

Sodium-5-Methoxy Salicylate의 吸收促進 効果에 關한 研究

金 琪 憲

釜山大學校 藥學大學

(Received February 13, 1985)

A Study on the Absorption-Enhancing Effect of Sodium-5-methoxysalicylate

Ki Heun Kim

College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 607, Korea

Abstract—Effect of sodium-5-methoxysalicylate (5MSA-Na) on the absorption of cefmetazol (CMZ) was studied in rectum and duodenum of rats via *in situ* loop method. Effect of 5MSA-Na on the absorption of CMZ showed markedly different results in rectum and duodenum. Penetration of 5MSA-Na was greater in rectum than in duodenum and water-transfer was markedly increased in duodenum.

消化管에 있어서 難吸收性 藥物의 吸收를 改善하려고 하는 研究가 수행되고 있다.^{1~13)} 吸收 促進劑를 使用했을 때 直腸에서의 吸收 促進 效果에 關해서는 Nishihata 等^{11),14)}의 報告가 있으나 다른 消化管 部位에서의 效果에 對해서는 거의 檢討된 바가 없다. 直腸 以外の 消化管에 의한 吸收促進 效果에 關한 研究는 投與經路의 擴大 可能性을 찾을 뿐만 아니라, 지금까지 많은 知見이 있는 直腸과 比較함으로써 吸收 促進 機構의 解明에 도움을 줄 것으로 생각되어 rat의 直腸과 12指腸에 있어서 5-methoxy salicylate (5MSA-Na)가 cefmetazol (CMZ)의 흡수에 미치는 영향을 실험하였다.

實 驗 方 法

試料 및 試藥—CMZ는 三共株式會社에서 提供된 것을, 5MSA는 Aldrich Chemical Co.의 것을 使用하였다. 다른 有機溶媒, 試藥等은 市販 特級을 使用하였다.

5MSA-Na염의 製法—5MSA 0.02mole을 無水 ethanol 20ml에 攪拌하면서 溶解한 후, 이 용액에 sodium alcoholate 溶液(금속 Na 0.025mole+무수 에탄올 50ml)을 攪拌하면서 滴下하였다. 滴下 종료 後 얻어진 結晶性 침전을 濾取하여 眞공 乾燥하여 5MSA-Na염(收得率 76%)을 얻었다.

***in situ* loop method**—Sprague-Dawley系 rat(250~300g)를 24時間 絶食시킨 後 實驗에 使用하였다. 絶食中에도 물은 자유로이 마실 수 있게 하였다. Sodium pentobarbital 50mg/kg을 腹腔內에 注射하여 麻醉시킨 後 下腹部를 切開한 다음 항문部로부터 약 4cm 위의 直腸 部分을 실로 묶고 開腹部를 縫合하였다. 肛門部로부터 藥液을 投與한 다음 肛門에서의 약물漏出을 防止하기 위하여 prima bond로 막아 직장 loop를 만들었다. 12指腸 loop는 腹部를 開腹 後 膽管口 아래쪽 部位에서 약 4cm의 長이가 되게끔 下端을 실로 묶어 두었다. 上端에는 실로 통해 두고 microsyringe로 藥液을 投與하고 곧 묶었다. 採血 時間은 10, 25, 45, 60, 90, 120, 150분의 7회로 하

고 1회 250 μ l씩 鎖骨下靜脈에서 採血하였다.

Loop內 溶液量의 測定—Loop를 적출하여 濾紙로 가볍게 水分을 닦고 秤量하였다. 다음, loop를 切開하여 20배로 희석한 1/15M pH7.4 인산완충액으로 loop內外를 씻은 다음 全量을 100ml로 하였다. 다음, loop를 가볍게 濾紙로 水分을 닦고 秤量하여 切開 前後의 무게 차이로 부터 loop內 溶液量을 계산하였다.

Loop內 殘存量의 測定—上記의 100ml의 溶液을 3배 희석한 액에 대하여 CMZ를 정량하여 殘存量을 算出하였다.

Scheme I—HPLC assay of CMZ.

Sample preparation

- plasma 50 μ l
- ↓
- add. 50 μ l 6N HCl
- ↓
- add. 1,500 μ l ethyl acetate
- ↓
- centrifuge at 3,000 r.p.m. for 10 min.
- ↓
- organic layer 1,000 μ l evaporate
- ↓
- add. 60 μ l methanol
- ↓
- inject. 40 μ l

Eluent

MeOH: 5 \times 10³M tetra-n-butyl-ammonium bromide in acetate buffer (pH 4.5)=2:3

Scheme II—HPLC assay of 5MSA.

Sample preparation

- plasma 50 μ l
- ↓
- add. 50 μ l 6N HCl
- ↓
- add. 1,500 μ l ethyl acetate
- ↓
- centrifuge at 3,000 r.p.m. for 10 min.
- ↓
- organic layer 1,000 μ l evaporate
- ↓
- add. 60 μ l methanol
- ↓
- inject. 40 μ l

Condition

- Apparatus : Jasco Lcp-150
- Column : 4.6 \times 250mm
- Detector : Uvidec-100(range=0.04)
- Wave length : 235nm
- Flow rate : 1.0ml/min
- Sample size : 40 μ l
- Temperature : Room
- Internal standard : phenacetin
- Eluent : methanol: 10⁻²M H₃PO₄⁻
NaH₂PO₄ buffer, pH 2.8=2:3

組織 蓄積量의 測定—Loop내 용액량의 測定 操作을 한 後 組織片을 떼어서 秤量한 다음, 20 배 희석한 1/15M pH7.4 인산완충액 5ml를 넣은 유리 容器에 組織片을 넣고 homogenizer(Ika Wark Ultra Turrax)에서 약 50秒間 homogenize 하였다. 1分間 靜置하여 2層으로 分離된 下層을 取하여 CMZ를 定量하였다.

Loop內 投與 藥液의 조제—CMZ, 5MSA-Na를 1/15M pH 7.4 인산 완충액에 녹여서 각각 0.6M 용액으로 하여 사용하였다.

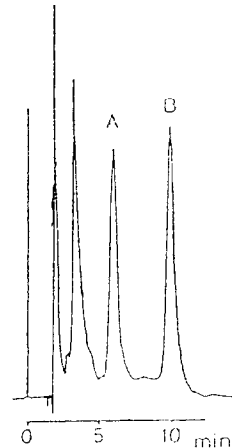


Fig. 1—HPLC chromatogram of CMZ.

- Apparatus : Trirotar-II
- Column : 4.6 \times 250mm Fine SIL-C₁₈-5
- Detector : Uvidec 100-III
- Flow rate : 1.3ml/min
- Sample size : 40 μ l
- Temperature : Room temperature
- A : CMZ
- B : Phenacetin (internal standard)

CMZ, 5MSA의 定量—이 定量法은 對 ion으로 tetra-n-butyl ammonium bromide를 使用한 逆相 이온對 크로마토그래피에 의한 것으로서 Scheme I 및 II에 試料의 조제 및 eluent의 組成을, Fig. 1에 CMZ에 대한 chromatogram과 조건을 나타내었다.

實驗 結果 및 考察

直腸과 12指腸에 있어서 5MSA-Na의 吸收 促進 效果에 對하여 檢討하기 위하여 먼저 兩部位의 loop에 投與된 CMZ의 血中濃度를 測定한 結果는 Fig. 2와 같다. 直腸, 12指腸 모두 CMZ를 單獨投與했을 때는, 血中에 CMZ가 檢出되지 않았다. 直腸에서는 5MSA-Na의 添加量 增加에

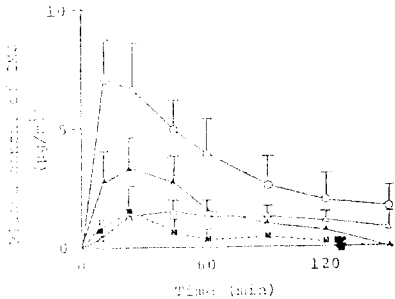


Fig. 2- Effect of 5-MSA on rectal and duodenal absorption of CMZ(15mg/kg). Each point and bar represent the mean \pm S.D. (N=5~6)

dose of 5MSA-Na:
 rectum { —○— 60 mg/kg
 —▲— 30 mg/kg
 —△— 7.5 mg/kg
 duodenum { —■— 60 mg/kg

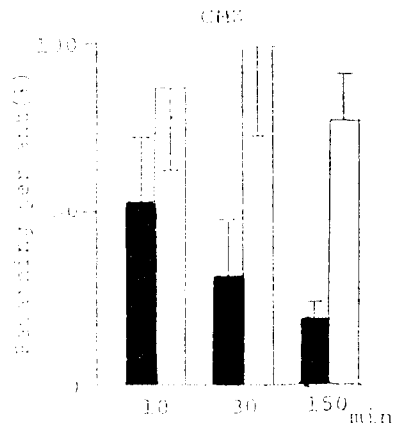


Fig. 3- Remaining amount of CMZ. ■ rectum □ duodenum (5MSA-Na 60 mg/kg) Each value represents the mean \pm S.D. (N=5)

따라서 CMZ의 血中濃度는 높게 나타났고, 最高 血中濃度에 달하는 시간은 단축되었다. 12指腸에서는 5MSA Na 60mg/kg을 添加하였을 때 25분에서 최고 혈중농도에 달했다.

投與部位가 다른 경우에는 吸收 後 大循環에 옮기는 經路도 마찬가지로 다르게 된다. rat에 있어서 直腸部位는 中下部와 上部에서 血管系가 틀린다.¹⁵⁾ 中下部로 부터는 下大靜脈을 통해서 心臟으로 이어진다. 12指腸에서의 靜脈은 全部 門脈에 연결되어 있다. 그 때문에 直腸部位에서의 吸收과 12指腸部位에서의 吸收는 肝臟에서 初回通過 效果를 받는 比率이 전혀 다르다고 한다.¹⁶⁾ 이와 같이 吸收 後의 經路가 다른 경우에는, 血中濃度의 차이가 곧 吸收 mechanism의 차이, 혹은 膜透過性의 차이라고 단언할 수는 없다. 또 CMZ는 rat에 있어서 皮下 注射 2時間 以內에 約 60%가 膽汁에 排泄된다는 報告가 있다.¹⁷⁾ 이와 같은 것으로 보아, 12指腸에서 CMZ는 吸收 後 즉시 膽汁中에 排泄되기 때문에 순환 血中에 移行하지 않았을 수도 있다. 그래서 5MSA-Na의 吸收 促進效果를 直腸과 12指腸內의 殘存率로부터 比較할 必要가 있다. Fig. 3은 投與 後 10分, 30分, 150分에 있어서 rat을 도살하여 CMZ의 殘存率을 測定한 結果이다. 12指腸에서는 2時間 半 後에도 거의 吸收되어 있지 않은 것이 明確하였다. 直腸에서는 經時的으로 CMZ가 吸收되어 있는 것을 알 수 있었다.

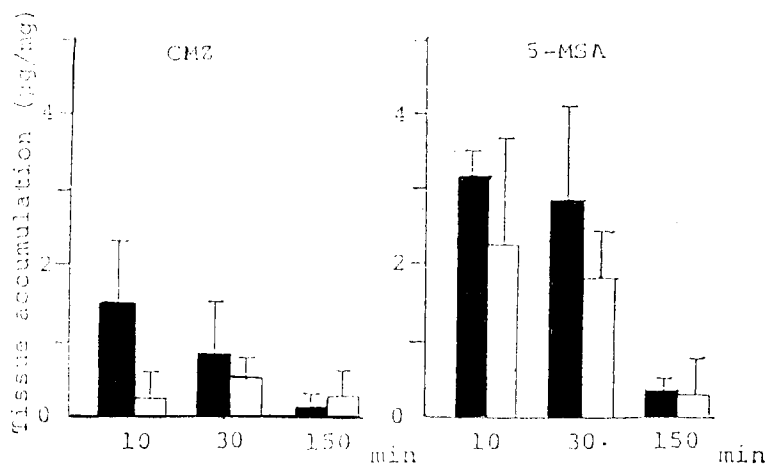


Fig. 4—Tissue accumulation of CMZ and 5MSA-Na.

■ rectum □ duodenum

(5MSA-Na 60 mg/kg. Each value represents the mean \pm S.D. (N=4~6).

CMZ에 대한 5MSA-Na의 흡수촉진 효과는 직腸과 12指腸에서 큰 差異가 認定되었다. 兩部位에서의 效果의 差異가 무엇에 의한 것인가를 檢討하기 전에 直腸과 12指腸에서의 主藥 또는 吸收促進劑가 어떠한 動態를 나타내는가를 調査하였다. 먼저 CMZ와 5MSA-Na의 組織 蓄積性이 直腸과 12指腸에서 差異가 있는가를 調査하였다. Fig. 4는 直腸과 12指腸組織의 homogenate로부터 檢出되는 主藥과 吸收促進劑의 總量의 經時變化이다.

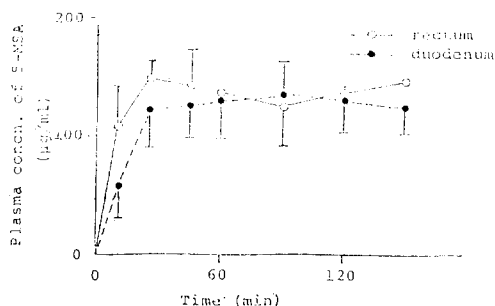


Fig. 5—Rectal and duodenal absorption of 5MSA-Na. Each point and bar represent the mean \pm S.D. (N=6~7) 60mg/kg of 5MSA-Na was coadministered with 15mg/kg of CMZ in each loop.

吸收促進劑는 直腸, 12指腸 모두 같은 量 透過된 것으로 생각된다. 10分, 30分의 5MSA-Na의 殘存量에 關해서는 12指腸쪽이 直腸보다 많았다. 이러한 것으로 보아 初期의 30分까지의 5MSA-Na의 透過는 直腸쪽이 빠른 傾向을 보임이 認定되었다.

이 實驗에서 一定時間 經過 後 loop를 적출하였을 때, 12指腸 loop는 부풀어 튜브狀으로 되어

Fig. 4를 보면 알 수 있는 바와 같이 CMZ, 5MSA-Na 모두 直腸 組織內에 많이 蓄積되어 있다.

앞서의 實驗을 할 때, 5MSA-Na 自身の 吸收상태는 두 部位에서 어떠한가를 調査하였다. Fig. 5는 CMZ 15mg/kg, 5MSA-Na 60 mg/kg 投與 後의 5MSA-Na의 血中動態이다. 最高 血中濃度는 直腸, 12指腸 모두 같은 程度로 나타났다. 그러나 初期의 30分까지는 直腸쪽이 12指腸보다 빠른 傾向이 認定되었다. Fig. 6은 5MSA-Na의 消化管內 殘存量이다. 여기서 2時間半後의 直腸과 12指腸에서의 잔존량이 거의 같은 値를 나타내는 것으로 보아, 吸

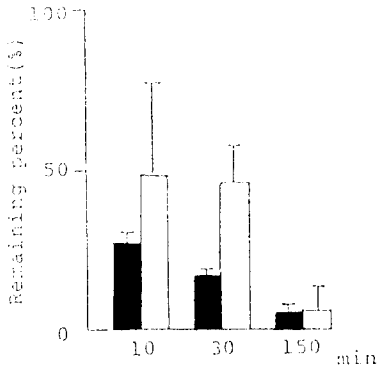


Fig. 6—Remaining amount of 5-MSA.
 ■ rectum □ duodenum
 Each value represents the mean \pm S.D.
 (N=6) For Experimental condition, See Fig. 5.

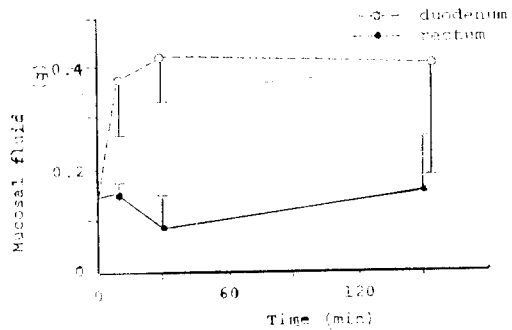


Fig. 7—The relation between fluid movement and time for rectal and duodenal ligated loop. Each point and bar represent the mean \pm S.D. (N=4)

있는 현상을 볼 수 있었다. 이에 비해 直腸 loop는 거의 변하지 않은 것처럼 보였다. 이것은 아마도 投與溶液이 대단히 高張이므로 삼투압에 의해 兩部位에서의 水分 移動의 차이가 나기 때문이라 추정된다. 그래서 10分, 30分, 2時間 半 後의 loop內的 용액량을 측정하였다. 그 結果를 Fig. 7에 나타내었다.

12指腸은 投與 10分 後에 이미 최대치에 가까운 용액량으로 되었다. 投與 後 30分, 2時間 半 이 되어도 10分에서의 용액량에서 거의 변화가 없었다. 直腸에서는 10分, 30分, 2時間 半 後 모두 投與量에 가까운 値를 나타내고 있음을 알 수 있었다. 이와 같이 直腸과 12指腸에서는 삼투압차이에 의하여 組織으로부터 loop로의 水分 移動에 차이가 생기는 것으로 생각되었다. 이 水分 移動에 관해서는 지금까지 많은 報告가 있고, 藥物의 吸收에 큰 影響을 준다는 것이 이미 알려져 있다.

in situ 還流法을 사용한 小腸의 實驗에 의하면 還流液을 低張으로 했을 때는, 藥物의 吸收가 增加하고 高張으로 했을 때는 低下된다는 報告가 있다.^{18),19)} 이것은 삼투압에 의해서 생기는 물의 흐름(water flow)에 따라서 藥物이 移動하기 때문(solvent drag)이라고 한다. 直腸과 12指腸에서의 물의 흐름이 다르다고 認定된 것으로 보아 吸收 促進劑의 效果 차이는 이 水分 移動과 어떠한 관계가 있는 것으로 생각된다. CMZ 單獨 投與時의 水分量은 실험 開始時와 거의 變함이 없었다. 이러한 것으로 보아 12指腸에서의 溶液增量은 CMZ에 의한 것이 아님을 알 수 있었다.

結 論

5MSA-Na는 12指腸과 直腸에서 吸收되지 않던 CMZ의 直腸에서의 吸收를 현저히 증가시키려는 *in situ* loop法으로 확인하였다. 그러나 5MSA-Na는 CMZ의 12指腸에서의 吸收는 그다지 촉진하지 못하였다. 5MSA-Na 자체도 12指腸에서 보다 直腸에서 더 잘 吸收되는 傾向을 보였으며, loop內 溶液量도 12指腸 loop쪽 만이 증가하는 傾向을 보였다. 비록 이러한 차이가 有意性있는 것은 아니었지만 5MSA-Na의 CMZ흡수촉진효과가 12指腸과 直腸에서 다르게 나타나는 이유와 관련이 있을 것으로 思料되었다.

本 研究는 1984年度 釜山大學校 藥學연구소성미로 承當되었음.

文 獻

1. K. Kakemi, H. Sezaki, S. Muranishi and Y. Tsujimura, *Chem. Pharm. Bull.* 13, 976(1965), 15, 172 (1967), 17, 1641(1969).
2. J.H. Fincher, D.N. Entekin and C.W. Hartman, *J. Pharm. Sci.* 55, 23(1966).
3. H. Yaginuma, T. Nakata, H. Toya, T. Murakami, M. Yamazaki and A. Kamada, *Chem. Pharm. Bull.* 29, 2974(1981).
4. D.A. Whitmore, L.G. Brookers and K.P. Wheelers, *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 277(1979).
5. L. Stanzani, G. Mascellani, G.P. Corbelli and P. Bianchini, *J. Pharm. Pharmacol.* 33, 783(1981).
6. K. Taniguchi, S. Muranishi and H. Sezaki, *Int. J. Pharm.* 4, 219(1980).
7. S. Muranishi, Y. Tokunaga, K. Taniguchi and H. Sezaki, *Chem. Pharm. Bull.* 25, 1159(1977).
8. E. Toitou, M. Doubrow and A. Rubinstein, *J. Pharm. Pharmacol.* 32, 108 (1980).
9. M.S. Mesiha and H.I. El-Bifar, *J. Pharm. Pharmacol.* 33, 733(1980).
10. T. Nishihata, J.H. Rytting and T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.* 70, 71(1981), 71, 869(1982).
11. T. Nishihata, J.H. Rytting, T. Higuchi and L. Caldwell, *J. Pharm. Pharmacol.* 33, 334(1981).
12. Y. Tokunaga, S. Muranishi and H. Sezaki, *J. Pharm. Dyn.* 1, 28(1978).
13. 金琪憲, 藥學研究誌 18(1), 37(1984).
14. T. Nishihata, *Diabetes* 30, 1065 (1981).
15. A.G. Deboer and D.D. Brimer Adis Press, Balgowlah, Australia, 61, (1981).
16. 村西昌三, 藥局 118, 213, (1967).
17. 進藤英世 菅原眞一, *Chemotherapy* 26, 99(1978).
18. S. Kitazawa and H. Sezaki, *Chem. Pharm. Bull.* 23, 1856(1975).
19. K. Taniguchi and S. Muranishi, *Int. J. Pharm.* 4, 219(198).