

체내동태 연구를 위한 혈청 중 펜톡시필린의 HPLC 정량법 개발 및 검증

조혜영 · 강현아 · 류희두 · 이화정* · 문재동** · 이용복†

전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소, 전남대학교 병원 임상시험센터

*이화여자대학교 약학대학, **전남대학교 의과대학

(2006년 2월 28일 접수 · 2006년 3월 19일 승인)

Development and Validation of an HPLC Method for the Pharmacokinetic Study of Pentoxifylline in Human Serum

Hea-Young Cho, Hyun-Ah Kang, Hee-Doo Yoo, Hwa Jeong Lee*, Jai-Dong Moon** and Yong-Bok Lee†

Institute of Bioequivalence and Bridging Study, College of Pharmacy, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

Clinical Trial Center, Chonnam National University Hospital, Gwangju 501-757, Korea

*College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

**Medical School, Chonnam National University, Gwangju 501-757, Korea

(Received February 28, 2006 · Accepted March 19, 2006)

ABSTRACT – A selective and sensitive reversed-phase HPLC method for the determination of pentoxifylline in human serum was developed, validated, and applied to the pharmacokinetic study of pentoxifylline. Pentoxifylline and internal standard, chloramphenicol, were extracted from the serum by liquid-liquid extraction with dichloromethane and analyzed on a Luna C18(2) column with the mobile phase of acetonitrile-0.034 M phosphoric acid (25:75, v/v, adjusted to pH 4.0 with 10 M NaOH). Detection wavelength of 273 nm and flow rate of 0.8 mL/min were used. This method showed linear response over the concentration range of 10-500 ng/mL with correlation coefficients greater than 0.999. The lower limit of quantification using 0.5 mL of the serum was 10 ng/mL, which was sensitive enough for pharmacokinetic studies of pentoxifylline. The overall accuracy of the quality control samples ranged from 89.3 to 92.7% for pentoxifylline with overall precision (% C.V.) being 4.1-9.2%. The relative mean recovery of pentoxifylline for human serum was 105.8%. Stability (stock solution, short and long-term) studies showed that pentoxifylline was not stable during storage. But three freeze-thaw cycles and extracted serum samples were stable. This method showed good ruggedness (within 15% C.V.) and was successfully applied for the analysis of pentoxifylline in human serum samples for the pharmacokinetic studies of orally administered Trental® tablet (400 mg pentoxifylline), demonstrating the suitability of the method.

Key words – Pentoxifylline, Human serum, Validation, Pharmacokinetics, HPLC

펜톡시필린(pentoxifylline, 1-(5-oxohexyl)-3,7-dimethyl-xanthine)은 손상된 적혈구의 변형능을 개선시키고 혈소판 응집을 억제하며 혈액의 점도를 저하시켜 혈액의 유동성을 개선시킴으로써 혈류가 손상된 부위의 혈액순환을 개선시키는 경구용 약제이다.¹⁾ 펜톡시필린은 경구투여 후 위장관에서 잘 흡수되어 2-4시간 내에 최고혈중농도에 도달하고 최종상 반감기($t_{1/2}$)는 약 3.4시간이나 간초회통과효과로 인하여 90% 이상이 대사체 형태로 노 중으로 배설된다.^{2,3)} 또한, 펜톡시필린과 환원대사체인 M1(1-(5-hydroxyhexyl)-3,7-dimethyl-xanthine)과 산화대사체인 M5(1-(3-carboxy propyl)-3,7-dimethyl-xanthine)는 동일한 약리효과를 갖고 있음이 알려져

있다.^{1,3)}

국내 펜톡시필린 서방성 제제로는 주식회사 한독약품/아벤티스 파마의 “트렌탈 정”을 비롯하여 다수 회사의 제제가 사용되고 있는데 식품의약품안전청에서는 생물학적동등성시험을 통하여 유사 대체제제의 품질을 평가, 공인함으로써 유효하고 안전한 유사 대체제제를 공급하기 위하여 노력하고 있다. 이러한 유사 대체제제의 공급은 의료비 절감과 독과점체제의 폐해를 방지한다는 점에서도 권장되어야 할 사항이다. 이를 위하여 식품의약품안전청에서는 수차례에 걸친 생물학적동등성시험 시행 고시의 개정 및 품목별 생물학적동등성시험 표준지침서 작성 등을 통하여 생물학적동등성시험의 선진화를 도모하고 약효동등성시험 관리의 효율성을 제고하고자 노력하고 있다. 그런데, 펜톡시필린 제제의 생물학적동등성시험을 시행하기 위해 필요한 한국인을 대상으로 한

†본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel : 062)530-2931, E-mail : leeyb@chonnam.ac.kr

펜톡시필린 제제의 약물동태학적 특성치들에 대한 보고가 아직까지 없을 뿐만 아니라, 생체시료를 이용한 펜톡시필린 분석법의 견고성(robustness)이나 확신성(ruggedness)에 대한 검증 실례가 보고된 바가 없는 실정이다.

본 연구에서는 혈청 중 펜톡시필린의 분석법을 개발하여 그 견고성을 검증하고, 개발한 분석법의 확신성 확보를 위하여 별도의 다른 두 기관에서 이를 순차적으로 확인·검증하여 최종 분석법을 확립하고자 하였다. 아울러 이렇게 검증된 분석법을 이용하여 서로 다른 세 기관에서 각각 8명씩 총 24명의 건강한 성인을 대상으로 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁴⁾에 따라 펜톡시필린 서방성 제제의 기존 시판 대조제제인 “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정을 1회 경구 투여한 후 생체이용률시험을 순차적으로 수행하여 한국인에서의 약물동태학적 특성을 연구하고자 하였다. 본 시험은 각 시험기관 별로 별도의 기관별 임상시험 심사위원회(Institutional Review Board, IRB)를 거쳐 시험계획서의 승인을 받은 후 시험계획서에 따라 수행되었으며 모든 피험자의 동의를 받아서 이루어졌다.

실험 방법

시약 및 기기

생체이용률시험에 사용된 대조제제는 식품의약품안전청으로부터 허가를 받아 주식회사 한독약품/아벤티스 파마(충북 음성)에서 시판하고 있는 “트렌탈 정”(제조번호: L001B, 사용기한: 2008. 2. 4)으로 펜톡시필린을 400 mg 함유하는 서방성 정제이었다.

펜톡시필린 표준품 및 내부표준물질로 사용한 클로람페니콜(이상 Sigma Chemical Co., St Louis, MO, 미국; Figure 1), HPLC용 아세트니트릴(Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국), 인산(Yakuri Pure Chemicals Co., Osaka, 일본), 생리식염수 및 헤파린(중의제약, 서울, 한국), 디클로로메탄(Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd, 시흥, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M Ω -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 수산화나트륨 및 기타 시약들은 모두 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

분석기기로는 HPLC용 펌프(LC 10ADvp, Shimadzu, Kyoto, 일본), Luna C18(2)(입자경 5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm, Waters Co., Milford, MA, 미국), UV 검출기(SPD 10Ayp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 주입기(Model 9725i, Rheodyne, Cotati, CA, 미국), 적분계(SCL-10Ayp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co.,

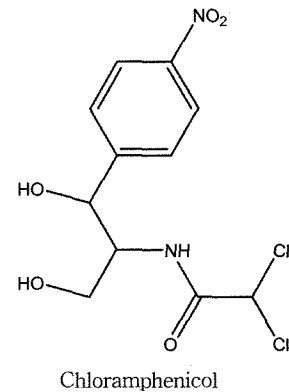
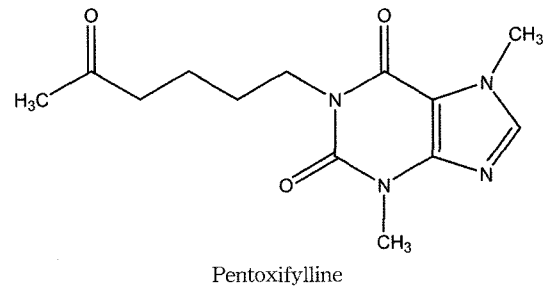


Figure 1—Chemical structures of pentoxifylline and internal standard (IS, chloramphenicol).

인천, 한국), 원심분리형 농축기(CVE200D, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 냉각회수기(UT-80, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), pH 측정기(Model 7, Corning Ltd., Halstead Essex England, 영국) 및 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국)를 사용하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁴⁾ 제 10조(피험자의 선정) 및 제 11조(피험자의 제외기준)에 따라 서로 다른 세 기관에서 지원자 모집공고를 통하여 19~55세의 건강한 성인 지원자를 각각 모집하였다. 각 기관별로 전문의사의 건강진단을 실시하여 선정기준에 모두 합당하고 제외기준에 해당되지 않은 자로서 생체이용률시험에 적합한 건강인으로 판정된 자 각 8명씩 총 24명을 피험자로 선정하였다. 이 시험의 피험자로 선정된 사람들의 평균 체중은 66.3 \pm 9.4 kg, 평균 나이는 만 23.1 \pm 2.1세 이었다. 본 시험에 참여하는 지원자를 대상으로 각 시험기관에서는 생체이용률시험 설명회를 실시하여 이 시험의 목적, 방법, 이상약물반응 발생 가능성 및 이에 대한 대책 등에 대하여 설명한 후 이들로부터 자유의사에 의한 시험참가동의서를 받은 후 생체이용률시험을 실시하였다.

모든 피험자는 정해진 투약일 일주일 전부터 항생제 및

진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지하였을 뿐 아니라 흡연, 크산틴계 음료 및 음주 등을 제한 관리하였고, 시험 전날 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰다. 또한 시험 기간 중에는 각 기관 연구자의 지시에 따라 모두 같은 식단의 식사 및 경미한 활동을 하게 하였다.

약물 투약 및 혈액 채취

생체이용률시험을 위하여 각 기관에서는 8명의 피험자에 대하여 난수발생법에 따라 무작위 배열한 다음, “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg)을 동일 투약일에 투여하고, 투약량은 “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정을 1회 경구 투여하였다. 피험자들 모두에게 heparin-locked(150 unit/mL) Angiocatheter(JELCO™, 22G, Johnson & Johnson Medical, Pomezia, Italia)를 팔 또는 손등 정맥부위에 설치하고 240 mL의 물과 함께 복용시켰다. 피험자 간 복약 시간의 차이는 채혈시간을 고려하여 약 2분 간격으로 하였다.

채혈은 펜톡시필린 투약 시 반감기가 3.4시간,³⁾ 최고 혈중 농도에 도달하는 시간은 2-4시간임을²⁾ 토대로 반감기의 3배 이상인 12시간까지, 제 2 및 3기관에서는 제 1시험기관의 결과를 토대로 24시간 동안 실시하였고, 채혈 시간은 약물 투약 직전과 투약 후 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 8, 12(제1기관) 및 24시간(제2 및 3기관)에 총 12(제1기관) 및 13(제2 및 3기관)회 채혈하였다. 채혈 방법은 I.V. catheter 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 2 mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 5 mL의 혈액을 채취하여 피험자 관리번호와 채혈시간이 기재되어 있는 vacutainer에 넣었다. 채혈 후마다 I.V. catheter 안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수를 주입하였다. 채혈된 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 즉시 혈청분리관을 사용하여 혈청을 채취하고 분석시까지 영하 80°C에서 보관하였다.

혈청 중 펜톡시필린의 정량

혈청 중 펜톡시필린 정량은 이미 보고된 펜톡시필린 HPLC분석법⁵⁻⁸⁾을 참고하고, 일부 수정하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 0.034 M 인산:아세트니트릴(75:25, v/v)을 10 M 수산화나트륨용액으로 pH를 4.0으로 조정 한 혼합용액을 사용하였으며 유속 0.8 mL/min, 주입량 50 µL 및 UV 검출기(273 nm)를 이용하여 정량하였다. 분석법의 확실성 확보를 위하여 제 1기관에서 분석법을 확립한 후 동일 검량선용 표준혈청과 QC시료를 이용하여 순차적으로 제2 및 3기관에서 이를 확인하였으며 다음과 같이 최종 분석법을 확립하고 검량선을 작성하였다.

펜톡시필린 표준품을 물에 녹여 농도를 1000 µg/mL로 만든 후 4°C에서 냉장 보관시키고, 이 용액을 검량선용 표준혈청으로 희석하여 혈청 중 약물농도가 각각 10, 20, 50, 100, 200 및 500 ng/mL씩 되도록 검량선용 표준혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청 0.5 mL에 내부표준물질로 클로람페니콜 메탄올 용액(3 µg/mL) 50 µL와 디클로로메탄 4 mL를 가한 후 1분동안 진탕하여 추출한 다음 3500 rpm에서 15분간 원심 분리하였다. 여기에서 유기층을 깨끗한 시험관에 옮긴 후 40°C 질소기류하에서 증발·건조시킨 후 잔사에 이동상 120 µL를 넣어 진탕 혼합하였다. 이 용액 중 50 µL를 취해 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 펜톡시필린의 피크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였을 뿐만 아니라 10, 20, 100 및 200 ng/mL 농도에서 각각 5회 측정하여 정확성을 평가하였고 상기 농도에서 물에 대한 평균 상대추출률을 구하였다. 또한, 동결해동 안정성(-70°C 24시간 동결/상온 해동), 단기 실온 안정성(24시간 상온 보관) 및 장기 안정성(-70°C 4주 보관) 시험은 QL(50 ng/mL) 및 QH(200 ng/mL) 농도 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 펜톡시필린의 면적으로부터 안정성을 평가하였고 조제 후 안정성 및 표준원액 안정성 시험은 펜톡시필린(200 ng/mL) 및 내부표준물질(1000 ng/mL) 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 안정성을 평가하였다.

아울러, 분석법의 견고성을 확보하기 위해 혈청 중 펜톡시필린 농도분석 시 가장 영향을 크게 미칠 가능성이 있는 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변동에 의한 영향을 일정농도의 펜톡시필린 혈청 시료(200 ng/mL)를 이용하여 나타난 피크 면적과 출현시간을 기준값으로 하여 그 변동 영향을 평가하였다(Table I). 이때, 각 변동요인이 결합되어 나타나는 효과를 분석하기 위하여 상호작용효과를 고려한 아래와 같은 모형을 가정하여 얻은 상기 기준값에 대하여 SPSS 프로그램을 이용하여 일반선형모형에 의한 ANOVA 분석을 실시하였다.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + \epsilon_{ijk}$$

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 0.5 mL를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로 클로람페니콜 메탄올 용액(3 µg/mL) 50 µL를 가한 후 상기 검량선 작성을 위한 추출법에 따라 추출하여 얻어진 크로마토그램으로부터

Table I—Factorial Design for 3-Level-3-Factor Investigated in the Robustness Test

Factors	Units	Levels		
		Low (-1)	Medium (0)	High (1)
A. Flow rate of the mobile phase	mL/min	0.7	0.8	0.9
B. pH of the mobile phase	-	3.8	4.0	4.2
C. Organic solvent content (%) in the mobile phase	%	20	25	30

내부표준물질의 피크 면적에 대한 펜톡시필린의 피크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 펜톡시필린의 농도를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 산출 및 생체이용률 평가

“트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정을 각 기관별로 8명의 피험자에게 경구 투여하여 얻은 각 피험자의 약물속도론적 파라미터인 최고혈청중농도(C_{max}), 최고혈청중농도 도달 시간(T_{max}), 채혈시간 t 의 혈청중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC) 및 소실반감기($t_{1/2}$) 등을 WinNonlin 프로그램⁹⁾을 이용하여 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

혈청 중 펜톡시필린 정량 및 검증

건강 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 클로람페니콜과 펜톡시필린을 함께 가한 것 및 펜톡시필린 정제 투여 후 3시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분

석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 펜톡시필린 및 내부표준물질 피크의 출현시간은 세 기관에서 약 7-8분 및 12-20분이었으며 각 물질의 분리상태는 양호하였다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 5 이상으로 하고 일내 및 일간 변동계수의 크기를 20% 미만으로 하였을 때의 최저정량한계(LLOQ, lower limit of quantitation)는 10 ng/mL이었으며, 수용액 중 약물을 추출한 것의 평균 피크 면적에 대한 추출 시료 중 약물의 피크 면적비로부터 구한 추출회수율(%)은 83.6-125.8이었다. 혈청 시료로부터 구한 펜톡시필린의 검량선은 피크 면적비(y)=0.0061 \times 펜톡시필린 농도 (ng/mL, x)+0.0015($r=0.9999$, $p<0.01$; 제1기관), $y=0.0058x - 0.0087$ ($r=0.9999$, $p<0.01$; 제2기관) 및 $y=0.0064x - 0.0039$ ($r=0.9999$, $p<0.01$; 제3기관)으로 10-500 ng/mL 범위에서 모두 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도 범위에 있어서 펜톡시필린의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 세 기관 모두 15% 이하로 나타났고, 10, 20, 100 및 200 ng/mL의 농도에서 5회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 세 기관 모두 $\pm 15\%$ (최저정량한계 농도에서는 $\pm 20\%$) 이내로 나타나 확산성을 확보할 수 있었다(Table

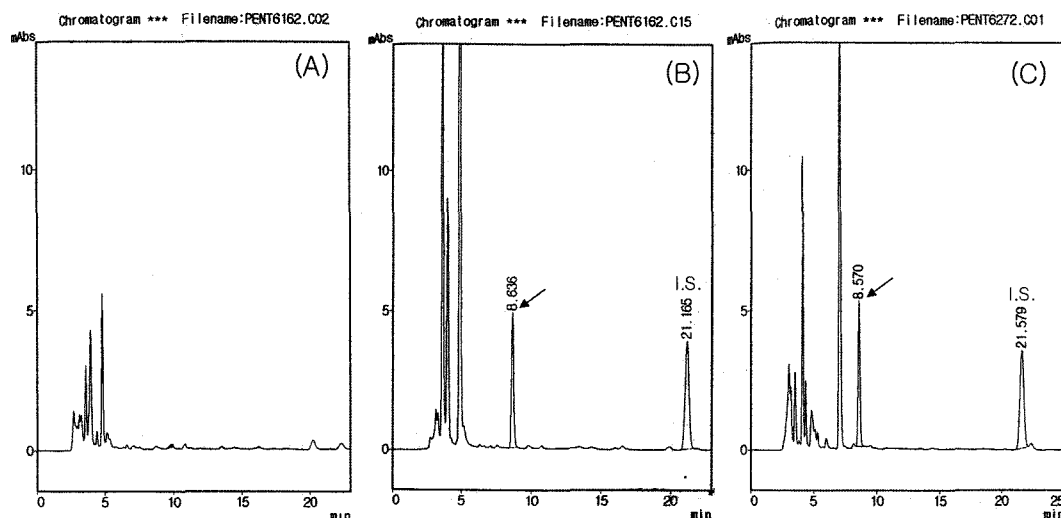


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with pentoxifylline (100 ng/mL) and internal standard (IS, chloramphenicol 300 ng/mL) and (C) serum sample at 3 hr after oral administration of 400 mg pentoxifylline tablet (The serum concentration of pentoxifylline corresponds to 115.16 ng/mL). \surd =pentoxifylline peak.

Table II—Precision and Accuracy for the Determination of Pentoxifylline in Human Serum at Each Institute

Concentrations (ng/mL)	Precision CV(%) ^a						Accuracy (%)		
	Intra-day (n=5)			Inter-day (n=5)			1st	2nd	3rd
	Institutes								
	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd			
10 (LLOQ) ^b	4.78	14.78	5.18	10.80	13.48	1.35	89.30	101.00	105.66
20 (Low)	9.22	12.55	5.58	6.14	10.64	3.66	90.55	104.70	107.22
100 (Medium)	5.53	7.02	1.93	6.74	8.71	2.87	90.90	102.90	98.99
200 (High)	4.07	7.39	3.11	5.67	7.09	2.59	92.67	108.80	100.47

^aCoefficient of Variation=100×S.D./mean.

^bLower Limit of Quantitation

Table III—Analysis of Variance for the Factorial Design of Robustness Test on the Basis of Pentoxifylline Peak Area Obtained

Factors	Mean square (×10 ⁴)	F*	P
Flow rate	38.4	1.057	0.392
pH	87.1	2.397	0.153
Content of organic solvent	79.6	0.219	0.808
Flow rate × pH	62.6	0.172	0.946
Flow rate × Content of organic solvent	64.9	1.786	0.225
Content of organic solvent × pH	40.4	1.111	0.415
Flow rate × pH × Content of organic solvent	36.3	-	-

*Error mean square based on the flow rate, pH and content of organic solvent interactions (Degree of freedom=8).

II). 또한, Table III에는 피크 면적을 기준으로 분산분석한 결과를 나타내었으며 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변화에 따른 약물 피크 면적이나 출현시간에 미치는 영향을 측정하여 요인분석을 실시한 결과 각 변동요인에 대한 각 수준에서는 유의한 차이(p<0.05)가 나타나지 않아 이 분석법에 대한 견고성을 확보할 수 있었다. 피크 출현시간을 기준으로 하였을 때에도 마찬가지로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다. 아울러 동결해동 및 조제후 안정성 시험 결과, 각 QC 시료에 대해 각각 3회 반복 측정하여 얻은 측정 초기치에 대한 변동계수가 10% 이내로 안정함을 나타내었으나 단기 실온 안정성과 장기 안정성 및 표준원액 안정성이 확보되지 않은 결과를 나타내어 가능한 한 분석을 시료 채취 후 4주 이내에 행하고 추출 후에는 24시간 이내에 분석하는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

이로부터 혈청 중 펜톡시필린에 대한 상기 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 감도와 정밀성, 정확성, 견고성 및 확실성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

혈청 중 펜톡시필린 농도 추이

“트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정씩 세 기관에서 피험자 8명에게 각각 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여

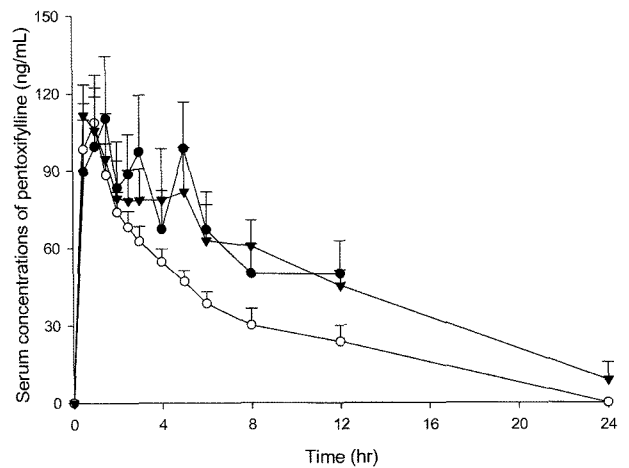


Figure 3—Mean (±S.E.) serum concentration-time curves of pentoxifylline for each institute following oral administration of Trental® tablet (pentoxifylline 400 mg).

Key: ●; 1st Institute (n=8), ▼; 2nd Institute (n=8), ○; 3rd Institute (n=8).

얻은 각 기관 별 피험자에 대한 혈청 중 펜톡시필린 평균 농도를 Figure 3에 나타내었다. 또한, 각 피험자의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 구한 약물속도론적 파라미터를 Table IV에 나타내었다. “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정을 경구투여하였을 때 얻은 평균 AUC_t(ng·hr/mL) 830.22

Table IV--Pharmacokinetic Parameter Values of Each Institute Obtained after Oral Administration of Trental® Tablet at the Dose of 400 mg Pentoxifylline*

Parameters	1st Institute (n=8)	2nd Institute (n=8)	3rd Institute (n=8)	Total (n=24)
AUC _t (ng · hr/mL)	823.1 ± 430.4	962.3 ± 645.7	705.3 ± 290.0	830.2 ± 469.4
C _{max} (ng/mL)	143.1 ± 62.4	132.8 ± 42.1	118.0 ± 53.8	131.3 ± 52.1
T _{max} (hr)	1.9 ± 1.5	2.1 ± 2.7	0.8 ± 0.3	1.6 ± 1.8
t _{1/2} (hr)	8.7 ± 4.4	8.7 ± 4.4	5.7 ± 2.3	7.7 ± 3.9

*Mean±S.D.

± 469.43, C_{max}(ng/mL)는 131.28 ± 52.13, T_{max}(hr)는 1.56 ± 1.79, t_{1/2}(hr)는 7.71 ± 3.94이었다. 이는 문헌^{2,3)}에 보고된 펜톡시필린 400 mg을 건강한 성인 지원자에게 경구 투여하였을 때의 파라미터(C_{max}: 123 ± 33 ng/mL, T_{max}: 2-4 hr, t_{1/2}: 3.4 hr)와 C_{max}와 T_{max}는 거의 일치하고 있으나 t_{1/2}은 차이가 있었다. 이는 이 제제가 서방형으로서 한국인에 있어서의 흡수양상과 개체간의 편차가 심하게 나타났기 때문으로 사료되었다.

결 론

사람 혈청 중 펜톡시필린의 HPLC 분석법을 확립 · 검증하여 생물학적동등성 시험을 위한 표준지침을 마련하고자 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁴⁾에 따라 서로 다른 세 기관에서 각 8명의 건강한 한국인 성인 남성 총 24명을 대상으로 “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정씩을 경구 투여하여 생체이용률시험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 내부표준물질을 클로람페니콜로 하여 HPLC 크로마토그램을 분석한 결과 혈청 성분 등 내인성 물질의 간섭 없이 펜톡시필린 및 내부표준물질이 양호하게 분리되었다.

2. 혈청시료로부터 구한 펜톡시필린 검량선의 r = 0.9999로 10~500 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었고 최저정량한계는 10 ng/mL이었다. 확립한 분석법을 검증한 결과 일내 및 일간 정확성 및 정밀성이 모두 15% 이내로 나타나 이 분석법은 충분한 감도, 정확성, 정밀성 및 안정성이 있음을 확인할 수 있었다. 아울러 동결해동 및 조제후 안정성 시험 결과, 각 QC 시료에 대해 각각 3회 반복 측정하여 얻은 측정 초기치에 대한 변동계수가 10% 이내로 안정함을 나타내었으나 단기 실은 안정성과 장기 안정성 및 표준원액 안정성이 확보되지 않은 결과를 나타내어 가능한 한 분석을 시료 채취 즉시 행하고 단기간에 끝내는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

3. 펜톡시필린에 대해 확립한 HPLC 분석조건에서의 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변화에 따른 약물 피크 면적이나 출현시간에 미치는 영향을 측정하여 요인분석

을 실시한 결과 각 변동요인에 대한 수준에서는 유의한 차이가 나타나지 않아 이 분석법에 대한 견고성을 확보할 수 있었을 뿐 아니라 서로 다른 세 기관에서 QC 시료를 사용하여 각각 검증한 결과 정확성과 정밀성의 상대표준편차가 모두 15% 이내로 나타나 이 분석법은 확실성이 있음을 알 수 있었다.

4. 총 24명의 건강한 성인 지원자를 대상으로 “트렌탈 정”(펜톡시필린 400 mg) 1정을 경구 투여한 결과 AUC_t(ng · hr/mL)는 830.2 ± 469.4, C_{max}(ng/mL)는 131.2 ± 52.1, T_{max}(hr)는 1.6 ± 1.8 및 t_{1/2}(hr)는 7.7 ± 3.9이었다.

감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청 국립독성연구원의 지원(KFDA-03142-약동성-535)을 받아 전남대학교 약학대학에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) D.M. Aviado and H.R. Dettelbach, Pharmacology of pentoxifylline, a hemorheologic agent for the treatment of intermittent claudication. *Angiology*, **35**(7), 407-417 (1984).
- 2) I. Raz, Z. Hussein, E. Samara and J. Ben-David, Comparative pharmacokinetic analysis of novel sustained-release dosage forms of pentoxifylline in healthy subjects, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **26**(5), 246-248 (1988).
- 3) USP 26/NF 21, The Official Compendia of Standards Volume, p. 2371 (2003).
- 4) 식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 생물학적동등성시험 기준 (2002. 11. 22).
- 5) J.W. Wong, K.H. Yuen and K.K. Peh, Simple high-performance liquid chromatographic method for determination of pentoxifylline in human plasma, *J. Chromatogr. B*, **716**, 387-391 (1998).
- 6) G. Musch, T. Hamoir and D.L. Massart, Determination of pentoxifylline and its 5-hydroxy metabolite in human plasma by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *J. Chromatogr.*, **495**, 215-226 (1989).

- 7) A. Mancinelli, S. Pace, A. Marzo and E. A. Martelli, Determination of pentoxifylline and its metabolites in human plasma by high performance liquid chromatography with solid-phase extraction, *J. Chromatogr.*, **575**, 101-107 (1992).
- 8) R.V. Smith, S.K. Yang, P.J. Davis and M.T. Bauza, Determination of pentoxifylline and its major metabolites in microbial extracts by thin-layer and high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **23**, 281-287 (1983).
- 9) WinNonlin™ Users Guide, Ver. 3.0, Pharsight Corp., Mountain View, CA, USA (1998-1999).