

로바스타틴 정제의 생물학적 동등성 평가

복혜숙^a · 김명민^a · 최경업^{a,b}
^a삼성생명과학연구소, ^{a,b}삼성의료원

Bioequivalence Evaluation of Lovastatin Tablets

Hae Sook Bok^a, Myoung Min Kim^a, and Kyung Eob Choi^{a,b}

^aClinical Pharmacology and Pharmacokinetics Laboratory,
Samsung Biomedical Research Institute.

^{a,b}Division of Pharmaceutical Services, Samsung Medical Center
50, Ilwon-dong, Kangnam-ku, Seoul, 135-230, Korea

Lovastatin is a lipid lowering agent for the treatment of hypercholesterolemia and belongs to a new class of pharmacologic compounds called the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG CoA) reductase inhibitors. By competitively inhibiting HMG CoA reductase, lovastatin disrupts the biosynthesis of cholesterol in hepatic and peripheral cells and increases the synthesis of high-density-lipoprotein (HDL) receptors. Following oral administration, the lactone ring of lovastatin is hydrolysed to the active inhibitor of HMG CoA reductase, lovastatin acid. Lovastatin is known to have poor oral absorption and wide individual variation. In this study, bioequivalence test of two lovastatin formulations, the test drug (LovaloadTM, Chong Kun Dang Pharmaceutical Co.) and the reference drug (MevacorTM, Chung Wae Pharmaceutical Co.) were conducted according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). A total of 18 healthy male volunteers, 31.90±3.60 years old and 72.17±7.88 kg of body weight in average, were evaluated in a randomized crossover manner with a 2-week washout period. Concentrations of lovastatin acid in plasma were measured upto 12 hours following a single oral administration of eight tablets (20 mg of lovastatin per tablet) by high-performance liquid chromatography with UV detection at 238 nm. The area under the concentration-vs-time curve from 0 to 12 hours (AUC_{0-12h}) was calculated by the trapezoidal summation method. The statistical analysis showed that there are no significant differences in AUC_{0-12hr}, C_{max}, and T_{max} between the two formulations (6.72%, 1.52%, and 0.88%, respectively). The least significant differences between the formulations at $\alpha=0.05$ were less than 20% (11.65%, 19.73%, and 14.81% for AUC_{0-12h}, C_{max}, and T_{max}, respectively). The 90% confidence intervals for these parameters were also within $\pm 20\%$ ($-1.50 \leq \delta \leq 15.00$, $-12.50 \leq \delta \leq 15.50$, and $-9.64 \leq \delta \leq 11.40$ for AUC_{0-12h}, C_{max}, and T_{max}, respectively). In conclusion, the new generic product LovaloadTM was proven to be bioequivalent with the reference drug. (Kor. J. Clin. Pharm. 1998; 8(2): 107-112)

□ Keywords – Lovastatin tablet, Lovastatin acid, Bioequivalence, Pharmacokinetic parameters

Lovastatin [1S-[1 α (R*),3 α ,7 β ,8 β (2S*,4S*),8 α] β 1,2,3,7,8,8 α -hexahydro-3,7-dimethyl-8-[2-(tetrahydro-4-hydroxy-6-oxo-2H-pyran-2-yl)ethyl]-1-naphthalenyl ester]은 *Aspergillus terreus* 균주의 배양액으로부터 분

교신저자: 최 경 업

서울시 강남구 일원동 50번지 삼성서울병원 약제부
TEL. 02-3410-3660, FAX. 02-3410-3366

리된 비활성형 락톤형이다.¹⁾ Lovastatin은 전구 약물 (prodrug)로서 경구 투여 후 즉시 가수분해되어 주 대 사물인 β -hydroxy acid 형태의 lovastatin acid로 변환 된다. Lovastatin acid는 lovastatin의 활성형 물질로서 콜레스테롤 생합성의 초기 율속단계 과정을 촉매하는 효소인 HMG-CoA reductase를 저해하여 혈청 콜레스 테롤치를 저하시키는 작용을 한다.²⁾

Lovastatin의 약동학적 특징을 살펴보면, 경구 흡수도는 30% 정도이며, 혈장 단백 결합율은 95% 이상이다.³⁾ 대사는 주로 간에서 이루어지며, lovastatin acid와 최소 9개의 다른 대사 물질들이 발견되었다.⁴⁾ First-pass effect를 많이 받는 약물이기 때문에 경구투여량의 5% 이하만이 활성체 형태로 전신순환계에 도달한다.³⁾ 음식물과 함께 투여했을 때의 혈중 농도가 공복시 보다 1.5배 높아지므로 음식과 함께 복용하도록 추천하고있다.⁵⁾ Lovastatin은 주로 담즙을 통해 배설되며, 경구투여 72시간 후 분변으로 약 83%, 뇨중으로 10% 정도가 배설된다.³⁾ 최고혈중 농도 도달은 2~4 시간이고, steady-state 농도는 1일 1회 투여시 2~3일 후에 도달하며, 활성체의 반감기는 1.1~1.7시간이다.¹⁾ 따라서 lovastatin은 경구 흡수도가 낮고, 개체 차이가 큰 약물로 알려져 있기 때문에 약동력학적인 평가가 요구되어진다.

본 연구에서는 중근당에서 제조한 로바로드 정TM을 시험약으로 기존의 시판제제인 중외제약의 메바코 정TM을 대조약으로 하여 생물학적동등성을 비교 평가하였다. 총 18명의 건강한 성인 남자를 대상으로 식품의약품안전본부 고시 96-16호(1996. 10. 31.) 생물학적 동등성 기준에 따라 연구를 수행하였다.

연구 대상 및 방법

시험약 및 대조약

시험약은 중근당의 로바로드TM 정(제조번호; AA 003)을 사용하였으며, 대조약으로는 중외제약의 메바코TM 정(제조번호; AUG 7CB)을 사용하였다. 시험약과 대조약은 각각 1정당 20 mg의 lovastatin을 함유하는 담청색의 원형정제이었다.

피험자의 선정기준

20~40세의 건강한 성인 남자를 대상으로 지원자를 모집하였으며, 본 연구에 참여한 시험 대상자를 위한 소정 양식의 참가동의서를 작성하였다. 본 연구의 계획서와 동의서는 삼성서울병원 임상시험 심사위원회(IRB)에서 제반 사항에 대한 검토 및 승인을 받았다. 모집 공고를 통하여 과거에 소화기계, 간장, 신장, 혈액 질환의 병력이 없고, 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 지원자를 선정하여 전문의사의 건강진단(식품의약품 안전본부 고시 제96-16호, 9조 3항)을 실시한 후 건강인으로 판정된 만 20세 이상의 지원자 18명을 선정하였다. 피험자들에게 시험의 내용과 예

측될 수 있는 부작용에 대하여 자세히 설명한 후 피험자 전원으로부터 시험동의서(Consent form)를 받았다.

약물 투여 계획 및 채혈

18명의 피험자에 대해 군당 9명씩 A군과 B군으로 무작위로 나누었다. 제 I기 A군에는 시험약인 중근당의 로바로드TM 정을 B군에는 대조약으로 중외제약의 메바코TM 정을 투약하였고, 2주간의 휴약 후 제 II기에는 교차하여 투약하였다. 시험시작 72시간 전에는 다른 약물 사용을 중단하고, 48시간 전에는 제산제, 알콜성 음료와 caffeine, methylxanthine을 포함하는 음식의 섭취를 특별히 제한하였다. 시험당일 오전 7시 30분에 각 피험자 모두에게 I.V. needle catheter를 사용하여 팔 정맥부위에 설치하고, heparin cap을 연결한 후 10 ml의 blank 혈액을 취하였다. 각 피험자에게 2분의 시간 간격을 두고 약물 8정(lovastatin 160 mg 해당)을 약 200 ml의 물과 함께 복용시켰으며, 투약 후 특이한 부작용이 발생하는지에 대해 주의깊게 관찰하였다. 채혈은 약물복용 직전, 복용 후 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 6, 8, 및 12시간까지 실시하였고, 채혈한 혈액은 heparin이 들어 있는 VacutainerTM에 옮겨 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상청액을 일정량 소분하여 분석시까지 -80℃에 보관하였다.

혈장중 Lovastatin acid 농도정량

Lovastatin acid는 중근당(주)으로부터 표준품을 얻어 사용하였으며, 내부표준물질로 사용한 simvastatin 표준품은 Meark Sharp & Dohme사(U.S.A.)에서 제공받았다. HPLC 분석용 시약은 Burdick & Jackson Division사(Baxter Corp., USA)로부터 구입하였으며, 시험에 사용한 모든 시약은 Sigma사(St. Louis, USA)의 제품을 사용하였다. 분석장비는 Waters사(MA, USA)의 M510 pump, M717 autosampler 및 M486 U.V. detector를 사용하였다. HPLC 분석용 컬럼은 NovaPakTM (C₁₈, 150×4.6 mm I.D., 5 μm, Waters, USA)을 사용하였으며, guard컬럼을 분석용 컬럼 앞에 연결하여 사용하였다. 이동상은 ACN:0.025M sodium phosphate buffer (phosphoric acid로 pH 3.0 조절)을 57.5:42.5 (v/v)의 조성으로 혼합하여 분석할 때 마다 제조하였다. 유속 1.0 ml/min로 하여 파장 238 nm에서 분석하였다.

전처리 과정

Lovastatin acid 표준용액은 blank를 포함하여 200, 100, 40, 20, 10 및 4.0 ng/ml의 농도로 공혈장으로 희

석하였다. Bond-Elut C₁₈ cartridge (Supelco, PA, USA)에 5.0 ml의 메탄올(MeOH)과 증류수로 씻어준 후, 혈장검체와 내부표준물질 수용액(simvastatin, 200 ng/ml)을 추출 컬럼에 각각 1.0 ml 가하였다. pH 7.2의 0.05M ammonium phosphate buffer 6.0 ml와 0.05M ammonium phosphate buffer:ACN (80:20, v/v) 3.0 ml로 씻어준 후, 2.5 ml의 ACN:MeOH (75:25, v/v)로 용출시켰다. 질소가스로 증발건조시켜 얻은 잔사를 0.2 ml의 이동상 용액으로 녹인 후, 원심분리(3000 rpm, 6 min)한 상청액을 정확히 50 µl 취하여 HPLC 컬럼에 주입하여 분석하였다.

통계처리 및 생물학적동등성 평가

통계처리는 식품의약품안전본부에서 제공한 생물학적 동등성 시험 통계 처리용 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 시험약 및 대조약의 약물동태학적 파라미터를 산정한 후, 식품의약품안전본부 고시 96-16호(1996. 10. 31.) 생물학적동등성 시험기준 제 16조에 따라 다음과 같이 평가하였다. 즉, 시험약과 대조약간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목은 생체내이용율에 의해 산출한 혈중농도-시간 곡선하 면적(AUC), 최고혈중농도(C_{max}) 및 최고혈중농도 도달시

간(T_{max})으로 하였다. 이때의 AUC는 trapezoidal summation method를 이용하여 0~12시간까지의 값을 산출하였고, C_{max}와 T_{max}는 실측치를 구하였다. ANOVA를 이용하여 군간의 차이를 분석하였고, p<0.05인 경우 유의성이 있다고 판정하였다. 대조약과 시험약의 평균치의 차이는 대조약의 20% 이내로 하였으며, 분산분석에 의한 검정은 α=0.05에서 1-β≥0.8 및 Δ(최소검출차)≤0.2로 하였다. 그리고, 대조약과 시험약의 생체내이용율차의 신뢰한계를 구하여 분산분석의 결과를 종합하여 평가하였다.

결 과

HPLC 분석

Fig. 1에 건강한 성인의 혈장 중 lovastatin acid와 내부표준물질인 simvastatin의 HPLC 분석 크로마토그램을 나타낸 것처럼 lovastatin의 주 대사물질인 lovastatin acid와 내부표준물질인 simvastatin (200 ng/ml)의 피크가 모두 잘 분리되었다. 이 방법에서 lovastatin acid 4.0~100 ng/ml의 농도에 대한 평균 회수율 평가 결과 intra-day에서는 71.46~95.61%, inter-day는 92.94~98.43%이었고, 이때의 Coefficient Variation (C.V.)

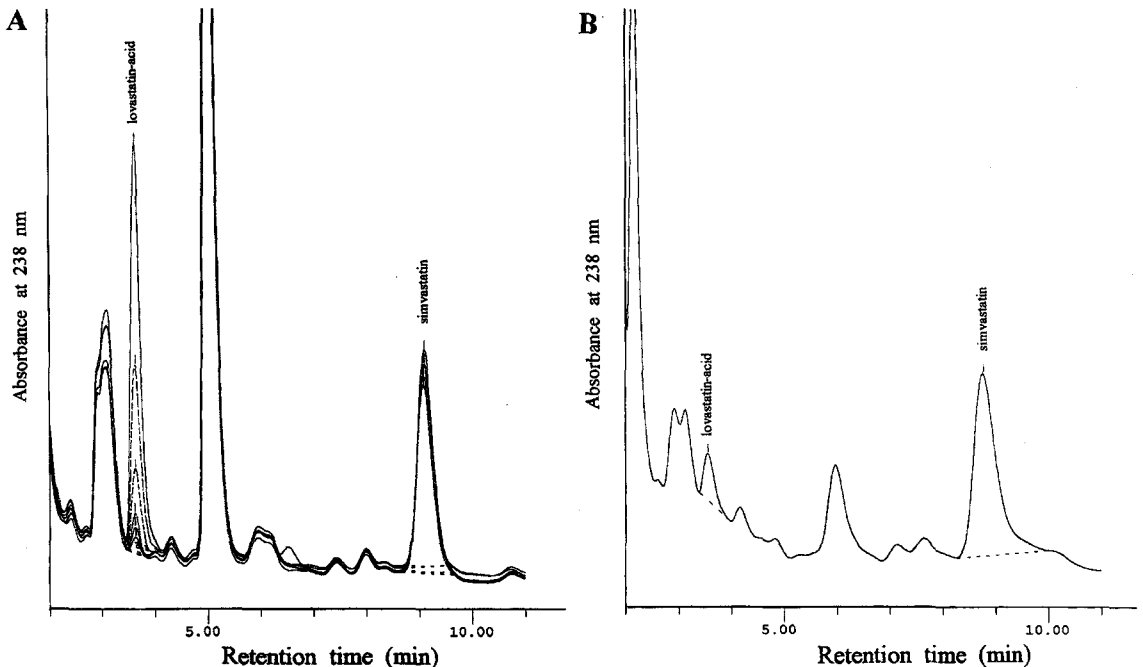


Fig. 1. Representative chromatograms of standards (A) containing various concentrations of lovastatin acid and sample (B) collected at 4 hr.

Table 1. Precision and accuracy of intra-day and inter-day validation for lovastatin acid

| Nominal conc. (ng/ml) | Intra-day assay (n=6) | | | Inter-day assay (3 days) | | |
|-----------------------|------------------------|----------|--------------|--------------------------|----------|--------------|
| | Measured conc. (ng/ml) | C.V. (%) | Recovery (%) | Measured conc. (ng/ml) | C.V. (%) | Recovery (%) |
| 4 | 4.01±0.01 | 0.26 | 71.46 | 3.95±0.13 | 3.22 | 96.81 |
| 10 | 10.45±0.33 | 3.17 | 81.32 | 10.02±0.04 | 0.44 | 98.43 |
| 20 | 20.51±0.47 | 2.28 | 81.02 | 19.93±0.22 | 1.09 | 92.94 |
| 40 | 40.19±0.34 | 0.86 | 72.94 | 38.38±2.92 | 7.62 | 95.05 |
| 100 | 99.19±0.69 | 0.70 | 95.61 | 99.65±1.30 | 1.31 | 98.23 |

값은 intra-day와 inter-day에서 각각 0.26~3.17%와 0.44~7.62%이었다(Table 1). 이로부터 검량선 최소농도인 4.0 ng/ml를 이 분석법의 limit of quantification (LOQ)으로 설정하였다.

유속 1.0 ml/min에서 lovastatin의 retention time은 6.5 min, lovastatin acid는 약 3.6 min 이었으며, simvastatin은 9.5 min으로 일정한 시간에 나타나 기타 혈장 성분들의 피크와 잘 분리되었다. 크로마토그램에서 얻어진 lovastatin acid의 피크 면적과 내부표준물질의 피크 면적을 사용하여 검량선을 작성하였으며, 이때의 lovastatin acid 4.0~200 ng/ml의 검량선은 y (면적비)=1.03x+0.624 (r=0.999)이었다.

혈장 중 약물농도 추이 및 약물동태학적 특성

전체 피험자에 대한 투여 12시간 까지의 평균 혈장

중 약물 농도-시간 곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 그림상으로는 absorption phase에서는 시험약이, elimination phase에서는 대조약이 다소 높아 보이나, 메바코™의 AUC_{0-12h}는 148.30±48.70 ng·hr/ml, 로바로드™는 158.96±57.90 ng·hr/ml, 메바코™의 C_{max}는 25.50±9.53 ng/ml, 로바로드™는 25.86±8.92 ng/ml, 메바코™의 T_{max}는 3.19±0.57 hr, 로바로드™는 3.17±0.49 hr으로서 시험약과 대조약은 대체로 비슷한 혈장 농도 추이를 나타내었다. 각 피험자들의 약물 농도-시간 곡선에서 산출한 약동학적 변수는 Table 2에 나타내었다.

통계학적 분석

각 피험자의 값으로부터 얻은 파라미터 AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max}를 분산분석(ANOVA)한 결과는 Table 3

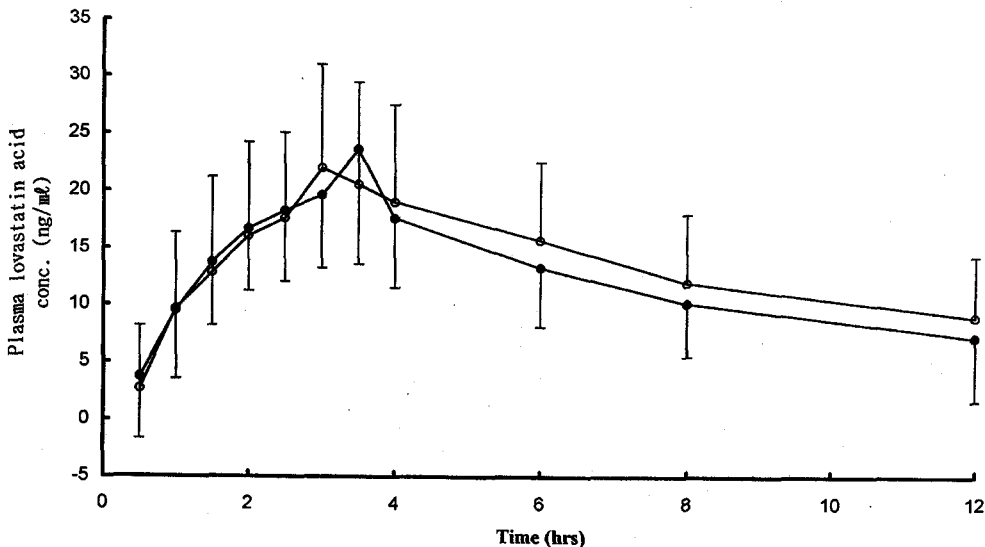


Fig. 2. Mean plasma concentration-time curves after oral administration of test drug (●; Lovastatin) and reference drug (○; Mevacor) (Dose; 160 mg, Mean±S.D.)

Table 2. Pharmacokinetic parameters of lovastatin acid after oral administration at a dose of 160 mg

| Subjects n=18 | AUC _{0-12hr} (ng · hr/ml) | | C _{max} (ng/ml) | | T _{max} (hr) | |
|------------------|------------------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
| | Mevacor TM | Lovaload TM | Mevacor TM | Lovaload TM | Mevacor TM | Lovaload TM |
| Mean ± S.D. | 148.30 ± 48.70 | 158.96 ± 57.90 | 25.50 ± 9.53 | 25.86 ± 8.92 | 3.19 ± 0.57 | 3.17 ± 0.49 |

Table 3. Results of ANOVA for AUC_{0-12h}, C_{max}, and T_{max}

| Source of variation | D.F. | AUC _{0-12h} | | C _{max} | | T _{max} | |
|---------------------|------|----------------------|-------|------------------|------|------------------|------|
| | | MS | F | MS | F | MS | F |
| Between subjects | 17 | 5390.00 | 15.56 | 145.28 | 5.51 | 0.32 | 1.44 |
| Between groups | 1 | 378.30 | 0.07 | 375.71 | 2.87 | 0.17 | 0.53 |
| Subject/group | 16 | 5703.24 | 16.47 | 130.88 | 4.96 | 0.33 | 1.48 |
| Period | 1 | 60.22 | 0.17 | 12.44 | 0.47 | 0.56 | 2.53 |
| Drug | 1 | 1028.06 | 2.97 | 1.40 | 0.05 | 0.01 | 0.03 |
| Residual | 16 | 346.38 | | 26.36 | | 0.22 | |

F_{group}(1,16)=4.49, F_{subject/group}(16,16)=2.15, F_{period}(1,16)=4.49, and F_{drug}(1,16)=3.05 at α=0.05.

Table 4. Summary of bioequivalence test of lovastatin tablets according to KFDA criteria

| Criteria | Difference in mean (%) | Least significant difference (%) | 90% C.I. |
|----------------------|------------------------------|----------------------------------|--------------|
| | Within 20% of reference drug | <20% | <±20% |
| AUC _{0-12h} | 6.72 | 11.65 | -1.55~15.00 |
| C _{max} | 1.52 | 19.73 | -12.49~15.54 |
| T _{max} | 0.88 | 14.81 | -9.64~11.40 |

과 같다. ANOVA 결과 AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max} 모두 구간 순서효과 검정 결과 각각 α=0.05에서 F (1, 16) 값이 0.07, 2.87 및 0.53으로 F 분포표의 값 4.49 보다 작아 교차 시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 한편, 시험약과 대조약의 생물학적 동등성 여부를 검정하였을 때(Table 4) AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max}에 대하여 평균값의 차이가 각각 6.72%, 1.52% 및 0.88%로 모두 판정 기준의 20% 범위 이내이었다. 또한, AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max}에 있어서 최소검출차가 각각 11.65%, 19.73% 및 14.81%로서 생물학적 동등성의 전제 조건을 만족하였으며, 각 비교항목에 있어서 대조약에 대한 생체이용률 차이의 신뢰한계(Confidence Interval; C.I.)에 있어서도 모두 생물학적 동등성의 기준을 만족시켰다.

결 론

종근당(주)으로부터 제공받은 로바로드TM 정(시험약)과 중외제약(주)의 메바코TM 정(대조약)을 식품의약품안전본부 고시 96-16호 생물학적 동등성 기준⁷⁾에

따라 건강한 성인 남자 18명을 선정하여 2×2 Latin square법으로 교차 시험을 실시하였다. 경구 투여 후 12시간까지 채혈하여 HPLC를 이용하여 lovastatin acid의 혈장 농도를 분석하였다.⁶⁾ 각 피험자들의 혈장 중 농도 데이터로부터 혈장 중 농도-곡선하 면적(AUC_{0-12h}), 최고 혈장 중 농도(C_{max}) 및 최고 혈장 중 농도 도달시간(T_{max})을 구하였으며, 이들 약동학 파라미터에 대해서 ANOVA 및 생물학적동등성 기준에 따라 두 제제의 동등성 여부를 평가하였다. ANOVA 결과 교차시험이 적절히 수행되었음이 확인되었으며, 두 제제의 AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max} 사이에는 유의성 있는 차이가 없었다. 또한, 모든 parameter에서 두 제제간의 차이가 20% 이내이었고, power test 결과 최소검출차도 20% 이내이었다. 결론적으로 시험약인 종근당의 로바로드TM 정이 대조약인 중외제약의 메바코TM 정과 비교할 때 생물학적으로 동등함이 인정되었다.

문 헌

1. Alain T, Dvorit S and Charles EM. Phase I study

- of lovastatin, an inhibitor of the mevalonate pathway, in patients with cancer. *Clinical Cancer Research*. 1996; 2: 483-491.
2. James MM, Lovastatin : A new cholesterol-lowering agent. *Clinical Pharmacy*. 1988; 7:21-36.
 3. Pan HY, DeVault AR, Wang-Iverson D, Ivashkiv E, Swanson BN and Sugerman A.A. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of pravastatin and lovastatin *J Clin Pharmacol* 1990; 30: 1128-1135.
 4. Pentikainen PJ, Saraheimo M, Schwartz JI, Amin R.D, Schwartz M.S, Brunner-Ferber F and Rogers JD. Comparative pharmacokinetics of lovastatin, simvastatin and pravastatin in humans *J. Clin. Pharmacol.* 1992; 32: 136-140.
 5. Henwood JM, and Heel RC. Lovastatin A preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic use in hyperlipidaemia. *Drugs* 1988; 36: 429.
 6. Carlicci G, Mazzeo P, Biordi L and Bologna M. Simultaneous determination of simvastatin and its hydroxy acid form in human plasma by HPLC with UV detection *J Pharm. Biomed. Anal* 1992; 10: 693-697.
 7. 식품의약품안전본부 고시 제 96-16호, 생물학적 동등성시험 기준, 1996.