

Captopril 제제의 동등성에 관한 연구 : 생체이용률 및 혈장 Angiotensin-Converting Enzyme 활성도 억제

서울대학교 병원 임상약리학 Unit, 서울대학교 의과대학 약리학교실 및 내과학교실*

장인진 · 이중복 · 엄재호* · 신재국 · 신상구
박찬웅 · 한진석* · 김성권* · 이정상*

=Abstract=

Comparative Study of Captopril Tablets on the Bioavailability and the Time Course of Plasma Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition

In-Jin Jang, M.D., Joong-Bok Lee, M.S., Jae-Ho Earm, M.D.,*
Jae-Gook Shin, M.D., Sang-Goo Shin, M.D., Chan-Woong Park, M.D.,
Jin-Suk Han, M.D.,* Suhnggwon Kim, M.D.,* Jung-Sang Lee, M.D.*

*Clinical Pharmacology Unit, Seoul National University Hospital,
Department of Pharmacology and Department of Internal Medicine,*
Seoul National University College of Medicine*

Captopril tablets of two different producers were tested for bioequivalence as well as therapeutic equivalence. The pharmacokinetics, the time course of plasma angiotensin-converting enzyme inhibition, and the changes of systolic and diastolic blood pressure after administration of drugs were studied. In a balanced, randomized two-way crossover design, two single doses of 50mg each of captopril were administered orally to twelve male volunteers. Peak blood levels of free captopril were observed about 0.85 hour after the dose, and practically free captopril could not be detected in blood within 8 hour. Peak free captopril levels of both compounds were almost identical (Capoten®, 464.3ng/ml ; Capril®, 504.6ng/ml). No statistically significant difference was identified between two compounds when area under the concentration-time curve, peak level, time to peak were compared. Inhibition of plasma angiotensin-converting enzyme to blood free captopril concentration showed the hyperbolic concentration-response relationship with IC₅₀ value of 7.4ng/ml. The area under the percent angiotensin-converting enzyme inhibition versus time curve were quite similar after administration of both drugs. The compounds were also found to be equivalent on the premise that no significant difference was detected when the time courses of systolic and diastolic blood pressure reduction were compared.

KEY WORDS : Captopril · Bioequivalence · Bioavailability · Angiotensin-converting enzyme activity · Pharmacokinetics.

Captopril은 고혈압 및 울혈성 심부전 치료제로서 가장 먼저 개발된 angiotensin-converting enzyme(ACE) 억제제로 현재 임상에서 널리 사용되고 있으며 국내에서도 captopril의 제조원으로는 원 제조사인 Squibb사가 원료를 공급하는 제제와 더불어, 1개사에서 국내원료 합성으로 generic product 제제를 생산 시판하고 있다.

그러나, 많은 약물에서 generic product의 경우 동등한 함량을 지닐지라도 제조원에 따른 약물의 흡수 속도 및 흡수정도의 차이 즉 생체 이용율의 차이가 흔히 발생할 수 있으며 이는 혈장 약물농도-시간변화에 영향을 주고 궁극적으로는 약리효과를 나타내는 수용체 부위(biophase)의 약물농도의 시간 변화에 차이를 가져와 치료적 동가성(therapeutic equivalence)을 나타내지 못하는 경우가 경구 투여 제제의 경우 흔히 발생할 수 있다. Captopril은 경구 투여시 60~75% 정도가 장내에서 흡수되고 혈중농도의 개인 차가 크며¹⁾, 식후에 투약시 35~40%의 생체이용율의 감소가 보고²⁾되고 있어 generic product는 제형(formulation)과 관련된 생체 이용율의 변화 가능성의 검토로 동등성이 보장되어야 할 것으로 사료된다.

한편 captopril은 혈중약물농도변화-ACE 억제효과-강압효과로 이어지는 약리기전 모델에 있어서 enalapril등의 타 ACE 억제제와 달리 혈중 유리 captopril 농도변화는 혈장 ACE 활성도 억제 및 혈압강화 효과와 상관성이 명백치 않아³⁾ 이에 대한 재검토가 요구되고 있다.

따라서, 본 연구에서는 정상인 피험자를 대상으로 captopril 국내 generic product를 기준제제인 Squibb사의 captopril제제와 교차시험에 의해 혈중 유리 captopril 농도 변화, 혈장 ACE 활성도 억제 및 강압효과등을 검토함으로써 generic product의 동등성 검토와 아울러 captopril 혈중농도 변화-ACE 억제-혈압 변동으로 이어지는 약리기전 모델을 약동력학적 견지에서 재검토코자 하였다.

1. 피험자 및 시험방법

본 연구는 single blind 무작위 배정법으로 시행하였으며, 피험자는 이상체중의 10% 내외의 정상 성인 남성(나이 29.3 ± 4.7 ; 체중 69.4 ± 11.2 kg) 12명을 대상으로 하였다. 피험자는 시험전 뇨검사, 심전도, 혈액검사 및 혈액화학 검사를 시행하여 정상 간, 심 및 신기능을 지닌자를 대상으로 하였다. 본 실험의 연구계획서(protocol)는 서울대학교 병원 임상연구위원회에서 검토 승인되었으며, 시험개시전 피험자 동의서를 취득 후 연구를 개시하였다.

시험제제는 captopril 25mg 정제를 사용하였으며 Squibb사의 Capoten[®]을 기준제제로 국내 합성제제(Capril[®], 보령)를 50mg 1회 경구투여 교차시험을 시행하였으며, 교차투약 간격은 1주로 하였다. 피험자는 투약 8시간 전부터 투약후 4시간 동안 공복상태를 유지토록 하였으며, 투약후 24시간 동안은 Caffeine이나 알코올을 함유하는 음료의 섭취를 금하였다. 투약직전 상박 주전부에 heparin locked (100 unit/ml) I.V. catheter를 거치한 후 대조혈액을 20ml 채취하고 투약 직후부터 20분, 40분, 1시간, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8 및 24시간까지 각 7ml의 혈액을 채취하였다.

채혈액중 4ml의 혈액을 20mg의 p-BPB(p-bromophenacyl bromide)와 0.2M EDTA 및 Vitamin C 200 μ l를 함유하는 polyethylene tube에서 5분 진탕 후 상온에서 15분 방치로 혈중 유리 captopril을 p-BPB와 결합 시킨 후 원심분리하여 혈장을 분리하고 분리 혈장은 captopril 농도측정시까지 -20 $^{\circ}$ C에 냉동 보관하였다. 나머지 3ml의 혈액은 채혈 즉시 4 $^{\circ}$ C에서 원심분리하여 혈장 분리후 -196 $^{\circ}$ C 액체질소하에^{4,5)}에 혈장 ACE 활성도 측정시까지 보관하였다.

또한 피험자는 투약직전 3회의 대조 수축기 및 이완기 혈압 및 맥박 측정후, 투약 8시간 후까지 혈압 및 맥박의 변동을 경시적으로 측정하였다.

2. 혈중 유리 captopril 농도의 측정

혈중 유리 captopril의 농도 측정은 captopril의 thiol기의 coupling agent로 p-BPB를 사용한 Kawahara 등⁶⁾의 HPLC 방법에 준하여 시행하였다. 투약 후 채혈 즉시 혈중유리 captopril을 p-BPB에 결합시킨 혈장 1.5ml에 thiosalicylic acid를 p-BPB로 결합시킨 화합물을 internal standard로 125ng 첨가후 2N HCl을 200 μ l 첨가하여 시료를 산성화시켰다. 이후 6ml의 benzene을 섞어 30초간 vortexing 후 benzene 층에 용출 건조시킨 후 0.05M phosphate 완충액(pH 7.0) 4ml을 가하여 침전물을 용해시킨 후 phosphate 완충액을 6ml benzene으로 2회 세척 하고 2N HCl 용액을 가하여 완충액의 pH를 2.0으로 낮추고 6ml benzene으로 재 용출후, benzene층을 진공 건조시켜 200 μ l acetonitril에 녹이고 이중 100 μ l를 하기 HPLC system에 주입하였다. Captopril 농도 측정은 reverse phase C₁₈ column(Novapak, 3.9 \times 150mm)을 사용하였으며 이동상은 물과 acetonitril 60/40 비율에 0.5% acetic acid를 함유토록 하였고 유속은 분당 1ml로 하여 260nm 파장에서 UV detector로 측정하였다(그림 1 참조). 상기 조건에서 혈중 captopril의 최저 측정 가능 농도는 5ng/ml 이었으며, 5ng/ml에서 2.5 μ g/ml까지 internal standard에 대한 peak-height ratio는 직선적인 관계를 보였다.

3. 혈장 ACE 활성도의 측정

혈장 ACE 활성도는 Hayakari 등⁷⁾의 방법에 준하였으며, 0.15ml의 혈장을 37 $^{\circ}$ C에서 3분간 전처리후 phosphate 완충액(pH 8.3), NaCl 및 기질로 Hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL)을 각각 40 mM, 300mM 및 1.5mM되게 첨가하고 총반응액을 0.5ml 되게 하여 반응을 개시하였다.

기질인 HHL 첨가로 37 $^{\circ}$ C의 항온진탕기에서 반응을 개시하였으며 30분간 반응시킨 후, 시료를 100 $^{\circ}$ C 수욕조에 5분간 처리로 반응을 정지시켰다. 이후 실온에서 냉각후 0.2M phosphate 완충액(pH 8.3) 및 3% 2, 4, 6-trichloro-S-triazine 용액을 3ml 및 1.5ml 첨가후 반응액이 투명해질 때까지 진탕후 1,000g에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 취한후 382nm에서 흡광도를 측정하였다. 기질 HHL 첨

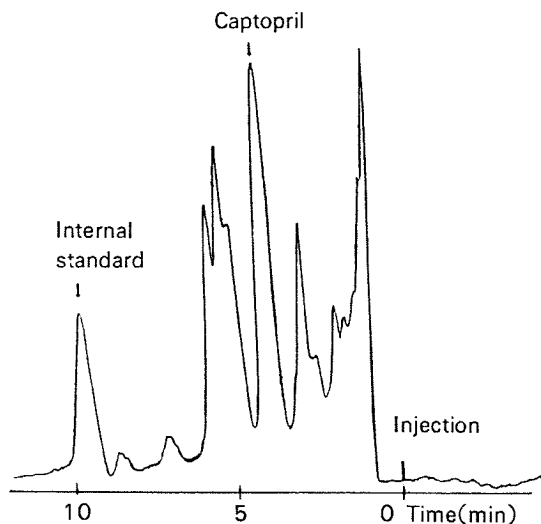


Fig. 1. Typical HPLC chromatograms of extracts from human whole blood after oral administration of 50mg captopril. retention time of captopril was about 4.5 minutes and that of internal standard was 10 minutes.

가로 혈장 ACE에 의해 생성된 hippuric acid를 표준곡선에서 산출하였고 이 방법에 의한 ACE 활성도 측정의 실험간 변이계수는 6.8% 이었다. 혈장 ACE 활성도는 ml당 1분동안 HHL 1 nmole을 가수분해하는 활성도를 1 unit로 하였다.

Captopril 투여후 시간 경과에 따른 혈장 ACE 활성도의 억제 정도(PI; percent inhibition)는

$$PI(\%) = \left[1 - \frac{A_t}{A_0} \right] \times 100$$

A₀: 대조시 혈장 ACE 활성도

A_t: 투약후 각 시간에서의 혈장 ACE 활성도에 의해 산출되었다.

4. 혈중 유리 captopril 농도변화 및 혈장 ACE 활성 억제의 약동력학적(pharmacokinetic/pharmacodynamic) 분석

혈중 유리 captopril의 AUC(area under the concentration-time curve)는 약물의 흡수기에는 linear-trapezoidal rule에 의하고 최고 혈중농도 이후는 log-linear trapezoidal rule에 의해 산출했으며, captopril의 총 청소율(CI/F)은 CI/F=dose/AUC에 의해 산출하였다.

Captopril 투여후 유리 captopril의 체내 잔존시간(MRT: mean residence time)은 AUMC/AUC에 의해서 산출 하였고 AUMC(area under the 1st moment-time curve)는 $\int_0^{\infty} C_p \times t \cdot dt$, 즉 1st moment ($C_p \times t$)의 시간곡선의 면적으로 AUC 산출시와 동일한 방법으로 계산하였다. Captopril 정제 투여후 최고 혈중 유리 농도(C_{max}) 및 최고농도 도달시간(T_{max})은 개별 피험자에서 관찰된 값을 사용하였다.

Captopril 투여후 두제제간의 혈장 ACE 활성도 억제 비교는 투약에 따른 ACE 활성도 억제의 투약직후 부터 24시간 후까지의 변화 곡선의 면적(AUCI)을 linear trapezoidal rule에 의해 산출하고 이를 투여 약물의 약력학적 경수(parameter)로 비교하였다⁸⁾. 또한 captopril 투여후 ACE 활성억제와 혈중유리 captopril 농도의 농도-억제 관계 분석은 Langmuir의 용량-반응 상관 관계 모델을

$$\% \text{ ACE억제} = \frac{100 \times [\text{captopril}]}{[IC_{50}] + [\text{captopril}]}$$

적용하여 최소자승법에 의한 비선형 회귀 분석 시행으로 혈장 ACE를 50% 억제하는 유리 captopril 농도(IC_{50})를 산출하였다^{9,10)}.

5. Captopril 제제간의 동등성 검정을 위한 통계 처리

Captopril 두 제제간의 생체 이용율은 각제제의 약동학적 특성(AUC, C_{max} 및 T_{max})과 혈장 ACE 활성억제의 약력학적 특성(AUCI)을 α 유의수준 0.05로 분산분석(ANOVA)을 시행하였다. 또한, 기준제제에 대한 국내 합성제제의 상대적 생체 이용율의 지표를 90% 및 95% 신뢰구간을 산출 상기 분산분석 결과와 같이 검토 하였으며, 각 captopril 제제 투여후 수축기 및 이완기 혈압의 경시적인 변화의 차이의 유무는 경시적 혈압 하강치를 반복 분산분석(repeated ANOVA)¹¹⁾에 의해 검정함으로써 두제제의 차이를 검토 하였다.

결 과

12명의 정상 성인 남성 피험자에 captopril 50mg

투여후 모든 피험자에서 특기할 부작용은 관찰되지 않았다.

1. 혈중 유리 captopril의 농도 변화 및 약동학적 성상

Captopril 25mg 정제 50mg을 1회 경구투여후 혈중 유리 captopril 농도의 시간 경과에 따른 변화는 그림 2와 같으며, 최고 혈중 유리 약물 농도는 기준제제의 경우 개인에 따라 0.67 시간에서 2시간에 최고치를 보였고, 시험제제는 0.67 시간에서 1.5시간에 최고치를 보였으며, 최고 혈중농도 도달시간은 평균 0.86 및 0.85시간이었다. 최고 혈중 유리 captopril의 농도는 시험제제의 경우 $504.6 \pm 165.9 \text{ ng/ml}$ 로 기준제제의 $464.3 \pm 134.9 \text{ ng/ml}$ 에 비해 약 8.7%의 약간 높은 평균치를 보였으나 유의한 차이를 인지할 수 없었다(표 1). 혈중 유리 captopril 농도는 전 피험자에게 최고 혈중농도 도달후 급격히 감소하였으며 한 피험자에서는 6시간 이후, 타 피험자에서는 투약 8시간 이후에는 본 연구의 분석방법으로 혈중 유리농도를 감지할 수 없었고, 6시간 평균 혈중유리약물 농도는 10 ng/ml 이하였다(시험제제 8.1 ± 4.5 ; 기준제제 $6.0 \pm 4.1 \text{ ng/ml}$).

두제제 투여시 유리 captopril의 평균체내 잔존시간(MRT)은 두제제 공히 약 1.4시간의 짧은 잔존시간을 보였고, 총청소율 역시 $74 \sim 76 \text{ L/hr}$ 로 교차 시험이 잘 이루어진 결과였다.

국내 생산 captopril 제제의 대조제제에 대한 상대 생체 이용율을 AUC, T_{max} , C_{max} 를 검정 경수로 하여 α 유의수준 0.05에서 분산 분석을 시행한 결과는 표 1과 같다. 시험제제의 경수들의 대조제제에 대한 백분율의 차는 모두 $\pm 20\%$ 내외의 차이를 보였으며, 본 연구의 생체이용율을 검정시 각 경수의 20%의 차를 인지할 수 있는 검출력은 AUC의 경우는 81.4%로 충분한 검출력을 보였으며, C_{max} 및 T_{max} 의 경우는 80% 이하의 검출력을 보였다. 기준제제의 혈중유리 captopril의 AUC, C_{max} 및 T_{max} 에 대한 시험제제 경수의 백분율 90% 및 95% 신뢰구간은 표 1과 같으며, C_{max} 의 90% 신뢰구간 상한치는 126%, T_{max} 의 경우는 72.4~124.4%를 보였으나, AUC의 경우는 95% 신뢰 구

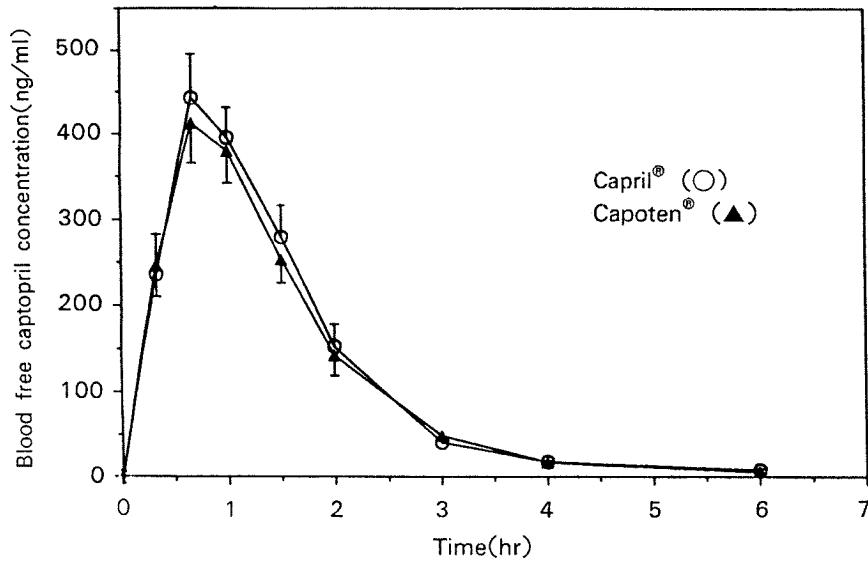


Fig. 2. Blood free captopril concentration-time course after single oral administration of 50mg captopril to twelve normal subjects. Mean \pm S.E. are plotted.

Table 1. Pharmacokinetic parameters of two captopril tablets and confidence interval for the parameters of AUC, C_{max} , T_{max} of test compound (Mean \pm S.D.)

	Reference	Test	95 % confidence interval	90 % confidence interval	Statistical significance
	compound	compound			
AUC(ng/ml \cdot hr)	678.8 \pm 122.4	701.9 \pm 140.2	89.4 – 117.4	92.0 – 114.8	NS
C_{max} (ng/ml)	464.3 \pm 134.9	504.6 \pm 165.9	87.4 – 130.0	91.3 – 126.0	NS
T_{max} (hr)	0.86 \pm 0.39	0.85 \pm 0.26	66.4 – 130.3	72.4 – 124.4	NS
MRT(hr)	1.42 \pm 0.20	1.41 \pm 0.19	—	—	NS
CL/F(L/hr)	75.9 \pm 13.7	74.3 \pm 17.4	—	—	NS

간의 경우에도 $\pm 20\%$ 내외의 결과를 보였다.

2. 혈장 ACE 활성도 억제 및 혈압 변동

Captopril 투여전 피험자의 대조 평균 혈장 ACE 활성도는 기준제제 투여시는 23.6 ± 4.7 units이었으며 시험제제 투여시는 24.0 ± 5.2 unit이었다. Captopril 50mg 경구투여후 혈장 ACE 활성도는 투약 20분후부터 유의한 감소를 보였으며, 최고 억제 효과는 두 제제 공히 개인에 따라 0.33~2시간에 최고 억제를 보였으며 최고억제율은 기준제제의 경우 $94.90 \pm 4.53\%$, 시험제제는 $91.97 \pm 4.91\%$ 의 최고억제를 보였다. 이러한 ACE의 최고 활성도 억제 효과는 혈중 유리 captopril 농도의 증가와

시간적으로 일치하는 결과를 보였으며(그림 3) 이후 혈장 ACE 활성도 억제는 점차 감소하나 혈장 유리 captopril의 농도가 10ng/ml 이하인 6시간에도 평균 약 58%, 혈장유리 captopril의 농도가 인지되지 않는 8시간에는 약 50%의 억제를 보였고 투약 24시간후에도 8~12%의 억제를 보였다. 이러한 양상은 혈중유리 captopril 농도 변화에 따라 비선형의 ACE 활성억제를 시사하며 혈중 유리 captopril 농도 변화에 따른 혈장 ACE 활성억제는 그림 4와 같이 saturation kinetics 양상의 농도-반응 양상을 보였다. Captopril 투여에 따른 혈중 유리 captopril-ACE 억제율을 Langmuir의 모델에 의해 분석결과 50% 억제 농도(IC_{50})는 개인차가

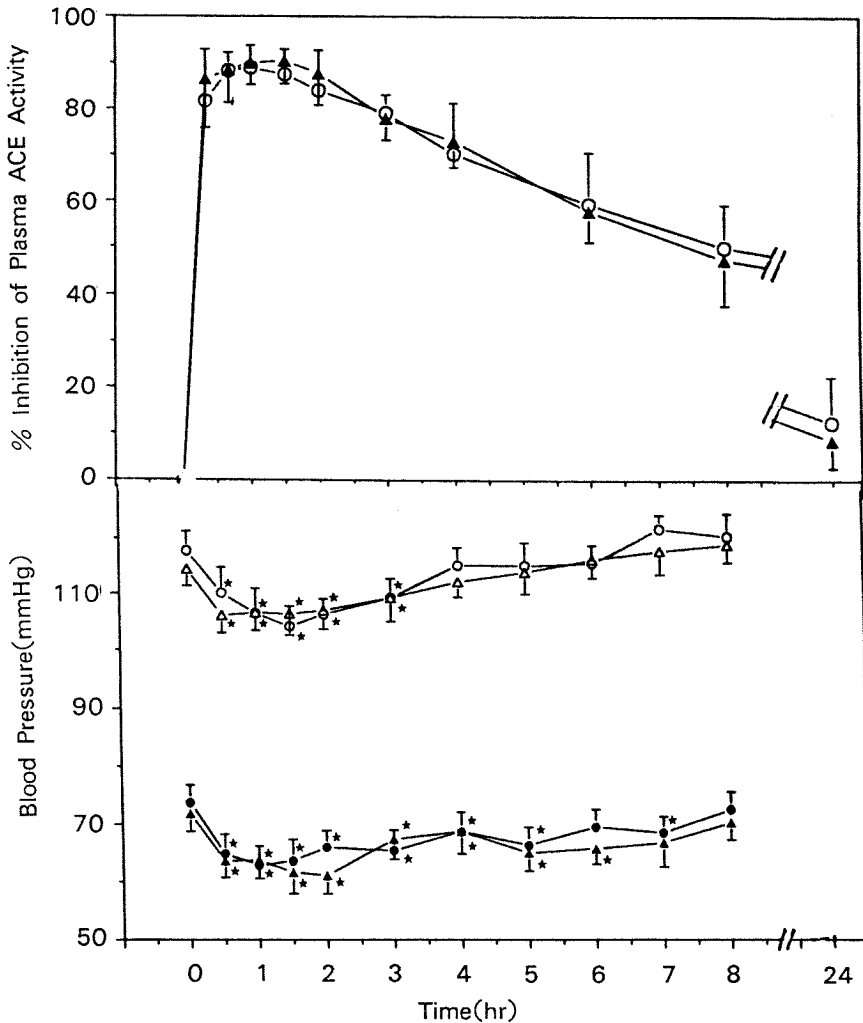


Fig. 3. Percent inhibition-time course of plasma ACE activity(upper panel) and changes of systolic(open symbols) and diastolic(closed symbols) blood pressure after single oral administration of 50mg captopril tablets. Mean±S.E. are plotted. Asterisks(★) indicate significant reduction of blood pressure from baseline values. Circles and triangles indicate values for Capril® and Capoten®, respectively.

켰으며(1.05~13.61ng/ml) 두제제 투여에 따른 평균 IC₅₀ 농도는 시험제제의 경우 8.10±2.79ng/ml, 기준제제의 경우 6.77±4.88ng/ml로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 또한 두제제 투여에 따른 약력학적 지표로 ACE 활성 억제면적(AUCI)은 기준제제 956.05±223.61, 시험제제의 경우 985.23±253.21%·hr로 차이를 보이지 않았다(표 2).

Captopril 50mg 1회 경구 투여후 수축기 및 이

완기 혈압 변동은 두제제 공히 투약 30분후부터 유의한 감소를 보였고 최고 혈압 변동은 1~1.5 시간후에 나타났다. 기준제제의 경우 수축기 혈압의 최고 변동은 12.4±2.2mmHg(대조혈압 114.2±8.4mmHg), 시험제제의 경우 17.0±6.3mmHg(대조혈압 117.7±9.5mmHg)의 하강이 관찰되었으며, 이완기 혈압은 기준제제의 경우 13.7±4.2mmHg(대조혈압 71.9±8.9mmHg), 시험제제의 경우는

Table 2. Inhibition of plasma ACE activity after oral administration of 50mg captopril

	IC ₅₀ (ng/ml)	AUCI(% · hr)
Reference compound	6.77 ± 4.88	965.05 ± 223.61
Test compound	8.10 ± 2.79	985.23 ± 253.21

14.4 ± 4.3mmHg(대조혈압 73.8 ± 8.7mmHg)이었다. 수축기 혈압 변동은 3시간 이후, 이완기 혈압은 7시간 이후 통계적으로 유의한 하강을 인지할 수 없었으며, 두제제간의 경시적인 혈압 변동 차이는 수축기 및 이완기 혈압 모두 통계적인 유의한 차를

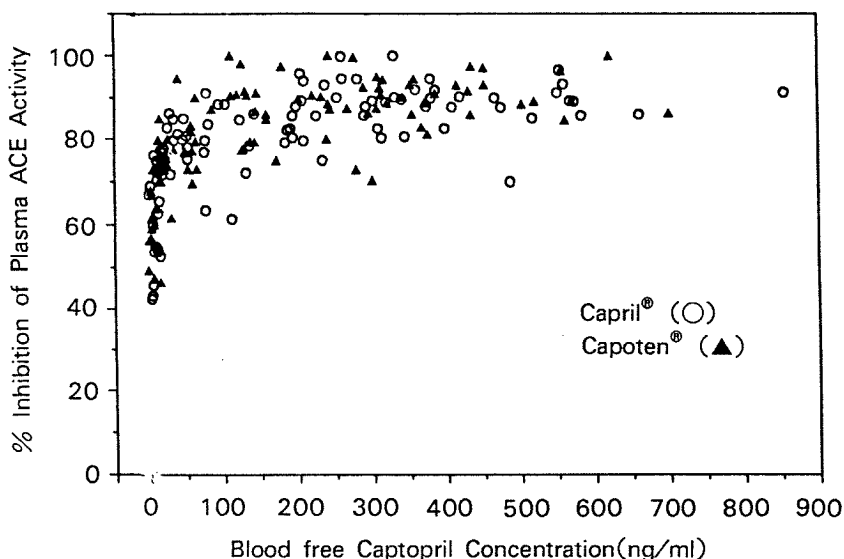


Fig. 4. Relationship between blood free captopril concentration and percent inhibition of plasma ACE activity.

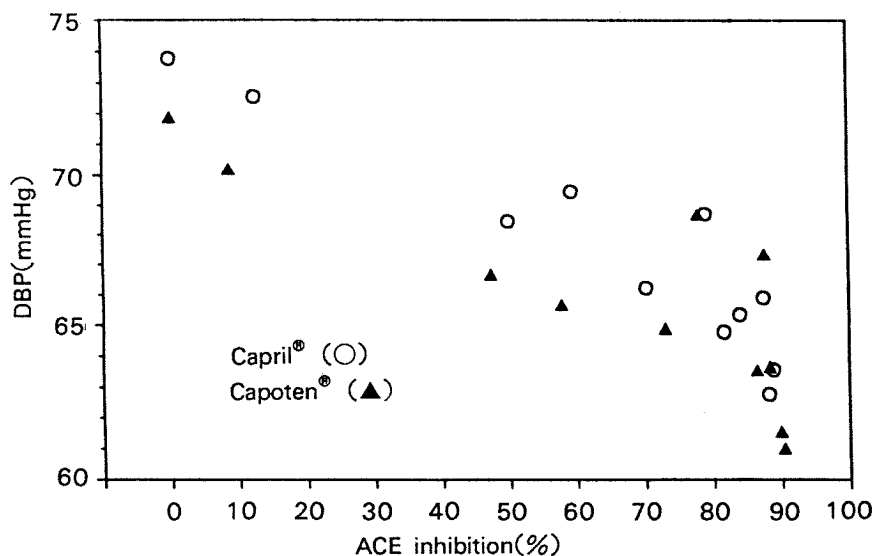


Fig. 5. Correlation between fall in diastolic blood pressure(DBP) and percentage ACE inhibition in 12 healthy volunteers after single oral doses of captopril 50mg.

인지할 수 없었다(그림 3). Captopril 투여후 맥박의 변동은 유의한 차를 인지할 수 없었다.

고 안

의약품의 생물학적 동등성(bioequivalence)의 개념은 US War Food Administration의 연구자들에 의해 화학적 동등성(chemical equivalence)을 지닌 여러 multivitamin 제제들이 생체내로 동량이 흡수되지 못함을 밝혀낸 이후 부터 시작되었다. 그러나 generic drug의 생물학적 동등성의 차에 의해 임상효과가 상이함은 1968년 처음 문제가 되었고 미국 FDA에 의한 낮은 혈중농도를 보이는 chloramphenicol 캡슐제제의 시장수거가 그 첫 조치이다. 이후 1970년경 오스트리아의 phenytoin 제제의 중독사건, 영국의 digoxin 제제의 중독사건등이 동등한 함량만으로는 임상효과와 동등성을 보장할 수 없음을 잘 제시해주는 예가 되고 있다. 이후 미국의 경우 1970년에서 77년에 이르는 generic drug의 시판허가 신청시 생물학적 동등성 검토 결과 요구에 관한 연방 규제안¹²⁾의 확정과 더불어 선진국들에서는 이미 generic drug의 생물학적 동등성 검토를 요구하고 있다. 우리나라에서는 1988년 10월 28일자로 새로운 generic drug의 시판허가 규제안으로 ANDA(약식 신약시판 승인) 과정에서 생물학적 동등성 시험기준¹³⁾을 고시 시행하고 있으나 연구제정의 제한성등으로 이 기준은 고시이후 시판 허가되는 의약품에만 적용되고 있다. 따라서 generic product의 개발시는 이러한 제형(formulation)과 관련 되는 차이를 최소화하는 것이 바람직하며, 이를 위해 흔히 biophase의 약물농도-시간 변화의 간접적 지표로 혈장 약물농도의 약동학적 검토 즉 생체이용률 검토를 시행하고 혈장 약물 농도의 측정에 난점이 있는 경우는 약리효과와 경시적인 변화를 검토함으로써 원제제에 대한 generic product의 동등성을 보장하는 것이 바람직하다.

Captopril은 SH-기를 지니는 최초의 ACE 활성 억제제로써 그 약리 기전에 대해서는 Benuck and Marks 등 시험관내에서 뇌조직 및 혈장 angiotensin-converting enzyme 활성억제에 대해 보고한

이후 그간 많은 연구가 진행되었으며¹⁴⁾, 주 약리 작용기전은 혈장 및 조직 ACE 활성도 억제¹⁵⁾ angiotensin I의 angiotensin II로의 전환억제로 추정되고, bradykinin 등의 강력한 내재성 autacoids 불활성화 억제¹⁶⁾가 혈관 확장효과에 관여하리라 추정되고 있으나 후자의 임상적 의의에 대해서는 논란이 있다. 그러나 captopril의 주 약리기전으로써 혈중 유리약물 농도변화-ACE 억제효과-강압효과로 이어지는 모델에 있어 타 ACE 억제제와는 달리 혈중 약물 농도의 변화와 ACE 억제효과 및 강압효과와 상관성이 명백치 않다. 따라서 ACE 억제 및 강압효과와 시간변화의 지표로서의 혈중 유리 captopril 농도에 대해서 논란이 되고 있으며, Drummer 등¹⁷⁾은 혈중 총 captopril 농도변화가 ACE 억제 및 강압효과를 더 잘 대변해 준다고 보고하고 있다. 그러나, disulfide형 또는 혈장 단백질 결합 captopril은 활성형 약물로써 작용할 수 없음과 생물학적 동등성 검토의 궁극적 목적이 치료적 등가성(therapeutic equivalence)의 검토에 있다는 점에서, 저자들은 국내 captopril의 generic product의 동등성 검토를 혈중 유리 captopril 농도 변화에 따른 약동학적 분석과 혈장 ACE 활성억제 양상을 동시 검토 함으로써 동등성의 약동력학적 평가를 시행코자 하였으며, captopril의 ACE 억제를 비선형 모델에 의해 분석 함으로써 혈중유리 약물농도 변화와 ACE 억제-혈압변동을 설명코자 하였다.

Captopril 50mg 기준제제 투여후 본연구 결과의 경시적인 혈중 유리 captopril 농도변화는 Onoyama등¹⁸⁾, Singhvi등²⁾ 및 Giudicelli등¹⁹⁾의 정상피험자에서의 결과와 유사한 양상을 보여 투약후 평균 0.86시간에 최고 유리 captopril 농도를 보였고 최고 혈중 유리 약물농도는 $464.3 \pm 134.9 \text{ ng/ml}$ 로, Onoyama 등¹⁸⁾의 평균 389 ng/ml 보다 약간 높았으며 선형 약동학을 가정시 100mg 투여한 Singhvi등²⁾의 $930 \pm 86 \text{ ng/ml}$ 과 유사한 결과이었으나 Giudicelli등¹⁹⁾의 100mg 투여시 $1210 \pm 180 \text{ ng/ml}$ 보다는 낮은 농도를 보였다. 또한 captopril 투여후 혈장 AUC는 $678.8 \pm 122.4 \text{ ng/ml} \cdot \text{hr}$ 로 Singhvi등²⁾의 $1320 \pm 70 \text{ ng/ml} \cdot \text{hr}$ 의 결과에서 유추한 값과 유사하였으며, 본 연구에서 산출한 평균 유리 captopril

잔존시간은 1.42 ± 0.20 시간으로 반감기 및 흡수 속도를 감안시 Gludicelli 등¹⁹⁾의 보고와 유사한 결과였다. 국내 생산 captopril 제제 투여후 유리 captopril의 생체이용율의 지표인 AUC, C_{max} , T_{max} 의 평균치는 모두 기준제제의 $\pm 20\%$ 내외의 값을 보였고 분산분석에 의해 기준제제와 유의한 차를 보이지 않았다. 본 연구에서 기준제제와 시험제제간의 약동학적 경수(parameter)의 20%의 차이를 검출할 수 있는 검출력은 AUC 경우 0.8 이상이고 95% 신뢰구간이 $\pm 20\%$ 를 만족시켰다. Captopril 임상적용증을 고려할때 반복 투여에 의한 steady-state의 평균 혈중 약물의 농도가 가장 중요하며 즉 AUC가 가장 비중을 두어야 할 동등성 검정의 척도이며, C_{max} , T_{max} 의 평균치가 기준제제에 대한 비가 1.08 및 0.99이며 90% 신뢰구간이 각 91.3~12.6%, 72.4~124.4% 임을 고려할 때, 전반적으로 인원 추가실험이 필요치 않는 결과이었으며 generic product의 생체이용율 검정에 의한 생물학적 동등성을 인정할 수 있는 결과였다.

Captopril 투여후 약력학적 지표(pharmacodynamic index)로 측정한 혈장 ACE 활성도의 억제제는 두제제 공히 20분부터 통계적으로 유의한 억제를 보였으며 2시간 후 까지 80% 이상의 억제를 보이고 투약 24시간 후에도 통계적으로 유의한 억제를 나타내었다. ACE 활성도억제의 경시적 변화를 약력학적 지표로써 검토시 두제제간에는 유의한 차이를 인지할 수 없었으며, 즉 두제제는 약력학적인 관점에서 동등한 제제로 판단되었다. 혈중 유리 captopril 농도 변화와 ACE 활성도억제의 경시적인 변화가 평행 관계를 보이지 않는 점을 검토코자 각 개인별 약물농도-ACE 억제 시간 곡선을 분석시 약물농도-혈장 ACE 억제 시간 곡선은 hysteresis를 보이지 않았으며 혈중 유리 captopril 농도와 ACE 억제제는 그림 4와 같은 hyperbolic한 상관성을 보였다. 따라서 이를 Langmuir의 농도-반응식에 적용하여 50% 억제 농도를 산출한 바, 기준제제 및 시험제제 투여시 차이를 인지할 수 없었고 IC_{50} 은 각 6.77, 8.10ng/ml이었다. 이러한 captopril의 유리농도-ACE 억제 반응 양식은 captopril 투여후 유리 약물농도 변화가 ACE 억제 및 혈압강화 효과와 평행하지 않은 상관관

계를 설명할 수 있으며 혈중 유리 captopril의 반감기에 비해 ACE 활성도 억제 및 강압효과의 긴 작용시간을 설명할 수 있을 것이다.

ACE 활성 억제와 혈압강화 정도와의 상관성에 대해서는 Nielsen 등²⁰⁾은 captopril 투여시 정상파험자에서 ACE 활성억제에 따른 이완기 혈압변동은 90% 억제까지는 직선양의 완만한 혈압하강을 보고하고 이후는 혈압 하강이 더 현저한 biphasic한 상관성을 보고하고 있다. 그러나 본 연구의 경우 captopril 투여후 ACE 활성 억제에 따른 이완기 혈압하강은 그림 5에서와 같이 혈압하강 효과는 최고 ACE 억제까지 비교적 직선양의 관계를 보이며 Nielsen 등²⁰⁾ 및 장 등²¹⁾의 enalapril 투여시의 상관관계 기울기와 상이한 양상을 보였다. 그러나, ACE 억제제의 혈압하강이 혈장 ACE 억제 뿐 아니라, 혈관 endothelial cell의 ACE 활성 억제에 의해서 일어나리라 추정되고, ACE 억제제의 결합 수용능(capacity)이 조직 ACE의 경우 약 1.5배²²⁾로 추정되고 있으며, ACE 활성억제에 따른 혈압하강까지의 약리 기전이 renin-angiotensin-aldosterone system 등을 통한 시간경과가 요구되는 생화학적 과정과 생리적인 feedback 등 복잡한 과정으로 단지 혈장 활성억제 정도와 혈압하강을 직접 연관 분석 비교키는 문젯점이 존재할 것으로 사료된다. 더우기 ACE 활성도 측정 방법의 상이성의 존재로 다른 연구 보고들을 직접 비교 함으로써 ACE 활성억제-혈압강화 과정의 양적 및 질적 분석은 어려우며 이 과정에 대해서는 향후 수종 ACE 억제제의 동시연구에 의해 검토 되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

Captopril의 국내 합성 generic product 제제(Captopril[®])의 동등성을 검토키 위해 원제조원인 Squibb사의 Capoten[®]을 기준제제로 하여 12명의 건강한 남성 지원자를 대상으로 50mg 1회 교차 경구투여후 약동학적 성상, 혈장 ACE 활성 억제 및 혈압의 경시적인 변화를 검토한 결과는 다음과 같다.

1) 시험제제의 생체 이용율의 지표인 AUC, C_{max} ,

T_{max}들의 평균치는 백분율 차이에 있어 모두 기준제제 지표의 $\pm 20\%$ 내외이었으며 이들 생체 이용률 지표들은 분산분석 검정에서 차이를 인지할 수 없었다.

2) Generic product의 생체 이용률 지표들의 기준제제에 대한 백분율을 90% 신뢰구간 검토시 AUC는 $\pm 20\%$ 내외이었으며, C_{max} 및 T_{max}는 각각 91.3~126%, 72.4~124.4%이었다.

3) 두제제 투여후 captopril 혈중 유리농도 변화에 따른 ACE 활성억제는 hyperbolic한 양상을 보였고, 기준 및 시험제제 투여 후 각 6.8, 8.1/ng/ml에서 50%의 혈장 ACE 활성 억제율을 나타내었으며, 투약 24시간까지의 ACE 활성억제 양상은 차이가 없었다.

4) 수축기 및 이완기 혈압은 두제제 공허 투약 20분 이후부터 유의한 감소를 보였고 경시적인 혈압변동은 두제제간에 차이를 인지할 수 없었다.

이상의 시험결과로 captopril 국내생산 generic product는 기준제제인 Capoten[®]과 생체이용률 및 강압 효과면에서도 등가성을 보이는 제제로 판단되었다.

References

- Kripalani KJ, McKinsty DN, Singhvi SM, Willard DA, Vukovich RA, Migdalof BH : *Disposition of captopril in normal subjects. Clin Pharmacol Ther* 27 : 636-641, 1980
- Singhvi SM, McKinsty DN, Shaw JM, Willard DA, Migdalof BH : *Effect of food on the bioavailability of captopril in healthy subjects. J Clin Pharmacol* 22 : 135-140, 1982
- Richer C, Giroux B, Plouin PF, Maarek B, Giudicelli JF : *Captopril ; pharmacokinetics, antihypertensive and biological effects in hypertensive patients. Br J Clin Pharmacol* 17 : 243-250, 1984
- Roulston JE, MacGregor GA, Bjird R : *The measurement of angiotensin-converting enzyme in subjects receiving captopril. N Engl J Med* 303 : 397, 1980
- Imbs JL, Bakish D, Schmidt M, Schwartz J : *Low temperature sustains inhibition of angiotensin-converting-enzyme activity in serum from patient taking captopril. N Engl J Med* 305 : 229, 1982
- Kawahara Y, Hisaoka M, Yamazaki Y, Inage A and Morioka T : *Determination of captopril in blood and urine by high-performance liquid chromatography. Chem Pharm Bull* 29 : 150-157, 1981
- Hayakari M, Kondo Y and Izumi H : *A rapid and simple spectrophotometric assay of angiotensin-converting enzyme. Anal Biochem* 84 : 361-369, 1978
- Lecocq B, Funck-brentano C, Lecocq V, Ferry A, Gardin M, Devissaquet M and Jaillon P : *Influence of food on the pharmacokinetics of perindopril and the time course of angiotensin-converting enzyme inhibition in serum. Clin Pharmacol Ther* 47 : 397-402, 1990
- Hockings N, Ajayi AA, Reid JL : *Age and pharmacokinetics of angiotensin converting enzyme inhibitors enalapril and enalaprilat. Br J Clin Pharmacol* 21 : 341-348, 1986
- Lees KR, Reid JL : *Age and the pharmacokinetics and pharmacodynamics of chronic enalapril treatment. Clin Pharmacol Ther* 41 : 597-602, 1987
- Cole IWL, Grizzle IE : *Applications of multivariate analysis of variance to repeated measures experiments. Biometrics* 22 : 810-828, 1966
- Federal Register : *Bioequivalence requirements and in vivo bioavailability procedures* 42(5) : 1624, 1977
- 국립보건 안전연구원 고시 제1호 : 생물학적 동등성 시험기준. 국립보건안전연구원(1988. 10. 28)
- Belz GG, Kirch W, Kleinbloesem CH : *Angiotensin-converting enzyme inhibitors ; relationship between pharmacodynamics and pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet* 15 : 295-318, 1988
- Haber E, Carlson W : *Renin-angiotensin system. In Genest et al. (Eds) Hypertension, 2nd ed. pp177-178, MacGraw Hill, New York, 1983*
- Douglas WW : *Polypeptides ; angiotensin, plasma-kinins, and others. In Goodman and Gilman*

- et al.(Eds) *The pharmacological basis of therapeutics*, 7th ed, pp639-659, MacMillan, New York, 1985
- 17) Drummer OH, Workman BS, Miach PJ, Jarrott B, Louis WJ : *The pharmacokinetics of captopril and captopril disulfide conjugates in uremic patient on maintenance dialysis : comparison with patients with normal renal function*. *Eur J Clin Pharmacol* 32 : 267-271, 1987
 - 18) Onoyama K, Hirakata H, Iseki K, Kujimi S, Omal T, et al : *Blood concentration and urinary excretion of captopril(SQ 14,225) in patients with chronic renal failure*. *Hypertension* 3 : 456-459, 1981
 - 19) Giudicelli JF, Chaignon M, Richer C, Giroux B, Guedon J : *Influence of chronic renal failure on captopril pharmacokinetics and clinical and biological effects in hypertensive patients*. *Br J Clin Pharmacol* 18 : 749-758, 1984
 - 20) Nielsen OG, Sellevold OFM, Romfo OS, Semdsrud A, Grynne B, et al : *Pharmacokinetics and effect on renal function following cilazapril and hydrochlorothiazide alone and in their combination in healthy subjects and hypertensive patients*. *Br J Clin Pharmacol*, 1988(cited from Belz et al, *Clin Pharmacokinetics* 15 : 295-318, 1988)
 - 21) 장인진 · 장병수 · 신상구 · 박찬웅 · 신재국 · 노일근 : *Enalapril maleate* 제제의 동등성에 관한 연구 : 약동학적 성상 및 혈장 ACE 활성도 억제 효과. *대한약리학잡지* 1990(인쇄중)
 - 22) Lee KR, Kelman AW, Reid JL and Whiting B : *Pharmacokinetics of an ACE inhibitor, S-9780, in man : Evidence of tissue binding*. *J Pharmacokinetics Biopharm* 17 : 529-550, 1989