

세파클러 캡셀제에 대한 생물학적 동등성 평가

복혜숙^a · 김명민^a · 권이오^a · 최경업^{a,b}

Bioequivalence of Cefaclor Capsules Following Single Dose Administration to Healthy Male Volunteers

Hae Sook Bok^a, Myoung Min Kim^a, Yi Oh Kwon^a, and Kyung Eob Choi^{a,b}

Department of Clinical Pharmacology, Samsung Biomedical Research Institute^a,

Division of Pharmaceutical Services, Samsung Medical Center

50, Ilwon-dong, Kangnam-ku, Seoul, 135-230, Korea^b

Cefaclor is a second generation cephalosporin antibiotic that shows a potent antibacterial activity against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, when it is orally administered. Due to its patent expiration, a number of generic drugs have been marketed, but not yet elucidated to ensure therapeutic equivalence. In this study, cefaclor capsules manufactured by Chong Kun Dang were bioequivalently assessed by comparing with CeclorTM introduced originally by Daewoong Lilly. A total of 16 healthy male volunteers were evaluated in a randomized crossover manner with a 2-week washout period. Concentrations of cefaclor in plasma were measured upto 6 hours following a single oral administration of two capsules (500 mg of cefaclor) by high-performance liquid chromatography with UV detection. Although the plasma concentration at 6 hours was not detected, the computed half-life of cefaclor was approximately 0.5 hours. The area under the concentration-vs-time curve from 0 to 4 hours (AUC_{0-4h}) was calculated by the trapezoidal summation method. The differences in mean values of AUC_{0-4h} , peak plasma concentration (C_{max}), and time to peak concentration (T_{max}) between the two products were 4.63%, 1.84%, and 3.28%, respectively. The least significant differences at $\alpha=0.05$ for AUC_{0-4h} , C_{max} and T_{max} were 6.53%, 4.05%, and 6.47%, respectively. In conclusion, the test drug was bioequivalent with the reference drug. (Kor. J. Clin. Pharm. 1997; 7(1): 17-21)

□ Keywords – Cefaclor, Bioequivalence, Pharmacokinetic parameters.

Cefaclor {3-Chloro-7-D-(2-phenylglycinamido)-3-cephem-4-carboxylic acid, monohydrate} (분자량:385.82)는 Cephalosporin계 반합성 유도체로서 세균의 세포벽 합성을 저해하여 살균 작용을 나타내는 제 2세대 경구용 항생제이다.¹⁾ Cefaclor (CCR)는 Cephalexin과 유사한 특징을 갖고 있으며,²⁾ 기존의 1세대 경구용 세파클레 항생제에 비해 강력한 항균력을 나타낸다. 경구 활성이 있는 CCR는 비교적 광범위한 항균 spectrum을 갖고 있으며,⁴⁾ 그람 음성균 감염에 우수한 효과가 있다.³⁾ 또한, β -lactamase에 상당히 안정하여 Cephalexin 및 Cephadrine 내성 균주에도 유효하며,³⁾ 특히 Ampicillin에 내성을 보이는 β -lactamase 생성 균주를 포함하여 *Haemophilus influenzae*에 대해 높은 항균

효과를 갖는다. CCR는 경구 투여 후 위장관에서 50~75% 이상 흡수되고, 약물의 흡수에 대한 음식물의 영향은 거의 없는 것으로 알려져 있다. CCR의 생체내 분포도는 kidney, lung, liver, serum, spleen, heart, brain의 순이며,⁵⁾ 단백 결합율은 25%, 혈중 반감기는 0.5~1시간 정도로 알려져 있다.⁶⁾

CCR는 임상에서 많이 사용하는 약물이지만, 최근 특허가 만료되면서 검증없이 많은 generic drug이 시판되고 있으므로, 임상 적용에 앞서 original drug인 대응릴리 씨클러TM와의 약동력학적인 평가(생물학적 동등성 시험)가 필요하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 시판중인 종근당의 세파클러TM를 시험약으로 하고, 대응릴리의 씨클러TM를 대

조약으로 하여 16명의 건강한 성인 남자를 대상으로 생물학적 동등성을 평가하기 위한 시험을 실시하였다.

연구대상 및 방법

CCR 제제

시험약은 중근당의 세파클러™ 캡셀을 사용하였으며, 대조약으로는 대웅틸리의 씨클러 캡셀을 사용하였다. 시험약과 대조약의 1 캡셀당 CCR의 함량은 250 mg이다.

함량시험

시험약 및 대조약의 함량이 1 캡셀중 CCR로서 250 mg으로 동일함을 알아보기 위해 HPLC로 함량분석을 하였다. 대조약과 시험약 7캡셀씩을 각각 무작위로 선택하여 무게를 평량한 후 평균값을 산정하였다 (300 mg±0.5). 이들 평균값을 기준으로 각 캡셀의 무게를 측정하여 증류수로 용해시킨 후, 원심분리하여 부형제는 침전시키고 상등액을 취했다. CCR 표준품(역가 950 µg/mg)을 사용하여 0.3 mg/ml의 용액을 조제한 후 HPLC로 분석하였다. 분석방법은 USP 23의 CCR 캡셀 분석법에 따랐으며 함량 %는 아래의 식에 의하여 구했다.

Content % =

$$\frac{SA_{area}}{ST_{area}} \times \frac{ST_{wt}}{SA_{wt}} \times \frac{ST_{potency}}{10} \times \frac{300}{250}$$

*ST; Standard, SA; Sample

지원자 모집 및 피험자의 선정

20~40세의 건강한 성인 남자를 대상으로 지원자를 모집하였으며, 본 연구에 참여한 시험대상자는 소정의 양식으로 동의서를 작성하였다. 본 연구의 계획서와 동의서는 삼성서울병원 임상시험심사위원회(IRB)에서 제반 사항에 대한 검토 및 승인을 받았다. 모집 공고를 통하여 과거에 소화기계, 간장, 신장 및 혈액 질환의 병력이 없고, 현재 타약물을 복용하고 있지 않은 지원자를 구하여, 전문의사의 건강진단(식품의약품 안전본부 고시 96-16호)을 실시한 후 건강인으로 판정된 자 16명을 선정하였다. 피험자의 연령은 25~36세(평균 30.4세)였으며, 신장은 165~177 cm(평균 171.9 cm), 체중은 56~75 kg(평균 66.8 kg)이었다. 각 피험자의 신체사항 및 건강진단 검사 결과를 Table 1에 요약하였다.

약물 투여 및 채혈

16명의 피험자에 대해 군당 8명씩 A군과 B군으로 나누었다(Table 2). 제 I기 A군에는 대조약으로 대웅틸리의 씨클러™ 캡셀을 B군에는 시험약인 중근당의 세파클러™ 캡셀을 투약하였고, 2주간의 휴약 후, 제 II기에는 반대로 투약하였다. 시험시작 72 시간 전에는 다른 약물 사용을 중단하고 48 시간 전에는 제산제, 알콜성 음료와 caffeine, methylxanthine을 포함하는 음식의 섭취를 제한하였다. 오전 8시 30분 정각에 CCR로서 500 mg (2 capsules)을 약 200 ml의 물로 복용시켰다. 각 피험자에 대한 채혈은 약물 복용직전, 약물 복용후 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 3, 4 및 6 시간에 실시하였으며, 투약후 마지막 채혈 시점까지 고형 성분의 음식 섭취를 제한하였다. 5-ml syringe로 혈액을 채취한 다음, EDTA로 처리된 Vacutainer™ tube에 옮겨 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 혈장을 0.7 ml씩을 소분하여 분석시까지 -80°C에 냉동 보관하였다.

혈장중 CCR 농도정량

HPLC 분석용 시약은 Burdick & Jackson Division (Baxter Corp., USA)으로 부터 구입하였으며, 시험에 사용한 모든 시약은 Sigma (St. Louis, USA)로 부터 구입하였다. 분석 장비는 Waters (MA, USA)의 M600 pump, M717 autosampler 및 흡광도 235 nm로 조정된 M486 U.V. detector를 사용하였다. HPLC 분석용 컬럼은 µBondaPak™ column (C18, 15×3.9 mm I.D., 5 µm, Waters, USA)을 사용하였다. 이동상은 0.05 M acetate buffer (pH 3.8):methanol:acetonitrile을 87:10:3 (v/v)의 비율로 섞어 사용하였고, 유속은 1 ml/min였으며, 모든 분석은 4°C에서 행하였다.⁸⁾

혈장 시료는 solid-phase extraction법으로 전처리하였다. Bond-Elut™ C₈ cartridge (3 ml, 500 mg, Supelco, PA, USA)에 3 ml의 methanol과 2 ml의 1% phosphoric acid로 activation한 후, 0.5 ml의 sample과 1 ml의 내부표준물질(Cefadroxil 2 µg/ml)을 loading하였다. 3 ml의 1% perchloric acid로 씻어준 후, 750 µl의 100% methanol로 용출액을 얻어 그 중 100 µl를 분석용 column에 주입하였다.⁸⁾

통계처리 및 생물학적동등성 평가

통계처리는 국립보건안전연구원에서 제공한 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 시험약 및 대조약의 약물동태학적 파

Table 1. Volunteer Characteristics

| Subject No. | Age (yr) | Weight (kg) | WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$) | RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | ALT (U/L) | AST (U/L) | γ -GT (U/L) | SCr (mg/dl) |
|-------------|----------|-------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------|-----------|--------------------|-------------|
| 1 | 29 | 70 | 7.16 | 5.17 | 26 | 21 | 18 | 1.0 |
| 2 | 31 | 60 | 9.44 | 4.82 | 17 | 17 | 19 | 0.9 |
| 3 | 29 | 57 | 5.11 | 4.69 | 26 | 25 | 37 | 1.0 |
| 4 | 28 | 72 | 7.23 | 5.08 | 20 | 13 | 28 | 1.2 |
| 5 | 25 | 65 | 7.10 | 4.94 | 18 | 17 | 11 | 1.1 |
| 6 | 36 | 70 | 6.88 | 4.82 | 34 | 23 | 11 | 1.0 |
| 7 | 27 | 62 | 7.30 | 4.76 | 16 | 16 | 16 | 1.2 |
| 8 | 37 | 66 | 3.24 | 4.33 | 15 | 15 | 10 | 1.1 |
| 9 | 30 | 68 | 6.22 | 4.50 | 19 | 11 | 33 | 1.3 |
| 10 | 30 | 75 | 5.83 | 4.87 | 45 | 24 | 27 | 1.1 |
| 11 | 30 | 56 | 5.55 | 4.74 | 21 | 21 | 19 | 1.1 |
| 12 | 29 | 74 | 5.94 | 5.27 | 37 | 20 | 25 | 1.1 |
| 13 | 34 | 72 | 6.68 | 5.09 | 34 | 22 | 24 | 1.2 |
| 14 | 33 | 72 | 7.32 | 4.73 | 32 | 19 | 56 | 1.1 |
| 15 | 27 | 71 | 4.93 | 4.70 | 16 | 16 | 26 | 1.1 |
| 16 | 31 | 60 | 6.23 | 5.06 | 33 | 26 | 22 | 1.0 |
| Mean | 30.37 | 66.87 | 6.39 | 4.85 | 25.56 | 19.13 | 30.13 | 1.09 |
| S.D. | 3.21 | 6.10 | 1.37 | 0.25 | 9.19 | 4.36 | 24.21 | 0.10 |

Abbreviations: WBC; White blood cell, RBC; Red blood cell, AST; Aspartate aminotransferase, ALT; Alanine aminotransferase, γ -GT; γ -Glutamyl transferase, SCr; Serum creatinine.

Table 2. Dosing schedules determined by the Latin square method

| Volunteer (임의순) | Period | |
|--|--|--|
| | I | II |
| KKS, KYC, PIC, ESK, KCW, PSY, KSJ, SSK YSH, YYS, OJK, CDR, PCY, JYJ, EYN, EYY | 대웅릴리 씨클러 TM 종근당 세파클러 TM | 종근당 세파클러 TM 대웅릴리 씨클러 TM |

라미터를 산정한 후, 식품의약품 안전본부 고시 96-16호(1996. 10. 31.) 생물학적 동등성 시험기준 제 16조에 따라 다음과 같이 평가하였다.¹²⁾ 즉, 시험약과 대조약간의 생물학적 동등성 평가를 위한 비교항목은 생체내 이용율에 의해 산출한 혈중농도-시간하곡선면적 (AUC), 최고혈중농도 (C_{max}) 및 최고혈중농도 도달 시간 (T_{max})으로 하였다. 이때 AUC는 trapezoidal summation method를 이용하여 0~4 시간까지의 값을 산출하였고, C_{max} 와 T_{max} 는 실측치를 구하였다. 군간의 차이는 ANOVA를 이용하여 분석을 하였고, $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있다고 판정하였다. 대조약과 시험약의 평균치의 차이는 대조약의 20% 이내로 하였으며, 분산분석에 의한 검정은 $\alpha = 0.05$ 에서 $1 - \beta \geq 0.8$ 및 Δ (최소 검출차) ≤ 0.2 로 하였다. 그리고, 대조약과 시험약의 생체 이용율차의 신뢰한계를 구하여 분산분석의 결과를 종합하여 평가하였다.

결 과

HPLC 분석

혈장중 CCR의 분석chromatogram은 Fig. 1에 나타내었다. 내부 표준물질로서 Cefadroxil (CDX; 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 사용하였으며, 유속 1 ml/min에서 CCR의 retention time은 약 8.2분이며, CDX는 6.1분으로 일정한 상태를 유지하였다. 혈중 CCR 분석을 위한 standard calibration curve는 linear regression analysis를 하였을 때, 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다 ($y = 0.241x + 0.0914$, $r = 0.999$).

함량분석

시험약과 대조약 각 캡셀 중 CCR의 함량을 HPLC로 분석한 결과는 Table 3과 같았다. Student's t-test 결과 시험약과 대조약의 함량이 동일한 것으로 판명되었다.

혈장 중 약물 농도 및 약물동태학적 특성

투여 6시간 후에 얻은 혈중 약물 농도는 detection limit 이하이기 때문에 분석하지 못하였다. 따라서 시

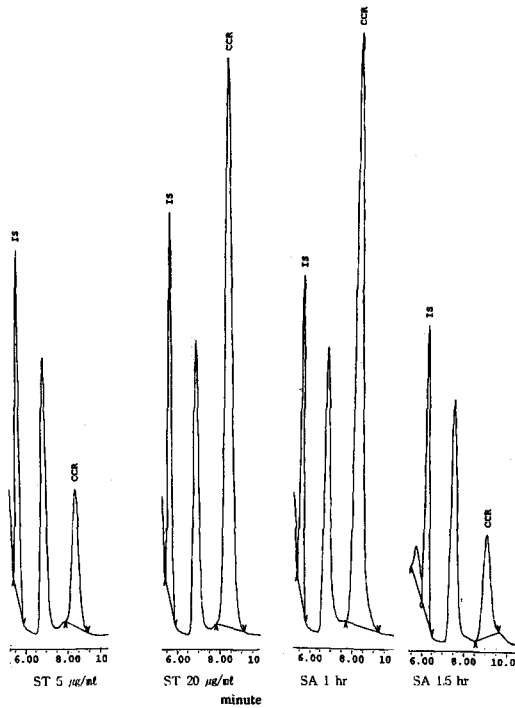


Fig. 1. Representative chromatograms of human plasma samples containing CCR and cefadroxil (internal standard); ST (Standard), SA (Sample)

Table 3. Contents of cefaclor of the two products

| No. | 씨클러™ | 세파클러™ |
|------|-------|-------|
| 1 | 98.40 | 97.78 |
| 2 | 98.69 | 97.52 |
| 3 | 98.08 | 97.38 |
| 4 | 98.10 | 98.06 |
| 5 | 95.78 | 98.70 |
| 6 | 98.46 | 98.65 |
| 7 | 98.97 | 98.44 |
| Mean | 98.07 | 98.08 |
| S.D. | 1.06 | 0.54 |

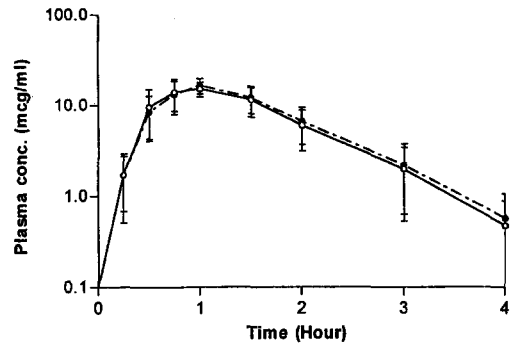


Fig. 2. Mean plasma concentration-time curve after oral administration of 500 mg of test drug (●; Cefaclor) and reference drug (○; Cefclor)

Table 4. Pharmacokinetic parameters of CCR (µg/ml) after oral administration at a dose of 500 mg

| | AUC _{0-4 hr} (µg · hr/ml) | | C _{max} (µg/ml) | | T _{max} (hr) | |
|------|------------------------------------|-------|--------------------------|-------|-----------------------|-------|
| | 씨클러™ | 세파클러™ | 씨클러™ | 세파클러™ | 씨클러™ | 세파클러™ |
| 1 | 17.17 | 15.60 | 16.00 | 16.56 | 1.00 | 1.00 |
| 2 | 21.27 | 24.39 | 16.00 | 17.05 | 0.75 | 0.75 |
| 3 | 22.06 | 23.38 | 15.73 | 16.00 | 1.00 | 1.00 |
| 4 | 17.12 | 16.75 | 15.20 | 15.30 | 0.75 | 0.75 |
| 5 | 40.97 | 39.09 | 22.25 | 22.05 | 1.00 | 1.00 |
| 6 | 17.70 | 19.26 | 21.16 | 18.80 | 0.75 | 1.00 |
| 7 | 23.53 | 26.82 | 22.70 | 22.60 | 0.75 | 1.00 |
| 8 | 17.23 | 23.71 | 13.25 | 14.67 | 1.00 | 1.00 |
| 9 | 19.34 | 19.26 | 14.39 | 13.94 | 1.00 | 1.00 |
| 10 | 28.31 | 29.52 | 20.60 | 22.70 | 1.50 | 1.50 |
| 11 | 28.89 | 29.12 | 14.29 | 14.55 | 0.75 | 0.75 |
| 12 | 42.97 | 45.53 | 25.41 | 25.70 | 1.50 | 1.50 |
| 13 | 33.11 | 34.35 | 32.76 | 32.84 | 0.75 | 0.75 |
| 14 | 24.21 | 25.12 | 18.32 | 18.82 | 1.00 | 1.00 |
| 15 | 19.43 | 18.50 | 16.91 | 17.26 | 0.75 | 0.75 |
| 16 | 16.92 | 17.92 | 12.31 | 13.91 | 1.00 | 1.00 |
| Mean | 24.39 | 25.52 | 18.58 | 18.92 | 0.95 | 0.98 |
| S.D. | 8.39 | 8.42 | 5.34 | 5.15 | 0.25 | 0.23 |

험약과 대조약에 대한 4 시간 까지의 혈중 약물 농도-시간 곡선을 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서와 같이

시험약이 대조약보다 혈중 농도가 다소 높게 나타나기는 하였으나, 씨클러™의 AUC_{0-4h}는 24.39±8.39

$\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$, 세파클러는 $25.52 \pm 8.42 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$, 씨클러TM의 C_{max} 는 $18.58 \pm 5.34 \mu\text{g/ml}$, 세파클러TM는 $18.92 \pm 5.15 \mu\text{g/ml}$, 씨클러TM의 T_{max} 는 $0.95 \pm 0.25 \text{ hr}$, 세파클러TM는 $0.98 \pm 0.23 \text{ hr}$ 으로서 평균치의 차이는 거의 없었다(Table 4).

통계학적 분석

대조약에 대한 시험약의 $AUC_{0-4\text{hr}}$, C_{max} , 및 T_{max} 에 대한 평균값의 차이가 각각 4.63%, 1.84%, 및 3.28%이었다. 분산분석 ($\alpha=0.05$, $1-\beta \geq 0.8$) 결과, $AUC_{0-4\text{hr}}$, C_{max} , 및 T_{max} 에 있어서 최소검출차가 각각 6.53%, 4.05%, 및 6.47%로서 대조약과 시험약간에 유의한 차이가 없었다. 신뢰한계에 있어서도 $AUC_{0-4\text{hr}}$ 는 $-0.0108\% \leq CL \leq 9.28\%$ 이었고, C_{max} 와 T_{max} 에 있어서도 각각 $-1.04\% \leq CL \leq 4.72\%$, $-0.32\% \leq CL \leq 7.88\%$ 이었다. 군간의 분산비 $F(1, 14)$ 는 $AUC_{0-4\text{hr}}$, C_{max} , 및 T_{max} 에 있어서 각각 0.992, 0.48, 및 1.14로서 F 분포표의 값 4.3보다 작아 유의성이 없었으며 crossover 실험 설계가 제대로 이루어졌음이 입증되었다.

고 찰

본 연구에서는 대웅릴리의 씨클러TM 캡셀(캡셀당 CCR 250 mg 함유)을 대조약으로 하고, 종근당의 세파클러TM 캡셀(캡셀당 CCR 250 mg 함유)을 시험약으로 하여 식품의약품안전본부 고시 96-16호(1996. 10. 31.) 생물학적 동등성시험 기준에 따라¹²⁾ 건강한 성인 남자 16명을 선정하여 Latin square법으로 교차시험을 실시하였다. 시험약 및 대조약을 피험자에게 투여한 후, 6 시간까지의 혈액 샘플을 채취, 원심 분리 후 혈장을 분리하였으나, 본 시험을 위하여 사용한 HPLC 방법의 detection limit는 $0.04 \mu\text{g/ml}$ 이었기 때문에, 투여 6 시간후에 얻은 혈장 샘플의 혈중 농도는 분석하지 못하였다. 그러나 4 시간까지 얻은 혈장 샘플을 분석한 결과 CCR의 평균 혈중 반감기가 대조약은 0.56 시간, 시험약은 0.54 시간이었다. 최종 샘플링 시각(투여 4시간 후)은 측정된 반감기의 약 8배이기 때문에 생물학적 동등성을 평가하는데 필요한 약동학 파라미터들을 정확히 계산하는데 적합한 것이었다.

시험약과 대조약의 혈중농도-시간 곡선을 비교하여 볼 때 시험약이 다소 높게 보였으나 통계학적으로 유의성은 없었다. 평균 $AUC_{0-4\text{h}}$ 는 씨클러TM가 $24.39 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$, 세파클러TM는 $25.52 \mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$, 평균 C_{max} 는 씨클러TM가 $18.58 \mu\text{g/ml}$, 세파클러TM는 $18.92 \mu\text{g/ml}$,

평균 T_{max} 는 씨클러TM가 0.95 hr, 세파클러TM는 0.98 hr으로서 대조약에 대한 시험약의 차이가 $\pm 20\%$ 이하이었다.

따라서 ANOVA를 이용하여 3개 항목에 대한 약동학 파라미터의 차이를 통계학적으로 분석한 결과, 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 시험약인 종근당의 세파클러TM는 대조약인 대웅릴리의 씨클러TM와 비교할 때 생물학적으로 동등함이 인정되었다.

문 헌

1. Jackson EA and Cardoni AA. New drug evaluations; Cefaclor(Ceclor[®]-Eli Lilly and company), Drug Intelligence and Clinical Pharmacy 14, Jan 80.
2. Korzeniowski OM, Scheld WM and Sande MA. Comparative Pharmacology of Cefaclor and Cephalexin, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1977; 12(2): 157-162.
3. Silver MS, Counts GW, Zeleznik D and Truck M. Comparison of in vitro Antibacterial Activity of Three Oral Cephalosporins; Cefaclor, Cephalexin, and Cephadrine, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1977; 12(5): 591-596.
4. Lee GS, Kakati R and Mahmoud IA. A Comparison of Cefaclor and Ampicillin in the Treatment of Respiratory Infection in Elderly Patients, Curr. Med. Res. Opin. 1980; 6(8): 564-568.
5. Barbhैया RH, Shukla UA and Pittman KA. Phase I Study of Multiple-Dose Cefprozil and Comparison with Cefaclor, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1990; 34(6): 1198-1203.
6. Bloch R, Szwed JJ, Sloan RS and Luft FC. Pharmacokinetics of Cefaclor in Normal Subjects and Patients with Chronic Renal Failure, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1977; 12(6): 730-732.
7. Studies on the Bioequivalence Test of Drugs (II), 국립보건안전연구원. 1989.
8. Camus F, Deslandes A, Harcouet L and Farinotti, R. High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Cefpodoxime Levels in Plasma and Sinus Mucosa, Journal of Chromatography B. 1994; 656: 383-388.
9. Lorenz LJ, Bashore FN and Olsen BA. Determination of Process-related Impurities and Degradation Products in Cefaclor by High-Performance Liquid Chromatography, Journal of Chromatographic.
10. Nightingale C. Pharmacokinetics of the Oral Cephalosporins in Adults, J. Int. Med. Res, 1980; 8(1).
11. Gray BM, Hubbell CA and Dillon HC. Susceptibility of Staphylococcus Aureus to Cefaclor and Cephalothin: Laboratory and Clinical Studies, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1978; 13(6): 988-991.
12. 식품의약품안전원고시 96~16호. 1996.