

아세틸-엘-카르니틴 정제의 생물학적 동등성 평가

박경미¹ · 이미경¹ · 신지영¹ · 우종수² · 임수정¹ · 임윤영¹ · 김종국^{1*}

¹서울대학교 약학대학, ²한미약품 중앙연구소

Bioequivalence Study of Acetyl-L-Carnitine Tablets

Kyung-Mi PARK¹, Mi-Kyung LEE¹, Jee-Young SHIN¹, Jong-Soo WOO²,
Soo-Jeong LIM¹, Yoon-Young LIM¹ and Chong-Kook KIM^{1*}

¹College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

²Central Research Institute, Hanmi Pharm Co., Ltd., Kyonggi-Do 445-910, Korea

(Received September 6, 2001; accepted December 12, 2001)

Abstract – Bioequivalence of two acetyl-l-carnitine tablets, test product (Carnitile tablet: Hanmi Pharm. Co., Ltd.) and reference product (Nicitile[®] tablet: Dong-A Pharm. Co., Ltd.), was evaluated according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). Twenty-six healthy volunteers were divided randomly into two groups and administered the drug orally at the dose of 500 mg as acetyl-l-carnitine in a 2×2 crossover study. Blood samples were taken at predetermined time intervals for 12 hours and the plasma concentration of acetyl-l-carnitine was determined using HPLC by derivatization with p-bromophenacyl bromide. The pharmacokinetic parameters (AUC_{0-12h} , C_{max} , and T_{max}) were calculated and ANOVA was utilized for the statistical analysis of parameters. The apparent differences of these parameters between two drugs were less than 20% (i.e., 1.26, -5.08 and 8.59% for AUC_{0-12h} , C_{max} , and T_{max} , respectively). The powers ($1-\beta$) for AUC_{0-12h} , C_{max} , and T_{max} were over 0.9. Minimal detectable difference (Δ) at $\alpha=0.05$, $1-\beta=0.8$ were less than 20% (i.e., 7.31, 14.88 and 11.77% for AUC_{0-12h} , C_{max} , and T_{max} , respectively). The confidence intervals (δ) for these parameters were also within $\pm 20\%$ (i.e., $-3.03 \leq \delta \leq 5.54$, $-13.80 \leq \delta \leq 3.64$ and $1.69 \leq \delta \leq 15.48$ for AUC_{0-12h} , C_{max} , and T_{max} , respectively). These results satisfied the criteria of KFDA guideline for bioequivalence, indicating Carnitile bioequivalent to Nicitile[®].

Key words □ Acetyl-l-carnitine, Bioequivalence, Carnitile, HPLC, Nicitile[®]

아세틸-엘-카르니틴은 사람의 뇌, 간 및 신장에서 카르니틴 아세틸 트랜스페라아제에 의해 엘-카르니틴으로부터 합성된다(Hosein 등, 1967). 아세틸-엘-카르니틴은 지방산 산화 과정 중 미토콘드리아로 acetyl-CoA의 흡수를 촉진시키며 아세틸 콜린의 생산을 증가시킨다. 아세틸-엘-카르니틴은 임상에서 알츠하이머 형의 우울증을 치료하는데 사용된다(Thal 등, 1996). 아세틸-엘-카르니틴은 경구투여시 단순확산에 의해 공장에서 흡수되며, 능동수송기전을 통하여 세포로 이동된다. 이는 아세틸-엘-카르니틴과 엘-카르니틴의 혈중농도가 카르니틴 아세틸 트랜스페라아제 활성을 통해 평형에 도달한다는 것을 의미한다. 아세틸-엘-카르니틴의 경구투여시 최고혈중농도 도달시간은 4시간(Kelly 등, 1990)이며, 반감기는 약 1.73시간(Parnetti 등, 1992)으로 보고되어 있다.

국내에서는 동아제약(주)에서 “니세틸정”이라는 상품명으

로 아세틸-엘-카르니틴 정제(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)를 국내 최초로 발매하였다. 동아제약의 니세틸정과 대체 판매가 가능한 제제를 제조하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 따라 생체시험을 통하여 두 제제간에 생체이용률이 통계학적으로 차이가 나지 않는다는 것을 입증할 수 있어야 한다.

따라서, 본 연구에서는 한미약품공업주식회사가 발매하고자 하는 아세틸-엘-카르니틴 제제인 “카니틸정”이 기존의 아세틸-엘-카르니틴 제제인 “니세틸정”과 그 생체이용률이 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품 안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 따라 건강한 성인남자 26명을 대상으로 라틴방격법에 따라 시험하여 얻은 아세틸-엘-카르니틴의 혈장 중 약물농도-시간곡선 하 면적(AUC_t), 최고혈장중농도(C_{max})와 최고 혈장 중 농도 도달시간(T_{max})에 대하여 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 행하였다. 이 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 받아 시행되었고 시험계획서에 따라서

*To whom correspondence should be addressed.

시험은 합법적으로 진행되었으며 모든 피험자의 동의를 받은 후 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

생물학적 동등성 시험약으로는 조건부 생산 허가를 받아 제조된 한미약품공업주식회사의 카니틸정(제조번호 PBE-1, 제조일자: 1999. 12. 17)을, 대조약으로는 동아제약의 니세틸정(제조번호 8584, 사용기간: 2000. 5. 29)을 사용하였다. 시험약 및 대조약 1정 중에는 아세틸-엘-카르니틴 500 mg이 함유되어 있다. 아세틸-엘-카르니틴 염산염 표준품 및 e-카르니틴 염산염은 한미약품공업주식회사에서 공급받아 사용하였고, 시약으로는 p-bromophenacyl bromide(Merck, Darmstadt, Germany), 18-crown-6(Sigma, St. Louis, MO, USA), ninhydrin solution(Sigma, St. Louis, MO, USA), acetonitrile(HPLC grade, Fisher Sci., Fair Lawn, NJ, USA)을 사용하였고 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 그대로 사용하였다. 기기로는 L-6200 intelligent pump, L-4200 UV detector, L-7200 autosampler로 구성된 Hitach(Tokyo, Japan) HPLC system, Hypersil MOS-1 C₈ column(3 µm, 150×4.6 mm, Alltech, Deerfield, IL, USA)을 사용하였으며 LC signal의 수집은 DsChrom®(Donam Int. Ltd, Seoul, Korea)을 사용하였다. 또한 원심분리기(VS-15000 CFN, Vision Sci., Kyonggi-do, Korea), pressure gas blowing concentrator(MGS-2100E, Eyela, Tokyo, Japan), vacuum manifold(Visiprep™, Supelco, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

피험자의 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 근거하여 대학에 재학중인 20~30세의 건강한 남성 지원자를 공고로 통하여 모집하였으며, 지원자에 대하여 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자 중에서 선정하였다. 동시험의 피험자로 선정된 사람은 평균체중 66.4 kg의 20~29세(평균연령 23.5세)의 지원자 26명이었으며, 모두 본 실험에 대한 충분한 설명을 듣고 시험 동의서에 서명한 후 참여하였다. 피험자들은 시험 실시 1주일 전부터와 휴약 기간 중 어떠한 약물도 복용하지 않도록 하여 약물상호작용으로 인한 시험오차가 발생하지 않도록 주의하였다.

약물투약 및 혈액채취

지원자간의 차이 및 투여 시기별 차이를 최소화하고 기 투여된 약물에 의한 효과(carry over effect)가 없도록 두 제제에 대한 교차시험법으로 설계하여 총 26명의 지원자를

임의로 A 및 B군으로 나누고 제 I기에서는 A군에 대조약인 “니세틸정”을, B군에는 대조약인 “카니틸정”을 투여하였고, 제 II기에서는 반대로 투여하였다. 투여량은 아세틸-엘-카르니틴 제제의 용법 용량을 고려하여 아세틸-엘-카르니틴으로서 500 mg으로 1회 1정 투여하였다. 한편, 아세틸-엘-카르니틴의 반감기가 1.73시간(Parnetti 등, 1992)으로 보고되어 있으므로 생물학적동등성시험기준(식품의약품안전청, 1998)의 휴약 기간 산정기준에 따라 반감기의 최소 3배 이상의 기간을 충분히 확보할 수 있는 1주일의 휴약 기간을 설정하였다. 약물의 투약은 아세틸-엘-카르니틴 500 mg을 함유하는 “카니틸정” 1정 또는 “니세틸정” 1정씩을 아침 식사를 하지 않은 상태에서 약 200 ml의 물과 함께 투약하였다. 피험자의 팔 정맥 부위에 멸균된 i.v. catheter를 설치하고 약물 투여 이전 및 투여 후 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8 및 12 시간에 6 ml씩 채혈하였다. 채혈된 혈액은 헤파린으로 처리된 진공시험관(Vacutainer®, Becton Dickinson, Rutherford, NJ, USA)에 넣고 천천히 흔들어 준 후 4°C에서 적어도 5분간 냉각시킨 뒤 약 2000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장만을 취하여 분석시까지 -20°C에서 보관하였다. 채혈 및 휴식 등의 피험자의 시험관리는 강남 순화병원 건강관리실에서 일반환자와 격리된 상태에서 행하였다.

혈장 중 아세틸-엘-카르니틴의 정량

시액의 조제

염산 아세틸-엘-카르니틴을 물에 녹인 후 적절히 희석하여 1.39, 4.17, 8.34 및 16.69 nmol/ml가 되도록 표준 용액을 만들어 검량선 작성에 사용하였다. 염산 e-carnitine을 물에 녹여 약 50 nmol/ml로 하여 내부표준액으로 사용하였다.

시료의 전처리 및 유도체화

혈장 시료 100 µl에 내부표준액 50 µl와 ninhydrin 용액 50 µl를 가한 후 실온에서 10분간 암소에 방치하여 아미노산을 제거하였다. 여기에 메탄올 1 ml를 가하여 vortexing하고 3000 g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하고 이를 30°C에서 질소기체를 흘려 증발건고 시켰다. 잔사를 1 ml 메탄올에 용해시켜 이를 silica gel로 충전된 SPE column(Lichrolute®Si, 200 mg)에 가하고 메탄올 1 ml로 세척한 후 이어서 1% 초산-메탄올 용액 0.7 ml로 세척하였다. 그 후 초산/물/메탄올(3/2/95) 혼합액 4 ml를 흘려주어 약물과 내부표준물질을 유출시켰다. 이 액을 질소기류하에 증발, 건조시킨 후 여기에 물 50 µl와 p-bromophenacyl bromide시액(p-bromophenacyl bromide 0.025M과 18-crown-6 0.0025M을 아세토니트릴에 용해시킨 액) 300 µl를 가한 후 70°C에서 40분간 방치함으로써 유도체화를 완성하였다. 이를 실온으로 식힌 후 50 µl를 HPLC 분석에 이용하였다.

크로마토그래피 조건

혈장 중 아세틸-엘-카르니틴을 분석하기 위하여 gradient elution법을 사용하여 UV/VIS 검출기로 260 nm에서 signal을 검출하였다. 용매는 100% 아세토니트릴 (A), 100% 물 (B) 및 0.8% TEA와 0.64% 인산을 함유하는 80% 아세토니트릴 액 (C)을 사용하였다. 용매의 혼합비는 Table I과 같으며, 유속은 1 ml/min으로 일정하였다.

약물속도론 파라미터의 분석

생물학적 동등성 여부를 평가하기 위한 주요 평가항목으로 혈장중 농도-시간 곡선하 면적(AUC_{0-12h}), 최고혈장중농도(C_{max}) 및 최고혈장중농도에 도달하는 시간(T_{max})을 사용하였다. AUC_{0-12h}는 trapezoidal rule에 의하여 산출하였고 C_{max}는 측정 최고 농도, T_{max}는 측정 최고 농도를 나타낸 시간으로 하였다.

생물학적 동등성 평가

생물학적 동등성을 증명하기 위한 통계기법은 평균치의 차이, 분산분석에 의한 유의성 검정(ANOVA), 검출력 시험(power test) 및 신뢰한계(confidence limit) 등을 사용하였다(Abdou, 1989; Shargel과 Yu, 1993). 주요 판정 대상으로는 AUC_{0-12h}, C_{max}, 및 T_{max}값을 사용하였으며 유의 수준 α=0.05에서 판정하였다. 판정 대상인 AUC_{0-12h}, C_{max}, 및 T_{max}의 평균값의 차이, 분산분석, 신뢰한계 및 최소검출차(검출력) 등의 통계 결과를 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 따라 K-BE test 프로그램(Lee 등, 1998)을 사용하여 동등성 여부를 판정하였다.

실험결과

혈장 중 아세틸-엘-카르니틴의 정량

아세틸-엘-카르니틴은 발색단을 가지고 있지 않은 화합물

Table I. HPLC Gradient Program for the Determination of Acetyl-L-Carnitine

Time (min)	Mixing Ratio (%)		
	A	B	C
0	80	20	
0.2	80	20	
0.3		100	
2.9		100	
3.0		80	20
15.0		70	30
23.0		62	38
27.0		60	40
29.0		60	40
29.1		100	

로 UV 정량을 위해서 발색단 유도체화가 필요하다. 그러므로 p-bromophenacyl bromide를 사용한 발색반응시의 온도와 시간의 효과를 확인하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 반응은 50°C이상에서 거의 40분에 완결되었다. 따라서 이후의 실험에서 유도체화는 70°C에서 40분간 반응시켰다. 이 반응 화합물은 실온에서 적어도 24시간이상 안정하였다.

아세틸-엘-카르니틴의 수용액 표준용액과 건강한 성인의 대조 혈장 및 아세틸-엘-카르니틴 투여 후 5시간째의 혈장을 본 시험 방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. 아세틸-엘-카르니틴과 내부 표준물질인 e-카르니틴의 피크의 출현시간은 각각 약 27.5분 및 22.3분이었으며 각 피크의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 3으로 하였을 때 정량한계는 0.22 nmol/ml이었다. 아세틸-엘-카르니틴은 체내에 존재하는 내인성 약물로서 대조 혈장 자체에 약 4 nmol/ml정도의 양이 존재하므로 수용액 표준용액을 사용하여 검량선을 작성하였으며, 1.39~16.69 nmol/ml 의 농도에서 피크 높이비 = 0.0584 × 아세틸-엘-카르니틴 농도(nmol/ml) - 0.0113(r² = 0.9999)의 상관관계가 있었다(Fig. 3). 이 농도범위에서 아세틸-엘-카르니틴의 일내 및 일간 변동계수는 모두 15%이하였다(Table II). 이로써 혈장 중 아세틸-엘-카르니틴에 대한 분석법이 사람에 대한 생체이용률 시험에 사용될 수 있는 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈장중 농도추이 및 속도론 파라미터

대조약 “니세틸정” 및 시험약 “카니틸정” 1정(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)을 지원자 26명에게 경구 투여한 후

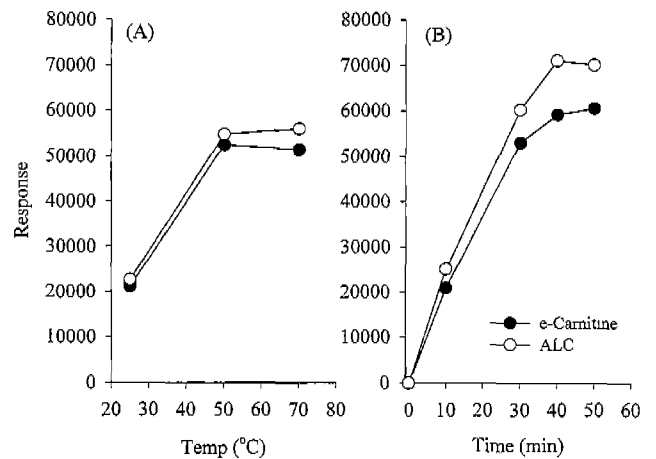


Fig. 1. Effect of (A) reaction temperature and (B) reaction time on the derivatization of ALC and e-carnitine (internal standard) with p-BPB. Effects of reaction temperature and time were investigated at fixed time (40 min) and temperature (70°C), respectively.

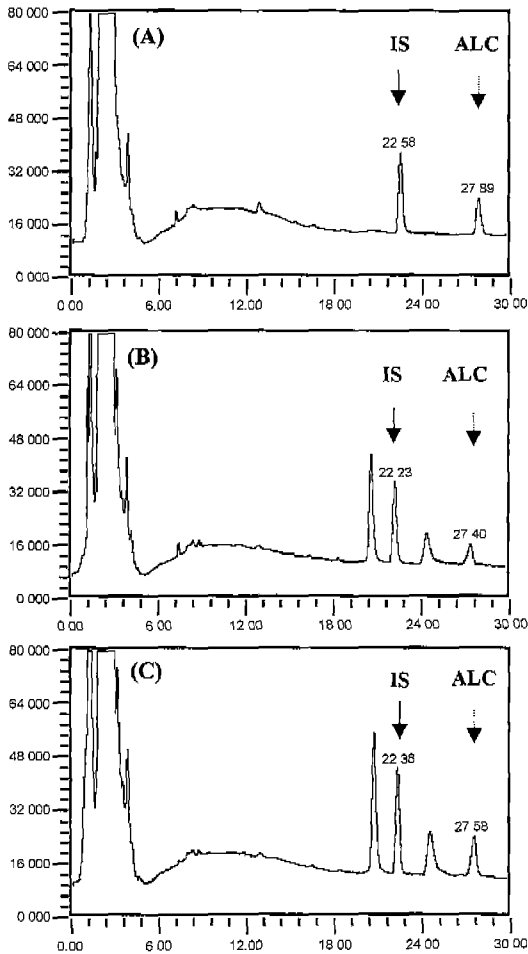


Fig. 2. HPLC Chromatograms of acetyl-l-carnitine in standard solution (A), blank plasma spiked with internal standard (B) and plasma sample from human subject at 5 h after oral administration of acetyl-l-carnitine tablet (C). Peak: ALC, acetyl-l-carnitine; IS, internal standard (e-carnitine).

Table II. Reproducibility of ALC determination in standard solution

Conc. (nmol/ml)	Precision (%C.V., %)		Accuracy (Absolute error, %)	
	Interday (n=5)	Intraday (n=3)	Interday (n=5)	Intraday (n=3)
0.50	2.21	4.12	7.14	9.95
1.39	5.06	3.45	5.40	12.86
4.17	2.56	0.84	2.00	0.99
8.34	1.01	2.81	0.82	3.59
16.69	0.19	2.26	0.23	2.02

*C.V. : coefficient of variation

시간에 따른 평균 혈장중 농도의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 혈장 중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 약물속

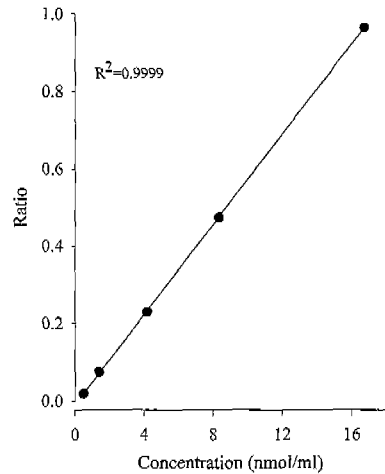


Fig. 3. Calibration curve for ALC after derivatization with p-BPB.

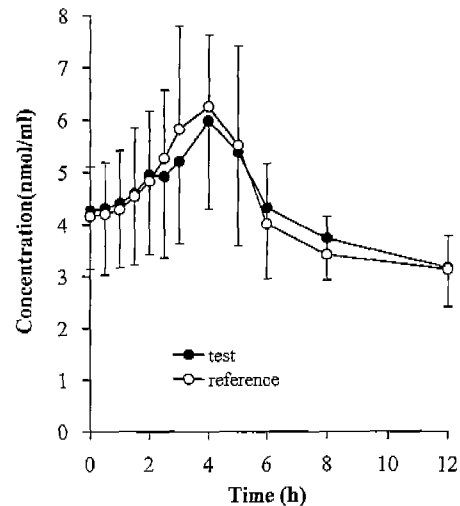


Fig. 4. Time course of plasma acetyl-l-carnitine concentrations: after oral administration of reference(Nicetile®)(○) or tes (Carnitile) (●) drug (Mean ± D., n=26)

도론적 파라미터(AUC_{0-12h}, C_{max}, T_{max})는 Table III에 정리하였다.

대조약 “니세틸정”과 시험약 “카니틸정”을 투여한 두 제제의 아세틸-엘-카르니틴에 대한 약물속도론 파라미터를 비교할 때 대조약 “니세틸정”의 AUC_{0-12h}는 51.41±8.68 nmol·h/ml인데 비해 대조약 “카니틸정”의 AUC_{0-12h}는 52.05±10.22 nmol·h/ml로 나타났으며 두 제제간의 차이에 통계적인 유의성은 없었다(p>0.05). 두 제제의 C_{max}와 T_{max}를 비교해보면 두 파라미터 모두 유의성 있는 차이는 없었다. AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max} 값의 평균치의 차이는 1.26, -5.08, 8.59%로 나타나 ±20%이내여야 한다는 생물학적 동등성 평가를 위한 전제조건을 만족시켰다.

Table III. Pharmacokinetic parameters for each volunteer obtained after oral administration of Nicitile® and carnitile tablet at the acetyl-L-carnitine dose of 500 mg.

Volunteer	Age (yr)	Weight (kg)	Height (cm)	Nicitile® tablet			Carnitile tablet		
				AUC _t (nmol · h/ml)	C _{max} (nmol/ml)	T _{max} (h)	AUC _t (nmol · h/ml)	C _{max} (nmol/ml)	T _{max} (h)
A1	23	57.9	171.8	37.71	4.90	4	37.93	3.75	4
A2	23	72.7	173.9	59.32	8.81	4	56.01	6.19	4
A3	29	61.2	164.7	39.34	5.23	4	46.98	6.69	5
A4	23	66.0	174	59.39	13.05	5	60.04	9.03	6
A5	25	65.2	175.6	53.90	6.21	4	59.42	7.67	4
A6	24	60.0	164	54.78	8.31	4	47.64	6.53	4
A7	23	66.0	172	34.81	3.96	5	35.81	4.22	4
A8	22	61.0	170	53.74	7.90	3	55.34	5.87	3
A9	21	81.0	177	58.53	7.93	5	54.65	8.30	4
A10	27	71.0	176	46.72	6.73	4	39.49	4.38	4
A11	25	69.0	171	50.19	6.53	5	51.38	6.16	5
A12	20	60.8	179.3	52.79	6.19	4	51.03	6.76	5
A13	27	73.0	171	59.47	6.77	4	47.92	5.85	5
B1	25	60.0	165.7	61.53	7.34	4	71.20	9.34	4
B2	26	66.7	167.6	60.10	7.19	1.5	53.03	7.89	2.5
B3	23	66.1	171.2	45.80	6.08	3	61.94	7.24	4
B4	20	76.0	176	51.08	6.91	3	49.48	5.59	4
B5	29	65.9	174.1	41.82	6.65	4	40.32	5.74	4
B6	22	72.0	176	34.28	4.05	5	28.76	3.35	4
B7	21	66.4	169	46.62	6.94	5	60.86	11.26	5
B8	22	59.0	169	49.52	5.87	2.5	56.88	6.67	5
B9	25	63.0	181	53.90	7.61	3	53.54	8.09	3
B10	21	57.0	172	54.36	12.10	3	50.23	7.82	4
B11	21	69.9	172	62.69	8.08	4	59.59	6.88	4
B12	21	73.0	179	65.89	8.55	3	73.41	9.87	4
B13	24	68.0	174	48.33	7.01	4	50.51	6.26	4
Mean	23.54	66.45	172.57	51.41	7.19	3.81	52.05	6.82	4.13
(S.D.)	2.56	6.02	4.37	8.68	2.02	0.95	10.22	1.87	0.82

통계학적 고찰

아세틸-엘-카르니틴 투여 후 시험약 ‘카니틸정’과 대조약 ‘니세틸정’의 혈장 농도에서 얻은 AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 분산분석 결과를 Table IV에 요약하였다.

유의수준 α가 0.05일 때 AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 근간 순서 효과 검정에 대한 F값이 F분석표의 한계값인 F(1,24)=4.260보다 모두 작게 나타나 교차시험이 잘 이루어졌음이 확인되었다.

AUC_{0-12h}, C_{max} 및 T_{max}에 대하여 유의 수준(α)=0.05, 자유도(v)=24, 검출해야 할 평균치의 차이를 0.2로 고정시켜 산출한 비심도(noncentrality, λ)는 각각 7.99, 3.93 및 4.96이었으며 이를 가지고 유의 수준(α)=0.05, 최소검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 검정에서의 검출력과 자유도(v=24)와의 관계를 나타낸 비심분포표로부터 계

Table IV. Statistical summary of pharmacokinetic parameters of Acetyl-L-Carnitine

	Parameters		
	AUC _{0-12h}	C _{max}	T _{max}
Difference	1.26%	-5.08%	8.59%
F value ^a (Sequence effect)	0.804	0.726	2.997
Noncentrality(λ) ^b	7.99	3.93	4.96
Power(1-β) ^c	>0.9	>0.9	>0.9
Detectable difference(Δ) ^d	7.31%	14.88%	11.77%
Confidence interval(δ, %) ^e	-3.03 ≤ δ ≤ 5.54	-13.80 ≤ δ ≤ 3.64	1.69 ≤ δ ≤ 15.48

^aα=0.05, F(1, 24)=4.260,

^bα=0.05, n=24, d=Mean × 0.2,

^cα=0.05,

^dα=0.05, 1-β=0.8,

^eα=0.05

산한 결과 모두 0.9 이상으로 0.8이상이어야 한다는 식품의약품 안전청 고시 기준을 만족하였다. 또한 유의수준(α)=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소 검출차(Δ)를 계산한 결과 7.31, 14.88 및 11.77%로 나타나 20%이하여야 한다는 고시 기준을 만족하였다.

AUC_{0-12h} , C_{max} 및 T_{max} 에 대한 90% 신뢰한계(δ)는 $\alpha=0.05$ 에서 각각 $-3.03 \leq \delta \leq 5.54$, $-13.80 \leq \delta \leq 3.64$ 및 $1.69 \leq \delta \leq 15.48$ 로 $\pm 20\%$ 기준을 만족하였다.

고 찰

아세틸-엘-카르니틴은 체내에 존재하는 내인성 물질로서 생물학적동등성시험시 여러 문제점을 가지고 있다. 내인성 물질의 베이스라인 농도는 항상성(Homeostasis) 상태를 유지하기 위해 평형을 이루고 있다. 이를 위해 feed back 과정, 상피통과 기전의 포화, 장과 흡수의 조절, 신장 역치(renal thresholds), 다양한 체내 저장 등의 기전 등이 사용된다. 내인성 물질의 존재와 외부로부터 흡수된 물질이 공존하며 서로 상호 작용한다. 또한 흡수된 약물은 체내에 이미 존재하는 동일 물질에 의해 희석된다(Marzo, 1999). 이러한 기전에 의해 내인성 물질의 경우 투여시 혈중농도는 베이스 라인 농도에 비해 증가되는 부분이 미미하다. 생물학적동등성시험은 원칙적으로 약물 투여 후 증가분에 대해서만 평가되어야 하므로 내인성 약물의 경우 베이스라인 농도를 감해주어야 한다. 그러나, 베이스라인 농도를 보정하지 않고 총농도로 생물학적 동등성을 평가하는 경우 군당 10명 이하의 크기로 시험을 진행할 수 있으나, 베이스라인 농도를 보정하는 경우 군당 수백 내지 수천명의 지원자가 필요하며 이는 윤리적으로나 경제적으로 불가능하다(Marzo, 1999). 예를 들면, 엘-카르니틴의 경우 총 농도로 평가시 군당 10명의 크기로 평가가능하나, 베이스라인 농도 보정시 군당 1300명이 필요하며, Thyroxin의 경우 총 농도로 평가시 군당 9명의 크기인데 비하여 베이스라인 농도 보정시 군당 2100명이 필요하다(Marzo, 1999). 본 시험에서 약물이 투여되기 직전의 0시간 및 투여후 12시간의 농도를 베이스라인 농도라 볼 때 베이스라인 농도는 일정 범위 내에서 변동되고 있으며, 베이스라인 농도에 비하여 약물 투여에 의한 C_{max} 는 약 1.5배 증가한 것으로 나타났다. 그러므로 베이스라인 농도와 약물 투여에 의한 농도 증가분을 합한 총 농도로써 평가하였다.

한미약품공업주식회사에서 제조한 시험약인 ‘카니틸정’과 동아제약의 시판제품인 ‘니세틸정’을 생물학적동등성시험기준에 따라 건강한 26명의 지원자에게 2×2 교차시험법에 따라 1정(아세틸-엘-카르니틴 500 mg)씩 경구투여한 후, 12시간 까지 채혈하여 각 피험자들의 혈장 중 농도 데이터로부터 AUC_{0-12h} , C_{max} 및 T_{max} 를 구하였다. 이들 생체이용률 파라미

터에 대하여 분산분석(ANOVA) 및 식품의약품안전청의 고시 기준에 따라 두 제제의 생물학적 동등성을 평가하였다.

분산분석 결과 순서효과에 대한 F값으로부터 교차시험이 적절히 수행되었음을 확인하였으며, 두 제제의 AUC_{0-12h} , C_{max} 및 T_{max} 간에 유의성 있는 차이가 없었다. 식품의약품 안전청 기준에 따라 각 파라미터의 동등성 여부를 검정한 결과 두 제제의 AUC_{0-12h} , C_{max} 및 T_{max} 에 대하여 평균치의 차이가 20%이내, 유의 수준 $\alpha=0.05$ 에서 검출력(1- β)는 0.9이상, 최소 검출차(Δ)는 20%이하, 신뢰한계(δ)는 $\pm 20\%$ 이내에 들었다. 따라서 ‘카니틸정’은 ‘니세틸정’과 생물학적으로 동등한 것으로 판정하였다.

감사의 말씀

본 연구는 한미약품공업주식회사의 지원을 받아 서울대학교 약학대학 부속중합약학연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Abdou, H. M. (1989) *Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence*. Mack Publishing Co., Easton, USA.
- Hosein, E. A., Booth, S. J., Gasoi, I. and Kato, G. (1967) Neuromolecular blocking activity and other pharmacological properties of various carnitine derivatives. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **156**, 565-572.
- Kelly, J. G., Hunt, S., Doyle, G. D., Laher, M. S., Carmody, M., Marzo, A., Arrigoni, and Martelli, E. (1990) Pharmacokinetics of oral acetyl-L-carnitine in renal impairment. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **38**, 309-312.
- Lee, Y. J., Choi, J. H., Song, S. H., Song, C. H., Seo, C. H., Kim, D. S., Park, I. S., Choi, K. H., Na, H. K., Chung, S. J., Lee, M. H. and Shim, S. K. (1998) Development of K-BE test[®], a computer program for the analysis of Bioequivalence. *J. Kor. Pharm. Sci.* **28**, 223-229.
- Marzo, A. (1999) Open questions on bioequivalence: some problems and some solutions. *Pharmacol. Res.* **40**, 357-368.
- Parnetti, L., Gaiti, A., Mecocci, P., Cadini, D. and Senin, U. (1992) Pharmacokinetics of iv and oral acetyl-L-carnitine in a multiple dose regimen in patients with senile dementia of Alzheimer type. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **42**, 89-93.
- Shargel, L. and Yu, A. B. C. (1993) *Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics*, 3rd Edition, Appleton & Lange, Norwalk, USA.
- Thal, L. J., Carta, A., Clarke, W. R., Ferris, S. H., Friedland, R. P., Petersen, R. C., Pettegrew, J. W., Pfeiffer, E., Raskind, M. A., Sano, M., Tuszynski, M. H. and Woolson, R. F. (1996) A 1-year multicenter placebo-controlled study of acetyl-L-carnitine in patients with Alzheimer's disease. *Neurology.* **47**, 705-711.
- 식품의약품안전청 고시 제 98-86호, 생물학적동등성시험기준 (1998. 8. 26).