

아테놀올의 체내동태에 대한 신장해의 영향

이종기 · 조삼상
광주광역시 보건환경연구원

Effect of Renal Failure on Pharmacokinetics of Atenolol in Rabbits

Chong Ki Lee, and Sam Sang Cho

Kwangju City Health and Environment Research Institute, Kwangju 502-240, Korea

The pharmacokinetics of atenolol (25 mg/kg, i.v.) in the folate-induced renal failure rabbits was studied. Renal failure was induced by the i.v. injection of folate (50, 100, and 200 mg/kg). At folate dose of 100 and 200 mg/kg, the serum creatinine concentration (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) increased significantly compared with control rabbits. Plasma concentrations and AUC of atenolol increased significantly at folate dose of 100 and 200 mg/kg. The elimination rate constant (K_{el}) and total body clearance (CL_T) of atenolol decreased significantly, and half-life ($t_{1/2}$) and mean residence time (MRT) of atenolol increased significantly at folate dose of 100 and 200 mg/kg. The serum creatinine concentration (S_{cr}) correlated well ($p < 0.05$) with half-life ($t_{1/2}$) and elimination rate constant (K_{el}) of atenolol, as well as BUN with AUC and total body clearance (CL_T) of atenolol. (Kor. J. Clin. Pharm. 1998; 8(1): 23-28)

□ Keywords - Renal failure rabbits, Atenolol, Folate, Pharmacokinetic parameters, Dosage regimen

아테놀올은 β_1 선택성 아드레날린 수용체 차단제로 고혈압 및 협심증 등에 많이 쓰이는 약물이다.¹⁻³⁾ 경구 투여시 2-4시간에서 최고혈중농도를 나타내고, 소실 반감기는 5-6시간이며,^{1,4)} 단백결합률은 5-15% 정도이다.⁵⁾ 체내에 흡수된 후 미변화체로 50%정도(정맥투여시 85% 이상)가 요중으로 배설된다.^{1,6)} 임상에서 신장해시의 약물투여는 중요한 의미를 갖는다. 그 이유는 신장해로 인해 체내동태가 변화하는 약물이 많고,^{7,11)} 요중으로 배설되는 약물 및 그 대사체가 체내에 축적되어 투여된 약물의 대사가 억제될 수도 있으며,^{12,13)} 또한 약리작용에 변화가 있을 수 있기 때문이다.¹⁴⁾ 그러므로 신장해 환자에게는 상용량에서도 심한 독성과 부작용을 가져오는 경우가 있기 때문에^{15,16)} 투여용량, 투여간격 및 투여제형과 타 약물과의 상호작용을 신중히 고려해야 한다. 신장해시의 체내동태에 대한 연구는 신장해 동물^{7,11,17-22)}과 신장해 환자²³⁻³⁰⁾를 대상으로 이루어져 왔으며, 이에 따라 몇몇 약물의 신장해시의 약물투여 계획이 수립되어 있다.³¹⁻³⁵⁾ 연구자는 심장 신

택성 β 차단제로 많이 사용되는 아테놀올이 주로 요중으로 배설되는 약물이라는 점을 착안하여, 신장해시 혈장농도, 혈청중 크레아티닌 농도, 혈장중 요소 질소(BUN), 그리고 약물소실속도 등 약물속도론적 파라미터를 구하고, 이들 속도론적 파라미터와 혈액임상 화학치와의 상호관계를 검토하여 아테놀올의 투여계획에 도움을 주고자 하였다. 실험동물로는 토끼를 사용하였으며, 신장해 유발 물질로는 엽산(folate)을 사용하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

아테놀올(일동제약), 엽산, 탄산수소나트륨, n-부탄올 및 우레탄(순정화학), 수산화나트륨 및 사이클로헥산(약리화학), 헤파린(중외제약), 그리고 크레아티닌 측정용 시액 세트 및 BUN 측정용 시액 세트(아산제약) 등을 사용하였으며, 분석기기로는 UV/VIS 흡광도 측정기(Varian Co., 호주), 초음파 세척기(Branson Co., 미국), 등속주입펌프(Stoelting Co., 미국), 혼합기(Barnstead Co., 미국) 및 원심분리기(한일산업) 등을 사용하였다.

교신저자: 이 종 기

502-240 광주광역시 화정동 898
광주시 보건환경연구소
TEL. 062-375-9340(교)4118, FAX. 062-375-9012

실험동물

광주시 보건환경연구원 가축위생연구부에서 분양 받은 체중 2.0 kg 전후의 New Zealand White계 웅성 토끼에 물은 자유롭게 공급하면서 24시간 절식시킨 후, 25% 우레탄, 4 ml/kg을 피하주사하여 마취시킨 다음, 고정대에 고정시킨 후 우측대퇴동맥에 폴리에틸렌관(23 gage)을 삽입하여 혈액을 채취하였으며, 채취한 혈액량 만큼의 생리식염수를 귀정맥내로 등속주입펌프를 통하여 보충해 주었다.

신장해 유발 및 약물투여

토끼 6마리를 1군으로 하여, 실험 24시간 전에 0.3 M 탄산수소나트륨액에 5%(w/v)가 되도록 만든 염산^{16,36,37)}을 50, 100 및 200 mg/kg의 용량으로 각각 토끼 귀정맥내로 주사하여 신장해를 유발시켰다. 이 토끼에 아테놀올 25 mg/kg을 귀정맥으로 서서히 투여하였다. 정맥투여한 후 5, 10, 15, 30 및 45분, 그리고 1, 1.5, 2, 3, 4, 6 및 8 시간에 채혈하여 원심분리 후 혈장 0.5 ml를 얻었고, 얻어진 혈장은 분석시까지 냉동고에 보관하였다.

아테놀올 분석

Malbica 등의 방법³⁸⁾을 수정하여, 혈장 0.5 ml에 0.1 N 수산화나트륨시액 2.0 ml를 가한 후 사이클로헥산/n-부탄올 시액(50% v/v) 8.0 ml를 넣고 15분간 흔들어서 섞은 다음, 3000 rpm에서 10분간 원심분리 후 유기층 7.0 ml를 취하였다. 여기에 0.1 N 염산시액, 2.5 ml를 가하여 15분간 흔들어서 섞은 다음 같은 방법으로 원심분리하여 유기층을 제거한 후 수층을 취하여 276 nm에서 0.1 N 염산시액을 대조액으로 흡광도를 측정하였다.

혈청크레아티닌 농도 측정

크레아티닌 측정용 시액 셋트를 이용하여 Jaffe법³⁹⁾으로 측정하였다. 즉, 검체혈청 0.5 ml를 취해 제단백·정색 시액(피크린산 0.530 g/410 ml 용액), 4.0 ml를 넣어 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 다음, 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액 3.0 ml를 얻어 검체로 하였다. 따로, 크레아티닌 표준액(5.0 mg/dl) 3.0 ml와 대조용 시액(피크린산 0.235 g/55 ml용액) 3.0 ml를 취한 다음 검체와 표준액, 그리고 대조용 시액에 0.4 N 수산화나트륨시액 1.0 ml를 각각 넣어 잘 흔들어서 다음 실온에서 20분간 방치한 후 파장 520 nm에서 흡광도를 측정하고, 「검체 흡광도/표준액 흡광도×5」식에 의해 혈청 크레아티닌 농도(mg/dl)를 구하였다.

혈장중 요소질소(BUN) 측정

BUN 측정용 시액 셋트를 이용 Indophenol법^{40,41)}으로 측정하였다. 즉, 검체혈장 0.02 ml, 표준액(요소질소로서 30 mg/dl) 0.02 ml, 그리고 대조액(중류수) 0.02 ml를 취한 다음, 여기에 효소시액(urease 70.04 IU를 0.12% sodium nitroprusside액 103 ml에 녹인 것), 2.0 ml를 각각 넣고 잘 혼합한 후 37°C에서 15분간 가온하였다. 다음에 정색시액(sodium hypochlorite 0.06%액) 2.0 ml를 각각 넣고 잘 혼합한 후 15분간 37°C에서 가온한 다음, 60분 이내에 파장 580 nm에서 흡광도를 측정하고 「검체 흡광도/표준액 흡광도×30」의 식으로부터 BUN (mg/dl)을 구하였다.

약물속도론적 분석 및 통계처리

약물속도론적 분석은 Lagrange method를 사용한 LAGRAN computer program⁴²⁾을 이용하였다. 무한대까지의 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 사다리꼴 공식에 의한 오차를 줄이기 위해 LAGRAN 프로그램에 의해 계산하였으며, 전신 클리어런스(CL), 소실반감기($t_{1/2}$), 정상상태(steady state)에서의 분포용적(V_{dss}), 그리고 평균체류시간(MRT)은 다음 식에 의해 구하였고, 소실속도정수(K_e)는 소실상의 혈중농도의 regression분석에 의해 구하였다.

$$AUC = \int_0^{\infty} C dt \quad (1)$$

$$AUMC = \int_0^{\infty} t \cdot C dt \quad (2)$$

$$CL_e = \text{Dose}/AUC \quad (3)$$

$$t_{1/2} = 0.693/kel \quad (4)$$

$$V_{dss} = \text{Dose} \cdot (AUMC)/(AUC)^2 \quad (5)$$

$$MRT = AUMC/AUC \quad (6)$$

이때, AUMC는 1차 모멘트 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적을 의미한다.

각 파라미터의 유의성 검정은 분산분석하여 p 값이 0.05보다 적을 때 유의성있는 것으로 컴퓨터로 처리하였다.

실험결과 및 고찰

아테놀올의 혈장농도

대조군 및 염산, 50, 100 및 200 mg/kg 전처리로 신장해를 일으킨 토끼에서 아테놀올, 25 mg/kg을 정맥

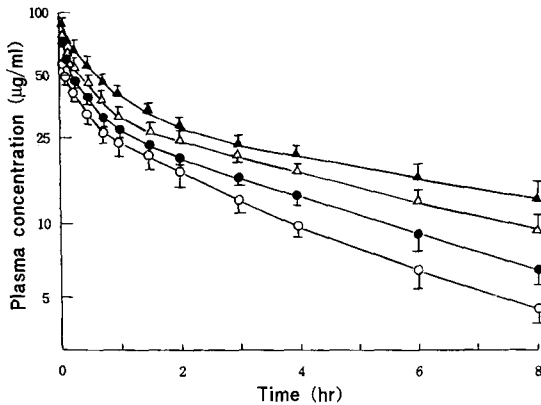


Fig. 1. Plasma concentration of atenolol in rabbits with folate-induced renal failure.

Key: ○; control, ●; folate 50 mg/kg, △; folate 100 mg/kg, ▲; folate 200 mg/kg.

투여하였을 때 나타난 혈장농도추이를 Fig. 1에 나타내었다. 엽산, 50 mg/kg 전처리군에서 아테놀올의 혈장농도가 증가하였으나, 유의성은 없었고, 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군에서 혈장농도가 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다.

아테놀올의 약물속도론적 파라미터

엽산 전처리로 신장해를 일으킨 토끼에서 정맥투여된 아테놀올의 약물속도론적 파라미터를 Table I에 나타내었다. 혈청크레아티닌 농도와 BUN은 대조군에 비해 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군에서 유의성($p < 0.05$)있게 증가되었다. 이는 신장해에 관한 다른 연구자들의 보고^{20,21,23,25,31})와 같은 결과로 혈청크레아티닌 농도와 BUN을 통한 신장해 정도를 판단할 수

있었다. 아테놀올의 소실속도정수(K_{el})는 엽산 전처리군(100 및 200 mg/kg)에서 유의성($p < 0.05$)있게 감소되었으며, 이에 따라 소실반감기($t_{1/2}$)가 유의성($p < 0.05$)있게 연장되고, AUC가 유의성($p < 0.05$)있게 증가되었다. 즉, 대조군의 소실반감기($t_{1/2}$)는 2.76 ± 0.423 hr이었고, 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군에서 각각 4.13 ± 0.538 및 4.57 ± 0.512 hr로 연장되었다. AUC는 대조군이 114 ± 26.2 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ 이었으며, 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군은 각각 217 ± 35.3 및 277 ± 36.1 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ 이었다. 또한, 아테놀올의 전신클리어런스(CL_r)는 대조군(0.219 ± 0.0382 l/kg/hr)에 비해 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군에서 각각 0.115 ± 0.0183 및 0.0903 ± 0.0197 l/kg/hr으로 유의성($p < 0.05$)있게 감소되었으며, 평균체류시간(MRT)은 대조군(3.75 ± 0.457 hr)에 비해 엽산 100 및 200 mg/kg 전처리군에서 각각 5.58 ± 0.672 및 6.51 ± 0.832 hr으로 유의성($p < 0.05$)있게 연장되었다. 이같은 사실로부터 AUC값이 증가한 것은 전신 클리어런스(CL_r)의 감소 때문인 것으로 생각되며, 또한 분포용적(V_{dss})의 변화 없이 전신클리어런스(CL_r)가 감소한 것은 furosemide,²⁰⁾ antipyrine,²²⁾ cimetidine,²⁵⁾ carbenicillin,²⁶⁾ cefazoline²⁷⁾ 및 digoxin³⁵⁾ 등의 경우와 같이 신장해에 의해 요중으로의 약물배설이 억제되어, 체내 소실속도의 감소로 평균체류시간(MRT)이 연장되었기 때문으로 생각된다.

약물속도론적 파라미터와 혈액 임상 화학치

엽산 전처리로 신장해를 일으킨 토끼에서 아테놀올의 약물속도론적 파라미터와 혈액 임상화학치와의 상호관계를 살펴본 결과를 Fig. 2 및 3에 나타내었다. 신장해시 혈청크레아티닌 농도가 증가함에 비례해서 아

Table I. Pharmacokinetic parameters of atenolol in rabbits with folate-induced renal failure

Parameters	Control	Folate administration		
		50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
S_{cr} (mg/dl)	1.91 ± 0.337	2.93 ± 0.387	$4.56 \pm 0.651^*$	$5.31 \pm 0.634^*$
BUN (mg/dl)	28.9 ± 4.21	43.6 ± 6.54	$59.2 \pm 7.21^*$	$67.0 \pm 7.87^*$
K_{el} (hr^{-1})	0.251 ± 0.0311	0.218 ± 0.0346	$0.163 \pm 0.0272^*$	$0.152 \pm 0.0249^*$
V_{dss} (l/kg)	0.825 ± 0.098	0.701 ± 0.0801	0.650 ± 0.0896	0.585 ± 0.0837
$t_{1/2}$ (hr)	2.76 ± 0.423	3.18 ± 0.472	$4.13 \pm 0.538^*$	$4.57 \pm 0.512^*$
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$)	114 ± 26.2	157 ± 30.8	$217 \pm 35.3^*$	$277 \pm 36.1^*$
CL_r (l/kg/hr)	0.219 ± 0.0382	0.159 ± 0.0274	$0.115 \pm 0.0183^*$	$0.0903 \pm 0.0197^*$
MRT (hr)	3.75 ± 0.457	4.38 ± 0.507	$5.58 \pm 0.672^*$	$6.51 \pm 0.832^*$

*; Mean \pm S.D. (n=6), *; $p < 0.05$ compared with control, S_{cr} ; serum creatinine concentration, BUN; blood urea nitrogen, K_{el} ; elimination rate constant, V_{dss} ; volume of distribution at steady state, $t_{1/2}$; half-life, AUC; area under the plasma level-time curve, CL_r ; total body clearance, MRT; mean residence time.

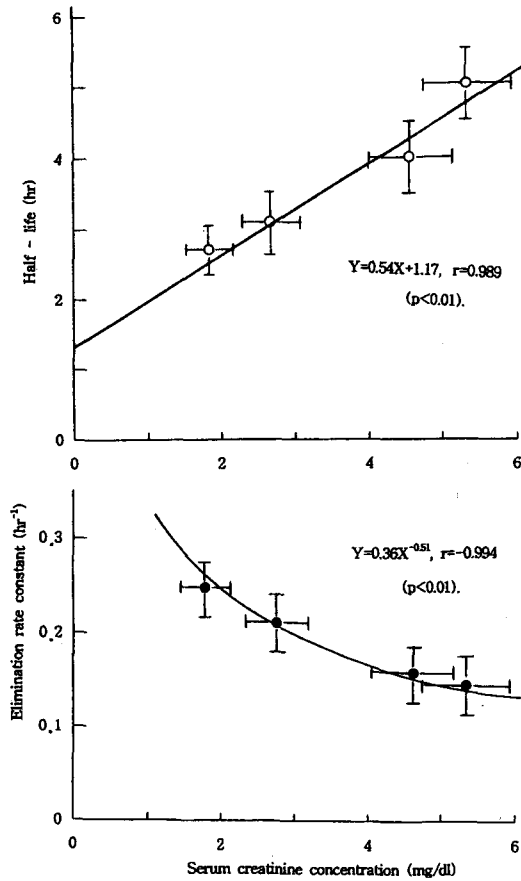


Fig. 2. Correlation between serum creatinine concentration and half-life as well as elimination rate constant of atenolol in rabbits with folate-induced renal failure.

테놀올의 소실반감기($t_{1/2}$)가 연장되고, 소실속도정수 (K_e)가 감소하므로써 각각 $Y=0.54X+1.17$, $r=0.989$ ($p < 0.01$)과 $Y=0.36X^{-0.51}$, $r=-0.994$ ($p < 0.01$) 식의 비례관계를 나타내었다(Fig. 2). 이러한 상관성은 furosemide,²⁰⁾ gentamicin, kanamycin,²³⁾ cimetidine,²⁵⁾ cefazoline,²⁷⁾ quinidine²⁸⁾ 등에서도 볼 수 있었으며, 신장해에서 BUN이 증가함에 비례하여 아테놀올의 AUC가 증가되고, 전신클리어런스(CL_t)가 감소하므로써 각각 $Y=4.14X-14.39$, $r=0.982$ ($p < 0.05$)와 $Y=7.06X^{-1.02}$, $r=-0.986$ ($p < 0.05$)식의 비례관계를 나타내었다(Fig. 3).

이상의 결과를 통해 엽산으로 신장해를 일으킨 토끼에서 정맥투여된 아테놀올의 혈장농도가 증가하고 약물속도론적 파라미터가 변화함을 알 수 있었다. Reidenberg 등^{12,13)} 및 Elion 등¹⁴⁾은 신장해시 간에서의 약물의 대사가 저해됨을 보고하였으나, 아테놀올은

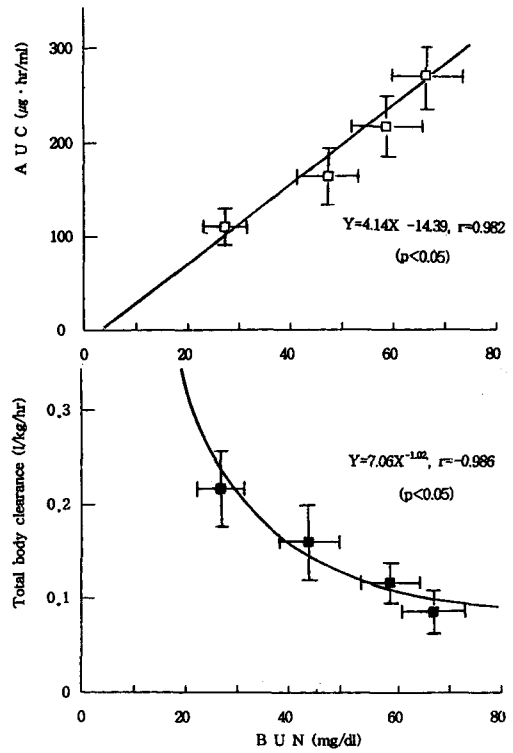


Fig. 3. Correlation between BUN and AUC as well as total body clearance of atenolol in rabbits with folate-induced renal failure.

간에서의 대사가 거의 이뤄지지 않는 약물로⁵⁾ 신장해에 따른 간대사의 저해가 아테놀올의 혈장농도의 상승에 영향을 주지 않았을 것으로 생각된다. 다만, 아테놀올이 주로 신장으로 배설되는 약물로서^{1,6)} 엽산에 의한 세뇨관 분비의 기능 악화¹⁹⁾로 아테놀올의 신장 배설이 억제되므로써, 소실속도의 감소에 따른 전신클리어런스의 감소가 혈장농도 및 AUC를 상승시키고, 아울러 소실반감기와 평균체류시간을 연장시켰을 것으로 생각된다.

결론

엽산(50, 100 및 200 mg/kg)으로 전처리하여 신장해를 일으킨 토끼에서 β₁선택성 아드레날린 수용체 차단제인 아테놀올(25 mg/kg)을 정맥투여한 후 약물속도론적 측면에서 검토한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 아테놀올의 혈장농도와 AUC가 유의성있게 증가되었다($p < 0.05$).
- 2) 아테놀올의 소실속도와 전신클리어런스가 유의

성있게 감소되었으며, 소실반감기와 평균체류시간은 유의성있게 연장되었다($p < 0.05$).

3) 혈청크레아티닌 농도와 아테놀올의 소실반감기, 소실속도, 그리고 BUN과 아테놀올의 AUC, 전신클리어런스간에는 서로 비례관계를 나타내었다.

문 헌

- Fitzgerald JD, Ruffin R, Sinedstad KG, Roberts R, McAnish J. Studies on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of atenolol in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1978; 13: 81-89.
- Douglas-Jones AP, Cruickshank JM. Once daily dosing with atenolol in patients with mild or moderate hypertension. *Brit. Med. J.* 1976; 1: 990-991.
- Amery A, De Plaen JF, Lijnen P, McAnish J, Reybrouck J. Relationship between the blood level of atenolol and its pharmacological effect. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1977; 21: 691.
- Brown HC, Carruthers SG, Johnston GD, Kelly JG, McAnish J, McDevitt DG, Shanks RG. Clinical pharmacological observations on atenolol, a beta-adrenoceptor blocker. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1976; 20: 524-534.
- Drug information: ASHP, 1988; 798-800.
- Marlin GE, Kumana CR, Kaye CM, Smith DM, Turner P. An investigation into the cardiac and pulmonary beta adrenoceptor blocking activity of ICI 66,082 in man. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* 1975; 2: 151-157.
- Robert SM, Levy G. Pharmacokinetic studies of propoxyphen IV. Effect of renal failure on systemic clearance in rats. *J. Pharm. Sci.* 1980; 69: 363-364.
- Shim CK. Decrease of distribution volume of a basic drug in rats of experimental renal failure. *Yakhak Hoeji.* 1983; 27: 21-28.
- Vanpeer AP, Belpaire FM, Rossel MT, Bogaert MG. Distribution of antipyrine, phenylbutazone and phenytoin in experimental renal failure. *Pharmacology.* 1981; 22: 139-145.
- Lee CK. Effect of renal failure on pharmacokinetics of norfloxacin in rabbits. *J. Kor. Pharm. Sci.* 1995; 25: 265-270.
- Shim C K, Sawada Y, Iga T, Hanano M. Estimation of renal blood flow by use of endogenous N¹-methylnicotinamide in rat. *J. Pharmacobio-Dyn.* 1985; 8: 20-24.
- Reidenberg MM, Drayer DE. Drug therapy in renal failure. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1980; 20: 45-54.
- Reidenberg MM. The biotransformation of drugs in renal failure. *Am. J. Med.* 1977; 62: 482-485.
- Elion GB, Yu TF, Gutman AB, Hitchings GH. Renal clearance of oxypurinol, the chief metabolite of allopurinol. *Am. J. Med.* 1968; 45: 69-77.
- Fabre J, Balant L. Renal failure, Drug pharmacokinetics and drug action. *Clin. Pharmacokinetics.* 1976; 1: 99-120.
- Smith JW, Seidl LG, Cluff LE. Studies on the epidemiology of adverse drug reactions. *Ann. Int. Med.* 1966; 65: 629-640.
- Choi JS, Lee CK. Pharmacokinetics of acetaminophen in rabbits with experimental renal failure. *Yakhak Hoeji.* 1985; 29: 216-219.
- Choi JS, Lee CK. Pharmacokinetics of sulfamethoxazole in rabbits with experimental renal failure. *J. Kor. Pharm. Sci.* 1986; 16: 152-157.
- Preuss HH, Weiss FR, Janicki RH, Goldin H. Studies on the mechanism of folate-induced growth in rat kidneys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1972; 180: 754-758.
- Yoshitomi H, Abo S, Yamashita N, Iketa K, Takeata M, Goto S. Plasma protein-furosemide binding in acute renal failure rabbit. *Yakugaku Zasshi.* 1983; 103: 589-593.
- Giacommi KM, Robert SM, Levy G. Evaluation of methods for producing renal dysfunction. *J. Pharm. Sci.* 1981; 70: 117-121.
- Pollack GM, Shem DD. Effect of renal failure and bis(2-ethylhexyl) phthalate pretreatment on the disposition and metabolism of antipyrine in the rat. *J. Pharm. Sci.* 1984; 73: 29-33.
- Perrier D, Gibaldi M. Estimation of drug elimination in renal failure. *J. Clin. Pharmacol.* 1973; 13: 458-462.
- Cutler RE, Gyseynek AM, Fleet P, Forrey AW. Correlation of serum creatinine concentration and gentamycin half-life. *J. Am. Med. Assoc.* 1972; 219: 1037-1041.
- Larsson R, Norlander B, Bodemar G, Walan A. Steady state kinetics and dosage regimens of cimetidine in renal failure. *Clin. Pharmacokinetics.* 1981; 6: 316-325.
- Latos DL, Bryan CS, Stone WJ. Carbenicillin therapy in patients with normal and impaired renal function. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975; 17: 692-700.
- Craig WA, Welling PG, Jacson TC, Kunin CM. Pharmacology of cefazoline and other cephalosporins in patients with renal insufficiency. *J. Infect. Dis.* 1973; 128: 347-353.
- Kessler KM, Lowenthal DT, Warner H, Gibson T, Briggs W, Reidenberg MM. Quinidine elimination in patients with congestive heart failure or poor renal function. *New Eng. J. Med.* 1974; 290: 706-709.
- Halkin H, Sheiner LB, Peck CC, Melmon KL. Determination of the renal clearance of digoxin. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1975; 17: 385-394.
- Linquist JA, Siddiqui JY, Smith IM. Cephalexin in patients with renal disease. *New Eng. J. Med.*

- 1970; 283: 720-723.
31. Dettli L. Individualization of drug dosage in patients with renal disease. *Med. Clin. North Am.* 1974; 58: 977-985.
 32. Dettli L, Spring P, Ryter S. Multiple dose kinetics and drug dosage in patients with kidney disease. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1971; 29: 211-224.
 33. Dettli L. Drug dosage in renal disease. *Clin. Pharmacokinet.* 1976; 1: 126-134.
 34. Chiou WL, Hsu FH. Pharmacokinetics of creatinine in man and its implications in the monitoring of renal function and in dosage regimen modifications in patients with renal insufficiency. *J. Clin. Pharmacol.* 1975; 15: 427-434.
 35. Doherty JE, Flanigan WJ, Perkins WH, Ackerman GL. Studies with tritiated digoxin in anephric human subjects. *Circulation* 1967; 35: 298-303.
 36. Schmidt U, Dubach UC. Acute renal failure in the folate-treated rat: Early metabolic changes in various structure of the nephron. *Kidney Int.* 1976; 10: 39-45.
 37. Schmidt U, Torhorst J, Huguenin M, Dubach UC. Acute renal failure after folate: Na-K-ATPase in isolated rat renal tubule, Ultramicrochemical and clinical studies. *Eur. J. Clin. Invest.* 1973; 3: 169-178.
 38. Malbica A, Motson J. A new and expedient method for the determination of atenolol in biological samples. *Pharmacology.* 1975; 64: 1992.
 39. Jaffe M. Ueber den niederschlag, welchen pikrinsaure in normalen harn erzeugt und ber eine neue reaction des kreatinines. *Hoppe-Seyler Z. Physiol. Chem.* 1886; 10: 391.
 40. Fawcett JK, Scott JE. A rapid and precise method for the determination of urea. *J. Clin. Pathol.* 1960; 13: 156-159.
 41. Searcy RL, Cox FM. A modified technique for the ultramicro estimations of urea nitrogen. *Clin. Chem. Acta.* 1963; 8: 810-812.
 42. Rocci ML Jr, Jusco WJ. LAGRAN program for area and moments in pharmacokinetic analysis. *Computer Programs in Biomedicine.* 1983; 16: 203-216.