

數種乳化劑가 Goldfish와 Rat에서 Antipyrine의 吸收에 미치는 影響

廉 哲 鎬 · 李 珍 煥

朝鮮大學校 藥學大學

Effect of Some Surfactants on the Absorption of Antipyrine in Goldfish and Rat

(Received January 16, 1982)

Chel Ho Yeum and Jin Hwan Lee

The effect of various surfactants on the absorption of antipyrine was studied using goldfish and rat.

The results are as follows.

The threshold concentration of antipyrine was reduced by various surfactants.

Overturn time and death time of goldfish, in solution containing different concentration of antipyrine were reduced by the presence of various surfactants.

Plots of reciprocal death time versus antipyrine concentration were linear with a positive concentration intercept such as minimum effective concentration.

The absorption of antipyrine from rat small intestine was increased by administration with surfactants.

As results, is believed to be one of rendering the goldfish membrane or rat small intestine more permeable to antipyrine.

藥物の 吸收에 관한 研究에서 Levy 등이 물고기(goldfish)를 이용한 이래 금붕어는 구하기 쉬우며 低廉한 價格, 신속한 有用性, 耐久力 때문에 널리 使用되고 있다. 물고기가 들어 있는 溶液의 藥物 濃度와 吸收率, 그리고 藥物の 效果가 出現하는 時間에는 函數關係가 있기 때문이다. 生體膜을 통한 吸收의 研究로는 Levy¹⁾, Collett²⁾, Florence³⁾, Kaka 등⁴⁾의 발표가 있다. 藥劑學에서 Surfactant는 乳化劑, 溶解劑, 製劑의 添加劑로 널리 使用되며 surfactant는 藥物の 利用效率에 影響을 줄 것으로 思料된다.

* College of Pharmacy, Chosun University

乳劑에 대한 吸收의 研究로는 Blanpin⁵⁾의 乳劑가 胃腸에서 吸收에 미친 影響, Gantt^{6,7)}의 乳劑가 steroid 吸收에 미친 影響, Lish⁸⁾의 乳劑가 hormone 吸收에 미친 影響, Nishioka⁹⁾의 乳劑가 insulin 直腸吸收에 미친 影響, Kobayashi¹⁰⁾의 乳劑가 INAH의 筋肉吸收에 미친 影響 등이 發表되어 있다. 그러나 乳劑를 使用한 goldfish의 生體膜을 통한 吸收實驗이나 rat 小腸에서의 吸收는 發表된 바 없다. 著者는 antipyrine을 使用하여 여러 種類의 乳劑의 濃度에 따라 動力學的 立場에서 goldfish의 threshold time, overturn time, death time 등을 測定하므로서 吸收實驗을 하였으며 또한 rat 小腸에서 antipyrine의 吸收率를 測定하여 goldfish와 rat 種差에 대해서도 實驗을 하여 知見을 發表한다.

實 驗 方 法

試料——antipyrine(sigma), span 80(和光), tween 80(和光), triethanolamine(和光), sodium lauryl sulfate(和光), KH_2PO_4 (和光), Na_2HPO_4 (和光), NaCl(和光), ether(和光), *p*-dimethylaminobenzaldehyde(Ishizu pharm. Co.)

試料溶液의 調製——goldfish에서 antipyrine과 surfactant의 濃度: antipyrine 75mg%에서부터 350mg%까지 그 사이를 25mg 또는 50mg의 間隔으로 10개로 分割하였으며 surfactant는 液狀劑와 固形劑로 區分하여 液狀劑에서는 0.05%, 0.1%, 0.5%, 固形劑에서는 1mg%, 2mg%, 10mg%로 하여 使用하였다.

Rat에서 還流溶液의 調製: KH_2PO_4 (9.2g), Na_2HPO_4 (4.4g), NaCl(5.0g)을 蒸流水에 溶解하여 1/로 한 緩衝液(pH6.5)으로 使用直前に 調製한 溶液에 antipyrine 0.5m Mol과 Surfactant 0.1%와 2mg%에 해당된 양을 使用直前に 溶解하여 使用하였다.

Goldfish에서 Overturn Time과 Death Time의 測定——一定한 條件下에서 飼育된 무게 $7 \pm 1\text{g}$ 의 금붕어(Comet)를 12時間 絶食시킨 후 藥物溶液에 잠기게 하고 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 3時間동안 overturn time과 death time을 Levy and Gucinski 方法¹⁾에 준하여 測定하였다. 즉 righting reflex가 되지 않을 때를 overturn time, 입과 아가미가 움직이지 않을 때를 death time으로 하였다.

Goldfish에서 Antipyrine의 吸收實驗——一定한 條件下에서 飼育된 무게 $7 \pm 1\text{g}$ 의 금붕어를 12時間 絶食시킨 후 各群을 6마리로 하여 各各 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 250ml beaker의 藥物溶液 100ml에 잠기게 하였다. antipyrine은 0.5m Mol 濃度로 使用하였으며 surfactant는 中間濃度인 0.1v/v%와 2mg%를 使用하여 30分, 60分, 90分, 120분에 걸쳐서 各各 sample 1ml를 취해서 Deysson 方法¹¹⁾에 의해서 殘留 藥物濃度를 測定하여 吸收率을 算出하였다.

흰쥐 小腸에서의 吸收實驗(in situ)——一定한 條件下에서 飼育된 200g 전후의 spargue-Dowly계 rat를 實驗前 20時間 絶食시킨 후 ether로 麻醉시켜 Shanker 方法¹²⁾에 의해 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 후에 試料溶液 0.5ml를 取하여 對照液으로 하고 매 30분마다 0.5ml를 取하여 Deysson 方法¹¹⁾에 의하여 antipyrine을 定量하여 다음 식에 의해서 吸收率을 算出했다.

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

結 果

Goldfish에서 乳化劑가 **Antipyrine**의 **Threshold Concentration**에 미치는 影響——antipyrine의 threshold concentration 값은 Table I에서와 같이 乳化劑의 種類와 濃度에 따라서 어떤 경우라도 減少되었다. 즉 control에서는 200mg%이었으나 span 80에서 175mg%(0.05), 125mg%(0.1, 0.5), triethanolamine에서 175mg%(0.05), 125mg%(0.1, 0.5), tween 80에서 175mg%(0.05), 150mg(0.1), 125mg%(0.5), sodium lauryl sulfate에서 125mg%(1mg), 100mg%(2mg), 75mg%(10mg)이었다.

Table I—The Effect of Surfactants in Goldfish on the Mean Threshold Concentration of Antipyrine

Antipyrine Conc.	Control	Span 80 (%)			Triethanol-amine(%)			Tween 80 (%)			Sod. Lauryl Sulfate(mg)		
		0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	1	2	10
Threshold Conc.	200※	175	125	125	175	125	125	175	150	125	125	100	75

※ mean value concentration of antipyrine (mg%)

Goldfish에서 乳化劑가 **Antipyrine**의 **Overturn Time**에 미치는 影響——goldfish의 overturn time은 antipyrine의 吸收에 의해서 일어나는 藥物의 效果發現이다. 乳化劑와 antipyrine의 併用投與時 overturn time은 Table II에서와 같이 어떤 경우라도 短縮되었다. 즉 antipyrine 250mg%에서 control은 118分, span 80(0.1%)에서 39分, triethanolamine (0.1%)에서 39分, tween 80(0.1%)에서 52分, sodium lauryl sulfate(2mg%)에서 25分으로 短縮되었다. antipyrine의 overturn time은 sodium lauryl sulfate, span 80, triethanolamine, tween 80의 순으로 短縮되었다.

Table II—The Effect of Surfactants on the Mean Overturn Time of Goldfish in Antipyrine Absorption

Antipyrine Conc.(mg%)	Control	Span 80 (%)			Triethanol-amine (%)			Tween 80 (%)			Sod. Lauryl Sulfate(mg%)		
		0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	1	2	10
75													—
100													— 85
125													76 75
150			68	64		72	68			84	70	68	65
175									85				
200	※—	70	59	57	69	67	60	73	70	68	55	52	47
225	147												
250	118	44	39	37	47	39	39	55	52	50	27	25	25
300	85	26	25	25	31	30	27	27	33	25	19	18	15
350	42	13	10	9	12	11	8	48	42	38	8	7	6

※ mean value overturn time (min.)

Goldfish에서 乳化劑가 Antipyrine의 Death Time에 미치는 影響——乳化劑는 Table III과 Fig 1.에서와 같이 어떤 경우라도 antipyrine의 death time을 短縮시켰다. 또한 乳化劑의 濃度增加에 따라 death time도 短縮되는 傾向이 있다. 즉 antipyrine 250mg%에서 control은 136分, span 80(0.1%)에서 48分, triethanolamine(0.1%)에서 50分, tween 80 (0.1%)에서 63分, sodium lauryl sulfate(2mg%)에서 32分이었다. 短縮되는 順序는 overt-urn time과 同一하였다.

Table III—The Effect of Surfactants on the Death Time of Goldfish in Antipyrine Absorption

Antipyrine Concentration(mg%)	Control	Span 80 (%)			Triethanol-amine(%)			Tween 80 (%)			Sod. Lauryl Sulfate(mg)		
		0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	1	2	10
75													
100													99
125												90	90
150			88	87		91	88			98	86	82	80
175									85	98			
200	#—	86	82	77	89	80	73	90	86	79	66	60	57
225	168												
250	136	55	48	47	56	50	49	65	63	61	36	32	31
300	97	32	29	28	37	36	32	46	45	37	22	22	20
350	51	14	12	13	14	14	13	18	15	14	11	10	9

mean value death time (min)

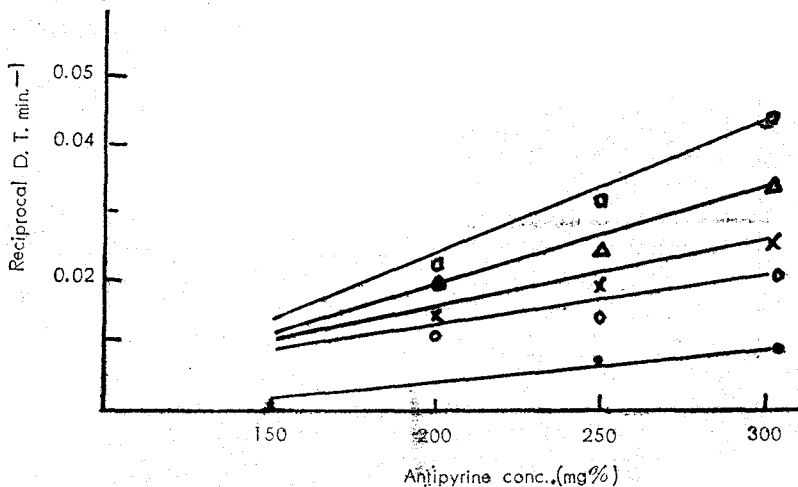


Figure 1—The effect of surfactant's concentration on the reciprocal death time (D.T.) of goldfish as a function of antipyrine concentration.

Key: Control; ○, Tween80 (0.1%); ×, Triethanol-amine (0.1%); △, Span 80' (0.1%); □, Sod. lauryl sulfate (2mg%).

Goldfish에서 乳化劑가 **Antipyrine**의 吸收에 미치는 影響——實驗中 推測되는 藥物의 排泄, 代謝 등에 의한 양은 極微量이기 때문에 無視했으며 단순히 生體膜을 통과하는 양으로부터 吸收率을 算出했다. Table IV에서 보던 乳化劑는 antipyrine의 吸收에 대해서 時間에 따라 약간 影響을 주었다. 그러나 吸收된 양이 아주 微量이기 때문에 큰 差異는 없었다. 즉 120分에서 control이 5.7%이며 Span 80에서 6.7%, triethanolamine에서 6.1%, tween 80에서 6.0%, sodium lauryl sulfate에서 6.9%의 吸收率을 나타냈다.

Table IV—The Effect of Surfactants on the Absorption of Antipyrine in Goldfish

Time(min)	Control		※Span 80		Triethanol-amine		Tween 80		Sod. Lauryl Sulfate	
	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR
30	0.012#	2.4	0.014	2.8	0.013	2.6	0.130	2.6	0.015	2.9
60	0.019	3.8	0.024	4.7	0.021	4.2	0.021	4.1	0.024	4.8
90	0.025	5.0	0.029	5.8	0.027	5.4	0.027	5.4	0.03	6.0
120	0.029	5.7	0.034	6.7	0.031	6.1	0.03	6.0	0.035	6.9

Co, initial concentration (0.5mM) ; Ct, remaining concentration at sampling time ;
 AR, absorption rate (%) at each time ; #, absorption mean value (1×10^{-2} mM/l) ;
 ※, surfactants concentration (0.1%, or 2mg%) ;

Rat 小腸에서 乳化劑가 **Antipyrin**의 吸收에 미치는 影響(*in situ*)——rat 小腸에서 antipyrine의 吸收은 Table V와 Fig 2,3에서와 같이 乳化劑의 種類에 따라서 어떤 경우라도 促進되었다. 즉 180分에서 control의 吸收率은 41.2%이며 span80에서 48.4%, triethanolamine에서 47.0%, tween 80에서 46.5%, sodium lauryl sulfate에서 49.0%이었다. Antipyrine의 吸收率은 span 80과 sodium lauryl sulfate에서 비슷하였다. 즉 goldfish에서와 같이 rat 小腸에서도 吸收率이 거의 비슷하게 나타난다는 事實을 알 수 있다.

Table V—The Effect of Surfactants on the Absorption of Antipyrine in Rat Small Intestine (in situ)

Time(min)	Control		※Span 80		Triethanol-amine		Tween 80		Sod. Lauryl Sulfate	
	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR	Co-Ct	AR
30	0.047#	9.4	0.08	16.0	0.071	14.2	0.072	14.3	0.081	16.2
60	0.091	18.2	0.129	25.7	0.117	23.4	0.115	23.0	0.133	26.5
90	0.129	25.7	0.165	33.0	0.156	31.1	0.151	30.2	0.167	33.4
120	0.161	32.1	0.197	39.4	0.185	37.0	0.183	36.5	0.203	40.6
150	0.187	37.5	0.222	44.3	0.214	42.7	0.212	42.4	0.228	45.5
180	0.206	41.2	0.242	48.4	0.235	47.0	0.23	46.5	0.245	49.0

Co, initial concentration (0.5mM) ; Ct, remaining concentration at sampling time ;
 AR, absorption rate (%) at each time ; #, absorption mean value (1×10^{-2} mM/l) ;
 ※, surfactants concentration (0.1% or 2mg%)

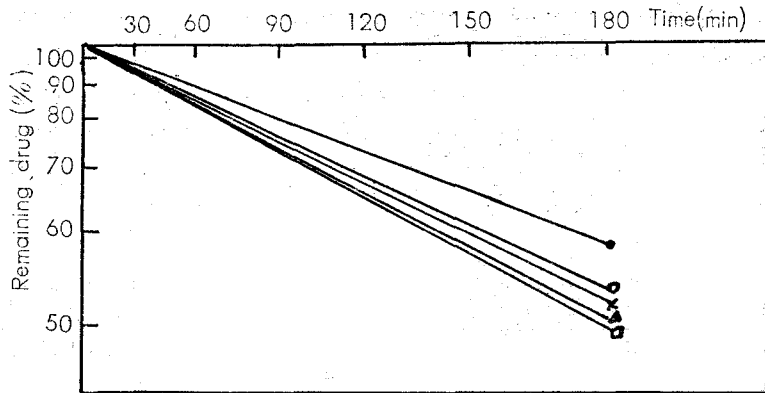


Figure 2—Linear relationship between remaining percent of antipyrene and time in small intestine of rats combined with various surfactants concentration in logarithmic scale.

Key : ●, control; ○, tween (0.1%); ×, triethanolamine (0.1%); △, span80; □, sod. lauryl sulfate (2mg%).

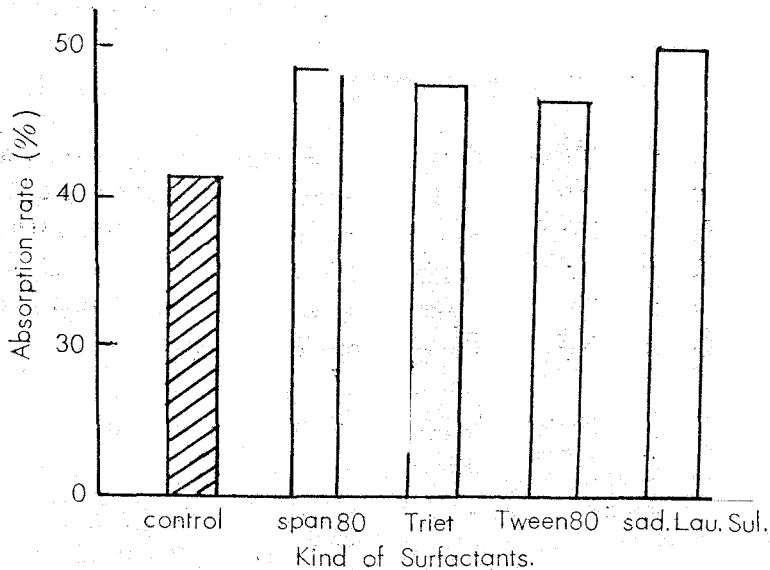


Figure 3—Percentage changed of absorption rate of antipyrene in small intestine of rats combined with various surfactants.

考 察

surfactant는 藥劑學分野에서 乳化劑, 溶解劑, 製劑의 添加劑 등으로 使用되므로써 藥物의 利用效率에 어떤 影響을 미칠 수 있다. 역시 本 研究에서도 乳化劑는 antipyrene의 吸收에 影響을 주었다. 즉 금붕어의 overturn time과 death time이 乳化劑에 의해서 意義있게 短縮

되었다. 또한 금붕어의 生體膜을 통한 吸收率도 增加되었다. 이것은 Kaka 등⁴⁾의 乳化劑인 polysorbate 80이 aminopyrine의 吸收를 促進시켰다는 報告와 一致하였다. 그러나 ethanol의 吸收에는 影響을 주지 못했다고 報告되어 있다. 또한 Florence 등³⁾의 乳化劑인 tween80이 chlorpromazin에서 금붕어의 overturn time과 death time을 短縮시켰다는 報告와도 一致하였다. 本 研究에서 乳化劑는 rat 小腸에서도 antipyrine의 吸收를 促進시켰다. 이것은 Gantt 등^{6,7)}의 polysorbate 80이 spironolactone의 吸收를 促進시켰다고 發表한 것과 一致하였으며 Lish 등⁸⁾의 sodium lauryl sulfate가 phenol red의 吸收를 促進시켰다고 發表한 것과도 一致하였다. 또한 Riegelman 등¹³⁾의 polysorbate 20과 sodium lauryl sulfate가 sodium iodide를 直腸內吸收를 促進시켰다고 發表한 것과는 一致하였으나 iodoform의 吸收를 抑制시켰다는 報告와는 相反되었다. Nishioka 등⁹⁾의 polysorbate 60이 insulin의 直腸內吸收를 促進시켰다고 發表한 것과 一致하였으며 Tardos 등¹⁴⁾의 span 60과 tween 60을 各各 添加했을 때 atropine, morphine의 直腸內 吸收가 促進되었다는 報告와도 一致하였다.

吸收가 促進된 것은 乳化劑에 의한 surface tension의 低下와 mucous peptizing action으로 吸收 粘膜과 藥物과의 接觸을 增加시키기 때문이다. 抑制된 것은 乳化劑가 表面活性을 이루고 있는 藥物分子들은 micelle을 形成하므로서 吸收가 抑制되는 것이다. micelle 形成은 乳化劑의 濃度가 critical micelle concentration(CMC)으로서 알려진 값을 超過할 때에 形成이 되는 것이다. CMC 값보다도 낮은 濃度에서는 투과막과 藥物이 잘 接觸되어 溶液의 surface tension을 抑制시키므로서 生體膜의 투과성을 增加시켜 吸收가 促進되며 CMC 값보다도 높은 濃度에서는 藥物의 分子가 形成된 micelle에 포위되어 吸收가 抑制된다고 思料된다.

結 論

여러 種類의 乳化劑의 濃度에 따른 antipyrine의 生物藥劑學의 研究로써 goldfish에서 overturn time과 death time에 의한 吸收實驗, rat 小腸에서의 吸收率에 대한 研究 結果는 다음과 같다.

1. 乳化劑는 antipyrine의 threshold concentration을 control에 비해서 短縮시켰다.
2. 乳化劑는 antipyrine 溶液에서 goldfish의 overturn time과 death time을 短縮시켰다. 즉 sodium lauryl sulfate가 가장 短縮시켰으며 span 80, triethanolamine, tween 80의 순으로 短縮되었다.
3. 乳化劑의 最小有效濃度(M.E.C) 내에서 濃度の 增加에 따라 goldfish의 overturn time과 death time은 漸進적으로 短縮되었다.
4. 乳化劑는 rat 小腸에서 antipyrine의 吸收를 促進시켰다.