

액토스정® (피오글리타존 30 mg)에 대한 염산피오글리타존정의 생물학적동등성

염혜선 · 이태호 · 염정록 · 송진호¹★ · 한상범★

중앙대학교 약학대학, ¹중앙대학교 의과대학
(2009. 1. 8. 접수. 2009. 2. 3. 승인)

Bioequivalence of pioglitazone tablet to Actos® tablet (Pioglitazone 30 mg)

Hyesun Yeom, Tae Ho Lee, Jeong-Rok Youm, Jin-Ho Song¹★ and Sang Beom Han★

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea

¹College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea

(Received January 8, 2009; Accepted February 3, 2009)

요 약: 다케다약품공업주식회사의 “액토스정® 30 mg”을 대조약으로 하고 보령제약주식회사의 “염산피오글리타존정 30 mg”을 시험약으로 하여, 2×2 교차시험법에 따라 지원자 28 명을 대상으로 생물학적동등성시험을 실시하였다. 이를 위하여 피오글리타존 30 mg을 각 지원자에게 경구 투여한 후, 0-36 시간 동안 채혈한 혈장 시료를 확보하였다. 혈장 중 피오글리타존을 분석하기 위하여, LC-MS/MS 분석법을 확립하였으며 분석결과의 신뢰성을 높이기 위하여 분석법 검증을 수행하였다. 그 결과, 5-2000 ng/mL의 농도범위에서 우수한 직선성을 나타내었으며, 생물학적동등성시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 특이성, 정밀성 및 정확성을 확인하였다. 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중약물농도-시간곡선하면적(AUC)과 최고혈중농도(C_{max}) 등의 약물속도론적 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰한 결과, 판정기준을 만족 시켰으며, 따라서 두 제제는 생물학적으로 동등한 것으로 평가하였다.

Abstract : The bioequivalence of two pioglitazone tablets, Actos® tablet (Takeda Chemical Industries, reference drug) and Pioglitazone tablet (Boryung Company, test drug) was evaluated according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration. Twenty-eight healthy male Korean volunteers received each medicine (pioglitazone dose of 30 mg) in a 2×2 crossover study with one week washout interval. After drug administration, blood samples were collected at specific time intervals from 0-36 hours. The plasma concentrations of pioglitazone were determined by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The total chromatographic run time was 5 min and calibration curves were linear over the concentration range of 5-2000 ng/mL for pioglitazone. The method was validated for selectivity, sensitivity, linearity, accuracy and precision. The pharmacokinetic parameters were determined from the plasma concentration-time profiles of both formulations. The primary calculated pharmacokinetic parameters were compared statistically to evaluate

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-820-5596, (0)2-820-5686 Fax : +82-(0)2-3280-5596, (0)2-820-5686

E-mail : hansb@cau.ac.kr, jinhos@cau.ac.kr

bioequivalence between the two preparations. The 90% confidence intervals of the AUC_t ratio and the C_{max} ratio for Pioglitazone tablet and Actos[®] tablet were $\log 0.9422 \sim \log 1.1040$ and $\log 0.9200 \sim \log 1.1556$, respectively. Based on the statistical considerations, we can conclude that the test drug, Pioglitazone tablet was bioequivalent to the reference drug, Actos[®] tablet.

Key words : pioglitazone, bioequivalence, LC-MS/MS, analytical validation

1. 서 론

피오글리타존(Pioglitazone, 5-[[4-[2-(5-Ethyl-2-pyridinyl)ethoxy]phenyl]methyl]-2,4-thiazolidinedione, $C_{19}H_{20}N_2O_3S$, Fig. 1(A))은 치아졸리딘디온(thiazolidinedione)계 항당뇨병 약물이다. 피오글리타존은 인슐린 저항성의 존재 하에서 특정 핵 수용체인 peroxisome-proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ)를 활성화시켜 간, 지방, 골격, 근육 세포에서 인슐린 민감도를 높이고 말초와 장관에서의 글루코오스 흡수를 증가시키며 간에서 혈중으로의 글루코오스 배출을 줄인다.^{1,2} PPAR- γ 가 한번 활성화 되면 또 다른 핵 수용체인 레티노이드-X 수용체와 이중이량체를 형성하고, 특정 DNA 서열에 결합하여 글루코오스와 지질의 대사에 관여하는 유전자의 전사를 조절하게 된다.^{3,4}

피오글리타존은 미국에서 제2형 당뇨병 환자에게 단독요법으로 사용되거나 메트포민, 설포닐우레아 또는 인슐린과의 병용요법으로 사용되고 있으며, 단독요법과 병용요법에서 모두 혈중 글루코오스 농도를 95 mg/dL까지 낮출 수 있는 것으로 보고되고 있다.⁵ 또한 30 mg 이상의 용량에서 혈중 중성지방 농도를 30-70 mg/dL 정도 낮추며, 혈중 고밀도지단백 농도는 4-5 mg/dL 정도 높여준다.⁵

Sripalakit 등⁶에 의하면 건강한 성인에게 피오글리타존 30 mg 정제를 1회 경구투여 하였을 경우 최고 혈중농도(C_{max})는 1598.98 ± 659.04 ng/mL, 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 1.5 ± 0.8 hr, 혈중약물농도-시간곡선 하면적(AUC)은 11860 ± 5040 ng-hr/mL, 소실반감기($T_{1/2}$)는 5.2 ± 1.3 hr이었으며, Wittayaler-panya 등⁷도 피오글리타존 30 mg 정제를 1회 경구투여 하였을 때 C_{max} 는 1140 ± 290 ng/mL, T_{max} 는 2.0 ± 1.61 hr, AUC_t 는 11470 ± 4770 ng-hr/mL, $T_{1/2}$ 는 11.2 ± 7.38 hr로 보고하였다.

국내의 피오글리타존 제제로는 다케다약품공업주식회사의 “액토스정[®] 30 mg”을 비롯한 다수의 제제가 사용되고 있는데, 처방된 피오글리타존 제제를 성분, 함량 및 제형이 동일한 다른 제제로 대체하여 조제하

기 위해서는 약사법 제 23조 2에 근거, 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준⁸에 따라 생물학적동등성시험을 실시하여 대조약과 생물학적으로 동등하다는 것이 입증되어야 한다.

따라서 본 연구에서는 보령제약주식회사의 “염산피오글리타존정 30 mg”(피오글리타존 30 mg)이 다케다약품공업주식회사의 “액토스정[®] 30 mg”(피오글리타존 30 mg)과 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위하여, 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 따라 건강한 성인 남성 지원자 28명에게 각 제제 1 정(피오글리타존 30 mg)을 경구투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중약물농도-시간곡선하면적(AUC)과 최고혈중농도(C_{max})등의 약물속도론적 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적동등성을 평가하였다. 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 받은 후, 중앙대학교 의과대학 임상시험심의위원회 (Institutional Review Board, IRB)의 감독 하에, 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

시험약으로 보령제약주식회사의 “염산피오글리타존정 30 mg”(제조번호 : 7001, 유효기간 : 2010. 7.)을, 대조약으로는 다케다약품공업주식회사의 “액토스정[®] 30 mg”(제조번호 : OG250, 유효기간 : 2010. 8.)을 사용하였다.

피오글리타존의 혈중 농도 분석 시험에 사용된 시약들로 피오글리타존 염산염 표준품(Fig. 1(A))은 보령제약주식회사로부터 제공받았고, 내부표준물질로 사용된 글리메피리드 표준품(Fig. 1(B))은 Sigma-aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. 이 동상에 사용된 HPLC급 증류수와 아세트니트릴은 Fisher Scientific사(Springfield, NJ, USA)로부터 구입

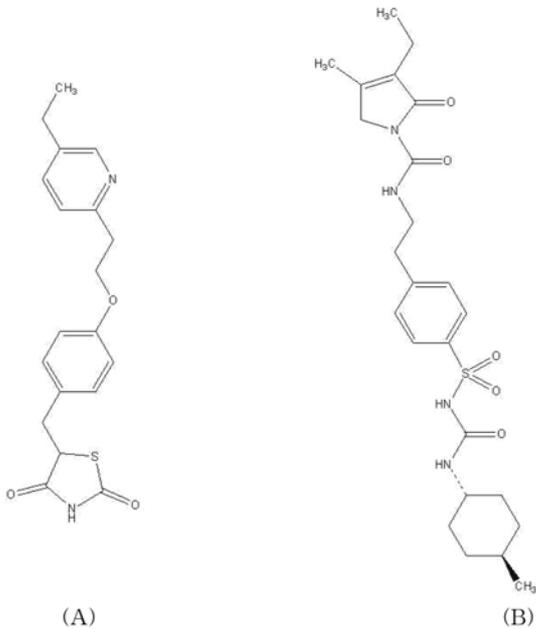


Fig. 1. Chemical structures of (A) pioglitazone and (B) glimepiride (internal standard).

하였고, ammonium formate와 formic acid는 Sigma-aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

사용된 약물분석기기로 HPLC는 Waters Alliance 2795 HPLC system (Waters, Milford, MA, USA)을, 텐덤질량분석기(MS/MS)는 Waters Quattro Micro API (Waters)를 사용하였다. 분석 칼럼은 Thermo Hypersil GOLD (2.1 × 150 mm, 5 μm, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하였으며 가드 칼럼은 Security-Guard™ (Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 사용하였다. 데이터 처리 장치는 MassLynx 4.1 (Waters)을 사용하였다.

2.2. 피험자 선정 및 관리

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 근거하여 19~55세의 건강한 성인 남성으로서, 과거에 소화기계, 간장, 신장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액 질환의 병력이 없고, 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 자를 모집공고하여 지원자를 모집하였다. 52명의 지원자를 대상으로 시험의 목적, 시험대상 성분에 대한 약리작용 및 이상약물반응 가능성, 시험내용, 주의사항 및 보상내용 등을 설명하였고, 이들 중 건강검진에 불참한 8명을 제외한

44명을 대상으로 삼성서울병원 임상시험센터(등록번호 358호, 서울, 한국)에서 건강진단을 실시하였다. 지원자 중 피험자 선정기준에 모두 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 건강한 사람으로 판정된 28명을 선정하였으며, 자발적인 의사결정에 따라 시험참가동의서를 받은 후 생물학적동등성시험을 실시하였다. 최종 피험자로 선정된 28명의 평균연령은 22.7±2.6세, 평균체중은 68.2±5.5 kg이었다.

지원자에게 지원신청서를 제출한 날부터 과도한 음주나 타약물의 복용을 하지 않도록 주의시켰으며 건강검진을 통하여 최종 선정된 피험자에게는 정해진 투약일 1개월 전부터 시험이 완료될 때까지 항생제 및 진통제 등을 포함하여 일체의 약물 복용을 금지하였다. 또한 시험 개시 12시간 이전부터 채혈 종료 시까지 시험기간 중에는 피험자의 운동, 식사, 흡연, xanthine계 음료 및 음주 등을 제한 관리하도록 하였다. 투약 전일 오후 6시경에 피험자 전원을 소집하여 동일한 식사를 한 후 삼성서울병원에 수용하고, 피험자를 2군으로 분류하여 시험 내용과 주의사항을 다시 한 번 주지시킨 뒤 오후 10시경에 취침하도록 하였다. 피험자 전원은 투약 전일 오후 10시 이후부터 다음날 투약 후 4시간 동안 공복상태를 유지하도록 하였다. 투약 당일 오전 6시에 기상하고 병원에 도착하여 시험 준비에 착수하였다. 투약 후 4시간째 채혈이 끝난 시점에서 동일한 점심식사를 제공하였으며, 투약 후 10시간째에 다시 동일한 저녁식사를 제공하였다. 투약 후 12시간째 채혈이 끝난 후 팔 또는 손등의 정맥부위에 거치된 헤파린고정 카테터를 제거하고 오후 9시에 숙소로 이동하여 오후 10시경에 취침시켰다. 둘째날 오전 6시에 피험자 모두 기상하여 병원에 도착하였다. 투약 24시간째 채혈이 끝난 후 주의사항을 당부한 후 귀가시켰다. 투약 36시간째에 피험자들을 소집하여 채혈을 한 다음, 담당의사에 의해 혈액, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하고 피험자들에게 제 2기 시험을 완료할 때까지 음주나 약물 복용을 일체 금지한다는 주의사항을 다시 한 번 더 주지시킨 후 귀가시켰다. 시험 전 과정을 통하여 피험자 개개인의 상태를 관찰하여 증례기록서에 기록하였다. 휴약 기간인 1주일 이 지난 후 실시하는 제 2기 시험도 제 1기와 마찬가지로의 방법으로 시행하였다.

2.3. 약물투약 및 혈액채취

약물 투약, 채혈 및 피험자 관리는 삼성서울병원 임상시험센터의 일반인과 격리된 공간에서 시험담당자

인 전문의의 감독 하에 실시하였다. 약물 투약은 2시기 2 제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법을 택하였으므로, 28 명의 피험자를 무작위로 군당 14명으로 나누었다. 제 1기 A군에는 대조약인 “액토스정® 30 mg”을, B군에는 시험약으로 “염산피오글리타존정 30 mg”을 투약하였으며, 제 2기 때에는 그 반대로 투약하였다. 모든 피험자들의 팔 또는 손등의 정맥부위에 해파린고정 카테터를 설치하고 공혈액 10 mL를 채혈한 다음, 대조약 또는 시험약 각각 1 정씩을 물 240 mL와 함께 투약하였다. 피험자간 투약시간의 차이는 채혈시간을 고려하여 2분 간격으로 하였다. 채혈은 투약직전과 투약 후 30 분, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 36시간의 총 13 시점에서 실시하였다. 채혈 시 채혈세트 안에 남아 있는 해파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1 mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 10 mL의 혈액을 채취하였다. 또한 채혈 후마다 카테터 안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 해파린을 넣은 주사용 생리 식염수를 주입하였다. 채혈된 혈액의 응고를 방지하고 혈구의 파괴를 막기 위해, 배큐테이너를 천천히 흔들어 섞고,

잠시 방치한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 혈장만을 취하여 폴리프로필렌 시험관에 옮겨 담고 영하 70 °C 이하에서 분석 시까지 보관하였다. 채혈시 감염을 방지하기 위하여 피험자들의 혈액채취는 일반인들의 출입이 통제된 격리된 공간에서 실시하였으며, 사용하는 기구는 완전 멸균된 1 회용을 사용하였다.

2.4. 혈장 중 피오글리타존의 정량

2.4.1. 검량선 작성

피오글리타존 염산염 표준품을 아세트니트릴에 녹여 피오글리타존의 농도가 500 µg/mL가 되도록 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 이동상과 냉동 보관하였던 공혈장으로 희석하여 피오글리타존의 혈장 중 농도가 각각 5, 10, 50, 100, 500, 1000 및 2000 ng/mL가 되도록 표준혈장 시료를 만들었다. 내부표준물질로서 글리메피리드를 아세트니트릴에 녹여 500 µg/mL가 되도록 만든 후, 다시 이동상으로 희석하여 50 µg/mL의 농도가 되도록 하였다. 각각의 표준혈장 시료 200 µL에 내부표준물질 용액(glimepiride, 50 µg/

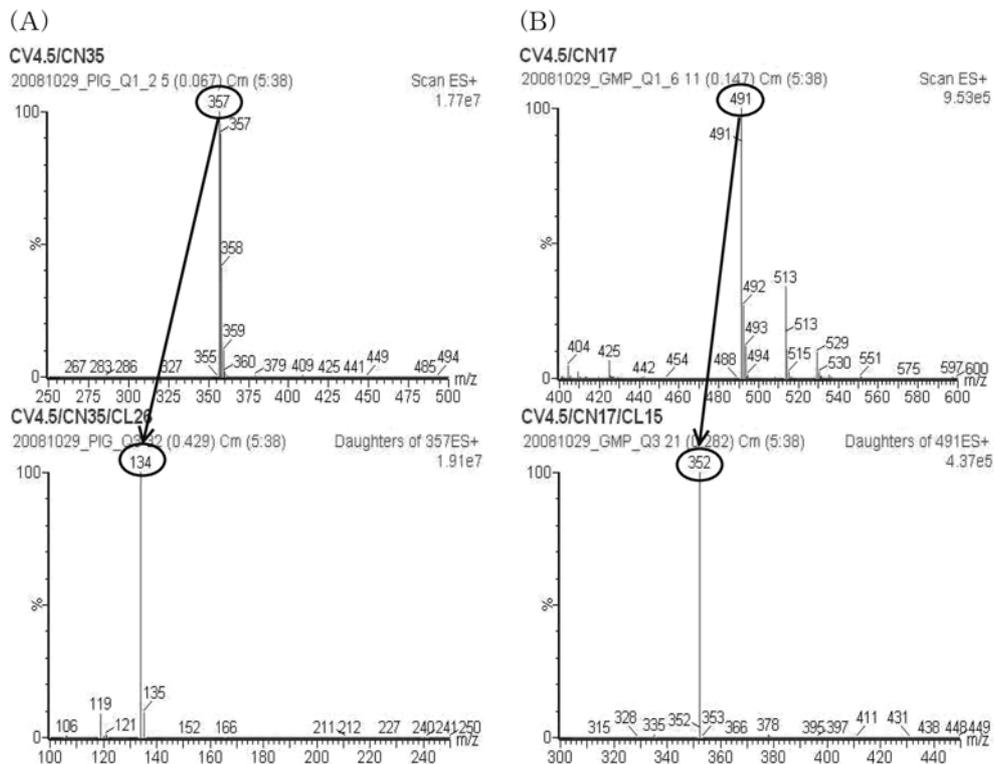


Fig. 2. MS/MS spectra of (A) pioglitazone and (B) glimepiride (internal standard).

mL) 20 µL와 10 mM ammonium formate (pH = 3.0, formic acid)/acetonitrile=20/80 (v/v) 1 mL를 가하고 10 분간 진탕교반 한 후 13,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상정액 100 µL를 취하여 이동상 1 mL와 섞어 희석한 후 20 µL를 LC-MS/MS에 주입하였다.

2.4.2. LC-MS/MS 조건

검출을 위한 MS/MS 분석조건으로, electrospray ionization (ESI) 이온화 방식을 선택하였고, positive ion mode에서 multiple reaction monitoring (MRM) 방법을 사용하여 분석하였다. Nebulizing gas는 질소 가스, collision gas는 아르곤 가스를 사용하였다. 피오글리타존과 내부표준물질로 사용한 글리메피리드의 precursor ion은 각각 m/z 357.28, 491.4의 수소화된 분자이온([M+H]⁺)을 사용하였으며, 생성된 product ion으로 m/z 134.2, 352.2를 각각 모니터링 하였다(Fig. 2). 이동상으로는 10 mM ammonium formate용액에 formic acid를 넣어 pH를 3.0으로 맞춘 완충용액과 아세트니트릴을 40/60의 비율로 혼합한 용액을 사용하여, 0.2 mL/min의 유속으로 흘러주었다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성, 정확성을 구하고 5일간 실험을 행하여 일간 재현성 및 정확성을 구하였다.

2.4.3. 혈장시료의 처리

피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70 °C 이하에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 1분간 크게 흔들여 뒤섞은 후, 이 중 200 µL를 취하여 시험관에 옮기고 내부표준물질 용액 20 µL를 가한 후, 검량선 작성 방법과 동일한 처리과정을 거친 시료 20 µL를 LC-MS/MS에 주입하였다.

2.4.4. 혈장 중 농도 계산

얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 피오글리타존의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선에 대입하여 혈장 중 피오글리타존의 농도를 산출하였다.

2.5. 약물속도론적 파라미터의 분석 및 통계처리

약물속도론적 파라미터들로서 AUC_t, C_{max}, T_{max}는 약물속도론적 파라미터 계산 프로그램인 BA-Calc 2007 (Ver. 1.0.0)을 이용하여 구하였다. 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선하면적(AUC_t)값은 약물투여 후 36시간까지의 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구하였다. 최고혈중농도

(C_{max})는 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선으로부터 가장 높은 혈장 중 농도를 읽은 값을 사용하였으며, 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 각 피험자의 혈중약물 농도-시간곡선으로부터 최고혈중약물농도에 도달하는 시간을 읽은 값을 사용하였다.

생물학적동등성시험기준에 따라 시험약과 대조약간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목은 AUC_t와 C_{max}로 하였다. 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 K-BE Test 2007 (Ver. 1.1.0)를 이용하여 각 파라미터들을 로그변환한 값에 대하여 유의수준 (α) = 0.05에서 분산분석하였고, 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 혈장 중 피오글리타존의 정량

건강한 피험자의 공혈장과 공혈장에 피오글리타존과 내부표준물질을 함께 가한 표준혈장시료 및 피오글리타존 제제를 투여한 후 8시간 후에 채취한 혈장 시료를 본 시험법에 따라 전처리한 후, LC-MS/MS로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다. 피오글리타존 피크의 머무름 시간은 약 2.2분, 내부표준물질인 글리메피리드 피크의 머무름 시간은 약 4.2 분이었으며, 혈장 중의 어떠한 간섭 물질들로부터 영향을 받지 않고 양호하게 분리되었다.

혈장 중 피오글리타존의 분석법은 이미 보고된 분석방법^{6,9} 참고하였다. Sripalakit 등⁶의 경우는 HPLC-UV법을 이용하여 혈중 피오글리타존을 분석하였으나, 선택성이 부족하고 분석시간이 긴 단점이 있었으며, Xue 등의⁹ 경우에는 시료 전처리 과정에서 on-line SPE를 사용하여 기기 사용이 다소 복잡하였다. 따라서 본 연구에서는 피오글리타존의 기존 분석법의 단점을 개선하고자, LC-MS/MS를 도입하였고 전처리를 제단백 처리만으로 단순화하였으며 기기 분석 조건을 최적화하여, 문헌에서 보고된⁹ 정량한계를 9 ng/mL에서 5 ng/mL로 개선시킬 수 있었다.

피험자의 공혈장 시료, 공혈장에 내부표준물질만 가한 시료 및 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 2000 ng/mL의 검량선용 표준혈장 시료를 각각 전처리한 후 LC-MS/MS로 분석하였을 때, 혈장 시료로부터 구한 피오글리타존 검량선의 계산식은 Y(피오글리타존/내부표준물질 피크 면적의 비율)=0.0118×X(피오글리타존 농도, ng/mL)+0.0038 (r²=0.999)로 5~2000 ng/mL의 농도 범위에서 우수한 직선성을 나타내었다.

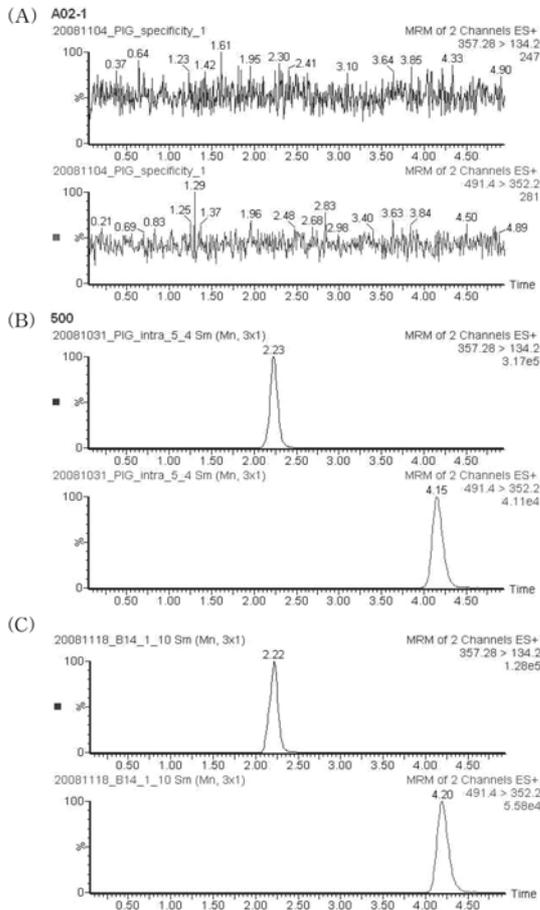


Fig. 3. Multiple reaction monitoring chromatograms of (A) blank human plasma, (B) plasma standard of pioglitazone (500 ng/mL) with 20 μ L of I.S. (glimperide, 50 μ g/mL) and (C) plasma sample at 8 hr after oral administration of 30 mg pioglitazone to volunteer B14 (calculated concentration was 183.09 ng/mL).

각기 다른 5가지 농도(5, 10, 50, 500, 2000 ng/mL)의 피오글리타존 표준혈장을 분석하였을 때, 본 분석법의 정밀성은 일내 정밀성이 1.30~6.36%, 일간 정밀성은 1.58~3.40% 범위로 나타났고, 정확성은 일내 정확성이 96.47~106.97%, 일간 정확성이 101.25~106.05%로 나타났다(Table 1). 혈장 중 피오글리타존의 정량한계(LOQ, limit of quantitation)는 크로마토그램상에서 신호대 잡음비(S/N ratio)를 10 이상으로 하고 정밀성이 20% 이하이고, 정확성이 80~120%인 조건을¹⁰ 만족하는 5 ng/mL로 정하였다. 이로부터 혈장 중 피오글리타존에 대한 본 연구의 LC-MS/MS 분석법은 생물학적동등성시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 특이

Table 1. Precision and accuracy data for the LC-MS/MS analysis of pioglitazone in human plasma (n=5)

Conc. (ng/mL)	Precision (C.V. %)		Accuracy (%)	
	Intra-Day	Inter-Day	Intra-Day	Inter-Day
5 (LOQ*)	1.85	3.40	101.39	106.05
10	3.11	3.08	106.97	103.05
50	2.60	1.98	99.16	101.56
500	6.36	1.83	96.47	101.29
2000	1.30	1.58	98.51	101.25

*Limit of quantitation

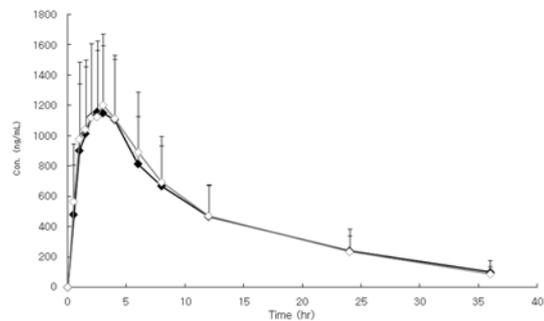


Fig. 4. Mean (\pm S.D., n=28) plasma concentration-time curves of pioglitazone following oral administration of Pioglitazone tablet (\diamond) and Actos[®] tablet (\blacklozenge) at the pioglitazone dose of 30 mg.

성, 직선성, 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 확인하였다.

3.2. 혈장 중 피오글리타존의 농도 추이 및 약물속도론적 파라미터

건강한 성인 28명에게 교차시험으로 대조약 및 시험약을 각각 경구투여한 후, 일정 시간마다 채혈하고 분석하여 얻은 전체 피험자에 대한 피오글리타존 평균 혈중약물농도-시간곡선을 Fig. 4에 나타내었고, 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터(AUC_t , C_{max} 및 T_{max})를 Table 2에 나타내었다. 대조약인 “액토스정[®] 30 mg”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 15688.73 ± 5941.42 , 시험약인 “염산 피오글리타존정 30 mg”은 15951.84 ± 5556.88 로 대조약에 대한 시험약의 평균치차가 1.68%이었고, C_{max} (ng/mL)는 1325.79 ± 461.87 과 1389.02 ± 505.05 로 4.77%의 차이를 나타내었으며, T_{max} (hr)는 2.93 ± 1.43 과 2.46 ± 1.10 으로 -16.04%이었다. 따라서 각 항목에 있어 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이가 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제조건을¹¹

Table 2. Bioavailability parameters in normal and logarithmic scales for each volunteer obtained after oral administration of Actos® tablet (reference drug) and Pioglitazone tablet (test drug) at the pioglitazone of 30 mg

Subjects	Actos® Tablet (reference drug)					Pioglitazone Tablet (test drug)				
	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)
A1	20074.80	4.30	1521.30	3.18	2.50	14290.40	4.16	970.67	2.99	1.00
A2	10440.26	4.02	1564.29	3.19	1.00	11483.63	4.06	1294.17	3.11	1.00
A3	14407.50	4.16	819.37	2.91	2.50	13560.21	4.13	690.12	2.84	4.00
A4	13898.06	4.14	1452.58	3.16	2.00	11075.77	4.04	910.36	2.96	2.50
A5	10680.57	4.03	1029.09	3.01	2.50	11773.44	4.07	1303.48	3.12	2.50
A6	7747.15	3.89	340.55	2.53	6.00	8089.35	3.91	319.27	2.50	4.00
A7	17025.18	4.23	1527.43	3.18	2.00	17421.47	4.24	1536.73	3.19	2.00
A8	14385.83	4.16	1539.03	3.19	2.50	14242.52	4.15	1178.87	3.07	4.00
A9	9948.83	4.00	916.62	2.96	2.50	15840.71	4.20	1404.30	3.15	1.50
A10	20779.76	4.32	1777.88	3.25	3.00	25155.83	4.40	1920.87	3.28	4.00
A11	17564.60	4.24	1421.05	3.15	2.50	12488.41	4.10	1202.73	3.08	1.50
A12	15420.57	4.19	1468.84	3.17	3.00	20453.51	4.31	1586.09	3.20	3.00
A13	16753.73	4.22	1687.59	3.23	2.00	20021.83	4.30	1965.73	3.29	1.50
A14	19331.07	4.29	1582.69	3.20	1.50	14097.10	4.15	1188.24	3.07	1.50
B1	25258.76	4.40	1051.42	3.02	8.00	23710.62	4.37	1540.07	3.19	1.50
B2	21090.67	4.32	1965.29	3.29	2.50	23188.74	4.37	1770.03	3.25	3.00
B3	13756.06	4.14	1010.37	3.00	3.00	17621.28	4.25	1897.69	3.28	1.00
B4	14493.61	4.16	1845.73	3.27	3.00	16566.69	4.22	1815.82	3.26	3.00
B5	11988.86	4.08	1331.99	3.12	1.00	9387.39	3.97	519.23	2.72	4.00
B6	8875.61	3.95	823.98	2.92	4.00	13092.31	4.12	1601.59	3.20	3.00
B7	9023.23	3.96	963.04	2.98	1.50	10918.72	4.04	1702.14	3.23	1.50
B8	15190.21	4.18	911.90	2.96	4.00	14194.55	4.15	1193.54	3.08	4.00
B9	29249.61	4.47	1953.97	3.29	3.00	27277.59	4.44	1807.86	3.26	2.00
B10	30432.64	4.48	2095.76	3.32	2.50	25683.14	4.41	2409.66	3.38	2.50
B11	18626.76	4.27	1998.68	3.30	4.00	14306.08	4.16	1999.12	3.30	1.00
B12	10991.09	4.04	890.83	2.95	3.00	15196.53	4.18	1533.75	3.19	2.00
B13	14453.47	4.16	1027.29	3.01	3.00	20440.30	4.31	1148.57	3.06	4.00
B14	7396.05	3.87	603.49	2.78	4.00	5073.52	3.71	481.76	2.68	2.50
Mean	15688.73	4.17	1325.79	3.09	2.93	15951.84	4.18	1389.02	3.10	2.46
(S.D.)	5941.42	0.16	461.87	0.18	1.43	5556.88	0.16	505.05	0.21	1.10

만족하였다. 또한 본 연구에서 확인한 피오글리타존의 약물속도론적 파라미터 값은 동일용량의 피오글리타존을 경구투여하고 보고한 기존 문헌과^{6,7} 비교하였을 때, 큰 차이가 없음을 확인할 수 있었다.

3.3. 평가항목에 대한 통계학적 고찰

본 연구에서는 식품의약품안전청의 규정에 따라 대조약과 시험약 간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목으로 혈중약물농도-시간곡선으로부터 산출한 혈중약물농도-시간곡선하면적(AUC_t), 최고혈중농도(C_{max})를 확인하였으며, 최고혈중약물농도 도달시간(T_{max})은 단지 참고값으로만 사용하였다. 또한 피험자

총 28명의 약물농도 데이터 처리는 K-BE Test 2007 프로그램으로 통계처리 하였으며, T_{max}를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목의 실측치를 로그변환하여 유의수준 (α)=0.05에서 분산분석을 실시하였다. 생물학적동등성 평가항목인 AUC_t 및 C_{max}에 대한 K-BE Test 프로그램 통계처리 결과, 군간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값인 4.225보다 작아 교차 시험 설계가 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었으며, 로그변환한 AUC_t 평균치 차의 90% 신뢰구간이 log0.9422~log1.1040이었고, C_{max}는 log0.9200~log1.1556으로 두 항목 모두 log0.8에서 log1.25 이내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준을 충족시켰다(Table 3).

Table 3. Statistical results of bioequivalence evaluation between two pioglitazone tablets

Statistical Parameter	Parameter ($\alpha=0.05$)	
	AUC _t	C _{max}
Difference	1.68%	4.77%
Power (1- β)	>0.9	0.744
F value ^{a)}	0.207	0.347
Test/Reference point estimation	1.019	1.031
Confidence interval (δ) ^{b)}	0.9422~1.1040	0.9200~1.1556

The AUC_t and C_{max} values were calculated on the basis of logarithmically transformed data.

^{a)} $\alpha=0.05$, F(1,26)=4.225 ^{b)} $\alpha=0.05$

한편, 참고값인 T_{max} 평균치 차는 -16.04%로 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 조건을 만족시켰다.

이상의 시험 결과를 종합해보면 두 제제는 평가항목인 AUC_t 및 C_{max}에 있어서 생물학적으로 동등함을 통계적으로 확인할 수 있었다.

4. 결 론

식품의약품안전청 고시인 생물학적동등성시험기준에 따라 다케다약품공업주식회사의 “액토스정® 30 mg”을 대조약으로 하고 보령제약주식회사의 “염산피오글리타존정 30 mg”을 시험약으로 하여 2×2 교차시험법에 따라 건강한 성인 남성 지원자 28명을 대상으로 경구 투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중약물농도-시간곡선하면적(AUC_t)과 최고혈중농도(C_{max}) 등의 약물속도론적 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적동등성을 평가하였다.

로그변환한 AUC_t 및 C_{max}에 대해서 분산분석을 실시한 결과, 각 비교항목에 있어 모두 유의수준 (α) = 0.05의 구간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. AUC_t의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 log0.9422에서 log1.1040이었고, C_{max}의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 log0.9200에서 log1.1556로서 두 항목 모두 log0.8에서 log1.25 이내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준을 충족시켰다.

이와 같이 시험약인 “염산피오글리타존정 30 mg”을 대조약인 “액토스정® 30 mg”을 대하여 생물학적

동등성의 판단 기준인 두 항목(AUC_t와 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 평가되었다.

감사의 글

이 논문은 보령제약주식회사의 지원과 2008년도 중앙대학교 우수연구자연구비 지원에 따라 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. J. Waugh, G. M. Keating, G. L. Plosker, S. Easthope and D. M. Robinson, *Drugs*, **66**, 85-109(2006).
2. Takeda Pharmaceutical Company Limited, Actos® (pioglitazone hydrochloride) Full Prescribing Information, Osaka, Japan, 2004, <http://www.actos.com/pi.pdf>.
3. J. M. Lehmann, L. B. Moore, T. A. Smith-Oliver, W. O. Wilkison, T. M. Willson and S. A. Klierer, *J. Biol. Chem.*, **270**, 12953-12956(1995).
4. J. Sakamoto, H. Kimura, S. Moriyama, H. Odaka, Y. Momose, Y. Sugiyama and H. Sawada, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **278**, 704-711 (2000).
5. J. Chilcott, MSc, P. Tappenden, M. L. Jones, M. A. DPhU and J. P. Wight, *Clin. Therapeut.*, **23**, 1792 (2001).
6. P. Sripalakit, P. Neamhom and A. Saraphanchotiwitthaya, *J. Chromatogr. B*, **843**, 164-169(2006).
7. S. Wittayalertpanya, S. Chompootaweeep and N. P. Thaworn, *J. Med. Assoc. Thailand*, **89**, 2116-2122(2006).
8. 식품의약품안전청 고시 제 2007-65호, 생물학적동등성시험기준 (2007. 09. 20).
9. Y. J. Xue, K. C. Turner, J. B. Meeker, J. Pursley, M. Arnold and S. Unger, *J. Chromatogr. B*, **795**, 215-226(2003).
10. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of analytical procedures, ICH-Q2A, Geneva, 1995.
11. FDA Guidelines, Bioequivalence Food and Drug Administration, Division of Bioequivalence, Office of Generic Drugs, Rockville, MD USA, 1992.