

Chlorpromazine 의 溶血作用에 關한 研究

釜山大學校 醫科大學 藥理學教室

(指導: 金 尙 泰 教授)

金 奎 泰

= Abstract =

Studies on the hemolytic action of chlorpromazine

Kyu Tae Kim, M. D.

(Directed by Prof. Sang Tae Kim, M. D.)

Department of Pharmacology, College of Medicine, Pusan National University

The author studied the hemolytic action of chlorpromazine on rabbit erythrocytes and obtained the following results :

1. Chlorpromazine caused hemolysis in vitro. The hemolytic action of chlorpromazine was milder than that of saponin(Colleman and Bell Co.)
2. Cholesterol had no marked effect on chlorpromazine hemolysis.
3. Dextrose, albumin and blood plasma protected erythrocytes against chlorpromazine hemolysis.
4. The mechanism of chlorpromazine hemolysis seemed to be different from that of saponin hemolysis.
5. Chlorpromazine increased the osmotic fragility of rabbit erythrocytes.
6. The intravenous injection of chlorpromazine caused hemolysis in vivo.

I. 緒 論

1963年 Spirtes 및 Guth¹⁾는 等張 sucrose 溶液에 浮游된 白鼠肝 mitochondria의 膨脹이 chlorpromazine 添加에 依하여 抑制됨을 보았고, 同年 Freeman 및 Spirtes²⁾는 chlorpromazine이 等張尿素, 等張 glycerol 및 低張食鹽水에 依한 溶血을 抑制함을 觀察하여 chlorpromazine은 細胞膜의 透過性을 減少시킨다고 하였다.

著者は 偶然한 機會에 chlorpromazine이 試驗管內에서 溶血을 일으킴을 發見하고 이 溶血作用을 糾明하기 爲하여 一連의 實驗을 行하였다. 이에 그 成績을 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 實驗方法

1. 生理的食鹽水: NaCl(Ways and Means Inc.)를 蒸溜水에 溶解한 0.9% 食鹽水이다. 이 食鹽水를 使用하여 chlorpromazine HCl液을 稀釋하였다.

2. 生理的食鹽水 pH 7.4: 0.9% 食鹽水를 調劑할 때에 Sørensen phosphate buffer를 加하여 pH 7.4로 修正한 生理的食鹽水이다.

이 食鹽水를 使用하여 chlorpromazine以外的 藥劑의 溶解 및 稀釋, 赤血球의 洗滌에 使用하였다.

3. Chlorpromazine HCl溶液, 2.5% thiorazine injection(Smith Kline and French Labs)을 生理的食鹽水로 1,000倍 稀釋한 稀釋液은 pH 5.6이었다. Chlorpromazine溶液(以下 CPZ라 略함)은 pH 7.0以上에서는 白色濁濁이 일어나므로 pH를 修正하지 않은 생

—金奎泰 : Chlorpromazine의 溶血 作用에 關한 研究—

理的食鹽水로 稀釋하여 使用하였다.

4. Saponin溶液: 粉末 Saponin(Colleman and Bell Co.)을 pH 7.4의 生理的食鹽水로 溶解한 것이다. 以下 saponin C&B라 記한다.

5. Albumin溶液: Albumin from bovine serum (Sigma Chem, Co.)를 pH 7.4의 生理的食鹽水에 溶解한 것이다

6. Cholesterol 溶液: Cholesterol (Armour Labs) 100mg과 arabic gum 100mg을 乳鉢內서 磨碎混合하면 서 10 ml의 比로 pH 7.4의 食鹽水를 加하여 1.0 % suspension을 作成하였다.

7. Dextrose溶液: Dextrose(Corn Products Co., New York)을 pH 7.4의 食鹽水에 溶解한 것이다.

8. 全血, 健康한 成熟家兎의 心臟으로 부터 採取한 血液에 抗凝固劑로서 heparin을 添加한 것이다.

9. 血漿: 上記 全血을 遠心分離하여 얻은 所謂 heparin血漿이다. 이 血漿을 稀釋할 때는 pH 7.4의 食鹽水로 하였다.

10. 赤血球浮游液: 上記 全血을 遠心沈澱하여 血漿을 除去하고 沈澱된 赤血球를 pH 7.4의 食鹽水로서 3回 洗滌한 後 pH 7.4인 食鹽水를 加하여 原血液量으로 만든 것이다.

11. Hemoglobin測定方法:

Hemoglobin測定은 cyanmethemoglobin法³⁾에 依據하여 Coleman Junior Spectrophotometer를 使用하여 測定하였다.

一部 實驗에 있어서는 肉眼的으로 溶血의 有無를 觀察하였다.

++ : 完全溶血

+ : 不完全溶血

± : 極히 輕微한 溶血

- : 完全히 溶血이 없는 것.

II. 實驗成績

A. Chlorpromazine의 溶血作用

(1) 赤血球浮游液에 對한 CPZ의 溶血作用

CPZ 1 : 1000 稀釋液을 10本의 小試驗管에 生理的食鹽水로 倍數 稀釋하였다. 各 稀釋液의 液量은 2.0 ml이며 赤血球浮游液 0.1 ml를 各 稀釋液에 加하여 混合하였다.

上記 各 CPZ稀釋液+赤血球浮游液을 4~6°C의 氷室에 放置하고 所定時間에 各 試驗管의 溶血 有無를 肉眼的으로 判定하였다.

CPZ의 溶血作用을 saponin의 溶血作用과 比較하기 爲하여 saponin 1 : 1000稀釋液을 pH 7.4 食鹽水로 倍數稀釋하여 上記와 같은 操作을 施行하였다.

CPZ溶血에 있어서는, saponin溶血에 있어서는 家兎를 달리하는 赤血球浮游液을 使用하여 同一한 實驗을 3~4回 反復하였다.

2. 實驗成績은 table 1 및 2와 같다.

Table 1. Hemolytic action of CPZ diluted with saline on erythrocyte suspension from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 min.	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of suspension								
1	1 :	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1 :	8,000	+	++	++	++	++	++	++
5	1 :	16,000	-	±	+	++	++	++	++
6	1 :	32,000	-	-	±	+	++	++	++
7	1 :	64,000	-	-	-	±	+	+	++
8	1 :	128,000	-	-	-	-	±	±	+
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	-	±
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

++ : Complete hemolysis, + : Incomplete hemolysis, ± : Slightly hemolysed, - : No hemolysis.

Table 2. Hemolytic action of saponin diluted with saline on erythrocyte suspension from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 min	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of saponin								
1	1 :	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1 :	8,000	++	++	++	++	++	++	++
5	1 :	16,000	++	++	++	++	++	++	++
6	1 :	32,000	++	++	++	++	++	++	++
7	1 :	64,000	±	++	++	++	++	++	++
8	1 :	128,000	-	±	+	+	+	+	++
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	±	±
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

CPZ의 용혈작용은 table 1 및 2에서 보는 바와 같이 15分 후에는 4,000배까지 完全溶血이 일어나며, 시간이 經過함에 따라 溶血反應이 進行되어 16時間 후에는 64,000배까지 完全溶血이 일어났다.

Saponin 용혈은 15分 후에 벌써 32,000배까지 完全溶血이 일어나며, 1時間 후에 64,000배, 16時間 후에는 128,000배까지 完全溶혈을 보게 되었다. 다시 말하면 Saponin 용혈反應은 比較的 短時間內에 完了되는 傾向을 보였다.

第2章에서 陳述한 바와 같이 1,000배 CPZ溶液의 pH는 5.6이였으며, pH 7.0以上 에서는 白色濁이 일어나므로 pH를 修正하지 않은 生理的食鹽水로 稀釋使用하였다. pH가 CPZ 용혈에 미치는 影響을 觀察하기 爲하여 다음과 같은 實驗을 行하였다.

Sørensen phosphate buffer와 Tris-maleate buffer를 使用하여 各種 pH의 生理的食鹽水로 作成하고 赤血球浮游液을 添加하여 溶血有無를 實驗하였다.

그 成績은 table 3 및 4와 같다.

Table 3. Hemolysis in saline of various pH which were adjusted with Sørensen phosphate buffer.

pH	Time after mixing			
	immediately	1 hr	3 hr	16 hr
4.4	-	-	-	-
5.2	-	-	-	-
6.2	-	-	-	-
6.8	-	-	-	-
8.0	-	-	-	-

Table 4. Hemolysis in saline of various pH which were adjusted with Tris-maleate buffer.

pH	Time after mixing			
	immediately	1 hr	3 hr	16 hr
2.3	++	++	++	++
5.0	-	-	-	-
6.0	-	-	-	-
7.0	-	-	-	-
8.0	-	-	-	-
9.8	-	-	-	-

Table 3 및 4에서 보는 바와 같이 pH 2.3에서는 溶血이 일어나나 pH 4.4~9.8에서는 溶血을 볼 수 없었다. 以上の 實驗成績을 要約하면,

i) CPZ은 溶血作用이 있다.

ii) CPZ의 溶血作用은 saponin C&B의

그것에 比하여 多少 弱하였다.

iii) Saponin C&B 溶血은 短時間內에 일어나, 短時間內에 完了되는 傾向이 있고 CPZ 용혈은 時間이 經過함에 따라 徐徐히 일어나는 것이 特徵이었다.

4) CPZ 용혈은 溶液의 低 pH에 依하여 惹起되는 것이 아니었다.

(2) 全血에 對한 CPZ의 溶血作用

이 實驗에 있어서는 모든 操作이 前節에서 陳述한 바와 같으며 다만 0.1 ml 赤血球浮游液 代身 全血 0.1ml 를 使用한 것이다.

그 成績은 table 5 및 6과 같다.

Table 5. Hemolytic action of CPZ diluted with saline on whole blood from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 min.	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of CPZ								
1	1 :	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1 :	8,000	-	±	+	++	++	++	++
5	1 :	16,000	-	-	-	+	++	++	++
6	1 :	32,000	-	-	-	±	+	+	++
7	1 :	64,000	-	-	-	-	±	+	+
8	1 :	128,000	-	-	-	-	-	-	±
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

Table 6. Hemolytic action of saponin diluted with saline on whole blood from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 min	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of saponin								
1	1 :	1,000	++	++	±	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1 :	8,000	++	++	++	++	++	++	++
5	1 :	16,000	-	±	±	±	±	+	+
6	1 :	32,000	-	-	-	-	-	-	-
7	1 :	64,000	-	-	-	-	-	-	-
8	1 :	128,000	-	-	-	-	-	-	-
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

Table 5 및 6 에서 보는 바와 같이 CPZ 溶血에 있어서는 15분에 4,000배까지 完全溶血이 일어나며, 시간이 經過함에 따라 徐徐히 進行하여 16時間後에는 32,000배까지 完全溶血이 일어났다.

다시 말하면 全血에 對한 CPZ 溶血은 赤血球浮游液을 使用하였을 때에 比하여 輕微한 抑制을 보였다.

Saponin 溶血에 있어서는 15분에 8,000배까지 完全溶血이 일어나며 시간이 經過하여도 溶血反應은 進行되지 아니 하였다. 全血에 對한 saponin 溶血作用은 赤血球浮游液을 使用하였을 때보다 顯著히 抑制되었다.

以上 實驗成績으로 보아 全血은 saponin 溶血에 對

하여 顯著한 保護作用이 있으나 CPZ 溶血에 對하여는 그 保護作用이 輕微함을 알 수 있다.

B. Chlorpromazine 溶血에 미치는 dextrose, cholesterol, albumin 및 血漿의 影響

(1) Chlorpromazine 溶血에 미치는 dextrose의 影響

CPZ 溶血에 미치는 dextrose의 影響을 觀察하기 爲하여 먼저 1% 및 5%의 等張 dextrose 溶液을 作成하고 이것을 溶媒로 하여 CPZ를 倍數稀釋하였다. 各 稀釋液

—Kyu Tae Kim : Studies on the hemolytic action of chlorpromazine—

에 赤血球浮游液을 添加하여 溶血의 有無를 觀察하였다. 5.55g을 蒸溜水 100ml에 溶解한것이다.
 1% 等張 dextrose 溶液은 dextrose(H₂O) 1.1g와 1% 및 5% 等張 dextrose溶液이 saponin溶血에 미
 食鹽價法에 依하여 算出한 NaCl 0.74g을 蒸溜水 100ml 치는 影響도 아울러 實驗하였다.
 에 溶解한 것이고 5% 等張 dextrose는 dextrose(H₂O) 그 成績은 table 7. 8. 9. 및 10에 表示한 바와 같다.

Table 7. Hemolytic action of CPZ diluted with 1% isotonic dextrose solution on erythrocyte suspension from rabbits,

Tube No.	Time after mixing		15	1	2	3	5	7	16
	Dilution of CPZ		min.	hr	hr	hr	hr	hr	hr
1	1 :	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1 :	8,000	-	+	+	++	++	++	++
5	1 :	16,000	-	-	-	-	-	-	+
6	1 :	32,000	-	-	-	-	-	-	-
7	1 :	64,000	-	-	-	-	-	-	-
8	1 :	128,000	-	-	-	-	-	-	-
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

Table 8. Hemolytic action of CPZ diluted with 5% isotonic dextrose solution on erythrocyte suspension from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15	1	2	3	5	7	16
	Dilution of CPZ		min.	hr	hr	hr	hr	hr	hr
1	1 :	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1 :	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1 :	4,000	-	±	+	+	+	+	++
4	1 :	8,000	-	-	-	-	-	-	+
5	1 :	16,000	-	-	-	-	-	-	-
6	1 :	32,000	-	-	-	-	-	-	-
7	1 :	64,000	-	-	-	-	-	-	-
8	1 :	128,000	-	-	-	-	-	-	-
9	1 :	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1 :	512,000	-	-	-	-	-	-	-

Table 7 및 8에서 보는 바와 같이 CPZ의 溶血作用은 5.55g을 蒸溜水 100ml에 溶解한것이다. 1% 및 5% 等張 dextrose溶液이 saponin溶血에 미 치는 影響도 아울러 實驗하였다. 그 成績은 table 7. 8. 9. 및 10에 表示한 바와 같다.
 dextrose에 依하여 顯著히 抑制되었으며 1% 等張 dextrose보다 5% 等張液에 있어서 더욱 顯著하였다. 이 때 Saponin溶血에 對하여 1% 等張 dextrose溶液은 明

Table 9. Hemolytic action of saponin diluted with 1% isotonic dextrose solution on erythrocyte suspension from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 m.n.	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of saponin								
1	1:	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1:	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1:	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1:	8,000	++	++	++	++	++	++	++
5	1:	16,000	++	++	++	++	++	++	++
6	1:	32,000	++	++	++	++	++	++	++
7	1:	64,000	±	++	++	++	++	++	++
8	1:	128,000	-	-	-	±	±	±	±
9	1:	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1:	512,000	-	-	-	-	-	-	-

Table 10. Hemolytic action of saponin diluted with 5% isotonic dextrose solution on erythrocyte suspension from rabbits.

Tube No.	Time after mixing		15 min.	1 hr	2 hr	3 hr	5 hr	7 hr	16 hr
	Dilution of CPZ								
1	1:	1,000	++	++	++	++	++	++	++
2	1:	2,000	++	++	++	++	++	++	++
3	1:	4,000	++	++	++	++	++	++	++
4	1:	8,000	++	++	++	++	++	++	++
5	1:	16,000	++	++	++	++	++	++	++
6	1:	32,000	-	±	+	+	+	+	+
7	1:	64,000	-	-	-	-	-	-	-
8	1:	128,000	-	-	-	-	-	-	-
9	1:	256,000	-	-	-	-	-	-	-
10	1:	512,000	-	-	-	-	-	-	-

白히 抑制作用을 나타내었다.

CPZ 및 saponin 溶血에 對한 dextrose의 抑制作用을 一層 詳細히 檢討하기 爲하여 다음과 같은 實驗을 行하였다.

Dextrose (H₂O) 6.16g를 蒸溜水 100ml의 比 卽 5.6% dextrose溶液을 作成하고 이것을 '生理的 食鹽水'로 稀釋하여 0.56, 1.12, 1.68, 2.24, 2.8, 3.36, 3.92, 4.48 및 5.04% dextrose 溶液을 만들었다. 이 各 溶液 1.0ml를 10本の 遠心 沈澱管에 注入하고 各 管에 5,000

倍 및 2,500倍의 CPZ·生理的 食鹽水溶液 1.0 ml를 加하여 混合하였다. 그러므로 各 管의 液量은 2.0ml이고 CPZ 濃度는 10,000倍 및 5,000倍의 2 列로 된다. 各 管의 dextrose 濃度는 위에 羅列한 濃度의 1/2이 되고 全部 等張液이다. 다음에 赤血球浮游液 0.2 ml式을 加하여 混合하고 30分 및 60分間 氷室에 放置後 遠心沈澱하여 그 上澄液의 血色素濃度를 測定하였다.

10,000倍 및 5,000倍 CPZ 稀釋液을 使用한 理由는 이들 稀釋液이 1時間內에 完全溶血을 일으키는 最大稀

釋液이며, dextrose를 포함하지 않은 上記 稀釋液에 있어서의 Hb量을 100으로 하고 各 稀釋液의 溶血 百分率을 求하였다.

Saponin을 使用한 實驗群에 있어서도 모든 操作이 同一하였으므로 다만 CPZ 溶液代身 32,000倍의 saponin 生理食鹽水溶液을 使用하였다.

그 實驗成績은 Fig. 1 및 2 表示한 바와 같다.

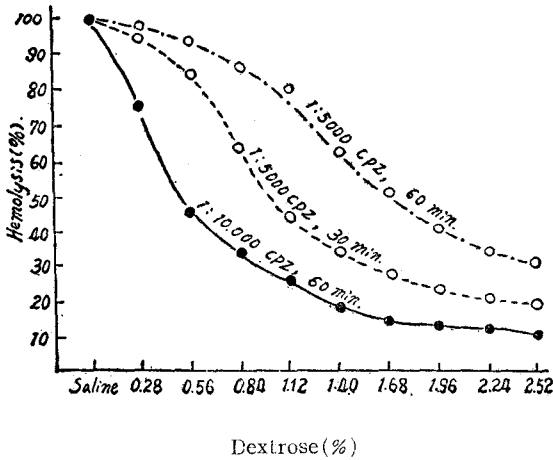


Fig. 1. The effect of dextrose on CPZ hemolysis

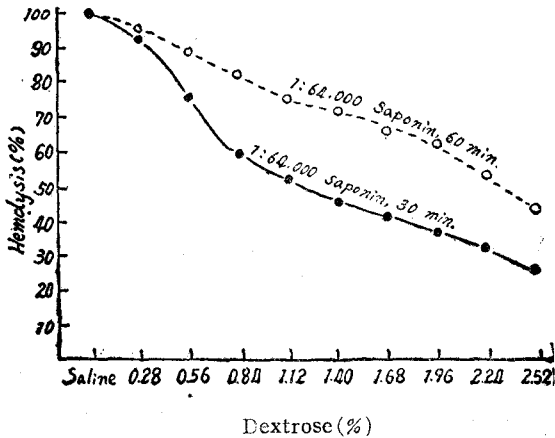


Fig. 2. The effect of dextrose on saponin hemolysis.

CPZ溶血에 對한 dextrose 影響은 第1圖에서 보는 바와 같이 dextrose濃度가 增加함에 따라 溶血에 對한 保護作用은 急激히 增大하나 一定 濃度 以上에 있어서는 極히 徐徐히 增大하였다. 그리고 10,000倍 CPZ 稀釋液과 5,000倍 稀釋液曲線을 比較하면 溶血에 對한 dextrose保護作用이 後者에 있어서 特히 低濃度에 있어

서 顯著히 減少되며 30分 및 60分間 放置한 兩曲線을 相互比較하면 60分 曲線에 있어서 保護作用이 顯著히 減少되었다.

Dextrose는 saponin溶血에 對하여도 保護的으로 作用하며 dextrose濃度의 增加에 따라 徐徐히 增加되었다. 30分 放置한 曲線과 60分 曲線을 相互比較하면 後者에 있어서 그 保護作用이 顯著히 弱하였다.

上記 實驗成績을 要約하면 dextrose는 CPZ 및 saponin 溶血에 對하여 保護的으로 作用하였다. 그 保護作用은 CPZ溶血에 對하여 더욱 顯著하였다.

(2) CPZ 溶血에 미치는 cholesterol의 影響

1% cholesterol suspension을 pH 7.4 生理食鹽水로 稀釋하여 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 및 0.9% 稀釋液을 만들어 各 1 ml 를 9本의 遠心沈澱管에 注入하고 다른 1管에는 saline 1 ml 를 注入하였다.

다음에 2,500倍의 CPZ溶液 1.0 ml를 各管에 加하여 混合하였다. 그러므로 各管의 液量은 2.0 ml이고, CPZ은 5,000倍 稀釋液이며 cholesterol濃度는 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4 및 0.45%이었다. 其他 操作은 前節에서 記述한 바와 같다.

그 實驗成績은 第3圖에 表示한 바와 같이 cholesterol은 CPZ溶血에 對하여 큰 影響은 主지 아니하였다.

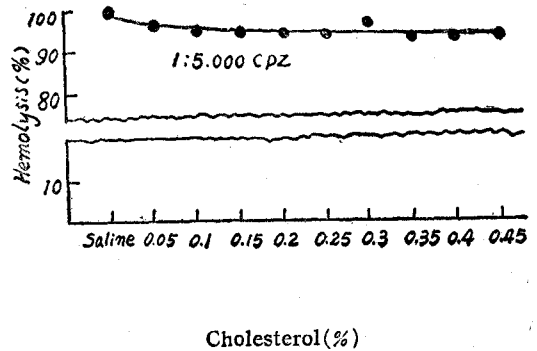


Fig. 3. The effect of cholesterol on CPZ hemolysis

(3) CPZ溶血에 미치는 albumin의 影響

먼저 bovine albumin을 pH 7.4 生理食鹽水로 稀釋하여 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 및 6.0%의 albumin溶液을 作成하였다. 各 稀釋液 1.0ml 를 6本의 遠心沈澱管에 注入하고 다른 1管에는 pH 7.4 saline 1 ml 를 注入하였다. 그리고 各管에 2,500倍의 CPZ稀釋液 1.0 ml 를 加하고 0.2 ml 의 赤血球浮游液을 添加 混合하였다. 이에 各管

의 液量은 2 ml 이고, CPZ 稀釋度는 5,000 배이며 albumin 濃度는 上記 羅列한 濃度의 1/2 이었다. 其他 操作은 第1節에 陳述한 바와 同一하였다.

그 實驗成績을 圖示하면 第4圖과 같다

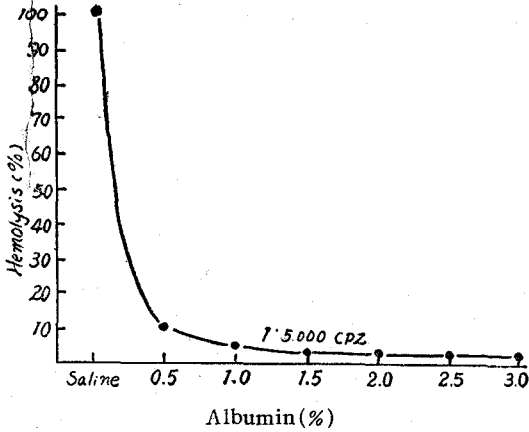


Fig. 4. The effect of albumin on CPZ hemolysis.

第4圖에서 보는 바와 같이 albumin 低濃度에서 急激한 保護作用을 나타내며 1.5% 以上에서는 거의 保護作用의 增大가 없었다.

(4) CPZ 溶血에 미치는 血漿의 影響

Heparin 血漿을 pH 7.4 食鹽水로 稀釋하여 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 및 90%의 血漿溶液을 만들어 各 1.0 ml 를 9本의 遠心沈澱管에 注入하였다. 다른 1管에는 pH 7.4 saline 1ml 를 注入하였다. 各 管에 2,500 倍의 CPZ 溶液을 1.0 ml 를 加하여 混合하였다. 各 管의 液量은 2.0 ml 이고 CPZ 은 5,000 倍 稀釋液이었다. 그리고 血漿은 上記 羅列한 濃度의 1/2 이었다.

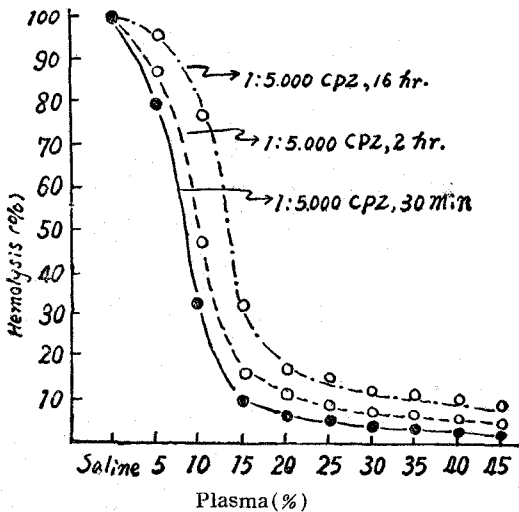


Fig. 5 The effect of plasma on CPZ hemolysis.

그 實驗成績은 第5圖에서 보는 바와 같이 15% 以下의 血漿濃度에 있어서는 急激히 保護作用을 나타내나 그 以上의 濃度에서는 그 保護作用의 增大가 輕微하였다. 또 30分, 60分 및 16時間 放置한 曲線을 相互 比較하며 低濃度에서는 그 保護作用에 顯著한 差異를 보였으나 20% 以上의 濃度에서는 輕微한 差異를 보였다.

C. Osmotic fragility에 對한 CPZ의 影響

赤血球膜의 osmotic fragility에 對한 CPZ의 影響을 觀察하기 爲하여 다음과 같은 實驗을 行하였다.

溶血을 일으키지 아니하는 濃度의 CPZ 溶液 4ml 를 赤血球塊 1 ml 의 比로 混合하여 60~180 分間 水室에 放置하였다. 다음에 0.3% 로 부터 0.9% 에 이르기까지 各種 濃度의 食鹽水(pH 7.4)를 作成하여 各 4 ml 를 試驗管에 옮기고 上記 CPZ 를 加한 赤血球浮游液 0.3 ml 를 添加混合하였다. 이것을 15 分間 室溫에 放置後 遠心沈澱하여 그 上澄液의 血色素濃度를 測定하였다. 對照實驗에 있어서는 各 濃度의 食鹽水에 CPZ 을 加하지 아니한 赤血球 食鹽水浮游液 0.3 ml 를 添加하였다.

CPZ 實驗에 있어서는나 對照實驗에 있어서는, 1 試驗管에는 食鹽水代身 蒸溜水를 使用하여 溶血을 일으켰으며 이 血色素量을 100으로 하고 各 食鹽水管의 血色素量으로 부터 溶血 百分率을 求하였다.

또 1列의 實驗에 있어서는 CPZ 代身 溶血을 일으키지 아니하는 濃度의 saponin 溶液을 使用하여 同一한 實驗을 行하였다.

그 實驗成績은 第6 및 7圖과 같다.

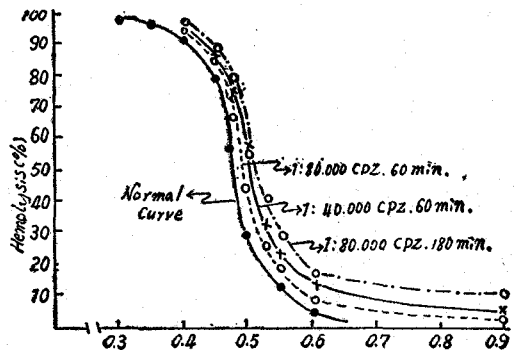


Fig. 6 Osmotic fragility tests. Rabbit erythrocytes were pretreated with 1:4,000 and 1:80,000 CPZ for the time intervals indicated.

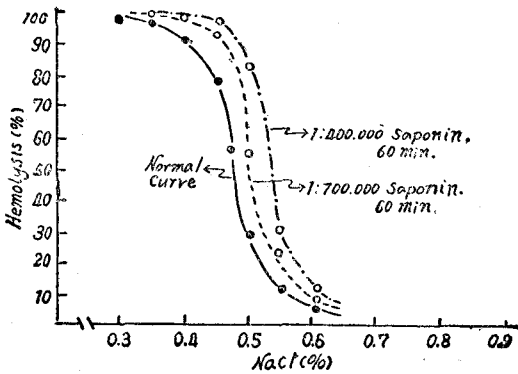


Fig. 7 Osmotic fragility tests. Rabbit erythrocytes were pretreated with 1 : 400,000 and 1 : 700,000 saponin for the time intervals indicated.

第6圖에서 보는 바와 같이 CPZ의 作用한 fragility 曲線에서는 對照曲線으로부터 輕微한 右側移動을 보이며 高張液側에서 基線으로부터 輕微한 上昇을 보여 주었다. 또 80,000배 60分 및 180分 兩 曲線을 比較하면 180分曲線에서 一層 右上側으로 移動하였다.

이것으로 보아 赤血球의 osmotic fragility는 CPZ에 依하여 增大되며 細胞膜의 抵抗이 減退됨을 알 수 있다.

Osmotic fragility에 對한 saponin의 作用은 第7圖에서 보는 바와 같이 saponin이 作用한 fragility 曲線도 對照曲線으로부터 右側으로 移動하였으며 高張液에 있어서 보다, 低張液에서 一層 그 移動이 明白하였다.

다시 말하면 saponin도 赤血球와의 osmotic fragility를 增大시켰다.

D. CPZ의 生體內 溶血作用

(1) CPZ의 靜脈注射

體重 2.0 kg內외의 健康 家兎를 背位로 固定하고, 心臟으로부터 血液을 採取하여 그 一部는 全血內 血色素濃度測定에 使用하고, 나머지 一部는 遠心沈澱하여 溶血有無를 確認하였다.

一群에 있어서는 2.5% CPZ HCl溶液을 生理的食鹽水로 10倍 稀釋한 것을 使用하여 10 mg/kg body weight의 比로 耳殼靜脈內에 注射하였다. 그 動物의 一般現象을 注視하면서 2分間에 1 ml 速度로 極히 徐徐히 注射하였다. 그리고 注射 終了直後 30, 60, 120, 180 및 300分에 心臟을 穿刺하여 血液을 採取하였다.

이 血液을 遠心沈澱하여 血漿內 血色素濃度를 測定하고 CPZ注射前의 全血內 血色素濃度를 100으로 하여 溶血百分率을 求하였다.

또 一群의 實驗에 있어서는 生理的食鹽水로 稀釋하는 代身, 5% dextrose로 稀釋한 CPZ溶液 同量을 注射하여 上記와 同一한 實驗을 行하였다. 兩群의 實驗成績은 第11 및 12表와 第8圖에 表示한 바와 같다.

Table. 11. The rate of appearance of Hb in the plasma of the rabbits which were injected with 10 mg/kg CPZ diluted with saline intravenously.

Rabbit No.	1	2	3	4	Mean (%)
Time after inj.					
Immediately	4.66	6.41	5.65	7.42	6.04
30 min	4.26	5.11	4.80	6.25	5.11
60 "	3.33	3.95	3.39	5.35	4.01
120 "	3.18	3.21	3.21	4.28	3.47
180 "	3.18	1.70	2.23	3.21	2.58
300 "	2.46	0.75	1.13	1.24	1.40

Table. 12. The rate of appearance of Hb in the plasma of the rabbits which were injected with 10 mg/kg CPZ with 5% dextrose intravenously.

Rabbit No.	1	2	3	Mean (%)
Time after inj.				
Immediately	0.58	2.00	1.20	1.30
30	0.58	1.30	0.80	0.88
60	0.58	1.21	0.70	0.86
120	0.40	0.80	0.40	0.58
180	0.30	0.34	0.30	0.37
300	0.30	0.34	0.25	0.27

第8圖에서 보는 바와 같이 生理的食鹽水에 溶解한 CPZ를 注射한 群에 있어서는 注射終了直後 全血色素의 6%가 血漿內에 出現하며 時間이 經過함에 따라 比較的 急激히 消失되는 傾向을 보였다.

5% dextrose에 溶解한 CPZ를 注射한 群에 있어서는 注射終了直後 全血色素의 1.3%가 血漿內에 檢出되며 그 後 時間이 經過함에 따라 徐徐히 消失되었다.

以上 實驗成績으로 보아 CPZ의 靜注는 生體內에서 溶

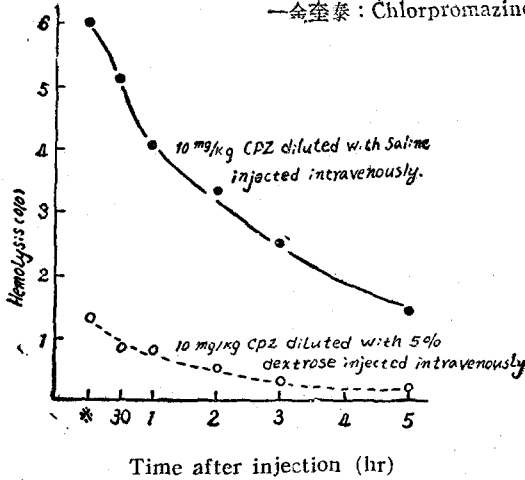


Fig. 8 The rate of appearance of Hb in the plasma of the rabbits injected with CPZ.

※ immediately after injection.

血을 일으키며 生理的 食鹽水 代身 5% dextrose를 溶媒로 하였을 때는 그 溶血作用이 顯著히 抑制됨을 알 수 있다.

(2) CPZ의 筋肉注射

動物을 背位로 固定하고 2.5% CPZ HCl 原液을 10~15 mg/kg body weight로 大腿筋肉內에 注射하였다. 注射前에 1回 心臟으로 부터 採血하여 全血內 血色素量을 測定하고 注射後 30, 60, 120, 180, 240 및 300分에 採血하여 血漿內 血色素量을 測定하였다.

溶血 百分率 算出은 前節에 陳述한 바와 同一하였다.

Table. 13. The rate of appearance of Hb in the plasma of the rabbits which were injected with CPZ(2.5%) intramuscularly.

Time after injection	30	60	120	180	240	min. 300
Does of CPZ						
10 mg/kg	0	0	0	0	0.54	0.27%
10 mg/kg	0.15	0.15	3.70	0.15	0.45	0.15%
10 mg/kg	0.16	0.47	0	0	0	0%
15 mg/kg	0.24	0.16	0	0.16	1.16	0.94%
15 mg/kg	0	0.33	0	0.27	0	0.80%

그 成績은 第 13表에 表示한 바와 같이 云謂할 만한 溶血은 없었으며 5例中 2例에 있어서 一過性인 極히 輕微한 溶血을 보였다.

이것으로 보아 CPZ 筋肉內 注射는 憂慮할 만한 生體內 溶血을 일으키지 않는다고 생각된다.

IV. 總括 및 考察

著者가 本研究를 通하여 얻은 成績을 總括하고 이에 考察을 加하면 다음과 같다.

1. CPZ는 溶血作用이 있다. 이 溶血作用은 saponin C&B의 그것에 比하여 多少 弱하였다. CPZ의 溶血은 溶液의 低 pH에 依하여 惹起되는 것이 아니었다. 또 CPZ에 依한 溶血反應은 saponin에 依한 그것에 比하여 徐徐히 進行되었다.

2. 全血은 saponin 溶血에 對하여 顯著한 保護作用이 있으나, CPZ 溶血에 對하여는 그 保護作用이 輕微하였다.

3. Dextrose는 CPZ 및 saponin 溶血에 對하여 保護的으로 作用하였다. 그 保護作用은 CPZ 溶血에 對하여 더욱 顯著하였다.

4. Cholesterol은 CPZ 溶血에 對하여 큰 影響을 주지 아니하였다.

Saponin 溶血에 對한 cholesterol의 作用은 本教室의 朴⁴⁾에 依하면 強한 抑制作用을 나타내었다.

5. CPZ 溶血에 對하여 albumin은 抑制的으로 作用하였다.

이것을 朴⁴⁾이 報告한 saponin 溶血에 對한 albumin의 抑制作用과 比較하면 CPZ 溶血에 對한 albumin作用이 훨씬 強하였다.

6. CPZ 溶血에 對하여 血漿은 抑制的으로 作用하였다.

CPZ 溶血에 對한 血漿의 抑制作用을 朴⁴⁾이 行한 saponin 溶血에 對한 血漿의 그것과 比較하면 前者에 있어서 훨씬 強하였다.

上述한, CPZ에 依한 溶血反應은 saponin에 依한 그것에 比하여 徐徐히 進行되는 點, albumin, 血漿 및 dextrose는 CPZ 溶血에 對하여 強力한 保護作用이 있으나 saponin 溶血에 對하여는 弱하다는 點, 이와 反對로 cholesterol은 saponin 溶血에 對하여 抑制的으로 作用하나, CPZ 溶血에 對하여는 큰 影響을 주지 못하는 點으로 더불어 溶血作用의 mechanism에 있어서 CPZ와 saponin은 相異한 것으로 생각된다.

7. CPZ 및 saponin은 赤血球의 osmotic fragility를 減少시켰다.

CPZ의 fragility 減少는 高張에서 顯著하였고, saponin의 그것은 低張에서 顯著하였다.

Freeman and Spirtes는 CPZ가 尿素, glycerol 및 低張에 依한 溶血을 抑制함을 報告하였으나, 그들은 CPZ의 溶血作用을 看過한 것 같으며 그들의 實驗에 있어서는 CPZ의 低濃度 即 7.5×10^{-6} CPZ를 使用하여 低張 溶血에 對한 保護作用을 試驗하였다. 그러므로 그들의 結果와 本研究의 結果를 比較하여 批判하기는 困難하다.

8. CPZ의 靜脈 內注射는 生體內에서 溶血을 惹起하였다. 生理的食鹽水를 溶媒로 할 때 보다 5% dextrose를 溶媒로 할 때에는 그 溶血이 顯著히 抑制되었다.

9. CPZ肌肉內注射는 小數例에 있어서 一過性인 輕微한 溶血이 生體內에서 일어났다.

V. 結 論

著者は CPZ의 溶血作用을 研究하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. CPZ은 試驗管內에서 溶血作用을 가지고 있다. 이 溶血作用은 saponin C&B의 그것에 比하여 多少 弱하였다.

2. Cholesterol은 CPZ溶血에 對하여 큰 影響을 주지 아니 하였다.

3. Dextrose, albumin 및 血漿은 CPZ溶血에 對하여 強한 抑制作用을 나타내었다.

4. 溶血作用의 mechanism에 있어서 CPZ와 saponin은 相異한 것으로 생각되었다.

5. CPZ은 赤血球膜의 osmotic fragility를 增大시켰다.

6. CPZ의 靜脈內注射는 生體內에서 溶血을 惹起하였다.

(本 研究에 있어 始終 指導해 주시고 또 本稿를 校閱해 주신 金尙泰教授任께 滿腔의 謝意를 表하나이다)

VI References

- 1) Spirtes, M. A. and Guth, P. S. : Effects of chlorpromazine on biological membranes, 1. Chlorpromazine-induced changes in liver mitochondria. *Biochem. Pharmacol.*, **12** : 37, 1963.
- 2) Freeman, A. R. and Spirtes, M. A. : Effects of chlorpromazine on biological membranes. II. Chlorpromazine-induced changes in human erythrocytes. *Biochem. Pharmacol.*, **12** : 47, 1963.
- 3) Drabkin, D. L. and Austin, J. H. : 關根隆光 及 共同編輯者, 生物學領域 = 於ケル光電比色法, p. 131, 1959에서 引用.
- 4) 朴永禧 : Saponin溶血에 對한 血漿 및 그 代用劑의 影響, 釜山醫大雜誌, **5** : 65, 1965.