

간장장애 가토에서 베라파밀의 약물동태

최준식^{a*} · 김형중^b

^a조선대학교 약학대학, ^b한국식품의약품안전청

Pharmacokinetics of Verapamil in Rabbits with Hepatic Disorder Induced by Carbon Tetrachloride

Jun Shik Choi^{a*} and Hyung Jung Kim^b

^aCollege of Pharmacy, Chosun University, Guangju 501-759, Korea

^bKorean Food and Drug Administration, Seoul, Korea

The purpose of this study was to investigate the pharmacokinetic changes of verapamil in rabbits with hepatic disorder induced by carbon tetrachloride. The plasma concentrations of verapamil were increased significantly ($p < 0.05$, in slight group; $p < 0.01$, in moderate and severe group) in all groups of hepatic disorder compared to the control group. Moreover, the C_{max} in slight (77.9% increase), moderate (110% increase), and severe (174% increase) hepatic disorder groups were significantly ($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) higher than that in control rabbits. These resulted in significantly ($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) greater area under the plasma concentration-time curve (AUC) in moderate (49.8% increase), moderate (95.0% increase), and severe (144% increase) hepatic disorder groups than that in control rabbits. Hence, the relative bioavailability values were 149, 195, and 244% for slight, moderate, and severe hepatic disorder groups, respectively. This could be due to decrease in metabolism of verapamil in the liver because of suppressed hepatic function in the hepatic disorder groups because verapamil is mainly metabolized in the liver.

□ Key words – Verapamil, Pharmacokinetics, Hepatic disorder, Carbon tetrachloride, Rabbits.

베라파밀(verapamil)은 칼슘길항약으로 칼슘이온통로와 결합하여 세포 내로 칼슘이온유입을 차단함으로써 세동맥 평활근의 이완을 일으킨다¹⁾. 따라서 말초혈관 저항을 감소시키고 혈압저하를 일으켜 고혈압, 부정맥 및 관상동맥질환 치료제로 빈번하게 사용된다^{2,4)}.

이 약물은 위장관에서 신속히 그리고 거의 전부 흡수되지만, 간에서 초회통과효과를 받아 대사되어 생체이용률이 10-20%로 낮으며, 미변화체로 뇨중으로 배설되는 양은 투여량의 5%이하이다^{5,6)}. 주 대사경로는 N- 및 O-demethylation과정으로 수많은 대사체를 형성하지만, 주 대사체인 norverapamil만이 혈관확장작용을 나타내고 다른 대부분의 대사체는 이런 작용이 없다^{7,8)}.

베라파밀을 경구투여하면 간혈류량에 따라 전신 클리어런스(total body clearance)가 변한다⁹⁾. 간장 질환의

경우 혈류량이 감소하므로 이 약물의 간 대사량이 줄어들고 전신 클리어런스가 느려지며, 그 결과 생체이용률이 증가한다. 반복 경구투여시 베라파밀의 클리어런스는 감소하고 단독투여시 보다 생체이용률이 증가하는데 이는 간대사가 포화되기 때문이다. 이로 인해 장기간 경구투여하면 베라파밀은 다양한 약물동태를 보인다고 한다^{9,10)}. Loi 등¹¹⁾과 Johnson 등¹²⁾은 시메티딘이 베라파밀의 간대사를 억제하여, 베라파밀의 클리어런스가 느려지고, 소실 반감기가 길어진다고 보고하였다. Ho 등¹³⁾과 Fuhr 등¹⁴⁾은 자몽즙스가 간 및 장관에 있는 CYP 3A4를 억제하여 베라파밀의 간 대사를 감소하여, 베라파밀의 AUC와 생체이용률을 증가시킨다고 보고하였다.

정상인과 간경화환자에게 베라파밀을 경구투여 했을 때 간경화환자의 최고혈중농도는 높아졌고 절대생체이용률도 그 배로 유의성 있게 증가되었다고 보고하였다¹⁵⁾. 주로 간에서 대사되는 acebutolol 및 paclitaxel 등을 사염화탄소로 간장장애를 유발한 가토에 투여했을 때 이들 약물의 생체이용률이 현저히 증가하였다^{16,17)}.

교신저자: 최준식
조선대학교 약학대학
광주시 동구 서석동 375
Tel: 062-230-6365, Fax: 062-222-5414
E-mail: jschoi@chosun.ac.kr

베라파밀도 주로 간에서 대사되는 약물로서 간장기능이 손상되면 약물동태에 큰 변화를 초래 할 것으로 사료된다.

본연구의 목적은 정상가토에 사염화탄소로 간 장애를 유발한 후 베라파밀을 투여하여 베라파밀의 약물동태학적 변화를 정상가토와 비교하여 연구검토 하고자 하였다.

실험방법

시료, 시약 및 기기

베라파밀 및 내부표준물질인 propranolol은 Sigma Co. (St. Louis, MO)에서, acetonitrile, triethylamine, diethylether 및 KH_2PO_4 는 Merck Co. (Darmstadt, Germany)에서, 사염화탄소, 인산, 수산화나트륨은 Junsei Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하였다.

기기로는 Waters 사의 HPLC 1515 series를, 질소기류중발장치(dry thermo bath)는 Rikakikai Co., LTD (Tokyo, Japan), 교반기는 Scientific Industries, Inc., (Bohemia, N.Y.), 원심분리기는 Hanil Science Industrial Co., Ltd. (Inchun, Korea), 초원심분리기는 National Labnet Co. (NJ), 등속주입펌프는 Orion Research Inc. (Boston, MA)것을 사용하였다.

약물투여 및 사염화탄소 유발 간장장애

일정한 조건하에서 사육한 체중 2.0 ± 0.2 kg의 New Zealand white계 웅성 토끼에 물을 자유로이 공급하면서 24시간 절식시킨 후, 25% 우레탄(4 ml/kg)을 피하 주사하여 마취시킨 후 고정 대에 고정시킨 다음, 우측 대퇴동맥에 폴리에칠렌관을 삽입하여 혈액을 채취하였으며 혈액응고를 방지하기 위해 관내에 주사용 생리 식염수에 녹인 헤파린(75 IU/ml)을 주입하였다. 그리고 채취한 혈액량만큼의 생리 식염수를 등속주입펌프로 귀 정맥을 통해 보충해 주었다. 토끼를 임의로 4군으로 나누었다. 즉 control 및 slight, moderate, 그리고 severe 간장장애군으로 하였다(각군 6마리).

사염화탄소 유발 간장장애군은 사염화탄소를 올리브유와 1:9로 혼합하여 실험 24시간 전에 0.5 (slight), 1.0 (moderate) 및 2.0 (severe) ml/kg을 피하주사 하였다¹⁷⁾. 대조군 (control)에는 vehicle을 주사하였다. 실험동물은 실험 전 24시간 절식시켰으며, 약물투여 직전에 serum glutamic oxaloacetic transaminase (sGOT, AST), seum pyruvic transaminase (sGPT, ALT), alkaline phosphatase (ALP)과 bilirubin을 측정하였다. 베라파밀 10 mg/kg를 카테터를 통해 경구로 투여 하였으며 혈액채취는 경구투여 전과 투여 후 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12 및 24 시간에 각각 1.5 ml를 채취하여 13,000

rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈장 0.5 ml을 취해 분석 시 까지 -40°C 에서 냉동 보관하였다.

혈장 중 베라파밀 분석

혈장 중 베라파밀 농도는 Krecic-Shepard 등¹⁸⁾의 방법에 따라 측정하였다. 즉 혈장 0.5 ml에 내부표준물질 (400 ng/ml propranolol HCl, methanol에 녹였다.) 100 μl 와 2N NaOH 50 μl 를 넣고 교반기로 30초간 혼합시켰다. Diethylether 6 ml를 가해 2 분간 교반기로 추출하고 3,000 rpm에서 5분간 원심 분리하였다. 유기용매 층 5 ml를 취해 35°C 질소기류하에서 증발시킨 후 이동상 250 μl 를 넣어 교반기로 2분간 용해시킨 후 5분간 원심분리 한 다음 50 μl 을 HPLC에 주입하여 측정하였다.

HPLC분석을 위해 사용한 column은 옥틸실릴화 한 실리카겔을 충전한 Kromasil KR 100-5C8 (4.6 mm, i.d. \times 150 mm, l; particle size, 5 μm , Phenomenex) 이동상은 0.05M KH_2PO_4 (0.05% triethyl-amine과 20% phosphoric acid으로 pH 4.0으로 조절함) : acetonitrile (70:30, v/v) 이었다. 형광 detector를 사용하였으며 이때 형광파장은 Ex: 280 nm이며, Em: 310 nm이었다. 그리고 유속은 1.5 ml/min로 하였다. 베라파밀의 detection limit는 5 ng/ml이었고 variation coefficient는 92.5%이었다. 얻어진 각 검체의 크로마토그램으로부터 내부표준물질의 피크 면적에 대한 베라파밀의 피크 면적비를 구하여 미리 작성한 검량선으로부터 혈장 중 베라파밀 농도를 구하였다.

베라파밀 약물동태학적 분석

베라파밀의 약물동태는 모델 비의존적인 Lagrange 방법을 이용한 LAGRAN computer program¹⁹⁾으로 해석하여 약물동태 파라메타를 구하였다. 무한대까지의 혈장중농도곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve; AUC)은 사다리꼴공식에 의해 계산하였다. 최고혈중농도(C_{\max})와 최고혈중농도 도달시간(T_{\max})은 실험동물 각 개체의 실제 측정치에서 구했으며, 소실속도정수(K_{el})는 terminal phase의 혈장중농도를 회귀분석에 의해 구하였고, 반감기($t_{1/2}$)는 $0.693/K_{el}$ 로 구했다. 상대생체이용률 (RB%)은 control군의 AUC에 대한 간장장애군 AUC의 백분율로 구했다.

통계 처리

사염화탄소로 유발한 각 간장장애군의 약물동태학적 파라메타의 유의성 검정은 unpaired Student's t-test를 적용하여 정상군과 비교해 $p < 0.05$ 일 때 유의성 있는 차이가 있는 것으로 처리하였다.

실험결과 및 고찰

사염화탄소 주사에 의해 가토에서 간장장애가 나타났다(Table 1). 즉 slight, moderate, 및 severe 간장장애 가토에서 sGOT 값은 유의성 있게 증가 되었으며 증가분은 각각 183, 1380, 및 3510%이었다. sGOT값은 각각 321, 440, 및 1050% 이었으며 ALP값은 각각 58.9, 129, 및 280%이었다. 그러나 bilirubin값은 4군에서 통계적인 유의성이 없는 것으로 보아 가토에서 사염화탄소 투여에 의한 신장장애는 심하게 나타나지 않은 것 같다.

베라파밀(10 mg/kg)을 경구투여한 후 control군 및 slight, moderate, severe 간장장애군의 평균혈장농도 추이는 Fig. 1에 나타내었으며, 각 약물동태학적 파라메타는 Table 2에 수록하였다. 정상군에 비해 간장 장애군에서 베라파밀의 평균혈장농도는 높았다. 또한 최고혈장농도(C_{max})는 정상군에 비해 slight (77.9% 증가), moderate (110%증가) 및 severe (174%증가) 간장장애군에서 통계적으로 유의성($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) 있게 높았다. 그결과 혈장농도 곡선하면적(AUC)은 정상군에 비해서, slight (49.8%증가), moderate (95.0%증가) 및 severe (144%증가) 간장장애군에서 유의성($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) 있게 증가하였다. 이는 상대적생체이용률 증가(각각 49, 95, 및 144%)로 나타났다. 이는 베라파밀이 간에서 주로 대사되는데 사염화탄소에 의해서 간대사가 감소되었기 때문이다. 그결과 반감기($t_{1/2}$)는 정상군에 비해서 slight (37.7% 증가), moderate (52.6% 증가) 및 severe (62.9%증가) 간장장애군에서 유의성 ($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) 있게 길어졌다. 최고혈장농도 도달시간(T_{max})은 정상군보다 slight (100%증가), moderate (110%증가), 및 severe (300%증가) 간장장애군에서 유의성($p < 0.05$, in slight; $p < 0.01$, in moderate and severe) 있게 길어졌다.

경구투여하면 베라파밀은 위장관에서 신속히 그리고 대부분 흡수되지만, 간에서 대사되어 생체이용률이 10-20%로 낮다고 보고되었다⁵⁾. Choi 등¹⁶⁻¹⁷⁾은 사염화탄소로 간장장애를 유발한 가토에서 주로 간에서 대사되

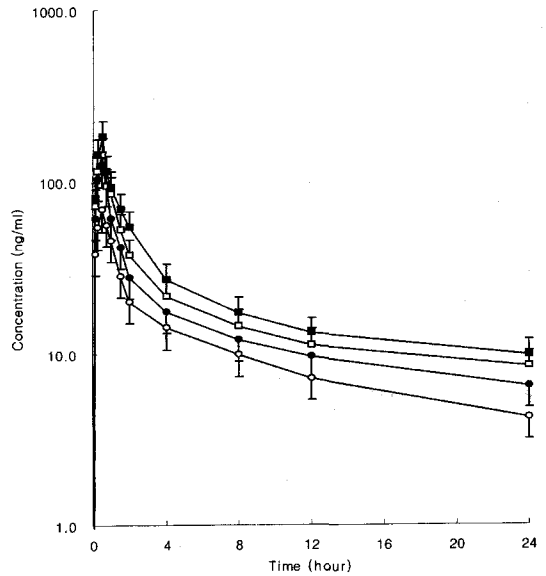


Fig. 1. Mean arterial plasma concentration-time profiles of verapamil after oral administration of verapamil (10 mg/kg) in control rabbits and rabbits with slight, moderate and severe hepatic disorder induced by carbon tetrachloride.

는 acebutolol 및 paclitaxel을 경구투여 한 결과 AUC 및 C_{max} 등이 유의성 있게 증가되었고 CL는 유의성 있게 느려진다고 보고되었다. 본 실험에서도 사염화탄소로 유발한 간 장애가토에서 베라파밀의 AUC, C_{max} , 및 $t_{1/2}$ 등 약물동태학적 파라메타는 사염화탄소투여량에 따라 증가되었으며, T_{max} 는 유의성 있게 길어졌다. 이는 사염화탄소투여로 인해 베라파밀의 간대사 감소되었으며 생체이용률이 증가된 걸로 사료된다. 이는 Woodcock 등⁶⁾의 베라파밀을 간병변환자에게 정맥 및 경구투여시 정상인에 비해 크리어런스는 감소되었다는 보고와 일치하다. Somogyi 등¹⁵⁾도 정상인과 간경화환자에게 베라파밀을 경구투여 한 후 간경화환자의 최고혈장농도는 높아졌고 절대적생체이용률은 배로 유의성 있게 증가되었다고 보고하였다. 즉 간 손상으로 인해 약물대사가 감소함으로 약물의 생체이용률이 증가된 걸로 사료된다.

그리하여 임상에서 간 장애 환자에게 베라파밀을 사

Table 1. Laboratory data in control rabbits and rabbits with slight, moderate, and severe hepatic disorder induced by carbon tetrachloride (n=6, each)

Parameter	control	slight	moderate	severe
sGOT (U/L)	42.0 ± 16.0	119 ± 49.0	581 ± 161	1476 ± 422
sGPT (U/L)	48.0 ± 20.0	154 ± 53.0	259 ± 66.0	552 ± 157
ALP (U/L)	95.0 ± 34.0	151 ± 48.0	218 ± 72.0	361 ± 121
Bilirubin (mg/dl)	0.300 ± 0.130	0.400 ± 0.160	0.500 ± 0.210	0.500 ± 0.22

Table 2. Pharmacokinetic parameters of verapamil after oral administration of verapamil (10 mg/kg) in control rabbits and rabbits with slight, moderate and severe hepatic disorder induced by carbon tetrachloride

Parameters	Control	Hepatic disorder		
		slight	moderate	severe
AUC (ng/ml · hr)	319 ± 81.0	478 ± 132*	622 ± 148**	778 ± 189**
C _{max} (ng/ml)	68.0 ± 18.0	121 ± 32.0*	143 ± 36.0**	186 ± 46.0**
T _{max} (hr)	0.500 ± 0.18	1.00 ± 0.27*	1.50 ± 0.42**	2.00 ± 0.510**
t _{1/2} (hr)	11.6 ± 2.90	16.2 ± 4.50*	17.7 ± 4.60**	18.9 ± 4.90**
AB(%)	9.10	13.7	17.8	22.2
RB(%)	100	149	195	244

Mean±S.D. (n = 6, each), * p<0.05, **p<0.01 compared to control

t_{1/2}: terminal half-life;

C_{max}: peak plasma concentration;

T_{max}: time to reach C_{max};

AUC: area under the plasma concentration-time curve;

RB(%): relative bioavailability; $AUC_{\text{hepatic disorder}}/AUC_{\text{control}}$

용시 약물사용의 안전성과 효율적인 치료를 위해 베라파밀의 용량조절 및 혈중농도 모니터링(TDM)이 필요하리라고 사료된다.

참고문헌

- Fleckenstein A. Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1977;17: 149-66.
- Krikler DM, Spurrell RA. Verapamil in the treatment of paroxysmal supraventricular tachycardia. *Postgrad Med J* 1974; 50: 447-53.
- Gould BA, Mann S, Kieso H, Subramanian VB, Raftery EB. The 24-hour ambulatory blood pressure profile with verapamil. *Circulation* 1982; 65: 22-7.
- Lewis GR, Morley KD, Lewis BM, Bones PJ. The treatment of hypertension with verapamil. *New Zealand Med J* 1978; 87: 351-4.
- Schomerus M, Spiegelhalter B, Stieren B, Eichelbaum M. Physiological disposition of verapamil in man. *Cardiovasc Res* 1976; 10: 605-12.
- Woodcock BG, Rietbrock I, Vohringer HF, Rietbrock N. Verapamil disposition in liver disease and intensive-care patients: Kinetics, clearance, and apparent blood flow relationships. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 29: 27-34.
- Neugebauer G. Comparative cardiovascular actions of verapamil and its major metabolites in the anaesthetized dog. *Cardiovasc Res* 1978; 12: 247-54.
- Eichelbaum M, Ende M, Remberg G, Schomerus M, Dengler HJ. The metabolism of DL-[14C]verapamil in man. *Drug Metab Dispos* 1979; 7: 145-8.
- Schwartz JB, Abernethy DR, Taylor AA, Mitchell JR. An investigation of the cause of accumulation of verapamil during regular dosing in patients. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 19: 512-6.
- Freedman SB, Richmond DR, Ashley JJ, Kelly DT. Verapamil kinetics in normal subjects and patients with coronary artery spasm. *Clin Pharmacol Ther* 1981; 30: 644-52.
- Loi CM, Rollins DE, Dukes GE, Peat MA. Effect of cimetidine on verapamil disposition. *Clin Pharmacol Ther* 1985; 37: 654-7.
- Johnson LM, Lankford SM, Bai SA. The influence of cimetidine on the pharmacokinetics of the enantiomers of verapamil in the dog during multiple oral dosing. *J Vet Pharmacol Ther* 1995; 18: 117-23.
- Ho PC, Ghose K, Saville D, Wanwimolruk S. Effect of grapefruit juice on pharmacokinetics and pharmacodynamics of verapamil enantiomers in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56: 693-8.
- Fuhr U, Muller-Peltzer H, Kern R, Lopez-Rojas P, Junemann M, Harder S, Staib AH. Effects of grapefruit juice and smoking on verapamil concentrations in steady state. *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58: 45-53.
- Somogyi A, Albrecht M, Kliems G, Schafer K, Eichelbaum M. Pharmacokinetics, bioavailability and ECG response of verapamil in patients with liver cirrhosis. *Br J Clin Pharmacol* 1981; 12: 51-60.
- Choi JS, Burm JP. Pharmacokinetics of acebutolol and its main metabolite, diacetolol after oral administration of acebutolol in rabbits with carbon tetrachloride-induced hepatic failure. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 541-5.
- Choi JS. Pharmacokinetics of paclitaxel in rabbits with carbon tetrachloride-induced hepatic failure. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 973-7.
- Krecic-Shepard ME, Barnas CR, Slimko J, Schwartz JB. Faster clearance of sustained release verapamil in men versus women: Continuing observations on sex-specific differences after oral administration of verapamil. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 286-92.
- Rocci ML Jr, Jusko WJ. LAGRAN program for area and moments in pharmacokinetic analysis. *Comput Programs Biomed.* 1983 Jun; 16(3): 203-16.