

독성동태 모델과 데이터의 해석

유 선 동

성균관대학교 약학부

Toxicokinetic Models and Data Interpretation

Sun Dong Yoo

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, 300 Chonchon-dong, Chang-an-gu,
Kyonggi-do, Suwon 440-746, Korea

(Received November 1, 2002)

(Accepted November 27, 2002)

ABSTRACT : Toxicokinetic studies are intended to provide critical evaluation of drug disposition at toxicological doses and help understand the relationship between blood or tissue levels and the time course of toxic events. Relatively high dose levels used in toxicokinetics, compared to pharmacokinetics, complicates absorption, protein binding, metabolism and elimination processes. In this mini review, frequently used toxicokinetic models such as linear compartment models, physiological models, and nonlinear kinetic models are introduced. In addition, optimization of toxicokinetic studies, their role in the drug development process, and prediction of human toxicokinetics based on animal data by interspecies scaling are briefly discussed.

Key Words : Toxicokinetics, Pharmacokinetics, Compartment models, Physiological models, Nonlinear kinetics, Interspecies scaling

I. 서 론

독성동태학이란 화학물질이 체내에서 독성을 나타낼 수 있는 용량 또는 농도에서 그 물질의 생체 내 흡수, 분포, 대사, 배설 과정에 대해 동태학적으로 연구하는 학문이라고 정의할 수 있다(Di Carlo 1982). 약물동태학의 개념이 Teorell(1937)에 의해 도입된 이후 의약품 분석기술의 발전에 힘입어 1960년대와 1970년대의 발전기를 거쳐 온데비하여, 독성동태학은 근래에 들어 그 개념이 정립 발전되고 있는 학문분야이다. 독성동태 연구에서는 약물을 포함하는 화학물질의 경시변화에 따른 체내동태 즉, 흡수, 분포, 대사, 배설(ADME) 과정을 수학적 모델을 이용하여 해석하고자 한다. 얻어진 독성동태 데이터는 이들 시험물질의 안전성, 데이터의 해석, 용량-노출 상관성을 규명하는데 유용하게 이용된다(Leal *et al.*, 1993; Case, 1994). 화학물질의 체내동태를 설명하는데 가장 많이 이용되는 모델은 컴파트먼트 모델인데, 대개 생체가 1- 또는 2-컴파트먼트로 구성된 것으로 가정한다. 반면, 생리학적 체내동

태학(physiologically-based pharmacokinetics)에서는 생체의 주요 장기와 조직을 각각의 컴파트먼트로 구성하여 모델을 설정하는데, 전형적인 기존의 컴파트먼트 모델과는 달리, 생체내 각 조직과 장기에서의 농도를 예측할 수 있다는 장점을 지닌다. 다만, 생리학적 체내동태 연구에서는 많은 노력과 실험을 통해서 얻을 수 있는 생화학적(장기내 대사속도), 생리학적(장기 무게, 혈류량, 조직/혈액 농도비) 데이터를 필요로 하고, 때로는 이러한 수치들이 실험적으로 구하기 어렵거나 불확실하여 정확히 예측하기 어렵다는 단점이 있다. 이에 비하여, 전형적인 선형 컴파트먼트 모델은 수학적인 해석이 비교적 간단 용이하며, 문헌에 보고된 대부분의 체내동태 데이터는 선형컴파트먼트 모델에 근거한 것이다. 독성동태 연구에서 많이 이용되는 체내동태적 모델들을 아래에 요약하였다.

II. 선형 1-컴파트먼트 모델

화학물질의 체내동태를 규명하고자 할 때 단회 정맥 투여 방법이 자주 이용된다. 이 때, 화학물질을 정맥투여하고 수 개의 혈액 시료를 각기 다른 시간에 채취하여 혈중

*To whom correspondence should be addressed

농도를 분석하며 이로부터 얻어진 농도-시간 데이터로부터 이 물질의 체내동태 특성을 나타낼 수 있는 동태학적 파라미터를 구하게 된다. 얻어진 혈중 농도-시간의 데이터를 세미로그 그래프에 플롯 하였을 때 그림 1과 같은 직선성을 나타내면, 그 물질의 체내동태가 1-컴파트먼트 모델을 따른다고 가정한다. 이런 물질을 혈중에 투여하면 전신순환계로부터 체내 조직과 장기로 분포가 순간적으로 빠르게 일어나고, 또한 조직 장기로부터 혈액으로의 재분포도 빠르게 일어나는 특성을 나타낸다. 이 때, 생체는 균질한 하나의 컴파트먼트로 작용하는데, 그렇다고 혈액과 조직 장기간의 농도가 동일해야 한다는 의미는 아니고, 혈액과 조직 및 장기간에 농도의 평형이 빠르게 이루어진다는 것을 의미한다.

1. 혈중 농도 곡선

컴파트먼트 모델에서는 화학물질의 대사와 배설이 농도에 비례하는 1차 속도론을 따른다고 가정하며, 이 때 체외로 소실되는 량은 임의의 시간에서 체내 약물량에 비례하게 된다. 약물소실속도정수(K)의 단위는 시간의 역수 (min^{-1} , hr^{-1} , day^{-1})로 표시한다. 예를 들어, $K = 0.1 \text{ hr}^{-1}$ 인 화학물질은 매시간 당 임의의 시간에 존재하는 체내 약물량의 10%가 소실됨을 의미한다. 1-컴파트먼트모델 약물을 정맥 투여하면 혈중 농도는 수학적으로 지수함으로 표시된다(1 식).

$$C = C_0 e^{-Kt} \quad (1 \text{ 식})$$

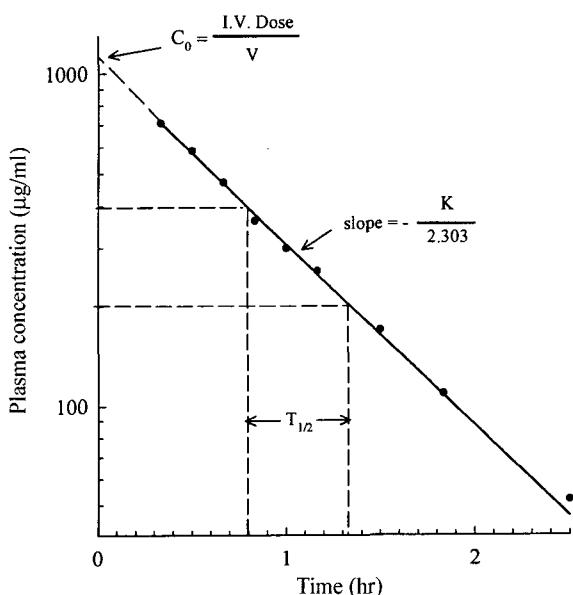


그림 1. 1-컴파트먼트 모델을 따른 물질을 정맥 투여한 후 얻어진 혈중 농도-시간 곡선.

여기서 C 는 임의의 시간 t 에 있어서의 혈중 농도이고 C_0 는 정맥투여 직후의 혈중농도로서 그림 1에서 보는 바와 같이 농도-시간 데이터를 외삽하여 y-축과 만나는 점의 농도이다. 위의 식을 자연로그나 상용로그로 표시하면 아래와 같다.

$$\ln C = \ln C_0 - Kt \quad (2 \text{ 식})$$

또는

$$\log C = \log C_0 - \frac{K}{2.303} t \quad (3 \text{ 식})$$

소실속도정수 K 와 C_0 를 알 때, 위의 1-3 식을 이용하여 화학물질을 투여한 후 임의의 시간 t 에서의 농도 계산이 가능하다.

2. 소실속도 정수

소실속도정수(K)는 그림 1의 로그 농도-시간 데이터의 플롯으로부터 $K = (-2.303 \times \text{직선의 기울기})$ 관계식으로부터 구하며, 실험디자인을 어떻게 하는가에 따라 최소한 두 개의 농도-시간 데이터 포인트를 이용해서 직선의 기울기를 아래 식으로부터 구할 수 있으나 직선회귀법으로 구하는 것이 이상적이다:

$$\text{기울기} = \frac{\log C_2 - \log C_1}{t_2 - t_1} \quad (4 \text{ 식})$$

체내 반감기 또는 소실반감기($t_{1/2}$)는 체내 화학물질의 용량 또는 농도가 반으로 감소하는데 걸리는 시간이며 아래 식으로 계산된다.

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{K} \quad (5 \text{ 식})$$

3. 경시변화에 따른 체내 약물량

화학물질이 생체에 투여된 후, 투여량(또는 농도)에 대한 체내에 남아있는 약물량(또는 농도)의 비율(C/C_0)은 아래 식으로 쉽게 계산할 수 있다.

$$\frac{C}{C_0} = e^{-Kt} \quad (6 \text{ 식})$$

또는

$$\frac{C}{C_0} = e^{-\frac{0.693}{t_{1/2}} t} \quad (7 \text{ 식})$$

또는

$$\frac{C}{C_0} = e^{-0.693n} \quad (8 \text{ 식})$$

(n = 반감기의 수)

위의 식들로부터 알 수 있는 바와 같이 화학물질이 체외로 소실되는 데 걸리는 시간은 그 물질의 소실반감기에 의해서 결정된다. 예를 들어 반감기가 1시간인 어느 물질을 투여한 후, 투여량의 90% 이상이 체외로 소실되는데 걸리는 시간은 6.7 식으로부터 $(C/C_0 = 0.1)$, ($K = 0.693/1 \text{ hr}$)을 대입하면 $t = 3.32 \text{ hr}$ 이 되어 3.32 반감기가 소요됨을 알 수 있으며, 이 수치는 (8 식)으로부터 직접 계산할 수 있다. 만약, 어떤 물질의 반감기가 8시간이라면, 투여량의 90% 이상이 체외로 소실되는데 걸리는 시간은 $t = 26.58 \text{ hr}$ 이 되어 마찬가지로 이 물질의 3.32 반감기가 소요됨을 알 수 있다. 화학물질의 체내동태가 1차 속도론을 따르는 경우에는 투여량을 증가 또는 감소시켜도 투여량에 무관하게 소실반감기는 일정하다. 투여량의 99%가 소실되는데 걸리는 시간도 위와 유사하게 계산할 수 있으며 반감기의 6.67배에 해당하는 시간이 소요된다. 일반적으로는 화학물질이 투여된 후 투여량의 90% 이상이 체외로 소실되었을 때 소실이 완전히 일어난 것으로 여긴다.

4. 반복투여시 체내 축적도

소실반감기를 알면, 이 물질을 일정한 투여간격(τ)마다 반복해서 투여할 때 체내 축적도(R)를 쉽게 예측할 수 있다(9 식).

$$R = \frac{1}{1 - e^{-K\tau}} \quad (9 \text{ 식})$$

예를 들어 반감기가 24시간인 물질을 1일 1회 반복해서 투여하게되면 축적도는 (9식)에 의하면 $R = 2$ 로 계산되며, 따라서 반복투여시 정상상태 (steady-state)에서 평균농도 (또는 최대농도 또는 최소농도)는 1회 투여시와 비교하여 2배가 되며, 따라서 2배의 체내축적이 일어남을 의미한다. 다른 예로, 반감기가 1시간인 물질을 1일 1회 반복투여 한다면 축적도는 약 1로서 체내축적이 거의 일어나지 않으며, 장기간 투여해도 혈중농도 곡선은 1회 투여시 얻어진 곡선과 거의 동일할 것으로 예측할 수 있다.

5. 겉보기 분포용적 및 AUC

화학물질이 지니는 체내 분포특성은 그 물질의 분포용적으로 표시된다. 일반적으로 용적은 용량과 농도의 비로 표시되는 상수인데, 체내동태학에서 화학물질의 분포용적은 체내 약물량에 대한 혈중(혈액, 혈장 또는 혈청) 농도

의 비로 표시한다. 이 때, 혈중 농도는 장기 또는 조직에서의 농도와 서로 상이하지만, 그 물질의 분포용적은 혈중 농도를 대조농도로 하여 계산된 용적이다. 따라서, 이와 같이 계산되는 분포용적은 실제 체중용적이 아니고 혈중 농도에 근거한 용적이라는 의미에서 겉보기분포용적(Vd)이라고 부르며(이하 분포용적), 그 단위는 ml, L, 또는 ml/kg , L/kg 로 표시한다. 이와 같은 이유로 어느 화학물질이 갖는 고유의 분포용적은 체중보다 아주 작거나 클 수 있으며, 일반적으로 지용성이 큰 약물은 분포용적이 큰 경향을 나타내고(<10,000 L), 반면 수용성이 큰 물질은 분포용적이 작은 경향을 나타낸다(>혈액부피). 겉보기분포용적은 혈중 농도-시간 데이터로부터 계산한다(식 10-11).

$$V_d = \frac{\text{Dose}_{i.v.}}{C_0} \quad (10 \text{ 식})$$

또는

$$V_d = \frac{\text{Dose}_{i.v.}}{\text{KAUC}_0^\infty} \quad (11 \text{ 식})$$

여기서 AUC는 혈중 농도-시간 곡선하면적인데, 정맥투여 직후부터 무한대까지의 AUC는 C_0/K 로 계산하거나 사다리꼴 공식을 이용하여 구할 수 있다. AUC는 생체가 화학물질에 얼마나 노출되었는지를 나타내는 중요한 지표로 이용된다.

6. 전신클리어런스

1차 속도론을 가정할 때 약물이 체외로 소실되는 소실속도는 체내 약물량 또는 농도에 비례하는데, 체내 약물량이나 농도가 시간에 따라서 연속해서 감소하기 때문에 소실 속도는 연속적으로 변하는 수치이다. 따라서 어떤 화학물질의 체외소실 속도를 나타내는 파라메터로 전신클리어런스(systemic clearance, Cls) 개념을 이용한다. 클리어런스는 체외 소실속도와 혈중농도의 비 $[(dX/dt)/C]$, 또는 단위 시간 당 화학물질을 소실시키는 혈액량으로 정의되며, 그 단위는 부피/시간이며 ml/min , L/hr , $\text{ml}/\text{min}/\text{kg}$, $\text{L}/\text{hr}/\text{kg}$ 등으로 표시한다. 클리어런스가 큰 물질은 체외로의 소실이 빠르고 작은 물질은 소실이 천천히 일어나게 된다. 화학물질은 간장, 신장, 폐, 위장관 등 여러 체내 장기 및 조직에서 대사 또는 배설되며 전신클리어런스는 각 소실 장기클리어런스의 합으로 표시한다(12 식).

$$Cl_s = Cl_{hepatic} + Cl_{renal} + Cl_{pulmonary} + Cl_{intestine} + \dots \quad (12 \text{ 식})$$

전신클리어런스는 $Cl_s = \text{Dose}_{i.v.}/\text{AUC}$ 또는 $Cl_s = V_d/K$ 로 계산한다. 화학물질을 반복투여할 때 목표로 하는 정상상태에서의 농도를 얻기 위한 적절한 투여속도는 아래 식으

로부터 계산할 수 있다(13 식).

$$\text{투여속도} = Cl_s \times \text{target } C_{ss} \quad (13 \text{ 식})$$

이와 같이 전신클리어런스는 화학물질에 대한 생체의 소실기능을 나타내는 지표로서, 생체노출도(AUC)를 결정하는 파라메터로서, 그리고 목표하는 혈중농도를 얻기 위해 필요한 투여속도를 계산하는데 필요한 파라메터로서 중요하게 이용된다.

6. 생체이용률

생체이용률은 화학물질이 전신순환계로 흡수되는 흡수율과 흡수속도라고 정의하는데, 좁은 의미에서는 투여량 대비 전신순환계에 도달한 량의 분율이다. 화학물질을 정맥 투여한 경우에 투여용량의 100%가 전신순환계에 도달하지만, 경구 투여한 경우에는 위장관에서 분해, 대사, 미흡수, 간초회통과효과(hepatic first-pass effect) 등에 기인하여 투여량의 일부만이 전신순환계에 도달하게 된다. 여기서 간초회통과효과라 함은 경구 투여된 물질이 위장관에 분포된 혈관의 혈중에 흡수되어 간문맥을 경유하여 간장으로 운반되는 과정과 간으로 운반되어 간 효소에 의해 대사되는 과정 즉 전신순환계에 도달하기 이전에 일어나는 체내소실을 의미한다. 경구 투여 이외에 경폐, 경비, 또는 경피 투여한 경우에 간초회통과효과는 피할 수 있지만 흡수부위에 분포한 혈중에 흡수되지 않을 수 있고 또는 흡수부위에서 대사될 수 있어 투여량의 일부만이 혈액으로 흡수된다. 따라서 화학물질이 정맥 이외의 다양한 경로로 투여되는 경우에 그 물질의 활성 또는 독성발현은 생체이용률에 의해 영향을 받게된다. 생체이용률은 서로 다른 경로 투여되었을 때, 얻어진 AUC를 비교함으로서 얻어진다. 정맥외 투여와 정맥투여시의 AUC를 비교하는 경우에는 절대생체이용률, 그리고 정맥외투여 간의 AUC를 비교하는 경우에는 상대생체이용률을 얻게된다(14 식).

$$\text{생체이용률} = \frac{\text{Dose}_{\text{reference}} \text{AUC}_{\text{test}}}{\text{Dose}_{\text{test}} \text{AUC}_{\text{reference}}} \quad (14 \text{ 식})$$

생체이용률은 약물동태에서는 물론 독성동태에서도 중요한 개념이다. 특히 고용량이 투여되는 경우에 생체이용률이 감소하게 되면, 혈중농도가 투여량과 비례하여 증가하지 않게 되므로 독성의 발현과 투여량과의 관계를 정립할 수 없다.

III. 선형 2-컴파트먼트 모델

화학물질을 정맥 투여하여 얻어진 농도-시간의 데이터를 세미로그 그래프에 플롯하였을 때, 그림 2와 같이 직선이 아닌 곡선을 나타내면(그림 2), 그 물질의 체내동태는

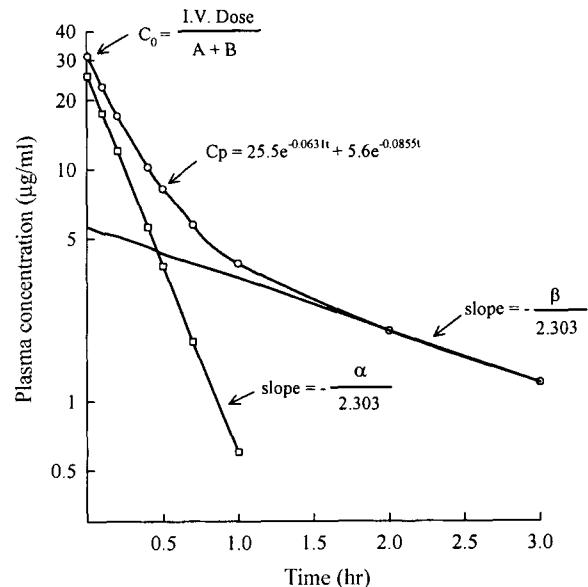


그림 2. 2-컴파트먼트 모델을 따르는 물질을 정맥 투여한 후 얻어진 혈중 농도-시간 곡선.

멀티컴파트먼트 모델로 설명된다. 얻어진 곡선이 분포상과 소실상으로 구분되는 경우, 생체는 균질한 하나의 컴파트먼트 대신에 2개의 컴파트먼트로 구분되며 이 물질의 체내동태는 2-컴파트먼트 특성을 나타낸다고 말한다. 화학물질이 체내 조직과 장기에 얼마나 빨리 분포되는가는 혈류속도에 달려있는 경우가 많다. 간장이나 신장과 같이 혈액 분포가 높은 장기로의 분포는 신속하게 일어나고 근육이나 지방과 같이 혈액분포가 낮은 조직으로의 분포는 느리게 일어난다. 따라서 전신순환계를 포함하여 혈액과 거의 순간적으로 농도평형이 완료되는 장기를 한데 묶고 혈액분포가 낮은 조직들을 한데 묶어서 각각 체순환컴파트먼트(central compartment)와 말초컴파트먼트(peripheral compartment)로 부른다. 동일한 컴파트먼트에 속하는 조직과 장기의 화학물질에 대한 분포 특성은 비슷한데, 이 때 각 조직과 장기에서의 농도가 동일해야 한다는 것은 아니고 다만 농도평형이 신속하게 이루어진다는 의미이다(그림 3). 체내 분포 특성에 따라 분포상이 소실상과 구분되어 나타나는 화학물질은, 전신순환계에 투여된 후, 혈액으로부터 체내 조직과 장기로 분포되는데 보통 수 분에서 수 시간 정도 소요되는 분포특성을 나타낸다.

정맥투여 후 2-컴파트먼트 모델 약물의 농도-시간 데이터는 1-컴파트먼트 모델 약물과 달리 두 개 지수항의 합으로 표현할 수 있다(15 식).

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \quad (15 \text{ 식})$$

여기서 A와 B는 초기 분포상(α 상)과 소실상(분포후상 또는 β 상)에 해당하는 각 지수항의 비례상수이며 농도 단위

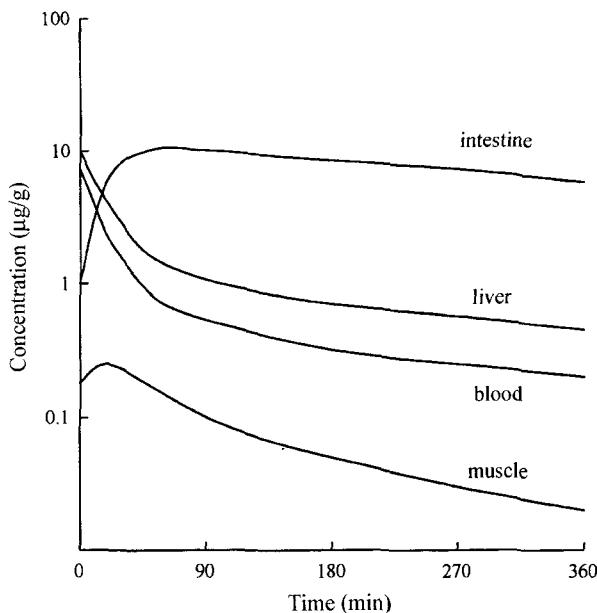


그림 3. 2-컴파트먼트 모델을 따른 물질을 정맥 투여한 후 경시 변화에 따른 혈액과 조직 장기내 농도-시간 곡선.

를 갖는다. 또한, α 와 β 는 각각 분포속도정수와 소실속도 정수이며 시간의 역수 단위를 갖는다. 소실속도정수(β)는 소실상에 해당하는 로그농도-시간 직선의 기울기로부터 구하여($\beta = -2.303 \times \text{기울기}$), 이로부터 소실반감기를 $t_{1/2,\beta} = 0.693/\beta$ 관계식으로부터 계산한다. 분포속도정수 (α)는 잔차법을 이용하여 구하는데, 분포상에 해당하는 채혈시간에서 실측된 혈중농도와 소실상을 나타내는 직선의 외삽된 농도의 잔차 데이터로부터 구한다($\alpha = -2.303 \times \text{기울기}$). 이때의 분포반감기는 $t_{1/2,\alpha} = 0.693/\alpha$ 관계식으로부터 구한다. 2-컴파트먼트 모델로 설명되는 화학물질을 정맥 투여한 경우, 체내 조직으로의 분포가 완료되어 혈액과 조직간의 분포평형이 이루어지는데는 적어도 분포반감기의 3.32 배가 소요되고, 체외 소실이 완료되는데는 이와 비슷하게 소실반감기의 3.32배가 소요된다.

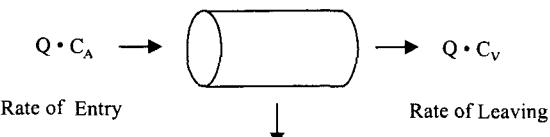
2-컴파트먼트 약물의 분포상을 정확하게 규명하기 위해서는 분포상에서 혈액 시료를 채취해야 하며 분포반감기를 고려하여 분포상에 해당하는 시간에서 적어도 3개의 시료를 취해야 한다. 체내동태가 2-컴파트먼트 모델로 설명되는 화학물질의 체내 활성 또는 독성을 측정하는 경우에는, 그 물질의 활성이나 독성이 발현되는 목표 장기로의 분포가 완료된 시점에서, 즉 혈액과 장기와의 농도평형이 이루어진 시점에서, 채혈해야만 혈중농도-효과 관계를 정립할 수 있다.

IV. 생리학적 모델

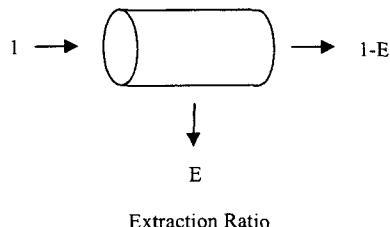
컴파트먼트 모델에서는 화학물질의 체내동태를 설명하

기 위하여 유사한 분포 특성을 지니는 조직 장기를 한 개 또는 수 개의 컴파트먼트로 묶어서 생체를 단순하게 나타내고자 한다. 따라서, 컴파트먼트 모델이 혈중 농도-시간 데이터를 정확하게 해석하는데는 유용하지만, 독성이 발현되는 특정 조직 장기에서의 동태를 규명하는데는 그 한계가 있다. 특정 조직 장기에서의 동태를 규명하기 위해서는 다음의 두 방법을 생각해 볼 수 있다. 첫째는, 단순히 목적하는 부위에서 화학물질의 농도를 측정하는 방법이다. 이 경우에, 방사성 표지 물질을 체내에 투여한 후, 자가방사기록법(autoradiography)을 이용하거나 또는 조직 장기 시료를 전처리한 후 방사능을 측정하게 된다. 그러나, 비표지 물질을 투여하는 경우에는 각 조직 장기에서의 농도를 측정하기 위하여 분석법을 개발, 확립해야 하는 번거로움이 따른다. 둘째는, 생리학적 모델(pharmacokinetic 또는 PBPK model)을 이용하는 방법이다. 이 경우에, 각 조직 장기에서의 농도를 측정하여 실제의 분포 데이터를 얻을 뿐만 아니라, 수학적인 모델을 개발함으로서 이를 이용하여 다양한 형태 생리학적 변화에 따른 분포동태를 예측하거나 또는 한 동물 종에서 다른 동물 종이나 사람에서의 동태를 예측할 수 있다(Dedrick, 1978; Himmelstein & Lutz, 1979).

I . Mass Balance



II . Mass Balance Normalized to Rate of Entry



III . Mass Balance Normalized to Entering Concentration

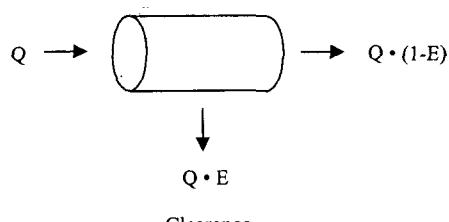


그림 4. 소실 장기의 생리학적 모델(Q 혈류량; C 농도; E 추출률).

생리학적 모델에서는 주요 조직 장기에서의 혈류량, 혈액과 조직내 농도, 혈액/조직 분포비 수치를 이용하여 경시변화에 따른 조직-장기 사이의 화학물질 이동을 설명하고자 한다. 생리학적 모델에서 가장 중요한 개념은 장기 클리어런스라고 할 수 있는데, 이 경우 혈류에 의해 화학물질이 장기로 분포되고 그 장기로부터 소실이 일어날 수도 있다고 가정한다(그림 4). 이러한 장기들을 조합하여 생체내 동태를 설명하는데 이용되는 생리학적 모델을 구성하게 된다(그림 5).

그림 4에서 Q는 장기에 분포된 동맥 또는 정맥 혈류이고, C_a 는 장기로 들어가는 동맥혈중 농도, 그리고 C_v 는 장기로부터 나오는 정맥혈중 농도이다. 특정 장기, 예를 들어 간장이나 신장에서 화학물질의 소실이 일어나는 경우, 정맥혈중 농도가 동맥혈중 농도보다 낮으며, 이 때 장기로 유입되는 속도($Q \cdot C_a$)와 유출되는 속도($Q \cdot C_v$)의 차이가 장기의 소실속도 [$Q(C_a - C_v)$]에 해당된다(그림 4-I). 이 때, 유입속도, 유출속도, 소실속도를 각각 유입속도로 나누어 주면 그림 4-II에서와 같이 장기추출률(E)을 얻게 되며, 이 때 추출률은 소실속도를 유입속도로 나누어 준 값이다[$E = (C_a - C_v)/C_a$]. 그림 4-II의 각 항에 혈류 Q 를 곱하면, 장기클리어런스를 얻을 수 있다(organ clearance = $Q \cdot E$)(그림 4-III). 따라서 장기클리어런스는 이 글의 도입부에서 설명한 것처럼 장기의 소실속도와 혈중농도의 비[organ clearance = $Q(C_a - C_v)/C_a$]가 된다.

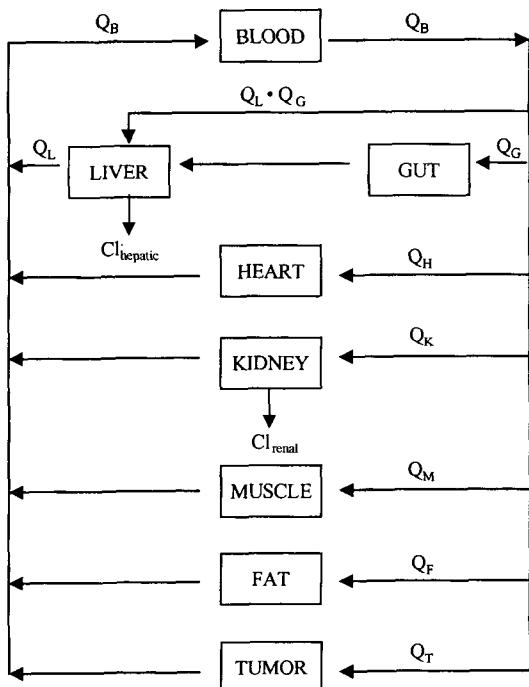


그림 5. 생체내 동태를 나타내는 전형적인 생리학적 모델(Q 혈류량).

생리학적 모델링으로부터 얻어지는 파라메터는 생리학적으로 실질적인 의미가 있는 수치로서 장기 소실기능의 변화를 반영하는 수치이다. 생리학적 모델링의 단점은 다양한 가정을 설정해야 하고 복잡한 수학적 개발 과정과 많은 실험데이터를 필요로 한다는 것이다. 그리고, 이러한 방법으로 인체에서의 체내분포를 예측할 수는 있지만 인체 조직시료를 얻기 어렵기 때문에 개발된 모델의 적합성을 입증하는데 어려움이 있다. 그럼에도 불구하고, 화학물질의 특성에 따라서 특정 장기에서의 독성발현 및 독성동태를 예측하는데 생리학적 모델이 유용하게 이용될 수 있다(Dedrick, 1973; Krishnan and Andersen, 1994).

V. 약물동태학과 독성동태학의 기술적 차이점

최근까지의 독성시험은 화학물질이 투여되어 흡수가 일어난 것을 확인하는 차원에서 혈중 농도를 측정하였으며, 용량-효과 관계에 근거하여 안전성을 평가하여 왔다. 그러나 독성동태학은 이제 독성학 연구의 주요부분으로서 자리를 잡았으며, 또한 신의약품의 개발과정에서도 독성을 발현하는 용량을 실험동물에 투여하여 얻은 흡수, 분포, 대사, 배설(ADME) 자료를 요구하고 있는 상황이다(de la Iglesia, 1993). 약물동태와 독성동태 연구의 주요 차이점은 약물동태학에서는 치료용량 또는 약효를 나타내는 용량을 투여하는데 비하여, 독성동태학에서는 일반적으로 훨씬 높은 용량에서의 체내동태를 다룬다는 점이다. 생체는 활성물질에 반응하는 능력에 한계가 있고, 그 한계에 도달하게 되면 치료효과를 나타내는 용량에서와는 다른 양상의 흡수, 분포, 대사, 배설 특성을 나타내게 된다. 이와 같은 투여량의 관점에서 본 약물동태학과 독성동태학 연구의 차이점은 아래와 같다(Sangster and de Kort, 1986; Welling, 1995).

1. 용해도

고용량을 투여하기 위하여 시험물질을 용매에 용해시키는 경우에 가용화가 어렵고 투여제형을 개발하여 생체에 투여할 때 용해 한계에 도달하게 되면 위장관내에서 침전이 일어나게 되므로 체내흡수가 용량 비의존적으로 일어나게 된다. 또한 흡수되어 체액, 조직 또는 장기에서 침전을 일으키게 되면 치료용량에서 일반적으로 나타나지 않는 독성이 발현될 수 있다.

2. 안정성

화학물질의 안정성은 투여 용량과 농도에 의해 영향을 받는다. 독성 시험시 위장관 경구 투여는 많은 시간과 노

력을 요하게 되므로 사료나 물과 함께 투여하는 경우가 많다. 이와 같이 혼합된 상태에서 오랜 시간동안 보관 사용하는 경우에 안정성이 낮은 물질은 분해되어 실제 투여량이 감소하거나 분해산물이 투여되는 결과를 나타내어 시험물질의 체내동태 데이터 해석에 어려움이 따를 수 있다.

3. 흡수

약물의 흡수는 주로 수동확산에 의해 일어나고 투여 용량은 그 약물의 흡수속도를 변화시키지 않는다. 그러나 독성 시험에서 높은 용량이 투여되면 그 물질의 흡수율과 활성이 치료용량 투여 시와 다르게 나타날 수 있다. 위장관에서 화학물질의 흡수 반감기는 일반적으로 짧아서 투여 후 수 시간 이내에 흡수가 끝나게 되는데, 과량 투여 시에는 위장관 내에서 침전이 일어나거나 흡수가 지속적으로 일어날 수 있어서 그 물질의 흡수속도가 변하게 된다. 또한, 단회 투여된 경우라도 그 물질의 반감기로부터 예상되는 기간 이상의 오랜 기간 동안 생체에 노출되는 결과를 가져온다. 항 콜린 작용이 있는 물질의 경우에는 위내용물 배출시간(gastric emptying time)과 위장관 연동운동을 감소시킬 수 있고, 고 농도에서 이 효과가 극대화되어 흡수가 저연된다. 위장관에서의 흡수기전이나 흡수 여전을 변화시키는 약물은 자체의 흡수속도에 영향을 주거나 불완전한 흡수가 일어나게 된다. 효소에 의존하는 위장관 내에서의 대사는 포화가 일어날 수 있으며 이에 의해 생체이용률이 용량 비의존적으로 변화할 수 있으므로 저용량에서와 같은 흡수율을 가정할 수 없다. 효소 유도를 일으키는 물질은 고용량을 투여하는 경우에 간 대사에 관여하는 효소량을 증가시켜 독성동태나 효과에 영향을 미치게 되며 반복투여의 경우에는 이를 특히 고려해야 한다.

4. 단백 결합

시험물질이 체내에 흡수된 후, 혈액이나 조직에서 단백질과 결합할 수 있는데 이 과정은 일반적으로 가역적인 반응이다. 치료 농도에서 대부분 물질의 단백 결합률은 일정하게 유지되지만, 독성동태 실험에서 고 용량이 투여되는 경우에 단백 결합의 포화가 일어나게 되어, 신경계 등 체내조직으로의 분포에 영향을 주게 된다. 분포용적은 아래의 공식으로 표시된다.

$$V = V_p + V_t \frac{f_p}{f_t} \quad (16 \text{ 식})$$

V : 전체 겉보기 분포용적

V_p : 혈장 용적

V_t : 조직 용적

f_p : 혈장내 약물의 유리분율

f_t : 조직내 약물의 유리분율

여기에서 혈장 용적은 체중 대비 약 4.5%이고 조직용적은 약 40%이다. 위 식에서 보는 바와 같이, 혈장에서 단백 결합의 포화가 일어나게 되면 혈중농도가 증가함에 따라서 유리분율(f_p)이 증가하게 된다. 이 결과 혈장 중 유리약물의 농도가 증가하고 조직 및 장기로의 분포가 증가하게 되며 그 결과 전체 겉보기 분포용적이 증가한다. 따라서, 치료용량 투여 시와는 다른 조직분포 양상을 나타내게 되며 표적 장기와 조직에서의 농도가 증가되고 이로 인한 독성 발현이 증가되며 혈중 농도-효과 상관관계에 변화가 일어나게 된다. 혼하지는 않지만, 조직 내에서의 유리분율(f_t)이 증가하면 겉보기 용적은 감소하게 된다. 독성 발현의 관점에서 혈장 또는 조직 내에서 단백 결합이 지니는 의미는 아주 중요하다. 단백과 결합한 형태의 화학물질은 분자량의 증가로 인하여 세포막 투과가 제한을 받게 되고 독성발현 또는 약효 발현 수용체에 결합할 수 없다. 따라서, 단백 결합의 포화가 일어나는 한계점으로부터는 혈장 약물농도(결합형 + 유리형)와 반응 상관관계가 1차 속도론에서 얻어지는 상관관계 모델을 따르지 않게 된다. 한편, 치료 용량에서 중추신경계로의 분포가 잘 일어나지 않는 물질은 고용량에서 용량 의존적으로 분포가 일어나 중추신경계 효과가 발현될 수 있다.

5. 대사 및 배설

화학물질이 체내에 흡수된 후, 체외 소실은 대사와 배설 경로를 통하여 일어난다. 일반적으로 대사는 주로 간 효소에 의해 일어나지만, 효소는 체내의 모든 조직 장기에 존재하고 있으므로 대사는 전신에서 일어나게 되며 다만 그 정도에 차이가 있다고 하겠다. 화학물질의 생체내 변환은 효소에 의해 일어나므로 고용량에서는 대사 포화가 일어나거나 주요 대사 경로에 변화가 일어날 수 있다. 간 대사 기능이 포화에 도달하면 저농도로부터 예측되는 것보다 더 많은 량이 전신순환계로 흡수될 수 있으며, 투여량이 증가됨에 따라 흡수율이 비선형적으로 증가되어 투여량과 독성 발현 상관관계를 예측하기 어려워진다. 동물로부터 사람에서의 대사를 예측할 때에는 이를 고려해야 한다.

체내에 흡수된 물질의 체외 배설은 주로 간장에서 생체내 변환되어 수용성이 증가된 대사체로 신장을 통하여 뇌 중 배설되지만, 휘발성 물질은 폐에 의해 주로 배설된다. 분자량이 큰물질(m.w. >500) 또는 glucuronic acid, glutathione, sulphate, glycine, glutamine 등과 포합체를 형성하는 물질은 담즙으로 배설될 수 있다. 신장에 의한 배설은 신사구체 여과에 의한 수동확산 기전이나 능동 분비 또는 재흡수와 같은 포화기전에 의해 일어나게 된다. 따라서

능동분비 또는 재흡수 되는 물질의 뇨중 배설은 고농도에서 포화 상태에 이르게 된다. 또한, 상경적으로 작용하는 물질이 공존하는 경우에 포화기전에 의한 세포막 투과도가 변할 수 있으며 근위세뇨관에서 일부 또는 전부가 능동 분비되는 물질에 대해서는 뇨중 배설 양상이 변화될 수 있음을 고려해야 한다.

체내 장기의 약물 소실기능 또는 소실속도는 그 장기의 클리어런스(Cl_{organ})로 가장 잘 표현된다. 장기 클리어런스는 단위시간당 장기로 공급되는 혈액 또는 혈장 중 화학 물질을 소실시킨 혈액 또는 혈장의 부피로 나타낸다.

$$Cl_{organ} = Q_{organ} \frac{(C_a - C_v)}{C_a} \quad (17 \text{ 식})$$

Q_{organ} : 장기로 공급되는 혈류(부피/시간)

C_a : 장기로 들어가는 동맥혈 농도

C_v : 장기로부터 나오는 정맥혈 농도

사람의 신장과 간장으로 공급되는 혈액량은 각각 약 1,100 ml/min과 1,350 ml/min, 혈장 량으로는 각각 약 650 ml/min과 800 ml/min이며, 신장과 간장에 의해서만 소실이 일어나는 경우에 가능한 최대 전신 클리어런스는 혈액과 혈장으로서 각각 2,450 ml/min과 1,450 ml/min이다. 실험동물에서도 이와 비슷하게 각 장기 또는 생체 전체에 해당하는 최대 클리어런스를 유추할 수 있다. 소실반감기는 수학적으로는 $t_{1/2} = 0.693/\text{소실속도정수}$ 관계식으로부터 계산되지만, 소실반감기를 결정하는 두 개의 요인은 동태학적 독립변수인 물질 고유의 분포용적과 전신 클리어런스이다.

$$t_{1/2} = \frac{0.693V}{Cl} \quad (18 \text{ 식})$$

위의 식에서 보는 바와 같이 화학물질의 소실반감기는 전신클리어런스와 분포용적이라는 두 개의 독립변수에 의해 결정된다.

6. 비선형속도론

독성 실험에서 고용량이 투여되는 경우에는 선형속도론이나 1차 속도론을 따르지 않게 되고, 용량이 증가됨에 따라 클리어런스와 분포용적이 감소하거나 소실반감기가 증가하는 경향을 나타낸다. 이 경우에 그 물질의 흡수, 분포, 대사, 배설 동태는 비선형속도론 또는 Michaelis-Menten 속도론(19 식)을 따르게 된다(그림 6).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{V_{max}C}{K_m + C} \quad (19 \text{ 식})$$

$\frac{dC}{dt}$: 대사속도(농도/시간)

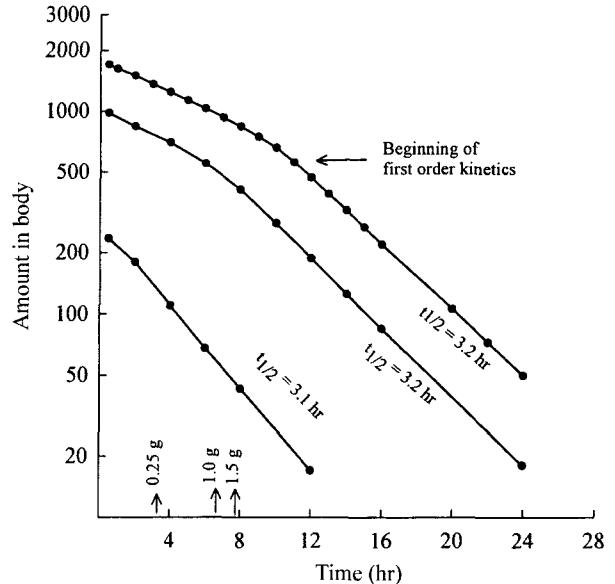


그림 6. Michaelis-Menten 소실동태를 따르는 1-컴파트먼트 모델 물질을 세 용량에서 정맥 투여한 후 얻어진 혈중 농도-시간 곡선.

V_{max} : 최대 대사속도(농도/시간)

K_m : Michaelis-Menten 상수(농도)

C : 체내 약물 농도

이 식에서 보는 바와 같이, 대사속도는 저농도에서($C \ll K_m$) 1차 속도론을 따르게 되고, 이 때의 소실속도 정수와 소실 반감기는 각각 V_{max}/K_m 과 $0.693/(V_{max}/K_m)$ 에 근접하게 되어 농도와 무관하게 일정하게 된다. 그러나 농도가 증가됨에 따라서($C \gg K_m$), 클리어런스와 소실 반감기는 아래 식에서 보는 바와 같이 농도에 의해 영향을 받아 변하게 된다.

$$Cl = \frac{V_{max}V}{K_m + C} \quad (20 \text{ 식})$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693(K_m + C)}{V_{max}} \quad (21 \text{ 식})$$

따라서, 클리어런스는 저농도에서는 $Cl = (V_{max}/K_m)V$ 에 접근하나 고농도에서는 약물농도가 증가함에 따라 감소하게 된다(5 식). 소실 반감기의 경우에도 낮은 농도에서는 $0.693/(V_{max}/K_m)$ 으로 일정하나, 농도가 증가하게 되면 반감기도 따라서 증가하게 된다(6 식). 생체의 시험물질에 대한 노출도는 농도-시간 면적(AUC)과 반복 투여 시 정상상태(steady-state)에서의 평균농도(C_{ss})로 나타낼 수 있다.

$$AUC = \frac{C_o}{V_{max}} \left(K_m + \frac{C_o}{2} \right) \quad (22 \text{ 식})$$

$$C_{ss} = \frac{R_o K_m}{V_{max} V - R_o} \quad (23 \text{ 식})$$

C_o : 투여 직후 $t=0$ 에서의 농도

R_o : 투여 속도(용량/시간)

저농도에서 AUC는 $(C_o K_m/V_{max})$ 로서 농도에 정비례하여 증가하는데 반하여, 고농도에서는 AUC가 $(Co^2/2V_{max})$ 로서 용량과 정비례하여 증가하는 대신 용량의 제곱과 비례 관계를 갖고 증가하게 된다. 선형속도론에서 정상상태에 도달하는데 걸리는 시간은 대략 소실 반감기의 3~5배인데, 고용량 투여 시에는 반감기가 증가하게 되므로 정상상태에 도달하는 시간이 투여량의 크기에 따라 더 오래 걸리게 되며, 용량을 아주 많이 증가시키면 정상상태에 도달하지 않을 수도 있음을 염두에 두어야 한다. 고용량 투여로 전신클리어런스가 감소하는 경우에는 시험물질에 대한 생체 노출지표인 AUC 또는 C_{ss} 가 용량 증가율 이상으로 증가하고 독성반응 또한 용량 증가율 이상으로 증가하게 된다.

7. 생리학적 Feedback

고용량 또는 고농도에서 생체에 독성을 나타낼 수 있으며, 이 결과로 생리학적 feedback 기능에 변화가 생겨 물질의 ADME에 영향을 미칠 수 있다.

8. 약물 상호작용

화학물질간의 상호작용은 농도 의존성을 나타내며 따라서 한가지 이상의 화학물질 또는 이성질체를 동시에 투여하는 경우에는 시험물질의 독성동태가 다른 물질에 의해 영향을 받을 수 있다.

위에서 설명한 바와 같이 여러 가지 기술적인 관점에서 볼 때에 독성동태는 약물동태와는 상이하며 독성을 발현하는 용량에서 시험물질의 동태를 규명해야 하는 어려움이 따르는 분야라고 하겠다. 독성연구는 사람에서 시행되기 어려우므로 주로 동물을 대상으로 수행된다. 독성동태학적 연구의 목표가 독성 발현 용량에서 그 물질의 체내 동태를 정량화하고 시험동물에서의 대사경로를 확립하는데 있다면 독성동력학에서는 독성 발현과 노출도의 관계를 규명하고 인체에서의 독성과 내성을 예측하고자 한다. 그런데 약물동력학과는 달리 독성동력학에서는 추구하고자 하는 측정치가 동물에서 변화가 심하며 동일 중간에도 목표하는 조직 장기에서의 독성발현이 다른 경우가 많기 때문에 독성발현을 예측해야 할 필요성이 꼭 있음에도 불구하고 어려움이 따르게 된다.

VI. 독성동태 실험의 최적화

독성시험을 통하여 노출 정도에 따른 발암성, 유전독성, 면역독성, 신경독성, 생식독성, 기형성 등의 위험성을 평가하는데 독성동태 데이터가 유용하게 이용된다. 우선, 적합한 독성시험법을 디자인하기 위해서는 적합한 분석법을 개발하고, 실험 동물 종, 계통(strain), 용해 용매, 투여 제형과 경로, 적절한 투여량 등을 선택해야 한다. 독성시험을 시행하는 과정에서 노출도, 연령 및 반복투여 등이 체내동태에 미치는 영향, 고용량에서의 동태학적 특성 규명, 독성발현에 미치는 영향 등을 이해하는데 독성동태 연구가 필요하다(Goehl, 1997). 독성동태 실험은 1) 시험물질이 흡수되는지 여부, 흡수되는 경우에 흡수율과 흡수속도, 2) 체내 조직과 장기로의 분포 특성, 3) 주요 체내 대사 부위, 주요 대사 산물의 확인, 4) 소실 경로와 소실속도, 5) 용량이 ADME에 미치는 영향에 대한 정보를 제공할 수 있도록 시험법을 확립해야 한다(Buchanan *et al.*, 1997). 독성동태 실험을 행하는데 도움이 되는 일반적인 고려사항을 아래에 기술하였다.

1. 시험물질 투여경로

독성동태 실험에서 시험물질의 투여는 독성시험에서와 동일한 경로로 투여하거나 또는 사람에게 가장 자주 투여되는 경로로 한다. 필요하다면 물질을 용해시키는 용매의 종류와 투여되는 용매의 용적이 흡수에 미치는 영향을 검토한다. 시험물질이 비정액 경로로 투여되는 경우라면 정액투여 실험도 함께 행하여 절대 생체이용률 또는 흡수량을 계산한다. 또는 독성시험에서 사료 또는 물과 함께 시험물질이 투여되는 경우에는 추가로 gavage 투여를 함으로서 흡수 파라미터를 산출할 필요가 있다.

2. 투여용량 및 시험동물

시험물질의 투여용량은 일반적으로 MTD의 일부 량을 사용하거나 독성시험에서 사용된 것과 동일한 용량을 사용하며 적어도 3 용량을 투여하는 것이 바람직하다. 세 용량을 투여할 때에, 가장 높은 용량은 동물의 정상적 사료와 물 섭취, 체중을 고려하여 하루 노출량을 MTD로 하고 MTD의 25~50% 정도로 산정하며 낮은 용량을 적절히 조절한다. 구체적인 독성데이터가 없는 경우에는 그 물질의 LD₅₀의 0.1배, 0.01배, 0.001배 정도를 투여한다. 세 용량을 투여함으로서 체내동태의 용량 의존성을 규명할 수 있는데, 필요하다면 더 낮거나 높은 용량을 추가함으로서 선형성을 나타내는 용량 범위를 정확하게 규명하여 어느 용량으로부터 비선형성이 나타나는지 확인한다. 독성동태 연

구결과를 해석하는데는 적절한 용량을 투여하는 것이 중요하고 투여 제형에서의 안정성, 균일성, 정확성에 유의해야 한다. 독성동태 실험에 사용되는 동물 종과 계통은 독성 시험에 사용된 것과 동일해야 바람직하며, 보편적으로 사용되는 실험동물은 Fischer 344/N 랫트와 B6C3F1 마우스이다.

3. 분석법 확립

체내동태를 규명하기 위해서는 생체시료 중 시험물질과 활성 대사체에 대한 미량 분석법을 확립해야 한다. 분석법을 확립하기 위해서는 일반적으로 표준 생체시료를 6농도에서 만들고, 필요하면 이 때 각기 다른 농도로 제조된 두 개의 표준용액을 사용하여 가장 낮은 농도와 가장 높은 농도에서의 샘플 수를 3개로 한다. 공시료는 5마리의 동물로부터 얻어진 생체시료를 이용하고 샘플 수는 3으로 한다. 검량선의 correlation coefficient, 분리능(assay specificity), 정확도(accuracy), 정밀도(precision), 추출률(extraction recovery), 분석감도(sensitivity limit)를 확립하며, 이 때 limit of detection(LOD)은 signal-to-noise(S/N) ratio의 5배 이상으로, limit of quantification(LOQ)은 10배 이상으로 한다. 검량선은 분석 할 때마다 작성하며 quality control sample은 분석을 행하는 도중에 일정 시간마다, 예를 들어 10 샘플마다, 분석한다.

4. 시료 채취

정맥 주사하는 경우에, 혈액(또는 혈장, 혈청), 지방, 근육, 간장, 신장 시료를 채취하며, 그 외에 시험물질의 활성을 나타내는 표적장기를 알고 있다면 이를 추가한다. 시료 채취시간은 그 물질의 소실속도와 분석법이 지니는 감도를 고려하여 결정하게 되는데, 정맥주사의 경우 8~12개 정도의 샘플을 취한다. 예를 들어 경시변화에 따라 시료의 농도가 24시간 정도에서 분석 감도의 한계에 도달하게 된다면, 시료 채취는 5, 10, 20, 40, 60분, 2, 4, 6, 8, 24시간 정도에 채취하며 정확한 채취시간을 기록한다. 각 시료 채취시간 당 샘플 수는 3개 이상 되도록 충분한 수의 동물을 사용한다. 분변, 뇨 샘플도 수회에 걸쳐 채취하고, 휘발성 물질의 경우라면 흡기 시료도 채취해야 한다. 시험물질을 흡입시키는 경우에는 동물이 흡입을 중지하는 순간부터 혈중 농도가 신속하게 감소하게 되므로 흡입 도중에 시료를 취한다. 랫트의 경우에는 꼬리정맥, 경정맥 삽관, 심장 puncture 등으로 채혈 할 수 있으며 마우스의 경우에는 심장 puncture에 의해 주로 채혈한다. 그 외 비정맥 투여경로로 투여되는 경우에는 정맥투여 시와 유사하게 시료를 채취하고, 경피 투여의 경우에는 피부 시료를 취한다.

물질의 소실 경로를 확립하고자 하는 경우라면 추가의 동물을 사용하여 분변, 뇨, 흡기 샘플을 채취한다. 특별한 이유가 있는 경우를 제외하고는 시험물질 투여 전날 밤에 사료와 물을 주도록 한다. 흡수 속도를 산출할 때에는 최대 혈중농도(C_{max})에 도달하기 이전에 3개의 시료를 채취해야 하며 필요하면 예비시험을 통하여 채취시간을 정한다. 밤에 시료를 채취하는 경우에는 사료 섭취 습성이 변하지 않도록 주의한다.

5. 예비시험

예비시험으로부터 혈액, 뇨, 장기, 조직 시료의 적합한 채취시간을 선정한다. 이러한 예비시험은 독성시험에 사용된 가장 낮은 용량과 가장 높은 용량을 몇 마리의 동물에 투여한 후 채혈을 하는데(대략 10 번) 이 때 혈액 소모가 많지 않도록 한다. 동물은 성숙한 나이의(대략 10~12 주령) 비슷한 체중을 사용하여 동일 채혈시간에서 샘플 수가 적어도 3개 이상 되도록 한다. 분석방법을 확립할 때에는 채취된 시료에서의 농도를 포함하는 범위이상에서 행해야 한다. 시료를 채취하여 분석 시까지 보관하는 경우, 예상되는 최고 농도의 약 75 퍼센트 농도에서 적어도 동일 기간동안 시험물질의 안정성 시험을 해야한다.

6. 본 시험

예비시험을 거쳐 본 시험에서는 우선 단회 투여하게 되는데 시험물질을 두 용량에서 정맥주사하고 각 시료 채취 시간에서 샘플 수가 3개 이상 되도록 하여 10회 정도 채취한다. 이 때 시료 채취시간은 시험물질의 특성에 따라 다르며 예비시험 결과를 이용한다. 1회 정맥주사를 행하여 체내동태가 용량의존성을 나타내는지 검토하고 기본적인 동태학적 파라미터를 산출한다. 독성시험에서 그 물질을 다른 투여경로로 투여하는 경우라도 정맥주사를 행할 필요가 있다.

7. 흡입시험

흡입시험을 행하는 경우에는 일반적으로 4~6시간 정도 노출시킨 후 채혈하고 정상상태(steady-state) 농도와 소실 속도를 산정한다. 또한 혈중 정상상태 농도와 노출 농도와의 관계로부터 동태학적 선형성을 확인하고 필요하면 동태학적 모델을 개발하여 정상상태 농도와 정상상태에 도달하는데 걸리는 시간을 예측한다.

8. 반복투여

시험물질을 반복 투여하는 경우에는, 그 물질의 효소유

도, 효소억제 여부를 확인하고 체내 축적도를 산출한다. 이 때 시험물질은 동일 경로로 동일 용량, 주로 가장 높은 용량에서 14일간 투여한다. 얻어진 데이터를 단회 투여 데이터와 비교함으로서 효소 유도나 억제 가능성을 확인하고 축적도를 산정한다.

9. 만성시험

수년에 걸친 시험이나 발암성 시험의 경우에는 사료나 물과 혼합해서 투여하는 경우가 많은데, 이 경우에 단회 정맥주사 결과를 어떻게 이용해야 하는가에 대한 검토가 필요하다. 이 경우에, 동물의 식이 습성을 규정하고 시험 물질의 동태학적 데이터를 이용해서 컴퓨터 시뮬레이션을 통하여 혈중 농도를 예측할 수 있다(Yuan *et al.*, 1993). 독성동태 시험을 독성시험과 연계해서 행하고 반복투여나 연령 등에 의한 동태학적 변화를 검토한다. 2년 발암성 시험의 경우 투여 용량은 가능하면 동태학적으로 선형성을 나타내는 범위 내에서 2개의 저용량을 투여하여 낮은 용량에서의 발암성을 확인한다. 연령 차이에 따른 동태학적 차이를 보기 위해서는 각 용량에서 동물을 추가로 사용하여 2주, 3개월, 12개월 18개월에서의 체내동태를 검토한다.

VII. 신약개발 단계에서의 독성동태 연구

앞에서 독성동태학과 약물동태학의 차이점에 대하여 언급하였으며 독성 발현 물질로서 환경 오염물질, 살충제, 제초제, 중금속 등의 독성동태를 중심으로 설명하였다. 그러나 이런 독성물질들 이외에도 근래에는 의약품의 안전성 해석과 신약개발 과정에서 신약 후보 물질에 대한 독성동태 자료의 중요성이 대두되고 있으며 이 분야와 관련된 기술과 인지도가 빠르게 변화하고 있다(Kato *et al.*, 1993; Cayen, 1995). 의약품의 국제화 규격을 제정하는 International Conference on Harmonization(ICH-2)에서는 의약품과 관련하여 독성동태학을 “전임상 독성시험의 중요한 일부” 그리고 “시험물질의 전신 노출도를 평가하는데 필요한 체내동태학적 자료의 산출”이라고 정의하고 있다(ICH, 1993). 사람 또는 실험동물에서 혈중농도를 모니터링 하는 것이 보편적이긴 하지만 혈중 농도가 표적 장기에서의 농도를 항상 반영하는 것은 아니며 종간에 수용체 반응이나 독성의 발현이 상이할 수 있다. 현재 북미와 유럽에서는 제약 산업의 신약개발 단계와 독성시험에서 혈중 농도 모니터링이 보편화되고 있으며 일본을 포함한 아시아에서도 변화의 단계에 있다.

신약 개발시 전임상 단계에서 독성동태 연구를 수행할 때 제제개발팀, 약물대사팀, 독성팀, 분석팀, 약물동태팀과, 그리고 임상시험에서 임상약물학 연구팀과의 상호 협력은

표 1. Useful metabolic and kinetic data prior to first toxicity trials

Suggested data	Purpose
Major metabolites	Decision to measure drug and/or metabolites
<i>In vitro</i> liver metabolism	Assess differences between animals and humans
Assay validation	Measure exposure
Formulation effect on b/a	Selection of appropriate dosing vehicle
C-time data after single dose	Assist dose selection
Single dose pharmacokinetics	Assist sample selection times

Adapted from Cayen 1995.

연구의 효율을 크게 높일 수 있다(표 1).

제제개발팀으로부터 약물의 흡수를 최적화 할 수 있는 투여제형 개발에 관한 도움을 받을 수 있는데, 특히 근래 개발되는 신약이 활성이 강하고, 지용성이 높으며, 용매에 용해시키기 어려운 점을 감안할 때에, 비교적 고용량이 사용되는 독성동태 실험에서 용량-노출량 관계를 확립하는데 상호간의 협력은 중요하다.

약물대사팀과 분석팀으로부터 약물의 생체내 대사 경로, 주요 대사산물의 활성 규명, 독성시험에서 고용량 투여시 형성되는 대사체의 유무, 이 물질들에 대한 생체 시료내 분석법 개발에 관하여 도움을 받는다. 개발되는 물질이 프로드럭인 경우에는 활성체에 대한 분석법이 필요하며 racemic mixture인 경우라면 각각의 이성질체를 분리 정량 할 수 있는 분석법이 필요하다. 실험동물 종에 따라 대사 경로와 주요 대사산물을 규명하고 독성동태 연구에서 약물과 어떤 대사산물을 측정할 필요가 있는지 결정해야 한다. 허가를 위한 제출 자료로서 독성 평가는 Good Laboratory Practices(GLP) 규정에 준하는 시설에서 행해져야 한다.

약물 투여 시 약물을 용해시킬 수 있는 적합한 용매와 투여 후 물리적으로 안정한 형태의 투여 제형을 선택하는 것은 용량-독성 관계를 정립하는데 아주 중요하다. 독성시험과 독성동태시험을 병용하는 경우에 종 차이에 따른 독성발현의 차이가 노출도에 의한 차이인지, 고용량에서 독성이 빌현되지 않는다면 흡수과정에서 포화가 일어난 데 기인된 것인지 확인해야 한다(Dahlem *et al.*, 1994).

Pre-IND 독성시험과 독성동태학 - 미국 FDA에서는 Investigational New Drug(IND) 제출자료 중 독성시험 데이터 자료로서 일반적으로 rodents(주로 랙트)와 non-rodents(개 또는 원숭이)에서 암수 동물에게 3 용량을 석 달(때로는 1 또는 6 달) 투여하여 얻어진 결과를 요구하고 있다. 독성시험과 병행하여 수행되는 독성동태 연구의 목 적은 노출도가 용량과 상관성이 있는지를 확인하는데 중요한 의미를 갖는다. 이 때 노출도를 나타내는 가장 중요한 파라메터는 AUC인데, 이는 흡수와 클리어런스가 반영된 파라메터이기 때문이다. 그 외, 최대 혈중농도(C_{max}), 때로는 조직 농도 데이터도 유용하게 활용된다. AUC를 산

출하는데 유의할 점은 혈액 샘플의 수가 충분히 커야 하면서 혈액채취로 인한 혈액손실이 전체 혈액량의 약 10%를 넘지 않도록 해야한다는 것이다. AUC는 만성시험의 후반부에서 산출하는데 시험 초기에도 산출함으로서 효소 유도, 효소억제, 체내축적도 등을 검토할 수 있다. 예를 들어 한 용량을 반복투여 하는 경우에 시일이 경과함에 따라서 혈중 농도가 유의성 있게 감소한다면 효소유도에 의한 체내대사의 증가에 기인한 것으로 생각할 수 있고, 고용량 투여 시에 이와 같은 현상이 나타난다면 고용량에 기인한 흡수 포화나 흡수율 감소에 기인한 것이 아니라 효소유도에 의한 것으로 유추가 가능하다.

1. 중간 파라메터 변화의 예측(Interspecies Scaling)

신약개발 시 동물 독성시험의 궁극적인 목표는 얻어진 독성 데이터 해석을 통하여 사람에서의 독성 발현을 예측하고 사람에서 유효 용량을 초기 단계에서 유추하는 것이라고 하겠다. 동물 데이터로부터 사람에서의 동태를 예측한다거나 사람과 동물 데이터로부터 다른 동물 동태를 예측하는 방법이 가능하다. 여기서 Interspecies scaling 또는 allometry로 불리는 중간 생리학적 또는 동태학적 파라메터 변화의 예측 방법은 체중과의 지수적 상관관계를 이용한다.

$$\log Y = b \log BW + \log a \quad (24 \text{ 식})$$

또는

$$Y = aBW^b \quad (25 \text{ 식})$$

Y : 생리학적(장기 무게, cytochrome 량 등) 또는 동태학적 파라메터(분포용적, 클리어런스, 반감기 등)

a : 체중 1 kg 당 파라메터 수치(allometric coefficient)

BW : 체중

b : 기울기(allometric exponent)

표 2. 신장과 간장의 파라메터 allometry

파라메터	a	b	예측치	실측치 *(문헌)
Kidney weight (g kidney vs. g body weight)	0.020	0.850	263	280(Massy, 1985)
Kidney blood flow (ml/min flow vs. g body weight)	0.120	0.824	1179	1120(Massy, 1985)
Glomerular filtration rate (ml/min vs. kg body weight)	5.36	0.72	114	125(Massy, 1985)
Liver weight (kg liver/kg body weight)	0.037	0.849	1.36	1.35(Sherlock, 1985)
Liver blood flow (L/min flow/kg body weight)	0.0554	0.894	2.47	1.60(Sherlock, 1985)
Liver cytochrome P-450 (nmol P-450/kg body weight)	0.963	0.686	17.8	14.8(Kato, 1982)

*사람 체중 70 kg 기준.

위 식은 사람과 동물에서 체중에 증가함에 따라서 파라메터가 체중과 일정한 상관관계를 가지고 변화함을 나타낸다. 표 2에 체내 동태에 영향을 미칠 수 있는 생리학적 파라메터에 대한 interspecies scaling을 요약하였다.

시험 물질이 간장과 신장에 의해 주로 소실이 일어나는 경우에 체중 변화에 따른 전신 클리어런스는 다음의 식으로 표시된다.

$$Cl = a_h BW^{bh} + a_r BW^{br} \quad (26 \text{ 식})$$

a_h, a_r : 간장과 신장에 대한 allometric coefficients
 b_h, b_r : 간장과 신장에 대한 allometric exponents

유사하게 소실 반감기($t_{1/2}$)는 아래 식으로 표시된다(Boxenbaum, 1984).

$$t_{1/2} = (0.693 a_v BW^{bv})/a_{Cl} BW^{bCl} \quad (27 \text{ 식})$$

a_v, a_{Cl} : 분포용적과 클리어런스 allometric coefficients
 b_v, b_{Cl} : 분포용적과 클리어런스 allometric exponents

동물과 사람에서 투여물질에 대한 노출도(AUC)는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$AUC_{animal} = (F_{animal} \times D_{animal})/Cl_{animal} \quad (28 \text{ 식})$$

$$AUC_{human} = (F_{human} \times D_{human})/Cl_{human} \quad (29 \text{ 식})$$

F : 생체이용률

D : 투여량

Cl : 클리어런스

동물과 사람에서 시험물질에 대한 노출도(AUC)가 같기 위해서는 아래 식이 성립되어야 한다.

$$D_{human} = D_{animal}(F_{animal}/F_{human})(Cl_{human}/Cl_{animal}) \quad (11 \text{ 식})$$

따라서 동물에서와 동일한 노출도를 나타내기 위한 사람에서의 용량은 두 종간의 생체이용률과 클리어런스의 차이를 고려해야 한다. 여기서 Cl/F (또는 Cl_{po})는 D/AUC 에 해당한다. 다만 허가 이전의 신약후보물질은 인체 투여가 불가능하므로 사람에서의 AUC 또는 Cl/F 에 대한 정보가 없으므로 이 경우에 allometry 또는 interspecies scaling 방법으로 동물데이터로부터 사람에서의 Cl_{po} 를 예측할 수 있다(Boxenbaum, 1980; McNamara, 1991). 예를 들어, 어떤 물질을 쥐, 개, 원숭이에게 투여하고 interspecies scaling을 통하여 사람에서의 oral clearance(Cl_{po})가 0.3 l/hr/kg 으로 예측되었고, 원숭이에서 최대 치료 용량이 5 mg/kg/day , Cl_{po} 가 0.9 l hr/kg 이었다면 사람에게 반복투여시 안전성을 유지할 수 있는 용량은 $D_{human} = 5 \text{ mg/kg/day} \times [(0.3 \text{ l hr/kg})/(0.9 \text{ l hr/kg})] = 1.67 \text{ mg/kg/day}$ 라고 예측할 수 있다.

Mordenti & Chappell(1989)은 치료 농도, 독성발현 농

도, 치사 농도에 대한 allometric scaling을 이용한 시험물질 투여 속도 산정방법을 아래와 같이 보고하였다.

$$D_{\text{human}} = D_{\text{animal}}(F_{\text{animal}}/F_{\text{human}})(\tau_{\text{human}}/\tau_{\text{animal}})(BW_{\text{human}}/BW_{\text{animal}})^{0.7} \quad (30 \text{ 식})$$

τ : 투여 간격

이와 유사하게, US Environmental Protection Agency (EPA)에서는 랫트에 투여된 용량으로부터 사람에 투여되는 용량을 사람체중 대비 랫트체중의 0.667승으로 하는 것을 제안하였으며(Fan, 1996), Bachmann 등(1996)은 100여 개의 화학 물질의 소실 반감기와 분포용적에 대하여 interspecies scaling을 통하여 사람에서의 파라메터를 산출하였다.

$$D_{\text{human}} = D_{\text{rat}}(BW_{\text{human}}/BW_{\text{rat}})^{0.667} \quad (31 \text{ 식})$$

$$Pi_{\text{human}} = ai \times Pi_{\text{rat}}^b \quad (32 \text{ 식})$$

Pi : 동태학적 파라미터(반감기, 분포용적)

위와 같은 원리를 이용하여 전임상 약물개발 단계에서 얻은 데이터로부터 사람에서의 체내동태를 예측을 할 수 있다. 다만, 다른 파라메터와 비교하여 클리어런스에 대한 allometric scaling의 정확도가 낮아지는 경향이 있는데, 이는 사람에서의 간 대사 기능이 다른 포유동물과 비교하여 정량적으로 낮은데 기인한다. 또한, 뇌 무게와 수명 같은 생리학적 파라메터도 scaling의 정확도가 떨어지는 경향을 나타내며, 이에 착안하여 Maximum Lifespan Potential (MLP) 개념을 응용함으로서 더 정확한 예측을 얻기 위한 시도가 보고되었다(Boxenbaum, 1984, Yates & Kugler, 1986). Genetic polymorphism, 효소가 관여하는 대사과정에서 stereoselectivity를 나타내는 물질의 경우에 사람에게서 특이하게 나타나는 유전적 진화의 차이 때문에 scaling의 정확성이 떨어지며, 간에서 대사를 비교적 적게 받는 물질의 경우에 그 정확성이 큰 것으로 생각된다.

VIII. 결 론

이상에서 독성동태와 약물동태의 차이, 독성동태 연구의 필요성, 독성동태 실험법, 독성동태 이론, 종간 변화의 예측에 대하여 간단히 요약하였다. 시험물질의 독성 발현은 그 물질의 생리활성과 아울러 동태학적 특성, 투여 경로, 용량 등에 의해 결정된다. 혈액이나 조직, 장기내 시험물질과 활성대사체의 농도를 모니터링 함으로서 생체이용률, 용량의존성, 분포용적, 노출도(AUC), 클리어런스, 체내 축적도 등의 파라메터를 산출할 수 있으며, 이와 같은 파라메터들은 독성시험에서 얻은 결과를 해석하는데 중요하다.

그러나 독성 발현을 설명하는데 있어서, 표적장기 수용체에서의 농도가 아닌 혈 중 농도를 위주로 하는 독성동태 데이터만으로는 그 한계가 있고 또한 동물 데이터로부터 사람에서의 위해성을 예측하는데 한계가 있음을 감안해야 한다. 그럼에도 불구하고 독성동태학이 시험물질의 전반적인 안전성 평가, 독성시험 및 독성동력학 연구에 앞으로 더욱 중요한 역할을 하게 될 것으로 예상된다.

참고문헌

- Bachmann, K., Pardoe, D. and White, D. (1996): Scaling basic toxicokinetic parameters from rat to man, *Environ. Health Perspect.*, **104**, 400-407.
- Boxenbaum, H. (1980): Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance: extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **8**, 165-176.
- Boxenbaum, H. (1984): Interspecies pharmacokinetic scaling and the evolutionary-comparative paradigm, *Drug Metab Rev.*, **15**, 1071-121.
- Buchanan, J.R., Burka, L.T. and Melnick, R.L. (1997): Purpose and guidelines for toxicokinetic studies within the National Toxicology Program, *Environ. Health Perspect.*, **105**, 468-471.
- Case, D. (1994): Toxicokinetics: some definitions, *Drug Inform. J.*, **28**, 145-149.
- Cayen, M.N. (1995): Considerations in the design of toxicokinetic programs, *Toxicol. Pathol.*, **23**, 148-157.
- Dahlem, A.M., Allerheiligen, S.R. and Vodicnik, M.J. (1994): Concomitant toxicokinetics: techniques for and interpretation of exposure data obtained during the conduct of toxicology studies, *Toxicol. Pathol.*, **23**, 170-178.
- Dedrick, R.L. (1973): Animal scale up, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **1**, 435-561.
- Dedrick, R.L., Zaharko, D.S. and Lutz, R.Z. (1973): Transport and binding of methotrexate *in vivo*, *J. Pharm. Sci.*, **62**, 882-890.
- Di Carlo, F.J. (1982): Metabolism, pharmacokinetics, and toxicokinetics defined, *Drug Metab. Rev.*, **13**, 1-4.
- Fan, A., Howd, R. and Davis, B. (1995): Risk assessment of environmental chemicals, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **35**, 341-368.
- de la Iglesia, F.A. (1993): Perspectives and future directions of toxicokinetics in drug development in *Drug Toxicokinetics* (Welling, P.G. and de la Iglesia, F.A. eds.). Marcel Dekker, New York, pp. 69-83.
- Goehl, T.J. (1997): Toxicokinetics in the National Toxicology Program, *NIDA Res. Monogr.*, **173**, 273-304.
- Himmelstein, K.J. and Lutz, R.J. (1979): A review of the applications of physiologically based pharmacokinetic

- modeling, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **7**, 127-145.
- ICH-2 Draft Tripartite Guideline, International Conference on Harmonization (1993): Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies.
- Kato, R. (1982): Hepatic cytochrome P-450 monooxygenase system in *International Encyclopedia Pharmacology and Therapy*, Sect. 108. Pergamon Press, Oxford, pp. 9.
- Kato, R., Case, D.E., Hakusui, H., Noda, K., Sagami, F., Horii, I., Mayahara, H., Cayen, M.N. and Igarashi, T. (1993): Toxicokinetics: its significance and practical problems, *J. Toxicol. Sci.*, **18**, 211-238.
- Krishnan, K. and Andersen, M.E. (1994): Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology in *Principles and Methods of Toxicology* (Hayes, W. ed.). Raven Press, New York, pp. 149-187.
- Leal, M., Yacobi, A. and Batra, V.J. (1993): Use of toxicokinetic principles in drug development: Bridging preclinical and clinical studies in *Integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Toxicokinetics in Rational Drug Development* (Yacobi, A., Skelly, J.P., Shah, V.P. and Benet, L.Z. eds.). Plenum Press, New York, pp. 55-67.
- Massy, S.G. and Glasscock, R.J. (1983): Textbook of Nephrology, Williams & Wilkins, Baltimore.
- McNamara, P.J. (1991): Interspecies scaling in pharmacokinetics in *Pharmaceutical Bioequivalence* (Welling, P.G., Tse, F.L.S. and Dighe, S.V. eds.). Marcel Dekker, New York, pp. 267-300.
- Mordini, J. and Chappell, W. (1989): The use of interspecies scaling in toxicokinetics in *Toxicokinetics and New Drug Development* (In Yakobi, A., Skelly, J.P. and Batra, V.K. eds.). Pergamon Press, New York, pp. 42-96.
- Sangster, B. and de Kort, W.L.A.M. (1986): Toxicokinetics versus pharmacokinetics in *New Concepts and Developments in Toxicology* (Chambers, P.L., Gehring, P. and Sakai, F. eds.). Elsevier Science Publishers, pp. 303-313.
- Sherlock, S. (1985): Diseases of the Liver and Biliary System, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Teorell, T. (1937): Kinetics of substances administered to body: intravascular modes of administration, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **57**, 226-240.
- Welling, P.G. (1995): Differences between pharmacokinetics and toxicokinetics, *Toxicol. Pathol.*, **23**, 143-147.
- Yates, F.E. and Kugler, P.N. (1986): Similarity principles and intrinsic geometries: contrasting approaches to interspecies scaling, *J. Pharm. Sci.*, **75**, 1019-1027.
- Yuan, J.H., Goehl, T.J., Murril, E., Moore, R., Clark, J., Hong, H.L. and Irwin, R.D. (1993): Toxicokinetics of pentachloroanisole in rats and mice, *Xenobiotica*, **23**, 427-438.