

국소용 후발의약품의 생물학적동등성시험을 위한 가이드라인

최선옥[†] · 정성희 · 엄소영 · 정서정 · 김주일 · 정수연

국립독성연구원 유효성연구부 생물측정과
(2004년 6월 28일 접수 · 2004년 7월 19일 승인)

Guideline for Bioequivalence Studies of Generic Products for Topical Use

Sun Ok Choi[†], Sung Hee Jung, So Young Um, Seo Jeong Jung, Joo Il Kim and Soo Youn Chung

Division of Biopharmaceutics, Department of Pharmacology, National Institute of Toxicological Research,
Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Received June 28, 2004 · Accepted July 19, 2004)

ABSTRACT—A new medical system of separation of dispensary from medical practice was started in 2000 in Korea. To expand bioequivalence-proven drug products and to ensure the credibility of the therapeutic equivalence of generic drug are hot issues in Korea. The KFDA also has a plan to revise the pharmaceutical affairs law that bioequivalence reports of all the generic prescription drugs should be submitted to the KFDA in the application for drug approval. Therefore, it becomes more necessary to develop bioequivalence-demonstrating methods for specific preparations such as topical drug products. There are some differences between US and Japanese guidances of bioequivalence studies of generic drug products for topical use. In this paper, we examined the recently published Japanese guideline, Guideline for Bioequivalence Studies of Generic Products For Topical Uses, and Q&A of the guideline, which will be references to make a guidance on bioequivalence studies of topical drug products in Korea.

Key words—Topical drug, Bioequivalence

국내에서 의약분업 이후 대체조제와 의약분업의 정착을 위하여 생물학적동등성시험의 활성화와 원활한 인정품목의 확대가 절실히 요구되는 실정이다. 또한, 향후 모든 전문의약품의 허가시 생물학적동등성시험이 의무화될 예정이므로, 전신순환혈로 흡수되지 않고 국소부위에 치료목적으로 적용되는 연고제와 같은 제형 의약품에 대한 생물학적동등성 입증방법에 대한 연구 필요성이 대두되고 있다.^{1,2)} 미국의 경우는 1995년에 「국소 피부용 부신피질 스테로이드제제의 생동성시험 가이드라인」이라는 제목으로 가이드라인이 발표되었으며,³⁾ 부신피질 스테로이드 제제가 피부 미세혈관을 수축시켜 피부창백효과를 나타내는 약리학적 특성을 이용한 시험방법이 권장되고 있다. 본 정보의 본문에서는 최근 2003년 7월에 일본에서 발표된 「국소용 후발의약품의 생물학적동등성시험 가이드라인」 및 질의응답집에 대한 내용을 소개하고자 하며,^{4,5)} 본 정보의 내용을 토대로 향후 우리 실정에 맞는 가이드라인 제정의 기초자료로 삼고자 한다.

본 문

1장. 도입

「국소용 후발의약품의 생물학적동등성시험 가이드라인」에서는 1997년 12월 22일에 발간된 「후발의약품의 생물학적동등성시험 가이드라인」⁶⁾에 간략하게 언급된 국소용 후발의약품의 생물학적동등성시험에 대한 기본 원칙을 제시하고 있다.

2장. 용어정의

가이드라인에 사용된 용어는 다음과 같이 정의된다.

- 생체이용률(bioavailability) : 주성분 또는 활성 대사체가 작용부위로 흡수되는 속도와 양
- 생물학적 동등 제제(bioequivalent products) : 생체이용률이 동일한 의약품 제제
- 치료학적 동등 제제(therapeutically equivalent products) : 동일한 치료 효과를 나타내는 의약품 제제
- 선발의약품(innovator products) : 임상시험을 실시한 신약으로서 허가된 제제 또는 유사 제제
- 후발의약품(generic products) : 유효성분, 함량, 제형 및

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)380-1774-5, E-mail : sochoi@kfda.go.kr

용법·용량이 원개발사와 동일한 제제. 테이프나 카타플라스마제 등과 같은 제형은 선발의약품의 적용 면적과 같아야 하며, 액제 또는 반고형제제의 경우에 단위중량당 의약품 함량이 동일해야 한다. 물리화학적 성질도 선발의약품과 유사해야 한다. 물리화학적 성질의 유사성은 W/O 또는 O/W의 차이, 유성 또는 수성 기제의 차이, 그리고 기제내 약물의 물리화학적 상태(현탁제, 유제, 액제)의 차이를 기준으로 판단한다. 연고, 크림, 젤, 카타플라스마제, 테이프, 로션, 스프레이, 분말, 리니멘트는 일반적인 제형에 대한 후발의약품의 생동성 시험과는 시험방법이 다른 제형으로 간주된다.

- 생물학적동등성 범위(bioequivalence range) : 생물학적동등성 허용 범위는 평가 파라메타를 로그변환하는 경우 원칙적으로 대조약과 시험약의 평균치의 차이가 -20% ~ +25%이다. 로그변환하지 않은 경우 원칙적으로 대조약과 시험약의 평균치의 차이는 대조약의 -20% ~ +20%이다.

3장. 시험

I. 대조약과 시험약

시험관내 방출시험은 3로트의 선발의약품 6개 이상을 이용하여 32°C에서 수행하며, 약물 방출을 측정할 수 있는 미국약전의 디스크를 사용한 패들법(paddle over disc) 또는 확산셀(diffusion cell)과 같은 적당한 방법을 이용하여 수행한다. 수용성 용액, 수용성 알코올 용액 또는 기타 적절한 용액을 시험액으로 사용할 수 있다. 방출시험에서 시험액과 제제를 분리하기 위해 멤브레인을 이용하는 경우, 막투과가 약물방출의 율속단계가 아니어야 한다. 3로트 중에서 중간 정도의 방출 양상을 나타내는 제제를 대조약으로 선정해야 한다.

후발의약품의 시험약으로서 실생산 로트가 사용되어야 한다. 그러나, 실생산 스케일의 1/10 또는 그 이상 제조한 의약품이 제조방법, 품질과 생체이용률이 실생산 로트와 동일하다면 시험약으로 이용될 수 있다. 대조약의 의약품 함량 또는 역가는 표시량과 유사해야 하며, 시험약과 대조약의 함량 또는 역가의 차이는 5% 미만이어야 한다.

II. 생물학적동등성시험

이 장에서는 국소적용제제의 생동성을 평가하기 위한 대표적인 시험방법을 기술한다. 즉, 1. 피부약물동태학적시험(dermatopharmacokinetic test), 2. 약리학적시험(pharmacological test), 3. 잔존량시험(test for measuring the unabsorbed amount), 4. 약물동태학적시험(pharmacokinetic test), 5. 임상

시험(clinical trial), 6. 시험관내 효력시험(*in vitro* efficacy test), 7. 동물시험(animal test). 위의 시험방법 중에서 국소적용제제의 특징을 고려하여 최적의 시험방법을 선정해야 한다. 위에서 기술한 시험법 이외에도 적절한 것이 있다면 사용해도 좋다. 다른 대체가능한 시험법이 있다면 사용할 수도 있다. 시험방법, 분석방법, 검체 보관 및 분석 과정에서의 약물의 안정성 등은 충분히 검증되어야 한다. 사람을 대상으로 한 시험에 있어서 일반적인 주의사항은 다음과 같다.

- 임상시험의 경우를 제외하고 정상 피부를 가진 피험자를 이용한다. 정상 피부는 다음의 상태를 의미한다.
 - 습진, 피부염과 색소이상 등의 피부질환이 없는 상태
 - 상처나 흉터가 없는 상태
 - 썬텐에 의한 염증이 없는 상태
 - 아토피성 피부염 등과 같은 과거 병력이 없는 상태
 - 약물과민증과 같은 과거 병력이 없는 상태
 - 의약품이 적용되는 피부 부위에 이상증상이 없는 상태
- 국소용 제제 특성에 따라 등, 흉부, 전완과 같은 적당한 피부부위를 선택한다.
- 계면활성제와 다른 화학약품의 자극에 의한 피부의 물리적 손상을 피하고 정상적인 피부상태를 유지해야 한다. 피부를 계면활성제로 세정하고 나서 피부가 일상적인 상태로 돌아가는 데는 보통 2시간이 필요하다.
- 용법·용량에 기재된 경우를 제외하고, 제제 적용부위에 밀봉형의 덮개를 사용해서는 안된다. 필요한 경우 비밀봉형 기구를 사용할 수도 있다.
- 생물학적동등성을 평가하기 위한 최적의 약물적용기간은 선정된 약물이나 제제의 특성 및 시험방법에 따라 다르기 때문에, 예비시험결과에 근거해서 결정되어야 한다.
- 검체수는 시험 편차를 고려해서 결정되어야 한다. 만약 약 편차가 클 것으로 예상된다면, 많은 피부 부위에 제제를 적용하여 평균 결과를 구하는 것이 권장된다. 시험 편차를 예측하기 위해서 다음 사항을 조사한다.
 - 각질층 박리 과정 및 혈관수축효과에 의한 피부창백 정도를 육안 관측시, 시험자간과 시험자내의 재현성
 - 측정치의 피험자간 및 동일 피험자내 적용부위별 편차
 - 약물 추출과 분석법에 따른 편차
- 적용부위에 의한 편향적인 영향을 배제하기 위해서 시험약과 대조약 적용부위 및 피험자 선택용 적용부위를 적절히 조합해서 무작위로 배열해야 한다.
- 약물의 생체이용률은 생체리듬 및 환경에 영향을 받기 때문에 시험은 정해진 투약 조건과 일정한 환경조건에서 수행되어야 한다.
- 일반적으로 국소적용제제의 시험절차는 복잡하기 때문

에, 약물의 적용방법과 적용시간종료시 약물의 제거방법, 시료의 회수방법, 약리반응의 측정법, 피부 박리 절차, 분석절차 등에 대해서 자세한 표준작업지침서(SOP)가 있어야 한다.

1. 피부약물동태학적시험

이 시험법은 시험약과 대조약이 정상상태에서 피부각질층내 존재하는 양을 비교하여 생동성을 평가하는 방법이다. 국소적용제제는 주로 피부에 도포된 후 각질층을 통과해 표피세포에 도달한다. 따라서, 피부에서의 생체이용률은 접착테이프를 이용하여 박리된 각질층에 있는 약물량을 측정하는 방법에 의해서 추정될 수 있다. 이 방법은 작용부위가 피부 각질층 또는 그 하부인 국소적용제제에는 적용가능하다. 하지만, 1회 도포로 피부각질층이 손상을 입는 국소적용제제에는 부적절하다. 1회 조작에 의해 접착테이프로 박리되는 피부각질층의 양과 두께는 박리 작업 수행자의 기술에 따라서 변할 수 있고, 피험자내 및 피험자간의 차이가 있을 수 있다. 따라서, 사용된 접착테이프의 수가 표준작업지침서에 명시되어 있더라도 전체 각질층에 대한 박리된 각질층으로의 회수율은 편차가 심하게 날 수 있으며, 이것이 시험의 검출력을 저하시키는 큰 요인이 된다. 검출력을 높이기 위해서 회수된 약물의 양을 회수된 각질층 전체무게로 나눈 평균약물농도를 이용하거나, 부록 1에 따라 전체 각질층내 약물농도를 전체 각질층 두께(L)로 나눈 평균약물농도를 이용하도록 하고 있다.

(1) 예비시험

예비시험시 다음 사항에 대해 연구하도록 하고 있다.

- 투약량, 적용시간, 적용 피부 면적과 박리 면적
- 접착테이프로부터 약물 추출법과 분석법 확립 및 검증
- 정상상태에 도달하는 시간(계제 적용시간은 정상상태에 도달한 시간 또는 그 보다 긴 시간이다)
- 예비시험의 편차를 토대로 제제의 피험자별 적용 부위 수 결정 및 피험자내 여러 부위 적용시 동시 도포법 또는 순차 도포법의 적용방법 선택
- 피부각질층으로의 약물 흡수를 부록 1에 있는 등식에 따라 경피수분손실(transdermal water loss; TEWL)을 이용해서 추정할 경우, TEWL 측정법은 환경 조건에 따라서 영향을 받기 때문에 일정한 온도와 습도의 환경 조건에서 측정하여야 한다.

(2) 본시험

피험자 수와 각 피험자별 시험약과 대조약의 적용부위 수는 예비시험의 편차를 고려하여 결정되어야 한다. 시험방법은 다음과 같다.

- A) 시험약과 대조약을 적용하는 피부 부위를 무작위 배열하여 피부각질층에 상처를 주거나 시험을 방해하지 않도록 표시한다.
- B) 지정된 부위에 시험약과 대조약을 도포한다.
- C) 지정된 시간에 피부로부터 약물을 제거하고, 피부에 남아 있는 연고 또는 크림을 닦아낸다. 이후 두 개의 접착테이프로 각질층을 박리한 후 버리는데, 이는 일반적으로 박리된 각질층에 함유된 약물이 흡수된 것으로 보이지 않기 때문이다.
- D) 피부각질층 중 약물 농도를 추정할 때 부록 1에 나타난 등식의 이용 여부에 따라 다음과 같은 방법으로 접착테이프를 순차적으로 떼어낸다.
 - a) 부록 1에 있는 등식을 이용하지 않는 경우
접착테이프로 10 내지 20회 정해진 수만큼 박리하거나, 적절한 용기에 수집되는 테이프 중의 TEWL이 50 g/m²/h 이하일 때까지 박리한다.
 - b) 부록 1에 있는 등식을 이용하는 경우
기지 중량의 접착테이프로 박리한 후 무게를 측정하여 적절한 용기에 넣는다. 접착테이프로 20회 박리하거나 피부각질층의 80%가 박리될 때까지 박리한다. 피험자별 피부각질층의 두께는 TEWL을 측정하여 계산하거나, 의약품을 도포하지 않은 대조피부 부위에서 하나 또는 두 개의 테이프로 박리한 후 TEWL을 측정함으로써 계산한다.
- E) 각 용기별로 회수된 약물량을 측정한다. 부록 1에 있는 등식에 따라서 추정하는 경우 전체각질층 중 약물 농도를 등식에 이용해서 계산한다. 등식을 사용하지 않는 경우 각질층으로부터의 약물 회수량 또는 회수된 약물 총량을 회수된 각질층 총무게로 나눈 평균 약물농도를 계산한다.

F) 같은 제품이 각 피험자의 여러 부위에 적용되었을 때, 평균 약물 흡수량을 계산하여 생동성 평가에 이용한다.

(3) 통계

원칙적으로 데이터는 로그변환하고, 정상상태에서 시험약과 대조약 평균약물농도의 차의 90% 신뢰구간을 비모수적 방법에 의해서 계산한다.

2. 약리학적시험

이 시험은 국소적용제제의 약리학적 반응을 이용해서 생동성을 평가하는 것이며, 이는 임상 효과 또는 생체이용률과 관련이 있는 약리학적 반응을 대상으로 한다. 국소 적용되는 부신피질 스테로이드제제는 피부로 약물이 흡수되는 정도에 따라 혈관수축효과를 나타내며, 그 결과 피부가 창백하게 된

다. 창백화 반응과 임상 효과와는 고도의 상관성이 인정되므로, 부신피질 스테로이드제제의 경우 창백화 반응의 강도를 지표로 생물학적동등성을 평가할 수 있다. 단, 작용이 약한 부신피질 스테로이드제제와 같이 창백화 반응이 약해 창백화 반응을 지표로 할 수 없는 경우도 있다. 부신피질 스테로이드제제의 혈관수축 반응을 이용한 피부창백화 반응시험의 실험절차는 아래와 같이 기술되어 있다.

(1) 피부창백화 반응시험

창백화 반응을 측정하는 두가지 방법, 즉, 육안 관측법과 색차계 측정법이 있다.

육안으로 관측하는 경우 숙련된 관측자가 맹검법으로 약물을 적용하지 않는 대조군과 약물 적용 부위를 눈으로 비교하여 창백화된 정도를 다양한 단계(0-3 또는 4 이상)로 점수화해서 표시한다. 보통 여러 명의 관측자가 각 부위별로 창백화된 정도를 측정하고, 그 평균치를 생동성 평가시 이용한다. 시험약과 대조약으로 처리된 대조 부위와 적용 부위는 무작위 배열하고, 관측자에게 알려주지 않는 맹검법으로 실시해서 편견에 의한 평가를 피해야 하며, 피험자에게도 가능하다면 알려주지 않도록 한다. 색차계는 L-스케일, a-스케일 및 b-스케일로 표시되는데, 각각 L-스케일은 백색-흑색의 명암 정도를, a-스케일은 적색-녹색의 색상 정도를, b-스케일은 청색-황색의 색상 정도를 나타낸다. 색상톤의 변화는 $\Delta E = \sqrt{(\Delta a)^2 + (\Delta b)^2 + (\Delta L)^2}$ 로서 표현된다. 때때로 a-스케일 측정치만으로 피부창백정도를 평가할 수도 있다. 약물 적용에 의한 피부창백화된 정도를 측정시 주로 약물 적용 1시간 전에 약물적용부위의 기본치(베이스라인)를 측정하여 보정한다. 적용부위별 측정치는 기본치(베이스라인) 및 측정시점별 약물미적용 대조부위의 측정치로 보정한 수치를 일반적으로 생동성 평가시 이용하지만, 기본치(베이스라인)만으로 보정할 수도 있다.

(2) 약물적용시간 및 관측 시간

창백화 반응을 이용해서 생동성을 평가하는 경우 약물적용 시간(T_{50})은 최대효력모델(E_{max} -모델)에서 최대효력의 50%에 도달하는 시간(ED_{50})이어야 한다. 세부적인 사항은 부록 2에 설명되어 있다. 피부창백정도를 관찰시 창백화 반응이 사라지는 시간(일반적으로 24시간)까지 계속되어야 한다. 관찰기간과 관측시점은 예비시험 자료를 토대로 미리 결정해야 한다.

(3) 부신피질호르몬제제 반응자 선정

다음과 같은 사항을 만족시키는 부신피질호르몬제제 반응자만 피부창백효과시험에 이용하여야 한다. 약물을 국소부위에 $T_1(T_{50}/n)$ 과 $T_2(T_{50} \cdot n)$ 동안 적용한 후 피험자별로 0에서 T_1 및 T_2 까지의 유효농도-시간곡선하면적(각각 $AUEC_1$ 및 $AUEC_2$)을 계산한 후 $AUEC_2/AUEC_1$ 의 비가 1.25이상인 피

험자를 반응자라고 판단한다. 여기에서 T_{50} 는 E_{max} 모델에서 최대효과의 50%가 되는 시간이며, n은 2 또는 3이다. 창백화 반응시험에 반응자를 미리 선정하여 이용하는 것이 바람직하지만, 창백화 반응시험을 한 후 미반응자의 데이터를 제외하고 반응자의 약리시험자료만을 선택하여도 무방하다. 다만, 후자의 경우 시험에 필요한 예수보다 충분히 많은 피험자를 사용하도록 하고 있다.

(4) 피부창백효과 본시험

피험자수 및 피험자별 시험약과 대조약의 적용부위 수는 예비시험시 얻어진 편차를 토대로 결정하도록 하고 있다. 시험절차는 다음과 같이 기술되어 있다.

A) 시험약과 대조약을 적용하는 피부 부위(제품별 한 군데 이상), 두 군데의 미처리 대조부위 및 피부창백효과 시험 후 반응자의 약리시험결과를 선정하고자 하는 경우에는 반응자 확인 부위를 무작위로 배열한다. 적용부위 및 대조부위는 피부각질층에 상처를 주거나 시험을 방해하지 않도록 표시한다.

B) 색차계를 사용하는 경우 국소적용제제를 투여하기 전 기본치(베이스라인)를 측정한다.

C) 약물을 적용한다. 육안 관측으로 반응자의 약물학적 데이터를 선택하는 경우 서로 다른 지속시간인 T_1 과 T_2 시간동안 대조약을 적용하고, 관측자는 맹검상태에서 측정하도록 한다.

D) 지정된 시간에 약물을 제거하고 피부에 남아있는 연고나 크림을 제거한다.

E) 정해진 시간 간격으로 각 부위별로 창백화 반응을 측정한다. 색차계를 이용하는 경우 각 약물적용부위별 창백화 반응 측정치를 기본치(베이스라인)로 보정하고, 필요한 경우 약물 미적용 대조부위의 측정치도 함께 보정한다.

F) 각 피험자별로 약물적용부위의 AUEC를 계산한다. 한 피험자에게 동일한 제품을 여러 군데 적용하는 경우, AUEC 평균치를 계산한다. 반응자를 미리 선정하지 않고 시험을 수행한 경우, 미반응자의 자료는 배제되어야 한다.

(5) 통계

색차계를 이용하는 경우 AUEC 수치는 주로 음수값이므로 로그변환하지 않는다. 로그변환하지 않은 원데이터를 이용해서 시험약과 대조약의 평균 AUEC의 차의 90% 신뢰구간을 비모수적방법으로 계산한다. 육안으로 판정하는 경우 AUEC 값을 로그변환한 후 시험약과 대조약의 평균 AUEC의 차의 90% 신뢰구간을 비모수적인 방법 또는 모수적인 방법으로 계산한다.

3. 잔존량시험

이 시험법은 제품에 남아 있는 양으로부터 피부로 흡수된 약물량을 추정하는 방법이다. 정확한 추정이 가능하다면 이 시험방법이 유용할 수도 있지만, 일반적인 국소적용제제의 경우 약물 흡수율이 매우 낮기 때문에, 정확한 흡수량을 추정하기가 어렵고, 따라서 이 시험방법의 이용은 일반적으로 제한되어 있다.

(1) 예비시험

다음과 같은 사항이 본시험 이전에 검토되어야 한다.

- 테이프제나 파프제의 경우, 필요시 의약품 함량과 제품 중량 사이의 상관관계
- 제제 또는 피부에 남아있는 약물을 제거하기 위해 사용되는 탈지면 및 세정액으로부터 약물을 추출하고 분석하는 방법의 수립 및 검증

(2) 본시험

의약품 적용의 지속시간은 용법·용량을 따르거나, 정상상태에 도달하는 시간이상이어야 한다. 시험약과 대조약의 피부적용부위 수가 예비시험의 편차를 토대로 결정되어야 한다. 시험절차는 다음과 같다.

- (A) 시험약과 대조약(제품별 한 군데 이상)의 적용 부위 및 한 군데 이상의 대조 부위를 무작위로 배열시킨다. 적용부위 및 대조부위는 피부각질층에 상처를 주거나 시험을 방해하지 않도록 표시한다.
- (B) 피부에 도포할 약물의 중량을 측정한다.
- (C) 적용부위 및 대조부위에 시험약과 대조약을 도포한다.
- (D) 약물을 도포한 즉시 대조부위의 의약품은 제거하고, 탈지면으로 피부에 남아있는 약물을 닦아낸다. 닦아낸 모든 약물 및 약물이 묻은 탈지면과 가드를 지정된 용기안에 넣는다.
- (E) 약물을 도포하고 일정시간 경과 후 약물을 제거하고 탈지면으로 피부에 남아있는 약물을 제거한다. 닦아낸 모든 약물 및 약물이 묻은 탈지면과 가드를 지정된 용기안에 넣는다.
- (F) 용기내 전체 약물량이 피부 부위에서 회수된 양을 의미한다.
- (G) 시험자별로 둘 이상의 적용부위 및 대조부위가 사용되는 경우 평균 약물량을 생동성 평가시 이용한다.
- (H) 대조부위에서 회수된 약물량과 일정시간 경과 후 처리부위에서 회수된 약물량의 차가 피부로 흡수된 양으로 간주된다.

(3) 통계

시험약 및 대조약 시험 결과를 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간을 모수적 방법으로 계산한다. (AUC)

4. 약물동태학적시험

이 시험은 약물을 적용한 후 혈중농도-시간 곡선의 약물동태학적 파라메타를 이용해서 생동성을 평가하는 것이다. 이 시험은 의약품의 작용 부위가 표피 또는 표피하부이고, 임상적 효과 또는 작용부위에서의 약물농도가 약물동태학적 파라메타와 상관관계가 있을 경우에 유용하다.

(1) 약물적용기간

약물적용기간은 용법·용량을 따르거나, 정상상태에 도달하는 시간이상이어야 한다.

(2) 본 시험

이 시험은 후발의약품의 생동성시험에 대한 가이드라인⁹⁾에 따라서 수행되어야 한다. AUC 또는 C_{ss}(정상상태의 의약품 농도)가 생동성을 평가하기 위해서 사용된다.

(3) 통계

시험약 및 대조약 시험 결과를 로그변환한 후 평균치 차의 90% 신뢰구간이 모수적 방법으로 계산된다.

5. 임상시험

이 시험은 의약품의 임상적 특성을 고려하여 선정된 적절한 임상반응을 이용하여 생동성을 평가하는 것이다. 이 시험은 임상 평가가 선호되거나, 다른 시험이 불가능하거나 부적절할 때, 통계적으로 충분한 수의 환자를 이용하여 수행되어야 한다. 이 시험에서 동등성의 적합 범위는 각 의약품별로 임상적 특성을 고려하여 확립되어야 한다.

6. 시험관내 효력시험

이 시험은 시험관내 활성을 이용해서 생동성의 지표로서 평가하는 것이다. 이러한 시험은 활성 부위가 피부 표면이어서 각질층으로 흡수될 필요가 없는 살균제, 소독제, 방부제와 같은 국소용제제에 적용될 수 있다. 시험관내 효력 시험은 국소 적용제제에 대한 약물방출시험과는 다르다. 이 시험에서 동등성의 적합 범위는 각 의약품별로 효능적 특성을 고려하여 설정되어야 한다.

7. 동물시험

이 시험은 동물 피부 표면에서의 약리학적 반응을 생동성의 지표로서 평가하는 것이다. 이 시험은 활성부위가 피부 표면이고, 각질층으로 흡수될 필요가 없는 살균제, 소독제, 방부제, 지혈제, 상처치료제와 같은 국소적용 의약품에 적용할 수 있다. 이 시험에서 동등성 판정 기준은 각 의약품별로 약물학적 특성을 고려하여 설정되어야 한다.

III. 폭로량시험

병적 상태의 피부의 경우 장벽 기능이 일반적으로 정상

피부보다 낮아져서, 전신순환혈로 약물의 흡수를 증가시키고, 심각한 이상약물반응을 일으킬 수 있다. 따라서 면역억제제, 작용 강도가 강한 스테로이드제, 레티노이드제, 항암제, 클로람페니콜 및 이에 준하는 의약품의 경우 장벽 기능이 저하된 피부를 이용해서 시험약과 대조약의 폭로량을 비교하는 것이 필요하다. 시험약의 폭로 정도가 대조약의 폭로량 이하이거나, 허용범위 이내임을 약동학적 연구를 포함해서 적절한 방법으로 확인해야 한다.

IV. 생동성시험 결과의 기록

시험결과는 후발의약품의 생동성시험을 위한 가이드라인(1997)⁶⁾에 따라 작성되어야 한다.

부록 1. 확산 공식에 따른 피부각질층의 약물농도 추정

(1) 각질층 두께의 추정

체내 수분은 다음 식에 나타난 Fick의 법칙에 따라 각질층에서 확산되어 증발한다. 피부표면에서 증발한 수분량을 경피수분손실(transdermal water loss; TEWL)이라고 한다.

$$TEWL = \frac{K_w D_w \cdot \Delta C}{L} \quad (1)$$

여기에서, K_w : 각질층과 표피세포 사이의 수분 분배계수

D_w : 각질층내 수분 확산 상수

ΔC : 각질층의 최하부와 최상부 간의 수분 농도차

L : 각질층 두께

각질층에서 박리하여 “x” 두께만큼 제거한 후 TEWL은 (2)의 식과 같다.

$$TEWL = \frac{K_w D_w \cdot \Delta C}{L-x} \quad (2)$$

식(2)의 역수는 다음과 같다.

$$\frac{1}{TEWLx} = \frac{L-x}{K_w D_w \cdot \Delta C} = \frac{l}{\gamma D_w} - \frac{x}{\gamma D_w} \quad (3)$$

여기서, $\gamma = K_w \cdot \Delta C$ 이다.

표피의 밀도가 1 g/cm^3 이고 박리된 면적이 일정하다고 간주하면, 박리된 각질층의 누적중량은 두께, “x”로 변환할 수 있고, 이것을 x 축으로 하고 $1/TEWLx$ 를 y 축으로 그래프를 그리면, x 축 절편으로부터 “L”을 계산된다.

(2) 각질층내 약물농도의 추정

제제로부터 피부로 이행된 약물의 각질층내 확산은 Fick

의 확산 제 2법칙에 따라서 다음 식과 같이 나타내어진다.

$$C_x = KC_{veh} \left[\left(1 - \frac{x}{L} \right) - \frac{2}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n} \sin \left(\frac{n\pi x}{L} \right) \exp \left(-\frac{Dn^2 \pi^2 t}{L^2} \right) \right] \quad (4)$$

C_x : “x” 깊이에서의 각질층내 약물 농도

C_{veh} : 제제중 약물 농도

D : 각질층내 약물 확산 정수

K : 각질층과 제제간의 약물분배계수

t : 약물적용기간

식 (4)에 따라 테이프에 회수된 약물농도 C_x (약물량/각질층중량)를 y 축으로 하고, 박리된 두께(x)를 x 축으로 하여 그래프를 그리면, 최소자승법에 따라 약물의 확산 정수(D)와 약물분배계수(K)를 계산한다.

각질 전체의 약물 농도는 다음 식 (5)에 L, D, K의 수치를 대입하면 계산된다.

$$A = \int_0^L C_x d\left(\frac{x}{L}\right) = KC_{veh} \left[\frac{1}{2} - \frac{4}{\pi^2} \left(\exp \left(-\frac{D\pi^2 t}{L^2} \right) + \frac{1}{9} \exp \left(-\frac{Dn^2 \pi^2 t}{L^2} \right) \right) \right] \quad (5)$$

약물 적용 기간이 충분히 길다면, 식 (5)는 식 (6)으로 단순화된다.

$$A = \frac{KC_{veh}}{2} \quad (6)$$

제제중 약물 농도(C_{veh})가 균일하다면, 각질층 전체의 약물 농도는 약물분배계수 K와 비례한다.

부록 2. E_{max} 모델에 따른 약물 적용기간의 결정

용량반응곡선은 가로축에 투여량, 세로축에 약물 투여에 따른 반응 강도로 하여 그래프를 그린 것으로서, 최대효과 (E_{max})와 50% 최대효과(E_{50})는 E_{max} 모델에 따른 용량-반응 곡선으로부터 계산된다. 국소용제제의 경우 피부에 적용한 약물이 모두 피부로 흡수되지는 않기 때문에, 약물 투여량 대신 피부에 흡수된 약물량을 사용한다. 약물 적용 직후 및 약물 방출이 종료되는 부근을 제외한다면, 실제 피부로 이행된 약물량은 약물적용기간에 비례하므로, E_{max} 모델을 국소 피부 적용 제제에 적용할 경우 가로축을 제제적용시간으로 그래프를 그린다.

대조약을 가지고 적용기간(T)을 변경하여 약물을 제거한 후 AUEC값을 계산한다. 따라서, AUEC와 T에 대한 그래프를 그리고 나서, AUEC₅₀은 다음 식에 따라서 최소자승법으로 계산된다. AUEC₀와 AUEC_{max}는 각각 피부차백정도를 나타내는 기

본치(베이스라인)와 최대반응치를 나타낸다. 따라서, 지속시간인 T_{50} 은 $AUEC_{50}$ 에 도달하는 시간으로 계산될 수 있다.

$$AUEC = AUEC_0 + \frac{AUEC_{max} \times T}{AUEC_{50} + T} \quad (7)$$

부록 3. 질의응답집(Q&A)

Q1. 시험관내 방출시험의 온도를 32°C로 정한 이유는 무엇인가?

A : 실온 25°C에 대해 노출되는 등뒤 및 허리 피부의 평균 온도는 33°C 전후이며, 범위는 31.5~35°C 정도이다.⁷⁾ 피부적용제제의 시험관내 방출시험은 32°C 또는 37°C의 온도에서 주로 행해지며, USP(미국약전)에서는 시험 온도를 32°C로 하고 있다. 피부의 온도와 USP와의 일치를 고려해, 32°C로 정했다.

Q2. 어떤 경우 시험관내 방출시험에 막을 사용할 수가 있는가? 또, 막투과가 율속단계가 아닌지를 어떻게 평가하는가?

A : 기제가 방출된 약물량의 측정에 지장을 초래한 경우에는, 막을 사용해도 괜찮다. 막투과가 율속단계인 경우에는 모든 제제로부터의 투과는 대개 동일해진다고 여겨진다. 따라서, 만약 제제로부터의 방출이 용액으로부터의 방출보다 늦으면, 막투과는 방출의 율속단계가 아닌 것으로 판단할 수 있다.

Q3. 여러가지 생물학적동등성 시험법이 기재되어 있는데, 어느 방법이 바람직한가?

A : 우선 제제의 적용 목적(작용부위)에 적절한 방법을 선택한다. 작용부위가 각질층 또는 각질층보다 심부인 경우는 피부약물동태학적시험법을 적용할 수 있다. 검출력이나 간편성을 고려해, 피부약물동태학적시험법과 동일한 정도의 방법이 있으면 사용할 수 있다. 명료한 창백화 반응을 일으키는 일부 스테로이드제는 임상 효과와 창백화와의 사이에 관련성이 있는 것이 알려져 있어 창백화 반응을 지표로 한 약리학적시험을 적용할 수 있다. 손가락 세정 등에 이용하는 소독약이나 살균제 등은 시험관내 효력시험을 적용할 수 있다. 작용 부위가 표면인 욕창 등의 치료약의 경우 동물시험을 적용할 수 있다.

Q4. 피부약물동태학적시험의 경우 정상 상태에 있어서의 각질층내 약물 농도만을 평가하고 있다. FDA의 「피부약물동태학적시험에 관한 가이드라인」⁸⁾에서는, 흡수상, 정상 상태, 약물 제거후의 소실상의 모두에 대해서, 각질층내 약물 농도를 관찰해, 외관의 정상 상태에 있어서의 농도(C_{css})와 각질층내 농도-시간 곡선하면적(AUC)으로 평가를 실시하는

것으로 되어 있다. 정상 상태에서의 평가만으로도 생물학적동등성을 적절하게 평가할 수 있는가?

A : tss를 정상 상태에 이른 시간으로 하면, AUC는 $C_{css} \cdot tss$ 로 나타내어지므로, AUC는 C_{css} 이상의 정보를 주지 않는다고 할 수 있다. 또, 국소피부적용제제의 경우 정상 상태에 이를 때까지의 과정이 문제가 되는 적용법은 사용하지 않기 때문에, 정상 상태에 이를 때까지를 평가할 필요성이 거의 없다. 따라서, 본 가이드라인에서는 정상 상태 혹은 거기에 가까운 상태에서의 각질층내 약물 농도의 동등성을 평가하면 충분하다고 생각한다.

Q5. 제제 적용 시간은 「각질층내 약물 농도가 정상 상태에 도달한 시간 또는 그 보다 긴 시간」으로 기재되어 있지만, 정상 상태에 이르지 않고 장시간 각질층내 약물 농도가 계속 상승하는 경우 적용 시간은 어떻게 하면 좋은가?

A : 4시간 전후의 적당한 시간 또는 용법에 따른 시간을 제제 적용 시간으로 한다.

Q6. 창백화 반응을 육안으로 판정하는 경우, 모수적 또는 비모수적 방법 모두를 이용해 해석해도 된다고 하지만, 미리 결정할 필요는 없는가?

A : 해석 프로토콜에 미리 통계 해석의 순서에 대해 기재해 두자. 예를 들면, 모수적 방법으로 해석하지만, 분포의 정규성이 의심될 때는 비모수적인 방법으로 해석한다 등과 같이 정한다.

Q7. 폭로량 시험과 관련하여 「적절한 방법으로 확인해야 한다」라고 기재되어 있지만, 어떠한 방법이 이용 가능한가?

A : 도포 부분의 각질층을 완전 박리한 사람 또는 동물을 대상으로 약물동태학적 시험 및 잔존량 시험을 실시하는 것으로 비교할 수 있다. 또한, 폭로량 시험에서는 일정한 면적으로부터 진신 순환혈류 중에 흡수된 약물량을 추정할 수 있으면 되기 때문에, 실제 투여시 약물 도포 면적으로 시험할 필요는 없고, 생물학적동등성시험과 동일한 정도의 제제 도포 면적으로 평가하는 것이 좋다. 원칙적으로 후발의약품의 폭로량은 선발의약품과 동등 이하(신뢰구간 상한이 +25%, 점 추정에서는 +10% 이하)여야 하지만, 흡수되어 작용을 발휘하는 것으로 예상되는 제제에 대해서는 혈중농도 등을 참조로 해서 약물 특성별 폭로량의 허용범위를 결정해도 좋다.

결 론

이상에서는 일본의 「국소용 후발의약품의 생물학적동등

성시험 가이드라인」⁴⁾에 대하여 소개하였다. 미국과 일본의 현행 가이드라인에서는 부신피질 스테로이드 연고제(크림제)의 생동성입증방법의 경우 약력학적 시험법을 공통으로 채택하고 있다. 약력학적 시험의 경우 피험자의 선정 및 제외 기준이 거의 유사하고, 예비시험을 통하여 T_{50} 을 계산한 후 본 시험시 T_{50} 기간동안 약물을 적용하여 수행하며, 창백화 반응이 민감하지 않은 미반응자의 데이터를 제외하는 점이 유사하나, 통계처리방법이 다소 상이하다. 일본의 가이드라인에서는 국소적용제제의 생동성입증방법을 피부약물동태학적시험, 약리학적시험, 잔존량시험, 약물동태학적시험, 임상시험, 시험관내 효력시험, 동물시험으로 설명하고 있다. 특히, 피부약물동태학적시험의 경우 미국은 1998년도 가이드스 초안이 제시한 후 여러가지 문제로 철회한 바 있으나,^{8,9)} 일본에서는 국소용 제제의 생물학적동등성시험시 대표적인 시험법으로서 가이드라인에서 제시하고 있어서, 향후 위 방법을 통한 의약품 허가 가능성을 제시하고 있다.

따라서, 향후 시험연구를 통한 국내 실정에 적합한 국소적용제제의 생동성입증방법을 제시하는 것이 필요하다고 사료된다.

문 헌

- 1) 약사관계법령집 (2002).
- 2) 생물학적동등성시험기준, 식품의약품안전청고시 제 2002-60호 (2002. 11. 22).
- 3) Guidance for Industry : Topical Dermatologic Corticosteroids : *In vivo* Bioequivalence, US FDA (1995. 6. 2).
- 4) 局所皮膚適用製劑の後發醫藥品のための生物學的同等性試験ガイドライン, 日本 国立医薬品食品衛生研究所 (2003. 7. 7).
- 5) 局所皮膚適用製劑の後發醫藥品のための生物學的同等性試験ガイドライン(Q&A), 日本 国立医薬品食品衛生研究所 (2003).
- 6) 後發醫藥品の生物學的同等性試験ガイドライン, 日本 国立医薬品食品衛生研究所 (1997. 12. 22).
- 7) 久住 武ら 日本温泉気候物理医学会雑誌, **50**(3), 121 (1987).
- 8) Draft Guidance for Industry : Topical Dermatological Drug Product NDAs and ANDAs - *In Vivo* Bioavailability, Bioequivalence, *In Vitro* Release, and Associated Studies, US FDA (1998. 6. 18).
- 9) Draft Guidance for Industry on Topical Dermatological Drug Product NDAs and ANDAs - *In Vivo* Bioavailability, Bioequivalence, *In Vitro* Release and Associated Studies; Withdrawal. Federal Register Vol. 67, No. 96, US FDA (2002. 5. 17).