

가토에서 정맥투여시 생체리듬이 아세부토롤의 약물동태에 미친영향

최준식

조선대학교 약학대학

The Effect of Circadian Rhythm on the Pharmacokinetics of Acebutolol after Intravenous Administration to Rabbits

Jun Shik Choi

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

The effect of circadian rhythm on the pharmacokinetics of acebutolol was studied in rabbits administered intravenous 5 mg/kg dose of acebutolol at 09:00 in the morning (a.m) and 22:00 in the evening (p.m). A significant effect of circadian rhythm of pharmacokinetic parameters as a function of time of day was noted in rabbits, showing lower total body clearance (CL_T), higher plasma concentration and the area under the plasma concentration time curve (AUC) when acebutolol was given in the evening. The plasma concentration of acebutolol was increased significantly ($p < 0.05$) at 12-24 hr after dosing in the evening. The AUC was greater in the evening (111%) than that in the morning and CL_T was higher when acebutolol was given in the morning (1.12 ± 0.24 ml/hr) versus in the evening (1.01 ± 0.22 ml/hr), but those were not significant. Therefore, It is reasonable to consider individual circadian rhythm for effective dosage regimen of acebutolol in clinical chronotherapeutics.

□ Keywords – Pharmacokinetics, Circadian rhythm, Acebutolol, Dosage regimen, Rabbits

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

일주기 리듬의 영향에 대해서는 Radzialowski 등⁵⁾이 쥐에서 약물의 대사가 일주기 변화를 갖는다는 보고 이래, 프로프라놀롤,⁶⁾ 아스피린,⁷⁾ 에리스로마이신,⁸⁾ 미다졸람,⁹⁾ 노르트리프티린¹⁰⁾, 반코마이신¹¹⁾은 오전 투여가

저녁 투여보다 최고혈청농도와 혈청농도곡선하면적이 증가하였고, 크롤라제페이트,¹²⁾ 테오필린,¹³⁾ 발프로산¹⁴⁾은 오전 투여 때 최고혈청농도 도달시간과 반감기가 짧아졌으며, 시스플라스틴,¹⁵⁾ 아세트아미노펜¹⁶⁾은 오전에 요중배설이 더 증가하였다고 보고하였다. 국내에서는 최 등의 사이크로스포린, 겐타마이신, 트리암시논, 설파메톡사졸 등의 약물동태에 생체리듬이 미치는 영향¹⁷⁻²⁰⁾ 등이 보고되고 있다. 일반적으로 약물의 투여시간과 투여용량은 개인의 생체리듬을 무시하고 관습적으로 처방되고 있으나, 안전역이 좁은 약물의 경우 생체리듬의 영향을 고려함으로써 보다 안전하고 효율적인 치료를 할 수 있다.

아세부토롤은 비교적 심장에 선택적으로 작용하는 β_1 -adrenoceptor 차단제로서 고혈압치료에 빈용되고 있는 약물이다.²¹⁻²⁶⁾ 아세부토롤을 경구 투여후 위장에서 흡수가 잘 이루어져 전신에 분포되며, 위장 및 간장에서 초회통과 효과를 받아 생체이용률이 감소된다.⁷⁻⁹⁾ 아세부토롤은 주로 간장에서 acetylation되어 diacetolol로 대사되며, diacetolol은 원약물과 약리효과가 비슷하며,

교신저자: 최 준 식
광주광역시 동구 서석동 375
TEL. 062-230-6365, FAX. 062-222-5414

소실반감기는 더 길다.³⁰⁻³⁴⁾

저자는 생체리듬이 아세부토롤의 약물동태에 미치는 영향에 대한 보고가 거의 없으므로 오전과 저녁에 아세부토롤을 가토에 투여한 후 혈장농도, AUC, 분포용적, 반감기 및 전신 클리어런스 등 약물동태 파라메타에 미치는 생체리듬의 영향을 연구 검토하여 임상에서 낮과 밤에 혈압의 생체리듬이 다르므로 안전하고 효율적인 아세부토롤의 투여계획을 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

아세부토롤과 HPLC 분석시 내부표준물질로 사용한 triamterene은 Sigma (St. Louis, MO) 제품을 사용하였다. H_3PO_4 과 NaOH는 준세이화학제품 (Kyoto, Japan) 을, KH_2PO_4 는 Shinyo Pure Chemicals. Co. (Osaka, Japan)을, 그리고 ether와 acetonitrile은 Merck (Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다.

HPLC System은 Waters Co. (Milford, MA, USA) 의 1515 isocratic HPLC pump, 717 plus Autosampler, 2487 Dual λ Absorbance Detector, Symmetry C_{18} column을 사용하였고, syringe pump는 Sage Instruments (Boston, MA)의 Model 341B를, vortex mixer는 Scientific Industries (Bohemia, N.Y.) 그리고 centrifuge는 Abbott (TM, U.S.A) 기기를 사용하였다.

실험동물

일정한 조건하에서 사육한 체중 2.0 kg 전후의 New Zealand White계 음성 토끼를 물은 자유로이 공급하면서 24시간 절식시킨 후, 25% 우레탄, 4 ml/kg을 피하 주사하여 마취시켜 고정대에 고정시킨 다음, 우측 대퇴동맥에 폴리에틸렌관을 삽입하여 혈액을 채취하였으며 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 헤파린 (75 U/ml)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량 만큼의 생리 식염수를 등속주입 펌프를 통하여 보충해 주었다.

약물투여 및 시료채취

아세부토롤을 증류수에 용해시켜 5 mg/kg/3 ml를 정맥투여하였다. 혈액은 6, 15, 30분, 1, 2, 4, 6, 9, 12 및 24 시간에 1.5 ml를 채혈하여 12,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈장 0.5 ml를 취해 분석시까지 냉동보관하였다.

아세부토롤의 HPLC 분석

혈장중 아세부토롤 분석은 Upton³⁵⁾ 등의 방법을 수

정하여 측정하였다. 채취한 혈장에 내부표준물질인 triamterene(2 ug/ml) 0.1 ml와 1M NaOH 0.2 ml를 넣고 2초간 vortex하였다. Ether 4 ml를 가하고 rotation으로 15분 동안 추출하였다. 이 혼합액을 3,000 rpm에서 5분간 원심분리한 다음 유기용매층 3.5 ml를 다른 시험관으로 옮기고 질소가스상에서 증발건고 시켰다. 0.05% 인산 0.2 ml를 넣고 vortex mixer로 1.5분간 용해시킨 후 500 ul 튜부로 옮겨 3분간 6000 rpm에서 원심분리시켰다. 원심분리시킨 후 윗부분의 잔여물은 면봉으로 제거하고 50 μ l를 주입하였다. 검량곡선은 아세부토롤 20, 50, 100, 200 ng/ml 표준액량을 각 시험관에 50 μ l씩 넣어 질소가스상에서 증발시킨 후, 정상 가토에서 채취한 혈장 0.5 ml를 가하여 vortex mixer로 2분 동안 녹인 후 위의 정량방법과 동일한 방법으로 정량하여 검량곡선을 작성하였다.

HPLC 조건은 칼럼은 symmetry C_{18} column을, mobile phase는 acetonitrile : water : 0.1 M phosphate buffer (pH=4) (22:68:10 v/v/v%) 비율로 섞고 탈기한 후 사용하였으며, flow rate는 1.0 ml/min으로 UV 흡광도 243 nm에서 측정하였다. 혈장 중 아세부토롤 및 내부표준물질의 분리가 양호하였다.

약물동태학 분석

약물동태학 파라메타는 아세부토롤의 혈중농도 추이는 2-컴파트먼트 모델을 나타내었으며 비선형 최소자승회귀법 (nonlinear least square regression)으로 분석하였다. 이때 분석은 MULTI program을 이용하여, simple method로 fitting하여 AIC (Akaike's information criterion) 값이 낮을 때의 파라메타값을 출력하였다. 아세부토롤의 약물동태학 파라메타는 다음식으로 구하였다.

$$t_{1/2\beta} = 0.693/\beta$$

$$CL_t = D/AUC$$

$$V_c = D/A + B$$

$$\text{Ratio (\%)} = \frac{AUC_{p.m.}}{AUC_{a.m.}} \times 100$$

(p.m.: evening, a.m.: morning)

AUC=Trapezoidal rule을 적용하였다,

$t_{1/2\beta}$: Terminal half-life (hr)

CL_t : total body clearance (ml/min)

D : dose (mg)

AUC : area under the plasma concentration-time curve (μ g/ml · hr)

V_c : volume of distribution at steady-state (L)

Ratio : Ratio of AUC in a.m. per p.m. (%)

통계처리

각 약물동태학적 파라메타의 유의성 검정은 unpaired Student's t-test로 적용하여 정상상태와 비교해 p 값이 0.05 보다 적을 때 유의성 있는 것으로 컴퓨터로 처리하였다. 모든 데이터는 평균값±표준편차(S.D.)로 나타내었다.

실험 결과 및 고찰

아세부토롤의 혈중농도

오전과 저녁에 아세부토롤 5 mg/kg을 정맥투여한 후 (20초간), 가토의 평균혈장농도와 그리고 평균 혈장농도-시간곡선은 Fig. 1에 나타내었다. 오전과 저녁에 투여시 혈장농도에 차이를 나타내고 있으며, 평균 혈장농도는 오전 투여에 비해서 저녁 투여시 12~24 h에서 유의성있게 증가되었다 (p<0.05).

약물동태학적 파라메타

오전과 저녁에 아세부토롤 5 mg/kg을 가토에 정맥 투여한 후, 산출한 약물동태학 파라메타를 Table 1에 나타내었다. 약물동태학 파라메타는 생체리듬에 따라 차이를 보여주었다. 평균 반감기는 저녁 투여시 2.87±0.70 hr으로 오전 투여시 2.59±0.62 hr보다 연장되었으며, 평균 혈장농도곡선하면적값은 오전 투여시 4477±998 µg/ml·hr에서 저녁 투여시 4945±1124 µg/ml·hr으로 증가되었으나 유의성은 없었다. 평균 전신 클리어런스는 오전 투여시 1.12±0.24 ml/hr에서 저녁 투여시는 1.01±0.22 ml/hr로 감소되었으나 유의성은 없었다.

시간 약물동태학은 약물효과와 시간에 따른 변화, 생체 일주기 리듬과 나이 등의 생리적 변화에 의한 약물의 효과를 연구하여 질병의 치료와 예방에 응용한다. 천식, 암환자 및 정신분열증 환자의 생체리듬은 질병 치료에 큰 영향을 주는 것으로 보고되고 있다.

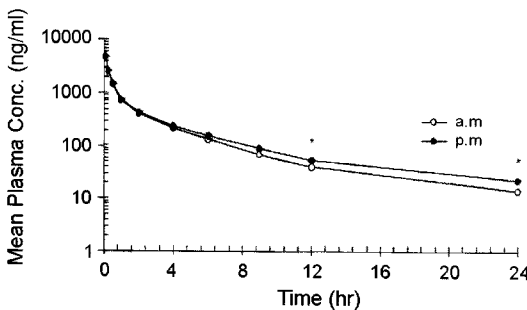


Fig. 1. Mean arterial plasma concentration-time profiles of acebutolol after intravenous administration to rabbits in a.m. (○) and p.m. (●). (n=6)

Table 1. Mean pharmacokinetic parameters of acebutolol after intravenous administration to rabbits in a.m. and p.m.

Parameters	a.m.	p.m.
β (hr ⁻¹)	0.27±0.06	0.24±0.05
t _{1/2} (hr)	2.59±0.62	2.87±0.70
V _c (L)	3.08±0.56	3.23±0.61
CLt (ml/hr)	1.12±0.24	1.01±0.22
AUC (mg/ml·hr)	4477±998	4945±1124
AUC ratio	100	111

: mean value D,(n=6), * : p < 0.05

β : elimination rate constant, V_c: volume of distribution at steady state, CLt: total body clearance, AUC: area under the plasma concentration- time curve, AUC ratio: ratio of AUC to p.m. per a.m.

아세부토롤을 가토에 오전과 저녁에 각각 정맥투여한 후 약물동태학 파라메타들을 비교한 결과, 평균 혈장농도는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시 12-24시간에서 유의성있게 증가되었다 (p<0.05). 유의성은 없었으나 평균 혈장농도곡선하면적값(AUC)은 오전 투여시보다 저녁 투여시 증가하였으며, 평균 전신클리어런스는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시에 감소되었으며, 생물학적 반감기가 연장되었다.

이상의 연구결과는 저녁 투여 때 크롤라제페이트,¹³⁾ 테오필린,¹⁴⁾ 발프로산¹⁵⁾ 등의 반감기가 연장되었다는 보고와 일치하였다. 그러나 프로프라놀롤,⁶⁾ 아스피린,⁷⁾ 에리스로마이신,⁸⁾ 미다졸람,⁹⁾ 노르트립티린¹⁰⁾ 등의 오전 투여가 저녁 투여보다 혈중농도곡선하면적이 증가하였다는 보고와 그리고 시스플라стин,¹⁵⁾ 아세트아미노펜¹⁶⁾ 등의 오전투여에서 클리어런스가 증가하였다는 보고와는 상반되었다.

이상의 결과로부터 아세부토롤의 오전과 저녁 투여시 평균 혈장농도, 평균 전신클리어런스와 생물학적 반감기는 생체리듬에 따라 유의성은 없었으나 영향을 나타내었다. 정상상태보다는 특히 질병상태에서 환자에 따라 더 큰 차이가 있을 것으로 사료되며 아세부토롤은 개인에 따라 약물동태학적 특성이 다양하기 때문에 생체리듬의 영향을 검토하여 임상에서 안전하고 합리적인 치료를 위해서는 개체에 따라 약물 투여시간과 투여용량 등을 고려해 보는 것도 바람직하다고 사료된다.

결 론

아세부토롤 (5 mg/ml)을 가토에 오전 (09:00)과 저녁 (22:00)에 정맥투여한 후 비선형 최소자승회귀분석

에 의한 약물동태학 파라메타들을 비교한 결과는 다음과 같다.

1. 아세부토롤의 평균 혈장농도는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시 12~24시간에서 유의성있게 증가되었다 ($p < 0.05$).

2. 아세부토롤의 평균 혈장농도곡선하면적 (AUC)은 저녁 투여시에 111%로 증가 하였으나 유의성은 없었다.

3. 아세부토롤의 평균 전신클리어런스는 오전 투여시에 비해서 저녁 투여시에 감소되었으며, 생물학적 반감기는 연장되었으나 각각 유의성은 없었다.

일반적으로 낮 보다는 저녁에 혈압이 낮은 경향 즉 일주기 리듬 때문에, 저녁에 혈장농도와 혈장농도 곡선하면적의 증가, 전신클리어런스의 감소등이 비록 유의성은 적었지만 아세부토롤의 투여계획시 생체리듬의 고려가 필요하다고 사료된다.

문 헌

- Halberg F and Halberg E. Chronopharmacology and further steps toward chronotherapy. Pharmacokinetic basis for drug treatment, edited by Benet. L.Z., Raven press. 1984; 225-248
- Halberg F. Chronobiology. Ann Rev Physiol 1969; 31: 675-725
- Vukelich M, Hrushesky W, Halberg F, Levi F, and Langevin. T. Elevated circadian mesor of pulse in recumbency predicts doxorubin-induced congestive heart failure. Int J Chronobiol 1981; 7: 344-349
- Beckett AH and Rowland M. Rhythmic urinary excretion of amphetamine in man. Nature 1964; 293: 203-208
- Radzialowski F and Bousquet W. Daily rhythmic variation in hepatic drug metabolism in rat and mouse. J Pharmacol Exp Ther 1968; 163: 229-238
- Markiewicz A, Semenowicz K, Korczynska J, and Boldys H. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology, edited by Smolensky, M.H., Pergamon press, Oxford 1980; 185-193
- Markiewicz A and Semenowicz K. Time dependent changes in the pharmacokinetics of aspirin. J Clin Pharmacol Biopharm 1982; 32: 330-339
- Disanto A, Chodos D and Halberg F. Chronobio-availability of three erythromycin test preparations assessed by each of 4 indices, time to peak, peak, nadir, area. Chronobiol 1975; 2(Suppl. 1): 17-24
- Klotz U and Ziegler G. Physiologic and temporal variation in hepatic elimination of midazolam. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 107-112
- Nakano S and Hollister IE. No circadian effect on nortriptyline kinetics in man. Clin Pharmacol Ther 1978; 23: 199-203
- Choi JS, You JS, and Choi B. Chronopharmacokinetics of vancomycin in normal volunteers. Kor J Clin Pharm 1996; 2
- Hrushesky W, Levi F, and Kennedy BJ. Cis-diamine-dichloro platinum toxicity to human kidney reduced by circadian timing. Clin Oncol 1980; 21: 45-52
- Kyle GM, Smolensky K, Korczynska J, and Mcgoven JP. In recent advances in the chronobiology of allergy and immunology, edited by Smolensky, M.H., Pergamon press, Oxford 1980; 123-128
- Loiseau P, Cenraud B, Levy RH, and Akbaraly R. Diurnal variations in steady-state plasma concentration of valproic acid in epileptic patients. Clin Pharmacokinet 1982; 7: 544-552
- Hrushesky WJM, Borch R, and Levi F. Circadian time dependence in cisplatin urinary kinetics. Clin Pharmacol Ther 1982; 32: 330-339
- Mattok GL and Mcgilveray J. The effect of food intake and sleep on absorption of acetaminophen. Rev Can Biol 1973; 32(Suppl.): 77-84
- Choi JS and Park HJ. Circadian changes in pharmacokinetics of cyclosporin in healthy volunteers. Res Commun Molecul Patho Pharmacol 1999; 103(1): 109-112
- Choi JS, Kim CK, and Lee BJ. Administration-time differences in the pharmacokinetics of gentamicin intravenously delivered to human beings. Chronobiology International 1999; 16(6): 821-829
- Choi JS, Shin SC, and Burm, JP. Circadian changes in the pharmacokinetics of triamcinolone acetonide in rabbits. Res Commun Molecul Patho Pharmacol 2000; 107(3&4): 233-238
- Choi JS and Jung EJ. Circadian changes in pharmacokinetics of sulfamethoxazole administered orally to rabbits. Arch Pharm Res 2001; 24(4): 338-341
- Basil B, Jordan R, Loveless AH, and Maxwell DR. β -adrenoceptor blocking properties and cardioselectivity of M & B 17, 803 A. J Pharmac 1973; 48: 198-211
- Briant RH, Dollery CT, Fenyvesi T, and George CF. Assessment of selective β -adrenoceptor blockade in man, Br J Pharmac 1973; 49: 106-114
- Alhenz-gelas F, Plouin PF, Ducrocq MB, Corvol P, and Menard J. Comparison of the antihypertensive and hormonal effects of a cardioselective beta-blocker acebutolol and diuretics in essential hypertension, Am J Med 1978; 64: 1005-1012
- Martin MA, Phillips CA, and Smith AJ. Acebutolol in hypertension-a double-blind trial against placebo, Br J Clin Pharmac 1978; 6: 351-356
- Baker PG and Goulton J. A multicentre study of a once daily dosage of acebutolol in the treatment of hypertension in general practice, J Int Med Res 1979; 7: 201-214
- Begg E, Munn SR, and Bailey RR. Acebutolol in the treatment of patients with hypertension and renal functional impairment, N Z Med J 1979; 89: 293-295
- Meffin PJ, Winkle AR, Peters FA, and Harrison DC. Acebutolol disposition after intravenous administra-

- tion, *Clin Pharmacol Ther* 1977; 22: 557-564
- 28) Roux A, Flouvat B, Chau NP, Letac B, and Lucsko B. Pharmacokinetics of acebutolol after intravenous bolus administration, *Br J Clin Pharmacol* 1980; 9: 215-212
- 29) McLean AJ, McNamara RJ, Souich P, Gibaldi M, and Lalka D. Food, splanchnic blood flow, and bioavailability of drugs subject to first-pass-metabolism, *Clin Pharmacol Ther* 1978; 24: 5-11
- 30) Meffin PJ, Harapat SR, Yee, YG, and Harrison DC. High-pressure liquid chromatographic analysis of drugs in biological fluids. V. analysis of acebutolol and its major metabolite, *J Chromatogr* 1977; 138: 183-191
- 31) Kaye CM, Kumana CR, Leighton M, Hamer J, and Turner P. Observations on the pharmacokinetics of acebutolol, *Clin Pharmacol Ther* 1976; 19: 416-422
- 32) Basil J and Jordan R. Pharmacological properties of diacetolol (M&B 16,942), a major metabolite of acebutolol, *Eur J Pharmacol* 1982; 80: 47-53
- 33) Roux A, Flouvat B, Chau NP, Letac B, and Luckso M. Pharmacokinetics of acebutolol after intravenous bolus administration, *Br J Clin Pharmacol* 1980; 9: 215-222
- 34) Flouvat B, Roux A, and Chau NP. Pharmacokinetics and bioavailability of diacetolol, the main metabolite of acebutolol, *Eur J Clin Pharmacol* 1981;19: 276-282
- 35) Upton RA, Buskin JN, and Williams RL. HPLC assay of acebutolol and two of its metabolites in plasma and urine. *J. Chromatogr.* 1982; 230: 438-443