

티로프라미드 주사제의 생물학적 동등성 평가를 위한 GC/MS 방법

명승운* · 김명수 · 김혜영¹ · 광현태¹ · 민혜기 · 손동렬² · 홍영훈³

한국과학기술연구원, ¹국민대학교, ²순천향의대, ³신풍제약주식회사
(2001. 3. 20. 접수)

Bioequivalence Evaluation of the Tiropramide Formulation by GC/MS

Seung-Woon Myung, Myungsoo Kim, Hye-Young Kim¹, Hyun-Tae Kwak¹,
Hye-Ki Min, Dong-Ryul Sohn², Young-Hun Hong³

Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, P.O. Box131, CheongRyang, Seoul 136-791, Korea

¹Department of Chemistry, Kookmin University, Seoul, Korea

²Department of Clinical Pharmacology, Soonchunhyang University College of Medicine, Chonan 330-090, Korea

³Shin Poong Pharmaceutical Co., Yoksam-2-Dong, Kangnam-Gu, Seoul 135-082, Korea

(Received March 20, 2001)

요 약 : 본 연구에서는 이미 허가되어 시판되고 있는 D제약의 "티로파주"(대조약, 염산티로프라미드로서 1mL당 16.67mg 함유)와 S제약의 "티랩주"(시험약)이 생물학적으로 동등한지의 여부를 판정하고자 시행되었다. 두 제제를 건강한 성인 남자 16인의 지원자에게 라틴방격법에 따라서 근육 주사한 후, 고체-액체 추출법으로 추출하여, GC/MS로 티로프라미드의 혈장 중 농도를 측정하고 이로부터 최고 혈장중 농도 (Cmax), 최고 혈장중 농도 도달시간(Tmax), 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)에 대하여 식품의약품안전청(이하 식약청이라 함)과 서울대학교 약학대학이 공동 개발한 분산분석 프로그램³에 의하여 분산분석을 행하였다. 정량을 위한 검정 곡선의 상관계수는 R²=0.998로 좋은 직선성을 나타내었고, 검출한계는 0.1ng/mL였다.

Abstract : The bioequivalence study of two tiropramide products was evaluated in 16 health male volunteers following intra-muscular injection. Test product was Tiram[®] injection (S Pharm. Co., Ltd.) and reference product was Tiropa[®] injection(D Pharm. Co., Ltd.). The drug concentration in plasma was determined by GC/MS for over a period of 8 hours after injection. Analysis of variance reveal that there are no differences in AUC (area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity), Cmax (maximum plasma concentration) and Tmax (time to reach Cmax). The differences of mean AUC, Cmax and Tmax between two products were 0.73, -1.385 and -12.994%, respectively. Minimum detectable differences (%) at $\alpha=0.05$ were all less than 20% given as a guideline (10.05, 17.90 and 19.01% for AUC, Cmax and Tmax, respectively). From these results, the two formulations of tiropramide are bioequivalent and thus, may be prescribed interchangeably .

Key words : tiropramide, GC/MS, bioequivalence

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)2-958-5104, Fax : +82+(0)2-958-5059

E-mail : swmyung@kist.re.kr

1. 서 론

보건복지부고시 “의약품등 제조업 및 제조품목허가 등 지침”과 “의약품 등의 안전성 유효성 심사에 관한 규정” 및 식품의약품안전청 고시 제1998-86호 “생물학적 동등성시험 기준”(식품의약품안전청, 1998) 의하여 염산 티로프라미드가 함유된 두 제제간의 생물학적 동등성을 입증하고자 본 실험을 수행하였다. “티램주 (S제약)”은 염산 티로프라미드 제제로써 1975년에 Makovec등에 의해서 합성된 위장관운동 곤란증, 담석증, 당뇨병, 수술후 유착 등과 관련된 복부 경련과 통증, 간담도 산통, 신장·요관의 산통등에 사용되고 있는 약물이다(Fig. 1)^{1,4,5}. 신규 의약품은 치료성분의 효능이 뛰어나도 제형화 되었을 때 생체 이용률이 낮으면 치료효과가 그 만큼 상실된다. 또한 제형별로 생체 이용률의 차이가 있으면 적정 용량을 투여하기가 용이하지 않고 과량 또는 과소량의 생체이용으로 인하여 심각한 부작용을 유발하거나 치료효과를 기대할 수 없게 된다. 따라서 선진 각국이나 국내에서도 새로운 제형의 생물학적 동등성의 중요성을 인식하여 생체 내 이용률에 대한 정확한 자료를 요구하고 있다. S제약(주)에서는 “티램주”라는 품명으로 티로프라미드 주사제를 개발하였는데, 이의 판매를 위해서는 기존에 시판되고 있는 제제와 생물학적 동등성 시험을 하여 기존 제품과 혈중농도와 최고 혈중농도 도달시간이 동일하여 약효에 차이가 없다는 것을 증명하여야 한다. 본 연구는 식약청으로부터 시험계획서의 승인을 얻은 후 피험자의 동의를 얻어 계획서에 의거하여 수행되었다.

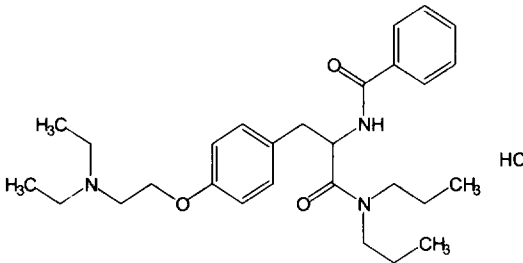


Fig 1. Structure of tiropramide · HCl.

2. 실험

2.1. 시험약제

시험약으로는 조건부 생산허가를 받은 염산 티로프

라미드((±) α -benzoylamino-4-(2-diethylamino-ethoxy)-N, N-dipropyl-benzenpropanamide · hydrochloride, mol. wt 504.44)로써 1mL당 16.67mg이 함유된 S제약의 티램주를 사용하였고, 대조약으로는 염산 티로프라미드가 같은 함량 포함되어 시판되고 있는 D제약의 HCl 파주를 사용하였다. 내부표준물질(α -benzoylamino-(2-dimethylamino-ethoxy)-N,N-dipropylbenzenpropanamide)은 Makovec과 Senin의 방법²을 이용하여 합성한 후 GC/MS로 순도 확인을 거쳐 사용하였다.

2.2. 시약 및 재료

메탄올(J.T.Baker, NJ, USA)은 HPLC용이었으며 pH 조절을 위하여 사용된 potassium carbonate(Junsei Chemical, Tokyo, Japan), sodium hydrogen carbonate(Kanto Chemical, Tokyo, Japan) 등은 1급 시약이었으며 $K_2CO_3/NaHCO_3=2:1$ 로 혼합한 분말을 사용하였다. 고체-액체 추출에 사용된 고체상은 Sep-pak Plus C₁₈ (Waters, MA, U.S.A.)이었다.

2.3. 피험자 선정

시험 대상은 순천대학교 의과대학에 재학중인 20-40세의 건강한 성인 남자로서 공고를 통하여 과거에 소화기계, 간장, 신장 및 혈액 질환 병력이 없고 현재 타약품을 복용하고 있지 않은 지원자를 모집하였다. 지원자는 모두 충남 천안시 쌍용동 소재 순천향의대 천안병원에서 신체검사 및 혈액 질환검사, 간장, 신장검사를 실시하였고, 그중 생물학적 동등성 시험에 적합한 정상인 16인을 피험자로 선정하였다. 선정된 시험자는 “임상시험관리기준” 제 16조(피험자 동의)에 따라 시험내용을 설명하고 질의에 답하는 설명회를 거쳐 서면 동의를 받았다. 최종적으로 선정된 피험자의 연령은 20-27세(평균 21.4세)였으며, 신장은 165-182 cm(평균 173.3cm), 체중은 53-75 kg(평균 65.0 kg)이었다. 각 피험자의 신체사항 및 건강진단검사 결과는 Table 1에 요약하였다.

2.4. 투약 및 채혈

시험은 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약할 피험자 16인을 군당 8인으로 나누어 시험을 실시하였고, 제 I기 제 1군에는 시험약인 티램주를, 제 2군에는 대조약인 티로파주를 주사하고 제 II기에는 그 반대로 주사하였다. 식사에 대한 영향을 배제하기 위해 피험

Table 1. Informations and the results of blood chemistry examinations of sixteen volunteers

Subject No.	Age	Height (cm)	Weight (kg)	HT* (%)	H.G.* (g/dL)	GOT* (IU/L)	GPT* (IU/L)	Glucose (mg/dL)	CHOL* (mg/dL)	TP* (g/dL)	ALB* (g/dL)	B.P (mm/Hg)
NR**	-	-	-	41-53	13-18	8-40	5-35	70-105	130-230	6.8-8.0	3.3-5.2	≥140/90
A1	20	165	55	46	14.9	13	14	83	185	7.5	4.8	130/80
A2	21	168	61	47	15.2	19	19	86	172	7.7	4.7	110/70
A3	21	177	65	43	14.4	20	14	84	131	7.1	4.7	128/82
A4	21	165	55	44	14.7	16	13	87	171	8.0	5.0	125/80
A5	27	180	75	44	14.6	17	11	89	156	7.5	4.6	130/80
A6	21	167	53	47	15.3	10	12	84	123	7.3	4.6	125/75
A7	21	174	65	44	14.5	17	17	80	135	7.3	4.7	120/75
A8	22	168	67	48	15.5	20	16	82	165	8.3	5.0	120/80
B1	22	182	75	44	14.7	17	13	79	135	7.4	4.4	130/80
B2	21	181	74	44	14.6	19	15	93	131	7.7	4.8	130/80
B3	21	177	70	49	15.6	21	15	76	149	7.6	4.8	122/81
B4	21	176	62	47	15.3	21	15	87	181	8.0	4.9	120/80
B5	21	177	63	45	14.7	18	9	87	136	8.1	4.6	128/75
B6	21	168	64	46	15.2	24	16	73	187	7.9	4.9	130/80
B7	21	167	66	46	15.0	17	17	84	172	7.7	4.9	120/80
B8	21	182	70	45	14.8	16	12	85	148	7.4	4.9	125/80

* Abbreviations: HT (hematocrit), HG (Hemoglobin), GOT (glutamic oxalacetic transaminase), GPT (glutamic pyruvic transaminase), CHOL (cholesterol, TP (total protein), ALB (albumin), BP(blood pressure), NR (normal range),

** Represents the normal range of each blood chemistry examination

자는 투여 전날 저녁식사 후부터 투여 후 4시간 (익일 오후 1시)이 지나기 전까지 일체의 음식이나 음료의 공급을 금하고 운동, 흡연 및 음주를 제한하였다. 채혈시간 간격은 2인의 건강한 지원자에 대한 예비시험의 결과로 확정된 0, 0.083(5분), 0.167(10분), 0.25(15분), 0.5(30분), 1, 2, 3, 5, 및 8시간의 10시점으로 하였다.

피험자의 팔의 정맥부위에서 0시간의 blank 혈액으로서 각각 7mL씩 채혈한 다음 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리시험액 0.25mL를 주입하였다. 시험일 당일 아침 9시에 각각 염산 티로프라미드 16.67mg(1mL당)을 함유한 티로프라주 또는 티램주를 1인당 3mL씩 근육 주사하였다. 투약 후 4시간까지는 일체의 음료를 들지 못하게 하며, 그 이후부터 마지막 채혈이 끝날 때까지 녹차, 커피, 콜라 및 카페인 함유 음료를 마시지 못하도록 하고, 투약 후 6시간에 경식을 일정하게 제공하며 모든 채혈이 끝난 후에 식사를 제공하였다. 채혈된 혈액은 vacutainer tube에 넣고 냉장고에서 20분간 방치한 다음 3000rpm에서 15분간 원심분리한 다음 혈청만

을 취하여 멸균 바이알에 옮기고 이 바이알을 영하 70도의 냉동고에 넣어 분석시까지 보관하였다.

7일간의 휴약기간을 두어 제 II기의 시험을 교차하여 동일한 방법으로 실시하였다.

2.5. 휴약기간

휴약기간은 염산 티로프라미드 주사제의 T_{max} 가 10분, 반감기가 약 2시간으로 문헌에 보고되어 있고, 생물학적 동등성 시험 기준⁷ 제 18조 제4항 휴약기간의 산정기준에 의하면 반감기의 최소 3배 이상의 기간으로 되어있는 바, 본 시험에서는 1주일을 휴약기간으로 하였다.

2.6. 혈장 중 약물농도의 분석

검량선은 blank 혈청 1.5mL에 티로프라미드가 각각 0.5, 1, 6, 10, 20, 60, 100, 200, 400ng/mL의 농도가 되도록 첨가하고 각각의 sample에 내부표준물질을 133ng/mL의 농도가 되도록 혈청시료를 만든 후 다음에서 서술하는 시료 추출법 및 분석 조건에 따라 분석하였다. 검량선은 내부 표준물질의 면적에 대한 티

Table 2. GC/MS Operating parameters for Tiropramide

GC	HP6890
Detector	Mass selective detector (HP5973)
Column	HP1 15m×0.2mm(I.D), 0.33 μ m film thickness
Injector temp.	290 $^{\circ}$ C
Injection mode	split mode (ratio 10:1)
Carrier gas	Helium
Oven Temp.	170 $^{\circ}$ C (1min) / 20 $^{\circ}$ C/min / 300 $^{\circ}$ C (7min)
SIM mode	Selected ions(m/z) 58, 86, 105

로프라미드 면적비를 가지고 티로프라미드 농도에 대한 검량선을 작성하였다. 혈청 1.5mL에 내부표준물질용액 20 μ L(10 μ g/mL solution in methanol)을 가하고, 다시 K₂CO₃/NaHCO₃=2:1 분말 약 50mg을 첨가하여 pH를 약 9.5에서 10.0으로 조정하였다. Sample을 activated된 Sep-pak(C₁₈)에 주입하고 증류수 1mL씩으로 두 번 세척하였다. Sep-pak에 결합되어 있는 물질은 1mL의 methanol로 두 번 용출시키고 용출액은 질소 기류하에서 증발시켰다. 잔사에 메탄올 100 μ L를 첨가하여 녹인 후, 이 최종 시료 용액 중 autosampler를 이용하여 3 μ L를 GC column에 주입하였다. 이때 사용한 GC/MS의 조건은 Table 2.와 같다.

2.7. 회수율 측정

혈장 중 티로프라미드의 회수율을 측정하기 위해 공시료 혈장에 60ng/mL 및 200ng/mL가 되도록 첨가하여 2.6.의 시험방법과 같이 용출시키고 질소 기류하에서 증발시키기 전에 내부표준물질을 첨가하였다. 이와 회수율을 비교할 시료는 공시료를 2.5.의 시험방법으로 용출시키고 질소 기류하에서 증발시키기 전에 60ng/mL 및 200ng/mL되도록 티로프라미드를 첨가시키고 동시에 내부표준물질도 함께 첨가시켰다.

2.8. 약물속도론적 분석

최고혈중농도(C_{max}) 및 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 혈중약물 농도-시간 곡선으로부터 직접 읽었다. 혈중약물 농도를 측정된 결과 8시간까지는 모두 정량한계 값 이상으로 나타났다. 단, 12시간 이후 혈장중 농도가 LOQ(limit of quantitation)(0.5ng/mL) 이하로 나타난 경우는 8시간까지의 AUC 즉, AUC₀₋₈를 사다리꼴 공식으로 구하였으며 무한대까지의 AUC_{0-∞}는 AUC₀₋₈와 AUC_{0-∞}의 합으로 구하였다. AUC_{0-∞}=Ct/k, 여기서 k는 겔보 기 소실속도정수이며 Ct는 최종 정량시점 농도이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검정곡선 작성

검체를 처리하여 GC/MS로 분석하였을 때 얻어진 크로마토그램과 질량스펙트럼은 Fig. 2에 나타내었다. 티로프라미드와 내부표준물질은 혈청 성분들과 타 대 사물질의 피크로부터 잘 분리되었으며 티로프라미드와 내부표준물질의 머무름시간(retention time)은 각각 8.9분과 9.2분이었다. 검량선은 Fig. 3에 나타난 바와 같이 0.5ng/mL에서 400ng/mL까지 상관계수가 0.998로 좋은 직선성을 나타내었다.

3.2. 정밀도, 정확도 및 검출한계

티로프라미드의 정밀도 및 정확도는 Table 3와 같다. 이때 각각의 시료분석은 3개의 동등한 조건하에서 구한 값들로서, 정밀도는 relative standard deviation (RSD, %)로 정확도는 relative error로 표시하였다. 표에서 알 수 있는 바와 같이 10ng/mL를 제외한 농도에서 정밀 정확도는 10%이내의 값을 보이고 있으며, 이 조건에서의 티로프라미드의 정량한계는 크로마토그램 상의 signal to noise ratio를 고려하였을 때 0.5ng/mL이었고, 검출한계는 0.1ng/mL이었다.

Table 3. Precision and accuracy of tiropramide

	Conc. (ng/mL)	Precision(%)	Relative error(%)
Intra-day	10	1.12	27.7
	60	2.79	-9.08
	200	3.16	-4.65
Inter-day	10	4.39	27.3
	60	9.67	-0.81
	200	2.35	-1.3

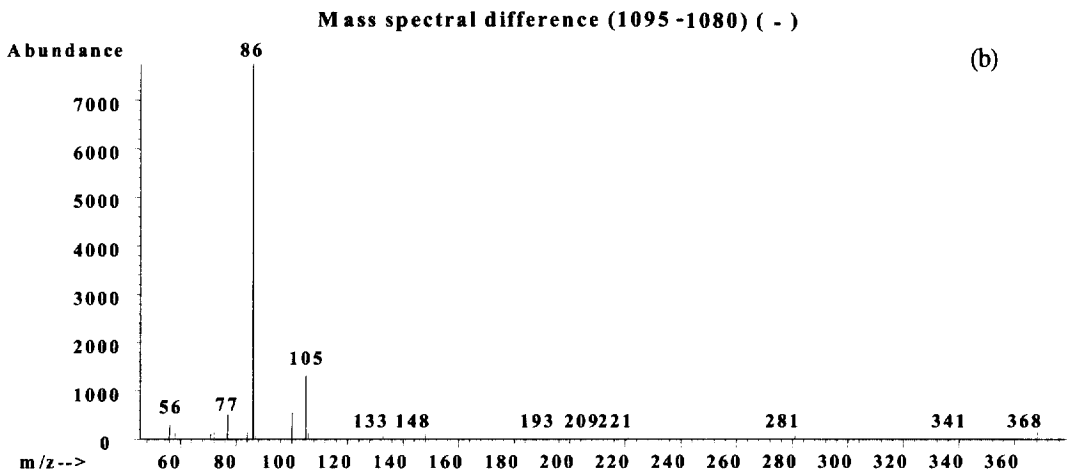
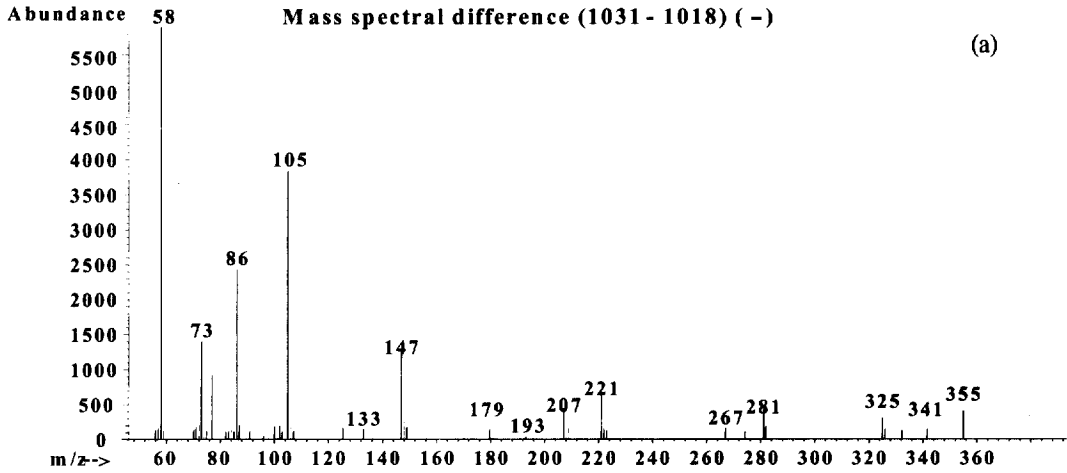
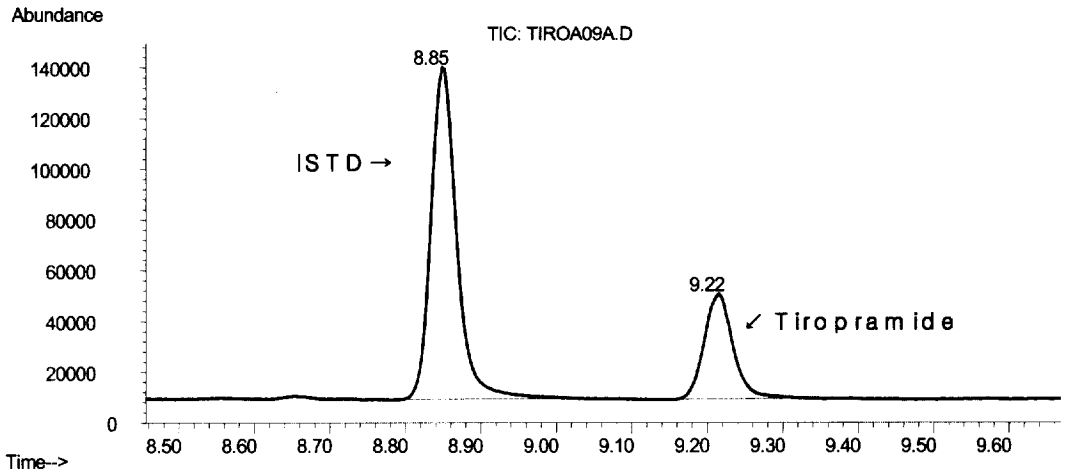


Fig 2. GC/MS chromatogram and spectrum of tiropramide and ISTD obtained from plasma sample. (a) internal standard (b) tiropramide

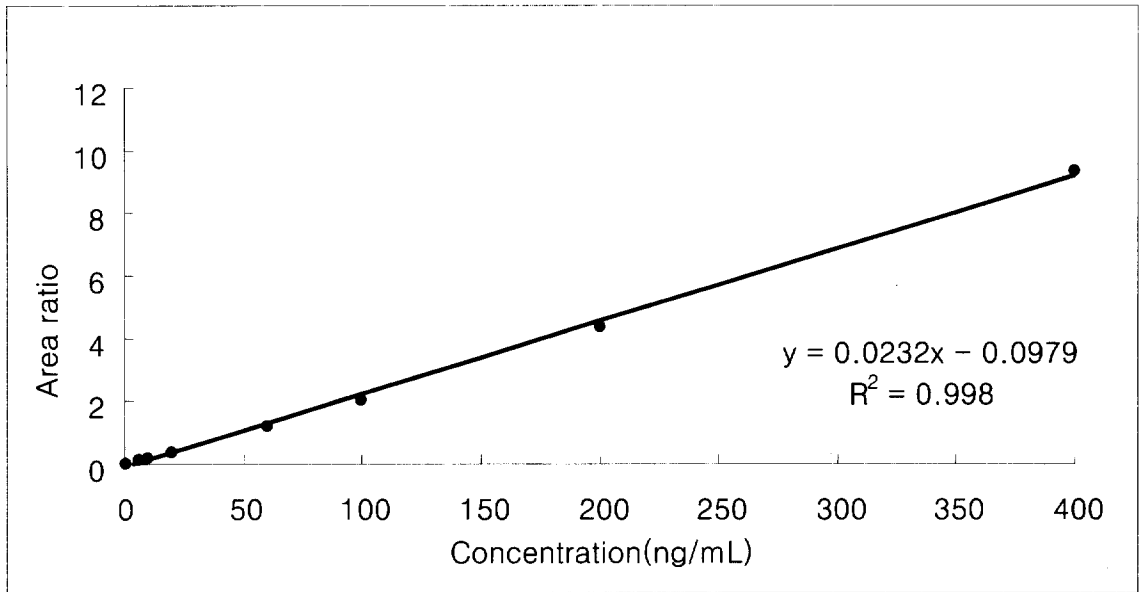


Fig 3. Calibration curve of tiopramide obtained from the plasma.

3.3. 회수율 측정

혈장중 티로프라미드의 회수율을 측정하고자 2.6.의 시험방법에 따라 회수율을 측정한 결과 회수율(mean \pm S.D.)은 $86.8 \pm 1.19(\%)$ 이었다.

3.4. 혈장중 약물농도

각 제제의 시간별 평균 혈장약물농도-시간 곡선은 Fig. 4에 나타내었다. 피험자 각 인에 있어서의 티로프라미드의 혈장 중 농도 추이는 같은 제제라 하더라도 개체차를 보였으나 두 제제간의 차이는 비슷한 결과를 보였다.

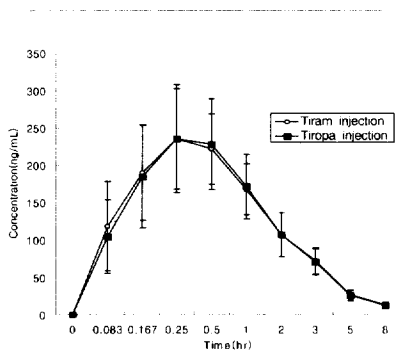


Fig 4. Mean plasma tiopramide profiles obtained from reference product (Tiropa injection, -■-) and test product (Tiram injection, -○-).

3.5. 생물학적 동등성 평가

시험약(티램주)과 대조약(티로파주)을 투여한 후 티로프라미드의 혈장 중 농도-시간 곡선하면적(AUC), 최고 혈중 농도(Cmax), 혈중농도 도달시간(Tmax)은 식품의약품안전청과 서울대학교약학대학이 공동으로 제작한 생물학적 동등성 시험 통계처리 프로그램인 K-Betest 3.14를 사용하였다. 식품의약품안전청 고시 제1998-86호 “생물학적 동등성 시험기준” 제19조에 따라 유의 수준(α)=0.05~0.1로 하고 비심도(λ)와 최소검출차(Δ), 20%차를 검출하기 위한 검출력($1-\beta$), 그리고 대조약에 대한 생체 이용률차의 신뢰한계(δ)를 각각 구하여 동등성 평가를 하였다.

3.6. 혈중 농도-시간 곡선하 면적(AUC)

각 피험자의 약물 투여 후 12시간까지의 AUC 값은 Table 4와 같으며 이들 값으로부터 얻은 분산 분석표와 K-Betest에 의한 통계처리 계산 결과는 각각 Table 5에 나타내었다. 대조약에 대한 시험약의 BA (bioavailability)차이는 유의 수준(α)=0.05과 0.1에서 0.730%로서 대조약과 시험약의 비교항목 평균치 차이가 20%이내일 때 동등한 것으로 한다는 시험기준의 전제 조건을 만족시켜 주었다. 그러므로 두 제제간 AUC 평균치 차는 유의성이 없는 것으로 사료된다. 유

의수준 = 0.05에서 산출한 비심도(λ)는 5.9972로서 이를 토대로 유의수준 = 0.05, 최소 검출차(Δ) = 0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 1-beta > 0.9 이상이었으며, 검출력 = 0.8 일 때 최소검출차는 10.05%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족시켰다. 유의수준 = 0.1에서 산출한 비심도(λ)는 5.9972로서 이를 토대로 유의수준 = 0.1, 최소 검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 1-beta > 0.9이었고, 검출력 = 0.8 일 때 최소검출차는 8.72%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족하였다. 또한 90% 신뢰한계에서 -29.6076 ≤ 시험약과 대조약의 BA의 차 (δ) ≤ 38.0089, -5.1430% ≤ 대조약에 대한 delta% ≤ 6.6024%으로 ±20%이내의 기준을 만족하여 두제제의 AUC차이는 충분한 검출력으로 검증시 유의성이 없다고 결론을 내릴 수 있다.

3.7. 혈중 최고농도 (Cmax)

각 피험자의 Cmax 값은 Table 4에 나타내었으며 이들 값으로부터 얻은 분산 분석표와 K-Betest에 의한 통계처리 계산 결과는 Table 5에 나타내었다. 시험약과 대조약의 Cmax의 평균치 차는 -1.385%로서 평균치 차가 20% 이내일 때 동등한 것으로 한다는 시험기준의 전제 조건을 만족시켰다. 그러므로 두 제제 간 Cmax의 평균치 차는 유의성이 없는 것으로 사료된다. 유의수준 = 0.05에서 산출한 비심도(λ)는 3.3667로서 이를 토대로 유의수준 = 0.05, 최소 검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 1-beta = 0.87이었고, 검출력 = 0.8 일 때 최소검출차는 17.90%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족하였다. 유의수준 = 0.1에서 산출한 비심도(λ)는 3.3667로서 이를 토대로 유의수준 = 0.1, 최소 검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 1-beta > 0.90이었고, 검출력 = 0.8 일 때 최소 검출차는 15.54%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족하였

Table 4. Bioavailability parameters of tiropramide in each subject and period

Subjects	AUC (ng hr/mL)		Cmax (ng/mL)		Tmax (hr)	
	Period 1	Period 2	Period 1	Period 2	Period 1	Period 2
	<i>Test</i>	<i>Reference</i>	<i>Test</i>	<i>Reference</i>	<i>Test</i>	<i>Reference</i>
A-1	593.44	642.04	288.52	245.10	0.50	0.50
A-2	577.34	687.13	192.38	192.04	0.50	0.50
A-3	494.78	515.04	214.88	202.38	0.50	0.50
A-4	430.49	557.77	263.71	294.98	0.25	0.25
A-5	378.62	514.78	229.32	225.25	0.25	0.25
A-6	709.31	762.50	329.08	327.35	0.25	0.25
A-7	393.18	460.50	186.55	181.23	0.25	0.25
A-8	579.62	598.79	248.38	262.52	0.25	0.25
Mean	519.60	592.32	244.10	241.36	0.34	0.34
	<i>Reference</i>	<i>Test</i>	<i>Reference</i>	<i>Test</i>	<i>Reference</i>	<i>Test</i>
B-1	404.29	508.74	243.11	196.16	0.17	0.17
B-2	561.12	682.46	273.54	321.78	0.25	0.50
B-3	487.88	573.66	222.47	258.91	0.25	0.50
B-4	662.57	685.44	336.81	312.54	0.25	0.25
B-5	645.64	787.12	277.13	365.47	0.25	0.25
B-6	527.48	695.48	221.92	294.19	0.25	0.25
B-7	552.60	560.57	177.64	205.21	0.50	0.50
B-8	697.90	360.60	333.99	166.80	0.25	0.50
Mean	567.44	606.76	260.83	265.13	0.27	0.37

Table 5. Summary of the bioequivalence test from two tiropramide hydrochloride products

Item	AUC		Cmax		Tmax	
	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.1$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.1$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.1$
BA difference	0.730%	0.730%	-1.385%	-1.385%	-12.994%	-12.994%
$1 - \beta$	0.9<	0.9<	0.87	0.9<	0.83	0.9<
Minimum detectable difference	10.05%	8.72%	17.90%	15.54%	19.01%	16.51%
Noncentrality(λ)	5.9972	5.9972	3.3667	3.3667	3.1696	3.1696
Confidence limits	$-5.1 \leq \delta \leq 6.6$	$-5.1 \leq \delta \leq 6.6$	$-11.9 \leq \delta \leq 9.1$	$-11.8 \leq \delta \leq 9.1$	$-24.3 \leq \delta \leq -2.2$	$-24.3 \leq \delta \leq -2.1$

다. 또한 90% 신뢰한계에서 $-30.1621 \leq$ 시험약과 대조약의 BA의 차(δ) ≤ 23.1096 , $-11.8461\% \leq$ 대조약에 대한 $\delta \leq 9.0762\%$ 으로 $\pm 20\%$ 이내의 기준을 만족하여 두 제제간의 AUC차이는 충분한 검출력으로 검증시 유의성이 없다고 결론을 내릴 수 있다.

3.8. 혈중 최고농도 도달시간(Tmax)

각 피험자의 Tmax 값은 Table 4에 나타내었으며 이들 값으로부터 얻은 분산 분석표와 K-Betest에 의한 통계처리 계산 결과는 Table 5에 나타내었다. 시험약과 대조약의 Tmax 평균치 차는 -12.994%로서 평균치 차가 20%이내일 때 동등한 것으로 한다는 평가 기준의 전제 조건을 만족시켰다. 그러므로 두 제제간 Tmax의 평균치 차는 유의성이 없는 것으로 사료된다. 유의수준 = 0.05에서 산출한 비심도(λ)는 3.1696으로서 이를 토대로 유의수준 = 0.05, 최소 검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 $1 - \beta = 0.83$ 이었고, 검출력 = 0.8 일 때 최소검출 차는 19.01%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족시켰다. 유의수준 = 0.1에서 산출한 비심도(λ)는 3.1696로서 이를 토대로 유의수준 = 0.1, 최소 검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 계산한 결과 $1 - \beta > 0.9$ 이었고, 검출력 = 0.8 일 때 최소검출 차는 16.51%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다는 시험기준을 만족하였다. 또한 90% 신뢰한계에서 $-0.0863 \leq$ 시험약과 대조약의 BA의 차(δ) ≤ 0.0075 , $-24.3392\% \leq$ 대조약에 대한 $\delta \leq -2.1158\%$ 으로 $\pm 20\%$ 이내의 기준을 만족하여 두 제제간의 AUC차이는 충분한 검출력으로 검증시 유의성이 없다고 결론을 내릴 수 있다.

4. 결 론

GC/MS를 이용한 혈중 티로프라미드의 농도를 분석한 결과를 종합하여 보면 식품의약품안전청 고시 제1998-86호의 “생물학적 동등성 시험기준”의 제19조에 따라서 판단 기준인 AUC와 Cmax의 비교항목의 두 제제간의 평균치 차가 각각 0.730%와 -1.385%로서 그 차이가 20%이하이어야 한다는 생물학적 동등성 시험기준을 충족시키고 있으며 참고자료인 Tmax의 두 제제간의 평균치 차가 -12.994%로써 시험기준을 충족시키고 있다. 검출력도 AUC와 Cmax의 비교항목에서 90%이상과 87%로서 80%이상이어야 한다는 시험기준을 충족시켰으며, 최소 검출차도 각각 10.05%와 17.90%로서 20%이내 이어야 한다는 시험기준을 충족시켰다. 신뢰 한계 역시 두 비교항목 모두 $\pm 20\%$ 이하이어야 한다는 시험기준을 충족시켰다. 이상의 시험결과를 토대로 시험약인 “티램주”는 대조약인 “티로파주”와 생물학적으로 동등하다고 판정을 내릴 수 있다.

참 고 문 헌

1. Arigoni R., Chiste R., Drovanti A., Makovec F., Senin P. and Setnikar I. (1986), Pharmacokinetics of tiropramide after single doses in man, *Arzneim.-Forsch.*, **36**, 738-744.
2. Arigoni R., Chiste R., Makovec F., Setnikar I., Benfenati E. and Fanelli R. (1988), Identification of metabolites of tiropramide in human urine, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **15**, 205-209.

3. K-Betest Ver. 3.14 (1999), 식품의약품안전청
4. Makovec, F. and Senin P. (1975), *Chem. Abstr.*, **83**, 505.
5. Setnikar I., Makovec F., Chiste R., Giachetti C. and Zanol G. (1989), Metabolism and excretion of ¹⁴C-tiropamide after single intravenous or peroral administration to the rat, *Arzneim. -Forsch.*, **39**, 328-334.
6. Setnikar, I., Senin P., and Arigoni R. (1984), Validation of assay methods in pharmaceutical quality control. Studies on tiropamide hydrochloride, *Boll. Chim. Farm.*, **123**, 263-274.
7. 식품의약품안전청 고시 제1998-86호(1998. 8. 26): 생물학적 동등성 시험기준.
8. 윤광희, 박진영, 박선주 (1999), 동화약품 시사프리트 제제의 생물학적 동등성 평가, *J. Pharm.* **7**, 59-65
9. 이윤석, 박은석, 지상철 (1997), 나부메톤 정제의 생물학적 동등성 평가, *J. Kor. Pharm. Sci.* **27**, No 3, 207-212