

염산프로메타진 체내동태 연구를 위한 혈청 중 프로메타진의 HPLC 정량법 개발 및 검증

조혜영 · 강현아 · 이화정* · 최후균** · 이용복†

전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소, 전남대학교 병원 임상시험센터,
*이화여자대학교 약학대학, **조선대학교 약학대학
(2006년 1월 6일 접수 · 2006년 1월 27일 승인)

Development and Validation of HPLC Method for Pharmacokinetic Study of Promethazine in Human

Hea-Young Cho, Hyun-Ah Kang, Hwa-Jeong Lee*, Hoo-Kyun Choi** 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
**College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea
(Received January 6, 2006 · Accepted January 27, 2006)

ABSTRACT – A rapid, selective and sensitive reversed-phase HPLC method for the determination of promethazine in human serum was developed, validated, and applied to the pharmacokinetic study of promethazine. Promethazine and internal standard, chlorpromazine, were extracted from human serum by liquid-liquid extraction with n-hexane containing 0.8% isopropanol and analyzed on a Capcell Pak CN column with the mobile phase of acetonitrile-0.2 M potassium dihydrogen phosphate (42:58, v/v, adjusted to pH 6.0 with 1 M NaOH). Detection wavelength of 251 nm and flow rate of 0.9 mL/min were fixed for the study. The assay robustness for the changes of mobile phase pH, organic solvent content, and flow rate was confirmed by 3³ factorial design using a fixed promethazine concentration (10 ng/mL) with respect to its peak area and retention time. In addition, the ruggedness of this method was investigated at three different laboratories using same quality control (QC) samples. This method showed linear response over the concentration range of 1-40 ng/mL with correlation coefficients greater than 0.999. The lower limit of quantification using 1 mL of serum was 1 ng/mL, which was sensitive enough for pharmacokinetic studies. The overall accuracy of the quality control samples ranged from 96.15 to 105.40% for promethazine with overall precision (% C.V.) being 6.70-11.22%. The relative mean recovery of promethazine for human serum was 63.54%. Stability (freeze-thaw and short-term) studies showed that promethazine was stable during storage, or during the assay procedure in human serum. However, the storage at -80°C for 4 weeks showed that promethazine was not stable. Extracted serum sample and stock solution were not allowed to stand at ambient temperature for 12 hr prior to injection. The peak area and retention time of promethazine were not significantly affected by the changes of mobile phase pH, organic solvent content, and flow rate under the conditions studied. This method showed good ruggedness (within 15% C.V.) and was successfully used for the analysis of promethazine in human serum samples for the pharmacokinetic studies of orally administered Himazin tablet (25 mg as promethazine hydrochloride) at three different laboratories, demonstrating the suitability of the method.

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

염산프로메타진(promethazine HCl, N,N,α-trimethyl-10H-phenothiazine-10-ethanamine hydrochloride)은 페노치아진 유도체로써 H₁ receptor를 차단하여 항히스타민 작용을 나타내고 또한 진정작용 및 진토작용이 우수한 항알리지제로서 경구투여 시 위장관에서 매우 잘 흡수되어 최고혈중농도는

경구투여 후 2-3시간 내에 나타나고 배설반감기는 5-14시간이나 간초회통과효과로 인하여 대부분이 프로메타진 설포시드와 N-테스메칠프로메타진으로 주로 대사 받아 그 생체이용률은 12-40%이며, 76-93%가 혈장단백과 결합한다.¹⁻⁴⁾

국내의 염산프로메타진 제제는 참제약 주식회사의 “히마진 정 25 mg”을 비롯하여 다수 회사의 제제가 사용되고 있는데 대한민국 식품의약품안전청에서는 생물학적동등성시험을 통하여 유사 대체제제의 품질을 평가, 공인함으로써 유효

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

하고 안전한 유사 대체제제를 공급하기 위하여 노력하고 있다. 이러한 유사 대체제제의 공급은 의료비 절감과 독과점 체계의 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, 염산프로메타진 제제의 생물학적동등성시험을 시행하기 위해 필요한 한국인을 대상으로 한 염산프로메타진 제제의 약물동태학적 특성치들에 대한 보고가 아직까지 없을 뿐만 아니라, 생체시료를 이용한 프로메타진 분석법의 견고성(robustness)이나 확신성(ruggedness)에 대한 검증 실례가 보고된 바가 없는 실정이다.

본 연구에서는 혈청 중 프로메타진의 분석법을 개발하여 그 견고성을 검증하고, 개발한 분석법의 확신성 확보를 위하여 별도의 다른 두 기관에서 이를 순차적으로 확인·검증하여 분석의 견고성과 확신성이 확립된 혈청 중 프로메타진의 최종 분석법을 확립하고자 하였다. 아울러 이렇게 검증된 분석법을 이용하여 서로 다른 세 기관에서 각각 8명씩 총 24명의 건강한 성인을 대상으로 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾(식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 2002. 11. 22.)에 따라 염산프로메타진 제제인 히마진 정 25 mg(염산프로메타진) 1내지 2정을 1회 경구 투여한 생체이용률시험을 순차적으로 수행하여 한국인에서의 약물동태학적 특성을 파악하고자 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 참제약 주식회사에서 시판하고 있는 “히마진 정 25 mg”(제조번호: 0201, 사용기한: 2005. 2. 25)으로 염산프로메타진을 25 mg 함유하는 정제이었다.

염산프로메타진 표준품 및 내부표준물질로 사용한 클로르프로마진(이상 Sigma Chemical Co., St Louis, MO, 미국, Figure 1), HPLC용 아세토니트릴(Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, 미국), 인산이수소칼륨(Yakri Pure Chemicals Co., Kyoto, 일본), 생리식염수 및 헤파린(이상 중외제약, 서울, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford,

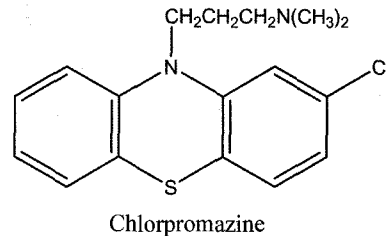
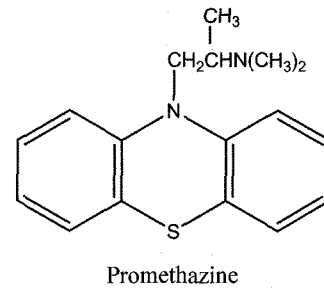


Figure 1—Chemical structures of promethazine and internal standard (IS, chlorpromazine).

MA, 미국)에서 18 MΩ-cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 그대로 사용하였다.

약물분석 기기로는 HPLC용 펌프(LC 10ADvp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 컬럼은 Capcell Pak CN(입자경 5 μm, 4.6 mm×250 mm, Shiseido Co., Tokyo, 일본), 적분계(Model Class LC-10, Shimadzu, Kyoto, 일본), 원심분리기(URION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 한국), 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국), PH측정기(Model 7, Corning Ltd., Halstead Essex England, 영국)를 사용하였다.

피험자 선정

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾ 제10조(피험자의 선정) 및 제11조(피험자의 제외기준)에 따라 서로 다른 세 기관에서 지원자 모집공고를 통하여 19~55세의 건강한 성인 지원자를 각각 모집하였다. 각 기관 별로 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 70.86±9.77 kg, 평균 나이는 만 24.08±2.32세 이었다. 본 시험에 참여하는 지원자를 대상으로 각 시험기관에서는 생체이용률시험 설명회를 실시하여 이 시험의 목적, 방법, 약물유해반응 발생 가능성 및 이에 대한 대책 등에 대하여 설명한 후 이들로부터 자유의사에 의한 시험참가동의서를 받

은 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, “히마진 정 25 mg(염산프로메타진)” 동일 투약일에 투여하고, 투약량은 “히마진 정 25 mg(염산프로메타진)” 1내지 2정을 1회 경구 투여하였다. 피험자들 모두에게 heparin-locked(150 unit/mL) Angiocatheter(JELCO™, 22G, Johnson & Johnson Medical, Pomezia, 이탈리아)를 팔 또는 손등 정맥부위에 설치하고 240 mL의 물과 함께 복용시켰다. 피험자 간 복약 시간의 차이는 채혈시간을 고려하여 약 2분 간격으로 하였다.

채혈은 염산프로메타진 투약 시 최종상 반감기는 5-14시간,⁴⁾ 최고 혈중 농도에 도달하는 시간은 3.07 ± 1.21 시간임을⁶⁾ 토대로 반감기의 3배 이상인 36시간 동안 실시하였고, 채혈 횟수는 약물 투약 직전과 투약 후 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 24 및 36시간에 총 12회 채혈하였다. 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 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 분석 시까지 영하 80에서 보관하였다.

혈청 중 프로메타진의 정량

혈청 중 프로메타진의 정량은 이미 보고된 프로메타진 HPLC 분석법을 참고하고,^{6,7)} 일부 수정하여 상기 기기 조건 하 실온에서 이동상으로는 아세트니트릴 : 0.2 M 인산이수소칼륨액 = 42:58(v/v, 1 M NaOH로 pH를 6.0으로 조정)의 혼합용액을 사용하였으며 유속 0.9 mL/min, 주입량 50 µL 및 UV 검출기(251 nm)를 이용하여 정량하였다. 분석법의 확실성 확보를 위하여 제 1기관에서 분석법을 확립한 후 동일 검량선용 표준혈청과 QC 시료를 이용하여 순차적으로 제 2

및 3기관에서 이를 확인하였으며 다음과 같이 최종 분석법을 확립하고 각각의 검량선을 작성하였다.

염산프로메타진 표준품을 물에 녹여 농도를 프로메타진으로서 1000 µg/mL로 만든 후 4°C에서 냉장 보관시키고, 이 용액을 검량선용 표준혈청으로 희석하여 혈청 중 약물농도가 각각 1, 2, 5, 10, 20 및 40 ng/mL씩 되도록 검량선용 표준혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청 1 mL에 내부표준물질로 클로르프로마진 메탄올 용액(0.5 µg/mL) 100 µL 및 1 M NaOH 수용액 500 µL를 가한 후 3초간 흔들어서 섞었다. 여기에 0.8% 2-propanol을 포함한 n-hexane 4 mL를 가하여 1분 30초 동안 진탕하여 추출한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 여기에서 상층을 취하여 깨끗한 시험관에 옮긴 다음 0.025 M 염산 용액 200 µL를 가하고 1분간 진탕하여 역추출한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상층을 제거한 후 이 용액 50 µL를 취하여 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 프로메타진의 피크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였을 뿐만 아니라 1, 2, 10 및 20 ng/mL 농도에서 각각 5회 측정하여 정확성을 평가하였고 상기 농도에서 물에 대한 평균 상대추출율을 구하였다. 또한, 동결해동 안정성(-80°C 24시간 동결/상온 해동), 단기실온 안정성(24시간 상온 보관) 및 장기 안정성(-80°C 4주 보관) 시험은 QL(2 ng/mL) 및 QH(20 ng/mL) 농도 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 프로메타진 면적으로부터 안정성을 평가하였고 조제 후 안정성(시료 추출 후 6 및 12시간 보관) 시험은 프로메타진(10 ng/mL) 및 내부표준물질(50 ng/mL), 표준원액 안정성(상온 6시간 보관) 시험은 프로메타진(20 ng/mL) 및 내부표준물질(0.2 µg/mL) 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 안정성을 평가하였다.

아울러, 분석법의 견고성을 확보하기 위해 혈청 중 프로메타진 농도분석 시 가장 영향을 크게 미칠 가능성이 있는 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변동에 의한 영향을 일정한 농도의 프로메타진 혈청 시료(10 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.

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

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	0.8	0.9	1.0
B. pH of the mobile phase	-	5.8	6.0	6.2
C. Organic solvent content (%) in the mobile phase	%	40	42	44

한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 80°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 1 mL를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로 클로르프로마진 메탄올 용액(0.5 µg/mL) 100 µL 및 1 M 수산화나트륨액 500 µL를 가한 후 상기 검량선 작성을 위한 추출법에 따라 추출하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피이크 면적에 대한 프로메타진의 피이크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 프로메타진의 농도를 산출하였다.

약물속도론적 파라미터의 산출 및 생체이용률 평가

“히마진 정 25 mg(염산프로메타진)” 1내지 2정을 각 기관별로 8명의 피험자에게 경구 투여하여 얻은 각 피험자의 약물속도론적 파라미터인 최고혈청농도(C_{max}), 최고혈청농도 도달시간(T_{max}), 체혈시간 t 와 무한대까지의 혈청중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC) 및 소실반감기($t_{1/2}$) 등은 WinNonlin 프로그램⁸⁾을 이용하여 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

혈청 중 프로메타진 정량 및 검증

건강 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 클로르프로마진과 프로메타진을 함께 가한 것 및 염산프로메타진 정제 투여 후 1.5시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 세기관의 프로메타진 및 내부표준물질 피이크의 출현 시간은 약 6.0~12.8분 및 7.5~20.3분이었으며 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 1 ng/mL이었으며, 수용액 중 약물을 추출한 것의 평균 피이크 면적에 대한 추출 시료 중 약물의 피이크 면적비로부터 구한 평균 추출회수율(%)은 63.54이었다. 혈청 시료로부터 구한 염산프로메타진의 검량선은 피이크 면적비(y) = $0.0290 \times$ 프로메타진 농도(x) + 0.00377 ($r=0.9999$, $p<0.01$; 제1기관), $y=0.0302x+0.0328$ ($r=0.9999$, $p<0.01$; 제2기관) 및 $y=0.0224x-0.0061$ ($r=0.9999$, $p<0.01$; 제3기

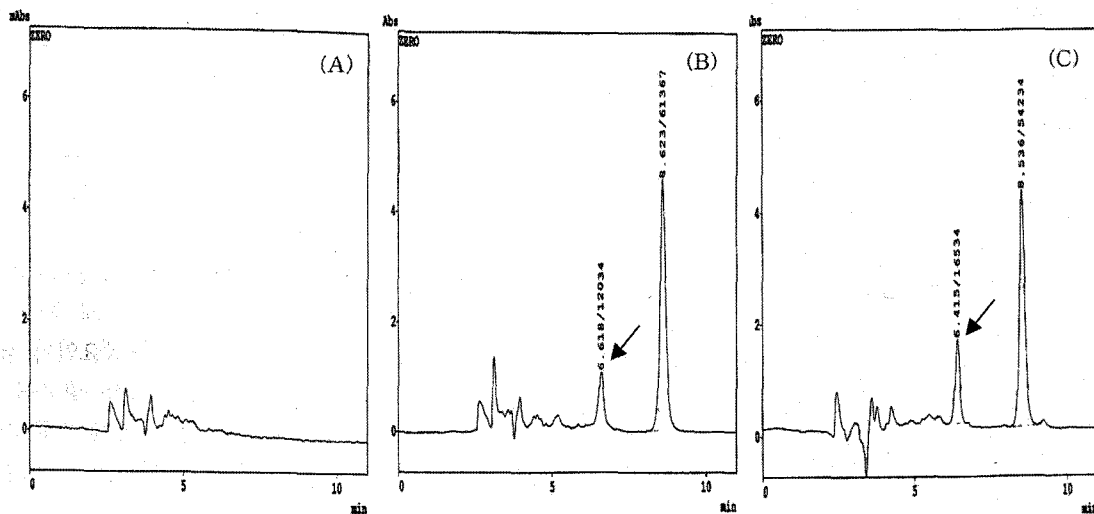


Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with promethazine (10 ng/mL) and internal standard (IS, chlorpromazine 50 ng/mL) and (C) serum sample at 1.5 hr after oral administration of 50 mg promethazine hydrochloride tablet (The serum concentration of promethazine corresponds to 13.91 ng/mL). ✓=promethazine peak.

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

Concentration (ng/mL)	Precision C.V. (%)						Accuracy (%)		
	Intra-day (n=5)			Inter-day (5 days)					
	Institutes								
	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd	1st	2nd	3rd
1 (LLOQ)	13.21	14.54	8.24	14.55	10.18	6.05	103.00	96.68	112.00
2 (low)	11.33	13.04	5.13	5.87	14.59	6.40	98.00	98.00	94.50
10 (medium)	10.76	7.01	3.74	9.99	6.61	7.42	105.40	94.76	90.90
20 (high)	5.53	6.65	1.92	9.81	10.54	3.18	96.15	93.25	98.55

C.V.(Coefficient of Variation)=100×S.D./mean.

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

Factors	Mean square (×10 ⁶)	F*	P
Flow rate	1.1	1.691	0.244
pH	1.1	1.063	0.260
Content of organic solvent	3.28	0.489	0.631
Flow rate × pH	1.1	1.687	0.245
Flow rate × content of organic solvent	6.0	0.892	0.511
Content of organic solvent × pH	4.7	0.705	0.611
Flow rate × pH × content of organic solvent	6.7		

*Error mean square based on flow rate, pH and content of organic solvent interactions, 8 d.f.

관)으로 1~40 ng/mL 범위에서 모두 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 프로메타진의 일내 및 일간 변동계수(C.V.)는 세 기관 모두 15% 이하로 나타났고, 1, 2, 10 및 20 ng/mL의 농도에서 5회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 세 기관 모두 ±15% (최저정량한계 농도에서는 ±20%)이내로 나타나 확실성을 확보할 수 있었다(Table II). 또한, Table III에는 피크 면적을 기준으로 분산분석한 결과를 나타내었으며 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변화에 따른 약물 피크 면적에 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. 그렇지만 피크 출현시간을 기준으로 하였을 때에는 유의성(p<0.05) 있는 차이를 나타내었다. 아울러 동결해동 및 단기실온 안정성 시험 결과, 각 QC 시료에 대해 각각 3회 반복 측정하여 얻은 측정 초기치에 대한 변동계수가 모두 10% 이내로 안정함을 나타내었으나 장기, 조제 후 및 표준원액 안정성이 확보되지 않은 결과를 나타내어 표준 용액은 사용할 때마다 새로이 조제하여 바로 사용할 것이 권장되며 모든 시료의 분석은 채취 즉시 시행하고 최종 추출 시료는 곧바로 분석하는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

이로부터 혈청 중 프로메타진에 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 프로메타진 농도 추이

“히마진 정 25mg(염산프로메타진)”을 제 1기관에서는 1정, 제 2 및 3기관에서는 제 1기관의 시험 결과를 바탕으로

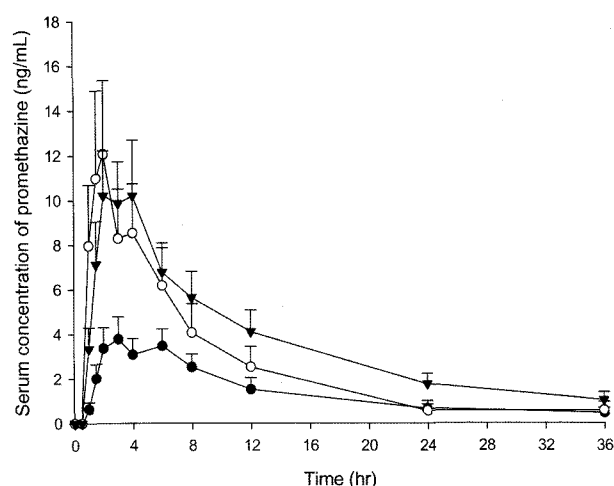


Figure 3—Mean (±S.E.) serum concentration-time curves of promethazine for each institute following oral administration of Himazin tablet (promethazine hydrochloride 25 mg).

Key: ●; 1st institute (n=8, dose=25 mg), ○; 2nd institute (n=8, dose=50 mg), ▼; 3rd institute (n=8, dose=50 mg).

Table IV—Pharmacokinetic Parameter Values for Each Institute Obtained after Oral Administration of Himazin Tablet at the Promethazine Hydrochloride Dose of 25 mg or 50 mg[#]

Parameters	1st Institute (n=8, dose=25 mg)	2nd institute (n=8, dose=50 mg)	3rd Institute (n=8, dose=50 mg)	Total (n=16, dose=50 mg)
AUC _t (ng · hr/mL)	49.53±43.23	94.53±80.82	128.65±81.41	111.59±80.32
AUC _∞ (ng · hr/mL)	57.35±53.85	103.84±84.30	140.21±97.61	122.03±90.09
C _{max} (ng/mL)	4.48±2.70	13.43±10.92	11.71±6.65	12.57±8.78
T _{max} (hr)	3.81±1.89	2.00±1.16	2.69±0.96	2.34±1.09
t _{1/2} (hr)	8.58±4.89	5.88±3.47	9.90±1.81	7.89±3.38

[#]Mean±S.D..

좀 더 안정적인 약물속도론적 파라미터를 구하기 위하여 투여량을 증량하여 2정씩 피험자 8명에게 각각 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 기관 별 피험자에 대한 혈청 중 프로메타진 평균 농도를 Figure 3에 나타내었다. 또한, 각 피험자의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 구한 약물속도론적 파라미터를 Table IV에 나타내었다. 투여용량이 다른 1기관 결과를 제외하고 “히마진 정 25 mg(염산프로메타진)” 2정을 경구 투여하여 얻은 평균 AUC_t(ng · hr/mL)는 111.59±80.32, C_{max}(ng/mL)는 12.57±8.78, T_{max}(hr)는 2.34±1.09, t_{1/2}(hr)는 7.89±3.38이었다. 이는 문헌⁵⁾에 보고된 건강한 성인 남성 지원자에 경구 투여하였을 때의 파라미터(t_{1/2}: 5.82±1.63시간, T_{max}: 3.07±1.21시간)와 비슷한 값을 나타내고 있음을 알 수 있었다.

결 론

염산프로메타진 투여 후 사람 혈청 중 프로메타진의 HPLC 분석법을 확립 · 검증하여 생물학적동등성시험을 위한 표준지침을 마련하고자 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준⁵⁾에 따라 서로 다른 세 기관에서 각 8명의 건강한 한국인 성인 남성 총 24명을 대상으로 “히마진 정 25 mg(염산프로메타진)”을 제1기관에서는 1정을, 제2 및 3기관에서는 2정씩을 경구 투여하여 생체이용률시험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 내부표준물질을 클로르프로마진으로 하여 HPLC 크로마토그램을 분석한 결과 혈청 성분 등 내인성 물질의 간섭 없이 프로메타진 및 내부표준물질이 양호하게 분리되었다.
2. 혈청시료로부터 구한 프로메타진 검량선은 1~40 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었고 최저 정량한계는 1 ng/mL이었다. 확립한 분석법을 검증한 결과 intra- 및 inter-day의 정확성 및 정밀성이 모두 15% 이내로 나타나 이 분석법은 충분한 감도, 정확성 및 정밀성이 있음을 확인할 수 있었다. 또한 동결해동 및 단기실온 안정시험 결과 초기 측

정치에 대한 변동성이 모두 10% 이내로 나타나 안정하였으나 장기, 조제 후 및 표준원액 안정성이 확보되지 않은 결과를 나타내어 표준 용액은 사용할 때마다 새로이 조제하여 바로 사용할 것이 권장되며 모든 시료의 분석은 채취 즉시 시행하고 최종 추출 시료는 곧바로 분석하는 것이 바람직함을 알 수 있었다.

3. 프로메타진에 대해 확립한 HPLC 분석조건에서의 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변화에 따른 약물 피크 면적이나 출현시간에 미치는 영향을 측정하여 요인분석을 실시한 결과 각 변동요인에 대한 수준에서는 약물 피크 면적은 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 확신성이 있음을 알 수 있었다

4. 총 24명의 건강한 성인 지원자를 대상으로 “히마진 정 25 mg(염산프로메타진)”을 제1기관에서는 1정, 제2 및 3기관에서는 2정을 경구 투여하였고, 염산프로메타진 50 mg을 16명에게 경구 투여한 결과 프로메타진의 평균 AUC_t(ng · hr/mL)는 111.59±80.32, C_{max}(ng/mL)는 12.57±8.78, T_{max}(hr)는 2.34±1.09, t_{1/2}(hr)는 7.89±3.38이었다.

감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청 국립독성연구원의 지원(KFDA-03142-약동성-510)을 받아 전남대학교 약학대학에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) G. Taylor, J.B. Houston, J. Shaffer and G. Mawer, Pharmacokinetics of promethazine and its sulphoxide metabolite after intravenous and oral administration to man, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **15**(3), 287-293 (1983).

- 2) G.J. DiGregorio and E.J. Ruch, Human whole blood and parotid saliva concentrations of oral and intramuscular promethazine, *J. Pharm. Sci.*, **69**(12), 1457-1459 (1980).
- 3) R. Koytchev, R.G. Alken, V. Kirkov, G. Neshev, M. Vagaday and U. Kunter, Absolute bioavailability of chlorpromazine, promazine and promethazine, *Arzneimittelforschung*, **44**(2), 121-125 (1994).
- 4) Martindale, The complete drug reference, 32 editions 1999, p. 416 (1999).
- 5) 식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 생물학적동등성시험 기준 (2002. 11. 22).
- 6) R. Zaman, I.L. Honigberg, G.E. Francisco, J.A. Kotzan, J.T. Stewart, W.J. Brown, V.P. Shah and F.R. Pelsor, Bioequivalence and dose proportionality of three tablets promethazine products, *Biopharm. Drug Dispos.*, **7**(3), 281-291 (1986).
- 7) S.R. Vanapalli, S.P. Kambhampati, L. Putcha, D.W. Bourne, A liquid chromatographic method for the simultaneous determination of promethazine and three of its metabolites in plasma using electrochemical and UV detectors, *J. Chromatogr. Sci.*, **39**, 70-72 (2001).
- 8) WinNonlinTM Users Guide Ver. 3.0, Pharsight Corp. Mountain View, CA, USA (1998-1999).