# 의약품 용기 마개 시스템 내 추출물의 식별 및 비교

## Agilent 7200 GC/Q-TOF 시스템으로 전자 이온화, 화학 이온화, 충돌 유도 분리 및 Accurate Mass 정보 등을 완벽하게 활용하는 첨단 데이터 마이닝 프로세스

## 응용 자료

제약산업


### 저자

Syed Salman Lateef
Agilent Technologies, Inc.



### 개요

규제 기관과 작업 그룹(working group)에서는 의약품의 안전성과 효능을 보장하기 위해 의약품 용기(container) 평가 가이드라인을 제공합니다. 용기 평가 가이드라인에서는 추출 연구를 할 때 위험 기반 접근 방법을 사용하도록 권장합니다. 이 방법은 의약품 성분이나 전체 의약품 용기 마개 시스템(CCS)의 추출물에 존재하는 비 휘발성, 준 휘발성 및 원소(무기물) 오염물질의 독성학적 관련성을 식별하고 분류합니다. 본 연구에서는 서로 다른 제조사에서 제작한 의약품 용기 4개를 조사하여 준 휘발성 추출 화합물의 프로파일을 작성했습니다. 추출 화합물을 종합적으로 식별하기 위해 Agilent 7200 GC/Q-TOF의 전자 이온화(EI)와 화학 이온화(CI) 모드에서 데이터를 수집했습니다. EI 데이터는 NIST 라이브러리를 이용해 화합물을 식별하기 위한 목적으로 수집하였습니다. 각 시료의 화합물 분포는 Agilent MassHunter Mass Profiler Professional 소프트웨어를 이용한 화학계량학적 접근을 기반으로 시각화하였습니다. EI 모드에서 오직 잠정적으로만 식별 가능했던 화합물은 CI 모드에서 생성된 어미 이온(parent ion)의 질량 데이터를 이용해 확인하였습니다. 각 용기당 약 170종의 화합물을 식별할 수 있었습니다. 이러한 결과는 EI 및 CI 데이터를 함께 활용할 때, 추출 화합물을 더 많이 식별하고 용기 시스템을 더욱 철저히 평가할 수 있다는 것을 의미합니다.


Agilent Technologies

## 소개

의약품 용기에 대한 추출물 연구는 의약품의 안전성과 효능을 보장하는 귀중한 정보를 제공합니다. 제조 공정 초기에 의약품 용기 마개 시스템에 대한 추출물 연구를 실시하면 조기 재료 평가 및 선택 프로세스를 더욱 효율적으로 처리할 수 있습니다[1]. 서로 다른 업체의 용기를 사용할 때 제조 공정에 변화가 생기면 추출물 프로파일도 따라서 변경됩니다. 의약품 용기 마개 시스템에서 발견된 추출 화합물에 대한 독성 평가는 미국식품의약국(FDA)에서 제시한 위험 기반 접근법에 따라 수행하였습니다[2,3]. 이 방법에서는 환자 집단, 의약품 투여 경로 및 제제와 용기 시스템 간의 상호작용 가능성을 고려합니다. 안과 의약품(ophthalmic drug products, ODP)의 경우 투여 경로와 관련한 우려 수준과, 액상 제제와 포장재 간의 상호작용 가능성이 높게 지정되어 왔습니다.

독성 평가 방법은 화합물의 흡수, 분포, 대사 및 배설(absorption, distribution, metabolism, and elimination, ADME)과 관련된 기존 문헌을 참조하였습니다. 해당 정보를 구할 수 없는 경우 Cramer 분류법을 이용해 구조에 기반하여 화합물을 분류해야 합니다. Cramer 분류법은 화합물을 여러 등급으로 구분합니다.

- **등급 I** – 낮은 독성
- **등급 II** – 중간 독성
- **등급 III** – 높은 독성

등급 III에 속하는 알려진 반응성 작용기로는 aliphatic secondary amino-, cyano-, N-nitroso-, diazo-, triazeno-, quarternary N, strain-ringed lactones, epoxides, quinones 및 α,β-unsaturated ketones가 있습니다[4]. 최근 Jenke[3]는 용기가 용도에 적합한지 규명하는 데 필요한 양과 테스트를 결정하기 위한 반정량적 위험 평가 매트릭스를 개발 및 검증한 바 있습니다.

추출물 연구는 다른 미표적 연구와 마찬가지로 시료  내용물에 대한 사전 지식 없이 화합물을 식별하게 됩니다. 화합물이 전자 이온화(EI)모드에서 강한 조각화를 보이면 더 많은 미지 성분이 검출될 것입니다. 그러나 직교적인 (독립적인) 소프트 이온화 기술(예: 화학 이온화(CI))을 적용하면 소프트 이온화에 적합한 매우 불안정한 화합물을 보다 쉽게 식별할 수 있습니다. 맞춤형 accurate mass 데이터베이스를 사용하여 accurate mass 기기에서 실험을 수행하면 항상 더 많은 화합물을 식별할 수 있을 것입니다. 또한 accurate mass 기기는 분자 피크 및 그 조각으로 화학식을 생성하여 미지 성분을 식별하는 데 도움을 줍니다.

이 응용 자료에서는 4가지 의약품 용기 시스템에 대한 추출물 연구에 고분해능 Agilent 7200 GC/Q-TOF 시스템을 사용하였습니다. 시료 전처리는 준 휘발성 화합물만 분석하는 것을 목표로 하였습니다. EI 및 CI 모드에서 모두 크로마토그램을 얻었으며, EI 스펙트럼은 Agilent MassHunter Unknown Analysis 소프트웨어에서 자동으로 deconvolution 되고 NIST 14 라이브러리와 매칭하였습니다. 4가지 용기 시스템의 추출물에서 얻은 데이터는 Agilent Mass Profiler Professional(MPP) 소프트웨어에 포함된 기능인 벤 다이어그램을 사용하여 시각화하였습니다. EI 라이브러리 매칭 스코어가 낮아서 잠정적으로 식별된 성분은 맞춤 데이터베이스로 전환하였습니다. 이 스코어가 낮은 맞춤 데이터베이스는 CI accurate mass 데이터를 마이닝하여 일부 화합물을 확인하는 데 사용하였습니다. 그림 1은 이 연구에서 사용한 워크플로를 보여줍니다.

### 워크플로

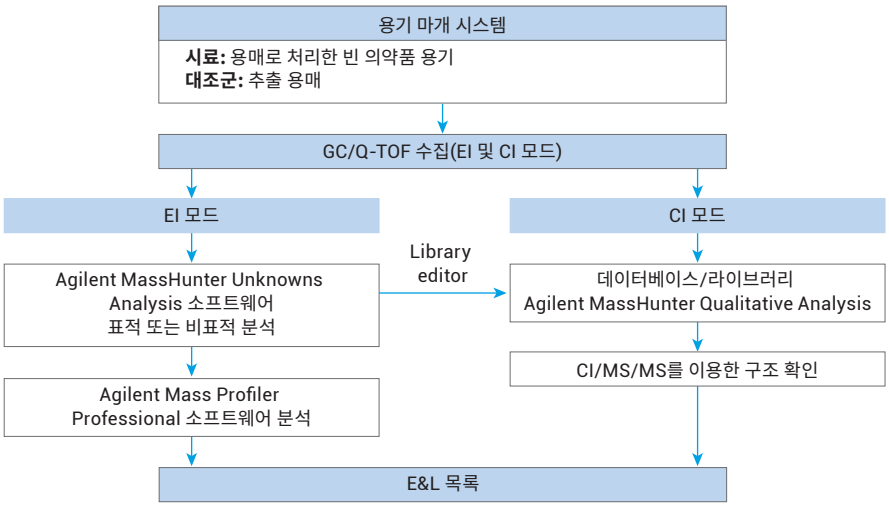



그림 1. Accurate mass GC/Q-TOF 시스템을 이용한 준 휘발성 추출물 및 침출물의 분석 워크플로

## 실험

HPLC 등급 *n*-hexane(99%)은 RCI Labscan (Thailand)에서 구매하였습니다.

### 시료 전처리

빈 의약품 병 4개는 현지에서 구매하였습니다. 2개는 저밀도 polyethylene(용기 1과 2)으로 제작되었고 나머지 2개는 polyethylene (용기 3과 4)으로 제작되었습니다. 각 의약품 용기에 *n*-hexane 5mL를 첨가하고 1.5시간 동안 초음파 처리하였습니다. 초음파 처리 후 용매를 분석하였으며, *n*-hexane 추출 용매를 용매 바탕시료로 사용하였습니다.

#### 데이터 수집 및 처리

다음의 애질런트 소프트웨어를 사용하여 데이터를 수집하고 처리하였습니다.

- Agilent MassHunter Acquisition 소프트웨어 (B.07.02)
- PCDL Manager Standalone Tool을 포함한 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어(B.07.00).
- Library Editor 및 Unknown Analysis Standalone Tool을 포함한 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어(B.07.01).
- Agilent Mass Profiler Professional 소프트웨어 (13.1 버전)

### 기기 파라미터

표 1은 이 분석에서 사용한 기기 파라미터를 나타냅니다.

### 데이터 분석

#### EI 이온화원 데이터 분석

Deconvolution을 위한 MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어로 데이터 파일을 처리하고 NIST 14 라이브러리와 매칭시켰습니다. 매칭 스코어가 80 이상일 경우 식별된 화합물로 선택하였습니다.

표 1. 이 실험에서 사용된 GC/Q-TOF 기기 파라미터

| GC 조건 | |
|---|---|
| GC | Agilent 7890A |
| 주입 포트 | 멀티모드 주입구(MMI) |
| 모드 | 비분할 |
| 셉텀 퍼지 유량 | 3mL/분 |
| 주입구 프로그램 | 70°C(0.2분)에서 325°C(7분)로 승온, 600°C/분 |
| 라이너 | Ultra Inert Splitless, single taper, 유리 솜(p/n 5192-3163) |
| 캐리어 기체 | 헬륨 |
| 유량 | 1.3mL/분(일정 유량) |
| 분할 배출구 퍼지 유량 | 2.73분에 60mL/분 |
| Gas saver | 3분에서 20mL/분 |
| 오븐 프로그램 | 50°C(3분)에서 320°C(7분)로 승온, 6°C/분 |
| 평형 시간 | 1분 |
| 분석 시간 | 55분 |
| 컬럼 | Agilent DB-5ms, 30m × 250µm, 0.25µm(p/n 122-5532) |
| 주입량 | 2µL |
| **MS 조건** | |
| MS | Agilent 7200 |
| Tune | Autotune |
| 이송 라인 | 280°C |
| MS 이온화원(EI 및 CI) | 300°C |
| MS Quad | 175°C |
| 질량 범위 | 55 ~ 700amu |
| 수집 속도 | 5.00 spectra/초 |
| 전자 이온화 | |
| EI 방출 전류 | 35µA |
| EI 전자 에너지 | 70eV |
| 화학 이온화 | |
| CI 방출 전류 | 240µA |
| CI 가스 유량 | 20% EPC |
| CI 전자 에너지 | 115eV |
| 모드 | 양이온 |
| CI 반응 가스 | Methane |
| 충돌 셀 EPC | Nitrogen, 1.5mL/분 |

### Accurate mass EI 라이브러리 생성

매칭 스코어가 50 ~ 79인 EI 결과는 Library Editor 소프트웨어로 내보내 낮은 스코어 EI 라이브러리를 구성하고, 매칭 스코어가 80 이상인 결과는 높은 스코어 EI 라이브러리로 구성하였습니다. 라이브러리(.xml 포맷)에는 이름, 분자식, 머무름 시간(RT) 및 스펙트럼 등의 화합물 정보가 포함되어 있습니다.

### MPP 분석

EI 데이터는 deconvolution 및 accurate mass/높은 스코어 EI 라이브러리를 사용한 스펙트럼과 RT 매칭을 위해 Unknown Analysis tool을 사용하여 재처리 하였습니다. 이 단계는 MPP 소프트웨어로 내보낼 결과를 필터링하는 데 도움이 됩니다.

### Agilent PCD(Personal Compound Database)

문헌에서 보고된 추출물과 침출물을 기반으로 맞춤 데이터베이스를 구축하였습니다. 데이터베이스 성분은 화학식, accurate mass 및 CAS ID로 구성됩니다.

### CI 데이터 분석

CI 데이터는 MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어의 Find by Formula 알고리즘으로 처리하였습니다 (가능한 부가물로 $[M+H]^+$, $[M+C_2H_5]^+$ 및 $[M+C_3H_5]^+$을 입력). 낮은 스코어의 EI 라이브러리는 분자식 데이터베이스로 사용하였습니다. 또한 CI 데이터를 사용자 제작 맞춤 추출물 라이브러리에 매칭시켜 다른 추출물도 검색하였습니다.

### CI/MS/MS를 이용한 구조 규명

CI/MS/MS 데이터 파일은 MassHunter Qualitative Analysis 소프트웨어의 Find by Targeted MS/MS 기능을 이용하여 처리하였습니다. 조각 구조는 ACD 소프트웨어(ACD Labs, Toronto)를 이용하여 확인 및 작성하였습니다.

### 독성 평가

Cramer 분류를 위한 *In silico* 예측은 Toxtree v 2.6.13을 이용해 수행하였습니다[5].

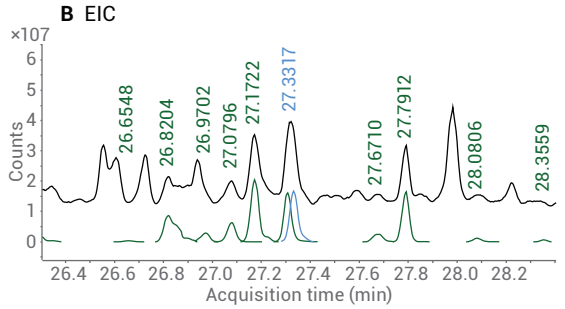
## 결과 및 토의

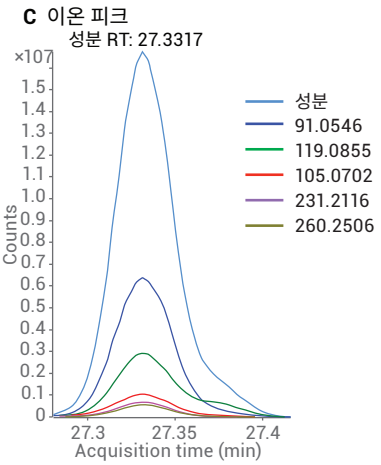
### EI 모드 분석

본 연구에서는 EI 모드에서 수집된 데이터를 Unknowns Analysis 소프트웨어로 처리하여 크로마토그래피 deconvolution한 후 라이브러리 매칭을 수행하였습니다. Unknowns Analysis 소프트웨어에서 화합물의 높이 기준 필터링을 수행할 수 있음에도 불구하고 필터링을 적용하지 않았습니다. Benzene (1-ethylundecyl)-(또는 2-phenyl tridecane)은 용기 2에서 27.3분(그림 2)에 식별된 추출 화합물입니다. 이 deconvolution하여 얻은 성분의 추출 이온 크로마토그램(EIC)은 동시 용리되었고, 동일한 피크 모양(그림 2C)을 가지는 것으로 나타났으며, EI 스펙트럼을 단위 질량(NIST) 라이브러리와 매칭시킨 결과 85.3의 매칭 스코어를 얻었습니다.

**A** 성분 식별 결과

| Component RT | Compound Name | Match Factor | Formula | CAS# |
|---|---|---|---|---|
| 27.0796 | Heptadecane, 3-methyl- | 81.6 | C18H38 | 6418-44-6 |
| 27.1722 | Heptadecane, 3-methyl- | 86.7 | C18H38 | 6418-44-6 |
| 27.3067 | Phthalic acid, hept-4-yl isobutyl ester | 84.2 | C19H2804 | 1000356-78-3 |
| 27.3317 | Benzene, (1-ethylundecyl)- | 85.3 | C19H32 | 4534-52-5 |
| 27.6710 | Heneicosane | 83.9 | C21H44 | 629-94-7 |
| 27.7912 | Nonadecane | 88.2 | C19H40 | 629-92-5 |



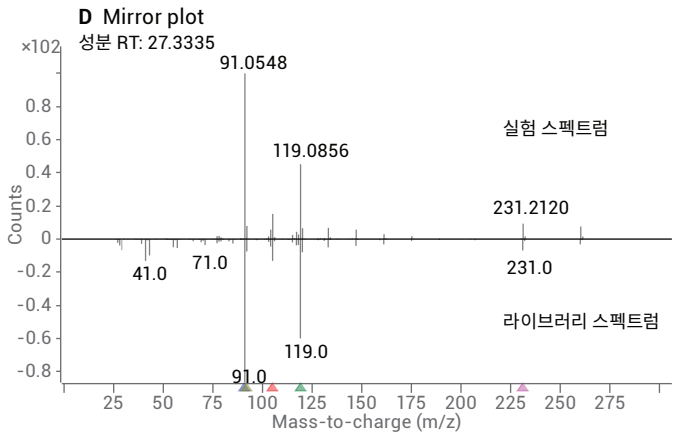




그림 2. Agilent MassHunter Unknown Analysis 소프트웨어로 Benzene (1-ethylundecyl) 식별, deconvolution 및 NIST 라이브러리 검색 사용. 성분 식별 결과(A), deconvolution 된 성분 크로마토그램(B), 각 성분의 EIC 오버레이(C), deconvolution된 성분 스펙트럼과 라이브러리 매칭 결과를 보여주는 mirror plot(D)

허용 가능한 스펙트럼 매칭 스코어, 즉 매칭 스코어 80 이상인 화합물은 MPP 소프트웨어로 내보내 데이터를 해석하였습니다. 시료간 화합물 분포는 MPP 소프트웨어의 벤 다이어그램으로 시각화하였습니다. 그림 3은 4가지 서로 다른 용기 시스템에서 식별된 추출물의 분포 벤 다이어그램을 나타냅니다. 이 벤 다이어그램은 제조사와 관계없이 모든 용기에서 공통적으로 발견된(식별된) 22개 성분을 나타냅니다. 추출물 분포 비교 결과는 용기 3과 4에 200여 개 이상의 화합물이 존재함을 보여줍니다. 그 중 약 150개의 성분이 용기 1과 2에서 추출되었고 용기 2는 성분 개수가 가장 적습니다. 본 연구에 따르면, 용기 3과 4는 용기 1과 2에 비해 용기 시스템으로 적합성이 떨어집니다. 표 2는 용기 2에서 식별된 추출물의 선택 목록과 모든 용기에서 공통적으로 발견되는 화합물을 나타냅니다.

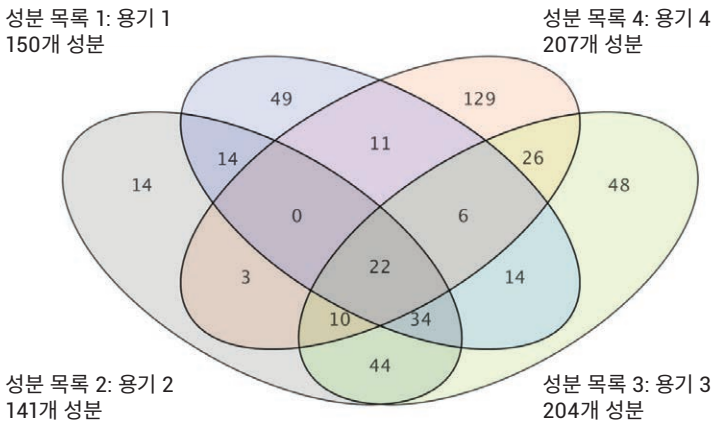



그림 3. 4가지 용기에서 EI 모드로 식별된 화합물의 분포를 나타낸 Agilent Mass Profiler Professional 벤 다이어그램

표 2. 용기 2 추출물에서 식별된 추출 화합물(그림 3 벤다이어그램의 14개 성분)과 모든 시료에서 공통적으로 발견된 화합물의 선택 목록

| 용기 2에서만 발견된 추출 화합물 목록 |
|---|
| Octadecane |
| Benzene, (1-methylundecyl)- |
| Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl- |
| Heptadecane, 3-methyl- |
| Benzene, (1-ethylundecyl)- |
| Eicosane, 2-methyl- |
| 1,2-Benzenedicarboxylic acid, *bis*(2-methylpropyl) ester |
| Heneicosane |
| Nonadecane |
| Tetradecane |
| Pentacosane |
| **모든 용기에서 공통으로 발견된 추출물** |
| Pentadecane |
| Trisiloxane, 1,1,1,5,5,5-hexamethyl-3-[(trimethylsilyl)oxy]- |
| Heptadecane, 3-methyl |
| Pentadecane, 2,6,10-trimethyl- |
| Nonane, 4,5-dimethyl |
| Tetracosane, 11-decyl |
| Pentadecane, 8-hexyl |
| (E)-Hex-3-enyl (E)-2-methylbut-2-enoate |
| Dodecane |
| 3-Ethyl-3-methylnonadecane |
| Cyclohexasiloxane, dodecamethyl- |
| Dodecane, 2,6,10-trimethyl |
| Octane, 3,5-dimethyl- |
| Tridecane |
| Nonane, 5-(1-methylpropyl)- |
| Tridecane, 6-methyl- |
| Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester |
| Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl- |
| 6,6-Diethylhoctadecane |

## CI 모드 분석

CI 데이터 수집 모드를 사용한 결과, 라이브러리 매칭 스코어가 낮아서 EI 데이터 수집 후 식별되지 않은 것으로 간주된 화합물을 더 많이 식별할 수 있었습니다. 낮은 스코어의 EI 결과를 확인하기 위해, Library Editor 소프트웨어를 이용하여 EI 데이터 분석에서 얻은 낮은 스코어 결과의 라이브러리를 작성하였습니다. 예를 들어 benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester는 화학적 노이즈에 묻혀서 EI 매칭 스코어가 100점 중 67점이었습니다. 이 화합물은 CI 모드로 확인할 수 있었고, 존재비가 가장 높은 분자 이온의 질량 오차는 0.58ppm이었습니다(표 3A). 또한 높은 스코어를 기록한 EI 결과로 구성된 데이터베이스를 구축해 CI 데이터를 마이닝하여 이전에 언급한 것과 같이 EI 결과를 검증했습니다[6]. 더 많은 화합물을 식별하기 위해 문헌에서 보고된 추출물을 포함하는 자체 구축 데이터베이스를 사용하였습니다. Accurate mass 정보는 분자식으로 화합물을 식별하는 데 도움을 줍니다. 표 3B는 문헌에 기반하여 구축한 맞춤 데이터베이스를 사용하여 CI 파일을 마이닝한 데이터로 식별한 오염물질 목록을 보여줍니다. Accurate mass CI 데이터는 CI 모드의 단위(질량) 분해능 단일 사중극자 데이터로 검출할 수 없는 화합물을 구분하는 데 사용할 수 있습니다. 예를 들어 *m/z* 194.094와 194.0577은 각각 2가지 서로 다른 화합물(각각 benzoic acid, 4-ethoxy-ethoxy-ethyl ester와 1,3-benzenedicarboxylic acid, 1,3,-dimethylester)로 식별되었습니다. 이렇게 명목 *m/z*가 동일한 화합물을 식별하려면 고분해능의 accurate mass 데이터가 필요합니다.

표 3. 용기 2로부터 CI-MS 데이터를 낮은 스코어 EI 데이터베이스와 매칭시킨 추출물 검색결과(A) 및 자체 구축 데이터베이스로 검출한 추가 화합물(B). 질량 오차는 존재비가 가장 높은 분자 이온을 기준으로 계산

| A) 낮은 스코어 EI 데이터베이스로 확인한 추출물 | | | B) 문헌에서 발췌한 맞춤 데이터베이스로 확인한 추출물 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ID | 질량 | 질량 오차 (ppm) | ID | 질량 | 질량 오차 (ppm) |
| (-)-Aristolene | 204.1880 | 1.4 | 1,2-(1,8-napthalenediyl)benzene | 202.0784 | -0.6 |
| (2S,6R,7S,8E)-(+)-2,7-Epoxy-4,8-megastigmadiene | 192.1510 | -3.3 | 1,3-Benzenedicarboxylic acid | 166.0266 | 0.1 |
| (3S,4aR,8aR)-1,1,3,6-Tetramethyl-3-vinyl-3,4,4a,7,8,8a-hexahydro-1H-isochromene | 220.1830 | 3.6 | 1,3-Benzenedicarboxylic acid, 1,3-dimethyl ester | 194.0577 | 0.9 |
| (4aS,8aS)-8-Isopentyl-4,4,7,8a-tetramethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalene | 262.2660 | 4.9 | 1-Heptadecanol, 1-acetate | 298.2865 | 2.4 |
| 1,1'-Bicyclooctyl | 222.2350 | 1.6 | 1-Heptene | 98.1094 | 1.1 |
| 1,2-Dimethoxy-4-(adamantyl-1)benzene | 272.1780 | -2.5 | 1-Octene | 112.1252 | -0.1 |
| 1,3-di-iso-propylnaphthalene | 212.1570 | 3.8 | 1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, methy | 314.2233 | 4.1 |
| 1,3-Dimethyl-5-*n*-decylcyclohexane | 252.2820 | 2.6 | 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione | 108.0207 | 3.7 |
| 1,4,5,8-Tetramethylnaphthalene | 184.1250 | 0.5 | 2-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl- | 138.1043 | 1.1 |
| 10,18-Bisnorabieta-5,7,9(10),11,13-pentaene | 238.1720 | 1.9 | 2-Cyclopenten-1-one, 2-methyl- | 96.0572 | 3.1 |
| 13,15-Octacosadiyne | 386.3910 | 3.2 | 2-Hexanone | 100.0884 | 4.6 |
| 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- | 222.1980 | 1.5 | 2-Naphthol | 144.0569 | 4.4 |
| 1-Nonadecene | 266.2970 | 1.6 | 2-Nonenal, 2-pentyl- | 210.1978 | 2.6 |
| 1R,2c,3t,4t-Tetramethyl-cyclohexane | 140.1570 | 3.4 | 2-Propanol, 1-ethoxy- | 104.0840 | -2.6 |
| 1-Undecene, 9-methyl- | 168.1880 | 0.8 | 3(2H)-Furanone, 5-(1,2-dihydroxyethyl)- | 144.0424 | -0.9 |
| 2,2,3-Triethyloxirane | 128.1200 | 1.6 | 3-Octanone | 128.1198 | 2.5 |
| 2,2'-Dimethylbiphenyl | 182.1100 | 3.9 | 4,7-Methano-1H-indene, 3a,4,7,7a-tetrahydro- | 132.0939 | -0.2 |
| 2H-1-Benzopyran-5-carboxylic acid, 3,4-dihydro-2-methyl-4-oxo- | 206.0580 | 0.3 | 4-Methylbenzophenone | 196.0884 | 1.9 |
| 2-Methyl-6-methyleneoct-7-en-4-one | 152.1200 | 0.7 | 4-Octylphenol; *p*-Octylphenol | 206.1675 | -1.9 |
| Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester | 194.0940 | -0.6 | Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester | 194.0941 | 0.9 |

## CI/MS/MS를 이용한 확인

Accurate mass CI/MS/MS를 이용하여 EI에서 검출된 diethyl phthalate의 구조를 확인하였습니다. 일반적으로 phthalate는 분자 피크 없이 *m/z* 149에서 가장 우세한 조각 이온 피크를 가지기 때문에 정확하게 식별하기 어렵습니다. GC/Q-TOF는 분자 및 조각 이온 뿐만 아니라 생성 이온의 화학식 작성을 돕는 MS/MS 조각 이온에 대해서도 accurate mass를 제공합니다. 그림 4A와 4B는 diethyl phthalate의 CI 및 CI/MS/MS 분석 결과를 보여줍니다. CI/MS/MS 스펙트럼은 ACD 소프트웨어(ACD Labs, Toronto)로 해석하였고(그림 4C), *m/z* 223.0937에서 전구체의 생성 이온을 식별하였습니다. 또한 *m/z* 149.0239에서 phthalate의 특징적인 조각 이온 피크를 관찰하였습니다(그림 4B). 조각 이온 및 그 accurate mass 정보는 화합물의 정체를 확인하는 데 도움을 주었습니다.

표 4. 4가지 용기에서 발견된 화합물 중 농도가 20µg/mL 이상인 화합물의 Cramer 분류

| 화합물 | 포장재 | Cramer 분류 |
|---|---|---|
| 5,5-Diethylpentadecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| Hexadecane | 1,2,3,4 | 등급 I(낮음) |
| 3-Methyloctacosane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 1-Hexadecanol | 4 | 등급 I(낮음) |
| Eicosane | 4 | 등급 I(낮음) |
| *cis*-11-Eicosenamide | 4 | 등급 III(높음) |
| 1-Decanol, 2-hexyl- | 4 | 등급 I(낮음) |
| 3,3,13,13-Tetraethylpentadecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 1-Hexacosanol | 4 | 등급 I(낮음) |
| 2-Methylpentacosane | 4 | 등급 I(낮음) |
| Cyclotetradecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 3,3-Diethylpentadecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 2-Methylheptacosane | 4 | 등급 I(낮음) |
| Cyclopentane, undecyl- | 4 | 등급 I(낮음) |
| 1-Octadecanol | 4 | 등급 I(낮음) |
| 3-Methyltriacontane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 5,5-Diethylheptadecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| Octacosanol | 4 | 등급 I(낮음) |
| 3-Methylhexacosane | 4 | 등급 I(낮음) |
| 3,3-Diethylheptadecane | 4 | 등급 I(낮음) |
| Heptadecane | 1,2,3 | 등급 I(낮음) |
| Dodecane | 1 | 등급 I(낮음) |
| Tetradecane | 1 | 등급 I(낮음) |
| 2,2,4,4, tetramethyloctane | 1 | 등급 I(낮음) |
| Octadecane | 3 | 등급 I(낮음) |

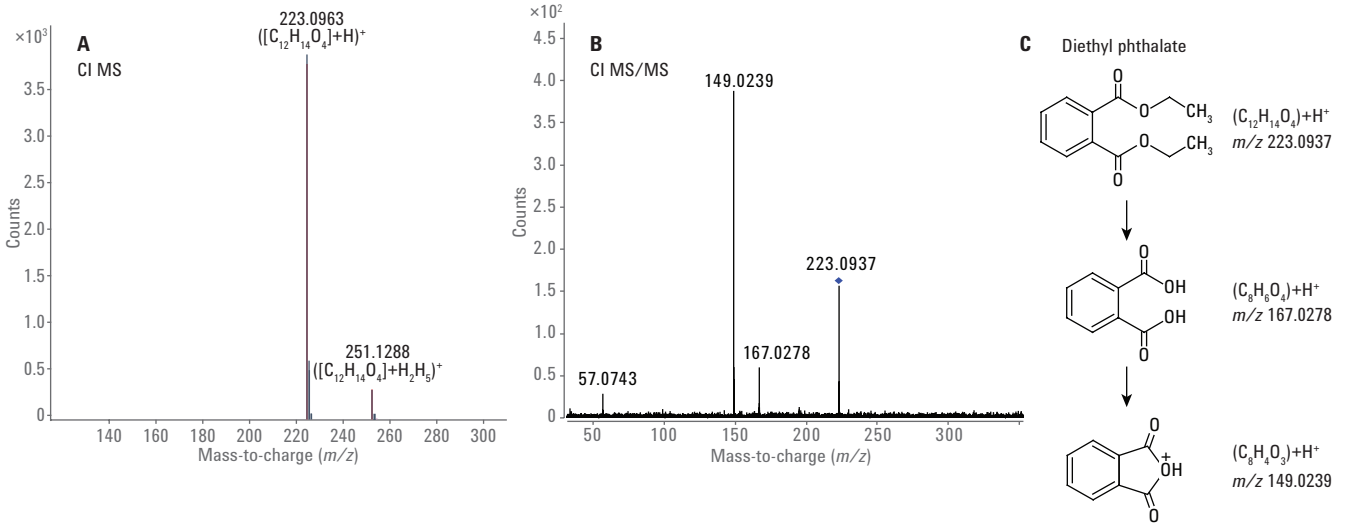



그림 4. Diethyl phthalate의 구조 규명

### 독성 평가

EI 및 CI 모드 모두에서 검출된 모든 용기의 화합물 농도는 triphenyl phosphate을 내부 표준물질로 사용하여 반정량적으로 결정하였습니다[7]. 안과 의약품 용기를 평가할 경우, 농도가 20µg/mL 이상으로 존재하는 추출물은 위험 평가를 고려해야 합니다. 이 연구에서는 용기를 안과 의약품에 사용할 것으로 가정하여, 농도가 20µg/mL 이상인 화합물은 Cramer 분류법에 기반하여 잠재적 독성 측정이 필요한 부류로 정하였습니다. 표 4는 그 결과를 보여줍니다. 용기 4에서 한 개의 고위험 화합물이 발견되었고, 다른 용기보다 더 많은 추출물을 포함하고 있었으므로, 의약품 제형의 용기로 적합성이 떨어집니다.

## 결론

본 연구에서는 Agilent 7200 GC/Q-TOF 시스템을 사용하여 4가지 용기 마개 시스템의 추출물에 대해 정성 스크리닝을 수행하고 검출된 추출물을 식별하였습니다. EI 및 CI 모드 모두에서 데이터를 수집하여 식별 화합물의 개수를 늘렸습니다. Agilent MassHunter Mass Profiler Professional 소프트웨어는 자동 데이터 마이닝 워크플로에 다양한 도구를 제공하였습니다. 서로 다른 시료 그룹 내의 고유한 화합물과 공통으로 존재하는 화합물을 확인하였습니다. EI 스펙트럼 데이터는 NIST 14.0 라이브러리로 식별하였습니다. 낮은 라이브러리 매칭 스코어를 가진 화합물은 맞춤 라이브러리에 저장하여 CI 데이터를 마이닝하는 데 사용하였고, 그 중 한 시료에서 식별된 화합물 수는 14% 증가했습니다. 또한 문헌을 통해 알려진 일반적인 추출물의 화학식을 기반으로 구축된 자체 데이터베이스와 CI 데이터 파일을 매칭시켜 화합물을 검색하였습니다. 덧붙여 이러한 화합물의 정체를 확인하기 위해 CI/MS/MS 분석을 수행하였습니다. 검출된 추출물의 Cramer 분류와 MPP 분포도에 따르면, 용기 2의 경우 추출물 수가 가장 적었고, 유의한 수준의 Cramer 등급 III 화합물은 들어 있지 않았습니다.

## 참고문헌


1. Mire-Sluis, A.; *et al.* Extractables and Leachables. Challenges and Strategies in Biopharmaceutical Development. *BioProcess International* Feb **2011**.
2. Guidance for Industry, Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration: Rockville, MD, May **1999**.
3. Jenke, D. Development and Justification of a Risk Evaluation Matrix to Guide Chemical Testing Necessary To Select and Qualify Plastic Components Used in Production Systems for Pharmaceutical Products. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2015**, *69*, 677–712.
4. Li, K.; *et al.* Creating a Holistic Extractables and Leachables (E&L) Program for Biotechnology Products. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2015**, 69590–619.
5. IdeaConsult Ltd. Toxtree (Estimation of Toxic Hazard—A Decision Tree Approach) v.2.6.13. http://toxtree.sourceforge.net/.
6. Lateef, S. S.; *et al.* Differential Analysis in Screening Assays for an Extractables and Leachables Study Using an Agilent 7200 GC/Q-TOF System Combined with Data Mining Software, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6688EN, **2016**.
7. Jenke, D.; *et al.* Utilization of Internal Standard Response Factors to Estimate the Concentration of Organic Compounds Leached from Pharmaceutical Packaging Systems and Application of Such Estimated Concentrations to Safety Assessment. *Journal of Chromatographic Science* **2012**, 50206–212.


www.agilent.com/chem


연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하실 수 없습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2016


2016년 5월 1일, 한국에서 발행
5991-6901KO



서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr


Agilent Technologies