

케타스캡셀(이부딜라스트 10 mg)에 대한 딜라스트캡슐의 생물학적동등성

장규영* · 강승우* · 유은주* · 유수현*** · 이경률*** · 이희주***†

*바이오코아주식회사, **서울의과학연구소, ***비이의원
(2007년 5월 2일 접수 · 2007년 6월 8일 승인)

Bioequivalence of Dilast™ Capsule to Ketas® Capsule (Ibutilast 10 mg)

Kyu Young Chang*, Seong Woo Kang*, Eun Ju Yoo*, Soo Hyun Lew***, Kyung Ryul Lee*** and Hee Joo Lee***†

*Drug Development Supporting Service Division, BioCore Co., Ltd., Seoul 137-130, Korea

**Department of Pharmacokinetics, Seoul Medical Science Institute, Seoul Clinical Laboratories, Seoul 140-809, Korea

***Bio-Equivalence Clinic, Seoul 137-130, Korea

(Received May 2, 2007 · Accepted June 8, 2007)

ABSTRACT – A bioequivalence study of Dilast™ Capsule (Chong Kun Dang Pharma. Co., Ltd.) to Ketas® Capsule (Han Dok Pharma. Co., Ltd.) was conducted according to the guidelines of Korea Food and Drug Administration (KFDA). Twenty eight healthy male Korean volunteers received each medicine at the ibutilast dose of 20 mg in a 2×2 crossover study. There was one week wash-out period between the doses. Plasma concentrations of ibutilast were monitored by a liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for over a period of 36 hours after drug administration. AUC_t (the area under the plasma concentration-time curve from time zero to 36 hr) was calculated by the linear trapezoidal rule method. C_{max} (maximum plasma drug concentration) and T_{max} (time to reach C_{max}) were compiled from the plasma concentration-time data. Analysis of variance was carried out using logarithmically transformed AUC_t and C_{max}. No significant sequence effect was found for all of the bioavailability parameters indicating that the crossover design was properly performed. The 90% confidence intervals of the AUC_t ratio and the C_{max} ratio for Dilast™ Capsule/Ketas® Capsule were log 0.93~log 1.06 and log 0.93~log 1.11, respectively. These values were within the acceptable bioequivalence intervals of log 0.80~log 1.25. Thus, our study demonstrated the bioequivalence of Dilast™ Capsule and Ketas® Capsule with respect to the rate and extent of absorption.

Key words – Ibutilast, Dilast™ Capsule, Ketas® Capsule, Bioequivalence, LC-MS/MS

이부딜라스트(ibutilast; 3-isobutyryl-2-isopropylpyrazolo[1,5-a]pyridine)는 비선택적인 cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDEs) 억제제로 뇌허혈 발작과 기관지 천식치료로 널리 이용되고 있다. PDEs 억제를 통하여, 혈소판응집을 막고, 혈압 감소 등의 시스템적인 작용없이 선택적으로 뇌혈관을 확장하여 뇌혈류를 향상시키며, 알리지반응을 감소시킨다. 그 외, 이부딜라스트는 cGMP를 상승시켜 정상세포(astrocyte)의 세포자멸(apoptosis)을 유도하는 H₂O₂를 감소시킨다. 또한, 정상세포(astrocyte)와 미세교세포(microglial cell)로부터 tumor necrosis factor- α (TNF α)가 방출되는 것을 막아서 뉴런 변성을 감소시키는 것으로 밝혀졌다.^{1,2)}

이부딜라스트 10 mg을 건강한 성인에 경구투여시 C_{max}는 약 25 ng/mL, T_{max}는 약 4시간, 혈중소실반감기는 12시간으로 보고되어 있다.³⁾ Pang et al⁴⁾에 따르면 이부딜라스트

20 mg을 건강한 성인에 경구투여시 C_{max}는 약 46.29 ng/mL, T_{max}는 약 5.11시간, 혈중소실반감기는 7시간으로 보고되어 있다.

국내의 이부딜라스트 제제는 주식회사한독약품의 “케타스캡셀” 제제가 사용되고 있다. 처방된 이부딜라스트 제제를 성분, 함량 및 제형이 동일한 다른 제제로 대체하여 조제하기 위해서는 약사법 제 23조의 2에 근거, 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준⁵⁾에 따라 생물학적동등성 시험을 실시하여 대조약과 생물학적으로 동등하다는 것이 입증되어야 한다.

따라서 이 연구에서는 주식회사종근당의 “딜라스트캡슐” 이 주식회사한독약품의 “케타스캡셀”과 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 생물학적동등성시험기준⁵⁾에 따라 건강한 성인 남성 지원자 28명에게 2정(이부딜라스트 20 mg)씩을 경구투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC_t)과 최고 혈중 농도(C_{max}) 등의 생체이용

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)3461-9133, E-mail : heejoolee0@yahoo.co.kr

를 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적 동등성을 평가하였다. 이 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 받은 후 시험계획서에 따라 수행되었다.

실험 방법

시약 및 기기

시험약으로 주식회사종근당의 “딜라스트캡슐”(제조번호: IQ001, 사용기한:2006. 4. 25), 대조약으로 주식회사한독약품의 “케타스캡셀”(제조번호:1418502, 사용기한:2008. 3. 3)을 사용하였다.

이부딜라스트의 혈중 농도 분석 시험에 사용한 이부딜라스트 표준품과 내부표준물질인 염산데시프라민(desipramine hydrochloride) 표준품은 Sigma사(St. Louis, MO, 미국)에서 구입하였다. 이동상으로 사용된 아세토니트릴은 Fisher Scientific사(Springfield, NJ, 미국)의 HPLC급 시약을 구입하여 사용하였으며, 시료 전처리에 사용한 ethyl ether 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

비교용출시험은 SR6 자동용출시험기(Hanson Research Co., Chatsworth, CA, 미국)와 자외부 분광광도계 UV-265 (Shimadzu Co., Kyoto, 일본)를 사용하였다. 또한 약물분석기기로 HPLC는 Surveyor MS Pump Plus(ThermoFisher Scientific Inc., San Jose, CA, 미국)를, 시료주입을 위한 자동 시료주입기는 HTS-PAL(CTC ANALYTICS, Toronto, Ontario, 캐나다)를, 탠덤질량분석기(MS/MS)는 TSQ Quantum Discovery MAX(ThermoFisher Scientific Inc., San Jose, CA, 미국)를 사용하였다. 분석 컬럼은 Capcell Pak C18 UG120(2.0×150 mm, 5 μm, Shiseido, Tokyo, 일본)를 사용하였으며, 컬럼 보호를 위해 0.5 μm의 stainless steel frit 조합형 (ChemTech Korea, 서울, 한국)을 장착하였다. 데이터 처리장치로는 Xcalibur Ver. 1.4(ThermoFisher Scientific Inc., San Jose, CA, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

“케타스캡셀”과 “딜라스트캡셀”의 비교용출시험을 생물학적동등성시험 대상 생산로트에 대하여 수행하였다. 대조약과 시험약을 각각 취하여 대한약전 일반시험법 중 용출시험법의 제 1법(회전검체통법) 및 제 2법(패들법)에 따라 시험하였다. 용출액으로는 의약품동등성시험관리규정⁶⁾의 서방성제제에 대한 용출시험 조건에 따른 각 용출 매질 900 mL를 사용하였다. 즉, 제 2법으로는 봉해시험법의 제 1액(pH 1.2), 인산염 완충액(pH 4.0), 봉해시험법의 제 2액(pH 6.8), 정제

수를 사용하였고, 제 1법으로는 봉해시험법의 제 2액(pH 6.8)을 사용하였다. 37±0.5°C에서 제 2법으로는 50 rpm으로, 제 1법으로는 100 rpm으로 시험하여 용출 개시 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 12 및 24시간에 용출액을 채취하고 0.45 mm 멤브레인 필터로 여과시켰다. 각 용출액을 대조액으로 하여 319 nm 및 360 nm에서 흡광도를 측정하여 흡광도 차를 구하였다.

피험자 선정

피험자는 생물학적동등성시험 지원자 모집 공고를 통하여, 19~55세의 건강한 성인 남성으로서 과거에 소화기계, 간장, 신장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액 질환의 병력이 없고 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 지원자를 모집 공고하고 지원자 39명을 모집하였다.

지원자 39명에 대한 건강진단은 서울시 서초구 양재동 108-1번지 소재 비이의원에서 실시하였다. 지원자들은 전문 의의 문진과 내과적인 진찰을 받고 임상병리검사를 실시하였으며 이들 중 피험자 선정기준 및 제외기준에 따라 선정기준에 모두 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 자로서 건강한 사람으로 판정된 28명을 피험자로 선정하였다. 본 시험의 피험자로 최종 선정된 사람들은 남성으로서 평균체중 69.5 kg(57~85 kg), 평균연령 25.7세(23~30세)이었다.

본 시험에 참여하는 지원자는 피험자에 대한 생물학적동등성시험 설명서에 의거한 설명회를 통하여 이 시험의 목적, 시험약의 특성, 시험내용, 주의사항 및 보상 내용에 대한 설명과 질의 응답을 거쳐 시험내용에 대해 충분히 숙지한 후 자발적인 의사에 따라 서면동의절차를 거쳐 본 시험에 참가하였다.

피험자 관리

모든 피험자에게는 시험 전 10일 이내 및 시험기간 중에는 음주나 다른 약물의 복용을 금하였다. 시험 전일 오후 7시경에 피험자 전원을 소집하여 동일한 저녁 식사를 제공한 후 식사 종료 시점인 8시 이후부터 익일 투약 후 4시간째까지는 금식하도록 하였으며 운동, 식사, 흡연, 음주 및 xanthine계 음료 등을 제한 관리하였다. 총 28명의 피험자들에게 시험내용과 주의사항을 다시 한번 주지시키고, 밤 10시 경에 취침하도록 하였다. 시험 당일 비이의원에 오전 7시경에 도착하여 시험 준비에 착수하였다. 피험자들은 4시간째 채혈이 끝난 시점에서 동일한 식사를 하였고, 10시간째 채혈이 끝난 시점에 다시 동일한 식사를 하였다. 이 때 투약 후부터 12시간 채혈 시까지 과격한 운동, 수면, 눕는 자세는 금지시켰다. 12시간째 채혈을 마친 뒤 피험자 전원

을 여관에 투숙시키고 밤 10시경에 취침을 하도록 하였다. 둘째 날 아침 비이의원에 오전 7시 30분경에 도착하여 24시간째 채혈을 하고, 피험자들에게 시험내용과 주의사항을 다시 한 번 주지시킨 후 귀가시켰다. 오후 7시 30분경에 피험자들을 다시 비이의원으로 소집하여 36 시간째 마지막 채혈을 마친 후 담당의사에 의해 혈압, 맥박 기타 이상 유무를 확인하였다. 2기 시험을 완료할 때까지 술이나 약물 복용을 일체 금지한다는 주의사항을 다시 한 번 주지시킨 후 귀가시켰다. 시험 전 과정을 통하여 피험자 개인의 상태를 관찰하여 증례기록서에 기록하였으며, 채혈이 끝난 후에는 담당의사에 의해 혈압, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하였고 피험자 전원에게서 이상이 없음을 확인하였다.

약물투약 및 혈액 채취

2×2 라틴 방격법에 따른 교차 시험법으로 투약계획을 세우고 28명의 피험자를 군당 14명씩 임의로 1, 2의 2개 군으로 분류한 후 제 1기 제 1군에는 대조약인 주식회사한독약품의 “케타스캡셀”을, 제 2군에는 시험약으로 주식회사중근당의 “딜라스트캡셀”을 투여하였고, 제 2기에는 그 반대로 투여하였다. 피험자에 대한 투약은 오전 8시부터 대조약과 시험약 각 2정(이부딜라스트로서 20 mg)을 물 240 mL와 함께 단회 경구투여 하였다. 보고되어 있는 이부딜라스트의 혈중 소실반감기인 약 7시간⁴⁾과 약 12시간³⁾을 토대로 식품의약품안전청 고시 제 2005-31호 생물학적동등성시험기준⁵⁾ 18조 2항에 따라 채혈시간은 반감기의 3배 이상인 36시간 동안으로 하였고 채혈횟수는 약물투약 직전과 투약 후 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 및 36시간의 총 12시점에서 실시하였다. 휴약기간은 투여된 약물이 완전히 체외로 배설될 수 있는 충분한 기간(투약 후부터 유효성분 반감기의 최소한 5배 이상)으로 1주일로 하여 교차 시험을 행하였다.

투약 및 채혈은 비이의원에서 시험담당자인 전문의의 감독하에 실시하였다. 피험자들의 상완 정맥부위에 22 gauge heparin-locked I.V. 카테터(녹십자 의료공업, 한국)를 설치하고 공혈액을 채혈한 다음 2분 간격으로 대조약 및 시험약을 투약하였다. 채혈 시 I.V. 카테터 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1 mL의 혈액을 채취하여 버린 다음 약 7 mL의 혈액을 heparinized vacutainer에 채취하고, 다시 I.V. 카테터 안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수 0.5 mL를 주입하였다. 채혈된 혈액의 응고를 방지하고 혈구의 파괴를 막기 위해 vacutainer를 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 다음 혈장만을 취하여 polypropylene 시험관에 옮겨 담

고 영하 70°C에서 분석 시까지 보관하였다. 채혈 장소는 일반인들의 출입을 제한하였고, 채혈 기구는 완전히 멸균된 1회용 기구를 사용하였다.

혈장 중 이부딜라스트의 정량

혈장 중 이부딜라스트 함량은 검체 처리 후 LC-MS/MS를 이용하여 정량분석 하였으며 분석법에 대한 검증은 행한 후 시료를 분석하였다. 검출을 위한 MS/MS 분석조건으로, ESI(electrospray ionization) 이온화 방식을 선택하였고, positive ion mode에서 SRM(selected reaction monitoring) 방법을 사용하였다. Nebulizing gas는 질소가스, collision gas는 아르곤가스를 사용하였다. 이부딜라스트와 내부표준물질로 사용한 데시프라민의 precursor 이온은 각각 m/z 231, 267의 수소화된 분자이온([M+H]⁺)을 사용하였으며, 생성된 product 이온으로 m/z 161, 193을 각각 모니터링 하였다. 2 mM 초산암모늄의 85% 아세토니트릴 용액을 이동상으로 사용하여 0.22 mL/min의 유속으로 흘려주었다. 시료 주입량은 20 µL로 하여 전처리된 혈장시료를 정량하였다.

검량선 작성을 위하여, 이부딜라스트 표준품을 메탄올에 녹여 농도가 1 mg/mL이 되도록 제조한 후 차광하여 4°C에서 보관시키고, 이 용액을 냉동 보관하였던 공혈장으로 희석하여 혈장 중 약물 농도가 각각 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 및 200 ng/mL가 되도록 표준혈장을 만들었다. 또한 내부표준물질인 염산데시프라민 표준품을 메탄올에 녹여 농도가 1 mg/mL이 되도록 한 후 메탄올로 희석하여 100 ng/mL가 되도록 제조하였다. 표준혈장 200 µL를 마이크로튜브에 넣고 여기에 내부표준물질 용액 (데시프라민, 100 ng/mL) 20 µL를 가하여 섞은 후, 디에틸에테르 1.2 mL를 가하여 왕복진탕기에서 20분간 추출하였다. 13,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후, 15분간 냉동고에서 수층을 냉동시켰다. 수층이 얼면, 깨끗한 상징액을 취하여 새 튜브에 옮긴 후 질소증발기를 사용하여 완전히 건조시켰다. 완전히 건조가 되면, 85% 아세토니트릴 150 µL로 재용해 시키고 이 중 20 µL를 취하여 LC-MS/MS에 주입하였다.

여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 이부딜라스트의 피크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였다. 검량선 범위 내의 농도 중 정량한계를 포함한 4가지 농도를 선택하여 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

피험자로부터 각 시간별로 채취하여 보관하였던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 다음 30초 동안 탁상용 혼합기에서 잘 섞은 다음 이 혈장 시료 200 µL를 취하여 위와 동일한 방법으로 전처리 한 후 LC-MS/MS에 주입하고 검량선

으로부터 각 시료의 농도를 정량하였다.

생체이용률 파라미터의 산출 및 통계처리

생체이용률 파라미터는 생체이용률 파라미터 계산 프로그램인 BA Calc 2002⁷⁾를 이용하여 구하였다. 각 피험자의 혈중농도-시간곡선하 면적(AUC_t)값은 약물투여 후 36시간까지의 각 피험자의 혈장 중 약물농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구하였다. 최고 혈중 농도(C_{max})는 각 피험자의 혈장 중 약물농도-시간 곡선으로부터 가장 높은 혈장 중 농도를 읽은 값을 사용하였으며, T_{max}는 각 피험자의 혈장 중 약물농도-시간 곡선으로부터 최고 혈장 중 약물농도에 도달하는 시간을 읽은 값을 사용하였다.

생물학적동등성시험기준⁵⁾에 따라 대조약과 시험약간의 생물학적 동등성을 평가하기 위한 비교항목은 AUC_t와 C_{max}로 하였다. 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 K-BE Test 2002⁷⁾를 이용하여 각 파라미터들을 로그변환한 값에 대하여 유의수준(α)=0.05에서 분산분석을 실시하여 군간 순서효과를 검증하였고 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간을 구하였다.

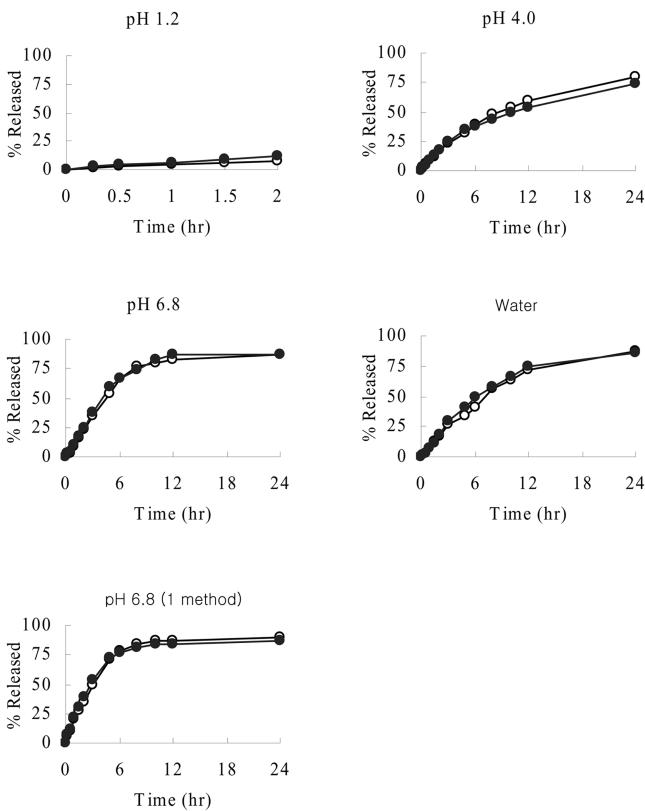


Figure 1—Dissolution profiles of ibudilast from Ketas[®] (●) and Di-last[™] (○) capsules in various dissolution media (pH 1.2, 4.0, 6.8, water [2 method] and 6.8 [1 method]).

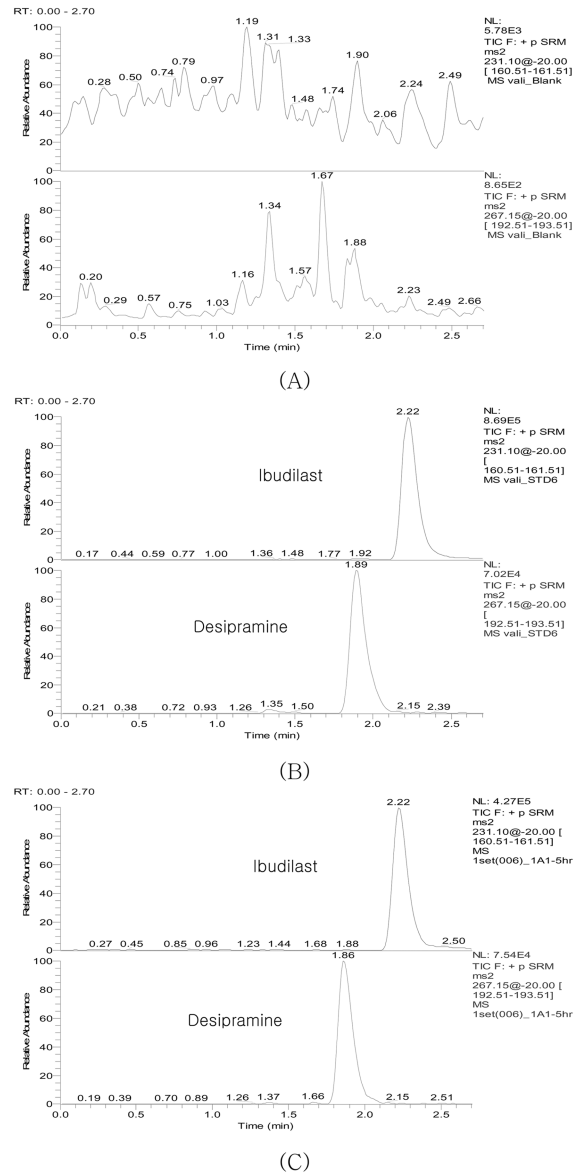


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human plasma, (B) blank human plasma spiked with ibudilast (50 ng/mL) and internal standard and (C) plasma sample at 5 hr after oral administration of 20 mg ibudilast capsules (The plasma concentration of ibudilast corresponds to 32.31 ng/mL).

Table I—Precision and Accuracy Data for the LC-MS/MS Analysis of Ibudilast in Human Plasma

Concentration (ng/mL)	Precision (Coefficient of Variation, %)		Accuracy (%; n=5)
	Intra-day (n=5)	Inter-day (n=5)	
1 (LLOQ)	11.30	8.83	97.13
5	10.09	11.79	92.91
20	10.11	7.55	98.60
200	3.63	3.84	92.28

LLOQ: Lower limit of quantification

결과 및 고찰

비교용출시험

생물학적동등성시험을 실시하기에 앞서 대조약과 시험약의 비교용출시험을 행하여 두 약이 *in vitro*에서 동등할 것인지를 추정하고자 하였다. 이는 동일 성분을 동일량 함유하는 제제라고 하더라도 원료, 부형제 및 제조공정 등에 따라 용출의 양상이 다르게 나타날 수 있으므로 대조약과 시험약의 *in vitro* 용출특성을 비교하기 위하여 용출시험을 행하였다. 대한 약전의 용출시험법 제 2법인 패들법에 따라 시험한 결과 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 4가지 시험액, 제 1법(100 rpm)인 회전검체통법에 따라 시험한 결과 pH 6.8에서 대조약과 시험약 모두 모든 시험액에서 식품의약품안전청이 고시한 의약품

동등성시험관리규정⁶⁾의 용출양상의 동등성 판정기준에 적합하여 두 제제간의 용출은 차이가 없는 것으로 판단되었다 (Figure 1).

혈장 중 이부딜라스트의 정량

상기의 시험방법과 같이 검체를 처리하여 LC-MS/MS로 분석하였을 때 얻어진 크로마토그램은 Figure 2와 같았으며, 이부딜라스트 피크의 유지시간은 약 2.2분, 내부표준물질(테시프라민) 피크의 유지시간은 약 1.9분이었고, 분석조건에서 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 정량한계는 ICH guideline⁸⁾에 준하여 신호 대 잡음 비(S/N ratio)를 10으로 하고 정밀성이 20% 이하이고, 정확성이 80~120%인 조건을 만족하는 농도로 하여 1 ng/mL로 정하였다. 혈장 시료로부터 구한 이부딜

Table II—Bioavailability Parameters for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Ketas[®] and Dilast[™] Capsules at the Ibudilast Dose 20 mg

Volunteer	Ketas [®] Capsule					Dilast [™] Capsule				
	AUC _t (ng·hr/mL)	Log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Log C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	Log AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Log C _{max}	T _{max} (hr)
A1	427.39	2.63	32.31	1.51	5	555.57	2.75	32.12	1.51	8
A2	700.62	2.85	47.42	1.68	8	820.24	2.91	48.13	1.68	6
A3	429.13	2.63	43.79	1.64	5	440.43	2.64	38.06	1.58	2
A4	402.27	2.61	35.29	1.55	3	443.90	2.65	39.62	1.60	3
A5	342.00	2.53	38.61	1.59	6	539.92	2.73	38.69	1.59	6
A6	769.88	2.89	45.00	1.65	8	788.92	2.90	69.76	1.84	4
A7	713.77	2.85	67.43	1.83	3	679.49	2.83	67.07	1.83	4
A8	379.58	2.58	26.30	1.42	5	316.15	2.50	24.88	1.40	5
A9	603.72	2.78	42.21	1.63	6	731.04	2.86	45.51	1.66	5
A10	437.19	2.64	33.27	1.52	5	439.19	2.64	33.28	1.52	2
A11	255.93	2.41	20.03	1.30	6	268.18	2.43	21.22	1.33	3
A12	457.00	2.66	25.05	1.40	5	402.10	2.60	25.09	1.40	6
A13	509.46	2.71	32.76	1.52	8	426.45	2.63	33.34	1.52	6
A14	176.83	2.25	21.76	1.34	2	179.04	2.25	16.20	1.21	4
B1	343.51	2.54	30.40	1.48	5	342.53	2.54	68.20	1.83	3
B2	644.92	2.81	45.06	1.65	6	571.06	2.76	47.26	1.67	3
B3	637.93	2.81	52.75	1.72	5	723.95	2.86	56.89	1.76	5
B4	566.95	2.75	47.84	1.68	4	449.77	2.65	38.29	1.58	2
B5	886.72	2.95	70.12	1.85	3	833.94	2.92	60.35	1.78	2
B6	687.51	2.84	43.05	1.63	5	729.29	2.86	46.76	1.67	4
B7	596.28	2.78	37.48	1.57	2	630.59	2.80	37.01	1.57	2
B8	506.64	2.71	27.24	1.44	5	390.81	2.59	26.61	1.43	4
B9	709.24	2.85	61.93	1.79	4	512.20	2.71	40.54	1.61	3
B10	539.69	2.73	53.14	1.73	4	764.20	2.88	99.94	2.00	3
B11	613.84	2.79	51.26	1.71	6	596.91	2.78	61.00	1.79	3
B12	542.04	2.73	40.87	1.61	5	585.19	2.77	31.65	1.50	3
B13	420.97	2.62	38.81	1.59	4	360.89	2.56	33.75	1.53	6
B14	484.94	2.69	39.79	1.60	6	315.72	2.50	28.03	1.45	2
평균	528.07	2.70	41.11	1.59	4.96	529.92	2.70	43.19	1.60	3.90
표준편차	161.73	0.15	12.69	0.14	1.58	180.81	0.16	18.29	0.18	1.62

라스트의 검량선의 계산식은 피크면적비(y)=0.217924× 농도비(x)-0.00052291($r^2=0.9994$)로 1~200 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한 validation을 진행하였을 때 분석방법의 정밀성 C.V.%는 일내 정밀성이 11.30% 이하, 일간 정밀성은 11.79% 이하, 정확성은 92.28~98.60%이었다 (Table I).

이로부터 혈장 중 이부딜라스트에 대한 상기의 LC-MS/MS 분석법은 인체에 대한 생체이용률시험에 이용될 수 있는 충분한 감도, 특이성, 직선성, 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었으며, 분석시간이 짧아서 보다 신속하고 정확하게 고감도 정량분석을 할 수 있었다.

혈장 중 이부딜라스트의 농도 추이 및 생체이용률 파라미터 산출

피험자 28명에게 교차시험으로 대조약 및 시험약을 각각 경구투여한 후 두 제제로부터 구한 평균 혈장 중 이부딜라스트의 농도-시간 곡선을 Figure 3에 나타내었다. 또한, 각 피험자에 있어서 두 제제의 생체이용률 파라미터의 실측치와 로그변환한 값을 정리하면 Table II와 같다. 대조약인 “케타스캡셀”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 528.07 ± 161.73 , 시험약인 “딜라스트캡셀”은 529.92 ± 180.81 로 대조약에 대한 평균치 차이가 0.35%이었고, C_{max} (ng/mL)는 41.11 ± 12.69 과 43.19 ± 18.29 으로 5.06%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 4.96 ± 1.58 과 3.89 ± 1.62 로 -21.57%의 차이를 나타내었다.

시험결과에 대한 통계처리 및 고찰

Table II에 나타난 각 피험자의 로그변환한 AUC_t 값 및 C_{max} 값에 대하여 분산분석을 행하여 얻은 통계검정결과를 Table III에 나타내었다. 이 통계처리 결과에서 알 수 있듯이 유의수준(α)=0.05의 균간 순서 효과 검정에서 F값이 F분석

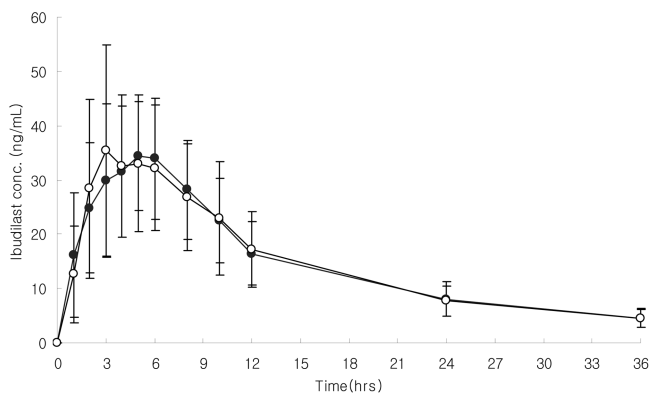


Figure 3—Mean (\pm S.D., $n=28$) plasma concentration-time curves of ibudilast following oral administration of Ketas[®] (●) and Dilast[™] (○) capsules at the ibudilast dose of 20 mg.

Table III—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation between Two Ibudilast Capsules

Statistical parameter	Parameters ($\alpha=0.05$)	
	AUC_t	C_{max}
Difference	0.35%	5.06%
Power (1- β)	> 0.9	> 0.9
F value ^a	0.042	0.106
Test/Reference point estimate	0.992	1.016
90% confidence interval	$\log 0.93 \leq \alpha \leq \log 1.06$	$\log 0.93 \leq \alpha \leq \log 1.11$

[#]The AUC_t and C_{max} values were calculated on the basis of log-arithmetically transformed data.
^aF(1,26)=4.225

표의 한계값인 F(1,26)=4.225보다 작아 교차 시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한, 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 AUC_t 는 $\log 0.93 \sim \log 1.06$, C_{max} 는 $\log 0.93 \sim \log 1.11$ 으로 $\log 0.8 \sim \log 1.25$ 이 내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준⁵⁾을 만족하였다. 이상의 결과로부터 시험약인 “딜라스트캡셀”은 대조약인 “케타스캡셀”에 대하여 평가항목 AUC_t 와 C_{max} 에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

결론

식품의약품안전청고시 생물학적동등성시험기준⁵⁾에 따라 주식회사한독약품의 “케타스캡셀”을 대조약으로 하고 주식회사중근당의 “딜라스트캡셀”을 시험약으로 하여 2×2 교차 시험법에 따라 건강한 성인 남성 지원자 28명에게 2정(이부딜라스트 20mg)씩을 경구 투여한 후, 각 피험자들의 혈중 약물농도 데이터로부터 구한 혈중 농도-시간곡선하 면적 (AUC_t)과 최고 혈중 농도(C_{max})등의 생체이용률 파라미터에 대해 통계학적으로 고찰하여 두 제제간의 생물학적 동등성을 평가하였다.

두 가지 비교평가항목(AUC_t 및 C_{max})의 로그변환한 값에 대하여 분산분석을 실시한 결과 각 비교항목에 있어 모두 유의수준(α)=0.05의 균간 순서효과 검정에서 F값이 F분석표의 한계값 보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. AUC_t 의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.93 \sim \log 1.06$ 이었고 C_{max} 의 경우 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 $\log 0.93$ 에서 $\log 1.11$ 로서 두 항목 모두 $\log 0.8$ 에서 $\log 1.25$ 이내이어야 한다는 생물학적동등성시험기준⁵⁾을 충족시켰다.

이와 같이 시험약인 “딜라스트캡셀”은 대조약인 “케타스캡셀”에 대하여 생물학적 동등성의 판단 기준인 두 항목(AUC_t와 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 평가되었다.

감사의 말씀

본 연구는 주식회사중근당의 지원을 받아 바이오코아주식회사에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Y. Kishi, S. Ohta, N. Kasuya, S. Sakita, T. Ashikaga and M. Isobe, Ibudilast: A Non-selective PDE Inhibitor with Multiple Actions on Blood Cells and the Vascular Wall, *Cardiovasc. Drug Rev.*, **19**(3), 215-225 (2001).
- 2) L. C. D. Gibson, S. F. Hastings, I. McPhee, R. A. Clayton, C. E. Darroch, A. Mackenzie, F. L. Mackenzie, M. Nagasawa, P. A. Stevens and S. J. Mackenzie, The inhibitory profile of ibudilast against the human phosphodiesterase enzyme family, *Eur. J. Pharmacol.*, **538**, 39-42 (2006).
- 3) 일본의약품집, pp. 156-157 (2003).
- 4) T. Li, Y. Pang, Z. Wang, Y. Jia, Q. Cheng, J. Sun, Pharmacokinetics and relative bioavailability of KC-404 sustained release tablets in healthy volunteers, *J. Sichuan Univ (Med Sci Edi)*, **34**(3), 541-543 (2003).
- 5) 식품의약품안전청 고시 제 2005-31호, 생물학적동등성시험 기준 (2005. 6. 7).
- 6) 식품의약품안전청 고시 제 2005-64호, 의약품동등성시험관 리규정 (2005. 11. 8).
- 7) Y. J. Lee, Y. G. Kim, M. G. Lee, S. J. Chung, M. H. Lee and C. K. Shim, Analysis of bioequivalence study using log-transformed model, *Yakhak hoeji*, **44**, 308-314 (2000).
- 8) ICH guideline; Validation of analytical procedures : Methodology (1996).