

흰쥐에서 트리플루살의 위장관 및 간 초회통과효과

조혜영 · 정태진 · 이용복[†]

전남대학교 약학대학약품개발연구소
(2001년 11월 5일 접수)

Gastrointestinal and Hepatic First-pass Effects of Triflusal in Rats

Hea-Young Cho, Tae-Jin Jeong and Yong-Bok Lee[†]

College of Pharmacy and Research Institute of Drug Development,
Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

(Received November 5, 2001)

ABSTRACT—In order to elucidate the influence of intestinal and hepatic first-pass effect on the pharmacokinetics of triflusal, the biotransformation of triflusal in the gastrointestinal tract and liver was designed. Moreover, we tried to establish an HPLC method applicable for bioassay and available to pharmacokinetics, not only with the simultaneous determination of triflusal and its active metabolite, 2-hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid (HTB), but also with improving sensitivity. After the administration of triflusal (10 mg/kg) and HTB (10 mg/kg) into femoral vein, portal vein (only triflusal) and oral route (only triflusal), pharmacokinetic parameters were investigated from the plasma concentration-time profiles of triflusal and HTB in rats. An HPLC method was developed for the simultaneous determination of triflusal and HTB in rat plasma, urine and bile. The HPLC analysis was carried out using a C18 column and acetonitrile-methanol-water (25:10:65, v/v/v) as the mobile phase and UV detection at 234 nm. Furosemide was used as the internal standard. The calibration curves were linear over the concentration range 0.05-5.0 µg/ml for triflusal and 0.2-200.0 µg/ml for HTB with correlation coefficients greater than 0.999 and with intra-day or inter-day coefficients of variation not exceeding 10.0%. This assay procedure was applied to the study of metabolite pharmacokinetics of triflusal and HTB in rats. It was supposed that triflusal was almost metabolized *in vivo* because urinary and biliary excreted amounts of triflusal could be ignored as it was lower than 1.2% of the administered dose. According to the gastrointestinal and hepatic biotransformation pathways of triflusal, it was found that triflusal was hydrolyzed by about 5% in intestine and metabolized by about 53% in liver, and that the bioavailability of triflusal after oral administration of triflusal was 0.44, and also that the fraction of total elimination rate of triflusal which formed HTB in liver (F_{mi} , %) was about 98%. These results showed that triflusal was almost metabolized in liver, and the total elimination of triflusal in the body was dependent to the formation rate of HTB from triflusal in liver.

Keywords—Triflusal, 2-Hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid, Intestinal and hepatic first-pass effect, HPLC

트리플루살(triflusal, 2-acetoxy-4-trifluoromethyl benzoic acid, Figure 1)은 혈관벽의 prostacyclin의 생합성에는 영향을 미치지 않고 혈소판 cyclooxygenase만을 선택적으로 억제하여 thromboxane B₂의 생성을 저해함과 동시에 혈소판 c-AMP의 농도를 증가시킴으로써 혈소판 응집억제작용을 나타낸다. 또한 혈액계 부작용, 위장장애, 출혈 위험 등의 부작용이 적기 때문에 뇌혈관장애, 협심증, 동맥경화증, 수술 후 혈전증, 당뇨병성 말초혈관 질환에 널리 사용되고 있다.^{1,2)} 트리플루살은 경구투여시 그 생체이용율이 높게 나타나며 체

(HTB, Figure 1)는 트리플루살보다도 강한 약리활성을 나타내는데, 트리플루살을 사람에게 경구 투여하였을 때 최고 혈청 농도에 도달하는 시간은 약 40분 이내이며 반감기는 약 0.53시간이고 그 주 대사체인 HTB의 반감기는 약 34.3시간으로 보고되어 있다.^{3,4)} 또한, 트리플루살은 *in vitro*에서도 거의 대부분이 가수분해되어 활성대사체인 HTB로 변환되는데 트리플루살을 흰쥐에 투여할 경우 혈장중 트리플루살 농도는 매우 낮고 변환된 HTB가 2.5분 이내에 매우 높은 농도로 나타난다고 한다.⁵⁾

Ramis 등³⁾은 트리플루살이나 HTB를 흰쥐, 개와 사람에게 투여하여 혈장중 트리플루살과 HTB를 HPLC를 사용한 정량법을 보고하였으나, 이들이 사용한 방법은 트리플루살과 HTB에 대한 분석조건을 달리한 것이었으며 정량한계도 양

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
Tel: 062)530-2931, E-mail: leeyb@chonnam.chonnam.ac.kr

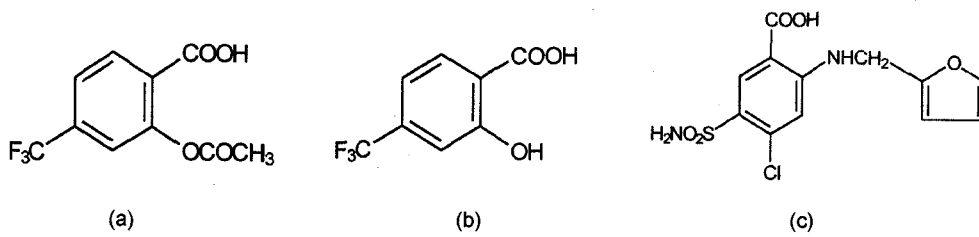


Figure 1—Chemical structures of (1) triflusal, (2) 2-hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid (HTB) and (3) furosemide (internal standard, I.S.).

호하지 못했다. 따라서, 본 연구에서는 우선 먼저 트리플루살과 HTB를 동시정량하여 생체시료분석에 응용 가능한 새로운 HPLC 동시분석조건을 확립하고자 하였다.

아울러, 본 연구에서는 흰쥐에게 경구와 정맥내 및 간문맥내로 트리플루살을 각각 투여하여 얻은 혈장중 약물농도 추이와 그 주대사체인 HTB를 정맥내 투여하여 얻은 혈장중 약물농도추이를 약물속도론적으로 해석함으로써 트리플루살의 위장관내 및 간내 초회통과효과를 규명하고, 트리플루살의 HTB로의 대사에 미치는 위장관 및 간대사의 상대적인 기여도를 밝히고자 하였다.

실험방법

시약 및 기기

트리플루살(하나제약, 서울, 대한민국), 2-hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid(J. Uriach & Cia Research Center, Barcelona, 스페인), 푸로세미드(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, 미국, Figure 1), HPLC용 아세토니트릴, 메탄올(이상 Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, 미국), 85% ortho-phosphoric acid(Fluka Chemie AG., Bushs, 스위스), 생리식염수 및 헤파린(이상 중외제약, 서울, 대한민국) 등을 사용하였으며, 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, 미국)에서 18 MΩ-cm로 통과시킨 것을 실험에 사용하였고 클로로포름, 염산 및 기타 시약들은 특급 및 1급 시약들을 그대로 사용하였다. 그리고, 이동상의 구성성분들은 0.45 μm-membrane filter로 여과하여 사용하였다. 기기로는 원심분리형 농축기(CVE-200D, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, 일본), 원심분리기(UNION 55R, Hanil Science Industrial Co., 인천, 대한민국), 초저온냉동고(DF8514, 일신랩, 서울, 대한민국), 탁상용 혼합기(G560, Scientific Co., Bohemia, NY, 미국) 등을 사용하였고 HPLC system은 펌프(LC-10ADvp, Shimadzu, Tokyo, 일본), SPHERI-10 RP18 컬럼(100×4.6 mm, 입자경 10 μm, Alltech, 미국), UV-VIS 검출기(SPD-10A, Shimadzu, Tokyo, 일본), 주입기(Model

7725, Rheodyne, Cotati, CA, 미국), 적분계(Model Class-VP, Shimadzu, Tokyo, 일본)를 사용하였다.

실험동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 6주령의 Sprague-Dawley (S.D.)계 웅성 흰쥐를 물과 사료를 자유로이 공급하여 1주간 동일 조건(20~25°C, 50~60% RH, 조명은 12시간 명암주기)에서 사육한 후 체중 200~300 g에 해당하는 것을 사용하였으며 실험중에는 사료와 물을 공급하지 않았다.

약물투약

12시간 절식시킨 실험동물을 에테르로 가볍게 마취시킨 후 왼쪽 대퇴부 동·정맥에 PE-50 폴리에틸렌관(Intramedic®, Clay Adams, Parsippany, NJ, 미국)을 삽입하였다. 간문맥내 투여군에서는 간문맥에 25개이지 주사침이 장치된 폴리에틸렌관을 간문맥 혈류가 저해받지 않도록 삽입하고 cyanoacrylate 접착제(Aron-α®, Toagasei Chemical Industry, Tokyo, 일본)를 사용하여 고정시킨 후 봉합견사를 사용하여 절개부위를 봉합하였다. 그리고 체온은 직장온도 probe와 온도조절기 및 heating pad(CFP8285, Bioscience, Sheerness, Kent, 영국)를 통하여 전 실험기간동안 체온을 일정하게 유지하여 주었으며 마취에서 회복되었을 때 실험하였다. 약물투여는 트리플루살을 7.2 mM NaHCO₃ 용액(pH 7.4)에 녹여 kg당 10 mg/2 ml의 용량으로 경구, 정맥내 및 간문맥내로 각각 투여한 후 일정시간 간격으로 대퇴동맥으로부터 혈액 약 300 μl를 취하고, 관속에 남아있는 혈액은 헤파린액(20 IU/ml)을 사용하여 동물체내에 밀어 넣었으며 실험을 보상에 주기 위하여 동량의 생리식염수를 투여하였다. 마지막 채혈이 끝난 직후 방광내 요를 주사침을 통하여 뽑아내어 실험기간 동안 배설된 요와 합하여 배설된 요중 총배설량을 구하였으며 담즙은 약물투여 직후부터 최종 채혈시간까지 배설된 담즙중 총배설량을 구하였다. 채혈한 혈액은 곧바로 12,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 혈장 100 μl를 취해서 정량할 때까지 -70°C에서 보관하였다.

Table I—HPLC Conditions for the Simultaneous Determination of Triflusal and HTB in Rat Plasma

Parameters	Conditions
Mobile phase	Acetonitrile:Methanol:Water (25:10:65, v/v/v, pH 2.5 with ortho-phosphoric acid)
Flow rate	1.6 ml/min
Column	SPHERI-10 RP 18 column (particle size 10 μm, 100 × 4.6 mm, Alltech) with NewGuard™ Cartridge Holder
Detector	UV detector (SPD-10A, Shimadzu)
Wavelength	234 nm
Injection volume	50 μl

트리플루살과 HTB의 동시정량

혈장중 트리플루살과 HTB의 함량을 동시정량하기 위하여 이미 보고된 살리실산의 HPLC 분석법⁶⁾을 다소 수정하여 Table I의 조건에 따라 측정하였으며 내부표준물질로서 푸로세미드를 이용한 시료의 추출조건은 다음과 같다. 혈장 0.1 ml에 푸로세미드(0.5 μg/ml) 100 μl와 염산용액 100 μl를 넣고 3초간 vortexing한 후 추출용매(클로로포름:아세트니트릴=60 : 40, v/v) 1.5 ml를 넣고 정확히 3분간 vortexing한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 유기층(하층) 1 ml를 원심분리관에 옮기고 이를 원심분리형 농축기를 이용하여 25°C 질소 가스하에서 증발·건조시키고 그 잔사를 100 μl의 이동상에 다시 녹인 후 50 μl를 취하여 HPLC system을 이용하여 분석하였다. 검량선은 트리플루살과 HTB의 표준액(각각 1,000 μg/ml)을 각각 흰쥐 혈장으로 희석하여 트리플루살은 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0, 2.0 및 5.0 μg/ml가 되도록, HTB의 경우에는 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100.0 및 200.0 μg/ml가 되도록 만든 후 상기 추출조건에 따라 추출하여 얻은 내부표준물질에 대한 시료물질의 피이크 높이비로서 작성하였으며 분석조건을 검정하기 위하여 일내 변동과 연속 3일간의 일간 변동률(C.V. %) 및 이동상 약물농도를 기준으로 한 상대적 추출률을 구하였다. 또한, 각 농도에서 10회 반복 측정하여 분석의 정확성을 평가하였다. 한편, 요중 및 담즙중 트리플루살과 HTB의 농도는 혈장중 농도 정량법에 따라 정량하였다.

통계처리 및 약물속도론적 분석

약물투여 후 얻은 혈장중 트리플루살과 HTB의 농도는 WinNonlin 프로그램⁷⁾을 이용하여 초기치를 구한 후 가중치 1을 사용하여⁸⁾ 피팅하였으며 피팅의 적합도는 Akaike의 정보량 기준치(AIC)⁹⁾를 이용하여 결정하였다. 시간 0부터 ∞

까지의 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 trapezoidal 방법에 따라 계산한 값과 최종 채혈시점의 혈장중 약물농도를 최종 소실상 기울기로 나누어 외삽하여 구한 값을 더하여 구하였으며¹⁰⁾ 다른 약물속도론 파라미터 즉, 전신 혈장 클리어런스(Cl_T), 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적 1차 모멘트(AUMC), 간내 및 위장관내 평균 체류시간(MRT_h 및 MRT_g), 정상상태에서의 길보기 분포용적(V_{ss}), 요중 및 담즙중 미변화체 배설분율(f_u 와 f_b), 경구투여후 생체이용률(F_{po}), 간 초회통과효과(F_h)와 위장관 초회통과효과(F_g)를 다음 수식¹¹⁾에 따라 구하였다.

$$Cl_T = Dose/AUC \tag{1}$$

$$AUMC = \int_0^{\infty} t \cdot C_p dt \tag{2}$$

$$MRT = AUMC/AUC \tag{3}$$

$$V_{ss} = Cl_T \cdot MRT \tag{4}$$

$$f_u = X_u/Dose \tag{5}$$

$$f_b = X_b/Dose \tag{6}$$

$$F_h = \frac{AUC_{pv} \cdot Dose_{iv}}{AUC_{iv} \cdot Dose_{pv}} \tag{7}$$

$$F_g = \frac{AUC_{po} \cdot Dose_{pv}}{AUC_{pv} \cdot Dose_{po}} \tag{8}$$

$$F_{po} = F_g \times F_h \tag{9}$$

$$MRT_h = MRT_{pv} - MRT_{iv} \tag{10}$$

$$MRT_g = MRT_{po} - MRT_{pv} \tag{11}$$

이때, C_p 는 시간 t 에서의 트리플루살이나 HTB의 혈장중 약물농도를, $Dose$ 는 투여량을 의미하고 아래첨자 iv , pv 및 po 는 각각 정맥내, 간문맥내 및 경구 투여경로를 의미한다. X_u 나 X_b 는 시간 ∞까지 배설된 요중 및 담즙중 총배설량을 의미하나 본 연구에서는 72시간 이후의 요중 및 담즙중 배설량은 거의 무시할 수 있었기 때문에 72시간까지의 배설량을 사용하였다.

한편, 투여량 범위내에서는 트리플루살이나 HTB의 간내 대사가 포화되지 않으며, 간내에서 트리플루살로부터 HTB가 형성되는 속도(k_m)는 체순환혈로의 이행속도와 동일하다고 가정하여, 생체내에서 트리플루살이 대사받는 분율(F_m)과 트리플루살이 HTB로 간내에서 대사받는 분율(F_{mi}) 및 대사속도($k_{m,cal}$)를 다음 수식에 따라 구하였다.¹²⁾

$$F_m = 1 - (f_u + f_b) \tag{12}$$

$$F_{mi} = (AUC_{m,p})_{iv} \cdot (Dose_m)_{iv} / (AUC_m)_{iv} \cdot (Dose)_{iv} \tag{13}$$

$$k_{m,cal} = 0.693 F_{mi} / t_{1/2, \beta} \tag{14}$$

이때, $AUC_{m,p}$ 는 트리플루살 정맥투여후 체내에서 형성된 HTB의 혈장중 농도-시간 곡선하 면적을, AUC_m 은 HTB를 정맥내 투여한 후 얻어진 HTB의 AUC 를 의미하고 $t_{1/2, \beta}$ 는 트리플루살 정맥투여 후 얻어진 최종 소실상에서의 반감기를 나타내고 있다.

전신 혈장클리어런스(CL_T)와 정상상태에서의 겉보기 분포용적(V_{ss})을 제외한 모든 측정치와 계산치는 산술평균±표준편차(S.D.)로 표시하였으며, CL_T 와 V_{ss} 는 산술평균 대신 조화평균값¹³⁾을 사용하였다. 각 군간의 차이에 관한 검정은 Student의 unpaired *t*-test에서 $p < 0.05$ 인 경우만을 유의성 있다고 판정하였다.

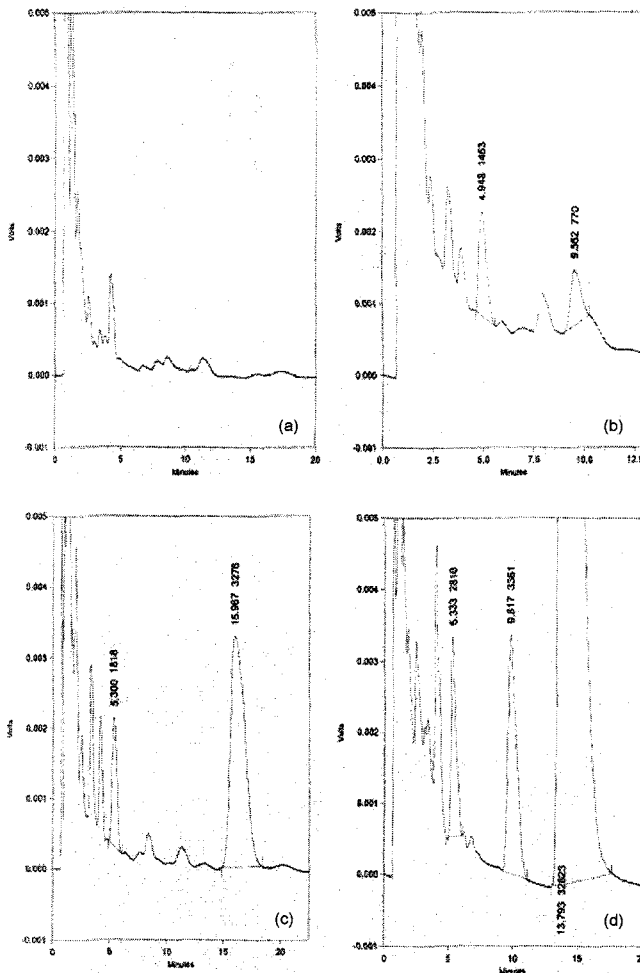


Figure 2—High-performance liquid chromatograms of (1) blank rat plasma, (2) rat plasma sample containing triflusal (2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and furosemide, the I.S. (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), (3) rat plasma sample containing HTB (5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and the I.S. (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and (4) rat plasma sample taken at 5 min after intravenous administration of triflusal and spiked with the I.S. (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Peaks: furosemide (I.S., 5.3 min), triflusal (9.5 min) and HTB (15 min).

결과 및 고찰

트리플루살과 HTB의 HPLC 동시정량

흰쥐의 대조혈장, 트리플루살(2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)과 내부표준물질인 푸로세미드(0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)를 포함하는 혈장, HTB(5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$)와 푸로세미드(0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)를 포함하는 혈장 및 트리플루살 10 mg/kg를 정맥투여한 후 5분째의 혈장에 내부표준물질인 푸로세미드를 스파이킹한 크로마토그램을 Figure 2에 나타내었다. 각 물질의 피크 출현 시간은 내부표준물질인 푸로세미드는 약 5.3분, 트리플루살은 약 9.5분, HTB는 약 15.0분으로 각 물질의 분리상태는 양호하였으며, 혈장, 요 및 담즙 중 성분과의 간섭현상은 일어나지 않았다. 신호대 잡음비(S/N ratio)를 4로 하였을 때의 정량한도는 트리플루살은 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$, HTB는 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다. 내부표준물질의 피크 높이에 대한 트리플루살과 HTB의 피크 높이비로 구한 트리플루살과 HTB의 검량선은 각각 피크 높이비=0.2677×농도+0.0146($r=0.99$, $p < 0.01$) 및 피크 높이비=0.3954×농도+0.7706($r=0.99$, $p < 0.01$)로 각각의 혈장중 농도범위에서 양호한 직선성을 나타내었으며 이들 농도범위에서 트리플루살의 일내 변동계수(C.V. %)는 9.6% 이하, 일간변동계수는 10.8% 이하였고, HTB의 일내변동계수(C.V. %)는 9.5% 이하, 일간변동계수는 9.6% 이하였다. 그리고, 이동상에 녹인 각 약물의 피크 높이에 대하여 동일 농도의 혈장 추출물의 피크 높이로부터 구한 상대적 추출 회수율은 트리플루살인 경우 $95.7 \pm 2.3\%$, HTB인 경우 $96.5 \pm 4.3\%$ 로 나타났으며 두 약물 모두 각 농도에서 10회 반복 측정하여 얻은 표준편차(% deviation)도 모두 10% 미만으로 나타났다. 한편, 요 및 담즙에 대한 트리플루살과 HTB의 정량 결과는 모두 혈장에 대한 정량 결과의 실험 오차 범위내에 존재하였다. 이로부터 트리플루살과 HTB에 대한 상기 HPLC 동시 분석법은 흰쥐의 혈장, 요 및 담즙을 이용하여 트리플루살의 대사동태를 연구하기에 충분한 감도와 재현성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

트리플루살의 HTB로의 대사분율

트리플루살(10 mg/kg)을 대퇴정맥내, 간문맥내 및 경구로 투여하여 얻은 혈장중 트리플루살의 농도를 Figure 3에, 이로부터 형성된 트리플루살의 대사체인 HTB의 농도추이를 Figure 4에, HTB(10 mg/kg)를 대퇴정맥내로 투여한 후의 혈장중 HTB의 농도추이를 Figure 5에 나타내었다. 이들 그림에서 실선은 WinNonlin 프로그램⁷⁾에 의해서 초기치를 구한 후 기중치¹⁸⁾을 주어 피팅한 결과이며, 이로부터 얻은 약물 속도론적 파라미터를 Table II와 III에 나타내었다.

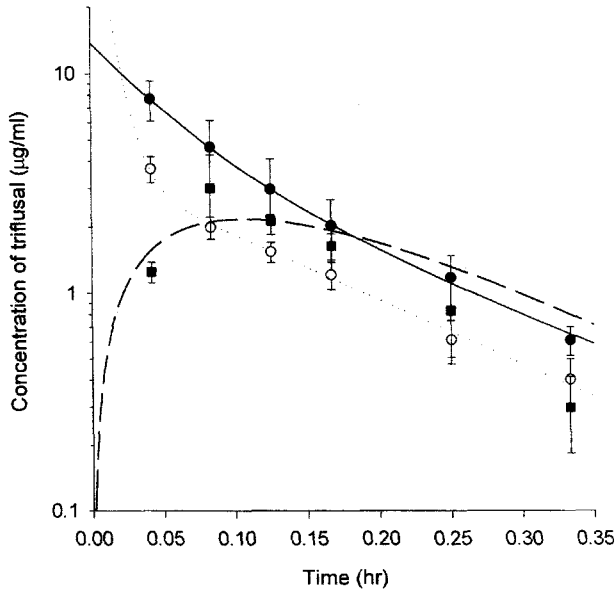


Figure 3—Mean arterial plasma concentration-time profiles of triflusal after oral, femoral vein and portal vein administrations of triflusal (10 mg/kg) to rats (n=4~6). Each solid line was calculated by WinNonlin. Vertical bar represents the standard deviation of the mean. Keys: ●, i.v.; ○, p.v.; ■, p.o..

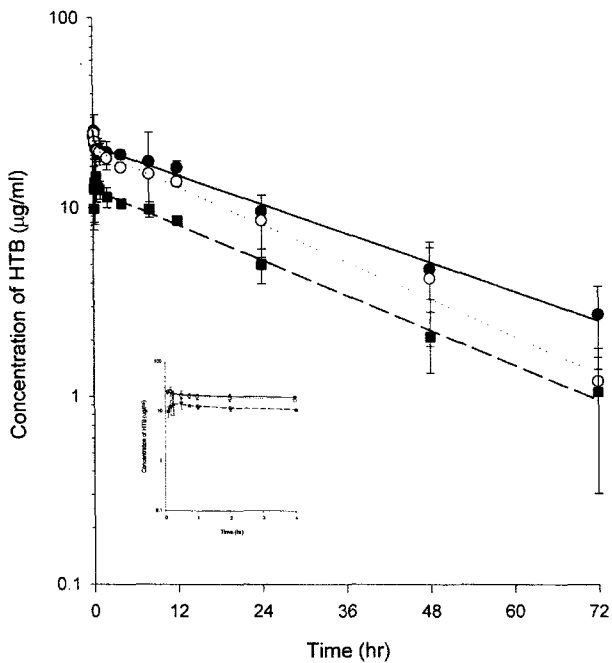


Figure 4—Mean arterial plasma concentration-time profiles of HTB after oral, femoral vein and portal vein administrations of triflusal (10 mg/kg) to rats (n=4~6). Each solid line was calculated by WinNonlin. Vertical bar represents the standard deviation of the mean. Keys: ●, i.v.; ○, p.v.; ■, p.o..

트리플루살은 대퇴정맥내, 간문맥내 및 경구 투여경로와 무관하게 그 담즙중 및 요중 배설분율(f_b 및 f_u)이 모두 1%

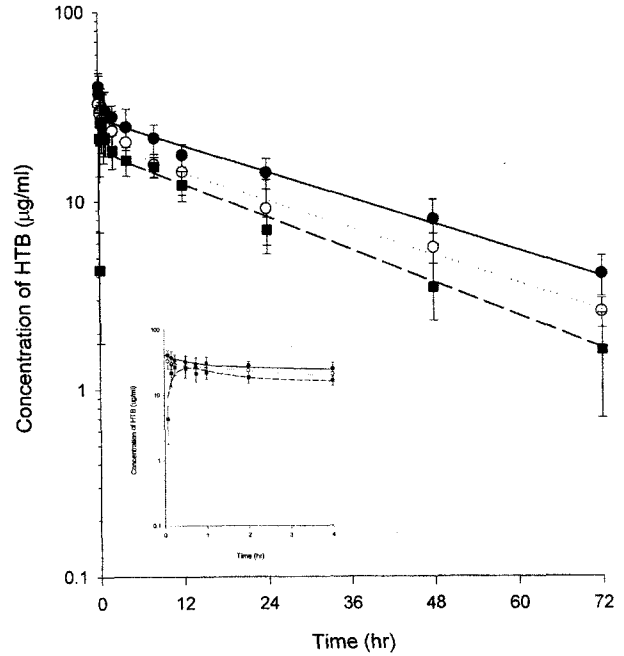


Figure 5—Mean arterial plasma concentration-time profiles of HTB after femoral vein administration of HTB (10 mg/kg) to rats (n=4~6). Each solid line was calculated by WinNonlin. Vertical bar represents the standard deviation of the mean. Keys: ●, i.v.; ○, p.v.; ■, p.o..

Table II—Pharmacokinetic Parameters of Triflusal after Oral, Femoral Vein and Portal Vein Administrations of Triflusal to Rats (10 mg/kg)[#]

Parameters	Oral	Femoral vein	Portal vein
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$)	0.55 ± 0.05	$1.24 \pm 0.18^*$	0.58 ± 0.08
Cl_T ($\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$)		8230 ± 1114	
$t_{1/2}$ (hr)	0.054 ± 0.015	0.096 ± 0.016	0.122 ± 0.012
V_{ss} (ml/kg)		936 ± 187	
MRT (hr)	0.157 ± 0.010	$0.113 \pm 0.009^*$	0.148 ± 0.010
f_u (%) ^{a)}	0.53 ± 0.12	0.68 ± 0.21	0.69 ± 0.22
f_b (%) ^{b)}	0.67 ± 0.31	0.88 ± 0.40	0.77 ± 0.32
F_m (%) ^{c)}	8.24 ± 0.57	98.4 ± 0.7	98.4 ± 0.8
AUC_{HTB} ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$) ^{d)}	359 ± 47	$938 \pm 59^*$	550 ± 83

All parameters were calculated by statistical moment analysis.

^{a)}Urinary excreted fraction (f_u , %) calculated by X_u /administered dose.

^{b)}Biliary excreted fraction (f_b , %) calculated by X_b /administered dose.

^{c)}Metabolized fraction (F_m) calculated by $1 - (f_u + f_b)$.

^{d)} AUC_{HTB} is the area under the concentration-time curve of HTB after triflusal administration.

[#]Mean \pm S.D. (n = 4~6).

*P < 0.05 between the one and the other two groups.

미만으로 체내에서 모두 대사되어 소실됨을 알 수 있었으며 투여경로와 무관하게 그 생체내 소실반감기($t_{1/2}$)는 약 0.1시간으로 매우 짧고 그 전신 혈장클리어런스(Cl_T)는 매우 크게

Table III—Pharmacokinetic Parameters of HTB after Femoral Vein Administrations of HTB to Rats (10 mg/kg)[#]

Parameters	Femoral vein
AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$)	954 \pm 46
Cl_T ($\text{ml}/\text{hr}/\text{kg}$)	10.7 \pm 0.6
$t_{1/2}$ (hr)	24.4 \pm 2.5
V_{ss} (ml/kg)	363 \pm 12.5
MRT (hr)	31.6 \pm 2.2

Table IV—Gastrointestinal and Hepatic Metabolism-related Parameters of Triflusal in Rats

Parameters	Triflusal
MRT_h (hr)	0.04
MRT_g (hr)	0.01
F_{mi} (%)	98.3
F_h (%)	46.5
F_g (%)	94.8
F_{po} (%)	44.1
$k_{m,cal}$ (hr^{-1})	7.1

나타남을 알 수 있었다(Table II). 이에 반하여 트리플루살로부터 생성된 주 활성대사체인 HTB나 외부로부터 정맥투여된 HTB는 그 생체내 소실반감기($t_{1/2}$)가 약 24.4시간으로 매우 길며 그 전신 혈장클리어런스(Cl_T)는 매우 작게 나타남을 알 수 있었다(Figure 4와 5 및 Table III). 그리고 이러한 결과들은 Ramis 등⁵⁾이 보고한 내용과도 잘 일치하였다.

한편, 트리플루살의 위장관 통과 체류시간은 약 0.01시간으로 매우 짧고 그 통과율은 약 95%이며 간내 체류시간은 약 0.035시간으로 간 초회통과효과 즉, 간 통과율은 약 47%로 경구투여된 트리플루살은 위장관에서 약 5%만이 대사되고 간에서 약 53% 대사받아 경구투여시 트리플루살의 생체이용률은 약 44%가 됨을 알 수 있었다(Table IV). 아울러, 트리플루살의 간내 체류시간(MRT_h)은 약 0.035시간으로 간은 정맥투여시 트리플루살의 체내 총 체류시간(MRT)인 약 0.113시간의 약 31%를 차지하는 매우 중요한 장기가 됨을 알 수 있었다(Table IV). 또한, 이렇게 간으로 귀속된 트리플루살이 HTB로 대사받는 비율(F_{mi})은 약 98%로 간으로 귀속된 트리플루살은 거의 모두 HTB로 변환하고 그 변환속도($k_{m,cal}$)도 매우 커 그 반감기가 약 0.1시간으로 이는 트리플루살의 생체내 소실반감기인 약 0.1시간과 거의 일치함을 알 수 있었다(Table IV). 이는 트리플루살의 생체내 소실속도는 결국 트리플루살로부터 HTB가 생성되는 속도를 반영하고 있음을 시사하고 있다. 그렇지만, 트리플루살은 위장관이나 간 이외의 조직과 장기에서도 대사받을 가능성이 크고 혈장중에 존재하는 에스테라제에 의해서도 HTB로 대사받을

가능성이 있으므로 이러한 *in vitro*와 *in vivo*에서의 트리플루살의 HTB로의 대사동태를 종합적으로 표현할 수 있는 대사동태 모델을 수립할 필요가 있음을 알 수 있었다.

결 론

흰쥐에 트리플루살과 HTB를 각각 정맥내 투여(10 mg/kg)하고 트리플루살을 경구 및 간문맥내로 따로 투여(10 mg/kg)하여 얻은 혈장중, 담즙중 및 요중 트리플루살과 HTB의 농도를 HPLC를 이용하여 동시정량하고 약물속도론적으로 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제시된 트리플루살과 HTB의 HPLC 동시 분석법은 그 추출율이 트리플루살은 95.7 \pm 2.3%, HTB는 96.5 \pm 4.3%이었고, 정량한계가 트리플루살은 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$, HTB는 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 그 변동성이나 정확성을 나타내는 편차도 모두 10% 미만으로 나타났을 뿐만 아니라 흰쥐의 혈장, 요 및 담즙 중 구성성분과도 간섭현상이 없이 잘 분리되었다. 이로부터 본 동시정량법은 트리플루살과 HTB의 대사동태를 연구하기에 충분한 감도와 재현성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

2. 요 및 담즙중으로 배설된 트리플루살의 총 배설량이 각각 투여량의 1% 미만인 것으로부터 트리플루살은 체내에서 거의 모두 대사를 받아 HTB로 변화하고 있음을 알 수 있었다.

3. 경구투여된 트리플루살은 위장관에서 약 5%만이 대사되고 간에서 약 53% 대사받아 경구투여시 트리플루살의 생체이용률은 약 44%가 됨을 알 수 있었으며 간으로 귀속된 트리플루살이 HTB로 대사받는 비율(F_{mi})은 약 98%로 간으로 귀속된 트리플루살은 거의 모두 HTB로 변환하고 그 변환속도($k_{m,cal}$)도 매우 커 그 반감기가 약 0.1시간으로 이는 트리플루살의 생체내 소실반감기인 약 0.1시간과 거의 일치함을 알 수 있었다. 이는 트리플루살의 생체내 소실속도는 결국 트리플루살로부터 HTB가 생성되는 속도를 반영하고 있음을 시사하고 있다.

감사의 말씀

이 논문은 2000년도 전남대학교 학술연구비 지원과 2001년도 두뇌한국 21사업 핵심분야의 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

문 헌

- 1) W. McNeely and K.L. Goa, Triflusal, *Drugs*, 55, 825-833

- (1998).
- 2) A.F. de Arriba, F. Cavalcanti, A. Miralles, Y. Bayon, A. Alonso, M. Merlos, J. Garcia-rafanell and J. Forn, Inhibition of cyclooxygenase-2 expression by 4-trifluoromethyl derivatives of salicylate, triflusal, and its deacetylated metabolite, 2-hydroxy-4-trifluoromethyl benzoic acid, *Mol. Pharmacol.*, **55**, 753-760 (1999).
 - 3) J. Ramis, J. Torrent, R. Mis, L. Conte, M.J. Barbanoj, J. Jane and J. Forn, Pharmacokinetics of triflusal after single and repeated doses in man, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **28**, 344-349 (1990).
 - 4) J. Ramis, R. Mis, J. Forn, J. Torrent, E. Gorina and F. Jane, Pharmacokinetics of triflusal and its main metabolite HTB in healthy subjects following a single oral dose, *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, **16**, 269-273 (1991).
 - 5) J. Ramis, R. Mis, and J. Forn, Pharmacokinetics of triflusal and its main metabolite in rats and dogs, *ibid*, **16**, 261-268 (1991).
 - 6) I.R. Tebbett and C.I. Omile, Determination of paracetamol, salicylic acid and acetyl salicylic acid in serum by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **329**, 196-198 (1985).
 - 7) WinNonlin™ User's Guide Ver. 3.0, Pharsight Corp. Mountain View, CA, USA (1999).
 - 8) H.G. Boxenbaum, S. Riegelman and R.M. Elashoff, Statistical estimations in pharmacokinetics, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **2**, 123-148 (1974).
 - 9) K. Yamaoka, T. Nakagawa and T. Uno, Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations, *ibid*, **6**, 165-175 (1978).
 - 10) W.L. Chiou, Potential pitfalls in the conventional pharmacokinetic studies. Effects of the initial mixing of drug in blood and the pulmonary first-pass elimination, *ibid*, **7**, 527-536 (1979).
 - 11) S. Riegelman and P. Collier, The application of statistical moment theory to the evaluation of *in vivo* dissolution time and absorption time, *ibid*, **8**, 509-534 (1980).
 - 12) K.S. Pang, A review of metabolite kinetics, *ibid*, **13**, 633-645 (1985).
 - 13) W.L. Chiou, New calculation method for mean apparent drug volume of distribution and application to rational dosage regimens, *J. Pharm. Sci.*, **68**, 1067-1069 (1979).