

USP/ICH 규제에 따른 ICP-MS를 이용한 의약품 내 금속 불순물의 분석법 소개

저자

Radhey S. Dhuria, Vinay Jain,
Gaurav Kapadnis, Samir Vyas
애질런트 테크놀로지스,
수석연구원, 인도, 마네사르



소개

의약품 성분에 존재하는 불순물 중 일부 오염물질은 본질적으로 독성을 지니고 있으며 약품의 안정성과 보관기간에 부정적 영향을 미치는가 하면 원치 않는 부작용을 일으킬 수 있기 때문에 주요 우려사항으로 꼽히고 있습니다. 때문에 물(약품 생산에 사용), 중간물질, 원료 의약품(API: active pharmaceutical ingredients), 부형제(안정제, 필러, 바인더, 착색제, 향료, 코팅제)를 비롯한 의약품 원재료 및 완제의약품에서 유기 및 금속 원소 불순물 모두를 모니터링하고 제어해야 합니다. 또한, 생산 장비에서 비롯된 촉매제 잔류물 및 오염물과 같이 생산 공정에서 유입된 불순물도 모니터링하고 포장 및 용기 마개 시스템(CCS)으로 인한 오염 가능성도 평가해야 합니다.



Agilent Technologies

미국 약전(USP)은 국제의약품규제조사위원회(ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) Q3D 가이드라인에 따라 의약품 중 금속 불순물을 평가하는 관련 분석법을 조정했습니다. 일반 시험법 <232>(원소 불순물-허용 기준) 및 <233>(원소 불순물-절차)은 의약품 중 금속 불순물 측정을 위한 허용 기준과 절차를 지정합니다[1,2].

금속 불순물 분석은 의약품 개발 및 생산에서 중요한 역할을 하며, <232> 및 ICH Q3D에 규정된 금속 불순물 기준의 준수 여부에 대한 검증 단계는 제약 회사에서 필수로 행해야 하는 중요한 절차입니다[3]. 표 1은 USP/ICH 분석법에 지정된 24개 원소의 경구 PDE(1일노출허용량, Permitted Daily Exposure) 한계를 나열했습니다.

표 1. 경구복용 제제의 1일노출허용량(PDE) 한계

원소	USP/ICH Class	경구 PDE(µg/일)
Cd	1	5
Pb	1	5
As	1	15
Hg	1	30
Co	2A	50
V	2A	100
Ni	2A	200
Tl	2B	8
Au	2B	100
Pd	2B	100
Ir	2B	100
Os	2B	100
Rh	2B	100
Ru	2B	100
Se	2B	150
Ag	2B	150
Pt	2B	100
Li	3	550
Sb	3	1200
Ba	3	1400
Mo	3	3000
Cu	3	3000
Sn	3	6000
Cr	3	11000

의약품 원재료 중 금속 불순물의 분석을 위해 USP 시험법 <233>은 다음 4가지 시료 전처리 분석법을 제안합니다.

1. 액체 상태 시료의 경우 희석되지 않은 순수한 시료를 사용합니다.
2. 물에 용해되는 시료의 경우 수용액으로 희석합니다.
3. 물에 용해되지 않는 시료의 경우 적절한 유기 용매로 희석합니다.
4. 용해되지 않는 시료의 경우 밀폐형 극초단파 산분해법(closed-vessel microwave acid digestion)을 사용합니다.

상술한 시료 전처리 분석법들은 각자에 알맞은 응용분야와 기능을 가지고 있으나, 디메틸 설펡사이드(DMSO: Dimethyl Sulfoxide)와 같이 유기 용매를 이용한 시료 전처리는 밀폐형 극초단파 산분해법에 비해 활용하기 쉽고 요구되는 시료량이 적고 시료 전처리의 처리량이 높기 때문에 더 많이 사용되고 있습니다. 결과의 정확도와 정밀도를 보장하면서 유기 용매를 처리하는 탁월한 기능을 제공하기 위해 개발되고 최적화된 분석법과 Agilent 7800 ICP-MS의 결합은 의약품 성분 중 금속 불순물 분석을 위한 유력한 솔루션으로 입증되었습니다.

실험

기기

Agilent 7800 ICP-MS는 Micromist Nebulizer, Peltier 냉각 석영 스프레이 챔버, 토치(1.5mm 주입기), 백금 cone, 3-bridged 회색/회색 튜브, 아르곤-산소 혼합물 가스(cone의 탄소 침적을 방지하기 위해 첨가된 가스)를 사용해 설정되었습니다. Agilent SPS 4 자동 시료 주입기를 사용하고 시료 전달 연동펌프를 통해 온라인(on-line) 방식으로 내부 표준물질을 첨가함으로써 시료 주입이 많이 용이해 졌습니다.

7800의 시료 주입 시스템에는 낮은 맥동 고정밀도 연동 펌프(10 rollers), 효율적인 저유속 Micromist Nebulizer 및 Peltier 냉각 스프링 챔버를 포함하고 있으며, 제어 가능한 온도 범위는 -5°C ~ +20°C입니다. 이 Scott 유형의 더블 패스 스프레이 챔버는 수용액 및 유기 용매를 모두 실행할 수 있습니다. 본 연구의 시료는 DMSO에 용해되었으며, 19°C의 녹는점을 가집니다. 스프레이 챔버는 17°C로 설정되어 분무 중 시료의 응고를 방지합니다. 7800의 4세대 ORS⁴ 충돌/반응 셀을 통해 모든 모드에서 신속하게 셀 가스를 교체하고 가장

효과적으로 간섭을 제거할 수 있습니다. 또한, 입증된 고성능 hyperbolic quadrupole과 10^{10} 의 선형 측정 범위 (linear dynamic range)를 가지는 최신 세대의 동시 듀얼 모드 Discrete Dynode 검출기도 함께 사용했습니다.

Agilent ICP-MS MassHunter 소프트웨어는 USP/ICH 시험법의 간단한 이행을 제공하는 기존 설정 분석법을 이용해 설정과 작동이 간편해 졌습니다. 기기 작동 조건은 표 2에 나열되어 있습니다.

표 2. 7800 ICP-MS 작동 조건

파라미터	설정
플라즈마 모드	기본 기능
RF 출력(W)	1550
운반 가스(L/min)	0.99
시료 깊이(mm)	8.0
스프레이 챔버 온도(°C)	17
셀가스 유속(mL/min)	4
에너지 분별성(V)	3
흡션 가스(%)	10

시료 및 표준품 준비:

검량 표준품은 추적 가능한 NIST 표준품을 DMSO (디메틸 설파이드)로 희석하여 만들어졌습니다. 각 원료 의약품(API) 시료 100mg을 정확히 계량하여 5mL DMSO가 들어있는 50mL Falcon 튜브에 첨가합니다. 튜브를 15분 동안 초음파 처리하여 시료를 완전히 용해시킨 후 DMSO를 첨가하여 50mL 용액을 얻습니다. 시료와 표준물을 첨가하지 않은 용액을 전처리하고, 표준물을 첨가한 시료도 함께 전처리합니다. 내부 표준물질은 온라인으로 추가되었습니다. 그림 1은 시료 전처리 및 분석의 흐름도를 보여줍니다.

결과 및 토의

검량

모든 의약품은 USP/ICH Class 1 분석물(Cd, Pb, As, Hg)과 Class 2B 분석물(Co, V, Ni)에 대한 위험성 분석을 수행해야 합니다. Agilent 7800과 DMSO 용매로 측정된 As, Hg, Cd, Pb의 검량 그래프는 그림 2에 나와 있습니다.

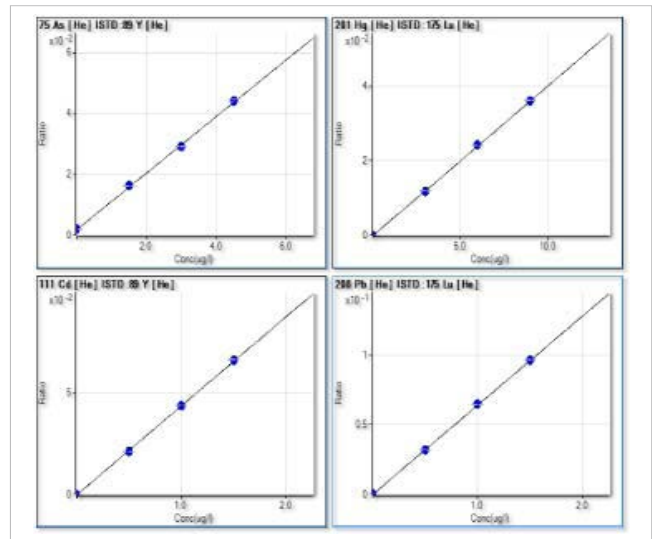


그림 2. As, Hg, Cd, Pb의 선형 검량 그래프

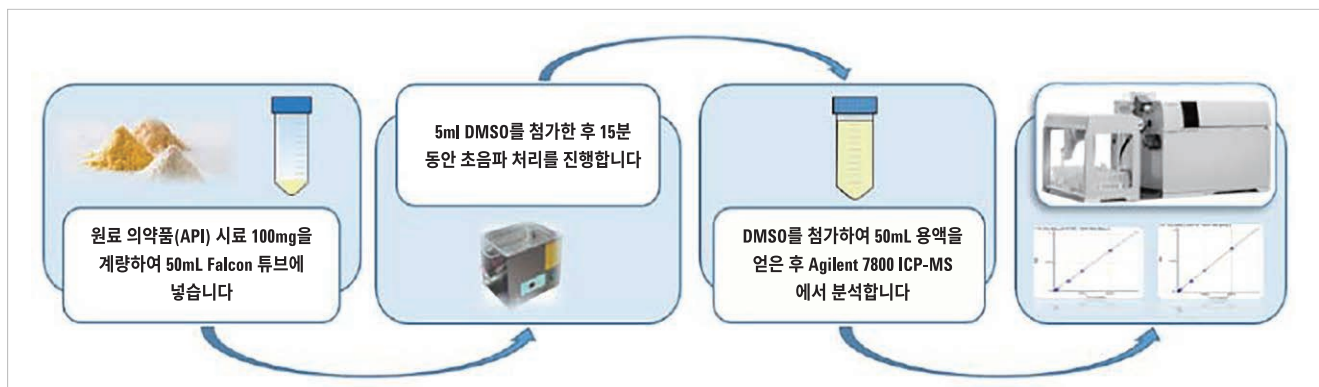


그림 1. Agilent 7800 ICP-MS를 이용한 시료 전처리와 분석의 흐름도

표 3은 USP/ICH 분석 대상 원소와 함께 검량 계수(R 값) 및 검출 한계(DL)를 나열합니다. 시스템은 DMSO 용매에서 우수한 감도를 나타내며, 모든 원소에 대해 낮은 ng/L(ppb)의 검출 한계를 가집니다.

표 3. DMSO 용액 중 원소의 상관계수 및 검출 한계

원소	R 값	DL (µg/L)
Cd	0.9998	0.002
Pb	1.0000	0.002
As	0.9997	0.072
Hg	1.0000	0.014
Co	1.0000	0.001
V	1.0000	0.001
Ni	0.9999	0.007
Tl	0.9997	0.001
Au	0.9953	0.001
Pd	1.0000	0.018
Ir	1.0000	0.002
Os	0.9998	0.007
Ru	1.0000	0.001
Rh	0.9998	0.002
Se	0.9999	0.001
Ag	0.9983	0.001
Pt	1.0000	0.002
Li	0.9999	0.119
Sb	1.0000	0.001
Ba	0.9999	0.016
Mo	1.0000	0.008
Cu	1.0000	0.033
Sn	1.0000	0.010
Cr	0.9999	0.007

시스템 적합성

USP 일반 시험법 <233>에 따르면, 일련의 정확도, 안정성 및 스파이크 회수율 테스트를 통해 시스템 적합성(System suitability)이 결정됩니다. 드리프트 성능 테스트는 시료 용액 분석 전후의 표준화 용액 1(1.5J)에 대한 분석한 결과를 비교하여 진행됩니다. 여기서 각 분석 대상 원소의 드리프트 안정성 기준은 20%(NMT)를 초과하지 않습니다[2]. 표 4는 적합성 기준 내의 % 드리프트를 포함한 7800 시스템 적합성 결과를 보여줍니다. 두 번 측정 사이의 시료 분석 시간은 약 4시간입니다.

표 4. 각 분석 대상 원소(1.5J)의 시스템 적합성 결과

원소	J 값 (µg/L)	표준용액 1 (1.5J) 분석 전 (n=6)	표준용액 1 (1.5J) 분석 후 (n=6)	% Drift
Li	110	161	166	2.8
V	20	30	30	0.3
Cr	2200	3320	3317	-0.1
Co	10	15	15	0.1
Ni	40	60	60	0.3
Cu	600	899	902	0.2
As	3	4.5	4.5	0.1
Se	1	1.5	1.5	0.1
Mo	600	904	899	-0.6
Ru	20	30	30	0.3
Rh	20	30	30	0.1
Pd	20	30	30	0.0
Ag	30	42	45	8.0
Cd	1	1.5	1.5	0.1
Sn	1200	1819	1802	-0.9
Sb	240	363	359	-1.2
Ba	280	413	418	1.2
Os	20	29	30	4.5
Ir	20	30	30	0.7
Pt	20	30	30	1.0
Au	20	30	31	2.3
Hg	6	9	9	0.1
Tl	1.6	2.4	2.4	0.1
Pb	1	1.5	1.5	0.1

100% J 값에서 정확도 시험

시료 전처리 단계 전에 USP 시험법 <233>에 따라, 각 분석 대상 원소에 대해 100% J 값의 농도로 원료 의약품을 스파이킹합니다. 각 농도에 대해 반복실험을 한 결과, 평균 스파이크 회수율 허용 기준은 70 –150%

입니다[1]. 표 5는 100% J 값에서 7800 ICP-MS 정확도 시험 결과를 보여줍니다. 결과는 우수한 정확도와 정밀도(%RSD)를 입증하였으며, 모든 결과가 회수율 허용 범위 내에 있습니다.

표 5. 각 분석 대상 원소의 스파이크 회수율(100% J)에 대한 정확도 결과

원소	J 값 (µg/L)	API-1 % 회수율(n = 6)	RSD %	API-2 % 회수율(n = 6)	RSD %	API-3 % 회수율(n = 6)	RSD %
Li	110	107.1	3.0	102.4	3.2	103.0	1.5
V	20	101.7	2.7	97.5	1.1	98.7	1.2
Cr	2200	106.1	2.7	102.2	0.9	103.0	1.1
Co	10	104.4	2.7	100.4	1.3	101.0	1.1
Ni	40	104.4	2.8	100.4	1.4	101.1	1.0
Cu	600	109.8	2.8	105.5	1.9	106.4	1.0
As	3	90.9	3.1	90.6	4.9	96.6	2.0
Se	1	95.0	7.1	86.5	4.6	92.9	1.4
Mo	600	105.2	2.8	101.4	1.2	102.0	0.7
Ru	20	101.8	2.6	97.9	1.4	98.2	0.5
Rh	20	102.1	2.5	98.2	1.3	98.6	0.4
Pd	20	104.1	2.2	100.0	1.2	100.5	0.6
Ag	30	91.3	2.0	97.8	2.9	94.6	2.2
Cd	1	103.2	2.6	98.7	2.1	100.0	1.5
Sn	1200	106.9	2.2	102.5	1.3	102.8	0.6
Sb	240	110.5	2.3	107.2	1.7	108.0	0.6
Ba	280	93.7	2.1	90.5	1.0	91.3	0.5
Os	20	91.8	2.9	87.4	0.6	88.1	0.4
Ir	20	103.5	2.4	98.4	0.9	99.0	0.4
Pt	20	106.7	2.3	101.4	1.0	102.2	0.2
Au	20	98.6	2.7	95.6	3.0	94.1	2.8
Hg	6	108.2	3.4	102.3	0.9	103.2	0.6
Tl	1.6	102.9	2.7	97.6	0.3	98.8	0.7
Pb	1	101.7	3.1	96.6	0.4	97.1	0.5

중간 정밀도

중간 정밀도(완건성)는 분석 날짜, 분석 기기, 분석자 또는 이들의 조합을 다르게 하여 반복 분석을 통해 결정됩니다. 각 분석 대상 원소의 상대표준편차 허용 기준은 25%(NMT)이어야 합니다[2]. 각 API 시료는 대상 농도에서 6회 반복 분석되었으며 이들에 걸쳐 분석되었습니다. 표 6은 7800에서 분석한 3개 API 시료의 중간 정밀도 결과를 보여줍니다.

표 6. 중간 정밀도 결과

원소	J 값 (µg/L)	100%에서 중간 정밀도(n=12)		
		API-1	API-2	API-3
Li	110	4.2	2.8	2.1
V	20	3.7	2.7	1.8
Cr	2200	4.2	3.1	1.9
Co	10	4.1	2.9	1.8
Ni	40	3.5	2.6	2.1
Cu	600	8.3	9.2	1.2
As	3	4.2	7.2	9.5
Se	1	4.2	3.0	1.7
Mo	600	3.1	2.9	2.4
Ru	20	4.1	2.8	1.8
Rh	20	3.4	2.5	1.6
Pd	20	4.7	4.8	3.3
Ag	30	3.5	2.9	3.8
Cd	1	3.7	3.0	1.5
Sn	1200	2.1	1.4	1.2
Sb	240	4.1	2.9	1.9
Ba	280	3.6	2.8	1.8
Os	20	3.3	2.5	1.6
Ir	20	3.2	2.6	1.5
Pt	20	6.3	3.5	1.7
Au	20	3.5	2.5	1.4
Hg	6	3.9	2.6	1.7
Tl	1.6	3.5	2.9	1.8
Pb	1	4.2	2.8	2.1

이 최적화된 유기 용매 전처리 분석법으로 3개의 API 시료 중 규제 대상 원소를 측정된 결과 모두 낮은 농도를 나타냈으며, 분석 과정에서 매트릭스의 영향(억제 또는 드리프트)을 받지 않았습니다. DMSO 용매를 이용한 의약품 시료의 전처리 및 분석 기법은 ICH Q3D와 USP <232> 및 <233>의 요건을 만족하며, 분석법과 기기의 업데이트를 희망하는 제약 실험실에서 간편하게 운영할 수 있는 분석법입니다.

결론

ICH Q3D 및 USP 시험법 <232> 및 <233>에 따라 의약품 성분의 금속 불순물 측정할 때, Agilent 7800 ICP-MS와 유기 용매 전처리 분석법의 조합이 가장 이상적인 결과를 제공하였습니다. 7800은 모든 분석 대상 원소에 대해 우수한 감도, 안정성, 완건성, 회수율 및 검출 한계를 제공했습니다. 이 분석법의 주요 이점은 장시간이 소요되는 산분해법을 대체하여 더 높은 시료 처리량과 생산성 증대가 가능하다는 점입니다.

참고 문헌

1. USP Chapter <232> Elemental Impurities- Limits, Pharmacopeial Forum, 42(2), Mar-April 2016.
2. USP Chapter <233> Elemental Impurities- Procedures, USP 38-NF 33, Second Supplement
3. ICH Guideline Q3D on Elemental Impurities, EMA/CHMP/ICH/353369/2013, July 2016.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 발행물에 포함된 오류나, 이 발행물의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2017

2017년 5월 14일 한국에서 발행
발행물 번호: 5991-7674KO

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



Agilent Technologies