약제학회지(2000), 제 30 권 제 4 호
J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 30, No. 4, 309-318 (2000)

캐나다에서의 생체이용률 및 생물학적 동등성 시험의 실행 및 평가방법 Part A: 경구용 제제

유태무† · 서수경 · 최홍석 · 박인숙 · 이선우 · 안미령 · 진 숙 · 손수정 · 양지선
식품의약품안전청 국립독성연구소 약리부
(2000년 10월 19일 접수)

Conducts and Analysis of Bioavailability & Bioequivalence Studies in Canada Part A: Oral Dosage Formulations Used for Systemic Effects

Tae Moo Yoo†, Soo Kung Suh, Hong Suk Choi, In Sook Park, Sun Woo Lee, Mee Ryung Ahn, Sook Jin, Soo Jung Sohn and Ji Sun Yang
Department of Pharmacology, National Institute of Toxicological Research, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea
(Received October 19, 2000)

요 약 우리나라에서는 1989년 1월 1일 이후 허가된 신약과 동일한 의약품을 제조하거나,[1] 제제개선을 통하여 흡수율을 향상시키는 경우 등에 있어서 생물학적 동등성 시험을 실시하여 두 제제간의 생체이용률을 비교하도록 규정되어 있다.[2] 다른 나라에서도 신약과 동일한 의약품을 허가 받고자 할 경우나 대체조제를 위한 복제의약품의 생산 시 생물학적 동등성 시험자료를 제출하도록 하고 있으며, 이에 따른 생물학적 동등성 시험 기준을 운영하고 있다. 최근 각국에서는 국제적 조화를 이룬 기준을 마련하고자 하는 추세이다. 현재 우리나라에서는 의약분업 실시에 따라 생물학적 동등성 시험의 중요성이 부각되고 있으며 국제적인 수준에 맞추어 관련 기준을 개정해야할 필요성이 대두되고 있다. 캐나다에서는 1992년에 처음 생물학적 동등성 시험 기준[3]을 공표하여 평가하고 있다. 본 논문에서는 캐나다의 생물학적 동등성 시험 기준을 소개하여 현행 규정과 비교 검토함으로써 생물학적 동등성 시험 기준을 보다 과학적이고 윤리적이며 합리적인 규정으로 개정하기 위한 자료로 활용하고자 한다.

제1장 머리말

본 지침에 제시되어있는 정보는 일반적인 특성을 갖는 경구용 제제에 대한 것으로 각 항은 생체이용률 시험의 특정 항목에 대해 설명하고 있다. 경구용 Modified Release(MR) 약물에 대한 생체이용률 시험은 "생체이용률 및 생물학적 동등성 시험의 실시 및 평가방법"의 Part B: Modified Release Formulations"를 참고로 하여 수행한다.

1.1 용어

본 지침에서 사용되는 용어는 다음과 같은 의미로 사용된다.

- *생체이용률(Bioavailability)*: 약물 또는 그 대사체가 전신순환혈중으로 이행되는 속도와 양
- *AUC*: 혈중농도 - 시간곡선 하 면적으로 전신순환혈에 흡수된 약물의 측정치
- T_{max}: 약물 투여 시부터 최고혈중농도에 도달할 때까지의 시간
- C_{max}: 최고 혈중 농도
- *절대 생체이용률*: 동일한 주성분을 함유한 동일 용량의 약물에 대하여 경구 및 정맥 투여 시 AUC 값의 비교
- *상대 생체이용률*: 동일한 활성 성분을 함유한 시험약과 대조약에 대하여 약물이나 그 대사체 또는 이 두 가지 모두의 혈중농도를 비교.
- *생물학적 동등성(Bioequivalence)*: 동일성분, 동일함량, 동일제형의 대조약의 혈중농도 profiles의 유사성을 의미하며 대개 혈장중의 약물이나 그 대사체의 농도를 측정하거나, 어떤 경우에는 뇨로 배설되는 것을 측정하여 생체이용률을 구한다. 생체이용률 시험에 이용할 적당한 방법이 없을 때는 약력학적 시험과 같은 대체 방법을 사용하거나 임상 시험을 통해 치료학적 동등성을 입증하여야 한다.

1.2 지침의 범위

본 지침은 약물과 약물 대사체 측정법의 이용뿐만 아니라

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)380-1808, E-mail : taemoo@kfda.go.kr

여러 약물과 제품의 다양한 물리화학적 성질, 약물동력학적 성질 및 임상적 특징을 고려하고 있다. 많은 약물들은 공통적인 특징을 갖고 있기 때문에 생체이용률 시험 기준과 생물학적 동등성 시험 기준을 규정하는 것이 가능하다. 기준은 대개 단 회 투여 시험에 의해 결정된다. 이러한 약물들은 일반적인 특성을 가지며 수정된 기준을 적용해야 하는 특성들은 가지고 있지 않은 것으로 생각된다. 일반적인 약물에 대한 생체이용률과 생물학적 동등성 시험의 실시와 시험결과 보고서의 제출 시에 본 지침에 따라야 한다.

1.3 본 지침을 수정하여 적용해야하는 경우

다음 특성 중 하나 이상의 특성을 나타내는 약물에 대해서는 본 지침과 시험방법, 기준들을 변경하여 적용할 수 있다.

a) 용출양상을 변경시킨 제제
b) 복합적이거나 변화가 심한 약물동력학적 성질
- 비선형 동력학
- 실질적 초회 통과 효과 (40% 이상)
- 유전적다형(polymorphism)이 달라 변화가 심한 약물동력학적 성질
- *in vivo*상의 구조 변화와 같은 입체 화학적 효과
- 24시간 이상의 반감기

c) 효력 발현이나 흡수속도 시간이 중요한 경우
d) 독성이 심하거나 치료영역이 좁은 경우
e) 위장관계에 국소적인 작용이 나타나며 흡수가 거의 안 되는 경우
f) 최소한 최종 반감기의 3배까지의 혈중 농도 측정시 분석법이 충분한 감도를 가지고 있지 않거나 신뢰성이 없는 경우
g) 복합 제제
h) 생물학적 제제

제2장 생체이용률 시험 계획

본 장에서는 생체이용률 시험 계획에 필요한 자료에 대해 언급하고 있다. 시험 목적, 시험책임자 및 관련 연구자들, 시설 및 심사 윤리위원회에 대한 사항이 생체이용률 시험 결과보고서에 포함되어야 한다.

2.1 시험 목적

시험의 목적이 명확히 기재되어야 한다. 시험약이 일반적인 약물의 범위에 포함된다는 것을 입증하는 자료가 제출되어야 한다.

2.2 시험 책임자

시험책임자 임무와 신원 및 피험자의 안전성에 대하여 기재하여야 한다. 임상시험, 약물농도 분석, 통계분석 담당자들도 신원이 확인되어야 한다. 시험책임자 및 각 담당자들의 이력서도 첨부되어야 한다.

2.3 임상시험실시기관, 실험실 및 분석 기관

시험에 이용된 시설의 위치가 확인되어야 하며 생체이용률 시험을 수행하기에 적합한지 여부도 증명되어야 한다. 이것은 시험에 필요한 시설과 생물학적 검체의 분석이나 사람을 시험 대상으로 하는 시험과 관련된 시설의 운용 능력에 관한 것이다. 이러한 사항들은 Good Clinical Practice 또는 Good Laboratory Practice의 기준에 따라야 한다.

2.4 심사윤리위원회

생물학적 동등성 서험은 심사윤리위원회로부터 승인 받아 자료를 제출해야 한다. 이러한 심사는 캐나다의 Medical Research Council(MRC) 또는 이에 준하는 기관의 현행 기준에 따라야 한다. 심사윤리위원회 지침도 문서로 제출되어야 한다.

제3장 피험자 선정

본 장에서는 생체이용률 시험의 피험자 선정 기준에 대하여 기술하고 피험자의 특성이 시험에 미치는 영향에 대해 기술한다. 피험자는 최소 인원이 선정되어야 하며 피험자가 시험을 그만두거나 시험에서 제외되었을 경우 그 사유를 보고서에 포함시켜야 한다.

3.1 피험자 선정

일반적인 약물은 보통 정상적인 건강한 지원자를 대상으로 시험을 실시한다. 시험 담당자는 여성 지원자가 임신하지 않았으며 시험기간 동안 임신하지 않을 것이라는 확인을 해야 한다. 이에 대한 확인은 시험의 최초 투약과 최종 투약 바로 전에 뇨 검사로 해야 한다.

경우에 따라 특정 피험자나 환자를 대상으로 생체이용률을 확인하는 시험을 실시할 수 있다. 예를 들면, 약물의 흡수나 분포의 변화가 동반되는 질환을 치료하는 약물의 경우나 노약자나 어린이 같은 특정 연령군에 사용되는 약물의 경우가 해당된다.

3.2 피험자 선정시 고려사항

피험자 선정에 있어 가장 중요한 것은 피험자 개인의 특

성에 따라 나타날 수 있는 개인의 약물동력학적인 변동을 줄이는 것이다. 시험계획에 있어서 피험자 배치는 시험 변동 유발 인자가 각 피험자간에 균형있게 분배될 수 있도록 하여야 한다.

a) 연령

피험자의 연령은 법적으로 성인인 연령과 장기 기능이 나이와 관련된 변화가 나타나기 시작하는 연령 사이에 있어야 한다. 18~55세의 연령이 적절하다.

b) 신장/체중 비율

건강한 지원자의 신장/체중비율은 Ciba-Geigy 또는 Metropolitan Life Insurance 표에 정해진 정상범위의 15% 이내 이어야 한다.

c) 건강상태

지원자의 건강상태는 건강검진과 간, 신장 및 혈액기능에 대한 통상적인 검사 결과를 통해 내과의사의 진단으로 결정되어야 한다. 약물이 심장에 영향을 미치면 심전도 검사 결과를 첨부해야 한다. 정상치와 다른 실험실적 검사치가 나타났다면 재검사를 실시해야 하며 내과의사의 소견이 요약되어서 첨부되어야 한다. 시험규정에 잘 따르지 않을 것 같거나 시험에 끝까지 참여할 수 없을 것 같은 환자를 배제시키기 위해 내과 의사는 신경학적 증상도 검사해야 한다. 이전에 위궤양 같은 위장관계 질환이나 경련, 우울증, 간질환으로 치료를 받았다거나 시험기간동안 재발 할 위험이 있는 피험자도 배제되어야 한다.

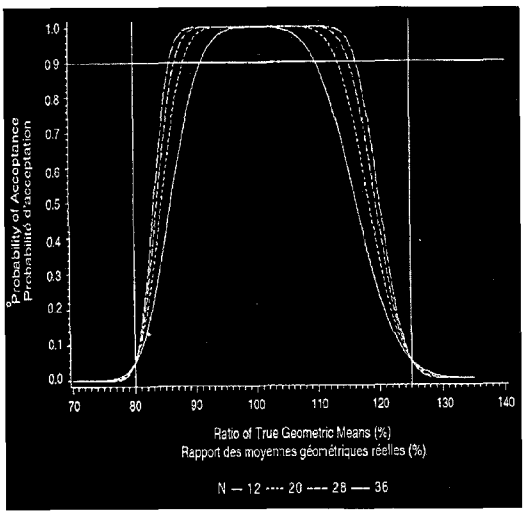
3.3 피험자수

교차시험에 포함될 피험자수는 시험결과 동등성이 입증될 수 있는 적절한 기준과 비교 대상 약물을 고려하여 추정되어야 한다. 정해진 시험예수가 기준에 적합한가는 다음에 의해 산정된다.

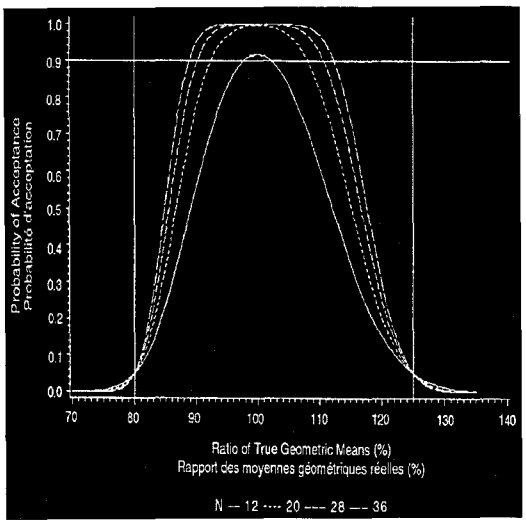
- AUC_T와 C_{max}에 대한 시험약과 대조약간의 예상 평균값의 차이
- AUC_T와 C_{max}에 대하여 피험자내 변동계수(CV)

일반적인 약물에서는 피험자 개인에 있어서의 변동계수는 일반적으로 20% 이하이다. 그러나 잘못된 검체 채취의 결과로 인해 또는 시험이 부적절하게 진행되었다면 피험자내 변동계수가 높아질 수 있다. 최소 피험자수는 12명이지만 흔히 그 이상의 피험자수가 필요하다. 이러한 경우 필요한 피험자수를 추정하기 위해 Figure 3.1에서 Figure 3.3 (피험자내 변동계수가 10, 15, 20%인 경우 피험자수 12, 20, 28 및 36명의 채택확률)에 정한 바와 같이 채택 확률(the acceptance probability)을 사용해야한다.

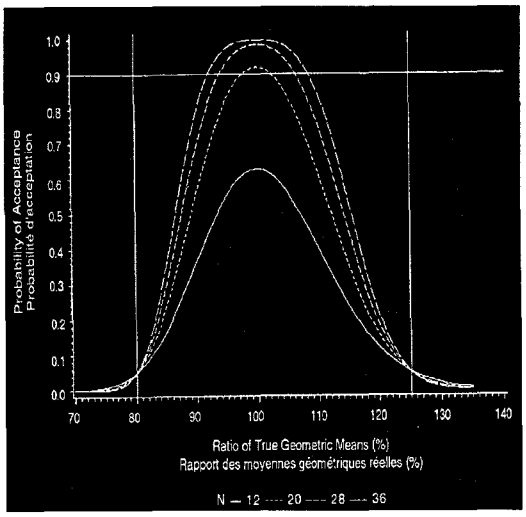
a) pilot 시험이나 문헌상에서 변동계수의 추정치를 얻는다.



(a) CV = 10%



(b) CV = 15%



(c) CV = 20%

Figure 1.1—Probability That 90% Confidence Interval Within 80%-125% Cross-over Design, Intra-subject CV Sample sizes N=12, 20, 28, 36.

b) a)에서 추정한 값에 가장 근접한 CV(10%, 15%, 20%)를 결정하여 그림 3.1~3.3 중에서 하나를 선택한다.

c) 대조약 평균값에 대한 시험약의 평균값의 예상 비율(대체로 100%)을 선택하여 그래프를 채택확률 0.90로 끌어올린다.

d) 주어진 예수사이에 선형의 외삽이 있으면 시험예수는 적절하다.

이러한 예수 계산은 시험계획에 명시되어야 한다.[4)]

예를 들어 90% 신뢰 구간이 80-125%의 생물학적 동등성 구간 내에 포함될 확률은 변동계수와 피험자수에 따라 좌우된다. C_{max}에 대한 변동계수는 더욱 변화가 심하기 때문에 Figure 3.1~3.3을 사용한다면 추정값이 필요하다. 추정값은 Figure 3.1~3.3에서 주어지는 변동계수 중 하나의 근사값이어야 한다. 실제 비율이 90%에서 110% 사이에 있다면 기준을 통과할 확률 0.90을 나타내는 피험자수를 선택한다.

계산된 피험자수보다 더 많은 피험자가 필요하면 추가적으로 선정하여 시험에 포함시켜야 한다. 이것은 중도 포기자와 탈락자를 고려한 것이다. 중도포기자와 탈락자를 포함시키는 두 가지 방법을 이용한다. 첫째, 일정한 수(각 군에 하나 또는 둘)의 지원자를 피험자수에 추가한다. 둘째, 일정한 수의 지원자를 시험에 포함시킨다. 이러한 피험자들은 추가인원으로 선정한다. 중도포기자가 있는 경우에만 적절한 추가인원중 지원자의 혈액 시료를 분석한다. 중도포기자에 대하여 추가로 인원을 충원한 방법을 시험계획서에 개략적으로 설명하여야 한다. 무작위 변동 또는 예상보다 큰 상대적인 차이가 있는 경우, 계산된 피험자수가 기준에 적합할지 여부는 보증할 수 없다. 적절한 예수로 시험이 실시되었어도 그 결과가 기준에 적합하지 않다면 시험의뢰자는 피험자수를 더 늘일 수 있다 (최소 12명). 이러한 경우가 발생하면 시험계획서에 반드시 명시해야 한다. 피험자수를 늘리기 전에 다음 두 가지 기준에 적합해야 한다.

- 동일한 시험방법이 사용되어야 한다. (동일한 처방, 동일한 혈액 채취시간, 최소 12명의 피험자 등)
- 5%의 α 오차율에서 일관성 시험(Consistency test)에 적합해야 한다.

3.4 시험중도포기자 및 탈락자

피험자는 강요에 의하지 않고 시험의 모든 부분에 응할 수 있어야 한다. 피험자수는 중도포기자와와 탈락자가 발생할 수도 있으므로 충분하게 선정하는 것이 바람직하다. (3.3 피험자수) 시험에서 탈락된 사유(예; 이상 약물 반응)를 보고하여야 하며 피험자의 혈장(혈액 또는 혈청)농도 자료를 첨부하여야 한다. 시험에서 탈락된 피험자로부터 측정된 모든 검체의 측정결과도 보고서에 포함시켜야 한다. 피험자가 개인적인 이유로 중도에서 시험을 포기하였다면 혈액 검체를 분석할 필요는 없다. 보상대책은 시험 시작 전에 구체화하여야 하며 피해보상은 Medical Research Council of Canada 또는 이에 준하는 기준에 적합한 것이어야 한다.

제4장 시험계획 및 조건

생체이용률 시험 계획은 약물 이외의 것에서 기인한 오차를 최소화하고 가능한 한 편향(bias)을 제거해야 된다. 본 장의 기준은 일반적인 경우에 적용되는 것이다. 시험 시작 전에 HPB(Human Protection Branch)와 협의한 후에는 다른 계획도 가능하다.

4.1 표준화

시험의 매 단계마다 시험조건(예를 들어 운동, 음식 섭취, 흡연, 음주)을 동일하게 하기 위해 노력해야 한다. 비흡연자를 시험대상으로 하는 것이 바람직하며 흡연자가 포함되었으면 흡연자를 명시해야한다.

피험자는 시험전과 시험중의 일정 기간동안 알콜성 음료와 OTC 약품을 포함한 어떠한 약물도 복용해서는 안된다. 응급시에 사용한 어떠한 약물에 대해서도 모두 보고하여야 한다(복용량과 복용시간). 규정된 시험계획에 벗어난 피험자들의 결과를 배제시킬 것인지 포함시킬 것인지는 통계분석 시작 전에 결정해야 한다.

4.2 맹검시험

가능하다면 피험자가 복용하는 제제가 무엇인지 알지 못하도록 시험을 실시하여야 한다. 더욱이, 부작용을 조사하는 사람과 검체를 분석하는 사람은 시험제제가 어떤 제제인지 알아서는 안된다. 약물 투여에 관련된 사람과 환자를 감독하는 사람 또는 혈장 데이터 분석자 역시 복용제제가 무엇인지 알지 못하도록 해야한다.

4.3 시험계획

기본 시험계획은 2기의 교차시험으로 각 피험자는 시험약과 대조약을 복용한다. 두 가지 이상의 제제를 시험하거나 다른 조건에서 시험할 경우 피험자는 제한적이며 무작위 계획에 따라 투여하는 약물을 복용하여야한다. 그러나 한달 이상 동안 약물을 투여하여야 한다면 불완전화 블록 균형 계획(balanced incomplete block design)을 고려할 수 있다.

4.4 음식물과 음료의 섭취

음식물과 음료의 섭취는 주의 깊게 조절되어야 한다. 보통 피험자들은 약물 복용전 10시간 동안 절식을 해야 한다. 절식은 음식물이나 고형물을 먹지 않는 것을 의미하나 알콜이나 xanthine이 함유되지 않은 투명 음료는 시험전날 밤에 섭취할 수 있다. 시험당일 아침 약물 복용 2시간 전까지는 250 ml 이하의 물을 마실 수 있다. 약물 복용은 표준 온도에서 표준 용량의 물(250 ml)과 함께 복용해야 한다. 약물 복용 2시간 후에 250 ml의 xanthine이 함유되지 않은 음료를 마실 수 있다. 약물 복용 4시간 후에는 표준 식사를 섭취할 수 있다. 모든 식사는 표준화되어야 하며 각 시험일 마다 동일한 식사를 하여야 한다. 경구용 제제를 정맥주사용 제제와 비교하는 경우에는 정맥주사용 제제에 대해서도 위와 같은 음식물과 음료의 제한을 적용해야 한다. 어떤 약물들은 위장관계 부작용을 줄이기 위해 식사와 함께 투여될 수도 있다. 이러한 약물의 시험은 표준 식사로 시험을 실시하여야 한다. 식사와 함께 제제를 투여하는 시험에서, 음식 종류는 약물 및 제제의 생리 화학적 성질과 약물 동력학적 성질에 의해 결정된다. 이것은 생체이용률의 변화를 증명할 가능성이 가장 큰 음식의 종류를 선별하기 위해서이다. 식사는 미리 결정된 일정한 약물 투여 시간 내에 해야 한다. 식사 시간 및 식사량을 신중하게 결정해야 한다.

4.5 자세 및 육체활동

대부분의 약물에 있어 피험자는 약물 복용 후 적어도 2시간까지는 누워 있어서는 안된다. 위장관계 혈류 및 운동성에 미치는 영향을 최대한 제한시키기 위해 육체활동 및 자세를 표준화하여야 하며 매일 자세와 행동을 같은 양상으로 유지시켜야 한다.

4.6 휴약기간

휴약기간은 전회에 투여된 약물이 모두 체외로 배설될 수 있는 충분한 기간을 두어야 한다. 휴약기간은 모든 피험자에게 똑같이 적용되어야 하고 피험자들 사이의 약물의 소실률이 다르기 때문에 보통 약물의 평균 최종 반감기의 10배 이상이어야 한다. 보통 휴약기간은 3주에서 4주를 초과해서는 안된다. 또한 약물은 매 시험일 마다 같은 시간에, 가능하면 일주일 중 같은 요일에 투여되어야 한다.

4.7 검체 채취 시간

혈액이나 뇨의 채취는 기지의 무한대까지 AUC(AUC_I)의 최소 80%를 감안해서 충분한 시간 동안 실시하여야 한다. 이 기간은 대개 약물의 최종 반감기의 적어도 3배 이상이어야 한다.

관련 약물동력학적 평가 파라미터를 계산할 수 있도록 하기 위해 투여량에 대하여 12개-18개의 검체를 채취하여야 한다. 피험자 내 변동으로 인해 검체의 수와 보관을 고려하여야 한다. 정확한 검체 채취시간을 기록하여야 하며 다음 항목을 정확하게 추정할 수 있도록 일정 간격으로 검체를 채취하여야 한다.

a) 혈중 최고 약물 농도 (C_{max})

b) 알려진 AUC_I의 적어도 80%에 해당하는 AUC(혈중농도-시간 곡선하 면적)

c) 약물의 최종 소실 상수(the terminal disposition rate)

단지 몇 개의 시점에서만 직선 회귀선을 작성하여 최종 소실 상수를 추정한다면 상당히 부정확한 추정치를 얻을 수 있다. 이러한 부정확성을 감소시키기 위해 곡선의 최종 log-선상 구간에서 네 개 또는 그 이상의 시점을 측정하는 것이 바람직하다고 할 수 있다. 뇨를 검체로 사용할 경우에는 신장 배설률과 신장 배설량을 추정할 수 있도록 충분한 양을 채취해야 한다.

4.8 혈액이나 뇨의 채취

일반적인 경우에는 약물의 농도를 측정하기 위한 체액으로서 혈액을 채취하여야 한다. 대부분의 경우 약물은 혈청이나 혈장에서 측정된다. 그러나 어떤 경우에 있어서 전혈을 분석에 사용해야 더 적절한 경우가 있다. 혈액 농도가 너무 낮아 검출하기 어렵거나 약물의 실질적인 양(40% 이상)이 뇨를 통하여 변화되지 않은 채로 그냥 배설된다면 뇨를 채취해도 가능하다.

뇨 채취 시 채취 직후 검체의 용량을 측정하여 보고서에 기재하여야 한다. 뇨는 최종 소실 반감기의 3배 이상의 시간 동안 채취하여야 한다. 24시간 동안 실시하는 시험에 있어서는 검체 채취 시간을 0~2, 2~4, 4~8, 8~12, 12~24 시간 동안 하는 것이 적절하다. 각 뇨 검체에 대하여 크레아티닌의 양을 측정하는 것이 필요하다.

때때로 혈액이나 뇨 이외의 다른 체액에서 약물 농도를 측정하는 것이 효과와 더 상관성 있을 수 있다. 그러나 약물은 뇌척수액, 기관지 분비물 등과 같은 다른 체액으로 분포하기 전에 먼저 흡수되어야 한다. 따라서 생체이용률의 추정에 있어서 혈액을 계속해서 검체로 이용하고 있다.

4.9 검체의 취급

검체는 분석성분이 심하게 분해되지 않는 상태로 보관 및 처리되어야 한다. 표준품을 넣어 조제한 검체가 잘못된 결과치를 나타내는 경우에는 시험에 참여한 피험자의 검체가 적

절한 보관 조건에 있었는지 확인해야 한다.

4.10 이상반응 및 부작용의 확인

어떤 경우에는 원료약품분량중 활성성분 외의 다른 요인에 의해 이상반응이 발생할 수 있다. 약물의 흡수속도와 제제중의 부형제가 이상반응의 빈도, 발현 및 정도에 영향을 미칠 수 있다. 시험 중 나타난 이상반응과 부작용의 발생률, 반응정도 및 기간을 보고하여야 하며 시험담당자는 약물에 의한 부작용 발생 가능성을 판단하여야 한다. 이상반응을 파악하고 기록할 때 모든 피험자에게 동일한 양식을 사용하여 동일한 관찰자에 의해 작성되어야 한다. 이상반응 및 부작용에 관한 질문들은 시험의 내용을 모르는 관찰자(맹검시험)에 의해 각 시험일마다 행해져야 한다. 이미 알려진 이상반응과 부작용-예를 들어, 금속성 맛, 기립성 저혈압, 심장 부정맥-을 가진 약물들에 대해서는 피험자들에게 약물 투여시간을 고려하여 부작용이 나타난다고 알려진 시간에 부작용과 관련된 구체적인 질문들을 행하고 혈압측정 및 심전도검사를 하여야 한다. 질문을 함에 있어서 질문자는 피험자가 이상반응을 예상하거나 또는 예상할 수 없도록 유도해서는 안된다. 또한 피험자에 대한 질문은 개별적으로 해야 한다.

제5장 시험약과 대조약

이 부분은 품질, 용법 및 용량을 포함하여 대조약과 시험약으로서 필요한 사항에 대하여 문서화하는 것에 대하여 기술한다. 시험약과 대조약은 고품질이어야 하며 시험에 어떠한 대조약을 사용하였는지 또한 시험약의 투여용량 및 주성분의 분량에 대한 사항이 시험보고서에 기재되어야 한다.

5.1 화학

시험약과 대조약은 Schedule B나 HPB(Health Protection Branch)에서 수용 가능한 정도의 규정에 적합하여야 한다. C.08.005(1)과 C.08.002(2)에 각각 기술된 일반적 기술 요구사항의 해석은 신약과 전 임상 시험 약물의 제출자료에 대한 화학적 기준 및 제조에 대한 규정을 참고해야 한다.

5.2 투여 용량과 주성분의 분량

생물학적 동등성 시험에는 각 제제의 동일 투여 용량을 사용해야 한다. 비교 생체이용률 시험에 사용된 롯트들은 서로 크기가 유사하며 시판될 때와 동일한 장비와 동일한 과정으로 제조된 배치에서 선택하여야 한다. 즉, 비교 생체이용률 시험에 사용하는 롯트는 시판될 생산 배치를 대표할 수 있는 것이어야 한다.

부형제의 함유비율이나 용출양상이 동일한 일반적인 약물들은 한가지 용량에 대해서 생체이용률을 입증하는 것으로 충분하다. 용량이 다른 의약품들의 모든 용량에 대한 생체이용률시험 실시여부는 각 용량마다 처방이 변경된 정도에 따라 달라진다. 복잡한 약물 - 치료영역이 좁고, 단일 - 용량 시험에 영향을 미치는 비선형 동력학적 성질을 갖고 있거나 기울기가 큰 용량 - 반응 곡선을 나타내는 약물들은 약물의 각 용량에 대한 생체이용률이 입증되어야 한다.

5.3 대조약 선정

신약(즉, 처음으로 시판되는 약)에 대해서 가능한 경우 경구용 액제를 대조약으로 사용하여야 한다. 경구용 액제는 정맥주사용 제제가 있다면 이를 사용하여 경구용 액제를 조제할 수 있다. 생물학적 동등성 시험에서 대조약은

- Food and Drug Regulations의 C.08.004절에 의하여 적합하다고 인정되었으며 시판되고 있는 완제품
- Director에 적합한 완제품

제6장 시험방법

생체이용률 측정은 주성분, 경우에 따라 대사체의 분석법의 타당성에 의해 달라진다. 이 부분은 분석방법에 있어서 선택성, 범위, 정밀성, 정확성을 확립하여 보고서에 기재하여야 할 분석법 및 발리데이션의 세부사항들에 대하여 기술하고 있다.

6.1 주성분 및 대사체

생체이용률의 측정은 신뢰성, 정밀성 및 정확성을 가진 분석법으로 시간에 따라 주성분 또는 그 대사체를 분석하는 가에 달려있다. 일반적으로 모화합물(parent drug) 또는 활성성분을 측정하는 것이 적절하다. 그러나 어떤 경우에는 대사체를 측정하는 것이 필요하다. Prodrug가 투여된 경우에는 활성성분을 측정해야 한다.

6.2 분석법

혈장, 혈액, 혈청 또는 뇨에서의 주성분이나 대사체 또는 이 두가지 모두를 측정하는데 사용하는 분석법은 재현성이 있으며 특이적이고 충분한 감도, 정밀성 및 정확성을 가지고 있어야 한다. 이러한 분석항목이 분석실에서 적절히 이루어져야만 시험담당자들이 생체이용률 시험을 실시할 수 있다.

GLP에 따라 시험전 발리데이션과[5] 더불어 시험중 각 분석 과정에 대하여 분석이 적절히 행해지고 있는가(정확성, 정밀성, 품질관리)에 대한 자료를 제출하여야한다.

6.3 안정성

검체의 안정성을 유지하기 위하여 4.9 "검체의 취급"에 의해 검체를 취급한다.

6.4 정량 한계(Limit of Quantitation; LOQ)

예상 농도 범위 이상의 분석물질을 시험할 수 있는 분석법을 선택하여야 한다. 대체로 20% 이하의 일내 변동계수와 일간 변동계수를 근거로 신뢰성이 있는 정량한계가 정해져야 한다. 검출한계(Limit of Detection; LOD)는 대체로 정량한계보다 낮다. 정량한계와 검출한계 사이의 값들은 "정량한계 이하"로 판명된다.

6.5 특이성

생물학적 구성성분, 영양성분, 대사체와 분해산물 등의 내인성 성분이 분석법에 영향을 미치지 않는다는 것을 증명해야 한다. 입체 특이적인 방법이 사용되는 경우에 특이성에 대한 입증자료를 제출해야 한다. 시험대상과 동일한 종의 검체의 생체 구성성분(혈장)중 적어도 6개의 각기 다른 부분에서 실험하여 특이성을 입증해야 한다.

6.6 재현성

검체 준비과정중 약물의 절대적인 회수율의 재현성을 예상 농도범위의 저농도, 중간농도, 고농도에서 실험하여 입증하여야 한다.

6.7 표준곡선

검체중의 분석물질을 신뢰성있게 분석할 수 있는 농도범위내에서 최소 5개의 농도로 검량선을 구한다. 매 시험일마다 검량선을 작성한다. 검량선의 일내변동과 일간변동을 검체측정중 얻은 변동계수와 함께 기재하여야 한다. 이러한 항목들은 검량선의 타당성을 입증하는데 사용할 것이다. 사용된 검량선의 수는 혈중농도범위와 농도 - 검출반응의 상관관계를 나타내는 것이다. 검량선은 적절한 대수학을 사용하여 구해야 한다.

6.8 정밀성과 정확성

검체중 약물의 농도를 예상농도 범위내에서 고농도, 중간농도, 저농도로 하여 분석법의 정밀성과 정확성을 측정해야 한다. 일간 및 일내의 정확성은 정상치의 15% 내에 들어야 한다. 정밀성의 변동계수는 15% 이하이어야 하며 정량한계의 변동계수는 20% 이하이어야 한다.

6.8.1 시료의 중복 분석 – 일반적으로 검체 분석은 1회가 적합하며 첫 번째 검체 분석시 분석해야 할 검체 중 15%를 무작위로 선정하여 다시 분석해야 한다(혈액검체가 중복 분석하기에 불충분하다면 예비시험으로 확인해야 한다).

두 번째로 측정한 것은 첫 번째 측정과 합쳐 평균을 구하지 말고 단지 검체간 편차만 각각 요약하여 보고해야 한다. 재분석의 목적은 분석대상 검체로 부터 구한 정밀도가 기지농도의 표준품을 첨가한 검액 또는 품질관리용 검액으로 부터 구한 것과 비슷하다는 것을 입증하는데 있다.

계획된 분석법으로 필요한 정밀도를 확인 할 수 없다면 모든 검체에 대하여 중복 측정을 하여야한다. 이런 경우에 중복 측정된 결과에 대한 평균을 구하여야 할 것이다. 검체간 편차를 각각 기재하여야 한다.

6.9 품질 관리

안정한 분석물질의 경우 검량선 영역에서 최소한 저농도, 중간농도, 고농도의 품질관리용 검액(예; 혈장)을 준비하여야 한다. 품질관리용 검액은 시험 검체와 함께 보관되어야 한다. 품질관리용 검액은 시험대상 지원자로부터 얻는 검체와 여러 가지 특성들이 비슷한 것으로 나타나면 안정성에 대해 적합한 것으로 한다.

불안정한 분석물질의 경우에는 매일 또는 매주 품질관리용 검액을 준비하여야 한다.

세가지 농도에 대해 각 두 개씩 최소 여섯 개의 품질관리용 검액을 각 분석시험마다 각 시험 검체와 함께 맹검시험으로 분석하여야 한다.

6.10 이상 수치 (반복 분석)

대부분의 시험에서 일부의 혈액/혈장/혈청 또는 뇨 검체들은 재분석이 필요할 것이다. 이들 검체를 구분하기 위한 기준이 미리 정해져야 한다.

분석암호를 밝히기 전에 특정 이상 수치를 미리 확인할 수 있으며 이들 수치는 다음 각 요인에 기인한다.

- 조작상의 실수
- 시험 장비 고장
- 크로마토그램의 분석 이상
- 규정된 허용오차를 벗어나는 품질관리용 검액

분석 암호가 밝혀진 후 또 다른 뚜렷한 이상 수치가 발생할 수 있다. 이런 경우에는 초기 분석 수치가 약물 동력학적 양상에 맞지 않을 수 있다(이것은 매우 신중하게 적용되어야 한다). 어떤 경우에는 이중 피이크를 확인할 필요가 있다. 분석 암호가 밝혀진 후에 분명하게 나타나는 이상 수치에 대해서 반복 분석을 실시하였다면 그 이유를 반드시 기재하여야 한다.

반복 분석의 결과가 초기 분석 결과와 15% 이상 다르게

나타나면 세 번째 분석을 해야 한다. 세 번의 반복분석으로 잘못된 분석을 찾아냈다면 나머지 두 번의 분석치로 평균을 구하여 시험에 사용해야 한다. 반복 분석치중 계산상에 포함된 반복수치 선정에 사용된 기준을 기재하여야 한다.

제7장 데이터 분석

모든 검체의 측정이 완료되면 모아진 자료를 분석하여야 한다. 이 부분에서는 기록되어야 하는 자료, 자료의 비교항목, 통계 분석, 기록하는 보고서 양식에 대해 기술한다.

7.1 생물학적 동등성의 기준

일반적인 약물에 대해 다음의 단회 투여에 의한 교차 비교 생체이용률 시험으로부터 얻은 기준으로 생물학적 동등성을 판단한다.

a) 대조약에 대한 시험약의 AUC_T 상대 평균치에 대한 90% 신뢰구간이 80%에서 125% 이내이어야 한다.

b) 대조약에 대한 시험약의 C_{max} 상대 평균치는 80%에서 125% 이내이어야 한다.

이러한 기준들이 다음의 각 항으로부터 계산되어 log 값으로 변환된 비교 평가 항목으로 평가시 적합해야 한다.

- 측정 자료
- 8.10에 나타낸 예와 같이 측정된 약물의 함량(표시량의 함량)으로 보정된 자료

이러한 AUC 기준은 HPB(Health Protection Branch)에 의해 사용되는 기준을 개정한 것이며 이 기준은 흡수속도를 나타내는 C_{max}에 대한 기준을 보충한 것이다. AUC와 C_{max} 기준을 조합시켜 일반적인 약물에 대한 흡수속도의 차이에 있어 한계를 나타낸다(t_{max}가 적절한 비교 평가 항목인 것처럼 보일 수 있지만, 정확하게 입증하기에는 종종 어려움이 따른다. 약물마다 t_{max} 차이의 유의성이 다르다).

주의: 이러한 기준들은 생물학적 비 동등성을 측정하기 위한 것은 아니다.

7.2 데이터 제출

각 피험자에 대한 혈장 중(또는 혈액이나 혈청) 약물 농도, 검체 채취시간 및 사용한 제제에 관한 사항을 표로 작성하여 기재하여야 하며 보정되지 않은 측정 농도 역시 기재하여야 한다. 시험계획에 위반된 사항(예; 검체 분실 또는 검체 채취 시간의 지연)이 있으면 표에 명확하게 기재하여야 한다. 각 피험자에 대한 그래프와 모든 피험자의 평균값에 대한 그래프를 선형 그래프와 세미로그 그래프 두 가지로 그려야 한다. 대조약과 시험약의 약물농도를 검체 채취시간에 대한 그래프로 작성하여야 하며 자연로그를 적용하여야 한다. 대체로 세미로그 그래프는 시험약과 대조약에 대한 최종 소실 상수(λ) 추정에 사용할 수 있도록 회귀선을 표시한다.

7.3 약물동력학적 평가 항목

다음과 같은 약물 동력학적 평가 항목을 각 피험자-시험약 및 대조약에 대하여 계산하고 표로 작성하여야 한다.

a) AUC_T - 사다리꼴 공식을 이용하여 최종 정량 가능한 농도까지 측정된 혈중 약물 농도-시간 곡선하 면적

b) AUC_I - AUC_T에 λ를 이용하여 계산한 무한대까지 외삽한 영역을 합하여 구한 혈중 약물 농도 - 시간 곡선하 면적

c) AUC_T/AUC_I - AUC_I에 대한 AUC_T의 비율

d) C_{max} - 최고 혈중 약물농도

e) t_{max} - C_{max}가 나타난 시간

f) λ- 최종 소실 상수

이외의 약물 동력학적 평가 항목을 구하여 제출 할 수도 있으나 사용된 측정방법을 충분히 기술하여야 한다. 각 피험자의 시험제제에 대한 약물 동력학적 평가항목 뿐만 아니라 모든 농도와 검체 채취시간이 컴퓨터로 읽을 수 있는 양식으로 제출되어야 하고, 이밖의 사항에 대해서는 Bureau of Pharmaceutical Surveillance에서 출판된 Computer Format for the Submission of Data for Comparative Bioavailability Studis를 참고한다.

7.4 통계 분석

7.4.1 분산분석(ANOVA) – 각 시험에 있어서 모든 결과에 대해 적절한 통계 시험을 포함한 분산 분석(ANOVA) 표를 시험자료와 함께 제출하여야 한다. 시험계획과 시험 실시에 적합한 분산 분석 결과는 충분히 유의성이 있는 수치로 나타내어 이후의 계산도 가능하도록 하여야 한다. 데이터 분석은 모든 피험자(3.4 "시험 중도포기자 및 탈락자 참조)의 시험자료를 전부 포함하여야 한다. 일부분을 선택하거나 분석에서 처음부터 제외되었던 피험자에 대한 보충 분석도 시행할 수 있다. 그러한 경우 제외 사유는 타당하여야 한다. 단일 피험자-시험제제에 대한 자료의 10% 이상이나 피험자의 5% 이상을 배제시키는 것은 거의 적합하다고 볼 수 없다.

ANOVA는 t_{max}, λ과 로그값으로 변환시킨 AUC_T, AUC_I, C_{max}에 대해 실시하여야 하며 각 평가 항목에 대한 분석과 그 결과는 8절 "비교 생체 내 이용률 시험에 대한 검체 분석"에서 자세하게 설명된 것처럼 각 페이지마다 기재되어야 한다. 각 기재된 결과는 다음을 포함하고 있어야 한다.

Table I–*Pooled ANOVA for Testing Formulation by Study Interaction from S Two-Period Cross-over Studies of Size N_i*

SOURCE	df	F-RATIO DENOMINATOR	p-Value
Study	S-1	Subject(Study)	-
Subject(Study)	$\sum (N_i-1)$	Residual	-
Period(Study)	S	Residual	-
Formulation	1	Residual	-
Formulation by Study	S-1	Residual	>.05
Residual	$\sum (N_i-1)$	-	-

In order to combine studies, the formulation by study interaction effect should not be significant at the 5% level. The construction of the confidence intervals should be based on least-square means and the residual from this ANOVA.

a) 각 시험제제에 대한 (피험자의)평균 및 변동계수

b) 요인, 자유도, 평방화, 평방평균, F value, P value, 피험자간 및 피험자내 변동계수를 포함한 분산

c) 시험약과 대조약에 대한 AUC_T 비과 C_{max} 비

d) 평균 AUC_T에 관한 90% 신뢰구간

e) 각 제제에 대해 측정 내용의 추정치와 측정 내용에 대해 보정된 c)와 d) 각각에 대한 table

7.4.2 시험결과 병합을 위한 적합성 시험(consistency test) - 두 개 이상의 시험을 실시하였을 경우, 다음의 사항들을 만족시키면 두 시험을 병합할 수 있다.

a) 모든 시험에 동일한 방법이 사용되어야 한다.

특히 이것은 동일한 분석 방법, 동일한 검체 채취시간, 동일 롯트의 동일한 제제를 사용해야 한다는 것을 의미한다.

b) 병합하는 것이 의미있는 것인지 확실하게 하기 위하여 두가지 적합성 시험을 수행해야 한다.

첫 번째 시험은 잔차의 평균평방의 동등성 시험이다. 첫 번째 시험의 잔차와 나머지 시험의 잔차에 대한 비율을 구한다(각 비율에서, 두 개의 잔차 중 더 작은 것을 분모로 사용하여야 한다). 이 비율은 잔차와 관련된 자유도를 이용하여 F 검정과 비교한다. 이 비율이 5% F value보다 크면 시험결과는 병합하지 않아도 된다. 두 번째 시험은 시험제제와 시험의 교호작용(interaction)이며 Table 7-A와 같이 실행된다.

결 론

이상에서는 캐나다의 생물학적 동등성 시험 기준을 소개하였다. 캐나다의 일반의약품의 역사는 미국보다 앞서 1969년 특허법을 개정하면서 생물학적동등성에 관한 연구를 시작하였고, 1974년에 전문가 자문 위원회를 발족하여 1980년대 초에는 생체이용률의 정의를 발표하기에 이른다.[6] 이후 1989년 Bio'International Conference에서 생물학적 동등성 시험기준의 국제적인 조화를 위한 협의를 통해 생물학적 동등성 시험 기준의 발판을 마련하여 1992년 Therapeutic Products Directorate에서 생물학적 동등성 시험 기준인 "Conduct and Analysis of Bioavailability Studies : oral dosage formulations used for systemic effects"를 발표하였다. 이 지침은 시험 계획 및 시험디자인 측정방법, 데이터 분석법 등을 실례를 포함하는 매우 포괄적인 내용을 담고 있으며 우리나라의 것과 몇 가지 다른 점이 있다. 시험책임자 및 시험담당자의 임무와 책임을 명확히 규정하고 있으며 시험에 필요한 시설과 분석능력 등을 철저히 검사하고, 시험대상자의 연령을 18-55세까지의 성인을 대상으로 하고 있다. 피험자수를 결정한 근거도 요구하고 있으며 추가시험을 인정하고 있다. 또한 생체이용률 평가파라미터에 대해 로그변환하도록 되어있어 각 파라미터들을 미 변환된 수치를 그대로 적용하도록 되어있는 현행 우리나라의 기준과 다르다.

앞으로 약효 동등성을 확보하기 위한 일환으로 생물학적 동등성 시험의 실시가 증가될 것으로 전망된다. 생물학적 동등성 시험이 사람을 대상으로 하는 임상시험인 만큼 수행이 매우 어렵고, 비용과 시간이 많이 들며 부작용에 대한 우려가 따른다. 이로 인해 시간적 경제적 효율성을 제고하고자 연구자들은 생체이용률을 예측할 수 있는 여러 가지 다른 방법을 모색하여 왔다. 미국 FDA의 경우 biopharmaceutics classification system을 이용하여 용해도, 장관막 투과도 및 용출률에 따라 약물군을 나누어 *in vivo* 실험의 여러 가지 문제점을 해결할 수 있는 방법을 도입하고[7] 이 개념을 생물학적 동등성 시험에 적극적으로 활용하여 관련 기준을 개정하였다. 또한, 최근에 ICH(International Conference on Harmonization)에서는 의약품의 허가자료 제출에 있어서도 통일화 하려는 추세이다. 이에 우리도 국제적 기준에 부합하도록 윤리적인 측면이나 수행상 고려하여야 할 실제적인 사항들을 규정에 반영함으로써, 우리나라에서 실시한 생물학적 동등성 시험의 결과도 미국, 일본 등의 선진국에서 적용될 수 있도록 관련 규정들을 개정하려는 노력이 필요하다고 생각된다.

문 헌

1) 약사법 시행규칙 제 23조 (2000. 9 .9, 보건복지부령 제 175호).
2) 의약품 등의 안전성 유효성 심사에 관한 규정 (식품의약품안전청고시 제 1999-60호 (1999. 12. 22).
3) Drugs Directorate Guidelines: Conduct and Analysis of

Bioavailability and Bioequivalence Studies-part A: Oral Dosage Formulations Used for Systemic Effects, Health Protection Branch (1992).

4) K.F. Yee, The Calculation of Probabilities in Rejecting Bioequivalence *Biometrics* **42**:961-965 (1986).

5) V. P. Shah et al, Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **81**(3) (1992).

6) I. J. McGilveray and K. Gallicano, Generic Drugs: The Canadian Perspective, Transplantation Proceedings, 31(Suppl 3A), 16S-18S (1999).

7) Guidance for Industry: Waiver of in vivo Bioavailability and Bioequivalence studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. CDER, US FDA (2000).