

케타스 캡슐 10밀리그램(이부딜라스트 10 밀리그램)에 대한 피나토스 캡슐 10밀리그램의 생물학적동등성

강현아¹ · 김세미² · 강민선 · 유동진 · 이상노 · 권인호 · 류희두 · 이용복[†]

전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소

¹CJ 제일제당 제약연구소, ²중근당 종합연구소

(2009년 12월 31일 접수 · 2010년 1월 27일 수정 · 2010년 1월 27일 승인)

Bioequivalence of Pinatos Capsule 10 mg to Ketas Capsule 10 mg (Ibutilast 10 mg)

Hyun-Ah Kang¹, Se-Mi Kim², Min-Sun Kang, Dong-Jin Yoo, Sang-No Lee, In-Ho Kwon, Hee-Doo Yoo and Yong-Bok Lee[†]

Institute of Bioequivalence and Bridging Study, College of Pharmacy, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

¹Pharmaceutical Research Institute, CJ Cheiljedang Corp., Ichon-si, Kyonggi-do 467-812, Korea

²Research Institute, ChongKunDang Pharm., Cheonan-si, Chungnam 331-831 Korea

(Received December 31, 2009 · Revised January 27, 2010 · Accepted January 27, 2010)

ABSTRACT – Ibutilast, 3-isobutyryl-2-isopropylpyrazolo[1,5-a]pyridine, is a nonselective inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE). It preferentially inhibits PDE 3A, PDE4, PDE10 and PDE11 as well as a number of the other PDE families, albeit to a lesser extent. Ibutilast is used clinically to treat bronchial asthma and cerebrovascular disorders. These clinical uses are based on the ability of ibutilast to inhibit platelet aggregation, improve cerebral blood flow and attenuate allergic reactions. The purpose of the present study was to evaluate the bioequivalence of two ibutilast capsules, Ketas capsule (Handok Pharmaceuticals Co., Ltd.) and Pinatos capsule (Sam Chun Dang Pharm. Co., Ltd.), according to the guidelines of the Korea Food and Drug Administration (KFDA). The *in vitro* release of ibutilast from the two ibutilast formulations was tested using KP Apparatus method with various dissolution media. Twenty six healthy male subjects, 23.31±1.09 years in age and 70.45±8.51 kg in body weight, were divided into two groups and a randomized 2×2 cross-over study was employed. After a single capsule containing 10 mg as ibutilast was orally administered, blood samples were taken at predetermined time intervals and the concentrations of ibutilast in serum were determined using HPLC/UV detector. The dissolution profiles of two formulations were similar in all tested dissolution media. The pharmacokinetic parameters such as AUC_t, C_{max} and T_{max} were calculated, and computer programs (Equiv Test and K-BE Test 2002) were utilized for the statistical analysis of the parameters using logarithmically transformed AUC_t, C_{max} and untransformed T_{max}. The results showed that the differences between two formulations based on the reference drug, Ketas, were 6.99%, -2.48% and 9.93% for AUC_t, C_{max} and T_{max}, respectively. There were no sequence effects between two formulations in these parameters. The 90% confidence intervals using logarithmically transformed data were within the acceptance range of log 0.8 to log 1.25 (e.g., log 0.8791~log 1.1861 and log 0.8347~log 1.1199 for AUC_t and C_{max}, respectively). Thus, the criteria of the KFDA bioequivalence guideline were satisfied, indicating Pinatos capsule was bioequivalent to Ketas capsule.

Key words – Ibutilast, Pinatos capsule, Ketas capsule, Bioequivalence, HPLC

이부딜라스트 (ibutilast; 3-isobutyryl-2-isopropylpyrazolo [1,5-a] pyridine)는 뇌내 PDE(phosphodiesterase)의 작용을 억제하여, 혈관 확장과 혈소판 응집억제에 관여하는 cAMP 및 cGMP의 농도를 높여 항혈소판 작용 및 뇌혈류 개선을 보여 뇌혈관장애 어지럼증에 개선효과를 나타낼 뿐만아니라 천식 치료제로서 사용되고 있다.¹⁻⁶⁾

건강한 성인에게 10-30 mg 이부딜라스트를 경구투여한 경우, 혈장 농도 시간피크와 혈장 소실상 반감기는 각각 4-6시간과 7-19시간으로 보고되어 있다.⁷⁻⁹⁾

국내에서는 한독약품(주)에서 “케타스 캡슐”이라는 상품명으로 이부딜라스트 10 mg 캡슐제를 시판하고 있다. 한편 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 시판을 위하여 의사 또는 치과의사가 처방전에 기재한 의약품의 성분·함량 및 제형이 동일한 다른 의약품으로 대체하여 조제할 수 있게 하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준¹⁰⁾에 따라 생체시험을 통해

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 062)530-2931, E-mail : leeyb@chonnam.ac.kr
DOI : 10.4333/KPS.2010.40.2.117

생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 할 필요가 있다.

위와 관련하여 국내에서는 케타스 캡슐(이부딜라스트 10 mg)에 대한 딜라스트 캡슐의 생물학적동등성 시험과 관련하여 건강한 성인 남자(평균연령 25.7세) 28명을 대상으로 이부딜라스트 20 mg(2캡슐)을 투여하여 라틴방격법에 따라 시험하고 각각의 혈청을 얻은 후 LC-MS/MS 분석법을 이용하여 혈청 중 이부딜라스트를 정량해 보고¹¹⁾된 바가 있다.

본 연구에서는 기 보고¹¹⁾된 LC-MS/MS 분석법 대신 보다 간편하고 저렴하며 그 접근성이 우수한 HPLC-UV 검출기를 이용한 분석법을 개발하고 이를 통해 삼천당 주식회사에서 발매하고자 하는 이부딜라스트 제제인 “피나토스 캡슐”이 기존의 이부딜라스트 제제인 “케타스 캡슐”과 그 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 이부딜라스트 10 mg(1캡슐)을 투여하여 입증해 보고자 하였다. 이를 위해 식품의약품 안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준¹⁰⁾에 따라 건강한 성인남자(평균연령 23.31세) 26명을 대상으로 라틴 방격법에 따라 시험하여 얻은 혈청 중 이부딜라스트의 최고 혈중 농도(C_{max}), 최고 혈중 농도 도달시간(T_{max})과 혈중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC_t)에 대하여 T_{max} 를 제외한 대조약과 시험약의 비교항목인 AUC_t 와 C_{max} 의 로그변환치를 생물학적동등성 통계처리용 프로그램 Equiv Test¹²⁾ 및 K-BE Test 2002¹³⁾를 이용하여 α (유의수준)=0.05에서 분산분석을 실시하였다.

아울러, 시험약 “피나토스 캡슐”과 대조약 “케타스 캡슐”의 *in vitro* 용출 특성을 대한약전 용출시험법 제 2법(폐들법)에 따라 50 rpm으로 시험하였다. 그리고 본 시험은 식품의약품안전청으로부터 시험계획서의 승인을 얻은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

시험에 사용된 시험약은 의약품임상시험관리기준¹⁴⁾ 제 36조 및 제 37조의 규정에 따라 제조한 삼천당 제약 주식회사(서울)의 “피나토스 캡슐 10밀리그램”(제조번호: 5P1, 제조일자: 2005. 9. 1), 대조약은 식품의약품안전청으로부터 허가를 받아 주식회사 한독약품(서울)에서 시판하고 있는 “케타스 캡슐 10밀리그램”(제조번호: 1418994, 사용기한: 2008. 4. 2)으로 이부딜라스트를 10 mg 함유하는 캡슐제이었다.

이부딜라스트 표준품은 삼천당 제약 주식회사로부터 제공 받았으며, 내부표준물질로 사용한 butyl 4-hydroxybenzoate

(Sigma Co. St Louis, MO, 미국), HPLC용 메탄올 및 아세토니트릴(Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국), 생리식염수 및 헤파린(이상 중의제약, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M Ω -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

비교용출시험용 기기로는 용출시험기(Dissolution Tester DST-610, Lab Fine, 한국/Dissolution Tester VK7000, VARIAN, 미국) 및 UV system(UV-2401PC, Shimadzu, 일본)을 사용하였으며, 혈중 약물농도 분석기기로는 Shimadzu LC 10ADvp System(Shimadzu, Kyoto, 일본), Luna C18(2) (입자경 5 μ m, 4.6 \times 150 mm I.D., Phenomenex Corp., Torrance, CA, 미국), UV검출기(SPD-10Avp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 한국), 증발농축기(CVE200D, EYELA, Rikakikai Co., Tokyo, 일본) 및 탁상용 혼합기(FINEMIXER SH2000, FINEPCR, Gunpo-si, 한국) 및 pH측정기(pH meter model 7, Corning Corp., Corning, NY, 미국)를 사용하였다.

비교용출시험

대조약 “케타스 캡슐 10밀리그램” 시험약 “피나토스 캡슐 10밀리그램” 각 12캡슐씩을 취하여 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(폐들법)에 따라 50 rpm으로 시험하였다. 용출액은 용출시험 조건에 따라 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 용출액 900 mL를 사용하여 용출 개시 15, 30, 60, 90, 120, 180, 300, 360, 480, 600, 720 및 1440분에 용출액을 채취하고 HPLC를 사용하여 용출률을 산출하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준¹⁰⁾에 근거하여 만 19~55세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 34명의 지원자가 이 시험에 대한 설명회에 참석하였다. 이들 중 전남대학교 병원(광주)에서 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 26명을 선정하였다. 피험자로 선정된 사람들의 평균 체중은 70.45 \pm 8.51 kg, 평균 나이는 23.31 \pm 1.09세이었다. 이들로부터 동의서를 받은 후 생물학적동등성시험을 실시하였다.

모든 지원자는 정해진 투약일 일주일 전부터 항생제 및 진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지하였을 뿐 아니라 흡연 및 xanthine계 음료 등을 제한 관리하였다. 시험 전날 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰다. 또한 시험 기간 중에는 연구자의 지시에 따라 모두 같

은 식단의 식사 및 경미한 활동을 하게 하였다.

약물 투약 및 혈액 채취

약물 투약은 2시기 2제품의 라틴 방격법에 따른 교차시험법으로 투약계획을 세우고 26명의 피험자를 군당 13명씩 임의로 A, B 2군으로 나누고 제 I 기때 A군에는 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”을, B군에는 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”을 투여하였고 제 II 기 때에는 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1캡슐(이부딜라스트 10 mg)으로 하였다. 한편, 건강 성인에게 이부딜라스트 10 mg을 경구투여하였을 때 최종상의 반감기는 6.45-9.09시간으로 보고되어 있어¹⁵⁾ 생물학적동등성시험 기준 제 18조 제 4항 휴약기간의 산정기준에 따라 충분한 휴약기간을 두고자 7일로 하였다.

피험자들 모두에게 heparin-locked(150 unit/mL) Angio-catheter(JELCO™, 22G, Johnson&Johnson Medical, Pomezia, 이탈리아)를 팔 또는 손등의 정맥부위에 설치하고 대조약 또는 시험약 각각 1캡슐씩을 240 mL의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 투약직전, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24 및 36시간째(총 12시점)에 약 8 mL의 혈액을 채취하여 혈구분리용 원심분리관에 넣고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 즉시 혈청분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 80°C에서 보관하였다.

채혈 및 피험자의 휴식 등의 모든 일은 전남대학교 병원에서 타인과 격리된 상태에서 이루어졌다.

혈청 중 이부딜라스트의 정량

혈청 중 이부딜라스트의 정량은 이미 보고된 이부딜라스트의 HPLC분석법^{8,16)}을 참고하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 pH 6.0의 완충액(0.02% 인산용액에 5 μM 트리에틸아민을 넣어서 pH 6.0으로 조절):아세트니트릴=1:1(v/v) 혼합용액을 사용하였고, 유속 1.0 mL/min, 주입량 50 μL 및 UV detector(319 nm)를 이용하여 정량하였다.

이부딜라스트 표준품을 메탄올에 녹여 이부딜라스트로서 1000 μg/mL가 되도록 만든 후 냉장 보관시키고, 이 용액을 냉동 보관하였던 대조 혈청으로 희석하여 이부딜라스트의 혈청 중 농도가 각각 2, 5, 10, 20, 50 및 100 ng/mL가 되도록 표준혈청시료를 만들었다. 각각의 표준혈청 1 mL에 내부표준물질(butyl 4-hydroxybenzoate 50 μg/mL 수용액) 100 μL와 0.2 M borate buffer(pH 9.0) 400 μL를 가하고 3초간 섞은 다음 tert-butyl methyl ether 5 mL를 가하고 2분간 vortexing하였다. 이것을 3000 rpm에서 10분간 원심분리시킨 후 상층 4 mL를 취하여 새 시험관에 옮기고 질소기류 하에서 증발·건조하였다. 잔사에 이동상 300 μL를 가

하여 녹인 후 30초간 vortexing 한 후 50 μL를 취하여 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 이부딜라스트의 피이크 면적비를 가지고 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 80°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 1 mL에 내부표준물질(butyl 4-hydroxybenzoate 50 μg/mL 수용액) 100 μL를 가한 후 상기 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC에 주입하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 이부딜라스트의 피크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 이부딜라스트의 농도(ng/mL)를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 분석

“케타스 캡슐 10밀리그램” 및 “피나토스 캡슐 10밀리그램”을 각각 1캡슐씩 26명의 지원자에게 라틴 방격법에 따른 교차시험법에 따라 경구 투여하여 얻은 각 제품의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 약물속도론적 파라미터인 AUC_t, C_{max} 및 T_{max}를 구하였으며, 이들 두 제품에서 각각 얻은 값에 대해 T_{max}를 제외한 AUC_t와 C_{max}의 로그변환치를 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 Equiv Test¹²⁾ 및 K-BE Test¹³⁾를 이용하여 유의수준 α=0.05에서 분산분석을 실시하여 순서효과(sequence effect)를 검증한 후, 각 변동요인의 유의성 여부를 검토하였고 90% 신뢰한계를 구하였다. 이 때, C_{max}와 T_{max}는 실측치를 사용하였으며 AUC_t는 사다리꼴 면적계산 공식을 이용하여 최종 채혈시점까지의 값을 통상의 방법에 따라 구해 사용하였다. “케타스 캡슐 10밀리그램”에 대한 “피나토스 캡슐 10밀리그램”의 생물학적동등성 여부는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성 시험 기준에 따라 AUC_t, C_{max} 및 T_{max} 등을 평가하였다.

결과 및 고찰

비교용출시험

약물의 용출은 생체이용률과 깊은 상관관계가 있으므로 먼저 용출시험을 행하여 대조약 및 시험약이 생물학적으로 동등할 것인지를 추정하고자 하였다. 즉, 동일성분을 동일량 함유하는 제제라 하더라도 원료, 부형제 및 제조공정 등에 따라 약물흡수의 전제조건이 되는 용출률이 다르게 나타날 수 있으므로 대조약과 시험약의 용출률을 비교하기 위하여

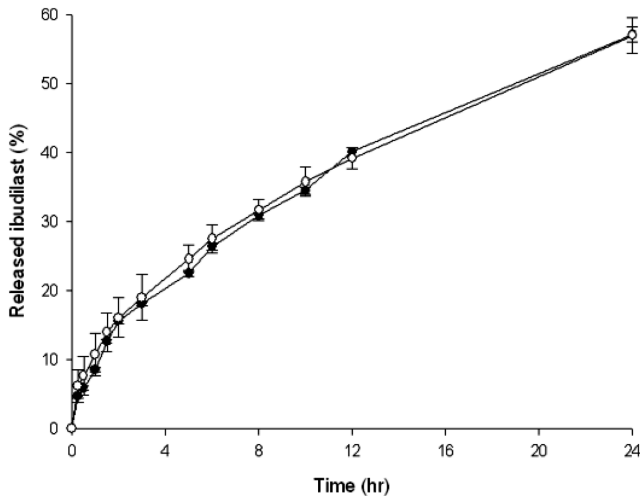


Figure 1—Dissolution profiles of ibudilast from Ketas capsule (●) and Pinatos capsule (○) in water (n=12, mean±S.D).

비교용출시험을 행하였다.

대조약과 시험약에 대하여 대한약전에 수재된 패들법에 따라 이부딜라스트 두 제제를 pH 1.2, 4.0, 6.8 및 물의 용출액 900 mL을 사용하여 용출시험한 결과, 모든 용출액에서 두 제제의 용출 양상은 거의 차이가 없었으며 FDA guideline에 따라 계산한 물에서의 similarity factor(f_2)¹⁷⁾가 88.74로 나타나, 두 제제간의 용출은 차이가 없는 것으로 판단하였다. Figure 1에는 두 제제간의 물에서의 용출양상 특성을 나타내었다.

혈청 중 이부딜라스트 정량

건강한 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 butyl 4-hydroxybenzoate와 이부딜라스트를 함께 가한 것 및

이부딜라스트 10 mg 투여 후 3시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 이부딜라스트 피크의 출현시간은 약 10.3분, 내부표준물질 피크의 출현시간은 약 6.7분이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비 (S/N ratio)를 10 이상으로 하고 일내 및 일간 변동계수의 크기를 20% 미만으로 하였을 때의 최저정량한계 (lower limit of quantification, LLOQ)는 2 ng/mL이었다. 혈청 시료로부터 구한 이부딜라스트의 검량선은 피크 면적비(y) = $0.0463 \times$ 이부딜라스트 농도 (ng/mL, x) + 0.0103 ($r=0.9999$, $p<0.01$)로 2~100 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 이부딜라스트의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 모두 15% 이내로 나타났고 2, 10, 20 및 50 ng/mL 의 농도에서 5회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% , deviation)도 모두 15% 이내로 나타났다(Table I).

이로부터 혈청 중 이부딜라스트에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 적합한 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 알 수 있었으며 이를 개량한 분석논문을 이미 학회지에 보고한 바 있다.¹⁶⁾

한편, 기 보고¹¹⁾된 케타스 캡슐(이부딜라스트 10 mg)에 대한 딜라스트 캡슐의 생물학적동등성 논문에서 LC-MS/MS를 사용한 분석결과와 비교해 보았을 때, 기존 분석법보다 시료의 전처리 과정이 간단해 분석하기 수월하였고 더 적은 용량의 약물, 즉 10 mg을 투여하여 얻은 혈청 샘플을 정량하여 생물학적동등성을 판정할 수 있는 좋은 결과를 얻었으며 HPLC-UV가 고가인 LC-MS/MS 보다 널리 보급되어 있는 현실에서 기기 사용의 접근성을 증대시킬 수 있었다고 사료되었다.

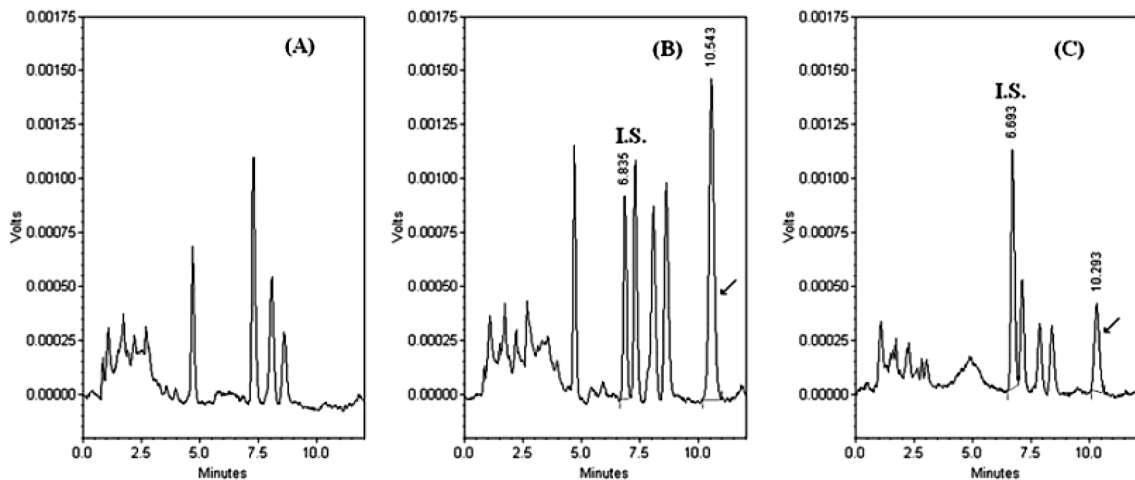


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with ibudilast (50 ng/mL) and internal standard (I.S., butyl 4-hydroxybenzoate 5 µg/mL), and (C) human serum sample (10.9 ng/mL) at 3 h after a single oral dose of ibudilast (10 mg) to a volunteer. The arrow indicates ibudilast peak.

Table I—Reproducibility for the HPLC Analysis of Ibudilast in Human Serum

Concentration (ng/mL)	Precision C.V.(%)		Accuracy (% , n=5)
	Intra-day C.V.(%)(n=5)	Inter-day C.V.(%)(n=5)	
2	7.00	3.33	93.50
10	6.71	8.80	101.34
20	9.51	10.40	93.08
50	5.50	11.18	90.83

C.V.(Coefficient of Variation)=100×S.D./mean.

혈청 중 이부딜라스트 농도 추이

시험약과 대조약으로 “피나토스 캡슐 10밀리그램”과 “케타스 캡슐 10밀리그램”을 각각 1캡슐씩 피험자 26명에게 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 제제의 전체 피험자에 대한 혈청 중 이부딜라스트 평균 농도를 Figure 3에 나타내었으며, 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 약물속도론적 파라미터(AUC_t, C_{max} 및 T_{max})를 Table II

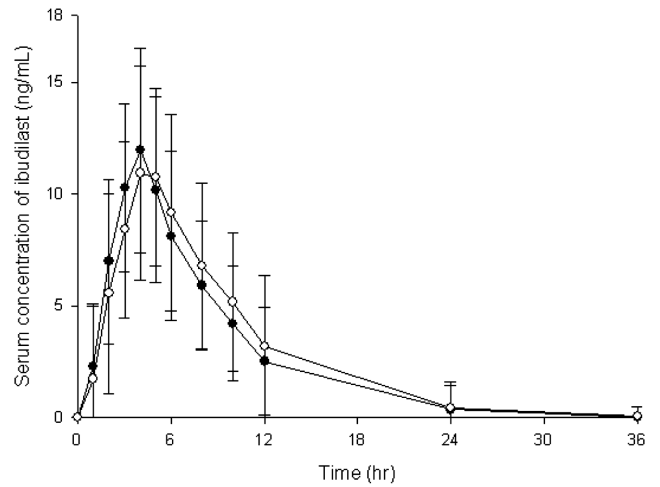


Figure 3—Mean serum concentration-time curves of Ibudilast following oral administration of Ketas capsule (●) and Pinatos capsule (○) at the dose of Ibudilast 10 mg (±S.D., n=26).

에 나타내었다. 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”의 평균 AUC_t(ng·hr/mL)는 81.85±38.40, 시험약인 “피나토스 캡슐

Table II—Bioavailability Parameters in Normal and Logarithmic Scales for Each Volunteer Obtained after Oral Administration of Ketas and Pinatos Capsules at the Ibudilast Dose of 10 mg

Subjects	Ketas Capsule					Pinatos Capsule				
	AUC _t (ng·hr/mL)	Ln AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Ln C _{max}	T _{max} (hr)	AUC _t (ng·hr/mL)	Ln AUC _t	C _{max} (ng/mL)	Ln C _{max}	T _{max} (hr)
A1	111.60	4.71	20.25	3.01	4.00	152.54	5.03	11.80	2.47	6.00
A2	98.46	4.59	18.04	2.89	4.00	40.51	3.70	8.33	2.12	4.00
A3	67.75	4.22	15.49	2.74	4.00	66.83	4.20	13.32	2.59	4.00
A4	81.11	4.40	13.53	2.60	5.00	66.77	4.20	14.13	2.65	3.00
A5	100.69	4.61	13.55	2.61	5.00	101.10	4.62	13.27	2.59	5.00
A6	91.86	4.52	13.33	2.59	5.00	174.44	5.16	21.21	3.05	2.00
A7	102.29	4.63	19.51	2.97	4.00	124.28	4.82	17.86	2.88	6.00
A8	44.81	3.80	6.73	1.91	5.00	30.37	3.41	5.90	1.77	5.00
A9	38.99	3.66	8.35	2.12	5.00	56.01	4.03	15.37	2.73	4.00
A10	87.58	4.47	14.64	2.68	2.00	82.90	4.42	14.16	2.65	4.00
A11	54.09	3.99	11.57	2.45	4.00	61.76	4.12	9.87	2.29	4.00
A12	48.22	3.88	10.69	2.37	3.00	43.14	3.76	9.61	2.26	4.00
A13	87.20	4.47	11.49	2.44	5.00	150.41	5.01	19.10	2.95	5.00
B1	121.81	4.80	15.67	2.75	4.00	53.95	3.99	8.40	2.13	5.00
B2	142.17	4.96	15.99	2.77	4.00	96.22	4.57	8.57	2.15	5.00
B3	194.61	5.27	13.33	2.59	8.00	295.53	5.69	20.60	3.03	6.00
B4	124.75	4.83	17.18	2.84	4.00	71.12	4.26	9.32	2.23	8.00
B5	29.70	3.39	6.43	1.86	3.00	61.67	4.12	16.91	2.83	4.00
B6	85.62	4.45	15.23	2.72	4.00	79.38	4.37	13.90	2.63	4.00
B7	44.66	3.80	7.03	1.95	4.00	45.27	3.81	5.80	1.76	6.00
B8	49.80	3.91	7.91	2.07	4.00	71.35	4.27	8.83	2.18	6.00
B9	61.88	4.13	12.57	2.53	4.00	60.15	4.10	12.07	2.49	5.00
B10	50.42	3.92	8.64	2.16	4.00	112.49	4.72	15.20	2.72	2.00
B11	74.05	4.30	12.73	2.54	4.00	83.05	4.42	14.48	2.67	4.00
B12	103.35	4.64	19.54	2.97	5.00	69.79	4.25	14.33	2.66	5.00
B13	30.75	3.43	6.15	1.82	3.00	25.89	3.25	4.97	1.60	5.00
Mean (S.D.)	81.85 (38.40)	4.30 (0.48)	12.91 (4.25)	2.50 (0.36)	4.23 (1.07)	87.57 (56.67)	4.32 (0.54)	12.59 (4.47)	2.46 (0.39)	4.65 (1.29)

10밀리그램”은 87.57±56.67로 대조약에 대한 평균치 차가 6.99%이었고, C_{max} (ng/mL)는 12.91±4.25와 12.59±4.47으로 -2.48%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 4.23±1.07와 4.65±1.29로 9.93%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 ±20% 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였으므로 이하 분산분석을 행하였다.

국내에서 기 보고¹¹⁾된 케타스 캡슐(이부딜라스트 10 mg)에 대한 딜라스트 캡슐의 생물학적동등성 논문에서는 이부딜라스트 10 mg 2캡슐을 투여한 결과 “케타스 캡슐”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 528.07±161.73 이었고 C_{max} (ng/mL)는 41.11±12.69 이었다. 또한 일본에서 기 보고¹⁵⁾된 이부딜라스트 10 mg 1캡슐을 투여한 결과 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 334.00±70.00 이었고, C_{max} (ng/mL)는 25.00±6.00이었다. 이와 같이 투여용량에 따라 AUC_t 와 C_{max} 에서 다소 차이가 나타나는 것은 분석법이나 채혈시간에 따른 차이일 수 있으나 이 부분에 대해서는 앞으로 더 연구해 볼 필요가 있다고 사료되었다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC_t , C_{max} 및 T_{max} 값에 대한 분산분석 결과를 Table III에 나타내었다. 먼저 유의수준 α 가 0.05일 때 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 값에 대한 F비(F_G)가 F분석표의 한계값인 $F(1, 24)=4.26$ 보다 모두 작게 나타나 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 로그변환한 평균치 차의 AUC_t 및 C_{max} 에 대한 90% 신뢰한계는 $\log(0.8791) \leq \delta \leq \log(1.1861)$ 및 $\log(0.8347) \leq \delta \leq \log(1.1199)$ 로 나타나 $\log(0.8)$ 에서 $\log(1.25)$ 이어야 한다는 생물학적동등성시험 기준을 만족하였다. 한편, 참고값인 T_{max} 평균치 차의 90% 신뢰구간은 -2.46% ≤ δ ≤ 22.46%로, ±20% 이내이어야 한다는 조건을 만족시키지는 못하였지만 이부딜라스트가 응급시나 신속한 효과를 얻기 위해 투여하는 제제가 아니므로 생물학적동등성 검정시 T_{max} 는 단지 참고값으로만 사용하였다.

이상의 시험결과를 종합해 보면 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”은 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”에 대하여 생물학적동등성시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

결 론

삼천당제약 주식회사에서 발매하고자 하는 이부딜라스트 제제인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”이 기존의 이부딜라스트 제제인 한독약품 주식회사의 “케타스 캡슐 10밀리그램”과 그 생체이용률이 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하기 위해서 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성 시험 기준¹⁰⁾에 따라 건강한 성인 남자(만 19~55세) 26명을 대상으로 2시기 2제품 라틴방격법에 따라 시험하여 얻은 이부딜라스트의 T_{max} 와 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대하여 통계검정과 분산분석을 행하였다. 또한 대한약전 제 8개정 용출시험법 중 제 2법(패들법)에 따라 비교용출시험을 행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”과 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”에 대하여 대한약전 VIII에 수재된 제 2법(패들법)에 따라 용출시험한 결과 모든 용출액에서 두 제제의 용출 양상은 거의 차이가 없었다.

2. 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”의 평균 AUC_t (ng·hr/mL)는 81.85±38.40, 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”은 87.57±56.67로 대조약에 대한 평균치 차가 6.99%이었고, C_{max} (ng/mL)는 12.91±4.25와 12.59±4.47으로 -2.48%의 차이를 보였으며 T_{max} (hr)는 4.23±1.07와 4.65±1.29로 9.93%의 차이를 나타내 대조약에 대한 시험약의 평균치 차이는 대조약의 ±20% 이내이어야 한다는 생물학적동등성 평가를 위한 전제 조건을 만족하였다.

3. 본 실험에서 이부딜라스트 10 mg 캡슐을 대조약과 시험약으로 각각 1캡슐 투여한 후 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”에 대한 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”의

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

	Parameters		
	AUC_t	C_{max}	T_{max}
Difference	6.99%	-2.48%	9.93%
$F_G^a)$	0.0273	1.4180	0.9898
Test/Reference point estimate	1.0212	0.9668	-0.4231
Confidence interval(δ) ^{b)}	$\log 0.8791 \leq \delta \leq \log 1.1861$	$\log 0.8347 \leq \delta \leq \log 1.1199$	$-2.46\% \leq \delta \leq 22.46\%$

[#]The AUC_t and C_{max} values were calculated on the basis of ln-transformed data, and the T_{max} values on the basis of untransformed data.

^{a)} $\alpha=0.05$, $F(1, 24)=4.26$, ^{b)} $\alpha=0.05$.

분산분석 결과, 로그변환한 AUC_t 및 C_{max} 에 대해 유의수준 $\alpha=0.05$ 에서 군간 순서효과는 나타나지 않았으며, 90% 신뢰 한계는 각각 $\log(0.8791)\sim\log(1.1861)$ 및 $\log(0.8347)\sim\log(1.1199)$ 으로 나타나 $\log(0.8)$ 에서 $\log(1.25)$ 이어야 한다는 생물학적동등성시험 기준을 만족하였다. 한편, $T_{max}(hr)$ 에 대한 90% 신뢰구간(δ , %)은 $-2.46\%\sim 22.46\%$ 로 이부딜라스트가 응급이나 신속한 효과를 얻기 위해 투여하는 제제가 아니므로 생물학적 동등성 검증시 단지 참고값으로만 사용하였다.

이와 같이 시험약인 “피나토스 캡슐 10밀리그램”은 대조약인 “케타스 캡슐 10밀리그램”에 대하여 생물학적동등성시험의 판단기준인 2항목(AUC_t 및 C_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료되었다.

감사의 말씀

본 연구는 삼천당제약 주식회사의 지원을 받아 전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) L.C. 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).
- 2) 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**, 215-225 (2001).
- 3) M. Ohashi, Y. Kudo, Y. Ichikawa and K. Nishino, Anti-thrombotic effect of KC-404, a novel cerebral vasodilator, *Gen. Pharmacol.*, **17**, 385-389 (1986).
- 4) H. Fukuyama, J. Kimura, H. Yamauchi, M. Ogawa, T. Doi, Y. yonekura and J. Konishi, Pharmacological effects of ibudilast on cerebral circulation: a PET study, *Neurol. Res.*, **15**, 169-173 (1993).
- 5) K. Nishino, H. Ohkubo, M. Ohashi, S. Hara, J. Kito and T. Irikura, KC-404: a potential anti-allergic agent with antagonistic action against slow reacting substance of anaphylaxis, *Japan. J. Pharmacol.*, **33**, 267-278 (1983).
- 6) K. Nishino, S. Hara and T. Irikura, Effect of KC-404 on allergic reactions type I-IV, *Nippon Yakurigaku Zasshi*, **83**, 291-299 (1984).
- 7) P. Rolan, J.A. Gibbons, L. He, E. Chang, D. Jones, M.I. Gross, J.B. Davidson, L.M. Sanftner and K.W. Johnson, Ibudilast in healthy volunteers: safety, tolerability and pharmacokinetics with single and multiple doses, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **66**, 792-801 (2008).
- 8) T. Li, Y. Pang, Z. Wang, Y. Jia, Q. Cheng and J. Sun, Pharmacokinetics and relative bioavailability of KC-404 sustained release tablets in healthy volunteers, *Sichuan Da Xue Xue Bao. Yi Xue Ban*, **34**, 541-543 (2003).
- 9) S. Maeda, R. Ishida, M. Komuro, S. Ohmuro, H. Hashimoto, M. Hotta and H. Uchida, Studies of KC-404 (3-isobutyryl-2-isopropylpyrazolo-[1,5-apyridine]) pharmacokinetics in humans (Report 2), *Clinical Report (Kiso to Rinsho)*, **23**, 183-189 (1989).
- 10) KFDA, Guideline for Bioequivalence Test (2005).
- 11) K.Y. Chang, S.W. Kang, E.J. Yoo, S.H. Lew, K.R. Lee and H.J. Lee, Bioequivalence of dilast capsule to ketas capsule (ibudilast 10 mg), *J. Kor. Pharm. Sci.*, **37**(3), 197-203, 2007.
- 12) Statistical Solutions Ltd., *Equiv Test*® 2.0, U.K. (2001).
- 13) 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, *Yakhkhoeji*, **44**, 308-314 (2000).
- 14) KFDA, Guideline for Korean Good Clinical Practice (2007).
- 15) Dae Jung Pharm. Co., Ltd, Report of bioequivalence of Pinatos Capsule (Ibudilast 10 mg) (1995).
- 16) H. Yoon, H.Y. Cho and Y.B. Lee, Determination of ibudilast in human serum by high-performance liquid chromatography, *Biomed. Chromatogr.*, **24**(3), 324-328 (2010).
- 17) Food and Drug Administration (FDA): Guidance for Industry; Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence study for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2000).