

韓國人에 있어서의 Sulfamethizol의 Acetylation에 관한 生物藥劑學的 研究

姜 榮 秀

釜山大學校醫科大學 附屬病院藥局

Studies on Biopharmaceutics for Acetylation of Sulfamethizole to Korean

Young Soo Kang*

(Received May 7, 1975)

In the course of the investigations on drug metabolism and drug disposition in man, it has been noted that there are often rather striking individual differences in the response to drugs and in the ability to metabolize and dispose of drugs.

Some of the person-to-person differences are due to environmental factors, but some have clearly demonstrated to be genetically determined.

This report determined the rate of acetylation and some constants of sulfamethizole to Korean.

The results are as follows:

The overall removal rate of drug from the body is $0.572(k, \text{hr}^{-1})$ the rate constant for acetylation, $0.222(k, \text{hr}^{-1})$ the rate constant for excretion of unchanged drug, $0.350(k, \text{hr}^{-1})$ and the fraction of a dose ultimately excreted in the urine as unchanged drug is 0.677.

And this report determined the optimal time to make a single blood level determination after an oral dose of the drug and obtain a reasonable index of the rate of sulfamethizole metabolism. The resulting data (sulfamethizole levels at 5 hours after drug administration) clearly established bimodality even though only about 106 subjects were tested.

* Dept. of Pharmacy, College of medicine, Busan National University.

緒 論

Evans等¹⁾은 sulfa劑의 體內不活性化는 주로 acetyl化에 起因하며, 그 一部分은 N-glucuronides로서 排泄된다고 報告하였으며 Mead等²⁾은 sulfamethizole은 人體에 吸收되어 一部分이 acetyl化되어 急速히 遊離 sulfamethizole과 더불어 5~7% 程度의 acetyl 化體가 尿中에 排泄되며 아울러 經口投與後 5時間 以內에 約 60%가 排泄되고 15時間後에는 거의 全部가 體外로 排泄된다고 報告한 바 있다.

한편 Peterson³⁾, Reinhold⁴⁾, Nelson⁵⁾들은 sulfonamide類中 sulfamethizole과 같은 것은 acetyl化率에 個人差가 있음을 確認하고, 한편 Simpson과 Kalow⁶⁾는 sulfonamide類의 吸收, 排泄에 關한 研究에서 그 acetyl化率에 個人差가 없다고 結論하고 3), 4), 5)의 主張을 否認하였다. 이어 Nelson等⁷⁾은 sulfamethizole을 4人的 健康人에게 經口投與後 藥物이 血液과 體液中에 完全히 平衡에 到達한 다음 排泄尿中에서 遊離 및 變化된 藥物을 測定하고 이로부터 acetyl 化速度定數(k , hr^{-1})를 算出한 바 있고 그 後 Naito等⁸⁾도 同一한 方法으로 日本人에 대하여 sulfamethizole의 acetyl化率을 測定하고 그 速度定數를 算出하였는데 Nelson等⁷⁾의 값에 比하여 約 5倍程度의 差가 있음을 報告한 바 있다.

著者는 韓國人에 있어서 sulfamethizole에 대한 acetyl 化速度를 確認하였으며 아울러 Nelson⁷⁾等의 값과 比較하여 遲, 速의 程度를 推定하고, sulfamethizole의 代謝速度를 나타내는 指標를 求하였으므로 이에 報告하는 바이다.

實 驗

健康人 四人에 대하여 空腹시킨 다음 sulfamethizole 錠(sulfamethizole 250mg, lactose 100mg, corn starch 50mg, Mg-stearate 5mg; 崩解度 Kp II 規定에 適合) 2錠을 經口投與하고 投與 2時間동안 斷食시키고 藥物投與後 2時間부터 12時間동안 1~4時間 間隔으로 排泄尿를 採取하여 遊離 sulfamethizole과 N⁴ acetyl sulfamethizole을 Brattona等⁹⁾의 方法으로 定量하였고 集團實驗에 있어서의 106名에 대한 血液中에서의 測定은 藥物經口投與 5時間後에 血液 0.5ml을 取하여 Bratton等⁹⁾의 方法으로 定量하고, 二人에 대한 尿中實驗은 上記와 같은 方法으로 實驗하였다.

試藥 및 試液

- ① 15mg% TCA 液
- ② 0.1% sodium nitrite 溶液
- ③ 100mg% of N-(1-naphthyl) ethylene diomine dihydrochloride 溶液
- ④ 4 N-hydrochloric acid 溶液

- ⑤ 0.5% ammonium sulfamate 溶液
- ⑥ sulfamethizole standard 溶液
- ⑦ oxalic acid [G. R.]

遊離 sulfamethizole의 定量—Protein free한 尿를 sulfamethizole이 約 1~2mg%가 되게 一定量을 精密히 取하여 4NHCl 5ml를 加하고 물을 넣어 100ml가 되게 精密히 稀釋한다. 이 二次稀釋液 10ml를 取하여 0.1% sodium nitrite液 1ml를 加하여 3分間 放置한 다음 0.1% ammonium sulfamate液 1ml를 加하고 2分間 放置後 100mg% N-(1-naphthyl) ethylene diamine dihydrochloride液 1ml를 加하여 發色시킨 다음 波長 545nm 單色光 (spectronics 20[B&L 社製])에서 吸光度를 測定하고 標準定量曲線으로 부터 含量을 求하였다.

總 sulfamethizole의 定量—實驗操作 ①의 二次稀釋液 10ml에 0.5ml의 4N-HCl을 加하고 1時間동안 水浴上에서 加熱한 다음 冷却시키고 다시 물을 追加하여 精密히 10ml가 되게 한 다음 ①의 方法과 同一하게 操作하여 波長 545nm 單色光에서 그의 吸光度를 測定하고 標準定量曲線으로 부터 含量을 求하였다. 萬一 檢體中 蛋白質이 安全히 除去되지 않았을 경우에는 TCA液으로 處理하여 濾過하고 그 濾液을 定量用檢體로 使用하였다. 血液中에서의 定量도 이 方法에 따라 實驗하였다.

實驗結果 및 考察

健康한 四人에 대한 尿中에서의 時間別 遊離 sulfamethizole과 acetyl化 sulfamethizole의 量을 時間에 대하여 對象人別로 各各 表示하면 table 1과 같다.

Table 1. Cumulative amounts in mg. of free sulfamethizole (F) and acetyl sulfamethizole (A) excreted by test subjects at various times.

Time (hr.)	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	U ₁	U ₂	U ₃	U ₄
2.0	155	140	135	160	10	20	25	60	344	190	390	235
3.0	215	180	150	210	98	75	98	120	429	273	620	480
4.0	240	245	185	258	137	105	120	150	525	321	655	660
5.0	253	280	230	280	155	134	150	158	612	378	750	700
6.0	—	—	245	290	—	—	167	178	—	—	878	820
7.0	279	309	263	302	169	159	185	180	730	480	920	1,075
8.0	288	320	285	304	171	170	198	198	825	560	1,350	1,340
12.0	294	323	288	306	186	177	199	200	1,300	1,050	1,590	1,760

* subscript represents each subjects, subject 1=23-67-170, subject 2=23-67-170, subjects 3=22-61-165, and subject 4=23-59-167 (age-body weight-height), U: ml of urine

Table I 에서 subject 1은 23歲의 健康人으로 實驗中 總排泄尿量은 1,300ml였으며 acetyl 化率(k_1 , hr^{-1})은 0.212이며, subject 2에서 實驗中 總排泄尿量은 1050ml, acetyl 化率은 0.220였고, subject 3에서 實驗中 總排泄尿量은 1590ml이고 acetyl 化率은 0.245, subject 4에서 實驗中 總排泄尿量은 1760ml로 實驗對象 4人中 가장 많은 量이었으며 acetyl 化率은 0.211이었다.

위 4 set의 實驗結果 즉 生體에서의 尿中藥物의 總排泄尿量(k_1 , hr^{-1}) acetyl 化率 및 未變化藥物의 排泄率을 表示하면 Table II와 같다.

Table II. Rate constants for each subjects from excretion data*

subjects		I	II	III	IV	mean
constants(hr^{-1})						
k	*1	0.571	0.581	0.601	0.534	0.572
k_1	*2	0.212	0.220	0.245	0.211	0.222
k_3	*3	0.360	0.361	0.356	0.323	0.350
F	*4	0.629	0.621	0.592	0.604	0.677

* excretion data were subjected to math. analysis to determine the values for the above four rate constants.

*1 the overall removal rate of drug from the body.

*2 the rate constant for acetylation.

*3 the rate constant for excretion of unchanged drug.

*4 the fraction of a dose ultimately excreted in the urine as unchanged drug.

Table II에서 위 4 set의 實驗값을 平均하면 未變化 즉 遊離 sulfamethizole의 排泄率은 0.350(k_3 , hr^{-1})이고, 尿中 總排泄遊離 sulfamethizole의 比率은 61.1%였다. Mead 등의 acetyl 化率의 尿中排泄率이 5~7%인데 比하여 本實驗에서는 平均 30%의 差가 있었다.

生體內에서 sulfamethizole의 acetyl 化가 一次反應式에 準하는 以上 Nelson等⁷⁾의 값과 比較하면 差가 있으며 本實驗値와 比較한 結果는 table 3과 같다.

Table III. Comparison of Kang's value and Nelson's value

constants(hr^{-1})		Nelson, et. al. Value	Kang Value	Ratio Kang/Nelson
k	*1	0.514	0.572	1.11
k_1	*2	0.046	0.222	4.82
k_3	*3	0.468	0.350	0.74
F	*4	0.911	0.611	0.67

Table III에서 acetyl 化率은 4.82倍程度의 差가 있으며 Nelson 등의 對象人中 2人은 日本人이고, 2人은 白人이란 點을 생각하면 個體 또는 集團差가 있음을 시사하고 있다.

Sulfamethizole을 經口投與하여 血中濃度를 1回만 測定하여 體內 sulfamethizole 代謝速

도를 나타내는 指標를 얻기 위하여 四人에 대한 排泄尿中の 遊離 및 acetyl化 sulfamethizole을 測定하였고 여기서 藥物投與後 5時間제의 時間을 指標時間으로 定하고, 106人에 대하여 標準用量(8mg/kg)의 sulfamethizole을 投與한 다음 5時間제의 sulfamethizole의 血中濃度를 Bratton등의 方法으로 測定하여 이 測定值를 頻度分布 histogram으로 表示하면 Fig. 1과 같다.

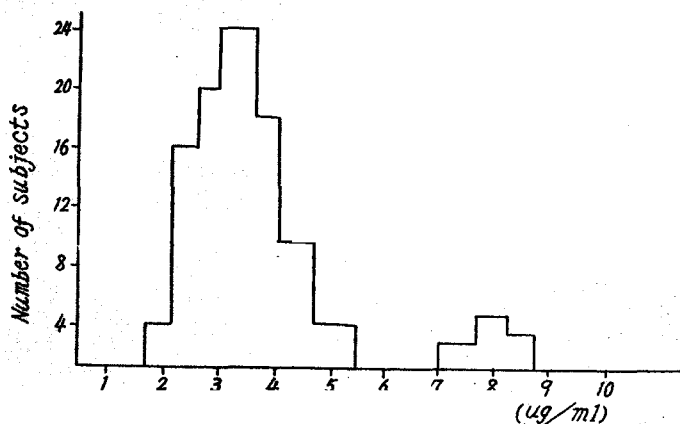


Fig. 1. Plasma concentration of sulfamethizole after hours following oral administration of the drug (8mg/kg) to 106 volunteers.

Fig. 1에서 sulfamethizole의 血中濃度가 1.5~2.0µg/ml에서는 4名, 2.1~2.5µg/ml에서는 16名, 2.6~3.0µg/ml에서는 20名, 3.1~3.5µg/ml에서는 24名, 3.6~4.0µg/ml에서 18名, 4.1~4.5µg/ml에서는 7名, 4.6~5.0µg/ml에서는 4名, 5.1~5.5µg/ml에서는 4名, 7.0~7.5µg/ml에서는 2名, 7.6~8.0µg/ml에서는 4名 및 8.1~8.5µg/ml에서는 3名이었다. 또한 이 graph는 二項性을 나타내고 있음을 알수 있으며 3.0~3.5µg/ml에서 peak을 나타내는 群과 7.5~8.0µg/ml에서 peak을 나타내는 群으로 서로 다른 表現型을 代表하는 것으로 思料된다. 對象人員 106名中 7.5~8.0µg/ml에서 peak을 나타내는 群은 8.45%이며 3.0~3.5µg에서 peak를 나타내는 群은 91.55%이었다. 藥物投與後 5時間제의 血中濃度測定이 代謝速度測定の 指標로서 決定한 것이 妥當한가를 再確認하기 위하여 7.5~8.0µg/ml에서 peak를 나타내는 群에 대하여 排泄尿中에서 遊離 및 acetyl化 sulfamethizole을 測定한 값은 table IV와 같다.

이 Table IV에서 acetyl 化率을 計算한 값은 0.125(k_1, hr^{-1})로서 3.0~3.5µg/ml 群에 屬하는 acetyl 化率에 比하여 約 1/2 程度이다. 이 實驗에서 經口投與後 5時間제에 血中濃度를 測定함으로써 sulfamethizole의 代謝의 速度를 推定할 수 있었으며 Fig 1에서 對象人은 106名에 不過하나 一項性의 分布를 나타낸 點은 代謝速度를 推定할 수 있는 可能性을 例示한 것이다. 아울러 集團實驗結果에서 sulfamethizole의 acetyl 化에 있어서 個人差가 있음을 推定하나 이와 같은 差가 環境因子에 依한 것인지 遺傳的 因子에 依한 것인지를 結論지을 수는 없으나 二項性을 나타낸 點을 考慮하면 遺傳的 因子의 關與를 全혀 排除할 수는 없다.

Table IV. Cumulative amounts in mg. of free sulfamethizole (F) and acetyl sulfamethizole (A) excreted by test subjects (7.5~8.0mg/ml peak grou at various times.

Time (hr.)	F _s	A _s	U _s	F ₆	A ₆	U ₆
2.0	120	20	210	140	28	220
3.0	160	24	450	155	30	270
4.0	230	80	520	240	95	350
5.0	260	120	680	295	137	470
6.0	300	140	750	320	142	600
7.0	315	148	790	328	147	780
8.0	320	155	800	332	150	850
12.0	325	160	1,050	350	152	920

* subscript represents each subject, subject 5=25-60-168, subject 6=22-62-164(age-body weight-height)

U: ml of urine

結 論

- ① 本 實驗에서 韓國人에 대한 sulfamethizole의 體內 acetyl 化率은 0.222로 Nelson等의 acetyl 化率 0.046보다 4.82倍가 된다.
- ② Sulfamethizole의 體內 acetyl化에 있어서는 二項性を 나타냄을 알수 있으며, 遲延型과 迅速型의 集團이 存在함을 推定한다.
- ③ Sulfamethizole은 投與後 6時間內에 投與量의 約 85%가 尿中으로 排泄되며, 約 40%가 acetyl 化體로 排泄되었다.
- ④ 尿中排泄遊離 및 Acetyl化 sulfamethizole을 測定하지 않고, sulfamethizole을 投與한 다음 5時間제의 血中濃度를 測定함으로써 代謝速度를 나타내는 指標를 求할 수 있었다.

文 獻

- 1) Cited by Clark, C.A., *J. Pharm. Pharmacol.*, 14(suppl.) 20 (1962)
- 2) Mead et. al., *J. Lab. Clin. Med.*, 31, 900 (1946)
- 3) Peterson et. al., *Am. J. Med. Sci.*, 201, 357 (1941)
- 4) Reinhold et. al., *ibid.*, 201, 106 (1941)
- 5) Nelson, *J. Pharm. Exptl. Therap.*, 129, 368 (1960)
- 6) Kalaw and Simpson, *Can. J. Genet. Cytol.*, 11, 261 (1960)
- 7) Nelson et. al., *J. Pharm. Sci.*, 50, 4771 (1961)
- 8) Naito et. al., *J. Pharm. Sci.*, 52, 707 (1963)
- 9) Bratton et. al., *J. Biolo. Chem.*, 128, 537 (1939)
- 10) Evans, *J. J. Med. Genet.*, 6, 405 (1969)