

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 μ 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 (μ g/mL)

C_{T1} : 검액 중 니모디핀의 농도 (μ 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 μm 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 μL 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 μL 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 μ 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 μm 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 μ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 니모디핀 및 니모디핀유연물질I의 분리도는 1.5 이상이고, 니모디핀 피크의 대칭계수는 2.0 이하이다.

시스템의 재현성 : 표준액(1) 20 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 디시클로민염산염 피크의 대칭계수는 2.0 이하이다.

시스템의 재현성 : 표준액 50 μ 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 μ 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 μ 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 μ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 내부표준액의 상대유지시간은 0.27, 멘톨의 상대유지시간은 1.0이다.

시스템의 재현성 : 표준액 0.5 μ 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 μg 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 μL 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 µg/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 µg/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 NH₄)

○ 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 μ 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 μL 를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜토시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 20 μL 를 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 μL 씩을 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 μ 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 μ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜토시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 10 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ L를 가지고 위의 조건으로 조작할 때 카페인과 펜톡시필린 피크 간의 분리도는 10.0 이상이다.

시스템의 재현성 : 표준액 10 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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. 알킬설포산에스테르류 분석법

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

1. 메탄설포산 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설포네이트류 분석법

메탄설포산 중 알킬(메틸, 에틸, 이소프로필) 메탄설포네이트류 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** 메틸메탄설포네이트, 에틸메탄설포네이트, 이소프로필메탄설포네이트 표준품 약 50 mg을 각각 정밀하게 달아 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 표준원액으로 한다. 표준원액 74 μ L를 내부표준액으로 정확하게 10 mL로 하고, 다시 이 액의 100 μ 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 μ m의 두께로 코팅한 것 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 55 $^{\circ}$ C에서 시료를 주입하고 1 분간 유지한 다음 분당 10 $^{\circ}$ C로 135 $^{\circ}$ C까지 온도를 상승시킨다.

유 량 : 1 mL/분

운반기체 : 헬륨

주입모드 : pulsed splitless(250 kPa, 0.25min)

주입량 : 2 μ L

검체도입부온도 : 240 $^{\circ}$ 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 μ L를 정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 500 μ L와 내부표준액 100 μ L를 정확하게 취하여 염화메틸렌을 넣어 정확하게 15 mL로 한 액을 표준액(2)로 한다. 표준액(1) 25 μ L와 내부표준액 100 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 20 μ 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 μ 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 → 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 μm 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) 메탄설폰네이트의 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 설타미실린토실산수화물을 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 μ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 40 μ 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 μ 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 μm 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 μ L를 정확하게 취하여 내부표준액으로 정확하게 25 mL로 하여 표준액(1)로 한다. 표준액(1) 40 μ 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 μ 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 μm 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. 최대유효희석배수

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

최대유효희석배수는 다음 식으로 구한다.

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

비고: λ 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 ΔRFU 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 ± 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 β -glucan에 활성을 갖는 G 인자가 없기 때문에 β -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 ¹⁾	없음	검액	2 이상
B ²⁾	검량선의 중간 농도	검액	2 이상
C ³⁾	3 농도 이상 (최소농도는 λ)	엔도톡신시험용물	각 농도 2 이상
D ⁴⁾	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) 반응간섭인자시험 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) 반응간섭인자시험에 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.