

사염화탄소와 갈락토사민 간장애 시의 오큐빈의 체내동태 차이

김미형 · 심창구[#] · 장일무*

서울대학교 약학대학, *서울대학교 천연물과학 연구소

(Received July 12, 1993)

Different Pharmacokinetics of Aucubin in Rats of Carbon tetrachloride and D-Galactosamine-induced Hepatic Failure

Mee-Hyoung Kim, Chang-Koo Shim[#] and Il-Moo Chang*

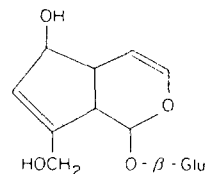
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, and *Natural Products Research Institute,

Seoul National University, Seoul 110, Korea

Abstract—Pharmacokinetics of aucubin, an iridoid glucoside, was compared in rats of experimental hepatic failure(EHF). EHF was induced by CCl₄ or D-galactosamine pretreatment. This work was designed to find out any differences in the pharmacokinetics of aucubin that may explain the different protective effect of aucubin on CCl₄- and galactosamine-induced EHF : aucubin reportedly protected CCl₄-inducing hepatotoxicity effectively, but did not for galactosamine-hepatotoxicity. EHF was induced by intraperitoneal injection of CCl₄(0.9 ml/kg) or galactosamine(250 mg/kg) to Wistar rats 24 hr before the pharmacokinetic study. The rats were fasted during the 24 hr. Aucubin was iv injected at a dose of 15 mg/kg and the plasma aucubin was assayed by HPLC. There were no significant differences in the pathophysiologicals(body weight, liver weight, GTP, hematocrit, blood cell distribution and plasma protein binding of aucubin) between the two EHF models except GOP which was significantly ($p < 0.05$) higher in CCl₄-than in galactosamine-EHF. On the other hand, pharmacokinetics of aucubin such as total clearance(CL_t), distribution volume at steady-state(Vd_{ss}), and mean residence time(MRT) differed significantly($p < 0.05$) between the models : for example, CL_t was increased two fold by CCl₄, but not by galactosamine ; Vd_{ss} in galactosamine-EHF was higher than that in CCl₄-EHF ; MRT was decreased by CCl₄, but increased conversely by galactosamine. The increase of CL_t(and decrease of MRT) in rats of CCl₄-EHF was contrary to the general expectation for the hepatic failure : most of the hepatic failures have been known to decrease CL_t of the administered drugs. Whether the difference in the pharmacokinetics is responsible for the different protective effect of aucubin against the two EHF models is of interest. However, much more studies on biliary excretion, urinary excretion, and hepatic uptake in cellular level should be preceded before any conclusions are made on the role of different pharmacokinetics on the different pharmacology of aucubin.

Keywords □ Aucubin, iridoid glucoside, CCl₄, D-galactosamine, hepatic failure, hepatotoxicity, pharmacokinetics, total body clearance, distribution volume, mean residence time(MRT).

Aucubin(1,4a, 5,7a-tetrahydro-5-hydroxy-7-(hydroxymethyl)cyclopentapyran-1-b-glucopyranoside) ¹⁾은 층층나무과에 속하는 식나무(靑木, *Acuba japonica* Thumb), 두충과에 속하는 두충(*Eucommia ulmoides*), 또는 질경이과에 속하는 차전자(*Plantago asiatica*)의



*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

앞에서 분리된 Iridoid계열의 배당체(I)로서 민간약이나 전통적인 한약으로 사용되어 왔다. 오큐빈은 광범위한 약리학적 특성을 갖고 있음이 밝혀졌다. 오큐빈은 생쥐와 흰쥐에서 80 mg/kg의 용량으로 복강 주사하였을 때, 사염화탄소 및 α -amanitin에 의해 유발된 간장해에 대한 강력한 보호작용이 있으나 galactosamine 간장해에 대해서는 보호작용이 없다고 한다.^{1,2)} 아울러 생쥐의 간에서의 RNA 및 단백질의 합성을 억제하며³⁾ prostaglandin의 합성중간체^{4,5)}이며, 담즙배설촉진작용⁶⁾도 있다. 이와같은 유용한 약물학적 특성이 있음에도 불구하고 오큐빈에 대한 약물속도론적, 또는 생물약제학적 연구는 심등⁷⁾의 논문이외에는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 오큐빈이 왜 어떤 간장해에는 보호 효과가 있으나 어떤 간장해에 대해서는 보호효과가 없는가 하는 의문에 대한 대답을 약물체내속도론 측면에서 구해보고자 하였다. 이를 위하여 우선 간장해 종류에 따라 오큐빈의 체내동태가 차이 나는가? 또 차이 난다면 얼마나 나며 그 차이의 의미는 무엇일가에 대해 음미해 보기로 하였다. 이와같이 생각하게 된 것은 간장해에 대한 오큐빈의 보호효과는 오큐빈의 간세포에의 uptake 정도와 관련되어 있을 가능성이 높으며, 만약에 간장해에 따라 오큐빈의 간세포의 uptake에 차이가 나타난다면, 이는 곧 오큐빈의 혈장 중 농도추이(pharmacokinetics)의 차이로 반영될 것이기 때문이다.

실험방법

시약

오큐빈은 식나무의 잎에서 분리한 흰색 결정성 분말을 서울대 천연물과학 연구소로부터 얻었다. D (+)-Galactosamine hydrochloride는 Sigma사(S₁ Louis, MO), 사염화탄소(CCl₄)는 Junsei Chem(Tokyo, Japan)의 특급을, 올리브 기름은 Shinyo Pure Chem 사(Osaka, Japan), GOT키트는 영동약품(Seoul), heparin은 중위제약의 25000 IU의 것을 사용하였다. 메탄올은 Fisher사(New Jersey)의 HPLC용을 사용하였다. 기타 시약은 시판 특급품을 그대로 사용하였다.

실험동물

서울대학교 실험동물 사육장에서 분양받은 위스터

계 웅성 흰쥐를 GLP규격의 사육장에서 사육시켜 체중이 200~260 g이 되었을 때 실험에 사용하였다. 사육기간 동안 사육실내의 온도는 약 20°C, 습도는 약 50%가 되게 조절하였으며, 조명은 12시간 주기로 명암을 교차시켰다. 사료(삼양사)는 일정하게 주었으며, 물은 언제나 자유로이 마실 수 있게 하였다.

기기

HPLC기기는 Shimadzu 사(Tokyo, Japan)의 펌프(LC-9A), system controller(SCL-6B), UV detector(SPD-6A), integrator(C-R6A)를 사용하였다. 컬럼은 C18-역상컬럼(Adsorbosphere HS C18, 7 μ , 250×4.6 mm id., Altech Assoc., Deerfield, USA)에 Altech사의 C18-충전제를 충전한 guard 컬럼을 연결하여 사용하였다. 그외의 기기로는 UV흡광광도계(Shimadzu), sonicator(Branson Ultrasonics, Danburg, CT) 등을 사용하였다.

간장해의 유발

사염화탄소 간장해를 유발시키기 위해서는 사염화탄소를 올리브 기름 동량으로 희석한 후, 흰쥐 kg당 2 ml를, 갈락토사민 간장해를 유발시키기 위해서는 갈락토사민을 생리식염수에 녹여 150 g/ml가 되게 한 다음 N-NaOH로 중화하여 흰쥐 kg당 250 mg을 각각 복강주사 하였다. 대조군으로는 생리식염수 만을 kg당 1.8 ml 복강주사한 흰쥐를 사용하였다. 각군의 흰쥐는 이렇게 전처리한 후 24시간 동안 절식시킨 후 본 실험에 사용하였다. 절식시라도 물만은 자유로이 마시게 하였다. 각군의 흰쥐로부터 혈청을 취하여 키트(영동약품, 서울)를 사용하여 GOT, GPT를 측정함으로써 간장해가 제대로 유발되었는가를 확인한 후에 본 실험에 사용하였다.

오큐빈의 혈장단백 결합률 및 적혈구 분배율 측정

단백결합—흰쥐의 복대동맥으로부터 선혈을 채취하여 20분간 방치한 후 혈청을 분리하여 환외여과법⁸⁾에 따라 측정하였다. 시험관에 혈청 1 ml와 일정 고농도의 오큐빈 수용액 10 μ l를 가하여 오큐빈의 농도가 50 및 100 μ g/ml가 되게 한 다음 37°C 항온조에서 10분간 약하게 진탕하였다. 다음, 이 시료중 100 μ l를 취하여 냉동보관하였으며, 나머지 시료는 YMT막

(Amicon사)으로 나누어진 원심분리형 한외여과기 (Amicon사, MPS-1)의 시료투입구에 가하고 2000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 여액의 부피가 가한 혈청 부피의 20% 미만이 되도록 하여 얻어진 여액 중의 오큐빈 농도(B)를 HPLC로 정량 하였다. YMT 막에 대한 오큐빈의 흡착을 보정하기 위하여 혈청 대신 pH 7.4인 인산염 완충액을 이용하여 동일한 방법으로 실험하여 여액 중의 오큐빈 농도(C)를 정량 하였다. 원심분리하기 전에 미리 취해 두었던 혈청 중의 오큐빈 농도(A)를 정량하여 다음식에 따라 단백질함량을 계산하였다.

$$\text{단백결합률(\%)} = 100 \times \{A - (C - B)\} / A \quad (1)$$

혈구분배실험 - 생리식염수에 녹인 헤파린(1000 IU/3 ml/kg)을 각 실험군에 투여한 후, 대동맥으로부터 blank전혈을 채혈하였다. 이로부터 혈액 1 ml씩을 정확히 취하고 오큐빈의 양이 20, 50 및 100 µg이 되도록 고농도액 10 µl씩을 가하여 37°C 항온조에서 분당 50회 왕복운동으로 진탕하였다. 예비실험 결과 오큐빈의 혈구로의 분배평형은 10분 이내에 도달함을 알았으므로 30분간 진탕한 후 5000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리한 후 얻어진 혈장 100 µl를 취하여 제단백한 후 HPLC로 오큐빈을 정량하여 다음식에 따라 혈구분배율을 계산하였다.

$$\text{혈구분배율(\%)} = 100 \times [1 - \{C_p \times V_p \times (1 - Hct)\} / X_b] \quad (2)$$

단 여기에서 Cp란 혈장중 오큐빈의 농도를, Vp란 혈액의 부피를, Hct란 각군의 흰쥐에 대해 실측한 헤마토크릿치를, 그리고 Xb란 혈중 총 약물량을 나타낸다.

오큐빈의 정맥주사

전처리한 흰쥐를 약 24시간 절식시킨 후 고정대에 배위 고정시켰다. 에테르로 흰쥐를 마취시키고 좌측 대퇴정맥과 대퇴동맥에 폴리에틸렌 튜브(PE-50, Intramedic)를 상법에 따라 삽관하였다. 전 실험기간을 통하여 백열등을 써서 흰쥐의 체온이 떨어지는 것을 방지하였다. 마취가 완전히 깨었을 때, blank 혈장 100 µl를 취해둔 후 오큐빈의 생리식염수 용액(7.5 mg/ml)을 15 mg/kg(=2 ml/kg)의 용량으로 대퇴정맥 카테터를 통하여 주사, 투여하였다. 약물을 투여한 2, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 180 및 240분 후에 대퇴정맥 카테터를 통하여 동맥혈 250 µl씩을 채혈한 후 원심

분리(10,000 rpm)하여 혈장을 분리하였다. 혈장은 오큐빈을 분석할 때까지 -20°C의 냉동고에 보관하였다. 혈액 채취가 끝난 흰쥐는 즉시 왼쪽 대퇴정맥으로부터 실혈하여 치사시키고 즉시 개봉하여 간을 적출한 후 생리식염수로 2회 세척한 다음, 여과지로 가볍게 눌러 표면의 수분을 제거하고 무게를 측정하였다.

오큐빈의 정량

오큐빈의 정량은 저자 심등⁷⁾의 방법을 약간 개선하여 사용하였다. 즉, 표준액은 오큐빈을 메탄올에 녹인 후 단계적으로 희석하여 200, 100, 50, 10 µg/ml이 되게 한 액을 사용하였다. 이 표준액을 마이크로피펫을 써서 적당량씩 취하여 미세 원심분리관에 넣고 질소 가스를 써서 메탄올을 증발시켜 잔류 오큐빈의 양이 1, 3, 5, 10, 30, 50 및 100 µg이 되게 하였다. 남아 있는 잔사에 blank혈장 100 µl씩을 넣고 1분간 vortexing 하였다. 여기에 제단백용 시약인 10% ZnSO₄액 30 µl씩을 가하고 다시 1분간 보르텍싱한 다음, 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 이 상

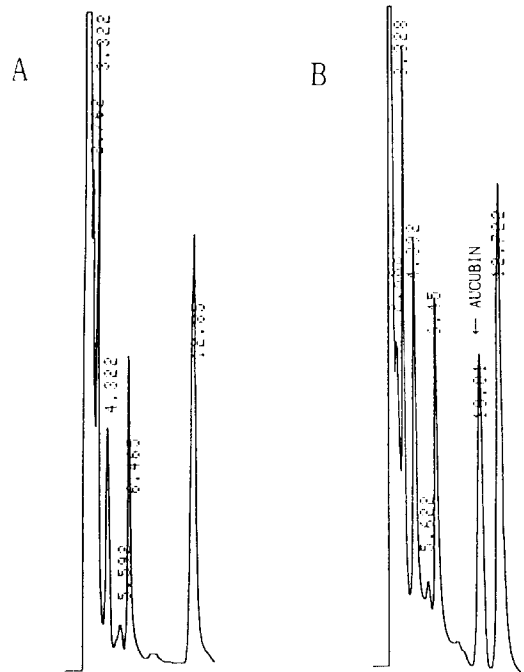


Fig. 1 - HPLC chromatograms of aucubin in the rat plasma.

A : blank plasma, B : aucubin-spiked plasma

징액 20 μ l를 HPLC컬럼을 주사하여 검량선을 작성하였다. 냉동보관된 혈장시료는 상온에서 완전히 녹인 다음 검량선 작성시와 동일한 방법으로 처리하여 오큐빈을 정량하였다.

HPLC의 고정상으로는 전술한 컬럼을 사용하였다. 이동상으로는 HPLC용 메탄올과 탈이온수를 3 : 97 (v/v)로 혼합하여 사용하였다. 모든 용매는 사용 직전에 제조하여 0.45 밀리포어 필터(구멍크기 0.45 μ m)로 여과한 후 탈기하여 사용하였다. 이동상의 유속은 1.5 ml/min이었으며 컬럼온도는 항온관을 이용하여 45 \pm 1 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 한편 검출기의 파장은 210 nm로 고정하였다. 이 조건하에서 오큐빈은 혈장내의 성분들과 잘 분리되었으며 시작 후 11분에 피크가 나타났다(Fig. 1). 피크 높이를 써서 검량선을 그렸을 때 1~100 μ g/ml의 농도범위에서 좋은 직선성을 나타내었다.

약물속도론 파라미터의 계산

전신혈장클리어런스(CL_r)와 정상상태 분포용적(V_{dss}) 및 평균 혈장중체류시간(MRT)는 각각 다음식을 써서 계산하였다.

$$CL_r = \text{Dose}/AUC \quad (3)$$

$$V_{dss} = \text{Dose} \cdot AUMC/AUC^2 \quad (4)$$

$$MRT = AUMC/AUC \quad (5)$$

여기에서 AUC와 AUMC란 각각 혈장중농도 곡선 하면적과 혈장중 농도모멘트 곡선하면적을 의미한다. 이들은 모두 측정시점까지는 사다리꼴 공식을 써서 구한 후, 그 이후 무한대 시간까지의 값은 최종상의 소실속도정수 β 를 써서 외삽하여 구한 후 실측치와 외삽치를 합침으로써 보정하였다. β 는 혈장 중 농도 곡선을 MULTI 프로그램⁸⁾을 써서 2컴파트먼트 모델에 피팅시켜 구하였다.

통계분석

모든 실험치는 평균 \pm SD로 표시하였다. 측정치의 차이를 검정하기 위하여서는 ANOVA를 행한 후, Duncun의 multiple range test를 실시하였다. p값이 0.05보다 작을 때 그 차이에 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과 및 고찰

간장애에 의한 병태생리학적 변화—사염화탄소 및 갈락토사민으로 전처리한 흰쥐의 병태생리학적 변화

Table I—Pathophysiological changes in CCl_4 and galactosamine-induced experimental hepatic failure(EHF) rats^a

	Control	CCl_4 -EHF	Galactosamine-EHF
Body weight ratio ^b	0.93 \pm 0.02	0.93 \pm 0.02	0.95 \pm 0.03
Liver weight (g/100 g body weight)	3.44 \pm 0.14	4.63 \pm 0.24	4.19 \pm 0.22 ^c
GOT (Karmen unit)	76.4 \pm 21.4	305.3 \pm 16.7 ^c	168.6 \pm 57.3 ^{c,d}
GPT (Karmen unit)	19.5 \pm 10.0	126.3 \pm 3.2 ^a	117.7 \pm 8.7 ^c
Hematocrit	0.46 \pm 0.00	0.48 \pm 0.00 ^c	0.47 \pm 0.01

^aMean \pm SD (n=3).

^bWeight ratio=(after treatment)/(before treatment).

^cSignificantly different(P<0.05) from the control.

^dSignificantly different(P<0.05)from the CCl_4 -pretreated group.

Table II—Changes of *in vitro* distribution of aucubin to total blood cells CCl_4 and galactosamine-induced experimental hepatic failure (EHF) rats^a

Aucubin concentration (μ g/ml)	Control	CCl_4 -EHF	Galactosamine-EHF
20	0.12 \pm 0.02	0.15 \pm 0.03	0.14 \pm 0.04
50	0.15 \pm 0.04	0.13 \pm 0.03	0.13 \pm 0.01
100	0.12 \pm 0.01	0.13 \pm 0.03	0.14 \pm 0.04
Mean	0.13 \pm 0.02	0.14 \pm 0.03	0.14 \pm 0.03

^aMean \pm SD (n=3).

를 Table 1에 나타내었다. 이들 전치리에 의하여 간의 무게는 각각 35% 및 22% 증가하였으며, GOP, GPT치도 유의성있게 증가하였다. 간장해군간에 있어서는 GOT가 사염화탄소군에서 갈락토사민 군보다 유의성 있게 높았으나 나머지 파라미터에 있어서는 두군간에 큰 차이가 없었다.

간장해에 의한 오큐빈의 혈구분배 및 혈장 단백질 결합의 변화—각 실험군에서의 오큐빈의 혈구분배율을 Table II에 나타내었다. 각군에서 오큐빈의 농도에 관계없이 분배율은 12~15%로 일정하였다. 이 값은 저자들의 전보⁸⁾에서 구한 분배율 18.5%보다 다소 낮았으나 유의성 있는 차이를 보인 것은 아니었다. 농도에 관계없이 일정한 분배율을 보인 것은 오큐빈이 적혈구에 단순확산기구에 의해 분배됨을 시사한다고 생각된다.

한편 혈장단백결합도 Table III에서 보는대로 전치리 여부나 오큐빈의 농도에 관계없이 약 3~4%로 매우 낮고 일정한 값을 보였다. 이 값은 평형투석법으로 단백질결합률을 구한 전보⁸⁾와 일치하였다.

간장해에 의한 오큐빈의 체내동태 변화—각군의 흰쥐에 오큐빈을 15 mg/kg의 용량으로 정맥주사한 후의 혈장 중 오큐빈 농도의 시간추이를 Fig. 2에 나타내었다. 갈락토사민 전치리군에서는 예상대로 오큐빈의 혈장 중 소실이 느려졌으나, 사염화탄소 전치리군에서는 놀랍게도 오큐빈의 소실이 오히려 빨라지는 현상이 나타났다. Fig. 2를 속도론적으로 해석한

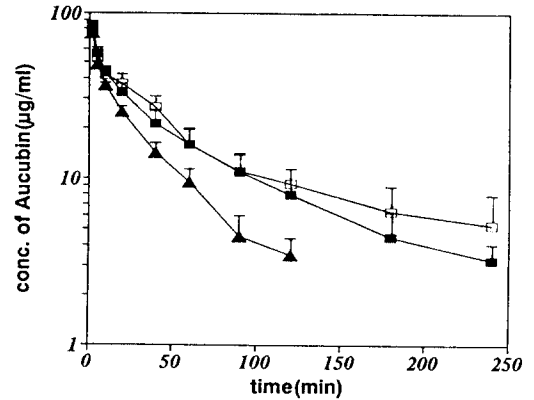


Fig. 2—Plasma concentration-time profiles of aucubin after iv administration to rats at a dose of 15 mg/kg. Each point represents mean±SD of four experiments. ■ : control ; ▲ : CCl₄-EHF ; ● : galactosamine-EHF.

파라미터를 Table IV에 보였다.

대조군에서 얻은 각 파라미터는 전보⁸⁾에서 보고한 각 값과 거의 일치하였다. 그러나 간장해모델에 따라서 오큐빈의 체내동태는 매우 달라지는 사실을 발견하였다. 즉, 예컨대 사염화탄소 군에서의 전신클리어런스(CL_r)는 대조군에서의 값의 거의 두 배로 증가하였으나 갈락토사민 군에서는 대조군과 큰 차이가 없었다. 정상상태 분포용적(V_{dss})도 간장해 두군간에 차이가 나서, 갈락토사민 처리군에서의 분포용적이

Table III—Changes of *in vitro* plasma protein binding(%) of aucubin by CCl₄ and galactosamine pretreatment^a

Aucubin concentration (ug/ml)	Control	CCl ₄ -EHF	Galactosamine-EHF
50	3.10 ± 0.35	4.21 ± 1.46	2.87 ± 1.05
100	3.08 ± 0.80	3.97 ± 0.65	3.32 ± 1.45

^aDetermined by centrifugal ultrafiltration method and expressed as mean±SD of bound drug percentages (n=4).

Table IV—Changes of pharmacokinetic parameters of aucubin in CCl₄ and galactosamine-induced experimental hepatic failure(EHF) rats following *iv* administration^a

Parameters	Control	CCl ₄ -EHF	Galactosamine-EHF
AUC(ug.min/ml)	3441.2 ± 569.8	1885.3 ± 215.1 ^b	4146.5 ± 1202.1 ^c
CL _r (ml/min/kg)	4.5 ± 0.8	8.0 ± 0.9 ^b	3.8 ± 1.0 ^c
V _{dss} (ml/kg)	417.1 ± 76.5	361.7 ± 30.5	510.1 ± 94.8 ^c
MRT(min)	94.7 ± 18.6	45.5 ± 6.6 ^b	140.5 ± 44.1 ^{b,c}

^aMean ± SD(n=4).

^bSignificantly different(p<0.05) from the control.

^cSignificantly different(p<0.05) from the CCl₄-pretreated group.

사염화탄소 처리군에서보다 큰 값을 보였다. 이에 힘입어 평균체류시간(MRT)은 갈락토사민군에서는 길어졌으나, 사염화탄소군에서는 오히려 대조군보다 짧아졌다.

간장해 종류에 따라 오큐빈의 체내동태가 이렇게 달라지는 현상과, 오큐빈이 사염화탄소 간장해에는 보호효과가 있으나 갈락토사민 간장해에는 보호효과가 없는 현상과의 사이에 어떠한 관련이 있을까는 이상의 결과만 가지고는 밝혀낼수 없다. 다만 오큐빈의 주된 소실경로가 만약 간을 통한 담즙배설이라고 가정한다면 사염화탄소와 갈락토사민은 약물수송경로(측세포경로와 경세포로)의 서로 다른 부위를 손상하는 것이 아닌가 생각된다. 오큐빈은 전보에서 보고하였듯이 매우 극성이 큰 물질이기 때문에 간세포로 이행할 때 극성경로인 측세포로를 경유할 가능성이 높다. 따라서 사염화탄소는 간세포막중에서 주로 이 측세포로를 손상시켜 넓어진 이 경로를 통한 오큐빈의 간세포 이행을 증가시키기 때문에 전신클리어런스를 증가시킨 것이 아닌가 유추해 볼 수 있다. 이와달리 갈락토사민에 의한 간장해는 이 측세포로는 손상시키지 않고 아마도 경세포로를 손상시키기 때문에 경세포로를 통한 간세포로의 이행이 워낙 적은 오큐빈의 간세포로의 이행과 전신클리어런스에 별 영향을 미치지 않은 것으로 유추할 수 있겠다. 두 간장해 모델간에 GOT값이 유의성있게 차이난 점은 이러한 유추를 뒷받침하는 것이 아닐까 기대된다.

그러나 이러한 유추는 물론 현단계에서 성급히 결론을 내릴수 없는 문제이다. 오큐빈의 담즙배설, 요배설에 관련된 실험은 물론, 간세포를 이용한 *in vitro* uptake 실험 등이 선행된 연후에야 두 간장해모델이 오큐빈의 체내동태에 서로 다르게 영향을 미치는 기구를 해명할 수 있을 것이다. 그러나, 두 간장해에 대한 오큐빈의 보호작용이 다르며, 또 두 간장해에서 오큐빈의 체내동태가 상반되는 현상간에 어떠한 관련성이 있을 가능성 만은 있다고 생각된다.

참고문헌

- 1) Chang, I.M., Ryu, J.C., Yun, H.S. and Yang, K.W. : Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. *Drug. Chem. Toxicol.*, **6**, 443-453 (1983).
- 2) Chang, I.M., Yun, H.S., Kim, Y.S. and Ahn, J.W. : Aucubin-possible antidote for α -amanitin poisoning. *Clin. Toxicol.*, **22**, 77-85 (1984).
- 3) Chang, K.S., Yun, H.S. and Chang, I.M. : Effect of aucubin on DNA and RNA biosyntheses in sarcoma 180 cells. *Kor. Biochem. J.*, **16**, 322-326 (1983).
- 4) Naruto, M., Ohno, K., Naruse, N. and Takeuchi, H. : Synthesis of prostaglandins and their cogeners I. (+)-11-Deoxy-11 α -hydroxymethyl prostaglandin F2 α from aucubin. *Tetrahedron Lett.*, **3**, 251-254 (1979).
- 5) Arlette, T., Yves, R. and Janine, G. : Aucubin, a source of prostanoid synthones-new hemisynthetic pathways. *Heterocycles*, **19**, 253-256 (1982).
- 6) Takada, S., Yuasa, K., Endo, T. and Aburada, M. : Pathological studies on iridoid compound II. *J. Pharm. Dyn.*, **3**, 485-492 (1980).
- 7) Suh, N.J., Shim, C.K., Lee, M.H., Kim, S.K. and Chang, I.M. : Pharmacokinetic study of an iridoid glucoside : aucubin. *Pharm. Res.*, **8**, 1059-1063 (1992).
- 8) Imamura, Y., Sonoda, M., Arimori, K. and Ichibagase, H. : Effect of simultaneous administration of drugs on absorption and excretion X. Plasma protein binding of carbutamide in rabbits. *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 463-469 (1979).
- 9) Yamaoka, K., Tanigawara, Y., Nakagawa, T. and Uno, T. : A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 879-885 (1981).