

토끼에 있어서 SYC-fentanyl 패취제의 경피투여 동태비교

신호철[#] · 이영미 · 최학수 · 이정훈* · 유현석* · 한상섭

한국화학연구소 약물독성동태실, *삼양사 중앙연구소

(Received March 20, 2000)

Comparative Pharmacokinetics for Dermal Application of a New SYC-fentanyl Patch in Rabbits

Ho-Chul Shin[#], Young-Mi Lee, Hak-Soo Choi, Jeong-Hoon Lee*,
Hyun-Suk Yu* and Sang-Seop Han

Department of Pharmacokinetics and Toxicokinetics, Korea Research Institute of
Chemical Technology, Taejon 305-600

*Samyang Pharmaceuticals R & D, Taejon 305-348, Korea

Abstract — We examined a dermal pharmacokinetics for a new SYC-fentanyl patch in rabbits. Determination of fentanyl in the plasma was performed using a gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection system and a capillary column. One patch per animal (fentanyl 2.5 mg) was applied to clipped back skin for 72 hours. The plasma fentanyl concentration profile of SYC-patch was similar to that of a conventional patch (Durogesic[®], Janssen Co.). No significant difference was observed in the pharmacokinetic parameters, the area under the concentration-time curve ($AUC^{0-72hrs}$) and the total area under the first moment-time curve ($AUMC^{0-72hrs}$), between the two patch types. The $AUC^{0-72hrs}$ and $AUMC^{0-72hrs}$ of durogesic[®] were $183.3 \pm 46.28 \text{ ng} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ and $6,450 \pm 1,939 \text{ ng} \cdot \text{hr}^2/\text{ml}$, and those of SYC-fentanyl patch were $217.2 \pm 50.51 \text{ ng} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ and $8,022 \pm 2,245 \text{ ng} \cdot \text{hr}^2/\text{ml}$, respectively ($n=3$). This result indicates that the new SYC patch has a similar bioavailability compared to durogesic[®] patch. Therefore, the SYC-patch may be considered as a bioequivalent fentanyl patch.

Keywords □ SYC-fentanyl patch, comparative pharmacokinetics, rabbit.

Fentanyl은 buprenorphine 등과 함께 마약성진통제로서 통증이 심한 수술환자나 말기암환자에서 고통을 경감시키고자 사용되어 왔다.¹⁾ Fentanyl은 Janssen사에 의해서 처음 개발되어²⁾ 그동안 주사제로서 주로 사용되어 왔으나 반복적인 주사투여에 의한 환자의 기피현상 등 임상적 투여의 어려움이 있어^{3,4)} 경구제제 또는 경피흡수제의 개발이 적극 시도되어 왔다. 대표적인 주사제로는 Janssen사의 sublimaze가 있으나 최근에는 경피흡수제의 개발이 활발한데 미국의 Alza를 비롯하여 Hercon, Cygnus, Anesta 등이 적극 참여하고

있으며, 국내에서도 한국화학연구소 이해방 박사 그룹을 비롯하여 삼양사 의학연구팀 등이 새로운 fentanyl 제제를 개발하고자 노력하고 있다. 본 연구는 최근 개발중인 삼양사의 SYC-fentanyl 패취제를 대상으로 시판 제제인 Janssen사의 durogesic 과 비교하여 전임상 생체흡수성을 검토하고자 토끼를 이용해 수행하였다. 나아가 SYC-fentanyl 패취제의 생물학적 동등성제제로서의 임상적 개발가능성을 검토하는데 동태론적 정보도 제공하고자 하였다.

실험방법

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-860-7393 (팩스) 042-860-7488

약물 - 최근 새로 개발중인 SYC-fentanyl 패취(삼양

사, fentanyl성분 2.5 mg함유) 및 대조제형으로 시판 중의 패취제제 durogesic®(Janssen, fentanyl성분 2.5 mg)를 사용하였다.

실험동물 - 4개월령의 New-Zealand White계 토끼 ((주)계통과학, 대전)를 약 일주일간 순화시킨 후 건강한 개체가운데 경배부를 제모하여 피부를 확인한 후 피부에 이상이 없는 동물을 시험에 이용하였다. 동물 사육관리는 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 15\%$, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시) 및 조도 150~300 Lux로 설정된 한국화학연구소 안전성연구센터 동물시설에서 실시되었다. 사료는 토끼용 고품사료(퓨리나)를, 물은 자외선살균기로 소독된 물을 자유 섭취시켰다. 동물관리 및 사용에 관한 규정준수를 위해 본 시험은 AAALAC 실험동물 관리 및 사용규정을 준수하여 실시되었으며(인증획득, 1998) 안전성연구센터의 동물관리 사용위원회(IACUC)에 의해 승인되었다.

약물투여 - 약물투여는 원제(패취) 그대로 경피로 적용하였다. 각각 패취 1개씩을 경배부에 도포하였으며 적용부는 비닐로 덮은 후 비자극성 테이프로 잘 고정하여 72시간 부착시켰다.⁵⁾ 적용시간 종료후에는 패취를 제거하고 미온수를 이용해 도포부를 가볍게 세정해 주었다.

혈액시료채취 - 채혈은 전 동물에 대하여 투여직전, 투여후 2, 4, 8, 12, 15, 24, 32, 48, 56, 72시간에 실시하였으며 채혈량은 매회 0.5~1 ml 정도로 하였다. 채혈부위는 이정맥을 이용하였으며 항응고제로는 sodium heparin을 사용하였다. 혈장시료(plasma)는 원심분리법을 이용하여 분리하였다.

혈장시료 전처리 - 혈장시료의 전처리과정 및 약물 분석은 Watts의 방법⁶⁾을 응용하였으며 혈장시료의 전처리 과정은 다음과 같았다. 내부표준물질(I.S.; papaverine)을 methanol에 368 ng/ml으로 용해 제조)을 30 μl 취하여 tube에 넣고 drying 한후, 토끼 Plasma 0.25 ml를 취하여 tube에 넣고 625 μl 10N NaOH를 가하여 잘 혼합하였다. N-Chlorobutane(n-CB) 2.0 ml 넣고 10분간 rotating 및 centrifugation을 한후 N-CB층을 1.5 ml 1N H₂SO₄가 담겨져 있는 다른 tube로 옮겼다. 10분간 rotating하여 n-CB 층은 버리고 H₂SO₄층을 1.5 ml hexane으로 씻고 포화 NaOH 용액 0.25 ml를 가했다. 여기에 2.5 ml n-CB 가하여 10분간 역추출하고 원심분리한 후 N-CB층을 5 ml conical tube에 옮겼다. 질소를 이용하여 증발시키며

0.5 ml n-CB로 tube벽면을 씻어주면서 완전히 증발시킨 후 잔유물을 hexane/ethanol(50/50) 200 μl 로 녹였다. 이 용액을 40°C heating block에서 증발시킨후 hexane/ethanol(50/50) 40 μl 에 녹여 2 μl 주입하였다.

검량선의 작성은 fentanyl을 methanol에 용해후 0.8, 1.6, 2.4, 3.2, 4.0, 4.8, 5.6, 6.4 ng/ml의 농도로 첨가후 혈장시료의 전처리과정과 동일하게 실시하였다.

약물분석 - 혈장중의 약물분석은 GC Nitrogen-phosphorus detection system(HP 6890, Hewlett Packard)을 이용하였다. 분석용 컬럼은 HP-5(0.25 μm , 0.32 mm \times 30 m, Hewlett Packard)를 이용하였으며 주입기(injector)는 splitless mode를 이용하였고 온도는 270°C를 유지하였다. 검출기의 온도는 320°C를 유지하였으며 oven 온도는 90°C(1 min) \rightarrow (30°C/min) \rightarrow 270°C(20 min) \rightarrow (30°C/min) \rightarrow 300°C(17 min)를 적용하였다. 시료주입량은(injection volume)은 2 μl 로 하였다. Carrier gas는 He를 이용하였으며 속도는 1 ml/min를 유지하였다.

약물동태해석 - 약물동태분석은 모델비의존적 SHAM 해석법을 이용하여 AUC^{0-72hrs} (혈중농도 곡선하면적) 및 AUMC^{0-72hrs} (혈중농도 first 모멘트 곡선하면적)를 trapezoidal rule을 이용하여 실험데이터로부터 직접 산출하였다.^{7,8)} 약물혈중농도 및 약물동태파라미터의 값은 mean \pm SEM(n=3)값으로 나타내었다.

실험결과 및 고찰

일반증상관찰 - 시험용 fentanyl 패취 및 durogesic 패취를 적용한 모든 동물에서 특이적 일반증상소견은 관찰되지 않았다. 따라서 공시된 패취제제는 토끼에 있어서 단기 경피적용시 육안적 독성소견을 나타내지 않는 것으로 보인다.

약물분석 - 대상시험물질 fentanyl에 대한 분석크로마토그램은 Fig. 1B 에서와 같다. Fentanyl 표준용액의 용출시간(retention time)과 비교해 볼 때 투약후 채취된 혈액시료중의 용출시간이 일치되게 나타내었다. 검출기는 FID와 NPD를 비교후 보다 감도가 우수한 NPD를 선택하였으며 컬럼은 nonpolar 물질의 분리에 적합한 capillary HP-5 컬럼을 선택하였다. 이동상은 헬륨가스를 이용하였다. 이러한 조건에서 LOD(limit of detection, 3 σ /m)는 0.25 ng/ml 이었으며 LOQ

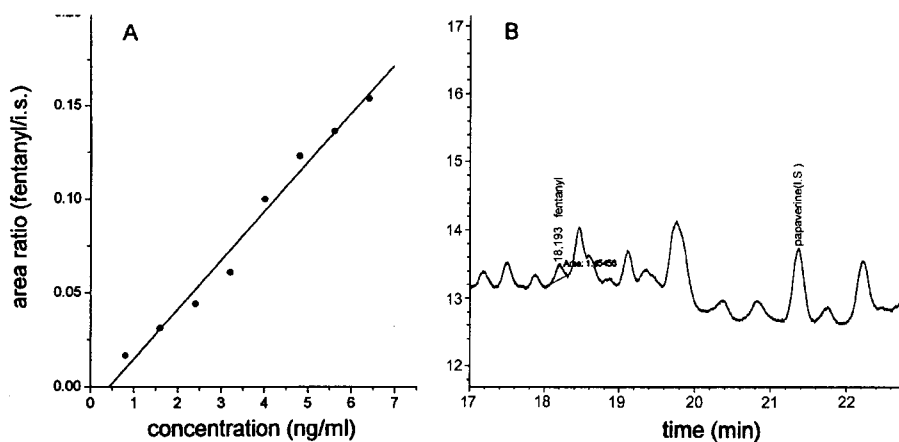


Fig. 1 – Calibration curve of fentanyl (A) and gas chromatogram of rabbit plasma sample obtained from dermal treatment of SYC-fentanyl patch (B).

(limit of quantitation, $10 \sigma_s/m$)는 0.81 ng/ml 이었다. 분석농도에 대한 검량선(직선성)검토를 위해 수행한 결과, Fig. 1A 에서와 같이 $0.8 \sim 6.4 \text{ ng/ml}$ 의 농도범위에서 비교적 양호한 직선성을 나타내어 ($y=0.0262 \times -0.011$, $r^2=0.9809$) 약물동태비교시험을 수행하기에 충분한 GC분석조건으로 검토되었다.

약물동태 - 토끼를 이용한 fentanyl 제제의 경피적용 후 혈중농도 프로파일은 Fig. 2에서와 같으며 동태파라메터 혈중농도곡선하면적($AUC^{0-72\text{hrs}}$) 및 모멘트농도곡선하면적($AUMC^{0-72\text{hrs}}$)은 Fig. 3에서와 같다. 이러한 결과는 혈액시료중 미량이지만 두 제제 모두 어느정도 fentanyl의 체내 흡수를 나타내는 결과라 하겠다. 모델비의존성 모멘트해석 결과 $AUC^{0-72\text{hrs}}$ 및 $AUMC^{0-72\text{hrs}}$ 값에서도 durogesic 이 각각 $183.3 \pm 46.28 \text{ ng} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ 및

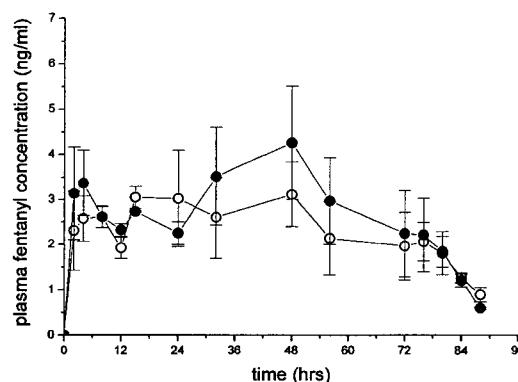


Fig. 2 – Plasma time concentration curve of fentanyl following dermal treatment of SYC fentanyl patch (●) and commercially available durogesic patch (○) for 72 hours in rabbits. Values are means \pm SEM (n=3).

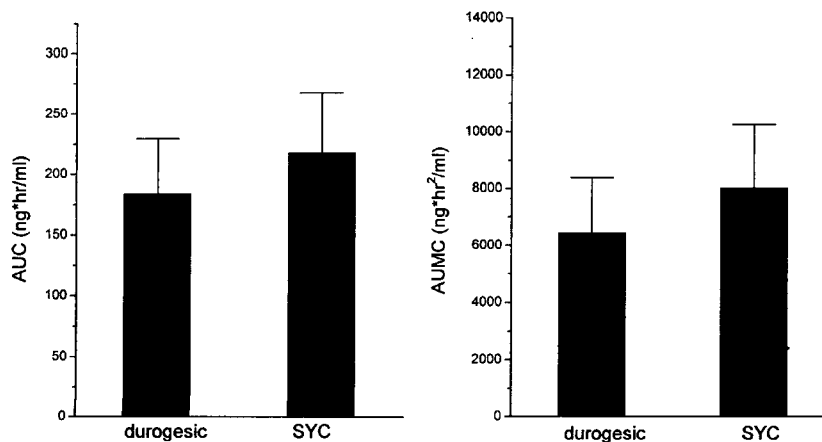


Fig. 3 – AUC and AUMC of fentanyl following dermal treatment of SYC fentanyl patch and commercially available durogesic patch for 72 hours in rabbits. Values are means \pm SEM (n=3).

6,450±1,939 ng*hr²/ml, SYC fentanyl패취가 각각 217.2±50.51 ng*hr/ml 및 8,022±2,245 ng*hr²/ml로 산출되어 두 제형간의 유의적 차이(P<0.05)가 없었다. 제제간의 AUC^{0-72hrs}도 통상적 임상시험에서의 생물학적동등성을 나타내는 20% 범위 내에 들어 차이가 없음을 보여 주었다.⁹⁾ 이러한 결과는 새로운 SYC fentanyl 패취가 기존의 durogesic 에 비교해 생물학적적이용성 및 경피흡수를 통한 혈중농도지속성이 유사함을 나타내는 결과라 하겠다.

본 시험은 임상시험에 앞서 소수예의 동물을 이용한 전임상 동태시험으로서 생체이용성을 비교해 동등성 패취제제로서 가능성을 검토하고자 수행된 바, 보다 정확한 생물학적동등성평가는 사람을 이용한 임상시험에서 통계적 신뢰성 있는 해석이 요구되고 있다. 따라서 본 연구를 통해 SYC-fentanyl 패취제의 생물학적동등성의 임상시험에 필요한 생체미량시료 분석법 그리고 동태론적 자료 등 중요정보를 제공할 수 있게 되었다.

결 론

새로운 fentanyl 패취에 대한 경피흡수 생체이용성을 검토하고자 토끼를 이용해 시판제제인 durogesic (Janssen)을 이용하여 혈중동태를 비교하였다. 미량이지만 두 제제 모두 체내 흡수가 인정되었으며 제형간의 유의적 혈중농도 차이는 관찰되지 않았다. 모델비의존성 모멘트해석 결과 AUC^{0-72hrs} 및 AUMC^{0-72hrs} 값에서도 두 제형간에 큰 차이가 없음을 보여 주었다. 이는 비록 전임상단계의 성적이지만 새로운 SYC fentanyl 패취가 기존의 durogesic 에 비교해 생물학

적이용성 및 경피흡수를 통한 혈중농도지속성이 유사함을 보여 생물학적 동등성제제로서의 개발 가능성이 검토되었다.

문 헌

- 1) Polishuk P. V. and Nipper H. C. : *The Neurobiology of Fentanyl and its Derivatives; Drugs of Abuse and Neurobiology*, CRC Press, p. 69 (1992).
- 2) Janssen, Gardocki, U. S. Patent 3.141.823 (1964).
- 3) Guy R. H. : Current status and future prospects of transdermal drug delivery. *Pharm. Res.* **13**, 1765 (1996).
- 4) Vanbever R., Langers G., Montmayeur S. and Preat V.: Transdermal delivery of fentanyl: rapid onset of analgesia using skin electroporation. *J. Control. Release* **50**, 225 (1998).
- 5) 식품의약품안전청 : 의약품등의 독성시험기준. 식품의약품안전청고시 제 1998-116호 (1998).
- 6) Watts V. and Caplan Y. : Determination of fentanyl in whole blood at subnanogram concentrations by dual capillary column gas chromatography with nitrogen sensitive detectors and gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **12**, 246(1998).
- 7) Gibaldi M. : *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics* 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, p. 5 (1991).
- 8) Takada K. : *Basic and Clinical Pharmacokinetics*, Yakugyo Press, Tokyo, p. 77 (1990).
- 9) 식품의약품안전청 : 생물학적동등성시험기준. 식품의약품안전청고시 제 1998-86호 (1998).