

니세틸 정(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)에 대한 엘카틴 정의 생물학적 동등성

조혜영 · 윤지훈 · 오인준 · 문재동^a · 이용복
전남대학교 약학대학/약품개발연구소, ^a전남대학교 의과대학

Bioequivalence of L-Cartin Tablet to Nicetile Tablet (Acetyl-L-Carnitine 500 mg)

Hea-Young Cho, Ji-Hun Yun, Injoon Oh, Jai-Dong Moona and Yong-Bok Lee

College of Pharmacy and Research Institute of Drug Development, Chonnam National University, 300
Yongbong-dong, Buk-gu, Kwangju 500-757, Korea

^aMedical School, Chonnam National University, 8 Hakil-dong, Dong-gu, Kwangju 501-757, Korea

Acetyl-L-carnitine (ALC), an endogenous component of the L-carnitine family, is a naturally existing molecule synthesized from L-carnitine (LC) by carnitine acetyl transferase. ALC has been shown to improve the cognitive performance of patients suffering from dementia of the Alzheimer's type and proposed for treating Alzheimer's disease in pharmacological doses. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two ALC tablets, Nicetile™ (Dong-A Pharmaceutical Co.) and L-Cartin™ (Kuhn Il Pharmaceutical Co.), according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). The ALC release from the two ALC tablets *in vitro* was tested using KP VII Apparatus II method in various dissolution media (pH 1.2, 6.0 and 6.8). Twenty six normal male volunteers, 24.46±3.67 years in age and 64.45±5.54 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2×2 cross-over study was employed. After one tablet containing 500 mg of ALC was orally administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentrations of ALC in serum were determined using HPLC with fluorescence detector. Because of the presence of endogenous ALC, the calibration was performed using dialyzed serum. The dissolution profiles of the two ALC tablets were similar in all the dissolution media. The pharmacokinetic parameters such as AUC_t, C_{max} and T_{max} were calculated and ANOVA was utilized for the statistical analysis of the parameters. The results showed that the differences in AUC_t, C_{max} and T_{max} between two tablets were 0.35%, 0.93% and 2.34%, respectively, when calculated against the Nicetile™ tablet. The powers (1-β) for AUC_t and C_{max} were 98.72% and 85.48%, respectively. Minimum detectable differences (Δ) at α=0.05 and 1-β=0.8 were less than 20% (e.g., 13.21% and 18.42% for AUC_t and C_{max}, respectively). The 90% confidence intervals were within ±20% (e.g., -7.38~8.09 and -9.86~11.72 for AUC_t and C_{max}, respectively). These two parameters met the criteria of KFDA for bioequivalence, indicating that L-Cartin™ tablet is bioequivalent to Nicetile™ tablet.

□ Key words—Acetyl-L-carnitine, Nicetile™ tablet, L-Cartin™ tablet, Bioequivalence, HPLC

아세틸-엘-카르니틴(acetyl-L-carnitine, γ -trimethyl- β -acetyl-butyrobetaine)은 뇌를 포함한 여러 기관에 존재하는 생리적인 물질로서 미토콘드리아에서 카르니틴(carnitine)의 아세틸화(acetylation)에 의해 합성된다. 이 물질은 혈액뇌관문을 쉽게 통과하여 뇌신경 세포에 영

교신저자: 이용복

전남대학교 약학대학, 약품개발연구소
500-757 광주광역시 북구 용봉동 300
TEL. 062-530-2931, FAX. 062-530-2911

양분을 공급하여 줄 뿐 아니라 신경전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine)의 생성을 촉진시켜 신경전달작용을 원활하게 하고, 신경세포 기능을 개선시킨다. 또한 활성화된 아세틸그룹을 갖고 있어 신경성장인자(nerve growth factor) 수용체를 활성화시켜 신경세포의 영양을 높여줌으로써 퇴행성 질환(예: 알츠하이머씨 치매)이나 뇌혈관 질환(예:중풍)과 같이 중추신경계의 손상으로 인한 치매 증상을 개선시키는데 사용되고 있

다.¹⁻³⁾ 아세틸-엘-카르니틴 경구투여시의 생체이용률은 약 60%이며 광범위하게 대사되는데 그 대사물은 변 및 요중으로 배설된다. 아세틸-엘-카르니틴의 α 상 반감기는 0.073 ± 0.047 시간이고 β 상 반감기는 1.73 ± 0.29 시간으로 보고되어 있다.¹⁻³⁾

국내에서는 동아제약 주식회사에서 “니세틸 정”이라는 상품명으로 아세틸-엘-카르니틴 정제(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)를 국내 최초로 발매하였다. 본 연구에서는 건일제약 주식회사가 발매하고자 하는 아세틸-엘-카르니틴 제제인 “엘카틴 정”이 기존의 아세틸-엘-카르니틴 제제인 “니세틸 정”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험 기준(4)에 따라 건강한 성인 남자(20~37세) 26명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 아세틸-엘-카르니틴의 혈청중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC), 최고 혈청중 농도(C_{max})와 최고 혈청중 농도 도달시간(T_{max})에 대하여 분산분석(ANOVA, analysis of variance)을 행하였다. 아울러, 니세틸 정과 엘카틴 정에 대하여 대한약전 VII 용출시험법중 제 2법(폐들법)에 따라 비교용출시험을 행하였다. 그리고 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻어 시행되었고 시험계획서에 따라서 진행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험재료 및 방법

시약 및 기기

실험에 사용된 시험약은 보건복지부로부터 조건부 허가를 받아 건일제약 주식회사에서 자가 제조하여 보건복지부장관의 제조품목허가증 기준 및 시험방법 항에 따라 시험하여 적합 판정을 받은 엘카틴 정(제조번호: 시제제 001, 제조일자: 2001. 5. 22)이고 대조약은 동아제약 주식회사에서 기준에 시판하고 있는 니세틸 정(제조번호: 0869, 유통기한: 2002. 8. 13)으로서 아세틸-엘-카르니틴을 500 mg 함유하는 정제이었다.

아세틸-엘-카르니틴은 건일제약 주식회사로부터 표준품을 얻어 사용하였으며 내부표준물질인 부티로베타인, 1-(3-dimethyl-aminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC) 과 1-아미노안트라센(Aldrich Chem. Co., Milwaukee, WI, 미국), HPLC용 아세토니트릴, 메탄올(이상 Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국)을 구입하여 사용하였으며, 생리식염수 및 헤파린(이상 중외제약, 서울)은 시판품을 사용하였고, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M Ω -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 인산이수소나트륨, 인산일수소나트륨, 아세트, 암모늄 아세테이트 및 기타 시약들은 특급 및

1급 시약들을 사용하였다.

기기로는 용출기(DST-600A, 화인기계, 안양, 한국), Hewlett-Packard 1100(Hewlett-Packard Co., Waldbronn, 독일), HPLC용 펌프(LC-10ADvp, Shimadzu, Tokyo, 일본), Shim-pack C₁₈ 컬럼(150×4.6 mm, 입자경 5 μ m, Shimadzu, Tokyo, 일본), 형광검출기(RF10A_{XL}, Shimadzu, Tokyo, 일본), Auto injector (Shimadzu SIL-10A, Shimadzu, Tokyo, 일본), 반투막(Spectra/Por[®] MWCO:12-14,000, Spectrum Medical Industries Inc., Houston, TEX, 미국), 적분계(Model Class LC-10, Shimadzu, Tokyo, 일본), 원심분리형 농축기(CVE-200D, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 냉각회수기(UT-80, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 원심분리기(H-31, Kokusan Industrial Co., Tokyo, 일본) 및 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

대조약 니세틸 정과 시험약 엘카틴 정 6정씩을 취하여 대한약전 VII 용출시험법중 제 2법(폐들법)에 따라 37±0.5°C에서 50 rpm으로 시험하였다. 용출액은 장용성제에 대한 용출시험 조건에 따라 제 1액(pH 1.2)과 pH 6.0 시험액 및 제 2액(pH 6.8) 900 ml를 각각 사용하여 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120분(pH 1.2 및 pH 6.0 시험액) 및 180분(pH 6.8 시험액)에 용출액을 채취하고 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과시킨 다음 HPLC UV 검출기(205 nm)를 사용하여 용출률을 산출하였다. 이동상은 0.05 M 인산이수소칼륨액:아세토니트릴(35:65, pH 4.7, v/v) 혼합용액을 사용하였으며 유속은 1.0 ml/min으로 하였다. 컬럼은 μ -Bondapak NH₂ (3.9×150 mm, 입자경 10 μ m, Waters Co., MA, 미국)를 사용하였으며, 주입량은 10 μ l로 하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준⁴⁾에 근거하여 20~40세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 지원자는 44명으로 이 시험에 대한 설명회에 참석한 후 전남대학교 병원(광주, 한국)에서 전문의사(전남대학교 의과대학/병원 문제동)가 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정한 자 중에서 선정하였다. 이와 같은 절차를 걸쳐 이 시험의 피험자로 선정된 사람은 평균체중 64.45 kg의 20~37살(평균 24.46살)의 건강한 남성 지원자 26인이었으며 모두 시험 참여 동의를 받은 후 생물학적 동등성 시험을 실시하였다.

모든 지원자는 정해진 투약일 일주일 전부터 항생제 및 진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지하였을

뿐만 아니라 흡연과 과도한 활동도 제한시켰다. 시험 전날 오후 7시부터 실험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰으며, 실험 기간 중에는 연구자의 지시에 따라 모두 같은 식단의 식사 및 휴식을 취하게 하였다.

약물 투약 및 혈액 채취

약물 투약은 2시기 2제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 26명의 피험자를 군당 13인씩 임의로 A, B 2군으로 나누고 제 I기에서 A 군에는 대조약인 “니세틸 정”을, B군에는 시험약인 “엘카틴 정”을 투여하였고 제 II기에서는 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1정(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)으로 하였다. 한편, 아세틸-엘-카르니틴의 최종상의 반감기는 1.73 ± 0.29 시간으로 보고되어 있어¹⁻³⁾ 생물학적 동등성 시험기준(식품의약품안전청 고시 1998-86 호⁴⁾ 제 18조 제 4항 휴약기간의 산정기준)에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 2주일로 하였다.

피험자들 모두에게 heparin-locked (150 unit/ml) Angiocatheter (JELCO™, 22G, Jonson&Jonson Medical, Pomezia, Italia)를 팔 정맥부위에 설치하고 대조약 또는 시험약 1정씩을 150 ml의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 투약직전, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 360, 480 및 720 분째(총 12시점)에 약 5 ml의 혈액을 채취하여 혈구분리용 원심분리관에 넣고 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하였다. 그 후 혈청 분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 70°C에서 보관하였다.

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

혈청중 아세틸-엘-카르니틴의 정량

혈청중 아세틸-엘-카르니틴 함량은 이미 보고된 아세틸-엘-카르니틴의 HPLC 분석법⁵⁾을 참고, 다소 수정하여 상기 기기 조건하 실온에서 분석하였다. 이동상으로는 0.1 M 암모늄 아세테이트(pH 3.5):아세토니트릴(70:30, v/v) 혼합용액을 사용하였으며 유속 1.0 ml/min, 주입량 20 µl 및 형광검출기(excitation: 248 nm, emission: 418 nm)를 이용하여 정량하였고 다음과 같이 검량선을 작성하였다.

먼저 정상 건강성인 남자의 대조혈청을 반투막(Spectra/Por MWCO:12-14,000)에 넣어 4°C에서 투석 완충액(Krebs-Ringer phosphate solution)으로 36시간 동안(8-10시간 간격으로 최소 3회 갈아줌) 투석(혈청:완충액=1:25, v/v)시켜 내인성 아세틸-엘-카르니틴을 완전히 제거한 검량선용 표준혈청을 조제하였다. 염산 아세틸-엘-카르니틴 표준품을 물에 녹여 최종농도가 아세틸-엘-카르니틴으로서 100 µmol/ml가 되도록 만든

후 냉장 보관하였다. 이 용액을 상기 검량선용 표준혈청으로 희석하여 혈청중 약물농도가 아세틸-엘-카르니틴으로서 1, 2, 5, 10, 20 및 50 nmol/ml씩 되도록 검량선용 표준혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청액 100 µl에 내부표준물질로 부티로베타인 탈이온수 용액(25 nmol/ml) 30 µl 및 탈이온수 370 µl를 넣고 잘 섞은 다음 이 용액을 미리 메탄올 0.5 ml와 탈이온수 1 ml로 안정화시켜놓은 Sep-Pak cartridge에 적용시킨 후 0.01 M 인산이수소나트륨액(pH 3.5) 0.5 ml로 용리하여 합한 액에 1-(3-dimethyl-aminopropyl)-3-ethylcarbodiimide (EDC)액(0.01 M 인산이수소나트륨액 1 ml 중에 EDC가 160 mg 들어있는 액) 100 µl 및 1-아미노안트라센(아세톤 1 ml 중에 1-아미노안트라센이 16 mg 들어있는 액) 100 µl를 가하고 25°C 수조에서 20분간 반응시켰다. 그 후 여기에 디에틸에테르 3 ml를 넣고 1분간 vortexing하여 섞은 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 이 조작을 4회 반복하였다. 수층 300 µl를 취하여 원심분리관에 옮긴 다음 0.01 M 인산일수소나트륨액 700 µl 및 클로로포름 3 ml를 가하고 1분간 vortexing하여 섞은 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 다시 상층을 취하여 여기에 클로로포름 3 ml를 가하고 1분간 vortexing하여 섞은 후 3000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 최종 상층 500 µl를 시험관에 취한 후 0.01 M 인산이수소나트륨액(pH 3.5) 500 µl를 넣어 잘 섞은 후 Auto injector를 이용하여 20 µl를 취하여 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 아세틸-엘-카르니틴의 피이크 면적비를 가지고 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 또한, 2, 10 및 50 nmol/ml의 농도에서 10회 반복측정하여 분석의 정확성을 평가하였다.

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈청시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 100 µl를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로서 부티로베타인 탈이온수 용액(25 nmol/ml) 30 µl 및 탈이온수 370 µl를 넣고 잘 섞은 다음 상기 검량선 작성을 위한 추출법에 따라 추출하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 아세틸-엘-카르니틴의 피이크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료중 아세틸-엘-카르니틴 농도를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

니세틸 및 엘카틴 정을 각각 1정씩 26명의 지원자

에게 라틴 방격법에 따른 교차시험법에 따라 경구 투여하여 얻은 각 제품의 혈청중 약물농도-시간 곡선으로부터 약물속도론적 파라미터인 최종체혈시점까지의 AUC, C_{max} 및 T_{max}를 구하였으며 이들 두 제품에서 각각 얻은 값을 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램인 K-BEtest⁽⁶⁾를 이용하여 유의수준 α=0.05, 자유도(v)=24에서 양측검정조건하에서 분산분석(ANOVA)하였다. 이때, C_{max}와 T_{max}는 실측치를 사용하였으며 AUC_t는 사다리꼴 공식을 이용하여 최종 체혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였다. 한편, 모든 측정치와 계산치는 평균±표준편차로 나타내었다.

생물학적 동등성 평가

엘카틴 정 의 니세틸 정과의 생물학적 동등성 여부는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준⁴⁾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 약물 흡수의 전제조건이 되는 용출률이 다르게 나타날 수 있으므로 대조약과 시험약의 용출률을 비교하기 위하여 용출시험을 행하였다.

대조약과 시험약에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 용출시험한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 염산 아세틸-엘-카르니틴은 장용성제제로 pH 1.2에서는 전혀 용출되지 않았으며, pH 6.0에서는 120분, pH 6.8에서는 180분 이내에 대조약과 시험약 모두 85%이상의 용출률을 나타내었고, 그 용출양상도 유사하였다.

혈청중 아세틸-엘-카르니틴 정량

건강 성인의 투석시킨 대조혈청, 투석시킨 대조혈청에 내부표준물질인 부티로베타인과 아세틸-엘-카르니틴을 함께 가한 것, 건강 성인의 대조혈청에 내부표준물질인 부티로베타인을 가한 것 및 아세틸-엘-카르니틴 정제 투여 후 120분째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 2 (A), (B), (C) 및 (D)에 각각 나타내었다. 아세틸-엘-카르니틴 피이크의 출현시간은 약 12분대, 내부표준물질 피이크의 출현시간은 약 9분대이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 4로 하고 일내 및 일간 변동계수의 크기를 10%미만으로 하였을 때의 정량한계는 약 0.5 nmol/ml이었으며, 수용액중 약물의 평균 피이크 면적에 대한 추출 시료중 약물의 피이크 면적비로부터 구한 추출회수율(%)은 77.03 ± 1.26이었다. 혈청시료로부터 구한 아세틸-엘-카르니틴의 검량선은 피이크 면적비=0.08003×아세틸-엘-카르니틴 농도(nmol/ml)+0.01238(γ=0.9999, p<0.01)로 1-50 nmol/ml 범위에서 양호한 직선성을 나타냈다. 또한, Table 1에 나타낸 바와 같이 이 농도범위에 있어서 아세틸-엘-카르니틴의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 모두 10.0% 이내로 나타났고, 2, 10 및 20

Table 1. Reproducibility data for the HPLC analysis of acetyl-L-carnitine in serum

Concentration (nmol/ml)	Intra-day C.V.(%) (n=5)	Inter-day C.V.(%) (n=5)
1	8.71	6.64
2	5.33	7.60
5	5.27	5.02
10	5.14	4.28
20	5.50	6.00
50	4.52	3.41

C.V.=100×S.D./mean.

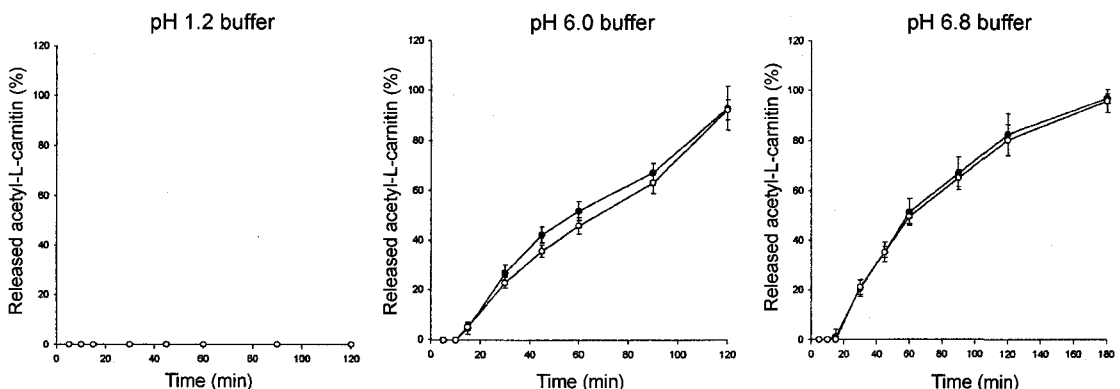


Fig. 1. Dissolution profiles of acetyl-L-carnitine from NicetileTM (●) and L-CartinTM (○) tablets in various dissolution media (n=6, mean±S.D.)

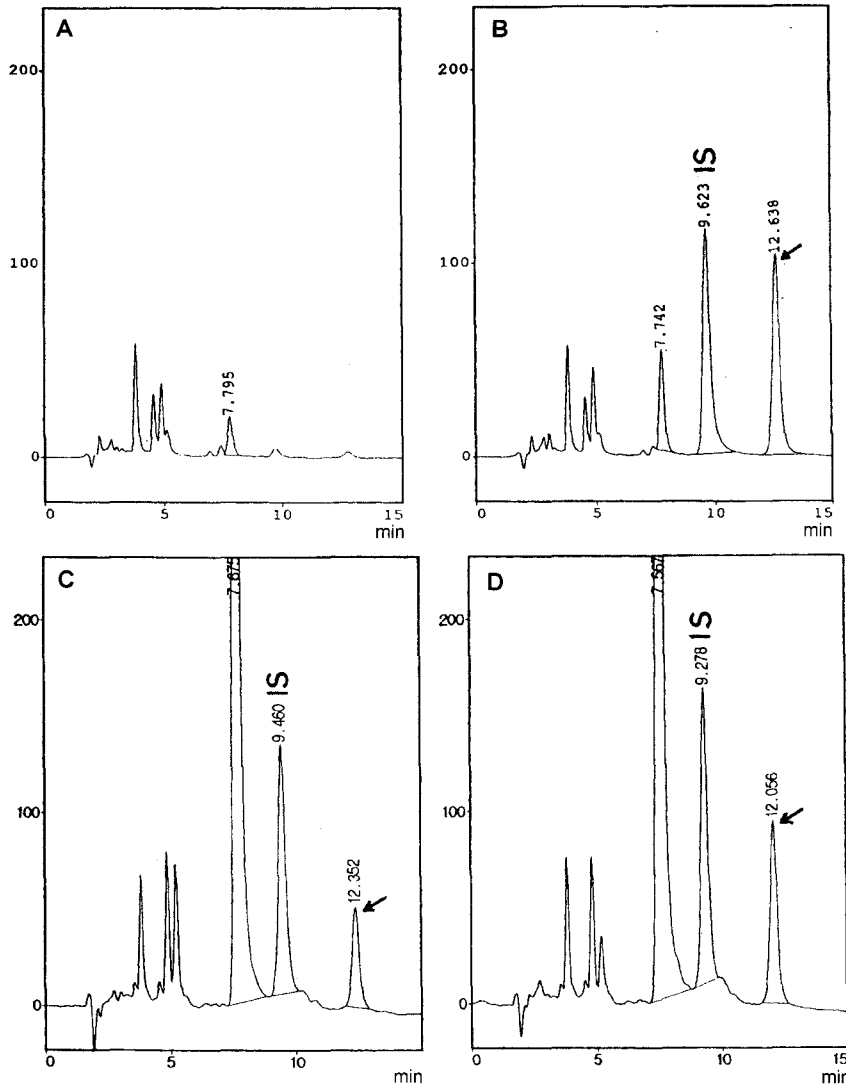


Fig. 2. Chromatograms of (A) dialyzed blank human serum, (B) dialyzed blank human serum spiked with acetyl-L-carnitine (10 nmol/ml) and internal standard (IS, butyrobetaine 7.5 nmol/ml), (C) blank human serum spiked with internal standard (IS, butyrobetaine 7.5 nmol/ml) and (D) serum sample at 120 min after oral administration of 500 mg acetyl-L-carnitine tablet. \blacktriangleleft = acetyl-L-carnitine peak

nmol/ml의 농도에서 10회 반복측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 모두 $\pm 10\%$ 이내로 나타났다. 이로부터 혈청중 아세틸-엘-카르니틴에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈청중 아세틸-엘-카르니틴 농도 추이

시험약 엘카틴 정과 대조약 니세틸 정 각각 1정씩을 지원자 26명에게 경구투여한 후 일정시간마다 채

혈하여 얻은 혈청내 아세틸-엘-카르니틴 농도를 평균하여 Fig. 3에 나타내었다. 또한, 각 피험자에 대해 대조약과 시험약을 투여하여 얻은 혈청중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터(AUC_t , C_{max} 및 T_{max})를 Table 2에 나타내었다. 대조약인 니세틸 정의 평균 AUC_t (nmol·min/ml)는 5311.41 ± 1028.34 , 시험약인 엘카틴 정은 5330.18 ± 1147.23 으로 대조약에 대한 평균치 차가 0.35%이었고, C_{max} (nmol/ml)는 10.67 ± 2.67 과 10.77 ± 2.50 으로 0.93%의 차이를 보였으며 T_{max} (min)는 197.31 ± 58.28 과 201.92 ± 53.37 로

Table 2. Bioavailability parameters for each volunteer obtained after oral administration of Nicitile™ and L-Cartin™ Tablet at the acetyl-L-carnitine dose of 500 mg

Volunteer	Age (year)	Weight (kg)	Nicitile™ Tablet			L-Cartin™ Tablet		
			AUC _t (nmol · min/ml)	C _{max} (nmol/ml)	T _{max} (min)	AUC _t (nmol · min/ml)	C _{max} (nmol/ml)	T _{max} (min)
A-1	20	53.1	6749.00	16.16	240.00	4314.95	9.03	150.00
A-2	22	63.7	5456.85	8.60	360.00	5443.75	10.40	240.00
A-3	20	65.8	4592.05	10.82	240.00	4916.15	8.28	150.00
A-4	20	67.1	7603.85	15.23	150.00	6662.20	12.12	150.00
A-5	27	63.5	4547.25	9.22	240.00	3897.55	8.55	150.00
A-6	26	68.2	5413.10	9.08	240.00	4546.15	7.702	240.00
A-7	26	63.3	3787.50	8.23	150.00	5804.20	13.40	240.00
A-8	20	68.5	4900.65	8.14	180.00	5052.40	9.13	180.00
A-9	21	58.4	5227.75	10.18	180.00	3917.20	8.44	180.00
A-10	27	57.1	4526.05	9.97	150.00	5293.35	13.00	240.00
A-11	25	64.9	7227.90	16.84	120.00	6309.25	10.93	240.00
A-12	25	57.0	5122.20	11.78	180.00	4920.95	13.60	240.00
A-13	25	60.9	3613.85	8.25	120.00	4086.00	8.53	180.00
B-1	26	68.0	4390.90	9.29	120.00	6073.70	11.19	240.00
B-2	25	63.2	5586.40	12.63	240.00	4956.10	8.33	180.00
B-3	27	62.3	4950.70	9.53	120.00	6135.55	10.95	150.00
B-4	27	76.8	4607.05	8.47	180.00	7349.45	13.69	180.00
B-5	27	68.2	6053.65	13.79	240.00	6395.85	10.83	240.00
B-6	26	73.2	5699.30	12.82	180.00	3489.60	10.90	180.00
B-7	24	66.0	4628.10	8.74	240.00	4871.85	10.58	240.00
B-8	21	74.2	4259.25	7.73	120.00	3556.15	5.31	360.00
B-9	26	67.3	4987.75	8.452	240.00	5105.80	13.97	240.00
B-10	24	64.2	4931.80	7.77	240.00	5546.20	9.67	240.00
B-11	21	62.1	6322.45	12.55	180.00	5114.05	11.49	180.00
B-12	21	56.8	6985.95	12.70	240.00	7136.40	13.12	120.00
B-13	37	61.9	5925.45	10.35	240.00	7689.80	16.76	120.00
Mean (S.D.)	24.46 (3.67)	64.45 (5.54)	5311.41 (1028.34)	10.67 (2.67)	197.31 (58.28)	5330.18 (1147.23)	10.77 (2.50)	201.92 (53.37)

2.34%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 $\pm 20\%$ 이내 이어야 한다는 생물학적 동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였으므로 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 이하 분산분석을 행하였다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC_t, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 분산분석 결과를 Table 3에 나타내었다.

먼저 유의수준 α 가 0.05일 때 AUC_t, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 군간 순서효과 검정에 대한 F비(F_g)가 F 분석표의 한계값인 F(1,24)=4.260보다 모두 작게 나타나 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있

었다.

AUC_t 및 C_{max}에 대하여 유의수준 $\alpha=0.05$, 자유도(v)=24, 검출해야 할 평균치의 차이를 0.2로 고정시켜 산출한 비심도(noncentrality, λ)는 각각 4.42 및 3.17이었으며 이를 가지고 유의수준 $\alpha=0.05$, 최소검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 검정에서의 검출력과 자유도($v=24$)와의 관계를 나타낸 비심분포표로부터 계산한 결과 각각 98.72% 및 85.48%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 각각 13.21% 및 18.42%로 나타나, 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다. T_{max}는 유의수준 $\alpha=0.05$

에서 대조약에 대한 비심도가 2.32, 최소검출차가 25.21%이고 검출력(1-β)도 0.8 이하이지만 이는 아세틸-엘-카르니틴 자체가 내인성 물질로서 운동이나 식이 등에 따라 변동성이 크기 때문인 것으로 사료되었다. 또한, AUC_t, C_{max} 및 T_{max}에 대한 90% 신뢰한계(δ, %)는 -7.38 ≤ δ ≤ 8.09, -9.86 ≤ δ ≤ 11.72 및 -12.43 ≤ δ ≤ 17.11로 나타났다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 시험약인 “엘카틴 정”은 대조약인 “니세틸 정”에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

결론

전일제약 주식회사가 발매하고자 하는 아세틸-엘-카르니틴 제제인 “엘카틴 정”이 기존의 아세틸-엘-카르

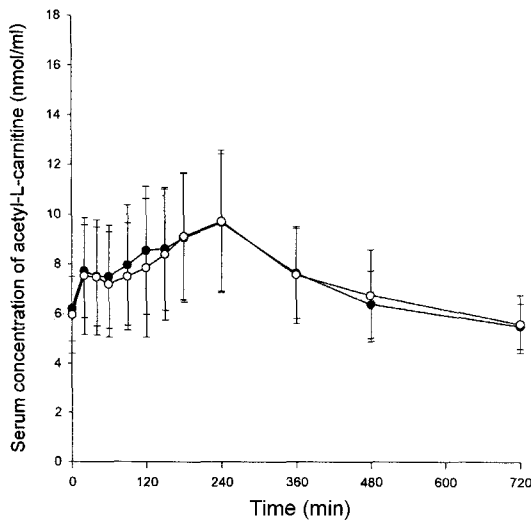


Fig. 3. Mean (±S.D., n=26) serum concentration-time curves of acetyl-L-carnitine following oral administration of Nicetile™ (●) and L-Cartin™ (○) tablets at the acetyl-L-carnitine dose of 500 mg

니틴 제제인 “니세틸 정”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 유의성 있는 차이가 나지 않는다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성 시험기준⁴에 따라 건강한 성인 남자(20~37세) 26명을 대상으로 2기 2제 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 아세틸-엘-카르니틴의 혈청중 AUC_t, C_{max} 및 T_{max}에 대하여 분산분석을 행하였을 뿐만 아니라 대한약전 VII 용출시험법중 제 2법(패들법)에 따라 비교용출시험을 행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조약인 니세틸 정과 시험약인 엘카틴 정에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 용출시험한 결과 pH 1.2에서는 전혀 용출되지 않았으며, pH 6.0에서는 120분, pH 6.8에서는 180분 이내에 대조약과 시험약 모두 85%이상의 용출률을 나타내었고, 그 용출양상도 유사하였다.

2. 대조약인 니세틸 정 의 평균 AUC_t (nmol·min/ml)는 5311.41±1028.34, 시험약인 엘카틴 정은 5330.18±1147.23으로 대조약에 대한 평균치 차가 0.35%이었고, C_{max} (nmol/ml)는 10.67±2.67과 10.77±2.50으로 0.93%의 차이를 보였으며 T_{max} (min)는 197.31±58.28과 201.92±53.37로 2.34%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 ±20% 이내 이어야 한다는 생물학적 동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였다.

3. 니세틸 정에 대한 엘카틴 정 의 분산분석 결과, 유의수준 α=0.05에서 AUC_t 및 C_{max}에 대한 검력(1-β)은 98.72% 및 85.48%, 최소검출차(Δ)는 AUC_t 및 C_{max}는 각각 13.21%, 18.42%로 나타나 각각 80% 이상과 20% 이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다. T_{max}는 유의수준 α=0.05에서 대조약에 대한 최소검출차가 25.21%이고 검출력(1-β)도 0.8 이하이지만 이는 아세틸-엘-카르니틴 자체가 내인성 물질로서 운동이나 식이 등에 따라 변동성이 크기 때문인 것으로 사료되었다. 또한, AUC_t, C_{max} 및 T_{max}에 대한 90% 신뢰한계(δ, %)는 각각 -7.38% ≤ δ ≤ 8.09%, -9.86% ≤ δ ≤ 11.72% 및 -12.43% ≤ δ ≤ 17.11로 나타났다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 시험약인 “엘카틴

Table 3. Statistical results of bioequivalence evaluation between two acetyl-L-carnitine tablets

	Parameters		
	AUC _t	C _{max}	T _{max}
Difference	0.35%	0.93%	2.34%
F value ^a	0.927	0.090	0.102
Noncentrality (λ) ^b	4.42	3.17	2.32
Power (1-β) ^c	98.72%	85.48%	60.35%
Detectable difference (Δ) ^d	13.21%	18.42%	25.21%
Confidence interval (δ, %) ^e	-7.38 ≤ δ ≤ 8.09	-9.86 ≤ δ ≤ 11.72	-12.43 ≤ δ ≤ 17.11

^aα=0.05, F(1,24)=4.260, ^bα=0.05, v=24, δ=Mean × 0.2, ^cα=0.05, ^dα=0.05, 1-β=0.8, ^eα=0.05.

정”은 대조약인 “니세틸 정”에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 건일제약 주식회사와 2001년도 두뇌한국 21 사업 핵심분야의 지원을 받아 전남대학교 약품개발 연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Parnetti L. Clinical pharmacokinetics of drugs for Alzheimer's disease. Clin Pharmacokinet 1995; 29(2): 110-129
- 2) Parnetti L, Gaiti A, Mecocci P, et al. Pharmacokinetics of IV and oral acetyl-L-carnitine in a multiple dose regimen in patients with senile dementia of Alzheimer type. Eur J Pharmacol 1992; 42: 89-93
- 3) Marzo A, Martelli EA, Urso R, et al. Metabolism and disposition of intravenously administered acetyl-L-carnitine in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 1989; 37: 59-63
- 4) 식품의약품안전청 고시 제 1998-86호, 생물학적 동등성 시험기준 (1998. 8. 26)
- 5) Longo A, Bruno G, Curti S, et al. Determination of L-carnitine, acetyl-L-carnitine and propionyl-L-carnitine in human plasma by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 1-aminoanthracene. J Chromatogr B 1996; 686: 129-139
- 6) 이영주, 최정호, 송세흠, 서철환, 김동섭, 박인숙, 최기환, 나한광, 정석재, 이민화, 심창구, K-BEtest, 새로운 생물학적 동등성 시험 통계처리 프로그램의 개발, 약제학회지. 1998; 8: 223-229