

雙和湯이 四鹽化炭素에 의한 肝障害 Rat에서 Sulfobromophthalein의 體內動態에 미치는 영향

安秉樂 · 金信根 · 沈昌求 · 鄭然馥

서울대학교 藥學大學

(Received April 21, 1984)

Effects of a Chinese Traditional Medicine, Ssang Wha Tang, on the
Pharmacokinetics of Sulfobromophthalein in the Rats of Hepatic
Failure Induced by Carbon Tetrachloride

Byung-Nak Ann, Shin-Keun Kim, Chang-Koo Shim and Youn-Bok Chung

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—Effects of Ssang Wha Tang (SWT), a blended Chinese traditional medicine, on the pharmacokinetics of sulfobromophthalein (BSP) in the rats of hepatic failure induced by carbon tetrachloride were examined. The disposition of plasma BSP in carbon tetrachloride-treated rats (Group I) and in carbon tetrachloride+SWT-treated rats (Group II) followed a three-compartment model, while those in control group followed two-compartment model. GOT, GPT level and some pharmacokinetic parameters like plasma clearance but except distribution volume (V_{dss}) recovered in Group II compared to Group I. Therefore, SWT seemed to have an apparent restoring effect of hepatic function damaged by carbon tetrachloride treatment. From the fact that V_{dss} of BSP in Group II was rather larger than that in Group I, the replacement of BSP-plasma protein binding in Group II was considered as an one of the probable mechanisms. More intensive increase in BSP-free fraction (f_p) in Group II than that in Group I might also explain the increases of BSP clearance and V_{dss} in Group II compared to Group I. Assuming no changes in hepatic plasma flow (Q) in each group, hepatic intrinsic clearance (CL_{int}^h) decreased in Group I did not recovered not at all in Group II. Therefore SWT seemed not to have any restoring effect of true hepatic function to biotransform and excrete BSP, and the apparent restoring effect of SWT might be due only to the replacement of BSP-plasma protein binding. Whether f_p is actually higher in Group II than in Group I, and Q is constant in each group are being examined in our laboratory. The changes of Q , which might lead to another conclusions, also should be taken into consideration to clarify the apparent hepato-restoring effect of SWT.

쌍화탕은 東醫寶鑑¹⁾ 처방서인 方藥合編²⁾에 수재되어 있는 藥劑로 그 組成生藥은 白芍藥, 熟地黃, 黃芪, 當歸, 川芎, 桂皮 및 甘草의 7가지로 되어 있다. 方藥合編²⁾에 의하면 血氣가 손상되었을 때 혹은 強精 및 皮로회복에 또 病後 氣가 허약하고 식은 땀(自汗)이 날 때 효과가 있다고 하며, 오래전부터 皮로회복등에 널리 쓰여 왔고 현재에는 액제로서도 市販되고 있다. 그러나 쌍화탕이 이처럼 널리 사용되고 있음에도 불구하고 어떠한 기전에 의해 補劑 또는 皮로회복제로 사용될 수 있겠는가에 대한 이론적인 해명은 아직 시도된 바 없는 것 같다. 高登³⁾은 쌍화탕이 실험적 肝장애에 의해 높아진 GOT·GPT를 낮추어 준다고 하였으며, 鄭登⁴⁾은 쌍화탕의 항염증 및 해열 진통효과를 보고한 바 있으나, 양자 모두 쌍화탕에 의한 결론적인 효과만을 관찰하였을 뿐

이 論文의 일부는 안병락의 약학서사 학위논문(서울대 대학원, 1984)에서 발췌하였음.

이론적인 기전 연구는 행하지 아니하였다.

저자들은 쌍화탕의 약효를 약물체내속도론적인 입장에서 평가하고자 rat를 사용하여 CCl_4 투여에 의한 실험적 肝장애에 미치는 쌍화탕의 효과를 연구하였다. 肝臟은 약물대사의 주된 臟器이며 肝 장애시 대사속도, 담즙 배설속도등의 속도론적 파라메타는 영향을 받는다.⁵⁻⁶⁾ 이러한 肝장애의 정도를 진단하는 목적으로, sulfobromophthalein(BSP)을 정맥주사하여 BSP가 혈장중에서 소실되는데 소요되는 시간을 측정하는 방법이 임상적으로 널리 쓰이고 있다. 그러나 이것이 肝의 어떠한 기능(예컨대, 肝血流 또는 肝의 대사활성)을 반영하는지는 분명하게 밝혀져있지 않다.

실험적 肝장애를 일으키는 약물로서는 CCl_4 ⁷⁻⁸⁾, chloroform, ethione, thioacetamide, dimethylrosamine, tetracycline등이 사용⁹⁾되고 있으나, 이 중 재현성, 간편성등을 고려해서 肝장애의 실험적 모델로서 널리 사용되고 있으며 BSP의 대사, 배설등에 영향을 미친다고 보고¹⁰⁻¹¹⁾된바 있는 CCl_4 를 선택하여 사용하였다. Iga¹²⁾, Suyama¹³⁾등은 만성 CCl_4 肝장애 rat에서 BSP에 대한 肝세포의 Y단백 결합능력이 50%이상 감소하며 liver uptake에 영향을 미친다고 보고하였으며, 1회 투여로 인한 급성중독상태에서의 약물속도론적인 연구도 많이 보고되고 있다.¹⁴⁻¹⁷⁾

본 연구에서는 쌍화탕의 효과를 약물속도론적인 면에서 살펴보기 위해 정상群, 肝장애群, 肝장애시 쌍화탕을 투여한 rat群에 대해 BSP를 정맥주사한 후 담즙배설과 혈장농도 推移를 조사하여 그 결과로부터 쌍화탕의 효과를 약물속도론적 측면에서 고찰하였다.

實驗 方法

試藥 및 器機—Sulfobromophthalein disodium salt (BSP)는 Hynson, Westcott and Dunning Inc. 의 특급을, Carbon tetrachloride는 Merck사의 특급을 사용하였으며 GOT·GPT 측정은 kit (和光純藥, 日本)를 사용하였다.

기기로는 Evaporator (Tokyo Rikakikai)와 Spectrophotometer(Hitachi, Model EPS-3T) 등을 사용하였다.

쌍화탕(SWT)의 조제—시판 單味생약을 황산 데시케이타 속에서 24시간 건조시킨 다음 細切로

Table I—Composition of crude drugs used to prepare Ssang Wha Tang, a Chinese traditional medicine.*

Crude drug	Weight(g)
白芍藥(<i>Paeoniae Radix</i>)	9.37
熟地黃(<i>Rehmanniae Rhizoma</i>)	3.75
黃 芪(<i>Astragali Radix</i>)	3.75
當 歸(<i>Angelicae gigantis Radix</i>)	3.75
川 芎(<i>Cnidii Rhizoma</i>)	3.75
桂 皮(<i>Cinnamomi Cortex</i>)	2.80
甘 草(<i>Glycyrrhizae Radix</i>)	2.80

* Blended crude drugs were extracted with boiling water for 1hr and the final volume of the extract was adjusted to 180ml. For more details, see text.

切斷한 후 방약합편의 처방(Table I)에 따라 각 생약을 혼합한 후 1l의 증류수를 사용하여 1시간동안 直火로 추출하였다. 이를 가아제 20점으로 溫時 감압여과하고 그 여액을 rotary evaporator를 써서 감압농축하여 전액이 180ml로 되게한 후, 이 全量이 60kg 성인의 상용량인 점으로부터 환산하여 rat에 대한 투여량을 3ml/kg으로 결정하였다.

全 실험기간을 통하여 동일한 단미 생약을 써서 쌍화탕을 조제하였으며 조제한 쌍화탕은 1일 이내에 투여하였다.

실험동물—240~300g의 건강한 雄性 wister계 rat를 사용하였다. 실험기간 동안 일정한 飼料(삼양社)를 주고 음료수는 수도물을 자유로 마실 수 있게 하였다.

Table II—Dose schedule.

Group \ Day	1	2	3	4	5	6
I. CCl ₄ ^{a)}	DW ^{c)} +CCl ₄	DW	DW	DW	DW+CCl ₄	DW
II. CCl ₄ +SWT ^{b)}	SWT+CCl ₄	SWT	SWT	SWT	SWT+CCl ₄	SWT
III. Control	DW+olive oil	DW	DW	DW	DW+olive oil	DW

a) CCl₄ solution was prepared by dissolving in equivalent volume of olive oil and injected intraperitoneally at a dose of 0.5ml/kg rat. b) SWT (Ssang Wha Tang) was prepared freshly as mentioned in text and administered orally twice a day at a dose of 3ml/kg rat. c) DW which means distilled water was administered orally in the same manner as group II. (3ml/kg rat).

실험동물의 前처리—실험동물은 CCl₄처리군, CCl₄+쌍화탕 투여군, 대조군의 3군으로 나누어 각 군을 3마리씩으로 하였다. Table II와 같이 CCl₄처리군은 CCl₄액(olive에 1:1로 섞음)을 1ml/kg씩 첫 날과 5일째 두 번 복강주사했으며 첫 날부터 6일째까지 6일간 하루 2회씩(아침 10시, 저녁 6시) 증류수(3ml/kg)를 경구투여하였다. CCl₄+쌍화탕 투여군은 동일한 CCl₄액을 1ml/kg씩 첫 날과 5일째 두 번 복강주사했으며 첫 날부터 6일째까지 6일간 하루 2회씩(아침 10시, 저녁 6시) 쌍화탕(3ml/kg)을 경구투여하였다. 대조군은 olive oil만을 1ml/kg씩 첫 날과 5일째 두 번 복강주사했으며 첫 날부터 6일째까지 6일간 하루 2회씩(아침 10시, 저녁 6시) 증류수(3ml/kg)를 경구투여하였다. 세 군 共히 최종투여 후 48시간이 경과한 다음 실험하였다.

경구투여 방법은 rat의 몸통을 잡고 經口用 주사기를 위장 부위까지 삽입시켜 투여하는 방법을 사용하였다.

GOT·GPT 측정—Reitman-Frankel법¹⁸⁾으로 측정하였다. 아래의 「혈액의 채취」항에 따라 취한 혈액을 원심분리하여 얻은 혈장 0.2ml를 넣고 GOT 또는 GPT 基質액 1ml를 취하여 수욕상에서 37°C로 GPT는 30분간, GOT는 1시간 동안 반응시킨 후 발색시약 1ml를 각각 가하고 상온에서 20분간 방치하였다. 0.4N-NaOH액 10ml를 가하여 잘 섞은 다음 증류수를 대조로 하여 파장 505 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선의 karmen 단위를 읽었다.

혈액의 채취—前述한 대로 6일간 CCl₄나 쌍화탕 또는 증류수를 투여한 뒤 48시간이 경과하였을 때 rat를 에텔로 마취시킨 후, 좌측 대퇴부 동맥 및 정맥에 폴리에틸렌 튜브(PE-50, Intramedic®, Clay Adams, U.S.A)로 카테터(catheter)를 삽입한 후 30분 이상 방치하여 마취가 회복되었을 때 GOT·GPT 측정용 혈액 0.8ml를 대퇴부 동맥으로부터 채취하였다. 다음 생리식염수에 1 W/V%되게 녹인 BSP액 2ml/kg(20mg/kg)을 정맥주사하였다. 대조군은 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15분 간격으로, CCl₄처리군 및 CCl₄+쌍화탕 투여군은 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30분 간격으로 혈액 약 0.3ml씩을 대퇴부 동맥으로부터 채취하였다. 혈액 채취 후에는 heparin액(20 I.U.)을 써서 카테터에 남아 있는 혈액을 동물 체내에 밀어 넣었다. 혈액 채취 동안은 백열등을 照射하여 rat의 체온을 일정하게 유지시켜 주었다.

담즙의 채취—「혈액의 채취」항과는 별도의 rat 3군에 대해 혈액을 채취할 때와 동일한 방법으로 rat를 마취시킨 후 담관에 폴리에틸렌 튜브(PE-10, Intramedic®, Clay Adams, U.S.A)를, 대퇴부 정맥에는 PE-50 튜브로 카테터를 삽입한 후 30분 이상 방치하여 마취가 회복되었을 때 앞에서와 동일한 BSP액 2ml/kg(20mg/kg)을 정맥주사하였다. 세 군 모두 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180분 간격으로 배설되어 나오는 쏘 담즙을 폴리에틸렌 용기에 취하였다. 배설된 담즙의 부피는 담즙의 비중을 1로 간주하고 채취된 담즙의 중량으로 부터 환산하였다. 혈

액을 채취할 때와 동일한 방법으로 rat의 체온을 일정하게 유지시켜 주었다.

BSP의 정량—혈액 약 0.3ml를 취하여 5000rpm에서 20분간 원심분리시킨 뒤 혈장 0.1ml를 취해 여기에 0.05N-NaOH 3ml를 가한 다음 578nm에서 흡광도를 측정하였다. 담즙은 0.1ml를 취하여 0.05N-NaOH 4ml를 가한 다음 578nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 및 담즙 중의 BSP농도는 혈장 및 담즙을 써서 작성한 각각의 검량선으로 부터 계산하였다. 담즙의 배설량은 담즙 중의 BSP농도에 담즙의 부피를 곱하여 구하였다.

통계처리 및 Pharmacokinetic Analysis—모든 측정치의 有意성을 검정하기 위하여 t-test를 이용하였다. 혈장 중 BSP의 농도 추이를 2 또는 3-컴파트먼트 모델에 Curve fitting하는 데는 본 연구실의 M-MULTI프로그램¹⁹⁾을 사용하였다. 2 또는 3-컴파트먼트 모델의 식은 일반적으로 통용되는 대로 각각 $C=Ae^{-\alpha t}+Be^{-\beta t}$ 및 $C=Ae^{-\alpha t}+Be^{-\beta t}+Pe^{-\gamma t}$ 로 정의하였다.

實驗結果 및 考察

GOT·GPT활성치—3군에 대해 GOT·GPT를 측정된 결과는 Table III과 같았다. CCl₄처리군(I군)의 GOT·GPT치가 대조군(III군)의 경우보다 유의성(p<0.01)있게 높았으나 CCl₄+쌍화탕 투여군(II군)에서는 I군에 비해 유의성(p<0.05)있게 회복되었다. 그러나 다소 회복되었다 하더라도 대조군과 비교해 볼 때 여전히 유의성(p<0.01)있게 높은치를 나타내었다. 이와 같은 결과는 高登¹¹⁾의 결과와도 일치하는 바, CCl₄는 실험적 간장해를 야기시키며 쌍화탕의 투여는 CCl₄에 의한 간장해를 어느정도 회복시켜 준다고 생각되었다.

BSP의 담즙배설 累積量—Fig. 1은 3군에서 BSP의 담즙배설 누적량을 나타낸 것이다. 대조군에 비하여 CCl₄투여군에 있어서 총담즙배설량이 유의성(p<0.01)있게 감소하였다. 이 결과는 간장해로 인한 총 담즙배설량이 감소한다는 Iga등¹²⁾의 보고와 일치했다. 그런데 CCl₄+쌍화탕 투여군에서는 CCl₄처리군에 비하여 총 담즙배설량이 유의성(p<0.05)있게 회복(증가)되었다. 그러나 역시 대조군과는 유의성(p<0.01) 있는 차가 있었다. 이로부터 쌍화탕에 의해 BSP의 담즙배설이 회복됨을 알 수 있었다.

BSP의 혈장중 농도추이—BSP 20mg/kg을 정맥투여한 후 BSP의 혈장중 농도추이를 半대수 그래프에 플롯트하면 Fig. 2와 같다. 그래프에서 實線은 M-MULTI프로그램²⁰⁾을 이용하여 fitting한 결과이다. 대조군(III군)은 2-컴파트먼트 모델에, CCl₄ 처리군(I군) 및 CCl₄+쌍화탕 투여군(II군)은 3-컴파트먼트 모델에 가장 잘 fitting되었다.

Fig. 2로부터 CCl₄처리에 의해 혈장 중으로 부터의 BSP소실속도는 대조군에 비해 유의성

Table III—Effect of Ssang Wha Tang on GOT, GPT in the rats treated with CCl₄.

	GOT ^{a)}	GPT ^{b)}
CCl ₄	301.7 ± 5.5	245.6 ± 9.2
CCl ₄ +SWT	* 229.3 ± 17.9	* 199.3 ± 10.9
Control	108.0 ± 2.9	35.0 ± 3.6

a) Every data means mean ± S.E. of three experiments. b) Karmen unit. *p<0.05, **p<0.01

(p<0.01)있게 늦추어지며, CCl₄+쌍화탕 투여에 의해 소실속도가 유의성(p<0.05)있게 회복됨을 알았다. 그러나 Table III의 GOT·GPT와 Fig. 1의 담즙배설 곡선에서의 마찬가지로 쌍화탕 투여는 대조군과 같은 正常 level로까지 완전히 회복시켜 주지는 못하며 대조군과 쌍화탕 투여군 사이에는 여전히 유의성(p<0.01) 있는 차가 남아 있었다.

또 대조군의 혈장중 BSP의 농도추이가 2-컴파트먼트 모델로 해석되는 데 반하여 CCl₄처

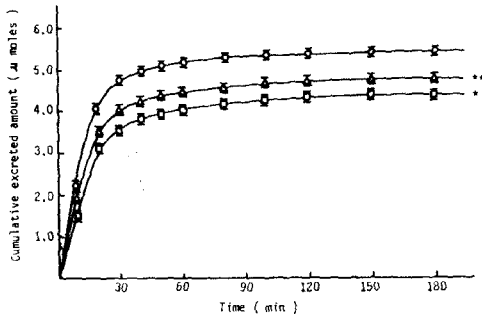


Fig. 1—Cumulative biliary excretion of BSP in three groups of rats after intravenous administration of 20mg/kg rat. Each point represents the mean \pm S.E. of three rats.

(□) CCl_4 , (Δ) CCl_4 +SWT, (○) Control rats. *, **Significantly ($p < 0.01$) different from the control group. **Significantly ($p < 0.05$) different from the CCl_4 -treated group (Group I).

리군, CCl_4 +쌍화탕 투여군에서는 3-컴파트먼트 모델로 해석됨으로 보아 CCl_4 처리에 의해 BSP의 체내동태가 상당히 변화함을 알 수 있었다. BSP는 원래 尿로 배설되지 않는 약물인 점으로부터 미루어 볼 때 이러한 BSP 동태의 변화는 주로 간장을 통한 담즙으로의 배설이 변화함을 반영하는 것으로 생각된다. 즉 쌍화탕은 CCl_4 에 의한 간장해를 어느정도 회복시켜 주는 것으로 보인다. Table III 과 Fig. 1의 결과는 이 추론을 뒷받침해 주고 있다고 생각된다.

약물속도론적 파라메타의 변화—前述한 fitting법에 따라 각 군에서의 BSP의 속도론적 파라메타를 구해 Table IV에 나타내었다. CCl_4 처리에 의해 V_{dss} (定常상태 분포용적), AUC(혈중농도 곡선下 면적), K_{10} (체순환 콤파트먼트로부터의 체외 소실속도정수) 및 CLs(全身 클리어런스)는 유의성($p < 0.01$)있게 변화하며, V_{dss} 를 제외한 파라메타들은 CCl_4 +쌍화탕 투여에 의해 유의성($p < 0.05$)있게 대조군의 값으로 회복됨을 알 수 있었다. V_{dss} 만은 쌍화탕 투여에 의해 대조군의 값과 더욱 차이가 나는 특이한 결과를 나타내었다. 한편 V_c (체순환 콤파트먼트의 용적)는 3군에서 변화하지 않았다. 모델의 相異에 의한 파라메타 값의 변화에 대해서는 고찰을 생략하기로 한다. 여기서는 약물속도론적으로 중요한 의미를 시사하는 몇가지 파라메타의 변화에 대해서만 순차적으로 고찰하고자 한다.

① 분포용적 V_{dss} 의 변화— CCl_4 처리에 의해 V_{dss} 는 유의성($p < 0.01$)있게 증가하였으며 이와 같은 현상은 CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 더욱 현저하여 대조군 값의 거의 2배로까지 증가하였다. 이와같은 사실은 다른 파라메타들, 예컨대 AUC나 CLs 및 K_{10} , 그리고 GOT·GPT 및 담즙배설량

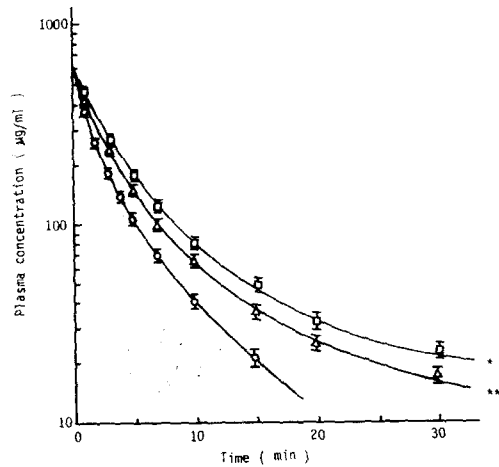


Fig. 2—Plasma disappearance curves of BSP after intravenous administration (20mg/kg rat). Each point represents the mean \pm S.E. of three rats. Curves were calculated by M-MULTI-program.¹⁹⁾ Control group was fitted to 2-compartment model and other two groups were fitted to 3-compartment-model.²⁰⁾

(□) CCl_4 , (Δ) CCl_4 +SWT, (○) Control rats. *, **Significantly ($p < 0.01$) different from the control group from 5 min after injection. **Significantly ($p < 0.05$) different from the CCl_4 -treated group (Group I) from 5 min after injection.

Table IV—Pharmacokinetic parameters calculated with a two or three compartment model (BSP 20mg/kg I. V.). ^{a)}

Parameters	CCl ₄	CCl ₄ +SWT	Control
A (μg/ml)	256.20 ± 43.25	200.64 ± 42.14	421.49 ± 13.00
B (μg/ml)	292.05 ± 45.79	356.56 ± 29.65	153.66 ± 24.70
P (μg/ml)	57.49 ± 5.35	39.09 ± 3.32	—
α (min ⁻¹)	0.6043 ± 0.1808	0.7579 ± 0.5031	0.5411 ± 0.0374
β (min ⁻¹)	0.2137 ± 0.0104	0.2488 ± 0.0052	0.1268 ± 0.0148
π (min ⁻¹)	0.0329 ± 0.0014	0.0299 ± 0.0008	—
K ₁₂ (min ⁻¹)	0.0843 ± 0.0440	0.0957 ± 0.0273	0.1419 ± 0.0133
K ₂₁ (min ⁻¹)	0.4409 ± 0.1424	0.5901 ± 0.1337	0.2388 ± 0.0345
K ₁₃ (min ⁻¹)	0.1011 ± 0.0108	0.1049 ± 0.0094	—
K ₃₁ (min ⁻¹)	0.0591 ± 0.0046	0.0492 ± 0.0020	—
K ₁₀ (min ⁻¹)	0.1655 ± 0.0029	0.1966 ± 0.0100	0.2901 ± 0.0074
AUC (μg·min/ml)	3659.51 ± 99.40	3042.32 ± 90.29	1982.61 ± 18.63
Vc (ml/kg)	33.12 ± 1.49	33.56 ± 0.60	34.82 ± 0.91
Vdss (ml/min kg)	91.22 ± 3.50	108.25 ± 4.45	56.40 ± 4.31
CLs (ml/kg/min) ^{b)}	5.47 ± 0.15	6.58 ± 0.21	10.09 ± 0.09

a) Each group consists of 3 rats (280±10g). Results are given as the mean±S.E. For A, B, P, α, β and π, see text. For other parameters, see reference 20. b) The systemic clearance (CLs) was calculated by the equation, CLs=Dose/AUC. *Significantly (p<0.05) different each other and significantly (p<0.01) different from the control group. **Significantly (p<0.02) different each other and significantly (p<0.01) different from the control group.

등에서 나타난 현상과는 반대되는 현상으로 매우 특이하다.

분포용적의 변화를 생각하는 때에는 다음과 같은 식²⁰⁾이 有用하다고 생각된다.

$$V_{dss} = V_P + \frac{f_P}{f_T} V_T \quad (1)$$

여기에서 V_P는 혈장의 實용적(real volume), V_T는 組織(=extravascular space)의 實용적이며, f_P 및 f_T는 각각 혈장과 조직중에 존재하는 BSP의 非結合分率(free fraction)을 나타낸다.

CCl₄에 의한 간장애의 상태는 급성장해와 만성장애에서 명확히 다르다고는 하나, Iga등¹²⁾에 의하면 CCl₄만성 장애에서는 BSP와 간세포내 Y단백(hepatic cytoplasmic protein, Y fraction)과의 결합율이 떨어진다고 한다. 따라서 본 실험에 있어서도 f_T는 적어도 감소되는 방향으로 움직이지 않을 것으로 생각된다. 그러므로 CCl₄ 처리군에 있어서의 Vdss의 증가는 f_P의 증가로 해석할 수 밖에 없다고 생각된다. 즉 CCl₄처리에 의해 야기된 장애때문에 BSP의 주된 결합대상 단백질^{12,21)}인 albumin의 간에서의 생합성이 저하되어 BSP와 albumin과의 결합율이 떨어진 결과로 f_P가 증가된 것으로 추측된다.

그러나 CCl₄+쌍화탕 투여군에서 Vdss가 회복되지 않고 오히려 더욱 증대한 것은 쌍화탕 병용에 의해 albumin의 생합성이 더욱 저하되었기 때문이라고는 생각하기 어렵다. 왜냐하면 Table III

과 Fig. 1에서 본 바와 같이 쌍화당은 CCl_4 에 의한 간장해를 회복시켜 주고 있기 때문이다. 따라서 쌍화당 투여에 의한 V_{dss} 의 증가 기전으로서는

첫째, 쌍화당 투여에 의해 간의 albumin합성 기능이 회복되는데 따른 혈장중 albumin농도의 증가(BSP의 f_p 를 감소시켜 줄 것임)를 相殺하고도 남은 만큼 BSP-albumin간의 결합이 무엇인가에 의해 치환(replacement)되는 것을 생각할 수 있겠다. 즉 쌍화당 때문에 BSP-albumin간의 결합이 치환되어 f_p 가 증가하기 때문에 V_{dss} 가 더욱 증가하였으리란 가정이다. 이렇게 생각하여 V_p 와 V_T 의 문헌치²²⁾(각각 45와 915ml/kg rat) 및 각 군에서의 V_{dss} 의 실험치를 (1)식에 대입하여 $\frac{f_p}{f_T}$ 를 구해보면 대조군, CCl_4 처리군, CCl_4 +쌍화당 투여군에서 각각 0.012, 0.051 및 0.069로 그 값이 커짐을 알 수 있다(Table V). 그러나 BSP-albumin과의 결합을 치환시키는 물질이 쌍화당에서 흡수된 성분인지, 아니면 쌍화당 투여에 따라 어떤 내인성 물질의 혈장중 농도가 높아지고 그 내인성 물질이 BSP와 상경하는지 여부에 대해서는 현 단계로서 명확하지 않다.

둘째, 쌍화당에 의해 간세포 중의 Y단백과 BSP간의 결합율이 대조군에서 보다는 증가하기 때문에 생긴 f_T 의 감소도 전혀 排除할 수는 없으므로 추후 확인을 필요로 하는 사항이라고 생각된다.

Table V-Effect of f_p increase on the $\text{CL}^{h_{int}}$ of BSP in each group when constant hepatic plasma flow (Q) was assumed.^{a)}

	f_p/f_T	$f_p \cdot \text{CL}^{h_{int}}$	$\text{CL}^{h_{int}}$ Ratio ^{b)}
Control	0.012 ^{c)} (1) ^{d)}	14.63 ^{e)} (1) ^{f)}	1
CCl_4 (Group I)	0.051 (4.3)	6.58 (0.45)	0.10
CCl_4 +SWT (Group II)	0.069 (5.6)	8.27 (0.57)	0.10

a), e) Calculated from Eq. 2 on the assumption that hepatic plasma flow Q is constant at 32.5ml/min/kg rat²²⁾ in all groups. b) Calculated from f/d . Calculated on the assumption that f_T dose not change in each group. c) Calculated from Eq. 1 using $V_p=45$, $V_T=915$ ml/kg rat.²²⁾ d) Ratio of c of Group I or II to that of Control. f) Ratio of e of Group I or II to that of Control.

Key: f_p ; free fraction of BSP in plasma, f_T ; free fraction of BSP in tissue, $\text{CL}^{h_{int}}$; hepatic intrinsic clearance of BSP in plasma.

② 全身 클리어란스의 변화—Table IV에서 전신 클리어란스 CLs는 CCl_4 투여군에서 유의성 ($p < 0.01$)있게 감소하였고 CCl_4 +쌍화당 투여군에서는 대조군의 값에는 이르지 못하였으나 유의성 ($p < 0.02$)있게 회복되었다. BSP의 경우 체내로부터의 소실은 간을 통한 담즙배설에만 의존하므로 전신 클리어란스는 곧바로 肝클리어란스 CL^h 를 뜻하게 된다. 생리학적 약물속도론에 의하면 肝클리어란스는 다음과 같은 식²⁰⁾으로 나타낼 수 있다.

$$\text{CLs} = \text{CL}^h = \frac{f_p \cdot \text{CL}^{h_{int}}}{Q + f_p \cdot \text{CL}^{h_{int}}} \cdot Q \quad (2)$$

여기에서 Q는 간을 통과하는 혈장流量, $\text{CL}^{h_{int}}$ 는 간의 固有 클리어란스(intrinsic clearance)를 나타낸다. 앞의 ①항에서 V_{dss} 의 변화원인을 f_p 의 변화로 생각하여 보았는데 (2)식으로 부터 CCl_4 처리에 의한 CLs의 감소와, CCl_4 +쌍화당 투여시의 CLs회복기전을 f_p 의 변화만으로 설명할 수 있겠는가를 생각해 보기로 한다. 즉 각 군에서 Q는 32.5ml/min/kg rat²²⁾로 변화가 없다고 하면 Table IV에서의 각 CLs값을 (2)식에 대입하여 각 군에서의 $f_p \cdot \text{CL}^{h_{int}}$ 값을 구할 수 있게 된다. 즉

대조군, CCl_4 처리군, CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 각각 14.63, 6.58 및 8.27ml/min/kg이 얻어진다 (Table V).

그런데 ①항의 고찰에 따르면 각군의 f_p 는 대조군에 비해 각각 4.3배 $\left(\frac{0.051}{0.012}\right)$ 및 5.6배 $\left(\frac{0.069}{0.012}\right)$ 가 증가하였는데 $f_p \cdot \text{CL}^h_{int}$ 값은 오히려 0.45배 $\left(\frac{6.58}{14.63}\right)$, 0.57배 $\left(\frac{8.27}{14.63}\right)$ 로 감소된 결과로 계산된다. 따라서 CL^h_{int} 는 CCl_4 처리군과 CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 똑같이 대조군의 0.10배(각각 $\frac{0.45}{4.3}$ 와 $\frac{0.57}{5.6}$ 에서 구해짐)로 감소한 셈이 된다(Table V). 즉 肝의 대사 및 배설능력이 CCl_4 처리에 의해 대조군의 10%정도로 저하되며, 이 기능은 쌍화탕을 병용투여 해도 회복되지 않았다고 해석되는 것이다. 이 사실은 glutathione S-transferase B인 Y단백과 BSP간의 결합이 CCl_4 처리에 의해 저하된다는 보고¹²⁾와 모순되지 않는다. 즉 肝血流 Q가 病態에 따라 변화하지 않는다고 가정하면, CCl_4 처리군에서 BSP의 全身클리어런스 CLs가 저하된 것은 앞서 설명한 f_p 의 증가를 고려하면 결국 CL^h_{int} 가 떨어져 나타난 현상일 것이다. 또 쌍화탕의 併用에 의해 CLs가 회복된 현상은 Q의 변화나, CCl_4 처리에 의해 떨어진 CL^h_{int} 의 회복을 고려하지 않더라도 f_p 의 증가(4.3배→5.6배)만으로 충분히 설명할 수 있었다(Table V).

이상의 ①, ②항을 종합해 고찰해 보면 쌍화탕에는 BSP-albumin결합을 강력히 치환시켜 주는 효력은 있으나 肝세포 고유의 대사 및 배설능력(CL^h_{int})을 회복시켜 주는 효력은 없는 것으로 생각된다.

그러나 만성 CCl_4 중독 rat에서는 Q가 저하한다는 보고^{12,23)}도 있으므로, 쌍화탕의 작용기전을 보다 확실히 규명하기 위해서는 Q 및 f_T 에 미치는 영향의 유무도 확인할 필요가 있다고 생각된다.

結 論

CCl_4 처리군에 비해 CCl_4 +쌍화탕 투여군의 GOT·GPT가 회복(저하)된 점(Table III)과 BSP의 총 담즙 배설량이 CCl_4 처리군에서 감소되었으나 CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 회복(증가)된 점(Fig. 1), 그리고 CCl_4 처리군에서 BSP의 CLs가 감소하였으나 CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 CLs가 회복(증가)된 점(Fig. 2)으로 보아 쌍화탕은 CCl_4 간장해를 회복시켜 주는 작용이 있다고 사료되었다. CCl_4 간장해를 쌍화탕이 회복시켜 주는 기전을 고찰한 바는 다음과 같다.

대조군에 비해 CCl_4 처리군에서 V_{dss} 가 증가한 것은 간장해에 의한 f_p 의 증가로 생각되며, CCl_4 +쌍화탕 투여군에서 간장해가 회복됨에도 불구하고 V_{dss} 가 더욱 증가한 것은, 쌍화탕 유래성분(또는 쌍화탕투여에 의해 생긴 어떤 내인성물질의 혈장중 농도증가)에 의해 f_p 가 보다 크게 증가한 때문이라고 생각되나 f_T 의 감소여부도 확인해 보아야 할 사항이다.

한편 쌍화탕 併用이 CCl_4 처리에 의해 저하된 CLs를 회복시켜 주는 것은 앞서의 f_p 의 변화만으로 설명이 가능하였다(Table V). 즉, 각 군에서의 肝血流 Q가 변화하지 않는다고 가정하였을 때, 쌍화탕은 CCl_4 처리에 의해 저하된 肝 고유의 대사 및 배설능력(CL^h_{int})을 회복시켜 주는 작용은 없는 것으로 해석된다.

그러나 肝血流 Q 및 조직 비결합분율 f_T 의 변화 여부를 확인해야 보다 확실한 쌍화탕의 작용기전을 규명할 수 있으리라 생각된다. 쌍화탕의 약리기전 규명을 위한 이들의 측정은 당 연구실에서 계속 진행중에 있다.

文 獻

1. 許浚, 原本東醫寶鑑 477(1976).
2. 黃道淵, 方藥合編 130(1977).
3. 高明順, 雙和湯이 Rat의 藥物性 肝障害에 미치는 影響. 서울大學校 藥學碩士學位論文(1983).
4. 鄭燁, 雙和湯의 抗炎症, 解熱 및 鎮痛作用에 關한 研究. 서울大學校 藥學碩士學位論文(1983).
5. E.V. Cignoli and J.A. Custro, Effect of inhibitors of drug metabolizing enzymes on carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 8, 625(1971).
6. L.Z. Benet, The effect of disease states on drug pharmacokinetics. *Am. Pharm. Assoc. Acad. Pharm. Sci.* Washington, DC, 53(1976).
7. Tadayuki Kobayashi, Fatty liver by hepatotoxic agents and lipid metabolism in rats (2). *Yakugaku Zasshi* 80, 1612(1960).
8. S. Maeda, K. Sudo, Y. Miyamoto, S. Takeda, M. Shinbo, M. Aburada and Y. Ikeya, Effect of constituents of Shizandra fruits on drugs induced hepatic damage in rats. *Yakugaku Zasshi*. 102, 579(1982).
9. T. Balazs, T.K. Murray, J.M. McLaughlan and H.C. Grice, Hepatic tests in toxicity studies on rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 3, 71(1961).
10. C.D. Klaassen and G.L. Plaa, Effect of carbon tetrachloride on the metabolism, storage and excretion of sulfobromophthalein. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 12, 132(1968).
11. G. Giorgi and G. Serge, Compartmental analysis of the effect of carbon tetrachloride intoxication on blood and bile kinetics of BSP in rats. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1, 217(1973).
12. T. Iga, Y. Sugiyama, M. Yokota, Y. Tomono, S. Awazu and M. Hanano, Pharmacokinetic aspects of BSP transport in chronically carbon tetrachloride intoxicated rats. *Biochem. Pharmacol.* 76, 1867(1977).
13. A. Suyma, Y. Sugiyama, T. Iga, S. Awazu and M. Hanano, The binding and conjugating abilities of the Y-fraction for BSP in chronic tetrachloride-intoxicication rats. *J. Pharm. Dyn.* 2, 105(1979).
14. M.B. Maggio and J.M. Fujimoto, Effect of carbon tetrachloride on distribution of sulfobromophthalein in plasma and liver of mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 9, 309(1966).
15. B.G. Priestly and G.L. Plaa, Temporal aspects of carbon tetrachloride-induced alteration of sulfobromophthalein excretion and metabolism. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 17, 786(1970).
16. R.W. Brauer and R.L. Pessotti, The removal of sulfobromophthalein from blood plasma by the liver of the rat. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 97, 358(1949).
17. R.W. Brauer, R.L. Pessotti and J.S. Krebs, The distribution and excretion of S³⁵-labeled sulfobromophthalein-sodium administered to dogs by continuous infusion. *J. Clin. Invest.* 34, 35(1955).
18. S. Reitman and S. Frankel, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 28, 26(1957).
19. 沈昌求, 鄭哲在, 藥物體內速度論에 있어서 마이크로 컴퓨터의 應用. 서울大學校 藥學論文集 8, 32(1983).
20. M. Gibaldi and D. Perrier, *Pharmacokinetics*, Marcel Dekker, New York, II, 1983, p. 206, 327.
21. M. Inoue, K. Okajima, S. Nagase and Y. Morino, Plasma clearance of sulfobromophthalein and its interaction with hepatic binding proteins in normal and an albuminemic rats. *Medical Sciences* 80, 7654 (1983)
22. R.L. Dedrick, D.S. Zaharko and R.J. Lutz, Transport and binding of methotrexate in vivo. *J. Pharm. Sci.* 62, 882(1983).
23. M. Yokota, T. Iga, S. Awazu and M. Hanano, Simple method of hepatic venous blood sampling in the rat. *J. Appl. Physiol.* 41, 439(1976).