

# 대한민국약전 일부개정고시

## 1. 개정이유

「대한민국약전」 기준·규격을 국제조화하여 유전자재조합 의약품의 품질관리를 합리적으로 개선하고, 연구개발사업 결과 등을 반영하여 생약 및 생약제제 중 일부 기준·규격 및 일반시험법을 최신 과학수준 및 국제적 추세에 맞게 개선함으로써 기준·규격을 선진화하고 우수한 품질의 의약품이 유통될 수 있도록 함

## 2. 주요내용

- 가. 「가자」 등 17품목의 기준·규격 개선(안 별표4)
- 나. 「에리스로포이에틴 농축액」 중 확인시험, 순도시험, 정량법의 시험조건 개선(안 별표4)
- 다. 「필그라스티프 농축액」 중 유연물질의 시험조건 변경 및 시스템적합성 개선(안 별표4)
- 라. 「필그라스티프 주사액」을 신설하여 유전자재조합 의약품의 품질관리 및 국제조화 도모(안 별표4)

## 3. 기타 참고사항

- 가. 관계법령: 약사법
- 나. 예산조치: 별도조치 필요 없음
- 다. 합 의: 해당사항 없음
- 라. 기 타: (1) 행정예고( '21.5.14 ~ '21.7.12) 결과 특기사항 없음  
(2) 규제심사: 신설·강화 규제 없음

## 식품의약품안전처 고시 제2021 - 61호

「약사법」 제51조제1항에 따른 「대한민국약전」(식품의약품안전처고시 제2021-18호, 2021. 3. 10.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2021년 7월 15일  
식품의약품안전처장

### 대한민국약전 일부개정고시

대한민국약전 [별표 4] 의약품각조 제2부 일부를 다음과 같이 개정한다.

가자의 기원 중 “Retzins.” 를 “Retz.” 로 하고, “*Terminalia chebula* Retzins var. *tomentella* Kurt.” 를 “*Terminalia chebula* var. *tomentella* (Kurz) C.B.Clarke” 로 한다.

견우자의 확인시험 중 “디클로로메탄·메탄올·포름산혼합액(10 : 9 : 4)” 을 “디클로로메탄·메탄올·포름산혼합액(93 : 9 : 4)” 으로 하고, “105 ℃에서 가열할 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 어두운 보라색의 반점과” 를 “105 ℃에서 5분 간 가열할 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 반점과” 로 한다.

당삼의 기원 중 “Nannfeldt” 를 “(Franch.) Nannf.” 로 하고, “Nannfeldt” 를 “Nannf.” 로 하고, “L. T. Shen” 을 “L.T.Shen” 으로 한다.

도인의 기원 중 “Batsch” 를 “(L.) Batsch” 로 하고, “Franchet” 를 “(Carrière) Franch.” 로 한다.

백선피의 기원 중 “Turczaininov” 를 “Turcz.” 로 한다.

백출의 기원 중 “백출(白朮)” 을 “큰꽃삼주” 로 하고, “Koidzumi” 를 각각 “Koidz.” 으로 한다.

부자의 순도시험 중 “헥산·아세트산에틸혼합액(1 : 1)을 전개 용매” 를 “시클로헥산·아세트산에틸·트리에틸아민·메탄올혼합액(6 : 2 : 2 : 1)을 전개용매” 로 하고, “드라겐도르프시액을 고르게 뿌릴 때” 를 “자외선(주파장 254 nm)을 쬐일 때” 로 한다.

오가피의 기원 중 “Seeman” 을 “(Rupr. et Maxim.) Seem.” 으로 한다.

오매의 기원 중 “열매로서 연기를 쬐인 것이다” 를 “열매로서 적절한 방법으로 말린 것이다” 로 하고, 순도시험 중 “4) 벤조피렌 5 ppb 이하” 를 신설하고 시험방법을 [별지 1]과 같이 한다.

우황의 정량법 중 “검액 및 표준액 5 μL씩” 을 “검액 및 표준액 10 μL씩” 으로 하고, “메탄올·물·아세트산혼합액(900 : 98 : 2)” 을 “메탄올·물·아세트산혼합액(450 : 49 : 1)” 으로 한다.

음양곽의 기원 중 “*brevicornum*” 을 “*brevicornu*” 로 하고, “Maximowicz” 을 각각 “Maxim.” 으로 하며, “T. S. Ying” 를 “T.S.Ying” 로 한다.

택란의 기원 중 “Turczaininov” 를 “Turcz. ex Benth.” 로 한다.

택사의 기원 중 “Juzepzuk” 를 “(Sam.) Juz.” 로 한다.

창출의 기원 중 “De Candlle” 를 “DC.” 로 하고, “Koidzumi” 를 “Koidz.” 로 한다.

초과의 순도시험 중 “4) 벤조피렌 5 ppb 이하” 를 신설하고 시험방법을 [별지 1]과 같이 한다.

황련의 기원 중 “Franchet” 을 “Franch.” 로 하고, “C. Y. Cheng et Hsiao” 를 “C.Y.Cheng et P.K.Hsiao” 로 하고, 성상 중 “잔기가 있으며 그 대부분은 그을려 있다.” 를 “잔기가 때로 남아 있다.” 로 한다.

후박의 기원 중 “*ovobata*” 를 “*obovata*” 로 하고, Thunberg” 를 “Thunb.” 로 한다.

에리스로포이에틴 농축액(유전자재조합) 중 일부를 아래와 같이 개정한다.

확인시험 4) 중 “부틸실릴실리카겔을 충전한다” 를 “말단 차단된 부틸실릴실리카겔을” 로 한다.

순도시험 1) 중 “분리도액” 을 다음과 같이 신설한다.

분리도액: 에리스로포이에틴의 크기배제크로마토그래피 시스템적합성용 표준품을 이동상으로 희석하여 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다.

본문 중 표준액의 “검액” 을 “분리도액” 으로 하고, 조작조건에 “60 cm” 을 “30 cm” 로 하며, “검액을 주입한 다음 60 분” 을 “에리스로포이에틴 단량체 유지시간의 2배” 로 하고, “분리도” 를 다음과 같이 신설한다.

분리도: 분리도액 크로마토그램에서 에리스로포이에틴 이량체와 단량체의 분리도는 최소 1.5 이상이어야 한다.

정량법 1)에 “에리스로포이에틴의 함량 (mg/mL)” 을 다음과 같이 신설한다.

$$\text{에리스로포이에틴의 함량 (mg/mL)} = \frac{A_{280} \times D}{EC}$$

A<sub>280</sub>: 파장 280nm에서의 흡광도

D: 희석배수

EC: 0.743(에리스로포이에틴 흡광계수)

필그라스티م 농축액(유전자재조합) 중 일부를 아래와 같이 개정한다.

순도시험 4) 유연물질 본문 중 희석 용액을 삭제하고, “0.2 mg/mL” 를 각각 “0.5 mg/mL” 로 하며, “희석용액으로” 를 “물로” 로, “표준액” 을 “표준액(a)” 로, “시스템 적합성 확인 용액” 을 “표준액(b)” 로, “표준액 500 μL” 를 “표준액(a) 250 μL” 로, “1.5 mg” 를 “1.9 mg” 로 한다.

“표준액(c)” 를 다음과 같이 신설한다.

표준액(c): 표준액(a) 250 μL에 디티오프레이톨 0.25 mg을 넣고 혼합하여 35±2℃에서 60분 동안 반응한다.

본문 중 “2.0 %” 를 “1.0 %” 로, “3.5 %” 를 “2.0 %” 로, “0.85” 를 “0.84” 로, “0.95” 를 “0.98” 로, “1.1” 을 “1.04” 로 하고, 이동상 A의 “물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (89.9 : 10 : 0.1)” 을 “물·트리플루오로아세트산 혼합액 (999 : 1)” 로, 이동상 B의 “물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (19.9 : 80 : 0.1)” 를 “물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (99 : 900 : 1)” 로 한다.

다음의

표를,

시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건
0 ~ 35	34 → 27	66 → 73	선형 농도기울기
35 ~ 50	27 → 10	79 → 90	선형 농도기울기
50 ~ 60	10 → 34	90 → 66	선형 농도기울기

다음의 표로 한다.

시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건
0 ~ 30	60 → 20	40 → 80	선형 농도기울기
30 ~ 35	20	80	선형 농도기울기
35 ~ 45	20 → 60	80 → 40	선형 농도기울기

본문 중 유량은 “0.6 mL/분” 을 “0.8 mL/분” 로, “시스템적합성” 을 삭제하고, 다음과 같이 신설한다.

시스템 적합성(b)

표준액(b)에서 펄그라스티피크의 대칭계수는 1.8 이하이다.

표준액(b)에서 피크 대 골짜기 비율은 2.0 이상이다.

시스템 적합성(c)

표준액(c)에서 펄그라스티피크와 환원된 펄그라스티피크의 분리도는 1.5 이상이다.

표준액(c)에서 펄그라스티피크의 대칭계수는 1.8 이하이다.

순도시험 본문 중 “5) 엔도톡신”을 “엔도톡신”으로 하고, “EU”를 “IU”로 한다.  
필그라스팀 주사액(유전자제조합)을 [별지 2]와 같이 신설한다.

## 부 칙

제1조(시행일) 이 고시는 고시 후 3개월이 경과한 날부터 시행한다. 다만, [별표 4] 의약품각조 제2부 ‘오매’ 및 ‘초과’의 순도시험 중 벤조피렌 기준은 고시 후 1년이 경과한 날부터 시행한다.  
제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 후 최초로 의약품 제조업자가 제조하거나 수입자가 수입한 의약품부터 적용한다.

[별지 1]

## 벤조피렌시험법

이 약 500 ~ 600 g을 분쇄하여 균질화 한 후 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물 100 mL를 넣어 60 분간 초음파 추출한다. 여기에 헥산 100 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 60 분간 초음파 추출한 후 원심분리(3,200 g, 10분)하여 헥산층을 분액깔대기(I)에 옮긴다.

분액깔대기(I)의 헥산층에 *N,N*-디메틸포름아미드·물혼합액(9 : 1) 50 mL를 넣고 진탕 추출 후 *N,N*-디메틸포름아미드·물혼합액(9 : 1)층을 분액깔대기(II)에 옮긴다(3회 반복). 분액깔대기(II)에 1% 황산나트륨용액 100 mL를 넣고 진탕한 후 헥산 50 mL를 넣고 진탕한 후 정치하여 분리된 헥산층을 분액깔대기(III)로 옮긴다. 분액깔대기(II)에 헥산 35 mL를 넣고 진탕 추출한 다음 헥산층을 분액깔대기(III)에 합한다(2회 반복). 분액깔대기(III)의 헥산층에 물 50 mL를 넣어 세척하고, 헥산층을 무수황산나트륨 약 30 g으로 탈수 여과한 다음 45 °C의 수욕에서 감압(70 kPa)하여 헥산이 약 2 mL가 될 때까지 농축한다. 플로리실 카트리지(1 g, 6 mL)는 미리 디클로로메탄 10 mL 및 헥산 20 mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 다음 사용한다. 활성화된 카트리지에 추출용액을 넣어 헥산·디클로로메탄혼합액(3 : 1) 20 mL를 초당 2~3 방울의 속도로 용출시킨다. 이 용출된 액을 35 °C 이하의 수욕에서 질소가스 하에 날려 보낸 다음 잔류물을 아세토니트릴 1 mL로 용해한 후 0.45 μm의 시린지 필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 벤조피렌표준품 및 3-메틸콜란트렌표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μg을 함유하는 표준원액 및 내부표준원액을 만든다. 이 표준원액 및 내부표준원액은 5 ~ 15 °C에서 저장하며 30 일 이내에 쓴다. 이 표준원액과 내부표준원액 적당량을 정확하게 취하여 아세토니트릴로 mL 당 3, 5, 10, 20 및 40 ng의 벤조피렌과 각각 50 ng의 내부표준물질이 함유되도록 희석하여 표준액으로 한다. 이 때 검액의 검출농도가 검량선의 범위를 벗어나면 표준액의 농도가 검량선의 범위에 들어오도록 농도를 조정한다. 검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 표준액에서 얻은 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [ $A_S/A_{IS}$ ]를 Y축으로 하고 벤조피렌의 농도를 X축으로 하여 만든 검량선을 작성하고, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 [ $A_{SAM}/A_{SAMIS}$ ]를 Y축에 대입하여 벤조피렌의 농도를 구한다.

$A_S$  : 검량선 표준액의 표준물질 피크면적

$A_{IS}$  : 검량선 표준액의 내부표준물질 피크면적

$A_{SAM}$  : 검액의 벤조피렌 피크면적

$A_{SAMIS}$  : 검액의 내부표준물질 피크면적

내부표준액 3-메틸콜란트렌 표준품을 정밀하게 달아 아세토니트릴에 녹여 1 mL 중 50 ng을 함유하는 용액을 만든다.

○ 시약 및 시액 본 실험에 사용한 물은 3차 증류수 이상의 것을 사용하고, 시약은 잔류농약시험용 이상의 것을 사용한다.

### 조작조건

검출기 : 형광광도계(여기파장 294 nm, 형광파장 404 nm)

칼 럼 : Supelcosil LC-PAH (4.6 × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 37 °C

이동상 : 아세토니트릴 · 물혼합액(4 : 1)

유 량 : 1.0 mL/분

**필그라스티م 주사액(유전자재조합)**  
Filgrastim solution for Injection (rDNA)

MTPLGPASSL PQSFLLKCLE QVRKIQGDGA ALQEKLCATY  
KLCHPEELVL LGHSLGIPWA PLSSCPSQAL QLAGCLSQLH  
SGLFLYQGLL QALEGISPEL GPTLDTLQLD VADFATTIWQ  
QMEELGMAPA LQPTQGAMPA FASAFORRAG GVLVASHLQS  
FLEVSRYRVLRL HLAQP

C<sub>845</sub>H<sub>1339</sub>N<sub>223</sub>O<sub>243</sub>S<sub>9</sub> : 18799

이 약은 사람 과립구집락자극인자(Human granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)의 1차 구조 중 N말단에 1개의 메티오닌 (N-terminal methionine)을 추가시킨 단백질 무균제제이다.

이 약을 정량할 때 함량은 표시량의 90.0 ~ 110.0 %이며, 역가는 표시량의 80 ~ 125 % 이다.

**성 상** 이 약은 무색 투명하거나 혹은 약간 황색의 맑은 액체이다.

**확인시험** 1) **역가시험** 이 약을 정량법에 따라 시험할 때 생물학적 활성이 확인되어야 한다.

2) **순도시험** 유연물질에 따라 시험할 때 검액의 크로마토그램에서 나타나는 주피크의 유지시간 및 모양이 표준액의 크로마토그램과 유사하여야 한다.

**순도시험** 1) **고분자단백**

검액: 이 약을 아세트산 완충액에 녹여 단백질 농도가 0.2 mg/mL 가 되도록 한다. 이 약을 녹이는데 사용하는 아세트산 완충액은 4.1 g의 아세트산 나트륨을 400 mL의 물에 녹인 후, 아세트산을 이용하여 pH 4.0으로 맞춘 다음, 최종 부피가 500 mL가 되도록 물로 희석한다.

표준액: 필그라스티م 표준품을 아세트산 완충액에 녹여 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다.

시스템 적합성 확인용액: 표준액을 30초간 강하게 교반하여 사용한다. 검액 및 표준액 20 μL 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 검액의 주피크보다 앞에 검출되는 피크 중 이량체를 제외한 피크는 0.5 % 이하, 모든 피크 면적의 합은 전체 피크면적 합의 1.0 % 이하이다. 필그라스티م 단량체 피크의 유지시간은 표준액 단량체 피크의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 각 중합체의 상대 유지시간은 응집체 약 0.60, 필그라스티م 다량체 1 약 0.75, 필그라스티م 다량체 2 약 0.80, 필그라스티م 이량체 약 0.85 이다.

**조작조건**

검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 215 nm)

칼럼: 안지름 약 7.8 mm, 길이 약 30 cm인 스테인레스강관에 5 μm의 액체크로마토그래프용



친수성실리카겔이 충전된 칼럼

칼럼온도: 30 °C 부근의 일정 온도

이동상: 탄산수소암모늄 7.9 g을 1 L의 물에 녹이고, 인산으로 pH 7.0으로 조정한다. 다음, 물을 넣어 2 L가 되도록 한다.

유량: 0.5 mL/분

시스템 적합성

시스템 적합성 확인용액에서 펄그라스티프 단량체 피크의 유지시간은 17 ~ 20분이 되도록 하고, 펄그라스티프 이량체와 단량체 피크의 분리능은 3 이상이다.

## 2) 전하변이체(등전점 전기영동법)

희석 용액: 10 mM 라이신, 10 mM 아르기닌, 7.5 % 글리세롤 용액을 제조한다.

검액: 이 약을 농도가 0.15 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.

표준액(a): 펄그라스티프 표준품을 0.15 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.

표준액(b): 펄그라스티프 표준품을 0.015 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.

검액 및 표준액 20  $\mu$ L씩을 가지고 다음 조건으로 등전점 전기영동법에 따라 시험할 때, 검액으로부터 얻어 전기영동도의 주밴드 이외의 어떤 밴드도 표준액(b)로부터 얻은 전기영동도의 주밴드보다 진하지 않다(10 %).

### 조작조건

pH 기울기: 5.0 ~ 7.0

음극액: 40 mM 라이신, 40 mM 아르기닌 용액

양극액: 7 mM 인산용액

검출: 쿠마시브릴리안트 블루 염색용액으로 염색한다.

시스템 적합성

등전점 마커는 겔의 전체에 고루 분포하여야 하며, 표준액(a)로부터 얻은 전기영동도에서 주밴드의 등전점은 5.7 ~ 6.3 이다.

## 3) 유연물질

검액: 이 약을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 물로 희석한다.

표준액(a): 펄그라스티프 표준품을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 물로 희석한다.

표준액(b): 표준액(a) 250  $\mu$ L에 4.5 g/L 과산화수소수 2.5  $\mu$ L를 첨가하고 섞어서 25  $\pm$  2 °C에서 30분 동안 둔 다음, L-메티오닌 1.9 mg을 첨가한다.

표준액(c): 표준액(a) 250  $\mu$ L에 디티오프레이톨 0.25 mg을 넣고 혼합하여 35  $\pm$  2 °C에서 60분 동안 반응한다.

검액 및 표준액 50  $\mu$ L 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 각 유연물질의 피크면적은 전체 피크면적 합의 3.0 % 이하이다. 모든 유연물질의 피크면적의 합은 전체 피크면적 합의 6.5 % 이하이다. 펄그라스티프 주피크의 유지시간(약 23분)은 표준액 주피크

의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 유연물질의 상대 유지시간은 산화형 1 약 0.84, 산화형 2 약 0.98, 환원된 펠그라스티움 약 1.04 이다.

**조작조건**

검출기: 자외부흡광광도계 (측정과장 215 nm)

칼럼: 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 15 cm인 스테인레스강관에 5 μm의 액체크로마토그래프용 부틸실릴실리카겔이 충전된 칼럼

칼럼온도: 60 °C 부근의 일정 온도

이동상: 이동상 A 및 이동상 B를 가지고 다음과 같이 단계적 또는 농도기울기적으로 제어한다.

이동상 A - 물:트리플루오로아세트산 혼합액 (999 : 1)

이동상 B - 물:아세트니트릴:트리플루오로아세트산 혼합액 (99 : 900 : 1)

시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건
0 ~ 30	60 → 20	40 → 80	선형 농도기울기
30 ~ 35	20	80	선형 농도기울기
35 ~ 45	20 → 60	80 → 40	선형 농도기울기

유량: 0.8 mL/분

시스템 적합성

표준액(b)에서 펠그라스티움피크의 대칭계수는 1.8 이하이며, 피크 대 골짜기 비율은 2.0 이상이다.

표준액(c)에서 펠그라스티움의 대칭계수는 1.8 이하이며, 펠그라스티움과 환원된 펠그라스티움 피크의 분리도는 1.5 이상이다.

**무균시험** 시험할 때 적합하여야 한다.

**엔도톡신** 이 약은 펠그라스티움 1.0 mg 당 10 IU 이하이다.

**불용성이물시험** 시험할 때 적합하여야 한다.

**주사제의 불용성미립자시험** 시험할 때 적합하여야 한다.

**주사제의 실용량시험** 시험할 때 적합하여야 한다.

**정 량 법** 1) **단백질 함량:** 순도시험의 유연물질의 검액 및 표준액의 크로마토그램 결과를 이용하여 펠그라스티움 표준품의 표시량으로부터 검체의 펠그라스티움 양을 계산한다.

2) **역가:** 이 약의 활성은 펠그라스티움 국제표준품 또는 국제단위 (IU)로 보정된 펠그라스티움 표준액과 비교하여 IU로 표현한다.

역가는 다음의 시험법으로 수행하며 이때 검액과 표준액의 희석 농도, 세포 수, 배양 시간 등의 시험조건은 달라질 수 있다. 타당성이 검증된다면 루시페라제를 이용한 세포내 ATP 측정과 같은 대체시험법을 사용할 수 있다.

펠그라스티움에 반응하는 잘 정립된 세포주 (예, M-NFS-60 세포(ATCC No. CRL-1838))를

사용해야 한다. 검액과 표준액을 적절하게 희석하여 배양한 후, 테트라졸리움염 용액을 넣어 추가 배양한다. 이때 검액과 표준액의 펄그라스티민은 세포증식에 영향을 미치며 세포증가에 따라 세포내 탈수소효소도 증가한다. 테트라졸리움염은 탈수소화효소에 의해 유색의 포르마잔 생성물을 형성하게 되고, 이 포르마잔의 양을 분광광도법으로 측정한다.

96-웰 마이크로플레이트의 모든 웰에 희석용 배지 50  $\mu\text{L}$ 를 채운다. 공시험용 웰에는 희석용 배지 50  $\mu\text{L}$ 를 추가로 첨가한다. 시험 시료를 세 개의 웰에 각각 50  $\mu\text{L}$  첨가한다(시험 시료는 800 IU/mL 농도의 검액과 표준액 그리고 순차적으로 2배씩 희석한 용액 총 10개).

M-NFS-60세포의 현탁액을  $7 \times 10^5$ 개 세포/mL가 되도록 준비한다. 사용하기 직전에 2-메르캅토에탄올을 최종 농도가 0.1 mmol/L이 되도록 첨가한다. 각 웰에 준비된 세포 현탁액을 50  $\mu\text{L}$ 씩 첨가한다. 이 때, 첨가하는 동안 세포가 균일한 현탁액을 유지하도록 한다.

세포배양 플레이트를  $6 \pm 1$  %  $\text{CO}_2$  농도가 유지되는 배양기에서 36.0 ~ 38.0  $^{\circ}\text{C}$ 로 44 ~ 48시간 동안 배양한다. 배양 후, 5.0 g/L의 멸균한 테트라졸리움염 용액 20  $\mu\text{L}$ 를 각 웰에 첨가하고 다시 4시간 동안 배양한다. 생성된 포르마잔의 양을 마이크로플레이트 측정 장치를 이용하여 490 nm 파장에서 측정한다.

평행선 검정을 이용한 통상적인 통계방법을 이용하여 검액의 역가를 계산한다. 측정된 역가는 표시 역가의 80 ~ 125 %이다. 95 % 신뢰구간은 측정된 역가의 74 ~ 136 %이다.

**저 장 법** 밀봉용기 (2 ~ 8  $^{\circ}\text{C}$ ).

「대한민국약전」 일부개정고시 변경대비표

신.구조문 대비표

[별표 4] 의약품각조 제2부

현 행	개 정 안
<b>가자(訶子)</b> <b>Terminalia Fruit</b>  Terminaliae Fructus 이 약은 가자 (訶子) <i>Terminalia chebula</i> Retzins 또는 용모가자 (絨毛訶子) <i>Terminalia chebula</i> Retzins var. <i>tomentella</i> Kurt. (사군자과 Combretaceae)의 잘 익은 열매이다.	<b>가자(訶子)</b> <b>Terminalia Fruit</b>  Terminaliae Fructus 이 약은 가자 (訶子) <i>Terminalia chebula</i> Retz. 또는 용모가자 (絨毛訶子) <i>Terminalia chebula</i> var. <i>tomentella</i> (Kurz) C.B.Clarke (사군자과 Combretaceae)의 잘 익은 열매이다.
<b>견우자(牽牛子)</b> <b>Pharbitis Seed</b>  (생략) <b>성 상</b> (생략) <b>확인시험</b> (생략) 검액 및 표준액 10 μL씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 디클로로메탄·메탄올·포름산혼합액(10 : 9 : 4)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 인몰리브덴산·무수에탄올시액(1 → 20)을 고르게 뿌린 다음 105 ℃에서 가열할 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 어두운 보라색의 반점과 색상 및 R <sub>f</sub> 값이 같다.	<b>견우자(牽牛子)</b> <b>Pharbitis Seed</b>  (현행과 같음) <b>성 상</b> (현행과 같음) <b>확인시험</b> (현행과 같음) 검액 및 표준액 10 μL씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 디클로로메탄·메탄올·포름산혼합액(93 : 9 : 4)을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 인몰리브덴산·무수에탄올시액(1 → 20)을 고르게 뿌린 다음 105 ℃에서 5분간 가열할 때 검액에서 얻은 여러 개의 반점 중 1 개의 반점은 표준액에서 얻은 반점과 색상 및 R <sub>f</sub> 값이 같다.
<b>당삼(黨參)</b> <b>Codonopsis Pilosula Root</b>  Codonopsis Pulosulae Radix 이 약은 만삼 <i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt, 소화당삼 (素花黨參) <i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt var. <i>modesta</i> L. T. Shen 또는 천당삼 (川黨參) <i>Codonopsis tangshen</i> Oliver (초롱꽃과 Campanulaceae)의 뿌리이다.	<b>당삼(黨參)</b> <b>Codonopsis Pilosula Root</b>  Codonopsis Pulosulae Radix 이 약은 만삼 <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf., 소화당삼 (素花黨參) <i>Codonopsis pilosula</i> Nannf. var. <i>modesta</i> L.T.Shen 또는 천당삼 (川黨參) <i>Codonopsis tangshen</i> Oliver (초롱꽃과 Campanulaceae)의 뿌리이다.
<b>도인(桃仁)</b> <b>Peach Kernel</b>	<b>도인(桃仁)</b> <b>Peach Kernel</b>

현 행	개 정 안
<p>Persicae Semen 이 약은 복숭아나무 <i>Prunus persica</i> <u>Batsch</u> 또는 산복사 <i>Prunus davidiana</i> <u>Franchet</u> (장미과 Rosaceae)의 잘 익은 씨이다.</p>	<p>Persicae Semen 이 약은 복숭아나무 <i>Prunus persica</i> (L.) <u>Batsch</u> 또는 산복사 <i>Prunus davidiana</i> (Carrière) <u>Franch.</u> (장미과 Rosaceae)의 잘 익은 씨이다.</p>
<p><b>백선피(白鮮皮)</b> <b>Dictamnus Root Bark</b></p>	<p><b>백선피(白鮮皮)</b> <b>Dictamnus Root Bark</b></p>
<p>Dictamni Radicis Cortex 이 약은 백선 <i>Dictamnus dasycarpus</i> <u>Turczaininov</u> (운향과 Rutaceae)의 뿌리껍질이다.</p>	<p>Dictamni Radicis Cortex 이 약은 백선 <i>Dictamnus dasycarpus</i> <u>Turcz.</u> (운향과 Rutaceae)의 뿌리껍질이다.</p>
<p><b>백출(白朮)</b> <b>Atractylodes Rhizome White</b></p>	<p><b>백출(白朮)</b> <b>Atractylodes Rhizome White</b></p>
<p>Atractylodis Rhizoma Alba 이 약은 삼주 <i>Atractylodes japonica</i> <u>Koidzumi</u> 또는 백출 (白朮) <i>Atractylodes macrocephala</i> <u>Koidzumi</u> (국화과 Compositae)의 뿌리줄기로서 그대로 또는 주피를 제거한 것이다.</p>	<p>Atractylodis Rhizoma Alba 이 약은 삼주 <i>Atractylodes japonica</i> <u>Koidz.</u> 또는 큰꽃삼주 <i>Atractylodes macrocephala</i> <u>Koidz.</u> (국화과 Compositae)의 뿌리줄기로서 그대로 또는 주피를 제거한 것이다.</p>
<p><b>부자(附子)</b> <b>Prepared Aconite</b></p>	<p><b>부자(附子)</b> <b>Prepared Aconite</b></p>
<p>(생략) <b>제 법 ~ 확인시험</b> (생략) <b>순도시험 1) 중금속 ~ 3) 이산화황</b> (생략) 4) 아코니틴 (생략) 검액 및 표준액 5 μL씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 <u>헥산·아세트산에틸혼합액(1 : 1)</u>을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 <u>트라켄도르프시액</u>을 고르게 뿌릴 때 검액의 반점은 표준액의 반점보다 진하지 않다.</p> <p><b>저 장 법</b> (생략)</p>	<p>(현행과 같음) <b>제 법 ~ 확인시험</b> (현행과 같음) <b>순도시험 1) 중금속 ~ 3) 이산화황</b> (현행과 같음) 4) 아코니틴 (현행과 같음) 검액 및 표준액 5 μL씩을 박층크로마토그래프용실리카겔을 써서 만든 박층판에 점적한다. 다음에 <u>시클로헥산·아세트산에틸·트리에틸아민·메탄올혼합액(6 : 2 : 2 : 1)</u>을 전개용매로 하여 약 10 cm 전개한 다음 박층판을 바람에 말린다. 여기에 <u>자외선 (주파장 254 nm)</u>을 쬐일 때 검액의 반점은 표준액의 반점보다 진하지 않다.</p> <p><b>저 장 법</b> (현행과 같음)</p>
<p><b>오가피(五加皮)</b> <b>Acanthopanax Root Bark</b></p>	<p><b>오가피(五加皮)</b> <b>Acanthopanax Root Bark</b></p>
<p>Acanthopanax Cortex 이 약은 오갈피나무 <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> <u>Seeman</u> 또는 기타 동속식물 (두릅나무과 Araliaceae)의 뿌리껍질 및 줄기껍질이다.</p>	<p>Acanthopanax Cortex 이 약은 오갈피나무 <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> (Rupr. et Maxim.) <u>Seem.</u> 또는 기타 동속식물 (두릅나무과 Araliaceae)의 뿌리껍질 및 줄기껍질이다.</p>
<p><b>오매(烏梅)</b> <b>Mume Fruit</b></p>	<p><b>오매(烏梅)</b> <b>Mume Fruit</b></p>

현 행	개 정 안
<p>Mume Fructus 이 약은 매실나무 <i>Prunus mume</i> Siebold et Zuccarini (장미과 Rosaceae)의 덜 익은 열매로서 연기를 쪄낸 것이다.</p> <p>성 상 ~ 확인시험 (생략) 순도시험 1) ~ 3) (생략) &lt;신설&gt;</p>	<p>Mume Fructus 이 약은 매실나무 <i>Prunus mume</i> Siebold et Zuccarini (장미과 Rosaceae)의 덜 익은 열매로서 적절한 방법으로 말린 것이다.</p> <p>성 상 ~ 확인시험 (현행과 같음) 순도시험 1) ~ 3) (현행과 같음)</p> <p>4) <b>벤조피렌</b> 5 ppb 이하. 다만, 시험방법은 다음과 같이 한다. 이 약 500 ~ 600 g을 분쇄하여 균질화 한 후 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물 100 mL를 넣어 60 분간 초음파 추출한다. 여기에 헥산 100 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 60 분간 초음파 추출한 후 원심분리(3,200 g, 10분)하여 헥산층을 분액깔대기(I)에 옮긴다. 분액깔대기(I)의 헥산층에 <i>N,N</i>-디메틸포름아미드·물 혼합액(9 : 1) 50 mL를 넣고 진탕 추출 후 <i>N,N</i>-디메틸포름아미드·물 혼합액(9 : 1)층을 분액깔대기(II)에 옮긴다(3회 반복). 분액깔대기(II)에 1% 황산나트륨 용액 100 mL를 넣고 진탕한 후 헥산 50 mL를 넣고 진탕한 후 정지하여 분리된 헥산층을 분액깔대기(III)로 옮긴다. 분액깔대기(II)에 헥산 35 mL를 넣고 진탕 추출한 다음 헥산층을 분액깔대기(III)에 합한다(2회 반복). 분액깔대기(III)의 헥산층에 물 50 mL를 넣어 세척하고, 헥산층을 무수황산나트륨 약 30 g으로 탈수 여과한 다음 45 °C의 수욕에서 감압(70 kPa)하여 헥산이 약 2 mL가 될 때까지 농축한다. 플로리실 카트리지(1 g, 6 mL)는 미리 디클로로메탄 10 mL 및 헥산 20 mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 다음 사용한다. 활성화된 카트리지에 추출용액을 넣어 헥산·디클로로메탄혼합액(3 : 1) 20 mL를 초당 2~3 방울의 속도로 용출시킨다. 이 용출된 액을 35 °C 이하의 수욕에서 질소가스 하에 날려 보낸 다음 잔류물을 아세토니트릴 1 mL로 용해한 후 0.45 μm의 시린지 필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 벤조피렌표준품 및 3-메틸콜란트렌표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μg을 함유하는 표준원액 및 내부표준원액을 만든다. 이 표준원액 및 내부표준원액은 5 ~ 15 °C에서 저장하며 30 일 이내에 쓴다. 이 표준원액과 내부표준원액 적당량을 정확하게 취하여 아세토니트릴로 mL 당 3, 5, 10, 20 및 40 ng의 벤조피렌과 각각 50 ng의 내부표준물질이 함유되도록 희석하여 표준액으로 한다. 이 때 검액의 검출농도가 검량선의 범위를 벗어나면 표준액의 농도가 검량선의 범위에 들어오도록 농도를 조정한다. 검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 표준액에서 얻은 내부</p>

현행	개정안
<p>건조감량 ~ 저장법 (생략)</p>	<p>표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 <math>[A_S/A_{IS}]</math>를 Y축으로 하고 벤조피렌의 농도를 X축으로 하여 만든 검량선을 작성하고, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 <math>[A_{SAM}/A_{SAMIS}]</math>를 Y축에 대입하여 벤조피렌의 농도를 구한다.</p> <p><math>A_S</math> : 검량선 표준액의 표준물질 피크면적  <math>A_{IS}</math> : 검량선 표준액의 내부표준물질 피크면적  <math>A_{SAM}</math> : 검액의 벤조피렌 피크면적  <math>A_{SAMIS}</math> : 검액의 내부표준물질 피크면적</p> <p>내부표준액 3-메틸콜란트렌 표준품을 정밀하게 달아 아세토니트릴에 녹여 1 mL 중 50 ng을 함유하는 용액을 만든다.</p> <p>○ 시약 및 시액 본 실험에 사용한 물은 3차 증류수 이상의 것을 사용하고, 시약은 잔류농약시험용 이상의 것을 사용한다.</p> <p><b>조작조건</b>  검출기 : 형광광도계(여기파장 294 nm, 형광파장 404 nm)  칼 럼 : Supelcosil LC-PAH (4.6 × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것  칼럼온도 : 37 °C  이동상 : 아세토니트릴·물혼합액(4 : 1)  유 량 : 1.0 mL/분</p> <p>건조감량 ~ 저장법 (현행과 같음)</p>
<p><b>우황(牛黃)</b>  <b>Cattle Gallstone</b></p> <p>(생략)</p> <p><b>정 량 법</b> (생략) 검액 및 표준액 5 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액 및 표준액의 피크면적 <math>A_T</math> 및 <math>A_S</math>를 측정한다.</p> <p>(생략)</p> <p><b>조작조건</b>  검출기 : (생략)  칼 럼 : (생략)  칼럼온도 : (생략)  이동상 : 메탄올·물·아세트산혼합액(900 : 98 : 2)  (생략)</p>	<p><b>우황(牛黃)</b>  <b>Cattle Gallstone</b></p> <p>(현행과 같음)</p> <p><b>정 량 법</b> (현행과 같음) 검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험하여 검액 및 표준액의 피크면적 <math>A_T</math> 및 <math>A_S</math>를 측정한다.</p> <p>(현행과 같음)</p> <p><b>조작조건</b>  검출기 : (현행과 같음)  칼 럼 : (현행과 같음)  칼럼온도 : (현행과 같음)  이동상 : 메탄올·물·아세트산혼합액(450 : 49 : 1)  (현행과 같음)</p>
<p><b>음양곽(淫羊藿)</b></p>	<p><b>음양곽(淫羊藿)</b></p>

현 행	개 정 안
<b>Epimedium Herb</b>	<b>Epimedium Herb</b>
Epimedii Herba 이 약은 삼지구엽초 <i>Epimedium koreanum</i> Nakai, 음양곽(淫羊藿) <i>Epimedium brevicornum</i> Maximowicz, 유모음양곽(柔毛淫羊藿) <i>Epimedium pubescens</i> Maximowicz, 무산음양곽(巫山淫羊藿) <i>Epimedium wushanense</i> T. S. Ying 또는 전엽음양곽(箭葉淫羊藿) <i>Epimedium sagittatum</i> Maximowicz (매자나무과 Berberidaceae)의 지상부이다.	Epimedii Herba 이 약은 삼지구엽초 <i>Epimedium koreanum</i> Nakai, 음양곽(淫羊藿) <i>Epimedium brevicornu</i> Maxim., 유모음양곽(柔毛淫羊藿) <i>Epimedium pubescens</i> Maxim., 무산음양곽(巫山淫羊藿) <i>Epimedium wushanense</i> T.S.Ying 또는 전엽음양곽(箭葉淫羊藿) <i>Epimedium sagittatum</i> Maxim. (매자나무과 Berberidaceae)의 지상부이다.
<b>택란(澤蘭)</b> <b>Lycopus Herb</b>	<b>택란(澤蘭)</b> <b>Lycopus Herb</b>
Lycopi Herba 이 약은 썩싸리 <i>Lycopus lucidus</i> Turczaininov (꿀풀과 Labiatae)의 꽃이 피기 전의 지상부이다.	Lycopi Herba 이 약은 썩싸리 <i>Lycopus lucidus</i> Turcz. ex Benth. (꿀풀과 Labiatae)의 꽃이 피기 전의 지상부이다.
<b>택사(澤瀉)</b> <b>Alisma Rhizome</b>	<b>택사(澤瀉)</b> <b>Alisma Rhizome</b>
Alismatis Rhizoma 이 약은 질경이택사 <i>Alisma orientale</i> Juzepzuk (택사과 Alismataceae)의 덩이줄기로서 잔뿌리 및 주피를 제거한 것이다.	Alismatis Rhizoma 이 약은 질경이택사 <i>Alisma orientale</i> (Sam.) Juz. (택사과 Alismataceae)의 덩이줄기로서 잔뿌리 및 주피를 제거한 것이다.
<b>창출(蒼朮)</b> <b>Atractylodes Rhizome</b>	<b>창출(蒼朮)</b> <b>Atractylodes Rhizome</b>
Atractylodis Rhizoma 이 약은 모창출(茅蒼朮) <i>Atractylodes lancea</i> De Candlle 또는 북창출(北蒼朮) <i>Atractylodes chinensis</i> Koidzumi (국화과 Compositae)의 뿌리줄기이다.	Atractylodis Rhizoma 이 약은 모창출(茅蒼朮) <i>Atractylodes lancea</i> DC. 또는 북창출(北蒼朮) <i>Atractylodes chinensis</i> Koidz. (국화과 Compositae)의 뿌리줄기이다.
<b>초과(草果)</b> <b>Amomum Tsao-ko Fruit</b>	<b>초과(草果)</b> <b>Amomum Tsao-ko Fruit</b>
(생략) 성 상 ~ 확인시험 (생략) 순도시험 1) ~ 3) (생략) <신설>	(현행과 같음) 성 상 ~ 확인시험 (현행과 같음) 순도시험 1) ~ 3) (현행과 같음) 4) 벤조피렌 5 ppb 이하. 다만, 시험방법은 다음과 같이 한다. 이 약 500 ~ 600 g을 분쇄하여 균질화 한 후 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물 100 mL를 넣어 60 분간



현 행	개 정 안
	<p>초음파 추출한다. 여기에 헥산 100 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣어 호모게나이저로 5분간 균질하게 섞은 다음 60 분간 초음파 추출한 후 원심분리(3,200 g, 10분)하여 헥산층을 분액깔대기(I)에 옮긴다.</p> <p>분액깔대기(I)의 헥산층에 <i>N,N</i>-디메틸포름아미드·물 혼합액(9 : 1) 50 mL를 넣고 진탕 추출 후 <i>N,N</i>-디메틸포름아미드·물 혼합액(9 : 1)층을 분액깔대기(II)에 옮긴다(3회 반복). 분액깔대기(II)에 1% 황산나트륨 용액 100 mL를 넣고 진탕한 후 헥산 50 mL를 넣고 진탕한 후 정지하여 분리된 헥산층을 분액깔대기(III)로 옮긴다. 분액깔대기(II)에 헥산 35 mL를 넣고 진탕 추출한 다음 헥산층을 분액깔대기(III)에 합한다(2회 반복). 분액깔대기(III)의 헥산층에 물 50 mL를 넣어 세척하고, 헥산층을 무수황산나트륨 약 30 g으로 탈수 여과한 다음 45 °C의 수욕에서 감압(70 kPa)하여 헥산이 약 2 mL가 될 때까지 농축한다. 플로리실 카트리지(1 g, 6 mL)는 미리 디클로로메탄 10 mL 및 헥산 20 mL를 순서대로 초당 2~3 방울의 속도로 유출시켜 활성화시킨 다음 사용한다. 활성화된 카트리지에 추출용액을 넣어 헥산·디클로로메탄 혼합액(3 : 1) 20 mL를 초당 2~3 방울의 속도로 용출시킨다. 이 용출된 액을 35 °C 이하의 수욕에서 질소가스 하에 날려 보낸 다음 잔류물을 아세토니트릴 1 mL로 용해한 후 0.45 μm의 시린지필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 벤조피렌 표준품 및 3-메틸콜란트렌 표준품 적당량을 정밀하게 달아 각각 아세토니트릴에 녹여 mL당 1 μg을 함유하는 표준원액 및 내부표준원액을 만든다. 이 표준원액 및 내부표준원액은 5 ~ 15 °C에서 저장하며 30 일 이내에 쓴다. 이 표준원액과 내부표준원액 적당량을 정확하게 취하여 아세토니트릴로 mL 당 3, 5, 10, 20 및 40 ng의 벤조피렌과 각각 50 ng의 내부표준물질이 함유되도록 희석하여 표준액으로 한다. 이 때 검액의 검출농도가 검량선의 범위를 벗어나면 표준액의 농도가 검량선의 범위에 들어오도록 농도를 조정한다. 검액 및 표준액 10 μL씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 각 표준액에서 얻은 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 <math>[A_S/A_{IS}]</math>를 Y축으로 하고 벤조피렌의 농도를 X축으로 하여 만든 검량선을 작성하고, 검액의 내부표준물질 피크면적에 대한 벤조피렌의 피크면적비 <math>[A_{SAM}/A_{SAMIS}]</math>를 Y축에 대입하여 벤조피렌의 농도를 구한다.</p> <p><math>A_S</math> : 검량선 표준액의 표준물질 피크면적  <math>A_{IS}</math> : 검량선 표준액의 내부표준물질 피크면적  <math>A_{SAM}</math> : 검액의 벤조피렌 피크면적  <math>A_{SAMIS}</math> : 검액의 내부표준물질 피크면적</p>

현행	개정안
<p>건조감량 ~ 저장법 (생략)</p>	<p>내부표준액 3-메틸콜란트렌 표준품을 정밀하게 달아 아세토니트릴에 녹여 1 mL 중 50 ng을 함유하는 용액을 만든다.          ○ 시약 및 시액 본 실험에 사용한 물은 3차 증류수 이상의 것을 사용하고, 시약은 잔류농약시험용 이상의 것을 사용한다.</p> <p><b>조작조건</b>          검출기 : 형광광도계(여기과장 294 nm, 형광과장 404 nm)          칼 럼 : Supelcosil LC-PAH (4.6 × 250 mm, 5 μm) 또는 이와 동등한 것          칼럼온도 : 37 ℃          이동상 : 아세토니트릴 · 물혼합액(4 : 1)          유 량 : 1.0 mL/분</p> <p>건조감량 ~ 저장법 (현행과 같음)</p>
<p><b>황련(黃連)</b> <b>Coptis Rhizome</b></p> <p>Coptidis Rhizoma          이 약은 황련 <i>Coptis japonica</i> Makino, 중국황련 (中國黃連) <i>Coptis chinensis</i> Franchet, 삼각엽황련 (三角葉黃連) <i>Coptis deltoidea</i> C. Y. Cheng et Hsiao 또는 운련 (雲連) <i>Coptis teeta</i> Wallich (미나리아재비과 Ranunculaceae)의 뿌리줄기로서 뿌리를 제거한 것이다.  <b>성상</b> 이 약은 뿌리줄기로 고르지 않은 원기둥모양이며 길이 2 ~ 4 cm, 때로 10 cm에 이르며 지름 2 ~ 7 mm로 약간 구부러져 있고 때로 갈라져 있다. 바깥면은 회황갈색을 띠고 돌림마디가 있으며 줄기의 그루터기와 다수의 뿌리의 아랫쪽을 볼 수 있다. 한쪽 끝에 잎자루의 잔기가 있으며 그 대부분은 그을려 있다. 껍질면은 약간 섬유성이고 코르크층은 연한 회갈색, 피부 및 수는 황갈색 ~ 적황갈색, 목부는 노란색 ~ 적황색이다. (생략)</p>	<p><b>황련(黃連)</b> <b>Coptis Rhizome</b></p> <p>Coptidis Rhizoma          이 약은 황련 <i>Coptis japonica</i> Makino, 중국황련 (中國黃連) <i>Coptis chinensis</i> Franch., 삼각엽황련 (三角葉黃連) <i>Coptis deltoidea</i> C.Y.Cheng et P.K.Hsiao 또는 운련 (雲連) <i>Coptis teeta</i> Wallich (미나리아재비과 Ranunculaceae)의 뿌리줄기로서 뿌리를 제거한 것이다.  <b>성상</b> 이 약은 뿌리줄기로 고르지 않은 원기둥모양이며 길이 2 ~ 4 cm, 때로 10 cm에 이르며 지름 2 ~ 7 mm로 약간 구부러져 있고 때로 갈라져 있다. 바깥면은 회황갈색을 띠고 돌림마디가 있으며 줄기의 그루터기와 다수의 뿌리의 아랫쪽을 볼 수 있다. 한쪽 끝에 잎자루의 잔기가 때로 남아 있다. 껍질면은 약간 섬유성이고 코르크층은 연한 회갈색, 피부 및 수는 황갈색 ~ 적황갈색, 목부는 노란색 ~ 적황색이다. (현행과 같음)</p>
<p><b>후박(厚朴)</b> <b>Magnolia Bark</b></p> <p>Magnoliae Cortex          이 약은 일본목련 <i>Magnolia obovata</i> Thunberg, 후박 (厚朴) <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et Wilson 또는 요엽후박 (凹葉厚朴) <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et Wilson var. <i>biloba</i> Rehder et Wilson (목련과 Magnoliaceae)의 줄기껍질이다.</p>	<p><b>후박(厚朴)</b> <b>Magnolia Bark</b></p> <p>Magnoliae Cortex          이 약은 일본목련 <i>Magnolia obovata</i> Thunb., 후박 (厚朴) <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et Wilson 또는 요엽후박 (凹葉厚朴) <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et Wilson var. <i>biloba</i> Rehder et Wilson (목련과 Magnoliaceae)의 줄기껍질이다.</p>

현 행	개 정 안
<p style="text-align: center;"><b>에리스로포이에틴 농축액 (유전자재조합)</b> Erythropoietin concentrated solution (rDNA)</p> <p style="text-align: center;">(생략)</p> <p><b>성 상</b> (생략) <b>확인시험</b> (생략)</p> <p><b>4) 펩티드 지도</b> (생략)</p> <p><b>조작조건</b> 검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 214 nm) 칼 럼: 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인레스강관에 5~10 <math>\mu</math>m의 액체크로마토그래프용 <u>부틸실릴실리카겔</u>을 충전한다. (생략)</p> <p><b>순도시험 1) 이량체 및 고분자량 유연물질</b> 검액: 이 약을 이동상으로 희석하여 단백질 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다. &lt;신설&gt;</p> <p>표준액: <u>검액</u> 0.02 mL에 이동상을 넣어 1 mL로 한다. (생략)</p> <p><b>조작조건</b> 검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 214 nm) 칼 럼: 안지름 약 7.5 mm, 길이 약 <u>60</u> cm인 스테인레스강관에 분자량 범위가 20000 ~ 200000인 구형 단백질의 분획에 적합한 액체크로마토그래프용 친수성실리카겔을 충전한다. 이동상: 인산일수소나트륨무수물 1.15 g, 인산이수소칼륨 0.2 g, 염화나트륨 23.4 g을 물 1000 mL로 한다. 필요시 pH 7.4로 적정한다. 유 량: 0.5 mL/분 측정시간: 검액을 주입한 다음 <u>60</u> 분 시스템 적합성 시스템의 성능: 표준액의 주피크 면적은 검액의 주피크 면적의 1.5 % ~ 2.5 %이다. &lt;신설&gt;</p> <p>(생략)</p>	<p style="text-align: center;"><b>에리스로포이에틴 농축액 (유전자재조합)</b> Erythropoietin concentrated solution (rDNA)</p> <p style="text-align: center;">(현행과 같음)</p> <p><b>성 상</b> (현행과 같음) <b>확인시험</b> (현행과 같음)</p> <p><b>4) 펩티드 지도</b> (현행과 같음)</p> <p><b>조작조건</b> 검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 214 nm) 칼 럼: 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 25 cm인 스테인레스강관에 5~10 <math>\mu</math>m의 액체크로마토그래프용 <u>말단 차단된 부틸실릴실리카겔</u>을 충전한다. (현행과 같음)</p> <p><b>순도시험 1) 이량체 및 고분자량 유연물질</b> 검액: 이 약을 이동상으로 희석하여 단백질 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다. <u>분리도액: 에리스로포이에틴의 크기배체크로마토그래피 시스템적합성용 표준품을 이동상으로 희석하여 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다.</u> 표준액: <u>분리도액</u> 0.02 mL에 이동상을 넣어 1 mL로 한다. (생략)</p> <p><b>조작조건</b> 검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 214 nm) 칼 럼: 안지름 약 7.5 mm, 길이 약 <u>30</u> cm인 스테인레스강관에 분자량 범위가 20000 ~ 200000인 구형 단백질의 분획에 적합한 액체크로마토그래프용 친수성실리카겔을 충전한다. 이동상: 인산일수소나트륨무수물 1.15 g, 인산이수소칼륨 0.2 g, 염화나트륨 23.4 g을 물 1000 mL로 한다. 필요시 pH 7.4로 적정한다. 유 량: 0.5 mL/분 측정시간: <u>에리스로포이에틴 단량체 유지시간의 2배</u> 시스템 적합성 시스템의 성능: 표준액의 주피크 면적은 검액의 주피크 면적의 1.5 % ~ 2.5 %이다. <u>분리도: 분리도액 크로마토그램에서 에리스로포이에틴 이량체와 단량체의 분리도는 최소 1.5 이상이어야 한다.</u> (현행과 같음)</p>

현행	개정안
<p><b>정량법 1) 단백질 함량</b> 이 약을 탄산수소암모늄 4 g에 물 1000 mL을 넣어 녹인 용액으로 희석하여 검액으로 한다.</p> <p>자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 250 ~ 400 nm에서 흡광도를 측정하고 파장 400 nm까지의 광산란에 대하여 보정하였을 때 파장 276 ~ 280 nm에서 흡수 극대를 나타낸다. 비흡광도를 이용하여 에리스로포이에틴의 농도를 계산하였을 때 표시 농도의 80 % ~ 120 %이다.</p> <p>&lt;신설&gt;</p> <p>(생략)</p>	<p><b>정량법 1) 단백질 함량</b> 이 약을 탄산수소암모늄 4 g에 물 1000 mL을 넣어 녹인 용액으로 희석하여 검액으로 한다.</p> <p>자외가시부흡광도측정법에 따라 파장 250 ~ 400 nm에서 흡광도를 측정하고 파장 400 nm까지의 광산란에 대하여 보정하였을 때 파장 276 ~ 280 nm에서 흡수 극대를 나타낸다. 비흡광도를 이용하여 에리스로포이에틴의 농도를 계산하였을 때 표시 농도의 80 % ~ 120 %이다.</p> $\text{에리스로포이에틴의 함량 (mg/mL)} = \frac{A_{280} \times D}{EC}$ <p><u>A<sub>280</sub></u>: 파장 280nm에서의 흡광도  <u>D</u>: 희석배수  <u>EC</u>: 0.743(에리스로포이에틴 흡광계수)</p> <p>(현행과 같음)</p>
<p><b>필그라스티م 농축액 (유전자재조합)</b>  <b>Filgrastim concentrated solution (rDNA)</b>  (생략)</p>	<p><b>필그라스티م 농축액 (유전자재조합)</b>  <b>Filgrastim concentrated solution (rDNA)</b>  (현행과 같음)</p>
<p><b>성상</b> (현행과 같음)  <b>확인시험</b> (현행과 같음)  <b>순도시험</b> (현행과 같음)</p> <p><b>4) 유연물질</b>  <u>희석 용액</u>: pH 4.0의 0.1 mol/L 아세트산 나트륨 완충액에 0.1 mg/mL 폴리소르베이트 80, 50 mg/mL 소르비톨이 되도록 용해한다.  <u>검액</u>: 이 약을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 <u>희석용액</u>으로 희석한다.  <u>표준액</u>: 필그라스티م 표준품을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 <u>희석용액</u>으로 희석한다.  <u>시스템 적합성 확인용액</u>: 표준액 500 μL에 4.5 g/L 과산화수소수 2 μL를 첨가하고 섞어서 25 ± 2°C에서 30분 동안 둔 다음, L-메티오닌 1.5 mg을 첨가한다.</p> <p>&lt;신설&gt;  <u>검액 및 표준액 50 μL</u> 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 각 유연물질의 피크면적은 전체 피크면적 합의 2.0 % 이하이다. 모든</p>	<p><b>성상</b> (현행과 같음)  <b>확인시험</b> (현행과 같음)  <b>순도시험</b> (현행과 같음)</p> <p><b>4) 유연물질</b>  (삭제)</p> <p><u>검액</u>: 이 약을 농도가 0.5 mg/mL가 되도록 <u>물로</u> 희석한다.  <u>표준액(a)</u>: 필그라스티م 표준품을 농도가 0.5 mg/mL가 되도록 <u>물로</u> 희석한다.  <u>표준액(b)</u>: 표준액(a) 250 μL에 4.5 g/L 과산화수소수 2.5 μL를 첨가하고 섞어서 25 ± 2°C에서 30분 동안 둔 다음, L-메티오닌 1.9 mg을 첨가한다.  <u>표준액(c)</u>: 표준액(a) 250 μL에 디티오프레이톨 0.25 mg을 넣고 혼합하여 35 ± 2°C에서 60분 동안 반응한다.  <u>검액 및 표준액 50 μL</u> 씩을 가지고 다음 조건으로 액</p>

현 행	개 정 안																																
<p>유연물질의 피크면적의 합은 전체 피크면적 합이 <u>3.5%</u> 이하이다. 필그라스티م 주피크의 유지시간은 표준액 주피크의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 유연물질의 상대 유지시간은 산화형 1 약 <u>0.85</u>, 산화형 2 약 <u>0.95</u>, 탈아미드화체 약 <u>1.1</u> 이다.</p> <p><b>조작조건</b> (생략) 이동상 A - 물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (<u>89.9 : 10 : 0.1</u>) 이동상 B - 물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (<u>19.9 : 80 : 0.1</u>)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">시간 (분)</th> <th style="text-align: center;">이동상 A (vol %)</th> <th style="text-align: center;">이동상 B (vol %)</th> <th style="text-align: center;">유출조건</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">0 ~ 35</td> <td style="text-align: center;"><u>34 → 27</u></td> <td style="text-align: center;"><u>66 → 73</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">35 ~ 50</td> <td style="text-align: center;"><u>27 → 10</u></td> <td style="text-align: center;"><u>79 → 90</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">50 ~ 60</td> <td style="text-align: center;"><u>10 → 34</u></td> <td style="text-align: center;"><u>90 → 66</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> </tbody> </table> <p>유량: <u>0.6 mL/분</u> 시스템 적합성 시스템 적합성 확인용액의 크로마토그램 결과에서 산화체 1과 산화체 2의 분리능은 1.5 이상이다.</p> <p>&lt;신설&gt;</p> <p><b>5) 엔도톡신</b> 이 약은 필그라스티م 1.0 mg 당 <u>2 EU</u> 이하이다. (생략)</p>	시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건	0 ~ 35	<u>34 → 27</u>	<u>66 → 73</u>	선형 농도기울기	35 ~ 50	<u>27 → 10</u>	<u>79 → 90</u>	선형 농도기울기	50 ~ 60	<u>10 → 34</u>	<u>90 → 66</u>	선형 농도기울기	<p>체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 각 유연물질의 피크면적은 전체 피크면적 합이 <u>1.0%</u> 이하이다. 모든 유연물질의 피크면적의 합은 전체 피크면적 합이 <u>2.0%</u> 이하이다. 필그라스티م 주피크의 유지시간은 표준액 주피크의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 유연물질의 상대 유지시간은 산화형 1 약 <u>0.84</u>, 산화형 2 약 <u>0.98</u>, 탈아미드화체 약 <u>1.04</u> 이다.</p> <p><b>조작조건</b> (현행과 같음) 이동상 A - 물·트리플루오로아세트산 혼합액 (999 : 1) 이동상 B - 물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (<u>99 : 900 : 1</u>)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">시간 (분)</th> <th style="text-align: center;">이동상 A (vol %)</th> <th style="text-align: center;">이동상 B (vol %)</th> <th style="text-align: center;">유출조건</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">0 ~ 30</td> <td style="text-align: center;"><u>60 → 20</u></td> <td style="text-align: center;"><u>40 → 80</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">30 ~ 35</td> <td style="text-align: center;"><u>20</u></td> <td style="text-align: center;"><u>80</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">35 ~ 45</td> <td style="text-align: center;"><u>20 → 60</u></td> <td style="text-align: center;"><u>80 → 40</u></td> <td style="text-align: center;">선형 농도기울기</td> </tr> </tbody> </table> <p>유량: <u>0.8 mL/분</u> &lt;삭제&gt;</p> <p>시스템 적합성 (b) 표준액 (b)에서 필그라스티م 피크의 대칭계수는 1.8 이하이다. 표준액 (b)에서 피크 대 골짜기 비율은 2.0 이상이다.</p> <p>시스템 적합성 (c) 표준액 (c)에서 필그라스티م과 환원된 필그라스티م 피크의 분리도는 1.5 이상이다. 표준액 (c)에서 필그라스티م의 대칭계수는 1.8 이하이다.</p> <p><b>엔도톡신</b> 이 약은 필그라스티م 1.0 mg 당 <u>2 IU</u> 이하이다. (현행과 같음)</p>	시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건	0 ~ 30	<u>60 → 20</u>	<u>40 → 80</u>	선형 농도기울기	30 ~ 35	<u>20</u>	<u>80</u>	선형 농도기울기	35 ~ 45	<u>20 → 60</u>	<u>80 → 40</u>	선형 농도기울기
시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건																														
0 ~ 35	<u>34 → 27</u>	<u>66 → 73</u>	선형 농도기울기																														
35 ~ 50	<u>27 → 10</u>	<u>79 → 90</u>	선형 농도기울기																														
50 ~ 60	<u>10 → 34</u>	<u>90 → 66</u>	선형 농도기울기																														
시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건																														
0 ~ 30	<u>60 → 20</u>	<u>40 → 80</u>	선형 농도기울기																														
30 ~ 35	<u>20</u>	<u>80</u>	선형 농도기울기																														
35 ~ 45	<u>20 → 60</u>	<u>80 → 40</u>	선형 농도기울기																														
<신 설>	<p><b>필그라스티م 주사액 (유전자재조합)</b> <b>Filgrastim solution for Injection (rDNA)</b></p>																																

현 행	개 정 안
	<p style="text-align: center;"> <b>MTPLGPASSL PQSFLKCLE QVRKIQGDGA ALQEKLCATY</b>  <b>KLCHPEELVL LGHSLGIPWA PLSSCPSQAL QLAGCLSOLH</b>  <b>SGLFLYQGLL QALEGISPEL GPILDTLQLD VADFATTIWQ</b>  <b>QMEELGMAPA LQPTQGAMPA FASAFORRAG GVLVASHLQS</b>  <b>FLEVSYRVLR HLAQP</b> </p> <p style="text-align: right;"><u>C<sub>845</sub>H<sub>1339</sub>N<sub>223</sub>O<sub>243</sub>S<sub>9</sub> : 18799</u></p> <p>이 약은 사람 과립구집락자극인자(Human granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)의 1차 구조 중 N말단에 1개의 메티오닌 (N-terminal methionine)을 추가시킨 단백질 무균제제이다.</p> <p>이 약을 정량할 때 함량은 표시량의 90.0 ~ 110.0 %이며, 역가는 표시량의 80~125 % 이다.</p> <p><b>성 상</b> 이 약은 무색 투명하거나 혹은 약간 황색의 맑은 액체이다.</p> <p><b>확인시험 1) 역가시험</b> 이 약을 정량법에 따라 시험할 때 생물학적 활성이 확인되어야 한다.</p> <p><b>2) 순도시험</b> 유연물질에 따라 시험할 때 검액의 크로마토그램에서 나타나는 주피크의 유지시간 및 모양이 표준액의 크로마토그램과 유사하여야 한다.</p> <p><b>순도시험 1) 고분자단백</b></p> <p>검액: 이 약을 아세트산 완충액에 녹여 단백질 농도가 0.2 mg/mL 가 되도록 한다. 이 약을 녹이는데 사용하는 아세트산 완충액은 4.1 g의 아세트산 나트륨을 400 mL의 물에 녹인 후, 아세트산을 이용하여 pH 4.0으로 맞춘 다음, 최종 부피가 500 mL가 되도록 물로 희석한다.</p> <p>표준액: 펠그라스티م 표준품을 아세트산 완충액에 녹여 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 한다.</p> <p>시스템 적합성 확인용액: 표준액을 30초간 강하게 교반하여 사용한다. 검액 및 표준액 20 μL 씩을 가지고 다음 조건으로 액체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 검액의 주피크보다 앞에 검출되는 피크 중 이량체를 제외한 피크는 0.5 % 이하, 모든 피크 면적의 합은 전체 피크면적 합의 1.0 % 이하이다. 펠그라스티م 단량체 피크의 유지시간은 표준액 단량체 피크의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 각 중합체의 상대 유지시간은 응집체 약 0.60, 펠그라스티م 다량체 1 약 0.75, 펠그라스티م 다량체 2 약 0.80, 펠그라스티م 이량체 약 0.85 이다.</p> <p><b>조작조건</b></p> <p>검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 215 nm)</p> <p>칼럼: 안지름 약 7.8 mm, 길이 약 30 cm인 스테인레</p>

현행	개정안
	<p>스강관에 5 <math>\mu\text{m}</math>의 액체크로마토그래프용 친수성실리카겔이 충전된 칼럼</p> <p>칼럼온도: 30 <math>^{\circ}\text{C}</math> 부근의 일정 온도</p> <p>이동상: 탄산수소암모늄 7.9 g을 1 L의 물에 녹이고, 인산으로 pH 7.0으로 조정한다. 다음, 물을 넣어 2 L가 되도록 한다.</p> <p>유량: 0.5 mL/분</p> <p>시스템 적합성</p> <p>시스템 적합성 확인용액에서 펄그라스티프 단량체 피크의 유지시간은 17~20분이 되도록 하고, 펄그라스티프 단량체와 단량체 피크의 분리능은 3 이상이다.</p> <p><b>2) 전하변이체(등전점 전기영동법)</b></p> <p>희석 용액: 10 mM 라이신, 10 mM 아르기닌, 7.5 % 글리세롤 용액을 제조한다.</p> <p>검액: 이 약을 농도가 0.15 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.</p> <p>표준액(a): 펄그라스티프 표준품을 0.15 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.</p> <p>표준액(b): 펄그라스티프 표준품을 0.015 mg/mL가 되도록 희석 용액으로 희석한다.</p> <p>검액 및 표준액 20 <math>\mu\text{L}</math>씩을 가지고 다음 조건으로 등전점 전기영동법에 따라 시험할 때, 검액으로부터 얻은 전기영동도의 주밴드 이외의 어떤 밴드도 표준액(b)로부터 얻은 전기영동도의 주밴드보다 진하지 않다(10 %).</p> <p><b>조작조건</b></p> <p>pH 기울기: 5.0 ~ 7.0</p> <p>음극액: 40 mM 라이신, 40 mM 아르기닌 용액</p> <p>양극액: 7 mM 인산용액</p> <p>검출: 쿠마시브릴리안트 블루 염색용액으로 염색한다.</p> <p>시스템 적합성</p> <p>등전점 마커는 겔의 전체에 고루 분포하여야 하며, 표준액(a)로부터 얻은 전기영동도에서 주밴드의 등전점은 5.7 ~ 6.3 이다.</p> <p><b>3) 유연물질</b></p> <p>검액: 이 약을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 물로 희석한다.</p> <p>표준액(a): 펄그라스티프 표준품을 농도가 0.2 mg/mL가 되도록 물로 희석한다.</p> <p>표준액(b): 표준액(a) 250 <math>\mu\text{L}</math>에 4.5 g/L 과산화수소수 2.5 <math>\mu\text{L}</math>를 첨가하고 섞어서 25 <math>\pm</math> 2 <math>^{\circ}\text{C}</math>에서 30분 동안 둔 다음, L-메티오닌 1.9 mg을 첨가한다.</p> <p>표준액(c): 표준액(a) 250 <math>\mu\text{L}</math>에 디티오프레이톨 0.25 mg을 넣고 혼합하여 35 <math>\pm</math> 2 <math>^{\circ}\text{C}</math>에서 60분 동안 반응한다.</p> <p>검액 및 표준액 50 <math>\mu\text{L}</math> 씩을 가지고 다음 조건으로 액</p>

현 행	개 정 안																
	<p>체크로마토그래프법에 따라 시험할 때 각 유연물질의 피크면적은 전체 피크면적 합이 3.0 % 이하이다. 모든 유연물질의 피크면적의 합은 전체 피크면적 합이 6.5 % 이하이다. 펄그라스티프 주피크의 유지시간(약 23분)은 표준액 주피크의 유지시간과 유사하고, 이에 대한 유연물질의 상대 유지시간은 산화형 1 약 0.84, 산화형 2 약 0.98, 환원된 펄그라스티프 약 1.04 이다.</p> <p><b>조작조건</b></p> <p>검출기: 자외부흡광광도계 (측정파장 215 nm)</p> <p>칼럼: 안지름 약 4.6 mm, 길이 약 15 cm인 스테인레스강관에 5 μm의 액체크로마토그래프용 부틸실릴실리카겔이 충전된 칼럼</p> <p>칼럼온도: 60 °C 부근의 일정 온도</p> <p>이동상: 이동상 A 및 이동상 B를 가지고 다음과 같이 단계적 또는 농도기울기적으로 제어한다.</p> <p>이동상 A - 물·트리플루오로아세트산 혼합액 (999 : 1)</p> <p>이동상 B - 물·아세트니트릴·트리플루오로아세트산 혼합액 (99 : 900 : 1)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>시간 (분)</th> <th>이동상 A (vol %)</th> <th>이동상 B (vol %)</th> <th>유출조건</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 ~ 30</td> <td>60 → 20</td> <td>40 → 80</td> <td>선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td>30 ~ 35</td> <td>20</td> <td>80</td> <td>선형 농도기울기</td> </tr> <tr> <td>35 ~ 45</td> <td>20 → 60</td> <td>80 → 40</td> <td>선형 농도기울기</td> </tr> </tbody> </table> <p>유량: 0.8 mL/분</p> <p>시스템 적합성</p> <p>표준액(b)에서 펄그라스티프 피크의 대칭계수는 1.8 이하이며, 피크 대 골짜기 비율은 2.0 이상이다.</p> <p>표준액(c)에서 펄그라스티프의 대칭계수는 1.8 이하이며, 펄그라스티프와 환원된 펄그라스티프 피크의 분리도는 1.5 이상이다.</p> <p><b>무균시험</b> 시험할 때 적합하여야 한다.</p> <p><b>엔도톡신</b> 이 약은 펄그라스티프 1.0 mg 당 10 IU 이하이다.</p> <p><b>불용성이물시험</b> 시험할 때 적합하여야 한다.</p> <p><b>주사제의 불용성미립자시험</b> 시험할 때 적합하여야 한다.</p> <p><b>주사제의 실용량시험</b> 시험할 때 적합하여야 한다.</p> <p><b>정 량 법</b> 1) <b>단백질 함량:</b> 순도시험의 유연물질의 검액 및 표준액의 크로마토그램 결과를 이용하여 펄그라스티프 표준품의 표시량으로부터 검체의 펄그라스티프 양을 계산한다.</p> <p>2) <b>역가:</b> 이 약의 활성은 펄그라스티프 국제표준품 또는 국제단위 (IU)로 보정된 펄그라스티프 표준액과 비교하여 IU로 표현한다.</p> <p>역가는 다음의 시험법으로 수행하며 이때 검액과 표준</p>	시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건	0 ~ 30	60 → 20	40 → 80	선형 농도기울기	30 ~ 35	20	80	선형 농도기울기	35 ~ 45	20 → 60	80 → 40	선형 농도기울기
시간 (분)	이동상 A (vol %)	이동상 B (vol %)	유출조건														
0 ~ 30	60 → 20	40 → 80	선형 농도기울기														
30 ~ 35	20	80	선형 농도기울기														
35 ~ 45	20 → 60	80 → 40	선형 농도기울기														



현행	개정안
	<p>액의 희석 농도, 세포 수, 배양 시간 등의 시험조건은 달라질 수 있다. 타당성이 검증된다면 루시퍼라제를 이용한 세포내 ATP 측정과 같은 대체시험법을 사용할 수 있다.</p> <p>필그라스티에 반응하는 잘 정립된 세포주 (예. M-NFS-60 세포 (ATCC No. CRL-1838))를 사용해야 한다. 검액과 표준액을 적절하게 희석하여 배양한 후, 테트라졸리움염 용액을 넣어 추가 배양한다. 이때 검액과 표준액의 필그라스티에 세포증식에 영향을 미치며 세포증가에 따라 세포내 탈수소효소도 증가한다. 테트라졸리움염은 탈수소화효소에 의해 유색의 포르마잔 생성물을 형성하게 되고, 이 포르마잔의 양을 분광광도법으로 측정한다.</p> <p>96-웰 마이크로플레이트의 모든 웰에 희석용 배지 50 <math>\mu</math>L를 채운다. 공시험용 웰에는 희석용 배지 50 <math>\mu</math>L를 추가로 첨가한다. 시험 시료를 세 개의 웰에 각각 50 <math>\mu</math>L 첨가한다(시험 시료는 800 IU/mL 농도의 검액과 표준액 그리고 순차적으로 2배씩 희석한 용액 총 10개).</p> <p>M-NFS-60세포의 현탁액을 <math>7 \times 10^5</math>개 세포/mL가 되도록 준비한다. 사용하기 직전에 2-메르캅토에탄올을 최종 농도가 0.1 mmol/L이 되도록 첨가한다. 각 웰에 준비된 세포 현탁액을 50 <math>\mu</math>L씩 첨가한다. 이 때, 첨가하는 동안 세포가 균일한 현탁액을 유지하도록 한다.</p> <p>세포배양 플레이트를 <math>6 \pm 1</math> % CO<sub>2</sub> 농도가 유지되는 배양기에서 36.0 ~ 38.0 <math>^{\circ}</math>C로 44 ~ 48시간 동안 배양한다. 배양 후, 5.0 g/L의 멸균한 테트라졸리움염 용액 20 <math>\mu</math>L를 각 웰에 첨가하고 다시 4시간 동안 배양한다. 생성된 포르마잔의 양을 마이크로플레이트 측정 장치를 이용하여 490 nm 파장에서 측정한다.</p> <p>평행선 검정을 이용한 통상적인 통계방법을 이용하여 검액의 역가를 계산한다. 측정된 역가는 표시 역가의 80 ~ 125 %이다. 95 % 신뢰구간은 측정된 역가의 74 ~ 136 %이다.</p> <p><b>저장법</b> 밀봉용기 (2 ~8 <math>^{\circ}</math>C).</p>