

로메프록사신 정 의 생물학적 동등성 평가

배준호 · 박은석 · 지상철
성균관대학교 약학대학

Bioequivalence Evaluation of Lomefloxacin Tablets

Joon-Ho Bae, Eun-Seok Park, and Sang-Cheol Chi
College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746 Korea

The bioequivalence of two lomefloxacin tablets was evaluated in 16 normal male volunteers (age 21-30 yrs) following oral administration. Test product was "Lomaxacin tablet" made by Kolon Pharmaceutical Co. and reference product was "Maxaquin tablet" made by Searle Ciba-Geigy Korea Co. After one tablet containing 400 mg of lomefloxacin was administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentration of the drug in plasma was determined with an HPLC method using fluorescence detector. AUC, C_{max} , and T_{max} were calculated and statistically analyzed for the bioequivalence of the two products. The results showed that the differences in AUC, C_{max} , and T_{max} between two products were 0.90%, 1.09%, and 2.44%, respectively. The powers ($1-\beta$) for AUC, C_{max} , and T_{max} were >95%, >95%, and 93.8%, respectively. Detectable differences (Δ) and confidence intervals were all less than 20%. All of these parameters met the criteria of KFDA for bioequivalence, indicating that "Lomaxacin tablet" is bioequivalent to "Maxaquin tablet". (Kor. J. Clin. Pharm. 1997; 7: 67-72)

□ Keywords - Lomefloxacin tablet, Bioequivalence, HPLC

로메프록사신(lomefloxacin)은 fluoroquinolone계 항생물질로서 항균 스펙트럼이 광범위하여 그람음성균 및 그람양성균에 항균작용을 가지고 있으며 특히 베타 락탐계 항생제와 아미노글리코시드계 항생제에 내성을 나타내는 균에 항균력을 가지고 있으며 다른 항생물질과 교차내성을 나타내지 않는다.¹⁻³⁾ 로메프록사신의 항균작용은 다른 fluoroquinolone계 항생물질과 마찬가지로 DNA-gyrase를 저해하여 균의 DNA의 복제를 억제하는 것으로 알려져 있다.⁴⁾

이 약물은 경구투여시 비교적 높은 혈중 농도를 나타내며 긴 소실 반감기로 인하여 보통 1일 1회 투여하는 약물이다. 약물동력학적으로 로메프록사신은 위장관 흡수가 신속하고 대부분이 흡수되어 생체이용률이 98% 이상이며 뇌·척수를 제외한 전신 조직에 광범위하게 분포된다. 또한 간에서 대사받지 않아 초회 통과효과가 거의 없으며 대부분 대사되지 않은 활성형의 형태로 주로 요도를 통해 배설되므로서 요로기계 감염증에 높은 항균력을 나타낸다.

본 연구에서는 식품의약품안전본부의 생물학적 동등성 시험 기준에 따라 코오롱제약(주)의 "로맥사신

정"과 기존에 판매되고 있는 한국셀시바-가이거(주)의 "맥사킨 정"에 대하여 생물학적 동등성 시험을 수행하고 그 결과를 보고 하고자 한다.

실험재료 및 방법

시약 및 재료

실험에 사용된 시험약은 코오롱제약(주)에서 자가 제조한 로맥사신 정(제조번호: LMX001, 제조일자: 1996. 6. 14), 대조약은 한국셀시바-가이거(주)에서 기존에 판매하고 있는 맥사킨 정(제조번호: 5051-6010, 제조일자: 1996. 2. 1)으로서 염산로메프록사신을 로메프록사신으로서 400 mg을 함유하는 필름코팅정제이었다.

로메프록사신은 코오롱제약(주)으로부터 표준품을 얻어 사용하였으며 노르플록사신은 미국 Sigma Chemical사로부터, HPLC급 아세트니트릴, 클로로포름, 이소아밀알코올은 미국 Mallinckrodt Baker사로부터 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 특급 시약을 사용하였으며 물은 실험실에서 역삼투수를 정제하여 제조하였다.

용출시험에는 UV/VIS 흡광도측정기(Milton Roy, Model Spectronic 1201)를 사용하였으며 혈장중 약물의 분석에는 등속 펌프(Waters, Model 600), 수동 주입기(Rheodyne, Model 7725i), 형광 검출기(Waters, Model 474), 크로메이트 윈도 3.0(Interface Engineering)으로 이루어진 HPLC 시스템을 사용하였다. 그 외 원심분리기(비전과학, Model VS-15000), 탁상형 원심분리기(비전과학, Model VS-5000), 왕복진탕기(제일과학, Model C-SGM) 등을 사용하였다.

용출시험

대한약전 일반시험법 제2법(패들법)에 따라 시험하되 시험액 900 ml를 용기에 넣고 패들을 100 rpm의 속도로 회전시킨 다음 1정씩을 용기에 넣고 10분, 20분, 30분, 60분 후에 각각 용출액 5 ml를 취하고 여과하여 그중 1 ml를 시험액으로 희석하여 50 ml로 하여 검액으로 사용하였으며 이 검액 및 표준액(로메프록사신 9.8 µg/ml)을 층장 1 cm, 파장 288 nm에서 흡광도를 구하고 약물의 용출량을 다음과 같이 구하였다.

표시량에 대한 약물의 용출율(%)

$$= \frac{A_t \times C_s}{A_s \times \text{검액의 이론농도}} \times 100$$

여기서, A_t 는 검액의 흡광도, A_s 는 표준액의 흡광도, C_s 는 표준액의 농도(µg/ml)이다.

단, 시험액으로는 봉해시험법 제1액(pH 1.2), 0.05 M 인산완충액(pH 6.5), 0.05 M 인산완충액(pH 7.2)의 3가지를 사용하였으며 6회 반복 실험하였다.

피험자 선정

피험자는 성균관대학교 약학대학에 재학중인 20-30세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 지원자는 이 시험에 대한 설명회에 참석한 후 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자중에서 선정하였다. 이와 같은 절차를 거쳐 이 시험의 피험자로 선정된 사람은 평균체중 65.9 kg의 21~30세(평균 23.4세)의 건강한 남성 지원자 16인이었으며 모두 시험 참여의 동의서를 받았다.

투약 및 혈액 채취

투약은 2시기 2제법의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 16명의 피험자를 군당 8인씩 임의로 2군으로 나누고 제 I기에서 제 1군에는 대조약인 "맥사킨 정"을, 제 2군에는 시험약인 "로맥

사신 정"을 투여하였고 제 II기에서 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1정으로 하였다. 휴약기간은 생체이용률 실험에서 로메프록사신의 반감기가 7시간으로 보고되어 있어³⁾ 충분한 시간을 두고자 본 시험에서는 7일로 하였다.

피험자들 모두에게 IV catheter를 팔 정맥부위에 설치하고 PRN adapter를 연결하고 대조약 또는 시험약을 200 ml의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 및 24시간째에 5 ml의 혈액을 채취하여 헤파린 처리를 한 혈액용 플라스크 튜브에 넣고 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 다음 혈장만을 취하여 에펜도프 튜브에 옮기고 이 튜브를 영하 70°C에서 분석시까지 보관하였다.

채혈이 끝난 후에는 채혈시에 있을 수 있는 오염에 의한 위해를 방지하기 위해 모든 피험자들에게 아목시실린 250 mg 캡슐을 투여하였다.

혈장중 로메프록사신 정량

혈장중 로메프록사신의 함량 분석은 이미 그 분석방법의 유효성이 평가되어 보고된 HPLC법⁵⁾을 약간 수정하여 사용하였다.

Blank 혈장 900 µl에 각 로메프록사신 표준용액(1, 3, 10, 30, 100 µg/ml) 100 µl씩을 가하여 만든 혈장시료 또는 피험자들의 혈장 1.0 ml에 내부표준물질 표준용액(노르플록사신 10 µg/ml) 100 µl를 가하고 진탕한 후 0.2 ml의 0.5 M 인산염완충액(pH 7.0)과 10 ml의 클로로포름:헥산:이소아밀알코올(95:5) 혼합액을 가하고 왕복진탕기에 넣고 40분 동안 흔들어 추출하고 2,000 rpm으로 10분 동안 원심분리시켰다. 다음 유기 용매층을 일회용 피펫으로 취하여 깨끗한 유리관으로 옮기고 질소기류하 30°C에서 증발시켰다. HPLC 이동상 500 µl로 reconstitution시키고 30초간 진탕한 후, 이 최종 시료 용액중 200 µl를 칼럼에 주입하였다.

분석에 사용한 HPLC의 분석조건으로 이동상은 0.05 M 초산용액:아세트니트릴:1 M 초산암모늄용액 혼합액(84:14:2)을 사용하였으며 그 유속은 1.0 ml/min이었다. 칼럼으로 Cosmosil 5C₁₈ AR (4 mm × 150 mm, Nacalai Tesque, Japan)을 사용하였으며 형광검출기의 여기파장은 280 nm, 형광파장은 418 nm이었다.

로메프록사신과 내부표준물질의 피이크 높이비를 가지고 로메프록사신 표준용액으로 제조한 혈장시료로부터 얻은 검량선을 이용하여 혈장 시료중 로메프록사신의 농도(µg/ml)를 산출하였다.

평가항목

로메프록사신 정제의 생물학적 동등성 여부는 식품의약품안전본부 고시의 기준에 준하여 혈중농도-시간 곡선하 면적(AUC), 최고혈중농도(C_{max}) 및 최고혈중농도 도달시간(T_{max}) 등을 평가하였다.

이들 파라메타들은 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)으로 처리하였다.

실험결과 및 고찰

용출실험

제형으로부터 약물의 용출은 생체이용률과 깊은 상관관계가 있을 수 있으므로 용출시험을 하여 시험약 및 대조약이 생물학적으로 동등한지를 추정하고자 하였다. 즉, 같은 약물이 같은 함량으로 들어 있는 동일한 제형의 제제라 할지라도 원료, 부형제의 구입처 및 제조공정 등에 따라 용출율이 다르게 나타나 이것으로 인하여 생체이용률이 틀리게 나타날 수 있으므로 대조약의 용출율을 시험약의 용출율과 비교하기 위하여 용출시험을 행하였다.

시험약 및 대조약의 용출시험 결과는 Table 1과 같다. 이 결과로부터 산출한 표시량의 75% 용출시간(T_{75%})은 시험약 및 대조약이 상기 3가지 시험액에서 모두 10분 미만인 것을 알 수 있다.

생물학적 동등성 시험 대신에 행하는 용출시험 법에 관한 일본의 규정인 “의약품의 승인·허가 신청” 중 “의료용의약품의 승인신청서 유의사항”과 이에 관련된 국내의 보고서인 국립보건안전연구원의 “의약품의 생물학적 동등성 시험에 관한 연구 (II), 1989”에 의하면 염산로메프록사신과 같이 산성 약물의 경우 상기의 3가지 pH의 용출조건에서 용출시험을 하도록 규정되어 있으며 판정기준중 두가지 조건을 만족시키면 그 기준에 적합한 것으로 하여 생물학적으로 동등한 것으로 추정한다고 되어 있다.

본 시험에서 염산로메프록사신의 용출시험 결과를 보면 ① 적어도 한가지 pH 용출액에서 대조약의 T_{75%}의 평균치가 60분 미만일 것, ② 대조약의 T_{75%}의 평균치가 20분 미만인 경우, 대조약 및 시험약 각각의 T_{75%}치가 모두 30분 미만일 것이라는 두가지 조건을 만족시키고 있어 시험약과 대조약은 이와 같은 용출시험 결과 생물학적으로 동등할 것으로 추정되었다.

혈장중 로메프록사신 정량

본 시험방법과 같이 검체를 처리하여 HPLC로 분석하였을 때 얻어진 대표적인 크로마토그램은 Fig. 1과 같았으며, 이 크로마토그램에서 알 수 있듯이 로메프록사신과 내부표준물질의 피이크들은 혈장으로부터 유래된 피이크들로부터 잘 분리되었고 로메프록사신과 내부표준물질의 유지시간은 각각 9.5분과 7.5분이었다. 검량선은 0.1 µg/ml-10 µg/ml에서 좋은 직선성을 나타내었으며 이 HPLC 방법의 유효성을 검토한 결과 우수한 정확성과 정밀성을 나타내었다.

혈장중 로메프록사신 농도 추이

시험약과 대조약 각각 1정씩을 지원자 16명에게 경구투여한 후 일정시간마다 채혈하여 얻어진 로메프록사신의 평균농도는 Fig. 2와 같다. 또한 각 피험자에 있어서 대조약과 시험약을 투여하여 얻은 이들 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 AUC, C_{max}, T_{max} 등의 생물학적 동등성 파라메타는 Table 2와 같다. 단, 각 피험자의 AUC 값은 약물투여 후 24시간까지의 각 피험자의 혈장중 약물 농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구한 수치이며 C_{max}와 T_{max} 값은 약물투여후 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 가장 높이 올라간 혈장중 약물농도 및 그때의 시간을 읽은 수치이다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC, C_{max}, T_{max} 값

Table 1. Percent dissolved of lomefloxacin in dissolution medium, at different pH, from Lomaxacin and Maxaquin tablets

Time elapsed (min)	Maxaquin Tablet			Lomaxacin Tablet		
	pH 1.2	pH 6.5	pH 7.2	pH 1.2	pH 6.5	pH 7.2
10	*100.5(1.51)	99.5(1.49)	98.6(2.33)	100.9(1.42)	97.5(2.75)	95.3(1.81)
20	100.2(1.58)	99.8(0.64)	101.0(1.54)	102.0(1.40)	100.6(0.89)	100.9(2.49)
30	101.1(1.05)	101.1(0.97)	100.6(0.89)	103.0(1.23)	101.1(1.43)	102.2(2.07)
60	101.3(0.64)	100.3(0.96)	100.7(1.52)	102.8(0.70)	100.9(1.49)	101.9(1.67)

*Mean (S.D.)

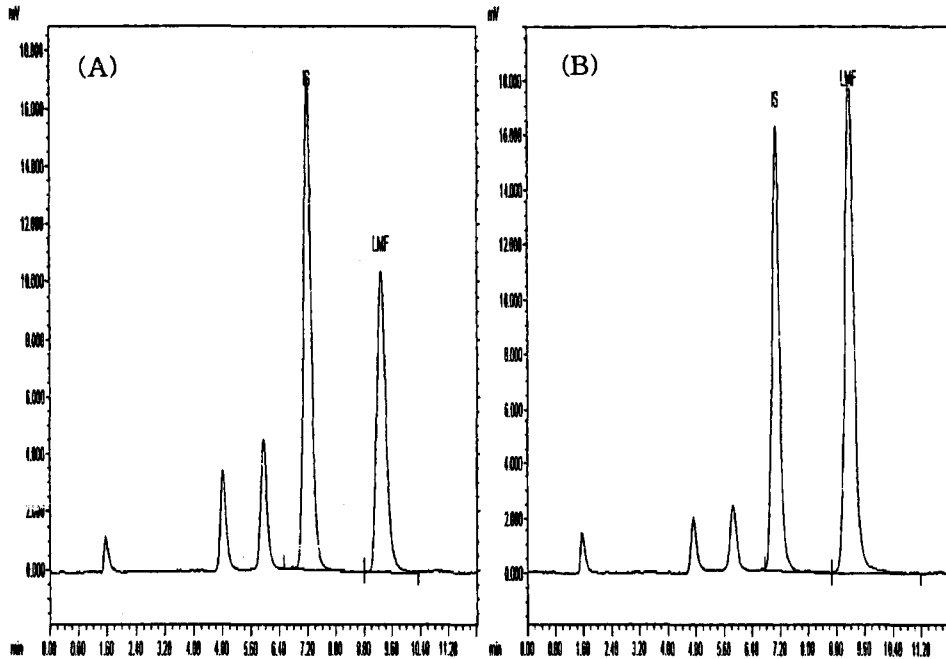


Fig. 1. Representative chromatograms of extract of blank human plasma spiked with lomefloxacin and internal standard (A) and plasma obtained from a volunteer (B). Key: LMF; lomefloxacin, IS; internal standard.

으로부터 이들 파라메타에 분산분석하여 얻은 결과는 Table 3과 같다.

먼저 AUC에 대한 결과를 보면 유의수준=0.05의 군

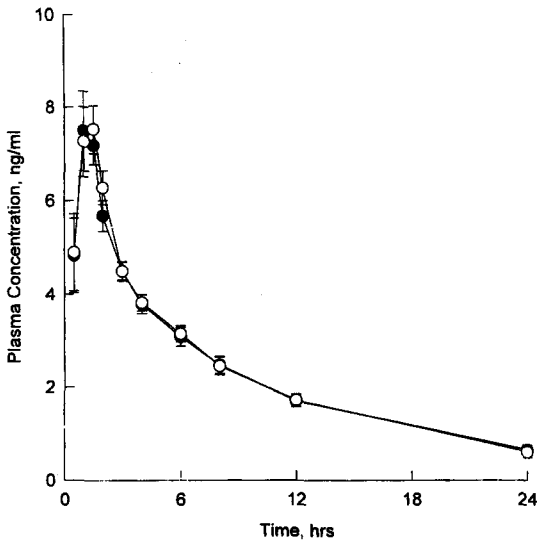


Fig 2. Plasma concentration-time profiles of lomefloxacin after the oral administration of lomefloxacin tablets in 16 male volunteers. Key: ●; Maxaquin tablet, ○; Lomaxacin tablet (mean ± S.E.).

간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 AUC 차이가 0.90%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20% 이내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전체 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도(v)=14에서 산출한 비심도는 7.183이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도(v) 수치표로부터 계산한 결과 95% 이상이었으며, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 8.4%로 나타나, 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 AUC 차이의 신뢰한계(δ)는 유의수준=0.05에서 $-5.2 \leq \delta \leq 6.7$ 로서 20% 이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 AUC에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

C_{max} 에 대하여도 유의수준=0.05의 군간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 C_{max} 차이가 1.09%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20% 이

Table 2. Bioequivalence parameters for each volunteer obtained after the oral administration of Lomaxacin and Maxaquin tablets

Volunteer	Age (Year)	Weight (Kg)	Maxaquin Tablet			Lomaxacin Tablet		
			AUC	C _{max}	T _{max}	AUC	C _{max}	T _{max}
A-1	30	65	62.60	10.00	1	70.04	9.39	1
A-2	22	54	42.79	5.85	1.5	50.04	6.94	1.5
A-3	24	65	40.66	7.22	1.5	36.98	6.45	1.5
A-4	25	75	39.11	7.05	1	39.83	8.32	1
A-5	24	68	61.28	11.40	1	66.80	8.82	1
A-6	22	69	69.21	8.50	1	68.55	9.98	1
A-7	22	66	58.44	6.02	1.5	52.37	6.92	1
A-8	22	66	74.27	7.58	1.5	77.26	7.47	1
B-1	25	60	48.65	10.98	1.5	48.81	10.10	1.5
B-2	22	63	55.36	11.16	1	52.83	10.74	1.5
B-3	22	80	40.48	7.11	1.5	45.07	6.65	1.5
B-4	27	64	43.86	7.64	1.5	37.30	7.05	1.5
B-5	22	67	52.35	9.93	1	62.30	10.10	1
B-6	23	61	60.99	7.86	1.5	55.54	7.51	1.5
B-7	21	60	81.03	15.04	1	69.72	12.72	1.5
B-8	22	61	52.79	8.45	1.5	58.34	11.08	1
Mean	23.4	65.9	55.24	8.86	1.28	55.74	8.77	1.25
(S.D.)	(2.4)	(5.4)	(12.62)	(2.41)	(0.26)	(12.54)	(1.88)	(0.26)

내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전체 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도=14에서 산출한 비심도는 5.131이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도 수치표로부터 계산한 결과 95% 이상이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 11.7%로 나타나, 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 두 약의 C_{max}차이의 신뢰한계는 유의수준=0.05에서 -7.3≤δ≤9.5로서 20% 이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 C_{max}에 있어

생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

T_{max}에 대하여도 유의수준=0.05의 군간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 T_{max} 차이가 2.44%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20% 이 내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전체 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도=14에서 산출한 비심도는 3.667이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도 수치표로부터 계산한 결과 93.8%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 16.4%로 나타나, 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 두 약의 T_{max}차이의 신뢰한계는 유의수준=0.05에서 -9.3≤δ≤14.1로서 20% 이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 T_{max}에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

이상의 시험결과를 종합해 보면 시험약인 “로맥사신 정”은 대조약인 “맥사킨 정”에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판단 기준인 3항목(AUC, C_{max}, T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료된다.

Table 3. Statistical results of bioequivalence evaluation of lomefloxacin tablets

	Parameters		
	AUC	C _{max}	T _{max}
Difference	0.90%	1.09%	2.44%
F value ^a	0.199	2.845	2.333
Noncentrality (γ) ^b	7.183	5.131	3.667
Power (1-β) ^c	>95%	>95%	93.8%
Detectable difference (Δ) ^d	8.4%	11.7%	16.4%
Confidence interval (δ) ^e	-5.2≤δ≤6.7	-7.3≤δ≤9.5	-9.3≤δ≤14.1

^aα=0.05, F_{0.05}(1, 14)=3.05, ^bα=0.05, v=14, ^cα=0.05, Δ=0.2, ^dα=0.05, 1-β=0.8 ^eα=0.05.

감사의 말씀

이 연구는 코오롱제약(주)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Chin NX, Novelli A, Neu HC. In vitro activity of lomefloxacin (SC-47111; NY-198), a difluoroquinolone 3-carboxylic acid, compared with those of other quinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988; 32: 656-62.
2. Hirose T, Okezaki E, Kato H, Ito Y, Inoue M, Mitsuhashi S. In vitro and in vivo activity of NY-198, a new difluorinated quinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1987; 31: 854-9.
3. Wise R, Andrews JM, Ashby JP, Matthews RS. In vitro activity of lomefloxacin, a new quinolone antimicrobial agent, in comparison with those of other agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988; 32: 617-22.
4. Piddock LJ, Hall MC, Wise R. Mechanism of action of lomefloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990; 34: 1088-93.
5. Morrison PJ, Mant TGK, Norman GT, Robinson J, Kunka RL. Pharmacokinetics and tolerance of lomefloxacin after sequentially increasing oral doses. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1988; 32: 1503-7.