

Aspirin 결정화 과정 중 특성변화의 NIR 인라인 모니터링 연구

이혜은* · 왕인천* · 이민정** · 서다영** · 신상문*** · 최용선*** · 최광진*.,**.,†

*인제대학교 제약공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
**인제대학교 식의약생명공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
***인제대학교 시스템경영공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
(2010년 5월 23일 접수, 2010년 6월 17일 채택)

Study of NIR in-line Monitoring of Physicochemical Changes during the Crystallization Process of Aspirin

Hea-Eun Lee*, In-Chun Wang*, Min-Jeong Lee**, Da-Young Seo**, Sangmun Shin***, Yongsun Choi*** and Guang-Jin Choi*.,**.,†

Dept. of Pharmaceutical Engineering, Inje University, 607 Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
Dept. of Smart Foods and Drugs, Inje University, 607 Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
Dept. of Systems Management & Engineering, Inje University, 607 Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
(Received 23 May 2010; accepted 17 June 2010)

요 약

제약산업에서 최종의약품의 품질과 성능은 결정분말의 크기, 모양 및 다형체 등에 의해서 크게 달라지므로, 원료의 약품(API)의 결정화 공정은 매우 중요한 제약공정이다. 본 연구에서는 NIR 분광기와 광섬유 탐침을 이용하여, API 결정화 공정을 인라인 모니터링하여, 결정화 진행과정에서 핵성성, 결정성장, 다형체 등의 주요 특성을 실시간으로 감시하고 예측할 수 있는지를 탐구하였다. NIR 스펙트럼 분석에는 주요인분석법(PCA)을 적용하였고, 잘 알려진 aspirin를 대상 API로 하여 에탄올과 아세톤의 용매 혼합비율에 따른 결정특성 변화를 관찰하였다. 여러 특성분석 결과, 생성되는 aspirin 결정체의 다형은 용매 혼합비에는 무관하게 상온에서 가장 안정상인 form-I이었지만, 핵생성 개시점, 결정 입도 및 결정의 형상은 용매의 혼합비에 따라 크게 달라진다는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 NIR 스펙트럼의 PCA 해석결과와 매우 긴밀한 상관성을 보여주었다. 결론적으로, NIR 인라인 모니터링을 통해서, 약물의 결정화 과정에서 관심사가 되는 주요 결정특성을 실시간으로 관찰하고 예측할 수 있음이 실증되었다.

Abstract – Since the quality and performance of medicinal products are heavily dependent upon the size, shape and polymorphism of active pharmaceutical ingredients(APIs), their crystallization has been regarded as one of the most important pharmaceutical processes. In this study, NIR-based inline measurements were employed to monitor key attributes of API particles real-time during the crystallization process. Principal component analysis(PCA) method was selected to correlate inline NIR spectra while the well-known aspirin was studied as a model drug. According to our characterization results, the ratio of ethanol to acetone did not cause any change in polymorphism, but resulted in a significant difference in the nucleation time, crystal growth and crystal shape. These phenomenological changes were well correlated with the PCA's implications. It turned out that the NIR-based inline monitoring technology can be employed well in observing and predicting key quality attributes such as crystal size during pharmaceutical crystallization processes.

Key words: Aspirin, Crystallization, In-line Monitoring, Near-Infrared, PCA, PAT

1. 서 론

결정화는 다양한 미립자의 특성을 지닌 정밀 화학제품과 API(원료의약품; active pharmaceutical ingredient)의 생산과정에서 매우 중

요하면서 광범위하게 사용되는데, 예를 들어 API의 90% 이상이 결정구조를 갖고 있는 고체 분말형태로 제조된다[1]. 결정화 공정은 의약품 산업뿐만 아니라, 원료의 결정구조 특성이 최종제품에 큰 영향을 미치는 농약, 석유화학, 화장품, 식품 등의 여러 산업들에서 매우 중요한 핵심공정으로 간주된다[2,3]. 결정화 공정은 균질한 상태의 용액으로부터 용질이 결정질의 형태로 생성되는 과정인 화학적 액체

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: pegchoi@inje.ac.kr

-고체 분리기술로 ‘용액은 찬 용액보다 뜨거운 용액에 더 많이 녹는다’라는 용해도 법칙에 기초한다[4].

이러한 과정에서 주의 깊은 관심을 두어야 할 중요한 변수로는 결정의 모양, 크기 및 크기분포, 그리고 다형체(polymorphic form) 등이 있다. 형성된 결정의 크기, 분포 및 모양은 차후 결정분말의 가공성에 큰 영향을 준다. 제약분야에서의 오랜 연구결과에 따르면, 결정의 크기 및 분포는, 제조된 정제(tablets)의 밀도(density), 강도(strength)와 용출 속도(dissolution rate)에 큰 영향을 미칠 수 있으며, 결정의 모양은 분말의 유동성(flowability)과 밀접한 관련이 있다. 또한, 다형 특성의 차이는 안정성(stability), 용해도(solubility) 및 생체이용률(bioavailability)과 같은 완제의약품(finished pharmaceuticals)의 핵심적인 품질속성을 결정하는데 매우 중요하다고 알려져 있다[5].

본 연구에서 사용된 aspirin(acetylsalicylic acid)은 매우 오래 전부터 진통소염제로서 전세계적으로 널리 사용되어온 API 물질이다. Aspirin은 1853년 독일에서 처음 합성되어[6] 19세기에 세계에서 가장 많이 판매된 약으로 알려져 있다[7]. Aspirin은 의약품으로 제조하기 위해 대부분 결정분말 형태를 사용하는데[8], 이때 좋은 흐름성과 높은 밀도 및 압축성(compactability)을 유지할 수 있어야 부형제(excipient)를 첨가하지 않고 캡슐(capsule)에 충전하거나, 과립공정(granulation) 없이 정제(tablets)를 제조할 수 있다[9].

Aspirin은 용매에 따라 생성되는 결정입자의 모양이 달라진다. 에탄올과 메탄올, 아세톤과 같은 극성 용매에서는 납작한 판상(plate-like) 형상을 띄며, 헥산과 n-헵탄과 같은 비극성 용매에서는 침상(needle-like) 형상을 보여준다[2,10]. 결정질 aspirin은 1800년 말에 그 제조방법이 개발된 후 끊임없이 개선연구가 진행되어 왔으나[11], 대부분의 연구가 최종생산물의 입자 크기 조절에 중점을 둔 것이며[4,9,10], 혼합용매를 사용한 연구는 아직 보고되지 않고 있다.

결정화는 제약공정 중에서 가변성(variation)이 가장 큰 공정 중의 하나로서, 결과물로 얻어지는 결정분말의 크기 및 크기분포, 입자모양, 그리고 다형특성 등을 기준규격에 맞도록 일정하기 유지하는 것이 상당히 까다롭다고 알려져 있다. 그러므로 결정화 공정의 인라인 모니터링이 매우 필요하다. 즉, 공정 중 여러 결정특성의 변화를 예측할 수 있어서, 공정이 불합리한 방향으로 진행되는 것을 공정중간에 감지하여 피해를 최소화시킬 수 있다.

최근 발행된 FDA 가이드라인에 의하면[12] PAT는 중요한 원료특성이나 공정변수들을 실시간으로 관찰하고 조절함으로써 공정을 이해하고 생산주기를 단축시키며 최종제품의 품질을 향상시키는데 도움을 주는 시스템으로 정의 된다[13]. 또한 실시간 공정관리에 용이하거나, QbD(quality-by-design) 개념을 도입함으로써 “문서에 의한 품질검증 시스템”에서 “지속적 품질보증 시스템”이 가능하게 되었다[12]. 나아가 실시간 모니터링을 통해 공정의 실시간 정보로 작성된 관리도를 이용하여 실시간 공정 상태를 관리하고 문제발생 시 즉시 실제공정에 전달하는 실시간 제어시스템과 공정 상위단위 관리역할의 PAT 시스템을 구축할 필요가 있다[14].

PAT 시스템에서 가장 널리 연구되어 온 공정 분석기기로는 NIR(near-infrared), Raman, MIR, FBRM(focused beam reflectance measurement) 등이 있다. 이중에서도 실시간 공정제어와 신속한 분석을 통해 정량 및 정성분석이 가능한 NIR 분광기가 가장 크게 각광받고 있으며 지난 20년간 분석방법으로서 많은 가능성을 보여 왔다[15]. NIR 영역은 780~2,500 nm 사이에 존재한다. NIR 신호는 스펙트럼으로 기록되며 수소결합을 가지는 -CH, -NH, -OH 작용기의 분자진동에 의해

생성되는 빛의 흡광도에 따라 생성된다. 작용기의 분자진동은 배음대(overtone band)와 결합대(combination band)로 나타난다[16]. FT(Fourier transform)-NIR은 가장 널리 사용되는 분광기로 매우 짧은 시간에 스펙트럼을 얻을 수 있는데, 이 기술의 가장 큰 장점은 비파괴적 분석이 가능하다는 것이다. 또한 분석 시 샘플이 필요 없거나 최소량의 샘플만을 필요로 하여 오차발생을 줄이고 샘플채취 후 재사용이 가능하다는 장점이 있다[15]. NIR에 계량화학(chemometrics)가 접목되어 NIR 분광기가 더욱 유용하게 사용되고 있다. Chemometrics는 NIR의 스펙트럼 검량기법을 총 일컬어 말하며 이 중 전형적인 방법으로는 MLR(Multiple Linear Regression), PLS(Partial Least Squares) 및 PCR(Principal Component Regression) 등이 있다. 이중 검량 방법에는 PLS를 주로 사용하며 전처리 기법으로는 MSC(Multiplicative Scatter Correction)와 mean centering을 주로 다룬다.

NIR 데이터를 활용하는 가장 일반적인 해석방법 중의 하나는 주 요인분석(PCA; principal component analysis)이다. PCA는 한 집합의 데이터에서 나타나는 조직적인 변화를 관찰하기 위한 것으로, 원래 변수들의 선형결합을 통해 새로운 주성분(PC; principal components)을 찾아 해석하는 방법을 말한다[17]. 모니터링을 통해 얻어진 스펙트럼을 PCA로 분석하게 되면 실험결과는 각각의 PC score에 의해 설명될 수 있다. 그리고 각 변수는 PC에서 부하(loading)값이나 가중치를 가지게 되어 데이터에서 가장 큰 변수의 방향으로 결과를 나타내는 식으로 그려진다. 첫번째 PC인 PC-1은 데이터에서 가장 영향이 큰 변수를 의미하고 그것은 대부분의 정보를 포함한다. PC-2는 PC-1 주변의 가장 큰 변수를 나타낸다[18].

본 연구에서는 ethanol과 acetone의 혼합비율에 따라 aspirin을 결정화를 시키고 그 과정을 NIR로 인라인 monitoring하고자 한다. Aspirin의 결정화 과정을 실시간으로 모니터링 한 연구는 in-situ microscopy를 사용한 사례[19] 이외에는 본 연구가 처음이라고 사료된다. 실제의 결정화 공정에서 얻어진 실시간 NIR 스펙트럼을 PCA로 분석하여, aspirin 결정입자의 핵생성, 결정성장, 여러 가지 모양 등 주요한 특성을 예측하고 결정화가 진행되는 방향을 예측하고 감시하는 방법의 타당성을 연구하였다.

2. 실험

2-1. Aspirin 결정화

본 연구의 aspirin 결정화 공정에서는 에탄올과 아세톤을 다음과 같이 5가지의 비율로 혼합하여 용매로 사용하였다; ①에탄올 100 mL, ②에탄올 80 mL + 아세톤 20 mL, ③에탄올 50 mL + 아세톤 50 mL, ④에탄올 20 mL + 아세톤 80 mL, ⑤아세톤 100 mL. 각 조성의 용매에 aspirin(순도 99.0%이상, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 30그램을 넣은 후 녹을 때까지 저어주면서 서서히 가열하였다. 최종 가열온도는 51 °C이었고, 이 온도를 유지한 상태에서 30분간 추가로 교반하여 모든 aspirin이 용해되었음을 확인하였다.

각 조성의 용매 온도를 서서히 낮추어 aspirin의 결정화를 유도하였다. 용액의 냉각은 자연냉각을 통해서 천천히 이루어졌는데, 초기의 냉각속도는 분당 0.15 °C로 측정되었다. 본 연구에서는 핵생성 단계부터 순수한 aspirin만의 결정상태를 관찰하고자, heterogeneous seed는 사용하지 않았다. 매 조건에서 5시간 동안의 냉각과정을 거친 후 얻어진 결정질 분말은 감압상태에서 여과하여 상온에서 24시간 동안 건조시킨 후 분석되었다. 각 조건에서의 실험은 재현성 확인을

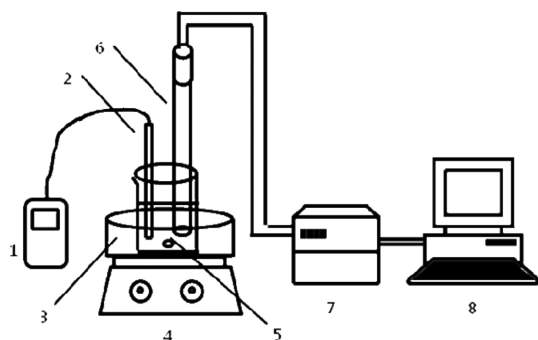


Fig. 1. Schematic of experimental setup.

- | | |
|--------------------------|---------------------------|
| 1. Temperature indicator | 5. Stirrer bar |
| 2. Temperature probe | 6. NIR fiber-optics probe |
| 3. Water bath | 7. NIR main body |
| 4. Agitator | 8. Personal computer |

위해서 3번 반복되어 시행되어 통계처리 되었다.

2-2. NIR 인라인 모니터링

용매의 혼합비율에 따라서 결정화가 어떻게 다르게 진행되는지를 관찰하기 위해서 광섬유 탐침(probe)이 연결된 NIR 인라인 모니터링 방법을 사용하였다. 본 연구에서 사용된 결정화 공정 및 NIR 인라인 모니터링 장치 및 세팅은 Fig. 1에 개략도로 표시되었다. 모든 실험에서 광섬유 탐침의 위치는 바닥에서 3 cm 간격으로 일정하게 유지시켰다. 결정화 과정에서 광섬유 탐침(FOCON FO Cable with PS200CON N₂ Purge Probe; ABB Bomem, Quebec, Canada)으로부터 실시간으로 수집되는 NIR 스펙트럼을 본체(FTPA 2000-260; ABB Bomem, Quebec, Canada)와 컴퓨터를 통해서 분석하였다.

초기온도(51 °C)에서 냉각이 시작되면서 NIR 측정을 시작하여 공정이 종료될 때까지 연속적인 시간에서의 스펙트럼을 얻었다. NIR 스펙트럼은 확산반사(diffuse reflectance)의 형태로 얻어지고, 측정 범위는 4,000~14,000 cm⁻¹로 하나의 스펙트럼을 얻는데 약 3.9초의 시간이 걸린다. 각 조건에서의 결정화 공정은 총 300분 동안 실시되었으므로, 총 스펙트럼의 수는 4600개에 이른다. 하나의 스펙트럼은 32번의 측정값을 평균으로 처리한 결과를 나타낸다.

각 조건에서 결정화 실험의 재현성을 확인하기 위하여 3번의 반복 실험이 수행되었다. 또한 결정화 중간과정에서 생성되는 결정상의 여러 특성을 오프라인으로 관찰하기 위해서 결정이 생성되는 시점을 시작으로 하여 20분 간격으로 샘플을 채취하였다. 채취한 샘플은 감압상태에서 여과한 후 24시간 동안 상온에서 건조시켜 고체 입자를 얻었다.

2-3. Aspirin 결정 분말의 특성 분석

우선 얻어진 aspirin 분말의 결정구조는 X-ray diffractometer(XRD, Miniflex, Rigaku, Japan)를 이용하여 분석되었다. 측정된 Bragg angle의 범위는 5~50°이었고, 각 step 크기는 0.04°이며, 1 s/step의 속도로 측정하였다. 인라인 모니터링을 통해 얻어진 모든 NIR 스펙트럼은 GRAMS/AI 7.00(Galactic Industries, USA) 소프트웨어를 통해 기록되고 분석되었다. 수집된 모든 스펙트럼은 Baseline Correction 방법으로 전처리 되었고, 소프트웨어에 포함된 PLSplus/IQ 프로그램을 사용하여 PCA(principal component analysis)로 분석하였다.

결정화 공정의 중간과정 혹은 최종적으로 얻어지는 aspirin 결정분

말의 평균입도와 입도분포는 Particle Size Analyzer(PSA, LS13320, Beckman Coulter, USA)를 사용하여 측정되었다. 이 분석작업은 별개의 현탁 조건이 필요 없는 건식 상태로 수행되었다. 결정분말의 형상과 분포 상태는 scanning electron microscopy(SEM, S4300-SE, Hitachi, Japan)을 이용하여 분석하였다. SEM측정 전에 분말을 gold sputtering으로 전처리 한 후, 5 kV의 가속전압 조건에서 200배의 배율로 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

일반적으로 API의 다형특성은 결정화 공정의 조건에 따라서 큰 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구에는 용매의 종류에 따라서 aspirin의 다형에 변화가 일어났는지 측정하였는데, 5가지 용매에서 만들어진 aspirin 분말의 XRD 패턴을 Fig. 2에 나타내었다. 상온에서의 안정상인 aspirin form-I 기준시료의 패턴과 비교하였을 때, 5가지 분말 모두 결정구조가 같음을 알 수 있다. 즉, 에탄올-아세톤 혼합용매의 조성은 냉각에 의한 aspirin 결정의 다형에 별 영향이 없음을 확인하였다. 이는 뒤에서 설명하게 될, NIR 스펙트럼의 변화 혹은 PCA score plot 상에서의 위치변화는 aspirin 다형의 변화에 기인하는 것은 아님을 나타내는 것이기도 하다.

Table 1은 5가지 용매조건에서 얻어진 aspirin 결정입자의 크기를 비교한 자료이다. 시판되는 aspirin 분말보다 본 연구에서 제조된 결정입자가 훨씬 작음을 확인할 수 있었다. 게다가 순수한 에탄올이나 아세톤을 용매로 하는 경우보다 혼합용매를 사용할 때, 더 미세한 결정입자를 만들 수 있었는데, 이는 나중에 PC score plot의 결과와 연계시켜 설명할 수 있었다. 그러나 상세한 메커니즘은 현재 연구 중에 있다.

우수한 NIR 인라인 모니터링을 위해서는, 여러 인자에 의해서 변해가는 NIR 스펙트럼의 전체 범위에서 정량분석을 실행할 파동수(wave-number) 범위를 정해야 한다. Fig. 3(a)는 에탄올 100%에서 결정화 과정 300분간 얻어진 모든 NIR 스펙트럼 중에서 매 30분에 해당하는 스펙트럼 10개를 포개서 나타낸 것이다. 이를 기준선 보정하면 Fig. 3(b)와 같이 정리되는데, 결정화가 진행됨에 따라 중간범위에 피크가 생성되고 그 크기가 점점 커짐을 알 수 있다. 그리하여 본 연구에서는 정량분석에 사용할 파동수 범위를 5,400~6,400 cm⁻¹

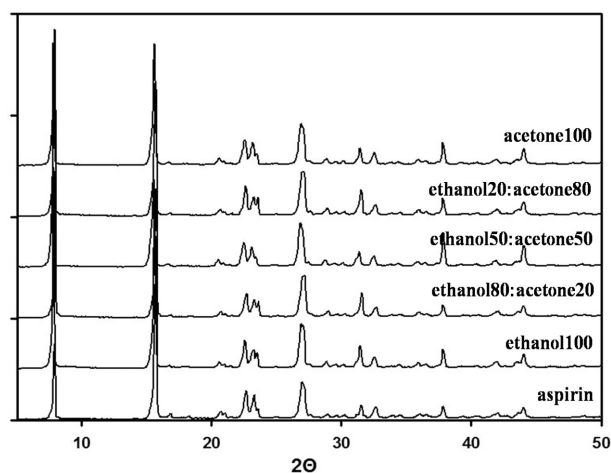
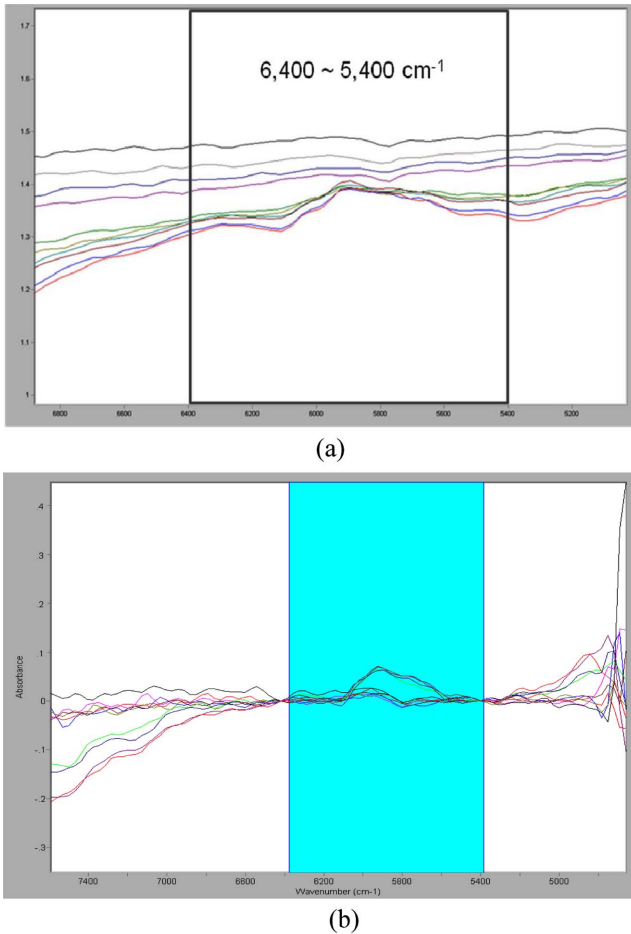


Fig. 2. XRD patterns of aspirin crystals prepared in various solvents.

Table 1. Size distribution of ASA(aspirin) crystal after 5-hr crystallization process

| | Aspirin form I | Solvent condition (ethanol : acetone) | | | | |
|---------------------------------|----------------|---------------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| | | 100:0 | 80:20 | 50:50 | 20:80 | 0:100 |
| Mean diameter (μm) | 295.50 | 125.86 | 87.00 | 100.03 | 77.52 | 130.04 |
| S.D. | 131.75 | 85.65 | 51.11 | 64.44 | 48.11 | 75.90 |
| D10 (μm) | 146.03 | 32.29 | 25.62 | 24.40 | 21.71 | 39.39 |
| D25 (μm) | 198.47 | 65.99 | 46.93 | 48.64 | 39.46 | 74.98 |
| D50 (μm) | 273.59 | 114.54 | 80.15 | 89.72 | 69.50 | 122.20 |
| D75 (μm) | 384.92 | 168.75 | 120.73 | 141.23 | 108.10 | 176.21 |
| D90 (μm) | 487.15 | 223.26 | 159.69 | 191.96 | 146.48 | 227.32 |

**Fig. 3. A series of NIR spectra (for 100% ethanol): (a) as-acquired and (b) after baseline correction.**

로 결정하였다. 이 그림에서 볼 때, 결정화가 시작되는 시점은 4~5번째 구간 사이, 즉 125분~150분 사이의 시간임을 알 수 있다.

Fig. 4는 각 용매조건의 결정화 과정에서 얻어진 모든 NIR 스펙트럼을 기준선 보정을 거친 후 PCA분석을 하여 각각의 PC score domain에 나타낸 것이다. 하나의 포인트는 특정한 시점에서 얻어진 하나의 NIR 스펙트럼을 의미한다. 모든 용매조건의 경우, 시간이 지나서 결정화가 진행됨에 따라서 각 포인트가 좌상의 그룹지역에서 우하측 방향으로 이동해가는 것을 관찰할 수 있다. 순수한 에탄올(Fig. 4(a))부터 에탄올 20%(Fig. 4(d))까지의 PC score plot은 상당히 유사한 형태를 보여주지만, 순수한 아세톤(Fig. 4(e))의 경우는 커다란 차이가 있음을 알 수 있다.

다섯 개의 PC score plot 모두에서 공통적으로 관찰되는 현상은 모든 포인트들이 2개 혹은 3개의 지역으로 나뉜다는 것이다. 이는 결정의 생성과 성장 혹은 결정 모양의 변화에 의해서 기인한 것으로 추정되는데, Fig. 4(a)의 경우, 좌상 지역 포인트 그룹은 핵생성에 의한 결정화가 시작되기 전의 포인트들이라고 할 수 있고, 점차 결정화가 진행됨에 따라서 우하측으로 이동하면서 위치하게 된다. 가장 우하측의 포인트들은 결정화 종료시점에서 얻어진 NIR 스펙트럼을 표시한 것이다.

각 PCA score plot으로부터 PC score를 계산한 결과, 순수 에탄올의 경우, PC-1이 96%이고 PC-2가 3%이고, 에탄올과 아세톤의 혼합비율이 80:20인 경우 PC-1은 91%, PC-2는 5%, 50:50의 경우는 PC-1이 77%, PC-2가 14%이며, 20:80의 경우는 PC-1이 85%, PC-2가 11%, 마지막으로 순수한 아세톤의 경우 PC-1이 99%로 산출되었다. 모든 경우 PC-1과 PC-2의 합이 90% 이상으로서 Fig. 4에서 보여진 변화가 모든 변수에 의한 가변성의 대부분을 설명하는 것임을 의미한다.

실제로 좌상 포인트 그룹을 벗어나는 시점의 스펙트럼을 조사해본 결과, 순수 에탄올 용매의 경우 2시간 10분, 그리고 순수 아세톤 용매의 경우에도 2시간 15분으로 확인되었다. 이와는 달리, 에탄올과 아세톤의 혼합비율이 80:20일 때는 3시간 30분, 50:50에서는 4시간 20분, 그리고 20:80일 때는 4시간 5분으로 산정되었다. 그러므로 순수한 용매에서는 핵생성이 비교적 빠르게 일어나고 뒤이어 결정성장이 이루어지지만, 혼합용매에서는 핵생성이 늦어지면서 나중에 더 많은 수의 핵이 생성되고 이를 바탕으로 결정성장을 시작할 가능성이 크다고 하겠다. 이러한 차이에 기인하여, 순수 아세톤 용매로부터 얻어지는 aspirin 결정입자의 평균입경이 혼합용매보다 크다는 것을 설명할 수 있을 것이다.

Fig. 5은 여러 용매조건에서 얻어진 aspirin 결정분말의 SEM 이미지를 비교한 것이다. 순수 에탄올(Fig. 5(a))과 50:50 혼합용매(Fig. 5(b))의 경우, 생성된 결정입자의 형상이 판상(plate-like)입에 비해서, 순수 아세톤(Fig. 5(c)) 용매에서 제조된 aspirin 결정분말은 침상(needle-like) 형태를 보여준다. 앞의 Fig. 2에서 나타났듯이, 순수 아세톤 용매의 경우, 결정의 형상에서는 상당히 다른 특성을 보여주었으나, 결정구조는 모두 form-I임을 알 수 있다. 비록 다형특성이 다른 것이 아니라고 할지라도, 일반적으로 침상구조의 분말은 판상이나 구형과 같은 입체상의 결정분말에 비해서 유동성에 문제가 있으므로, 이를 잘 제어할 필요가 있다.

Fig. 6은 앞의 Fig. 4의 각각을 조합하여 구성한 그림이다. PC score plot은 앞의 5개 plot을 다른 기호를 사용하여 겹쳐놓은 것인데, 에탄올이 포함된 4개의 경우, 포인트 그룹이 상당히 일치함을 확인할 수

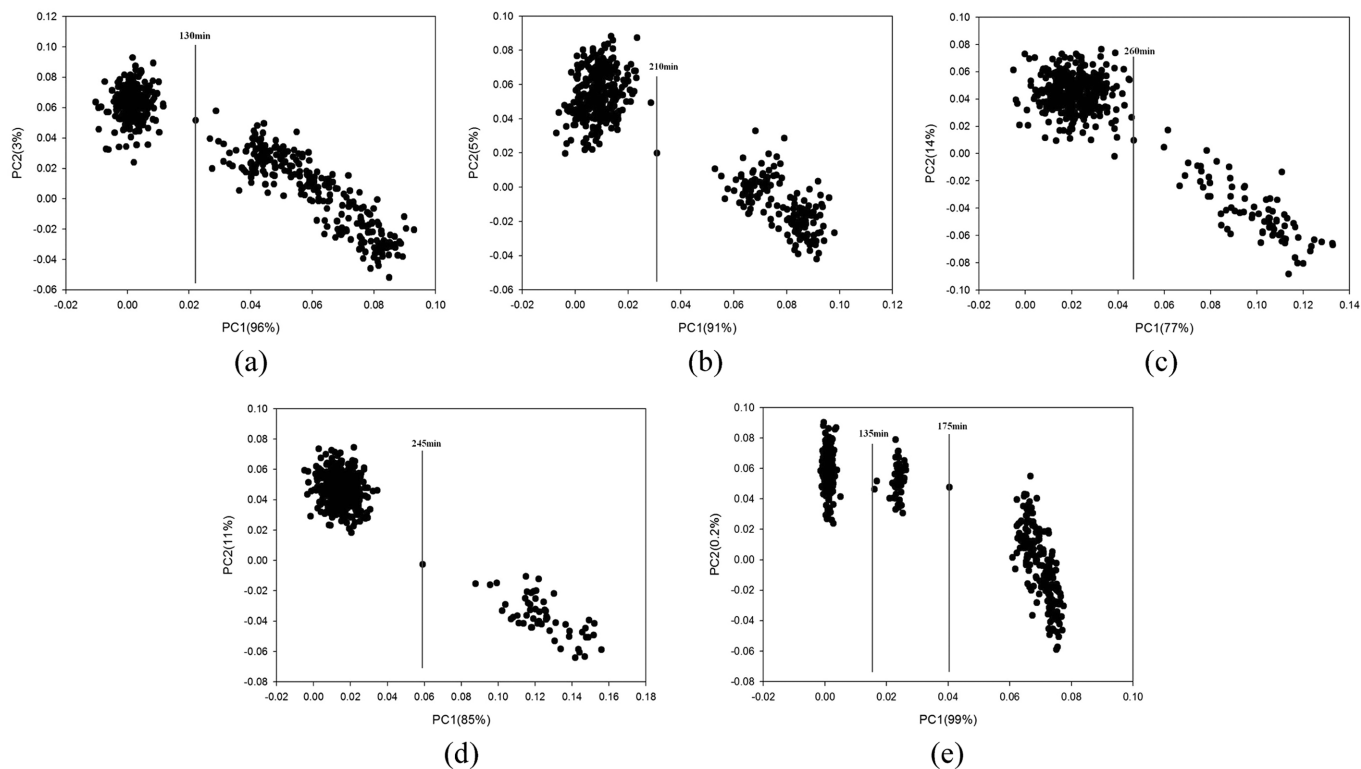


Fig. 4. PCA score plots of NIR spectra for: (a) ethanol 100%, (b) ethanol 80%: acetone20%, (c) ethanol 50%: acetone 50%, (d) ethanol 20%: acetone 80%, (e) acetone 100%.

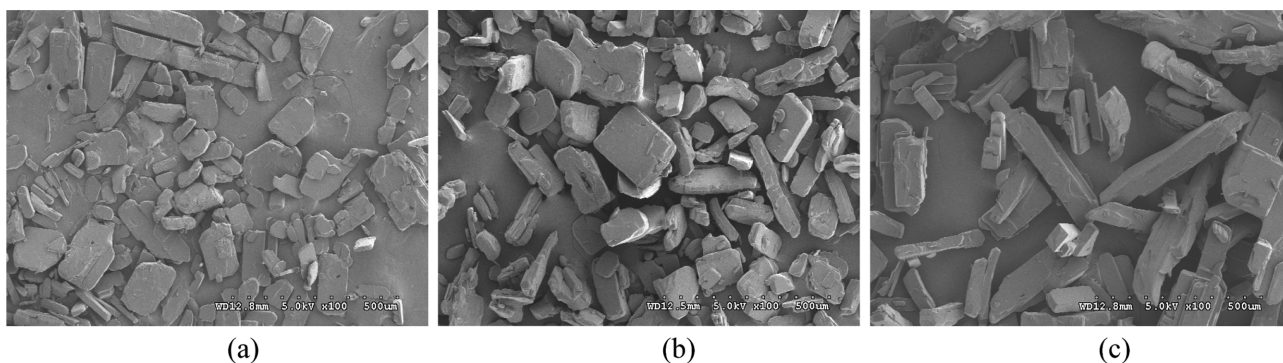


Fig. 5. SEM micrographs of aspirin crystals prepared from: (a) ethanol 100%, (b) ethanol 50%: acetone 50%, and (c) acetone 100%.

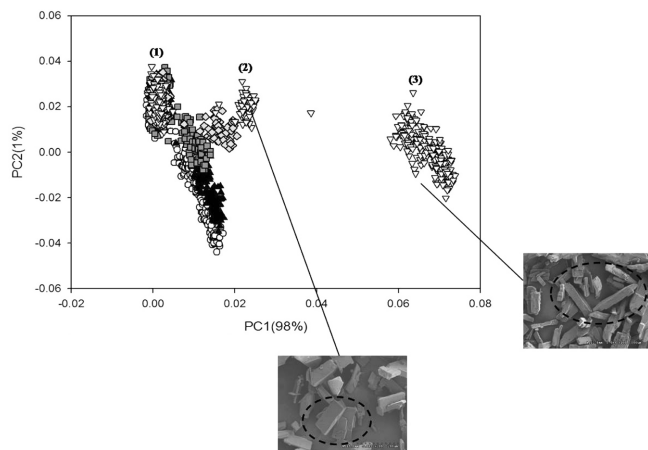


Fig. 6. Overlapping of PCA score plots with SEM micrographs matched.

있다. 특히 우하 지역에서 가장 짙은 색으로 구분되는 지역은 에탄올과 아세톤의 혼합용매의 경우 비교적 늦게 핵생성과 결정성장이 시작되는 현상에 해당하는 포인트가 집중된 것이다. 또한, acetone 100%의 경우 (1), (2), (3)과 같이 세 부분으로 나뉘어 지는 것을 볼 수 있다. Crystal이 생성된 (2)와 (3) 부분을 관찰한 결과, (2) 부분에서는 SEM 사진에서 보는 것과 같이 판상 형상의 결정이 대부분 존재하며 (3)에서는 침상 형상의 결정이 존재함을 알 수 있었다. 이는 최종 생산물에서 관찰 할 수 없는 부분을 NIR in-line monitoring을 통해 관찰할 수 있음을 보여준다.

4. 결 론

본 연구에서는 광섬유 탐침이 연결된 NIR 인라인 모니터링 방법을 통해서 aspirin의 결정화 과정에서 발생하는 핵생성, 결정성장 및 다

형체 특성을 실시간으로 측정할 수 있음을 입증하였다.

결정화 공정의 용매 조건에서 생성된 crystal의 XRD pattern을 통해 polymorph의 변화에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 또한 crystal의 크기는 순수한 용매보다 혼합 용매의 경우에 더 작음을 확인할 수 있었다. 그리고 결정화 과정에서 얻어지는 NIR 스펙트럼은 기준선 보정을 거친 후, PCA에 적용한 결과, 대부분 PC 1에 의해 그래프가 설명되고 있으며, crystal의 모양에 따라 PCA 결과에 영향을 준다는 것을 알 수 있었다. 특히, acetone의 경우 한 공정 안에서 crystal의 모양이 두 번 변하는 것을 알 수 있었다. 또한, PCA 결과를 통해 생성 시간을 예측할 수 있다. 본 연구 결과, NIR은 in-line monitoring을 통해 용매에 따른 crystal의 모양 변화를 관찰하는데 적용될 수 있으며, 측정 및 분석의 재현성이 우수하여 실제의 제약공정에 PAT기술로서 적용가능성이 높음을 보여주었다.

감 사

본 연구논문은 2007년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임을 알립니다(No. R01-2007-000-21070-0). 아울러 ABB-Korea 및 ABB-Canada의 근적외선 분광기 지원에 대해서 감사의 뜻을 전합니다.

참고문헌

- Li, R. F., Wang, X. Z. and Abebe, S. B., "Monitoring Batch Cooling Crystallization Using NIR: Development of Calibration Models Using Genetic Algorithm and PLS," *Part. Part. Syst. Charact.*, **25**, 314-327(2008).
- Li, T., Li, B. and Tomassone, M. S., "Surface Characterization of Aspirin Crystal Planes Using Molecular Dynamics Simulations," *Chem. Eng. Sci.*, **61**, 5159-5169(2006).
- Abbas, A. and Romagnoli, J. A., "Multiscale Modeling, Simulation and Validation of Batch Cooling Crystallization," *Sep. Purif. Technol.*, **53**, 153-163(2007).
- Cambeiro, L., Jobson, J., Pallay, M., Smith, A., White, C. and Yermakova, Y., "Crystallization of Aspirin Crystals in Polar and Non-polar Solvents in the Presence of Surfactants: An Experimental Approach to Control Size and Shape of Crystals," *2006 Governor's School of Eng. and Technol. Res. J.; Rutgers Univ. New Brunswick, NJ*(2006).
- Yu, L. X., Lionberger, R. A., Raw, A. S., D'Costa, R., Wu, H. Q. and Hussain, A. S., "Applications of Process Analytical Technology to Crystallization Processes," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 349-369(2004).
- Vishweshwar, P., McMahon, J. A., Oliveira, M., Peterson, M. L. and Zaworotko, M. J., "The Predictably Elusive Form II of Aspirin," *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 16802-16803(2005).
- Koleva, Bojidarka B., "Polymorphs of Aspirin-Solid-state IR-LD Spectroscopic and Quantitative determination in Solid Mixtures," *J. Molecular Structure*, **800**, 23-27(2006).
- Ko, J. H., Lee, K. S., Ike, Y. and Kojima, S., "Elastic Properties of Aspirin in its Crystalline and Glassy Phases Studied by Micro-Brillouin Scattering," *Chem. Phys. Lett.*, **465**, 36-39(2008).
- Szabo-Revesz, P., Hasznos-Nezdei, M., Farkas, B. Goczo, H., Pintye-Hodi, K. and Eros, I., "Crystal Growth of Drug Materials by Spherical Crystallization," *J. Crystal Growth*, **237-239**, 2240-2245(2002).
- Danesh, A., Davies, M. C., Hinder, S. J., Roberts, C. J., Tendler, S. J., Williams, P. M. and Wilkins, M. J., "Surface Characterization of Aspirin Crystal Planes by Dynamic Chemical Force Microscopy," *Anal. Chem.*, **72**, 3419-3422(2000).
- Aubrey-Medendorp, C., Parkin, S. and Li, T., "The Confusion of Indexing Aspirin Crystals," *J. Pharm. Sci.*, **97**, 1361-1367(2008).
- USFDA Draft Guidance for Industry: PAT-a framework for innovative pharmaceutical manufacturing and quality assurance, 4-21 (<http://CDS029/CDERGUID/5815df.doc>)(2003).
- Reich, G., "Near-infrared Spectroscopy and Imaging: Basic Principles and Pharmaceutical Applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **57**, 1109-1143(2005).
- Shin, S. M., Park, K. J., Choi, Y. S., Lee, S. K., Choi, G. J., Kwon, B. S. and Cho, B. R., "Development of Process Analytical Technology (PAT) for total quality innovation on pharmaceutical processes," *J. Kor. Pharm. Sci.*, **37**(6), 329-338(2007).
- Luybaert, J., Massart, D. L. and Heyden, Y. V., "Near-infrared Spectroscopy Applications in Pharmaceutical Analysis," *Talanta*, **72**, 865-883(2007).
- Geladi, P., MacDougall, D. and Martens, H., "Linearization and Scatter Correction for Near-infrared Reflectance Spectra of Meat," *Appl. Spectrosc.*, **39**, 491-500(1985).
- Martens, H., Jensen, S. Å. and Geladi, P., "Multivariate Linearity Transformations for Near-infrared Reflectance Spectrometry," *Nordic Symposium on Applied Statistics*, Stokkand Forlag, Stavanger, 205-233(1983).
- Luybaert, J., Massart, D. L. and Vander Heyden, Y., "Review Near-infrared Spectroscopy Applications in Pharmaceutical Analysis," *Talanta*, **72**, 865-883(2007).
- Bluma, A., Hopfner, T., Rudolph, G., Lindner, P., Beutel, S., Hitzmann, B. and Scheper, T., "Adaptation of in-situ Microscopy for Crystallization Processes," *J. of Crystal Growth*, **311**, 4193-4198(2009).