

## 국소 피부용 부신피질 스테로이드제제의 생물학적동등성시험 가이드스

정성희 · 최선옥<sup>†</sup> · 엄소영 · 정서정 · 김주일 · 정수연

국립독성연구원, 유효성연구부, 생물측정과  
(2004년 10월 18일 접수 · 2004년 12월 9일 승인)

### Guidance for Industry - Topical Dermatologic Corticosteroids: In Vivo Bioequivalence

Sung Hee Jung, Sun Ok Choi<sup>†</sup>, 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 October 18, 2004 · Accepted December 9, 2004)

**ABSTRACT**—After 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 drugs are hot issues in Korea. It will be obligatory to submit bioequivalence reports for getting licenses of all generic prescription drugs in the near future. Like other countries such as US and Japan, the KFDA also has a plan to re-evaluate the already approved drugs by bioequivalence studies. Therefore, it becomes more necessary to develop bioequivalence-demonstrating methods for specific preparations such as topical drug products among already approved drug products. There are some differences between US and Japanese guidances of bioequivalence studies of generic drug products for topical use. The information on Japanese guidance and the guidance's Q&As is already provided in our previous paper. In this paper, we examined the US guideline published in 1995 and compared with the Japanese guideline, which will give a useful information to make a guidance on bioequivalence studies of topical drug products in Korea.

**Key words**—Topical drug, Bioequivalence, Corticosteroids

국내에서는 2000년 의약분업 이후 대체조제와 의약분업의 정착을 위하여 생물학적동등성시험의 활성화와 인정품목의 확대를 원활하게 시행해 왔다.<sup>1,2)</sup> 외국의 의약품 허가 역사를 살펴보면 미국, 일본 등은 모두 기허가된 의약품의 재평가와 허가규정 정비를 한 바가 있다. 우리나라도 의약분업과 더불어 곧 모든 전문의약품의 허가가 생물학적동등성시험이 의무화된 예정이므로, 기허가된 의약품 중 전신순환혈로 흡수되지 않고 국소부위에 치료목적으로 적용되는 연고제와 같은 제제에 대한 생물학적동등성 입증방법에 대한 연구 필요성이 절실히 대두되고 있다. 이에 이전<sup>3)</sup>에는 일본의 「국소용 후발의약품의 생물학적동등성시험 가이드라인」<sup>4)</sup> 및 질의응답집<sup>5)</sup> 중 일부를 소개한 바 있다. 본 정보에서는 미국에서 1995년에 발표된 「국소 피부용 부신피질 스테로이드제제의 생동성시험 가이드라인」<sup>6)</sup>을 소개하고, 일본과 미국 가이드라인을 비교 분석하고자 한다. 일본 가이드라인이 국소용 후발의약품 전반의 생물학적동등성시험 방법에 대한

내용인 반면, 미국 가이드라인은 국소 피부적용 부신피질 스테로이드 제제에 국한하고 생물학적동등성시험 방법의 구체적인 예시를 포함하고 있다. 부신피질 스테로이드 제제를 포함할 경우 피부 혈관을 수축시켜 피부 창백화반응을 나타내는 점을 이용한 약력학적시험을 이용한 생물학적동등성시험이 소개되어 있어서 약력학적시험디자인, 시험절차, 평가방법 등에 대한 자세한 정보를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. 본 정보의 내용과 용역연구를 통한 시험연구 자료를 토대로 향후 우리 실정에 맞는 「국소 피부용 부신피질 스테로이드제제의 생동성시험 가이드라인」 제정의 기초자료로 삼고자 한다.

### 1장: 도입

본 가이드스는 제약회사가 국소용 피부적용 부신피질 스테로이드 제제(이하 국소용 부신피질 스테로이드 제제라고 함)의 생체내 생물학적동등성시험 자료의 제출시 관련 서류 작성에 대한 권장사항이 제시되어 있다. 본 가이드스는 1995년 6월 2일 제정되었다. 일반적으로 본 가이드스 제정 후에

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : (02)380-1774~5, E-mail : sochoi@kfda.go.kr

는 시험 수행시 본 가이드언스의 권장사항을 따르도록 하고 있다. 본 가이드언스에서는 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 생물학적동등성 평가방법으로 최근 Stoughton-McKenzie 혈관수축 생체분석법을 발전시킨 약력학적 시험법을 소개하고 있다. 이 방법에서는 작용부위에 도달한 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 약물량을 조절하기 위해 약물노출시간(약물지속시간)을 이용한다. 제안된 방법에서는 본시험에 적절한 약물지속시간을 정하기 위해서 약물지속시간-반응간의 상관관계 연구를 위한 예비시험과 이후 동일한 시험디자인에 의해 수행되는 본시험 및 적합한 개인별 약물지속시간-반응 상관성에 대한 문서화에 관한 사항이 포함되어 있다. 모든 생체시료분석법에서와 마찬가지로 약물동력학적 평가방법에 대해 제약회사측에서 신중하게 발리데이션하는 것이 필요하다.

강력한 국소용 부신피질 스테로이드 제품은 시상하부-뇌하수체-부신피질(hypothalamic-pituitary-adrenal axis; HPA axis)을 억제할 수도 있다. 과거에 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 생체내 생물학적동등성은 한 시점에서의 Stoughton-McKenzie 시험디자인을 이용하여 제출하도록 하였으나, office of generic drugs(OGD)에서는 시험약과 대조약이 많이 다를 경우 HPA axis 억제시험에 대한 자료를 요구하였다. 본 가이드언스를 이용하여 생물학적으로 동등한 것으로 확인된 제품은 HPA axis 억제시험자료를 제출할 필요가 없다.

1992년 7월 1일 가이드언스 기초안인 「국소용 부신피질 스테로이드 제제: 생체내 생물학적동등성시험과 시험관내 방출시험」에는 피부약물동태학적시험(피부박리시험) 및 시험관내 방출시험이 포함되어 있었다. 미국 FDA에서는 최근에 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 생물학적동등성에 대한 제출 자료로서 피부박리시험을 권장하기에 충분한 자료를 보유하고 있지 않지만, 생물학적동등성을 입증하기에 적절한 피부박리시험법이 있으면 사용하도록 하고 있다. 현재 OGD에서는 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 ANDA 허가를 위해 시험관내 방출시험에 대한 자료 제출을 요구하지 않는다. 반고형제에 대한 생산크기 및 허가후 변경과 관련된 가이드언스(scale-up and post-approval change for semisolids)에 따라 향후 OGD에서는 기허가된 국소용 부신피질 스테로이드 제품에서 생체시험자료가 없는 저함량 제제의 허가자료 제출시뿐만 아니라 생산배치크기를 증가하거나, 처방이나 공정 및 제조처를 변경하는 경우에 생물학적동등성시험자료 대신에 시험관내 방출시험자료를 제출하도록 권장할 수도 있다. 향후 이러한 시험자료를 품질관리 수단으로도 사용할 수 있을 것이다.

본 가이드언스는 division of bioequivalence의 직원들이 작성하고 division of topical drug products 및 division of biometrics의 과직원들이 참여하였다. 이는 모든 관련 단체의 국소용 부신피질 스테로이드 제제에 적용되는 일반적인 가이드언스이다. 약물 지속시간-반응성은 시험조건뿐만 아니라 특정 대상약물에 따라 다양하며, 본 가이드언스에서는 본시험 수행에 필요한 파라메타를 적절하게 정하기 위해서 예비시험을 수행하도록 하고 있다. 본 가이드언스의 권고사항에 따른 특정 시험 디자인을 마련하기 위해서 division of bioequivalence의 직원들과 제약회사 직원들이 협의하도록 권장하고 있다.

## 2장: 배경

경구고형제제의 생물학적동등성 평가는 일반적으로 건강한 지원자에게 각각의 약물을 한 알 또는 여러 알을 복용하도록 한 후 입수 가능한 생체시료(즉, 혈액 또는 뇨)내 약물 및/또는 대사체의 농도를 비교한다. 이러한 시험법이 어려운 경우 식품, 의약품, 화장품 법률 및 시행규칙(21 CFR § 320)의 규정에 따라, 미국 FDA는 생물학적동등성을 평가하기 위해서 다른 생체내 또는 시험관내 시험을 수행하도록 하고 있다. OGD에서 선호하는 시험법의 순서는 다음과 같다. 1) 약물동력학적 효력시험, 2) 임상시험, 3) 생체내 동물시험, 4) 시험관내 시험. 후자의 2가지 시험은 법 또는 규정 상으로는 허용되지만, OGD의 division of bioequivalence에서는 생체시료내 약물 또는 대사체의 농도를 측정할 수 없는 약물의 생물학적동등성을 평가하기 위해서 관례적으로 약물동력학적시험이나 임상시험 자료만을 신뢰하고 있다고 한다. 임상시험은 일반적으로 많은 수의 피험자가 필요하고 감도도 낮은 것이 일반적이다. 반대로, 약물동력학적 효력 시험은 비교적 적은 수의 피험자로부터 적절한 생물학적동등성 자료를 얻을 수 있다.

수 년 동안 division of bioequivalence에서는 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 후발의약품을 허가하기 위한 방법으로 약물동력학적 효력 시험을 인정하고 있다. 이러한 접근법은 피부를 창백하게 하거나 미세맥관구조에서 혈관을 수축하는 부신피질 스테로이드 제제의 특성에 근거한 것이다. 이러한 특성은 피부로 흡수된 약물량과 직접적인 연관성이 있을 것으로 추정되며, 두 가지 동등할 가능성이 있는 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 약물 전달 정도를 비교하는 근거가 된다. 분석법 개발은 R.B. Stoughton 박사와 A.W. McKenzie 박사의 공헌으로 초기에는 서로 다른 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 함량을 평가하기 위한 방법으로

개발되었다. 이후 제약업체에서 생체이용률 및 생물학적동등성을 평가하기 위한 방법으로 응용하였고, 미국 FDA에서도 인정하였다. 이와 유사하게 응용한 시험법은 Stoughton-McKenzie 시험법, 혈관수축시험법, 피부창백화시험과 같이 다양하게 불려진다. 혈관수축시험법의 형태가 다양할 지라도 일반적인 방법은 건강한 피험자에게서 6~16시간동안 부신피질 스테로이드 제제를 국소 부위에 도포한 후, 숙련된 관찰자가 맹검법으로 특정 시점에서, 일반적으로 약물을 제거한 후 두 시간제에 육안으로 측정하여 창백화된 정도를 여러 단계(0~3단계 또는 0~4단계)로 구분하여 평가하는 것을 기본으로 한다. 현재 미국에서 유통되고 있는 대부분의 국소용 부신피질 스테로이드 제제는 여기에 기술된 혈관수축시험 또는 그 변형 시험법에 따라 실시되어 division of topical drug products와 협의를 거친 후 OGD에서 허가되었다. 1992년 7월 1일 이전에는 이러한 방법으로 수행되었다.

본 가이드선에서는 두 가지 생체내 시험, 즉 예비시험단계에서의 약물지속시간-농도 상관성 연구와 본시험단계에서의 시험약과 대조약을 비교하는 생체내 생물학적동등성시험을 수행하도록 제안하고 있다. 예비시험에서 해당 약물에 대한 약물지속시간-반응 상관성(본 가이드선의 III항에서 E<sub>max</sub> 모델이라고 기술됨)을 규명할 수 있으며, 대조약만 가지고 시험을 실시한다. 본 가이드선에서 생물학적동등성시험 자료 제출시 권장하는 약물지속시간은 세 가지로서, ED<sub>50</sub>, D<sub>1</sub> 및 D<sub>2</sub>이다. 본시험에서 시험약과 대조약을 비교할 때에는 예비시험에서 계산된 모집단의 ED<sub>50</sub>과 거의 유사한 시간동안 약물을 적용하여 시험한다. 본시험 감도는 두 가지 약물지속시간인 D<sub>1</sub>(짧은 약물지속시간 칼리브레이터)와 D<sub>2</sub>(긴 약물지속시간 칼리브레이터)에서 대조약 칼리브레이터를 사용하여 측정한다. 본 가이드선에서 D<sub>1</sub>은 예비시험에서 측정된 ED<sub>50</sub>의 약 0.5배 정도, D<sub>2</sub>는 ED<sub>50</sub>의 약 2배 정도로 설정하도록 권장하고 있다. 이 시험에서는 각각의 피험자가 검출기가 되기 때문에, D<sub>2</sub>/D<sub>1</sub>에서의 약물학적 반응비가 정해진 최소 기준치 이상인 피험자의 시험 결과만 생물학적동등성시험 결과에 포함시켜 통계적으로 평가하도록 하고 있다. 제안된 방법은 본 가이드선의 아래 항에서 더욱 자세하게 설명하고 있다.

**3장: 약물동력학적 효력시험 : 혈관수축시험**

허가당국에서는 혈관수축분석법과 관련하여 두 가지 방법론적 측면에 초점을 두고 있다. 하나는 생체시료분석법으로서의 발리데이션 및 표준화이고, 다른 하나는 혈관수축반응을 측정하기 위해 숙련된 관찰자를 이용하는 것이다.

**A. 발리데이션 및 표준화**

국소용 부신피질 스테로이드 제제의 혈관수축 반응정도가 표준화되고 발리데이션된 생체시료분석법 확립에 이용될 수 있다는 가정하에, 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 생물학적동등성을 평가하기 위해 혈관수축시험법을 적용하는 것이 가능하다. 생체시료분석법을 포함해서 어떤 시험법을 개발하거나 발리데이션하는 경우 문서화 과정이 포함된다. 본 가이드선의 내용 중 center for drug evaluation and research (CDER) 연구자들에게 주요 논점이 되었던 부분에 대해 food and drug administration(FDA), american association of pharmaceutical scientists(AAPS), federation internationale pharmaceutique(FIP), canadian health protection branch 및 association of official analytical chemists에서 공동 후원한 1990년 12월 워크샵에서 논의되었다. 이 워크샵에서 논의된 결과에 대한 요약도 발표되었다.

아래 항을 고찰할 때 혈관수축 시험법의 발리데이션과 HPLC나 GLC 분석법의 발리데이션을 비교하는 것이 유용할 수도 있다. 기지의 약물농도에 대한 HPLC나 GLC의 검출기 반응이 혈관수축 시험법에서는 약물에 대한 약리학적 반응(이 경우 국소용 부신피질 스테로이드제에 대한 혈관수축 반응 측정치)에 해당하는 것이다. 한 가지 분석장비나 검출기가 일반적인 혈액이나 뇨에서의 농도 측정시 사용되지 않, 약리학적 생체시료 분석시에는 각각의 피험자가 기지 또는 미지량의 약물에 대한 검출기(또는 검출자)가 된다. 일반적인 혈액이나 뇨에서의 농도 측정법과 약리학적 효력시험간에 기본적으로 많은 차이가 있음에도 불구하고, 표준화나 발리데이션에 관련된 여러가지 원칙은 거의 유사하다. 이러한 부분은 다음 항에서 기재되어 있다.

**1. 직선성**

대상 약물의 용량 또는 농도와 약물동력학적 반응간의 기본적인 약물동력학적 상관성에 대해 지난 15년동안 상당히 연구되어졌다. 혈관수축반응을 이용한 생체시료 분석에 이를 적용하는 것은 직선성을 평가하는 것과 관련이 있다. 약물 용량과 효력간의 상관성을 표현하기 위해서는 다양한 모델이 있지만 혈관수축 생체시료분석법에 특히 유용한 모델이 E<sub>max</sub> 모델 또는 이와 유사한 S자형 E<sub>max</sub> 모델이다. 이 모델에서는 효과치(E)가 기저효과(E<sub>0</sub>), 최대효과(E<sub>max</sub>), 용량(D) 및 최대효과의 절반을 나타내는 용량(ED<sub>50</sub>)을 이용하여 다음과 같이 표시된다.

$$E = E_0 + \frac{E_{max} \times D}{ED_{50} + D}$$

생체내 혈관수축반응은 일반적으로 최대까지 도달한다. 따라서, 생물학적동등성을 평가시 혈관수축시험법을 적용하기 위해서 해결해야 할 일차적인 문제는 시험하고자 하는 제제 함량에서 직선적으로 반응할 수 있는 피부 미세맥관구조의 수용 범위를 초과하지 않는가 하는 점이다. 비교적 높은 함량의 국소용 부신피질 스테로이드 제제에서는 약물지속시간과는 상관없이 혈관수축반응에 거의 변화가 없다. 비교적 낮은 함량의 국소용 부신피질 스테로이드 제제에서는 신뢰할 만하고 재현성있는 혈관수축반응을 나타내는 최소 농도를 정하는 것이 주된 문제이다. 이러한 점은 혈액 또는 뇨 중 약물 농도 분석법을 발리데이션하기 위해서 검량선을 작성하고, 감도 한계를 낮추는 과정과 유사하다. 용량 반응간의 검량선을 작성하고 발리데이션하는 과정은 ED<sub>50</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>를 추정하기 위해 필수적이다.

일반적인 분석법 발리데이션에서 검출기 반응의 직선성을 확인하는 것은 필수적이다. 반응의 직선성은 혈관수축시험법을 개발하는 과정에서도 또한 요구된다. 시험하고자 하는 후발약과 대조약이 용량-반응곡선에서 정상상태의 반응을 나타내는 함량으로 시판될 수도 있기 때문에, 직선성을 나타내는 범위에서 두 제제를 비교함을 확인할 수 있도록 시험법을 최적화하도록 하고 있다. 국소용 부신피질 스테로이드 제제에 대한 용량 반응간의 상관성 연구 과정은 피부에 약물을 정해진 용량을 적용하는 방법의 신뢰성 여부에 달려있다. 가이던스 기초안<sup>6)</sup>에서는 국소용 부신피질 스테로이드 제제를 적용하는 데 있어서 신뢰할 만한 세 가지 방법을 제시하였다. 1) 약물지속적용법(dose duration method), 2) 희석법(dilution method), 3) 적용면적법(area method). 약물지속적용법 및 희석법은 FDA의 용역시험에서 신뢰할 만한 결과를 보였다고 한다. 하지만 제제적 측면에서 희석법은 실용 불가능하다. 따라서 CDER 연구원은 약물지속적용법이 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 생물학적동등성을 평가하기 위해 가장 적절한 방법으로 생각하고 있다고 한다. 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 약물지속시간-반응 상관관계를 연구함으로써 혈관수축반응이 민감해지지 않는 시간을 알 수 있다. 원칙적으로 시간 경과에 따른 반응이 다시 기본치로 회복되는지 확인하여, 각각의 약물지속시간에서 최대약리반응이 관찰되었음을 입증하도록 하고 있다.

## 2. 정확성, 정밀성 및 감도

국소용 부신피질 스테로이드 제제에 대한 생체시료분석법의 정확성, 정밀성 및 감도를 정하기 위해 시험법을 개발하는 방법은 혈관수축시험법에 대해 적절한 검량선을 작성하

는 방법과 일치한다. 검량선 뿐만 아니라 각 시험 집단별로 평가되어야 한다. 일반적으로 혈액이나 뇨 분석에서와 마찬가지로 약물을 적용하지 않는 미처리 대조부위와 국소용 부신피질 스테로이드 제제를 적용한 칼리브레이터 부위를 이용하여 이러한 파라메타를 평가한다. 미처리 대조부위와 칼리브레이터 부위를 반복적으로 시험함으로써 편차를 예측할 수 있다. 일반적인 HPLC나 GLC 분석법에서는 칼리브레이터로서 기지 농도의 약물에 대한 검출기 반응을 측정하여 평가하지만, 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 경우 약물지속적용법을 이용한 분석법에서의 칼리브레이터는 일정 함량의 국소용 부신피질 스테로이드 제제를 서로 다른 시간동안 지속 적용함으로써 평가한다.

## B. 혈관수축반응의 측정

빛이나 온도, 압력, 다른 물리적 화학적 변화를 측정하기 위해 점점 더 정교한 방법이 사용되는 이 시점에서는 약리학적 효력 정도를 평가하기 위해 육안으로만 측정하는 방법은 부적절하다고 하고 있다. 현재 흥반 측정용으로 시판되는 색차계(예. Minolta사 Chroma Meter 200<sup>®</sup> 또는 300<sup>®</sup> 시리즈)가 있는데, 이를 육안 측정대신 사용함으로써 객관적이고 정량 가능한 수치로 측정할 수도 있다. 현재 Division of Bioequivalence에서는 혈관수축시험법에 색차계를 이용하여 생물학적동등성시험을 수행하는 것을 고려하고 있으므로, 제약회사에서 시험시 색차계를 사용하도록 권장하고 있다. 하지만, 색차계 측정치와 육안 측정치간의 상관성을 입증하는 것을 포함해서 발리데이션된 적절한 방법이 있으면, 제약회사에서 혈관수축정도를 육안으로 측정하는 방법도 신뢰하고 있다.

## C. FDA 용역 연구 결과

미국 FDA 용역 연구로 수행된 혈관수축시험 결과에서 OGD는 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 색차계 이용시 피부 창백화 정도는 육안 측정보다 감도가 우수하였다.
2. 피부창백화반응을 24시간씩 2회 연속시간(48시간)동안 측정시 24시간 주기로 반응성이 나타났는데, 이는 혈중에서의 코르티솔 농도가 24시간 리듬 양상을 나타내기 때문인 것으로 추정되었다. 약물을 제거한 후 또는 적용한 후 최소 24시간까지의 AUEC 결과를 생물학적동등성 평가시 이용 가능한 것으로 보이며,
3. 색차계를 이용하여 기본치(baseline값) 및 미처리된 대조부위에서의 측정치로 보정한 AUEC 결과치를 이용하는 경우 다음과 같은 영향이 크게 나타나지 않는다고

제시하고 있다.

- a. 왼쪽과 오른쪽 팔의 반응 차이, 또는
- b. 피부 부위가 팔오금 또는 손목에서 3~4 cm 이상 떨어진 팔 부위에서 적용 위치별 영향

상기의 영향이 존재할 가능성이 있다면 본 가이드선의 5 장 G. 2.항에 제안된 시험디자인을 이용하여 양쪽 팔에 적용하는 약물을 서로 대칭적으로 배치(예. T는 R과 대칭)함으로써 그 영향을 최소화하도록 하고 있다.

#### 4장: 예비시험: 용량지속시간-반응 연구

예비시험의 목적은 생체내 생물학적동등성시험의 본시험 시 사용되는 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 용량지속 시간과 반응간의 상관성을 평가하고자 하는 것이다. 이 시험법은 일반적인 생체시료 분석시 약물 농도를 측정하기 위해 검량선을 작성하는 것과 유사하다. 예비시험의 결과를 통해 본시험에 사용될 파라미터인  $ED_{50}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ 를 산출하는데 필요한 약물지속시간-반응 상관성에 대한 정보를 얻고, 본시험시  $D_1$ 에서의 AUEC 측정치에 대한  $D_2$ 에서의 AUEC 측정치의 비가 최소요구조건에 부합한 예상 피험자의 비율을 예측할 수 있다. 예비시험 결과는 피험자 집단의 특성이나, 피부창백화 정도를 평가하는데 사용된 방법, 적용된 약물량과 같은 시험 조건에 따라 다르게 나타날 수 있기 때문에, 본 가이드선에서는 각 시험기관별로 대조약을 가지고 예비시험을 수행하도록 권장하고 있다. 예비시험의 수행이나 결과와 관련하여 본 가이드선의 제4장 (J)(3)항의 "Division of Bioequivalence와의 협의" 항을 참조하도록 하고 있다.

##### A. 시험 디자인 및 분석

1. 용량지속시간과 반응간의 상관성 연구시 대조약만 가지고 약물적용부위를 임의로 정하여 실시한다.
2. 0.25시간부터 6시간까지의 약물적용부위뿐만 아니라, 약물 노출과는 상관없이 시험기간동안의 색상변화에 대해서 보정할 수 있도록 양쪽 팔에 약물을 적용하지 않는 미적용 대조부위를 정한다. 대조약에 대해서는 일반적으로 기제(vehicle)를 사용하지 않기 때문에, 미처리 대조부위는 기제를 적용한 피부 부위가 아니라, 약물을 적용하지 않은 미처리 피부부위를 말한다.
3. 약물을 적용하고 제거한 후 한 시점 이상의 여러 시점에서 국소용 부신피질 스테로이드 제제에 대한 약리학적 반응을 색차계로 측정한다.
4. 약물지속시간-반응간의 결과는 nonlinear mixed effect

modeling 법 또는 naive pooled data 법을 이용해서 적절하게 모델링하여 모집단의  $ED_{50}$ 를 계산하는데, 본 시험시 생물학적동등성을 비교하기에 적절한 약물지속 시간을 정한다.

5. 피험자 12명
6. 다양한 함량의 시판 제제의 경우 예비시험과 본시험시 최고 함량의 제제로 시험을 수행한다.

##### B. 피험자 포함 기준

1. 건강한 피험자
2. 국소용 부신피질 스테로이드 제제에 대해 적절한 혈관 수축반응을 나타내는 피험자, 즉 반응자
3. 동의서 작성자
4. 시험시 제한사항에 대한 준수 의지가 있는 자

##### C. 피험자 제외 기준

1. 임상적으로 유의할 만한 고혈압 또는 순환기 질환자
2. 시험 일주일이내 흡연자
3. 시험전 또는 시험기간동안 하루 500 mg 이상 카페인 섭취(커피 한 잔당 카페인 85 mg 함유)
4. 임상적으로 유의할 만한 알코올 또는 약물 중독 이력이 있는 자
5. 시험 개시 한 달이내에 특정 피부 부위에 국소용 부신피질 스테로이드 제제를 투여한 약리학적 시험을 실시한 경험을 포함해서 전완부 안쪽에 국소용 피부약물 치료를 한 적이 있는 자
6. 국소용 또는 전신용 부신피질 스테로이드 제제에 대한 약물유해반응이 있는 자
7. 투여 약물에 대한 약리학적 반응에 크게 영향을 미칠 정도로 현재 또는 과거에 활성 피부염을 앓았거나 피부가 병적 상태인 자
8. 피부표면에 동일한 량의 약물을 투약하기 위해서 전완부 안쪽을 면도해야만 하는 자
9. 혈관 수축 또는 이완작용이 있는 약물로 치료한 자 또는 혈류량을 변경시킬 수 있는 전문 또는 일반의약품을 사용한 자
10. 양쪽 팔의 피부 색상차가 명확한 자

##### D. 시험 제한사항

1. 시험기간동안 팔을 이용한 운동 또는 격렬한 전신 운동 삼가
2. 약물 적용해서 피부창백화 시험기간동안 목욕이나 샤워 금지

3. 시험하기 24시간전 및 시험기간동안 크립이나 연화제와 같은 제품의 사용 금지

#### E. 반응자 검색

1. 만일 비반응자가 있는 경우 비반응자의 결과를 포함시킴으로써 시험약과 대조약 간에 실제 나타나는 차이를 구별해낼 수 있는 검출능을 감소시킨다. 따라서, 약물지속시간과 반응간의 상관성 연구를 위한 예비시험 및 생물학적동등성 본시험시 “반응자”(즉, 시험에 사용되는 대조약을 투약하였을 때 혈관수축반응을 나타내는 피험자)만 포함시켜야 한다.
2. 본 가이던스에서 “반응자”란 예비시험 및 본시험과 동일하게 사용된 밀봉포대 또는 비밀봉포대 조건하에서 대조약을 약물지속시간동안 한 번 투약하여 약물 반응을 나타내는 피험자로서 정의된다. 예비시험이나 본시험을 할 때 피부창백화 정도를 색차계를 이용해서 정량화하는 것이 보다 적절하다고 보고 있다. 하지만, 육안 관측시에도 여러가지 눈금 단위(0~3 또는 0~4)를 사용하기 때문에 육안 관측치를 토대로 반응자를 정할 수도 있다. 강력한 그룹 III의 약물을 토대로 4시간 또는 6시간 동안 약물을 지속 적용하고 제거한 후 2시간째에 피부창백화 정도를 평가하도록 제안되었다. 반응자는 최소 한 단위의 육안 측정치를 보여야 한다.
3. 약물지속시간-반응 연구 또는 생물학적동등성시험시 사용하는 전완부 부위를 보호하기 위해서 반응자의 상태는 전완부 이외의 다른 부위에서 수행되는 시험을 토대로 정할 수도 있다.
4. 약물지속시간, 반응정도, 시험되는 피부 부위를 포함하여 반응자의 확인 기준이 시험 보고서상에 포함되어야 한다. 반응자 자격은 이전의 혈관수축시험에 참가한 기록을 가지고 문서화할 수도 있다.

#### F. 시험법 정밀성 발리데이션

시험법의 동일 부위내 및 다른 부위별 정밀성의 발리데이션은 4장 중 B에서 D의 기준 및 제한요건에 적합한 4명에서 6명의 피험자에 대해 실시하여 기록하도록 하고 있다. 각각의 전완부 안쪽에 미처리 대조부위 4군데를 선정하고, 색차계를 이용하여 한 시간 이내에 각 부위별로 4가지 측정치를 얻는다.

색차계를 이용해서 피부창백화정도를 측정하여 생물학적동등성시험을 실시하는 회사에서는 발리데이션 시험으로서 적절한 정밀성에 대해 문서화하도록 하고 있다. 이 시험은 의약품 투약 전에 수행되어야만 한다. 발리데이션 결과는 예

비시험 보고서가 제출되는 경우(4장 (J)(3) 참조) 예비시험 보고서와 함께 제출하거나, 생체내 생물학적동등성시험 본시험의 결과보고서에 기재되어야 한다.

#### G. 밀봉포대법과 개방법

건선이나 불응 상태의 피부 관리시 사용되는 등급의 국소용 부신피질 스테로이드 제제의 라벨에는 밀봉포대식 필름을 사용하도록 기재되어 있다. 강력한 효능을 나타내는 의약품군의 라벨에는 특징적으로 밀봉포대식 필름을 사용해서는 안된다고 기재되어 있지만, 강력한 효능 의약품군을 대표하는 일부 의약품의 라벨에 밀봉포대식 필름을 사용하도록 기재되어 있을 수도 있다. 만일 대조약의 라벨에 밀봉포대법을 사용하도록 하는 경우 밀봉포대식 필름을 이용해서 예비시험의 용량지속시간-반응 연구 및 생물학적동등성 본시험을 수행할 수도 있다. 하지만, FDA의 용역 연구에서 수행된 예비시험 결과에서 ED<sub>50</sub>(본시험시 이용하는 약물지속시간)이 의약품 함량 증가에 따라 감소한다고 제시되었기 때문에 특별한 주의가 요구된다. 용량지속시간과 반응간의 상관성 평가시 ED<sub>50</sub> 이하의 약물지속시간에 대한 데이터가 필요하다. 용량지속시간이 매우 짧은 경우 실험실적으로 수행하기 어렵고 반응 정도의 변동이 아주 크게 나타나는 경향이 있다. 이러한 점에서 밀봉포대법은 저효능 의약품군, 예를 들면 코르티코이드 효능군 VI과 VII에 해당하는 의약품에만 한정적으로 적용하는 것이 가능하다. 예비시험시 밀봉포대법을 사용하는 경우 본시험에서도 반드시 사용해야 한다.

#### H. 약물 적용 및 제거 방법

다음 두 가지의 약물 적용 및 제거 방법 중 어느 하나를 이용해서 예비시험과 본시험을 수행하도록 하고 있다[5장 G.3.항 참고]:

1. 약물 순차 적용후 동시 제거법 : 피부 부위별로 약물을 서로 다른 시간에 도포하고, 동시에 약물을 제거한다(4장 I. 9. a.항 참고).
2. 약물 동시 적용후 순차 제거법 : 피부 부위별로 약물을 동시에 도포하고, 서로 다른 시간에 약물을 제거한다(4장 I. 9. b.항 참고).

#### I. 시험 당일 활동

1. 피험자는 시험당일 거의 동일한 시간(한 시간 이내)에 시험을 시작한다.
2. 금기 약물 복용자의 경우 적절한 휴약기간이 경과하였는지 확인한다.
3. 전완부에 약물 도포나 약리학적 반응 평가를 방해할 수

려가 있는 먼지나 미립자가 없어야 한다. 목욕은 약물 흡수나 약리반응에 영향을 줄 수 있으므로 권장하지 않는다. 필요한 경우 약물적용 최소 2시간 전에 목욕을 한다. 목욕하는 경우 보고서상에 반드시 기재한다.

4. 밀봉포대법이나 개방법의 두 가지 방법 모두 개방형 보호대를 사용하여 피부적용부위가 오염되거나 약물이 적용부위에서 소실되는 것을 방지하도록 하고 있다. 이때, 미처리 대조 부위 또는 다른 시험부위가 부주의로 인해 오염되는 것을 방지하기 위해서 가드와 약물이 서로 접촉하지 않도록 주의하도록 하고 있다.
5. 피부 적용부위는 팔오금 또는 손목에서 3~4 cm 이상 떨어진 부위로 정한다.
6. 전완부 안쪽면에서 동일한 피부표면적을 가진 적용부위에 대조약을 도포한다. 예비시험동안 제안된 약물지속 시간은 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6시간이지만 부신피질 스테로이드 제제 특성에 따라 다르게 시험할 수 있다.
  - a. 8가지 약물지속시간, 즉 실제 약물적용부위를 두 팔에 골고루 배정한다.
  - b. 약물량, 피부적용부위 크기, 부위별 간격 등을 해당 시험기관에서 정한다. 참고로 일부 시험기관은 1 cm 직경의 적용부위에서 피부표면적(cm<sup>2</sup>)당 2~10 mg의 약물을 도포하였다. 한 적용부위 중심에서 다른 적용부위 중심간의 거리는 2.5 cm이고, 적용부위는 피부 표면의 적합성(혈관분포상태나 모반 등)과 팔길이를 고려하여 일직선상에 있거나 지그재그식으로 배치할 수 있다. 인접한 2부위의 혈관수축효과가 겹치고, 연구자가 각 시험부위의 혈관수축효과를 구분할 수 없는 피험자의 데이터는 분석시 제외되어야 한다.
7. 색차계를 이용한 시험의 경우 각각의 팔에 2군데의 미처리 대조부위를 둔다.
  - a. 피험자별로 8군데 약물적용부위 및 4군데의 미처리 대조부위를 정하되, 한 팔에 4군데 약물적용부위와 2군데 미처리 대조부위가 되도록 하여 총 12부위가 골고루 배치되도록 한다.
  - b. 육안관측 시험법의 경우 처리된 약물 부위와 주변 피부를 육안으로 비교하는 것이 관찰시 포함되기 때문에 미처리 대조부위를 정할 필요가 없다. 피험자별로 8군데 약물적용부위가 두 팔에 골고루 배정되도록 하되, 한 팔에 4군데 약물적용부위가 배정되도록 한다.
8. 약물적용기간이 끝나는 시점에 약리학적 반응을 측정하기 전에 남아있는 약물을 피부에서 부드럽게 제거해야 한다. 두 방법 중 하나를 이용하여 아래와 같이 수

행한다.

- a. 마른 면솜으로 3번 약물적용부위를 닦아낸다. 약물 순차적용후 동시제거법 또는 약물 동시적용 후 순차제거법에 모두 적절하다.
  - b. 약한 피부 청결제나 물을 이용해서 적용부위를 씻고 먼지가 나지 않는 타월을 이용해서 적용부위를 덮어 물기를 제거한 후 측정하기 최소 5분전에 건조한 바람으로 적용부위를 건조시킨다. 5분후 피부 세정으로 인해 육안으로 관찰되는 피부 반응이 있는 피험자의 경우 더 장시간동안 기다린 후 측정하도록 하고 있다.
    - i. 약물 순차적용후 동시제거법에 적절한 방법이다.
    - ii. 최소량의 피부 세정제, 예를 들어 젖은 손에서 거품을 낼 수 있는 한 방울의 액체 세정제를 이용해서 팔을 씻고 행군다.
    - iii. 약한 액체 피부 세정제의 예로는 Purpose Gentle Cleansing Wash<sup>®</sup>(Johnson & Johnson)과 Cleansing Wash<sup>®</sup>(Neutrogena)가 있다.
9. 기본치 피부 색상과 각 적용부위별 피부창백화정도의 평가  
평가시점의 예는 다음과 같다.:
- a. 순차적용후 동시제거법(staggered application with synchronized removal)인 경우 모든 약물적용부위 및 미처리 대조부위에 대해 최장

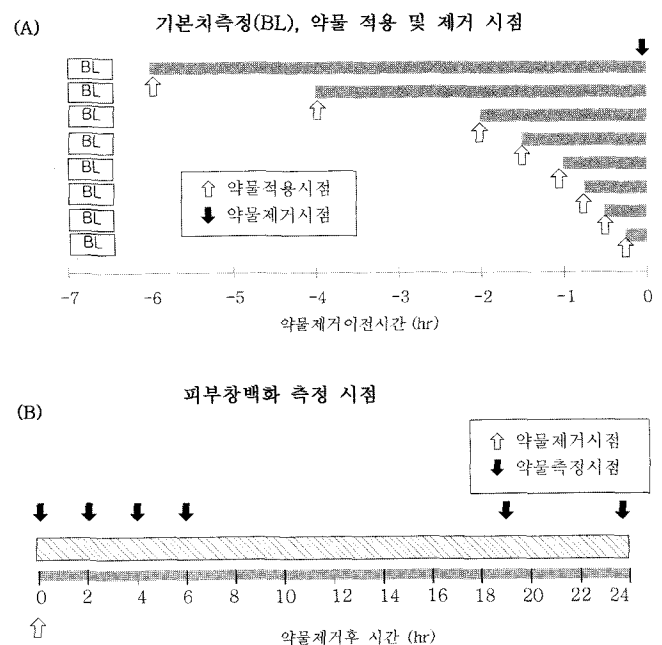


Figure 1-순차적용후 동시제거법에 의한 피부창백화정도의 평가. (A) 기본치측정(BL), 약물적용 및 제거시점, (B) 피부창백화 측정시점.

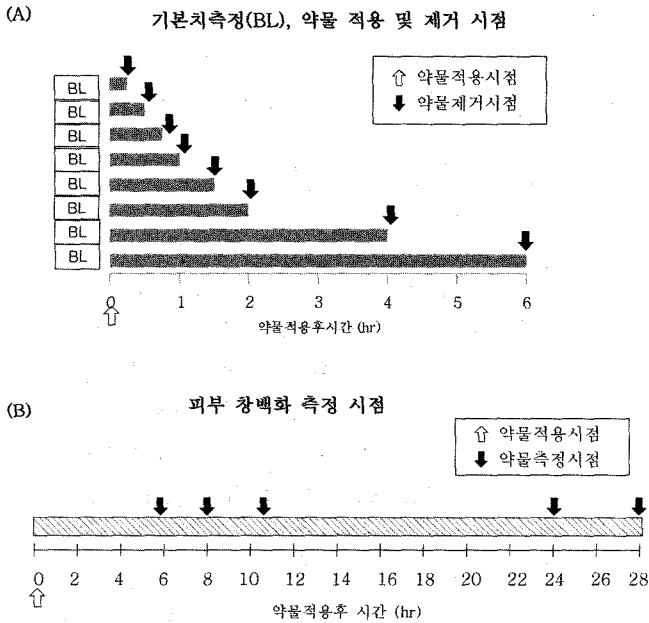


Figure 2-동시적용후 순차제거법에 의한 피부창백화 정도의 평가. (A) 기본측정치측정(BL), 약물 적용 및 제거시점, (B) 피부창백화 측정시점.

약물지속시간 적용부위에 약물을 적용하기 한 시간 전에 각 적용부위별 기본치를 측정하고 약물 적용하여 제거한 후 0, 2, 4, 6, 19 및 24시간에 각 적용부위별 창백화 정도를 측정한다. 이 때, 0시점은 약물을 제거한 시점이다.

b. 동시적용후 순차제거법(synchronized application with staggered removal)인 경우

모든 약물적용부위 및 미처리 대조부위에 대해 적용부위에 약물을 적용하기 한 시간 전에 각 적용부위별 기본치를 측정하고 약물 적용 후 6, 8, 11, 24 및 28시간에 창백화 정도를 측정한다. 이 때, 0시점은 약물을 도포한 시점이다.

주의: 특정 의약품이나 시험 장소에 따라 위 2가지 약물 적용 및 제거 방법에서 최적의 평가 시점을 정하기 위해서 제시된 시험 일정을 조정해야 할 수도 있다. 위 2가지 방법 모두 오후 5시에서 자정까지 시간동안 최소 한 시점이 측정 되도록 일정을 계획해야 한다.

J. 데이터 분석 및 약리학적 모델링

1. 색차계 데이터

a. 약물지속시간별 피부창백화정도(약물적용부위 및 미처리 대조부위)에 대한 측정치는 해당 부위에서의 기본치로 보정한다. 약물적용부위에서 기본치로 보정한 측정치를 동일한 팔의 미처리 대조부위 2군데의 측정치 평균으로 보정한다.

균으로 보정한다.

b. 사다리꼴 법칙을 이용하여 각 약물지속시간별로 기본치 및 미처리 대조부위 측정치로 보정한 약리반응과 약물지속시간간의 그래프에서 곡선하면적(AUEC)을 계산한다.

i. 약물 순차 적용후 동시 제거법인 경우  $AUEC_{(0-24)}$ 를 계산하고,

ii. 약물 동시 적용후 순차 제거법인 경우  $AUEC_{(6-28)}$ 를 계산한다. 일반적인 경우 최장약물적용지속시간부터 28시간까지의 AUEC를 구한다.

c. 각 약물지속시간별 전체 피험자별 반응의 평균치를 이용하여 약물지속시간-반응 데이터를 피팅하는 것은 부적절하다. 모든 피험자의 모든 시험 측정치를 이용해서 동시에 데이터를 피팅하여야 한다. 모델링 소프트웨어를 이용하여 12명의 피험자로부터 얻은 결과로부터  $ED_{50}$ 와  $E_{max}$  값을 구한다. 다음과 같은 방법이 적절하다.:

i. NONMEM(nonlinear mixed effect model)을 이용하여 모수 집단 모델이라는 가정하에 피팅하는 방법. NONMEM 방법을 이용할 경우 시험자내 편차 및 시험자간 편차를 설명할 수 있다.

ii. 모든 피험자의 개개 측정치를 모두 합쳐서 비선형 최소승회귀법을 이용하여 피팅하는 방법( naive pooled data method).

d.  $ED_{50}$ (최고약리반응의 절반을 나타내기까지의 약물적용시간)을 계산한다.

e. 본시험시 검출자 선정에 이용하기 위해  $ED_{50}$ 의 약 1/2배( $D_1$ )와  $ED_{50}$ 의 약 2배에 해당하는 시간( $D_2$ )을 각각 계산한다. 만일 측정된  $ED_{50}$ 값에 도달하는 시간이 최고 15분 정도라면, 실제  $D_1$ 을  $ED_{50}$  측정치의 0.25~0.5배 이내로,  $D_2$ 를  $ED_{50}$ 의 2~4배 이내로 정하는 것이 적절하다.  $ED_{50}$ 까지의 도달시간이 짧은 강력한 부신피질 스테로이드 제제의 경우  $D_1$ 과  $D_2$ 를 Divisor of Bioequivalence와 협의하여 조정한다. 이는 각각 최고약리반응의 약 33%와 약 67%에 해당하는 시점이며,  $ED_{50}$ 는 이 두 시점안에 포함되어 약물지속시간-반응 곡선에서 가장 민감한 부분이다.

2. 육안 관찰

a. 각각의 혈관수축관찰시간-효과간 곡선하면적(AUEC)을 계산한다.

b. 약물지속시간-반응간 데이터를 위 4장(J)(1)(c)항에서 기재한 대로 피팅한다.

c.  $ED_{50}$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ 를 계산한다.

3. Division of Bioequivalence와 협의

분석법 발리데이션, 약물지속시간대 반응, 기타 본시험을



수행하기 전 예비시험시 약물지속시간대 반응상관성과 관련된 내용에 대해 논의하고자 하는 경우 예비시험자료 및 요약 결과를 Division of Bioequivalence에 제출하여 ED<sub>50</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>과 본시험 계획서를 검토받을 수 있다. 만일 예비시험 결과를 제출하는 경우, 적절한 설명과 함께 약리학적 분석 결과에 포함되지 않는 다른 시험 결과도 제출할 수 있다.

예비시험을 수행하지 않고 바로 본시험을 수행할 수 있을 정도로 해당 국소용 부신피질제제제의 약물지속시간대 반응간의 상관성에 대해 조사하여 충분한 정보를 확보하고 있다고 생각하는 제조업체가 있을 수도 있다. 이는 본시험시 반드시 필요한 정보인 동일한 시험부위에서의 해당 대조약에 대한 ED<sub>50</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>에 대한 정보를 알고 있다고 가정한 것이다. 제약회사에서 요청한다면 Division of Bioequivalence에서 관련 자료를 검토하는 것도 가능하다.

4. 전자자료 제출

시험 자료 및 요약 결과가 제출되는 경우 ASCII 포맷으로 된 디스켓에 시험결과를 저장하여 예비시험자료와 함께 제출해야 한다. 색차계 기초자료, 기본치 보정 자료, 기본치 및 미처리대조부위측정치 보정자료, AUEC 자료가 정해진 양식에 따라 별도의 파일에 저장하여 제출하도록 하고 있다.

5장. 생체내 생물학적동등성 본시험

본시험의 목적은 시험약과 대조약과의 생체내 생물학적동등성을 문서화하는데 있다. 본 가이드선스에서는 데이터 분석에 포함시킬 피험자에 대한 충족 요건인 약물지속시간대 반응간의 최소 비율에 대해 정하고 있다. 따라서 일반적으로 Division of Bioequivalence와의 사전협의없이 본시험을 수행해도 좋다(4장 J. 3.항 참고).

A. 시험 디자인

1. 예비시험시 확인된 ED<sub>50</sub>값을 토대로 시험약과 대조약에 대해 한 가지 약물지속시간에서 일내 수차례 반복 시험을 수행한 약력학적 생물학적동등성시험이다.
2. 피험자별 약물지속시간대 반응은 D<sub>1</sub>과 D<sub>2</sub> 약물지속시간에서 대조약의 AUEC값의 비가 최소 1.25이상이어야 한다. 이러한 기준에 부합하지 여부는 대조약을 각 약물지속시간별로 2부위씩 도포하여 D<sub>1</sub>(ED<sub>50</sub> 도달시간의 약 0.5배에 해당하는 약물지속시간)과 D<sub>2</sub>(ED<sub>50</sub> 도달시간의 약 2배에 해당하는 시간)까지 지속 적용한 후 평가한다.
3. 40~60명의 평가 가능한 피험자, 즉 4장 E.항과 5장 H.1.c.항의 반응자 및 검출자의 기준에 적합한 피험자가 있어야 한다.

B. 피험자 포함 기준

4장 B항 참고

C. 피험자 제외 기준

4장 C항 참고

D. 시험시 제한 사항

4장 D항 참고

E. 피험자 반응 스크리닝

4장 E항 참고

F. 시험 정밀성

4장 F항 참고

G. 시험 당일 활동

1. 필요시 4장 1항 참고한다.
2. 피험자별 전원부 안쪽면에 약물지속시간별로 적용부위를 임의로 배정하되, 아래 기재된 권장사항이 반영되도록 한다. 4장 G항의 고려사항 및 예비시험 결과를 토대로 적용부위는 밀봉포대법이나 개방법을 이용하여 시험할 수 있다. 색차계 측정시 미처리 대조부위가 포함되어야 한다. 각각의 팔에는 다음과 같은 약물지속시간별 적용부위 및 대조부위가 포함되어야 한다.

- T : 대조약을 이용한 예비시험 결과 얻어진 ED<sub>50</sub> 약물지속시간에서의 시험약(한 팔에 2군데)
- R : 시험약 T에서와 동일하게 ED<sub>50</sub> 약물지속시간에서의 대조약(한 팔에 2군데)
- D<sub>1</sub> : 짧은 약물지속시간 대조약 칼리브레이터 (한 팔에 1군데)
- D<sub>2</sub> : 긴 약물지속시간 대조약 칼리브레이터 (한 팔에 1군데)
- UNT: 미처리 대조부위(한 팔에 2군데)

총 시험부위는 16군데(한 팔에 8군데)이다. 위에서 언급한 것처럼 8군데의 시험부위를 무작위로 배열한다. 양팔에 약물을 적용하는 방식은 D<sub>2</sub>는 D<sub>1</sub>과, R은 T와, UNT는 UNT와 서로 대칭적으로 도포하여야 한다. 예를 들어, T를 한 팔의 특정부위에 배정한 경우 다른 팔의 동일 부위에 R이 배정되도록 하여야 한다. UNT를 한 팔의 특정 부위에 배정하는 경우 다른 팔의 동일 부위에 UNT가 배정되어야만 한다.

팔요금	
왼팔	오른팔
D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
T	R
UNT	UNT
R	T
UNT	UNT
T	R
D <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>
R	T

Figure 3-본시험시 약물 적용부위 배정 실례

특정 피험자에 대한 약물을 적용하는 대표적인 방법은 Figure 3과 같다. 또한, 약물 적용 방식, 예를 들어 가운데에서 바깥으로 도포하거나, 위에서 아래로 도포하는 등의 방법을 명기하도록 하고 있다

3. 순차적용후 동시제거법이든 동시적용후 순차제거법이든 간에 예비시험에서 수행한 것과 동일한 방법으로 실시하고 D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> 및 ED<sub>50</sub> 용량지속시간을 이용하여야 한다.
4. 각 부위별 피부 색상 기본치 및 창백화 정도의 평가 시점에 대한 예는 다음과 같다.

a. 순차적용후 동시제거법의 경우

모든 약물적용부위 및 미처리 대조부위에 대해 최장 약물지속시간 적용부위에 약물을 적용하기 한 시간 전에 각 부위별 기본치를 측정하고 약물 제거후 0, 2, 4, 6, 19 및 24시간에 피부창백화 정도를 측정한다. 실제 측정 시간은 투약시점 및 시험하고자 하는 국소용 적용제제에 따라 결정한다.

이때, 0시점은 약물을 제거한 시점이다.

b. 동시적용후 순차제거법의 경우

모든 약물적용부위 및 미처리 대조부위에서 약물적용하기 1시간전에 각 부위별 기본치를 측정하고 약물 적용후 D<sub>2</sub>, 6, 8, 11, 24 및 28시간째에 피부 창백화 정도를 측정한다. 실제 측정 시간은 투약시점 및 시험하고자 하는 국소용 부신피질 스테로이드 제제에 따라 결정한다.

이때, 0시점은 약물을 도포한 시점이다.

주의: 예를 들어 특정약물에 대한 D<sub>2</sub>가 4시간이라고 한다면 전체 피부 부위에서 기본치 측정후 최초로 측정하는 시점이 4시간째가 된다. 위 두 가지 방법 모두 오후 5시에서 자정까지 시간동안 최소 한 시점이 측정되도록 일정을 계획해야 한다.

H. 결과 및 데이터 분석

1. 데이터 분석

- a. 색차계 측정 결과인 경우 각 부위별 창백화 반응 정도를 기본치로 보정한다. 약물적용부위에서 기본치로 보정된 측정치는 다시 기본치로 보정된 미처리 대조부위 2군데에서의 측정치로 보정한다.
- b. 약물지속시간동안 기본치 및 대조부위 측정치로 보정된 약리반응에 대한 AUEC를 계산한다.
  - i. 순차적용후 동시제거법인 경우 AUEC<sub>(0-24)</sub>를 계산하고
  - ii. 동시적용후 순차제거법인 경우 D<sub>2</sub>에서 28시간까지의 AUEC를 계산한다.
- c. D<sub>1</sub>과 D<sub>2</sub>에서의 AUEC 값이 모두 음수이고 아래의 약물지속시간-반응 기준에 부합하는 피험자인 검출자의 시험 결과만 데이터 분석시 포함시켜야 한다. 약물지속시간-반응 기준은 다음과 같다.

$$\frac{\text{AUEC at } D_2}{\text{AUEC at } D_1} \geq 1.25$$

여기에서,

$$\text{AUEC at } D_2 = 0.5 \times [\text{AUEC at } D_2(\text{왼팔}) + \text{AUEC at } D_2(\text{오른팔})]$$

$$\text{AUEC at } D_1 = 0.5 \times [\text{AUEC at } D_1(\text{왼팔}) + \text{AUEC at } D_1(\text{오른팔})]$$

- d. 완전한 데이터 세트, 즉 D<sub>1</sub>과 D<sub>2</sub>의 측정치 각 2개 및 T, R 및 UNT의 측정치 각 4개가 데이터 분석시 포함되어야만 한다.
- e. 5장 H.1.b.항에 따라 ED<sub>50</sub> 약물지속시간 부근에서 측정된 AUEC 계산치를 토대로 생물학적동등성을 비교해야 한다.[적용약물 T와 R, 5장 G.2.항 참고]
- f. 비검출자의 결과를 포함한 모든 시험 결과는 제출되어야만 한다. 생물학적동등성 평가시 사용하지 않은 결과인 경우 반드시 적절한 설명, 예를 들면 비검출자 또는 인접부위에서의 혈관수축반응과 겹침 등과 같은 설명이 있어야 한다.

2. 통계 분석

- a. 통계 분석시 처리약물 T와 R에 대해 기본치와 미처리 대조부위 측정치로 보정한 값으로부터 구한 AUEC는 일부는 양수이지만 일반적으로 음수값이기 때문에 로그변환하지 않은 결과값을 이용한다. 양수와 음수의 값이 공존하는 경우 기존의 통계적인 로그변환방법을 이용하기 어렵다. 기존에 사용했던 추정

법, 예를 들면 대조약과 시험약의 평균간의 차이에 대해 신뢰구간을 계산하고 대조약의 평균 예측치로 이 범위를 나누는 방법은 적용할 수 없다. Locke's method을 통해 로그변환하지 않은 결과에 대한 정확한 신뢰구간을 알 수 있다.(아래 5장 H.3.항 참고)

- b. Locke's method를 이용하여 대조약에 대한 시험약의 평균 AUEC 반응비에 대한 90% 신뢰구간을 계산해야 한다.
- c. Office of Generic Drugs에서는 생물학적동등성에 대한 동등성 인정범위를 아직 결정하지 않았다. office of generic drugs에서는 허가당국에 제출된 데이터를 평가하는 과정에서 일반적인 기준인 80~125%보다는 생물학적동등성 범위를 더 넓어질 수도 있다고 보고 있다.
- d. 약물적용부위 및 대조부위를 배정하기 위해 사용한 무작위 코드표를 보고서 제출시 제출해야 한다.

3. Locke's method

Locke's method에 따른 90% 신뢰구간은 다음과 같이 구한다.

$$\frac{\left(\frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R} - G \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}}\right) \pm \frac{t}{X_R} \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_{RR}}{n}} K}{1-G}$$

여기에서,

$$G = \frac{t^2 \hat{\sigma}_{RR}}{n X_R^2}, K = \left(\frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R}\right)^2 + \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}}(1-G) + \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} \left(G \frac{\hat{\sigma}_{TR}}{\hat{\sigma}_{RR}} - 2 \frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_R}\right)$$

$$\bar{X}_T = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{Ti} : \text{대조약의 AUEC 평균치}$$

$$\bar{X}_R = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{Ri} : \text{시험약의 AUEC 평균치}$$

$$\hat{\sigma}_{TT} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ti} - \bar{X}_T)^2}{n-1} : \text{대조약의 AUEC 분산}$$

$$\hat{\sigma}_{RR} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ri} - \bar{X}_R)^2}{n-1} : \text{시험약의 AUEC 분산}$$

$$\hat{\sigma}_{TR} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{Ti} - \bar{X}_T)(X_{Ri} - \bar{X}_R)}{n-1} : \text{대조약과 시험약간의 AUEC 분산}$$

n: 검출자 수

t: t-분포표에서 자유도 n-1에 대한 95% 신뢰계수

4. 전자자료 제출

ASCII 포맷으로 된 디스켓에 시험결과를 저장하여 제출해야 한다. 색차계 기초자료, 기본치보정 자료, 기본치 및 미처리대조부위측정치 보정자료, AUEC 자료를 정해진 양식에 따라 별도의 파일에 저장하여 제출하도록 하고 있다.

고 찰

이상에서는 미국의 「국소용 부신피질스테로이드제제의 생물학적동등성시험 가이드라인」<sup>6)</sup>에 대하여 소개하였다. 미국과 일본의 현행 가이드라인에서는 부신피질 스테로이드 연고제/크림제의 생동성입증방법의 경우 약력학적 시험법을 공통으로 채택하고 있다. 약력학적시험의 경우 피험자의 선정 및 제외기준이 거의 유사하고, 예비시험을 통하여 T<sub>50</sub>을 계산한 후 본 시험시 T<sub>50</sub> 기간동안 약물을 적용하여 수행하며, 창백화 반응이 민감하지 않은 비검출자의 데이터를 제외하는 점이 유사하다. 그러나, 미국과 일본의 가이드라인은 다음과 같은 점에서 다소 상이하다.<sup>4,6)</sup> 첫째, 생물학적동등성 시험 평가방법의 경우 일본은 대조약과 시험약의 AUEC 평균치 차에 대한 모수적 또는 비모수적 방법으로 통계 처리하여 90% 신뢰구간을 구하여 생물학적동등성을 평가하고 있지만, 미국은 대조약과 시험약의 AUEC 평균치의 비에 대한 90% 신뢰구간을 구하도록 하고 있으며, 통계처리 방법으로는 Locke's method를 이용하고 있는 점이 상이하다. 둘째, 피부창백화 측정 방법의 경우 일본은 육안측정법 및 색차계 측정법을 모두 인정하고 있으며, 색차계 측정시 ΔE scale의 측정을 원칙적으로 하며, a-scale 측정만도 가능한 것으로 되어 있으나, 미국은 측정하는 scale에 대하여 본문 중에 구체적으로 언급되어 있지 않고, 부록에 a-scale만 측정된 예시자료가 수록되어 있다. 또한, 창백화 반응 측정시 피험자 수에 있어서도 최근에 중국인의 피부로 연구된 논문<sup>7)</sup>에 따르면, 미국의 가이드라인보다 적은 수의 피험자를 대상으로 하였으므로, 우리나라 피험자를 대상으로 시험한 연구결과에 따라 적정 수의 피험자 수를 정하는 것이 필요할 것으로 사료된다. 셋째로 일본 가이드라인에 대한 질의 응답집 Q17번<sup>5)</sup>에 따르면, 실제 적용되는 약물이 반드시 선형의 용량-반응성을 나타내지 않기 때문에 예비시험에서 용량-반응간 직선성에 대한 확인을 할 필요가 없으나, 미국의 경우는 예비시험단계에서 용량-반응 검량선을 작성하고, 본 시험에서 직선성을 입증하는 것이 필수적이며, 또한 다시 기본치로 회복할 때까지 측정함으로써 최대약리반응이 관찰되었음을 입증하도록 하고 있다. 넷째, 일본에서 표준제제 선정시 시험관내 방출시험을 실시하도록 하는 점과는

달리 미국의 경우 시험관내 방출시험자료를 고함량제제의 허가후 저함량제제의 생체시험 면제요건 및 첨가제, 제조 공정, 제조처 등 허가후 변경시 자료제출요건으로 제시되어 있다. 다섯째, 폭로량시험의 경우 일본에만 실제 약물을 적용하는 대상이 정상피부에 비해 장벽기능이 저하된 환자임을 고려하여 면역억제제, 작용 강도가 강한 스테로이드제, 레티노이드제, 항암제, 클로람페니콜 및 이에 준하는 의약품의 경우 장벽 기능이 저하된 피부를 이용해서 시험약과 대조약의 폭로량을 비교하는 것이 필요한 것으로 되어 있다.

따라서, 위의 미국과 일본의 가이드라인을 비교 분석 결과와 연구결과를 토대로, 향후 과학적이고 합리적이며 한국인 특성을 잘 반영하는 국소용 피부적용제제에 대한 생물학적동등성 가이드라인을 제시하는 것이 필요하다고 사료된다.

## 문 헌

- 1) 약사관계법령집 (2002).
- 2) 생물학적동등성시험기준, 식품의약품안전청고시 제 2002-60호 (2002. 11. 22.).
- 3) S.O. Choi, S.H. Jung, S.Y. Um, S.J. Jung, J.I. Kim and S.Y. Chung, Guideline for Bioequivalence Studies of Generic Products for Topical Use, *J. Kor. Pharm. Sci.*, **34**(4), 333-340 (2004).
- 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 國立醫藥品食品衛生研究所 (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 國立醫藥品食品衛生研究所 (2003).
- 6) Guidance for Industry : Topical Dermatologic Corticosteroids : In vivo Bioequivalence, US FDA (1995. 6. 2).
- 7) J. Tsai, C. Cheng, Y. Tsai, H. Sheu and C. Chou, Evaluation of in vivo bioequivalence methodology for topical clobetasol 17-propionate based on pharmacodynamic modeling using chinese skin, *J. Pharm. Sci.*, **93**(1), 207-217 (2004).