

흰쥐의 비강과 공장에서의 세픽심의 흡수기전

박기배# · 노현구 · 이광표

중앙대학교 약학대학

(Received January 27, 1994)

Absorption Mechanism of Cefixime through the Nasal Cavity and Jejunum in Rats

Gee-Bae Park#, Hyun-Goo Roh and Kwang-Pyo Lee

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—A study on the absorption mechanism of cefixime(CF), an oral α -amino group deficient cephalosporin antibiotic, has been undertaken through the rat jejunum and nasal cavity using an in situ simultaneous perfusion technique developed in our laboratory. CF was well absorbed in the jejunum and nasal cavity of rats at pH 5.0, but not at pH 7.0. CF absorption was studied over four orders of magnitude in concentration to determine saturability. Disappearance of CF in the perfusate followed first-order kinetics at all tested concentrations. The apparent first-order absorption rate constant was found to be dependent on the concentration over the range of 0.1 mM~3 mM in the jejunum and nasal cavity of rats. Inhibitors were added to determine the competitive inhibition of CF absorption. The presence of L-tyrosine, L-phenylalanine, alanine-alanine, glycine-glycine and cefadroxil produced the significant inhibition of CF absorption in the nasal cavity and jejunum. However, there was no evidence of the inhibition in the presence of cefazolin. In addition, The CF absorption in the nasal cavity and jejunum was inhibited significantly by ouabain and 2,4-dinitrophenol(DNP). This study suggested that CF is absorbed across the rat nasal cavity and jejunum by carrier-mediated transport mechanism and energy consuming system.

Keywords □ Cefixime, nasal absorption, jejunal absorption, absorption mechanism, carrier-mediated transport, active transport.

일반적으로 약물은 단순확산에 의해서 생체막을 투과하며, 그의 속도는 약물의 이온화도와 지용성에 의해 좌우되고있다. 그러나 세파렉신, 세프라딘, 세파크로르 및 세파드록실과 같은 경구용 세파계 항생제들은 전 pH영역에서 이온화되고 지용성이 매우 낮음에도 불구하고 경구투여시 소장에서 양호하게 흡수되는 특성을 가지고 있다. 그래서 세파계 항생제의 흡수기전에 대해서는 최근 10여년간 활발한 연구에 의해 많은 연구결과가 보고된 바 있는데, 흡수기전의 차이에 의해서 세파계 항생제의 경구흡수를 분류해 보면 크게 두가지 형이 있는데 세팩심의 4번 위치의

카르복실기를 에스테르화 함으로써 지용성을 높여 흡수성을 개선시키는 프로드럭형과 소장의 췌자연막 (brush-border membrane, BBM)에 존재하는 담체에 의해 흡수되는 담체수송형으로 나눌 수 있다. 세파계 항생제의 흡수기전을 구조적으로 분석해 보면, 이들은 펩티드결합을 구조중에 가지고 있어서 펩티드와 동일한 흡수 기전으로 수송되는 것으로 알려져 있으며 베타-락탐고리의 결사슬의 펩티드결합, 베타-락탐고리 및 2번 위치의 카르복실기가 담체인식에 필수적이고, 결사슬들은 담체와의 친화성과 수송의 용이성을 좌우한다고 보고되었다. 한편 음이온형 베타-락탐 유도체로서 구조적으로 베타-락탐고리의 7번 위치에 알파-

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

아미노기를 갖고 있지 않은 세픽심(Fig. 1)이 펩티드 담체수송과 관련되고 있다는 연구결과들이 발표되어 관심을 끌고 있다.

세파계 항생물질에 대한 흡수기전의 연구는 1972년에 Quay¹⁾가 세파렉신이 능동흡수된다는 점을 보고한 이래 일본의 여러 연구진들을 주축으로 활발히 진행되어 왔는데 그 결과를 간단히 요약하면 아미노-베타-락탐 항생제들은 소장 BBM을 통해 H⁺ 농도 기울기를 추진력으로 해서 담체수송이 되며, 이 수송은 디펩티드와 아미노-베타-락탐유도체들에 의해 저해된다는 것이다.²⁻¹¹⁾ 한편 소장을 통과하는 베타-락탐계 항생제의 담체수송이 그들의 결사슬에 오직 알파-아미노기를 가지고 있는 베타-락탐계 항생물질에만 적용되는 것으로 일반적으로 믿어져 왔었지만, 흰쥐의 반전장관법을 이용한 최근의 연구에서 7번 위치의 결사슬에 알파-아미노기를 갖고 있지 않은 유도체들도 흰쥐의 소장에서 흡수가 잘 된다는 흥미로운 점이 발견되었다.¹²⁾ 알파-아미노기를 갖고 있지 않은 세픽심은 소장의 디펩티드수송담체를 통해 흡수되며, 중성보다는 pH 5.0 이하의 산성쪽에서 흡수가 잘되는 pH-의존성을 나타내었다.¹²⁻¹⁴⁾ 한편, 지용성이 큰 약물들 뿐만 아니라 친수성을 나타내는 약물들도 경비투여시 비강내에서 흡수가 잘 된다는 사실이 그동안의 많은 연구에 의해서 밝혀진 바 있는데 특히, 지용성이 큰 약물의 경비투여군은 정맥주사투여군에 필적할만한 생체이용률을 나타내고 있다.^{15,16)} 비점막에서의 흡수정도는 지용성, 분배계수, pKa 및 분자량과 같은 약물자체가 갖고 있는 물리화학적 성질에 의해서 크게 영향을 받고 있는데, 일반적으로 지용성이 큰 약물들이 비강을 통해서 흡수가 잘 되는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁻²⁰⁾ 한편 펩티드나 단백질의 비점막흡수에 있어서는 metkephamid인 경우에는 100%를 나타내지만,²¹⁾ LHRH(luteinizing hormone-releasing hormone)은 단 1%를 나타내고 있어서²²⁾ 그 차이가 아주 크게 나타나는데 특히 100%의 생체이용률을 나타내는 metkephamid는 담체가 관여하는 특수기전에 의해서 흡수되는 것으로 알려졌다. 또한 Hussain 등²³⁾은 흰쥐의 비점막을 통한 L-tyrosine의 흡수가 농도의존성을 나타내며 그 흡수기전은 담체가 관여한다는 사실을 보고한 바 있고, Tengamnuay 등²⁴⁾도 L-tyrosine과 L-phenylalanine이 비강내에서 능동

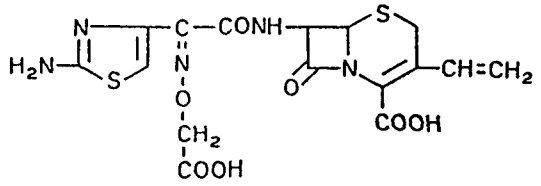


Fig. 1—Chemical structure of cefixime.

수송기전에 의해서 흡수된다고 밝힌 바 있다. 따라서 펩티드나 단백질과 같은 물질들의 비점막 흡수기전에 대해서는 현재도 연구가 진행되고 있으며 앞으로도 계속될 전망이다. 이상으로부터 소장BBM 뿐만 아니라 비강에서도 디펩티드 수송계가 존재하며 그 수송계를 따라 약물이 흡수되리라는 점이 시사되었고, 또한 세픽심의 경구투여시 생체이용률이 세파렉신, 세프라딘, 세파드록실, 세파크로르(95%) 등의 다른 경구용 세파계 항생제들에 비해 현저히 낮다는(40%) 점²⁵⁾에 착안하여 새로운 대체 투여경로로서 비강을 통한 흡수기전을 연구하는 것이 매우 흥미로운 일이라 여겨졌다.

이에 저자들은 세픽심을 모델약물로 선택하여 본 연구실에서 새롭게 고안한 *in situ* 비강,장관 동시연속환류법을 이용해 세픽심의 흡수부위특이성시험, pH- 및 농도-의존성시험, 각 저해제에 의한 저해시험등을 실시하여 소장에서 능동흡수되는 것으로 알려진 세픽심의 흡수기전을 흰쥐의 공장 및 비강에서 동시에 밝혀 유효한 항생제의 제제설계 및 대체투여 경로를 확립하고자 하는데 그 목적이 있다.

실험방법

시약 및 기기—세픽심은 Fusisawa Pharmaceutical Co.(Osaka, Japan), 세파드록실은 Bristol Myers Co. (Tokyo, Japan), 세파졸린은 종근당으로부터 각각 원료를 제공받아 사용하였으며 L-tyrosine(tyr), L-phenylalanine(phe),glycine-glycine(gly-gly), alanine-alanine(ala-ala), ouabain 및 2,4-dinitrophenol(2,4-DNP)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 등장인산완충액(Isotonic Phosphate Buffer Solution, IPB)은 인산이수소나트륨 7.231 g, 인산일수소나트륨 0.9515 g, 염화나트륨 5.2 g의 조성으로 구성되었으며, 증류수 1l에 녹여서 인산으로 pH 5.0

으로 조절한 후 여과해서 사용하였다.

그 외의 분석용 시약은 모두 HPLC grade를 사용하였다. 분석기기로서는 20 µl loop injector가 장착된 model 655A-11 liquid chromatograph pump, L-4200 UV-VIS 검출기 및 D-2000 chromato integrator(이상 Hitachi Co., Japan)와 Inertsil ODS-2 C₁₈ 컬럼(15 cm×4.6 mm)을 사용하였고 그 외의 실험기기로서는 peristaltic pump(model-1303P2 Vision Co., Korea), stirrer/hot plate(Corning Co., USA)를 사용하였다.

HPLC 조건— 일정시간마다 0.1 ml씩 시료를 채취해서 0.1 ml의 메탄올을 가해 제단백조작을 행하고 5분간 10,000 rpm으로 원심분리하였다. 그 상등액을 membrane micro-filter로 여과한 다음 20 µl를 취해 분석에 이용하였다. CF분석에 사용한 이동상은 0.03 M 인산이수소칼륨: 메탄올(850 : 150) (pH 7.0, with NaOH)이며¹⁴⁾ 검출파장은 290 nm, 유속은 1.0 ml/min이었다. CF의 크로마토그램은 Fig. 2에서와 같이 분리가 양호하였다.

실험동물— 체중 230~250 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하였으며, 실험전 하루동안(24시간) 절식시킨 후 실험을 실시하였다. 단, 음료수는 자유로이 먹게하였다.

In situ 비강, 장관 동시연속환류법— Farraj,²⁶⁾ Hirai²⁷⁾ 등의 *in situ* 환류법을 발전시켜 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 새롭게 고안하였다. 수컷 흰쥐를 thiopental sodium으로 체중 Kg당 50 mg을 복강내 주사해서 마취시킨 후 기관(trachea)과 식도(esophagus)를 polyethylene tube(PE-200)로 각각 cannulation을 하였다. 비구개(nasopalatine)는 환류액이 비강으로부터 입으로 흘러나가 소실되는 것을 방지하기 위해서 강력접착제로 막았다. 한편 동시에 흰쥐의 복강 중앙선을 절개하고 공장(위장으로부터 20 cm하부)을 노출시킨 후 실로 10 cm를 재어 그 양단을 PE-200으로 cannulation하였다. 이 cannula들을 통하여 환류액이 비강 및 공장내로 흘러 들어가게 하였다. 환류실험을 실시하기 전에 약물을 녹이는데 사용한 IPB액(pH 5.0)을 한 방향으로 환류시켜 세척하고, 공장내에 잔존하는 IPB액은 펌프를 공회전시켜 완전히 제거하였다. 세척하는 조작이 완료되면 흰쥐의 코와 drug reservoir사이에 깔대기를 두어 콧구멍으로부터 흘러나오는 환류액을 안전하게 drug reservoir에 모을 수 있도록 하고 drug reservoir에 있는 약물의 환류

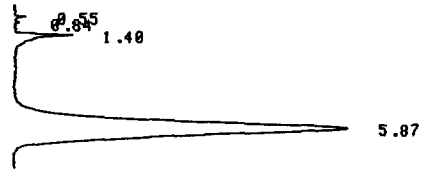


Fig. 2—Typical HPLC chromatogram of cefixime.

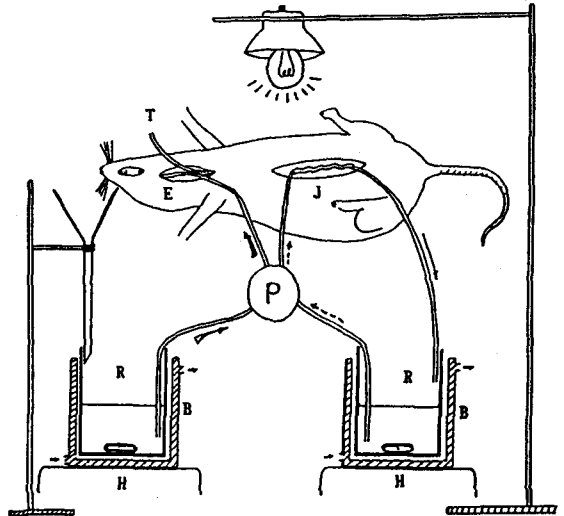


Fig. 3—Schematic diagram of the *in situ* simultaneous perfusion method in the rat nasal cavity and jejunum.

(T)trachea (E)esophagus (J)jejunum (P)peristaltic pump (H)stirrer/hot plate (R)drug reservoir (B)water-jacketed beaker

액은 37±0.5°C로 유지하도록 장치하였다. 흰쥐의 체온을 유지시켜주기 위해서 흰쥐의 복강위에 100W전구를 설치하여 조사하였다(Fig. 3). 그 다음 약물이 들어있는 환류액을 비강과 공장 각각의 cannula를 통해 환류시켰다. 모든 실험조작이 끝나면 노출시킨 공장을 꼬이지 않게 복강에 넣은 후 절개된 복강을 수술용 silk로 꿰매주고 수화상태를 유지시켜주기 위해서 IPB액으로 적신 거즈로 복강을 자주 덮어준다. 환류액의 용적은 10.0 ml이고 환류속도는 분당 2.0 ml로 하였다. 시료는 0.1 ml씩 magnetic stirring bar로 잘 교반되고 있는 drug reservoir로부터 30분간격으로 2시간동안 채취한 후 곧바로 -20°C의 냉동실에 보관하였다. 비강과 공장내 약물의 흡수를

확인하기 위해서 환류액중의 약물의 소실량을 비강 및 공장 환류액중에서의 약물의 잔존량으로부터 구하였다.

CF흡수에 미치는 환류액의 pH의 영향—pH 5.0과 pH 7.0 IPB액에 CF 0.1 mM을 각각 녹이고 그 액 10 ml씩을 취해 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 이용해 흰쥐의 비강과 공장을 통해 2시간동안 2 ml/min의 유속으로 환류시켰다. 30분 간격으로 시료를 채취하여 환류액중의 약물농도의 잔존량을 측정해서 환류액의 pH에 따른 CF흡수의 영향을 검토하였다.

농도의존성시험—CF 0.1 mM, 1.0 mM, 2.0 mM, 3.0 mM을 각각 IPB액(pH 5.0)에 녹여 제조하고 그 액 10 ml를 취하여 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 이용해 흰쥐의 비강과 공장을 통해 2시간동안 환류시킨다. 시료채취시간과 양 및 그 외의 실험조건은 전과 동일하게 실시하였다.

상경적 저해제에 의한 저해시험—0.1 mM CF환류액에 20 mM ala-ala, 20mM gly-gly, 3mM L-tyr, 20 mM L-phe, 10mM 세파드록실 및 20mM 세파졸린을 각각 가하고 완전히 녹을 때까지 교반한 다음 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 이용해서 각 저해제에 대한 상경적 저해효과를 비교 검토하였다. 기타 실험방법 및 조건은 전과 동일하게 실시한다.

대사성 저해제에 의한 저해시험—0.1 mM CF환류액에 1.0 mM ouabain 및 1.0 mM 2,4-DNP을 각각 가하고 교반해서 녹인 다음 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 이용해서 각 저해제의 저해효과를 비교 검토하였다. 기타 실험방법 및 조건은 전과 동일하게 실시한다.

CF의 흡수 평가 및 Nonlinear Pharmacokinetic parameters의 산출—*In situ* 환류액중의 약물농도의 잔존율을 시간에 따라 도시하면 1차속도식에 따른다. 이 직선의 기울기로부터 1차흡수속도상수를 (1)식과 (2)식에 의해 구한다. 그리고 공장의 단위길이당 표면적은 실험후 공장의 길이를 측정하고, 몸무게 250 g인 흰쥐의 공장 평균직경을 문헌²⁸⁾으로 부터 인용하여 장점막 투과도를 다음의 (3)식으로 산출한다. 또한 몸무게 250 g인 흰쥐의 비강 평균표면적은 문헌²⁹⁾에서 인용하여 (3)식에 대입하여 약물의 고유 흡수도를 비교할 수 있는 투과도를 산출하였다.

$$\frac{dC}{dt} = -K_{obs}C \quad (1)$$

$$\log C(1) = \log C(0) - k_{obs}t/2.303 \quad (2)$$

여기서 C(0)=Initial concentration, mM
C(1)=Remaining concentration

$$P_{app} = k_{obs} \cdot \frac{V}{S} \quad (3)$$

여기서 P_{app}=Apparent permeability(cm·sec⁻¹)

k_{obs}=First-order absorption rate constant (sec⁻¹)

V= Volume of perfusate (cm³)

S=Diffusional surface area (cm²)

Nasal cavity=10.4 (surface area of 250 g rat)

Intestinal lumen=2πrl (r: radius, l: length)

한편, CF 환류액중의 약물의 소실이 고농도에서 농도의존성을 보일 경우에는 Michaelis-Menten Kinetics model에 의하여 비선형 약물속도론적 parameter들을 산출한다. 이 모델은 효소나 담체가 관여하는 capacity-limited process를 기술하는 enzyme kinetics 혹은 nonlinear pharmacokinetics에 흔히 이용된다^{30,31)}.

$$V = -\frac{dC}{dt} = \frac{V_{max}C}{K_m + C} \quad (4)$$

(4)식의 양변의 역수를 취하면 Lineweaver-Burk equation(5식)이 얻어진다. 이 (5)식으로부터 1/V를 Y축으로 하고 1/C를 X축으로 하여 도시하면 직선이 얻어지는데 Y축과의 절편으로부터 V_{max}를, 직선의 기울기로부터 K_m을 구할 수 있다.

$$\frac{1}{V} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{C} \quad (5)$$

여기서 V = -dC/dt

=Rate of change of drug concentration in the perfusate(minus sign indicates decrease in drug concentration)

C=Drug concentration in the perfusate

V_{max}=Maximum or saturation rate of drug loss from the perfusate

K_m=Michaelis-Menten constant which is

the concentration at which the rate is half-maximal

통계처리—Tallardia와 Murray³²⁾가 개발한 t-test computer program을 이용하여 CF단독투여군과 저해제 첨가군 및 0.1 mM CF투여군에 있어서 각 농도에 따른 1차흡수속도상수와 투과도간의 유의성을 p=95%의 신뢰수준으로 검정하였다.

결과 및 고찰

CF의 공장 및 비점막 환류액에서의 안정성—CF 용액이 점막의 효소에 의해서 또는 환류시 분해가 되는지를 확인하기 위해서 IPB액 10 ml/만을 *in situ* 비강, 공장 동시연속환류법을 이용하여 흰쥐의 공장 및 비강에서 1시간동안 환류시킨 후 그 환류액에 0.1 mM CF를 가하여 흰쥐없이 다시 2시간동안 환류시키면서 시료를 30분마다 채취하여 HPLC로 분석하였다. 그 결과 시간이 경과함에 따라 환류액중의 CF농도의 변화가 없는 것으로 관찰되었기에 CF용액은 공장 및 비강내에서 안정한 것으로 간주하였다.

CF의 흡수부위 특이성—CF은 소장내에서 담체를 매개로해서 흡수되는 약물로 알려졌지만, 경구투여시 생체내이용률이 40%밖에 되지않아서 다른 세포계항생제들에 비해 현저히 낮은 것으로 알려졌다. 이 실험에서는 지용성이 낮은 CF의 흡수부위 특이성을 고찰하기 위해서 본 연구실에서 고안한 *in situ* 비강, 장관 동시연속환류법을 이용하여 공장과 비강에서 동시에 비교 검토하였다. *In situ* 환류액중의 0.1 mM CF의 잔존율을 시간에 따라 도시한 결과 1차속도식을 따랐다. 이 직선의 기울기로부터 1차흡수속도상수를 구하였고, 식(3)에 의해서 약물의 고유흡수도를 비교할 수 있는 투과도를 산출하였다. Table I과 같이 비강에서의 CF의 투과도는 $3.32(\pm 0.38) \times 10^{-5}$ cm/sec이며 공장에서의 투과도는 $1.90(\pm 0.22) \times 10^{-5}$ cm

/sec로서 비강의 고유흡수도가 공장보다 1.7배 이상 크게 나타났다. 이는 비점막에 미세용모가 공장보다 많이 분포되어 있고, 또한 비점막의 단위면적당 담체수가 공장보다 많아서 흡수속도 및 고유흡수도가 크게 나타난 것으로 사료된다.

CF흡수의 pH 의존성—CF은 흰쥐의 장관에서 pH에 의존해서 흡수됨을 *in vitro* 반전장관법과 단리소장쇄자연막소포계를 이용한 실험방법에 의해서 밝혀진 바 있으며 pH가 낮아짐에 따라 흡수도 증가되어 pH 5.0에서 최대흡수를 나타낸다. 그 이유는 CF의 카르복실기 부위의 pKa치가 2.10(2위치)과 3.73(7위치)을 나타내는데, pH분배설에 따라서 pH가 산성으로 낮아짐에 따라 분자형이 증가됨에 따라 지용성이 증가되기 때문이다. 따라서 공장과 비강에서 *in situ* 동시연속환류법을 이용해서 pH 5.0과 pH 7.0에서 CF의 흡수에 대한 pH의존성을 고찰한 결과 Fig. 4와 같이 공장이나 비강에서는 pH 5.0에서 흡수가 잘 되고 pH 7.0에서는 흡수가 잘 안됨을 관찰할 수 있었다. 따라서 앞으로의 CF 흡수기전에 관한 모든 실험은

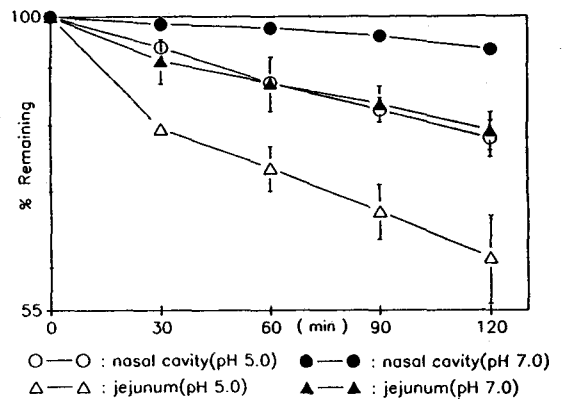


Fig. 4—Effect of perfusate's pH on the absorption of 0.1 mM CF through the rat nasal cavity and jejunum.

Table I—Intrinsic absorptivity of 0.1 mM CF through the rat nasal cavity and Jejunum from the *in situ* perfusate at pH 5.0 and 37°C

Parameter	Percentage Absorbed (%)	Apparent first-order rate constant (min ⁻¹ × 10 ⁻³)	Appraent permeability (cm/sec × 10 ⁻⁵)
Nasal cavity	22.04(2.89)	2.07(0.24)	3.32(0.38) [#]
Jejunum	40.12(5.45)	4.60(0.68)	1.90(0.22)

[#]Numbers in parentheses denote standard errors(n=3)

Table II—Intrinsic absorptivity of CF through the rat nasal cavity from the *in situ* perfusate at pH 5.0 and 37 °C

Parameter Concn.	Percentage Absorbed (%)	Apparent first-order rate constant(min ⁻¹ ×10 ⁻³)	Appraent permeability (cm/sec×10 ⁻⁵)
0.1 mM	22.04(2.89)	2.07(0.24)	3.32(0.38)#
1 mM	15.63(3.01)	1.12(0.11)*	1.80(0.17)*
2 mM	9.84(3.34)	0.96(0.33)*	1.54(0.54)*
3 mM	9.88(1.53)	0.82(0.19)*	1.32(0.30)*

#Numbers in parentheses denote standard errors(n=3)

*p<0.05, vs 0.1 mM cefixime

Table III—Intrinsic absorptivity of CF through the rat jejunum from the *in situ* perfusate at pH 5.0 and 37°C

Parameter Concn.	Percentage Absorbed (%)	Apparent first-order rate constant(min ⁻¹ ×10 ⁻³)	Appraent permeability (cm/sec×10 ⁻⁵)
0.1 mM	40.12(5.45)	4.60(0.68)	1.90(0.22)#
1 mM	30.42(3.81)	2.77(0.14)*	1.11(0.03)*
2 mM	23.81(5.73)	2.56(0.61)*	0.99(0.18)*
3 mM	20.32(1.42)	2.34(0.49)*	0.89(0.02)*

#Numbers in parentheses denote standard errors(n=3)

*p<0.05, vs 0.1 mM cefixime

pH 5.0에서 실시하였다.

CF흡수의 농도의존성—pH 5.0의 등장인산완충액에 녹인 CF용액을 0.1 mM, 1.0 mM, 2.0 mM, 3.0 mM의 초농도로 조제해서 이 환류액을 각각 2시간동안 *in situ* 동시연속환류법으로 흰쥐의 공장과 비강에서 실험한 결과 환류액중의 CF 잔존농도의 감소는 1차속도식에 따름을 알 수 있었다. 시간에 따른 비강 및 공장 환류액중에서의 CF의 잔존농도 data를 식(2)와 식(3)에 대입해서 구한 각 농도별 1차흡수속도상수 및 겉보기 투과도는 Table II, Table III와 같이 나타났으며 또한, 각 농도별 1차흡수속도상수와 농도의 함수로서 도시하여 공장과 비강에서의 흡수양상을 비교하였다(Fig. 5).

Fig. 5에 나타난 바와 같이 저농도(0.1 mM이하)에서는 흡수가 잘되는 반면에, 농도가 증가됨에 따라 공장과 비강에서 흡수가 감소됨을 관찰할 수 있었다. 이것은 아미노-베타-락탐고리를 갖고 있는 항생제가 장관흡수시 고농도에서 포화를 나타낸다는 다른 연구의 결과들과 잘 일치하며,¹²⁻¹⁴⁾ 본 *in situ* 실험결과에 의해서도 CF은 공장에서 농도의존성의 흡수를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 흰쥐의 비강에서도 고농도에서 포화가 나타나는 것으로 보아 CF의 비점

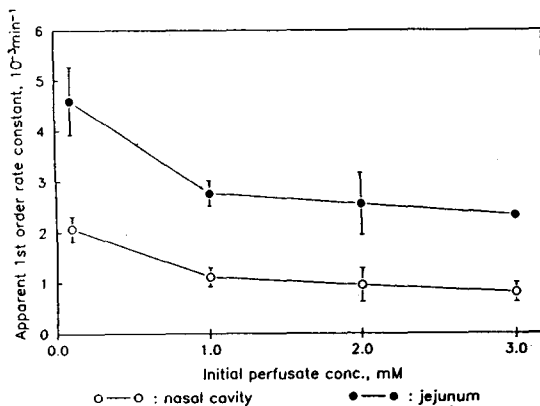


Fig. 5—Effects of initial perfusate concentrations on the apparent first-order absorption rate constants for the nasal(○) and jejunal(●) uptake of CF.

막흡수는 담체가 관여하는 수송계에 의한 것임을 새롭게 알 수 있었다. 위의 결과를 Michaelis-Menten kinetics model에 적용하였다. 환류액의 각 초농도에 대한 역수를 X축으로, 시간에 따른 환류액중의 약물 농도변화(V)의 역수를 Y축으로 하여 도시한 결과 얻은

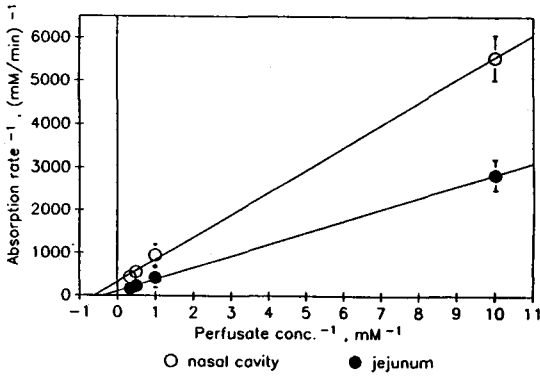


Fig. 6—Lineweaver-Burk plots for the nasal(○) and jejunal(●) uptake of CF from the perfusate.

Table IV—Michaelis-Menten kinetic parameters for the nasal and jejunal uptake of CF

Route	Parameter	Km (mM)	Vmax ($\times 10^{-3}$ mM/min)	r
Nasal cavity	Km	1.636	3.121	0.9995
	Vmax			
Jejunum	Km	2.711	9.829	0.9997
	Vmax			

Lineweaver-Burk plot는 Fig. 6과 같은데, 비강 및 공장 모두 좋은 선형성($r=0.999$)을 갖는 직선식을 얻을 수 있었다.

Km과 Vmax치는 식(5)에 의해 구한 결과 Table IV에서와 같이 나타냈는데 비강에서의 Km치가 공장에서 보다 낮은 결과로부터 CF이 공장보다는 비강에서 담체에 대한 친화성이 높음을 알 수 있었다.

CF흡수의 상경적 억제효과—Fig. 7에서와 같이 0.1 mM CF의 공장 및 비강에서의 흡수는 아미노산(20 mM L-Phe, 3 mM L-Tyr), 디펩티드(20 mM gly-gly, 20 mM ala-ala), 경구용 세파로스포린계 항생제(10 mM 세파드록실)에 의해서 현저하게 억제되었고, 그 반면에 주사제로 이용되는 20 mM 세파졸린에 의해서는 상경적으로 억제되지 않았다. 이 결과는 장관에서 CF이 디펩티드 및 아미노-베타-락탐계 항생제들에 의해 상경적으로 저해되며 담체수송에 의해서 흡수된다는 사실과도 잘 일치하고 있다¹²⁻¹⁴). 한편 아미노산 및 디펩티드 공존하에서 비강에서보다 공장에서의 저해효과가 작은 것으로 나타났는데, 그 이유는 소화관에서의 디펩티드의 흡수 및 분해가 너무 신속하기 때문일 것으로 생각할 수 있다. 그리고 세

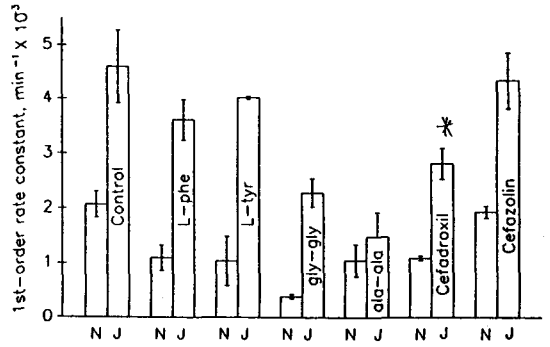


Fig. 7—Effects of competitive inhibitors(20 mM L-phe, 3 mM L-tyr, 20 mM gly-gly, 20 mM ala-ala, 10 mM cefadroxil and 20 mM cefazolin) on the jejunal and nasal uptake of 0.1 mM CF at pH 5.0.

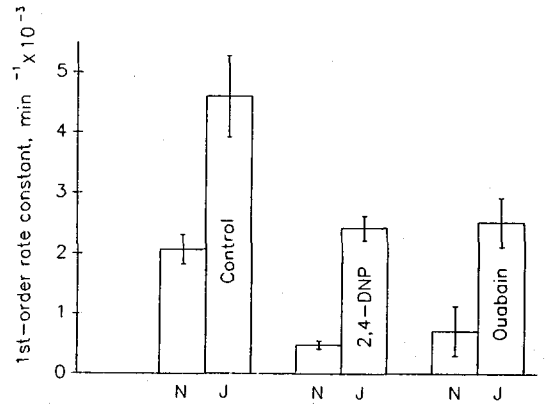


Fig. 8—Effects of metabolic inhibitor(2,4-dinitrophenol) and Na^+ , K-ATPase inhibitor(ouabain) on the jejunal and nasal uptake of 0.1 mM CF at pH 5.0.

파졸린이 비강에서 흡수된다는 연구결과를 Hirai 등²⁷) 이 발표한 바 있는데, 세파졸린이 CF의 공장 및 비강내 흡수를 상경적으로 저해시키지 못하는 것으로 보아 세파졸린의 비강내 흡수는 담체에 의한 것이기 보다는 세포간을 접합하고 있는 긴접합부(tight junction)를 경유해서 측방세포간격(lateral intercellular space)으로 통과되는 세포간격경로(paracellular route)에 의한 수송기전으로 흡수되는 것으로 사료된다.

CF흡수의 대사저해제의 효과—대사저해제인 1.0

mM 2,4-DNP, 1.0 mM ouabain을 0.1 mM CF의 비강 및 공장의 환류액에 첨가해서 흡수에 대한 저해효과를 고찰해 보았다. Fig. 8에 나타난 바와 같이 2,4-DNP, ouabain이 현저하게 CF의 흡수를 저하시켰다. 이 결과로부터 공장 및 비강에서의 CF의 수송은 그 추진력으로서 대사에너지를 필요로하는 능동적수송임을 알 수 있었다.

결 론

1. CF의 겔보기 투과도는 공장(1.90×10^{-5} cm/sec) 보다는 비강(3.32×10^{-5} cm/sec)에서 1.7배 더 크게 나타났다.
2. 비강 및 공장 환류액에서의 CF의 소실은 1차 속도식에 따름을 알 수 있었다.
3. CF의 공장 및 비강내에서의 흡수는 환류액의 pH에 의존적임을 알 수 있었다.
4. CF은 공장 및 비강에서의 흡수는 고농도에서 포화현상이 일어나며, 저농도에서 보다 잘 흡수가 되는 농도의존성을 나타내었다.
5. 아미노산, 디펩티드 및 경구용 세파계 항생제인 세파드록실은 비강 및 공장 환류액에서 CF의 흡수를 상경적으로 저제한 반면에, 주사용 세파계 항생제인 세파졸린은 유의성있는 저해효과를 나타내지 않았다.
6. 비강 및 공장 환류액중의 CF의 흡수는 대사성 저해제인 2,4-DNP 및 ouabain에 의해 유의성있게 저해되었다.
7. 이상의 결과로부터 흰쥐의 비강 및 공장을 통한 CF의 흡수기전은 담체수송계에 의한 것이며 대사에너지를 필요로 하는 능동적 수송과정임을 알 수 있었다.

문 헌

- 1) Quay, J. F.: Transport interaction of glycine and cephalixin in rat jejunum. *Physiologist*, **15**, 241 (1972).
- 2) Addison, J. M., Burston, D., Dayne, J. A., Sleisenger, M. H. and Wilkinson, S.: A common mechanism for transport of di- and tripeptides by hamster jejunum *in vitro*. *Clin. Sci. Mol. Med.*, **49**, 313-322 (1975).

- 3) Tsuji, A., Nakashima, E., Kagami, I., Honjo, N. and Yamana, T.: Effect of dose-concentration on the absorption of amoxicillin and ampicillin from the rat intestine. *J. Pharm. Pharmacol.*, **29**, 707-708 (1977).
- 4) Nakashima, E., Tsuji, A., Kagatani, S. and Yamana, T.: Intestinal absorption mechanism of amino-β-lactam antibiotics. III. Kinetics of carrier-mediated transport across the rat small intestine *in situ*. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **7**, 452-464 (1984).
- 5) Nakashima, E., Tsuji, A., Mizuo, H. and Yamana, T.: Kinetics and mechanism of *in vitro* uptake of amino-β-lactam antibiotics by rat small intestine and relation to the intact-peptide transport system. *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3345-3352 (1984).
- 6) Kimura, T., Endo, H., Yoshikawa, M., Muranishi, S. and Sezaki, H.: Carrier-mediated transport systems for amino penicillins in rat small intestine. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **1**, 262-267 (1978).
- 7) Kimura, T., Yamamoto, T., Mizuno, M., Suga, Y., Kitade, S. and Sezaki, H.: Characterization of aminoccephalosporin transport across rat small intestine. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **6**, 246-253 (1983).
- 8) Miyazaki, K., Iseki, K. and Arita, T.: Intestinal absorption of several-lactam antibiotics. IV. Binding to the various components in the intestinal mucosa of rat and role in absorption process. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **5**, 593-602 (1982).
- 9) Kimura, T., Yamamoto, T., Sezaki, H.: Transport of cefadroxil, an aminoccephalo-sporin antibiotic, across the small intestine brush-border membrane, *Biochem. Phamacol.*, **34**, 81-84 (1985).
- 10) Okano, T., Inui, K., Maegawa, H., Takano, M. and Hori, R.: H⁺ gradient-dependent transport of aminoccephalosporins in rat intestinal brush-border membrane vesicles. *Biochem. Phamacol.*, **35**, 1781-1786 (1986).
- 11) Okano, T., Inui, K., Maegawa, H., Takano, M. and Hori, R.: H⁺-coupled uphill transport of aminoccephalosporins via the dipeptide transport system in rabbit intestinal brush-border membranes. *Biol. Chem.*, **261**, 14130-14134 (1986).
- 12) Tsuji, A., Hirooka, H., Terasaki, T., Tamai, I. and Nakashima, E.: Saturable uptake of cefixime, a new

- oral cephalosporin without an α -amino group, by the rat intestine. *J. Pharm. Pharmacol.*, **39**, 272-277 (1987).
- 13) Tsuji, A., Terasaki, T., Tamai, I. and Hirooka, H.: H^+ gradient-dependent and carrier-mediated transport of cefixime, a new cephalosporin antibiotic, across brush-border membrane vesicles from small intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **241**, 594-601 (1987).
 - 14) Inui, K., Okano, T., Maegawa, H., Kato, M., Takano, M. and Hori, R.: H^+ -coupled transport of p. o. cephalosporins via dipeptide carriers in rabbit intestinal brush-border membranes; difference of transport characteristics between cefixime and cephradine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **247**, 235-241 (1988).
 - 15) Hussain, A. A., Hirai, S. and Bawarshi, R.: Nasal absorption of propranolol from different dosage forms by rats and dogs. *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1411-1413 (1980).
 - 16) Su, K. S. E.: Intranasal delivery of peptides and proteins. *Pharm. Int.*, 8-11 (1986).
 - 17) McMartin, C., Hutchinson, L. E. F., Hyde, R. and Peters, G. E.: Analysis of structural requirements for the absorption of drugs and macromolecules from the nasal cavity. *J. Pharm. Sci.*, **76**, 535-540 (1987).
 - 18) Duchateau, G. S. M. J. E., Zuidema, J. and Merkes, F. W. H. M.: Bile salts and intranasal drug absorption. *Int. J. Pharm.*, **31**, 193-199 (1986).
 - 19) Hussain, A. A., Bawarshi-Nassar, R. and Huang, C. H.: Physico-chemical consideration in intranasal drug administrations, In *Transnasal Systemic Medications*(Y. W. Chien, Ed.), Elsevier, Amsterdam, 121-137 (1985).
 - 20) Huang, C. H., Kimura, R., Nassar, R. B. and Hussain, A. A.: Mechanism of nasal absorption of drugs. I. Physicochemical parameters influencing the rate of in situ nasal absorption of drugs in rats. *J. Pharm. Sci.*, **74**, 608-611 (1985).
 - 21) Su, K. S. E., Campanale, K. M., Mendelsohn, L. G., Kerchner, G. A. and Gries, C. L.: Nasal delivery of polypeptides. I. Nasal absorption of enkephalins in rats. *J. Pharm. Sci.*, **74**, 394-398 (1985).
 - 22) Fink, G., Gennser, G., Liedholm, P., Thorell, J. and Mulder, J.: Comparison of plasma levels of luteinizing hormone-releasing hormone in men after intravenous administration. *J. Endocrinol.*, **63**, 351-360 (1974).
 - 23) Huang, C. H., Kimura, R., Nassar, R. B. and Hussain, A. A.: Mechanism of nasal absorption of drugs. II. Absorption of L-tyrosine and the effect of structural modification on its absorption. *J. Pharm. Sci.*, **74**, 1298-1301 (1985).
 - 24) Tengamnuy, P. and Mitra, A. K.: Transport of tyrosine and phenylalanine across the rat nasal mucosa. *Life Sci.*, **43**, 585-593 (1988).
 - 25) Smith, G. H.: Oral cephalosporins in perspective. *Drug Int. Clin. Pharm.*, **24**, 45-51 (1990).
 - 26) Farrj, N. F., Davis, S. S., Parr, G. D. and Stevens, H. N. E.: Absorption of progabate from aqueous solutions in a modified recirculating rat intestinal perfusion system. *Int. J. Pharm.*, **43**, 93-100 (1988).
 - 27) Hirai, S., Takatsuka, Y., Matsuzawa, T. and Mima, H.: Absorption of drugs from the nasal mucosa of rat. *Int. J. Pharm.*, **7**, 317-325 (1981).
 - 28) Park, G. B. and Mitra, A. K.: Mechanism and site dependency of intestinal mucosal transport and metabolism of thymidine analogues. *Pharm. Res.*, **9**, 322-327 (1992).
 - 29) Chien, Y. W., Su, K. S. E. and Chang, S. F.: *Nasal Systemic Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York p.31 (1989).
 - 30) Gibaldi, M. and Perrier, D.: *Pharmacokinetics*, Marcel Dekker, New York, pp.275-311 (1982a).
 - 31) Wagner, J. G.: Properties of the Michaelis-Menten equation and its integrated form which are useful in pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **1**(2), 103-121 (1973).
 - 32) Tallarida, R. J. and Murray, R. B.: *Manual of Pharmacologic Calculations with Computer Programs*. Springer-Verlag, New York, NY., pp.112-113 (1981).