의 정제 중에서 정량 모델 개발에 63개, 개발한 정량 모델의 검증을 위해서 42개를 무작위로 선택하여 사용하였다.

분석법의 검증

정량법의 검증에 필요한 항목들에 관한 실험을 실시하였다. 본 연구에서 개발한 나프록센 정제의 나프록센 주성분 분석법에 대해 정밀도와 정확도에 관한 실험을 적용시켰다.

정밀도를 측정하기 위해 반복성 시험을 하였으며 변동계수(coefficient of variation, CV)를 중심으로 검토하였다. 반복성 시험은 일정한 시간을 두고 동일한 실험자가 같은 시료에 대해 6회 반복 시험하여 변동계수를 계산하였다.

정확도 시험은 모델의 개발이나 검증에 사용하지 않은 새로운 14개의 시료에 대해 기존 값과 근적외 분광분석법 실험값을 비교하였다. 근적외 분광분석법에 의한 값과 기존 값을 쌍체비교(paired t-test)하여 두 실험 방법에 의한 결과 간에 유의성 있는 차이가 있는지 검토하였다.

실험결과 및 고찰

분말상 나프록센 및 첨가제를 사용한 기초실험

나프록센 및 첨가제의 피크를 확인하기 위해서 순수한 분말 상태의 물질을 각각 측정하였다. 나프록센과 주요 첨가제의 구조적인 차이를 Fig. 2에 나타내었다. 유당과 전분에는 없는 방향족 고리가 나프록센 구조에 존재하는 것을 확인할 수 있다. Fig. 3은 나프록센과 기타 첨가제의 분말 스펙트럼으로, 분말에 의한 광의 산란을 Multiplicative scatter correction(MSC)로 보정하여 비교가 쉽도록 하였다. 각 의약품 원료는 유판으로는 큰 차이가 없으나 근적외 분광분석법으로 측정한 스펙트럼에는 현저한 차이가 나타났다. Fig. 4에서는 스펙트럼상의 미세한 피크들을 확인하기 쉽도록 이차 미분하였다. 가장 주목할 만한 나프록센 피크는 1670 nm에서 나타나는데 이 피크는 방향족 고리의 CH 신축으로 인한 전동 에너지의 흡수에 기인한 것이다.

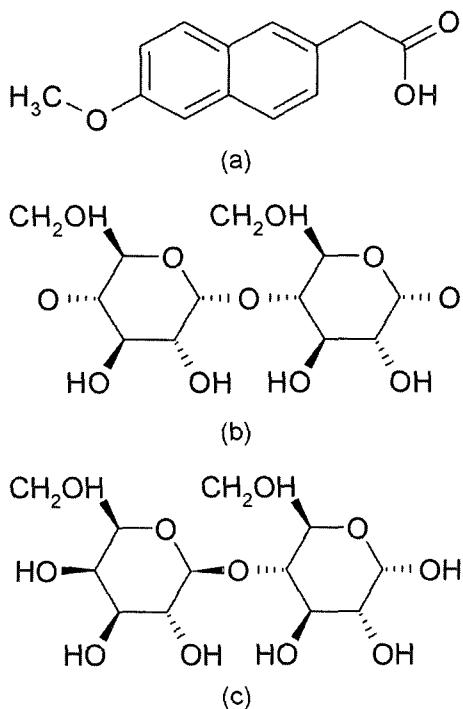


Fig. 2 – Structures of naproxen (a), starch (b) and lactose (c).

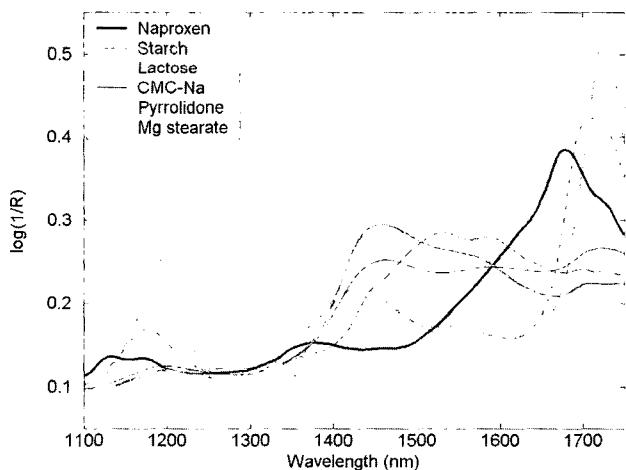


Fig. 3 – Multiplicative scatter correction (MSC) modified NIR spectra of naproxen and excipients in powder form.

나프록센 정제를 사용한 정량분석

Fig. 5는 나프록센 함량을 85~115%가 되도록 조절하여 타정한 정제들을 측정한 스펙트럼이다. 정제를 측정한 스펙트럼에서는 산란에 의한 바탕선의 상승이 두드러지는데 그 이유로는 분말의 압착 정도가 다른 점과 표면이 완만한 곡선을 이루고 있어 광섬유 프로브와 완전한 접촉이 힘들었던 점을 들 수 있다. 이러한 산란에 의한 바탕선의 상승은 MSC와 미분법으로 제거할 수 있다. 미세한 피크들을 관찰하기 위해서 Fig. 5의 스펙트럼을 평

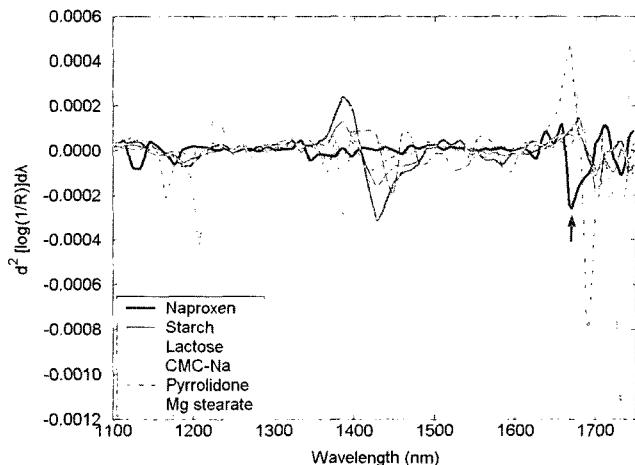


Fig. 4 – Second NIR derivative spectra of naproxen and excipients in powder form.

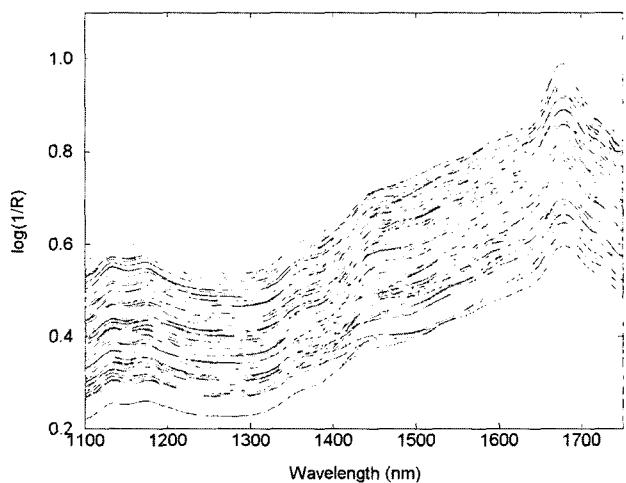


Fig. 5 – Raw NIR spectra of naproxen tablets containing 85~115% naproxen.

균 내어 이차 미분하였고 스펙트럼의 변화를 관찰할 수 있는 1670 nm 부근을 확대하여 Fig. 6을 얻었다. 이 스펙트럼은 이차 미분 스펙트럼이므로 스펙트럼의 골짜기 부분에 해당하는 1670 nm 가 스펙트럼의 피크에 해당한다. 1670 nm에서 농도가 증가함에 따라서 피크의 크기가 증가하고 있음을 확인할 수 있다. 정량 모델을 개발하는데 1100~1750 nm의 전 파장을 사용하였고, 스펙트럼을 전처리 없이 사용하였다. 이 모델의 상관계수는 0.97이었고 SEC 1.06%, SEP 1.04%를 얻었다. Fig. 7은 X 축에는 타정 시 사용된 주성분의 질량을 측정하여 얻은 나프록센의 함량%, Y 축은 이에 대응하는 PLSR로 추정한 값을 plot한 그림이다.

정량 모델의 검증

Table I은 반복성시험 결과이다. 근적외 분광분석법은 변동계수가 통용되는 허용오차한계치인 1.0% 이하인 0.51%를 나타냈다.

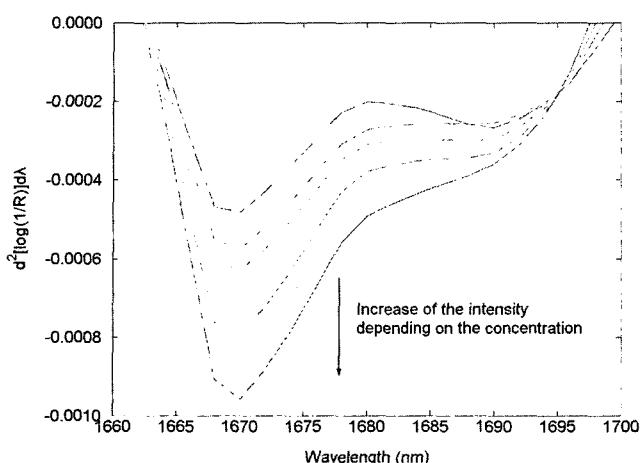


Fig. 6 – The variation of absorption at 1670 nm depending on the concentration of naproxen in second derivative spectra.

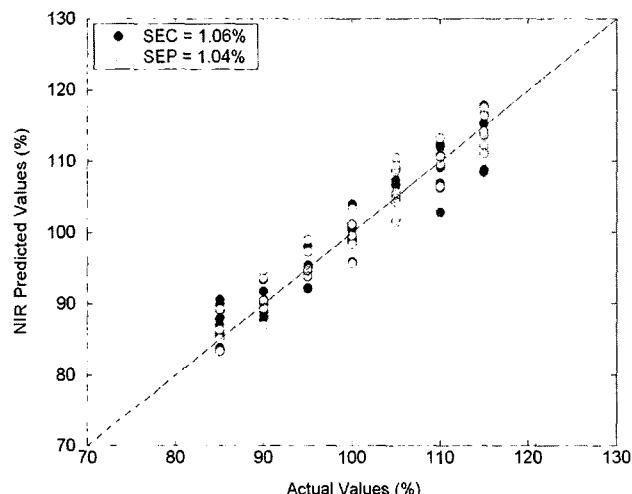


Fig. 7 – Scattering plot showing good correlation between NIR predicted values and actual values for 85~115% naproxen tablets using PLSR.

Table II는 정확도를 검증한 결과이다. 새로 14개의 정제 시료를 측정하여 스펙트럼을 얻었고, 5% 유의수준에서 쌍체비교한 결과 그 통계량 $t_{exp} < t_{tab}$ 으로 나타나 근적외 분광분석법에 의한 시험값과 질량을 칭량하여 얻은 값은 유의한 차이가 없었다.

결 론

나프록센 정제에 대해 근적외 분광분석법을 이용하여 신속하고 비파괴적인 정량분석 가능성을 확인하였다. 나프록센의 혼합농도를 변화시켜 얻은 이차미분 스펙트럼의 1670 nm에서 나프록센의 농도에 따른 변화를 확인할 수 있다. 이는 나프록센이 근적외 분광분석법으로 정량분석 가능한 농도정보를 제공하고 있음을 보여준다. 정제의 정량분석에 적용한 경우에 실제 혼합한

Table I – Study of repeatability for naproxen content in an intact naproxen tablet

Time	1	2	3	4	5	6	CV (%)
	NIR prediction	99.38	99.43	100.51	100.24	99.94	100.50
							0.51

Table II – Study of accuracy for naproxen content in the intact tablets

No.	Actual value	NIR value	Residual
1	85	87.30	2.30
2	85	83.90	-1.10
3	90	89.08	-0.92
4	90	89.87	-0.13
5	95	94.25	-0.76
6	95	94.90	-0.10
7	100	101.12	1.12
8	100	103.62	3.62
9	105	104.95	-0.05
10	105	102.15	-2.85
11	110	110.19	0.19
12	110	110.50	0.50
13	115	117.62	2.62
14	115	118.04	3.04

농도값과 근적외 분광분석법으로 예상한 값은 좋은 상관관계를 보여주었다. 또한 정확도와 반복성 시험에서 허용오차 한계를 만족시키는 값을 얻을 수 있었다.

문 헌

- Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., Maspoch, S. and Serrano, D. : Near-infrared analytical control of pharmaceuticals. A single calibration model from mixed phase to coated tablets. *Analyst.* **123**, 2307 (1998).
- Blanco, M., Coello, J., Eustaquio, A., Iturriaga, H. and Maspoch, S. : Development and validation of methods for the determination of miokamycin in various pharmaceutical preparations by use of near infrared reflectance spectroscopy. *Analyst.* **124**, 1089 (1999).
- Blanco, M., Coello, J., Eustaquio, A., Iturriaga, H. and Maspoch, S. : Development and validation of a method for the analysis of a pharmaceutical preparation by near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *J. Pharm. Sci.* **88**, 551 (1999).
- Blanco, M., Eustaquio, A., Gonzalez, J. M. and Serrano, D. : Identification and quantitation assays for intact tablets of two related pharmaceutical preparations by reflectance near-infrared spectroscopy: validation of the procedure. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **22**, 139 (2000).
- Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., Maspoch, S. and Pou, N. : Development and validation of a near infrared method for the

- analytical control of a pharmaceutical preparation in three steps of the manufacturing process. *Fresenius J. Anal. Chem.* **368**, 534 (2000).
- 6) O'Neil, A. J., Jee, R. D. and Moffat, A. C. : The application of multiple linear regression to the measurement of the median particle size of drugs and pharmaceutical excipients by near-infrared spectroscopy. *Analyst*. **123**, 2297 (1998).
- 7) Yoon, W. L., Jee, R. D. and Moffat, A. C. : Optimisation of sample presentation for the near-infrared spectra of pharmaceutical excipients. *Analyst*. **123**, 1029 (1998).
- 8) Trafford, A. D., Jee, R. D., Moffat, A. C. and Graham, P. : A rapid quantitative assay of intact paracetamol tablets by reflectance near-infrared spectroscopy. *Analyst*. **124**, 163 (1999).
- 9) Broad, N. W., Jee, R. D., Moffat, A. C., Eaves, M. J., Mann, W. C. and Dziki, W. : Non-invasive determination of ethanol, propylene glycol and water in a multi-component pharmaceutical oral liquid by direct measurement through amber plastic bottles using Fourier transform near-infrared spectroscopy. *Analyst*. **125**, 2054 (2000).
- 10) Smith, M. R., Jee, R. D. and Moffat, A. C. : The transfer between instruments of a reflectance near-infrared assay for paracetamol in intact tablets. *Analyst*. **127**, 1682 (2002).