

세프라딘 캡셀(세프라딘 250 mg)의 생물학적 동등성

최준식 · 이진환 · 박영진* · 범진필***

조선대학교 약학대학, *조선대학교 의과대학, **조선간호대학

(Received July 4, 2002; Revised August 6, 2002)

Bioequivalence of Cephadrine Capsules (Cephadrine 250 mg)

Jun Shik Choi, Jin Hwan Lee, Young Jin Park* and Jin Pil Burm***

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

*College of Medicine, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

**Chosun Nursing College, Kwangju 501-140, Korea

Abstract — Cephadrine is an orally absorbed cephalosporin with a broad spectrum of activity against gram-positive and gram-negative bacteria and is highly resistant to beta-lactamase degradation. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two cephadrine capsules, Cephadrine capsule (Donggu Pharmaceutical Co., reference drug) and Cephadrine capsule (Shinpoong Pharmaceutical Co., test drug), according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration. Twenty-six normal volunteers, 24.6 ± 3.70 years in age and 62.4 ± 8.99 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2×2 cross-over study was employed. After one capsule containing 250 mg of cephadrine was orally administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentrations of cephadrine in serum were determined using HPLC with UV detector. The pharmacokinetic parameters such as AUC_t , C_{max} and T_{max} were calculated and ANOVA test was utilized for the statistical analysis of the parameters. The results showed that the differences in AUC_t , C_{max} and T_{max} between two products were 2.89%, 1.05% and 1.06%, respectively, when calculated against the reference drug. The 90% confidence intervals were within $\log 0.8 \leq \delta \leq \log 1.25$ (e.g., $\log 0.9803 \leq \delta \leq \log 1.0734$ and $\log 0.9674 \leq \delta \leq \log 1.220$ for AUC_t , and C_{max} , respectively). Two parameters met the criteria of KFDA for bioequivalence, indicating that Cephadrine capsules (Shinpoong Pharmaceutical Co.) is bioequivalent to Cephadrine capsules (Donggu Pharmaceutical Co.).

Keywords □ Bioequivalence, cephadrine capsules, cross-over study

세프라딘은 반합성 세파로스포린계 항생물질로서 경구투여 후 신속히 흡수되고 그람양성균은 물론 그람음성균에도 치료효과를 나타내며, 페니실린 내성균에 유효하며, 페니실린 과민환자에게 사용이 가능한 항생제이다.^{1,2)}

신용제약의 세프라딘 캡셀이 대조약인 동구약품의 세프라딘 캡셀과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준³⁾에 따라 건강한 성인 남자(평균연령 24.6세) 26명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 혈청 중 세프라딘의 최고 혈중농도(C_{max}), 최고 혈중농도 도달시간(T_{max})과 혈중 약물농도시간곡선하 면적(AUC_t)에 대하여 T_{max} 를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목인 AUC_t 와 C_{max} 의 로그변환치를 생물학적동

등성시험 통계처리용 프로그램 Equiv. Test를 이용하여 α (유의수준)=0.05에서 분산분석을 실시하였다.

실험방법

시약 및 기기

의약품임상시험관리기준의 규정에 따라 시험약인 신용제약의 세프라딘 캡셀(제조번호 : 1640207, 유통기한 : 2003. 10. 17)과 대조약인 동구약품의 세프라딘 캡셀(제조번호 : CFRAC1014, 유통기한 : 2003. 10. 7)이 제조허가되어 시판될 때와 동일한 원료, 동일한 처방, 동일한 조건으로 제조한 것으로 품질·함량 등이 자가시험 기준에 적합한 최종 완제품을 신용제약으로부터 필요량을 공급받아 시험에 사용하였으며, 의약품임상시험관리기준의 규정에 따라 시험약 및 대조약의 표시 및 관리를 행하였다.

세프라딘 표준품과 내부표준물질인 세파렉신은 신용제약으로부터 얻어 사용하였으며, HPLC용 메탄올(J. T. Baker Co., USA),

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 062-231-7361 (팩스) 062-232-9072
(E-mail) jpburm@venus.cnc.ac.kr

생리식염수, 헤파린(중외제약, 한국)을 사용하였고, sodium acetate, glacial acetic acid, sodium hydroxide, perchloric acid 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 그대로 사용하였다. HPLC System은 Shimadzu(Kyoto, Japan)의 liquid chromatograph pump(LC-10AD), autoinjector(SIL-10A), UV-Vis detector (SPD-10A) 그리고 Communications Bus Module(CBM-10A)을 사용하였고, vortex mixer는 Scientific Industries(Bohemia, N.Y.) 그리고 centrifuge는 Abbot(TM, U.S.A) 기기를 사용하였다.

피험자 선정

생물학적동등성시험지원자 모집공고를 통하여 조선대학교 약학 대학에 재학중인 20~32세의 건강한 성인으로서 과거에 소화 기계, 간장, 신장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액질환의 병력이 없고 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 지원자를 28명을 모집하였다. 지원자에 대한 건강진단 조선대학교 부속병원에서 문진과 내과적인 진찰을 받고 임상병리검사를 실시하여 생물학적 동등성시험기준에 따라 선정기준에 모두 합당하고 제외기준에 해당되지 않는 자로서 생물학적동등성시험에 적합한 건강한 사람으로 선정된 26명을 피험자로 선정하였다. 피험자로 최종 선정된 사람은 평균체중 62.4 ± 8.99 kg, 평균연령 24.6 ± 3.70 세의 건강한 지원자였으며, 이들로부터 동의를 받은 후 생물학적동등성시험을 실시하였다. 투약 12시간전부터 체혈종료시까지 피험자의 운동, 식사, 흡연, xanthine계 음료 및 음주 등을 제한관리하였다.

약물투여 및 혈액채취

26명의 피험자를 군당 13명씩 무작위로 2군으로 나누고 제I군에는 대조약인 동구약품의 세프라딘 캡셀을, 제2군에는 시험약으로 신평제약에서 제조한 세프라딘 캡셀을 동일투약일에 투여하고, 제II기에는 그 반대로 투약하였으며, 투약량은 각 제제 모두 1 캡셀(세프라딘 250 mg)을 1회 경구투약하였다. 피험자들의 상완 정맥부위에 three-way cock을 설치하고 대조약과 시험약 2-1 캡셀(세프라딘 250 mg)을 물 240 mL와 함께 투약하였다. 채혈은 투약직전과 투약 후 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 2, 3, 4, 6 및 8시간에서 약 4 mL의 혈액을 채취하여 3,000 rpm에서 1분간 원심분리한 후 혈청을 취하여 분석시까지 -70°C 에서 보관하였다. 시험 전과정을 통하여 피험자 개인의 상태를 관찰하여 증례기록서에 기록하였으며, 채혈이 끝난 후에는 담당의 사에 의해 혈액, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하였다. 휴약기간은 T_{\max} 는 약 1.3-1.5 시간, 반감기는 0.7-1.0 시간으로 매우 짧다고 보고되어 있어^{4,6)} 충분한 휴약기간을 두고자 1주일 후에 제II 시험을 제I 투약 및 시험과 동일하게 실시하였다.

혈청중 세프라딘 정량

검체처리와 분석은 Suzuki등⁷⁾과 Johnson등의 방법⁸⁾을 다소

수정하여 다음의 HPLC 조건에서 정량하였다. UV 254 nm에서, 컬럼은 Symmetry C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm)를, 이동상으로는 methanol : acetate buffer(2N NaOH로 pH를 5.2로 조정)=20 : 80 혼합용액을 사용하고 유속 1.0 ml/min에서 정량하였다.

세프라딘 표준품을 증류수 녹여 농도가 100 μg/ml가 되도록 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 희석하여 냉동 보관하였던 blank 혈청으로 세프라딘 혈청중 농도가 각각 0, 0.2, 0.4, 1, 2, 4, 8 μg/ml 농도가 되도록 표준혈청시료를 만들었다. 각각의 표준혈청 0.5 ml에 내부표준물질로 cephalexin 증류수용액(4 μg/ml) 50 μl와 20% HClO₄용액 50 μl를 가한 후 30초간 vortexing 하였다. 이 용액을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층을 취하여 HPLC에 50 μl를 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 세프라딘의 피이크 면적비를 가지고 검량선을 작성하였으며 검량선은 좋은 직선성($r=0.999$)을 나타내었다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 연속하여 4일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 이 혈청 0.5 ml를 취하여 시험관에 옮기고 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피이크면적에 대한 세프라딘의 피이크면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈청 중 세프라딘의 농도를 구하였다.

생물학적동등성 파라메타의 산출

각 피험자의 AUC_t 값은 약물 투여 후 8시간까지의 각 피험자의 혈청 중 약물농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구하였다. C_{max}는 각 피험자의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 가장 높은 혈청 중 농도를 읽은 값을 사용하였으며, T_{max}는 각 피험자의 혈장 중 약물 농도-시간 곡선으로부터 최고혈장 중 약물농도에 도달하는 시간을 읽은 값을 사용하여 Equiv. Test Program⁹⁾을 이용하여 분석하였다.

생물학적동등성 통계처리

식품의약품안전청 생물학적동등성시험기준에 따라 시험약과 대조약간의 생물학적동등성 평가를 위한 비교항목은 AUC_t, C_{max}로 하였으며 T_{max}는 참고값으로 하였다. T_{max}를 제외한 대조약과 시험약의 비교평가항목의 로그변환치를 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램을 이용하여 α (유의수준)=0.05에서 분산분석을 실시하였다.

실험결과 및 고찰

혈청중 세프라딘 정량

검체를 처리하여 HPLC로 분석하였을 때 얻어진 크로마토그

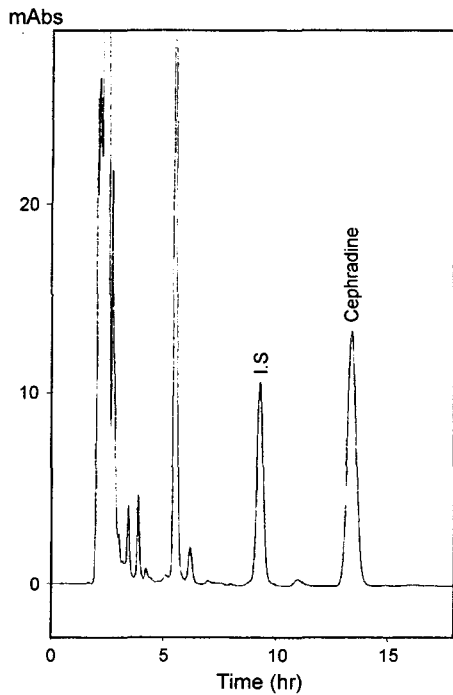


Fig. 1 - Chromatogram of human serum spiked with cephadrine (1.0 µg/ml) and internal standard (cephalexin 0.4 µg/ml).

램은 Fig. 1과 같았으며, 세프라딘 피크의 유지시간은 약 13 분, 내부표준물질 피크의 유지시간은 약 8분이었고, 분석조건에서 세프라딘 및 내부표준물질은 기타 혈청성분들과 잘 분리되었다. 혈청시료로부터 구한 세프라딘의 검량선의 계산식은 피크 면적비 = $0.22 \times \text{세프라딘농도} + 0.036$ ($r=0.999$)로 0.2~8.0 µg/ml 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다.

이 농도범위에서 세프라딘의 일내 및 일간 변동계수(CV)는 6.93~16.34%로 모두 20%이하로 나타났다. 이로부터 혈청중 세프라딘에 대한 본 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 감도, 직선성, 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈청중 세프라딘의 농도추이

각 피험자에게 대조약 및 시험약을 투여한 후 구한 시간별 혈청중 평균 농도를 Fig. 2에 나타내었으며 또한 각 피험자에게 대조약 및 시험약을 투여하여 얻은 혈청중 약물농도-시간곡선으로부터 산출한 AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 를 Table I에 나타내었다. 대조약의 평균 AUC_t 는 11.78 ± 2.26 µg · hr/ml, 시험약은 12.12 ± 2.65 µg · hr/ml로 대조약에 대한 평균치 차이가 2.89%이었고, C_{max} 는 7.91 ± 1.72 µg/ml, 시험약은 8.80 ± 2.47 µg/ml로 1.05%의 차이를 보였으며, T_{max} 는 0.99 ± 0.33 hr, 시험약은 1.05 ± 0.39 hr로 1.06%의 차이를 나타내었다. 이는 대조약에 대한 시험약의 평균치의 차이가 대조약의 ±20% 이내에 들어야 한다는 생

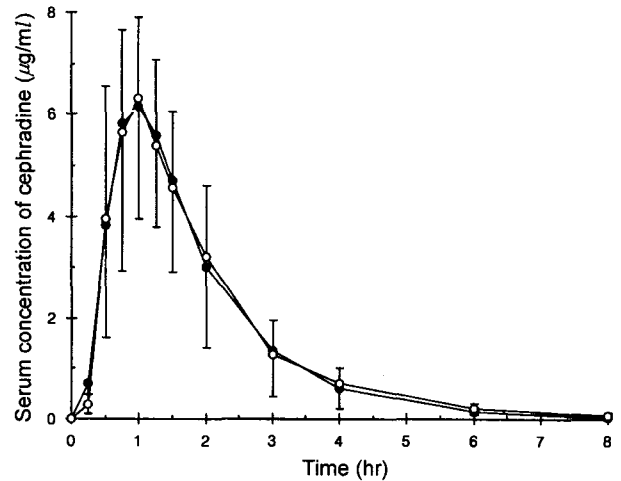


Fig. 2 - Serum concentration-time curves of cephadrine following oral administration of reference (●) and test drug (○) at the cephadrine dose of 250 mg. Data are expressed as mean ± S.D. (n=26).

물학적 동등성 판정기준의 전제조건을 만족시키는데 값이므로 이하 분산분석을 행하였다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

분산분석의 결과(Table II 및 III)는 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 각 비교항목에 있어서 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 군/순서효과는 나타나지 않았으며, F검정결과 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다

통계처리결과 로그변환한 AUC_t 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.9803 \leq \delta \leq \log 1.0734$ 로서 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내에 들어야 한다는 기준을 만족시켰으며, 로그변환한 C_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.9674 \leq \delta \leq \log 1.220$ 로서 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내에 들어야 한다는 기준을 만족시켰다. T_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $-6.33\% \leq \delta \leq 17.87\%$ 로서 $-20\% \leq \delta \leq 20\%$ 이어야 한다는 기준을 만족시켰다. 따라서 두 제제는 평가항목 AUC_t 및 C_{max} 와 참고값인 T_{max} 모두 생물학적으로 동등하다고 판단되었다.

결 론

AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 각 비교항목에 있어서 그 평균값의 차이가 각각 2.89%, 1.05% 및 1.06%로 모두 ±20% 이내에 들어 생물학적 동등성 판정기준의 전제조건을 만족하였다.

분산분석의 결과는 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 각 비교항목에 있어서 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 군/순서효과는 나타나지 않았으며, F검정결과 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.9803 \leq \delta \leq \log 1.0734$ 및 $\log 0.9674 \leq \delta \leq \log 1.220$ 으로 $\log 0.8$

Table I – Bioequivalence parameters of cephradine capsules for each volunteers

Volunteers	AUC _t (µg · hr/ml)				C _{max} (µg/ml)				T _{max} (hr)	
	Reference drug		Test drug		Reference drug		Test drug		Reference drug	Test drug
	AUC _t	logAUC _t	AUC _t	logAUC _t	C _{max}	logC _{max}	C _{max}	logC _{max}	T _{max}	logT _{max}
A1	9.00	2.197	10.08	2.311	8.27	2.113	6.10	1.808	1.00	1.50
A2	9.91	2.294	9.67	2.269	4.90	1.589	6.29	1.839	1.25	0.75
A3	17.14	2.841	17.47	2.860	8.37	2.125	8.67	2.160	1.25	1.25
A4	10.67	2.367	11.54	2.446	6.53	1.876	5.48	1.701	1.00	1.25
A5	15.62	2.749	13.33	2.590	9.94	2.297	9.64	2.266	1.25	0.75
A6	12.08	2.492	12.04	2.488	7.92	2.069	7.95	2.073	0.75	0.75
A7	9.68	2.270	11.67	2.457	5.37	1.681	8.40	2.128	1.50	1.00
A8	14.63	2.683	13.54	2.606	6.34	1.847	6.98	1.943	1.50	2.00
A9	9.84	2.286	12.28	2.508	5.32	1.671	8.85	2.180	1.50	1.00
A10	15.12	2.716	14.31	2.661	6.18	1.821	6.82	1.920	1.50	2.00
A11	10.31	2.333	10.98	2.396	7.87	2.063	8.27	2.113	0.50	1.00
A12	11.04	2.402	9.97	2.300	8.08	2.089	10.77	2.377	1.00	0.50
A13	11.12	2.409	11.97	2.482	8.37	2.125	10.20	2.322	0.50	1.00
B1	12.09	2.492	10.21	2.323	11.30	2.425	8.73	2.167	0.75	0.75
B2	13.38	2.594	11.53	2.445	10.96	2.394	8.53	2.144	0.75	0.75
B3	7.83	2.058	8.88	2.184	7.88	2.064	5.28	1.664	0.50	1.00
B4	11.08	2.405	12.34	2.513	9.68	2.270	8.81	2.176	0.75	1.00
B5	10.44	2.346	9.94	2.297	9.59	2.261	7.77	2.050	0.50	0.50
B6	10.80	2.380	8.84	2.179	9.01	2.198	4.59	1.524	0.75	0.75
B7	11.16	2.412	13.49	2.602	5.30	1.668	10.52	2.353	0.75	0.75
B8	14.82	2.696	20.31	3.011	9.53	2.254	9.24	2.224	1.00	1.00
B9	9.14	2.213	9.10	2.208	8.57	2.148	9.10	2.208	1.00	1.50
B10	11.37	2.431	10.13	2.316	7.82	2.057	10.13	2.316	1.25	1.25
B11	12.46	2.523	14.24	2.656	6.64	1.893	14.24	2.656	1.25	1.50
B12	12.63	2.536	13.79	2.624	7.96	2.074	13.79	2.624	1.00	1.00
B13	12.81	2.550	13.55	2.606	7.89	2.066	13.55	2.606	1.00	0.75
Mean	11.78	2.449	12.12	2.475	7.91	2.044	8.80	2.136	0.99	1.05
S D	2.26	0.187	2.65	0.202	1.72	0.227	2.47	0.284	0.33	0.39

Table II – ANOVA analysis of AUC

	Df	SS	MS	F	P-value
Inter-Subjects					
Carry-over	1	0.0127	0.0127	0.1829	0.6726
Residuals	24	1.6684	0.0695	7.60210.00000237	
Intra-Subjects					
Drug	1	0.0084	0.0084	0.9269	0.3452
Period	1	0.000000750.00000075	0.00000075	0.0000821	0.9928
Residuals	24	0.2194	0.0091		
Total	51	1.9091			

Table III – ANOVA analysis of C_{max}

	Df	SS	MS	F	P-value
Inter-Subjects					
Carry-over	1	0.3916	0.3916	6.2384	0.0197
Residuals	24	1.5067	0.0627	1.0359	0.4658
Intra-Subjects					
Drug	1	0.0911	0.0911	1.5037	0.2319
Period	1	0.0108	0.0108	0.1792	0.6757
Residuals	24	1.4543	0.0605		
Total	51	3.4547			

에서 log1.25이내에 들어야 한다는 조건을 만족하였으며, 참고값인 T_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간도 -6.33% ≤ δ ≤ 17.87%로 ± 20% 이내에 들어 조건을 만족하였다.

따라서 두 제제는 평가항목 AUC_t 및 C_{max}와 참고값인 T_{max} 모두 생물학적으로 동등하다고 판단되었다.

감사의 말씀

본 연구는 신풍제약 주식회사의 지원을 받아 조선대학교 약학 연구소에서 수행하였으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Brumfitt, W. and Hamilton-Miller, J. M. : Biophotometric comparison of cephalixin and cephradine against gram-positive bacteria. *Chemotherapy* 28, 40 (1982).
- 2) Leitner, E., Goodhines, R. A., Buck, R. E. and Price, K. E. : Bactericidal activity of cefadroxil, cephalixin, and cephradine

- in an in vitro pharmacokinetic model. *J. Antibiot.* **32**, 718 (1979).
- 3) 식품의약품안전청 고시 제2001-57호, 생물학적동등성시험기준, 식품의약품안전청 (2001. 9. 5).
 - 4) Welling, P. G., Dean, S., Selen, A. and Wise, R. : The pharmacokinetics of the oral cephalosporines cefaclor, cephadrine and cephalexin. *Intern. J. Clin. Pharm. Biopharm.* **17**, 397 (1979).
 - 5) Philipson, A., Stiernstedt, G. and Ehrnebo, M. : Comparison of the pharmacokinetics of cephadrine and cefazolin in pregnant non-pregnant women. *Clin. Pharmacokinetics* **12**, 136 (1987).
 - 6) Finkelstein, E., Quintiliani, R., Lee, R. and Bracci, A. : Pharmacokinetics of oral cephalosporins: cephadrine cephalexin. *J. Pharm. Sci.* **67**, 1447 (1978).
 - 7) Suzuki, S. and Inoue, T. : Qualitative and quantitative analysis of cephadrine in biological materials by high performance liquid chromatography. *Forensic Science Intern.* **33**, 267 (1987).
 - 8) Johnson, C. A., Welling, P. G. and Zimmerman, S. W. : Pharmacokinetics of oral cephadrine in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Nephron* **38**, 57 (1984).
 - 9) Statistical solutions Ltd., Equiv. Test[®] 1.0, U.K. (1998).