건강한 성인에서 아토르바스타틴 경구흡수과정의 집단약동학 분석

가톨릭대학교 의과대학 약리학교실¹, 가톨릭대학교 강남성모병원 임상약리학과²,
가톨릭중앙의료원 임상연구지원센터³

채홍석², 안병진², 한승훈^{1,2}, 김지면³, 도기찬², 나현오¹, 임동석^{1,2}

=Abstract=

Population Pharmacokinetic Analysis of the oral Absorption Process of Aforuastatin in Healthy Volunteers

Hong-Seok Chae, Byung-Jin Ahn, Seung Hoon Han, Jimyon Kim,
Kichan Doh, Hyon-oh Lah, Dong-Seok Yim

Department of Pharmacology and Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, the Catholic University of
Korea. CMC Clinical Research Coordinatiry Center.

Backgrounds: Atorvastatin which has a highly variable pharmacokinetic profile often shows double peaks. However, in most cases it has been regarded as a noise or assay error. In this study we compared 4 different absorption models (zero order, 1st order, combined and parallel absorption model) to determine which model best describes the absorption process. Methods: Plasma atorvastatin data of 57 healthy subjects from two bioequivalence studies were used. Concentrations were measured up to 48 hours after drug administration. Mixed effect analysis to compare the 4 absorption models was performed using NONMEM version 6.0. Results: The absorption process was best described by combined absorption model. CL/F and Vd/F were 400L/h and 779L, respectively, and KA and D were 0.09 hr⁻¹ and 0.53 hr⁻¹, respectively.

Conclusion: Although the combined absorption model did not fully describe the double peaks, this study demonstrated that absorption models other than simple first or zero order absorption are necessary to describe the double peaks phenomenon. .

Keywords: Atorvastatin, Absorption model, Population pharmacokinetics.

서 론

아토르바스타틴은 HMG CoA reductase inhibitor로써 혈중 LDL 콜레스테롤의 함량을 감소시키는데 사용된다. 주로 간에서 대사되며 생체 이용률의 변이가 큰 약물로 알려져 있다. 이처럼 생체이용률이 불안정한 약물은 약동학 연구시 중

중 double peak를 나타내는 경우를 관찰할 수가 있다. 대부분의 경우 이러한 자료는 채혈이나 분석 과정에서의 잔차 (residual error)로 취급되며 이 때 약물의 흡수기는 흔히 쓰이는 흡수 모델인 1차 흡수 모델을 따른다고 가정한다. 그러나 double peak를 무시하고 잔차로 간주하는 것이 반드시 옳다는 근거는 없다. Double peak는

교신저자: 임동석
소 속: 가톨릭대학교 의과대학 약리학교실
주 소: 서울시 서초구 반포동 505번지 (우편번호 137-701)
전 화: (02) 590-1201 FAX: (02)536-2485 E mail: yimds@catholic.ac.kr

ranitidine¹⁾, diltiazem²⁾ 등 여러 가지 약물에서 관찰되어 왔는데 기존의 구획 모델로는 fitting을 하기 어려워서 장간순환 (enterohepatic recycling) 모델, physiological flow 모델³⁾, Spline 함수의 적용²⁾ 등의 방법들이 제시되어 왔다. 본 연구에서는 아토르바스타틴을 경구 투여하였을 때 얻어진 자료에 여러 흡수모델을 적용하여 적합한 모델을 구하였다. 전형적인 흡수 모델로는 1차 및 0차 흡수 모델을 사용하였으며 이 외에도 multiple fraction 모델⁴⁾을 적용한 combined absorption 모델과 parallel absorption 모델을 사용하였다⁵⁾.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

2008년에 수행한 2건의 아토르바스타틴의 생물학적동등성시험에 참여한 피험자로써 이상체중 20%이내의 병력이 없고 시험 개시 이전 10일 이내에 타 약물을 복용하지 않은 20~55세 사이의 성인을 대상으로 시험 개시 전 한달 이내에 임상 검사 및 진찰을 시행하여 선정기준 및 제외기준을 통과하여 건강한 자로 판명된 60명에서 얻어진 약동학적 자료를 분석하였다. 이중 본 연구의 대상이 되는 대조약 (Lipitor, Pfizer)을 복용한 피험자는 57명이었다. 본 임상시험계획서는 가톨릭대학

교 강남성모병원 임상시험심사위원회에서 검토 및 승인되었다. 시험에 참여하는 모든 자원자들은 그들이 이해할 수 있는 언어로 임상시험 내용에 대하여 충분히 설명을 들은 후 동의서에 서명을 하고 임상시험에 참여하였다. 두 번의 임상시험이 시행되었으며 이에 참여한 피험자의 연령은 26.7±7.1세, 체중은 64.7±8.9kg, 키는 171.7±6.9이었다. (표 1)

2. 연구방법

1) 투약 및 채혈

2008년에 수행한 생물학적동등성시험으로써 피험자마다 atorvastatin 40mg (Lipitor 10mg 제형4정 or 20mg 제형 2정, pfizer)과 이와 성상이 같은 시험약을 7일간의 휴약기를 가지고 각각1회 경구로 투여 받는 교차시험설계에 의한 공개, 무작위 배정 시험으로 진행하였다. 피험자 전원은 투약전 일 오후 6시까지 가톨릭중앙의료원 임상연구지원센터 연구병실에 오도록 하였으며 동일한 식식을 제공한 후 오후 10시 이후부터 투약 후 4시간까지는 공복을 유지하도록 하였으며 입원하는 동안 카페인이나 알코올이 들어가는 음료의 섭취와 흡연을 제한하였다. 약은 240ml 물과 함께 복용시켰다. 채혈은 투약직전 상박부에 거치한 heparin-locked 정맥내 카테터(100ml/unit)에서 시행하였

Table 1. Subject demographics

Characteristics	Atorvastatin 20mg	Atorvastatin 10mg	Total
Number of patients	29	28	57
Age	28.8±7.8	24.5±5.8	26.7±7.1
Sex	M (29)	M(18), F(10)	M(47), F(10)
Height	173.7±6.3	169.7±6.9	171.7±6.9
Weight	66.8±9.3	62.6±8	64.7±8.9

다. 채혈시 채혈 세트 안에 남아있는 헤파린 처리 생리 식염수를 완전히 제거하기 위해 약 1ml의 혈액을 제거 후 약 7ml의 혈액을 채취하고 다시 카테터 안에 잔류하는 혈액의 응고방지를 위하여 헤파린 처리 식염수를 1ml가량 주입하였다. 채혈은 투약직전 공혈액을 1회 채취하고 그 후 0.33hr, 0.66hr, 1hr, 1.5hr, 2hr, 2.5hr, 3hr, 3.5hr, 4hr, 6hr, 8hr, 10hr, 12hr, 24hr, 36hr, 48hr에 걸쳐 총 17회에 걸쳐 채혈을 하였다^{6,7)} 채혈된 혈액은 3000rpm에서 10분간 원심 분리한 후 혈장 1mL을 취하여 1.5mL tube에 옮겨 담고, 약물 분석 시까지 -70°C 보관하였다

2) 혈장 atorvastatin 농도 측정

혈장 아토르바스타틴의 농도의 분석⁸⁾은 LC/MS/MS법으로 측정하였다. LLOQ는 0.1ng/ml이며 LLOQ의 일내변이의 정밀도, 정확도는 각각 3.99%와 95.26%이었으며 일간변이는 측정되지 않았다. 고정상은 5 μ m의 Luna C₁₈ (100nm*2.0mm,

Phenomenex, USA)를 사용하였으며 이동상은 1mM ammonium acetate와 acetonitrile(CH₃CN)을 30:70 (vol : vol)으로 혼합한 후 acetic acid로 pH5.0을 맞춘 다음 사용하였다. Pump는 Sym-biosis pharma system (SparkHolland, Netherlands)를 사용하였으며 flow rate는 0.3ml/min였다. Atorvastatin을 tandem mass spectrometer (API 4000, applied biosystems, USA)로 검출하였고 농도는 peak area ratio에 의하여 표준검량선 (standard curve)에서 산출하였다. 혈장 atorvastatin측정을 위한 내부표준물질(internal standard)로는 D5-atorvastatin을 사용하였다. 각 sample의 혈장500ul에 내부표준물질 D5-atorvastatin(1000ng/ml, 50% acetonitrile) 50ul, 100mM ammonium acetate (pH4.2 with acetic acid) 100ul와 Methyl tert-butyl ether 3ml을 혼합한 후 원심 분리한 다음 유기층만을 취하였다. 그 후 이를 증발 시킨 다음 50% acetonitrile 150ul를 가한 후 다시 원심 분리를 한 후 상층액 10ul를 LC/MS/MS에 주입

Figure 1. Concentration-time profiles of Atorvastatin obtained from 57 healthy volunteers (Dot: observed concentration, solid line: 95%, dashed line: 50%, dotted line: 5%) (Graph was truncated at 10h point to emphasize the absorption phase)

하여 측정하였다.

3) 약동학 분석

자료는 57명에게서 얻어졌다. 56명은 투약 후 48시간까지의 혈중농도가 얻어졌으나 1명은 투약 후 10시간까지의 혈중농도가 얻어졌다. 그림 1은 혈중 약물 농도-시간 그래프를 그린 것이다. 대부분의 피험자에서 투약 후 0.33~1시간째 채혈에서 혈중 최고 농도를 나타내었다. 그러나 57명중 22명의 피험자에서는 혈중 최고 농도 이후에 농도가 지속적으로 감소하지 않고 두 번째 최고 농도를 보였다. 이를 위해 적용된 흡수 모델로는 그림 2와 같은 1개의 input을 지니는 1차와 0차 흡수 모

델과 2개의 input을 지니는 combined absorption 모델과 parallel absorption model을 적용하였다. 혈중 농도를 로그 변환한 후 scatter plot을 그렸을 때 제거기가 직선의 양상을 보여 제거 모델은 1차 제거 모델을 적용하였다. 개인간 변이는 exponential error 모델을 적용하였으며 약동학 파라미터 간에 correlation은 없는 것으로 가정하였다. 개인내 변이는 combined error 모델을 적용하였다. Combined absorption model과 parallel absorption model에서 fraction을 구함에 있어서는 $F1 = \text{EXP}(\Theta + \mu) / (1 + \text{EXP}(\Theta + \mu))$, $F2 = 1 - F1$ 과 같이 변환하였다. 집단약동학적 파라미터는 NONMEM version 6.0 (Icon Development Solution, Ellicott

Figure 2. Four different absorption models

City, MD, USA) 프로그램으로 구하였다. Estimation method는 FO, FOCE 그리고 FOCEI를 사용하였으나 1차와 0차 흡수 모델 이외에는 최적화 과정의 시간이 길고 수렴이 쉽지 않아서 모두 FO method를 사용하였다. 모델의 평가는 적합도 기준(goodness of fit criteria)에 따라 관측치와 집단 예측치 혹은 개별 예측치의 분포나 잔차의 분포등을 육안으로 검토하였으며 Akaike information criteria (AIC)의 크기를 비교하였다. 기본 모델을 선택한 후 각 파라미터에 대하여 피험자의 신장 정보를 covariate로써 forward selection 및 backward elimination으로 탐색을 하였으며 이의 선택은 기본model의 선택기준과 같았다. 최종모델에 대한 검증을 위하여 Bootstrap을 1000번 시행하였다.

결 과

1. 기본모델 선정

1차 및 0차 흡수 모델은 모두 lag time을 포함하였을 때 AIC가 각각 최소값을 보였다. (1차: 2564.2, 0차: 2767.3) Combined absorption 모델에서는 0차 흡수의 $\omega_{LAG1}=0$, 1차 흡수의 $\theta_{LAG2}=0$ 으로 고정하였고 parallel absorption 모델에서는, $\theta_{LAG1}=0$, $\omega_{LAG2}=0$ 으로 고정을 시켰을 때 AIC가 각각 최소값을 보였다. (combined: 2133.4, parallel: 2155). 또한 Scatter plot에서는 combined absorption 모델이 데이터를 가장 잘 설명하여서 combined absorption 모델을 기본 모델로 선정하였다.

Table 2. Final model

Model	Symbol	Estimates	90% CI*		
$CL=\theta_{CL} \cdot \text{EXP}(\eta_{CL})$	θ_{CL}	400	370	461	
$\eta_{CL} \sim N(0, \omega_{CL}^2)$	ω_{CL}	0.522	0.370	0.778	
$V= \theta_V \cdot \text{EXP}(\eta_V)$	θ_V	779	577	993	
$\eta_V \sim N(0, \omega_V^2)$	ω_V	0.468	0.370	0.562	
$D=\theta_D \cdot \text{EXP}(\eta_D)$	θ_D	0.53	0.418	0.637	
$\eta_D \sim N(0, \omega_D^2)$	ω_D	0.512	0.338	0.612	
$KA=\theta_{KA} \cdot \text{EXP}(\eta_{KA})$	θ_{KA}	0.09	0.079	0.102	
$\eta_{KA} \sim N(0, \omega_{KA}^2)$	ω_{KA}	0.223	0.126	0.301	
$ALAG1=\theta_{ALAG1}$	θ_{ALAG1}	3	2.33	3.5	
.	ω_{ALAG1}	—	—	—	
$ALAG2=\theta_{ALAG2}$	θ_{ALAG2}	—	—	—	
.	ω_{ALAG2}	—	—	—	
$F1=\text{EXP}(\theta_{FR}+\mu_{FR})/(1+\text{EXP}(\theta_{FR}+\mu_{FR}))$	θ_{FR}	-0.688	-1.18	0	
$F2=1-F1$	$\mu_{FR} \sim N(0, \omega_{FR}^2)$	ω_{FR}	0.971	0.560	1.53
$C_{obs}=C_{pred} \cdot (1+\varepsilon_{PROP})+\varepsilon_{ADD}$	ε_{PROP}	0.262	0.171	0.387	
	ε_{ADD}	0.114	0.051	0.150	

* Confidence Interval obtained by NONMEM

2. 최종모델 선정

covariate으로는 피험자의성별, 키, 체중 그리고 나이를 사용하였다. Covariate screening은 Xpose 4.0⁹⁾의 GAM기능을 이용하여 계수를 구하고 ETA 값과 covariate의 scatterplot을 육안으로 확인하여 적절한 초기값을 정한 후 covariate의 값을 추정하였으나 OFV(Objective Function Value)를 유의하게 감소시키는 covariate는 관측되지 않아서 모델에 별도로 추가되지는 않았다

최종모델은 약동학 파라미터에 영향을 끼치는

covariate가 없어서 기본 모델과 같은 형태이었으며 모델을 검증하기 위하여 bootstrap을 1000회 시행한 후 구하여진 파라미터의 90%신뢰구간을 추정치와 함께 표 2에 명시하였으며 scatterplot은 그림 3과 같다. 그림 4는 개인별 그래프를 모델별로 그린 것을 중첩을 하여 비교를 한 것이다. 기대한 것 만큼 double peak를 설명하지는 못하였으나 이는 double peak를 보이지 않은 피험자가 섞여 있기 때문인 것으로 생각되며 하나의 input을 지니는 0차 혹은 1차 흡수 모델에 비해서 데이터를 잘 설명하는 것을 알 수 있다.

Figure 3. Scatter plot of the final population pharmacokinetic model Circle, observed concentration; Solid line, line of identity (upper), zero line (lower)

Figure 4. Individual predicted plots comparison(Dot: Observed concentration, Solid line: predicted line by combined absorption model Dashed line: predicted line by first order absorption model Dotted line: predicted line by zero order absorption model)

고 찰

Multiple fraction 모델은 discontinuous absorption 모델¹⁰⁾이 자료를 만족스럽게 설명하지 못하여 대안으로 등장한 모델로써 약이 gastric emptying이나 intestinal transit으로 인해 위장관계에서 여러 조각으로 나누어져 각각의 lag time과 absorption rate를 지니고 흡수된다는 모델로써 특히 불규칙한 absorption profile을 지니는 여러 약물에 적용되었다.^{4,11,12)} 이 중 본 연구에 사용된 모델은 2개의 흡수 과정(0차 흡수 및 1차 흡수)을

지닌 1 구획, two-fraction 모델이다.

본 연구의 목적은 아토르바스타틴과 같이 드물지 않게 double peak를 보이는 약물에 있어서 기존 흡수 모델과 다른 모델인 multiple fraction 모델을 비교하여 더 나은 흡수 모델을 찾고자 함이었다. 결과 2개의 input을 가지는 combined absorption 모델이 1차 혹은 0차 흡수 모델에 비하여 통계적으로 유의하게 OFV의 값을 감소시켰다.

또한 2개의 input을 지니는 모델이 초기의 높은 농도 값을 잘 설명하는 것을 확인할 수 있었는데 이를 초기 고농도를 잘 설명하는 것으로 알려진

Figure 5. Comparison of combined absorption model and other models

모델인 Gamma function이나 Weibull function을 이용한 흡수모델과 비교를 해 보았을 때 combined absorption model이 더욱 잘 설명하였다. (그림 5) 이는 depot 구획을 구분함으로써 보다 유연하게 자료에 모델이 fitting되었기 때문인 것으로 생각된다. 모델 선정을 위한 분석 시, mixture model을 이용하여 double peak를 보이는 피험자군과 그렇지 않은 피험자군을 분리한 후 각기 다른 흡수 모델을 찾아가 노력하였으나 실패하여 모든 피험자들의 혈중 약물 농도를 한가지의 흡수 모델로 정의하게 되었다. 이는 자료의 variability 및 noise가 심하여 NONMEM의 mixture 옵션으로는

자료의 분류가 어려웠던 것으로 생각되며 이로 인하여 final model의 KA값이 double peak를 보이지 않는 피험자군 쪽으로 편향되어 나타난 것이 최종모델로도 double peak를 보이는 피험자들의 혈중농도를 만족스럽게 fitting 하지 못한 원인중의 하나일 것으로 추정된다.

이상의 결과에서 아토르바스타틴과 같이 생체 이용률의 변이가 큰 약물이 double peak를 보일 경우 그것을 noise 나 error로 간주하지 않고 여러 가지 모델을 시도하면 기존의 1차 흡수 모델보다 좀 더 관찰된 결과를 충실히 반영하는 모델을 개발할 수 있었다. 또 본 연구를 통해 이러한

double peak를 나타내는 약물의 집단약동학적 연구 시 T_{max} 근처에서 채혈 횟수가 적을 경우, C_{max} 나 AUC의 추정에 있어서 실제와 차이가 나는 값을 추정할 수 있는 위험이 있어 연구결과의 해석에 주의를 기울여야 함을 알 수 있었다.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the Korean Health 21 R & D Project(A060093), Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea.

참 고 문 헌

1. Yin OQ, Tomlinson B, Chow AH, Chow MS. A Modified Two-Portion Absorption Model to Describe Double-Peak Absorption Profiles of Ranitidine. *Clinical Pharmacokinetics*. 2003; 42(2):179.
2. 유경상, 신상구. 이중 최고농도를 보이는 서방형 제제의 약동학/약력학적 분석: Spline 함수에 의한 비모수적 약동학 분석법의 적용. *Kor J Clin Pharmacol Ther*. 1998;6(1):16.
3. Oberle RL, Amidon GL. The influence of gastric emptying and intestinal transit rates on the plasma level curve of cimetidine: An explanation for the double peak phenomenon. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1987;15:529-544.
4. Murata K, Noda K, Kohno K, Samejima M. Pharmacokinetic analysis of concentration data of drugs with irregular absorption profiles using multi-fraction absorption models. *J Pharm Sci*. 1987;76(2):109-113.
5. Ette EI, Williams PJ. *Pharmacometrics : the science of quantitative pharmacology*. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons; 2007.
6. Koytchev R, Ozalp Y, Erenmemisoglu A, van der Meer MJ, Alpan RS. Bioequivalence study of atorvastatin tablets. *Arzneimittelforschung*. Sep 2004;54(9A):573-577.
7. Siedlik PH, Olson SC, Yang BB, Stern RH. Erythromycin coadministration increases plasma atorvastatin concentrations. *J Clin Pharmacol*. May 1999;39(5):501-504.
8. Jemal M, Ouyang Z, Chen BC, Teitz D. Quantitation of the acid and lactone forms of atorvastatin and its biotransformation products in human serum by high performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1999;13(11):1003-1015.
9. <http://xpose.sourceforge.net>.
10. Suttle AB, Pollack GM, Brouwer KLR. Use of a Pharmacokinetic Model Incorporating Discontinuous Gastrointestinal Absorption to Examine the Occurrence of Double Peaks in Oral Concentration-Time Profiles. *Pharmaceutical Research*. 1992;9(3):350-356.
11. Dressman JB, Berardi RR, Elta GH, et al. Absorption of flurbiprofen in the fed and fasted states. *Pharm Res*. Jul 1992;9(7):901-907.
12. Lipka E, Lee ID, Langguth P, Spahn-Langguth H, Mutschler E, Amidon GL. Celiprolol double-peak occurrence and gastric motility: Nonlinear mixed effects modeling of bioavailability data obtained in dogs. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 1995;23(3):267-286.