

건강한 한국인 피험자에서 Entecavir 1 mg 제제의 약동학적 특성 평가

전지영¹ · 황민호¹ · 임용진¹ · 김윤정¹ · 한수미¹ · 임성혁³ · 채수완^{1,2} · 김민걸¹
¹전북대학교병원 임상시험센터, ²전북대학교 의학전문대학원 약리학교실, ³서울의약연구소
(2011년 8월 25일 접수 · 2011년 9월 20일 수정 · 2011년 9월 26일 승인)

Pharmacokinetic Properties of Entecavir 1 mg in Korean Healthy Volunteers

Ji-Young Jeon¹, Minho Hwang¹, Yong-Jin Im¹, Yunjeong Kim¹, Su-mi Han¹,
Sung-Hyuk Im³, Soo-Wan Chae^{1,2}, and Min-Gul Kim¹

¹Clinical Trial Center, Chonbuk National University Hospital

²Department of Pharmacology, College of Medicine, Chonbuk National University, 20, Geonji-ro,
Deokjin-Gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 561-712, Korea

³Seoul Pharma Laboratories, Daeryung, Techno Town, 327-32, Gasan-dong, Geuncheon-gu, Seoul, 153-802, Korea

(Received August 25, 2011 · Revised September 20, 2011 · Accepted September 26, 2011)

Entecavir is a potent and selective guanosine analogue that has demonstrated a significant antiviral efficacy against hepatitis B virus (HBV). The aim of this study was to evaluate the safety and pharmacokinetic profile after a single dose of entecavir 1 mg administration in Korean healthy male subjects. Eight volunteers were enrolled. After a single dose of 1 mg entecavir was orally administered, blood samples were collected at specific time intervals from 0-168 hours. The plasma concentrations of entecavir were determined by LC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were determined from the plasma concentration-time profiles. The mean values for AUC_{last} and AUC_{inf} were 14.84±7.81 ng·hr/mL and 20.71±8.80 ng·hr/mL, respectively. The mean value for C_{max} was 9.19±4.91 ng/mL and median value for t_{max} was 0.58 hr. No adverse events were reported by subjects or found on analysis of vital signs or laboratory tests. The results are suggested to be useful in clinical trials of entecavir in Korean subject including bioequivalence study.

□ Key words - Entecavir, pharmacokinetics, antiviral, Korean healthy subject

만성 B형 간염은 전세계적으로 3억 6천만 명 이상이 감염되어 있는 것으로 추정되며, B형 간염과 관련된 합병증인 간경변, 간세포암종 때문에 매년 60만명 정도가 사망한다고 알려져 있다.¹⁾ 만성 B형 간염 치료의 목적은 간경변이나 간세포암종으로 진행을 예방하고 합병증과 이로 인한 사망률을 감소시키는 데 있다. 국내에서 시판되는 항바이러스제는 라미부딘, 아데포비어, 엔테카비어, 클레부딘, 텔비부딘, 테노포비어 등이 있다. 이들 약제 중 엔테카비어는 D-nucleoside의 cyclic 계통에 속하는 약물로 B형 간염 바이러스 DNA polymerase를 선택적으로 억제하여 만성 B형 간염환자 치료에 사용하고 있다.²⁻⁵⁾ 엔테카비어는 효능면에서 우수할 뿐만

아니라 다른 약제에 비해 초치료 환자에서 투여시 내성발생율이 낮다는 장점을 가지고 있다.^{6,7)}

외국에서 수행된 엔테카비어의 약동학 연구에 의하면, 건강한 피험자에서 경구로 엔테카비어를 0.1 mg, 0.5 mg, 1 mg을 복용하였을 때, 0.5~1.5시간에 최고혈중농도에 도달하였고, 2-구획(compartment) 모델에 따라 혈중 농도가 감소하는 양상을 보이며, 최종 소실 반감기는 128~149시간이고, 유효 반감기(effective half-life)는 약 24시간으로 보고되어 있다.⁸⁾ B형 간염환자를 대상으로 한 집단약동학 모델링 분석 결과, 엔테카비어는 2구획 모델을 따르고, central 분포용적과 peripheral 분포용적이 각각 115 L와 1,830 L로 큰 분포용적을 보여, 엔테카비어 대부분이 조직으로 분포할 것으로 예측된다.

기존 약동학 연구에 따르면, 엔테카비어의 용량을 0.1 mg, 0.5 mg, 1.0 mg를 항정상태에 도달하도록 반복투여하였을 때, AUC는 용량에 비례적으로 증가하였고, 단위투여와 비교하여 항정상태에 도달하였을 때 2배의 축적률을 보였다.⁸⁾ 또한 식

Correspondence to : 김민걸
전북대학교병원 임상시험센터
전라북도 전주시 덕진구 건지로 20
Tel: +82-63-250-2532, Fax: +82-63-250-2349
E-mail: mgkim@jbnu.ac.kr

사와 함께 엔테카비어를 경구로 복용하였을 때, C_{max} 와 AUC가 감소하는 것으로 보고되어 있다.⁶⁾ 성별, 간기능 등에 따른 엔테카비어의 약동학의 유의한 차이는 없었으나, 엔테카비어는 주로 신장으로 제거되는 약물로 신기능에 따라 약동학에 차이가 있어 크레아티닌 청소율이 50 mL/min 미만인 환자에 대해서는 용량 조절이 권장된다.⁹⁾ 또한 노인에서 젊은 성인에 비하여 AUC가 증가한 것으로 보고되어 있으나, 이는 신기능 차이로 인한 것으로 예측된다.^{6,9)}

그러나 한국인을 대상으로 엔테카비어의 약동학적 특성을 평가한 연구가 보고되어 있지 않아, 엔테카비어의 약동학 및 생물학적동등성시험 수행 시에 연구설계 및 채혈시각 설정에 충분한 근거가 없는 상황이다. 따라서 본 연구에서는 건강한 한국인 성인 남성 피험자를 대상으로 엔테카비어 1 mg 단회 투여 시, 약동학적 특성 및 안전성을 평가하고자 하였다.

연구방법

연구대상

19세 이상 50세 이하의 건강하고 본 연구에 적합하다고 판단된 8명의 성인 피험자가 연구에 참여하였다. 본 연구는 전북대학교병원 생명의학연구윤리심의위원회(Institutional review board, IRB)의 승인을 얻은 후 시작되었고, 피험자들은 모두 사전에 연구의 목적, 내용 등에 대하여 충분한 설명을 듣고 자의에 의하여 참여를 결정한 후, 동의서에 서명하였다. 또한 본 연구는 헬싱키선언과 임상시험관리기준에 따라 수행하였다.^{10,11)}

시험설계

본 연구는 시험약을 단회 투여, 공개 디자인으로 진행되었다. 피험자는 투약 전일 전북대학교병원 임상시험센터에 입원한 후 동일한 저녁식사를 하고, 밤 10시경에 취침을 하였다. 투약 전 10시간 동안 절식하였고, 투약 후 4시간까지 공복 상태를 유지하였으며, 특히 투약 전후 1시간 동안은 물 섭취를 제한하였다. 피험자는 임상시험수행일 오전 9시경 엔테카비어(entecavir) 1 mg 1정을 물 240 mL와 함께 복용하였다.

안전성 평가는 활력징후 측정, 문진 및 신체검사를 통해 시행하였고, 약동학적 특성 평가를 위해 약물 투여 전 상완 정맥에 heparin-locked 카테터를 통해 투약직전 및 투약 후 10 분, 20 분, 30분, 40분, 50분, 1시간, 1시간 30분, 2시간, 3시간, 4시간, 6시간, 8시간, 12시간, 24시간, 48시간, 96시간, 168시간까지 각각 약 8 mL의 혈액을 채취하였다. 기존의 건강한 인을 대상으로 수행한 약동학 연구를 참고하여 채혈시각을 설정하였고, 엔테카비어는 2-구획 모델에 따라 혈중농도가 감소하므로 대부분의 농도가 감소할 것으로 예상되는 168시간을 최종 채혈시각으로 설정하였다.⁸⁾ 채혈된 혈액은 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 분석 시까지 -70°C 이하에서 보관하였다.

혈장 엔테카비어 (entecavir) 농도 측정

혈장 중 엔테카비어의 정량은 내부표준물질(internal standard, IS)로 펜시클로버를 사용하여 liquid chromatography (LC)-tandem mass spectrometry (MS/MS)를 이용하였다. UPLC는 Waters Acquity UPLC system (Waters, USA), MS/MS는 Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra (Thermo, USA), 컬럼은 Kinetex HILIC 100×2.1 mm 이용하여 검출하였다. 이동상으로는 5 mM Ammonium formate (pH 3.0) : Acetonitrile = 10 : 90 (v/v)를 사용하였다.

엔테카비어 표준품을 메탄올에 녹여 1000 µg/mL로 만든 후 냉동 보관시키고, 이 용액을 냉동 보관한 공혈장으로 희석하여 엔테카비어의 혈장 중 농도가 각각 0.02, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 ng/mL이 되도록 표준혈장 시료를 만들었다. 각각의 표준혈장 1,100 µL에 내부표준물질 펜시클로버 용액 (4 ng/mL) 10 µL와 증류수 1,100 µL를 가하여 vortex하였다. 이 중 1100 µL를 취하여 메탄올과 증류수로 안정화된 SPE (Solid Phase Extraction) 카트리지(Oasis[®] HLB 96-well plate 30 µm)에 loading한 후 90% 메탄올 2 mL로 용출하였다. 이 용출액을 깨끗한 tube에 옮겨 질소기류 하에서 증발 건조시키고 잔사에 80% 아세토니트릴 150 µL를 가하여 재용해한 후 이 중 5 µL를 LC-MS/MS에 주입하였다. 피험자로부터 시간별로 채취하여 -70°C이하에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 0.5분간 진탕한 다음 이 혈장을 취하여 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전 처리한 후 LC-MS/MS에 주입하였다. 크로마토그램에서 엔테카비어의 피크 면적과 내부표준물질의 피크면적의 비를 가지고 위에서 작성한 검량선으로부터 혈장 시료 중의 엔테카비어의 농도(ng/mL)를 계산하였다. 분석법 validation을 실시한 결과, 사람 혈장 중 엔테카비어에 대한 본 LC-MS/MS 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 회수율, 감도, 시료 내 분석 물질의 안정성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

약동학 분석

약동학 파라미터들은 Phoenix[®] WinNonlin 6.2 (Pharsight Corporation, NC, USA) 소프트웨어를 이용하여 비구획 모델(noncompartmental method)로 개별 파라미터를 산출하였다. 최고혈중농도(C_{max}), 측정 가능한 마지막 채혈시점까지의 혈중 농도-시간 곡선하 면적(AUC_{last}), 측정 가능한 마지막 채혈시점에서 무한대 시간까지 외삽하여 계산한 혈중 농도-시간 곡선하 면적(AUC_{inf}), 최고혈중농도 도달시간(T_{max}), 및 소실반감기($t_{1/2}$)를 구하였다. 이 때, 채혈시각은 예정된 시각이 아닌, 실제 채혈이 수행된 시각으로 분석하였다. C_{max} 와 T_{max} 는 관측된 값을 사용하였고, AUC_{last} 와 AUC_{inf} 는 혈중 농도-시간 곡선으로부터 혈중 농도 상승 구간은 선형 사다리꼴 방식 계산법(linear trapezoidal rule)으로 계산하였고, 혈중 농도 감소구간은 대수 사다리꼴 방식 계산법(logarithmic

Table 1. Demographics of volunteers

Subject ID	Age (year)	Height (cm)	Weight (kg)
1	23	173	66
2	27	173	72
3	31	173	66
4	28	161	53
5	27	183	87
6	26	184	88
7	25	173	73
8	25	178	84
Mean	26.5	174.8	73.6
SD	2.4	7.2	12.2
CV(%)	9.0	4.1	16.5

trapezoidal rule)으로 계산하였다. 또한 선형 회귀 분석법 (linear regression)에 의해 1/y 가중치(weight)를 준 후 log-linear plot 에서 C_{max} 이후 농도 중 정량한계 이상의 마지막 농도 측정치를 포함하여 최소한 3개의 점을 사용하여 보정된 결정계수(adjusted r^2) 값이 최대가 되도록 직선화하여 소실속도상수(terminal elimination rate constant, K_{el})를 구한 후 그로부터 $t_{1/2}$ ($\ln 2/K_{el}$)를 산출하였다.

시험결과

피험자

총 8명의 피험자가 본 연구에 참여하여, 모두 연구를 종료하였다. 연구에 참여한 피험자는 모두 남성이었고, 평균 연령은 26.5±2.4세, 평균 신장은 174.8±7.2 cm, 평균 체중은 73.6±12.2 kg이었다(Table 1). 전체 연구기간 동안, 임상적으로 유의한 변화나 이상반응은 발생하지 않아 안전성 측면에서 특이사항은 발견되지 않았다.

약동학분석

시험약을 단회로 경구투여한 후, 혈장 약물농도 추이는 Figure 1에, 약동학 파라미터는 Table 2에 나타내었다. C_{max} 는 9.19±4.91 ng/mL, AUC_{last} 는 14.84±7.81 ng·hr/mL, AUC_{inf} 는 20.71±8.80 ng·hr/mL 이었다. T_{max} 의 중앙값은 0.58시간 (0.5-0.83시간)이었고, $t_{1/2}$ 는 95.87±51.37 시간이었다.

고 찰

본 연구에서는 건강한 남성 한국인에서 엔테카비어의 약동학적 특성을 평가하고자, 8명의 피험자를 대상으로 엔테카비어 1 mg을 공복상태에서 단회투여하였다. 약동학 파라미터를 산출한 결과, C_{max} 와 AUC의 변이계수가 약 42.5%~ 53.6%로

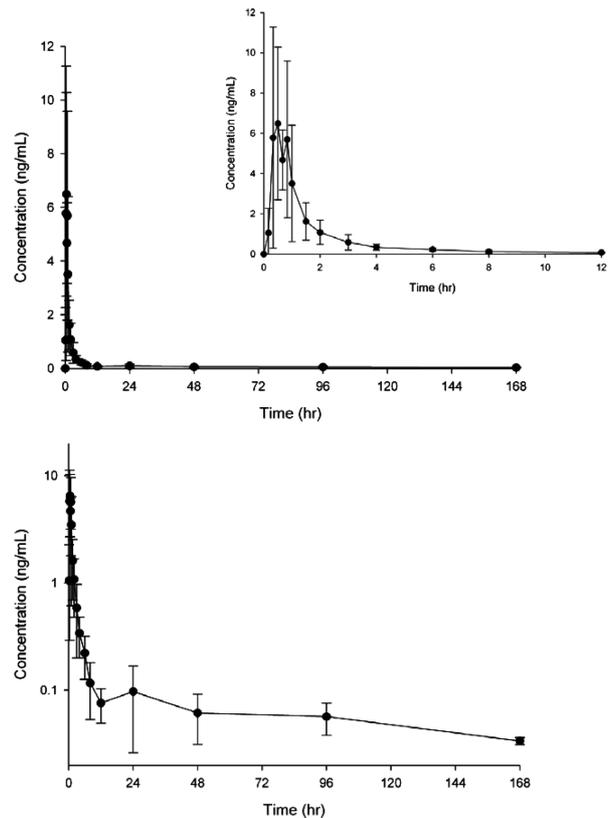


Fig. 1. Plasma concentration-time profiles of entecavir 1 mg in 8 healthy Korean subjects. Each point represents the mean±S.D. (Upper, linear scale; lower, log scale)

건강한 피험자를 대상으로 했던 Yan 등의 연구에서의 변이계수가 약 14~30% 정도였던 것에 비해서 큰 양상을 보였다.⁸⁾

엔테카비어는 주로 신장으로 제거되는 약물로 흡수, 분포, 제거 등을 반영하는 약동학 파라미터는 신기능의 영향을 받게 되고, 나이, 체중, 신장, 혈청 크레아티닌 수치 등이 신기능에 영향을 주는 요인이 될 수 있다. 본 연구에 총 8명의 피험자가 참여하였고 건강검진 결과 특별한 이상소견은 없었으며, 나이(range, 23~31세; CV, 9.0%), 체중(range, 53~88 kg; CV, 16.5%), 신장(range, 161~184 cm; CV, 4.14%)이고, 혈청 크레아티닌(range, 0.74~0.99 mg/dL; CV, 10.6%)은 정상범위를 보여 신기능의 영향 보다는 체중이 약동학 파라미터의 변이계수에 영향을 주었을 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서는 8명의 피험자를 대상으로 수행하였으므로, 추후 대규모의 피험자를 대상으로 평가할 필요가 있다.

엔테카비어는 최고혈중농도에 도달한 후, 이중지수(bi-exponential) 형태로 감소하고, 이때 최종 소실 반감기가 약 128~149 시간으로 보고되어있다.⁸⁾ 본 연구에도 혈중농도가 이중지수(bi-exponential) 양상을 보였으나, 최종 소실 반감기가 95.87±51.37 시간으로 기존 연구에 비하여 짧게 산출이

Table 2. Pharmacokinetic parameters of entecavir after a single oral administration of entecavir 1 mg

Subject ID	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	AUC _{last} (ng·hr/mL)	AUC _{inf} (ng·hr/mL)	AUC _{extra} (%)	t _{1/2} (hr)
1	11.08	0.50	23.43	33.19	70.60	78.66
2	9.49	0.50	14.96	25.69	58.24	218.68
3	10.03	0.50	15.95	21.58	73.93	108.29
4	14.08	0.83	28.21	31.49	89.57	73.45
5	4.47	0.67	5.87	9.72	60.40	74.11
6	2.41	0.83	7.65	12.57	60.70	62.25
7	16.72	0.33	14.15	17.59	80.45	79.42
8	5.27	0.67	8.51	13.82	61.61	72.09
Mean	9.19	0.60 (Median, 0.58)	14.84	20.71	69.44	95.87
SD	4.91	0.18	7.81	8.80	11.29	51.37
CV(%)	53.40	29.26	52.62	42.49	16.26	53.59

되었다. 이는 본 연구가 기존 연구와 채혈시각, 분석 정량한 계 등이 동일하지 않았으므로, 최종 소실 반감기 산출에 차이가 있었을 것으로 생각된다. 또한 인종 간에 분포용적, 대사효소 등의 차이로 약물의 분포 및 제거 양상이 다를 수 있으므로, 이로 인하여 본 연구에서 반감기가 기존 연구와 차이를 보였을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 8명의 건강한 성인 남성을 대상으로 엔테카비어를 경구 투여한 후 혈중 엔테카비어의 약동학적 특성을 파악하였다. 본 연구에서 산출한 C_{max}, T_{max}, AUC 및 반감기 등의 약동학 파라미터와 이들의 변이계수는 향후 대규모로 진행될 약동학 연구 및 생물학적동등성시험의 연구설계에 도움이 될 것으로 사료된다.

참고문헌

- Shepard CW, Simard EP, Finelli L, *et al.*, Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev* 28:112-25, 2006.
- Innaimo SF, Seifer M, Bisacchi GS, *et al.*: Identification of BMS-200475 as a potent and selective inhibitor of hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 41: 1444-8, 1997.
- Chang TT, Gish RG, de Man R, *et al.*, A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 354: 1001-10, 2006.
- Lai CL, Shouval D, Lok AS, *et al.*, Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 354: 1011-20, 2006.
- Lampertico P: Entecavir versus lamivudine for HBeAg positive and negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 45: 457-60, 2006.
- Rivkin A: A review of entecavir in the treatment of chronic hepatitis B infection. *Curr Med Res Opin* 21:1845-56, 2005.
- Cho SW: Chronic Hepatitis B. *대한간학회지* 16권:12-19, 2010.
- Yan JH, Bifano M, Olsen S, *et al.*, Entecavir pharmacokinetics, safety, and tolerability after multiple ascending doses in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 46: 1250-8, 2006.
- Highlight of prescribing information: BARACLUDE (entecavir) Tablets, Bristol-Myers Squibb Company, Initial U.S. Approval: 2005.
- Adopted by the 18th WMA General Assembly H, Finland, June 1964, and amended by the 59th WMA General Assembly, Seoul: WORLD MEDICAL ASSOCIATION DECLARATION OF HELSINKI Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects., 2008.
- 의약품 임상시험 관리기준. 식품의약품안전청 고시 제 2009-211호.