

설포라제 캡슐(아세브로필린 100 mg)에 대한 부로필 캡슐의 생물학적 동등성

조혜영 · 박은자 · 강현아 · 김세미 · 박찬호 · 오인준 · 임동구 · 이명희* · 이용복†

전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소, 전남대학교 병원 임상시험센터, *광주기독병원
(2005년 4월 4일 접수 · 2005년 4월 27일 승인)

Bioequivalence of Burophil Capsule to Surfolase Capsule (Acebrophylline 100 mg)

Hea-Young Cho, Eun-Ja Park, Hyun-Ah Kang, Se-Mi Kim, Chan-Ho Park, Injoon Oh,
Dong-Koo Lim, Myunghee Lee* and Yong-Bok Lee†

College of Pharmacy, Institute of Bioequivalence and Bridging Study, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
Clinical Trial Center, Chonnam National University Hospital, Gwangju 501-757, Korea

*Kwangju Christian Hospital, Gwangju 503-715, Korea

(Received April 4, 2005 · Accepted April 27, 2005)

ABSTRACT – Acebrophylline is a compound produced by salifying ambroxol with theophylline-7-acetic acid. After acebrophylline administration, the salt splits into these two components which feature a peculiar pharmacokinetic behavior, an adequate ambroxol and a low theophylline-7-acetic acid serum levels. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two acebrophylline capsules, Surfolase (Hyundai Pharm. Ind. Co., Ltd.) and Burophil (Kuhnle Pharm. Co., Ltd.), according to the guidelines of the Korea Food and Drug Administration (KFDA). The release of ambroxol from the two acebrophylline formulations *in vitro* was tested using KP VIII Apparatus II method with various dissolution media (pH 1.2, 4.0, 6.8 buffer solution and water). Twenty eight healthy male subjects, 23.25 ± 1.43 years in age and 64.82 ± 6.77 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2x2 cross-over study was employed. After two capsules containing 100 mg as acebrophylline were orally administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentrations of ambroxol in serum were determined using HPLC with electrochemical detector (ECD). The dissolution profiles of two formulations were similar at all dissolution media. In addition, 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 logarithmically transformed AUC_t, C_{max} and untransformed T_{max}. The results showed that the differences between two formulations based on the reference drug Surfolase, were -1.64, -3.33 and -0.92% for AUC_t, C_{max} and T_{max}, respectively. There were no sequence effects between two formulations in these parameters. The 90% confidence intervals using logarithmically transformed data were within the acceptance range of log 0.8 to log 1.25 (e.g., log 0.93~log 1.05 and log 0.88~log 1.05 for AUC_t and C_{max}, respectively). Thus, the criteria of the KFDA bioequivalence guideline were satisfied, indicating Burophil capsule was bioequivalent to Surfolase capsule.

Key words – Acebrophylline, Burophil, Surfolase, Bioequivalence, HPLC

아세브로필린(acebrophylline, ambroxol[trans-4-(2-amino-3,5-dibromobenzyl) amino cyclohexanol] with theophylline-7-acetic acid[1,3-dimethylxanthine-7-acetic acid])은 기관지 및 폐조직에 선택적으로 작용하여 기관지 폐포의 phospholipase의 활성을 저해하고 폐포의 계면활성작용을 상승시켜 거담작용을 나타내며 leukotrienes(LTs) 및 prostaglandins (PGs)의 생성을 억제하여 강력한 항염작용을 나타냄으로써 기관지 과민성을 저하시켜 경축된 기관지를 정상 상태로 회복·확장시킨다.¹⁾ 아세브로필린은 암브록솔을 7-초산테오필린으

로 염화(salifying)시켜 합성한 화합물로서 산-염기로 구성된 염으로서 경구투여 하였을 때 암브록솔과 7-초산테오필린으로 분리되어 대사되는 것으로 보고되어 있으며 암브록솔과 7-초산테오필린의 소실상 반감기는 각각 5.44 및 1.80 시간으로 암브록솔이 혈청 중에서 더 오래 머무르고 최고 혈청 농도(C_{max}) 또한 암브록솔이 7-초산테오필린보다 더 높은 농도를 나타내며 경구투여 후 약 2시간이면 도달한다고 보고되어 있다.^{2,3)} 뿐만 아니라, 아세브로필린 캡슐제의 기준 및 시험방법도 단일 성분인 아세브로필린에 대하여 실시하도록 하고 있는 단일제제이지 복합제제가 아니므로 아세브로필린의 생물학적동등성평가시 암브록솔을 그 분석대상으로 하였다.

국내에서는 현대약품공업(주)에서 “설포라제 캡슐”이라는

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

상품명으로 아세브로필린 캡슐제(아세브로필린 100 mg)를 제조하여 시판하고 있다. 한편 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 시판을 위하거나 의사 또는 치과의사가 처방전에 기재한 의약품의 성분·합량 및 제형이 동일한 다른 의약품으로 대체하여 조제할 수 있게 하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 생체시험을 통해 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 할 필요가 있다.

따라서, 본 연구에서는 건일제약 주식회사에서 발매하고자 하는 아세브로필린 제제인 “부로필 캡슐”이 기존의 아세브로필린 제제인 “설포라제 캡슐”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁴⁾에 따라 건강한 성인 남자(만 21-26세) 28명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 생체내 이용률 시험을 한 후, 얻어진 암브록솔의 혈청 중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC), C_{max} 와 최고 혈청 중 농도 도달시간(T_{max})에 대하여 T_{max} 를 제외한 AUC와 C_{max} 는 로그변환한 후 통계검정과 분산분석(ANOVA, analysis of variance)을 통하여 생물학적동등성을 비교 판정하였다. 아울러, “부로필 캡슐”과 “설포라제 캡슐”에 대하여 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(패들법)에 따라 비교용출시험을 행하였다. 그리고 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

시험에 사용된 시험약은 의약품임상시험관리기준⁵⁾ 제 36조 및 제 37조의 규정에 따라 제조한 건일제약 주식회사(서울)의 “부로필 캡슐”(제조번호: 001, 제조일시: 2004. 9. 10), 대조약은 식품의약품안전청으로부터 허가를 받아 현대약품공업(주)(서울)에서 시판하고 있는 “설포라제 캡슐”(제조번호: 41002, 사용기한: 2007. 1. 27)로 아세브로필린을 100 mg 함유하는 캡슐제이다.

암브록솔 표준품은 건일제약 주식회사로부터 제공받았으며, 내부표준물질로 사용한 돔페리돈(Sigma Chemical Co., St Louis, MO, 미국), HPLC용 메탄올(Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국), 생리식염수 및 헤파린(이상 중외제약, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M Ω -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 인산일수소칼륨, 인산이수소칼륨 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

비교용출시험용 기기로는 용출시험기(Pharma Test PTWS-12, 독일) 및 액체크로마토그래피(Hewlett Packard, CA, 미국)를 사용하였으며, 혈중약물농도분석 기기로는 Nano-space SI-2 series(Shiseido, Tokyo, 일본), HPLC용 펌프(3001 pumps, Shiseido, Tokyo, 일본), Capcell Pak C18 MG(입자경 5 μ m, 150 \times 2.0 mm I.D., Shiseido, Tokyo, 일본) with security C18 guard cartridge(4.0 \times 3.0 mm I.D., phenomenex, CA, 미국), 전기화학 검출기(2816 PA Detector, Shiseido, Tokyo, 일본), 자동주입기(Model 3023 Autosampler, Shiseido, Tokyo, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 한국), pH 측정기(Model 7, Corning Ltd., Halstead Essex England, 영국) 및 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

대조약 “설포라제 캡슐”과 시험약 “부로필 캡슐” 각 12캡슐씩을 취하여 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(패들법, 싱커사용)에 따라 37°C에서 50 rpm으로 시험하였다. 용출액은 용출시험 조건에 따라 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 용출액을 각각 900 ml씩 사용하여 용출 개시 10, 15, 20, 30분(pH 1.2 및 4.0 시험액), 45, 60, 90 및 120분(pH 6.8 및 물 시험액)에 용출액을 채취하고 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 후 HPLC UV 검출기(244 nm)를 사용하여 용출률을 산출하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁴⁾에 근거하여 만 19~55세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 40명의 지원자가 이 시험에 대한 설명회에 참석하였다. 이들 중 광주기독병원(광주)에서 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자 28인을 선정하였다. 피험자로 선정된 사람들의 평균 체중은 64.82 \pm 6.77 kg, 평균 나이는 만 23.25 \pm 1.43세이었다. 이들로부터 동의서를 받은 후 생물학적동등성시험을 실시하였다.

모든 지원자는 정해진 투약일 일주일 전부터 항생제 및 진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지하였을 뿐 아니라 흡연 및 xanthine계 음료 등을 제한 관리하였다. 시험 전날 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰다. 또한 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 교차시험

법으로 투약계획을 세우고 28명의 피험자를 군당 14인씩 임의로 A, B 2군으로 나누고 제 I기때 A군에는 대조약인 “설포라제 캡슐”을, B군에는 시험약인 “부로필 캡슐”을 투여하였고 제 II기 때에는 그 반대로 투여하였으며 투여량은 2캡슐(아세브로필린 200 mg)로 하였다. 한편, 아세브로필린의 최종상의 반감기는 약 5.442시간^{2,3)}으로 보고되어 있어 생물학적동등성시험 기준 제 18조 제 4항 휴약기간의 산정기준에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 7일로 하였다.

피험자들 모두에게 heparin-locked(150 unit/ml) Angiocatheter(JELCOTM, 22G, Johnson&Johnson Medical, Pomezia, 이탈리아)를 팔 또는 손등의 정맥부위에 설치하고 대조약 또는 시험약 각각 2캡슐씩을 240 ml의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 투약직전, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 및 24시간(총 12시점에 약 8 ml의 혈액을 채취하여 혈구분리용 원심분리관에 넣고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 즉시 혈청분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 80°C에서 보관하였다.

채혈 및 피험자의 휴식 등의 모든 일은 광주기독병원에서 타인과 격리된 상태에서 이루어졌다.

혈청 중 암브록솔의 정량

혈청 중 암브록솔 정량은 이미 보고된 암브록솔 HPLC분석법^{6,9)}을 참고하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 50 mM 인산염완충액:메탄올=40:60(v/v) 혼합용액을 사용하였고, 유속 0.3 ml/min, 주입량 20 μ l 및 전기화학 검출기를 이용하여 정량하였으며 다음과 같이 검량선을 작성하였다.

암브록솔 표준품을 물에 녹여 농도를 1,000 μ g/ml로 만든 후 냉장 보관시키고, 냉동 보관하였던 공혈청으로 희석하여 혈청 중 암브록솔의 최종 농도가 각각 10, 20, 50, 100, 200 및 500 ng/ml씩 되도록 검량선용 표준 혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청 1 ml에 내부표준물질로 덤페리돈 수용액(2 μ g/ml) 100 μ l와 25 mM 붕산염 완충액 1 ml를 가한 후 3초간 vortexing하고 4 ml의 디에틸에테르를 가하고 3분 동안 vortexing하였다. 이것을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 유기층을 취하여 새 시험관에 옮기고 질소기류 하에서 증발·건조시켰다. 이 잔사에 헵탄 200 μ l를 가하여 잘 녹인 다음 0.01 M 염산 200 μ l를 가한 다음 1분간 vortexing한 후 10,000 rpm에서 2분 동안 원심분리 하였다. 여기에서 수층을 취하여 40°C에서 5분간 증발·건조한 후 70 μ l를 취하여 새 시험관에 옮긴 다음 50 mM 인산염완충액:메탄올=1:1(v/v) 혼합용액을 70 μ l 가하여 잘 섞은 다음 이 용액 중 20 μ l를 취해 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 암브록솔의 피이크

면적비를 구하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였을 뿐만 아니라 10, 20, 100 및 200 ng/ml 농도에서 각각 5회 측정하여 정확성을 평가하고 상기 농도에서 물에 대한 평균 상대추출율을 구하였다.

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 -80°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 1 ml에 내부표준물질로 덤페리돈 수용액(2 μ g/ml) 100 μ l를 가한 후 상기 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 암브록솔의 피이크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 암브록솔의 농도(ng/ml)를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

“설포라제 캡슐” 및 “부로필 캡슐”을 각각 2캡슐씩 28명의 지원자에게 라틴 방격법에 따른 교차시험법에 따라 경구 투여하여 얻은 각 제품의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 약물속도론적 파라미터인 AUC, C_{max} 및 T_{max}를 구하였으며, 이들 두 제품에서 각각 얻은 값에 대해 T_{max}를 제외한 AUC와 C_{max}의 로그변환치를 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 Equiv Test¹⁰⁾를 이용하여 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석을 실시하여 순서효과(sequence effect)를 검증한 후, 각 변동요인간의 유의성 여부를 검토하였고 90% 신뢰한계를 구하였다. 이 때, C_{max}와 T_{max}는 실측치를 사용하였으며 AUC는 사다리꼴 면적계산 공식을 이용하여 최종 채혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였다. “설포라제 캡슐”에 대한 “부로필 캡슐”의 생물학적동등성 여부는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾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 비교용출시험을 행하였다.

대조약과 시험약에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 용출시험한 결과 pH 1.2 및 4.0에서는 30분 이내에, pH

6.8 및 물에서는 120분 이내에 85% 이상 용출되었고, 두 제제의 용출 양상은 거의 차이가 없었으며, FDA guideline¹¹⁾에 따라 계산한 similarity factor(f_2)가 74.74로 나타나, 두 제제간의 용출은 차이가 없는 것으로 판단하였다(Figure 1).

혈청 중 암브록솔 정량

건강 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 돔페리돈과 암브록솔을 함께 가한 것 및 아세브로필린 캡슐 투

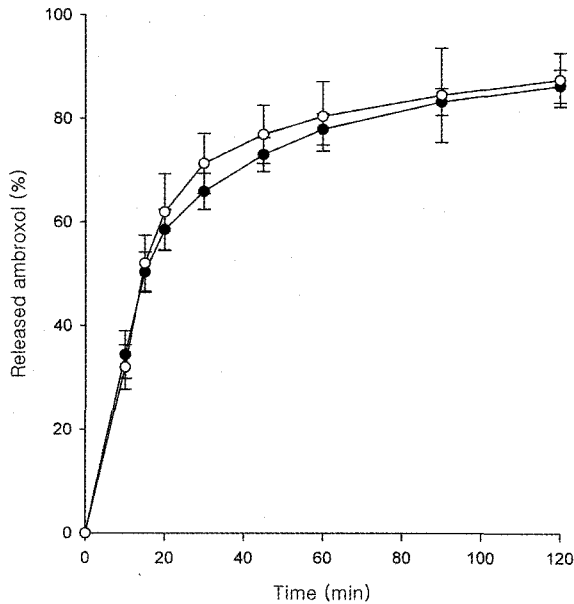


Figure 1—Dissolution profiles of ambroxol from Surfolase (●) and Buorphil capsules (○) in water (n=12, mean±S.D).

여 후 4시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 암브록솔 피크의 출현시간은 약 10.7분, 내부표준물질 피크의 출현시간은 약 8.7분이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 5 이상으로 하고 일내 및 일간 변동계수의 크기를 20% 미만으로 하였을 때의 최저정량한계(LLOQ, lower limit of quantitation)는 10 ng/ml이었으며, 수용액 중 약물을 추출한 것의 평균 피크 면적에 대한 추출 시료 중 약물의 피크 면적비로부터 구한 추출회수율(%)은 95.26±6.85이었다. 혈청 시료로부터 구한 암브록솔의 검량선은 피크 면적비($y=0.0102 \times \text{암브록솔 농도}(\text{ng/ml}, x)+0.0151$ ($r=0.9999, p<0.01$)로 10~500 ng/ml 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 암브록솔의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 모두 15% 이내로 나타났고 10, 20, 100 및 200 ng/ml의 농도에서 5회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 모두 15% 이내로

Table I—Reproducibility for the HPLC Analysis of Ambroxol in Human Serum

Concentration (ng/ml)	Precision C.V.(%)		Accuracy (% , n=5)
	Intra-day C.V.(% (n=5))	Inter-day C.V.(% (n=5))	
10	2.56	6.45	85.20
20	2.08	2.49	91.05
100	1.34	5.39	95.79
200	0.95	0.88	96.39

C.V.(Coefficient of Variation)=100×S.D./mean.

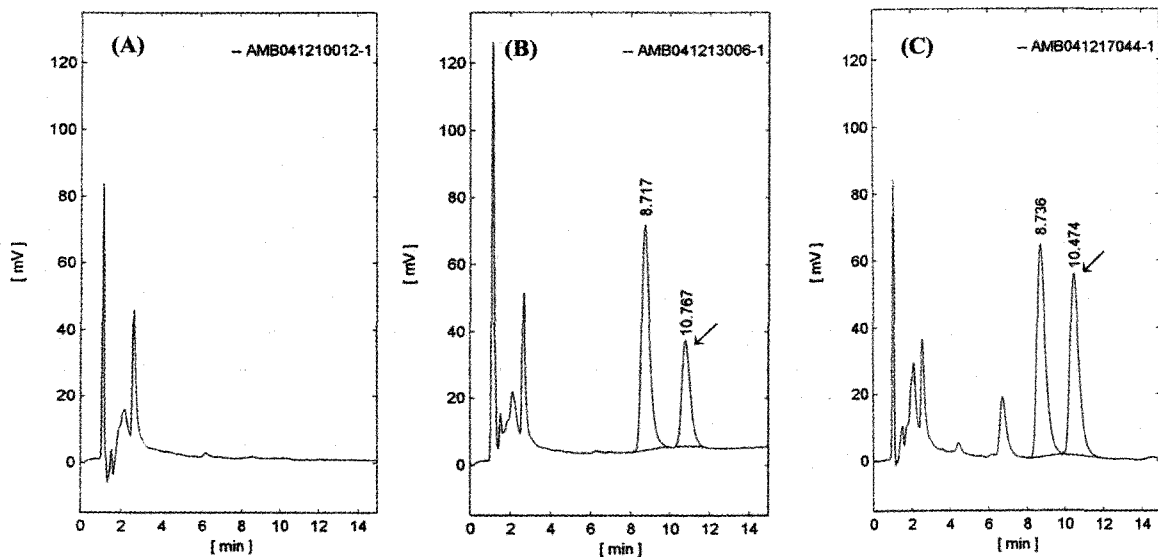


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with ambroxol (50 ng/ml) and internal standard (IS, domperidone 200 ng/ml) and (C) serum sample at 4 hr after oral administration of 100 mg acebrophylline two capsules. \sphericalangle =ambroxol peak.

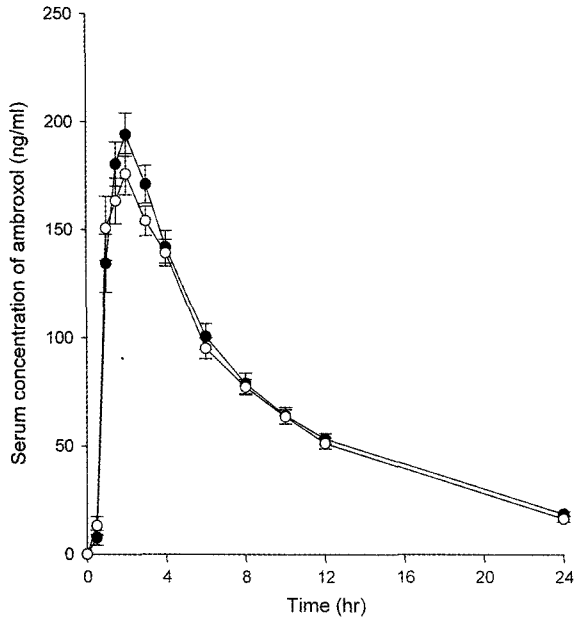


Figure 3—Mean serum concentration-time curves of ambroxol following oral administration of Surfolase (●) and Burophil capsules (○) at the dose of acebrophylline 200 mg (\pm S.E., n=28).

나타났다(Table I). 이로부터 혈청 중 암브록솔에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 적합한 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈청 중 암브록솔 농도 추이

시험약과 대조약으로 “부로필 캡슐”과 “설포라제 캡슐”을 각각 2캡슐씩 피험자 28명에게 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 제제의 전체 피험자에 대한 혈청 중 암브록솔 평균 농도를 Figure 3에 나타내었으며, 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터 (AUC_t , C_{max} 및 T_{max})를 Table II에 나타내었다. 대조약인 “설포라제 캡슐”의 평균 AUC_t (ng·hr/m)는 1635.81 ± 405.35 , 시험약인 “부로필 캡슐”은 1609.03 ± 347.73 으로 대조약에 대한 평균치 차가 -1.64%이었고, C_{max} (ng/m)는 209.35 ± 50.33 과 202.95 ± 53.61 로 -3.33%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 1.95 ± 0.76 과 1.93 ± 0.90 으로 -0.92%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전체 조건을 만족하

Table II—Bioavailability Parameters in Normal and Logarithmic Scales for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Surfolase and Burophil capsules at the Acebrophylline Dose of 200 mg

Subjects	Surfolase Capsule					Burophil Capsule				
	AUC_t (ng · hr/m)	Ln AUC_t	C_{max} (ng/m)	Ln C_{max}	T_{max} (hr)	AUC_t (ng · hr/m)	Ln AUC_t	C_{max} (ng/m)	Ln C_{max}	T_{max} (hr)
A1	1350.30	7.21	197.97	5.29	1.50	1622.35	7.39	205.19	5.32	1.50
A2	1584.71	7.37	164.31	5.10	2.00	1842.53	7.52	250.00	5.52	2.00
A3	2006.53	7.60	209.41	5.34	1.50	1939.80	7.57	205.58	5.33	1.50
A4	2649.49	7.88	262.99	5.57	2.00	1461.02	7.29	153.59	5.03	2.00
A5	1830.73	7.51	208.88	5.34	3.00	2152.45	7.67	266.84	5.59	2.00
A6	1306.80	7.18	140.20	4.94	3.00	1483.82	7.30	171.34	5.14	4.00
A7	1508.94	7.32	152.71	5.03	2.00	1555.87	7.35	133.63	4.90	4.00
A8	2628.92	7.87	257.15	5.55	2.00	2317.99	7.75	257.98	5.55	2.00
A9	1465.10	7.29	194.88	5.27	2.00	1836.85	7.52	255.14	5.54	1.50
A10	1850.02	7.52	266.73	5.59	2.00	1714.69	7.45	320.93	5.77	1.00
A11	1394.12	7.24	159.49	5.07	2.00	1015.78	6.92	165.20	5.11	1.50
A12	1822.13	7.51	264.71	5.58	2.00	2136.91	7.67	238.32	5.47	1.50
A13	1514.34	7.32	249.97	5.52	1.50	1663.56	7.42	312.74	5.75	1.00
A14	1586.80	7.37	171.03	5.14	2.00	1516.98	7.32	158.23	5.06	2.00
B1	1527.64	7.33	177.20	5.18	4.00	1350.57	7.21	147.45	4.99	3.00
B2	1721.32	7.45	237.72	5.47	2.00	1753.83	7.47	241.05	5.49	2.00
B3	1686.90	7.43	219.02	5.39	2.00	1317.04	7.18	173.87	5.16	1.00
B4	1180.07	7.07	104.52	4.65	4.00	1233.01	7.12	110.94	4.71	4.00
B5	1063.37	6.97	252.07	5.53	1.00	1264.22	7.14	156.14	5.05	1.50
B6	1272.57	7.15	185.53	5.22	1.50	1156.10	7.05	212.55	5.36	1.00
B7	1691.50	7.43	235.14	5.46	2.00	1251.74	7.13	183.34	5.21	1.50
B8	1885.58	7.54	250.69	5.52	2.00	1620.94	7.39	146.37	4.99	3.00
B9	1365.37	7.22	162.37	5.09	1.50	1285.73	7.16	158.21	5.06	1.50
B10	2428.37	7.79	324.93	5.78	1.50	2134.30	7.67	183.67	5.21	1.00
B11	1301.38	7.17	165.00	5.11	1.00	1665.49	7.42	214.18	5.37	2.00
B12	1390.17	7.24	174.34	5.16	1.00	1776.34	7.48	229.73	5.44	2.00
B13	1161.10	7.06	213.30	5.36	1.00	1072.08	6.98	256.45	5.55	1.00
B14	1628.30	7.40	276.20	5.62	1.50	1910.74	7.56	173.80	5.16	2.00
Mean	1635.81	7.37	209.35	5.32	1.95	1609.03	7.36	202.95	5.28	1.93
(S.D.)	405.35	0.23	50.33	0.25	0.76	347.73	0.22	53.61	0.26	0.90

Table III—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between Two Acebrophylline Capsules[#]

	Parameters		
	AUC _t	C _{max}	T _{max}
Difference	-1.64%	-3.33%	-0.92%
F _G ^{a)}	4.1605	0.8700	0.1884
Test/Reference point estimate	-0.0128	-0.0380	-0.0179
Confidence interval(δ) ^{b)}	log0.93 ≤ δ ≤ log1.05	log0.88 ≤ δ ≤ log1.05	-13.14 ≤ δ ≤ 11.30

[#]The AUC_t and C_{max} values were calculated on the basis of ln-transformed data, and the T_{max} values on the basis of untransformed data.

^{a)}α=0.05, F(1, 26)=4.230, ^{b)}α=0.05.

였으므로 이하 분산분석을 행하였다.

한편, 문헌²⁾에 보고된 암브록솔의 AUC_t(ng·hr/ml) 및 C_{max}(ng/ml)는 3450.2 및 369로 다소 차이를 보이나, 이는 암브록솔을 분석하는 방법에 있어 detector의 차이나 추출방법 등의 차이로 인한 것으로 보이며, 본 연구는 두 제제간의 생물학적 동등성을 증명하는 것을 목적으로 하고 있으므로 약물속도론적 파라미터의 차이가 본 연구의 목적에 큰 영향을 미치지 않는다고 판단하였다.

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 T_{max}와 로그변환한 AUC_t 및 C_{max}값에 대한 F비(F_G)가 F분석표의 한계값인 F(1,26)=4.230보다 모두 작게 나타나 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

로그변환한 평균치 차의 AUC_t 및 C_{max}에 대한 90% 신뢰한계는 log(0.93)~log(1.05) 및 log(0.88)~log(1.05)로 나타나 log(0.8)에서 log(1.25)이어야 한다는 생물학적동등성시험 기준을 만족하였다. 한편, 참고값인 T_{max} 평균치 차의 90% 신뢰한계는 -13.14~11.30%로 ±20% 이내이어야 한다는 조건을 만족했다.

이상의 시험결과를 종합해 보면 시험약인 “부로필 캡슐”은 대조약인 “설포라제 캡슐”에 대하여 생물학적동등성시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max}) 및 참고값(T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

결 론

건일제약 주식회사에서 발매하고자 하는 아세브로필린 제제인 “부로필 캡슐”이 기존의 아세브로필린 제제인 현대약품공업(주)의 “설포라제 캡슐”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안

전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 건강한 성인 남자(만 21~26세) 28명을 대상으로 2기 2제 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 암브록솔의 T_{max}와 로그변환한 AUC_t 및 C_{max}에 대하여 통계검정과 분산분석을 행하였다. 또한 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(패들법)에 따라 비교용출시험을 행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조약인 “설포라제 캡슐”과 시험약인 “부로필 캡슐”에 대하여 대한약전 VIII에 수재된 제 2법(패들법, 싱커사용)에 따라 용출시험한 결과 pH 1.2 및 4.0에서는 30분 이내에, pH 6.8 및 물에서는 120분 이내에 85% 이상 용출되었고, 그 용출양상도 유사하였다.

2. 대조약인 “설포라제 캡슐”의 평균 AUC_t(ng·hr/ml)는 1635.81±405.35, 시험약인 “부로필 캡슐”은 1609.03±347.73으로 대조약에 대한 평균치 차가 -1.64%이었고, C_{max}(ng/ml)는 209.35±50.33과 202.95±53.61로 -3.33%의 차이를 보였으며 T_{max}(hr)는 1.95±0.76과 1.93±0.90으로 -0.92%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 ±20% 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였다.

3. “설포라제 캡슐”에 대한 “부로필 캡슐”의 분산분석 결과, 로그변환한 AUC_t 및 C_{max}에 대해 유의수준 α=0.05에서 군간 순서효과는 나타나지 않았으며, 90% 신뢰한계는 각각 log(0.93)~log(1.05) 및 log(0.88)~log(1.05)로 나타나 log(0.8)~log(1.25)이어야 하는 생물학적동등성시험 기준을 만족하였다. 한편, T_{max}(hr)에 대한 90% 신뢰한계(δ, %)는 -13.14~11.30%로 ±20% 이내이어야 하는 조건을 만족시켰다.

이와 같이 시험약인 “부로필 캡슐”은 대조약인 “설포라제 캡슐”에 대하여 생물학적동등성시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max}) 및 참고값(T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 건일제약 주식회사의 지원을 받아 전남대학교

약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) F. Scaglione, S. Dugnani, G. Maccarinelli and F. Fraschini, Effect of acebrophylline on the content and composition of the lipids forming the pulmonary surfactant, *Italian J. Chest Diseases*, supplement, 67-72 (1992).
- 2) L.D. Angelo, Plasma levels and pharmacokinetic parameters of ambroxol and theophylline-7-acetic acid in adults after single and repeated acebrophylline doses, *Italian J. Chest Diseases*, **5**(1), 85-89 (1992).
- 3) 현대약품공업(주) 발행, Sulfolase[®] 캡슐, 7-8 (1998).
- 4) 식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 생물학적동등성시험 기준 (2002. 11. 22).
- 5) 식품의약품안전청 고시 제 1999-67호, 의약품임상시험관리기준 (2000. 1. 4).
- 6) M.H.A. Botterblom, T.J. Janssen, P.J.M. Guelen, Rapid and sensitive determination of ambroxol in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **421**, 211-215 (1987).
- 7) F.J. Flores-Murrieta, C. Hoyo-Vadillo, E. Hong and G. Castaneda-Hernandez, Assay of ambroxol in human plasma by high-performance liquid chromatography with amperometric detection, *ibid*, **490**, 464-469 (1989).
- 8) H.J. Lee, S.K. Joung, Y.G. Kim, H.Y. Yoo and S.B. Han, Bioequivalence assessment of ambroxol tablet after a single oral dose administration to healthy male volunteers, *Pharmacological research*, **49**, 93-98 (2004)
- 9) L. Colombo, F. Marcucci, M.G. Marini, P. Pierfederici and E. Mussini, Determination of ambroxol in biological material by gas chromatography with electron-capture detection, *J. Chromatogr.*, **530**(1), 141-147 (1990).
- 10) Statistical Solutions Ltd., Equiv Test[®] 2.0, U.K. (2001).
- 11) 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).