

새로운 11 β -HSD1 저해제인 KR-67500의 약물동태

임소희*** · 안진희** · 김기영** · 배명애** · 김상겸*# · 안성훈***#

*충남대학교 약학대학, **한국화학연구원, ***강원대학교 약학대학

(Received March 12, 2015; Revised April 1, 2015; Accepted April 6, 2015)

Pharmacokinetic Characterization of KR-67500, a Novel 11 β -HSD1 Inhibitor

So Hee Im***, Jin Hee Ahn**, Ki Young Kim**, Myung Ae Bae**,
Sang Kyum Kim*# and Sung-Hoon Ahn***#

*College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

**Center for Drug Discovery Technology, Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea

***College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract — KR-67500, trans-4-(2-(4-methyl-1,1-dioxido-6-(2,4,6-trichlorophenyl)-1,2,6-thiadiazinan-2-yl)acetamido)adamantane-1-carboxamide, is a novel 11 β -HSD1 inhibitor with its therapeutic effects of its anti-diabetic, anti-adipogenic and anti-osteoporotic activity. This study was performed to evaluate *in vitro* and *in vivo* pharmacokinetic properties of KR-67500 as a new drug candidate. KR-67500 was stable and highly bound to proteins in rat plasma. The microsomal stabilities of KR-67500 in human and rat liver were high. The inhibitory effect of KR-67500 for five cytochrome P450 enzymes was low. Pre-clinical pharmacokinetic studies have been carried out with intravenous or oral administrations of KR-67500 (10 mg/kg) to male rats and monkey. KR-67500 showed low clearance (0.68 l/h/kg) and high oral bioavailability (102%) in male rats. These results suggest that KR-67500 has good drug-like pharmacokinetic properties with a low first-pass effect and high bioavailability for an oral therapeutic agent of diabetes and osteoporosis.

Keywords □ 11 β -HSD inhibitor, anti-diabetic agent, KR-67500, pharmacokinetics

11 β -HSD1 저해제는 생체 내의 cortisol의 농도를 조절함으로써 기존 인슐린 조절에 한정된 약물 대비 비만, 당뇨, 고지혈증, 기억력 향상 등 치료목적에 따라 다양하게 활용할 수 있다.¹⁻⁴⁾ 이와 관련하여, 11 β -HSD1 knockout 마우스는 당내성, 인슐린 저항성, 고지혈증 개선 효과 및 체중 감소 효과를 보이는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁷⁾ 따라서, 새로운 당뇨병 타겟으로 11 β -HSD1 저해제의 개발 필요성이 대두되었고, 이에 한국화학연구원은 새롭

고 강력한 효과를 지닌 11 β -HSD1 저해제 KR-67500(Fig. 1)을 합성 개발하였다. KR-67500은 임상 2상을 진행 중인 Amgen사의 AMG-221과 항당뇨 약효시험 비교 시, 사람과 마우스의 11 β -HSD1을 이용한 *in vitro* 활성 결과에서 10배 이상, 마우스를 이용한 *ex vivo* 활성시험에서는 30배 이상의 약효를 보였다.^{8,9)} 현재 11 β -HSD1 저해제로 임상 2상을 통과하여 가장 앞서 나가고 있는 Incyte사의 INCB-13739 화합물은 사람 11 β -HSD1에서만

#Corresponding Author

Sung-Hoon Ahn

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel.: 033-250-6912 Fax.: 033-259-5631

E-mail: ahnsh@kangwon.ac.kr

Sang Kyum Kim

College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Tel.: 042-821-5930 Fax.: 042-823-6566

E-mail: sangkim@cnu.ac.kr

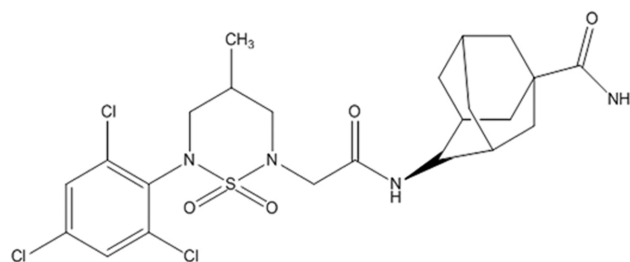


Fig. 1 – Chemical structure of KR-67500.

효과를 보이거나,^{9,10} KR-67500의 경우에는 사람과 마우스에서 모두 효과적인 활성을 보여 추후 11 β -HSD1 저해제 개발을 위한 임상시험 연구 단계에서 동물실험결과를 유용하게 사용할 수 있을 것으로 예상된다.

일반적으로 약물을 투여한 후 목적하는 효과가 나타나는 것은 생체 내에서의 흡수(absorption), 분포(distribution), 대사(metabolism) 및 배설(excretion)의 과정(ADME)을 거쳐야 하며 이러한 ADME 과정에 관여하는 약물동태학적 요소들이 약효 및 독성발현과 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다.^{11,12} 본 연구의 목적은 KR-67500의 간 microsome 상에서의 대사 안정성, 혈장 단백질 결합율, 혈장 안정성 및 CYP 대사효소 저해 등을 통하여 신약후보물질로서의 개발 가능성과 체내동태에 관한 기초적 특성을 알아보는 것이다. 또한 실험 동물에 KR-67500을 정맥 및 경구 투여한 후 약물의 혈중 농도, 소실 반감기, 대사 속도, 배설 속도 등의 약물동태학 매개변수(pharmacokinetic parameter)를 산출하고, 이 데이터를 통해 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설 양상 등의 약물 동태학적 특성을 알아보는 것이다. 나아가서는 이러한 기초적인 약물동태학 연구를 바탕으로 KR-67500 투여 후의 생체 내에서의 흡수, 분포, 대사, 배설 등의 현상 해명에 관한 추가적인 연구를 통하여 본 신약후보물질을 유효하고 안전성이 높은 의약품으로의 개발에 기여하고자 함이다.

실험방법

실험약물 및 재료

본 연구에서 사용한 KR-67500(순도 >99.0%)은 한국화학연구원에서 합성되었으며, 내부표준물질로 사용한 이미프라민(imipramine)은 시그마알드리치(Sigma-Aldrich, USA)에서 구입하였고, 실험 전까지 밀봉 상태로 냉장고에 보관하였다. 이동상 용매로 사용된 아세트니트릴은 J. T. Baker(HPLC grade, Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였다. 2차 증류수는 Milli-Q system(Phillipsburg, NJ, USA)을 이용하여 제조하였다.

실험동물

실험동물은 8주령의 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐(230~250g)를 사용하였으며 오리엔트바이오(Seongnam, Korea)에서 공급받아 실험동물실에서 적당한 온도 및 습도 하에서 1주일 동안 사육하여 안정화 시킨 후 발육상태가 양호한 것을 사용하였다. 사육조건은 온도 20~25°C, 습도 40% 이하 및 명암주기 12시간(08~20시, 150~300 Lux)을 유지하였으며 물과 사료를 충분히 공급하였다. 원숭이(Cynomolgus monkey)는 오리엔트바이오의 중동물실 원숭이사육실에서 온도 22±3°C, 습도 50±20%, 명암주기 12시간(08~20시, 150~300 Lux), 60 dB 이하의 소음 및 20 ppm 이하의 암모니아 농도 등의 조건에서 사육한 원숭이를

실험에 사용하였다. 흰쥐는 한국화학연구원의 동물실험윤리위원회(승인번호: 2009-7B-08-01)의 승인을 받고 원숭이는 오리엔트 바이오의 동물실험윤리위원회(승인번호: ORIENT-IACUC-10044)의 승인을 받아 동물실험을 수행하였다.

In vitro pharmacokinetics 실험

대사 안정성 - 본 연구에서는 흰쥐와 사람의 간 microsome을 사용하여 대사 안정성을 평가하였다. 0.1 M 인산완충액(potassium phosphate buffer)에 흰쥐와 사람의 간 microsome을 가한 뒤 pre-incubation시켰다. 5분 후 1 mM의 KR-67500 용액을 가한 후(KR-67500의 최종반응농도 10 μ M) NADPH regenerating system 용액을 가함으로 반응을 시작했다. 이때 반응은 shaking water bath에서 37°C, 60 rpm 조건에서 진행하였다. 30분의 반응 시간 후 내부표준물질인 이미프라민이 들어간 차가운 아세트니트릴을 가함으로써 반응을 정지시켰다. 시료를 혼합 및 원심 분리과정의 전처리 후 LC-MS/MS로 분석하였다.

혈장 단백질 결합율 - KR-67500의 혈장단백과의 결합 정도를 측정하기 위해 흰쥐의 혈액으로부터 얻은 혈장과 RED device를 이용한 평형투석법(equilibrium dialysis)방법으로 측정하였다.¹³ 한쪽 챔버에는 pH 7.4인 인산완충액을 가하고, membrane이 있는 다른 한쪽 챔버에는 약물이 가해진 혈장을 넣었다. Orbital shaker에서 37°C, 60 rpm로 4시간 동안 유지한 후 각 챔버액을 취하여 전처리 과정을 거친 후 LC-MS/MS를 이용하여 정량분석하였다. 비결합형 약물 분율(fraction unbound, f_u)과 이를 통한 혈장 단백질 결합율(% plasma protein binding)은 다음 식으로 계산하였다.

$$f_u = C_{\text{free}}/C_{\text{total}} = C_{\text{buffer chamber}}/C_{\text{plasma chamber}}$$

$$\% \text{ plasma protein binding} = (1 - f_u) \times 100\%$$

혈장 안정성 - KR-67500의 생체 시료 내 안정성을 측정하기 위해 흰쥐의 혈액으로부터 얻은 혈장에 최종농도 5 μ M 농도가 되도록 KR-67500을 첨가한 후 4시간 동안 반응시킨 후 약물을 측정하여 0시간의 약물 농도와 비교하여 혈장 내 약물의 안정성을 확인하였다.

CYP 대사효소 저해

KR-67500의 CYP 대사효소에 의한 대사 저해를 측정하기 위해 형광측정법을 이용하여 수행하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer에 cDNA-expressed enzyme으로 만들어진 대사효소를 각각 가한 뒤 pre-incubation시켰다. 5분 후 각 대사효소에 해당하는 기질과 KR-67500(10 μ M)을 가한 후 NADPH regenerating system 용액을 가함으로 반응을 시작하였다. 이때 반응은 shaking water bath에서 37°C, 60 rpm 조건에서 진행하였다. 반응 시간 30분 후 차가운 아세트니트릴을 가함으로써 반응을 정지시킨 후

fluorescence를 이용하여 CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19은 400 nm의 excitation과 485 nm의 emission 파장에서 형광을 측정하고, CYP2C9과 CYP3A4는 485 nm의 excitation과 545 nm의 emission 파장에서 형광을 측정하였다. Control sample의 형광 대비 KR-67500이 처리된 sample의 형광 정도를 저해도(inhibition, %)로 환산하여 값을 산출하였다.

흰쥐의 *in vivo* pharmacokinetics 연구

230~250 g의 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐를 졸레틸(Zoletil 50; Virbac, Carros, France)과 럼퐁(Rompun; Bayer Korea, Ltd.) 혼합액을 근육주사하여 마취하고 경정맥과 대퇴정맥에 의 료용 폴리에틸렌 튜브(PE50; Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)로 된 카테터를 삽입하였다. 경정맥은 약물의 투여 경로로 대퇴정맥은 혈액 시료 채취 경로로 이용하였다. 카테터 삽입 수술을 마친 각각의 흰쥐들은 대사케이지에 보관하여 하루 동안 회복 시간을 거쳤다. 대사케이지에서 약 15시간 동안 절식 시키고 정맥과 경구 투여 4시간 후 먹이를 공급하였다. 생리식염수, PEG400과 DMSO의 혼합액(55%, 40%와 5%)에 KR-67500 5 mg/ml가 되도록 녹인 약물을 각 군별로 투여하였다. 정맥 투여 후 0.033, 0.083, 0.167, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8시간과 경구 투여 후 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8시간에 대퇴정맥에서 혈액 0.2 ml을 혈액 응고 방지를 위해 100 IU/ml heparin으로 코팅 처리한 1회용 주사기를 이용하여 채혈하였다. 채혈된 혈액을 18,000 g에서 10분간 원심분리 한 후 혈장을 분리하고 분석 전 까지 -80°C의 초저온 냉동고에서 보관하였다.

원숭이의 *in vivo* pharmacokinetics 연구

2.1~2.5 kg의 웅성 원숭이(male Cynomolgus monkey)에게 10 mg/kg 용량이 되도록 흰쥐의 경우와 동일하게 조제한 KR-67500 투여용액을 경구투여하였다. 경구 투여 후 1, 2, 4, 6, 8, 24시간 에 정맥에서 혈액 0.2 ml을 혈액 응고 방지를 위해 100 IU/ml heparin으로 코팅 처리한 1회용 주사기를 이용하여 채혈하였다. 채혈된 혈액을 18,000 g에서 10분간 원심분리 한 후 혈장을 분 리하고 LC-MS/MS 분석 전까지 -80°C의 초저온냉동고에서 보 관하였다.

시료 전처리

본 실험에서는 흰쥐(SD-rat) 및 원숭이(Cynomolgus monkey)의 혈액 내 혈장을 사용하였다. 혈장은 분석하기 전까지 -80°C의 초저온냉동고에서 보관하다가 분석 시 실온에서 녹인 후, 단백질을 침전법(protein precipitation)을 이용하여 전처리 하였다. 혈장 시료 30 μ l를 취하여 단백질을 제거하기 위해 내부표준물질인 이미프라민(20 ng/ml)을 함유한 아세트니트릴 270 μ l를 혈장 시료에 첨가한 후 vortex mixer를 이용하여 3분간 혼합해 주고

microcentrifuge를 통해 4°C에서 18,000 g로 10분간 침전시킨 후 상층액 100 μ l를 취하여 LC용 glass vial에 옮긴 후 LC-MS/MS system에 주입하였다.

LC-MS/MS에 의한 약물 혈장 농도 분석

KR-67500의 흰쥐 및 원숭이의 혈장 농도를 정량하기 위하여 Agilent 1200 series HPLC system(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)과 API 4000 QTRAP hybrid triple quadrupole/linear ion trap mass spectrometer(AB Sciex, Foster City, CA, USA)를 사용하였다. 질량분석기의 이온화 방식에는 전기분무 이온화(electrospray ionization, ESI)를 사용 하였다. HPLC 분석에서 컬럼은 SecurityGuard C18 guard column(4 mm \times 20 mm i.d., Phenomenex, USA)에 Hypersil GOLD C18 column(50 mm \times 2.1 mm i.d., 3 μ m; Thermo, Waltham, MA, USA)을 사용하여 컬럼 온도를 35°C로 유지하였 다. 이동상으로는 10 mM ammonium formate가 포함된 물과 아 세토니트릴을 80 : 20(v/v)의 비율로 등용매분리(isocratic) 조건으 로 2.5분 동안 분리하였고, 유속은 0.3 ml/min로 하였다. KR-67500의 질량분석을 위하여 Q1 mass scan mode에서 precursor

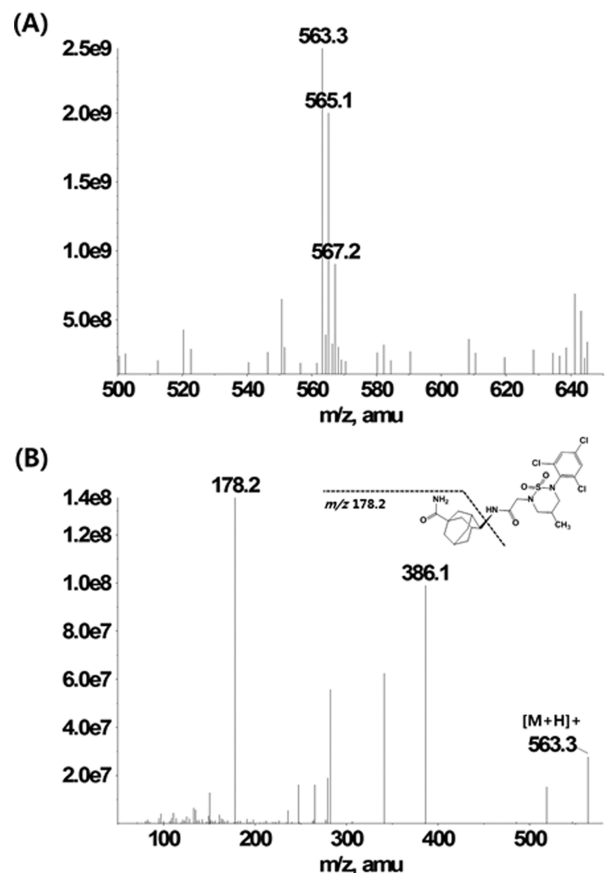


Fig. 2 – The (A) precursor-ion scan and (B) product-ion scan spectra of KR-67500.

Table I – *In vitro* pharmacokinetic data of KR-67500. Liver microsomal metabolic stability of KR-67500 was assayed after incubation at 37°C during 30 min both in human and rat liver microsomes. Plasma stability and plasma protein binding rate were assayed after incubation at 37°C during 4 h in rat plasma

<i>In vitro</i> pharmacokinetics	Values	
	Rat	Human
<i>Liver microsomal stability</i>		
10 μ M (% remaining for 30 min)	77.0 \pm 4.8	93.0 \pm 12.8
<i>Plasma protein binding</i>		
5 μ M (% bound)	97.5	
<i>Plasma stability</i>		
5 μ M (% remaining for 4 h)	>100	

ion m/z 563.3를 검출하여 MS2 scan mode에서 product ion m/z 178.2를 검출하였다(Fig. 2). 이를 바탕으로, multiple reaction monitoring(MRM) 모드에서 KR-67500은 m/z 563.3>178.2, 이미프라민은 m/z 281.2>86.1의 조건에서 검출하였다. 양(positive) 이온화 모드에서 최적화된 분석 조건은 다음과 같다: ion spray voltage, 5500 V; source temperature, 550°C; curtain gas (CUR), 10 psi; nebulizing gas(GS1), 50 psi; heating gas(GS2), 50 psi; collision energy(CE), KR-67500로서 19 V와 이미프라민으로서 25 V. 정량분석 결과값의 도출은 Analyst software Version 1.4.2.(AB Sciex)을 통해 얻었다. 정량곡선은 0.01~10 μ g/ml에서 상관계수 R^2 이 0.99 이상으로 직선성을 확인하였고, 최저정량한계는 신호 대 잡음비(S/N ratio)가 10 이상이면서 정확성과 정밀성이 20% 이내인 1 ng/ml로 확인되었다.

약물동태학 매개변수(Pharmacokinetic parameters)

본 실험에서는 non-compartment analysis(moment analysis)를 위해 흰쥐 및 원숭이의 시간 별 혈중 농도로부터 사다리꼴 공식(trapezoidal rule)에 의해 혈중 약물농도-시간 곡선하 면적인 AUC_{∞} (total area under the plasma concentration time curve from zero to infinity)값과 AUMC(area under the moment curve)를 계산한 후 계산된 AUMC를 AUC_{∞} 로 나누어 약물의 평균잔류시간(MRT, mean residence time)을 구하였다. 각 혈중농도의 소실기의 기울기로부터 소실속도상수(K_{el})을 계산한 후 이로부터 반감기($t_{1/2}$)를 계산하였다. 클리어런스(CL)는 투여량/ AUC_{∞} 로부터, 정상상태의 분포용적(V_{ss})은 $MRT \times CL$ 로 구하였다.

실험결과

In vitro pharmacokinetics 실험

대사 안정성 – 흰쥐와 사람의 간 microsome을 사용하여 대사 안정성을 평가한 결과는 Table I에 나타내었다. KR-67500은 10 μ M의 농도에서 microsome에 30분간 반응한 후, 0분 샘플 대비 % remaining이 각각 흰쥐에서 77.0%, 사람에서 93.0%로 대사적으로 안정한 약물임을 확인하였다.

혈장 단백질 결합율 – KR-67500의 혈장 단백질 결합율을 알아보기 위해 평형투석법으로 혈장 단백질 결합율을 측정된 결과, 흰쥐의 혈장에 대한 KR-67500의 단백질 결합율은 5 μ M에서 97.5%로 측정되어 KR-67500은 높은 단백질 결합율을 가지는 것을 알 수 있었다(Table I).

혈장 안정성 – KR-67500의 생체 시료 내 안정성을 측정된 결과, 4시간 incubation에서 100% 수준으로 혈장에서 매우 안정한 것으로 확인하였다(Table I).

CYP 대사효소 저해

약물의 oxidative metabolism에 관여하는 효소인 cytochrome P450 중 주요 5종 대사효소(CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4)에 대한 저해도를 평가한 결과를 Table II에 나타내었다. KR-67500은 CYP2C9과 CYP3A4를 제외한 나머지 3종의 CYP 대사효소에서 10 μ M 농도에서 50% 이하의 저해도 값을 보였으며 이들 CYP 대사효소에 대한 저해 영향을 끼치지 않을 것으로 사료된다. 또한 CYP2C9과 CYP3A4의 경우는 10 μ M 농도에서 각각 56.9%와 55.6%의 저해도 값을 보였으며 이로 보아 이들 대사효소에 대한 50% 저해도를 보이는 KR-67500의 농도값은 10 μ M 농도에서 약간 상회할 것으로 예상된다.

흰쥐의 *in vivo* 약물동태

흰쥐(SD-rat)에 KR-67500을 10 mg/kg의 용량으로 정맥 주사 및 경구 투여한 후 혈중 KR-67500의 시간 별 농도 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 약물동태학 매개변수(PK parameters)는 Table III에 나타내었다. 10 mg/kg으로 정맥 투여 시 AUC_{∞} 값은 15.9

Table II – CYP inhibition of KR-67500. Metabolic CYP inhibitions of KR-67500 were tested after incubation at 37°C during 30 min in five human recombinant CYP isozymes

CYP450 isozyme	% Inhibition at 10 μ M
1A2	<0
2C9	56.9
2C19	33.7
2D6	18.9
3A4	55.6

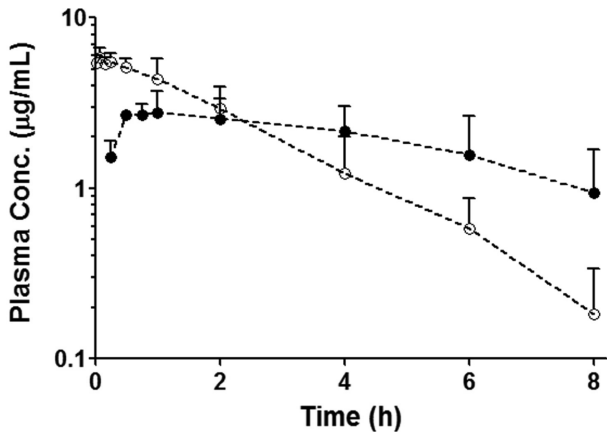


Fig. 3 – Plasma concentration-time profiles of KR-67500 following a single intravenous (○) and oral administration (●) of KR-67500 in male SD-rats. A single dose of KR-67500 was given *i.v.* and *p.o.* at 10 mg/kg. Each point represents the mean±standard deviation (n=3).

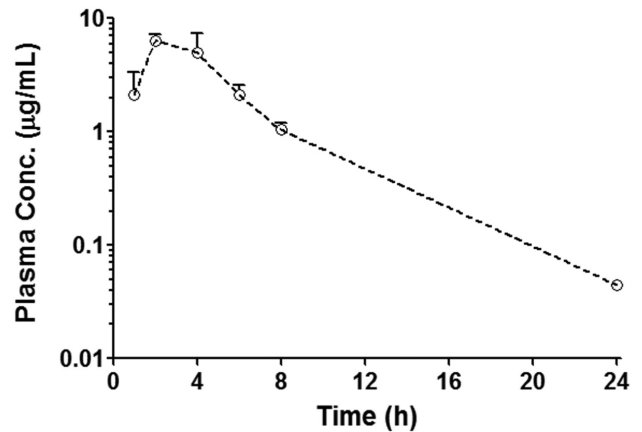


Fig. 4 – Plasma concentration-time profiles of KR-67500 following a single oral administration (○) of KR-67500 in male Cynomolgus monkey. A single dose of KR-67500 was given *p.o.* at 10 mg/kg. Each point represents the mean±standard deviation (n=3).

Table III – Pharmacokinetic parameters of KR-67500 following intravenous and oral administration at a dose of 10 mg/kg to rats (n=3)

PK parameters	<i>i.v.</i>		<i>p.o.</i>	
	mean	SD	mean	SD
Dose (mg/kg)	10		10	
C_{max} (µg/ml)	NA		3.08	0.41
T_{max} (h)	NA		0.83	0.29
$t_{1/2}$ (h)	1.47	0.25	3.69	2.99
AUC_{8h} (µg · h/ml)	15.4	5.10	15.7	6.10
AUC_{∞} (µg · h/ml)	15.9	5.50	22.7	14.6
V_{ss} (l/kg)	1.43	0.24	NA	
CL (l/h/kg)	0.68	0.20	NA	
$AUMC_{8h}$ (µg · h ² /ml)	31.5	13.9	54.0	27.3
MRT (h)	2.0	0.22	3.3	0.52
F (%)	102			

C_{max} , maximum plasma concentration; T_{max} , time of maximum plasma concentration; $t_{1/2}$, terminal half-life; AUC_{8h} , area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 h; AUC_{∞} , area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity; V_{ss} , volume of distribution at steady state; CL, elimination clearance; $AUMC_{8h}$, area under the respective first moment-time curve from time zero to 8 h; MRT, mean residence time; F, bioavailability. NA, not applicable.

µg · h/ml였으며, 이로부터 구한 평균체류시간(MRT)은 2.00 h이었다. 또한, 클리어런스(CL)는 0.68 l/h/kg, 반감기($t_{1/2}$)는 1.47 h, 분포용적(V_{ss})는 1.43 l/kg로 계산되었다. 10 mg/kg으로 경구 투여 시 0.83 h에서 체내 최고 혈중 농도(C_{max}) 3.08 µg/ml를 보였고, AUC_{∞} 값은 22.7 µg · h/ml였으며, 이로부터 구한 평균체류시간(MRT)은 3.30 h이었고 반감기($t_{1/2}$)는 3.69 h으로 관측되었다. 경구투여 및 정맥 투여 시 8시간까지의 AUC 값(AUC_{8h})을 토대로 생체이용률을 구한 결과 약 100% 수준으로(102%) KR-67500은 경구 투여 시 매우 높은 생체이용률 값을 보였다.

Table IV – Pharmacokinetic parameters of KR-67500 after an oral administration of KR-67500 (10 mg/kg) in Cynomolgus monkey (n=3)

PK parameter	<i>p.o.</i>	
	mean	SD
Dose (mg/kg)	10	
C_{max} (µg/ml)	6.4	0.86
T_{max} (h)	2.0	0.0
$t_{1/2}$ (h)	3.4	0.25
AUC_{8h} (µg · h/ml)	35.6	7.20
AUC_{∞} (µg · h/ml)	35.8	7.10
MRT (h)	4.9	0.03

C_{max} , maximum plasma concentration; T_{max} , time of maximum plasma concentration; $t_{1/2}$, terminal half-life; AUC_{8h} , area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 h; AUC_{∞} , area under the plasma concentration-time curve from time zero to infinity; MRT, mean residence time.

원숭이의 *in vivo* 약물동태

원숭이(Cynomolgus monkey)에게 KR-67500을 10 mg/kg의 용량으로 경구 투여한 후 혈중 KR-67500의 시간 별 농도 변화를 관찰하고(Fig. 4) 이에 따른 약물동태학 매개변수(PK parameters)를 구하였다(Table IV). 투여용량 10 mg/kg으로 경구 투여 시 AUC_{∞} 값은 35.8 µg · h/ml였으며, 이로부터 구한 평균 체류시간(MRT)은 4.9 h이었다. 또한, 반감기($t_{1/2}$)는 3.4 h, 체내 최고 혈중 농도(C_{max}) 6.4 µg/ml를 보였고 이때까지 걸린 시간(T_{max})은 2.0 h이었다.

고 찰

새로운 11β-HSD1 저해제인 KR-67500의 흰쥐에서의 ADME에 해당하는 약물 동태 시험을 수행하였다. *in vitro* phar-

macokinetics 특성을 파악하기 위해서 대사 안정성, 혈장 단백질 결합율, 혈장 안정성, CYP 대사효소 저해 시험을 진행하였고, *in vivo* 상에서 KR-67500를 투여농도 10 mg/kg로 흰쥐와 원숭이에 정맥 및 경구 투여 후 약물동태학 매개변수(PK parameters)를 산출하였다.

흰쥐와 사람의 간 *microsome*을 이용하여 대사 안정성을 평가한 결과, 10 μ M에 대하여 30분 반응에서의 % remaining가 각각 흰쥐에서 77.0 \pm 4.8%, 사람에서 93.0 \pm 12.8%로 안정한 약물임을 알 수 있었다. 평형투석법으로 혈장 단백질 결합율을 측정된 흰쥐의 혈장에 대한 단백질 결합율은 5 μ M에서 97.5%로 높은 혈장 단백질 결합율을 보였다. 혈장 안정성은 4시간 incubation에서 100% 수준으로 매우 안정한 것으로 확인하였고, cytochrome P450 중 주요 5종 대사효소(CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4)에 대한 저해도를 평가한 결과, KR-67500은 CYP2C9과 CYP3A4를 제외한 나머지 3종의 CYP 대사효소(CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6)에서 모두 저해 영향을 끼치지 않았다. 또한 CYP2C9과 CYP3A4에 대한 저해도 값도 10 μ M 농도에서 50% 약간 상회하는 수준이었다. 따라서, KR-67500의 경우는 경구 투여 시 체내 최고 혈중 농도(C_{max} , 3.08 μ g/ml) 이하 레벨에서는 대체로 CYP 대사효소에 대한 저해도가 크지 않을 것으로 예상된다. 또한, KR-67500의 혈장 단백질 결합율이 높으므로(약 97.5%) 이에 따른 간조직 중 유리형 약물의 농도는 더 낮을 것으로 예상되므로 따라서 CYP 대사효소에 대한 저해 문제는 크지 않을 것으로 사료된다.

WinNonlin을 이용하여 산출한 KR-67500에 대한 흰쥐의 non-compartmental parameters는 다음과 같다. 10 mg/kg 경구 투여 시, 최고 농도 도달 시간은 약 0.83 h, AUC_{∞} 값은 22.7 μ g·h/ml였으며 이로부터 구한 평균체류시간은 3.3 h이었고 반감기는 3.69 h으로 나타났다. KR-67500의 경구 투여 시 생체이용률 값은 약 102%로 정맥 투여 시와 비슷한 혈중농도 노출 레벨을 보였으며, 따라서 KR-67500은 경구 투여 시 위장관에서 매우 뛰어난 흡수 양상을 보이는 후보물질로 예상된다.

원숭이에서 KR-67500의 반감기 값(3.4 h)은 흰쥐에서의 값과 유사하였으나 최고혈중농도 값(6.4 μ g/ml)과 AUC_{∞} 값(35.8 μ g·h/ml)은 모두 흰쥐와 비교하여 원숭이에서 높게 관찰되었다. 이는 일반적으로 흰쥐에 비해 높은 원숭이의 대사안정성으로 인한 체내 소실을 감소와 혈중농도 상승이 그 원인으로 판단된다. 또한, 이 결과로 유추하여 볼 때, 원숭이에서도 흰쥐에서와 마찬가지로 생체이용률 값이 높을 것으로 예상되며, 추후 사람에서의 체내동태도 흰쥐에서보다 우수할 것으로 예상된다.

결 론

본 연구를 통하여 새로운 11 β -HSD1 저해제인 KR-67500의 *in vitro* 및 *in vivo* 약동학적 특성을 살펴보았다. 신약후보물질로서

KR-67500은 높은 대사 안정성 및 혈장 안정성을 보였고 CYP 대사효소에 대한 저해도는 무시할 수 있는 수준이었다. 또한 흰쥐에서 낮은 클리어런스 및 높은 생체이용률 값을 보였으며 원숭이를 이용한 체내동태 연구에서도 경구투여 후 충분한 체내 노출이 일어남을 확인하였다. 이를 종합하여 보면 KR-67500은 신약으로 개발 가능성이 충분한 약물동태 특성을 보이는 신약후보 물질이라고 판단된다.

감사의 말씀

본 연구는 산업통상자원부(MOTIE)의 연구비(과제번호: 10033664)와 강원대학교 학술연구비 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

References

- 1) Morton, N. M. : Obesity and corticosteroids: 11beta-hydroxysteroid type 1 as a cause and therapeutic target in metabolic disease. *Mol. Cell Endocrinol.* **316**, 154 (2010).
- 2) Walker, B. R. and Andrew, R. : Tissue production of cortisol by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and metabolic disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1083**, 165 (2006).
- 3) Wamil, M. and Seckl, J. R. : Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 as a promising therapeutic target. *Drug Discov. Today* **12**, 504 (2007).
- 4) Hollis, G. and Huber, R. : 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes. Metab.* **13**, 1 (2011).
- 5) Harno, E., Cottrell, E. C., Yu, A., DeSchoolmeester, J., Gutierrez, P. M., Denn, M., Swales, J. G., Goldberg, F. W., Bohlooly-Y, M., Andersén, H., Wild, M. J., Turnbull, A. V., Leighton, B. and White, A. : 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 β -HSD1) inhibitors still improve metabolic phenotype in male 11 β -HSD1 knockout mice suggesting off-target mechanisms. *Endocrinology* **154**, 4580 (2013).
- 6) Wamil, M., Battle, J. H., Turban, S., Kipari, T., Seguret, D., de Sousa Peixoto, R., Nelson, Y. B., Nowakowska, D., Ferenbach, D., Ramage, L., Chapman, K. E., Hughes, J., Dunbar, D. R., Seckl, J. R. and Morton, N. M. : Novel fat depot-specific mechanisms underlie resistance to visceral obesity and inflammation in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-deficient mice. *Diabetes* **60**, 1158 (2011).
- 7) Park, J. S., Rhee, S. D., Kang, N. S., Jung, W. H., Kim, H. Y., Kim, J. H., Kang, S. K., Cheon, H. G., Ahn, J. H. and Kim, K. Y. : Anti-diabetic and anti-adipogenic effects of a novel selective 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor, 2-(3-benzoyl)-4-hydroxy-1,1-dioxo-2H-1,2-benzothiazine-2-yl-1-phenylethanone (KR-66344). *Biochem. Pharmacol.* **81**, 1028

- (2011).
- 8) Véniant, M. M., Hale, C., Hungate, R. W., Gahm, K., Emery, M. G., Jona, J., Joseph, S., Adams, J., Hague, A., Moniz, G., Zhang, J., Bartberger, M. D., Li, V., Syed, R., Jordan, S., Komorowski, R., Chen, M. M., Cupples, R., Kim, K. W., St. Jean, D. J. Jr., Johansson, L., Henriksson, M. A., Williams, M., Vallgård, J., Fotsch, C. and Wang, M. : Discovery of a potent, orally active 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor for clinical study: identification of (S)-2-((1S,2S,4R)-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ylamino)-5-isopropyl-5-methylthiazol-4(5H)-one (AMG 221). *J. Med. Chem.* **53**, 4481 (2010).
- 9) Park, J. S., Bae, S. J., Choi, S. W., Son, Y. H., Park, S. B., Rhee, S. D., Kim, H. Y., Jung, W. H., Kang, S. K., Ahn, J. H., Kim, S. H. and Kim, K. Y. : A novel 11 β -HSD1 inhibitor improves diabetes and osteoblast differentiation. *J. Mol. Endocrinol.* **52**, 191 (2014).
- 10) Tiwari, A. : INCB-13739, an 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *IDrugs* **13**, 266 (2010).
- 11) Lin, J. H. and Lu, A. Y. : Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development. *Pharmacol. Rev.* **49**, 403 (1997).
- 12) 식품의약품안전청, 식품의약품안전평가원: 생명공학의약품의 약동학 시험 가이드라인 (2010).
- 13) Pacifici, G. M. and Viani, A. : Methods of determining plasma and tissue binding of drugs. Pharmacokinetic consequences. *Clin. Pharmacokinet.* **23**, 449 (1992).