

Application

News

No. X271K

X선 분석

EDX를 이용한 원약 ICH Q3D 원소불순물 분석

의약품 원소 불순물 가이드라인(ICH Q3D)¹⁾에 따라 독성이 우려되는 24원소에 대해서 잔류량 관리가 요구되고 있습니다. 미국 및 유럽에서는 2016년 6월부터, 일본은 2017년 4월부터 새로운 제제에 적용되고 있습니다. 기존 제제에 대해서는 미국은 2018년 1월부터, 유럽은 2017년 2월부터 적용이 시작되었습니다.

원소 불순물 분석법으로 유도결합 플라즈마 발광분광분석법(ICP-AES)²⁾ 및 유도결합 플라즈마 질량분석법(ICP-MS)이 권장되고 있지만, 적절한 대체법이 있는 경우에는 대체법의 사용도 인정되고 있습니다.³⁾ 미국 약전 UPS<735>⁴⁾를 참고로 대체법으로 형광X선분석법의 타당성을 검증했습니다.

장비는 EDX-7000과 옵션 [의약품 불순물분석법 패키지]를 이용했습니다. 시료는 2종류의 원약 분말을 사용하였고, 수용액 표준시료를 이용한 검량선법으로 정량분석을 하였습니다. 결과는 양호하였으며, EDX를 의약품 원소 불순물관리에 이용할 수 있다는 가능성을 확인했습니다.

T. Nakao, K. Hori

■ 원소

의약품불순물 분석법 패키지는 ICH Q3D에서 지정된 원소 중에서 관리 중요도가 높은 아래 12개 원소를 분석할 수 있습니다.

Class1 : As, Cd, Hg, Pb

Class2A : V, Co, Ni

Class2B : Ru, Rh, Pd, Ir, Pt

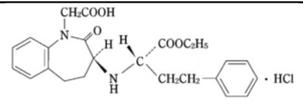
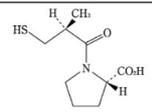
■ 평가시료

아래 2종류의 원약 분말을 사용했습니다. 상세 내용과 일일 섭취량을 표1에 나타냈습니다.

- Benazepril Hydrochloride

- Captopril

표1 평가시료와 구조식

명칭	Benazepril Hydrochloride	Captopril
조성식	C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₅ ·HCl	C ₉ H ₁₅ NO ₃ S
분자량	460.95	217.29
구조식		
최대일일섭취량	10mg/day	150mg/day

■ 관리값 설정

(1) 허용농도 설정

ICH Q3D는 각 원소에 대해서 1일허용폭로량(Permitted Daily Exposure : PDE)이 지정되어 있고, 제제 또는 그 구성 성분내의 원소 불순물을 평가할 때는 PDE값을 농도로 환산해야 합니다. 환산 방법은 옵션 1, 2a, 2b, 3이 있습니다.

이번 평가에서는 보다 낮은 농도 영역에서의 Validation이 되도록 일일섭취량을 표1의 규정값보다 많은 300mg으로 가정했습니다. 또 PDE값은 경구제제의 값을, 환산법은 옵션2b를 사용했습니다.

(2) 첨가농도 설정

ICH Q3D는 PDE값의 30%가 관리값으로 정의되어 있기 때문에, (1)의 허용농도의 30%를 관리값으로 했습니다. 첨가농도는 UPS<735>에 따르면, 관리값의 1/2로 했습니다. 이들 관계를 표2에 나타냈습니다.

표2 PDE값과 첨가농도

	PDE값 (A)	허용한도농도 (B)=(A)÷0.3	첨가농도 (B)×0.3÷2
원소/단위	µg/day	µg/g	µg/g
Pb, Cd	5	16.7	2.5
As	15	50	7.5
Hg	30	100	15
Co	50	167	25
V, Ir, Pt, Ru, Rh, Pd	100	333	50
Ni	200	667	100

■ 검량선시료

아래 2점의 혼합표준액 및 초순수를 이용해서 각 5점의 검량선시료를 제작했습니다. 농도는 표3, 표4와 같습니다.

SPEX사 혼합표준액

- XSTC-2046

- USP-TXM4

표3 XSTC-2046 검량선시료 농도[µg/mL]

	블랭크 (초순수)	STD1	STD2	STD3	STD4
희석배율		10	5	2	1
Pb, Cd	0	0.5	1	2.5	5
As	0	1.5	3	7.5	15
Hg	0	3	6	15	30
Co	0	5	10	25	50
V	0	10	20	50	100
Ni	0	20	40	100	200

표4 USP-TXM4 검량선시료 농도[µg/mg]

	블랭크 (초순수)	STD1	STD2	STD3	STD4
희석배율		10	5	2	1
Ir, Pt, Ru, Rh, Pd	0	10	20	50	100

■ 시료 전처리

(1) 첨가시료 조제

첨가농도가 되도록 평가시료에 원자흡광용 표준액 또는 As 고함유 셀룰로오스 분말을 첨가하고, 균일하게 혼합해서 첨가시료를 조제했습니다.

(2) 시료 셋팅

그림1과 같이 폴리프로필렌필름을 깎 시료용기에 시료를 넣고 측정했습니다.

XSTC-2046
원액
8mL



Captopril
원약분말
2g



그림1 측정 시료

■ Validation 결과

검증은 정확도(UPS<735>-ACCURACY), 정도(PRECISION), 특이성(SPECIFICITY), 정량한계(QUANTITATION LIMIT), 직진성(LINEARITY), 완전성(ROBUSTNESS)에 대해서 실시했습니다.

결과 및 UPS<735> Validation 요약을 5표에, 각 항목의 결과를 각각 표6~10 및 그림2로 정리하였습니다.

표5 UPS<735> Validation과 검증결과 요약

항목	방법	적합기준	결과	판정
정확도	<ul style="list-style-type: none"> 검량선법을 통한 정량분석 첨가회수시험 	회수율 70.0~150%	회수율 92~108%	적합
정도	<ul style="list-style-type: none"> 첨가시료 3개 개별 3회 반복 정량분석 총9개의 상대표준편차 	상대표준편차(RSD) ≤20.0%	상대표준편차(RSD) ≤5.8%	적합
특이성	<ul style="list-style-type: none"> 정량스펙트럼은 매트릭스 성분의 스펙트럼과 명백하게 분리 구별 	정확도요건을 만족할 것	<ul style="list-style-type: none"> 정량 스펙트럼은 매트릭스 성분과 분리 정확도를 만족 	적합
정량한계	<ul style="list-style-type: none"> 무첨가시료 6회 반복정량분석 표준편차의 10배를 추정값으로 한다 	관리값의 50%이하로 정확도, 정도요건을 만족할 것	<ul style="list-style-type: none"> 추정값 < 관리값의 50% (=첨가농도) 정확도, 정도를 만족 	적합
직선성	<ul style="list-style-type: none"> 검량선시료 5점 최소2승법으로 회귀 직선을 구한다 	상관계수 R 0.99이상	상관계수 R ≥0.9941	적합
완전성	<ul style="list-style-type: none"> 시료량을 실험 파라미터로 한다 2.0g을 기준으로 1.0g, 0.5g, 0.3g로 변경 	실험파라미터 변경 후 정량값의 변화율이 ±20.0%이내	정량값 변화율 -12.0~+8.3%	적합

표6 정확도

Class	Class1				Class2A			Class2B				
	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
원소 첨가농도	7.5	15	2.5	2.5	50	25	100	50	50	50	50	50
Benazepril Hydrochloride 첨가시료	7.2	14.9	2.5	2.6	50.8	25.5	104.2	51.0	49.6	53.0	51.6	50.9
무첨가시료	<0.5	<0.3	<0.6	<1.2	<2.9	<1.4	<0.7	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
회수율[%]	96	99	102	104	102	102	104	102	99	106	103	102
Captopril 첨가시료	7.2	13.8	2.7	2.5	46.2	23.0	94.5	47.9	45.9	52.6	52.4	51.2
무첨가시료	<0.5	<0.4	<0.7	<1.2	<3.4	<1.7	<0.8	<0.6	<0.6	<0.4	<0.4	<0.7
회수율[%]	96	92	108	100	93	92	95	96	92	105	105	102

표7 정도

원소	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
Benazepril Hydrochloride RSD	0.5	0.4	4.8	5.8	0.7	0.5	0.3	0.4	0.7	0.8	0.7	0.8
Captopril RSD	2.3	0.8	4.6	5.5	2.7	1.8	1.1	1.4	0.5	0.6	0.9	0.5

표8 정량한계 추정값

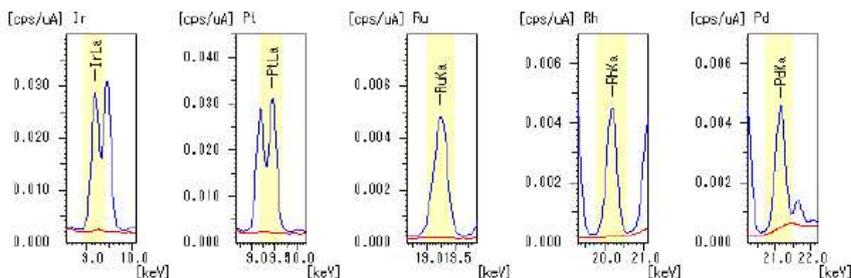
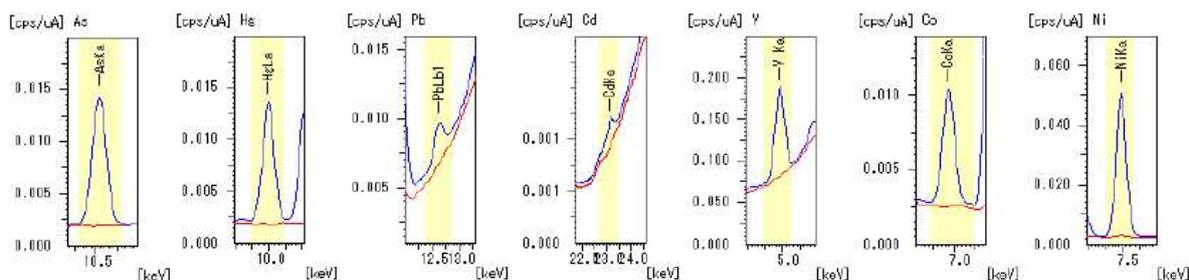
원소	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
Benazepril Hydrochloride	0.2	0.4	0.6	1.4	4.3	1.0	0.9	0.5	0.1	0.3	0.6	0.7
Captopril	0.1	0.4	1.0	1.3	4.1	3.3	0.9	0.5	0.4	0.6	0.2	0.5

표8 정량한계 추정값

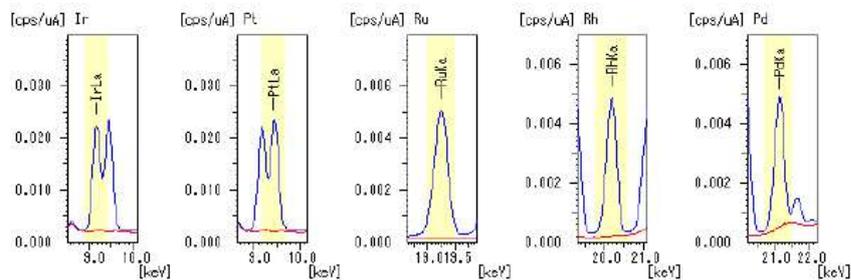
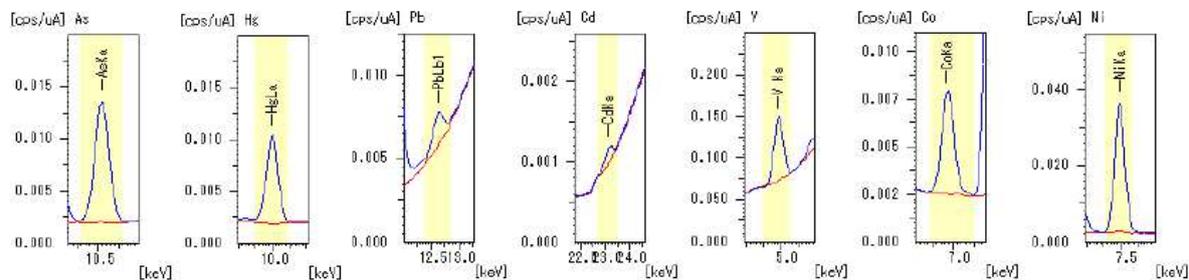
원소	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
상관계수	0.9998	0.9999	0.9975	0.9941	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999

표10 완건성

원소		As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
표6 내용 재개	2.0g(기준)	7.2	14.9	2.5	2.6	50.8	25.5	104.2	51.0	49.6	53.0	51.6	50.9
Benazepril Hydrochloride	1.0g	7.1	15.1	2.4	2.3	51.1	25.7	103.7	51.9	49.8	55.1	53.2	51.3
	0.5g	6.7	14.9	2.4	2.4	53.2	26.3	104.4	51.7	49.9	53.9	49.3	50.6
	0.3g	6.6	14.6	2.2	2.4	53.0	26.1	102.1	52.0	49.4	52.2	49.9	50.7
변화율[%]	1.0g	-1.4	+1.3	-4.0	-11.5	+0.6	+0.8	-0.5	+1.8	+0.4	+4.0	+3.1	+0.8
	0.5g	-6.9	0.0	-40.	-7.7	+4.7	+3.1	+0.2	+1.4	+0.6	+1.7	-4.5	-0.6
	0.3g	+8.3	-2.0	-12.0	-7.7	+4.3	+2.4	-2.0	+2.0	-0.4	-1.5	-3.3	-0.4
표6 내용 재개	2.0g(기준)	7.2	13.8	2.7	2.5	46.2	23.0	94.5	47.9	45.9	52.6	52.4	51.2
Captopril	1.0g	7.1	13.8	2.6	2.6	45.9	23.1	93.8	48.0	46.0	54.1	53.3	51.1
	0.5g	7.3	13.6	2.4	2.4	48.0	23.8	96.	49.2	46.9	54.7	50.6	51.4
	0.3g	7.0	13.6	2.4	2.6	47.6	23.7	95.9	47.3	46.5	50.6	49.3	49.8
변화율[%]	1.0g	-1.4	0.0	-3.7	+4.0	-0.6	+0.4	-0.7	+0.2	+0.2	+2.9	+1.7	-0.2
	0.5g	+1.4	-1.4	-11.1	-4.0	+3.9	+3.5	+1.9	+2.7	+2.2	+4.0	-3.4	+0.4
	0.3g	-2.8	-1.4	-11.1	+4.0	+3.0	+3.0	+1.5	-1.3	+1.3	-3.8	-5.9	-2.7



Benazepril Hydrochloride
 청 : 첨가시료
 적 : 무첨가시료



Captopril
 청 : 첨가시료
 적 : 무첨가시료

■ 첨가시료·농도 타당성

첨가시료 및 그 농도의 타당성 검증을 위해서, 무첨가시료 및 첨가시료를 ICPMS-2030으로 분석했습니다. 시료(분말)의 일부를 마이크로파 시료전처리장치로 분해하고, 용액화 했습니다. 측정 용액은 Class1, Class2A에 대해서는 고체시료에서 5,000배로, Class2B에 대해서는 25,000배로 희석해서 측정했습니다.

표11에 ICP-MS의 분석결과를 정리했습니다.

2종류의 원약시료 모두 첨가농도에 가까운 값을 얻었으므로, 평가시료에 첨가 및 균일화가 적절하게 이루어졌다고 생각할 수 있습니다. 또한, 무첨가시료에 대해서도 측정결과가 타당하다는 것을 확인할 수 있었습니다.

표11 ICPMS-2030 분석결과표 (n=2 평균값)

Class 원소 첨가농도	Class1				Class2A			Class2B				
	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
	7.5	15	2.5	2.5	50	25	100	50	50	50	50	50
Benazepril Hydrochloride 첨가시료	7.1	14.9	2.58	2.42	48.6	24.1	99.0	52.1	49.9	50.0	50.3	49.5
무첨가시료	<0.2	<0.1	0.03	<0.02	<0.7	<0.02	0.3	<0.05	<0.2	<0.05	<0.07	<0.1
Captopril 첨가시료	7.3	15.0	2.62	2.43	50.5	24.8	99.8	51.8	49.5	49.4	50.7	50.1
무첨가시료	<0.2	<0.1	0.03	<0.02	<0.7	<0.02	<0.2	<0.05	<0.2	<0.05	<0.07	<0.1

< : 원약분말 정량하한(10σ)미만

원약 분말 환산 정량하한(10σ)미만 : 측정 용액 중 정량하한(10σ) x 희석배율 (Class1, 2A 5,000배, Class2B 25,000배)

■ 결론

ICH Q3D 원소 불순물 분석에 ICP-AES/MS대체법으로, 원약 시료에 대한 EDX의 유효성을 확인할 수 있었습니다. 또한 황 함유량이 약 15%로 이재질성이 높은 Captopril도 양호하며, 수용액 표준시료를 이용한 본 분석법 패키지의 유효성도 확인할 수 있었습니다. 이를 통해서 여러 가지 종류의 원약과 제제관리에 응용할 수 있을 것으로 생각됩니다.

EDX로 분석가능한 한도농도는 최대 일일 섭취량이 1g정도인것으로부터 원약의 종류나 섭취량에 따라서 EDX를 선택적으로 병용 운영하는 것으로 작업효율 향상과 비용 절감을 도모할 수 있을 것으로 생각됩니다.

<참고문헌>

- 1) 의약품 원소 불순물 가이드라인에 대해서
(2015년9월30일 후생노동성 의약식품국 심사관리과장 통지)
- 2) UPS<233> ELEMENTAL IMPURITIES – PROCEDURES
- 3) 일반시험법(원소 불순물분석법) 및 참고정보(제제 중 원소불순물관리)의 원안에 대해서
(2018년3월 독립행정법인 의약품 의료기기 종합기구)
- 4) UPS<735> X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY (2015년5월)

표12 EDX 측정조건

(의약품 불순물분석법 패키지 조건)

장비	: EDX-7000
원소	: As, Hg, Pb, Cd, V, Co, Ni, Ir, Pt, Ru, Rh, Pd
분석그룹	: 정량
검출기	: SDD
X-ray tube	: Rh 타겟
전압	: 50kV
전류	: 자동 [μA]
콜리메이터	: 10[mmφ]
1차 필터	: #1(Cd, Ru, Rh, Pd), #2(V) #4(As, Hg, Pb, Co, Ni, Ir, Pt)
분위기	: 대기
적분시간	: 1800[초] x 3(#1, #2, #4)
데드타임	: 최대 30[%]