

## 식품의약품안전처 공고 제2023 - 147호

「약사법」 제51조제1항에 따른 「대한민국약전」(식품의약품안전처 고시 제2023-2호, 2023. 1. 12.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2023년 3월 20일

식품의약품안전처장

### 대한민국약전 일부개정고시(안) 행정예고

#### 1. 개정이유

「대한민국약전」 기준·규격을 국제조화하여 의약품의 적정한 품질관리를 합리적으로 지원하고, 의약품 등의 개발 및 제약업계의 수요사항 등을 반영한 일부 일반정보를 최신 과학 수준에 맞게 신설함으로써 우수한 품질의 의약품이 유통될 수 있도록 함

#### 2. 주요내용

가. 시험법 정확도 개선 및 현대화(안 별표 3, 4)

나. ‘알킬설펜산에스테르류 분석법’ 및 ‘재조합 C 인자를 이용한 엔도톡신 시험법’ 신설(안 별표 6)

### 3. 의견제출

「대한민국약전」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2023년 월 일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처장(주소: (우) 28159, 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 식품의약품안전처, 전자메일: pharmpolicy@korea.kr)에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 의견(찬, 반 여부와 그 사유)

나. 성명(단체인 경우 단체명과 그 대표자 성명), 주소 및 전화번호

다. 기타 참고사항

## 식품의약품안전처 고시 제2023 - 호

「약사법」 제51조제1항에 따른 「대한민국약전」(식품의약품안전처 고시 제2023-2호, 2023. 1. 12.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2023년 월 일

식품의약품안전처장

### 대한민국약전 일부개정고시(안)

대한민국약전 일부를 다음과 같이 개정한다.

별표 3 니모디핀 확인시험, 순도시험을 다음과 같이 한다.

**확인시험** 이 약 및 니모디핀표준품을 가지고 적외부스펙트럼측정법의 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 같은 파수에서 같은 강도의 흡수를 나타낸다.

**순도시험** 유연물질 이 약 약 40 mg을 정밀하게 달아 테트라히드로푸란 2.5 mL에 녹인 다음 이동상을 넣어 정확하게 25 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 니모디핀표준품 약 40 mg을 정밀하게 달아 테트라히드로푸란 2.5 mL에 녹인 다음 이동상을 넣어 정확하게 25 mL로 하고 이 액 1 mL에 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액 (1)로 한다. 니모디핀유연물질 I [2-메톡시에틸-1-메틸에틸-2,6-디메틸-4-(3-니트로페닐)피리딘-3,5-디카르복실레이트] 표준품 약 20 mg을 정밀하게 달아 테트라히드로푸란 2.5 mL에 녹인 다음 이동상을 넣어 정확하게

25 mL로 하고 이 액 5 mL에 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액 (2)로 한다. 표준원액 (1) 2 mL에 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액 (1)로 한다. 표준원액 (1) 2.5 mL 및 표준원액 (2) 1 mL를 취하여 25 mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 넣어 정확하게 25 mL로 하여 표준액 (2)로 한다. 검액, 표준액 (1) 및 표준액 (2) 20  $\mu$ L를 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액의 각 유연물질의 피크면적  $A_T$ , 표준액 (2)의 유연물질 I의 피크면적  $A_{S1}$  및 표준액 (1)의 니모디핀 피크면적  $A_{S2}$ 를 구할 때 유연물질 I의 양은 0.1 % 이하이고 이외 유연물질의 양은 0.2 % 이하이며 총 유연물질의 양은 0.5 % 이하이다.

$$\text{유연물질I의 양(\%)} = (A_{T1} / A_{S1}) \times (C_{S1} / C_{T1}) \times 100$$

$A_{T1}$  : 검액 중 유연물질I의 피크면적

$A_{S1}$  : 표준액(2) 중 유연물질I의 피크면적

$C_{S1}$  : 표준액(2) 중 유연물질 I의 농도 ( $\mu$ g/mL)

$C_{T1}$  : 검액 중 니모디핀의 농도 ( $\mu$ g/mL)

$$\text{이외 유연물질의 양 (\%)} = (A_{T2} / A_{S2}) \times (C_{S2} / C_{T2}) \times 100$$

$A_{T2}$  : 검액 중 유연물질I 이외의 유연물질의 피크면적

$A_{S2}$  : 표준액(1) 중 니모디핀의 피크면적

$C_{S2}$  : 표준액(1) 중 니모디핀의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$C_{T2}$  : 검액 중 니모디핀의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

## 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 235 nm)

칼 럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 12.5 cm인 스테인레스강관에 3 ~ 10  $\mu\text{m}$ 의 액체크로마토그래프용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.

칼럼온도 : 40  $^{\circ}\text{C}$  부근의 일정 온도

이동상 : 물·메탄올·테트라히드로푸란혼합액(3 : 1 : 1)

유 량 : 2.0 mL/분

시스템적합성

시스템의 성능 : 표준액 (2) 20  $\mu\text{L}$ 를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 유연물질 I 피크 및 니모디핀 피크의 상대유지시간은 각각 약 0.9 및 1.0이며 이들 피크의 분리도는 1.5 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 (1) 20  $\mu\text{L}$ 씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 5 회 반복할 때 니모디핀 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

측정범위 : 니모디핀 유지시간의 4 배 범위

별표 3 니모디핀 주사액 확인시험, 순도시험 및 정량법 중 조작조건을

다음과 같이 한다.

**확인시험** 정량법의 검액 및 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간 및 200 ~ 400 nm에서의 자외부흡수스펙트럼은 같다.

**순도시험** **유연물질** 이 약을 검액으로 한다. 필요한 경우 이 약을 가지고 표시량에 따라 니모디핀( $C_{21}H_{26}N_2O_7$ ) 약 2 mg에 해당하는 양을 정확하게 취하여 무수에탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 검액으로 한다. 검액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 다시 2 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 따로 니모디핀 유연물질 I[2-메톡시에틸-1-메틸에틸-2,6-디메틸-4-(3-니트로페닐)피리딘-3,5-디카르복실레이트] 표준품 약 2 mg을 정밀하게 취하여 무수에탄올을 넣어 정확하게 20 mL로 하고 다시 1 mL를 정확하게 취하여 무수에탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액(2)로 한다. 검액, 표준액(1) 및 표준액(2) 20  $\mu$ L를 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액에서 얻은 니모디핀유연물질I의 피크면적  $A_{T1}$  및 표준액(2)에서 얻은 니모디핀유연물질I의 피크면적  $A_{S1}$ 을 구한다. 또 검액에서 얻은 니모디핀유연물질I을 제외한 개개 유연물질의 피크면적  $A_{T2}$  및 표준액(1)에서 얻은 니모디핀 피크면적  $A_{S2}$ 를 구한다. 니모디핀유연물질I의 양은 0.5 % 이하이고 이외 유연물질의 양은 0.2 % 이하이며 총 유연물질의 양은 0.5 % 이하이다.

$$\text{유연물질I의 양(\%)} = (A_{T1} / A_{S1}) \times (C_{S1} / C_{T1}) \times 100$$

$A_{T1}$  : 검액 중 니모디핀유연물질I의 피크면적

$A_{S1}$  : 표준액(2) 중 니모디핀유연물질I의 피크면적

$C_{S1}$  : 표준액(2) 중 니모디핀유연물질 I의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$C_{T1}$  : 검액 중 니모디핀유연물질 I의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\text{이외 유연물질의 양 (\%)} = (A_{T2} / A_{S2}) \times (C_{S2} / C_{T2}) \times 100$$

$A_{T2}$  : 검액 중 유연물질I 이외의 유연물질의 피크면적

$A_{S2}$  : 표준액(1) 중 니모디핀의 피크면적

$C_{S2}$  : 표준액(1) 중 니모디핀의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$C_{T2}$  : 검액 중 니모디핀의 농도 ( $\mu\text{g/mL}$ )

## 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정과장 235 nm)

칼 럼 : 안지름 약 4.0 mm, 길이 약 12.5 cm인 스테인레스강관에 5  $\mu\text{m}$ 의 액체크로마토그래프용옥타데실실릴실리카겔을 충전한다.

칼럼온도 : 30  $^{\circ}\text{C}$  부근의 일정 온도

이동상 : 물·테트라히드로푸란·아세트니트릴(16 : 6 : 3)

유 량 : 1.5 mL/분

## 시스템적합성

시스템의 성능 : 시스템적합성용액 20  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 니모디핀 및 니모디핀유연물질I의 분리도는 1.5 이상이고, 니모디핀 피크의 대칭계수는 2.0 이하이다.

시스템의 재현성 : 표준액(1) 20  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 니모디핀 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

○ 시스템적합성용액 : 니모디핀표준품 및 니모디핀유연물질I 표준품 약 2 mg씩을 정확하게 취하여 무수에탄올을 넣어 정확하게 20 mL로 하고 다시 1 mL를 정확하게 취하여 무수에탄올을 넣어 100 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다.

## 정량법

### 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 235 nm) 다만, 확인시험 시 광다이오드검출기(200~300 nm)로 한다.

칼 럼 : 안지름 약 4.0 mm, 길이 약 15 cm인 스테인레스강관에 3~10  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥타데실릴실리카겔을 충전한다.

이동상 : 물·테트라히드로푸란·아세토니트릴혼합액(16 : 6 : 3)

유 량 : 1.2 mL/분

별표 3 디시클로민염산염 정량법을 다음과 같이 한다.

**정 량 법** 이 약 약 40 mg을 정밀하게 달아 희석액을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 디시클로민염산염 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 희석액을 넣어 녹여 정확하게 25 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 50  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 디시클로민염산염의 피크면적  $A_T$  및  $A_S$ 를 측정한다.

디시클로민염산염 ( $C_{19}H_{35}NO_2 \cdot HCl$ )의 양 (mg)

$$= \text{디시클로민염산염 표준품의 양(mg)} \times (A_T / A_S) \times 4$$

○ 희석액 : 아세토니트릴·물혼합액 (7 : 3)

#### 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정과장 215 nm)

칼 럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 15 cm인 스테인레스강관에 5  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥틸실릴실리카겔을 충전한 것

이동상 : 아세토니트릴·pH 7.5 인산이수소칼륨완충액혼합액 (70 : 30)

○ pH 7.5 인산이수소칼륨완충액 : 인산이수소칼륨 2.72 g을 물 900 mL에 녹이고 수산화나트륨용액(1→10)을 넣어 pH 7.5로 조정한다

물을 넣어 1000 mL로 한다.

유 량 : 1 mL/분

시스템적합성

시스템의 성능 : 표준액 50  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 디시클로민염산염 피크의 대칭계수는 2.0 이하이다.

시스템의 재현성 : 표준액 50  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6회 반복할 때 디시클로민염산염의 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

별표 3 디펜히드라민 확인시험을 다음과 같이 한다.

**확인시험** 이 약 및 디펜히드라민 표준품을 가지고 적외부스펙트럼측정법의 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 같은 파수에서 같은 강도의 흡수를 나타낸다.

별표 3 *l*-멘톨 정량법을 다음과 같이 한다.

**정량법** 이 약 약 1 g을 정밀하게 달아 내부표준액을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 멘톨 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 내부표준액을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 0.5  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 기체크로마토그래프법에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액에서의 멘톨의 피크면적의 비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

멘톨( $C_{10}H_{20}O$ )의 양 (mg) = 멘톨 표준품의 양(mg)  $\times$  ( $Q_T / Q_S$ )  $\times$  10

내부표준액 1-부탄올의 헥산용액(1  $\rightarrow$  100)

### 조작조건

검출기 : 불꽃이온화검출기

칼 럼 : 안지름 약 0.18 mm, 길이 약 20 m인 용융실리카관에 기체크로마토그래프용 폴리에틸렌글리콜 15,000을 0.18  $\mu$ m의 두께로 입힌다.

검체도입부온도 : 250  $^{\circ}$ C 부근의 일정 온도

검출기온도 : 260  $^{\circ}$ C 부근의 일정 온도

칼럼온도 : 처음 60  $^{\circ}$ C에서 1 분당 20  $^{\circ}$ C의 속도로 110  $^{\circ}$ C가 될 때까지 온도를 올려 110  $^{\circ}$ C로 10 분간 유지한다.

운반기체 : 수소

유 량 : 0.9 mL/분

분할 비 : 50 : 1

시스템적합성

시스템의 성능 : 표준액 0.5  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 내부표준액의 상대유지시간은 0.27, 멘톨의 상대유지시간은 1.0이다.

시스템의 재현성 : 표준액 0.5  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6

회 반복할 때 내부표준물질에 대한 멘톨의 피크면적 비의 상대표준편차는 2.0% 이하이다.

별표 3 현탁주사용 벤자틴페니실린G 확인시험을 다음과 같이 한다.

**확인시험** 이 약 및 벤자틴페니실린G수화물표준품을 가지고 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 같은 파수에서 같은 강도의 흡수를 나타낸다.

별표 3 벤프로페린인산염 정 용출시험을 다음과 같이 한다.

**용출시험** 이 약 1 정을 취하여 시험액으로 용출시험법 제 2 액 900 mL를 써서 제 2 법에 따라 매분 50 회전으로 시험한다. 용출시험 시작 45분후에 용출액을 취하여 여과한다. 처음 여액 10 mL는 버리고 다음 여액을 취하여 검액으로 하거나, 여액 V mL를 정확하게 취하여 시험액을 넣어 정확하게 V' mL로 하여 표시량에 따라 1 mL 중 벤프로페린인산염 약 29.3  $\mu\text{g}$ 을 함유하도록 한 액을 검액으로 한다. 따로 벤프로페린인산염표준품 약 30 mg을 정밀하게 달아 시험액을 넣어 정확하게 100 mL로 한 다음 다시 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 시험액을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 20  $\mu\text{L}$ 씩을 정확하게 취하여 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 벤프로페린인산염( $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{NO}\cdot\text{H}_3\text{PO}_4$ )의 피크면적 AT 및 AS를 측정한다. 이 약의 45 분간의 용출률이 75 % 이상일 때 적합하다.

벤프로페린인산염 ( $C_{21}H_{27}NO \cdot H_3PO_4$ )의 표시량에 대한 용출률 (%)  
=  $WS \times (V' / V) \times (AT / AS) \times (1 / C) \times 90$

WS : 벤프로페린인산염표준품의 양 (mg)

C : 1 정 중 벤프로페린인산염 ( $C_{21}H_{27}NO \cdot H_3PO_4$ )의 표시량 (mg)

별표 3 염화나트륨·아세트산나트륨수화물·염화칼륨·염화칼슘·염화마그네슘·포도당 투석액 정량법 중 2)칼륨 및 3)칼슘을 다음과 같이 한다.

**순도시험** 2) 칼륨 이 약을 표시량에 따라 칼륨(K) 30 mg에 해당하는 양을 정밀하게 취하여 물을 넣어 정확하게 200 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 염화칼륨 표준시약을 105 °C에서 2시간 건조하여 약 190 mg을 정밀하게 달아 물을 넣어 1000 mL로 하여 표준원액으로 한다 (칼륨 약 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). 또 염화나트륨 표준시약 1.689 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 100 mL로 하고 이 액 10.0 mL씩을 취하여 여기에 표준원액을 넣어 칼륨 0 ~ 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도의 액을 만들어 표준액으로 한다. 검액 및 표준액을 가지고 다음의 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험한다. 표준액의 흡광도로부터 얻은 검량선을 사용하여 검액 중의 칼륨(K) 함량을 구한다.

사용기체 : 용해아세틸렌 - 공기

램프 : 칼륨중공음극램프

파장 : 766 nm

3) 칼륨 이 약을 표시량에 따라 칼슘(Ca) 20 mg에 해당하는 양을 정밀하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 다시 이 액 20 mL를 정확하게 취하여 산화란타늄시액 20 mL를 넣고 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 염화칼슘 표준시약 약 1.249 g을 정밀하게 달아 물 50 mL 및 염산 10 mL를 넣어 녹이고 물을 넣어 정확하게 1000 mL로 하여 표준원액으로 한다 (칼슘 약 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). 표준원액을 가지고 칼슘 0 ~ 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도의 액을 만들어 표준액으로 한다. 검액 및 표준액을 가지고 다음의 조건으로 원자흡광광도법에 따라 시험한다. 표준액의 흡광도로부터 얻은 검량선을 사용하여 검액 중의 칼슘 (Ca) 양을 구한다.

사용기체 : 용해아세틸렌 - 공기

램프 : 칼슘중공음극램프

파장 : 422.7 nm

별표 3 옥시라세탐 순도시험 중 2) 암모늄을 다음과 같이 한다.

순도시험 2) 암모늄 이 약 약 1 g을 정밀하게 달아 시험관에 넣고 물 14 mL를 넣어 녹인다. 필요 시 2 mol/L 수산화나트륨시액을 넣어 검액을 알칼리성으로 만들어준다. 물을 넣어 15 mL로 하고 네슬러시액 0.3 mL를 넣는다. 따로 암모늄표준액 10 mL를 정확하게 취하여 시험관

에 넣고 물 5 mL와 네슬러시액 0.3 mL를 넣는다. 시험관 입구를 닫고 5 분간 방치했을 때 검액에서 나타나는 노란색은 비교액의 색보다 진하지 않다(0.001% 이하)

○ 암모늄표준액 염화암모늄 약 0.741 g을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 정확하게 1000 mL로 하고 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 다시 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 25 mL로 하여 암모늄표준액으로 한다.(1 ppm NH<sub>4</sub>)

○ 네슬러시액 요오드화칼륨 11 g과 요오드화수은(II) 15 g을 물에 넣어 녹여 100 mL가 되게 한다. 따로 수산화나트륨 25 g을 물에 녹여 100 mL가 되게 한다. 두 가지 액을 1:1 비율로 섞어 만들며 쓸 때 만든다.

별표 3 자일리톨 순도시험 8) 중 “환류냉각기”를 “감압농축기”로 한다.

별표 3 주사용 테이코플라닌 정량법 원통평판법 (1) 중 “가)(2)(가)③④의 배지”를 “가)(2)(가)①②의 배지”로 한다.

별표 3 펜톡시필린 확인시험, 순도시험 중 6) 및 정량법을 다음과 같이 한다.

**확인시험** 1) 이 약 및 펜톡시필린표준품을 가지고 적외부스펙트럼측

정법의 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 같은 파수에서 같은 강도의 흡수를 나타낸다.

2) 정량법의 검액 및 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간은 같다.

**순도시험 6) 유연물질** 이 약 약 35 mg을 정밀하게 달아 이동상에 녹여 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 펜톡시필린 표준품 약 7 mg을 정밀하게 달아 이동상에 녹여 정확하게 100 mL로 하고 다시 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 20  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액에서 얻은 개개 유연물질의 피크면적  $A_T$  및 표준액에서 얻은 펜톡시필린 피크면적  $A_S$ 를 구할 때 검액의 개개 유연물질의 양은 0.2 % 이하이고 총 유연물질의 양은 0.5% 이하이다.

$$\text{유연물질의 양(\%)} = (A_T / A_S) \times (C_S / C_T) \times 100$$

$C_S$  : 표준액 중 펜톡시필린의 농도 (mg/mL)

$C_T$  : 검액 중 펜톡시필린의 농도 (mg/mL)

#### 조작조건

정량법의 조작조건에 따른다.

측정범위 : 펜톡시필린 유지시간의 5 배 이상의 범위

## 시스템적합성

시스템의 성능 : 시스템적합성용액 20  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜토시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 20  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 펜토시필린 피크면적의 상대표준편차는 5.0 % 이하이다.

○ 시스템적합성용액 : 카페인 약 7 mg을 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한다. 다시 이 액 1 mL와 펜토시필린 표준품 약 35 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상으로 100 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다.

**정 량 법** 이 약 약 50 mg을 정밀하게 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하고 다시 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 펜토시필린 표준품 약 5 mg을 정밀하게 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체 크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 펜토시필린의 피크면적  $A_T$  및  $A_S$ 를 측정한다.

$$\text{펜토시필린의 양(mg)} = \text{펜토시필린 표준품의 양(mg)} \times (A_T / A_S) \times 10$$

## 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 273 nm)

칼 럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인레스강관에 5  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥타데실릴실리카겔을 충전한다.

이동상 : 과염소산용액(1  $\rightarrow$  1000)·아세토니트릴·테트라히드로푸란·메탄올 혼합액 (80 : 15 : 2.5 : 2)

유 량 : 0.7 mL/분

시스템적합성

시스템의 성능 : 시스템적합성용액 10  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜토시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 10  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 펜토시필린 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

○ 시스템적합성용액 : 카페인 약 6 mg 및 펜토시필린 표준품 약 12 mg을 정밀하게 달아 이동상을 넣어 녹여 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다.

별표 3 펜토시필린 서방정 확인시험 및 정량법을 다음과 같이 하고, 순도시험을 정량법 이전에 다음과 같이 한다.

**확인시험** 정량법의 검액 및 표준액에서 얻은 주피크의 유지시간 및 200 ~ 400 nm에서의 자외부흡수스펙트럼은 같다.

**순도시험** **유연물질** 정량법 검액원액 10 mL를 정확하게 취하여 희

석액으로 정확하게 25 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 펜톡시필린 표준품 약 9.6 mg을 정밀하게 달아 메탄올 0.8 mL를 넣어 1 분간 섞고 희석액을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 희석액으로 정확하게 50 mL로 하고 다시 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 희석액으로 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액에서 얻은 개개 유연물질의 피크면적  $A_T$  및 표준액에서 얻은 펜톡시필린 피크면적  $A_S$ 를 구할 때 검액의 개개 유연물질의 양은 0.3 % 이하이고 총 유연물질의 양은 1.0 % 이하이다.

$$\text{유연물질의 양(\%)} = (A_T / A_S) \times (C_S / C_T) \times 100$$

$C_S$  : 표준액 중 펜톡시필린의 농도 (mg/mL)

$C_T$  : 검액 중 펜톡시필린의 농도 (mg/mL)

#### 조작조건

정량법의 조작조건에 따른다.

측정범위 : 펜톡시필린 유지시간의 5 배 이상의 범위

시스템적합성

시스템의 재현성 : 표준액 10  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 펜톡시필린 피크면적의 상대표준편차는 5.0 % 이하이다.

**정 량 법** 이 약 20 정 이상을 가지고 그 질량을 정밀하게 달아 가루로 한다. 펜톡시필린 ( $C_{13}H_{18}N_4O_3$ ) 약 40 mg에 해당하는 양을 정밀하게 달아 메탄올 0.4 mL를 넣어 1 분간 섞고 희석액을 30 mL 넣어 60 분간 초음파 처리하여 녹인다. 여기에 희석액 15 mL를 넣고 식힌 다음 희석액으로 정확하게 50 mL로 하여 검액원액으로 한다. 이 액을 원심분리하여 위의 맑은 액 3 mL를 정확하게 취하여 희석액으로 정확하게 50 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 펜톡시필린표준품 약 40 mg을 정밀하게 달아 검액과 같은 방법으로 조작하여 표준액으로 한다. 검액 및 표준액 10  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 각 액의 펜톡시필린의 피크면적  $A_T$  및  $A_S$ 를 측정한다.

$$\text{펜톡시필린의 양(mg)} = \text{펜톡시필린 표준품의 양(mg)} \times (A_T / A_S)$$

#### 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정과장 273 nm) 다만, 확인시험 시 광다이오드검출기(200 ~ 400 nm)로 한다.

칼 럼 : 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인레스강관에 5  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥타데실릴실리카겔을 충전한다.

이동상 : 과염소산용액(1 → 1000)·아세토니트릴·테트라히드로푸란·메탄올혼합액 (80 : 15 : 2.5 : 2)

유 량 : 0.7 mL/분

## 시스템적합성

시스템의 성능 : 시스템적합성용액 10  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜톡시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 10  $\mu$ L를 가지고 위의 조건으로 시험을 6 회 반복할 때 펜톡시필린 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

○ 시스템적합성용액 : 카페인 약 10 mg 및 펜톡시필린 표준품 약 20 mg을 정밀하게 달아 메탄올 0.2 mL를 넣어 녹이고 희석액으로 정확하게 25 mL로 한다. 이 액 3 mL를 정확하게 취하여 희석액으로 정확하게 50 mL로 하여 시스템적합성용액으로 한다.

○ 희석액 : 물·알코올혼합액(7 : 3)

별표 3 프로자임 단백소화력시험 중 “1.5 % 유제 카제인용액”을 “1.5 % 우유카제인시액”으로 한다.

별표 3 피리독신염산염 정량법을 다음과 같이 한다.

**정 량 법** 이 약을 건조하여 약 40 mg을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹이고 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 검액으로 한다. 따로 피리독신염산염표준품을 데시케이터 (감압, 실리카겔)에서 4 시간 건조하여 약 40 mg을 정밀하게 달아 물을 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준액으로 한다.

검액 및 표준액 20  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 피리독신염산염 피크면적  $A_T$  및  $A_S$ 를 구한다.

피리독신염산염 ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ )의 양(mg)

$$= \text{피리독신염산염표준품의 양 (mg)} \times (A_T / A_S)$$

### 조작조건

검출기 : 자외부흡광광도계 (측정파장 280 nm)

칼 럼 : 안지름 약 4 mm, 길이 15 cm인 스테인레스강관에 5  $\mu$ m의 액체크로마토그래프용옥타데실릴실리카겔을 충전한다.

이동상 : 1-헥산설포산나트륨 약 1.0 g을 물 750 mL에 녹이고 메탄올 250 mL 및 아세트산(31) 10 mL를 넣는다.

유 량 : 1.0 mL/분

시스템적합성

시스템의 재현성 : 표준액 20  $\mu$ L씩을 가지고 위의 조건으로 시험을 6회 반복할 때 피리독신 피크면적의 상대표준편차는 2.0 % 이하이다.

별표 4 미결정셀룰로오스 확인시험 2)를 다음과 같이 한다.

**확인시험** 2) 이 약 및 미결정셀룰로오스 표준품을 가지고 적외부스펙트럼측정법 중 브롬화칼륨정제법에 따라 측정할 때 같은 파수에서 같은 강도의 흡수를 나타낸다.

별표 6 제16호부터 제21호까지를 각각 제17호부터 제22호까지로 하고, 제22호부터 제26호까지를 각각 제24호부터 제28호까지로 하고, 제27호 (종전의 제25호) XII. 카바페넴계 3. 이미페넴류 1) 중 “*Streptomyces cattleya*”를 “*Streptomyces cattleya*”로 하며, 제16호 및 제23호를 각각 별지와 같이 신설한다.

[별지]

## 16. 알킬설폰산에스테르류 분석법

알킬설폰산에스테르류분석법은 기체크로마토그래프-질량분석법으로 의약품 제조공정 중의 잠재적 불순물인 (메탄, 톨루엔, 벤젠)설폰산의 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 에스테르류 또는 메탄설폰닐염화물의 양을 측정하는 방법이다.

### 1. 메탄설폰산 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설폰네이트류 분석법

메탄설폰산 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설폰네이트류 분석법은 0.5 ppm ~ 100 ppm 범위에서 유효성 평가를 실시하였다. 합성 초기 단계의 높은 농도 등으로 유효성 평가 범위를 벗어난 경우는 시험용액의 농도를 적절하게 맞추어 적용한다.

**장 치** 기체크로마토그래프-질량분석기

**조 작 법** 1) **표준액의 조제** 메틸메탄설폰네이트, 에틸메탄설폰네이트, 이소프로필메탄설폰네이트 표준품 약 50 mg을 각각 정밀하게 달아 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 표준원액으로 한다. 표준원액 74  $\mu$ L를 내부표준액으로 정확하게 10 mL로 하고, 다시 이 액의 100  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 10 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 3 mL를 내부표준액으로 정확하게 10 mL로 한 액

을 표준액(2)로 한다.

○ 내부표준액 : 부틸메탄설포네이트의 염화메틸렌용액(7 → 100,000,000)

2) 검액의 조제 이 약 약 0.74 g을 정밀하게 달아 물 10 mL와 내부표준액 10 mL를 넣고 천천히 흔들어 섞은 다음 추출한다. 유기층을 분리하여 무수황산나트륨이 담긴 바이알로 옮겨 흔들어 섞고, 상등액을 취하여 멤브레인필터로 여과하여 처음 여액은 버리고 다음 여액을 검액으로 한다.

### 3) 장치 조작조건

검출기 : 질량분석기

칼 럼 : 질량분석기용 안지름 0.25 mm, 길이 15 m의 기체크로마토그래프용 100 % 메틸폴리실록산을 1 μm의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 55 °C에서 시료를 주입하고 1 분간 유지한 다음 분당 10 °C로 135 °C까지 온도를 상승시킨다.

유 량 : 1 mL/분

운반기체 : 헬륨

주입모드 : pulsed splitless(250 kPa, 0.25min)

주입량 : 2 μL

검체도입부온도 : 240 °C

검출기온도 :

연결관 : 280 °C

이온 소스 : 230 °C

분석기 : 150 °C

측정모드 : SIM

생성이온 :

성분명	생성이온(m/z)
메틸메탄설포네이트	80
에틸메탄설포네이트	79
이소프로필메탄설포네이트	123
부틸메탄설포네이트	56

시스템적합성 :

검출의 확인 : 표준액(2)에서 얻은 메틸메탄설포네이트, 에틸메탄설포네이트, 이소프로필메탄설포네이트 각 피크의 신호 대 잡음비는 10 이상이다.

시스템의 성능 : 표준액(1)에서 얻은 에틸메탄설포네이트 및 이소프로필메탄설포네이트 피크 간의 분리도는 3 이상이다.

#### 4) 시험방법

위의 조작조건에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액(1) 중 각 성분의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

각 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설포네이트의 양 (ppm) = ( $Q_T /$

$$Q_S) \times (M_S / M_T) \times C \times 0.148$$

$Q_S$  : 표준액(1) 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$Q_T$  : 검액 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$M_S$  : 각 성분별 표준품의 양(mg)

$M_T$  : 검체의 양(mg)

$C$  : 각 성분별 표준품의 순도(%)

0.148 : 회석배수

## 2. 메탄설폰산 중 메탄설폰닐염화물 분석법

메탄설폰산 중 메탄설폰닐염화물 분석법은 0.05 ppm ~ 50 ppm 범위에서 유효성 평가를 실시하였다.

**장 치** 기체크로마토그래프-질량분석기

**조 작 법** 1) **표준액의 조제** 메탄설폰닐염화물 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 염화메틸렌을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다. 표준원액 1 mL를 정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 10 mL로 하고, 다시 이 액의 300  $\mu$ L를 정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 500  $\mu$ L와 내부표준액 100  $\mu$ L를 정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 15 mL로 한 액을 표준액(2)로 한다. 표준액(1) 25  $\mu$ L와 내부표준액 100  $\mu$ L를

정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 15 mL로 한 액을 표준액 (3)으로 한다.

○ 내부표준액 : 부틸메탄설포네이트의 염화메틸렌용액(7 → 100,000)

## 2) 검액의 조제

이 약 약 7.4 g을 정밀하게 달아 물 5 mL를 넣고 천천히 섞는다. 식힌 후에 염화메틸렌 5 mL와 내부표준액 100  $\mu$ L를 정확하게 취하여 넣고 흔들어서 섞는다. 유기층을 분리하여 무수황산나트륨 1 g이 담긴 바이알로 옮겨 흔든다. 염화메틸렌 5 mL로 두 번 반복해 추출하고, 유기층을 모아 멤브레인필터로 여과하여 처음 여액은 버리고 다음 여액을 사용한다.

## 3) 장치 조작조건

검출기 : 질량분석기

칼 럼 : 질량분석기용 안지름 0.25 mm, 길이 15 m의 기체크로마토그래프용 100 % 메틸폴리실록산을 1  $\mu$ m의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 40  $^{\circ}$ C에서 시료를 주입하고 4 분간 유지한 다음 분당 40  $^{\circ}$ C로 200  $^{\circ}$ C까지 온도를 상승시킨다. 분석이 끝난 시점에 칼럼의 온도를 270  $^{\circ}$ C까지 상승시키고 8 분간 유지한다.

유 량 : 1 mL/분

운반기체 : 헬륨

주입모드 : pulsed splitless(60 kPa, 0.1 min)

주입량 : 5  $\mu$ L

검체도입부온도 : 240  $^{\circ}$ C

검출기온도 :

연결관 : 280  $^{\circ}$ C

이온 소스 : 230  $^{\circ}$ C

분석기 : 150  $^{\circ}$ C

측정모드 : SIM

생성이온 :

성분명	생성이온(m/z)
메탄설폰닐염화물	79
부틸메탄설폰네이트	56

시스템적합성 :

검출의 확인 : 표준액(3)에서 얻은 메탄설폰닐염화물 피크의 신호 대 잡음비는 10 이상이다.

시스템의 성능 : 표준액(2)에서 얻은 메탄설폰닐염화물 및 부틸메탄설폰네이트 피크 간의 분리도는 5 이상이다.

#### 4) 시험방법

위의 조작조건에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액(2) 중 메탄설폰닐염화물의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

메탄설폰닐염화물의 양 (ppm) =  $(Q_T / Q_S) \times (M_S / M_T) \times C \times 1.5$

$Q_S$  : 표준액(2) 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 메탄설폰닐염화물의 피크면적비

$Q_T$  : 검액 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 메탄설폰닐염화물의 피크면적비

$M_S$  : 메탄설폰닐염화물 표준품의 양(mg)

$M_T$  : 검체의 양(mg)

$C$  : 메탄설폰닐염화물 표준품의 순도(%)

1.5 : 회석배수

### 3. 원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설폰네이트류 분석법

원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설폰네이트류 분석법은 베타히스틴메실산염을 가지고 0.2 ppm ~ 5 ppm 범위에서 유효성 평가를 실시하였다. 다른 원료의약품을 적용하는 경우, 특히 합성 초기 단계의 높은 농도 등으로 유효성 평가 범위를 벗어난 경우는 시험용액의 농도를 적절하게 맞추어 적용하고, 적합하게 유효성을 확인한다.

**장 치** 기체크로마토그래프-질량분석기

**조 작 법** 1) **표준액의 조제** 메틸메탄설폰네이트, 에틸메탄설폰네이트, 이소프로필메탄설폰네이트 표준품 약 25 mg을 각각 정밀하게 달아

톨루엔을 넣어 정확하게 5 mL로 한다. 이 액 50  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 20  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전한 것을 표준액(2)로 한다. 표준액(1) 500  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 표준액(3)으로 한다.

- 내부표준액 : 부틸메탄설포네이트의 아세토니트릴·물혼합액(4:1)용액(1  $\rightarrow$  5,000,000)

- 유도체화 용액 : 무수티오황산나트륨 30 mg과 요오드화나트륨 60 g을 정밀하게 달아 물에 녹이고, 정확하게 50 mL로 한다.

※ 유도체화 반응에서 침전이 관찰될 수 있으나 정량에는 영향을 주지 않는다.

## 2) 검액의 조제

이 약 약 25 mg을 정밀하게 달아 헤드스페이스 바이알에 넣고, 내부표준액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 넣고 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 검액으로 한다.

- 공시험액 : 유도체화 용액 0.5 mL와 내부표준액 0.5 mL를 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜

경으로 밀전하여 공시험액으로 한다.

### 3) 장치 조작조건

검출기 : 질량분석기

칼 럼 : 질량분석기용 안지름 0.25 mm, 길이 30 m의 기체크로마토그  
래프용 시아노폴리실록산을 1  $\mu\text{m}$ 의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동  
등한 것

칼럼온도 : 40  $^{\circ}\text{C}$ 에서 시료를 주입하고 1 분간 유지한 다음 분당 10  
 $^{\circ}\text{C}$ 로 130  $^{\circ}\text{C}$ 까지 온도를 상승시킨다. 분석이 끝난 시점에 칼럼의 온도  
를 240  $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시키고 7 분간 유지한다.

운반기체 : 헬륨

유 량 : 0.5 mL/분

분할 비 : 1 : 20

헤드스페이스용 검체도입장치 조건

평형온도 : 60  $^{\circ}\text{C}$

평형시간 : 30 분

연결관 온도 : 120  $^{\circ}\text{C}$

주입량 : 1 mL

검체도입부온도 : 220  $^{\circ}\text{C}$

검출기온도 :

연결관 : 280  $^{\circ}\text{C}$

이온 소스 : 250  $^{\circ}\text{C}$

분석기 : 200 °C

측정모드 : SIM

생성이온 :

성분명	정량이온(m/z)	정성이온(m/z)
메틸요오드화물*	142	127
에틸요오드화물*	156	127
이소프로필요오드화물*	170	127
부틸요오드화물*	184	127

\*유도체화 산물

시스템적합성 :

검출의 확인 : 표준액(2)에서 얻은 알킬요오드화물류의 각 피크의 신호 대 잡음비는 10 이상이다.

시스템의 성능 : 표준액(3)에서 얻은 에틸요오드화물 및 이소프로필요오드화물 피크 간의 분리도는 1.5 이상이다.

#### 4) 시험방법

위의 조작조건에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액(3) 중 각 성분의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

각 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설포네이트의 양 (ppm) =  $(Q_T / Q_S) \times (M_S / M_T) \times C \times 0.05$

$Q_S$  : 표준액(3) 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$Q_T$  : 검액 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$M_S$  : 각 성분별 표준품의 양(mg)

$M_T$  : 검체의 양(mg)

$C$  : 각 성분별 표준품의 순도(%)

0.05 : 희석배수

#### 4. 원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 톨루엔설포네이트류 분석법

원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 톨루엔설포네이트류 분석법은 선타미실린토실산수화물을 가지고, 0.2 ppm ~ 5 ppm 범위에서 유효성 평가를 실시하였다. 다른 원료의약품에서 적용하는 경우, 특히 알킬톨루엔설포네이트류의 농도가 유효성 평가 범위를 벗어난 경우는 검액 및 표준액의 농도를 적절하게 맞추어 적용하고, 적합하게 유효성을 확인한다.

**장 치** 기체크로마토그래프-질량분석기

**조 작 법** 1) **표준액의 조제** 메틸톨루엔설포네이트, 에틸톨루엔설포네이트, 이소프로필톨루엔설포네이트 표준품 약 25 mg을 각각 정밀하게 달아 톨루엔을 넣어 정확하게 5 mL로 한다. 이 액 50  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 40  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이

스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전한 것을 표준액(2)로 한다. 표준액(1) 500  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.50 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 표준액(3)으로 한다.

○ 내부표준액 : 부틸메탄설포네이트의 아세토니트릴·물혼합액(4:1)용액(1 → 5,000,000)

○ 유도체화 용액 : 무수티오황산나트륨 30 mg과 요오드화나트륨 60 g을 정밀하게 달아 물에 녹이고, 정확하게 50 mL로 한다.

※ 유도체화 반응에서 침전이 관찰될 수 있으나 정량에는 영향을 주지 않는다.

2) **검액의 조제** 이 약 약 25 mg을 정밀하게 달아 헤드스페이스 바이알에 넣고, 내부표준액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 넣고 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 검액으로 한다.

○ 공시험액 : 유도체화 용액 0.5 mL와 내부표준액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 공시험액으로 한다.

### 3) 장치 조작조건

검출기 : 질량분석기

칼 럼 : 질량분석기용 안지름 0.25 mm, 길이 30 m의 기체크로마토그

래프용 시아노폴리실록산을 1  $\mu\text{m}$ 의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동  
등한 것

칼럼온도 : 40  $^{\circ}\text{C}$ 에서 시료를 주입하고 1 분간 유지한 다음 분당 10  
 $^{\circ}\text{C}$ 로 130  $^{\circ}\text{C}$ 까지 온도를 상승시킨다. 분석이 끝난 시점에 칼럼의 온도  
를 240  $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시키고 7 분간 유지한다.

운반기체 : 헬륨

유 량 : 0.5 mL/분

분할 비 : 1 : 20

헤드스페이스용 검체도입장치 조건

평형온도 : 60  $^{\circ}\text{C}$

평형시간 : 30 분

연결관 온도 : 120  $^{\circ}\text{C}$

주입량 : 1 mL

검체도입부온도 : 220  $^{\circ}\text{C}$

검출기온도 :

연결관 : 280  $^{\circ}\text{C}$

이온 소스 : 250  $^{\circ}\text{C}$

분석기 : 200  $^{\circ}\text{C}$

측정모드 : SIM

생성이온 :

성분명	정량이온(m/z)	정성이온(m/z)
메틸요오드화물*	142	127
에틸요오드화물*	156	127
이소프로필요오드화물*	170	127
부틸요오드화물*	184	127

\*유도체화 산물

시스템적합성 :

검출의 확인 : 표준액(2)에서 얻은 알킬요오드화물류의 각 피크의 신호 대 잡음비는 10 이상이다.

시스템의 성능 : 표준액(3)에서 얻은 에틸요오드화물 및 이소프로필요오드화물 피크 간의 분리도는 1.5 이상이다.

#### 4) 시험방법

위의 조작조건에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액(3) 중 각 성분의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

각 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 톨루엔설포네이트의 양 (ppm) =  $(Q_T / Q_S) \times (M_S / M_T) \times C \times 0.05$

$Q_S$  : 표준액(3) 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$Q_T$  : 검액 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$M_S$  : 각 성분별 표준품의 양(mg)

$M_T$  : 검체의 양(mg)

C : 각 성분별 표준품의 순도(%)

0.05 : 희석배수

## 5. 원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 벤젠설포네이트류 분석법

원료의약품 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 벤젠설포네이트류 분석법은 암로디핀베실산염을 가지고, 2.5 ppm ~ 40 ppm 범위에서 유효성 평가를 실시하였다. 다른 원료의약품에서 적용하는 경우, 특히 알킬 벤젠설포네이트류의 농도가 유효성 평가 범위를 벗어난 경우는 검액 및 표준액의 농도를 적절하게 맞추어 적용하고, 적합하게 유효성을 확인한다.

※ 클로피도그렐베실산의 경우 본 시험법 적용 시 기체크로마토그래프 분석 중 메틸벤젠설포네이트가 인공적 분해산물로 관찰되어 적합하지 않다.

**장 치** 기체크로마토그래프-질량분석기

**조 작 법** 1) **표준액의 조제** 메틸벤젠설포네이트, 에틸벤젠설포네이트, 이소프로필벤젠설포네이트 표준품 약 25 mg을 각각 정밀하게 달아 톨루엔을 넣어 정확하게 5 mL로 한다. 이 액 50  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 40  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스

바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전한 것을 표준액(2)로 한다. 표준액(1) 500  $\mu$ L를 정확하게 취하여 내부 표준액으로 정확하게 20 mL로 한다. 이 액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 표준액(3)으로 한다.

○ 내부표준액 : 부틸메탄설포네이트의 아세토니트릴·물혼합액(4:1)용액(1 → 5,000,000)

○ 유도체화 용액 : 무수티오황산나트륨 30 mg과 요오드화나트륨 60 g을 정밀하게 달아 물에 녹이고, 정확하게 50 mL로 한다.

※ 유도체화 반응에서 침전이 관찰될 수 있으나 정량에는 영향을 주지 않는다.

2) **검액의 조제** 이 약 약 25 mg을 정밀하게 달아 헤드스페이스 바이알에 넣고, 내부표준액 0.5 mL와 유도체화 용액 0.5 mL를 정확하게 취하여 넣고 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 검액으로 한다.

○ 공시험액 : 유도체화 용액 0.5 mL와 내부표준액 0.5 mL를 정확하게 취하여 헤드스페이스 바이알에 넣고, 즉시 PTFE 코팅된 실리콘 막과 알루미늄 뚜껑으로 밀전하여 공시험액으로 한다.

### 3) 장치 조작조건

검출기 : 질량분석기

칼 럼 : 질량분석기용 안지름 0.25 mm, 길이 30 m의 기체크로마토그

래프용 시아노폴리실록산을 1  $\mu\text{m}$ 의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동  
등한 것

칼럼온도 : 40  $^{\circ}\text{C}$ 에서 시료를 주입하고 1 분간 유지한 다음 분당 10  
 $^{\circ}\text{C}$ 로 130  $^{\circ}\text{C}$ 까지 온도를 상승시킨다. 분석이 끝난 시점에 칼럼의 온도  
를 240  $^{\circ}\text{C}$ 까지 상승시키고 7 분간 유지한다.

운반기체 : 헬륨

유 량 : 0.5 mL/분

분할 비 : 1 : 20

헤드스페이스용 검체도입장치 조건

평형온도 : 60  $^{\circ}\text{C}$

평형시간 : 30 분

연결관 온도 : 120  $^{\circ}\text{C}$

주입량 : 1 mL

검체도입부온도 : 220  $^{\circ}\text{C}$

검출기온도 :

연결관 : 280  $^{\circ}\text{C}$

이온 소스 : 250  $^{\circ}\text{C}$

분석기 : 200  $^{\circ}\text{C}$

측정모드 : SIM

생성이온 :

성분명	정량이온(m/z)	정성이온(m/z)
메틸요오드화물*	142	127
에틸요오드화물*	156	127
이소프로필요오드화물*	170	127
부틸요오드화물*	184	127

\*유도체화 산물

시스템적합성 :

검출의 확인 : 표준액(2)에서 얻은 알킬요오드화물류의 각 피크의 신호 대 잡음비는 10 이상이다.

시스템의 성능 : 표준액(3)에서 얻은 에틸요오드화물 및 이소프로필요오드화물 피크 간의 분리도는 1.5 이상이다.

#### 4) 시험방법

위의 조작조건에 따라 시험하여 내부표준물질의 피크면적에 대한 검액 및 표준액(3) 중 각 성분의 피크면적비  $Q_T$  및  $Q_S$ 를 구한다.

각 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 벤젠설포네이트의 양 (ppm) =  $(Q_T / Q_S) \times (M_S / M_T) \times C \times 0.05$

$Q_S$  : 표준액(3) 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$Q_T$  : 검액 중 내부표준물질의 피크면적에 대한 각 성분의 피크면적비

$M_S$  : 각 성분별 표준품의 양(mg)

$M_T$  : 검체의 양(mg)

$C$  : 각 성분별 표준품의 순도(%)

0.05 : 회석배수

## 23. 재조합 C 인자를 이용한 엔도톡신 시험법

재조합 C 인자 (recombinant factor C, rFC)를 이용한 엔도톡신 시험법은 그람음성균에서 유래되는 엔도톡신을 정량하는 방법으로 투구게 (*Limulus polyphemus*, *Tachypleus tridentatus*, *Tachypleus gigas* or *Carcinoscorpius rotundicauda*)의 유전자 염기서열을 바탕으로 제조한 rFC를 이용하여 광학적 측정법을 수행한다. 이 시험은 엔도톡신에 의한 오염을 피하여 시험한다.

### 1. 기구

시험에 쓰는 모든 유리제 및 기타 내열성 기구는 유효한 방법으로 건열처리하여 발열물질을 제거한다. 보통 250 °C에서 적어도 30 분간 건열처리한다. 마이크로플레이트, 마이크로피펫용팁 등의 플라스틱 제품을 쓰는 경우에는 엔도톡신이 검출되지 않고 이 시험법에 대하여 간섭이 없는 것이 확인된 것을 쓴다.

### 2. 시약

#### 가) 시약

재조합 C 인자는 투구게(*Limulus polyphemus*, *Tachypleus tridentatus*, *Tachypleus gigas*, *Carcinoscorpius rotundicauda*)의 유전자 염기서열을 바탕으로 제조하며, 형광기질 및 완충액을 포함한

모든 시약은 엔도톡신 오염이 검출되지 않은 것을 사용한다.

#### 나) 시액

필요한 경우, 제조사가 규정한 사용법에 따라 시약을 조제하여 저장, 냉장 또는 냉동 처리한다.

#### 다) 엔도톡신 시험용 물

주사용수 또는 다른 방식으로 제조된 용수로서 시약의 검출한계에서 시약에 반응을 보이지 않은 것

### 3. 엔도톡신 표준원액의 조제

국제표준품을 기준으로 교정한 엔도톡신표준품을 이용해 엔도톡신 표준원액을 만든다. 엔도톡신국제단위는 IU로 표시하고, 국제표준품의 IU와 동등한 단위는 WHO가 정하는 바에 따른다.

비고: 1 엔도톡신국제단위(IU)는 1 엔도톡신단위(EU)와 같다.

엔도톡신표준원액의 조제 및 보관은 포장 첨부문서 및 라벨에 규정된 방법에 따른다.

### 4. 엔도톡신 표준액의 조제

엔도톡신표준원액을 충분히 흔들어 섞은 다음 엔도톡신시험용 물로

희석하여 엔도톡신표준액을 만든다. 엔도톡신표준액은 엔도톡신이 용기에 흡착되는 것을 피하기 위하여 될 수 있는 대로 빨리 사용한다.

## 5. 검액의 조제

제제를 엔도톡신키험용 물로 녹이거나 희석하여 검액을 만든다. 제제에 따라 엔도톡신키험용 물에 필요한 시약을 추가하여 검액을 제조할 수 있다. 필요한 경우 검액 또는 희석액의 pH를 조정하여 제조사가 특정한 pH 범위를 벗어나지 않도록 한다(보통 6.0 ~ 8.0 범위). 산, 염기 또는 적당한 완충액을 이용하여 pH를 조정할 수 있다. pH 조정에 쓰는 산 및 염기는 엔도톡신키험용 물을 써서 만들고 엔도톡신이 검출되지 않는 용기에 보존한다. 완충액은 엔도톡신이 검출되지 않으며 반응간섭인자가 없음을 확인한 것이어야 한다.

## 6. 최대유횠희석배수

최대유횠희석배수란 검액 중에 반응 간섭인자가 존재하여 이를 희석으로 없애고자 할 때 허용되는 검액의 최대희석배수이다.

최대유횠희석배수는 다음 식으로 구한다.

$$\text{최대유횠희석배수} = \frac{\text{엔도톡신키격값} \times \text{검액의 농도}}{\lambda}$$

비고:  $\lambda$ 는 검량선의 최소엔도톡신키농도이다.

### 가) 엔도톡신 규격값

제제의 엔도톡신규격값은 투여량에 근거하여 규정하며 K/M과 같다. 다만 K는 체중 1 kg 당 발열을 일으키는 엔도톡신의 양 (EU/kg)이고, M은 체중 1 kg 당 1 회에 투여하는 제제의 최대량이다.

제제를 여러 번 또는 지속적으로 투여하는 경우에 M은 1시간 이내에 투여하는 최대총량으로 한다. 주사제의 엔도톡신규격은 약전의 각 조에 규정된 IU/mL, IU/mg, IU/Unit 등의 단위로 표시한다.

### 나) 검액의 농도

단위는 엔도톡신 규격값을 질량(IU/mg)으로 정하는 경우에는 mg/mL, 생물학적 활성단위(IU/Unit)로 정하는 경우에는 Unit/mL, 용량(IU/mL)으로 정하는 경우에는 mL/mL이다.

## 7. 형광 측정법

이 방법은 엔도톡신으로 활성화된 C 인자로 인해 분해된 형광기질(시약)의 형광도(상대형광단위: RFU)를 측정한다. 종말점 형광측정법은 검액의 엔도톡신 농도와 일정 반응시간 후 검출된 형광물질의 용량반응관계를 기초로 하며  $\Delta RFU$  등의 단위로 표시한다.

$$\Delta RFU = RFU_{t_{end\ point}} - RFU_{t_0}$$

$RFU_{t_{end\ point}}$  = 반응시간 종말 시 검액의 형광도

$RFU_{t_0}$  = 반응 시작 시 검액의 형광도

시험은 제조사가 권고한 온도(보통  $37 \pm 1$  °C)에서 실시한다.

## 8. 예비 시험

예비시험은 형광 측정법의 유효성을 보증하기 위해 수행하며, 검량선 기준의 충족 및 검액에 반응간섭인자가 없음을 확인한다. 이 시험은 시험결과에 영향을 줄 가능성이 예상되는 시험조건의 변경이 있을 때 실시한다.

### 가) 검량선의 신뢰성 확인시험

이 시험은 재조합 C 인자 시약의 각 로트에 대해 수행한다. 장비 민감성은 제조사의 권고에 따라 조정한다. 엔도톡신표준액을 사용해 제조사가 규정한 범위 내에서 최소 3개 농도의 엔도톡신 용액을 제조하여 검량선을 작성한다. 검량선의 농도범위를 2 자리수보다 크게 할 때 1 자리수를 크게 할 때마다 엔도톡신표준액의 농도를 1 농도씩 추가한다.

제조사의 권고(용량 비율, 반응시간 및 온도, pH 등)에 따라 각 엔도톡신표준액을 최소 3회 시험한다. 작성된 검량선의 상관계수  $r$ 를

구하여 그 절대값  $|r|$ 이 0.980 이상일 때 검량선의 신뢰성이 확인되었다고 판단한다. 검량선의 신뢰성이 확인되지 않을 때는 시험조건을 정비하여 다시 시험한다.

## 나) 반응간접인자시험

시험용 키트에는  $\beta$ -glucan에 활성을 갖는 G 인자가 없기 때문에  $\beta$ -glucan에 의한 위양성 결과는 발생하지 않을 것으로 예상되며, 이러한 점은 다른 엔도톡신측정법과 비교 시 고려해야 할 사항이다. 엔도톡신 검량선의 중간 또는 이에 가까운 농도를 선정한다.

표1과 같이 A, B, C 및 D액을 조제하여 제조사의 권고(검액 및 시액의 용량·비율, 반응시간 등)에 따라 검액을 최소 2회 시험한다.

표1

액	엔도톡신 농도	피첨가액	동일시료시험횟수
A <sup>1)</sup>	없음	검액	2 이상
B <sup>2)</sup>	검량선의 중간 농도	검액	2 이상
C <sup>3)</sup>	3 농도 이상 (최소농도는 $\lambda$ )	엔도톡신시험용물	각 농도 2 이상
D <sup>4)</sup>	0	엔도톡신시험용물	2 이상

- 1) 최대유효희석배수를 넘지 않는 검액
- 2) 양성대조, A액과 동일배수로 희석한 검액으로 검량선의 중간 또는 이에 가까운 농도로 표준엔도톡신을 첨가한 것
- 3) 예비시험 가)검량선의 신뢰성 확인시험에 사용한 엔도톡신표준액
- 4) 음성대조, 엔도톡신시험용물만 함유

이 시험은 다음의 두 조건에 적합할 때 유효하다.

### 조건 1

C 액으로 작성한 검량선의 상관계수 절대값은 0.980 이상이다.

### 조건 2

D 액의 측정결과는 시약에 규정하는 공시험의 한도치를 넘지 않거나 rFC의 엔도톡신 검출한계 미만이다. B 액으로 측정된 엔도톡신 농도와 A 액으로 측정된 엔도톡신 농도의 차이를 기초로 하여 B 액에 첨가한 엔도톡신의 농도에 대한 엔도톡신의 회수율을 계산한다. 첨가한 엔도톡신의 회수율이 50 ~ 200 %의 범위에 있을 때 검액에 반응간섭인자가 존재하지 않는다고 판정한다.

엔도톡신의 회수율이 규정하는 범위에 들지 않을 때 검액은 반응간섭작용을 나타낼 수도 있다. 검액에서 반응간섭작용이 인정되면 최대 유효회석배수를 넘지 않는 범위에서 검액을 다시 회석하여 시험한다. 또 검액의 반응간섭작용을 없애기 위하여 검액 또는 회석한 검액에 적절한 처리(여과, 반응간섭인자의 중화, 투석 및 가열처리 등)를 할 수 있다. 단, 처리에 의해 엔도톡신이 손실되지 않는 것을 확인하기 위하여 엔도톡신을 첨가한 검액에 해당 처리를 하여 위의 시험에 적합한 결과를 얻을 수 있는지 확인한다.

## 9. 정량

### 가) 조작법

본 정보의 8. 예비시험 나) 반응간접인자시험 규정에 따라 조작한다.

### 나) 엔도톡신 농도의 산출

C 액으로 작성한 검량선에서 A 액의 엔도톡신 농도를 산출한다. 다음 모든 조건에 적합할 때 시험은 유효하다.

**조건1** C액의 결과가 본 정보의 8. 예비시험 나) 반응간접인자시험에 규정된 검증요건에 부합한다.

**조건2** B 액으로 측정된 엔도톡신 농도와 A 액으로 측정된 엔도톡신 농도의 차이를 기초로 하여 B 액에 첨가한 엔도톡신의 농도에 대한 엔도톡신의 회수율을 계산할 때 회수율은 50 ~ 200 %의 범위에 있다.

**조건3** D 액(음성대조)의 결과가 시약에 설정하는 공시험의 한도값을 넘지 않거나 또는 rFC의 엔도톡신 검출한계 미만이다.

### 다) 판정

A 액의 엔도톡신 평균농도가 제제에서 규정하는 엔도톡신 기준을 만족할 때 시험에 적합하다.

## 부 칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시 후 3개월이 경과한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 후 최초로 제조업자가 제조하거나 수입자가 수입한 의약품부터 적용한다.