(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0114455
(43) 공개일자 2020년10월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*A61K 49/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
*A61K 49/0004* (2013.01)
*A61K 31/40* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0036257
(22) 출원일자 2019년03월28일
심사청구일자 2019년03월28일

(71) 출원인
**충남대학교산학협력단**
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
**신영근**
대전광역시 유성구 대학로 99 충남대학교 약학대학 325호(궁동)
**신석호**
대전광역시 유성구 죽동로280번길 40, 204호(죽동)
**박민호**
대전광역시 중구 보문산로 114(산성동)
(74) 대리인
**최규환**

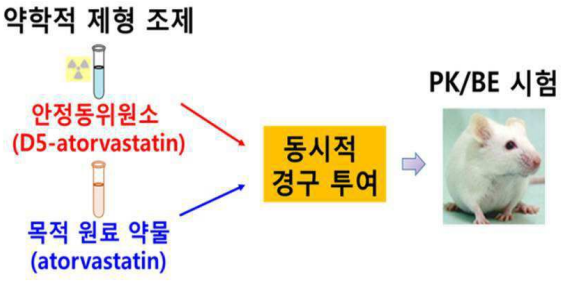
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법**

## (57) 요 약

본 발명은 개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 고변동성 약물에 대하여, 약학적으로 허용 가능한 염의 처리 및 마이크로캡슐화한 후, 안정동위원소가 치환된 고변동성 약물과 부형제를 포함하는 용액에 혼합하는 단계를 포함하는 제형화 방법 및 이로부터 제조된 고변동성 약물에 관한 것이다.

*대 표 도* - 도1






(52) CPC특허분류
***A61K 51/0446*** (2013.01)
***A61K 9/5015*** (2013.01)
***A61K 9/5031*** (2013.01)
*A61K 2123/00* (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 2016M2C2A1937990
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 방사성동위원소 이용 신개념치료기술개발 플랫폼구축사업
연구과제명 가속질량분석기(AMS)와 탄소-14 나노트레이서 기법을 활용한 고변동성 약물의 새로운 생물학적동등성 시험법 개발
기 여 율 1/1
과제수행기관명 한국원자력의학원
연구기간 2016.07.01 ~ 2018.06.30

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

(1) 고변동성 약물에 약학적으로 허용가능한 염(salt)을 처리하는 단계;

(2) 상기 염이 처리된 고변동성 약물을 마이크로캡슐화하는 단계; 및

(3) 안정동위원소로 치환된 고변동성 약물 및 부형제를 포함하는 용액에, 상기 단계 (2)에서 제조한 마이크로캡슐화 고변동성 약물을 혼합하는 단계;를 포함하는, 고변동성 약물의 개체 간 약동력학적 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 고변동성 약물은 아토바스타틴(atorvastatin)인 것을 특징으로 하는 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 염은 칼슘염 또는 나트륨염인 것을 특징으로 하는 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 단계 (3)에서 부형제는 트윈 20(tween 20) 또는 PEG 200인 것을 특징으로 하는 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 안정동위원소는 $^{2}$H(Deuterium) 또는 $^{13}$C 인 것을 특징으로 하는 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 6

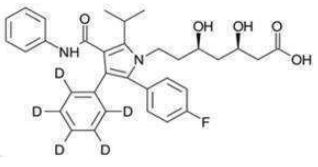
제1항에 있어서, 상기 약동력학적 변수는 AUC (곡선하면적) 및 Cmax (최대혈중농도)인 것을 특징으로 하는 고변동성 약물의 제형화 방법.

### 청구항 7

제1항에 있어서,

(1) 아토바스타틴에 약학적으로 허용가능한 칼슘염 또는 나트륨염을 처리하는 단계;

(2) 상기 칼슘염 또는 나트륨염이 처리된 아토바스타틴을 마이크로캡슐화하는 단계; 및

(3) $^{2}$H(Deuterium)로 치환된 아토바스타틴(  ) 및 트윈 20(tween 20) 또는 PEG 200의 부형제를 포함하는 용액에, 상기 단계 (2)에서 제조한 마이크로캡슐화 고변동성 약물을 혼합하는 단계;를 포함하는 제형화 방법.

### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 제형화 방법으로 제조된, 고변동성 약물.

## 발명의 설명

## 기 술 분 야

[0001] 본 발명은 개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

## 배 경 기 술

[0002] 제네릭 의약품 개발시 신체에 대한 약물 노출의 차이는 제약 회사의 주요 쟁점 중 하나이다. 특히 제네릭 의약품 개발과정에 포함되는 생물학적 동등성 시험에서 의약품의 생동성을 판단하기 위한 평가 변수로 곡선하면적(AUC) 또는 최대 혈장 농도($C_{max}$)와 같은 약물동력학적 프로파일이 사용되는데, 이 평가변수에 대해서 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 동등 판정 범위인 log 0.8에서 log 1.25 범위 안에 있어야 동등성이 인정된다. 이러한 평가 변수 (AUC, Cmax)에 대하여 동일한 피험자에게 동일한 대조약을 반복투여해도 동일 개체 내에서의 흡수율 변동이 큰 약물로서 혈중농도-시간곡선하면적(AUC) 또는 최고혈중농도 (Cmax)의 피험자 내 변동계수가 30% 이상인 고변동성 약물(Highly Variable Drug)이 있다.

[0003] 특히, 미국 식약청 (FDA) 발표에 따르면 개발된 약의 10% 이상이 고변동성을 보이며, 국내 다수의 제약사에서 제네릭 의약품 개발 과정에서 이러한 고변동성 약물에 대한 생동성 시험을 진행하는데 어려움을 겪고 있다.

[0004] 아토바스타틴은 HMG-CoA 환원 효소 억제제로 알려져 있으며, 고지혈증 환자의 콜레스테롤 및 중성지방 수치를 낮추므로 관상 동맥 심장 질환, 허혈성 뇌졸중, 당뇨병 및 고혈압과 같은 심혈관 질환을 앓고 있는 고위험 환자의 주요 심혈관 사건을 감소시킬 수 있다는 것이 입증된 약물이며, AUC 및 $C_{max}$와 같은 생동성 평가 변수에 대하여 피험자 내 변동성이 30% 이상인 고변동성을 나타내는 것으로 알려져 있다.

[0005] 기본적으로 고변동성 약물의 경우 평가 변수에 대한 확장 기준을 사용할 수 있으나 일반적인 생동성 시험과 비교하여 더욱 정교한 반복 생동성 시험(3기 또는 4기의 반복교차 시험)이 요구된다. 또한, 시험에 요구되는 피험체 수의 증가와 시험기간의 증가로 인한 윤리적인 문제와 안전 문제가 고려될 수 있다.

[0006] 따라서 피험자 수 증가 없이 생동성 시험에서 고변동성 약물의 변동률을 효과적으로 줄일 수 있는 새로운 제형적 접근법이 필요하다.

[0007] 한국공개특허 제2005-0010756호에 피험자 간 약물 혈청 농도의 변동성을 감소시키기 위한 펩티드-약물 접합체의 용도에 대해 개시되어 있고, 한국공개특허 제2018-0054847호에 양극성 용매에서 안정한 치료 제형들의 제조방법이 개시되어 있으나, 본 발명의 개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법에 대해 개시된 바 없다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명은 개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법을 제공하고, 시험 약물인 아토바스타틴과 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴을 포함하는 제형이 고변동성 약물의 개체 간 약동력학적 변동성을 효율적으로 줄인다는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (1) 고변동성 약물에 약학적으로 허용가능한 염(salt)을 처리하는 단계;

[0010] (2) 상기 염이 처리된 고변동성 약물을 마이크로캡슐화하는 단계; 및

[0011] (3) 안정동위원소로 치환된 고변동성 약물 및 부형제를 포함하는 용액에, 상기 단계 (2)에서 제조한 마이크로캡슐화 고변동성 약물을 혼합하는 단계;를 포함하는, 고변동성 약물의 개체 간 약동력학적 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형화 방법을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 제형화 방법으로 제조된, 고변동성 약물을 제공한다.

## 발명의 효과

[0013] 본 발명은 개체 간 약동력학 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 시험 약물인 아토바스타틴과 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴을 포함하는 제형이 고변동성 약물의 개체 간 약동력학적 변동성을 효율적으로 감소시키는 효과가 있으므로, 생물학적 동등성 시험에 요구되는 피험자 수와 시험기간을 획기적으로 줄일 수 있는 효과가 있다.

## 도면의 간단한 설명

[0014] 도 1은 서로 다른 부형제(트윈 20 vs PEG 200)를 포함하는 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin) 제형을 이용한 2×2 교차 생물학적 동등성 시험에 대한 개략도이다.

도 2는 아토바스타틴(Atorvastatin) 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)의 채혈 시간에 따른 혈중 농도를 나타낸 것이다.

도 3은 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)과 $C_{max}$(A) 및 AUC(B)의 상관관계를 확인한 결과이다.

도 4는 서로 다른 염(calcium salt vs. sodium salt)을 포함하는 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin) 제형을 이용한 2×2 교차 생물학적 동등성 시험에 대한 개략도이다.

도 5는 서로 다른 염(calcium salt vs. sodium salt)을 포함하는 아토바스타틴(Atorvastatin) 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)의 채혈 시간에 따른 혈중 농도를 나타낸 것이다.

도 6은 염을 포함하는 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)의 $C_{max}$(A) 및 AUC(B) 상관관계를 확인한 결과이다.

도 7은 마이크로캡슐화되고, 서로 다른 염(calcium salt vs. sodium salt)을 포함하는 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin) 제형을 이용한 평형 생물학적 동등성 시험에 대한 개략도이다.

도 8은 마이크로캡슐화되고, 서로 다른 염(calcium salt vs. sodium salt)을 포함하는 아토바스타틴(Atorvastatin) 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)의 채혈 시간에 따른 혈중 농도를 나타낸 것이다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0015] 본 발명은

[0016] (1) 고변동성 약물에 약학적으로 허용가능한 염(salt)을 처리하는 단계;

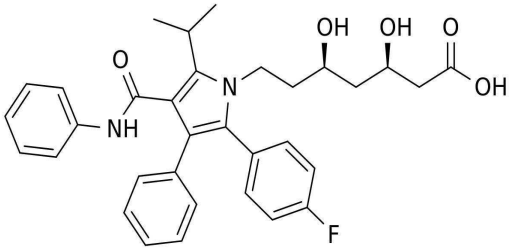
[0017] (2) 상기 염이 처리된 고변동성 약물을 마이크로캡슐화하는 단계; 및

[0018] (3) 안정동위원소로 치환된 고변동성 약물 및 부형제를 포함하는 용액에, 상기 단계 (2)에서 제조한 마이크로캡슐화 고변동성 약물을 혼합하는 단계;를 포함하는, 고변동성 약물의 개체 간 약동력학적 변수의 변동성을 감소시키기 위한 고변동성 약물의 제형화 방법에 관한 것이다.

[0019] 생물학적 동등성 시험에서 의약품의 생동성을 판단하기 위한 평가 변수로 곡선하면적(AUC) 또는 최대 혈장 농도($C_{max}$)와 같은 약물동력학적 변수가 사용되는데, 이 평가변수에 대해서 대조약과 시험약의 로그변환한 평균치 차의 90% 신뢰구간이 동등 판정 범위인 log 0.8에서 log 1.25 범위 안에 있어야 동등성이 인정된다. 이러한 평가변수(AUC, $C_{max}$)에 대하여 동일한 피험자에게 동일한 대조약을 반복투여해도 동일 개체 내에서의 흡수율 변동이 큰 약물로서 혈중농도-시간곡선하면적(AUC) 또는 최고혈중농도($C_{max}$)의 피험자 내 변동계수가 30% 이상인 약물이 고변동성 약물(Highly Variable Drug)이다.

[0020] 상기 고변동성 약물의 바람직한 일례로는 하기 화학식 1의 아토바스타틴(atorvastatin)이 있으며, 이에 한정하는 것은 아니다.

*화학식 1*




[0021]

[0022] 본 발명의 일례로 개시한 화학식 1의 아토바스타틴은 HMG-CoA 환원 효소 억제제로, 고지혈증 환자의 콜레스테롤 및 중성지방 수치를 낮추므로 관상 동맥 심장 질환, 허혈성 뇌졸중, 당뇨병 및 고혈압과 같은 심혈관 질환을 앓고 있는 고위험 환자의 주요 심혈관 사건을 감소시킬 수 있다는 것이 입증된 약물로, 아토바스타틴은 생물학적 동등성의 평가 변수인 AUC(곡선하면적) 및 $C_{max}$(최대혈중농도)에 대하여 피험자 내 변동성이 30% 이상인 고변동성 약물이다.

[0023] 따라서, 상기 화학식 1의 아토바스타틴 및 그 염에 대한 안정동위원소와의 동시투여 제형은 그 약학적 조성물에 대한 피험자 내 변동률을 줄이고, 나아가 고변동성 약물의 생물학적 동등성 시험에 요구되는 피험자 수 및 시험 기간을 줄이는데 사용될 수 있다.

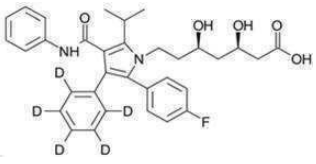
[0024] 본 발명에 따른 제형화 방법에서, 제형을 구성하는 목적 약물 및 안정동위원소로 치환된 목적 약물의 비율은 목적 약물 100 중량부에 대하여, 동위원소 치환약물은 5~20 중량부인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않고, 그 비율을 조절할 수 있다.

[0025] 상기 염은 칼슘염 또는 나트륨염인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않으며, 상기 부형제는 트윈 20(tween 20) 또는 PEG 200인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않고, 상기 안정동위원소는 $^{2}$H(Deuterium) 또는 $^{13}$C인 것이 바람직하지만 이에 한정하지 않는다. 상기 약동력학적 변수는 AUC (곡선하면적) 및 Cmax (최대혈중농도)일 수 있으나, 이에 한정하지 않는다.

[0026] 또한, 본 발명은 바람직하게는

[0027] (1) 아토바스타틴에 약학적으로 허용가능한 칼슘염 또는 나트륨염을 처리하는 단계;

[0028] (2) 상기 칼슘염 또는 나트륨염이 처리된 아토바스타틴을 마이크로캡슐화하는 단계; 및

[0029] (3) $^{2}$H(Deuterium)로 치환된 아토바스타틴( 

) 및 트윈 20(tween 20) 또는 PEG 200의 부형제를 포함하는 용액에, 상기 단계 (2)에서 제조한 마이크로캡슐화 고변동성 약물을 혼합하는 단계;를 포함하는 제형화 방법에 관한 것이다.

[0030] 또한, 본 발명은 상기 제형화 방법으로 제조된, 고변동성 약물에 관한 것이다.

[0031] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0032] **[혈액 내 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴(D5-Atorvastatin)의 측정을 위하여 LC-QTOF-MS/MS를 이용한 약물동력학 변수 및 생물학적 동등성 평가 방법]**

[0033] (1) 아토바스타틴 및 안정동위원소를 투여할 동물 개체인 SD 랫트(sprague-dawley rat)는 각 300±10g의 무게로 정하였으며, 약물의 투여 12시간 전부터 단식 상태를 유지하였다. 이하, 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴

(D5-Atorvastatin) 제형은 '안정동위원소'라고 칭한다.

[0034] (2) 아토바스타틴 및 안정동위원소를 동시 투여 후 개체별로 일정 간격의 시간에 따라 혈액을 채취하였다.

[0035] (3) 상기 (2)에서 채취한 혈액을 원심분리하여 혈장을 분리하고, 분리된 혈장 내에 포함된 아토바스타틴 및 안정동위원소를 분석하기 위해 시료 전처리하였다.

[0036] (4) 상기 (3)의 시료 전처리는 분리된 혈장에 대하여 분석에 사용되는 내부 표준물질이 포함된 유기용매인 아세토니트릴(Acetonitrile)을 가하는 단백질 침전(protein precipitation)법으로 시료 전처리하였다.

[0037] (5) 상기 (4)에서 전처리 된 시료를 원심분리하여 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴이 포함된 상층액을 취하여 LC-QTOF-MS/MS 분석을 실시하였다.

[0038] (6) 상기 LC-QTOF-MS/MS 분석에 사용하기 위한 검량선 시료는 1~2200ng/㎖의 아토바스타틴 및 0.34~244ng/㎖의 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴을 공혈장(blank plasma)에 용해하여 제조한 표준용액을 상기 (4)에서 개시한 단백질 침전법을 이용하여 시료를 전처리하였다.

[0039] (7) 상기 LC-QTOF-MS/MS 분석에 사용한 기기는 A Sciex TripleTOFTM 5600 질량분석기와 Shimadzu CBM-20A/LC-20AD 고성능 액체크로마토그래피(HPLC) 시스템을 사용하였으며, 분석에 사용한 칼럼은 Phenomenex® Kinetex XB-C18 칼럼(2.1×50 mm, 3.5μm particles)을 사용하였다. 분석을 위한 HPLC의 용매는 0.1% 포름산이 함유된 증류수와 0.1% 포름산이 함유된 아세토니트릴을 사용하였다.

[0040] (8) 상기 (7)의 기기를 이용한 LC-QTOF-MS/MS 정량 분석은 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴을 동시에 분석이 가능하였으며, 분석 결과의 처리는 Analyst® TF 버전1.6(Sciex사) 및 MultiQuant® 버전 2.1.1(Sciex사)을 이용하였으며, 그 결과, 동물실험에 사용된 각 개체별 시간에 따른 혈장 내 아토바스타틴 및 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴의 농도를 구하였다.

[0041] (9) WinNonlin® 버전8.0.0(Certara사) 소프트웨어를 이용하여, 상기 (8)에서 측정된 시간에 따른 혈장 내 아토바스타틴 및 안정동위원소의 농도로부터 개체별 약물동력학 변수를 구하였다. 본 발명의 각 개체에서 측정된 약물동력학 변수는 최대혈중농도($C_{max}$) 및 $AUC_{last}$ (최종 농도 측정 시간까지 혈중 약물농도의 곡선하면적)이다.

[0042] (10) WinNonlin® 버전8.0.0(Certara사) 소프트웨어를 이용하여, 상기 (9)에서 구한 개체별 아토바스타틴 약물동력학 변수인 $C_{max}$ 및 $AUC_{last}$에 대하여 각각의 생물학적 동등성 시험에 사용된 서로 다른 제형(각각 시험 제형 및 대조 제형으로 설정함)을 비교 평가하였다.

[0043] - 대조 제형과 시험 제형의 생물학적 동등성 평가에 앞서 개체별 약물동력학 변수인 $C_{max}$ 및 $AUC_{last}$ 값에 대한 자연로그(Ln) 변환하였다.

[0044] 상기 자연로그 변환된 Ln(Cmax) 및 Ln($AUC_{last}$)을 이용하여 생물학적 동등성 평가에 사용한 지표는

[0045] ① 대조제형의 최소 제곱 평균값(Reference least squares mean, RefLSM);

[0046] ② 시험제형의 최소 제곱 평균값(Test least squares mean, TestLSM);

[0047] ③ 대조제형 및 시험제형의 최소 제곱 평균값의 비율(least-squares mean ratios of the test to reference, Ratio (%Ref));

[0048] ④ 대조제형 및 시험제형에 대한 개체간 변동률(intersubject CV (%));

[0049] ⑤ 90% 신뢰구간의 하한값 (CI 90% lower) 및 상한값(CI 90% upper);

[0050] ⑥ 양측 t검증의 하한 유의확률 (Prob < 80%) 및 상한 유의확률(Prob > 125%)이다.

[0051] 상기 생물학적 동등성 평가에 사용된 지표가 하기 ⓐ~ⓒ를 만족하는 경우 대조제형 및 시험제형이 동등한 것으로 평가한다.

[0052] ⓐ 대조제형 및 시험제형의 최소 제곱 평균값의 비율(Ratio (%Ref))이 100%에 근접함.

[0053] ⓑ 90% 신뢰구간에 대하여 하한~상한 범위인 80~125%의 범위를 만족함.

[0054] ⓒ 양측 t검증의 하한 유의확률 (Prob < 80%) 및 상한 유의확률 (Prob > 125%) 값이 모두 0.05 이하임.

[0055] (11) 상기 (10)에 제시한 생물학적 동등성 평가는 다음 2가지 조건에 대하여 진행되었다.

[0056] A. 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형에 포함된 목적 약물인 아토바스타틴에 대한 단독 생물학적 동등성 평가

[0057] B. 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형에 포함된, 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화(normalization)를 통한 생물학적 동등성 평가(본 발명에서 표준화(normalization)는 아토바스타틴의 변수를 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴의 변수로 나누어 준 값이다.)

[0058] (12) 상기 (11)에 명시된 2가지 조건 각각의 생물학적 동등성 평가 결과를 비교함으로써 아토바스타틴-안정동위원소 제형에 포함된 안정동위원소가 표준화 인자로 작용할 때 개체간 변동률 감소 여부와 생물학적 동등성을 만족하는지 평가하였다.

[0059] (13) 상기 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형적 접근법에 대하여 3가지 실시예를 통하여 검증하였다.

[0060] **실시예 1. 서로 다른 부형제(트윈 20 vs PEG 200)가 포함된 투여 용매에서 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형을 이용한 2×2 교차 생물학적 동등성 시험**

[0061] 생물학적 동등성 시험은 문헌[Alan Parr et al., (2012), *AAPS Journal*, 14 (3), 639-645]에 보고된 방법을 일부 변형하여 실시하였다. 구체적으로, 2개의 실험군(A, B)에 대하여, 2일에 걸쳐 2가지 제형(a, b)을 2×2 교차 투여 시험을 실시하였다.

[0062] 제형 a: 4.5mg/kg 아토바스타틴 및 0.5mg/kg D5-아토바스타틴의 제형을 구성하는 용매의 부형제로 0.1% 트윈 20(tween 20)을 포함하였다.

[0063] 제형 b: 4.5mg/kg 아토바스타틴 및 0.5mg/kg D5-아토바스타틴의 제형을 구성하는 용매의 부형제로 1% PEG 200을 포함하였다.

[0064] 상기 제형을 이용해 A군에 대해 1일 차에 제형 a를 투여하고 시간에 따른 채혈을 실시하였다. 또한, 약물의 반감기에 따른 휴약기를 거친 후 2일 차에는 제형 b를 투여하고 시간에 따른 채혈을 실시하였다. B군에 대한 실험은 1일 차에 제형 b를 투여하였고, 2일 차에는 제형 a를 투여한 것을 제외하고는 모든 과정은 상기 A군과 동일하게 실시하였다. 본 실시예 1의 시험 디자인에 대한 개략도를 도 1에 개시하였다.

[0065] 그 결과, 약동학 변수인 AUC 및 Cmax에 대하여, 아토바스타틴과 안정동위원소 사이의 연관성이 있다는 것을 확인하였고(도 2), 안정동위원소에 의한 표준화 (normalization)을 통해 생동성 평가 변수인 $C_{max}$ 및 $AUC_{last}$의 개체간 변동률이 획기적으로 감소한 것을 확인하였으며, 생동성 기준 범위를 만족하게 됨을 확인하였다(표 1 및 2).

*표 1*

[0066] 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화를 통한 개체간 PK 변수($C_{max}$ 및 $AUC_{last}$) 변동율을 확인한 결과

| PK 파라미터 | 아토바스타틴 | | D5-아토바스타틴 | | 표준화 아토바스타틴 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $C_{max}$ | $AUC_{last}$ | $C_{max}$ | $AUC_{last}$ | $C_{max}$ | $AUC_{last}$ |
| A-1 | 46.00 | 376.55 | 5.20 | 316.27 | 8.85 | 11.89 |
| A-2 | 29.33 | 7213.08 | 3.13 | 780.55 | 9.37 | 9.24 |
| A-3 | 56.66 | 2508.62 | 6.60 | 236.80 | 8.58 | 10.59 |
| A-4 | 66.60 | 2500.23 | 8.07 | 255.95 | 8.25 | 9.77 |
| A-5 | 69.44 | 4546.02 | 9.72 | 597.04 | 7.14 | 7.61 |
| A-6 | 110.15 | 2917.58 | 13.69 | 424.06 | 8.05 | 6.88 |
| B-1 | 34.27 | 2096.53 | 4.54 | 271.73 | 7.55 | 7.72 |
| B-2 | 29.81 | 3584.87 | 4.28 | 446.89 | 6.96 | 8.02 |
| B-3 | 77.36 | 3163.64 | 10.22 | 399.25 | 7.57 | 7.92 |
| B-4 | 1.75 | 186.13 | 0.32 | 15.85 | 5.47 | 11.74 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B-5 | 9.51 | 809.52 | 1.42 | 59.41 | 6.70 | 13.63 |
| B-6 | 88.14 | 3920.99 | 10.32 | 404.98 | 8.54 | 9.68 |
| 평균 | 51.59 | 3100.64 | 6.46 | 350.73 | 7.75 | 9.56 |
| 표준편차 | 32.41 | 1805.16 | 4.03 | 211.43 | 1.08 | 2.08 |

[0067] 상기 표 1에서 표준화 아토바스타틴의 PK 변수($C_{max}$ 및 $AUC_{last}$)는 아토바스타틴의 PK 변수($C_{max}$ 및 $AUC_{last}$)를 안정동위원소 D5-아토바스타틴의 PK 변수($C_{max}$ 및 $AUC_{last}$)로 각각 나누어 준 값이고, 이하 표준화는 동일하게 적용한 것이다.

*표 2*

[0068] 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴의 생동성 평가 결과

| 생동성 평가 | 아토바스타틴 단독 | | 안정동위원소에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴 | |
|---|---|---|---|---|
| | Ln($C_{max}$) | Ln($AUC_{last}$) | Ln($C_{max}$) | Ln($AUC_{last}$) |
| RefGeoLSM | 4.62 | 8.58 | 2.15 | 2.16 |
| TestGeoLSM | 3.58 | 8.11 | 2.03 | 2.17 |
| Ratio(%Ref) | 35.2 | 62.6 | 88.8 | 101.2 |
| intersubject CV(%) | 128.6 | 112.2 | 1.3 | 3.8 |
| CI 90% lower | 15.9 | 29.8 | 81.9 | 88.3 |
| CI 90% upper | 77.9 | 131.5 | 96.3 | 116 |
| Prob>80% | 0.955 | 0.712 | 0.018 | 0.004 |
| Prob<125% | 0.006 | 0.062 | 0 | 0.007 |

[0069] 상기와 같은 과정으로 실시예 1에 해당하는 서로 다른 부형제를 포함한 안전동위원소-목적약물(아토바스타틴) 제형을 이용한 생물학적 동등성 시험을 통해 고변동성 약물인 아토바스타틴의 개체간 PK 변동율을 줄일 수 있다는 것을 확인하였다.

[0070] **실시예 2. 상이한 염(calcium salt vs. sodium salt)으로 구성된 아토바스타틴-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형을 이용한 2×2 교차 생물학적 동등성 시험**

[0071] 본 생물학적 동등성 시험은 문헌[Alan Parr et al., (2012), *AAPS Journal*, 14 (3), 639-645]에 보고된 방법에 따라 변형시켜 수행하였다.

[0072] 구체적으로, 2개 군(C, D)에 대하여 2일에 걸쳐 2가지 제형(c, d)을 2×2 교차 투여 시험을 진행하였다.

[0073] 각 제형의 구성은 다음과 같다.

[0074] 제형 c: 8mg/kg 아토바스타틴-Ca 염 + 2mg/kg D5-아토바스타틴

[0075] 제형 d: 8mg/kg 아토바스타틴-Na 염 + 2mg/kg D5-아토바스타틴

[0076] 본 제형을 이용해 C군에 대해 1일 차에 제형 c를 투여하고 시간에 따른 채혈을 진행하였다. 또한, 약물의 반감기에 따른 휴약기를 거친 후 2일 차에는 제형 d를 투여하고 시간에 따른 채혈을 진행하였다. D군에 대한 실험은 1일 차에 제형 d를 투여하고 2일 차에는 제형 c를 투여하여 시간에 따른 채혈을 진행하였다. 본 실시예 2의 시험 디자인에 대한 개략도를 도 4에 개시하였다.

[0077] 그 결과, 도 6에 개시한 바와 같이, 상이한 염(Ca salt 및 Na salt)으로 구성된 아토바스타틴과 안정동위원소 사이의 $C_{max}$ 및 $AUC_{last}$ 에 대한 상관성이 있다는 것을 확인하였다. 또한, 안정동위원소에 의한 표준화를 통해 생동성 평가 변수인 $C_{max}$ 및 $AUC_{last}$의 개체간 변동률이 획기적으로 감소된 것을 확인하였고, 생동성 기준 범위를 만족하는 것을 확인하였다(표 3 및 4).

*표 3*

[0078] 아토바스타틴이 나트륨염과 칼슘염 조건에 따른 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화를 통한 개체간 PK 변수의 변동율 감소 확인

| | | ATV-Na | | ATV-Ca | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Cmax | AUC | Cmax | AUC |
| 아토바스타틴 단독 | 평균 | 184.38 | 8859.40 | 578.29 | 20980.12 |
| | 표준편차 | 157.54 | 6945.70 | 547.03 | 19205.29 |
| 안정동위원소-표준화 | 평균 | 4.76 | 5.26 | 4.78 | 5.03 |
| | 표준편차 | 0.65 | 1.10 | 0.98 | 0.87 |

표 4

[0079] 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴의 생동성 평가 결과

| 생동성 평가 | 아토바스타틴 단독 | | 안정동위원소에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴 | |
|---|---|---|---|---|
| | $Ln(C_{max})$ | $Ln(AUC_{last})$ | $Ln(C_{max})$ | $Ln(AUC_{last})$ |
| RefGeoLSM | 5.75 | 9.53 | 1.54 | 1.60 |
| TestGeoLSM | 0.23 | 0.17 | 1.55 | 1.64 |
| Ratio(%Ref) | 30.9 | 38.3 | 100.8 | 104 |
| intersubject CV(%) | 61.5 | 34.2 | 1.95 | 3.58 |
| CI 90% lower | 17.8 | 25.4 | 91.4 | 91.1 |
| CI 90% upper | 53.6 | 57.8 | 111.2 | 118.8 |
| Prob>80% | 0.9996 | 0.997 | 0 | 0.001 |
| Prob<125% | 0.000 | 0.000 | 0.001 | 0.014 |

[0080] 상기와 같은 과정으로 실시예 2에 해당하는 상이한 염 (Ca 염, Na 염)으로 구성된 안전동위원소-목적 약물 제형을 이용한 생물학적 동등성 시험을 통해 고변동성 약물인 아토바스타틴의 개체간 PK 변동율을 줄일 수 있다는 것을 확인하였다.

[0081] **실시예 3. 마이크로캡슐-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형을 이용한 평형 생물학적 동등성 시험**

[0082] 본 생물학적 동등성 시험은 문헌[Alan Parr et al., (2012), *AAPS Journal*, 14 (3), 639-645]에 보고된 방법에 따라 변형시켜 수행하였다.

[0083] 구체적으로, 2개 군 (E, F)에 대하여 2가지 제형 (e, f)을 평형 투여 시험을 진행하였다.

[0084] 각 제형의 구성은 다음과 같다.

[0085] 제형 e: 28mg/kg 아토바스타틴-Ca 염-마이크로캡슐 + 2mg/kg D5-아토바스타틴.

[0086] 제형 f: 28mg/kg 아토바스타틴-Na 염-마이크로캡슐 + 2mg/kg D5-아토바스타틴.

[0087] 본 제형을 이용해 E군에 대해 제형 e를 투여하고 시간에 따른 채혈을 진행하고, F군에 대해 제형 f를 투여하여 시간에 따른 채혈을 진행하였다. 본 실시예 3의 시험 디자인에 대한 개략도를 도 7에 개시하였다.

[0088] 그 결과, 안정동위원소에 의한 표준화 (normalization)을 통해 생동성 평가 변수인 Cmax 및 $AUC_{last}$의 개체간 변동률이 획기적으로 감소되는 것을 확인하였으며(도 8), 이로 인해 $AUC_{last}$에 대한 생동성 기준을 만족하게 되는 것을 확인하였다.

표 5

[0089] 아토바스타틴이 나트륨염과 칼슘염 조건에 따른 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화를 통한 개체간 PK 변수의 변동율 감소 확인

| | | ATV-Na-마이크로캡슐 | | ATV-Ca-마이크로캡슐 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Cmax | AUC | Cmax | AUC |
| 아토바스타틴 단독 | 평균 | 445.61 | 48674.15 | 120.07 | 17045.34 |
| | 표준편차 | 419.98 | 28004.00 | 73.95 | 3884.76 |
| 안정동위원소-표준화 | 평균 | 15.28 | 16.59 | 7.08 | 15.93 |
| | 표준편차 | 9.96 | 3.51 | 4.18 | 3.28 |

표 6

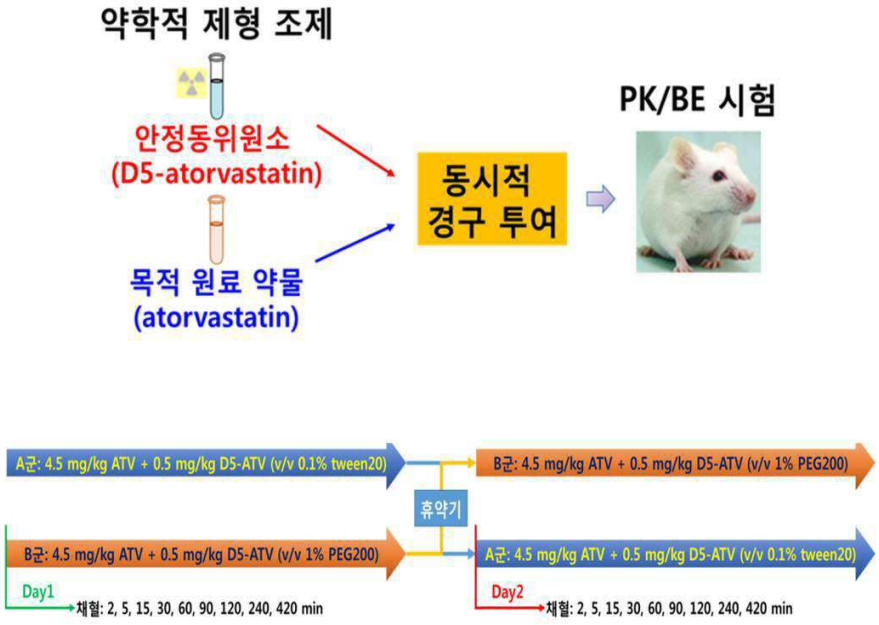
[0090] 안정동위원소로 치환된 아토바스타틴에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴의 생동성 평가 결과

| 생동성 평가 | 아토바스타틴 단독 | | 안정동위원소에 의한 표준화에 따른 아토바스타틴 | |
|---|---|---|---|---|
| | $Ln(C_{max})$ | $Ln(AUC_{last})$ | $Ln(C_{max})$ | $Ln(AUC_{last})$ |
| RefGeoLSM | 4.58 | 9.69 | 1.95 | 2.73 |
| TestGeoLSM | 5.89 | 10.71 | 2.46 | 2.76 |
| Ratio(%Ref) | 372.1 | 278.9 | 166.3 | 102.6 |
| intersubject CV(%) | 88.9 | 21.3 | 34.2 | 4.9 |
| CI 90% lower | 162.2 | 185.8 | 99.4 | 84.3 |
| CI 90% upper | 853.4 | 418.8 | 278.3 | 124.7 |
| Prob>80% | 0.003 | 0.000 | 0.013 | 0.021 |
| Prob<125% | 0.982 | 0.998 | 0.827 | 0.048 |

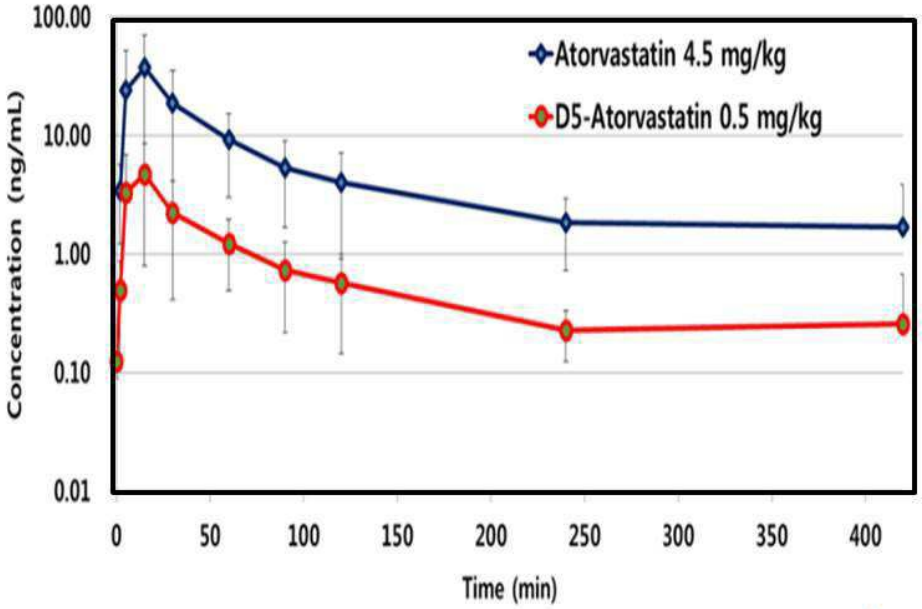
[0091] 상기와 같은 과정으로 실시예 3에 해당하는 마이크로캡슐-안정동위원소로 치환된 아토바스타틴 제형을 이용한 생물학적 동등성 시험을 통해 고변동성 약물인 아토바스타틴의 개체간 PK 변동율을 줄일 수 있다는 것을 확인하였다.

도면

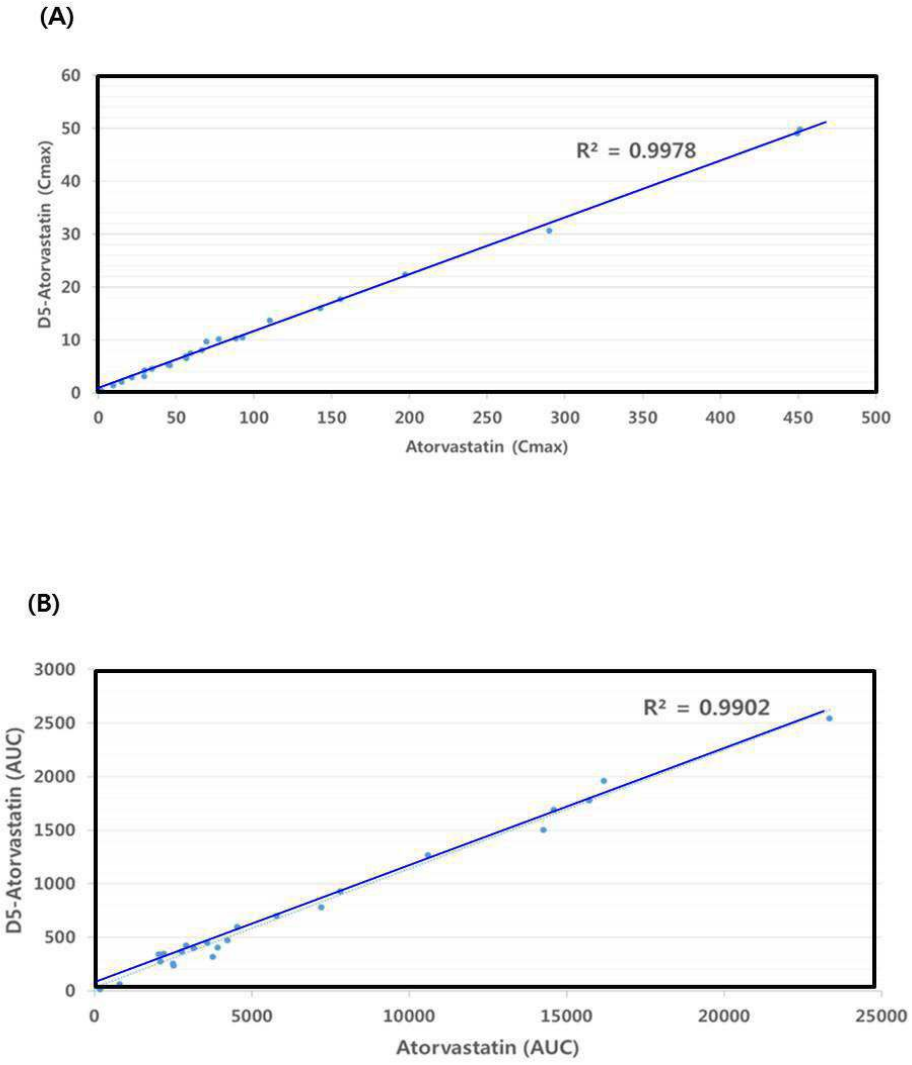
도면1



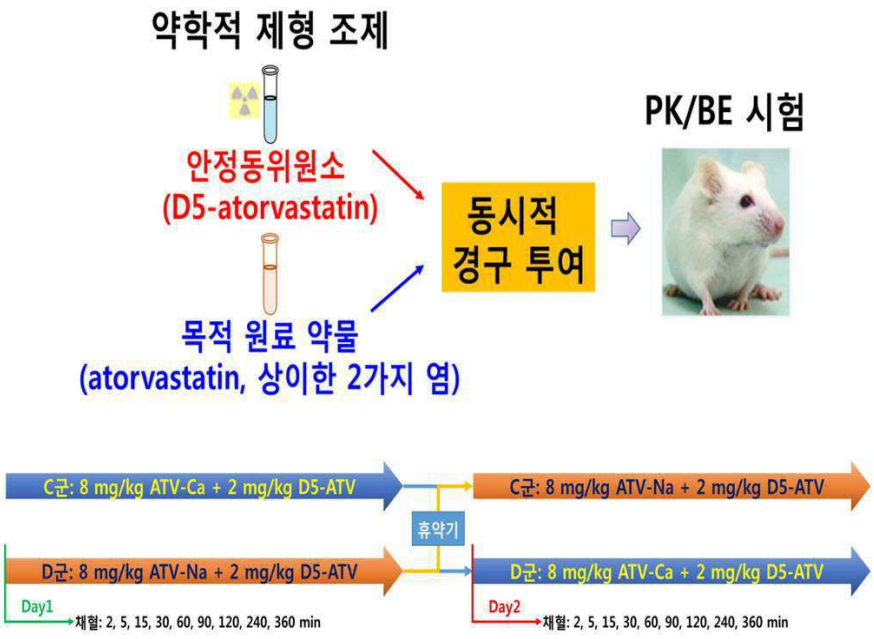
도면2


100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
Concentration (ng/mL)
0
50
100
150
200
250
300
350
400
Time (min)
Atorvastatin 4.5 mg/kg
D5-Atorvastatin 0.5 mg/kg

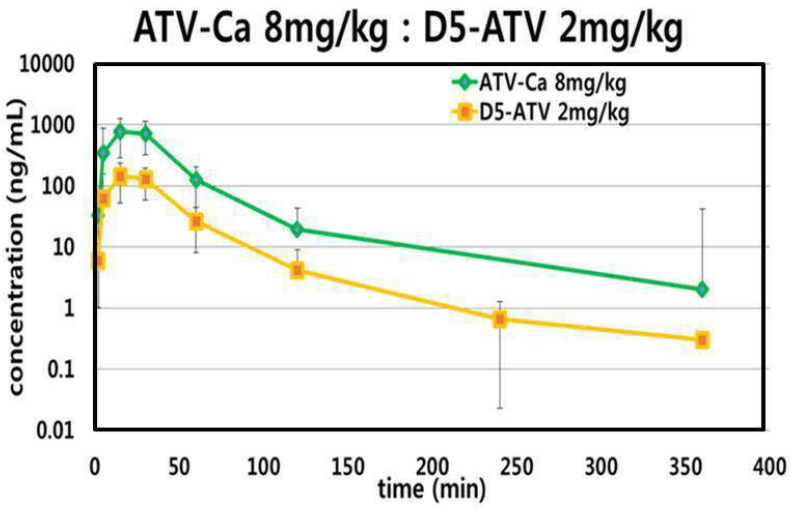
도면3

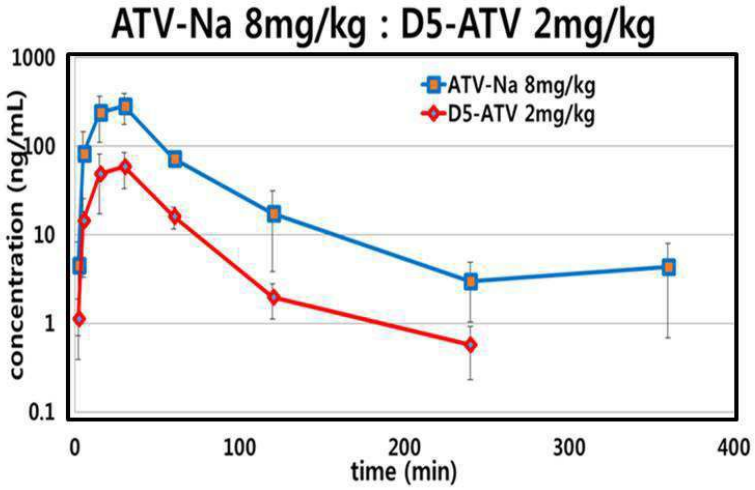

(A)
R² = 0.9978
D5-Atorvastatin (Cmax)
Atorvastatin (Cmax)
0
10
20
30
40
50
60
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
(B)
R² = 0.9902
D5-Atorvastatin (AUC)
Atorvastatin (AUC)
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
0
5000
10000
15000
20000
25000

도면4


약학적 제형 조제
안정동위원소
(D5-atorvastatin)
목적 원료 약물
(atorvastatin, 상이한 2가지 염)
동시적
경구 투여
PK/BE 시험
C군: 8 mg/kg ATV-Ca + 2 mg/kg D5-ATV
C군: 8 mg/kg ATV-Na + 2 mg/kg D5-ATV
휴약기
D군: 8 mg/kg ATV-Na + 2 mg/kg D5-ATV
D군: 8 mg/kg ATV-Ca + 2 mg/kg D5-ATV
Day1
채혈: 2, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360 min
Day2
채혈: 2, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360 min

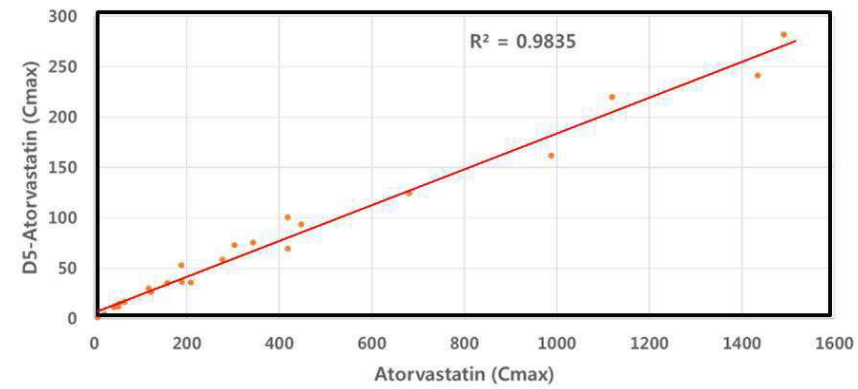
도면5


ATV-Ca 8mg/kg : D5-ATV 2mg/kg
ATV-Ca 8mg/kg
D5-ATV 2mg/kg
concentration (ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
50
100
150
200
250
300
350
400
time (min)

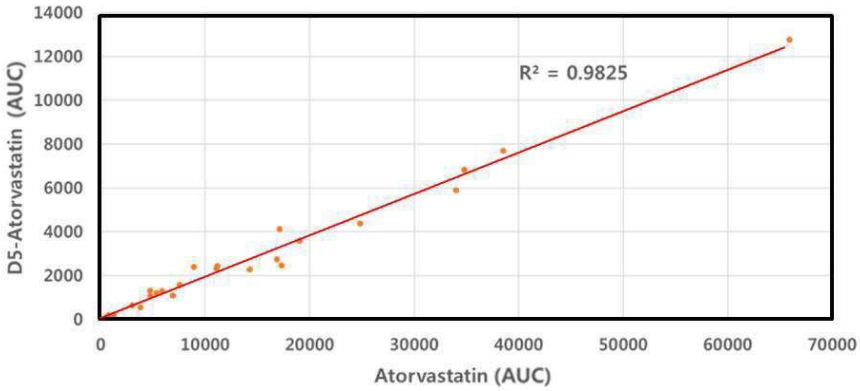

ATV-Na 8mg/kg : D5-ATV 2mg/kg
ATV-Na 8mg/kg
D5-ATV 2mg/kg
concentration (ng/mL)
1000
100
10
1
0.1
0
100
200
300
400
time (min)

도면6

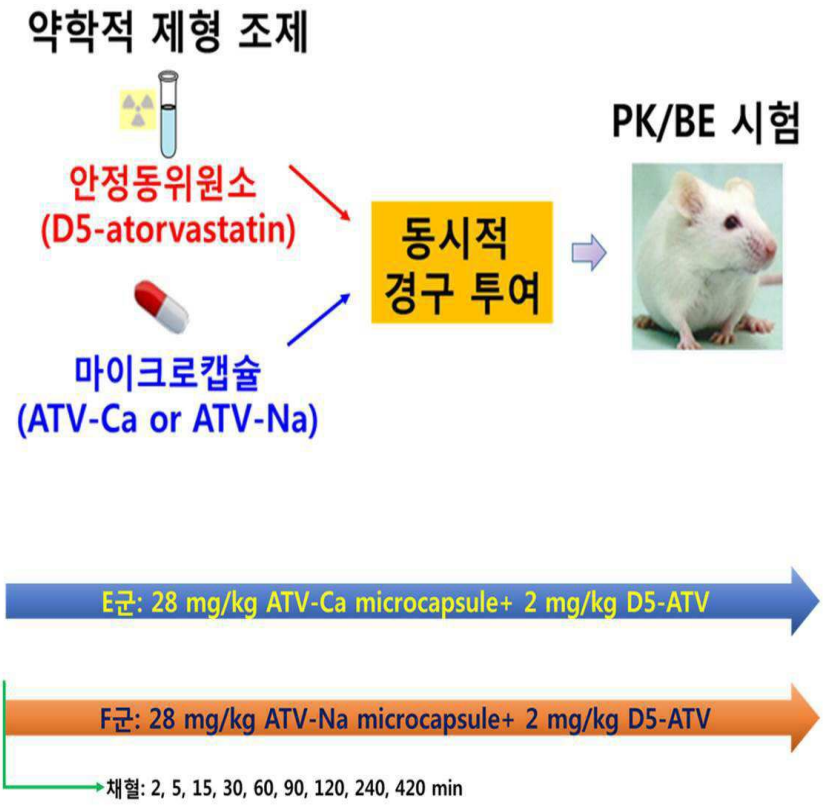
(A)


R² = 0.9835
D5-Atorvastatin (Cmax)
Atorvastatin (Cmax)
0
50
100
150
200
250
300
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600

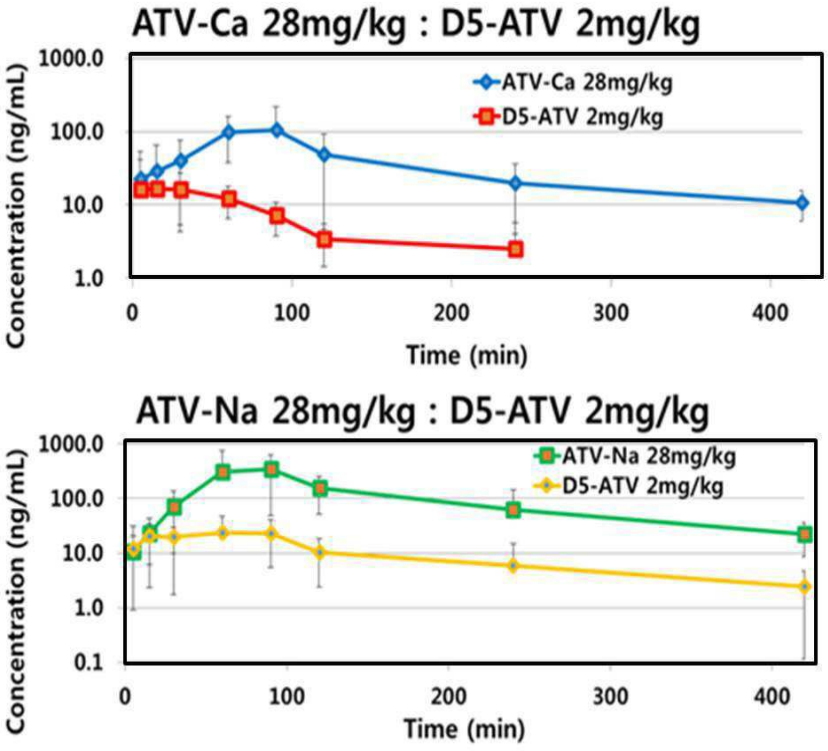
(B)


R² = 0.9825
D5-Atorvastatin (AUC)
Atorvastatin (AUC)
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
0
10000
20000
30000
40000
50000
60000
70000

도면7


약학적 제형 조제
안정동위원소
(D5-atorvastatin)
마이크로캡슐
(ATV-Ca or ATV-Na)
동시적
경구 투여
PK/BE 시험
E군: 28 mg/kg ATV-Ca microcapsule+ 2 mg/kg D5-ATV
F군: 28 mg/kg ATV-Na microcapsule+ 2 mg/kg D5-ATV
채혈: 2, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 240, 420 min

도면8


ATV-Ca 28mg/kg : D5-ATV 2mg/kg
ATV-Ca 28mg/kg
D5-ATV 2mg/kg
Concentration (ng/mL)
1000.0
100.0
10.0
1.0
0
100
200
300
400
Time (min)
ATV-Na 28mg/kg : D5-ATV 2mg/kg
ATV-Na 28mg/kg
D5-ATV 2mg/kg
Concentration (ng/mL)
1000.0
100.0
10.0
1.0
0.1
0
100
200
300
400
Time (min)