

아펜탈정의 생물학적 동등성 평가

배준호^a · 최경업^b · 지상철^a · 박은석^a
^a성균관대학교 약학부, ^b삼성서울병원 약제부

Bioequivalence Evaluation of Aceclofenac Tablets

Joon Ho Bae^a, Kyung Eob Choi^b, Sang-Cheol Chi^a, and Eun-Seok Park^a

^aCollege of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

^bDivision of Pharmaceutical Services, Samsung Medical Center,

50, Ilwon-Dong, Kangnam-ku, Seoul 135-230, Korea

The bioequivalence of two aceclofenac tablets was evaluated in 14 normal volunteers (age 21~29 yrs) following oral administration. The test product was "Apental tablet" made by Asia Pharmaceutical Co. and the reference was "Airtal tablet" made by Daewoong Pharmaceutical Co.. After one tablet containing 100 mg aceclofenac was administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentration of the drug in plasma was quantitated with an HPLC method. 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 4.23%, 2.15% and 0%, respectively. The powers for AUC, C_{max} and T_{max} were >90%, >90% and 85.8%, respectively. Confidence intervals were within $\pm 20\%$ for three parameters. All of these parameters met the criteria of KFDA for bioequivalence, indicating that "Apental tablet" is bioequivalent to "Airtal tablet". (Kor. J. Clin. Pharm. 1999; 9(1): 44-48)

□ Keywords - Aceclofenac tablet, Bioequivalence, HPLC

아세클로페낙(aceclofenac)은 phenylacetic acid 계의 비스테로이드성 소염진통제로서 경구투여시의 생체이용률과 인체에서의 내성을 증가시키기 위하여 개발된 약물이다.¹⁾ 이 약물은 다른 비스테로이드성 소염진통제와 마찬가지로 시클로옥시게나제의 효력을 억제하여 아라키돈산이 프로스타그란딘으로 전환되는 단계를 차단하여 프로스타그란딘의 생합성을 억제하므로써 소염, 진통 작용을 나타내며 인체에 경구투여하였을 때 최고혈중농도 도달시간은 2.6 ± 1.8 시간, 반감기는 약 4시간으로 보고되어 있다.^{2,3)} 국내에서는 (주)대웅제약에 의해 "에어탈정"이라는 상품명으로 시판되기 시작하였다.

본 연구에서는 식품의약품안전청의 생물학적 동등성 시험 기준⁴⁾에 따라 아주약품공업(주)의 "아펜탈정"을 기존에 판매되고 있는 (주)대웅제약의 "에어탈정"을 대조군으로 하여 식품의약품안전청의 승인을

얻어 생물학적 동등성 시험을 수행하고 그 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

시약 및 재료

실험에 사용된 시험약은 아주약품공업(주)에서 자가 제조한 "아펜탈정" (제조번호: APT7001, 제조일자: 1997. 12. 2), 대조약은 (주)대웅제약에서 기존에 판매하고 있는 "에어탈정" (제조번호: 464920, 제조일자: 1997. 7. 2)으로서 두 제제 모두 아세클로페낙을 100 mg 함유하는 필름코팅정제이었다.

아세클로페낙은 아주약품공업(주)로부터 표준품을 얻어 사용하였으며 플루르비프로펜은 미국 Sigma Chemical사로부터, HPLC급 아세트니트릴, 메탄올, hexan, 이소프로판올은 미국 Mallinckrodt Baker사로부터 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 특급 시약을 사용하였으며 물은 실험실에서 역삼투수를 정제하여 제조하였다.

교신저자: 박은석

440-746 경기도 수원시 장안구 천천동 300
성균관대학교 약학부
TEL. 0331-290-7715, FAX. 0331-290-7729

용출시험 및 혈장중 약물의 분석에는 등속펌프(Hitachi, Model L-7100), 자동주입기(Hitachi, Model 7200), UV 검출기(Hitachi, Model L-7400) 및 시스템 매니저(Hitachi, Model D-7000)로 이루어진 HPLC 시스템을 사용하였다. 그의 왕복진탕기(제일과학, Model C-SGM), 원심분리기(비전과학, Model VS-5000), Vortex 혼합기(Thermolyne, Model MaxMix II), Needle evaporator(Eyela, Model MG-2100) 등을 사용하였다.

용출시험

대한약전 일반시험법 제2법(패들법)에 따라 6정을 시험하였으며 용출액은 대한약전의 인공위액(제1액, pH 1.2)과 인공장액(제2액, pH 6.8)을 사용하였다. 용출액 900 ml를 용기에 넣고 패들을 100 rpm의 속도로 회전시킨 다음 1정씩을 용기에 넣고 5분, 10분, 20분, 30분, 45분, 60분 후에 각각 용출액 5 ml를 취하여 0.45 µm 멤브레인 필터(Gelman, U.S.A.)로 여과한 후 검액으로 하였다. 따로 아세클로페낙 표준품 약 10 mg을 정확히 칭량한 후 이를 아세토니트릴 10 ml에 녹여 아세클로페낙 저장용 원액(1,000 µg/ml)을 만들고 이를 이동상 적량으로 희석하여 아세클로페낙 표준용액(인공위액용-0.3, 1, 3 µg/ml, 인공장액용-20, 50, 100 µg/ml)을 제조하였다.

표준액 및 검액중 아세클로페낙의 함량은 다음의 HPLC 조건으로 분석한 후 피크 높이를 구하여 표준액의 검량선을 작성하고 이로부터 용출량을 산출하였다. 즉, 이동상은 아세토니트릴, 메탄올, 0.01 M 인산염완충액(pH 7.4)의 혼합액(30:20:50)을 사용하였으며 그 유속은 1.0 ml/min이었다. 칼럼은 Lichrospher 100 RP-18(5 µm, 100 mm, Merck, Germany)을 사용하였으며 검출파장은 275 nm, 주사용적은 100 µl이었다.

피험자 선정

피험자는 20-30세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 지원자는 모두 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자중에서 이 시험에 대한 설명회를 거쳐 선정하였으며 모두 시험 참여의 동의서를 받았다. 이상과 같은 절차를 거쳐 이 시험의 피험자로 선정된 사람은 평균체중 67.3 kg, 평균연령 23.6세의 건강한 남성 지원자 14명이었다(Table 1).

투약 및 혈액 채취

투약은 2시기 2제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 14명의 피험자를 군당 7명씩 임의로 2군으로 나누고 제 I기, 제 1군에는 대조약인 "에어탈정"을, 제 2군에는 시험약인 "아펜탈정"을 투여하였고 제 II기에는 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1정으로 하였다. 휴약기간은 생체이용률 실험에서 아세클로페낙의 반감기가 약 4시간으로 보고되어 있어³⁾ 충분한 시간을 두고자 본 시험에서는 7일로 하였다.

피험자들 모두에게 IV catheter를 이용하여 팔 정맥 부위에 설치하고 PRN adapter를 연결하고 대조약과 시험약을 200 ml의 물로 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12 및 15시간제에 5 ml의 혈액을 채취하여 헤파린 처리를 한 혈액용 플라스틱 튜브에 넣고 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈장만을 취하여 에펜도프 튜브에 옮기고 이 튜브를 영하 20도에서 분석시까지 보관하였다.

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

혈장중 아세클로페낙의 정량

혈장중의 아세클로페낙의 함량 분석은 이미 그 분석방법의 유효성이 평가되어 보고된 HPLC 법³⁾을 약간 수정하여 사용하였다.

피험자들의 혈장 0.5 ml에 내부표준물질 표준용액(플루르비프로펜 50 µg/ml) 50 µl를 가한 후 흔들어 섞은 후 2 ml의 2.5 N 인산 용액과 3 ml의 헥산:이소프로판올 혼합액(9:1)을 가하고 왕복진탕기에 넣고 30분동안 흔들어 추출하고 2,000 rpm으로 10분 동안 원심분리시켰다. 다음 유기 용매층을 일회용 피펫으로 취하여 깨끗한 유리관으로 옮기고 질소기류하 40°C에서 증발시킨 후 HPLC 이동상 500 µl로 reconstitution시키고 30초간 Vortex 혼합기로 혼합한 후, 이 최종 시료 용액중 100 µl를 칼럼에 주입하였다.

분석에 사용한 HPLC 조건으로 이동상은 아세토니트릴, 메탄올, 0.03M 인산염완충액(pH 7.4)의 혼합액(20:45:35 V/V/V)을 사용하였으며 그 유속은 1.0 ml/min이었다. 칼럼은 Luna C₁₈(5 µm, 4.6 mm×250 mm, Phenomenex, U.S.A.)을 사용하였으며 검출파장은 275 nm이었다.

Blank 혈장에 아세클로페낙 표준용액을 가하여 각각 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 10 µg/ml의 농도가 되도록 혈

장시료를 만든 후 상기의 시료 추출법 및 분석조건에 따라 추출하고 분석하여 얻은 내부표준물질의 피이크 높이에 대한 아세클로페낙의 피이크 높이비를 가지고 아세클로페낙 농도에 대한 검량선을 작성하고 이 검량선으로부터 혈장 시료중 아세클로페낙의 농도($\mu\text{g/ml}$)를 산출하였다.

평가항목

아세클로페낙 정제의 생물학적 동등성 여부는 식품의약품안전청 고시의 기준에 따라 최고혈중농도 (C_{\max}), 최고혈중농도 도달시간(T_{\max}), 혈중농도-시간 곡선하 면적(AUC) 등의 평가 파라메타들에 대하여 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램을 이용하여 유의수준(α)=0.1에서 각 파라메타에 있어서 대조약에 대한 차이, 최소점출차(Δ), 검출력($1-\beta$), 신뢰한계(δ) 등을 구하였다.

실험결과 및 고찰

용출시험

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

인공위액과 인공장액에서 시험약 및 대조약으로부터

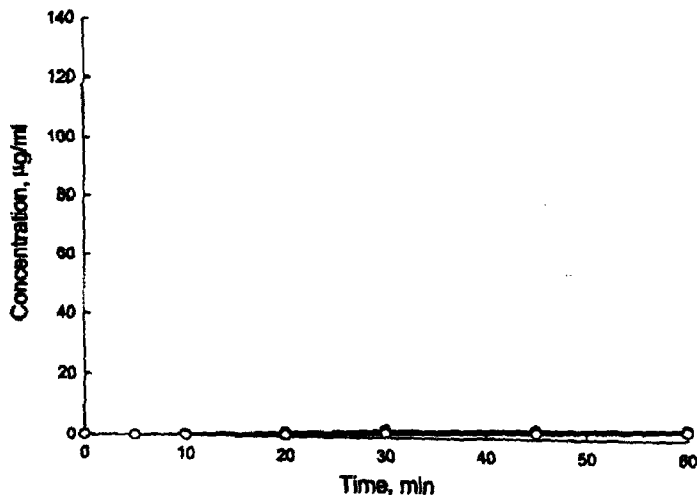


Fig. 1. Dissolution profiles of aceclofenac from aceclofenac tablets in simulated gastric fluid. Key: ○; Airtal tablet, ●; Apental tablet. (n=6, mean \pm S.D.)

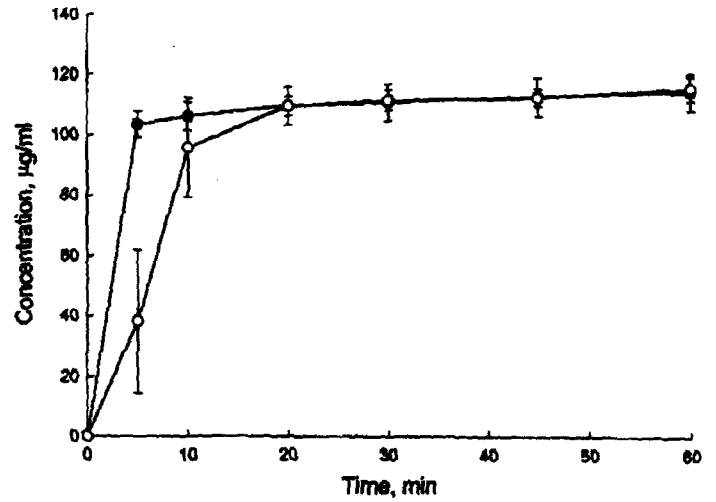


Fig. 2. Dissolution profiles of aceclofenac from aceclofenac tablets in simulated intestinal fluid. Key: ○; Airtal tablet, ●; Apental tablet. (n=6, mean \pm S.D.)

터 아세클로페낙의 용출 양상을 Figure 1과 Figure 2에 나타내었다. 이 결과에 의하면 두 제제 모두 인공 위액에서는 이 약물의 용해도가 산성에서 낮은 관계로 거의 용출되지 않았으며 인공장액에서는 10분째부터 각 시간대에서 용출량에 유의성있는 차이가 없이 동일한 용출 양상을 나타내어 시험약과 대조약은 생물학적으로 동등할 것으로 추정되었다.

혈장중 아세클로페낙의 정량

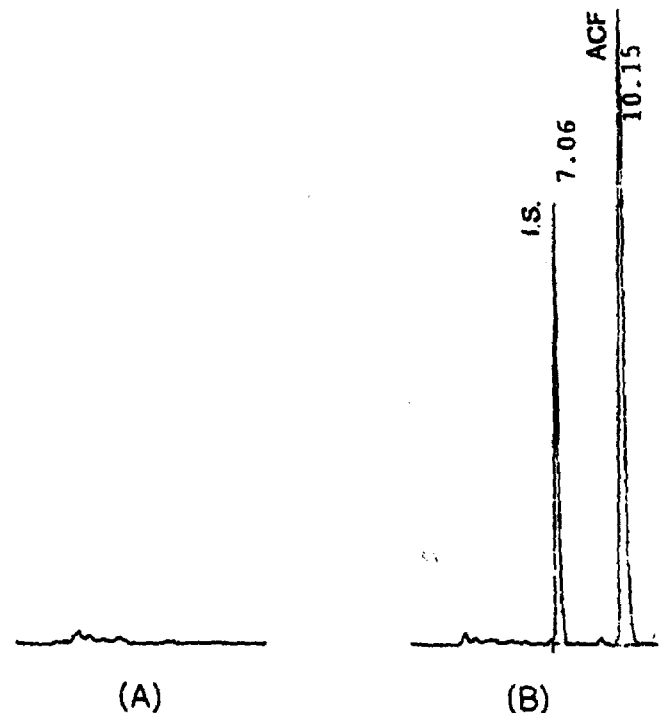


Fig. 3. Representative chromatograms obtained with blank plasma (A) and plasma from a volunteer after the oral administration of aceclofenac tablet (B). Key: ACF; Aceclofenac, LS; Internal standard.

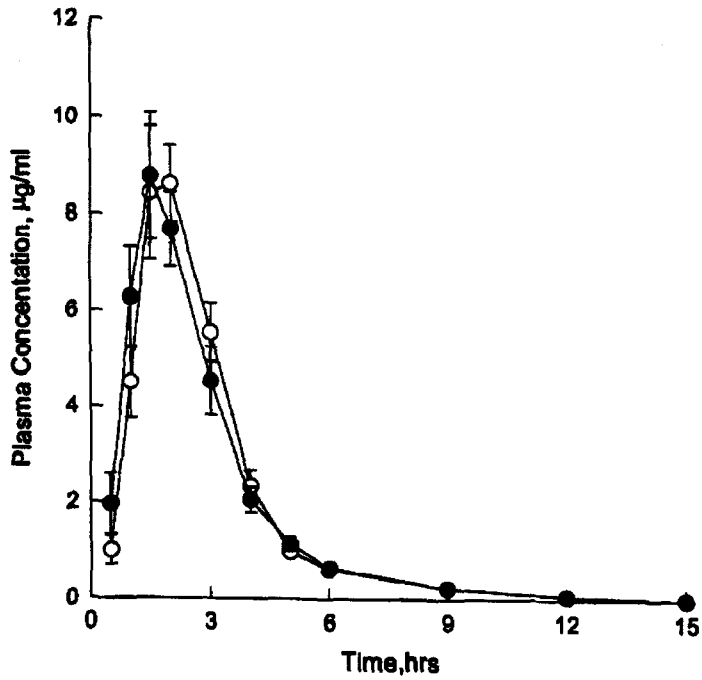


Fig. 4. Mean plasma concentration-time profile of aceclofenac obtained after the oral administration of aceclofenac tablets to 14 volunteers. Key: ○; Airtal tablet, ●; Apental tablet. (mean ± S.E.)

본 시험방법과 같이 검체를 처리하여 HPLC로 분석하였을 때 얻어진 대표적인 크로마토그램은 Figure 3과 같았으며, 이 크로마토그램에서 알 수 있듯이 아세클로페낙과 내부표준물질은 혈장 성분들과 약물 대사산물들의 피이크로부터 잘 분리되었고 내부표준물

질과 아세클로페낙의 유지시간은 각각 약 7분, 약 10.5분이었다. 검량선은 0.03~10 µg/ml의 농도 범위에서 좋은 직선성을 나타내었으며 이 HPLC 방법의 유효성을 검토한 결과 우수한 정확성과 정밀성을 나타내었다.

혈장중 아세클로페낙 농도 추이

시험약과 대조약을 피험자 14명에게 경구투여한 후 정해진 시간에 따라 채혈하여 얻어진 평균 혈장중 아세클로페낙의 농도-시간 양상은 Figure 4와 같다. 또한 각 피험자에 있어서 시험약과 대조약을 투여하여 얻은 이들 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 AUC, C_{max} , T_{max} 등의 생물학적 동등성 파라메타는 Table 1과 같다. 단, 각 피험자의 AUC 값은 약물투여 후 15시간까지의 각 피험자의 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 사다리꼴 공식에 의해 구한 수치이며 C_{max} 와 T_{max} 값은 약물투여후 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 가장 높게 올라간 혈장중 약물농도 및 그때의 시간을 읽은 수치이다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC, C_{max} , T_{max} 값을 가지고 분산분석하여 얻은 결과는 Table 2와 같다.

먼저 AUC에 대한 결과를 보면 유의수준=0.1의 구간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값보다

Table 1. Bioequivalence parameters for each volunteer obtained after the oral administration of Apental and Airtal tablets

Volunteer	Age (Year)	Weight (kg)	Apental tablet			Airtal tablet		
			AUC (µg · hr/ml)	C_{max} (µg/ml)	T_{max} (hr)	AUC (µg · hr/ml)	C_{max} (µg/ml)	T_{max} (hr)
A-1	27	81	14.49	5.14	2.00	15.97	5.30	2.00
A-2	24	79	21.11	11.13	1.00	20.53	10.49	1.00
A-3	24	62	24.23	9.48	2.00	18.99	7.50	3.00
A-4	23	63	25.99	12.50	3.00	34.01	11.55	2.00
A-5	24	80	21.56	11.08	1.00	19.51	10.79	1.50
A-6	22	60	39.62	19.97	1.50	37.25	17.31	1.50
A-7	21	76	24.01	9.42	1.50	24.73	8.02	1.50
B-1	23	60	25.27	9.04	2.00	16.63	7.90	1.50
B-2	26	68	23.08	10.92	2.00	19.23	13.03	2.00
B-3	24	65	24.68	14.47	1.50	24.58	13.42	1.50
B-4	21	60	33.86	13.98	1.50	30.12	17.06	1.50
B-5	23	64	17.67	7.29	2.00	27.30	12.06	2.00
B-6	22	62	23.45	10.65	2.00	21.30	8.68	2.00
B-7	22	62	28.09	11.80	1.50	23.48	10.50	1.50
Mean	23.64	67.29	24.84	11.21	1.75	23.83	10.97	1.75
(S.D.)	2.31	8.04	6.19	3.51	0.51	6.39	3.48	0.47

Table 2. Statistical results of bioequivalence evaluation of Aparental tablet*

	Parameters		
	AUC	C _{max}	T _{max}
Difference	4.23%	2.15%	0%
F value ^b	0.46	2.74	0.35
Power(1-β)	>90%	>90%	85.8%
Detectable difference(Δ)	14.9%	12.8%	18.1%
Confidence interval(δ)	-5.8 ≤ δ ≤ 14.3	-6.5 ≤ δ ≤ 10.8	-12.2 ≤ δ ≤ 12.2

*α=0.1, ^bF_{0.1}(1, 12)=3.18

작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 AUC 차이가 4.23%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20%이내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전제 조건을 만족하였다. 유의수준=0.1, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차는 14.9%, 최소검출차 0.2를 검출하기 위한 검출력은 90%이상으로 나타나, 각각 20%이하와 80%이상이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 대조약에 대한 AUC 차이의 신뢰한계는 -5.8 ≤ δ ≤ 14.3으로서 ±20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 AUC에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

C_{max}에 대해서도 유의수준=0.1의 구간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 C_{max} 차이가 2.15%로 생물학적 동등성 시험 기준의 전제 조건을 만족하였다. 최소검출차는 12.8%, 검출력은 90%이상으로 나타나, 각각 20%이하와 80%이상이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 대조약에 대한 C_{max} 차이의 신뢰한계는 -6.5 ≤ δ ≤ 10.8로서 ±20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 C_{max}에 있어서도 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

T_{max}에 대해서도 유의수준=0.1의 구간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조

약에 대한 두 약의 T_{max} 차이가 0%로 생물학적 동등성 시험 기준의 전제 조건을 만족하였다. 최소검출차는 18.1%, 검출력은 85.8%로 나타나, 각각 20%이하와 80%이상이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 대조약에 대한 T_{max} 차이의 신뢰한계는 -12.2 ≤ δ ≤ 12.2로서 ±20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 이들 두 약은 평가항목 T_{max}에 있어서도 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

이상의 시험결과를 종합하여 보면 시험약인 "아펜탈정"은 대조약인 "에어탈정"에 대하여 생물학적 동등성시험의 판단 기준인 3항목(AUC, C_{max}, T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 이 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료된다.

문 헌

1. Brogden RN, Wiseman LR. Aceclofenac. A review of its pharmacodynamic properties and therapeutic potential in the treatment of rheumatic disorders and in pain management. *Drugs* 1996; 52(1): 113-24
2. Bort R, Ponsoda X, Carrasco E, et al. Metabolism of aceclofenac in humans. *Drug Metab Dispos* 1996; 24(8): 834-41
3. Bort R, Ponsoda X, Carrasco E, et al. Comparative metabolism of the nonsteroidal antiinflammatory drug, aceclofenac, in the rat, monkey, and human. *Drug Metab Dispos* 1996; 24(9): 969-75
4. 식품의약품안전청 고시 제96-16호 생물학적 동등성 시험 기준 (1996. 10. 31 개정)