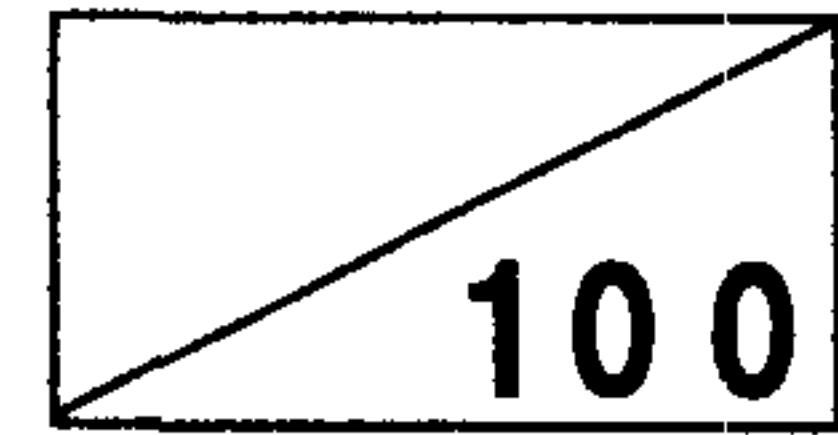


제 2차 년도
최종보고서



경구제어 방출제제 개발

The Development of Oral, Extended
Release Dosage Form

고혈압 협심증 치료제 딜티아젬의 경구용 서방성 제제 개발

The Development of sustained release pellet of diltiazem
hydrochloride as anti-hypertension and anti-angina pectoris agent

연구기관

한국신약개발연구조합

과 학 기 술 처

제 출 문

과학기술처장관 귀하

본 보고서를 “경구제어 방출제제에 관한 연구” 과제의 세부과제 “고혈압 협심증 치료제 딜티아젬의 경구용 서방성제제 개발에 관한 연구”의 세부과제 보고서로 제출합니다.

1997. 6. 21.

주관연구기관명 : 한국신약개발연구조합

총괄연구책임자 : 권 종 원

참여기업명 : (주) 코 오 룡

협동연구책임자 : 박 호 진

연구원 : 안 병 구 이 정 상

유 상 현 양 재 권

김 현 진

위탁연구기관명 : 서울대학교병원

위탁연구책임자 : 신 상 구

연구원 : 장 인 진 임 동 석

신 유 경 송 가 현

송 리 라 정 선 주

여 백

요 약 문

I. 제 목

고혈압 협심증 치료제 딜티아젬의 경구용 서방성제제 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

근래 고혈압 협심증은 대표적인 성인병으로 우리 나라에서도 생활수준의 향상과 식생활개선으로 발생빈도가 현저히 높아져 성인의 10~15%가 고혈압치료를 필요로 하고 있다고 추정되고 있으므로 유효성 있는 신규 고혈압치료제의 개발이 요구되고 있으며, 신약개발 비용보다 현저히 적은 비용으로 방출제어형 제제를 개발함으로써 환자의 편의성을 향상시키고 치료효과를 높이는 동시에 제제의 고부가가치를 실현할 수 있으며, 동시에 국제화시대의 기술경쟁력을 확보하고자 한다. 이에 일본의 Tanabe사에서 개발된 딜티아젬의 경우 우수한 효능 뿐 아니라 미국 내에서 10억불 이상의 매출을 기록하고 있고 이의 방출제어용제제의 시장이 지속적인 증가추세에 있으므로 딜티아젬의 서방성제제를 개발할 경우 국내 시장 뿐 아니라 해외시장의 진출 및 기술판매의 가능성도 대단히 높은 약물이므로 딜티아젬의 24시간 방출제어용제제를 개발하고자 한다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

고혈압 협심증 치료제인 딜티아젬의 방출조절제제를 제조하여 이의 용출속도를 조절하고, 약리연구를 통하여 흡수, 분포 대사, 배설의 경로를 확인하여 24시간 서방성제제로 최적화된 제제를 개발, 제조하는 것을 목표로 1차년도에는 딜티아젬의 180mg 제제의 서방화와 이의 생체이용률을 기 개발제품과 비교하였으며, 2차년도에는 1차년도의 formulation을 보완하고, 현재 국내 허가되어 있는 딜티아젬제제인 240mg제제와 미국에서 시판되고 있는 300mg을 모델로 딜티아젬의 고함량(180mg 이상) 제제화 및 이의 제조공정연구를 실시하였고 약효발현의 최적화를 위한 formulation 연구를 병행하였다.

IV. 연구개발결과

1차년도 연구결과로 딜티아젠프의 24시간 서방성제제는 불활성 코어 위에 PVP를 이용하여 딜티아젠프를 코팅하고 그 위에 용출조절을 위하여 Eudragit RS과 L로 membrane층을 형성하고 초기 용출률의 향상을 위하여 최외층에 drug matrix층을 도입하였고, 이에 적합한 조성을 개발하였고, 2차년도에는 본 제제의 formulation을 좀 더 보완하여 서로 다른 pH 수용성을 가지는 물질들과 수불용성의 물질을 혼합 사용하여 GI tract에서의 용출률 변화를 줄였으며 이의 제조공정을 확립함과 동시에 중증 고혈압 치료를 위한 고함량의 제제의 formulation을 개발하여 딜티아젠프의 180, 240mg 및 300mg의 24시간 서방형 제제를 개발하였고 family product로서 딜티아젠프 90mg의 12시간 지속형제제를 개발하였다. 이렇게 제조된 제제들의 약동학 및 약력학적 특징들을 비교하였다.

V. 연구개발 결과의 활용계획

현재 딜티아젠프의 90, 180 및 240mg 제제에 대한 품목허가는 득한 상태이나 300mg의 경우 국내에 아직 도입되지 않아 현재로서는 허가가 용이하지 않아 먼저 90, 180, 및 240mg 제제의 약동학 및 약력학 비교시험을 실시 중에 있으며, 이 결과가 정리되는 시점인 98년 초에 이들 제제에 대한 상업화를 진행할 예정이며, 300mg 제제의 경우 국내허가를 득하는 시점에서 상업화를 검토할 예정으로 있다.

SUMMARY

I. Title

The Development of sustained release pellet of diltiazem hydrochloride as anti-hypertension and anti-angina pectoris agent

II. The Purpose and Necessity of the Research

The object of this project is to develop once-daily sustained release dosage form and formulation of diltiazem hydrochloride that has possibilities to go into domestic market and one abroad.

The development of sustained release dosage form has benefits that it costs cheaper than that of new drug and improves the convenience of patients and effectiveness of treatment. Moreover pharmaceutical market trends move to sustained release dosage form

Recently the development of new effective anti-hypertension agent or formulation is required because hypertension and angina pectoris are representative adult disease and highly increasing of invasion frequency and it is estimated that 10 to 15% of adults need to treat these diseases.

Diltiazem hydrochloride developed by Tanabe in Japan has good efficacy and big market share up to one billion dollars and market share of its sustained release dosage form has been increased continuously.

At this time the development of diltiazem sustained release dosage form has possibility of licencing to other pharmaceutical company and chances for obtaining prevail technologies for designing and formulating the new sustained release dosage form.

III. Details and Scopes of the Research

1. the 1st term

- i) Preparation of once-daily diltiazem 180mg sustained release pellet
- ii) Optimization of diltiazem sustained release pellet formulation by investigating the absorption, distribution, metabolism and elimination of diltiazem through the pharmacokinetic study
- iii) Relative bioavailability test was carried out

2. the 2nd term

- i) Modification of the once-daily diltiazem formulation
- ii) The formulation study of high content of diltiazem
- iii) Optimization of manufacturing process
- iv) In-vivo pharmacological study of three different content of diltiazem doses (90 : twice daily, 180 and 240 : once-daily)

IV. Results of the Research

As results of the 1st term of this project,

We designed the once-daily diltiazem sustained release dosage form that is composed of inert core, diltiazem containing layer composing of diltiazem, PVP as binding material and other excipient, membrane to regulate releasing rate and drug matrix to compensate for initial releasing lag of diltiazem and developed the suitable composition of each material. And through in-vivo relative bioavailability test, we prepared the product that its bioavailability was higher than marketed product

At the 2nd term of this project,

We modified the formulation of the dosage form, especially membrane formulation, at the basis of results of the 1st term to mixed materials with two water soluble polymer, Eudragit L and S, and water insoluble and permeable polymer, Eudragit RS. and then optimized each composition of the

formulation at the consideration of environment of GI tract. We set the manufacturing process to continuous and optimized the condition of each processes

Through a series of study above, we developed 180, 240mg once-daily formulation and diltiazem 90mg twice-daily formulation.

V. Plans to Apply the Results of the Research

Now 90, 180 and 240mg doses of the diltiazem are approved for manufacturing and being studied the phamacodynamics and pharmacokinetics of each doses and will be compared the differences among these doses. Commercialization of these doses are proceding the beginning of 1998 when the study of phamacodynamics and pharmacokinetics complete. and the results will be analyzed.

In case of 300mg dose of diltiazem, approval for manufacturing of this dose is not easy because it is not introduced to Korea. Commercilaization of this dose will be dicussed at the time this dose is approved in Korea.

여 백

CONTENTS

Chapter 1. INTRODUCTION	13
Chapter 2. INTERNAL AND EXTERNAL STATE OF THE ARTS	17
Chapter 3. CONTENTS AND RESULTS OF THE RESEARCH	21
Chapter 4. MEASURES OF ACHIEVEMENT AND CONTRIBUTION ...	43
Chapter 5. PLANS TO APPLY THE RESULTS OF THE RESEARCH.....	47
Chapter 6. REFERENCES	51
Chapter 7. CONTRACT PROJECT	55

여 백

목 차

제1장 서 론	13
제2장 국내외 기술개발 현황	17
제3장 연구개발 수행내용 및 결과	21
제4장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도	43
제5장 연구개발 결과의 활용계획	47
제6장 참고문헌	51
제7장 위탁과제	55

여 백

제1장 서 론

여 백

제 1장 서 론

딜티아젬은 calcium channel blocker로 고혈압 협심증 치료에 이용되는 약물이다.[1-4] 이 약물은 물에 잘 녹고 반감기가 짧고 만성 질병에 이용되므로 지속성 제제 아주 적당한 후보물질이며, 1일 2회 혹은 1회 복용제제로 개발하려는 시도가 계속되고 있다.[5-7]

제어방출형제제의 경우 유효혈중농도와 약동력학적 특성에 기초하여 미리 설계된 속도로 약물이 방출되도록 하는 제형이다.[8] 이 제형의 경우 약물의 속도를 조절할 수 있는 film 코팅기술이 매우 중요하며, 현재 pellet제형의 개발방향도 용출조절을 위한 용출조절막의 조성연구가 많이 진행되고 있다.

이에 Elan사에서는 용출조절을 위하여 유기산을 사용하거나, 또는 24시간 지속성제제의 문제점인 초기 용출지연을 방지하기 위하여 속방성제제를 함께 사용하여 diltelan이라는 제품을 개발하였으며, 국내에서도 근화제약에서 이 제품을 수입시판하고 있다.[9-11]

본 연구에서는 24시간 용출조절을 위하여 유기산이나 속방성 제제의 사용없이, 환자 및 개체간의 편차가 적은 pellet형태로 다양한 제형을 설계하고 수용성 polymer와 수불용성 polymer를 적절히 혼합하여 각 제형에 대한 특성 및 formulation에 대한 특성과 GI tract의 환경변화 등을 파악하여 딜티아젬의 24시간 서방성제제로서 최적화된 제형 및 formulation을 개발하기 위한 연구를 진행하였다. 또한 중증 고혈압환자의 치료를 위한 딜티아젬의 고함량화된 제제의 제형 및 formulation을 설계하여 이를 24시간 서방화에 적합하도록 조성을 개발하였으며, 비교적 저함량의 12시간 서방성제제를 동시에 개발하여 이들의 임상에서의 약동학 및 약력학적 차이들을 측정하여 비교하였으며, 이러한 일련의 기술 개발을 토대로 향후 타제제의 24시간 서방화의 핵심기술로 활용하고자 한다.

여 백

제2장 국내외 기술개발 현황

여 백

제 2장 : 국내외 기술개발 현황

일본 Tanabe사에 의해 딜티아젬이 개발된 이래 여러 종류의 제제가 개발되고 있으며 일부는 이미 시판되어 성숙기에 있는 제품들도 다수 있다. 이 중 특히 Tanabe사가 개발한 Herbesser[®]와 Marrion Merrel Dow가 개발한 Cardizem[®], Elan사의 Diltelan[®], Rhone-Poulenc Rorer의 Dilarcor-XR[®] 등이 가장 잘 알려진 제제이다.

그러나 이들 제제의 경우 속방성과 서방성 제제를 각각 제조하여 이들을 혼합 충전하거나 용출률의 감소를 위해 유기산등을 사용하며 지속적인 용출을 발현하기 위해 Gel 형태의 제형을 사용하는 등 그 제조나 복용에 있어 다소 불편함을 가지고 있으나, 본 연구에서 적용한 제제의 제형 및 formulation은 단일공정으로 제조할 수 있으며, 장시간 지속성제제의 문제점인 초기 용출지연을 drug matrix 층을 도입함으로써 극복하였고 용출률의 지속 및 GI tract의 환경변화에도 적합하도록 제제를 설계하였으므로 기존의 공정을 단순화시켰고, 장시간의 경구용제형에 적합하도록 제제를 개발하였으며, 현재 MMD 및 Verex 등에서 개발한 고함량의 딜티아젬 제제를 동시에 개발하여 중증 고혈압 치료를 위한 제품의 다양화를 위한 기술들을 확보하였고 이들에 대한 임상 data를 확보함으로써 서방성제제의 formulation 및 제형 설계에 대한 기술들을 확보하였다.

국내의 경우를 보면 '95년 현재 13개의 제품이 시판되고 있으나, 대부분은 수입에 의존하거나 일반제제를 판매하고 있는 실정이라서 국내 기술에 의한 제품 개발이 시급한 실정이며, 시장 점유면에서도 국내 딜티아젬 시장의 80% 이상을 수입품에 의존하고 있는 상황이므로 본 연구의 상업화로 수입대체 효과 뿐 아니라 자체 기술에 의한 기술 자립도에도 큰 영향을 미치리라 판단된다.

또한 현재 제약산업의 변화를 보면 일반제에서 점점 서방제제의 비중이 높아져 가고 있고 시장상황 역시 서방제로의 전환이 이루어지고 있는 시점이므로 본 연구를 통한 24시간 서방성제제 개발 기술들이 타제제의 서방화에 응용될 수 있어 그 기술의 파급효과 또한 크다고 하겠다.

여 백

제3장 연구개발 수행내용 및 결과

여 백

제 3장 : 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 고함량의 제제화 연구

1. 제형보완 및 기본 formulation설계

가. 제형의 보완

1차년도 결과에 의해 설계된 pellet 제형에서는 seed material을 사용하였으나, 이를 고함량화 할 경우 material balance 상의 문제와 제제 자체의 크기가 커져 상용화 할 경우 문제가 있으므로 이 seed material을 델티아젯의 과립으로 대체 하므로서 이러한 문제들을 보완하였다.

기본적인 제형은 동일하나 seed로 사용되던 nonpareil을 델티아젯의 과립으로 대체하였다. 그 상세한 내용을 review 하면 (Table 1)과 같다.

(Table 1) 고함량의 제형 및 그 formulation.

제형	Formulation
1. 약물의 과립 (240mg 이상의 경우)	주약물과 결합제로 구성된 과립
2. 주약물을 함유하는 약물 함유층	주 약물과 이를 과립의 표면에 코팅하기 위한 결합제로 구성
3. 약물의 용출속도를 조절하는 membrane 층	24시간 동안 용출을 계속해야 하므로 수용성 polymer보다는 침투성 polymer 사용
4. 약물의 matrix층	장시간의 용출속도유지를 위해 membrane층의 두께가 두꺼워지므로 초기 용출 지연발생

나. Formulation의 착안점 및 구성

(1) 위,장관의 환경변화

덜티아젬의 24시간 서방제제의 경우 장시간 용출속도를 유지하여야 하고 이 용출속도는 위,장관의 환경변화에 영향을 받으므로 이에 대한 고려가 필요하다. 우선 위, 장관의 환경변화를 (Table2)에 나타내었다.

(Table 2) 위,장관의 pH 환경변화, 흡수면적, 및 약물의 잔류시간

소화관	pH	면적(m ²)	잔류시간
경구	5.2~6.8	0.05	short
위	1.2~3.5	0.1~0.2	0.25~3
십이지장	4.6~6.0	about 0.04	1~2
소장	4.7~6.5	4500	1~10
대장	7.5~8.0	0.5~1	4~20

위의 (Table2)에서 볼 수 있듯이 약물의 경구 투여시 위,장관을 거치는 동안 많은 환경변화를 거치게 되고 이러한 환경변화를 고려한 formulation의 구성이 24시간 서방성제제의 중요기술이라 할 수 있다.

(2) Formulation 착안점 및 구성

(Table 2)에 나타낸 위,장관의 환경변화를 분류하여 용출률을 설정하면 경구에서의 약물방출은 잔류시간이 짧으므로 무시 가능하며 위에서 소장 상부까지의 pH는 산성에서 pH 5.5까지이며, 그 흡수면적은 십이지장까지는 작은 반면 소장에 이르러 그 면적이 월등히 커지므로 소장 상부(pH=5.5, 3~10시간까지)까지의 용출은 일정하게 유지하고 pH가 5.5 이상이 되고 흡수면적도 커지는 소장 하부에서 대장에 이르는 구간(pH=6.0 이상, 5~24시간)에서는 용출속도를 증가시켜 약물의 이용률을 높이고자 membrane의 formulation을 수불용성이며 침투성인 Eudragit RS를 기본으로 하여 pH=5.5 이상에서의 용출률을 높이고자 pH=6.0 이상에서 수용성인 Eudragit L을 혼합 사용하였다. 그러나 이 경우 pH가 6.0이 넘

는 소장하부에서 Eudragit L의 용해로 인해 용출률이 갑자기 증가하게 되어 12시간 정도에 용출이 완료되고 이 때부터 혈중농도를 감소시키는 요인이 되므로 이러한 갑작스런 용출률의 증가를 막기 위해 즉, 수용성 polymer의 pH sensitivity를 낮추기 위해 pH=7.0 이상에서 수용성인 Eudragit S를 혼합사용하였다.

이러한 formulation의 결과로 우선 낮은 pH에서 침투성 polymer의 단점인 membrane의 hydration 이후의 갑작스런 용출률 증가를 수용성 polymer로 방지할 수 있으며, 중간 정도의 pH (pH 6.0에서 7.0까지) 즉 흡수면적이 넓은 소장에서는 용출률을 약간 상승시키고 용출되지 않고 남아 있는 나머지 약물들을 소장의 말단부에서 대장에 이르는 시점에서 모두 용출시키므로써 약물의 혈중농도 감소폭을 줄이고자 하였다.

(3) 용출률 설정

제조될 제제의 목표 용출률은 24시간동안 지속적으로 용출이 이루어지며, 딜티아젬의 서방성제제의 경우 6~11시간에서 최대 혈중농도가 발현된다고 보고되어 있으므로 이 시간대의 용출속도를 최대로 설정하여 1시간에 20%이하, 2시간에 30%이하 4시간에 45%이하 6시간에 60%이하 12시간에 75~90%, 24시간에 90% 이상이 용출되는 것을 목표범위로 정하였다. 이러한 용출률의 설정은 그 함량이 높아질 경우 상대적으로 혈중농도의 상승만을 가져오므로 24시간용 제제에서는 공통적으로 적용 가능하다고 판단된다. 또한 90mg의 12시간 서방성제제의 경우 2시간에 50%이하, 4시간에 70% 이하, 8시간에 90%이하 12시간에 90% 이상으로 설정하였다.

즉 24시간 서방성제제의 경우 12시간까지 용출률을 증가시켜 6~12시간에서 최대 혈중농도를 나타내게 하고 이 후 10~25%의 용출을 지속시켜 혈중농도의 감소폭을 줄임으로서 약효의 지속성을 유도하였고, 12시간 서방성제제의 경우 2~6시간에서 최대혈중농도를 발현시키고 잔류용출을 6시간 이후에 일어나도록 하여 지속성을 유도하였다.

제 2절 실험방법

1. 시약 및 기기

가. 시약

덜티아젠펜 hydrochloride(Sumitra Pharmaceuticals & Chemicals Co.), Nonpareil (Freund, Japan), Polyvinylpyrrolidone(PVP, Hong Sung Pharm. Co.), Sodium Alginate(SA, SIGMA), Lauryl sulfate sodium salt(SLS, Hong Sung), EtOH(Duksan Pharmaceuticals Co.), Diethylphthalate(DEP, Junsei chemicals Co.), Dibutylphthalate(DBP, "), Triethyl citrate(TEC, Rohm Eudraflex), Talc(Hong sung), Eudragit series(Rohm, Germany), Potassium chloride(Shinyo Pure Chemicals Co.)

나. 주요 기기

Fluidized bed coater(Glatt GPCG1), UV spectrophotometer(HP 8452A), Dissolution tester(Hanson Research SR6), Homogenizer(Polytron PT6000), HPLC(Waters 486, Waters 510 pump)

2. 제조 방법

제제의 제조방법은 1차년도에서 설정한 방법과 유사하여 중복되는 부분은 생략하고 고함량화로 인해 변화된 방법만을 나타내었다.

가. 제조 공정

이미 설정된 제조 공정과 동일하며 1차년도(180mg 제제)에 적용되었던 공정 중 seed material 대신 약물의 과립을 사용하였다.

제조공정을 간략히 살펴보면 Glatt사의 유동층 코팅기(GPCG1, rotor type)에

약물과 부형제로 제조된 과립을 넣어 유동시키며 결합제와 기타 부형제로 구성된 결합용액으로 딜티아젬을 코팅, 건조하고 다시 membrane 용액을 코팅하며 마지막으로 drug matrix층을 코팅, 건조하여 pellet을 제조한 뒤 이를 capsule에 filling하므로서 제제의 제조를 완성한다.

나. 약물의 과립 제조

적당량의 딜티아젬과 부형제와 결합제가 혼합된 결합용액을 혼합하여 810 μ m 이하의 mesh를 통과시켜 과립을 제조 건조한 후 이를 약물함유층 제조를 위한 seed material로 사용하였다.

기타 membrane 및 drug matrix용액의 제조방법은 1차년도와 동일하다.

3. in-vitro 용출률 시험

제제의 in-vitro 평가를 위하여 Hanson Research SR6 model의 용출시험장치를 이용, USP XXII, paddle method로 교반속도는 100rpm으로 하고, 온도는 37 \pm 0.5 $^{\circ}$ C로 하여 24시간 동안 진행하며 sampling 하였으며, 용출시험액은 pH 용해성이 다른 두 polymer를 혼합 사용하였으므로 0.1N HCl 용액 (pH=1.1), 0.05M KCl용액(pH=5.5) 및 phosphate buffer(pH=6.8)를 사용하여 pH에 따른 용출률의 변화를 고찰하였고, 분석은 UV spectrophotometer(HP 8452A)를 이용, 파장 238nm에서 미리 작성된 검량선으로부터 농도를 측정하였다.

제 3절 연구내용 및 연구결과

1. 연구내용

가. In-Vitro 분석법

membrane 층의 formulation 설정시 서로 다른 pH에서 녹는 두 종류의 polymer를 혼합 사용으로 인해 in-vitro 용출률 측정시 용출 medium의 pH에 따라 용출률이 상이하게 나타나므로 제제의 용출률을 정확히 시험하기 위한 in-vitro 분석법을 설정하기 위해 아래의 formulation으로 제조된 제제를 용출액을 0.1N HCl용액(pH=1.1) , 0.05M KCl용액(pH=5.5), phosphate buffer(pH=6.8) 및 variable pH 용액(0~2시간 : pH=1.1, 2~3시간 : pH=5.5, 3~24시간 : pH=6.8)로 하여 용출률의 변화를 고찰하였다.

(Table 3) 용출액의 pH변화에 따른 용출률 변화 측정을 위해 제조된 sample의 formulation.

material	content (wt%)
nonpareil	32.45
diltiazem	44.67
PVP	2.43
SLS	0.49
Eudragit RS	12.76
Eudragit L	0.70
Eudragit S	0.22
diethylphthalate	2.73
talc	3.55
total	100.00

나. pH 변화에 따른 용출률 조절

formulation 착안점에서 언급하였듯이 GI tract의 pH 환경변화에 따른 용출률의 조절을 위해 서로 다른 pH 용해도를 가지는 두 물질 Eudragit L과 S를 혼합하였으나, 이로 인해 용출률이 갑자기 상승하는 것을 막기 위해 다음과 같은

formulation으로 제제를 제조하여 각각을 용출액의 pH에 따라 용출률을 측정하여 비교하므로써 Eudragit L과 S의 최적 혼합비를 결정하였다.

(Table 4) Eudragit L과 S의 혼합비에 따라 제조된 제제의 formulation.

no. material	content (wt%)		
	1	2	3
nonpareil	21.44	21.44	21.44
diltiazem	60.00	60.00	60.00
PVP	1.54	1.54	1.54
SLS	0.32	0.32	0.32
Eudragit RS	10.62	10.62	10.62
Eudragit L	0.66	0.45	0.34
Eudragit S	0.66	0.87	1.00
diethylphthalate	2.38	2.38	2.38
talc	2.38	2.38	2.38
total	100.00	100.00	100.00

다. 제제의 크기 변화에 따른 membrane 두께의 최적화

제제의 고함량화로 인한 제제의 크기 상승으로 동일량의 제제일 경우 코팅면적이 감소하게 되므로 동일한 용출 pattern을 나타내기 위해서는 membrane의 코팅량이 감소하게 된다. 그러므로 제제의 함량 변화에 따른 membrane층의 코팅량의 최적화를 위해 다음과 같은 formulation으로 제제를 제조하여 in-vitro 용출률을 측정하므로써 그 코팅량을 결정하였다.

(Table 5) Membrane층의 두께에 따라 제조된 제제의 formulation.

no. material	content (wt%)		
	1	2	3
nonpareil	24.71	23.04	21.44
diltiazem	60.00	60.00	60.00
PVP	1.80	1.65	1.54
SLS	0.36	0.34	0.32
Eudragit RS	8.67	9.76	10.79
Eudragit L	0.15	0.20	0.24
Eudragit S	0.57	0.75	0.91
diethylphthalate	1.87	2.13	2.38
talc	1.87	2.13	2.38
total	100.00	100.00	100.00

라. 12시간 서방성제제(딜티아젬 90mg)의 제조

딜티아젬의 12시간 서방성제제를 개발하기 위해 고함량의 formulation 설계와 같은 접근방법으로 침투성 polymer로 ethylcellulose를 사용하였고 12시간 지속성이므로 GI tract의 pH에 24시간 지속성 제제보다 영향을 적게 받으므로 한 종류의 수용성 polymer 만을 혼합, 코팅하여 제제를 제조하여 기 시판 제품인 한일약품의 Herben 90mg tab. 제품과 비교, 분석하여 formulation을 결정하였다.

(Table 6) Membrane층의 조성 및 두께에 따라 제조된 제제의 formulation.

no. material	content (wt%)			
	1	2	3	4
nonpareil	32.81	33.59	32.81	32.06
diltiazem	22.54	23.6	22.54	22.53
lactose	27.33	27.45	27.33	26.20
PVP	2.81	2.88	2.81	2.75
SLS	0.65	0.58	0.56	0.55
Ethylcellulose	9.72	8.33	9.72	11.18
Eudragit L	0.34	-	-	-
Eudragit S	-	0.17	0.34	0.32
diethylphthalate	1.90	1.77	1.90	2.20
talc	1.90	1.77	1.90	2.20
total	100.00	100.00	100.00	100.00

마. 임상시험용 제제의 제조 및 용출 재현성 확인

이상의 연구들을 통하여 결정된 formulation으로 임상시험용 sample을 제조하여 이를 in-vitro 용출률을 측정하였다.

2. 연구결과

가. 약물과립 제조 및 제조공정

고함량화로 인한 제제의 크기 증가로 상용의 캡슐을 사용하지 못하고 물질수 지상의 문제들이 발생하므로 종래의 seed material 대신 약물의 과립을 사용하는 제형개발은 완료하였으나, 딜티아젬의 함량이 300mg 미만일 경우 seed material 을 사용하여도 큰 문제가 되지 않아 1차년도에 제형을 크게 벗어나지 않았으며, 제조공정 역시 1차년도에 확립한 공정과 동일하다. 그러나 딜티아젬의 함량이 300mg 이상이 될 경우 과립의 적용은 불가피하며 이 때 제조공정 역시 과립조립 공정이 포함되어야 하기 때문에 향후 함량 증가의 필요성이 요구되는 제제 개발에서 유익한 기술로 사용될 수 있다.

나. In-Vitro 분석법

앞에서 언급한 formulation으로 제조한 pellet으로 용출액의 pH에 따른 용출률의 변화를 고찰한 결과 (Figure 1)에서 보는 바와 같이 3시간까지의 용출률에서는 거의 차이가 없으며, 4시간까지도 용출률에서 근소한 차이를 보이고 있다. 또한 pH=1.1에서와 5.5에서의 용출률이 거의 동일하며, pH=6.8과 variable pH에서의 용출률이 거의 동일하게 나타나고 있는데 이는 본 연구에서 적용한 formulation이 침투성 polymer에 pH=6.0과 pH=7.0 이상에서 soluble한 material을 혼합 사용하였으므로 pH=1.1과 5.5에서는 이들 수용성 polymer들의 영향을 받지않아 이 두 용액에서는 동일하며, 용출액의 pH가 6.8이 되더라도 수용성 polymer가 비교적 소량 혼합되어 있고 membrane이 hydration 되어 수용성 polymer가 용해되어 영향을 나타내기까지는 일정시간이 경과되어야 하기 때문인 것으로 판단된다. 반면 약물의 경구투여시 소장까지의 도달시간은 통상 3~4시간으로 정도인 것으로 추정되므로 pH 6.0이하에 제제가 머무는 시간은 4시간 이하로 생각할 수 있다.

이와같은 결과로 24시간 서방성제제에 있어 그 formulation이 4시간 이전에 용출액의 pH에 영향을 받지않는다면 in-vitro 용출률 시험은 pH 6.8에서 24시간 동안 실시하는 것이 바람직하며 이는 시간에 따라 용출액의 pH를 조정 한 결과와도 동일하였으므로 본 연구에서는 in-vitro 용출시험에서 용출액의 pH를 6.8에서 실시하였으며, 기타 pH용액에서의 용출률 시험은 확인시험 정도로 실시하였다.

다. pH 변화에 따른 용출률 조절

제제를 실제 투여함에 있어 각 개체간의 편차가 크므로 in-vitro 상에서 비록 동일한 제제라 하더라도 실제 임상에서는 다르게 나타나는 경우가 있으므로 GI tract의 pH 상승에 따른 용출률의 증가를 유도한 본 연구의 formulation에서 pH의 변화에 제제의 용출률이 큰 폭으로 변한다면 실제 임상에서 그 편차가 매우 심할 것으로 생각되어 이를 최소화하기 위해 서로 다른 pH 용해도를 가지는 물질을 혼합 사용하였으며, 이 두 물질들의 혼합비에 따라 제조된 제제를 용출액의 pH를 달리하여 각각의 용출률을 비교하여 (Figure 2), (Figure 3) 및 (Figure 4)에 나타내었다.

이 결과에서 볼 수 있듯이 pH 7.0 이상에서 soluble한 Eudragit S의 양이 증가할수록 제제의 pH에 대한 민감도는 떨어지는 것을 볼 수 있다. 그러나 formulation 설계시 소장에서의 약물의 흡수를 증가시키기 위해 용출률이 다소 증가되도록 유도하였으므로 pH 6.0 이상에서 soluble한 Eudragit L을 혼합은 배제할 수 없어 formulation 3 정도의 혼합비를 가지는 조성이 적합하였다.

라. 제제의 크기 변화에 따른 membrane 두께의 최적화

일반적으로 제제의 크기가 커질수록 표면적은 증가하지만 이를 동일한 양의 개념으로 생각하면 표면적은 감소하게 되고 이 때 동일한 두께의 membrane을 코팅하여 같은 용출률을 발현시킬려면 코팅량을 감소시켜야 한다.

본 연구에서도 고함량화로 인하여 제제의 크기가 커졌으므로 코팅량을 결정하기 위해 서로 다른 두께의 membrane이 코팅된 제제들을 용출액의 pH 6.8에서 용출률을 측정하여 (Figure 5)에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 formulation 1, 2는 12시간 정도에서 용출이 거의 완료되어 12시간 이후의 혈중농도가 급격히 감소할 우려가 있는 반면 formulation 3은 12시간 이후에도 용출이 어느 정도 지속되고 있어 혈중농도를 지속시킬 수 있을 것으로 판단되므로 formulation 3이 적합하였다.

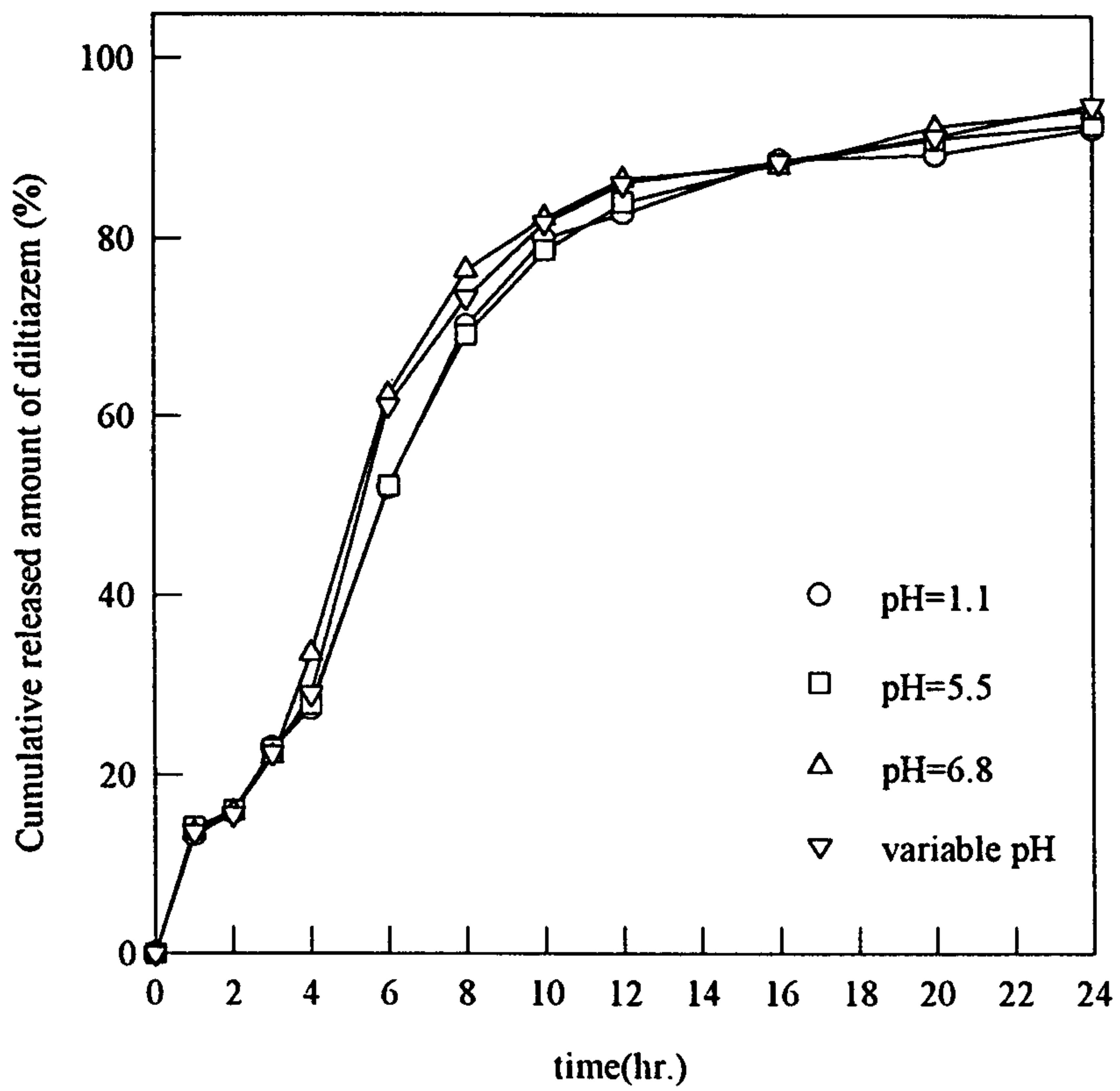
마. 12시간 서방성제제(덜티아젬 90mg)의 제조

덜티아젬의 함량별 약동학 및 약력학을 비교하기 위해 12시간 지속성의 90mg 제제의 formulation을 개발하였다.

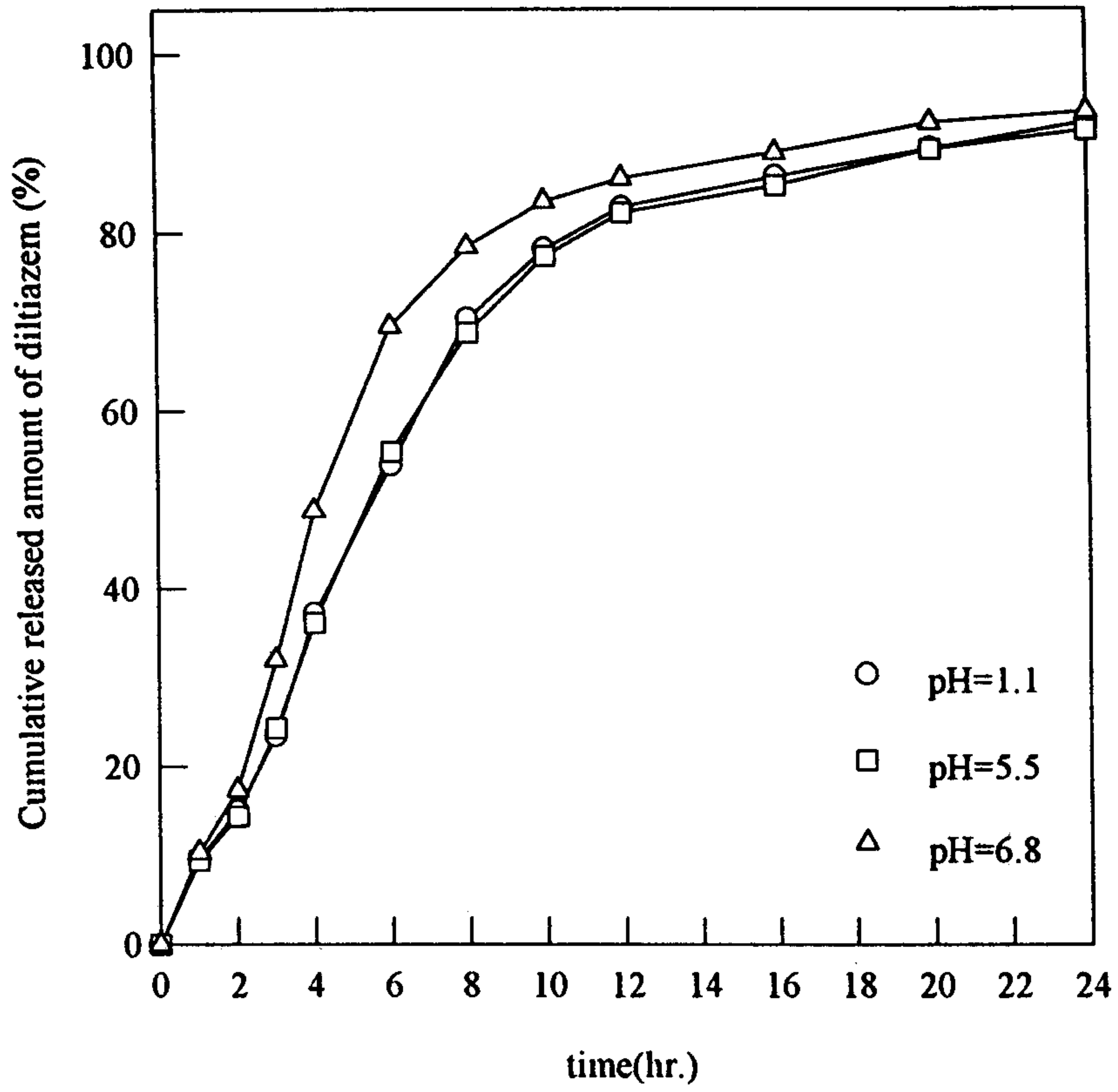
membrane층의 기본 formulation의 설정은 고함량과 동일하게 하였고 사용 material은 ethylcellulose와 수용성 Eudragit의 혼합으로 그 두께별로 코팅하여 pH 6.8에서 용출률을 측정하여 기 시판제품인 한령약품의 Herben 90mg과 비교하여 (Figure 6)에 나타내었다. 그림에서 볼 수 있듯이 formulation 3에서 Herben과 가장 유사한 용출 pattern을 보였으며 Eudragit L을 사용한 경우 보다 Eudragit S를 사용한 경우가 Herben의 용출 profile과 더욱 유사하였다.

바. 임상시험용 제제의 제조 및 용출 재현성 확인

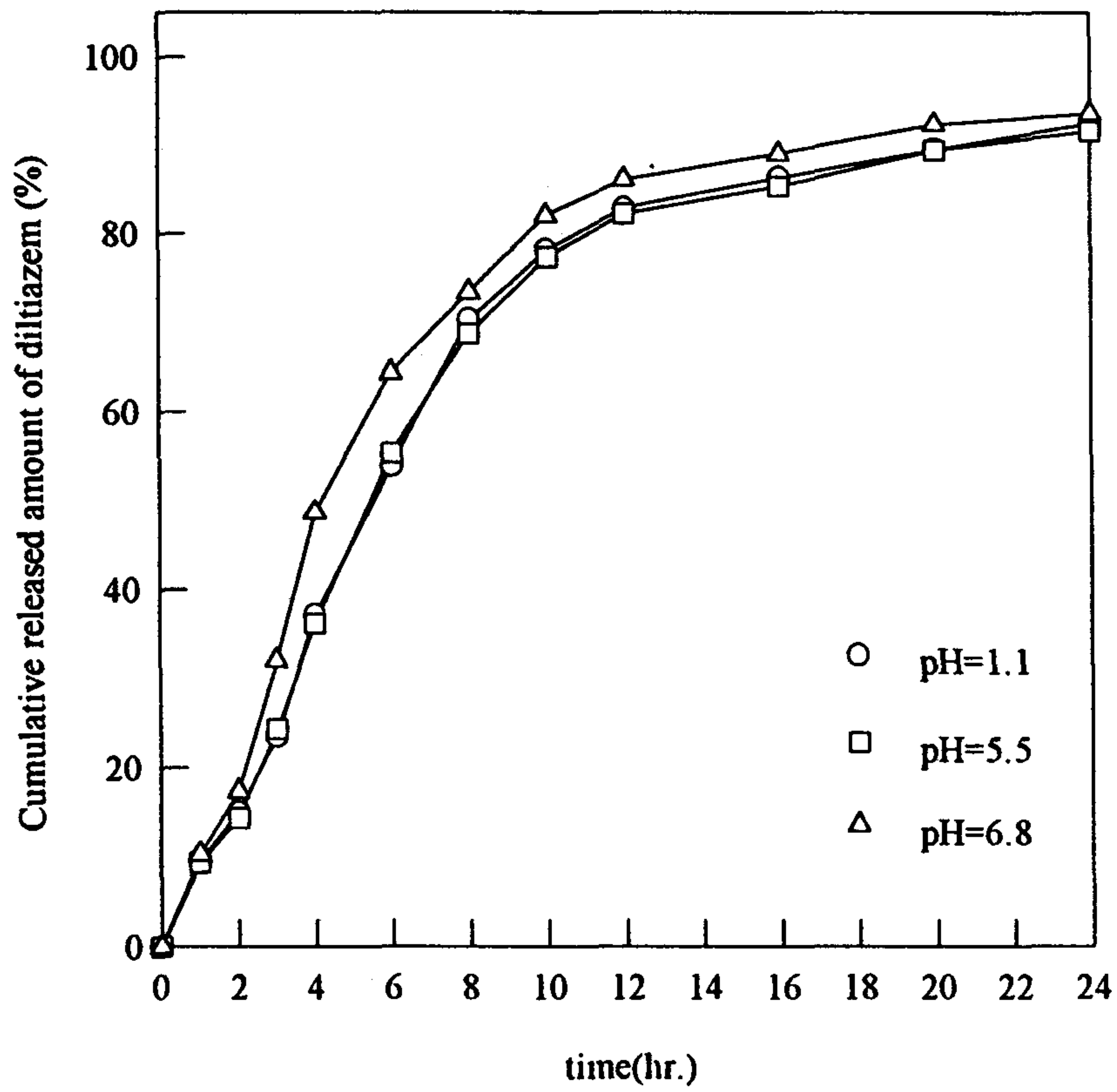
이상의 연구를 통하여 최적화된 formulation으로 임상시험을 위한 제제를 제조하고 이의 pH 6.8에서의 용출률을 측정하여 (Figure 7)과 (Figure 8)에 나타내었다.



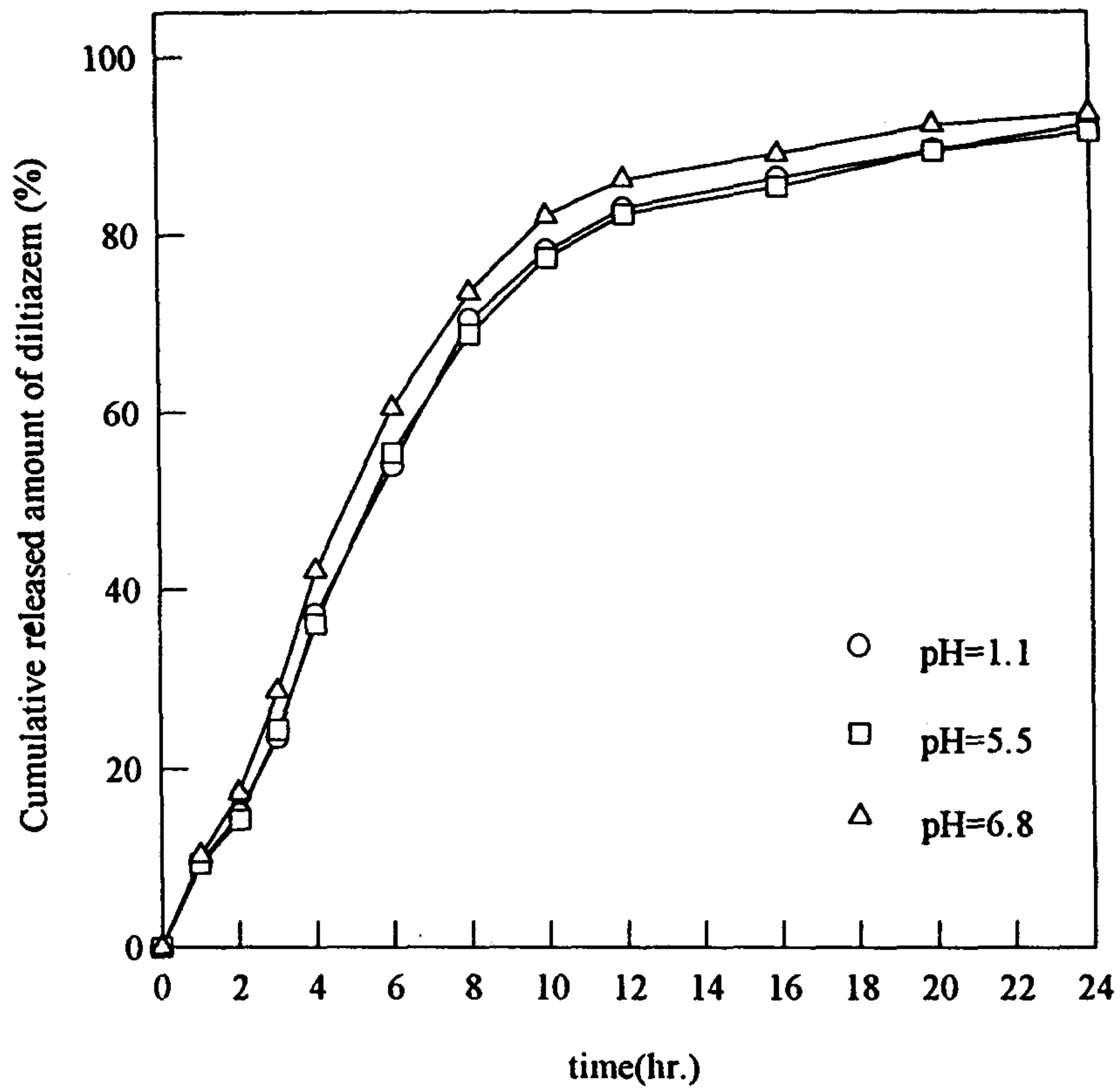
(Figure 1) Dissolution profiles of sample pellet in different dissolution medium



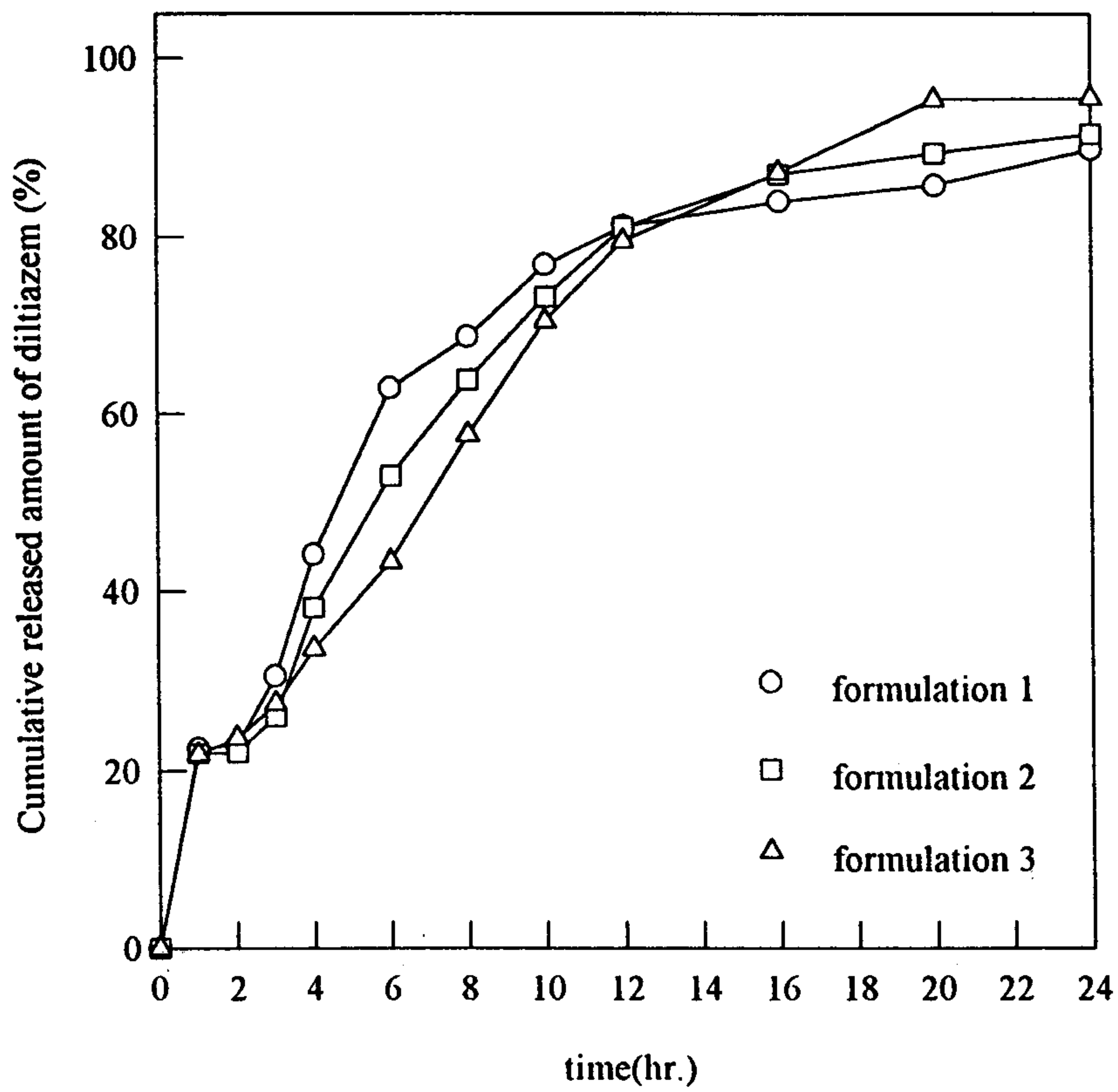
(Figure 2) Dissolution profiles of pellet prepared with formulation I in different dissolution medium.



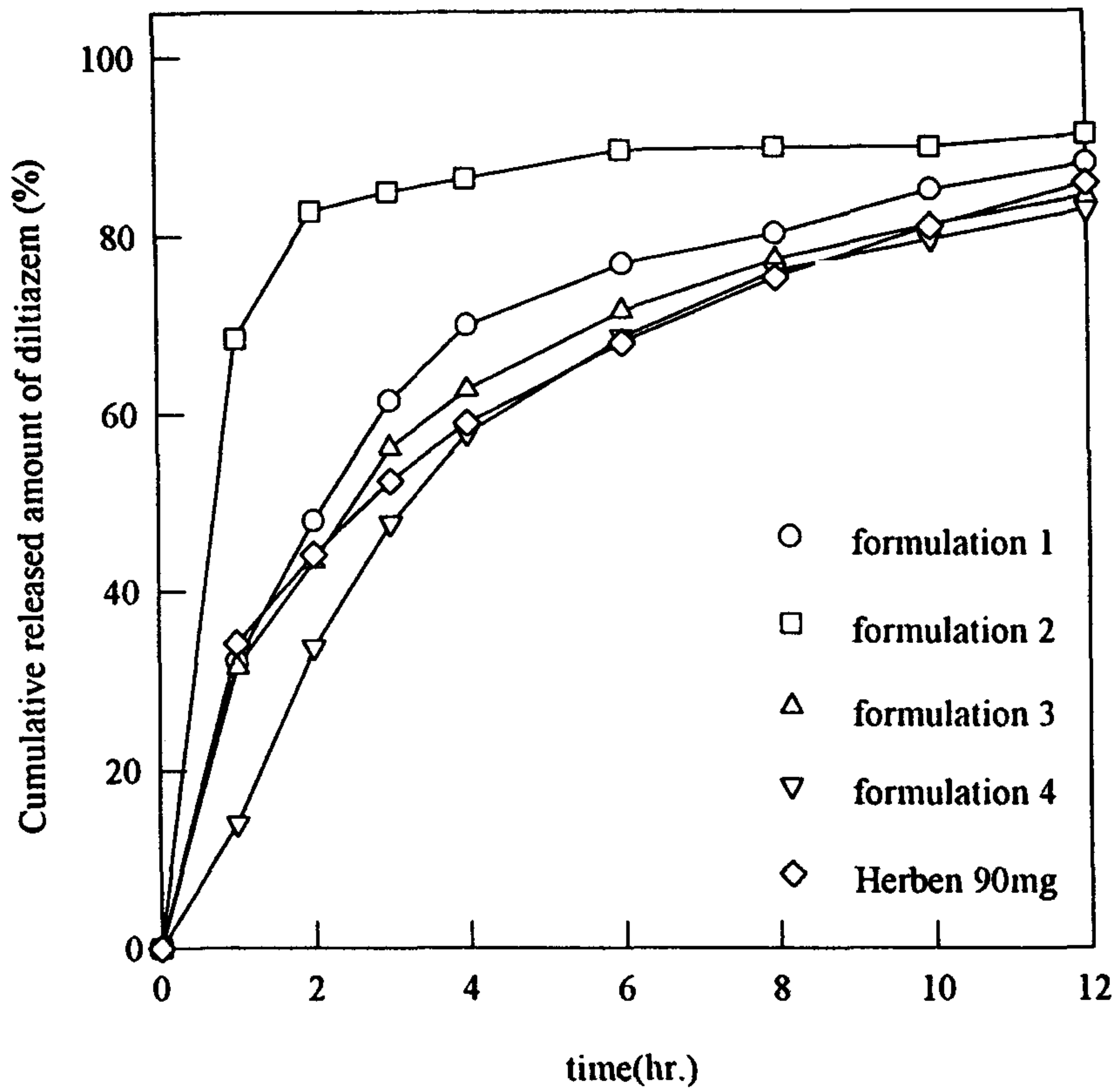
(Figure 3) Dissolution profiles of pellet prepared with formulation2 in different dissolution medium.



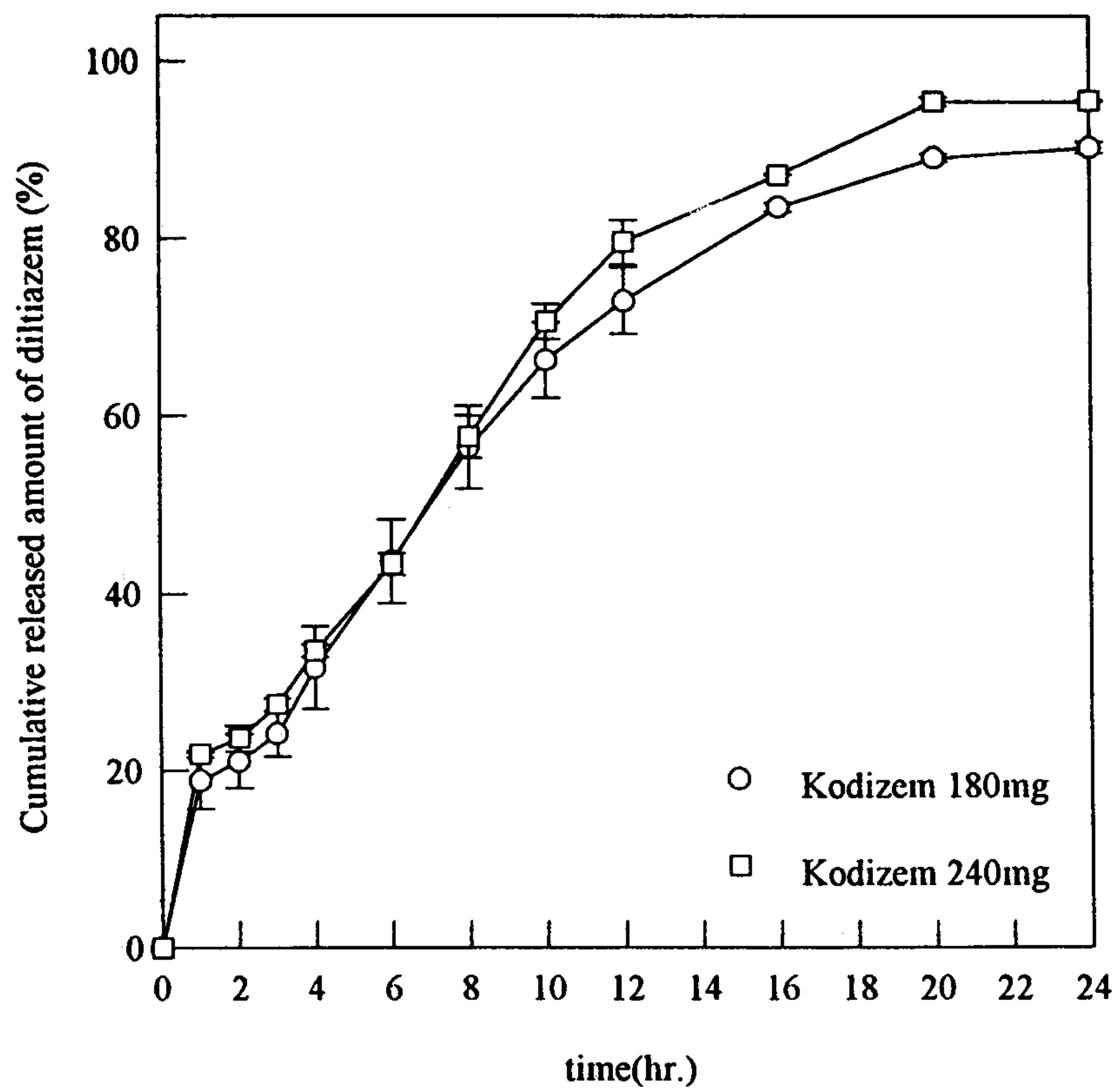
(Figure 4) Dissolution profiles of pellet prepared with formulation3 in different dissolution medium.



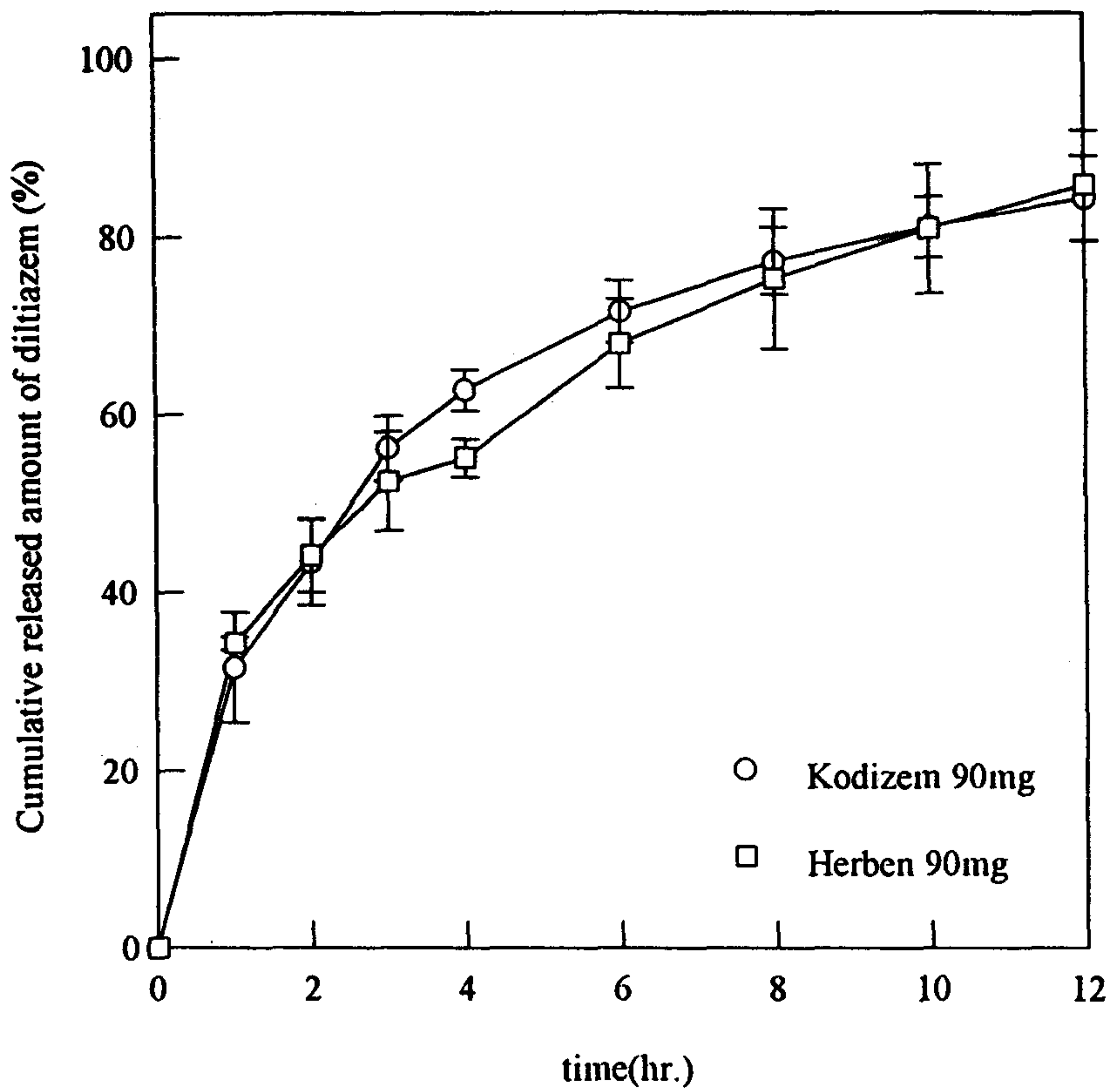
(Figure 5) Dissolution profiles of pellet coated with different amount of membrane polymer in dissolution medium pH=6.8.



(Figure 6) Dissolution profiles of pellet coated with different amount of membrane polymer in dissolution medium pH=6.8.



(Figure 7) Dissolution profiles of Kodizem 180 and 240mg in dissolution medium pH=6.8



(Figure 8) Dissolution profiles of Kodizem and Herben 90mg in dissolution medium pH=6.8

여 백

제4장 연구개발목표
달성도 및 대외기여도

여 백

제 4장 : 연구개발목표 달성도 및 대외 기여도

제 1절 연도별 연구개발 목표 및 달성도

년 차	목 표	실 적	달성도
1차년도	<p>협심증, 고혈압 치료제인 염산 딜티아젬(diltiazem HCl)의 24시간 지속적인 치료효과를 나타내는 경구용방출조절제제를 개발하는 것으로</p> <p>1. 자체연구 : 제제 설계 및 처방 확정 2. 위탁연구 : 제제의 약리(생물학적동등성 등)에 대한 연구 수행</p>	<p>1. 제형설계 완료 및 처방 결정 2. 임상시험을 통하여 대조약보다 생체이용율이 약 1.65배 높고, 24시간에 걸쳐 높은 혈중농도를 지속되는 것을 확인</p>	100%
2차년도	<p>1. 처방 최적화 : in vitro/in vivo 상관관계 연구 2. 고단위 처방개발 : 고단위 제제에 적합한 처방연구 3. 임상시험 : 생체이용율 4. 생산공정 확립 : 유동층코팅기를 이용한 연속 제조공정연구 5. 허가신청 6. 판매전략수립</p>	<p>1. GI tract의 pH 변화에 따른 용출률변화 최소화 2. 고함량으로 인한 크기 증가 방지 3. 위탁연구기간 1년 연장 4. 연속 공정 확립 및 각 단계별 공정조건 확립 5. 이하 기간연장으로 순연</p>	50%
3차년도	<p>위탁연구 1년 연장 (과학기술정책관리연구소 협약 812-168)</p>	<p>1. 90, 240mg 허가신청 및 획득 2. 임상용 sample(90, 180, 240mg) 제조 3. 임상 진행중</p>	-

제 2절 평가의 착안점

1. 1차년도

- 가. 제형의 차별화를 위한 특허 구성여부
- 나. in-vitro 용출 시험에서 24시간 지속성·유지 여부
- 다. 임상을 통한 생체이용률 비교 여부

2. 2차년도

- 가. pH 변화에 따른 용출을 변화 10% 이내에서 최소화
- 나. 목표용출률 달성여부
- 다. 임상시험 실시여부

3. 3차년도

- 가. 허가 신청 및 허가 여부
- 나. 임상시험 진행 여부

제 3절 연구결과의 대외 기여도

현재로서는 위탁연구과제를 진행 중에 있어 사업화나 기술협력 등의 구체적인 사항에 대하여서는 언급할 수 없고 다만 본 연구수행과정 중에 확보된 임상 data 와 제형설계 및 formulation 기술들은 타 약물의 서방성제제화에 응용 가능성이 많으며, 특히 본 연구에서 설계한 제형의 경우 장시간의 지속성 제제가 필연적으로 가지고 있는 초기 용출지연을 연속공정상에서 보상할 수 있도록 하였으므로 이 제형의 응용 가능성은 더욱 크다고 하겠다.

제5장 연구개발결과의 활용계획

여 백

제 5장 : 연구결과의 활용계획

새로운 coating 층의 구성과 이의 특허화로 다른 약물의 서방성 제제화에 응용 가능하며, GI tract의 pH 변화에 따른 용출률변화를 조절할 수 있는 pellet formulation을 확보하여 enteric coating 등의 새로운 제제 개발에 활용 가능하다.

보건복지부의 약효재평가로 과제완료가 예상시점보다 1년 늦게되어 사업화에 어려움이 많다. 현재 마케팅 측면에서의 전략수립을 진행시키고 있으며, 향후 코오롱제약을 통한 사업화가 진행될 예정이다.

여 백

제6장 참고 문헌

여 백

제 6장 참고문헌

1. J.R. Kilborn, S. Battellocchi, J. Larribaud and P.L. Morselli in "New drug therapy with calcium antagonists", J.R. Bing, eds., Excerpta Medica, Amsterdam, 1978, p.129.
2. R. Zelis, N. Engl. J. Med., 306, 926 (1982).
3. M. Chaffman, R.N. Brogden, Drugs, 29, 387 (1985).
4. P.E. Pool, S.C. Seagren, Am. J. cardiol., 49, 573 (1982).
5. K. Murata, H. Yamahara, M. Kobayashi, K. Noda, M. Samejima, J. Pharm. Sci., 11, 960 (1989).
6. K. vasilevska, Z. Djuric, M.Jovanovic, M. Stupar, A. Simov, Pharmazie, 46 (1991)H. 1
7. F. Ferrari, M.C. Bonferoni, C. Carammella, M. De Bernardi di valsera, F. Feletti, M.R. Galmozzi, 9th Pharmaceutical Technology Conference, April 1990.
8. W.A. Ritchael, DDIP, 15(6&7), 1073 (1989).
9. USP 4,721,61988. 1.26 Elan Corp.
10. USP 4,917,89990. 4.17 Elan Corp.
11. USP 5,129,62193. 6.15 Elan Corp.
12. Drugs 29 : 387-454 (1985).
13. Clin. Cardiol. 14, 947-950 (1991).
14. Current therapeutic research vol. 45, no. 4, April 1989.
15. Congr. Int. Technol. Pharm. 6th, vol. 4, 100-109, 1992.
16. Pharmaceutical Research, Vol. 11, No. 1, 1994.
17. Drug Development and Industrial Pharmacy, 18(15), 1649-1661 (1992).

여 백

제7장 위 탁 과 제

여 백

위탁과제

위탁과제명: 딜티아젬 서방캡셀제(Kodizem)의
약동력학 및 약력학적 특성연구

위탁연구기관명: 서울대학교 병원

위탁연구책임자: 신 상 구

여 백

제 출 문

과학기술처장관 귀하

본 보고서를 “고혈압 협심증 치료제 딜티아젬의 경구용 서방성제 개발에 관한 연구” 과제의 위탁과제 “딜티아젬 서방캡셀제(Kodizem)의 약동학 및 약력학적 특성 연구”의 위탁연구과제 보고서로 제출합니다.

1997. 6. 21.

주관연구기관명 : 한국신약개발연구조합

총괄연구책임자 : 권 종 원

참 여 기 업 명 : (주) 코 오 룡

협동연구책임자 : 박 호 진

위탁연구기관명 : 서 울 대 학 교 병 원

위탁연구책임자 : 신 상 구

연 구 원 : 장 인 진 임 동 석

신 유 경 송 가 헌

송 리 라 정 선 주

여 백

요 약 문

I. 제 목

Diltiazem 서방 제형(Kodizem[®], 90mg, 180mg, 240mg)의 약동학 및 약력학적 특성 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 목적

- ① Diltiazem 서방 제형의 인체내 약물동태 특성을 제형별로 비교 검토한다.
- ② Diltiazem 서방 제형의 약력학적 특성을 검토함으로써 용량 또는 혈장농도와 약력학적 변화의 상관관계를 검토한다.

2. 필요성

1972년 개발되어 협심증, 고혈압 등에 사용되고 있는 diltiazem은 체내 반감기가 비교적 짧아($t_{1/2} = 3-5$ 시간), 1일 3회 투여해야 하는 단점이 있어 서방형제제화에 대한 연구가 지속되고 있다. 현재 구미 및 일본 등의 경우 diltiazem 서방형제제의 사용이 속방형제제의 사용보다 증가하고 있다.

코오롱 그룹 중앙 연구소에서는 과학기술처 지원의 국책 중간핵심 과제의 일환으로 diltiazem 지속성 제제의 개발 연구를 통하여 diltiazem 90mg(Kodizem[®])을 1일 2회 복용 서방형 제제로, 180, 240mg의 pellet캡셀제형(Kodizem[®])을 1일 1회 복용제제로 보건복지부의 제조 품목 허가를 득하였다.

이에 본 연구에서는 Kodizem의 임상이용을 위한 자료를 얻는 첫단계로 제형에 따른 체내 동태의 특성과 약력학적(pharmacodynamic)파라미터로서 Kodizem 투여후 심전도의 PQ-간격 및 QT-간격의 변화와 혈압의 일중 변동을 검토함으로써 Kodizem의 서방제제로서의 특성을 검토코자 하였다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

1. 투약계획

문진, 및 각종 임상검사 등을 통하여 피험자 포함조건에 해당되는 피험자 6명을 1 block으로 sequential design에 의해 1주~2주간격으로 다음 시험으로 진행하며, 피험자는 처음 90mg캡셀을 1회 경구 투여를 받게 되며, 1~2주후 180mg 캡셀을 1회투여 받고, 다시 1~2주후 240mg캡셀을 1회투여 받은후 48시간까지 1회 투여 시험을 시행하고 이후 7일간 180mg캡셀을 1일 1회 투여 한다.

2. 채혈 및 농도 측정

① 일회 투여 시험기간

투약직전 상박 주전부에 heparin locked (100unit/ml) I.V. Catheter를 거치한후 대조혈액 10ml을 취하고 투약직후 30분, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 24, 34, 48 시간까지 각 7ml의 혈액을 채취한다.

② 반복투여 시험 기간

7일간 1일 1회 180mg반복 투여 연구에서는 7일째, 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24시간 까지 각 7ml의 혈액을 채취한다.

③ 혈액의 처리

채혈액은 원심분리 하여 혈장을 분리후, 분리 혈장을 -20℃에서 혈장내 diltiazem농도 측정시까지 냉동보관한다.

· 혈장 diltiazem 농도 측정을 위해 reverse phase HPLC법을 이용하였다. 최저

측정가능 농도는 약 2.0ng/ml이며, diltiazem의 회수율은 약 91%이고 측정 방법의 C.V.는 5%이하이다.

3. 관찰항목

① EKG상 PQ-간격, Q-T간격 및 맥박수

피험자는 투약전 (90mg, 240mg, 180mg) 기저치로 3회의 대조 PQ-간격, Q-T 간격 및 맥박수를 측정하며 투약후 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 24시간에 동일 항목의 변화를 측정한다.

② 시험 종료시 문진 및 진찰

최종 반복 투여시험 종료시, 즉 반복투여 개시 8일째에 연구전 스크리닝과 동일하게 i) 혈액학적 검사, ii) 혈액화학 검사 및 iii) 소변검사 및 신체검사를 시행한다.

4. Diltiazem 서방제형의 약동학 및 약력학적 특성 분석

① Diltiazem 서방제형의 약동학적 특성 분석

제형에 따른 diltiazem의 약동학적 특성 AUC, t_{max} , C_{max} 를 각 용량제형 1회 투여 시험결과 및 반복투여 시험 결과를 가지고 분석하며, 서방형 제제로서의 특성이 기존의 파라미터들에서는 서방형제제가 갖는 특성을 충분히 반영해주지 못하기 때문에 다음과 같은 파라미터를 추가 검토한다.

i) MRT(Mean Residence Time): $AUMC/AUC$

ii) C_{max}/AUC

iii) Pleateau time(또는 peak occupancy time): 25% 또는 T75 Cmax, 또는 HVD(half-value duration)

iv) Tapical: Cmax의 25%에 도달시간

v) 시간에 따른 흡수분획 검토: Wagner-Nelson 방법

vi*) Percent fluctuation: C_{ssmax}-C_{ssmin}

vii*) 평균혈장 농도: C_{ssave}

* : 반복투여 시험 결과에서 산출

② Diltiazem서방 제형의 약력학적 특성분석

혈장 diltiazem의 농도 변화에 따른 EKG소견의 변화 파라미터로서 PQ-간격 및 QoT, QaT, QeT의 변화의 상관성을 먼저 Pearson's correlation 검정에 의해 분석하고 유의성이 인정되는 경우, 혈장 diltiazem의 농도와 유의한 변화를 보이는 약력학적 파라미터간의 관계를 linear, log 또는 Emax 약력학 모델에 의해 분석한다.

IV. 연구개발결과

Diltiazem서방 제형의 약동학/약력학적 특성분석을 위한 연구를 현재 진행중이며 pilot study로 180mg을 일회 투여하여 약물농도 측정법을 다시 확인하였고 약동학 특성을 검토하였다. 최종 연구는 오는 8월 말 종료될 예정이다.

목 차

제1장 서 론	67
제2장 연구개발 수행내용 및 결과	68
제3장 연구개발목표 달성도	73
제4장 참고문헌	74

여 백

제 1장 : 서 론

1972년 일본의 Tanabe에서 개발되어 협심증, 고혈압 등에 사용되고 있는 diltiazem은 체내 반감기가 비교적 짧아($t_{1/2}$ = 3-5시간), 1일 3회 투여해야 하는 단점이 있어 서방형제제화에 대한 연구가 지속되고 있다. 현재 구미 및 일본 등의 경우 diltiazem 서방형제제의 사용이 속방형제제의 사용보다 증가하고 있다.

코오롱 그룹 중앙 연구소에서는 과학기술처 지원의 국책 중간핵심 과제의 일환으로 diltiazem 지속성 제제의 개발 연구를 통하여 diltiazem 90mg(Kodizem[®])을 1일 2회 복용 서방형 제제로, 180, 240mg의 pellet캡셀제형(Kodizem[®])을 1일 1회 복용제제로 보건복지부의 제조 품목 허가를 득하였다.

Kodizem은 백색 서방정 과립이 충전된 경질 캡셀로 과립의 크기가 710-1000 μ m(90, 180mg), 850-1400 μ m(240mg)정도이며 약제학적으로 사용가능한 부형제들이 혼합되어 있다.

Kodizem의 in vitro용출 특성은 90mg제형의 경우 1일 2회 투여에 적합하도록 그림 1과 같이 pH 6.8하에서 3시간에 56%정도의 용출이 이루어지며 12시간에 84%의 용출이 되도록 제형의 특성을 조절하였다. 이에 비해 180, 240mg의 경우 1일 1회 투여에 따른 충분한 혈중농도 plateau기간을 유지하도록 하기 위해 그림 2와 같이 기존의 외국의 서방형제제인 Diltelan을 대조약물로 하여, 3시간 24-27%, 12시간에 73-80%, 24시간에 90-95%의 용출이 가능하도록 제형을 디자인 하였으며, 생체이용율을 높이기 위하여 Diltelan의 경시적 용출양상보다 상향 조정한 제형이다.

이에 본 연구에서는 Kodizem의 제형에 따른 체내 동태의 특성과 약력학적(pharmacodynamic)파라미터로서 Kodizem투여후 심전도의 PQ-간격 및 QT-간격의 변화와 혈압의 일중 변동을 검토함으로써 Kodizem의 서방제제로서의 특성을 검토코자 한다.

제 2장 : 연구개발수행 내용 및 결과

제 1절 내용

1. 투약계획

문진, 및 각종 임상검사 등을 통하여 피험자 포함조건에 해당되는 피험자 6명을 1 block으로 sequential design에 의해 1주~2주간격으로 다음 시험으로 진행하며, 피험자는 처음 90mg캡셀을 1회 경구 투여를 받게 되며, 1~2주후 180mg 캡셀을 1회투여 받고, 다시 1~2주후 240mg캡셀을 1회투여 받은후 48시간까지 1회 투여 시험을 시행하고 이후 7일간 180mg캡셀을 1일 1회 투여 한다.

2. 채혈 및 농도 측정

가. 일회 투여 시험기간

투약직전 상박 주전부에 heparin locked (100unit/ml) I.V. Catheter를 거치한후 대조혈액 10ml을 취하고 투약직후 30분, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 24, 34, 48 시간까지 각 7ml의 혈액을 채취한다.

나. 반복투여 시험 기간

7일간 1일 1회 180mg반복 투여 연구에서는 7일째, 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 24시간 까지 각 7ml의 혈액을 채취한다.

다. 혈액의 처리

채혈액은 heparinized vacutainer 튜브에 넣고, 냉장(2-4℃)에서 15분간 방치후 3000rpm 15분 원심분리 하여 혈장을 분리후, 분리 혈장을 -20℃에서 혈장내 diltiazem농도 측정시까지 냉동보관한다.

혈장 diltiazem 농도 측정을 위해 internal standard로는 verapamil을 사용하며, 혈장 1ml을 5ml의 diethylether로 추출후 이를 다시 0.1M HCl 0.1ml를 유기용매층에 넣고 재추출한다. 이후 3200×g로 원심분리후 유기용매층을 제거하고 35 μ l의 Hcl층을 HPLC injector에 주입하여 diltiazem 농도를 측정한다. 혈장 diltiazem의 농도의 측정은 reverse phase HPLC법으로 측정하며, 칼럼은 4 μ m의 C18 충전된 Waters column(15cm)을 이용하며, 이동상으로 phosphate buffer pH 4.0(TEA 5mM)과 acetonitrile을 70:30(v/v)혼합물을 사용하며 diltiazem을 238nm에서 UV detector로 검출하고 농도는 peak hight ratio에 의해 표준검량에서 산출한다. 이러한 방법에 의한 diltiazem의 최저 측정가능 농도는 약 2.0ng/ml이며, diltiazem의 회수율은 약 91%이고 측정 방법의 C.V.는 5%이하이다.

3. 관찰항목

가. EKG상 PQ-간격, Q-T간격 및 맥박수

피험자는 투약전 (90mg, 240mg, 180mg) 기저치로 3회의 대조 PQ-간격, Q-T 간격 및 맥박수를 측정하며 투약후 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 24시간에 동일 항목의 변화를 측정한다. PQ-간격 및 Q-T간격은 EKG monitor를 AD/DA converter를 이용한 EKG컴퓨터 분석 프로그램을 이용하여 측정하며, PQ-간격은 V1 또는 V2의 precordial lead을 읽고, QT-간격은 leadII에서 QoT(QRS의 시작점에서 T wave시작점), QaT(QRS의 시작점에서 T wave apex), QeT(QRS의 시작점에서 T wave의 끝점)을 측정한다.

나. 자·타각 증상의 모니터링

투약에 따른 자타각 증상은 시험 종료시까지 피험자의 자발적인 보고에 의하

며, 1회 투여 시험에서는 투약 24시간후 시험 담당자의 문진을 시행하고, 반복투여시에는 적어도 2일 1회 방문에 의해 시험 담당자의 문진을 받으며 최종 투약일(7일째)의 채혈기간동안 1회 투여시와 동일하게 자.타 각 증상을 모니터링한다. 자·타각 증상 출현시 출현시기, 지속시간, 부작용의 정도 및 인과 관계를 상세히 기록한다.

다. 시험 종료시 문진 및 진찰

최종 반복 투여시험 종료시, 즉 반복투여 개시 8일째에 연구전 스크리닝과 동일하게 ①혈액학적 검사 ②혈액화학 검사 ③ 소변검사 및 신체검사를 시행한다.

4. Diltiazem 서방제형의 약동학 및 약력학적 특성 분석

가. Diltiazem 서방제형의 약동학적 특성 분석

제형에 따른 diltiazem의 약동학적 특성은 기존의 일반 제형의 생물학적 동등성 검정에서 사용되는 파라메타인 AUC, t_{max} , C_{max} 를 각 용량제형 1회 투여 시험결과 및 반복투여 시험 결과를 가지고 분석하며, 서방형 제제로서의 특성이 기존의 파라메타들에서는 서방형제제가 갖는 특성을 충분히 반영해주지 못하기 때문에 다음과 같은 파라메타를 추가 검토한다.

(1) MRT(Mean Residence Time): $AUMC/AUC$

(2) C_{max}/AUC

(3) Plateau time(또는 peak occupancy time): 25% 또는 T75 C_{max} , 또는 HVD(half-value duration)

(4) Tapical: C_{max} 의 25%에 도달시간

(5) 시간에 따른 흡수분획 검토: Wagner-Nelson 방법

(6*) Percent fluctuation: $C_{ssmax} - C_{ssmin}$

(7*) 평균혈장 농도: C_{ssave}

* : 반복투여 시험 결과에서 산출

나. Diltiazem서방 제형의 약력학적 특성분석

혈장 diltiazem의 농도 변화에 따른 EKG소견의 변화 파라미터로서 PQ-간격 및 QoT, QaT, QeT의 변화의 상관성을 먼저 Pearson's correlation 검정에 의해 분석하고 유의성이 인정되는 경우, 혈장 diltiazem의 농도와 유의한 변화를 보이는 약력학적 파라미터간의 관계를 linear, log 또는 Emax 약력학 모델에 의해 분석한다.

제 2절 Pilot Study 결과

Diltiazem서방 제형의 약동학/약력학적 특성분석을 위한 연구를 현재 진행중이며 pilot study로 180mg을 일회 투여하여 약물농도 측정법을 다시 확인하였고 약동학 특성을 검토하였다. 아래의 표에는 파이럿 연구에서 얻은 혈장농도 결과를 제시하였다. 표에서 보듯이 최고혈장농도는 113.1 ng/ml로 투약후 약 8시간후에 도달하였고 이후 농도소실곡선에서도 서방형의 특성을 보이는 것으로 사료되었다. 최종 연구는 오는 8월 말 종료될 예정이다.

시간 (hour)	농도 (ng/ml)
0.5	22.12
1	75.1
2	59.9
3	59.1
4	65.5
6	109.2
8	113.1
10	106.7
12	98.6
14	87.4
24	48.5
34	15.0
48	4.3

제 3장 : 연구개발목표 달성도

현재 파일럿 연구를 통해 혈장농도 측정법을 포함한 약동학적 연구의 방법을 검토완료한 상태이다. 또한 약력학적 연구에 필요한 심전도의 디지털 자료화와 24시간 혈압 모니터에 필요한 기기는 이미 검토를 종료하였고 이를 이용한 자료의 분석에 필요한 소프트웨어를 검토 중에 있다.

제 4장 : 참고문헌

1. 일본후생성: 서방성제제(경구 투여제제)의 설계 및 평가에 관한 가이드라인. 신약임상평가 가이드라인, 일본공정서 협회편, 약사일보사, 1994
2. 장인진, 이중복, 엄재호, 신재국, 신상구, 박찬웅, 한진석, 김성권, 이정상: Captopril 제제의 동등성에 관한 연구: 생체 이용률 및 혈장 Angiotensin-Converting Enzyme 활성도 억제. 순환기 20(3):452-462, 1990.
3. 코오롱 그룹 중앙연구소 : Investigator's Brochure on Kodizem[®], 1997. 4. 14
4. Bialn M, Sussan S, Salach OA et al: Critea to access in vivo performance of sustained release products : application to diltiazem formulations. J. Pharm. Sci 84: 1160-1163, 1995
5. Bianchetli G, Dufruc C, Sultana V et al: Pharmacokinetics and bioavailability of a sustained-release diltiazem formulation (Mono-Tildiem LP 300mg) after repeated administration in healthy volunteers. Eur J Clin Pharmacol 48: 259-264, 1995
6. Brorson L, Arvil A, Lofdahl P et al : Conventional and controlled release diltiazem Eur J Clin Pharmacol 47: 75-79, 1994
7. Murata K, Yamahasa H, Kobayashi M et al : Pharmacokinetics of an oral sustained-release diltiazem preparation. J Pharm Sci 78: 960-963, 1989

8. Loeuwenkamp OR, Vissches HW, Mensink CK, Jonkman JHG : A comparative study of the steady state pharmacokinetics of immediate-release and controlled release diltiazem tablets. *Eur J Clin Pharmacol* 46: 243-247, 1994

9. Lind L, Lithell H, Johansson CG, Morlin C, Ljunghall S : Electrocardiographic changes during antihypertensive treatment with diltiazem in relation to the achieved serum levels of the drug. *Scand J Clin Lab Invest* 54: 337-340, 1994