

## HPLC-MS를 이용한 생체시료 중 니세르골린의 주대사체인 10 $\alpha$ -Methoxy-9,10-dihydrolysergol(MDL)의 분석 및 이를 이용한 한국인 성인 남성에게 대한 생체이용률 응용

임현균 · 유선동\* · 김경호\*\* · 한상범 · 염정록#

중앙대학교 약학대학, \*성균관대학교 약학대학, \*\*강원대학교 약학대학

(Received March 9, 2007; Revised April 19, 2007)

### Determination of 10 $\alpha$ -Methoxy-9,10-dihydrolysergol (MDL), Main Metabolite of Nicergoline, in Human Plasma by HPLC-MS and Applicability to Oral Bioavailability in Korean Healthy Male Volunteers

Hyon Kyun Lim, Sun Dong Yoo\*, Kyeong Ho Kim\*\*, Sang Beom Han and Jeong-Rok Youm#

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

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

\*\*College of Pharmacy, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

**Abstract** — A simple and sensitive HPLC-MS method for quantitation of 10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol (MDL), the main metabolite of nicergoline, in human plasma was developed and the bioavailability parameters of MDL was assessed in Korean healthy male volunteers. Clomipramine was used as an internal standard. MDL and internal standard in plasma sample were extracted using ethyl acetate. A centrifuged upper layer was then evaporated and reconstituted with mobile phase of 10 mM ammonium acetate-acetonitrile (10 : 90, v/v). The reconstituted samples were injected into a Zorbax SB-C8 column (2.1 $\times$ 150 mm, 5  $\mu$ m) at a flow-rate of 0.3 ml/min. Using MS with selected ion monitoring (SIM) mode, MDL and clomipramine were detected without severe interference from human plasma matrix. MDL produced a protonated molecular ion ( $[M+H]^+$ ) at  $m/z$  287. Internal standard produced a protonated molecular ion ( $[M+H]^+$ ) at  $m/z$  315. A linear relationship for MDL was found in the range of 2.5~100 ng/ml. The lower limit of quantitation (LLOQ) was 2.5 ng/ml with acceptable precision and accuracy. The intra- and inter-day validation for all coefficients of variation (R.S.D.%) were found less than 15%. Main pharmacokinetic parameters of 30 mg of nicergoline were revealed as follows: AUC, 321.1 $\pm$ 64.5 ng·hr/ml, C<sub>max</sub> 51.2 $\pm$ 25.3 ng/ml, T<sub>max</sub> 3.6 $\pm$ 1.5 hr, K<sub>el</sub> 0.12 $\pm$ 0.07 hr<sup>-1</sup> and t<sub>1/2</sub> 7.6 $\pm$ 3.4 hr. Inter subject variations and race differences were shown in comparison with the published data in the literature.

**Keywords** □ nicergoline, 10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol (MDL), bioavailability parameters, high performance liquid chromatography, mass spectrometry

니세르골린(Nicergoline, (8 $\beta$ )-10-Methoxy-1,6-dimethylergoline-8-methanol 5-bromo-3-pyridinecarboxylate(ester), C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, M.W. 484.39, Fig. 1(A))은 반합성 맥각 알카로이드 유도체(derivative of semisynthetic ergot alkaloids)로서 이탈리아의 제약회사 Farmitalia Carlo Erba가 처음으로 개발하였다.<sup>1-4)</sup> 니세르골린은 혈관확장과 알파 수용체 차단 효과를 나타내고 있으며,<sup>4)</sup>

혈류와 뇌대사 기능향진제로서 사용되고 있다.<sup>5)</sup>

니세르골린은 경구투여 후 대부분 1-methyl-10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol(MMDL), 1-hydroxymethyl-10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol(1-OHMDL) 그리고 10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol(MDL, Fig. 1(B))로 대사된다.<sup>6-8)</sup> 따라서 니세르골린 및 3가지 대사체의 동시 정량을 통하여 니세르골린의 약동력학적인 연구를 수행하려는 많은 노력이 있었으나, 니세르골린이 혈액 내에 극미량으로 존재하여 이제까지 개발된 어떠한 크로마토그래프 분석법으로도 경구투여 후 체내에 존재하는 니세르골린을 검출할 수 없었다. 다만, 동물실험을 통한 니세르골린의 흡수, 분

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 02-820-5601 (팩스) 02-3280-5596

(E-mail) youmjr@cau.ac.kr

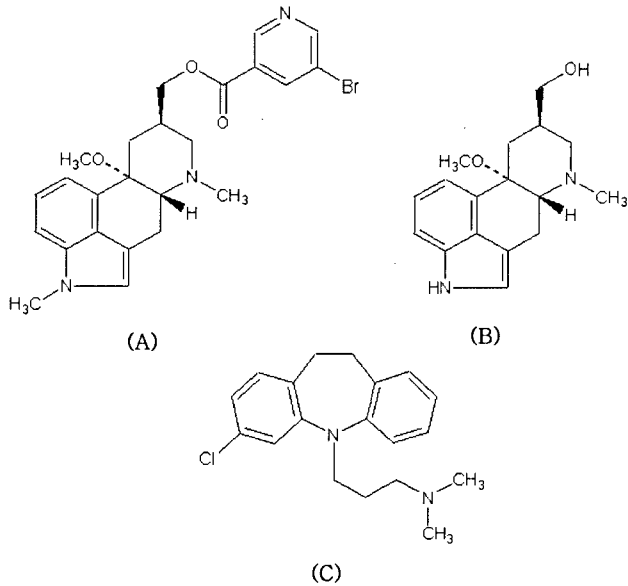


Fig. 1 - Structure of (A) Nicergoline, (B) 10 $\alpha$ -methoxy-9,10-dihydrolysergol (MDL), (C) Clomipramine (IS).

포, 대사, 배설(ADME)에 대한 정보는 Arcamone *et al.*<sup>3)</sup>이 tritium으로 치환한 약물을 사용하여 보고하였다.

Kohlenberg-Müller *et al.*<sup>6)</sup>은 니세르골린 30 mg을 인체에 반복 경구 투여하고 24시간 후에 채혈할 경우, 니세르골린은 거의 검출되지 않았고, 니세르골린의 대사체인 MDL의 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>ss</sub>)이 637.92 $\pm$ 156.33 ng·hr/ml, 최고혈장중농도(C<sub>ss,max</sub>)가 88.18 $\pm$ 29.93 ng/ml, 최고혈장중농도 도달시간(T<sub>ss,max</sub>)이 2.63 $\pm$ 0.79 hr인 것으로 보고하였다. 또한 개체간 생체이용률에 있어서 편차가 심하다고 보고하였는데, 그 이유로 metabolic polymorphism을 이유로 거론하였다. 즉, MMDL이 체내에서 cytochrome 2D6에 의해 MDL로 변환된다는 것이다. 한편 Banno *et al.*<sup>7)</sup>은 니세르골린 15 mg을 사람에게 경구 투여하고 니세르골린과 3가지 대사체를 동시분석한 결과, 대사되지 않은 니세르골린은 다른 문헌과 마찬가지로 전혀 검출되지 않았으며, 대사체인 MDL이 3.5시간 후에 약 30 ng/ml의 농도로 검출되었고, MMDL과 1-OHMDL은 최고 5~7 ng/ml의 농도로 검출되었다고 보고하였다.

생체시료 중에서 니세르골린과 그 대사체를 분석하기 위하여 현재까지 TLC법,<sup>8-10)</sup> HPLC법,<sup>10-14)</sup> TLC-MS법,<sup>15)</sup> HPLC-API-MS법,<sup>7,16)</sup> immunoassay 방법<sup>17)</sup> 등이 개발되어 보고되었다. 하지만 보고된 어떠한 분석법으로도 그 정량한계를 체내에 존재하는 니세르골린의 농도보다 낮게 적용할 수 없었다. 또한 니세르골린과 그 대사체들은 질소를 포함하는 염기성 약물로 일반적인 ODS 칼럼을 사용하는 크로마토그래피 방법에서 피크 끌림 현상, 오랜 머무름 시간, 낮은 분리능, 낮은 재현성 등의 문제가 자주 발생하여 동시 분석에 많은 어려움이 있었다. 이를 해결하기 위

하여 Banno 그룹<sup>7,15,16)</sup>이 HPLC-API-MS 분석법을 적용하여 분석 성분의 선택성(selectivity)을 매우 높였으며, 이동상의 조성과 기울기 용리를 최적화하여 생체시료와 인공 위장액 중에서 니세르골린 대사체들을 동시에 고감도로 분석할 수 있었다.

국내에서 한국인을 대상으로 한 니세르골린의 생체이용률시험이 행해진 바가 없으며, 이에 따라 한국인의 니세르골린에 대한 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>t</sub>), 최고혈장중농도(C<sub>max</sub>)와 최고혈장중농도 도달시간(T<sub>max</sub>)과 소실반감기(t<sub>1/2</sub>) 등이 보고되어 있지 않아, 의료 전문가에게 약물의 정보가 제한되어 제공되고 있는 상황이다.

따라서, 본 연구에서는 8명의 건강한 한국인 성인 남성을 대상으로, 니세르골린 기준 시판제제인 "사미온정 30 mg"(Nicergoline) 1정을 1회 경구 투여한 생체이용률시험을 실시하고, HPLC-MS 분석법으로 주요 대사체인 MDL을 정량하여, 니세르골린 제제를 경구 투여할 때의 약물속도론적 파라미터를 제시하였으며, 기존에 발표된 외국인에서의 자료와 비교함으로써 향후 약물치료에 유용한 자료로 활용될 수 있도록 하였다.

## 실험 방법

### 시약 및 기기

생체이용률시험에 사용된 시험약은 의약품임상시험관리기준<sup>18)</sup> 제 36조 및 제 37조 규정에 따라 제조한 일동제약(주)의 "사미온정 30 mg"(제조번호 : C05002, 사용기간 : 2007년 5월 30일)으로 니세르골린을 30 mg 함유하는 정제이다. MDL 표준품과 내부표준물질로 사용한 클로미프라민(Clomipramine, Fig. 1(C)) 표준품은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, HPLC용 아세토니트릴은 Fisher사(Fair Lawn, NJ, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 주사용 생리식염수 및 헤파린은 중외제약(Seoul, Korea)으로부터 구입하였으며, 증류수는 PURE-UP(Chem-Science, USA)에서 18 M $\Omega$ -cm가 되게 여과한 것을 사용하였다. 에틸 아세테이트 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

혈장 시료 분석에 있어서 HPLC용 펌프로 Agilent 1100 Series (Palo Alto, CA, USA)를, HPLC용 칼럼으로는 Zorbax SB-C8 column(2.1 $\times$ 150 mm, 5  $\mu$ m, Agilent, CA, USA)을, MS 검출기로는 API 3000 LC-MS/MS system(Applied Biosystems MDS SCIEX, Concord, Canada)을 사용하였다. 데이터 처리장치로는 Analyst(Ver. 1.4)를 사용하였으며, 약물동력학적 파라미터들은 국립독성연구원에서 분양받은 K-BE test 2002 프로그램을 사용하여 산출하였다.

### 피험자 선정 및 관리

피험자는 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준<sup>19)</sup>에 근거하여 만 19~55세의 건강한 성인으로서 과거에 소화

기계, 간장, 심장, 심혈관계, 중추신경계, 내분비계 및 혈액 질환의 병력이 없고 현재 타 약물을 복용하고 있지 않은 지원자를 공고를 통하여 모집하였다. 9명의 지원자를 대상으로 시험 설명회를 통하여 시험의 필요성, 시험대상 성분에 대한 약리작용 및 이상약물반응 가능성 등을 설명하였고, 이들을 대상으로 의료법인 비이의원 건강검진센터에서 건강진단을 실시하였다. 지원자 중 피험자 선정기준에 모두 적합하고 제외기준에 해당되지 않는 건강한 사람으로 판정된 8인을 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.

#### 약물 투약 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 1정씩 240 ml의 물과 함께 투약하였다.

니세르골린 30 mg 정제의 소실반감기가 약 8시간인 것을 바탕으로 하여 식품의약품안전청이 고시한 생물학적동등성시험기준<sup>19)</sup>에 따라, 채혈시간은 반감기의 3배 이상인 24시간 동안으로 하였고, 채혈횟수는 약물투약 직전과 투약 후 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 9, 12 및 24시간의 총 12시점에서 실시하였다.

채혈 방법은 I.V. catheter 중에 남아 있는 헤파린 처리 생리식염수를 완전히 제거하기 위해 매번 약 1 ml의 혈액을 빼내어 버리고 heparinized vacutainer에 약 10 ml의 혈액을 채취하였다. 채혈 후마다 I.V. catheter 중에 잔류하는 혈액의 응고를 방지하기 위하여 주사용 헤파린을 넣은 주사용 생리식염수 0.5 ml를 주입하여 잔류 혈액을 혈관 내로 밀어 넣었다. 채혈된 혈액의 응고를 방지하고 혈구의 파괴를 막기 위해 vacutainer를 천천히 흔들어 섞고 잠시 방치한 다음 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 혈장만을 취하여 polypropylene tube에 옮겨 담고 분석할 때까지 영하 70°C에서 보관하였다.

#### 혈장 중 MDL의 정량

**검량선 작성** - 니세르골린 대사체인 MDL 표준품을 이동상에

녹여 농도를 MDL로서 0.065 mg/ml로 만들어 냉장 보관하였고, 이 용액을 이동상으로 희석하여 MDL의 혈장 중 농도가 각각 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ng/ml가 되도록 표준혈장을 만들었다. 표준혈장 500  $\mu$ l에 내부표준물질(클로미프라민, 500 ng/ml in MeOH) 50  $\mu$ l와 2.8% 암모니아수(진한 암모니아수(28%))를 증류수로 10배 희석을 500  $\mu$ l를 가하고 여기에 추출용매로서 에틸아세테이트 4.0 ml를 가한 후 10분간 잘 섞어 추출하였다. 10분간 3500 rpm에서 원심분리한 후, 상정액을 취해 40°C에서 질소기류 하에 증발건조 시켰다. 증발건조 시킨 잔사를 이동상 200  $\mu$ l로 재용해한 후 이 중 10  $\mu$ l를 취하여 HPLC-MS에 주입하였다. 여기에서 얻은 내부표준물질의 피크 면적에 대한 MDL의 피크 면적비를 가지고 검량선을 작성하였다. 하루에 실험을 5번 시행하여 일내 재현성을 구하고 5일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

**HPLC-MS 조건** - 전처리한 혈장 시료는 다음의 조건에서 정량하였다. 이동상으로는 10 mM 암모늄 아세테이트 완충액과 아세토니트릴의 혼합액(10 : 90, v/v)을 사용하였으며, 칼럼은 Zorbax SB-C8(2.1  $\times$  150 mm, 5  $\mu$ m, Agilent, CA, USA)을 사용하였다. 유속은 0.3 ml/min였으며, 피크 검출은 triple-quadrupole mass spectrometer에서 Q1 quadrupole만 사용하여 selected ion monitoring(SIM) 방법으로 검출하였다. 이온화는 electrospray ionization(ESI)을 사용하여 positive ion mode로 분석하였으며, nebulizing gas와 collision gas는 모두 질소가스를 사용하였고, ion spray 온도는 350°C로 설정하였다. Selected ion monitoring 방법을 이용하여 MDL과 내부표준물질인 클로미프라민을 각각 m/z 287과 m/z 315의 수소화된 분자이온([M+H]<sup>+</sup>)으로 모니터링 하였다.

**혈장 시료의 처리 및 농도 계산** - 피험자로부터 각 시간별로 채취하여 영하 70°C에 보관했던 혈장 시료를 실온에 방치하여 녹인 후 0.5분간 탁상용 혼합기에서 잘 섞은 다음, 이 혈장 시료 500  $\mu$ l를 취하여 glass tube에 옮기고 표준혈장의 검량선 작성 방법과 동일한 방법으로 전처리한 후 HPLC-MS에 주입하였다. 얻어진 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 MDL의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 MDL의 농도를 구하였다.

#### 생체이용률 파라미터

주요 생체이용률(Bioavailability, BA) 파라미터로서 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>t</sub>)은 HPLC-MS 분석방법에 의해서 얻은 혈장중약물농도-시간곡선으로부터 사다리꼴 공식에 의하여 구하였다. 최고혈장중농도(C<sub>max</sub>)와 최고혈장중농도 도달시간(T<sub>max</sub>)은 실측치로부터 직접 구하였다. 혈장 중 MDL의 소실속도상수(K<sub>el</sub>) 및 소실반감기(t<sub>1/2</sub>)는 생물학적동등성시험 통계처리용 프로그램인 K-BE test 2002<sup>20)</sup>를 이용하여 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 혈장 중 MDL의 분석법 검증

니세르골린의 주대사체인 MDL과 내부표준물질인 클로미프라민은 positive ion mode에서 수소화된 분자이온( $[M+H]^+$ )인  $m/z$  287과  $m/z$  315가 가장 강한 검출세기를 보여, 이 이온들을 각 물질의 정량 이온으로 선정하였다. 건강한 성인 공혈장과 공혈장에 MDL, 내부표준물질을 함께 가한 것 및 니세르골린 제제 30 mg을 경구투여한 후 4시간 후에 채취한 혈장시료를 본 시험 방법에 따라 전처리한 후, HPLC-MS로 분석하였을 때 얻어진 크로마토그램을 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다. MDL 피크의 머무름 시간은 약 3.7분, 내부표준물질인 클로미프라민 피크의 머무름 시간은 약 6.1분이었다. HPLC-MS selected ion monitoring의 높은 선택성으로 인하여 불감부피(dead volume)에 해당하는 매우 극성성분인 피크 외에는 어떠한 피크도 검출되지 않았으며, 피크의 모양과 MDL 및 내부표준물질의 분리상태는 매우 양호하였다. 또한 불감부피 위치에서 검출되는 피크는 MDL의 정량과 분석법 검증에 어떠한 영향도 주지 않았다. 이는 생체시료와

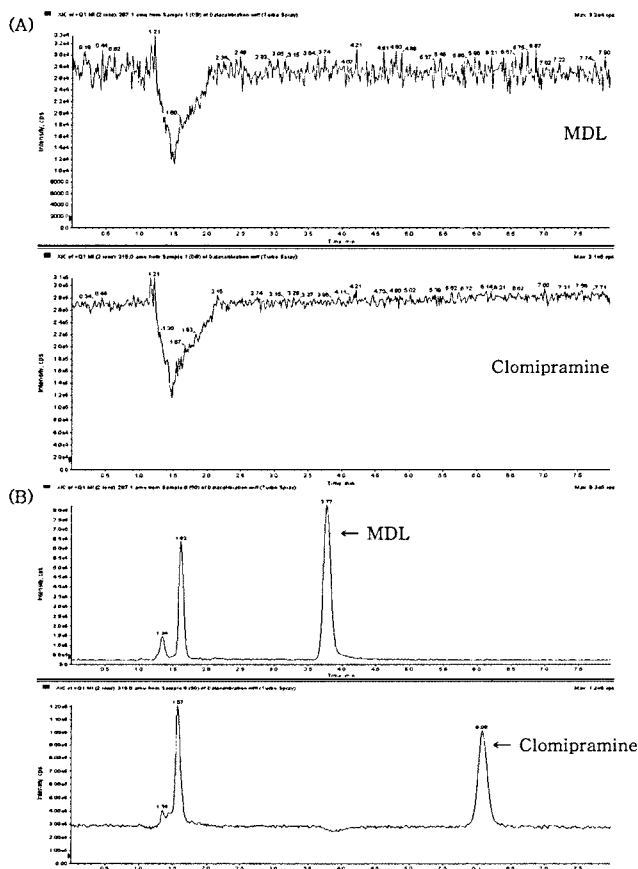


Fig. 2 – HPLC-MS chromatograms of (A) a blank human plasma sample, (B) human plasma spiked with 50 ng/ml of MDL and 500 ng/ml of clomipramine (internal standard).

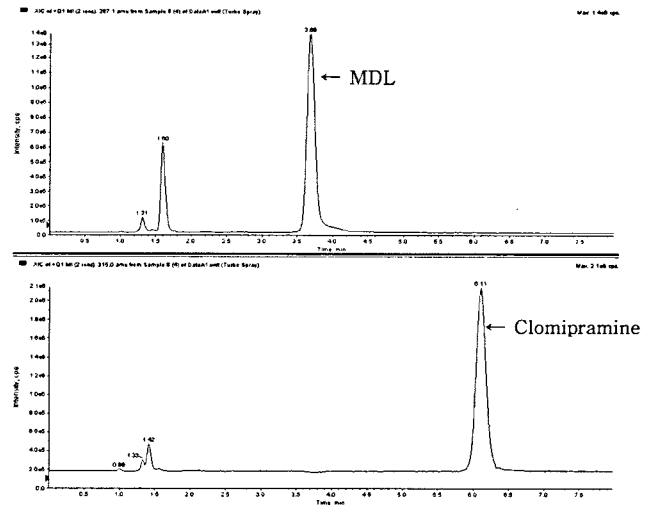


Fig. 3 – HPLC-MS chromatograms of volunteer's plasma sample at 4 hr after oral administration of 30 mg nicergoline tablet.

같이 매우 복잡한 matrix에서 selected ion monitoring 방식으로 한 개의 이온만을 선택하여 분석할 때 가끔씩 발생할 수 있는 경우로 판단하였다.

공혈장 시료, 공혈장에 내부표준물질 50  $\mu$ l를 가한 혈장시료, 2.5, 5, 10, 25, 50 및 100 ng/ml 표준혈장에 내부표준물질 50  $\mu$ l를 가한 혈장시료를 전처리하여 HPLC-MS로 분석하였을 때, 혈장시료로부터 구한 MDL 검량선의 계산식은  $Y(\text{MDL}/\text{내부표준물질 피크면적의 비율}) = 0.0331 X(\text{MDL농도, ng/ml}) - 0.0009$  ( $r^2 = 0.9998$ )로 2.5~100 ng/ml 범위에서 양호한 직선성을 나타내었다(Fig. 4).

혈장 중 MDL 최저정량한계(LLOQ, lower limit of quantitation)는 크로마토그램상에서 신호대 잡음비(S/N ratio)를 9로 하고 정밀성이 20% 이하이고 정확성이 80~120%인 조건을

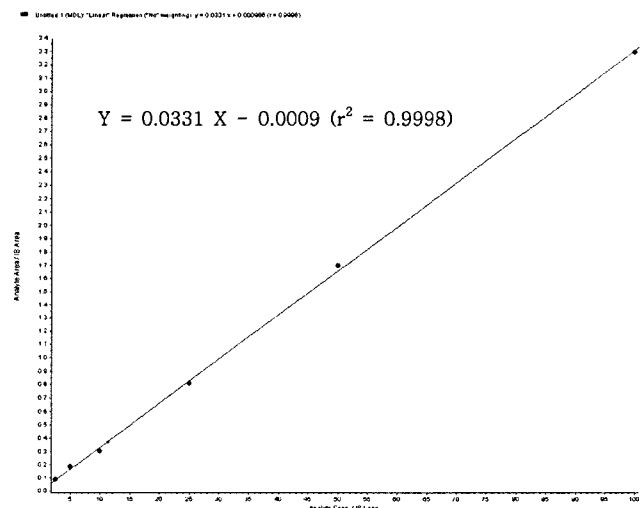


Fig. 4 – Calibration curve of MDL in human plasma.

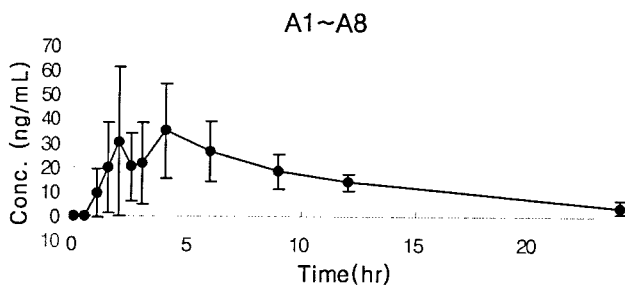
**Table I** – Precision and accuracy of HPLC-MS analysis for MDL in human plasma

Conc. (ng/ml)	Precision (Coefficient of Variation : %)		Accuracy (n=5)
	Intra-Day (n=5)	Inter-Day (n=5)	
2.5	7.7	3.0	95.2
5	6.8	13.6	91.0
10	4.8	6.3	87.9
25	3.6	8.6	89.3
50	6.5	4.9	89.2

만족하는 농도로 하여 2.5 ng/ml로 정하였다. 이는 Banno *et al.*<sup>7)</sup>이 신희대 잡음비(S/N ratio)를 4로 하여 보고한 검출한계(LOD) 2 ng/ml보다 다소 향상된 결과이다. 각기 다른 5가지 농도(2.5, 5, 10, 25, 50 ng/ml)의 MDL 표준혈장을 상기의 검체처리방법으로 처리하여 분석하여 정밀성과 정확성을 구하였다(Table I). 정밀성은 5회 반복 분석하여 MDL과 내부표준물질의 피크면적비의 표준편차를 MDL과 내부표준물질의 피크면적비의 평균값으로 나눈 비의 백분율(%)로서 구하였다. 하루에 5번 실험하여 일내 정밀성을 구하였고, 5일간 실험을 반복 시행하여 일간 정밀성을 구하였다. 정확성도 5회 반복 분석하여 검량선에 의하여 정량한 농도의 평균값을 기지의 농도로 나눈 비의 백분율(%)로서 구하였다. 본 분석방법의 정밀성(C.V., %)은 일내 정밀성이 7.7%(2.5 ng/ml) 이하, 일간 정밀성은 13.6%(5 ng/ml) 이하를 나타내었고, 정확성은 89.2~95.2%이었다. 이로부터 혈장 중 MDL에 대한 본 연구의 HPLC-MS 분석법은 인체에 대한 생체이용률 시험에 이용될 수 있는 충분한 감도, 특이성, 직선성, 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

#### 니세르골린 제제의 생체이용률

피험자 8인에게 "사미온정 30 mg" 1정(니세르골린으로서 30 mg)을 물 240 ml와 함께 경구 투여한 후 일정시간마다 채혈하여 얻은 혈장 중 MDL의 혈장중약물농도-시간곡선을 Fig. 5에 나타내었다. 피험자 A4는 정상적으로 채혈하여 시료를 확보하였으나,



**Fig. 5** – Mean plasma concentration-time curve of MDL following oral administration of Sermion™ tablet at the dose of 30 mg of nicergoline (Mean $\pm$ S.D., n=7).

**Table II** – Individual pharmacokinetic parameters of Sermion™ 30 mg tablet (30 mg Nicergoline)

Subject	Parameters				
	AUC (ng · hr/ml)	C <sub>max</sub> (ng/ml)	T <sub>max</sub> (hr)	K <sub>el</sub> (hr <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (hr)
A1	331.5	97.1	2.0	0.06	11.9
A2	320.3	37.2	4.0	0.11	6.6
A3	355.0	38.0	4.0	0.07	10.3
A5	279.0	29.5	6.0	0.08	8.5
A6	438.4	73.9	4.0	0.22	3.2
A7	284.6	51.1	1.5	0.07	9.6
A8	238.6	31.5	4.0	0.22	3.1
Mean	321.1	51.2	3.6	0.12	7.6
S.D.	64.5	25.3	1.5	0.07	3.4

실수로 검체를 전부 손실하여 생체파라미터 산출 계산에서 생략하였다. Table II에는 피험자 7인에 대한 MDL의 흡수 파라미터(AUC<sub>t</sub>, C<sub>max</sub> 및 T<sub>max</sub>)와 소실 파라미터(K<sub>el</sub>, t<sub>1/2</sub>) 등을 나타내었다.

"사미온정 30 mg"에 대한 24시간까지의 평균 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>t</sub>)은 321.1 $\pm$ 64.5 ng · hr/ml, 최고혈중농도(C<sub>max</sub>)는 51.2 $\pm$ 25.3 ng/ml, 최고혈중농도 도달시간(T<sub>max</sub>)은 3.6 $\pm$ 1.5 hr, 소실속도상수(K<sub>el</sub>)는 0.12 $\pm$ 0.07 hr<sup>-1</sup>, 소실반감기(t<sub>1/2</sub>)는 7.6 $\pm$ 3.4 hr이었다.

니세르골린에 대한 약물속도론적 파라미터에 대한 보고는 매우 제한되어 있다. Kohlenberg-Müller *et al.*<sup>6)</sup>의 연구에서는 니세르골린 30 mg을 7일간 반복투여하여 정상상태(steady state)가 된 후, 니세르골린 30 mg을 다시 투여하고 24시간 동안 채혈하였다. 그 결과, 평균 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>ss</sub>)은 637.92 $\pm$ 156.33 ng · hr/ml, 최고혈중농도(C<sub>ss,max</sub>)는 88.18 $\pm$ 29.93 ng/ml, 최고혈중농도 도달시간(T<sub>ss,max</sub>)은 2.65 $\pm$ 0.79 hr로 보고되고 있어, 본 연구 결과와 다소 차이를 보이고 있다. 이는 반복투여와 단회 투여에 대한 약물속도론적 파라미터의 차이뿐만 아니라, 인종간 차이가 있을 것이고, Kohlenberg-Müller *et al.*이 혈중 MDL을 HPLC 방법으로 정량하여, 분석 방법에 따른 혈중농도 차이도 있고, 또한 metabolic polymorphism의 차이로 인한 개체간의 편차가 매우 커서, 본 연구에서 수행한 7명의 피험자에 대한 데이터로 비교하기에는 충분히 큰 차이가 발생할 수 있을 것으로 사료된다. 실제로 본 연구에서 산출한 피험자 7인에 대한 MDL의 흡수 파라미터(AUC<sub>t</sub>, C<sub>max</sub> 및 T<sub>max</sub>)와 소실 파라미터(K<sub>el</sub>, t<sub>1/2</sub>)를 보면, 각 파라미터들의 상대표준편차가 AUC<sub>t</sub> 20.1%, C<sub>max</sub> 49.4%, T<sub>max</sub> 41.7%, K<sub>el</sub> 58.3%, t<sub>1/2</sub> 44.7%로 개체간 차가 크게 나타났다.

#### 결론

니세르골린은 아직까지 국내에서는 한국인을 대상으로 한 생체이용률시험이 행해진 바가 없으며, 이에 따라 한국인의 니세

르골린의 대사체인 MDL에 대한 혈장중약물농도-시간곡선하면적(AUC<sub>t</sub>), 최고혈장중농도(C<sub>max</sub>)와 최고혈장중농도 도달시간(T<sub>max</sub>), 소실반감기(t<sub>1/2</sub>) 등이 보고되어 있지 않아, 의료 전문가에게 약물의 정보가 제한된 측면이 있었다. 따라서 본 연구에서는 HPLC-MS 분석법을 이용하여, 8 명의 건강한 한국인 성인 남성을 대상으로 니세르골린의 기존 시판제제인 일동제약(주)의 "사미온정 30 mg"에 대하여 생체이용률시험을 실시하여 니세르골린 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 니세르골린의 생물학적동등성시험을 하는데 있어서 표준지침이 될 수 있도록 하였다.

### 감사의 말씀

본 연구는 식품의약품안전청의 국립독성연구원의 지원(관리번호 : 04142 약동성 410)을 받아 중앙대학교에서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) Barbieri, W., Bernardi, L., Bosisio, G. and Temperilli, A. : Configuration and conformation of 10-methoxydihydrolysergic acid derivatives. *Tetrahedron*. **25**, 2401 (1969).
- 2) Mahin, D. T. and Lofberg, R. T. : A simplified method of sample preparation for determination of tritium, carbon-14, or sulfur-35 in blood or tissue by liquid scintillation counting. *Anal. Biochem.* **16**, 500 (1969).
- 3) Arcamone, F., Glässer, A. G., Grafnetterova, J., Minghetti, A. and Nicoletta, V. : Studies on the metabolism of ergoline derivatives Metabolism of nicergoline in man and in animals. *Biochem. Pharmacol.* **21**, 2205 (1972).
- 4) Arcari, G., Dorigotti, L., Fregnan, G. B. and Glasser, A. : Vasodilating and alpha-receptor blocking activity of a new ergoline derivative. *Br. J. Pharmacol.* **34**, 700 (1968).
- 5) Caraci, F., Chisari, M., Frasca, G., Canonico, P. L., Battaglia, A., Calafiore, M., Battaglia, G., Bosco, P., Nicoletti, F., Copani, A. and Sortino, M. A. : Nicergoline, a drug used for age-dependent cognitive impairment, protects cultured neurons against  $\beta$ -amyloid toxicity. *Brain Research* **1047**, 30 (2005).
- 6) Kohlenberg-Müller, K., Meier, D. H., Kunz, K., Wauschkuhn, C. H. and Schaffler, K. : Comparative studies on the bioavailability of nicergoline from two different steady-state preparations. *Arzneim. Forsch. Drug Res.* **41**, 728 (1991).
- 7) Banno, K., Horimoto, S., and Mabuchi, M. : Assay of nicergoline and three metabolites in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **568**, 375 (1991).
- 8) Cavazzutti, G., Gagliardi, L., Amato, A., Profili, M., Zagarese, V., Tonelli, D. and Gattavecchia, E. : Colour reactions of iodic acid as reagent for identifying drugs by thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.* **268**, 528 (1983).
- 9) Musumarra, G., Scarlata, G., Cirma, G., Romano, G., Palazzo, S., Clementi, S. and Giulietti, G. : Identification of drugs by principal components analysis of standardized thin-layer chromatographic data in four eluent systems. *J. Chromatogr.* **350**, 151 (1985).
- 10) Ahmad, A. K. S., Kawy, M. A. and Nebsen, M. : First derivative ratio spectrophotometric, HPTLC-densitometric and HPLC determination of nicergoline in presence of its hydrolysis-induced degradation product. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **30**, 479 (2002).
- 11) Flieger, M., Sedmera, P. Vokoun, J., Rehacek, Z., Stuchlik, J. and Cerny, A. : Liquid chromatography of semisynthetic ergot preparations I. Nicergoline. *J. Chromatogr.* **284**, 219 (1984).
- 12) Tesarova, E., Zaruba, K. and Flieger, M. : Enantioseparation of semisynthetic ergot alkaloids on vancomycin and teicoplanin stationary phases. *J. Chromatogr.* **844**, 137 (1999).
- 13) Sioufi, A., Sandrenan, N. and Godbillon, J. : Determination of 10 alpha-methoxy-9,10-dihydrolysergol, a nicergoline metabolite, in human urine by high performance liquid chromatography. *Biomed. Chromatogr.* **6**, 9 (1992).
- 14) Yalcin, G. and Yuktas, F. N. : An efficient separation and method development for the quantifying of two basic impurities of nicergoline by reversed-phase high performance liquid chromatography using ion-pairing counter ions. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **42**, 434 (2006).
- 15) Banno, K., Matsuoka, M. and Takahashi, R. : Quantitative analysis by thin-layer chromatography with secondary ion mass spectrometry. *Chromatographia* **32**, 179 (1991).
- 16) Banno, K. and Horimoto, S. : Separation and quantitation of nicergoline and related substances by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Chromatographia* **31**, 50 (1991).
- 17) Ezan, E., Delestre, L., Legendre, S., Riviere, R., Doignon,

- J.-L. and Grognet, J.-M. : Immunoassay for the detection of nicergoline and its metabolites in human plasma. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **25**, 123 (2001).
- 18) 식품의약품안전청 고시 제1999-67호(1999. 1. 4) : 의약품임상시험관리기준.
- 19) 식품의약품안전청 고시 제2002-60호(2002. 11. 22) : 생물학적동등성시험기준.
- 20) Lee, Y., Kim, Y., Lee, M., Chung, S., Lee, M. and Shim, C. : Analysis of bioequivalence study using log-transformed model. *Yakhakhoeji* **44**, 308 (2000).