

Rat에 있어서 Phenobarbital이 유기음이온성 의약품의 간클리어란스에 미치는 영향

— Indocyanine Green의 체내동태를 중심으로 —

이용복[†]·신상철·고익배
전남대학교 약학대학

Influence of Phenobarbital on the Hepatic Clearance of Organic Anionic Drugs in Rats

— On the Basis of Pharmacokinetics of Indocyanine Green —

Yong-Bok Lee[†], Sang-Chul Shin and Ik-Bae Koh

College of Pharmacy, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea

The influence of phenobarbital(PB) pretreatment(75mg/kg/day, i.p. for 4 days) on the hepatic clearance of indocyanine green(ICG) as a model compound of organic anionic drugs was investigated in rats in order to elucidate the relative contributions of change in the hepatic blood flow versus increase in the hepatic intrinsic activity to remove ICG due to PB pretreatment. ICG(1mg/kg) was injected single bolus via femoral or portal vein to the control and the PB-pretreated rats. The initial hepatic uptake clearance($V_{dc}K_{12}$) obtained from plasma concentration-time data was increased by 38% in the PB-pretreated rats, which may be due to the increased hepatic blood flow by PB pretreatment. Using a pharmacokinetic approach, hepatic blood flows were estimated of 67.5ml/min/kg in control rats and 91.9ml/min/kg in PB-pretreated rats. They were in good agreement with other's blood flow estimates observed experimentally. It may be concluded that the 38% increased initial hepatic uptake clearance of ICG was due to the 36% increased hepatic blood flow with phenobarbital, and that the increased hepatic blood flow and the activated hepatic intrinsic clearance with phenobarbital contributed to 49% and 51% of the increased systemic clearance of ICG, respectively.

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
이 논문은 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

서 론

간에서의 약물 추출은 혈액 pool로부터 간의로의 약물이송, hepatic uptake, 간에서의 저장, 생체내변환(biotransformation) 및 담즙으로의 배설등 제과정에 따라 일어나며, 간클리어란스는 hepatic perfusion-limited model¹⁾에 따르면 약물 비결합 분율 및 간효소계의 활성도 뿐만 아니라 간혈류량에 지배된다고 알려져 왔다.

대표적인 간대사효소 유도제인 PB는 간세포 내의 cytochrome P₄₅₀ 산화효소를 활성화시키고^{2,3)} Y-단백인 ligandin의 양을 증가시킴⁴⁻⁶⁾ 뿐만 아니라 간혈류량 및 담즙유량을 증가시켜⁷⁻¹¹⁾ PB와 함께 병용투여된 다른 약물의 간클리어란스를 다양한 경로를 통해 변화시킨다. 따라서, PB병용투여에 의해 변화한 어떤 약물의 간클리어란스를 설명하기 위해서는 이러한 여러 요인들의 상대적인 기여도를 밝히는 것이 약물체내동태의 정량적 해석이라는 측면에서 중요하다.

이 연구에서는 유기음이온성 약물의 간클리어란스에 미치는 PB전처리의 영향을 이러한 입장에서 연구하였다. 음이온성 약물의 모델로서는 ① 간에서 대사되지 않고¹²⁾ ② 담즙으로만 배설되는¹³⁾ ICG를 선택하였다. ICG는 그 전신클리어란스가 곧 간클리어란스를 반영하며, 사람에게 있어서는 그 간 추출율이 1에 가까워 간혈류량 및 심박출량 측정시약으로 사용되나¹⁴⁾ 15) 흰쥐에 있어서는 그 추출율이 0.4 정도로 낮아¹⁶⁾ 그 간클리어란스가 간고유클리어란스와 간혈류량 양자에 따라 민감하게 변화하는 특성을 갖고 있다. 즉, PB전처리군(phenobarbital

sodium으로서 75mg/kg/일, 4일간 복강내 투여)과 대조군 흰쥐에 ICG를 정맥내 및 간문맥내로 따로 투여(1mg/kg)한 후의 혈장중 농도 추이를 조사하였다. 이 결과를 속도론적으로 해석함으로써 PB전처리가 ICG의 간클리어란스에 영향을 미칠 때 겉보기 간고유클리어란스와 간혈류량의 상대적인 기여도를 속도론적으로 구명하고자 하였다.

실 험 방 법

1. 시약 및 기기

Phenobarbital sodium(대원제약, KP VI), heparin(한림제약, KP VI), indocyanine green(Sigma사, U.S.A.)등을 사용하였으며, 분석기기로서 spectrophotometer (Shimadzu사, UV-120-2, Japan), microcentrifuge(Kokusan사, H-31, Japan)등을 사용하였다.

2. 실험 동물

서울대학교 실험동물 사육장에서 분양받은 체중 100~150g의 웅성 Wistar 흰쥐를 각 실험군으로 분류하고 물과 사료(제일사료사)를 자유로이 공급하여 2주이상 동일조건(온도 20~25°C, 상대습도 50~60%)에서 사육한 후 체중 200~300g 범위의 것을 사용하였다.

3. 실험동물의 전처리

PB 750mg을 생리식염수 100ml에 녹인 액을 흰쥐 kg당 10ml씩 하루에 한번(75mg/kg) 4일간 복강내 투여한 PB전처리군과, 같은 방법으로 생리식염수만을 복강내 투여한 대조군으로 나누어 실험하였다. 두 군 모두 최종투여 후 24

시간이 지난 다음 실험을 진행하였다.

4. 헤마토크 (HCT) 측정

각 실험군 모두에서 약물투여 직전과 채혈이 끝난 시점에서 얻어진 선혈을 채취 즉시 헤파린이 기벽에 붙어 있는 모세관(Superior®, W-Germany, 전장 75mm, 내경 1.1-1.2mm)에 약 7cm 높이로 채우고 모세관의 한쪽 끝을 실리콘 왁스(Superior®, W-Germany)로 막고 12,000 rpm(10,000 g)에서 5분간 원심분리한 뒤, 전체 혈액 높이에 대한 적혈구 부위 높이의 비율로 환산하여 표시하였다(Wintrobe법¹⁷⁾).

5. 체중 및 간무게의 측정

모든 실험 원쥐는 처치 전후에 체중을 측정하였고, 실험이 끝난 후에 즉시 도살하여 간의 무게(습중량)를 측정하였다. 체중은 처치 직전의 무게에 대한 5일후의 실험 당일의 무게의 비율로써 대조군과 PB전처리군끼리 비교하였다. 간의 무게는 왼쪽 대퇴동맥으로부터 전혈을 뺀 후 즉시 복부를 절개하고 간문맥을 통해 4°C 생리식염수를 주사하여 혈액을 씻어낸 다음 물기를 여과지로 제거한 후의 무게를 측정하여 이를 체중 1kg당의 무게로써 비교 검토하였다.

6. 혈 구 분 배

생리식염수에 녹인 헤파린(1000IU/3 ml/kg)을 전처리한 원쥐(6마리)에 투여한 후 경동맥에서 선혈을 채혈하여 합하였다. 이로부터 혈액 2ml씩을 정확히 취하고 여기에 증류수에 녹인 여러농도의 ICG액 20ul를 가하였다. 37°C에서 예비실험한 결과 약물의 혈구로의 분배평형은 10분이내에 도달함을 알았으므로 충분히 평형에 도달할 수 있도록 30분간 약하게 진탕한

후 12,000rpm(10,000 g)에서 2분간 원심분리하였다. 또한 혈구로 실제 이행된 약물농도를 측정하기 위하여 pH 7.4 인산염 완충액으로 2회 세척하고, 증류수를 가하여 혈구를 파괴한 후 그 농도를 측정하였으며 혈액-혈장약물농도비(PB)는 다음(1)식에 따라 계산하였다.

$$R_B = HCT \times C_{bc} / C_p + (1 - HCT) \dots\dots\dots (1)$$

여기서 C_p 는 혈장중 약물농도, C_{bc} 는 혈구중 약물농도이다.

7. 약물투여와 혈액채취

24시간 절식시킨 상기 전처리 실험동물을 가볍게 에텔 마취시킨 후 왼쪽 대퇴 동·정맥에 PE-50 폴리에틸렌관(Intramedic®, Clay Adams 사, U.S.A.)을 삽입하였다. 간문맥에는 25개이지 주사침이 장치된 폴리에틸렌관을 간문맥혈류가 저해받지 않도록 삽입하고 cyanoacrylate 접착제(Aron-α®, Toagosei Chemical Industry사, Japan)를 사용하여 고정시킨 후 개복부위를 봉합하였다. 체온은 직장온도 probe와 온도조절기 및 heating pad(Bioscience사, CFP 8185, U.K.)를 통하여 전실험기간 37°C로 유지하여 주었으며 봉합 후 30분간 방치하여 마취에서 회복되었을 때 ICG를 투여하였다. 대조군과 PB전처리군 원쥐를 다시 대퇴정맥투여군과 간문맥투여군으로 분류(각군 6~8마리)하여 증류수에 녹인 ICG액(1ml/2ml/kg)을 20초에 걸쳐 투여한 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15 및 20분 간격으로 대퇴동맥으로부터 혈액 약 0.3ml를 취하고 관속에 남아 있는 혈액은 헤파린액(20 IU/ml)을 사용하여 동물체내에 밀어 넣었다.

8. 혈장중 ICG 정량

혈장중 ICG농도는 혈장 0.1ml에 탈이온수

일정량을 가한 다음에, 800nm에서 마이크로셀을 사용하여 흡광도를 측정하였으며 미리 작성된 검량선으로부터 농도를 계산하였다.

9. 통계처리 및 약물속도론적 분석

주사후에 후 일어진 혈장중 ICG농도는 비선형 최소자승 피귀분석 프로그램인 RSTRIP¹⁸⁾에 의해 stripping하여 초기치를 구한 후 가중치 2(혈장중 약물농도 제공의 역수)를 사용하여¹⁹⁾ curve fitting하였다. Fitting의 적합도를 Akaike's information criterion(AIC)값²⁰⁾에 따라 결정된 결과 혈장중 ICG의 농도추이는 2개의 자연지수항 방정식(A e^{-at}+B e^{-bt})에 가장 잘 fitting되었다. Bowmer등²¹⁾과 같이 ICG의 배설이 말초컴파트먼트로부터 이루어지는 2 콤파트먼트 모델을 가정하여 혈장에서 간내로 이송 속도상수(K12), 간에서 혈장으로 유출 속도상수(K21) 및 간에서 담즙으로 이송 속도상수(K20)를 Gibaldi등²²⁾의 수식에 따라 구하였고 시간 0부터 ∞까지의 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC)은 t=0일 때 혈장중 약물농도는 0으로 하여²³⁾ trapezoidal 방법에 따라 계산한 값과 최종 채혈시점의 혈장중 약물농도를 최종 소실상 기울기로 나누어 외삽하여 구한 값을 더하여 구하였다. 다른 약물속도론적 파라메타 즉 전신 혈장클리어런스(CLp), 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적 1차 moment(AUMC), 평균 체류시간(MRT), 체순환컴파트먼트의 겉보기 분포용적(Vc), 정상상태에서의 겉보기 분포용적(Vss), 말초컴파트먼트의 겉보기 분포용적(Vp)은 일반적인 방법²⁴⁾에 따라 다음 수식에 의해 구하였다.

$$CL_p = \text{Dose}/AUC \dots\dots\dots (2)$$

$$AUMC = \int_0^\infty c_t \cdot C_p \, dt \dots\dots\dots (3)$$

$$MRT = AUMC/AUC \dots\dots\dots (4)$$

$$V_c = \text{Dose}/(A + B) \dots\dots\dots (5)$$

$$V_{ss} = CL_p \cdot MRT \dots\dots\dots (6)$$

$$V_p = V_{ss} - V_c \dots\dots\dots (7)$$

이때, C_p는 시간 t에서의 ICG의 혈장중 약물농도이며 A와 B는 각 소실상에 대한 pre-exponential coefficient이다.

Hepatic perfusion-limited model^{1,25)}에 따르면 혈장-간클리어런스(CL_{hp}^h)는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$CL_p^h = Q_p^h \cdot \frac{CL_{hp,inter}^h}{Q_p^h + CL_{hp,inter}^h} \dots\dots\dots (8)$$

여기서, Q_p^h는 간을 통과하는 혈장유량을 나타내며, CL_{hp,inter}^h는 혈장-간고유클리어런스를 나타낸다. ICG는 간에서 대사되지 않고¹²⁾ 담즙으로만 배설되어¹³⁾ 대퇴정맥투여시 일어난 전신 혈장클리어런스(CL_{p,iv})는 곧 혈장-간클리어런스(CL_{hp}^h)를 반영하므로 CL_{p,iv}를 CL_{hp}^h로 계산하였고, CL_{hp,inter}^h는 문맥투여시 일어난 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적(AUC_{pv})을 이용하여 다음 (9)식에 따라 구하였으며, 간추출율(E_h), 간 혈장유량(Q_p^h) 및 간내 평균 체류시간(hepatic mean residence time, HMRT)은 다음 식들²⁵⁾에 따라 계산하였다.

$$CL_{p,iv} = \text{Dose}_{pv}/AUC_{pv} = CL_{hp,inter}^h \dots\dots\dots (9)$$

$$E_h = 1 - AUC_{pv}/AUC_{iv} \dots\dots\dots (10)$$

$$Q_p^h = \frac{CL_{p,iv} \times CL_{p,pv}}{CL_{p,pv} - CL_{p,iv}} \dots\dots\dots (11)$$

$$HMRT = MRT_{pv} - MRT_{iv} \dots\dots\dots (12)$$

첨자 fv와 pv는 각각의 투여경로인 대퇴정

맥내 투여와 간문맥내 투여를 의미한다.

한편, 전신 클리어란스를 혈류와 관련지어 고려할 때는 혈장유량(Qp)보다는 혈류량(Qb)을 구하여 사용하는 것이 좋으므로²⁶⁾ (11)식에 의해 구한 Q^b를 다음 (13)식에 따라 간혈류량(CL^{b_p}) 값으로 환산하였고, CL^{b_p}와 CL^{b_{p,intr}}도 혈액-간클리어란스(CL^{b_p})와 혈액-간고유클리어란스(CL^{b_{p,intr}})로 계산하였다.

$$Q^b = Q^b_p / R_b \dots\dots\dots (13)$$

$$CL^b_p = CL^b_p / R_b \dots\dots\dots (14)$$

$$CL^b_{b, intr} = CL^b_{p, intr} / R_b \dots\dots\dots (15)$$

모든 측정치와 계산치는 mean ± standard error로 표시하였으며 unpaired student's t-test에서 p<0.05인 경우만을 유의성이 있다고 판정하였다.

Table 1. Some physiological changes and the blood cell distribution of ICG in control and phenobarbital-pretreated rats[#]

	Control	PB-pretreated
Weight factor ^{a)}	1.01 ± 0.01	0.01 ± 0.01
Liver weight(g/kg body wt)	33.27 ± 0.77	42.42 ± 0.09***
C _{bc} /C _p ^{b)}	0.004 ± 0.001	0.003 ± 0.001
R _{bc}	0.532 ± 0.048	0.522 ± 0.041

^{a)} Weight after pretreatment/weight before treatment.

^{b)} Calculated by actually determined concentration.

^{c)} Blood-to-plasma concentration ratio calculated by <HCT (C_{bc}/C_p) + 1 - HCT>

^{#)} Mean ± S.E. of eleven rats. ***p<0.001

Table 2. Intercompartmental transfer rate constant and elimination rate constant of ICG following femoral vein bolus administration to rats(1mg/kg)[#]

Parameters	Control	PB-pretreated
K ₁₂ (min ⁻¹)	0.5724 ± 0.0630	0.9061 ± 0.0815**
K ₂₁ (min ⁻¹)	0.0532 ± 0.0043	0.0759 ± 0.0091*
K ₂₀ (min ⁻¹)	0.0868 ± 0.0104	0.1616 ± 0.0194**

[#] Mean ± S.E. of six rats. *p<0.05. **<0.01.

결 과

1. 간중량 및 혈구분배의 변화

Table I에 나타낸 바와 같이 PB전처리로 인하여 체중은 변화가 없었으나 간중량이 34.3%로 유의성(p<0.001)있게 증가함을 알 수 있었고, 이는 Yates등³⁾이 보고한 간중량이 42.1% 증가한다는 내용과 일치하고 있다.

Fig. 1과 Table I에 나타낸 바와 같이 PB전처리로 인하여 혈구분배율(C_{bc}/C_p) 및 혈액-혈장 약물농도비(RB)는 감소하는 경향을 보였으나 유의성있는 차이는 없었고, ICG의 혈구분배율은 4% 이하로써 혈구내로 거의 이행하지 않는다는 Stekiel¹⁴⁾등의 보고와도 일치하였다.

Table 3. Effect of phenobarbital on the pharmacokinetic parameters of ICG after its femoral and portal vein bolus administration to rats (1 mg/kg)*.

Parameters	Control	PB-pretreated
$Cl_{p,fv}$ (ml/min/kg)	17.0 ± 1.9	24.6 ± 2.7**
$Cl_{p,pv}$ (ml/min/kg)	32.3 ± 3.9	50.5 ± 6.1**
MRT _{fv} (min)	7.2 ± 0.6	3.6 ± 0.4**
MRT _{pv} (min)	9.9 ± 0.9	4.3 ± 0.4**
(V _{d,e}) _{fv} (ml/kg)	47.3 ± 5.7	41.2 ± 4.5
(V _{d,p}) _{fv} (ml/kg)	74.7 ± 8.9	47.6 ± 5.2**
(V _{d,ss}) _{fv} (ml/kg)	121.8 ± 13.4	89.2 ± 9.8**
K ₁₂ (V _{d,c}) _{fv} (ml/kg)	27.07 ± 1.9	37.33 ± 2.7**
K ₂₁ (V _{d,p}) _{fv} (ml/kg)	3.97 ± 0.4	3.61 ± 0.3**

Subscripts, fv and pv, mean the femoral vein and the portal vein, respectively

* Mean ± S.E. (n=6~8). **p<0.01.

Table 4. Changes in hepatic residence time(HMRT), extraction ratio(E_p), blood clearance(CL^b) and intrinsic blood clearance(CL^{b,INTR}) of ICG in phenobarbital-pretreated rats following single bolus administration

Parameters	Control	PB-pretreated
HMRT (min) ^{a)}	2.7	0.7
E _p ^{a)}	0.475	0.512
CL ^b (ml/min/kg) ^{b)12}	32.0 ± 3.6	47.1 ± 5.2**
CL ^{b,INTR} (ml/min/kg) ^{c)21}	60.7 ± 7.3	96.7 ± 11.62**
(ml/min/g liver)	1.91 ± 0.15	2.27 ± 0.20*
Q ^b (ml/min/kg) ^{a)21}	67.5	91.9

a) Calculated by mean values.

b) $Cl^b = CL_{p,fv} / R_B = \text{Dose} / AUC_{fv} R_B$

c) $Cl^{b,INTR} = CL_{p,pv} / R_B = \text{Dose} / AUC_{pv} R_B$

d) $Q^b = Q_{fp} / R_B$

e) Mean ± S.E. (n=6~8). *p<0.05. **p<0.01.

2. 주사시 ICG의 혈장중 농도추이

ICG(1mg/2ml/kg)를 정맥내 및 간문맥내로 투여하였을 때의 혈장중 약물농도-시간곡선을 반대수 그래프 용지에 curve fitting하여 Fig. 2와 3에 각각 표시하였으며 이로부터 얻은

약물속도론적 파라메타를 Table II~IV에 나타내었다.

PB전처리군에 있어서 속도정수 K₁₂는 약 1.58배, K₂₁는 약 1.43배, K₂₀는 약 1.86배가 증가하여 상대적으로 K₂₀가 더 많이 증가함

로써 전신혈장클리어란스(CLp)는 약 1.45배가 유의성($p < 0.01$)있게 증가하고(Table II), MRT, 말초컴파트먼트의 분포용적($V_{d\beta}$) 및 $V_{d\alpha}$ 가 유의성($p < 0.01$)있게 감소하였으며(Table III) 이로부터 구한 간내 평균체류시간(HMRT)이 감소하고 간혈류량(Q^h_b) 및 혈액-간고유클리어란스($CL^h_{b,mt}$)가 증가하였다(Table IV).

Legends for Figures

Fig. 1. Distribution of ICG into red blood cells of control(●) and PB-pretreated (○) rats. Each point represents the mean value of three independent experiments. Solid and dotted lines represent the means of control and PB-pretreated group, respectively.

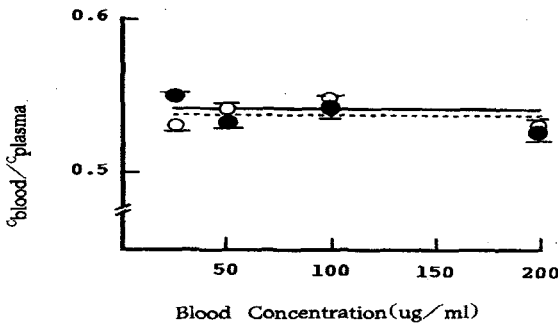


Fig. 2. Mean arterial plasma concentration-time profiles of indocyanine green after femoral vein bolus administration of 1mg/kg body weight to control(●) and phenobarbital-pretreated(○) rats ($n=6$). Each solid line was calculated by RSTRIP¹⁸⁾. Vertical bar represents the standard error of the mean. Key: * $p < 0.05$ relative to respective control value.

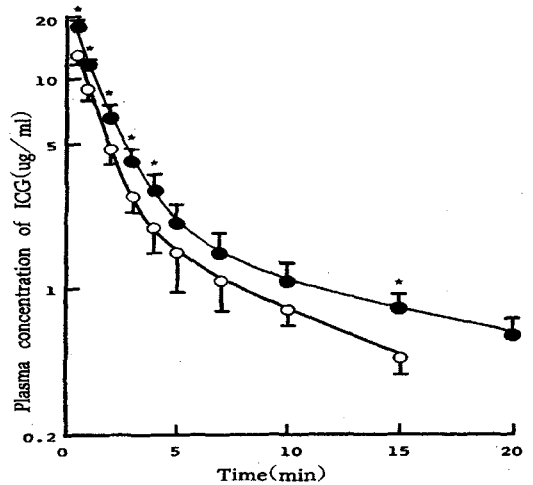


Fig. 3. Mean arterial plasma concentration-time profiles of indocyanine green after portal vein bolus administration of 1mg/kg body weight to control(●)

and phenobarbital-pretreated(○) rats (n=6~8). Each solid line was calculated by RSTRIP¹⁸⁾. Vertical bar represents the standard error of the mean. Key: *p<0.05 relative to respective control value.

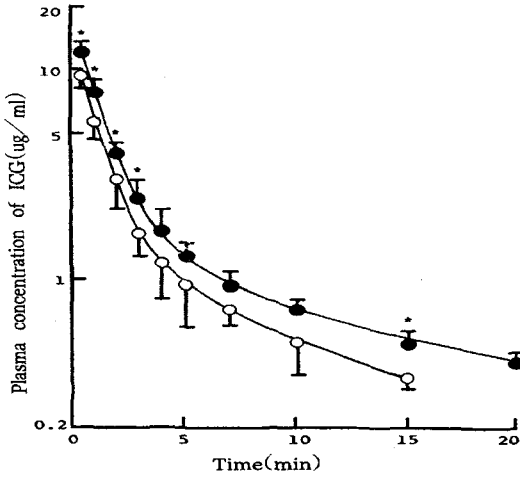
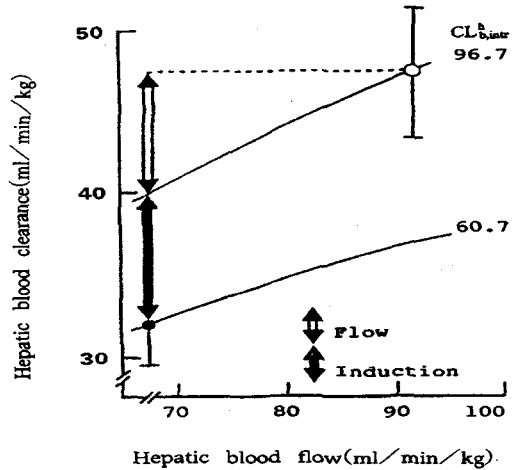


Fig. 4. The relationship of hepatic blood clearance and hepatic blood flow for ICG following injection to rats. The enzyme induction from phenobarbital increases the clearance of ICG from the value represented by the closed circle to the value represented by the

open circle. Vertical bars around the circles represent the standard error of the mean. The black arrows indicate the proportion of the increased clearance caused by the increase in intrinsic clearance (here labelled as) and the blanked arrows the proportion due to the increase in hepatic blood flow caused by phenobarbital. Each solid line means that hepatic intrinsic clearances of ICG in the control and phenobarbital-pretreated rats are constant in spite of changing hepatic blood flow.



고 질

1. ICG의 간내이송에 미치는 PB의 영향

정맥내 주사시 ICG의 혈장중 약물농도-시간 곡선이 2개의 자연지수항 방정식에 가장 잘 fitting된 것으로부터 혈장중 ICG의 소실 양상은 혈장농도에 의존하는 초기 hepatic uptake 과정과 간내 약물농도에 의존성인 간에서 혈장으로부터의 유출과정 및 간에서 담즙으로의 배설 과정으로 이루어지는 2 콤파트먼트 모델로 해석할 수 있었고 이는 Bowmer²¹⁾의 결과와 같았다. Fig. 2에 표시한 바대로 초기소실이 PB전처리로 인하여 유의성(p<0.05)있게 증가하는 것으로부터 초기상에서 총 hepatic uptake가 증가함을 알았다.

한편, Meijer⁵⁾의 저축 간 환류실험에 의하면 초기 hepatic uptake는 총수담관 결찰에 의해 영향을 받지 않았고, 초기분포상에서는 혈장중 존재하는 약물분율이 클 것이므로 초기상에서의 혈장클리어란스($V_{dc}K_{12}$)는 hepatic uptake를 반영할 것이다. 그런데, 초기상에서의 ICG의 혈장클리어란스가 27.07ml/min/kg에서 PB전처리로 인하여 37.33ml/min/kg로 약 38% 증가하는 것은(Table III) PB전처리로 인한 간 혈류량 증가, 혈장단백 결합능의 변화와 간세포막이나 유동세포막중의 유기음이은성 수송담체의 활성화를 고려해 볼 수 있다. 또한, 초기상에서의 간추출율($V_{dc} \cdot K_{12}$)은 대조군과 PB전처리군에서 약 74%와 77%이다. ICG의 혈장단백 결합율은 약 97~98%로서²⁷⁾ 혈장단백 비결합형 분율만이 간으로 uptake된다고 가정하면 그로부터 예견할 수 있는 값 2내지 3%보다도 추출율이 대단히 크게 나타난 것으로부터 ICG의 hepatic uptake는 혈장단백 비결합형 약물에만 의존하지 않고 warfarin²⁸⁾, BSP

²⁹⁾등에서와 같이 단백질 매개에 의한 hepatic uptake일 가능성이 시사된다. 따라서, 초기상에서의 혈장클리어란스의 증가는 간혈류량 증가 때문으로 사료되고 이는 PB전처리 흰쥐의 간을 사용해도 환류속도를 일정하게 하면 dibromosulphthalein의 혈장에서 간내로 이송속도상수(K_{12})가 차이가 나지 않는다는 Meijer⁵⁾의 보고와 마찬가지로 PB전처리시 초기 hepatic uptake 변화의 주요인은 환류속도 즉 혈류변화에 의한 것임을 알 수 있다.

한편, 간무게는 평균 약 28% 증가하나(Table I) 간 고유클리어란스는 간문맥내 주사투여 결과로부터는 약 59% 증가하고 각각의 간무게로 평균화하여도 간고유클리어란스가 약 19% 증가하고있으므로(Table IV) 간무게의 증가에 따른 요인만으로는 설명할 수 없다.

따라서, PB전처리에 의한 ICG의 간초회통과 효과나 간클리어란스 변화 요인을 설명하기 위해서는 PB의 효과를 간혈류량 증가와 간고유클리어란스 증가 요인으로 구분하여 각각의 기여도를 산출할 필요가 있다.

2. 간혈류량 측정

Wilkinson²⁹⁾등은 정맥투여와 경구투여에서 얻은 혈중 약물농도-시간곡선하 면적을 이용하여 간혈류량을 산출할 수 있는 약물속도론적 방법을 제시한 바, 본 실험에서는 ICG를 사용하여 동일 흰쥐에 정맥과 간문맥내로 투여순서를 fv-pv와 pv-fv로 교차로 투여하여 얻은 혈장중 약물농도로부터 간혈류량을 산출하는 실험방법을 제시하고 아울러 PB전처리에 의한 간혈류량 변화를 측정하고자 하였다. 그 결과 대조군의 간혈류량은 67.5ml/min/kg로서 보고된 간혈류량³⁰⁾과 잘 일치하였으며 PB전처리군에서는 91.9ml/min/kg로 약 36% 증가하였는데, 이것은 Ohnhaus나 Nies⁷⁻⁹⁾이 방사성표지

미립구를 사용하여 PB전처리에 따른 간혈류량 변화를 측정한 결과하고도 일치된다. 그러나 각각 다른 개체에 대해 투여하여 얻은 실험값이기에 실험오차에 따른 변동은 구할 수 없었다 (Table IV).

한편, Nies등⁹⁾은 PB전처리에 의해 간혈류량이 증가하는 것은 간문맥의 증가와는 무관하게 간문맥혈이 증가하였기 때문임을 밝힌 바 있다. 따라서, PB전처리에 의해 간혈류량이 약 36% 증가하는 것은 간문맥혈이 증가하였기 때문으로 사료되고, 초기상에서 최대 혈장클리어란스가 약 38% 증가하는 것도 간문맥혈 증가에 따른 간혈류량 증가에 기인한 것으로 생각된다.

3. 간고유티어란스와 간혈류량 증가의 상대적인 기여도

PB와 같은 간 마이크로솜 약물대사효소 유도제와 병용투여된 다른 약물의 혈장중 소실의 변화 즉 클리어란스 변화를 설명하기에는 PB가 간혈류량도 변화시키기 때문에 대사효소 활성화도 변화만으로는 불충분한 때가 많다^{31,32)}. 따라서, 병용투여된 약물의 클리어란스 증가에 미치는 간혈류량과 대사효소 활성화도의 상관성을 구명하거나 그 상대적인 기여도를 밝히는 것은 약물체내동태의 해석에 대단히 중요하다.

PB전처리로 인하여 ICG의 혈액-간클리어란스($ml/min/kg$)는 32.0에서 47.1로, 혈액-간고유티어란스는 60.7에서 96.7로 증가하였으며 Wilkinson등²⁵⁾의 방법에 따라 계산한 간혈류량($ml/min/kg$)은 67.5에서 91.9로 증가한다. Fig. 4는 혈액-간고유티어란스는 일정하다고 가정하고 혈류변화에 따른 혈액-간클리어란스의 변화를 표시한 것이다. ICG의 혈액-간클리어란스 증가에는 간혈류량 증가가 약 49%, 혈액-간고유티어란스 증가가 약 51% 기여한 것으로 추정되었으나 앞서 언급한 바대로 각각

다른 개체를 사용하여 얻은 실험값이기에 혈류증가에 따른 변동의 폭은 알 수가 없었다.

결 론

원취 kg 당 PB 75mg을 하루에 한번씩 4일간 복강내 투여하여 ICG의 hepatic uptake에 미치는 간혈류량 증가의 영향과 간고유티어란스 및 간혈류량 증가가 ICG의 간클리어란스 증가에 미치는 상대적인 영향을 속도론적으로 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. ICG를 원취에 정맥내 및 간문맥내로 주사하여 얻은 혈장중 ICG농도 추이로부터 약 물체내속도론을 사용하여 간혈류량(HBF)을 구하였을 때, 그 값은 대조군 67.5에서 PB전처리군 91.9 $ml/min/kg$ 로 약 36% 증가하였다. 따라서 PB전처리로 인하여 간혈류량이 약 36% 증가하였기 때문에 초기상에서의 ICG의 최대 혈장클리어란스가 약 38% 유의성있게 증가한 것임을 알 수 있었다.
2. "Well-stirred" 모델에 따라 ICG의 혈액-간클리어란스(CL_b)의 정체를 HBF와 절보기 간고유티어란스로 나누어 고찰할 때, PB전처리에 의한 ICG의 증가 CL_b 증가(32.0→47.1)에는 HBF의 증가가 49% 기여한 때 문임을 알았다. 따라서, $CL_{b, \text{inter}}$ 의 증가는 CL_b 증가에 약 51% 기여한 것으로 나타났다.

감사의 말씀

이 논문은 전남대학교 학술연구비(1988, 1989) 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사 드린다.

참 고 문 헌

1. Rowland, M. Benet, L.Z. and Graham, G. G. : Clearance concepts in pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 1, 123 (1973).
2. Yates, M.S., Hiley, C.R., Roberts, P.J., Back, D.J. and Crawford, F.E. : Differential effects of hepatic microsomal enzyme inducing agents on liver blood flow. *Biochem. Pharmacol.* 27, 2617 (1978).
3. Yates, M.S., Hiley, C.R., Challiner, M.R. and Park, B.K. : Phenobarbitone effects on hepatic microsomal enzymes and liver blood flow in the guinea pig. *ibid.* 28, 2856 (1979).
4. Levi, A.J., Gatmaitan, Z. and Arias, I.M. : Two hepatic cytoplasmic protein fractions, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophthalein, and other anions. *J. Clin. Invest.* 48, 2156 (1969).
5. Meijer, D.K.F., Vonk, R.J., Keulemans, K. and Weitering, J.G. : Hepatic uptake and biliary excretion of dibromosulphthalein. Albumin dependence, influence of phenobarbital and nafenopin pretreatment and the role of Y and Z protein. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 202, 8 (1977).
6. Wolkoff, A.W., Goresky, C.A., Sellin, J., Gatmaitan, Z. and Arias, I.M. : Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. *Am. J. Physiol.* 236, E638 (1979).
7. Ohnhaus, E.E., Thorgerirsson, S.S., Davies, D.S. and Breckenridge, A. : Changes in liver blood flow during enzyme induction. *Biochem. Pharmacol.* 20, 2561 (1971).
8. Ohnhaus, E.E. and Locher, J.Th. : Liver blood flow and blood volume following chronic phenobarbitone administration. *European J. Pharmacol.* 31, 161 (1975).
9. Nies, A.S., Wilkinson, G.R., Rush, B.D., Strother, J.T. and McDevitt, D.G. : Effects of alteration of hepatic microsomal enzyme activity on liver blood flow in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 25, 1991 (1976).
10. Klaassen, C.D. : Studies on the increased biliary flow produced by phenobarbital in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 176, 743 (1971).
11. Lin, T.H., Sawada, Y., Sugiyama, Y., Iga, T. and Hanano, M. : Effect of phenobarbitone on the distribution and elimination of imipramine in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 735 (1985).
12. Cherrick, G.R., Stein, S.W. and Leevy, C. M. : Indocyanine green. Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. *J. Clin. Invest.* 39, 592 (1960).
13. Wheeler, H.O., Cranston, W.I. and Meltzer, J.I. : Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99, 11 (1958).
14. Stekiel, W.J., Kampine, J.P., Banaszak, E.F.

- and Smith, J.J. : Hepatic clearance of indocyanine green in the dog. *Am. J. Physiol.* 198, 881 (1960).
15. Branch, R.A., James, J.A. and Read, A.E. : The clearance of antipyrine and indocyanine green in normal subjects and in patients with chronic liver disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 20, 81 (1976).
 16. McDevitt, D.G., Nies, A.S. and Wilkinson, G.R. : Influence of phenobarbital on factors responsible for hepatic clearance of indocyanine green in the rat. Relative contributions of induction and altered liver blood flow. *Biochem. Pharmacol.* 26, 1247 (1977).
 17. Wintrobe, M.M., Lee, G.R. and Boggs, D.R. : Clinical Hematology 7th ed., Lea & Febiger, Philadelphia (1974).
 18. Lamson, M.L. : *RSTRIP-Polyexponential curve stripping/least squares parameter estimation, user handbook*, MicroMath Inc., Salt Lake City, Utha (1987).
 19. Boxenbaum, H.G., Riegelman, S. and Elashoff, R.M. : Statistical estimations in pharmacokinetics. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 2, 123 (1974).
 20. Yamaoka, K., Nakagawa, T., and Uno, T. : Application of Akaike's information criterion(AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *ibid.* 6, 165 (1978).
 21. Bowmer, C.J., Yates, M.S. and Emmerson, J. : The effect of acute renal failure on the pharmacokinetics of indocyanine green in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 34, 2531 (1982).
 22. Gibaldi, M. and Perrier, D. : *Pharmacokinetics* 2nd ed., Marcel Dekker, New York, p. 91 (1982).
 23. Chiou, W.L. : Potential pitfalls in the conventional pharmacokinetic studies. Effects of the initial mixing of drug in blood and the pulmonary first-pass elimination. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 7, 527 (1979).
 24. Riegelman, S. and Collier, P. : The application of statistical moment theory to the evaluation of in vivo dissolution time and absorption time. *ibid.* 8, 509 (1980).
 25. Wilkinson, G.R. and Shand, D.G. : A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 377 (1975).
 26. Rowland, M. : Influence of route of administration on drug availability. *J. Pharm. Sci.* 61, 70 (1972).
 27. Hwang, S.W. : Plasma and hepatic binding of indocyanine green in guinea pigs of different ages. *Am. J. Physiol.* 228, 718 (1975)/
 28. Tsao, S.C., Sugiyama, Y., Sawada, Y., Nagase, S., Iga, T. and Hanano, M. : Effect of albumin on hepatic uptake of warfarin in normal and analbuminemic mutant rats. Analysis by multiple indicator dilution method. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 14, 51 (1986).

29. Weisiger, R.A., Gollan, J.L. and Ockner, R.K. : An albumin receptor on the liver cell may mediate hepatic uptake of sulfobromophthalein and bilirubin, bound ligand, not free, is the major uptake determinant, *Gastroenterology* 27, 1065 (1980).
30. Boxenbaum, J. : Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance. *J. Pharmacokin. Biopharm.* 8, 165 (1980).
31. Mclean, A., Souich, D.P., and Gibaldi, M. : Noninvasive kinetic approach to the estimation of total hepatic blood flow and shunting in chronic liver disease-hypothesis. *Clinic. Pharmacol. Ther.* 25, 161 (1979).
32. Branch, R.A. : Drugs as indicators of hepatic function. *Hepatology* 2, 97 (1982).