

생체리듬에 따른 사이클로스포린의 약물동태

최준식 · 박복순 · 이진환
조선대학교 약학대학

Circadian Changes of Cyclosporine Pharmacokinetics in Rabbits

Jun Shik Choi, Bok Soon Park and Jin Hwan Lee
College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

The effect of circadian rhythm on cyclosporine pharmacokinetics was studied in rabbits after oral administration of 10 mg/kg dose of cyclosporine at 10:00 a.m. and 10:00 p.m. The blood concentration data were subjected to simultaneous computer nonlinear least squares regression analysis using a 1-compartment pharmacokinetic model. The blood concentrations of cyclosporine at 10:00 a.m. were increased significantly during 2-6 hr compared to those at 10:00 p.m. The area under the blood concentration-time curve (AUC) and peak concentration (C_{max}) of cyclosporine at 10:00 a.m. were increased significantly compared to those at 10:00 p.m. The mean total body clearance (CL) of cyclosporine at 10:00 a.m. were decreased significantly compared to those at 10:00 p.m. It is reasonable to consider individual circadian rhythm for effective dosage regimen of cyclosporine in therapeutics. (Kor. J. Clin. Pharm. 1999; 9(1): 66-70)

□ Keywords - Circadian rhythm, Pharmacokinetics, Cyclosporine, Dosage regimen

질병의 효율적인 치료를 위해서, 약물의 적절한 투여시간과 투여용량이 필요하며, 약물효과에 시간의존성은 개인의 일주기 리듬(circadian rhythm)에 의한 개체차가 크다.¹⁾ 일주기 생체리듬에 의해 혈압, 여러 생리적 반응, 혈액 및 요의 생화학적 변화등이 일어나며, 이러한 변화는 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설에 영향을 준다.^{2,3)} 일주기 리듬에 의한 시간 약물동태학에 대한 주 관심은 약물의 대사와 신배설에 따른 변화이며, 이것은 일주기 리듬에 따라 간약물대사효소, 신혈류량, 사구체여과율, 뇨량, pH, 이온상태 등이 변화하기 때문이다.⁴⁾

일주기 리듬의 영향에 관한 보고는 Radzialowski 등⁵⁾의 rat에서 간약물대사의 일주기 변화의 보고 이래, 프로프라놀롤,⁶⁾ 아스피린,⁷⁾ 에리스로마이신,⁸⁾ 미다졸람,⁹⁾ 노르트리프티린¹⁰⁾ 등 약물은 아침투여가 저녁투여보다 최고혈청농도와 혈청농도곡선하면적이 증가하였고, 크롤라제페이트,¹¹⁾ 테오필린,¹²⁾ 발프로산¹³⁾ 등 약물은 아침투여 때 최고혈청농도 도달시간과 반감기가 짧아

졌으며, 시스플라стин,¹⁴⁾ 아세트아미노펜¹⁵⁾ 등 약물은 오전에 요중배설이 더 증가하였다고 보고하였다. 국내에서는 최등^{16,17)}의 반코마이신의 시간약물동태학과 계절리듬이 겐타마이신의 약물동태에 미치는 영향 등이 보고되고 있다.

일반적으로 약물 투여시간과 투여용량은 이러한 개인의 생체리듬을 무시하고 관습적으로 처방되고 있으나, 안전역이 좁은 약물의 경우 일주기 리듬의 영향을 고려함으로써 보다 안전하고 효율적인 치료를 할 수 있다.

사이클로스포린은 가장 빈번히 사용되는 신장, 간장, 심장, 골수등의 이식 수술 전후의 면역억제제로서 위 장관 상부에서 주로 흡수되어 체내에서 널리 분포되며 주로 간에서 대사되어 담즙으로 배설되는 약물이다.¹⁸⁻²¹⁾ 사이클로스포린의 투여는 이식 수술 전후나 질병상태에서 투여 되므로 환자의 병태 상태에 따라 약물의 흡수, 분포, 대사 및 배설 등의 약물 동태에 영향을 주어 약물의 효과에 큰 변화가 나타날 수 있다. 그러나 이식환자들이 장기 복용을 해야 하는 약품임에도 불구하고, 매우 좁은 치료범위를 갖고 있고,^{22,23)} 진전, 신독성, 간독성, 고혈압, 다모증, 치육증식 등 부

작용이 아주 많다. 또한 음식물의 존재 유무, 담즙, 위 장관 운동성에 의해 영향을 받으며 불규칙적이고 불완전하게 흡수되며^{24,25)} 더 나아가 개인의 생체 리듬이 약물동태에 영향을 미치기 때문에 더욱 효과적인 치료를 위해서는 생체리듬을 고려 하여야 한다.

이와 같이 사이클로스포린은 안전역이 좁고, 개인에 따라 약물동태학적 특성이 다양하기 때문에 부작용을 최소화 하고 치료효과를 높이기 위해, 아침과 저녁에 각각 가토에 투여한 후 일주기 리듬의 영향을 검토하여, 임상에서 효율적이고 합리적인 투여계획을 위한 기초자료로 삼고자 한다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

사이클로스포린은 Sigma사(St.Louis.no.U.S.A)의 시료를, 우레탄은 순정화학사(Tokyo,Japan)의 특급품을 그리고 헤파린과 생리식염수는 중외제약(Seoul,Korea) 약전품을 사용하였으며, Abbott사의 mono cyclosporine assay kit와 buffer를 사용하였다.

실험기기는 Abbott사의 TDx-FLX분석기와 centrifuge를 사용하였고, syringe pump는 Sage Instruments사의 Model 341B를 사용하였다.

실험동물

체중 2.0 kg 전후의 흰색 토끼를 암수 구별없이, 실험전 약 1주일 동안 일정한 사료와 수돗물을 자유로이 마실 수 있게 하면서 사육하였다. 실험동물은 오전 10시 투여군(a.m.)과 오후 10시 투여군(p.m.) 각각 11마리로 하여, 실험전 24시간 절식시켜 사용하였으며 절식 기간 동안에는 수돗물을 자유로이 마시게 하였다.

약물투여 및 혈액채취

실험동물은 25% 우레탄-생리식염액, 4 ml/kg으로 실험 30분전에 피하주사하여 마취시키고, 고정대 위에 가토를 고정시킨 후, 우측 대퇴동맥과 양측 요관에 폴리에틸렌 관을 삽입하였다.

약물투여는 오전 10시와 오후 10시에 각각 사이클로스포린(10 mg/kg)을 경구 투여하였다.

약물투여 후 30분 그리고 1, 2, 3, 6, 9 및 12시간에 우측 대퇴동맥에서 혈액 약 2.5 ml를 헤파린 처리된 시험관에 채취하여 정량시까지 냉동고에 보관하였다. 요는 3, 6, 9, 12시간에 채취하여 분석시까지 냉동고에 보관하였다.

혈액 채취 후에는 헤파린-생리식염액(70 IU/ml) 소량을 폴리에틸렌관에 주입하여 혈액응고를 방지하였으며 생체 항등성을 유지하기 위해 채혈량 만큼의 생리식염수를 syringe pump로 귀정맥을 통해 일정한 속도로 주입하였다.

사이클로스포린의 혈중 및 요중농도 정량

혈중 및 요중 사이클로스포린 농도는 TDx-FLX 기기를 이용한 fluorescence polarization immunoassay법²⁶⁾으로 측정하였다. 채취한 혈액에 단백질 유화제를 가하고 1분간 vortex mix를 한후 4000 rpm에서 10분간 원심분리시켰다. 분리된 상층액, cyclosporine anti-reagent, fluorescence tracer를 cartridge에 가하고 측정하였다.

검량곡선은 사이클로스포린 0, 100, 250, 500, 1000 및 1500 ng/ml 해당량을 각 시험관에 넣고 위의 정량방법과 동일한 방법으로 정량하였다.

약물동태학 분석

사이클로스포린의 약물동태학 파라메타는 1-컴파트먼트 모델을 적용하여 비선형 최소자승회귀(non-linear least square regression)에 의해서 분석하였다. 이때 분석은 MULTI program을 이용하여, simplex method로 fitting하여 AIC(Akaike's information criterion)값이 가장 낮을 때의 파라메타값을 산출하였다.

통계처리

사이클로스포린의 약물동태학 파라메타들에 대한 유의성 검정은 unpaired Student's t-test를 하였고 p값이 0.05보다 작을 때 유의성이 있는 것으로 처리하였다.

결과 및 고찰

혈중농도와 생체이용률

오전 10시와 그리고 오후 10시에 사이클로스포린 10 mg/kg을 각각 가토에 경구투여한 후, 평균 혈중농도곡선은 Fig. 1에 나타내었다. 사이클로스포린의 혈중농도 추이는 1-컴파트먼트 모델에 잘 fitting되었다. 아침투여시 2~6 시간에서 저녁투여에 비해 혈장농도가 유의성(p<0.05)있게 증가하였다.

혈중농도 시간곡선하면적 (AUC)값은 아침(1529±166.2 ng·hr/ml)이 저녁(1023±114.4 ng·hr/ml)에 비해 유의성(p<0.05)있게 증가하였고 생체이용률은 저녁에 비해 아침에 투여시 149.0% 증가하였다.

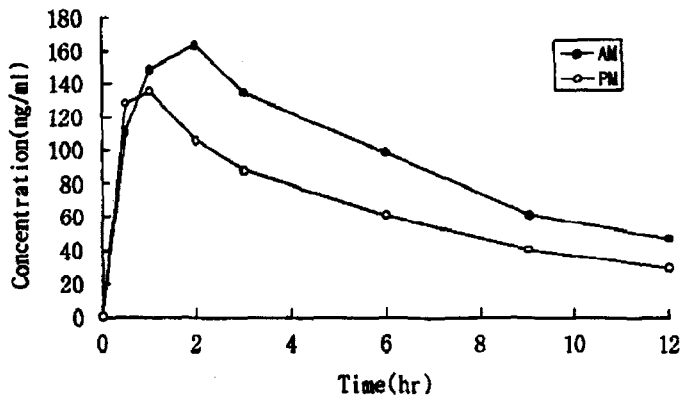


Fig. 1. Blood cyclosporine concentrations (ng/ml) in rabbits administered orally in a.m and p.m.

Table 1. Mean (\pm standard deviation) bioavailability parameters of cyclosporine in rabbits administered orally in a.m. and p.m.

Parameters	a.m. (n=11)	p.m. (n=11)
t_{max} (hr)	1.57 ± 0.22	$0.69 \pm 0.05^*$
C_{max} (ng/ml)	158.9 ± 17.6	$130.3 \pm 16.1^*$
AUC (ng · hr/ml)	1529.1 ± 166.2	$1023.6 \pm 114.4^*$
F (%)	149.0	100

*: $P < 0.05$. t_{max} : peak time (hr), C_{max} : peak concentration (ng/ml)

AUC: area under the time curve (ng · hr/ml). F: Comparative bioavailability (%).

최고혈중농도값(C_{max})은 아침투여시(158.9 ± 17.6 ng/ml)로 저녁투여시(130.3 ± 16.1 ng/ml)에 비해 증가하였고 최고혈중농도 도달시간(t_{max})은 아침(1.57 ± 0.22 hr)이 저녁(0.69 ± 0.05 hr)보다 유의성 ($p < 0.05$)있게 연장되었다.

약물동태학 파라메타

오전 10시와 오후 10시에 사이클로스포린 10 mg/kg을 각각 경구투여한 후, 약물동태학 파라메타값은 Table 2에 나타내었다. K_a 값은 아침투여시 1.80 ± 0.26 hr⁻¹에서 저녁투여시 5.3 ± 0.68 hr⁻¹로 감소하였고, K_e 값은 아침투여시 0.13 ± 0.02 hr⁻¹에서 저녁투여시 0.15 ± 0.03 hr⁻¹로 감소하였으며 반감기는 아침투여시 5.33 ± 0.56 hr에서 저녁투여시 4.62 ± 0.49 hr에 비해 연장되었다. CL_t 값은 아침투여시 0.007 ± 0.009 L/hr/kg에서 저녁투여시 0.012 ± 0.003 L/hr/kg으로 유의성 ($p < 0.05$)있게 감소하였다. V_d 는 아침투여시 0.05 ± 0.006 L/kg에서 저녁투여시 0.07 ± 0.008 L/kg으로 감소되었으나 유의성은 없었다.

요중 배설

Table 2. Mean (\pm standard deviation) pharmacokinetic parameters of cyclosporine in rabbits administered orally in a.m. and p.m.

Parameters	a.m. (n=11)	p.m. (n=11)
K_a (hr ⁻¹)	1.80 ± 0.26	$5.29 \pm 0.68^*$
K_e (hr ⁻¹)	0.13 ± 0.02	$0.15 \pm 0.03^*$
$t_{1/2}$ (hr)	5.33 ± 0.56	4.62 ± 0.49
V_d (L/kg)	0.05 ± 0.006	0.07 ± 0.008
CL_t (ml/min)	0.007 ± 0.0009	$0.012 \pm 0.003^*$

*: $P < 0.05$, K_a : apparent first-order absorption rate constant, K_e : apparent first-order elimination rate constant V_d : apparent volume of distribution, CL_t : total body clearance.

Table 3. Mean (\pm standard deviation) cumulative amount (%) of cyclosporine excreted in urine in rabbits (n=8) administered orally in a.m. and p.m.

Time(hr)	2	4	8	12
a.m. (n=8)	1.70 ± 0.32	4.14 ± 0.64	5.77 ± 0.81	6.37 ± 1.12
p.m. (n=8)	2.03 ± 0.36	4.75 ± 0.61	6.45 ± 0.94	7.33 ± 1.24

오전 10시와 오후 10시에 사이클로스포린 10 mg/kg을 각각 경구투여한 후, 12시간까지 요중에 배설된 미변화 사이클로스포린의 누적량(%)은 Table 3에 나타내었다. 12시간까지 배설된 사이클로스포린의 누적량(%)은 아침투여시 6.37%에서 저녁투여시 7.33%로 증가하였으나 유의성있는 차이는 없었다.

임상에서 안전역이 좁은 약물의 투여에 있어 고려해야 할 점으로 약물효과에 대한 개체차이가 있다. 이 개체차의 원인으로 유전적인 것과²⁷⁾ 나이와 성별, 식사,²⁸⁾ 흡연,²⁹⁾ 각종 질병, 병용약물,³⁰⁾ 약물 투여시간과 투여경로,¹⁴⁾ 계절,¹⁷⁾ 여성의 성주기 및 생체리듬³¹⁾ 등이 있다. 생체 일주기 리듬은 약물의 흡수,^{12,32)} 분포,³³⁾ 대사³⁴⁾ 및 배설³⁵⁾에 영향을 주어 약물효과에 변화를 가져올 수 있다. 특히 간 마이크로솜 효소의 활성 증가는 일주기 리듬에 영향을 주어 간대사 효소에 영향을 받는 약물의 경우, 클리어런스가 증가하고 반감기가 짧아진다.^{5,36,37)}

시간 약물동태학은 약물효과의 시간에 따른 변화, 생체 일주기 리듬과 나이 등의 생리적 변화에 의한 약물의 효과를 연구하여 질병의 치료와 예방에 응용한다.

사이클로스포린의 경우 저녁투여시 아침투여보다 반감기가 연장되었으며, 소실속도와 전신 클리어런스는 감소하였다. 이러한 결과는 크롤라제페이트,¹¹⁾ 테오필린,¹²⁾ 발프로산¹³⁾ 등 약물이 아침투여때 반감기가

짧아졌다는 보고와 일치하였으며, 프로프라놀롤,⁶⁾ 아스피린,⁷⁾ 에리스로마이신,⁸⁾ 미다졸람,⁹⁾ 노르트리프티린¹⁰⁾ 등 약물의 아침투여가 저녁투여보다 혈장농도곡선하면적이 증가하였다는 보고와는 상반되는 결과였다. 12시간까지 배설된 싸이클로스포린의 누적량은 저녁투여가 아침투여에 비해 감소하였으나 유의성있는 차이는 없었다. 시스플라스틴,¹⁴⁾ 아세트아미노펜¹⁵⁾ 등 약물은 오전에 요중배설이 더 증가하였다고 보고하였다.

싸이클로스포린의 아침과 저녁투여시 소실속도상수, 반감기, 전신 클리어런스 및 AUC 등 약물동태학 파라메타값이 일주기 리듬에 의해 유의성있는 차이를 나타내었다. 정상상태보다는 특히 질병상태에서는 환자에 따라 더 큰 차이가 있을 것으로 생각되어, 환자에서도 이러한 통계학적 변화가 있는 경우에는 약물투여시간과 투여용량을 조절하는 것이 바람직하다고 사료된다.

결 론

싸이클로스포린 10 mg/kg을 오전 10시와 오후 10시에 각각 가토에 경구투여한 후 비선형 최소자승회귀분석에 의한 약물동태학 파라메타들을 비교한 결론은 다음과 같다.

1. 아침투여가 저녁투여에 비해 2-6시간에서 혈중농도, 최고혈중농도(Cmax)와 최고혈중농도 도달시간(tmax)은 유의성(p<0.05)있게 증가하였다.

2. 전신 클리어런스(CLI)값은 아침투여가 저녁투여에 비해 유의성(p<0.05)있게 감소하였으며 AUC값은 아침투여가 저녁투여에 비해 증가하여 상대적 생체이용율이 149% 증가하였고 소실속도 정수 및 분포용적값은 감소되었으며 반감기는 연장되었으나 유의성은 없었다.

3. 12시간까지 배설된 싸이클로스포린의 누적량은 아침투여에 비해 저녁투여가 증가하였으나 유의성있는 차이는 없었다.

4. 싸이클로스포린의 부작용을 최소화하고 치료효과를 높이기 위해, 환자에서도 일주기 리듬의 영향을 검토하여 안전하고 합리적인 투여계획을 세우는 것이 바람직하다고 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 조선대학교의 1998년도 학술연구비의

지원을 받아 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Halberg F, Halberg E. Chronopharmacology and further steps toward chronotherapy Pharmacokinetic basis for drug treatment. Edited by Benet LZ, Raven press, 1984; 225-48
2. Halberg F. Chronobiology. Ann Rev Physiol 1969; 31: 675-725
3. Vukelich M, Hrushesky W, Halberg F, et al. Elevated circadian mesor of pulse in recumbency predicts doxorubin-induced congestive heart failure. Int J Chronobiol 1981; 7: 344-9
4. Beckett AH, Rowland M. Rhythmic urinary excretion of amphetamine in man. Nature 1964; 293: 203-8
5. Radzialowski F, Bousquet W. Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in rat and mouse. J Pharmacol Exp Ther 1968; 163: 229-38
6. Markiewicz A, Semenowicz K, Korczynska J, et al. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology, Edited by Smolensky MH. Oxford: Pergamon Press, 1980: 185-193
7. Markiewicz A, Semenowicz K. Time dependent changes in the pharmacokinetics of aspirin. J Clin Pharmacol Biopharm 1982; 32: 330-9
8. Disanto A, Chodos D, Halberg F. Chronobioavailability of three erythromycin test preparations assessed by each of 4 indices; time to peak, peak, nadir, area. Chronobiol 1975; 2(Suppl. 1): 17-24
9. Klotz U, Ziegler G. Physiologic and temporal variation in hepatic elimination of midazolam. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 107-12
10. Nakano S, Hollister IE. No circadian effect on nortriptyline kinetics in man. Clin Pharmacol Ther 1978; 23: 199-203
11. Aymard, N., Soulairac, A. Chronobiological changes in pharmacokinetics of clorazepate, a benzodiazepine. Edited by Reinberg, A., Pergamon press, New York, 1979; 111-116
12. Kyle GM, Smolensky K, Korczynska J, et al. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology. Edited by Smolensky MH, Pergamon press, Oxford, 1980; 123-8
13. Loiseau P, Cenraud B, Levy RH, et al. Diurnal variations in steady-state plasma concentration of valproic acid in epileptic patients. Clin Pharmacol Ther 1982; 7: 544-52
14. Hrushesky WM, Borch R, Levi F. Circadian time dependence in cisplatin urinary kinetics. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 330-9
15. Mattok GL, Mcgilveray J. The effect of food intake and sleep on absorption of acetaminophen. Rev Can Biol 1973; 32(suppl.): 77-84
16. Choi JS, You JS, Choi BC, et al. Chronopharmacokinetics of vancomycin in normal volunteers.

- Kor J Clin Pharm 1996; 6: 1-6
17. Choi JS, Kim J, Baek CS, et al. The effect of seasonal rhythm on the gentamicin pharmacokinetics in healthy volunteers. Kor J Clin Pharm 1998; 8: 89-94
 18. Morse, G.D. et al. Pharmacokinetics and clinical tolerance of intravenous and oral cyclosporine in the immediate postoperative period. Clin Pharmacol Ther 1988; 44: 654
 19. Gupta, Sk.K. et al, Pharmacokinetics of cyclosporine influence of rate of constant intravenous infusion in renal transplant patients. Br J Clin Pharmacol 1987; 24: 519
 20. Hirvisalo E. L. et al. Therapeutic cyclosporine monitoring, comparison of radioimmunoassay and high performance liquid chromatography methods in organ transplant recipients. Ther Drug Monit 1990; 12: 344
 21. Rodighiero V., Therapeutic drug monitoring of cyclosporine: practical applications and limitation. Clin Pharmacokinet 1989; 16: 27
 22. Kunzendorf U., et al. Nephrotoxicity caused by a high cyclosporine metabolites level. Transplantation 1989; 48: 501
 23. Bantle J.P., et al. Long-term effects of cyclosporine on renal function in organ transplant recipients. J Lab Clin Med 1990; 115: 233
 24. Ptachcinski R., et al. The effect of food on cyclosporine absorption. Transplantation 1985; 40: 174
 25. Lindholm A., et al. The effect of food and bile acid administration on the relative bioavailability of cyclosporine. Br J Clin Pharmacol 1980; 21: 541
 26. Lindholm A., et al. Comparative analysis of cyclosporine in whole blood and plasma by radioimmunoassay, fluorescence polarization immunoassay and high performance liquid chromatography. Ther Drug Monit 1990; 12: 344
 27. Elin RJ, Vessel ES, Wolff SJ. Effects of etiocholanolone-induced fever on plasma antipylone half-life and metabolic clearance. Clin Pharmacol Ther 1975; 17: 447-57
 28. Kappas A, Anderson KE, Conney AH. Influence of dietary protein and carbohydrate on antipylone and tolbutamide metabolism in man. Pharmacol Ther 1976; 20: 643-53
 29. Hart P, Farrel GC, Cooksley WGE. Enhanced drug metabolism in cigarette smokers. Br Med J 1976; 2: 147-9
 30. Conney AH. Pharmacological implication of microsomal enzyme induction. Pharmacol Rev 1967; 19: 317-66
 31. Reinberg A, Halberg F. Circadian chronopharmacology. Ann Rev Pharmacol 1971; 11: 455-92
 32. Clench J, Reinberg A, Dzierwanowska Z. Circadian changes in the bioavailability and effect of indomethacin in healthy subject. Eur J Clin Pharmacol 1981; 20: 359-69
 33. Aymard N, Soulairac A. Chronobiological changes in pharmacokinetics of clorazepate, a benzodiazepine. New York: Pergamon Press, 1979: 111-6
 34. Vessel ES, Shively CA, Passananti GT. Temporal variation of antipylone half-life in man. Clin Pharmacol Ther 1977; 22: 843-52
 35. Shively CA, Vessel ES. Temporal variation of acetaminophen and phenacetin half-life in man. Clin Pharmacol Ther 1975; 18: 413-24
 36. Holcslaw TL, Miya TS, Bousquet WS. Circadian rhythm in drug action and drug metabolism in the mouse. J Pharmacol Exp Ther 1975; 195: 320-32
 37. Jori A, Salle D, Santini V. Daily rhythmic variation of liver drug metabolism in rats. Biochem Pharmacol 1971; 20: 2965-9