

나프록센의 비선형 체내동태에 미치는 페노바르비탈의 영향

이용복[†] · 채명애 · 고익배

전남대학교 약학대학

(1997년 1월 15일 접수)

Effect of Phenobarbital on the Nonlinear Pharmacokinetics of Naproxen

Yong Bok Lee[†], Myung Ae Chae and Ik Bae Koh

College of Pharmacy, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

(Received January 15, 1997)

In order to elucidate the effect of phenobarbital (PB) on the nonlinear pharmacokinetic behavior of naproxen (NAP), we compared the dose dependent hepatic intrinsic clearance, biliary excretion and protein binding of NAP in control rats to those in the PB-pretreated rats which were intraperitoneally pretreated with PB sodium (75 mg/kg) once a day for four days. NAP was injected via femoral (1.5 mg/kg) and portal(0.25, 0.5, 1.5, 15 and 30 mg/kg) vein to the control and PB-pretreated rats, respectively. And also, we measured the plasma free fraction of NAP with the equilibrium dialysis method and the biliary excreted total amounts of NAP in both rats. Plasma free fraction of NAP was decreased in lower concentration than 150 $\mu\text{g/ml}$ of NAP due to PB pretreatment. In higher concentration, however, plasma free fraction was increased. These *in vitro* results suggest that the total protein concentration was increased but the total binding capacity of NAP to protein was decreased by PB-pretreatment. The total plasma clearance and the hepatic intrinsic clearance of NAP had similar values in both groups, respectively. And, both clearances of NAP were significantly increased by PB-pretreatment. Even though the plasma free fractions of NAP in both groups were constantly remained within the concentration range according to the increase of administration dose, the hepatic intrinsic clearances of NAP were significantly increased in both groups with the increased dose. And, the biliary excreted total amounts of NAP were significantly increased by PB-pretreatment at the lower dose, but decreased at the higher dose. These *in vivo* results suggest that NAP represents the uncommon nonlinear pharmacokinetic behavior that the hepatic intrinsic clearance was enhanced with the increased dose, and that PB enhances further the hepatic intrinsic clearance of NAP with the increased dose due to its enzyme induction effect.

Keywords—Naproxen, Phenobarbital pretreatment, Protein binding, Hepatic intrinsic clearance, Dose dependency, Biliary excretion.

나프록센(이하 NAP라 함)은 비스테로이드성 항염증약(NSAID)으로 류마티스성 관절염¹⁻⁴⁾, 강직성 척수염, 퇴행성 관절질환, 급성통풍에서 통증을 완화시키는 목적으로 널리 사용되어 왔다.⁵⁾ 또한 NAP는 약산성 약물($\text{pK}_a=4.15$)⁶⁾로 치료용량(경구투여시 500 mg씩 1일 2회)을 투여시 위장관에서 완전하게 흡수되어 2~4시간 후에 최고 혈중 농도에 도달하며 NAP의 30%는 간에서 6-desmethylnaproxen으로 대사되고 요중으로는 NAP 10%, 6-desmethylnaproxen 5%, 다른

포합체로 80% 이상 배설됨이 알려져 있다.^{6,7)} 특히 NAP는 혈장단백과의 결합률이 99% 정도⁷⁻⁹⁾로 그 결합률이 크기 때문에 고용량 경구투여(1~4 g)시 단백질결합의 포화에 따른 비결합형 약물농도 증가에 의해 신배설이 증가하여 혈중 비결합형 약물농도를 감소시키기 때문에 독성이 나타나지 않는다고 보고되어 왔다.^{7,8)} 따라서 NAP가 비선형 체내동태를 나타내는 주요인으로서 단백질결합의 포화성이 제안되고 있다. 그러나, 실제 미변화체의 요중 배설량은 10% 미만으로서 신클리어런스가 전신클리어런스에 기여하는 비율이 대단히 작기 때문에 NAP의 비선형 체내동태를 해석하

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

는데 신클리어런스 변화율로만 설명하기에는 무리한 면이 있으며 더구나 NAP의 혈장단백 결합률의 변화와 비선형 체내동태와의 상관성을 밝히지는 못하였다.

한편, 대표적인 간대사효소 유도제인 페노바르비탈(이하 PB라 함)은 간세포내 사이토크롬 P₄₅₀ 산화효소^{10,11)}와 에스테라제¹²⁾ 및 글루쿠론산 전이효소¹³⁾와 같은 효소들을 활성화시킬 뿐아니라 α_1 -acid glycoprotein (AAG), 피브리노겐, 트란스페린, 알부민 순으로 혈장단백 합성을 증가시킨다고 한다.^{14,15)}

본 연구에서는 PB에 의한 혈장단백량의 변화와 간대사효소 유도효과가 NAP의 혈장단백의존성 비선형 체내동태에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 페노바르비탈 나트륨염 전처리군(75 mg/kg/일, 4일간 복강내 투여)과 대조군 흰쥐로부터 얻은 혈장을 사용해 평형투석법¹⁶⁻¹⁹⁾에 따라 NAP의 혈장단백 결합률의 변화를 측정하였으며 동일하게 전처리한 군에 NAP를 간문맥 내로 투여(0.25, 0.5, 1.5, 15 및 30 mg/kg)하여 얻어진 혈장중 농도추이와 담즙배설량을 속도론적으로 검토하였다.

실험방법

시약 및 기기

PB(나트륨염, 대원제약, KP VI), 나프록센, 인도메타신(이상 중근당, KP VI), HPLC용 메탄올 및 아세트니트릴(이상 J.T. Baker Inc., 미국) 등을 사용하였으며 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 이용하였다. 실험장비 및 분석기기로써 초원심분리기(Eppendorf 5415, Brinkmann Instrument Inc., 미국), 원심분리기(J-6B, Beckman, 영국), HPLC pump(Waters 501, Waters Co., 미국), UV spectrophotometer(Waters 484, Waters Co., 미국), centrifugal evaporator(CVE-100, Tokyo Rikakikai Co., 일본), 투석셀 및 반투막(M.W. cut off size: 50,000, Visking Co., 미국) 등을 사용하였다.

실험동물

한국과학기술원 실험동물 사육장에서 분양받은 체중 100~150 g의 Wistar 웅성 흰쥐를 각 실험군으로 분류하고, 물과 사료(제일 사료사)를 자유로이 공급하여 2주이상 동일조건(20~25°C, 50~60 % RH)에서 사육한 후 체중 200~250 g 범위의 것을 사용하였다.

실험동물의 전처리

PB 750 mg을 생리식염수 100 ml에 녹인 액을 흰쥐

kg당 75 mg/10 ml씩 1일 1회 4일간 복강내 투여한 PB 전처리군과 같은 방법으로 생리식염수만을 복강내 투여한 대조군으로 나누어 실험하였다. 두 군 모두 최종 투여 후 24시간 절식시킨 다음 실험을 진행하였다.

NAP의 혈장단백 결합률

PB 전처리군과 대조군 각각 9마리 흰쥐를 에테르로 가볍게 마취시킨 뒤 경동맥에 폴리에틸렌관(PE-50, Intramedic®, Clay Adams Co, 미국)을 삽입하여 전혈을 채취하고 합하였다. 채혈한 혈액은 곧 바로 원심분리한 후 NAP의 혈장단백 결합률을 평형투석법에 따라 아래와 같은 방법으로 각 농도당 세번 이상 측정하여 평균치를 구하였다.

투석막은 증류수로 잘 세척한 후 사용 전날에는 Sørensen phosphate buffer(0.05 M, pH 7.4)에 침윤시켰다. 투석막의 물기를 제거한 후 투석셀에 투석막을 잘 펴서 부착시킨 뒤 나사로 고정시켰다. 또한, 평형에 도달하는 시간을 결정하기 위하여 투석막 양측에 각각 Sørensen phosphate buffer 1 ml을 취하고 한쪽에 NAP 50 μ l (100 μ g/ml)를 가하여 37°C, 80 rpm으로 진탕하였다. 시간별(1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 24시간) 각 투석막으로부터 시료 100 μ l를 취하고 HPLC로 정량하여 평형에 도달하는 시간을 결정하였던 바 완충액에서 8시간이 걸림을 알 수 있었다. 따라서, 투석막 한쪽에는 Sørensen phosphate buffer 1.05 ml을 가하고 다른 한쪽에는 PB전처리군과 대조군 흰쥐로부터 얻은 혈장 1 ml에 NAP 50 μ l(400~16000 μ g/ml)를 각각 가한 후 행한 혈장단백 결합률 측정 실험에서는 완충액을 이용했을 때 평형에 도달하는 시간의 2배 이상(17시간)을 진탕시켜 평형에 도달시켰다. 평형에 도달시킨 후 혈장측과 완충액측에서 각각 시료 100 μ l를 취하여 HPLC로 정량하였으며 혈장중 비결합형 분율(f_p)은 혈장측 투석셀내 용적을 측정하여 용적변화를 보정한 후 다음 식 (1)에 따라 계산하였다.

$$f_p = \frac{C_f}{(C_p - C_f)(V/V_0) + C_f} \quad (1)$$

f_p : 혈장중 비결합형 분율,

C_p : 평형투석 후의 혈장측의 약물농도

C_f : 평형투석 후의 완충액측의 약물농도

V : 평형투석 후의 혈장측의 용적

V_0 : 평형투석 전의 혈장측의 용적

또한 혈장중 단백질량은 우혈청 알부민(분자량 65,

000)을 표준으로 하여 Lowry방법²⁰⁾에 따라 정량하였으며 NAP의 결합정수는 Scatchard 방법^{21,22)}에 따라 다음 식 (2)을 사용하여 구하였다.

$$\frac{\bar{r}}{D} = nK_a - K_a \bar{r} \quad (2)$$

\bar{r} : 단백질 1몰당 결합된 약물의 평균몰수

K_a : 평형상태에서의 겉보기 결합정수

D : 비결합형 약물의 몰농도

n : 결합자리수

약물투여와 혈액 및 담즙 채취

PB전처리군과 대조군 흰쥐를 다시 대퇴정맥 투여군과 간문맥 투여군으로 분류하였다. 각 군 흰쥐를 에테르로 가볍게 마취시킨 뒤 복부를 정중선으로 절개하여 담도에 폴리에틸렌관(PE-10)을, 왼쪽 대퇴정 동맥에 폴리에틸렌관(PE-50)을 삽관하고 절개부분을 봉합견사를 사용하여 봉합한 후 마취에서 깨어난 다음 실험하였다. 대퇴정맥 투여군에는 생리 식염수에 용해시킨 NAP를 대퇴정맥을 통해 투여(1.5 mg/kg)하였다. 간문맥 투여군에는 폴리에틸렌관(PE-50)에 연결된 23개 이지 주사침을 간문맥 혈류가 손상되지 않도록 간문맥에 삽관한 후 시아노아크릴레이트 순간 접착제를 이용하여 고정하고 0.25, 0.5, 1.5, 15 및 30 mg/kg의 NAP를 투여하였다. 각 군 모두 NAP 투여 후 대퇴동맥에 삽입된 삽입관으로부터 혈액 약 300 μ l를 0.083, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 8, 12 및 16 시간에 걸쳐 채혈하였다. 실험 도중의 실험을 보상하기 위해서 생리 식염수 일정량을 대퇴정맥의 삽입관을 통해 공급해 주었다. 채혈한 혈액은 곧 바로 원심분리하여 혈장 100 μ l을 취해서 정량할 때까지 -20°C에서 보관하였으며, 담즙은 약물투여 직후로부터 최종 채혈시간까지 받은 담즙의 총무게를 측정하고 정량할 때까지 -20°C에서 보관하였다.

NAP 정량방법

Imsail 등⁹⁾과 Upton 등²³⁾의 HPLC 방법을 다소 수정하여 사용하였다. 각 시간별로 채취한 혈장 또는 담즙 100 μ l를 원심분리관에 취한 뒤 메탄올에 용해시킨 내부 표준물질인 인도메타신(1 mg/ml) 10 μ l를 가하였다. 제단백하기 위해 아세트니트릴 1ml를 가하고 20초간 vortex mixing을 한 후에 원심분리하여 상정액 900 μ l을 취하였다. 이 상정액을 원심증발기에서 2시간 동안 완전하게 증발시킨 후 그 잔사에 100 μ l의 HPLC 이동상을 넣어 20초간 vortex mixing을 한 후

Table I—HPLC Conditions for the Determination of Naproxen in Rat Plasma and Bile

Parameters	Conditions
Mobile Phase	0.05 M Phosphate Buffer(pH 5.5): Methanol(50:50, v/v)
Column	RP 18 Reverse-phase Column (10 μ m, Waters)
Flow Rate	1.2 ml/min
Detector	UV 230 nm(Waters 484)
Temperature	Ambient
Injection volume	10 μ l

원심분리하여 상정액 10 μ l만을 취하여 HPLC에 주입하였다. NAP의 HPLC 분석조건은 Table I과 같다. 한편 NAP의 혈장중 농도가 2, 4, 10, 20, 50, 100, 200 및 300 μ g/ml가 되도록 혈장과 담즙에 약물을 각각 가하고 상기 추출방법에 따라 추출하여 검량선을 작성하였으며 하루에 실험을 3번 시행하여 일내 재현성을 구하였으며 연속하여 4일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다.

통계처리 및 약물속도론적 분석

시간 0부터 ∞ 까지의 혈장중 약물농도-시간 곡선하면적(AUC)은 trapezoidal 방법에 따라 최종 채혈시점까지 계산한 값과 최종 채혈시점의 혈장중 약물농도를 최종 소실상 기울기로 나누어 외삽한 값을 더하여 구하였다. 약물속도론적 파라메타, 즉 전신 혈장클리어런스(CL_t), 간 혈장고유클리어런스($CL_{h, int}$), 평균체류시간(MRT), 1차 모멘트 혈장중 약물농도-시간 곡선하면적(AUMC), 정상상태에서의 겉보기 분포용적(V_{ss}) 등은 다음과 같은 수식에 의해 구하였다.

$$CL_t = \text{Dose}_{iv} / AUC_{iv} \quad (3)$$

$$CL_{h, int} = \text{Dose}_{pv} / AUC_{pv} \quad (4)$$

$$AUMC_{iv} = \int_0^{\infty} t \cdot C_p dt \quad (5)$$

$$MRT_{iv} = AUMC_{iv} / AUC_{iv} \quad (5)$$

$$V_{ss} = CL_t \cdot MRT_{iv} \quad (6)$$

$$F_b = X_b / \text{Dose}_{iv} \quad (7)$$

이때, C_p 는 시간 t에서의 NAP의 혈장중 약물농도를 의미한다. X_b 는 시간 ∞ 까지 배설된 담즙중 NAP의 총 배설량을 의미하나 본 연구에서는 16시간까지의 배설량을 X_b 값으로 가정하였다. 사용된 침자 iv 와 pv 는 대퇴정맥내 투여와 간문맥내 투여를 의미한다. 한편, NAP의 각 혈장중 농도변화는 2-컴파트먼트 모델로 해석하여 RSTRIP²⁴⁾ 프로그램을 사용하여 각 파라메

타값을 구하였다. 모든 측정치와 계산치는 평균±표준 오차로 나타내었으며 각 군간의 차이에 관한 검정은 unpaired Student's t-test에서 $p < 0.05$ 인 경우만을 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

NAP 정량

인도메타신을 내부 표준물질로 하고 흰쥐 혈장과 담즙중의 NAP 농도를 Imsail 등⁹⁾과 Upton 등²³⁾의 방법을 다소 수정하여 HPLC로 분석한 결과, NAP의 피이크 출현시간은 2분 40초, 인도메타신은 9분이었으며 흰쥐 혈장 및 담즙중 성분과는 간섭현상을 보이지 않았다. 혈장에 있어서 내부 표준물질의 피이크 높이에 대한 NAP 피이크 높이의 비로써 검량선을 작성한 결과, 상관계수는 0.999로 유의성($p < 0.01$)이 있었으며 일내 변동과 일간 변동 모두 최고 8.5% 이내로 그 재현성을 확보할 수 있었다(Figure 1). 이동상에 녹인 NAP 10과 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 피이크 높이에 대하여 동일 농도의 혈장중 NAP를 추출하였을 때 얻은 높이 비로부터 구한 추출 회수율은 평균 92.12%이었으며 신호 대 잡음비(S/N ratio)를 4로 하였을 때의 정량한계는 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 로 Ismail등⁹⁾이 보고한 정량감도 보다도 10배 높았다. 한편, 담즙중에서도 동일한 정량결과를 얻을 수 있었다.

혈장단백 비결합형 분율

대조군과 PB 전처리군 흰쥐의 혈장을 사용하여 평

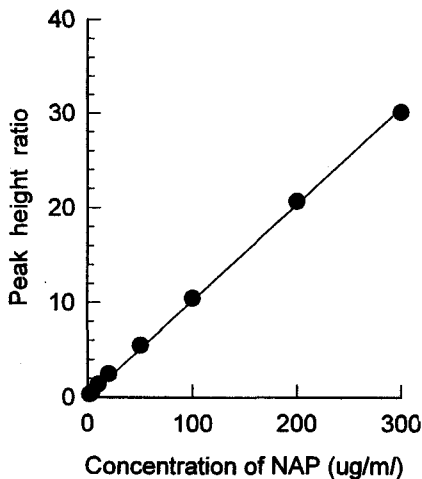


Figure 1—Calibration curve of naproxen in rat plasma by the peak height ratio mode ($n=3$). Linear regression equation: $y=0.102x+0.001$, $r=0.999$ ($p < 0.01$).

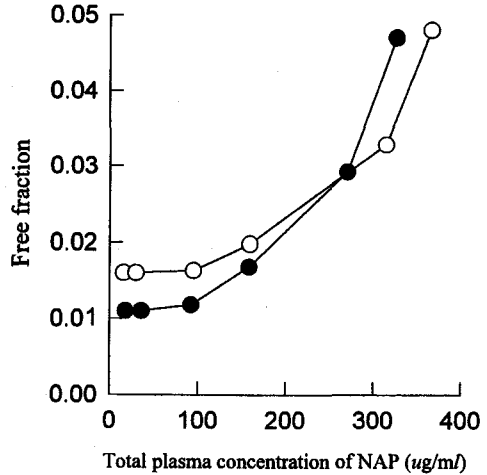


Figure 2—Free fraction of naproxen in control(\circ) and PB-pretreated(\bullet) rat plasma protein by equilibrium dialysis method. Each point represents the mean value of three independent experiments.

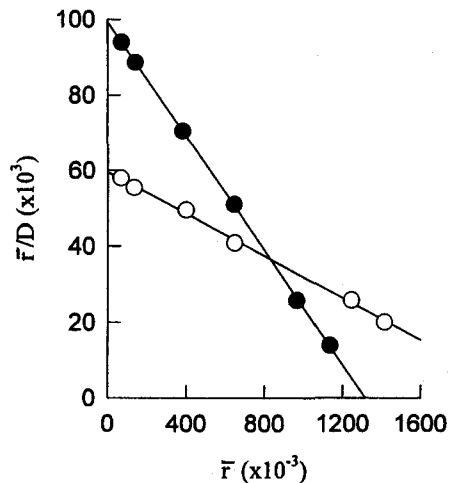


Figure 3—Scatchard plots of naproxen binding to plasma protein. Each point represents the mean value of three independent experiments. Keys: \circ - \circ : Control, \bullet - \bullet : PB-pretreated.

형투석법에 따라 구한 혈장중 NAP의 총농도 변화에 따른 혈장중 비결합형 분율의 변화와 그에 따른 Scatchard plot 결과를 Figure 2와 3 및 Table II에 나타내었다. 대조군에서 혈장중 NAP의 총농도가 약 150 $\mu\text{g/ml}$ 가 될 때까지의 결합률은 98~99%로 높은 단백질결합을 보였으며 이는 Runkel 등^{7,8)}과 Ismail 등⁹⁾이 보고한 결과와도 일치하였다.

한편, 대조군에서 혈장중 총 NAP의 농도가 150 $\mu\text{g/ml}$ 보다 커짐에 따라 그 비결합형 분율이 급격히 증가하는 것은 혈장단백 결합자리에 포화가 일어났기 때문

Table II—Binding Parameters of Naproxen to Plasma Protein by Equilibrium Dialysis Method^a

Parameters ^{a)}	Control	PB-pretreated
Kd ₁ (10 ⁻⁵ M)	3.77±0.46	1.33±0.13*
n ₁	2.22±0.20	1.32±0.008*

^{a)} All parameters were calculated by Scatchard Plot.
[#] Mean S.E. (n=3). *p<0.01.

으로 생각된다. PB 전처리에 의해 NAP 150 µg/ml 이하의 저농도에서 그 비결합형 분율이 대조군보다 낮은 것은 PB 전처리에 따른 혈장중 총단백량의 증가나 결합친화도의 증가 때문으로 생각된다. 또한 NAP 300 µg/ml의 고농도에서 PB전처리군의 그 비결합형 분율이 대조군에 비해 더 높은 것은 비록 NAP가 결합할 수 있는 총단백량이 증가하였을지라도, NAP와 단백질과의 결합자리수가 감소하였기 때문에 총결합자리수가 감소하여 결합자리수의 포화가 빨리 일어난 것으로 생각된다. 그러나 PB 전처리에 의해 결합자리를 변화시키는 혈장중 내인성 치환요소 등에 대해서는 앞으로 더욱 연구가 진행되어야 하리라 생각된다.

NAP의 약물속도론적 파라메타에 미치는 PB의 영향

대조군과 PB 전처리군 흰쥐에 NAP를 간문맥내로 투여(0.25, 0.5, 1.5, 15 및 30 mg/kg) 또는 정맥내로 투여(1.5 mg/kg)하여 얻은 혈장중 약물농도-시간추이를 RSTRIP²⁴⁾ 컴퓨터 프로그램에 의해 stripping하여 초기치를 구한 후 가중치 2²⁵⁾(혈장중 약물농도 제공의 역수)를 사용하여 curve fitting하여 얻은 결과를 Figure 4에 나타내었으며 이로부터 얻은 약물속도론적 파라메타를 Table III과 IV에 나타내었다.

대조군 흰쥐 kg당 NAP 1.5 mg을 정맥투여하여 얻어진 전신클리어런스 값(0.043±0.003 ml/hr/kg)이 동일

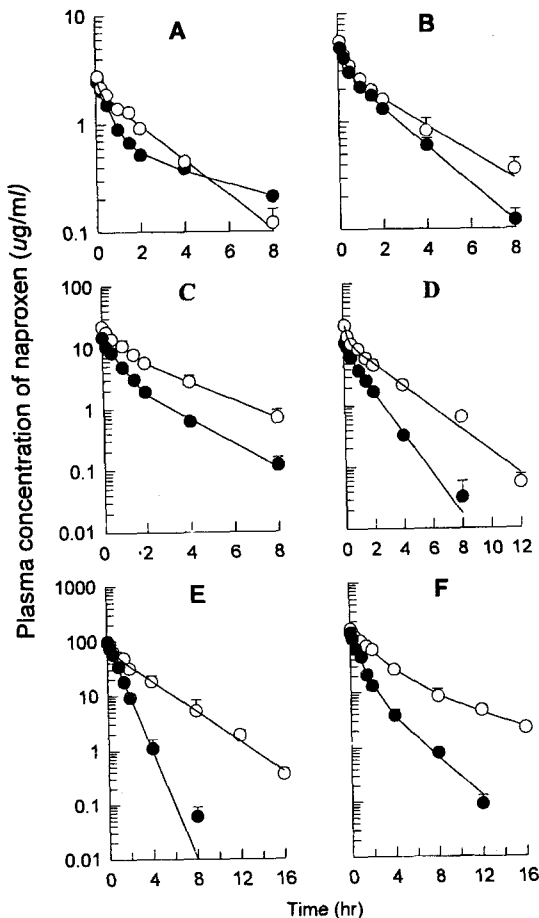


Figure 4—Mean plasma concentration-time profiles of naproxen after femoral(panel C, 1.5 mg/kg) and portal (panel A: 0.25 mg/kg, B: 0.5 mg/kg, D: 1.5 mg/kg, E: 15 mg/kg, F: 30 mg/kg) vein administration to rats(n=3-5). Each solid line was calculated by RSTRIP.²⁴⁾ Vertical bar represents the standard error of the mean. Keys: -○-: Control. -●-: PB-pretreated.

Table III—Effects of Phenobarbital on the Pharmacokinetic Parameters of Naproxen after Its Femoral Vein Administration to Rats(1.5 mg/kg)^a

Parameters	Control	PB-pretreated
CL _t (ml/hr/kg)	0.043±0.003	0.085±0.002*
MRT (hr)	2.130±0.302	2.883±0.870
V _{ss} (l/kg)	89.950±9.470	181.340±47.320*
^{a)} t _{1/2β}	0.881±0.016	0.571±0.011**
^{b)} X _b (µg/kg)	470.260±51.770	618.170±19.870*
^{c)} F _b	0.314±0.009	0.412±0.004*

All parameters were calculated by statistical moment analysis.

^{a)} t_{1/2β} is half life of β phase.

^{b)} X_b is the biliary excreted amounts of naproxen up to 16 hrs.

^{c)} F_b is the biliary excreted fraction calculated by X_b/administered dose.

* Mean ± S.E. (n=5). *p<0.05. **p<0.01.

Table IV—Effects of Phenobarbital on the Pharmacokinetic Parameters of Naproxen after Its Portal Vein Administration*

Dose(mg/kg)		t _{1/2} (hr) ^{a)}	CL _{h,int} (ml/hr/kg)	X _b (μg/kg) ^{b)}	F _b ^{c)}
0.25	Control	0.308±0.171	0.042±0.008	76.150±8.728	0.374±0.035
	PB	0.444±0.118	0.031±0.002	111.058±5.006	0.442±0.020
0.5	Control	0.578±0.298	0.043±0.001	184.710±17.360	0.369±0.035
	PB	0.409±0.235	0.065±0.013	263.362±16.260	0.520±0.038
1.5	Control	0.840±0.021	0.048±0.009	544.310±31.190	0.363±0.021
	PB	0.449±0.013	0.100±0.003	827.690±69.010	0.552±0.012
15	Control	0.743±0.283	0.072±0.005	6254.514±130.801	0.417±0.021
	PB	0.655±0.131	0.444±0.010	5350.331±177.605	0.357±0.050
30	Control	1.078±0.230	0.086±0.004	14096.762±1449.724	0.470±0.094
	PB	0.469±0.068	0.266±0.015	10356.721±1169.658	0.345±0.038

All parameters were calculated by statistical moment analysis.

a) t_{1/2} is half life of β phase.

b) X_b is the biliary excreted amounts of naproxen upto 16 hrs.

c) F_b is the biliary excreted fraction calculated by X_b/administered dose.

Mean±S.E. (n=3-5). *p<0.05.

용량을 간문맥내 투여하여 얻어진 겔보기 간고유클리어런스 값(0.048±0.009 ml/hr/kg)과 큰 차이가 없으므로 부터 NAP는 간고유클리어런스 의존성 약물임을 알 수 있었다(Table III 및 IV). PB 전처리로 인해 정맥내 및 간문맥내 투여경로(1.5 mg/kg)에 무관하게 혈장중 약물농도가 유의성(p<0.05)있게 감소하였으며 PB 전처리로 인해 NAP의 혈장단백 비결합형 분율은 혈장중 농도범위(50 μg/ml 이하)에서 27.5%(0.017→0.012) 감소하였으나 간문맥내 투여(1.5 mg/kg)에 의해 얻어진 겔보기 간고유클리어런스는 2.07배(0.048→0.100)로 유의성(p<0.05)있게 증가하였다(Figure 4의 C와 E). 이것은 비결합형 약물만이 간으로 이동되어 제거된다고 가정하면 PB에 의해 NAP의 겔보기 간고유클리어런스는 2.86배 증가함을 나타내고 있다. 한편, 이는 PB에 의해 NAP의 담즙배설분율(F_b)이 정맥내 투여시 1.31배(0.314→0.412), 간문맥내 투여시 1.52배(0.363→0.552)로 투여경로에 무관하게 각각 유의성(p<0.05)있게 증가한 것으로부터 확인할 수 있었다(Table III과 IV). 그리고 PB 전처리로 인해 NAP의 겔보기 간고유클리어런스는 2.86배나 증가하였으나 담즙중 미변화체 배설분율이 1.31배 증가하였으므로 그밖에는 NAP의 대사 축진이 일어난 것으로 추정된다. 따라서 PB는 NAP에 대하여 효소유도작용 및 담즙배설 촉진작용을 가질 것으로 추정되었다. 그렇지만 투여량의 증가에 따른 NAP의 담즙중 배설 총량은 PB 전처리로 인하여 오히려 감소하는 경향을 나타내었다(Figure 5).

대조군 흰쥐에 NAP의 간문맥내 투여량을 증가(0.25~30 mg/kg)시키에 따라 NAP의 겔보기 간고유

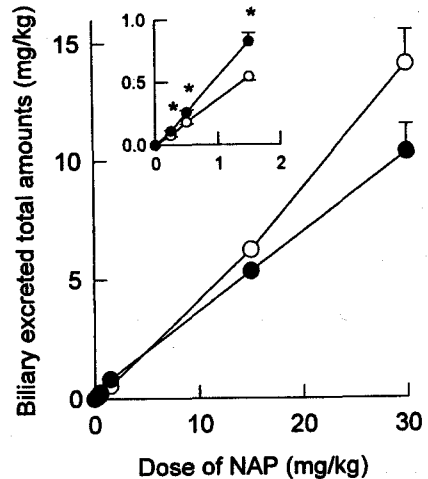


Figure 5—Relationship between administered doses and biliary excreted total amounts of naproxen after portal vein administration to rats(n=3-5). Vertical bar represents the standard error of the mean. Keys: -○-: Control, -●-: PB-pretreated. *p<0.05.

클리어런스가 증가하는 것으로 보아 NAP는 일반적으로 투여량이 증가함에 따라 그 클리어런스가 감소하는 비선형 체내동태가 아닌 특이한 비선형 체내동태를 나타냄을 알 수 있었다(Figure 6 및 Table IV). 이것은 경구투여시 NAP 투여량의 증가에 따라 그 클리어런스가 증가한다는 Runkel 등^{7,8)}의 사람에서의 실험결과와도 일치하고 있다. 그러나, Figure 4의 F에서 볼 수 있는 바와 같이 대조군에 있어서 최고 투여량(30 mg/kg)에서도 최고 혈장중 농도가 혈장단백결합이 포화되는 농도(150 μg/ml 이상)이하이므로 NAP의 혈장단백 비결합형 분율(f_p)은 거의 일정함에도 불구하고 그

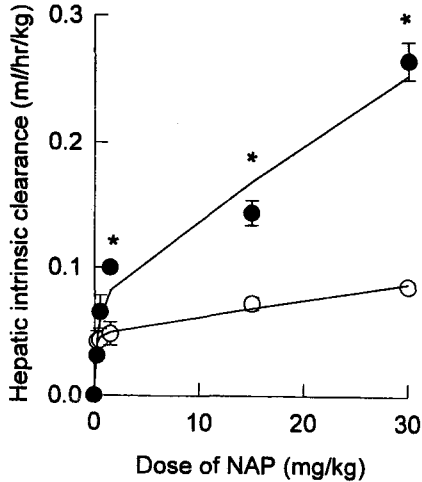


Figure 6—Relationship between administered doses and hepatic intrinsic clearances of naproxen obtained from portal vein administration to rats(n=3-5). Vertical bar represents the standard error of the mean. Keys: -○-: Control, -●-: PB-pretreated. *p<0.05.

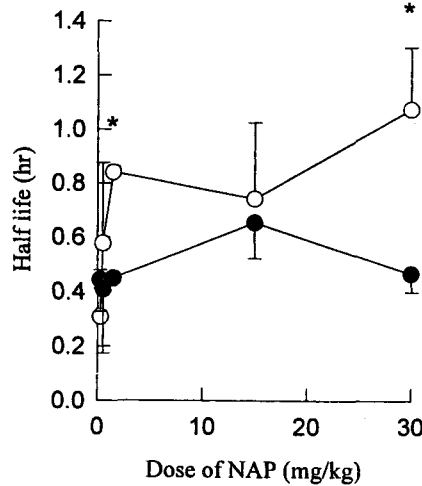


Figure 8—Relationship between administered doses and terminal half lives of naproxen after portal vein administration to rats(n=3-5). Vertical bar represents the standard error of the mean. Keys: -○-: Control, -●-: PB-pretreated. *p<0.05.

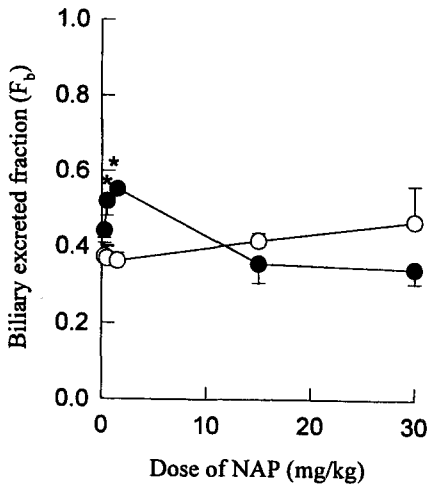


Figure 7—Relationship between administered doses and biliary excreted fractions of naproxen obtained from portal vein administration to rats(n=3-5). Vertical bar represents the standard error of the mean. Keys: -○-: Control, -●-: PB-pretreated. *p<0.05.

간고유클리어런스는 증가하고 있고(Figure 6), 투여량의 증가에 따라 담즙중 NAP의 배설분율(F_b)이 증가하며(Figure 7), Figure 6과 7의 선형부분에 있어서 투여량에 대한 담즙중 NAP의 배설증가율(약 0.0038배)은 걸보기 간고유클리어런스 증가율(약 0.0013배) 보다 2.84배나 크게 나타났다. 또한 비결합형 약물만이 체외로 배설된다면 그 소실상 반감기는 투여량과 무관하게 일정해야 함에도 불구하고 대조군에서 단백질결합률이 거

의 일정하게 유지되는 농도범위(150 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 농도)에서 투여량이 증가함에 따라 생체내 반감기가 증가하고 있는 것(Figure 8)으로 보아 NAP의 비선형 체내동태는 혈장단백결합 의존성이 아님을 알 수 있었다.

한편 PB 전처리군에서는 대조군에 비하여 NAP의 혈장중 약물농도는 투여량에 무관하게 감소함을 알 수 있었고(Figure 4), PB에 의해 NAP의 걸보기 간고유클리어런스는 투여량이 증가함에 따라 더욱 증가함을 알 수 있었다(Figure 6). PB 전처리군에서도 NAP 투여량의 증가에 따라 그 걸보기 간고유클리어런스 및 생체내 반감기가 증가하고 있는 것으로 보아 NAP의 체내동태는 대조군과 마찬가지로 특이한 비선형 체내동태를 나타냄을 알 수 있었다.

특히, PB 전처리에 의해 150 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 농도범위에서 NAP의 혈장단백 비결합형 분율은 대조군에 비해 감소하였으나 NAP의 걸보기 간고유클리어런스가 용량증가에 의해 대조군보다 더욱 크게 증가한 것으로 보아 NAP의 용량 의존성 비선형 체내동태는 혈장단백결합에 의존하지 않음을 확인할 수 있었다. 따라서 PB에 의한 NAP의 걸보기 간고유클리어런스의 증가는 단백질결합률의 변화에 의한 요인이라기 보다는 간대사효소 유도작용이나 담즙중 NAP의 배설 변화가 주요인으로 작용하였으리라 사료된다.

한편, PB 전처리시 투여량에 대한 NAP의 담즙배설분율(F_b)은 1.5 mg/kg의 농도까지는 유의성있게 증가

하다가 고농도(15.0 및 30 mg/kg)에서는 감소하는 경향을 나타내었다(Figure 7 및 Table IV). 따라서 PB는 저투여량 범위에서는 NAP의 담즙배설을 촉진하고 투여량이 증가됨에 따라 NAP 대사체의 생성을 촉진할 것으로 사료되나 NAP의 대사체인 6-desmethyl-naproxen의 혈중, 담즙중 및 요중 정량을 통해 확인하여야 할 것으로 생각된다. 또한 이러한 특성이 NAP가 갖고 있는 입체이성질 효과²⁶⁾때문인지에 대해서도 연구되어야 하리라 생각된다.

결 론

PB에 의한 혈장단백량의 변화와 간대사효소 유도효과가 NAP의 비선형 체내동태에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 PB 전처리군(75 mg/kg/일, 4일간 복강내 투여)과 대조군 흰쥐로부터 얻은 혈장을 사용해 평형투석법에 따라 NAP의 혈장단백 결합률의 변화를 측정하였고, 아울러 동일하게 전처리한 군에 NAP를 정맥내(1.5 mg/kg) 및 간문맥내(0.25, 0.5, 1.5, 15 및 30 mg/kg)로 투여한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PB 전처리에 의해 NAP의 혈장단백 비결합형 분율은 150 µg/ml이하의 저농도에서는 감소하였으나 그 이상의 농도에서는 증가하였다. 이는 PB에 의해 혈장중 총단백량은 증가하였으나 그 결합자리수가 감소하였기 때문에 혈장단백 최대결합능이 감소하여 NAP의 결합자리수의 포화가 대조군에 비해 빨리 나타났기 때문으로 사료되었다.

2. 정맥투여(1.5 mg/kg)에 의해 얻어진 전신클리어런스와 간문맥내 투여(1.5 mg/kg)에 의해 얻어진 간클리어런스 값이 비슷한 것으로 부터 NAP는 간고유클리어런스 의존성 약물임을 알 수 있었다.

3. 또한 NAP는 간문맥내 투여용량이 증가함에 따라 그 담즙배설량이 투여용량의 증가율에 비하여 더욱 더 크게 증가함으로써 그 고유클리어런스가 증가하는 특이한 비선형 체내동태를 나타냄을 알 수 있었다.

4. PB 전처리로 인해 혈장단백 비결합형 분율은 감소하였고 NAP 투여용량에 대한 담즙배설율은 저투여량에서는 증가하나 고투여량에서는 감소하였다. 그러나 그 고유클리어런스는 대조군에서와 마찬가지로 투여용량이 증가함에 따라 계속 증가하였다. 따라서 PB는 저투여량에서는 NAP의 담즙배설을 촉진하고 투여용량이 증가됨에 따라 NAP의 대사체 생성을 촉진시킬 것으로 사료되었으나 담즙중 및 요중 NAP의

대사체와 포합체 정량을 통해 확인되어야 할 것으로 사료되었다.

감사의 말씀

이 논문은 1995년도 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) R.O. Day, D.E. Furst, S.H. Dromgoole, B. Kamm, R. Roe and H.E. Paulus, Relationship of serum naproxen concentration to efficacy in rheumatoid arthritis, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **31**(6), 733-740 (1982).
- 2) F.A.V.D. Ouweland, F.W.J. Gribnau, C.A.M. V. Ginneken, Y. Tan and L.B.A.D. Putte, Naproxen kinetics and disease activity in rheumatoid arthritis: A within-patient study, *ibid*, **43**(1), 79-85 (1988).
- 3) D.E. Bowers, H.R. Dyer, W.H. Fosdick, K.E. Keller, A.L. Rosembert, P. Sussman and M. E. Vancil, Naproxen in rheumatoid arthritis: A controlled trial, *Ann. Intern. Med.*, **83**, 470-481 (1975).
- 4) A. Lussier, E. Segre, C.V. Multz, K.L. MacCannell, S.J. Alexander, D.L.G. Howard, G. Boost, J. Varady and W. Strauss, Naproxen: A novel approach to dose-finding efficacy trials in rheumatoid arthritis, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **14**, 434-445 (1973).
- 5) J.H. Lin, D.M. Cocchetto and D.E. Duggan, Protein binding as a primary determinant of the clinical pharmacokinetic properties of non-steroidal anti-inflammatory drugs, *Clin. Pharmacokin.*, **12**, 402-432 (1987).
- 6) A.R. Gennaro, G.D. Chase, M.R. Gibson, C. B. Granberg, S.C. Harvey, R.E. King, A.N. Martin, T. Medwick, E.A. Swinyard and G. L. Zink, *Remington's Pharmaceutical Science*, 17th ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science, pp. 1119 (1985).
- 7) R. Runkel, M.D. Chaplin, H. Sevelius, E. Ortega and E. Segro, Pharmacokinetics of naproxen overdoses, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **20**(3), 269-277 (1976).
- 8) R. Runkel, E. Forchielli, H. Sevelius, M.D. Chaplin and E. Segro, Nonlinear plasma level response to high doses of naproxen, *ibid*, **15**(3), 261-266 (1973).
- 9) F.A. Ismail, N. Khalafallah and S.A. Khalil, Disease and drug-induced changes in naprox-

- en binding to plasma, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **15**(1), 147-164 (1989).
- 10) F.P. Guengerich, G.A. Dannan, S.T. Wright, M.V. Martin and L.S. Kaminsky, Purification and characterization of liver microsomal cytochromes P-450. Electrophoretic, spectral, catalytic and immunochemical and inducibility of eight isozymes isolated from rats treated with phenobarbital or β -naphthoflavone, *Biochem.*, **21**, 6019-6026 (1982).
 - 11) D.J. Waxman and C. Walsh, Phenobarbital-induced rat liver cytochrome P-450. Purification and characterization of two closely related isozymic forms, *J. Bio. Chem.*, **257**, 10446-10454 (1982).
 - 12) M. Rattell, K. Berzins and F. Blomberg, Immunochemical studies on a phenobarbital-inducible esterase in rat liver microsomes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **181**, 534 (1977).
 - 13) K.W. Bock, D. Jasting, W. Lillieblum and H. Pfeil, Purification of rat liver microsomal UDP-glucuronyltransferase, separation of two enzyme forms inducible by 3-methylcholanthrene or phenobarbital, *Eur. J. Biochem.*, **98**, 19-26 (1979).
 - 14) G. Schreiber, G. Howlett, M. Nagachima, A. Millership, H. Martin, J. Urban and L. Kotler, The acute phase response of plasma protein synthesis during experimental inflammation, *J. Bio. Chem.*, **257**, 10271-10277 (1982).
 - 15) V.T. Vu, S.A. Bai and F.P. Abramson, Interaction of phenobarbital with propranolol in the dog (II), bioavailability, metabolism and excretion, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **224**, 55-63 (1983).
 - 16) M. Oellerich and H. Muller-Vahl, The EMIT[®] free level ultrafiltration technique compared with equilibrium dialysis and ultracentrifugation to determine protein binding phenytoin, *Clin. Pharmacokin.*, **9** (suppl. 1), 61-70 (1984).
 - 17) T.N. Tozer, J.G. Gambertoglio, D.E. Furst, D. S. Avery and N.H.G. Holford, Volume shifts and protein binding estimates using equilibrium dialysis: Application to prednisolone binding in humans, *J. Pharm. Sci.*, **72**, 1442-1445 (1983).
 - 18) W.F. Bowers, S. Fulton and J. Thompson, Ultrafiltration vs equilibrium dialysis for determination of free fraction, *Clin. Pharmacokin.*, **9** (suppl. 1), 49-65 (1984).
 - 19) L. Chauvelot-Moachon, F. Delers, C. Pous, R. Engler, F. Tallet and J.P. Giroud, Alpha-1-acid glycoprotein concentrations and protein binding of propranolol in Sprague-Dawley and Dark Agouti Strains treated by phenobarbital, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **244**, 1103-1108 (1988).
 - 20) O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-273 (1951).
 - 21) G. Scatchard, The attractions of proteins for small molecules and ions, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **51**, 660-672 (1949).
 - 22) H. Rosenthal, A graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complex system, *Anal. Biochem.*, **20**, 525-532 (1967).
 - 23) R.A. Upton, J.N. Buskin, T.W. Guentert, R. L. Williams and S. Riegelman, Convenient and sensitive high-performance liquid chromatography assay for ketoprofen, naproxen and other allied drugs in plasma or urine, *J. Chromatogr.*, **190**, 119-128 (1980).
 - 24) M.L. Ramson, *RSTRIP-polyexponential curve stripping/least square parameter estimation*, *User Handbook*, Micromath, Inc., Salt Lake City, Utha (1987).
 - 25) H.G. Boxenbaum, S. Riegelman and R.M. Elashoff, Statistical estimations in pharmacokinetics, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **2**, 123-136 (1974).
 - 26) V.J. Stecher, *Anti-inflammatory drugs*, in *Handbook of stereoisomers: Therapeutic drugs*, ed. D.F. Smith, CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 137 (1989).