

록소닌 정(록소프로펜 나트륨 무수물 60 mg)에 대한 록시펜 정의 생물학적 동등성

김민화 · 한태규 · 김경식* · 정석재 · 이민화 · 심창구†

서울대학교 약학대학, *순화병원
(1998년 7월 21일 접수)

Bioequivalence of Loxipen Tablet to Loxonin Tablet (Sodium Loxoprofen Anhydride 60 mg)

In-Wha Kim, Tae-Gyu Han, Kyung-Sik Kim*, Suk-Jae Chung,
Min-Hwa Lee and Chang-Koo Shim†

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
*Soon Hwa Hospital, Seoul 135-280, Korea

(Received July 21, 1998)

A bioequivalence study of the Loxipen tablets (Dae Wha Pharmaceutical Co., Korea) to the Loxonin tablets (Dong Hwa Pharmaceutical Co., Korea), formulations of sodium loxoprofen anhydrous 60 mg, was conducted. Sixteen healthy Korean male subjects received each formulation at the dose of 60 mg as sodium loxoprofen anhydrous in a 2×2 crossover study. There was a 2-week washout period between the dose. Plasma concentrations of loxoprofen were monitored by an HPLC method for over a period of 6 h after each administration. AUC (area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity) was calculated by the linear trapezoidal and extrapolation method. C_{max} (maximum plasma drug concentration) and T_{max} (time to reach C_{max}) were compiled from the plasma drug concentration-time data. Analysis of variance (ANOVA) revealed that there are no differences in AUC, C_{max} and T_{max} between the formulations. The apparent differences between the formulations in these parameters were all far less than 20% (i.e., 5.88, 7.81 and 6.09% for AUC, C_{max} and T_{max} , respectively). Minimum detectable differences (%) at $\alpha=0.1$ and $1-\beta=0.8$ were all less than 20% difference in these parameters between the formulations were all over 0.8 (i.e., 15.81, 13.13 and 19.85 for AUC, C_{max} and T_{max} , respectively). The 90% confidence intervals for these parameters were also within $\pm 20\%$ (i.e., -16.52~4.77, -16.65~1.02 and -19.45~7.28% for AUC, C_{max} and T_{max} , respectively). These results satisfy the bioequivalence criteria of the Korea Food and Drug Administration (KFDA) guidelines (No. 98-51). Therefore, these results indicate that the 2 formulations of loxoprofen are bioequivalent and, thus, may be prescribed interchangeably.

Keywords— Loxoprofen, Loxipen, Loxonin, Bioequivalence

록소프로펜 나트륨[sodium (±)-2-[4-(2-oxocyclopentylmethyl)phenyl]propionate]은 2-phenylpropionate계 비스테로이드성 항염증제 (NSAID)로서 비교적 위장관 궤양 유발성이 약한 뛰어난 해열진통제^{1,2)}로서 만성관절류마티스, 변형성관절증, 요통, 건관절주위염, 경건완증후군, 발치 후, 외상 후 및 수술 후의 소염진통에 사용된다. 문헌의 *in vitro* 실험 결

과에 의하면 이 약 자체가 프로스타글란딘 합성을 저해하는 작용은 약하다. 이 약은 투여된 후 순환 혈액 중에서 cyclopentanone moiety가 cyclopentanol(즉 trans-alcohol)로 환원되어 약리작용을 나타낸다.^{1,2)} 뒤이어 글루쿠론산 포합을 받는 것이 인체 내에서 이 약이 받는 주된 대사 경로이다.³⁾ 록소프로펜은 분자내에 2개의 chiral center를 갖고 있기 때문에 4개의 enantiomer가 존재한다. 실제로 시판 록소프로펜 제제는 이 4가지 enantiomer를 동량씩 함유한 race-

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

mate 로 제조되어 있다. 따라서 시판 제제를 복용하면 8개의 광학 활성 이성체 알코올로 대사될 것이다. 그러나 인체 내에서는 입체 선택적인 대사가 일어나기 때문에 실제로 가장 많이 형성되는 것은 8개의 알코올 중에서 가장 약리작용이 강한 [2S-trans-(1'R,2'S)]-alcohol 이다. 따라서 이 약의 약리작용이나 체내동태를 연구할 때에는 모 약물과 이 대사체의 혈중 농도 추이를 함께 고찰하는 것이 바람직하다. 실제로 HPLC로 이 약물의 광학활성 알코올을 분리 정량하는 방법도 보고되어 있다.^{4,5)}

그러나, 생물학적 동등성 시험기준(식품 의약품 안전청 고시 제 98-51호, 1998년 4월 29일)에 따르면 이러한 약물의 경우에도 모 약물의 혈장 중 농도 추이로부터 생물학적 동등성 여부를 판정하는 것을 허용하고 있다. 따라서 이 연구에서는 기 허가되어 시판되고 있는 동화약품의 록소닌정(대조약, 록소프로펜 나트륨 무수물로서 60 mg 함유)과 대화제약 주식회사의 록시펜정(시험약, 록소프로펜 나트륨 무수물로서 60 mg 함유)이 생물학적으로 동등한가 여부를 판정하고자 록시펜정과 록소닌정을 16인의 건강한 성인 지원자에게 라틴 방격법에 따라 경구 투여한 후, HPLC방법으로 모 약물인 록소프로펜의 혈장 중 농도를 측정하여 얻은 최고 혈장중 농도 (C_{max}), 최고 혈장중 농도 도달시간 (T_{max}), 혈장중 약물 농도-시간 곡선하 면적 (AUC)에 분산분석을 행하였다. 이 실험은 식품의약품 안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻어 시행함으로써 모든 피험자의 동의를 받아 합법적으로 수행되었다.

실험방법

시약 및 기기

시험약으로는 조건부 생산 허가를 받은 대화제약의 록시펜정(제조번호: 829301, 제조일자: 1998년 3월 31일)을, 대조약으로는 동화약품의 록소닌정(제조번호: 4010, 사용기한: 1998년 12월 9일)을 사용하였다. 시험약 및 대조약 1정(약 68.1 mg) 중에는 록소프로펜 나트륨 2수화물이 함유되어 있는데 표시량은 록소프로펜 나트륨 무수물로서 60 mg이다. 록소프로펜 표준품은 대화제약에서 공급받아 사용하였고 케토프로펜은 Sigma에서 구입하여 사용하였다. HPLC용 아세토니트릴(Fisher Scientific, U.S.A.)과 메탄올(Fisher Scientific, U.S.A.)을 사용하였으며, 황산 아연(Sigma, U.S.A.)과 특급 인산(Osaka, Japan)을 사

용하였다. 증류수는 Millipore, Super Q(Millipore Co., U.S.A.)에서 18 Ω cm로 통과시킨 것을 0.45 μ m membrane filter로 통과시켜 사용하였다. 분석에 사용된 HPLC 장치는 Hitachi사의 펌프(L-7110), 검출기(UV: L-7400), 적분기(D-7500)로 구성되어 있다. 칼럼으로는 Phenomenex 칼럼(LUNA 5 μ , 250 \times 4.6 mm I.D.)을 사용하였다. 그 밖에 원심분리기(Brushless D. C. motor centrifuge, VS-4000(Vision Scientific Co. Ltd., Korea)), Hanil vaccum concentration system (Hanil Science Industrial, Korea), Vortex Genie 2(Scientific Industries Inc., U.S.A.), pH 측정기(Mettler delta 340(Mettler-Toledo Ltd., England)) 등을 사용하였다.

피험자 선정 및 관리

소정 양식의 공고를 통하여, 서울대학교 약학대학학부 또는 대학원에 재학 중인 20~28세의 외관상 건강한 남자로 평균체중과의 차이가 약 10%이내이며 과거에 소화기, 간장, 신장 및 혈액 질환의 병력이 없고 현재 다른 약물을 복용하고 있지 않은 사람 중 소정의 생물학적 동등성 시험 지원 신청서를 제출한 자 20명을 1998년 3월 1일 모집하였다.

모집된 지원자 20명 중 2명에 대해서는 미리 예비 피험자로 지정하여 혈액병리검사(hemoglobin, hematocrit, WBC, platelet, differential counting of WBC)와 혈액화학검사(BUN, creatinine, total protein, albumin, sGOT, sGPT, total bilirubin, cholesterol, glucose fasting, alkaline phosphatase)를 하였고, 나머지 18명에 대하여 시험기준 제 4장(시험대상 및 예수) 및 제 9조(시험대상 제 3항)에 따라 상기와 같은 혈액병리검사와 혈액화학검사 및 요 검사(specific gravity, color, pH, sugar(glucose), protein(albumin), RBC, WBC)를 하였다. 18명에 대한 건강 진단은 1998년 5월 7일 순화병원에서 실시하였다. 총 18명의 지원자 중 건강 진단 결과에서 의사의 종합소견이 '정상'으로 나타난 16명을 피험자로 선택하였다. 피험자 16명의 평균 연령은 24세(20~28), 평균 신장은 174 cm(165~180), 평균 체중은 64 kg(58~70)이었고, 이중 흡연자는 6명이었다. 최종 선발된 16명의 피험자에게 시험의 내용과 예측될 수 있는 부작용에 대하여 소정의 설명서(피험자에 대한 생물학적 동등성 시험 설명서)를 사용하여 다시 한번 설명한 후 16명 전원으로부터 '생물학적 동등성 시험참가 동의서'를 받았다.

본 시험 개시 1개월 전부터(즉, 4월 10일부터) 지원자 20명에 대하여 과도한 음주나 바르비탈류 등의 대사효소유도 약물을 복용하지 않도록 주의시켰다. 1주일 전부터는 음주나 약물, 커피 등의 복용을 일체 금지하도록 주의시켰다. 1일 전(5월 9일)에는 예비 시험용 피험자 2인과 건강진단 불합격자 2인 등 총 4인을 제외한 본시험용 피험자 16명에 대하여, 식사로 인한 영향을 배제하기 위하여 투약 전일 저녁 8시 이전에 채식 위주(돼지 고기 등의 기름진 음식의 섭취 금지)의 평상식을 먹게 하고 식용수를 제외한 일체의 음식물 섭취를 금지시켰다. 그리고, 피험자에게 시험 순서와 주의사항을 소정의 설명서(피험자에 대한 생물학적 동등성 시험 설명서)를 통해 다시 주지시켰다. 피험자들을 안정된 상태로 유도하기 위하여 시험전날 오후 9시에 취침하고, 시험 당일에는 오전 6시에 기상하도록 주지시켰다. 시험 당일(5월 10일) 아침에도 식용수를 제외한 모든 음식의 섭취를 금지하도록 주의시켰다. 시험 당일 오전 8시 이전에 채혈자와 채혈관리인 및 시험담당자로 하여금 투약 및 채혈 준비를 완료하게끔 하였다. 피험자들은 서울 강남구 대치동에 위치한 순화 병원 건강관리과(약 20평)에 오전 8시까지 도착하였다. 피험자의 왼쪽 팔의 정맥부위에 차례로 22 gauge I.V. 카테터(녹십자 의료공업)를 설치하고 blank 혈액으로 각각 5ml씩 채혈하였다. 채혈 후 I.V. 카테터에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수(25 u/ml) 0.5 ml를 주입하여 잔류 혈액을 혈관 내로 밀어 넣었다. 채혈에 필요한 모든 준비를 오전 8시55분까지 완료 하였다.

예비 시험

본 시험에 앞서서 예상되는 최고 혈중 농도 및 이에 도달하는 시간을 확인할 필요가 있으므로 본 생물학적 동등성 시험에 자원한 지원자 2인(5월 8일 건강진단 결과 정상으로 판정됨) 각자에게 5월 9일 아침 9시에 대조약 또는 시험약을 1정씩 경구 투여하였다. 이들의 시험 전 및 시험 중 관리(즉, 식사)는 본 시험에서와 동일하게 하였다. 이들로 부터 약물투여 직전 및 투여 후 10, 20, 30, 45분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6시간째 5ml의 혈액을 취하여 헤파린이 함유된 Vacutainer®에 넣고 흔들어진 후 2000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 혈장만을 취하여 후술하는 '혈장 중 록소프로펜의 정량'에 준하여 혈장 중 록소프로펜 농도를 정량 하였다. 2 사람의 혈장 중 록소프로펜 농도-시간 추이(데이터 미표시) 로 부터 상기 채혈 시간 계획이 타당함을 확인할

수 있었다. 이로부터 본시험에서의 채혈 시간을 위와 같이 결정하였다.

약물의 투약 계획 및 채혈 시간 설정

16명의 피험자를 라틴방격법에 따라 군 당 8명씩 임의로 2군으로 나누고 제 I기 제 1군에는 대조약인 동화약품의 시판 '록소닌정'을, 제 2군에는 대화제약에서 자가 제조한 시험약인 '록시펜정'을 투여하고 제 II기에는 그 반대로 투여하였다. 각 피험자에 대한 채혈은 예비 시험 결과를 근거로 하여 투여 직전에 1회, 최고혈장중 농도 출현 시간(T_{max} , 약 30분) 이전에 1시점 이상, 30분 부근에서 2시점 이상, 그리고 T_{max} 이후에 반감기(1~1.5시간)의 3배 이상 되는 시점까지 3시점 이상 채혈하도록 정하였다. 이렇게 하여 설정한 채혈시간은 0, 10, 20, 30, 45분, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 시간의 11시점이며, 투약 후 실수로 인한 채혈 시간의 변동을 사전에 방지하기 위해 시험 전 채혈자 및 피험자들에게 소정의 '피험자 관리표'를 배부하였다.

피험자에 대한 투약은 투약계획에 따라 오전 9시부터 대조약과 시험약 각 1정을 식용수 1컵(약 200 ml)과 같이 복용시켰다. 채혈의 편의를 위하여 복용 간격은 1분 간격으로 하였다. 채혈은 간호사 1인과 임상병리사 1인이 담당하였고 채혈관리인(2인) 및 채혈 보조자(2인)은 채혈된 혈액의 방치, 원심분리, 혈장분리, 보관 등을 수행하였다. 투약과 채혈은 시험 담당자(김경식 의사)의 감독하에 진행되었으며, 전과정은 시험 책임자(심 창구)가 총괄 지휘하였다. 채혈 방법은 I.V. 카테터 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 3ml 주사기로 약 2ml의 혈액을 빼내어 버리고 새 5ml 주사기로 5ml의 혈액을 채혈하였다. 채혈 후마다 I.V. 카테터 중에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수를 주입하여 잔류 혈액을 혈관 내로 밀어 넣었다.

채혈 시간의 정확성을 기하기 위하여 투약 후 4시간 경과 후까지는 건강관리과(20평)에 머물게 하되 채혈 기간 동안 자거나 눕지 않도록 하였으며, 일체의 음식(물 포함)을 먹지 못하게 하였다. 4시간째 채혈이 끝난 시점(오후 1시 30분 경)에서 모든 피험자에게 동일하게 준비된 식사(비빔밥)와 식수(약 200~300 ml)를 하게 하였다. 그리고 투약 후 마지막 채혈시간까지 건강 관리실과 물리치료실(약 30평, 지하 1층)을 오가게 허용 하되 TV시청, 독서, 간단한 놀이 이외의 과격한 운동은 금지시켰다. 4시간째의 식사 이후에는 시험이 끝날 때

(오후 3~4시) 까지 일체의 식사와 식수를 금지시켰다.

경구투여 된 로소프로펜의 T_{max} 가 0.5~1시간, 반감기가 1~1.5시간으로 보고되어 있고, 식약청 고시 제 98-51호 '생동성 시험기준' 제15조 제3항 휴약 기간의 산정기준에 의하면 반감기의 최소 3배 이상의 기간으로 되어 있는 바, 3배 이상의 충분한 시간인 2주일을 휴약 기간으로 하였다.

제 I기 투약 시험이 종료된 피험자에 대하여 제 II기 투약 시까지 상기한 '피험자 선정 및 관리'에 따라 일체의 약물의 복용이나 음주를 금지시키는 등 동일한 관리를 하였다. 2주일 후(1998년 5월 24일), 투약계획에 따라 시험약 및 대조약을 투약하였다. 투약, 채혈 및 피험자 관리는 제 I기 시험에서와 동일한 방법으로 하였다. I기 및 II기 시험 도중 또는 시험 후 이 시험에 의해 부작용이 나타났거나, 이에 의해 투약을 중단한 사례는 없었다.

혈장 중 로소프로펜의 정량

검량선은 100~15000 ng/ml 범위의 로소프로펜 농도에 대하여 작성하였다. 로소프로펜(대화제약 제공) 10 mg을 여과 탈이온수 10 ml에 녹여 stock solution으로 사용하였다. Stock solution을 여과 탈이온수로 희석하여 각각 로소프로펜의 농도가 0.5, 5, 25, 37.5, 50, 75 µg/ml로 만든 것을 1.5 ml microcentrifuge tube(Greiner, Lot. 96260108, Germany)에 50 µl씩 가한 후 Speed-vac을 사용하여 증발 건조한 후 blank 혈장을 250 µl씩 가하고 1분간 vortexing 하였다. 이렇게 하여 혈장중의 로소프로펜 농도가 100, 1000, 5000, 7500, 10000, 15000 ng/ml 인 검량선 작성용 시료를 만들었다. 여기에 내부표준 물질 ketoprofen(20 µg/ml) 25 µl를 가하고 가볍게 vortexing하였다. 그 다음 이 시료에 10% (w/v) ZnSO₄용액을 30 µl를 가하고 acetonitrile 375 µl를 가한 후 2분 동안 vortexing하고 5000 rpm (실온)에서 5분간 원심 분리하였다. 상층액 500 µl를 취하여 Speed-vac으로 증발건조시킨 후 남은 잔사에 이동상 125 µl를 가하여 20초간 vortexing한 다음 이중 100

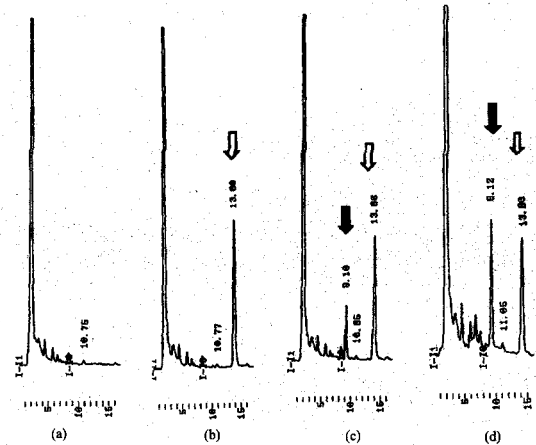


Figure 1—HPLC chromatogram of loxoprofen (9.10 min) and internal standard (ketoprofen, 13.80 min). Key: (a): blank plasma, (b): blank plasma spiked with internal standard, (c): plasma spiked with loxoprofen and internal standard, (d): plasma obtained from volunteer

µl를 HPLC에 주입하였다. 이렇게 하여 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크높이에 대한 로소프로펜의 피크높이의 비를 구하여 Y축에 대응시키고, 해당하는 로소프로펜의 농도를 X축에 대응시켜 검량선을 작성하였다.

이 분석 조건에서 로소프로펜 (retention time 9.1분)은 내부 표준 물질 (retention time 13.8분)이나 기타 혈장 성분들의 피크와 잘 분리되었으며(Figure 1) 검량선은 전 피험자의 혈장 중 로소프로펜 농도범위를 포함하는 100~15000 ng/ml에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또 이 방법에서 평균 추출율은 전 검량선 농도 범위에서 94%이상이었고 정밀도(precision)와 정확도(accuracy)는 Table I과 같았다. 이로부터 검량선 최소 농도인 100 ng/ml를 이 분석법의 limit of quantification(LOQ)으로 설정 하였다. 이상의 결과로부터 이 분석법은 American Association of Pharmaceutical Scientists(AAPS), U.S. Food and Drug Administration(FDA), Federation Int-

Table I—Precision and Accuracy of HPLC Method for Loxoprofen Assay

Concentration (ng/ml)	Precision: Coefficient of variation(%)		Accuracy: Deviation from theoretical value (%; n=5)
	Intra-day (n=5)	Inter-day (3 days)	
100	9.04	10.51	8.09
7500	7.15	11.70	10.61
15000	2.95	5.70	4.58

ernational Pharmaceutique(FIP), Health Protection Branch(Canada) 그리고, Association of Official Analytical Chemists(AOAC)의 합동 conference에서 제시된 'BE test'용 분석법 guideline⁷⁾에 정밀도와 정확도를 보임을 확인하였다.

채혈된 혈액 시료를 15분간 원심 분리한 후 혈청 분리관(현대화학)을 이용해 혈장을 취하여 시험관에 옮기고 -20°C 냉동고에 넣어 분석 때까지 보관하였다. 분석시에는 동결된 혈장을 실온에서 방치하여 녹이고 약 1분간 vortexing한 후 검량선 시료분석과 같은 방법으로 분석하였다. 즉 혈장 시료 250 µl에 내부 표준 물질로서 ketoprofen 용액(20 µl/ml) 25 µl를 가하고 vortexing을 가볍게 한 후 여기에 10% ZnSO₄ 용액 30 µl와 acetonitrile 375 µl를 가하여 2분 동안 vortexing한 후 5000 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 상청액 500 µl를 취하여 Speed-vac으로 증발건고시킨 후 잔사에 이동상 125 µl를 가하여 20초간 충분히 vortexing하여 최종액중 100 µl를 HPLC에 주입, 분석하였다.

혈장 중 록소프로펜은 HPLC^{5,6)}로 정량 하였다. 이동상으로는 acetonitrile:water(=44:56(v/v), 인산을 첨가하여 pH 3.0±0.1로 조절) 혼액으로 사용하였고 유속은 1.0 ml/min, 검출은 220 nm에서 a.u.f.s: 0.005로 검출하였다. 크로마토그램에서 얻어진 록소프로펜의 피크 높이와 내부 표준 물질의 피크 높이를 자동 데이터 처리장치(D-7500)를 사용하여 구한 뒤, 내부 표준 물질에 대한 록소프로펜의 피크 높이 비를 계산하여 검량선으로부터 혈장 시료 중의 록소프로펜 농도(ng/ml)를 산출하였다.

약물체내동태 파라미터의 산출

각 피험자의 약물투여 후 6시간까지의 AUC 즉, AUC₀₋₆는 각 피험자의 혈장 중 약물농도-시간 곡선으로부터 사다리꼴 공식으로 구하였다. 단, 6시간에서의 혈장 중 농도가 LOQ(100 ng/ml) 이하로 나타난 경우에는 4시간까지의 AUC 즉, AUC₀₋₄를 같은 방법으로 구하였다. 다음 마지막 정량 시점 이후의 AUC 즉 AUC_{T-∞}는 pharmacokinetics 프로그램인 Winnolin[®] (version 1.1, Scientific Consulting Inc., Apex, NC, U.S.A.)을 통해서 구한 terminal phase 기울기(k)와 최종 정량 시점 농도(CT)를 사용하여 AUC_{T-∞}=C_T/k 로부터 계산하였다. 각 피험자의 0시점에서 무한대 시점까지의 AUC 즉, AUC_{0-∞}는 AUC₀₋₆ 또는 AUC₀₋₄와 AUC_{T-∞}의 합으로부터 구하였다. 이 때 AUC_{T-∞}는

AUC_{0-∞}의 20%이내 임을 확인하였다. 이 AUC_{0-∞}값으로부터 2 제제의 동등성을 비교하고자 하였다. 이하 AUC_{0-∞}를 단순히 AUC로 표기하였다. 최고 혈장 중 농도인 C_{max}와 그때의 시간인 T_{max}는 혈장 중 농도-시간 곡선에서 직접 읽어 구하였다.

생물학적 동등성의 판정

식약청 고시 제98-51호 '생동성 시험기준'에 따라 2 제제의 AUC, C_{max} 및 T_{max}를 비교함으로써 2 제제의 동등성 여부를 판정하였다. 즉, AUC, C_{max}와 T_{max} 데이터에 대하여 분산분석(ANOVA)을 행하여 교차시험이 이루어졌는지를 확인하고, 평균치의 차이(대조약의 20% 이내일 것), 검출력 또는 최소 검출차(α=0.05 또는 0.1 조건에서 1-β)0.8 이거나, 1-β=0.8 조건에서 최소검출차(20%일 것) 및 90% 신뢰한계 등을 구하여 종합적으로 고찰함으로써 2 제제의 생물학적 동등성 여부를 검정하였다. 데이터는 서울대학교 약학대학 약제학 연구실에서 개발한 'K-Betest 프로그램'⁸⁾을 사용하여 처리하였다.

결과 및 고찰

피험자의 혈장 중 록소프로펜의 농도 추이

피험자 각인에 있어서 록소프로펜의 혈장 중 농도 추이는 같은 제제 (시험약 또는 대조약)라 하더라도 큰 개체차를 보였으나 2 제제 간의 차이는 심하지 않고 대체로 비슷한 혈장 중 농도-시간 추이를 보였다. 그 결과 피험자 16명의 평균 혈장 중 록소프로펜 농도-시간 추이는 Figure 2에서 보는 바와 같이 2 제제가 대체로 유사한 혈장 중 농도-시간 추이를 나타내었다. 한편

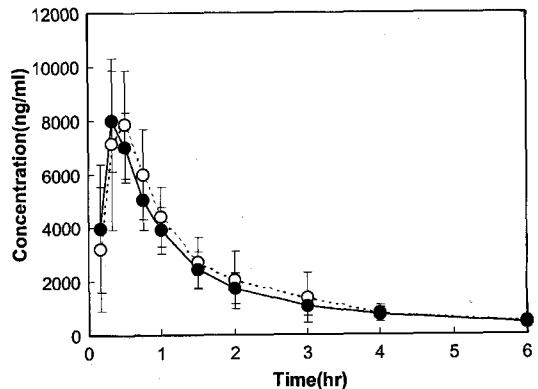


Figure 2—Mean plasma loxoprofen profiles from Loxonin (reference drug, ○) and Loxipen (test drug, ●) tablets (Mean±SE, n=16).

Table II—Bioavailability Parameters of Loxoprofen in Each Subject and Period

	AUC(ng×hr/ml)		C _{max} (ng/ml)		T _{max} (hr)	
	Period I	Period II (Test)	Period I (Reference)	Period II (Test)	Period I (Reference)	Period II (Test)
A1	8197	9546	7271	7945	0.33	0.33
A2	13638	10731	6566	7502	0.33	0.5
A3	14211	8448	9321	8122	0.5	0.5
A4	16019	8244	13841	9618	0.33	0.33
A5	16163	14468	11190	10601	0.33	0.33
A6	23134	13535	9688	7462	0.5	0.5
A7	16417	12528	10779	10057	0.33	0.33
A8	14560	12834	9155	6036	0.75	0.75
	Period I (Test)	Period II (Reference)	Period I (Test)	Period II (Reference)	Period I (Test)	Period II (Reference)
B1	16964	10390	9049	7103	0.17	0.17
B2	16274	8997	6365	10076	0.5	0.5
B3	13827	10321	9361	8209	0.33	0.5
B4	13029	11591	7325	8770	0.75	0.5
B5	16451	17033	7420	8442	0.33	0.33
B6	11456	11737	8247	6763	0.33	0.5
B7	17243	15709	11853	11043	0.33	0.5
B8	13493	14009	8012	8199	0.17	0.5

16명의 혈장 중 농도 추이로부터 구한 AUC, C_{max} 및 T_{max} 값을 투여시기 및 제제 별로 정리하면 Table II와 같다. 표로부터 역시 각 파라미터의 개체간 차이는 크지만 한 개체 내에서 2 제제간의 차이는 그다지 크지 않음을 알 수 있었다. 예컨대 AUC의 경우, 개체에 따라 대조약의 AUC가 8197~23134 ng·hr/ml 사이에서 변동하였으나 한 개체 내에서의 2 제제의 AUC의 변동은 최대로 큰 것이 8244~16019 ng·hr/ml이었다. C_{max}와 T_{max}에 있어서도 개체 내 변동보다 개체간 변동이 큰 경향이 확인되었다. 한편, 대조약인 록소넨정의 평균 AUC(ng·hr/ml)는 13882±3711, 시험약인 록시펜정의 평균 AUC는 13066±2860이었고, C_{max}(ng/ml)는 9151±1934, 8435±1555이었으며, T_{max}(min)은 0.43±0.13, 0.41±0.17이었다. 2 제제에 대하여 각 파라미터 값 간에 차이가 있는지 여부를 paired t-test로 검정한 결과 2 제제는 AUC, C_{max}와 T_{max}에 유

의성 있는 차이가 없었다.

ANOVA 결과

AUC, C_{max}와 T_{max}에 대하여 ANOVA 처리를 한 결과, 교차시험이 잘 수행되었으며 3 파라미터에 있어서 개체간 차이가 있었다. 그러나 3 파라미터에 있어서 2제제간의 차이는 없었다. 흥미로운 것은 AUC에 있어서 I기와 II기간에 차이가 나타나는 시기효과(period effect)가 보이는 일이다. 실제로 제제에 관계없이 I기의 AUC(평균 15067)가 II기에는 11883 ng·hr/ml로 약 20% 이상이나 감소하였다. 이와 같은 현상은 록소프로펜을 연속 투여함으로써 록소프로펜을 대사시키는 효소가 유도되었을 가능성을 시사하는 것이지만 아직 이를 입증할만한 실험 결과가 보고된 바 없다. 따라서 앞으로 그 가능성을 확인 할 필요가 있다고 생각된다. 그러나 시기효과의 존재 여부는 동등성 판정에 영향을 미치지 않는다.⁸⁾ 따라서 ANOVA의 결과 2 제제의 bioavailability 파라미터간에

Table III—Summary of Bioequivalence Test According to KFDA Criteria

Item	Difference	F value ^a	Noncentrality (λ) ^b	Power (1-β) ^c	Minimum detection difference (Δ) ^d	Confidence interval (δ) ^e
AUC	5.88 %	0.946	3.309	>90%	15.81%	-16.52≤δ≤4.77
C _{max}	7.81%	2.424	3.985	>90%	13.13%	-16.65≤δ≤1.02
T _{max}	6.09%	0.643	2.636	80.4%	19.85%	-19.45≤δ≤7.28

^aα=0.1, F_{0.1}(1, 14)=3.10, ^bα=0.1, v=14, ^cα=0.1, Δ=0.2, ^dα=0.1, 1-β=0.8, ^eα=0.1

는 차이가 없다는 것을 확인하였다.

AUC, C_{max} 및 T_{max}에 대한 생물학적 동등성 검증

식약청 기준에 따라 3가지 파라미터에 대하여 동등성 여부를 검정한 결과를 Table III에 정리하였다. 3 파라미터에 대하여 평균값의 차이(대조약의 20% 이내), 최소검출차($\alpha=0.1$ 또는 0.05 , $1-\beta=0.8$ 일 때 20% 이내) 및 90% 신뢰한계($\pm 20\%$ 이내)가 모두 식약청의 동등성 기준을 만족시킴을 알았다. 이로부터 시험약은 대조약과 생물학적으로 동등하다고 판단되었다.

결 론

대화제약 주식회사로부터 제공 받은 록시펜정(시험약)과 동화약품의 시판 록소닌정(대조약)을 '생동성 시험기준'(식약청 고시 제 98-51호)에 따라 16명의 건강한 남성 성인 지원자에게 2×2 라틴 방격법에 따라 교차로 1정(록소프로펜 무수물으로서 60 mg)씩 경구 투여한 후, 6시간 까지 채혈하여 각 피험자들의 혈장 중 약물 농도 데이터로부터 혈장 중 농도-시간 곡선하 면적(AUC), 최고 혈장 중 농도(C_{max}), 최고 혈장 중 농도 도달시간(T_{max}) 등의 생물학적 이용률 파라미터를 구하고 이에 대해 ANOVA 및 식약청의 생동성 시험 기준에 따라 2 제제의 동등성 여부를 시험하였다.

ANOVA 결과 교차시험이 적절히 수행되었음을 확인 하였으며 2 제제의 AUC, C_{max} 및 T_{max} 간에는 유의성 있는 차이가 없었다. 식약청 기준에 따라 각 BA 파라미터의 동등성 여부를 검정한 결과 2 제제의 AUC, C_{max} 및 T_{max} 의 동등성이 입증되었다. 따라서 록시펜정은 록소닌정과 생물학적으로 동등하다고 판단되었다.

감사의 말씀

이 연구는 서울대학교 종합약학 연구소의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드린다.

문 헌

1) A. Terada, S. Naruto, K. Wachi, S. Tanaka,

Y. Iizuka and E. Misaka, Synthesis and anti-inflammatory activity of [(cycloalkylmethyl)phenyl]acetic acids and related compounds, *J. Med. Chem.*, **27**, 212-216 (1984).

2) K. Matsuda, Y. Tanaka, S. Ushiyama, K. Ohnishi and M. Yamazaki, Inhibition of prostaglandin synthesis by sodium 2-[4-(2-oxocyclopentylmethyl)-phenyl]propionate dihydrate(CS-600), a new anti-inflammatory drugs, and its active metabolite *in vitro* and *in vivo*, *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 2473-2478 (1984).

3) T. Yamaguchi, T. Kojima, K. Kobayashi, Y. Endo, Y. Misawa, E. Nakajima, E. Misaka and K. Tanaka, CS-600, a new anti-inflammatory agent. II. Pharmacological efficacy and ulcerogenic effect of CS-600 and its active metabolites, *Jpn. J. Inflammation*, **3**, 63-67 (1983).

4) H. Naganuma and Y. Kawahara, High-performance liquid chromatographic determination of loxoprofen and its diastereomeric alcohol metabolites in biological fluids by fluorescence labelling with 4-bromomethyl-6,7-methylenedioxycoumarin, *J. Chromatogr.*, **530**, 387-396 (1990).

5) H. Naganuma, Y. Tanaka and R. Hayashi, Column liquid chromatography for the simultaneous determination of the enantiomers of loxoprofen sodium and its metabolites in human urine, *J. Chromatogr.*, **345**, 373-379 (1985).

6) V.P. Shah, K.K. Midha, S. Dighe, I.J. McGilveray, J.P. Skelly, A. Yacobi, T. Layloff, C.T. Viswanathan, C.E. Cook, R.D. McDowall, K. A. Pittman and S. Spector, Analytic methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies, *Pharm. Res.*, **9**, 588-592 (1992).

7) Y.J. Lee, J.H. Choi, I.S. Park, D.S. Kim, S.J. Chung, M.H. Lee and C.K. Shim, K-Betest, a computer program for the analysis of bioequivalence, *The Spring Convention of the Pharmaceutical Society of Korea*, The Pharmaceutical Society of Korea, pp. 175 (1998)

8) R. Sauter, V.W. Steinijs, E. Diletti, A. Bohm and H.U. Schulz, Presentation of results from bioequivalence studies, *Int. J. Clin. Pharmacol.*, **30**, 233-256 (1992).