

Chymotrypsin 및 Trypsin 濃度에 따른 Sulfadimethoxine의 吸收와 排泄에 關한 研究

李 珍 煥 · 崔 俊 植 · 劉 永 鍾

朝鮮大學校 藥學大學 藥劑學教室

The Study on Absorption and Excretion of Sulfadimethoxine Combined with Some Proteolytic Enzyme

Jin Hwan Lee, Jun Shik Choi and Yong Jong Yu*

(Received. Nov. 16, 1973)

The effect of proteolytic enzyme on the absorption and excretion of sulfadimethoxine are investigated in this paper.

The rat small intestinal absorption of sulfadimethoxine in the presence of proteolytic enzymes such as chymotrypsin and trypsin are increasingly absorbed more than 20% during 3 hours.

Blood levels of sulfadimethoxine following oral administration are not effected by proteolytic enzyme, but both on the high concentration of chymotrypsin and the low concentration of trypsin at only 3 and 4 hours are increased ($P < 0.05$) from that of the control.

Blood levels of sulfadimethoxine after duodenum injection are remarkably enhanced to correspond to 18.5-25.0% ($P < 0.01$) by the proteolytic enzyme concentration respectively.

Proteolytic enzymes did not give influence on excretions of sulfadimethoxine after duodenum and oral administration.

* Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Chosun University.

緒 論

蛋白質分解酵素는 antiinflammatory 또는 antiedemetic agent로 사용되고 있으며 抗生劑와 配合하여 治療效果의 增加를 期待함이 報告되어 있다. Bastian J. W¹⁾ 등의 trypsin과 chymotrypsin의 活性, Seneca. H.^{2,3)} 등의 chymotrypsin-tetracycline配合時 吸收와 排泄, Avakian. S.^{4,5)} 등의 chymotrypsin-phenethicillin의 吸收와 排泄 등이 報告되어 있다. 그리고 化學療法劑로써 廣範圍하게 사용되어 있는 sulfadimethoxine의 吸收와 排泄에 對하여서는 Arita⁶⁾의 報告가 있다.

Proteolytic enzyme과 持續性化學療法劑인 sulfadimethoxine과 配合時의 藥物相互作用에 依한 相互拮抗, 相互協力 등에 依한 吸收와 排泄에 影響을 미칠 것으로 思料되나 이에 對한 報告가 없기에 著者는 proteolytic enzyme인 trypsin, chymotrypsin의 濃도에 따른 sulfadimethoxine의 rat 小腸內 吸收, rabbit의 blood level과 urine level을 實驗 檢討하여 知見을 얻었기에 그 結果를 報告한다.

實 驗 方 法

1. 試 料

Sulfadimethoxine (K. P.)

α -Chymotrypsin (Sigma, U. S. A.)

Trypsin (Sigma, U. S. A.)

2. 試 藥

Ammonium sulfamate (E. Merk)

N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine 2HCl (E. Merk)

Sodium nitrite (和光 一級)

Sodium carbonate (和光 一級)

Hydrochloric acid (和光 一級)

3. 試料溶液의 調製

Sulfadimethoxine 0.5 mM量과 proteolytic enzyme은 主藥에 對하여 0.3%와 1%에 該當한 量을 還流溶液 (Tyroid sol.)에 用時 속히 11로 하였다.

4. 還流溶液의 調製

NaCl, CaCl₂, NaH₂PO₄, NaHCO₃, MgCl₂, KCl, glucose를 蒸溜水에 溶解하여 1l로 한 buffer溶液으로(pH 7.5) 使用 直前に 調製했다(Tyroid soln).

5. 實驗方法

a) Loop's circulation method(*in situ*)에 依한 rat小腸內吸收實驗.

一定한 條件下에서 飼育한 體重 200 g 前後 Sparague-Dowly系 rat를 實驗前 24時間 絶食시키고 nembutal sodium으로 麻醉시켜 Shanker⁷⁾ 등의 方法으로 實驗하였다.

還流溶液은 100 ml이며 還流速度는 2 ml/min를 維持하였으며 還流가 始作된 5分後에 試料溶液 0.5 ml를 取하여 對照液으로 하고 每 30分마다 0.5 ml를 取하여 Bratton & Marshall⁸⁾ 方法에 依하여 sulfadimethoxine을 定量하여 다음式에 따라 吸收率를 算出하였다.

$$\text{Percent absorbed} = 100 - 100 \frac{C_{\text{sample final}}}{C_{\text{sample initial}}}$$

b) Blood level 및 Urine level

一定하게 飼育한 體重 2 kg前後의 雄性家兔를 實驗前 20時間 絶食시킨 後 麻醉는 urethane 4 ml/kg로 皮下注射하였으며 sulfadimethoxine 30 mg을 經口投與 및 duodenum에 注射하여 每 時間마다 5時間까지 一側 股動脈(femoral artery)에 heparin saline으로 채워 둔 P. E. tube를 插入하여 이로부터 血液을 採取하였고, 尿는 下腹部를 symphysis 위에서 正中線을 따라 小切開하여 膀胱을 露出시킨 後 兩測의 輸尿管(ureter)에 다 P. E. tube를 插入하여 採取後 Bratton & Marshall⁸⁾ 方法에 依하여 sulfadimethoxine을 定量하였다.

實驗結果 및 考察

1) Loop's circulation method(*in situ*)의 依한 rat 小腸內的 sulfadimethoxine의 吸收

Table I. Comparative absorption rate of sulfadimethoxine by various proteolytic enzyme from rat small intestine (Sulfadimethoxine(SD) initial concentration: 0.5m Mol/L)

Time (min)	Control		SD-Chymotrypsin				SD-Trypsin			
			0.3%		1%		0.3%		1%	
	AMV	AR	AMV	AR	AMV	AR	AMV	AR	AMV	AR
30	0.028	5.6	0.045	8.9	0.041	8.1	0.039	7.8	0.030	6.1
60	0.061	12.1	0.083	16.6	0.075	14.9	0.076	15.1	0.061	12.1

90	0.0865	17.3	0.119	23.7	0.113	22.5	0.110	22.0	0.091	18.2
120	0.111	22.2	0.160	31.0	0.139	27.9	0.142	28.4	0.120	24.0
150	0.134	26.8	0.181	36.1	0.170	34.1	0.169	33.9	0.141	28.2
180	0.156	31.2	0.208	41.5	0.197	39.2	0.195	39.0	0.176	35.1

Remark:

AMV: Absorption mean value(m mol/L)

AR : Absorption rate(%)

Table I. 에서 보는 바와 같이 proteolytic enzyme은 sulfadimethoxine의 吸收를 促進시켰다. Control의 absorption rate를 180分에서 100%로 한다면 chymotrypsin의 0.3% 添加에서 133%이며, 1% 添加에서 126%이다. Trypsin의 0.3% 添加에서 125%이며 1% 添加에서는 113%로 吸收를 促進시켰다. Sulfadimethoxine의 單獨投與時보다 chymotrypsin 및 trypsin의 併用이 吸收를 促進시켰다.

2) Blood level의 測定

Proteolytic enzyme이 sulfadimethoxine의 吸收에 미치는 影響을 檢討하기 爲해서 經口投與하였으며 또한 經口 및 胃內溶物에 依한 影響을 전혀 받지 않기 爲한 手段으로 duodenum에 投與하여 얻은 結果는 Table II, III와 Fig. 1~3. 과 같다.

Table II. Effect of dose of proteolytic enzyme of the blood level of sulfadimethoxine (30mg) after oral administration to rabbit.

Time (hr)	Control	SD+Chymotrypsin		SD+ Trypsin	
		a	b	a	b
1	16.1±2.91※	17.2±1.7	16.0±1.5	17.0±1.4	16.0±1.9
2	19.0±4.1	19.0±2.1	20.0±1.9	19.5±2.0	18.6±2.1
3	22.4±3.2	23.0±1.5	24.6±1.4※	23.2±1.8	24.0±1.9
4	23.5±3.7	25.5±2.2	28.0±1.6※	26.6±1.3※	23.9±1.4
5	25.8±3.5	23.2±1.8	25.5±1.8	24.4±1.9	23.5±1.7
AR	100	105.3	113.4	106.5	101

Remark:

※ : Mean value±SE(mcg/ml)

a: Dose of enzyme 0.05mg

: Significantly different. P<0.05

b: Dose of enzyme 0.5mg

AR: absorption rate (%) at Maximum point (4hr)

Table III. Effect of does of proteolytic enzyme on the blood level of sulfadimethoxine after duodenum administration to rabbit.

Time (hr)	Control	SD+Chymotrypsin			SD+ Trypsin		
		a	b	c	a	b	c
1	43.5±3.9	46.1±1.9±	49.5±1.8	52.2±2.4	52.2±1.4	55.0±2.1	46.5±2.0±

2	40.1±2.6	43.0±2.5	53.0±2.0	50.5±1.7	47.2±1.9	51.2±1.7	48.1±2.4
3	32.5±2.9	35.8±1.8	47.8±1.7	43.5±1.3	41.5±1.3	46.1±1.5	44.5±2.9
4	28.5±1.9	30.2±2.1±	41.5±1.6	36.2±3.0	34.1±1.9	37.4±1.8	35.0±2.5
5	24.7±2.4	26.3±1.7±	34.1±1.8	31.5±3.1±	31.2±2.0	33.0±1.5	28.2±2.6±
AR	100	106.5	123.8	121.4	120.0	125.2	107.4

Remark:

(※) : Mean value±S.E(mcg/ml)

AR : Absorption rate at maximum point

a : Dose of enzyme 0.01mg

± : P>0.05

b : Dose of enzyme 0.05mg

c : Dose of enzyme 0.1mg

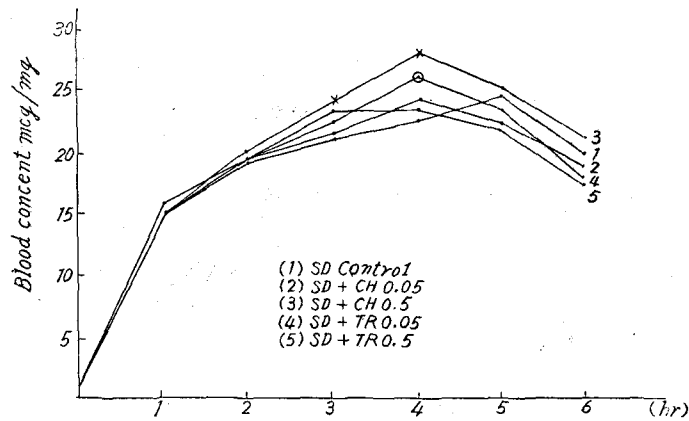


Fig. 1. Blood level of SD combined with proteolytic enzyme following oral administration of 30mg to rabbit as a function of time.

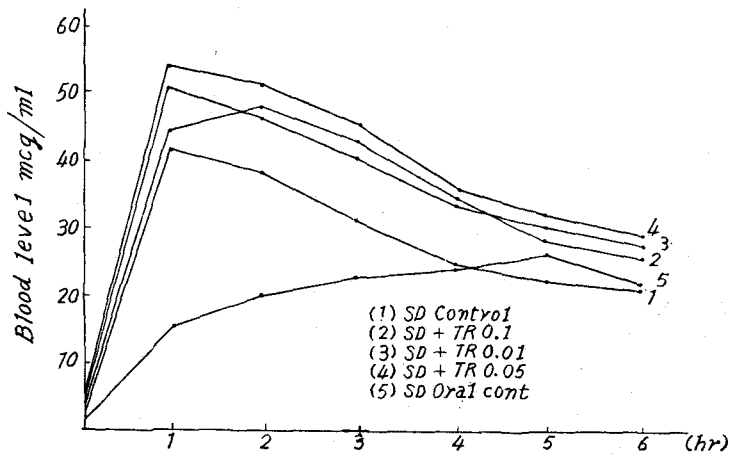


Fig. 2. Blood level of SD combined with various dose of trypsin after duodenum administration to rabbit (30mg) as a function of time.

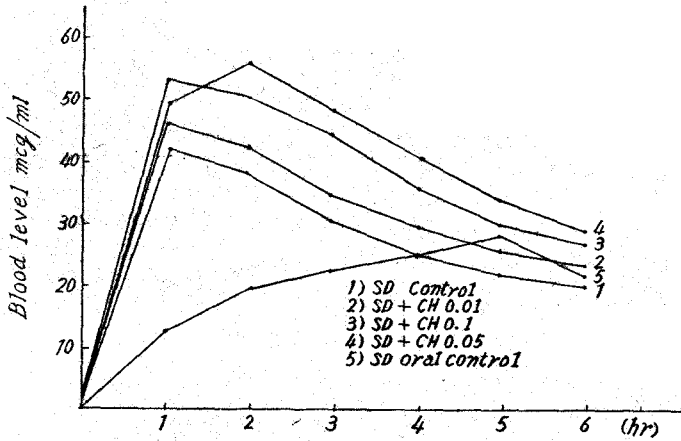


Fig 3. Blood level of SD combined with various doses of chymotrypsin after duodenum administration to rabbit (30mg) as a function of time

Table II, III에서 보는 바와 같이 proteolytic enzyme이 sulfadimethoxine의 吸收에 미치는 影響은 顯著하게 濃도와 그 種類에 따라 影響이 있다. 經口投與에서는 chymotrypsin의 0.05%低添加에서 control의 peak point가 5時間에 反해서 4時間으로 되었으며, sulfadimethoxine의 吸收에 影響을 別로 주지 못했다. Chymotrypsin 0.5%添加에서는 全般的으로 時間에 따라 吸收가 增加되었지만 3, 4時間째를 除外하고는 統計學的 有意성이 없다. Trypsin에서는 0.5%添加에서 7% 程度 吸收를 促進시켰으나 4時間만이 統計學的 有意성이 있다. Duodenum에서 proteolytic enzyme과 sulfadimethoxine을 併用 投與時는 經口投與時에 比해서 吸收에 影響이 크다.

Chymotrypsin(0.01 mg)에서는 2~3時間에 43.0 ± 2.5 mg/ml, 35.8 ± 1.8 mg/ml ($p < 0.05$) 血中濃度를 除外하고는 control에 比해서 大部分 10%程度 促進된 것 같으나 統計學的 有意성은 없었다.

Chymotrypsin(0.05 mg, 0.1mg)投與時는 control에 比해서 全般的으로 24% 程度로 吸收를 促進시켰다 ($p < 0.01$).

Chymotrypsin의 濃도에 對해서 뚜렷한 差異를 區別하기는 困難하지만 0.05 mg에서 23% ($p < 0.01$)로 가장 影響을 주었으며, 0.1 mg에서 21% ($p < 0.05$), 0.01 mg에서 6%程度로 sulfadimethoxine의 血中濃도에 影響을 주었다. Trypsin에서는 0.05 mg과 0.01 mg에서 20~25%程度로 sulfadimethoxine의 血中濃度를 增加시켰다. Trypsin 0.1 mg에서는 4, 5時間에서 統計學的 有意성있게 吸收를 促進시켰다.

3) Urine level의 測定

Proteolytic enzyme이 sulfadimethoxine의 血中濃도에 影響을 미친다는 것은 單純하

吸收을 促進시키거나 또는 排泄을 抑制시켜서 影響을 미칠 수 있다. 그러므로 sulfadimethoxine의 除去率 (clearance of S. D)을 $Cs = \frac{Us \cdot V}{ps}$ 式에 依해서 單位時間에 尿로 排泄되는 量과 血中濃度와의 相關關係를 測定하므로써 proteolytic enzyme이 sulfadimethoxine의 吸收과 排泄에 미친 影響을 알 수 있으며 그 結果는 Table IV, V와 같다.

Table IV. Effect of proteolytic enzyme on the urinary excretions of sulfadimethoxine after oral administration to rabbit.

Time (min)	Control			SD-CH			SD-TR		
	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{mln}$)	Cs (ml/min)	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Cs (ml/min)	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{mln}$)	Cs (ml/min)
0- 60	14.3	16.1	0.9	16.1	16.0	1.0	17.1	16.0	1.1
60-120	22.2	19.0	1.2	21.5	20.1	1.1	20.1	18.6	1.1
120-180	25.0	22.4	1.1	27.0	24.6	1.1	27.0	24.0	1.2
180-240	29.5	23.5	1.2	34.8	28.0	1.3	27.2	23.5	1.2
240-300	33.6	25.8	1.4	31.5	25.4	1.2	24.0	23.5	1.5

Remark: UsV : Excretion rate of sulfadimethoxine ($\mu\text{g}/\text{min}$)

Ps : Blood concentration of sulfadimethoxine ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Cs : Clearance of sulfadimethoxine(ml/min)

Table V. Effect of proteolytic enzyme on the urinary excretion of sulfadimethoxine after duodenum administration to rabbit.

Time (min)	Control			SD-CH			SD-TR		
	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Cs (ml/min)	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Cs (ml/min)	UsV ($\mu\text{g}/\text{min}$)	Ps ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Cs (ml/min)
0- 60	39.5	43.5	0.9	48.2	49.5	1.0	45.0	55.0	0.8
60-120	43.2	40.1	1.1	53.9	53.0	1.1	51.5	51.2	1.0
120-180	45.0	32.5	1.4	57.2	47.8	1.4	56.0	46.1	1.3
180-240	43.3	28.5	1.6	58.2	41.5	1.5	56.8	37.4	1.6
240-300	40.5	24.7	1.7	57.5	34.0	1.7	54.0	32.0	1.6

Remark: UsV : Excretion rate of sulfadimethoxine($\mu\text{g}/\text{min}$)

Ps : Blood concentration of sulfadimethoxine($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Cs : Clearance of sulfadimethoxine(ml/min)

經口投與 時에 chymotrypsin에서 sulfadimethoxine의 血中濃度を 增加시켰으나 sulfadimethoxine의 除去率에는 (1.1~1.2) 거의 影響을 주지 못하였다. Duodenum에서는 proteolytic enzyme 0.05mg을 投與하였을 때의 sulfadimethoxine이 排泄에 미친 影響을 檢討하면 sulfadimethoxin의 excretion은 control에 比해서 增加되어 있다. 그러나 sulfadimethoxine의 除去率 (Cs)를 求하여 보면 control, chymotrypsin, trypsin에서 다같이 1.1~1.7로써 아무런 影響을 미치지 못하였다.

以上 結果에서 proteolytic enzyme은 sulfadimethoxine의 吸收을 促進시키며 排泄에서는 아무런 影響을 주지 못함을 알 수 있다.

結 論

Proteolytic enzyme과 sulfadimethoxine의 併用 混合時의 吸收와 排泄에 對한 實驗結果는 다음과 같다.

- 1) Proteolytic enzyme의 種類와 濃도에 따라 rat 小腸內에서 sulfadimethoxine의 吸收를 增加시켰다.
- 2) Chymotrypsin과 sulfadimethoxine의 經口投與 時 吸收에 미치는 影響은 0.1%添加에서 3.4時間 ($p < 0.05$)을 除外하고는 血中濃度가 促進된 것 같으나 統計學的 有意義性이 없다($p > 0.05$). 0.3%添加에서는 peak point만 變라졌을 뿐 血中濃도에 別影響을 주지 못했다.
- 3) Trypsin과 sulfadimethoxine을 經口投與 時 sulfadimethoxine의 吸收에 미치는 影響은 0.05%添加에서 4時間때만($p < 0.05$), 血中濃도를 促進시켰고 0.5%添加에서는 別影響을 주지 못했다.
- 4) Chymotrypsin과 sulfadimethoxine을 duodenum에 投與 時 blood level에 미치는 影響은 chymotrypsin 0.05mg投與 時에 24.0% ($p < 0.01$) (促進시켰고 0.1mg投與 時는 20% ($p < 0.01$) 程度로 促進시켰다.
- 5) Trypsin과 sulfadimethoxine은 duodenum으로 投與 時 blood level에 미치는 影響은 trypsin 0.01mg 投與 時에 19% 程度 ($p < 0.05$)로 吸收를 促進시켰고, 0.05mg投與 時는 25.0% ($p < 0.01$) 程度로 sulfadimethoxine의 Blood level을 促進시켰다.
- 6) Proteolytic enzyme과 sulfadimethoxine을 十二指腸 및 經口로 同時 投與 時 sulfadimethoxine의 排泄에 있어서는 sulfadimethoxine의 除去率은 거의 비슷하므로 proteolytic enzyme은 sulfadimethoxine의 排泄에 影響을 주지 않았다.

文 獻

- 1) Bastian. J.W et al.; *Proc. Soc. expt. Biol. Med.*, **92**, 800 (1956)
- 2) Seneca, H. & Peer. P; *J. of Am. Gerica, Soc.*, **13**, 8 (1965)
- 3) Seneca. H. et al.; *Antimic. of Chemothe.*, 657-661 (1963)
- 4) Avakian. S. & Kabacoff. B.L.; *Nature.*, **199**, 185 (1963)
- 5) Avakian. S. et al.; *clin. pharm. Therap.*, **5** (1964)
- 6) Tabaichi Arita et al.; *chem. pharm. Bull.*, **19**, 5 (1971)
- 7) L.S. Shanker et al; *J. pharm. Expt. Therap.*, **123**, 81 (1958)
- 8) Bratton & Marshal; *J. Biol. Chem.*, 128 537 (1939)