



# 생약(한약)제제의 성분 프로파일 설정 가이드라인

2010.11



# 생약(한약)제제의 성분 프로파일 설정 가이드라인

2010.11



# 발간사

우리나라는 천연물을 이용하여 질병을 치료해 온 역사가 오래되었을 뿐 아니라 그동안 축적된 지식정보도 다른 어떤 나라에 비하여 비교우위에 있습니다. 며칠 전 지식경제부 R&D 전략기획단에서 미래 우리나라를 먹여 살릴 5대 분야 중 하나로 천연물신약을 선정한 것은 향후 우리나라가 제약 선진국으로 도약할 수 있는 새로운 지평을 제시한 것이라 하겠습니다.

그러나 구성성분이 복잡한 천연물의약품은 원료 채취부터 완제품 제조까지 표준화를 통해 품질의 동등성을 유지하는 것이 경쟁력 확보의 핵심 요인으로서 그동안 현실적이고 과학적인 품질 표준화 기법 마련 등이 세계시장 주도권 확보의 선결과제로 지적돼 왔습니다.

이에 우리청에서는 민간 전문가와 협의회를 구성하여 천연물의약품을 구성하는 다양한 성분의 분포와 함량을 '성분프로파일(Chemical Profile)'로 설정하여 관리하는 구체적인 방법론에 대한 가이드라인을 발간하게 되었습니다.

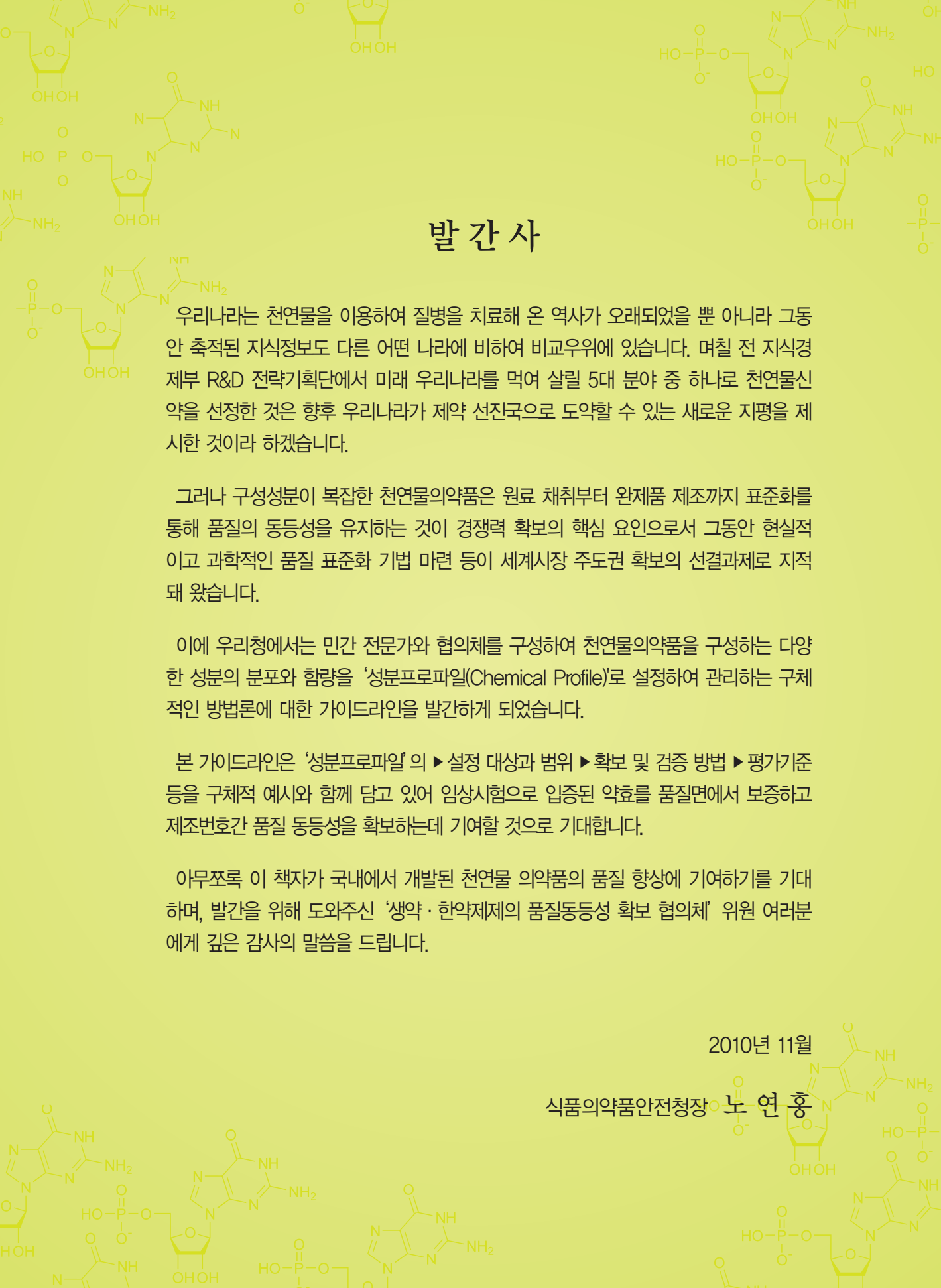
본 가이드라인은 '성분프로파일'의 ▶ 설정 대상과 범위 ▶ 확보 및 검증 방법 ▶ 평가기준 등을 구체적 예시와 함께 담고 있어 임상시험으로 입증된 약효를 품질면에서 보증하고 제조변호간 품질 동등성을 확보하는데 기여할 것으로 기대합니다.

아무쪼록 이 책자가 국내에서 개발된 천연물 의약품의 품질 향상에 기여하기를 기대하며, 발간을 위해 도와주신 '생약·한약제제의 품질동등성 확보 협의회' 위원 여러분에게 깊은 감사의 말씀을 드립니다.

2010년 11월

식품의약품안전청장

노연홍





# Contents

I. 서론	6
II. 성분프로파일 관리	7
1. 용어의 정의	
2. 방법	
3. 적용대상 및 범위	
III. 표준 성분프로파일 확립	9
1. 시료 선택	
2. 분석법 개발	
3. 분석법 밸리데이션	
4. 성분프로파일 설정	
5. 표준 성분프로파일 확립	
6. 성분프로파일 검증	
IV. 기준	13
1. 기준설정	
2. 타당성 검토	
V. 생약추출물의 성분프로파일 설정 및 평가 예시	15
1. 분석용 표준시료	
2. 분석 조건 확립	
3. 분석조건 밸리데이션	
4. 표준 성분프로파일 확립	
6. 시료의 성분프로파일 및 평가	

---

## PROFILE GUIDELINE



천연물로부터 개발된 의약품은 매우 다양한 화합물들을 포함하고 있으며 일반적으로 각 구성성분 전체에 대한 화학적 구조 및 성질을 완전히 규명하는 것은 매우 어려운 것으로 받아들여지고 있다. 또한, 구성성분 중 주요 약효성분이 밝혀지고 그 성분과 약효간의 상관관계가 어느정도 나타나는 경우도 있지만 일반적으로 성분과 약효의 상관관계를 명확히 밝힐 수 없는 경우가 일반적이다. 따라서, 천연물로부터 개발된 생약·한약제제의 품질과 약효는 합성의약품과는 다른 차원에서 고려되어야 한다.

지금까지 생약·한약제제의 품질관리는 유효성분이 알려져 있고 표준이 될 수 있을 경우, 그 유효성분의 함량을 관리하는 방법이 사용되어 왔다. 또 유효성분이 알려지지 않았거나 전체 품질을 보증할 수 있을 정도의 분석적 민감도와 정확도를 보증할 수 없는 경우에는 분석적으로 유용한 지표성분을 지정하여 관리하는 방법이 사용되어 왔다. 그러나, 경우에 따라서는 적절한 지표성분을 설정하는 것 자체가 거의 불가능하거나, 몇몇 지표성분의 함량 평가만으로는 전체 약효를 적절히 대변하지 못하는 경우가 더 많은 것이 현실이다.

생약·한약제제의 약효는 의약품 중에 함유되어 있는 다양한 화합물들의 조성과 비율 그 자체로서 전체적인 약효에 기여하는 것이 인정되고 있다. 따라서, 의약품의 안전성·유효성 및 위해관리의 중심요소로서 품질의 기능을 고려할 때 생약·한약제제의 품질관리의 핵심은 그 구성 화합물의 조성비율을 일정하게 관리함으로써 의약품의 약효를 보증하는 것이라고 할 수 있다.

본 가이드라인에서는 생약·한약제제의 특징을 보다 더 잘 반영할 수 있는 품질관리 수단으로 생약·한약제제의 화학적 특징에 대한 포괄적이고 일관된 정보가 포함된 성분프로파일(chemical profile)을 제시하고자 한다. 즉, 생약·한약제제의 주요한 품질적 기준으로 성분프로파일을 설정하고 때 로트 마다 성분프로파일을 일정 기준범위 내로 관리하는 방법을 제시한다. 성분프로파일 관리의 일차적 목표는 생약추출물 또는 완제의약품의 완전한 특징을 반영하기 보다는 적정수준의 품질확보 즉, 특히 안전성·유효성을 보증하는데 유용한 특징들을 규명하고 관리함으로써 약효와 품질의 균질성을 확보하는 것에 있다.



## II 성분프로파일 관리

### 1. 용어의 정의

프로파일 (profile)의 사전적 의미로는 윤곽, 개요 등이 있다. 이러한 의미에서 생약·한약제제의 성분프로파일은 이들의 화학적 특징에 대한 윤곽 또는 개요라고 할 수 있다. 보다 자세하게는 생약·한약제제의 원료의약품 및 완제의약품을 액체크로마토그래프법 (이하 HPLC) 등으로 분석하였을 때 얻어지는 분석 결과물로부터 분석시료의 화학적 특징과 연관성이 큰 부분을 추출하여 정리한 데이터를 뜻한다.

특히, 적합한 규격을 가진 표준시료들의 성분프로파일로부터 얻어진, 표준시료에 대한 화학적 특징에 대한 대표성을 갖는 성분프로파일을 표준 성분프로파일 (standard chemical profile)이라고 하며 이는 비교하고자 하는 시료의 확인, 조성 또는 로트간 일관성을 평가하는 기준으로 활용될 수 있다.

### 2. 방법

성분프로파일이 품질관리 기준으로 사용되기 위해서는 우선 개발과정 중의 여러 요소를 종합하여 제품의 특징을 가장 잘 반영하는 표준 성분프로파일을 설정하여야 한다. 확립된 표준 성분프로파일은 실생산 로트의 품질확보의 기준이 된다. 즉, 사용되는 생약의 화학적 분포와 특징, 안전성·유효성에 관련된 화학적 정보 및 제조공정 조절 등에 근거하여 목표로 하는 기준범위를 설정하는 것이다. 실생산 로트의 성분프로파일은 허용된 범위 내에서 표준 성분프로파일과의 유사성을 확보하여야 한다. 이렇게 함으로써 생약·한약제제의 매 로트의 성분프로파일을 일정 기준범위 내로 관리함으로써 약효와 품질의 로트간 균질성을 보장할 수 있다.

## PROFILE GUIDELINE

### 3. 적용 대상 및 범위

본 가이드라인의 성분프로파일은 생약·한약제제의 원료의약품(생약), 생약추출물 및 완제의약품에 적용할 수 있다. 특히 화학적 조성성분이 명확하게 규명되지 않았거나, 활성성분 (constituents with known therapeutic activity, active markers)이 규명되지 않은 경우, 또는 활성성분들이 어느 정도 규명되어 있다 하더라도 활성의 기여도를 설명할 수 없는 경우에 유용하게 사용될 수 있다.

그러나, 제제의 구성성분 중 활성 또는 독성 물질이 명확하게 규명된 경우에는 성분프로파일을 설정하는 것 보다는 이들 물질 각각에 대해 시험방법 및 기준을 설정하는 것이 바람직할 수 있다. 그 예로 은행엽엑스는 ginkgo flavonoid와 terpene lactone 등 활성 물질 및 독성물질인 ginkgolic acid가 정확하게 규명되어 있으며 이들 각각에 대하여 적합한 함량 기준이 설정되어 있다.

또한, 활성 및 독성관계가 명확히 규명되지 않은 경우에도 충분한 수의 지표성분 (analytical marker)에 대하여 함량 기준을 설정하여 관리하고 있다면 따로 성분프로파일을 설정하지 않을 수 있다. 일반적으로 단일제에 대하여 3개 이상의 지표성분이 설정, 관리된다면 성분프로파일 관리와 동등한 수준으로 관리된다고 볼 수 있을 것이다.



## Ⅲ 표준 성분프로파일 확립

### 1. 시료 선택

표준 성분프로파일은 프로파일을 이용한 품질 관련 평가의 기준이 된다. 따라서 표준 성분프로파일은 설정하는 품목의 약효와 관련된 화학적 특성을 최대한 반영할 수 있어야 한다. 또한, 생약·한약제제의 경우 다양한 원인에 의해 성분프로파일이 영향을 받을 수 있으므로 이러한 특징이 고려되어야 한다. 예를 들면, 적합한 규격의 생약을 사용할 경우에도 채집 시기나 재배지 등에 따라 구성 성분의 배합이 크게 바뀔 수 있으며 생약추출물 제조를 위한 공정조건의 차이에 의해서 위하여 동일한 공정을 적용할 경우에도 그 조건이나 로트 별로 변동이 발생할 수 있다. 따라서 허용 가능한 범위에서 원료 또는 공정상 발생할 수 있는 변동을 포함할 수 있는 표준 성분프로파일을 확보하기 위해서는 다양한 시료를 사용하는 것이 바람직하다. 한편 낮은 품질의 생약이나 대체생약이 사용될 가능성이 있는 경우에는 이들을 구분할 수 있는 수준의 표준 성분프로파일을 확보하여야 한다.

### 2. 분석법 개발

분석법은 일차적으로 HPLC 등을 이용하여 크로마토그램을 얻는 것을 원칙으로 한다. 가장 일반적으로 HPLC-UVD/DAD를 사용할 수 있으며 분석 대상의 특징에 따라 UV에 잘 검출되지 않는 경우에는 ELSD 및 CAD와 같은 다양한 검출기를 적용할 수 있다. 또한 정유 같은 낮은 극성의 휘발성 성분을 다량 함유하고 있는 시료는 GC를 사용할 수도 있다.

분석조건은 대상시료의 화학적 특성을 가장 잘 반영할 수 있는 크로마토그램을 얻을 수 있도록 최적화되어야 한다. 문헌자료 등을 통해 분석 대상 시료에 대한 구성성분 및 분석조건에 대한 정보를 확보할 수 있을 경우, 이들 정보가 특정 성분군에 대한 선택적 분석법이 아닌지 검토해야 한다. 만약 특정 성분군의 분석만을 위해 개발된 방법일 경우에는 다른 분석법 개발을 시도하여 특정

## PROFILE GUIDELINE

성분군 외에 다른 성분들에 대한 정보도 포함할 수 있는 분석법을 개발해야 한다.

성분프로파일 확보에 적용되는 분석법의 적절성에 따라 성분프로파일의 정확성 및 확보할 수 있는 정보의 수준을 결정하므로 다양한 분석용 시료 전처리 방법, 이동상 및 고정상, 검출기 등을 적용하여 가장 많은 성분에 대한 정보를 제공하는 분석법을 도출하도록 한다. 가급적 크로마토그램 상에서 전체 피크면적 합 1% 이상의 면적을 가진 피크들이 10개 이상 관찰되는 수준으로 분석 조건을 최적화하도록 노력해야 한다.

### 3. 분석법 밸리데이션

분석법의 타당성을 평가하기 위해 『대한약전』 일반정보 중 ‘의약품 등 분석법의 밸리데이션에 대한 지침’에 따라 밸리데이션을 실시한다. 밸리데이션은 최소한 특이성(specificity)과 정밀성(precision) 지표로서는 반복성(repeatability) 및 실험실내 정밀성(intermittent precision)을 확보하도록 한다. 성분프로파일 분석을 위한 특이성은 크로마토그램 상 각 피크의 특징(UV, IR, Mass spectrum등)이 특이적으로 확보되는 것을 확인하는 정도로 가능하다.

HPLC 등에서는 다양한 원인에 의해서 피크 유지시간 변동(retention time shift)이 발생할 수 있으며 이는 성분프로파일의 확인 및 평가에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 반복성과 실험실내 정밀성은 크로마토그램 상의 피크면적 뿐 아니라 피크 유지시간에 대해서도 밸리데이션이 수행되어야 한다. 이 때 각각의 항목에 대해 상대표준편차(RSD)는 5% 이하가 되도록 하는 것이 바람직하다. 필요한 경우 내부표준물질을 사용하여 정밀성을 확보할 수 있다.

### 4. 성분프로파일 설정

각 표준시료로부터 얻어진 크로마토그램으로부터 해당 제제의 특징을 가장 잘 반영할 수 있는 다수의 피크를 선정하여 성분프로파일을 만든다. 해당 의약품의 약효 및 독성과 관련하여 알려진 정보가 부족할 경우 일반적으로 일정 수준 이상의 피크를 선정하는 방법이 권장된다.

피크선택 시 다음사항을 고려할 수 있다.

- 생약에 대하여 지표성분이 설정되어 있는 경우에는 가능한 한 이 성분이 선택되도록 한다.
- 활성 및 독성과 관련 있는 중요한 성분이 알려져 있는 경우에는 면적비와 관계없이 가능한 이들 피크는 선택되도록 한다.
- 시료의 특성에 따라 전체 시료들의 크로마토그램 상에서 일정 수준 이상 (RSD < 5%)의 반복성, 실험실내 정밀성이 확보되는 피크 중 일정 수준의 면적비 이상 (예 : 5% 이상)을 갖는 피크들을 선택할 수 있다.
- 전체 피크면적 합이 1% 이상 되는 피크가 가급적 10개 이상 되도록 분석법을 설정하였을 때 선택된 피크들의 면적의 합은 전체 피크면적 합이 최소 50% 이상인 것이 바람직하다.
- 전체 피크 면적 중 선택된 피크 면적의 % 기준을 낮게 할수록 보다 다양한 피크를 반영할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 지나치게 낮은 값을 기준으로 선택할 경우에는 정밀성이 낮아질 수 있고 서로 다른 시료들 간에 동일한 물질의 피크임을 확인하기 어려울 수 있으며 시료의 특징과 관련성이 낮은 피크에 의해 표준 성분프로파일이 영향을 받을 수 있게 된다.
- 성분프로파일에 선택된 피크들에 대해서는 각각의 특징을 나타내는 자외선 스펙트럼 또는 분자량 등에 대한 정보를 확보하도록 한다.
- 단일제의 경우 최소 3개 이상의 피크가 표준 성분프로파일 설정을 위해 고려되어야 한다.
- 복합제의 경우 가능한 한 구성 생약 별로 1개 이상의 피크를 선택하는 것이 바람직하다. 피크 선택 시 앞의 고려사항들을 반영하는 동시에 구성 생약 개수가 n일 때 전체 피크의 개수는 최소  $n + 20$  이상이 되어야 한다

## 5. 표준 성분프로파일 확립

각각의 표준시료들로부터 성분프로파일을 확보하고 그 피크면적 및 유지시간의 평균값 (mean) 또는 중간값 (median)을 구함으로써 표준 성분프로파일에 대한 수치값을 확보한다. 표준 성분프로파일을 포함한 크로마토그램을 확보하는 것은 현실적으로 어려우므로 표준시료들의 크로마토그램을 중첩하여 표시한다.

## PROFILE GUIDELINE

표준 성분프로파일은 각각 다른 경로로 얻어진 생약을 사용한 3 로트 이상의 표준시료에 대해서 시험한 후 얻어지는 분석 결과를 확보한다. 적합한 규격의 생약을 사용했음에도 채집시기나 재배지 등의 차이에 의해 발생할 수 있는 변동 사항이나 제조 과정 중에 발생할 수 있는 허용 가능한 변동 사항을 반영하기 위해서 다양한 시료로부터 성분프로파일을 확보하도록 한다. 다양한 시료를 사용할수록 보다 정확한 대표성을 가질 수 있는 표준 성분프로파일을 얻을 수 있다.

### 6. 성분프로파일의 검증

성분프로파일은 의약품의 구성 생약과 관련된 화학적 특징과 안전성·유효성에 관한 정보를 최대한 종합적으로 반영할 수 있도록 설정되어야 한다. 따라서, 성분프로파일을 얻기 위하여 사용한 크로마토그램과 분석조건과 아울러 성분프로파일을 구성하는 특정 피크의 선택에 대해서도 근거와 타당성을 확보하여야 한다.

또한, 필요한 경우 얻어진 표준 성분프로파일의 대표성에 대한 검증을 실시한다. 평균값과 중간값으로 구한 표준 성분프로파일 간에 큰 차이가 있는 경우 그 원인을 확인한다. 또한, 표준 성분프로파일에서 나타난 피크들 간의 비율이 표준시료에서 얻은 성분프로파일의 피크들의 비율과 유사한지 등을 확인할 필요가 있다. 경우에 따라 해당 성분들이 포함된 저품질 시료 또는 자주 발생하는 불순물이나 대체 성분이 포함된 시료 등의 성분프로파일과 비교하여 구별 가능한지 판단할 필요도 있다.



## IV 기준

### 1. 기준 설정

표준 성분프로파일은 성분프로파일의 적합성 판정의 기준이 된다. 이는 표준 성분프로파일과 동일한 분석조건에서 평가대상이 되는 시료를 로부터 표준 성분프로파일을 얻은 것과 동일한 분석 조건에서 시험하여 성분프로파일을 확보하고 이를 표준 성분프로파일과 얼마나 화학적으로 유사한지 비교함으로써 이루어질 수 있다. 표준 성분프로파일과 평가시료의 성분프로파일 간의 화학적 유사도의 지표로는 두 성분프로파일의 동등상관계수 (correlation coefficient,  $r$ )가 사용된다.

동등상관계수는 표준 성분프로파일 중의 각 피크의 피크면적 (중간값 또는 평균값이 사용될 수 있으며 이에 대한 우선순위를 정하여야 한다)과 분석시료의 성분프로파일 중에 대응하는 각각의 피크의 피크면적의 상관관계를 나타내는 것이다.

Pearson correlation coefficient 는 다음과 같은 식으로 구할 수 있으며

$$r = \frac{\sum XY - \frac{\sum X \sum Y}{N}}{\left( \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N} \right) \left( \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N} \right)}$$

엑셀을 비롯한 SPSS, SAS, Matlab 등 대부분의 통계/수학 관련 software에 계산 기능이 포함되어 있으므로 이를 이용하여 계산한다. 경우에 따라 Spearman correlation coefficient 나 Congruence coefficient를 사용할 수도 있다.

성분프로파일의 적합성 평가는 표준 성분프로파일과 평가시료의 성분프로파일 간의 동등상관계수가 설정된 기준치 이상으로 확보되는지 판단함으로써 이루어진다.

원료의약품으로 사용되는 생약추출물의 경우 동등상관계수 최소 0.900 이상을 확보하는 것을 권

# PROFILE GUIDELINE

장한다. 다만, 타당한 근거가 있을 경우 별도로 기준을 설정할 수 있다. 완제의약품의 경우 제형에 따른 제조공정조건의 변이와 안정성 등을 고려하여 적절하게 설정할 수 있다. 예를 들면, 주사제의 경우 생약추출물과 동일한 r: 0.900 이상의 확보가 요구된다.

## 2. 타당성 검토

성분프로파일은 생약추출물 및 완제의약품의 약효와 품질의 균질성을 보증하는 방법의 일부로 설정·관리되어야 한다. 단순히 품질적합성 확보를 용이하게 하기 위해 동등상관계수의 기준치 또는 피크면적의 변동 허용 범위를 낮추어서는 안되며 허용 가능한 변동 요인을 고려하여 기준을 설정해야 한다.

생약추출물의 경우 다음 사항을 고려하여 화학적유사도 기준을 설정하여야 한다.

- 기원 생약 (herbal substance)의 화학분류학적 특징
- 알려진 활성성분, 독성성분, 지표성분 및 기타 화학적 조성 및 배합의 변이 정도
- 비임상 및 임상에 사용된 로트
- 변이의 임상적 허용 한계치
- 추출물의 제조방법과 공정관리
- 안정성

완제의약품은 추가로 다음 사항을 고려하여 타당하게 설정되어야 한다.

- 생약추출물의 성분프로파일의 품질수준
- 제조방법 및 공정관리
- 안정성



## 생약추출물의 표준성분프로파일 설정 및 평가 예시

### 1. 분석용 표준시료

기존의 활성 연구를 기반으로 의약품 생산을 위한 생약 산지를 결정하였으며 이 산지로부터 각각 다른 판매자를 통해 생약을 입수하여 생약추출물 3 로트를 생산하였다. 생산된 3 로트에서 각각 다른 위치로부터 3개의 분석용 시료를 채취하여 총 9개의 시료에 대해 HPLC-DAD로 분석을 수행하였다.

### 2. 분석조건 확립

Waters ACQUITY® UPLC and PDA detectors로 분석을 수행하였다. 고정상을 선택하기 위해 Capcell Pak C18 UG120 (5 $\mu$ m, 4.5mm x 250mm), Capcell Pak C18 UG120 (5 $\mu$ m, 4.5mm x 150mm), Capcell Pak C18 MG (5 $\mu$ m, 4.5mm x 150mm), XTerra RP18 (5 $\mu$ m, 4.5mm x 150mm), Luna C18 (5 $\mu$ m, 4.5 mm x 150 mm) 및 Motor C18 (5 $\mu$ m, 4.5mm x 150mm)으로 분석을 수행하였으며 이 중 가장 높은 분리능을 보인 Capcell Pak C18 UG120 (5 $\mu$ m, 4.5mm x 150mm)을 고정상으로 하였다. 이동상은 acetonitrile (ACN)과 물의 혼합용액을 사용하고 분리능을 높이기 위해 formic acid를 첨가하였으며 다양한 용매 조성과 gradient/isocratic 조건을 시도하여 최적조건을 도출하였다. 검출파장을 최적화하기 위해 4개의 UV 파장을 적용한 크로마토그램을 비교하였으며 가장 많은 피크들이 가장 높은 감도로 검출될 수 있는 최적 검출 파장을 280nm로 설정하였다.

# PROFILE GUIDELINE

System	Waters ACQUITY® UPLC and PDA detectors
Column	Capcell Pak C18 UG120, 4.6mm x 150 mm, 5 $\mu$ m
Mobile phase	0.1% Formic acid : ACN = 80/20 → 68/32 (20min) → 60/40 (22min) → 80/20 (25min)
Wavelength(nm)	280nm
Flow rate 1.0	mL/min
Sample 10	mg/mL (MeOH)

표 1. HPLC-DAD 분석조건

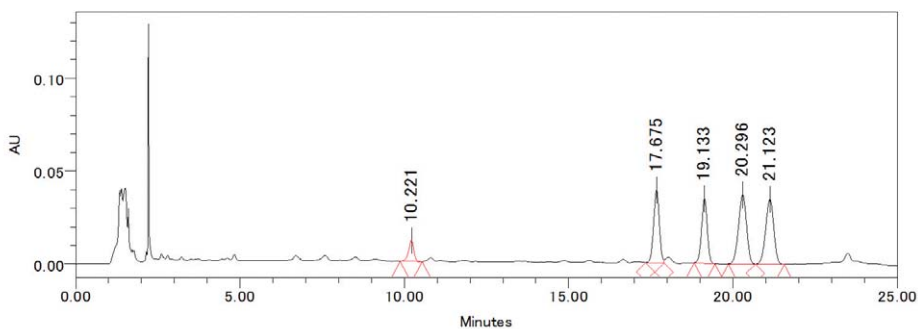


그림 1. 표준시료의 크로마토그램

크로마토그램 상에서 전체 피크 면적 합의 1% 이상의 값을 갖는 5개의 피크를 확인할 수 있었으며 그 외의 다른 피크는 관찰되지 않았다. LC-ESI-MS로 분석하였을 경우에도 TIC 상에서 이들 피크 외에 다른 피크는 관찰되지 않는 것을 확인하였다. 이들 5개 피크를 모두 성분프로파일 확보를 위해 선택하였으며 이들 5개 피크 면적의 합은 전체 피크 면적의 합의 90% 이상이었다. 각각의 피크에 대해 특징적인 UV 스펙트럼을 확보하였다.

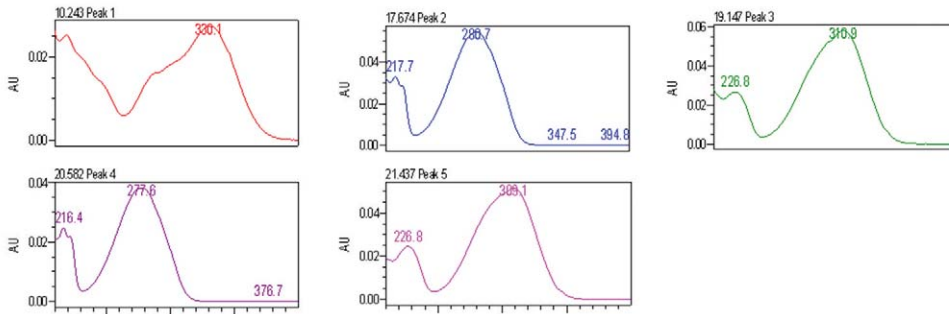


그림 2. 성분프로파일 확보를 위해 선택된 피크들의 UV 스펙트럼

### 3. 분석조건 밸리데이션

#### 1) 특이성 (Specificity)

확립된 분석조건으로 표준시료의 크로마토그램을 확보하고 각각의 피크에 대해 특징적인 자외선 스펙트럼을 확보하였다. 이들 피크의 UV 스펙트럼이 각 로트의 크로마토그램에서 특징적으로 잘 유지되는 것을 확인하였다.

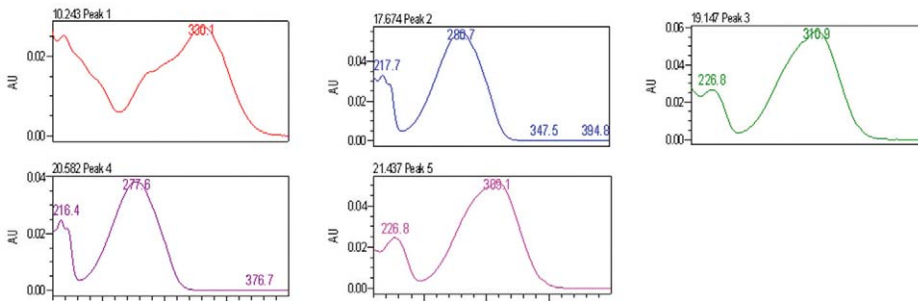


그림 3. 표준 성분프로파일 확보를 위해 선정된 피크들의 UV 스펙트럼

# PROFILE GUIDELINE

## 2) 반복성 (Repeatability)

반복성 확인을 위해 1 로트 시료에서 6회 시료를 취하여 같은 농도로 분석용 시료를 제조하고 같은 날에 이들 시료에 대해 분석을 수행하였다. 각각의 분석을 수행할 때마다 피크 유지시간과 피크 면적을 확보하였으며 가장 넓은 피크면적을 보이는 4번째 피크를 기준으로 하여 상대적 유지시간 (relative retention time, RRT)과 상대적 피크면적 (relative peak area, RPA)도 계산하였다. 유지시간과 피크면적의 측정값과 RRT, RPA 모두에 대해 평균, 표준편차, 상대표준편차를 계산하여 적합한 반복성을 나타내는지 확인하였다. 분석결과 측정값과 상대값 모두에 대해서 유지시간과 피크 면적 모두 RSD < 5%로 높은 반복성을 가진 것을 확인하였다.

Peak	RT						Avg	stdv	RSD
1	10.41	10.391	10.364	10.385	10.448	10.482	10.413	0.044	0.422
2	17.781	17.749	17.751	17.728	17.771	17.839	17.770	0.039	0.217
3	19.233	19.205	19.21	19.188	19.239	19.303	19.230	0.041	0.211
4	20.579	20.583	20.671	20.633	20.783	20.884	20.689	0.121	0.587
5	21.418	21.421	21.523	21.487	21.646	21.739	21.539	0.129	0.598

Peak	RT						Avg	stdv	RSD
1	0.506	0.505	0.501	0.503	0.503	0.502	0.503	0.002	0.342
2	0.864	0.862	0.859	0.859	0.855	0.854	0.859	0.004	0.451
3	0.935	0.933	0.929	0.930	0.926	0.924	0.929	0.004	0.431
4	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000
5	1.041	1.041	1.041	1.041	1.042	1.041	1.041	0.000	0.032

표 2. 유지시간 및 RRT의 반복성

Peak	RT						Avg	stdv	RSD
1	126835	124706	124522	124683	124578	123510	124805.7	1091.3	0.874
2	475340	476365	473856	476606	476622	473155	475324.0	1501.5	0.316
3	423927	425030	394650	396486	406132	403051	408212.7	13283.0	3.254
4	635391	635700	632163	634621	632814	627067	632959.3	3211.2	0.507
5	596579	597393	593839	595429	602027	597304	597095.2	2760.5	0.462

Peak	RT						Avg	stdv	RSD
1	0.200	0.196	0.197	0.196	0.197	0.197	0.197	0.001	0.627
2	0.748	0.749	0.750	0.751	0.753	0.755	0.751	0.002	0.329
3	0.667	0.669	0.624	0.625	0.642	0.643	0.645	0.020	3.026
4	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000
5	0.939	0.940	0.939	0.938	0.951	0.953	0.943	0.007	0.708

표 3. 피크면적 및 RPA의 반복성

### 3) 실험실내 정밀성 (Intermediate Precision)

실험실내 정밀성 확인을 위해 1 로트 시료에서 1일, 3일, 5일째 각각 시료를 취하여 각각 다른 사람이 분석용 시료를 제조하고 분석을 수행하여 유지시간과 피크면적의 실험실내 정밀성을 확인하고자 하였다. 분석결과 측정값과 상대값 모두에 대해서 유지시간과 피크면적 모두 RSD < 5%로 높은 정밀성을 가진 것을 확인하였다.

Peak	RT			Avg	stdv	RSD
1	10.482	10.334	10.451	10.422	0.078	0.749
2	17.839	17.752	17.847	17.813	0.053	0.296
3	19.303	19.213	19.305	19.274	0.053	0.273
4	20.884	20.536	20.596	20.672	0.186	0.900
5	21.739	21.374	21.45	21.521	0.193	0.895

Peak	RT			Avg	stdv	RSD
1	0.502	0.503	0.507	0.504	0.003	0.572
2	0.854	0.864	0.867	0.862	0.007	0.766
3	0.924	0.936	0.937	0.932	0.007	0.758
4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000
5	1.041	1.041	1.041	1.041	0.000	0.033

표 4. 유지 시간 및 RRT의 실험실내 정밀성

# PROFILE GUIDELINE

Peak	RT			Avg	stdv	RSD
1	123510	124286	130351	126049.0	3745.8	2.972
2	473155	476565	477573	475764.3	2315.3	0.487
3	403051	421772	424241	416354.7	11587.3	2.783
4	627067	636572	636056	633231.7	5345.0	0.844
5	597304	601353	600338	599665.0	2106.7	0.351

Peak	RT			Avg	stdv	RSD
1	0.197	0.195	0.205	0.199	0.005	2.598
2	0.755	0.749	0.751	0.751	0.003	0.398
3	0.643	0.663	0.667	0.657	0.013	1.963
4	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000	0.000
5	0.953	0.945	0.944	0.947	0.005	0.506

표 5. 피크 면적 및 RPA의 실험실내 정밀성

## 4. 표준 성분프로파일 확립

세 개의 로트에서 각각 3회씩 시료를 취하여 이들 9개 표준시료에 대해 분석을 수행하고 그 데이터로부터 피크면적을 얻을 수 있었다. 이들 표준시료의 크로마토그램을 중첩하여 비교한 결과 각 피크의 유지시간은 RSD < 0.7%로 비교적 일정한 시간에 용출되는 것을 알 수 있었다. 피크면적의 경우 peak 1, 3, 5는 모두 RSD < 10%로 관찰되었고 peak 2는 1 lot에서 비교적 그 면적 비율이 적었으며 peak 4는 3 lot에서 면적 비율이 높게 관찰되었다. 표준 성분프로파일을 확보를 위하여 이들 피크의 유지시간 및 면적의 평균과 중간값을 확보하였다. Peak 2와 peak 4의 경우 평균값과 중간값에서 차이가 나타났으나 전체적인 경향은 큰 변화는 없었으며 표준시료들과 평균값 및 중간값 피크면적의 동등상관관계를 구한 결과 모두 0.900 이상의 높은 동등상관계수를 보여 표준 성분프로파일이 전체 시료에 대해 어느 정도 대표성을 가지는 것을 확인하였다.

		peak 1	peak 2	peak 3	peak 4	peak 5
1 lot	sample 1	10.448	17.771	19.239	20.783	21.646
	sample 2	10.482	17.839	19.303	20.884	21.739
	sample 3	10.451	17.847	19.305	20.596	21.45
2 lot	sample 1	10.491	17.904	19.371	20.807	21.667
	sample 2	10.501	17.933	19.4	20.651	21.493
	sample 3	10.471	17.935	19.403	20.588	21.432
3 lot	sample 1	10.522	17.953	19.415	20.554	21.394
	sample 2	10.506	17.977	19.441	20.544	21.389
	sample 3	10.508	17.962	19.425	20.555	21.394
Mean		10.5	17.9	19.4	20.7	21.5
Median		10.5	17.9	19.4	20.6	21.5

표 6. 표준시료 유지시간의 평균값/중간값

		peak 1	peak 2	peak 3	peak 4	peak 5
1 lot	sample 1	124578	476622	406132	632814	602027
	sample 2	123510	473155	403051	627067	597304
	sample 3	130351	477573	424241	636056	600338
2 lot	sample 1	145809	660992	404654	654525	557207
	sample 2	147768	665055	406655	659639	569163
	sample 3	147361	669708	407780	663810	573448
3 lot	sample 1	141192	672642	378345	1010245	681004
	sample 2	144464	688015	385482	1027078	694985
	sample 3	141611	678925	381233	1014943	685788
Mean		138516.0	606965.2	399730.3	769575.2	617918.2
Median		141611.0	665055.0	404654.0	659639.0	600338.0

표 7. 표준시료 피크면적의 평균값/중간값

# PROFILE GUIDELINE

표준시료 3 lot로부터 얻어진 9개의 크로마토그램과 피크 유지시간, 피크면적 등을 종합하여 다음과 같은 특징을 갖는 표준 성분프로파일을 확립하였다.

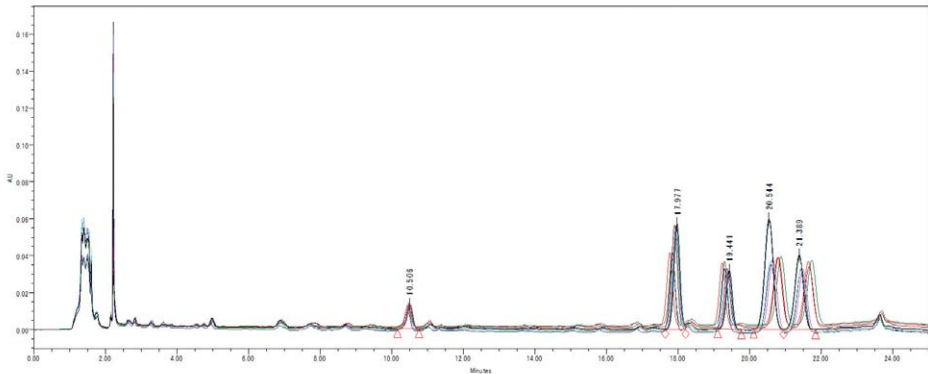


그림 4. 표준시료들의 중첩 크로마토그램

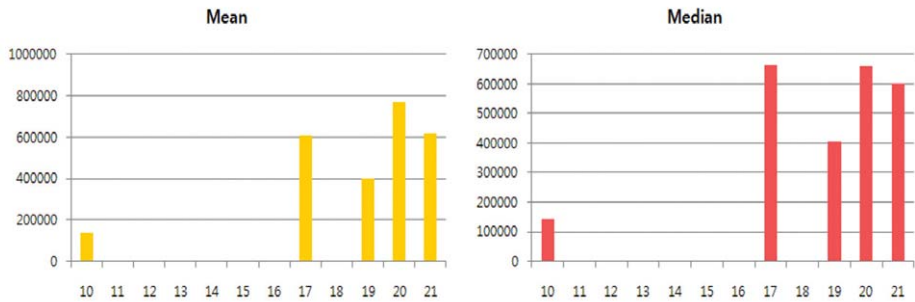


그림 5. 표준 성분프로파일의 피크들의 유지시간 및 피크면적의 평균값 및 중간값

Peak	RRT(mean)	RRT(median)	RPA(mean)	RPA(median)
1	0.507	0.510	0.195	0.205
2	0.865	0.869	0.749	0.751
3	0.937	0.942	0.663	0.667
4	1.000	1.000	1.000	1.000
5	1.039	1.044	0.945	0.944

표 8. 표준 성분프로파일의 각 피크의 유지시간 및 피크면적

## 5. 시료의 성분프로파일 및 평가

표준 성분프로파일은 품질 평가의 기준 또는 화학적 유사도 평가의 기준으로 활용될 수 있다. 표준 성분프로파일과 비교를 위해서는 비교대상 시료의 크로마토그램을 확보하여 표준 성분프로파일에 사용된 피크들과 동일한 피크들을 선택하여 시료의 성분프로파일을 확보한다. 확보된 성분프로파일의 각 피크면적과 표준 성분프로파일 상에서의 피크면적간의 동등상관계수값을 통하여 화학적 유사도를 통계적으로 평가할 수 있다.

예시에서 사용된 시료의 경우 표준 성분프로파일과 비교하기 위해 동일한 분석조건에서 시료에 대해 HPLC 분석을 수행하였다. 표준 성분프로파일에서 해당 피크들의 평균 유지시간인 10.5, 17.9, 19.4, 20.7, 21.5min과 비교하였을 때 분석 시료의 크로마토그램 상에서 비슷한 시간대인 10.7, 18.2, 19.9, 21.0, 22.1min에서 동일한 UV 스펙트럼을 보이는 피크들을 확인하였다. 이들 피크들의 면적값 (표 8)을 확보하여 엑셀을 이용하여 표준 성분프로파일을 구성하는 피크들의 면적값과 동등상관계수 (Pearson correlation coefficient)를 구하였다.

Mean	median	Sample	동등상관계수	Mean	median
138516	141611	140025	Sample	0.9906	0.9857
606965.2	665055	653201			
399730.3	404654	410541			
769575.2	659639	742108			
617918.2	60338	578955			

표 9. 표준 성분프로파일과 비교 대상 시료의 피크 면적 및 동등상관계수 확보

평가대상 시료는 평균값으로 구성된 표준 성분프로파일과 비교하였을 때 0.9906의 동등상관계수를 나타내었으며 중간값으로 얻어진 표준 성분프로파일과 비교하였을 때에는 0.9857의 동등상관계수를 나타내었다. 두 경우 모두에 대해 매우 높은 동등상관계수 (> 0.9800)를 보여 분석 시료가 표준시료들과 화학적으로 매우 유사한 것을 확인할 수 있었다. 실제 적용 시 동등상관계수 측정은 표준 성분프로파일의 중간값 또는 평균값에 대하여 타당한 한가지를 선택하여 적용하도록 한다.

## PROFILE GUIDELINE

### 참고문헌

- ▶ Guidance for industry botanical drug products, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2004.
- ▶ Guidance on equivalence of herbal extracts (Draft), Australian government, Department of Health and Ageing, Therapeutic Goods Administration, 2007.
- ▶ Guideline on quality of herbal medicinal products1/Traditional herbal medicinal products, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP), EMEA, 2006.
- ▶ Li BY, Hu Y, Liang YZ, Xie PS, Du YP. Quality evaluation of fingerprints of herbal medicine with chromatographic data. *Analytica Chimica Acta* 2004; 514: 69–77.
- ▶ Li Y, Wu T, Zhu J, Wan L, Yu Q, Li X, Cheng Z, Guo C. Combinative method using HPLC fingerprint and quantitative analyses for quality consistency evaluation of an herbal medicinal preparation produced by different manufacturers. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2010; 52: 597–602.
- ▶ Mok DKW, Chau FT. Chemical information of Chinese medicines: A challenge to chemist. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 2006; 82: 210–217.
- ▶ Xie Y, Jiang ZH, Zhou H, Cai X, Wong YF, Liu ZQ, Bian ZX, Xu HX, Liu L. Combinative method using HPLC quantitative and qualitative analyses for quality consistency assessment of a herbal medicinal preparation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2007; 43: 204–212.





# 생약한약제제의 성분 프로파일 설정 가이드라인

---

발 행 일 : 2010년 10월

편집위원장 : 바이오생약국장 이정석

편 집 위 원 : 식품의약품안전청 바이오생약심사부

장승엽, 강신정, 이종필, 강인호, 김세은, 오세욱, 이호연,

장정인, 신진선, 이보라, 기현아

식품의약품안전청 한약정책과

권기태, 이주헌, 오운환, 손성구

생약·한약제제의 품질동등성확보 협의체

강문규, 김현정, 박희범, 손미원, 유현승, 이정범, 이태운,

장준희, 정현근, 조영주, 성상현, 김승현

발행부서 : 바이오생약국 바이오생약심사부 생약제제과

---



안심주고 기쁨주는 식의약품 종합정보서비스

**KIFDA** Korea Internet  
Food & Drug Administration

[www.kifda.go.kr](http://www.kifda.go.kr)