

Proteolytic Enzyme의 Pyrazinamide의 吸收, 排泄에 미치는 影響

李 珍 煥 · 崔 俊 植

朝鮮大學校 藥學大學

The Effects of Proteolytic Enzyme on the Absorption and Excretion of Pyrazinamide

Jin Hwan Lee, Jun Shik Choi

(Received Jan. 28, 1975)

This paper attempts to investigate the effect of proteolytic enzyme on the absorption and excretion of pyrazinamide.

The rat small intestinal absorption of pyrazinamide in the presence of proteolytic enzyme such as chymotrypsin and compounding enzyme (chymotrypsin and trypsin) are increasingly absorbed, but in the trypsin are similar to that of control. Blood levels of pyrazinamide after rabbit's duodenum injection are significantly enhanced to correspond to 112—120% by proteolytic enzymes concentration respectively, but both on the high concentration of chymotrypsin and the low concentration of trypsin are insignificantly enhanced. Proteolytic enzymes do not give the effect on clearance of pyrazinamide. Proteolytic enzymes give the effect on absorption of pyrazinamide, but do not give the effect on excretion of pyrazinamide.

緒 論

臨床上 2種以上の 藥物이 配合投與되는 경우가 있다. 醫藥品の 配合으로 困한 吸收, 排泄 및 代謝에 미치는 影響이 重要時 되고 있다.

Pyrazinamide는 1952年 Kushner에 依해서 抗結核劑로 등장하였고 Mocune¹⁾은

* Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Chosun University

pyrazinamide와 isoniazide併用效果를 發表했으며 Schwarte²⁾는 streptomycin이나 isoniazide抵抗性 患者에 效果가 있다고 發表했으며 Allen³⁾은 Determination of pyrazinamide in blood and urine, Robinon⁴⁾은 toxicity of pyrazinamide, Chai⁵⁾ 등의 各種 基劑에 따른 pyrazinamide吸收影響에 關한 研究 등이 發表되어 있다.

蛋白分解酵素가 藥物의 吸收에 미치는 影響에 關한 報文은 Bastian等⁶⁾의 trypsin과 chymotrypsin의 活性, Seneca等^{7,8)}의 chymotrypsin-tetracycline配合時의 吸收, Avakian等^{9,10)}의 chymotrypsin-phenethicillin의 吸收, Choi¹¹⁾의 chymotrypsin 및 trypsin濃度에 따른 sulfadimethoxin의 吸收와 排泄에 關한 研究 등이 있다. 結核化學療法劑인 pyrazinamide와 antiinflammatory 및 antiedematic agent로 廣範圍하게 使用되는 proteolytic enzyme을 配合했을때의 吸收, 排泄에 關한 研究를 위하여 proteolytic enzyme 으로는 trypsin, chymotrypsin, chymo-trypsin混合의 濃度에 따라서 pyrazinamide의 rat 小腸內 吸收, rabbit의 blood level과 urine level을 實驗한 結果를 報告합니다.

實 驗

試料 및 試藥

- Pyrazinamide (U. S. P.)
- α -Chymotrypsin (Signa. U.S.A.)
- Trypsin (Signa. U.S.A.)
- Sod. Nitropurusid(E. Merck)
- Sod. Tungstane (E. Merck)
- Sulfuric acid (和光一級)

試料溶液의 調製—Pyrazinamide 0.5mM과 proteolytic enzyme은 主藥에 對한 0.2%와 1%에 해당하는 量을 tyrod solution에 用時調製하였다(pH1.5~7.8)

Loop's Circulation Method (in situ)에 依한 rat 小腸內 吸收實驗— 一定한 條件下에서 飼育한 體重 200g 前後의 Sprague-Dowly系 rat를 實驗前 24時間 絶食시키고 nembutal sodium으로 麻醉시켜 Shanker等¹²⁾의 方法으로 實驗했다.

還流溶液은 100ml이며 還流速度는 2ml/min를 維持하였으며 還流가 始作된 5分後에 試料 溶液 0.5ml를 取하여 對照液으로 하고 每30分마다 0.5ml를 取하여 Caccia¹³⁾ 方法에 따라 pyrazinamide를 定量하고 다음 式에 따라 吸收率을 算出하였다.

$$\text{percent absorbed} = 100 - 100 \frac{C_{\text{sample final}}}{C_{\text{sample initial}}}$$

家兎에서의 Blood Level 및 尿中排泄量測定— 一定하게 飼育한 體重 2kg前後의 雄性家兎를 實驗前 24時間 絶食시킨後 麻醉는 urethane 4ml/kg를 皮下注射하였으며 pyrazinamide 30mg을 duodenum에 注入하고 一側 股動脈 (femoral artery)에 heparine saline으로 채워둔 P.E. tube를 挿入하여 每 時間마다 5時間까지 血液을 採取하였고 尿는 下腹部를 symphysis 위에서 正中線을 따라 小切開하여 膀胱을 露出시킨 後 兩測의 輸尿管에다 P.E. tube를 挿入하여 Caccia 方法¹³⁾에 依하여 pyrazinamide를 定量하였다.

結果 및 考察

Loops circulation method (In Situ)에 依한 小腸內의 Pyrazinamide 吸收에 있어서 腸內에서의 藥物의 吸收速度 q 는 腸管의 有效表面積을 A , 透過係數 P , 藥物의 濃度를 C 라 할때

$$q = A \cdot P \cdot C$$

$$q = -v \frac{dc}{dt}$$

$$\ln (C/C_0) = - \frac{Apt}{V}$$

$$\log C - \log C_0 = -0.434 \times \frac{Apt}{V} = -kt$$

여기서 C_0 는 開始 時의 藥物 濃度이다.

實驗結果는 pyrazinamide의 proteolytic enzyme에 依한 absorption rate는 Table I 및 II와 같고 remaining percentage를 plot하면 Fig. 1 및 2와 같다.

Table I. Comparative Absorption Rate of Pyrazinamide with Various Proteolytic Enzyme from Rat Small Intestine.

Time (min)	Control (Co-Ct)	Pyraz-CH		Pyraz-TR		Pyraz-CH+TR	
		a	b	a	b	a	b
30	*0.028	0.028	0.031	0.029	0.030	0.041	0.042
60	0.059	0.063	0.061	0.059	0.060	0.072	0.073
90	0.091	0.096	0.091	0.089	0.090	0.090	0.073
120	0.120	0.130	0.120	0.122	0.125	0.135	0.145
150	0.140	0.148	0.146	0.142	0.144	0.171	0.168
AR	28.0	29.3	29.1	28.4	28.8	34.1	33.6

Remarks: *: (mMol/L)

AR: Absorption percentage at 150 min.

Initial concentration, Co; 0.5mMol/L

CH; chymotrypsin, TR; trypsin

Table II Absorption Percentage of Pyrazinamide with Proteolytic Enzyme from Rat Small Intestine.

A) pyrazinamide

Time (min)	Co-Ct (mM/L)	K	$\log(\frac{C}{C_0})$	Pa(cm/min)	$K \text{ min}^{-1}$
30	0.028	0.880×10^{-3}	-0.0265	1.704×10^{-3}	0.205×10^{-2}
60	0.059	0.897	-0.0549	1.725	0.2071
90	0.091	0.890	-0.0810	1.704	0.2054
120	0.120	0.901	-0.1071	1.729	0.2069
150	0.140	0.819	-0.1337	1.709	0.2071

B) Pyrazinamide + Chymotrypsin + Trypsin

30	0.041	1.204×10^{-3}	-0.0354	2.237×10^{-3}	0.2809×10^{-2}
60	0.072	1.182	-0.0710	2.253	0.2709
90	0.120	1.199	-0.1105	2.295	0.2755
120	0.135	1.191	-0.1430	2.289	0.2744
150	0.171	1.193	-0.1789	2.308	0.2741

Remarks: Pa ; permeability coefficient
K ; velocity constant

K; Slope
* ; PZ Initial concent. (0.5mMol/L)

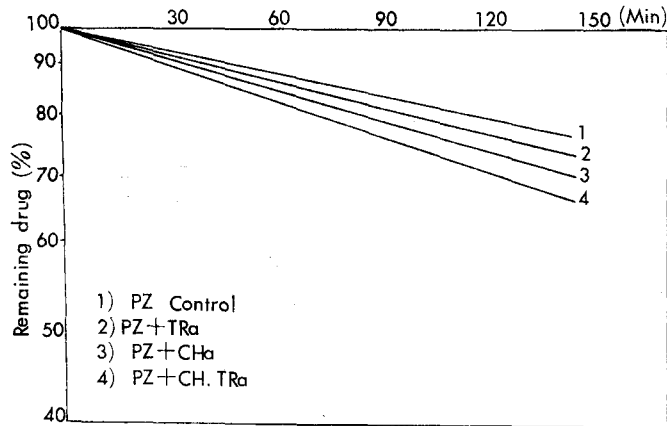
**Fig 1.** Linear relationship between remaining percent of pyrazinamide with proteolytic enzyme in logarithmic scale and time.

Table I, II에서 보는 바와 같이 proteolytic enzyme은 pyrazinamide의 吸收를 促進시켰다. 單獨 enzyme인 trypsin첨가에서는 control과 비슷한 吸收率을 나타내었으나 chymotrypsin첨가에서는 pyrazinamide의 吸收를 促進시켰다.

특히 compound enzyme (chymo. + trypsin)첨가에서는 濃度에 關係없이 control의 吸收率 28%에 比해서 34.1%로 높은 吸收率을 나타내었다. 그리고 permeability coefficient값이 control에서 1.704×10^{-3} (cm/min)인데 비해 compound enzyme에서는 2.237×10^{-3} (cm/min), velocity constant값은 control에서 $0.205 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ 이고 compounding

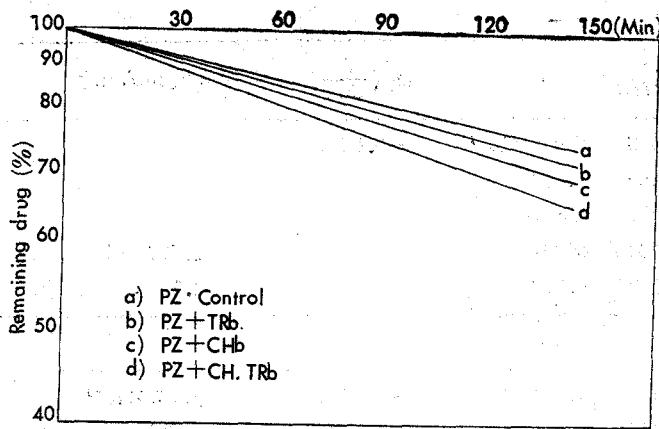


Fig 2. Linear relationship between remaining percent of pyrazinamide with proteolytic enzyme in logarithmic scale and time.

enzyme에서 $0.2809 \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ 이다.

Pyrazinamide의 單獨投與 時보다는 chymotrypsin 및 trypsin의 併用이 吸收를 促進시켰으며 특히 compounding enzyme (chymo. + tryp)에서 pyrazinamide의 rat腸內 吸收를 促進시켰다.

Rabbit에서의 小腸吸收에 미치는 影響을 檢討하기 爲해서 duodenum에 投與하고 proteolytic enzyme에 pyrazinamide의 吸收와 排泄에 미치는 影響을 檢討한 結果는 다음과 같다.

Table III. Effect of Dose of Proteolytic Enzyme on the Blood Level of Pyrazinamide (30mg) to Rabbit.

Time (hr)	Control ($\mu\text{g/ml}$)	Pyraz-CH		Pyraz-TR		Pyraz-CH+TR	
		a	b	a	b	a	b
0.5	38±3.1	40±2.4	42±2.4	39±2.9	45±2.2	48±2.9	46±1.9
1	40±2.7	45±2.3	41±2.1	43±2.1	44±1.7	46±2.2	44±2.7
2	37±1.9	42±2.1	39±1.8	39±3.2	41±3.0	42±2.0	40±1.8
3	35±2.2	38±3.2	36±2.7	37±1.8	37±2.7	39±1.4	38±2.4
4	32±1.5	34±2.3	34±1.6	33±2.5	34±2.1	35±3.3	33±2.6
5	28±2.0	31±1.9	30±2.0	29±3.3	32±1.8	33±2.2	32±2.0
AR	100	112	105	107	113	120	115

Remarks: AR ; Absorption ratio
 a ; Dose of Enzyme, 0.05mg
 b ; Dose of Enzyme, 0.5mg

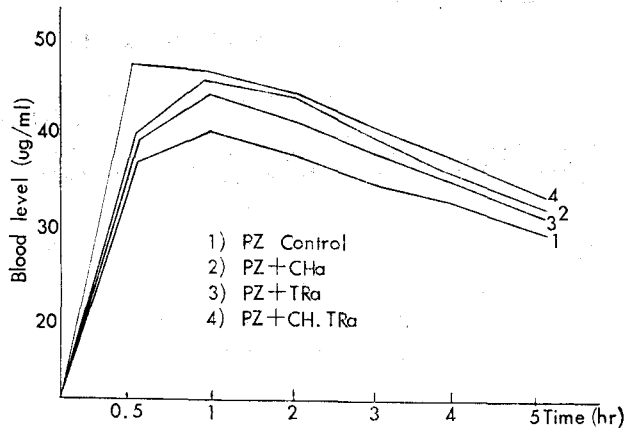


Fig. 3 Blood level of pyrazinamide administered with proteolytic enzyme to rabbit as a function of time.

Table III에서 보는 바와 같이 chymotrypsin 低濃度(0.05mg)에서는 pyrazinamide의 血中濃度を 促進시켰으며 高濃度(0.5mg)에서는 0.5~2時間에서는 吸收을 促進시켰으나 3~5時間까지는 control에 비해 吸收은 促進된 것 같으나 有意性은 없었다.

Trypsin의 低濃度에서는 1~2時間을 除外하고는 pyrazinamide의 吸收을 促進시키지 못했으며 高濃度에서는 0.5~2時間에서만 吸收을 促進시켰다.

Compounding enzyme (chymotrypsin+trypsin)에서는 單獨 enzyme에서 보다 pyrazinamide의 blood level을 大部分 增加시켰다. 특히 chymotrypsin(低濃度)의 最高血中濃度에서는 112%程度, trypsin(高濃度)의 最高血中濃度에서는 113%程度를 促進시켰으며 compounding enzyme에서는 115~120% 程度를 pyrazinamide의 吸收을 促進시켰다.

Proteolytic enzyme이 pyrazinamide의 blood level에 影響을 미친다는 것은 單純히 吸收을 促進시키거나 또는 排泄을 抑制시켜서 影響을 미친 수 있다. 그러므로 pyrazinamide의 clearance를 測定하므로써 proteolytic enzyme이 pyrazinamide의 吸收의 排泄에 미친 影響을 檢討한 結果는 Table V, 및 VI과 같다.

Table IV. The Effect of Chymotrypsin on the Urinary Excretions of Pyrazinamide to Rabbit (30mg)

Time(min)	Control					PZ-CH				
	Up μg/ml	V ml/60	UpV ug/min	Pp ug/ml	Cp ml/min	Up ug/ml	V ml/60	UpV ug/min	Pp ug/ml	Cp ml/min
0-60	560	2.6	26	40	0.65	520	3.3	29	45	0.64
60-120	550	3.0	28	37	0.76	560	3.6	32	42	0.78
120-180	400	4.5	30	35	0.91	440	4.1	30	38	0.79
180-240	420	5.0	35	32	1.09	410	5.2	34	34	1.00
240-350	350	5.4	31	28	1.12	420	4.8	33	31	1.09

Remark: Up ; Urine concentration of pyrazinamide(PZ)
 V ; Urine volume of PZ
 UpV; Excretion rate of PZ
 Pp ; Blood concentration of PZ
 Cp ; Clearance of PZ

Table V. The Effect of Compounding Enzyme on the Urinary Excretion of Pyrazinamide to Rabbit

Time(min)	PZ-CH. TRa					PZ-TRa				
	Up ug/ml	V lm/60	UpV ug/min	Pp ug/ml	Cp ml/min	Up ug/ml	V ml/60	UpV ug/min	Pp ug/min	Cp ug/mln
0-60	590	3.1	29	46	0.66	550	3.4	31	43	0.71
60-120	550	3.3	30	42	0.75	520	4.0	35	39	0.89
120-180	470	4.5	35	39	0.90	530	4.1	36	37	0.97
180-240	420	5.0	35	35	1.00	430	5.0	35	33	1.07
240-300	430	5.4	38	33	1.15	390	5.6	37	29	1.24

Pyrazinamide의 Excretion rate는 control에 比해서 proteolytic enzyme을 併用했을 때가 큰 값을 가지고 있으므로 cumulative excretion amount값도 크다. 그러나 clearance을 比較해보면

Control 0.9~1.15, Chymotrypsin 0.8~1.1, Trypsin 0.97~1.24로서 compoundin genzyme 0.9~1.15은 control과 비슷한 clearance값이므로 사실상 proteolytic enzyme은 pyrazinamide의 排泄에 影響을 미치지 못한 것을 알 수 있다.

結 論

Proteolytic enzyme인 chymotrypsin, trypsin, chymotrypsin+trypsin混合酵素의 濃度에 따라 pyrazinamide의 吸收와 排泄에 미치는 影響은 다음과 같다.

- 1) Rat小腸內 (in situ)吸收에서는 chymotrypsin과 混合酵素劑인 chymotrypsin+trypsin에서는 pyrazinamide의 吸收를 促進시켰으나 trypsin에서는 別影響이 없었다.
- 2) Rabbit의 小腸內 吸收에서는 chymotrypsin 低濃度, trypsin高濃度와 chymotrypsin+trypsin 混合酵素劑에서는 pyrazinamide의 blood level을 有意性있게 上昇시켰다.
- 3) 그러나 chymotrypsin高濃度, trypsin低濃度에서는 control보다 pyrazinamide의 blood level은 上昇되었으나 有意性은 없었다.
- 4) 蛋白分解酵素劑는 pyrazinamide의 clearance에 影響을 주지 못하므로 排泄에는 影響을 주지 못하였다.

文 獻

- 1) R.W. Mocune, M.W. Ormond, *Am. Rev. Tubercu.*, **69**, 219. (1954)
- 2) W.S., Schwarte, R.E, Moyer, *ibid.*, **70**, 413 (1954)
- 3) W. Allen, *Anal. Chem.*, **35**, 310 (1953)
- 4) H. J. Robinson, H. Siegel, *Am. Rev. Tubercu.*, **70**, 423 (1954)
- 5) J.S. Choi, J.H. Lee, *Korean. J. of Medicine* **28**, 1 (1975)

- 6) J. W. Bostian, *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, **92**, 800 (1956)
- 7) H. Seneca, P. Peer, *J. Am. Gerica. Soc.*, **13**, 8 (1965)
- 8) H. Seneca, *Antimic. Chemothe.*, **657**, 661 (1963)
- 9) S. Avakian, B.L. Kabacoff, *Nature*, **199**, 185, (1963)
- 10) S. Avakian, *Clin. Pharm. Therap.*, **5**, (1964)
- 11) J. H. Lee, Choi, J. S., *J. Korean Pharm. Soc.*, **4**, 31 (1974)
- 12) L.S. Shanker, *J. Pharm. Expt. Therap.*, **123**, 81 (1958)
- 13) P. A. Caccia, *Am. Rew. Tubercu.*, **7**, 5 (1957)