

쌍화탕이 슬포브로모프탈레인의 간클리어란스에 미치는 영향

조태영* · 심창구 · 이민화 · 김신근

서울대학교 약학대학 · *동화약품 중앙연구소
(1987년 5월 22일 접수)

Effects of Blended Chinese Traditional Medicine, Ssang Wha Tang, on Hepatic Clearance of Sulfobromophthalein in Rats

Tae Yung Cho*, Chang-Koo Shim, Min Hwa Lee and Shin Keun Kim

College of Pharmacy, Seoul National University

*Central Research Institute, Dong-Wha Pharmaceutical Co. Ltd.

(Received May 22, 1987)

Effects of Ssang Wha Tang (SWT), a blended Chinese traditional medicine, on the pharmacokinetics of sulfobromophthalein (BSP) were studied in the rats. BSP was administered via portal vein to the control and the SWT-treated rats. The *in vitro* distribution of BSP to blood cells and the hemato-physiological conditions, liver weight, GOT, GPT activity were also examined. The systemic clearance (CL_s) of BSP was increased with the administration of SWT, but no significant differences were observed in the liver weight and *in vitro* distribution of BSP to blood cells. These results suggest that the intrinsic clearance of free BSP of the liver is increased with the administration of SWT in the rats.

쌍화탕(雙和湯)은 실험적 간장해에 의해 높아진 GOT·GPT를 낮추어 주며 항염증, 진통효과를 갖는 것으로 보고되었다^{1,2)}. 이로부터 저자들은 쌍화탕의 약효 및 작용기전을 규명하고자 일련의 연구^{3,4)}를 수행하여 왔다.

안 등³⁾은 rat에서 간장해에 의해 감소된 sulfobromophthalein (BSP)의 전신클리어런스(CL_s)가 쌍화탕 투여에 의해 다소 회복됨을 보고하였으며, Chung 등⁴⁾은 건강한 rat에서의 BSP와 antipyrine의 CL_s 가 쌍화탕 투여에 의해 증가하였으며 그 원인은 이들 약물의 간으로의 분포가 증가한 때문으로 추정된다고 보고하였다.

이들 보고^{3,4)}는 모두 약물을 정맥주사하였을 때의 결과이다. 그러나 간클리어란스는 肝에서의 약물대사능력, 즉 肝固有클리어런스(CL_{int})와 肝血漿流量(Q)의 크기의 비에 따라 그 의미하는 내용

이 변동하기 때문에 정맥주사 후의 혈장중 약물농도 추이의 변화로부터 간의 대사능력이나 간혈장유량의 변화여부를 판정하는 일은 쉽지 않은 경우가 많다.

이에 반하여 경구투여나 간문맥투여는 얻어지는 혈장중농도가 오직 간의 고유클리어런스(CL_{int})만 반영하기 때문에 쌍화탕 투여에 의해 간의 고유대사능력이 증진되었는가 여부를 판정하는데 매우 확실한 방법이 된다. 다만 경구투여는 투여량 전량이 흡수되지 않아 혈장중 농도 해석에 어려움이 따르게 된다.

따라서 저자 등은 간장의 고유대사기능에 미치는 쌍화탕의 영향과 그 기전을 규명하기 위하여, 쌍화탕 투여군과 대조군의 rat에 BSP를 문맥투여한 다음 얻어진 혈장중농도 추이를 해석함으로써 쌍화탕이 BSP의 간대사에 미치는 영향을 연구하

이 논문은 조태영의 약학석사 학위논문(1987. 2. 서울대학교 대학원)의 일부임.

였다. 아울러 쌍화탕의 투여에 의한 생리학적 변화, 혈구분배 등의 변화도 함께 고찰하였다.

실험방법

시약 및 기기

시약으로는 sulfobromophthalein disodium salt (이하 BSP, Sigma 제), heparin (중외제약, KPIV), GOT · GPT 측정용 시약 kit (한국시약) 등을, 기기로는 rotary evaporator (Tokyo Rikakikai), spectrophotometer (LKB2), microcentrifuge (Beckman F4) 등을 사용하였다.

쌍화탕 (SWT)의 조제

前報⁴⁾에 준하였다. 즉 처방에 따라 시판 단미생약을 황산 데시케이티에서 24시간 건조시킨 다음 細切로 절단한 후 혼합하였다. 이 혼합물 29.97g에 1%의 증류수를 가해 1시간 동안 직화로 추출하였다. 추출액을 60~70°C로 유지하면서 가아제 20겹을 써서 감압여과한 다음 여액을 감압농축하여 180ml가 되게 하였다. 이를 소량씩 분할하여 냉동보관하면서 사용 직전에 실온방치하여 녹였다.

실험동물

서울대학교 실험동물 사육장에서 분양받은 240~300g의 Wistar계 웅성 rat를 사용하였다. 실험기간 동안 일정한 사료(삼양사)를 주고 음료수는 수도물을 자유롭게 마실 수 있도록 했으며 온도는 18~22°C, 습도는 45~55%를 유지하였다.

실험동물의 전처리

실험동물은 대조군과 쌍화탕 투여군으로 나누어, 대조군은 첫날부터 6일째까지 6일간 하루 2회씩 (아침 10시, 저녁 6시) 증류수 (3ml/kg)를 경구투여 하였으며, 쌍화탕 투여군은 동일한 방법으로 쌍화탕 (3ml/kg)을 경구투여하였다. 두 군 모두 최종 투여후 18시간이 지난 다음 실험을 진행하였다.

BSP의 투여 및 혈액의 채취

전처리한 rat를 마취시킨 후 좌측 대퇴부 동맥에는 폴리에틸렌 튜브 (PE-50, Intramedic®)로, 간 문맥에는 주사침이 장치된 폴리에틸렌 튜브로 카테터를 삽입하였다. 30분 이상 방치하여 마취가 회복되었을 때 생리식염수에 녹인 BSP액 (20

mg/2ml/kg)을 간 문맥으로 투여하였다. 투여 후 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15분 간격으로 대퇴동맥으로부터 혈액 약 0.3ml를 취하고 카테터에 남아 있는 혈액은 heparin액 (20 I.U.)을 써서 동물 체내에 밀어 넣었다.

GOT · GPT, hematocrit 측정용 혈액과 BSP의 적혈구 분배 실험용 혈액은 전처리한 rat의 좌측 경동맥에 카테터를 삽입하여 채취하였다.

간 중량 측정

rat를 수술판 위에 고정시키고 좌측 경동맥으로부터 전혈을 빼서 죽인 뒤 즉시 복부를 절개하고 간을 적출하여 생리식염수로 씻어낸 후 무게를 측정하였다.

GOT · GPT 측정

Reitman-Frankel 법⁸⁾으로 측정하였다. 시험관에 GOT 혹은 GPT 기질원충액 1ml를 넣고 37°C로 유지한 상태에서 혈장 0.2ml를 넣고 GOT 측정의 경우는 1시간, GPT 측정의 경우는 30분 동안 정확히 반응시킨 뒤 발색시약 1ml를 각각 가하고 실온에서 20분간 방치하였다. 0.4N 수산화나트륨용액 10ml를 가하고 혼화하여 증류수를 대조로 하여 파장 505nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hematocrit 측정

전처리한 rat에서 얻어진 혈액을 채취 즉시 모세관 (Terumo K.K. 제, 전장 75mm, 외경 1.45~1.65mm)에 2/3가량 채웠다. 모세관의 한 쪽 끝을 막고 1분간 원심분리한 뒤 전체 혈액 길이에 대한 적혈구 부위의 길이의 비율로 환산하여 표시하였다.

BSP의 혈구분배

Heparin (25,000 I.U.) 처리된 시험관에 전처리한 rat에서 얻어진 혈액 2ml를 정확히 취하여, 증류수에 녹인 BSP액 (300 µg/10 µl)을 가하였다. 37°C에서 1시간 동안 약하게 진탕하고 8,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 혈장중의 BSP 농도를 측정하여 혈구중으로 분배된 퍼센트를 다음과 같이 계산하였다.

Distribution to blood cell (%)

$$= \left[1 - \frac{C_p \cdot V_b (1 - \text{hematocrit})}{X_b} \right] \times 100 \quad (1)$$

여기서 C_p 는 혈장중의 BSP 농도, V_b 는 전체 혈액의 부피, X_b 는 전체 혈액 중에 가한 BSP의 양을 나타낸다.

BSP의 정량

BSP를 증류수에 녹여 300 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 농도로 한 뒤 희석하여 200, 100, 50, 35, 25, 15, 10, 5, 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 표준 용액을 조제하였다. 시험관에 각각의 0.1ml와 혈장 0.1ml를 넣고 0.05 N 수산화나트륨용액을 가한 다음 578 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다.

미지 농도의 혈액시료의 정량은, 혈액을 원심분리하여 얻어진 혈장 0.1ml에 0.05 N 수산화나트륨용액 3ml를 가하여 앞에서와 같이 흡광치를 측정하였다.

통계처리 및 속도론적 분석

모든 측정치와 계산치는 mean \pm standard error로 표시하였으며 unpaired Student's t-test에서 $p < 0.05$ 인 경우만을 유의성이 있다고 판정하였다.

혈장중 BSP의 농도추이를 2-compartment model로 해석하여 curve fitting 하는 데는 MULTI⁹⁾ 프로그램을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

BSP의 혈장중 농도추이

BSP를 간 문맥으로 20mg/kg의 용량으로 투여 한 후의 혈장중 농도추이를 semi-log 그래프에 curve fitting하여 Fig.1에 나타내었다. 대조군과 쌍화탕 투여군에서 모두 2-compartment model에 잘 fitting 되었으며, 모든 채혈 시간에서 쌍화탕 투여군의 혈장중 농도가 대조군보다 낮았다.

Table I은 BSP의 문맥투여후의 속도론적 파라메타를 나타낸 것이다. 분포후상에서의 반감기 ($t_{1/2\beta}$)는 쌍화탕 투여에 의하여 유의성 ($p < 0.05$) 있게 감소하였으며, 전신 클리어런스 (CL_s)는 유의성 ($p < 0.05$) 있게 증가하였다. 이 결과는 쌍화탕 투여에 의해 정맥 투여된 BSP의 소실속도가 증가한다는 앞서의 보고와 일치하였다^{3,4)}.

쌍화탕에 의한 생리학적 변화

대조군과 쌍화탕 투여군에서의 생리학적 조건은

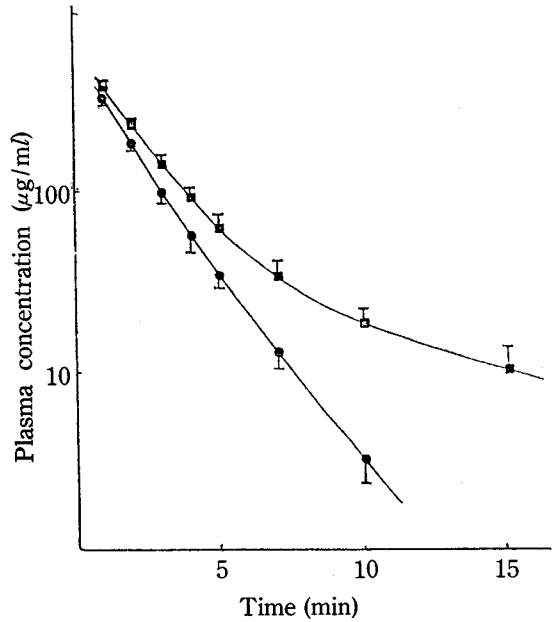


Figure 1—Plasma disappearance curves of a 20 mg/kg dose of BSP after portal vein administration.

Key: ■; control, ●; SWT

Table II와 같으며, 전처리 전후의 몸무게 차이, 전처리 후의 간 중량, GOT·GPT 활성치 등은 모두 양쪽군에서 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

그런데 최근의 보고에 의하면 실험적 신장해시에 간에서의 약물대사가 저해받았음에도 불구하고 GOT·GPT 등의 생리학적 변화는 없었으며 이것으로부터 GOT·GPT 등이 간의 전반적인 대사기능을 모두 그리고 예민하게 반영하지는 못한다고 한다⁵⁻⁷⁾. 쌍화탕 투여시에 생리학적 변화가 없었던 것도 이 같은 맥락에서 설명할 수 있으며 실험동물이 병적상태가 아니었기 때문에 그 영향이 적었을 가능성도 있다.

Hematocrit값 및 BSP의 혈구분배

전처리한 rats에서의 hematocrit value와 BSP의 혈구분배 퍼센트를 Table III에 나타내었다. Hematocrit값은 문헌에 나타난 값¹⁰⁾(약 0.47)보다는 낮았으나 쌍화탕 투여에 의하여 유의성 있는 변화를 보이지 않았으며, 혈구분배 역시 일정하였다. 이 결과로부터, 적어도 이 실험조건하에서는

Table I— Pharmacokinetic Parameters of BSP after p.v. Administration in Rats.

	Control group	SWT group
A ($\mu\text{g/ml}$)	745.96 \pm 122.82 ¹⁾	493.40 \pm 25.99
B($\mu\text{g/ml}$)	49.60 \pm 17.78	150.66 \pm 73.76
α (min^{-1})	0.74 \pm 0.16	0.78 \pm 0.07
β (min^{-1})	0.11 \pm 0.02	0.33 \pm 0.06*
K_{12} (min^{-1})	0.17 \pm 0.09	0.06 \pm 0.01
K_{21} (min^{-1})	0.15 \pm 0.03	0.43 \pm 0.11*
K_{10} (min^{-1})	0.54 \pm 0.07	0.63 \pm 0.03
$t_{1/2\alpha}$ (min)	1.05 \pm 0.18	0.90 \pm 0.07
$t_{1/2\beta}$ (min)	6.92 \pm 1.23	2.30 \pm 0.55*
V_c (ml/kg)	27.0 \pm 3.9	31.4 \pm 2.5
V_p (ml/kg)	26.3 \pm 9.8	5.1 \pm 1.8
V_s (ml/kg)	196.1 \pm 59.5	69.7 \pm 25.7
V_{ss} (ml/kg)	53.4 \pm 9.3	36.6 \pm 4.1
AUC ($\mu\text{g/ml}\cdot\text{min}$)	1519.87 \pm 87.74	1082.57 \pm 110.26*
CL_s (ml/min·kg)	13.36 \pm 0.67	18.9 \pm 2.1*

*Significantly ($p < 0.05$) different from the control group. ¹⁾Results are given as the mean \pm S.E.

혈장중의 BSP를 정량하여 쌍화탕의 영향을 고찰하는 것이 타당함을 확인하였다.

전신클리어란스의 증가 기전

Table I에서 보면, 쌍화탕 투여에 의해 BSP의 CL_s 가 약 1.5배 증가하였다. BSP는 요로 거

의 배설되지 않는다는 사실 (0.5% 이하)로부터 BSP의 전신클리어란스는 곧 간클리어란스라고 볼 수 있으므로 쌍화탕 투여는 BSP의 간에서의 소실을 증가시키는 것을 확인하였다.

생리학적 약물속도론에 의하면 간클리어란스는

Table II—Physiological Change of Rats in Experiments.

	Control group	SWT group ¹⁾
Body weight before treatment(g)	273.0 \pm 15.8 ²⁾	280.6 \pm 7.9
Body weight after treatment(g)	285.5 \pm 15.5	288.8 \pm 9.1
Change of body weight(g)	12.3 \pm 1.3	8.2 \pm 1.7
Liver weight(g)	10.9 \pm 0.6	10.4 \pm 0.5
Liver weight per body weight	0.04 \pm 0.0	0.04 \pm 0.00
GOT(IU/L)	63.3 \pm 1.3	67.8 \pm 2.1
GOT(IU/L)	21.3 \pm 2.2	20.3 \pm 2.0

¹⁾Not significantly different from the control group. ²⁾Results are given as the mean \pm S.E.

Table III—Hematocrit Value and Distribution of BSP to RBC in Rats.

	Control group	SWT group ¹⁾
Hematocrit value	0.409 \pm 0.017	0.422 \pm 0.010
Distribution to RBC (%)	11.9 \pm 4.5	11.3 \pm 1.6

¹⁾Not significantly different from the control group. ²⁾Results are given as the mean \pm S.E.

다음과 같이 나타낼 수 있다¹¹⁾.

$$CL^{\#} = Q \cdot \frac{f_p \cdot CL_{int}^{\#}}{Q + f_p \cdot CL_{int}^{\#}} \quad (2)$$

여기서 $CL^{\#}$ 는 간 클리어란스, Q 는 간을 통과하는 혈장 유량을 나타내며, f_p 는 혈장중 약물의 비결합분율, $CL_{int}^{\#}$ 는 비결합 약물에 대한 간 고유 클리어란스를 나타낸다. 이때 약물의 $CL_{int}^{\#}$ 가 Q 보다 상당히 크다면 $CL^{\#}$ 는 Q 값에 접근할 것이며, 반대의 경우라면 $CL^{\#}$ 는 $CL_{int}^{\#}$ 값에 접근할 것이다. 그런데 경구 혹은 문맥투여시에 약물이 위장관에서 완전히 흡수되고 간에서만 소실된다면 전신클리어란스를 다음과 같이 나타낼 수 있을 것이다^{5,6)}.

$$CL_{oral} = f_p \cdot CL_{int}^{\#} \quad (3)$$

이 식에 의하면 경구 혹은 문맥투여후의 CL_s 는 Q 에 상관없이 항상 $f_p \cdot CL_{int}^{\#}$ 과 같아진다.

따라서 본 연구에서 쌍화탕에 의해 BSP의 CL_s 가 증가된 것은 f_p 혹은 $CL_{int}^{\#}$ 가 증가했기 때문이며, hematocrit와 BSP의 혈구분배가 변화하였다는 사실과 *in vitro*에서 BSP의 혈장단백결합이 일정했다는 앞서의 보고⁴⁾를 종합하면, 쌍화탕 투여는 비결합 BSP에 대한 간 고유 클리어란스를 증가시키는 것으로 생각되어진다. BSP의 간 고유 클리어란스 즉 간에서의 소실능력은 ① 혈액에서 간으로의 약물유입, ② 간 세포내로의 투과성, ③ 대사효소의 양과 활성도, ④ 담즙분비, 등에 좌우되므로 쌍화탕의 보다 세밀한 작용기전을 규명하는 연구가 계속되어야 할 것이다.

결 론

BSP를 rat에 문맥 투여한 결과 쌍화탕 전처리에 의해 BSP의 전신클리어란스는 증가하였으며, 분포후상의 반감기는 감소하였다. 그러나 간 중량, GOT·GPT, hematocrit value, BSP의 혈구분배는 변화가 없었다. 간으로만 소실되는 약물의 경우 문맥투여시의 전신클리어란스는 그 약물의 간 고유 클리어란스만을 반영하므로, 이상의 결과로부터 쌍화탕 투여는 BSP의 간에서의 소실을 증가시키며, 그 원인은 간의 고유클리어란스 즉 간에서의 글루쿠론산 포합을 증가시키기 때문으로 생각된다. 포합증가에 대한 상세한 기전에 대해서

는 계속적인 연구가 필요하다고 생각된다.

문 헌

- 1) 고명순, 쌍화탕이 Rat의 약물성 간장해에 미치는 영향, 서울대학교 약학석사학위논문 (1983).
- 2) 정엽, 쌍화탕의 항염증, 해열 및 진통작용에 관한 연구, 서울대학교 약학석사학위논문 (1983)
- 3) B.N. Ann, S.K. Kim, C.K. Shim and Y.B. Chung, Effect of a Chinese traditional medicine, Ssang Wha Tang, on the pharmacokinetics of sulfobromophthalein in the rats of hepatic failure induced by carbon tetrachloride, *Yakhak Hoeji*, **28**, 207 (1984)
- 4) Y.B. Chung, C.K. Shim, M.H. Lee and S.K. Kim, Effect of a Chinese herbal remedy, Ssang Wha Tang, on distribution and elimination of drugs in rats, *Korean Biochem. J.*, **19**, 18 (1986)
- 5) N. Terao and D.D. Shen, Effect of experimental renal failure on the disposition kinetics of *l*-propranolol in rats, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **227**, 295 (1983)
- 6) H. Katoyama, J. Fugjiwara, M. Yasuhara, K. Okumura and R. Hori, Increased availability of propranolol in rats with uranyl nitrate-induced acute renal failure, *J. Pharm. Dyn.*, **7**, 536 (1984)
- 7) 박건화, Sulfobromophthalein의 체내동태에 미치는 uranyl nitrate 실험적 신장해의 영향, 서울대학교 약학석사학위논문 (1987)
- 8) S. Reitman and S. Frankel, A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 26 (1957)
- 9) 심창구, 정석재, 약물체내속도론에 있어서 마이크로 컴퓨터의 응용, 서울대학교 약학논문집, **8**, 32 (1983)
- 10) H.B. Waynforth, *Experimental and surgical technique in the rat*, Academic Press (London), 1980, p.240
- 11) G.R. Wilkinson and D.G. Shand, A physiological approach to hepatic drug clearance, *Clin. Pharm. Ther.*, **18**, 377 (1975)