



약물계량학을 이용한 초기임상1상 시험 용량 예측 방법에 대한 비교연구

백인환*

경성대학교 약학대학 임상약학 연구실
(2016년 5월 16일 접수 · 2016년 5월 31일 수정 · 2016년 6월 1일 승인)

Comparative Study of First-in-Human Dose Estimation Approaches using Pharmacometrics

In-hwan Baek*

College of Pharmacy, Kyungsoong University, Busan 48434, Republic of Korea
(Received May 16 2016 · Revised May 31 2016 · Accepted June 1 2016)

ABSTRACT

Objective: First-in-human dose estimation is an essential approach for successful clinical trials for drug development. In this study, we systematically compared first-in-human dose and human pharmacokinetic parameter estimation approaches. **Methods:** First-in-human dose estimation approaches divided into similar drug comparison approaches, regulatory guidance based approaches, and pharmacokinetic based approaches. Human clearance, volume of distribution and bioavailability were classified for human pharmacokinetic parameter estimation approaches. **Results:** Similar drug comparison approaches is simple and appropriate me-too drug. Regulatory guidance based approaches is recommended from US Food and Drug Administration (FDA) and European Medicines Agency (EMA) regarding no-observed-adverse-effect level (NOAEL) or minimum anticipated biological effect level (MABEL). Pharmacokinetic based approaches are 8 approaches for human clearance estimation, 5 approaches for human volume of distribution, and 4 approaches for human bioavailability. **Conclusion:** This study introduced and compared all methods for first-in-human dose estimation. It would be useful practically to estimate first-in-human dose for drug development.

KEY WORDS: First-in-human dose, drug development, pharmacometrics, pharmacokinetics, prediction

신약 개발은 성공 시 높은 수익률을 창출하지만 막대한 투자비(high cost)와 많은 시간이 소요되고(long-term investment), 다양한 인력이 필요한 성공률이 매우 낮은 고위험(high risk) 사업이다.¹⁾ 그럼에도 불구하고 전세계적인 고령화와 복지사회로의 전환으로 의약품 시장과 수요는 지속적으로 증가하고 있으며, 의약품 산업은 차세대 전략 산업으로 각광받음으로써 신약개발에 대한 관심과 R&D 투자 비용은 증가하고 있다.²⁾ 생명공학정책연구센터의 보고서에 따르면 고령화 및 복지사회 진입으로 고성장이 전망되어 세계 의약품 시장은 2020년에 약 1.3조 달러 규모를 기대하고 있다.³⁾ IMS Health는 2008년 세계 의약품시장이 총 7,731억 달러로 전년대비 4.8% 성장하였다고 보고하고 있다.^{3,4)}

하지만 신약개발에서 발생할 수 있는 기술적인 문제점과 급변하는 제약업계의 환경이 미치는 부정적인 요인들을 간과할

수 없다. 특히 연구개발 생산성의 지속적인 저하로 인한 혁신 결핍증(innovation deficit), 다국적제약기업의 블록버스터 의약품 특허 만료 도래, 대규모 M&A를 통한 글로벌 주요 제약 회사의 구조개편, 미국 중심에서 중국, 인도, 브라질 등 신흥국가로의 제약시장 재편, 제약산업의 분업구조 고착화, 그리고 신약개발에 소요되는 비용과 시간의 지속적인 증가 등은 반드시 해결해야 할 과제들이다.^{3,5-7)}

국내의 경우 1987년 물질특허제도 도입 이후 본격적으로 신약개발 연구가 추진되었다. 1999년에 선플라주(SK케미컬)의 KFDA(구MFDS) 허가 이후 2016년 올리타정(한미약품)까지 27개의 국내 신약이 허가되었다.⁸⁾ 신약개발 경험이 부족한 실정에서 비교적 짧은 기간 동안 이와 같은 성과 창출은 고무적이나, 국내신약 매출액은 저조하여 상업적 성공을 위한 혁신적 신약개발의 필요성이 대두되고 있다.³⁾ 이러한 필요성을 충

*Correspondence to: In-hwan Baek, College of pharmacy, Kyungsoong University, 309 Suyeong-ro, Nam-gu, Busan 48434, Republic of Korea
Tel: +82-51-663-4880, Fax: +82-51-663-4809
E-mail: baek@ks.ac.kr

축하기 위하여 해결하여야 할 과제로는 R&D 투자 규모의 확대, 기업의 영세성으로 인한 글로벌 시장 진출의 미비, 의약품 유통구조의 문제점, 한미 FTA 체결로 인한 의약환경의 변화, 의약품 품질 및 제조관리기준(GMP) 선진화 등이 있다.

따라서 신약개발은 국외와 국내 모두 미래 전략산업으로 급부상하고 있지만, 여러 가지 당면과제로 인하여 제약산업과 의약환경은 급격한 변화기에 놓여 있다. 특히 지속적 R&D 투자의 증가와 임상시험 단계의 복잡성 증가로 인한 과도한 신약개발비의 소요는 반드시 해결해야 할 과제 중 하나이다. 초기임상1상시험(first-in-human; FIH) 용량예측 연구기술은 효율적인 신약개발을 위한 해결방안으로 제시되었으며, 현재는 신약 허가에서 필수적인 요소로 자리매김하고 있다.⁹⁾ 실험동물로부터 임상시험의 용량 전환(dose translation from animal to human study)은 매우 복잡하고 어렵기 때문에 신약개발에 마주하는 대표적인 난관 중 하나로 제시되고 있다.¹⁰⁾ 특히 FIH 용량의 설정은 안전성 측면에서는 충분히 낮은 농도로 설정되어야 하는데 반해, 효율성 측면에서 충분히 높은 농도로 설정하여야 시간과 비용을 줄일 수 있다. 또한 임상2상시험이 신약후보물질의 유효성(약효)을 입증하기 위한 것임을 고려할 때, 안전성 측면만을 고려하여 오로지 낮은 용량만으로 임상1상을 진행할 수는 없다. 이는 임상2상 시험의 실패의 원인으로 제시되기도 한다.¹¹⁾

위와 같은 사항을 고려하여 최근 다양한 초기임상 1상시험 용량을 예측하고 시험디자인을 설계하는 방법들이 제시되고 있다. 가장 대표적이고 널리 사용하고 있는 방법으로 미국 FDA의 가이드라인에서 제시하는 적절한 동물종의(appropriate animal species) 최대무독성용량(no observed Adverse Effect Level; *NOAEL*)을 이용하여 FIH dose를 설정하는 것이다.¹²⁾ 하지만 *NOAEL*을 이용한 FIH dose estimation 방법은 안전성 측면을 크게 고려하여 설정하는 방법으로 매우 보수적인(conservative) 방법 중 하나이며, 안전성 인자(safety factor)의 영향을 크게 받는다.¹³⁾ 따라서 지속적으로 문제 제기되고 있는 과도한 신약개발비용과 시간소요를 개선할 수 있는 효율적인 신약개발 과정에 기여하고, 임상2상시험의 성공률을 미리

예측할 수 있는 보다 적극적인 임상용량 예측 방법들이 필요하다.

이에 따라 많은 연구자들은 약물동태학을 고려한 임상1상 용량 예측 방법들을 제안하고 있다.^{14,15)} 기존에 발표된 문헌 중 일부는 FIH dose estimation을 위하여 in-vitro 시험계 또는 동물실험으로부터 인체의 청소율(clearance; *CL*),¹⁶⁻⁴³⁾ 분포용적(volume of distribution; *Vd*),⁴⁴⁻⁴⁶⁾ 생체이용률(bioavailability; *F*)^{22,47-52)} 등 약물동태학적 파라미터(pharmacokinetic parameters)를 예측하는 방법을 제안하고 있다. 이러한 약물동태학적 파라미터의 예측을 통하여 인체에서의 시간에 따른 혈중약물농도의 변화(time-versus-concentration profile), 즉 약물동태 프로파일(pharmacokinetic profile)을 예측하는 방법을 제안하고 있다.⁵³⁻⁶⁹⁾ 또한 일부 문헌에서는 인체의 약물동태 프로파일은 물론, 약물동력학적 변화(pharmacodynamics)를 예측하는 방법을 제안하고 있다.^{57,64,70)} 하지만 기존 문헌에서는 임상1상용량 예측 방법 중 새로이 고안한 특정 방법에 대한 소개와 장점을 부각함으로써 제한된 정보만을 제공하고 있다. 따라서 본 연구자는 지금까지 제안된 모든 초기임상1상 용량 예측방법들을 종합하여 비교 검토하였다.

연구 방법

Zou 등은 발표한 기존 문헌의 결과를 참고하여 초기임상1상 용량(FIH dose estimation)을 예측하는 방법을 Fig. 1과 같이 분류하여 고찰하였다.⁹⁾ FIH dose estimation method는 크게 신약후보물질과 구조적/생리적으로 유사한 기존약물을 활용하는 방법(similar drug comparison approaches), 허가기관에서 발행하는 가이드라인에서 제시하는 방법(regulatory guidance based approaches), 그리고 약물동태학을 이용한 방법(pharmacokinetic based approaches)으로 나누어 고찰하였다.

또한 약물동태학을 이용한 초기임상1상용량 예측 방법을 적용하기 위해서 반드시 용량 예측 이전 단계에 약물동태학적 파라미터 또는 시간에 따른 혈중약물농도 프로파일을 예측하여야 한다. 따라서 약물동태학적 파라미터 예측 방법을 다음

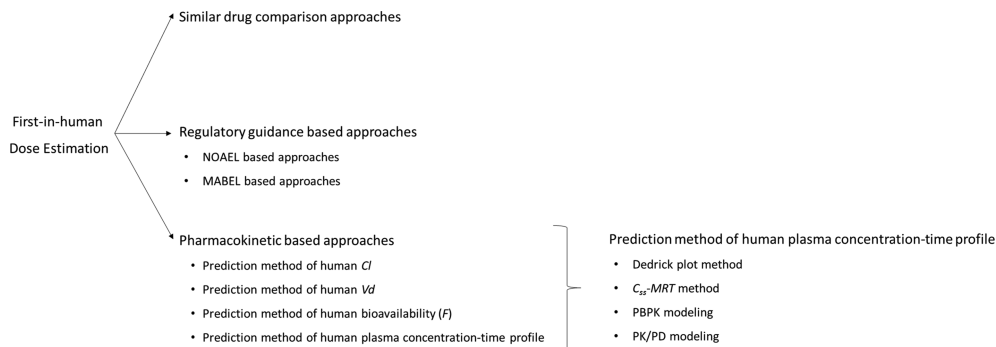


Fig. 1. Scheme for comparative study of first-in-human dose estimation approaches.

과 같이 분류하여 고찰하였다; 1) 인체의 청소율 예측 방법 (Prediction method of human *CL*); 2) 인체의 분포용적 예측 방법 (Prediction method of human *Vd*); 3) 인체의 생체이용률 예측 방법 (Prediction method of human bioavailability)

연구 결과

신약후보물질과 구조적/기전적으로 유사한 기존약물을 활용하는 방법 (Similar drug comparison approaches)

Similar drug approaches 또는 *Similar drug comparison approaches*는 Blackwell과 Martz 에 의해 처음 소개된 임상초기용량 예측 방법이다.⁷¹⁾ FDA 등 허가기관에서 초기임상시험용량에 대한 설정 가이드라인이 마련되지 않고, 약물동태 관련 연구기술이 미흡하였던 과거에 가장 객관적 근거를 바탕으로 용량을 설정할 수 있었던 방법이다. 이 방법을 적용하기 위해서는 개발하려는 약물과 유사한 화학적 구조를 가졌거나 약리활성 발현기전이 동일한 약물이 존재하여야 하며, 이 약물은 반드시 기존에 허가 받은 약물이거나 이전에 이미 임상시험을 수행한 약물이어야 한다.¹⁴⁾

약물 A가 개발하고자 하는 약물이고, 약물 B는 약물 A와 같은 class 이면서 이미 임상에서 사용하고 있는 약물이라고 가정할 경우 약물 A의 초기 임상용량은 다음의 식을 이용하여 계산할 수 있다 (Eq. 1).

$$\text{Dose}_{\text{DrugA}} = \frac{\text{Dose}_{\text{DrugB}} \times \text{NOAEL}_{\text{DrugA}}}{\text{NOAEL}_{\text{DrugB}}} \quad (\text{Eq. 1})$$

이 때 비임상시험에서 얻어진 최대무독성용량 (No Observed Adverse Effect Level; *NOAEL*)은 가장 적절한 (most appropriate) 동물종 또는 가장 민감한 (most sensitive) 동물종의 값을 선택한다. 즉, 비임상시험으로부터 얻어진 *NOAEL* 값 중 가장 낮은 값을 사용하는 것이 바람직하다. 또한 위 식으로부터 산출한 용량은 반드시 안전계수 (safety factor)를 적용하여야 한다. 만약 약물 A의 *NOAEL*이 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 이고, 약물 B의 *NOAEL*과 임상용량 (optimal starting dose)이 각각 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$, $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 이라고 할 경우 Eq. 1 에 따라 약물 A의 용량은 $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 으로 계산되며, 이 때 안전계수를 10으로 할 경우 약물 A의 초기임상투여용량은 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1}$ 를 권고할 수 있다.¹⁵⁾

비록 *similar drug comparison approaches*는 간단하고 고전적인 방법이지만, 개발하는 약물이 first-in-class가 아닌 me-too drug일 경우 매우 유용하게 사용할 수 있다. *Similar drug comparison approaches*는 기존에 허가된 동일한 약물의 약물동태학적 (pharmacokinetic) 및 약물동력학적 (pharmacodynamics) 정보를 적극적으로 활용하지는 것이다. 따라서 앞으로 소개할 다양한 예측 방법에서 어떠한 가정이 필요할 경우 *similar*

*drug comparison approaches*에 따라 기존에 허가된 약물의 정보를 반영할 수 있다.¹⁴⁾

허가기관에서 발행하는 가이드라인에서 제시하는 방법 (Regulatory guidance based approaches)

2005년 6월 미국 FDA는 ‘Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers (건강한 성인 지원자를 대상으로 하는 초기 임상시험의 최대안전시작용량의 추정)’ 라는 가이드라인을 발표하였다. 이 가이드라인에서 최대권장시작용량 (maximum recommended starting dose; *MRSD*)을 산출하는 방법을 체계적으로 잘 설명하고 있다.⁷²⁾ *MRSD*는 초기임상시험에서 권장되는 최대용량이므로 본 논문에서 말하는 FIH dose와 같은 의미이다.

FDA 가이드라인에서 제시하는 *MRSD* 추정의 첫 번째 단계는 가장 적절한 (most appropriate) 동물종 또는 가장 민감한 (most sensitive) 동물종으로부터 산출한 *NOAEL*을 체표면적을 고려하여 인체등가용량 (human equivalent dose; *HED*)으로 환산하는 것이다.^{72,73)} 이를 위하여 FDA는 이미 비임상시험으로부터 얻어진 *NOAEL*로부터 *HED*를 산출하기 위한 변환상수 (conversion factor)를 제공하고 있다. 따라서 연구자 (investigator)는 FDA에서 제공하는 변환상수를 *NOAEL*에 곱하거나 나누어 주면 *HED*를 산출할 수 있다. 만약 연구자가 FDA에서 제공하는 변환상수를 그대로 사용하지 않고, 실제 동물의 체중 또는 예상되는 인체의 체중 (특히 소아를 대상으로 할 경우)을 직접 고려하길 원할 경우 다음의 식을 통해 산출할 수 있다 (Eq. 2)

$$\text{HED} = \text{Dose}_{\text{animal}} \times \left(\frac{\text{Weight}_{\text{animal}}}{\text{Weight}_{\text{human}}} \right)^{(1-0.67)} \quad (\text{Eq. 2})$$

이 때 용량 (*Dose_{animal}*과 *HED*)의 단위는 mg/kg 이며, 체중 (*Weight_{animal}*과 *Weight_{human}*)의 단위는 kg이다. 위 식에서 0.67은 체중 (kg)을 체표면적 (mg/m^2)으로 환산하여 주는 상수이며,^{74,75)} FDA가 제공하는 변환상수는 각 동물종의 표준체중에서의 ($\text{Weight}_{\text{animal}} / \text{Weight}_{\text{human}}$)^(1-0.67)를 의미한다. 이처럼 변환상수를 이용하여 용량을 환산한다고 하여 일부 연구자들은 ‘dose-by-factor approaches’ 라고 하고,¹⁵⁾ 다른 일부 학자들은 *NOAEL*을 활용한다고 하여 ‘*NOAEL-based approaches*’ 라고도 한다.⁹⁾

*MRSD*를 추정하기 위한 두 번째 단계는 앞서 설명한 *HED*에 안전계수 (safety factor)를 적용하는 것이다. *Similar drug approaches*와 마찬가지로 안전계수의 기본값은 10으로 하여 *HED*에 나누어준다.⁷²⁾ 이 때, 안전계수 값을 선택함에 있어서 반드시 사전에 약물동태학적 (pharmacokinetic), 약물동력학적 (pharmacodynamics) 고찰이 수행되어야 한다.^{14,70)} FDA가

이드라인에서는 안전계수를 10보다 증가하여야 할 상황과 10보다 감소하여야 할 상황에 대해서 설명하고, 안전계수 값을 변화할 수 있다고 설명한다.⁷²⁾ 하지만 안전계수를 증가하여야 하는 상황에 대해 더욱 자세히 설명하고 있으므로 대부분의 약물의 안전계수는 최소 10 이상이어야 한다. 또한 안전계수를 얼마나 어떻게 증가 또는 감소하여야 하는지는 설명되어 있지 않으므로 실제 신약개발에서 안전계수를 설정하는 일은 매우 어렵다.⁷⁶⁾

비록 미국 FDA에서 제시하는 NOAEL을 이용한 초기 임상용량 설정방법은 저분자량 신약후보물질(small molecule chemical entities)에 대해 안전성(safety) 측면을 강조한 방법으로 매우 간단하고 실용적이지만, 약리학적 활성 용량(pharmacologically active dose; PAD) 측면에서 부정적인 반응이 발생할 수 있다. 이와 관련하여 잘 알려진 사건으로 2006년 영국에서 6명의 피험자를 대상으로 백혈병 치료제 후보물질인 TGN1412에 대한 초기임상시험이 있다.⁷⁷⁾ 단일클론 항체(monoclonal antibody)인 TGN1412의 NOAEL은 50 mg/kg (cynomolgus monkey) 이었고 이로부터 산출한 HED는 16 mg/kg 이었으며, MRSD는 안전계수 값 160을 고려하여 0.1 mg/kg로 설정하였음에도 불구하고 피험자에서 중대한 부작용이 발생하였다.

따라서 마지막 세 번째 단계로 MRSD는 약리학적 활성 용량(pharmacologically active dose; PAD)을 고려하여 결정하여야 한다. PAD는 약리학적으로 활성을 가지는 최저 용량을 의미한다. 만약 PAD로부터 산출한 HED가 NOAEL로부터 산출한 HED보다 낮을 경우 최종 MRSD는 PAD로부터 산출하는 것이 바람직하며, 특히 생물학약품(biologics)의 경우 PAD를 고려하기를 권장하고 있다. 하지만 PAD는 임상적인 복잡한 상황과 연관되어 있고, 가이드라인에서 NOAEL로부터 산출하는 HED와 같이 자세한 방법을 언급하고 있지 않으므로 실제 연구에서 PAD를 산출하는 것은 쉬운 일이 아니다.⁷²⁾ 결국 PAD를 고려하기 위해서는 이후에 설명하는 약물동태학을 이용한 방법(pharmacokinetic based approaches) 중 PK/PD modeling 연구를 수행하여야 한다.

위 TGN1412 사건으로 인하여 2007년 유럽 EMA (European Medicines Agency)는 최소 추정되는 생물학적 효과수준(minimum anticipated biological effect level; MABEL)이라는 개념을 도입하였다.⁷⁸⁾ MABEL은 독성이든 약효이든 관계없이 어떠한 생물학적 효과라도 나타나는 가장 최저 용량을 의미하여, MABEL을 산출하기 위해서는 PK/PD 연구가 수행되어야 한다.⁷⁹⁾ 보다 구체적으로 설명하면, 먼저 인체세포와 동물세포의 *in vitro* 시험계를 통한 약리활성실험(target binding과 receptor occupancy)을 수행하고, *in vitro* 농도-반응 곡선(concentration-response profile)을 분석하여야 한다. 그리고 동물모델로부터 용량-노출-반응 관계(dose-exposure-response)를 규명하고, 약리학적 활성 용량(PAD)에서의 노출 정도(exposure)를 규명하

여야 한다. 마지막으로 인체에서 동일한 노출정도를 가지는 용량을 산출한 후 안전계수를 고려하여 FIH dose를 예측하고, NOAEL based approaches와 MABEL based approaches 중 더 낮은 FIH dose를 선택한다. 따라서 MABEL based approaches는 이후에 설명하는 약물동태학을 이용한 방법(pharmacokinetic based approaches) 중 PK/PD modeling 연구를 활용하여야 한다. 위 TGN1412의 경우 MABEL을 이용한 FIH dose는 0.001 mg/kg로 추정된다.⁷⁷⁾

약물동태학을 이용한 방법 (Pharmacokinetic based approaches)

약물동태학을 이용한 방법은 앞서 설명한 방법보다 진보한 방법이므로 보다 설득력 있고 보다 정확한 초기임상용량을 예측할 수 있다.⁹⁾ 또한 앞서 설명하였듯이 PAD를 고려한 MRSD를 설정하거나 MABEL based approaches를 이용하여 FIH dose를 산출하기 위해서는 약물동태학을 이용한 방법을 활용하여야 한다. 약물동태학을 이용한 초기임상용량 예측 방법의 기본 골격은 동물의 약물동태학적 파라미터(pharmacokinetic parameter)로부터 인체의 약물동태학적 파라미터를 추정함으로써 용량을 예측하는 것이다.

약물동태학을 이용한 FIH dose 예측 방법은 약물의 노출 정도(exposure)를 나타내는 비구획적 약물동태 파라미터(non-compartmental pharmacokinetic parameter)를 적극 활용하는 것이다. 대표적인 비구획적 파라미터에는 혈중농도곡선하 면적(area under the curve; AUC)과 최고혈중농도(C_{max})가 있으며, 이중에서 많은 문헌들이 AUC를 이용한 방법을 권장하고 있다.^{14,15,80-82)}

하지만 AUC 값만으로 FIH dose를 산출할 수 없다. 동물로부터 얻어진 AUC 값은 인체에서 목표하는 AUC 값을 제공할 뿐이다. FIH dose를 예측하기 위해서는 인체의 청소율(CL), 분포용적(주로 정상상태에서의 분포용적; $V_{d,ss}$) 또는 생체이용율(F) 등을 추정하여야 한다. 만약 연구자가 가장 민감한 동물종의 NOAEL에서의 AUC 또는 동물질환모델에서 약효가 발현된 최저 용량의 AUC를 알고 있고, 이후 설명할 다양한 방법을 인체의 CL와 F를 예측하였다면, 다음과 같은 식을 통해 FIH dose를 산출할 수 있다(Eq. 3).^{14,80)}

$$Dose_{FIH} = \frac{CL_{human} \times AUC_{animal}}{F_{human}} \quad (Eq. 3)$$

만약 연구자가 AUC 대신 정상상태에서의 혈중 약물농도(plasma concentration at steady state; C_{ss})를 알고 있다면 다음과 같은 식을 통해 FIH dose를 산출할 수 있다(Eq. 4).⁸¹⁾

$$Dose_{FIH} = \frac{CL_{human} \times C_{ss} \times \tau}{F_{human}} \quad (Eq. 4)$$

이 때 t_n 는 투여간격을 의미한다.

또한 인체의 시간에 따른 혈중 약물농도 곡선을 예측하는 것은 보다 더 많은 정보를 제공하며, 특히 임상초기용량을 예측할 뿐 아니라 시험디자인 설계도 가능하다. 인체의 시간에 따른 혈중 약물농도 프로파일을 예측하기 위한 방법은 Dedrick plot을 이용한 방법, C_{ss} -MRT 방법, 생리학적 기반 약물동태 모델 physiologically based pharmacokinetic model; PBPK model)을 이용한 방법, 그리고 약물동태/약물동역학 모델 (pharmacokinetic/pharmacodynamics model; PK/PD model) 등이 있다. 이 중에서 Dedrick plot을 이용한 방법과 C_{ss} -MRT 방법은 allometric scaled-up 방법을 응용한 것으로 정맥투여 후 시간에 따른 혈중 약물농도 프로파일을 예측할 수 있으며, 체외경로(extravascular)로 투여하는 약물의 경우 추가로 별도의 가정(assumption)의 설정과 파라미터의 예측이 필요하다. 반면 PBPK model과 PK/(PD) model을 이용한 시간에 따른 혈중 약물농도 프로파일 예측은 모델링을 하기 위한 지식과 기반시설 (소프트웨어)을 필요로 하지만, 가장 객관적이고 논리적인 예측이 가능하다.^{83,84)}

인체의 청소율 예측(Human clearance prediction)

약물동태를 이용하여 초기임상시험 용량을 예측하는 방법에서는 비임상시험 자료를 바탕으로 인체의 약물동태학적 파라미터 중 청소율(CL)을 예측하여야 한다. 많은 문헌에서 인체의 청소율을 예측하는 방법을 소개하고 있으며, 지금까지 제안된 방법들은 크게 *in silico* 방법, *in vitro-in vivo* extrapolation (IVIVE)에 의한 방법, 그리고 allometric scaled-up에 의한 방법 등으로 나눌 수 있다. *In silico*에 의한 방법은 말 그대로 컴퓨터를 이용하여 인체의 청소율을 예측하는 방법이며, IVIVE는 *in vitro* 자료와 *in vivo* 자료를 적극 활용하는 것이며, allometric scaled-up은 종간의 차이에서 어떠한 패턴이나 규칙을 찾아냄으로써 인체의 청소율을 예측하는 방법이다.^{9,15,16)}

In silico에 의한 방법(In silico approaches)

In silico 방법은 컴퓨터 소프트웨어 프로그램을 이용하여 인체의 청소율을 예측하는 방법이며, 이 때 multiple linear regression (MLR), partial least square regression (PLS), and artificial neural network (ANN)와 같은 통계적인 방법을 함께 적용한다. 비록 통계적인 방법에 대한 함수가 있으나, 결국 컴퓨터 소프트웨어를 이용하기 때문에 직접 계산해야 할 일이 없다 따라서 MLR 등과 같은 함수에 대한 수학적을 굳이 제시할 필요는 없다. 또한 예측력을 향상시키기 위하여 비임상자료가 있을 경우 적극적으로 반영할 수 있다.^{33,41,42)}

In silico 방법은 정량적 구조 활성관계(Quantitative Structure Activity Relationship; QSAR) 모델을 근간으로 하여 예측하는 방법이므로 기본적으로 합성물(compound)의 화학구조식

을 필요로 한다. 그 외 *in vitro* 데이터 또는 *in vivo* 데이터가 있을 경우 추가로 적용할 수는 있으나 반드시 필요로 하지는 않는다. 따라서 *in silico* 방법은 신약개발 초기 단계(early drug discovery stages)에서 합성물의 청소율을 신속히 예측하여 합성물간의 우선 순위를 매기는데에 매우 유용하게 사용할 수 있다. 따라서 *in silico* 방법은 다른 예측방법에 비해 고성능(high-throughput), 저비용(low costs) 방법이라 할 수 있겠다. 하지만 화학구조식만으로 예측할 경우 예측력이 떨어지는 문제점이 있고, 일부 물질(특히 생물의약품)에 대한 청소율은 예측할 수 없다는 단점이 있다.

In vitro-in vivo extrapolation (IVIVE)에 의한 방법(IVIVE approaches)

최근 제약업계는 효율적인 신약개발을 하기 위한 노력이 두드러지게 증가하고 있다. 그 중 하나가 바로 비임상시험 단계에서 *in vitro* 시험계의 결과를 적극 활용하는 것이다. IVIVE에 의한 인체의 청소율을 예측하는 방법은 이러한 *in vitro* 시험계 결과의 적극적인 활용 중 하나이다. IVIVE에 의한 인체의 청소율을 예측하기 위해서는 인체의 간 마이크로솜(human liver microsomes), 간세포(hepatocytes), 그리고 간 내의 cytochrome P450 동종효소(recombinant CYP450 isoenzymes) 등으로부터 내인성 청소율(intrinsic clearance; CL_{int})을 측정하여야 한다. IVIVE에 의한 약물동태 예측 방법은 초기에 비교적 낮은 예측력이 문제되어 왔으나, 최근 지속적인 방법의 수정과 개선으로 인하여 많은 문헌에서 적극 권장하고 있다.^{85,86)}

지금까지 알려진 IVIVE에 의한 인체의 청소율 예측 방법은 총 6가지 이다. 그 중 첫 번째는 생리적인 차이를 근간으로 한 scaling factor를 이용하는 IVIVE 방법이다. *In vitro* 대사 실험 결과를 바탕으로 간 청소율(hepatic clearance: CL_h)를 예측하는 방법은 Houston(1994)에 의해 처음 제안되었다.²¹⁾ 이 방법은 *in vitro* 시험계로부터 생리학적 차이를 근간으로 한 scaling factor를 고려하여 인체의 내인성 청소율(CL_{int})을 계산한 후 이를 인체의 간 청소율(CL_h)로 환산하는 것이다. CL_{int} 을 계산하는 식은 다음과 같다(Eq. 5, 6).

Microsome:

$$CL_{int} = \frac{K_e}{C_{protein}} \times \frac{45mg \text{ protein}}{1g \text{ liver weight}} \times \frac{25.7g \text{ liver weight}}{kg \text{ body weight}} \quad (\text{Eq. 5})$$

Hepatocytes:

$$CL_{int} = \frac{K_e}{C_{cell}} \times \frac{120 \times 10^6 \text{ cells}}{1g \text{ liver weight}} \times \frac{25.7g \text{ liver weight}}{kg \text{ body weight}} \quad (\text{Eq. 6})$$

In vitro 시험계를 마이크로솜(microsome)을 선택하였다면, Eq. 5의 식을 이용하여 CL_{int} 를 계산할 수 있으며, 간세포(hepatocyte)를 사용할 경우 Eq. 6을 통해 CL_{int} 을 계산할 수 있다. Eq. 5는 인체의 체중 당 간의 무게는 25.7 g 이며, 마이크로솜

Table 1. Physiological based scaling factors (PBSF) for intrinsic clearance estimation.

Parameters	Unit	Mouse	Rat	Dog	Monkey	Human
Liver weight	% per body weight	5.49	3.66	3.29	2.48	2.57
Body weight	kg	0.02	0.25	10	5	70
Q_{liver}	mL/min	2.4	16.9	309	218	1450
	mg/g ^a	47	47	58	32	32
PBSF	mg/kg ^b	2580.3	1720.2	1908.2	793.6	822.4
	10 ⁶ cells/ g liver	128	128	187.5	99	99
	10 ⁶ cells/kg body weight	7027.20	4684.80	6168.75	2455.20	2544.30

^amicrosomal protein per liver weight
^bmicrosomal protein per body weight

은 간 1 g 당 45 mg 임을 가정하고 있다.⁵⁴⁾ 또한 Eq. 6은 간세포의 개수가 간 1 g 당 120×10^6 개 임을 가정하고 있다.²³⁾ 이는 인체의 간에 대한 생리화적인 정보를 바탕으로 설정한 것이므로 ‘Physiologically based scaling factor (PBSF)’ 또는 ‘hepatic scaling factor (HSF)’라고 한다. 만약 동물종으로부터 CL_{int} 을 산출할 경우 Table 1에 표시한 각 종별 간의 생리학적 정보를 고려하여야 한다.⁵⁵⁾

산출한 CL_{int} 은 well-stirred model, parallel tube model, dispersion model 중 하나를 선택하여 간 청소율(CL_h)로 전환하여야 한다(Eq. 7-9).

$$\text{Well-stirred model } CL_h = \frac{Q_h \times CL_{int}}{Q_h + CL_{int}} \quad (\text{Eq. 7})$$

$$\text{Parallel tube model } CL_h = Q_h \times \left(1 - e^{-\frac{CL_{int}}{Q_h}}\right) \quad (\text{Eq. 8})$$

$$\text{Dispersion model } CL_h = Q_h \times R_B \times \left[1 - \frac{4a}{(1-a)^2 \times \left(e^{\frac{a-1}{2D_N}} - e^{-\frac{a+1}{2D_N}}\right)}\right] \quad (\text{Eq. 9})$$

위 식에서 Q_h 는 간혈류 속도(hepatic blood flow rate), R_B 는 전혈과 혈장간의 약물농도 비율(blood-to-plasma concentration ratio), D_N 은 분산 수(dispersion number), a 는 $(1 + 4 \times (CL_{int}/Q_h) \times D_N)^{0.5}$ 을 나타낸다. Well-stirred model은 간으로 이행된 약물은 간 전체에 빠르게 분포함을 가정하고 있고, 비교적 간단한 함수이므로 CL_h 을 산출하는데에 많이 사용하고 있다.²⁷⁾ 반면에 parallel tube model은 약물이 혈액의 이동에 따라서 간의 일부 부위에서 제한적으로 분포함을 가정하고 있다. 이러한 가설들은 다소 극단적이므로 통합 모델로 dispersion model 이 있다. 이 모델은 약물의 분포가 간 머무름 시간(hepatic residence time)과 관련 있다고 가정하고, 약물의 분포를 역동적으로 설명하고 있다.²⁸⁾ 비록 dispersion model은 간에서의 약물의 분포에 대해 가장 잘 설명하고 있지만, 함수가 너무 복잡하여 실제 적용하기가 어려운 단점이 있다.³¹⁾

또한 약물 특이적(drug-specific) scaling factor를 고려하여

IVIVE에 의해 인체의 청소율을 예측할 수 있다. 이 방법은 앞의 방법에서 추가로 동물종에서 in vitro와 in vivo에서의 CL_{int} 비율을 고려하고 있다(Eq. 10-12).^{31,32,87)}

$$CL_{int, in vivo, human} = CL_{int, in vitro, human} \times \text{PBSF} \times \frac{CL_{int, in vivo, animal}}{CL_{int, in vitro, animal}} \quad (\text{Eq. 10})$$

$$CL_{int, in vivo, animal} = \frac{CL_{h, animal}}{f_{u,p} \times \left(1 - \frac{CL_{h, animal}}{Q_h}\right)} \quad (\text{Eq. 11})$$

$$CL_{h, animal} = \frac{CL_{total, animal}}{R_{B, animal}} - CL_{r, animal} \quad (\text{Eq. 12})$$

앞서 설명한 바와 같이 physiologically based scaling factor (PBSF)는 in vitro 시험계가 마이크로조인자 간세포인자에 따라 선택하여 적용할 수 있다. 또한 동물종의 CL_{total} 로부터 CL_h 를 산출하고, 또한 이로부터 $CL_{int, in vivo}$ 를 산출해야 하므로 동물종에 시험물질을 정맥투여 후 시간에 따른 혈중농도 데이터를 구하는 실험이 수행되어야 한다. 이로부터 산출한 인체의 CL_{int} 은 well-stirred model, parallel tube model, dispersion model 중 하나를 선택하여 간 청소율(CL_h)로 전환하여야 한다.

Lava 등 (1997)은 CL_{int} 로부터 CL_h 을 산출하는 well-stirred model을 변형하여 경험적(empirical) scaling factor (SF)를 고려한 식을 제안하였다(Eq. 13).⁸⁸⁾ 이 factor는 여러 개의 합성물 데이터베이스에서 인체의 $CL_{int, in vitro}$ 와 $CL_{int, in vivo}$ 와의 상관관계를 설명하기 위한 비선형 회귀곡선으로부터 도출한 평균 상관계수(coefficient)이다.⁸⁷⁾

$$CL_h = \frac{Q_h \times CL_{int} \times SF}{Q_h + CL_{int} \times SF} \quad (\text{Eq. 13})$$

또한 well-stirred model은 혈장의 단백질과 비결합한 형태의 약물만이 간으로 이동함을 가정하여 혈장단백질 비결합 약물 비율(the fraction of unbound drug in plasma; $f_{u,p}$)을 고려할 수 있다(Eq. 14).

$$CL_h = \frac{Q_h \times CL_{int} \times f_{u,p}}{Q_h + CL_{int} \times f_{u,p}} \quad (\text{Eq. 14})$$

이 뿐만 아니라 *in vitro* 시험계인 마이크로솜 또는 간세포에 서 비결합 약물 비율을 고려하여 CL_h 을 산출할 수 있다(Eq. 15,16).³⁷⁾

$$\text{Microsome } CL_h = \frac{Q_h \times \frac{CL_{int} \times f_{u,p}}{f_{u,micro}}}{Q_h + \frac{CL_{int} \times f_{u,p}}{f_{u,micro}}} \quad (\text{Eq. 15})$$

$$\text{Hepatocyte } CL_h = \frac{Q_h \times \frac{CL_{int} \times f_{u,p}}{f_{u,hepa}}}{Q_h + \frac{CL_{int} \times f_{u,p}}{f_{u,hepa}}} \quad (\text{Eq. 16})$$

이 때 마이크로솜에서의 비결합 약물 비율($f_{u,micro}$)와 간세포에서의 비결합 약물 비율($f_{u,hepa}$)는 각각의 Hallifax equation에 의해 도출할 수 있다(Eq. 17,18)⁴⁰⁾

$$\text{Microsome } f_{u,micro} = \frac{1}{1 + C_{protein} \times 10^{[0.772 \times (\log D)^2 + 0.067 \times \log D - 1.126]}} \quad (\text{Eq. 17})$$

$$\text{Hepatocyte } f_{u,hepa} = \frac{1}{1 + \frac{k_p \times V_R}{K_a \times C_{protein}} \times \left(\frac{1 - f_{u,micro}}{f_{u,micro}} \right)} \quad (\text{Eq. 18})$$

결국 약물특이적 scaling factor, 경험적 scaling factor, 그리고 비결합 약물 비율 등을 고려한 함수들은 모두 Houston (1994)가 처음 제안한 CL_{int} 및 C_h 을 도출하는 함수를 응용한 형태이다. 이러한 응용 함수의 제안은 기존 함수에 대한 예측력이 만족스럽지 못하거나 일부 한계점이 있기 때문이다. 그럼에도 불구하고 현재까지는 Houston(1994)가 제안한 기본 함수를 가장 일반적으로 사용하고 있다.

간에서 대사가 되는 약물의 75%는 마이크로솜에 있는 cytochrome P (CYP) 450 효소에 의해 대사된다. 사람의 경우에는 CYP3A, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, CYP2E1 등이 발견되어 있다. 만약 *in vitro* 시험계를 마이크로솜이나 간세포가 아닌 CYP 효소를 이용한 결과가 있고, 또한 시험물질이 특정 CYP에 의한 대사를 많이 받는 화합물이라면, CYP를 이용한 *in vitro* 시험결과를 이용하여 CL_{int} 을 도출할 수 있다(Eq. 19,20).³⁸⁾

Relative abundance approaches

$$CL_{int} = \sum_{i=1}^n (CL_{int, CYP} \times relative\ abundance) \times \frac{40mg\ microsome}{g\ liver} \times \frac{25.7g\ liver\ weight}{kg\ body\ weight} \quad (\text{Eq. 19})$$

Relative activity approaches

$$CL_{int} = \sum_{i=1}^n \left(CL_{int, CYP} \times \frac{CL_{int, HLM}}{CL_{int, CYP}} \right)$$

$$\times \frac{40mg\ microsome}{g\ liver} \times \frac{25.7g\ liver\ weight}{kg\ body\ weight} \quad (\text{Eq. 20})$$

앞서 설명한 IVIVE를 이용한 인체의 청소율 예측 방법은 모두 간 청소율(CL_h) 예측에 대한 것이다. 만약 개발하고자 하는 신약후보물질이 주로 간 대사를 받음을 이미 알고 있거나, 이를 가정할 경우($CL_h \approx CL_r$)에 적절하다. 하지만 개발하고자 하는 신약후보물질이 다른 배설 경로인 신장으로 많이 배설된다면, 인체의 청소율은 신장 청소율(CL_r)을 반드시 고려하여야 한다. 앞서 설명한 IVIVE를 이용하여 CL_h 을 예측하는 방법에 대한 연구는 다양한데 반하여, CL_r 을 예측하는 방법에 대한 연구는 많지 않다. CL_r 을 추정하는 함수는 다음과 같다(Eq. 21).^{34,89)}

$$CL_r = GFR \times f_{u,p} + \frac{CL_{sc} \times f_{u,b} \times Q_r}{CL_{sc} \times f_{u,b} + Q_r} \times (1 - f_{reabs}) \quad (\text{Eq. 21})$$

Allometric scaled-up에 의한 방법(Allometric scaled-up approaches)

만약 비임상시험 결과로 실험동물을 이용한 약물동태 자료를 이미 확보하고 있다면, allmetric scaled-up에 의한 방법으로 인체의 청소율을 예측할 수 있다. 흔히 power function이라고 불리는 $CL = a \times (\text{Weight})^b$ 는 allometric scaled-up에 의한 방법의 가장 기본 함수이며, simple allometry 라고도 한다.^{13,80,90)} 물론 CL 대신 V_d 를 적용할 수 있으며, 체중(weight) 대신 체표면적(body surface area)도 가능하다. Allometric scaling을 통해 연구자가 산출해야 하는 값은 power function을 구성하는 상수 a와 b이다. Simple allometry는 간 청소율(CL_h)이 높은 화합물에서 더 신뢰성 있는 예측률을 나타내는 것으로 알려져 있다.⁹¹⁾

비록 simple allometry는 매우 간단하면서도 간청소율이 큰 화합물에서 높은 예측률을 보이지만, 모든 화합물에서 좋은 예측률을 보이지는 않는다. 이에 따라 많은 연구자들은 simple allometry를 변형한 함수를 제시하고 있다. 지금까지 알려진 simple allometry의 변형 함수는 총 9가지 이다. 그 중에서 가장 많이 활용하는 함수는 혈장 단백질과 결합하지 않은 화합물의 분율을 고려하여 비결합 청소율(unbound CL)을 예측하는 것이다. 이 함수에서 약물의 제거는 오로지 혈장 단백질과 비결합한 약물만이 이루어짐을 가정하고 있다. 이 때 함수는 다음과 같다.

$$\frac{CL}{f_{u,p}} = \text{Unbound } CL = \alpha \times \text{Weight}^b \quad (\text{Eq. 22})$$

위 식을 통해 인체의 청소율을 예측하기 위해서 최소 2종 이상의 실험동물의 데이터 (청소율, 체중, 약물의 혈장단백 비결합률)를 필요로 한다. 이론적으로 오직 혈중에 비결합 약물만이 제거되므로 이에 부합하며, 많은 약물들이 비결합률에 대하여 중간 차이를 보이고 있으므로 이는 매우 유용하게 적용

Table 2. Rule of exponents for human clearance estimation.

Exponent b value	Function
$b < 0.55$	will be underestimated
$0.55 < b < 0.70$	$CL = \alpha \times W^b$
$0.71 < b < 0.99$	$CL = \frac{\alpha \times (MLP_{animal} \times Cl_{animal})^b}{MLP_{human}}$
$b \geq 1$	$CL = \frac{\alpha \times (\text{Brain Weight}_{animal} \times Cl_{animal})^b}{1.53}$
$b \geq 1.3$	will be overestimated

될 수 있다.⁹⁾

Simple allometry의 또 다른 변형 형태로는 “Two term power equation”과 “Rule of exponents”가 있다.^{13,18)} Two term power equation은 체중 외에 뇌의 무게와 최대수명(maximum lifespan potential; MLP) 데이터를 요구하고 있으며, MLP를 산출하는 함수($185 \times \text{Brain Weight}^{0.636} \times \text{Weight}^{-0.225}$) (또한 체중과 뇌의 무게로부터 계산되므로 결국 요구하는 데이터는 체중과 뇌의 무게이다. 하지만 뇌의 무게를 경험적 가정(empirical assumption)을 바탕으로 추정하여야 하므로 인체의 청소율 예측에 잘 사용하지 않고 있다. 반면 Rule of exponents는 simple allometry에 비해 예측력이 좋다는 평가를 받고 있어 인체의 청소율 예측에 많이 사용하고 있다. Rule of exponents는 simple allometry에서 사용하는 기본 함수의 지수(b) 값 크기에 따라 변형 함수를 선택하여 적용할 수 있다(Table 2).

또한 앞서 설명한 in vitro 시험을 통해 내인성 청소율(CL_{int})을 산출할 수 있다면, 이를 적극 활용하여 다음과 같이 인체의 청소율을 예측할 수 있다(Eq. 23).^{24,92)}

$$CL_{human} = CL_{human} \times \frac{\text{Human } CL_{int, in vitro} \times \text{Weight}_{human}}{\text{Animal } CL_{int, in vitro} \times \text{Weight}_{Animal}} \quad (\text{Eq. 23})$$

위 식을 적용하기 위해서는 최소 2종 이상의 실험동물로부터 산출한 청소율과 체중 데이터, 그리고 인체와 동물 각각의 Km, Vmax 데이터(microsoma 또는 hepatocyte로부터 산출)를 필요로 한다. 또한 위 식은 주요 약물제거경로가 간 대사인 약물에 제한하여 적용될 수 있다.

주요 약물제거경로가 간대사인 약물은 “Liver blood flow method”를 통해 인체의 청소율을 예측할 수도 있다. 단, 이 식은 반드시 원승이로부터 산출한 청소율을 가지고 인체의 청소율을 예측해야하며, 단백결합률에 대한 중간 차이를 반영하지 못하는 한계점을 가진다(Eq. 24)

$$CL_{human} = CL_{monkey} \times \frac{Q_{h, human}}{Q_{h, monkey}} \quad (\text{Eq. 24})$$

Simple allometry의 변형형태로 “Multiple-exponential Allometry (MA)”가 있다. MA법은 simple allometry보다 더 우월한 예측력을 가진 방법으로 평가되고 있다(Eq. 25).^{23,24)}

Table 3. Scaling from single animal species for human clearance estimation.

Required animal species	Function
Rat	$CL_{human} / \text{kg} = 0.152 \times Cl_{rat} / \text{kg}$
Dog	$CL_{human} / \text{kg} = 0.41 \times Cl_{dog} / \text{kg}$
Monkey	$CL_{human} / \text{kg} = 0.407 \times Cl_{monkey} / \text{kg}$

$$CL_{human} = a \times \text{Weight}^b + \frac{1-1.5b}{1-0.5b} \times a \times \text{Weight}^{0.9} \quad (\text{Eq. 25})$$

Simple allometry를 포함한 6가지의 인체 청소율을 예측하는 방법은 모두 최소 2종 이상의 실험동물로부터 산출한 청소율 및 체중 등을 요구한다. 하지만 1종의 실험동물 데이터로부터 인체의 청소율을 예측하는 방법이 있다(Table 3).⁹⁰⁾

인체의 분포용적 예측 (Human volume of distribution prediction)

약물동태학에서 분포용적(volume of distribution)은 약물의 흡수, 분포, 대사, 배설의 과정 중 분포의 과정을 수치화하여 나타낸 값이다. 결국 약물이 어떠한 양(amount)으로 투여되었을 때 전신순환계(systemic circulation)에 분포하게 되는데, 이 때의 용적(volume)을 의미한다. 따라서 인체의 혈중농도를 예측하기 위해서는 인체의 분포용적으로 반드시 예측하여야 한다. 또한 앞서 기술한 인체의 청소율과 분포용적을 예측하였을 때 보다 많은 약물동태학적 정보를 예측할 수 있으며, 이는 보다 근거 있는 임상시험 용량 예측과 시험디자인을 설계할 수 있게 해준다.

비임상시험 데이터로부터 예측하는 인체의 분포용적은 정상상태에서의 분포용적(volume of distribution at steady state; Vss)을 말한다.⁹³⁾ 인체의 청소율 예측 방법과 유사하게 Vss를 예측하는 방법 중 가장 잘 알려진 방법은 역시 simple allometry이다(Eq. 26).⁹⁴⁾

$$Vss_{human} = a \times (\text{Body Weight})^b \quad (\text{Eq. 26})$$

또한 이를 변형하여 혈장단백 결합율을 반영한 식을 적용할 수도 있다(Eq. 27).

$$Vss_{human}/f_{Up} = a \times (\text{Body Weight})^b \quad (\text{Eq. 27})$$

뿐만 아니라 3종 이상의 실험동물로부터 Vss 값을 산출하여 그 평균값을 가지고 인체의 분포용적을 예측할 수 있다(Eq. 28).

$$Vss_{human} = 1.99 \times Vss_{average preclinical species}^{0.413} \quad (\text{Eq. 28})$$

만약 인체의 분포용적과 유사하다고 알려져있거나 예상될 경우, 또한 위 방법에서 요구하는 자료들을 충족하지 못하고

제한된 정보만으로 인체의 분포용적을 예측한다면 단 한 종의 실험동물로부터 산출한 V_{ss} 를 인체의 V_{ss} 라고 가정할 수 있다. 이 때에 혈장단백결합에 대한 데이터가 있다면 이를 반영할 수 있다(Eq. 29,30).

$$V_{ss_{human}} = V_{ss_{animal}} \quad (\text{Eq. 29})$$

$$V_{ss_{human}}/f_{Up} = V_{ss_{animal}}/f_{Up} \quad (\text{Eq. 30})$$

이 외에 Jones 등은 인체의 분포용적을 예측할 수 있는 보다 많은 식을 제안하고 있다.⁹³⁾ 하지만 제안하는 함수들은 앞서 기술한 함수들 보다 더욱 복잡하면 보다 많은 자료들을 요구하고 있다. 따라서 이러한 함수를 엑셀과 같은 기본 프로그램만으로 계산하기는 현실적으로 매우 어려우므로 이를 개선하기 위해 신약개발자를 위한 전문 프로그램을 활용하는 것이 효율적이다. 가장 대표적인 프로그램으로 SimulationsPlus사에서 개발한 GastroPlusTM가 있다.

인체의 생체이용률 예측(Human bioavailability prediction)

최근 신약개발에서는 개발하는 약물의 투여경로가 매우 다양하다. 하지만 앞서 설명한 인체의 청소율과 분포용적의 예측방법들은 모두 생체이용률이 고려되지 않은 청소율과 분포용적을 말한다. 즉, 약물 (또는 신약후보물질)의 투여경로가 정맥투여 일 때 예측되는 인체의 청소율과 분포용적이다. 따라서 개발하려는 약물이 혈관외(extravascular) 투여경로를 가진다면 추가로 인체의 생체이용률을 예측하여 이를 반영하여야만 한다.

혈관의 투여경로 중 경구투여는 흡수에 관한 기전($F = F_a \times F_g \times F_h$) 이 가장 잘 알려져 있으므로 인체의 생체이용률을 예측하는 함수가 비교적 논리적이다. 경구로 투여되는 약물에 대하여 인체의 생체이용률을 예측하는 방법에는 Caco-2 cell을 이용한 방법, 병렬 인공막 투과성 분석(parallel artificial membrane permeability assay; PAMPA)을 이용한 방법, 고정 인공막 크로마토그래피 분석(immobilized artificial membrane chromatographic assay)을 이용한 방법, 그리고 in vitro 데이터와 실험동물로부터 얻어진 in vivo 데이터를 모두 활용하는 방법 등이 있다.

Caco-2 cell과 PAMPA는 신약개발 초기 단계에서 이미 널리 사용하는 in vitro 시험법으로써 이를 통해 겉보기 투과성 상수(The apparent permeability coefficient; P_{app})를 산출하여 경구투여 시 생체이용률을 예측하는 방법이다(Eq. 31,32).^{95,96)}

Caco-2 cell method

$$F_a(\%) = 1.95 \times \ln(P_{app}) + 24.4 \quad (\text{Eq. 31})$$

PAMPA method

$$F_a(\%) = \{1 - \exp(6.2111 \times 10^5 \times P_{app})\} \times 100 \quad (\text{Eq. 32})$$

고정 인공막 크로마토그래피 분석법은 용질용량인자 (solute capacity factor; K_{IAM})를 산출하여 경구투여 시 생체이용률을 예측하는 방법 이다(Eq. 33).^{97,98)}

$$F_a = 100 / \left\{ 1 + \left(\frac{10^{\text{Log}K_{IAM50\%}}}{10^{\text{Log}K_{IAM}}} \right)^{\text{slope}} \right\} \quad (\text{Eq. 33})$$

이러한 in vitro 시험계를 통한 생체이용률 예측 방법은 간단하고 초기에 적은 데이터만으로 예측할 수 있다는 장점이 있지만, 흡수에 관여하는 다양한 인자를 반영하지 못한다는 한계점을 가지고 있다. 특히 흡수의 과정에서 특정 수송체를 경유하는 경우에는 더욱 그러하다. 또한 대체로 생체이용률을 예측하고자 하는 시점이 이미 실험동물을 이용한 약물동태학적 정보를 확보한 상황이라면 in vitro 데이터와 in vivo 데이터를 모두 적극 활용하여 생체이용률을 예측할 수 있다.

In vivo 데이터만 사용할 경우에는 인체의 생체이용률을 잘 반영할 것으로 예상되는 적절한(appropriate) 동물종의 생체이용률을 그대로 사용하거나 여러 종으로부터 산출한 생체이용률의 평균값을 사용하는 것이다.⁵⁰⁾ 하지만 약물의 물리화학적 특징을 나타내는 in vitro 데이터나 in silico 데이터를 in vivo 데이터와 연결하여 종합적으로 산출할 수 있다.^{51,52)} 또한 보다 객관적인 근거를 기반으로 보다 많은 예측 결과를 나타내기 위하여 생리학적인 기반의 약물동태 모델을 통해 생체이용률을 예측하기도 한다. 대표적으로 GastroPlusTM, PKSim[®], IDEATM, and Simcyp[®]와 같은 전문프로그램에서 사용하는 advanced compartmental absorption and transit (ACAT) 모델 이 있다. 이와 같은 방법은 인체의 생체이용률 뿐만 아니라 인체의 흡수속도 상수를 예측하는데에도 매우 유용하다.

고 찰

본 연구에서는 초기임상시험 용량 예측에 사용되는 연구기 술과 수학적 함수를 종합하여 비교 분석하였다. 초기임상시험 용량 예측 방법에는 기존약물을 활용하는 방법, 허가기관에서 발행하는 가이드라인에서 제시하는 방법, 약물동태학을 이용한 방법이 있다. 3가지 방법 모두 선택할 수 있지만, 약물동태학을 이용하는 방법은 초기임상시험 용량 뿐만 아니라 보다 많은 예측 정보를 제공함으로써 시뮬레이션을 통한 임상시험 디자인 설계가 가능하다. 이는 보다 효율적인 신약개발을 가능하게 함으로써 그 성공률 향상에 기여한다.

약물동태학을 이용한 방법에서는 각 약물동태학적 파라미터를 예측하여야 한다. 주요 약물동태학적 파라미터에는 청소율과 분포용적이 있다. 또한 투여경로가 정맥투여가 아닌 혈

관외 경로를 가질 경우에는 약물동태학적 파라미터로 생체이용률 및 흡수속도상수가 요구된다. 본 논문에서 8가지의 인체의 청소율을 예측하는 방법, 5가지의 인체의 분포용적을 예측하는 방법, 4가지의 생체이용률을 예측하는 방법에 대하여 기술하였다. 이는 Dedrick plot을 이용한 방법, C_{ss} -MRT 방법, 생리학 기반 약물동태 모델(physiologically based pharmacokinetic model; PBPK model)을 이용한 방법, 그리고 약물동태/약물동력학 모델(pharmacokinetic/pharmacodynamics model; PK/PD model) 등 인체의 시간에 따른 혈중 약물농도 프로파일을 예측하기 위한 방법에 필요한 필수 정보를 제공한다.

2004년 미국 FDA는 “Critical Path Opportunities Reports”를 통하여 신약개발의 성공률은 단순히 많은 시간과 비용의 투자만으로 향상시킬 수 없으며, critical path tool을 적극 활용함으로써 효율적인 신약개발하여야 한다고 발표하였다. 그리고 critical path tool에는 질환동물모델 개발, 바이오마커의 발굴, 약물동태-약물동력학 모델링 및 시뮬레이션을 통한 임상시험 설계, 품질평가 기술 도입 등이 해당된다. 이러한 혁신적인 FDA의 보고서 내용은 컴퓨터 기술의 발달 및 데이터의 전산화 등 관련 기발기술의 향상과 함께 10년도 안되어서 신약개발의 필수 요건이자 국제적인 개발 동향이 되었다.

특히 약물계량학을 이용한 효율적인 신약개발은 기존 데이터를 적극 활용함으로써 기존에 알지 못하였던 상관관계를 규명하는데에 요점을 두고 있다. 그리고 그 상관관계를 수학 함수식으로 나타냄으로써 보다 객관적이고 연구자들이 적용하는데에 용이하도록 하고 있다. 그 중에서도 초기 임상시험 용량을 예측하는 방법들은 여러 논문을 통해 잘 알려져 있으며, 현재까지도 꾸준히 새로운 방법들이 제안되고 있다. 본 논문에서는 산발적으로 제안되었거나 장점만을 강조하기 위한 목적으로 기술된 기존의 논문에서 탈피하여 모든 방법들을 객관성있게 기술함으로써 국내 신약개발 연구자들이 가지고 있는 데이터와 연구목적에 맞게 올바른 예측 방법을 선택할 수 있도록 도움을 주고 있다.

최근 국내에서도 신약개발과 임상시험이 활성화됨에 따라 비임상시험 중심의 신약개발에서 임상시험 중심의 신약개발 방향으로 전환하고 있다. 이에 따라 본 논문에 기술한 방법들에 대한 정보 요구가 점점 증가하는 추세이다. 하지만 단순히 기존의 수학 함수 중 연구자의 상황에 맞는 함수를 선택하여 용량을 예측하는 것으로는 부족하다. 용량예측에 사용한 함수를 선택한 근거와 이유가 명확하여야만 제3자에게 신뢰를 확보할 수 있다. 즉, 함수에서 가정한 사항이 무엇이고, 사용한 상수의 근거가 무엇인지 이해하려는 노력이 필요하다. 또한 예측기술을 연구자가 인위적으로 원하는 결과가 나오도록 하거나 신약개발에 필요한 필수자료를 갈음(waiver)하기 위한 목적으로 사용하여서는 안된다. 이는 마치 통계에서 결론을 정해놓고 통계 방법을 선정하는 것과 같은 이치이다. 따라서 용

량 예측 연구기술은 가능한 많은 정보를 바탕으로 신중하게 접근할 필요가 있다.

결 론

본 연구에서는 초기임상시험 용량 예측에 사용되는 연구기술과 수학적 함수를 종합하여 비교 분석하였다. 초기임상시험 용량 예측 방법에는 각각 기존약물을 활용하는 방법, 허가기관에서 발행하는 가이드라인에서 제시하는 방법, 약물동태학을 이용한 방법이 있다. 또한 약물동태학을 이용한 방법에서 필요한 각 약물동태학적 파라미터를 예측하는 방법으로 8가지의 인체의 청소율을 예측하는 방법, 5가지의 인체의 분포용적을 예측하는 방법, 4가지의 생체이용률을 예측하는 방법에 대하여 비교 설명하였다.

감사의 말씀

이 논문은 2013학년도 경성대학교 신입교수정착연구비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Adams CP, Brantner VV. Estimating the cost of new drug development: is it really 802 million dollars? *Health Aff* 2006; 25(2):420-8.
2. DiMasi JA, Feldman L, Seckler A, *et al.* Trends in risks associated with new drug development: success rates for investigational drugs. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87(3):272-7.
3. Biotech Policy Research Center. Investigation of current stage and R&D cost for revitalization of domestic drug discovery & development, 2010; 8-24.
4. Blume-Kohout ME, Sood N. Market Size and Innovation: Effects of Medicare Part D on Pharmaceutical Research and Development. *J Public Econ* 2013;97:327-36.
5. Morgan SG, Cunningham CM, Law MR. Drug development: Innovation or imitation deficit? *Br Med J* 2012;345:e5880.
6. Chung TD. Collaborative pre-competitive preclinical drug discovery with academics and pharma/biotech partners at Sanford|Burnham: infrastructure, capabilities & operational models. *Comb Chem High Throughput Screen* 2014;17(3):272-89.
7. DiMasi JA, Hansen RW, Grabowski HG. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *J Health Econ* 2003;22(2):151-85.
8. Korea Drug Research Association. Status of new drug approvals in Korea, May 2016. Available from <http://www.kdra.or.kr/website/03web02.php>. Accessed May 13, 2016.
9. Zou P, Yu Y, Zheng N, *et al.* Applications of human pharmacokinetic prediction in first-in-human dose estimation. *AAPS J* 2012;14(2):262-81.
10. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *Fed Am Soc Exp Biol J* 2008;22(3):659-61.
11. Morgan P, Van Der Graaf PH, Arrowsmith J, *et al.* Can the flow of medicines be improved? Fundamental pharmacokinetic and pharmacological principles toward improving Phase II survival. *Drug Discov. Today*

- 2012;17(9-10):419-24.
12. US Food and Drug Administration (2005). Guidance for industry-Estimating the maximum safe dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. US Food and Drug Administration: Rockville, MD.
 13. Mahmood I. Application of allometric principles for the prediction of pharmacokinetics in human and veterinary drug development. *Adv Drug Deliv Rev* 2007;59(11):1177-92.
 14. Reigner BG, Blesch KS. Estimating the starting dose for entry into humans: principles and practice. *Eur J Clin Pharmacol* 2002;57(12): 835-45.
 15. Sharma V, McNeill JH. To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation. *Br J Pharmacol* 2009;157(6):907-21.
 16. Ring BJ, Chien JY, Adkison KK, *et al.* PhRMA CPCDC initiative on predictive models of human pharmacokinetics, part 3: comparative assessment of prediction methods of human clearance. *J Pharm Sci* 2011;100(10):4090-110.
 17. Mahmood I. Interspecies scaling: role of protein binding in the prediction of clearance from animals to humans. *J Clin Pharmacol* 2000; 40(12 Pt 2):1439-46.
 18. Boxenbaum H, Fertig JB. Scaling of antipyrine intrinsic clearance of unbound drug in 15 mammalian species. *Eur J Drug Metab Pharmacokin* 1984;9(2):177-83.
 19. Mahmood I. Prediction of human drug clearance from animal data: application of the rule of exponents and 'fu Corrected Intercept Method' (FCIM). *J Pharm Sci* 2006;95(8):1810-21.
 20. Nagilla R, Ward KW. A comprehensive analysis of the role of correction factors in the allometric predictivity of clearance from rat, dog, and monkey to humans. *J Pharm Sci* 2004;93(10):2522-34.
 21. Houston JB. Utility of in vitro drug metabolism data in predicting in vivo metabolic clearance. *Biochem Pharmacol* 1994;47(9):1469-79.
 22. Obach RS. The prediction of human clearance from hepatic microsomal metabolism data. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2001;4(1):36-44.
 23. Shibata Y, Takahashi H, Chiba M, *et al.* Prediction of hepatic clearance and availability by cryopreserved human hepatocytes: an application of serum incubation method. *Drug Metab Dispos* 2002;30(8):892-6.
 24. Goteti K, Garner CE, Mahmood I. Prediction of human drug clearance from two species: a comparison of several allometric methods. *J Pharm Sci* 2010;99(3):1601-13.
 25. Mahmood I. Role of fixed coefficients and exponents in the prediction of human drug clearance: how accurate are the predictions from one or two species? *J Pharm Sci* 2009;98(7):2472-93.
 26. Hakooz N, Ito K, Rawden H, *et al.* Determination of a human hepatic microsomal scaling factor for predicting in vivo drug clearance. *Pharm Res* 2006;23(3):533-9.
 27. Ito K, Houston JB. Comparison of the use of liver models for predicting drug clearance using in vitro kinetic data from hepatic microsomes and isolated hepatocytes. *Pharm Res* 2004;21(5):785-92.
 28. Niro R, Byers JP, Fournier RL, *et al.* Application of a convective-dispersion model to predict in vivo hepatic clearance from in vitro measurements utilizing cryopreserved human hepatocytes. *Curr Drug Metab* 2003;4(5):357-69.
 29. Soars MG, Burchell B, Riley RJ. In vitro analysis of human drug glucuronidation and prediction of in vivo metabolic clearance. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301(1):382-90.
 30. Brown HS, Griffin M, Houston JB. Evaluation of cryopreserved human hepatocytes as an alternative in vitro system to microsomes for the prediction of metabolic clearance. *Drug Metab Dispos* 2007;35(2): 293-301.
 31. Naritomi Y, Terashita S, Kimura S, *et al.* Prediction of human hepatic clearance from in vivo animal experiments and in vitro metabolic studies with liver microsomes from animals and humans. *Drug Metab Dispos* 2001;29(10):1316-24.
 32. Naritomi Y, Terashita S, Kagayama A, *et al.* Utility of hepatocytes in predicting drug metabolism: comparison of hepatic intrinsic clearance in rats and humans in vivo and in vitro. *Drug Metab Dispos* 2003;31(5): 580-8.
 33. Zuegge J, Schneider G, Coassolo P, *et al.* Prediction of hepatic metabolic clearance: comparison and assessment of prediction models. *Clin Pharmacokin* 2001;40(7):553-63.
 34. Fagerholm U. Prediction of human pharmacokinetics—improving microsome-based predictions of hepatic metabolic clearance. *J Pharm Pharmacol* 2007;59(10):1427-31.
 35. Obach RS. Prediction of human clearance of twenty-nine drugs from hepatic microsomal intrinsic clearance data: an examination of in vitro half-life approach and nonspecific binding to microsomes. *Drug Metab Dispos* 1999;27(11):1350-9.
 36. Stringer R, Nicklin PL, Houston JB. Reliability of human cryopreserved hepatocytes and liver microsomes as in vitro systems to predict metabolic clearance. *Xenobiotica* 2008;38(10):1313-29.
 37. Skaggs SM, Foti RS, Fisher MB. A streamlined method to predict hepatic clearance using human liver microsomes in the presence of human plasma. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006;53(3):284-90.
 38. Stringer RA, Strain-Damerell C, Nicklin P, *et al.* Evaluation of recombinant cytochrome P450 enzymes as an in vitro system for metabolic clearance predictions. *Drug Metab Dispos* 2009;37(5):1025-34.
 39. Galetin A, Brown C, Hallifax D, *et al.* Utility of recombinant enzyme kinetics in prediction of human clearance: impact of variability, CYP3A5, and CYP2C19 on CYP3A4 probe substrates. *Drug Metab Dispos* 2004;32(12):1411-20.
 40. Kilford PJ, Stringer R, Sohal B, *et al.* Prediction of drug clearance by glucuronidation from in vitro data: use of combined cytochrome P450 and UDP-glucuronosyltransferase cofactors in alamethicin-activated human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 2009;37(1):82-9.
 41. Wajima T, Fukumura K, Yano Y, *et al.* Prediction of human clearance from animal data and molecular structural parameters using multivariate regression analysis. *J Pharm Sci* 2002;91(12):2489-99.
 42. Nikolic K, Agababa D. Prediction of hepatic microsomal intrinsic clearance and human clearance values for drugs. *J Mol Graph Model* 2009;28(3):245-52.
 43. Schneider G, Coassolo P, Lave T. Combining in vitro and in vivo pharmacokinetic data for prediction of hepatic drug clearance in humans by artificial neural networks and multivariate statistical techniques. *J Med Chem* 1999;42(25):5072-6.
 44. Jones RD, Jones HM, Rowland M, *et al.* PhRMA CPCDC initiative on predictive models of human pharmacokinetics, part 2: comparative assessment of prediction methods of human volume of distribution. *J Pharm Sci* 2011;100(10):4074-89.
 45. Fagerholm U. Prediction of human pharmacokinetics—evaluation of methods for prediction of volume of distribution. *J Pharm Pharmacol* 2007;59(9):1181-90.
 46. Ward KW, Smith BR. A comprehensive quantitative and qualitative evaluation of extrapolation of intravenous pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey to humans. II. Volume of distribution and mean residence time. *Drug Metab Dispos* 2004;32(6):612-9.
 47. Mahmood I. Prediction of absolute bioavailability for drugs using oral and renal clearance following a single oral dose: a critical view. *Biopharm Drug Dispos* 1997;18(6):465-73.

48. Stoner CL, Cleton A, Johnson K, *et al.* Integrated oral bioavailability projection using in vitro screening data as a selection tool in drug discovery. *Int J Pharm* 2004;269(1):241-9.
49. Kesisoglou F, Wu Y. Understanding the effect of API properties on bioavailability through absorption modeling. 2008;10(4):516-25.
50. Cao X, Gibbs ST, Fang L, *et al.* Why is it challenging to predict intestinal drug absorption and oral bioavailability in human using rat model. *Pharm Res* 2006;23(8):1675-86.
51. Andrews CW, Bennett L, Yu LX. Predicting human oral bioavailability of a compound: development of a novel quantitative structure-bioavailability relationship. *Pharm Res* 2000;17(6):639-44.
52. Yoshida F, Topliss JG. QSAR model for drug human oral bioavailability. *J Med Chem* 2000;43(13):2575-85.
53. Poulin P, Jones RD, Jones HM, *et al.* PHRMA CPCDC initiative on predictive models of human pharmacokinetics, part 5: prediction of plasma concentration-time profiles in human by using the physiologically-based pharmacokinetic modeling approach. *J Pharm Sci* 2011;100(10):4127-57.
54. Obach RS, Baxter JG, Liston TE, *et al.* The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and in vitro metabolism data. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283(1):46-58.
55. Hosea NA, Collard WT, Cole S, *et al.* Prediction of human pharmacokinetics from preclinical information: comparative accuracy of quantitative prediction approaches. *J Clin Pharmacol* 2009;49(5):513-33.
56. Houston JB, Galetin A. Progress towards prediction of human pharmacokinetic parameters from in vitro technologies. *Drug Metab Rev* 2003;35(4):393-415.
57. Agoram BM. Use of pharmacokinetic/pharmacodynamics modelling for starting dose selection in first-in-human trials of high-risk biologics. *Br J Clin Pharmacol* 2009;67(2):153-60.
58. Heimbach T, Lakshminarayana SB, Hu W, *et al.* Practical anticipation of human efficacious doses and pharmacokinetics using in vitro and preclinical in vivo data. 2009;11(3):602-14.
59. Ward KW, Smith BR. A comprehensive quantitative and qualitative evaluation of extrapolation of intravenous pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey to humans. II. Volume of distribution and mean residence time. *Drug Metab Dispos* 2004;32(6):612-9.
60. Obach RS, Lombardo F, Waters NJ. Trend analysis of a database of intravenous pharmacokinetic parameters in humans for 670 drug compounds. *Drug Metab Dispos* 2008;36(7):1385-405.
61. Wajima T, Yano Y, Fukumura K, *et al.* Prediction of human pharmacokinetic profile in animal scale up based on normalizing time course profiles. *J Pharm Sci* 2004;93(7):1890-900.
62. Fura A, Vyas V, Humphreys W, *et al.* Prediction of human oral pharmacokinetics using nonclinical data: examples involving four proprietary compounds. *Biopharm Drug Dispos* 2008;29(8):455-68.
63. Gibson CR, Bergman A, Lu P, *et al.* Prediction of phase I single-dose pharmacokinetics using recombinant cytochromes P450 and physiologically based modelling. 2009;39(9):637-48.
64. Lowe PJ, Tannenbaum S, Wu K, *et al.* On setting the first dose in man: quantitating biotherapeutic drug-target binding through pharmacokinetic and pharmacodynamic models. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010;106(3):195-209.
65. De Buck SS, Sinha VK, Fenu LA, *et al.* Prediction of human pharmacokinetics using physiologically based modeling: a retrospective analysis of 26 clinically tested drugs. *Drug Metab Dispos* 2007;35(10):1766-80.
66. Jones HM, Parrott N, Jorga K, *et al.* A novel strategy for physiologically based predictions of human pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinetics* 2006;45(5):511-42.
67. Dokoumetzidis A, Kosmidis K, Argyrakis P, *et al.* Modeling and Monte Carlo simulations in oral drug absorption. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005;96(3):200-5.
68. Dokoumetzidis A, Kalantzi L, Fotaki N. Predictive models for oral drug absorption: from in silico methods to integrated dynamical models. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007;3(4):491-505.
69. Badhan R, Penny J, Galetin A, *et al.* Methodology for development of a physiological model incorporating CYP3A and P-glycoprotein for the prediction of intestinal drug absorption. *J Pharm Sci* 2009;98(6):2180-97.
70. Reigner BG, Williams PE, Patel IH, *et al.* An evaluation of the integration of pharmacokinetic and pharmacodynamic principles in clinical drug development. Experience within Hoffmann La Roche. *Clin Pharmacol Ther* 1997;33(2):142-52.
71. Blackwell B, Martz BL. For the first time in man. *Clin Pharmacol Ther* 1972;13(5):812-26.
72. US Food and Drug Administration (2005). Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Adult Healthy Volunteer. US Food and Drug Administration: Rockville, MD.
73. Contrera JF, Matthews EJ, Kruhlak NL, *et al.* Estimating the safe starting dose in phase I clinical trials and no observed effect level based on QSAR modeling of the human maximum recommended daily dose. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2004;40(3):185-206.
74. Rennen MAJ, Hakkert BC, Stevenson H, *et al.* Data-based derived values for the inter-species extrapolation, a quantitative analysis of historical toxicity data. *Comments Toxicol* 2001;7:423-36.
75. West GB, Brown JH. The origin of allometric scaling laws in biology from genomes to ecosystems: towards a quantitative unifying theory of biological structure and organization. *J Exp Biol* 2005;208:1575-92.
76. Bokkers BG, Slob W. Deriving a data-based interspecies assessment factor using the NOAEL and the benchmark dose approach. *Crit Rev Toxicol* 2007;37: 355-73.
77. Suntharalingam G, Perry MR, Ward S, *et al.* Cytokine storm in a phase I trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006;355(10):1018-28.
78. European Medicines Agency. Guideline on strategies to identify and mitigate risks for first-in-human clinical trials with investigational medicinal products. 2007.
79. Lowe PJ, Hijazi Y, Luttringer O, *et al.* On the anticipation of the human dose in first-in-man trials from preclinical and prior clinical information in early drug development. *Xenobiotica* 2007;37(10-11):1331-54.
80. Tang H, Mayersohn M. A global examination of allometric scaling for predicting human drug clearance and the prediction of large vertical allometry. *J Pharm Sci* 2006;95(8):1783-99.
81. Iavarone L, Hoke JF, Bottacini M, *et al.* First time in human for GV196771: interspecies scaling applied on dose selection. *J Clin Pharmacol* 1999;39(6):560-6.
82. Mahmood I, Green MD, Fisher JE. Selection of the first-time dose in humans: comparison of different approaches based on interspecies scaling of clearance. *J Clin Pharmacol* 2003;43(7):692-7.
83. Sheiner LB, Steimer JL. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling in drug development. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000;40:67-95.
84. Yun HY, Baek IH, Seo JW, *et al.* The role of PK/PD modeling and simulation in model-based new drug development. *Kor J Clin Pharm* 2008;18(2):84-96.
85. Lave T, Coassolo P, Reigner B. Prediction of hepatic metabolic clearance based on interspecies allometric scaling techniques and in vitro-in vivo correlations. *Clin Pharmacokinetics* 1999;36(3):211-31.

86. Chiba M, Ishii Y, Sugiyama Y. Prediction of hepatic clearance in human from in vitro data for successful drug development. *2009*;11(2):262-76.
87. Ito K, Houston JB. Prediction of human drug clearance from in vitro and preclinical data using physiologically based and empirical approaches. *Pharm Res* 2005;22(1):103-12.
88. Lave T, Dupin S, Schmitt C, *et al.* The use of human hepatocytes to select compounds based on their expected hepatic extraction ratios in humans. *Pharm Res* 1997;14(2):152-5.
89. Fagerholm U. The role of permeability in drug ADME/PK, interactions and toxicity—presentation of a permeability-based classification system (PCS) for prediction of ADME/PK in humans. *Pharm Res* 2008;25(3):625-38.
90. Tang H, Hussain A, Leal M, *et al.* Interspecies prediction of human drug clearance based on scaling data from one or two animal species. *Drug Metab Dispos* 2007;35(10):1886-93.
91. Tang H, Mayersohn M. A novel model for prediction of human drug clearance by allometric scaling. *Drug Metab Dispos* 2005;33(9):1297-303.
92. Lave T, Dupin S, Schmitt C, *et al.* Integration of in vitro data into allometric scaling to predict hepatic metabolic clearance in man: application to 10 extensively metabolized drugs. *J Pharm Sci* 1997;86(5):584-90.
93. Jones RD, Jones HM, Rowland M, *et al.* PhRMA CPCDC initiative on predictive models of human pharmacokinetics, part 2: comparative assessment of prediction methods of human volume of distribution. *J Pharm Sci* 2011;100(10):4074-89.
94. Sawada Y, Hanano M, Sugiyama Y, *et al.* Prediction of the volumes of distribution of basic drugs in humans based on data from animals. *J Pharmacokinet Biopharm* 1984;12(6):587-96.
95. Yee S. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth. *Pharm Res* 1997;14(6):763-6.
96. Kansy M, Senner F, Gubernator K. Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes. *J Med Chem* 1998;41(7):1007-10.
97. Sugano K, Hamada H, Machida M, *et al.* Optimized conditions of biomimetic artificial membrane permeation assay. *Int J Pharm* 2001;228(1-2):181-8.
98. Pidgeon C, Ong S, Liu H, *et al.* IAM chromatography: an in vitro screen for predicting drug membrane permeability. *J Med Chem* 1995;38(4):590-4.