건강한 한국인 자원자에서 Fudosteine 단회 경구투여에 의한 약동학적 특성 및 내약성에 관한 연구

¹서울대학교 의과대학 약리학교실 및 서울대학교병원 임상약리학과,
²연세대학교 의과대학 약리학교실, ³한올바이오파마 개발부

안리영¹, 신광희¹, 임경수¹, 정재용², 이순임³, 윤서현¹, 조주연¹, 신상구¹, 장인진¹, 유경상¹

=Abstract=

Pharmacokinetics and Tolerability Evaluation of Fudosteine after Oral Administration in Healthy Korean Volunteers

Li Young Ahn¹, Kwang-Hee Shin¹, Kyoung Soo Lim¹, Jae-Yong Chung², Soon Im Lee³,
Seo Hyun Yoon¹, Joo-Youn Cho¹, Sang-Goo Shin¹, In-Jin Jang¹, Kyung-Sang Yu¹

¹Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Seoul National University College of Medicine and Hospital, Seoul, Korea, ²Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, ³Department of Product and Business Development, Hanall Biopharma, Seoul, Korea

Background: Fudosteine, (-)-(R)-2-amino-3-(3-hydroxypropylthio)propionic acid, is a cysteine derivative that was approved in Japan, as a new mucoactive agent. The aim of this study was to evaluate the tolerability and pharmacokinetics (PK) of fudosteine in healthy Korean subjects.

Methods: A randomized, open-label, parallel, escalating single-dose study was conducted in 16 healthy Korean male subjects. The subjects were allocated to single-dose groups of 400 or 800 mg. Serial blood samples for PK analysis were collected immediately prior and after dosing up to 24 hours, and plasma concentrations were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Safety profiles were evaluated by monitoring adverse events and clinical evaluations throughout the study.

Results: Median time to peak concentration (T_{max}) of both dosing group were around 0.5 hours and half-life ($t_{1/2}$) were around 3 hours. Mean peak concentration (C_{max}) of 400 mg and 800 mg dosing group were 10.8 and 21.5 $\mu\text{g/mL}$ and the mean area under the plasma concentration versus time curve from the dosing time to infinity (AUC_{inf}) were 26.8 and 55.0 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$, respectively. Mean dose-normalized C_{max} were 0.0271 and 0.0269 $\mu\text{g/mL/mg}$ ($P=0.923$), respectively and dose-normalized AUC_{inf} were 0.0669 and 0.0688 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL/mg}$ ($P=0.093$), respectively. Fudosteine was well tolerated without any serious adverse events or clinical laboratory abnormalities.

Conclusion: This study showed that fudosteine has a linear PK property and is well tolerated within 800 mg in healthy Korean volunteers.

Key words: Fudosteine, Expectorants, Pharmacokinetics, Tolerability, Korean

본 연구는 한올바이오파마(주)의 지원에 의하여 이루어졌음. 저자들은 이해상충과 관련하여 밝힐 것이 없음.

교신저자: 유경상

소 속: 서울대학교 의과대학 약리학교실 및 서울대학교병원 임상약리학과

주 소: 서울특별시 종로구 대학로 101 번지 (우 110-744)

전화번호: 02-2072-1920, 팩스: 02-742-9252, E-mail: ksyu@snu.ac.kr

접수일자: 2011. 11. 29. 수정일: 2011. 12. 26. 게재확정일: 2011. 12. 27.

서 론

만성기관지염과 기관지천식은 배세포(Goblet cell)의 과형성에 의한 기도점액분비의 증가와 뮤신의 과분비로 인해 기도표면의 점착성이 증가됨에 따라 흉부불쾌감을 유발한다.¹⁾ 배세포는 기도상피세포를 구성하는 세포로, 기도분비액을 분비하여 여러 병인으로부터 보호하여 기도의 면역계를 구성하는 중요한 요소이다.²⁾ 그러나 배세포의 과형성이 천식 등의 호흡기 질환으로 사망한 환자들에게서 발견되면서, 배세포의 과형성이 호흡기도의 붕괴의 주요 원인으로 알려졌다.³⁾

Fudosteine((-)-(R)-2-amino-3-(3-hydroxypropylthio)propionic acid))은 2001년 일본에서 신약으로 승인되어 만성기관지염, 기관지확장증, 폐기종, 비만성세기관지염 및 기관지천식 환자에서 진해거담제로 상용량 400 mg 1일 3회로 사용되고 있다. Fudosteine의 약리기전은 명확하게 밝혀지지 않았지만 시스테인 유도체로서 랫트를 사용한 동물실험을 통해 이소프로테레놀(β -agonist) 및 염증아기물질을 통해 과형성된 배세포를 억제하여 약리효과가 있음을 확인하였다.⁴⁾ 또한, 호중구 유발물질의 증가에 따라 호중구가 기도상피세포로 이동하면서 배세포를 증가시키는 것으로 알려져 있는데 fudosteine이 호중구 유발물질과 호중구의 이동 억제에 작용하여 배세포 과형성을 억제하는 것으로 밝혀졌다.⁵⁾

Fudosteine과 그 대사체들은 주로 뇨를 통해 배설되며 랫트를 이용한 동물실험을 통해 주로 간장이나 신장에서 N-acetylation에 의해 대사가 되는 것으로 밝혀졌다(Figure 1).⁴⁾ 일본인 건강한 성인 남자에 본 제 400 mg을 식후에 경구투여하였을 때의 투여 후 36시간까지의 뇨 중에서 아미노기의 N-acetylation된 대사물 M1이 53 %,

M1의 알콜부분이 산화된 M2가 약 5 %, 미변화체가 약 1 % 배설되었다.⁶⁾

Fudosteine은 일본인 만성폐쇄성폐질환 환자를 대상으로 위약을 투약한 환자와 비교하여 기도점액분비의 감소를 나타내어 만성호흡기질환 환자에서의 효과가 알려져 있고,⁷⁾ 일본 이외의 나라에서는 fudosteine의 사용경험이 없다. 본 연구에서는 건강한 한국인 자원자를 대상으로 fudosteine 400 mg, 800 mg 단회 경구투여 후 약동학적 특성 및 내약성을 탐색하고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 문진, 신체검진 및 활력징후평가, 심전도 검사, 임상실험실검사를 시행하여 적합하다고 판단된 20세 이상 40세 이하의 건강한 한국인 남성 16명을 대상으로 하였다. 피험자들은 모두 연구의 목적, 내용 등에 대하여 충분히 설명을 듣고 자의에 의해 참여를 결정한 후 동의서에 서명하였다. 서울대학교병원 의학연구윤리심의위원회의 승인 후 의약품임상시험 관리기준 규정(Korean Good Clinical Practice, KGCP) 및 헬싱키 선언(Helsinki declaration)에 따라 시행되었다.

2. 연구방법

1) 연구설계

본 임상시험은 공개형, 단일 기관, 단회 투여, 평행군 설계로 수행되었다. 일본에서 수행한 제 1상 임상시험 결과 400 mg, 800 mg 사이에 약동학적 선형성이 확인되어 그 결과를 토대로 약동학적 비교평가를 위해 필요한 표본의 수인 각 용

량군별 피험자 8명으로 설정하였다. 각 단계는 용량군별로 순차적으로 증량되었으며 이전 단계에서의 안전성에 대한 평가가 완료된 후 다음 용량 단계의 시험을 진행하였다.

피험자들은 투약 하루 전 오후 9시까지 서울대학교병원 임상시험센터에 입원하였으며, 익일 오전 해당 투여군에 따라 배정된 시험약을 180 mL 물과 함께 경구로 1회 투여 받았다. 투약 전날 오후 9시부터 익일 투약 후 4시간까지 금식하도록 하였고 물은 투약 후 2시간까지 금지하였다.

Fudosteine의 약동학적 특성을 평가하기 위하여 계획된 일정에 따라 혈액을 채취하였다. 투약 직전 및 투약 후 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24시간에 매 시점마다 8 mL 채혈이 이루어졌다. 채취한 혈액은 heparinized tube에 취하여, 채취 후 1시간 이내에 4 °C 냉장상태에서 3000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후 polypropylene tube에 담아 분석시까지 -20 °C에 냉동 보관하였다.

임상 연구 기간 동안 문진, 신체검진, 임상실험실검사, 심전도검사, 활력징후 평가 및 피험자의 자발적인 이상반응 보고를 통한 내약성 평가가 이루어졌다. 특이 소견이 없는 경우 투약 2일째 이전에 퇴원하였다.

2) 농도측정방법

약동학적 분석을 위해 채혈된 혈액 샘플 중의 fudosteine의 농도는 일본의 개발사가 승인한 주식회사용의학연구소에서 검증된 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 방법으로 측정하였다. 혈장으로부터의 extraction은 다부실크로라이드에 의한 유도체화 후, Bond Elut LRC C18을 사용한 고상추출로 하였고, 측정은 HPLC법에 따라서 전컬럼과 주컬럼을 Nucleosil 5C18(50 × 4.6

mm ID (주 캠프코)을 사용하였다. 이동상은 0.05 mol/L 초산완충액/아세트니트릴(70:30 v/v)으로 하였고, 측정파장 465 nm 에서 측정을 하였다. 내부표준물질은 AIS-01을 사용하였다.

3) 약동학적 분석

PhoenixTM1.2(WinNonlin version 6.2; Pharsight Corporation, CA, USA)를 이용하여 비구획 약동학 분석(noncompartment pharmacokinetic analysis)으로 fudosteine의 약동학적 파라미터를 산출하였다. 최고혈장농도 도달시간(time to maximum observed plasma concentration, T_{max}), 최고혈장농도(maximum observed plasma concentration, C_{max})는 관측된 값을 기술하였다. 최종소실속도상수(terminal elimination rate constant, λ_z)는 log-linear plot에서 보정된 결정계수(adjusted r^2)가 최대가 되도록 T_{max} 이후 혈장농도 중 정량가능한 마지막 농도 측정치(C_{last})를 포함한 3개 이상의 점으로 선형 회귀하여 계산하였고, 이로부터 소실반감기($t_{1/2}$)를 산출하였다($t_{1/2} = \ln(2)/\lambda_z$). C_{last} 가 측정된 시간까지의 혈장농도-시간 곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC_{last})은 혈중 농도 상승 구간에서는 사다리꼴 계산법(linear trapezoidal method)으로, 혈중 농도 감소 구간에서는 로그 사다리꼴 계산법으로 계산하였다. 단회투여 후 무한대 시간까지의 혈장농도-시간 곡선하면적(AUC_{inf})은 AUC_{last} 에 C_{last} 를 λ_z 로 나눈 값을 더하여 구하였다($AUC_{inf} = AUC_{last} + C_{last}/\lambda_z$). 약동학 파라미터 산출에 필요한 채혈시간의 적절성을 확인하기 위하여 AUC_{inf} 계산에서 AUC_{last} 에서 외삽되어 합산된 부분의 비율(percent of AUC_{inf} extrapolated, $AUC_{extra}(\%)$)을 산출하였다. 또한 용량군별로 경구 청소율(oral clearance, CL/F)을 구하였다.

Table 1. Demography of subjects in 2 dosing groups

	400 mg (n=8)	800 mg (n=8)	Total (n=16)	P-value*
Age (yrs)	23.8 ± 1.2	24.8 ± 4.0	24.3 ± 2.0	0.519
Height (cm)	175.6 ± 6.3	175.0 ± 3.8	175.3 ± 5.0	0.821
Weight (kg)	71.3 ± 9.6	69.5 ± 8.4	70.4 ± 8.8	0.691

Data are presented as mean ± standard deviation. * Student's t-test between 2 dosing groups.

Table 2. Pharmacokinetic parameters of fudosteine after 400 mg and 800 mg administration

Dose	400 mg (n=8)			800 mg (n=8)			P-value
	Mean	SD	CV (%)	Mean	SD	CV (%)	
T _{max} (hr)*		0.50 [0.25 - 1.00]			0.50 [0.23 - 0.52]		-
C _{max} (μg/mL)	10.8	1.46	13.5 (9.78)*	21.5	4.25	19.8	-
C _{max} /D (μg/mL/mg)	0.0271	0.004	13.5	0.0269	0.005	19.8	0.923‡
AUC _{inf} (μg*hr/mL)	26.8	13.8	51.4 (14.7)*	55.0	11.00	20.0	-
AUC _{inf} /D (μg*hr/mL/mg)	0.0669	0.0344	51.4	0.0688	0.0137	20.0	0.093§
AUC _{extra} (%)*		6.90 [4.29 - 15.6]			3.84 [2.10 - 7.24]		-
t _{1/2} (hr)	3.77	1.74	46.3	3.23	1.05	32.6	0.600§
CL/F (L/hr)	17.1	5.11	30.0	15.0	2.53	16.9	0.317*

* AUC_{extra} and T_{max} are presented as Median [Min - Max]. † Calculated without one outlier subject (subject ID: 108).
‡ Student's t-test. § Wilcoxon signed ranks test. T_{max}: time of maximum observed plasma concentration. C_{max}: maximum observed plasma concentration. AUC_{inf}: Area under the plasma concentration versus time curve from the dosing time infinity. AUC_{extra} (%): percent of AUC_{inf} extrapolated. t_{1/2}: terminal elimination half-life. CL/F: apparent clearance.

4) 통계 분석

SAS® (version 9.2) 소프트웨어를 통계분석에 사용하였다. 인구학적 정보는 각 투여군 별로 기술통계학적 분석을 시행하여, 투여군 간의 차이를 Student's t-test를 적용하여 비교하였다.

약동학 파라미터는 각 용량군별 평균, 표준편차, 변이계수 등을 기술통계학적으로 분석하였다. 두 용량군 간 약동학적 선형성을 평가하기 위하여 투여용량으로 보정한 AUC_{inf}/D와 C_{max}/D 및 t_{1/2}, CL/F를 Shapiro-Wilk 검정으로 정규성 검정 후 기술통계학적으로 분석하였다. C_{max}/D와 CL/F는 Student's t-test, AUC_{inf}/D와 t_{1/2}는 Wilcoxon signed ranks test를 적용하여 비교하였다.

결 과

선별 검사 결과 본 연구에 적합하다고 판단된 16명의 피험자가 참여하여 임상시험계획서에 따라 연구를 종료하였다. 피험자들의 평균 연령은 24.3 ± 2.0세였으며, 평균 신장은 175.3 ± 5.0 cm, 평균 체중은 70.4 ± 8.8 kg이었다. 투여군 간의 인구학적 특성은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 1).

Fudosteine은 빠르게 흡수되어 두 용량군 모두 중앙값 0.5시간에 최대농도에 도달하였고 약 3시간의 소실반감기를 보였다. 두 용량군 400 mg와

800 mg의 $C_{\max}$ 는 10.8 ± 1.5 , 21.5 ± 4.3 $\mu\text{g/mL}$ (평균 $\pm$ 표준편차)로서 용량에 비례하였고 AUC_{inf} 는 각각 26.8 ± 13.8 , 55.0 ± 11.0 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/L}$ 였다. 두 용량군의 AUC_{extra} (%)는 평균 3.8 ~ 6.9 % 범위로 나타나 AUC_{inf} 및 $t_{1/2}$ 를 산출하는 데 있어 최종 채혈시간이 적절했다고 판단하였다.

400 mg 군에서의 $C_{\max}$ 및 AUC_{inf} 의 평균 변이계수(CV %)는 각각 13.5 %, 51.4 %로 나타났고, 800 mg 군에서는 각각 19.8 %, 20.0 %로 개체간 차이가 상대적으로 작았다. 400 mg 군에서는 1명의 결과에 의해 변이가 커서(Figure 2), 1명을 제외하고 산출한 $C_{\max}$ 및 AUC_{inf} 의 CV %는 9.78 %, 14.7 %로 전체적으로는 약동학 파라미터의 개체간 변이가 작은 약물에 속하는 특징을 보였다. $C_{\max}/D$, AUC_{inf}/D 가 용량군에 따라 통계적으로 차이가 없어 약동학적 선형성을 보였고, $t_{1/2}$, CL/F 도 용량군에 따른 차이가 없었다($P>0.05$) (Figure 3, Table 2).

임상연구 기간 동안 총 16명의 피험자 중 1명의 피험자에서 1건의 왼쪽 팔의 근육당김증상이 발생하였다. 본 1건의 이상반응은 경증이고 치료 없이 수시간 내에 자발적으로 소실되었으며 알려지지 않

Figure 1. Chemical structure of fudosteine and its metabolites (M1 - M4). NAT: N-acetyltransferase.

은 예측치 못한 부작용으로서 투약 후 24시간 이후에 발생한 점 등을 고려하여 시험약과 관련이 없다고 판단되었다. 기타 안전성 평가 항목인 임상실험실 검사, 활력징후, 신체검진, 심전도 검사 결과 임상적으로 의미 있는 변화는 없었다.

고 찰

본 연구에서는 건강한 한국인 자원자를 대상으로 fudosteine 단회 경구투여 후 약동학적 특성과

Figure 2. Individual concentrations-time profiles of fudosteine after 400 mg fudosteine administration (left: linear scale, right: log scale).

Figure 3. Mean plasma fudosteine concentrations-time profiles (left: linear scale, right: log scale), Error bars mean standard deviation. * Fudosteine 400 mg.

내약성을 평가하고자 하였다. Fudosteine 400 mg 과 800 mg을 각각 8명의 피험자에게 단회 경구 투여 한 후 약동학적 파라미터를 산출하였다.

Fudosteine은 건강한 한국인 피험자를 대상으로 투여 시 빠르게 흡수되어 0.5시간에 최대혈중 농도를 보였으며 약 3시간의 소실 반감기를 나타 내었다. Fudosteine의 AUC_{inf} 및 C_{max} 를 분석한 결과, 투여용량이 증가함에 따라 AUC_{inf} 및 C_{max} 가 증가하는 양상을 보였고, 투여용량으로 보정한 fudosteine의 AUC_{inf} 및 C_{max} 는 400 mg 용량군에서 $0.0669 \pm 0.0344 \mu g \cdot hr/mL/mg$ 와 $0.0271 \pm 0.004 \mu g/mL/mg$, 800 mg 용량군에서 $0.0688 \pm 0.0137 \mu g \cdot hr/mL/mg$ 와 $0.0269 \pm 0.005 \mu g/mL/mg$ 로 용량군간 차이가 없었다($P>0.05$). 이를 통해 400 mg - 800 mg 투여 범위에서 약동학적 선형성이 있음을 알 수 있었고 이러한 사실은 기존 일본인 대상으로 시행된 임상시험 결과와 일치한다. 15명의 건강한 일본인 피험자를 대상으로 한 fudosteine 400 mg (n=10)와 800 mg (n=5) 단회 투여 결과, 용량으로 보정한 AUC_{inf} 및 C_{max} 는 $0.0585 \pm 0.0140 \mu g \cdot hr/mL/mg$ 와 $0.0240 \pm 0.0075 \mu g/mL/mg$ 였다(unpublished data). 이는 한국인을

대상으로 한 결과와 유사하여, 한국인과 일본인간에 약동학적 특성이 유사할 것으로 판단된다.

Fudosteine 400 mg 용량군의 1명의 피험자 (subject ID: 108)에서 AUC_{inf} 가 다른 피험자보다 약 2배 큰 값이 측정되어 fudosteine 400 mg 용량군의 개체간 차이가 800 mg 용량군에 비해 비교적 크게 나타났다. 이에 대한 가능한 원인으로 N-acetylation polymorphism의 영향을 고려할 수 있다. Acetylation은 대사효소인 N-acetyltransferase (NAT1, NAT2)의 유전적 다양성(genetic variability)에 의해 개인간 차이가 있는 것으로 알려져 있는데⁸⁾ fudosteine의 인체에서의 대사효소는 정확히 밝혀져 있지는 않으나, 이들 효소에 의한 개인차가 약동학적 변이를 가져왔을 가능성이 있다. Fudosteine 400 mg 용량군에서는 한 명의 피험자에 의해 변이가 크게 나타났지만 한 명의 피험자를 제외하면 C_{max} , AUC_{inf} 모두 20 % 이내의 변이를 보여 전체적으로는 약동학적 파라미터의 개체간 변이가 작은 약물로 판단되었다.

본 연구 결과 보고된 이상반응은 1건으로 경증으로 치료없이 소실되었으며, 건강한 한국인 자원자에서 fudosteine 단회 경구투여시 400 mg - 800

mg 용량범위에서 내약성이 확인되었다.

결론적으로 fudosteine의 약동학 파라미터의 개체간 변이가 크지 않았고 선형적인 약동학 특성을 보였다. Fudosteine은 800 mg 투여 범위에서 안전하였으며, 내약성이 우수하다고 판단된다. 따라서 일본인 환자와 마찬가지로 한국인 환자에도 만성호흡기질환의 치료에 효과적이고 안전한 약물이 될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Lundgren JD, Shelhamer JH. Pathogenesis of airway mucus hypersecretion. *J Allergy Clin Immunol*, 1990;85(2):399-417.
2. Rogers D. Airway goblet cells: responsive and adaptable front-line defenders. *Eur Respir J*, 1994;7(9):1690-1706.
3. Aikawa T, Shimura S, Sasaki H, Ebina M, Takishima T. Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack. *Chest*, 1992;101(4):916-921.
4. Takahashi K, Mizuno H, Ohno H, Kai H, Isohama Y, Takahama K, Nagoaka S, Miyata T. Effects of SS320A, a new cysteine derivative, on the change in the number of goblet cells induced by isoproterenol in rat tracheal epithelium. *Jpn J Pharmacol*, 1998; 77(1):71-77.
5. Komatsu H, Yamaguchi S, Komorita N, Goto K, Takagi S, Ochi H, Okumoto T. Inhibition of endotoxin-and antigen-induced airway inflammation by fudosteine, a mucoactive agent. *Pulm Pharmacol Ther*, 2005;18(2):121-127.
6. SPELEAR tablets 200 [package insert] J, SSP Co, Ltd, 2002.
7. Nagaoka S, Takishima T, Nagano H, Kawakami Y, Kitamura S, Kawakami M, Ogura T, Sasaki T, Ogawa N. Phase III clinical study of SS320A-double-blind trial in comparison with placebo. *J Clin Ther*, 2002; 18:109-140.
8. Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, Leff MA, Webb SJ, Xiao GH, Devanaboyi NA, Feng Y, Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000;9(1): 29-42.