

HPLC를 이용한 혈중 히드로클로로티아지드의 분석 및 이를 이용한 한국인 성인남성에 대한 생체이용률 평가

박아연 · 김진희 · 김성용* · 지상철* · 복혜숙** · 김호중** · 염정록 · 한상범#

중앙대학교 약학대학, *성균관대학교 약학대학, **삼성서울병원 임상시험센터

(Received August 2, 2006; Revised September 1, 2006)

Determination of Hydrochlorothiazide in Human Plasma by HPLC and Applicability to Oral Bioavailability in Korean Healthy Male Volunteers

Ah Yeon Park, Jin Hee Kim, Sung Yong Kim*, Sang-Cheol Chi*, Hae Sook Bok**,
Ho Jung Kim**, Jeong-Rok Youm and Sang Beom Han#

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

*College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

**Biomedical Research Institute, Samsung Medical Center, Seoul 135-710, Korea

Abstract — A simple and sensitive high-performance liquid chromatographic method for quantitation of hydrochlorothiazide in human plasma was developed and bioavailability parameters of hydrochlorothiazide were assessed in Korean healthy male volunteers. Caffeine was used as an internal standard. Hydrochlorothiazide and internal standard in plasma sample were extracted using *tert*-butylmethylether (TBME). A centrifuged upper layer was then evaporated and reconstituted with mobile phase of acetonitrile-25 mM phosphate buffer (20/80, pH 2.5). The reconstituted samples were injected into a Luna C18 column (250×4.6 mm, 5 μm) at a flow-rate of 1.0 ml/min. The wavelength was set at 230 nm and no endogenous substances were found to interfere. A linear relationship for hydrochlorothiazide was found in the range of 10~300 ng/ml. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 10 ng/ml with acceptable precision and accuracy. Assayed in plasma, the intra- and inter-day validation for all coefficients of variation (R.S.D.%) were found less than 15%. Main pharmacokinetic parameters of 50 mg of hydrochlorothiazide were revealed as follows : AUC_t 1761.9±509.0 ng·hr/ml, C_{max} 296.5±95.5 ng/ml, T_{max} 1.94±0.85 hr, K_{el} 0.12±0.04 hr⁻¹ and $t_{1/2}$ 6.81±2.92 hr. C_{max} and T_{max} were in accordance with the values (270~350 ng/ml and 1.9~2.7 hr) of Caucasian.

Keywords □ hydrochlorothiazide, bioavailability parameters, high performance liquid chromatography

히드로클로로티아지드(Hydrochlorothiazide, 6-chloro-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiazine-7-sulfonamide 1,1-dioxide, C₇H₈ClN₃O₄S₂ MW 297.74)는 carbonic anhydrase(CA)를 억제하는 이뇨제이다. 이 약의 이뇨효과는 주로 원위세뇨관 초입에서 Na⁺과 Cl⁻의 재흡수를 억제함으로써 생기며, 부분적으로는 근위세뇨관에서 Ca²⁺을 억제함으로써 유발되는 Na⁺과 bicarbonate의 재흡수 감소에도 기인한다.¹⁻³⁾ 이 약은 고혈압의 치료와 심부전에 의한 부종, 신성부종 그리고 간성부종의 치료 및 고 Ca²⁺뇨에 이상적인 1차 약물로 사용한다.⁴⁻⁶⁾

Ndindayino 등⁷⁾에 의하면 히드로클로로티아지드 50 mg 정제를 건강한 성인에 경구 투여한 경우, 소실반감기($t_{1/2}$)는 8.9±0.9 hr이고, 최고혈장농도 도달시간(T_{max})은 1.9±0.5 hr이며, 최고혈장농도(C_{max})는 350±136 ng/ml, 혈장중약물농도-시간곡선하 면적(AUC_t)은 2197±671 ng·hr/ml이었다. 또, Vervaet 등⁸⁾에 의하면 히드로클로로티아지드 50 mg 정제를 경구 투여 시, C_{max} 는 180±42.1 ng/ml, T_{max} 는 2.7±1.1 hr인 것으로 보고하고 있으며, Corveleyn 등⁹⁾에 의하면 히드로클로로티아지드 25 mg 정제를 경구 투여 시 C_{max} 는 200.1±34.9 ng/ml, T_{max} 는 183.7±40.7 min, $t_{1/2}$ 은 5.8±2.3 hr이었다. 한편 Beermann 등²⁾은 히드로클로로티아지드 25 mg 정제를 경구 투여할 경우 C_{max} 는 97~247 ng/ml이고 $t_{1/2}$ 은 0.86~14.81 hr으로 히드로클로로티아지드가 생체이용률에 있어서 개인간 편차가 매우 심하다고 보고하였다.

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5596 (팩스) 02-3280-5596
(E-mail) hansb@cau.ac.kr

국내에서는 한국인을 대상으로 한 생체이용률시험이 행해진 바가 없으며, 이에 따라 한국인의 히드로클로로티아지드에 대한 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC), 최고혈장중농도(C_{max})와 최고혈장중농도 도달시간(T_{max}), 소실반감기($t_{1/2}$) 등이 보고되어 있지 않아, 의료 전문가에게 약물의 정보가 제한되어 제공되고 있는 상황이다.

따라서 본 연구에서는 24명의 건강한 한국인 성인 남성을 대상으로, 히드로클로로티아지드 기준 시판제제인 "다이크로진정 25 mg"(hydrochlorothiazide) 2정을 1회 경구 투여한 생체이용률 시험을 실시하여, 히드로클로로티아지드 제제를 경구 투여할 때의 약물속도론적 파라미터를 제시하였으며, 기존에 발표된 외국인에서의 자료와 비교함으로써 향후 약물치료에 유용한 자료로 활용될 수 있도록 하고자 하였다.

한편, 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 시판을 위하여, 의사 또는 치과 의사가 처방전에 기재한 의약품의 성분함량 및 제형이 동일한 다른 의약품으로 대체하여 조제할 수 있게 하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준¹⁰⁾에 따라 생체시험을 통해 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 할 필요가 있다. 본 연구 결과는 대체조제 가능한 약품간의 생물학적동등성에 대한 과학적인 근거자료가 될 것이며 약효동등성이 확보된 의약품의 대체조제를 활성화하여 의료비용을 절감하고 의료보혜제정의 안정화에 도움이 될 것이라 사료된다.

실험 방법

시약 및 기기

생체이용률시험에 사용된 시험약은 의약품입상시험관리기준¹¹⁾ 제36조 및 제37조 규정에 따라 제조한 유한양행(주)의 "다이크로진정 25 mg"(제조번호 : 4037, 사용기한 : 2007. 6. 14.)으로 히드로클로로티아지드 25 mg을 함유하는 정제이다. 히드로클로로티아지드 표준품과 내부표준물질로 사용한 카페인 표준품은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, HPLC용 아세트니트릴은 Fisher사(Fair Lawn, NJ, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 주사용 생리식염수 및 헤파린은 중외제약(Seoul, Korea)으로부터 구입하였으며, 증류수는 PURE-UP(Chem-Science, USA)으로 만든 18 M Ω -cm의 것을 사용하였다. TBME(*tert*-butylmethylether) 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

혈장 시료 분석에 있어서 HPLC용 펌프로 Shimadzu LC-6A(Shimadzu, Japan)를, HPLC용 칼럼으로는 Luna C18 column (250×4.6 mm, 5 μ m, Phenomenex, USA)을, UV 검출기로는 Waters 2487(Waters, USA) 등을 사용하였다. 데이터 처리장치로는 Autochro-2000(Ver. 1.0)을 사용하였으며, 약물동력학적 파

라미터들은 국립독성연구원서 분양받은 K-BE test 2002 프로그램을 사용하여 산출하였다.

피험자 선정 및 관리

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준에 근거하여 만 19~55세의 건강한 성인으로서 과거에 소화기계, 간장, 신장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액 질환의 병력이 없고, 시험개시 1개월 이내에 바르비탈류 약물 등의 약물 대사효소 유도 및 억제 약물을 복용한 사실이 없으며, 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 자를 공고로 통하여 모집하였다. 30여명의 지원자를 대상으로 시험 설명회를 통하여 시험의 필요성, 시험대상 성분에 대한 약리작용 및 이상약물반응 가능성 등을 설명하였고, 이들을 대상으로 의료법인 비이의원 건강검진센터에서 건강검단을 실시하였다. 지원자 중 피험자 선정기준에 모두 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 건강한 사람으로 판정된 24인을 선정하였으며, 자발적인 의사결정에 따라 시험참가동의서를 받은 후 생체이용률시험을 실시하였다.

모든 피험자에게는 정해진 투약일 일주일 전부터 시험기간까지 항생제 및 진통제 등을 포함한 일체의 약물 복용을 금지하였다. 또한 시험기간 중에는 연구자의 지시에 따라 운동, 식사, 흡연, 음주 및 xanthine계 음료 등을 제한 관리하도록 하였다. 시험 전날 오후 7시경에 피험자 전원을 소집하여 동일한 저녁식사를 제공한 후, 오후 8시부터 시험 당일 투약 후 4시간까지는 금식시켰다. 피험자에게 시험내용과 주의사항을 다시 한 번 주지시키고, 오후 10시경에 취침하도록 하였으며, 시험 당일 오전 7시경에 비이의원 건강검진센터에 도착하여 시험 준비에 착수하였다.

약물투약 및 혈액 채취

약물투약, 채혈 및 피험자 관리는 의료법인 비이의원 건강검진센터에서 일반인과 격리된 공간에서 시험담당자인 전문의의 감독 하에 실시하였다. 모든 피험자들의 상완 정맥부위에 heparine-locked I.V. catheter를 설치하고 공혈액을 10 ml 채혈한 다음, 2분 간격으로 피험자에게 시험약을 각각 2정씩 240 ml의 물과 함께 투약하였다. 히드로클로로티아지드 50 mg 정제의 소실반감기가 약 9시간인 것을 토대로 식품의약품안전청고시 기준에 따라, 채혈시간은 반감기의 3배 이상인 36시간 동안으로 하였고, 채혈횟수는 약물투약 직전과 투약 후 30분, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24 및 36시간의 총 14 시점에서 실시하였다.

채혈 방법은 I.V. 카테터 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1 ml의 혈액을 빼내어 버리고 heparinized vacutainer에 약 8 ml의 혈액을 채취하였다. 채혈 후마다 I.V. 카테터 중에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수 0.5 ml를 주입하여 잔류 혈액을 혈관 내로 밀어 넣었다. 채혈된 혈액의 응고를

방치하고 혈구의 파괴를 막기 위해 vacutainer를 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 혈장만을 취하여 polypropylene tube에 옮겨 담고 분석시까지 영하 70°C에서 보관하였다.

혈장 중 히드로클로로티아지드의 정량

검량선 작성 - 히드로클로로티아지드 표준품을 이동상에 녹여 농도를 히드로클로로티아지드로서 100 mg/l로 만들어 냉장 보관시키고, 이 표준액을 공혈장으로 희석하여 히드로클로로티아지드의 혈장 중 농도가 각각 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300 ng/ml가 되도록 표준혈장을 만들었다. 각각의 표준혈장 1.0 ml를 glass tube에 넣고 여기에 내부표준물질인 caffeine 50 µl(50 ppm, 이동상에 녹임)를 가하고 추출용매인 *tert*-butylmethyleter를 5 ml가 하여, 30분 동안 왕복진탕기에서 잘 섞어 추출하였다. 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 유기층을 취하여 질소기류로 완전히 건조시켰다. 여기에 이동상 200 µl로 재분산을 시키고, 이 중 30 µl를 취하여 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 히드로클로로티아지드의 피크 면적비를 가지고 검량선을 작성하였다.

HPLC/UV 조건 - 혈장 중 히드로클로로티아지드의 정량은 이미 보고된 HPLC 분석법^{12,13}을 참고하였다. 전처리된 혈장 시료는 다음의 조건에서 정량하였다. 이동상으로는 25 mM 인산 완충액(pH 2.5)과 아세트니트릴의 혼합액(80/20, v/v)을 사용하였으며, 칼럼은 Luna C18 column(4.6×250 mm, 5 µm)을 사용하였다. 유속은 1.0 ml/min였으며, 피크 검출은 Waters 2487 UV 검출기를 사용하여 230 nm에서 정량하였다. 칼럼온도는 상온을 유지하며 분석하였고, 데이터 처리장치로는 Autochro-2000(Ver. 1.0)을 사용하였다.

분석법 검증 - 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고, 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 회수율을 구하기 위하여 저농도(30 ng/ml), 중농도(150 ng/ml), 고농도(300 ng/ml) 3가지 농도의 히드로클로로티아지드 표준혈장을 본 실험의 전처리 방법과 동일하게 처리하고, 이에 해당하는 농도의 표준용액과 각각 3회 분석하고 비교하여 각 농도에 해당하는 평균 추출율(%)을 구하였다.

혈장 중 히드로클로로티아지드의 HPLC 분석법의 안정성 실험은 동결해동 안정성(freeze and thaw stability), 단기실온 안정성(short-term stability), 장기 안정성(long-term stability), 저장용액 안정성(stock solution stability), 전처리후 안정성(autosampler stability)으로 구분하여 실시하였다. 동결해동 안정성을 확인하기 위하여 히드로클로로티아지드의 저농도(30 ng/ml)와 고농도(300 ng/ml)의 혈장시료 각 3개의 등분체를 -20°C에서 24시간 동안 저장하고 실온에서 해동하는 과정을 3회 반복한 후 분석하였다. 단기실온 안정성을 확인하기 위하여 히드로클로로티아지드

의 저농도(30 ng/ml)와 고농도(300 ng/ml)의 혈장시료 각 3개의 등분체를 실온에서 해동하고 실온에서 24시간 방치한 후 분석하였다. 장기 안정성을 확인하기 위하여 히드로클로로티아지드의 저농도(30 ng/ml)와 고농도(300 ng/ml)의 혈장시료 각 3개의 등분체를 -20°C에서 7일 동안 보관한 후 분석하였다. 저장용액 안정성을 확인하기 위하여 히드로클로로티아지드의 저농도(30 ng/ml)와 고농도(300 ng/ml)의 저장용액을 제조하여 7일 동안 냉장 보관 한 후 분석하였다. 전처리후 안정성을 확인하기 위하여 히드로클로로티아지드의 저농도(30 ng/ml)와 고농도(300 ng/ml)의 혈장시료를 제조한 후 전처리하여 12시간 동안 4°C의 자동시료 주입기에 방치한 후 분석하였다.

혈장시료의 처리 및 농도 계산 - 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 약 0.5분간 탁상용 혼합기에서 잘 섞은 다음 이 혈장 시료 1 ml를 취하여 glass tube에 옮기고 표준혈장의 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC/UV에 주입하였다. 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 히드로클로로티아지드의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 히드로클로로티아지드의 농도를 구하였다.

생체이용률 파라미터

주요 생체이용률(bioavailability, BA) 파라미터로서 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC_{0-∞})은 HPLC 분석방법에 의해서 얻은 혈장중약물농도-시간곡선으로부터 사다리꼴 공식에 의하여 구하였다. 최고혈장중농도(C_{max})와 최고혈장중농도 도달시간(T_{max})은 실험치로부터 직접 구하였다. 혈장 중 히드로클로로티아지드의 소실속도상수(K_{el}) 및 소실반감기(t_{1/2})는 K-BE test 2002 프로그램을 이용하여 구하였다.

결과 및 고찰

혈장 중 히드로클로로티아지드의 분석법 검증

건강한 성인의 공혈장, 히드로클로로티아지드와 내부표준물질인 카페인을 함께 첨가한 공혈장 및 히드로클로로티아지드 정제 50 mg을 투여하고 2시간 후에 채취한 혈장을 본 시험법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. 히드로클로로티아지드 피크의 머무름시간은 약 8.3분, 내부표준물질 피크의 머무름시간은 약 5분이었으며, 분석조건에서 히드로클로로티아지드 및 내부표준물질은 기타 혈장 성분들과 잘 분리되었다.

회수율을 높이고 분석에서 혈장 중의 내인성 간섭물질의 영향을 최소화하기 위하여 다양한 유기용매를 선택하여 액체-액체 추출방법을 수행하였다. Diethyl ether, ethyl acetate, diethyl ether/ethyl acetate(50/50) 혼합용매, dichloromethane, *tert*-

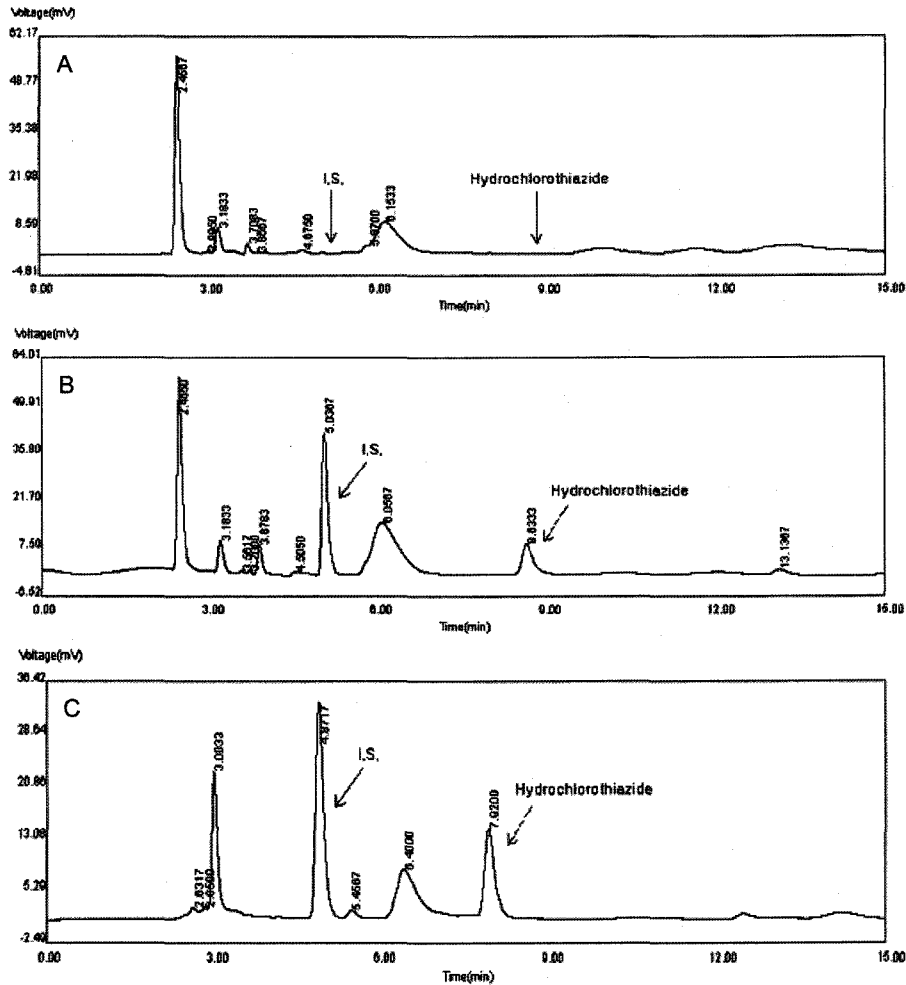


Fig. 1 – HPLC chromatograms of A) a blank human plasma sample, B) a blank human plasma sample spiked with hydrochlorothiazide (100 ng/ml) and an internal standard (caffeine, 50 µg/ml) and C) a volunteer's plasma sample at 2 hr after oral administration of 50 mg hydrochlorothiazide tablet.

butylmethylether(TBME) 등과 같은 유기용매를 비교 검토한 결과, TBME에 의한 용매 추출이 회수율도 높으면서 HPLC 분석 시 내인성 피크에 의한 간섭을 가장 적게 받는 것으로 나타났다.

공혈장 시료, 공혈장에 내부표준물질만 첨가한 혈장시료 및 10, 25, 50, 75, 100, 200, 300 ng/ml의 검량선용 표준혈장시료를 각

각 전처리한 후 HPLC로 분석하였을 때, 혈장시료로부터 구한 히드로클로로티아지드 검량선의 계산식은 $Y(\text{히드로클로로티아지드/내부표준물질 피크면적 비율})=0.0018 X(\text{히드로클로로티아지드 농도, ng/ml})-0.0009(R^2=0.9996)$ 으로 10~300 ng/ml 범위에서 매우 양호한 직선성을 나타내었다(Fig. 2).

혈장 중 히드로클로로티아지드 최저정량한계(LLOQ, lower

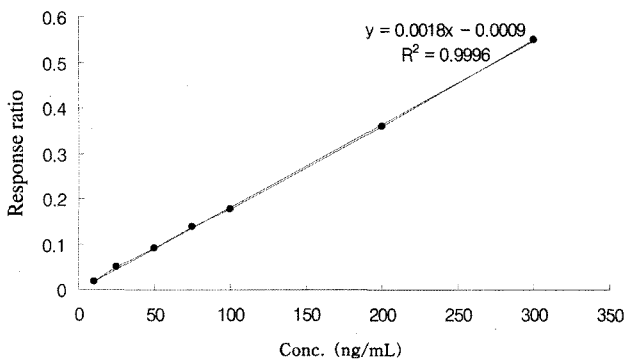


Fig. 2 – Calibration curve of hydrochlorothiazide in human plasma.

Table I – Precision and accuracy of HPLC/UV analysis for hydrochlorothiazide in human plasma

Concentration (ng/ml)	Precision (C.V.)		Accuracy (n=5)
	Intra-Day (n=5)	Inter-Day (n=5)	
10	14.93	11.90	89.18
50	8.90	4.84	90.84
100	9.78	2.92	93.51
200	7.78	3.58	98.23
300	5.00	3.41	99.23

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

limit of quantitation)는 크로마토그램상에서 신호 대 잡음비(S/N ratio)가 9 이상이고, 정밀성은 20% 이하, 정확성이 80~120%인 조건을 만족하는 10 ng/ml이었다. 최저정량한계를 제외한 검량선 농도 범위에서 히드로클로로티아지드의 일내 및 일간 변동계수(C.V)는 모두 9.78% 이하로 나타났고, 정확성은 89.18~99.23%이었다(Table I).

혈장 중 히드로클로로티아지드 HPLC 분석법의 회수율 확인을 위하여 저농도(30 ng/ml), 중농도(150 ng/ml), 고농도(300 ng/

ml)와 같은 3가지 농도의 히드로클로로티아지드 표준혈장을 대상으로 실험하였다. 3가지 농도의 표준혈장을 본 실험의 전처리 방법과 동일하게 처리하였고, 이에 해당하는 농도의 표준용액과 각각 3회 분석하고 비교한 회수율은 30, 150, 300 ng/ml의 농도에서 평균 78.2%, 70.2%, 57.4%이었다(Table II).

영하 20°C에서 24시간 동안 보관하고 실온에서 해동하는 과정의 동결해동 안정성 실험은 저농도에서 98.56%, 고농도에서 99.26%이었다. 실온에서 24시간 방치하는 단기실온 안정성 실험

Table II – Recovery and stability of HPLC/UV analysis for hydrochlorothiazide in human plasma

	Low (30 ng/ml)		High (300 ng/ml)		
	Measured conc. (ng/ml)	% nominal	Measured conc. (ng/ml)	% nominal	
Freeze and thaw stability	1	29.3650	97.8834	295.3352	98.4451
	2	29.4963	98.3209	298.3938	99.4646
	3	29.8439	99.4796	299.5899	99.8633
	Mean	29.5684	98.5613	297.7730	99.2577
	S.D.	0.2475		2.1942	
	CV (%)	0.8369		0.7369	
Short-term stability	1	29.7967	99.3224	269.0976	89.6992
	2	27.2800	90.9333	266.5215	88.8405
	3	29.8011	99.3371	291.2293	97.0764
	Mean	28.9593	96.5309	275.6161	91.8720
	S.D.	1.4543		13.5826	
	CV (%)	5.0219		4.9281	
Long-term stability	1	29.4577	98.1923	282.4569	94.1523
	2	29.6878	98.9593	270.5722	90.1907
	3	21.6833	72.2777	261.0431	87.0144
	Mean	26.9429	89.8098	271.3574	90.4525
	S.D.	4.5564		10.7285	
	CV (%)	16.9114		3.9536	
Stock solution stability	1	24.1721	80.5736	265.3145	88.4382
	2	27.0810	90.2701	284.4164	94.8055
	3	27.9171	93.0572	278.5831	92.8610
	Mean	26.3901	87.9670	276.1047	92.0349
	S.D.	1.9658		9.7892	
	CV (%)	7.4490		3.5455	
Autosampler stability	1	29.0704	96.9013	294.2535	98.0845
	2	29.9237	99.7456	299.9620	99.9873
	3	29.9069	99.6896	299.1544	99.7181
	Mean	29.6336	98.7788	297.7899	99.2633
	S.D.	0.4879		3.0891	
	CV (%)	1.6464		1.0374	
Recovery	30 ng/ml		150 ng/ml		300 ng/ml
	78.16%		70.19%		57.43%

은 저농도에서 96.53%, 고농도에서 91.87%이었고, -20°C에서 7일 동안 보관하는 장기 안정성 실험은 저농도에서 89.81%, 고농도에서 90.45%이었다. 저장용액을 제조하여 7일 동안 냉장보관한 후 분석하는 저장용액 안정성 실험은 저농도에서 87.97%, 고농도에서 92.03%이었다. 혈장시료를 제조한 후 전처리하여 12시간동안 4°C의 자동시료주입기에 방치한 후 분석하는 전처리후 안정성 실험은 저농도에서 98.78%, 고농도에서 99.26%이었다. 히드로클로로티아지드 HPLC 분석법의 추출 회수율 및 안정성 실험 결과를 Table II에 나타내었다.

이로부터 혈장 중 히드로클로로티아지드에 대한 본 HPLC 분석법은 인체에 대한 생체이용률시험에 이용될 수 있는 충분한 감도, 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성 및 안정성을 갖고 있음을 확인할 수 있었다.

히드로클로로티아지드 제제의 생체이용률

"다이크로진정 25 mg" 2정(히드로클로로티아지드로서 50 mg)을 피험자 24인에게 물 240 ml와 함께 경구 투여한 후, 일정 시간마다 채혈하여 얻은 혈장 중 히드로클로로티아지드의 평균 혈장중약물농도-시간곡선을 Fig. 3에 나타내었다. Table III에는 피험자 24인에 대한 히드로클로로티아지드의 흡수 파라미터(AUC_t, C_{max} 및 T_{max})와 소실 파라미터(K_{el}, t_{1/2}) 등을 나타내었다.

건강한 한국인 성인남성을 대상으로한 히드로클로로티아지드 50 mg의 경구투여에 대한 평균 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC_t)은 1761.9±509.0 ng·hr/ml, 최고혈장중농도(C_{max})는 296.5±95.5 ng/ml, 최고혈장중농도 도달시간(T_{max})은 1.94±0.85 hr, 소실속도상수(K_{el})는 0.12±0.04 hr⁻¹, 소실반감기(t_{1/2})는 6.81±2.92 hr 이었다.

백인들을 대상으로한 연구보고에서는 최고혈장중농도(C_{max})가 약 270~350 ng/ml 정도이었으며, 최고혈장중농도 도달시간(T_{max})은 약 1.9~2.7 hr 이었다. Beermann 등²⁾이 1977년도에 발표한 히드로클로로티아지드의 생체이용률 보고에서는 개인간 소실반감기의 편차가 매우 심하다고 하였으나, Ndindayino 등⁷⁾이 2002

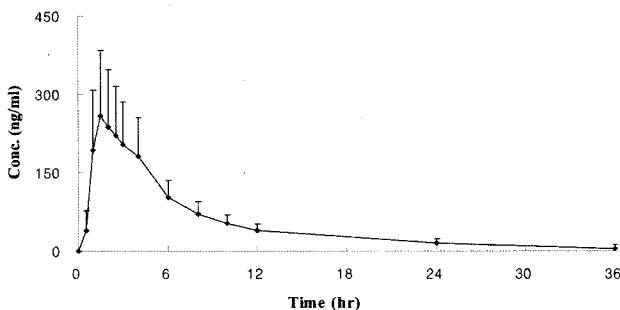


Fig. 3 – Mean plasma concentration-time curve of hydrochlorothiazide after a single oral administration of "Dichrozide" tablets at the dose of 50 mg of hydrochlorothiazide. Each value represents the Mean±S.D. of 24 volunteers.

Table III – Individual pharmacokinetic parameters of Dichrozide tablet (50 mg hydrochlorothiazide) in 24 Korean volunteers

Subject	Parameters				
	AUC _t (ng·hr/ml)	C _{max} (ng/ml)	T _{max} (hr)	K _{el} (hr ⁻¹)	t _{1/2} (hr)
1	2107.2	365.2	2.0	0.08	8.80
2	1954.2	313.5	2.0	0.08	8.91
3	1940.6	338.4	2.0	0.09	7.80
4	2174.4	355.9	1.5	0.08	8.79
5	1588.9	370.2	1.5	0.08	8.28
6	1141.5	237.2	1.5	0.15	4.73
7	1124.1	159.5	3.0	0.15	4.52
8	1588.8	250.4	1.5	0.16	4.28
9	2510.2	493.5	1.5	0.16	4.31
10	2120.7	369.7	4.0	0.07	10.29
11	1778.4	345.1	1.0	0.06	11.47
12	1990.8	249.9	3.0	0.06	12.11
13	1423.0	180.1	1.5	0.14	5.14
14	1930.5	218.4	4.0	0.15	4.70
15	2284.6	362.1	1.5	0.07	9.81
16	2829.9	452.8	1.0	0.16	4.20
17	1078.7	121.5	3.0	0.14	5.03
18	1693.1	293.8	2.0	0.15	4.62
19	1738.0	237.3	2.0	0.15	4.64
20	1913.6	374.1	1.5	0.15	4.62
21	2176.0	393.4	1.5	0.05	13.04
22	596.9	180.9	1.0	0.14	4.86
23	1329.7	212.4	1.5	0.15	4.72
24	1272.1	244.1	1.5	0.18	3.82
Mean	1761.9	296.5	1.94	0.12	6.81
S.D.	509.0	95.5	0.85	0.04	2.92

년도에 보고한 문헌에서는 이러한 개인간 편차를 발견할 수 없었다고 하였다. 한편 Vervaet 등⁸⁾이 보고한 논문에서는 히드로클로로티아지드 50 mg 정제를 경구 투여하였을 때, 최고혈장중농도(C_{max})가 180±42.1 ng/ml에 불과하여 다른 보고와 많은 차이를 나타내었다.

이미 많은 문헌에서 히드로클로로티아지드의 개인간 큰 편차의 생체이용률이 보고된 바 있으며, 본 연구의 생체이용률 파라미터를 다른 문헌과 비교해보면 AUC_t와 C_{max}, t_{1/2}, T_{max} 대부분의 값이 백인과 비교하여 보고된 값의 편차 범위 안에 들어가는 것으로 나타났다.

결 론

히드로클로로티아지드는 아직까지 국내에서는 한국인을 대상으로 한 생체이용률시험이 행해진 바 없으며, 이에 따라 한국인의 히드로클로로티아지드에 대한 혈장중 약물농도-시간곡선하면적(AUC_t), 최고혈장중농도(C_{max})와 최고혈장중농도 도달시간(T_{max}), 소실반감기(t_{1/2}) 등이 보고되어 있지 않아 의료 전문가에게 약물의 정보가 제한된 측면이 있었다. 따라서 본 연구에서는 HPLC 분석법을 이용하여, 24명의 건강한 한국인 성인 남성들

대상으로 히드로클로로티아지드의 기존 시판제제인 (주)유한양행의 "다이크로질정 25 mg"에 대하여 생체이용률시험을 실시하여 히드로클로로티아지드 제제의 경구 투여 시 한국인의 약물속도론적 파라미터를 제시하였으며, 이 분석법에 대한 분석법검증 (analytical method validation)도 실시하였다.

한편, 제제학적으로 동등한 제제나 제제학적으로 대체 가능한 제제의 시판을 위하여 의사 또는 치과의사가 처방전에 기재한 의약품의 성분함량 및 제형이 동일한 다른 의약품으로 대체하여 조제할 수 있게 하기 위해서는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준에 따라 생체시험을 통해 생체이용률에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 입증하여야 할 필요가 있는데, 본 연구가 향후 히드로클로로티아지드의 생물학적동등성시험을 하는데 있어서 표준지침이 될 수 있도록 하였다.

감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청 국립독성연구원의 지원을 받아 중앙대학교에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Beermann, B., Groschinsky-Grind, M. and Rosen, A. : Absorption, metabolism and excretion of hydrochlorothiazide. *Clin. Pharmacol. Ther.* **19**, 531 (1976).
- 2) Beermann, B. and Groschinsky-Grind, M. : Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **12**, 297 (1977).
- 3) Niemeyer, C., Hasenfuß, G., Wais, U., Knauf, H., Schafer-Korting, M. and Mutschler, E. : Pharmacokinetics of hydrochlorothiazide in relation to renal function. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **24**, 661 (1983).
- 4) Bank, N., Lief, P. D. and Piczon, O. : Use of diuretics in treatment of hypertension secondary to renal disease. *Arch. Intern. Med.* **138**, 1524 (1978).
- 5) Wollam, G. L., Tarazi, R. C., Bravo, E. L. and Dustan, H. P. : Diuretic potency of combined hydrochlorothiazide and furosemide therapy in patients with azotemia. *Am. J. Med.* **72**, 929 (1982).
- 6) Bennett, W. M., McDonald, W. J., Kuehnel, E., Hartnett, M. N. and Porter, G. A. : Do diuretics have antihypertensive properties independent of natriuresis? *Clin. Pharmacol. Ther.* **22**, 499 (1977).
- 7) Ndayino, F., Vervaet, C., Mooter, G. Van den and Remon, J. P. : Bioavailability of hydrochlorothiazide from isomalt-based moulded tablets. *International Journal of Pharmaceutics* **246**, 199 (2002).
- 8) Vervaet, C. and Remon, J. P. : Bioavailability of hydrochlorothiazide from pellets, made by extrusion/spheronisation, containing polyethylene glycol 400 as a dissolution enhancer. *Pharmaceutical Research* **14**, 1644 (1997).
- 9) Corveleyn, S. and Remon, J. P. : Bioavailability of hydrochlorothiazide : conventional versus freeze-dried tablets. *International Journal of Pharmaceutics* **173**, 149 (1998).
- 10) 식품의약품안전청 고시 제2002-60호(2002. 11. 22) : 생물학적동등성시험기준.
- 11) 식품의약품안전청 고시 제1999-67호(2000. 1. 4) : 의약품임상시험 관리기준.
- 12) Blume, C. D., Williams, R. L., Upton, R. A., Lin, E. T. and Benet, L. Z. : Bioequivalence study of a new tablet formulation of triamterene and hydrochlorothiazide. *Am. J. Med.* **77**, 59 (1984).
- 13) Herman, J., Remon, J. P., Lefebvre, R., Bogaert, M., Klinger, G. H. and Schwartz, J. B. : The dissolution rate and bioavailability of hydrochlorothiazide in pellet formulations. *J. Pharm. Pharmacol.* **40**, 157 (1988).