타액 시료를 이용한 지속성 테오필린 제제의 생물학적 동등성 시험

심창구† · 권혁노
이창기* · 한익수* · 최광식*
서울대학교 약학대학
*국립보건안전연구원
(1989년 11월 15일 접수)

Bioequivalence Test of Slow-Release Theophylline Dosage Forms Using Saliva Samples

Chang-Koo Shim†, Hyeok-Lo Kwon
Chang-Ki Lee*, Ik-Soo Han* and Kwang-Sik Choi*
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
**National Institute of Safety Research, Seoul 122-020, Korea*
(Received November 15, 1989)

Bioequivalence test of Asthcontin® tablet, a commercial slow-release theophylline (TP) dosage form, was performed using Slo-bid® capsule as the reference. Since it has been confirmed that the saliva concentration of TP is closely correlated with the plasma concentration in man, the area under the saliva concentration-time curve was used as a bioavailability parameter. The statistical analysis showed that the two dosage forms are equivalent in bioavailability estimating from the saliva concentration. The results supported that the use of soliva as a test sample provides simple and easy techniques for bioequivalence tests of TP-containing dosage forms.

Keywords—Bioequivalence test, theophylline, saliva samples.

기관지 확장제로 쓰이고 있는 테오필린은 사람에 있어서 혈장 중 농도와 타액 중 농도 사이에 일정한 상관성이 있음이 밝혀져 왔다[1-3]. 박 등[4]은 국내에서 건강한 한국인을 대상으로 혈장 중 농도와 타액 중 농도간의 상관성을 확인하였으며, 저자 등[5]은 사람에 있어서 타액 중 농도로부터 구한 약물속도론적 파라메타가 혈장 중 농도로부터 구한 그것과 잘 일치함을 확인한 바 있다. 따라서, 테오필린의 체내동태를 연구하거나, 테오필린 제제의 생물학적 이용률 측정 및 생물학적 동등성 시험 등에, 시료로서 혈장 대신보다 채취가 간편하고 처리가 용이한 타액을 쓰는 것이 타당할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 타액을 시료로 써서 테오필린 제제의 생물학적 동등성 시험을 수행함으로써 생물학적 동등성 시험의 모델을 제공하고, 타액 중 농도정량에 의한 테오필린의 생물학적 동등성 시험의 가능성을 확인하고자 하였다.

실험방법

재료 및 기기

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

Table I—*Dosing Schedule to Volunteers.*

Group	Subject	Period I	Period II
1	1) KSH, 2) YHS, 3) YYH, 4) LKH, 5) CYJ	A	B
2	6) KHL, 7) KDD, 8) YMR, 9) LJH, 10) HYN	B	A

A: Reference drug. B: Test drug.

시험약으로 Slo-bid® 캅셀(William H. Rorer 사, 테오필린 200 mg), 대조약으로 Asthcontin® 정(현대약품, 아미노필린 225 mg, 테오필린으로 192.85 mg)을 사용하였으며, 정량용 시약으로 테오필린 표준품(Sigma Chem., Co.) 및 기타 시중에서 구입한 특급 및 일급시약을 사용하였다.

타액시료의 처리 및 정량에는 원심분리기(Beckman Microfuge B) 및 고속액체크로마토그라프(Hewlett-Packard HP 1090)를 사용하였다.

피험자의 선택 및 관리

공고를 통하여 과거에 소화기계, 간장, 신장 및 혈액질환의 병력이 없고 현재 타약물을 복용하고 있지 않는 지원자를 모집하여 그 중 10명을 선정하였다. 피험자는 모두 남자로서 나이는 21-27세, 평균체중은 63.4 kg, 평균신장은 174.6 cm 이었다. 모든 피험자에게는 본 실험의 목적, 취지, 내용, 방법, 예상되는 불편사항 및 부작용 등을 자세히 설명하고 동의를 구하였다. 투약 2일 전부터는 xanthine계 화합물이 함유되어 있을 것으로 예상되는 커피, 코코아, 콜라, 초콜렛 등의 음식을 금하게 하였으며, 음주 및 격심한 운동도 삼가게 하였다. 또한 투약 전일에 충분한 수면을 취할 것을 요구하고, 투약일 조식은 절식하게 하였다. 투약 후 각 피험자는 일정한 공간에서 시험 관리자의 감시하에 평상활동을 하게 하였으나 개별적인 음식물 섭취 및 격심한 운동 등은 금하였다. 식사 및 수면은 계획된 시간표에 따라 동일한 장소에서 동일하게 취하게 하였다.

시험계획 및 약제 투여

Latin 방격법에 따른 2기 2제 교차시험으로 투약계획을 수립하고 10명의 피험자를 무작위로 두 군으로 나누어 Table I의 시험계획표에 따라 투약하였다. 약제 투여량은 각 제제 공히 1정(캅셀)으로 하였으며 투여시에는 200 m*l*의 물과 함께 복용하도록 하였다.

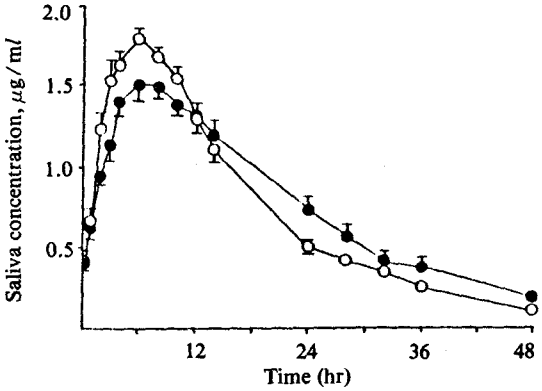

Figure 1—Saliva concentration profiles of the two dosage forms (mean ± S.E.). n = 10.
Key: ●, reference drug; ○, test drug

타액시료의 채취

투약 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24, 28, 32, 36, 48 시간에 타액을 채취하였다. 매회 타액 채취시에는 구연산 소량을 구강에 넣어 타액 분비를 자극한 후 채취하였다. 채취한 타액은 즉시 냉동보관하였다.

타액중 테오필린 농도의 정량

타액 중 테오필린 농도는 Chung과 Shim의 방법[6]을 써서 고속액체크로마토그라프법으로 정량하였다. 타액 채취시 사용한 구연산은 정량에 영향을 주지 않았다.

실험결과 및 고찰

Fig.1은 대조약과 시험약의 타액 중 농도-시간 곡선이다. 두 제제 모두 투여 후 48시간까지 타액 중에서 테오필린이 검출되었으며 최고 타액 중 농도는 시험약이 대조약에 비해 다소 높았다. 이 타액중농도-시간 곡선하면적(AUC)을 사다리꼴 공식(trapezoidal rule)[7]을 써서 계산하여 생체내 이용률의 지표로 사용하였다.

Table II는 각 피험자의 AUC 값이다. 이 값을 가지고 국립 보건안전 연구원 고시 제1호 생물학

Table II—*AUC(μg·hr/ml) of Each Subjectin Each Priod.*

Group	Subject	Period I	Period II	Sum
	1) KSH	24.5	28.3	52.8
	2) YHS	26.4	35.8	62.2
1	3) YYH	27.7	30.5	58.2
	4) LKH	31.5	32.2	63.7
	5) CYJ	42.4	40.0	82.4
	Sum	152.5	166.8	319.3
	6) KHL	37.1	38.3	75.4
	7) KDD	38.9	49.2	88.1
2	8) YMR	34.2	37.4	71.6
	9) LJH	27.3	36.6	63.9
	10) HYH	40.1	49.5	89.6
	Sum	177.6	221.0	388.6
SUM	Period	330.1	377.8	707.9
	Drug	363.5	344.4	
		(A)	(B)	

A: referene drug. B: test drug.

Table III—*ANOVA[1] Table.*

Variation sources	df[2]	SS[3]	MS[4]	F[5]
Between sujects	9	731.91	81.31	8.94
Between groups	1	240.13	240.13	3.91
Suject / Group	8	491.79	61.47	6.76
Intra suject variation				
Period	1	113.76	113.76	12.51
Drug	1	18.24	18.24	2.00
Residual	8	72.75	9.09	
Total variation	19	936.67		

[1]Analysis of variance. [2]Degree of freedom. [3]Sum of squares. [4]Mean squares. [5]F-ratio

적 동등성 시험기준[8]에 따라 다음과 같이 통계 검정하였다.

먼저 Table II에서 시험약의 평균 AUC는 대조약의 94.75%로서 두 제제의 AUC차는 20%를 넘지 않았으므로 동등성 판정 기준의 전제조건을 만족시켰다. 따라서 유의수준 $\alpha=0.05$에서 다음의 분산분석을 행하였다.

Table III은 각 피험자의 AUC값으로부터 계산한 분산분석표이다. 군간의 분산비 $F_G(1, 8)$는 3.91로서 F분포표의 5.318보다 작으므로 유의성이 없는 것으로 나타났다. 따라서 이 교차시험계가 성립됨을 알 수 있었다. 또, 다음의 (1)식을 써서 비심도 λ를 계산한 결과 $\lambda=5.39$이었다.

$$\lambda(\alpha, 1-\beta, 2(n-1)) = \frac{\sqrt{n}\cdot\delta^*}{s} \quad (1)$$

α, 검출력 $1-\beta$, 자유도 $\nu=2(n-1)$과 비심도 λ와의 관계로부터, $\alpha=0.05$, $\nu=3$, $\lambda=5.39$일 때, 검출력 $1-\beta$를 비심도표에서 찾으면, 검출력 $1-\beta$는 0.99 이상이므로 $1-\beta$가 0.8보다 커야한다는 기준에 적합하였다. 또, 다음의 (2)식을 써서 최소 검출차 Δ를 계산한 결과, $\Delta=0.1188$로서, $\Delta\leqq 0.2$이어야 한다는 기준에 적합하였다.

$$\Delta = \left(\frac{s, \lambda(\alpha, 1-\beta, \nu)}{\sqrt{n}} / \mu s\right) \times 100 \quad (2)$$

생물학적 이용률의 차이의 신뢰의 한계는 다음 (3)식에 의하여 구하였다.

$$\hat{\delta} - t(\alpha, r) \times \frac{s}{\sqrt{n}} \leqq \delta \leqq \hat{\delta} + t(\alpha, \nu) \times \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

그 결과 $-1.19\leqq\delta\leqq 5.02$였고, 이를 대조약에 대한 백분율로 나타내면 $-3.31\%\leqq\delta\%\leqq 13.81\%$로서, 생물학적 이용률의 차이가 20% 이내에 들어가야 한다는 기준에 적합하였다.

이상 AUC를 생물학적 이용률의 지표로 하여 통계검정을 행한 결과, 두 제제는 생물학적 동등성 판정기준을 모두 만족하였으므로, 양적인 측면에서의 생물학적 이용률에 있어서 서로 동등한 것으로 판정되었다.

결 론

1. 두 제제는 국립보건안전연구원 고시 제1호 생물학적 동등성 시험기준에 적합하여 생물학적으로 동등한 것으로 판정되었다.

2. 타액을 시료로 사용할 경우, 채취 및 처리가 간편하고, 보조인력, 기구 및 시험경비가 현저히 절약되므로 테오필린 제제의 경우 타액을 시료로 쓰는 것이 유리하며, 기타 혈장 중 농도와 타액중 농도간에 상관성이 확립되어 있는 약물이라면 생물학적 동등성 시험의 시료로서 타액을 사용하는

것이 바람직하다.

문 헌

1) R. Koysooko, E.F. Ellis, G. Levy, Relation between theophylline concentration in plasma and saliva of man, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **15**, 454(1974).
2) V.P. Shah, S. Riegelman, GLC determination of theophylline in biological fluids, *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1283(1974).
3) R.D. Eney, E.O. Goldstein, Compliance of chronic asthmatics with oral administration of theophylline as measured by serum and salivary levels, *Pediatrics*, **57**, 513 (1974).
4) 박경호, 신현택, 최진석, 김 우, 김건일, 건강한 한국인에 대한 theophylline의 Pharmacokinetics, 제35회 대한약학회 총회 및 학술대회 강연요지집, p.143(1986).
5) 박숙진, 권혁노, 심창구, 이민화, 김신근, 타액중 농도 정량에 의한 테오필린의 간대사 클리어란스의 측정, 제36회 대한약학회 총회 및 학술대회 강연요지집, p.146(1987).
6) B.H. Chung, C.K. Shim, Dissolution of theophylline from sustained release dosage forms and correlation with saliva concentration, *J. Pharm. Sci.*, **76**, 784(1987).
7) M. Gibaldi, D. Perrier, Pharmacokinetics, 2nd Ed., Marcel Dekker Inc., New York, 1982, pp.445-499.
8) 국립보건안전연구원 고시 제1호, 생물학적동등성 시험기준, 1988.