

액체크로마토그래프법에 의한 사람 혈장 중 테라조신의 정량 및 테라토닌® 정의 생물학적 동등성

조은숙 · 강성하¹ · 전인구[†]

동덕여자대학교 약학대학, ¹한림대학교의료원 춘천성심병원
(2002년 3월 9일 접수 · 2002년 4월 15일 승인)

Determination of Terazosin in Human Plasma by Liquid Chromatography and Bioequivalence Study of Teratonin® Tablets

Eun Sook Cho, Sung Ha Kang¹ and In Koo Chun[†]

College of Pharmacy and Pharmaceutical Research Center, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea,
¹Department of Clinical Pathology, Chunchon Sacred Heart Hospital, Hallym University, Chunchon 200-060, Korea
(Received March 9, 2002 · Accepted April 15, 2002)

ABSTRACT—A rapid, selective and reproducible high-performance liquid chromatographic method has been developed for the determination of terazosin in human plasma. Terazosin plus the internal standard, prazosin hydrochloride, were extracted from alkalinized plasma with *tert*-butylmethyl ether, back-extracted into 0.05% phosphoric acid. Fifty μ l-portions of extract were injected onto a octadecylsilane column and eluted with a mixture of acetonitrile, water and triethylamine (30 : 70 : 0.1 v/v, adjusted to pH 5.0 with dilute phosphoric acid) at a flow rate of 1.0 ml/min. The fluorescence intensity of column eluents was monitored at excitation wavelength of 250 nm and emission wavelength of 370 nm. No interference peaks were observed. The practical limit of quantitation was 5 ng/ml for terazosin. The average intraday and interday coefficients of variation were 4.15 and 3.54%, respectively. Also intraday and interday precisions over the range 5~60 ng/ml were 0.49~2.92 and 0.38~5.12%, respectively. The bioequivalence of two terazosin tablets, the Hytrine® (Il Yang Pharmaceutical Co., Ltd.) and the Teratonin® (Sam-A Pharmaceutical Co., Ltd.), was evaluated according to the guideline of Korea Food and Drug Administration (KFDA). Sixteen healthy male volunteers (24.6 \pm 2.0 years old) were divided into two groups and a randomized 2 \times 2 cross-over study was employed. After one tablet containing 2 mg of terazosin was orally administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentration of terazosin in plasma was determined with a HPLC method using spectrofluorometric detector. AUC was calculated by the linear trapezoidal method. C_{max} and T_{max} were compiled from the plasma drug concentration-time data. Analysis of variance (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 the two preparations were 0.21%, 5.53% and 8.82%, respectively. The powers (1- β) for AUC_t, C_{max} and T_{max} were >99%, 97.49%, and 33.26%, respectively. Minimum detectable differences (Δ , %) at $\alpha=0.1$ and 1- $\beta=0.8$ and the 90% confidence intervals were all less than $\pm 20\%$ except for T_{max}. AUC_t and C_{max} met the criteria of KFDA for bioequivalence, indicating that Teratonin® tablets are bioequivalent to Hytrine® tablets.

Keywords—Bioequivalence, Terazosin tablets, Hytrine®, Teratonin®, HPLC

테라조신(terazosin)은 α_1 수용체의 선택적 차단제로서 동맥 및 정맥 평활근을 이완시켜 말초혈관 저항을 감소시키고 동맥혈압을 낮추며, 방광경부와 전립선에서 평활근의 긴장도를 감소시킴으로써 고혈압^{1,4)}과 양성 전립선 비대증^{5,7)}을 치료하는 데에 쓰이는 약물이다. 이 약물은 경구투여시 신속하고 완전히 흡수되며, 생체이용률은 약 90%이고 혈장단백결합률은 약 90~94%이다. 경구투여시 약 1~2시간 후에 최고

혈중농도에 도달하며, 반감기가 12시간인 것으로 보고되어 있다.^{3,4,8)} 음식물과 함께 투여하면 전체 흡수량에는 별다른 변화가 없으나,⁹⁾ 흡수를 지연시켜 최고혈중농도를 감소시킨다.⁸⁾ 또한 연령, 고혈압이나 신부전증 환자에서도 테라조신의 약물동태에 유의성 있는 변화가 없으므로 투여계획의 수정 없이 안전하게 투여될 수 있다고 제시되었다.^{3,10,11)} 국내에서는 일양약품에 의해 일양하이트린 정(테라조신 1 및 2 mg)이라는 상품명으로 최초로 발매되었다.

이 연구에서는 사람 혈장 중 테라조신의 분석방법을 역추출법에 의해 확립하고, 테라조신 제제인 일양하이트린 정과

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)940-4523, E-mail : ikchun@dongduk.ac.kr

성분, 함량 및 제형이 동일한 제제로서 삼아약품주식회사에서 개발한 테라토닌 정이 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하고자 하였다.

실험방법

재료 및 시약

시험약은 삼아약품주식회사에서 자가 제조하여 식품의약품안전청의 의약품제조품목허가증 제 319호의 기준 및 시험방법에 의해 적합 판정을 받은 테라토닌 정(제조번호: OP6, 제조일자 1999. 12. 28.)을 사용하였다. 대조약은 일양약품주식회사에서 시판하고 있는 일양하이트린정(제조번호 U004, 제조일자 1999. 03. 05)을 사용하였다. 두 제제 모두 염산테라조신을 2.374 mg(테라조신으로서 2.0 mg) 함유하는 정제이었다. 염산테라조신, 염산프라조신 및 *tert*-부틸메틸에틸은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)의 것을 구입하여 사용하였으며, HPLC용 아세토니트릴, 메탄올 및 물은 Fisher Scientific사(Springfield, NJ, USA)의 것을 구입하여 사용하였으며, 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 그대로 사용하였다.

기기 및 장치

펌프(Perkin-Elmer Series 410, USA), 형광검출기(Shimadzu RF-535, Japan), 역상 μ Bondapak C₁₈ 칼럼(10 μ m, 3.9×300 mm, Waters, USA), 데이터처리장치(Varian model 4290 integrator, USA), μ Bondapak[®] C₁₈ PreColumn insert가 내장된 Guard-Pak[®] PreColumn Module(Waters, USA)로 구성된 HPLC 장치를 사용하였다. 또 원심분리기(한일과학산업사, MF-300, Korea) 및 vortex mixer(Fisher Vortex-Genie 2* mixer, USA) 등을 사용하였다.

시험계획

이 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻어 시행되었고 생물학적동등성심사위원회의 심사와 승인을 얻어 시험계획서에 따라 진행되었다.

피험자 선정

피험자는 지원자 모집공고를 통하여 과거에 소화기계, 간장, 신장 및 혈액질환의 병력이 없고 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 건강한 남성 지원자를 강원대학교 학부 및 대학원생 중에서 참가지원신청서에 의해 38명을 모집하였다. 지원자들에 대한 건강검진 및 판정은 한림대학교의료원 춘천성심병원에서 전문의의 책임하에 요 및 혈액학적 검사

에 의해 간장 및 신장 질환여부를 주로 검사하였다. 건강 진단 결과 지원자 38명 중 정상값을 벗어나는 19인과 참가포기자 3명을 제외한 건강인으로 판정된 자 16인을 피험자로 선정하였다. 평균 나이는 24.6±2.0세(19~28세), 평균체중은 68.6±7.5 kg이었다. 이들에게는 이 시험에 대한 목적, 취지, 내용 및 방법 등을 포함하는 설명회와 질의 응답을 거쳐 서면 참가동의서를 받았다.

피험자 관리

모든 피험자에게는 시험전 10일간, 시험기간 중 및 휴약기간 중에는 음주나 약제의 복용을 금하였다. 시험 전날 오후 7시 저녁식사를 동일하게 하고, 충분한 수면을 취하도록 하였으며 이때, 지정된 음료수(물 약 200 ml) 이외에는 커피, 콜라 등 일체의 다른 음료를 마시지 못하도록 하였다. 또한 시험 당일 정각 08시에 투약한 후 4시간까지는 절식하고 일체의 음료를 마시지 못하게 하였다. 24시간째 채혈후 마지막 채혈시점인 36시간째까지 병원내 지정된 장소에서 시험책임자의 지시에 따라 휴식을 취하게 하였다. 매식사는 미리 정하여둔 식단에 따라 동일하게 제공하였으며 제2기에서도 동일하게 관리하였다. 시험 전반에 걸쳐 채혈의 누락이나 피험자의 부작용 호소는 없었다.

약물투약 및 혈액 채취

약물 투약은 2시기 2제제의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 16명의 피험자를 군당 8인씩 무작위로 A, B 2군으로 나누고 제1기 A군에는 대조약인 하이트린 정을, B군에는 시험약인 테라토닌 정을 투약하였고 제2기에서는 그 반대로 투약하였다. 투여량은 1정(테라조신 2 mg)으로 하였다. 식사에 의한 영향을 배제하기 위하여 별도 관리하에 투약전 12시간 이상 절식한 상태에서 경구투여하였다. 또한, 테라조신을 경구 투여하였을 때 최고혈장농도에 도달하는 시간이 약 1~2시간이며 반감기는 약 12시간으로 보고되어 있어서^{2,9)} 생물학적 동등성시험 기준에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 1주일로 하였다.

피험자들 모두에게 Boin-Cath 20G(I.V. catheter placement unit, 1.23 mm×3.2 cm, Boin Media Co., Ltd., Korea) 정맥용 카테터를 상완 정맥부위에 삽입하고 Nipro 3-way stopcock(Nipro Medical Ind. Ltd., Japan)를 장착하고 공혈액을 취한 다음 테라조신으로서 2.0 mg에 해당하는 대조약 또는 시험약 1정씩을 물 200 ml로 경구투여하였다. 그 후 피험자들로부터 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 24 및 36 시간째(총 11회)에 매회 혈액 10 ml씩 채혈하였다. 매회 주사기에 채취한 혈액은 Green-top Vacutainer에 옮기고 마개

를 한 다음 즉시 냉장고에서 20분간 정치하여 혈구와 혈장이 분리되도록 하고 곧 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하였다. 그 후 혈청분리관을 사용하여 혈장을 채취하고 분석시까지 -30°C에서 냉동보존하였다. 채혈장소는 일반인들의 출입을 제한하였고, 채혈부위는 소독용 알코올로 소독하며, 채혈기구는 완전히 멸균된 1회용 기구를 사용하였다.

혈장중 테라조신의 정량

혈장중 테라조신의 농도를 측정하기 위하여 이미 보고된 테라조신의 HPLC 분석법¹²⁻¹⁷⁾을 수정하여 이동상으로는 아세트니트릴·물·트리에틸아민 혼합액(30 : 70 : 0.1, v/v, 인산 수용액으로 pH를 5.0으로 조절)을, 유속은 1.2 ml/min, 주입량은 50 μ l로 하였으며, 형광검출기(여기파장 250 nm, 형광파장 370 nm)을 이용하여 정량하였으며 다음과 같이 검량선을 작성하였다.

검량선의 작성-염산테라조신 표준품을 메탄올에 녹여 원액(1,000 μ g/ml)을 만들고 이를 희석하여 공혈장 1 ml에 염산테라조신의 농도가 2, 5, 10, 20, 40, 60 및 100 ng이 되도록 100 μ l씩을 넣은 다음 내부표준물질로 염산프라조신 수용액(500 ng/ml) 100 μ l 및 2 N 수산화나트륨 액 200 μ l씩을 넣고 3초간 vortexing하여 섞었다. 다음에 tert-부틸메틸에틸 7.0 ml를 넣어 7분간 vortexing하여 추출하고 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 유층 5.0 ml를 원심분리관에 옮긴 다음 0.05% 인산 200 μ l를 넣고 3분간 vortexing하여 역추출하였다. 이것을 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 수층을 취하여 그 50 μ l를 HPLC에 주입하였다. 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크면적에 대한 테라조신의 피크면적의 비를 구하여 종축에 플롯하고, 테라조신으로서의 농도를 횡축에 플롯하여 검량선을 작성하였다. 또한 하루에 실험을 3번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속 3일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

혈장검체의 처리-피험자로부터 채취하여 얻은 동결혈장을 실온에 방치하여 녹이고 1분간 vortexing한 다음 이 혈장 1.0 ml를 취하여 시험관에 옮기고 내부표준물질로서 염산프라조신 수용액(500 ng/ml) 100 μ l 및 2 N 수산화나트륨액 200 μ l를 넣어 3초간 vortexing하여 섞었다. 이하 검량선 작성에서와 같은 조작을 하여 얻은 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크면적에 대한 테라조신의 피크면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 테라조신의 농도를 구하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석 및 평가

제1기 및 제2기에 있어서 피험자별로 얻은 대조약 및 시

험약의 시간대별 혈장 중 농도 데이터를 가지고 국립독성연구소로부터 제공받은 K-BEtest® 통계 프로그램¹⁸⁾을 활용하여 36시간까지의 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC), 최고혈장중농도(C_{max}) 및 최고혈장중농도 도달시간(T_{max})을 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 평균±표준편차로 나타내었다. 식품의약품안전청 고시 제1998-86호(1998. 8. 26) 생물학적동등성시험기준에 의하여 두 제제의 생체이용률 파라미터들을 비교함으로써 두 제제의 동등성을 판정하였다. 각 파라미터에 대해 분산분석(ANOVA)을 행하여 교차시험이 이루어졌는지는 확인하고 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이(20% 이내), 검출력 또는 최소검출차($\alpha=0.05$ 또는 0.1에서 $1-\beta \geq 0.8$ 이거나 $1-\beta=0.8$ 에서 최소검출차가 20% 이하) 및 90% 신뢰한계 등을 구하여 종합적으로 고찰함으로써 두 제제의 동등성 여부를 판정하였다.

다른 한편으로 식품의약품안전청 고시 제2001-57호(2001. 9. 5)에 따라 비교평가항목치를 로그변환하여 EquivTest™ 프로그램(<http://www.statsolusa.com>)으로 통계처리하여 판정하였다.

결과 및 고찰

혈장 중 테라조신의 분석조건 검토

형광검출기를 이용하여 여기파장(Ex)과 형광파장(Em)을 달리하여 테라조신 및 프라조신을 정량한 여러 보고들을 살펴보면, Lee 등¹⁷⁾은 테라조신을 Ex(309 nm)-Em(381 nm)에서 검출하였으나, Patterson¹³⁾과 Bhamra 등¹⁵⁾은 Ex(250 nm)-Em(370 nm)을 사용하였고, Yee 등¹²⁾은 프라조신의 정량에 Ex(253.1 nm)-Em(390 nm)을 사용한 것으로 보고하였다.

테라조신의 검출감도를 향상시키고자 보고된 여러 Ex 및 Em을 선정하여 염산테라조신액(40 ng/ml) 0.1 ml와 염산프라조신액(1 μ g/ml) 0.1 ml를 혼합한 액 50 μ l를 HPLC에 주입하여 얻은 각각의 피크면적 및 피크면적비를 비교 검토하였다. 그 결과 프라조신에 대한 테라조신의 피크 면적비는 Ex(250 nm)-Em(370 nm)에서 0.0678로 최대인 것으로 나타났고, 프라조신의 피크면적은 Ex(250 nm)-Em(370 nm)과 Ex(253.1 nm)-Em(390 nm)에서 큰 차이가 없었다. 특히 Ex(250 nm)-Em(370 nm)에서 테라조신 피크 및 프라조신 피크의 면적은 Ex(309 nm)-Em(380 nm)보다 각각 14.9 및 9.4배 더 크게 나타났으므로 Ex(250 nm)-Em(370 nm)의 파장을 사용하여 테라조신을 검출하였다.

역추출용매로 0.05% 인산의 액량을 100 μ l로 할 때에는 50 μ l를 주입하고 나면 재주입의 필요성이 있을 때 남은 액에서 다시 50 μ l를 취하기가 어려우므로 200 μ l를 사용하였

다. 이때 테라조신 및 프라조신의 최종 농도가 2배 희석되지만 감도가 높은 형광과장으로 바꾸어줌으로써 피크면적이 약 10배 정도 커졌으므로 검출피크의 높이와 면적은 충분히 크게 나타났다.

염산테라조신의 최종농도가 2, 5, 10, 20, 40, 60, 100 ng/ml씩 되게 공혈장 1.0 ml에 넣은 다음 검량선을 작성하는 방법과 같은 방법으로 추출, 역추출을 하되, 추출용매인 *tert*-부틸메틸에틸 7 ml를 넣어 추출시간을 7분과 10분으로 달리 하였을 때 추출시간에 따른 회수율은 각각 95.5 ± 4.0 및 $93.4 \pm 3.5\%$ 로 유의성 있는 차이가 없었다. 따라서 검체의 처리량과 테라조신의 보존 안정성을 고려할 때 7분이 적절한 것으로 판단되었다. 또 염산테라조신 원액은 안정성을 고려하여 물 대신 메탄올에 녹여 보존하였으며 사용시에는 물로 희석하여 사용하였다. 이러한 용제의 선정은 Patterson(1984)의 보고와 같다.

위의 결과를 종합해 볼 때 염산테라조신은 메탄올에 녹여 원액을 만들어 사용하고, 추출 시 *tert*-부틸메틸에틸 7 ml로 7분간 추출한 후, 0.05% 인산 200 μ l로 3분간 역추출하여 여기과장 250 nm, 형광과장 370 nm에서 검출하는 것이 바람직하다고 사료되었다.

분석법 발리데이션

형광검출에 의한 HPLC법으로 혈장 중 테라조신을 분석한 방법에 대해 일내 및 일간 데이터를 가지고 평균값에 대해 각 데이터가 어느 정도 집적하고 있는지를 검증한 결과 염산테라조신으로서 2~100 ng/ml의 범위에서 평균 일내 및 일간 평균변동계수는 각각 4.15 및 3.54%로 나타났다. 이로 볼 때 정밀성과 재현성이 높음을 알 수 있다.

혈장에 염산테라조신을 ml당 5~60 ng/ml의 농도로 spike 하고 일내 및 일간 각각 3회 측정하여 직선성을 검토한 결과 테라조신에 대한 평균 피크면적비를 플롯트하여 얻은 직선은 각각 $y=0.01124x-0.008349(r=0.9998)$ 및 $y=0.01177x-0.01341(r=0.9996)$ 으로 양호한 직선성을 보여 주었다. 또 테라조신으로서의 이론 농도에 대한 실제검출농도를 위의 검량선으로부터 각각 구하여 이론치에 얼마나 접근하는지를 검토한 결과 이 농도 범위에서 일내 및 일간 정확성은 각각 0.49~2.92 및 0.38~5.12%로 매우 높았다.

혈장 중 염산테라조신의 농도가 2 ng/ml일 때에도 양호한 검출성을 보여 주었고 이의 일내 및 일간 재현성(변동계수)이 각각 6.7 및 4.3%를 보여 주어 2 ng/ml 이하까지 검출이 가능하다. 실제 테라조신 정 1정(2 mg)을 경구투여한 경우 36시간까지 혈장 중에서 최소 약 4 ng/ml에서 최대 약 35 ng/ml의 농도로 검출됨을 감안하고 위의 정확도와 정밀성

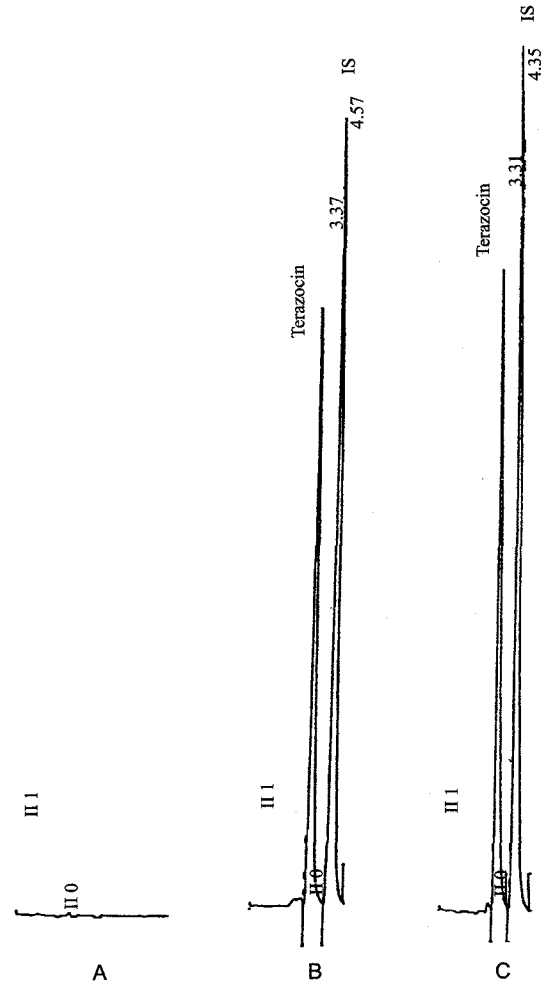


Figure 1—Typical chromatograms resulting from the injection of plasma extracts into the chromatographic system for drug-free plasma (A), plasma spiked with 40 ng of terazosin HCl and 50 ng of the internal standard (IS) (prazosin HCl) (B), and plasma obtained from a volunteer 2 hr after oral administration of 2 mg terazosin, spiked with 50 ng of IS (C).

을 고려할 때 테라조신 제제의 생물학적동등성 시험의 분석 방법으로 적합하다고 사료된다.

이 연구에서 확립한 분석방법에 따라 생물학적동등성시험의 혈장 검체를 처리하여 HPLC로 분석시 테라조신과 내부 표준물질인 프라조신은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 각각 유지시간 약 3.4분 및 4.6분 근처에서 양호하게 분리, 검출되었고 혈장 성분 등 내인성 물질의 피크는 전혀 검출되지 않았다. 염산테라조신은 흡수된 후 체내 pH인 7.4에서는 유리 염기로 존재하므로, 테라조신으로서의 환산농도를 검량선 작성시 x축의 농도로 사용하였으며 얻어진 검량선은 $y=0.0212x-0.0362(r=0.9995)$ 로 양호한 직선성을 나타내었다. 따라서 혈장 중 테라조신에 대한 HPLC 분석법은 양호한 혈중약물분석 조건이 확립되었음을 알 수 있었다.

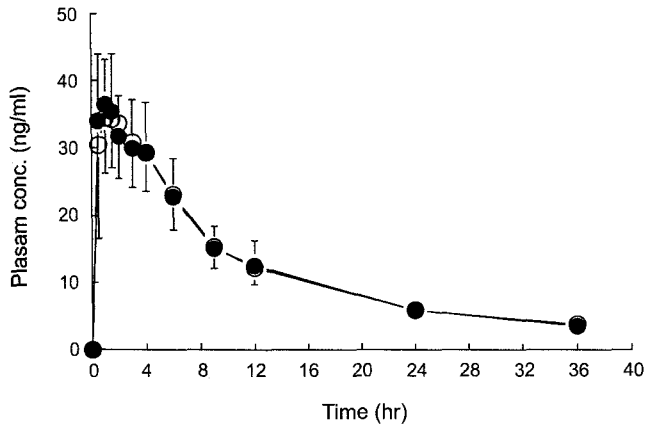


Figure 2—Plasma concentration-time curves of terazosin following oral administration of Il Yang Hytrine® (○) and Teratonin® (●) tablets at the terazosin dose of 2 mg. Data were expressed as mean \pm S.D. (n=16).

혈장중 테라조신 농도 추이

시험약과 대조약으로 테라토닌 정과 일양하이트린 정을 각각 1 정씩을 A군과 B군의 피험자에게 투여한 후 0.5시간 부터 36시간까지 총 11시점에서 얻은 경시 혈장 중 테라조 신 평균 농도 추이를 Fig. 2에 나타내었다. 또한, 각 피험자 별로 얻은 대조약 및 시험약의 시간대별 혈장 중 농도 데이 타로부터 산출한 약물속도론적 파라미터(AUC_t, C_{max}, T_{max}) 를 Table I에 나타내었다. 대조약 및 시험약의 혈장중 농도- 시간 곡선하 면적(AUC)는 443.66 \pm 78.60 및 444.61 \pm 99.74 (ng·hr/ml)로 대조약에 비해 그 차가 0.21%이었고, 최고혈 중농도 도달시간(T_{max})는 각각 1.063 \pm 0.629 및 0.969 \pm 0.427 (hr)로 8.82%의 차이를 나타냈으며, 이때의 최고 혈중 농도 (C_{max})는 각각 38.16 \pm 9.07, 40.27 \pm 8.18(ng/ml)로 5.53%의 차이를 나타내어 그 차가 모두 20% 이내에 들었다.

Table I—Physical Data and Bioavailability Parameters of Terazosin in the Individual Healthy Volunteer

Volunteer	Age (yr)	Body weight (kg)	Il Yang Hytrine® tablets			Teratonin® tablets		
			AUC _t (ng·hr/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (hr)
A-1	25	62	613.33	51.92	2.0	731.61	60.23	1.5
A-2	26	62	498.38	55.25	0.5	515.85	45.12	1.5
A-3	23	75	525.14	45.53	2.0	450.33	30.54	1.5
A-4	19	70	458.49	34.06	0.5	480.41	38.10	1.5
A-5	23	65	406.30	34.94	1.0	438.34	33.55	1.0
A-6	27	66	372.06	31.00	1.0	360.56	34.04	1.5
A-7	24	75	464.01	54.71	0.5	428.35	45.48	0.5
A-8	24	65	409.74	32.55	1.0	396.47	35.45	1.0
B-1	24	85	395.29	28.99	2.0	415.39	34.59	1.0
B-2	25	62	339.54	27.80	0.5	343.99	42.71	0.5
B-3	24	57	488.48	34.24	0.5	409.57	34.25	1.0
B-4	25	65	343.69	38.86	1.0	340.91	35.87	0.5
B-5	25	68	399.31	31.50	2.0	396.22	47.62	0.5
B-6	28	66	525.61	35.04	1.5	563.38	49.50	0.5
B-7	26	75	353.17	32.04	0.5	349.44	31.26	1.0
B-8	25	80	506.05	42.12	0.5	492.82	46.01	0.5
Mean (S.D.)	24.6 (2.0)	68.6 (7.5)	443.66 (78.60)	38.16 (9.07)	1.063 (0.629)	444.61 (99.74)	40.27 (8.18)	0.97 (0.43)

Reference drug: Il-Yang Hytrine® tablets. Test drug: Teratonin® tablets

Table II—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between Two Terazosin Tablets

Statistical parameter	Bioavailability parameters		
	AUC _t	C _{max}	T _{max}
Difference	0.21%	5.53%	8.82%
F value ^a	1.7053	1.4449	2.0923
Noncentrality (λ) ^b	7.57855	3.81006	1.26273
Power (1- β) ^c	> 99%	97.49%	33.26
Detectable difference (Δ , %) ^d	6.904	13.732	41.434
Confidence interval (δ , %) ^e	-4.43 \leq δ \leq 4.86	-3.71 \leq δ \leq 14.78	-19.07 \leq δ \leq 36.72

^a $\alpha = 0.1$, F(1,14) = 3.1020, ^b $\alpha = 0.1$, v = 14, $\delta = \text{mean} \times 0.2$, ^c $\alpha = 0.1$, ^d $\alpha = 0.1$, 1- $\beta = 0.8$, ^e $\alpha = 0.1$

비교평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 분산분석 결과를 Table II에 나타내었다. 먼저 AUC 에 대한 결과를 보면 유의수준(α)=0.1일 때 구간 순서 효과 검정에 대한 F 비(F_0)가 F 분석표의 한계값인 $F(1, 14)=3.1020$ 보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 제제의 AUC 차이가 0.21%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20% 이내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성시험 기준의 전제 조건을 만족하였다. 유의수준(α)=0.1, 검출력=0.8의 조건에서 최소 검출차는 6.90%이었고 검출력은 90% 이상으로 나타나, 각각 20% 이하와 80% 이상이어야 한다고 하는 생물학적 동등성시험 기준을 만족하였다. 그외 AUC 에 대한 90% 신뢰한계(δ , %)는 $-4.43 \leq \delta \leq 4.86$ 로 나타났다. 따라서 두 제제는 AUC 에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

C_{max} 에 대해서도 유의수준(α)=0.1일 때 구간 순서 효과 검정에 대한 F 비(F_0)가 F 분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 대조약에 대한 두 제제의 C_{max} 차이가 5.53%로 생물학적 동등성시험 기준의 전제 조건을 만족하였으며, 최소검출차는 13.73%, 검출력은 90% 이상으로 나타나, 각각 20% 이하와 80% 이상이어야 한다고 하는 생물학적 동등성시험 기준을 만족하였다. 또한 C_{max} 에 대한 90% 신뢰한계(δ , %)는 $-3.71 \leq \delta \leq 14.78$ 로 나타났다. 따라서 두 제제는 C_{max} 에 있어서도 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

T_{max} 에 대해서도 유의수준(α)=0.1일 때 구간 순서 효과 검정에 대한 F 비(F_0)가 F 분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 대조약에 대한 두 제제의 T_{max} 차이가 8.82%로 생물학적 동등성 시험 기준의 전제 조건을 만족하였으나, 최소 검출차는 41.43%, 검출력은 60% 이하이었고 T_{max} 에 대한 90% 신뢰한계(δ , %)는 $-19.07 \leq \delta \leq 36.72$ 로 나타나 생물학적 동등성 시험 기준을 다소 벗어났다. 그러나 이 제제는 전립선 비대증과 고혈압 치료에 쓰이는 의약품으로 장기 연용을 요하며,¹⁹⁾ T_{max} 는 체혈간격의 설정, 위내용배출속도(음식물)에 의해 영향을 크게 받는다는 점,⁸⁾ 또 일본²⁰⁾은 물론 우리나라에서도 생물학적 동등성 시험기준 제 19조 제1항에서도 신속한 효과를 기대하지 않는 약물에 대해서는 T_{max} 를 참고과파미터로 간주한다는 점 등을 고려할 때 두 제제의 동등성은 생물학적 동등성 시험의 평가지표인 AUC 와 C_{max} 의 두 항목으로 평가함이 타당하다고 생각된다. 이상을 종합하여 보면 두 제제는 생물학적으로 동등하였다.

로그변환한 비교평가항목치에 대한 통계학적 고찰

식품의약품안전청 고시 제 2001-57호(2001. 9. 5) 제19조에 의하면 대조약과 시험약의 비교평가항목치를 로그(자연대수) 변환하여 통계처리하였을 때 로그 변환한 평균치의 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내이어야 한다고 규정되어 있다. 로그 변환한 평균치 차의 AUC_t 와 C_{max} 에 대한 90% 신뢰한계는 각각 $-0.0429 \sim -0.0353$ 및 $-0.0281 \sim -0.01482$ 로 나타나 모두 기준치인 $-0.2231 \sim -0.2231$ 이내에 들어 개정된 생물학적동등성 시험기준도 만족시켰다.

결 론

삼아제약주식회사가 개발하고자 하는 테라조신 제제인 테라토닌 정을 시험약으로 하고 일양약품주식회사의 일양하이 트린 정을 대조약으로 하여 식품의약품안전청이 고시한 생물학적 동등성시험기준에 따라 건강한 성인 남자 16명을 대상으로 2×2 라틴 방격법에 따라 1정(테라조신으로서 2mg)씩 경구투여하고 36시간에 걸쳐 총 11시점 채혈한 혈액에 대해 HPLC 법으로 혈장중 약물농도를 측정하였다. 그 결과를 가지고 통계분석을 한 결과 시험약인 테라토닌 정은 대조약인 하이트린 정에 대하여 생물학적 동등성 시험의 판정 기준인 2 항목(AUC_t 및 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하였다.

감사의 말씀

이 연구는 삼아약품주식회사의 지원을 받아 동덕여자대학교 종합약학연구소에서 수행되었으며 K-BEtest[®] 컴퓨터 프로그램을 제공해 준 국립독성연구소와 로그변환치에 의한 통계처리에 도움을 주신 전남대학교 이용복 교수에게 감사드린다.

문 헌

- 1) J.L. Pool, E.G. Nelson, A.A. Taylor and J.R. Mitchell, Terazosin (Hytrin): cumulative experience of clinical trials in the USA for the treatment of mild to moderate essential hypertension, *Br. J. Clin. Pract. Symp.*, **54**, 9-14 (1987).
- 2) S. Titmarsh and J.P. Monk, Terazosin: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in essential hypertension, *Drugs*, **33**, 461-477 (1987).
- 3) J.C. Somberg, R. Achari and A.R. Laddu, Terazosin: pharmacokinetics and the effect of age and dose on the incidence of adverse events, *Am. Heart J.*, **122**, 901-905

- (1991).
- 4) R. Achari and A. Laddu, Terazosin: A new alpha adrenoceptor blocking drug, *J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 520-523 (1992).
 - 5) P.G. Fabricius, P. Weizert, U. Duzendorfer, J.M. Hannaford and C. Maurath, Efficacy of once a day terazosin in benign prostatic hyperplasia: a randomised, double blind placebo controlled clinical trial, *Prostate Suppl.*, **3**, 85-93 (1990).
 - 6) H. Lepor, G. Knapp-Maloney and H. Sunshine, A dose titration study evaluating terazosin, a selective, once-a-day α_1 -blocker for the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia, *J. Urol.*, **144**, 1393-1398 (1990).
 - 7) H. Lepor, W.O. Williford, M.J. Barry, M.K. Brawer, C.M. Dixon, G. Gormley, C. Haakenson, M. Machi, P. Narayan and R.J. Padley, The efficacy of terazosin, finasteride, or both in benign prostatic hyperplasia, *New Eng. J. Med.*, **335**, 533-539 (1996).
 - 8) J.J. McNeil, O.H. Drummer, K. Raymond, E.L. Conway and W.J. Louis, The influence of food on the oral bioavailability of terazosin, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **32**, 775-776 (1991).
 - 9) R.C. Sonders, Pharmacokinetics of terazosin, *Am. J. Med.*, **80** (Suppl. 5B), 20-24 (1986).
 - 10) P. Jungers, D. Ganeval, N. Pertuiset and P. Chauveau, Influence of renal insufficiency on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of terazosin, *Am. J. Med.*, **80** (suppl. 5B), 94-99 (1986).
 - 11) J.J. McNeil, O.H. Drummer, E.L. Conway, B.S. Workman and W.J. Louis, Effect of age on pharmacokinetics of and blood pressure responses to prazosin and terazosin, *J. Cardiovascular Pharmacol.*, **10**, 168-175 (1987).
 - 12) Y.G. Yee, P.C. Rubin and P. Meffin, Prazosin determination by high-pressure liquid chromatography using fluorescence detection, *J. Chromatogr.*, **172**, 313-318 (1979).
 - 13) S.E. Patterson, Rapid and sensitive analysis of terazosin in plasma, peritoneal dialysis solution, and urine using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr.*, **311**, 206-212 (1984).
 - 14) S.E. Patterson, Terazosin kinetics after oral and intravenous doses, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **38**, 423-427 (1985).
 - 15) R.K. Bhamra, R.J. Flanagan and D.W. Holt, High performance liquid chromatographic measurement of prazosin and terazosin in biological fluids, *J. Chromatogr.*, **380**, 216-221 (1986).
 - 16) K. Taguchi, R.F. Schaefer and M.C. Michel, Radioreceptor assay analysis of tamsulosin and terazosin pharmacokinetics, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **45**, 49-55 (1998).
 - 17) S.J. Kim, D.K. Lim, I.J. Oh, S.C. Shin, H.S. Park, J.D. Moon and Y.B. Lee, Bioequivalence of Terasin tablet to Hytrine tablet (terazosin 2 mg), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **29**, 61-66 (1999).
 - 18) Y.J. Lee, J.H. Choi, J.H., S.H. Song, C.H. Seo, D.S. Kim, I.S. Park, K.H. Choi, H.K. Na, S.J. Chung, M.H. Lee and C.K. Shim, Development of K-BEtest®, a computer program for the analysis of bioequivalence, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **28**, 223-229 (1998).
 - 19) E.E. Samara, B. Hosmane, C. Locke, C. Eason, J. Cavanaugh and G.R. Granneman, Assessment of the pharmacokinetic-pharmacodynamic interaction between terazosin and finasteride, *J. Clin. Pharmacol.*, **36**, 1169-1178 (1996).
 - 20) N. Aoyagi, Bioequivalence test for oral dosage forms in Japan. *Proceedings of the 44th Convention of The Pharmaceutical Society of Korea*, 1995, pp. 50.