

## Lysino-Methylene-Ampicillin의 Rat 小腸吸收에 관한 研究

陳今燮 · 金鍾甲 · 金在百

中央大學校藥學大學 · 圓光大學校藥學大學

### The Intestinal Absorption of Lysino-Methylene-Ampicillin in Rat

Kum Sup Chin\* Jong Kap Kim\* and Jae Baek Kim\*\*

(Received Feb. 30, 1979)

The absorption rate of lysino-methylene-ampicillin from the rat small intestine, compared with ampicillin, was determined *in vitro* and *in situ* to establish the biopharmaceutical properties of lysino-methylene-ampicillin which is one of the new penicillinase-resistance antibiotics.

The half of administered dose was absorbed rapidly within thirty minutes.

The water-oil distribution coefficient of lysino-methylene-ampicillin was 0.03 in chloroform *versus* buffer system with  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -citric acid of pH5.2 at 37°C, and its dissolution rate reached the plateau in an hour and then represented 0.6 percent of equilibrium solubility

醫藥品の 效能의 크기는 그 醫藥品 固有의 藥物活性과 이에 對한 生體個個의 感受性 및 作用部位에 있어서의 藥物濃度의 函數로 取扱되고 있다.

또 作用部位에 있어서의 藥物濃度는 주로 藥物의 吸收 · 分布 · 代謝 및 排泄의 速度에 依하여 左右되는 境遇가 支配的이므로 藥物의 血中濃度의 영향이 크다.

現在 penicillins系中の 몇개 半合成 penicillin은 抗生物質界에서 아직도 重要한 位置를 차지하고 있다. 最延 gram negative菌에 對하여 ampicillin보다 2~3倍의 效果가 있고 耐性菌에 抵抗力이 있으며 比較的 安定性이 높고 毒性이 적은 半合成의 lysino-methylene ampicillin trihydrate (以上 LMP라고 略함)을 새로이 合成<sup>1,3-6)</sup>되어 이에 對한 抗菌力도 發表<sup>2)</sup>

\* College of Pharmacy, Chung Ang University

\*\* College of Pharmacy, Won Kwang University

되었으나 아직 이에 對한 生物藥劑學的인 研究에 對하여서는 報告된 바 없다. 著者는 LMA와 ampicillin의 溶解度, 分配係數, 溶出速度 및 吸收速度 등의 生物藥劑學的研究을 한 결과를 報告하는 바이다.

## 實驗方法

**Serosal 溶液**<sup>7)</sup>-Disodium phosphate 28.5g 및 citric acid 19.2g을 각각 새로 증류한 증류수에 溶解하여 全量을 1,000ml로 한 다음 각각 356ml과 464ml를 使用直前に 混和하면서 pH를 5.2로 조정한다.

**Macosal 溶液**<sup>7)</sup>-上記 Serosal溶液 500ml에 AMP trihydrate 10mg, LMA trihydrate 14mg을 각각 溶解시켜 ml當 ampicillin으로서 20mg當量이 含有되게 하여 이 溶液을 in vitro 및 in situ의 還流溶液으로 使用한다.

**Copper sulfate 溶液**—Copper sulfate (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) 3.93g을 精確히 稱量하여 증류수에 溶解시켜 全量을 1,000ml로 한다.

**還流方法**—一定한 條件下에서 飼育한 體重 180~220g의 Sprague-Dowley雄性的 白鼠로 一晝夜 絶食시키고 實驗直前に sodium pentobarbiturate를 體重 50mg/kg로 腹腔內에 注射하여 麻醉시켜 使用한다.

Wiseman 및 Simyth<sup>8)</sup>裝置을 使用하여 37±1°C 恒溫槽內에 裝置하고 麻醉된 Rat의 腹腔正中線을 開腹한 다음 小腸을 摘出하여 37°C에서 一般操作法에 따라 施行하였다. 小腸으로부터 吸收된 量을 알기爲한 溶液의 採取는 還流始作하여 2分後를 初回로 하여 mucosal溶液 1ml씩을 上部에서 每30分 間격으로 3時間동안 採取한다.

한편 採取操作時에서 除去되는 mucosal溶液의 減量을 補充하기 爲하여 每 mucosal 溶液을 採取即時 새로운 serosal 溶液 1.0ml씩을 補充한다.

**LOOP 還流方法**<sup>9)</sup>—麻醉된 白鼠를 腹部切開手術하여 Schanker氏의 還流法을 따랐다.

藥液의 採取는 還流始作 30分經過後에 2.0ml을 取하여 初濃度로 하고 每30분마다 採取하여 吸收된 量을 定量하고 한편 이 때 採取한 量만큼의 serosal溶液으로 補充한다.

**LMA의 定量**—Ampicillin의 定量法에 生物檢定法과 物理化學的 分析法의 2方法이 있으나 LMA에서는 U. V. spectrum (Model Acta III. Beekman U. S. A.)에 依한 吸光度 測定法으로 定量하였다.

**分配係數의 測定**<sup>7,10)</sup>—腸管을 통한 藥物의 吸收가 分配係數에 影響이 있다는 報告<sup>11)</sup>에 따라 本實驗을 하였다.

Ampule에 LMA 및 ampicillin 각각 試料濃度(0.165m. mole)를 溶解시킨 mucosal溶液 10ml와 chloroform<sup>12,13)</sup> 10ml을 같이 넣어서 熔封하고 37±2°C에서 2時間에 걸쳐 20回 一定間隔으로 진탕한 後 水層을 取하여 LMA 및 ampicillin의 試料量을 定量하여 式(I)에 代入하여 equilibrium solubility에 있을 때의 分配後數를 求하였다.

**溶出速度의 測定**—Dissolution tester(USP XIX, Erweka GmbH Offenbach) 利用하여 常法에 따라 各試料의 溶出速度를 測定하였다. 이 때에 使用했던 membrane filter의 poresize는 0.45μ이며 測定溫度는 LMA의 安定性을 維持하기 爲하여 30±1°C 및 前述의 pH 5.2의 buffer溶液을 使用하였다.

### 結論 및 考察

吸收—LMA의 *in vitro* 및 *in situ*의 方法에 依하여 白鼠 小腸吸收量을 時間別로 測定한 結果는 Table I 및 Table II와 같다.

**Table I**—The Absorbed Percent of Lysino-Methylene-Ampicilline Trihydrate and Ampicillin Trihydrate Through the Rat's Intestine *in Vitro*

Time (min)	<i>In Vitro</i>	
	LMA · 3H <sub>2</sub> O	AMP · 3H <sub>2</sub> O
2	1.80	3.15
30	12.80	4.30
60	19.45	5.55
90	24.60	6.75
120	28.95	8.25

***In Vitro* 試驗**—Table I에서 보는 바와 같이 LMA는 實驗開始後 2分後의 吸收퍼센트는 1.80, 30分後는 12.80, 120分後는 28.95%인데 비해 ampicillin는 實驗開始後 2分後는 3.15, 30分後는 4.30, 60分後는 5.55, 90分後는 6.75, 120分後는 8.25%이다. 따라서 LMA의 120分 동안에 總吸收量은 28.95%이고 이 28.95%를 100으로 볼 때 2分後는 85.0%가 吸收된다. 이에 對하여 ampicillin은 120分 동안에 總吸收量은 8.25%이며, 이 8.25%를 100으로 볼 때 2分後는 全體吸收量의 38.2%, 30分後는 52.1%, 60分後는 67.3%, 90分後는 75.6%가 吸收된다.

따라서 LMA의 吸收率은 ampicillin보다 25.9%의 增加를 보여 결국 吸收率이 3.5배나 큰 것으로 나타났다.

投與後 時間에 따른 吸收率의 變化는 總吸收量의 半量以上이 實驗開始後 60分以內에 吸收되어 (LMA 67.2%, ampicillin 67.3%) 時間이 經過함에 따라 吸收되는 速度가 느려졌다.

***In Situ* 試驗**—한편 *in situ*에 依한 白鼠의 小腸吸收는 Table II과 같으나 LMA나 ampicillin가 다 같이 初期에는 吸收率이 높다가<sup>14)</sup> 時間經過에 比例하여 減少되는 경향이 있다.

**Table II**—The Absorbed Percent of LMA Trihydrate and Ampicillin Trihydrate Through The Rat's Intestine *in Situ*

Time (min)	<i>In Situ</i>	
	LMA · 3H <sub>2</sub> O	AMP · 3H <sub>2</sub> O
2	—	—
30	83.20	63.75
60	79.00	47.50
90	75.00	35.00
120	71.70	25.50

LMA의 경우 初期(30分經過後)는 83%까지 가다가 2時間에서 71.7%가 되며 AMP는 初期(30分經過後)에서 63.75%이나 2時間後에서는 25.5%쯤 된다.

따라서 ampicillin對 LMA의 初期吸收率은 1.3배이며 2時間經過後는 2.8배인데 全面的 그라프의 分布狀況을 보면 LMA는 83.60% 範圍의 높은 比率인데 比하여 ampicillin은 63.75% 보다 낮은 比率에서 吸收分布가 있고 LMA는 勾配가 연한데 比하여 時間에 따른 ampicillin의 勾配는 急한 傾向으로 吸收率이 減少되고 있음이 對照的이다.

**In Vitro 및 In Situ試驗의 比較**—白鼠小腸吸收에 對하여 in vitro와 in situ를 比較해 볼 때 摘出한 小腸인 in vitro에 있어서는 LMA가 ampicillin보다 3.5배 吸收率의 크기는 하지만 그 러나 어느것이나 時間의 經過에 따라 吸收量의 量的增加가 있는데 比하여 小腸을 摘出하지 않은 狀態인 in situ에서는 初期(30分經過後)에는 높은 吸收率을 보이다가 後期에는 漸減現象이 크게 나타남이 對照的이다.

**速度定數**—Table I 및 II에서 時間當의 吸收를 比較할 때 一次速度論的인 增減率을 보이고 있다. 따라서 in vitro와 같은 passive transport<sup>15-18)</sup>에 依存한다고 假定할때 腸膜을 사이에 둔 物理的인 擴散은 Fick의 法則에 따라 藥物透過量을 求하면 다음과 같다.

Table III—The Absorption Rate of LMA Trihydrate and Ampicillin Trihydrate

Time (min)	$k \text{ min}^{-1}$ (velocity constant) ( $\times 10^{-2}$ )			
	LMA		AMP	
	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>
2	12.24	—	14.29	—
30	1.51	3.60	0.76	1.50
60	0.65	1.70	0.38	0.46
90	0.41	1.00	0.25	0.21
120	0.29	0.71	0.19	0.10

Table IV—The Apparent Permeability of LMA and Ampicillin

Time (min)	Pa (cm, $\text{min}^{-1}$ ; permeability constant) ( $\times 10^{-2}$ )			
	LMA		AMP	
	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>	<i>in vitro</i>	<i>in situ</i>
2	40.79	—	47.63	—
30	5.03	6.00	2.53	2.50
60	0.16	2.60	1.26	0.78
90	1.36	1.70	0.83	0.35
120	0.96	1.20	0.63	0.18

## 結 論

1. Lysino-methylene-ampicillin trihydrate의 水油分配係數 (water-oil distribution coefficient)는 0.03(chloroform versus buffer system with  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -citric acid of pH 5.2, 37°)

이며 溶出速度도 plateau value에 到達時間이 60分이며 이때 equilibrium solubility는 0.6 percent이다.

2. Lysino-methylene-ampicillin trihydrate는 初期에 있어서는 높은 吸收率을 나타내나 時間이 經過됨에 따라 吸方率은 減少된다. 即 白鼠小腸에서 實驗開始後로부터 30分以內에 in vitro에서 全體吸收量의 44.2%가 吸收된다.

3. in vitro 및 in situ에 依한 白鼠小腸吸收의 特徵은 摘出된 小腸(in vitro)에서는 時間이 經過함에 따라 吸收量의 量的 增加가 있으나 小腸을 摘出하지 않은 狀態(in situ)에서는 初期의 높은 吸收率에 比해 後期에는 漸減現象이 크게 나타난다.

4. LMA trihydrate와 ampicillin trihydrate의 吸收速度定數( $K$ ,  $\text{ncint}^{-1}$ )는 in vitro에서 實驗開始後 2分內에 LMA가 12.24, ampicillin이 14.29로서 差異가 없으나, in situ에서는 實驗開始後 30分에 LMA가 3.60인데 比해 ampicillin은 1.50으로 差異가 크며 따라서 LMA의 吸收速度定數는 in vitro에 比하여 in situ에서는 約 3倍이다.

## 文 獻

- 1) Y.S. Kim, *Korean Patent Publication*, 74~161 (1974)
- 2) S.Y. Kim, *J. Korean Pharm. Sci.*, **8** (1), 1~5 (1978)
- 3) Y.S. Kim, *Korean Patent Publication*, 76~295 (1976)
- 4) Y.S. Kim, *United States Patent*, 4,031,076 (1977)
- 5) Y.S. Kim, *Belgian Patent*, 850,178 (1977)
- 6) J.K. Kim, and Sook Keung Lee, *J. Pharm. Sci. Korea*, **21**, 4 (1977)
- 7) N. Takasugi, K. Nakamura, *ibid.*, **16**, 13 (1968)
- 8) G. Wiseman, *J. Physiol.*, **120**, 63 (1953)
- 9) L.S. Schanker, et al., *J. Pharm. Exptl. Therap.*, **125**, 275 (1958)
- 10) 抗生物質製劑基準: 保健社會部令189號
- 11) Kiichiroka Kewi, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 969 (1965)
- 12) M. Samejima, and I. Sugimodo, 86次 講演要旨 日本藥學大會, 196 (1966)
- 13) S. Kojima, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **14**, 9, 959 (1966)
- 14) U.S.P. *The Penicillins*, 8:12. 16, 204, Edi. XIX (1975)
- 15) E.F. Lemanowicz, *Am. J. Pharm.*, **140**, 124 (1968)