

고속액체크로마토그래피-형광검출기를 이용한 코자 정(로사탄칼륨 50 mg)에 대한 로사타 정의 생물학적동등성

강현아¹ · 김세미² · 유동진 · 강승래 · 이상노 · 김용희 · 이용복[†]

¹CJ 제일제당 제약연구소, ²종근당 종합연구소, 전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소
(2009년 12월 31일 접수 · 2010년 1월 21일 수정 · 2010년 1월 25일 승인)

Bioequivalence of Losata Tablet to Cozaar Tablet (Losartan Potassium 50 mg) using HPLC with Fluorescence Detector

Hyun-Ah Kang¹, Se-Mi Kim², Dong-Jin Yoo, Seung-Rae Kang, Sang-No Lee, Yong-Hee Kim, and Yong-Bok Lee[†]

¹Pharmaceutical Research Institute, CJ Cheiljedang Corp., Ichon-si, Kyonggi-do 467-812, Korea
²Research Institute, ChongKunDang Pharm., Cheonan-si, Chungnam 331-831 Korea
Institute of Bioequivalence and Bridging Study, College of Pharmacy, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

(Received December 31, 2009 · Revised January 21, 2010 · Accepted January 25, 2010)

ABSTRACT – Losartan potassium, 2-butyl-4-chloro-1-[*p*-(*o*-1*H*-tetrazol-5-ylphenyl)benzyl]imidazole-5-methanol monopotassium salt, is a new class of antihypertensive agents, and is an antagonist in angiotensin receptor. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two Losartan potassium tablets, Cozaar tablet (MSD Pharmaceutical Co., Ltd.) and Losata tablet (Kyung Dong Pharmaceutical Co., Ltd.), according to the guidelines of the Korea Food and Drug Administration (KFDA). The release of losartan from the two losartan potassium formulations *in vitro* was tested using KP VIII Apparatus II method with various dissolution media. Twenty eight healthy male subjects, 23.86±1.80 years in age and 67.27±6.60 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2×2 cross-over study was employed. After a single tablet containing 50 mg as losartan potassium was orally administered, blood samples were taken at pre-determined time intervals, and the concentrations of losartan in serum were determined using HPLC with fluorescence detector. The dissolution profiles of two formulations were similar in all tested dissolution media. The pharmacokinetic parameters such as AUC_t, C_{max} and T_{max} were calculated, and Equiv Test/K-BE Test 2002 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, Cozaar, were -2.70%, 1.45% and 2.31% 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 0.8852~log 1.0655 and log 0.8319~log 1.2342 for AUC_t and C_{max}, respectively). Thus, the criteria of the KFDA bioequivalence guideline were satisfied, indicating Losata tablet was bioequivalent to Cozaar tablet.

Key words – Losartan potassium, Cozaar tablet, Losata tablet, Bioequivalence, HPLC

로사탄칼륨(losartan potassium, 2-butyl-4-chloro-1-[*p*-(*o*-1*H*-tetrazol-5-ylphenyl)benzyl]imidazole-5-methanol monopotassium salt)은 최초의 새로운 계열의 항고혈압약물이며, 안지오텐신 II 수용체(type AT₁)에 길항제로서 작용한다.¹⁻³⁾

로사탄칼륨을 하루에 50 mg을 경구투여하였을 때, 최고 혈장 중 농도(C_{max})는 252.6±102.6 ng/mL, 최고 혈장 중 농도 도달시간(T_{max})은 1.34±0.65시간, 최종상 소실반감기는

2.84±1.14시간으로 보고되어 있다.⁴⁾ 국내에서는 한국엠에스디(주)에서 ‘코자 정’ 상품명으로 로사탄칼륨 50 mg 정제를 시판하고 있다. 한편 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 시판을 위하여거나 의사 또는 치과 의사가 처방전에 기재한 의약품을 성분·함량 및 제형이 동일한 다른 의약품으로 대체하여 조제할 수 있게 하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 생체시험을 통해 생체이용률이 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 할 필요가 있다.

위와 관련하여 국내에서는 코자 정(로사탄칼륨 50 mg)에 대한 로사탄 정의 생물학적동등성 시험과 관련하여 건강환

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 062)530-2931, E-mail : leeyb@chonnam.chonnam.ac.kr
DOI : 10.4333/KPS.2010.40.1.051

성인 남자(평균연령 24.2세) 24명을 대상으로 로자탄칼륨 100 mg(2정)을 투여하여 라틴방격법에 따라 시험하고 각각의 혈청을 얻은 후 LC-MS/MS 분석법을 이용하여 혈청 중 로자탄을 정량해 보고⁶⁾된 바가 있다.

본 연구에서는 기 보고⁶⁾된 LC-MS/MS 분석법 대신 보다 저렴하며 그 접근성이 우수하고 감도도 동일한 HPLC-형광검출기를 이용한 분석법을 개발하고 이를 통해 경동제약 주식회사에서 발매하고자 하는 로자탄칼륨 제제인 ‘로스타 정’이 기존의 로자탄칼륨 제제인 ‘코자 정’과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 로자탄칼륨 50 mg(1정)을 투여하여 입증해 보고자 하였다. 이를 위해 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 건강한 성인 남자(평균연령 23.86세) 28명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 혈청 중 로자탄의 최고 혈중 농도 (C_{max}), 최고 혈중 농도 도달시간(T_{max})과 혈중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)에 대하여 T_{max} 를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목인 AUC와 C_{max} 의 로그변환치를 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램 Equiv Test⁷⁾ 및 K-BE Test 2002⁸⁾를 이용하여 α (유의수준)=0.05에서 분산분석을 실시하였다.

아울러, 시험약 ‘로스타 정’과 대조약 ‘코자 정’의 *in vitro* 용출 특성을 대한약전 용출시험법 제 2법(패들법)에 따라 50 rpm으로 시험하였다. 그리고 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

시험에 사용된 시험약은 의약품임상시험관리기준⁹⁾(식품의약품안전청 고시 제 1999-67호, 2000. 1. 4.) 제 36조 및 제 37조의 규정에 따라 경동제약의 ‘로스타 정’(제조번호: KNB1, 제조일자: 2006. 12. 29), 대조약은 식품의약품안전청으로부터 허가를 받아 한국엠에스디(주)에서 시판하고 있는 ‘코자 정’(제조번호: 06145, 사용기한: 2009. 2. 22)으로 로자탄칼륨을 50 mg 함유하는 정제이다.

로자탄칼륨 표준품과 내부표준물질로 사용한 레바미피드는 경동제약 주식회사로부터 제공받았으며, HPLC용 메탄올 및 아세토니트릴(Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국), 생리식염수 및 헤파린(이상 중의제약, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M Ω -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. Ethyl acetate 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

비교용출시험용 기기로는 용출시험기(DST-810, Labfine Inc., Seoul, 한국) 및 흡광도 측정기(GBC Cintra 40, Melbourne, 오스트레일리아)를 사용하였으며, 혈중 약물농도 분석기기로는 Shimadzu LC 10ADvp System(Shimadzu, Kyoto, 일본), LUNA C18(2)(입자경 5 μ m, 4.6 \times 250 mm I.D., phenomenex Corp., Torrance, CA, 미국), 형광검출기(SPD 10A_{XL}, Shimadzu, Kyoto, 일본), 원심분리기(Eppendorf Centrifuge 5415C, Hamburg, Brinkmann, 독일), 증발농축기(CVE200D, EYELA, Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 탁상용 혼합기(FINEMIXER SH2000, FINEPCR, Gunpo-si, 한국) 및 pH측정기(pH meter model 7, Corning Corp., Corning, NY, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

대조약 ‘코자 정’과 시험약 ‘로스타 정’ 각 12정씩을 취하여 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(패들법)에 따라 50 rpm으로 시험하였다. 용출액은 용출시험 조건에 따라 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 용출액 900 mL을 사용하여 용출 개시 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90분, 2, 3, 4, 5, 6 시간에 용출액을 채취하고 흡광도측정기를 사용하여 용출률을 산출하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 근거하여 만 19~55세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 34명의 지원자가 이 시험에 대한 설명회에 참석하였다. 이들 중 전남대학교 병원(광주)에서 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 28명을 선정하였다. 피험자로 선정된 사람들의 평균 체중은 67.27 \pm 6.60 kg, 평균 나이는 만 23.86 \pm 1.80세이었다. 이들로 부터 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 교차시험법으로 투약계획을 세우고 28명의 피험자를 군당 14명씩 임의로 A, B 2군으로 나누고 제 I 기때 A군에는 대조약인 ‘코자 정’을, B군에는 시험약인 ‘로스타 정’ 투여하였고 제

II 기 때에는 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1정(로자탄 칼륨 50 mg)으로 하였다. 한편, 건강한 성인에게 로자탄칼륨 50 mg을 경구투여하였을 때 최종상의 반감기는 2.84 ± 1.14 시간으로 보고⁴⁾되어 있어 생물학적동등성시험 기준 제 18조 제 4항 휴약기간의 산정기준에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 7일로 하였다.

피험자들 모두에게 heparin-locked (150 unit/mL) Angio-catheter (JELCO™, 22G Johnson&Johnson Medical, Pomezia, 이탈리아)를 팔 또는 손등의 정맥부위에 설치하고 대조약 또는 시험약 각각 1정씩을 240 mL의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 투약직전, 0.33, 0.67, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 시간째(총 12시점)에 약 5 mL의 혈액을 채취하여 혈구분리용 원심분리관에 넣고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 즉시 혈청분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 80에서 보관하였다.

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

혈청 중 로사탄의 정량

혈청 중 로사탄의 정량은 이미 보고된 로사탄의 HPLC분석법^{4,10)}을 참고하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 0.015 M phosphoric acid:acetonitrile=72:28(v/v) 혼합용액을 사용하였고, 유속 1.25 mL/min, 주입량 100 μ L 및 형광 검출기(excitation: 250 nm, emission: 370 nm)를 이용하여 정량하였으며 다음과 같이 검량선을 작성하였다.

로자탄칼륨 표준품을 물에 녹여 로자탄으로서 1000 μ g/mL가 되도록 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 냉동 보관하였던 대조 혈청으로 희석하여 로사탄의 혈청 중 농도가 각각 1, 2, 5, 10, 20, 100, 200 및 500 μ g/mL가 되도록 표준혈청시료를 만들었다. 각각의 표준혈청 1 mL에 내부표준물질(레바미피드 4 μ g/mL) 메탄올용액 100 μ L와 NaCl 포화용액 0.5 mL를 넣고 3초간 vortexing하였다. 여기에 ethyl acetate 7 mL를 가하여 3분간 vortexing한 다음 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층 6.5 mL를 취하여 0.05 M NaOH 200 μ L를 가한 후 1분간 vortexing하고 3000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 여기에서 NaOH 층 110 μ L를 취하여 0.05 M HCl 110 μ L를 넣은 새 용기에 옮기고 vortexing하여 이 용액 100 μ L를 취하여 HPLC에 주입시켰다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 로사탄의 피크 면적을 가지고 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별

로 채취하여 -80°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3 초간 진탕한 다음 이 혈청 1 mL에 내부표준물질(레바미피드 4 μ g/mL) 메탄올용액 100 μ L를 가한 후 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 로자탄칼륨의 피크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 로사탄의 농도(ng/mL)를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

“코자 정” 및 “로사타 정” 각각 1정씩 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 Test⁷⁾ 및 K-BE Test 2002⁸⁾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 AUC_t는 사다리꼴 면적계산 공식을 이용하여 최종 채혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였다. “코자 정”에 대한 “로사타 정” 의 생물학적동등성 여부는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁹⁾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 로자탄칼륨 두 제제를 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 용출액 900 mL를 사용하여 용출시험하였다. 이 용출시험 결과 pH 1.2에서는 120분 이내에 50% 이상 용출되었고, pH 4.0에서는 45분 이내에, pH 6.8 및 물에서는 30분 이내에 85% 이상 용출되었으며, 두 제제의 용출 양상은 거의 차이가 없었으며 FDA guideline¹¹⁾에 따라 계산한 물에서의

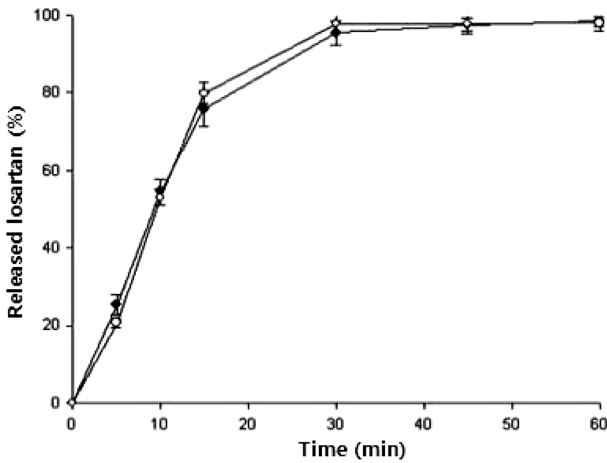


Figure 1—Dissolution profiles of losartan from Cozaar tablet (●) and Losata tablet (○) in water (n=12, mean±S.D).

similarity factor (f_2)가 72.42로 나타나, 두 제제간의 용출은 차이가 없는 것으로 판단하였다. Figure 1에는 두 제제간의 물에서의 용출양상 특성을 나타내었다.

혈청 중 로사탄 정량

건강한 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 레바미피드와 로사탄을 함께 가한 것 및 코자 정 투여 후 2시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 로사탄 피크의 출현 시간은 약 18.7분, 내부표준물질 피크의 출현시간은 약 12.2분이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 10 이상으로 하고 일내 및 일간 변동계수의

크기를 20% 미만으로 하였을 때의 최저정량한계 (lower limit of quantification, LLOQ)는 1 ng/mL이었다. 혈청 시료로부터 구한 로사탄칼럼의 검량선은 피크 면적비(y) = 0.0436×로사탄 농도(ng/mL, x)+0.0200(r=0.9999, p<0.01)로 1~500 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 로사탄의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 모두 15% 이내로 나타났고 1, 5, 20 및 200 ng/mL의 농도에서 5회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 모두 15% 이내로 나타났다(Table I). 이로부터 혈청 중 로사탄에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 적합한 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

이것은 기 보고된 코자 정(로사탄칼럼 50 mg)에 대한 로사탄 정의 생물학적동등성 논문에서 LC-MS/MS를 사용한 분석결과와 비교해 보았을 때, LLOQ 값이 각각 1 ng/mL로 동일한 감도에서 더 적은 용량의 약물, 즉 로사탄칼럼

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

Concentration (ng/mL)	Precision C.V.(%)		Accuracy (% , n=5)
	Intra-day C.V.(%) (n=5)	Inter-day C.V.(%) (n=5)	
1	6.31	11.36	108
5	12.17	10.49	108
20	4.66	6.52	106
200	6.36	4.11	97

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

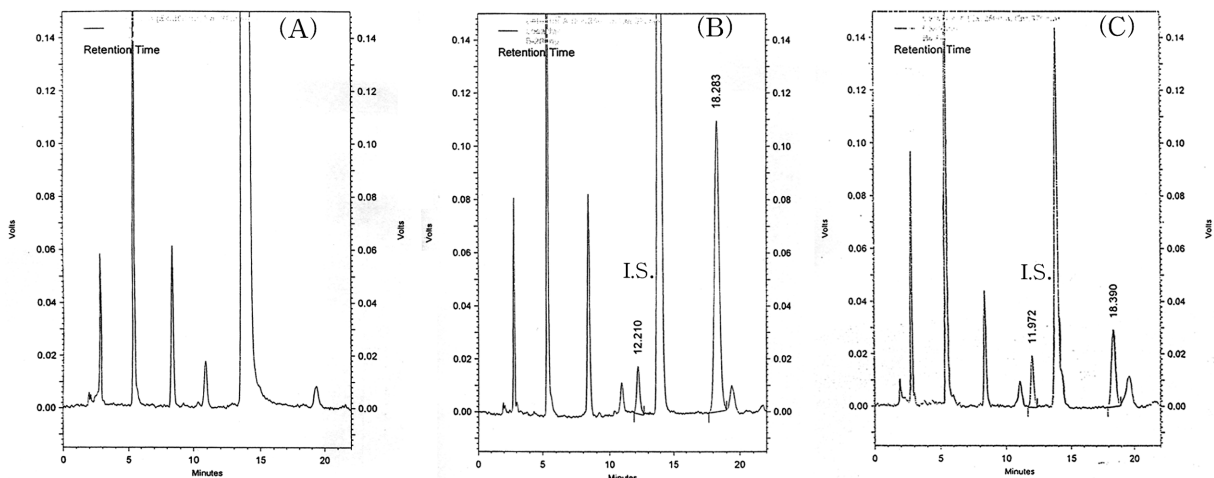


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with losartan (200 ng/mL) and internal standard (I.S., rebamipide 4 µg/mL). (C) serum sample (49.59 ng/mL) at 2 hr after a single oral dose of losartan potassium (50 mg) to a volunteer. The arrow indicates losartan peak.

50 mg을 투여하여 얻은 혈청 샘플을 정량하여 생물학적동등성을 판정할 수 있는 좋은 결과를 얻었으며 HPLC-형광검출기가 고가인 LC-MS/MS 보다 널리 보급되어 있는 현실에서 기기 사용의 접근성을 증대시킬 수 있었다고 사료되었다.

혈청 중 로자탄 농도 추이

시험약과 대조약으로 “로사타 정”과 “코자 정”을 각각 1 정씩 피험자 28명에게 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 제제의 전체 피험자에 대한 혈청 중 로자탄 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 “코자 정”의 평균 AUC_t(ng·hr/mL)는 382.02±140.73, 시험약인 “로사타 정” 371.69±145.51로 대조약에 대한 평균치 차가 -2.70%이

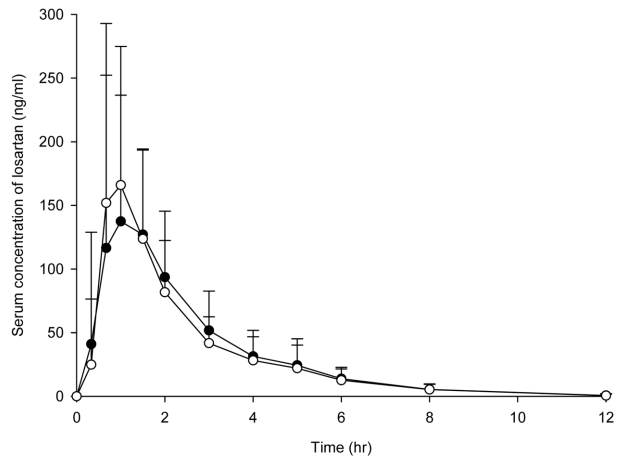


Figure 3—Mean serum concentration-time curves of losartan following oral administration of Cozaar tablet (●) and Losata tablet (○) at the dose of losartan potassium 50 mg (±S.D., n=28).

Table II—Bioavailability Parameters in Normal and Logarithmic Scales for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Cozaar and Losata Tablets at the Losartan Potassium Dose of 50 mg

Subjects	Cozaar Tablet					Losata Tablet				
	AUC _t (ng·hr/mL)	Ln AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Ln C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	Ln AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Ln C _{max}	T _{max} (hr)
A1	643.86	6.47	369.42	5.91	1.00	398.78	5.99	88.56	4.48	4.00
A2	406.33	6.01	157.99	5.06	1.00	298.16	5.70	107.36	4.68	1.50
A3	602.10	6.40	151.79	5.02	1.50	644.16	6.47	272.41	5.61	1.50
A4	595.30	6.39	339.04	5.83	1.50	613.50	6.42	324.22	5.78	1.50
A5	329.84	5.80	84.47	4.44	4.00	752.70	6.62	514.44	6.24	0.67
A6	470.14	6.15	240.42	5.48	1.50	398.64	5.99	197.71	5.29	0.67
A7	282.42	5.64	216.58	5.38	0.67	388.15	5.96	263.54	5.57	0.67
A8	364.36	5.90	316.13	5.76	0.67	295.86	5.69	149.74	5.01	1.50
A9	143.32	4.97	59.41	4.08	1.50	165.96	5.11	149.96	5.01	0.67
A10	470.65	6.15	266.83	5.59	0.67	447.39	6.10	220.14	5.39	1.50
A11	268.39	5.59	136.69	4.92	1.00	368.03	5.91	253.76	5.54	1.00
A12	422.62	6.05	140.84	4.95	2.00	256.09	5.55	202.29	5.31	0.67
A13	447.14	6.10	344.16	5.84	0.67	562.82	6.33	447.40	6.10	0.67
A14	252.22	5.53	102.26	4.63	1.50	229.03	5.43	136.14	4.91	1.50
B1	284.32	5.65	202.47	5.31	1.50	250.97	5.53	195.39	5.27	0.67
B2	337.48	5.82	416.87	6.03	0.67	411.38	6.02	497.65	6.21	0.67
B3	278.90	5.63	120.23	4.79	1.50	302.20	5.71	224.17	5.41	0.67
B4	256.53	5.55	115.96	4.75	1.50	221.19	5.40	135.45	4.91	1.00
B5	345.38	5.84	196.94	5.28	0.67	323.71	5.78	143.20	4.96	2.00
B6	309.48	5.73	157.71	5.06	1.00	405.66	6.01	155.89	5.05	1.00
B7	447.05	6.10	209.99	5.35	1.50	273.36	5.61	79.57	4.38	2.00
B8	347.36	5.85	309.46	5.73	1.00	344.25	5.84	271.78	5.60	1.00
B9	614.39	6.42	367.54	5.91	0.67	439.40	6.09	282.36	5.64	1.00
B10	522.47	6.26	375.58	5.93	1.00	492.23	6.20	310.43	5.74	1.00
B11	593.97	6.39	216.95	5.38	2.00	479.40	6.17	111.11	4.71	5.00
B12	242.94	5.49	214.64	5.37	0.67	222.10	5.40	148.76	5.00	0.67
B13	173.18	5.15	89.66	4.50	1.50	196.76	5.28	102.88	4.63	1.00
B14	244.53	5.50	102.85	4.63	2.00	225.51	5.42	123.56	4.82	1.50
Mean	382.02	5.88	215.10	5.25	1.30	371.69	5.85	218.21	5.26	1.33
S.D.	140.73	0.39	103.98	0.53	0.69	145.51	0.38	117.36	0.50	1.00

었고, C_{max} (ng/mL)는 215.10 ± 103.98 와 218.21 ± 117.36 으로 1.45%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 1.30 ± 0.69 와 1.33 ± 1.00 로 2.31%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였으므로 이하 분산분석을 행하였다.

국내에서 기 보고⁶⁾된 “코자 정”(로사탄칼륨 50 mg)에 대한 로사탄 정 의 생물학적동등성 논문에서는 로사탄칼륨 50 mg 2정을 투여한 결과 “코자 정”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 1420.37 ± 487.51 이었고 C_{max} (ng/mL)는 1155.79 ± 665.78 이었다.

한편, Tamimi 등⁴⁾은 로사탄칼륨 50 mg 1정을 투여한 결과 “코자 정”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 480.8 ± 162.6 이었고 C_{max} (ng/mL)는 252.6 ± 102.6 이라고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 유사하였다. 다만 투여용량에 따라 AUC_t 와 C_{max} 에 다소 차이가 나타나는 것은 분석법이나 채혈시간에 따른 차이이거나 로사탄칼륨이 CYP2C9에 의해 대사¹⁰⁾되는 관계로 유전적 다형성에 따른 실험군 간의 개체 차이가 있었기 때문으로 사료되었다.

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 α 가 0.05일 때 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 값에 대한 F비(F_0)가 F분석표의 한계값인 $F(1, 26)=4.23$ 보다 모두 작게 나타나 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 로그변환한 평균치 차의 AUC_t 및 C_{max} 에 대한 90% 신뢰한계는 $\log(0.8852) \sim \log(1.0655)$ 및 $\log(0.8319) \sim \log(1.2342)$ 으로 나타나 $\log(0.8)$ 에서 $\log(1.25)$ 이어야 한다는 생물학적동등성 시험 기준을 만족하였다. 한편, 참고값인 T_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간은 $-27.59\% \sim 32.21\%$ 로 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다

Table III—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between Two Losartan Potassium Tablets[#]

	Parameters		
	AUC_t	C_{max}	T_{max}
Difference	-2.70%	1.45%	2.31%
F_0 ^{a)}	1.489	0.105	0.016
Test/Reference point estimate	0.971	1.013	0.030
Confidence interval(δ) ^{b)}	$\log 0.8852 \leq \delta \leq \log 1.0655$	$\log 0.8319 \leq \delta \leq \log 1.2342$	$-27.59\% \leq \delta \leq 32.21\%$

[#]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)} $\alpha=0.05$, $F(1, 26)=4.23$, ^{b)} $\alpha=0.05$.

는 기준을 만족시키지는 못하였지만 로사탄이 응급시나 신속한 효과를 얻기 위해 투여하는 제제가 아니므로 생물학적동등성 검정시 T_{max} 는 단지 참고값으로만 사용하였다.

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

결 론

경동제약 주식회사에서 발매하고자 하는 로사탄칼륨 제제인 “로사타 정”이 기존의 로사탄칼륨 제제인 한국엠에스디(주)의 “코자 정”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 건강한 성인 남자(만 19~55세) 28명을 대상으로 2시기 2제품 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 로사탄칼륨의 T_{max} 와 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대하여 통계검정과 분산분석을 행하였다. 그리고 여기서 얻은 결과값을 코자 정(로사탄칼륨 50 mg)에 대한 로사탄 정 의 생물학적동등성⁶⁾ 논문의 결과값과 비교하였다. 또한 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(폐들법)에 따라 비교용출시험을 행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조약인 “코자 정”과 시험약인 “로사타 정”에 대하여 대한약전 VIII에 수재된 제 2법(폐들법)에 따라 용출시험한 결과, pH 4.0, 6.8 및 물 용출액에서 30분 이내에 85% 이상 용출되었으며 pH 1.2를 포함한 모든 용출액에서 두 제제의 용출 양상은 유사하였다.

2. 본 실험에서 로사탄칼륨 50 mg 정을 대조약과 시험약으로 각각 1정 투여한 결과 대조약인 “코자 정”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 382.02 ± 140.73 , 시험약인 “로사타 정” 371.69 ± 145.51 로 대조약에 대한 평균치 차가 -2.70% 이었고, C_{max} (ng/mL)는 215.10 ± 103.98 와 218.21 ± 117.36 으로 1.45%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 1.30 ± 0.69 와 1.33 ± 1.00 로 2.31%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였다.

3. 본 실험에서 로사탄칼륨 50 mg 정을 대조약과 시험약으로 각각 1정 투여한 후 대조약인 “코자 정”에 대한 시험약인 “로사타 정”의 분산분석 결과, 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대해 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 구간 순서효과는 나타나지 않았으며, 90% 신뢰한계는 각각 $\log(0.8852) \sim \log(1.0655)$ 및 $\log(0.8319) \sim \log(1.2342)$ 으로 나타나 $\log(0.8)$ 에서 $\log(1.25)$ 이어야 한다는 생물학적동등성시험 기준을 만족하였다. 한

편, T_{max} (hr)에 대한 90% 신뢰구간(d, %)은 -27.59%~32.21%로 $\pm 20\%$ 이내이어야 한다는 기준을 만족시키지는 못하였지만 로사탄이 응급시나 신속한 효과를 얻기 위해 투여하는 제제가 아니므로 생물학적동등성 검정시 T_{max} 는 단지 참고값으로만 사용하였다.

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

감사의 말씀

본 연구는 경동제약 주식회사의 지원을 받아 전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) P.B.M.W.M. Timmermans, D.J. Carini, A.T. Chiu, J.V. Duncia, W.A. Price, G.J. Wells, P.C. Wong and R. Wexler, Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists, *Am. J. Hypertension.*, 3, 599-604 (1990).
- 2) P.C. Wong, W.A. Price, A.T. Chiu, J.V. Duncia, D.J. Carini, R.R. Wexler, A.L. Johnson and P.B.M.W.M. Timmermans, Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists: VIII. Characterization of functional antagonism displayed by Dup 753, an orally active antihypertensive agent, *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 252, 719-725 (1990a).
- 3) A.T. Chiu, W.F. Herblin, D.E. McCall, R.J. Ardecky, D.J. Carini, J.V. Duncia, L.J. Pease, P.C. Wong, R.R. Wexler, A.L. Johnson and P.B.M.W.M. Timmermans, Identification of angiotensin II receptor subtypes, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 165, 196-203 (1989).
- 4) J.J.I. Tamimi, I.I. Salem, S. Mahmood Alam, Q. Zaman and R. Dham, Comparative Pharmacokinetics of Two Tablet Formulations of Losartan: Bioequivalence Assessment, *Biopharm. Drug. Dispos.*, 26, 205-210 (2005).
- 5) KFDA, Guideline for bioequivalence test (2005).
- 6) Y.W. Kim, W.S. Park, S.S. Kim, J.H. Seo, S.H. Cho, H.W. Lee, J.H. Rew and K.T. Lee, Bioequivalence of LosartanTM Tablet to CozzarTM Tablet (Losartan Kalium 50 mg), *J. Kor. Pharm. Sci.*, 36, 131-136 (2006).
- 7) Statistical Solutions Ltd., Equiv Test[®] 2.0, U.K. (2001).
- 8) Y.J. Lee, Y.G. Kim, M.G. Lee, S.J. Chung, M.H. Lee and C.K. Shim, Analysis of bioequivalence study using log-transformed model, *Yakhakhoeji*, 44, 308-314 (2000).
- 9) KFDA, Guideline for Korean good clinical practice (2007).
- 10) U. Yasar, C. Forslund-Bergengren, G. Tybring, P. Dorado, A. LLerena, F. Eliasson and M.L. Dahl, Pharmacokinetics of Losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 71, 89-98 (2002).
- 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) (2000).