

## 시메티딘이 간혈류량에 미치는 영향

— Rat에 있어서 Indocyanine Green의 체내 동태를 중심으로 —

전남대학교 약학대학

이 용 복<sup>†</sup> · 고 익 배

### Effect of Cimetidine on the Hepatic Blood Flow

—On the Basis of Pharmacokinetics of Indocyanine Green in Rats—

Yong-Bok Lee<sup>†</sup> · Ik-Bae Koh

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

The influence of cimetidine pretreatment(100mg/kg, single i.p.) on the hepatic blood flow was investigated using pharmacokinetic parameters of indocyanine green(ICG) in the rat on the basis of hepatic perfusion-limited model. ICG(1mg/kg) was respectively administered via femoral and portal vein to the control and to the cimetidine-pretreated rats. The rate constant K12, K20 and the systemic clearance(CLt) of ICG were significantly( $p < 0.05$ ) decreased in the cimetidine-pretreated rats, but no significant differences were observed in hematocrit and liver weight. The biliary excretion rates of ICG were also decreased regardless of the route of administration in the cimetidine-pretreated rats. And also the hepatic blood flow in rats was decreased about 16% by cimetidine. It may be concluded that the decreased hepatic blood flow with cimetidine mainly contributed to the decreased hepatic uptake and the decreased systemic clearance of ICG.

### 서 론

간에서의 약물 클리어란스는 간으로의 약물이송, hepatic uptake, 간에서의 저장, 생체내 변환(biotransformation) 및 담즙으로의 배설 등 제반 과정에 따라 일어나며, hepatic perfusion-limited model<sup>1)</sup>에 따르면 간클리어란스는 약물 비결합형분율 및 간효소계의 활성도 뿐만 아니라 간혈류량에 지배된다고 알려져 있다.

히스타민 H<sub>2</sub>-receptor 길항제로서 위.십이지장 궤양 및 위산과다증에 임상적으로 널리 사용되고 있는 시메티딘<sup>2,3)</sup>은 구조적으로 imidazole 치환체

로서 간내의 cytochrome P<sub>450</sub>과 결합함으로써 다른 약물의 산화반응을 저해<sup>4,5)</sup>할 뿐만아니라 common hepatic artery의 혈류량을 감소<sup>6)</sup>시켜 병용된 다른 약물의 클리어란스를 감소시킨다고 알려져 있으나, 시메티딘에 의한 간혈류량 감소에 대해서는 논란의 여지가 많다<sup>7)</sup>.

본 연구에서는 병용약물의 간클리어란스에 미치는 시메티딘의 상기 요인중 우선 시메티딘에 의한 간혈류량 변화 유무를 밝히기 위하여 모델 약물로서 ① 간기능 진단시약이며 ② 간에서 대사되지 않아<sup>8)</sup> 효소저해 효과를 받지 않으며 ③ 담즙으로만 배설<sup>9)</sup>되어 그 전신클리어란스가 꼭 간클리어란스를 반영하는 indocyanine green(이하 ICG라 함)을 사용하여 실험을 실시하였다. 즉,

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

시메티딘 전처리군(100mg/kg, 1회 복강내 투여)과 대조군 rat에 ICG(1mg/kg)를 정맥내 및 간문맥내로 따로 투여한 다음 얻어진 혈장중 농도추이를 속도론적으로 해석함으로써 시메티딘이 간혈류량에 미치는 영향을 검토하고자 하였다. 아울러 시메티딘 전처리에 의한 생리학적 변화도 함께 고찰하였다.

## 실험 방법

### 실험재료

#### (1) 시약 및 재료

Indocyanine green(Sigma사, U.S.A.), 시메티딘(중외제약), 헤파린(한림제약)등을 사용하였으며, 분석기기로서 spectrophotometer(Kontron사, UVI-KON 930, Switzerland), microcentrifuge(Kokusans사, H-31, Japan)등을 사용하였다.

#### (2) 실험동물

체중 200~300g의 웅성 Wistar rat(서울대 병원 실험동물 사육실)를 각 실험군으로 분류하여 물과 사료(제일사료사)를 자유로이 공급하면서 격리된 장소에서 동일조건(온도 18-20°C, 습도 45-55%)으로 2주일 이상 사육하여 사용하였다.

### 실험방법

#### (1) 실험동물 전처리

24시간 절식시킨 상기의 실험동물을 가볍게 에텔 마취한 후 수술대에 고정시켰다. 각 군 공히 좌측 대퇴 동·정맥에 PE-50 폴리에틸렌관(Intra-medical®, Clay Adams사, U.S.A.)을, 담도에 PE-10 폴리에틸렌관을 삽입하였으며, 간문맥 투여시는 25개이지 주사침이 장치된 폴리에틸렌관을 간문맥 혈류가 저해받지 않도록 간문맥에 삽입한 후 순간접착제 Aron-α®(Toagosei Chemical Industry Co., Japan)를 사용하여 고정시켰으며 봉합사를 이용하여 개복부위를 봉합하였다. 30분 이상 방치하여 마취에서 회복되었음을 확인한 후 ICG 투여 30분전에 시메티딘 1g을 생리식염수 100ml에

녹인 액을 rat kg당 10ml씩을 복강내 투여한 시메티딘 전처리군과 같은 방법으로 생리식염수만을 복강내 투여한 대조군으로 나누어 실험하였다.

#### (2) 간중량 측정

혈액과 담즙의 채취가 끝난 실험동물을 좌측 대퇴동맥으로부터 전혈을 빼서 죽인 뒤 즉시 복부를 절개하고 간문맥을 통하여 냉장고에 보관한 생리식염수를 주사해서 간내의 혈액을 제거한 후 간을 적출하여 생리식염수로 씻고, 여지를 사용하여 물기를 제거한 다음 간의 무게를 측정하였다.

#### (3) Hematocrit 측정

각 실험군 모두에서 ICG 투여 직전에 얻은 전혈을 채취 즉시 헤파린이 기벽에 묻어 있는 모세관(Superior®, W-Germany, 전장 75mm, 내경 1.1~1.2 mm)에 높이 60mm 정도 채우고 모세관의 한 쪽 끝을 실리콘 왁스(Superior®, W-Germany)로 막고 12,000rpm(10,000g)에서 2분간 원심분리한 뒤, 전체 혈액 길이에 대한 적혈구 부위 길이의 비율로 환산하여 표시하였다(Wintrobe®법)

#### (4) ICG 투여 및 혈액·담즙의 채취

상기와 같이 전처리된 실험동물 kg당 ICG 100 mg을 탈이온수 200ml에 녹인 용액 2ml씩을 대퇴정맥과 간문맥으로 각각 따로 20초에 걸쳐 투여하고 관내에 남아 있는 ICG 용액은 생리식염수 일정량을 사용하여 밀어 넣어 주었다. ICG 용액을 투여한 후 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15, 20, 30분 간격으로 대퇴동맥으로부터 혈액 약 0.3ml를 취하고 관속에 남아 있는 혈액은 헤파린액(20IU)을 사용하여 실험동물 체내에 밀어 넣어 주었으며 담도 삽입관으로부터 담즙을 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90분 간격으로 채취하였다. 실험도중의 실험을 보상해 주기 위하여 생리식염수 일정량을 좌측 대퇴정맥의 삽입관을 통해 공급하여 주었으며 전 실험기간 체온을 유지토록 하여 주었다. 담즙의 유출속도는 담즙의 밀도를 1로 보고 밀도측정법에 따라 측정하였으며 ICG의 담즙중 평균 배설속도는 담즙의 유출속도와 담즙중 ICG 농도의 곱으로 구하였다.

(5) 혈액 및 담즙중 ICG의 정량

각 시간 채혈된 혈액을 12,000rpm에서 2분간 원심분리시켜 얻은 혈장 0.1ml에 탈이온수 일정량을 가한 다음 800nm에서 마이크로 셀을 사용하여 흡광도를 측정하였으며 미리 작성된 검량선으로부터 혈장중 ICG의 농도를 계산하였다. 담즙중 ICG의 정량은 각 시간 채취된 담즙 50 l에 탈이온수 일정량을 가한 후 800nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성된 검량선으로부터 그 농도를 계산하였다.

(6) 약물속도론적 분석 및 통계처리

혈장중 ICG의 농도추이는 2-컴파트먼트 모델로 해석하였으며 curve fitting하는 데에는 RSTRIP 프로그램(MicroMath, Inc., Salt Lake City, UT, U.S.A.)을 사용하였다.

한편, hepatic perfusion-limited model<sup>11,10)</sup>에 따르면 혈장-간클리어런스( $CL_p^h$ )는 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$CL_p^h = Q_p^h \cdot \frac{CL_{p, intr}^h}{Q_p^h + CL_{p, intr}^h} \quad (1)$$

여기서,  $Q_p^h$ 는 간을 통과하는 혈장유량을 나타내며,  $CL_{p, intr}^h$ 는 혈장-간고유클리어란스를 나타낸다. ICG는 간에서 대사되지 않고<sup>8)</sup> 담즙으로만 배설되어<sup>8)</sup> 대퇴정맥투여시 얻어진 전신 혈장클리어런스( $CL_{p, fv}$ )는 곧 혈장-간클리어런스( $CL_p^h$ )를 반영하므로  $CL_{p, fv}$ 를  $CL_p^h$ 로 계산하였고,  $CL_{p, intr}^h$ 는 문맥투여시 얻어진 혈장중 약물농도-시간 곡선하 면적( $AUC_{pv}$ )을 이용하여 다음 (2)식에 따라 구하였으며, 간혈장유량( $Q_p^h$ )은 다음 (3)식<sup>10)</sup>에 따라 계산하였다.

$$CL_{p, pv} = Dose_{pv}/AUC_{pv} = CL_{p, intr}^h \quad (2)$$

$$Q_p^h = \frac{CL_{p, fv} \times CL_{p, pv}}{CL_{p, pv} - CL_{p, fv}} \quad (3)$$

첨자 fv와 pv는 각각의 투여경로인 대퇴정맥내 투여와 간문맥내 투여를 의미한다.

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

실험결과 및 고찰

간중량과 Hematocrit의 변화

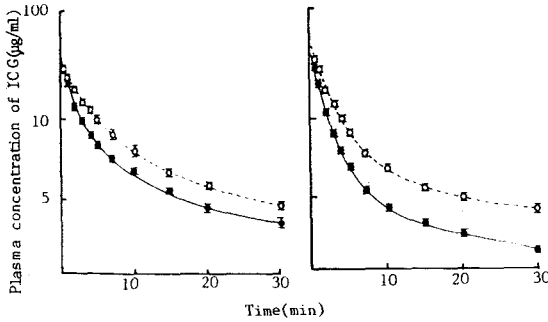
rat kg당 100mg의 시메티딘을 복강내 투여시 hematocrit는 0.51±0.03으로 대조군의 0.47±0.02보다 증가하는 경향을 보였으나 유의성있는 차이는 없었다. rat의 간중량은 대조군에서 kg당 31.74±0.77g, 시메티딘 전처리군에서 31.24±0.69g으로 변화가 없었다.

ICG의 혈장중 농도추이

ICG(1mg/kg)를 정맥내 및 간문맥내로 투여하였을 때의 혈장중 농도-시간곡선을 반대수 그래프 용지에 curve fitting하여 Fig. 1에 나타내었다. 대조군과 시메티딘 전처리군에 있어서 모두 다 2-컴파트먼트 모델에 잘 fitting되었으며 Iga등<sup>11)</sup>의 방법에 따라 ICG의 주된 소실장기인 간장을 말초컴파트먼트로 해석하였다. ICG를 정맥내 투여한 후의 속도정수 변화를 Table I에 나타내었다. 시메티딘 투여로 말미암아 ICG를 정맥내 투여시의 속도정수  $K_{12}$  및  $K_{20}$ 가 유의성있게 감소하였다. 또한, 간혈장유량의 변화를 약물속도론적으로 구하였던 바 시메티딘 투여로 말미암아 간혈장유량은 59.92→50.43(ml/min kg)으로 약 16% 감소함을 알 수 있었다(Table II). 따라서, 간으로의 약물이행을 의미하는 속도정수  $K_{12}$ 의 약 39% 감소(0.5324→0.3261)는 시메티딘 투여로 인한 간혈류량의 감소에 기인된 것으로 사료되었으며 시메티딘 투여로 말미암아 전신클리어런스( $CL_t$ )가 감소하는 것은 간혈류량의 감소때문인 것으로 사료되었다.

한편, 시메티딘이 담즙유량에는 영향을 미치지 않았으나 간의 고유대사능을 나타내는 클리어런스 즉, 간문맥내 투여시의 전신클리어런스가 시메티딘 투여로 말미암아 18.37→13.68(ml/min kg)으로 약 26%, 배설속도정수  $K_{20}$ 가 0.0768→0.0516(min<sup>-1</sup>)으로 약 33% 유의성있게 감소하는 것은 시메티

딘이 ICG의 간고유대사능 즉 간고유클리어란스에 영향을 끼쳤음을 나타내는 것으로서 이의 원인에 대해서는 계속적으로 연구되어야 하리라 사료된다.



**Fig. 1.** Mean plasma concentration-time curve of ICG (1 mg/kg) after intravenous(left panel) or intraportal(right panel) administration to rats.

Each solid curve was calculated by RSTRIP program on 2-compartment model.

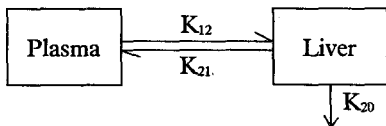
Vertical bars represent the mean ± S. E. of five to six experiments.

Key : ● ; control, ○ ; cimetidine pretreatment

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

| Parameters <sup>a)</sup>  | Control             | Cimetidine-pretreated <sup>b)</sup> |
|---------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| $K_{12}(\text{min}^{-1})$ | $0.5324 \pm 0.0630$ | $0.3261 \pm 0.0815^*$               |
| $K_{21}(\text{min}^{-1})$ | $0.0502 \pm 0.0043$ | $0.0559 \pm 0.0091$                 |
| $K_{20}(\text{min}^{-1})$ | $0.0768 \pm 0.0104$ | $0.0516 \pm 0.0094^*$               |

<sup>a)</sup>Transfer rate constants were assigned as follows.



<sup>b)</sup>Cimetidine (100mg/kg) was intraperitoneally administered to rat on 30min before ICG injection.

#Mean ± S.E. of five rats. \*p < 0.05

**Table II.** Pharmacokinetic parameter of ICG in rats #

| Route        | Group                 | Parameters    |                             |   |
|--------------|-----------------------|---------------|-----------------------------|---|
|              |                       | Vss (ml/kg)   | CL <sub>t</sub> (ml/min/kg) | Q <sub>p</sub> <sup>h</sup> (ml/min/kg) |
| Femoral vein | Control               | 85.29 ± 1.88  | 13.50 ± 1.23                | 59.92                                   |
|              | Cimetidine pretreated | 72.95 ± 12.02 | 10.76* ± 0.98               | 50.43                                   |
| Portal* vein | Control               |               | 18.37 ± 1.72                |   |
|              | Cimetidine pretreated | 13.68* ± 2.02 |                             |   |

#Mean ± S.E. of five to six rats.

\*P < 0.05 between routes or control and cimetidine-pretreated rats.

### ICG의 담즙중 배설속도

정맥내 및 간문맥내 투여시 ICG의 담즙중 배설속도를 각각 Fig. 2와 3에 나타내었다. 간문맥내 투여시의 배설속도가 정맥내 투여시의 배설속도보다 큰 것은 담즙으로의 약물이행이 투여경로에 의존함을 나타내고 있으며 간의 해부학적 특징에 따라 간문맥투여시 투여 전량이 간으로 귀속되기 때문으로 사료된다. 시메티딘 투여로 말미암아 ICG의 담즙중 배설속도가 감소하는 경향을 나타낸 것은 시메티딘에 의해 배설속도정수  $K_{20}$  및 간고유클리어란스가 감소하였기 때문으로 사료되었다.

한편, Fig. 1에 나타난 바와 같이 혈장중 ICG의 농도는 투여경로에 관계없이 30분 이후 혈중에서 거의 소실되지만 ICG의 담즙으로의 유출속도는 60분 이후에도 약 6.0(µg/min/kg) 이상으로 유지되고 있는 것으로 보아 ICG는 간내의 Y-단백(ligandin)과 결합<sup>12)</sup>하여 간내에 저장되고 있음을 나타낼 뿐만 아니라 ICG의 담즙으로의 배설은 간내의 이송이나 hepatic uptake과정이 아닌 간내의 parenchymal cell에서 담즙으로 분비과정이 우선 단계임을 나타내고 있다고 사료된다. 따라서, 시메티딘은 rat의 간혈류량을 감소시켜 ICG의 간내 uptake를 저해하고 간내 성분과 ICG의 결합을

유도하여 ICG의 간내 축적을 증가시켜서 담즙으로의 배설을 감소시킨 것으로 사료되었다.

## 결 론

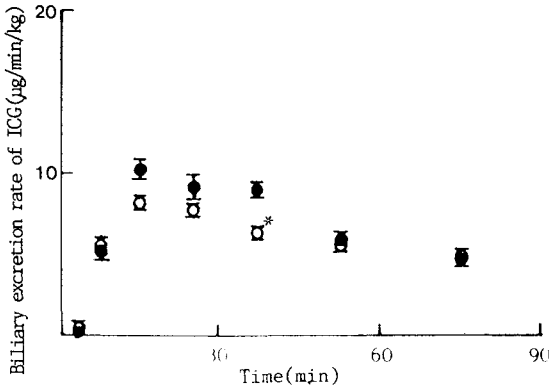
시메티딘 전처리군(100mg/kg, 복강내 투여)과 대조군 rat에 ICG(1mg/kg)를 정맥내 및 간문맥내 투여한 후 간중량, hematocrit 및 약물속도론적 파라메타의 변화를 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시메티딘은 rat의 간중량, hematocrit 값에는 영향을 미치지 않았다.

2. 시메티딘의 투여로 말미암아 ICG의 약물속도론적 파라메타인  $K_{12}$ ,  $K_{20}$  및  $CL_r$ 는 감소함을 알 수 있었다.

3. ICG의 담즙중 배설속도는 시메티딘의 투여로 인하여 대퇴정맥 혹은 간문맥내 투여시의 투여경로에 관계없이 감소하는 경향을 나타내었다.

4. Rat의 간혈류량 변화를 ICG의 체내 동태 변화로부터 구하였던 바 시메티딘은 rat의 간혈장유량을 59.92→50.43(ml/min · kg)으로 약 16% 감소시킴을 알 수 있었다.



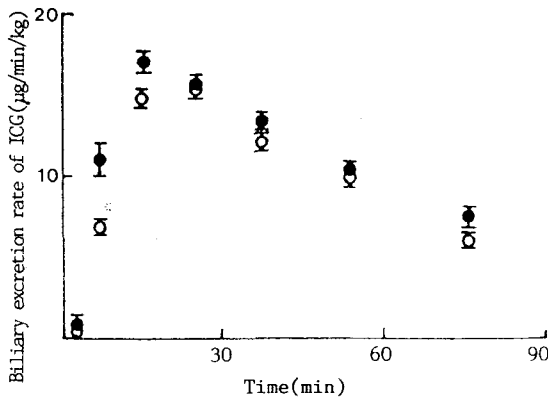
**Fig. 2.** Effect of cimetidine pretreatment on the biliary excretion rates of ICG(1mg/ml) after an intravenous administration to rats.

Vertical bars represent the mean±S. E. of 5~6 experiments.

Key : ● ; control,

○ ; cimetidine pretreatment

\*p<0.05



**Fig. 3.** Effect of cimetidine pretreatment on the biliary excretion rates of ICG(1mg/kg) after an intraportal administration to rats.

Vertical bars represent the mean±S. E. of 5~6 experiments.

Key : ● ; control,

○ ; cimetidine pretreatment

\*p<0.05

## 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. Freston, J.W. : Cimetidine in the treatment of gastric ulcer. *Gastroenterology.* **74**, 426(1978).
3. Binder, H.J., Cocoa, A., and Crossley, R.J. : Cimetidine in the treatment of duodenal ulcer. *Gastroenterology.* **74**, 380(1978).
4. Puurenen, J., Sotaniemi, E., and Pelkonen, O. : Effect of cimetidine on microsomal drug metabolism in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **18**, 185(1980).
5. Speeg, K.V., Patwardhan, R.V., Avant, G.R., Mitchell, M.C., and Schenker, S. : Inhibition of microsomal drug metabolism by histamine H2-receptor antagonist studied in vitro and in vivo in rodents. *Gastroenterology.* **80**, 1344(1981).
6. Pawlik, W., Tagne, L.L., Teppermann, B.L., Miller, T.A., and Jacobson, E.D. : Histamine H1

- and H<sub>2</sub>receptor vasodilation of canine intestinal circulation. *Amer. J. Physiol.* 233, 219(1977)
7. Grasela, D.M., Rocci, M.L., Rottmensch, H.H., and Vlasses, P.H. : Lack of effect of multiple doses of cimetidine on estimated hepatic blood flow, *Biopharm. Drug Disp.* 8, 63(1987).
  8. Cherrick, G.R., Stein, S.W., and Levy, C.M. : Indocyanine green. Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. *J. Clin. Invest.* 39, 592(1960).
  9. Wintrobe, M.M., Lee, G.R., and Boggs, D.R. : Clinical Hematology 7th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1974.
  10. Wilkinson, G.R., and Shand, D.G. : A physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 377(1975).
  11. Iga, T., Sugiyama, Y., Yokota, M., Tomono, Y., Awazu, S., and Hanano, M. : Pharmacokinetic aspects of sulfobromophthalein transport in chronically carbon tetrachloride-intoxicated rats. *Biochem. Pharmacol.* 26, 1967(1977).
  12. 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).