

알기론 정(브롬화 시메트로피움 50 mg)에 대한 알피트 정의 생물학적 동등성

조혜영 · 문재동¹ · 이용복[†]

전남대학교 약학대학약품개발연구소, ¹전남대학교 의과대학
(2001년 12월 11일 접수 · 2002년 1월 25일 승인)

Bioequivalence of Alpit Tablet to Algiron Tablet (Cimetropium Bromide 50 mg)

Hea-Young Cho, Jai-Dong Moon¹ and Yong-Bok Lee[†]

College of Pharmacy and Research Institute of Drug Development,
Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

¹Medical School, Chonnam National University, Kwangju 501-757, Korea

(Received December 11, 2001 · Accepted January 25, 2002)

ABSTRACT—Cimetropium bromide, a quaternary ammonium compound which is chemically related to scopolamine, exhibits its antispasmodic activity by competing with acetylcholine for the muscarinic receptors of the smooth muscle of gastrointestinal tract. The drug has been used for the treatment of various disorders involving spasms of the musculature of the gastrointestinal, biliary and genitourinary tracts. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two cimetropium bromide tablets, AlgironTM (Boehringer Ingelheim Korea Ltd.) and AlpitTM (Hana Pharmaceutical Co., Ltd.), according to the prior and revised guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). The cimetropium bromide release from the two cimetropium bromide tablets *in vitro* was tested using KP VII Apparatus II method with various different kinds of dissolution media (pH 1.2, 4.0, 6.8 buffer solution and water). Twenty normal male volunteers, 25.25 ± 2.10 years in age and 65.76 ± 6.39 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2 × 2 cross-over study was employed. After three tablets containing 50 mg of cimetropium bromide per tablet were orally administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentrations of cimetropium bromide in serum were determined using HPLC method with UV detector. The dissolution profiles of two cimetropium bromide tablets were very similar at all dissolution media. Besides, the pharmacokinetic parameters such as AUC_t, C_{max} and T_{max} were calculated and ANOVA test was utilized for the statistical analysis of the parameters using non-transformed and logarithmically transformed AUC_t and C_{max}. The results showed that the differences in AUC_t, C_{max} and T_{max} between two tablets based on the AlgironTM were 2.19%, -5.97% and 3.49%, respectively. Minimum detectable differences (Δ) at $\alpha=0.05$ and $1-\beta=0.8$ were less than 20% (e.g., 13.71 %, 19.05% and 15.11% for AUC_t, C_{max} and T_{max}, respectively). The powers (1- β) at $\alpha=0.05$, $\Delta=0.2$ for AUC_t, C_{max} and T_{max} were 97.79%, 83.22% and 95.60%, respectively. The 90% confidence intervals were within ± 20% (e.g., -5.84~10.21, -17.11~5.18 and -5.35~12.33 for AUC_t, C_{max} and T_{max}, respectively). There were no sequence effect between two tablets in logarithmically transformed AUC_t and C_{max}. The 90% confidence intervals using logarithmically transformed data were within the acceptance range of log(0.8) to log(1.25) (e.g., 0.94~1.10 and 0.85~1.05 for AUC_t and C_{max}, respectively). Two parameters met the criteria of prior and revised KFDA guideline for bioequivalence, indicating that AlpitTM tablet is bioequivalent to AlgironTM tablet.

Keywords—Cimetropium Bromide, AlgironTM, AlpitTM, Logarithmic transformation, Bioequivalence, HPLC

브롬화 시메트로피움(cimetropium bromide)은 [8-(cyclopropylmethyl)-6 β ,7 β -epoxy-3 α -hydroxy-1 α H,5 α H-tropanium bromide]로 위장관 평활근에 위치한 무스카린 수용체에 선택적으로 작용하는 길항제로서 정상적인 위장관 운동에는 영향을 미치지 않고 생리적 운동장애가 발생한 위장관에만 작용을 나타내며, 또한 스코폴라민 유도체에서 나타나는 항

serotonin 효과도 갖고 있어 진경효과를 더해주는 약물로서 위장관계 · 담도계 · 배뇨기관의 경련 및 기능적 운동장애 등에 우수한 치료효과를 나타내고 있다.¹⁾ 브롬화 시메트로피움은 4급 암모늄염으로 경구투여시 흡수율이 1~4%로 매우 낮았으나 치료효과를 나타내기에는 충분하며, 주로 뇨중으로는 미변화체로, 담즙중으로는 대사체인 N-cyclopropylmethyl-scopine bromide로 배설된다. 최고 혈중 농도에 도달하는 시간은 1.7시간이며 반감기는 2 phase 흡수로 α 상의 반감기가 5 ± 2분, β 상의 반감기가 119 ± 22분으로 보고되어 있다.^{2,3)}

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 062-530-2931, E-mail : leeyb@chonnam.chonnam.ac.kr

국내에서는 한국베링거인겔하임 주식회사에서 알기론® 정이라는 상품명으로 브롬화 시메트로피움 정제(브롬화 시메트로피움 50 mg)를 제조하여 판매하고 있다. 이와 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 판매를 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준^{4,5}에 따라 생체 시험을 통해 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 한다.

본 연구에서는 하나제약 주식회사가 발매하고자 하는 브롬화 시메트로피움 제제인 알피트 정이 기존의 브롬화 시메트로피움 제제인 알기론® 정과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 생물학적 동등성 시험기준⁴에 따라 건강한 성인 남자(20~27세) 20명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 생체내이용률 시험을 한 후, 얻어진 브롬화 시메트로피움의 혈청중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC_t), 최고 혈청중 농도(C_{max})와 최고 혈청중 농도 도달시간(T_{max})에 대하여 분산분석(ANOVA, analysis of variance)을 행하였을 뿐 아니라, 새로 개정된 생물학적 동등성 시험기준⁵에 따라 AUC_t와 C_{max}에 대하여 로그변환을 한 후 통계검정을 통하여 생물학적 동등성을 비교 판정하였다. 아울러, 알기론® 정과 알피트 정에 대하여 대한약전 제 7개정 용출시험법 중 제 2법(때들법)에 따라 비교 용출시험을 행하였다. 그리고 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 수행하였다.

실험방법

시약 및 기기

실험에 사용된 시험약은 식품의약품안전청으로부터 조건부 허가를 받아 하나제약 주식회사(서울)에서 자가 제조하여 제조품목허가증의 기준 및 시험방법 항에 따라 시험하여 적합 판정을 받은 알피트 정(제조번호: 1001, 제조일자: 2001. 9. 11, 브롬화 시메트로피움 50 mg), 대조약은 한국베링거인겔하임 주식회사(서울)에서 시판하고 있는 알기론® 정(제조번호: 182330, 사용기한: 2004. 6. 25)으로 브롬화 시메트로피움을 50 mg 함유하는 정제이었다.

브롬화 시메트로피움 표준품은 하나제약으로부터 제공받았으며, 내부표준물질로 사용한 scopolamine N-butyl bromide는 Sigma Chemical Co.로부터 구입하였다. HPLC용 아세트니트릴, 메탄올(이상 Fisher Scientific Co., Fair Lawn, NJ, 미국), 생리식염수 및 헤파린(이상 중의제약, 서울)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 MΩ-cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 디클로로메탄, 수산화

나트륨 및 기타 시약들은 1급 시약들을 사용하였다.

용출시험용 기기로는 용출기(DST-610, 화인기계, 한국), HPLC 측정기(Jasco International Co., 일본)를 사용하였으며, 약물분석 기기로는 HPLC용 펌프(Nanospace SI-2, Shiseido, Tokyo, 일본), Capcell pak MG C₁₈(입자경 5 μm, 250 × 3.0 mm, Phenomenex Co., CA, 미국), UV 검출기(3002, Shiseido, Tokyo, 일본), Auto sampler(3023, Shiseido, Tokyo, 일본), 적분계(SMC21, Shiseido, Tokyo, 일본), 원심분리형 농축기(CVE-200D, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 냉각회수기(UT-80, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 한국) 및 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

대조약 알기론® 정과 시험약 알피트 정 각 6정씩을 취하여 대한약전 제 7개정 용출시험법중 제 2법(때들법)에 따라 37 ± 0.5°C에서 50 rpm으로 시험하였다. 용출액은 용출시험 조건에 따라 제 1액(pH 1.2), pH 4.0 시험액, 제 2액(pH 6.8) 및 물 900 ml를 각각 사용하여 5, 10, 15분(pH 1.2, 4.0 및 6.8 시험액), 30분(물에 용출액을 채취하고 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과시킨 다음 HPLC UV 검출기(216 nm)를 사용하여 용출률을 산출하였다. 이동상은 2.023 g sodium 1-heptansulfonate와 0.2 ml glacial acetic acid를 함유한 증류수:아세트니트릴(63:37, v/v) 혼합용액을 사용하였으며 유속은 2.0 ml/min으로 하였다. 컬럼은 Kromasil C₁₈(4.6 × 150 mm, 입자경 10 μm, Akzonobel Co., 스웨덴)을 사용하였으며 주입량은 20 μl로 하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험 기준⁴에 근거하여 20~27세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 37명의 지원자가 이 시험에 대한 설명회에 참석하였다. 이들 중 전남대학교 병원(광주)에서 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자 중에서 20인을 선정하였다. 피험자로 선정된 사람들의 평균체중은 65.76 kg, 나이는 20~27살(평균 25.25살)이었다. 이들로부터 동의서를 받은 후 생물학적 동등성 시험을 실시하였다.

모든 지원자는 정해진 투약일 일주일 전부터 항생제 및 진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지시켰고, 시험 전날 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰으며, 시험 기간 중에는 연구자의 지시에 따라 모두 같은 식단의 식사 및 경미한 활동을 하게 하였다.

약물 투약 및 혈액 채취

약물 투약은 2시기 2제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 20명의 피험자를 군당 10인씩 임의로 A, B 2군으로 나누고 제 I기에서 A군에는 대조약인 알기론® 정을, B군에는 시험약인 알피트 정을 투여하였고 제 II기에서는 그 반대로 투여하였다. 한편, 브롬화 시메트로피움의 최종상의 반감기는 경구투여시 119 ± 22 분으로 보고되어 있어^{2,3)} 생물학적 동등성 시험기준 제 18조 제 4항 휴약기간의 산정기준에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 8일로 하였다.

피험자들 모두에게 heparin-locked(150 unit/ml) Angi catheter(JELCO™, 22G, Johnson&Johnson Medical, Pomezia, Italia)를 팔 정맥부위에 설치하고 대조약 또는 시험약 각각 3정씩을 150 ml의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 투약직전, 20분, 40분, 60분, 90분, 120분, 150분, 180분, 240분, 360분 및 480분(총 11시점)에 약 8 ml의 혈액을 채취하여 혈구분리용 원심분리관에 넣고 3000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 즉시 혈청 분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 70°C에서 보관하였다.

채혈 및 피험자의 휴식 등의 모든 일은 전남대학교 병원 산업의학과 의국에서 타인과 격리된 상태에서 이루어졌다.

혈청중 브롬화 시메트로피움의 정량

혈청중 브롬화 시메트로피움 함량은 이미 보고된 브롬화 시메트로피움 HPLC분석법⁶⁾을 참고, 다소 수정하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 아세트니트릴:0.1 M NaClO₄(33:67, v/v)(pH 6.0)의 혼합용액을 사용하였으며 유속 0.8 ml/min, 주입량 70 µl 및 UV 검출기(210 nm)를 이용하여 정량하였고 다음과 같이 검량선을 작성하였다.

브롬화 시메트로피움 표준품 10 mg을 물에 녹여 농도를 1000 µg/ml로 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 냉동 보관하였던 blank 혈청을 가하여 브롬화 시메트로피움의 혈청중 농도가 각각 1, 2, 5, 10, 20 및 50 ng/ml씩 되도록 검량선용 표준 혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청액 1 ml에 내부표준물질로 scopolamine N-butyl bromide 탈이온수 용액(1 µg/ml) 50 µl와 5% ZnSO₄ 500 µl을 넣고 1분 30초간 vortexing하여 섞은 후 10,000 g에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 깨끗한 시험관에 옮긴 후 0.1 M NaOH 500 µl, 아세트니트릴 500 µl 및 디클로로메탄 3 ml를 넣고 vortexing하여 섞은 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 수층을 제거하고 유기층을 새 시험관에 옮긴 다음 40°C 질소 기류하에서 1시간 30분간 증발·건조시킨 후 잔사에 탈이온수 160 µl를 가하여 녹인 다음 10,000 rpm에서 1분간 원침시킨 후 이 용액 70 µl를 취하여 HPLC에 주입하였다.

여기에서 얻은 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 브롬화 시메트로피움의 피이크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 4번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 또한, 2, 5 및 20 ng/ml의 농도에서 10회 반복측정하여 분석의 정확성을 평가하였다.

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 1 ml를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로 scopolamine N-butyl bromide 탈이온수 용액(1 µg/ml) 50 µl와 5% ZnSO₄ 500 µl을 넣고 1분 30초간 vortexing하여 섞은 후 10,000 g에서 5분간 원심분리한 다음 상기 검량선 작성을 위한 추출법에 따라 추출하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 브롬화 시메트로피움의 피이크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 브롬화 시메트로피움의 농도를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

알기론® 정 및 알피트 정을 각각 3정씩 20명의 지원자에게 라틴 방격법에 따른 교차시험법에 따라 경구 투여하여 얻은 각 제품의 혈청중 약물농도-시간 곡선으로부터 약물속도론적 파라미터인 AUC, C_{max} 및 T_{max}를 구하였으며, 이들 두 제품에서 각각 얻은 값을 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램인 K-BEtest^{®7)}를 이용하여 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석하였고, 자유도(ν)=18인 양측검정 조건하에서 90% 신뢰한계를 구하였다. 또한, 개정된 생물학적 동등성 시험기준⁵⁾에 따라 Equiv. Test⁸⁾을 이용하여 AUC와 C_{max}를 로그변환한 후 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석과 90% 신뢰한계를 구하였다. 이때 C_{max}와 T_{max}는 실측치를 사용하였으며 AUC는 사다리꼴 공식을 이용하여 최종 채혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였다.

생물학적 동등성 평가

알기론® 정에 대한 알피트 정 의 생물학적 동등성 여부는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준⁴⁾ 및 개정된 생물학적 동등성 시험기준⁵⁾에 따라 AUC, C_{max} 및 T_{max} 등을 평가하였다.

결과 및 고찰

비교용출시험

약물의 용출은 생체이용률과 깊은 상관관계가 있으므로

먼저 용출시험을 행하여 대조약 및 시험약이 생물학적으로 동등할 것인지를 추정하고자 하였다. 즉, 동일성분을 동일량 함유하는 제제라 하더라도 원료, 부형제 및 제조공정 등에 따라 약물흡수의 전제조건이 되는 용출률이 다르게 나타날 수 있으므로 대조약과 시험약의 용출률을 비교하기 위하여 용출시험을 행하였다.

대조약과 시험약에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 용출시험한 결과를 Figure 1에 나타내었다. 이 용출시험결과 pH 1.2, 4.0 및 6.8에서는 15분 이내에, 물에서는 30분 이내에 대조약과 시험약 모두 90%이상의 용출률을 나타내었고, FDA guideline⁹⁾에 따라 계산한 물에서의 similarity factor(f_2)가 50.61로 나타나 두 제제간의 차이는 나타나지 않는 것으로 판단되었다.

혈청중 브롬화 시메트로피움 정량

건강 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인

scopolamine N-butyl bromide와 브롬화 시메트로피움을 함께 가한 것 및 브롬화 시메트로피움 정제 투여 후 120분째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 브롬화 시메트로피움 피크의 출현시간은 약 10.1분, 내부표준물질 피크의 출현시간은 약 14.5분이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 4로 하고 일내 및 일간 변동계수의 크기를 15% 이하로 하였을 때의 정량한계는 약 0.5 ng/ml이었으며, 수용액 중 약물을 추출한 것의 평균 피크 면적에 대한 추출 시료 중 약물의 피크 면적비로부터 구한 추출회수율(%)은 96.87 ± 1.69 이었다. 혈청시료로부터 구한 브롬화 시메트로피움의 검량선은 피크 높이(y) = $0.0170 \times$ 브롬화 시메트로피움 농도(ng/ml, x) + 0.0227 ($r = 0.999$, $p < 0.01$)로 1~50 ng/ml 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 브롬화 시메트로피움의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 모두 15% 이하로 나타났

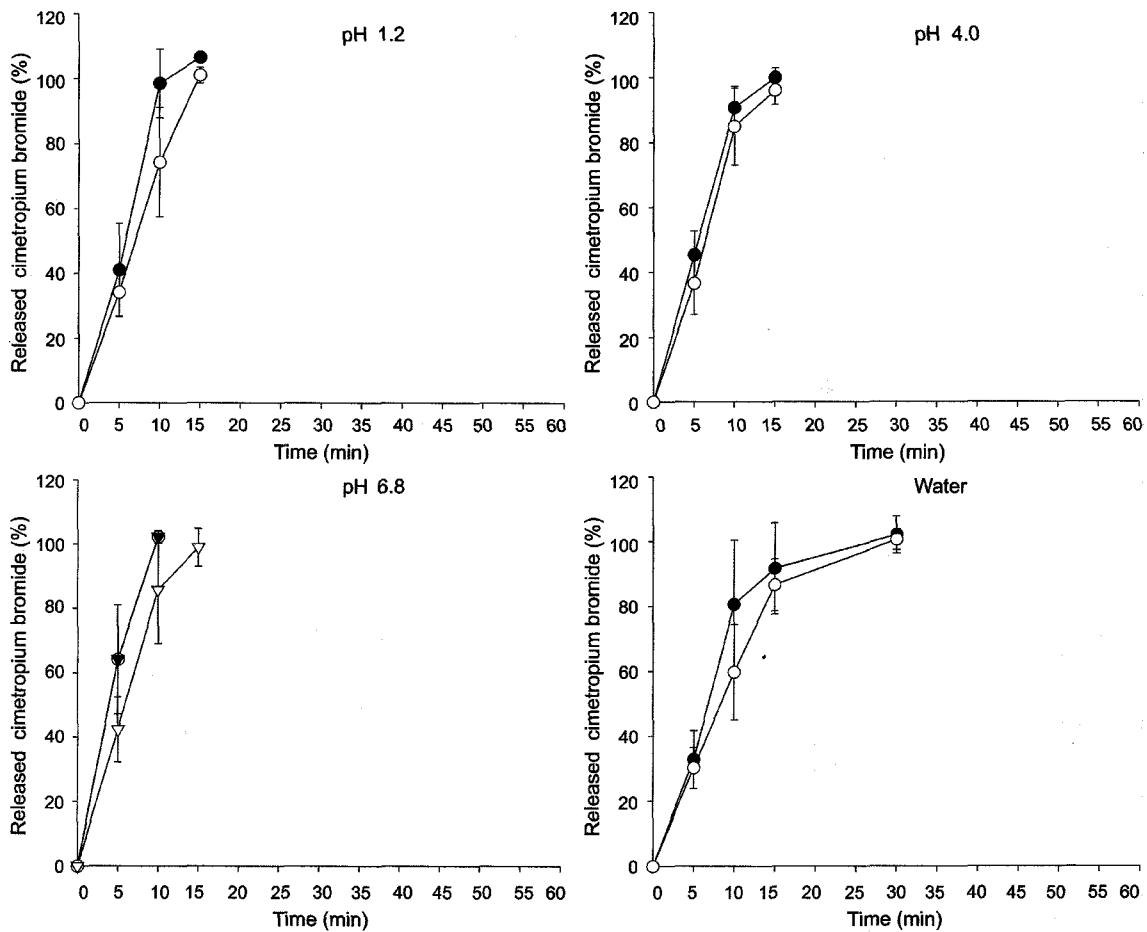


Figure 1—Dissolution profiles of cimetropium bromide from Algrion™ tablet (●) and Alpit™ tablet (○) in various dissolution media (n=6, mean ± S.D.).

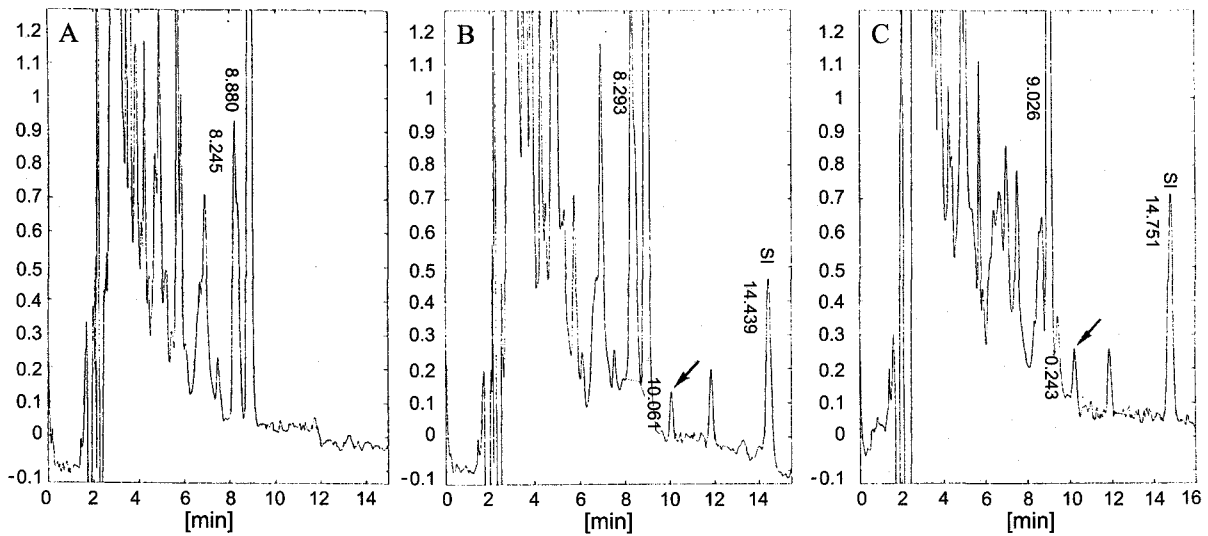


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) human serum spiked with cimetropium bromide (10 ng/ml) and internal standard (IS, scopolamine N-butyl bromide 50 ng/ml) and (C) serum sample at 120 min after oral administration of 150 mg cimetropium bromide tablets. ✓ cimetropium bromide peak.

Table 1—Reproducibility Data for the HPLC Analysis of Cimetropium Bromide in Human serum

Concentration (ng/ml)	Intra-day C.V. (%) (n=4)	Inter-day C.V. (%) (n=5)
1	13.33	7.50
2	10.00	5.56
5	11.20	9.26
10	4.95	9.22
20	6.49	4.87
50	9.73	8.05

C.V. = 100 × S.D./mean.

고(Table I), 2, 5 및 20 ng/ml의 농도에서 10회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 모두 ±10% 이내로 나타났다. 이로부터 혈청중 브롬화 시메트로피움에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈청중 브롬화 시메트로피움 농도 추이

시험약과 대조약으로 알피트 정과 알기론® 정을 각각 3정씩 지원자 20명에게 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 제제의 전체 피험자에 대한 혈청중 평균농도를 Figure 3에 나타내었는데, 브롬화 시메트로피움의 혈청중 약물 농도-시간 곡선은 Inbimbo 등¹⁾의 결과에서와 같이 전형적인 불연속적 흡수양상을 나타내고 있었다. 또한, 각 피험자에 대해 대조약과 시험약을 투여하여 얻은 혈청중 약물농

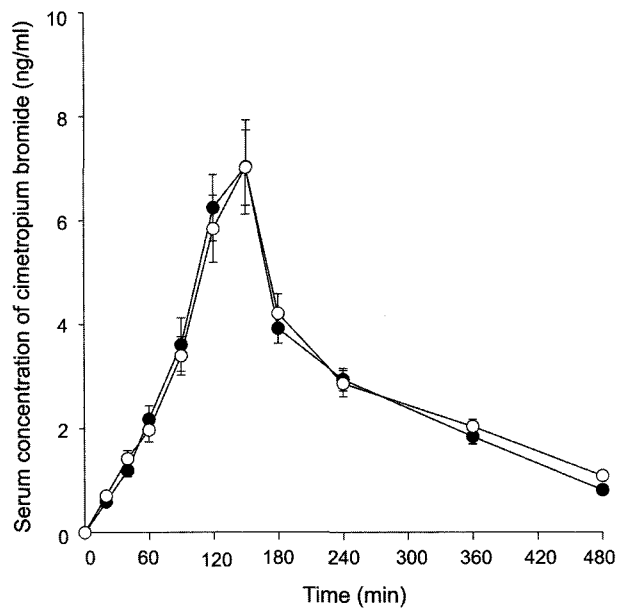


Figure 3—Mean (± S.E., n=20) serum concentration-time curves of cimetropium bromide following oral administration of Algiron™ (●) and Alpit™ (○) tablets at the cimetropium bromide dose of 150 mg.

도-시간곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터(AUC, C_{max} 및 T_{max})를 Table II에 나타내었다. 대조약인 알기론® 정 의 평균 AUC,(ng · min/ml)는 1307.00 ± 192.58, 시험약인 알피트 정은 1335.58 ± 239.28로 대조약에 대한 평균치 차가 2.19%이었고, C_{max}(ng/ml)는 9.44 ± 2.61과 8.87 ± 2.21로 -5.97%의 차이를 보였으며 T_{max}(min)는 129.00 ± 19.71과

Table II—Bioavailability Parameters for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Algiron™ and Alpit™ Tablets at the Cimetropium Bromide Dose of 150 mg

Volunteer	Age (year)	Weight (kg)	Algiron™ Tablets			Alpit™ Tablets		
			AUC _t (ng · min/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (min)	AUC _t (ng · min/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (min)
A-1	25	63.5	1321.60	11.20	150.00	1014.30	6.94	120.00
A-2	27	59.4	1404.75	8.98	120.00	1353.05	7.28	120.00
A-3	27	58.9	1576.70	9.79	120.00	1031.15	7.14	90.00
A-4	21	62.3	1642.95	10.40	120.00	1689.35	10.54	120.00
A-5	29	65.4	1348.00	6.27	120.00	1495.95	7.61	120.00
A-6	27	60.1	1163.70	8.58	150.00	1098.80	12.76	150.00
A-7	24	62.1	1192.50	15.83	150.00	1337.95	10.90	150.00
A-8	27	66.9	1135.40	7.11	120.00	1295.30	9.03	150.00
A-9	26	67.6	1088.70	11.70	150.00	1343.00	12.64	120.00
A-10	25	77.3	1276.70	10.77	150.00	1216.75	8.04	180.00
B-1	26	69.4	1222.35	6.08	90.00	1728.20	8.40	150.00
B-2	25	62.1	1014.70	7.50	120.00	1372.55	8.95	150.00
B-3	25	65.1	1525.00	14.93	150.00	1185.05	10.38	150.00
B-4	25	86.0	1217.50	8.63	150.00	1452.85	6.36	120.00
B-5	26	66.4	1088.05	8.18	120.00	1337.15	6.91	120.00
B-6	25	63.0	1281.70	10.15	90.00	1511.80	13.09	150.00
B-7	23	64.5	1702.40	10.02	120.00	1706.65	6.84	150.00
B-8	27	60.0	1346.50	7.89	150.00	962.80	8.29	120.00
B-9	25	66.5	1152.10	6.39	120.00	1002.25	5.73	90.00
B-10	20	68.6	1438.65	8.31	120.00	1576.70	9.62	150.00
Mean (S.D.)	25.25 (2.10)	65.76 (6.39)	1307.00 (192.58)	9.44 (2.61)	129.00 (19.71)	1335.58 (239.28)	8.87 (2.21)	133.50 (22.77)

Table III—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between Two Cimetropium Bromide Tablets

	Parameters		
	AUC _t	C _{max}	T _{max}
Difference	2.19%	-5.97%	3.45%
F value ^a	0.264	1.349	0.420
F value ^b	0.192	1.525	N.D. ^g
Noncentrality (λ) ^c	4.32	3.11	3.92
Detectable difference (Δ) ^d	13.71%	19.05%	15.11%
Confidence interval (δ, %) ^e	-5.84 ≤ δ ≤ 10.21	-17.11 ≤ δ ≤ 15.18	-5.35 ≤ δ ≤ 12.33
Confidence interval ^f	0.94 ≤ δ ≤ 1.10	0.85 ≤ δ ≤ 1.05	N.D. ^g

^aα=0.05, F(1,18)=4.414, ^bα=0.05, The value was obtained from ln-transformed data.

^cα=0.05, ν=18, δ=Mean × 0.2, ^dα=0.05, 1-β=0.8, ^eα=0.05.

^fα=0.05, The value was obtained from ln-transformed data. ^gNot determined.

133.50 ± 22.77로 3.49%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 ±20% 이내이어야 한다는 생물학적 동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였으므로 이하 분산분석을 행하였다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC_t, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 분산분석 결과를 Table III에 나타내었다.

먼저 유의수준 α가 0.05일 때 AUC_t, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 균간 순서효과 검정에 대한 F비(F_g)가 F분석표의 한계

값인 F(1,18)=4.414보다 모두 작게 나타나 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

AUC_t, C_{max} 및 T_{max}에 대하여 유의수준 α=0.05, 자유도(ν)=18, 검출해야 할 평균치의 차이를 0.2로 고정시켜 산출한 비심도(noncentrality, λ)는 각각 4.32, 3.11 및 3.92이었다. 이를 가지고 유의수준 α=0.05, 최소검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정에서의 검출력과 자유도(ν=18)와의 관계를 나타낸 비심분포표로부터 계산한 결과 각각 97.79%, 83.22% 및 95.60%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 각각

13.71%, 19.05% 및 15.11%로 나타나, 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다. 또한, AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 에 대한 90% 신뢰한계(δ , %)는 $-5.84\% \leq \delta \leq 10.21\%$, $-17.11\% \leq \delta \leq 5.18\%$ 및 $-5.35\% \leq \delta \leq 12.33\%$ 로 나타났다.

아울러 개정된 생물학적 동등성 시험기준⁵⁾에 따라 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석한 결과, 군간 순서효과는 나타나지 않았으며, 로그변환한 평균치 차의 AUC_t 및 C_{max} 에 대한 90% 신뢰한계는 0.94~1.10 및 0.85~1.05로 나타나 $\log(0.8)$ 에서 $\log(1.25)$ 이어야 한다는 개정된 생물학적 동등성 시험기준도 만족하였다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 시험약인 알피트 정은 대조약인 알기론[®] 정에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판단 기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max}) 및 참고값(T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

결 론

하나제약 주식회사가 발매하고자 하는 브롬화 시메트로피움 제제인 알피트 정이 기존의 브롬화 시메트로피움 제제인 알기론[®] 정과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준⁴⁾에 따라 건강한 성인 남자(20~27세) 20명을 대상으로 2기 2제 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 브롬화 시메트로피움의 AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 에 대하여 분산분석을 행하였을 뿐만 아니라 개정된 생물학적 동등성 시험기준⁵⁾에 따라 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대해서도 분산분석을 행하였다. 또한 대한약전 제 7개정 용출시험법 중 제 2법(패들법)에 따라 비교용출시험을 행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조약인 알기론[®] 정과 시험약인 알피트 정에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 용출시험한 결과 pH 1.2, pH 4.0 및 pH 6.8에서는 15분 이내에, 물에서는 30분 이내에 대조약과 시험약 모두 90%이상의 용출률을 나타내었고, 그 용출양상도 유사하였다.

2. 대조약인 알기론[®] 정 의 평균 $AUC_t(\text{ng} \cdot \text{min/ml})$ 는 1307.00 ± 192.58 , 시험약인 알피트 정은 1335.58 ± 239.28 로 대조약에 대한 평균치 차가 2.19%이었고, $C_{max}(\text{ng/ml})$ 는 9.44 ± 2.61 과 8.87 ± 2.21 로 -5.97%의 차이를 보였으며 $T_{max}(\text{min})$ 는 129.00 ± 19.71 과 133.50 ± 22.77 로 3.49%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 생물학적 동등성 평가를 위한 전

제 조건을 만족하였다.

3. 알기론[®] 정에 대한 알피트 정 의 분산분석 결과, 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 에 대한 검출력($1-\beta$)은 97.79%, 83.22% 및 95.60%, 최소검출차는 각각 13.71%, 19.05% 및 15.11%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다. 한편, AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 에 대한 90% 신뢰한계(δ , %)는 각각 $-5.84\% \leq \delta \leq 10.21\%$, $-17.11\% \leq \delta \leq 5.18\%$ 및 $-5.35\% \leq \delta \leq 12.33\%$ 로 나타나 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다.

4. 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대해서도 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석한 결과, 군간 순서효과는 나타나지 않았으며 90% 신뢰한계는 각각 0.94~1.10 및 0.85~1.05로 나타나 $\log(0.8)$ ~ $\log(1.25)$ 이어야 하는 개정된 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 시험약인 알피트 정은 대조약인 알기론[®] 정에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판단 기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max}) 및 참고값(T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 하나제약 주식회사와 2001년도 두뇌한국 21사업 핵심분야의 지원을 받아 전남대학교 약품개발연구소에서 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

문 헌

- 1) B.P. Imbimbo, S. Daniotti, A. Vidi, D. Foschi, F. Saporiti and L. Ferrante, Discontinuous oral absorption of cimetropium bromide, A new antispasmodic drug, *J. Pharm. Sci.*, **75**(7), 680-684 (1986).
- 2) C. Scarpignato, A. Donetti and B.P. Imbimbo, Cimetropium bromide: A new antimuscarinic compound endowed with antispasmodic activity, *Drugs of today*, **24**(12), 859-876 (1988).
- 3) C. Scarpignato and G. Bianchi-Porro, Cimetropium bromide: A new antispasmodic compound: pharmacology and therapeutic perspectives, *Int. J. Clin. Pharm. Res.*, **6**, 467-477 (1985).
- 4) 식품의약품안전청 고시 제 1998-86호, 생물학적 동등성 시험기준 (1998. 8. 26).
- 5) 식품의약품안전청 고시 제 2001-57호, 생물학적 동등성 시험기준 (2001. 9. 5).
- 6) M. Kajbaf, M. Jahanshahi, K. Pattichis, J.W. Gorrod and S. Naylor, Rapid and efficient purification of cimetropium

- bromide and mifentidine drug metabolite mixtures derived from microsomal incubates for analysis by mass spectrometry, *J. Chromatogr.*, **575**, 75-85 (1992).
- 7) 이영주, 최정호, 송세흠, 서철환, 김동섭, 박인숙, 최기환, 나한광, 정석재, 이민화, 심창구. K-BEtest[®], 새로운 생물학적 동등성 시험 통계처리 프로그램의 개발, *약제학회지*, 28, 223-229 (1998).
- 8) Statistical Solutions Ltd., *Equiv. Test*[®] 1.0, U.K. (1998).
- 9) Food and Drug Administration (FDA): Guidance for Industry; Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence study for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), August, (2000).