

## 디피리다몰 체내동태 연구를 위한 혈청 중 디피리다몰의 HPLC 정량법 개발 및 검증

조혜영 · 강현아 · 문재동\* · 최후균\*\* · 이용복†

전남대학교 약학대학 부속 생물학적동등성 및 가교시험연구소,  
전남대학교 병원 임상시험센터, \*전남대학교 의과대학, \*\*조선대학교 약학대학  
(2006년 2월 6일 접수 · 2006년 2월 14일 승인)

### Development and Validation of an HPLC Method for the Pharmacokinetic Study of Dipyridamole in Human

Hea-Young Cho, Hyun-Ah Kang, Jae-Dong Moon\*, 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

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

\*\*College of Pharmacy, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

(Received February 6, 2006 · Accepted February 14, 2006)

**ABSTRACT** – A rapid, selective and sensitive reversed-phase HPLC method for the determination of dipyridamole in human serum was developed, validated, and applied to the pharmacokinetic study of dipyridamole. Dipyridamole and internal standard, loxapine, were extracted from human serum by liquid-liquid extraction with diethyl ether and analyzed on a Nova Pak C<sub>18</sub> column with the mobile phase of 40 mM ammonium acetate:methanol:acetonitrile (35:35:30)(v/v/v, pH 7.8). Detection wavelength of 280 nm and flow rate of 1.0 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 3<sup>3</sup> factorial design using a fixed dipyridamole concentration (50 ng/mL) with respect to its peak area and retention time. And also, 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 2-2000 ng/mL with correlation coefficients greater than 0.999. The lower limit of quantification using 0.5 mL of serum was 2 ng/mL, which was sensitive enough for pharmacokinetic studies of dipyridamole. The overall accuracy of the quality control samples ranged from 103.94 to 105.86% for dipyridamole with overall precision (% C.V.) being 4.60-11.49%. The relative mean recovery of dipyridamole for human serum was 97.64%. Stability studies showed that dipyridamole was stable during storage, or during the assay procedure in human serum. The peak area and retention time of dipyridamole 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 dipyridamole in human serum samples for the pharmacokinetic studies of orally administered Dimor tablet (75 mg as dipyridamole) at three different laboratories, demonstrating the suitability of the method.

**Key words** – Dipyridamole, Human serum, Validation, Pharmacokinetics, HPLC

디피리다몰(dipyridamole, 2,6-bis(diethanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido-(5,4-d)-pyrimidine)은 심근에 혈액과 산소공급을 개선시켜 혈행을 용이하게 함으로써 혈액순환을 원활하게 해줄 뿐만 아니라, 동맥 및 정맥의 혈전성 질환의 중요한자인 혈소판의 점착성과 응집성을 억제, 혈전형성을 억제시킴으로써 협심증, 심근경색 및 혈전 예방에도 사용하고 있는 관상혈관 확장제이다.<sup>1,2)</sup> 디피리다몰은 경구투여시 위장관에서 완전하게 흡수되지는 않지만 경구투여 후 약 75

분에 최고 혈장중 농도를 나타내며 혈장 단백결합은 매우 강하고 간에서 주로 대사받아 담즙중으로 글루콘산 포함체로 배설되며 요중으로 소량이 배설된다.<sup>3)</sup>

국내에서 디피리다몰 제제는 안국약품 주식회사의 “디모르 정” 비롯하여 다수 회사의 제제가 사용되고 있는데 대한 민국 식품의약품안전청에서는 생물학적동등성시험을 통하여 유사 대체제제의 품질을 평가, 공인함으로써 유효하고 안전한 유사 대체제제를 공급하기 위하여 노력하고 있다. 이러한 유사 대체제제의 공급은 의료비 절감과 독과점 체계의 폐해를 방지한다는 점에서 권장되어야 할 사항이다. 이를 위하여 식품의약품안전청에서는 수차례의 생물학적동등성시험

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

시행 고시의 개정 및 품목별 생물학적동등성시험 표준지침서 작성 등을 통하여 생물학적동등성시험의 선진화를 도모하고 약효동등성시험 관리의 효율성을 제고하고자 노력하고 있다. 그런데, 디피리다몰 제제의 생물학적동등성시험을 시행하기 위해 필요한 한국인을 대상으로 한 디피리다몰 제제의 약물동태학적 특성치들에 대한 보고가 아직까지 없을 뿐만 아니라, 생체시료를 이용한 디피리다몰 분석법의 견고성(robustness)이나 확신성(ruggedness)에 대한 검증 실례가 보고된 바가 없는 실정이다.

본 연구에서는 혈청 중 디피리다몰의 분석법을 개발하여 그 견고성을 검증하고, 개발한 분석법의 확신성 확보를 위하여 별도의 다른 두 기관에서 이를 순차적으로 확인·검증하여 분석의 견고성과 확신성이 확립된 혈청 중 디피리다몰의 최종 분석법을 확립하고자 하였다. 아울러 이렇게 검증된 분석법을 이용하여 서로 다른 세 기관에서 각각 8명씩 총 24명의 건강한 성인을 대상으로 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준<sup>4)</sup>(식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 2002. 11. 22.)에 따라 디피리다몰 기준 시판 대조제제인 디모르 정(디피리다몰 75 mg) 1정을 1회 경구 투여한 생체이용률시험을 순차적으로 수행하여 한국인에서의 디피리다몰의 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.

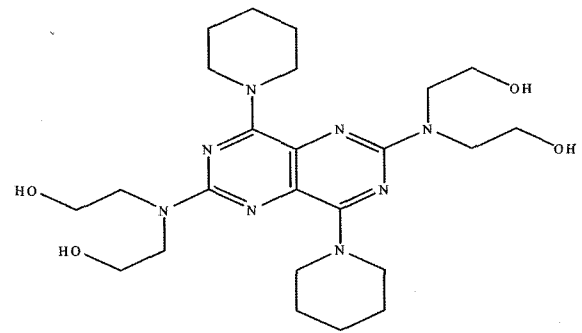
## 실험 방법

### 시약 및 기기

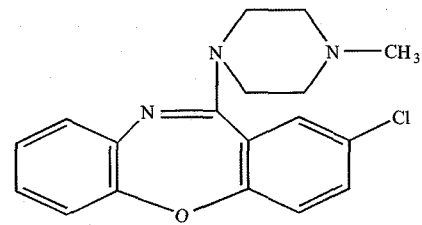
생체이용률시험에 사용된 대조제제는 식품의약품안전청으로부터 허가를 받아 안국약품 주식회사(서울)에서 시판하고 있는 “디모르 정”(제조번호: 9002, 사용기한: 2004. 1. 12)으로 디피리다몰을 75 mg 함유하는 정제이었다.

디피리다몰 표준품 및 내부표준물질로 사용한 숙신산록사핀(이상 Sigma Chemical Co., St Louis, MO, 미국, Figure 1), HPLC용 메탄올 및 아세트니트릴(Fisher Scientific., Fair Lawn, NJ, 미국), 아세트산 암모늄(Yakuri Pure Chemicals Co., Osaka, 일본), 생리식염수 및 헤파린(이상 중외제약, 서울, 한국)은 시판품을, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 M $\Omega$ -cm로 통과시킨 것을 사용하였다. 디에틸에테르, 황산 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 사용하였다.

약물분석 기기로는 HPLC용 펌프(LC 10ADvp, Shimadzu,



Dipyrnidamole



Loxapine

**Figure 1**—Chemical structures of dipyrnidamole and internal standard (IS, loxapine).

Kyoto, 일본), Nova Pak C<sub>18</sub> 컬럼(입자경 4  $\mu$ m, 3.9 mm  $\times$  150 mm, Waters Co., Milford, MA, 미국), UV 검출기 (SPD 10Avp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 주입기(Model 9725i, Rheodyne, Cotati, CA, 미국), 적분계(SCL-10Avp, Shimadzu, Kyoto, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 한국), 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 기준<sup>4)</sup> 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 68.83 $\pm$ 8.41 kg, 평균 나이는 만 22.50 $\pm$ 2.00세 이었다. 본 시험에 참여하는 지원자를 대상으로 각 시험기관에서는 생체이용률시험 설명회를 실시하여 이 시험의 목적, 방법, 약물유해반응 발생 가능성 및 이에 대한 대책 등에 대

하여 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**

생체이용률 시험을 위하여 각 기관에서는 8명의 피험자에 대하여 난수발생법에 따라 무작위 배열한 다음, “디모르 정(디피리다몰 75 mg)”을 동일 투약일에 투여하고, 투약량은 “디모르 정(디피리다몰 75 mg)” 1정을 1회 경구투여하였다. 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 디피리다몰 20mg을 6명의 건강한 성인에게 주사하였을 때 최종상 반감기는 11.6시간으로 보고되어 있으며,<sup>5)</sup> 또 다른 문헌<sup>3)</sup>에서의 디피리다몰 최종상 반감기가 10-12시간으로 보고되어 있음을 토대로 먼저 제 1기관에서는 반감기의 3배 이상인 36시간까지, 제 2 및 3기관에서는 제 1시험기관의 결과를 토대로 AUC<sub>t</sub>가 AUC<sub>∞</sub>의 95%가 넘는 24시간동안 실시하였고, 채혈 시간은 약물 투약직전과 투약 후 0.33, 0.67, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8(제2 및 3기관), 12, 24 및 36(제1기관) 시간 간격으로 총 12회 채혈하였다. 채혈 방법은 I.V. catheter 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 2mL의 혈액을 빼내어 버리고 약 5mL의 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 80°C에서 보관하였다.

**혈청 중 디피리다몰의 정량**

혈청 중 디피리다몰 정량은 이미 보고된 디피리다몰 HPLC 분석법을 참고하고,<sup>6,7)</sup> 일부 수정하여 상기 기기 조건하 실온에서 이동상으로는 40 mM ammonium acetate: 메탄올:아세트니트릴 = 35:35:30(v/v/v, pH 7.8)의 혼합용액을 사용하였으며 유속 1.0 mL/min, 주입량 50 µL 및 UV 검출

기(280 nm)를 이용하여 정량하였다. 분석법의 확신성 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.

디피리다몰 표준품을 메탄올에 녹여 농도를 1000 µg/mL로 만든 후 4°C 냉장 보관시키고, 이 용액을 검량선용 표준혈청으로 희석하여 혈청 중 약물농도가 각각 2, 5, 20, 50, 200, 1000 및 2000 ng/mL씩 되도록 검량선용 표준혈청액을 조제하였다. 각각의 검량선용 표준혈청 500 µL에 내부표준물질로 루사핀 메탄올 용액(2 µg/mL) 100 µL 및 1 N NaOH 500 µL를 가한 후 흔들어서 섞었다. 여기에 디에틸에테르 4 mL를 가하고 2분 동안 진탕하여 추출한 다음 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하였다. 여기에서 상층을 350 µL를 취하여 깨끗한 시험관에 옮긴 다음 0.025 M 황산 150 µL를 가하고 1분간 흔들어서 섞어 역추출한 다음 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 황산층만을 취하여 Eppendorf tube에 옮긴 다음 1 M NaOH 30 µL를 가하여 잘 섞은 후, 이 최종시료 용액 중 50 µL를 취해 HPLC에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 디피리다몰의 피크 면적비를 구하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였을 뿐만 아니라 2, 5, 50 및 1000 ng/mL 농도에서 각각 5회 측정하여 정확성을 평가하였고 상기 농도에서 물에 대한 평균 상대추출률을 구하였다. 또한, 동결해동 안정성, 단기실온 안정성(-70°C 24시간 동결/상온 해동), 단기실온 안정성(24시간 상온 보관) 및 장기 안정성(-70°C 4주 보관)시험은 QL(5 ng/mL) 및 QH(1000 ng/mL) 농도 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 디피리다몰의 면적으로부터 안정성을 평가하였고 표준원액 안정성(상온 6시간 보관) 시험은 디피리다몰(200 ng/mL) 및 내부표준물질(1000 ng/mL) 각 3개씩 이용하여 각각 3회 반복 측정하여 안정성을 평가하였다.

아울러, 분석법의 견고성을 확보하기 위해 혈청 중 디피리다몰 농도분석 시 가장 영향을 크게 미칠 가능성이 있는 이동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변동에 의한 영향을 일정농도의 디피리다몰 혈청 시료(50 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.

**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	0.9	1.0	1.1
B. pH of the mobile phase	-	7.6	7.8	8.0
C. Organic solvent content (%) in the mobile phase	%	63	65	68

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

**결과 및 고찰**

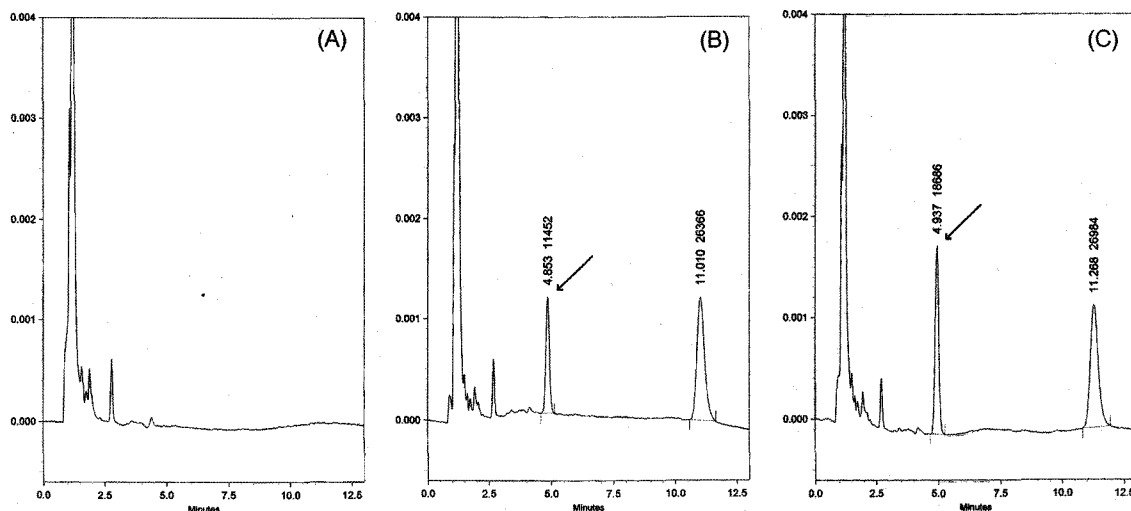
한편, 혈청 시료의 분석은 먼저 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈청 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 3초간 진탕한 다음 이 혈청 500 µL를 취하여 시험관에 옮기고 여기에 내부표준물질로 록사핀(2 µg/mL) 메탄올 용액 100 µL를 가한 후 상기 검량선 작성을 위한 추출법에 따라 추출하여 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 펙소페나딘의 피크 면적비를 구하여 미리 작성된 검량선에 의해 혈청 시료 중 디피리다몰의 농도를 산출하였다.

**약물속도론적 파라미터의 산출 및 생체이용률 평가**

“디모르 정(디피리다몰 75 mg)” 1정을 각 기관별로 8명의 피험자에게 경구 투여하여 얻은 각 피험자의 약물속도론적 파라미터인 최고혈청중농도(C<sub>max</sub>), 최고혈청중농도 도달시간(T<sub>max</sub>), 혈청중 약물농도-시간곡선하 면적(AUC) 및 소실반감기(t<sub>1/2</sub>) 등은 WinNonlin 프로그램을 이용하여 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 평균±표준편차로 나타내었다.

**혈청 중 디피리다몰 정량 및 검증**

건강 성인의 대조혈청과 대조혈청에 내부표준물질인 록사핀과 디피리다몰을 함께 가한 것 및 디피리다몰 정제 투여 후 6시간째의 혈청을 본 시험방법에 따라 HPLC로 분석하여 얻은 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 디피리다몰 및 내부표준물질 피크의 출현시간은 세 기관 모두 약 3~4분 및 10~11분이었으며 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 2 ng/mL이었으며, 수용액 중 약물을 추출한 것의 평균 피크 면적에 대한 추출 시료 중 약물의 피크 면적비로부터 구한 평균 추출회수율(%)은 97.64%이었다. 혈청 시료로부터 구한 디피리다몰의 검량선은 피크 면적비(y)=0.0095×디피리다몰 농도(ng/mL, x)+0.0068(r=0.9999, p<0.01; 제1기관), y=0.0048x+0.0008(r=0.9999, p<0.01; 제2기관) 및 y=0.0064x-0.0013(r=0.9999, p<0.01; 제3기관)으로 2~2000



**Figure 2—Chromatograms of (A) blank human serum, (B) blank human serum spiked with dipyrindamole (50 ng/mL) and internal standard (IS, loxapine 400 ng/mL) and (C) serum sample at 6 hr after oral administration of 75 mg dipyrindamole tablet (The serum concentration of dipyrindamole correspond to 72.51 ng/mL). ✓=dipyrindamole peak.**

**Table II**—Precision and Accuracy for the Determination of Dipyridamole 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
2 (LLOQ)	4.18	5.83	13.99	9.44	11.51	13.54	107.00	101.14	100.00
5 (low)	10.77	10.34	13.53	9.27	6.00	6.25	104.14	103.64	101.60
50 (medium)	6.81	4.72	4.88	7.18	5.74	7.25	105.86	102.06	101.46
1000 (high)	8.35	4.36	3.23	4.85	4.62	4.08	103.94	103.93	100.17

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 <sup>6</sup> )	F*	P
Flow rate	4.31	4.098	0.060
pH	2.25	2.144	0.180
Content of organic solvent	1.10	1.049	0.394
Flow rate × pH	1.05	1.029	0.448
Flow rate × content of organic solvent	1.95	1.855	0.212
Content of organic solvent × pH	0.08	0.072	0.989
Flow rate × pH × content of organic solvent	1.05		

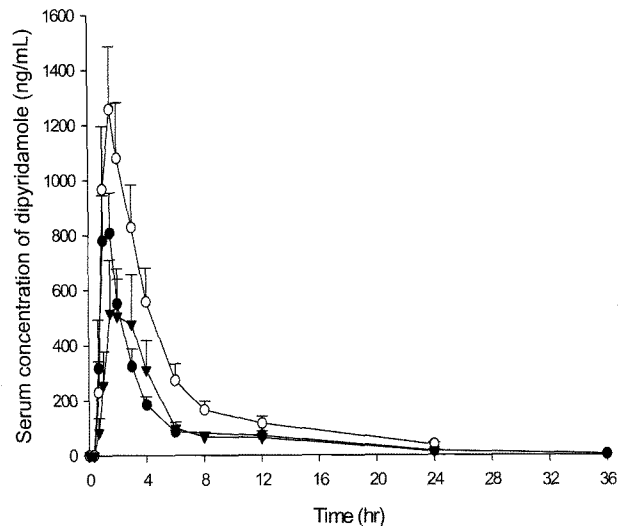
\*Error mean square based on flow rate, pH and content of organic solvent interactions, 8 d.f..

ng/mL 범위에서 모두 양호한 직선성을 나타내었다. 또한, 이 농도범위에 있어서 디피리다몰의 일내 및 일간 변동계수 (C.V.)는 세 기관 모두 15% 이하로 나타났고, 2, 5, 50 및 1000 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 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, 단기실온 및 표준원액 안정성 시험 결과, 각 QC 시료에 대해 각각 3회 반복 측정하여 얻은 측정 초기치에 대한 변동계수가 모두 10% 이내로 안정함을 나타내었다.

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

**혈청 중 디피리다몰 농도 추이**

“디모르 정(디피리다몰 75 mg)” 1정씩 세 기관에서 피험자 8명에게 각각 경구 투여한 후 일정 시간마다 채혈하여 얻은 각 기관 별 피험자에 대한 혈청 중 디피리다몰 평균



**Figure 3**—Mean (±S.E.) serum concentration-time curves of dipyridamole for each institute following oral administration of Dimor tablet (dipyridamole 75 mg). Key: ●; 1st institute (n=8), ○; 2nd institute (n=8), ▲; 3rd institute (n=8).

**Table IV**—Pharmacokinetic Parameter Values for Each Institute Obtained after Oral Administration of Dimor Tablet at the Dipyridamole Dose of 75 mg<sup>#</sup>

Parameters	1st Institute (n=8, t=36 hr)	2nd Institute (n=8, t=24 hr)	3rd Institute (n=8, t=24 hr)	Total (n=24)
AUC <sub>t</sub> (ng·hr/mL)	3027.91±1270.88	5781.33±2590.96	2701.88±2052.83	3836.99±2409.97
AUC <sub>∞</sub> (ng·hr/mL)	3067.02±1282.32	6224.19±2569.69	2975.43±2174.84	4137.24±2518.71
C <sub>max</sub> (ng/mL)	904.16±477.53	1393.62±690.60	626.98±533.21	974.92±637.11
T <sub>max</sub> (hr)	1.33±0.42	1.31±0.37	2.31±0.80	1.65±0.72
t <sub>1/2</sub> (hr)	6.31±0.63	7.99±3.70	6.03±0.89	6.81±2.34

<sup>#</sup>Mean±S.D..

농도를 Figure 3에 나타내었다. 또한, 각 피험자의 혈청 중 약물농도-시간 곡선으로부터 구한 약물속도론적 파라미터를 Table IV에 나타내었다. 디모르 정(디피리다몰 75 mg) 1정을 경구투여하였을 때 얻은 평균 AUC<sub>∞</sub>(ng·hr/mL)는 4137.24±2518.71, C<sub>max</sub>(ng/mL)는 974.92±637.11, T<sub>max</sub>(hr)는 1.65±0.72, t<sub>1/2</sub>(hr)은 6.81±2.34이었다. 이는 문헌<sup>3)</sup>에 보고된 디피리다몰 20 mg을 6명의 건강한 성인 지원자에게 정맥주사하였을 때의 최종상 반감기 11.6±2.2 시간과 최고혈중 농도 도달시간 2~2.5 시간과는 약간 다르게 나타났으나 이는 최종상 반감기를 구하는 방법에 기인하는 차이이거나 인종간 차이에 기인한 것으로 사료되었다.

## 결 론

사람 혈청 중 디피리다몰의 HPLC 분석법을 확립·검증하여 생물학적동등성시험을 위한 표준지침을 마련하고자 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험 기준<sup>4)</sup>에 따라 서로 다른 세 기관에서 각 8명의 건강한 한국인 성인 남성 총 24명을 대상으로 “디모르 정(디피리다몰 75 mg)” 1정씩을 경구 투여하여 생체이용률 시험을 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

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

2. 혈청시료로부터 구한 디피리다몰 검량선은 2~2000 ng/mL 범위에서 양호한 직선성을 나타내었고 최저 정량한계는 2 ng/mL이었다. 확립한 분석법을 검증한 결과 intra- 및 inter-day의 정확성 및 정밀성이 모두 15% 이내로 나타났고, 동결해동, 단기실온 및 표준원액 안정시험 결과 초기 측정치에 대한 변동성이 모두 10% 이내로 나타나 이 분석법은 충분한 감도, 정확성, 정밀성 및 안정성이 있음을 확인할 수 있었다.

3. 디피리다몰에 대해 확립한 HPLC 분석조건에서의 이

동상의 pH, 유기용매의 함량 및 유속의 변화에 따른 약물 피크 면적이나 출현시간에 미치는 영향을 측정하여 요인분석을 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 “디모르 정(디피리다몰 75 mg)” 1정을 경구 투여한 결과 평균 AUC<sub>∞</sub>(ng·hr/mL)는 4137.24±2518.71, C<sub>max</sub>(ng/mL)는 974.92±637.11, T<sub>max</sub>(hr)는 1.65±0.72 및 t<sub>1/2</sub>(hr)은 6.81±2.34이었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청 국립독성연구원의 지원(KFDA-02142-약동성-505)을 받아 전남대학교 약학대학에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 1) J.M. Boeynaems, A. Van Coevorden and D. Demolle, Dipyridamole and vascular prostacyclin production, *Biochem. Pharmacol.*, **35**(17), 2897-2902 (1986).
- 2) T.H. Muller, C.A. Su, H. Weisenberger, R. Brickl, G. Nehmiz and W.G. Eisert, Dipyridamole alone or combined with low-dose acetylsalicylic acid inhibits platelet aggregation in human whole blood ex vivo, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **30**(2), 179-186 (1990).
- 3) Martindale, The complete drug reference, 32 editions 1999, p. 226 (1999).
- 4) 식품의약품안전청 고시 제 2002-60호, 생물학적동등성시험 기준 (2002. 11. 22).
- 5) C. Mahony, K.M. Wolfram, D.M. Cocchetto and T.D. Bjornsson, Dipyridamole kinetics, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **31**(3), 330-380 (1982).

- 6) K.M. Wolfram and T.D. Bjornsson, High-performance liquid chromatographic analysis of dipyridamole in plasma and whole blood, *J. Chromatogr.*, **183**(1), 57-64 (1980).
- 7) M. Berbri, J.L. Merlin and B. Weber, Sensitive determination of free and plasma protein-bound dipyridamole by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **565**, 511-515 (1991).
- 8) WinNonlin™ Users Guide Ver. 3.0, Pharsight Corp. Mountain View, CA, USA (1998-1999).