세팔렉신 제제인 케파신캡슐™의 팔렉신캡슐™에 대한 생물학적동등성

가톨릭대학교 의과대학/ 강남성모병원 임상약리학과

안병진, 채홍석, 한승훈, 홍은경, 임동석

=Abstract=

Bioequivalence Study of Two Cephalexin Formulations, Kepacin™ Capsule and Falexin™ Capsule

Byung-Jin Ahn, Hong-Seok Chae, SeungHoon Han, Eun-Kyung Hong, Dong-Seok Yim

Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics,
The Catholic University of Korea, Kangnam St.Mary's Hospital, Seoul, Korea

Background: Cephalexin is one of the first generation cephalosporins that has antibactericidal activity against gram-positive microorganisms. The purpose of the present study is to evaluate the bioequivalence of two cephalexin formulations (Kepacin capsule 500mg vs Falexin capsule 500mg), according to the guideline of the Korea Food and Drug Administration (KFDA)

Methods: Twenty three healthy Korean male volunteers participated in this study. Under two-way, crossover, Latin-square design (1-week wash-out period), a pharmacokinetic study and bioequivalence test was performed. After oral administration of cephalexin 500mg, blood samples were taken at predetermined time points and the concentrations of cephalexin were quantified using HPLC/UV method. WinNonlin V5.0 was utilized for calculation of the pharmacokinetic parameters including AUC_t , C_{max} .

Results: There were no significant differences in demographic and pharmacokinetic characteristics between Kepacin™ and Falexin™. ANOVA test found no significant sequence effects for AUC_t and C_{max} . The 90% confidence intervals of the mean difference of log (AUC_t and C_{max}) for Kepacin™ versus Falexin™ were log 0.94~log 1.03 and log 0.92~log 1.18, respectively. These values were within the bioequivalence range of log 0.8~log 1.25.

Conclusion: Our study indicated that the pharmacokinetic profiles of cephalexin in Korean male subjects were not different from previous reports except low clearance. Kepacin™ was bioequivalent to Falexin™ with respect to the extent and rate of absorption.

Key words: Bioequivalence, Cephalexin capsule.

서론

세팔렉신(Cephalexin)은 1세대 세팔로스포린 계열의 항균제로서 그람양성구균의 감염증에 주로 사용된다. 세팔렉신은 경구 투여량의 90% 정도가

흡수된 후, 약 14%의 혈장단백결합률, 약 18 (L/h/70kg)의 전신청소율, 약 18 (L/70kg)의 분포 용적, 약 0.9 시간의 반감기를 보이고 흡수된 약물의 약 90%가 신장으로 배설되며 500mg 경구 투여 시 최고 혈중농도는 약 28 (ug/ml), 최고 혈중

교신저자: 임동석

소 속: 가톨릭대학교 의과대학 약리학교실

주 소: 서울특별시 서초구 반포동 505

전화번호: (02) 590-1201, FAX: (02) 536-2485, e-mail: yimds@catholic.ac.kr

농도 도달 시간은 약 1.4시간인 것으로 알려져 있다^{1),2)}.

식품의약품안전청고시 제 2005-31호 생물학적동등성시험기준에 의하면 “생물학적동등성시험”이라 함은 생물학적동등성 입증에 위한 생체내시험으로서 주성분이 전신순환혈에 흡수되어 약효를 나타내는 의약품에 대하여 동일 주성분을 함유한 동일 투여경로의 두 제제가 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해 실시하는 시험을 말한다. 이때 비교평가항목은 검체가 혈액인 경우, 1회 투약 시는 투약시간부터 최종혈장 농도 정량시간 t 까지의 혈중농도-시간 곡선하 면적(AUC_t), 최고혈중농도(C_{max})로 하며 반복투약 시는 정상상태의 투여간격 τ 중의 혈중농도-시간곡선하 면적(AUC_{τ}) 및 정상상태의 최고혈중농도($C_{ss,max}$)로 하며, 최고혈중농도 도달시간(T_{max}) 및 비교용출시험에 의한 용출양상은 참고평가항목으로 하는 것으로 되어 있다. 생물학적동등성에 대한 평가는 T_{max} 를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목치를 로그변환하여 통계처리하였을 때, 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내인 경우 생물학적으로 동등한 것으로 판단하게 된다. 다만, 다음을 모두 만족하는 경우에는 동등으로 판정하게 되는데, (1) 대조약과 시험약의 비교평가항목치의 로그변환한 평균치의 차이가 $\log 0.9$ 에서 $\log 1.11$ 이내인 경우 (2) 의약품동등성시험관리규정 (식품의약품안전청고시)에 따라 비교용출시험을 실시할 때 규정된 모든 조건하에서 동등한 경우. 다만, 경구용 제제(서방성 제제 제외) 및 장용성 제제는 대조약의 평균용출률이 규정된 시간내에 85%에 도달하지 않는 경우는 적용할 수 없으며 서방성제제는 대조약의 평균용출률이 30%, 50%, 80% 부근인 적당한 시점에서의 시험약의 평균용출률이 대조약 평균용출률의 $\pm 10\%$ 이내인 경우 (3) 총피험자 수가 20명(1군당 10명)이상인 경우이다. 통계처리 시 분산분석에 의

한 검정은 원칙적으로 α (유의수준)=0.05에서 실시하도록 규정하고 있다³⁾.

본 시험에서는 경구용 세팔렉신 제제인 동화약품공업주식회사의 팔렉신캡슐 500mg을 대조약으로 하고 (주)유한양행의 케파신캡슐 500mg을 시험약으로 하여 세팔렉신의 한국인 정상성인에서의 약동학적 특성을 알아보고 시험약과 대조약간의 생물학적동등성을 평가해 보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상 피험자

세팔렉신의 기존 약동학적 연구에서 약동학적 파라미터의 총 변이가 약 30%로 보고 되어 있고 개체내변이가 총 변이의 60-80%를 차지하는 것이 경험적으로 알려져 있으므로 개체내변이를 약 22% 정도로 가정하였을 때 유의수준 0.05, 검정력 80%에서 두 제제간 로그변환치의 차이를 90% 신뢰수준으로 검정하기 위한 피험자 수는 각 군당 약 10명이 된다. 여기에 식품의약품안전청고시 제 2005-31호 생물학적동등성시험기준 제13조 및 제 19조 2항을 고려하고, 중도탈락자(탈락율 20%)를 감안하여 피험자 예수를 양 군에 각각 12명으로, 총 24명을 대상으로 하였다. 피험자 선정기준으로는 (1) 건강진단시 연령이 만19세~55세인 남성이고 (2) 선천성 또는 만성질환이 없고 내과적인 진찰결과(필요한 경우 뇌파, 심전도, 흉부 및 위 내시경 또는 위장 방사선 검사) 병적증상 또는 소견이 없으며 (3) 담당 의사가 의약품의 특성에 따라 설정 및 실시한 혈액병리검사, 혈액화학검사, 뇨검사 등 임상병리검사 결과 피험자로 적합하다고 판정된 건강한 성인으로 하였다. 대상자 제외기준으로는 (1) 시험개시 전 1개월 이내 바르비탈류 약물 등의 약물대사효소 유도 및 억제약물의 복용이나 과도한 음주를 하였거나 (2) 시험개시 전 10일 이

내 시험에 지장을 줄 우려가 있는 약물복용을 한 경우 (3) 담당의사가 생물학적동등성시험에 적합하지 않다고 판단한 경우 (4) 약의 성분에 과민반응의 병력이 있는 환자 (5) 간담도계, 신장 그리고 순환기계 장애가 있거나 약의 흡수를 지연시킬 만한 가능성이 있는 소화기계의 질환을 가지고 있는 사람으로 하였다³⁾.

모집대상 피험자 24명 중 실제 시험에 참여한 피험자는 총 23명 이었다. 피험자들의 인구학적 특성은 두 군에서 차이가 없었다. (Table 1.) 본 시험에 참여한 지원자에 대하여 임상시험을 위한 설명서를 배부하고 그 내용을 충분히 설명하였으며 피험자의 자의의사에 의한 서면동의서를 받았다. 본 임상시험에 대해 가톨릭대학교 강남성모병원 임상시험심사위원회의 심의를 통과하였다.

2. 연구수행

본 시험은 총 23명의 피험자를 두 군(A군, B군)으로 무작위 배정하여 2시기* 2순서 형태의 라틴 방격법(Latin-square method)형태의 교차시험설계(crossover design)하에 수행되었다.

제1기 제A군에는 대조약인 동화약품공업주식회사의 팔렉신캡슐을, 제B군에는 시험약인 유한양행에서 제조한 케파신캡슐을 동일 투약일에 투약하고, 투약량은 각 제제 모두 1 캡슐(cephalexin 500

mg)을 1회 경구 투약 하였다. 시험당일 피험자들의 상완 정맥부위에 heparin-locked catheter를 설치하고 blank 혈액으로 각각 7mL씩을 채혈하였다. 채혈 시 채혈세트 안에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 7mL의 혈액을 채취하였고, 다시 catheter 안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리 식염수를 주입하였다. 실수로 인한 채혈시간의 변동을 사전에 방지하기 위해 시험 전에 채혈자 및 피험자들에게 채혈기록지를 배부하였다. 피험자 전원은 시험약 케파신캡슐 500mg((주)유한양행) 혹은 대조약 팔렉신캡슐 500mg(동화약품공업주식회사) 1캡슐을 물 240mL과 함께 복용하였으며 시험담당자가 확인하였다, 피험자간 투약시간의 차이는 채혈시간을 고려하여 2분 간격으로 하였다. 약물의 혈중 소실 반감기(약 1 시간) 및 식품의약품안전청 고시 제2005-31호 18조 3항에 따라, 채혈시간은 반감기의 3배 이상인 10시간 동안 실시하였고, 채혈 횟수는 세팔렉신의 최고혈중농도 도달시간이 약 1.4-2.0 시간으로 보고되어 있고 채혈횟수는 원칙적으로 12회 이상으로 하며, 최고혈중농도 도달 전에 적어도 2회 이상 채혈하도록 되어 있는 생물학적동등성기준을 고려하여 약물 투약 직전과 투약 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10시간의 총 12시점에서 실시하였다. 채혈된 혈액은 3000 rpm에서

Table 1. Demographic data from study subjects

	Group		Total	P-value [†]
	A (RT)	B (TR)		
No. (number)	11	12	23	—
Age * (years)	23.6±1.86	26.2±7.16	25.0±5.37	0.733
Sex (male)	11	12	23	—
Height * (cm)	172.9±5.07	173.8±3.90	173.3±4.40	0.669
Weight * (Kg)	69.5±9.70	66.7±6.85	68.0±8.26	0.670

* mean±SD ; [†] Wilcoxon rank sum test

10분간 원심분리한 후 혈장을 취하여 혈장 분리관에 옮겨 담고 분석 시까지 영하 70도에서 보관하였다. 식사에 의한 영향을 배제하기 위하여 투약 전 10시간 이상 절식한 상태에서 투약 후 4시간까지는 금식상태를 유지시켰으며, 투약 후 4시간째 채혈을 마친 후 동일한 점심식사를 섭취하였다. 시험 전 과정을 통하여 피험자 개개인의 상태를 관찰하여 기록하였으며, 채혈이 끝난 후에는 담당의사에 의해 혈압, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하였으며 피험자 전원에게서 이상이 없음을 확인하였다. 제1기 마지막 채혈이 끝난 후 제2기 시험을 완료할 때까지 음주나 약물 복용을 일체 금지하도록 주지시킨 후 귀가시켰다. 휴약 기간 7일(반감기의 5배 이상) 이후 제2기 투약 및 시험은 시험약과 대조약의 투여만 반대로 하고 제1기 투약 및 시험과 동일하게 실시하였으며, 피험자 관리 방법도 제1기 시험 중 피험자 관리에 따라 같은 방법으로 진행하였다.

피험자들의 혈액채취는 일반인들의 출입이 통제된 격리된 방에서 실시하였고, 사용하는 기구는 완전 멸균된 1회용으로 하였다.

3. 혈장 세팔렉신농도 분석

혈장에서 세팔렉신 농도를 측정하기 위해 2002년 성분별 생물학적동등성시험 표준지침의 조건을 본 기관 연구실의 조건에 맞게 변경하여 사용하고, 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 감도(정량한계), 안정성 등에 대한 분석방법 타당성 검증(validation)을 완료한 후 검체 분석에 이용하였다.

전처리된 혈장 시료는 HPLC/UV 방법으로 정량하였다. 장치로는 액체 크로마토그래프를, 검출기로는 UV absorbance detector (260nm)를, 컬럼은 Luna C18 (4.6 × 250mm)을, 데이터 처리장치로는 computerized integrator를 사용하였으며 이동상으로는 methanol과 0.025M KH₂PO₄(pH 2.1)혼합용액

(30:70, V/V)을 사용하고 column oven 30°C에서 유속 1mL/min으로 정량하였다. 세팔렉신 표준품을 methanol에 녹여 1mg/mL 농도의 표준용액을 만든 후 -20°C에 냉동 보관하였다. 계대희석된 표준용액을 공혈장에 spiking하여 혈장 중 세팔렉신의 농도가 0.5~100µg/mL 농도가 되도록 표준시료를 만들고, 각각의 표준시료 300µl에 내부표준물질 세파졸린(cefazolin) (60µg/mL, 이동상) 100 µl를 가한 후 섞었다. 여기에 60% perchloric acid 50µl를 가하고 30초 동안 vortexing하여 제단백 한 다음 12000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리하였다.. 상층액 100µl를 취하여 이동상 100µl와 혼합 후 HPLC에 주입하고, 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 세팔렉신의 피크 면적비를 약물농도의 역수(1/X)로 weight를 주어 검량선을 작성하였다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

피험자로부터 각 시간별로 채취하여 -70°C에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 30초간 진탕한 다음 이 혈장 300µl를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로 세파졸린 (60 µg/mL, 이동상) 100 µl를 가한 후 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전 처리한 후 HPLC에 주입하였다. 이후 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 세팔렉신의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 세팔렉신의 농도를 구하였다.

4. 약동학적 파라미터 및 생물학적동등성 통계분석

생물학적동등성시험기준(식품의약품안전청고시 제2005-31호, 2005. 6. 7.)에 따라 시험약과 대조약간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목은 투약시간부터 최종혈중농도 정량시간 t_z까지의 혈중농도-시간 곡선하 면적(AUC_t) 및 최고혈중농도

Figure 1. Mean plasma concentration– time profile of cephalexin after a single oral administration of 500mg capsule (R: Falexin™ capsule T: Kepacin™ capsule)

(C_{max})로 하였으며, 최고혈중농도 도달시간(T_{max})은 참고값으로 하였다. 약동학적 파라미터 계산 및 통계분석은 WinNonlin V5.0을 이용하여 구하였으며, T_{max} 를 제외한 대조약과 시험약의 AUC_t , C_{max} 는 로그변환하여 분석하였다. 통계처리에 사용된 분산분석(ANOVA)에서는 AUC_t , C_{max} 에 대하여 약제효과, 시기효과, 군(순서)효과, 군내 피험자간 변동을 F-test로 검정하고 제형효과에 대한 90% 신뢰구간에 대하여 생물학적동등성 여부가 평가되었다. 평가의 신뢰성을 확보하기위해 생물학적동등성 평가 프로그램인 K-BE test 2002 판을 사용하여 재차 확인하였다^{3,4)}.

결 과

1. 약동학적 파라미터 평가

시험약(케파신캡슐500mg)과 대조약(팔렉신캡슐

500mg)의 약동학적 파라미터들과 평균 혈장농도 추이는 유사한 양상을 보여 주었다. (Figure 1). AUC_t ($ug \cdot hr/ml$: Mean $\pm$ SD)는 대조약 44.36 $\pm$ 7.75, 시험약 44.05 $\pm$ 9.19 이었고, C_{max} (ug/ml : Mean $\pm$ SD)는 대조약 21.00 $\pm$ 6.37, 시험약 21.58 $\pm$ 5.88 이었으며, T_{max} (hr: Mean $\pm$ SD)는 대조약 1.26 $\pm$ 0.54, 시험약 1.15 $\pm$ 0.41 이었다. 그 외에 CL/F (L/hr : Mean $\pm$ SD)는 대조약 11.36 $\pm$ 2.12, 시험약 11.52 $\pm$ 2.17, V_d/F (L : Mean $\pm$ SD)는 대조약 16.30 $\pm$ 3.49, 시험약 15.66 $\pm$ 2.55, $t_{1/2}$ (hour: Mean $\pm$ SD)은 대조약 1.00 $\pm$ 0.17, 시험약 0.96 $\pm$ 0.13, MRT (hour: Mean $\pm$ SD)는 대조약 1.94 $\pm$ 0.34, 시험약 1.85 $\pm$ 0.32 로 시험약과 대조약 두 제제 간에 유사한 양상을 보여 주었다 (Table2.) 시험약과 대조약에 대한 각 피험자의 $\log(AUC_t)$ 와 $\log(C_{max})$ 프로파일을 살펴보았을 때 $\log(AUC_t)$ 의 경우 두 제제의 분포는 유사하였으며 각각 평균값을 중심으로 비교적 고르게 분포함을 확인할 수 있었다. $\log(C_{max})$ 의 경우는 대조

Table 2. Pharmacokinetic parameters after a single oral administration of cephalexin 500mg capsule

	Falexin TM		Kepacin TM	
	Mean	SD	Mean	SD
AUC _t (ug*hr/ml)	44.36	7.75	44.05	9.19
C _{max} (ug/ml)	21.00	6.37	21.58	5.88
T _{max} (hr)	1.26	0.54	1.15	0.41
CL/F (L/hr)	11.36	2.12	11.52	2.17
Vd/F (L)	16.30	3.49	15.66	2.55
MRT (hr)	1.94	0.34	1.85	0.32
t _{1/2} (hr)	1.00	0.17	0.96	0.13

약의 분산에 비해 시험약의 분산이 작음을 확인할 수 있었다. (Figure 2.)

2. 생물학적 동등성 평가

AUC_t 와 C_{max} 의 생물학적동등성 검정에 앞서 확인된 분산분석 결과 약제효과, 시기효과, 군(순서)효과는 α (유의수준)=0.05에서 통계학적으로 의

미가 없었다. (Table 3.) 생물학적동등성 평가를 위해 시험약과 대조약의 로그변환한 AUC_t 와 C_{max} 의 평균의 차이에 대한 점 추정치 및 평균의 차이에 대한 90% 신뢰구간을 구하였으며, 이 신뢰구간이 -0.2231 ($=\log 0.8$) 에서 $+0.2231$ ($=\log 1.25$) 사이에 포함되는 지 확인하였을 때 AUC_t (시험군 - 대조군)의 경우 평균의 차이의 점추정치(point estimate)는 -0.0128 , 평균차이의 90%신뢰구간은 $-0.059 \sim 0.0333$ 이었으며, C_{max}(시험군 - 대조군)의 경우 평균의 차이의 점추정치(point estimate)는 0.0393 , 평균차이의 90%신뢰구간은 $-0.0831 \sim 0.1618$ 로 나타나 생물학적동등성 기준을 만족하였다.

시험약과 대조약의 기하평균(geometric mean)의 비(ratio: 시험약/대조약) 및 90% 신뢰구간은 AUC_t 에서는 0.987 및 $0.9427 \sim 1.0339$, C_{max} 에서는 1.04 및 $0.9203 \sim 1.1756$ 으로 $0.8 \sim 1.25$ 구간에 존재하였다. (Table 4.)

3. 안전성 평가

총 23명의 피험자가 시험을 완료하였으며 문진, 자발적 보고 등으로 확인된 유해사례는 없었다. 또

Figure 2. Subject profiles plots in log(AUC_t) and log(C_{max})

Table 3. ANOVA test results for AUC_t and C_{max} of Cephalexin

AUC _t						
Source	DF	SS	MS	F value	F table	P- value
Formulation	1	0.0019	0.0019	0.230	4.325	0.6368
Period	1	0.0101	0.0101	1.219	4.325	0.2821
Sequence	1	0.0141	0.0141	0.211	4.325	0.6509
Subject(sequence)	21	1.4031	0.0668	8.093	2.084	<0.0001
Error	21	0.1734	0.0083			
Total	45	1.6021				

C _{MAX}						
Source	DF	SS	MS	F value	F table	P-value
Formulation	1	0.0178	0.0178	0.306	4.325	0.5862
Period	1	0.0115	0.0115	0.198	4.325	0.6612
Sequence	1	0.0292	0.0292	0.224	4.325	0.6407
Subject(sequence)	21	2.7379	0.1304	2.244	2.084	0.0354
Error	21	1.2200	0.0581			
Total	45	4.0176				

Table 4. Bioequivalence test results between FalexinTM and KepacinTM

	R		T		T - R	T/ R ratio
	Mean	SD	Mean	SD	Point Est.* (90% CI)*	Point Est. [†] (90% CI) [†]
LogAUC _t (ug*hr/ml)	3.78	0.18	3.77	0.20	- 0.0128 (- 0.0590~0.0333)	0.987 (0.9427~1.0339)
LogC _{max} (ug/ml)	3.00	0.33	3.04	0.27	0.0393 (- 0.0831~0.1618)	1.040 (0.9203~1.1756)

R; FalexinTM as reference drug, T; KepacinTM as test drug, Point Est*; Point estimate of the mean difference of $\log(AUC_t)$ and $\log(C_{max})$, 90%CI*; 90% Confidence Interval of the mean difference of $\log(AUC_t)$ and $\log(C_{max})$, Point Est[†]; Point estimate of geometric mean ratio, 90%CI[†]; 90% Confidence Interval of geometric mean ratio

한 생체징후 및 신체검진에서도 투약전과 비교하여 변화를 보이지 않았다.

4. 약물농도분석 평가

Inter-batch에 사용된 human blank plasma에서 세팔렉신 및 내부표준물질의 retention time과 일치하는 간섭 peak는 없었으며, 세팔렉신과 세파졸린의 머무름 시간은 각 9.6, 11.1분이었다. Calibration

curve의 intra-batch 상관계수(r)는 0.998에서 0.999 사이에 있었으며, Inter-batch 상관계수(r)는 모두 0.999이었다. 1.5, 15 및 80 ug/mL 3가지 농도의 세팔렉신 혈장 표준액을 처리하여 분석하였을 때 정량한계는 크로마토그램상에서 신호대 잡음비 (S/N ratio)를 5이상으로 하고 정밀성이 20% 이하이고 정확성이 80~120%인 조건을 만족하는 농도로 하여 0.5ug/mL로 정하였다. 이때 본 분석방법의 정밀성 CV %는 일내 정밀성이 2.42% (1.5ug/mL)

이하이며, 일내 정확성은 91.12~97.43%, 일간 정밀성은 7.2% (1.5ug/mL) 이하이며, 일간 정확성은 96.7~98.4% 이었다. 정량한계에서의 일내 정확성은 98.5%, 일내 정밀성은 2.6%, 일간 정확성은 101.3%, 일간 정밀성은 6.4% 으로 유효하였다.

고 찰

세팔렉신은 경구투여 시 유효한 제1세대 세팔로스포린 계열의 항균제로서 세균의 세포벽 합성을 저해하여 효과를 나타낸다. 유효균종은 용혈성연쇄구균, 폐렴구균, 황색포도구균 기타 포도구균, 프로테우스 미라빌리스, 임균, 대장균, 클레브시엘라속이며 이들 세균과 관련된 감염증의 치료에 사용하도록 허가되어 있다. 세팔렉신은 산에 안정하고 경구투여 후 신속하게 흡수된다. 서양인의 경우 세팔렉신 250 mg, 500 mg, 1 g을 투여하였을 때 1 시간 후 각각 약 9, 18, 32 µg/mL의 최고혈중농도 (C_{max})가 나타나며 약 15% 정도가 혈장 단백질과 결합하고 체내에 광범위하게 분포하지만 뇌척수액에는 들어가지 않으며 거의 대사 되지 않고 약 80% 정도가 약 6 시간 후에 뇨 중 미변화체로 배설된다고 알려져 있다. 일본인의 경우 건강한 성인에서 250 mg, 500 mg 을 식후 1 회 경구투여 시 C_{max} 는 5.5 ± 0.8 µg/mL, 10.3 ± 2.9 µg/mL, 최고혈중농도 도달시간 (T_{max})은 2.0 ± 0.4 hr, 2.9 ± 0.6 hr, 혈중 약물농도-곡선하 면적 (AUC_{0-6})은 14.94 ± 3.69 µg·hr/mL, 29.11 ± 8.53 µg·hr/mL, 소실반감기 ($t_{1/2}$)는 1.24 ± 0.74 hr, 1.05 ± 0.34 hr로 보고되고 있다. 현재까지 알려진 한국인을 대상으로 한 세팔렉신의 경구투여 후의 약물동태학적 변수들은 일본인의 결과보다는 오히려 서양인의 결과와 유사한 것으로 보고되어 있는데 세팔렉신 500mg 캡슐을 식전 경구투여한 본 연구의 경우 C_{max} (ug/ml: Mean±SD)는 대조약 21.00 ± 6.37 , 시험약 21.58 ± 5.88 으로 T_{max} (hour: Mean±SD)는 대조약 1.26 ± 0.54 , 시험

약 1.15 ± 0.41 으로서 문헌마다 차이가 있기는 하지만 상기 서양인의 결과와 유사한 양상을 보여 주었다. AUC_t 의 경우는 마지막 채혈시간이 동일하지 않고 또한 Cephalexin의 투여용량이 250mg, 1000mg 등으로 상이한 연구들인 경우 직접 비교할 수는 없었다. 전신 청소율의 경우는 70kg 성인에서 약 18 (L/hr)로 알려져 있으나 본 연구에서는 약 11.7 (L/hr)로서 작게 측정되었다^{5,6,7)}.

세팔렉신의 경우 미변화체로 소변을 통해 배설되므로 소변의 데이터가 세팔렉신의 생체이용률을 잘 반영할 수 있으므로 소변을 이용한 생물학적동등성 시험의 결과가 또한 보고되어 있다⁸⁾.

HPLC/UV 방법을 이용한 세팔렉신의 농도 분석 방법은 기존의 문헌등에서 잘 확립되어 있으며 본 연구에서도 기존의 문헌 및 분석실 표준운영지침에 따라 농도 분석을 하였으며 유효한 일내 및 일간 재현성을 보여 주었다⁵⁾.

현 식품의약품안전청의 규정상 생물학적동등성 평가는 시험약과 대조약의 로그변환한 AUC_t 와 C_{max} 평균의 차이에 대한 90% 신뢰구간이 log 0.8 에서 log 1.25 사이에 존재하는지가 우선평가 대상이며, 이 기준을 만족하지 못하는 경우 AUC_t 와 C_{max} 평균의 차이에 대한 점추정치와 비교용출시험의 결과, 피험자의 수를 고려하여 동등성 여부를 판단하도록 하고 있다. 본 연구에서는 90% 신뢰구간이 log 0.8 에서 log 1.25 사이에 존재하여 두 제제는 생물학적으로 동등한 것으로 판단할 수 있었다.

생물학적동등성 시험 시 AUC_t 와 C_{max} 는 로그 변환하여 사용하도록 되어있는데 로그변환의 임상적 근거로는 로그단위(log scale)에서 시험약과 대조약의 AUC_t 및 C_{max} 평균치의 차이는 원래단위(original scale)에서의 시험약과 대조약 기하평균치의 비(ratio)로서 표현되기 때문이며, 약동학적 근거로는 AUC_t 및 C_{max} 가 원래단위에서는 피험자효과의 함수로서 간주되는 청소율 및 분포용적이 곱의 형태(multiplicative form)로 포함되므로

선형 모형을 적용할 수 없는데 로그변환을 하게 되면 피험자 효과가 덧셈형태를 취해 선형 모형을 사용할 수 있게 되기 때문이다. 또한 AUC, C_{max} 와 같은 약동학적 파라미터들은 음수값을 가질 수 없어 우 편위된 분포를 보이고 이를 로그변환하면 정규분포를 보이는 것으로 알려져 있다^{9,10}.

라틴방격형태의 교차시험에서는 생물학적동등성 평가를 위한 신뢰구간을 구하기 전에 분산 분석을 통해 시기효과, 군(순서)효과, 제형효과 등을 분석하게 된다. (유의수준= 0.05) 시기효과는 다양한 영향으로 인해 흔히 발견되므로, 시기효과 유무가 생물학적동등성 평가에 반드시 영향을 주지는 않는 것으로 알려져 있다. 이 분산분석에서 구한 평균제곱오차 (Mean Square Error)를 사용하여 생물학적동등성 평가를 위한 신뢰구간 추정에 표준오차 항목에 이용하게 된다. 그러나 교차시험에 대한 분산 분석에서 피험자는 군(순서)에 이미 내포되어 (nested)있다. 이 경우 군(순서) 효과는 군(순서)내 피험자간 변동을 오차항으로 하여 순서군에 따라 변동이 있는지 검정하게 된다. 또한 2 * 2 라틴방격형태의 교차시험 설계에서 잔류효과의 관점에서 균형된 실험디자인을 사용한 경우 혹은 반감기가 아주 길지 않은 임상시험약물인 경우에는 충분한 휴약기를 줄 수 있기 때문에 이월효과(carryover effect)는 존재하지 않는 것으로 가정하고 제형효과에 대한 분석을 진행하게 된다^{11,12}.

현재의 평균생물학적동등성 평가에서는 비교하고자 하는 두 제제의 분산을 고려하지 않고 오로지 두 제제의 평균의 차이만을 고려하게 되는데 집단생물학적동등성 혹은 개인생물학적동등성의 경우 연구방법이나 통계분석에 논란의 여지가 있으나 각 제제의 분산을 고려하게 됨으로 보다 합리적인 평가가 될 것이다. 본 연구처럼 2 * 2 교차시험 디자인에서는 개인생물학적동등성을 평가할 수는 없으나 각 제제의 분산의 차이와 평균의 차이를 구할 수 있으므로 집적통계량 (aggregate

statistics)을 이용하여 집단생물학적동등성 평가를 추가로 시도해 볼 수 있겠다.

생물학적동등성 평가를 위한 통계분석 도구로는 KBE TEST, WinNonlin, SAS등이 있는데 본 연구에서는 1차적으로 WinNonlin을 이용하여 분석하였고 2차 보조도구로 KBE TEST를 사용하여 확인하였고 같은 결과를 얻었다. 본 연구에서는 결측치가 발생하지 않아 이에 대한 추가적인 고려는 없었다. 본 시험을 통해 시험약인 케파신캡슐 500mg은 대조약인 팔렉신캡슐 500mg과 생물학적으로 동등하다고 평가할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Katzung, B. G. (2004). *Basic & clinical pharmacology*. New York, Lange Medical Books/McGraw Hill.
2. Goodman, L. S., Gilman, A., et al. (2006). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York, McGraw-Hill.
3. 식품의약품안전청 고시 제2005-31호, 생물학적동등성시험기준, 2005.
4. Y. J. Lee, J. H. C, S. H. Song, C. H. Seo, D. S. Kim, I. S. Park, K. H. Choi, H. K. Na, S. J. Chung, M. H. Lee, C. K. Shim. "Development of K-BEtest, a Computer Program for the Analysis of Bioequivalence." *J Kor Pharm Sci* 1998; 28(4): 223-229(Korean).
5. 식품의약품안전청 예규 제91호, 성분별 생물학적동등성시험 표준지침, 2003.
6. Pfeffer, M, Jackson, A, et al. "Comparative human oral clinical pharmacology of cefadroxil, cephalexin, and cephradine." *Antimicrob Agents Chemother*, 1997; 11(2): 331-8.
7. Lode, H, Stahlmann, R, et al. "Comparative pharmacokinetics of cephalexin, cefaclor, cefadroxil, and CGP 9000." *Antimicrob Agents Chemother*, 1979; 16(1): 1-6.

8. Suleiman, M. S, Najib, N. M, et al. "A bioequivalence study of six brands of cephalexin." *J Clin Pharm Ther*, 1988; 13(1): 65-72.
9. Food and Drug Administration. *Guidance for industry. Statistical approaches to establishing bioequivalence*. CDER.FDA:Rockville,MD, 2001
10. Patterson, S. D. and Jones, B. *Bioequivalence and statistics in clinical pharmacology*. Boca Raton, Chapman & Hall/CRC. 2006
11. Walker, G. A. *Common statistical methods for clinical research with SAS examples*. Cary, NC, SAS Institute Inc. 2005
12. Chow, S. C. *Encyclopedia of biopharmaceutical statistics*. New York, Marcel Dekker. 2003