

인체 혈장 중 나돌올의 HPLC 분석법 검증 및 단회투여 후 약물동태 연구

강춘모 · 트란트롱* · 김경호* · 명자혜** · 황성주** · 김미영 · 구효정†

가톨릭대학교 의과대학, *강원대학교 약학대학, **충남대학교 약학대학
(2005년 9월 22일 접수 · 2005년 11월 29일 승인)

Validation of an HPLC Method for Nadolol in Human Plasma and Evaluation of Its Pharmacokinetics after a Single-dose in Korean Volunteers

Choon-Mo Kang, Tran Quoc Trung*, Kyeong Ho Kim*, Ja-Hye Myung**,
Sung-Joo Hwang**, Mi-Young Kim and Hyo-Jeong Kuh†

Department of Biomedical Sciences, College of Medicine, Catholic University, Seoul 137-701, Korea

*College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

(Received September 22, 2005 · Accepted November 29, 2005)

ABSTRACT—A high-performance liquid chromatographic method was validated for quantitation of nadolol in human plasma. Nadolol and internal standard, pindolol, were extracted with tert-butyl methyl ether after addition of 10 M sodium hydroxide solution. The analytes were separated on a reverse phased C18 column using a mobile phase consisting of 0.05 M ammonium phosphate monobasic buffer, acetonitrile and methanol (81:17:2 v/v/v) and detected using a fluorescence detector (excitation wavelength 230 nm, emission wavelength 294 nm). The method was specific and sensitive enough to detect as low as 3 ng/mL of nadolol in human plasma. Linear calibration range was 3-150 ng/mL with correlation coefficient greater than 0.999. The overall accuracy was in the range of 96.8 to 103% and precision C.V.(%) 7.30 to 12.2%. The recovery was approximately 100% and stability was confirmed during storage and sample preparation. The present HPLC method was successfully applied to study bioavailability after oral administration of 80 mg of nadolol in healthy Korean subjects. The mean AUC_0-t was 1968 ± 397 ng·hr/mL and C_{max} of 186 ± 79.3 ng/mL was reached at 3.5 ± 0.76 hr. The mean $t_{1/2}$ of nadolol was 17.3 ± 2.59 hr.

Key words—Nadolol, HPLC, Fluorescence, Validation, Pharmacokinetics

나돌올은 고혈압 치료에 쓰이는 약물로 비선택적 β 수용체 차단제이며 그 작용시간이 긴 것이 특징이다. 나돌올은 두 개의 키랄 중심이 있고 네 개의 광학 이성질체(SQ12150, SQ12148, SQ12149, SQ12151)가 동량으로 혼합된 racemate 인데 이성질체 각각은 막 β 수용체에 대한 결합 친화력에서 차이를 보인다.¹⁾ 다른 β 수용체 차단제와 유사하게 심근의 β 수용체 차단 작용을 통해 음성수축변동작용과 심박수 변동 작용을 나타내어 운동성 심박출량(심박동수×수축기혈압)을 저하시킨다. 또한 심근의 산소소모량을 저하시키고, 혈장레닌의 활성을 감소시키지만 다른 β 차단제와는 다르게 신혈류량을 유지시키는 것으로 나타나 있다. 상용량은 정상 혈압의 건강한 사람에서 저혈압을 유발하지 않고, 다른 β 수용체 길항제가 일으키기도 하는 막안정화 효과와 내인성 교감신경

효능작용이 없다. 임상적으로 이 약물은 고혈압, 협심증, 빈맥성부정맥, 편두통의 예방, 갑상선중독증(갑상선기능항진증의 완화 및 갑상선 수술 전 처치제)에 사용된다.¹⁾

나돌올은 다른 β 수용체 길항제에 비해 수용성이 매우 높고 지용성이 낮아서 인체에 경구 투여 시 위장관 흡수가 불완전하여 생체이용률은 약 35%이며 최고혈중농도에 이르는 시간은 약 4시간이다.^{2,3)} 나돌올의 생체이용률은 개체차가 큰 것으로 나타나 있지만 프라프로놀롤보다는 개체차가 적은 것으로 알려져 있다.⁴⁾ 1일 최대 용량은 160 mg까지 투여 가능하다. 혈중농도는 단회투여 후 120 mg까지 선형 약물동태를 보이는 것으로 알려져 있으나 반복 투여 시 80 mg/day에서 비선형을 보이는 것으로 보고되었다.^{1,5)} 지용성 β 수용체 길항제보다 혈액 뇌관문을 통과하기 어려우므로 중추신경계에 일으키는 부작용이 적다고 알려져 있고 거의 대사되지 않아 대부분 미변화체로 신장으로 배설된다. 나돌올은 혈장단백에 18-22%가 결합하며 분포용적은 약 2 L/kg으로 알려져 있다.⁶⁾

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 02)590-2422, E-mail : hkuh@catholic.ac.kr

경구투여 후, 혈중 소실 반감기는 약 14-20시간으로 β 수용체 길항제들 중 가장 길어 1일 1회 투여가 가능하며, 신부전 환자에게서는 약물축적이 일어나서 반감기가 연장된다.

나돌올은 생체이용율의 개체차가 큰 약물로서 인종이나 민족의 유전적 차이에 따라 약동학적 특징이 다를 수 있다. 국내에서는 나돌올의 분석법 검증이나 약동학적 연구 결과가 보고되고 있지 않다. 혈장 중 나돌올을 검출하는 방법으로는 HPLC-형광분석법(HPLC-Fluorescence)을 이용하는 방법,^{3,7)} GC-MS를 이용하는 방법⁸⁾ 등이 있으며, HPLC-형광분석법을 이용하여 키랄 유도체 형성과정을 거쳐 이성질체를 분리 검출하는 방법도 보고되어 있다.^{9,10)} 서로 다른 방법으로 만든 나돌올 정제(standard granulated or direct compressed tablet) 80 mg을 1회 경구투여한 생동성 시험시 C_{max} 와 AUC로 평가한 경우 나돌올과 이성질체 SQ12150만이 생물학적으로 동등하였고, 반복투여 시에는 나돌올에 대해서만 생물학적동등성이 입증되었다는 보고가 있다.¹⁾ 따라서 광학 이성체-특이적인 분석을 할 필요성이 제기될 수 있으나, 분석을 위해 약물을 이성체-특이적으로 만드는 과정이 비특이적인 분석방법보다 신뢰성이 떨어져서 약동학적 이유에서 기인한 차이가 아닌데도 불구하고 분석결과의 변동이 크다고 보고되었다.⁸⁾ 그러므로 널리 보급되어 있는 HPLC-형광검출법을 이용해서 나돌올을 검출하는 것이 분석의 효율성을 높이는 데에 적합하리라 사료되었다. 나돌올 60-120 mg을 1회 경구투여한 경우 C_{max} 는 69-139.9 ng/mL로 보고되었고,^{3,11)} 통상적으로 나돌올을 HPLC-형광분석법으로 검출하는 경우 정량 감도는 1-5 ng/mL이므로^{3,7)} 반감기의 3배가 되는 시점까지를 검출할 수 있을 것으로 예상할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 문헌에 보고된 HPLC 방법^{3,7)}을 수정하여 혈장 중 나돌올 농도 분석을 위한 HPLC-형광분석법을 검증하였다. 이 방법을 이용하여 서로 다른 세 기관에서 각각 8명씩 총 24명의 건강한 성인을 대상으로 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준(식품의약품안전청 고시 제 2002-60호 2002. 11. 22)¹²⁾에 따라 한국 BMS 제약의 코가드®정(나돌올 40 mg) 2정을 경구투여한 후 약물속도론적 파라메타를 구하여 향후 생동성시험을 위한 지침을 마련하고자 하였다.

실험 방법

시약 및 기기

연구에 사용된 나돌올 표준품과 내부표준물질인 핀돌올은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, 미국)에서 구입하였고,

HPLC 등급의 아세토니트릴, 메탄올은 Duksan Pure Chemical Co.(안산, 한국), 삼차 부틸 메틸 에테르는 Acros Organics(New Jersey, 미국), 일인산암모늄은 Shinyo Pure Chemical Co.(Osaka, 일본), 수산화나트륨은 Ducksan Pharmaceutical Co.(Osaka, 일본)에서 구입하여 사용하였다. 생체이용률시험에 사용된 시험약은 한국 BMS 제약의 코가드®정(나돌올 40 mg)이었고, HPLC용 장치는 Shimadzu Corp.(Kyoto, 일본)으로 구성된 것을 사용하였다. 컬럼으로는 Phenomenex Securityguard cartridge®(4×3 mm I.D., Torrance, CA, 미국)이 장착된 Luna C18 100A(Phenomenex® 5 μ m, 4.6×250 mm, Waters, Milford, MA, 미국)를 이용하였다.

피험자 선정 및 투약

생물학적동등성시험기준¹²⁾ 제 10조(피험자의 선정) 및 제 11조(피험자의 제외기준)에 따라 선정기준에 합당하고 제외기준에 해당되지 않는 자로서 서로 다른 세 기관(가톨릭의대, 강원대 약대, 충남대 약대)에서 생물학적동등성시험에 적합한 건강한 사람 각각 8명씩 총 24명을 피험자로 선정하였다. 또한 본 시험은 세 기관 별도의 기관 임상시험 심사위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인 후 각 시험기관별로 수행하였다. 최종 선정된 지원자에게 생체이용률시험 설명회를 이 시험의 목적, 방법, 이상약물반응 발생가능성 및 이에 대한 대책 등에 대하여 설명한 후 피험자의 자의의사에 의한 시험 참가 동의를 문서로 받았다. 최종 선정된 피험자들의 평균 체중은 67 kg, 평균연령은 25세의 남자였다.

각 수행기관에서는 시험 전일 모든 피험자들에게 본 시험의 목적, 방법, 이상약물반응 발생 가능성 및 이에 대한 대책 등에 대하여 다시 한번 주지시킨 후 저녁식사를 제공하고 오후 7시 이후부터 투약 시까지 금식시켰다. 피험자의 투약은 투약 전 채혈 후 오전 8시부터 시험약 2정(80 mg)을 물 240 mL과 함께 투약하였다. 피험자 간의 복약시간의 차이는 채혈시간을 고려하여 3분 내지 5분 간격으로 실시하였다. 식사에 의한 영향을 배제하기 위하여 투약 전 10시간 이상 절식한 상태에서 투약 후 4시간까지는 금식 상태를 유지시켰다.

채혈 시 피험자들의 상완 정맥부위에 heparin-locked catheter를 설치하고 공혈액으로 각각 10 mL 씩을 채혈하였다. 실수로 인한 채혈시간의 변동을 사전에 방지하기 위해 시험 전에 채혈자 및 피험자들에게 증례기록서를 배부하였다. 채혈 및 관리인원으로는 전문의 1인, 채혈관리 1인, 채혈보조인원 1인, 시험담당자 2인 및 시험책임자 등 6인 이상을 참가시켰다.

채혈 및 피험자 관리

채혈 및 피험자관리는 세 수행기관에서 다음과 같이 동일하게 수행하였다. 약물의 혈중소실반감기(14-20시간)를 토대로 반감기의 3배 이상인 60시간 동안 실시하였고, 채혈 횟수는 약물 투약 직전과 투약 후 0.5시간, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간, 5시간, 6시간, 8시간, 10시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간의 총 15시점에서 실시하였다. 투약 후 4시간째 채혈을 마친 후 동일한 점심식사를 섭취하였다. 10시간째 채혈이 끝난 후 동일한 저녁 식사를 섭취한 후 12시간째 채혈하고, 휴식을 취하였다. 3일째 60시간 시점을 마지막으로 채혈하였고, 시험 전과정 중 피험자 개개인의 상태를 관찰하여 증례기록서에 기록하였으며, 채혈이 끝난 후에는 담당의사에 의해 혈압, 맥박, 기타 이상 유무를 확인하였다. 채혈 방법은 I.V. catheter 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 2 mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 8 mL의 혈액을 채취하여 피험자 관리 번호와 채혈시간이 기재되어 있는 vacutainer에 넣었다. 채혈 후마다 I.V. catheter 안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리 식염수를 주입하였다. 채혈된 혈액은 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 혈장을 취하여 혈장 분리관에 옮겨 담고 분석 시까지 -70°C에서 보관하였다.

검량선 작성 및 혈장 중 나돌올의 농도 측정

나돌올 표준품을 메탄올에 녹여 20 µg/mL로 만든 후 -20°C에서 보관시키고, 이 용액을 메탄올로 희석하여 15, 10, 5, 2, 1, 0.5 및 0.3 µg/mL의 농도가 되도록 만들었다. -20°C에 냉동보관 하였던 공혈장 990 µL에 각 농도의 표준용액(나돌올) 10 µL를 가하여 표준시료를 조제 하였다. 내부표준물질로서 핀돌을 1000 µg/mL 용액을 메탄올로 희석하여 100 µg/mL 농도가 되도록 하고, 표준시료 혈장에 10 µL를 가한 후 30초 동안 vortexing하였다. 여기에 10 M 수산화나트륨 500 µL와 삼차 부틸 메틸 에테르 3 mL을 넣고 3분간 vortexing하여 추출한 후 2500 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 유기층과 수층을 분리하고, 수층을 같은 방법으로 재추출한 후 분리된 유기층을 합하였다. 유기층을 40°C에서 질소가스를 이용하여 증발건조 시킨 후 잔사에 이동상 500 µL를 가하여 용해하고 이 중 150 µL를 취하여 HPLC에 주입하여 분석하였다. 이동상은 0.05 M 일인산암모늄 완충액, 아세트나트륨과 메탄올을 81:17:2(v/v/v)로 섞은 혼합용액 이었으며 유속 1.0 mL/min으로 흘러주었다. 검출은 여기파장은 230 nm, 방출파장은 294 nm으로 하였다.

검량선 작성은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 나돌올

의 피크 면적비를 구하여 작성하였다. 하루에 실험을 6번 시행하여 일내 재현성을 구하고, 연속하여 6일간 실험을 시행하여 일간 재현성을 구하였다. 피험자 혈장 시료의 분석은 -70°C에 보관하였던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹이고 1분간 진탕한 다음 혈장 1 mL에 내부표준물질인 핀돌을 용액(100 µg/mL) 10 µL를 가한 후 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리하여 HPLC에 주입하였다. 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 나돌올의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 나돌올의 농도를 구하였다.

안정성

시료의 안정성은 냉·해동, 단기온도, 장기, 표준원액, 그리고 조제 후 안정성으로 평가하였다. 냉·해동 안정성은 -70°C에서 보관하였던 공혈장을 실온에서 완전히 해동한 후 나돌올 표준용액을 분주하여 저농도(5 ng/mL)와 고농도(135 ng/mL)로 조제하였다. 혈장표준시료를 3개로 등분하여 검체 처리한 후 HPLC로 분석하였다. 남은 혈장시료는 -70°C에서 저장하고 같은 조건으로 동결하고 냉·해동 과정을 3회 반복하여(0, 24, 48 및 72시간) 분석하였다. 단기 온도 안정성은 혈장표준시료를 실온에서 0, 5 및 9시간 동안 방치한 후 검체 처리하였고, 장기 안정성은 혈장 표준시료를 0, 0.5 및 1개월 동안 -70°C에서 보관하고 실온에서 보조기구 없이 완전히 해동한 후 검체 처리하여 분석하였다. 나돌올 표준용액을 200 ng/mL의 농도로 조제하여 분석하고 실온에서 4시간 동안 방치한 후 반복 분석하였다. 조제 후 안정성은 혈장표준시료를 검체 처리하여 이동상에 용해한 것을 실온에서 0, 6 및 12시간 동안 방치하여 반복 분석하였다. 안정성 시험은 3회 반복 시험하였다.

회수율

-70°C에서 보관했던 공혈장을 실온에서 완전히 해동한 후 혈장 표준 용액을 저농도(5 ng/mL), 중농도(70 ng/mL)와 고농도(120 ng/mL)로 조제하여 검체 처리한 분석결과와 100% 회수율을 의미하는 같은 농도의 순수 표준용액의 분석 결과와 비교하였다. 회수율 시험도 3회 반복 시험하였다.

약물속도론 및 통계분석

코가드®정을 각각 2정씩 24명의 지원자에게 경구투여하여 얻은 혈장 중 약물농도-시간 곡선으로부터 최고 혈장 중 농도(C_{max})와 최고 혈장 중 농도 도달시간(T_{max})를 구하였고, 혈장 중 약물농도-시간곡선하면적(AUC) 및 소실속도 정수(K_e)는 BA Calc 2002를 사용하여 구하였다. 모든 측정치와

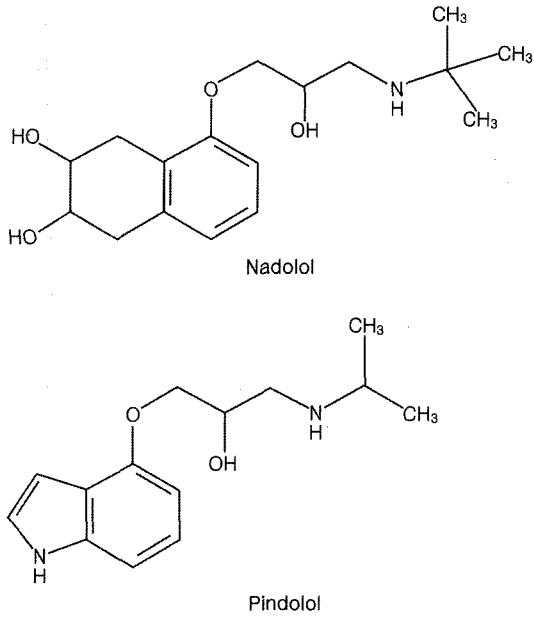


Figure 1—Chemical structures of nadolol and internal standard (IS, pindolol).

계산치는 평균±표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

혈장 중 나돌을 정량

검체를 처리하여 HPLC로 분석하였을 때 얻어진 전형적인 크로마토그램은 Figure 2와 같다. 나돌의 피크유지시간은 약 5.68분, 내부표준물질인 편돌의 피크유지시간은 약 8.23분이었으며, 분석조건에서 나돌과 내부표준물질은 기타 혈장 성분들과 잘 분리되었다.

정량한계에 대해서는 크로마토그램 상에서 신호 대 잡음비는 5 이상, 정밀성이 20% 이하이고, 정확성이 80-120%인 조건을 만족하는 농도로 정하였으며, 그 값은 3 ng/mL이었다. 혈장시료로부터 구한 나돌의 혈장 중 농도에 대해 내부표준물질의 피크면적에 대한 나돌의 피크 면적비를 나타내는 검량선의 계산식은 $y=0.0244x+0.0004(r^2=0.9992)$ 로 3-150 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 또한

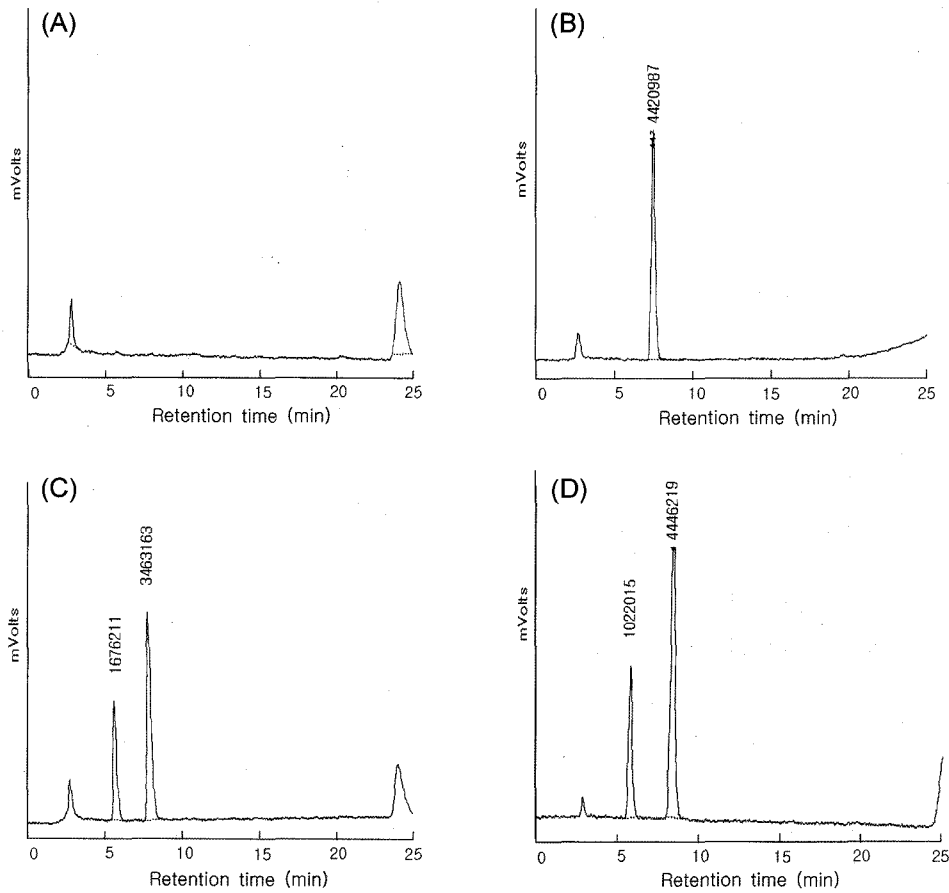


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human plasma, (B) human plasma spiked with internal standard (pindolol 1 µg/mL), (C) human plasma spiked with nadolol (20 ng/mL) and internal standard (pindolol 1 µg/mL), and (D) human plasma sample obtained at 36 hr after oral administration of 80 mg nadolol in a volunteer.

Table I—Precision and Accuracy for the Determination of Nadolol in Human Plasma

Concentration (ng/mL)	Precision C.V.(%)		Accuracy (%)
	Intra-day(n=6)	Inter-day(n=6)	
3	10.5	7.3	103.0
5	2.8	4.7	101.6
10	7.1	10.0	98.9
20	5.9	11.6	101.3
50	1.9	10.5	103.0
100	6.6	12.2	96.8
150	6.2	8.3	101.2

C.V.(%) = S.D./mean × 100

Table I에 나타낸 바와 같이 이 농도범위에서 나돌올의 정밀성을 C.V.(%)로 나타내었을 때 일내 정밀성이 10.5% 이하, 정량한계농도에서의 일내 정밀성은 10.5% 이하였고, 일간 정밀성은 12.2% 이하, 정량한계농도에서의 일간 정밀성은 7.3%이었다. 또한 정확성은 96.8% 이상, 정량한계농도에서의 정확성은 103%이었다. 이로부터 혈장 중 나돌올은 이 분석법을 통해 인체에 대한 생체이용률시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 정확성 및 정밀성이 있음을 알 수 있었다.

세 기관의 분석조건은 HPLC 기기의 구성과 제조회사 및 컬럼의 제조사 등에서 약간의 차이가 있었으나 각 기관 별로 분석법의 특이성, 직선성($r^2=1$), 정밀성(14% 이하) 및 정확성(96.9-111.3%)을 확인하여 각 기관의 피험자 샘플을 분석할 수 있는 충분한 감도 및 적용성을 검증하였다.

안정성

냉·해동 안정성은 -70°C와 실온에서의 냉·해동과정을 반복한 결과 14% 이내에서 유지되었고, 단기 온도 안정성도 실온에서 9시간 방치한 경우 14% 이내의 변동률을 보였다. 그리고 장기 온도 안정성은 -70°C에서 한달 동안 보관하였을 때 2%의 차이가 나타났으며, 표준용액 안정성은 표준액 제조 후 -70°C에 보관하고, 실온에서 6시간 동안 방치했을 때 6%의 차이를 보이므로 6시간까지는 안정한 것으로 확인되었다. 마지막으로 조제 후 안정성은 12시간 동안 실온에서 방치해도 8% 이내에서 유지되므로 안정성 확인 실험 결과 모든 과정에서 안정한 것으로 확인되었다.

Table II—Pharmacokinetic Parameters of 24 Volunteers after a Single Dose Oral Administration of two COGARD Tablet(80 mg Nadolol)[#]

AUC _t (ng · hr/mL)	AUC _{inf} (ng · hr/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (hr)	K _e (hr ⁻¹)	t _{1/2} (hr)
1968 ± 397	2118 ± 431	186 ± 79.3	3.5 ± 0.76	0.041 ± 0.007	17.3 ± 2.59

[#]Mean ± S.D.

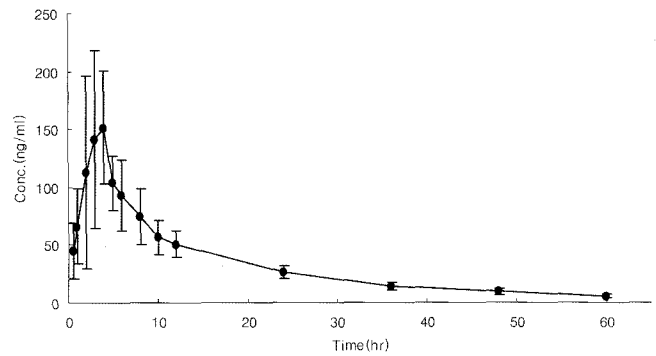


Figure 3—Mean plasma concentration-time curve of nadolol following oral administration of COGARD[®] tablet at a dose of 80 mg of nadolol in 8 healthy volunteers.

회수율

본 분석방법의 혈장시료 평균회수율(%)은 저농도(5 ng/mL)가 104.9%, 중농도(70 ng/mL)가 102.9% 그리고 고농도(120 ng/mL)는 105.2%로 나타나 추출방법에 의한 소실이 적은 것으로 확인되었다.

생체이용률 파라미터의 산출

Figure 2는 코가드[®]정(나돌올 40 mg) 2정씩을 건강한 지원자 8명에게 경구투여한 후 평균 혈장 중 나돌올 농도를 시간에 따라 나타낸 것이다. 또한, 피험자들의 혈장 중 약물 농도 곡선으로부터 생체이용률 파라미터인 AUC_t, AUC_{inf}, C_{max}, T_{max}, K_e 및 t_{1/2}의 값을 Table II에 나타내었다. 코가드[®]정(나돌올 40 mg) 2정을 경구투여 시 AUC_t, C_{max}, T_{max}, K_e 및 t_{1/2}은 각각 1968±397 ng · hr/mL, 186±79.3 ng/mL, 3.5±0.76 hr, 0.041±0.007 hr⁻¹ 및 17.3±2.59 hr이었다. Table II에는 나타내지 않았으나 다른 두 기관의 파라미터중 C_{max}와 T_{max}의 편차는 각각 26.3%와 10.6% 이내로 유사한 값을 얻었으나 AUC_t와 t_{1/2}의 편차는 각각 41.4%와 33.5%로 다소 큰 차이를 보였다. 세 기관의 평균 AUC_{inf}는 1753±603 ng · hr/mL로써 평균 AUC_t는 평균 AUC_{inf}의 89.4%를 차지하였다. 전체 24명의 피험자 중 1명에서 T_{max} 전 두 시점의 혈장 중 농도가 정량한계 이하로 나타났다. 또한 38시간에 1명과 48시간에 4명에서도 정량한계 이하로 나타났으며, 60시간의 혈장 중 농도는 8명을 제외하고 정량한계 이하의 농도를 나타내었다. 24명의 피험자 전체의 AUC_t, T_{max}, K_e 및

$t_{1/2}$ 은 각각 1567 ± 559 ng · hr/mL, 3.31 ± 0.95 hr, 0.053 ± 0.014 hr⁻¹ 및 14.3 ± 4.03 hr으로 문헌에 보고된 값과 유사하였다.^{3,11)} 한편, C_{max} 는 160 ng/mL로 나타났는데 이전의 연구에서는 80 mg 경구투여 시 138 ng/mL¹⁾ 또는 125 ng/mL⁶⁾로 보고되었고 120 mg 경구투여 시 132 ng/mL¹¹⁾로 보고되어, 본 연구의 결과가 약 16-74%의 높은 값을 보였다. 이러한 C_{max} 값의 차이를 설명할 수 있는 요인 중 하나로 피험자들의 공복 상태 정도를 생각할 수 있는데 실제로 Robert 등에 의한 나돌올의 생체이용률시험에서 C_{max} 가 식전과 식후에 125 ng/mL과 82 ng/mL로 약 1.5배의 차이를 보이는 것으로 보고된 바 있다.⁶⁾

결 론

본 연구는 사람의 혈중 나돌올 농도를 정확하고 정밀하게 측정할 수 있는 HPLC/형광 분석법을 개발하고, 그 분석방법에 대하여 유효성을 검증하였다. 내부표준물질로 핀돌올을 이용하였으며 혈장성분 등 내인성 물질의 방해 없이 혈장으로부터 나돌올 및 내부표준물질을 양호하게 분리할 수 있었다. 혈장시료로부터 구한 나돌올 검량선은 3-150 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었고, 정량한계는 3 ng/mL이었다. 분석법을 검증한 결과 일내와 일간의 정확성 및 정밀성이 기준값 이내에 들어 이 분석법은 충분한 감도와 정확성 및 정밀성을 가지는 것으로 판단되었다. 생물학적 동등성 시험 기준¹²⁾에 준하여 건강한 성인 24명을 대상으로 세 기관에서 각각 시험약 80 mg(한국 BMS제약의 코가드®정 40 mg 2 정)을 투여하여 생체이용률시험을 시행하였다. 본 분석방법을 이용하여 약동학적 파라미터를 산출하였고 AUC_t는 1567 ng · hr/mL이었고 C_{max} (160 ng/mL)는 3.31 hr에 도달되었으며 $t_{1/2}$ 는 14.3 hr이었다. 본 연구 결과로부터 나돌올 제제의 생물학적동등성 평가에 활용할 수 있는 나돌올의 생물학적동등성시험 표준지침을 작성할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 국립독성연구원의 지원(KFDA-04142약동성408)을 받아 수행하였으며, 연구비 지원기관 및 이에 참여한 모든 연구원들에게 깊이 감사드린다.

참고문헌

- 1) N.R. Srinivas, W.H. Barr, S.W. Shyu, E. Mohandoss, S. Chow, J. Stagers, G. Balan, F.J. Belas, I.A. Blair and R.H. Barbhैया, Bioequivalence of two tablet formulations of nadolol using single and multiple dose data: assessment using stereospecific and nonstereospecific assays, *J. Pharm. Sci.*, **85**(3), 299-303 (1996).
- 2) W.H. Frishman, Nadolol: a new beta-adrenoreceptor antagonist, *N. Engl. J. Med.*, **305**(12), 678-682 (1981).
- 3) N.R. Srinivas, W.C. Shyu, V.R. Shah, D.A. Campbell and R.H. Barbhैया, High-performance liquid chromatographic assay for the quantitation of nadolol in human plasma using fluorescence detection, *J. Biomed. Chromatogr.*, **9**(2), 75-79 (1995).
- 4) J. Moncrieff, Assay of nadolol in serum by reversed-phase liquid chromatography with fluorometric detection, *J. of Chromatogr.*, **342**, 206-211 (1985).
- 5) J.J. Krukemyer, H. Boudoulas, F.P. Binkley and J.J. Lima, Comparison of single-dose and steady-state nadolol plasma concentrations, *Pharmaceutical Research*, **7**(9), 953-6 (1990).
- 6) R.G. Buice, V.S. Subramanian, K.L. Duchin and S. Ukonne, Bioequivalence of a highly variable drug: an experience with nadolol, *Pharmaceutical Research*, **13**(7), 1109-15 (1996).
- 7) H. Noguchi, K. Yoshida, M. Murano and S. Naruto, Determination of nadolol in serum by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection, *J. Chromatogr.*, **573**(2), 336-338 (1992).
- 8) K.K. Midha, G. McKay, M.J. Rawson and J.W. Hubbard, The impact of stereoisomerism in bioequivalence studies, *J. Pharm. Sci.*, **87**(7), 797-802 (1998).
- 9) N.R. Srinivas, W.C. Shyu, V.R. Shah, D.A. Campbell and R.H. Barbhैया, Stereoselective analysis of nadolol in human plasma, *Biomed. Chromatogr.*, **9**(5), 226-228 (1995).
- 10) F.J. Belas, M.A. Phillips, N.R. Srinivas, R.H. Barbhैया and I.A. Blair, Simultaneous determination of nadolol enantiomers in human plasma by high-performance liquid chromatography using fluorescence detection, *Biomed. Chromatogr.*, **9**(3), 140-145 (1995).
- 11) M. Schafer-Korting, N. Bach, H. Knauf and E. Mutschler, Pharmacokinetics of nadolol in healthy subjects, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **26**(1), 125-7 (1984).
- 12) 식품의약품 안전청 고시 제 2002-60호, 생물학적동등성 시험 기준(2002. 11. 22).