

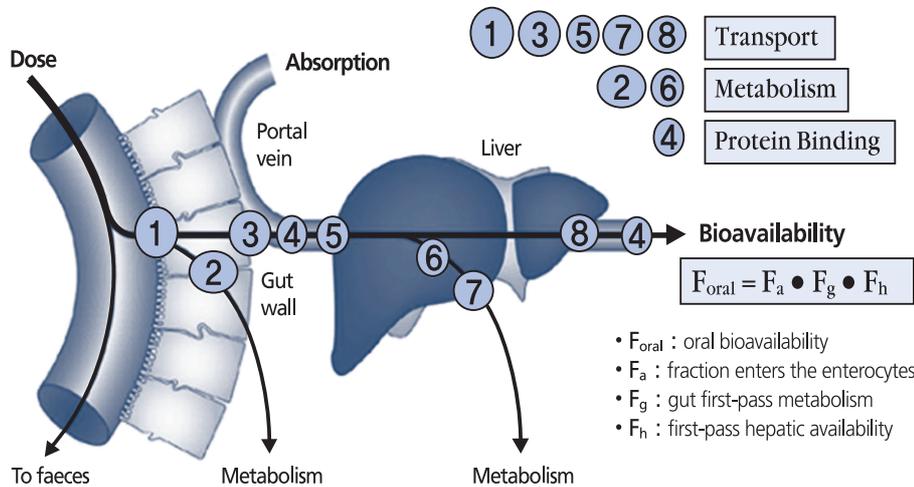
“후보약물 평가시 분석적 접근 필요

“생체내이용률이 낮을 경우 무엇이 주된 원인인지 먼저 파악해야”

글_ 한용해 박사(한국보건산업진흥원 제약산업단 상임컨설턴트)

경구로 투여된 약물은 흡수과정을 거쳐 전신을 순환하다 목표로 하는 장기에 도달하여 약효를 발휘하게 된다. 경구투여후 소장에 도달한 약물이 순환혈에 들어가기까지는 복잡다단한 과정을 거치게 된다 (그림1). 즉, 소장에서 약물은 ①소장 세포 유입 과정, ②소장에서 대사되는 과정, ③소장세포에서 간문맥 유입과정, ④혈중 단백질결합, ⑤간세포 유입과정, ⑥간내 대사, ⑦담즙배설, ⑧간세포에서 혈중으로 유입과정 등을 거치면서 전신순환혈로 들어가게 된다. 따라서, 경구투여된 약물이 순환혈에 들어가는 정도를 나타내는 지표인 생체내이용률(Bioavailability)은 여러 요인들이 관여하여 나타나는 결과이다.

■ 그림 1. 경구투여후 약물이 전신순환혈에 들어가기까지의 과정과 생체내이용률



초기 개발단계에서는 많은 수의 후보약물들이 만들어지는데 이들이 in vitro에서 아무리 효과가 좋은 후보물질들이라도 생체에 투여되었을 때 혈중농도가 기대에 미치지 않거나 생체내이용률이 충분히 높지 못하면 신약으로서의 가치를 잃게 된다. 이처럼 어떤 약물을 경구투여한 후 생체내에서 혈중농도가 제대로 높아지지 않는 경우, 그 주된 원인을 규명하는 노력이 필요하다. 그런 과정을 통해 문제의 해결방안을 모색하다 보면 보다 우수한 후보약물을 찾아낼 가능성이 높아지기 때문이다.

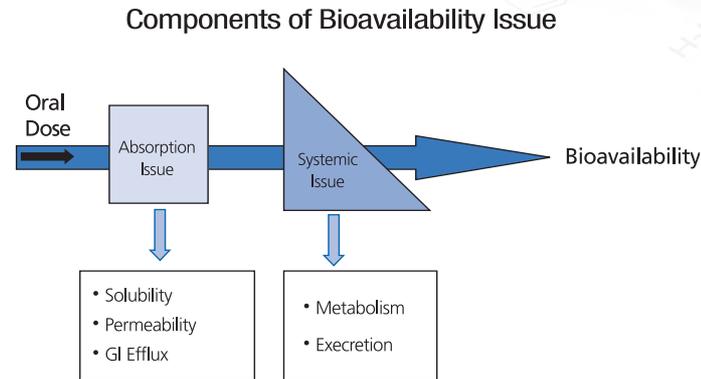
생체내이용률이 낮아지는 원인을 진단하기 위해서는 생체내이용률을 좌우하는 인자들을 묶어 absorption issue와 systemic issue로 크게 구분하여 분석하면 편리하다(그림2). Absorption issue를 구성하는 인자로는 약물의 용해도(solubility), 약물의 생체막투과성(permeability), 위장관에서



의 약물배출(efflux) 등을 들 수 있다. Systemic issue에는 위장관 및 간에서의 대사반응과 신장 및 담즙을 통한 배설과정 등이 포함된다.

만약 후보 약물의 생체내이용률이 낮다면 이들 이슈들을 구성하는 각 파라미터들을 개별적으로 평가해 볼 필요가 있다. 즉, 약물의 용해도가 높은지 낮은지, permeability가 어떤지, efflux transporter의 기질인지 여부, 대사효소(CYP 효소 등)에 대한 안정성이 어떤지, pharmacokinetic parameter인 전신클리어런스(systemic clearance)가 어떤지, 담즙 및 요중배설의 정도가 어떤지를 측정하면 어느 요인에 의해 주로 생체내이용률이 낮아졌는지 진단할 수 있다.

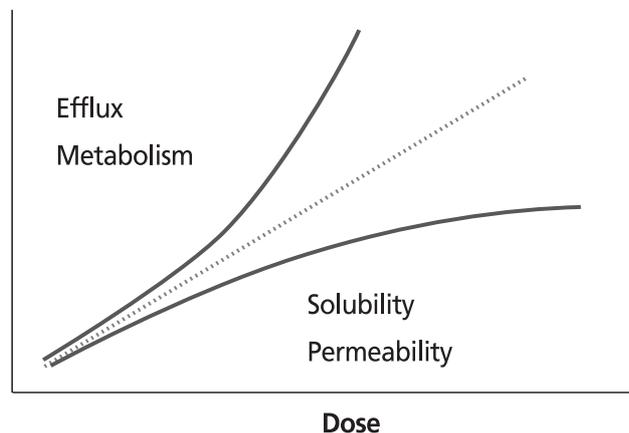
■ 그림 2. 낮은 생체내이용률을 좌우하는 absorption issue와 systemic issue



또한, 약물의 투여량을 높여가면서 약물의 혈중농도가 증가하는 패턴을 보면 생체내이용률이 낮아지는 원인을 진단할 수 있다. 즉, 투여량을 높였을 때 혈중농도가 비례적으로 증가하지 못하고 포화상을 보이며 증가한다면 약물의 용해도가 나빠서 위장관에서 석출될 가능성 또는 흡수과정에서 특정한 수송체(transporter)에 의해 흡수되는 약물이 고용량에서 흡수에 포화가 일어나서 충분한 혈중농도가 안 나타날 가능성을 보여주는 것이다. 이와는 반대로 높은 투여량에서 혈중농도가 비선형적으로 급격히 증가한다면 약물이 대사를 크게 받고 있고 높은 투여량에서 대사과정이 포화가 되고 있거나 아니면 위장관에서 P-gp같은 efflux 수송체의 기질이어서 높은 용량에서 efflux 수송체의 포화로 인해 혈중농도가 급격히 증가하는 상황을 나타낼 수가 있다. 이처럼 투여량에 따른 혈중농도의 증가 패턴을 보면 낮은 생체내이용률의 원인을 대략 진단할 수도 있는 것이다(그림3).

약물의 생체내이용률을 좌우하는 인자는 매우 다양하다. 따라서 각 요인들의 기여도를 따져보며 진단할 필요가 있으나 개발의 초기단계에서 모든 파라미터를 구하기에는 다소 무리가 따른다. 이런 이유로 인해 초기단계에서는 빠른 의사결정을 위해 후보물질의 permeability와 metabolism 위주로 진단을 하게 된다.

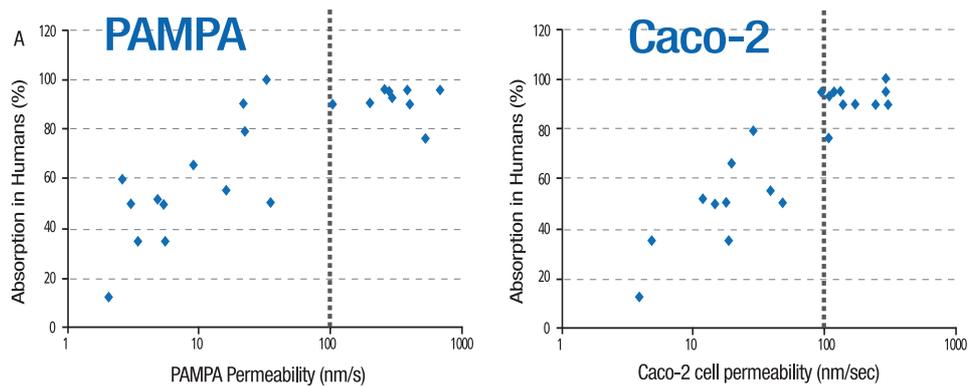
■ 그림 3. 투여량 증가에 따른 혈중농도 패턴과 낮은 생체내이용률의 원인



약물의 permeability를 평

가하는 방법으로는 PAMPA assay와 같은 인공지질막을 이용하거나 Caco-2 세포같은 살아있는 세포를 이용하는 방법이 주로 사용된다. PAMPA assay는 단순히 지질막을 이용하므로 단순확산 과정만을 통한 permeability를 측정하는 assay이다. 이와는 달리 Caco-2 세포는 몇 가지 efflux 수송체 (예: P-gp)를 발현하고 있으므로 efflux 수송체에 의한 permeability도 평가할 수 있다. 두 assay에서 측정되는 permeability 값이 대략 100 nm/sec 이상일 경우 permeability가 높은 것으로 평가할 수 있다. 실제로 두 assay에서 평가된 permeability와 사람에서의 흡수율(%) 사이의 상관성을 비교해 보면 permeability가 100 nm/sec 이상일 때 흡수율이 85% 이상인 것으로 나타났다(그림 4). 그렇지만 100 nm/sec 이하일 경우에는 permeability 값과 흡수율(%)이 대체로 비례관계가 성립하는 것으로 보인다. 따라서, PAMPA와 Caco-2 assay에서 나오는 permeability 값이 100 nm/sec 이상이면 사람에서 높은 흡수율을 예상할 수 있지만 그 이하일 경우엔 불완전한 흡수를 보일 것으로 평가하면 된다.

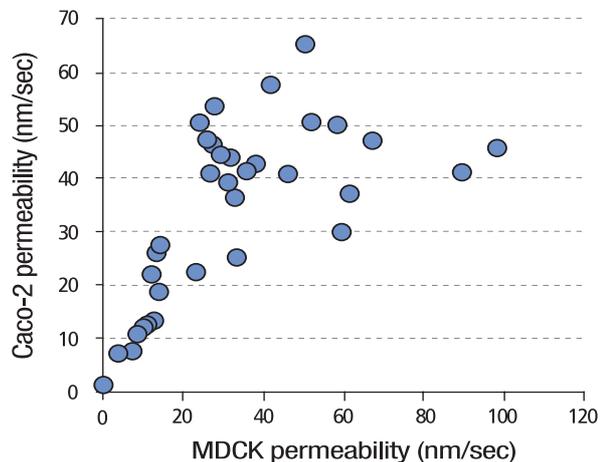
■ 그림 4. PAMPA 및 Caco-2 assay의 permeability와 사람에서의 흡수율 사이의 상관관계

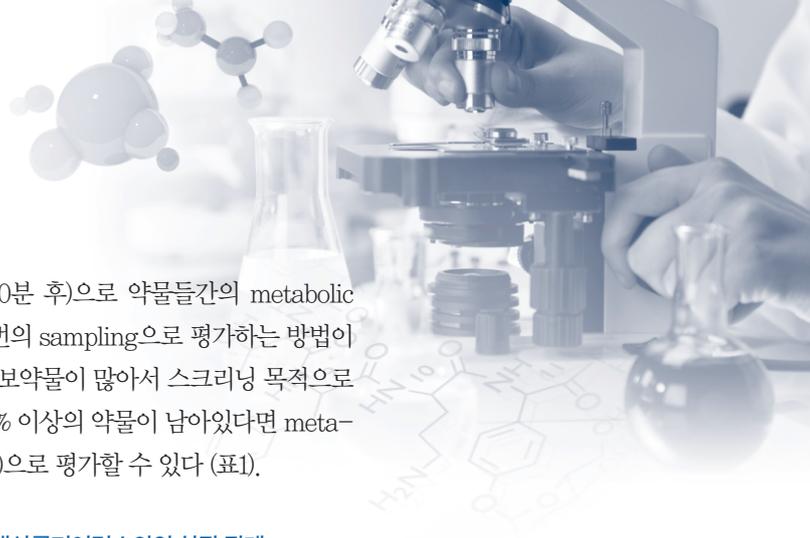


그런데 Caco-2 세포는 assay를 위해 대략 3주간 세포를 배양해야 하는 불편함이 따른다. 이를 피하기 위한 방법으로 Caco-2세포 대신 MDCK 세포를 사용하여 permeability를 측정하는 것도 대안이 될 수 있다. 실제로 Caco-2 세포와 MDCK 세포에서 측정된 permeability를 비교해 보면 비교적 좋은 상관성을 보여 준다(그림5).

대사 안정성을 평가하는 방법으로는 microsome을 이용한 stability test를 이용하면 된다. 즉, 후보 약물을 microsome과 일정시간 동안 incubation 하여 약물이 어느 정도 남아있는지를 재는 방법이다.

■ 그림 5. Caco-2 permeability와 MDCK permeability와의 상관관계





테스트 해야 할 약물이 많을 경우에는 한 점 sampling (예: 10분 후)으로 약물들간의 metabolic stability를 서로 비교하는 방법이 자주 사용된다. 이 방법은 한번의 sampling으로 평가하는 방법이기 때문에 정확한 측정값이 되기 어려운 것이 단점이다. 그렇지만, 후보약물이 많아서 스크리닝 목적으로 사용할 경우에 유용하며, 사람 microsomes의 경우 10분후에 90% 이상의 약물이 남아있다면 metabolic stability가 좋은 것(간클리어런스가 간혈류량의 30% 미만)으로 평가할 수 있다 (표1).

■ 표 1. 각 동물종의 microsome에서 10분후 측정된 약물잔존률(%)과 대사클리어런스와의 상관 관계

Species	Low CL	Med CL	High CL
Human	> 90%	60-90%	< 60%
Monkey	> 85%	40-85%	< 40%
Dog	> 90%	60-90%	< 60%
Rat	> 85%	40-85%	< 40%
Mouse	> 85%	50-85%	< 50%

보다 정확한 metabolic stability를 구하기 위해서는 약물을 30분 정도 microsome과 incubation 하면서 6번 정도의 sampling을 하여 시간에 따라 남아있는 약물량 (또는 농도)을 semi-log 그래프에 표시하여 그 기울기로부터 반감기($t_{1/2}$)를 구하면 된다. 또, 얻어진 반감기로부터 여러 가지 scaling factor를 적용하면 간대사클리어런스를 구할 수 있다. 이 반감기가 사람의 경우 70분 이상일 때 metabolic stability가 좋은 것(대사클리어런스가 낮은 것)으로 평가할 수 있다 (표2). 이 metabolic stability를 위해서는 microsome 대신에 간세포나 간S9분획을 사용할 수도 있다.

■ 표 2. 각 동물종의 microsome에서 측정된 대사 반감기 값과 대사클리어런스와의 상관 관계

Species	Low Clearance	Medium Clearance	High Clearance
Human	> 70 min	14-70 min	< 14 min
Monkey	> 40 min	8-40 min	< 8 min
Dog	> 65 min	12-65 min	< 12 min
Rat	> 40 min	8-40 min	< 8 min
Mouse	> 50 min	10-50 min	< 10 min

초기개발단계에서는 향후의 개발방향과 관련 후보약물들에 대해 빠른 의사결정이 필요하다. 이 후보 약물들의 생체내이용률이 낮을 경우 무엇이 주된 문제점인지 신속히 파악할 필요가 있다. 이 과정에서는 약물들의 permeability와 metabolic stability를 위주로 하여 평가하는 것이 무난한 방법이다. 이 접근법을 통해 후보약물이 좁혀지게 되면 보다 정밀한 원인분석에 들어가야 하는데 이 때 기타 요소들 (예: dissolution rate, solubility, efflux transport, biliary and urinary excretion 등)을 평가하면 된다.

약물의 생체내이용률을 좌우하는 인자로는 국소적인 absorption관련 이슈들과 전신적인 대사 및 배설 관련 이슈들이 포함되어 있다. 따라서 초기 discovery 단계에서 후보물질의 생체내이용률이 낮다면 그 원인이 어느 요소에서 기인하였는지 정확히 진단하고 그 원인에 따라 후속 연구를 진행하여 생체내이용률을 개선하는 노력이 필요하다. □