

病態 토끼에서의 Nalidixic Acid의 藥物動態學의 研究

李 民 和

서울대학교 藥學大學

Pharmacokinetics of Nalidixic Acid in CCl₄-Toxicated Rabbit

Min Hwa Lee

(Received May 29, 1983)

In order to elucidate the effects of Panax Ginseng on the pharmacokinetic parameters of nalidixic acid in a patho-physiological changes, the kinetics of the disappearance of the drug from the blood, appearance in the bile and urinary excretion were studied in CCl₄-toxicated rabbits.

The pharmacokinetics of the drug nalidixic acid in rabbits were modeled by a two compartment.

Total saponin, water extract from Panax Ginseng, significantly decreased biliary and urinary excretion of nalidixic acid.

疾病治療에 投與되는 藥劑는 同一用量에서 반드시 同等한 治療效果가 나타나는 것은 아니며 投與된 藥劑의 效果는 一般의으로 藥物의 血中藥物濃度에 比例하며 이 血中藥物濃度는 藥物의 吸收·分布·代謝 및 排泄의 pharmacokinetic parameters에 依해 定해진다.

肝臟은 藥物代謝의 major site이며 病的狀態에서는 hepatic dysfunction으로 因하여 代謝, hepatic transport 등 pharmacokinetic parameters는 크게 影響을 받는다¹⁾. 따라서 疾病治療에 投與되는 藥劑에 관한 病的狀態에서의 藥物動態學의 研究는 pharmacokinetic parameters에 影響을 미치는 因子를 究明하는 것으로서 藥物療法에서의 藥物投與計劃, individualization of drug dosage 및 새로운 藥劑의 製劑設計에 極히 重要하다.

Klaassen등²⁾은 CCl₄가 sulfobromophthalein의 代謝, 排泄에 미치는 影響을 보고한 바 있으며 rat의 慢性CCl₄毒肝에서는 sulfobromophthalein에 대한 Y-fraction의 binding ability

College of Pharmacy, Seoul National University

本研究는 1982年度 文教部 學術研究助成費에 依하여 이루어진 것임.

가 50% 이상 감소하고 liver uptake에 영향을 미치며^{3,4)},禹등⁵⁾은 CCl₄-intoxicated rabbit에서의 bromophenol blue의 肝膽輸送에 관한 研究를 보고하였다. Pharmacokinetics에 관한 研究로는 Giorgi등⁶⁾의 CCl₄-intoxicated rat에서의 研究가 있으며 rat의 CCl₄中毒狀態에서 sulfobromophthalein의 hepato-biliary transport는 four-compartment model로 해석한 研究가 있다.

人蔘은 古來로부터 東洋에서는 強壯敎果를 비롯한 神秘의 靈藥으로 使用되었으며 現在 人蔘의 藥理作用에 대하여 많은 研究가 進行되고 있다. 人蔘의 肝障害에 대한 研究도 많으나 LD₅₀, GOT·GPT^{7~9)}, RNA, DNA¹⁰⁾등에 대한 生化學的 研究, 病理組織學的 研究이며 藥物動態學的 研究로는 孫등¹¹⁾의 研究등이 있으나 人蔘이 藥物動態學的 parameter에 미치는 영향에는 많은 연구과제를 남겨두고 있다.

化學療法劑의 pharmacokinetic parameter에 미치는 病的狀態의 영향 및 이들에 미치는 人蔘의 영향에 관한 研究로서 經口投與로 비교적 吸收가 좋으며 尿·膽汁으로의 移行도 좋아 體內動態의 差를 쉽게 알 수 있는 nalidixic acid^{12~15)}를 利用하여 急性 CCl₄中毒狀態에서 nalidixic acid의 pharmacokinetic parameter에 미치는 人蔘의 영향에 관한 研究에서 얻은 知見을 報告하고자 한다.

實驗 및 方法

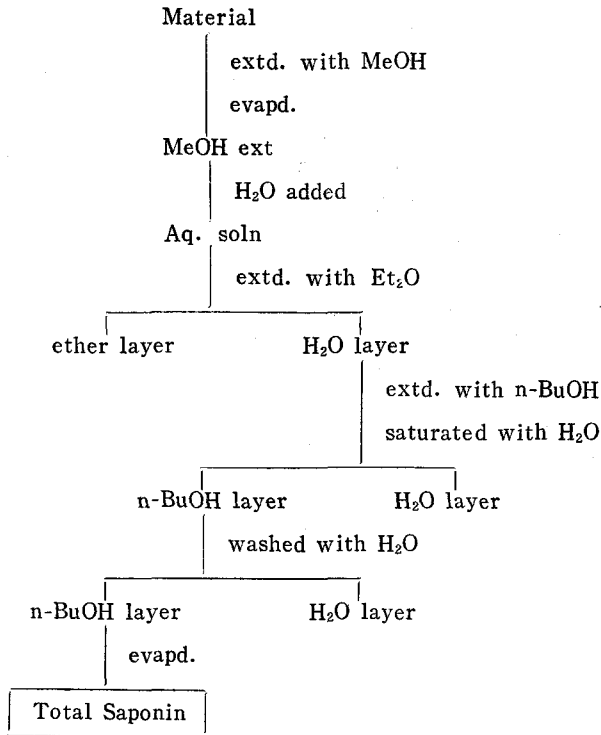
試藥 및 器機—Carbon tetrachloride (Wako), olive oil(K. P. N), 血清 transaminase測定用 S. TA-test (Wako), nalidixic acid (K. P. N), UV spectrophotometer (Unicam sp 1750), spectrofluorometer (Bairo-Automic)

Total 人蔘 Saponin—6年根 人蔘을 scheme 1과 같이 Namba¹⁶⁾등의 方法으로 total saponin을 抽出하고 이 total saponin을 chloroform으로 4回 세척하고 그 殘渣를 methanol에 녹여 活性炭處理를 한 後 減壓濃縮하여 投與用 total saponin으로 하였다.

GOT·GPT測定—Reitman·Frankel法의 變法인 日本消化器學會 肝機能研究班法¹⁷⁾으로 測定하였다.

實驗動物—2.0~2.5kg의 健康한 토끼(公)를 10日間 사육한 後 本實驗 1日前에 絶食시켜 사용하였다.

實驗動物의 前處理—實驗動物은 control群(以下 control이라 함), 本實驗 44時間前에 CCl₄溶液을 kg當 0.5ml 皮下注射한 CCl₄中毒群(以下 CCl₄-treated라 함), 人蔘 total saponin溶液을 1日 1回 kg當 2.0ml를 7日間 胃腔으로 投與하고 7日째(本實驗 44時間前)에 CCl₄溶液을 kg當 0.5ml 皮下注射하고 8日째(本實驗 16時間前)에 人蔘 total saponin溶液을 kg當 2.0ml를 投與한(即 total saponin(i. v.) 前處理한 後에 CCl₄를 投與한) CCl₄中毒群(以下 total saponin(i. v.)-CCl₄ treated라 함), 人蔘 total saponin溶液을 1日 1回 kg當 15ml



Scheme 1. Separation of Ginseng Saponin

씩을 7日間 經口投與하고 7일째 (本實驗 44時間前)에 CCl₄溶液을 kg當 0.5ml 皮下注射하고 8日째 (本實驗 16時間前)에 人蔘 total saponin溶液을 kg當 15ml를 經口投與한 (即 total saponin(p.o.) 前處理한) 後에 CCl₄를 投與한 CCl₄中毒群(以下 total saponin(p.o.)-CCl₄ treated라 함)의 4群으로 나누어 實驗하였다.

CCl₄溶液은 CCl₄와 olive oil을 1:1(v/v)로 混合한 것이며 靜脈注射用 人蔘 total saponin 溶液은 人蔘 total saponin 150mg을 注射用生理食鹽水 20ml에 溶解하여 經口用 人蔘 total saponin溶液은 人蔘 total saponin 400mg을 生理食鹽水 100ml에 溶解하였다.

血液·膽汁 및 尿의 採取—實驗動物을 urethane마취(25% saline, 4ml, S.C.)시킨 후 大腿動脈, 左右兩側의 ureter 및 bile duct에 P.E. tube로 cannulation한 후 左側 耳靜脈에 nalidixic acid 5mg을 生理食鹽水 1ml에 녹인 것을 kg當 5ml를 注射하였다. 血液은 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 및 240分 間격으로 採取하였으며 膽汁 및 尿는 30, 60, 90, 150, 210 및 270分 間격으로 採取하였다. Sample 採取동안 體溫을 維持토록 하였다.

肝 homogenate—實驗終了直後 開腹하여 肝을 切斷 採取하여 곧 生理食鹽水로 세척하고 여과지위에서 水分을 제거한 다음 그 전체의 무게를 달고 그 中 1g의 肝을 切取하여 teflon homogenizer로 homogenate를 만들었다.

Table I—Pathophysiological Changes

Groups	GOT ^{a)}	GPT ^{a)}	Body Weight ^{b)}	Liver Weight ^{c)}
Control	18.7±5.0 ^{d)}	25.4±7.9	—	35.1±0.8
CCl ₄ -treated	230.6±12.6	190.6±21.5	0.09±0.01(↓)	37.4±0.3
Saponin(i. v.)+CCl ₄	241.0±22.3	205.0±17.8	0.07±0.01(↓)	42.8±2.1
Saponin(p. o.)+CCl ₄	252.5±52.5	248.0±18.7	0.05±0.03(↓)	34.0±0.7

a) Karmen units

b) The changes of body weight 44 hrs after CCl₄ injection were normalized per kg of body weight

c) g/kg rabbit

d) mean±S.E.

e) *, p<0.05; **, p<0.02; ***, p<0.01

(↓): This symbol represents the decreases of the body weight.

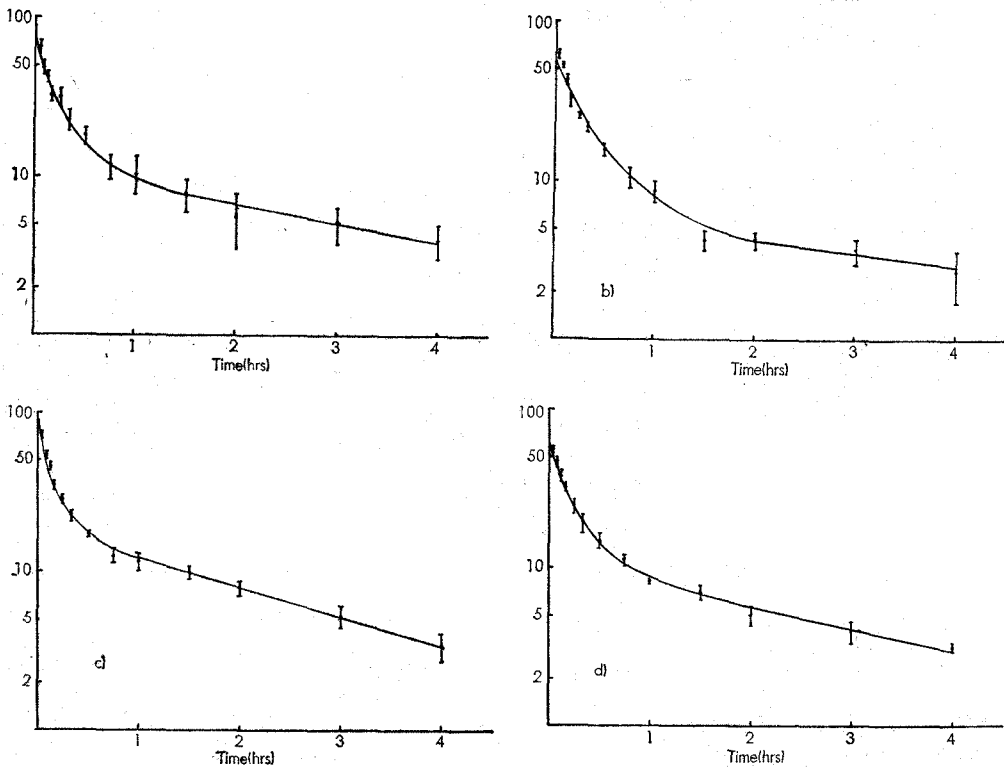


Figure 1—Semilogarithmic plots of plasma concentrations of nalidixic acid in rabbits. The vertical bars indicate ±S.E. of the mean. The curves were fitted to the data obtained by MULTI program.

- a) control; b) CCl₄-treated;
- c) total saponin(i. v.)-CCl₄ treated; and
- d) total saponin(p. o.)-CCl₄ treated.

Nalidixic Acid의 定量—血中, 膽汁中, 尿中 및 肝 homogenate 中の nalidixic acid는 Mcchesney¹⁸⁾의 方法을 modification하여 nalidixic acid의 量을 定量하였다. 檢量線은 血

Table II—Pharmacokinetic Parameters

Parameters	Control	CCl ₄ -Treated	Saponin(i. v.)- CCl ₄ -Treated	Saponin(p. o.)- CCl ₄ -Treated
A(μg/ml)	^{a)} 42.57±3.74	34.58±1.67	42.87±2.86	35.9±4.221
B(μg/ml)	14.11±2.20	10.25±1.56	13.93±1.00	12.2±0.70
α(hr ⁻¹)	3.77±0.15	3.32±0.10	4.35±0.11	4.44±0.33
β(hr ⁻¹)	0.39±0.08	0.30±0.02	0.29±0.01	0.390±0.02
K ₁₂ (hr ⁻¹)	1.75±0.19	1.61±0.09	2.36±0.06	2.15±0.25
K ₂₁ (hr ⁻¹)	1.22±0.10	0.98±0.09	1.29±0.07	1.46±0.17
K ₁₀ (hr ⁻¹)	1.19±0.15	1.03±0.09	0.99±4.37	1.21±0.12
AUC(μg·ml·hr ⁻¹)	52.96±8.89	46.65±7.24	58.64±4.37	40.02±1.92
V _c (ml·kg ⁻¹)	468.7±49.0	570.0±38.1	447.4±24.9	529.6±39.3
V _{dss} (ml·kg ⁻¹)	1197.7±170.1	1547.0±153.9	1270.2±71.4	1310.2±104.5
CL _T (ml·hr ⁻¹ ·kg ⁻¹)	568.8±111.2	597.4±83.9	438.3±32.3	628.5±28

a) mean±S.E.

b) *, p<0.05; **, p<0.02; ***, p<0.01; ****, p<0.001

Table III—Accumulated N.A. in the Total Liver

	Control	CCl ₄ -Treated	Saponin(i. v.)- CCl ₄ -Treated	Saponin(p. o.)- CCl ₄ -Treated
% of Dose in Total Liver	0.757±0.021	3.002±0.206	2.037±1.187	1.463±0.239

液은 $x=1.062y-2$, 尿는 $x=8.873y-3.5$, 膽汁은 $x=2.86y-5$, 및 肝은 $x=2.41y-8$ 이었다. 단 $y=吸光度$, $x=濃度(\mu\text{g/sample ml or g})$ 이다.

結果 및 考察

實驗動物에 肝臟障害를 유발시키는 藥物로는 CCl₄, chloroform, ethionine, thioacetamide, 및 dimethylrosamine 등이 사용되나 肝機能 損傷의 實驗的 model로서 CCl₄ hepatotoxicity가 널리 사용되고 있으며 plasma transaminase activity(GOT·GPT)는 肝代謝能의 指標로서 臨床的으로도 重要하다.

實驗各群의 病理·生理學的 變化—Table I을 보면 total saponin의 靜脈投與, 經口投與는 토끼에서 CCl₄處理로 인한 GOT·GPT의 증가된 값을 減少시키지 못하였다. CCl₄中毒時는 肝뿐만 아니라 胃, 血液凝固因子등 거의 全臟器에 영향을 줌으로¹⁸⁻²¹⁾ 體重은 對照群과 비교해 볼 때 各群에서 有意性있게 減少하였으며 total saponin投與는 體重을 回復하는 경향을

Table IV—Cumulative Amount of Nalidixic Acid Excreted in Urine

Group	Time(min)					
	30	60	90	150	210	270
Control Group(n=6)	783±180	1552±255	2058±327	2361±529	2449±586	2582±471
CCl ₄ Group(n=4)	284±183	835±441	974±479	1288±578	1457±622	1510±521
Saponin(i.v.)-CCl ₄ Group (n=5)	690±332	1543±662	1594±578	1721±340	2109±424	2160±441
Saponin(p.o.)-CCl ₄ Group (n=4)	485±208	754±266	898±273	975±225	1030.2±210	1100±269

Table V—Cumulative Amount of Nalidixic Acid Excreted by Bile

Group	Time(min.)					
	30	60	90	150	210	270
Control Group(n=7)	1702±456	2232±552	2461±558	2633±549	2750±565	2800±340
CCl ₄ Group(n=4)	762±262	978±374	1054±393	1160±382	1241±373	1290±351
Saponin(i.v.)-CCl ₄ Group (n=5)	731±123	954±178	1014±186	1058±188	1103±160	1128±154
Saponin(p.o.)-CCl ₄ Group (n=4)	230±40	433±50	512±71	629±48	652±48	681±39

보였으며 靜注投與보다는 經口投與가 더 效果的인 傾向을 보였다.

肝 重量의 增加는 脂肪沈着등이 原因으로 생각되며 CCl₄ 급성中毒일 때 total saponin을 靜注로 處理한 경우의 肝重量增加는 CCl₄ 處理群과 함께 보다 더 有意性 있게 增加되어 있다. 그러나 total saponin을 經口處理했을 경우에는 control과 마찬가지로 CCl₄ 處理群과는 전혀 增加를 보이지 않고 있다. 이 點은 total saponin의 投與經路에 따라 total saponin의 作用에 미치는 영향이 다를 것임을 나타내는 것으로서 그 機轉은 앞으로 더욱 究明해야할 것이다.

Pharmacokinetic Parameters—各群의 血中藥物濃度의 時間에 대한 推移는 Fig. 1과 같으며 이들 實線은 다소 修正한 MULTI²²⁾ program을 써서 마이크로컴퓨터(PC-8001, NEC社)로 計算한 값들을 나타내며 이들 data로 부터 얻은 pharmacokinetic parameters의 값들은 table II와 같다.

Table II에서 알 수 있는 바와 같이 total saponin은 nalidixic acid의 分布에 영향을 미쳐 α 값, K_{12} 및 K_{21} 의 값에 차이를 보이며 central compartment의 分布容積은 total saponin(i.v.) 투여시에 回復되었으며 total clearance는 經口投與가 靜脈注射보다 더 큰 값을 나타내고 있다.

肝 homogenate에 含有된 nalidixic acid의 量을 보면(table III) CCl₄ 前處理時에 增加하며 total saponin의 靜注 및 經口投與로 有意性있게 回復되었다. 이는 total saponin 投與時

Table VI—Ratios of Cumulative Amount of Nalidixic Acid Excreted by Bile and Urine to the Control

Ratio	Urine						Bile					
	30	60	90	150	210	270(min)	30	60	90	150	210	270(min)
CCl ₄ -Treated Control	0.36	0.54	0.47	0.55	0.59	0.58	0.44	0.43	0.43	0.44	0.45	0.46
Saponin(i.v.)-CCl ₄ Treated Control	0.88	0.99	0.77	0.81	0.86	0.83	0.43	0.42	0.41	0.40	0.40	0.40
Saponin(p.o.)-CCl ₄ Treated Control	0.62	0.49	0.44	0.41	0.42	0.43	0.14	0.19	0.21	0.24	0.24	0.24

Table VII—Plasma Clearance of Nalidixic Acid in Four Groups of Rabbits^{a)}

	Control	CCl ₄ -Treated	Saponin(i.v.)-CCl ₄ Treated	Saponin(p.o.)-CCl ₄ Treated
CL _b ^{b)}	20.19 ± 3.24	11.75 ± 2.61	7.34 ± 0.82	7.84 ± 0.74
CL _{ren}	37.69 ± 11.4	23.18 ± 14.86	24.14 ± 7.18	9.61 ± 1.10
CL _T ^{c)}	568.8 ± 111.2	597.4 ± 83.9	438.3 ± 32.3	628.7 ± 28.0

a) The clearances were calculated on the basis of the excreted amount from 30 min. to 219 min. (unit: ml · hr⁻¹ · kg⁻¹)

b) CL_b were calculated on the basis of the biliary excreted amount

c) CL_T = Dose/AUC

d) *, p < 0.05; ***, p < 0.01; ****, p < 0.001

V_c의 값이 回復되는 點과 一致하고 있다.

Nalidixic acid의 尿中 및 膽汁中 排泄을 보면 table IV 및 V와 같다.

이 data를 control에 대한 各群의 時間間隔別 累積排泄量의 比率로 換算해 보면 table IV와 같으며 clearance의 값들은 table VII과 같다. Table VII에서 CL_b의 계산은 膽汁中排泄量을 기준으로 계산한 값이다.

Nalidixic acid의 尿中排泄을 보면 saponin을 靜注投與했을 때에는 CCl₄ 單獨投與로 中毒되었을 때보다 nalidixic acid의 尿中排泄率에 增加를 보였고 膽汁排泄에는 영향을 미치지 않고 있다. Saponin을 經口投與했을 때에는 尿中排泄에서 처음 30分間에만 增加되었을 뿐 그以後에 CCl₄ 單獨 때보다 比率이 감소되었으며 膽汁排泄은 모든 時間間隔에 걸쳐서 減少되었다.

結 論

I. 토끼에서의 急性 CCl₄ 中毒時의 nalidixic acid의 pharmacokinetic parameters와 여기

에 total saponin을 靜脈注射 및 經口로 投與했을 때 이들이 미치는 영향으로 인하여, 變化的한 nalidixic acid의 pharmacokinetic parameters들을 計算하였다.

2. 토끼에서 CCl₄의 急性中毒은 nalidixic acid의 膽汁中 排泄을 抑制시키며 total saponin의 投與는 이를 더욱 抑制시켰다.

3. 토끼에서 CCl₄의 急性中毒은 nalidixic acid의 尿中 排泄을 抑制시켰으며 total saponin의 經口投與는 renal clearance의 값을 더욱 減少시켰다.

文 獻

- 1) L. Z. Benet, "The Effect of Disease States on Drug Pharmacokinetics," Am. Pharm. Sciences, Washington. D.C. 53~95(1976)
- 2) C. D. Klaassen and G. L. Plaa, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **12**, 132(1968)
- 3) T. Iga, Y. Sugiyama, M. Yokota, Y. Tomono, S. Awazu, and M. Hanano, *Biochem. Pharmacol.*, **76** 1867(1977)
- 4) A. Suyama, Y. Sugiyama, T. Iga, S. Awazu, and M. Hanano, *J. Pharm. Dyn.*, **2**, 105(1979)
- 5) 禹鍾鶴, 金信根, 李民和, 韓建, *J. Korean Pharm. Sci.*, **10**(1), 13 (1980)
- 6) G. Giorgi and G. Segre, *J. Pharmacokin. Bropharm.*, **1**, 217(1973)
- 7) 李熙璿, 申萬鍊, 友石醫大雜誌, **6**(1), 143(1969)
- 8) 金永萬, 申萬鍊, *ibid.*, **6**, 133(1969)
- 9) 尹恆斌, 申萬鍊, *ibid.*, **5**, 209(1968)
- 10) 崔永祚, 서울醫大雜誌, **13**, 1(1972)
- 11) 孫英澤, 李民和, 金信根, *J. Korean Pharm. Sci.*, **11**(4), 1(1981)
- 12) W. E. Moore, G. A. Portmann, H. Stander, and Z. W. Mcchesney. *J. Pharm. Sci.*, **54**, 36(1965)
- 13) 具永順, 松本光雄, *Yakuzaigaku*, **40**, 83(1980)
- 14) R. Gleckman, S. Alvarez, D. W. Joubert, and S. J. Matthews, *Am. J. Hosp. Pharm.*, **36**, 1071(1979)
- 15) N. Takasugi, K. Nakamura, T. Hayshi, N. Tsunakawa, and Y. Takeya, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 13(1968)
- 16) T. Namba, M. Yoshizaki, T. Tomomori, K. Kobashi, K. Mitsui, and J. Hase, *Yakugaku Zasshi*, **94**(2), 252(1974)
- 17) 金井宗, 金井正光, "臨床検査法提要" 金原出版(1975)
- 18) E. W. Mcchesney, E. J. Froelich, G. Y. Leshner, A. V. R. Croin, and D. Rosi, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **6**, 292(1964)
- 19) H. Popper, "Liver Structure and Function", McGraw Hill. N. Y. (1957)
- 20) 金成根, 카톨릭醫大論文集, **11**, 16(1966)
- 21) 鄭鈞容, 第17次 病理學會學術大會抄錄集
- 22) K. Yamaoka, Y. Tanigawara, T. Nakagawa, and T. Uno, *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 879 (1981)