

지원자의 Cefixime캡셀제 생체이용율에 대한 생물학적동등성 연구

강원구 · 우종수^a · 권광일
충남대학교 약학대학, ^a한미약품 중앙연구소

Bioequivalency on the Comparative Bioavailability of Two Capsule Formulations of Cefixime in Human Volunteers

Won Ku Kang, Jong Su Woo^a, and Kwang Il Kwon
College of Pharmacy, Chungnam National University 220, Gung-Dong,
Yousung-Gu, Taejon, 305-764, Korea
^aHanmi pharm. Co. Korea

Cefixime is an orally absorbed 3rd generation cephalosporin with a broad spectrum of activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria and is highly resistant to β -lactamase degradation. This study was carried out to evaluate the bioavailability of a new test drug of cefixime (100 mg/capsule) relative to the reference drug. The bioavailability was conducted on 20 healthy volunteers who received a single dose (400 mg) of the test and the reference drugs in the fasting state, in a randomized balanced 2-way crossover design. After dosing, serial blood samples were collected for a period of 12 hours. Plasma was analyzed for cefixime by a sensitive and validated HPLC assay. The major pharmacokinetic parameters (AUC_{0-12hr} , C_{max} , T_{max}) were calculated from the plasma concentration-time data of each volunteer. The AUC_{0-12hr} , C_{max} , and T_{max} of the test drug were $36.91 \pm 11.85 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, $5.47 \pm 1.61 \mu\text{g/ml}$, and $4.00 \pm 0.65 \text{ hr}$, respectively, and those of the reference drug were $34.08 \pm 8.81 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, $5.25 \pm 1.40 \mu\text{g/ml}$, and $4.20 \pm 0.62 \text{ hr}$, respectively. Mean differences of those parameters were 8.32, 4.29, and 4.76%, respectively, and the least significant differences at $\alpha=0.05$ for AUC_{0-12hr} , C_{max} , T_{max} were 16.02, 13.78, and 11.76%, respectively. In conclusion, the test drug was bioequivalent with the reference drug. (Kor. J. Clin. Pharm. 1998; 8(1): 19-22)

□ Keywords – Cefixime, Bioavailability, Pharmacokinetic parameters

[6R-[6 α ,7 β (z)]]-7-[(2-amino-4-thiazolyl)(carboxymethoxy-imino)acetyl amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid로 명명되는 cefixime은 대부분의 gram negative균과 pseudomonas균에도 광범위한 항균력을 나타내는 제3세대 경구용 반합성 cephalosporin항생제이다.^{1,2)}

Cefixime은 cefotaxime이나 ceftriaxone과 같이 methoxyimino group이 결합된 carboxyl group을 가진 cephalosporin핵의 7번 위치에 aminothiazolyl side chain을 가지고 있는 aminothiazolyl cephalosporin이다. 이 aminothiazolyl side chain이 항균력을 증강시키

며, methoxyimino group이 β -lactamase에 의한 가수분해를 막아 약물을 안정화시키는 관능기로서 작용하는 것으로 보고되고 있으며 다른 cephalosporin계 항생제와는 달리 3번 위치에 전하를 띠지 않는 vinyl group을 가지고 있어 위장관 흡수를 높이고 항균력을 증강시키는 데 일부 기여하는 것으로 알려져 있다.³⁾

요로 감염이나 중이염, 호흡기계 감염등에 사용되며 bacteria의 세포벽 합성을 차단하여 항균력을 나타낸다. Probenecid와 병용투여시 clearance가 감소되어 약효를 지속시키며 경구 투여로 평균 40~50%가 흡수되고 65%의 단백결합률을 보인다. 평균적으로 3~4시간의 반감기를 가지며 신기능 부전환자의 경우는 11.5시간까지 반감기가 길어질 수 있고 투여 후 2~6시간에 최고혈중농도를 나타낸다. 흡수된 약물의

교신저자: 권 광 일

305-764 대전광역시 유성구 공동220
충남대학교 약학대학
TEL. 042-821-5937, FAX. 042-823-6781

50% 정도가 active한 약물 자체로 소변으로 배설되고 10% 정도가 담즙으로 배설된다.⁴⁾

Cefixime의 기존제제인 "슈프락스(cefixime 100 mg /cap.)" (대조약)와 같은 함량의 제제인 한미약품의 cefixime (100 mg/cap.) (시험약)을 건강한 지원자에게 투여한 후 시간에 따른 혈중농도변화를 측정하여 생체이용율을 비교하였다. HPLC를 이용하여 혈중농도를 분석하였으며 두 제제의 생체이용률이 통계학적으로 동등한지 여부를 주요 약물동태 parameter에 대한 ANOVA 등의 통계처리를 실시하여 판정토록 하였고 남여간의 생체이용율의 차이를 비교하였다.

연구 대상 및 방법

생물학적 동등성 시험의 design

본 연구의 지원자는 충남대학교 부속 대학병원에서 실시한 건강 진단 결과 정상인 경우에 한하여 채용하였다. 건강 진단 내용은 식품 의약품 안전 본부 고시 내용에 따라 내과 진찰, 신장기능, 간기능 및 심장순환기능을 알기 위한 혈액화학 및 혈액 병리 검사와 기타 감염성 질환에 대한 감염여부를 검사하였다. 만 20세 이상의 건강한 지원자 20명(남자 11명, 여자 9명)에게 cefixime제제인 시험약, 한미약품의 cefixime캡셀 및 대조약, 동아제약의 "슈프락스"를 각각 400 mg (100 mg, 4캡셀)씩 복용시킨 후 교차시험(cross over design) 하였다.

약물 투여 및 채혈

투약은 총 20명의 지원자를 두 그룹으로 나누어 2회에 걸쳐 시험을 실시하였고 투여간격은 일주일 이상으로 하였다. 대조약 "슈프락스"와 시험약 한미 cefixime, 두 제제 각 400 mg (100 mg, 4 캡셀)씩을 아침 식사를 하지 않은 상태에서 투약하였다. 채혈은 약물 투여 이전 및 투여 후 각 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 그리고 12 시간에 실시하여 총 11 회에 걸쳐 시행하였다. 채혈된 혈액은 heparinized tube에 넣어 혈액응고를 방지한 상태로하여 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 혈장을 혈청분리관으로 옮겨 분석시까지 -20°C에서 냉동 보관하였다.

혈장중 cefixime의 농도 정량

Heparin처리된 혈장(plasma) 500 µl 및 spiked blood sample을 정확히 취하고 6% TCA solution을 500 µl씩 가하였다. 10초간 vortexing한 후 5000 rpm에서 5분간

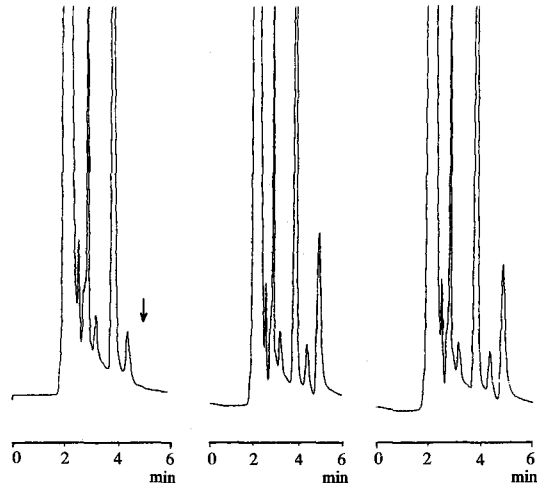


Fig. 1. Chromatograms of cefixime in human plasma. Left: blank plasma, the arrow indicates cefixime elution point, Middle: spiked plasma with 5000 ng/ml of cefixime, Right: plasma sample of volunteer No. 1, 3 hr after oral administration of cefixime 400 mg. The peak was calculated to be 3663 ng/ml of cefixime (RT=5.2).

원심분리하여 제단백하였다. 상등액을 취하여 auto-injector용 vial에 옮긴 후 분석하였다.

분석에 사용된 시약들은 Merck사와 Showa Chemical Co.로부터 구입하였으며 분석기기로는 Shimadzu 10A HPLC System을 이용하였다.

분석 조건

이동상(mobile phase)은 pH 2.7, 0.01 M NaH₂PO₄ buffer:acetonitrile을 82:18의 비율로 제조하였으며, reversed-phase column (µ-Bondapak C18 300 3.9 mm I. D., 10 µm, Waters Associates, MA, U.S.A.)을 사용하여 혈장샘플을 분석하였다. 분석시 이동상의 유속(flow rate)은 1.5 ml/min이었으며, 검출파장은 280 nm였고 column의 온도는 35°C, injection volume은 50 µl로 하였다.

통계처리 및 생물학적 동등성 평가

시험약 및 대조약의 약물동태학적 parameter (AUC_{0-12hr}, C_{max}, T_{max}, AUC_{inf}, MRT, CI 및 T_{1/2})를 계산후 식품의약품 안전본부에서 제공한 "생물학적 동등성 데이터 처리 프로그램"을 이용하여 평가하였다. 생물학적 동등성 여부를 시험하기 위한 주요 측정항목으로 혈중농도-시간곡선하면적(AUC_{0-12hr}), 최고혈중농도(C_{max})

및 최고혈중농도에 도달하는 시간(T_{max})을 사용하였다. AUC_{0-12hr} 는 trapezoidal rule에 의하여 산출하였고 C_{max} 는 측정 최고 농도, T_{max} 는 측정 최고 농도를 나타낸 시간으로 하였다. 그외 참고항목으로 $AUMC_{0-12hr}$ (Area Under the first Moment versus time Curve)를 구한후 AUC_{0-12hr} 로 나누어 Mean Residential Time(MRT)를 산출하였고 이로부터 흡수가 고려된 $t_{1/2}$ 를 산출하였으며 투여량을 AUC_{0-12hr} 로 나누어 청소율(CI)을 계산하였다.⁷⁻⁸⁾

위에서 얻어진 데이터 및 parameter를 통계 처리하여 시험약 한미 cefixime과 대조약 "슈프락스"의 생물학적동등성 여부를 판정하였다. 판정기준으로는 두 약물의 평균치의 차이는 대조약의 20% 이내로 하였으며, 투여 시기별 차이와 시험 약물 및 시험군간의 차이는 ANOVA를 이용하여 분석하였고, $p < 0.05$ 인 경우 유의성이 있다고 판정하였다. 분산 분석에 의한 유의성 검정의 기준은 $\alpha = 0.05$ 에서 $1 - \beta \geq 0.8$ 및 최소검출차 ≤ 0.2 로 하였으며 신뢰한계(confidence limit)를 참고하였다.^{9,7-11)}

남녀 간의 생체이용율 비교

남자 지원자 11명과 여자 지원자 9명의 각 시간별 혈중 농도와 AUC_{0-12hr} 를 비교하였고 생체이용율의 차이를 t-test를 통하여 검정하였다.

결과 및 고찰

HPLC 분석 방법을 통한 혈장내 cefixime 농도 측정

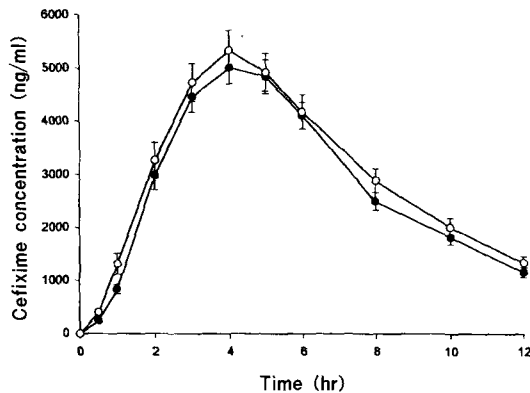


Fig. 2. Time course of plasma cefixime concentrations after oral administration of 400 mg of reference (Suprax[®]) (—●—) or test drug (Hanmi cefixime) (—○—) each in human volunteers (mean S.E.M, n=20).

기록지에 나타난 cefixime의 면적은 0.1~10 µg/ml의 농도에서 R=0.9997의 상관관계가 있었으며 retention time은 4.7~5.3분이었고 측정한계(detection limit)는 0.05 µg/ml였다.

혈중 농도 및 pharmacokinetic parameters

Cefixime의 시간-혈장농도 곡선은 두 제제 모두 약물투여 후 약 4 hr 경과시 최고 혈장 농도를 나타낸 후 점차 완만하게 감소하였다(Fig. 2). 대조약과 시험약을 투여한 두 그룹의 cefixime에 대한 주요 pharmacokinetic parameters를 비교할때 대조약 "슈프락스"의 AUC_{0-12hr} 는 $34.08 \pm 8.81 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 이었고 시험약 한미 cefixime의 AUC_{0-12hr} 는 $36.91 \pm 11.85 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 8.32%의 차이를 보였다. T_{max} 는 각각 4.20 ± 0.62 , 4.00 ± 0.65 hr로 4.76%, C_{max} 는 5.25 ± 1.40 , $5.47 \pm 1.61 \mu\text{g/ml}$ 로 4.29%의 차이를 나타냈으며 위 세가지 parameter에서 모두 두 제제간의 차이에 대한 통계적인 유의성은 없었다.

대조약의 AUC_{mf} , MRT, $t_{1/2}$, CI는 각각 $41.16 \pm 11.68 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$, 5.64 ± 0.38 hr, 3.91 ± 0.26 hr, 12.60 ± 3.64 L/hr인데 비해 시험약은 $44.85 \pm 15.08 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$, 5.63 ± 0.37 hr, 3.90 ± 0.26 hr, 11.26 ± 4.22 L/hr로 역시 유의한 차이를 보이지 않았다.

통계처리 결과

대조약 "슈프락스"에 대한 시험약 한미 cefixime의 AUC_{0-12hr} , C_{max} , 및 T_{max} 에 대한 평균값의 차이가 각각

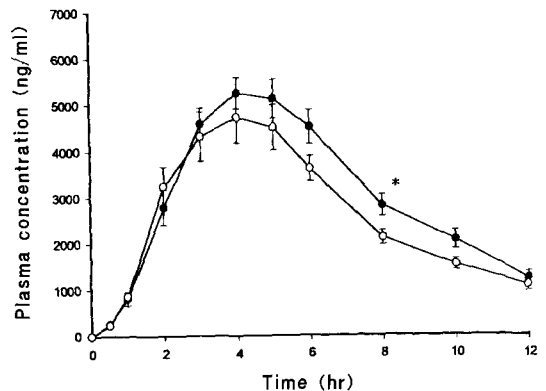


Fig. 3. Time course of plasma cefixime concentrations after oral administration of 400 mg of reference (Suprax) drug in male (—●—, n=11) and female (—○—, n=9) volunteers (mean \pm S.E.M). *significantly different ($p < 0.05$).

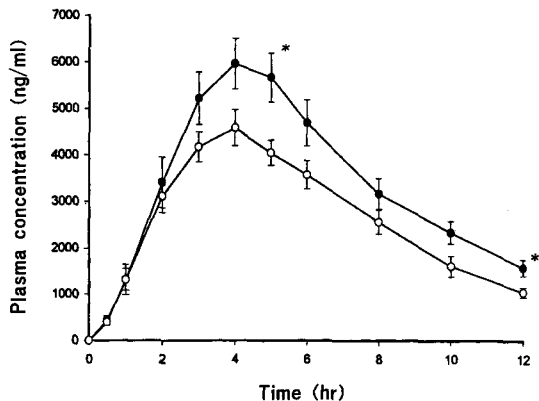


Fig. 4. Time course of plasma cefixime concentrations after oral administration of 400 mg of test (Hanmi cefixime) drug in male (●, n=11) and female (○, n=9) volunteers (mean±S.E.M). *significantly different (p<0.05).

8.32, 4.29 및 4.76%로써 모두 판정기준 20% 범위 이내로 나타났다. 또한 분산분석($\alpha=0.05$, $1-\beta \geq 0.8$)에 의한 검출력 시험결과, AUC_{0-12hr} , C_{max} , 및 T_{max} 에 있어서 최소검출차가 각각 16.02, 13.78 및 11.76%로써 시험약의 대조약에 대한 동등성이 인정되었다.

남녀 간의 생체이용률 비교

시험약 한미 cefixime과 대조약 “슈프락스”를 투여 받은 남자 지원자 11명과 여자 지원자 9명의 각 시간별 평균혈중농도를 Fig. 3과 4에 각각 나타내었다. 두 가지 약물 모두 남자 지원자들의 혈중 농도가 높게 나타났다. 시험약 한미 cefixime은 약물 투여후 5시간과 12시간에서, 대조약 “슈프락스”는 8시간에서 각각 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다.

“슈프락스”의 경우 남자 지원자들과 여자 지원자들의 AUC_{0-12hr} 는 각각 36.28 ± 2.79 와 $31.94 \pm 2.64 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 나타나 남자 지원자들이 13.6% 높은 생체이용률을 보였으나 t-test 결과 유의한 차이는 아니었다. 한미 cefixime의 경우는 남녀 각각 41.06 ± 3.97 과 $31.84 \pm 2.66 \mu\text{g} \cdot \text{hr} \cdot \text{ml}^{-1}$ 로 역시 남자 지원자들이 여자 지원자들에 비해 29.0% 높았으나 통계적인 유의성은 없었다. 일반적으로 지방 조직에 축적성이 있는 약물을 제외하고는 여자들이 남성들에 비해 평균 지방 제외 체중(Lean Body Mass, LBM: 체중에서 지방을 뺀 값)과 생리적인 분포용적(Vd)이 적어 높은 혈중농도를 나타낼 것으로 예상되나 cefixime의 경우에는 반대로 남성들의 혈중농도가 더 높게 나타났다.

결론

Cefixime 제제의 지원자에 대한 생체이용률(bio-availability)을 비교하기 위하여 “슈프락스” 및 한미 cefixime 각 400 mg을 20명의 지원자에게 경구투여하여 혈장 농도를 HPLC로 분석하고 AUC_{0-12hr} , C_{max} , T_{max} 를 계산후 통계처리한 결과, 평균값의 차이, 분산 분석 결과, 최소검출차 등이 모두 동등한 범위내에 들어 두 제제의 생체 이용률에 유의한 차이가 없으므로 생물학적으로 동등한 것으로 판정하였다.

두 약물 모두 여자 지원자들에 비해 남자 지원자들의 시간별 혈중 농도가 높아 유의성 있는 차이를 보였다. 생체이용률 역시 남자 지원자들이 높았으나 통계적인 유의한 차이는 없었다.

감사의 말씀

본 연구는 한미약품의 연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Y. Shigi, Y. Matsumoto, M. Kaiu, Y. Fujishita and A.Kojo, J. Antibiot., 1984; 37: 790.
2. T. Kamimura, A.Kojo, Y. matsumoto, Y. Mine, G. Goto, and S. Kuwahara, Antimicrob. Agents Chemother., 1984; 25: 98.
3. McEvoy, G.K. and Litvak, K. et al., AHFS Drug Information 1994; 106-12.
4. Charles Lacy, Lora L. Armstrong, Robert J. Lipsy, Leonard L. Lance, Drug Information Handbook, 1993; 161-2.
5. A.J. Falkowski, Z.M. Look, and B.M. Silber, Determination of crfixime in biological samples by reversed-phase high performance liquid chromatography, J. Chromatogr., 1987; 422: 145-52.
6. M.C. Nahata, Measurement of cefixime in serum and cerebrospinal fluid by high performance liquid chromatography, J. Liquid Chromatogr., 1991; 14(20): 3755-9.
7. L. Shargel and A.B.C. Yu., Applied pharmaceutics and pharmacokinetics, 3th Edition. 1985; 193-224.
8. Walker, R. and Edwards, C., Clinical pharmacy and therapeutics, 1994; 3-17.
9. Guidelines for Biopharmaceutical Studies in Man., APHA Academy of Pharmaceutical Science, 1972; 17.
10. Tallarida, R.J. and Murray, R.B., Manual of pharmacologic calculation with computer program, 2nd Edition, 1987; 33-5, 110-20.
11. Bolton S., Pharmaceutical statistics, Practical and clinical application, 1984; 25: 162-80.