

病態 動物에서 암피실린의 生物藥劑學的 研究

李 珍 煥

朝鮮大學校 藥學大學

Jin Hwan Lee

College of Pharmacy, Cho Sun University, Gwang-Ju 500

A Biopharmaceutical Study on Ampicillin in Pathological Animals

Abstract--It was to investigate the absorption, excretion, protein binding of ampicillin in the pathological animals pretreated with carbon tetrachloride and mercuric chloride. The absorption of ampicillin was not affected in rats with damaged liver and kidney as compared with that of normal rats. The blood level of ampicillin after oral administration was increased significantly in rabbits with damaged kidney and liver. The blood level of ampicillin in rabbit with damaged kidney was more increased than that in rabbits with damaged liver. In severely damaged rabbits, it was more increased than that of mildly damaged rabbits. Urinary excretion of ampicillin in pathological animals was more inhibited than that of ampicillin in normals.

Hepatic excretion of ampicillin was accelerated in rabbits with damaged kidney. However, in rabbits with damaged liver, it was inhibited as compared with that in normals. Protein binding of ampicillin was slightly enhanced by the various concentration of carbon tetrachloride and mercuric chloride, respectively. The results suggest that the increase of blood level of ampicillin in pathological animals was due to the inhibition of renal excretion.

藥劑는 대부분 疾病을 치료하기 위해서 投與되므로 실제에 있어서 正常狀態의 生體에서 보다는 病態인 生體에서의 生物藥劑學的 研究가 重要하다. 病態의 生體內에서 藥劑의 吸收, 排泄, 代謝, 分布에 變化가 있을 수 있기 때문이다. 臨床的으로 肝臟 障害 患者와 腎臟 障害 患者 또는 그의 2次的 合併症이 있을 때 治療 藥劑의 投與가 불가피한 때가 많다.

이 경우 合理的이고 安全한 藥劑療法 設計을 위해서 藥劑의 用量, 投與間隔, 投與劑型, 藥劑 相互作用 등에 관한 檢討가 重要視된다. 實驗的인 病態 狀態 즉 4 鹽化炭素에 의한 肝臟 障害 및 승홍에 의한 腎臟障害時의 生體內 研究로는 Niwa¹⁾, Merick²⁾, Reyhel³⁾, Choi⁴⁾, Maeda⁵⁾, Lippman⁶⁾, Levi⁶⁾ 등의 消化管內의 吸收에 대한 少數의 論文만을 볼 수 있을 뿐이고 대부분 正常狀態의 生體內에서 藥劑의 吸收와 排泄에 관한 發表가 많다^{8~16)}. 그러나 肝臟 障害 및 腎臟 障害時의 藥劑의 吸收, 排泄, 蛋白 結合, 膽汁 分布 등에 대한 研究는 아직 報告된 바 적으므로 著者는 이들에 대한 것을 究明하기 위하여 4 鹽化炭素와 승홍을 각각 投與한 實驗的인 病態 狀態의 쥐와 토끼에서 광범위하게 쓰이는 抗生劑인 암피실린의 生物藥劑學的 研究로서 쥐의 小腸

內 吸收, 토끼의 血中 濃度, 尿中 排泄, 膽汁 排泄, 또한 이들과 GOT, GPT 및 PSP. 값과의 相關關係, 蛋白 結合 등에 關해서 實驗한 바 知見을 얻었기에 그 結果를 報告하는 바이다.

實驗 方法

試料—ampicillin(주식회사 종근당), 4 鹽化 炭素(和光 1 級), 승홍(和光 1 級), phosphomolybdic acid(Merck), urethane(和光), GOT set(Sigma), GPT set(Sigma), PSP set(Sigma), visking Ube(48 angstrom, A. H. Thomas Co.).

對照 試驗 動物—각 群을 6 마리로 하여 4 엽화탄소를 0.3mg/kg, 승홍(1%)을 0.5ml/kg 씩 筋肉注射로 1 日 1 回(GOT=250unit, PSP=30% 정도) (mild damage)로 1 日間 投與群과 1 日 1 回(GOT=350unit, PSP=20% 정도) (severe damage)로 2 日間 投與群으로 分類하여 投與한 후 24時間후에 本實驗을 했다. 腎臟 障害 與否는 PSP test 를 하였으며 肝臟 障害 程度는 GOT, GPT 를 山島¹⁷⁾ 및 前田利明法¹⁸⁾에 의해서 測定하였다.

Loop's circulation method(in situ)에 의한 Rat 小腸에서의 吸收—一定한 條件下에서 飼育된 200g 前後의 쥐를 實驗前 24時間 絶食시킨 후 에텔로 麻醉시켜 shanker¹⁹⁾ 등의 方法에 따랐으며 이때 還流溶液은 KH₂PO₄(6.2g), Na₂HPO₄(44g), NaCl(5g)를 精製水에 溶解하여 1l 로 한 緩衝液(pH6.5)에 ampicillin 0.5m Mol/l 量을 用時 1l 로 調製하여 實施하였으며 이때의 吸收率은 다음 式에 따라 算出하였다.

$$\text{percent absorbed} = 100 - 100 \frac{C \text{ sample final}}{C \text{ sample initial}}$$

血中 尿中 및 膽汁中の 암피실린의 測定—一定하게 處理된 體重 2kg 前後의 雄性 家兎를 實驗前 24時間 絶食시킨후 麻醉는 urethane(20%) 4ml/kg 로 皮下 注射하였으며 암피실린 100 mg/kg 을 각각 經口 投與후 1 시간 間격으로 6 時間동안 한쪽 대퇴 동맥에서 血液을 採取하였으며 尿는 下腹部를 symphysis 위에서 正中線을 따라 소결개하여 膀胱을 露出시킨후 輸尿管에 다 P. E. tube 를 挿入하여 尿를 採取하고 上腹部의 正中線을 따라 開腹하여 hepatic duct 와 cystic duct 가 합해진 common bile duct 에 P. E. tube 를 넣어 膽汁을 採取하여 암피실린은 smith and Lee^{20~21)} 方法에 의해서 定量하였다. 암피실린의 area under the blood level curve (A. U. C)는 Trapezoidal rule 에 적용하였다. 즉 암피실린의 $\text{area} = \int_0^b Co dt$. ampicillin percent relative availability = $\left[\int_0^b Codt \right] \text{ damage} / \left[\int_0^b Codt \right] \text{ normal} \times 100$

蛋白結合率 測定—Clotz²²⁾ 등의 方法에 따라 平衡透析法으로 測定하였다. 5% 加熱 人血漿 蛋白(plasmate) 10ml 를 visking cellophane bag 에 넣고 이것을 암피실린 100mg/l 의 磷酸緩衝液 10ml 에 一定時間 沈漬 平衡시킨후 透析外用液을 採取하여 암피실린의 蛋白結合을 다음 式에 의해서 算出하였다.

$$\text{Bound \%} = \frac{\text{conc. of control} - \text{conc. of sample}}{\text{conc. of control}} \times 100$$

結果 및 考察

Loop circulation method 에 의한 쥐 小腹에서의 암피실린의 吸收率—4 엽화 炭素에 의한 肝臟障害와 승홍에 의한 腎臟障害時의 쥐 小腸에서의 암피실린의 吸收는 Table I 과 Fig. 1~

Table I—Comparative absorption ratio of ampicillin in small intestine of rats pretreated with CCl₄ and HgCl₂.

Time (min.)	Normal		Mild				Severe			
			Li		Ki		Li		Ki	
	co-ct	AR	co-ct	AR	co-ct	AR	co-ct	AR	co-ct	AR
30	0.035	7.00	0.034	6.8	0.036	7.2	0.031	6.2	0.034	6.8
60	0.085	17.0	0.076	15.2	0.085	17.0	0.080	16.0	0.075	15.0
90	0.121	24.1	0.112	22.4	0.120	24.0	0.110	22.0	0.110	22.0
120	0.156	31.2	0.142	28.4	0.156	31.2	0.140	28.0	0.142	28.4
150	0.191	38.1	0.180	36.0	0.190	38.0	0.172	34.0	0.176	35.2
180	0.207	41.4	0.200	40.0	0.204	40.8	0.191	38.2	0.195	39.0

Co: Initial concentration (0.5mMol/l)

Ct: Remaining concentration at each time.

AR: absorption percentage.

Li: Liver damaged by CCl₄Ki: kidney damaged by HgCl₂

2에서 보는 바와 같이 거의 영향을 미치지 못했다. 즉 180분에 있어서 정상상태시의 흡수율은 41.470일 때 腎臟 障害時에는 40.8%, 39.0%, 肝臟 障害時에는 40.0%, 38.2%로 정상상태시와 거의 비슷한 흡수율을 나타냈다.

토끼로부터 암피실린의 血中濃度—Table II a, b 및 Fig. 3에서 4염화탄소에 의한 肝臟 障害와 승홍에 의한 腎臟 障害를 일으킨 토끼에서의 암피실린의 血中濃度は 대부분 정상상태에서 보다 增加되었다. 암피실린의 血中濃도는 肝臟 障害에서보다 腎臟 障害에서 그리고 mild damage에서 보다 severe damage 상태에서 더 增加되었다. 암피실린의 3시간때의 A. U. C의 비율은 정상상태시가 100%로 될 때 肝 손상 상태에서 106.7% (mild), 114.5% (severe), 신장 손상 상태에서 109.2% (mild), 119.7% (severe)로 增加되었다. 또한 peak point는 정상상태시에는 2시간인데 病態 動物에서 2~4시간으로 延長되었으며, mild damage 상태에서 보다 severe damage 상태에서 血中濃度 消失率이 더 減少되었다.

Table II a—The blood level of ampicillin administered orally in rabbits pretreated with CCl₄ and HgCl₂

Time (hr)	Normal		Mild		Severe	
			Li	Ki	Li	Ki
1	32±3.1*		34±2.7	34±3.5	35±3.7	36±3.5
2	39±4.0		41±4.0	41±4.2	42±3.5	44±4.1
3	37±3.2		40±4.1	42±4.4	45±4.1	47±4.2
4	33±3.6		37±3.9	39±3.5	43±4.0	47±4.5
5	29±3.0		33±3.0	35±3.2	40±3.9	43±4.0
6	25±2.7		30±3.1	32±3.0	36±3.6	39±3.3

*Blood level ±S. E. (mg/ml)

Li: Liver mildly or severely damaged by CCl₄.Ki: kidney mildly or severely damaged by HgCl₂

Table II b—Auc* of ampicillin by Trapezoidal Rule administered orally in rabbit pretreated with CCl₄ and HgCl₂.

Time (hr)	Normal		Mild		Severe	
			Li	Ki	Li	Ki
1	16.0±1.5	17.0±1.4	17.0±1.7	17.5±1.9	18.0±1.8	18.0±1.8
2	35.5±3.5	37.5±3.4	37.5±3.9	38.5±3.2	40.0±3.8	40.0±3.8
3	38.0±3.6	40.5±4.1	41.5±4.3	43.5±3.8	45.5±4.2	45.5±4.2
4	35.0±3.4	38.5±4.0	40.5±3.6	44±4.1	47.0±4.3	47.0±4.3
5	31.0±3.3	35.0±4.5	37.0±3.4	41.5±3.2	45.0±4.3	45.0±4.3
6	27.0±2.9	31.5±3.1	33.5±3.1	38.0±3.8	41.0±3.7	41.0±3.7
AR ₁	100.0	105.6	105.6	108.5	112.7	112.7
AR ₂	100.0	106.7	109.2	114.5	119.7	119.7

AUC: Area under the blood level curve(mcg/ml. hrs)

AR₁: percent relative availability at 2hrs(%)

AR₂: percent relative availability at 3hrs(%)

토끼로부터 암피실린의 尿中 排泄——腎臟障害 및 肝臟障害狀態時의 ampicillin의 尿中 排泄을 살펴보면 Table III과 같다. 肝臟障害 및 腎臟障害時의 尿中 排泄은 正常狀態에 비해서 抑制되었다. 즉 正常狀態時의 renal clearance 값은 1.20이며 肝 손상에서 1.14, 신장 손상에서 1.00으로 排泄이 抑制되므로서 減少되는 것을 알 수 있다.

Table III—The Urinary excretion of ampicillin in rabbits pretreated with CCl₄ and HgCl₂

Time (min)	Normal			Li-Severe			Ki-Severe		
	Uav	Pa	Ca	Uav	Pa	Ca	Uav	Pa	Ca
0—60	43.20	32±3.1	1.35	46.20	35±3.7	1.32	46.08	36±3.5	1.28
60—120	55.38	39.4.0	1.42	57.96	42±3.5	1.39	57.20	44±4.1	1.30
120—180	49.21	37±3.2	1.33	54.45	45±4.1	1.22	52.17	47±4.2	1.11
180—240	39.93	33±3.6	1.21	49.02	43±4.0	1.14	47.00	47±4.5	1.00
240—300	34.80	29±3.0	1.20	45.60	40±3.9	1.14	43.00	43±4.0	1.00

Uav: Excretion rate of ampicillin(mcg/min)

Pa: Blood level of ampicillin(mcg/ml)

Ca: Clearance of ampicillin(ml/min)

膽汁中の 암피실린의 排泄——病態動物 및 正常狀態의 動物에서 藥物의 膽汁中 排泄된 藥物의 小腸에서 再吸收되는 경우 膽汁中 排泄은 重要視된다. 4鹽化炭素에 의한 肝臟障害時의 膽汁 排泄量은 승홍에 의한 腎臟障害時의 膽汁 排泄量과 血中 濃度와의 比(hepatic clearance)를 比較한 값은 Table IV와 같다. 病態狀態時의 hepatic clearance 값을 觀察하여 보면 正常狀態의 家兔에서 암피실린의 hepatic clearance는 3.26이며 肝臟障害狀態에서 암피실린의 hepatic clearance 값은 2.29 정도이고 腎臟障害狀態의 암피실린의 hepatic clearance 값은 4.40 정도이다. 즉 암피실린의 膽汁 排泄은 4鹽化炭素에 의한 肝臟障害狀態에서는 正常狀態에 비해서 抑制되었으며 승홍에 의한 腎臟障害狀態에 있어서는 正常狀態에 비해 增加되었다.

Table IV—Biliary excretion of ampicillin in rabbits pretreated with CCl₄ and HgCl₂.

Time (hr)	Normal			Li-severe			Ki-severe		
	Bav	Pa	Bav/Pa	Bav	Pa	Bav/Pa	Bav	Pa	Bav/Pa
1	129.60	32±3.1	4.05	110.25	35±3.7	3.15	182.34	36±3.5	5.09
2	142.74	39±4.0	3.66	112.56	42±3.5	2.68	183.79	44±4.1	4.42
3	130.98	37±3.2	3.54	114.75	45±4.1	2.55	219.50	47±4.2	4.67
4	106.59	33±3.6	3.23	104.06	43±4.0	2.42	203.51	47±4.5	4.33
5	94.54	29±3.0	3.26	91.60	40±3.9	2.29	189.20	43±4.0	4.40

Bav: Amounts of Ampicillin excreted in Bile for 60min(mcg/60min)

Pa: Blood level(mcg/ml)

Bav/Pa: Hepatic clearance(ml/60min)

蛋白質 結合率 實驗—藥物の 蛋白質 結合은 吸收, 排泄, 代謝에 많은 영향을 주기 때문에 승홍과 4염화탄소가 암피실린의 蛋白質 結合에 어떤 영향을 주는가를 실험한 결과는 Table V와 같다. 승홍과 4염화탄소의 濃度에 따라서 암피실린의 蛋白質 結合은 多少 增加된 경향이 있다.

Table V—Effect of CCl₄ or HgCl₂ concentration on protein binding of ampicillin

Time (hr)	Control	CCl ₄	cone	HgCl ₂	ccne.
		01%	1.0%	0.1%	1.0%
12	32.5±3.0*	33.2±2.9	34.1±3.0	35.0±2.8	35.0±3.8
24	33.5±3.2	33.5±3.9	35.0±3.5	35.5±3.0	36.5±4.1
48	34.0±3.6	34.6±3.6	35.5±0.7	36.0±4.0	36.5±3.5

*Protein binding percent (%) of ampicillin±S. E.

Table VI—Relationship among dysfunction degree, absorption ratio and clearance of ampicillin

Kinds of experiment	animal condition				
	Normal	Mild		Severe	
		Liver	Kidney	Liver	Kidney
GOT	61±5.8	260±2.4	0	370±2.8	0
GPT	46±5.0	230±1.5	0	355±2.7	0
PSP(1hr)	55±1.0	0	32±7	0	24±8
PSP(2hr)	70±1.0	0	44±6	0	32±6
Absorption rate(rat intestine)	100.0	96.6	98.5	92.3	94.2
Absorption rate(percent AUC)	100.0	106.7	109.2	114.5	119.7
Urinary excretion	100.0	96.0	90.4	91.5	83.5
Bile excretion	100.0	84.1	111.2	72.1	131.9

GOT, GPT: Activity karman units

PSP: Urinary excretion rate(%) of PSP(for 1hr, 2hrs)

absorption rate: percentage of absorption rate at 3hrs.

〈Normal absorption rate (%) was calculated to 100 percentage〉

excretion rate: Renal or hepatic clearance of Ampicillin at 3hrs.

臟器 障害 程度와 암피실린의 血中 및 尿中 농도 關係——肝臟 또는 腎臟 障害 程度와의 相關關係를 살펴보면 Table IV와 같다. 4염화탄소에 의한 肝臟 障害 狀態를 考察해 보면 GOT와 GPT 값은 正常 狀態에서 46~61이며 mild damage 狀態에서는 230~260이고, severe damage 狀態에서는 355~370의 값을 가졌다. GOT, GPT 값이 커질수록 암피실린의 血中 濃度는 增加하였으며 排泄은 抑制되었다. 즉 암피실린의 正常時의 AUC의 비율이 100.0%일 때 mild damage 狀態에서 106.7%, severe damage 狀態에서 114.5%로 增加되었으며 尿中 排泄은 암피실린의 正常狀態를 100.0%로 환산할 때 96.0%(M), 91.5%(S)로 抑制되었다. 승홍에 의한 腎臟 障害時의 PSP 값은 正常 狀態에서 $55 \pm 10(1hr)$, $70 \pm 10(2hr)$ 이며 mild damage 狀態에서 PSP의 腎臟 排泄 能力은 $32 \pm 7(1hr)$, $44 \pm 6(2hr)$ 이고 severe damage 狀態에서는 $24 \pm 8(1hr)$, $32 \pm 6(2hr)$ 로 減少되었으며 암피실린의 AUC의 비율은 100.0%(N), 109.2%(M), 119.7%(S)로 增加되었고 尿中 濃度는 100.0%(N), 90.4%(M), 83.5%(S)로 減少되었다. 4염화탄소에 의한 肝臟 障害時의 암피실린의 담즙배설은 抑制되었으나 승홍에 의한 腎臟 障害에서는 增加되었다. 그러나 血中 濃度에는 별 영향을 주지 못했다. 또한 암피실린의 蛋白 結合率은 病態 狀態에서 正常 狀態時보다 多少 증가되는 경향이 있다. 實驗的病態 動物에 있어서 암피실린의 生物藥劑學의 研究 結果에 의하면 小腸에서의 吸收는 별 영향을 없었으나 血中 濃度는 正常 狀態에 비해서 增加되었다. 그 理由로는 4염화탄소에 의한 肝臟 障害時와 승홍에 의한 腎臟 障害에서 암피실린의 排泄이 抑制되었다는 것과 蛋白 結合이 다소 증가되었기 때문으로 思料된다.

結 論

4염화탄소와 승홍에 의한 實驗的 肝臟 障害 및 腎臟 障害를 일으킨 病態인 生體와 正常的인 生體內에서 암피실린의 吸收, 腎臟 및 膽汁 排泄 蛋白結合 등을 실험하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腎臟 障害 및 肝臟 障害時의 小腸에서 암피실린의 吸收는 正常 狀態에 비해서 다소 억제되는 경향은 있으나 거의 正常 狀態와 비슷하였다.
2. 肝臟 障害 및 腎臟 障害 토끼에서 암피실린의 血中 농도는 正常 狀態에 비해서 有意性있게 증가되었다. 肝臟 障害 및 腎臟 障害時의 血中 농도는 mild damage 狀態에서 보다 severe damage 狀態에서 肝臟 障害 狀態에서 보다 腎臟 障害 狀態에서 암피실린의 血中 농도가 더 增加되었다.
3. 肝臟 障害 및 腎臟 障害時 암피실린의 尿中 排泄(renal clearance)은 억제되었다.
4. 암피실린의 膽汁中 排泄(hepatic clearance)은 肝臟 障害 狀態에서는 억제되었으나 腎臟 障害 狀態에서는 증가되었다.
5. 4염화탄소 및 승홍의 濃度에 따른 암피실린의 蛋白 結合率은 다소 증가된 경향이 있다.

文 獻

1. H. Niwa and N. Hikichi, *Yakuzaigaku*, **35**, 21(1975).
2. M. E Mrick, J.R. Glette, *Biochem. Pharm.* **21**, 745(1972).
3. P.C. Reynel, *Brit. J. Expt. Pathol.*, **35**, 92(1954)
4. J.S. Choi, *J. Korean Pharm. Sci.* **6**, 2(1976).

5. J. Meada, 日病理會誌, **48**, 2(1960).
6. R. W. Lippman, *J. Expt. Med.*, **93**, 2(1951).
7. A. J. Levi, and S. Sherlock, *Lancet*, **77**, 64(1970).
8. J. H. Lee, and J. S. Choi, *J. Korean Pharm. Soc.* **4**, 12(1974).
9. J. S. Choi, and J. H. Lee, *ibid.*, **5**, 4(1975).
10. J. H. Lee, and J. S. Choi, *Korean J. Pharmacol.* **9**, 1(1973).
11. J. H. Lee, and J. S. Choi, *Korean Central J. Med.*, **28**, 1(1973).
12. S. T. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **1**, 85(1971).
13. M. H. Lee, *J. Korean Pharm. Sci.*, **1**, 62(1971).
14. S. K. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **4**, 20(1974).
15. J. W. Kim, *ibid.*, **4**, 19(1974).
16. C. H. Woo, *et al.*, *Seoul Univ. J.*, **18**, 78(1967).
17. 山島, 高橋, 最新醫學, **18**, 28(1963)
18. 前田利明, 日病理會誌, **48**, 2(1959).
19. L. S. Shanker, *J. Pharm. Expt. Therp.*, **123**, 8(1958).
20. J. W. G. Smith, *Analyst.*, **91**, 247(1967).
21. W. K. Lee, *et al.*, *J. Pharm. Soc. Korea*, **18**, 190(1974).
22. I. M. Clotz, *Protein* **1**, 758(1953).