

Fiber Optic 기술을 이용한 온라인 UV-용출 분석법 개발 및 밸리데이션

개요

온라인 Fiber optic 및 multicell UV-용출 시스템은 제약업계에서 많이 사용되고 있는 시스템입니다. Fiber optics는 전통적인 수동 샘플링 및 자동 샘플링 분석법에 비해 많은 이점을 가지고 있습니다. 빠른 타임포인트 수집은 Fiber-optic UV 시스템의 가장 큰 장점 중 하나입니다. 잦은 타임포인트는 전통적인 분석법에서 불가능했던 속방형 제제(immediate release dosage forms) 분석을 가능하게 하며, 서방형 제제(modified release dosage forms)의 특성 분석을 개선할 수 있습니다. 이러한 *in situ* 분석은 시료 필터링의 필요성을 없애주며, 마이크로입자 제제와 나노입자 제제를 선별할 수 있도록 해 줍니다.

Fiber optics의 또다른 이점으로는 실시간으로 시료를 분석할 수 있다는 것입니다. 이 장점은 분석 전에 분해될 수 있는 안정성이 낮은 시료를 분석할 때 유용합니다. 실시간 분석은 분석과 동시에 용출 과정을 확인할 수 있으므로 용출 과정에 대한 해석과 이해를 돕습니다. 이로써 빠른 시일 내에 보다 상세한 데이터를 제공할 수 있어 의약품 개발을 추진시켜 줍니다.



Fiber optics는 또한 다른 자동화 시스템과 유사하게 용출 과정의 정밀도를 향상시킵니다. 샘플링 구역 및 분석 타이밍은 모든 용기에서 일정합니다. 소프트웨어는 21 CFR Part 11에 따른 계산을 통해 분석 시간을 획기적으로 줄여주며, 용출 분석 및 통계를 완전하게 기록한 보고서를 자동으로 생성합니다.

Fiber optics를 사용할 경우 USP <1092> 용출 분석법 개발 및 밸리데이션에 따라 밸리데이션을 진행하여 수동 분석법을 수행할 때 수반되는 편차를 없애야 합니다. 밸리데이션 작업에는 최소한 세척 밸리데이션, 수력학 간섭, 미립자 제거 기능 증명 등이 포함되어야 합니다. 성공적인 밸리데이션에 필요한 파라미터 결정에는 다음이 수반되어야 합니다.

- 용출 과정 연구
- 수동 분석법, 자동 분석법과 구별되는 절차 수립
- 각 절차에서 정확도와 정밀도 유지

Fiber-Optic 활용 분석의 어려움

Fiber-Optic 시스템을 밸리데이션할 때에는 수동 분석법의 변동성을 고려해야 하며, 이 차이가 편차를 만들어내지 않도록 해야 합니다. USP <1092>는 용출 절차와 분석 방법을 아우르는 여러 밸리데이션 영역을 다룹니다¹.

용출 환경을 고려할 때 Resident 프로브의 성능 밸리데이션이 가장 난점이 됩니다. 수동 샘플링 수행 시 샘플링 프로브는 짧은 시간 동안만 용기 내부에 머물게 되며, 용기에 미치는 수력학적 영향은 아주 미미합니다. Fiber-Optic 시스템은 프로브가 용출 매질에 항상 잠겨 있는 Resident 프로브나 Nonresident 프로브를 사용합니다. Resident 프로브의 경우는 다수 약물의 용출률에 영향을 줄 수 있음이 밝혀졌습니다. 만약 Resident 프로브를 사용할 경우, 결과에 대한 영향이 반드시 파악되어야 합니다. Nonresident dip 프로브를 사용할 경우, 프로브의 접촉면이 수동 샘플링 프로브와 비슷하고 최소한의 시간 동안에만 용기 내부에 머물게 된다면 위에서 언급한 밸리데이션을 수행할 필요가 없게 됩니다.

USP <1092>는 다음과 같이 서술하고 있습니다. "샘플링 프로브에 의한 용기 수력학적 영향이 고려되어야 하며, 프로브가 용출률에 현저한 변화를 주지 않도록 적합한 밸리데이션 절차를 수행해야 한다."¹ 이는 밸리데이션에서 가장 중요한 영역입니다. 수력학적 영향으로 인해 용출률이 향상된 것을 관찰할 수 있으며, 용출률은 프로브 크기 및 프로브가 매질에 잠겨있는 시간에 비례합니다.²

USP <1092>에서는 만약 자동화 분석법과 수동 분석법을 서로 교체 사용할 수 있다면 밸리데이션이 중간 정밀도 요건을 만족해야 한다고 설명합니다. 구체적으로 관련 챕터에서는 이렇게 말합니다. "일반적으로 허용 가능한 범위는 같은 강도를 적용한 2개의 조건에서 용출 결과 사이 평균값 차이가 85% 미만인 용출된 타임포인트에서 절대값 10%를, 85% 이상이 용출된 타임포인트에서는 5%를 넘지 않아야 한다. 허용 가능한 범위는 제품마다 다를 수 있으며, 다른 통계 테스트 및 한계값이 쓰일 수 있다."¹

또한 f1과 f2 계산을 통해 수동 및 자동 분석법으로 생성된 프로파일 간 유사성을 보여줄 수 있습니다. 밸리데이션 중 분석 부분과 관련하여 다음과 같은 몇 가지 요소를 추가로 검증해야 합니다.

- 범위
- 직선성
- 정밀도
- 정확도
- 완전성

또한 Fiber-Optic 시스템의 밸리데이션을 통해 용출되지 않은 약물 및 부형제 입자가 데이터 편차를 일으키지 않도록 해야 하며, Fiber-Optic 시스템에서 필터링이 가능하지 않은 관계로 모든 결과는 필터링된 결과와 동일하게 취급됩니다. 용출되지 않은 물질에 대한 검량은 일반적으로 베이스라인 보정을 통해 완료되며, 이 과정은 대부분의 경우에 적합합니다.³

용출의 청결도를 유지하고 교차 오염을 방지하기 위해서는 Fiber-Optic 시스템을 대상으로 세척 밸리데이션을 실시해야 합니다. 용기 간 시료 이동보다 분광 광도계의 빛 이동이 훨씬 깨끗하므로 이는 Fiber-Optic 시스템의 핵심 장점을 입증하는 대목입니다. 자동화 시스템과 마찬가지로, Fiber-Optic 측정 시간 간격의 정확도 및 측정이 올바른 USP 샘플링 위치에서 수행되는지 여부 또한 밸리데이션 대상입니다.

차이 밸리데이션

수력학 간섭

수력학적 간섭은 사용되는 Fiber-Optic 프로브 유형 및 용출 매질 내에 프로브가 잠겨 있는 시간에 따라 달라집니다. Fiber-Optic 프로브에는 3가지 기본 등급이 있습니다(표 1 참조).

표 1. 프로브 설명⁴

프로브	Resident 또는 Nonresident	성질 및 속성
Dip 유형	둘 중 하나	cannula 크기와 비슷한 크로스섹션이 있는 스테인리스 스틸 프로브는 Fiber-optics 를 포함하고 있으며, 프로브는 필터 팁을 장착하고 있습니다
아치 모양의 프로브	Resident	얇은 금속 튜브에 Fiber-optic 포함
In-shaft 프로브	Resident	Fiber-optic 프로브는 금속 패들 또는 바스켓 샤프트에 위치합니다

수력학적 무결성을 유지하고 비 USP 위치에서 측정된 결과에 편차가 없도록 밸리데이션을 완료해야 합니다. 용기 벽에 가까운 초기 타임포인트에서 용출 % 값이 상대적으로 높기 때문에 비 USP 위치에서의 샘플링은 일관되지 않을 수 있습니다. 기둥 쪽에 가까운 로테이션 중앙에서 상대적으로 낮은 값이 나타나지 않도록 분석법을 검증할 필요가 있습니다. Fiber-Optic 프로브를 장착한 시스템은 용출 용기 내 수력학적 변화를 줄여줍니다.

Fiber-Optic 샘플링과 수동 샘플링을 비교할 때, 용출 테스트는 테스트에 미치는 Fiber-Optic 프로브의 영향(특히 초기 시점에서 프로브의 영향)을 모두 측정합니다. 두 가지 샘플링 방식으로 테스트를 수행한 후(n=12) 그 데이터를 비교해야 합니다. 수동 샘플링과 Fiber optic 샘플링은 수력학적 간섭 여부가 다르고 오직 분석 방법만 같기 때문에 동일 테스트에서 수행될 수 없습니다. 그러나 Fiber optics 측정이 진행되는 동안 베이스라인 보정에 수동 샘플링을 유용하게 사용할 수 있습니다. 자세한 내용은 다음 단원을 참조하십시오.

최소 n=12의 데이터가 수집된 후, 여러 타임포인트의 2개 평균값을 비교하거나 f1나 f2 통계 분석을 통해 테스트 결과를 비교해야 합니다. 가장 일반적인 비교법은 각 타임포인트 평균값이 50 이상인 f2의 비교로, 85% 이하의 용출률에서 최대 10%의 차이, 85% 이상의 용출률에서 최대 5%의 차이를 허용합니다.⁵ 또한 두 샘플링 방식의 상대표준편차(RSD)는 동일해야 하며, Fiber optic 샘플링은 추가 변동성을 유발해서는 안 됩니다.

필터 VS 베이스라인 보정

용출 용기 속 용출되지 않은 약물 및 부형제의 영향 역시 밸리데이션 대상입니다. Fiber-Optic 시스템에는 필터링 기능이 없으므로 입자의 빛 산란과 흡착에 대처할 수 있는 방식이 반드시 있어야 합니다. 가장 일반적인 방식은 베이스라인 보정입니다. 베이스라인 보정 이론은 용출되지 않은 입자가 해당 파장의 빛을 그 입자량만큼 흡수한다는 데 기반합니다. 결과적으로 약물에서 흡수하지 않는 바탕선 구역의 흡광도를 차감하고, 이를 해당 파장 피크에서 차감할 수 있습니다. 흡광도 결과는 필터링된 시료와 동일합니다(그림 1 참조).

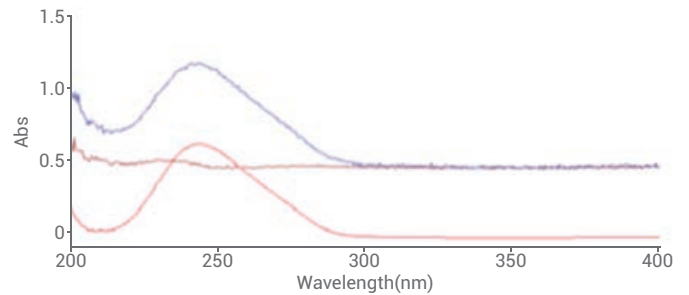


그림 1. 스캔에는 Prednisone 표준품, 부형제 혼합물, Prednisone과 부형제 혼합물 포함합니다. 입자들이 전체 파장 범위에서 고르게 빛을 가로막기 때문에 부형제 혼합물의 흡광도는 전체 파장 영역에서 상대적으로 변화가 없는 편입니다. 결과적으로, 표준 화합물의 최대값에서 Prednisone이 빛을 흡수하지 않는 파장(이들테면 350nm)에서의 부형제 흡광도 값을 차감하면 올바른 측정값이 산출됩니다.

베이스라인 보정을 검토하려면 UV 및 필터 수동 샘플링으로 시료를 측정하고 그 결과를 비교해야 합니다. 시료는 기대되는 용출액 내 API(유효 약리 성분)의 최고 농도와 최저 농도에서 측정되어야 합니다. 이 시료들은 동시 샘플링이 첫 타임포인트와 마지막 타임포인트에서 측정되는 실제 용출 시료이거나, 또는 placebo 첨가 시료일 수 있습니다. 최소 3회의 반복 실험이 실행되어야 하며, 필터 처리 결과와 Fiber-optic 측정 시료의 결과 사이의 차이가 절대값 2% 이내여야 합니다.⁶

세척 밸리데이션

세척 밸리데이션을 통해 실행 간 교차 오염이 없도록 해야 합니다. 세척 밸리데이션은 바탕 용액 측정 후 표준품 또는 100% 용출된 플라세보 첨가 용액을 측정함으로써 쉽게 수행할 수 있습니다. 마지막 바탕 용액을 측정하기 전에 세척 작업을 마쳐야 합니다. 세척 후 바탕 용액의 측정값은 최대 흡광도 파장에서 표준품 흡광도의 <1%여야 합니다. 또는 1회분 정량의 최고 농도로 실험을 한 후 바탕 용액 실험을 함으로써 세척 과정을 검증할 수 있습니다.⁶

타이밍

USP <711>에 따르면 시료 타임포인트는 시료 타이밍 설정값의 2% 이내에서 검증되어야 합니다.⁷ 추가로 시료 프로브의 위치가 USP 샘플링 위치 내에 있는지도 검증해야 합니다. in-shaft Fiber-Optic 프로브의 경우, 밸리데이션을 통해 샘플 균질성이 비 USP 위치에서 샘플링을 진행하기에 충분해야 합니다. 이를 위해 가장 효과적인 방법은 USP 위치에서 Fiber optic 분석과 동시에 수동 샘플링을 하는 것으로 결과는 2% 이내여야 합니다.

표준품

대부분의 용출 분석법은 반복 실험을 수행하거나 bracketing 표준품으로 매 1-2 타임포인트 간 측정값을 읽어, UV가 일관된 결과를 보여주고 있으며 측정값을 신뢰할 수 있음을 증명합니다. Fiber-optic 분석에서는 표준품 측정을 마친 후에 시료 *in situ* 분석을 시작해야 합니다. 밸리데이션은 실행 기간 동안 흡광도 값이 재현 가능함을 증명해야 합니다.

3개 이상의 용기에 담긴 표준 용액을 사용하여 분석법에서 지정된 타임포인트에서 시료를 측정함으로써 UV 시스템의 재현성이 쉽게 드러나고 흡광도 값이 일관적임을 증명할 수 있습니다. 전체 실행에서 측정값은 1~2% 이내여야 하며, 이 과정에서 증발로 인해 샘플이 손실되지 않도록 각별히 유의해야 합니다. USP <1092>에 따른 표준품 규정량은 98-102%로, 평가 기준으로 사용될 수 있습니다.

Fiber-optic 측정은 많은 용출 테스트에 적용 가능합니다. 애질런트 Fiber-optic 시스템과 Agilent Cary 60 분광기를 결합하여 광도 직선 범위(± 3.5 Abs)를 확장하여, 고농도 시료의 측정이 가능합니다. 애질런트 시스템은 0.5 ~ 1.0mm 범위를 포함한 여러 팁 사이즈를 사용하기 때문에, 1 ~ 20mm의 경로 길이를 가능케 합니다. 팁 사이즈가 다양하므로 넓은 범위의 농도를 측정할 수 있으며, 시스템은 다양한 종류의 시료를 여러 농도로 실험할 수 있습니다.

결론

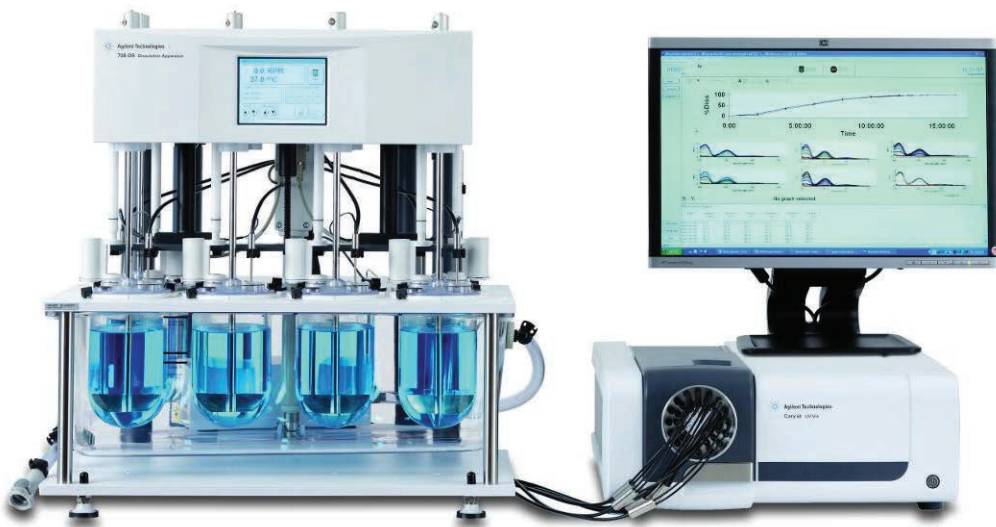
Fiber optics는 적절한 밸리데이션 과정만 거친다면 실험실에 매우 유용하게 사용되며, 모든 자동화 용출 분석법에 꼭 필요한 도구입니다. Fiber optics는 제법과 분석법 개발 및 일상 분석에서 풍부한 정보를 제공합니다. Fiber optic 시스템은 또한 계산 수행 및 보고서 기능 관리에 소요되는 시간도 획기적으로 단축합니다. 실시간 분석은 분석과 동시에 관찰된 결과를 비교할 수 있어, 이를 통해 제형의 용출 과정을 더 잘 알아낼 수 있습니다.

측정 과정에서 분석법을 정확하고 정밀하게 적용하려면 시스템 밸리데이션은 필수적입니다. 제법마다 동일한 변화에 반응하는 정도가 다르기 때문에, 각 제법별로 자동화 시스템에 대해 적절한 밸리데이션을 수행해야 합니다. Fiber optics 시스템은 적합한 밸리데이션을 거친다면 전통적인 분석법보다 더 높은 품질의 데이터를 생성합니다.

Fiber optics 시스템은 과학적 이점을 제공하고 시간을 절약할 뿐만 아니라, 다른 많은 이점을 제공합니다. Fiber optics 시스템은 유체 흐름이나 필터링이 없기 때문에 장기적으로 비용이 절약됩니다. 이 시스템을 사용하면 필터, 튜브, 시린지, cannula 등과 같이 펌프 시스템에서 사용되는 소모품을 정기 구매할 필요가 없습니다. 또한 Fiber optics 시스템은 세척 시간과 오염 문제를 줄여줍니다. UV Fiber Optic 용출 시스템에서 유일하게 정기 세척이 필요한 부위는 Fiber-optic tip과 용출 기구 자체입니다.

참조

1. US Pharmacopeia 40, NF 35, <1092> The Dissolution Procedure: Development and Validation, US Pharmacopeia, Rockville, MD, USA
2. Wells, C. Effect of Sampling Probe Size on Dissolution of Tableted Drug Samples. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **1981**, 70, 232
3. Xujin, L.; Ruben, L.; Pankaj, S. *In Situ* Dissolution Testing Using Different UV Fiber-optic Probes and Instruments. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 3-15
4. Li L.; et al. Technical Evaluation of a Fiber-Optic Probe Dissolution System. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 10-20
5. Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. *FDA Guidance for Industry* **1997**
6. Gray, V. A. Dissolution Testing Using Fiber Optics – A Regulatory Perspective. *Dissolution Technologies* [Online] **2003**, 10, 33-36
7. US Pharmacopeia 40, NF 35, <711> Dissolution, *US Pharmacopeia*, Rockville, MD, USA



www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
2017년 12월 4일, 한국에서 발행
5991-8787KO

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