

## ICP-MS를 사용한 구연산비스마스칼륨 (Tripotassium dicitrato bismuthate)의 생체이용률 측정

권오승<sup>†</sup> · 권지영 · 윤애린 · 박경수\*

한국과학기술연구원 (KIST) 생체대사연구센터/ \*특성분석센터

(2007년 2월 7일 접수 · 2007년 4월 5일 승인)

### Bioavailability of Tripotassium Dicitrato Bismuthate by ICP-MS in Human Volunteers

Oh-Seung Kwon<sup>†</sup>, Jee Young Kwon, Aerin Yoon and \*Kyung-Soo Park

Bioanalysis and Biotransformation Research Center/ \*Advanced Analysis Center, Korea Institute of Science and Technology (KIST), 39-1 Hawolgok-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-791, Korea

(Received February 7, 2007 · Accepted April 5, 2007)

**ABSTRACT** – This study was aimed to establish analytical method of Bi to develop a guideline of the bioequivalence test of tripotassium dicitrato bismuthate (TDB). For this purpose, a simple, specific and sensitive inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP/MS) method were developed and validated in human plasma. Various concentrations of bismuth standard solution (0–25 ng/mL) were prepared with distilled water and human blank plasma. To 10 mL of the volumetric flasks, 2 mL of blank plasma was added with 8 ml of distilled water. Bi standard solution was added to prepare the calibration samples and injected into ICP-MS. The plasma samples obtained from volunteers given 3 tablets of bismuth (total 900 mg as TDB) were analyzed as described above. As a result, the coefficients of variation were <20% in quantitation limit (0.2 ng/mL) and <15% at the rest of concentrations. The stability test by repeated freezing-thawing cycles showed that the samples were stable only for 24 hr. The stability tested for samples with a short-term period of storage at room temperature and pre-treatment prior to the analysis showed very stable over 24 hr. In 8 healthy Korean subjects received Denol tablets at the dose of 900 mg bismuth, AUC, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub> and half-life (t<sub>1/2</sub>) were determined to be 198.33±173.78 ng · hr/mL, 64.48±27.06 ng/mL, 0.52±0.21 hr, and 5.15±2.67 hr, respectively, from the plasma bismuth concentration-time curves. In conclusion, the method was suitable for the determination of bismuth in human plasma samples and could be applied to bioequivalence test of bismuth tablet.

**Key words** – Bismuth, Bioavailability, Validation, ICP-MS, Pharmacokinetics

구연산비스마스칼륨(CAS, 57644-54-9)은 1,2,3-propanetricarboxylic acid, 2-hydroxy-bismuth(3<sup>+</sup>) potassium salt(citrate: bismuth:potassium=2:1:3) (9 Cl)로 이것의 다른 이름으로는 bithmuth subcitrarte, colloidal bithmuth subcitarte, De-Nol, Duosol, tripotassium dicitrate bismuthate(TDB) 등으로 알려져 있는 약물이다. 비스마스가 함유되어 있는 제제는 오래 전부터 소화불량에 대한 대증적(symptomatic) 치료제로서 사용되어 왔다. 이 약물은 위궤양의 치료를 촉진시키고, 재발을 줄이는 효과가 있다. 또한 십이지장 궤양에 대한 치료효과는 헬리코박터(*Helicobacter pylori*)의 증식을 감소시킴으로써 나타나는 것으로 알려져 있다. 비스마스 제제의 경우는 십이지장 궤양환자에서 십이지장의 somatostatin을 생성하고 있는 G세

포의 밀도를 증가시켜 헬리코박터가 사멸됨으로서 치료효과를 나타내었다.<sup>1)</sup> 비스마스의 항박테리아 작용은 urea 분해효소 억제나 ATP 합성의 억제에 의하여 나타나며,<sup>2,3)</sup> 또한 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 박테리아의 형태학적 변화와 세포의 침착을 감소시키는 것으로 보고되어있다.<sup>3)</sup>

구연산비스마스칼륨은 1970년대 말 무렵에 비스마스 질산염(nitrate)이나 갈산염(subgallate)의 부작용인 신경독성을 줄이기 위하여 개발된 약품으로, 현재까지도 생체시료 중 분석법 및 약물동태학적 정보가 부족한 편이다. 특히, 인체에 경구투여한 혈중 농도를 검출하는 방법으로는, inductively coupled plasma-mass spectrometry(ICP-MS),<sup>4)</sup> hydride generation-atomic absorption spectrometry(HG-AAS)<sup>5)</sup> 및 electrothermal volatilization-atomic absorption spectrometry(ETV-AAS)<sup>6)</sup> 방법들이 보고되어있지만 체내 혈중 최대농도(C<sub>max</sub>)가 수십 ng/mL에 지나지 않는 극미량 농도의 분석에 충분한 감도를 가지고는 있으나, 단회투여에 의한 충분한 시간동안 혈청시료를 분

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 02)958-5184, E-mail : oskwon@kist.re.kr

석한 결과를 나타내지 않아 체내동태연구에 사용될 수 있는 방법을 확보할 필요성이 있다.

따라서 본 연구에서는 TDB(데놀(Denol) 정, (주)녹십자)의 생체이용률 시험을 통하여 기존의 방법에 비해 전처리과정 이 매우 간단하고 체내동태연구에 충분한 검출 감도와 직선성, 정확성 및 정밀성을 얻을 수 있는 분석방법을 개발하였다. 식품의약품안전청 고시 제2005-31호(2005. 6. 7) '생물학적 동등성 시험기준'에 따라 건강한 성인 남자 8명을 대상으로 생체이용률 시험이 이루어졌으며<sup>9)</sup> K-BE 프로그램을 이용하여 각 피험자의 AUC, C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub>, K<sub>e</sub> 및 t<sub>1/2</sub> 등의 생체이용률 파라미터를 구하여 분석방법을 확인하였다.

## 실험방법

### 시약

실험에 사용된 시험약은 데놀 정(녹십자 주식회사)으로 구연산비스마스칼륨(tripotassium dicitrato bismuthate) 300 mg을 함유하고 있는 원형의 백색 필름 코팅정이다. 표준품으로 사용된 Bi(>99.999%, 10 mg/L)는 Perkin Elmer사로부터 구입하였다. 그 외 사용된 모든 시약은 분석용급을 구입하여 Bi의 분석에 사용하였다.

### 분석기기

ICP-MS(ELAN6000 DRC plus, Perkin Elmer Inc., Waltham, MA, USA)를 사용하여 시험하였으며 기기조건은 아래의 Table I에 정리하였다.

### 피험자 선정 및 관리

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준에 근거하여 만 19-55세의 건강한 성인 남성 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 11명의 지원자 중 베스티안병원(서울 강남구 대치동 소재)에서 전문의사의 건강진단을 실시하여 건강하다고 판단되어지는 8명을 피험자로 최종 선정하였다. 이들의 평균체중은 67.38±5.01 kg, 평균연령은 22.63±0.73세 이었다. 피험자의 자유의사에 의한 시험참가 동의를 문서로 받은 후, 시험을 실시하였다. 시험 전날, 오후 7시에 피험자 전원을 소집하여 동일한 식사를 한 후 병원에서 가장 가까운 거리에 있는 숙소에서 수용관리하고 운동, 식사, 흡연, 음주 및 xanthine계 음료 등의 섭취를 제한하였다. 피험자 전원은 투약 전일 오후 9시 이후부터 다음날 투약 후 5 hr 동안 공복상태를 유지하도록 철저히 주지시켰다. 시험자를 무작위 배열하여 분류한 후 시험내용과 주의사항을 시험책임자가 주지시키고, 밤 10시에 취침하도록 하였다.

### 약물투여 및 혈액채취

약물투약, 채혈 및 피험자관리는 위에 언급한 종합병원에서 일반인과 격리된 공간에서 시험당일 시험담당자인 담당 의사의 감독 하에 투약 및 채혈을 하였다. 모든 피험자들의 상완 정맥부위에 heparin-locked I.V. catheter를 설치하고 공혈액을 채혈한 다음, 2분 간격으로 (주)녹십자의 구연산비스마스칼륨 3정(구연산비스마스칼륨 900 mg)을 물 240 mL와 함께 단회 경구 투여하였다. 채혈시간은 투약 직전, 투약후 0.17, 0.33, 0.5, 1, 2, 6, 12, 24, 48, 72 및 96 hr으로 총 12회 채취하였다. 채혈 시 I.V. catheter안에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리 식염수 0.5 mL를 주입하였다. 채혈된 혈액의 응고를 방지하고 혈구의 파괴를 막기 위해, vacutainer를 천천히 흔들어 섞고, 잠시 방치한 다음 3000 rpm에서 10분간 원심분리 한

**Table I—Instrumental and Analytical Parameters for ICP-MS for the Determination of Plasma Bi Concentrations in Human Volunteers**

Descriptions	Conditions
R. F. generator	Free-running type, 40 MHz
R. F. power	1500 W
Induction coil	3-turn, 1/8 in. copper, 2.6 mm i.d.
Coolant gas flow rate	15.0 L/min.
Auxiliary gas flow rate	0.85 L/min.
Nebulizer gas flow rate	0.92 L/min.
Sample introduction	Peristaltic pump
Sample uptake flow	1.0 mL/min.
Nebulizer	Concentric type
Spray chamber	Cyclonic type
Torch	Demountable
Interface cones	Platinum
Mass analyzer	Quadrupole
Vacuum system	Turbo molecular pumps
Quadrupole chamber	5 × 10 <sup>-7</sup> torr
Replicate time (ms)	300
Dwell time (ms)	100
Sweeps/Reading	3
Reading/Replicate	1
Number of Replicates	5
Points/Spectral peak	3
Bi/Mass (m/z)	209
Scan mode	Peak hopping
Resolution	0.5

ICP-MS, Inductively coupled plasma-mass spectrometry.

후, 혈장을 취하여 폴리프로필렌 시험관에 옮겨 담아 분석될 때 까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

### 안정성시험

조제 후 안정성: 시료가 주입기 내에 머무르는 시간을 포함해서 전처리 시료의 안정성이 증명되어야 한다. 저농도와 고농도 각각 3개의 등분체를 만든 즉시 분석하고 실온에서 9 및 24시간 후 분석하였다.

냉해동 안정성: 분석물질의 냉해동 안정성은 냉동과 해동 과정을 3 차례 거친 후 분석하였다. 저농도와 고농도 각각 3개의 등분체를 만든 즉시 분석하고 설정된 저장온도에서 24 hr 저장한 후 실온에서 보조기구 없이 해동하였다. 완전히 녹은 후 분석하고 다시 같은 조건으로 12-24시간 동안 동결을 하였다. 냉해동 과정은 24 hr 간격 (24, 48 및 72 hr)의 각 사이클에서 실시하여 각 사이클마다 분석하였다.

단기 온도 안정성: 저농도와 고농도 각각 3개의 등분체를 만든 즉시 분석하고 설정된 저장온도에서 24 hr 저장한 후 실온에서 해동하였다. 실온에서 4-24 hr 동안 방치한 다음 24 hr에서 분석하였다.

표준원액 안정성: 약물의 표준원액의 안정성은 16 hr 동안 실온에서 평가하였다. 규정에 따르면 적어도 6 hr이나 충분한 시간 범위에서의 안정성을 고려하여 이 보다 긴 시간에서 측정하였다.

### 혈장 중 Bi의 정량을 위한 검량곡선의 작성

ICP-MS를 사용하여 혈장 중에 함유되어 있는 중금속 Bi (분자량 209)의 농도를 측정하였다. Bi의 stock solution(1 g/L)을 조제하기 위하여 고순도 Bi 금속(99.999%) 0.5 g을 정확히 무게를 측정하고, 여기에 진한 질산(14 M) 5 mL를 가하고,  $60-70^{\circ}\text{C}$ 에서 약 15 min 동안 가열하였다. 이 용액을 0.14 M 질산으로 500 mL가 되게 희석하였다. 10 mL의 용량 플라스크에 각각 공혈장 2 mL와 Bi 표준용액의 농도가 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10, 25 ng/mL이 되도록 가하고 증류수를 표시선까지 채워 검량선용 표준용액을 제조하였다. ICP-MS에 주입시 memory effect 등에 의한 오염가능성이 크므로 10 및 25 ng/mL 등의 고농도 Bi을 함유한 경우는 여러 번 세척하여 오염효과를 방지하도록 주의하였다. 이 용액을 분당 1 mL/min의 속도로 연동펌프를 이용하여 ICP-MS에 주입하였다. 여기에서 얻은 count/sec를 이용하여 농도에 대한 검량선을 작성하였다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고, 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 실제로 시료를 취급하여 분석하는 동안 발생할 수 있는 상황을 반영하여 제조 후 안정성, 냉해동 안정

성, 단기 온도 안정성, 표준원액 안정성의 시험을 앞에서 언급한 방법에 따라서 수행하였다.

### ICP-MS를 사용한 혈장 중 Bi의 농도의 분석

피험자로부터 각 시간별로 채취하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관했던 혈장시료를 실온에 방치하여 녹인 후, 이 혈장 500  $\mu\text{L}$ 를 취하여 시험관에 옮기고 앞에서 언급한 검량선 작성방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 ICP-MS에 주입하여 분석하였다. 얻어진 Bi의 질량/전하에서 count/sec를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 Bi의 농도를 구하였다.

### 체내동태 파라미터의 분석

ICP-MS에 의하여 얻은 Bi 농도로부터 K-BE 프로그램을 이용하여 혈장중농도-시간 곡선하의 면적(AUC), 최고혈장중농도( $C_{\max}$ ), 최고 혈장중 농도에 도달하는 시간( $T_{\max}$ ), 혈장중 소실속도상수( $K_e$ ), 반감기( $t_{1/2}$ )등의 생체이용률 파라미터를 구하였다.  $C_{\max}$  및  $T_{\max}$ 는 실측치로부터 직접 구하였다. 모든 체내동태파라미터는 Mean  $\pm$  S.D.로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 혈장 중 Bi 분석법 검증

Bi 표준용액과 공혈장을 이용하여 각각 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10 및 25 ng/mL의 검량선을 구하였다. 0.1 ng/mL농도에서는 정확성 및 정밀성을 만족하지 않아 제외하였다. 공혈장 시료로부터 구한 Bi 검량선의 계산식은  $y=4870x$

**Table II**—Precision and Accuracy for the Determination of Bi in Human Plasma

Conc. (ng/ml)	Precision (C.V.)*		Accuracy (%)*	
	Intra-Day	Inter-Day	Intra-Day	Inter-Day
0.2	7.97	15.53	89.06	102.19
1	2.52	10.37	90.91	104.72
10	1.77	13.82	105.72	107.51

\* Each value was obtained from 5 sets of samples.

**Table III**—Stability Test after Preparation of Solution (n=3)

Concentrations (ng/mL)	0 hr	9 hr	24 hr
0.2 (LOQ)	740.0 $\pm$ 28.6 (100%)	827.7 $\pm$ 22.3 (111.8%)	777.7 $\pm$ 78.9 (105.1%)
1	5424.2 $\pm$ 335.0 (100%)	5534.0 $\pm$ 707.0 (102%)	5042.2 $\pm$ 704.3 (93.0%)
10	64800.9 $\pm$ 5010.9 (100%)	57253.4 $\pm$ 6342.4 (88.4%)	46277.8 $\pm$ 5097.1 (96.9%)

**Table IV**—Stability Test after Three Freezing-Thaw Cycles of Samples (n=3)

Concentrations (ng/mL)	0 hr	1st Cycle (24 hr)	2nd Cycle (48 hr)	3rd Cycle (72 hr)
0.2	1149.9±41.3 (100%)	1195.4±60.4 (104%)	877.9±24.9 (76.3%)	762.6±75.4 (66.3%)
1	5912.9±89.7 (100%)	5826.5±70.2 (98.5%)	4698.2±217.1 (79.5%)	3607.6±39.7 (61%)
10	64918.6±1843.5 (100%)	66867.2±3646.4 (103%)	61808.1±9907.2 (95.2%)	39708.2±2314.3 (61.2%)

( $r^2=0.9995$ )으로 0.2~25 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다. 혈장 중 Bi 최저정량한계(LOQ, limit of quantitation)는 스펙트럼에서 정밀성이 20% 이하이고, 정확성이 80-120% 인 조건을 만족하는 값으로 이 분석법에서는 0.2 ng/mL 이었다. 본 연구에서의 분석방법의 정밀성(C.V.%)은 일내 정밀성이 7.97% 이하, 일간 정밀성은 15.53% 이하이며, 정량한계농도(0.2 ng/mL)에서의 일내 정밀성은 7.97%였고, 일간 정밀성은 15.53%였다. 일내 정확성은 89.06% 이하, 일간 정확성은 107.51% 이하이며, 정량한계농도 (0.2 ng/mL)에서의 일내 정확성은 89.06%이었으며, 정량한계농도(0.2 ng/mL)에서의 일간 정확성은 102.19%였다. (Table II) 이로부터 혈장 중 Bi 에 대한 본 ICP-MS분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 직선성, 정밀성 및 정확성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

#### 안정성시험

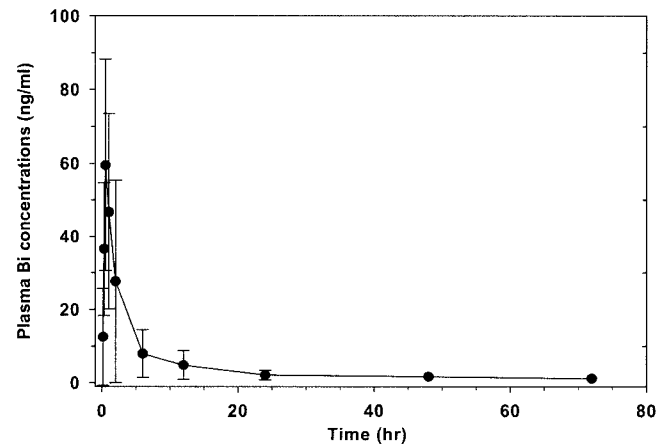
실제로 시료를 취급하여 분석하는 동안 발생할 수 있는 상황이 반영되어야 하며, 표준원액내 분석물질의 안정성에 대하여도 평가되어야 한다. 안정성 평가 시에는 즉시 만든 표준원액을 다른 분석물질과 간섭물질이 없는 생체시료에 가해서 만든 하나의 시료세트를 사용해야하며, 표준원액은 분석물질을 적절한 용매에 녹여 기지농도로 조제해야 하며 안정성 평가는 20% 이내의 정밀성과 80-120%의 정확성을 가져야 한다고 규정되어있다. 여기에서는 조제후 안정성 시험, 냉해동 안정성시험, 단기온도 안정성시험 및 표준용액 안정성시험을 하였다. 그 결과 조제 후 24 hr 동안의 안정성은 정량한계농도인 0.2 ng/mL 이상에서 111.8% 이내로 안정함을 나타내었다. (Table III) 냉해동 안정성시험은 0.2 및 1 ng/mL 농도에서는 24시간(첫번째 사이클)내에서 안정함을 나타내었다. 10 ng/mL 농도에서는 48시간(두번째 사이클)까지 안정함을 나타내었다. (Table IV) 단기온도 안정성은 0.2 ng/mL 이상에서 104.2% 이내로 안정함을 나타내었다. (Table V) 표준용액 안정성 시험은 16 hr에서 안정함을 나타내었다. (Table VI) 이 분석법은 비교적 전처리 과정이 매우 간단하고 또한 ICP-MS에서 net intensity를 측정하는데 걸리는 시간이 수초 정도의 매우 짧은 시간에 분석이 이루어기 때문에 이 결과로부터 분석법은 매우 안정함을 알 수 있었다.

**Table V**—Stability Test after Short-term Storage at Room Temperature during a Given Time (n=3)

Concentrations (ng/mL)	0 hr	24 hr
0.2	1112.2±46.8 (100%)	1158.7±16.3 (104.2%)
1	5869.7±56.7 (100%)	5702.6±139.6 (97.2%)
10	63857.6±609.1 (100%)	63964.2±1423.7 (100.2%)

**Table VI**—Stability Test of Standard Stock Solutions (n=3)

Concentrations (ng/mL)	0 hr	16 hr
100	112142.2±5636.0 (100%)	107626.6±7328.7 (95.97%)

**Figure 1**—The mean plasma concentration-time curve of tripotassium dicitrato bismuthate as Bi concentrations following oral administration of Denol tablets to 8 human volunteers at the dose of 900 mg (Mean±S.D., n=8).

#### Bi 생체이용률

피험자 8인에게 구연산비스마스칼륨 900 mg을 물 240 mL 와 함께 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 혈장 중 Bi 평균농도-시간 곡선을 Figure 1에 나타내었다. 96 hr에서는 정량한계 이하였으므로 Figure 1에는 72 hr까지의 결과를 보여주었다. Table VII에는 8명의 지원자의 Bi 체내동태 파라미터(AUC,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $K_e$ ,  $t_{1/2}$ )를 나타내었다. 900 mg의 TDB를 투여하고 72 hr까지 얻은 혈액시료로부터 ICP-MS로 분석한 결과는 대부분 6-24 hr 사이에서 정량한계 농도인

**Table VII**—Individual Pharmacokinetic Parameters in Human Volunteers Orally Taken Denol tablets (900 mg TDB)

Subjects	Parameters					
	AUC (ng · hr/mL)		C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>max</sub> (hr)	K <sub>e</sub> (1/hr)	t <sub>1/2</sub> (hr)
	AUC <sub>last</sub>	AUC <sub>∞</sub>				
A1	87.80	94.36	58.00	0.50	0.26	2.71
A2	38.08	42.42	21.98	0.33	0.37	1.86
A3	138.96	163.58	64.51	0.50	0.15	4.58
A4	575.40	597.57	87.31	1.00	0.08	9.16
A5	185.30	197.02	73.15	0.50	0.12	5.85
A6	69.96	74.79	36.60	0.33	0.28	2.47
A7	187.79	201.16	66.25	0.50	0.10	7.15
A8	303.36	382.30	108.06	0.50	0.19	7.38
Mean	198.33	219.15	64.48	0.52	0.18	5.15
S.D.	173.78	185.69	27.06	0.21	0.11	2.67

0.2 ng/mL 이상의 농도를 나타내었다. AUC<sub>last</sub>의 AUC<sub>∞</sub>에 대한 비율은 약 90.5% 이상이었고 반감기가 약 5.15 hr, C<sub>max</sub>는 64.48 ng/mL이었으며, T<sub>max</sub>는 0.52 hr이었다.

Phillips 등<sup>7)</sup> 보고에 의하면 colloidal bismuth subcitrate와 bismuth subnitrate 두 성분의 용해도와 흡수를 비교한 실험에서 bismuth subcitrate는 pH 1.4에서 용해도는 약 10%이었고, pH 7.0에서는 45%로 용해도가 증가되는 반면에, bismuth nitrate의 용해도는 0.5%으로 두 종류의 제제 사이에 큰 차이를 나타내었다. Colloidal bismuth subcitrate(214 mg Bi)을 건강한 자원자에 경구로 투여한 다음 전혈 중의 평균 농도는 30분에서 50 ng/mL(50 ng/mL)이었고, bismuth subnitrate(205 mg Bi)의 경구투여 후에는 혈액에서 검출되지 않았다. 그리고 colloidal bismuth subcitrate를 경구 투여한 후 45 min에서는 전혈 중의 47.9±25.7 ng/mL 비교하여, 평균혈장 농도는 79.8±47.8 ng/mL이었다. Colloidal bismuth subcitrate를 섭취한 후 뇨에서는 약 1 mg(섭취용량의 0.5%에 해당)이 48 hr 안에 회수되었다.<sup>7)</sup> 따라서 전혈과 혈장에서의 농도차이는 적혈구 등과의 흡착이나 결합에 의하여 분석시 반영되지 않았을 것으로 생각되며, 뇨 중으로 배설되는 양이 매우 낮은 것은 이 약물의 용해도나 조직내 흡착 등과 깊은 관련이 있을 것으로 생각되었다.

서로 다른 비스무스제제를 사용한 Glaxo group의 실험결과에서도, GR122311X 500 mg(301 mg Bi/day, 1일 2회), GR122311X 1000 mg(602 mg Bi/day, 1일 2회), TDB 240 mg(431 mg Bi/day, 1일 2회) 및 placebo 군의 총 4군(12명/군)으로 나누어 건강한 성인에게 경구투여 하였다. 초회용량 투여 후 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12 hr에서, 그리고 9번째(마지막 회) 용량 투여 후 15, 18,

21, 24, 32, 36 및 48 hr에서 혈액시료를 얻었다. 마지막 용량 투여한 후의 평균 C<sub>max</sub>값은 GR122311X 500 mg군에서는 5 ng/g, GR122311X 1000 mg 군에서는 12 ng/g 및 TDB 240 mg 군에서는 21 ng/g(7-247 ng/g의 범위)이었다. 또한 T<sub>max</sub>는 0.75, 1.5 및 0.5 hr이었고, 최저농도는 각각 2, 4 및 4 ng/g이었다. 뇨 중의 회수율은 모든 제제에서 투여량의 1% 이하에 지나지 않았다.<sup>8)</sup> 이 실험의 결과, 체내동태 파라미터에서 커다란 개체 차이가 나타났다. 혈장농도-시간곡선에서 10 hr에서 1 ng/g(1 ng/mL) 이하에 도달하였다. Lacey 등의 연구에서도 또한 뇨 중으로의 회수율은 Phillips 등에서 보고한 결과에서와 비슷하였다.<sup>7-8)</sup>

TDB 430 mg을 단회 경구투여하고 36 hr까지 얻은 혈장시료에서 체내동태 파라미터를 분석한 결과 혈장시료에서의 최대 농도(C<sub>max</sub>)는 5.5-57.5 ng/mL(평균 24.7 ng/mL)로 투여 후 30분과 60분 사이에서 관찰되었다. 이와 동일한 용량은 6주 동안 건강한 성인에 반복투여 경우에는 평균 18일째(7-27일의 범위)에 뇨 배설이 steady-state에 도달하였고, 최대 평균 혈장농도는 38.3 ng/mL (7.6-58.3 ng/mL의 범위)이며 뇨중의 반감기는 20.7 days 으로 나타났다.<sup>5)</sup> 이상의 다른 보고자들에 의한 모든 실험의 결과는 Froomes 등의 보고를 제외하면 모두가 반복투여에 의한 것이었다. 이는 분석법의 감도와도 관련이 있을 것으로 추정된다. 본 실험에서는 900 mg을 단회투여 얻은 체내동태파라미터를 제공하였으며, 이 투여경로에 따른 반감기(t<sub>1/2</sub>)는 5.15 hr 으로 뇨 중에서 보고된 20.7 days와는 큰 차이를 나타내었고, 최고혈중농도(C<sub>max</sub>)는 64.5 ng/mL으로 Froomes 등이 보고한 값과 비슷하였다.

## 결 론

본 연구에서는 900 mg의 DTB를 투여하고 96 hr까지 얻은 혈액시료로부터 ICP-MS로 분석한 결과는 대부분 6-24 hr 사이에서 정량한계 농도인 0.2 ng/mL 이상의 농도를 나타내었다. AUC<sub>last</sub>의 AUC<sub>∞</sub>에 대한 비율은 약 90.5% 이상이었고 반감기가 약 5.15 hr이므로, 시료 채취시간은 24 hr까지 채취하는 것이 적절한 것으로 판단된다. C<sub>max</sub>는 64.48 ng/mL이었으며, T<sub>max</sub>는 0.52 hr이었다. 따라서 이 연구의 결과로 개발된 분석방법은 Bi 제제의 체내동태연구나 생체이용률시험 등에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청에서 지원을 받아 한국과학기술연구원(KIST)에서 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 1) H. L. Waldum, G. Ovigstad, R. Marvik, E. Brenna, U. Syversen and A. K. Sandvik, The effect of tripotassium dicitrato bismuthate on the rat stomach, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **8**(4), 425-431 (1994).
- 2) E. J. Prewett, J. Bickley, R. J. Owen and R. E. Ponder, DNA patterns of *Helicobacter pylori* isolated from gastric antrum, body and duodenum, *Gastroenterol.*, **102**(3), 829-833 (1992).
- 3) J. R. Lambert and P. Midolo, The actions of bismuth in the treatment of *Helicobacter pylori* infection, *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **Suppl 1**, 27-33 (Review; 1997).
- 4) H. Vanhoe, J. Versieck, L. Vanballenberghe and R. Dams, Bismuth in human serum: reference interval and concentrations after intake of a therapeutic dose of colloidal bismuth subcitrate, *Clin. Chim. Acta*, **219**, 79-91 (1993).
- 5) F. R. A. Froomes, A. T. Wan, A. C. Keech, J. J. McNeil and A. J. McLean, Absorption and elimination of bismuth from oral doses of tripotassium dicitrato bismuthate, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **37**, 533-536 (1989).
- 6) A. Slikkerveer, R. B. Helmich, P. M. Edelbroek, G. B. van der Voet and F. A. de Wolff, Analysis of bismuth in serum and blood by electrodermal atomic absorption spectrometry using platinum as matrix modifier, *Clin. Chim. Acta*, **201**(1-2), 17-25 (1991).
- 7) R. H. Phillips, M. W. Whitehead, S. Lacey, M. Champion, R. P. H. Thompson and J. J. Powell, Solubility, absorption, and anti-*Helicobacter pylori* activity of bismuth subnitrate and colloidal bismuth subcitrate: in vitro data do not predict in vivo efficacy, *Helicobacter*, **5**(3), 176-182 (2000).
- 8) L. F. Lacey, N. M. Frazer, O. N. Keene and J. T. L. Smith, Comparative pharmacokinetics of bismuth from ranitidine bismuth citrate (GR122311X), a novel anti-ulcerant and tripotassium dicitrato bismuthate (TDB), *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **47**, 177-180 (1994).
- 9) 식품의약품안전청(KFDA) 고시 제2005-31호(2005. 6. 7), 생물학적동등성 시험기준.