



**CHARACTERIZATION OF THE EFFECT OF
PROBENECID ON HEPATIC DRUG METABOLISM
IN RATS**

RUNGLADA KUMSUPROM

๔



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(PHARMACOLOGY)**

**IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1994**

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของยาโปรเบนเนซิด (Probenecid) ต่อเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาในตับหนูขาว

ผู้วิจัย รุ่งลดา คำสุพรหม

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

กรองทอง ยวถาวร, ปร.ค.
อำนาจ ธีรพันธ์, Ph.D.
กิตติมา ศรีวัฒนกุล, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 28 กันยายน พ.ศ.2537

บทคัดย่อ

ได้ทำการวิจัยลักษณะการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ที่เปลี่ยนแปลงยาในตับหนูขาวพันธุ์ Wistar เนื่องจากยาโปรเบนเนซิด โดยศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและหลอดทดลอง การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า การให้โปรเบนเนซิด 600 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยทางปากวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 วัน สามารถลดระยะเวลาการออกฤทธิ์ของยากลายกล้ามเนื้อ zoxazolamine (ขนาด 60 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) และระยะเวลาการนอนหลับจากการให้ยานอนหลับ hexobarbital (ขนาด 120 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการฉีดเข้าช่องท้องหนู)

การศึกษาในหลอดทดลองพบว่า การให้ยาโปรเบนเนซิดขนาด 600 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยทางปากวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 วัน สามารถเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ aminopyrine N-demethylase และเอ็นไซม์ aniline hydroxylase โดยความสามารถในการเหนี่ยวนำขึ้นกับระยะเวลาและขนาดของยาโปรเบนเนซิดที่ให้แก่สัตว์ทดลอง

พบว่าเอ็นไซม์ทั้งสองสามารถเหนี่ยวนำได้สูงสุดโดยยาโปรเบนเนซิดขนาด 600

มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และให้ยาเป็นระยะเวลา 5 วันติดต่อกัน แต่การเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ aminopyrine N-demethylase สามารถเกิดขึ้นได้แม้ให้ยาโปรเบเนซิดเพียงขนาด 200 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ถ้าใช้ขนาดยาสูงจะเห็นการเหนี่ยวนำชัดเจนหลังให้ยาเพียง 1 วัน ส่วนเอ็นไซม์ aniline hydroxylase สามารถเหนี่ยวนำได้โดยยาโปรเบเนซิดในขนาด 200-800 มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่อให้ยาคิดต่อกัน เป็นเวลา 5 วันเท่านั้น หลังจากหยุดให้ยาโปรเบเนซิดระดับการทำงานของเอ็นไซม์ aniline hydroxylase ลดลงสู่ระดับปกติอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ระดับการทำงานของเอ็นไซม์ aminopyrine N-demethylase ลดลงอย่างช้าๆ จากการศึกษาจลนศาสตร์ของเอ็นไซม์ทำให้ทราบว่าเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ในปฏิกิริยา aminopyrine N-demethylation และ aniline hydroxylation ในหนูปกติและหนูซึ่งได้รับยาโปรเบเนซิดเป็นเอ็นไซม์ตัวเดียวกัน

นอกจากนี้การให้ยาโปรเบเนซิดในขนาดดังกล่าวข้างต้นยังสามารถเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ ethoxycoumarin O-deethylase (IIA & IIB probe) ซึ่งลักษณะการเหนี่ยวนำคล้ายกับการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ aminopyrine N-demethylase แต่ไม่สามารถเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ ethoxyresorufin O-deethylase (IA1 probe)

นอกจากเอ็นไซม์ซึ่งเป็นกลุ่ม cytochrome P-450 แล้วยาโปรเบเนซิดยังสามารถเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ในปฏิกิริยา glucuronidation ของ 1-naphthol และ 4-methylumbelliferone ได้คืออีกด้วยเมื่อให้ยาในขนาดและวิธีเดียวกัน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับโดยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า ในสัตว์ทดลองที่ได้รับยาโปรเบเนซิดเซลล์ตับมี smooth endoplasmic reticulum เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งลักษณะของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวคล้ายกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับในสัตว์ทดลองที่ได้รับ phenobarbital

จากการศึกษาทั้งหมดสามารถสนับสนุนว่า การเหนี่ยวนำเอ็นไซม์โดยยาโปรเบเนซิดมีลักษณะคล้ายกันกับการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์โดย phenobarbital แต่มีความสามารถในการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ซึ่งทำลายยาตัวอื่นๆบางอย่างได้แตกต่างกัน

Thesis Title Characterization of the Effect of Probenecid
 on Hepatic Drug Metabolism in Rats

Name Runglada Kumsuprom

Degree Master of Science (Pharmacology)

Thesis Supervisory Committee

 Krongtong Yoovathaworn, Ph.D.
 Amnuay Thithapandha, Ph.D.
 Kittima Sriwatanakul, Ph.D.

Date of Graduation 28 September B.E. 2537 (1994)

ABSTRACT

The characteristics of hepatic drug-metabolizing enzyme induction by probenecid, a uricosuric drug, were studied in adult male Wistar rats weighing 140 g to 200 g. Repeated administration of probenecid (600 mg/kg, PO, twice daily for 5 days) could significantly shorten the duration of action of two model drugs, zoxazolamine (60 mg/kg, IP, P-450 IA, IIB/ C/ E probe) and hexobarbital (120 mg/kg, IP, P-450 IIB/ C probe). Determination of the activities of hepatic aminopyrine N-demethylase (P-450 IIB & IIIA probe) and aniline hydroxylase (P-450 IIE probe) revealed that the inductive effect of probenecid was both dose- and time-dependent. During the 5-day period of treatment, maximal induction of both enzymes could be achieved when the drug was given at the dose of 600 mg/kg, PO, twice daily, for 5 days. However, significant induction of aminopyrine N-demethylase could be detected even at 1 day after drugs administration.

Aniline hydroxylase was significantly induced only when the drug was given for 5 days in the dose range between 200 and 800 mg/kg. After cessation of probenecid, aniline hydroxylase activity rapidly declined towards normal level while that of aminopyrine N-demethylase was gradually decreased. Induction of both enzymes

seemed to be due to quantitative increase in the enzyme content rather than a qualitative change because K_m 's of both enzymes were essentially the same as those observed in the control animals. Repeated administration of probenecid did not result in the induction of ethoxyresorufin O-deethylase (P-450 IA1 probe) at any time after drug administration. On the contrary, the activity of ethoxycoumarin O-deethylase (nonspecific substrate of P-450 subfamily II) showed time-course of induction similar to that observed with aminopyrine N-demethylase.

Glucuronidation towards 1-naphthol and 4-methylumbelliferone, the substrates metabolized by isozymes induced by both the phenobarbital (PB)- and 3-methylcholanthrene (3-MC)-type inducers, was also increased after the animals received the same treatment, though with different characteristics and at different degree.

The ultrastructure of hepatocytes from probenecid-treated rats showed a marked proliferation of smooth endoplasmic reticulum, the finding similar to the morphological changes reported after exposure to the PB-type inducers

Overall results suggested that probenecid possessed not only the induction characteristics of phenobarbital but was also capable of inducing the metabolism of a variety of substrates other than that induced by this group of chemicals.