

Application News

No.L584K

High Performance Liquid Chromatography

COVID-19 의약품 덱사메타손의 불순물에 대한 JP 및 EP 인증 분석

JP-and EP-Compliant Analysis of Impurities of COVID-19 Drug Dexamethasone.

일본 후생노동성(MHLW)은 2020년 7월, 코로나바이러스의 치료제로 항염증제 덱사메타손(Dexamethasone)을 승인하였습니다. 덱사메타손은 일본에서 두번째로 공식 승인된 COVID-19 의약품입니다. 덱사메타손은 중증감염, 간염성 폐렴 등 다양한 질병과 함께 사용되는 스테로이드제로서 이미 널리 사용되고 있는 약입니다. 덱사메타손 투여로 영국에서 대규모 임상연구에서 기계식 인공호흡기나 산소 흡입이 필요한 COVID-19 환자의 사망률도 줄어든 것으로 알려졌습니다.

해외에서 의약품 미 의약품 첨가물을 조달하고 제조된 의약품의 타국으로의 반출이 증가하고 있지만, 덱사메타손에 대한 기준과 시험 방법은 해당 약효에 따라 다릅니다. 따라서 다른 나라로 운송할 때 목적지 국가에서 인정된 시험방법에 따른 시험이 필요합니다. 본 자료에서는 일본(JP)과 유럽(EP)의 덱사메타손 불순물에 대한 시험 요건에 근거한 분석을 소개합니다.

N. Iwata

■ 덱사메타손의 불순물에 대한 JP인증 분석

덱사메타손은 JP의 순도(2) 관련 화합물 항목에 따라 분석하였습니다. Fig.1은 표준용액(5.94 mg/L)의 크로마토그램을 나타냅니다. Table1은 분석조건을 나타냅니다. 분석 컬럼에는 페닐실란화 실리카겔(phenylsilanized silica gel)이 JP에서 포장재로 지정되어 있기 때문에 Shim-pack™ VPphenyl이 사용되었습니다. JP에서 덱사메타손의 머무름 시간이 약 13분이 되도록 유량을 조정하도록 규정되어 있기 때문에 유량을 1.15mL/min로 설정하였습니다.

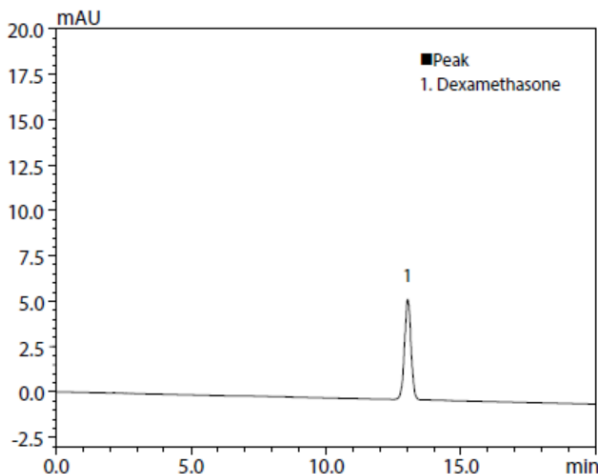


Fig. 1 Chromatogram of Standard Solution (5.94 mg/L) (Japanese Pharmacopoeia)

Table 1 Analytical Conditions (Japanese Pharmacopoeia)

System	: Nexera™ lite
Column	: Shim-pack VP-phenyl *1 (250×4.6 mm I.D., 5 μm)
Flow rate	: 1.15 mL/min
Mobile phase	: (ammonium) formate buffer (pH 3.6) */ acetonitrile=67:33 * 1.32 g/L of ammonium formate in water. Adjust with formic acid to a pH of 3.6.
Column temp.	: 25 °C
Injection volume	: 10 μL
Vial	: TORAST-H Glass Vial, 1.5mL Amber Glass with Cap & Septa (Shimadzu GLC) *2
Detection	: UV 254 nm
Sample	: Dexamethasone standard solution (5.94 mg/L)

*1: P/N 228-59928-92, *2: P/N 370-04300-03

■ 덱사메타손의 불순물에 대한 EP 인증 분석

다음으로 EP의 관련 화합물 항목에 따라 덱사메타손을 분석하였습니다. Fig.2는 기준용액(a)의 크로마토그램을 보여주고, table2는 분석 조건을 보여줍니다. Fig.2의 하단에는 10분에서 30분까지의 머무름 시간에 대한 확대 크로마토그램입니다.

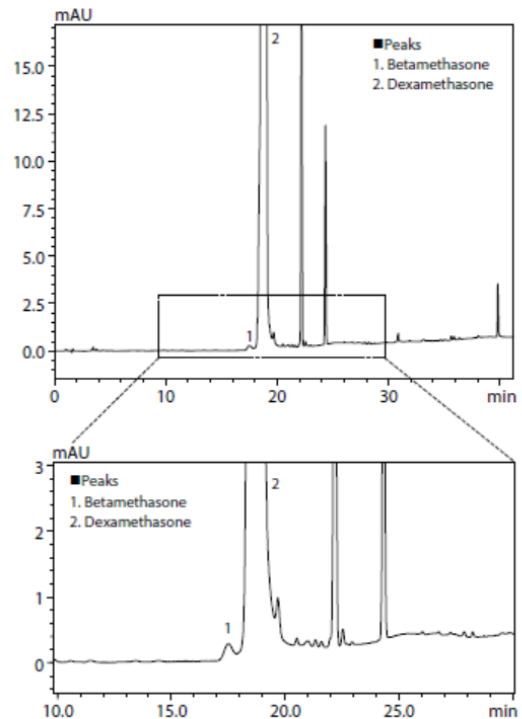


Fig. 2 Chromatogram of Reference Solution (a) (European Pharmacopoeia)

EP에서 ODS(endcapped octadecylsilanized silica gel)를 지정하였기 때문에 Shim-pack Scepter C18을 분석컬럼으로 사용하였습니다. Isocratic elution은 위에서 설명한 JP 시험법에 명시되어 있는 반면, EP 시험법에는 Gradient elution이 명시되어 있습니다.

Table 2 Analytical Conditions (European Pharmacopoeia)

System	: Nexera lite
Column	: Shim-pack Scepter C18 *3 (150×4.6 mm I.D., 5 µm)
Flow rate	: 1.2 mL/min
Mobile phase	: A) 25% acetonitrile * B) acetonitrile * mix 250 mL of acetonitrile with 700 mL of water and allow to equilibrate; dilute to 1000 mL with water and mix again
Time program	: 0%B (0-15 min)→100%B (40 min)→ 0%B (40.01- 55 min)
Column temp.	: 45 °C
Injection volume	: 20 µL
Vial	: TORAST-H Glass Vial, 1.5 mL Amber Glass with Cap & Septa (Shimadzu GLC)
Detection	: UV 254 nm
Sample	: Dexamethasone reference solution (a)

*3: P/N 227-31020-05

■ JP 및 EP 인증 시스템 적합성 검증

JP와 EP를 기반으로 시스템 적합성 검사를 실시하였습니다. JP에서는 덱사메타손을 주성분으로 하는 표준용액을 사용하여 이론단수, 대칭계수, 시스템 반복성에 대한 시험을 실시하였습니다. 그러나 EP에서는 덱사메타손과 베타메타손의 Peak-to-valley 비율에 대해 검사를 실시하였는데, 불순물(베타메타손)은 덱사메타손의 바로 직전에 용출되는 것입니다. 이 Peak-to-valley 비율값은 이론단수, 대칭계수 및 반복성과 동일한 방식으로 SHIMADZU LabSolutions™ 소프트웨어 자동으로 계산됩니다. Table3은 시험 결과를 나타냅니다. Fig3.은 JP에 명시된 바와 같이 6번의 반복 시험에서 크로마토그램의 비교를 보여줍니다. 약전에 따라 시험항목과 표준값은 다르지만, JP와 EP 모두에서 제공되는 시험방법의 모든 항목에 대해 "Passed,합격" 판정을 받았습니다.

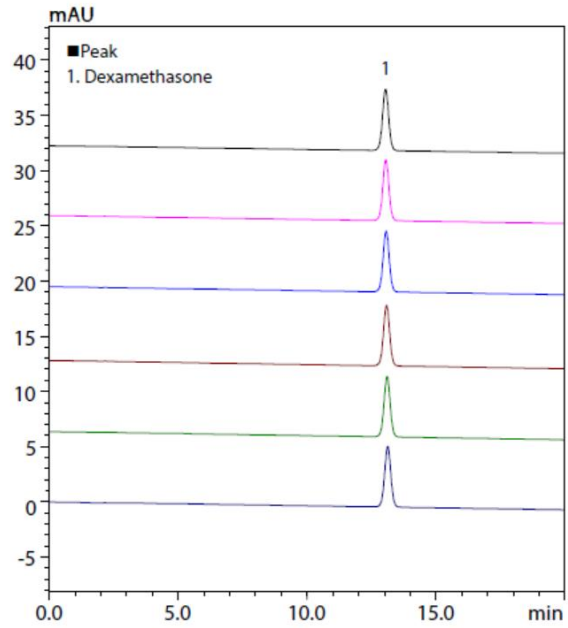


Fig. 3 Comparison of Chromatograms in 6 Repeated Tests with Standard Solution (5.94 mg/L) (Japanese Pharmacopoeia)

■ 결론

본 자료에서 기술한 바와 같이 덱사메타손에 대한 분석은 일본 약전과 유럽 약전의 "Related compound" 항목에 근거하여 수행되었습니다. 두 분석 모두 SHIMADZU Nexera lite 시스템을 사용하였습니다. 일본과 유럽의 약전에서 명시한 액체크로마토그래피 조건을 비교한 결과, 검출 조건을 제외하고 컬럼 고정상과 기타 시험 조건이 크게 차이가 났습니다. 두 가지 시스템 적합성 시험에서 욕되는 항목도 약전에 따라 다르지만, JP와 EP 모두에서 제공되는 시험 방법의 모든 항목에 대해 "합격" 판정을 받았습니다.

Table 3 Results of System Suitability Tests

		System suitability requirements	Results	Judgements
JP	Confirmation of detection	dexamethasone	8-12%	PASSED
	Number of theoretical plate	dexamethasone	≥5000	PASSED
	Symmetry factor	dexamethasone	≤1.5	PASSED
	%RSD	dexamethasone	≤1.0	PASSED
EP	Peak-to-valley ratio	betamethasone and dexamethasone	≥2.0	PASSED

<References>

- (1) Ministry of Health, Labour and Welfare, Novel Coronavirus Response Headquarters, "Clinical Management of Patients with COVID-19 – A guide for front-line healthcare workers Ver. 2.2," July 17, 2020
- (2) Japanese Pharmacopoeia 17th Edition, "Dexamethasone"
- (3) European Pharmacopoeia 8.8, 01/2014: 0388, "Dexamethasone"