

Pyrazinamide와 그 대사산물이 유발하는 고노산 혈증에 미치는 Pyridoxal의 영향

허 근 · 박종민 · 신억섭 · 김석환*
영남대학교 · 약학대학, *동아대학교 식품영양학과
(Received April 9, 1987)

Effect of Pyridoxal on Pyrazinamide- and its metabolite-induced Hyperuricemia

Keun Huh, Jong Min Park, Uk Seob Shin and Suk Hwan Kim*

College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan 632 and

*Department of Food Nutrition, Dong-A University, Pusan 600-02, Korea.

Abstract—Pyrazinamide, an amide of pyrazinoic acid, is widely used in combination with other drugs for the treatment of tuberculosis. It was attempted to observe the effect of pyridoxal on the pyrazinamide induced hyperuricemia in this study. It was observed that the values of serum transaminases were not changed in mice injected pyrazinamide and pyrazinoic acid, respectively (100, 200, and 300mg/kg) compared with control. Blood urate levels were increased in mice treated with these drugs in a dose dependent manner. After pyrazinoic acid was administered intraperitoneally at a dose of 300mg/kg pretreated with 50mg/kg of pyridoxal once daily for 4 days, the blood levels of uric acid and pyrazinoic acid were decreased significantly.

Pyrazinamide는 pyrazinoic acid의 amide형으로서 1952년경부터 항결핵약으로 이용되어지고 있다.¹⁻²⁾ 근년 결핵치료에 대한 다각적인 검토결과를 토대로하여 단기화학요법(short-course chemotherapy³⁻⁵⁾)이 제창되고 또한 이 치료방법의 여러가지 장점이 소개되면서 pyrazinamide가 항결핵제로서 제평가되어 종전보다 많은 량의 pyrazinamide가 사용되어지고 있다.⁶⁾

Pyrazinamide가 결핵치료의 목적으로 이용되어질 때 대부분의 경우 다른약물과 같이 병용되어질 때가 많으므로 이들 약물들의 상호작용에 대한 검토가 필요할 것이라고 생각되어진다.

Pyrazinamide를 투약할 때 나타나는 부작용중 노산혈증농도증가현상인 고노산혈증(Hyperuricemia)은 흔히 관찰되어지는 증상이라고 한다.^{7,8)} 결핵치료의 약물요법을 시행하는 과정에서 많은 사람들이 vitamin B₆를 보조약품 내지는 영양제로 화학요법제와 같이 복용하고 있다고 한다.^{9,10)} 그러므로 저자들은 vitamin B₆와 pyrazinamide의 약물상호작용을 검토하는 일련의 실험중에서

pyrazinamide가 유도하는 고노산혈증에 vitamin B₆가 어떤 영향을 주는가를 관찰하여 흥미있는 실험결과를 얻었으므로 보고코저 한다.

실험 방법

시약 및 기기—시약으로는 pyridoxal hydrochloride(Fluka제), uric acid sodium salt(반정화학제), sodium nitroprosside(순정화학제), 혈청 GOT, GPT 측정용 kit(영구화학제) 등 이외 모든 시약은 1급 이상을 사용하였다.

기기로는 double-beam spectrophotometer (Hitachi model 200-20), Infrared Spectrophotometer (Perkin-Elmer 1310), 미량용점측정기(유본제작, 日) 등을 사용하였다.

Pyrazinoic acid의 합성 및 동정—Felder 등¹¹⁾의 합성법에 준하여 pyrazinamide 3g을 10%(w/v) NaOH-용액 50ml에 용해시킨후 100°C로 유지하면서 2시간 동안 환류시킨 다음 가열하여 NH₃을 제거한 후 반응액을 냉각시켜 침전물을

얻었다. 침전물을 소량의 증류수에 녹인 후 c-HCl을 가하여 얻은 결정을 수회 물로 세척한 후 다시 물로 재결정하였다. 이것을 용접측정기로 용점을 측정하였으며 KBr 정제법을 이용하여 IR 스펙트럼으로 동정한다음 아래 실험에 사용하였다.

실험동물 및 처치—본 대학 동물사에서 일정한 조건으로 사육한 외관상 건강한 25g 내외의 ICR계 웅성 mouse를 사용하였으며 실험동물은 실험전 16시간동안 절식시켰다.

Pyridoxal의 투여는 Ebadi¹²⁾의 방법을 참조하여 50mg/kg을 실험군의 복강내로 4일간 주사하였으며 대조군은 동량의 생리식염수를 주사하였다. Pyrazinamide와 pyrazinoic acid의 치치는 Weiner 등¹³⁾의 방법을 약간 변경하여 300mg/kg을 도살 3시간 전에 투여하였으며 대조군은 동량의 olive oil을 복강내로 주사하였다. 한편 실험동물은 ether로 가볍게 마취한 다음 하대정맥으로 부터 채혈하고 원심분리하여 얻은 혈청을 실험에 사용하였다.

혈액중의 Pyrazinoic acid 정량—혈액중 pyrazinoic acid의 정량은 Gurumurthy 등¹⁴⁾의 방법을 약간 변경하여 측정하였다. 즉 시험관에 혈청 일정량을 넣고 0.5N HClO₄ 용액을 가하여 제단백시킨 다음 원심분리하여 얻은 상등액 일정량에 0.2% sodium nitroprusside 용액과 0.5N—NaOH 용액을 각각 0.5ml씩 가하였다. 실온에서 30분간 방치하였을때 나타나는 등적색을 파장 460nm에서 흡광도의 변화를 읽어 검량선에 준하여 산정하였다.

혈액중의 uric acid 정량—요산의 정량은 Henry¹⁵⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 혈청 0.3ml에 제단백의 목적으로 10%(w/v) sodium tungstate 용액 2.7ml를 가하여 진탕시키고 원심분리하여 얻은 상등액 일정량에 10% Na₂CO₃와 phosphotungstic acid 용액을 가한다음 실온에서 30분간 방치하였을때 나타나는 청색을 파장 700nm에서 흡광도의 변화로 측정하였다.

Transaminase의 측정—Reitman과 Frankel¹⁶⁾의 방법에 준해 조제된 kit 시약을 사용하여 측정하였다. Transaminase의 환상단위는 karmen

unit로 나타내었다. 한편 실험결과의 통계처리에는 student t-test를 이용하였다.

실험 결과

Pyrazinoic acid와 pyrazinamide 투여가 혈청중 GOT 및 GPT 활성에 미치는 영향—Pyrazinoic acid와 pyrazinamide의 투여용량(100, 200, 300mg/kg)을 달리하면서 혈청중 GOT 및 GPT의 활성을 비교 관찰한 성적이 Table I이다. Pyrazinoic acid를 처치한 군에서나 pyrazinamide를 투여한 군에서 두효소 모두 olive oil을 투여한 대조군에 비해 별다른 유의성있는 변화를 관찰할 수 없었다. 이 실험성적으로 보아 본 실험조건에서는 간에 손상을 주지 않을 것으로 생각되어 진다.

Table I—Effect of pyrazinamide and pyrazinoic acid on the serum transaminase activity in mice

Dose (mg/kg)	Pyrazinamide		Pyrazinoic acid	
	GPT*	GOT*	GPT*	GOT*
0	27±6	67±15	27±6	67±15
100	22±4	99±13	22±6	80±14
200	27±5	79±12	29±4	90±13
300	30±7	85±14	22±7	81±17

Mice were decapitated 3hr after administration of pyrazinamide and pyrazinoic acid. The assay procedure was described in the text. Values are mean±S.E. of 5 animals in each group.

*; karmen unit/ml of serum.

Table II—Effect of pyrazinamide on the serum urate level in mice.

Dose(mg/kg)	Uric acid (mg/100ml serum)	
	Pyrazinamide	Pyrazinoic acid
0	4.0±0.3	4.0±0.3
100	4.2±0.2	4.3±0.2
200	4.6±0.3	5.0±0.2*
300	5.4±0.3**	6.0±0.3**

The other conditions are the same as described in Table I. *; p<0.05 **; p<0.01. Significantly different from control group.

Pyrazinoic acid 및 pyrazinamide 투여가 혈청중 uric acid 농도에 미치는 영향—용량별로 투여한 실험동물의 혈청중 uric acid의 농도 변화를 관찰한 실험성적이 Table II이다.

Pyrazinoic acid를 용량별(100, 200, 300mg/kg)로 투여하였을때 uric acid의 농도가 각각 4.3, 5.0, 6.0 mg/100 ml로서 대조군(4.0mg/100ml)을 100%로 나타내었을 때 약 108%, 125%, 150%로 현저하게 증가됨을 관찰할 수 있었다. 한편 pyrazinamide를 투여한 실험군에서도 투여용량에 비례하여 혈청 uric acid의 농도가 유의성 있게 증가됨을 관찰 할 수 있었다. 그러므로 이 실험에서는 노산의 혈중농도를 현저하게 증가시키는 300mg/kg을 pyrazinoic acid의 투여량으로 하였다.

Pyrazinoic acid 투여에 의한 혈청 uric acid의 농도에 미치는 **pyridoxal**의 영향—생리식염수와 pyridoxal을 4일간 전처치한 대조군과 실험군에 pyrazinoic acid 300mg/kg를 복강내로 1회 주사하고 180분후 혈청중 uric acid의 농도를 검토한 성적이 Fig. 1이다. Pyrazinoic acid를 투여

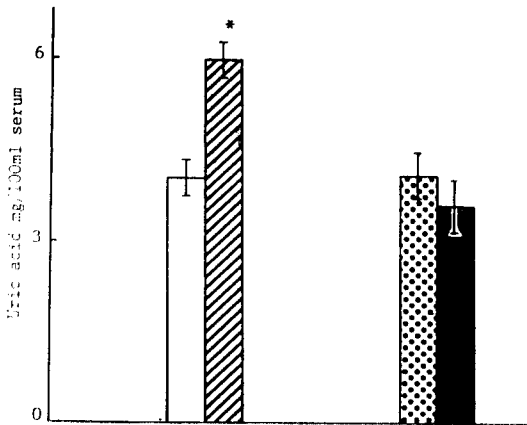


Fig. 1—Effect of pyridoxal on the serum urate level in pyrazinoic acid-treated mice.

Mice were given pyridoxal(50mg/kg) intraperitoneally once per day for 4 days. Pyrazinoic acid(300mg/kg) was injected intraperitoneally 3hr before sacrifice. The other conditions are the same as described in Table I. □; Control, ▨; Pyrazinoic acid, ▤; Pyridoxal, ■; Pyridoxal+Pyrazinoic acid. *; $p < 0.01$.

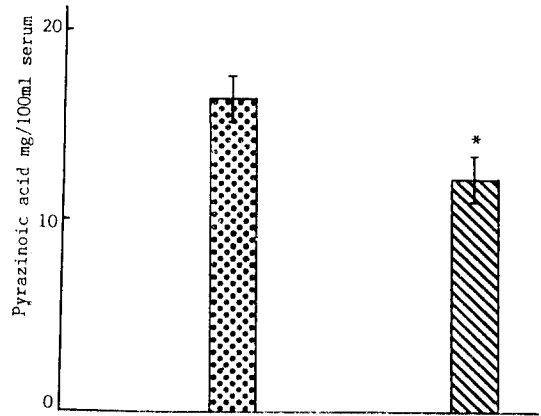


Fig. 2. Effect of pyridoxal on the serum pyrazinoate level in pyrazinoic acid-treated mice.

Pyrazinoic acid(300mg/kg) was injected intraperitoneally 90min before sacrifice. The other conditions are the same as described in Fig. 1. ▨; Pyrazinoic acid, ▤; Pyridoxal +Pyrazinoic acid. *; $p < 0.05$.

한 실험군이 6.0mg/100ml로서 생리식염수를 투여한 대조군(4.0mg/100ml)에 비해 약 50% 이상의 유의적인 증가를 관찰할 수 있었다.

한편 pyridoxal을 전처치한 다음 pyrazinoic acid를 투여한 실험군에서는 3.6mg/100ml로 대조군에 가깝게 감소됨을 관찰할 수 있었다.

혈청 pyrazinoic acid 농도에 미치는 pyridoxal의 영향—생리식염수와 pyridoxal을 전처치한 대조군과 실험군에 pyrazinoic acid 300mg/kg를 투여하고 90분후 혈청중 pyrazinoic acid의 농도를 관찰한 성적이 Fig. 2이다. Pyrazinoic acid만을 투여한 대조군의 pyrazinoic acid 혈중 농도가 16.5mg/100ml 인데 비해 pyridoxal 50 mg/kg을 4일간 전처치하고 pyrazinoic acid를 투여한 실험군에서의 혈중농도는 12.3mg/100ml로서 대조군에 비해 25% 정도 유의성있는 감소를 관찰할 수 있었다.

고 찰

Pyrazinamide 투약시 발생하는 부작용으로는 간독성과 노산의 혈중농도가 비정상적으로 증가하는 고노산혈증을 들 수 있다.

Pyrazinamide 및 pyrazinoic acid가 일으키는 독성 model 실험동물체를 만드는 과정에서 300mg/kg까지 투여하였을 때 외관상으로나 간기능검사의 지표로 쓰이는 transaminase의 활성에는 별다른 변동을 관찰할 수 없었으므로 본 실험조건에서는 간에 손상을 주지 않을 것으로 생각되어진다. Pyrazinamide가 일으키는 고노산혈증은 이 약물의 중간대사산물인 pyrazinoic acid에 의한 것으로 생각되어지고 있다.³⁾ 흡수되어진 pyrazinamide는 간 microsome 분획에 존재하는 deaminase에 의해 일차산화물인 pyrazinoic acid로 되었다가 다시 cytosol 분획효소인 xanthine oxidase가 관여하는 산화반응을 받아 5-hydroxy pyrazinoic acid로 된다는 대사경로가 밝혀지고 있다.^{17,18)} 과거에는 pyrazinamide의 이용빈도가 매우 적었으므로 이 약물의 대사에 대한 연구도 그리 많지 않으며 중간대사산물인 pyrazinoic acid가 신세뇨관에서 노산의 수송을 방해하기 때문에 고노산혈증등의 독성이 유발된다는 실험적 증거도 충분히 제시되지 않고있는 실정이다.

Pyrazinamide와 pyrazinoic acid를 각각 실험동물에 투여하고 노산의 혈중농도를 비교하였을 때 앞 약물에 비해 후자의 경우가 보다 현저한 고노산혈증증상을 나타내었으며 이와같은 작용은 pyrazinoic acid 투여량에 비례하였다. 이와같은 실험결과는 pyrazinoic acid가 노산저류(urate retention) 현상을 유발하기때문에 노산의 혈중농도가 상승될 것이라는 학설³⁾을 강력히 뒷받침할 것으로 생각된다.

한편 pyrazinamide와 pyrazinoic acid를 각각 투여한 실험군사이의 치사율을 비교관찰하였을 때 pyrazinoic acid가 pyrazinamide보다 강력한 독성을 지니고 있었다.¹⁹⁾

Pyrazinamide를 결핵치료제로 사용할 때 vitamin B₆와 병용되는 점을 고려하여 vitamin B₆ 성분중의 하나인 pyridoxal을 전처치하고 pyrazinoic acid를 투여하였을 때 pyrazinoic acid로 유도되어지던 노산의 혈중농도증가현상은 현저히 억제되어 정상수준 가깝게 감소되어짐이 관찰되었다. 또한 pyrazinoic acid 투여후 이 약물의 혈중농도를 측정할 실험군에 비해 pyridoxal 전처

치후 pyrazinoic acid를 투여한 실험군에서는 현저하게 pyrazinoic acid의 혈중농도가 감소되었다. 이와같은 실험성적을 연관지어 검토하여 볼 때 pyridoxal은 pyrazinoic acid의 혈중농도를 감소시킴으로서 pyridoxal이 유발하는 고노산혈증을 완화 내지는 예방하는데 기여할 것이라는 것이 실험적으로 관찰되어 졌다고 생각된다. 이와같은 pyridoxal에 의한 pyrazinoic acid 혈중농도 감소효과가 어떤 작용기전에 기인되는 것인지는 아직 확인되지 않았으나 pyrazinoic acid의 산화효소가 xanthine oxidase일 것이라는 보고^{3,17,20)}등을 고려하면 아마 pyridoxal에 의하여 pyrazinoic acid의 대사가 촉진되기 때문일 것으로 생각되어짐으로 이점에 대해서는 계속 검토중에 있다.

결 론

Vitamin B₆와 pyrazinamide의 약물상호작용을 검토할 목적으로 pyrazinoic acid가 유발시키는 고노산혈증에 pyridoxal이 어떤 영향을 주는가를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) Mouse에 pyrazinoic acid와 pyrazinamide를 투여하였을 때 본 실험에 사용될 투여용량범위에서는 혈청 GOT 및 GPT는 대조군에 비해 별다른 차이를 관찰할 수 없었다.

2) Pyrazinamide와 pyrazinoic acid의 투여용량이 증가될수록 노산의 혈중농도가 증가되었으며 이러한 효과는 후자가 전자보다 더 강력하게 나타났다.

3) Pyrazinoic acid를 투여한 실험군보다 pyridoxal을 전처치하고 pyrazinoic acid를 투여한 실험군에서 노산의 혈중농도가 현저하게 감소되었다.

4) pyridoxal을 전처치하고 pyrazinoic acid를 투여하였을 때 pyrazinoic acid만 투여한 실험군보다 pyrazinoic acid의 혈중농도가 유의성있게 감소되었다.

이상의 실험성적을 종합해 볼 때 pyrazinoic acid에 의해 유도된 고노산혈증이 pyridoxal에 의해 예방 내지는 개선될 것으로 사료되어진다.

문헌

- 1) Kushner, S., Dalalian, H., Sanjurjo, J.L., Bach, F.L., Safir, S.R., Smith, V.K., and Williams, J.H.: Experimental chemotherapy of tuberculosis. II. The synthesis of pyrazinamides and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 3617 (1952).
- 2) Allen, W.S., Aronovic, S.M., Brancone, L.M., and Williams, J.H.: Determination of pyrazinamide content of blood and urine. *Anal. Chem.* **25**, 895 (1953).
- 3) Weiner, I.M., and Tinker, J.P.: Pharmacology of pyrazinamide: Metabolic and renal function studies related to the mechanism of drug-induced urate retention. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **180**, 411 (1972).
- 4) Brouard, A., Barreteau, H., Merdjan, H., Paillet, M., and Fredj, G.: Rapid determination of pyrazinamide in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **345**, 453 (1985).
- 5) Fox, W., and Mitchison, D.A.: Short-course chemotherapy for pulmonary tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* **111**, 325 (1975).
- 6) Yamamoto, T., Moriwaki, Y., Takahashi, S., Hada, T., and Higashino, K.: Study of the metabolism of pyrazinamide using a high-performance liquid chromatographic analysis of urine samples. *Anal. Biochem.* in press.
- 7) Gutman, A.B., Yü, T.F., and Berger, L.: Estimation of tubular secretion and reabsorption of uric acid by use of pyrazinamide(pyrazinoic acid). *Amer. J. Med.* **47**, 575 (1969).
- 8) Yü, T.F., Berger, L., Stone, D.J., Wolf, J., and Gutman, A.B.: Effect of pyrazinamide and pyrazinoic acid on urate clearance and other discrete renal functions. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **96**, 264 (1957).
- 9) Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.W., and Murad, F.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics 7th ed.*, Macmillan Publ. Co., New York, 1201 (1985).
- 10) Gennaro, A.R.: *Remington's Pharmaceutical Sciences 17th ed.*, Mark Publ. Co., Easton, 1214 (1985).
- 11) Felder, E., and Pitre, D.: *Analytical Profiles of Drug Substances (Flory, K. eds.) 1st ed.*, **12**, Academic Press, Inc., New York, 433(1983).
- 12) Ebadi, M.S.: *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, **4**, Reven Press, Inc., New York, 141(1972).
- 13) Zins, G.R., and Weiner, I.M.: Bidirectional urate transport limited to the proximal tubule in dogs. *Amer. J. Physiol.* **215**, 411 (1968).
- 14) Gurumurthy, P., Nair, N.G.K., and Sarma, G.R.: Methods for the estimation of pyrazinamide and pyrazinoic acid in body fluids. *Indian J. Med. Rec.* **129**, 71 (1980).
- 15) Henry, R.J., Sobel, C., and Kim, J.: Modified carbonate-phosphotungstate method for the determination of uric acid and comparison with the spectrophotometric uricase method. *Am. Clin. Pathol.* **28**, 152 (1957).
- 16) Reitman, S., and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 56 (1957).
- 17) Ellard, G.A.: Absorption, metabolism and excretion of pyrazinamide in man. *Tubercl.* **50**, 144 (1969).
- 18) Weiner, I.M. and Fanelli, G.M. *J. Clin. Invest.* **52**, 1946 (1973).
- 19) Effect of pyridoxal on the mortality in pyrazinoic acid-treated mice. (unpublished).
- 20) Rundles, R.W., Wyngaarden, J.B., Hitchings, G.H., and Elion, G.B.: Drugs and uric acid. *Ann. Rev. Pharmacol.* **9**, 345 (1969).