약학회지 제30권 제 6 호 288~293 (1986)
Yakhak Hoeji Vol. 30, No. 6

그리세오풀빈-페노바르비탈 상호작용(Ⅰ)

——페노바르비탈 전처리 Rat에 있어서 그리세오풀빈의 생체내 동태——

高 翊 培·申 祥 澈·李 用 福
전남대학교 약학대학

(Received October 10, 1986)

Griseofulvin-Phenobarbital Interaction(Ⅰ)

——Pharmacokinetics of Griseofulvin in Phenobarbital-pretreated Rats——

Ik-Bae Koh, Sang-Chul Shin and Yong-Bok Lee
College of Pharmacy, Chonnam National University, Gwangju 505, Korea

Abstract— Effects of phenobarbital on the pharmacokinetics of griseofulvin were studied in rats. Phenobarbital was administered orally for five days at the dose of 75mg/kg/day. Absolute bioavailability of oral griseofulvin was significantly($p<0.005$) reduced but total clearance(CL_s) was not changed by phenobarbital pretreatment. Absorption rate constant(K_a) and maximum plasma concentration(C_{max}) were significantly($p<0.05$) reduced, and time to reach maximum plasma concentration(T_{max}) of griseofulvin was significantly($p<0.05$) increased by phenobarbital pretreatment. Changed pharmacokinetics of griseofulvin seemed not to be due to induced enzyme activity by phenobarbital but to reduced GI absorption of griseofulvin.

항진균성 항생물질인 griseofulvin(이하 GF로 약함)과 phenobarbital(이하 PB로 약함)의 병용투여에 의한 유일한 영향은 GF의 임상적 효과의 감약이며 GF혈중농도는 PB투여 후 감소된다고 보고되어 있다.[1~4] 이 PB와 GF의 약물상호작용의 메카니즘은 PB의 효소유도작용에 의한 것이라고 시사되어 왔다.[2~4] 그러나, Riegelman 등[1]은 GF를 정맥투여하였을 때 그 혈중농도가 전혀 감소하지 않는 것으로 보아 상호작용의 메카니즘은 효소유도작용보다는 GF의 흡수저해에 기인한다고 설명하였다. 최근 Jamali등[5]은 PB투여가 담즙산염의 분비량을 적게 하여 GF의 용출속도를 감소시킴으로써 흡수를 저해한다고 보고하였다. 본 연구에서는 GF에 대한 PB의 효소유도작용 유무를 확인할 목적으로 PB(75 mg/kg/일)를 rat에 5일간 전처리하여 PB전처리가 GF의 약물속도론에 미치는 영향에 대해서 검토하였다.

한편, 혈장중 GF의 정량법은 형광분석법[6], TLC법[7] 및 가스크로마토그라프법[8~9] 등이 있으나 저자등은 최근에 보고된 Chiou등[10]의 HPLC 방법을 다소 수정하여 정량한 결과, 감도 및 재현성등을 현저히 향상시킬 수 있었기에 보고한다.

실 험 방 법

재료 및 기기—griseofulvin(Sigma), phenobarbital(K.P.IV), polyethylene glycol 400과 polysorbate 80(Junsei Chemical Co., 일본), AST14, ALT14, total protein(Gilford사, 미국)을 사용하였으며 분석기기로서 clinical chemistry analyzer (Gilford사, SBA 300, 미국), spectrofluorometer (Perkin-Elmer, LS-5), high-pressure liquid chromatograph(Pye-Unicam, PU 4850)를 사용하였다.

실험동물—체중 250~350g의 웅성 Wistar rat (서울대 병원 실험동물사육실)를 각 실험군으로 분류하여 물과 사료(제일사료사)를 자유로이 공급하면서 격리된 장소에서 동일조건으로 2주일

이상 사육하여 사용하였다.

실험동물의 전처리—PB 750mg을 생리식염수 36ml에 현탁시킨 현탁액을 rat kg당 3.6ml씩 ball tipped needle (Stoelting사, 미국)을 사용하여 하루에 한번씩 5일간 GF투여 24시간전까지 경구투여한 PB전처리군과, 같은 방법으로 PB현탁액 대신 생리식염수만을 경구투여한 대조군으로 나누어 실험하였으며, GF를 정맥투여한 대조군과 PB전처리군을 각각 GF(*i.v.*), PB-GF(*p.o.*)라 하고 경구투여한 대조군과 PB전처리군을 각각 GF(*p.o.*), PB-GF(*p.o.*)라고 표시하였다.

임상화학적 검사—각 실험군 모두에서 GF투여 직전에 채혈한 혈청중의 SGOT, SGPT 및 total protein 값은 clinical chemistry analyzer (Gilford사, SBA 300)를 사용하여 동일회사의 AST14, ALT14 및 total protein시액으로 자동측정하였다.

경구 및 정맥투여 실험—24시간 절식시킨 상기 전처리 실험동물을 가볍게 ether마취시킨 후 왼쪽 대퇴 동·정맥에 PE-50 polyethylene tube (Intramedic®, Clay Adams사)를 삽입하고 절개부분을 봉합견사를 사용하여 봉합한 이후, 당교실에서 제작한 Bollman-type restraint device에 옮겨 마취에서 깨어난 후 다음 실험을 행하였다.

경구투여군은 GF 1g을 0.5% Tween 80 36ml에 현탁시킨 현탁액을 rat kg당 3.6ml씩을 ball tipped needle을 사용하여 경구투여한 이후 왼쪽 대퇴동맥에 삽입된 삽입관으로부터 혈액 약 0.3 ml를 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 720, 960분에 채혈하였으며, 정맥투여군은 GF 100mg을 polyethylene glycol 400 50ml에 녹여 rat kg당 2ml씩을 왼쪽 대퇴정맥에 삽입된 삽입관을 통하여 1분간에 걸쳐 서서히 주입하였으며, 왼쪽 대퇴동맥에 삽입된 삽입관으로부터 혈액 약 0.3 ml를 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480분에 채혈하였다. 실험도중의 실혈을 보상해 주기 위하여 생리식염수 일정량을 왼쪽 대퇴정맥의 삽입관을 통해 공급하여 주었으며, 전실험기간 체온을 유지토록 하여 주었다.

GF의 정량—혈장중 GF의 정량은 Chiou등[10]의 HPLC방법을 다소 수정하여 Table I의 조건에 따라 측정하였으며, 분석조건을 검정하기 위하여 정량한도 및 감응도를 구하고, 내부표준물질을 사용하지 않았으므로 동일조건에서 4일째 되는 날 재현성 실험을 행하였다.

Table I—HPLC conditions for determination of griseofulvin.

Parameters	Conditions
Mobile phase	Acetonitrile : water=1 : 1
Stationary phase	Spherisorb® 5ODS (reverse phase, 4.6mmID×25cm)
Flow rate	2ml/min.
Detector	Spectrofluorometer (Perkin-Elmer, LS-5) with LC flow cell (excitation wavelength 292nm, emission wavelength 437nm)
Injection volume	50μl

약물속도론적 파라메타—경구 또는 정맥투여된 이후의 혈장중 GF의 농도변화는 MULTI 프로그램[11]을 사용하여 각각 1-콤파트멘트 모델과 2-콤파트멘트 모델로 해석하여 그 파라메타를 구하였다.

실험결과 및 고찰

실험동물 각 군의 임상화학적 변화—rat kg당 75mg의 PB를 하루에 한번씩 5일간 경구투여시 rat의 임상화학적 변화는 Table II와 같았다.

Table II—Physiological changes#.

Parameters	Control(GF)	Phenobarbital-pretreated(PB-GF)
Weight factor[a]	1.01±0.01	1.01± 0.01
Liver weight[b]	35.6 ±1.2	51.4 ± 1.4*
SGOT(IU/l)[c]	78.8 ±4.2	126.8 ±14.2*
SGPT(IU/l)[d]	29.6 ±1.8	82.9 ± 2.1*
Total protein (g/dl)[e]	7.0 ±0.1	7.5 ± 0.1*

Phenobarbital(75mg/kg) was orally administered to rat once a day for five days.

[a] Weight after pretreatment/weight before treatment.

[b] Liver weight/body weight(g/kg).

[c,d,e] Normal range of man is reported to be 8-27IU/*l*, 8-30IU/*l* and 6.5~8.2g/dl with clinical chemistry analyzer (Gilford, SBA 300), respectively.

#Mean±S.E. from six rats. *$p<0.01$.

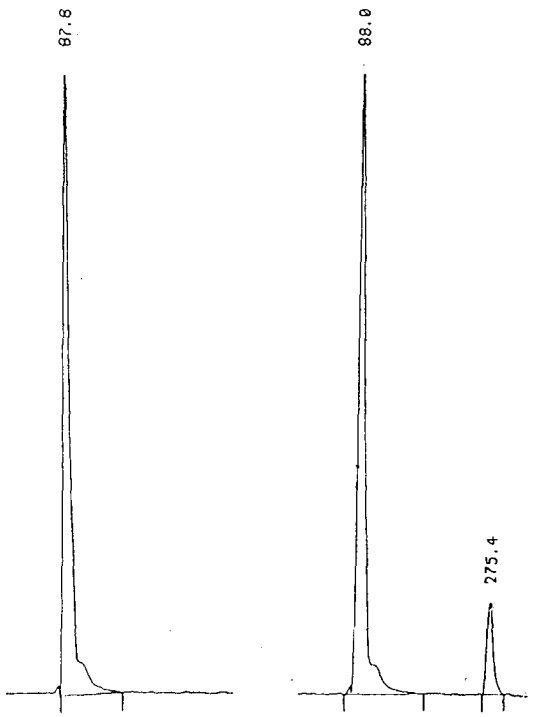

Fig. 1—Chromatograms of blank rat plasma(left) and rat plasma spiked with 1.0μg of griseofulvin/ml (right).

Table Ⅲ—Standard curve for griseofulvin in plasma[a].

Plasma griseofulvin concentration (μg/ml)	Griseofulvin peak height	Response factor[b]
0.03	3.20	106.7
0.05	5.31	106.2
0.1	10.26	102.6
0.5	51.90	104.0
1.0	97.21	97.2
2.0	205.84	102.9
3.0	295.88	98.6
5.0	478.63	95.7

[a] Linear regression equation $y=0.71+95.51x$, $r=0.999$. Detection limit of griseofulvin is 0.6ng and day-to-day reproducibility represented by coefficient of variation ($n=10$) is 3.27% on 4th day at 1.0μg of griseofulvin/ml in plasma.

[b] Peak height divided by griseofulvin concentration, mean=101.7.

rat의 간중량, SGOT, SGPT 및 total protein 값이 유의성($p<0.01$) 있게 증가된 것으로 보아 PB전처리로 인하여 다소간의 간장해가 유발된 징후가 보이나, 그 증가가 급성 또는 만성 간장해시의 SGOT, SGPT값[12]에 미치지 못하였다.

혈장중 GF의 정량—rat의 혈장과 혈장중 GF의 농도가 1μg/ml인 경우의 크로마토그램을 Fig. 1에, 그 정량결과를 Table III에 표시하였다. 본 실험에서는 Chiou등[10]이 사용한 칼람, 검출기의 기종과 여기 및 형광파장을 변경하여 측정하였다. GF의 평균유지시간은 275초였으며, 정량한도는 0.6ng까지 도달시킬 수 있었고, 피이크 높이를 농도로 나눈 감응도는 4배이상, 변동계수로 표현한 재현성은 2배이상 향상시킬 수 있었다.

약물속도론적 파라메타—각 군의 혈장중 약물농도의 시간에 대한 추이는 Fig. 2 및 3과 같으며, 이들 실선은 MULTI 프로그램[11]을 써서 마이크로컴퓨터(PC-8001, NEC사)를 사용하여 계산한 값들을 나타내고 이들 데이타로부터 얻은 약물속도론적 파라메타는 각각 Table IV 및 V와 같았다.

5일간의 PB전투여로 인하여 경구투여시 GF

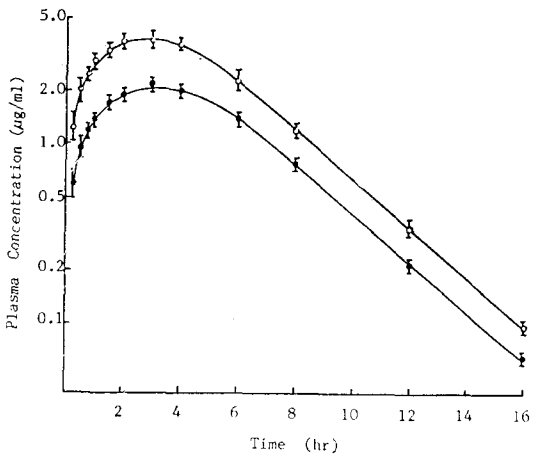

Fig. 2—Mean plasma griseofulvin levels versus time following oral administration of 100mg/kg in 0.5% Tween 80 to control (GF, -○-, n=5) and phenobarbital-pretreated (PB-GF, -●-, n=5) rats.

Each solid curve was calculated by MULTI[11] on 1-compartment open model. Error bars represent the standard error of the mean.

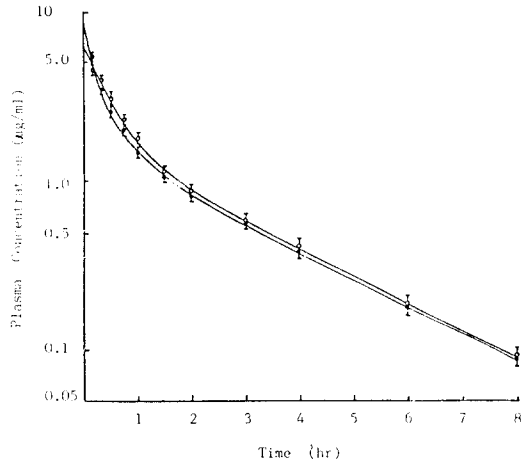

Fig. 3—Mean plasma griseofulvin levels versus time following intravenous administration of 4mg/kg in polyethylene glycol 400 to control(GF, -○-, n=5) and phenobarbital-pretreated(PB-GF, -●-, n=5) rats.

Each solid curve was calculated by MULTI[11] on 2-compartment open model. Error bars represent the standard error of the mean.

의 혈장중농도곡선하면적(AUC), 최고혈중농도(C_{max}) 및 절대생체이용율(F)이 모두 유의성($p<0.005$)있게 감소하였다. 정맥투여시 체순환 콤파트멘트로부터의 배설속도정수(k_{10})는 30% 유의성($p<0.005$) 있는 증가를 보였으나 정맥투여시의 AUC 및 경구·정맥투여 모든 군에서의 전신클리어런스(CL_s)에는 차이가 없었으며, PB-GF(*p.o.*)에서 흡수속도정수(K_a)와 C_{max}가 감소하고 최고혈중농도 도달시간(T_{max})이 유의성($p<0.05$) 있게 증가한 것은 PB에 의해 GF대사효소가 유도되었거나, PB전처리로 인해 증가된 bile flow[13~14]가 GF의 흡수부위에서의 체류시간을 감소시켜 GF흡수를 저해시킨 때문으로 사료된다.

PB-GF(*i.v.*)에서 분포상에 도달하는 시간이 짧아지고 분포속도정수 k_{12} 및 k_{21}이 모두 증가한 것은 PB전투여로 증가된 혈류속도[15] 때문일지도 모른다. 정상상태에서의 분포용적(V_{ss})은 두 군 모두 동일하나 체순환과 말초 콤파트멘트의 분포 용적(V_c 및 V_p)이 유의성($p<0.005$)있는 변화를 보인 것은 PB를 투여함으로써 단백질 또는 인지질의 합성이 증가[16] 되어 GF의 분포율이 달라진 때문이 아닌가 생각된다.

PB와 GF의 약물상호작용에 미치는 담즙의 영향에 대해서는 앞으로 계속 검토하고자 한다.

결 론

rat kg당 75mg의 PB를 하루에 한번씩 5일간의 경구투여가 GF의 약물속도론적 파라메타에 미치는 영향을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PB전처리는 GF의 절대생체이용율을 유의성있게 감소시켰으나 전신클리어란스에는 영향을 미치지 않았다.

Table Ⅳ—Pharmacokinetic parameters of griseofulvin after *p.o.* administration to rats#.

Parmeters	GF(*p.o.*)	PB-GF(*p.o.*)
$K_a(min^{-1})$	$9.1(\pm0.8)\times10^{-3}$	$7.2(\pm0.1)\times10^{-3}$*
$K(min^{-1})$	$5.9(\pm0.3)\times10^{-3}$	$6.2(\pm0.3)\times10^{-3}$
$AUC^{0-\infty}(\mu g\cdot min/ml)$[a]	1,495.3 ±74.6	833.7 ±46.6**
$T_{max}(min)$[b]	132.0 ±12.0	166.8 ±12.0*
$C_{max}(\mu g/ml)$[c]	4.8 ± 1.0	2.0 ± 0.1**
$CL_s(ml/min/kg)$[d]	9.6 ± 0.8	9.8 ± 0.8
F(%)[e]	14.4 ± 0.6	8.2 ± 0.4**

Griseofulvin was administered orally at a dose of 100mg/kg.

[a]Calculated by $AUC^{0\sim16hr}+(C_{16hr}/K)$, where $AUC^{0\sim16hr}$ was calculated by trapezoidal rule and C_{16hr} is the plasma concentration at t=16hr, [b,c]Observed values, [d]F·Dose/$AUC^{0-\infty}$, [e]Bioavailability, $\{(AUC)^{0-\infty}_{p.o.}/(Dose)_{p.o.}\}/\{(AUC)^{0-\infty}_{i.v.}/(Dose)_{i.v.}\}$, *$p<0.05$. **$p<0.005$. #Mean±S.E. from five rats.

Table V—Pharmacokinetic parameters of griseofulvin after *i.v.* administration to rats#.

Parameters	GF(*i.v.*)	PB-GF(*i.v.*)
A(μg/ml)	4.5±0.3	5.8±0.2*
α(min^{-1})	3.30(±0.11)×10^{-2}	5.10(±0.09)×10^{-2}**
B(μg/ml)	1.6±0.02	1.7±0.01
β(min^{-1})	5.90(±0.08)×10^{-3}	6.20(±0.10)×10^{-3}
k_{12}(min^{-1})	1.09(±0.07)×10^{-2}	2.12(±0.03)×10^{-2}**
k_{21}(min^{-1})	1.32(±0.05)×10^{-2}	1.63(±0.03)×10^{-2}**
k_{10}(min^{-1})	1.48(±0.04)×10^{-2}	1.92(±0.02)×10^{-2}**
V_c(ml/kg)	658.5±37.3	529.8±11.0*
V_p(ml/kg)	537.4±21.0	689.3± 9.8**
V_{ss}(ml/kg)	1,189.5±49.9	1,218.9±14.6
$AUC^{0-\infty}$(μg·min/ml)[a]	414.3±14.6	395.0± 8.4
CL_s(ml/min/kg)[b]	9.7± 0.3	10.1± 0.5

Griseofulvin was injected intravenously at a dose of 4mg/kg.
[a] Calculated by $AUC^{0-8hr}+(C_{8hr}/\beta)$, [b] Dose/$AUC^{0-\infty}$. #Mean±S.E. from five rats. *$p<0.01$. **$p<0.005$.

2. PB전처리는 경구투여시 GF의 흡수속도정수 및 최고혈중농도를 유의성있게 감소시켰으며 최고혈중농도 도달시간을 유의성있게 증가시켰다.

3. 이와같은 상호작용은 PB에 의해 GF대사효소가 유도되었기 때문이거나, PB에 의한 생리적 변화(예컨대 담즙유량변화)[13~14]가 GF의 위장관 흡수자체를 저해하였기 때문으로 추정되었다.

4. 혈장중 GF를 수정된 HPLC법에 의해 정량한 결과, 종래의 방법[10]에 비해 정량한도를 0.6ng까지, 감응도를 4배이상, 재현성을 2배이상 향상시킬 수 있었다.

감사의 말씀

MULTI 프로그램[11]에 의한 데이타 처리에 도움을 주신 서울대학교 약학대학 심 창구 교수님께 감사드린다.

문 헌

1) Riegelman, S., Rowland, M. and Epstien, W.L.: Griseofulvin-phenobarbital interaction in man. *J Amer. Med. Ass.* **213**, 426 (1970).

2) Busfield, D., Child, K.J. and Tomich, E.G.: An effect of phenobarbitone on griseofulivin metabolism in the rat and rabbit. *Biochem. Pharmacol.* **16**, 2405 (1967).

3) Busfield, D., Child, K.J., Atkinson, R.M., *et al.*: An effect of phenobarbitone on blood levels of griseofulvin in man. *Lancet* **2**, 1042 (1963).

4) Lorenc, E.: A new factor in griseofulvin treatment failures. *Missouri Med.* **64**, 3 (1967).

5) Jamali, F. and Axelson, J.E.: Griseofulvin-phenobarbital interaction; A formulation-dependent phenomenon. *J. Pharm. Sci.* **67**, 466 (1978).

6) Carrigan, P.J. and Bates, T.R.: Biopharmaceutics of drugs administered in lipid-containing dosage forms I: GI absorption of griseofulvin from an oil-in-water emulsion in the rat. *J. Pharm. Sci.* **62**, 1476 (1973).

7) Garceau, Y., Brisson, J., Davis, I., DeAngelis, R.L. and Hasegawa, J.: TLC determination of griseofulvin in plasma and 6-demethyl-griseofulvin in urine. *J. Pharm. Sci.* **69**, 561 (1980).

8) Shah, V.P., Riegelman, S. and Epstein, W.L.: Determination of griseofulvin in skin, plasma, and sweat. *J. Pharm. Sci.* **61**, 634 (1972).

9) Schwarz, H.J., Waldman, B.A. and Madrid, V.: GLC determination of griseofulvin in human. *J.*

Pharm. Sci. **65**, 370 (1976).

10) Chiou, W.L., Nation, R.L., Peng, G.W. and Smith, V.: Simple, rapid and micro high-pressure liquid chromatographic determination of plasma griseofulvin levels. *J. Pharm. Sci.* **67**, 805 (1978).

11) Yamaoka, K., Nakagawa, T., and Uno, T: Akaike's information criterion(AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **6**, 165 (1978).

12) Gilford diagnostic reference manual.

13) Klaassen, C.D.:Effects of phenobarbital on the plasma disappearance and biliary excretion of drugs in rats. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **175**, 289 (1970).

14) Klaassen, C.D.: Studies on the increased biliary flow produced by phenobarbital in rats. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **176**, 743 (1971).

15) Branch, R.A., Shand, D.G., Wilkinson, G.R. and Nies, A.S.: Increased clearance of antipyrine and *d*-propranolol after phenobarbital treatment in the monkey; Relative contributions of enzyme induction and increased hepatic blood flow. *J. Clin. Invest.* **53**, 1101 (1974).

16) Young, D.L., Powell, G. and McMillan, W.O.: *J. Lipid Res.* **12**, 1 (1971).