

HPLC를 이용한 의약품 주성분인 옥시라세탐의 Analytical Method Validation

김유곤* · 서홍석 · 원찬희

전북대학교 공과대학 환경공학과
(2010. 10. 28. 접수, 2010. 12. 8. 승인)

Analytical method validation of oxiracetam using HPLC

Kim Yoo Gon*, Seo Hong Seok and Won chan hee

Department of Environmental Engineering, Chonbuk National University 664-14, 1-ga,
Deokjin-dong, Deokjin-gu, Jeonju-city, Jeolabuk-do 561-756, Korea

(Received October 28, 2010; Accepted December 8, 2010)

요 약: 완제품의 주성분인 옥시라세탐이 함유된 의약품의 시험법실시 계획서에 따른 시험이 적절히 진행되었는지 시험법의 검증여부를 하고 본 protocol이 완제품 중 옥시라세탐의 정량분석을 위한 HPLC 분석법의 타당성을 검증하기 위한 문서화된 절차를 제공하는 것을 목적으로 한다. 본 실험에서는 옥시라세탐 함량시험에 사용된 분석법에 대하여 시스템 적합성, 정밀성, 직선성, 범위, 정확도, 특이성, 정량한계, 검출한계에 대하여 확인하였다. 실험결과 시스템 적합성에서 정밀도(RSD%) 0.127%이하, 이론단수 15081, tailing factor 0.49, 그리고 분리능 32.41을 나타내었고, 정밀도실험에서는 RSD% 0.359% 이하의 결과를 보였다. 그리고 직선성 실험에서는 상관계수(R^2)가 1을 나타내었고, 정확도 실험에서는 recovery test로서 최소 98.4%, 최대 99.6%로 기준을 만족하였다. 검출한계는 0.1 mg/L이었으며, 정량한계는 0.5 mg/L이었다. 그리고 특이성 실험에 있어서도 기준을 만족하는 결과를 나타내어 옥시라세탐을 주성분으로 하는 완제의약품 시험법은 적합한 시험법임이 검증되었다.

Abstract: This study aims to determine that the test of medicines containing oxiracetam as their main ingredient was properly performed according to protocol. Furthermore, the study is to provide the written form of protocol in order to examine the validity of the HPLC analytical method for the quantitative analysis of oxiracetam in the finished products. In this experiment, system suitability, precision, linearity, range, accuracy, specificity, quantitative limit, and detection limit of the analytical method which was used to determine the contained quality of oxiracetam, were examined. The result shows that system suitability indicates 0.127% RSD, plate number 15081, tailing factor 0.49, and resolution 32.41. The experiment of precision reveals the result of below 0.359% for repetitiveness and among the subjects. In the linearity experiment, a coefficient of correlation (R^2) indicates that it is 1. The accuracy experiment satisfies the standards of the recovery test, which is minimum 98.4% and maximum 99.6%. Detection

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)10-8237-8239 Fax : +82-(0)33-251-3991

E-mail : kyg00789@hanmail.net

www.kci.go.kr

limit is 0.1 mg/L and quantitative limit was found to be 0.5 mg/L. The experiment to check the specificity also satisfies the standards, so the finished product using oxiracetam as the main ingredient is verified as suitable.

Key words: analytical method validation, HPLC, oxiracetam, system suitability

1. 서 론

본 실험의 목적은 의약품의 주성분인 옥시라세탐 시험법실시 계획서에 따른 시험이 적절히 진행되었는지 결과를 확인하고 시험법의 검증여부를 확인한다.

본 Protocol은 의약품 중 옥시라세탐의 정량분석을 위한 HPLC 분석법의 타당성을 검증하기 위한 문서화된 절차를 제공하는 것을 목적으로 한다.

1.1. Validation의 개념

GMP제도가 정착되면서 validation이란 용어가 자주 쓰이게 되었다. 이는 GMP 체제하의 의약품제조관리 validation에 의하여 뒷받침되어야 하는데 기인된다. 즉, 의약품의 품질보장은 최종제품의 시험성적만으로 이를 보장할 수 없으며, 원료선정에서부터 제품완성에 이르기까지 제조 전 과정에서의 품질변화 요인을 과학적인 검증으로 validation이 뒷받침 되어야 하기 때문이다. 그리하여, GMP의 운영, 관리는 물론 의약품의 허가요건에도 validation이 영향을 주게 되었기 때문이다.

이와 같은 사실은 GMP의 운영관리에 있어 관행에 따라 실시하였다는 사례의 예거나 설명만으로는 문제에 대한 이해에 도움을 줄 수는 있어도, 해결을 위한 과학적인 입증은 될 수는 없기 때문이다. 이를 입증하기 위하여서는 제품품질에 영향을 주는 요인이 되는 특정사항에 대하여, 구체적인 protocol을 작성하여, 이에 따라 실시, 점검, 기록, 평가, 표준화한 문서화로 이를 입증할 수 있는 과학적인 검증의 제시가 필요하게 되었기 때문이다.^{1,3}

1.2. 분석법 Validation의 필요성 및 시행 목적

제조 process validation이 과학적으로 실시되도록 하기 위해서는 이것을 확인, 검증하는 system인 시험, 검사가 과학적 근거에 바탕을 둔 타당성 있는 설비 및 방법으로 이루어지지 않으면 안 되며, 또한 신뢰성 있는 결론을 얻을 수 없다. 즉 시험, 검사에도 제조의 process validation과 동등 또는 그 이상의 validation이 필요하다.²

분석법의 개발 초기단계에서는 분석법의 신뢰성을 높이기 위해 주로 분석법의 변동원인을 검토하고, 개발이 완료되고 표준화된 분석법 혹은 기존의 분석법을 특정 시험법의 분석법으로서 채택하는 것인지의 여부 결정에는 시험법의 목적에 맞추어 주로 random적 변동요인의 영향도 예상되는 작업을 시행한다. 시험법에서 채택하고 있는 분석법을 수정하거나 의약품의 제조방법을 변경할 경우 수정과 변경의 정도에 따른 revalidation이 필요하게 된다. 한편 validate된 분석법을 시험과 연구에서 routine하게 사용하는 경우에는 분석법이 validate된 상태로 유지되고 있다는 확인이 필요하다. 또한 분석법에서 사용되는 시약과 장치, 분석자의 변경이 이루어진 경우에도 변경전후에서 분석법이 일정하게 유지되고 있다는 보증을 얻기 위해 validation이 시행되고 있다.^{1,3}

1.3. Analytical Validation

제품, 환경, 설비, 기기시험, 검사를 위한 시험, 검사 방법이 과학적인 근거, 타당성을 가지고 정하여져 있고 이것에 대한 validation이 확립되어 있지 않으면 안 된다. 즉, 시험, 검사방법의 validation도 process validation의 일환이고 그의 일부를 형성한다. 특이성은 공존이 예측되는 불순물, 분해물, 배합성분들이 서로 영향을 받지 않고 특이적으로 측정할 수 있는 능력이다. 직선성은 측정법은 측정범위 내에 있어서 측정하는 특성치와 측정치와의 사이에 직선관계가 있다는 것을 전제로 하고 있다. 예를 들어 흡광도 측정법에 의한 정량법의 경우 농도증가에 따라서 흡광도가 비례하여 증가하는 것을 증명해야 한다. 기 지량을 첨가한 시료를 시험하여 증명한다. 정밀성은 재현성을 반복해서 분석할 때 재현성이 얼마나 좋으나를 나타내는 것이다. 다시 말해 분석 값이 평균치에 얼마나 집중되어 있느냐를 나타내는 것이며, 실제 측정 시에는 n회 반복 시험하여 얻은 결과의 표준편차를 확인하여 2% 이내이면 적합한 것으로 본다. 표준편차가 크면 원인을 알 수 없는 오차인 우연오차가 크다는 것을 말해 준다. 매개정밀성은 동일 시료에 대해 다른 날짜, 다른

시험자, 다른 설비 등의 실험실 변동이 미치는 변화를 확인하는 것이며, 표준편차 2% 이내이면 적합한 것으로 본다. 정확성과 회수율은 실제실험에 있어서의 정확성은 동일검체에 대하여 동일한 방법으로 n회 반복 시험하여 그 평균치 X를 계산할 때 X가 실제 들어있는 물질의 양에 얼마나 접근하는지를 가지고 정확성을 알 수 있다. 통계적 처리는 실제 들어있는 표준치 X와 측정평균치 X(n,s)(s; 표준편차) 사이의 차이에 대한 유의성을 판정한다. 제제 중에 목적 성분을 정량할 때 공존하는 성분에 의해 방해받을 수 있다. 확인방법은 정량의 목적 성분을 추가하여 정량할 때 추가된 양이 정확하게 회수되는 지로 입증한다. 견고성은 다소의 조건 변동이 주어지더라도 측정결과가 변동되지 않도록 설정되어 있는가를 보는 것으로 검토한다.^{1,3}

2. 실험

2.1. 실험장비 및 기구

2.1.1. 장비 및 기구

HPLC system : Agilent HPLC(Agilent Technologies 1200series)

Column : Kromasil 100-10NH₂

Balance : Sartorius LE244S

Syringe filter : Millipore Millex-HV, Hydrophilic PVDF 0.45 µm

2.1.2. HPLC기기조건

검출기 : 자외부흡광도(파장 220 nm)

이동상 : 아세토니트릴: 물(97:3)

유속 : 1.2 mL/min

주입량 : 20 µL

2.1.3. 시약 및 용매

Acetonitrile, HPLC grade

Water, HPLC grade

2.1.4. 표준품

표준품명 : 옥시라세탐(Oxiracetam) (99.81%)

내부표준품명 : 무수카페인(Caffeine anhydrous) (100.3%)

2.1.5. 시험용액제조

내부표준용액 : 무수카페인 50 mg을 이동상에 녹여 50 mL메스플라스크에 채움

표준액 : 옥시라세탐 표준품 50 mg을 50 mL메스플라스크에 넣고 물 5 mL를 넣어 녹인 후 아세토니트릴 40 mL와 내분표준용액 1 mL를 넣은 후 이동상으로 표선을 맞춤

검액 : 20정 이상을 취해 무게를 단 후 가루로 분쇄, 해당량 50 mg을 취해 물 5 mL로 녹인 후 표준액 제조방법과 동일한 방법으로 제조

2.2. 실험방법 및 결과

2.2.1. System Suitability Test

50 mL 메스플라스크에 옥시라세탐 표준품 50 mg을 넣고 물 5 mL로 녹인 후 아세토니트릴 40 mL와

Table 1. Result of system suitability test about retention time, peak area, tailing factor, plate number and resolution

	Retention time(IS)	Retention time	Peak Area (IS)	Peak Area	Tailing factor	Plate number	Resolution
1	2.917	9.410	827.48846	4412.38916	0.49	15140	32.49
2	2.918	9.410	828.93701	4423.33301	0.49	15139	32.48
3	2.918	9.409	828.03546	4420.19922	0.49	15136	32.48
4	2.918	9.406	829.33813	4415.69287	0.49	15129	32.47
5	2.919	9.405	828.54608	4425.03027	0.49	15125	32.46
6	2.920	9.406	828.59583	4428.35059	0.49	15128	32.36
7	2.918	9.410	829.36572	4424.05127	0.49	15140	32.38
8	2.917	9.414	828.98834	4427.77686	0.49	15152	32.41
9	2.912	9.409	829.09406	4430.33643	0.49	14592	32.06
10	2.910	9.408	829.56915	4421.84619	0.49	15133	32.51
Average	2.917	9.409	828.79600	4422.90059	0.49	15081	32.41
RSD%	0.108	0.028	0.078	0.127	-	-	-
Criteria	RSD(%) Max 1.0%	RSD(%) Max 1.0%	RSD(%) Max 1.0%	RSD(%) Max 1.0%	Max 2.0	Min 2000	Min 2.0

내부표준액 1 mL를 넣어 녹인 후 이동상으로 표선 맞추어 제조한 시험용액을 6회 반복 실험하여⁹ 다음 항목, Peak area RSD (%) 1.0%이하, RT RSD (%) 1.0%이하, 최저이론단수(N) 2000이상, Tailing factor (T) 2.0이하, Resolution (R) 1.5이상을 만족하는지를 실험 하였다. 실험결과 Table 1.에서 보듯이 Peak area RSD%는 0.078% (I.S), 0.127%의 결과를 나타내었고, RT RSD (%)는 0.108% (I.S), 0.028%, 최저이론단수 (N)는 15081.4, Tailing factor (T)는 0.49, Resolution (R)은 32.410로 상기의 기준을 모두 만족하는 결과를 나타내었다.

2.2.2. Precision

상기 실험용액제조방법으로 제조한 표준용액과 내부표준액은 10회 반복 분석하여 표준액은 R.T와 Area의 RSD(%)가 1.0%이하를 만족하는지와 검액에서는 검액 6개를 각 3회씩 반복 주입하여 검액 6개의 함량 값 RSD(%) 2.0%이하일 때 만족하는 것으로 판정하였으며,^{9,10} 실험자간 결과 비교는 표준액, 검액 6개 각 3회씩 반복 주입하여 기준에 적합여부를 확인 하였다. 실험결과 Table 1에 나타난 것처럼 표준액 R.T RSD (%)는 0.028~0.108%, Area RSD (%)는 0.078~0.127%로 만족하는 결과를 보였고, 검액 6개의 표준액 반복실험에서(Table 2) 피크면적 RSD (%) 0.063~0.151%, 내부표준액 RSD (%) 0.024~0.107%의 결과를 나타내었다. 그리고 시험자간 비교실험에서(Table 3, 4)는 표준액 피크면적 RSD (%)는 0.135%, 내부표준액 피크면적 RSD (%)는 0.158%, 검액 6개의 대한 표준액 반복실험에서 피크면적 RSD (%)는 0.098~0.326%, 내부표준액 피크면적 반복실험에서는 RSD (%)는 0.007~0.109%

Table 2. Experimental result of each 3 repetitive injection of 6 sample solution

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
1st	4414.41504	4408.36816	4418.75049	4431.09717	4402.77100	4415.39453
2nd	4410.12061	4399.31885	4430.30127	4423.72852	4400.64404	4418.40332
3rd	4415.68311	4411.24609	4418.71826	4424.46191	4396.45508	4420.99707
Average	4413.40625	4406.31103	4422.59001	4426.42920	4399.95671	4418.26497
RSD%	0.066	0.141	0.151	0.092	0.073	0.063
1st(IS)	833.95502	835.55341	833.45209	834.45624	835.08923	836.55652
2nd(IS)	833.46375	834.96063	833.43494	833.63037	835.50647	835.62280
3rd(IS)	834.18048	835.55402	833.09344	832.67200	836.03491	834.83813
Average	833.86642	835.35602	833.32682	833.58620	835.54354	835.67248
RSD%	0.044	0.041	0.024	0.107	0.057	0.103
Assay%	98.60	98.64	99.44	98.73	98.10	98.87

Table 3. Experimental result of person-to-person variability about each 3 repetitive injection in standard solution and internal standard solution

	I.S Solution Peak Area	STD Solution Peak Area
1st	831.52106	4419.57617
2nd	829.70605	4409.72168
3rd	828.96887	4408.75000
Average	830.06533	4412.68262
RSD(%)	0.158	0.135

로 결과를 모두 만족하였다.

2.2.3. Linearity & Range

이 실험기준은 Linearity-상관계수(r) 0.99이상, Range - 허가범위(95.0~105.0%) 포함 하여야 한다.^{4,5} 표준원액 제조는 표준품 500 mg을 100 mL메스플라스크에 넣은 후 물 10 mL로 넣어 녹이고 아세트니트릴 80 mL 넣어 녹인 후 이동상으로 표선을 맞춤. 표준용액은 50 mL 메스플라스크에 표준원액 각각 8 mL, 9 mL, 10 mL, 11 mL, 12 mL를 넣을 후 아세트니트릴 40 mL와 내부표준액 1 mL를 넣어 용해 후 이동상으로 표선을 맞추어 제조농도는 각각 800, 900, 1000, 1100, 1200 mg/L이 되었다. 기준은 Linearity 상관계수(R²) 0.99이상, Range 허가범위(95.0~105.0%)이며 이 허가범위를 포함하여야 한다. 실험결과 data는 직선성 표준액 중 내부표준물질에 대한 옥시라세탐의 면적비로 환산하였다. 실험결과 Linearity 상관계수(R²)은 1로 나타나 직선성에서는 좋은 결과를 나타내었다.

Table 4. Experimental result of person-to-person variability about each 3 repetitive injection of 6 sample solution
[Criteria : RSD% Max 2%]

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
1st	4408.83398	4401.08740	4443.69092	4408.05762	4399.64258	4437.29248
2nd	4424.48438	4385.63818	4435.83643	4402.94873	4407.64209	4429.74609
3rd	4405.54541	4391.74170	4433.20410	4432.62598	4379.77637	4437.32178
average	4412.95459	4392.82243	4437.57715	4414.54411	4395.68701	4434.78678
RSD%	0.229	0.177	0.123	0.359	0.326	0.098
1st(I.S)	833.52405	834.50043	837.93817	835.51172	836.77063	836.81622
2nd(I.S)	834.47906	832.94476	838.03009	834.67303	836.85797	836.37457
3rd(I.S)	833.50439	834.53827	838.03741	835.42004	836.60889	836.16534
Average	833.83583	833.99449	838.00189	835.20160	836.74583	836.45204
RSD%	0.0669	0.109	0.007	0.055	0.015	0.040
Assay%	99.35	98.68	99.02	99.03	98.61	98.95

Table 5. Experimental result of OXIRACETAM peak area in standard solution.

Conc. (mg/L)	800	900	1000	1100	1200
STD Peak Area	3548.68652	3986.74927	4441.60400	4846.66895	5312.76855
	3535.23413	3992.07568	4464.48340	4850.23096	5289.54443
	3540.35278	3984.15649	4423.84424	4865.08130	5295.18896
Average	3541.42448	3987.66048	4443.31055	4853.99374	5299.16731
RSD(%)	0.192	0.101	0.459	0.201	0.229

Table 6. Experimental result of internal standard peak area in standard solution

Conc. (mg/L)	800	900	1000	1100	1200
I.S Peak Area	833.73962	829.33960	834.50336	829.46411	831.18719
	832.48553	828.62006	832.30219	829.41412	830.38934
	832.59479	829.85303	833.06049	828.08130	831.00244
Average	832.94000	829.27090	833.28868	828.98651	893.37878
RSD(%)	0.083	0.075	0.134	0.095	0.040

2.2.4. Accuracy

실험방법은 위약 2 mg과 옥시라세탐 표준품 각각 40 mg, 50 mg, 60 mg을 50 mL 메스플라스크에 넣고 물 5 mL로 녹인 후 아세토니트릴 40 mL와 내부표준액 1 mL를 넣어 녹인 후 이동상으로 표선을 맞추어 제조하였다. 실험결과는 회수율로서 평가하였으며,^{7,8} 얻어지는 평균값과 참값의 편차가 3.0% 이내일 경우 적합으로 판정하였고, 실험결과 98.85~99.57%로 적합한 결과를 나타내었다.

2.2.5. Quantitation Limit & Detection Limit⁵⁶

표준액 제조방법은 옥시라세탐 표준품 50 mg을 50 mL 메스플라스크에 넣어 물 5 mL를 넣어 녹이고 아세토니트릴 40 mL와 내부표준액 1 mL를 넣어 녹인 후 이동상으로 표선을 맞추었다. QL, DL 표준액은 표

Table 7. OXIRACETAM peak area/internal standard peak area ratio in standard solution

Conc. (mg/L)	800	900	1000	1100	1200
Area ratio (STD/I.S)	4.26	4.81	5.32	5.84	6.39
	4.25	4.82	5.36	5.85	6.37
	4.25	4.80	5.31	5.88	6.37
Average	4.25	4.81	5.33	5.86	6.38
RSD(%)	0.136	0.208	0.496	0.355	0.181

준액(1000 mg/L) 1 mL를 100 mL 메스플라스크에 넣은 후 이 용액을 1 mL, 5 mL, 10 mL를 취하여 각각 0.1 mg/L, 0.5 mg/L, 10 mg/L이 되도록 제조하였다. 검출한계는 S/N비를 3이상, 정량한계를 S/N비를 10이상일 때를 적정 조건으로 설정하였다. 그리고 용매피크의 높이의 평균값으로 각각 분석한 개별 data를 나

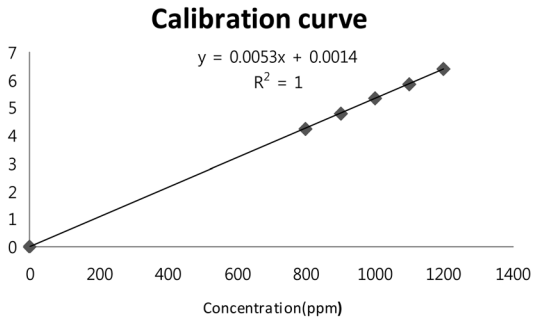


Fig. 1. Standard calibration curve of OXIRACETAM.

눈 값으로 S/N비를 산출 하였다.

실험결과 검출한계 농도는 0.1 mg/L으로 설정되었으며, 정량한계는 0.5 mg/L으로 설정 되었다.

2.2.6. Specificity

위약 2 mg을 50 mL메스플라스크에 넣어 5 mL물을 넣어 녹인 후 아세트니트릴 40 mL, 내부표준액 1 mL를 넣어 녹이고 이동상으로 표선을 맞추어 검액으로 하였다. 정밀도 실험의 검액과 정확도 실험의 검액에서 분석된 분석물질 peak 유지시간이 일치하고 '위약의 조제'에서 조제된 위약의 분석물질에서는 위와 같은 시간대에 일치하는 peak가 없을 때 특이성이 확인되었다고 한다. 실험결과 같은 시간대에 peak가 나타나지 않아 특이성이 확인됨을 알 수 있었다.

2.2.7. 실험결과

본 실험결과 시스템적합성에서 피크면적과 R.T의 정밀도(RSD%) 0.13%이하, 이론단수 15081, Tailing

Table 8. Experimental result of accuracy test

Placebo (mg)	STD (mg)	I.S Peak area	I.S Peak area average	Real data	Real data average	Real data average/I.S Peak area average	Criteria : 100±3.0%
2.1	40.1	839.68750	839.61880	3562.28809	3562.03898	4.24245	99.32
		839.57245		3559.50806			
		839.59644		3564.32080			
2.0	40.0	838.98242	838.40002	3561.44580	3556.99243	4.24260	99.57
		838.32031		3553.65015			
		837.89734		3555.88135			
2.1	40.0	839.71423	840.33860	3498.21338	3522.18132	4.19138	98.37
		840.94250		3531.90918			
		840.35907		3536.42139			
2.2	50.1	834.37616	835.03652	4440.47266	4424.72347	5.29884	99.29
		835.14478		4420.11084			
		835.58862		4413.58691			
2.0	50.0	839.97607	839.37067	4437.04199	4441.60205	5.29159	99.36
		839.06403		4441.32959			
		839.07190		4446.43457			
2.1	50.1	836.98944	836.16567	4443.35498	4439.84538	5.30977	99.50
		835.89374		4441.12744			
		835.61383		4435.05371			
2.3	60.2	839.97394	839.22888	5322.42090	5319.71647	6.33881	98.85
		838.13745		5324.70166			
		839.57526		5312.02686			
2.1	60.0	837.47016	838.03754	5307.77539	5325.79752	6.35508	99.44
		839.64514		5360.10937			
		836.99731		5309.50781			
2.0	60.3	838.02069	836.69008	5293.42188	5309.64372	6.34601	98.80
		835.84271		5311.80273			
		836.20685		5323.70654			

Table 9. Experimental result of Quantitation Limit & Detection Limit

Sample	Peak Height	S/N	
Solvent-1	0.005305		
Solvent-2	0.010703		
Solvent-3	0.009624		
0.1 mg/L-1	0.044982	5.3	
0.1 mg/L-2	0.066400	7.8	Detection Limit
0.1 mg/L-3	0.068991	8.1	
0.5 mg/L-1	0.217021	25.4	
0.5 mg/L-2	0.202190	23.7	Quantitation Limit
0.5 mg/L-3	0.183604	21.5	
1 mg/L-1	0.356734	41.8	
1 mg/L-2	0.344515	40.3	
1 mg/L-3	0.350157	41.0	

factor 0.49, 그리고 분리능 32.41을 나타내었고, 정밀도실험 중 반복실험의 RSD% 0.27~0.44%, R.T와 시험자간실험에서 각각 0.11%, 0.36%의 결과를 보였다. 그리고 직선성 실험에서는 상관계수(R^2)가 1을 나타내었고 범위에서도 기준범위를 만족하는 결과를 나타내었으며, 정확도 실험에서는 Recovery test로서 최소 98.4%, 최대 99.6%로 기준을 만족하였다. 검출한계를 S/N 3이상을 만족하는 농도로 0.1 mg/L이었으며, 정량한계는 S/N 10이상을 만족하는 0.5 mg/L

이었다. 그리고 특이성 실험에 있어서도 표준품과 내부표준물의 피크가 나타나는 시간대에 다른 피크들이 나타나지 않아 기준을 만족하는 결과를 나타내었다.

3. 결 론

본 실험결과 시스템적합성에서 정밀도(RSD%) 0.13%이하, 이론단수 15081, Tailing factor 0.49, 그리고 분리능 32.41을 나타내었고, 정밀도실험에서는 반복성의 시험자간실험에서 각각 0.2%, 0.4%의 결과를 보였다. 그리고 직선성 실험에서는 상관계수(R^2)가 1을 나타내었고 범위에서도 기준범위를 만족하였고, 정확도 실험에서는 Recovery test로서 최소 98.4%, 최대 99.6%로 기준을 만족하였다. 검출한계는 0.1 mg/L이었으며, 정량한계는 0.5 mg/L이었다. 그리고 특이성 실험에 있어서도 기준을 만족하는 결과를 나타내었다.

완제의약품의 주원료인 옥시라세탐 함량시험에 사용된 분석법에 대하여 시스템 적합성, 정밀성, 직선성, 범위, 정확도, 특이성, 정량한계, 검출한계에 대하여 확인 하였다. 따라서 옥시라세탐을 주성분으로 하는 완제의약품 시험법은 적합한 시험임이 검증되었다.

Table 10. The result table of the this experiment

Item		Acceptance Criteria	Result	Conclusion	
System Suitability Test	Precision	Peak area	RSD ≤ 1.0%	0.13%	Satisfaction
		RT	RSD ≤ 1.0%	0.11%	Satisfaction
	Plate number	N ≥ 2000	15081	Satisfaction	
	Tailing factor (symmetry factor)	T ≤ 2.0	0.49	Satisfaction	
	Resolution	R ≥ 1.5	32.41	Satisfaction	
Precision	Repeatability	Assay	RSD ≤ 2.0%	Person1 0.44% Person2 0.27%	Satisfaction
		RT	RSD ≤ 1.0%	0.11%	Satisfaction
	Intermediate precision	Person	Person to person assay RSD ≤ 2.0%	0.36%	Satisfaction
	Linearity	$R^2 \geq 0.99$	1.00	Satisfaction	
	Range	range inclusion (95.0~105.0%)	80.0~120.0%	Satisfaction	
	Accuracy	Average Recovery 100.0 ± 3.0%	Min. 98.4% Max. 99.6%	Satisfaction	
	Quantitation Limit	Signal/noise ≥ 10	0.1ppm	Satisfaction	
	Detection Limit	Signal/noise ≥ 3	0.5ppm	Satisfaction	
	Specificity	Not detection	Satisfaction	Satisfaction	

참고문헌

1. 식약청, 의약품등 밸리데이션 실시에 관한 규정”, 식품의약품안전청고시 제2009-173호.
2. 식약청, “의약품 등 기준 및 시험방법 심사의뢰서 심사규정”, 식품의약품안전청고시 제2006-56호.
3. 대한약전 제 9 개정, “의약품등 분석법 밸리데이션에 대한 지침”, 1366.
4. Alison E. Bretnall and Graham S. Clarke, Validation of Analytical Test Methods, *Separation Sci. Tech.*, 10(11), 429-457(2011).
5. G. S. Clarke, The validation of analytical methods for drug substances and drug products in UK pharmaceutical laboratories, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 12(5), 643-652(1994).
6. Johan Lindholm, Monika Johansson, Torgny Fornstedt, Guidelines for analytical method development and validation of biotechnological synthesis of drugs: Production of a hydroxyprogesterone as model, *J. Chromatogr. B*, 791(1-2), 323-336(2003).
7. Eric Rozet, Attilio Ceccato, Cdric Hubert, Eric Ziemons, Radu Oprean, Serge Rudaz, Bruno Boulanger, Philippe Hubert, Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation, *J. Chromatogr. A*, 1158(1-2), 111-125(2007).
8. ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, *JIS Q 17025-2000*(1999).
9. J. W. Collier, R. B. Shah, A. R. Bryant, M. J. Habib, M. A. Khan and P. J. Faustino, Development and application of a validated HPLC method for the analysis of dissolution samples of levothyroxine sodium drug products, *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2010).
10. VAndreas S. L. Mendez, Martin Steppe and Elfrides E. S. Schapoval, Validation of HPLC and UV spectrophotometric methods for the determination of meropenem in pharmaceutical dosage, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 33(5), 947-954(2003).