

생명공학의약품의 약동학 시험 지침 개발 연구

이혜원[†] · 임미선[†] · 성숙진[†] · 이주미[†] · 박성민[†] · 노금한* · 박성호* · 김은정** · 강원구* · 윤영란[†]
[†]경북대학교 일반대학원 의과학과 및 경북대학교병원 임상시험센터
^{*}영남대학교 약학대학, ^{**}식품의약품안전청 약리연구과
(2011년 11월 18일 접수 · 2012년 1월 11일 수정 · 2012년 1월 17일 승인)

Development of Guidance on the Pharmacokinetic Studies of Therapeutic Biologics

Hae Won Lee[†], Mi-sun Lim[†], Sook-Jin Seong[†], Joomi Lee[†], Sung Min Park[†], Keumhan Noh*,
Sungho Park*, Eun Jung Kim**, Wonku Kang*, and Young-Ran Yoon[†]

[†]Department of Biomedical Science and Clinical Trial Center, Kyungpook National University
Graduate School and Hospital, Daegu 700-422, Korea

^{*}College of Pharmacy, Yeungnam University, Kyungbuk 712-749, Korea

^{**}Pharmacological Research Division, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Received November 18, 2011 · Revised January 11, 2012 · Accepted January 17, 2012)

Modern biologics are biotechnology-derived therapeutics, including recombinant therapeutic proteins like monoclonal antibodies, cytokines and tissue growth factors. Although the pharmacokinetics of therapeutic biologics should be evaluated based on the same general principles as small molecules, careful considerations should be given to bioanalytics and pharmacokinetics when designing pharmacokinetic studies of biologics during their drug development, due to their different physicochemical properties compared with small molecules. The aim of this study was to develop a draft guidance on pharmacokinetic studies of therapeutic biologics in clinical studies. All the elements outlined in the current Food and Drug Administration (FDA), European Medicinal Agency (EMA), and International Conference on Harmonisation (ICH) guidelines and regulations, and the related literatures previously published were searched and evaluated. In this draft guidance, the specific problems related to the pharmacokinetics of therapeutic biologics that need special consideration during drug development process were addressed, and differences in pharmacokinetic characteristics between biologics and small molecules affecting the content of the development programme were presented.

□ Key words - biologics, pharmacokinetics, guidance, bioanalytics

치료용 생물학적 제제(therapeutic biologics)는 여러가지 복잡한 계열로 구성되는 약물로서, 오늘날의 치료용 생물학적 제제는, 혈액과 혈액성분, 혈장 분획제제 및 항독소와 같은 전통적인 생물학적 제제로부터, 단클론항체, 싸이토카인(예. 인터페론, 인터류킨), 성장인자 등과 같은 생명공학의약품(biotechnology-derived pharmaceuticals)에 이르기까지 다양하

다.^{1,2)} 생명공학의약품은 일반적으로 아미노산으로 구성되는 단백질, 펩티드 및 이의 유도체로서, 화학적으로는 주로 (당) 단백질[(glyco)protein]이다.¹⁾ 저분자 의약품(small molecules)과 비교하여 볼 때, 생명공학의약품은 화학적 합성이 아닌 숙주 세포주에 의해 생명공학적으로 생성되어 배양 배지로부터 분리되어 얻어지며, 분자량이 훨씬 더 크고 4차 구조 및 당화의 정도와 유형에 따라 물리화학적 성질이 더 복잡하다.¹⁾ 15-20 kDa의 큰 분자로서 림프계를 통해 순환계에 일차적으로 도달하며, 세포간 및 림프계 통과 중에 단백질 분해가 되기 쉽고, 내인성 아미노산으로 분해되며, 한가지 분석시험법만으로 충분한 저분자의약품과 달리 여러가지 분석시험법이 필요하다.^{1,2)} 생명공학의약품의 약동학 평가는, 분석시험법 및 약동학 파라미터(parameter)의 한계로 인해 근본적인 어려움을 겪어왔으며, 그로 인해 약동학 시험 자체의 유용성이

Correspondence to : 강원구
영남대학교 약학대학
경북 경산시 대동 214번지
Tel: +82-53-810-2815, Fax:+82-53-810-2815
E-mail: wonkuk@yu.ac.kr
윤영란
경북대학교 의학전문대학원
Tel: +82-53-420-4950, Fax: +82-53-420-5218
E-mail: yry@knu.ac.kr

제한되어 왔다.^{1),2),3)}

생명공학의약품의 약동학 평가에 있어서 기존의 저분자의 약품에 적용되는 약동학 원칙이 적용되지만, 위와 같은 물리 화학적 성질의 차이로 인한 복잡한 약동학적 양상 및 분석 방법과 약동학적 방법의 한계 등의 문제점들에 관하여 약동학 시험을 디자인할 때부터 유의하여야 한다.³⁾ 또한 대부분의 생명공학의약품은 이와 동일한 또는 유사한 내인성 물질이 존재하므로 이에 따른 상호작용 및 피드백 메커니즘 등에 의한 약동/약력학 연계의 문제점을 고려하는 등, 계획서를 준비할 때부터 저분자의약품의 약동학 시험과는 달리 여러 가지 고려하여야 될 사항이 있다.^{2),3)}

이에 본 연구에서는 국내 및 국외에서 생명공학의약품의 약동학 시험에 관하여 제시되고 있는 기준 및 그 지침서에 대해 조사하여, 생명공학의약품의 약동학 시험에 필요한 정보를 제공하고자 한다.

연구 방법

국내외의 연구결과를 Medline(<http://www.pubmed.gov>) 등을 이용하여 조사, 분석하였다. 유럽의 경우 EMEA (European Medicines Agency)(<http://www.ema.europa.eu>)에서 제공하는 ‘Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins’를 주로 참고하였으며 그 외에 ‘Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues’등을 수집, 검토하였다.^{3),4),5),6),7),8)} 현재 우리나라에서 제정, 시행되고 있는 가이드라인(<http://www.kfda.go.kr>) 중에서는 ‘생물의약품 비임상 시험 가이드라인’, ‘임상시험용 생물학적제제등 품질평가 가이드라인(안)’ 및 ‘동등생물의약품 평가 가이드라인(Guidelines on the Evaluation of Biosimilar Products)’등을 참고하였으며^{9),10),11)} 미국 FDA (Food and Drug Administration)(<http://www.fda.gov>) 및 각 가이드라인에 제시된 관련 문헌을 추가적으로 참고하였다. ICH (International Conference on Harmonization)(<http://www.ich.org>) 관련 자료 중에서 ‘ICH S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals’등을 참고하였으며^{12),13),14),15),16)} 생명공학의약품의 약동학과 관련된 논문 또한 포함하여 분석하였다.

생명공학의약품과 전통적 제제인 저분자 의약품의 약동학 시험의 차이를 제시하며, 생명공학의약품을 개발하는 과정에서 약동학시험과 관련하여 주의깊게 고려할 필요가 있는 사항 및 약동학시험의 계획에 필요한 권고사항을 제시하는 것이 생명공학의약품의 약동학시험 가이드라인 개발의 주된 목적이므로, 이에 관한 정보를 제공하기 위하여 본 연구가 수행되었다.

이와 같이 조사 연구되었던 내용에 관하여 2009년 8월과 10월에 각각 국내 전문가들(의과대학 교수 3인, 약학대학 교

수 3인), 식약청 관련 부서 및 담당 주무 공무원 등 20여명이 참석한 전문가 자문회의를 통해 심의, 평가회를 가졌다.

연구 결과

위의 연구 방법대로 검토, 분석, 종합하여 다음과 같은 가이드라인(안)을 제안하였다.

생명공학의약품의 생분석(Bioanalysis)

약동학 시험에서 중요한 요소 중의 한가지는 분석시험법으로서, 여러 가지 단백질을 포함하는 복잡한 생체 시료로부터 특이성, 감도, 정확성, 정밀도를 모두 만족하는 범위 내에서 분석대상물질(또는 화합물 및/또는 대사체)을 검출하고 시간 경과에 따라서 측정할 수 있어야 한다.³⁾ 치료용으로 투여된 단백질을 내인성 단백질로부터 분리해 내는 능력이 분석시험법의 선택에 중요한 기준이 되지만, 내인성 단백질로부터 치료 약물을 구별해 내는 것이 기술적으로 항상 실행 가능한 것은 아니다. 대사체(metabolite)라는 용어는 모 단백질의 생체 내 분해산물 및 다른 절단체(truncated form)를 포함한다.

일반적인 고려사항

생체 시료에 들어있는 생명공학의약품 분석에서 가장 흔하게 사용되는 분석시험법에는 다음의 두 가지 방법이 있는데, i) 면역분석법(immunoassays)은 특정 항체와 결합하는 시험제제의 양을 측정할 수 있고, ii) 생물학적 분석법(bioassays)은 특수한 생물학적 과정에서 제제의 활성(activity)을 측정한다.^{1),2),3)} 면역분석법은 활성 유무와 상관없이 구조적으로 관련이 있는 화합물을 측정하는 반면에, 생물학적 분석법은 내인성 단백질을 포함하여 그 화합물이 모 제제이건 대사체이건 또는 구조적으로 관련이 되어있는 다른 화합물이건 상관없이 활성이 있는 화합물만 검출하게 된다.³⁾ 분석방법 및 검출하여 정량하는 화합물의 특징이 다르기 때문에, 임상 개발 과정에서 면역분석법과 생물학적 분석법을 함께 사용하도록 권장한다.³⁾ 면역분석법 또는 생물학적 분석법 중 한가지 방법만 사용하거나 한가지 방법에 치우쳐 사용한 경우에는 그에 대한 과학적인 근거를 제시하여야 한다.³⁾ 액체 크로마토그래피-질량분석기(Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS))와 같은 다른 방법을 사용할 수도 있지만, 여기서는 특별히 언급하지 않도록 한다. 가능하다면, 개발과정의 초기 단계에 특정 분석법을 개발하여 전체 개발과정에서 같은 분석법을 사용하는 것이 더 좋다. 그러나, 초기 단계에 그런 분석법을 개발하는 것에 대한 어려움은 이미 잘 알려져 있는 바이다. 분석시험법은 적절하게 검증(밸리데이션)되어야 한다. 예를 들어, 생물학적 분석법의 경우 특이성이 없으므로 그에 대한 적절한 검증이 어려울 수 있다. 약동학 평가에 중요한 생분석의 측면은 “방법론적인 문제”에 언급하였다.

분석시험법의 검증은 시험 전 단계 및 시험기간 내 단계의

두 가지 다른 단계로 구성되어야 한다.³⁾ 시험 전 단계에서는 (1) 관련 시료 내에서 분석대상물질의 안정성, (2) 특이성, (3) 정확성, (4) 정밀도, (5) 최저 및 최고 정량 한계와 검출 한계, (6) 농도-반응 관계, 및 (7) 희석 선형 (dilution linearity)에 관한 순응도를 결정하여야 한다.^{2),3)} 시험기간 내 단계에서는 해당 분석법을 생체 시험에서 얻은 시료에 적용하고, 정확한 분석 수행을 입증하기 위하여 품질관리시료(QC 및 calibration standards)를 사용하여야 한다.

방법론적인 문제

여러 가지 가능한 약점이 발견되었으며, 그 결과로 약물 분포 및 항체 생성 등에 관한 특징을 잘못 나타낼 수도 있다. 다음과 같은 주제에 관하여 고려하여야 한다.

1) 면역분석법

(1) 약물 분석:

① 이성체(isoforms), 제조 또는 저장 중에 생성된 분해 물질, 생체 내에서 생성된 대사체, 활성 물질과 보체 분자(예, 결합 단백질)의 복합체와 같이, 어느 정도 생물학적으로 활성을 가진 다른 면역 반응성이 있는 물질(immuno-reactive substance)에 의한 간섭을 고려하여야 한다.^{2),3)} 이 경우 포획 항체(capture antibody)가 활성 분석대상물질을 구별하지 못한다. 개개의 분획(fraction)을 더 분석하기 위하여 크로마토그래피 방법을 사용해서 다른 성분을 분리할 수도 있다.

② ①에서 설명한 것처럼 서로 다른 면역 반응성이 있는 성분이 결합 능력이나 친화성(affinity)의 차이로 인해 분석시험법에 대한 반응이 다를 수 있다. 예를 들면, 재조합 과립구 콜로니 자극인자(recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF))를 위해 개발된 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA))은 페그 재조합 과립구 콜로니 자극인자(PEGylated rhG-CSF, PEG-rhG-CSF)에는 덜 민감하며, 또한 페그 재조합 과립구 콜로니 자극인자(PEG-rhG-CSF)의 위치 이성체에 대해서도 친화성이 다를 수 있다.³⁾

③ 내인성 물질에 의한 간섭이 있을 수도 있다.^{2),3)}

④ 분석물질에 결합하여 포획 항체(capture antibody)에 대한 결합을 방해하는 혈장 성분 또는 약물에 대한 항체에 의한 간섭이 있을 수도 있다.³⁾

(2) 약물에 대한 항체 분석:

활성 물질이 존재하는 경우 항체와 결합함으로써, 약물에 대한 항체를 검출하는 능력에 영향을 줄 수 있다. 그러므로 약물에 대한 항체를 정량할 때는 순환계에서 활성 물질을 우선적으로 제거하여야 한다.³⁾

2) 생물학적 분석법

(1) 생물학적 분석법은 해당 분석물질에 대해 특이적이지 않을 수도 있다.^{1),2),3)}

(2) 생물학적 분석법은 면역분석법에 비해 감도와 정밀도가 낮다.³⁾

(3) 혈장 성분(예, 결합 단백질, 억제제 또는 약물 항체)의 존재가 분석물질의 활성을 변화시킬 수도 있다.³⁾

(4) 자연 단백질을 위해 개발된 생물학적 분석법을 해당 재조합 단백질에 사용할 경우에 다른 결과를 초래할 수도 있다.³⁾

3) 참조 물질(reference material)³⁾

전통적인 제제와는 달리, 생분식으로 측정되는 제제는 측정 표준물질(calibration standards)로 쓰일 수 있는 순수한 참조물질을 얻기가 어렵거나 때로는 불가능하다. 그러므로 다른 분석 측정 과정에 사용된 참조물질이 임상 약동학을 포함하여 임상시험에 사용된 물질을 대표하는지 확실하게 하기 위하여 극도의 주의를 기울여야 한다.

새로운 생명공학의약품의 개발과정 초기에, 시험기관 내에서 기준을 개발하여야 하며, 약동학적 성질과 그 화합물의 순도 뿐 아니라 생화학적인 분석에 관한 지식이 증가함에 따라, 분리된 물질은 초기에 개발된 물질 및 이전에 생성된 중간물질과 항상 비교해보아야 한다.³⁾

품목허가를 받은 제품과 임상시험에 사용된 물질 사이에서, 순도가 서로 다른 제제나 어떤 화합물의 이성체 등의 추적이 항상 가능하여야 한다.³⁾

내인성 농도

외부에서 투여한 생명공학의약품 중 어떤 경우에는, 간헐적 또는 지속적으로 생성되어 시간에 따른 변이를 나타내거나 특정 시그널 이후에 분비되는 내인성 물질이 측정이 될 수 있다.^{2),3)} 약리학 효과는 전체 농도와 관련이 있으므로, 내인성 물질의 시간에 따른 농도 프로파일에 관한 지식이 있으면 외인성 물질의 시간에 따른 농도 프로파일을 더 잘 이해할 수 있게 된다.³⁾ 계획서를 준비할 때는 영향을 미칠 수 있는 내인성 농도를 처리하기 위한 접근법이 제시되어야 한다.³⁾ 내인성 농도를 처리하기 위한 접근법으로는, 약물에 노출되기 이전에 기저치(baseline level)를 측정하여서 약동학 분석 시에 이미 존재하는 내인성 물질을 설명하거나, 또는 생리적인 조절이나 피드백 기전의 억제제를 통해 내인성 기저치를 미리 억제하는 방법 등이 있다.^{2),17),18),19),20)} 건강한 피험자와 환자 사이 및 특수집단(sub-population) 간의 내인성 물질에 의한 농도-시간 프로파일의 차이의 가능성에 대해서도 설명되어야 한다.³⁾

생명공학의약품의 약동학 시험

일반적으로 생명공학의약품의 약동학시험 평가를 위한 요건은 전통적인 제제와 동일하지만, 단백질 자체의 고유한 성질과 관련하여 특별하게 고려할 내용이 있다.^{1),2),3)} 약동학(흡수, 분포 및 배설)은 관련된 인구집단에서 단회 및 반복 투여 조건하에 그 특성을 규명하여야 한다.³⁾ 그러나, 단백질의 종류와 그 사용 목적에 따라서 약동학적 요건은 달라질 수도 있다.

건강한 피험자에서 약동학 정보의 일부가 수집이 되면, 그 정보를 다른 목표 집단에 외삽하는 타당성을 설명할 필요가 있다. 어떤 제제의 배설은 주로 목표 수용체의 흡수(target receptor uptake)에 의존하므로, 건강한 피험자와 목표 집단 사이의 수용체 밀도 차이(예, 종양 또는 염증조직에서의 수용체 과발현)가 있으면 약동학(예, 반감기)의 유의한 차이를 일으킬 수 있으며, 목표 집단에서의 예측을 위해서 건강한 피험자의 자료를 사용할 때 이 점을 고려하여야 한다.³⁾

흡수

많은 생명공학의약품의 중요한 특징은, 그 생물학적 작용이 투여 경로에 따라 달라질 수 있다는 것이다.¹⁾ 이에 대한 가설로, 약물이 모세 혈관 또는 림프계 중 어떤 흡수 경로를 통해 전신 순환으로 들어가는지에 따라 차이가 있다는 것이며, 분자량이 클수록 림프계를 통한 흡수가 더 중요한 역할을 차지하게 된다.^{1),2),3)} 허가된 생명공학의약품의 대부분이 정맥 내, 피하, 또는 근육 내 투여 등 비경구적으로 투여된다.^{1),2)} 정맥 내 투여는 약동학적으로 가장 믿을만한 투여방법이지만, 근육 내 또는 피하에 비해서 투여가 어렵다.¹⁾ 피하 또는 근육 내 투여 후에, 의약품은 림프계를 통과하면서 보통 전신순환으로 들어가기 전 제거(pre-systemic elimination)가 일어나므로, 결과적으로 생체이용률은 100% 미만이 된다.^{1),2),3)} 생명공학의약품의 림프계 회수 정도는 분자량(molecular weight (MW))과 상관관계가 있다.²⁾ 분자량이 적은 단백질의 경우에는, 초회 통과 기전으로서 조직 내에서 단백질 분해가 일어날 수 있다.³⁾ 알부민의 병용투여, 주사의 깊이, 주사 용액의 농도, 주사액의 부피, 주사부위의 혈류, 운동, 문지르는 정도 및 온도 등과 같은 화합물 자체와 상관없는 요인들의 영향도 받는다.¹⁾ 투여 부위(예, 대퇴부, 복부) 또한 생체이용률 등의 약동학적인 양상에 영향을 미치므로, 투여 대체부위를 제시하는 경우라면 각 투여부위에 따른 상대적인 생체이용률에 관하여 임상시험을 수행하여야 한다.^{1),3),21)} 피하 또는 근육 내 투여 이후에 세포 간 및 림프계를 통과하는 동안 단백질 분해가 일어나므로, 생명공학의약품의 생체이용률은 저분자의 약품에 비해서 낮은 경우가 흔하다.¹⁾

생명공학의약품의 경구투여는, 위장관 효소 및 pH-의존적인 분해, 낮은 상피세포 투과성, 제형의 상태에 따른 불안정성 등과 같은 장벽에 의해 흡수에 제한을 받게 된다.¹⁾ 따라서 경구투여 시 생명공학의약품의 생체이용률은 매우 낮고(<1%) 개인차가 크다.^{1),3)} 최근에 경피 및 경구 투여를 통한 의약품 전달 기술이 많이 발전했지만, 상용화를 위한 후보물질로 이 두 경로를 이용하기 위해서는 훨씬 더 높은 생체이용률이 필요하다.¹⁾

투여 경로의 변경은 화합물의 약동학 및 면역원성을 변화시킬 수 있다.³⁾ 예를 들어 단백질의 흡수를 위해 제시되는 비강 내 및 폐를 통한 투여는 피하 또는 근육 내 등의 세포 간 조직을 피할 수 있다.³⁾ 또한 폐는 표면적이 커서 심폐의

폐포와 순환계 사이의 밀접한 접촉으로 인해 신속한 흡수가 가능하기 때문에 단백질의 투여경로로 널리 연구되어 왔다.¹³⁾ 흡입과 비강 내 투여경로는 투여가 쉽고, 혈관 및 림프계가 풍부한 표면적으로 전달되며 초회 통과 대사를 받지 않는 장점이 있다.^{1),2)} 인슐린과 낭포성 섬유증 치료제인 dornase-alpha는 흡입으로 투여되는 제제이며, 칼시토닌, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 유리 호르몬(luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH)), 성장 호르몬 및 인터페론 등 다양한 생명공학의약품의 비강 내 흡수가 널리 연구되어 왔다.^{1),2)}

의약품이 정맥 내 투여로만 사용되는 경우를 제외하고는, 그 제제의 흡수 특성(예, 흡수의 정도 및 속도)을 설명하기 위하여 건강한 피험자 또는 환자에서 적절한 생체 내(*in vivo*) 시험을 수행하여야 한다.³⁾ 흡수의 특성을 규명하고 서로 다른 투여 경로를 비교하기 위해서는, 일반적으로 단회 투여 시험으로 충분하다.³⁾

제형 또는 제조과정의 변경으로 인해 그 화합물의 약동학 및 면역원성의 변화를 초래할 수 있다.³⁾ 원 제제와 변경된 제제의 물리-화학적 및 생체 외(*in vitro*) 생물학적 분석만으로 안전성 및 유효성에 미치는 영향을 배제하기에 충분하지 않은 경우도 있다. 약동학 자료 및 농도와 유효성, 안전성 사이의 관계(약동학/약력학 관계)에 대한 확실한 정보가 있으면, 경우에 따라 임상시험이 면제될 수 있다.³⁾

분포, 대사 및 배설

저분자의약품의 경우 어떤 기관/조직으로도 분포할 수 있으며, 모세혈관벽을 쉽게 통과할 수 있는데 비해서, 생명공학의약품의 분포는 보통 혈장 및/또는 세포외액으로 제한되며 분자량이 큰 단백질(MW > 30 kDa)은 모세혈관을 서서히 통과한다.^{1),2)} 생명공학의약품의 분포 양상은 단백질 결합에 의해서도 영향을 받는다.²⁾ 이 제제들은 수송 및 조절에 관여하는 특수한 결합 단백질에 결합할 수도 있다. 결합 단백질로는 인슐린양 성장인자 I과 II(insulin like growth factors I, II), 조직플라스미노겐활성제(tissue plasminogen activator), 성장 호르몬(growth hormone), 테옥시리보뉴클레아제 I(deoxyribonuclease I), 신경성장인자(nerve growth factor) 등이 해당된다.¹⁾ 결합단백질은 세포 수준에서 효능을 변화시킬 수 있으며, 단백질 치료제의 약동학과 대사에 영향을 미칠 수도 있다. 결합단백질의 상대적인 중요성은 종 또는 질병 상태에 따라 특이적으로 달라질 수 있다. 혈장 단백질에 결합하지 않은 의약품만 신체 내에서 분포하여 약리효과를 나타내거나, 혈장 내 단백질 결합이 특정 저분자의약품의 제거를 저해한다는 일반적인 성질이 모든 고분자 화합물에도 유효하지는 않다.¹⁾

생명공학의약품은 보통 미변화체로 소변으로 배설되지는 않는다.¹⁾ 이 제제들은 내인성 물질과 동일하게 일반적으로 알려진 경로를 통해서 적은 펩타이드와 아미노산으로 분해된다.¹⁾ 그 대사체(아미노산)는 체내에서 구조 또는 기능적인

단백질의 새로운 생합성을 위한 내인성 아미노산 풀에서 재이용된다.¹⁾

생명공학의약품의 대사는 그 구조(당 포함 여부), 전하(밀도 및 분포), 크기, 친수성/지방 친화성에 따라 크게 달라진다. 생명공학의약품의 대사 장소는 간, 신장, 혈액 및 혈관 외 투여 부위 등이다.^{1,2)} 간의 경우 간세포에서 세포이물흡수(endocytosis), 음세포작용(pinocytosis), 수송체-매개 막 수송을 이용하여 생명공학의약품의 분해가 주로 일어난다.¹⁾ 신장은 폴리펩타이드의 분해에 중요한 역할을 한다.^{1,2)} 사구체에서 여과된 후, 일부 단백질은 세포이물흡수에 의해서 근위세뇨관에서 재흡수되며, 펩타이드는 미세융모(brush border)에서 가수분해된다.^{1,2)} 단백질의 크기, 분자 구조, 전하 등과 관련된 사구체 여과의 선택성에 대해서는 논란의 여지가 있다.²⁾ 혈관 외 주사로 투여한 후 생명공학의약품의 생체이용률이 불완전한 경우가 자주 관찰되는데, 이것은 국소적인 대사가 그 원인이 될 수 있다.¹⁾ 예를 들면 인슐린, 칼시토닌, 인터페론-β 등의 경우, 혈관 외 부위에서의 분해가 관찰된다.^{1,13)}

여러 가지 생명공학의약품, 특히 항체의 경우 약동학 파라미터(예를 들어 특히, 청소율)가 개인 간에 상당히 큰 변이를 보인다.¹⁾ 세포 항원을 표적으로 하는 단클론항체의약품의 경우, 훨씬 복잡하고 분명한 비선형의 약동학을 나타내므로, 반감기는 용량 및 시간에 따라 변할 수 있다.¹⁾ 항원의 농도가 높은 경우, 항원-단클론항체 상호작용을 통해 혈액으로부터 단클론항체가 신속하게 제거되므로 그 반감기는 짧다.¹⁾ 항원이 줄어들어 따라서 청소율은 감소되며, 결과적으로 반감기는 길어진다. 단클론항체가 축적됨에 따라서 새로운 항정 상태에 도달한다. 결과적으로 결합 가능한 표적은 완전히 감소되며, 이 때 단클론항체의 청소율이 가장 낮아진다. 이 시점에서 반감기는 가장 길어져서, 내인성 면역글로블린-지(IgG)의 반감기(~21일)에 이르게 된다.¹⁾

단백질이 내인성 아미노산으로 분해되기 때문에, 저분자의 약품에서 수행하는 전형적인 생체변환(biotransformation) 시험은 필요 없다. 더욱이 대사체 분석법의 한계와 대사체의 약리 또는 독성 작용에 관한 예측이 어렵다는 점 등이 장애물로 남아 있다.¹⁾

생명공학의약품의 경우, 그 분자의 크기로부터 주된 배설 경로를 대체로 예측할 수 있으며, 특수한 시험이 필요하지 않을 수도 있다.³⁾ 단백질의 분해 대사는 보통 단백질 가수분해에 의해서 일어난다.³⁾ 분자량이 50 kDa 미만의 적은 단백질은 신 여과(분자량이 적을수록 신여과가 더 중요하다) 및 세뇨관 재흡수 이후의 대사 분해에 의해 제거된다.³⁾ 분자량이 큰 단백질의 경우에는, 다른 조직 및/또는 목표 세포에서 수용체-매개성 세포이물흡수(endocytosis) 및 대사 분해를 통한 제거가 신 여과보다 더 중요하다.^{3,22)}

질량-균형 시험은 의약품 및 의약품과 관련된 물질의 배설 양상을 결정하는데 유용하지 않다.³⁾ 배설된 단백질은 소변 또는 대변에서 반드시 그대로 나오는 것은 아니며, 아미노산으로

대사되고 재흡수되어 보통의 단백질 합성에 쓰이게 된다.^{2,3)}

배설 및 대사 경로에 관한 특정 시험 및 생체 외 시험에서 대사체를 규명할 필요성과 가능성을 각 경우에 따라서 고려하고 논의하여야 한다.³⁾

약리적 활성대사체는 크로마토그램 분리, 수집 및 생체내 생분석 정량 등의 적절한 분석방법을 통하여 가능한 한 측정하여야 한다.³⁾ 그 대사체는 모 화합물과 비교할 때 다른 약동학 프로파일을 보일 수도 있다. 그러나, 활성 대사체 또는 펩타이드 단편을 개별적으로 측정하는 것이 기술적으로 쉽지 않은 경우에는, 활성 성분(active moiety)의 약동학을 측정할 수 있다.³⁾ 또한 그 단백질과 혈장 내의 다른 성분의 복합체 측정을 고려하여야 한다. 생명공학의약품의 작용이 혈장 내 비결합형의 부분, 결합형의 부분 및 결합 동력학과 관련이 있을 수도 있다. 그러므로 자료를 해석할 때 생분석에서 어떤 부분이 검출된 것인지를 아는 것이 중요하다. 결합형 부분 자체를 분석하는 것이 더 중요할 수도 있다. 특히 대사체의 특이한 면역분석법이 없는 경우에는 반드시 생분석을 고려하여야 하며, 적절한 방법이 없다는 근거를 제시하여야 한다.³⁾

항정상태의 분포용적(volume of distribution, V_{ss})과 분자량 사이에는 역 상관관계가 있다.^{2,3)} 투과성과 분자량에 대해서도 비슷한 관계를 볼 수 있다. 분자량이 큰 단백질의 경우, V_{ss} 는 알부민의 분포와 비슷하다(약 0.1 L/kg).³⁾ 생명공학의약품은 전통적인 저분자의약품과 달리, 조직 내로의 분포(예, 세포 내 흡수)가 분포 과정의 일부가 아니라 제거 과정의 일부인 경우가 많기 때문에 저분자의약품에 비하여 분포용적이 저평가 된다.^{2,3)} 따라서 적은 V_{ss} 값은 생명공학의약품이 반드시 낮은 조직 투과율을 가진다는 것을 의미하는 것은 아니다.

1) 용량 및 시간 의존성

용량-농도 관계는 비례하지 않을 수도 있으며, 분포 및 제거에 관여하는 능력-제한에 의해 영향을 받을 수 있다. 예를 들면, 어떤 항체는 제거 과정의 포화도가 낮은 용량 범위에서 나타날 수도 있다. 선형성은 단회 및 반복 투여 시험에서 평가되어야 하여 그 임상적 결과에 관해 논의하여야 한다.³⁾

약동학적 파라미터의 시간에 따른 변화는 반복투여 중에 발생할 수 있으며, 화합물의 제거에 관련된 수용체의 하향조절(down-regulation) 또는 상향조절(up-regulation)이나 의약품에 대한 항체의 생성이 그 원인일 수 있다.³⁾ 대사체가 면역학적 활성이 있는 경우에 이 대사체가 약동학시험에 활용된 면역분석법 결과에 영향을 줄 수 있기 때문에, 장시간에 걸쳐 시간에 따른 약동학적 파라미터의 변화를 관찰하는 것을 권장한다.³⁾ 장기시간에 걸친 시험에서는 여러 용량군과 다양한 시점에서 약동학시험을 하는 것을 권장한다. 장기 임상시험으로부터 얻은 약동학 자료로부터 집단 약동학 분석을 고려해 볼 수도 있다.³⁾

2) 혈액 성분과의 결합

혈중 가용성 수용체(예, shed antigens)는 생명공학의약품에

결합하여 청소율 또는 분포용적의 변화를 통해 약동학 변화를 초래할 수 있다.³⁾ 가용성 수용체에 결합함으로써 개인간의 순환 수용체 농도 차이로 인한 약동학 파라미터의 피험자 간 변이를 증가시킬 수 있다. 시간에 따른 가용성 수용체의 농도 변화로 인해, 약동학 파라미터의 변화를 초래할 수도 있다. 적절한 방법을 사용하여 가용성 수용체를 치료 이전과 도중에 측정하여, 유리형과 결합형 수용체를 구별할 수도 있다.³⁾ 약동학에 미치는 영향을 평가하여야 하며 임상적인 관계도 논의하여야 한다.

필요한 경우, 혈장 단백질(예, 알부민, 알파 산 당단백질(α -acid glycoprotein))과의 결합능에 관한 시험을 수행하여야 한다.³⁾ 다른 특수한 결합 단백질도 여러 가지 단백질의 약동학에 영향을 미칠 수 있는데, 예를 들면 성장 호르몬 결합 단백질에 결합한 성장 호르몬과 혈장에서 수송 단백질에 결합한 인슐린양 성장인자(Insulin Growth Factor(IGF-1)) 등이 있다.^{1),3)} 또한 결합 단백질은 혈액 또는 혈장에서 비결합형의 비율 정량 결과에 영향을 미칠 수 있다.³⁾

3) 단백질의 화학적 변화

단백 구조의 화학적 변화는 그 단백질의 약동학 프로파일을 변화시키기 위해 의도적으로 사용되어왔으며, 페길레이션(PEGylation) 등을 통해서 반감기를 길게 하는 것이 한 예로서, 이를 통해 서로 다른 약동학 및 약력학적인 특성을 나타내는 여러 가지 이성체가 생성될 수 있다.³⁾ 마찬가지로, 당질화(glycosylation) 패턴 및/또는 시알산(sialic acid) 함량을 변경시키는 제조 과정의 변화로 그 물질의 약동학 및/또는 약력학을 변화시킬 수 있다.^{3),22)} 서로 다른 약동학 양상(예, 다른 물질보다 더 빨리 제거되는 이성체)때문에, 한 개인에서의 이성체의 상대적인 농도가 시간에 따라 변할 수 있다. 찾을 수 있는 이성체의 작용은 생체 외 시험으로 찾아야 하며, 작용의 큰 차이가 알려져 있거나 의심되는 경우라면, 가능한 한 각 이성체에 대해서 사람에서의 약동학 프로파일을 설명해야 한다.³⁾ 이 때 면역분석 및 생분석을 함께 하는 것을 권장한다.

4) 변이

피험자 간의 변이를 측정하여야 하며, 가능한 경우라면 변이의 중요한 원인(예, 체중 및 연령과 같은 인구학적 요인)도 찾아내야 한다. 그 결과를 바탕으로 안전성과 유효성의 측면에서 필요시 개별화된 투여용량을 고려하여야 한다. 생명공학의약품 특이적인 피험자간 변이의 원인으로는, 항체의 형성, 흡수 변이(예, 주사 부위의 차이), 혈액 내 결합 성분의 다양한 농도, 질병 부담(target burden)의 변이(예, 중앙 부하), 분해 속도의 변이(예, de-PEGylation) 또는 분해 패턴의 변이 등이 있다.³⁾

개인 내의 변이도 정량화하여야 한다. 반복투여 제품의 경우, 특히 용량 조절을 권장하는 제품의 경우에는 투여시기 사이의 변이에 대한 정보가 중요하다. 만일 개인 내의 변이가 생분석 정확도와 서로 혼동 요인으로 작용한다면, 때때로

생분석의 정확도가 떨어지는 것이 개인 내의 변이가 넓은 범위로 측정되는 것에 기여하는 것처럼 보일 수 있다.³⁾

5) 특수 집단(Sub-population)

장기 기능부전 환자와 같은 특수집단 환자에 대한 품목허가를 받기 위해서는 이들에 대한 임상시험이 포함되어야 한다.^{3),23)} 그러나 시험의 필요 여부는 그 화합물의 제거 특성을 근거로 하여야 한다. 만일 시험을 수행하지 않는다면, 그에 대한 정당성을 확립하여야 한다. 연령 및 체중과 같은 내재적인 요인의 영향에 대하여 제시하여야 한다. 이러한 정보는 특수한 인구집단을 대상으로 한 전통적인 시험 또는 치료적 탐색/확증 임상시험 자료의 집단 약동학 분석으로부터 얻을 수도 있다.

(1) 신장에: 분자량이 50 kDa보다 적은 단백질의 경우에는 신장을 통한 배설이 그 제거(분자량이 적을수록 더 중요해진다) 및 반감기에 매우 중요하다. 그러므로 이런 체제의 경우 신장에 환자의 약동학시험을 권장한다.³⁾ 신장에는 시험 물질의 약동학/약력학에 영향을 미칠 수 있으며, 임상약리시험의 계획 시에 고려하여야 한다. 만약 각각 다른 활성을 나타내는 여러 가지 종류(예, 대사체, 이성체)의 화합물에 의해 약물 작용이 일어난다면, 신장소율의 정도가 서로 다르기 때문에 신기능 정도에 따라서 그 상대적인 함량이 변화될 수도 있다.³⁾ 생분석으로 전체 작용을 적절하게 평가할 수 있다.

(2) 간장애: 간에서의 분해가 그 제거 과정에 중요한 단백질의 경우에는 간기능 감소로 그 제거가 감소될 수 있다.³⁾ 시험을 하지 않은 경우에는 그에 합당한 근거를 제시하여야 한다.

6) 상호작용 시험

전통적인 제제에 비해 생명공학의약품의 경우, 사이토크롬 P450(cytochrome P450 (CYP)) 효소에 관한 생체 내 약물-약물 상호작용 시험을 해야 할 필요가 일반적으로 적다. 그러나 어떤 치료 단백질(예, 싸이토키인과 같은 면역조절제)은 CYP 효소를 억제 또는 유도하는 가능성을 보이므로 시험관 내 또는 생체 내 시험의 필요성을 각 경우 별로 고려하여야 한다.³⁾ 효소의 상향 또는 하향조절(up- 또는 down-regulation) 때문에 상호작용이 시간에 따라 달라질 수도 있다(예, α -인터페론과 CYP1A2).³⁾ 이 상호작용을 적절하게 평가하기 위해서는 반복투여 임상시험 디자인이 필요하다.

단백이 다른 약물의 제거에도 관련된 제거 경로(수용체)의 변화를 유도하는 경우 또는 면역계의 억제 가능성이 있는 경우에도, 상호작용 시험을 고려하여야 한다. 후자에 속하는 예로서 메토포렉세이트(methotrexate)는 병용투여하는 항체의 청소율을 유의하게 감소시킨다.³⁾ 내인성 단백질과의 상호작용 가능성 또한 고려하여야 한다.

단백질의 제거는 보통 약물-수용체 결합에 의하므로(예, 수송 단백질), 이러한 단백질의 억제 또는 유도로 약동학의 변화를 초래할 수 있다.

7) 자료 분석

전통적인 제제와 같이 약동학적 분석은 구획 또는 비구획 방법으로 할 수 있다. 평균(중앙값)과 각 개별적인 결과를 항상 제출하여야 한다. 약동학 및 가능한 공변량(covariate) 관계의 특성을 규명하기 위하여, 치료적 탐색/확증 임상시험 결과의 집단 약동학 분석이 권장된다.³⁾

약동학/약력학 관계

약동학 및 약력학(PK/PD) 관계를 평가할 것을 권장한다.^{2),3)} 가능한 경우, 유효성 및 안전성 지표를 측정하여야 하며, 동일한 시험에서 수행하는 것이 더 바람직하다. 분자의 변화 또는 그 생성을 위한 발현계의 변화, 혈액 성분의 결합 또는 약물에 대한 항체 생성 등으로 인해 약동학 뿐만 아니라 약력학 반응도 변화될 수 있으므로, 노출-반응 관계의 평가가 약물 개발의 중요한 도구로 간주된다.³⁾ 질환의 기전 이해 및 PK/PD 관계를 위한 적합한 모델을 사용하여 초기의 비임상 및 임상 자료를 평가할 수 있다. 혈장 농도와 측정된 효과 사이의 시간 지연을 설명하는 PK/PD 모델을 개발할 수도 있다. PK/PD 모델은 병리적 요인을 고려하는 등 적절한 가정 하에 피험자로부터 목표 집단으로 시뮬레이션을 통한 외삽을 가능하게 할 수 있다.^{3),24)} 이 모델이 용량 선택에 대한 지침을 제시할 수 있으며, 중요한 특수집단에서의 약동학 변화를 설명할 때 또는 유사성을 평가할 때 유용하다.^{2),3)} 적절한 생물학적 지표 및 안전성/유효성 지표와의 연관성(대리성 surrogacy)을 찾도록 권장한다.

면역원성(Immunogenicity)

면역원성은 치료제에 대해 항체가 형성되는 것을 말하며, 단백질과 펩티드의 경우 많은 환자들에서 약물에 대한 항체가 임상적으로 발생하고 있다.^{1),3)} 이렇게 치료용 단백질에 대한 면역 반응은 화합물마다 다르며, 면역원으로 작용할 가능성(neo-antigenicity)은 많은 요인에 의해 영향을 받는데, 그 단백질이 생성되는 발현 체계, 정제 방법 또는 그 최종 제형 등이 해당된다.^{1),3),25),26),27)} 치료용 단백질의 항원성에 영향을 미치는 많은 다른 요인들에 관해서는 아직 알려지지 않았으며 예측하기가 불가능하다.¹⁾ 일반적으로 사람에서의 항체 반응은 동물실험으로부터 예측할 수가 없다.^{1),3)} 이 면역반응은 투여 용량 및 경로에 영향을 받을 수도 있다(피하 투여가 정맥 투여에 비해서 면역 반응을 더 초래).^{25),26),27)} 한 개인에서도 다른 친화성, 항원결정기(epitope) 및 결합 능력에 따라서 다양한 항체를 형성할 수 있기 때문에 항체 반응이 매우 다양하게 관찰될 수 있다.³⁾ 그러므로 항체 반응의 변이의 특성을 규명하기 위해서는 충분한 수의 환자로부터 자료를 수집하여야 한다.

약물에 대한 항체가 어떤 단백질의 약동학 및 약력학을 변화시킬 수 있으므로, 항체반응에 관한 시험이 새로운 단백질의 개발과정에서 항상 필요하다.³⁾ 반복 용량 또는 장기간의

치료를 위한 새로운 약물의 경우에 특히 중요하다. 예를 들면, 약물이 순환계로부터 제거될 필요가 있으며, 그렇지 않을 경우 항체 분석을 방해할 가능성이 있기 때문에, 마지막 용량과 항체 측정 시점 사이의 충분한 간격이 아주 중요하다.³⁾ 그러므로 분석에 대한 방해를 최소한으로 줄이기 위해서, 약물 농도가 충분히 낮아지거나(6-7 반감기 이후가 좋다) 약물에 대한 항체가 생겼을 때 시료를 채취하도록 한다. 약물치료 과정에서 항체를 측정할 때에는 분석의 방해 가능성 여부를 찾고 논의하여야 한다.²⁸⁾ 항체 형성에 관한 정보는 치료적 확증 임상시험의 계획을 수립하기 위하여 임상약리시험/치료적 탐색 임상시험에서 미리 수집하는 것이 더 좋다.

치료용 단백질에 대한 항체의 존재는 결합 항체 존재 여부에 대한 면역학적 분석과 중화 항체에 대한 생물학적 분석을 다 사용하여 결정하여야 한다.²⁶⁾ 이 분석은 완전히 유효성을 검증하여야 하며, 임상적으로 적절한 항체를 검출하기에 충분한 정도로 감도가 높아야 하고, 빠르게 해리되는(친화성이 낮은) 항체의 존재도 검출할 수 있어야 한다.³⁾

비록 약력학 효과는 중화 항체에 의해서만 직접적으로 변화되지만, 약동학은 중화 능력과 상관없이 영향을 받을 수 있다. 전자의 효과가 가장 흔하지만, 항체 형성이 치료용 단백질의 청소율을 증가 또는 감소시킬 수 있다. 그러므로, 약물에 대한 항체 형성으로 인해 임상 효과가 변화되는 경우에 약동학 및 약력학적 변화 두 가지가 합쳐진 결과일 수도 있다.³⁾

약물과 관련된 항체 반응이 있을 때는 약물에 대한 항체가 그 단백질의 약동학에 영향을 미치지 않는다는 타당한 근거가 없다면, 면역원성 시험을 수행하여야 한다.³⁾ 개인 간의 변이로 인해서, 같은 피험자에서 투여 이전과 이후에 시료를 채취하는 것이 중요하다. 치료적 확증 임상시험에서의 약동학 샘플링이 약물에 대한 항체 효과를 평가하는 데 중요한데, 그 이유는 약물에 대한 노출이 일반적으로 길고 환자의 수가 많기 때문이다.³⁾ 항체 형성이 약동학에 미치는 효과는 약물에 대한 항체의 존재를 공변량(covariate)으로 한 집단 약동학 분석을 통하여 연구할 수 있다. 항체가 양성인 피험자와 음성인 피험자에서 혈장농도와 측정 정도를 비교하기 위하여 최소한 처음 투여와 마지막 투여 이후에 약동학 분석을 위한 혈장 시료를 채취하여야 한다.³⁾ 항체 반응의 발현 및 정도와 약물 노출 또는 관련된 약동학 파라미터 사이의 상관관계를 조사하여야 한다. 가능하다면 시간에 따른 항체 생성을 평가하여야 하며, 혈장 시료의 보관도 고려하여야 한다. 치료용 단백질의 분석과 함께, 형성된 항체의 분석 방해 가능성도 고려하여야 한다.

가장 중요한 문제는 항체가 유효성·안전성에 미치는 영향이다.^{1),3)} 여기에는 약물투여를 중단한 후 치료를 재개하였을 때의 안전성 및 유효성뿐만 아니라, 항체 때문에 약물에 대한 반응이 감소되는 환자를 치료하는 방법까지 포함된다. 위에서 간략하게 설명한대로, 적절한 약동학 자료가 중요하다.

고찰 및 결어

생명공학의약품은 단지 고분자의약품이 아니며, 저분자의약품과 비교해 볼 때 여러가지 물리 화학적인 성질이 다르기 때문에 훨씬 더 복잡한 약동학적 양상을 나타내며 이로 인해 비임상시험 단계부터 큰 영향을 받는다. 저분자의약품으로부터 축적된 경험을 그대로 생명공학의약품에 적용할 수는 없으므로, 생명공학의약품 개발 과정 중 약동학시험을 포함한 초기 비임상 단계부터 위험과 이익을 적절히 고려하여 잘 설계하는 것이 필요하다. 약동학시험을 수행하는 목적의 하나는, 치료적 확증 임상시험에서 대표되지 않는 특정 인구 집단을 포함하여, 모든 환자군에서 유효성과 안전성을 확립하는 것이다. 생명공학의약품과 저분자의약품은 사람을 대상으로 하는 시험을 안전하게 수행한다는 동일한 목적을 가지고 있으며, 환자군에서의 유효성과 안전성에 관한 정보를 제공하게 된다. 그러므로 생명공학의약품의 약동학은 저분자의약품과 동일한 과학적 근거에 기초하여 평가되어야 한다. 그러나 단백질의 특성 때문에, 약동학시험을 설계하는 경우에 저분자의약품에 비해서 특별하게 고려하여야 할 사항이 있으므로, 본 연구에서는 치료제로 사용되는 생명공학의약품의 임상 약동학을 평가할 때 고려할 점을 설명하고자 하였다. 즉 생명공학의약품을 개발하는 과정에서 약동학시험과 관련하여 주의깊게 고려할 필요가 있는 사항을 제시하였으며, 생명공학의약품과 저분자의약품의 약동학시험의 차이를 설명하고자 하였다. 또한 생명공학의약품의 약동학시험 계획에 필요한 권고사항을 제시하고자 하였다. 앞으로 국내에서 활용될 가능성과 적합성 등을 검토하기 위하여 연구 방법에 기술술한대로 전문가 자문회의를 통해 심의, 평가회를 가졌다. 그러나 생명공학의약품의 범위가 다양하므로, 모두 포함할 수 있는 내용이기보다는 일반적으로 적용되는 내용으로 본 연구가 제한될 수밖에 없었음을 밝혀두는 바이다.

끝으로 본 연구는 연구자적 측면에서 과학적인 면에 중점을 두어 생명공학의약품 약동학시험의 가이드스를 제공하고자 하였으며, 행정적인 측면에서의 조율 및 지속적인 보완이 필요한 사항임을 또한 밝혀두는 바이다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 식품의약품안전청 용역연구개발사업의 연구비 지원(09172응용연663)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Baumann A. Early development of therapeutic biologics – pharmacokinetics. *Curr Drug Metab* 2006; 7(1): 15-21.
2. Tang L, Persky AM, Hochhaus G, *et al.*, Pharmacokinetic

aspects of biotechnology products. *J Pharm Sci* 2004; 93(9): 2184-204.

3. Guideline on the Clinical Investigation of the Pharmacokinetics of Therapeutic Proteins (EMA/CHMP/EWP/89249/2004, adopted in January 2007).
4. Guideline on Similar Biological Medicinal Products Containing Biotechnology-Derived Proteins as Active Substance: Non-clinical and Clinical Issues (EMA/CHMP/BMWP/42832/2005, adopted in February 2006).
5. Guideline on the Evaluation of the Pharmacokinetics of Medicinal Products in Patients with Impaired Hepatic Function (EMA/CPMP/EWP/2339/02, adopted in February 2005).
6. Note for Guidance on the Evaluation of the Pharmacokinetics of Medicinal Products in Patients with Impaired Renal Function (EMA/CHMP/EWP/225/02, adopted in June 2004).
7. Note for Guidance on the Investigation of Drug Interactions (EMA/CPMP/EWP/560/95, adopted in December 1997).
8. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence (EMA/CPMP/EWP/QWP/1401/98, adopted in July 2001).
9. 생물의약품 비임상시험 가이드라인 2008년 12월 식품의약품안전청 생물의약품국 세균백신과
10. 임상시험용 생물학적제제등 품질평가 가이드라인(안) 2008년 12월 식약청 생물의약품국
11. 동등생물의약품 평가 가이드라인 (Guidelines on the Evaluation of Biosimilar Products) 2010년 12월 식품의약품안전청 바이오생약심사부 첨단제제과
12. ICH S6: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals (CPMP/ICH/302/95, adopted in September 1997).
13. ICH E3: Structure and Content of Clinical Study Report (CPMP/ICH/137/95, adopted in December 1995).
14. ICH E6: Guideline for Good Clinical Practice (CPMP/ICH/135/95/Step4, adopted in June 1996).
15. ICH E8: General Considerations for Clinical Trials (CPMP/ICH/291/95, adopted in September 1997).
16. ICH Q2: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (CPMP/ICH/281/95, adopted in December 1996).
17. Pechstein B, Nagaraja NV, Hermann R, *et al.*, Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of testosterone and luteinizing hormone suppression by cetorelix in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2000; 40: 266-74.
18. Miyatake A, Morimoto Y, Oishi T, *et al.*, Circadian

- rhythm of serum testosterone and its relation to sleep: comparison with the variation in serum luteinizing hormone, prolactin, and cortisol in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51(6): 1365-71.
19. Mullis PE, Pal BR, Matthews DR, *et al.*, Half-life of exogenous growth hormone following suppression of endogenous growth hormone secretion with somatostatin in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Clin Endocrinol* 1992; 36(3): 255-63.
 20. Mahmood I. Methods to determine pharmacokinetic profiles of therapeutic proteins. *Drug Discov Today Technol* 2008; 5(2-3): e65-9.
 21. Beshyah SA, Anyaoku V, Niththyananthan R, *et al.*, The effect of subcutaneous injection site on absorption of human growth hormone: abdomen versus thigh. *Clin Endocrinol* 1991; 35(5): 409-12.
 22. Marshall SA, Lazar GA, Chirino AJ, *et al.*, Rational design and engineering of therapeutic proteins. *Drug Discov Today* 2003; 8(5): 212-21.
 23. Galluppi GR, Rogge MC, Roskos LK, *et al.*, Integraion of pharmacokinetic and pharmacodynamic studies in the discovery, development, and review of protein therapeutic agents: A conference report. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 387-99.
 24. 안병진, 임동석. 생물공학체제의 약동학과 약력학. *임상약리학회지* 2008; 16(2): 67-76.
 25. Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. *Clin Ther* 2002; 24(11): 1720-40.
 26. Crommelin DJA, Storm G, Verrijck R, *et al.*, Shifting paradigms: biopharmaceuticals versus low molecular weight drugs. *Int J Pharmaceut* 2003; 266: 3-16.
 27. Kessler M, Goldsmith D, Schellekens H. Immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21[Suppl5]: v9-12.
 28. Lofgren JA, Wala I, Koren E, *et al.*, Detection of neutralizing anti-therapeutic protein antibodies in serum or plasma samples containing high levels of the therapeutic protein. *J Immunol Methods* 2006; 308: 101-8.