

發熱性 物質이 Antipyrin과 Ampicillin의 生體利用率에 미치는 影響

李珍煥 · 崔俊植 · 廉哲鎬

朝鮮大學校 藥學大學

The Effect of Pyrogen Reagent on the Bioavailability of Antipyrine and Ampicillin

Jin Hwan Lee, Jun Shik Choi and Cheol Ho Yum*

(Received April 10, 1980)

This paper was to investigate the bioavailability of antipyrine, ampicillin and protein binding in pathological rats and rabbits pretreated with typhoid vaccine. The results are as follows:

The absorption of antipyrine and ampicillin respectively were reduced in rats pretreated with typhoid vaccine as compared with those of normal rats. Especially absorption of ampicillin was more decreased than those of antipyrine. The blood level of antipyrine in severe state was decreased but in mild state. Blood level of ampicillin was decreased in mild state as well as in severe state.

Relative bioavailability of antipyrine and ampicillin were mostly decreased in rabbits pretreated with typhoid vaccine except that of antipyrine in mild state.

Renal clearance of antipyrine was not affected, but that of ampicillin was apt to increase. Protein binding of antipyrine and ampicillin were decreased by high concentration of typhoid vaccine.

治療目的을 위해서 二重以上の 製劑가 投與되는 경우 이 藥物들의 相互作用으로 인한 有害作用, 長期間投與로 인한 臟器障害, 用量의 過量으로 인한 藥物中毒狀態, 特히 藥物投與로 인한 藥劑起人性疾患 등의 超來를 생각할 수 있다. 그리고 藥劑는 大部分 疾病을 治療하기 위해서 投與되므로 實際에 있어서 正常狀態의 生體에서 보다는 病態인 生體에서 藥劑의 生物

* College of Pharmacy, Chosun University.

藥劑學 및 臨床藥劑學的인 側面에의 藥劑의 生體內 利用効率에 關한 研究가 重要하다. 그것은 病態의 生體內에서 藥劑의 吸收, 排泄, 代謝, 分布, 蛋白結合, 半減期, 相互作用 等に 變化가 있을 수 있기 때문이다.

臨床的으로 大部分 疾患은 發熱을 수반하는 事例가 많다. 發熱性 疾患의 效果的인 治療設計를 위해서 藥劑의 用量, 投與間隔, 投與方法, 相互作用等에 關한 것과 藥劑의 生體利用率이 重要視된다. 實驗의 病態動物에서의 生體內 研究로는 Niwa¹⁾, Levi²⁾, Choi³⁾, Lee⁴⁾, Lippman⁵⁾ 등의 肝臟 및 腎臟障害에서의 利用効率實驗, Choi⁶⁾ 등의 alloxan diabetes 病態動物에서 實驗, Nosakhage G, O⁷⁾의 發熱狀態時的 chloroquine의 kinetics 研究 등 少數의 論文만을 볼 수 있으며 大部分 正常狀態등의 生體內에서만 藥劑의 利用效率가 報告되어 있다⁸⁻¹⁶⁾. 著者는 實驗의 發熱性 疾患의 모델을 위해서 typhoid vaccine으로 處理하였으며 投與藥劑로는 解熱鎮痛劑인 antipyrine과 廣範圍 抗生劑인 ampicillin을 선택하였다. typhoid vaccine으로 處理된 rat와 rabbit에서의 antipyrine과의 吸收, 血中濃度, 尿中濃度 등을 實驗하였다.

實驗方法

試料—antipyrine(E. Merck), ampicillin(Chong Keun Dang Co), phosphomolybdic acid(E. Merck), urethane(和光) *p*-dimethyl aminobenzaldehyde. Visking tube(48 ang. Thomas Co), typhoid vaccine(Dongsin Co), trichloro acetic acid(和光)

對照實驗動物—各群을 6마리로 하여 typhoid vaccine 0.25ml/kg씩 筋肉注射로 1日 1回 (mild state) 投與群과 1日 1회로 2日間投與群(severe state)으로 分類하여 投與後 12時間後에 本實驗을 했다.

Loop's circulation method(in situ)에 依한 rat小腸에서의 吸收—一定한 條件下에서 飼育된 200g前後의 쥐를 實驗前 24時間 絶食시킨 후 ether로 麻醉시켜 Shanker¹⁷⁾ 등의 方法에 따랐으며 이때 還流溶液은 KH₂PO₄(6.2g), Na₂HPO₄(4.4g) NaCl(5g)를 精製水에 溶解하여 1l로 緩衝液(pH6.5)에 antipyrine 0.5m Mol과 ampicillin 0.5m Mol量을 各各 用時 1l로 調製하여 實施하였으며 이때의 吸收率은 다음 式에 따라 算出하였다.

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

血中 및 尿中の antipyrine과 ampicillin의 測定—一定하게 處理된 體重 2kg前後의 雄性 家兔를 實驗前 24時間 絶食시킨 후 痲醉는 urethane(20%) 4ml/kg로 皮下注射하였으며 antipyrine 50mg/kg, ampicillin 100mg/kg을 各各 經口投與後 1時間 間격으로 6時間동안 한쪽 대퇴동맥에서 血液을 採取하였으며 尿는 下腹部를 symphysis 위에서 正中線을 따라 소절개하여 膀胱을 露出시킨 후 輸尿管에 P.E tube를 插入하여 尿를 採取한 후 antipyrine은 M. J. Hahn¹⁸⁾ 方法, ampicillin은 Smith and Lee^{19, 20)} 方法에 의해서 定量을 하였다.

Antipyrine과 ampicillin의 A. U. C의 計算—antipyrine과 ampicillin의 area under the blood level curve(A. U. C)는 trapezoidal rule을 적용하였다.

즉 Antipyrine and ampicilline percent relative availability

$$= \left[\int_0^b \text{C} \text{odt} \right]_{\text{treat}} / \left[\int_0^b \text{C} \text{odt} \right]_{\text{normal}} \times 100$$

蛋白結合率 測定—Clolz²¹⁾ 등의 方法에 따라 平衡透析法으로 測定하였다. 5%加熱 人血漿蛋白(plasmate) 10ml를 Visking cellophane bag에 넣고 이것을 antipyrine과 ampicillin 100

mg/l의 磷酸緩衝液 10ml에 一定時間 沈澱 平衡시킨 후 透析外用液을 採取하여 antipyrine과 ampicillin의 蛋白結合을 다음 式에 의해서 算出하였다.

$$\text{Bound \%} = \frac{\text{Conc. control} - \text{Conc. sample}}{\text{Conc. of control}} \times 100$$

結果 및 考察

Loop's circulation method에 의한 rat小腸에서의 吸收—臨床藥劑學의 研究의 一環으로서 實驗的 病態動物에서 藥劑의 利用效率에 對한 研究의 시도가 要求된다. typhoid vaccine으로 處理된 rat小腸에서 antipyrine과 ampicillin의 吸收는 Table I과 같다. 즉 antipyrine과 ampicillin의 吸收率은 正常狀態보다 低下되었다. 正常狀態에서 antipyrine과 ampicillin의 吸收率을 100%로 환산할 때 antipyrine은 95.3%(mild), 91.2%(severe), ampicillin은 93.7%(mild), 88.8%(severe)로 吸收率이 감소되었다.

Table I—The Effect of Pyrogen Reagent on the Absorption of Antipyrine and Ampicillin in Small Intestine of Rats

Time (min.)	Antipyrine			Ampicillin		
	Control $C_o - C_t$	TV ₁ $C_o - C_t$	TV ₂ $C_o - C_t$	Control $C_o - C_t$	TV ₁ $C_o - C_t$	TV ₂ $C_o - C_t$
30	0.037	0.035	0.032	0.035	0.032	0.030
60	0.088	0.084	0.079	0.085	0.081	0.075
90	0.124	0.120	0.115	0.121	0.118	0.111
120	0.159	0.157	0.151	0.156	0.150	0.145
150	0.195	0.190	0.186	0.191	0.185	0.170
180	0.215	0.205	0.197	0.207	0.194	0.183
AR	43.0	41.0	39.2	41.4	38.8	36.8
CP	100.0	95.3	91.2	100.0	93.7	88.8

C_o , initial concentration 0.5mMol.; C_t , remaining concentration of sampling time. AR, absorption ratio at 180min. to initial concentration. CP, comparative absorption percentage to control. TV₁, typhoid vaccine 0.25ml/kg administered for 1 day. TV₂, typhoid vaccine 0.25ml/kg administered for 2 days.

家兎에서 antipyrine과 ampicillin의 血中濃度—Table II에서 考察해 보면 typhoid vaccine으로 處理한 rabbit에서 antipyrine의 血中濃度は mild狀態에서는 多少 增加된 것 같지만 統計學上 意義는 없었으며 severe狀態에서는 抑制되었다. 즉 control 100.0%일 때 mild에서는 100.4%, severe상태에서는 95.4%로 抑制되었다. Ampicillin投與에서는 typhoid vaccine處理에 의해서 抑制되었다. mild狀態보다도 severe狀態에서 血中濃度は 더 抑制되었다. 즉 3時間제의 血中濃度 百分율을 檢討해보면 control狀態 100.0%일 때 mild狀態에서 97.3%, severe狀態에서 86.5%로 減少되었다.

Antipyrine과 ampicillin의 利用效率 比較—Trapezoidal rule을 적용하여 antipyrine과 ampicillin의 血中濃度曲線으로부터 A. U. C값을 구하면 Table III과 같다. Typhoid vaccine으로 處理된 病態動物에서 antipyrine의 利用效率은 mild狀態에서는 增加된 傾向이 있으나 severe狀態에서는 抑制되는 傾向이 있다. 즉 control을 100.0%로 환산할 때 mild狀態에서

Table II—The Effect of Pyrogen Reagent on the Blood Level of Antipyrine and Ampicillin Administered Orally in Rabbits

Time (hr.)	Antipyrine			Ampicillin		
	Control	TV ₁	TV ₂	Control	TV ₁	TV ₂
1	#22±2.3	23±2.4	20±2.5	32±3.1	31±2.8	28±3.4
2	24±2.7	25±3.0	23±2.3	39±4.0	37±3.3	35±3.8
3	22±2.4	23±2.0	21±2.6	37±3.2	36±3.6	32±3.5
4	19±2.2	20±2.1	17±2.0	33±3.6	32±3.4	27±3.2
5	16±1.9	17±2.2	14±1.8	29±3.0	28±3.1	23±2.7
6	13±1.8	14±2.0	11±1.6	25±2.7	24±2.5	19±2.3
AP	100.0	100.4	95.4	100.0	97.3	86.5

#Blood level±S.E.(mcg/ml). TV₁, Typhoid vaccine 0.25ml/kg for 1day. TV₂, Typhoid vaccine 0.25ml/kg for 2days. A.P, Blood level percent at 3hrs to control.

Table III—The Effect of Pyrogen Reagent on the A.U.C. of Antipyrine and Ampicillin Administered Orally in Rabbits

Time	Antipyrine			Ampicillin		
	Control	TV ₁	TV ₂	Control	TV ₁	TV ₂
1	11.0±1.2	12.5±1.2	10.0±1.3	16.0±1.5	15.5±1.4	14.0±1.7
2	23.0±2.5	24.0±2.7	21.5±2.4	35.5±3.5	34.5±3.1	31.5±3.6
3	23.0±2.6	24.0±2.9	22.0±2.5	38.0±3.6	37.0±3.4	33.5±3.7
4	20.5±2.3	21.5±2.4	18.5±2.3	35.0±3.4	34.0±3.5	29.5±3.4
5	17.5±2.1	18.5±2.1	15.5±1.9	31.0±3.3	30.0±3.2	25.0±2.9
6	14.5±1.8	15.5±2.1	12.5±1.7	27.0±2.8	26.0±3.0	21.0±2.5
AR ₁	100.0	100.4	91.3	100.0	97.2	88.7
AR ₂	100.0	100.4	95.6	100.0	97.3	88.2

A.U.C., Area under the blood level curve(mcg/ml, hrs). AR₁, percent relative availability at 2hrs(%). AR₂, percent relative availability at 3hrs(%).

100.4%, severe狀態에서 95.6%이었다. ampicillin의 利用効率は control에 比해서 抑制되었다. mild狀態에서 보다 severe狀態에서 더 抑制되었다. 즉 2時間제의 比較利用効率は control 100.0%일 때 mild 97.2%, severe 88.7%이었다.

家兎에서 ampicillin의 尿中排泄—typhoid vaccine으로 處理된 病態動物에서 antipyrin과 ampicillin의 尿中排泄을 살펴보면 Table IV와 같다.

antipyrine의 尿中排泄은 control과 비슷하였다. 즉 5時間에서 antipyrine의 clearance값은 control 1.00ml/min. severe 1.01ml/min.이며 4時間에서 control 1.02ml/min. severe 1.02ml/min.이었다. Ampicillin의 尿中排泄은 control에 比해서 다소 增加되는 傾向이 있었다. 즉 5時間제의 ampicillin의 clearance값은 control 1.20ml/min. severe 1.22ml/min. 4時間제의 clearance값은 control 1.21ml/min. severe 1.24ml/min. 으로 尿中排泄이 다소 增加되는 傾向이 있었다.

Table IV—The Effect of Pyrogen Reagent on the Urinary Excretion of Antipyrene and Ampicillin in Rabbits

Time (min.)	Antipyrene						Ampicillin					
	Control			TV ₂			Control			TV ₂		
	UaV	Pa	Ca	UaV	Pa	Ca	UaV	Pa	Ca	UaV	Pa	Ca
0~60	19.55	23	0.85	17.2	20	0.86	43.20	32	1.35	37.80	28	1.35
60~120	24.96	26	0.96	22.08	23	0.96	55.38	39	1.42	49.7	35	1.43
120~180	23.76	24	0.99	20.20	20	1.01	49.21	37	1.33	42.88	32	1.34
180~240	21.42	21	1.02	17.34	17	1.02	39.93	33	1.21	33.48	27	1.24
240~300	18.00	18	1.00	14.15	14	1.01	34.80	29	1.20	28.06	23	1.22

UaV, Urinary excretion rate (mcg/min). Pa, Blood level (mcg/ml). Ca: Renal clearance (ml/min).

Table V—The Effect of Pyrogen Reagent Concentration on the Prote in Binding of Antipyrene and Ampicillin *in vitro*

Time (hr.)	Antipyrene			Ampicillin		
	Control	TV ₁	TV ₂	Control	TV ₁	TV ₂
12	#17.5±2.2	16.0±1.9	17.0±2.4	23.5±3.0	23.0±2.7	21.5±3.0
24	19.0±2.7	18.5±1.8	18.0±2.0	25.2±2.6	24.5±3.0	24.0±2.2
48	20.5±2.3	19.0±2.3	18.5±2.4	26.0±2.8	25.0±3.2	24.5±2.8

#protein binding %±S.E. TV₁, Typhoid vaccine 0.5ml. TV₂, Typhoid vaccine 1.5ml.

蛋白質結合率 實驗—藥物の 蛋白質結合은 吸收, 排泄, 代謝에 影響을 주기 때문에 typhoid vaccine이 antipyrene과 ampicillin의 蛋白質結合에 어떤 影響을 주는가를 實驗한 結果는 Table V와 같다.

Typhoid vaccine은 antipyrene과 ampicillin의 蛋白質結合에는 TV₁에서는 거의 影響이 없었으나 TV₂에서는 多少 抑制되는 傾向이 있었다. 즉 antipyrene에서는 control 20.5%, TV₁ 19.0%, TV₂ 18.5%이며 ampicillin에서는 control 26.0%, TV₁ 25.0%, TV₂ 24.5%이었다.

結 論

發熱性 疾患의 臨床藥劑學的 研究의 一環으로서 typhoid vaccine으로 處理시킨 發熱性 病態生體에서 antipyrene과 ampicillin의 利用效率에 關한 結果는 다음과 같다.

1. typhoid vaccine으로 處理된 rat小腸에서 antipyrene과 ampicillin의 吸收는 control에 比해서 抑制되었다.
2. typhoid vaccine으로 處理된 rabbit로부터 antipyrene의 血中濃度는 mild狀態에서는 增加되는 傾向이 있고 severe狀態에서는 抑制되었다. 그러나 ampicillin의 血中濃度는 低下되었다.
3. 發熱性 病態狀態의 家兎에서 A.U.C값은 ampicillin은 低下되었으나 antipyrene은 影響이 적었다.

文 獻

- 1) Hiroshi Niwa. Noborn hikichi, *Yakuzaigaku*, **35**, 1 (1975)
- 2) A.J. Levi, Sheila, Sherlock, *Lancet*, **77**, 64 (1970)
- 3) J.S. Choi, *J. Korean Pharm. Sci.*, **6**, 2 (1976)
- 4) J.H. Lee, J.S. Choi, *Yak Hak Hoeji*, **22**, 4 (1978)
- 5) R.W. Lippman, *J. Expt. Med.*, **93**, 2 (1951)
- 6) J.S. Choi, *J. Korean Pharm. Sci.*, **8**, 1 (1978)
- 7) Nosakharege, Osifo, *J. Pharm. Pharmacol.*, **31**, 747 (1979)
- 8) J.H. Lee and J.S. Choi, *J. Korean Pharm. Sci.*, **4**, 12 (1974)
- 9) J.S. Choi and J.H. Lee, *ibid.*, **5**, 4 (1975)
- 10) J.H. Lee and J.S. Choi, *Korean J. Pharmac.*, **9**, 1 (1973)
- 11) J.H. Lee and J.S. Choi, *The Korean Central J. Medicine*, **28**, 1 (1973)
- 12) S.T. Ko, *J. Korean Pharm. Sci.*, **1**, 85 (1971)
- 13) M.H. Lee, *ibid.*, **1**, 62 (1971).
- 14) S.K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **4**, 12 (1974)
- 15) J.W. Kim, *ibid.*, **4**, 19(1974)
- 16) J.W. Kim, *ibid.*, **1**, 78 (1971).
- 17) L.S. Shanker, *J. Pharm. Expt. Therap.*, **123**, 8 (1958)
- 18) M.J. Hahn et. al., *Anal. Chem.*, **151**, 104 (1956)
- 19) J.W.G. Smith, *Analyst.*, **19**, 247 (1967).
- 20) W.K. Lee, et. al., *J. Pharm. Soc. Korea*, **18**, 190(1974)
- 21) I.M. Clotz, *The Protein* **1**, 758 (1953)