

## 四鹽化炭素 肝臟障害 動物에서의 Sulfisoxazole의 吸收와 排泄에 關한 研究

崔 俊 植

朝鮮大學校 藥學大學

### The Effects of Pretreatment with Carbon Tetrachloride on the Absorption and Excretion of Sulfisoxazole

Jun Shik Choi

(Received May 17, 1976)

This paper attempted to investigate the effect of pretreatment with carbon tetrachloride on absorption, excretion, protein binding, and biological half-life of sulfisoxazol from rats and rabbits.

Absorption of sulfisoxazol was found to decrease in severe damage rats, compared with that of normal rats, but in mild rats, absorption of sulfisoxazol was similar to that of normal rats.

Absorption of sulfisoxazol was decreased significantly in severe damage rabbit pretreated with carbon tetrachloride but in mild damage rabbit, absorption of sulfisoxazol was not influenced significantly.

Pretreatment with carbon tetrachloride gave the effect on clearance of sulfisoxazol in part but protein binding percent of sulfisoxazol was not influenced by concentration of carbon tetrachloride.

### 緒 論

藥劑는 大部分 疾病의 豫防보다는 疾病을 治療하기 위해서 投與되는 傾向이 많으므로 實際에 있어서 正常狀態의 生體에서 보다는 病態인 生體에서 藥劑의 生體利用率에 關한 研究가 重要하다. 病態의 生體內에서 藥物에 따른 그의 活性 및 舉動에 變化가 있을수 있기 때

\* College of Pharmacy, Chosun University.

문이다.

臨床的으로 肝臟障害患者 또는 肝臟障害患者의 二次的 合併症 때 治療藥劑의 投與가 不可避할 때가 있다. 이 때 投與해야할 藥物의 用量, 投與間隔, 投與劑型, 藥物의 相互作用등에 關한 藥物의 生體內 利用効率が 重要하다. Carbon tetrachloride投與後 病態의 生體內에서 의 研究로는 Hiroshi<sup>1)</sup> 등의 肝機能과 肝形態에 關한 研究, Mrick<sup>2)</sup> 등의 肝障害와 藥物代謝에 關한 研究, Reynel<sup>3)</sup> 등의 肝障害와 消化管 機能에 對한 研究, Noboru<sup>4)</sup> 등의 aminopyline과 phenylbutazone의 消化管內 吸收등에 對한 研究를 볼 수 있을 뿐이고, 大部分 正常狀態의 生體內에서 藥物의 吸收와 排泄에 關한 發表가 많이 報告되어 있다<sup>5-13)</sup>. 著者は 肝臟障害時의 藥物의 吸收, 排泄, 蛋白結合, 半減期, 血清 transaminase活性과의 相關關係를 研究 코져 人爲的으로 肝障害를 일으키기 위하여 使用되는 carbon tetrachloride,  $\alpha$ -amanitin, thiocetamide 中에서 가장 보편的으로 使用되는 carbon tetrachloride投與에 의 한 實驗的 病態의 rat, 家兔에서 sulfisoxazole의 小腸內 吸收, 家兔의 血中濃度 尿中量 그리고 腎臟을 除去시켰을 때, 血中濃度 生物學的半減期 蛋白結合 등에 關해서 實驗한바 知見을 얻었기에 그 結果를 報告하는 바이다.

## 實 驗 方 法

**試 料**—sulfisoxazole(USP), carbon tetrachlorid (和光一級), plasmanate(綠十字製藥), ammonium sulfamate(E. Merck), (*N*-(1-naphthyl) ethylenediamine · 2HCl(E. Merck), sodium nitrite(和光一級), sodium carbonate(和光一級), hydrochloric acid (和光一級), trichloroacetic acid(和光一級), sodium heparine(E. Merck), urethane (E. Merck).

**試料溶液의 調製**—sulfisoxazole 0.5mM量을 還流溶液인 磷酸緩衝溶液에 用時 녹여 1l로 調製하였다.

**還流溶液의 調製**— $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (p. 2g),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (4.4g), NaCl(5g)을 蒸溜水에 溶解하여 1l로 緩衝溶液으로(pH6.5) 使用 直前に 調製하였다.

**對照試驗動物**—各 郡을 六마리로 하여 40% carbon tetrachloride를 0.2ml/kg만큼 筋肉注射로 1日 1回(mild damage)로 1日間 投與郡과 1日 1回 2日間 投與郡(severe damage)으로 分離하여 投與한後 24時間, 72時間後에 本實驗을 하였다. 그리고 serum glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 serum glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 活性度를 carbon tetrachloride 投與前(normal)과 投與後 12時間, 1日間, 3日間, 5日만에 採血, transaminase 活性度를 Reitman-Frankel<sup>14)</sup>法에 依하여 測定 하였다.

**Loop's circulation method(in situ)에 依한 Rat 小腸에서의 吸收**—一定한 條件下에서 處理된 200g 前後 sparague-powly系 rat를 實驗前 24時間 絶食 시키고, ether로 痲醉

시켜 Shanker<sup>15)</sup> 등의 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 Braton & Marshall<sup>16)</sup> 方法에 依하여 sulfisoxazole을 測定하여 다음 式에 따라 吸收率을 算出 했다.

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

**結節腎臟에 대한 血中濃度**—一定하게 處理된 體重 2kg 前後의 雄性 가토를 實驗前 24時間 絶食 시킨後 痲醉는 urethane 4ml/kg로 皮下注射 하였으며, sulfisoxazole 100mg을 經口 投與하고 양쪽 腎動脈과 靜脈을 pin으로 結節시킨後 30, 60, 90, 120分 間隔으로 한쪽 腹動脈(femoral artery)에서 heparin saline으로 채워둔 P.E. tube를 삽입하여 이로부터 血液을 採取 하였다.

**正常腎臟에 대한 血中濃度 및 尿中量**—一定하게 處理된 雄性 가토에 100mg의 sulfisoxazole을 投與後 1時間 間隔으로 6時間동안 한쪽 腹動脈에서 血液을 採取하였고, 尿는 下腹部를 symphysis 위에서 正中線을 따라 소절개하여 膀胱을 露出시킨後 양측 輸尿管에다 P.E tube를 삽입하여 尿를 採取한後 Braton & Marshall<sup>16)</sup> 方法에 따라 sulfisoxazole을 定量하였다.

**蛋白結合性**—Klotz<sup>17)</sup> 등의 方法에 따라 平衡透析法으로 測定하였다. 5% 加熱人血漿蛋白(plasmanate, 綠十字製藥) 5ml를 visking cellophane bag에 넣고 이것을 sulfisoxazole 0.5 mM/l의 磷酸緩衝液 10ml에 沈積시켜 자주 shaking(horizontally, 90 cycle/min)한後 30±1°C를 維持하면서 12時間, 24時間, 72時間마다 平衡시킨 透析外用液을 採取하여 sulfisoxazole을 測定 하였다. 蛋白質溶液 대신 緩衝溶液을 對照로 하여 式

$$\text{bound\%} = \frac{\text{Con. of Control} - \text{Con. of sample}}{\text{Con. of Control}} \times 100$$

에 依하여 蛋白結合을 計算했다.

## 結果 및 考察

正常狀態와 病態吸收의 rat小腸內에서의 sulfisoxazole의 吸收는 Table I에서 보는 바와같이 四鹽化炭素의 영향이 나타나지 않고 있다.

結節腎臟인 경우의 血中濃度는 四鹽化炭素에 依한 肝臟障害 家兎에서 腎臟의 影響을 排除시키고 純粹한 吸收率을 檢討하기 위한 腎臟結節時의 sulfisoxazole의 血中濃度는 Table II와 같다.

生理學的으로 腎臟은 動脈과 靜脈을 2時間 程度까지 結節하여도 體內의 變化에 影響이 없다는 것은 주지의 事實이다. 또한 藥物 投與後 藥物에 따라서 多小 差異는 있지만, 2時間까지는 排泄보다는 吸收가 잘되는 時間이므로 2時間까지만 觀察하였다. 腎臟을 통한 排泄을

**Table I**—The Absorption of Sulfisoxazole from CCl<sub>4</sub> Pretreated Rat Small Intestine

Time, min	Normal	Mild		Severe	
	(Co-Ct)*	<sup>a</sup> (Co-Ct)	<sup>b</sup> (Co-Ct)	<sup>a</sup> (Co-Ct)	<sup>b</sup> (Co-Ct)
30	0.028	0.027	0.028	0.025	0.026
60	0.061	0.059	0.067	0.056	0.056
90	0.111	0.111	0.110	0.090	0.95
120	0.134	0.133	0.134	0.118	0.124
150	0.156	0.155	0.157	0.141	0.151
180	0.173	0.172	0.174	0.162	0.166
AR	34.6	34.4	34.8	32.4	33.2

\*Co, Initial concentration (0.5 mM/l); a, Experiment at 24 hr after pretreatment with CCl<sub>4</sub>; b, Experiment at 72 hr after pretreatment with CCl<sub>4</sub>; AR, Absorption percentage at 180 minutes.

**Table II**—The Blood Level of Sulfisoxazole from the CCl<sub>4</sub> Pretreated Rabbit of Rigated Kidney

Time, min	Normal	Mild		Severe	
		a	b	a	b
30	34±3.2*	35±4.1	34±4.0	31±3.4	32±13.4
60	43±5.1	45±3.0	43±3.3	39±4.2	42± 3.5
90	51±4.5	53±5.1	52±4.8	47±3.8	49± 4.1
120	56±3.9	58±4.1	57±4.2	52±4.6	54± 3.3
AR	100.0	105.0	102.0	92.7	96.6

\*, Mean ±SE (mcg/ml); AR, Absorption ratio at 120 minutes.

遮斷시키므로서 肝臟障害時의 消化管의 吸收 影響은 正常家兔와 比較했을 때 mild狀態에서는 血中濃度가 增進된것 같으나 有意性은 없었다. Severe 狀態에서는 24時間(a)의 血中濃度는 正常狀態에 比하여 60~120分에서는 統計學上 有意性있게 吸收가 抑制되었다. 120分에서 正常狀態의 吸收를 100으로 할 때 mild狀態에서 102~105%, Severe 狀態에서 96~92% 程度로 吸收率이 增加 또는 減小되었다.

正常腎臟에서의 CCl<sub>4</sub> 投與에 依한 肝臟障害 家兔에서 吸收와 排泄에 對한 實驗結果는 Table III 및 IV와 같다.

正常家兔에서보다 四均化炭素로 處理된 病態의인 家兔에서는 吸收가 抑制되는 傾向이 있으며, peak point가 2時間에서 3時間으로 遲延되었다. Sulfisoxazole 血中濃度에 影響이 있다는 것은 單純히 小腸吸收에 關係가 있지만, 腎臟, 排泄에도 影響이 있으므로 sulfisoxazole의 clearance를 比較한 結果는 비슷하였다. 또한 血中濃度減小은 正常家兔에 比하여 緩慢하므로 生物學的半減期가 길어지는 것을 考察할 수가 있다.

**Table III**—The Blood Level of Sulfisoxazole from  $\text{CCl}_4$  Pretreated Rabbit of the Normal Kidney

Time, hr	Normal	Mild		Severe	
		a	b	a	b
1	44.2±3.5	42.7±4.6	42.2±2.9	38.4±4.3	40.1±3.6
2	50.6±4.1	47.5±3.8	49.5±5.1	44.6±3.1	45.1±5.2
3	47.5±3.2	46.4±5.1	47.3±4.2	45.1±4.9	46.0±4.3
4	45.5±2.9	45.4±3.9	46.5±4.8	43.4±4.2	44.5±5.0
5	43.6±4.0	44.5±2.8	45.1±4.0	41.5±3.8	42.5±3.5
6	41.7±4.3	42.1±4.1	43.2±3.6	39.6±4.0	40.1±3.8
AR	100.0	94.1	98.0	09.0	92.0

AR, Absorption rate at 2 hours.

**Table IV**—The Urinary Excretion of sulfisoxazole from  $\text{CCl}_4$  pretreated Rabbit

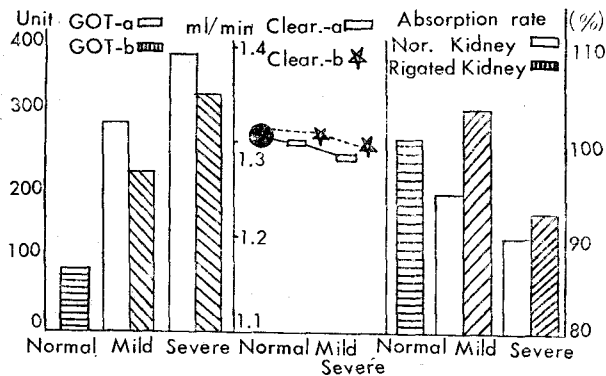
Time, min	Normal			Mild			Severe		
	UsV	Ps	Cs	UsV	Ps	Cs	UsV	Ps	Cs
0-60	40.7	44.2	0.92	39.3	42.7	0.92	39.6	38.4	0.90
60-120	55.7	50.6	1.10	52.7	47.5	1.12	49.1	44.6	1.08
120-180	54.2	47.5	1.19	53.9	46.4	1.16	52.8	45.1	1.17
180-240	55.9	45.5	1.23	56.3	45.4	1.24	54.0	43.4	1.23
240-300	54.5	43.6	1.25	54.7	44.5	1.23	50.7	41.5	1.22
300-360	54.7	41.7	1.31	55.9	43.1	1.30	50.7	39.6	1.28

UsV, Excretion rate of sulfisoxazole (mcg/min); Ps, Blood level of sulfisoxazole (mcg/ml); Cs, Clearance of sulfisoxazole (ml/min).

**Table V**—Effect of Pretreatment with  $\text{CCl}_4$  on the Relationship Among Serum Transaminase Activity, Absorption Rate and Excretion Rate.

	Normal	Mild		Severe	
		a	b	a	b
$\text{CCl}_4$ Dose and Times	0	*0.2ml/1T/24hr	0.2ml/1T/72hr	0.2ml/2T/24hr	0.2ml/2T/72hr
GOT (Unit)	64±6.5	280±27	230±22	386±32	310±25
GPT (Unit)	47±5.3	265±30	213±20	370±19	285±26
Absorption Rate Unrigated(%)	100	95.1	98.0	90.9	92.0
Rigated Kidney(%)	100	105.0	102.0	92.7	96.5
Excretion Rate (ml/min.)	1.31	1.30	1.31	1.28	1.30

\*:  $\text{CCl}_4$  dose/injection times/experiment hours; GOT, GPT, activity karmen units; Absorption rate, calculation (%) at 2 hr; Excretion rate, calculation (clearance) at 6 hours.



**Figure 1**—Relationship between serum transaminase activity and absorption and excretion rate of sulfisoxazole from rabbit.

또한 Table V와 Figure 1에서 보는바와 같이 GOT 및 GPT가 sulfisoxazole의 吸收와 排泄에 關係가 있다는 것을 알 수가 있다.

普通 家兎에서의 GPT, GOT의 값에 對하여 mild damage 狀態의 값은 24時間後 (a)에서는 260~280unit 程度이나, 72時間 (b)때는 210~230 unit로 점차 回復되어가는 것을 알 수가 있으며, sulfisoxazole의 血中濃度는 結節腎臟에서도 多小 增加된 傾向이 있으나, 有意性은 없었다. 이런 현상은 多小 hepatic excretion의 抑制와 hepatic metabolism의 지연 影響을 받은 것으로 思料된다.

Severe 狀態에서의 GOT, GPT값은 24時間때 370~390unit이고, 72時間때에는 280~310 unit이므로 時間의 經過에 따라서 肝臟機能이 回復되는 것을 알 수가 있다.

그리고 sulfisoxazole의 血中濃度는 統計學上 有意性있게 低下된것을 考察할 수가 있었으며 이것은 血中濃度의 低下와 尿中量의 多小 低下된 結果로 보아 小腸 吸收의 機能에 障害가 있는 것이 確實하다. GOT, GPT의 값이 280unit 以下에서는 肝臟障害를 일으키나, 小腸의 吸收機能에는 별 影響이 없는 것을 알 수가 있으며, 310 以上에서는 小腸의 吸收機能에 抑制的으로 影響을 주는 것을 알 수가 있다. 非結節腎臟의 狀態에서는 吸收率이 有意性있게 低下되었다는 것은 分明히 消化管機能의 障害 또는 吸收機能抑制 되었다는 것을 알 수가 있으며, 結節腎臟에서는 mild 狀態에서 多小 血中濃度가 增加된것은 hepatic excretion의 障害 또는 抑制되기 때문이라고 思料된다.

**Table VI**—Effect of CCl<sub>4</sub> Concentration on Protein Binding of Sulfisoxazole with Plasmenate (30±1°)

Time, hr	Concentration of CCl <sub>4</sub> (%)			
	Control	0.1	0.5	5
12	11.5*	11.6	11.2	10.5
24	14.4	14.5	14.3	14.5
72	14.6	14.8	14.6	14.5

\*, Protein binding percent

蛋白結合은 Table VI에서 보는 바와같이 carbon tetrachloride이 量에 따른 影響을 주지 못하여 非結合型과 結合型의 값에 差異가 거의 없었다.

## 結 論

Carbon tetrachloride 投與로 인해 實驗的 肝臟障害를 일으킨 病態인 生體와 正常的인 生體內的 sulfisoxazole의 吸收, 排泄, 蛋白結合, 半減期등을 比較 實驗하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Sulfisoxazole의 rat 小腸內 吸收에서 正常狀態와 比較할때, 比較的弱한 障害에서는 거의 影響이 없으며, 比較的심한 障害에서는 吸收가 抑制되었다.
2. 腎臟의 影響을 排除시킨 腎臟結節家兔의 sulfisoxazole의 血中濃度는 比較的 심한 障害의 경우에는 有意性있게 抑制되었다.
3. 腎臟非結節家兔의 血中濃度와 比較的심한 肝障害에서 吸收는 有意性있게 抑制되었다.
4. 四鹽化炭素投與後 時間의 經過에 따른 吸收影響은 24時間 (a)때가 72時間 (b)때보다 sulfisoxazole의 吸收가 더 抑制되었다.
5. GOT, GPT의 값과 消化管 吸收機能과 關係가 있으므로써, sulfisoxazole의 吸收, 排泄, 半減期와는 相關 關係가 있었다.
6. 四鹽化炭素의 濃度에 따른 sulfisoxazole의 蛋白結合은 거의 影響을 주지 못했다.

## 文 獻

- 1) 小林立德; 日藥理誌, **62**, 333. (1966)
- 2) M.E. Mrick, J. R. Glette, *Biochem. Pharm.*, **21**, 745. (1972)
- 3) P.C. Reynel, *Brit. J. Expt. Pathol.*, **35**, 92. (1954)
- 4) Hiroshi Niwa, Noboru Hikichi, *藥劑學*, **35**, 1. (1975)
- 5) J.H. Lee, J.S. Choi, *J. Korean Pharm. Sci.*, **4**, 12. (1974)
- 6) J.S. Choi, J.H. Lee, *ibid.*, **5**, 4. (1975)
- 7) J.H. Lee, J.S. Choi, *Korean J. Pharmacology*, **9**, 1. (1973)
- 8) J.H. Lee, J.S. Choi, *The Korean Central J. Medicine*, **28**, 1. (1973)
- 9) M.H. Lee, *et al.*, *Korean Pharm. Sci.*, **1**, 1. (1971)
- 10) S.K. Kim, *et al.*, *J. Korean, Pharm. Sci.*, **4**, (1,2) (1974)
- 11) J.W. Kim., *et al.*, *ibid.*, **4**, 19 (1974)
- 12) J.W. Kim, *ibid.*, **1**, 78 (1971)
- 13) J.Y. Park *et al.*, *ibid.*, **1**, 1 (1971)
- 14) 山島, 高橋, *最新醫學*, **18**, 2861. (1963)
- 15) L.S. Shanker, *J. Pharm. Expt. Therap.*, **123**, 8 (1958)
- 16) Brutton & Marshall, *J. Biol. Chem.*, **128**, 537 (1939)
- 17) I.M. Clotz *et al.*, *The Protein*, **1**, 758 (1953)