

나부메톤 정의 생물학적 동등성 평가

이윤석 · 박은석 · 지상철*

성균관대학교 약학대학
(1997년 8월 13일 접수)

Bioequivalence of Nabumetone Tablets

Yun-Seok Rhee, Eun-Seok Park and Sang-Cheol Chi¹

College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University, Suwon 440-746 Korea
(Received August 13, 1997)

The bioequivalence of two nabumetone tablets was evaluated in 16 normal male volunteers (age 21~30 yrs) following oral administration. Test product was "Nacton tablet" made by Jin Yang Pharmaceutical Co. and reference product was "Unimeton tablet" made by Dong Kwang Pharmaceutical Co.. After one tablet containing 500 mg of nabumetone was administered, blood was taken at predetermined time intervals and the concentration of 6-methoxy-2-naphthylacetic acid, active metabolite of nabumetone, in plasma was determined with an HPLC method using fluorescence detector. AUC, C_{max} and T_{max} were calculated and statistically analyzed for the bioequivalence of the two products. The results showed that the differences in AUC, C_{max} and T_{max} between two products were 3.66%, 6.87% and 1.85%, respectively. The powers($1-\beta$) for AUC, C_{max} and T_{max} were 91.4%, 88.9% and 81.1%, respectively. Detectable differences(Δ) and confidence intervals were all less than 20%. All of these parameters met the criteria of FDA for bioequivalence, indicating that "Nacton tablet" is bioequivalent to "Unimeton tablet".

Keywords—Nabumetone tablet, Bioequivalence, AUC, C_{max} , T_{max} , HPLC

4-(6-methoxy-2-naphthyl)butan-2-one, Figure 1)인 나부메톤(nabumetone)은 비산성 비스테로이드 성 소염진통제(NSAID)로서 급만성 동물모델에서 우수한 항염증작용을 나타내며 중급정도의 진통 및 해열 작용을 나타낸다.¹⁾ 나부메톤은 일종의 prodrug로서 경구투여시 위장관내에서 잘 흡수되나 전신혈에 도달하기 전 간장에서 거의 완전히 이 약물의 활성 대사물질인 6-methoxy-2-naphthylacetic acid(6-MNA, Figure 1)로 대사되며 이 대사물질이 실제로 인체내에서 약효를 발휘하는 약물이다.²⁾ 나부메톤의 작용기전은 기존의 다른 NSAID와 마찬가지로 cyclooxygenase를 억제하여 prostaglandin의 생합성을 저해하는 것으로 알려져 있으나 중성약물이기 때문에 다른 NSAID에 비하여 위장관내에서 점막에 대한 자극작용이 거의 없으며 그 외 부작용도 경미한 약물이다. 6-MNA의 생체

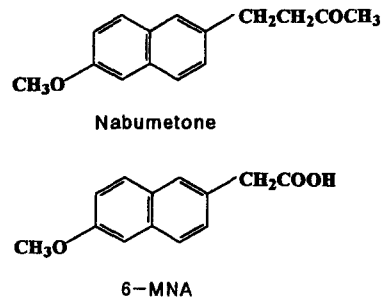


Figure 1—Chemical structures of nabumetone and 6-MNA, its major active metabolite.

내 소실 반감기는 약 24시간으로 다른 NSAID에 비하여 비교적 길어 1일 1회 복용하여도 그 약효를 유지할 수 있어 복용이 간편한 약물이다.³⁾

진양제약(주)에서는 "낙톤 정"이라는 상품명으로 나부메톤 정제를 개발하였는데 이의 판매를 위하여는 "의약품등 제조업 및 제조품목허가 등 지침," "의약품등의

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

안전성 유효성 심사에 관한 규정 및 식품의약품안전본부 고시 "생물학적 동등성 시험 기준"에 의하여 기존에 체계학적으로 동등한 제품이 시판되고 있을 경우 이에 대한 생물학적 동등성 시험을 하여 이 제품을 투여하였을 때 기존 제품과 혈중농도가 동일하여 이로부터 약효가 같다는 것을 증명하여야 한다. 본 연구에서는 이 기준에 따라 진양제약(주)의 "낙톤 정"을 가지고 기존에 판매되고 있는 동광제약(주)의 "유니메톤 정"에 대하여 생물학적 동등성 시험을 수행하고자 하였다.

실험방법

시약 및 재료

실험에 사용된 시험약은 진양제약(주)에서 제조한 낙톤 정(제조번호: SA-01, 제조일자: 1996. 2. 13), 대조약은 동광제약(주)에서 기존에 판매하고 있는 유니메톤 정(제조번호: 0504, 제조일자: 1995. 5. 4)으로서 나부메톤 500 mg을 함유하는 필름코팅 정제이었다.

나부메톤은 진양제약(주)으로부터 표준품을 얻어 사용하였으며 나프록센은 미국 Sigma Chemical사로부터, HPLC급 아세트니트릴, 헥산, 에틸아세테이트는 미국 Mallinckrodt Baker사로부터 구입하여 사용하였다. 기타 시약은 모두 특급 시약을 사용하였으며 물은 실험실에서 역삼투수를 정제하여 제조하였다.

용출시험에는 등속 펌프(Hitachi, Model L-6000), 수동 주입기(Rheodyne, Model 7125), UV/Vis 검출기(Hitachi, Model L-4000), 적분계(Hitachi, Model D-2500)로 이루어진 HPLC 시스템을 사용하였으며 혈장중 약물의 분석에는 등속 펌프(Waters, Model 600), 수동 주입기(Rheodyne, Model 7725i), 형광 검출기(Waters, Model 474), 크로메이트 원도 3.0(Interface Engineering)으로 이루어진 HPLC 시스템을 사용하였다. 그 외 원심분리기(비전과학, Model VS-15000), 탁상형 원심분리기(비전과학, Model VS-5000), 왕복진탕기(제일과학, Model C-SGM) 등을 사용하였다.

용출시험

대한약전 일반시험법 제2법(패들법)에 따라 6정을 시험하였으며 시험액 900 ml를 용기에 넣고 패들을 100 rpm의 속도로 회전시킨 다음 1정씩을 용기에 넣고 5분, 10분, 15분, 20분, 25분, 30분, 40분, 50분, 60분 후에 각각 용출액 5 ml를 취하여 여과한 후 검액으로 하였다. 단, 시험액으로는 20% 아세트니트릴 용

액을 사용하였다.

검액중 나부메톤의 함량은 HPLC법으로 분석하여 피이크 높이를 구하여 표준액의 검량선을 작성하고 이로부터 용출량을 산출하였다. HPLC 조건으로 이동상은 증류수와 메탄올의 혼합액(30:70)을 사용하였으며 그 유속은 1.0 ml/min이었다. 사용한 칼럼은 Cosmosil 5C₁₈ AR(4 mm×150 mm, Nacalai Tesque, Japan)이었으며 검출파장은 284 nm, 주사용적은 200 μl이었다.

피험자 선정

피험자는 성균관대학교 약학대학에 재학중인 20-30세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 지원자는 이 시험에 대한 설명회를 참석한 후 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강인으로 판정된 자중에서 선정하였다. 이와 같은 절차를 거쳐 이 시험의 피험자로 선정된 사람은 평균체중 66.9 kg의 21~30살(평균 23.8살)의 건강한 남성 지원자 16인이었으며 모두 시험 참여의 동의서를 받았다.

약물 투약 및 혈액 채취

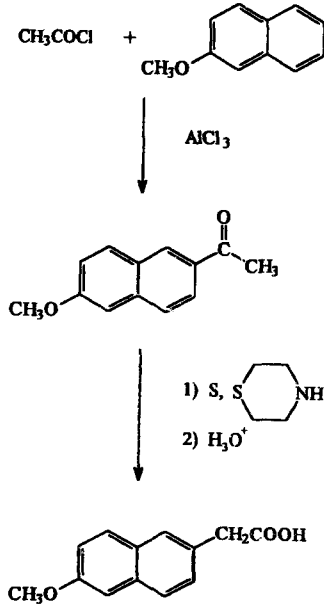
약물 투약은 2시기 2제품의 라틴 방격법에 따른 교차 시험법으로 투약계획을 세우고 16명의 피험자를 군당 8인씩 임의로 2군으로 나누고 제I기에서 제1군에는 대조약인 "유니메톤 정"을, 제2군에는 시험약인 "낙톤 정"을 투여하였고 제II기에서 그 반대로 투여하였으며 투여량은 1정으로 하였다. 휴약기간은 생체이용률 실험에서 나부메톤의 반감기가 24시간으로 보고되어 있어³⁾ 충분한 시간을 두고자 본 시험에서는 14일로 하였다.

피험자들 모두에게 IV catheter를 팔 정맥부위에 설치하고 PRN adapter를 연결하고 대조약 또는 시험약을 200 ml의 물과 함께 복용시켰다. 다음 각 피험자로부터 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 및 120시간제에 5 ml의 혈액을 채취하여 헤파린 처리를 한 혈액용 플라스틱 튜브에 넣고 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 다음 혈장만을 취하여 에펜도프 튜브에 옮기고 이 튜브를 영하 70°C에서 분석시까지 보관하였다.

채혈이 끝난 후에는 채혈시에 있을 수 있는 오염에 의한 위해를 방지하기 위해 모든 피험자들에게 아목시실린 250 mg 캡슐을 투여하였다.

6-MNA의 합성

혈장중 정량 대상물질인 6-MNA는 Scheme I의 방법⁴⁾에 따라 합성하여 사용하였다. 합성된 6-MNA는 IR 및 NMR로 확인하였다.



Scheme I—Chemical structures of nabumetone and 6-MNA, its major active metabolite.

혈장중 6-MNA 정량

혈장중 6-MNA의 함량 분석은 이미 그 분석방법의 유효성이 평가되어 보고된 HPLC법⁵⁾을 약간 수정하여 사용하였다.

Blank 혈장 900 µl에 각 6-MNA 표준용액 (10, 30, 100, 300 µg/ml) 100 µl씩을 가하여 만든 혈장시료 또는 피험자들의 혈장 1.0 ml에 내부표준물질 표준용액(나프록센 100 µg/ml) 100 µl를 가하고 진탕한 후 0.5 ml의 1M 염산용액과 10 µl의 핵산:에틸아세테이트(1:1) 혼합액을 가하고 왕복진탕기에 넣고 40분 동안 흔들어 추출하고 2,000 rpm으로 10분 동안 원심분리시켰다. 다음 유기 용매층을 일회용 피펫으로 취하여 깨끗한 유리관으로 옮기고 질소기류하 30°C에서 증발시켰다. HPLC 이동상 500 µl로 reconstitution시키고 30초간 진탕한 후, 이 최종 시료 용액중 200 µl를 칼럼에 주입하였다.

분석에 사용한 HPLC의 분석조건으로 이동상은 0.05M 초산나트륨 용액과 아세트니트릴 혼합액(35:65)을 사용하였으며 그 유속은 1.5 ml/min이었다. 칼럼으로 Cosmosil 5C₁₈ AR(4 mm×150 mm, Nacalai Tesque, Japan)을 사용하였으며 형광검출기의 여기파장은 284 nm, 형광파장은 320 nm이었다.

6-MNA과 내부표준물질의 피이크 높이비를 가지고 6-MNA 표준용액으로 제조한 혈장시료로부터 얻은

검량선을 이용하여 혈장 시료중 6-MNA의 농도(µg/ml)를 산출하였다.

평가항목

나부메톤 정제의 생물학적 동등성 여부는 식품의약품안전본부 고시의 기준에 준하여 혈중농도-시간곡선 하 면적(AUC), 최고혈중농도(C_{max}) 및 최고혈중농도 도달시간(T_{max}) 등을 평가하였다.

이들 파라메타들은 생물학적 동등성 시험 통계처리용 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)으로 처리하였다.

결과 및 고찰

용출실험

제형으로부터 약물의 용출은 생체이용률과 깊은 상관관계가 있으므로 용출시험을 하여 시험약 및 대조약이 생물학적으로 동등한지를 추정하고자 하였다. 즉, 같은 약물이 같은 함량으로 들어 있는 동일한 제형의 제제라 할지라도 원료, 부형제의 구입처 및 제조공정 등에 따라 용출율이 다르게 나타나 이것으로 인하여 생체이용률이 틀리게 나타날 수 있으므로 대조약의 용출율을 시험약의 용출율과 비교하기 위하여 용출시험을 행하였다. 그런데 나부메톤은 물에 난용성인 약물로서 대한약전 일 반시험법의 용출액으로는 용출시험을 수행할 수가 없으므로 용출액으로서 20% 아세트니트릴을 사용하였다.

시험약 및 대조약의 용출시험 결과는 Figure 2와 같다. 이 용출결과를 가지고 약 50%의 용출률을 나타낸

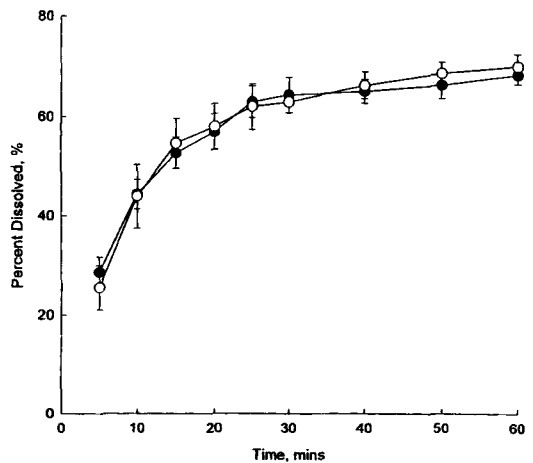


Figure 2—Dissolution profiles of nabumetone from nabumetone tablets. Key: ●: Unimeton tablet, ○: Nacton tablet. (mean±S.E.)

10분 시점에서 시험약 및 대조약에 대하여 Student의 t-test로서 통계처리를 행한 결과 유의수준 0.05에서 두 제제간에 차이가 없었다. 따라서 시험약과 대조약은 이와 같은 용출시험 결과 생물학적으로 동등할 것으로 추정되었다.

혈장중 6-MNA 정량

본 시험방법과 같이 검체를 처리하여 HPLC로 분석하였을 때 얻어진 대표적인 크로마토그램은 Figure 3과 같았으며, 이 크로마토그램에서 알 수 있듯이 6-MNA와 내부표준물질의 피이크들은 혈장으로부터 유래된 피이크들로부터 잘 분리되었고 나부메톤과 내부표준물질의 유지시간은 각각 6.5분과 11분이었다. 검량선은 1-30 µg/ml에서 좋은 직선성을 나타내었으며 이 HPLC 방법의 유효성을 검토한 결과 우수한 정확성과 정밀성을 나타내었다.

혈장중 6-MNA 농도 추이

시험약과 대조약 각각 1정씩을 지원자 16명에게 경구투여한 후 일정시간마다 채혈하여 얻어진 6-MNA의 평균농도는 Figure 4와 같다. 또한 각 피험자에 있어서 대조약과 시험약을 투여하여 얻은 이들 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 AUC, C_{max}, T_{max} 등의 생물학적 동등성 파라메타는 Table I과 같다. 단, 각 피험자의 AUC 값은 약물투여 후 120시간까지의 각 피험자의 혈장중 약물 농도-시간곡선들로부터 사다리꼴 공식에 의해 구한 수치이며 C_{max}와 T_{max} 값은 약물투여후 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 가장 높이 올라간 혈장중 약물농도 및 그때의 시간을 읽은 수치이다.

평가항목에 대한 통계학적 고찰

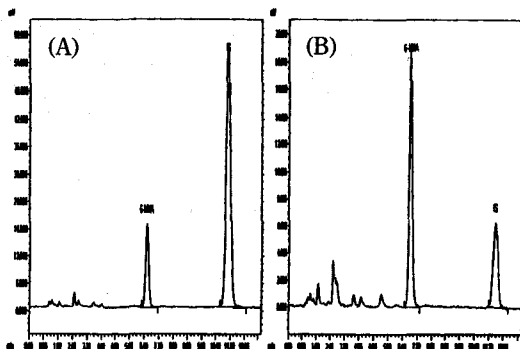


Figure 3—Representative chromatograms of extract of blank human plasma spiked with 6-MNA and internal standard (A) and plasma obtained from a volunteer (B). Key: 6-MNA: 6-MNA, IS: internal standard.

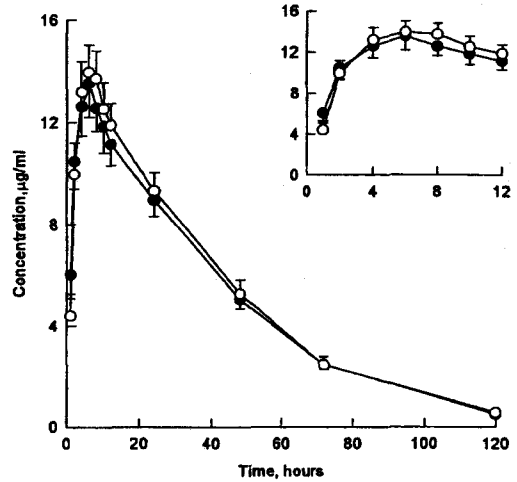


Figure 4—Plasma concentration of 6-MNA after the oral administration of nabumetone tablets in 16 male volunteers (mean±S.E.). Key: ●: Unimeton tablet, ○: Nacton tablet.

각 시기에 있어서 각 피험자의 AUC, C_{max}, T_{max} 값으로부터 이들 파라메타에 분산분석하여 얻은 결과는 Table II와 같다.

먼저 AUC에 대한 결과를 보면 유의수준=0.05의 구간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 AUC 차이가 3.66%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20%이내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전제 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도(v)=14에서 산출한 비심도는 3.602이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차(Δ)=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도(γ) 수치표로부터 계산한 결과 91.4%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 16.73%로 나타나, 각각 80%이상과 20%이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 AUC 차이의 신뢰한계(δ)는 유의수준=0.05에서 -8.25≤δ≤15.57로서 20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 AUC에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

C_{max}에 대하여도 유의수준=0.05의 구간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 C_{max} 차이가 6.87%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20%이내일

Table I—Bioequivalence Parameters for Each Volunteer Obtained After the Oral Administration of Nacton and Unimeton Tablets

Volunteer	Age (Year)	Weight (Kg)	Unimeton Tablet			Nacton Tablet		
			AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (hr)	AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$)	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (hr)
A-1	30	65	560.03	14.52	6	616.00	17.99	6
A-2	22	62	565.38	12.66	8	623.17	13.49	6
A-3	24	66	395.24	11.65	8	445.59	13.36	6
A-4	25	75	475.58	11.08	8	482.82	16.85	8
A-5	24	68	727.02	15.58	6	629.69	16.49	8
A-6	22	69	595.63	16.21	4	703.58	17.64	6
A-7	27	76	388.73	7.79	6	557.03	11.19	6
A-8	22	66	737.30	15.06	8	606.77	19.02	6
B-1	22	75	642.88	21.35	6	573.17	15.37	6
B-2	22	63	570.77	12.30	8	537.29	16.98	6
B-3	25	64	618.72	12.85	8	570.16	15.18	6
B-4	26	63	599.31	21.07	6	518.24	14.49	8
B-5	22	67	659.50	14.75	8	1,020.52	19.62	8
B-6	23	61	547.78	10.34	6	504.44	8.80	8
B-7	24	70	949.67	26.19	6	1,067.05	24.15	4
B-8	21	60	312.58	6.16	6	229.62	4.75	9
Mean (S.D.)	23.8 (2.4)	66.9 (5.0)	583.95 (152.99)	14.35 (5.12)	6.75 (1.24)	605.34 (200.79)	15.33 (4.54)	6.63 (1.20)

Table II—Statistical Results of Bioequivalence Evaluation of Nabumetone Tablets

	Parameters		
	AUC	C_{max}	T_{max}
Difference	3.66%	6.87%	1.85%
F value ^a	0.357	0.139	0.077
Noncentrality(γ) ^b	3.602	3.438	3.064
Power(1- β) ^c	91.4%	88.9%	81.1%
Detectable difference(Δ) ^d	16.73%	17.53%	19.67%
Confidence interval(δ)	-8.25 $\leq\delta$ \leq 15.57	-5.60 $\leq\delta$ \leq 19.35	-12.15 $\leq\delta\leq$ 15.86

^a $\alpha=0.05$, $F_{0.05}(1, 14)=3.05$, ^b $\alpha=0.05$, $v=14$, ^c $\alpha=0.05$, $\Delta=0.2$, ^d $\alpha=0.05$, $1-\beta=0.8$ ^e $\alpha=0.05$

때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전체 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도=14에서 산출한 비심도는 3.44이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도 수치표로부터 계산한 결과 88.9%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 17.53%로 나타나, 각각 80%이상과 20%이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험 기준을 만족하였다. 또한 두 약의 C_{max} 차이의 신뢰한계는 유의수준=0.05에서 -5.60

19.35로서 20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 C_{max} 에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

T_{max} 에 대하여도 유의수준=0.05의 군간 순서효과 검정에서 F비가 F분석표의 한계값보다 작아 교차시험이 제대로 이루어졌음을 확인할 수 있었다. 또한 대조약에 대한 두 약의 T_{max} 차이가 1.85%로 대조약과 시험약의 비교항목 평균치의 차이가 대조의 20%이내일 때 동등한 것으로 한다는 생물학적 동등성 시험 기준의 전체 조건을 만족하였다. 유의수준=0.05, 자유도=14에서 산출한 비심도는 3.06이었으며 이를 가지고 유의수준=0.05, 최소검출차=0.2를 검출하기 위한 검출력을 양측 t검정의 검출력과 비심도 수치표로부터 계산한 결과 81.1%이었고, 유의수준=0.05, 검출력=0.8의 조건에서 최소검출차를 계산한 결과 19.67%로 나타나, 각각 80%이상과 20%이하이어야 한다고 하는 생물학적 동등성 시험기준을 만족하였다. 또한 두 약의 T_{max} 차이의 신뢰한계는 유의수준=0.05에서 -12.15 $\leq\delta\leq$ 15.86으로서 20%이내에 들어 바람직한 것으로 나타났다. 따라서 두 약은 평가항목 T_{max} 에 있어 생물학적으로 동등함을 알 수 있었다.

이상의 시험결과를 종합해 보면 시험약인 “낙톤 정”은 대조약인 “유니메톤 정”에 대하여 생물학적 동등성

시험의 판단 기준인 3항목(AUC, C_{max} , T_{max})에서 모두 동등한 것으로 나타나 두 제제는 생물학적으로 동등하다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 진양제약(주)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) E.A. Boyle, P.C. Freeman, F.R. Mangan and M.J. Thomson, Nabumetone(BRL 14777, 4-[6-methoxy-2-naphthyl]-butan-2-one) : a new anti-inflammatory agent, *J. Pharm. Pharmacol.*, **34**, 562-569 (1982).
- 2) R.E. Haddock, D.J. Jeffery, J.A. Lloyd and A.R. Thawley, Metabolism of nabumetone (BRL 14777) by various species including man, *Xenobiotica*, **14**, 327-337 (1984).
- 3) Physician Desk Reference, 50th ed., Medical Economics, Montvale, NJ, U.S.A., pp2510-2512 (1996).
- 4) J.G. Lombardino, *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs*, John Wiley & Sons, New York, NY, U.S.A., pp309-313 (1985).
- 5) J.E. Ray and R.O. Day, High-performance liquid chromatographic determination of a new anti-inflammatory agent, nabumetone, and its major metabolite in plasma using fluorimetric detection, *J. Chromatogr.*, **336**, 234-238 (1984).