

의약품의 광학이성질체 분석에 관한 연구

약품화학팀

이명숙 · 이정미 · 박원희 · 채영주 · 김명희

Determination of Profen Enantiomers by HPLC

Pharmaceutical Chemistry Team

**Myung-sook Lee, Jeong-mi Lee, Won-hee Park, Young-zoo Chae,
and Myung-hee Kim**

Abstract

A achiral-chiral HPLC method has been developed for the determination of the R- and S-enantiomers of ibuprofen, ketoprofen. Chiral analysis was carried out using a (R,R)-Whelk-O1 (4.6mmx 250mm, 5 μ m) column with hexane/isopropanol/acetic acid (99:1:0.5) at a flow-rate of 0.8ml/min. Detection of the enantiomers was successfully performed at 254nm without pre-column derivatization. Ketoprofen racemate standard was showed linear correlation up to 80.0 μ g/ml, and the R value was 0.9991 for R-ketoprofen, 0.9989 for S-ketoprofen, respectively. And the R/S ratio of commercially available ketoprofen capsule and gel determined by chiral column was 1.003 and 1.031 respectively.

Achiral analysis was carried out using a Novapak C₁₈(4.6mmx 250mm, 5 μ m) column with acetonitrile/water/acetic acid/triethylamine. Diastereomers of profen were detected at 232nm. The method is based on the resolution of the diastereomeric amides formed on reaction of the profen enantiomers with (S)-(-)-1-(1-naphthyl)ethylamine(NEA) in the presence of ethylchloroformate. Linear calibration curves were obtained in the range of 0-20 μ g/ml for profen diastereomers. It is suggested that these achiral-chiral methods could be used for the determination of profen enantiomers.

Key words : racemate, optical isomer, enantiomer, diastereomer

서 론

현재 시판되고 있는 약품 중에서 천연산 또는 반합성의약품은 대부분 키랄화합물로, 단일 이성질체로 분리되어 사용하고 있는 반면 합성 비대칭의약품은 보통 라세미체로 사용하며 이 중 12%만이 단일 이성질체로 분리된 것을 사용하고 있다¹⁾. 전세계적으로 판매되고 있는 키랄의약품 중 단일 거울상이성질체의 판매액은 전년도에 비해 13%정도 증가하여 2000년에는 1300억달러에 이르렀으며, 2008년에는 2000억달러로 예상하고 있고 전체 의약품 중 단일 거울상이성질체 의약품의 비율은 2000년도에 34%정도로 매년 증가하고 있는 추세이다(Table 1)²⁾. 개발당시에 라세미체로 신약허가를 받은 의약품도, 라세미체의 2개 거울상이성질체 중 하나가 독성이 있거나 또는 2개의 거울상이성질체의 약리작용이 완전히 서로 다른 경우에 racemic switches를 개발하게 되며 한 개 거울상이성질체만을 특허받거나 또는 2개 거울상

이성질체를 각각 특허받을 수도 있다¹⁾. 미국 FDA에서는 1992년 5월 키랄의약품의 품질관리방안을 포함한 지침을 발표하여³⁾, 최종적인 신약허가를 받으려면 반드시 각각의 거울상이성질체에 대한 약동력학적, 약물동태학적 자료를 제출토록 하고 있어 제약관련업체들은 이들 거울상이성질체들간의 약효차이를 밝히고 단일 거울상이성질체 의약품으로 개발하는데 많은 노력을 하고 있다. 현재는 라세미체 의약품을 단일 거울상이성질체 형태로 합성하거나 분리하는 것이 어렵지만, 라세미체의약품이 단일 거울상이성질체 의약품으로 개발되는 추세로 볼 때 이들을 쉽게 분리분석할 수 있는 기술을 개발하는 것은 매우 중요하다.

최근에는 전세계적으로 HPLC, GC 및 HPCE 등 많은 분석기기들을 이용하여 정확하고 간편한 방법으로 광학이성질체를 분리하려는 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 이중 HPLC를 이용한 방법이 현재 가장 많이 사용되고 있다. 광학이성질체의 분리는 키랄고정상을 사용하는 직접 분리방식

Table 1. Worldwide chiral drug sales (Stinson, 2001)

	(unit : million \$)			
	ALL DRUGS		SINGLE-ENANTIOMER DRUGS	
	1999	2000	1999	2000
Analgesics	\$21,500	\$23,000	\$1,173	\$1,291
Antibiotic/antifungals	29,300	31,700	24,918	26,140
Antiviral	17,700	19,100	6,717	8,820
Cancer	13,700	15,600	8,891	10,690
Cardiovascular	42,700	46,600	24,895	27,650
Central nervous system	47,700	53,900	8,439	9,094
Dermatology	17,900	18,400	16,202	1,272
Gastrointestinal	43,900	47,200	1,970	4,033
Hematology	16,500	15,400	7,405	8,879
Hormone/endocrinology	20,000	22,000	14,510	15,384
Ophthalmics	7,100	7,400	1,270	2,265
Respiratory	36,500	40,500	5,696	6,615
Vaccines	6,500	7,300	2,503	3,349
Other	39,000	41,900	6,248	7,032
TOTAL	\$360,000	\$390,000	\$130,837	\$132,514

SOURCE : Technology Catalysts International

과 키랄유도체시약을 사용하는 간접 분리방식으로 나눌 수 있는데, 본 연구에서는 라세미체 의약품으로 판매되고 있는 이부프로펜 제제 및 케토프로펜 제제를 광학적으로 순수한 키랄유도체시약(CDA)과 반응시켜 부분입체이성질체로 만든 후 역상컬럼으로 분리하는 방법과 라세미 혼합물 상태인 케토프로펜을 광학분할하기 위하여 키랄컬럼으로 이동상의 조성비, 유량 및 시료의 종류와 농도 등의 실험조건을 바꿔가면서 광학이성질체를 분리하는 방법을 시도하였다. 이부프로펜 제제와 케토프로펜 제제의 광학이성질체 분리·분석에 대해 양호한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

材料 및 方法

1. 실험재료

본 실험에 사용된 이부프로펜 제제는 시중에서 유통중인 이부프로펜 정제 10종, 케토프로펜 제제는 캡셀제 1종, 겔제 4종을 구매하여 사용하였다.

2. 시약 및 기기

(S)-(+)-4-Isobutyl- α -methyl-phenylacetic acid[(S)-(+)-이부프로펜 표준품], 4-isobutyl- α -methyl-phenylacetic acid[이부프로펜 라세미체 표준품], (S)-(+)-케토프로펜 표준품, (S)-(-)-1-(1-naphthyl)ethylamine (S-NEA)와 (R)-(+)-1-(1-naphthyl)ethylamine(R-NEA)는 미국 Aldrich사로부터 구입하였고, 케토프로펜 [케토프로펜 라세미체 표준품]은 Sigma사로부터 구입하였으며 hexane, acetonitrile, dichloromethane, isopropanol, ethanol은 HPLC용을, ethylchloroformate, triethylamine(TEA) 및 기타 용매들은 특급시약을 사용하였다.

사용한 기기는 HEWLETT PACKARD HPLC 1100 series를, 컬럼은 Regis (R, R)-Whelk-O 1 (4.6 mm x 250 mm, 5 μ m)와 Novapak C₁₈ (Waters, 4.6mm x 150mm, 5 μ m)를 사용하였다.

3. 실험방법

1) 역상컬럼을 이용한 광학이성질체의 분리

① 표준액의 조제

(S)-(+)-이부프로펜 표준품과 이부프로펜 라세미체 표준품은 각각 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 μ g/ml 농도가 되도록 50 mmol/L triethylamine · acetonitrile 용액에 녹여 이부프로펜 표준액으로 하였다. (S)-(+)-케토프로펜 표준품과 케토프로펜 라세미체 표준품도 각각 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 μ g/ml 농도가 되도록 하여 케토프로펜 표준액으로 하였다.

② 시액의 조제

Ethylchloroformate 용액은 acetonitrile에 녹여 6 mmol/L로 하였고, S-NEA와 R-NEA는 acetonitrile/triethylamine(8:2)에 녹여 1 ml/L로 하였으며 염산은 0.5 mmol/L로 하여 사용하였다.

③ 이부프로펜, 케토프로펜의 유도체화

이부프로펜 표준액과 케토프로펜 표준액을 각각 200 μ l씩 취하여 ethylchloroformate 용액 100 μ l를 가하고 잘 섞어 1분동안 반응시킨 후 S-NEA 50 μ l 또는 R-NEA 50 μ l를 가해 3분동안 유도체화시킨 다음 0.5 mmol/L 염산 650 μ l로 반응을 정지시키고 이 액을 Table 2의 조건으로 실험하였다.

④ 검량선의 작성

이부프로펜 표준액을 각각 200 μ l씩 취하여 유도체화시킨 후 1.0, 2.0, 4.0, 10.0, 20.0 μ g/ml의 농도에서 검량선을 작성하였다. 케토프로펜 표준액도 동일하게 조작하여 1.0, 2.0, 4.0, 10.0, 20.0 μ g/ml 농도에서 검량선을 작성하였다.

⑤ 검액의 조제

이부프로펜 제제의 경우 필름코팅제제 8종은 제피를 하였고, 원형 정제 2종은 그대로 20개를 취하여 무게를 달아 평균무게를 구하고, 분말상태로 한 후 40 mg 해당량을 100 ml 플라스크에 취하여 50 mmol/L triethylamine · acetonitrile 용액으로 녹인 후 검액으로 하였다. 케토프로펜 제제는 캡셀제의 경우 평균무게를 구한 후 30mg 해당량을 취하고 겔제는 그대로 30mg 해당량을 취하여 이부프로펜 제제와 동일한 용매에 녹였다.

2) 키랄컬럼을 이용한 광학이성질체의 분리

① 표준원액의 조제

(S)-(+)-케토프로펜 표준품과 케토프로펜 라세미체 표준품은 각각 hexane에 녹여 10.0, 20.0, 40.0, 80.0 $\mu\text{g/ml}$ 농도가 되도록 하여 케토프로펜 표준액으로 하였다.

② 검량선의 작성

(S)-(+)-케토프로펜 표준품과 케토프로펜 라세미체 표준품은 각각의 표준액 10.0, 20.0, 40.0, 80.0 $\mu\text{g/ml}$ 으로 Table 3의 HPLC 조건에서 각각의 피크면적을 가지고 검량선을 작성하였다.

③ 검액 및 이동상의 조제

케토프로펜 제제는 캡셀제의 경우 평균무게를 구한 후 25mg 해당량을 취하고 겔제는 그대로 30mg 해당량(약 1g)을 취하여 100ml 플라스크에 넣고 캡셀제는 hexane으로 녹이고 겔제는 methanol에 녹여 검액으로 하였다. 이동상은 Table 3에 있는 이동상외에 hexane/dichloromethane/ethanol(in 0.01M ammonium acetate) (47:47:6)를 조제하여 실험하였고 hexane과 isopropanol의 조성을 변화시켜 여러 가지의 용매조건에서 실험하였다. 역상용매로는 methanol : 0.1% phosphate(60:40)로 조제하였다.

結果 및 考察

광학이성질체들은 생체내에서 흡수, 분포, 대사, 배설과정의 약물동력학적과정(pharmacokinetics)이나 수용체나 효소와의 상호작용을 통해 생리활성을 발현하는 약물동태과정(pharmacodynamics)을 거치면서 약효나 독성에 있어서 차이가 있을 수 있다. 이것은 모든 생리활성물질에 적용할 수 있는 일반현상으로서 의약품뿐만 아니라 살충제, 제초제, 향료 그리고 식품첨가물에서 관찰된다¹⁾.

비스테로이드성 소염제(NSAIDs)인 이부프로펜과 케토프로펜은 2-arylpropionic acid 유도체로서 말초의 염증부위에서 prostaglandin의 합성을 억제함으로써 진통 및 소염효과를 나타내며 류마티스성 관절염, 골관절염, 강직성 척추염, 월경근란, 수술후 통증등에 응용된다. 2-arylpropionic acid 계열의 약물들은 S-(+)-나프록센을 제외한 대부분의 약물이 라세미체로 복용되고 있고 생체내에서 비활성인 R-enantiomer가 활성인 S-enantiomer로 전환된다.

Table 2. Analytical conditions of HPLC by reversed phase

Instrument	HP 1100 series
Column	Novapak C ₁₈ (4.6mm x 150mm, 5 μm)
Mobile phase	Ibuprofen - ACN/H ₂ O/HAc/TEA (55:45:0.1:0.02) Ketoprofen - ACN/H ₂ O/HAc/TEA (45:55:0.1:0.02)
Flow rate	1.0ml/min
Detector	UV 232nm
Injection volume	50 μl

Table 3. Analytical conditions of HPLC by chiral stationary phase

Instrument	HP 1100 series
Column	(R,R)-Whelk-O 1 (4.6mm x 250mm, 5 μm)
Mobile phase	hexane/isopropanol/acetic acid (99:1:0.5)
Flow rate	0.8 ml/min
Detector	UV 254nm
Injection volume	50 μl

1. CDA(Chiral Derivatizing Agent)와 반응 시간 후 역상컬럼으로 분리

광학이성질체의 HPLC 분석법 중 키랄유도체시약을 사용하는 간접법은 라세미체를 키랄유도체시약(CDA)와 반응시켜 물리적성질이 다른 부분입체이성질체로 만든 후 순상 또는 역상컬럼으로 분석하는 것이다. 이 방법은 유도체화과정을 거치므로 전처리시간이 필요하고 분자내에 카르복실기나 아민, 알코올기등 상대적으로 유도체화하기 쉬운 작용기가 있어야 하며 키랄유도체시약의 광학순도나 반응조건에 영향을 받을 수 있다는 단점이 있지만, 의약품분석에 일반적으로 사용하는 HPLC 컬럼을 사용할 수 있고 분석법을 표준화하기 쉽다는 장점이 있다⁴⁾.

비스테로이성 소염제의 경우, 키랄유도체화시약으로 광학활성이 있는 아민류가 사용되었는데 L-leucinamide, 1-phenylethylamine, 1-(1-naphthyl) ethylamine, 1-(4-dimethyl aminonaphthale-1-yl) ethylamine등이 그 예이다⁵⁾. 또한 Mehvar R.⁶⁾등은 다른 시약들과 비교할 때 ethylchloroformate가 pre-column을 필요로 하는 장시간의 유도체화 시간이 필요없고 반응시간이 3분 이내라고 보고하였다. 따라서 본 실험에서는 구조적으로 동일하게 카르복실기를 가진 2-arylpropionic acid 유도체 중 이부프로펜과 케토프로펜의 라세미체를 S-NEA/R-NEA (CDA)와 ethylchloroformate(coupling agent)를 사용하여 광학이성질체를 분석하였다. S-NEA/R-NEA의 농도는 이 등⁷⁾의 실험결과에 따라 1ml/L로 하였으며, 실험결과 S-NEA를 사용하면 S- profen 유도체가 먼저 용리되고 R-NEA를 사용하면 R-profen 유도체가 먼저 용리되는 차이밖에 없어 이후 실험은 S-NEA만을 사용하여 실험하였다.

이부프로펜 라세미체 표준품을 유도체화한 후 역상조건으로 분석한 결과 0~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 양호한 검량선을 얻었으며, S-이부프로펜 유도체는 분리시간이 21분대에, R-이부프로펜 유도체는 25분대에 분리되었다(Fig. 1, 2). 직선성을 나타내는 상관계수(r)는 S-이부프로펜 유도체가 0.9976, R-이부프로펜 유도체가 0.9975였으며 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까

지 검출이 가능하였다. 또 이부프로펜 라세미체 표준품의 S/R ratio가 1.06 \pm 0.01로 나타났는데 이것은 이부프로펜 라세미체 표준품의 두 이성질체가 거의 동일한 비율로 존재함을 보여주었다. 시중에 유통중인 이부프로펜 정제도 이부프로펜 표준품과 동일하게 유도체화하여 분석하였는데 그 결과 S/R ratio는 1.12 \pm 0.01로 나타났다(Table 4).

케토프로펜의 경우, 유도체화시킨 케토프로펜 라세미체 표준품을 Table 2의 조건대로 분석한 결과 이부프로펜과 마찬가지로 0~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 양호한 검량선을 얻었으며, S-케토프로펜 유도체는 17분대에, R-케토프로펜 유도체는 21분대에 분리되었고, 이동상의 조성 중 아세트니트릴의 비율이 이부프로펜의 이동상보다 10% 낮아졌음에도 불구하고 이부프로펜 유도체보다 더 빨리 용리됨을 알 수 있었다(Fig. 1, 3). 케토프로펜 표준품의 상관계수(r)는 S-케토프로펜 유도체가 0.9996, R-케토프로펜 유도체가 0.9994로 이부프로펜보다 약간 높았다. 또 S/R ratio는 1.07 \pm 0.05로 나타났고 이부프로펜 표준품과 마찬가지로 두 이성질체가 거의 동일한 비율로 존재한다는 것을 알 수 있다. 시중에 유통중인 케토프로펜 제제의 분석결과도 이부프로펜 제제와 비슷해서 S/R ratio는 1.09 \pm 0.07였다(Table 4).

2. 키랄 컬럼((R,R)-Whelk-O1)을 이용하여 비극성용매로 분리

본 연구대상물질인 케토프로펜 [(R,S)-2-(3-benzoylphenyl)propionic acid] 중 S-(+)-케토프로펜이 주로 약물학적 효과를 나타내고 R-(-)-케토프로펜은 좋지 못한 부작용을 일으키는 문제점을 나타내고 있다^{8),9)}. 케토프로펜 라세미체 표준품을 10.0~80.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 검량선을 작성한 결과 S-케토프로펜, R-케토프로펜 순서로 분리되었으며 직선성을 표시하는 상관계수(r)는 각각 0.9991(R-케토프로펜), 0.9989(S-케토프로펜)로 매우 양호하였고(Fig. 4), 라세미체 표준액의 R/S ratio는 1.02 \pm 0.01로 나타났다. 한편 케토프로펜제제 중 캡셀제 및 겔제에 대하여 분석한 결과 R/S ratio 범위는 1.003, 1.031로 R-케토프로펜과 S-케토프로펜 함량의 차이는 거의 없었고, 분리시간이 25분대(S-

케토프로펜), 27분대(R-케토프로펜)로 분석시간이 단축되지는 않았지만 유도체화 과정을 거치지 않고 분리가 간편하다는 장점을 들 수 있으며, 유속을 더 빨리 하는 경우에는 피크의 분리능이 좋지 않았다.

이동상의 조성비가 분리도에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. Hexane의 양이 증가하면 분리도가 증가하고 분리시간이 길어짐을 알 수 있었고, isopropanol의 양이 증가하면 위와 반대로 분리도는 감소하고 분리시간은 짧아지는 것을 알 수 있었다. 또 다른 분석용매인 hexane/dichloromethane/ethanol (in 0.01M ammonium acetate) (47:47:6)에서 실험한 결과가 가장 분리능이 좋았는데 이는 hexane: isopropanol:acetic acid(99:1:0.5)에서 분석한 결과와 같음을 알 수 있었다. 본 실험에 사용된 [(R,R)-Whelk-O1]) 키랄컬럼은 비극성 및 극성용매에서

의 분석이 모두 가능하므로 극성 및 비극성 두 용매를 비교 실험해 본 결과, Fig. 6과 같은 결과를 얻었다. 비극성용매와 마찬가지로 완전분리가 되지는 않았으나 분리시간이 훨씬 짧았으며 용매조건을 좀더 다양하게 시도해 본다면 비극성용매로 분석할 필요가 없지 않은가 사료된다.

캡셀제 및 겔제중의 R/S-케토프로펜 분석은 hexane/dichloromethane/ethanol (in 0.01M ammonium acetate) (47:47:6)의 조건에서 실험하였고 다른 물질의 방해없이 분리됨을 알 수 있었다. 유도체화시킨 후 역상으로 분석한 방법과 비교할 때 역상컬럼과 분석시간에서의 장점은 없었지만 유도체화시약이나 전처리과정이 필요없는 간편한 방법으로 분석이 가능하였고, 키랄컬럼에서 유기용매의 노출없이 극성의 역상 이동상을 이용한 분석방법도 가능함을 알 수 있었다.

Table 4. S/R ratio of profen diastereomers after derivatization

N0o.	Ingredient	(S)-derivatives (%)	(R)-derivatives (%)	S/R ratio
Ibu 1	ibuprofen 600mg/Tab	53.1	46.9	1.13
Ibu 2	ibuprofen 400mg/Tab	52.9	47.1	1.12
Ibu 3	ibuprofen 400mg/Tab	53.1	46.9	1.13
Ibu 4	ibuprofen 400mg/Tab	52.5	47.5	1.11
Ibu 5	ibuprofen 400mg/Tab	52.4	47.6	1.10
Ibu 6	ibuprofen 400mg/Tab	52.5	47.5	1.11
Ibu 7	ibuprofen 400mg/Tab	52.7	47.3	1.11
Ibu 8	ibuprofen 400mg/Tab	53.1	46.9	1.13
Ibu 9	ibuprofen 200mg/Tab	52.6	47.4	1.11
Ibu 10	ibuprofen 200mg/Tab	52.8	47.2	1.12
Keto 1	ketoprofen 25mg/cap	52.5	47.5	1.11
Keto 3	ketoprofen 30mg/g	52.3	47.7	1.09
Keto 3	ketoprofen 30mg/g	50.4	49.6	1.02
Keto 4	ketoprofen 30mg/g	53.7	46.3	1.16
Keto 5	ketoprofen 30mg/g	52.5	47.5	1.10

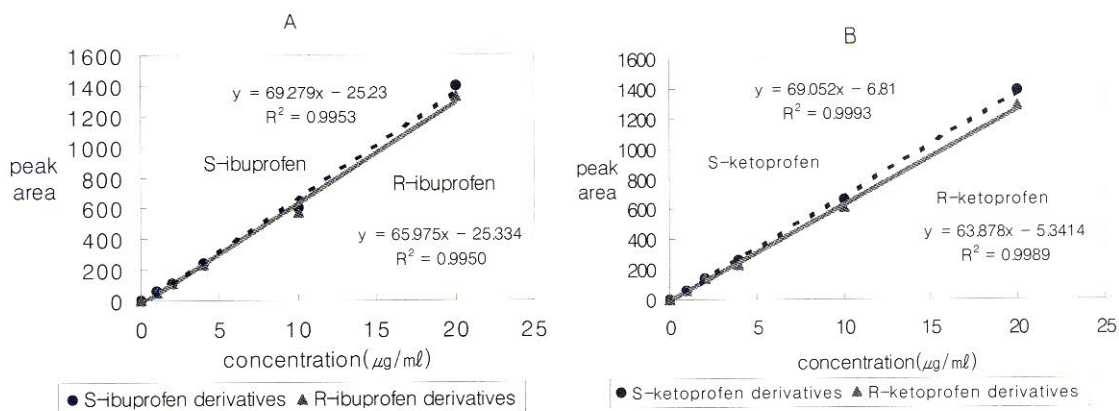


Fig. 1. Standard calibration curves of profen derivatives.
 A : ibuprofen diastereomers, B : ketoprofen diastereomers.

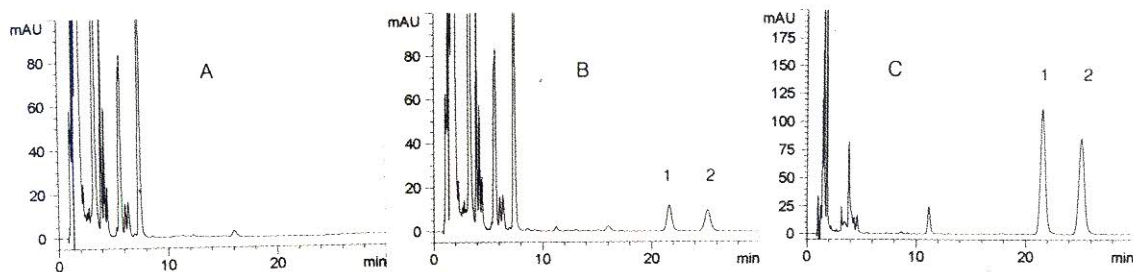


Fig. 2. Chromatograms of ibuprofen diastereomers by reversed phase.
 A : blank, B : standard solution of derivatized racemic ibuprofen,
 C : derivatized sample solution.
 Peak 1 and 2 : diastereomers of (S) - and (R) - ibuprofen, respectively.

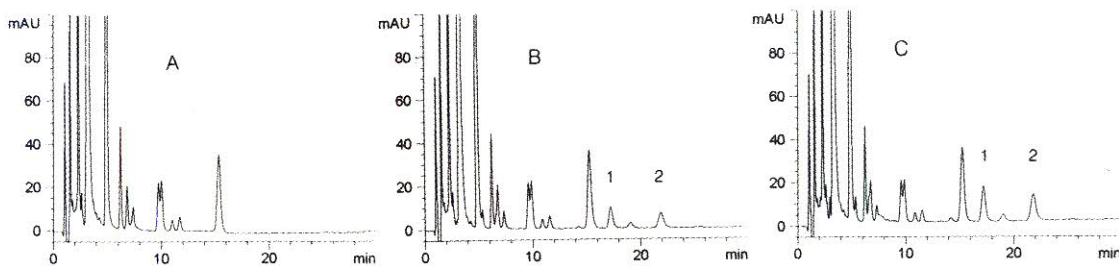


Fig. 3. Chromatograms of ketoprofen diastereomers by reversed phase.
 A : blank, B : standard solution of derivatized racemic ketoprofen,
 C : derivatized sample solution.
 Peak 1 and 2 : diastereomers of (S) - and (R)-ketoprofen, respectively.

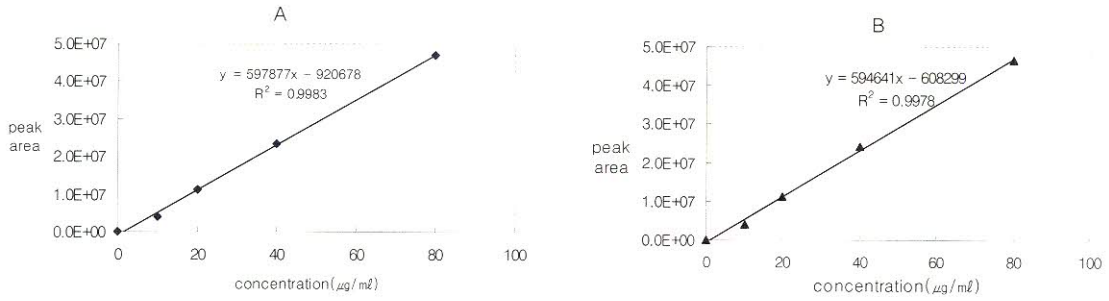


Fig. 4. Standard calibration curves of ketoprofen by chiral stationary phase.

A : (R)-ketoprofen, B : (S)-ketoprofen.

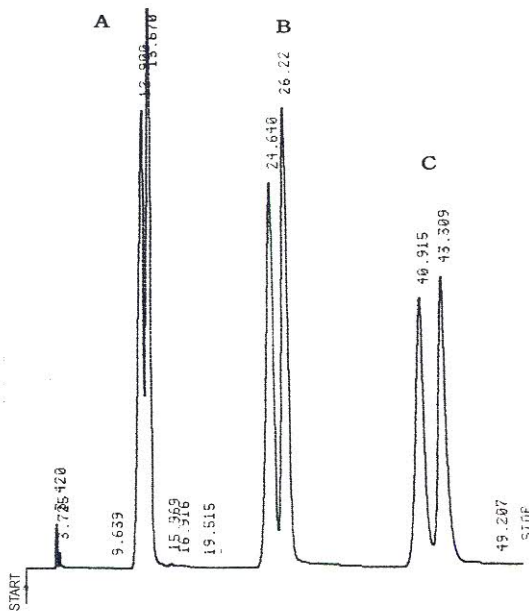


Fig. 5. Chromatogram of (S)-ketoprofen and (R)-ketoprofen at various mobile phase compositions.

A-Hexane : IPA : Acetic acid(80:20:0.5)

B-Hexane : IPA : Acetic acid(90:10:0.5)

C-Hexane : IPA : Acetic acid(99:1:0.5)

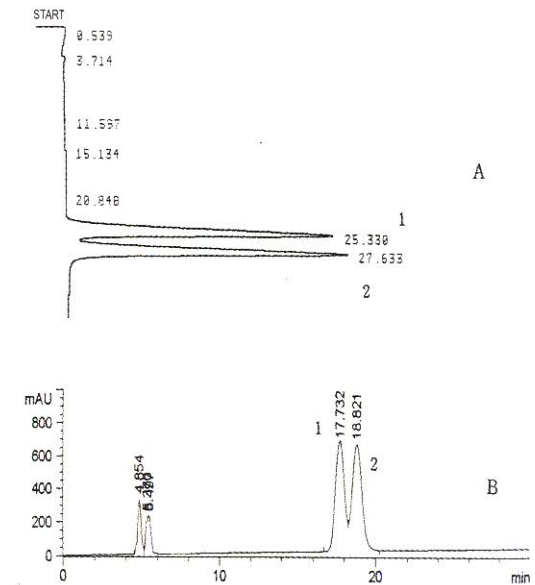


Fig. 6. Chromatogram of ketoprofen by normal mobile phase(A) and reversed mobile phase(B).

1 : (S)-ketoprofen

2 : (R)-ketoprofen

結 論

라세미체 의약품으로 판매되고 있는 이부프로펜 제제와 케토프로펜 제제를 1) 광학적으로 순수한 키랄유도체시약(CDA)과 반응시켜 부분입체이성질체로 만든 후 역상컬럼으로 분리하는 방법과

2) 키랄(chiral) 컬럼을 이용하는 방법으로 광학 이성질체를 분리하였으며, 그 결과는 아래와 같다.

1. CDA와 반응시킨 후 역상컬럼으로 분리하는 방법 : 키랄유도체시약으로 S-NEA를, coupling agent로 ethylchloroformate를 사용하였으며 분석결과 0~20 µg/ml에서 양호한 검량선을 얻었다. 이부프로펜 유도체와 케토프

- 로펜 유도체의 상관계수(r), R/S ratio는 거의 비슷했으며 이들 제제중의 이성질체 분석 결과 같은 비율로 존재함을 확인했다.
2. 키랄 컬럼을 이용하여 비극성용매로 분리하는 방법 : 케토프로펜 라세미체 표준품을 10.0~80.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 검량선을 작성한 결과 S-케토프로펜, R-케토프로펜 순서로 분리되었으며 직선성을 표시하는 상관계수(r)는 각각 0.9989(S-케토프로펜), 0.9991(R-케토프로펜)로 매우 양호하였고 라세미체 표준액의 R/S ratio는 1.02 \pm 0.01로 나타났다.
 3. 이동상의 조성비가 분리도에 미치는 영향 : hexane의 양이 증가하면 분리도가 증가하고 분리시간이 길어졌으며, isopropanol의 양이 증가하면 위와 반대로 분리도는 감소하고 분리시간은 단축되는 것을 알 수 있었다.
 4. 키랄컬럼을 이용하여 극성용매로 분리하는 방법 : 비극성용매처럼 완전분리가 되지는 않았으나 분리시간이 훨씬 짧았으며, 분리능을 향상시키기 위해서 용매조건을 좀더 다양하게 시도한 연구가 이루어져야 할 것이다.
 4. 민충식, 장성재, 이송득, 박승희, 장정윤, 정혜윤, 이경희, 조성혜, 조경인, 현명호, 정용발 : 광학활성의약품의 관리를 위한 기술개발에 관한 연구. 식품의약품안전청연구보고서, 5:144(2001)
 5. Kondo J, Suzuki N, Naganuma H, Imaoka T, Kawasaki Y, Nakanishi A and Kawahara Y. : Enantiospecific determination of ibuprofen in rat plasma using chiral fluorescence derivatization reagent, (-)-2-[4-(1-aminoethyl)phenyl]-6-methoxybenzoxazole, Biomed Chromatogr., 8:170(1994)
 6. Mehvar R, Jamali F and Franco M. Pasutto : Liquid-chromatographic Assay of ibuprofen enantiomers in plasma, Clin. Chem., 34:493(1988)
 7. 이명숙, 송영미, 황인숙, 채영주 : Ibuprofen의 광학이성질체 분석에 관한 연구, 서울특별시 보건환경연구논문집, 37:75(2001)
 8. Robert A. Carr, Gilles Caille, Anh Ho Ngoc, Robert T. Foster : Stereospecific high-performance liquid chromatographic assay of ketoprofen in human plasma and urine. J. of Chromatography, B 668:175(1995)
 9. 김소영, 이종기, 서성십, 최민호, 박태진, 박달근: 키랄 HPLC를 이용한 라세미 케토프로펜의 광학분할, HWAHAK KONGHAK 39: 698(2001)

參考文獻

1. 권순경 : 의약품의 손대칭성과 생리활성. 응용약물학회지, 4:209(1996)
2. Stinson, S. C. : Chiral pharmaceuticals, Chem. Eng. News, 79:79(2001)
3. FDA's policy statement for the development of new stereoisomeric drugs.