

대한민국약전포럼

Korean Pharmacopoeial Forum

Vol. 21, No.1 June 2024

공정서 개정안 Drafts for Revision

대한민국약전 의약품각조 1부 개정(안) - 의견수렴용

의약품각조 오류 개선에 따른 개정(안)

대한민국약전 의약품각조 2부 첨가제 개정(안) - 의견수렴용

대한민국약전 일반시험법 개정(안) - 의견수렴용

미생물한도시험법

보존제시험법

불용성이물시험법

히스타민시험법

표준품, 시약 · 시액, 용량분석용표준액, 표준액, 색의 비교액, 파장 및 투과율

보정용 광학필터, 계량기 · 용기, 멸균법 및 무균조작법

대한민국약전 일반시험법 신설(안) - 의견수렴용

흡입제의 전달량균일성시험법

흡입제의 공기역학적 입자크기측정법

대한민국약전 일반정보 신설(안) - 의견수렴용

단핵구활성화시험법

첨단바이오의약품 품질관리를 위한 미생물 신속검출법

의약품 포장 및 전달시스템에서의 추출물 평가

의약품 포장 및 전달시스템에서의 침출물 평가

특별기획 Special Topics

대한민국약전의 현장활용도 강화를 위한 「현장중심 약전 협의체」 운영

외국약전정보 Foreign Pharmacopoeial Information

외국약전 동향 및 이슈



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

대한민국약전포럼

(Korean Pharmacopoeial Forum)

대한민국약전포럼은 식품의약품안전처 연구개발사업 결과를 근거로 마련된 대한민국약전 개정(안)과 약전 관련 정보를 국내·외에 공유하고자 발행된 것입니다.

이 포럼은 대한민국약전 개정(안)의 과학적 타당성과 합리성을 높이기 위해 다양한 의견을 청취하는 것이 목적이므로 언제나 의견, 학술논문 또는 평론을 환영합니다. 보내주신 의견은 대한민국약전 개정(안)에 반영하여 행정예고 등의 행정절차에 따라 제·개정됩니다.

따라서 이 포럼의 내용은 법적인 구속력을 갖지 않으며, 관련 고시 및 규정의 제·개정에 따라 변경될 수 있습니다.

대한민국약전포럼에 대한 의견, 학술논문, 평론 등이 있을 경우 아래 창구로 보내 주시기 바랍니다.

☞ 우)28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운
식품의약품안전평가원 의약품연구과
전화 : 043-719-4616 팩스 : 043-719-4600 E-mail : kopharm@korea.kr

또한, 대한민국약전포럼 Vol.21, No.1는 식품의약품안전처의 연구개발사업 관련 규정에 따라 (재)의약품품질연구재단에서 용역연구과제의 일환으로 발행되었으며, 개선사항, 오탈자 등이 있을 경우 아래 (재)의약품품질연구재단으로 알려 주시기 바랍니다.

☞ 서울특별시 은평구 진흥로 163 (재)의약품품질연구재단
연락처 : 02-359-2090 E-mail : pharmq.jeong@gmail.com

대한민국약전포럼(안)

Korean Pharmacopoeial Forum Vol.21 No.1

June 2024

목 차 Contents

공정서 개정안 Drafts for Revision

「대한민국약전」 의약품각조 1부 제 개정(안) - 의견수렴용 3

1. 의약품각조 오류개선에 따른 개정(안) 3

디아스타제·프로테아제N1 Diastase-protease N1	주사용 에르타페넴나트륨 Ertapenem Sodium
..... 3	for Injection 8
레보설피리드 Levosulpiride 4	자일리톨 Xylitol 10
부플로메딜염산염 주사액 Buflomedil	토코페롤숙시네이트칼슘 Tocopherol Calcium
Hydrochloride Injection 5	Succinate 11
아세트아미노펜 Acetaminophen 5	포도당 Glucose 12
아시클로버 Acyclovir 6	피나베룸브롬화물 Pinaverium Bromide 13
암로디핀베실산염 Amlodipine Besylate 7	피란텔파모산염 정 Pyrantel Pamoate Tablets 13
염화나트륨 Sodium Chloride 7	헤파린나트륨 Heparin Sodium 14

「대한민국약전」 의약품각조 2부 첨가제 개정(안) - 의견수렴용 16

라우릴황산나트륨 Sodium Lauryl Sulfate 16	에틸파라벤 Ethylparaben 20
스테아르산마그네슘 Magnesium Stearate 17	프로필파라벤 Propylparaben 21
포비돈 Povidone 19	팜유 Palm Oil 22

「대한민국약전」 일반시험법 개정(안) - 의견수렴용 23

17. 미생물한도시험법 23	88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용표준액, 표준액,
21. 보존제시험법 24	색의 비교액, 파장 및 투과율 보정용 광학필터, 계
24. 불용성이물시험법 25	량기·용기, 멸균법 및 무균조작법 30
87. 히스타민시험법 25	

「대한민국약전」 일반시험법 신설(안) - 의견수렴용 35

흡입제의 전달량 균일성시험법 35
흡입제의 공기역학적 입자크기측정법 39

「대한민국약전」 일반정보 신설(안) - 의견수렴용	51
단핵구활성화시험법 신설(안)	51
첨단바이오향품 품질관리를 위한 미생물	75
신속검출법	60
의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가	93
의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물 평가	93

특별기획 Special Topics

대한민국약전 현장 활용도 강화를 위한 「현장중심 약전 협의체」 운영	109
---------------------------------------------	-----

외국약전 정보 Foreign Pharmacopoeial Information

외국약전 동향 및 이슈	114
--------------------	-----

「대한민국약전」 의약품각조 제1부 개정(안) - 의견수렴용

「대한민국약전」의 현장 활용도 제고를 위하여 운영하고 있는 「현장중심 약전 협의체」를 통하여 약전 개정(안)을 마련하였다. 한국제약바이오협회 및 한국의약품수출입협회를 통하여 수집한 업계의 약전 개정 의견 중 오기 정정 등 즉시 개정이 가능한 품목에 대하여 개정(안)을 마련하였고, 이 외 신문고 및 내외부 의견수렴 등을 통하여 접수된 의견에 대하여 개정(안)을 마련하였다. 현장의 애로사항을 적극 반영하고 실험이 필요한 개정의 경우에는 올 해 공동연구를 통하여 업계에서 실질적으로 적용이 가능한 개정(안)을 마련함으로써 국내 의약품 품질관리 향상에 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

1. 의약품각조 오류 개선에 따른 개정

의약품각조에서 국내 허가 품목등들의 주성분 분량 감안시, 첨가제 등의 영향으로 인한 균질한 채취가 어려움, 시약 제조처 공급 중단으로 인한 시험불가, 칼럼 수급 어려움, 시액 조제법이 누락 등 오류 개선이 필요한 14품목에 대하여 개정(안)을 마련하였다.

현행	개정안
디아스타제 · 프로테아제 N ₁ Diastase · protease N ₁ (생략)	디아스타제 · 프로테아제 N ₁ Diastase · protease N ₁ (현행과 같음)

확인시험 1) 감자전분 1 g을 2 개의 200 mL 유리마개산 각플라스크 (A 및 B)에 각각 넣고 40 ℃ 물 5 mL를 넣 어 분산시킨 다음 진탕혼화하면서 천천히 뜨거운 물 15 mL를 넣는다. 플라스크 입구에 깔대기를 놓고 수욕중에 서 30 분간 가열한 다음 37 ± 1 ℃로 식히고 아세트 산 · 아세트산나트륨완충액 (pH 5.0) 1 mL를 넣는다. 따 로 이 약 1.0 g에 아세트산 · 아세트산나트륨완충액 (pH 5.0) 8 mL 및 묽은아세트산 4 mL를 넣어 10 분간 때때 로 잘 흔들어 섞고 방치한 다음 여과하여 얻은 여액 1 mL 를 위의 플라스크 A에 넣고 1 분간 세게 흔들어 섞고 37 ± 1 ℃에서 1 시간 방치하고 수산화나트륨용액(1 → 10) 2 mL를 넣는다. 플라스크 B에는 수산화나트륨용액 (1 → 10) 2 mL를 넣어 30 초간 흔들어 섞고 위의 여액 1 mL를 넣고 1 분간 세게 흔들어 섞은 다음 37 ± 1 ℃ 에서 1 시간 방치할 때 플라스크 A의 내용물은 수용액 상	확인시험 정량법에 따라 시험할 때 양성반응을 나타낸다.
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------

현행

개정안

태를 나타내지만, 플라스크 B의 내용물은 풀상태로 있다 (전분호화력).

2) 1) 의 플라스크 A 및 B에 온수 150 mL 및 3,6-디니트로프탈산일피리딘용액 1 mL를 각각 넣고 마개를 한 다음 잘 흔들어 섞고 수욕에서 3 분간 가열할 때 플라스크 A의 내용물은 빨간색을 나타내지만, 플라스크 B의 내용물은 정색되지 않는다 (전분당화력).

3) 소화력시험 중 단백소화력항에서 조제한 카제인용액 1 mL에 물을 넣어 10 mL로 하고, 이 용액 5 mL를 시험관에 넣어 37 ± 1 °C에서 10 분간 방치한 다음 이 약 1 g을 가지고 0.1 mol/L 인산염완충액 (pH 6.0) 50 mL를 넣어 10 분간 때때로 진탕혼화한 다음 1 mol/L 인산이수소칼륨용액을 넣어 pH를 6.0으로 조정하고, 0.1 mol/L 인산염완충액 (pH 6.0)을 넣어 100 mL로 하여 여과하고 이 여액 2 mL를 넣어 15 초간 진탕혼화하고 37 ± 1 °C에서 1 시간 방치한 다음 7.2 % 트리클로로아세트산용액 5 mL를 넣을 때 액은 전혀 혼탁을 나타내지 않는다 (단백소화력).

(생략)

(현행과 같음)

레보설피리드
Levosulpiride

레보설피리드
Levosulpiride

(생략)

(현행과 같음)

순도시험 1) 염화물 (생략)

2) 중금속 (생략)

3) *N*-에틸-2-아미노메틸피롤리딘 이 약 약 25 mg을 정밀하게 달아 5 % 수산화나트륨용액 1 mL를 넣어 가볍게 진탕한 다음 클로로포름 2 mL를 정확하게 넣어 5분간 잘 흔들고 클로로포름층을 취하여 검액으로 한다. 따로 *N*-에틸-2-아미노메틸피롤리딘표준품 약 25 mg을 정밀하게 달아 수산화나트륨용액 10 mL를 정확하게 넣어 녹인다. 이 액 30 μ L를 정확하게 취하여 5 % 수산화나트륨용액 1 mL를 넣어 가볍게 진탕한 다음 클로로포름 2 mL를 정확하게 넣어 5 분간 잘 흔들고 클로로포름층을 취하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 2.5 μ L씩을 가지고 다음 조작조건으로 기체크로마토그래프법에 따라 시험한다 (0.3 % 이하).

조작조건

검출기 : 불꽃이온화검출기

칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 15 m의 유리제

순도시험 1) 염화물 (현행과 같음)

2) 중금속 (현행과 같음)

3) *N*-에틸-2-아미노메틸피롤리딘 이 약 약 25 mg을 정밀하게 달아 5 % 수산화나트륨용액 1 mL를 넣어 가볍게 진탕한 다음 클로로포름 2 mL를 정확하게 넣어 5분간 잘 흔들고 클로로포름층을 취하여 검액으로 한다. 따로 *N*-에틸-2-아미노메틸피롤리딘표준품 약 25 mg을 정밀하게 달아 5 % 수산화나트륨용액 10 mL를 정확하게 넣어 녹인다. 이 액 30 μ L를 정확하게 취하여 5 % 수산화나트륨용액 1 mL를 넣어 가볍게 진탕한 다음 클로로포름 2 mL를 정확하게 넣어 5 분간 잘 흔들고 클로로포름층을 취하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 2.5 μ L씩을 가지고 다음 조작조건으로 기체크로마토그래프법에 따라 시험한다 (0.3 % 이하).

조작조건

검출기 : 불꽃이온화검출기

칼럼 : 안지름 약 0.32 mm, 길이 약 15 m의 유리제

현행	개정안
중공모관칼럼의 내벽에 가스크로마토그래프용 메틸실리콘폴리머를 약 0.25 μm 두께로 입힌다. 칼럼 온도 : 85 $^{\circ}\text{C}$ 부근의 일정온도 주입구온도 : 250 $^{\circ}\text{C}$ 운반기체 : 헬륨 유량 : 1.4 mL/분 4) 유연물질 (생략) (이하 생략)	중공모관칼럼의 내벽에 가스크로마토그래프용 메틸실리콘폴리머를 약 0.25 μm 두께로 입힌다. 칼럼 온도 : 85 $^{\circ}\text{C}$ 부근의 일정온도 주입구온도 : 250 $^{\circ}\text{C}$ 운반기체 : 헬륨 유량 : 1.4 mL/분 4) 유연물질 (현행과 같음) (현행과 같음)

부플로메딜염산염 주사액
Buflomedil Hydrochloride Injection

(생략)

정량법 이 약을 부플로메딜염산염 ($\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}$)으로서 50 mg 해당량을 정확하게 취하여 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 부플로메딜염산염표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한 다음 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. (현행과 같음) 검액 및 표준액을 가지고 0.1 mol/L 염산시액을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 시험하여 파장 280 nm에서 흡광도 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\begin{aligned} & \text{부플로메딜염산염 } (\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}) \text{의 양 (mg)} \\ &= \text{부플로메딜염산염표준품의 양 (mg)} \times (A_T / A_S) \end{aligned}$$

(생략)

아세트아미노펜
Acetaminophen

(생략)

- 순도시험 1) 염화물 (생략)
2) 황산염 (생략)
3) 중금속 (생략)
4) 비소 (생략)
5) 유연물질 (생략)

부플로메딜염산염 주사액
Buflomedil Hydrochloride Injection

(현행과 같음)

정량법 이 약을 부플로메딜염산염 ($\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}$)으로서 50 mg 해당량을 정확하게 취하여 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 부플로메딜염산염표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한 다음 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액을 가지고 0.1 mol/L 염산시액을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 시험하여 파장 280 nm에서 흡광도 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\begin{aligned} & \text{부플로메딜염산염 } (\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}) \text{의 양 (mg)} \\ &= \text{부플로메딜염산염표준품의 양 (mg)} \times (A_T / A_S) \end{aligned}$$

(현행과 같음)

아세트아미노펜
Acetaminophen

(현행과 같음)

- 순도시험 1) 염화물 (현행과 같음)
2) 황산염 (현행과 같음)
3) 중금속 (현행과 같음)
4) 비소 (현행과 같음)
5) 유연물질 (현행과 같음)

현행

6) 4-아미노페놀 이 약 약 2.5 g에 해당하는 양을 정밀하게 달아 메탄올로 녹여 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 4-아미노페놀 표준품 약 5.0 mg을 정밀하게 달아 메탄올을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하고 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 정확하게 200 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 5 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 아세트아미노펜에 대한 상대유지시간이 0.6인 4-아미노페놀의 양을 구할 때 0.005 % 이하이다.

(생략)

아시클로버

Acyclovir

(생략)

순도시험 1) 용해상태 (생략)

2) 중금속 (생략)

3) 유연물질 정량법에서 얻은 검액을 검액으로 한다. 따로 구아닌표준품 약 25 mg을 정밀하게 달아 묽은수 산화나트륨시액 50 mL에 녹이고 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 2 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 액의 구아닌의 피크면적 A_T 및 A_S 로부터 다음 식에 따라 구아닌의 양을 구할 때 0.7 % 이하이다. 또 검액의 각 피크면적을 자동적분법에 따라 측정하고 면적백분율법에 따라 아시클로버 및 구아닌 이외의 각 유연물질의 양을 구할 때 0.2 % 이하이다. 또한 위에서 구한 구아닌의 양 및 면적백분율법으로 구한 각 유연물질의 양의 합계는 1.5 % 이하이다.

$$\text{구아닌의 양 (\%)} = \frac{W_S}{W_T} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{2}{5}$$

 W_S : 구아닌표준품 취한 양 (mg) W_T : 이 약의 취한 양 (mg)

조작조건

검출기, 칼럼, 칼럼온도, 이동상 및 유량은 정량법의 조

개정안

6) 4-아미노페놀 이 약 약 2.5 g을 정밀하게 달아 메탄올로 녹여 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 4-아미노페놀 표준품 약 5.0 mg을 정밀하게 달아 메탄올을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하고 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 정확하게 200 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 5 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 아세트아미노펜에 대한 상대유지시간이 0.6인 4-아미노페놀의 양을 구할 때 0.005 % 이하이다.

(현행과 같음)

아시클로버

Acyclovir

(현행과 같음)

순도시험 1) 용해상태 (현행과 같음)

2) 중금속 (현행과 같음)

3) 유연물질 정량법에서 얻은 검액을 검액으로 한다. 따로 구아닌표준품 약 25 mg을 정밀하게 달아 묽은수 산화나트륨시액 50 mL에 녹이고 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 2 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 액의 구아닌의 피크면적 A_T 및 A_S 로부터 다음 식에 따라 구아닌의 양을 구할 때 0.7 % 이하이다. 또 검액의 각 피크면적을 자동적분법에 따라 측정하고 면적백분율법에 따라 아시클로버 및 구아닌 이외의 각 유연물질의 양을 구할 때 0.2 % 이하이다. 또한 위에서 구한 구아닌의 양 및 면적백분율법으로 구한 각 유연물질의 양의 합계는 1.5 % 이하이다.

$$\text{구아닌의 양 (\%)} = \frac{W_S}{W_T} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{2}{5}$$

 W_S : 구아닌표준품 취한 양 (mg) W_T : 이 약의 취한 양 (mg)

조작조건

검출기, 칼럼, 칼럼온도, 이동상 및 유량은 정량법의 조

현행

작조건을 따른다.

시스템적합성

시스템의 성능은 정량법의 시스템적합성을 따른다.

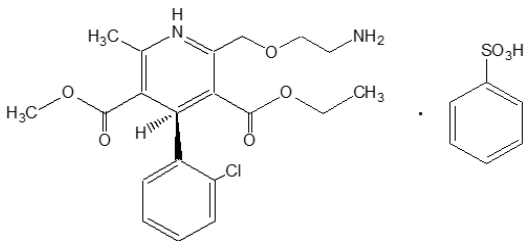
검출의 확인: 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다. 시스템적합성용액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액 10 μ L에서 얻은 아시클로버의 피크면적은 시스템적합성용액의 아시클로버의 피크면적의 7 ~ 13 %가 되는 것을 확인한다.

시스템의 재현성 : 표준액 10 μ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 아시클로버의 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

측정범위 : 용매피크 다음부터 아시클로버의 유지시간의 약 8 배 범위

(생략)

암로디핀베실산염
Amlodipine Besylate



및 거울상이성질체

(생략)

염화나트륨
Sodium Chloride

(생략)

순도시험 1) 용해상태 이 약 약 20.0 g를 새로 끓여 식힌 물 100.0 mL에 녹일 때 액은 맑으며 무색이다.

(생략)

6) 인산염 1)의 용액 2.0 mL에 <신설> 물을 넣어

개정안

작조건을 따른다.

시스템적합성

시스템의 성능은 정량법의 시스템적합성을 따른다.

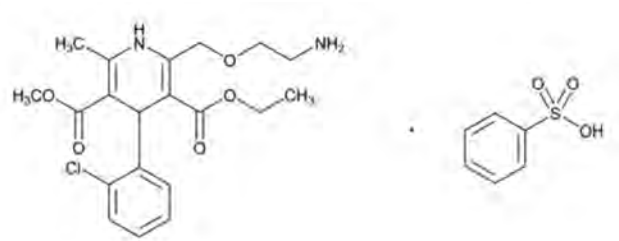
검출의 확인: 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다. 시스템적합성용액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액 10 μ L에서 얻은 아시클로버의 피크면적은 시스템적합성용액의 아시클로버의 피크면적의 7 ~ 13 %가 되는 것을 확인한다.

시스템의 재현성 : 표준액 10 μ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 구아닌의 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

측정범위 : 용매피크 다음부터 아시클로버의 유지시간의 약 8 배 범위

(현행과 같음)

암로디핀베실산염
Amlodipine Besylate



및 거울상이성질체

(현행과 같음)

염화나트륨
Sodium Chloride

(현행과 같음)

순도시험 1) 용해상태 이 약 약 20.0 g를 새로 끓여 식힌 물 100.0 mL에 녹일 때 액은 맑으며 무색이다.

(현행과 같음)

6) 인산염 1)의 용액 2.0 mL에 2 mol/L 황산시액 5

현행

100.0 mL로 하여 여기에 몰리브덴산암모늄 · 황산시액 4 mL 및 염화주석(II) · 염산시액 0.1 mL를 넣어 10 분간 방치할 때 액의 색은 다음 비교액보다 진하지 않다(25 ppm 이하).

- 비교액 인산표준액 1.0 mL에 2 mol/L 황산시액 12.5 mL 및 물을 넣어 정확하게 250 mL로 한다. 이 액 100 mL에 몰리브덴산암모늄 · 황산시액 4 mL 및 염화주석(II) · 염산시액 0.1 mL를 넣어 이하 같은 조작을 한다.

(생략)

주사용 에르타페넴나트륨
Ertapenem Sodium for Injection

(생략)

개정안

mL 및 물을 넣어 100.0 mL로 하여 여기에 몰리브덴산암모늄 · 황산시액 4 mL 및 염화주석(II) · 염산시액 0.1 mL를 넣어 10 분간 방치할 때 액의 색은 다음 비교액보다 진하지 않다(25 ppm 이하).

- 비교액 인산표준액 1.0 mL에 2 mol/L 황산시액 12.5 mL 및 물을 넣어 정확하게 250 mL로 한다. 이 액 100 mL에 몰리브덴산암모늄 · 황산시액 4 mL 및 염화주석(II) · 염산시액 0.1 mL를 넣어 이하 같은 조작을 한다.

(현행과 같음)

주사용 에르타페넴나트륨
Ertapenem Sodium for Injection

(현행과 같음)

순도시험 유연물질 정량법에 따라 시험한 다음 각 유연물질의 피크면적으로부터 다음과 같이 계산한다 (개환체 10.0 % 이하, 옥사지논 1.2 % 이하, 총이량체 6.3 % 이하, 기타 개개의 유연물질 0.2 % 이하, 총 유연물질 17.5 % 이하).

개개의 유연물질의 함량 (%)

$$= (A_D / A_S) \times \text{에르타페넴나트륨표준품의 양 [mg (역가)]} / \{ \text{에르타페넴나트륨의 표시량 [mg (역가)] / 바이알} \} \times RRF \times 100$$

 A_D : 검액 중 유연물질 피크 면적 A_S : 표준액 중 에르타페넴의 피크 면적

RRF : 개개의 유연물질 피크의 상대반응계수

유연물질	상대반응계수
개환체	0.88
옥사지논	0.98
이량체 I 및 II	0.66

총 이량체 (%) = 모든 이량체(이량체 I, II, III, V, VI, 이량체 IV + 이량체-H₂O)의 함량 (%)의 합

순도시험 유연물질 정량법에 따라 시험한 다음 각 유연물질의 피크면적으로부터 다음과 같이 계산한다 (개환체 10.0 % 이하, 옥사지논 1.2 % 이하, 총이량체 6.3 % 이하, 기타 개개의 유연물질 0.2 % 이하, 총 유연물질 17.5 % 이하).

개개의 유연물질의 함량 (%)

$$= (A_D / A_S) \times \text{에르타페넴나트륨표준품의 양 [mg (역가)]} / \{ \text{에르타페넴나트륨의 표시량 [mg (역가)] / 바이알} \} \times RRF \times 100$$

 A_D : 검액 중 유연물질 피크 면적 A_S : 표준액 중 에르타페넴의 피크 면적

RRF : 개개의 유연물질 피크의 상대반응계수

성분명	상대유지시간	상대반응계수
옥사지논	0.25	0.98
개환체	0.55	0.88
proMABA	0.64	1.00
에르타페넴	1.00	1.00
이량체 I + II	0.86, 0.91, 0.93	0.66
이량체 VI	1.2	1.00
이량체 III	1.3	1.00
이량체 IV + 이량체-H ₂ O	1.7	1.00
이량체 V	1.8	1.00

총 이량체 (%) = 모든 이량체(이량체 I, II, III, V, VI, 이량체 IV + 이량체-H₂O)의 함량 (%)의 합

현행

총 유연물질(%) = 함량이 0.1 % 이상인 모든
유연물질의 함량(%)의 합

(생략)

정량법 이 약 및 에르타페넴나트륨표준품 약 20 mg (역가)을 정밀하게 달아 희석액을 넣어 녹여 1 mL 중 0.2 mg (역가)이 정확하게 함유되도록 희석하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액은 5±3 ℃에서 저장하며 24 시간 이내에 쓴다. 검액 및 표준액 10 µL씩을 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 에르타페넴의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

에르타페넴 ($C_{22}H_{25}N_3O_7S$)의 양 [mg (역가)]
= 에르타페넴나트륨표준품의 양 [mg (역가)] × (A_T / A_S)

- 희석액 : 15 mmol/L 4-모르포린프로판설향산(pH 7.5) · 아세트ونی트릴 혼합액(9 : 1)
- 4-모르포린프로판설향산(pH 7.5) : 4-모르포린프로판설향산 3.5 g을 물 1000 mL에 녹이고 pH를 7.5로 조정한다.

조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 : 230 nm)

칼럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 2.5 cm인 스테인리스강관에 5 µm의 액체크로마토그래프용옥타데실릴실리카겔을 충전한다.

이동상 : 이동상 A 및 이동상 B의 혼합비를 다음과 같이 단계적 또는 농도기울기적으로 제어한다.

이동상 A - 0.1 % 인산(pH 8.0)

이동상 B - 아세트ونی트릴 · 0.1% 인산(pH 8.0)혼합액(1 : 3)

이동상 농도구배 조건

시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)
0 ~ 3	94	6
3 ~ 6	94 → 80	6 → 20
6 ~ 11	80 → 72	20 → 28
11 ~ 15	72	28
15 ~ 33	72 → 40	28 → 60
33 ~ 34	40 → 0	60 → 100
34 ~ 28	0	100

개정안

총 유연물질(%) = 함량이 0.1 % 이상인 모든
유연물질의 함량(%)의 합

(현행과 같음)

정량법 이 약 및 에르타페넴나트륨표준품 약 20 mg (역가)을 정밀하게 달아 희석액을 넣어 녹여 1 mL 중 0.2 mg (역가)이 정확하게 함유되도록 희석하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액은 5±3 ℃에서 저장하며 24 시간 이내에 쓴다. 검액 및 표준액 10 µL씩을 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 에르타페넴의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

에르타페넴 ($C_{22}H_{25}N_3O_7S$)의 양 [mg (역가)]
= 에르타페넴나트륨표준품의 양 [mg (역가)] × (A_T / A_S)

- 희석액 : 15 mmol/L 4-모르포린프로판설향산(pH 7.5) · 아세트ونی트릴 혼합액(9 : 1)
- 4-모르포린프로판설향산(pH 7.5) : 4-모르포린프로판설향산 3.5 g을 물 1000 mL에 녹이고 pH를 7.5로 조정한다.

조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 : 230 nm)

칼럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인리스강관에 5 µm의 액체크로마토그래프용페닐실리카겔을 충전한다.

이동상 : 이동상 A 및 이동상 B의 혼합비를 다음과 같이 단계적 또는 농도기울기적으로 제어한다.

이동상 A - 0.1 % 인산을 50% 수산화나트륨용액으로 pH 8.0으로 조정한다.

이동상 B - 아세트ونی트릴 · 이동상 A혼합액(1 : 3)

이동상 농도구배 조건

시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)
0 ~ 3	94	6
3 ~ 6	94 → 80	6 → 20
6 ~ 11	80 → 72	20 → 28
11 ~ 15	72	28
15 ~ 33	72 → 40	28 → 60
33 ~ 34	40 → 0	60 → 100
34 ~ 38	0	100

현행

유 량 : 1.0 mL/분

각 유연물질의 상대유지시간

성 분 명	상대유지시간
옥사지논	0.25
개환체	0.55
proMABA	0.64
에르타페넴	1.00
이량체 I + II	0.86, 0.91, 0.93
이량체 VI	1.2
이량체 III	1.3
이량체 IV + 이량체-H ₂ O	1.7
이량체 V	1.8

(이하 생략)

자일리톨

Xylitol

(생략)

개정안

유 량 : 1.0 mL/분

<순도시험 항목으로 이동>

(현행과 같음)

자일리톨

Xylitol

(현행과 같음)

순도시험 1) 용해상태 (생략)

- 2) 염화물 (생략)
- 3) 황산염 (생략)
- 4) 중금속 (생략)
- 5) 니켈 (생략)
- 6) 비소 (생략)
- 7) 당류 (생략)

8) 유연물질 (기타 폴리올) 이 약 1.0 g을 정밀하게 달아 물에 녹여 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 L-아라비니톨표준품, 갈락티톨표준품, D-만니톨표준품, 소르비톨표준품 각각 50 mg을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 100 mL로 하여 표준액 (1)로 한다. 따로 자일리톨표준품 0.5 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 25 mL로 하여 표준액 (2)로 한다. 표준액 (1) 1 mL 및 표준액 (2) 5 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 10 mL로 하여 1 mL 중 L-아라비니톨, 갈락티톨, D-만니톨, 소르비톨은 각각 약 0.05 mg 및 자일리톨은 약 10 mg을 함유하는 용액을 만들어 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 1.0 mL씩을 정확하게 취하여 각각 10 mL 둥근바닥플라스크에 넣고 내부표준액 1.0 mL씩 정확하게 넣고 감압농축기를 달아 60 ℃ 수욕에서 증발건고 시킨다. 여기에 에탄올 (99.5) 1 mL를 넣어 조심하여 흔들고 위와 같은 조건에서 다시 증발건고 시킨다. 각 잔류물에 피리딘 1 mL 및

순도시험 1) 용해상태 (생략)

- 2) 염화물 (생략)
- 3) 황산염 (생략)
- 4) 중금속 (생략)
- 5) 니켈 (생략)
- 6) 비소 (생략)
- 7) 당류 (생략)

8) 유연물질 (기타 폴리올) 이 약 1.0 g을 정밀하게 달아 물에 녹여 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 L-아라비니톨표준품, 갈락티톨표준품, D-만니톨표준품, 소르비톨표준품 각각 50 mg을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 100 mL로 하여 표준액 (1)로 한다. 따로 자일리톨표준품 0.5 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 25 mL로 하여 표준액 (2)로 한다. 표준액 (1) 1 mL 및 표준액 (2) 5 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 10 mL로 하여 1 mL 중 L-아라비니톨, 갈락티톨, D-만니톨, 소르비톨은 각각 약 0.05 mg 및 자일리톨은 약 10 mg을 함유하는 용액을 만들어 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 1.0 mL씩을 정확하게 취하여 각각 10 mL 둥근바닥플라스크에 넣고 내부표준액 1.0 mL씩 정확하게 넣고 감압농축기를 달아 60 ℃ 수욕에서 증발건고 시킨다. 여기에 에탄올 (99.5) 1 mL를 넣어 조심하여 흔들고 위와 같은 조건에서 다시 증발건고 시킨다. 각 잔류물에 무수피리딘 1 mL

현행	개정안
<p>아세트산(100) 1 mL를 정확하게 넣고 마개를 하여 30 초간 섞은 다음 70 ℃ 열풍건조기에서 30 분간 방치한다. 검액 및 표준액 1 μL씩을 가지고 다음 조건으로 기체 크로마토그래프법에 따라 시험할 때 총 유연물질의 양은 2.0 % 이하이다.</p> <p>(생략)</p>	<p>및 무수아세트산 1 mL를 정확하게 넣고 마개를 하여 30 초간 섞은 다음 70 ℃ 열풍건조기에서 30 분간 방치한다. 검액 및 표준액 1 μL씩을 가지고 다음 조건으로 기체 크로마토그래프법에 따라 시험할 때 총 유연물질의 양은 2.0 % 이하이다.</p> <p>(현행과 같음)</p>

토코페롤숙시네이트칼슘 Tocopherol Calcium Succinate	토코페롤숙시네이트칼슘 Tocopherol Calcium Succinate
(생략)	(현행과 같음)

<p>정량법 이 약 및 토코페롤숙시네이트표준품을 건조하여 약 50 mg씩을 정밀하게 달아 각각을 에탄올(99.5) · 희석시킨 아세트산(100) (1 → 5)혼합액(9 : 1)을 넣어 녹여 정확하게 50 mL로 하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 20 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 액의 토코페롤숙시네이트의 피크높이 H_T 및 H_S를 측정한다.</p>	<p>정량법 이 약 및 토코페롤숙시네이트표준품을 건조하여 약 50 mg씩을 정밀하게 달아 각각을 에탄올(99.5) · 희석시킨 아세트산(100) (1 → 5)혼합액(9 : 1)을 넣어 녹여 정확하게 50 mL로 하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 20 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 액의 토코페롤숙시네이트의 피크높이 H_T 및 H_S를 측정한다.</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>토코페롤숙시네이트칼슘 ($C_{66}H_{106}CaO_{10}$)의 양 (mg)</p> <p>= 토코페롤숙시네이트표준품의 양 (mg) $\times \frac{H_T}{H_S} \times 1.0358$</p>	<p>토코페롤숙시네이트칼슘 ($C_{66}H_{106}CaO_{10}$)의 양 (mg)</p> <p>= 토코페롤숙시네이트표준품의 양 (mg) $\times \frac{H_T}{H_S} \times 1.0358$</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

<p>조작조건</p> <p>검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 284 nm)</p> <p>칼럼 : 안지름 약 4 mm, 길이 15 ~ 30 cm인 스테인레스강관에 5 ~ 10 μm의 액체크로마토그래프용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.</p> <p>이동상 : 메탄올 · 물 · 아세트산(100)혼합액(97 : 2 : 1)</p> <p>유량 : 토코페롤숙시네이트의 유지시간이 약 8 분이 되도록 조정한다.</p> <p>시스템적합성</p> <p>시스템의 성능 : 토코페롤숙시네이트 및 토코페롤 50 mg씩을 달아 에탄올(99.5) · 희석시킨 아세트산(100) (1 → 5)혼합액(9 : 1)을 넣어 녹여 50 mL로 한다. 이 액 20 μL를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 토코페롤숙시네이트, 토코페롤의 순서로 유출하고 분리도는 <u>2.0</u>이다.</p> <p>시스템의 재현성 : 표준액 20 μL씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 토코페롤숙시네이트의 피크</p>	<p>조작조건</p> <p>검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 284 nm)</p> <p>칼럼 : 안지름 약 4 mm, 길이 15 ~ 30 cm인 스테인레스강관에 5 ~ 10 μm의 액체크로마토그래프용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.</p> <p>이동상 : 메탄올 · 물 · 아세트산(100)혼합액(97 : 2 : 1)</p> <p>유량 : 토코페롤숙시네이트의 유지시간이 약 8 분이 되도록 조정한다.</p> <p>시스템적합성</p> <p>시스템의 성능 : 토코페롤숙시네이트 및 토코페롤 50 mg씩을 달아 에탄올(99.5) · 희석시킨 아세트산(100) (1 → 5)혼합액(9 : 1)을 넣어 녹여 50 mL로 한다. 이 액 20 μL를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 토코페롤숙시네이트, 토코페롤의 순서로 유출하고 분리도는 <u>2.0 이상</u>이다.</p> <p>시스템의 재현성 : 표준액 20 μL씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 토코페롤숙시네이트의 피크</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

현행

높이의 상대표준편차는 0.8 % 이하이다.

(생략)

포도당
Glucose

(생략)

개정안

높이의 상대표준편차는 0.8 % 이하이다.

(현행과 같음)

포도당
Glucose

(현행과 같음)

정량법 이 약 및 포도당표준품을 가지고 환산한 무수물로서 포도당 0.300 g에 해당하는 양을 정밀하게 달아 각각을 물에 녹여 정확하게 10 mL로 하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 각 20 μ L를 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 포도당 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\begin{aligned} & \text{포도당 (C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6\text{)의 양(g)} \\ &= \text{무수물로 환산한 포도당표준품의 양(mg)} \\ & \quad \times (A_T / A_S) \end{aligned}$$

조작조건

검출기 : 일정온도로 유지한 시차굴절계(예를 들면 40 $^{\circ}$ C)

칼럼 : 안지를 7.8 mm, 길이 30 cm의 스테인레스강관에 디비닐벤젠으로 가교시킨 폴리스티렌에 설폰산기를 결합한 액체크로마토그래프용강산성이온교환수지(Ca형)을 충전한다.

칼럼온도 : 85 \pm 1 $^{\circ}$ C

이동상 : 물

유량 : 0.3 mL/분(포도당의 유지시간이 약 21분이 되도록 조정한다.)

시스템적합성

시스템의 성능 : 말토오스 5 mg, 말토트리오스 5 mg 및 과당 5 mg을 물 50 mL에 녹여 시스템적합성용액으로 한다. 시스템적합성용액 및 표준액 20 μ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험할 때, 포도당에 대한 말토트리오스, 말토오스, 이소말토오스 및 과당의 상대유지시간은 약 0.7, 약 0.8, 약 0.8 및 약 1.3 이다. 또, 말토트리오스와 말토오스의 분리도는 1.3 이상이다.

(생략)

정량법 이 약 및 포도당표준품을 가지고 환산한 무수물로서 포도당 0.300 g에 해당하는 양을 정밀하게 달아 각각을 물에 녹여 정확하게 10 mL로 하여 검액 및 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 각 20 μ L를 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 포도당 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

$$\begin{aligned} & \text{포도당 (C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6\text{)의 양(g)} \\ &= \text{무수물로 환산한 포도당표준품의 양(mg)} \\ & \quad \times (A_T / A_S) \end{aligned}$$

조작조건

검출기 : 일정온도로 유지한 시차굴절계(예를 들면 40 $^{\circ}$ C)

칼럼 : 안지를 7.8 mm, 길이 30 cm의 스테인레스강관에 디비닐벤젠으로 가교시킨 폴리스티렌에 설폰산기를 결합한 액체크로마토그래프용강산성이온교환수지(Ca형)을 충전한다.

칼럼온도 : 85 \pm 1 $^{\circ}$ C

이동상 : 물

유량 : 0.3 mL/분(포도당의 유지시간이 약 21분이 되도록 조정한다.)

시스템적합성

시스템의 성능 : 말토오스 5 mg, 말토트리오스 5 mg 및 과당 5 mg을 물에 녹여 50 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다. 시스템적합성용액 및 표준액 20 μ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험할 때, 포도당에 대한 말토트리오스, 말토오스 <삭제> 및 과당의 상대유지시간은 약 0.7, 약 0.8 <삭제> 및 약 1.3 이다. 또, 말토트리오스와 말토오스의 분리도는 1.3 이상이다.

(현행과 같음)

현행

피나베륨브롬화물
Pinaverium Bromide

(생략)

확인시험 1) 이 약 0.2 g을 달아 클로로포름 10 mL을 넣어 검액으로 한다. 피나베륨브롬화물표준품 0.2 g을 달아 클로로포름 10 mL을 넣어 표준액으로 한다. (현행과 같음) 다음에 메탄올·아세톤·염산혼합액(45 : 5 : 2)을 전개용매로 하여 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 드라젠도르프시액을 고르게 뿌릴 때 검액 및 표준액에서 얻은 반점의 R_f 값 및 색상은 같다.

2) 이 약 10 mg을 물 100 mL에 녹인 액을 가지고 자외가시부흡광도측정법에 따라 흡수스펙트럼을 측정할 때 파장 286 nm, 243 nm, 212 ~ 217 nm 부근에서 흡수극대를 나타낸다.

(생략)

피란텔파모산염 정
Pyrantel Pamoate Tablets

(생략)

정량법 이 약 20 정 이상을 가지고 그 질량을 정밀하게 달아 가루로 한다. 피란텔파모산염 ($C_{11}H_{14}N_2S$) 약 80 mg에 해당하는 양을 정밀하게 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하여 여과한다. 여액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 검액으로 한다. (현행과 같음) 검액 및 표준액 20 μ L씩을 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피란텔파모산염의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

피란텔파모산염 ($C_{11}H_{14}N_2S$)의 양 (mg)

$$= \text{피란텔파모산염표준품의 양 (mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(생략)

개정안

피나베륨브롬화물
Pinaverium Bromide

(현행과 같음)

확인시험 1) 이 약 0.2 g을 달아 클로로포름 10 mL을 넣어 검액으로 한다. 피나베륨브롬화물표준품 0.2 g을 달아 클로로포름 10 mL을 넣어 표준액으로 한다. 이들 액을 가지고 박층크로마토그래프법에 따라 시험한다. 검액 및 표준액 10 μ L 씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 메탄올·아세톤·염산혼합액(45 : 5 : 2)을 전개용매로 하여 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 드라젠도르프시액을 고르게 뿌릴 때 검액 및 표준액에서 얻은 반점의 R_f 값 및 색상은 같다.

2) 이 약 10 mg을 물 100 mL에 녹인 액을 가지고 자외가시부흡광도측정법에 따라 흡수스펙트럼을 측정할 때 파장 286 nm, 243 nm, 212 ~ 217 nm 부근에서 흡수극대를 나타낸다.

(현행과 같음)

피란텔파모산염 정
Pyrantel Pamoate Tablets

(현행과 같음)

정량법 이 약 20 정 이상을 가지고 그 질량을 정밀하게 달아 가루로 한다. 피란텔파모산염 ($C_{11}H_{14}N_2S$) 약 80 mg에 해당하는 양을 정밀하게 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하여 여과한다. 여액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 피란텔파모산염표준품을 약 80 mg을 정밀하게 달아 검액과 같은 방법으로 조작하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 20 μ L씩을 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피란텔파모산염의 피크면적 A_T 및 A_S 를 측정한다.

피란텔파모산염 ($C_{11}H_{14}N_2S$)의 양 (mg)

$$= \text{피란텔파모산염표준품의 양 (mg)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

(현행과 같음)

현행

헤파린나트륨
Heparin Sodium

(생략)

확인시험 1) (생략)

2) (생략)

3) (생략)

4) 혈액응고 제IIa인자 억제역가에 대한 혈액응고 제Xa인자 억제역가 비율

혈액응고 제Xa인자 억제역가

가) 기질액 *N*-벤조일-L-이소로이실-L-글루탐일(γ-OR)-글리실-L-아르기닌-p-니트로아닐리드염산염을 물에 녹여 1 mmol/L로 만든다.

나) 안티트롬빈용액 사람유래안티트롬빈III을 pH 8.4 완충액에 녹여 1 mL 중 안티트롬빈 1.0 국제단위를 함유하는 용액을 만든다.

다) 혈액응고 제Xa인자액 소유래혈액응고 제Xa인자를 pH 8.4 완충액에 녹여 표준액 또는 검액 대신 pH 8.4 완충액 30 μL를 가지고 정량법에 따라 파장 405 nm에서 측정하여 흡광도 0.65 ~ 1.25가 되도록 한다.

라) pH 8.4 완충액 (생략)

마) 반응정지액 (생략)

바) 헤파린표준액 (생략)

사) 검액 (생략)

아) 조작법 시험관을 37 °C 수조에 넣어 온도가 일정하게 되도록 미리 준비하고 각각에 pH 8.4 완충액 120 μL를 넣은 다음 각 농도의 검액 및 표준액 30 μL씩을 각각 넣는다. 여기에 미리 37 °C에서 15 분간 가온한 안티트롬빈용액 150 μL씩을 각각 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 각 액에 미리 37 °C에서 15 분간 가온한 혈액응고 제Xa인자액을 각각 300 μL씩 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 기질액을 미리 37 °C에서 15 분간 가온하여 각각 300 μL씩 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 각 액에 반응정지액을 150 μL씩 넣고 각각의 시험관을 흔들어 섞는다. 이들 액을 가지고 따로 반응정지액 150 μL를 미리 시험관에 넣고 이하 반대 순서대로 위의 용액을 각각 취해 섞은 액을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 405 nm에서 검액 및 표준액의 흡광도를 측정한다.

자) 계산법 중측은 log흡광도로, 횡측을 각 헤파린표준액 또는 검액 중 환산한 건조물로서 헤파린 농도로 하여 그래프를 각각 작성한다. 다음 식에 따라 이 약의 혈액응

개정안

헤파린나트륨
Heparin Sodium

(현행과 같음)

확인시험 1) (현행과 같음)

2) (현행과 같음)

3) (현행과 같음)

4) 혈액응고 제IIa인자 억제역가에 대한 혈액응고 제Xa인자 억제역가 비율

혈액응고 제Xa인자 억제역가

가) 기질액 *N*-벤조일-L-이소로이실-L-글루탐일(γ-OR)-글리실-L-아르기닌-p-니트로아닐리드염산염을 물에 녹여 1 mmol/L로 만든다.

나) 안티트롬빈용액 사람유래안티트롬빈III을 pH 8.4 완충액에 녹여 1 mL 중 안티트롬빈 1.0 국제단위를 함유하는 용액을 만든다.

다) 혈액응고 제Xa인자액 소유래혈액응고 제Xa인자를 pH 8.4 완충액에 녹여 표준액 또는 검액 대신 pH 8.4 완충액 30 μL를 가지고 아래 조작법에 따라 파장 405 nm에서 측정하여 흡광도 0.65 ~ 1.25가 되도록 한다.

라) pH 8.4 완충액 (현행과 같음)

마) 반응정지액 (현행과 같음)

바) 헤파린표준액 (현행과 같음)

사) 검액 (현행과 같음)

아) 조작법 시험관을 37 °C 수조에 넣어 온도가 일정하게 되도록 미리 준비하고 각각에 pH 8.4 완충액 120 μL를 넣은 다음 각 농도의 검액 및 표준액 30 μL씩을 각각 넣는다. 여기에 미리 37 °C에서 15 분간 가온한 안티트롬빈용액 150 μL씩을 각각 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 각 액에 미리 37 °C에서 15 분간 가온한 혈액응고 제Xa인자액을 각각 300 μL씩 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 기질액을 미리 37 °C에서 15 분간 가온하여 각각 300 μL씩 넣고 섞은 다음 2 분간 방치한다. 각 액에 반응정지액을 150 μL씩 넣고 각각의 시험관을 흔들어 섞는다. 이들 액을 가지고 따로 반응정지액 150 μL를 미리 시험관에 넣고 이하 반대 순서대로 위의 용액을 각각 취해 섞은 액을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 405 nm에서 검액 및 표준액의 흡광도를 측정한다.

자) 계산법 중측은 log흡광도로, 횡측을 각 헤파린표준액 또는 검액 중 환산한 건조물로서 헤파린 농도로 하여 그래프를 각각 작성한다. 다음 식에 따라 이 약의 혈액응

현행	개정안
<p>고 제Xa인자 억제역가를 구한다. 정량법에서 얻은 이 약의 혈액응고 제IIa인자 억제역가에 대한 혈액응고 제Xa인자 억제역가의 비(r)를 계산할 때 0.9 ~ 1.1이다.</p> <p>이 약의 혈액응고 제Xa인자 억제역가 (헤파린단위/mg) = 헤파린나트륨표준품의 역가 (헤파린단위/mg) × $\frac{S_T}{S_S}$</p> <p>S_T : 검액의 기울기 S_S : 표준액의 기울기</p> $r = \frac{\text{혈액응고 제Xa인자 억제역가 (헤파린단위/mg)}}{\text{혈액응고 제IIa인자 억제역가 (헤파린단위/mg)}}$ <p>5) (생략)</p> <p>(생략)</p> <p>정량법 혈액응고 제IIa인자 저해역가 (생략)</p>	<p>고 제Xa인자 억제역가를 구한다. 정량법에서 얻은 이 약의 혈액응고 제IIa인자 억제역가에 대한 혈액응고 제Xa인자 억제역가의 비(r)를 계산할 때 0.9 ~ 1.1이다.</p> <p>이 약의 혈액응고 제Xa인자 억제역가 (헤파린단위/mg) = 헤파린나트륨표준품의 역가 (헤파린단위/mg) × $\frac{S_T}{S_S}$</p> <p>S_T : 검액의 기울기 S_S : 표준액의 기울기</p> $r = \frac{\text{혈액응고 제Xa인자 억제역가 (헤파린단위/mg)}}{\text{혈액응고 제IIa인자 억제역가 (헤파린단위/mg)}}$ <p>5) (현행과 같음)</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>정량법 혈액응고 제IIa인자 저해역가 (현행과 같음)</p>

「대한민국약전」 의약품각조 제2부 개정(안) - 의견수렴용

의약품각조에서 건조감량 조건 누락, 오기 등 단순 오류 개선이 필요한 6품목에 대하여 개정(안)을 마련하였다.

현행	개정안
<p>라우릴황산나트륨 Sodium Lauryl Sulfate</p> <p>(생략)</p> <p>정량법 이 약 약 1.15 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 필요하면 가온하여 녹여 정확하게 1000 mL로 한다. 이 액 20 mL를 정확하게 취하여 마개달린 플라스크에 넣고 디클로로메탄 15 mL 및 브롬화디미딴·설파블루시액 10mL를 넣고 흔들어 섞는다. 세계 흔들어 섞으면서 0.004 mol/L 벤제토늄염화물액으로 적정하고 다음 적정 전에 충분리를 확인하고 종말점은 디클로로메탄층의 분홍색이 없어지고 회청색으로 변할 때로 한다.</p> <p>○ 브롬화디미딴-설파블루혼합액 브롬화디미딴 0.5 g 및 설파블루 0.25 g를 각각 가온한 물 . 에탄올 (99.5) (9 : 1)혼합액 30mL에 녹여 양 액을 섞고 물 . 에탄올(99.5) (9 : 1)혼합액을 넣어 250 mL로 한다. 이 액 20 mL를 취하여 묽은황산(7 → 675) 270 mL 및 물을 넣어 500 mL로 한다. 차광하여 보존한다.</p> <p>0.004 mol/L 벤제토늄염화물액 1mL = 1.154 mg $C_{12}H_{25}NaO_4S$</p> <p>(생략)</p>	<p>라우릴황산나트륨 Sodium Lauryl Sulfate</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>정량법 이 약 약 1.15 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 필요하면 가온하여 녹여 정확하게 1000 mL로 한다. 이 액 20 mL를 정확하게 취하여 마개달린 플라스크에 넣고 디클로로메탄 15 mL 및 브롬화디미딴·설파블루시액 10mL를 넣고 흔들어 섞는다. 세계 흔들어 섞으면서 0.004 mol/L 벤제토늄염화물액으로 적정한 다. 적정액을 첨가할 때마다 세계 흔들어 섞은 다음 충분리를 확인한 후 다음 적정액을 첨가한다. 종말점은 디클로로메탄층의 분홍색이 없어지고 회청색으로 변할 때로 한다.</p> <p>○ 브롬화디미딴-설파블루혼합액 브롬화디미딴 0.5 g 및 설파블루 0.25 g를 각각 가온한 물 . 에탄올 (99.5) (9 : 1)혼합액 30mL에 녹여 양 액을 섞고 물 . 에탄올(99.5) (9 : 1)혼합액을 넣어 250 mL로 한다. 이 액 20 mL를 취하여 묽은황산(7 → 675) 270 mL 및 물을 넣어 500 mL로 한다. 차광하여 보존한다.</p> <p>0.004 mol/L 벤제토늄염화물액 1mL = 1.154 mg $C_{12}H_{25}NaO_4S$</p> <p>(현행과 같음)</p>

현행

스테아르산마그네슘
Magnesium Stearate

(생략)

순도시험 1) 산 또는 알칼리 (생략)

2) 염화물 (생략)

3) 황산염 (생략)

4) 카드뮴 (생략)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 카드뮴중공음극램프

파장 : 228.8 nm

<신설>

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
온도 (℃)	110	600	1800
램프시간 (초)	10	10	0
유지시간 (초)	20	30	5

5) **납** 이 약 약 0.1 g을 정밀히 달아 적당한 폴리테트라플루오로에틸렌처리한 산분해장치에 넣고 질산 2.5 mL를 넣는다. 산분해장치를 닫고 3 시간 동안 170 ℃로 가열한 다음 방치하여 실온으로 천천히 식힌다. 산분해장치를 후드 내에서 부식성 기체의 배출을 조심하면서 열어 잔류물을 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 10 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 희석시킨 질산(1 → 4)을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액 1 mL에 표준용액 0, 0.5, 1.0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣고, 희석시킨 질산(1 → 4) 1.0, 0.5, 0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣는다. 각각의 혼합액에 50 µL의 매트릭스 조정용액을 넣은 다음 이 액들을 가지고 희석시킨 질산(1 → 4)을 대조로 하여 다음 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험하여 흡광도 A_1 , A_2 , A_3 를 측정한다. 이 액들은 표준용액의 납을 0, 0.025, 0.05 µg/mL의 농도로 함유한다. 세로축을 흡광도 A_1 , A_2 , A_3 로, 가로축을 0, 0.025, 0.05 µg/mL로 하여 최소자승법으로 세 점에 가장 잘 맞는 직선으로 검량선(상관계수 0.99 이상)을 작성한 후

개정안

스테아르산마그네슘
Magnesium Stearate

(현행과 같음)

순도시험 1) 산 또는 알칼리 (현행과 같음)

2) 염화물 (현행과 같음)

3) 황산염 (현행과 같음)

4) 카드뮴 (현행과 같음)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 카드뮴중공음극램프

파장 : 228.8 nm

전기가열로가 장착된 원자흡광광도계(GFAA) 제조업체가 카드뮴에 권장하는 온도 프로그램을 사용한다. 카드뮴의 분석을 위한 온도 매개변수(파라미터)의 예는 다음 표와 같다.

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
권장 온도 (℃)	110	600	1800
램프시간 (초)	10	10	0
유지시간 (초)	20	30	5

5) **납** 이 약 약 0.1 g을 정밀히 달아 적당한 폴리테트라플루오로에틸렌처리한 산분해장치에 넣고 질산 2.5 mL를 넣는다. 산분해장치를 닫고 3 시간 동안 170 ℃로 가열한 다음 방치하여 실온으로 천천히 식힌다. 산분해장치를 후드 내에서 부식성 기체의 배출을 조심하면서 열어 잔류물을 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 10 mL로 한다. <삭제> 이 액 1 mL에 표준용액 0, 0.5, 1.0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣고, 희석시킨 질산(1 → 4) 1.0, 0.5, 0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣는다. 각각의 혼합액에 50 µL의 매트릭스 조정용액을 넣은 다음 이 액들을 가지고 희석시킨 질산(1 → 4)을 대조로 하여 다음 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험하여 흡광도 A_1 , A_2 , A_3 를 측정한다. 이 액들은 표준용액의 납을 0, 0.025, 0.05 µg/mL의 농도로 함유한다. 세로축을 흡광도 A_1 , A_2 , A_3 로, 가로축을 0, 0.025, 0.05 µg/mL로 하여 최소자승법으로 세 점에 가장 잘 맞는 직선으로 검량선(상관계수 0.99 이상)을 작성한 후 외삽하여 가로축과 교차하는 농도 C를 구하여 이 약의 납의 양을 계산한

현행

외삽하여 가로축과 교차하는 농도 C 를 구하여 이 약의 납의 양을 계산한다 (10 ppm 이하).

- 매트릭스 조정용액 : 인산이수소암모늄 20 g 및 질산 마그네슘 1g을 물 100 mL 에 녹인 액
- 표준용액 : 납표준액 1 mL를 정확하게 취하고, 희석시킨 질산(1 → 4)을 넣어 100 mL 로 한 액(이 액 1 mL는 납 0.100 μg 을 함유한다)

$$\text{납의 양 (ppm)} = (C / W) \times 20$$

W : 이 약의 취한 양 (g)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 납중공음극램프

파장 : 283.3 nm

<신설>

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
온도 (℃)	110	450	2000
램프시간 (초)	10	10	0
유지시간 (초)	20	30	5

6) **니켈** 이 약 약 0.1 g을 정밀히 달아 적당한 폴리테트라플루오로에틸렌처리한 산분해장치에 넣고 질산 2.5 mL를 넣는다. 산분해장치를 닫고 3시간 동안 170 ℃로 가열한 다음 방치하여 실온으로 천천히 식힌다. 산분해장치를 후드 내에서 부식성 기체의 배출을 조심하면서 열어 잔류물을 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 10 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 희석시킨 질산(1 → 4)을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액 1 mL에 표준용액 0, 0.5, 1.0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣고, 희석시킨 질산(1 → 4) 1.0, 0.5, 0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣는다. 각각의 혼합액에 50 μL 의 매트릭스 조정용액을 넣은 다음 이 액들을 가지고 희석시킨 질산(1 → 4)을 대조로 하여 다음 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험하여 흡광도 A_1, A_2, A_3 를 측정한다. 이 액들은 표준용액의 니켈을 0, 0.0125, 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 함유한다.

개정안

다 (10 ppm 이하).

- 매트릭스 조정용액 : 인산이수소암모늄 20 g 및 질산 마그네슘 1g을 물 100 mL 에 녹인 액
- 표준용액 : 납표준액 1 mL를 정확하게 취하고, 희석시킨 질산(1 → 4)을 넣어 100 mL 로 한 액(이 액 1 mL는 납 0.100 μg 을 함유한다)

$$\text{납의 양 (ppm)} = (C / W) \times 20$$

W : 이 약의 취한 양 (g)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 납중공음극램프

파장 : 283.3 nm

전기가열로가 장착된 원자흡광광도계(GFAA) 제조업체가 납에 권장하는 온도 프로그램을 사용한다. 납의 분석을 위한 온도 매개변수(파라미터)의 예는 다음과 같다.

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
권장 온도 (℃)	110	450	2000
램프시간 (초)	10	10	0
유지시간 (초)	20	30	5

6) **니켈** 이 약 약 0.1 g을 정밀히 달아 적당한 폴리테트라플루오로에틸렌처리한 산분해장치에 넣고 질산 2.5 mL를 넣는다. 산분해장치를 닫고 3시간 동안 170 ℃로 가열한 다음 방치하여 실온으로 천천히 식힌다. 산분해장치를 후드 내에서 부식성 기체의 배출을 조심하면서 열어 잔류물을 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 10 mL로 한다. <삭제> 이 액 1 mL에 표준용액 0, 0.5, 1.0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣고, 희석시킨 질산(1 → 4) 1.0, 0.5, 0 mL를 각각 정확하게 취하여 넣는다. 각각의 혼합액에 50 μL 의 매트릭스 조정용액을 넣은 다음 이 액들을 가지고 희석시킨 질산(1 → 4)을 대조로 하여 다음 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험하여 흡광도 A_1, A_2, A_3 를 측정한다. 이 액들은 표준용액의 니켈을 0, 0.0125, 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 함유한다. 세로축을 흡광도 A_1, A_2, A_3 로, 가로축을 0, 0.0125, 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 로

현행

세로축을 흡광도 A_1, A_2, A_3 로, 가로축을 0, 0.0125, 0.025 $\mu\text{g/mL}$ 로 하여 최소자승법으로 세 점에 가장 잘 맞는 직선으로 검량선(상관계수 0.99 이상)을 작성한 후 외삽하여 가로축과 교차하는 농도 C를 구하여 이 약의 니켈의 양을 계산한다 (5 ppm 이하).

- 매트릭스 조정용액 : 인산이수소암모늄 20 g 및 질산 마그네슘 1g을 물 100 mL 에 녹인 액
- 표준용액 : 니켈표준액 1 mL를 정확하게 취하고, 희석 시킨 질산(1 → 4)을 넣어 100 mL 로 한 액(이 액 1 mL는 니켈 0.050 μg 을 함유한다)

$$\text{니켈의 양 (ppm)} = (C / W) \times 20$$

W : 이 약의 취한 양 (g)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 니켈중공음극램프

파장 : 232.0 nm

<신설>

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
온도 (℃)	110	450	2000
램프시간 (초)	10	10	0
유지시간 (초)	20	30	5

(생략)

포비돈
Povidone

(생략)

순도시험 1) 과산화물 (생략)

2) 1-비닐-2-피롤리돈 (생략)

3) 알데히드 이 약 약 1.0 g을 정밀하게 달아 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0)에 녹여 정확하게 100 mL로 한다. 마개를 하고 60 ℃에서 60 분간 가

개정안

하여 최소자승법으로 세 점에 가장 잘 맞는 직선으로 검량선(상관계수 0.99 이상)을 작성한 후 외삽하여 가로축과 교차하는 농도 C를 구하여 이 약의 니켈의 양을 계산한다 (5 ppm 이하).

- 매트릭스 조정용액 : 인산이수소암모늄 20 g 및 질산 마그네슘 1g을 물 100 mL 에 녹인 액
- 표준용액 : 니켈표준액 1 mL를 정확하게 취하고, 희석 시킨 질산(1 → 4)을 넣어 100 mL 로 한 액(이 액 1 mL는 니켈 0.050 μg 을 함유한다)

$$\text{니켈의 양 (ppm)} = (C / W) \times 20$$

W : 이 약의 취한 양 (g)

조작조건

검출기 : 플랫폼에 열분해 튜브가 장착된 적합한 GFAA 분광광도계)

램프 : 니켈중공음극램프

파장 : 232.0 nm

전기가열로가 장착된 원자흡광광도계(GFAA) 제조업체가 니켈에 권장하는 온도 프로그램을 사용한다. 니켈의 분석을 위한 온도 매개변수(파라미터)의 예는 다음 표와 같다.

	건조 단계	회화 단계	원자화 단계
권장 온도 (℃)	110	1000	2300
램프시간 (초)	10	20	0
유지시간 (초)	20	30	5

(현행과 같음)

포비돈
Povidone

(현행과 같음)

순도시험 1) 과산화물 (현행과 같음)

2) 1-비닐-2-피롤리돈 (현행과 같음)

3) 알데히드 이 약 약 1.0 g을 정밀하게 달아 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0)에 녹여 정확하게 100 mL로 한다. 마개를 하고 60 ℃에서 60 분간 가

현행	개정안
<p>온한 다음 실온이 될 때까지 방치하여 식혀 검액으로 한다. 따로 아세트알데히드암모늄트리머삼수화물 140 mg을 정밀하게 달아 물로 녹여 정확하게 200 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0)에 녹여 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액, 표준액 및 물 0.5 mL씩을 각각의 셀에 넣어 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0) 2.5 mL 및 β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드시액 0.2 mL를 넣고 저어 섞은 다음 마개를 꼭 막고 22 ± 2 ℃에서 2 ~ 3 분간 방치한다. 이들 액을 가지고 물을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 340 nm에서의 흡광도를 측정하여 각 액의 흡광도를 A_{T1}, A_{S1} 및 A_{B1}로 한다. 다시 각각의 액에 알데히드데히드로게나제시액 0.05 mL를 넣어 저어 섞은 다음 마개를 하여 22 ± 2 ℃에서 5 분간 방치하고 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 각 액의 흡광도를 각각 A_{T2}, A_{S2} 및 A_{B2}로 할 때 알데히드의 양은 아세트알데히드로서 <u>0.05 %</u> 이하이다.</p>	<p>온한 다음 실온이 될 때까지 방치하여 식혀 검액으로 한다. 따로 아세트알데히드암모늄트리머삼수화물 140 mg을 정밀하게 달아 물로 녹여 정확하게 200 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0)에 녹여 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액, 표준액 및 물 0.5 mL씩을 각각의 셀에 넣어 0.05 mol/L 피로인산염완충액(pH 9.0) 2.5 mL 및 β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드시액 0.2 mL를 넣고 저어 섞은 다음 마개를 꼭 막고 22 ± 2 ℃에서 2 ~ 3 분간 방치한다. 이들 액을 가지고 물을 대조로 하여 자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 340 nm에서의 흡광도를 측정하여 각 액의 흡광도를 A_{T1}, A_{S1} 및 A_{B1}로 한다. 다시 각각의 액에 알데히드데히드로게나제시액 0.05 mL를 넣어 저어 섞은 다음 마개를 하여 22 ± 2 ℃에서 5 분간 방치하고 같은 방법으로 흡광도를 측정하여 각 액의 흡광도를 각각 A_{T2}, A_{S2} 및 A_{B2}로 할 때 알데히드의 양은 아세트알데히드로서 <u>500 ppm</u> 이하이다.</p>
<p>알데히드의 함량 (ppm)</p> $= (C / W) \times [(A_{T2} - A_{T1}) - (A_{B2} - A_{B1})] / [(A_{S2} - A_{S1}) - (A_{B2} - A_{B1})] \times 100,000$	<p>알데히드의 함량 (ppm)</p> $= (C / W) \times [(A_{T2} - A_{T1}) - (A_{B2} - A_{B1})] / [(A_{S2} - A_{S1}) - (A_{B2} - A_{B1})] \times 100,000$
<p>C : 표준액 중의 아세트알데히드농도 (mg/mL). 단, 아세트알데히드암모늄트리머삼수화물로부터 아세트알데히드로의 환산계수는 0.72를 사용한다.</p> <p>W : 무수물로 환산한 검체의 취한 양 (g)</p> <p>○ β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드시액 : β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드 40 mg을 0.05 mol/L 피로인산염완충액 (pH 9.0)에 녹여 10.0 mL로 한다 (이 액은 4 ℃에서 4 주간 안정하다).</p>	<p>C : 표준액 중의 아세트알데히드농도 (mg/mL). 단, 아세트알데히드암모늄트리머삼수화물로부터 아세트알데히드로의 환산계수는 0.72를 사용한다.</p> <p>W : 무수물로 환산한 검체의 취한 양 (g)</p> <p>○ β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드시액 : β-니코틴아미드아데닌디뉴클레오티드 40 mg을 0.05 mol/L 피로인산염완충액 (pH 9.0)에 녹여 10.0 mL로 한다 (이 액은 4 ℃에서 4 주간 안정하다).</p>
(생략)	(현행과 같음)
에틸파라벤 Ethylparaben	에틸파라벤 Ethylparaben
(생략)	(생략)
<p>순도시험 1) 용해상태 (생략)</p> <p>2) 산 (생략)</p> <p>3) 유연물질 이 약 50.0 mg을 메탄올 2.5 mL에 녹인</p>	<p>순도시험 1) 용해상태 (생략)</p> <p>2) 산 (생략)</p> <p>3) 유연물질 이 약 50.0 mg을 메탄올 2.5 mL에 녹인</p>

현행

다음 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피크면적을 자동적분법에 따라 측정할 때 검액의 에틸파라벤에 대한 상대유지시간 약 0.6의 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 다만, 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 보정계수 1.4를 곱하여 보정한다. 또한, 검액의 에틸파라벤 및 파라히드록시벤조산 이외의 피크의 면적은 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적보다 크지 않다 (0.5 %). 에틸파라벤 이외의 피크의 총 면적은 표준액의 에틸파라벤 피크 면적의 2배보다 크지 않다 (1.0 %). 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적의 0.2 배 미만의 피크들은 무시한다 (0.1 % 이하).

(생략)

프로필파라벤
Propylparaben

(생략)

순도시험 1) 용해상태 (생략)

2) 산 (생략)

3) **유연물질** 이 약 50.0 mg을 메탄올 2.5 mL에 녹인 다음 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피크면적을 자동적분법에 따라 측정할 때 검액의 프로필파라벤에 대한 상대유지시간 약 0.6의 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 표준액의 프로필파라벤의 피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 다만, 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 보정계수 1.4를 곱하여 보정한다. 또한, 검액의 프로필파라벤 및 파라히드록시벤조산 이외의 피크의 면적은 표준액의 프로필파라벤의

개정안

다음 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피크면적을 자동적분법에 따라 측정할 때 검액의 에틸파라벤에 대한 상대유지시간 약 0.5인 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 다만, 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 보정계수 1.4를 곱하여 보정한다. 또한, 검액의 에틸파라벤 및 파라히드록시벤조산 이외의 피크의 면적은 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적보다 크지 않다 (0.5 %). 에틸파라벤 이외의 피크의 총 면적은 표준액의 에틸파라벤 피크 면적의 2배보다 크지 않다 (1.0 %). 표준액의 에틸파라벤의 피크 면적의 0.2 배 미만의 피크들은 무시한다 (0.1 % 이하).

(현행과 같음)

프로필파라벤
Propylparaben

(현행과 같음)

순도시험 1) 용해상태 (현행과 같음)

2) 산 (현행과 같음)

3) **유연물질** 이 약 50.0 mg을 메탄올 2.5 mL에 녹인 다음 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10 μ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 피크면적을 자동적분법에 따라 측정할 때 검액의 프로필파라벤에 대한 상대유지시간 약 0.3인 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 표준액의 프로필파라벤의 피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 다만, 파라히드록시벤조산의 피크 면적은 보정계수 1.4를 곱하여 보정한다. 또한, 검액의 프로필파라벤 및 파라히드록시벤조산 이외의 피크의 면적은 표준액의 프로필파라벤의

현행	개정안
<p>피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 프로필파라벤 이외의 피크의 총 면적은 표준액의 프로필파라벤 피크 면적의 2배보다 크지 않다(1.0 %). 표준액의 프로필파라벤의 피크 면적의 0.2 배 미만의 피크들은 무시한다 (0.1 % 이하).</p> <p>(생략)</p> <p>팜유 Palm Oil</p> <p>(생략)</p> <p>성상 이 약은 50 ℃에서 맑고 투명하며 고유의 색과 향미를 갖고 다른 냄새는 없다.</p> <p>비중 $d_{25}^{40} : 0.900 \sim 0.907$</p> <p>굴절률 $n_d^{20} : 1.453 \sim 1.459$</p> <p>(생략)</p>	<p>피크 면적보다 크지 않다(0.5 %). 프로필파라벤 이외의 피크의 총 면적은 표준액의 프로필파라벤 피크 면적의 2배보다 크지 않다(1.0 %). 표준액의 프로필파라벤의 피크 면적의 0.2 배 미만의 피크들은 무시한다 (0.1 % 이하).</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>팜유 Palm Oil</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>성상 이 약은 50 ℃에서 맑고 투명하며 고유의 색과 향미를 갖고 다른 냄새는 없다.</p> <p>비중 $d_{25}^{40} : 0.900 \sim 0.907$</p> <p>굴절률 $n_d^{50} : 1.445 \sim 1.447$</p> <p>(현행과 같음)</p>

「대한민국약전」 일반시험법 개정(안) - 의견수렴용

일반시험법 17. 미생물한도시험법, 21. 보존제시험법, 24. 불용성이물시험법 및 88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용표준액, 표준액, 색의 비교액, 파장 및 투과율 보정용 광학필터, 계량기·용기, 멸균법 및 무균조작법에 오기가 있어 이를 정정하였다.

또한, 외국 공정서에 대한 히스타민 시험법의 현황을 검토한 결과, 일본약전은 과거 시험 실적 및 생산균의 생화학적 특성조사 및 히스타민시험 부적합 사례 전무 등의 사유로 ‘히스타민 시험법’에 대해 삭제하였으며, 미국약전의 경우 동물을 활용한 히스타민시험법은 삭제하고, ‘겐타마이신황산염’의 한하여 기기분석(LC-MS)을 활용한 분석 방법이 수재하고 있다. 또한, 유럽약전에서는 실험동물을 적게 소모하는 기니피그(제2법)를 우선으로 시험하도록 하고, 시험이 유효하지 않을 때, 고양이(제1법)를 수행하게도록 하고 있으며, 관련 시험법에 대해 삭제하고자 진행 중이다. 「대한민국약전」에서도 동물대체 시험방법의 일환으로 일반시험법 ‘히스타민 시험법’에 대해 다음과 같이 개정하고자 한다.

현행

개정안

17. 미생물한도시험법

17. 미생물한도시험법

(생략)

(현행과 같음)

표 1-1 시험균의 조제와 사용법

미생물	시험균의 조제	배지성능		제품존재 하에서의 측정법의 생균수 적합성	
		총호기성 미생물수	총진균수	총호기성 미생물수	총진균수
<i>Staphylococcus aureus</i> 예를 들면, ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP4.83, NBRC 13276 또는 KCTC 3881	대두카제인소화한천 배지 또는 대두카제인소화액체 배지 30 ~ 35 ℃ 18 ~ 24 시간	대두카제인소화한천 배지 그리고 대두카제인소화액체 배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간		대두카제인소화한천 배지 / MPN대두카제인소화액체 배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	
(생략)					

표 1-1 시험균의 조제와 사용법

미생물	시험균의 조제	배지성능		제품존재 하에서의 측정법의 생균수 적합성	
		총호기성 미생물수	총진균수	총호기성 미생물수	총진균수
<i>Staphylococcus aureus</i> 예를 들면, ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP4.83, NBRC 13276 또는 KCTC 3881	대두카제인소화한천 배지 또는 대두카제인소화액체 배지 30 ~ 35 ℃ 18 ~ 24 시간	대두카제인소화한천 배지 그리고 대두카제인소화액체 배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간		대두카제인소화한천 배지 / MPN대두카제인소화액체 배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	
(현행과 같음)					

현행

<i>Bacillus subtilis</i> 예를 들면, ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62, NBRC 3134 또는 KCTC 1021	대두카제인소화한천배지 또는 대두카제인소화액체배지 30 ~ 35 ℃ 18 ~ 24 시간	대두카제인소화한천배지 또는 대두카제인소화액체배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	대두카제인소화한천배지 / MPN대두카제인소화액체배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------	--

(생략)

개정안

<i>Bacillus subtilis</i> 예를 들면, ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52.62, NBRC 3134 또는 KCTC 1021	대두카제인소화한천배지 또는 대두카제인소화액체배지 30 ~ 35 ℃ 18 ~ 24 시간	대두카제인소화한천배지 그리고 대두카제인소화액체배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	대두카제인소화한천배지 / MPN대두카제인소화액체배지 ≤ 100 CFU 30 ~ 35 ℃ ≤ 3 일간	
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------	--

(현행과 같음)

21. 보존제시험법

(생략)

21. 보존제시험법

(현행과 같음)

2. 시험방법

가. 확인시험 정량법의 검액에서 얻은 주피크의 유지시간은 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간과 같다.

나. 정량법 검액 및 표준액의 농도는 보존제 성분의 동시분석을 위해 최종농도를 1 mL 중 5 ~ 50 µg 범위에서 검액과 표준액의 농도를 동일하게 조정하여 시험할 수 있다.

1) 액체크로마토그래프법

가) 파라옥시벤조산에스테르 및 그 염류

각 보존제의 표시량에 따라 적당량을 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 각 보존제의 최종농도가 1 mL 중 10 µg이 되도록 만들어 여과한 액을 검액으로 한다. 다만, 연질캡슐제 등 액상이 아닌 제제는 온수를 넣고 흔들어서 섞어 연질캡슐기제 등을 완전하게 녹인 다음 메탄올을 넣어 최종농도를 표준액과 동일하게 조작하여 여과한 액을 검액으로 하고, 시럽제 등 감미제(당류)가 다량 함유되어 있을 경우에는 고상추출법(solid phase extraction) 등을 써서 되도록 당류를 제거한 다음 여과하고 여액을 검액으로 한다. 따로 각 보존제 표준품 일정량을 정밀하게 달아 메탄올을 넣어 녹여 최종농도가 1 mL 중 10 µg이 되도록 만들어 각각의 표준액으로 한다.

검액 및 표준액을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 보존제의 피크면적 A_T 및 A_S 를 구한다.

보존제의 양(mg) = 표준액의 농도(mg/mL) × 검액의

2. 시험방법

가. 확인시험 정량법의 검액에서 얻은 주피크의 유지시간은 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간과 같다.

나. 정량법 검액 및 표준액의 농도는 보존제 성분의 동시분석을 위해 최종농도를 1 mL 중 5 ~ 50 µg 범위에서 검액과 표준액의 농도를 동일하게 조정하여 시험할 수 있다.

1) 액체크로마토그래프법

가) 파라옥시벤조산에스테르 및 그 염류

각 보존제의 표시량에 따라 적당량을 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 각 보존제의 최종농도가 1 mL 중 10 µg이 되도록 만들어 여과한 액을 검액으로 한다. 다만, 연질캡슐제 등 액상이 아닌 제제는 온수를 넣고 흔들어서 섞어 연질캡슐기제 등을 완전하게 녹인 다음 메탄올을 넣어 최종농도를 표준액과 동일하게 조작하여 여과한 액을 검액으로 하고, 시럽제 등 감미제(당류)가 다량 함유되어 있을 경우에는 고상추출법(solid phase extraction) 등을 써서 되도록 당류를 제거한 다음 여과하고 여액을 검액으로 한다. 따로 각 보존제 표준품 일정량을 정밀하게 달아 메탄올을 넣어 녹여 최종농도가 1 mL 중 10 µg이 되도록 만들어 각각의 표준액으로 한다.

검액 및 표준액을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 보존제의 피크면적 A_T 및 A_S 를 구한다.

보존제의 양(mg) = 표준액의 농도(mg/mL) × 검액의

현행

$$\text{희석배수 (mL)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계(측정파장 254 nm)
칼 럼 : 안지름 약 4 mm, 길이 15 ~ 30 cm인 스테인레스강관에 5 ~10 μm의 액체크로마토그래프용 옥타데실실릴화한 실리카겔을 충전한다.

이동상 : 아세트니트릴 · 물 · 아세트산무수물 혼합액
(55 : 44 : 1)
(생략)

개정안

$$\text{희석배수 (mL)} \times \frac{A_T}{A_S}$$

조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계(측정파장 254 nm)
칼 럼 : 안지름 약 4 mm, 길이 15 ~ 30 cm인 스테인레스강관에 5 ~10 μm의 액체크로마토그래프용 옥타데실실릴화한 실리카겔을 충전한다.

이동상 : 아세트니트릴 · 물 · 아세트산(100) 혼합액
(55 : 44 : 1)
(현행과 같음)

24. 불용성이물시험법

(생략)

주사제 제1법 용액인 주사제 및 쓸 때 녹여 쓰는 주사제의 용제는 용기의 바깥쪽을 깨끗이 닦고 흰색광원 바로 아래 약 1000 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰할 때 맑으며 쉽게 검출되는 불용성이물이 없다. 다만 플라스틱제수성주사제용기를 쓴 이 제제에서는 위 및 아래에 흰색광원을 써서 8000 ~ 10000 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰한다.

제2법 쓸 때 녹여 쓰는 주사제는 용기의 바깥쪽을 깨끗이 닦고 이물이 들어가지 않도록 충분히 조심하여 첨부한 용제 또는 주사용수를 써서 녹이고 흰색광원 바로 아래 약 1000 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰할 때 맑으며 분명히 볼 수 있는 불용성이물이 없다.

(생략)

87. 히스타민시험법

히스타민시험법은 의약품 중의 히스타민 및 히스타민과 유사한 물질을 검출하는 시험법이다. 히스타민시험을 하는 의약품은 의약품각조에 필요한 조건을 정한다. 따로 규정이 없는 한 시험은 다음 방법에 따른다. <신설>

24. 불용성이물시험법

(현행과 같음)

주사제 제1법 용액인 주사제 및 쓸 때 녹여 쓰는 주사제의 용제는 용기의 바깥쪽을 깨끗이 닦고 흰색광원 바로 아래 2000 ~ 3750 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰할 때 맑으며 쉽게 검출되는 불용성이물이 없다. 다만 플라스틱제수성주사제용기를 쓴 이 제제에서는 위 및 아래에 흰색광원을 써서 8000 ~ 10000 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰한다.

제2법 쓸 때 녹여 쓰는 주사제는 용기의 바깥쪽을 깨끗이 닦고 이물이 들어가지 않도록 충분히 조심하여 첨부한 용제 또는 주사용수를 써서 녹이고 흰색광원 바로 아래 2000 ~ 3750 렉스 밝기의 위치에서 육안으로 관찰할 때 맑으며 분명히 볼 수 있는 불용성이물이 없다.

(현행과 같음)

87. 히스타민시험법

히스타민시험법은 의약품 중의 히스타민 및 히스타민과 유사한 물질을 검출하는 시험법이다. <삭제>

의약품에서 높은 수치의 히스타민은 홍조, 가려움, 두드러기, 호흡 곤란, 혈압 저하, 심박수 증가뿐만 아니라 사망에조차 이를 수 있는 심각한 약물 부작용을 유발할 수 있다.

히스타민 불순물의 잠재적인 공급원은 동물성 펩톤으로 특히 어류 유래 펩톤은 발효 과정에서 단백질 공급원으로 사용되는 핵심 원료이다. 유리 히스티딘은 동물에 존재하는 천연

현행	개정안
	아미노산으로, 히스티딘 탈탄산효소(decarboxylase)에 의해 히스타민으로 전환될 수 있다.
<신설>	일부 어종은 히스티딘을 다량 함유하고 있으므로, 어류 유래 펩톤은 다른 동물성 펩톤보다 히스타민에 대한 오염의 위험이 더 크다. 동물성 펩톤을 제조 공정에서 사용할 때는 히스타민 함량에 특히 주의하여야 한다.
<신설>	히스타민시험을 하는 의약품은 의약품각조에 필요한 조건을 정한다. 따로 규정이 없는 한, 제2법에 따라 시험한다. 다만, 검체에 의한 수축이 재현성이 없거나 고용량 및 저용량의 히스타민에 대해 얻어진 반응이 감소하는 경우는 제1법에 따라 시험한다. 제3법은 액체크로마토그래피-질량분석법(LC-MS)를 사용하여 히스타민 정량분석 방법에 대한 정보를 제공하는 것으로, 겐타마이신황산염에 사용하도록 밸리데이션된 것이다. 만일, 겐타마이신황산염 외 다른 의약품에 적용하는 경우에는 분석법 밸리데이션 후 사용한다.
<신설>	<위치 이동>
히스타민표준액 인산히스타민표준품 적당량을 정밀하게 달아 주사용수 또는 생리식염주사액으로 정확하게 희석하여 1 mL 중 히스타민($C_5H_9N_3$) 1 μ g을 함유하는 용액을 만들어 히스타민표준액으로 한다.	<위치 이동>
시험동물 성숙하고 건강한 고양이를 쓴다.	<위치 이동>
검체 및 검체량 검체는 의약품각조에서 규정한다. 검체의 조제에 단지 용액이라 기재한 때는 검체의 조제에 쓰는 용제는 주사용수 또는 생리식염주사액을 쓰며 이 용제로 녹이거나 또는 시험에 지장이 없는 한 현탁하여 검액으로 한다. 또 어느 용매의 용액이라 기재한 때는 그 용액은 시험에 지장이 없는 한 현탁액도 무방하다. 검체량은 따로 규정이 없는 한 시험동물의 체중 kg 당 검체 1.0 mL로 한다. 의약품 각조에 규정하는 검체량은 시험동물 kg 당 투여량을 말한다.	검체 및 검체량 검체는 의약품각조에서 규정한다. 검체의 조제에 단지 용액이라 기재할 때는 검체의 조제에 쓰는 용제는 주사용수 또는 생리식염주사액을 쓰며 이 용제로 녹이거나 또는 시험에 지장이 없는 한 현탁하여 검액으로 한다. 또 어느 용매의 용액이라 기재할 때는 그 용액은 시험에 지장이 없는 한 현탁액도 무방하다. 검체량은 따로 규정이 없는 한, 시험동물의 체중 kg 당 검체 1.0 mL로 한다. 의약품각조에 규정하는 검체량은 시험동물 kg 당 투여량을 말한다.
<신설>	제1법
<위치 이동>	시험동물 성숙하고 건강한 고양이를 쓴다.
조작 시험동물의 체중을 달고 페노바르비탈, 헥소바르비탈나트륨 또는 펜토바르비탈나트륨을 복강 내에 주사하여 전신마취를 시킨다. 우경동맥을 노출시키고 미주 신경이 있는 모든 주위의 조직을 메스로 완전히 분리시키고 _____ 캐놀러를 삽입한다. 다음에 대퇴정맥을 노출시키고 기록식 카이머그래프를 가동시켜 혈압변화를 기록하여 혈압변화가 안정된 것을 확인한다. 대퇴정맥에 히스타민표준액을 다음과 같이 주사하고 시험동물의 감	히스타민표준액 인산히스타민표준품 적당량을 정밀하게 달아 주사용수 또는 생리식염주사액으로 정확하게 희석하여 1 mL 중 히스타민($C_5H_9N_3$) 1 μ g을 함유하는 용액을 만들어 히스타민표준액으로 한다.
	조작법 시험동물의 체중을 달고 페노바르비탈, 헥소바르비탈나트륨 또는 펜토바르비탈나트륨을 복강 내에 주사하여 전신마취를 시킨다. 우경동맥을 노출하고, 미주 신경이 있는 모든 주위의 조직을 메스를 이용하지 않고 완전히 분리시키고 캐놀러를 삽입한다. 다음에 대퇴정맥을 노출하고, 기록식 키모그래프를 가동시켜 혈압변화를 기록하여 혈압변화가 안정된 것을 확인한다. 대퇴정맥에 히스타민표준액을 다음과 같이 주사하고 시험동물의 감

현행

의 감수성을 정한다. 체중 kg 당 정확하게 히스타민표준액 0.05 mL, 0.1 mL 및 0.15 mL를 각각 5 분 간 이상의 간격으로 주사한다. 이 주사를 1 계열로 하고 5 분 간 이상의 간격을 두고 계열주사를 반복한다. 최초 1 계열의 판독을 제외하고 히스타민의 일정량의 주사로 일어나는 혈압강하가 비교적 일정하게 되었을 때 주사하는 것을 그치고 이 때의 히스타민 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 에 의하여 일어나는 혈압강하(2.67 kPa 이상)를 검체를 시험하는 때의 표준으로 한다. 시험동물의 체중에 해당하는 검체량을 시험동물의 대퇴정맥에 주사하고 5 분 간 관찰한다. 현저한 혈압강하가 일어날 때는 시험동물을 히스타민표준액으로 재시험한 다음, 같은 방법으로 검체의 주사를 반복하여 확인한다. 시험동물이 충분히 안정되어 있으면 2 개 이상의 검체 시험에 쓸 수 있다.

판정 검체를 주사한 때에 일어나는 혈압강하가 체중 kg 당 0.1 μg 의 히스타민에 의하여 일어나는 혈압강하보다 작을 때는 히스타민시험에 적합하다고 판정한다.

<신설>

개정안

수성을 정한다. 체중 kg 당 정확하게 히스타민표준액 0.05 mL, 0.1 mL 및 0.15 mL를 각각 5 분 간 이상의 간격으로 주사한다. 이 주사를 1 계열로 하고 5 분 간 이상의 간격을 두고, 계열주사를 반복한다. 최초 1 계열의 판독을 제외하고, 히스타민의 일정량의 주사로 일어나는 혈압강하가 비교적 일정하게 되었을 때 주사하는 것을 중단하고 이때의 히스타민 0.1 $\mu\text{g/kg}$ 에 의하여 일어나는 혈압강하(2.67 kPa 이상)를 검체를 시험하는 때의 표준으로 한다. 시험동물의 체중에 해당하는 검체량을 시험동물의 대퇴정맥에 주사하고 5 분 간 관찰한다. 현저한 혈압강하가 일어날 때는 시험동물을 히스타민표준액으로 재시험한 다음, 같은 방법으로 검체의 주사를 반복하여 확인한다. 시험동물이 충분히 안정되어 있으면 2 개 이상의 검체 시험에 쓸 수 있다.

판정 검체를 주사한 때에 일어나는 혈압강하가 체중 kg 당 0.1 μg 의 히스타민에 의하여 일어나는 혈압강하보다 작을 때는 히스타민시험에 적합하다고 판정한다.

제2법

시험동물 250 g ~ 350 g의 기니피그를 쓴다.

시험액의 조제(1) 용액 A

염화나트륨	160.0 g
염화칼륨	4.0 g
염화칼슘 무수물	2.0 g
염화마그네슘 무수물	1.0 g
인산수소이나트륨십이수화물	0.10 g
주사용수	전체 1000 mL로 한다.

(2) 용액 B

용액 A	50.0 mL
아트로핀황산염	0.5 mg
탄산수소나트륨	1.0 g
포도당일수화물	0.5 g
주사용수	전체 1000 mL로 한다.

용액 B는 새로 조제하여 24시간 이내에 쓴다.

조작법 실험동물을 24시간 동안 절식시키고 안락사시킨다. 회장 말단부에서 2 cm 길이로 잘라내고, 잘라낸 부분은 용액 B를 채운 주사기로 조심스럽게 씻어 내용물을 비운다. 양 끝에 가는 실을 달고 창자 조각의 가운데 부위를 작게 가로로 잘라서 벌린다. 이를 일정한 온도(34 ~ 36 $^{\circ}\text{C}$)의 항온으로 유지한 용액 B를 함유하는 10 ~ 20 mL 용량의 장관능시험수조 장치에 넣고, 용액 속으로 산소 및 이산화탄소 혼합가스(95 : 5)의 기류를 통과시킨다. 한쪽 실을 장관능시험수조 장치의 바닥 가까이에 단다. 다른 쪽 실은 등장력 미오그래

<신설>

현행

개정안

프에 달고 창자의 수축을 키모그래피로 기록하거나, 또는 영구적으로 기록할 수 있는 다른 적당한 수단으로 기록한다. 레버를 사용하는 경우는 창자의 움직임이 약 20배 증폭될 수 있는 길이가 되도록 한다. 창자에 걸리는 장력은 약 9.8 밀리뉴턴 (1 g)이 되도록 하고, 창자의 감도에 맞게 조정한다. 장관능시험수조 장치를 용액 B로 씻어 내리고 10 분 동안 그대로 둔 다음 다시 용액 B로 2-3 회 더 씻어 내린다. 세척을 위해 수조를 비울 때, 가능한 한 조직이 공기에 노출되지 않도록 세척액을 부어주면서 용액을 배출시킨다.

히스타민염산염을 써서 히스타민염산염용액을 조제하고, 이 액을 0.2 ~ 0.5 mL 사이의 일정량을 첨가하여 일련의 수축을 촉진시킨다. 최대 이하의 반응을 재현성 있게 나타내는 강도를 가질 때, 이 용량을 고용량으로 한다. 용액을 첨가하기 전에 매번 장관능시험수조 장치를 용액 B로 3회 씻어 내린다(될 수 있으면 조직이 공기에 노출되지 않도록 시험 수조를 비우는 것이 아니라 용액이 넘쳐흐르도록 한다). 연속적으로 시험할 때는 일정 기간 간격을 두고 이루어져야 하며, 시험과 시험 사이에 완전한 이완이 이루어질 수 있도록 한다(약 2분). 히스타민염산염용액을 희석하여 만든 희석액을 가지고 일정량을 첨가하여 일련의 수축을 촉진시킨다. 고용량에 의한 수축의 절반 정도의 반응을 재현성 있게 나타내는 용량을 저용량으로 한다. 위에서 정한 고용량 및 저용량의 히스타민염산염용액을 주기적으로 연속하여 첨가하고, 각 첨가와 동일한 양의 검액을 번갈아 넣는다.

판정 창자의 수축에 재현성이 있는지, 그리고 고용량 및 저용량의 히스타민에 의한 반응들이 변화하지 않는지를 확인한다.

검체에 의한 수축이 재현성이 없거나 또는 고용량 및 저용량의 히스타민에 대해 얻어진 반응이 감소하는 경우는 시험 결과는 무효이며, 제1법에 따라 시험한다.

현행

개정안

<그림 신설>

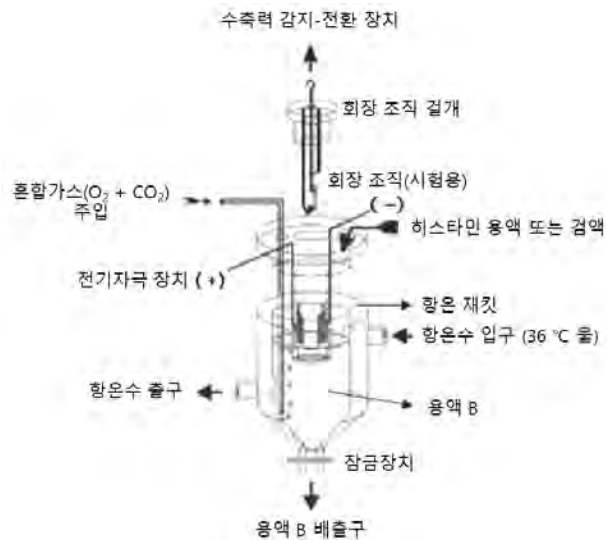


그림. 장관능시험수조 장치

<신설>

제3법

검액 검체를 달아 이동상 B에 넣어 녹여 1 mg/mL 용액을 제조하여 검액으로 한다.

표준액 적당량의 히스타민염산염표준품을 정밀하게 달아 이동상 B에 넣어 녹인 후 이동상 B로 단계적으로 희석하여 2 ~ 20 ng/mL 범위 내에서 적절한 간격으로 일련의 표준액(3개 이상)을 만든다.

조작법 검액 및 일련의 표준액 1 µL씩 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프에 따라 시험하여 크로마토그램과 질량분석기 신호의 피크 면적을 기록한다. 직선회귀법을 사용하여 히스타민 농도에 대한 표준액의 히스타민 피크 면적으로부터 검량선을 결정한다. 검량선과 검액의 히스타민 피크 면적으로 검액의 히스타민 농도 C를 구한다.

조작조건

검출기 : 고성능질량분석계

이온화 방법 : 전자분무(+)이온화법

모드 : 단일 이온 모니터링(SIM) m/z 112.1

검출 온도 : 600 °C

칼럼 : 안지름 약 2.1 mm, 길이 약 10 cm인 스테인레스강관에 1.7 µm의 액체크로마토그래프용 알킬아미드기가 공유결합된 실리카겔을 충전한다

이동상 : 이동상 A 및 이동상 B를 가지고 다음과 같이 단계적 또는 농도기울기적으로 제어한다.

이동상 A - 아세트오니트릴

이동상 B - 0.1% 포름산액에 포름산암모늄을 넣어 녹여 0.01 mol/L가 되게 한다.

현행

개정안

시간(분)	이동상 A (vol%)	이동상 B (vol%)
0	90	10
0 ~ 4	90 → 40	10 → 60
4 ~ 5	40 → 40	60 → 60
5 ~ 5.01	40 → 90	60 → 10
5.01 ~ 7	90 → 90	10 → 10

칼럼온도 : 35 ℃ 부근의 일정 온도

유 량: 0.5 mL/분

시스템적합성

시스템의 성능 : 검량선의 상관계수는 0.99 이상, 히스타민염산염표준품 적당량을 정밀하게 달아 이동상 B에 넣어 녹여 검량선의 농도 범위 내의 농도로 한 검정 표준액의 회수율은 80 ~ 120 %이다. 2 ng/mL 표준액 1 μL를 가지고 위의 조건으로 시험할 때 히스타민 피크에 대한 신호대 잡음비는 10 이상, 히스타민 피크의 유지시간은 약 2.8분이다.

시스템의 재현성 : 10 ng/mL 표준액 1 μL씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 3 회 반복할 때 히스타민 피크면적의 상대표준편차는 10 % 이하이다. 다만, 검액의 질량 분석기 신호가 검량선보다 낮으면 상대표준편차는 필요하지 않다.

판 정 검체 중 히스타민의 함량은 다음과 같이 계산한다.

$$\text{검체 중 히스타민의 함량 (ng/mg)} = C / S$$

C : 검액의 히스타민 농도 (ng/mL)

S : 검액 중 해당 의약품의 농도 (ng/mL)

88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용표준액, 표준액, 색의 비교액, 파장 및 투과율 보정용 광학필터, 계량기·용기, 멸균법 및 무균조작법

2) 시약·시액

(생 략)

닌히드린 [최순품]

0.2 % 닐히드린·물포화 1-부탄올시액 닐히드린 2 g에 물로 포화시킨 1-부탄올을 넣어 1000 mL로 한

88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용표준액, 표준액, 색의 비교액, 파장 및 투과율 보정용 광학필터, 계량기·용기, 멸균법 및 무균조작법

2) 시약·시액

(현행과 같음)

닌히드린 [최순품]

0.2 % 닐히드린·물포화 1-부탄올시액 닐히드린 2 g에 물로 포화시킨 1-부탄올을 넣어 1000 mL로 한

현행	개정안
다. 닌히드린·몰포화부탄올시액, 0.2 % 닐히드린 2 g에 몰포화부탄올을 넣어 녹여 1000 mL로 한다. <u><순서 이동></u>	다. 닌히드린·몰포화부탄올시액, 0.2 % 닐히드린 2 g에 몰포화부탄올을 넣어 녹여 1000 mL로 한다. <u>닌히드린·시트르산·아세트산시액 시트르산일수화물 70 g에 물 500 mL를 넣어 녹이고 아세트산(100) 58 mL 및 수산화나트륨용액(21 → 50) 70 mL를 넣고 물을 넣어 1000 mL로 한다. 이 액 100 mL에 0.2 g 닐히드린을 녹인다.</u>
닌히드린·아스코르브산시액 닐히드린 0.25 g 및 L-아스코르브산 10 mg을 달아 물을 넣어 녹여 50 mL로 한다. 쓸 때 만든다. <u><순서 이동></u>	닌히드린·아스코르브산시액 닐히드린 0.25 g 및 L-아스코르브산 10 mg을 달아 물을 넣어 녹여 50 mL로 한다. 쓸 때 만든다. <u>닌히드린·염화제일석시액 닐히드린·염화주석(II)시액 참조.</u>
닌히드린·염화주석(II)시액 시트르산일수화물 21.0 g을 물에 녹여 200 mL로 한 액에 수산화나트륨시액을 넣어 pH 5.6 ± 0.2로 조정한 다음 물을 넣어 500 mL로 하고 염화주석(II)이수화물 1.3 g을 넣어 녹이고 이 액 50 mL에 닐히드린의 2-메톡시에탄올용액(2 → 50) 50 mL를 넣는다. 쓸 때 만든다.	닌히드린·염화주석(II)시액 시트르산일수화물 21.0 g을 물에 녹여 200 mL로 한 액에 수산화나트륨시액을 넣어 pH 5.6 ± 0.2로 조정한 다음 물을 넣어 500 mL로 하고 염화주석(II)이수화물 1.3 g을 넣어 녹이고 이 액 50 mL에 닐히드린의 2-메톡시에탄올용액(2 → 50) 50 mL를 넣는다. 쓸 때 만든다.
닌히드린·황산시액 닐히드린 0.1 g을 황산 100 mL에 녹인다. 쓸 때 만든다.	닌히드린·황산시액 닐히드린 0.1 g을 황산 100 mL에 녹인다. 쓸 때 만든다.
닌히드린시액 닐히드린 0.2 g에 물을 넣어 녹여 10 mL로 한다. 쓸 때 만든다.	닌히드린시액 닐히드린 0.2 g에 물을 넣어 녹여 10 mL로 한다. 쓸 때 만든다.
닌히드린시액 닐히드린 1.0 g을 에탄올에 넣어 녹인 다음 아세트산 1 mL를 넣고 에탄올을 넣어 100 mL로 한다 (L-아스파르트산-L-아르기닌).	닌히드린시액 닐히드린 1.0 g을 에탄올에 넣어 녹인 다음 아세트산 1 mL를 넣고 에탄올을 넣어 100 mL로 한다 (L-아스파르트산-L-아르기닌).
닌히드린시액 닐히드린 2 g을 달아 pH 5.0 시트르산완충액·2-메톡시에탄올 혼합액(1 : 1)을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한다 (메틸올세팔렉신리시네이트).	닌히드린시액 닐히드린 2 g을 달아 pH 5.0 시트르산완충액·2-메톡시에탄올 혼합액(1 : 1)을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한다 (메틸올세팔렉신리시네이트).
닌히드린용액 닐히드린 0.4 g을 에틸렌글리콜모노에틸테르 10 mL에 녹이고 시트르산완충액 10 mL를 넣는다 (이부프로펜리신).	닌히드린용액 닐히드린 0.4 g을 에틸렌글리콜모노에틸테르 10 mL에 녹이고 시트르산완충액 10 mL를 넣는다 (이부프로펜리신).
닌히드린액 닐히드린 1 g을 달아 1-부탄올을 넣어 100 mL로 한다 (판토텐산칼슘)	닌히드린액 닐히드린 1 g을 달아 1-부탄올을 넣어 100 mL로 한다 (판토텐산칼슘)
<u><신 설></u>	<u>닌히드린아황산수소나트륨용액 닐히드린 3 g에 메타중아황산수소나트륨 수용액(45.5 g/L)을 넣어 녹여 100 mL로 한다.</u>
닌히드린에탄올용액 닐히드린 0.1 g에 무수에탄올 70 mL를 넣고 2,4,6-트리메틸피리딘 2.9 mL와 아세트산(100) 20 mL를 넣어 혼합한다.	닌히드린에탄올용액 닐히드린 0.1 g에 무수에탄올 70 mL를 넣고 2,4,6-트리메틸피리딘 2.9 mL와 아세트산(100) 20 mL를 넣어 혼합한다.
<u>닌히드린·시트르산·아세트산시액 시트르산일수화물 70 g에 물 500 mL를 넣어 녹이고 아세트산(100) 58 mL 및 수산화나트륨용액(21 → 50) 70 mL를 넣고 물을 넣어 1000 mL로 한다. 이 액 100 mL에 0.2 g 닐</u>	<u><순서 이동></u>

현행	개정안
<p><u>히드린을 녹인다.</u></p> <p><u>닌히드린·염화제일석시액</u> <u>닌히드린·염화주석(II)시액</u> 참조. <u><순서 이동></u></p> <p><u>조.</u></p> <p>(생략)</p> <p>브롬화 <i>p</i>-니트로벤질 4-니트로브로모벤질 참조.</p> <p><신설></p> <p>브롬화수소산 HBr [최순품]</p> <p>(생략)</p> <p>설파민산암모늄시액 설파민산암모늄 1 g을 물에 넣어 녹여 40 mL로 한다.</p> <p><신설></p> <p>설포살리실산시액 설포살리실산이수화물 5 g에 물을 넣어 녹여 100 mL로 한다.</p> <p>(생략)</p> <p>25 % 테트라메틸암모늄히드록시드·메탄올시액 (생략)</p> <p><순서 이동></p> <p>테트라메틸암모늄히드록시드시액 pH 5.5 (생략)</p> <p>(생략)</p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드 (C₄H₉)₄NOH [순품]</p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드·메탄올시액 테트라부틸암모늄히드록시드[(C₄H₉)₄NOH : 259.48]를 25 g/dL 함유하는 메탄올용액이다. 무색 ~ 미황색의 투명한 액으로 암모니아냄새가 난다.</p> <p>함량 : 22.5 ~ 27.5 g/dL</p>	<p>(현행과 같음)</p> <p>브롬화 <i>p</i>-니트로벤질 4-니트로브로모벤질 참조.</p> <p><u>브롬화디미늄 C₂₀H₁₈BrN₃ 빨간색 - 진한 갈색의 결정성 가루 또는 가루이다.</u></p> <p><u>확인시험 1) 이 약을 가지고 적외부흡수스펙트럼측정법 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 파수 3300cm⁻¹, 1619cm⁻¹, 1489cm⁻¹, 1470cm⁻¹, 1422cm⁻¹ 및 1316cm⁻¹ 부근에서 흡수를 나타낸다.</u></p> <p><u>2) 이 약의 수용액(1→1000)은 브롬화물의 정성반응을 나타낸다.</u></p> <p>브롬화수소산 HBr [최순품]</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>설파민산암모늄시액 설파민산암모늄 1 g을 물에 넣어 녹여 40 mL로 한다.</p> <p><u>설파블루 C₂₇H₃₁N₂NaO₆S₂ 적자색 - 진한 적갈색의 결정성 가루 - 가루, 또는 덩어리이다.</u></p> <p><u>확인시험 1) 이 약 5 mg에 에탄올(99.5) 20 mL를 넣을 때 진한 파란색을 나타낸다. 2) 이 약을 가지고 적외부흡수스펙트럼측정법 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 파수 1580 cm⁻¹, 1420 cm⁻¹, 1340 cm⁻¹, 1180 cm⁻¹, 1150 cm⁻¹, 1070 cm⁻¹, 1030 cm⁻¹, 910 cm⁻¹, 790 cm⁻¹, 700 cm⁻¹ 및 620 cm⁻¹ 부근에서 흡수를 나타낸다.</u></p> <p>설포살리실산시액 설포살리실산이수화물 5 g에 물을 넣어 녹여 100 mL로 한다.</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>25 % 테트라메틸암모늄히드록시드·메탄올시액 (현행과 같음)</p> <p><u>테트라메틸암모늄히드록시드시액 테트라메틸암모늄히드록시드 15 mL를 정확하게 취하여 에탄올(99.5)을 넣어 정확하게 100 mL로 한다.</u></p> <p>테트라메틸암모늄히드록시드시액 pH 5.5 (현행과 같음)</p> <p>(현행과 같음)</p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드 (C₄H₉)₄NOH [순품]</p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드·메탄올시액 테트라부틸암모늄히드록시드[(C₄H₉)₄NOH : 259.48]를 25 g/dL 함유하는 메탄올용액이다. 무색 ~ 미황색의 투명한 액으로 암모니아냄새가 난다.</p> <p>함량 : 22.5 ~ 27.5 g/dL</p>

현행	개정안
<p>정량법 : 이 약 15 mL를 정확하게 취하여 1 mol/L 염산으로 적정한다 (지시약 : 메틸레드시액 3 방울).</p> <p>1 mol/L 염산 1 mL = 259.48 mg $C_{16}H_{37}NO$</p> <p>10 % 테트라부틸암모늄히드록시드 · 메탄올시액 테트라부틸암모늄히드록시드 $[(C_4H_9)_4NOH : 259.48]$를 10 g/100 mL 함유하는 메탄올용액이다.</p> <p>함량 : 9.0 ~ 11.0 g/100 mL</p> <p>정량법 : 미리 물 20 mL를 넣은 마개가 달린 플라스크에 이 약 2 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 적정한다 (지시약 : 메틸레드시액 3 방울).</p> <p>0.1 mol/L 염산 1 mL = 25.948 mg $C_{16}H_{37}NO$</p> <p><u>테트라메틸암모늄히드록시드시액 테트라메틸암모늄히드록시드 15 mL를 정확하게 취하여 에탄올(99.5)을 넣어 정확하게 100 mL로 한다.</u></p> <p><u><신 설></u></p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드시액, 0.005 mol/L (생 략)</p>	<p>정량법 : 이 약 15 mL를 정확하게 취하여 1 mol/L 염산으로 적정한다 (지시약 : 메틸레드시액 3 방울).</p> <p>1 mol/L 염산 1 mL = 259.48 mg $C_{16}H_{37}NO$</p> <p>10 % 테트라부틸암모늄히드록시드 · 메탄올시액 테트라부틸암모늄히드록시드 $[(C_4H_9)_4NOH : 259.48]$를 10 g/100 mL 함유하는 메탄올용액이다.</p> <p>함량 : 9.0 ~ 11.0 g/100 mL</p> <p>정량법 : 미리 물 20 mL를 넣은 마개가 달린 플라스크에 이 약 2 mL를 정확하게 취하여 0.1 mol/L 염산으로 적정한다 (지시약 : 메틸레드시액 3 방울).</p> <p>0.1 mol/L 염산 1 mL = 25.948 mg $C_{16}H_{37}NO$</p> <p><u><순서 이동></u></p> <p><u>테트라부틸암모늄히드록시드시액 테트라부틸암모늄히드록시드 $[(C_4H_9)_4NOH : 259.48]$를 13 g/100 mL 함유하는 수용액이다.</u></p> <p><u>함량 : 11.7 ~ 14.3 g/100 mL</u></p> <p><u>정량법 : 미리 물 15 mL를 넣은 마개가 달린 플라스크의 질량을 달고 이것에 $(C_4H_9)_4NOH$ 약 0.3 g에 해당하는 양을 정밀하게 달고 0.1 mol/L 염산으로 적정한다 (지시약 : 메틸레드시액 3 방울).</u></p> <p><u>0.1 mol/L 염산 1 mL = 25.948 mg $C_{16}H_{37}NO$</u></p> <p>테트라부틸암모늄히드록시드시액, 0.005 mol/L (현행과 같음)</p>
(생 략)	(현행과 같음)
<p>포도당펩톤배지, 무균시험용 일반시험법의 무균시험용포도당 II 펩톤배지 참조.</p> <p>포르마진유탕원액 핵사민시액 25 mL에 <u>황산히드라지늄시액</u> 25 mL를 넣어 25 ± 3 °C에서 24 시간 방치하여 쓴다. 이 원액은 표면에 흠이 없는 유리용기 중에서 약 2 개월간 유효하다. 쓸 때 잘 흔들어 섞어 쓴다.</p> <p>포르말린 포르말알데히드액 참조.</p>	<p>포도당펩톤배지, 무균시험용 일반시험법의 무균시험용포도당 II 펩톤배지 참조.</p> <p>포르마진유탕원액 핵사민시액 25 mL에 <u>히드라지늄황산염시액</u> 25 mL를 넣어 25 ± 3 °C에서 24 시간 방치하여 쓴다. 이 원액은 표면에 흠이 없는 유리용기 중에서 약 2 개월간 유효하다. 쓸 때 잘 흔들어 섞어 쓴다.</p> <p>포르말린 포르말알데히드액 참조.</p>
(생 략)	(현행과 같음)
<p>히드라지늄황산염 $N_2H_6SO_4$ [최순품]</p> <p><u>히드라지늄황산염시액 히드라지늄황산염 2 g 및 아세트산나트륨 6.5 g을 물에 녹여 100 mL로 한다.</u></p> <p>히드라지늄황산염시액 히드라지늄황산염 1.0 g을 물에 녹여 100 mL로 한다.</p>	<p>히드라지늄황산염 $N_2H_6SO_4$ [최순품]</p> <p><u><삭 제></u></p> <p>히드라지늄황산염시액 히드라지늄황산염 1.0 g을 물에 녹여 100 mL로 한다.</p>
(생 략)	(현행과 같음)

현행

히드록시암모늄염산염 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ [최순품]

히드록시암모늄염산염시액 히드록실암모늄염산염용액 (3
4.8 → 100) · 아세트산나트륨 · 1 mol/L 수산화나트
륨시액 · 에탄올(1 : 1 : 4)을 혼화한다.

(생략)

개정안

히드록시암모늄염산염 $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ [최순품]

히드록시암모늄염산염시액 히드록실암모늄염산염용액 (3
4.8 → 100) · 아세트산나트륨 · 수산화나트륨시액 ·
에탄올(1 : 1 : 4)을 혼화한다.

(현행과 같음)

「대한민국약전」 일반시험법 신설(안) - 의견수렴용

「대한민국약전」 제제총칙 중 ‘5. 기관지·폐에 적용하는 제제’ 규정에 따라, 폐흡입제 품질 관리를 위한 일반시험법 ‘흡입제 전달량 균일성시험법’ 및 ‘흡입제의 공기역학적 입자크기측정법’을 신설하여 국제조화 및 폐흡입제 품질관리에 유용한 시험법을 제공하고자 한다.

이 일반시험법 신설(안)은 대한민국약전포럼 Vol.15 No.1 (2018년 6월)에 실려 의견조회를 진행한 바 있으며, 이후 대한민국약전 전문가위원회 등을 거쳐 용어 등을 수정하여 다시 제약업계의 의견을 수렴하고자 한다.

흡입제의 전달량 균일성시험법

이 시험법은 흡입제(흡입에어로솔제와 흡입분말제)에서 분사, 방출되는 유효성분 양의 균일성을 정량적으로 평가하는 것이다. 이들 제제로부터 환자에게 투여되는 유효성분의 균일성이 필요하며, 이 시험에 따라 확인한다. 제제의 평가를 위한 방법은 아래와 같다. 제제의 특성에 따라 다음과 같은 시험법에서 적절한 것을 선택한다. 다만, 흡입기 내 및 흡입기 간의 전달량 균일성을 동시에 평가할 수 있는 시험법을 포함하여 별도의 방법을 설정할 수 있다.

1. 흡입에어로솔제의 시험법

흡입에어로솔제는 보통 밸브를 아래로 향하게 한 상태에서 흡입한다. 밸브를 위쪽으로 한 상태에서 흡입하는 제제에서는 전달하는 약물을 완전하게 포집할 수 있는 방법을 사용하여 동등성 시험을 적용한다.

검체포집장치는 전달하는 약물을 정량적으로 포집할 수 있어야 한다.

다음 장치(그림 1) 및 시험법을 사용할 수 있다.

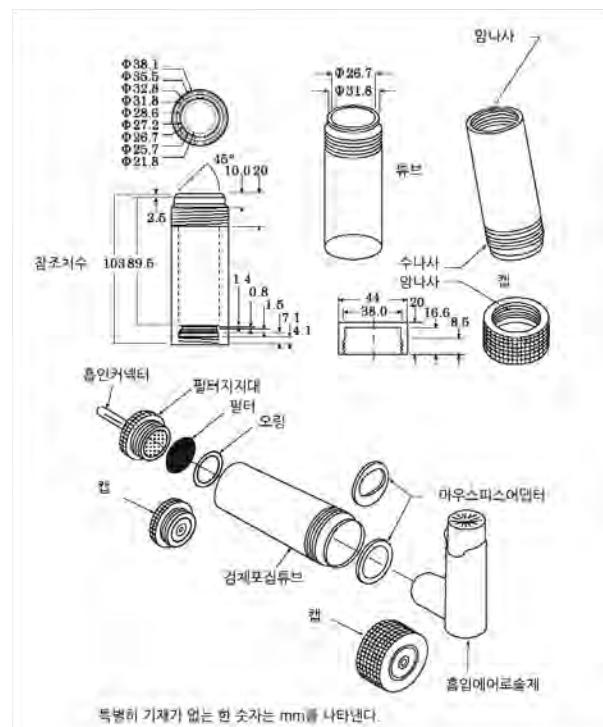


그림 1. 흡입에어로솔제의 전달 약물의 포집장치

이 장치는 스테인리스강 재질의 그물망이 있는 필터지지대, 필터지지대에 나사로 고정되는 검체포집튜브, 검체포집튜브와 마우스피스 사이를 밀봉하여 막을 수 있는 마우스피스 어댑터로 구성된다. 필요에 따라 흡입기 마우스피스의 앞면이 검체포집튜브의 앞면 또는 2.5 mm 움푹 들어간 어깨면과 정확히 맞닿도록 하는 마우스피스 어댑

터를 쓴다. 흡인커넥터를 흡인펌프와 유량조절장치로 구성된 장치 시스템에 연결한다. 펌프는 필터와 흡입기를 연결하여 완전하게 조립된 상태에서 분당 28.3 L($\pm 5\%$)의 흡인 유량을 얻을 수 있도록 조절한다. 유효성분이 대기 중으로 손실되는 것을 막기 위하여 시험장치의 흡인을 유지한다. 필터지지대는 지름 25 mm의 원판형 필터를 장착할 수 있도록 설계되어 있다. 장치를 조립하는 데 쓰는 원판형 필터 및 그 밖의 구성 부품들은 유효성분 또는 필터에서 유효성분을 추출하는데 사용되는 용매와 적합성이 높아야 한다. 검체포집튜브의 한쪽 끝은 필터지지대에서 원판형 필터가 빠지지 않게 장착할 수 있도록 설계되어 있다. 조립될 때 이 장치의 구성요소 간 결합 부분이 밀봉하게 연결되었으므로 필터의 아랫부분으로 흡인이 될 때, 검체포집튜브를 통해 흡인되는 모든 공기가 흡입기를 통과한다.

1.1. 시험법 1 : 흡입기 내 전달량 균일성 평가

흡입기 1개를 가지고 시험한다. 흡입기의 사용법에 특별한 지시가 없는 경우, 5초 동안 흡입기를 흔들어서 섞은 다음, 1회 분사하여 버린다. 흡입기를 사용법에 따라 장착하고 완전히 분사될 수 있도록 충분한 시간 동안 작동시켜 장치 속으로 분사한다. 이 조작은 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량에 해당하는 분사 횟수에 도달할 때까지 반복한다. 장치로 전달된 물질을 정량적으로 회수하고 전달량으로서 유효성분의 양을 측정한다.

이 조작법을 다시 2회 반복하여 전달량을 측정한다.

(n/2) + 1의 분사 횟수가 남아 있을 때까지 5초 이상의 분사 간격을 두어 흡입기를 분사하여 버린다. n은 표시된 흡입 가능한 분사 횟수이다. 위와 같은 시험을 4회 반복하여 전달량을 측정한다.

3회 용량의 분사 횟수가 남아 있을 때까지 5초 이상의 분사 간격으로 흡입기를 분사하여 버린다. 위와 같은 과정을 3회 반복하여 전달량을 측정한다. 위와 같은 시험법으로 흡입기 1개에 대하여 처음 3회 용량, 중간 4회 용량, 마지막 3회 용량, 총 10회 용량의 전달량을 측정한다.

2종류 이상의 유효성분을 함유하는 제제에서는 각 유효성분에 대하여 전달량 균일성을 시험한다. 평균전달량(시험한 개개 전달량의 평균값) 또는

표시한 목표전달량 중 하나를 판정 기준값으로 한다.

전달량 10회 중 9회의 값이 기준값의 75 ~ 125 %이고, 모든 개개 전달량이 기준값의 65 ~ 135 %일 때 적합하다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 2회 또는 3회일 때는 추가로 2개의 흡입기를 가지고 10회의 전달량을 구하는 일련의 과정을 새로 두 번 반복하여 총 30회의 전달량으로 판정한다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 30회 중 3회 이하이고, 기준값의 65 ~ 135 %를 벗어나는 것이 없을 때 적합하다.

만약 타당한 사유가 있을 때는 규격의 범위를 넓힐 수 있다. 다만, 개개 전달량은 기준값의 50 ~ 150 %를 벗어나는 것이 없고, 평균전달량은 표시된 목표전달량의 85 ~ 115 %이다.

1.2. 시험법 2 : 흡입기 간 전달량 균일성 평가

흡입기 1개를 가지고 시험한다. 흡입기의 사용법에 특별한 지시가 없는 경우, 5초 동안 흡입기를 흔들어서 섞은 다음, 1회 분사하여 버린다. 흡입기를 사용법에 따라 장착하고 완전히 분사될 수 있도록 충분한 시간 동안 작동시켜 장치 속으로 분사한다. 이 조작은 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량에 해당하는 분사 횟수에 도달할 때까지 반복한다. 장치로 전달된 물질을 정량적으로 회수하고 전달량으로서 유효성분의 양을 측정한다.

이 조작법을 다시 흡입기 9개를 가지고 전달량 측정을 반복한다. 위의 시험법에 따라 흡입기 10개에 대하여 처음 각 1회 용량씩 측정하여, 총 10회의 전달량을 측정한다.

2종류 이상의 유효성분을 함유하는 제제에서는 각 유효성분에 대하여 전달량 균일성을 시험한다. 평균전달량(시험한 개개 전달량의 평균값) 또는 표시된 목표 전달량 중 하나를 판정 기준값으로 한다.

전달량 10회 중 9회의 값이 기준값의 75 ~ 125 %이고, 모든 개개 전달량이 기준값의 65 ~ 135 %일 때 적합하다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 2회 또는 3회일 때는 추가로 20개의 흡입기를 가지고 전달량을 구하는 일련의 과정을 새로 두 번 반복하여 총 30회의 전달량으로 판정한다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 30회 중 3회 이하이고, 기준값의 65 ~ 135 %를 벗어나는 것이 없을 때 적합하다.

만약 타당한 사유가 있을 때는 규격의 범위를 넓힐 수 있다. 다만, 개개 전달량은 기준값의 50 ~ 150 %를 벗어나는 것이 없고, 평균전달량은 표시된 목표전달량의 85 ~ 115 %이다.

2. 흡입분말제의 시험법

검체포집장치는 전달하는 약물을 정량적으로 포집할 수 있어야 한다. 흡입에어로솔제의 측정에 쓰는 장치와 같은 크기의 포집튜브 및 필터로 측정에 필요한 유량이 얻어질 때는 흡입에어로솔과 같은 장치를 쓸 수 있다. 적절한 튜브는 표 1에 기재되어 있다. 표 1 및 그림 2에 나타난 모식도에 따라 포집튜브를 흡인펌프와 유량조절장치로 구성된 공기유량시스템에 연결한다.

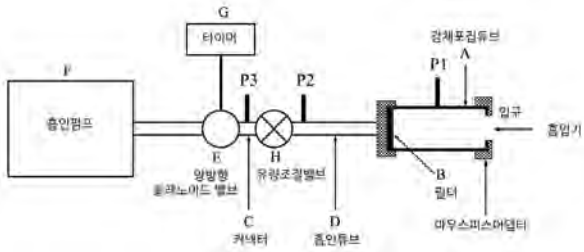


그림 2. 흡입분말제의 검체채취장치

따로 규정이 없는 한, 다음과 같은 절차에 따라 포집튜브, 공기유량시스템, 적당한 차압계, 유출하는 유량으로 교정된 적당한 유량계를 써서 공기의 유속 및 흡입시간을 측정한다.

흡입기를 사용법에 따라 준비하고, 밀봉하게 연결된 마우스피스 어댑터를 사용하여 장치의 입구에 연결한다. 흡입기 마우스피스의 앞면이 검체포집튜브의 앞면과 확실히 맞닿을 수 있는 마우스피스 어댑터를 쓴다. 차압계의 한쪽을 그림 2의 압력 측정 위치 P1에 연결하고 다른 한쪽은 대기중으로 개방한다. 펌프의 스위치를 켜고 양방향 솔레노이드 밸브를 열어, 차압계에 의해 흡입기를 통과할 때의 압력 저하가 4.0 kPa(40.8 cm H₂O)을 나타낼 때까지 유량조절밸브를 조절한다. 마우스피스어댑터에서 흡입기를 떼어 내고, 유량조절밸브에 닿지 않게 하여 유량계를 검체포집장치의 입구에 연결한다. 유출하는 부피 유량에 대

표 1. 그림 2의 구성 부분의 규격

코드	부품	세부 내역
A	검체포집 튜브	안지름 34.85 mm × 길이 12 cm
B	필터	47 mm 유리섬유 필터 안지름 ≥ 8 mm
C	커넥터	(예, P3를 잇는 지름이 작은 분기 노즐이 있는 짧은 금속 연결부)
D	흡인튜브	안지름 ≥ 8 mm, 내용량 25±5 mL의 적당한 길이의 튜브
E	양방향 솔레노이드 밸브	안지름 ≥ 8 mm의 최소 기류 저항 오리피스로, 개구감응 시간이 100 ms 이하인 양방향 솔레노이드 밸브 흡인펌프는 흡입기를 마우스피스 어댑터에 연결한 상태에서 규정된 유량으로 장치 내부를 흡인할 수 있는 것을 쓴다. 흡인펌프의 요구사항을 최소화 하기 위해, 흡인펌프를 짧거나 굵은 (안지름 ≥ 10 mm) 흡인 튜브와 커넥터로 양방향 솔레노이드 밸브에 연결한다.
F	흡인펌프	
G	타이머	필요한 시간 동안 양방향 솔레노이드 밸브를 구동할 수 있는 타이머 검체포집튜브의 안쪽 표면에 있는 안지름 2.2 mm, 바깥지름 3.1 mm의 탭이며, 가운데에 있으며 거친 부분이 없고, 흡입구로부터 59 mm에 위치한다. 압력 탭 P1은 전달 물질을 포집하는 동안 대기에 노출되어서는 안 된다. 대기압과의 차압은 P1에서 측정한다.
P1	압력탭	
P2 P3	압력계	절대 압력
H	유량조절 밸브	최대 Cv ≥ 1로 제어 가능한 조절 밸브

해 교정된 유량계를 쓰거나, 또는 유출하는 부피 유량(Q_{out})을 이상기체의 법칙을 써서 계산한다. 유량계가 유입되는 부피유량(Q_{in})에 대해 교정되어 있을 때는 다음 식으로 계산한다.

$$Q_{out} = Q_{in} \times P_0 / (P_0 - \Delta P)$$

P_0 : 대기압

ΔP : 유량계를 통과할 때 낮아진 압력

유량이 분당 100 L을 넘을 때는 분당 100 L ($\pm 5\%$)의 유량이 되도록 유량조절밸브를 조절한다. 유출하는 부피 유량을 기록하고 1분 동안의 시험유량 Q_{out} (L/min)이라고 한다. 시험유량 Q_{out} 에서 공기 4 L가 흡입기의 마우스피스로부터 흡입되도록 흡입시간 T (초)를 결정한다. 다음 절차에 따라 유량조절밸브 내에 임계기류가 발생하고 있는지를 확인한다. 흡입기를 장착하고 시험유량 Q_{out} 이 되면 조절밸브 양쪽에서의 절대압력을 측정한다(그림 2의 압력 측정 위치 P2, P3). P3/P2 비율이 0.5 이하이면, 임계기류가 발생하는 것을 나타낸다. 임계기류가 발생하지 않으면 더 강력한 펌프로 교체하여 시험유량을 다시 측정한다.

흡입분말제에는 2가지 종류가 있으며, 1회 흡입량의 분말이 캡슐제 또는 다른 적절한 제형에 미리 칭량되어있는 흡입제(pre-metered inhalers, PMI)와 1회 흡입량의 분말이 흡입기 안에서 칭량되는 흡입제(device-metered inhalers, DMI)가 있으며, 각각의 기능에 따라 아래의 시험법으로 시험한다.

2.1. 1회 흡입량의 분말이 미리 칭량되어 있는 흡입제(Pre-metered inhalers)

흡입기를 밀봉하게 연결할 수 있는 어댑터를 써서 장치에 장착한다. 규정된 조건으로 흡입기를 통하여 공기를 흡입한다. 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량에 해당하는 방출 횟수의 검체를 포집할 때까지 이 과정을 반복한다. 장치로 전달된 물질을 정량적으로 회수하고 전달량으로서 유효성분의 양을 측정한다.

이 조작법을 다시 9회 반복하여 전달량을 측정한다. 총 10회 전달량의 측정값을 얻기 위한 검체의 포집 절차는 각 제제의 방출 매커니즘을 고려하여 개별적으로 정한다.

2종류 이상의 유효성분을 함유하는 제제에서는 각 유효성분에 대하여 전달량 균일성을 시험한다. 평균전달량(시험한 개개 전달량의 평균값) 또는 표시한 목표전달량 중 하나를 판정 기준값으로 한다.

전달량 10회 중 9회의 값이 기준값의 75 ~ 125 %이고, 모든 개개 전달량이 기준값의 65 ~ 135 %일 때 적합하다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 2회 또는 3회일 때는 추가로 10

회의 전달량을 구하는 일련의 과정을 새로 두 번 반복하여 총 30회의 전달량으로 판정한다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 30회 중 3회 이하이고, 기준값의 65 ~ 135 %를 벗어나는 것이 없을 때 적합하다.

만약 타당한 사유가 있을 때는 규격의 범위를 넓힐 수 있다. 다만, 개개 전달량은 기준값의 50 ~ 150 %를 벗어나는 것이 없고, 평균전달량은 표시된 목표전달량의 85 ~ 115 %이다.

2.2. 1회 흡입량이 흡입기 내에서 칭량되는 흡입제(Device-metered inhalers)

2.2.1. 시험법 1 : 흡입기 내의 전달량 균일성 평가

흡입기 1개를 가지고 시험한다. 흡입기를 밀봉할 수 있는 어댑터를 써서 장치에 장착한다. 규정된 조건으로 흡입기를 통하여 공기를 흡입한다. 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량에 해당하는 방출 횟수의 검체를 포집할 때까지 이 과정을 반복한다. 장치로 전달된 물질을 정량적으로 회수하고 전달량으로서 유효성분의 양을 측정한다.

이 조작법을 다시 2회 반복하여 전달량을 측정한다.

$(n/2) + 1$ 의 방출 횟수가 남아 있을 때까지 흡입기에서 방출하여 버린다. n 은 표시된 흡입 가능한 방출 횟수이다. 필요에 따라 흡입기를 보관하여 정전기를 방전한다. 위와 같은 시험을 4회 반복하여 전달량을 측정한다.

3회 용량의 방출 횟수가 남아 있을 때까지 흡입기에서 방출하여 버린다. 필요한 경우, 흡입기를 보관하여 정전기를 방전한다. 위와 같은 시험법으로 흡입기 1개에 대하여 처음 3회 용량, 중간 4회 용량, 마지막 3회 용량, 총 10회 용량의 전달량을 측정한다.

2종류 이상의 유효성분을 함유하는 제제에서는 각 유효성분에 대하여 전달량 균일성을 시험한다. 평균전달량(시험한 개개 전달량의 평균값) 또는 표시한 목표전달량 중 하나를 판정 기준값으로 한다.

전달량 10회 중 9회의 값이 기준값의 75 ~ 125 %이고, 모든 개개 전달량이 기준값의 65 ~ 135 %일 때 적합하다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 2회 또는 3회일 때는 추가로 10회의 전달량을 구하는 일련의 시험을 새로 두 번 반복하여 총 30회의 전달량으로 판정한다. 기준

값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 30회 중 3회 이하이고, 기준값의 65 ~ 135 %를 벗어나는 것이 없을 때 적합하다.

만약 타당한 사유가 있을 때는 규격의 범위를 넓힐 수 있다. 다만, 개개 전달량이 기준값의 50 ~ 150 %를 벗어나는 것이 없고, 평균전달량은 표시한 목표전달량의 85 ~ 115 %이다.

2.2.2. 시험법 2 : 흡입기 간의 전달량 균일성 평가

흡입기 1개를 가지고 시험한다. 흡입기를 밀봉할 수 있는 어댑터를 써서 장치에 장착한다. 규정된 조건으로 흡입기를 통하여 공기를 흡인한다. 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량에 해당하는 방출 횟수에 도달할 때까지 반복한다. 장치로 전달된 물질을 정량적으로 회수하고 전달량으로서 유효성분의 양을 측정한다.

이 조작법으로 다시 흡입기 9개를 가지고 전달량 측정을 반복한다. 위의 시험법에 따라 흡입기 10개에 대하여 처음 각 1회 용량씩 측정하여, 총 10회의 전달량을 측정한다.

2종류 이상의 유효성분을 함유하는 제제에서는 각 유효성분에 대하여 전달량 균일성을 시험한다.

평균전달량(시험한 개개 전달량의 평균값) 또는 표시한 목표전달량 중 하나를 판정 기준값으로 한다.

전달량 10회 중 9 회의 값이 기준값의 75 ~ 125 %이고, 모든 개개 전달량이 기준값의 65 ~ 135 %일 때 적합하다. 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 2회 또는 3회일 때는 추가로 20개의 흡입기를 가지고 전달량을 구하는 일련의 과정을 새로 두 번 반복하여 총 30회의 전달량으로 판정한다. 전달량이 기준값의 75 ~ 125 %를 벗어나는 것이 30 회 중 3 회 이하이고, 기준값의 65 ~ 135 %를 벗어나는 것이 없을 때 적합하다.

만약 타당한 사유가 있을 때는 규격의 범위를 넓힐 수 있다. 다만, 개개 전달량은 기준값의 50 ~ 150 %를 벗어나는 것이 없고, 평균전달량은 표시된 목표전달량의 85 ~ 115 %이다.

흡입제의 공기역학적 입자크기측정법

이 시험법은 흡입제에서 생성하는 에어로솔의 미립자 특성을 평가하는 것으로, 다음 중 어느 하나의 장치 또는 측정법에 따라 시험한다. 다만, 타당한 사유가 있을 때는 수정된 장치 또는 측정법을 써서 시험할 수 있다.

1. 측정의 기본 원리

1.1 분급 스테이지별 측량

각각의 분급 스테이지의 분급 특성을 가장 신뢰할 수 있는 교정방법은 에어로솔로서 임팩터를 통과하는 입자와 액체 방울의 공기역학적 입자크기와 분급 스테이지의 포집 효율과의 관계에 기초하여 실시한다.

교정은 일반적으로 제트노즐의 치수, 제트노즐과 포집 부분의 공간적 배치 및 임팩터에 흐르는 공기 유량 등의 특성을 검토하여 실시한다.

제트노즐은 시간이 지나면서 부식되거나 마모될 수 있으므로 분급 스테이지의 기준규격이 규정 내에 있는지를 정기적으로 점검할 필요가 있다.

규격에 적합한 분급 스테이지를 장착한 측정 장치만이 흡입제의 공기역학적 입자크기측정법에 사용할 수 있다. 그 밖의 교정 방법도 타당하게 밸리데이션되면 사용할 수 있다.

1.2 재비산

제2법과 제3법에서는 약물의 회수량에 영향을 미치는 입자의 재비산(위에서 아래로의 분급 스테이지로)을 최소화하는 방법을 선택할 필요가 있다. 예를 들어, 재비산을 최소화하기 위해 시료의 분사 횟수를 최소로 하고, 입자를 포집하는 포집판의 표면을 코팅하기도 한다. 포집판의 표면 코팅은 글리세린, 실리콘오일 또는 유사한 고점도의 액체를 쓴다. 이 포집판의 코팅은 밸리데이션되어야 하지만, 코팅의 유무에 따라 공기역학적 입자크기가 영향을 받지 않는다는 것을 입증하면 포집판의 밸리데이션 과정을 생략할 수 있다.

1.3 분급 스테이지 사이의 약물 손실(벽 손실)

측정 방법의 개발 및 밸리데이션에서는 벽 손실을 고려한다. 벽 손실이 약물의 회수율(질량평형)에 영향을 주는 양이라면 조절해야 한다. 벽 손실은 임팩터 내 종류, 측정 조건, 제제의 종류, 임팩터의 분사량 등 많은 요인이 영향을 미친다. 공기역학적 입자크기의 계산에서 벽 손실을 어떻게 반영하는지는 벽 손실의 정도와 변화에 따라 판단한다. 예를 들어, 벽 손실이 적거나 변동이 작은 경우에는 포집판에서 회수된 약물의 양을 정량적으로 분석한 결과에서 공기역학적 입자크기를 산출할 수 있다. 벽 손실이 많거나 변동이 큰 경우는 벽 손실을 별도로 회수해서 공기역학적 입자크기를 산출할 때 고려할 필요가 있다.

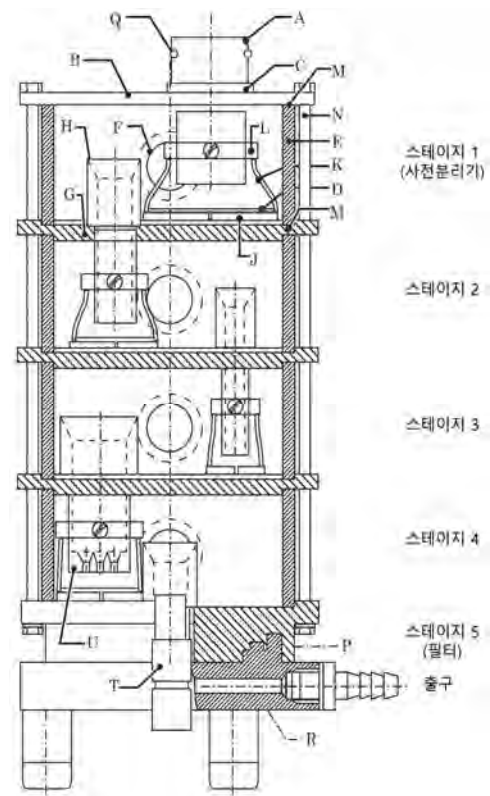
1.4 약물의 회수율(질량평형)

입자크기 분포뿐만 아니라 분석이 양호하게 이루어졌는지를 나타내기 위해서는 흡입기에서 분사된 양, 즉 마우스피스어댑터와 측정 장치에서 회수된 약물의 양이 기댓값과 비교하여 허용범위 내에 있는지 확인하는 질량평형을 수행하는 것이 필요하다. 마우스피스어댑터 및 측정 장치의 모든 구성 부분에서 회수된 총 약물량을 용법·용량에 기재된 최소 권장 용량으로 환산한 값이 「흡입제의 전달량 균일성시험법」에서 측정된 평균 전달량의 75 % 이상이고, 125 % 이하이다. 이 질량평형은 입자크기분포 측정 결과의 타당성을 보증하기 위해 필요하다.

2. 미립자량과 입자크기분포 측정

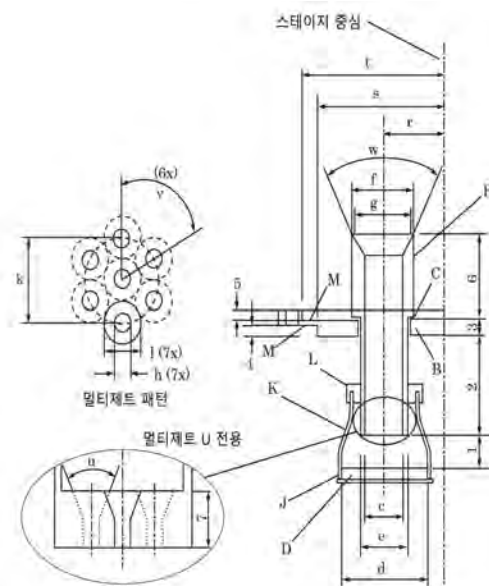
2.1 멀티스테이지 액체 임핀저법(제1법)

멀티스테이지 액체 임핀저법에 쓰는 측정 장치(제1법)는 그림 1과 같다. 제1법은 그림 1 ~ 3과 같이 분급스테이지 1(사전 분리기), 2, 3, 4 및 조립된 필터스테이지(스테이지 5)로 구성되어 있다. 분급스테이지는 포집판(D)이 붙은 금속으로 만든 입구제트튜브(A)가 상부의 수평 금속 격벽(B)을 관통하여 튀어나온 구조로 되어 있다. 검체 흡기구멍(F)이 붙은 유리실린더(E)는 스테이지의 수직 벽을 형성하여 아래의 수평 금속제 격벽(G)을 관통하여 제트튜브(H)에 의해 다음의 아래 스테이지와 연결된다. 스테이지 4에 들어가는 멀티제트튜브(U)의 끝부분은 멀티제트 구조로



알파벳 대문자는 표 1을 참조한다.

그림 1. 멀티스테이지 액체 임핀저(제1법)

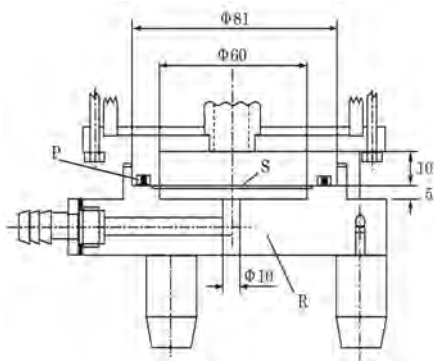


삽입 그림은 스테이지 4로 유도하는 멀티제트튜브(U)의 끝부분을 나타낸다.

(숫자와 알파벳 소문자는 표 2를 참조하고, 알파벳 대문자는 표 1을 참조한다.)

그림 2. 제1법의 제트튜브와 포집판의 구성

되어 있다. 포집판(D)은 제트튜브 위에 고정된 슬리브(L)에 두 개의 와이어(K)로 고정된 금속 프레임(J)에 고정되어 있다. 포집판의 수평면은 제트튜브의 축에 대하여 수직이고, 튜브의 중심축이 포집판의 중심에 오도록 설치된다. 포집판의 위쪽 표면은 금속 프레임의 가장자리보다 약간 위로 나와 있다. 수평 격벽의 주변부의 패인 부분에 맞게 유리 실린더의 설치 위치를 결정한다. 수평 격벽과 유리 실린더는 개스킷(M)으로 밀폐되어 있으며, 6 개의 볼트(N)로 함께 고정된다. 검체 흡기구멍에는 스톱퍼로 마개를 한다. 스테이지 4의 아래 격벽의 아랫면(뒷면)에는 필터 홀더에 놓인 필터의 가장자리를 밀폐하기 위해 고무로 만든 O-링(P)을 장착하기 위한 동심원의 돌출부가 있다. 필터 홀더(R)는 동심원의 오목한 부분(패인 부분)을 갖는 그릇 모양으로 되어 있으며, 그곳에 구멍이 뚫린 필터지지체(S)를 연결한다. 필터 홀더는 지름 76 mm로 되어 있다. 조립된 분급 스테이지 부분은 2 개의 스냅잠금장치(T)에 의해 필터 홀더 위에 고정된다. 흡기구멍(그림 4 참조)을 임핀저의 스테이지 1의 입구제트튜브에 연결한다. 제트튜브의 고무로 만든 O-링은 흡기구멍과 연결부를 밀봉한다. 흡입기와 흡기구멍 사이의 밀봉성을 확보하기를 밀폐하기 위해 적절한 마우스피스어댑터를 쓴다.



수치는 치수를 나타낸다(Φ : 지름).

알파벳 대문자는 표 1을 참조한다. 숫자는 mm를 나타낸다.

**그림 3. 제1법의 필터스테이지
(스테이지 5)의 구성**

표 1. 그림 1 ~ 3에 표시한 제1법 구성부품의 규격

코드*	부품	세부 내역	치수**
A,H	제트 튜브	금속 튜브는 개스킷(C)으로 밀폐된 격벽에 나사로 고정되고, 안쪽 표면은 연마되어 있다	
B,G	격벽	금속 원판 지름 두께	120 그림 2 참조
C	개스킷	폴리테트라플루오로에틸렌 등	제트 튜브에 맞춘다
D	포집판	공극이 없는 소결 유리판 지름	그림 2 참조
E	유리실린더	절단면을 편평하게 갈고 닦은 유리 튜브 개스킷을 포함한 높이 바깥지름 벽의 두께 검체 채취구멍(F)의 지름 검체 채취구멍의 마개	46 100 3.5 18 ISO24/25
J	금속프레임	슬릿이 있는 L자형의 원형 프레임 안지름 높이 수평 부분의 두께 수직 부분의 두께	포집판에 맞춘다 4 0.5 2
K	와이어	금속 프레임과 슬리브를 연결하는 스틸 와이어(각 프레임당 두 개) 지름	1
L	슬리브	나사로 제트튜브에 고정된 금속 슬리브 안지름 높이 두께	제트튜브에 맞춘다 6 5
M	개스킷	실리콘 등	유리실린더에 맞춘다
N	볼트	너트가 있는 금속 볼트(6 쌍) 길이 지름	205 4
P	O-링	고무 O-링 지름 × 두께	66.34×2.62
Q	O-링	고무 O-링 지름 × 두께	29.1×1.6
R	필터홀더	스탠드와 출구가 있는 금속 하우징	그림 4 참조
S	필터 지지체	구멍이 뚫린 금속 시트 지름 구멍의 지름 구멍의 간격(중심점)	65 3 4
T	스냅 잠금장치		
U	멀티제트 튜브	멀티제트 구조의 제트튜브(H) 끝 부분	그림 3 참조

* 그림 2 참조

** 따로 규정이 없는 한, ISO 2766-m에 따른 허용오차를 mm 단위로 나타낸다.

표 2. 제1법의 포집판이 있는 제트튜브의 치수⁽¹⁾

종류	코드 ⁽²⁾	스테이지 1	스테이지 2	스테이지 3	스테이지 4	필터 (스테이지 5)
길이(폭)	1	9.5 (-0.0+0.5)	5.5 (-0.0+0.5)	4.0 (-0.0+0.5)	6.0 (-0.0+0.5)	해당 없음
길이(폭)	2	26	31	33	30.5	0
길이(폭)	3	8	5	5	5	5
길이(폭)	4	3	3	3	3	해당 없음
길이(폭)	5	0	3	3	3	3
길이(폭)	6 ⁽³⁾	20	25	25	25	25
길이(폭)	7	-	-	-	8.5	해당 없음
지름	c	25	14	8.0 (± 1)	21	14
지름	d	50	30	20	30	해당 없음
지름	e	27.9	16.5	10.5	23.9	해당 없음
지름	f	31.75 (-0.0+0.5)	22	14	31	22
지름	g	25.4	21	13	30	21
지름	h	-	-	-	2.70 (± 0.5)	해당 없음
지름	j	-	-	-	6.3	해당 없음
지름	k	-	-	-	12.6	해당 없음
반지름 ⁽⁴⁾	r	16	22	27	28.5	0
반지름	s	46	46	46	46	해당 없음
반지름	t	-	50	50	50	50
각도	w	10°	53°	53°	53°	53°
각도	u	-	-	-	45°	해당 없음
각도	v	-	-	-	60°	해당 없음

(1) 따로 규정되지 않는 한, ISO 2768-m에 따른 허용 오차를 mm를 나타낸다.

(2) 그림 2를 참조한다.

(3) 개스킷을 포함한다.

(4) 스테이지 부분의 상대적 중심선.

2.1.1 흡입에어로솔제의 측정법

유효성분을 녹일 수 있는 용매 20 mL를 1에서 4의 각 스테이지에 넣고 스토퍼로 마개를 한다. 장치를 기울여 마개를 적셔 정전기를 제거한다. 유효성분을 정량적으로 포집할 수 있는 적절한 필터를 스테이지 5에 설치하고 장치를 조립한다. 적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 설치한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기의 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 앞면은 흡기구멍의 앞면과 맞닿게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는

실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다. 적절한 흡인펌프를 장치의 아울렛에 연결하고 흡기구멍의 입구에서 측정된 흡입유량이 분당 30 L (+ 5 %)가 되도록 조정한다. 흡인펌프의 스위치를 끈다.

흡입기의 사용법에 따로 규정이 없는 한, 5초간 흡입기를 흔들어서 섞은 다음, 1회 분사하여 버린다. 장치에 연결된 흡인펌프의 스위치를 켜고 흡입기의 마우스피스 끝을 어댑터에 삽입하고, 약물을 장치 안으로 분사한다. 완전히 분사하기 위해 충분한 시간 흡입기를 작동시킨다. 분사 후 5초 동안 기다렸다가 설치된 흡입기를 어댑터에서 분리한다. 이 과정을 반복한다. 분사 횟수는 가능한 한 적게, 보통 이 과정은 10회를 넘지 않는 횟수로 하고 미립자의 양이 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다. 마지막 분사가 끝난 다음 5초간 기다렸다가 흡인펌프의 스위치를 끈다.

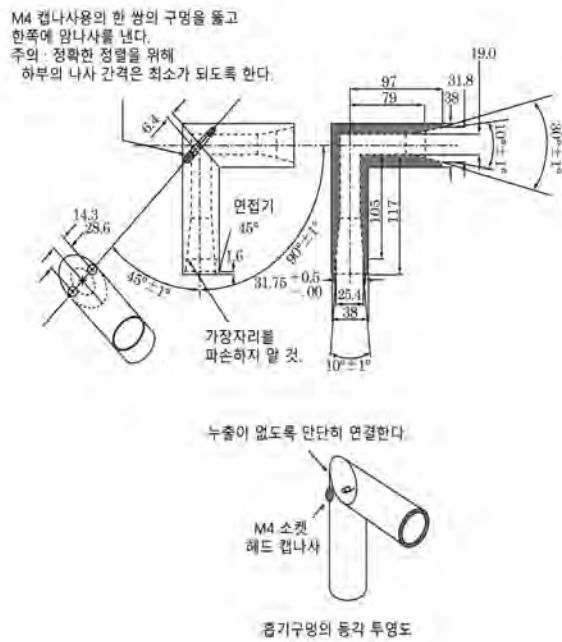
장치로부터 필터 스테이지를 해체한다. 필터를 주의하여 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 장치에서 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 필요한 경우, 스테이지 1로 도입하는 제트튜브의 내부를 용매로 세척하여, 스테이지 1 안으로 들어가도록 한다. 각 스테이지 사이에서 액체의 이동이 없도록 주의하면서 장치를 기울이거나 회전시키거나 하여 위 4 단의 스테이지 각각의 안쪽 벽 및 포집판으로부터 유효성분을 각 스테이지에서의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여, 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조).

2.1.2 흡입분말제의 측정법

유효성분을 정량적으로 포집할 수 있는 저항이 작은 적절한 필터를 스테이지 5에 설치하고 장치를 조립한다. 그림 5 및 표 3에 나타낸 도식에 따라 장치를 흡인펌프와 유량조절장치로 구성된 공기유량시스템에 연결한다. 따로 규정이 없는 한, 흡입제의 전달량 균일성시험법에서 쓴 흡입유량 Q_{out} 으로 측정한다. 흡입기의 마우스피스로부터 장치를 통과하는 공기량은 4 L로 한다.

유량계를 흡기구멍에 연결한다. 유출하는 부피유량에 대해 교정된 유량계를 쓰거나, 또는 유출하는 부피유량(Q_{out})을 이상 기체의 법칙을 사용하



따로 규정이 없는 한, 숫자는 mm를 나타낸다.

주의사항

- (1) 재질은 알루미늄, 스테인리스강 또는 기타 적절한 소재를 쓴다.
- (2) 38 mm 금속 봉을 가지고 기계 가공한다.
- (3) 금속 봉에 19 mm의 구멍으로 보링한다.
- (4) 표시된 대로 정확하게 45°로 튜브를 자른다.
- (5) 보링한 관의 안쪽 구멍과 좁아지는 부분은 매끄러운 면이며, 표면 거칠기 Ra는 약 0.4 μm로 한다.
- (6) 액체가 누출되지 않도록 접합 부분을 연마 가공한다.
- (7) 가공 소재를 고정하고, 안지름 19 mm의 안쪽 구멍을 일치시켜 M4 × 0.7 나사산용의 구멍을 뚫고 암나사를 낸다. 연귀 맞춤에는 실질적으로 안쪽 구멍의 이음매에 불일치가 없어야 한다.

그림 4. 흡기구멍

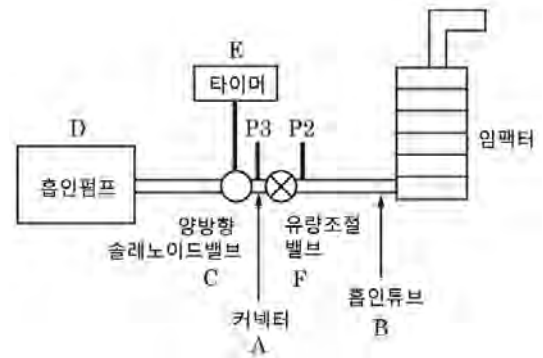
여 계산한다. 유량계가 유입하는 부피유량(Q_{in})에 대해 교정되어 있을 때는 다음 식으로 계산한다.

$$Q_{out} = (Q_{in} \times P_0) / (P_0 - \Delta P)$$

P_0 : 대기압

ΔP : 유량계를 통과할 때 낮아지는 압력

시스템을 통과하는 공기량이 정해진 유량 Q_{out} ($\pm 5\%$)에서 정상상태가 되도록 유량조절밸브로 조절한다. 유량조절밸브 내에서 임계기류가 발생



알파벳 대문자 표 3를 참조

그림 5. 흡입분말제 시험용 측정 장치의 구성

표 3. 그림 5의 구성 부품의 규격

코드 *	부품	세부 내역
A	커넥터	안지름 ≥ 8 mm (예, 지름이 작은 노즐과 P3를 잇는 짧은 금속제)
B	흡인튜브	안지름 ≥ 8 mm, 내용량 25 ± 5 mL의 적당한 길이의 튜브
C	양방향 슬레노이드 밸브	안지름 ≥ 8 mm의 최소기류저항 오리피스로, 개구감응 시간이 100 ms 이하인 양방향 슬레노이드 밸브
D	흡인펌프	흡인펌프는 흡입기를 마우스피스 어댑터에 연결한 상태에서 규정된 유량으로 장치 내부를 흡인할 수 있는 것을 쓴다. 흡인펌프의 요구사항을 최소화 하기 위해 흡인펌프를 짧거나 굵은(안지름 ≥ 10 mm) 흡인튜브와 커넥터로 양방향 슬레노이드밸브에 연결한다
E	타이머	필요한 시간 동안 양방향 슬레노이드 밸브를 구동할 수 있는 타이머
P2, P3	압력계	절대 압력 변환기에 의해 정상 유량 상태에서 측정한다.
F	유량조절 밸브	최대 $C_v \geq 1$ 로 제어할 수 있는 조절 밸브

*그림 5 참조

하는지를 다음 순서에 따라 확인한다. 흡인펌프의 스위치를 끈다.

흡입기를 장착하고 설정된 시험유량이 되면 조절 밸브 양쪽에서 절대압력을 측정한다(그림 5의 압력 측정 위치 P2, P3). P3/P2 비율이 0.5 이

하이면, 임계기류가 발생하는 것을 나타낸다. 임계기류가 발생하지 않으면 더 강력한 펌프로 교체하여, 시험유량을 다시 측정한다.

유효성분을 녹일 수 있는 용매 20 mL를 장치의 위쪽 네 단의 각 스테이지에 넣고, 스톱퍼로 마개를 한다. 장치를 기울여 마개를 적셔서 정전기를 제거한다. 적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 장착한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기의 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 앞면은 흡기구멍의 앞면과 맞닿게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는 실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다.

흡입분말제를 사용법에 따라 준비한다. 양방향 솔레노이드 밸브는 닫힌 상태로 흡인펌프를 작동시킨다. 흡입기의 마우스피스를 마우스피스어댑터에 장착한다. 정해진 시간 T ($\pm 5\%$) 동안 밸브를 열고, 장치 안으로 분말을 방출시킨다. 이 방출 과정을 반복한다. 방출 횟수는 가능한 한 적게, 보통 10회를 넘지 않는 횟수로 하고, 미립자의 양이 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다.

장치에서 필터 스테이지를 분리한다. 필터를 주의하여 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 장치에서 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 필요한 경우, 스테이지 1로 도입하는 제트튜브의 내부를 용매로 세척하여, 스테이지 1 안으로 들어가도록 한다. 각 스테이지 사이에서 액체의 이동이 없도록 주의하면서 장치를 기울이거나 회전시키거나 하여 위 4 단의 스테이지 각각의 안쪽 벽 및 포집판으로부터 유효성분을 각 스테이지의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여, 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조)

2.2 앤더슨 캐스케이드 임팩터법(제2법)

앤더슨 캐스케이드 임팩터법에 쓰는 측정 장치(제2법)는 그림 6과 같다. 제2법은 8 개의 스테이지와 그 뒤쪽에 설치된 필터로 구성되어 있다. 장치의 재질로는 알루미늄, 스테인리스강 또는 그 밖의 적합한 소재가 쓰인다. 각 스테이지는조임쇠

로 고정되며 O-링에 의해 밀폐되어 있다. 제2법의 한계 치수는 표 4와 같다. 사용시 노즐이 막히거나 마모가 일어날 수 있다. 따라서, 사용할 때 노즐 치수의 허용범위를 분명히 해 둘 필요가 있다.

흡입에어로솔제에 쓰는 장치의 구성은 그림 6과 같다. 임팩터의 엔트리 원뿔(그림 7b 참조)을 흡기구멍(그림 4 참조)에 연결한다. 흡입기와 흡기구멍 사이의 밀봉을 확보하기위해 적절한 마우스피스어댑터를 쓴다.

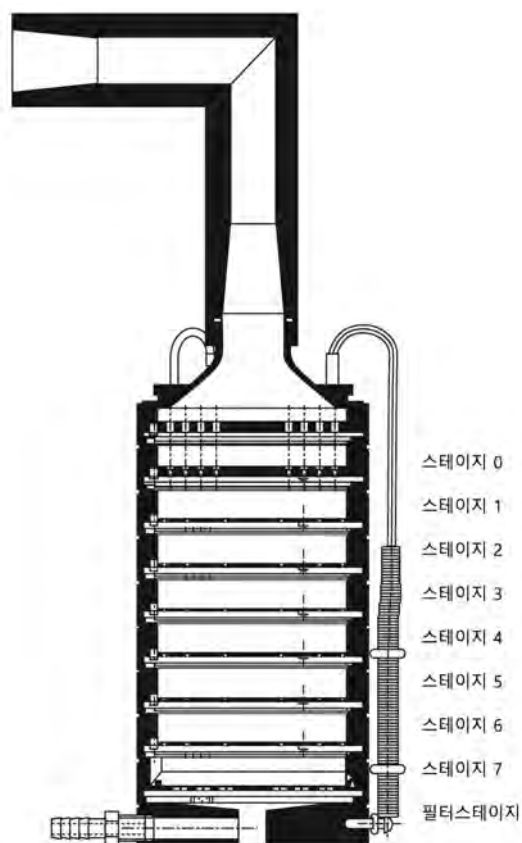
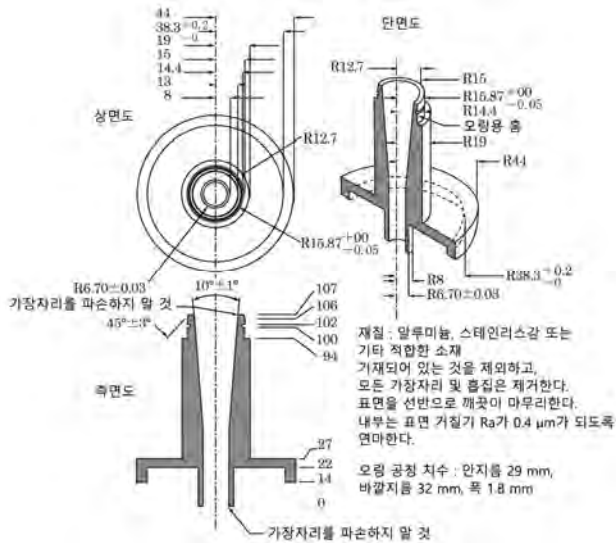


그림 6. 흡입에어로솔제용 앤더슨 캐스케이드 임팩터(제2법)

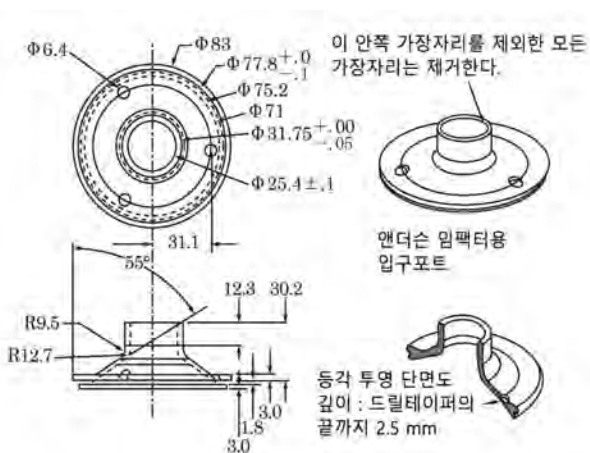
표 4. 제2법의 한계 치수

세부 내역	노즐 개수	치수 (mm)
스테이지 0 노즐 지름	96	2.55 ± 0.025
스테이지 1 노즐 지름	96	1.89 ± 0.025
스테이지 2 노즐 지름	400	0.914 ± 0.0127
스테이지 3 노즐 지름	400	0.711 ± 0.0127
스테이지 4 노즐 지름	400	0.533 ± 0.0127
스테이지 5 노즐 지름	400	0.343 ± 0.0127
스테이지 6 노즐 지름	400	0.254 ± 0.0127
스테이지 7 노즐 지름	201	0.254 ± 0.0127



따로 규정이 없는 한, 숫자는 mm를 나타낸다.

그림 7a. 흡기구멍에 연결하는 앤더슨 사전분리기용 상부의 상세도



재료는 알루미늄, 스테인리스강 또는 그 밖의 적합한 재료일 것. 표면 거칠기(Ra)는 약 0.4 μm 일 것.

따로 규정이 없는 한, 숫자는 mm를 나타낸다.

그림 7b. 사전분리기를 사용하지 않을 때의 앤더슨 캐스케이드 임팩터에 흡기구멍을 연결하기 위한 입구의 원뿔 상세도.

흡입분말제를 평가할 때는 흡입할 수 없는 큰 가루 덩어리를 포집하기 위한 사전분리기를 맨 위 스테이지 위에 설치한다. 이때, 사전분리기를 흡기구멍에 연결하기 위해서는 그림 7a에 나타난 사전분리기의 상단을 이용한다. 임팩터 내의 유량을 높은 유량으로 사용할 때는 임팩터를 흡입시스템에 연결하는 데 쓰는 아울렛니플(outlet nipple)의 안지름이 8 mm 또는 그 이상인 것을

쓴다.

2.2.1 흡입에어로솔제의 측정법

적절한 필터를 장착하여 앤더슨 캐스케이드 임팩터를 조립한다. 적절한 방법으로 시스템이 밀봉되었는지 확인한다. 적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 설치한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 앞면은 흡기구멍의 앞면과 맞닿게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는 실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다. 적절한 흡입펌프를 장치의 아울렛에 연결하고 흡기구멍의 입구에서 측정한 흡입유량이 분당 28.3 L ($\pm 5\%$)가 되도록 조정한다. 흡입펌프의 스위치를 끈다.

흡입기의 사용법에 따로 규정이 없는 한, 5초간 흡입기를 흔들어 섞은 다음, 1회 분사하여 버린다. 장치에 연결된 흡입펌프의 스위치를 켜고, 흡입기의 마우스피스 끝을 어댑터에 삽입하고 약물을 장치 안에 분사한다. 완전히 분사하기 위해 충분한 시간 흡입기를 작동시킨다. 분사 후 5초간 기다렸다가 설치된 흡입기를 어댑터에서 분리한다. 이 과정을 반복한다. 분사 횟수는 가능한 한 적게, 보통 10회를 넘지 않는 횟수로 하고 미립자의 양이 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다. 마지막 분사가 끝난 다음 5초 동안 기다렸다가 흡입펌프의 스위치를 끈다.

장치를 해체하고 필터를 주의하여 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 치에서 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 또한, 각 스테이지의 안쪽 벽 및 포집판으로부터 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여, 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조).

2.2.2 흡입분말제의 측정법

이 장치를 사용하여 분당 28.3 L 이외의 유량으로 실시하였을 때의 각 스테이지에서의 공기역학적 컷오프 지름에 대해서는 현재 충분히 확립되어 있지 않다. 분당 28.3 L 이외의 유량을 선택할 때는 선택한 조건에 있어서 임팩터의 사용

이 타당함을 확인하고, 밸리테이션을 수행하여야 한다.

사전분리기 및 적절한 필터를 장착하여 앤더슨 임팩터를 조립하고, 시스템이 밀봉되어 있는지 확인한다. 제제의 특성에 따라, 타당한 사유가 있으면 사전분리기는 생략할 수 있다. 만약 타당한 사유가 있으면, 높은 유량으로 측정하는 경우에는 스테이지 6과 7도 생략할 수 있다. 사전분리기는 포집판과 같은 방법으로 코팅을 하거나 10 mL의 적절한 용매를 넣어 둔다. 그림 5 및 표 3에 나타난 모식도에 따라 장치를 공기유량시스템에 연결한다.

마로 규정이 없는 한, 흡입제의 전달량 균일성 시험법에서 쓴 흡입유량 Q_{out} 으로 측정한다. 흡입기의 마우스피스로부터 장치를 통과하는 공기량은 4 L로 한다.

유량계를 흡기구멍에 연결한다. 유출하는 부피유량에 대해 교정된 유량계를 쓰거나, 또는 유출하는 부피유량(Q_{out})을 이상 기체의 법칙을 사용하여 계산한다. 유량계가 유입하는 부피유량(Q_{in})에 대해 교정되어 있을 때는 다음 식으로 계산한다.

$$Q_{out} = (Q_{in} \times P_0) / (P_0 - \Delta P)$$

P_0 : 대기압

ΔP : 유량계를 통과할 때 낮아지는 압력

시스템을 통과하는 공기량이 정해진 유량 Q_{out} ($\pm 5\%$)에서 정상상태가 되도록 유량조절밸브로 조절한다. 유량조절밸브 내에서 임계기류가 발생하는지를 2.1.2 흡입분말제의 측정법에 따라 확인한다. 흡인펌프의 스위치를 끈다.

적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 장착한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기의 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 앞면은 흡기구멍의 앞면과 맞닿게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는 실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다.

흡입분말제를 사용법에 따라 준비한다. 양방향 솔레노이드밸브는 닫힌 상태로 흡인펌프를 작동시킨다. 흡입기의 마우스피스를 마우스피스어댑터에 장착한다. 정해진 시간 T ($\pm 5\%$) 동안 밸브를 열고 장치 안으로 분말을 방출시킨다. 이 방

출 과정을 반복한다. 방출 횟수는 가능한 한 적게, 보통 10 회를 넘지 않는 횟수로 하고 미립자의 양을 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다.

장치를 해체하고 필터를 주의하여 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 장치로부터 사전분리기, 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 분리하고, 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 또한, 장치의 각 스테이지의 안쪽 벽과 포집판으로부터 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여, 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조).

2.3. 차세대 임팩터법(제3법)

차세대 임팩터법에 쓰는 측정 장치(제3법)를 그림 8과 같다. 3법은 7 스테이지 및 미세공 집진기(MOC)로 구성된 캐스케이드 임팩터이다. 분당 30 ~ 100 L의 유량 범위에서의 포집효율이 50 %가 되는 컷오프 지름($D_{50\%}$)은 0.24 ~ 11.7 μm 이며, 이 범위는 로그 눈금의 등간격으로 구분된다. 위의 유량 영역에서는 항상 적어도 5 스테이지가 0.5 ~ 6.5 μm 의 D_{50} 값을 가진다. 각 스테이지에서 포집효율 곡선은 급격한 형상이기 때문에 스테이지 사이의 겹침은 최소가 된다.

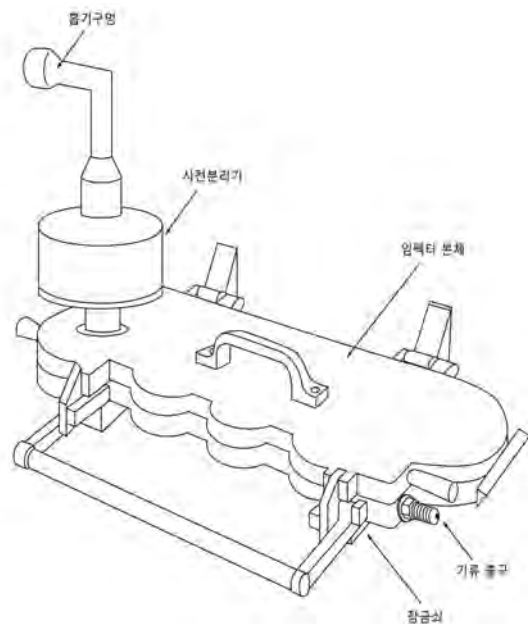


그림 8. 제3법의 차세대 임팩터 측정 장치(사전분리기가 장착되어 있는 상태)

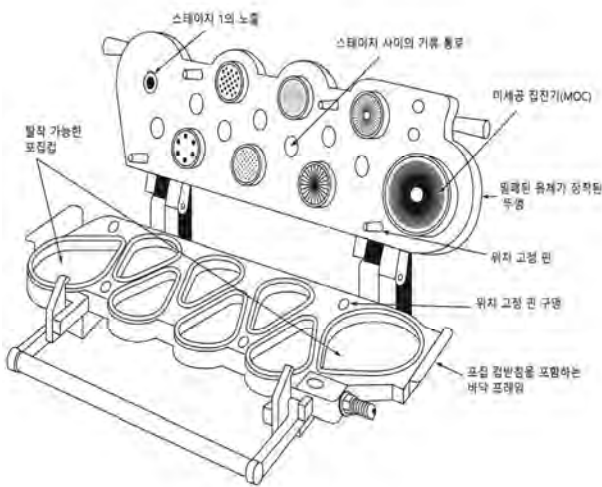


그림 9. 제3법의 구성부품

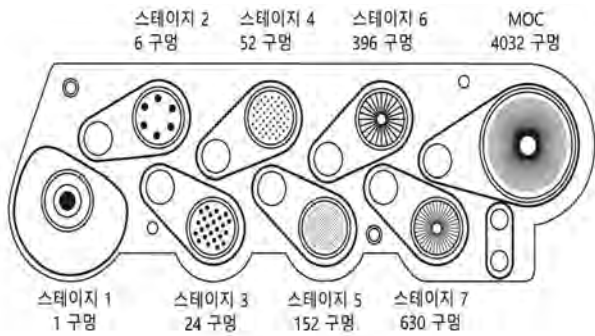


그림 10. 제3법의 노즐의 구성

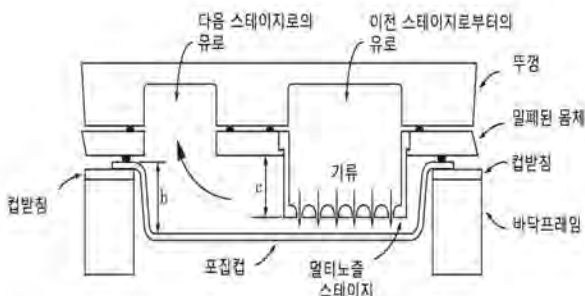


그림 11. 제3법의 스테이지 사이의 기류 통로의 구성

장치의 재질로는 알루미늄, 스테인리스강 또는 그 밖의 적합한 소재가 쓰인다.

임팩터는 탈착이 가능한 포집컵을 모두 동일 평면상에 배치한 구조를 갖는다(그림 8 ~ 11). 임팩터는 다음의 세 가지 주요 부분으로 구성되어 있다; 포집컵을 유지하는 바닥 프레임 부분, 제트노즐을 유지하는 밀폐된 몸체 및 스테이지 사이의 기류 통로를 포함한 덮개 부분(그림 8 및

표 5. 제3법의 한계 치수

세부 내역	치수(mm)
사전분리기(치수 a - 그림 13 참조)	12.8 ± 0.05
스테이지 1* 노즐 지름	14.3 ± 0.05
스테이지 2* 노즐 지름	4.88 ± 0.04
스테이지 3* 노즐 지름	2.185 ± 0.02
스테이지 4* 노즐 지름	1.207 ± 0.01
스테이지 5* 노즐 지름	0.608 ± 0.01
스테이지 6* 노즐 지름	0.323 ± 0.01
스테이지 7* 노즐 지름	0.206 ± 0.01
MOC*	약 0.070
컵의 깊이(치수 b - 그림 12 참조)	14.625 ± 0.10
포집컵의 표면 거칠기(Ra)	$0.5 \sim 2 \mu\text{m}$
스테이지 1 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	0 ± 1.18
스테이지 2 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	5.236 ± 0.736
스테이지 3 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	8.445 ± 0.410
스테이지 4 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	11.379 ± 0.237
스테이지 5 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	13.176 ± 0.341
스테이지 6 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	13.999 ± 0.071
스테이지 7 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	14.000 ± 0.071
MOC 노즐에서 밀폐된 몸체까지의 거리** (치수 c)	$14.429 \sim 14.571$

* 그림 11 참조

** 그림 12 참조

9). 첫 번째 스테이지를 제외한 모든 스테이지에서 다중 노즐이 사용되고 있다(그림 10). 기류는 톱니 모양으로 임팩터를 통과한다.

한계 치수는 표 5와 같다.

일상적인 사용 중에는 밀폐된 몸체 부분과 덮개 부분은 단일의 조립체로서 결합되어 있다. 입체 측정이 끝났을 때 조립체를 열면 포집컵에 접근할 수 있다. 컵은 받침에 놓여있으므로, 받침을 들어 올리면 모든 컵을 임팩터로부터 동시에 제거할 수 있다.

그림 4에 규정된 안지름을 갖는 흡기구멍을 임팩터 입구에 연결한다. 흡입분말체의 평가 등에 필요하면 사전분리기의 추가도 가능한데, 이때는 흡기구멍과 임팩터 사이에 사전분리기를 설치한다. 흡입기와 흡기구멍 사이의 밀봉성을 확보하기 위해 적절한 마우스피스어댑터를 쓴다.

제3법은 말단에 MOC를 포함하고 있어서 대부분의 제제에서는 시험법 밸리데이션에 따라 결정

된 최종 필터를 사용할 필요가 없다. MOC는 보통 4032 개의 구멍이 설치된 포집판으로 각각의 구멍의 지름은 약 70 μm 이다. 임팩터의 스테이지 7에서 포집되지 않은 입자의 대부분은 MOC 아래쪽의 컵 표면에 포집된다. 임팩터를 분당 60 L의 유량으로 조작할 때, MOC는 입자크기 0.14 μm 의 입자에 대해 80 %의 포집 능력을 가진다. MOC에서도 포집되지 않는 입자가 상당한 비율을 차지하는 제제는 MOC를 대체하거나 MOC의 하부에 설치하여 쓰는 필터 홀더(유리섬유 필터가 적당하다)를 쓸 수 있다.

2.3.1 흡입에어로솔제의 측정법

컵받침의 열린 구멍에 컵을 놓는다. 바닥 프레임에 컵받침을 끼우고 제자리까지 내린다. 밀폐된 몸체와 일체화한 임팩터의 덮개 부분을 닫은 다음 시스템의 기밀성을 확보하기 위해 핸들을 조작하여 임팩터 전체를 고정한다.

그림 4에 규정된 안지름을 갖는 흡기구멍을 임팩터 입구에 연결한다. 적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 장착한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기의 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 앞면은 흡기구멍의 앞면과 맞닿게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는 실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다. 적절한 흡인펌프를 장치의 출구에 연결하고 흡기구멍의 입구에서 측정한 흡입유량이 분당 30 L ($\pm 5\%$)가 되도록 조정한다. 흡인펌프의 스위치를 끈다.

흡입제의 사용법에 따로 규정이 없는 한, 5초간 흡입기를 흔들어 섞은 다음, 1회 분사하여 버린다. 장치에 연결한 흡인펌프의 스위치를 켜고 흡입기의 마우스피스 끝을 어댑터에 삽입하고 장치 안에 분사한다. 완전히 분사하기 위해 충분한 시간 흡입기를 작동시킨다.

분사한 다음 5초 동안 기다렸다가 설치된 흡입기를 어댑터에서 떼어낸다. 이 과정을 반복한다. 분사 횟수는 가능한 한 적게, 보통 이 10회를 넘지 않는 횟수로 하여 미립자의 양을 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다. 마지막 분사가 끝난 다음, 5초간 기다렸다가 흡인펌프의 스위치를 끈다.

장치를 해체하고 다음과 같이 유효성분을 회수

한다. 장치로부터 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 분리하고, 침착된 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 핸들을 원래대로 되돌리고 덮개를 들어 올려 임팩터를 연다. 컵받침을 포집컵과 함께 분리하고, 각 컵에 포집된 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조).

2.3.2 흡입분말제의 측정법

사전분리기(그림 12)를 장착하여 장치를 조립한다. 제제의 특성에 따라 타당한 사유가 있으면 사전분리기는 생략할 수 있다.

컵받침의 열린 구멍에 컵을 놓는다. 바닥 프레임에 컵받침을 끼우고 제자리까지 내린다. 밀폐된 몸체와 일체화한 임팩터의 덮개 부분을 닫은 다음 시스템의 기밀성을 확보하기 위해 핸들을 조작하여 임팩터 전체를 고정한다.

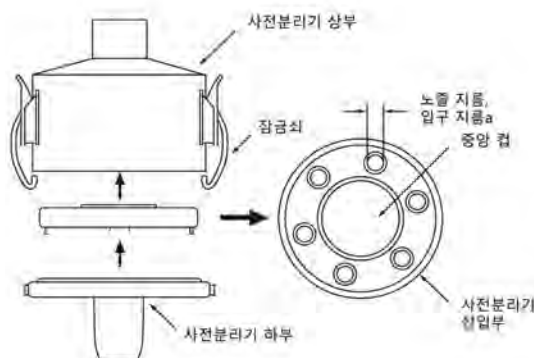


그림 12. 제3법의 사전분리기 구성

사전분리기를 사용할 때는 다음 순서로 조립한다. 사전분리기의 삽입부를 사전분리기 바닥에 장착한다. 사전분리기 바닥을 임팩터 입구에 장착한다. 유효성분을 회수하기 위해 15 mL의 용매를 사전분리기의 삽입부 중앙의 컵에 넣는다. 사전분리기 상부를 조립한 장치 위에 놓고 두 개의 걸쇠를 건다.

그림 4에 규정된 안지름을 갖는 흡기구멍을 임팩터 입구 또는 사전분리기 입구에 연결한다. 그림 5 및 표 3에 나타낸 모식도에 따라 장치를 공기유량시스템에 연결한다.

따로 규정이 없는 한, 흡입제의 전달량 균일성시험법에서 쓴 흡입유량 Q_{out} 으로 측정한다. 흡입기

의 마우스피스로부터 장치를 통과하는 공기량은 4 L로 한다. 유량계를 흡기구멍에 연결한다. 유출하는 부피유량에 대해 교정된 유량계를 쓰거나 유출하는 부피유량(Q_{out})을 이상기체의 법칙을 사용하여 계산한다. 유량계가 유입하는 부피유량(Q_{in})에 대해 교정되어 있을 때는 다음 식으로 계산한다.

$$Q_{out} = (Q_{in} \times P_0) / (P_0 - \Delta P)$$

P_0 : 대기압

ΔP : 유량계를 통과할 때 낮아지는 압력

시스템을 통과하는 공기량이 정해진 유량 Q_{out} ($\pm 5\%$)에서 정상상태가 되도록 유량조절밸브로 조절한다. 유량조절밸브 내에서 임계기류가 발생하는지를 2.1.2. 흡입분말제의 측정법에 따라 확인한다. 흡입펌프의 스위치를 끈다.

적절한 마우스피스어댑터를 흡기구멍의 끝에 장착한다. 마우스피스어댑터에 흡입기의 마우스피스 끝을 삽입할 때, 흡입기의 마우스피스 끝은 흡기구멍의 수평축과 나란히 되도록 한다. 흡입기의 마우스피스의 끝이 맞게 한다. 흡입기를 마우스피스어댑터에 장착할 때는 실제 사용할 때와 같은 방향으로 한다.

흡입분말제를 사용법에 따라 준비한다. 양방향 솔레노이드 밸브는 닫힌 상태로 흡입펌프를 작동시킨다. 흡입기의 마우스피스를 마우스피스어댑터에 장착한다. 정해진 시간 T ($\pm 5\%$) 동안 밸브를 열고 장치 안으로 분말을 방출시킨다. 이 방출 과정을 반복한다. 방출 횟수는 가능한 한 적게, 보통 10회를 넘지 않는 횟수로 하고, 미립자의 양을 정확하고 정밀하게 정량할 수 있는 충분한 횟수로 한다.

장치를 해체하고 다음과 같이 유효성분을 회수한다.

사전분리기를 사용할 때는 사전분리기로부터 흡기구멍과 마우스피스어댑터를 떼어내고, 침착된 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다. 컵 안의 액체가 임팩터 안으로 흘러 들어가지 않도록 하여 임팩터에서 사전분리기를 떼어낸다. 사전분리기에서 유효성분을 회수한다.

핸들을 원래대로 되돌리고 덮개를 들어 올려 임

팩터를 연다. 컵받침을 포집컵과 함께 떼어내고, 각 컵에 포집된 유효성분을 적당량의 용매로 추출한다.

적절한 분석법을 사용하여 각 용매 중에 함유된 유효성분을 측정하여 미립자의 양을 계산한다(3. 계산 항 참조).

3. 계산

각 용액의 분석 결과에서 1 방출당 각 스테이지에 침착된 유효성분의 양 및 흡기구멍, 마우스피스어댑터에 침착된 유효성분의 양을 계산한다. 또한 사전분리기를 쓸 때는 이것에 대해서도 1 방출당 침착된 유효성분의 양을 계산한다.

장치의 기류 출구에 가까운 필터 또는 미세공 집진기(MOC)로부터 차례로 각 스테이지의 컷오프 지름에 대한 누적 유효성분량의 표를 작성하고(제1법은 표 6, 제2법은 표 7 및 제3법은 표 8 참조), 5 μm 이하의 유효성분량을 내삽하여 미립자량(fine particle dose, FPD)을 계산한다. 또는 컷오프 지름이 5 μm 상당의 스테이지 이하에 침착된 유효성분량을 미립자량으로 할 수도 있다.

필요한 경우(예를 들어, 로그 정규분포를 따를 때 등), 컷오프 지름 대 유효성분량의 누적 비율(표 6 ~ 8 참조)로부터 공기역학적 질량중간지름(mass median aerodynamic diameter, MMAD)과 기하표준편차(geometric standard deviation, GSD)값을 구한다. 적절한 계산법을 사용해도 된다.

표 6. 제1법에서의 계산

컷오프 지름 (μm)	1 분사, 방출당 스테이지에 침착된 유효성분의 양	1 분사, 방출당 유효성분의 누적량	유효성분 량의 누적 비율 (%)
$d_4 = 1.7 \times q$	스테이지 5의 유효성분량 (m_5^*)	$c_4 = m_5$	$f_4 = (c_4/c) \times 100$
$d_3 = 3.1 \times q$	스테이지 4의 유효성분량 (m_4)	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \times 100$
$d_2 = 6.8 \times q$	스테이지 3의 유효성분량 (m_3)	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \times 100$
	스테이지 2의 유효성분량 (m_2)	$c = c_2 + m_2$	100

*스테이지 5는 펠터 스테이지

 $q = (60/Q)$, Q : 시험 유량(L/분)(흡입분말제 측정 시의 Q_{out})

표 7. 분당 28.3 L의 유량을 썼을 때의 제2법에서의 계산

컷오프 지름 (μm)	1 분사, 방출당 스테이지에 침착된 유효성분량	1 분사, 방출당 누적 유효성분량	유효성분량의 누적 비율 (%)
$d_7 = 0.4$	펠터 스테이지의 유효성분량 (m_8)	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \times 100$
$d_6 = 0.7$	스테이지 7의 유효성분량 (m_7)	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \times 100$
$d_5 = 1.1$	스테이지 6의 유효성분량 (m_6)	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \times 100$
$d_4 = 2.1$	스테이지 5의 유효성분량 (m_5)	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \times 100$
$d_3 = 3.3$	스테이지 4의 유효성분량 (m_4)	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \times 100$
$d_2 = 4.7$	스테이지 3의 유효성분량 (m_3)	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \times 100$
$d_1 = 5.8$	스테이지 2의 유효성분량 (m_2)	$c_1 = c_2 + m_2$	$f_1 = (c_1/c) \times 100$
$d_0 = 9.0$	스테이지 1의 유효성분량 (m_1)	$c_0 = c_1 + m_1$	$f_0 = (c_0/c) \times 100$
	스테이지 0의 유효성분량 (m_0)	$c = c_0 + m_0$	

표 8. 제3법에서의 계산

컷오프 지름 (μm)	\times	1 분사, 방출당 스테이지에 침착된 유효성분량	1 분사, 방출당 누적 유효성분 량	유효성분량 의 누적 비율 (%)
$d_7 = 0.34 \times q$	0.67	MOC 또는 최종 펠터의 유효성분량 (m_8)	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \times 100$
$d_6 = 0.55 \times q$	0.60	스테이지 7의 유효성분량 (m_7)	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \times 100$
$d_5 = 0.94 \times q$	0.53	스테이지 6의 유효성분량 (m_6)	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \times 100$
$d_4 = 1.66 \times q$	0.47	스테이지 5의 유효성분량 (m_5)	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \times 100$
$d_3 = 2.82 \times q$	0.50	스테이지 4의 유효성분량 (m_4)	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \times 100$
$d_2 = 4.46 \times q$	0.52	스테이지 3의 유효성분량 (m_3)	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \times 100$
$d_1 = 8.06 \times q$	0.54	스테이지 2의 유효성분량 (m_2)	$c_1 = c_2 + m_2$	$f_1 = (c_1/c) \times 100$
		스테이지 1의 유효성분량 (m_1)	$c = c_1 + m_1$	100

 $q = (60/Q)^x$, Q : 시험 유량 (L/분), x : 표에 기재

「대한민국약전」 일반정보 신설(안) - 의견수렴용

국내 의약품의 품질관리에 유용한 정보를 제공하고자 다음과 같이 ‘단핵구활성화시험법’과 ‘침단 바이오의약품 품질관리를 위한 미생물 신속검출법’, 의약품의 포장 품질 관리를 위한 ‘의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가’ 및 ‘의약품 포장 및 전달시스템에서의 침출물 평가’를 대한민국 약전 일반정보로 신설하고자 한다.

1. 단핵구활성화시험법 신설(안) 마련

세계적으로 동물에 대한 윤리 의식 확산에 따라 3Rs*와 동물실험 결과의 인체 적용 불확실성 등으로 인하여 ‘동물대체시험법 방안’에 요구되고 있다. 대한민국약전에서도 국제조화에 발맞추어 업계에서 실질적으로 적용이 가능한 동물대체시험법 개정(안)을 마련함으로써 국내 의약품 품질관리 향상에 이바지하고자 한다.

발열성물질시험법은 토끼발열시험이므로 대체시험법으로 검토할 수 있는 시험법은 투구계의 혈구추출 성분으로 만든 라이세이트(LAL)시약을 사용하여 주요 발열물질로 알려진 그람음성균에서 유래되는 엔도톡신을 검출 및 정량하는 방법으로 엔도톡신시험법이 대한민국약전에 수재되어 있다. 하지만, 그람양성균과 곰팡이 유래 등의 비엔도톡신성 발열물질에 대한 오염을 확인할 수 없으므로, 이를 보완할 수 있는 추가적인 대체시험법으로써, 단핵구활성화시험법이 유럽약전(Ph.Eur.)에 실려 있다. 유럽은 생체내 발열 기전을 기반으로 인간의 혈액에서 유래한 단핵구를 사용하여 발열에 직접적인 영향을 주는 사이토카인의 분비를 유도하는 시험원리에 바탕을 둔 *in vitro* pyrogen test에 관한 연구를 지속적으로 수행하였으며, 그 결과 2010년 유럽약전에 Monocyte Activation Test (단핵구활성화시험, MAT)가 토끼 발열시험의 대체시험법으로써 등재되었다. 「대한민국약전」에서도 동물대체시험방법의 일환으로 일반시험법 ‘단핵구활성화시험법’에 대한 정보를 다음과 같이 제공하고자 한다.

* 3Rs 원칙 : 동물수 감소(Reduction), 동물고통 경감(Refinement), 실험동물 대체(Replacement)을 우선적으로 고려하도록 권고

단핵구활성화시험법

1. 서론

단핵구활성화시험법(Monocyte-activation test, MAT)은 사람 단핵구 또는 단핵구세포를 활성화하여 염증유발 사이토카인(pro-inflammatory cytokines) 예를 들어, 종양괴사인자- α (Tumour necrosis factor alpha,

TNF α), 인터루킨-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) 및 인터-6(interleukin-6, IL-6)과 같은 내인성 매개체를 방출하는 물질을 검출하는데 사용된다. 이러한 사이토카인은 발열의 발병기전 역할을 함으로, 단핵구활성화시험법(MAT)은 검체에서 발열성물질의 유무를 검출한다.

비엔도톡신 발열원(non-endotoxin pyrogenic) 또는 염증유발 오염물질(이하 '비엔도톡신 오염물질'로 통칭)을 포함하는 의약품은 일반적으로 엔도톡신 용량-반응곡선과 비교하여 가파른 용량-

반응곡선을 나타낸다. 비엔도톡신 오염물질을 포함하거나 포함할 수 있는 제제는 최소 희석 배수를 포함하여 다양한 희석 범위에서 시험되어야 한다.

이 장에서는 다음 두 가지 방법을 기재한다.

제1법: 반정량적 방법

제2법: 표준배치 비교 방법

또한, 시험의 실제적인 측면에 대한 추가적인 유용한 정보는 이 장 끝에 있는 '시험 가이드라인'항에서 확인할 수 있다.

2. 정의

최대유효희석배수(maximum valid dilution, MVD)는 오염물질의 한계를 결정할 수 있는 검체의 최대허용희석배수이다. 최대유효희석배수(MVD)의 계산은 엔도톡신표준품을 기반으로, 다음 식을 사용하여 최대유효희석배수(MVD)를 결정한다:

$$\frac{CLC \times C}{\text{시험감도}}$$

CLC : 오염물질 한계농도

C : 검액의 농도

시험감도(test sensitivity) : 엔도톡신 표준액의 반응이 컷오프값을 초과하는 표준곡선상의 가장 낮은 엔도톡신 표준액의 농도(컷오프값: 아래 정의 참조).

시험감도는 표준곡선상의 실제 값이므로 최대유효희석배수(MVD) 계산을 확인하기 위해 모든 시험마다 확인해야 한다(>컷오프값).

적부판정을 위한 허용 기준은 오염물질 한계농도(contaminant limit concentration, CLC)이며, 이는 검체의 mg 또는 mL당 또는 생물학적 활성 단위당 엔도톡신 당량(endotoxin equivalents, EE)으로 표시된다.

오염물질 한계농도(CLC)는 다음 식을 사용하여 계산된다.

$$\frac{K}{M}$$

K : 체중 kg당 발열을 일으키는 엔도톡신의 양

M : 체중 kg당 의약품의 최대 권장 투여량

빈번한 간격으로 주사하거나 지속적으로 주사하는 경우 M은 1시간 이내 투여하는 최대 총량이다.

따로 규정이 없는 한, 의약품에 엔도톡신 한계농도(endotoxin limit concentration, ELC)가 규정된 경우 오염물질 한계농도(CLC)는 엔도톡신 한계농도(ELC)와 같다. 이 경우, 검액의 농도는 엔도톡신 한계를 질량(IU/mg)으로 정한 경우에는 mg/mL로 표시하고, 엔도톡신 한계를 생물학적 활성 단위(IU/Unit)로 정한 경우에는 Units/mL로 표시한다. 엔도톡신 한계를 부피(IU/mL)로 규정된 경우는 mL/mL로 표시한다.

오염물질의 농도는 표준 엔도톡신 용량-반응 표준곡선(제1법)을 판독하여 엔도톡신 당량으로 나타낸다. 엔도톡신 표준원액은 국제표준에 대해 교정된 엔도톡신표준품을 가지고 조제한다.

시험감도는 엔도톡신 표준곡선을 사용하여 결정된다. 시험감도는 컷오프값을 초과하는 표준곡선에서 엔도톡신 표준액의 가장 낮은 농도 값이다. 시험 목적에 따라 시험감도는 mL당 엔도톡신 당량(EE/mL)으로 표시된다. 컷오프 값은 판독에 적합한 단위로 표시한다(예를 들어, ELISA의 경우 광학 밀도 사용).

컷오프 값은 다음 식을 사용하여 계산할 수 있다.

$$\bar{X} + 3s$$

\bar{X} : 공시험을 4회 반복하여 얻은 반응의 평균값(R_0)

s : 공시험을 4회 반복하여 얻은 반응의 표준편차(R_0)

3. 일반적인 절차

시험은 발열성물질이 오염되지 않도록 수행한다.

검액은 사람 단핵구 또는 사람 단핵구 세포의 공급원, 예를 들어, 응고 처리된 사람 말초혈액, 또는 밀도-기울기 원심분리 등으로 분리한 사람 말초혈액단핵구(human peripheral blood

mononuclear cells, PBMC) 혹은 사람 단핵구 세포주와 같은 이 혈액의 단핵구 포함 분획 등과 함께 배양한다. 사람 혈액 및 말초혈액단핵구(PBMC)는 발열성물질에 대한 세포의 충분한 반응을 보장하는 적절한 시간 내에서 처리하여야 한다. 항응고 처리된 사람 말초혈액은 일반적으로 배양 배지 또는 식염수로 2 ~ 50 vol%로 희석한다. 말초혈액단핵구(PBMC) 또는 단핵구 세포주는 일반적으로 공여자 자신의 혈장, 사람 AB 혈청 또는 소 태아 혈청이 보충된 배양 배지에서 최종 농도 $0.1 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/mL로 희석한다. 세포 배양은 배양 배지에 적합한 환경에서 배양한다(예를 들어, 5 % CO₂ 가습된 공기, 37 ± 1 °C). 배양 기간은 선택한 판독값이 측정될 수 있을 만큼 충분해야 한다. 염증 유발성 또는 발열성 사이토카인과 같은 선택된 판독값의 반응은 검액의 반응을 표준 엔도톡신(제1법) 또는 검체의 표준배치(제2법)에 대한 반응과 비교한다.

4. 장비

밸리데이션된 공정을 사용하여 열풍 건조기에서 모든 유리 기구 및 기타 열에 안정한 장비의 발열성물질을 제거한다. 일반적으로 사용되는 온도와 최소 시간은 250 °C, 30분이다. 피펫용 마이크로플레이트 및 팁과 같은 장비는 검출할 수 있는 발열성물질이 없고, 시험을 방해하지 않는 것으로 한다.

5. 세포 공급원 및 적격성 평가

5.1. 전혈(Whole Blood)

전혈은 단일 공여자(single donors) 또는 전혈의 풀링(pooled whole blood)로부터 얻는다. 5.3., 5.4. 또는 5.5.항 및 6.5.항(해당하는 경우)에 기재된 요건에 따라 적격성이 평가된다. 풀(pool)은 최소 4명의 개인 공여자의 기증으로 구성되어야 하며, 각 기증에서 매번 거의 동일한 양의 혈액을 채취해야 한다.

5.2. 말초혈액단핵구(Peripheral Blood Mononuclear Cells; PBMC)

말초혈액단핵구(PBMC)는 5.3., 5.4. 또는 5.5.항 및 6.5.항(해당하는 경우)에 기재된 요건에 따라 자격을 갖춘 단일 공여자로부터 얻은 혈액에

서 분리되며, 풀링(pooling)할 수도 있다. 풀(Pools)은 최소 4명의 개인 공여자의 기증으로 구성되어야 하며, 각 분리주에서 거의 동일한 수의 세포를 채취해야 한다.

5.3. 헌혈공여자의 적격성평가

동의, 건강 및 안전, 윤리적 고려 사항에 관련된 기타 모든 요건 외에도 다음과 같은 적격성 기준에 적합해야 한다. 헌혈공여자는 자신의 건강 상태가 양호하고, 세균이나 바이러스에 감염되지 않았으며, 헌혈 전 최소 1주일 동안 그러한 감염의 증상이 없었다고 기술해야 한다. 헌혈공여자는 헌혈 전 48시간 동안 비스테로이드성 항염증제와 헌혈 전 7일 동안 스테로이드성 소염제를 복용해서는 안 된다. 선택된 판독값 생성에 영향을 미치는 것으로 알려진 면역억제제 또는 기타 약물을 처방받은 사람은 헌혈공여자가 될 수 없다. 헌혈공여자는 국가 수혈 의료 요건에 따라 감염 지표에 대해 검사해야 한다.

5.4. 신선한 세포의 적격성 평가

신선한 세포는 또한 주요 시험 중 동시에 적격성이 평가된다. 세포에 대한 적격성 평가는 다음과 같이 진행된다: 혈액 채취 후 검증된 시간 내에 적어도 4개의 기하학적으로 희석된 엔도톡신 농도를 갖는 표준 엔도톡신을 사용하여, 용량-반응곡선을 작성한다. 용량-반응곡선은 6.1.항에 기재된 엔도톡신 표준곡선의 기준에 적합해야 한다. 세포를 사용하여 비엔도톡신 오염물질을 검출하는 경우, 6.5.항에 기재된 기준에 적합해야 한다. 세포를 풀링(pooling)하는 경우 예를 들어, 각 개인 공여자 세포의 반응성과 비교하여 평균 효과를 고려하여야 한다.

5.5. 동결보존 세포의 적격성평가

단핵구활성화시험법에 사용되는 사람 전혈 또는 말초혈액단핵구(PBMC) 또는 단핵구 세포주와 같은 혈액 분획, 세포 공급원은 동결보존될 수 있다. 동결보존된 세포 풀(pool)은 일반적으로 동결 전 풀링에 의해 얻어진다(또는 해동 직후 단일 동결보존 공여물의 풀링(pooling)이 허용됨). 동결보존된 혈액 또는 세포의 적격성 평가는 해동(및 필요한 경우 풀링(pooling)) 후 즉시 수행한다. 동결보존된 혈액 또는 세포의 용량-반응곡선은 6.1.항에 기재된 엔도톡신 표준곡선의 기준에 적합해야 한다. 동결보존된 혈액 또는 세포를 사

용하여 비엔도톡신 오염물질을 검출하는 경우, 6.5항에 기재된 적격성평가를 받아야 한다. 동결 보존된 세포가 풀링(pooling)하는 경우, 각 개인 공여자 세포의 반응성과 비교하여, 평균 효과를 고려하여야 한다.

5.6. 단핵구 연속계대성세포주

아래에 기재된 요건을 갖춘 단핵구 세포주는 적격성 평가를 통과한 후, 엔도톡신 및 비엔도톡신 발열성물질의 검출에 적합하다(6.5.항 참조).

단핵구활성화시험법을 위한 적절한 공급을 보장하기 위해, 사람 단핵구 세포주를 배양한다. 이 방법을 최적화하기 위해, 세포주로부터 유래된 클론을 사용할 수 있다.

세포주는 무균조건에서 유지되어야 하며, 미생물 및 바이러스 오염에 대해 정기적으로 확인해야 한다. 또한, 세포는 정체성(예를 들어, 배가 시간, 형태 및 기능)과 안정성을 정기적으로 확인해야 한다. 세포주의 기능적 안정성은 일상적인 시험 중 계대수와 관련된 세포주의 성능을 모니터링하여 평가한다. 성장 기준, 시험에서 얻은 최대 신호, 배경 잡음 및 온전한 수용체 신호 전달을 포함한, 기능적 안정성에 대한 기준은 확립되어야 한다. 수용체 신호 전달은 패턴인식수용체(pattern recognition receptors, PRR)에 대한 특정 리간드, 예를 들면 톨-유사 수용체(toll-like receptors, TLRs)를 시험할 수 있다.

용량-반응곡선은 6.1.항에 기재된 엔도톡신 표준곡선의 기준에 적합해야 한다. 세포를 사용하여 비엔도톡신 오염물질을 검출하는 경우, 6.5.항에 기재된 기준에 적합해야 한다.

6. 예비시험

시험의 타당성을 확보하기 위해 엔도톡신 표준곡선이 기준에 적합한지, 검액이 시험에 방해되지 않는지, 시험에서 엔도톡신 및 비엔도톡신 오염물질이 검출되는지, 검출시스템에서 시험액이 간섭되지 않는지 검증하기 위한 예비시험을 실시한다.

시험 결과에 영향을 미칠 가능성이 있는 실험 조건에 중대한 변화가 있을 때마다 예비시험을 반복한다.

6.1. 엔도톡신 표준곡선 기준의 보증

엔도톡신 표준곡선의 유효성

분석법 개발 과정에서 표준 엔도톡신이 첨가되

지 않은 상태에서 선택한 판독값(공시험)의 기본 함량은 가능한 한 낮게 되도록 최적화한다. 또한, 적절한 용량-반응곡선을 생성하기 위해 엔도톡신 농도 범위를 선택한다.

준비된 농도의 개수와 관찰된 용량-반응 관계에 따라 적절한 회귀 모델(예를 들어, 선형 회귀 모델 또는 4개/5개 매개변수 로지스틱 모델)을 선택한다.

표준곡선을 작성하기 위하여 표준 엔도톡신의 여러 농도를 준비한다. 선형 회귀 모델에 적합하기 위해 최소 4개의 농도를 사용한다(선형성은 데이터 변환 후에 개선될 수 있음). 비선형 용량-반응 관계(예를 들어, S자형 곡선)의 경우 4개의 매개변수 로지스틱 모델에 적합하게 하도록 최소 5개 농도를 사용하고, 5개의 매개변수 로지스틱 모델에 적합하기 위해서는 최소 6개 농도를 사용한다. 각 농도에 대해 최소 4회 이상 반복하여 시험을 수행한다.

엔도톡신 표준곡선은 다음의 경우를 제외하고는 유효하지 않다:

- 데이터 값 선택한 회귀 모델이 잘 맞는다. 이는 시각적 평가(예를 들어, 회귀 및/또는 잔차플롯 평가(residual plots)) 또는 통계적 검정($p > 0.05$)에 의해 평가될 수 있다. 단순 선형 회귀 모델의 경우 비선형성 검정을 사용한다(일반정보 「생물학적 시험 결과의 통계분석기법」 참고). 비선형 회귀 모델의 경우 ‘적합결여 검정(lack-of-fit test)’을 사용한다;
- 결정계수는 0.975 이상이다.

6.2. 반응간섭인자시험(제1법)

시험의 타당성을 확보하기 위해, 예비시험을 실시하여 검체가 시험에 방해되지 않음을 입증한다. 적절한 희석제를 사용하여 검체를 기하학적 단계로 희석하되, 최대유효희석배수(MVD)를 초과하지 않도록 희석한다. 검체와 동일한 희석액을 만들고 적절한 농도의 엔도톡신을 첨가한다. 또는, 적절한 농도의 엔도톡신을 스파이크한 희석제를 사용한다. 두 경우, 모두에서 농도는 일반적으로 엔도톡신 표준곡선의 추정 중간값과 같거나 근접하다. 동일한 시험에서 이러한 희석계열을 병렬로 시험한다. 엔도톡신 표준곡선을 이용하여 각 용액에 포함된 엔도톡신 당량의 농도를 계산한다. 첨가된 엔도톡신의 평균 회수율은 엔도톡신을 첨가

한 용액의 엔도톡신 당량 농도의 평균 농도(있는 경우)에서 용액의 엔도톡신 당량의 평균 농도를 빼서 계산한다. 엔도톡신을 첨가하지 않은 용액에서 검출된 엔도톡신 당량을 뺀 후, 해당 시험 조건에서 엔도톡신이 첨가된 검액에서 측정된 엔도톡신 당량의 농도가 첨가한 농도의 50~200 % 이내일 때, 검액은 간섭 인자가 없는 것으로 간주한다. 최대유효희석배수(MVD) 내에서 간섭을 극복할 수 없는 경우(예를 들어, 더 민감한 단핵구 활성화시험법을 사용), 제1법 보다 제2법을 선호한다.

6.3. 시험배치와 표준배치의 최적 희석농도 결정 (제2법)

제2법에서 시험배치와 표준배치의 희석농도는 두 배치 사이의 비교를 위해 사용되는 분석 방법에 따라 달라진다. 분석 방법은 각 의약품에 대해 타당하게 검증되어야 하며 시험 타당성 기준에 적합해야 한다. 예를 들어, 검액의 3가지 희석액을 시험한다. 즉, 선택된 판독값의 최대 방출을 자극하는 최고 농도(최저 희석액)와 선택한 희석 바로 아래 및 위의 희석액에 대해 시험한다. 선택된 판독값의 최대 방출을 자극하는 농도는 공여자 및 배치에 따라 달라질 수 있으므로, 의약품별 밸리데이션은 각각 다른 공여자의 세포를 사용하여 최소 3개의 독립적인 시험을 수행하여야 한다. 다수의 공여자에서 선택한 판독값의 최대 방출을 자극하는 최고 농도(최저 희석액)와 선택한 희석 바로 아래 및 위의 희석액은 추가 시험을 위해 밸리데이션된 것으로 간주한다. 희석하지 않은 검액이 선택된 판독값의 최대 방출을 자극하는 경우, 후속 시험은 희석하지 않은 검액과 함께 단핵구 세포에 희석액을 넣기 전에 2회 연속 희석하여(예를 들어, 2배 희석 인자의 경우 1:2 및 1:4 비율) 희석한 검액을 사용하여 수행하여야 한다. 이 3가지 검액의 희석 배수는 f_1 , f_2 및 f_3 으로 지정된다.

의약품의 발열성물질의 함량이 원래 높은 경우, 예를 들어 시험배치와 표준배치의 용량-반응곡선에 대한 평행선 분석을 수행하는 것이 더 적절할 수 있다. 이 경우, 검액은 검증 분석을 위한 용량-반응곡선의 범위를 포함하는 3개 이상의 기하학적으로 희석(geometric dilution) 한다(일반정보 「생물학적 시험 결과의 통계분석기법」 참고).

6.4. 검출 시스템에서의 간섭

검액의 최적 희석 배수가 확인되면, 이 희석액이 선택된 판독값에 대한 검출 시스템(예를 들어, ELISA)에서 간섭을 일으키는지 시험한다. 검체의 유무에 따라, 선택된 판독값에 대한 표준품의 희석계열로부터 얻은 결과의 일치도는 예를 들어 광학 밀도의 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다.

6.5. 비엔도톡신 단핵구활성화 오염물질에 대한 시험법 밸리데이션

예비시험은 또한 선택한 시험 시스템이 엔도톡신뿐만 아니라 비엔도톡신 염증유발성 또는 발열성 오염물질을 검출한다는 것을 보여주기 위한 것이다. 특정 의약품에 대한 방법의 적합성을 검증하여야 한다. 예비시험에는 시험법 검증을 위해 적어도 패틴인식수용체(PRR)에 대한 특정 2개의 비엔도톡신 리간드(예를 들어, 펩티도글리칸, 리포테이코산류, 박테리아 지질합성단백질, 플라젤린(편모단위 단백질), 및 박테리아 전 세포 조추출물)를 사용하는 것이 포함되며, 이중 적어도 1개는 검체에 스파이크하여야 한다. 가능하다면, 토끼 발열성물질시험에서 양성 반응을 일으킨 비엔도톡신 오염물질 또는 사람에게 약물 이상 반응을 일으킨 이력이 있는 배치들을 포함하여야 한다.

스파이크 회수율(spike recovery)은 50 ~ 200 % 이내 이어야 한다. 단, 패틴인식수용체(PRR) 리간드와 검액 사이에 시너지 효과가 있는 경우, 스파이크 회수율이 50 % 이상이면 충분하다. 비엔도톡신 발열성물질의 선택은 검체의 가장 오염되었을 가능성 있는 물질로 한다. 시험 시스템은 검체에서 가장 오염되었을 가능성이 있는 물질(들)을 반영하여 적어도 TLR4 및 2개의 다른 톨-유사 수용체(TLR) 리간드가 검출되도록 보장해야 한다.

7. 시험법

7.1. 제1법 : 반정량적 방법

제1법은 검체를 표준엔도톡신 용량-반응곡선과 비교하는 방법이다. 시험에 적합하기 위해서, 제제의 오염물질의 농도는 오염물질 한계농도(CLC)보다 낮아야 한다.

7.1.1. 조작법

검증된 시험법을 사용하여 표 1에 따라 각 용액

을 준비하고, 각 용액을 4개로 나누어 적격성이 확인된 세포(전혈, PBMC 또는 단핵구 세포주)와 배양한다.

표 1. 검증된 시험법을 이용한 각 용액 시험결과

용액	용액/희석 인자	엔도톡신 추가	반복 횟수
A	검액/ f	—	4
B	검액/ f_1	—	4
C	검액/ f_2	—	4
AS	검액/ f	엔도톡신 표준 곡선의 중간값과 같거나 근접하다.	4
BS	검액/ f_1	엔도톡신 표준 곡선의 중간값과 같거나 근접하다.	4
CS	검액/ f_2	엔도톡신 표준 곡선의 중간값과 같거나 근접하다.	4
R_0	발열성물질이 없는 식염수 또는 희석액	없음(음성대조)	4
R_1-R_x	발열성물질이 없는 식염수 또는 희석액으로 희석된 엔도톡신표준액	엔도톡신표준액 농도가 4 이상	각 농도별 4

용액 A = 검액으로, 희석인자 f 로 희석하여 간접 인자 시험에 사용하며, 엔도톡신 회수율이 일관되게 50 ~ 200 % 범위일 때의 최고 농도(최저 희석)에 해당한다.

용액 B = 검액으로, 의약품별 밸리데이션 데이터를 검토한 다음, 선택한 MVD를 초과하지 않는 희석 인자 f_1 , 예를 들어 $0.5 \times \text{MVD}$ (즉, MVD 보다 0.5배 희석됨)로 희석한다.

용액 C = 검액으로, 의약품별 밸리데이션 데이터를 검토한 다음, 선택한 MVD를 초과하지 않는 희석 인자 f_2 , 예를 들어 $1 \times \text{MVD}$ 로 희석한다.

용액 AS = 용액 A에 엔도톡신 표준곡선의 중간값과 같거나 근접한 농도가 되도록 엔도톡신표준품으로 스파이크한 용액.

용액 BS = 용액 B에 엔도톡신 표준곡선의 중간값과 같거나 또는 근접한 농도가 되도록 엔도톡신표준품으로 스파이크한 용액.

용액 CS = 용액 C에 엔도톡신 표준곡선의 중간값과 같거나 또는 근접한 농도가 되도록 엔도톡신표준품으로 스파이크한 용액.

용액 R_0 = 음성 대조군.

용액 R_1-R_x = 간접 인자에 대한 시험에 사용된 농도의 엔도톡신표준액.

7.1.2. 계산 및 판정

데이터 분석의 엔도톡신 표준곡선의 기준에 적합한 세포와 관련이 있는 모든 데이터가 포함되어야 한다(6.1항 참조). 개인 공여자, 공여자 풀(pool) 또는 세포주와 같은 각 다른 세포 공급원에 대해 엔도톡신 표준곡선을 사용하여 용액 A, B, C 및 용액 AS, BS, CS을 가지고 반복 시험에서 엔도톡신 당량의 농도를 계산한다. AS, BS 및 CS 용액의 엔도톡신 당량의 농도에서 용액 A, B 및 C에서 나타난 엔도톡신 당량의 농도를 뺀 다음 계산된 엔도톡신 당량 농도의 회수율은 50 ~ 200 % 범위 내에 있다.

이 시험은 적어도 1개의 희석액이 50 ~ 200 % 이내의 스파이크 회수율이 나타내지 않는 한 유효하지 않다. 희석 배수 및 농도 보정한 다음 용액 A, B 및 C의 반복 시험에서 측정된 엔도톡신 당량의 평균 농도가 모두 오염물질 한계농도(CLC) 미만인 경우, 검체는 시험에 적합하다. 반대로, 용액의 평균 농도가 스파이크 회수율과 관계없이 오염물질 한계농도(CLC)를 넘는 경우, 검체는 시험에 적합하지 않다.

7.1.3. 의약품의 적부판정 기준

개인 공여자의 세포를 사용하는 경우, 검체는 4명의 서로 다른 공여자의 세포를 각각 사용하여 시험하여야 한다. 검체가 4명의 공여자 세포 중 3명의 세포에서만 시험을 통과한 경우, 별도의 4명의 공여자의 세포에 대한 시험에 대해 1차 시험에 세포를 제공하지 않은 다른 4명의 공여자의 세포로 시험을 계속할 때 검체는 8명의 공여자 중 7명의 세포에 대하여 시험을 통과하여야 한다 (즉, 8명의 공여자에서 최대 1회의 양성 반응이 허용됨). 단핵구의 공급원이 다수의 개인 공여자 세포의 풀(pool)로 구성된 경우, 검체는 하나의 세포로 시험을 통과하여야 한다. 사람 단핵구 세포주를 시험에 사용하는 경우, 검체는 1회의 적격성을 통과한 세포를 사용한 시험을 통과하여야 한다.

7.2. 제2법 : 표준 배치 비교 방법

제2법은 검체를 검체의 검증된 표준배치와 비교

하는 것으로, 표준배치는 임상시험을 통해 안전성과 유효성이 입증된 제제의 배치이거나 또는 그것을 대표하는 것이다. 두 제제를 비교하기 위해 선택한 분석 유형은 각 의약품에 대해 타당성을 입증하고 검증을 하여야 하며, 시험법 적합성 기준에 맞아야 한다. 제2법의 목적은 검체가 명백한 간섭을 나타내지만, 간섭을 극복하기 위해 최대유효희석배수(MVD) 내에서 희석할 수 없거나 비엔도독신 오염물질이 포함되어 있거나 포함되어 있다고 간주되는 경우 수행된다. 비엔도독신 오염물질에 대한 반응은 엔도독신에 대한 반응보다 더 빠르게 희석될 수 있으므로, 최소 희석을 포함하는 희석 범위 내에서 수행해야 한다. 조작법은 아래에 기술되어 있으며, 시험배치와 표준배치를 비교하는 데 사용되는 분석 유형의 예가 포함되어 있다.

7.2.1. 조작법

검증된 시험법을 사용하여 표 2에 나타난 용액을 준비하고, 적격성이 확인된 세포로 각 용액에서 4회 반복하여 배양한다.

표 2. 검증된 시험법을 이용한 각 용액 및 반복 횟수

용액	용액/희석인자	반복 횟수
A	표준배치 용액/ f_1	4
B	표준배치 용액/ f_2	4
C	표준배치 용액/ f_3	4
D	검체 용액/ f_1	4
E	검체 용액/ f_2	4
F	검체 용액/ f_3	4
G	양성대조(엔도독신표준품)	4
R ₀	희석액(음성대조)	4

용액 A, B, C는 예비시험(6.3항)에서 결정된 희석 인자 f_1 , f_2 및 f_3 로 희석한 표준배치 용액이다. 용액 D, E, F는 예비시험(6.3항)을 통해 표준 배치로 결정된 희석 인자 f_1 , f_2 및 f_3 로 희석한 검체 용액이다.

용액 G는 세포의 생존력에 대한 양성 시험 대조군이며, 명확한 양성 반응을 보이는 엔도독신표준품의 농도이다.

용액 R₀는 검체를 희석하는 데 사용되는 희석액이며 공시험의 역할을 한다.

7.2.2. 계산 및 판정

데이터 분석에 세포와 관련이 있어야 하며, 모든 데이터가 포함되어야 하며, 용액 G는 물론이고 용액 A, B, C의 세포반응 중 적어도 하나는 판독 결과의 기본 방출(용액 R₀)보다 큰 반응을 보인다. 개인 공여자, 공여자 풀(pool) 또는 세포주 등 각기 다른 세포 공급원에 대해 표준곡선(선택한 결과값(예를 들어, IL-6)에 대해 공시험액 및 최소 4회 기하학적으로 희석한 농도의 표준액으로 2회 반복하여 시험하여 작성한 검량선)을 써서 용액 A ~ F를 가지고 2회 반복하여 시험한 평균 반응값을 계산한다. 용액 A, B, C에 대한 평균 반응값의 합과 용액 D, E, F에 대한 평균 반응값의 합을 구한다. 용액 D, E, F에 대한 평균 반응값의 합을 용액 A, B, C에 대한 평균 반응값의 합으로 나눈다. 검체는 얻어진 값이 타당성이 입증된 값을 넘지 않으면서 정의된 허용 기준에 적합할 때 해당 세포 공급원에 대한 시험은 적합하다.

7.2.3. 의약품의 적부판정 기준

기준은 제1법(7.1.3.항 참조)과 같다.

부적합 배치의 오염 정도를 더욱 면밀하게 확인하기 위해 검액의 다른 희석액을 사용하여 제1법 및 제2법을 수행할 수 있다.

다음 항은 정보제공용이다.

시험 가이드라인

1. 서론

단핵구활성화시험법(MAT)은 그람음성균의 엔도독신과 그람양성균 및 그람음성균, 바이러스 및 진균에서 유래한 병원체관련분자패턴(pathogen-associated molecular pattern, PAMP), 의약품 및 공정 관련 생물학적 또는 화학적 개체를 포함한 비엔도독신 오염물질 등 발열성 및 염증 유발 오염물질을 검출하는 것이다.

비엔도독신 오염물질은 물리화학적으로 다양한 종류의 분자들이며, 일반적으로 검체 내의 오염물질의 특성을 알 수 없으므로, 오염 수준은 표준 엔도독신 반응과 비교하여 나타내는 엔도독신 당량 단위로 표시하거나 검체를 표준 배치와 비교하여 표시할 수 있다.

단핵구활성화시험법에서 표준 엔도독신에 대한

반응은 일반적으로 약 $1 \log^{10}$ 이상으로 희석되며, 비엔도톡신 오염물질(단독 또는 엔도톡신과 조합)로 오염된 의약품에 대한 반응은 단핵구 자극 능력을 시험할 때, 보통 1 ~ 2회 희석 단계에서 매우 가파른 용량-반응곡선을 보인다. 일반적으로, 이러한 오염된 의약품에 대한 가장 큰 반응은 검체의 원액 또는 검체의 소량 희석된 용액에서 나타난다. 이러한 이유로 비엔도톡신 오염물질을 포함하고나 있거나 포함할 수 있는 검체의 시험액은 최소 희석을 포함하는 희석 범위에서 시험하여야 한다.

2. 시험법

2.1. 시험법 선택에 관한 정보

제1법은 의약품의 고유한 염증 유발성이 높은 경우(스파이크 회수율이 200 %를 초과하는 경우)에는 적합하지 않을 수 있다. 이 경우에는 제2법을 권장한다.

검체가 선택된 판독값으로 오염된 경우, 선택한 방법을 적절히 수정하고 검증하여 해결해야 한다.

선택한 방법의 의약품별 밸리데이션은 특정 의약품/오염물질 조합에 대한 비응답계의 빈도를 파악하고, 이를 해결하기 위한 단계를 확인하는 것으로 예상된다(예를 들어, 공여자 선별, 시험당 공여자 수를 증가, 오염된 배치의 검출 가능성을 극대화하기 위한 적절한 엄격한 적부판정 기준 설정 등).

2.2. 농도 및 의약품 희석의 표현

단핵구활성화시험법에서의 모든 엔도톡신 또는 엔도톡신 당량 농도는 검체에서 측정된 농도로 나타내고, 시험웰(test well)에서 측정된 최종 농도로는 표시하지 않는 것이 좋다. 이렇게 하면 서로 다른 단핵구활성화시험법의 민감도를 더 잘 비교할 수 있을 뿐만 아니라 계산 오류(예를 들어, MVD)를 방지할 수 있다. 검체 대 시약 부피비가 항상 1:1은 아니므로, 검체에서 측정한 농도를 나타내는 것이 중요하다. 표 3은 검체 대 시약 부피비가 다른 단핵구활성화시험법(MAT)의 몇 가지 예시와 웰 당 시험감도와 검체 당 시험감도를 명시할 때 이러한 비율의 영향을 보여준다.

표3. 단핵구활성화시험법 예(검체 대 시약 부피비)

	MAT X	MAT Y	MAT Z
검체 부피 (μL)*	100	50	20
시약 부피 (배지 중 세포) (μL)	100	200	240
시험에서 검체 희석 (배)	2	5	13
웰의 총 부피 (μL)	200	250	260
시험감도 (웰의 농도에 따른) (IU of endotoxin/mL)	0.01	0.01	0.019
시험감도 (검체 중의 농도에 따른) (IU of endotoxin/mL)	0.02	0.05	0.25
* '검체'는 검액 또는 엔도톡신표준액을 의미할 수 있다.			

이 예시들은 시험감도 값이 웰의 농도로 표현될 때, 더 낮다는 것을 보여주지만, 시스템이 더 민감하고 더 높은 MVD를 얻을 수 있다는 것을 의미하는 것은 아니다. 웰 중의 농도를 사용하는 경우 의약품 희석도 비슷한 방식으로 표시해야 한다. 예를 들어, 표3의 MAT X를 1:1(검체 대 시약 부피비)로 수행하고, 웰당 농도를 명시된 경우, 100 μL의 희석되지 않은 검액과 100 μL의 시약을 웰에 첨가하는 것은 2배 의약품 희석으로 간주된다. 반면에 검체당 농도가 명시되어 있는 경우는 웰에 희석되지 않은 의약품이 포함된 것으로 간주될 것이다.

2.3. 오염물질 한계농도 계산

적부판정의 허용기준은 오염물질의 한계농도(contaminant limit concentration, CLC)이며, 이는 검체의 생물학적 활성 단위당 엔도톡신 당량 또는 밀리그램 또는 밀리리터당 엔도톡신 당량(endotoxin equivalents, EE)으로 표시되며, 따로 규정이 없는 한, 의약품에 대한 엔도톡신 한계농도(endotoxin limit concentration, ELC)가 규정된 경우 CLC는 ELC와 동일하다. CLC는 엔도톡신 당량으로 표시되며 다음 식을 사용하여 계산한다:

$$\frac{K}{M}$$

K : 체중 kg당 발열을 일으키는 엔도톡신의 양

M : 체중 kg당 의약품의 최대 권장 투여량

의약품은 자주 주입하거나 연속적으로 주입하는 경우, M 은 1시간에 투여되는 최대 총량이다.

CLC는 의약품 및 투여 경로에 따라 다르며 일부 의약품각조에 명시되어 있다.

K 의 값은 표 4에 나타난다.

표4. 투여경로에 따른 K 의 값

투여경로	K
정맥내	체중 kg당 5.0 EE
정맥내 : 방사성 의약품	체중 kg당 2.5 EE
척수강내	체중 kg당 0.2 EE
체표면적 1 m^2 투여되는 비경구제형	100 EE/m^2

2.4. 간접 시험

실행이 가능한 경우, 간접 시험은 시험 제제의 최소 세 가지 다른 배치에 대해 수행한다. 간접 시험의 목적으로 각 배치를 사실상 고유하게 만드는 배치 간 현저한 변화를 보이는 검체는 각 개별 시험 내에서 간접 시험, 즉 동시적 밸리데이션을 수행해야 한다.

엔도톡신 및 기타 발열성/염증유발 오염물질이 없는 검체의 배치에 대해 간접시험의 수행을 권장하며, 이것의 실행이 어려운 경우 배치 중 어느 것도 심하게 오염되어서는 안 된다. 1 배치만 사용할 수 있는 경우, 해당 배치에 대해 3회의 독립적인 시험을 통해 밸리데이션을 수행해야 한다. 재현성을 위한 정밀성 매개변수(예를 들어, $\pm 50\%$)를 충족해야 한다.

2.5. 교차 밸리데이션

비엔도톡신 발열성물질의 존재를 배제할 수 없는 의약품에 대해서는 단핵구활성화시험을 수행할 필요가 있다. 따라서 동일한 3 배치를 사용하여 엔도톡신시험(bacterial endotoxins test, BET)에 대한 검증 실험과 함께 단핵구활성화시험법을 이용한 교차 검증 실험을 수행할 것을 권장한다. 중요한 공정 파라미터가 변경된 경우, 비엔도톡신 발열성물질에 의한 오염 가능성을 배제할 수 없으므로 3 배치에 대해 교차 밸리데이션을 반복해야 한다.

2. 첨단바이오횰약품 품질관리를 위한 미생물 신속검출법 신설(안) 마련

첨단바이오횰약품 품질관리를 위한 미생물 신속검출법을 일반정보에 신설하여 외국 공정서와 국제조화에 기여하고, 세포치료제 등 첨단바이오횰약품의 특성확인 및 품질관리에 유용한 정보를 제공하고자 한다.

첨단바이오횰약품 품질관리를 위한 미생물 신속검출법

1. 서론

본 장의 목적은 첨단바이오횰약품에서 효율적인 미생물 관리 및 의약품의 품질 보증을 개선할 수 있는 미생물학적 신속검출법의 구현과 사용을 용이하게 하는 것이다.

미생물을 검출, 계수 및 확인하는 시험법은 수년 간 미생물학적으로 안전한 의약품을 생산하는데 큰 도움이 되었다. 그럼에도 불구하고 이들 미생물학적 시험법은 시간이 오래 걸리며, 무균 시험의 경우 배양기간(14일) 완료 전에는 결과를 얻을 수 없다. 따라서 이들 시험법에 의해 얻은 결과에 따른 사전 예방적 교정 조치를 취하기가 어렵다.

미생물학적 품질을 관리하기 위한 신속검출법은 조기 조치가 가능할 수 있는 실시간 또는 거의 실시간과 같은 결과에 대한 가능성을 보여 주었다. 이러한 새로운 방법이 용도에 맞게 검증되고 조정된다면 시험의 품질을 크게 향상시킬 수 있다.

시험법은 의약품의 공정 중 검체, 특히 공정 분석 기술(Process Analytical Technology, PAT) 응용 분야, 환경 모니터링 및 산업 유틸리티(예: 물, 증기 등의 생산 및 분배) 응용 분야에 사용되어 이들 제품의 품질 관리에 기여할 수 있다. 본 장에서는 첨단바이오횰약품과 관련하여 제약 응용 분야를 위한 미생물학적 시험법에 대해 기술한다. 각 시험법에 대해 기본 원칙을 설명하고, 고려해야 할 중요한 사항과 함께 그 시험법의 장점과 단점을 논의한다.본 장에서는 특정 시험법을 다른 시험법보다 권장하거나, 미생물학적 관리에 사용할 수 있는 시험법을 배제 또는 완전한 시험법 목록을 제공하려는 의도는 아니다. 그러나 여기에 제시된 정보는 첨단바이오횰약품의 품질

관리를 위하여 약전의 미생물학적 시험법을 보충하거나 그 대안으로서 선택하고 선택한 시험법을 검증하는 지침으로 제공되어 사용될 수 있다.

미생물학적 시험에 대한 주요 판단 유형에는 다음과 같이 3가지가 있다.

- 미생물 유무에 대한 정성적 시험
- 미생물 계수를 위한 정량적 시험
- 확인 시험

1.1. 미생물 존재 여부 유무에 대한 정성적 시험

전통적인 미생물 분석에서, 이러한 유형의 시험은 검체에서 생존 가능한 미생물이 존재한다는 증거로서 탁도 또는 배양 배지에서의 다른 성장 관련 변화를 사용하는 것을 특징으로 한다. 이러한 시험의 가장 일반적인 예는 무균 시험이다. 다른 예로는 검체에서 특정 유형의 생존 가능한 미생물의 존재 여부를 평가하기 위해 고안된 시험이 있다. 전통적인 무균 시험은 예를 들어 생물 발광 또는 고상 세포 계측법, 기체 검출 또는 자가 형광에 기반한 시험으로 할 수 있다. 핵산 증폭 기법(NAT)은 마이코플라스마 검출에도 사용할 수 있다.

1.2. 미생물 계수를 위한 정량적 시험

멤브레인 여과 및 평판 계수법은 검체에 존재하는 생존 가능한 미생물의 수를 추정하는 데 사용되는 일반적인 방법이다. 최확수(MPN, Most Probable Number) 방법은 이러한 시험법의 또 다른 예이며, 직접 평판 배양할 수 없는 검체에 존재하는 생존 가능한 미생물의 수를 추정하는 수단으로 개발되었다. 계수를 위한 시험법의 예로는 자가 형광, 유세포 분석, 직접 표면 형광 여과 기법(DEFT, Direct Epifluorescent Filter Technique) 및 고상 세포 계측법이 있다.

1.3. 확인 시험

알려지지 않은 미생물의 생화학적 및 형태학적 특성 분석은 확인을 위한 고전적인 접근 방식이다. 최근에 개발된 시험법은 특히 데이터 처리, 분석 및 저장 영역에서 이런 확인의 능률적이고

자동화된 양상을 보여준다. 이러한 방법에 통합된 몇 가지 새로운 접근 방식으로는 생화학 반응, 탄소 기질 이용, 지방산 조성의 특성 규명, 질량 분광법 및 라만 분광법, 제한 엔도뉴클레아제 밴딩 패턴 및 원핵생물에 대한 16S rRNA 유전자 염기서열 분석과 같은 게놈 염기서열 분석 방법이 있다.

전통적인 생화학 및 표현형 기법은 유전형 방법에 비해 정확성과 정밀성이 떨어지는 것으로 나타났다. 정확한 확인을 위해서는 순수 배양이 필요하며 그러한 배양은 신선하고 적절한 배지에서 배양되어야 한다.

데이터베이스는 시스템의 일부이며 기본+ 벨리데이션에 포함된다. 확인 시험법은 데이터베이스의 사용에 따라 달라지므로 벨리데이션 과정에서 관심 대상 미생물의 범위와 관련된 데이터베이스의 범위를 고려하여야 한다. 적절한 소프트웨어를 사용하면 데이터베이스를 사용자가 정의할 수 있으므로 기존에 포함되지 않은 미생물을 추가할 수 있다. 벨리데이션 과정에서 이 가능성을 고려해야 한다.

2. 시험법의 일반 원칙

미생물학적 시험법은 직접 및 간접 검출 방법을 사용하며, 경우에 따라서는 농축 방법을 통해 신호의 증폭이 이루어진다. 이러한 차이점을 인식하고 본 장에서의 편의를 위해 미생물학적 품질을 관리하기 위한 시험법은 다음과 같이 3가지 범주로 나눌 수 있다.

가. 검출 가능한 신호가 일반적으로 계대배양에 의해 나타나는 성장 기반 시험법

나. 개별 세포가 구별 및/또는 시각화되는 직접 측정

다. 특정 세포 성분의 발현을 통해 미생물의 존재 및 확인에 대한 간접적인 측정이 가능한 세포 성분 분석

경우에 따라서는 이런 구분이 인위적이지만 작업 분류를 생성할 수 있게 해준다.

2.1. 성장 기반 시험법

2.1.1. 성장의 조기 발견에 기초한 시험법의 일반적인 주요사항

이러한 방법은 탐지 가능한 미생물의 존재 및/또는 수를 얻기 위해 미생물 성장에 결정적으로 의

존한다. 일반적으로 의약품에서 볼 수 있는 낮은 수준의 미생물 오염의 경우 검출에 24시간 이상이 소요될 수 있다. 여과된 제품이면 증가된 감도를 얻을 수 있다. 이 경우, 여과 후 멤브레인 필터를 배지 내 또는 배지상에서 배양하고 그 결과를 여과된 부피에 상응하는 양에서의 존재 또는 부재로 표현한다. 이러한 시스템은 액체 배지에서의 배양 단계를 사용하는 경우 정량적인 정보는 제공하지 않지만 분석된 양에서의 존재/부재에 대한 판단은 제공한다. 하나 이상의 검체 수량에 대한 분석은 반정량적 추정(한도 시험)을 제공할 수 있다. 기존 방법 대비 조기 발견 방법의 주요 이점은 많은 수의 검체를 동시에 처리할 수 있는 능력과 더 짧은 시간에 결과를 얻을 수 있다는 점에 있다.

아래 기술된 방법은 정량적, 반정량적 또는 정성적 분석에 사용할 수 있다. 또한 비파괴적이기 때문에 미생물의 사후 확인이 가능하다.

2.1.2. 전기화학적 방법

2.1.2.1. 측정 원리

적절한 성장 배지에서 증식하고 신진대사하는 미생물은 약하게 대전된 유기 영양소로부터 고도로 대전된 이온 대사 산물을 생성하여 배지의 전기적 특성을 변화시킨다. 이와 같은 임피던스의 변화(컨덕턴스로 측정됨)는 배양 용기에 포함되어 배양 배지에 접촉하는 전극에 의해 모니터링된다. 측정 가능한 평가변수는 미리 결정된 임피던스 변화를 감지하는 데 걸리는 시간이다. 특정 유형의 미생물에 있어서 검출 시간은 초기 접종량에 반비례한다. 전기 임피던스의 작은 변화만을 일으키는 효모 및 곰팡이의 경우 컨덕턴스의 간접 측정을 사용할 수 있다. 커패시턴스의 직접 측정도 수행할 수 있다.

2.1.2.2. 주요사항

원래의 미생물 수준과 검출 가능한 평가변수 사이에는 직접적인 관계가 없다.

2.1.3. 가스 소비량 또는 생산량 측정

2.1.3.1. 측정 원리

적극적으로 증식하고 신진대사하는 미생물은 적절한 성장 배지를 이용하여 대사산물의 생성 또는 특정 영양소의 제거를 유도한다. 이러한 방법은 가스 조성의 변화에 반응하는 센서의 전기적 특성 변화 또는 센서와 접촉하는 성장 배지의 물

리화학적 변화에 반응하는 센서의 비색 변화에 의해 미생물의 성장을 감지한다. 이 시스템은 미생물의 사후 확인 또는 균주 유형 식별을 가능하게 하는 비파괴 기술을 기반으로 한다. 세균 및/또는 진균은 밀폐된 용기에서 자랄 수 있으며 미생물 성장의 대리 표지자로 가스 생성(예: CO_2) 또는 소비(예: O_2)를 측정하는 자동화 기기를 사용하여 지속적인 모니터링을 수행할 수 있다. 또한 대사 산물의 생성 또는 영양소의 제거는 pH 또는 산화환원 전위의 변화를 유도할 수 있다. 이 모든 변화는 성장 배지에서의 비색 표지자의 변화에 의해 직접 또는 간접적으로 측정할 수 있다.

2.1.3.2. 주요사항

원래의 미생물 수준과 검출 가능한 평가변수 사이에는 직접적인 관계가 없다. 배양 온도, 미생물의 생리학적 상태 및 유형, 초기 부하 및 데이터 처리 알고리즘은 결과 또는 검출 시간에 큰 영향을 미칠 수 있다.

2.1.4. 생물 발광

2.1.4.1. 측정 원리

아데노신 삼인산(Adenosine Triphosphate, ATP)은 세포 생존 능력의 입증된 지표이다. 이 방법에서, ATP는 적절한 추출 물질을 사용하여 미생물에서 먼저 방출되어야 하고, 그 다음 존재하는 ATP에 비례하여 빛을 내는 루시페린/루시페라제 효소 시스템을 사용하여 분석해야 한다. 아데노신 이인산(Adenosine diphosphate, ADP)를 첨가하고 이 ADP를 방출된 ATP로 전환하여 신호 대 잡음비를 증가시킬 수 있다.

정성적 방법: 미생물을 액체 배지에서 배양한다. 방출된 빛은 생물발광 측정기로 측정하며 상대광량 단위(Relative Luminescence, RLU)로 표시한다(예: 시험관 또는 미량정량판 웰에서의 생물 발광). 검체에서 측정한 RLU를 미리 결정된 임계값과 비교한다. 분석된 검체에서 얻어진 RLU가 임계값을 초과하면 그 결과는 양성이다.

정량적 방법: 미생물을 멤브레인에 포획하고 한천 배지에서 배양한다. 전하결합소자(Charge-Coupled Device, CCD) 카메라를 사용하여 미세집락에서 방출되는 ATP를 발광으로 검출할 수 있으며 정량적 측정이 가능하다.

2.1.4.2. 주요사항

검체에 높은 수준의 세균 오염이 있으면 감지 속

도가 빠르다. 낮은 수준의 오염의 경우, 배양 배지(액체 또는 고체)에서의 배양 단계를 거쳐 미생물의 수를 증가시킬 필요가 있다. ATP의 수율은 미생물에 따라 다르며 종, 세포의 성장 단계, 영양 상태, 세포 스트레스 또는 세포 나이를 포함한 여러 요인에 의해 영향을 받을 수 있다. 탁도, 검체 색상 또는 생성물 기질 효과와 같은 추가 요소도 생물 발광 측정치에 영향을 줄 수 있다. ATP 추출은 일반적으로 검출된 미생물의 사후 확인 필요성과 관련하여 고려해야 하는 파괴적인 과정이다.

2.1.5. 비탁 분석

2.1.5.1. 측정 원리

미생물의 성장은 중간 불투명도의 감지 가능한 변화를 일으키며, 이는 특정 파장에서의 광학 밀도 측정으로 정확하게 정량화할 수 있다. 가장 간단한 형태로서, 이러한 측정은 일반적으로 420~615nm의 파장 범위에서 표준 분광 광도계를 사용하여 수행한다. 자동화 시험 시스템에서는 광학 밀도 변화를 조기에 감지하여 연속 판독을 제공하는 미량정량판 판독기를 사용한다.

2.1.5.2. 주요사항

초기 미생물 오염을 검출 시점으로부터 추정하려는 시도가 있었지만 이는 제한 가능한 성장 특성을 지닌 건강한 미생물로 국한된다.

2.1.6. 선택적 및/또는 표시 배지를 사용한 성장 검출

2.1.6.1. 측정 원리

적절한 발색 기질을 사용하여 특정 효소의 존재를 검출할 수 있는 능력은 수작업 또는 자동화된 기법을 사용하여 미생물을 확인하는 많은 방법의 개발로 이어졌다. 이러한 기질을 선택적 또는 비선택적 1차 분리 배지에 혼입함으로써 특정 미생물을 확인하기 위한 추가 계대배양 및 생화학적 시험의 필요성을 없앨 수 있다.

결과적으로, 발색성 액체 또는 고체 배양 배지를 미생물의 검출 및 분화를 위한 특정 효소 활성을 생성하도록 설계한다. 이들 특정 배지에서, 정의된 기질이 체제에 도입되고 성장 동안 주어진 세균 또는 곰팡이의 특정 세포 효소에 의해 대사된다. 유색 지표와 연결된 이들 기질은 찾아진 진단 효소 활성에 따라 선택한다. 또한 발색성 액체 배지는 오염의 조기 또는 개선된 검출을 위해 사용

될 수 있다(예: 배지 충전 또는 액체 배지 기반 검출 방법).

혁신적인 배지를 사용하면 혼합 배양에서의 균집락 차별성 개선, 사용 및 해석의 용이성과 같은 여러 가지 이점이 있다. 또한 미생물의 성장과 확인이 동시에 일어나기 때문에 반응 시간이 단축된다.

2.1.6.2. 주요사항

배지의 검증은 특이성, 선택성 및 완전성의 조합을 보장하기 위해 신중하게 수행하여야 한다. 신호의 품질은 검출의 기초로 사용되는 효소 또는 지표의 신중한 선택뿐만 아니라(이 효소들이 다른 미생물 속에 존재할 수도 있기 때문에), 배지의 물리화학적 특성(예: pH)에도 기반한다.

2.2. 직접 측정

2.2.1. 고상 세포 계측법

2.2.1.1. 측정 원리

초기에는 비형광체인 집합 형광단에 미생물을 노출하여 생존 지표로서 염색한다. 세포질 내에 형광체를 유지하고 축적하려면 손상되지 않은 세포막이 필요하다. 집합체는 대사 활성 미생물 세포 내에서 효소에 의해 절단되고 형광 유도체가 세포 내로 방출된다. 생존 염색 전후에 미생물을 멤브레인 필터에 수집한다.

생체염색된 세포를 보유한 막 표면을 레이저 빔으로 스캔하고 표면형광 여기를 통해 단일 생존 가능 형광 미생물을 검출할 수 있다.

적절한 소프트웨어를 사용하여 자가 형광 입자와 생존 가능한 미생물을 구별할 수 있다. 이 방법은 감도가 높고 속도가 빨라서 몇 시간 내에 미생물 오염 물질을 검출할 수 있다. 총 세포 수(생존 가능 및 생존 불능)는 형광 염색을 이용하여 얻을 수 있다.

2.2.1.2. 주요사항

대사가 활발하고 까다로우며 생존 가능한 미배양 미생물을 모두 검출할 수 있다. 이로 인해 평가 대상 검체에 대해 설정된 미생물 한도가 재평가될 수 있다. 포자는 검출을 가능하게 하기 위해 발아가 시작되어야 한다. 단일 세포로 검출이 가능할 수 있지만 분리균을 확인하는 것은 불가능할 수 있다. 미생물과의 구분이 어려울 수 있는 자가형광입자로 인해 거짓 양성 발생 가능성이 있다. 미세집락 성장에 의해 신호가 차별화되고 강

화될 수 있다.

2.2.2. 유세포 분석

2.2.2.1. 측정 원리

형광단으로 표지된 미생물이 유세포 분석기를 통과할 때 이를 현탁액에서 검출할 수 있다. 생존능을 나타내는 형광단을 사용하여 생존 가능 미생물을 생존 불능 입자와 구별할 수 있다(2-2-1 참조). 세포 현탁액 흐름을 좁은 채널로 분산시켜 형광단을 여기시키는 레이저에 노출시킨다. 미생물과 입자를 형광 세포를 포함하는지 여부에 따라 다른 채널에서 계수한다.

2.2.2.2. 주요사항

직접 유세포 분석은 여과 가능 물질과 여과 불가능 물질 모두에 대한 미생물학적 분석에 적용할 수 있으며 오염 수준이 낮은 경우에는 농축 후 적용할 수 있다. 실시간에 가까운 검출이 가능하지만 고상 세포 계측법만큼 민감하지는 않다. 제약 분야에서의 감도를 높이려면 배지에 배양 단계를 추가해야 하는 경우가 많으며, 이 경우 배양 방법은 성장 기반 방법과 직접 검출 방법의 조합이 된다. 입자의 크기와 수는 성능에 상당한 영향을 미칠 수 있으며 검체의 연속 희석이 필요할 수 있다. 여과 가능성을 제외하고는 고상 세포 계측법과 유사한 고려 사항이 적용된다. 박테리아 덩어리(예: 황색포도상구균)가 문제가 될 수 있다.

2.2.3. 직접 표면형광 여과 기법(Direct Epi fluorescent Filter Technique, DEFT)

2.2.3.1. 측정 원리

이 기법은 고체상 세포 계측법의 선두 주자로 볼 수 있다. 검체로부터 여과에 의해 농축된 미생물을 표면형광 조명으로 검출할 수 있는 형광 염료(이전에는 아크리딘 오렌지, 현재는 더 일반적으로 4',6-디아미노-2-페닐인돌(4',6-diamino-2-phenylindole, DAPI))로 염색한다. 고상 세포 계측법(2-2-1 참조)에 사용되는 형광 생체염색 기법은 DEFT에 적합하며, 5-시아노-2,3-디톨릴테트라졸륨 클로라이드(5-Cyano-2,3-ditolyl tetrazolium Chloride, CTC)와 같은 형광 산화환원 염료를 사용하여 호흡 세포를 강조할 수 있다. 이 방법을 현미경과 결합하여 사용하면 여과된 제품의 부피와 검사된 시야의 수에 따라 달라지는 절대 감도로 미생물

을 빠르게 검출할 수 있다. 이미지 분석과 결합된 반자동 자동 초점 시스템을 통해 이 방법의 유용성이 개선되었다. 이 원리의 변형에는 (표면에서 세포를 수집할 수 있는) 집착 시트를 사용한 검체 수집, 시트 자체에 대한 사후 염색, 표면형광 현미경을 사용한 직접 관찰이 포함된다.

2.2.3.2. 주요사항

멤브레인상의 미생물 분포는 시험법의 완전성에 영향을 미친다. 형광의 강도는 염색 과정과 미생물의 대사 상태에 의해 영향을 받을 수 있다. 형광이 반드시 생존능의 지표인 것은 아니다. 염색 전에 필터 표면에서 짧은 시간 동안 배양하면 미세집락이 형성된다. 이 미세집락은 쉽게 염색되고 쉽게 계수할 수 있으며 생존능의 입증 가능한 증거이다.

2.2.4. 자가 형광

2.2.4.1. 측정 원리

미생물 내에 내인성 자가 형광 분자 및 대사 산물(예: NADPH, 플라보단백질)이 존재하기 때문에 미세집락 또는 단일 세포의 조기 검출과 정량적 계산이 가능하다. 직접 측정에서는 단일 미생물의 레이저 유도 자가 형광이 검출기에 의해 포착되는 반면, 성장 기반 시스템에서는 배양 기간 동안 한천 배지상의 멤브레인 표면에 대한 자동화된 순차적 영상 촬영이 사용되며 이미지 오버레이를 통해 형광 미립자와 성장하는 미세집락을 구분할 수 있다. 방출된 빛은 CCD 카메라에 의해 감지된다. 비파괴 검출로서 배양 기간 종료 시 오염 물질 확인이 가능하다.

2.2.4.2. 주요사항

비성장 기반 측정의 경우, 생존 가능하지만 배양할 수 없는 미생물이 검출될 수 있다. 배양 가능한 미생물, 생존 가능하지만 배양 불가능한 미생물 및/또는 기타 입자를 구별하는 것이 어려울 수 있다.

2.3. 세포 성분 분석

2.3.1. 표현형 기법

2.3.1.1. 면역학적 방법

2.3.1.1.1. 측정 원리

항체-항원 반응은 특정 미생물의 독특한 세포 결정 인자를 검출하는 데 사용될 수 있다. 이들 반응은 응집 현상 및 비색 측정 또는 형광 측정

의 평가 변수와 연결될 수 있으며, 정량적 및 정성적 검출을 모두 제공한다. 효소결합 면역흡착분석(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)은 간단한 고체상 방법론을 제공한다.

2.3.1.1.2. 주요사항

면역학적 검출 방법은 특정 식별자의 고유한 표현에 의존하지만, 반드시 생존 가능한 미생물의 존재를 입증하지는 않는다.

2.3.1.2. 지방산 프로파일

2.3.1.2.1. 측정 원리

미생물의 지방산 조성은 안정적이고 잘 보존되어 있으며 다양한 분류군 내에서 높은 수준의 균질성을 나타낸다. 분리균을 표준 배지에서 배양하고 수확한다. 지방산을 비누화, 메틸화를 거친 후 추출하고 고분해능 기체 크로마토그래피를 이용하여 지방산 메틸에스테르의 발생 및 양을 측정한다. 알려지지 않은 분리균의 지방산 조성을 일치 가능성 확인 및 식별을 위해 알려진 분리균의 데이터베이스와 비교한다.

2.3.1.2.2. 주요사항

미생물 확인을 위해 지방산 프로파일을 사용하려면 높은 수준의 표준화가 필요하다. 미생물 세포의 지방산 조성은 표준 배지 및 표준 배양 조건을 사용하여 분리균을 배양하는 것이 중요하다. 가스 크로마토그래피 작업의 표준 조건을 따라야 하며, 교정 표준 및 알려진 분리균을 자주 실행하는 것이 매우 중요하다.

2.3.1.3. 푸리에 변환 적외선(FTIR) 분광법

2.3.1.3.1. 측정 원리

전체 미생물의 적외선 스펙트럼의 푸리에 변환은 미생물의 분류군에서 전형적으로 나타나는 안정적이고 인식 가능한 패턴을 제공한다. FTIR 패턴 분석은 시판되는 도구로 수행할 수 있다. 분리균을 표준 배지에서 배양하고 수확한다. Cell mass를 carrier에 옮기고 적외선 스펙트럼을 기록한다. 푸리에 변환을 계산하고 패턴을 일치 가능성 확인 및 식별을 위해 알려진 분리균 데이터베이스와 비교한다.

2.3.1.3.2. 주요사항

미생물 확인을 위해 FTIR 패턴을 사용하려면 높은 수준의 표준화가 필요하다. 미생물 세포의 FTIR 패턴은 표준 배지 및 표준 배양 조건을 사용하여 분리균을 배양하는 것이 중요하다. 분석

시 세포는 동일한 성장 주기 상태에 있어야 하며, 검증 과정에서 이에 특히 주의를 기울여야 한다.

2.3.1.4. 질량 분광법

2.3.1.4.1. 측정 원리

진공 상태에서 미생물 분리균을 레이저에 노출하여 방출되는 이온화된 입자를 질량 분광법으로 분석하여 특성 스펙트럼을 제공할 수 있다. 유사하게, 손상되지 않은 미생물 세포는 기질 보조레이저 탈착 이온화-비행시간형(MALDI-TOF) 질량 분광법하에서 강력한 이온화를 겪을 때 대전된 종의 특징적인 패턴을 방출한다. 이러한 스펙트럼은 알려진 프로파일과 비교될 수 있다.

2.3.1.4.2. 주요사항

분리균은 분석 전에 표준화된 조건에서 배양해야 한다.

2.3.1.5. 생리적 반응에 기반한 생화학적 분석

2.3.1.5.1. 측정 원리

생리적 반응에 기반한 생화학적 분석을 수행할 수 있는 시스템이 미생물 동정에 사용된다. 순수 균집락이 있는 경우 이들 분석의 5가지 기본 단계는 조제, 집중, 배양, 판독 및 해석으로 이루어진다. 이들 단계에는 일반적으로 적절한 시험 프로토콜을 결정하기 위해 집락 형태에 대한 설명, 분별 검사(예: 그람 염색), 세포 형태에 대한 설명 및/또는 기타 초기 생화학적 분별 검사(예: 산화 효소, 카탈라제, 응고 효소)가 선행한다.

그람 염색은 종종 추가 검사의 기반이 되는 핵심 특성이다. 전통적인 염색 방법의 대안으로는 수산화칼륨(KOH)스트링 검사, 아미노펩티다제 검사, 형광 염색법 및 생물학적내독소(LAL) 기반 분석이 있다. 검사 키트는 후자의 3가지 방법에 사용할 수 있다. 형광 염색법에는 형광 현미경이나 유세포 분석기가 필요하다.

미생물 세포 현탁액은 생화학(동화 또는 감수성) 검사 키트(플레이트 또는 스트립)를 사용하여 검사한다. 혐기성 및 호기성 미생물은 선택된 생화학 물질에 대해 특징적인 반응을 나타낸다. 또한 특정 탄소, 질소, 인 및 황 공급원을 사용하거나 특정 농도의 항균제에 의해 억제되는 것으로 알려져 있다. 결과는 조사 대상 미생물의 성장 또는 억제로 인한 측정 가능한 변화(예: 탁도, 발색 또는 형광 반응)를 기반으로 한다. 대사 및/또는 항균 내성 프로파일을 데이터베이스와 비교하면 배

양물의 동정이 가능하다. 이들 방법은 수동, 반자동 또는 완전 자동화 기기로 수행할 수 있다.

분별이 좋지 않은 경우 보충 검사를 수행할 수 있다. 결과가 불확실한 경우에는 계대배양이 도움이 될 수 있다.

2.3.1.5.2. 주요사항

배양이 필요하다. 시스템의 성능은 또한 선택된 표현형 매개 변수에 따라 달라지며, 매개변수는 안정적이고 중요하며 충분한 개수여야 한다.

2.3.2. 유전자형 기법

미생물의 동정 및 검출과 동일 종에 속하는 균주의 특성 규명은 특정 미생물 종이나 미생물군에 고유한 뉴클레오타이드 표적 염기서열을 직접 검출함으로써 가능하며, 유전자형(DNA 또는 RNA 기반) 검출 기법의 표적이다. 이들 검출 기법은 직접 혼성화, 핵산 증폭 및 유전자 지문의 3가지 광범위한 범주로 나눌 수 있다.

2.3.2.1. 직접 혼성화

2.3.2.1.1. 측정 원리

DNA 프로브는 미생물 DNA 또는 RNA의 상보적 영역과 혼성화되는 표지된 짧은 단일 가닥 DNA 단편이다. 프로브 또는 표적 DNA는 일반적으로 혼성화 신호를 제공하기 위해 방사성, 형광 또는 발색 분자로 표지된다. 혼성화 분석에는 형광동소보합법(FISH, Fluorescence in situ hybridization) 및 마이크로어레이 기반 기법이 포함된다.

2.3.2.1.2. 주요사항

혼성화는 일반적으로 분석에 대량의 표적 DNA가 필요하므로 검출 민감도가 낮아질 수 있다. 적합한 프로브의 가용성이 제한될 수 있다.

2.3.2.2. 핵산증폭기술(NAT)

2.3.2.2.1. 측정 원리

NAT는 DNA 중합 과정의 반복에 의존하여 특정 핵산 단편의 기하급수적인 증가를 유도한다. 중합효소연쇄반응(PCR)은 표적 DNA 증폭에 가장 널리 사용되는 방법이다. 이 순환 과정에서는 표적 염기서열의 측면에 위치하여 혼성화 되도록 미리 설계된 뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드 프라이머의 존재하에서 특정 DNA 단편이 내열 DNA 중합효소에 의해 복제된다. PCR 후 증폭된 핵산 표적은 겔 전기영동에서의 단편 크기 분석, DNA 염기서열 분석 또는 형광 표지된

프로브와의 혼성화에 의한 특이적 검출과 같은 몇 가지 증폭 후 분석법을 사용하여 분석할 수 있다. 실시간 PCR은 추가적인 증폭 후 처리가 필요하지 않고 교차 오염 가능성이 최소화되는 추가적인 이점이 있다. 실시간 PCR의 중요한 장점은 종말점 검출을 기반으로 하는 기존의 PCR 기법과 달리 원본 검체에서 DNA 표적 서열의 출발량을 정량화 할 수 있다. 증폭 반응의 지수 단계의 시작 시점에서 검출된 PCR 생성물의 양은 DNA 표적의 초기 출발량과 상관 관계가 있기 때문에, 현대의 실시간 PCR 기법은 반응의 지수 단계를 측정하기 위해 발전되어 왔다. 자동화된 실시간 PCR 시스템을 사용할 수 있으며, 종의 동정을 위해 종 특정 프로브 또는 프라이머를 사용할 수 있다.

RNA 또한 역전사 효소를 사용하여 cDNA로 전사한 후 기존 PCR 및 실시간 PCR로 증폭시킬 수 있다. 이 기법은 역전사효소 PCR(RT-PCR)로 알려져 있으며 RNA 바이러스 또는 생존 가능 유기체를 검출 및 동정할 수 있다. 대안으로, 핵산 염기서열 기반 증폭 또는 전사 매개 증폭과 같은 특정 RNA 기반 증폭 기법을 사용할 수 있다. 두 기법 모두 RNA 표적에서 시작하는 경우에도 DNA 앰플리콘만을 생성하는 PCR과 달리 RNA 앰플리콘을 생성한다.

증폭 대상 표적 유형, 사용된 NAT의 유형에 관계없이 검사의 특이성은 평가 중인 표적 DNA 염기서열에 의해 결정된다. 동정/특성 분석의 목적으로 16S 또는 23S 리보솜 RNA 유전자를 표적으로 사용할 수 있다. 16S rRNA 유전자는 모든 세균 종에 존재하는 진화상 보존된 유전자이며 세균 검출을 위한 보편적인 표지자이기 때문에 광범위한 표적이 된다. 23S rRNA 유전자는 단일 표적으로 널리 사용되지는 않지만, 6S-23S rRNA 전사된 유전자 간 스페이서 영역을 사용하여 특정한 근연종을 구별하거나 아형을 동정할 수 있다. 대안적인 광범위 표적으로는 groEL 및 tuf 유전자가 있다. 광범위 표적과는 별개로 종 특이적 염기서열이 미생물 동정을 위한 표적으로 사용될 수 있다. 종에 따라서는 특정 표면 항원, 독성 인자 또는 독소를 코드화한 유전자가 증폭되어 미생물을 검출하고 동정할 수 있다.

2.3.2.2.2. 주요사항

- 선택된 표적 및 프라이머는 특정 미생물 또는 미생물군에 특이적이어야 한다.

- 시험법의 민감도는 용해 프로토콜의 효율성과 DNA 표적을 얼마나 성공적으로 정제하여 검체에 농축시킬 수 있는지에 따라 크게 달라진다.

- 효소 과정의 저해제가 존재하면 위음성 반응이 일어난다.

- 이 방법은 background DNA에서의 교차 오염으로 인해 위양성 결과를 초래하기 쉽다.

목적에 따라 DNA 또는 RNA 표적의 증폭 중에서 선택해야 한다. 이러한 표적 선택은 생존 가능성과의 상관관계에 영향을 미치기 때문이다. DNA 표적은 일반적으로 동정 목적으로 더 널리 사용되지만 DNA를 표지자로 사용하면 죽은 미생물도 검출될 수 있다는 단점이 있다. mRNA는 죽은 세포에서 급속하게 분해되기 때문에 생존에 대한 지표로 간주된다. 또한, mRNA는 RNA 바이러스의 동정을 위한 필수 표적이다.

실시간 PCR에 의한 정량적 검출의 표적 정량화를 위해서는 적절한 표준의 생성과 표준화된 절차의 사용이 필요하다.

RT-PCR의 경우, RNA는 DNA에 비해 안정성이 떨어지므로 처리하는 동안 더 많은 주의가 필요하다.

RNA 분리의 품질에 따라 cDNA 합성 효율이 달라질 수 있다. RT-PCR은 RNA 검체의 DNA 오염이 낮은 경우에 RNA를 특이적으로 검출하는데 사용될 수 있다.

종 동정을 위한 표적으로 16S 또는 23S rRNA 유전자를 사용하는 데 있어 중요하다. 16S rRNA 유전자 염기서열 분석은 데이터베이스에서 적합한 범용 프라이머를 선택할 경우 세균을 동정하는 데 유용한 방법이다. 그 판별력은 특정 종 내에서 16S rRNA 유전자의 가변성과 길이에 따라 달라진다. 16S-23S rRNA 유전자 간 스페이서 영역을 표적으로 하는 분석법의 사용과 관련하여, 적절한 종 특이적 프라이머/프로브의 선택은 해당 영역의 잠재적 다형성으로 인해 매우 중요하다.

2.3.2.3. 유전자 지문법

2.3.2.3.1. 측정 원리

유전자 지문법은 DNA 프로파일(또는 RNA 바이러스의 경우 RNA)을 기반으로 균주를 동정하는 것이다. 동일한 종의 균주 간 유전적 다양성의

로 인해 개별 DNA 프로파일이 다를 수 있으며, 지문법의 목적은 이들 균주를 구분하는 것이다. 고전적인 유전자 지문 기법에서는 세균 및 곰팡이 게놈의 염색체 DNA 제한 단편을 사용하여 미생물의 특성을 규명한다.

동일한 종의 서로 다른 균주는 다른 패턴을 나타낼 수 있으며 이 차이를 제한 단편 길이 다형성(RFLP, Restriction fragment length polymorphism)이라고 한다. 제한 효소로 염색체 DNA를 절단하면 효율적이고 정확하게 비교하기에는 너무 많은 단편 밴드가 생성되기 때문에 기존의 RFLP 기반 방법에 여러 가지 변형이 개발되었다. 사용된 기술의 예로는 리보타이핑, 펄스 필드 겔 전기영동(PFGE, Pulsed field gel electrophoresis) 및 증폭 단편 길이 다형성(AFLP, Amplified Fragment Length Polymorphism)이 있다. 다른 몇 가지 지문 방법에서는 PCR을 사용하여 전체 게놈에서 정의된 DNA 제한 단편의 아형을 선택적으로 증폭한다(예: 무작위 증폭 다형성 DNA (RAPD, Random Amplified Polymorphic DNA) 및 가변 수 연쇄 반복(VNTR, Variable number tandem repeat))

2.3.2.3.2. 주요사항

모든 지문 기법은 미생물이 순수한 배양물로 존재할 것을 요구한다. 방법에 따라서는 검사를 위해 정해진 양 또는 특정 DNA 준비가 필요한 경우 예비 농축 배양 단계가 필요할 수 있다(예: AFLP 및 PFGE). 판별력, 재현성, 필요한 전문 지식 및 노력 부담은 기법에 따라 다르다.

기존 RFLP 분석에 대한 단점은 밴딩 패턴이 복잡함에 있다. 리보타이핑(rRNA 유전자 패턴 기반)의 판별력은 PFGE(전체 게놈 DNA 패턴 기반) 또는 일부 PCR 기반 방법에 비해 낮지만 고도로 자동화된 시스템이 될 수 있다는 장점이 있다.

3. 미생물학적 신속검출법의 밸리데이션

3.1. 서론

밸리데이션은 다양한 상황별 정의가 적용되지만 일반적으로 프로세스가 의도된 목표를 일관되게 달성할 것이라는 문서화된 증거를 확립하는 방법으로 정의할 수 있다. 따라서 미생물학적 시

험법의 유효성을 확인하려면 절차가 달성하려는 것을 파악하고 정의하는 것이 중요하다.

일반적으로 약제학적 미생물학적 시험법은 미생물학적 품질을 결정하기 위해 미생물의 특정한 특성을 지표 또는 검출 원리로 사용한다. 일반적으로 요구되는 정보는 주어진 제품 또는 환경에서의 미생물의 존재 여부, 수, 생존 가능성 및/또는 신원이다. 주어진 방법은 일반적으로 미생물학적 품질의 간접적이고 조건부적인 척도를 제공한다. 예를 들어, 미생물의 총 수와 생존 가능성은 검체 준비, 배양의 특정 조건 세트에서 나타나는 집락의 수로 표시될 수 있으며, 따라서 고전 미생물학에서의 성장은 생존 가능성에 대한 일반적인 지표로 간주된다. 그러나 살아 있는 세포의 ATP 수치나 기질의 축적 또는 대사와 같은 생존 가능성 척도로 사용 가능한 다른 매개변수들이 있다. 다양한 생존 가능성 표시 방법의 결과가 항상 동일한 것은 아니며, 미생물은 주어진 배지에서 성장할 수 없지만 여전히 기질을 축적하고 대사할 수는 있다. 반대로, 미생물은 주어진 손상 상태에서 기질을 축적할 수 없을 수 있지만 여전히 회복하고 성장할 수 있다.

미생물의 동정에 사용되는 방법의 다양성에서도 유사한 고려사항이 발생한다. 따라서 대사 활동 패턴의 특성 규명은 종 동정에 자주 사용되지만 시험법도 존재한다. 다시 말해, 한 가지 답은 정확한 계통 발생 상관 트리의 구성에 적절할 수 있는 반면, 다른 답은 분화된 미생물의 병원성 또는 기타 속성의 맥락에서 더 유용할 수 있으므로 얻은 결과가 다른 동정 방법과 완전히 일치하지 않을 수 있다. 신속검출법을 제대로 구현하려면 분석 기술을 선택하고 해당 방법을 실제 제품으로 검증하기 전 여러 가지 중요한 문제를 고려해야 한다. 이러한 문제에는 적합한 신속검출법의 식별, 장비 선택을 위한 사용자 측정 기준 개발, 일반배양법 대비 신속검출법의 적용 가능성 입증, 실험실 내 방법의 적격성 평가 등이 포함된다.

미생물 확인 및 균주형별 분류 방법을 제외한 미생물학적 방법은 다음과 같은 두 가지 일반적인 범주로 나뉜다.

- 일반적인 미생물 품질을 평가하는 데 사용되는 정성적 방법(계수가 아님). 이 범주에는 미생물 유무를 입증하기 위한 분석이 포함된다.

- 정량적 방법으로 미생물 함량 측면에서 수치적(계수) 결과를 산출한다.

미생물학적 방법을 구현하고 후보 신속검출법을 기존 일반배양법과 비교할 때 고려해야 할 고유한 분석 요소가 있다. 정성적("유무 여부") 분석과 관련하여 미생물에서 "미생물체가 존재하지 않음"은 세포가 실제로 0개라는 것을 절대적으로 의미하지 않는다는 점을 고려해야 한다. 현재 일반배양법의 "성장 없음" 결과는 "명시된 조건 하에서 검체에서 성장이 검출되지 않음"으로 해석하는 것이 적절하다.

일반배양법의 실제 검출 한계는 정량적으로 확립된 적이 없으며 많은 변수가 미생물의 회수에 영향을 줄 수 있다는 점을 알고 있다. 이러한 변수에는 성장 배지 선택, 배양 조건, 존재할 수 있는 미생물의 영양 요건, 미생물의 물리적 상태 및 시험 중인 물질의 특성이 포함된다. 음용수 및 환경용수에서 미생물의 회수에 대한 연구에 따르면 세포 수 추정치를 집락형성단위(CFU)로 보고하는 기존의 평판 계수 기법은 유세포분석을 사용하여 다른 신호(세포 수)를 산출하는 다른 방법과 비교했을 때 검체에 존재하는 실제 미생물 세포의 0.1 ~ 1 %를 회수할 수 있는 것으로 나타났다(1). CFU 이외의 신호를 가진 신속검출법을 기반으로 더 많은 수의 세포가 존재한다는 것은 확립된 안전성 기록이 있을 때 더 높은 사용자 위험 또는 더 높은 병원체 존재 가능성과 상호관련성을 가지지 않는다.

이러한 결과는 일부 유형의 검체에서 성장 기반 일반배양법을 사용하여 기록된 평균 추정 세포 수가 CFU 이외의 신호에 의존하는 신속검출법에서 과생된 세포 수 추정값과 매우 다른 평균값을 나타낼 수 있음을 나타낸다. 또한 분석적 미생물학 시험에 있어서 위양성 또는 위음성 결과의 개념은 과학적으로나 개념적으로나 모두 어렵다는 점을 고려해야 한다. 예를 들어, 일반배양법과 후보 신속검출법 간의 비교에서 표준 방법에서 음성 결과가 얻어졌다고 해서 다른 방법에서 관찰되는 양성이 위양성이라고 간주하는 것은 적절한 해석이 아니다. 일부 종들은 잘 회수되지만 다른 종들은 회수되지 못하는 것은 기존 성장 기반 방법의 일반적인 특성이다. 신속검출법과 기존 방법이 결과 측면에서 일치하는 결과를 낼 필요는 없

지만 중요한 것은 미생물학자가 제품 품질에 대해 동등한 결정을 일관되게 내릴 수 있도록 해주는 것이다.

이 챕터를 적용하는 데 있어서 사용자는 미생물학을 대수학적 과학이라고 생각하는 것이 매우 중요하다. 100 CFU와 1000 CFU($1 \log_{10}$ 의 차이)는 구분할 수 있지만, 더 작은 차이($0.3 \sim 0.5 \log_{10}$ 미만)는 식별하지 못할 수도 있다. 이러한 방법들의 내재 변동성은 분석 화학적 방법에 비해 상당히 크다. 이와 같은 내재 분석적 변동성은 항상 신속검출법의 선택, 개발 및 밸리데이션에서 고려해야 한다. 신속검출법과 기존의 성장 기반 방법 사이에 기술적으로 실현 가능한 수준을 넘어서는 정도의 합의가 예상되는 경우, 특정 분석 모드와 무관하게 최신 분석 기술의 구현이 복잡해질 수 있다.

최신 화학적 방법(예: 상대표준편차가 1 ~ 2 %인 정밀도를 갖는 고성능 액체 크로마토그래피)을 사용하여 가능한 특성 분석 수준(방법의 변동성)을 달성하는 것은 미생물학적 시험에서는 불가능하다. 비록 높은 측면과 낮은 측면 모두에서 다음의 범위를 벗어난 결과가 발생할 수 있더라도, 일반적인 정밀도 수준은 일반적으로 약 15 ~ 35 %의 상대표준편차라는 점을 고려하는 것이 좋다. 또한 잠재적인 미생물의 수와 다양성은 물론, 대사 활동 수준의 내재적 변동성으로 인해 회수가 복잡해질 수 있다. 일부 경우, 기존 일반배양법보다 더 높은 세포 수를 회수할 수 있는 신속검출법이 등장했을 때 이를 아직 인식되지 않은 새로운 환자 위험이 이제 존재하는 것으로 받아들여서는 안 된다.

3.1.1. 미생물 시험의 유형 및 밸리데이션 기준

미생물학적 시험법의 밸리데이션은 시험법의 성능 특성이 의도된 용도의 요구사항을 충족한다는 것을 사용자가 실험적으로 확인하는 과정이다. 미생물 시험에는 3가지 기본 용도(정성적, 정량적 및 확인)가 있으므로 별도의 3가지 밸리데이션 기준 세트가 필요하다. 정성적 및 정량적 미생물학적 시험에 일반적으로 권장되는 밸리데이션 기준은 표 1에 나와 있다. 정성적 시험의 예로는 무균시험 및 명시된 미생물의 유무 여부에 대한 시험이 있다. 정량적 시험은 생균수 시험(microbial enumeration)이다. 정성적 시험은 이분열이며,

이러한 이유로 일반적으로 측정 단위의 동등성을 정의할 필요는 없으며 결과의 동등성만 정의하면 된다. 이들 기준은 아래에 기술되어 있으며 표 1에 요약되어 있다.

표 1. 정성적, 정량적 및 확인 시험에 대한 밸리데이션 기준

기준	정성적 시험	정량적 시험	확인 시험
정확성	+(1)	+	+
정밀성	-	+	-
특이성	+	+	+
검출 한계	+	(-)(2)	-
정량 한계	-	+	-
직선성	-	+	-
범위	-	+	-
완전성	+	+	+
시스템 적합성	+	+	-
동등성 시험	+	+	-

(1)검출 한계 시험의 밸리데이션 대신에 일반배양법에 대한 신속검출법의 정확성 시험을 실시할 수 있다.

(2)경우에 따라 필요할 수 있다.

3.2. 미생물 존재 여부에 대한 정성적 신속검출법 밸리데이션

3.2.1. 특이성

정성적 신속검출법의 특이성은 필요한 미생물만 검출할 수 있는 능력, 즉 위양성 결과를 생성하지 않는 능력이다. “미생물의 범위”는 환자나 제품에 대한 위험을 나타내는 제한된 수의 미생물, 제조 환경에서 발견된 미생물 및 제품의 이상, 신속검출법의 효과를 측정하는 데 적합한 미생물, 분석법 및 제품에 적합한 형태학적 및 생리적 특성을 대표하는 미생물로 정의할 수 있다. 이는 적절한 미생물 패널을 사용하여 확인할 수 있다. 시험 목적과 관련이 있는 경우 밸리데이션 중에 미생물의 혼합물을 사용한다. 미생물의 존재 여부를 증명하기 위해 성장에 의존하는 정성적 시험법의 경우, 특이성은 배지의 성장 촉진 특성을 입증함으로써 적절하게 다룰 수 있다. 미생물 존재의 지표로서 성장을 요구하지 않는 시험법의 경우, 특이성은 시험 시스템의 외부 물질이 시험을 방해하지 않음을 보장해야 한다.

입증: 특이성은 일반배양법 및 신속검출법 모두에서 미생물 부하 패널을 유사한 방식으로 회수하

여 입증된다. 미생물 부하는 검출 한계 또는 정량 한계를 초과하지만, 해당 방법의 효능을 측정할 수 있는 농도이다.

성장 기반-패널에서 각 미생물의 적은 수(약 100 CFU)를 첨가하고, 미생물 회수를 입증하기 위해 일반배양법과 신속검출법을 모두 수행한다.

비성장 기반-시스템에 존재할 수 있는 외부 물질(예: 세포외 ATP, DNA 또는 억제 및 개선 인자)이 정의된 범위의 미생물 검출을 방해하지 않음을 입증하기 위해 적절한 음성 및 양성 대조물질을 사용한다.

성장 기반 방법을 통해 모든 미생물 부하를 회수하고 확인해야 한다. 비성장 기반 방법을 통해 가능한 경우 미생물을 회수하고 확인해야 한다.

3.2.2. 검출 한계

신속검출법의 검출 한계(LOD, Limit of Detection)는 명시된 실험 조건하에서 검출 가능하지만 반드시 정량 분석할 필요는 없는 정의된 검체 부피 내에 존재하는 가장 적은 미생물 수로 정의된다. 이 작업은 신속검출법에 적합한 항균효과 시험, 비멸균 제품의 미생물 검사: 생균수 시험, 비멸균 제품의 미생물 시험: 명시된 미생물 시험, 마이코플라스마 시험, 무균시험을 사용하여 수행한다.

정성적 신속검출법의 검출 한계는 명시된 분석 조건에서 검출될 수 있는 검체 내 미생물의 최소 수이다. 미생물 한도 시험은 시험 중인 검체의 정의된 양에서 미생물의 존재 여부를 결정한다. 미생물 시험의 특성상 검출 한계는 희석 또는 배양 단계 전 원본 검체에 존재하는 미생물의 수를 반영한다. 신속검출법의 검출 한계는 약전 시험법의 검출 한계보다 크지 않아야 한다.

검출 한계는 충분한 반복 시험과 여러 번의 독립적인 측정을 사용하여 결정하는 것이 중요하다. 방법 및 기술의 용도에 적합한 각각의 미생물 부하를 이용하여 연속 희석 범위에서 적절한 희석 용액을 접종한다. 대부분의 경우 일반배양법 배지 성장 촉진 테스트 패널이면 충분하다.

접종 농도는 일반배양법에서 성장을 보이는 희석 검체의 50 %를 표적으로 하도록 조정하여야 한다.

일반배양법과 신속검출법을 모두 수행한다.

시험은 일반배양법과 신속검출법 둘 다에 대해

충분한 횟수로 반복 수행되어야 한다(통계적으로 유의한 알파 위험: 0.05, 베타 위험: 0.20).

통계: 카이제곱 검정 또는 다른 적절한 접근 방식을 사용하여 미생물 부하의 동등한 회수를 입증한다. 또는 방법 2를 사용한다. 방법 2(MPN 방법) 최소 CFU에서 CFU 범위(10배 연속 희석) 또는 5 CFU에서 CFU/접종 부피(2배 연속 희석)를 포함하는 적합한 희석 용액에 생물 부하에 대한 연속 희석물을 생성한다.

선택한 연속 희석물에서 각 희석의 동시 복제를 최소 5회 이상 수행하여 일반배양법과 신속검출법을 모두 수행한다.

양의 성장(또는 신호)과 음의 성장(또는 신호)을 모두 제공하는 3가지 희석물에서 최확수(MPN)를 결정한다

통계: 카이제곱 검정 또는 다른 적절한 접근 방식을 사용하여 미생물 부하의 동등한 회수를 입증한다.

3.2.3. 완전성

정성적 신속검출법의 완전성은 방법 매개변수(예: 배양 기간 또는 배양 온도 범위, 시약 부피, 주변 온도)의 작지만 의도적인 변화에 영향을 받지 않고 유지되는 능력의 척도이다. 완전성의 척도는 일반배양법과 신속검출법 간의 비교가 아니라 사용자가 시험 방법의 작동 매개변수 한계를 이해할 수 있도록 하는 신속검출법의 필수적인 밸리데이션 구성요소이다. 완전성은 시험법 공급자의 결정에 가장 적합한 밸리데이션 매개변수이다. 그럼에도 불구하고 사용자가 중요한 매개변수를 수정하는 경우 완전성에 미치는 영향을 평가해야 한다.

정성적 시험법의 완전성은 방법 매개변수를 의도적으로 변경한 후 시험 미생물을 검출할 수 있는 능력에 의해 판단된다. 사용자는 시험 방법 제조업체에서 제공한 데이터를 사용할 수 있다.

3.2.4. 건뢰성

다양한 분석자(예: 3명), 기기 및 시약 로트와 같은 다양한 기존 시험 조건에서 동일한 검체를 분석하여 얻은 시험 결과의 정밀도이다(입증 방법은 기기 또는 재료 공급업체의 권장사항에 따라 달라질 수 있음, 또는 시험 방법 제조업체에서 제공한 데이터만을 기반으로 함). 기타 밸리데이션 매개변수의 정의는 용어집을 참조한다.

3.2.5. 시스템 적합성

신속검출법은 사용자의 책임하에 지정된 절차에 따라 그리고 분석할 검체와 함께 적용해야 한다. 검체가 시스템의 검출 능력이나 미생물 회수를 방해하지 않음을 증명하여야 한다.

다루어야 할 구체적인 사항은 다음과 같다.

- 검체 기질의 존재하에서 미생물을 검출하는 시험의 능력
- 검체 기질이 대체 시스템을 방해하는지 검증 일상적 사용에서의 시험법에 대한 승인 기준은 용도 및 밸리데이션 데이터의 함수로 정의해야 한다.

3.2.6. 동등성 시험

2가지 정성적 시험법의 동등성 시험은 밸리데이션 매개변수에 대해 직접 수행할 수 있다. 이 접근 방식은 관련 시험 미생물 군주에 대해 충분한 반복 횟수로 낮은 수준의 접종(예: 5 CFU 미만)에서 적절한 비교 실험을 필요로 한다.

대안적으로, 그리고 일부 경우에는 추가적으로, 미리 정의된 수의 검체 또는 미리 정의된 기간에 대한 병렬 시험으로 동등성 시험을 수행할 수 있다. 이 병렬 시험은 위험 평가에 기반하여 정당화될 수 있다.

3.2.7. 시험 방법의 적합성

밸리데이션을 실시한 신속검출법을 사용하여 시험할 각 새로운 제품에 대해 일반 시험 방법에 설명된 대로 적합성 시험을 수행한다. 지시된 단위 수 및 수량, 제품에 적합한 검체 준비 및 필수 시험 민감도를 사용하여 시험 방법의 신호를 모호하게 하는 제품 효과가 없는지 판단한다.

시험 방법의 적합성은 세 가지 독립적인 시험을 통해 입증할 수 있다. 정량적 시험 방법에는 정확도 및 정밀도 밸리데이션 매개변수만 필요하다. 정성적 시험 방법의 경우 미생물 부하??의 회수로 충분하다.

다른 방법이 한 제품의 일반배양법과 동일한 것으로 나타난 후에는 모든 신제품에 대해 동등한 기기 매개변수를 반복 수행하는 것이 필요하지 않으며, 단순히 각 추가 제품에 대한 방법 적합성을 확인하는 것이 필요하다. 예를 들어, 각 신제품과 함께 핵산 기반 방법을 사용할 때 잔류 산물이 대상 핵산의 농도, 추출, 정제 및 회수, 또는 표적 리보솜 리보핵산(rRNA) 유전자 염기서열의

중합효소 연쇄반응(PCR) 증폭 및 화학적 프로브 검출에 방해가 되지 않음을 입증해야 한다.

3.3. 미생물 계수를 위한 정량적 신속검출법 밸리데이션

3.3.1. 정확성

정량적 신속검출법의 정확성은 신속검출법으로 얻은 시험 결과와 약전 시험법으로 얻은 결과의 근접 정도를 말한다. 정확성은 실제 시험의 범위에 걸쳐 입증되어야 한다. 일반적으로 통계적 분석을 고려하여 약전 시험법을 사용한 경우의 회수 백분율 대비 신속검출법에 의한 미생물 회수 백분율로 표시된다.

정확성은 시험 범위의 상위 농도에서 시험 범위의 하위 농도로 연속 희석된 미생물 현탁액을 준비 및 검사하여 확인할 수 있다. 예를 들어, 신속검출법이 생존수를 위한 약전 플레이트 계수법을 대체하기 위한 것인 경우, 합리적인 범위는 $10^0 \sim 10^6$ CFU/mL일 수 있다. 대신 MPN 방법을 대체하려는 경우에는 훨씬 더 좁은 범위를 사용할 수 있다. 각 시험 미생물 희석에 대해 최소 1개의 현탁액을 분석해야 한다.

신속검출법은 적절한 통계 분석을 사용하여 최소한 약전 시험법만큼 많은 미생물을 회수하는 것으로 확인되어야 한다.

시험법의 직선성을 확인하기 위해 사용되는 프로토콜(바 (5) 참조)도 정확성을 확인하는 데 사용할 수 있다.

신속검출법을 위해 준비한 미생물의 현탁액은 약전 시험법을 사용하여 동시에 계수한다.

3.3.2. 정밀성

정량적 신속검출법의 정밀성은 규정된 조건하에서 미생물 균질 현탁액의 여러 검체에 절차를 반복 적용할 때 개별 시험 결과 간의 일치 정도를 의미한다. 정밀성은 정상 또는 일상적인 작업 조건하에서 반복성과 실험실 내 정밀성으로 구분되어야 한다. 반복성(시험 내 변동성이라고도 함)은 동일한 시험자가 동일한 장비를 사용하여 단기간 동안 동일한 실험실에서 동일한 검체(복제)에 대해 미생물학적 시험법을 사용하는 것을 말한다. 이는 시험법의 최소 변동성을 제공한다. 실험실 내 정밀성(시험 간 변동성 및 시험 내 변동성 포함)은 동일한 실험실에서 서로 다른 날짜에

서로 다른 시험자가 서로 다른 장비를 사용하여 시험 대상 제품의 서로 다른 검체에 대해 미생물학적 시험법을 사용하는 것을 말한다. 이는 시험법의 최대 변동성을 제공한다. 미생물학적 시험법의 정밀성은 일반적으로 표준 편차 또는 상대 표준 편차(변동 계수)로 표현된다. 시험 범위의 중간 농도인 적어도 1개의 현탁액을 분석한다. 반복 횟수는 동일한 작업 세션 동안, 즉 미생물 현탁액을 변화시키지 않고 동일한 작업 조건하에서 전체 시험을 수행할 수 있도록 선택한다.

실험실 내 정밀성의 경우, 다른 작업 세션은 최대 변동성(서로 다른 시약, 시험자 및/또는 날짜 등) 조건하에서 수행한다. 각 작업 세션에서 관찰된 결과의 분산을 계산한다. 분산이 균일하면 반복성의 분산을 계산할 수 있다. 또한 결과의 그룹 간 분산도 계산하고 실험실 내 정밀성의 분산은 반복성의 분산과 그룹 간 분산의 합으로 주어진다. 그런 다음 변동 계수를 계산한다. 신속검출법은 약전 시험법과 유사한 정밀성을 보여야 한다.

3.3.3. 특이성

정량적 신속검출법의 특이성은 필요한 미생물만 정량화할 수 있는 능력, 즉 위양성 결과를 생성하지 않는 능력이다. 이는 적절한 미생물 패널을 사용하여 확인할 수 있다. 시험 목적과 관련이 있는 경우 밸리데이션 중에 미생물의 혼합물을 사용한다. 미생물 존재의 지표로서 성장을 요구하지 않는 시험법의 경우, 특이성은 시험 시스템의 외부 물질이 시험을 방해하지 않음을 보장해야 한다.

3.3.4. 정량 한계

정량적 신속검출법의 정량 한계는 적절한 정밀성과 정확성을 가지고 정량적으로 측정할 수 있는 검체 내 최소 CFU 수이다. 정량 한계는 많은 반복을 통해 결정하는 것이 중요하다. 직선성 및 정확성 연구의 결과도 사용할 수 있다. 이 경우 선형 범위에서 가장 낮은 농도가 시험법의 정량 한계로 간주된다. 신속검출법의 정량 한계는 약전 시험법의 정량 한계보다 크지 않아야 한다.

3.3.5. 직선성

정량적 신속검출법의 직선성은 (주어진 범위 내에서) 검체에 존재하는 미생물의 농도에 비례하는 결과를 산출하는 능력이다. 직선성은 신속검출법의 목적에 해당하도록 합리적인 범위(예:

$10^0 \sim 10^6$ CFU/mL)에서 결정되어야 한다. 한 가지 방식은 각 시험 미생물의 다양한 농도를 선택하여 여러 번 반복 시험하는 것이다. 각 농도에 대해 직선성을 확인하기 위해 적절한 반복 횟수를 선택한다. 반복 횟수는 전체 시험을 동일한 작업 세션 동안 수행할 수 있도록 선택한다. 각 농도에 대해 얻은 결과의 분산의 균일성을 확인한 후 회귀 직선을 계산한다. 추정된 기울기가 유의하고 직선성으로부터의 편차 시험이 유의하지 않은 경우 직선성이 증명된다.

3.3.6. 범위

정량적 신속검출법의 범위는 지정된 방법을 사용한 정밀성, 정확성 및 직선성에 대한 관련 시험에서 결정된 미생물의 상위와 하위 수준 간의 간격이다. 이는 의도된 용도에 따라 다르다.

3.3.7. 완전성

정량적 신속검출법의 완전성은 방법 매개변수(예: 배양 기간 또는 배양 온도 범위)의 작지만 의도적인 변화에 영향을 받지 않고 유지되는 능력의 척도이다. 완전성은 시험법 공급자의 결정에 가장 적합한 밸리데이션 매개변수이다. 그럼에도 불구하고 사용자가 중요한 매개변수를 수정하는 경우 완전성에 미치는 영향을 평가해야 한다. 정량적 신속검출법의 완전성은 방법 매개변수를 의도적으로 변경한 후 시험 미생물을 정확하게 계수할 수 있는 능력에 의해 판단된다.

3.3.8. 시스템 적합성

신속검출법은 사용자의 책임하에 지정된 절차에 따라 그리고 분석할 검체와 함께 적용해야 한다. 검체가 시스템의 계수 능력이나 미생물 회수를 방해하지 않음을 증명하여야 한다. 다루어야 할 구체적인 사항은 다음과 같다.

- 검체 기질의 존재하에서 미생물을 검출하는 시험의 능력
 - 검체 기질이 대체 시스템을 방해하는지 검증(예: 배경 신호 또는 화학 반응 억제).
- 시험법에 대한 승인 기준은 용도 및 밸리데이션 데이터의 함수로 정의한다.

3.3.9. 동등성 시험

2가지 정량적 시험법의 동등성 시험은 밸리데이션 매개변수에 대해 직접 수행할 수 있다. 이 접근 방식은 관련 시험 미생물 군주에 대해 충분한 반복 횟수로 낮은 수준의 집중(예: 5 CFU 미만)

에서 적절한 비교 실험을 필요로 한다. 대안적으로, 그리고 일부 경우에는 추가적으로, 미리 정의된 수의 검체 또는 미리 정의된 기간에 대한 병렬 시험으로 동등성 시험을 수행할 수 있다. 이 병렬 시험은 위험 평가에 기반하여 정당화될 수 있다.

3.4. 신속검출법 확인 시험의 밸리데이션

시험법에 따라 미생물을 동정하는 능력이 상당히 다르다는 많은 증거가 있다. 확인 시험법은 내부적으로 일관성이 있어야 하지만 미생물 동정에 있어 다른 시험법과 다를 수 있다는 점을 인정해야 한다.

3.4.1. 정확성

신속검출법 확인 시험법의 정확성은 원하는 미생물을 필요한 분류학적 수준으로 식별하는 능력이다. 특성이 잘 규명된 기준 미생물(예: 표준 균주)을 사용하여 입증해야 한다. 확인 시험법의 정확성은 일반적으로 올바른 동정 수를 총 동정 수로 나눈 값으로 표시된다.

3.4.2. 특이성

신속검출법 확인 시험법의 특이성은 실제로 존재하는 미생물을 잘못된 동정 결과를 유발하는 간섭 요인과 구분할 수 있는 능력이다. 이러한 요인에는 화학 물질 및 미생물 혼합물 등이 있으며, 이는 시험에서 검체 물질에 실제로 존재하지 않는 미생물을 동정하게 한다(예: 염기서열 검사 중 두 미생물의 DNA 물질 혼합물이 존재하여 세 번째 미생물이 잘못 동정됨).

3.4.3. 완전성

신속검출법 확인 시험법의 완전성은 방법 매개변수(예: 배양 기간 또는 배양 온도 범위)의 작지만 의도적인 변화에 영향을 받지 않고 유지되는 능력의 척도이다. 완전성은 시험법 공급자의 결정에 가장 적합한 밸리데이션 매개변수이다. 그럼에도 불구하고 사용자가 중요한 매개변수를 수정하는 경우 완전성에 미치는 영향을 평가해야 한다. 확인 시험법의 완전성은 방법 매개변수를 의도적으로 변경한 후 시험 미생물을 정확하게 검출할 수 있는 능력에 의해 판단된다.

용어 정의

- **정확성:** 신속검출법으로 얻은 시험 결과와 일반배양법으로 얻은 값의 근접성(방법의 동적(작동) 범위 전반에 걸쳐 입증됨).
미생물학적 신속검출법: 평판 계수 또는 액체 배지 회수 등 기존의 성장 기반 방법과 다른 최신 또는 신속 미생물학적 시험 절차(MMM 또는 RMM). 신속 방법에서는 데이터 검사 및 분석을 관리하기 위해 다양한 기술, 기기 및 소프트웨어를 사용할 수 있으며 정량적(계수) 또는 정성적(검출) 미생물학적 시험 결과를 제시할 수 있다.
- **집락형성단위(CFU):** 기존의 평판 계수 방법으로 구한 미생물 수 추정치. 계수는 배양 조건에서 검체 내 미생물이 미생물 배양 배지상에서 성장하는 능력에 따라 달라진다. 집락 한 개가 한 개 또는 심지어 천 개 세포의 성장으로부터 파생되었는지 확실하지 않기 때문에 결과는 세포 수/mL 또는 세포 수/g가 아닌 CFU/mL(액체배지) 또는 CFU/g(고체배지)로 보고된다.
- **동등성:** 두 절차의 시험 결과가 해당 절차의 용도에 충분히 근접한 경우. 동등성을 입증하기 위해 시험 결과가 얼마나 유사해야 하는지에 대한 사전 정의된 측정이 필요하다.
- **위음성:** 음성으로 잘못 판정된 시험 결과(예: 생존 가능한 미생물이 존재하나 생존 가능한 미생물이 미검출). 두 번째 종류의 오류라고도 하는 제II종 오류는 귀무가설이 거짓이지만 오류로 인해 기각되지 않은 경우 발생한다. 실제로 무엇이 존재하는지 주장하지 못한다 - 미검출. 제II종 오류는 최종적인 결과가 참(TRUE) 또는 거짓(FALSE)인 단일 조건을 검사하는 검정에서 위음성("미검출"로 간주됨)과 비교될 수 있다. 제II종 오류의 비율은 그리스어 문자 β 로 표시되며 검사의 검정력($1-\beta$)과 관련이 있다.
- **위양성:** 양성(예: 생존 가능한 미생물이 없는 경우 생존 가능한 미생물이 검출)으로 잘못 판정된 검사 결과. 통계 검정 이론에서 통계 오류의 개념은 가설 시험의 필수적인 부분이다. 이러한 오류는 제I종 오류 및 제II종 오류로 설명되어 있다. 첫 번째 종류의 오류라고도

하는 제I종 오류는 귀무가설(H_0)이 참이지만 기각된 경우에 발생한다. 실제로 존재하지 않는 무언가가 존재한다고(즉, 거짓 검출) 주장하는 것이다. 제I종 오류는 단일 조건을 검사하는 검정에서 소위 위양성(false positive)(특정 조건이 실제로 존재하지 않는데 해당 조건이 존재한다고 나타내는 결과)과 비교해야 한다. 제I종 오류의 비율을 검정의 "크기"라고 하며 그리스어 문자 α 로 표시한다. 이는 일반적으로 검정의 유의수준과 같다. 단순한 귀무가설의 경우 α 는 제I종 오류 확률이다.

- **검출 한계(LOD):** 정의된 실험 조건에서 검출 가능하지만 반드시 정량할 필요는 없는 검체 내 가장 낮은 미생물 농도.
- **정량 한계(LOQ):** 정의된 실험 조건에서 허용 가능한 정확도와 정밀도로 계수할 수 있는 검체에서 가장 적은 수의 미생물.
- **직선성:** 주어진 범위 내에서 검체에 존재하는 미생물의 농도에 비례하는 결과를 생성할 수 있는 능력.
- **시험 방법의 적합성:** 시험 방법을 통해 생성된 신호에서 산물의 강화 또는 억제 없음 입증.
- **완전성:** 시약 부피, 배양 시간 또는 온도와 같은 방법 매개변수의 작지만 의도적인 변화에 영향을 받지 않는 시험 방법의 능력을 말하는 것으로, 그 시험 방법이 통상 사용되는 동안의 신뢰도에 대한 지표이다.
- **견뢰성:** 작업 조건의 변화와 관련된 중간(실험실 내) 정밀도. 중간 정밀도에 기여하는 요인에는 특정 실험실 내에서 변경될 수 있으며 분석법에 영향을 줄 수 있는 모든 요소(예: 다른 날짜, 다른 분석자, 다른 장비)가 포함된다.
- **특이성:** 다양한 미생물을 검출할 수 있는 능력으로, 이는 해당 방법이 용도에 적합함을 입증한다. 이러한 미생물에는 환자나 제품의 위험을 나타내는 제한된 수의 미생물, 제조 환경 및 제품 고장 시 발견되는 미생물, 신속검출법의 효과를 측정하는 데 적합한 미생물, 관련된 일반배양법에서 해당 방법 및 제품에 적합한 것으로 명시된 미생물이 포함될 수 있다.
- **밸리데이션:** 절차의 성능 특성과 그 기본 방법이 사용 목적에 대한 요건을 충족하며 따라서

해당 절차가 사용 목적에 적합함을 입증하고 문서화하는 과정이다. 공식 밸리데이션은 밸리데이션 절차에 대한 정당한 허용 기준을 포함하는 서면 계획에 따라 전향적으로 수행한다.

3. 의약품 용기 및 포장 품질 관리

의약품의 직·간접 용기 및 포장은 의약품의 안정성에 영향을 미치므로 개발단계에서부터 적절한 용기 및 포장 재질을 선택하여 최종 환자에게 투여될 때까지 안전성 및 안정성을 보장하는 것이 의약품 용기·포장의 품질관리를 위해 매우 중요한 요소이다. 이에 따라 최근 국제적으로 의약품 포장 재질 관련 규제에 비해 정보 및 시험법 부족으로 「대한민국약전」 내 관리 방안에 대한 요구되는 시점이다. 의약품 용기 및 포장 품질관리를 위한 일반정보 ‘의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가’ 및 ‘의약품 포장 및 전달시스템에서의 침출물 평가’에 대해 신설하여 의약품의 품질관리에 유용한 정보를 제공하고자 한다.

의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가

1. 목적

이 장에서는 의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가의 설계, 타당성 입증 및 수행을 위한 정보를 제공한다. 이 장에서는 추출물 평가의 주요 원칙을 설정하고, 각 부분에 대하여 실용적이고, 기술적인 측면을 기술한다. 이 장은 정보 제공의 목적으로, 일반적이고, 보편적으로 적용할 수 있게 작성되었지만, 추출물 평가에 필요한 모든 상황을 고려하여 다룰 수 있는 특정 추출조건, 분석 절차, 혹은 특정 포장 및 전달 시스템 혹은 제형에 대한 필수 추출물 규격 및 허용 기준을 제공하지는 않는다. 추출물에 대한 일반적인 사항으로, 추출물 평가에 요구될 수 있는 모든 상황을 예상하고 다루는 것은 가능하지 않다. 개별 추출물 평가의 설계는 균형적인 과학, 신중한 자원의 할당 및 효과적인 위해 관리의 과정이다. 이러한 균형을 이루는 것은, 의약품 제조업체의 책임이자 의무이며, 모든 해당 법률 및 규제 요구 사항을 적절하게 고려해야 한다. 이 장에서 요약된 원칙과 대표적 사례는 과학적 접근에 대한 합의사항으로, 의약품 품목허가 신청을 위해 추출물 평가가 필요한 모든 경우에 적용할 수 있다.

2. 용어

- **포장 시스템(Packaging System)**(용기-마개 시스템이라고도 함): 제품을 담고 보호하는 포장 구성요소 및 재료 모두를 말한다. 여기에는 1차, 2차 및 3차 포장 구성요소가 포함된다.
- **전달 시스템(Delivery System)**: 포장부터 환자에게 투여하기까지 완제의약품을 이송하는 데 사용되는 구성요소 및 재료 모두를 말한다. 예를 들어, 투여 세트는 전달시스템에서 환자에게 액상 제제를 투여할 때 사용되는 것이다. 경우에 따라, 포장 시스템 자체가 전달시스템 기능을 할 수도 있다.
- **용기(Container)**: 중간체, 주성분, 첨가제 또는 제형을 담는 것으로, 의약품과 직접 접촉한다.
- **마개(Closure)**: 용기의 열린 공간을 닫고 내용물을 보호하는 것으로, 용기 내용물에 접근할 수 있게 한다.
- **포장 구성요소(Packaging Component)**는 용기(예를 들어, 앰플, 프리필드 주사기, 바이알, 병), 마개(예를 들어, 나사 캡, 스톱퍼), 페룰 및 외부 봉합, 마개 라이너, 내부 봉합, 투여 장비, 오버랩, 투여 세트, 라벨, 판지 상자, 수축 랩을 포함하는 단일 부품 또는 포장 또는 용기-마개 시스템 세트이다.
- **1차 포장 구성요소(Primary Packaging Component)**는 의약품과 직접 접촉하거나 직접 접촉할 수 있는 포장 구성요소이다(예를 들어, 수액용 백).
- **2차 포장 구성요소(Secondary Packaging)**

Component)는 1차 포장 구성 요소와 직접 접촉하는 포장 구성요소이며 의약품의 추가로 보호할 수 있는 포장 구성요소이다(예를 들어, 수액용 백의 이중주머니 또는 먼지 덮개).

- **3차 포장(Tertiary Packaging)**는 2차 포장 구성 요소와 직접 접촉하며, 배송 또는 보관 중에 의약품의 추가로 보호할 수 있는 포장 구성요소이다(예를 들어, 이중주머니로 포장된 수액용 백을 담은 배송 상자).

- **보조 구성요소(Ancillary Component)**는 포장된 의약품의 유통, 보관, 운반하는 동안에 3차 포장 구성요소와 접촉할 수 있는 구성요소 또는 개체이다(예를 들어, 팔레트, 스킴, 수축랩)

- **포장 구성 재료(Packaging Materials of Construction)**는 포장 구성요소를 제조하는 데 사용되는 물질이다. 이는 원재료(raw material)로도 부른다.

- **추출물(Extractables)**은 의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성 요소 또는 포장 구성 재료에서 발생하는 유기 및 무기화합물이며, 실험실 조건 하에서 추출 용매에 의해 추출된다. 추출 연구는 특정 목적(아래에서 논의)에 따라 실험실 조건(예를 들어, 용매, 온도, 화학량론 등)을 포장된 제형의 일반적인 보관조건 이 가속 혹은 가혹 조건으로 할 수 있다. 추출물 또는 추출물에서 유래된 물질은 일반적인 보관 및 사용 조건에서 완제의약품에 침출될 가능성이 있으므로, 추출물은 잠재적인 침출물이 된다.

- **침출물(Leachables)**은 일반적인 보관 및 사용 조건에서 혹은 완제의약품의 가속 안정성 시험 조건 중에 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 포장 구성 재료로부터 포장된 완제의약품 속으로 침출되기 때문에 포장된 완제의약품에 존재하는 이질적인 유기 및 무기 화합물이다. 침출물은 포장 또는 전달 시스템에서 유래되므로 완제의약품 혹은 그 용제 및 첨가제와는 관련이 없다. 침출물은 완제의약품의 침출물 공급원과 직접적으로 작용하기 때문에 포장된 완제의약품에 남아

있게 된다. 따라서, 침출물은 일반적으로 1차 및 2차 포장에서 유래되는데, 이는 완제의약품의 1차 및 2차 포장이 기타 이질적인 화합물질을 배출하는 잠재적인 공급원(예를 들어, 3차 포장 및 보조 구성요소) 사이의 장벽 역할을 할 수 있기 때문이다. 특정 상황에서, 포장 용기는 일반적인 임상적 사용조건에서 환자에게 직접 접촉할 수 있다(예를 들어, 정량흡입기의 마우스피스). 이러한 접촉의 결과로, 환자는 완제의약품의 작용 없이 포장으로부터 침출물에 노출될 수 있다. 침출물은 일반적으로 추출물의 부분 집합이거나 추출물에서 유래된다.

- **이동물(Migrants)**은 일반적인 보관 및 사용 조건에서 혹은 완제의약품의 가속 안정성 시험 중에 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 포장 구성 재료로부터 포장된 완제의약품 속으로 침출되기 때문에, 포장된 완제의약품에 존재하는 이질적인 유기 및 무기 화합물이다. 그러나, 이동물은 1차 및 2차 포장으로 인한 물리적 장벽을 통과한 후, 포장된 완제의약품에 이동물이 축적된다는 점에서 침출물과 구별된다. 이동물은 물리적인 장벽을 통과하여 발생하기 때문에, 이동물의 공급원에 대한 완제의약품의 직접적인 작용은 이 장벽이 막기 때문에 포장된 완제의약품에서는 이동물이 존재하지 않는다. 따라서, 이동물은 2차 및 3차 포장 및 보조 구성요소에서 유래하게 된다. 물질이 침출물이든 이동물이든 둘 다 포장된 완제의약품의 이물질이므로 동일한 방식으로 그 영향을 평가해야 한다. 그러나, 침출물과 이동물이 포장된 완제의약품에 혼입되는 방식이 다를 수 있으므로 침출물을 다루고자 하는 추출물 연구는 이동물을 다루고자 하는 추출물 연구와는 다르게 설계되고 수행되어야 한다.

- **추출 연구(extraction studies)**는 특정 의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 구성 재료의 추출물 프로파일을 생성하는 데 필요한 전반적인 실험적 과정이다. 추출 연구는 ‘통제된 추출 연구(controlled extraction studies)’라고도

한다.

- **특성 분석(characterization)**은 규정된 수준 또는 역치를 초과하여 어떤 추출물에 존재하는 각각의 개별 유기 및 무기 화학물질의 발견, 확인 및 정량을 말한다. 이러한 역치는 환자 안전성 우려, 재료 고려사항 및 분석기법 등의 성능을 기반으로 할 수 있다.

- **탐색(scouting)**은 추출물의 특성과 정도에 대한 심층적인 이해를 얻을 수 있도록 일반적인 화학 정보를 얻는 과정이다.

- **발견(discovery)**은 추출물에 존재하는 개별 유기 및 무기 화학물질을 검색하고, 궁극적으로 찾아내는 과정이다.

- **확인(identification)**은 유기 추출물이 어떤 분자구조인지 결정하거나, 혹은 무기 추출물의 경우에는 구성요소를 결정하는 과정이다.

- **정량(quantitation)**은 추출물에 포함된 개별 유기 또는 무기 화학물질의 수준 또는 농도를 측정하는 과정이다.

- **추출물 프로파일(extractables profiles)**은 특정 추출 매질 및 일련의 실험실 추출 조건에 대하여 정성적 과/또는 정량적인 분석 결과를 나타낸 것이다.

- **추출물-추출물 상관관계(leachables-extractables correlations)**는 확인된 완제의약품의 침출물이 관련 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 구성 재료의 추출물과 정성적 및 정량적으로 연관될 때 확립된다.

- **안전성 우려 역치(Safety Concern Threshold, SCT)**는 침출물의 용량이 역치 아래로 너무 작아 발암성 및 비발암성 독성 영향에 대한 안전성 우려가 거의 없는 임계값을 의미한다.

- **분석 평가 역치>Analytical Evaluation Threshold, AET)**는 역치 이상에서 침출물의 특성을 분석하고, 독성 평가를 해야 하는 임계값을 의미한다. 분석 평가 역치(AET)는 완제의약품의 투여 매개변수를 포함하는 요인을 기반으로, 안정

성 우려 역치(SCT)(또는 다른 역치 개념)에서 수학적으로 구할 수 있다. 침출물의 측정 수준을 추정할 목적으로, 추출 연구를 수행하는 경우, 분석 평가 역치(AET)는 침출물뿐만 아니라 추출물에도 적용할 수 있다. 분석 평가 역치(AET)의 개념은 「의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물 평가」에서 자세히 설명한다.

이외에도 추가 용어 및 관련 정의를 사용할 수 있다.

3. 범위

이 장에서 기술하는 과학적 원칙과 대표 사례는 의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 구성 재료의 추출물 평가 또는 추출 연구에 적용하기 위한 것이다. 그 결과로 추출물 프로파일을 설정하기 위한 것이다.

추출물 프로파일은 구성 재료, 포장 구성요소 또는 포장/전달 시스템의 특성 분석, 선택, 적격성 평가를 포함하여, 침출물-추출물 상관관계 설정 및/혹은 가혹 조건에서 완제의약품 침출물 프로파일 시뮬레이션 등 다양한 의약품 개발 및 제조 분야에서 사용할 수 있다. 적절한 경우라면, 추출물 프로파일은 「의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물 평가」에서 기재한 것처럼 침출물-추출물 상관관계를 설정하는 데에도 사용할 수 있다. 이러한 과학적 원칙과 대표 사례는 원료의약품 및 완제의약품 제조에 사용되는 구성 재료 및 장비의 기능 구성요소, 예를 들어, 필터, 튜브 및 탱크에도 적용될 수 있다. 추가로, 이러한 원칙과 대표 사례는 의료기기에 적용되는 지침 및 규정을 적절히 고려하여 복합제품(2)의 의료기기 구성요소에 적용될 수 있다. 이러한 과학적 원칙과 대표 사례는 다음을 포함하되 이에 국한되지 않으며, 원료의약품, 완제의약품의 제조 그리고 안정성 시험을 수행하는 모든 기관 또는 개인에게 적용된다:

- 제조업자의 시설(예, 의약품 허가신청을 득한 자에 속한 시설) 또는 위탁제조업자의 시설에서

제조 작업이 이루어짐(원료의약품 및 완제의약품 제조업자)

- 복합제품 제조업자
- 제조업자 또는 위탁제조업자에 의한 포장 작업
- 최초 제조업자 이외의 제조업자 소유하는 완제의약품의 재포장 작업 진행

의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 및 구성 재료의 제조업체 및 제작자는 이러한 과학적 원칙과 대표 사례를 적절하게 적용할 수 있다.

4. 배경 정보

제조, 포장, 보관, 유통 및 투여 과정에서 제형과 그 성분은 제조 및 포장 장비의 구성요소 및 구성 재료, 1차 및 2차 포장, 시스템과 접촉할 수 있다. 이러한 접촉은 제형과 성분 및 재료와 상호작용이 유발될 수 있다. 그 상호작용 중 하나는, 구성요소 및 재료로부터 이동하거나 침출되어 약물 투여 중에 환자에게 전달되는 것이다. 환자는 약물 투여 중에 포장/전달 시스템과 직접 접촉하여 물질에 직접적으로 노출될 수도 있다.

침출물은 광범위한 화학적 다양성을 가진 유기 및 무기 화합물질을 모두 포함할 수 있으며, 환자에 대한 잠재적 안전성 위험도와 완제의약품에 대한 잠재적 호환 위험(예: 원료의약품 상호작용/분해, pH 변화, 외관 변화, 입자 형성, 단백질 응집/구조변화 등)이 있을 수 있다.

이러한 위험성을 평가하고 침출물로 인해 발생할 수 있는 문제를 관리하기 위해서는 침출물의 특성을 확인하고 사용기간 동안 완제의약품에 축적되는 정도를 알아야 한다. 이 두 가지 정보를 사용하여 환자에게 노출(용량)되는 정도를 결정하며, 따라서 개별 침출물에 의해 제기되는 안전성 위험 및 완제의약품과 관련된 호환성 문제 또한 결정된다.

가이드라인 및 다양한 권고사항들은 구성요소 또는 재료와 최종 제형 간 접촉에 따른 잠재적 영향평가에는 침출물에 관하여 최종 제형에서 평

가하는 것이 바람직하다고 명시하고 있다. 이 영향평가에는 접촉된 시스템, 구성요소 또는 재료에서 이동하여 제형에 축적된 침출물의 발견, 확인 및 정량 분석하는 것이 목적인 이동물 또는 침출물 연구가 포함될 수 있다. 대안으로, 이 평가는 이동물 연구 대신 합리적인 수준에서 시뮬레이션 추출 연구를 수행할 수 있다. 이러한 이유로, 침출물 평가가 일반적으로 단일 평가 수단으로서 단독으로 사용될 수 없으며, 많은 과학-기반 및 실측근거가 많이 있는 이유가 있기 때문이다. 의약품 포장/전달 시스템은 잠재적인 침출물의 주요 공급원이기 때문에, 일반적으로 모든 침출물 평가에 앞서 비접촉이지만 잠재적으로 상호작용하는 1차 및 특정 중요 2차 포장 구성요소에 대해 추출물 평가를 수행하는 것이 적절하다. 이는 지침 및 대표 사례와 일치하는 것이 필요하다. 이러한 추출물 평가는 또한 제조 및 포장 장비의 특정 구성요소 또는 구성 재료뿐만 아니라, 높은 침출 가능성이 있는 것으로 간주하거나 특정 구성요소에서 확인된 침출 문제와 관련이 있는 특정 3차 포장 구성요소에 대해서도 수행할 수 있다.

추출물 평가는 다음과 같이 수행될 수 있다:

- 포장/전달 시스템, 포장 구성요소, 복합제품 의료기기 구성요소, 제조 구성요소 및 다양한 구성 재료에 대해 평가한다.
- 구성요소 및 구성 재료의 선택을 지원하여 안전하고 효과적인 제형 포장/전달 시스템, 제조시스템 및 공정의 시기적절한 개발을 촉진
- 다양한 제조 공정(예를 들어, 멸균)이 포장 구성요소의 잠재적인 침출물에 미치는 영향을 이해한다.
- 침출물 연구, 침출물 규격 및 허용기준 개발(필요한 경우), 잠재적 및 실제 침출물의 안전성 평가 등을 통해 최악 조건(worst-case)의 잠재적 침출물 프로파일을 설정한다.
- 실제 침출물을 과학적으로 결정하는 것이 가능하지 않은 경우, 예상 침출물의 안전성 평가/적격성 평가 등을 통해 최악 조건의 잠재적 침출물

프로파일을 설정한다.

- 환자의 신체 조직(예를 들어, 입, 코점막)과 포장 또는 복합제품 의료기기의 구성요소(예를 들어, 정량 흡입기의 플라스틱기 작동기/마우스피스) 간의 직접적인 접촉으로 인해 화학물질에 노출되는 것을 평가하여야 한다.
- 정성적 및 정량적 침출물-추출물 상관관계 설정을 촉진한다.
- 포장 구성요소, 복합제품 의료기기의 구성요소 및 구성 재료에 대한 추출물 사양 및 허용기준(필요한 경우)의 개발을 촉진한다.
- 시판 제품에 대해 품질 또는 안전성 문제(예를 들어, 규격 이탈 결과)를 유발하는 원인으로 확인된 침출물의 출처를 조사한다.

이러한 방식으로, 추출물 평가는 의약품 포장/전달 시스템과 완제의약품의 개발 및 제조를 위한 설계기반 품질고도화(Quality by Design, QbD) 원칙을 뒷받침할 수 있다. 많은 추출물 평가의 목표는 포장/전달 시스템 및 재료의 특성을 분석하는 것이지만, 규제 가이드라인과 대표 사례의 권고사항은 추출물 평가가 잠재적 침출물 조사의 역할도 한다는 점을 분명히 한다.

앞서 언급했듯이, 포장/전달 시스템, 개별 포장 구성요소 또는 특정 유형의 제형에 대한 구성 재료에 대한 추출물 평가가 필요한 각 사례를 확인하고자 하는 것이 이 장의 목표가 아니다. 이는 제조업자(또는 허가신청자)의 책임이며 적용할 수 있는 가이드라인을 적절히 고려하여야 한다. 이 장에서는 오히려 "추출물 평가가 필요한 경우, 어떤 과학적 원칙과 입증된 대표 사례로 수행하여야 하는가?"라는 질문을 다룬다.

추출물 평가를 수행하는 것은 발견 및 확인 과정이 포함되므로, 추출물 평가는 시험 물질, 특히 그 구성 물질에 대한 지식을 통해 수행될 수 있다. 따라서, 시험 물질 평가자가 효율적인 추출 연구의 설계 및 수행을 하는데, 도움이 되는 중요한 정보에 접근할 수 있도록 시험 물질 평가자와 시험 물질 공급업체가 협력하는 것이 좋다. 또한,

플라스틱 구성 소재에 따른 시험 물질의 특성 분석이 추출 연구의 설계 및 수행에 유용한 정보를 제공할 수 있다.

추출물 평가의 목표를 달성하려면 추출물 프로파일을 생성하기 위해 추출 연구를 수행해야 한다. 추출 연구(extraction study)는 실험실에서 생성하는 추출과 추출물 시험(특성 분석)으로 구분된다.

5. 추출물 생성

5.1 일반 개념 및 주요 실험 설계 파라미터

추출물은 다양한 출처로부터 추출되며 광범위한 화학적 다양성을 나타낸다. 추출물의 주요 출처는 다음과 같다:

- 개별 엘라스토머/폴리머 포장 구성요소, 원료 중 화학 첨가제 및 이들 첨가제 중의 불순물
- 유리 및 금속제 포장 구성요소에 존재하는 화학물질 및 첨가제
- 포장 구성요소 자체의 용출과 관련된 물질, 예를 들어 스테인리스강으로부터의 추출된 철, 유리로부터 추출된 실리콘 등
- 불완전한 중합에서 유래된 단량체 및 고분자량 올리고머
- 잉크, 라벨 접착제와 같은 2차 및 3차 포장 구성요소에서 유입된 이동물, 판지로 만든 운반 용기, 플라스틱 보관 백 및 목재 팔레트와 같은 기타 운송 도구에서 유래된 휘발성 물질
- 금속통 및 용기 상의 증유, 탈지제와 같은 표면 잔류물
- 이형제, 정전기 방지 및 미끄럼 방지 물질과 같이 부품 제조 기계 또는 그 밖에 완제의약품 제조시스템 표면에서 유래된 화학물질
- 부품 제조 기계 또는 그 밖에 완제의약품 제조 시스템의 다양한 부분에 있는 화학 첨가제, 단량체/올리고머, 불순물 등

앞서 언급했듯이, 추출물의 화학적 다양성을 고려하는 것은 중요하다. 예를 들어, 화학 첨가제 범주의 산화 방지제에는 힌더드페놀, 2차 방향족

아민, 힌더드 아민, 유기황화합물, 유기인화합물 및 다른 화학적 물질이 있다.

추출은 용해성 물질을 제거하기 위해 물질을 용매로 처리하는 과정이다. 추출은 시간, 온도, 표면적 대 부피 비(즉, 화학량론), 추출 매질 및 물질의 상평형에 의해 영향을 받는 복잡한 과정이다. 추출 연구가 추출물 평가의 다양한 목표를 달성하는 데 필요하고, 적절한 수단인 이유는 두 가지가 있다. 첫째, 다른 수행 가능한 분석적 대안이 없다는 점이다. 천연 고체 상태에서 잠재적 침출물에 대하여 재료의 특성을 분석하는 것은 단순한 수행이라기보다는 현대 분석화학의 목표를 이루는 데 있다. 둘째, 직접적인 특성 분석에 성공하더라도 이는 재료에 존재하는 화학물질의 특성과 수준만 결정할 뿐 화학물질의 침출 특성을 평가하지는 않는다. 조성 평가는 제형의 전주기 동안 잠재적 침출물의 분자구조를 변화시킬 수 있는 화학 반응을 고려하지 않는다. 예를 들어, 수성 의약품에 의해 침출되는 페놀계 항산화제의 경우 가수분해 및 산화 생성물이 완제의약품에 축적될 수 있다. 침출과 관련된 데이터를 생성할 수 있는 수행 가능한 방법은 침출과 유사한 메커니즘을 가진 실험실 추출 프로세스를 사용하는 것이다.

추출 연구의 설계는 추출물 평가의 목적과 요구받는 질문, 추출할 시험 물질의 화학적 조성에 관해 이용할 수 있는 정보에 따라 설계된다. 추출 연구는 다음과 같은 질문에 답하도록 설계될 수 있다.

- 특정 포장 구성요소 또는 구성 재료에 있는 화학 첨가제는 무엇인가?
- 특정 포장 구성요소에서 의약품 제형으로 화학 첨가제가 최대 얼마나 축적되는가?
- 사용기간 만료 완제의약품의 침출물 프로파일에서 예상되는 내용은 무엇인가?

이러한 각 질문을 해결하려면 추출 시간, 추출 온도, 추출 용매, 추출 기법, 샘플 표면적 대 추출 용매 부피 비율 등과 같은 일련의 특정한 파라미

터가 필요하다. 분명히, 추출물 평가의 목적은 연구 설계가 완료되기 전에 설정되어야 한다. 예를 들어, 추출 연구의 목적이 최악 조건의 침출물 프로파일을 시뮬레이션하는 것이라면 연구는 다음과 같은 추출물을 생성해야 하는 시뮬레이션 연구라고 할 수 있다:

- 최종제품에 추후 중요하다고 간주할 만한 농도로 침출되는 모든 물질(추출물)을 포함한다.
- 이러한 추출물은 사용기간 동안 언제든지 침출물로서 완제의약품에 축적되는 화학물질의 최대 농도보다 높은 농도로 포함되어 있어야 한다.
- 완제의약품 침출물 연구에 필요한 것보다 더 효율적이고 짧은 시간 안에 생성된다.
- 화학분석이 가능하다.

시뮬레이션 연구의 개념은 「의약품 포장/전달 시스템에서의 침출물 평가」에서 자세히 설명한다. 추출 프로세스가 수행되는 방법은 다음을 포함한 여러 실험 파라미터를 제시해야 한다:

- 추출 매질의 화학적 성질
- 추출 과정의 지속 기간
- 추출이 수행되는 온도 및 압력
- 추출 공정의 화학량론(추출 용액 단위 부피당 추출된 표면적)
- 추출이 수행되는 기전 또는 과정

추출 프로세스는 “가속(accelerated)”, “침습(aggressive)”, “완전(exhaustive)”, “강력(vigorous)”, “가혹(harsh)” 등으로 기술되었으며, 의료기기 연구의 경우 이러한 용어 중 일부가 정의되었다. 일반적으로 추출 프로세스는 적절한 시간 내에 완료해야 하지만 추출물 프로파일의 정성적 및/또는 정량적 특성에 영향을 줄 정도로 침습적이어서는 안 된다. 가장 침습적인 추출 조건은 성분 및 재료의 화학 첨가제 함량의 정량적 측정을 위해 사용된다. 이러한 연구는 특정 기지 화학 첨가제를 정량화하기 위한 것이며, 완제의약품 침출물 프로파일을 시뮬레이션하기 위한 것이 아니기 때문에, 손실이나 화학적 변형 없이 목표 첨가제를 회수하는 동안, 추출되는 성분 또

는 물질을 방해하거나 용해하는 추출 조건을 사용하는 것과 추출물 프로파일을 변경하는 것이 허용된다.

5.2 추출 매질의 화학적 성질

추출물 생성과 관련된 모든 파라미터 중에서 추출 매질은 추출이 가능하게 하므로, 가장 중요하며, 다른 모든 파라미터는 단순히 추출을 쉽게 하는 역할을 한다. 추출 매질은 설정하고 타당하게 설정하는 것은 전략적으로 간단하고 전술적으로 복잡하다. 전략적으로, 특정 추출 연구의 목적이 예를 들어 최악 조건의 침출물 프로파일을 시뮬레이션하는 것이라면, 이상적인 상황은 추출 용매가 제제와 유사하거나 더 큰 물질 추출 경향을 보여서 유사한 정성적 및 정량적 추출물 프로파일을 얻는 것이다. 이는 가이드라인 및 권고사항에 명확하게 명시되어 있다. 따라서, 이 시뮬레이션 연구에 대한 가장 논리적인 방법은 제제 자체를 추출 매질로 사용하는 것이고, 복잡한 요소가 없는 경우 이러한 접근 방식이 권장된다. 그러나, 어떤 경우에는 제제를 추출 매질로 사용하는 것이 추출물 특성 분석을 복잡하게 만들어 비실용적일 수 있다. 다양한 가이드라인 및 권고사항에서 완제의약품의 추출 용매로 사용할 수 없는 경우, 완제의약품의 용제 또는 위약을 효과적인 추출 매질로 사용할 수 있음을 시사하고 있다. 이 권고사항은 원료의약품 자체가 일반적으로 완제의약품의 "침출력(leaching power)"을 생성하지 않고, 오히려 제제 성분(완제의약품의 용제)이 접촉된 물질로부터 침출물을 발생시키는 완제의약품의 성능을 결정한다.

시뮬레이션 용매를 사용하여 추출 연구를 수행해야 하는 상황에서는, 이러한 용매의 조성을 확립하고 타당성을 확인하는 것이 필요하다. 이 목표를 달성하기 위해, "추출력"에 영향을 미치는 제제 및/또는 시뮬레이션 용매의 모든 물리 화학적 특성을 고려해야 한다. 특정 상황에서는, 제제가 중요 특성이 쉽게 확인되고, 시뮬레이션 할 수

있을 만큼 적당히 단순해야 한다. 예를 들어, 가용성 성분(예를 들어, 원료의약품, 완충액 및 부형제로 구성된 주사제)으로 구성된 극성 수성 의약품의 추출력은 유기 추출물의 경우 주로 그 완제의약품의 pH에 의해 결정된다. 이러한 경우, 추출 연구를 위해 분석 가능한 완충액으로 의약품 pH를 시뮬레이션 시험하는 것이 적절하고 타당할 수 있다. 무기 추출물의 경우 완제의약품의 용제와 유사한 금속 킬레이트 특성을 갖는 시뮬레이션 용매를 사용하는 것도 적절하고 타당할 수 있다. 대부분의 비극성 의약품은 분석적으로 편리한 유기 용매로 쉽게 시뮬레이션을 할 수 있다. 예를 들어, 정량흡입기(MDI)에 사용되는 클로로플루오로카본 및 히드로플루오로알칸과 같은 추진제는 추출 용매로 디클로로메탄을 사용하여 시뮬레이션할 수 있으며, 이소프로판올은 정량흡입기(MDI) 제제의 일반적인 공용매인 에탄올을 시뮬레이션할 수 있다.

많은 완제의약품은 조성적으로 앞서 논의한 극성과 비극성 사례 사이의 중간 형태이다. 이러한 의약품의 예로는 안정제, 가용화제, 킬레이트화제 및 완충제를 함유하는 “수성(aqueous)” 완제의약품, 지질 함유 의약품, 단백질 또는 펩티드를 함유하는 생물학적제제 및 혈액 제제 등이 있다. 이러한 제품에는 추출력을 좌우하는 특유의 극성이 있다. 따라서, 적절한 시뮬레이션 용매는 완제의약품과 비슷한 극성을 가져야 한다. 혼합 가능한 용매(예를 들어, 알코올/물)의 이원 혼합물은 이러한 유형의 완제의약품에 대한 시뮬레이션 용매로 사용된다.

특정 완제의약품에서는 단일의 시뮬레이션 용매로, 타당성을 확립할 수 없는 경우도 있을 수 있으며, 추출물 평가의 목적이 조성적으로 다양한 완제의약품의 특성 분석에 사용될 물질 혹은 시스템일 수 있다. 이 경우에 포장 시스템에서 화학 물질을 침출하는 완제의약품의 성능은 여러 추출 용매의 사용을 기반으로 확립될 수 있으며, 각 용매는 검토 중인 완제의약품과 관련된 추출 기전

중 하나(또는 그 이상)에 대응한다. 다중 용매의 사용은 포장 시스템과 제형의 상호작용이 상대적으로 높은 위해성을 가지며 투여 경로와 관련하여 상대적으로 높은 안전성 위해(예를 들어, 흡입 에어로솔제, 액제, 주사제, 현탁성 주사제)를 갖는 제제의 경우 산업체 주도로 대표적으로 실시해야 하는 권고사항이다. 따라서, 극성, pH, 이온 강도 또는 추출력이 다른 여러 용매(또는 추출 용매)의 사용은 완제의약품 침출물 프로파일을 시뮬레이션하기 위한 추출 연구가 필요한 높은 위해도의 제형 포장 시스템 구성 요소 및 재료에 권장된다(표 1 참조). 추출물 평가의 목표가 재료의 특성 분석이라면, 완제의약품의 용제를 시뮬레이션하는 것은 불필요하고 바람직하지도 않은데, 이는 추출물 평가의 목표가 정성적 및 정량적으로 효율적인 추출을 요구하기 때문이다. 일반적으로 재료의 폴리머 매트릭스를 연화, 팽윤 또는 용해하거나 첨가제 및 다른 화학물질을 정량적 수준으로 방출하는 것은 상대적으로 강력한 유기 용매 시스템만이 그러한 추출을 할 수 있다.

만약 추출물 평가의 목표가 재료의 특성 분석인 경우, 정성적 및 정량적인 효율적 추출이 필요하므로 완제의약품의 용제를 시뮬레이션하는 것은 불필요하며 바람직하지도 않다. 일반적으로 고분자 매트릭스를 물리적으로 연화시키거나 팽윤시키거나 용해시킬 수 있고, 첨가제와 기타 화학물질을 정량적인 수준으로 방출할 수 있는 비교적 강력한 유기 용매 시스템으로만이 이러한 추출을 달성할 수 있다.

5.3 추출 시간 및 온도

추출 시간과 온도는 추출 과정에서 중요한 요소이다.

추출 용매의 특성이 추출의 정도(즉, 평형 상태에서 재료에서 추출할 수 있는 물질의 양)를 결정하지만, 추출 시간과 온도의 조합은 실험 결과 평형 도달에 대한 감도를 결정한다. 시뮬레이션 추출 연구에서 온도를 상승시키는 목적은 추출 속

표 1. 특정 포장_구성요소에 따른 추출 가능 매질

포장 구성요소	추출 가능 매질 ^a
정량 흡입제(MDI) 밸브 엘라스토머 봉합 (MDI의 제제 조성물에는 1,1,1,2-테트라플루오로에탄 및 에탄올이 함유됨)	비수성용매 (예를 들어, 디클로로메탄, 이소프로판올, 헥산) ^b
흡입분말제 마우스피스	물(비완충) 이소프로판올 ^c
소용량 주사제의 바이알 고무마개(pH 6.5 완충 수성 제제)	물(pH 5.2) 물(pH 9.5) 이소프로판올 : 물(50:50) ^d
대용량 주사제의 플라스틱 백(pH 7.2로 완충 수성 제제)	물(pH 5.2) 물(pH 9.5) 이소프로판올 : 물(50:50) ^d

^a 표 1에 나열된 매질은 가능성에 대한 표준 권장 사항은 아니다.

^b 이 추출 매질은 정량 흡입제(MDI)의 제제에 사용되는 유기 용매의 다양한 극성을 반영한다.

^c 이 추출 매질은 사람 타액의 친수성 및 친유성 특성을 모두 반영하여 재료의 특성 분석을 가능하게 한다.

^d 이 추출 매질은 제제의 화학적 특성을 반영한다. 추출 매질의 pH 범위가 제품의 pH 한도값을 포함하고, 약간 넘어가는 것을 사용하는 경우에는 의약품의 pH 한도값이 추출물 프로파일에 잠재적 pH 영향을 미치게 된다. 유기 용매를 포함하는 수성 혼합물을 사용할 때는 제제의 침출력에 영향을 줄 수 있는 가용화제와 같은 제제 첨가제의 존재 가능성을 고려한다. 사용되는 특정 유기 용매와 추출 용매에서의 비율은 제제의 특이적이고, 화학적 특성과 추출물 시험과 관련된 실험적 이슈에 따라 다르다.

도를 높이는 것이므로 짧은 실험 시간으로 더 긴 침출 시간을 시뮬레이션할 수 있다.

추출은 확산 과정이기 때문에 확산속도와 온도 사이의 관계는 아레니우스 방정식으로 실험적으로 표현할 수 있다. 아레니우스 식에 의해 추출되는 과정과 관련된 계산은 ASTM F1980-07(2011) 의료기기용 멸균 장벽 시스템의 가속 시험에 대한 표준 가이드에서 확립되었으며, 이는 가속 조건을 설정하는 데 유용한 가이

드가 될 수 있다. 이러한 모든 모델과 마찬가지로 이 모델을 올바르게 사용하려면 모델의 기초, 기본원칙, 가정 및 제한사항에 대한 이해가 필요하다.

어떤 주어진 추출 매질과 추출 기법으로 얻은 추출물 프로파일을 통해 평형 수준 또는 추출물의 점근선 달성을 모니터링 할 수 있다(그림 1 참조).

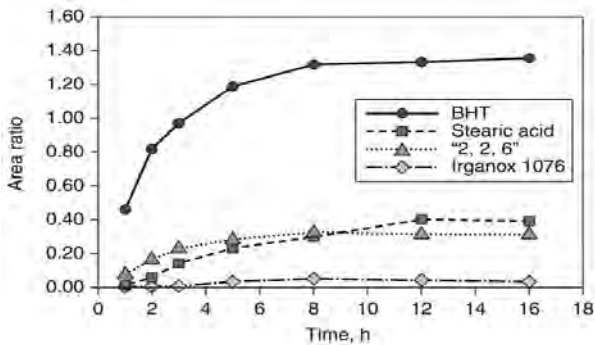


그림 1. 추출 시간의 함수로 개별 표적 추출물의 점근선 달성으로 표시되는 평형에 도달한 추출의 도식(즉, 추출 시간에 따른 내부 표준물질에 대한 표적 추출물의 GC/MS 피크 면적 비).

5.4 추출 화학량론

추출 화학량론은 추출 매질의 부피에 대한 시험 물질의 상대적 물리적 질량 및/또는 표면적과 추출 시 재료의 실제 물리적 상태를 고려한다. 추출 화학량론은 보다 농축된 추출물의 생산을 쉽게 하도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 5 mL의 액상 제제가 들어 있는 바이알의 고무마개의 경우를 고려할 때 추출 용매 200 mL에도 마개 20개를 통하여 추출할 수 있는 양이 완제의약품보다 더 농축된 추출을 할 수 있다(즉, 완제의약품의 침출물 수준보다 더 높은 수준의 추출물). 추출 화학량론의 또 다른 측면은 시험 물질의 물리적 상태를 확인하는 것이다. 추출하기 전에 구성요소 또는 재료를 절단, 개봉, 분쇄 또는 기타 크기나 구성으로 변경하는 것은 흔한 일이다. 필름 라미네이트와 같이 불균일하거나 층이 있는 재료의 경우, 일반적인 조건에서는 추출용매와 재료의 접촉이 방해되므로 추출 전 절단 혹은 분쇄 공정으로 추

출 용매가 재료(층)와 접촉(따라서 더 효과적으로 추출)되는 방법을 사용하여 추출물 프로파일을 생성할 수 있다. 크기가 조정된 재료를 사용하면 추출 과정이 더욱 용이해진다고 말할 수 있으나, 크기 조정으로 인해 침출물에서는 나타나지 않을 수 있는 추출물이 생성될 수도 있다. 그럼에도 불구하고 추출 전 구성요소 또는 재료의 일부 크기 조정은 다음과 같은 특정 상황 및 특정 목적에 유용할 수 있다: (ㄱ) 일관되게 준비된 분쇄된 균질 중합체 재료의 사용으로 시료 간 변동성을 줄인다. (ㄴ) 추출 연구에 표준화된 실험실 유리 기구를 사용할 수 있도록 대형 포장 구성요소의 크기를 줄인다. (ㄷ) 추출 효율을 높이기 위해 포장 구성요소 또는 시험 재료의 표면적을 증가시킨다(예를 들어, 압출, 압착 또는 분쇄 등의 방법). 추출 연구에서 이러한 크기 조정 방법을 사용하기 전에 모든 경우에서 추출물 프로파일에 대한 시험 물질의 물리적 크기 조정이 미치는 영향을 주의 깊게 고려해야 한다.

제조업자의 정보를 기반으로 화학성분이 알려진 구성 요소 혹은 재료와 관련된 추출물 평가의 경우, 분석자는 알려진 화학 첨가제 및 분석기술 감도를 기반으로 추출 화학량론을 조절하여 추출물을 평가한다. 예를 들어, 표 2에 표시된 정량흡입제(MDI) 밸브의 과산화물 경화 에틸렌-프로필렌-디엔-모노머(즉, EPDM) 개스킷의 조성을 고려한다.

표 2. 정량흡입제(MDI)에 사용되는 과산화물 경화 고무 개스킷 시험 물질의 성분

엘라스토머 성분	양(%)
EPDM 폴리머	64.0%
무기질 첨가제(스테아르산을 포함할 수 있음)	34.4%
항산화제 1: (히드록시톨루엔 부틸르산)	0.3%
항산화제 2: (2,2'-메틸렌-비스-[6-(1,1-디메틸에틸)-4-메틸 페놀])	0.3%
과산화물 경화제	1.0%

구성요소 및 재료 공급업체에서 제공하는 이러한 정보는 추출 연구의 설계에 유용할 수 있다.

분석자는 또한 추출 화학량론을 기반으로 침출물 안전 역치 확립에 사용할 수 있다. 예를 들어, 흡입제에서 개별 유기 침출물에 대한 일일 총섭취량 0.15 µg/day 안전성 우려 역치(SCT)로 제안되었으며, 이는 흡입제 및 점비제에도 해당된다. 예를 들어, 정량흡입제(MDI)에서 안전성 우려 역치(SCT) 혹은 그 이상으로 존재하는 침출물은 분석 및 독성학적으로 평가되어야 하며, 이는 추출물 평가도 안전성 우려 역치(SCT)를 염두에 두고 실시하여야 함을 의미한다. 침출물 평가에서 안전성 우려 역치(SCT) 및 분석 평가 연치(AET)와 같은 역치를 적용하는 방법은 「의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물 평가」에서 자세히 설명한다.

요약하면 추출 화학량론(추출 연구에서의 "민감도")은 다음을 기반으로 할 수 있다.

- 구성요소 또는 재료의 알려진 화학성분
- 완제의약품 침출물에 대한 안전성 기반 역치
- 추출물의 특성 분석에 사용되는 분석 기기의 알려진 혹은 결정된 민감도

5.5 추출 기전-추출 기법

추출은 다양한 방법으로 수행할 수 있다. 추출을 수행하는 수단이 추출물 평가의 목적과 일치해야 한다. 일반적인 실험실적 추출 기법은 다음과 같다.

- 침적(용매 담금)-용매의 끓는점보다 낮은 온도에서 시험 물질을 유기 또는 수성 추출 용매에 일정 시간 동안 담근다. 분석자는 또한 추출 용매로 포장 시스템을 채우고 적절한 온도에서 보관할 수 있다.
- 환류 추출 - 시험 물질을 일정 시간 동안 끓는 용매에 담근다.
- 속슬렛 추출 - 끓는 플라스크/냉각기 시스템에서 재증류된 용매로 서서히 채워지는 속슬렛 추출 장치의 "팁블(thimble)"에 시험 물질을 넣고

사이편 현상으로 주기적으로 추출 용매(추출물 함유)를 끓는 플라스크로 다시 이동하도록 하고 그 과정을 반복한다(평형에 도달하는데 필요한 횟수만큼).

- 밀봉 용기-시험 물질과 추출 용매가 상승된 온도와 압력을 견딜 수 있는 용기 내부에 밀봉하여 실험실용 고압증기멸균기에 넣고 일정 시간 동안 증기로 가열한다.
- 기구 기반 용매 추출-시험 물질을 밀봉된 자동화된 장치에 넣고 자동화된 주기로 추출한다. 예를 들어 가압 유액 추출, 마이크로파 지원 추출 및 초임계 유액 추출이 있다.
- 초음파-시험 물질과 추출 용매를 유리 용기에 넣고 일부분을 초음파 수욕에 담근다.

이러한 추출 기전/기법은 각각 고유한 장점과 한계가 있다. 예를 들어, 환류 추출은 매우 효율적이지만 특정 응용 분야에서는 너무 가혹할 수 있으며 특정 유기 추출물의 열분해를 유발할 수 있다. 초음파 추출 성능은 제어하기 어려울 수 있고 물은 상대적으로 끓는점이 높아서 환류 및 속슬렛에서 성능이 좋지 않지만, 밀봉 용기에서는 잘 작동한다.

추출물 평가의 목표가 구성요소 혹은 재료의 화학적 첨가물 함유량의 확인하고, 정량하는 경우, 구성요소 혹은 재료를 연화, 팽윤 혹은 용해(또는 무기 추출물의 경우 분해)하는 추출 기법 및 과정을 사용하는 것이 보통이며, 분석을 위한 화학 첨가제의 정량적인 양이 방출된다.

5.6 용매를 매개로 하지 않는 추출

모든 의약품 또는 재료-접촉 상황에 용액이 매개되는 것은 아니며, 재료 유래 화학물질의 침출과 관련된 모든 문제가 용액상에서만 나타나는 것은 아니다. 예를 들어, 건조 분말 흡입기에서 사용되는 캡슐 또는 블리스터 팩에 삽입된 분말 흡입은 캡슐 또는 블리스터 재료에서 혹은 이형제(mold-release agent)와 같은 특수 표면 첨가

제에 의해 침출된 휘발성 물질을 가질 수 있다. 내용고형제는 제제의 플라스틱병은 부착된 종이 라벨의 접착제로부터 유래된 휘발성 침출물을 함유할 수 있다. 저밀도 폴리에틸렌 용기로 포장된 흡입 용액에는 3차 포장 또는 목재 운송 팔레트와 같은 보조 구성품으로부터 발생한 휘발성 이동물이 포함될 수 있다. 후자의 두 경우에서의 화학물질은 플라스틱 용기를 통해 이동한 후 제형 내의 이동물로서 축적된다.

휘발성 유기 화합물에 적용하기 위해 특별히 설계된 추출 기법은 일반적으로 분석기와 직접 연결한다. 이러한 추출 기법에는 헤드스페이스 분석법(헤드스페이스 기체크로마토그래피, HD/GC), 직접열탈착분석법(일반적으로 기체크로마토그래피에 결합, TD/GC) 및 열중량분석법(TGA/GC)이 포함된다.

6. 추출물 평가

6.1 목표 및 과제

추출물이 얻어지면 다음 목표는 추출물의 화학적 특성을 철저히 분석하는 것이다. 특성 분석이 필요한 개별의 추출된 화학물질의 역치를 규정된 수준으로 설정은(위에서 설명한 대로) 안전성 우려 역치(SCT)와 같은 안전 고려 사항을 기반으로 할 수 있다. 추출된 구성요소 또는 의약품 처방의 구성물 중 기지의 화학 첨가제의 표시 수준을 포함하는 기능적 고려사항; 또는 분석기법, 기기 또는 방법의 알려진 또는 결정된 감도와 같은 기술적 고려 사항을 기반으로 할 수 있다. 추출 연구의 추출물 특성 분석 단계는 추출물 평가의 전체 목표를 달성할 수 있어야 한다.

위에서 정의한 추출물의 철저한 특성 분석의 궁극적인 목표가 최첨단 분석화학이 최상의 기술과 노력으로 진행되는 경우일지라도 모든 경우에 실현될 수는 없다.

학계에 알려진 모든 유기 및 무기 추출물의 화학물질의 발견, 확인 및 정량할 수 있는 분석기법이

나 분석기법의 조합이 없는 것이 현실이다. 어떤 경우에는, 유기 추출물에 대한 인증 표준품을 확인시험의 확증 또는 정량 장비의 검정을 위해 구하지 못할 수도 있다. 따라서, 추출물의 특성 분석의 실질적인 목표는 규정된 수준 또는 역치를 초과하여 존재하는 추출물에 개별 추출물의 모든 화학물질에 대하여, 합리적인 수준의 과학적 확실성으로 발견, 확인 및 정량하는 것이다.

6.2 추출물 특성 분석 과정

6.2.1 탐색

사전 탐색에서 가장 유용한 분석기법은 화학물에 특이적인 것이 아니다. 어느 특정 추출물의 분자 구조 또는 추출물의 화학적 종류에 특이적인 화학적 정보를 제공하지 않기 때문이다. 이러한 분석기법은 추출물에 존재하는 유기 및/또는 무기 화학물질의 집합적 화학적 특성(bulk chemical properties)에 관한 정보를 제공하며, 이는 추출물 발견, 확인 및 정량을 하는 데 사용할 수 있다. 탐색 분석은 어떤 탐색 기법 또는 기법 조합이 적용되었는지에 관계없이 추출물 특성 분석의 목적을 달성할 수 없다.

탐색에 사용할 수 있는 분석기법은 표 3에 나열되어 있고, 각 기법에서 사용할 수 있는 특정 집합적 화학적 특성(그리고 이 특성의 활용 가능성)과 함께 나와 있다. 탐색의 유용성에 대한 몇 가지 예는 다음과 같다:

- 중량 분석에 의해 결정된 상당한 수준의 비휘발성 잔류물은 추출물에 상당한 수준으로, 무기 화학물질이 들어 있음을 나타낸다고 할 수 있다. 이 제안은 추출된 비휘발성 잔류물(강열잔분)을 재처리한 후 상당한 질량이 남아 있는 것으로 뒷받침된다.
- 추출물의 자외부 흡수가 현저하게 나타나면, 페놀계 산화 방지제와 같은 분자구조 내에 자외선 발색단을 포함하는 유기 화학 물질이 존재함을 나타낸다.
- 이 추출물의 적외선 스펙트럼의 특징은 존재

하는 유기 추출물의 화학적 종류에 대해 더 자세히 이해할 수 있게 한다. 이러한 이해를 통해 탐색 과정에서 제안한 추출물의 화학적 종류를 탐지하기 위한 발견 및 식별을 위한 분석 방법을 개발하고 적용하는 데 이용할 수 있다.

- 수성 추출물의 경우 총 유기체 탄소는 존재하는 유기 추출물의 총량의 척도를 제공한다.

탐색 과정 및 탐색 분석은 추출물 특성 분석을 위한 선택사항이다. 탐색은 발견, 확인 및 정량을 위한 지침을 제공하는 데 유용하다.

6.2.2 발견

발견과정에는 추출물을 시험하여 개별 추출물에 기인하는 하나 이상의 분석 결과를 생성하는 것이 포함된다. 발견과정은 추출물 내의 이러한 개별 유기 및 무기 추출물로부터 개별 추출물의 수준에 비례하는 기기 반응을 감지하여 수행된다. 발견과정에서는 추출물 특성 분석을 위해 일반적으로 미량 유기 및 무기 분석과 관련된 분석기법이 필요하다. 미량 유기 분석에는 일반적으로 크로마토그래피, 특히 기체크로마토그래피(GC) 및 고성능액체크로마토그래피(HPLC)가 사용된다. GC는 휘발성 및 반휘발성 유기 화합물에 대해 상당한 분리능을 가지고 있지만, HPLC는 반휘발성 및 상대적으로 비휘발성 유기 화합물에 가장 많이 적용되므로, 두 가지 분리 기법은 화학적 다양성이 상당한 추출물에 적용하는 데 있어 상호보완적이고 독립적이다.

극성 및 휘발성과 관련하여 추출물의 화학적 다양성으로 인하여 특히 GC의 경우 대체 검체 도입 기술 또는 검체의 변형이 필요할 수 있다. 메탄올과 같은 상대적으로 휘발성인 추출물은 GC에서 수성 기반 추출물의 헤드스페이스 검체채취를 하기에 가장 적합하다. 유기산에 대한 메틸화 또는 실릴화와 같이 화학적 유도체화를 한 다음에 GC로 유기산 및 염기를 보다 효과적으로 분석할 수도 있다. GC와 HPLC는 다양한 화학적 종류의 추출물의 고유한 구조적 특성을 활용하여 서로 다른 특이성을 지닌 검출 시스템을 사용할 수 있

다(표 3).

표 3. 추출 분석을 위한 분석법의 조사

분석 기법	분석 방법	응용 분야				정보/활용성
		탐색	발견	확인	정량	
분광학	UV	×		×		자외선을 흡수하는 유기 추출물의 집합적 특성; 확인 까지는 어려운 반정량 방법
	FTIR ^a	×		×		적외선을 흡수하는 유기 추출물의 집합적 특성, 적당한 확인 시험
습식 화학	NVR ^b , ROI ^c	×				비휘발성 유기 및/또는 무기 추출물의 총량을 반영하는 집합적 특성
	pH	×				산성 또는 염기성 추출물의 집합적 특성
	TOC ^d	×				유기 추출물의 정량적 측정
기체크로마토그래피	FID ^e		×	×	×	개별 유기 추출물의 발견 및 정량적 평가; 정성적 확인 가능
	MS		×	×	×	개별 유기 추출물의 확인; 정성적 또는 구조상의 확인이 가능한지에 유의
	FTIR ^a		×	×		개별 유기 추출물의 발견 및 확인; FTIR에는 구조분석은 어려움(그러나 정성 분석을 통한 확인은 가능)
액체크로마토그래피	UV, CAD ^f , and ELSD ^g		×		×	개별 유기 추출물의 발견 및 정량적 평가; 정성 분석을 통한 확인이 가능하고, 광다이오드 어레이(UV) 검출기가 구조분석에 도움이 됨
	MS		×	×	×	개별 이온 추출물의 발견, 확인 및 정량; 확인은 정성적 또는 구조적으로 가능하고, 감도가 다른 이온화 장치 이용 가능
	FTIR ^a		×	×		개별 유기 추출물의 발견 및 확인; FTIR은 구조분석은 어려움(그러나 정성 분석을 통한 확인은 가능)
	NMR ^h		×	×		개별 유기 추출물의 확인; 정성적 또는 구조상의 확인이 가능
이	전기		×		×	일반적으로 개별 이온

분석기법	분석방법	응용 분야				정보/활용성
		탐색	발견	확인	정량	
온크로마토그래피	전도도					중의 발견 및 정량
	MS		×	×	×	개별 이온 추출물의 발견, 확인 및 정량; 확인은 정성적 또는 구조적으로 가능하고, 감도가 다른 이온화 장치 이용 가능
분광법	MS			×		개별 유기 추출물의 확인
	NMR ^h			×		개별 유기 추출물의 확인
	IMS ⁱ		×	×	×	개별 유기 추출물의 발견 및 정량적 평가; 다양한 이온화 장치가 이용 가능하고, 정성적 확인 가능
원자흡광광도법	AAS ^j		×	×	×	추출된 개별 원소(미량 원소, 금속)의 발견, 확인 및 정량.
	ICP-AES ^k		×	×	×	
	ICP/MS ^l		×	×	×	AAS는 한 번에 하나의 원소에만 적용. 추출된 원소의 화학적 형태의 확인이나 화학종의 규명은 추가 시험 필요

^a FTIR = 푸리에변환적외분광법

^b NVR = 비휘발성 잔류물

^c ROI = 강열잔분시험법

^d TOC = 유기탄소시험법

^e FID = 불꽃이온화검출기. 추가적인 GC 검출기, 예를 들어 열에너지분석검출기(TEA)는 특정 화합물 종류에 대해 더 큰 감도를 제공할 수도 있다.

^f CAD = 하전 에어로졸 검출기

^g ELSD = 증발 및 산란 검출기

^h NMR = 핵자기공명스펙트럼측정법

ⁱ IMS = 이온이동성분광법

^j AAS = 원자흡광광도법

^k ICP-AES = 유도결합 플라즈마-발광분광분석법

^l ICP/MS = 유도결합 플라즈마/질량분석법

유기 추출물 발견에 유용한 분석기법은 정량뿐만 아니라 확인에도 적용될 수 있다. 확인에 가장 자주 적용되는 기체크로마토그래피/질량분석계(GC/MS)와 같은 분석기법은 발견 및 정량에 모두 사용할 수 있다(표 3). 미량 원소 및 금속과 같은 무기 추출물은 일반적으로 발광분광분석법

과 같은 동일한 분석기법들을 통해 발견, 확인 및 정량한다. 무기 화학종(특히 수성 추출물)을 규명하기 위해 고안된 분석기법은 이 장의 범위 밖이다.

중요하게 언급하고자 하는 것은 추출 연구의 전반적인 목표는 개별 유기 및 무기 추출물의 확인시험과 정량시험을 필요로 하기 때문에 추출물을 단순히 발견하는 것만으로는 추출 연구의 궁극적인 목표를 달성할 수 없다는 것이다.

6.2.3. 확인

추출물의 확인은 구조분석 또는 정성분석을 통해 수행할 수 있다. **구조분석(Structural analysis)**은 화합물별 특이적인 데이터로부터, 미지의 분석물의 분자구조를 밝히는 과정이므로 미지 분석물의 화합물별 특이적인 검출이 필요하다. 화합물별 특이적인 검출기는 단순히 화학적 종류가 아니라 미지의 개별 분석물의 분자구조에 특이적인 정보를 제공하는 것이다. **정성분석(Qualitative analysis)**은 하나 이상의 분석기법을 통해 미지의 분석물을 인증 표준물질과 일치시키는 과정이다. 정성분석에 사용되는 분석기법은 화합물 특이적일 수 있지만 반드시 그럴 필요는 없다.

구조분석 및 미량 유기 분석상의 문제에 가장 많이 적용되는 분석기법에는 일반적으로 크로마토그래피와 질량분석법의 조합이 있다. 이는 GC/MS 및 고성능액체크로마토그래피/질량분석법(LC/MS)의 소위 “연결” 기법이다. 질량분석법(GC/MS와 LC/MS 모두 포함)의 원리에 관한 내용은 질량분석법에 나온다.

GC/MS 및 LC/MS는 모두 크로마토그램의 형태로 추출물 프로파일을 생성할 수 있다. 그러나, LC/MS는 상대적으로 높은 HPLC 이동상 이온의 상대적으로 높은 화학적 배경신호를 포함하므로 개별 추출물 피크의 위치를 찾는 데 도움을 주기 위해 일반적으로 질량분석기와 연속하여 비파괴 UV 검출기를 사용한다. 질량분석법에서 얻을 수 있는 화합물 특이적 데이터는 다음과 같다:

- 하나 이상의 이온화 과정에서 분자 이온의 확

인을 기반으로 하는 해당 추출 성분의 단일 동위 원소 분자량

- 분자 이온의 정확한 질량 측정 및/혹은 정확한 동위 원소 비율 측정을 기반으로 하는 해당 추출 성분의 분자식
 - 이온화 장치 내 단편화 혹은 탠덤 질량분석법을 기반으로 하는 해당 추출 성분의 단편화 거동
- 전자이온화와 관련된 GC/MS는 기지 화합물의 질량 스펙트럼 전산화 데이터베이스 또는 라이브러리를 통해 검색할 수 있는 질량 스펙트럼을 생성한다. 검색 가능한 질량 스펙트럼은 시간 및 다양한 기기와 실험실 간 스펙트럼 변동성 때문에 LS/MS 이온화과정에서 일반적으로 얻어지지 않는다는 점에 유의한다. GC/MS와 LC/MS는 모두 미지 추출물의 머무름 시간(또는 머무름 지수)을 포함하며, 이는 인증 표준화합물과 비교할 수 있다.

유기 추출물의 수와 화학적 다양성을 감안할 때 모든 성분의 확인을 확증하기 위해 인증 표준화합물을 구할 수 있다고 (혹은 만들 수 있다고) 예측하는 것은 합리적이지 않다. 따라서 확인의 신뢰수준을 설정하고 적절하게 활용하는 것이 필요하다. 일반적으로 GC/MS 및 LC/MS 분석에서 얻은 데이터는 개별 추출 성분의 확인 사항을 확증, 확립된 또는 잠정의 카테고리로 지정한다(2) (아래 항목 ㄱ ~ ㄴ 참조):

- (ㄱ) 질량분석법의 단편화 특성 / 전문가의 질량 분석법 해석
- (ㄴ) 분자량 확인
- (ㄷ) 원소 조성 확인
- (ㄹ) 질량 스펙트럼의 자동화 라이브러리 또는 문헌참고 스펙트럼과 동일
- (ㄺ) 질량분석법 및 크로마토그래피 머무름시간의 인증 표준화합물과의 일치
- (ㅁ) 독립적인 확인법에서 스펙트럼 정보 지원 (예를 들어, NMR)

- 잠정 확인(Tentative identification)은 분자의 분류만 일치하는 데이터를 획득했음을

의미한다. 이는 일반적으로 (ㄱ) 또는 (ㄷ)과 같은 정보만이 있을 때 해당된다.

- 확신 확인(Confident identification)은 추가적이고 충분히 확증적인 정보에 의해 잠정 확인이 보강되어 가장 밀접하게 관련된 구조들을 거의 모두 배제하였음을 의미한다.

예를 들어, 잠정 정보, (ㄱ) 또는 (ㄷ)가 (ㄴ), (ㄷ) 또는 (ㅁ)에 의해 보강된 경우이다. 확증적인 정보가 더 많이 얻어질수록 신뢰수준은 높아진다.

- 확증 확인(Confirmed identification)이란 근거의 충분하여 해당 물질이 제공된 확인으로도 확증하는 것을 의미한다. 고도의 확신 확인은 충분한 근거에 의해 시사되는 기준을 충족하는 것이 가능하지만 {예를 들어, (ㄱ), (ㄴ), (ㄷ), (ㄹ), (ㅁ) 포함}, 확립된 확인을 제공하는 유일한 수단은 질량 스펙트럼과 머무름시간이 인증 표준화합물과 일치하는지를 보는 것이다(ㄴ 항목).

이러한 확인의 범주들은 질량분석법을 기반으로 하지만 다른 분석기법의 자료를 사용하여 추출물을 확인할 수 있다. 이러한 기법에는 GC/FTIR (푸리에변환적외분광법) 및 LC/NMR (핵자기공명스펙트럼측정법)이 포함된다. 이러한 분석기법과 잠재적 다른 분석기법은 질량분석법을 보완하는 화합물 특이적 자료를 생성할 수 있다.

개별 추출물에 요구되는 확인의 수준은 확인의 용도에 따라 다르다. 적용 가능한 규제 가이드라인을 적절히 고려한 후에 이를 결정하는 것은 추출 연구를 담당하는 규제기관의 몫이다.

미량 원소 및 금속과 같은 잠정적 무기 추출물은 유기 추출물 들에 비해 한정적이기 때문에 무기 추출물에 관한 확인 및 정량분석이 동시에 이루어진다. 원소분석은 비교적 간단하지만, 문제가 없는 것은 아니다. 원자분광법을 기반으로 값이 엄격하고 정확하려면, 위양성 반응 및 스펙트럼 또는 질량의 간섭 문제가 언급되어야 한다. 또한 원소분석은 추출물의 화학적 종류의 규명이 아니

라 각 원소별로 확인 및 정량을 하는 것이다. 따라서 원소분석 결과의 영향을 해석하려면 중요하다고 간주되는 원소의 상세 화학종의 규명과 같은 추가 연구가 필요할 수 있다. 예를 들어, 원자 분광법에 따라 추출물에서 황을 발견한 것은 중요한 결과이지만, 이 발견의 안전성에 대한 영향은 황을 포함하는 화학종이 확립될 때까지는 확신할 수 없다. 이는 황 원소로서의 안전성 영향이 황산염으로서의 황의 안전성 영향과는 다를 수 있기 때문이다.

6.2.4. 정량

정량은 일반적으로 인증 표준품과 비교하여 추출할 수 있는 개별 추출물의 기기 반응을 기반으로 하므로, 개별 추출물을 분리하고(크로마토그래피로 직접적으로 혹은 선택적 검출을 통해 간접적으로) 추출물 중 그 수준 (혹은 농도)에 직접 비례하는 검출기 반응을 일으켜야 한다. 분석 시스템의 교정은 인증 표준화합물(외부 표준품)의 분석을 통해 수행한다. 정확성과 정밀성을 높이기 위해 추출물 및 표준검량용액에 하나 이상의 내부표준품을 포함할 수도 있다. 인증 표준품을 사용할 수 없는 추출물의 함유량은 내부표준품 또는 유사한 분자구조의 다른 대체 표준품에 대한 반응(또는 반응 인자)을 이용하여 추정할 수 있다. 이러한 분석과정은 신뢰도가 높고 정확한 농도 추정값을 제공할 수 있지만, 내부표준품의 선택 및 사용을 결정해야 하고 타당성을 입증하도록 노력해야 한다. 적절한 내부표준품을 선택하는 기준은 문헌에 기재되어 있다.

6.3 분석용 추출물 준비

추출물은 종종 특별한 처리과정이나 농축과정 없이 직접 분석할 수 있다. 많은 유기용매 추출물(예를 들어, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 헥산)은 기체크로마토그래피에 직접 주입할 수 있지만, 다른 추출물(예를 들어, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올)은 가열된 기체크로마토그래피의 주입구에서 반응성이 너무 높거나 쉽게 가열이 된다.

기체크로마토그래피에 의한 직접 분석에 적절하지 않은 물리적/화학적 성질을 가진 유기용매 추출물은 더 적절한 용매로 변경할 수 있다. 지방산(예를 들어, 팔미트산, 스테아르산)과 같은 특정 추출물은 메틸에스테르 또는 트리메틸실릴에스테르로 유도체화 할 때 기체크로마토그래피에서 더 분석이 잘된다. 물의 반응성과 높은 끓는점으로 인해 기체크로마토그래피로 수성 추출물을 직접 분석하는 것은 일반적으로 적절하지 않은 것으로 간주된다. 또한, pH 완충액 수성 추출물에는 기체크로마토그래피 주입에 적합하지 않은 비휘발성 염이 포함되어 있다. 수성 추출물은 일반적으로 물로부터 유기 추출물을 빼내기 위해 유기용매로 역추출함으로써 기체크로마토그래피에 주입할 수 있는 유기추출물이 된다. 기체크로마토그래피와 달리 액체크로마토그래피(HPLC, LC/MS)는 대부분의 고속액체크로마토그래피(HPLC) 방법이 물 및 물과 섞이는 이동상을 포함하기 때문에 수성 추출물의 직접 분석에 매우 적합하다. 물과 섞이지 않는 유기용매(예를 들어, 헥산)는 이러한 역상 HPLC 시스템에 주입할 수 없으므로, 이를 건조하여 추출물 잔류물을 HPLC에 적합한 용매(예를 들어, 아세토니트릴, 메탄올 또는 이들과 물의 혼합물)에 녹여야 한다.

분석을 위한 추출물의 농도가 낮은 유기 또는 수성 추출물은 다양한 기법으로 농축할 수 있다. 많은 유기 용매는 불활성 기체, 회전 증발기 또는 구데르나-데니쉬(Kuderna-Danish) 농축기에서 건조할 수 있다. 수성 추출물은 동결 건조하거나, 진공 농축하거나, 유기 용매로 역추출한 다음 다시 농축할 수 있다.

추출물을 분석하는 최종 농도는 추출물 평가의 목표 및 적용된 분석기법의 고유한 감도에 따라 다르다. 타당한 “경험에 따르면”으로, 미지 추출물의 완전한 구조 분석을 수행하기 위해서는 GC/MS의 경우 기기에 약 5 ng 주입되어야 한다. 이는 주입된 추출물의 농도가 5 ng/ μ L 또는 5 μ g/mL임을 의미한다. 200 mL 디클로로메탄

추출액에서 추출된 시험 물질로부터의 특정 추출물이 총 1 mg 회수되는 것으로 환산된다. 이 시험 물질의 농도가 추출물 평가의 목표를 충족하기에 불충분한 경우에는 다음 파라미터를 최적화할 수 있다:

- 추출 화학량론(즉, 더 많은 물질을 추출하거나 더 많은 추출 용매를 사용)
- 추출 조건(즉, 더 높은 온도, 더 긴 시간, 더 큰 추출력을 가진 용매, 더 강한 추출 기법 등을 사용)
- 추출물 처리(즉, 추출물의 농도)

7. 요약

7.1 추출물 평가의 완결성

추출물 평가의 완결성은 평가의 전체 목표에 관해서만 판단될 수 있다.

예를 들어, 재료 특성 분석만을 위해 수행된 추출물 평가에는 재료 기반 역치(material-based threshold)(예를 들어, 10 ppm w/w)와 더불어 하나의 추출 용매, 하나의 추출 기법 및 일련의 추출조건이 포함될 수 있다. 이러한 추출물 평가는 정의된 역치를 초과하는 모든 추출물이 앞서 정의한 신뢰수준으로 확인되고 정량되었다면 완결한 것으로 간주할 수 있다. 안전성 역치(safety threshold)(예를 들어, 0.15 µg/day)가 적용될 수 있는 높은 위해도의 완제의약품에 대한 엄격한 침출물-추출물 상관관계를 설정하기 위해 설계된 추출물 평가의 경우 다음 사항이 필요하다:

- 추출물의 생성은 다음의 사항과 함께 수행되어야 한다.
 - 완제의약품의 용제에 알려진 추출력에 따라 다양한 추출력을 갖는 다수의 용매 또는 추출 매질
 - 휘발성 물질 분석 성능이 있는 기법을 포함한 다수 및 보완적 추출 기법
 - 평형을 이룰 수 있는 추출조건
- 추출물의 특성 분석에는 다음을 사용해야 한다.
 - 다양하고 보완적인 분석기법

- 분석기법을 염두에 둔 신중한 검체 준비
 - 추출물의 확인 및 정량을 위한 체계적인 과정
- 이 경우, 정의된 역치를 초과하는 모든 추출물이 최소한의 신뢰수준으로 정량되었으며, 완제의약품 침출물 자료(사용 가능한 경우)와, 포장 시스템, 포장 구성요소 또는 구성 재료의 알려진 성분과 정성 및 정량적으로 모두 연관되어 있다면 추출물 평가는 완결된 것으로 간주할 수 있다.

상대적으로 목표가 협소한 제한된 추출물 평가는 일부 집중 실험으로 필요한 완결성을 달성할 수도 있다. 예를 들어, 특정 포장 구성요소/재료의 특정 화학 첨가제 수준을 정량하도록 설계된 추출 연구는 규정된 추출 파라미터 및 분석 방법을 사용하여 수행할 수 있다. 의약품 허가신청을 위한 추출물 평가 및 추출 연구는 다양한 자료들을 참고할 수 있다. 또한, 의료기기 및 식품접촉에 따른 추출물평가는 다른 일반 자료도 참고할 수 있다.

7.2 추출물 프로파일의 예-재료 특성 분석

앞서 언급한 바와 같이, 추출 연구는 일반적으로 특정 추출 매질의 추출물 함량에 대한 정성적 및/또는 정량적 분석 형태인 추출물 프로파일을 생성하도록 설계된다. 추출물 프로파일의 개념을 설명하기 위해 다음과 같이 재료 특성 분석을 위해 수행된 추출 연구의 예를 제시하였다. 추출물 프로파일은 일반적으로 크로마토그래피 기법을 사용하여 실험실 추출물을 분석하여 생성한다. 그림 2 및 그림 3은 구성성분 중 고리형 올레핀 공중합체(cyclic olefin copolymer, COC)의 헥산 속슬렛 추출물에서 추출한 예시 추출 프로파일(각각 GC/MS 및 HPLC/UV)을 보여준다. 공중합체(COC)는 프리필드 주사기, 소용량 주사제용 바이알 및 대용량 주사제용 백의 제작에 사용된다. 추출물은 약 5 g의 적당한 크기의 물질을 125 mL의 헥산과 함께 16시간 동안 속슬렛 추출하여 생성하였다. 추출물은 내부 표준물질을 첨가하여 GC/MS에서 직접 분석하였다(표 4 참조).

HPLC/UV 분석의 경우, 헥산 추출물 일정량의 부피를 줄이고 분석 전에 메탄올로 희석하였다 (표 5 참조). 이 추출물 평가의 목적은 재료 특성 분석이기 때문에 추출 연구 파라미터는 추출물 확인 역치(identification threshold)인 10 ppm (µg/g)이 되도록 상대적으로 조정하였다. 이러한 크로마토그램을 통해 사용된 기술이 상호보완적이며, 독립적인 기법이며, 이는 일반적으로 완전한 추출물 프로파일을 설명하기 위해 여러 분석 방법이 필요하다는 개념을 보여준다.

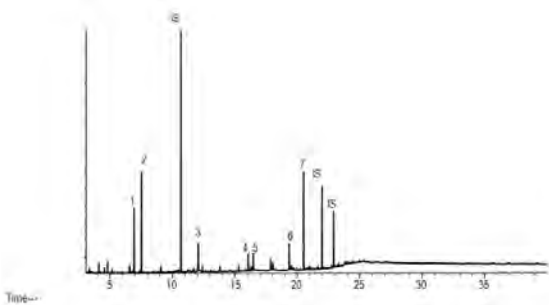


그림 2. 고리형 올레핀 공중합체의 헥산 속슬랫 추출물에 대한 GC/MS 크로마토그램(추출물 프로파일).

이 크로마토그램에서 피크를 생성하는 내부표준물질 (IS)로는 2-플루오로비페닐(10.7분), 이르기라노스 415 (22.0분), 비스페놀 M (23.0분)이 포함된다. 번호가 매겨진 피크는 재료 기반 역치 이상으로 확인된 추출물을 나타낸다.

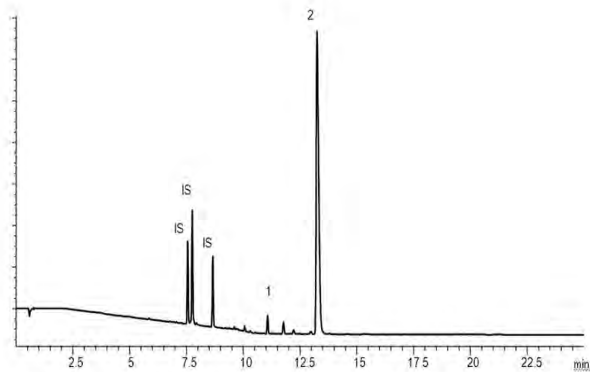


그림 3. 고리형 올레핀 공중합체의 헥산 속슬랫 추출물에 대한 HPLC/UV 크로마토그램(파장=220 nm, 추출물 프로파일).

이 크로마토그램에서 피크를 생성하는 내부표준물질 (IS)에는 비스페놀 M(7.6분), 2-플루오로비페닐(7.8 분), 이르기라노스 415(8.7 분)가 포함된다. 재료 기반 역치를 넘는 이 추출물 프로파일의 주요 피크는 알려진 첨가제(산화 방지제) 이르기라노스 1010(피크 2)이다.

표 4. 고리형 올레핀 공중합체의 헥산 속슬랫 추출물의 GC/MS 분석의 조작조건

조작조건	조작값
칼럼	J&W DB-5HT, 30 m × 0.25 mm, 필름두께 0.25 µm
오븐프로그램	50 °C 시작, 1분 유지; 12 °C/분으로 315 °C로 가온, 16분 유지
운반기체	헬륨, 1.2 mL/min
주입법	분할비 (1 : 5) ; 1 µL
주입기 온도	300 °C
FID 검출기 온도	N/A
MS 이송라인 온도	180 °C
MS 검출 세부 조건	70 eV (+) EI (전자 이온화), 질량 범위 33 - 650 amu (3.0 분 용매 지연)

표 5. 고리형 올레핀 공중합체의 헥산 속슬렛 추출물의
HPLC/UV 분석의 조작조건

조작조건	조작값	
칼럼	Agilent Zorbax Eclipse Plus C18, 100 × 3.0 mm, 입자크기 3.5 μm	
칼럼 온도	40 ℃ - 50 ℃	
이동상 구성 분	A = 10 mM 아세트산암모늄용액 B = 아세토니트릴	
이동상 기울기 용리	시간	%B
	0.0	5.0
	8.4	100.0
	35.0	100.0
	36.0	5.0
	39.0	5.0
이동상 유속	0.8 mL/분	
주입량	10 - 50 μL	
검출기, UV	205-300 nm; 스펙트럼 기록 파장: 210, 220, 230, 250, 및 270 nm	

의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물 평가

1. 목적

이 장에서는 의약품 포장 및 전달 시스템에서의 침출물평가의 설계, 타당성 입증 및 수행을 위한 정보를 제공한다. 과학적으로 타당한 침출물 평가는 침출물이 잠재적으로 의약품 효능, 안정성 및 품질에 영향을 미칠 수 있으므로, 주로 의약품 포장 및 전달 시스템에서의 적합성을 확립하는 수단으로 제조업체 및 다양한 공급자에게 중요하다. 또한, 이러한 침출물 평가는 침출물의 발생 원인에 대한 정보를 제공하고 의약품 개발 및 제조 과정에서 만들어지는 침출물을 평가하고 관리하는 방법을 제공할 수 있다. 이 장에서는 침출물 평가의 주요 원칙을 설정하고, 각 부분에 대하여 실용적이고, 기술적인 측면을 기술한다. 이 장에서는 특정 포장 및 전달 시스템 혹은 제제에 대한 필수 침출물 규격 및 허용 기준을 제공하지 않으며, 침출물 평가가 필요한 모든 상황에 대해 기술하고 있지 않다. 침출물에 대한 일반적인 사항으로, 침출물 평가에 요구될 수 있는 모든 상황을 예상하고, 다루는 것은 가능하지 않다. 개별 침출물 평가의 설계는 환자의 안전과 의약품 품질을 강조하면서 과학적 균형, 신중한 자원의 할당, 효과적인 위해 관리의 과정이다. 이러한 균형을 달성하는 것은, 의약품 제조업체의 책임과 의무이며, 모든 해당 법률 및 규제 권고사항을 적절히 고려해야 한다. 이 장에서 요약된 원칙과 대표적인 사례는 과학적인 접근에 대한 합의사항으로, 의약품 품목허가 신청을 위해 침출물 평가가 필요한 모든 경우에 적용할 수 있다.

대부분은, 완제의약품 침출물 평가는 의약품 포장 시스템, 포장 구성요소 및 포장 구성 재료에서 수행된 침출물 평가로부터 얻어진 지식을 기반으로 하거나 이를 통해 수행된다.

2. 용어

이 장에서 주로 사용하는 용어는 아래와 같다.

- **포장 시스템(Packaging Systems)**은 제제를 담고 보호하는 포장 구성요소 및 재료 모두를 말한다.
- 포장 시스템은 용기-마개 시스템(container closure system, CCS)이라고도 하며, 1차, 2차 및 3차 포장을 포함한다.
- **용기(Container)**는 중간체, 주성분, 첨가제 또는 제제를 담는 것으로, 의약품과 직접 접촉한다.
- **마개(Closure)**는 용기의 열린 공간을 닫고 내용물을 보호하는 것으로, 용기 내용물에 접근할 수 있게 한다.
- **포장 구성요소(Packaging Component)**는 용기(예를 들어, 앰플, 프리필드 주사기, 바이알, 병), 마개(예를 들어, 나사 캡, 스톱퍼), 페룰 및 외부 봉합, 마개 라이너, 내부 봉합, 투여 장비, 오버랩, 투여 세트, 라벨, 판지 상자, 수축 랩을 포함하는 단일 부품 또는 포장 또는 용기-마개 시스템 세트이다.
- **1차 포장 구성요소(Primary Packaging Component)**는 의약품과 직접 접촉하거나 직접 접촉할 수 있는 포장 구성요소이다(예를 들어, 수액용 백).
- **2차 포장 구성요소(Secondary Packaging Component)**는 1차 포장 구성요소와 직접 접촉하는 포장 구성요소이며, 의약품을 추가로 보호할 수 있는 포장 구성 요소이다(예를 들어, 수액용 백의 이중주머니 또는 먼지 덮개).
- **3차 포장 구성요소(Tertiary Packaging Component)**는 2차 포장 구성요소와 직접 접촉하며, 배송 또는 보관 중에 의약품을 추가로 보호할 수 있는 포장 구성요소이다(예를 들어, 이중주머니로 포장된 수액용 백을 담은 배송 상자).
- **보조 구성요소(Ancillary Component)**는 포장된 의약품을 분배, 보관, 운반하는 동안에 3차 포장 구성요소와 접촉할 수 있는 구성요소 또는 개체이다(예를 들어, 팔레트, 스킴, 수축랩, 이

동식 컨테이너)

- **포장 구성 재료(Packaging Materials of Construction)**는 포장 구성요소를 제조하는 데 사용되는 물질이다. 이는 원재료(raw materials)로도 부른다.

- **전달 시스템(Delivery System)**은 포장부터 환자에게 투여하기까지 완제의약품의 이송하는 데 사용되는 구성요소 및 재료 모두를 말한다. 예를 들어, 투여 세트는 전달 시스템에서 환자에게 액상 제제를 투여할 때 사용되는 것이다.

- **추출물(Extractables)**은 의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 포장 구성 재료에서 발생하는 유기 및 무기화학물질이며, 실험실 조건 하에서 추출 용매에 의해 추출된다. 추출 연구의 특정 목적(아래 확인)에 따라 실험실 조건(예를 들어, 용매, 온도, 화학량론 등)을 포장된 제제의 일반적인 보관 조건에서 가속 혹은 가속 조건으로 할 수 있다. 추출물 또는 추출물에서 유래된 물질은 일반적인 보관 및 사용 조건에서 완제의약품에 침출될 가능성이 있다. 따라서, 추출물은 잠재적 침출물이 된다.

- **침출물(Leachables)**은 일반적인 보관 및 사용 조건에서 혹은 완제의약품의 가속 안정성 시험 조건 중에 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 포장 구성 재료로부터 포장된 완제의약품 속으로 침출되기 때문에 포장된 완제의약품에 존재하는 이질적인 유기 및 무기 화학물질이다. 침출물은 포장 또는 전달 시스템에서 유래되므로 완제의약품 자체 혹은 그 용제 및 첨가제와는 관련이 없다. 침출물은 완제의약품 침출물의 공급원과 직접적으로 작용하기 때문에 포장된 완제의약품에 남아 있게 된다. 따라서, 침출물은 일반적으로 1차 및 2차 포장에서 유래되는데, 이는 완제의약품의 1차 및 2차 포장이 기타 이질적인 화학물질을 배출하는 잠재적 공급원(예를 들어, 3차 포장 및 보조 구성요소) 사이의 장벽 역할을 할 수 있기 때문이다. 특정 상황에서 포장 용기는 일반적인 임상적 사용 조건에서 환자에게 직접 접촉할 수 있

다(예를 들어, 정량흡입기의 마우스피스). 이러한 접촉의 결과로, 환자는 완제의약품의 작용 없이 포장으로부터 침출물에 노출될 수 있다.

침출물은 일반적으로 추출물의 부분 집합이거나 추출물에서 유래된다. 참고로, 화학물질은 직접 접촉을 통해 포장 및 전달 시스템에서 환자에게 이동할 수 있음을 유의한다. 이동물(Migrants)도 일반적인 보관 및 사용조건에서 혹은 완제의약품의 가속 안정성 시험 중에 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 포장 구성 재료로부터 포장된 완제의약품 속으로 침출되기 때문에, 포장된 완제의약품에 존재하는 이질적인 유기 및 무기 화학물질이다. 그러나, 이동물은 1차 및 2차 포장으로 인한 물리적 장벽을 통과한 후, 포장된 완제의약품에 이동물이 축적된다는 점에서 침출물과 구별된다. 이동물은 물리적 장벽을 통과하여 발생하기 때문에, 이동물의 공급원에 대한 완제의약품의 직접적인 작용은 이 장벽이 막기 때문에 포장된 완제의약품에서는 이동물이 존재하지 않는다. 따라서 이동물은 2차, 3차 포장 및 보조 구성요소에서 유래하게 된다. 물질이 침출물이든 이동물이든 상관없이 둘 다 포장된 완제의약품의 이물질이므로 동일한 방식으로 그 영향을 평가해야 한다. 그러나, 침출물과 이동물이 포장된 완제의약품에 혼입되는 방식이 다를 수 있으므로 침출물을 다루고자 하는 추출물 연구는 이동물을 다루고자 하는 추출물 연구와는 다르게 설계되고 수행되어야 한다.

- **침출물 연구(Leachables studies)**는 특정 완제의약품의 주어진 사용기간 동안 특정 침출물 프로파일의 정성적, 정량적 특성에 대한 실험적 연구이다.

- **특성 분석(characterization)**은 규정된 수준 또는 역치를 초과하여 의약품 제제에 존재하는 어떤 추출물에 각각의 개별 유기 및 무기 화학물질의 발견, 확인 및 정량하는 것을 말한다.

이러한 역치는 환자 안전성 우려, 재료 고려사항 및 분석기법 등의 성능 및 기타 관련 문제도 고

려해야 한다.

- **확인(Identification)**은 유기 추출물이 어떤 분자구조인지 결정하거나, 혹은 무기 추출물의 경우에는 구성요소를 결정하는 과정이다.

- **정량(quantitation)**은 완제의약품 제제에 포함된 개별 유기 또는 무기 화학물질의 수준 또는 농도를 측정하는 과정이다.

- **침출물 프로파일(Leachables Profiles)**은 특정 의약품 제제의 침출물 함량에 대하여 정성적 과/또는 정량적인 분석 결과를 나타낸 것이다.

- **침출물-추출물 상관관계(Leachables-Extractables Correlations)**는 확인된 완제의약품의 침출물이 관련 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 또는 구성재료의 추출물과 정성적 및 정량적으로 연관될 때 확립된다.

- **독성학적 우려 역치(Threshold of Toxicological Concern, TTC)**는 특정 독성 데이터의 존재 여부와 상관없이 모든 화학물질의 노출수준으로 그 수준보다 낮으면 인체의 건강에 주목할 만한 위험이 없는 임계값을 의미한다.

- **안전성 우려 역치(Safety Concern Threshold, SCT)**는 침출물의 용량이 역치 아래로 너무 작아 발암성 및 비발암성 독성 영향에 대한 안전성 우려가 거의 없는 임계값을 의미한다.

- **적격성 평가 역치(Qualification Threshold, QT)**는 해당 값 아래로, 비발암성 침출물이 구조-활성-관계(structure-activity-relationship, SAR)를 나타내지 않는 한, 제시된 비발암성 침출물을 독성 영향에 대한 안전성 우려가 없는 임계값을 의미한다.

- **분석 평가 역치(Analytical Evaluation Threshold, AET)**는 역치 이상에서 침출물의 특성을 분석하고, 독성 평가를 보고해야 하는 임계값을 의미한다. 분석 평가 역치(AET)는 완제의약품의 투여 매개 변수를 포함하는 요인을 기반으로, 안정성 우려 역치(SCT)(또는 다른 역치 개념)에서 수학적으로 구할 수 있다.

3. 배경

특정 농도 이상의 침출물은 환자의 안전성 문제 및 완제의약품 제제의 호환성 문제를 일으킬 수 있으므로, 침출물 관리는 제약 및 생명공학/바이오의약품의 제조업체 및 규제 당국에게 중요하다. 1980년대, 침출물로 인해 발생한 환자의 과민증 및 침출물 관련 기타 잠재적 안전성 문제를 발견한 후, 완제의약품의 침출물에 대해 공식화하고 광범위하게 다루기 시작했다. 그 이후로, 포장 시스템에서 완제의약품에 대한 추출물 및 침출물 관리는 의약품 개발과 다양한 제제의 허가 신청 시 중요한 고려사항이 되었다. 특히 포장 시스템과 제제의 상호작용이 상대적으로 높은 위험도를 가지며 투여 경로와 관련하여 상대적으로 높은 안전성 위험도가 있는 경우, 실시가 요구된다(표

표 1. 침출물 고려에 대한 개정된 위험성 기반 접근법^a

일반적인 종류의 의약품에 대한 포장 우려 사례			
투여경로와 관련된 우려 정도	포장 구성요소 - 제제와의 상호작용 가능성		
	높음	중간	낮음
매우 높음	흡입 에어로솔제 및 스프레이제	주사제 및 현탁성 주사제; 흡입 액제	멸균 분말 및 분말주사제; 흡입분말제
높음	경피흡수 연고 및 패치	점안제 및 현탁제; 점비 에어로솔제 및 스프레이	-
낮음	국소 외용액제 및 현탁제; 국소 및 설측 에어로솔제; 경구용 액제 및 현탁제	-	경구용 정제 및 경구용 경질 및 연질 캡슐; 외용 산제; 경구용 산제

^a 이 표는 다양한 제제에 있어 침출물과 관련된 일반적인 규제적 우려 수준에 대하여 정리된 자료를 제공하지만, 해당 정의에 따라 “낮은 위험도(low-risk)”의 제제(예를 들어, 경구용 정제)이 침출물 문제에 대한 위험이 없다고 추론해서는 안 된다.

1 참조). 표 1. 의약품 포장/마개 시스템 일부 제제가 포장재료와 상호작용을 할 가능성이 작은 것으로, 정의되었다. 상대적으로 높은 위해도가 있는 제제에는 흡입에어로솔제, 액제, 주사제 및 현탁성 주사제, 안과용제, 경피흡수 연고제 및 패치제 등이 있다. 그러나, 낮은 위해도의 제제일지라도 어느 정도 위해도를 가지며, 낮은 위해도를 가진 제제의 특정 완제의약품(예를 들어, 국소제제 및 경구용 제제 등)에 대한 적절하고 엄격한 침출물 평가가 필요하다.

이 장에서는 완제의약품 침출물 평가를 위한 과학적 원칙과 대표 사례를 설명하고, 다음과 같이 다양하고 중요한 개념을 기술한다: 1) 침출물 연구의 요건; 2) 침출물 연구를 위한 기본 개념; 3) 침출물에 대한 역치의 기초 및 역치의 적용에 대한 일반적인 가이드; 4) 침출물 연구 설계 및 수행; 5) 침출물 시험법 개발 및 밸리데이션; 6) 추출물 평가와 일반적인 추출물 시험결과에 대한 침출물 연구의 상관관계; 그리고; 7) 허용 기준을 기반으로 한 침출물의 규격 설정.

이러한 과학적 원칙과 대표 사례는 다음을 포함하되 제한적이지 않으며, 완제의약품의 제조, 마케팅, 품질 평가 및 안정성 시험을 수행하는 모든 기관과 개인에게 적용된다:

- 제조업자의 시설(예, 의약품 허가신청을 득한 자에 속한 시설) 또는 위탁제조업자의 시설에서 제조 작업이 이루어짐(원료의약품 및 완제의약품 제조업자)
- 복합의약품 제조업자
- 제조업자 또는 위탁제조업자에 의한 포장 작업
- 최초 제조업자 이외의 제조업자가 소유하는 완제의약품의 재포장 작업 진행

적절한 침출물 평가를 수행하는 것은 궁극적으로 완제의약품 허가신청자의 책임이지만, 완제의약품 포장/전달 시스템, 포장 구성요소 및 제조업체와 제조자도 이러한 과학적 원칙과 모범사례를 적절히 적용하여야 하며, 이를 위해 허가신청자는

제조업체 및 제조자와 함께 협력하는 것이 권장된다.

4. 개념

4.1. 침출물 평가에 대한 일반 개념

제조, 포장, 보관, 유통 및 투여 과정에서 제제와 그 성분은 제조 및 포장 장비의 구성요소 및 구성 재료, 1차 및 2차 포장 및 시스템과 접촉할 수 있다. 이러한 접촉은 제제와 구성요소 및 포장재료와 상호작용이 유발될 수 있다. 그 상호작용 중 하나는, 구성요소 및 재료의 물질이 제제로 이동하거나 침출되는 것이다. 침출물은 광범위한 화학적 다양성을 가진 유기 및 무기(예를 들어, 원소) 화학물질을 모두 포함할 수 있으며, 환자에 대한 잠재적 안전성 위해도와 완제의약품에 대한 잠재적 호환 위해가 있을 수 있다. 이러한 위해도를 평가하고 침출물로 인해 발생할 수 있는 문제를 관리하기 위해서는 침출물을 확인하고, 사용기간 동안 완제의약품에 축적되는 정도를 알아야 한다. 이 두 가지 정보를 사용하여 환자에게 노출(용량)되는 정도를 결정하며, 따라서 개별 침출물에 의해 제기되는 안전성 위해도 및 완제의약품과 관련된 호환성 문제 또한 결정된다.

가이드라인 및 다양한 권고사항들은 구성요소 또는 재료와 최종 제제 간 접촉에 따른 잠재적 영향평가에는 침출물에 관하여 최종 제제에서 평가하는 것이 바람직하다고 명시하고 있다. 이 영향평가에는 접촉된 시스템, 구성요소 또는 재료로부터 이동되어 의약품의 실제 제조, 보관 및 임상 사용 조건에서 최종 제제에 축적된 침출물의 발견, 확인 및 정량분석 하는 것이 목적인 이동물 또는 침출물 연구가 포함될 수 있다. 침출물 연구는 특정 완제의약품의 사용기간 동안 특정 침출물 프로파일의 정성적, 정량적 특성에 대해 실험적으로 조사하는 것이다. 침출물 연구의 목적은 실행 가능한 범위 내에서 정의된 특정 분석 역치의 파라미터 중 완제의약품 침출물에 대해 체계적이고 합리적으로 확인하고 정량화(즉, 특성화)

하는 것이다. 침출물 연구의 결과는 침출물이 환자의 안전과 완제의약품의 품질 및 안정성에 미치는 영향을 이해하기 위해 전반적인 침출물 평가에 사용된다.

침출물 연구는 전반적인 침출물 평가를 아래와 같이 수행될 수 있다:

- 구성요소 및 구성 재료의 선택을 지원함으로써, 안전하고 효과적인 제제의 포장/전달 시스템, 제조 시스템 및 공정을 적시에 개발할 수 있게 한다.
- 적절한 추출물 평가를 통해, 완제의약품의 정성적/정량적 침출물-추출물 상관관계를 확립한다.
- 침출물 연구, 침출물 규격 및 허용 기준 개발 (필요한 경우), 잠재적, 실제 침출물의 안전성 평가 등을 통해 최악 조건(worst-case)의 잠재적 침출물 프로파일을 설정한다.
- 특정 완제의약품의 사용기간 동안 완제의약품 침출물의 축적 수준에 대한 추세를 파악한다.
- 완제의약품 포장/전달 시스템(해당 시), 포장 구성요소, 구성 재료, 제제의 구성요소 등에 대한 변경 관리한다.
- 시판 제품에 대해 규격 이탈(out-of-specification, OOS)을 유발하는 원인으로 확인된 침출물의 출처를 조사한다.

이러한 방식으로, 침출물 연구 및 평가는 완제의약품 포장/전달 시스템 및 의약품의 개발 및 제조를 위한 의약품설계기반 품질(Quality by Design, QbD)의 원칙을 뒷받침할 수 있다.

완전한 침출물 평가에는 개별 침출물의 안전성 영향 및 검증, 의약품과 용기 간의 안정성(즉, 호환성)과 의약품 안정성의 영향을 포함한다. 안전성에 대한 적격성 평가가 일반적으로 제시될지라도 이 목표를 달성하는 것에 대한 세부 사항은 이 장의 범위가 아니다. 이 장의 범위는 전반적인 침출물 평가 내에서 침출물 연구 수행 및 기타 명시된 침출물 연구 결과의 사용법을 과학적 원리 및 최선의 방법으로 한정된다.

특정 포장 및 복합 의료기기 의약품의 구성요소는 의약품의 사용 중 환자의 입, 코점막 또는 기

타 신체 조직과 직접적인 접촉을 할 수 있다. 이러한 포장 구성요소에는 정량 흡입기 및 흡입분말제 마우스피스, 경피흡수 패치 등이 포함된다. 환자는 이러한 구성요소와 직접적으로 접촉함으로써, 화학물질에 잠재적으로 노출될 수 있다. 이러한 직접적인 접촉 시, 환자 노출 평가는 적절한 추출물 평가 및 추출 연구를 통해 가장 잘 수행될 수 있다.

4.2 안전성 역치(Safety threshold)

침출물은 특정 완제의약품 불순물을 나타내지만, 완제의약품 불순물 특히, 특정 범위를 벗어난 것을 침출물로 판단한다. 완제의약품에 대한 침출물이 특별히 제안된 역치는 환자 안전성 우려, 분석기법의 성능을 기반으로 한다. 현재의 분석기법을 통해 매우 낮은 수준(예: ng/mL 또는 ng/g)에서도 미량의 유기 및 무기 화학물질을 검출할 수 있으므로, 침출물 평가에서 안전성 역치는 특히 중요하다. 현재의 분석기법의 한계로, 일반적인 침출물 프로파일에 있는 모든 개별 화학물질의 확인 및 위해 평가(또는 적격성 평가)는 독성학적 관점에서 필요치 않으며, 일반적인 완제의약품에서도 수행할 수 없다. 안전성 역치는 허용할 수 있는 침출물 수준에 대한 과학 및 위해 기반 결정을 통해 확립된 독성학적 정보뿐만 아니라 투여 경로, 일일 노출 및 투여 기간과 같은 추가 안전성 위해 요소를 기반으로 할 수 있다. 안전성 역치는 노출 데이터에서 도출되므로, 1일 최대섭취허용량(Total Daily Intake, TDI)과 같은 노출 단위로 고려된다. 따라서, 모든 안전성 역치는 실험실에서 분석 역치로 적용할 수 있도록 농도 단위(예를 들어, µg/mL)로 변환해야 한다. 분석 역치는 화학적 특성 분석(즉, 확증 확인)과 안전성 및 적격성 평가를 위해 침출물 프로파일에서 어떤 화학물질을 고려해야 하는지에 대한 가이드이다.

의약품 개발에 실질적으로 적용된 안전성 역치 개념의 예로는 독성학적 우려 역치(TTC) 접근법이 있다. 독성학적 우려 역치(TTC) 개념은 ICH

M7 유전독성 불순물 평가를 위해 10^{-5} (10만분의 1)로 초과한 압 위해 인자를 사용하였다. 독성학적 우려 역치(TTC) 접근법을 사용하여 유전독성 불순물의 안전성 역치는 $1.5 \mu\text{g/day}$ 최대섭취허용량(TDI)이다. 다른 안전성 역치의 예로, 경구흡입비강제품(Orally Inhaled Nasal Drug Products, OINDP)의 개별 유기 침출물에 대해 유래가 되고, 제안한 미국 제품품질연구소(Product Quality Research Institute, PQRI)의 안전성 우려 역치(SCT)와 적격성 평가 역치(QT)가 있다. 개별 유기 침출물에 대해 안전성 우려 역치(SCT)는 $0.15 \mu\text{g/day}$ 최대섭취허용량(TDI)로, 적격성 평가 역치(QT)는 $5 \mu\text{g/day}$ 최대섭취허용량(TDI)으로 제시되었다.

독성학적 우려 역치(TTC) 접근법의 개발은 ICH M7 역치에 사용되는 10^{-5} 값이 아닌 10^{-6} (100만분의 1)로 미국 제품품질연구협회(Product Quality Research Institute, PQRI) 안전성 우려 역치(SCT)의 도출을 위한 기반, 선택 및 가이드를 제공한다. 경구흡입비강제품(OINDP)의 일부 제제는 환자 집단의 민감한 환부에 직접적으로 전달될 수 있고, 평생 노출된다고 가정하기 때문에 경구흡입비강제품(OINDP)의 침출물은 낮은 역치로 설정해야 한다. 게다가, 침출물은 일반적으로 주성분이나 기타 제제와 구조적으로 직접적인 관계가 없는 산업용 화학물질로, 안전성 우려 역치(SCT) 이하에서는 일반적으로 침출물의 확인 및 안전성 평가가 요구되지 않는다. 적격성 평가 역치(QT) 이하의 발암성 또는 자극성에 대한 구조적 경고가 없는 침출물은 화학물 특정 안전성 위해 평가가 요구되지 않는다. 안전성 우려 역치(SCT)나 적격성 평가 역치(QT) 모두 제어 역치 또는 안전에 대한 한계값은 아니라는 점에 유의한다. 오히려, 이들은 침출물 평가 역치이다. 특히, 안전성 우려 역치(SCT)는 알려지지 않은 완제의약품 침출물의 특성 분석을 위한 임계값을 설정하도록 설계되었다. 안전성 우려 역치(SCT) 값 이외의 개별 안전성 우려

를 나타내는 수준은 이미 알려진 침출물과 잠재적 침출물(즉, 추출물)에 대해 결정될 수 있다.

경구흡입비강제품(OINDP)의 경우 “특수한 경우”에 해당하는 화합물 및 화합물의 등급이 있으며, 이들은 특정 안전성 우려(예를 들어, 발암성)로 인해 특정 분석기법 및 방법에 따라 더 낮은 역치가 필요한 것으로 간주한다. 경구흡입비강제품(OINDP)에 대한 특수한 경우에 해당하는 화합물에는 다환방향족 탄화수소(polyaromatic hydrocarbons, PAHs) 또는 다핵 방향족화합물(polynuclear aromatics, PNAs), N-니트로사민류 및 개별 화학물질 2-메르캅토벤조티오졸이 포함된다.

4.3. 정보 공유

완제의약품 전주기에 걸쳐 침출물을 성공적으로 관리하기 위해서는 완제의약품의 품질과 관련된 개발 및 제제 전주기 전반에 걸쳐 화학자, 독성학자, 포장 기술자, 제조 작업, 조달 등 이해관계자들 간의 긴밀하고 정기적인 의사소통이 중요하다. 특히, 침출물과 관련해서 분석 화학자와 독성학자 사이의 의사소통은 매우 중요하다. 예를 들어, 침출물이 허용 한도를 초과하거나 새로운 침출물이 발견되면 안전성 평가를 수행해야 한다. 화학자는 독성학자에게 화합물 종류 또는 화학식, 구조와 같은 상세한 정보뿐만 아니라 완제의약품에 있는 침출물의 양과 농도 등 침출물의 특성을 확인하는 데 도움이 되는 정보를 제공해야 한다.

포장 구성요소 제조업체/공급업체 및 의약품 개발업체/제조업체 간의 정보 공유 또한 구성요소 및 구성 재료의 선택과 잠재적 추출물 및 침출물에 대한 지식을 제공하기 위해 중요하며, 포장 구성요소의 화학 조성에 대한 지식을 통해 침출물-추출물의 상관관계를 가능하게 한다.

5. 침출물 연구 설계

침출물 연구는 완제의약품 개발/제조 전주기 동안 언제든지 수행될 수 있지만, 특히 침출물 연구

는 제품 개발 후 또는 안정성 평가 기간과 관련되어 있다.

침출물 평가를 위한 이상적인 방법은 다음과 같다:

- 실제 완제의약품에 대한 평가가 이루어지며 시뮬레이션은 진행되지 않는다(단, 시뮬레이션 연구항 참조).

- 시판 의약품이나 시스템 구성요소가 아닌, 실제 상품화될 포장이나 전달 시스템에 대하여 평가한다.

- 침출물 평가가 수행된 완제의약품 배치와 동일 배치의 포장 구성요소에 관련된 추출물 평가가 이루어진다.

- 평가는 제제 및 포장/전달 시스템의 실제 상업적 생산공정, 포장/전달 시스템으로의 제제 충전, 충전 포장의 포장 후 처리 (예를 들어, 최종 멸균), 유통, 임상 사용을 반영한 조건에서 제조된 의약품에 대해 실시한다. 침출물 연구는 가속 시험에 대한 보관 조건을 포함할 수 있지만, 가속 조건에 제한적이어서는 안 되며, 실시간으로 진행한 평가를 포함해야 한다.

침출물 연구는 포장 구성요소의 재료 선택을 위해, 완제의약품 개발 과정(예를 들어, 전임상 단계) 초기에 수행될 수 있다. 이러한 침출물 연구는 “높은 위험도”의 제제(표 1 참조)의 적절한 포장 구성요소 및 구성 재료를 선택할 때 특히 유용하다. 다양한 포장 구성요소 및 구성 재료를 동시에 평가할 수 있으며, 각 구성에 대해 의약품 침출물 프로파일을 결정하고 평가할 수 있다. 1차 포장 시스템 또는 약물/의료기기 복합의약품의 경우, 이는 제안된 포장 시스템과 접촉하는 완제의약품 제제 또는 위약(Placebo) 제제를 사용하여 평가할 수 있다. 후자의 경우, 위약 제제는 추출물에 있음직한 침출물로서, 특성을 분석하기 위한 시뮬레이션 용매로 고려할 수 있다(시뮬레이션 연구항 참조). 어느 경우든, 침출물 연구의 조건(시간, 온도 등)은 완제의약품의 사용기간 또는 유효기간에 관련된 조건에 기반해야 한다. 전임상 개발 단계에서 침출물 연구는 설계기반 품질고도

화(QbD) 과정과 원리를 따르기 위해 체계적인 방법으로 설계될 수 있다. 높은 위험도 제제의 완제의약품 개발 초기 단계 동안 확정 독성시험 혹은 임상시험에서 시험 물질로 사용되는 모든 완제의약품 배치의 침출물 특성 분석이 요구된다.

“낮은 위험도(low-risk)” 제제(예를 들어, 경구용 고형제제, 외용산제)의 경우, 개발 기간 동안 수행된 침출물 연구는 후기 개발 단계 또는 시판 제품에서 나타날 수 있는 포장 시스템의 문제를 평가하여 사전에 문제를 방지하는 데 적절할 수 있다.

높은 위험도 제제의 제품 허가를 위한 개발 후기 단계에서 포장된 완제의약품의 최종 시판 형태를 구할 수 있을 때는 전반적인 완제의약품 안정성 연구 과정 중에 완제의약품의 최종 허가신청 배치에 대하여 침출물 연구를 실시할 수 있다. 이러한 침출물 안정성 연구의 결과는 침출물-추출물의 상관관계를 설정하고, 침출물 축적 수준의 경향을 확인하며, 개별 침출물을 평가하여 이것에 대해 안전성을 바탕으로 적격성을 평가하고, 필요한 경우 허용 기준을 가진 침출물 규격을 개발하는 데 사용될 수 있다. 흡입 에어로솔제 및 기타 경구흡입비강제품(OINDP)의 경우 침출물 시험은 ICH 허가 안정성 프로그램의 필수적인 부분으로 (2), 보관 조건과 안정성 시점을 그에 맞춰 설계해야 한다. 포장/전달의 구성요소가 환자와 직접 접촉하는 경우(예를 들어, 정량흡입기 또는 흡입 분말제의 마우스피스), 환자에게 노출될 수 있는 화학물질은 의도한 용도와 관련한 시간과 온도 노출의 조건에서 적절한 시뮬레이션 용매를 사용하여 추출물(즉, 잠재적 침출물)로서 평가할 수 있다.

추가로 시판 후 경우에 따라 추출물 평가가 적절할 수 있다. 예를 들어, 완제의약품 침출물은 시판된 완제의약품에서 필요하거나 원하는 변경이 이뤄진 많은 경우에도 적합할 수 있다. 이러한 침출물 연구는 대부분의 높은 위험도의 제제, 특히 내부 침출물 규격과 허용 기준으로 관리되는

제제에 대한 변화 관리를 지원하는데 요구되며, 다른 제제의 제제, 약물/의료기기 부합제품 등에 적합할 수도 있다. 변경 사항에는 아래 내용을 포함할 수 있으나, 제한적이지는 않는다:

- 제제의 구성;
- 완제의약품의 제조 공정;
- 1차 및 2차 포장 구성요소 또는 그 구성재료;
- 1차 및 2차 포장 구성요소 또는 그 구성재료의 제조 또는 조립 공정;
- 완제의약품 전달시스템의 한 부분인 라벨링 허가 등록시 승인된 것과 다른 침출물 프로파일에 환자가 노출되는 결과를 초래하는 변경은 적절한 과학적 타당성이 제공되지 않는 경우를 제외하고, 변경 관리의 일부로 침출물 연구가 요구된다.

낮은 위해도의 제제(예를 들어, 경구용 고형제제, 외용 산제)는 일반적으로 의약품 허가 과정(표 1)의 일부로, 침출물 연구를 수행할 필요가 없지만, 안정성 연구 또는 시판되는 완제의약품에서 불순물 프로파일에 침출물이 나타날 수 있다. 예를 들어, 라벨 접착제의 화학 첨가물은 플라스틱 1차 포장을 통해 이동되며, 용기에 포장된 경구용 고형제제의 불순물 프로파일에 나타날 수 있다는 보고가 있다. 따라서, 특별한 경우에는 낮은 위해도의 제제에 대한 침출물 연구 수행을 고려해야 한다. 침출물 평가가 사전에 수행되지 않았을 경우, 개발 또는 시판 의약품에 대한 규격 이탈(OOS) 결과를 초래할 수 있으며, 조사 과정의 일부로 “긴급” 침출물 연구를 수행해야 한다. 이러한 유형의 침출물 연구의 설계는 특정 상황에 따라 달라진다. 그러나, 일반적으로 침출물 확인 및 정량화하고, 안전성을 평가할 수 있으며, 침출물을 포장 구성요소의 추출물과 연관시킬 필요가 있다. 또한, 침출물은 제조 장비 및 3차 포장 시스템(예를 들어, 운송 재료)과의 접촉으로 인해 발생할 수도 있다.

특정 침출물 연구의 설계는 전반적인 침출물 평가의 목적과 목표에 따라 다르다. 위에서 설명한

침출물 연구는 목적과 전반적인 목표가 다르지만, 적절한 설계를 위해 유사한 종류의 정보가 요구된다. 첫째, 모든 잠재적 침출물의 특성과 허용 가능한 최대 수준에 대한 정보를 확보하는 것이 중요하다. 포장 구성요소 제조업체는 포장/전달 시스템 및 다양한 구성 재료에 대한 화학적 구성과 재료의 제조 공정에 대한 세부 정보를 제공할 수 있다. 이러한 정보는 재료의 안전성 데이터 시트, 기술 데이터 시트, 시험 보고서 또는 알려지지 않은 방법의 형식일 수 있으며, 잠재적 침출물을 추론하는 데 사용될 수 있다. 잠재적 침출물을 직접 평가하기 위해 포장 구성요소 및/또는 구성 재료에 대한 추출물 평가(추출물 연구 포함)도 수행할 수 있다. 화학적 정보를 얻는 방법과 관계없이, 최종 포장 시스템에서 잠재적 침출물을 발생시킬 수 있는 모든 가능한 출처를 확실히 고려하는 것이 중요하다. 여기에는 1차, 2차 포장 구성요소 및 그 구성 재료, 해당 완제의약품에 사용된 최종 포장/전달 시스템의 제조와 관련된 코팅, 세척, 윤활, 절단, 멸균, 조립 또는 기타 공정 중 어떤 것에서 기인한 화학물질이 포함될 수 있다. 포장 및 전달 시스템에 대한 화학 정보는 잠재적 침출물 및 추적 가능한 수준에 대한 목록을 작성하는 데 사용된다.

잠재적 침출물들은 상당한 화학적 다양성을 가지고 있어서 극성, 휘발성, 용해성 등을 포함한 물리적, 화학적 성질의 다양성을 갖는다. 상대적으로 휘발성이 강한 화합물은 간접적인 접촉을 통해 어떤 형태의 제제로든 쉽게 이동할 수 있는 반면에 비휘발성 화합물은 일반적으로 직접적인 접촉이 필요하다. 제제 접촉에서 고려해야 하는 두 가지 측면은 제제 접촉의 특성(직접 또는 간접)과 접촉 시간(일시적 또는 연속적)이다. 제제가 포장 구성요소와 접촉하지 않는 경우(예를 들어, 블리스터에 포장된 캡슐형 흡입분말제), 비휘발성 화합물은 포장 시스템에서 제제로 이동할 가능성이 상대적으로 적으나 휘발성 화합물은 이동할 가능성이 있다. 제제가 포장 구성요소(예를

들어, 흡입기의 마우스피스)와 잠깐 접촉하는 일시적인 시간에서는 구성요소에서 화학물질의 이동이 발생할 가능성이 작다. 하지만, 제제가 포장 성분과 지속적으로 접촉하는 경우(예를 들어, 투여 세트를 통해 전달되는 주사제)에는 모든 유형의 화합물이 잠재적으로 제제 속으로 이동할 수 있다.

엄격한 침출물 평가는 필수적인 2차 포장, 특정 상황에서의 3차 포장과 같은 1차 포장과는 다른 경로로부터 온 침출물을 대상으로 한다. 1차 포장이 반투과성 고분자(예를 들어, 저밀도 폴리에틸렌 용기)로 구성된 경우, 2차 포장에 사용되는 라벨, 잉크, 접착제 등에서 기인한 잠재적 침출물을 평가해야 한다. 마찬가지로, 3차 포장에 존재하는 휘발성 화합물(예를 들어, 목재 팔레트, 종이 상자, 플라스틱 랩 포장 등)은 플라스틱병에 담긴 제제 속으로 이동할 수 있다. 완제의약품에서 알 수 없는 불순물이 검출되거나 의심되는 경우에는, 3차 포장에서 유래된 이동물을 고려하여야 한다.

또한, 침출물 연구를 설계할 때 제제 구성성분의 다양한 특성도 고려해야 한다. 예를 들어, 제제는 일반적으로 고형제 또는 액제로, 물리적 상태가 침출 과정에 영향을 미친다는 것은 잘 알려져 있다. 제조 과정 중에 제제의 상태 변화(예를 들어, 동결건조; 액체에서 고체로)를 갖는 경우, 그 제제 각각의 물리적 상태에 있을 것으로 예상되는 기간을 고려하여 침출물 연구를 설계하여야 한다. 제제의 상태가 사용 과정에 변화되는 경우(예를 들어, 액제를 증기로 분무)는 보관 중에 액체의 용기로부터 얻어지는 침출물과 정해진 전달 장치의 사용 중에 얻어지는 침출물을 모두 고려해야 한다. 또한, 일반적으로 최종 포장된 제품만 침출물에 대해 평가하지만, 중간 제품(예를 들어, 분말 흡입제용 대용량 캡슐)을 화합물이 침출할 수 있는 다른 1차 포장(예를 들어, 호일 주머니)에 장기간 보관하는 경우가 있을 수 있다. 대용량 포장에서 이동하는 화합물이 의약품 제조 과정을 통해 남아 있어 완제의약품에 유입되면 이는 침

출물로 적절히 처리된다.

포장 및 전달 시스템이 환자와 접촉하는 특성도 고려해야 한다. 표면접촉만 하는 경우, 점막, 조직, 뼈 또는 상아질과 접촉하는 경우보다 환자에 대한 직접적인 화학적 이동 가능성이 훨씬 적다.

6. 침출물 특성 분석

침출물 연구의 주요 목표는 침출물의 특성을 분석하는 것이다. 즉, 특정 완제의약품에 존재하는 침출물의 발견, 확인 및 정량하는 것이다. 침출물 특성 분석을 위한 방법은 완제의약품 매트릭스의 특성, 잠재적 침출물의 확인 및 가능한 추적 수준, 채택된 추출물 평가 역치 및 채택된 분석 방법의 성능에 근거한 요구 감도를 기반으로 개발된다. 표적 분석 물질 및 원료의약품과 관련되는 일반적인 완제의약품 불순물과 달리, 침출물은 광범위한 화학적 다양성을 가지며 포장/전달 시스템의 다양한 과정에서 생성될 수 있다. 또한, 침출물은 완제의약품에서 허용 추적 수준이 광범위하다. 결과적으로 이러한 요소로 인해 특히 유기 침출물 확인의 경우, 미량 분석이 상당히 중요하다. 특정 상황에서 이러한 과제는 침출물 평가 이외의 잠재적 침출물 확인시험을 수행함으로써 확인할 수 있다. 예를 들어, 추출물 시뮬레이션에서 추출물 평가를 통해 확인할 수 있다(시뮬레이션 항 참조).

침출물 특성 분석과 관련된 과정이나 분석 기법 및 방법을 설명하기 전에, 최첨단 분석 화학이 최고의 기술과 노력으로 수행되는 경우라도, 위에서 정의한 철저한 침출물 특성 분석의 궁극적인 목표가 항상 실현될 수는 없다. 모든 유기 및 무기 침출물의 발견, 확인 및 정량 할 수 있는 분석기법 혹은 분석기술의 조합은 존재하지 않는다. 예를 들어, 유기 침출물 확인의 경우, 확인의 확증이나 정량적 기기 교정을 위한 모든 경우에 항상 유기 침출물에 대한 상용 표준 화합물을 구할 수 있는 것은 아니다. 이러한 상황을 감안할 때, 침출물 특성 분석의 실질적인 목표는 과학적으로

입증된 미리 정해진 수준 혹은 “역치”를 초과하여 완제의약품에 존재하는 개별 침출물을 합리적인 수준의 과학적 확실성에 이르기까지 발견, 확인 및 정량하고 적절한 방법을 통해 실행되어야 한다.

6.1. 분석 역치

침출물 시험법 개발의 시작은 적절한 침출물 특성 분석 기능을 달성하기 위한 시험법 수준을 확립하는 것이다. 이 수준은 분석 역치로 잘 알려져 있다. 해당 방법은 적어도 분석 역치 이상의 모든 수준에서 기능해야 한다. 앞에서 논의한 바와 같이, 이러한 분석 역치는 안전성 고려를 포함한 다양한 기준을 기반으로 할 수 있다. 안전성 기반 역치의 예로는 경구흡입비강제품(OINDP)에 대해 설정된 안전성 우려 역치(SCT)가 있다. 쉽게 계산하려면, 안전성 우려 역치(SCT)를 정의하려면 노출 단위(즉, $\mu\text{g/day}$)에서 농도 단위(예: $\mu\text{g/mL}$, $\mu\text{g/g}$, $\mu\text{g/canister}$, $\mu\text{g/vial}$ 등)로 변경해야 한다. 이는 완제의약품의 라벨 표시기재에 따라 주어진 해당 제제의 용량 파라미터를 고려하여 구한다. 결과적으로 분석적 유용한 역치를 분석 평가 역치(AET)라고 한다. 이전에 특성 분석된 표적 침출물은 기지의 안전성 프로파일 및 이미 정해진 침출물 역치를 이미 가지고 있을 것이다. 호환적합성과 같이 다른 제제 고려사항에서 더 낮은 수준으로 필요하다고 명시하지 않는 한, 분석 방법 개발을 위한 기준으로 역치를 사용할 수 있다.

안전성 우려 역치(SCT) ($0.15 \mu\text{g/day}$)를 분석 평가 역치(AET)로 변경하는 일반적인 공식은 다음과 같다.

$$AET\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{포장}}\right) = \left(\frac{0.15 \mu\text{g/day}}{\text{용량/day}}\right) \times \left(\frac{\text{포기된 용량}}{\text{포장}}\right)$$

액제 :

$$AET\left(\frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}\right) = \frac{\mu\text{g}}{\text{포장}} \div \frac{\text{mL}}{\text{포장}}$$

고형제 :

$$AET\left(\frac{\mu\text{g}}{g}\right) = \frac{\mu\text{g}}{\text{포장}} \div \frac{g}{\text{포장}}$$

분석 평가 역치(AET)는 특정한 의약품에서 미지의 침출물을 확인하고 정량해야 하는 수준을 설정하므로 분석 방법 개발의 기준으로 사용할 수 있다.

6.2. 분석법의 요건

침출물 특성 분석에 대한 분석법의 요건은 결정된 분석 평가 역치(AET)(또는 다른 유효한 역치 개념), 구성요소/재료 공급업체의 정보를 포함하여 포장 구성요소 및 재료의 추출물 평가에서 얻은 잠재적 침출물에 대한 정보를 기반으로 한다. 침출물은 일반적으로 추출물의 부분 집합이거나, 추출물과 화학적으로 연결되어 있기 때문에 침출물 특성 분석에 사용되는 분석 방법은 추출물 특성 분석에 사용되는 방법을 기반으로 할 수도 있다. 의약품 허가나 높은 위해도의 제제에 대한 침출물-추출물의 상관관계 설정 혹은 침출물의 규격 및 허용 기준의 개발을 뒷받침하는 제제의 안정성 시험에서 사용되는 침출물에 대한 모든 분석방법은 반드시 업계에서 인정된 밸리데이션 기준을 이용한 완전한 밸리데이션의 대상이다.

6.3. 분석용 의약품 준비-검액 조제

침출물 특성 분석을 위한 검액 조제는 잠재적 침출물의 화학적 특성, 완제의약품 검체 매트릭스의 화학적 특성 및 적용할 분석 기법에 달려 있다. 완제의약품 매트릭스는 유기 침출물 특성 분석에 중요한 문제이다. 완제의약품 매트릭스에는 원료의약품과 첨가제가 포함되어 있으며, 이들은 특정한 고효능 완제의약품을 제외하고는 일반적으로 침출물에 비해 높은 수준으로 존재한다. 유기 침출물에 대한 분석방법은 일반적으로 완제의약품 매트릭스에서 침출물을 분리하고 분석을 위

해 이들을 농축하기 위한 검액 조제법을 포함한다. 검액 조제법의 정확한 세부 사항은 개개 제제에 따라 다르고, 모든 사항을 정확히 예측하는 것은 불가능하지만 일반적으로 다음과 같다:

- **수성 제제(Aqueous dosage form)** (예를 들어, 흡입 액제, 소용량 및 대용량의 주사제, 점안제 등) 침출물은 디클로로메탄, 헥산 또는 석유 에테르 등과 같은 물과 섞이지 않는 유기용매로 액체-액체 추출 방법을 사용하여 회수할 수 있다. 수성 검체의 pH는 약산성 또는 염기성 침출물의 추출을 증가시키거나, 상대적으로 높은 농도의 원료 의약품 및 첨가제로 인한 추출의 문제점을 줄이기 위해 조절(즉, 증가 또는 감소)할 수 있다. 얻어진 유기 추출물은 필요한 경우 건조(예를 들어, 황산마그네슘 건조제 사용)하고, 필요한 경우, 건조 질소의 부드러운 흐름을 사용한 증발, 회전 증발 또는 구데르나-데니쉬(Kuderna-Danish) 농축기 등의 용매를 제거하는 방법으로 농축할 수 있다. 농축된 유기 추출물은 GC를 이용하여 직접 분석할 수 있다. 그러나, 수성의 이동상을 사용하는 HPLC 기반 방법일 때는 유기 추출물은 건조(혹은 거의 건조)되며, 얻어진 침출물 잔류물은 수성 용매(예를 들어, 아세토니트릴, 메탄올 등)로 추출된다. 휘발성 침출물(예를 들어, 용매)은 헤드스페이스 샘플링과 연결된 GC를 사용하여 완제의약품의 수성 검체로부터 직접 분석할 수 있다. 일부 침출 성분들의 회수는 추출 및 추출물 농축 과정에 의해 영향을 받을 수 있다는 것에 주의해야 한다.

- **고형 제제(Solid dosage form)** (예를 들어, 경구용 고형제, 흡입분말제, 동결건조 분말제 등)의 침출물은 완제의약품을 수용액에 용해하고 액체-액체 추출 및 추출물 농축을 통해 회수할 수 있다. 휘발성 침출물의 헤드스페이스 샘플링 및 GC 분석은 수성 검체에서 수행되거나, 혹은 일부의 경우 경구용 액제에서 직접 수행할 수 있다. GC에 의한 직접 분석을 위해 완제의약품 검체를 다른 적절하고 분석적으로 편리한 용제(예를 들

어, 유기용매)에 녹일 수도 있다. 그러나 원료의 약품과 첨가제로부터의 매트릭스 효과와 간섭이 일어날 수 있다.

- **경구용 액제(Oral liquid dosage form)** 침출물은 검체를 수용액에 용해시키고 액체-액체 추출 및 추출물 농축을 통해 회수할 수 있다. 휘발성 추출물의 헤드스페이스 샘플링 및 GC 분석은 수성 검체에서 수행되거나, 혹은 일부의 경우 경구용 액제에서 직접 수행할 수 있다. GC에 의한 직접 분석을 위해 완제의약품 검체를 다른 적절하고 분석적으로 용이한 용제(예를 들어, 유기 용매)에 녹일 수 있다. 그러나, 원료의약품과 첨가제로부터의 매트릭스 효과나 간섭이 일어날 수 있다.

- **크림제 및 연고제(Cream and ointment dosage form)** 침출물은 완제의약품 검체를 수용액에 녹이고 여과하여, 액체-액체 추출 및 추출물 농축을 통해 회수할 수 있다. 휘발성 추출물의 헤드스페이스 샘플링 및 GC 분석은 수성 검체에서 수행할 수 있다. GC에 의한 직접 분석을 위해 완제의약품 검체를 다른 적절하고 분석적으로 편리한 용제(예를 들어, 유기 용매)에 녹일 수도 있다. 그러나, 원료의약품과 첨가제로부터의 매트릭스 효과나 간섭이 일어날 수 있다.

- **비수성 용제를 사용한 제제(Dosage forms with non aqueous drug product vehicles)** (예를 들어, 유기용매 추진제가 포함된 정량흡입기(MDI)는 특별한 검체 전처리 과정이 필요하다.

침출물 특성 분석을 위한 검체 조제 방법은 가속 조건(예를 들어, 40 °C / 75 %RH 3개월 보관)에서 가속 시험한 완제의약품 검체, 기지의 잠재적 침출물을 스파이크한 제제 또는 위약 검체, 및/혹은 기지의 잠재적 침출물을 스파이크한 시뮬레이션 완제의약품 매트릭스와 같은 적절한 시험 검체를 사용하여 개발할 수 있다. 스파이크한 잠재적 침출물 회수는 분석법 개발 중에 평가하고 최적화해야 한다. 정량적 정확성과 정밀성을 개선하기 위해 내부 표준물질을 포함할 수 있다.

주의할 점은 침출물 특성 분석을 위한 검체 조제는 적용할 분석기법에 적합한 형태로 검액을 만들고, 개별 침출물이 선택된 역치에 대해 특성을 분석할 수 있도록 적절하게 농축되어야 한다는 것이다.

6.4. 분석기법

침출물 특성 분석에 적용되는 분석기법은 추출물 특성 분석에 적용된 것들과 동일하다. 탐색 분석은 일반적으로 침출물 특성 분석에는 적용되지 않는데, 이는 제제 성분이 탐색 방법을 간섭할 수 있기 때문이다. 유기 침출물의 발견, 확인, 정량에 가장 유용한 분석기법은 GC와 HPLC를 질량분석기와 결합하는 기법 즉, GC/MS 및 HPLC(또는 LC)/MS이다. 헤드스페이스 샘플링은 휘발성 화합물을 다루기 위해 GC/MS와 연결할 수도 있다. GC와 HPLC 화합물에 특이적이지 않은 다른 검출 시스템(예를 들어, FID, UV 등)을 잠재적인 침출물의 발견과 정량에 사용하는 것이, 유용하지만, 일반적으로 확인시험에는 유용하지 않다. GC와 HPLC 기법의 조합은 많은 침출물 검체에서 발견되는 다양한 화합물의 특성을 분석하는 데 요구되는 감도와 특이성을 가지고 있다. 침출물에 대한 분석법은 새로운 (또는, 구조 미지의) 침출물뿐만 아니라 목표물에 대한 특성 분석을 할 수 있어야 한다(예를 들어, GC/MS 또는 LC/MS 스캐닝). 그러나, 분석적으로 어려운 역치로 인해 추가적인 감도가 요구되는 경우 목표화합물 전용의 방법(예를 들어, 선택된 이온 모니터링이 있는 GC/MS)을 사용할 수 있다. 또한, 적절한 밸리데이션을 통해 화합물 특이적 기법(즉, GC/FID, HPLC/UV 등)에 기반한 시험방법을 사용할 수 있다.

침출물의 구조분석은 추출물에 대한 체계적인 과정과 함께 이루어져야 하고, 안전성 평가에 충분한 신뢰수준에서 수행되어야 한다. 크로마토그래피 기반의 하이브리드 분석기법이 침출물 특성 분석에 가장 흔히 적용되지만, 화합물 특이적 검

출 성능을 가진 다른 분석 기법(예를 들어, 핵자기공명분광법)을 이용할 수 있다.

6.5. 정량법-밸리데이션 시의 고려사항

정량적 침출물 시험방법의 밸리데이션은 산업계가 수용하는 관례, 기준 및 표준에 따라 수행되어야 한다. 필요한 밸리데이션 범위는 분석법이 이용되는 침출물 연구의 목표에 따라 달라진다. 밸리데이션 파라미터에는 정확성, 정밀성(반복성, 중간 정밀도), 특이성, 검출한계, 정량 한계, 직선성과 범위, 완전성이 포함될 수 있다. 각 침출물 시험방법에 대한 시스템 적합성 시험 및 기준도 개발해야 한다. 침출물 시험방법과 관련된 각 밸리데이션 파라미터에 대한 특별한 고려사항은 다음과 같다.

- **정확성과 정밀성**-밸리데이션 파라미터인 정확성과 정밀성은 일반적으로 목표 침출물의 기지량을 스파이크된 완제의약품 검체를 사용하여 평가한다.

이러한 평가에 사용되는 의약품 스파이크 매트릭스의 선택은 최종 완제의약품에 사용된 포장재료와 거의 접촉하지 않은 것이어야 하며, 내인성 침출물도 거의 측정되지 않아야 한다. 적절한 스파이크 매트릭스는 새로 제조한 제제와 시뮬레이션한 제제의 용제들을 포함할 수 있다. 스파이크 수준은 가속 안정성 시험 결과를 기반으로 결정하거나 추출 시험에서 잠재적 목표 침출물의 기지량으로부터 추정하여야 한다. 정확성은 일반적으로 세 가지 스파이크 수준에서 수행되며, 이 또한 가속 안정성 시험 결과를 기반으로 결정하거나 추출 연구에서 결정된 잠재적 목표 침출물의 기지량으로부터 추정할 수 있다.

- **직선성 및 범위**-잠재적 침출물은 포장 구성요소에서 매우 다양한 수준으로 존재하기 때문에 실제 완제의약품 침출물도 매우 다양한 수준으로 나타날 수 있다.

밸리데이션한 직선 범위를 각 목표 침출물 또는 침출물의 화합물 종류에 따른 잠재적 최대 축적

수준을 고려할 때 최상의 정확성과 정밀성이 얻어진다.

- **검출한계/정량한계**—미지의 침출물을 검출하고 정량하기 위해 정량한계는 지정된 분석 평가 역치(예를 들어, 분석 평가 역치(AET))이거나 그 아래이어야 한다.

- **특이성**—시험방법 특이성 평가는 스파이크한 완제의약품 검체와 스파이크하지 않은 완제의약품 검체에서 크로마토그래피의 피크 순도를 평가함으로써 이루어질 수 있다. GC 기반 정량법의 경우, GC/MS로 이를 수행할 수 있으며 HPLC 기반 정량법은 LC/MS 또는 LC/DAD(광다이오드 검출기)를 사용할 수 있다.

특이성은 완제의약품에 존재하는 화학물질과 관련하여 시험방법에서 관찰되는 간섭이 없는 경우 정성적으로 증명할 수 있다.

- **완전성**—중요한 분석법 파라미터(예를 들어, HPLC 유속, 칼럼, 이동상 농도기울기 등)를 고려한 통계적 접근법인 실험계획법을 사용하여 완전성 평가 프로토콜을 만들어야 한다. 가령 중요한 파라미터의 순차적인 변화와 같은 다른 접근법도 적용할 수 있다.

- **시스템 적합성**—크로마토그래피 기반 분석 방법은 직선성, 정밀성, 감도 및 특이성에 대한 시험을 포함한 통상적 시험방법 평가를 위해 적절한 시스템 적합성 기준을 포함해야 한다. 이러한 파라미터는 정량적 침출물 시험방법을 사용할 때마다 적절히 구성된 시험용 혼합물로 평가되어야 하며, 시험방법 밸리데이션 결과에 기반한 적절한 시스템 적합성 허용 기준을 포함해야 한다. 예를 들어, 감도는 분석 역치에서 제조된 표준품을 분석하여 확인할 수 있다.

다른 문헌에서 확인되는 밸리데이션된 침출물 시험방법을 사용할 수 있다.

7. 침출물-추출물 상관관계 확립

실제 완제의약품 침출물이 각 구성 재료, 포장 구성요소, 또는 포장 시스템에 대응하는 추출물

평가로부터 도출한 추출물과 정성적 또는 정량적으로 연관될 수 있을 때 침출물-추출물 상관관계가 확립된다. 침출물-추출물 상관관계는 여러 가지 이유로 중요한데, 여기에는 고위험 완제의약품에 대한 안정성 연구 중 침출물 시험의 대안으로 포장 구성요소의 통상적인 추출물 방출 시험 사용의 타당성, 저위험 완제의약품에 대한 규격 이탈(OOS) 결과를 일으키는 침출물의 출처 설정, 변경 관리 및 진행 중인 품질관리 등이 포함된다.

정성적 상관관계는 침출물이 추출물(즉, 잠재적 침출물)에 직접적 또는 간접적으로 연관될 때 입증된다. 예를 들어, 침출물 프로파일에서 관찰된 헥사데카노산(hexadecanoic acid)은 하나 이상의 1차 포장 구성요소의 추출물 프로파일에서 관찰된 헥사데카노산과 직접 연관될 수 있다. 에탄올이 의약품 구성요소이고 보관 중 의약품에서 에스테르화 반응이 일어날 수 있는 것으로 밝혀진 경우, 동일한 침출물 프로파일에서 관찰된 헥사데카노산의 에틸에스테르(ethyl ester)는 하나 이상의 추출물 프로파일에서 관찰된 헥사데카노산과 간접적으로 연관될 수 있다. 적절한 정량적 침출물-추출물 상관관계가 존재하려면, 완제의약품의 사용기간 중 각 침출물의 양이 그 출처 중의 대응하는 추출물의 양과 수학적으로 관련되어야 한다. 추출물과 침출물 간에 간단한 수학적 관계 중 하나는 완제의약품 중의 침출물의 양이 상응하는 추출물의 양보다 작거나 같아야 한다는 것이다. 예를 들어, 완제의약품 제제 성분에 존재하는 부틸히드록시톨루엔(BHT)의 농도가 $5 \mu\text{g/mL}$ 로 측정되었고, 부틸히드록시톨루엔(BHT)는 1차 포장 시스템 구성요소로부터 $300 \mu\text{g/구성요소 수준}$ 에서 추출되었다고 가정하자. 완제의약품 포장 시스템이 제형마다 이러한 구성요소의 하나를 포함하고, 포장된 제제가 50 mL의 부피를 갖는 경우, 부틸히드록시톨루엔(BHT)가 $300 \mu\text{g}$ ($300 \mu\text{g/구성성분} \times 1 \text{ 구성요소}$)에서 추출되어 $250 \mu\text{g}$ ($5 \mu\text{g/mL} \times 50 \text{ mL}$)로 침출되면서 정량적 침출물-추출물 상관관계가 확립된다.

그 결과, 평균 50 µg의 부틸히드록시톨루엔(BHT)가 계산되지 않으며(300 µg 추출 - 250 µg 침출), 이 양은 포장 구성요소에서 제제로 유출되지 않았거나(높은 가능성), 혹은 다른 공정에 의해 손실된 것(낮은 가능성)으로 결론 내릴 수 있다.

고위험 완제의약품의 경우, 침출물-추출물 상관관계는(가속조건 또는 사용기간이 다된) 여러 배치의 제제와 여러 배치의 포장 구성요소를 통해 확립할 수 있다.

추출물 연구는 이상적으로는 1차 안정성 시험에 사용된 배치를 제조하는 데에 사용된 구성요소들과 동일한 로트에 대해 수행하여야 한다(따라서 침출물 시험을 하여 침출물-추출물 상관관계를 확립한 완제의약품 배치에 대해 침출물 연구를 하여야 한다).

안정성 시험 중 제제에서 특정 침출물의 최대 수준이 추출 연구에 의해 확립된 동일한 침출물의 최대 잠재 축적 수준의 계산값보다 상당히 크고, 1차 안정성 배치를 만드는 데 사용된 구성요소의 동일한 배치에 대해 추출 연구가 수행되었다면, 추출 연구가 불완전했다고 결론지을 수 있으므로 특정 침출물에 대한 침출물-추출물 상관관계를 확립할 수 없다. 이 경우, 추출물 연구를 침출물의 최대 검출량을 초과하는 추출물 수준을 생성하는 실험으로 보강하거나, 침출물을 완제의약품 규격에 의해 사용기간 안정성 시험 제어 가능하나, 구성요소 수준에서의 추출물로서의 방출 시험은 이러한 침출물을 관리하기에는 부적절하다.

침출물-추출물 상관관계를 확립할 수 없는 경우는 포장 구성요소의 부적절한 추출물 평가, 포장 구성요소의 조성 또는 제조 공정에서 알려지지 않은 변화, 포장 구성요소 자체의 알려지지 않은 변화로 설명할 수 있다.

8. 침출물의 규격 및 허용 기준 개발상의 고려사항

완제의약품 침출물 연구에 있어서 밸리데이션된 분석방법과 이 분석방법으로부터 얻은 정보는 제

제 침출물 규격 및 허용 기준의 개발에 사용할 수 있다. 특정 상황에서, 가장 대표적으로 높은 위해도의 제제(예를 들어, 경구흡입비강제품(OINDP)에서 의미있고 유용할 수 있으며 때로는 완제의약품에 대해 정기적으로 침출물을 모니터링할 때 필요할 수 있다. 이런 상황에서 침출물 규격 및 허용 기준은 반드시 확립되어야 한다. 규격 및 허용 기준을 개발하는 방법은 침출물 수준을 결정하기 위해 최소 3 배치의 제제를 시험하는 것이다. 화학적 및 안전성을 철저히 평가한 다음, 3개 이상의 배치에서 얻은 시험 데이터를 사용하여 대상 침출물의 허용 기준 확립에 사용할 수 있으며, 그 기준은 1) 침출물 연구의 정성 및/또는 정량적 결과, 2) 제제의 제조 공정 성능에 대한 고려, 3) 침출물의 잠재적안전성, 배합 적합성 및/또는 완제의약품 품질에 대한 영향을 고려하여 확립된다. 침출물 규격은 출고 및 사용기간 종료일을 포함하는 제품 전주기 동안 제품에 적용되어야 한다는 점이 중요하다. 이는 완제의약품의 전체 사용기간 동안 침출물이 축적되기 때문이다.

침출물 규격 및 허용 기준이 확립된 의약품에 변경이 발생하면 분석 방법을 검토하고 허용 기준을 재평가하여 규격 및 허용 기준을 적절하고 과학적으로 합당하게 조정하는 것이 중요하다. 침출물의 농도를 적격하게 평가된 수준 이상으로 증가시키는 구성요소를 변경할 때는 불순물의 경우와 마찬가지로 제안된 수준에 대해 독성학적 평가가 필요하다.

허용 기준은 기지의 특정 침출물과 규격이 설정되지 않은 침출물 모두에 대해 정성적 또는 정량적인 것일 수 있다. 예를 들어 일반적인 침출물 기준은 다음과 같은 항목이 포함된다.

- 완제의약품의 사용기간 동안 적용되는 표적 침출물에 대한 사용기간 종료 시점의 정량적 한도값
- “규격 미설정” (이전에 확인되지 않았거나 상관관계가 없는) 침출물에 대한 정량한계 (정확한 정량 및 독성학적 평가를 위해서는 규격이 설정

되지 않은 침출물의 확인이 필요)

9. 추가고려 사항

9.1. 시뮬레이션

완제의약품 침출물 연구에서 모든 실제하는 침출물을 성공적으로 발견하고 확인하는 것이 분석적으로 불가능한 경우(예를 들어, 적용하기 어려운 역치로 인해)가 발생할 수 있다. 이러한 상황은 추출물 연구에서 발생할 수 있는 침출물을 발견하고 확인하는 활동을 통해 관리할 수 있으며, 추출물 연구에서는 검체 및 분석물의 농도를 더 쉽게 조절하여 필요한 분석 성능을 달성할 수 있다. 이러한 경우, 실제 제제 침출물 평가를 단순화하여 이 추출 연구의 일부로서 발견되고 확인된 표적 침출물을 고감도로 정량할 수 있게 된다.

발생할 수 있는 침출물의 발견과 확인을 용이하게 하기 위해서는 추출 연구가 완제의약품 침출물 연구와 비슷하게 설계되어야 한다. 이러한 추출 연구는 제제의 실제 상황을 시뮬레이션하기 위한 것인데, 제제 자체보다 특성 분석을 하기 쉬운 검체로 만들어져야 한다. 적절한 표적 침출물의 확립과 관련한 이러한 연구에서는 시험 검체를 만드는 데 사용되는 용매가 제제 성분과 거의 같은 침출 성향을 가져야 한다. 이러한 연구는 잠재적인 표적 침출물을 반영하는 추출물을 적절한 시기에 발견하고 확인할 수 있도록 침출물 연구에 비해 가속화되어야 한다. 이 시뮬레이션 연구와 완제의약품 침출물 연구 간의 시험 설계상의 차이점은 다음과 같다.

- 1) 완제의약품 제제가 그 제제를 모의하는 시뮬레이션 용매로 대체되었다는 점
- 2) 접촉 조건이 가속화되어 발생할 수 있는 침출물의 농도 및 이들의 시뮬레이션 용매로의 이동 속도가 증가되었다는 점
- 3) 시험 품목이 완전한 포장 및 전달 시스템이거나 해당 시스템의 독립된 구성요소일 수 있다는 점

시뮬레이션 용매를 설계하고 타당성을 고려할 요소와 잠재적인 표적 침출물로 여겨지는 추출물

에 대한 시뮬레이션 추출물을 특성 분석하는 데 사용되는 분석적 접근법에 대한 사항은 00. 의약품 포장 및 전달 시스템에서의 추출물 평가에 제시되어 있다. 추출물을 표적 침출물로 발견하고 확인하는 시뮬레이션의 의도를 감안할 때 시뮬레이션도 반드시 관련 있는 역치에 따라 진행되어야 한다.

역치가 매우 낮은 경우(예를 들어, 분석 평가 역치(AET))의 경우, 고감도 표적 화합물 분석 방법을 사용하더라도 완제의약품 침출물의 정량이 여전히 분석적으로 불가능할 수 있다. 그러한 경우 시뮬레이션 연구 결과(발생할 수 있는 침출물의 확인 및 농도)는 환자의 안전과 실제 의약품 침출물의 품질 영향을 확립하는 데 충분할 수 있다. 시뮬레이션 연구가 의약품 침출물 연구를 모의시험하는 경우, 추출물성 화합물로서 잠재적인 안전성 또는 품질 영향은 실제 침출성 화합물로서 잠재적인 안전성 또는 품질 영향의 추정값이다. 만약 이러한 조건에서 추출물로서 정량된 화합물이 안전성과 품질에 허용할 수 있는 만큼 작은 영향을 미친다는 것이 입증될 수 있다면, 완제의약품 제제에서 같은 화합물이 침출물로서 안전성과 품질에 대해 마찬가지로 작은 영향을 주는 것으로 가정할 수 있다. 특정 완제의약품에 대한 이러한 접근법의 수용 여부는 의약품 제조업자 또는 위탁제조판매업자에 의해 과학적으로 타당성을 입증할 필요가 있다.

화합물이 시뮬레이션 연구에서 추출물로 측정되고 침출물 시험에서 침출물로서 표적화되는 경우, 해당 화합물에 대한 추출물 및 침출물 데이터는 침출물-추출물 상관관계를 만들 수 있는 기반이 된다. 이러한 상관관계를 유효한 것으로 간주하려면, 제제 중의 각 침출물 농도가 시뮬레이션 추출물 중의 상응하는 추출물 농도보다 작거나 같아야 하며 분석 측정의 불확도와 시뮬레이션 연구에서 활용된 타당성 “과장 요인”을 설명해야 한다. 어떤 타당한 상황에서는 완제의약품의 위약 배치를 완제의약품의 침출물 연구(안정성 시험)

에서 시험 품목으로 사용할 수 있다. 하지만, 침출물이 원료의약품에 악영향을 미칠 수 있다고 믿을만한 상당한 사유가 있는 경우(예를 들어, 단백질 치료제)와 같이 위약 배치가 적합하지 않은 상황도 존재한다.

9.2 무기(원소) 침출물

의약품에서 원소 불순물로서의 침출물이라는 주제는 완제의약품 중의 원소 불순물이라는 전반적인 맥락 내에서 다룰 수 있다. 포장 또는 전달 시스템에서 침출된 원소 불순물은 완제의약품 중 원소 불순물 중 하나의 출처일 뿐이고, 원소 불순물에 대해 완제의약품을 시험한다고 해서 불순물이 침출물이라는 것을 확립하지는 못한다.

플라스틱 포장 시스템과 그 구성 재료를 시험하면 특정 포장 시스템과 관련된 추출 가능한 원소 불순물을 설정할 수 있으며, 이는 완제의약품 중 침출물과 같은 원소 불순물을 정량하기에 적절할 수 있다. 따라서, 플라스틱 포장 시스템의 시험 결과를 사용하여 의약품에서 표적 원소 침출물로 모니터링해야 하는 원소 불순물을 설정하여야 한다.

일반적으로, 의약품의 원소 불순물에 대한 가이드라인과 권장 사항은 원소 불순물과 관련된 안전성 문제를 다룬다. 그러나, 완제의약품의 전반적인 품질에 대한 더 넓은 관점에서 원소 침출물을 고려하는 것이 더 적절하다. 따라서, 원소 침출물을 평가하는 과정에는 사용자의 안전과 제품 품질에 관한 측면을 모두 포함할 수 있다.

유기 침출물(및 추출물) 시험과 원소 불순물 시험 간의 차이점 중 하나는 생성된 정보의 특성이다. 유기 침출물에 대한 시험은 침출물인 화합물의 특성을 확립하는 것을 기반으로 한다. 대안적으로, 원소 불순물을 처리하기 위해 가장 일반적으로 사용되는 시험법(원자분광법)은 검출된 원소가 존재하는 화합물 또는 형태를 확립해 주지는 못한다. 예를 들어, 황은 원소인 황(S8), 황산염(SO₄-2) 또는 황 함유 유기 화합물(예를 들어, 2-메르캅토벤조티아졸)의 형태로 존재할 수

있다. 또한, 실리콘은 실리콘 오일 또는 이산화규소(SiO₂)로 존재할 수 있다. 원소 불순물의 형태는 제품 품질이나 안전성에 대한 불순물 영향이 현저하기 때문에 원소 불순물 프로파일 작성 이상의 시험을 통하여 원소 불순물의 정확한 화학적 형태를 확립하고 잠재적인 안전성 또는 제품 영향을 확인할 필요가 있다.

원소 침출물에 관하여 완제의약품을 시험할 때 고려해야 할 가장 중요한 문제는 어느 원소를 침출물로 측정할 것인지를 설정하는 것이다. 플라스틱 포장 시스템과 그 구성 재료를 시험하면 특정 포장 시스템과 관련된 추출 원소 불순물을 설정할 수 있다. 그러므로 플라스틱 포장 시스템에 대한 시험 결과는 표적 원소 침출물로 모니터링해야 하는 원소 불순물을 설정하는 하나의 수단으로 사용해야 한다.

대한민국약전의 현장 활용도 강화를 위한 「현장중심 약전 협의체」 운영

2023년도 약전 개정 추진 결과

제약업계와 식약처 간 상호 소통에 기반한 대한민국약전(식약처 고시, 이하 약전) 개정을 추진하고자 2021년도부터 운영중인 「현장중심 약전 협의체」를 통하여 의약품각조 및 일반시험법 등 총 11건의 개정안을 도출, 고시 개정을 준비 중이다. 식약처 자체 연구를 비롯하여 회사와의 공동연구를 통해 제제 특성을 반영한 분석방법 개선, 주성분의 용해도를 고려한 용매 변경 등 제약현장의 애로사항을 해소하여 의약품의 적절한 품질관리가 가능하도록 지원하였다. 작년과 동일하게 올해도 협회를 통하여 약전 개정 의견을 수집하였으며, 이번 포럼에서 그 내용을 간략히 소개하고 올해 운영계획을 안내하고자 한다.

2024년도 의견 수집 및 개정 추진 계획

식약처는 지난 2월 29일부터 3월 15일까지 약 3주간 한국의약품수출입협회, 한국제약바이오협회 및 한국글로벌의약품산업협회를 통하여 제약업계를 대상으로 약전 개정 의견을 수집하였고, 의약품각조 제1부 13건, 의약품각조 제2부 15건, 일반시험법 12건 등 총 41건의 의견이 접수되었다. 문구 수정 등 단순 개선사항부터 완제의약품의 주성분 분량을 고려한 검액 농도 개선, 시험의 재현성 확보를 위한 시스템적합성 기준 개선 등 다양한 의견이 개진되었다. 또한, 용출시험법, 의약품 용기시험법 등 국제조화가 필요한 시험법에 대한 개선 의견이 지속적으로 제안되고 있으며, 멸균주

사용수에서의 TOC 시험법 도입과 같은 새로운 의견도 제안되었다. 약전 전반적인 검토가 필요한 사항은 순차적으로 개정을 추진하고자 한다.

제출된 의견은 단순 개선 등 즉시 개정이 가능한 품목(14건), 식약처와 회사가 공동연구를 통해 개정이 필요한 품목(5건), 추후 연구사업을 통한 개정이 필요한 품목(8건), 약전 개정에 기반되었거나 관련 연구사업을 추진 또는 완료한 품목(5건) 등으로 분류하였다.

즉시개정 품목은 별도의 시험 없이 개정 초안에 대한 관련분야 전문가들의 검토와 중앙약사심의위원회를 거쳐 최종안을 확정하고, 공동연구 품목은 공동연구 참여를 원하는 회사와 개정 방향 및 검증 시험 범위를 논의하여 실험을 통한 근거자료를 바탕으로 개정을 추진할 예정이다. 즉시개정 및 공동연구 품목은 내년 상반기까지 고시 개정을 완료하는 것을 목표로 한다. 이 외에 식약처에서 연구를 진행 중이거나 연구사업을 완료하여 개정안이 마련된 품목들은 추가적인 검토를 통해 순차적으로 개정을 추진할 계획이다.

[별첨 1] 약전 개정 제안 의견

제안된 개정 의견은 ▲ 의약품각조 제1부 13건, ▲ 의약품각조 제2부 15건, ▲ 일반시험법 12건, ▲ 그 외 1건으로 총 41건이 제출되었다. 이를 시급성 및 타당성에 따라 아래와 같이 5단계로 분류하여 개정을 진행하고자 한다.

- 1) 즉시개정(14건): 단순오류
- 2) 공동연구(5건): 회사자료, 외국 공정서 등 근거자료 기반한 개정 가능
- 3) 추후 연구사업 추진(8건): 연구사업 등을 통한 조사·연구 필요
- 4) 기타(5건): 개정 기반영, 연구사업 완료 및 추진 중
- 5) 개정 타당성 부족(4건): 국내 허가 품목 부재, 개정 시급성 부족 등
- 6) 그 외(5건): 관련 부서에 전달

1) 즉시개정 (중복의견 제외)

항목	품목명	문제점
의약품각조 제1부	디아스타제 · 프로테아제 N1 (확인시험 2))	확인시험 2)에 사용되는 3,6-디니트로프탈산일피리딘 시약의 수급이 불가함
의약품각조 제1부	레보설피리드 (N-에틸-2-아미노메틸피롤리딘)	표준품을 녹일 때 사용하는 “수산화나트륨용액”의 정확한 농도가 부재함
의약품각조 제1부	아세트아미노펜 (4-아미노페놀)	원료의약품 시험에 “해당량”이라는 문구가 적절하지 않음
의약품각조 제1부	아시클로버 (유연물질)	시스템적합성 중 시스템재현성 기준에 오류가 있음
의약품각조 제2부	라우릴황산나트륨 (정량법)	시험에 사용하는 0.004 mol/L 벤제토늄염화물액의 조제법이 누락되어 있고, 조작법의 문구가 어색하여 시험에 어려움이 있음
의약품각조 제2부	스테아르산마그네슘 (순도시험)	납, 니켈 시험방법 중 회석방법과 계산식의 회석배수가 상이함
의약품각조 제2부	프로필파라벤 (순도시험 3) 유연물질)	시험기준과 시스템성능 항에 있는 프로필파라벤에 대한 파라히드록시벤조산의 상대유지시간이 상이함
일반시험법	17. 미생물한도시험	표1-1 시험균의 조제와 사용법 중 균주명에 오류가 있음
일반시험법	24. 불용성이물시험법 (주사제 제1법)	KP는 약 1000릭스 밝기에서 육안 관찰하도록 되어있으나 미국, 유럽 등은 2000-3750 릭스에서 측정하도록 되어있어 개선 필요

항목	품목명	문제점
일반시험법	88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용 표준액 등 (2) 시약·시액)	히드라지늄황산염시액 조제방법이 2가지 기술되어 있어 구분이 어려움
일반시험법	88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용 표준액 등 (2) 시약·시액)	포르마진유탕원액 조제방법에 사용하는 “황산히드라지늄시액”의 조제법이 누락됨

2) 공동연구

항목	품목명	문제점
의약품각조 제1부	글루타티온 정 (정량법)	완제의약품 특성 상 첨가제의 영향으로 인해 글루타티온 약 2.5 mg 해당량을 채취하는 것이 적절하지 않음
의약품각조 제1부	S-아데노실-L-메티오닌 황산토실산염 (정량법 1) S-아데노실-L-메티오닌)	실제 시험 시 이론단수 기준을 충족하기 어려움
의약품각조 제1부	메토티렉세이트 (순도시험 2) 유연물질)	유연물질 검출 순서에 오류가 있음
의약품각조 제1부	아스피린 (정량법)	정량법에서 환류냉각기를 사용하도록 되어있으나 적합한 조건의 장비 구비가 어려움
의약품각조 제1부	클로르페니라민말레산염, 카페인무수물, 카페인수화물, 티페피딘히벤즈산염, 이소니아지드 (정량법)	비수적정시험으로, 육안으로 종말점을 식별할 때 시험자 간 편차가 발생할 가능성이 있어 개선 요청

3) 추후 연구사업 추진

항목	품목명	문제점	검토결과
의약품각조 제2부	멸균주사용수 (순도시험)	순도시험 중 과망간산칼륨환원성물질시험을 총유기탄소시험법(TOC)으로 대체 가능하도록 개선 요청	개선 필요성 인지하였으나, 멸균주사용수에 대해 USP에서만 TOC 도입하였으며, EP에서는 아직 검토 중인 것으로 확인되므로, 추가 자료 검토 후 개정 추진
의약품각조 제2부	에탄올(95), 에탄올(99.5) (정량법)	비중 온도 조건이 20℃로 변경되었으나 비중에 따른 함량표 등 참고 정보가 부재함	관련 각조 및 일반시험법(알코올수축정법), 비중표 추가 필요성 등 종합적으로 고려하여 개정 추진

항목	품목명	문제점	검토결과
일반시험법	보존제시험, 제제총칙	1) 제제총칙의 제제별 필수 시험 항목에 대한 재고가 필요함. 2) 보존제시험법의 국외 공정서와의 조화 요청	의약품의 품목허가·신고·심사 규정과의 연계로 인하여 심사부서 및 허가부서와의 내부논의 필요하며, 실제 제조 현장 상황 등을 고려하여 추진
일반시험법	용출시험법	KP의 판정법1(Q값)과 판정법2(구 판정법)를 국제 기준과 통일 제안	용출시험법이 수재된 각조의 경우 Q값이 있는 경우와 없는 경우가 혼재되어 있어, 일반시험법에서의 판정법2 삭제 가능 여부를 종합적으로 판단할 필요가 있음. 추후 연구사업 등으로 검토하여 필요시 개정 추진
일반시험법	주사제용 고무마개시험법	용출물시험 라) 환원성물질 시험에 사용되는 전분시액 조제법을 USP, EP와 조화하는 것 제안	시약 변경 타당성 및 개정 필요성 등을 종합적으로 검토하여 필요시 개정 추진
일반시험법	주사제용 유리용기시험법	1) 충전용량별 유리용기에 대한 각각의 기준 추가 제안 2) 590 ~ 610 nm에서의 투과도 기준 검토 요청	기준 변경 필요성 및 국제조화 여부에 대하여 관련 자료 등 검토 후 연구사업 통한 개정 추진
일반시험법	플라스틱 제의약품용기시험법	중금속시험 제2법에 따라 시험하도록 되어있으나, 해당 시험법에 검체 양이 특정되어 있지 않음	국외 공정서 현황 및 시험법 전반적인 검토가 필요하므로 추후 연구사업 통한 개정 추진

4) 기타

항목	품목명	문제점	검토결과
의약품각조 제1부	D-만니톨 (환원당)	변경대비표와 고시 원문이 상이함	수정된 고시 재업로드 완료
의약품각조 제1부	디아스타제 · 프로테아제 · 셀룰라제 (섬유소당화력시험법)	검액의 조제농도 범위가 기재되어있지 않음	개정 진행 중으로 2024년 내 행정예고 예정
의약품각조 제2부	인산수소칼슘수화물 (순도시험 3) 황산염, 5) 바륨)	3) 황산염: 검체 채취량이 변경대비표와 고시 원문이 상이함 5) 바륨: 기존 수은시험방법의 조작조건이 삭제 되지 않은 채 삽입되어 있음	3) 황산염: 수정된 고시 재업로드 완료 4) 바륨: KP12개정 이후 변경된 사항 없음

항목	품목명	문제점	검토결과
의약품각조 제2부	포비돈 (순도시험 3) 알데히드)	계산식 및 기준의 단위가 변경 대비표와 고시 원문이 상이함	고시 수정 예정

5) 개정 타당성 부족

항목	품목명	문제점	검토결과
의약품각조 제1부	에스암로디핀니코틴 산염	미수재 원료로 신설 제안	신규수재 원칙을 고려했을 때 우선순위에 해당하지 않음
의약품각조 제1부	옥시라세탐	유효성 재평가 결과 후속조치에 따른 품목허가 취소 조치에 따라 약전에서의 각조 삭제 요청	약전 수제품목은 의약품 품질 관리를 위한 시험법에 관한 사항을 기재해 놓은 것이며, 추후 다른 효능효과를 가지고 제조될 수 있음. 특정 효능효과에 대한 재평가 실패를 사유로 각조를 삭제하는 것은 근거가 부족하다고 사료됨.
일반시험법	탁도시험법	판정에서 “투명성” 및 “투명하다”의 용어 재고 요청	해석에 어려움이 있거나 시험에 문제가 되지 않으므로 개정 시급성 부족
일반시험법	88. 표준품, 시약·시액, 용량분석용 표준액 등 (5) 색의 비교액)	“뮤렉시드·염화나트륨지시약” 조제시 사용되는 뮤렉시드 시약의 수급이 불가함	시약수급 가능성을 확인하였으므로 개정 타당성 부족

6) 그 외

항목	품목명	문제점
의약품각조 제2부	꿀 (레소르신 정색물)	5-히드록시메틸푸르푸랄 확인시험 중복으로, 레소르신 정색물 시험항목 삭제 요청
의약품각조 제2부	마황 (정량법)	검액 전처리 시 추출이 용이하지 않아 시험 검체량 변경 요청
의약품각조 제2호	시호 (확인시험)	확인시험(TLC) 기준 변경 필요
의약품각조 제2호	작약 (정량법)	시스템적합성용액 조제 방법 추가 필요
그 외	의약외품에 관한 기준 및 시험방법	부직반창고, 멸균반창고(1회용), 생리대 포름알데히드액 표정 환산값 수정 등 단순 오류 정정 요청

외국 약전 동향 및 이슈

국제조화

(INTERNATIONAL HARMONIZATION)

ICH(International Council for Harmonization)에서는 2024년 1월 24일에 Q3C(R9) 잔류용매 가이드라인이 일부 개정되어 ICH 프로세스의 4 단계에 도달했다. 이번 개정에서는 분석방법에 대한 용매 휘발성을 고려한 3.4 섹션의 경미한 개정이 반영되었다.

ICH 웹사이트에서 제공되는 교육자료로서 ICH M10 “Bioanalytical Method Validation and Study Sample Analysis”가 게재되었으며, ICH Q12 Regulatory and Technical Considerations for Pharmaceutical Product Lifecycle Management의 일관된 해석과 조화로 온 이행을 촉진하기 위한 종합적인 교육 프로그램과 관련 자료(동영상)가 게재되었다. 이외에도 ICH Q2(R2)/Q14 일반적인 개념을 설명하는 입문용 교육 프레젠테이션이 게재되었다.

2024년 6월 4~5일간 일본 후쿠오카에서 열린 ICH 총회에서는 아르헨티나 식품의약품의학기술청(ANMAT)와 요르단 식약청(JFDA)을 새로운 ICH member로 맞이하여 총 23개 member와 35개 observer로 확대되었다.

새로운 주제로서 니트로사민 불순물에 대한 적절한 관리 설정 및 안전성 평가를 다루기 위해 가이드라인 M7 Assessment and Control of DNA Reactive (mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk의 부록으로서 M7 유지 관리

절차를 활용하여 국제조화된 섭취 허용량(acceptable intakes, AIs) 세트를 개발하기로 결정하였다.

또한 약물 상호작용 연구에 관한 가이드라인 M12 및 관련 질의응답이 step 4에 도달하였다. 이 가이드라인은 치료제 개발 중 효소나 수송 매개의 in vitro 및 clinical 약물간의 상호작용(Drug-Drug Interaction, DDI)연구의 설계, 수행 및 해석에 관한 가이드라인이다.

ICH M14 “General Principles on Plan, Design and Analysis of Pharmacoepidemiological Studies That Utilize Real-World Data for Safety Assessment of Medicines”의 가이드라인 초안이 승인되었다(Step 2). 이 가이드라인은 연구 프로토콜 및 보고서의 개발과 규제 평가를 간소화하기 위해 연구 수행에 대한 권장 사항과 모범 사례를 개괄적으로 설명한다. 이러한 권고사항과 모범 사례를 통해 규제당국은 연구 프로토콜 및 결과를 수용할 수 있는 능력을 개선하고 연구 결과에 따른 의사 결정에 활용할 수 있다.

또, E2D(R1) Post-Approval Safety Data: Definitions and Standards for Management and Reporting of Individual Case Safety Reports 개정 초안이 승인되었다(Step 2). 이 가이드라인은 ICH 지역마다 시판 후 안전성 보고요건이 다른 점을 고려하여 가능한 한 조화를 이루는 권장 사항을 제공한다. 다만, 지역별 요건이 다를 수 있으므로 시판 허가 보유자는 해당 지역 규제당국의 요건을 참조해야 한다고 명시하고 있다.

PDG에 의한 유지관리를 반영하기 위해 Q4B

개정(R1)을 승인하였다. 이 개정안은 Q4B와 그 부속서의 유지 관리에 대한 책임이 약전 논의 그룹(PDG)으로 이양되는 것을 반영한다. 이는 최근 몇 년간의 ICH 규제 회원국 증가를 고려한 것으로, 비PDG 약전에서는 자신의 시험법을 PDG 시험법과 조화시키거나 각국의 시험법과 병행하여 PDG 시험법을 이행할 수 있는 선택권을 부여 하도록 하는 것이다.

이외에도 새로운 가이드라인인 E22 “General Considerations for Patient Preference Studies”의 concept Paper업데이트를 승인하였으며, Regulatory Member와 Observer의 현재 ICH 가이드라인 이행 및 준수 수준을 파악하기 위한 설문조사 결과가 발표되었다. 조사 결과, 2019년과 2021년 두 차례의 조사 이후 규제 당국이 ICH 가이드라인을 이행하는 데 있어 상당한 진전을 이뤘음을 보여주고 있으며, 요약 보고서가 ICH 웹사이트에 게시되었다. 또, Q9(R1) Quality Risk Management에 관한 2006~2010년 ICH Q8/Q9/Q10 교육 자료의 업데이트를 마무리하여 ICH 웹사이트에 게시할 예정이다. 다음 ICH 총회 회의는 2024년 11월 5일과 6일에 캐나다 몬트리올에서 열릴 예정이다.

미국약전포럼

(U.S.PHARMACOPEIAL FORUM)

Pharmacopeial Forum 50(1)에서는 2개 일반 시험법 및 5개 일반정보의 제개정을 제안하였다.

유통기한이 짧은 제품에서의 미생물 오염 검출을 위한 시험법으로서 <72> **Respiration-Based Microbiological Methods for the Detection of Contamination in Short-Life Products** 및 <73> **ATP Bioluminescence-Based Microbiological Methods for the Detection of Contamination in Short-Life Products**, <1071> **Rapid Microbial Tests for Release of Sterile**

Short-Life Products: A Risk-Based Approach의 신설이 제안되었다. 이 일반시험법 및 일반정보는 지난 포럼 46(6)에서 제안되었던 의견을 바탕으로 업데이트되었다. <72> 및 <73>에서는 시험 미생물의 접종량을 10 CFU 이하로 하고, 표 1의 미생물 목록이 최소 요구 사항임을 명시하였으며, 적합성 시험에 양성 대조균과 음성 대조균이 포함되도록 하였다. 검출까지 최장 시간을 결정하기 위한 안전 마진 개념 도입하여 일반시험법 신설을 다시 제안하였다. <1071>에서는 유통기한이 짧은 제품에 대한 신속 미생물학적시험법의 적용을 재정의하고, 오염가능성을 평가하고 검체 채취량을 정의하기 위한 계산법을 도입하였으며, 위험도 기반 미생물학적 방법을 결정할 때 사용할 주요 매개변수 중 검출 한도를 제외하였다. 또한 신속 미생물학적시험법의 밸리데이션 및 적합성 시험에 대한 추가 지침을 제공한다.

<1053> **Capillary Electrophoresis**는 PDG 조화합의의 일환으로 stage2에 도달한 국제조화문서를 적용하기 위하여, 장치 섹션에 Hydrodynamic Injection과 Electrokinetic Injection유체 역학 주입 및 전기 운동 주입을 추가하고 이 두 가지 주입 모드를 자세히 설명하도록 하였으며, 모세관 전기영동 작동 조건의 조정 섹션을 새로 추가하였다.

미생물부하(Bioburden)에 관한 일반정보로서 <1119> **Bioburden Monitoring**와 <1119.1> **Bioburden Test**를 신설하고 기존의 <1229.3> **Monitoring of Bioburden**를 삭제하도록 제안하고 있다. 미생물부하 모니터링의 목적은 품목이 미생물부하의 허용 한도를 일관되게 충족하는지 확인하는 것이다. 이 일반정보에서 제안된 권장 사항은 관련 보건 당국의 기대에 최대한 부합하도록 조정된 것이다.

지금까지는 <61> **Microbial Enumeration Tests** (미생물한도시험법 중 I. 생균수시험에 해당)으로 미생물부하에 대해 적용될 수 있다는 가

정이 있었으나, <61>은 <1111>Microbiological Acceptance Criteria for Nonsterile Pharmaceutical Preparations and Substances for Pharmaceutical Use (미생물한도시험법 중 III. 비무균의약품의 미생물학적 품질특성)에 규정된 의약품 및 원료에 관한 시험이다. <1119>에서는 비무균의약품의 출하시험 이외의 목적으로 일반적인 미생물부하시험으로 사용할 수 있는 방법을 제안하고 있다.

<1119>에는 적용범위, 샘플링 및 허용한도에 관한 추가 정보가 포함되어 있으며, 미생물부하시험법으로서 mesophilic 호기성 미생물을 총 호기성 미생물수로 적절하게 정량화하는 방법을 <1119.1>에서 제안하고 있다.

<1229.3>의 내용은 신설되는 <1119> 및 <1119.1>에 적절히 나누어 싣고 <1229.3>는 삭제하도록 제안하였다.

Pharmacopeial Forum 50(2)에서는 통칙의 개정, 용기에 관한 일반시험법 및 3개 일반정보의 제개정을 제안하였다.

USP의 통칙에서는 3.10 Applicability of Standards를 개정하여 각조에 수재되는 정의(definition)에 의약품의 함량 뿐만 아니라 다른 물질의 첨가에 대한 허용, 의약품에 대한 설명 및 주의사항, 상에 관한 정보 및 의약품 제조에 관한 정보 및 관련 규제정보와 같은 내용이 포함될 수 있기 때문에, 해당 추가정보들이 반드시 준수해야 하는 규정이 아니라는 내용을 명확히 하도록 하고, 관련하여 5.15 Definition항 및 5.20 Added substances항에 추가정보가 포함될 수 있다는 내용을 반영하였다. 또, 5.60 Impurities and Foreign Substances에서 “foreign substances”를 “contaminants”로 바꾸고, <1086>Impurities in Drug Substances and Drug Products에 관한 언급을 삭제하고 존재할 수 있는 모든 불순물 또는 오염 물질에 대한 시험을 각조에 포함시키는 것이 항상 실용적인 것

은 아니라는 문구를 도입하였다. 또, ICH Q3A 및 Q3B의 도입으로 각조에서 <466>Ordinary Impurities에 대한 참조가 삭제됨에 따라 통칙에서 <466>의 참조를 명시하는 5.60.10 Other Impurities in USP and NF Articles항을 삭제하였다. 그리고 새로운 항목으로 5.60.10 Impurities that are Unusually Toxic and/or Mutagenic를 추가하여 ICH M7에 따라 잠재적 발암위험을 제한하기 위한 의약품의 돌연변이 유발성 불순물 평가를 적용하도록 하였다. 5.60.20의 표현을 명확히 하고 5.60.30의 제목을 <2322>와 일관되도록 변경하고, 5.60.40 Organic Impurities in Drug Substances and Drug Products을 추가하였다. 이 항에 대해서는 추후 관련 일반정보의 개발에 따라 첨가제 및 식이보충제와 같은 유형의 규격에 대한 불순물 및 오염물질 관리 조항이 신설될 것으로 예상된다.

이외에 크로마토그래피에 기반하여 각조에 적용할 수 있는 확장된 개념이 적용되었으며, 4.10.10 Applicability of Test Procedures에 “(해당 불순물이) 존재하는 경우”라는 문구로 표시함으로써 다양한 불순물 프로파일을 수용할 수 있는 접근법을 명확히 하였다. 또, 5.80 USP Reference Standards에서는 이미 디지털 및 시각 자료와 같은 다른 유형의 참조를 고려하고 있으므로, 물리적 자료라는 의미의 “authentic specimens”의 삭제를 제안하였다.

PDG의 일환으로 <697> Container Content for Injections의 개정을 제안하였다. 단일용량용기, 카트리지 또는 프리필드시린지에 담긴 주사제, 대용량 정맥주사액에 대해서는 시험해야 하는 용기 번호를 지정하지 않도록 수정하고, 공정 변동성과 최소 주입량을 기반으로 한 개별 결정에 초점을 맞추도록 하였다. 단일 용량 용기에 대해서는 2mL 이하의 소량 주사제에 대해 용기별로 추출용량을 시험할 수 있도록 개정하고, 10mL 이상의 용기는 라벨링 지침에 따라 시험할 수 있도록 수정하였다.

분석법에 쓰는 필터와 멤브레인의 선택 및 특성화에 대한 권장사항으로서 <1002> **Filters and Membranes**의 신설을 제안하였으며, <1030> **Biological Assay Chapters - Overview and Glossary**의 제목을 “An Introduction to the Biological Assay Chapters—Overview and Glossary”로 변경하고, 챕터의 범위를 생물학적 분석 소개, 생물학적 분석의 주요특성특성, 생물학적 분석 챕터의 전주기적 개념 및 프레임워크, 범주 및 변동성 수준, 용어집 등을 포함하도록 확장할 것을 제안하였다.

고체에 대한 핵자기공명 분광법은 물질의 고체상 특성과 직접적으로 관련된 문제에 초점을 맞춘다는 점에서 액체 NMR 분광법과는 차이가 있다. 따라서 <1762> **Solid-State Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy - Theory and Practice**를 신설하여 이전의 <1761> **Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**에서 설명하지 않는 고체핵자기공명분광법(solid-state nuclear magnetic resonance (ssNMR))의 기본 원리와 실제 응용을 위한 정보를 제공하도록 하였다.

Stimuli article로서 수재된 **In-Vitro Product Performance Testing of Oral Drug Products - View of the USP Expert Panel**를 수재하였다. 이 문서에서는 현행 공정서의 제품성능시험을 평가하기 위한 갯분석을 수행하고, 현행 시험의 적용 및 혁신적인 새로운 접근법의 개발 가능성에 대한 권장 사항을 제공하고 있으며, 이러한 시험의 모범사례 및 규격 수립에 USP가 어떻게 활용되는지를 포함하고 있다. 이 문서는 특히 경구용 제형에 초점을 맞추어 특정 유형별로 품질관리와 생물학적 활성 등의 목적을 지원하기 위한 용출시험법 개발의 한계와 도전과제에 대해 설명하고 있다.

Pharmacopeial Forum 50(3)에서는 3개의 일반시험법의 제개정을 제안하였다.

<7> **Labeling**에서는 다성분 마취제에서 새로운 에피네프린 포뮬을 적용하고 그 강도에 대한 비율적 표현을 삭제하였으며, 주사용 염화칼륨농축액에 대하여 연성 용기의 사용을 포함하는 내용을 추가하였다. 이외에 유효기간 형식을 명확히 하고 투여량컵에 대한 라벨링을 업데이트하였다.

<11> **USP Reference Standards**는 지난 PF 50(2)의 통칙 개정안과 연계하여 표준품의 범위를 공정서시험에서 사용할 수 있는 “materials”에서 “references for comparison”로 확장하고 디지털 참조표준(USP dRS)에 적용할 수립 접근법을 추가하고 디지털 이미지를 넘어 USP dRS를 사용할 수 있는 가능성을 표시하고 시각적 이미지를 디지털 파일로 인코딩할 수 있는 USP dRS 옵션을 유지하도록 하였다. 또, 표준품의 보관에 대한 세부 사항이 실제 표준품에 적절히 적용되도록 수정하였으며, 표준품 라벨의 세부사항이 적절히 적용되도록 하였다. 또, 기존 USP dRS의 새 버전 도입 가능성과 이전 및 폐기된 버전에 대한 유효 사용 날짜의 제한을 설명하는 단락을 추가하였다.

현재 수산화나트륨 및 수산화칼륨에 대한 NF 각조에서 분석 및 불순물 시험은 AAS 기법을 기반으로 한다. 그러나 교정 곡선에 대한 허용 가능한 회귀 계수 설정, 시험의 반복성 및 재현성 등 AAS 기법과 관련된 여러 문제들에 대해 여러 차례 의의가 제기되었기 때문에 ICP-OES에 기반한 시험법으로서 새로운 일반시험법 챕터인 <317> **ICP-OES Testing for Sodium Hydroxide and Potassium Hydroxide**의 신설이 제안되었다. 이 시험법은 수산화나트륨과 수산화칼륨에 대해서만 적용되며, AAS 및 ICP-OES 두 가지 방법 중 하나를 선택할 수 있다. 이 일반시험법에는 수산화나트륨의 나트륨 함량 및 수산화칼륨의 칼륨 함량을 측정하는 ICP-OES 방법이 포함되어 있으며, 수산화나트륨의 불순물인 칼륨 및 수산화칼륨의 불순물인 나트륨의 추정과 관련된 ICP-OES 기반 방법이

제안되었다. 나트륨의 경우 589.592 nm, 칼륨의 경우 766.490 nm의 파장이 사용되었다.

USP는 Stimuli article로서 분석기기 및 시스템(AIS)에 대하여 세번의 stimuli문서를 게재하였으며, 이에 대한 의견들에 대한 답변으로서 **USPC Responses to Comments for Stimuli Articles on Analytical Instrument and System (AIS) Qualification**를 게재하였다. 현재 공식 일반시험법/일반정보 <1058> Analytical Instrument Qualification에 제공된 정보를 사용하여 "의도된 용도에 적합"한 것으로 자격을 갖추어야 한다. 분석 기기 또는 시스템의 작동 및 성능을 검증하는 것은 품질관리시스템의 중요한 부분이며, 현재의 GMP 환경에서 필요한 부분이다. USP는 2024년 6월 11일부터 12일까지 분석 기기 및 시스템 자격에 관한 워크숍을 개최하여 각 조직에서 이러한 주제에 대한 추가 이해관계자의 의견과 현재 생각을 수집할 예정이다.

유럽약전포럼(PHARMEUROPA)

PharmEuropa 35.4에서는 3개의 분석법과 4개의 일반정보가 수재되었다.

유럽약전위원회는 단일 클론 항체에 대한 유럽 약전 문서화를 진행하고 있으며, 이는 지속적으로 진화하는 다중 제품 시장에서 이러한 복합적 바이오의약품의 표준화를 위해 유연한 개념(수평적 표준)을 모색하기 위함이다. 이의 일환으로

2.5.44. Capillary isoelectric focusing for recombinant therapeutic monoclonal antibodies가 제안되었다. 이 챕터는 단클론항체(mAb)의 전하 이형성(charge heterogeneity)을 분석하여, identity와 품질 및 생산 일관성을 모니터링하는 데 적합한 다중 제품 시험법으로서, 기존 시스템(시험법 A)과 영상 시스템(시험법 B)에 기반한 두 가지 모세관 등전점 시험법의 적용 가능성을 확인하였다. 시험의 적합성은 mAb 세트를 사용한 검증 실험을 통해 선택성, 정밀도

및 재현성의 측면에서 입증되었으며, 이 챕터에서는 두 시험법을 수행하기 위한 자세한 설명과 시스템성능, 시스템 적합성, 분석 허용기준, 데이터 분석 및 결과 평가에 대한 고려사항을 제공하며, 분석법 개발 및 검증을 포함하여 제품별 적용 시 고려해야 할 일반적인 권장 사항도 제공 하고 있다.

2.7.24. Flowcytometry에서는 introduction이 서문과 원칙으로 분리되었으며 장비의 정상 및 시스템 선택을 묶어 기술적 고려사항 섹션을 추가하였다. 전처리 과정이 추가되었으며 데이터 수집 및 분석이 별도 섹션으로 구성되었으며, ‘Application’, ‘Qualification’ 및 ‘Validation’ 이 별도 섹션으로 추가되는 등 전반적으로 개정되고, 단계별 절차에 이해를 돕기 위한 예시가 추가되었다.

또, PDG 에 따른 주요 개정사항으로서 **2.9.31. Particle size analysis by laser light diffraction**에 대하여 기기 설명과 허용오차한도가 업데이트되었으며, ISO 13320:2020에 따른 기기인증 요구사항이 유럽약전에서만 반영되는 기준으로 추가되었다.

PharmEuropa 36.1에는 2개 시험법과 1개 일반정보가 수재되었다.

2.5.42. N-Nitrosamines in active substances and medicinal products에서는 A법 및 C법의 범위에 사르탄 함유 의약품을 포함하고, A법을 정량 시험으로 적용할 수 있도록 하였다. **2.2.46 Chromatographic separation techniques**에 나열된 크로마토그래피 조건의 허용 조정 범위를 초과하여 시험법을 수정하는 경우에는 밸리데이션을 수행해야 한다는 요건이 추가되었다.

2.6.7. Mycoplasmas에서는 시험에 따라 정당화되고 승인된 경우를 제외하고, 배양법과 지표세포 배양법(또는 NAT 방법)을 함께 사용하여 배양 가능한 마이코플라스마와 배양 불가능한 마이코플라스마를 모두 검출해야 한다. 마이코플라스

마 검체에는 일반적으로 세포와 상청액을 모두 포함하여야 하지만 대체 방법(배양 상청액만 사용)도 허용될 수 있도록 하였다. 일상시험에서는 위험 평가를 기반으로 양성 대조군(추가 균주 포함)의 선택 및 간접 물질 평가를 수행하도록 하였으며 마이코플라즈마 검출을 위한 핵산증폭법(NAT)의 유효성 검증에 관한 지침에서는 포함할 균주, 생존 가능한 기준 균주의 특성화, GC/CFU 비율에 대한 허용 기준 등이 최신 기술에 맞게 대폭 수정되었다.

5.1.9. Guidelines for using the test for sterility에서는 5.1.6. Alternative methods for control of microbiological quality에 따라 대체 방법을 사용할 수 있도록 하였다. 미생물오염에 대한 예방으로서 무균시험을 수행해야하는 환경 및 장소에 대한 요구사항이 단순화되었으며, 무균 시험만이 관리당국이 사용할 수 있는 유일한 분석방법이라는 문구가 삭제되었다. 최종 멸균 제품 및 동결 건조 제품에 대한 권장 사항을 제공하기 위해 샘플링 계획에 대한 고려 사항이 보완되었으며 멸균 시험 무효화에 대한 권장 사항이 포함되었다.

일본약전포럼

(JAPANESE PHARMACOPOEIAL FORUM)

최근 일본약전과 유럽약전은 2024년 4월부터 원료의약품 및 완제의약품에 대한 약전 표준을 목표로 양자간 약전 조화 프로젝트를 시작하였다. 이 프로젝트는 2016년 9월에 EDQM과 MHLW/PMDA간의 협력각서 및 비밀유지협약의 틀 내에서 진행되며, 기관간 관계를 강화하고 협력을 촉진하기 위한 것이다. 이로 인해 두 약전 표준의 조화 및 융합작업을 확대하고자 하는 것이다. 이의 일환으로 일본약전의 시험법이 전반으로 재검토되고 있다.

JP forum vol.33 No.1에는 제제총칙 3건의 개정, 일반시험법 2건 및 일반정보 3건의 개정을 제안하였으며 일반정보 1건의 신설을 제안하였다.

JP19개정에 적용될 제제총칙 중 5.1.3. 吸入エアゾール剤(흡입에어로솔제)에서는 ‘유효성분에 용제 및 적절한 분산제, 안정화제를 넣어 용액 또는 현탁액으로하여 정량분무가 가능한 용기에 충전한다’는 제법을 추가하였으며, 2.3. 口腔用スプレー剤(구강용 스프레이제) 및 5.1.3. 吸入エアゾール剤(흡입에어로솔제)는 용기에 관한 규정을 내압성의 밀봉용기 또는 기밀용기를 쓰도록, 11.3.1. 外用エアゾール剤(외용에어로솔제)에 대해서는 내압성의 밀봉용기를 쓰도록 변경하였다

일반시험법으로서 2.56 比重及び密度測定法(비중 및 밀도시험법)에서는 JIS의 개정에 따라 물의 밀도에 관한 표를 국제권장값에 맞추어 개정하였으며, 6.14吸入剤の送達量均一性試験法(흡입제의 전달량균일성시험법)에서는 기존의 가압식 에어로솔제에 대해서만 상정하여 작성하였던 부분을 가압식과 비가압식 에어로솔제로 분류하여 개정하게 되었다. 이와 관련하여 점비제에 대한 부분을 보완하기 위해서 일반정보로서 点鼻剤の噴霧量均一性試験法 (점비제의 분무량 균일성시험법)의 신설을 제안하였다.

또 일반정보에 수재된 微生物迅速試験法〈G4-6-190〉(미생물신속시험법)을 개정하였다. 기존의 배양법을 이용한 미생물시험은 판정결과에 수일 이상이 소요되며, 미생물 배양배지의 선택에 따라서는 10일 이상 소요되는 경우도 있다. 이 시험법은 기존의 미생물 배양을 기본으로 하는 방법과는 다른 원리로 특정 미생물에 주목하는 방법과 함께 미생물 군집을 포괄적으로 이해하는 것이 중요하다. 이 개정에서는 기존의 미생물 신속시험법의 원리에 관한 설명을 보완하고 밸리데이션 및 응용분야, 이용시 고려해야 할 사항에 대해 추가적인 설명이 반영되었다.

遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-190〉(유전자해석에 의한 미생물의 신속동정법)

에서는 본 방법은 박테리아의 경우 16S rRNA의 고도 가변 영역 전체 또는 일부, 진균의 경우 18S rRNA와 26S/28S rRNA 사이의 스페이서 영역(ITS1-5.8S rRNA-ITS2) 또는 26S/28S rRNA의 D1/D2 영역의 유전자 염기서열을 분석하고 데이터베이스와 대조하여 미생물을 신속하게 동정 데이터베이스와 대조하여 미생물을 신속하게 동정 또는 추정하는 방법을 제시한다. 이번 개정에서는 조작법을 보완하고 PCR산물의 검출 항을 삭제하였으며, 관련하여 불필요한 PCR 반응액 조제법을 삭제하였다.

또한, 日本薬局方における標準品及び標準物質〈G8-1-190〉(일본약전에 있어서의 표준품 및 표준물질)을 개정하여 생물활성표준품, 시스템적 합성시험에 쓰는 표준품의 정의를 명확히 하고 정비하고 생물의약품의 시험에 쓰는 표준품의 품질평가항목을 신설하는 등 일본약전 표준품 시스템적합성시험용 표준품 규정을 정비하였다.

이외에 JP19개정 수재 예정안으로서 2.00クロマトグラフィー総論(크로마토그래피총론)에 대하여 PDG조화합의를 바탕으로 SN 비의 계산을 위한 노이즈 측정 범위를 PDG조화합의에 맞게 “표준액에서 얻은 크로마토그램에서 피크폭의 20배에 해당하는 범위”로 변경하고, 시스템의 감도표시를 위한 SN비를 보고임계값에서 피크의 SN비가 10 이상이 되도록 하였으며, 피크의 대칭성에 관한 사항으로서 ‘순도시험 및 정량법 등에서 정량에 쓰는 표준액의 피크’로, 대상을 명확히 하였다. 이외에 칼럼의 내경을 변경하는 것이 가능하다는 취지를 명확히 하기 위해 일부 표현을 정정할 예정이다.

2.66 元素不純物 (원소불순물)에서는 PDG조화합의에 따라 조화합의 되었다는 안내문구를 삽입하고 전반적인 표현을 수정하고, 검출한계에 대하여 추가적인 설명으로서 “목표 농도와 목표 농도보다 낮은 알려진 농도의 목표 원소를 함유한 시료를 분석하여 검출 한계가 충분히 낮다는 것을 나타낸다. 그 분석방법이 가능한 한 낮은 농도

의 결과를 보여야 한다는 의미는 아니다.”를 신설할 것을 제안하였다.

JP forum vol.33 No.2에는 통칙의 일부, 일반 시험법 2건을 개정하고, 일반정보 2건의 신설을 제안하였다.

통칙에서는 기존 39항에서 정밀하게 계량하는 경우에 대하여 그 설명으로서 “그 -10% 범위의 채취로 인해 유효숫자 자릿수가 적어지는 경우에는 $\pm 10\%$ 범위에서 요구되는 유효숫자 자릿수를 유지하는 방법으로 채취한다.”는 내용을 추가하였다.

일반시험법인 7.01 注射剤用ガラス容器試験法(주사제용 유리용기시험법)에서는 용기의 형태 및 내용물의약품의 용도에 따라 다음 제1법 또는 제2법 중 하나를 사용하거나, 용기의 형태나 내용물의약품의 용도에 관계없이 제3법을 사용하도록 개정하고, 용융 밀봉의 유무와 내용액의 양에 관계없이 적용할 수 있는 시험법인 제3법으로서 분쇄법과 표면법을 신설하였다.

또한, 6.05 注射剤の採取容量試験法(주사제의 채취용량시험법)에 대해서 PDG에서 stage2에 도달하여 검토하고 있는 부분의 개정(안)을 의견수렴을 위해서 신고 있다. 여기에서는 시험에 사용하는 주사바늘에 관하여 현행은 2.5cm 이상의 길이의 21게이지 바늘을 사용하도록 규정하고 있으나, 이는 주사제의 사용실태를 반영하지 못하여 판정 결과에 오류가 발생할 수 있다는 지적에 따라 기존 규정은 예시로 하고 적절한 주사바늘을 선택하도록 개정하고자 하며, 채취하는 검체의 수에 관해서 사용목적이나 공정 관리상황에 따라 적절히 변경할 수 있도록 개정안을 제안하였다.

일본약전에 신설하는 일반정보로서 4.05 微生物限度試験法(미생물한도시험법), 4.06 無菌試験法(무균시험법), 5.02 生薬及び生薬を主たる原料とする製剤の微生物限度4 試験法(생약 및 생약을 주원료로 하는 제제의 미생물한도시험법) 및 일반정보 保存効力試験法〈G4-3-170〉(보존력시

험법)의 적합성 시험 등에 있어서의 유의사항을 추가 설명하는 일반정보인 微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項<G4-12-190> (미생물학적 시험법의 적합성 시험 등에 있어서의 유의 사항)의 신설이 제안되었다.

^1H スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用<G5-9-190>(^1H 스핀 정보에 기반한 참조NMR스펙트럼과 일본약전 시약에의 응용)는 일본약전에 수록되어 있는 시약, 시액 중 NMR을 이용한 확인시험이 설정되어 δ 00 ppm 부근으로 표시되는 경우, NMR 장비의 자기장 크기 등 장비간 성능 차이에 따라 약간씩 다른 경우가 발생하기 때문에 이를 보완하기 위한 것이다. NMR용 반복 계산 소프트웨어를 이용하여 ^1H qNMR 데이터로부터 화학물질의 ^1H 스핀 정보를 정확하게 결정하고, 이를 NMR 분석 소프트웨어에 입력하여 분석하면 NMR 장비의 자기장 크기에 의존하지 않는 참조 NMR 스펙트럼을 만들 수 있다.

따라서 이 기술을 이용하면 의약품 각조(화학물질 등)의 확인 시험에 사용되는 적외흡수스펙트럼측정법 <2.25> 와 같은 실측 스펙트럼과 기준 스펙트럼과의 비교 시험이 NMR 장비의 크기에 관계없이 실시할 수 있게 되므로, 이에 대하여 원리와 이점을 설명하는 일반정보 신설이 제안되었다.

U.S.Pharmacopeial Forum

Table of Contents

U.S.Pharmacopeial Forum Vol.50 No.1

Jan. - Feb. 2024

Proposed Interim Announcements

USP Monographs

Clonidine Transdermal System

In-Process Revision

General Test and Assay Chapter

< 72 > Respiration-Based Microbiological Methods
for the Detection of Contamination in
Short-Life Products

< 73 > ATP Bioluminescence-Based
Microbiological Methods for the Detection of
Contamination in Short-Life Products

General Information Chapter

< 1071 > Rapid Microbial Tests for Release of
Sterile Short-Life Products: A Risk-Based
Approach

< 1119.1 > Bioburden Test

< 1119 > Bioburden Monitoring

< 1229.3 > Monitoring of Bioburden

Reagents, Indicators, and Solutions

Volumetric Solutions

0.01 N Iodine VS

0.05 N Iodine VS

0.1 N Iodine VS

0.5 N Hydrochloric Acid in Methanol VS

Reagents

2 Percent Ninhydrin TS

Ammeline

Biguanide

Methylparaben

Yeast Extract

Description and Solubility

Description and Solubility

USP Monographs

Amitriptyline Compounded Oral Suspension

Atracurium Besylate

Atracurium Besylate Injection

Bosentan

Bosentan Tablets

Bupivacaine Hydrochloride Compounded Injection

Colistimethate Sodium

Diazepam Compounded Injection

Diclofenac Sodium Compounded Topical Foam

Etidronate Disodium

Etidronate Disodium Tablets

Fentanyl Citrate Compounded Injection

Hydrocortisone Compounded Oral Suspension

Leucovorin Calcium Compounded Injection

Lidocaine Hydrochloride Compounded Injection

Magaldrate

Magaldrate and Simethicone Chewable Tablets

Magaldrate and Simethicone Oral Suspension

Magnesium Sulfate Compounded Injection

Metronidazole Compounded Oral Suspension

Mometasone Furoate Cream

Mometasone Furoate Ointment

Mometasone Furoate Topical Solution

Morphine Sulfate Compounded Suppositories

Naltrexone Hydrochloride Compounded Oral
Suspension

Sildenafil for Oral Suspension

Teniposide

Teniposide Injection

Terbinafine Compounded Oral Suspension

Torsemide Compounded Oral Suspension

NF Monographs

Guanidine Hydrochloride

Lidocaine and Tetracaine Compounded Topical
Cream

Dietary Supplement Monographs

Lactobacillus rhamnosus

Perilla Fruit

Perilla Fruit Powder

International Harmonizations (PDG) stage2

General Chapter

< 1053 > Capillary Electrophoresis

USP Monographs

Edetate Calcium Disodium

Table of Contents

U.S.Pharmacopeial Forum Vol.50 No.2

Mar. – Apr. 2024

Proposed Interim Announcements**USP Monographs**

Fexofenadine Hydrochloride and
Pseudoephedrine Hydrochloride
Extended-Release Tablets
Gadopentetate Dimeglumine Injection

In-Process Revision**General Notices and Requirements****General Test and Assay Chapters**

< 31 > Volumetric Apparatus
< 41 > Balances
< 401 > Fats and Fixed Oils
< 761 > Nuclear Magnetic Resonance
Spectroscopy
< 823 > Positron Emission Tomography Drugs
for Compounding, Investigational, and
Research Uses

General Information Chapters

< 1002 > Filters and Membranes
< 1030 > Biological Assay Chapters – Overview
and Glossary
< 1762 > Solid-State Nuclear Magnetic
Resonance Spectroscopy – Theory and
Practice

Reagents, Indicators, and Solutions**Description and Solubility**

Description and Solubility

USP Monographs

Ambrisentan
Argatroban in Sodium Chloride Injection
Atenolol and Chlorthalidone Tablets
Cisatracurium Besylate
Cisatracurium Besylate Injection
Dexamethasone Tablets
Dydrogesterone Tablets
Edrophonium Chloride
Edrophonium Chloride Injection
Gramicidin
Metronidazole Vaginal Gel
Norepinephrine Bitartrate
Norepinephrine Bitartrate Injection
Polymyxin B for Injection
Prednisolone
Quinidine Sulfate Compounded Oral Suspension
Sevelamer Carbonate
Sorbitol Solution

Sunitinib Capsules

Urea for Injection

Zolpidem Tartrate Sublingual Tablets

NF Monographs

Excipients

Crospovidone

Diethylene Glycol Monoethyl Ether

Hydroxypropyl Betadex

Maltitol

Maltitol Solution

Maltose

Sodium Oleate

Sorbitan Monooleate

Sorbitan Monostearate

Sorbitan Sesquioleate

Sorbitol

Noncrystallizing Sorbitol Solution

Sorbitol Sorbitan Solution

Stearyl Alcohol

Dietary Supplement Monographs

Bifidobacterium bifidum

Cumin Fruit

Cumin Fruit Dry Extract

Cumin Fruit Powder

Dong Quai Root

Dong Quai Root Powder

Levocarnitine Tartrate

Sichuan Lovage Rhizome

Sichuan Lovage Rhizome Powder

Stimuli to The Revision Process

In-Vitro Product Performance Testing of Oral

Drug Products – View of the USP Expert Panel

International Harmonizations (PDG) stage2

< 697 > Container Content for Injections

Table of Contents

U.S.Pharmacopeial Forum Vol.50 No.3

May - June. 2024

Proposed Interim Announcements**USP Monographs**Methylprednisolone Acetate Injectable
Suspension**NF Monographs**

Polyethylene Glycol

Stimuli to the Revision ProcessUSPC Responses to Comments for Stimuli
Articles on Analytical Instrument and System
(AIS) Qualification**Pending****USP Monographs**

Mifepristone

In-Process Revision**General Test and Assay Chapters**< 7 > Labeling
< 11 > USP Reference Standards
< 317 > ICP OES Testing for Sodium Hydroxide
and Potassium Hydroxide**Description and Solubility**

Description and Solubility

USP MonographsCannabidiol
Castor Oil
Febuxostat
Febuxostat Tablets
Piroxicam Capsules
Saxagliptin
Saxagliptin Tablets
Saxagliptin and Metformin Hydrochloride
Extended-Release Tablets
Tacrolimus Extended-Release Capsules
Triptorelin Pamoate**NF Monographs**Excipients
N-Acetyl-dl-tryptophan
Polyethylene Glycol**Dietary Supplement Monographs**European Elder Berry Dry Juice
European Elder Berry Powder
Maca Root
Maca Root Glucosinolates Dry Extract
Maca Root Powder
Red Clover
Powdered Red Clover
Powdered Red Clover Extract

Pharmeuropa archives

Texts for comment 35.4

2.5.44. Capillary isoelectric focusing for recombinant therapeutic monoclonal antibodies	2
2.7.24. Flow cytometry	9
2.9.31. Particle size analysis by laser light diffraction	22
Amitriptyline hydrochloride (0464)	31
Atropine sulfate monohydrate (0068)	36
Caspofungin acetate (3029)	40
Chlorhexidine digluconate solution (0658).....	48
Clomipramine hydrochloride (0889).....	55
Cuprum aceticum for homoeopathic preparations (2146).....	60
Dapagliflozin propylene glycol monohydrate (3137)	62
Dapagliflozin propylene glycol tablets (3175)	67
Dicloxacillin sodium monohydrate (0663)	71
Dosulepin hydrochloride (1314).....	78
Doxapram hydrochloride monohydrate (1201)	82
Epimedium leaf (3190).....	86
Horse-chestnut bark (2945)	94
Hydroxyethylcellulose (0336)	100
Iberis amara for homoeopathic preparations (2838).....	106
Ivermectin (1336).....	112
Macrogols (1444).....	119
Macrogols, high-molecular-mass (2444)	124
Methylene chloride (0932)	127
Mulberry leaf (3164).....	131
Olodaterol hydrochloride (3174)	138
Patchouli herb (3192)	144
Pentobarbital sodium (0419).....	150
Pinellia rhizome, prepared (2655).....	154
Procainamide hydrochloride (0567).....	159
Pumpkin seed (2941).....	163
Ropinirole hydrochloride (2604).....	167
Starches, hydroxyethyl (1785)	174
Teriparatide injection (3130)	186
Vancomycin hydrochloride (1058)	189
Wild pansy (flowering aerial parts) (1855)	198

Pharmeuropa archives

Texts for comment 36.1

2.5.42. <i>N</i> -Nitrosamines in active substances and medicinal products	3
2.6.7. Mycoplasmas	16
5.1.9. Guidelines for using the test for sterility	37
Aluminium hydroxide, hydrated, for adsorption (1664)	39
Arachis oil, hydrogenated (1171)	41
Cadmium sulfuricum for homoeopathic preparations (2143)	43
Cedarwood oil, Atlas or Himalaya type (3002)	45
Clary sage oil (1850)	50
Clopidogrel hydrogen sulfate (2531)	56
Clove (0376)	61
Clove oil (1091)	65
Cuprum metallicum for homoeopathic preparations (1610)	70
Escitalopram (2758)	72
Escitalopram oxalate (2733)	79
Esomeprazole magnesium dihydrate (2787)	85
Esomeprazole magnesium trihydrate (2372)	91
Esomeprazole sodium (2923)	97
Ethylmorphine hydrochloride dihydrate (0491)	102
Etodolac (1422)	106
Ferrum metallicum for homoeopathic preparations (2026)	111
Fluconazole (2287)	113
Haemodialysis, concentrated solutions for (3206)	118
Haemodialysis solutions, concentrated, water for diluting (1167)	123
Haemodialysis, solutions for (0128)	129
Haemofiltration and haemodiafiltration, concentrated solutions for (2770)	136
Haemofiltration and haemodiafiltration, solutions for (0861)	141
Hepatitis A vaccine (inactivated, adsorbed) (1107)	147
Homatropine hydrobromide (0500)	151
Indometacin (0092)	155
Influenza vaccine (split virion, inactivated) (0158)	161
Influenza vaccine (surface antigen, inactivated) (0869)	164
Influenza vaccine (surface antigen, inactivated, prepared in cell cultures) (2149)	167
Influenza vaccine (surface antigen, inactivated, virosome) (2053)	171
Influenza vaccine (whole virion, inactivated) (0159)	175
JK-PSMA-7 (¹⁸ F) injection (3205)	178
Lacosamide (2992)	185
Lamivudine (2217)	191
Levetiracetam (2535)	197
Liquorice dry extract for flavouring purposes (2378)	203
Liquorice root (0277)	206
Magnesium phosphoricum for homoeopathic preparations (2505)	210
Nicotine ditartrate dihydrate (2599)	212
Nitrendipine (1246)	216
Peritoneal dialysis, solutions for (0862)	220

Poliomyelitis vaccine (inactivated) (0214).....	225
Pregabalin (2777)	230
Remifentanyl hydrochloride (2644).....	236
Rivaroxaban (2932)	243
Ropivacaine hydrochloride monohydrate (2335).....	249
Rotigotine (3014)	254
Salicylic acid (0366)	260
Sitagliptin phosphate monohydrate (2778)	264
Smallpox vaccine (live) (0164).....	269
Tapentadol hydrochloride (3035)	277
Tick-borne encephalitis vaccine (inactivated) (1375).....	282
Vaccines for veterinary use (0062)	286
Yellow fever vaccine (live) (0537)	296

日本薬局方フォーラム

Japanese Pharmacopoeial Forum

Vol. 33 No. 1

March 2024

目 次

Contents

改正案 Revision Drafts

第十九改正日本薬局方に収載予定の改正案(意見募集)

1. 製剤総則	1
2. 一般試験法	
(1) 既収載	
2.56 比重及び密度測定法	1
6.14 吸入剤の送達量均一性試験法	2
9.41 試薬・試液等	5
3. 参考情報	
(1) 新収載	
点鼻剤の噴霧量均一性試験法	7
(2) 既収載	
微生物迅速試験法〈G4-6-190〉	7
遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-190〉	12
日本薬局方における標準品及び標準物質〈G8-1-190〉	14
第十九改正日本薬局方に収載予定の改正案(意見募集)	
1. 一般試験法	
(1) 既収載	
2.00 クロマトグラフィー総論	17
2.66 元素不純物	26
2. 医薬品各条 (化学薬品等)	
(1) 既収載	
カオリン	29
ケイ酸マグネシウム	29
テストステロンエナンチオマーエステル	30
ベントナイト	30
3. 医薬品各条 (生薬等)	
(1) 既収載	
ゴオウ	30

薬局方関連通知など Useful Information

JIS の改正に伴う一般試験法「2.56 比重及び密度測定法」の改正について	31
一般試験法「6.14 吸入剤の送達量均一性試験法」改正案及び新規参考情報案「点鼻剤の噴霧量均一性試験法」並びに「6.14 吸入剤の送達量均一性試験法」の改正に伴う製剤総則の改正について	32
一般試験法「2.00 クロマトグラフィー総論」の改正案について	38

国際調和 Pharmacopoeial Harmonization

1. 薬局方調和国際会議調和合意文書 (Harmonized Document)	
(1) 試験法	
1) 改正・訂正・表紙訂正	
① Bulk density of powders (Rev.4 Corr.1)	39
② Chromatography (Corr.1)	46

海外薬局方情報 Foreign Pharmacopoeial Information

経粘膜剤の in vitro 性能試験：USP 専門委員会の見解	70
温度マッピングによる医薬品保管区域の温度適格性評価	91

標準品のご案内 Reference Standards

日本薬局方等標準品の頒布のご案内	98
USP 標準品の取次販売のご案内	108
LGC Standards 社不純物標準物質等および EP 標準品の取次販売のご案内	109

~~~~~

## *Contents in English*

---

### *Revision Drafts*

---

#### **Additional Revision of the Revision Draft for Second Supplement to JP 18**

##### 1 . Official Monographs

###### (1) Revision

Clindamycin Phosphate ..... 113

#### **Drafts for JP 19**

##### 1 . General Rules for Preparations

###### (1) Revision

2-3. Sprays for Oro-mucosal Application ..... 114

5-1-3. Metered-dose Inhalers ..... 114

11-3-1. Aerosols for Cutaneous Application ..... 114

##### 2 . General Tests, Processes and Apparatus

###### (1) Revision

2.00 Chromatography ..... 115

2.56 Determination of Specific Gravity and Density  
..... 125

2.66 Elemental Impurities ..... 126

6.14 Uniformity of Delivered Dose for Inhalations  
..... 129

9.41 Reagents, Test Solutions ..... 133

##### 3 . Official Monographs

###### (1) Revision

Bentonite ..... 135

Kaolin ..... 135

Magnesium Silicate ..... 136

Testosterone Enanthate ..... 137

##### 4 . Official Monographs—Crude Drugs

###### (1) Revision

Oriental Bezoar ..... 137

##### 5 . General Information

###### (1) Addition

Uniformity of delivered dose of nasal preparations  
..... 137

###### (2) Revision

Rapid Microbial Methods <G4-6-190> ..... 138

Rapid Identification of Microorganisms Based on  
Genetic Analysis <G4-7-190> ..... 144

Reference Standards and Reference Materials  
Specified in the Japanese Pharmacopoeia <G8-1-  
190> ..... 147

---

### *Reference Standards*

---

PMRJ Reference Standards Ordering Information for  
Foreign Users ..... 152

---

### *Pharmacopoeial Harmonization*

---

##### 1 . Harmonized Document

###### (1) Tests

1)Revision • Correction • Correction of sign-off  
coversheet

①Bulk density of powders (Rev.4 Corr.1) ..... 39

②Chromatography (Corr.1) ..... 46

# 日本薬局方フォーラム

## Japanese Pharmacopoeial Forum

Vol. 33 No. 2

June 2024

### 目 次

#### Contents

#### 改正案 Revision Drafts

##### 第十九改正日本薬局方に収載予定の改正案(意見募集)

1. 通則 ..... 161
2. 一般試験法
  - (1) 既収載
    - 7.01 注射剤用ガラス容器試験法 ..... 161
    - 9.41 試薬・試液 ..... 163
    - 9.62 計量器・用器 ..... 165
3. 参考情報
  - (1) 新収載
    - 微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項  
〈G4-12-190〉 ..... 165
    - <sup>1</sup>H スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと  
日本薬局方試薬への応用 〈G5-9-190〉 ..... 166

##### 既収載品目(医薬品各条(生薬等))の定量法の改正について(意見募集)

- 釣藤散エキス ..... 169
- チンピ ..... 169
- 補中益気湯エキス ..... 169
- 抑肝散加陳皮半夏エキス ..... 169
- 六君子湯エキス ..... 169

##### 第十九改正日本薬局方に収載予定の改正案(意見募集)

1. 一般試験法
  - (1) 既収載
    - 6.05 注射剤の採取容量試験法 ..... 170
    - 9.41 試薬・試液 ..... 170
2. 医薬品各条 (化学薬品等)
  - (1) 新収載
    - シロップ用 L-カルボシステイン ..... 172
    - ミドドリン塩酸塩 ..... 173
    - ミドドリン塩酸塩錠 ..... 174
    - ミドドリン塩酸塩口腔内崩壊錠 ..... 176
    - レベチラセタム ..... 177
    - レベチラセタム錠 ..... 179
  - (2) 既収載
    - ダウノルビシン塩酸塩 ..... 181
3. 医薬品各条 (生薬等)
  - (1) 既収載

- エンゴサク ..... 181
- エンゴサク末 ..... 182
- カノコソウ ..... 182
- カノコソウ末 ..... 182
4. 参照紫外可視吸収スペクトル
  - ミドドリン塩酸塩 ..... 183
5. 参照赤外吸収スペクトル
  - ミドドリン塩酸塩 ..... 184
  - レベチラセタム ..... 184

#### 薬局方関連通知など Useful Information

- 日本薬局方収載原案意見募集 (2024 年 6 月 3 日分) に  
係るカラム情報の公開について ..... 185
- 通則 39 及び一般試験法「9.62 計量器・用器」の改正に  
ついて ..... 186
- 一般試験法「6.05 注射剤の採取容量試験法」の改正案  
について ..... 187
- 参考情報「<sup>1</sup>H スピン情報に基づいた参照 NMR スペク  
トルと日本薬局方試薬への応用」の新規作成につい  
て ..... 188

#### 日本薬局方技術情報

##### Japanese Pharmacopoeial Technical Information

- 新規参考情報「<sup>1</sup>H スピン情報に基づいた参照 NMR  
スペクトルと 日本薬局方試薬への応用 〈G5-9-190〉」に  
ついて ..... 189

#### 国際調和 Pharmacopoeial Harmonization

1. Stage 2 案(Official Inquiry Stage Draft)
  - (1) 試験法
    - 1)改正
      - ① Test for Extractable Volume of Parenteral  
Preparations ..... 193

#### 標準品のご案内 Reference Standards

- 日本薬局方等標準品の頒布のご案内 ..... 195
- USP 標準品の取次販売のご案内 ..... 205

|                                                      |     |
|------------------------------------------------------|-----|
| LGC Standards 社不純物標準物質等および EP 標準<br>品の取次販売のご案内 ..... | 206 |
|------------------------------------------------------|-----|

~~~~~

Contents in English

Revision Drafts

Drafts for JP 19

1. General Notices	
(1) Revision	
General Notices	211
2. General Tests, Processes and Apparatus	
(1) Revision	
6.05 Test for Extractable Volume of Parenteral Preparations	211
9.41 Reagents, Test Solutions	212
9.62 Measuring Instruments, Appliances	213
3. Official Monographs	
(1) Addition	
L-Carbocysteine for Syrup	214
Levetiracetam	216
Levetiracetam Tablets	218
Midodrine Hydrochloride	220
Midodrine Hydrochloride Orally Disintegrating Tablets	222
Midodrine Hydrochloride Tablets	224
(2) Revision	
Daunorubicin Hydrochloride	226
4. Official Monographs—Crude Drugs	
(1) Revision	
Corydalis Tuber	227
Powdered Corydalis Tuber	227
Japanese Valerian	228

Powdered Japanese Valerian	228
5. Infrared Reference Spectra	
Levetiracetam	229
Midodrine Hydrochloride	229
6. Ultraviolet-visible Reference Spectra	
Midodrine Hydrochloride	230
7. General Information	
(1) Addition	
Points to Consider in Suitability Testing, etc. of Microbial Tests 〈G4-12-190〉	230
Reference NMR Spectrum Based on ¹ H Spin Parameters and Application to Reagents in the Japanese Pharmacopoeia 〈G5-9-190〉	232

Reference Standards

PMRJ Reference Standards Ordering Information for Foreign Users	234
--------------------------------------------------------------------------	-----

Pharmacopoeial Harmonization

1. Stage 2(Official Inquiry Stage Draft)	
(1) Tests	
1) Revision	
① Test for Extractable Volume of Parenteral Preparations	193

대한민국약전포럼 (Vol. 21, No. 1)

Korean Pharmacopoeial Forum

발 행 일 : 2024년 6월 28일

발 행 인 : 박운주

편 집 위 원 : 손수정, 김판순, 김자영, 김민경, 신지현, 전해림 (식품의약품안전평가원)

전인규, 김은정, 정현주, 박지현 (의약품품질연구재단)

강종성 (충남대학교)

강찬순 (엠에프씨)

김완수 (루텍)

김인규 (연세대학교)

나동희 (중앙대학교)

박경숙 (보령)

백완숙 (숙명여자대학교)

조정환 (숙명여자대학교)

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

우)28159 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 식품의약품안전평가원
의료제품연구부 의약품연구과

Tel : 043-719-4616, Fax : 043-719-4600

