

리피토정[®] (아토르바스타틴 20 mg)에 대한 아토르바정[®]의 생물학적동등성

임현균 · 이태호 · 이재현 · 엄정록 · 송진호^{1†} · 한상범[†]

중앙대학교 약학대학, ¹중앙대학교 의과대학

(2008년 2월 12일 접수 · 2008년 3월 17일 승인)

Bioequivalence of Atorva Tablet[®] to Lipitor Tablet[®] (Atorvastatin 20 mg)

Hyun Kyun Lim, Tae Ho Lee, Jaehyun Lee, Jeong-Rok Youm, Jin-Ho Song^{1†} and Sang Beom Han[†]

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea

¹College Medicine, Chung-Ang University, Seoul, 156-756, Korea

(Received February 12, 2008 · Accepted March 17, 2008)

ABSTRACT – The present study describes the evaluation of the bioequivalence of two atorvastatin tablets, Lipitor Tablet[®] (Pfizer, reference drug) and Atorva Tablet[®] (Yuhan, test drug), according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). Forty-nine healthy male Korean volunteers received each medicine at the atorvastatin dose of 40 mg in a 2×2 crossover study with a two weeks washout interval. After drug administration, serial blood samples were collected at a specific time interval from 0-48 hours. The plasma atorvastatin concentrations were monitored by an high performance liquid chromatography -tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) employing electrospray ionization technique and operating in multiple reaction monitoring (MRM) and positive ion mode. The total chromatographic run time was 4.5 min and calibration curves were linear over the concentration range of 0.1-100 ng/mL for atorvastatin. The method was validated for selectivity, sensitivity, linearity, accuracy and precision. AUC_t (the area under the plasma concentration-time curve from time zero to 48 hr) was calculated by the linear log trapezoidal rule method. C_{max} (maximum plasma drug concentration) and T_{max} (time to reach C_{max}) were complied from the plasma concentration-time data. Analysis of variance was carried out using logarithmically transformed AUC_t and C_{max}. No significant sequence effect was found for all of the bioavailability parameters indicating that the crossover design was properly performed. The 90% confidence intervals of the AUC_t ratio and the C_{max} ratio for Atorva Tablet[®] / Lipitor Tablet[®] were log 0.9413 ~ log 1.0179 and log 0.8318 ~ log 1.0569, respectively. These values were within the acceptable bioequivalence intervals of log 0.8 ~ log 1.25. Based on these statistical considerations, it was concluded that the test drug, Atorva Tablet[®] was bioequivalent to the reference drug, Lipitor Tablet[®].

key words – Atorvastatin, Bioequivalence, LC-MS/MS, Analytical Validation

아토르바스타틴 (Atorvastatin, [R-(R*, R*)]-2-(4-Fluorophenyl)-β, δ-dihydroxy-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-[(phenylamino) carbonyl]-1H-pyrrole-1-heptanoic acid, C₃₃H₃₅FN₂O₅, Fig. 1-(A))은 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme-A (HMG-CoA) 환원효소의 경쟁적 저해제로 고지혈증 환자에게 주로 사용되며 혈중 농도에 비례하여 콜레스테롤과 트리글리세리드의 농도를 낮춰준다.^{1,2)} 아토르바스타틴은 같은 스타틴 계열의 약물인 심바스타틴, 로바스타틴과 비교했을 때, 콜레스테롤과 트리글리세리드의 농도를 가장 많이 저하시키는 것으로 보고되어 있다.³⁾ 또한 아토르바스타틴은 low density lipoprotein (LDL)과 intermediate density lipoprotein (IDL)

의 농도까지 낮춰주는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 미국 FDA는 아토르바스타틴이 제2형 당뇨 환자에게서 심장질환에 대한 징후 없이 뇌졸중과 심장마비의 위험을 줄여줌을 인정하였다.

아토르바스타틴은 활성을 띠는 산의 형태로 투여되며, 투여된 약물의 대부분이 간에서 일차대사를 거쳐서 혈장 중에는 수 ng/mL의 매우 낮은 농도로 존재한다.⁵⁾ 따라서, 혈장 중의 아토르바스타틴을 정량하기 위해서는 고감도의 생체분석법이 필요하다.

아토르바스타틴 40 mg을 건강한 성인에게 경구투여시 C_{max}는 17.05 ng/mL, T_{max}는 0.88시간, 혈중소실반감기는 13.28시간으로 보고되어 있으며,⁶⁾ 또한 아토르바스타틴 80 mg을 건강한 성인에게 경구투여시 C_{max}는 23.2 ng/mL, T_{max}는 0.5시간, 혈중소실반감기는 12.4시간으로 보고되어 있다.⁷⁾

국내의 아토르바스타틴 제제는 한국화이자제약(주)의 “리피토정[®] 20 mg”을 비롯한 다수의 제제가 사용되고 있는데,

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

Tel : 02)820-5686, E-mail : jinhos@cau.ac.kr (J.H. Song)

Tel : 02)820-5596, E-mail : hansb@cau.ac.kr (S.B. Han)

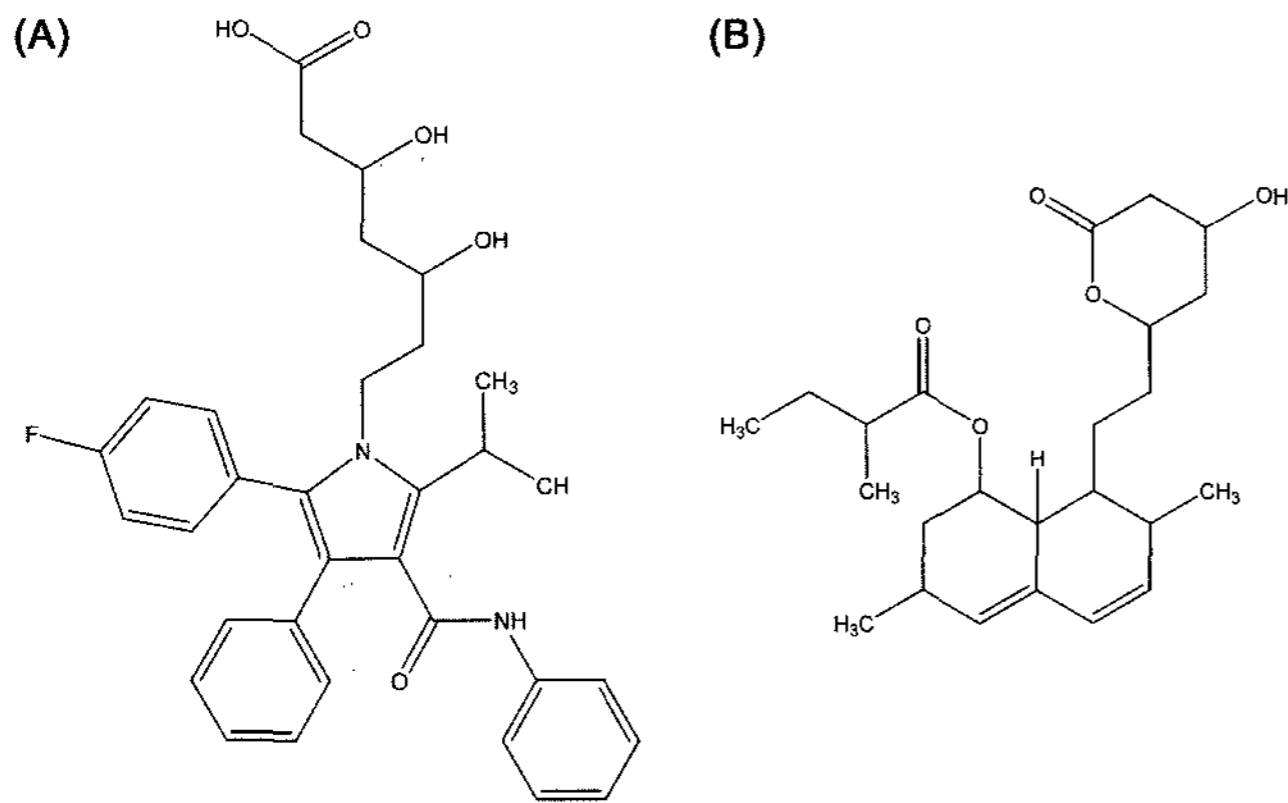


Figure 1—Chemical structures of (A) atorvastatin and (B) lovastatin (internal standard).

처방된 아토르바스타틴 제제를 성분, 함량 및 제형이 동일한 다른 제제로 대체하여 조제하기 위해서는 약사법 제 23조 2에 근거, 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준⁸⁾에 따라 생물학적동등성시험을 실시하여 대조약과 생물학적으로 동등하다는 것이 입증되어야 한다.

따라서 이 연구에서는 (주)유한양행의 “아토르바정[®] 20 mg” (아토르바스타틴 20 mg)이 한국화이자제약(주)의 “리피토정[®] 20 mg” (아토르바스타틴 20 mg)과 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위하여, 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 따라 건강한 성인 남성 지원자 49명에게 각 제제 2정 (아토르바스타틴 40 mg)을 경구투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중약물농도-시간곡선하면적 (AUC)과 최고혈중농도 (C_{max}) 등의 약물속도론적 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적동등성을 평가하였다. 이 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 받은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

시험약으로 (주)유한양행의 “아토르바정[®] 20 mg” (제조번호: 7001, 제조일자: 2007.06.13, 유효기간: 2010. 06. 12), 대조약으로 한국화이자제약(주)의 “리피토정[®] 20 mg” (제조번호: 0529056, 제조일시: 2006. 05. 25, 유효기간: 2009. 05. 24)을 사용하였다.

아토르바스타틴의 혈중 농도 분석 시험에 사용된 시약들로 아토르바스타틴 칼슘염 표준품 (순도: 94.6%)은 (주)유한양행으로부터 제공받았고, 내부표준물질로 사용된 로바스타

틴 표준품 (순도: 95.0%, Fig. 1-(B))은 Wako Pure Chemical 사 (Tokyo, Japan)로부터 구입하였다. 이동상에 사용된 HPLC급 증류수와 아세토니트릴은 Fisher Scientific사 (Springfield, NJ, USA)로부터 구입하였고, ammonium acetate와 acetic acid는 Merck사 (Darmstadt, Germany)로부터 구입하였으며, 전처리에 사용된 methyl *tert*-butyl ether (MTBE) 용매와 기타 시약들은 특급 및 1급 시약을 구입하여 사용하였다.

사용된 약물분석기기로 LC는 Waters Alliance 2795 HPLC system (Waters, Milford, MA, USA)을, 텐덤질량분석기 (MS/MS)는 Waters Quattro Micro API (Waters)를 사용하였다. 분석 칼럼은 YMC-Pack Pro C18 RS (2.0×100 mm, 3 μm, YMC Co., Kyoto, Japan)를 사용하였으며 가드 칼럼은 SecurityGuard[™] (Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 사용하였다. 데이터 처리 장치는 MassLynx 4.1 (Waters)을 사용하였다.

피험자 선정 및 관리

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 근거하여 19~55세의 건강한 성인 남성으로서, 과거에 소화기계, 간장, 신장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액 질환의 병력이 없고, 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 자를 모집공고하여 지원자를 모집하였다. 72명의 지원자를 대상으로 시험의 목적, 시험대상 성분에 대한 약리작용 및 이상약물반응 가능성, 시험내용, 주의사항 및 보상내용 등을 설명하였고, 이들 중 68명을 대상으로 베스티안 의원(서울, 한국)에서 건강진단을 실시하였다. 지원자 중 피험자 선정기준에 모두 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 건강한 사람으로 판정된 49명을 선정하였으며, 자발적인 의사결정에 따라 시험참가동의서를 받은 후 생물학적동등성시험을 실시하였다. 최종 피험자로 선정된 49명의 평균연령은 23.7±1.8세, 평균체중은 67.9±4.7 kg이었다.

모든 피험자에게는 정해진 투약일 1개월 전부터 시험기간까지 항생제 및 진통제 등을 포함하여 일체의 약물 복용을 금지하였다. 또한 시험기간 중에는 연구자의 지시에 따라 운동, 식사, 흡연, 음주 및 xanthine계 음료 등을 제한 관리하도록 하였다. 시험 전날 오후 6시경에 피험자 전원을 소집하여 동일한 저녁식사를 제공한 후, 식사 종료시점인 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰다. 피험자에게 시험 내용과 주의사항을 다시 한 번 주지시키고, 오후 10시경에 취침하도록 하였으며, 시험 당일 오전 7시경에 병원에 도착하여 시험 준비에 착수하였다. 투약 후 4시간째 채혈을 마친 후 동일한 점심식사를 제공하였으며, 투약 후 10

시간째에 다시 동일한 저녁식사를 제공하였다. 투약 후 12 시간째 채혈이 끝난 후 catheter를 제거하고 오후 9시에 숙소로 이동하여 오후 10시경에 취침시켰다. 둘째 날 오전 6시에 피험자 전원을 기상시키고, 베스티안 의원에서 오전 7시 40분에 도착하였다. 투약 24시간째 채혈이 끝난 후 담당의사에 의해 혈액, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하고 주의사항을 당부한 후 귀가시켰다. 둘째 날, 오후 7시 40분에 피험자 전원을 베스티안 의원에서 다시 소집하고 36시간째 채혈을 한 다음, 주의사항을 당부하여 귀가시켰다. 시험 셋째날 오전 7시 40분에 피험자 전원을 베스티안 의원에서 소집하고, 48시간째 마지막 채혈을 하였다. 담당의사에 의해 혈액, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하고 피험자들에게 이주일 후 제 2기 시험을 완료할 때까지 음주나 약물 복용을 일체 금지한다는 주의사항을 다시 한 번 더 주지시킨 후 귀가시켰다. 시험 전 과정을 통하여 피험자 개인의 상태를 관찰하여 증례기록서에 기록하였다.

약물투약 및 혈액채취

약물 투약, 채혈 및 피험자 관리는 베스티안 의원의 일반인과 격리된 공간에서 시험담당자인 전문의의 감독 하에 실시하였다. 약물 투약은 2 시기 2 제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법을 택하였으므로, 49명의 피험자를 무작위로 군당 24명 및 25명으로 나누었다. 제 1기 A군에는 대조약인 “리피토정[®] 20 mg”, B군에는 시험약으로 “아토르바정[®] 20 mg” 투약하였으며, 제 2기 때에는 그 반대로 투약하였다. 모든 피험자들의 상완정맥부위에 heparin-locked I.V. catheter를 설치하고 공혈액 10 mL를 채혈한 다음, 2분 간격으로 대조약 또는 시험약 각각 2 정씩을 물 240 mL와 함께 투약하였다. 채혈은 투약직전과 투약 후 15분, 30분, 1시간, 1.5시간, 2시간, 4시간, 6시간, 8시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간의 총 13 시점에서 실시하였다. 채혈 시 I.V. catheter 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1 mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 8 mL의 혈액을 heparinized vacutainer에 채취하였다. 채혈 후마다 I.V. catheter안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리 식염수 0.5 mL를 주입하였다. 채혈된 혈액의 응고를 방지하고 혈구의 파괴를 막기 위해, vacutainer를 천천히 흔들어 섞고, 잠시 방치한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 혈장만을 취하여 polypropylene 시험관에 옮겨 담고 영하 70°C 이하에서 분석 시까지 보관하였다. 사용하는 기구는 완전 멸균된 1 회 용을 사용하였다.

혈장 중 아토르바스타틴의 정량

검량선 작성 - 아토르바스타틴 칼슘염 표준품을 50% 아세토니트릴에 녹여 아토르바스타틴으로서 1 mg/mL가 되도록 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 50% 아세토니트릴과 냉동 보관하였던 공혈장으로 희석하여 아토르바스타틴의 혈장 중 농도가 각각 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 및 100 ng/mL가 되도록 혈장 시료를 만들었다. 내부표준물질로서 로바스타틴을 50% 아세토니트릴에 녹여 1 mg/mL가 되도록 만든 후, 다시 50% 아세토니트릴로 희석하여 100 ng/mL의 농도가 되도록 하였다. 이미 보고된 아토르바스타틴의 분석방법^{7,9)}을 참고하여 혈장시료를 전처리 하였다. 전처리 과정을 요약하면 다음과 같다. 각각의 표준혈장 500 μ L에 내부표준물질 용액 (lovastatin, 100 ng/mL) 50 μ L와 100 mM ammonium acetate (pH=4.2 with acetic acid) 100 μ L를 가하여 섞은 후, MTBE 3 mL를 가하여 왕복진탕기에서 30분간 추출하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 영하 70°C 이하에서 수층을 얼렸다. 수층이 완전히 얼면, 상층을 취하여 새 튜브에 옮긴 후 질소기류 하에서 완전히 건조시켰다. 완전히 건조한 후 잔사를 50% 아세토니트릴 150 μ L로 재분산시키고 이 중 10 μ L를 취하여 LC-MS/MS에 주입하였다.

LC-MS/MS 조건 - 전처리된 혈장시료는 다음의 LC-MS/MS 조건에서 정량하였다. 검출을 위한 MS/MS 분석조건으로, ESI (electrospray ionization) 이온화 방식을 선택하였고, positive ion mode에서 MRM (multiple reaction monitoring) 방법을 사용하여 분석하였다. Nebulizing gas는 질소가스, collision gas는 아르곤가스를 사용하였다. 아토르바스타틴과 내부표준물질로 사용한 로바스타틴의 precursor ion은 각각 m/z 559.2, 405.1의 수소화된 분자이온 ($[M+H]^+$)을 사용하였으며, 생성된 product ion으로 m/z 440.3, 199.3을 각각 모니터링 하였다(Fig. 2). 이동상으로는 1 mM ammonium acetate 용액에 acetic acid를 넣어 pH를 5.0으로 맞춘 완충용액과 아세토니트릴을 30/70의 비율로 혼합한 용액을 사용하여 0.25 mL/min의 유속으로 흘려주었다.

여기에서 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 아토르바스타틴의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 아토르바스타틴의 농도 (ng/mL)를 산출하였다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성, 정확성을 구하고 5일간 실험을 행하여 일간 재현성 및 정확성을 구하였다.

혈장시료의 처리 - 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C 이하에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 1분간 진탕한 다음, 이 중 500 μ L를 취하여 시험관에 옮기고 내부표준물질 용액 50 μ L를 가한 후 검량선 작성 방

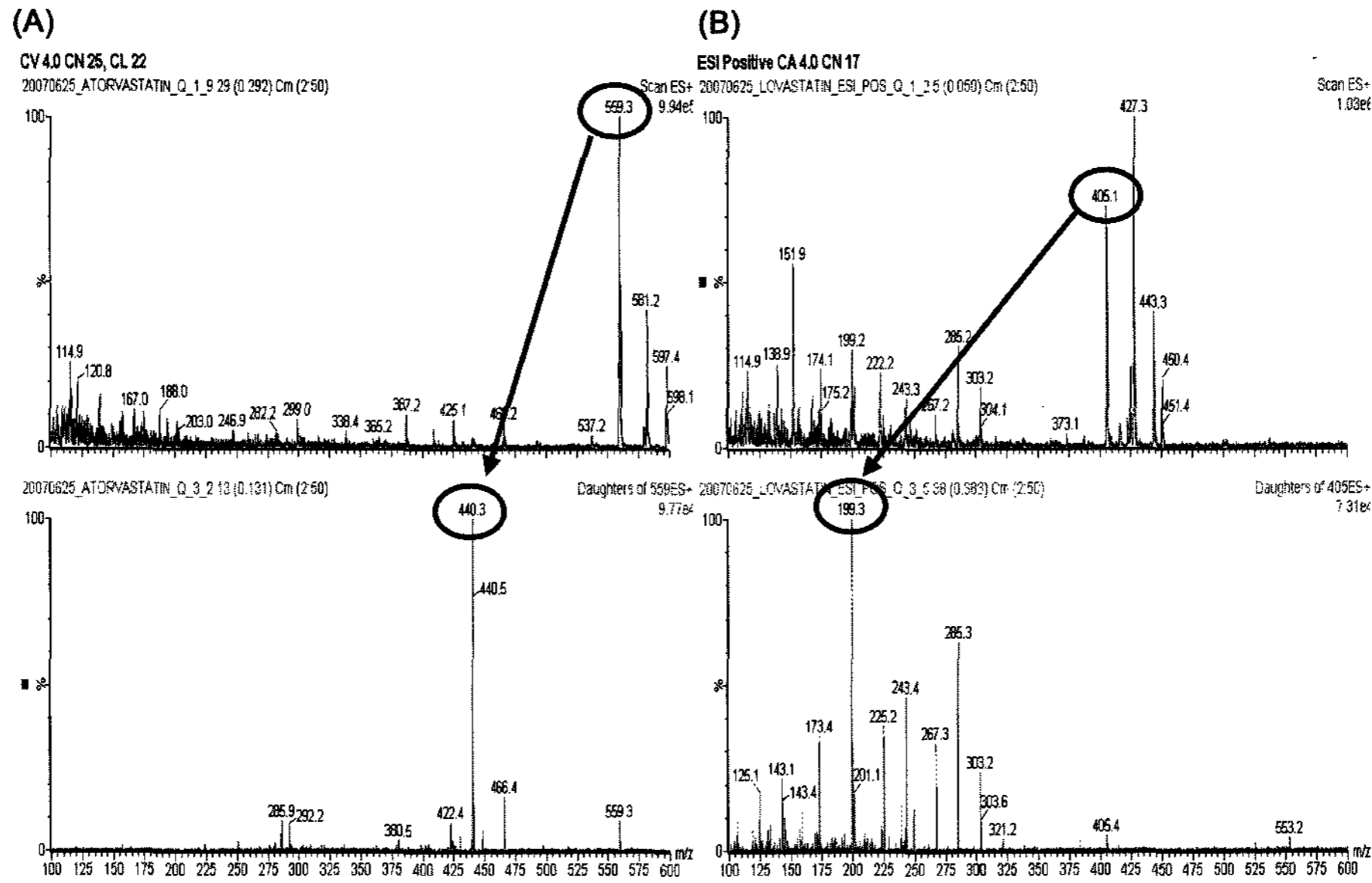


Figure 2—MS/MS spectra of (A) atorvastatin and (B) lovastatin (internal standard).

법과 동일한 처리과정을 거친 시료 10 µL를 LC-MS/MS에 주입하였다.

혈장 중 농도 계산 - 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 아토르바스타틴의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선에 대입하여 혈장 중 아토르바스타틴의 농도 (ng/mL)를 산출하였다.

약물속도론 파라미터의 분석 및 통계처리

약물속도론 파라미터들로서 AUC_t, C_{max}, T_{max}는 약물속도론 파라미터 계산 프로그램인 BA Calc 2002 (Ver. 1.1.1)를 이용하여 구하였다. 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선 하면적 (AUC)값은 약물투여 후 48시간까지의 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구하였다. 최고혈중농도 (C_{max})는 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선으로부터 가장 높은 혈장 중 농도를 읽은 값을 사용하였으며, 최고혈중농도 도달시간 (T_{max})은 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선으로부터 최고혈중약물농도에 도달하는 시간을 읽은 값을 사용하였다.

생물학적동등성시험기준에 따라 시험약과 대조약간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목은 AUC_t와 C_{max}로 하였다. 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 K-BE Test 2002 (Ver. 1.2.1)를 이용하여 각 파라미터들을 로그변환한 값에 대하여 유의수준 (α)=0.05에서 분산분석하였고, 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간을 구하였다.

결과 및 고찰

혈장 중 아토르바스타틴의 정량

건강한 피험자의 공혈장과 공혈장에 아토르바스타틴과 내부표준물질을 함께 가한 표준혈장시료 및 아토르바스타틴 제제를 투여한 후 2시간 후에 채취한 혈장시료를 본 시험법에 따라 전처리한 후, LC-MS/MS로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다. 아토르바스타틴 피크의 머무름 시간은 약 1.65분, 내부표준물질인 로바스타틴 피크의 머무름 시간은 약 3.60분이었으며, 혈장 중의 어떠한 간섭 물질들로부터 영향을 받지 않고 양호하게 분리되었다.

혈장 중 아토르바스타틴의 분석법은 이미 보고된 분석방법^{7,9)}을 참고하였으나, 시료 전처리 과정에서 추출 용매로 diethyl ether / dichloromethane의 혼합용매를 사용하지 않고 유기용매의 유해성과 실험 결과의 재현성을 고려하여 methyl tert-butyl ether (MTBE) 단일용매를 사용하였다. 그 결과 분석 감도가 더 개선되었으며, 혈장 사용량을 기존 문헌에서 보고된 1 mL에서 500 µL로 줄일 수 있었다.

피험자의 공혈장 시료, 공혈장에 내부표준물질만 가한 시료 및 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 ng/mL의 검량선용 표준혈장 시료를 각각 전처리한 후 LC-MS/MS로 분석하였을 때, 혈장 시료로부터 구한 아토르바스타틴 검량선의 계산식은 Y (아토르바스타틴/내부표준물질 피크 면적의 비율)=0.2162×X (아토르바스타틴 농도, ng/mL)-0.0000792 (r²=0.999)로 0.1~100 ng/mL의 범위에서 우수한 직선성을 나타내었다.

각기 다른 5가지 농도 (0.1, 0.3, 1, 10, 100 ng/mL)의

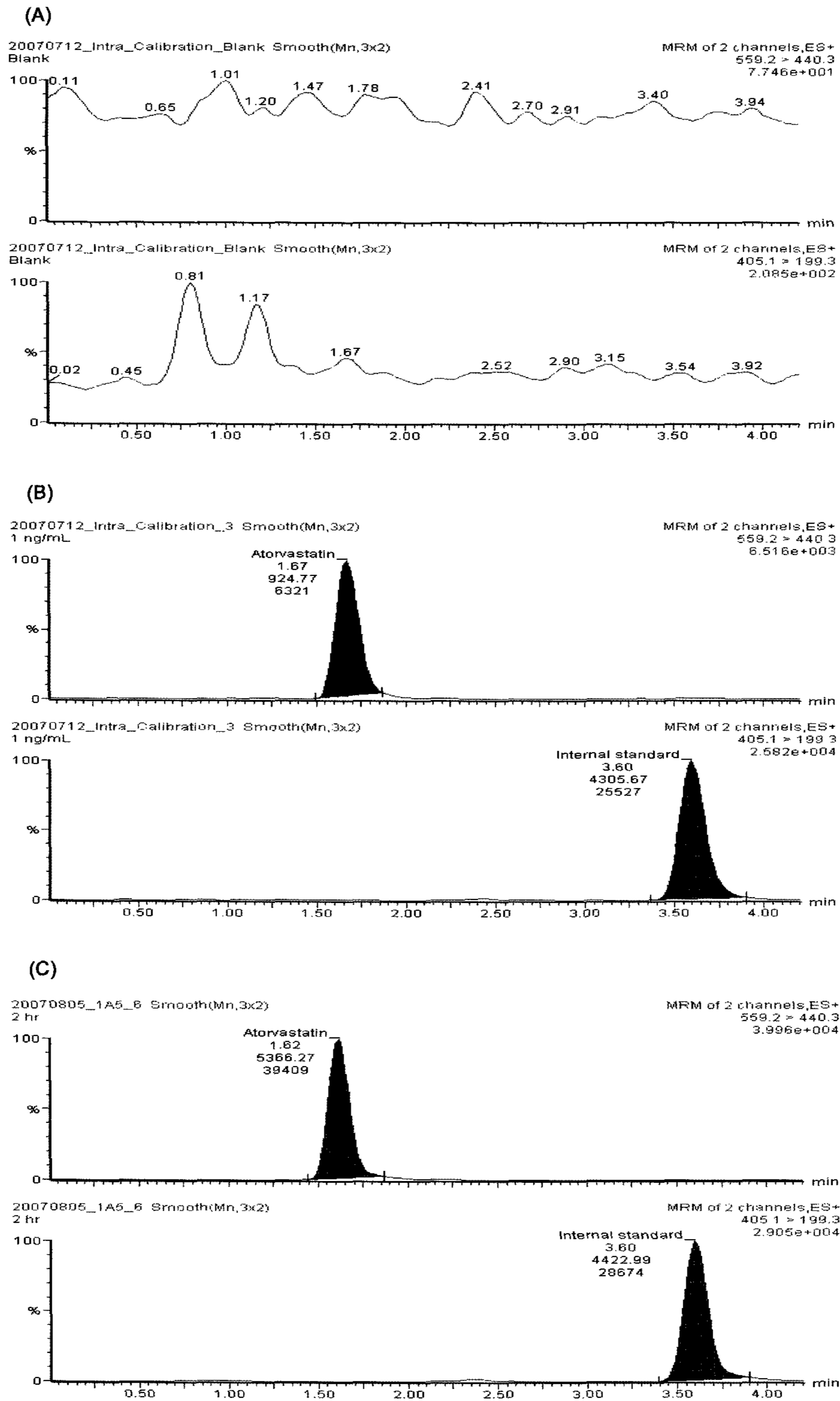


Figure 3—Multiple reaction monitoring chromatograms of (A) blank human plasma, (B) plasma standard of atorvastatin (1 ng/mL) with 50 µL of I.S. (lovastatin, 100 ng/mL) and (C) plasma sample at 2 hr after oral administration of 40 mg atorvastatin to volunteer A5 (calculated concentration was 5.65 ng/mL).

아토르바스타틴 표준혈장을 분석하였을 때, 본 분석법의 정밀성은 일내 정밀성이 8.81~13.29%, 일간 정밀성은 4.79~10.18% 범위로 나타났고, 정확성은 일내 정확성이 97.38~

102.24%, 일간 정확성이 94.89~104.27%로 나타났다 (Table I). 혈장 중 아토르바스타틴의 정량한계 (LOQ, limit of quantitation)는 크로마토그램상에서 신호대 잡음비 (S/N

Table I—Precision and Accuracy Data for the LC-MS/MS Analysis of Atorvastatin in Human Plasma (n = 5)

Conc. (ng/mL)	Precision (C.V. %)		Accuracy (%)	
	Intra-Day	Inter-Day	Intra-Day	Inter-Day
0.1 (LOQ*)	9.82	6.84	101.44	104.27
0.3	10.15	8.34	97.74	102.42
1	13.11	4.79	102.24	96.61
10	8.81	10.18	100.87	94.89
100	13.29	4.81	97.38	99.40

*Limit of quantitation

ratio)가 10 이상이며 정밀성(C.V.%)이 20% 이하이고, 정확성이 80~120%의 조건을 만족하는 0.1 ng/mL로 정하였다. 이로부터 혈장 중 아토르바스타틴에 대한 본 연구의 LC-MS/MS 분석법은 생물학적동등성시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 특이성, 직선성, 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 확인하였다.

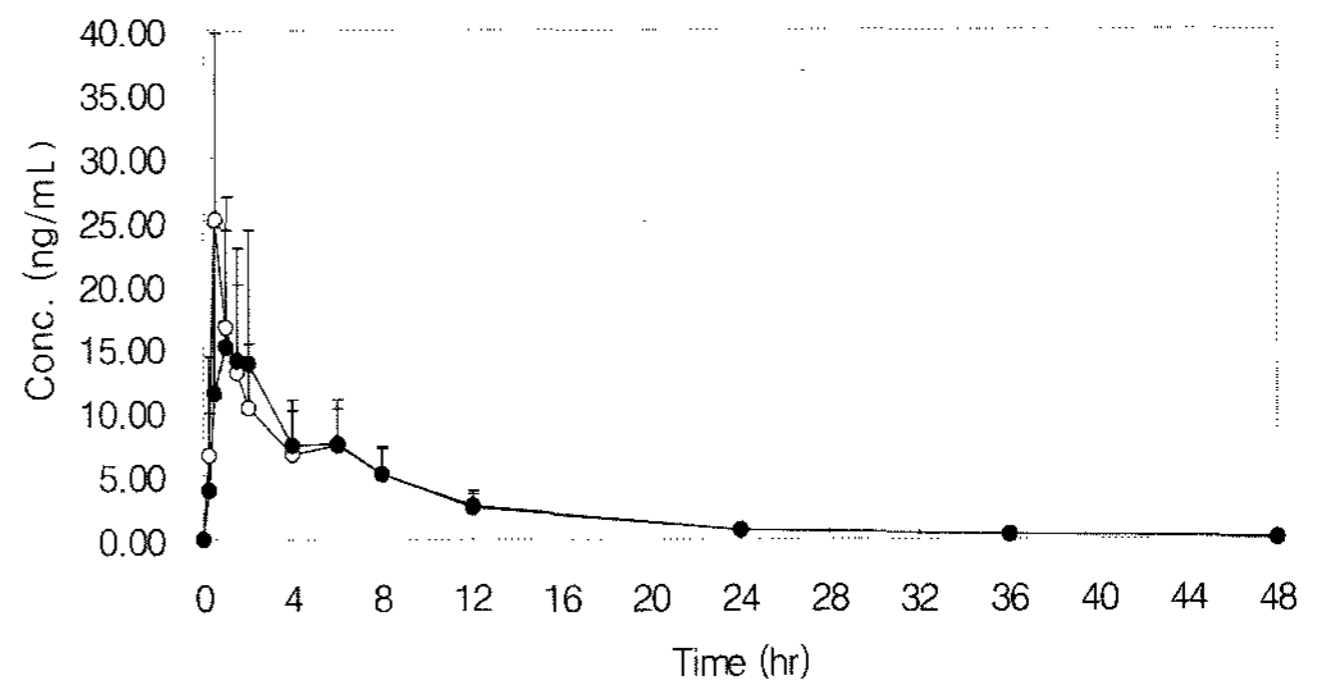


Figure 4—Mean (±S.D. n=49) plasma concentration-time curves of atorvastatin following oral administration of Atorva Tablet® (●) and Lipitor Tablet® (○) at the atorvastatin dose of 40 mg.

혈장 중 아토르바스타틴의 농도 추이 및 약물속도론 파라미터

건강한 성인 49명에게 교차시험으로 대조약 및 시험약을 각각 경구투여한 후, 일정 시간마다 채혈하고 분석하여 얻은

Table II—Bioavailability Parameters in Normal and Logarithmic Scales for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Lipitor and Atorva Tablets at the Atorvastatin Dose of 40 mg (Continued)

Subjects	Lipitor Tablet®					Atorva Tablet®				
	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)
A1	127.82	2.11	16.19	1.21	0.50	118.17	2.07	26.65	1.43	2.00
A2	140.16	2.15	69.52	1.84	0.50	135.53	2.13	19.87	1.30	2.00
A3	126.11	2.10	16.57	1.22	1.50	112.64	2.05	11.93	1.08	2.00
A4	108.75	2.04	22.44	1.35	2.00	119.19	2.08	48.28	1.68	1.50
A5	80.40	1.91	12.34	1.09	0.50	77.60	1.89	8.93	0.95	2.00
A6	67.63	1.83	11.78	1.07	0.50	68.43	1.84	23.14	1.36	1.00
A7	51.13	1.71	16.93	1.23	0.50	52.77	1.72	17.30	1.24	1.00
A8	84.84	1.93	20.41	1.31	0.50	80.23	1.90	27.08	1.43	0.50
A9	69.02	1.84	26.59	1.42	0.50	91.21	1.96	18.12	1.26	4.00
A10	71.48	1.85	14.68	1.17	1.00	72.69	1.86	29.41	1.47	0.50
A11	79.21	1.90	11.69	1.07	4.00	98.61	1.99	38.69	1.59	2.00
A12	74.49	1.87	22.68	1.36	0.50	66.91	1.83	28.84	1.46	0.50
A13	138.13	2.14	37.03	1.57	1.00	136.30	2.13	38.93	1.59	1.00
A14	120.61	2.08	20.54	1.31	0.50	121.05	2.08	15.83	1.20	1.50
A15	217.26	2.34	64.38	1.81	0.50	186.32	2.27	17.20	1.24	6.00
A16	71.83	1.86	18.18	1.26	0.50	88.71	1.95	44.09	1.64	1.00
A17	72.29	1.86	26.71	1.43	0.50	70.64	1.85	27.44	1.44	1.00
A18	95.17	1.98	27.62	1.44	0.50	85.68	1.93	25.68	1.41	0.50
A19	86.91	1.94	17.50	1.24	1.00	99.66	2.00	18.58	1.27	1.00
A20	142.77	2.15	31.69	1.50	1.00	92.77	1.97	43.89	1.64	0.50
A21	130.83	2.12	35.84	1.55	0.50	172.69	2.24	67.13	1.83	0.50
A22	191.80	2.28	50.76	1.71	0.50	184.65	2.27	45.70	1.66	1.00
A23	189.68	2.28	33.77	1.53	0.50	217.07	2.34	29.03	1.46	1.50
A24	92.82	1.97	12.40	1.09	0.50	85.70	1.93	10.59	1.02	4.00

Table II-Continued

Subjects	Lipitor Tablet [®]					Atorva Tablet [®]				
	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	log C _{max}	T _{max} (hr)
B1	113.07	2.05	26.20	1.42	0.50	110.15	2.04	20.41	1.31	1.50
B2	109.97	2.04	45.07	1.65	0.50	104.72	2.02	26.10	1.42	1.00
B3	92.27	1.97	16.17	1.21	1.50	85.57	1.93	21.05	1.32	2.00
B4	78.52	1.89	17.73	1.25	1.00	52.36	1.72	9.21	0.96	1.50
B5	89.41	1.95	28.15	1.45	0.50	89.91	1.95	16.88	1.23	1.00
B6	97.11	1.99	25.33	1.40	0.50	101.25	2.01	43.02	1.63	1.00
B7	151.31	2.18	43.84	1.64	0.50	133.91	2.13	27.92	1.45	1.50
B8	91.33	1.96	18.70	1.27	0.50	89.78	1.95	20.79	1.32	2.00
B9	86.01	1.93	17.46	1.24	1.00	89.63	1.95	9.97	1.00	4.00
B10	112.71	2.05	29.30	1.47	0.50	121.84	2.09	21.65	1.34	2.00
B11	143.85	2.16	30.64	1.49	0.50	147.1	2.17	31.86	1.50	2.00
B12	101.63	2.01	37.78	1.58	0.50	81.46	1.91	25.41	1.41	1.50
B13	173.94	2.24	21.76	1.34	0.50	183.12	2.26	30.16	1.48	1.00
B14	115.73	2.06	21.58	1.33	0.50	154.63	2.19	31.95	1.50	1.00
B15	72.67	1.86	25.11	1.40	0.50	85.19	1.93	29.00	1.46	1.50
B16	84.06	1.92	26.30	1.42	0.50	84.14	1.93	13.78	1.14	2.00
B17	68.93	1.84	17.45	1.24	1.00	62.83	1.80	13.03	1.11	1.50
B18	171.55	2.23	37.67	1.58	0.50	111.8	2.05	13.79	1.14	4.00
B19	110.13	2.04	39.98	1.60	0.50	91.19	1.96	26.62	1.43	1.00
B20	128.03	2.11	26.82	1.43	0.50	138.08	2.14	24.17	1.38	1.50
B21	109.93	2.04	34.28	1.54	0.50	105.99	2.03	24.69	1.39	1.00
B22	148.33	2.17	16.61	1.22	4.00	101.52	2.01	10.33	1.01	6.00
B23	108.35	2.03	25.56	1.41	0.50	103.32	2.01	21.56	1.33	2.00
B24	207.13	2.32	42.69	1.63	1.50	229.41	2.36	51.08	1.71	2.00
B25	139.78	2.15	51.60	1.71	0.50	139.89	2.15	43.11	1.63	2.00
Mean	113.00	2.03	27.80	1.40	0.81	110.90	2.02	26.32	1.37	1.76
(S.D.)	39.16	0.14	13.08	0.19	0.75	40.33	0.15	12.50	0.21	1.25

간곡선을 Fig. 4에 나타내었고, 각 피험자의 혈중약물농도-시간곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터 (AUC_t, C_{max} 및 T_{max})를 Table II에 나타내었다. 대조약인 “리피토정[®] 20 mg”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 113.00±39.16, 시험약인 “아토르바정[®] 20 mg”의 평균 AUC_t는 110.90±40.33으로 대조약에 대한 시험약의 평균치차가 -1.86%이었고, C_{max} (ng/mL)는 27.80 ±13.08과 26.32±12.50으로 -5.32%의 차이를 나타내었으며, T_{max} (hr)는 0.81±0.75와 1.76±1.25로 117.28%이었다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

본 연구에서는 식품의약품안전청의 규정에 따라 대조약과 시험약 간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목으로 혈중약물농도-시간곡선으로부터 산출한 혈중약물농도-시간곡선

하면적 (AUC), 최고혈중농도 (C_{max})를 확인하였으며, 최고 혈중약물농도 도달시간 (T_{max})은 단지 참고값으로만 사용하였다. 또한 피험자 총 49명의 약물농도 데이터 처리는 K-BE Test 2002 프로그램으로 통계처리 하였으며, T_{max}를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목의 실측치를 로그변환하여 유의수준 (α)=0.05에서 분산분석을 실시하였다. 생물학적동등성 평가항목인 AUC_t 및 C_{max}에 대한 K-BE Test 프로그램 통계처리 결과, 군간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값인 4.047 보다 작아 교차 시험 설계가 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었으며, 로그변환한 AUC_t 평균치차의 90% 신뢰구간이 log 0.9413~log 1.0179이었고, C_{max}는 log 0.8318~log 1.0569로 두 항목 모두 log 0.8에서 log 1.25 이내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준을 충족시켰다 (Table III). 한편, 참고값인 T_{max} 평균치 차는 117.28%로

Table III—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between two Atorvastatin Tablets[#]

Statistical Parameter	Parameter ($\alpha=0.05$)	
	AUC _t	C _{max}
Difference	-1.86%	-5.32 %
Power (1- β)	>0.9	0.705
F value ^{a)}	0.446	0.019
Test/Reference point estimation	0.978	0.937
Confidence interval (δ) ^{b)}	0.9413~1.0179	0.8318~1.0569

[#]The AUC_t and C_{max} values were calculated on the basis of logarithmically transformed data.

^{a)} $\alpha=0.05$, F(1,47)=4.047 ^{b)} $\alpha=0.05$

±20% 이내이어야 한다는 조건을 만족시키지는 못하였으나 아토르바스타틴이 응급시나 신속한 효과를 얻기 위해 투여하는 제제가 아니므로 생물학적동등성 검증시 단지 참고값으로만 사용하였다.

이상의 시험 결과를 종합해보면 두 제제는 평가항목인 AUC_t 및 C_{max}에 있어서 생물학적으로 동등함을 통계적으로 확인할 수 있었다.

결 론

식품의약품안전청 고시인 생물학적동등성시험기준⁸⁾에 따라 한국화이자제약(주)의 “리피토정[®] 20 mg”을 대조약으로 하고 (주)유한양행의 “아토르바정[®] 20 mg”을 시험약으로 하여 2×2 교차시험법에 따라 건강한 성인 남성 지원자 49명을 대상으로 경구 투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중약물농도-시간곡선하면적 (AUC_t)과 최고혈중농도 (C_{max}) 등의 약물속도론적 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적동등성을 평가하였다.

로그변환한 AUC_t 및 C_{max}에 대해서 분산분석을 실시한 결과 각 비교항목에 있어 모두 유의수준 (α)=0.05의 균간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값 보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. AUC_t의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 log 0.9413에서 log 1.0179이었고 C_{max}의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 log 0.8318에서 log 1.0569로서 두 항목 모두 log 0.8에서 log 1.25 이내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준을 충족시켰다.

이와 같이 시험약인 “아토르바정[®] 20 mg”은 대조약인 “리피토정[®] 20 mg”에 대하여 생물학적동등성의 판단 기준인 두 항목 (AUC_t와 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 평가되었다.

감사의 말씀

이 논문은 (주)유한양행의 지원과 2007년도 중앙대학교 우수연구자연구비 지원에 따라 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) J.W. Nawrocki, S.R. Weiss, M.H. Davidson, D.L. Sprecher, S.L. Schwartz, P.J. Lupien, P.H. Jones, H.E. Haber and D.M. Black, Reduction of LDL cholesterol by 25% to 60% in patients with primary hypercholesterolemia by atorvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, **15**, 678-682 (1995).
- 2) R.G. Bakker-Arkema, M.H. Davidson, R.J. Goldstein, J. Davignon, J.L. Isaacsohn, S.R. Weiss, L.M. Keilson, W.V. Brown, V.T. Miller, L.J. Shurzinske and D.M. Black, Efficacy and safety of a new HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, in patients with hypertriglyceridemia, *Journal of American Medical Association*, **275**, 128-133 (1996).
- 3) P. Jones, S. Kafonck, I. Laurora and D. Hunninghake, Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study), *American Journal of Cardiology*, **81**, 582-587 (1998).
- 4) M. Guerin, P. Egger, C. Soudant, W. Le Goff, A. van Tol, R. Dupuis and M.J. Chapman, Dose-dependent action of atorvastatin in type B hyperlipidemia: preferential and progressive reduction of atherogenic apoB-containing lipoprotein subclasses (VLDL-2, IDL, small dense LDL) and stimulation of cellular cholesterol efflux, *Atherosclerosis*, **163**, 287-296 (2002).
- 5) P.H. Chong, J.D. Seeger and C. Franklin, Clinically relevant differences between the statins: implications for therapeutic selection, *American Journal of Medicine*, **111**, 390-400 (2001).
- 6) R. Koytchev, Y. Ozalp, A. Erenmemisoglu, M.J. van der Meer and R.S. Alpan, Bioequivalence study of atorvastatin tablets, *Arzneimittelforschung*, **54**, 573-577 (2004).
- 7) V. Borek-Dohalsky, J. Huclova, B. Barrett, B. Nemecek, I. Ulec and I. Jelinek, Validated HPLC-MS-MS method for simultaneous determination of atorvastatin and 2-hydroxyatorvastatin in human plasma-pharmacokinetic study, *Analytical Bioanalytical Chemistry*, **386**, 275-285 (2006).
- 8) 식품의약품안전청 고시 제 2007-65호, 생물학적동등성시험기준 (2007. 09. 20).
- 9) R.V.S. Nirogi, V.N. Kandikere, M. Shukla, K. Mudigonda, S. Maurya, R. Boosi and Y. Anjaneyulu, Simultaneous quantification of atorvastatin and active metabolites in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using rosuvastatin as internal standard, *Biomedical Chromatography*, **20**, 924-936 (2006).