

흰쥐에서 사염화탄소 또는 N,N-Dimethylnitrosamine에 의한 간경화시 Theophylline의 생체내변환

박은전 · 김재백 · 손동환 · 고건일
원광대학교 약학대학 약학과

Biotransformation of Theophylline in Cirrhotic Rats Induced by Carbon Tetrachloride or N,N-Dimethylnitrosamine

Eun-Jeon Park, Jaebaek Kim, Dong Hwan Sohn, and Geonil Ko
Dept. of Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

The object of this work was to study the pharmacokinetic differences and the cause of these differences in cirrhotic rats induced by N,N-dimethylnitrosamine or carbon tetrachloride treatment when aminophylline (8 mg/kg as theophylline, i.v.) was injected. The concentrations of theophylline and its major metabolite (1,3-dimethyluric acid) in plasma were determined by HPLC. In addition, formation of 1,3-dimethyluric acid from theophylline in microsomes was determined. In cirrhotic rats, the systemic clearance of theophylline was reduced to 17% of the control value while AUC (area under the plasma concentration-time curve) and $(t_{1/2})_p$ were increased to about 6 fold and 10 fold, respectively. The formation of 1,3-dimethyluric acid was decreased to 33-41% of the control value in microsomes of cirrhotic rat liver. From these results, it can be concluded that in cirrhotic rats induced by N,N-dimethylnitrosamine or carbon tetrachloride the total body clearance of theophylline is markedly reduced due to a reduced hepatic metabolism. (Kor. J. Clin. Pharm. 1999; 9(1): 55-61)

□ Keywords - Theophylline, Pharmacokinetics, N,N-dimethylnitrosamine, Carbon tetrachloride, Liver cirrhosis

간은 체중의 2-5%를 차지하는 인체에서 가장 큰 기관으로서 크기면에서 뿐만 아니라 생명유지에 필요한 기초적인 생리과정을 수행하는데 있어서 중추적인 역할을 하는 중요한 장기중 하나이다.¹⁾ 즉 섭취한 각종 영양소를 생체에 필요한 형태로 전환시키고, 알부민 등과 같은 생명유지에 필수적인 각종물질을 합성하며, 생체이물질(xenobiotics)이 침입하였을 경우 체외로 배설하기 쉬운 상태로 변환(biotransformation)시키기도 한다. 이러한 과정을 대사(metabolism)라 하는데 이 과정은 간뿐만 아니라 그외에도 신장, 혈액, 장막,

폐 등에서도 일어나지만 양적으로 간이 가장 중요한 역할을 한다.²⁾

간은 완충능력이 큰 기관으로 질환의 초기단계에서는 통증이나 자각증상이 잘 나타나지 않고 상당히 악화되어서야 발견되는 경우가 종종 있다. 간질환의 대표격이라 할 수 있는 간경변증(hepatic cirrhosis)은 각종 간질환이 만성적으로 진행할 경우 공통적으로 이르는 마지막 단계로서 사망률이 매우 높은 실정이다.^{3,5)} 그 원인으로서는 알콜, 약물, 화학약품, 바이러스성 간염, 담도질환, hematochromatosis와 같은 대사성 질환, 자가면역성 질환 등이 있으나, 원인을 알 수 없는 경우도 많다.⁶⁾ 간경변증의 경우 간이 만성적으로 손상을 당하여 간세포괴사, 염증, 간세포의 재생이 반복되면서 조직중 결합단백이 과다침착 및 nodule형성 등의

간소엽의 정상적인 구조가 파괴되며 또한 간혈류량 저하, 간내 혈류의 단축로 형성(intrahepatic shunt), 대사 효소의 기능 저하, 혈중 단백질의 질적변화 및 담즙 유량의 변화 등으로 인해 전반적인 간기능이 저하된다. 그러므로 간경화시 생체이물질중의 하나인 약물을 투약하였을 경우에 그 체내동태가 변하리라는 것은 쉽게 예상할 수 있다.

간질환에서 체내동태의 변화가 중요시되는 약물은 간에서 대부분 대사되고 그 치료역이 좁은 약물이다.⁷⁾ 이러한 조건을 만족시키는 약물로는 theophylline이 있다. Theophylline은 1,3-dimethylxanthine의 구조를 갖는 기관지 확장제로서 asthma, premature apnea, chronic obstructive pulmonary disease 등에 널리 사용되는 약물로서 치료역이 8-20 µg/ml로 상당히 좁고, 혈중농도가 20 µg/ml 이상일 경우 오심, 구토, 심계항진, 두통, 불면, 흥분 등을 일으키며 급속히 정맥주사하면 이러한 부작용 외에도 드물게 돌연사 할 수도 있다.⁸⁾ Theophylline은 이와같은 부작용 방지와 안전하고 효율적인 치료를 위해 혈중 약물농도의 모니터링이 필요한 약물이며, 특히 간장질환에서는 혈중 모니터링이 더욱 필요시 된다.

이 실험에서는 *in vivo* 실험으로 carbon tetrachloride 및 N,N-dimethylnitrosamine에 의한 실험적 간경화 모델에서 theophylline의 체내동태와 주요 대사체인 1,3-dimethyluric acid의 혈중농도 변화를 살펴보고, *in vitro* 실험으로 경화된 간의 microsome의 theophylline 대사능 변화를 살펴보았다.

실험방법

실험동물

수컷의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 삼육실험동물(경기도 오산)에서 공급받아 각 실험군으로 분류하고 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험기간 동안 자연채광하에서 흰쥐용 케이지에 3-4마리씩 넣어 사용하였으며 온도는 20-25°C, 상대습도는 50-60%를 유지하였고 시판사료(신촌실험동물사료, 조단백질 22.5% 이상, 조지방 3.5% 이상, 조섬유 7.0% 이하, 조회분 9.0% 이하, 칼슘 0.7% 이상, 인 0.5% 이상)와 물을 자유로이 공급하였다.

흰쥐에서 간경화 유도

Dimethylnitrosamine (DMN)에 의한 간경화 유도는

Mancini 등의 방법¹⁰⁾에 따랐다. 즉, 200-230 g의 웅성 흰쥐에 체중당 DMN으로서 10 µl를 3주간 1주에 3회씩 복강내주사 하였다. 최종 약물투여후 4일이 경과한 다음 실험에 사용하였다. 대조군에는 3주간 동량의 생리식염수를 복강내주사하였다.

100-150 g의 웅성 흰쥐를 12주 동안 체중당 사염화탄소로서 1 ml씩 1주에 2회 경구투여하여 사염화탄소에 의한 간경화를 유도하였다. 최종 약물투여후 4일이 경과한 다음 실험에 사용하였다. 대조군에는 12주 동안 사염화탄소의 희석용매로 사용된 콩기름을 동량 경구투여하여 사용하였다.

간경화 유도기간중 각 실험군의 흰쥐는 1주간격으로 체중을 측정하였으며 부검시 측정된 간 습중량의 체중에 대한 비율로 계산하여 간중량을 산출하였다. 혈청의 임상검사는 실험군에서 채취한 혈청중 aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), albumin, total bilirubin치를 kit를 사용하여 clinical chemical analyzer로 측정하였다. 간조직중 hydroxyproline양은 Jamall등의 방법¹⁰⁾을 사용하였다.

간경화가 유도된 흰쥐에서 theophylline의 체내동태

12시간 절식시킨 간경화 흰쥐를 가볍게 에테르 마취시킨 후 왼쪽 대퇴동맥·정맥에 cannulation한 다음 마취에서 완전히 회복되었을 때 대퇴정맥내로 폴리에틸렌관을 통하여 theophylline으로서 8 mg/kg을 주입하였다. 주사용 Theophylline액은 시판용 aminophylline 주사액(대원제약, 250 mg)을 주사용 생리식염수에 희석하여 사용하였다. 약물투여후 10, 25, 40, 60, 90, 120, 240, 480분에 대퇴동맥의 폴리에틸렌관으로부터 혈액 약 0.2 ml를 취하여 6,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈장은 -70°C에 보관하였다. 혈장중 theophylline 및 1,3-dimethyluric acid의 정량은 HPLC를 사용하여 Daoud 등¹¹⁾의 방법을 사용하여 측정하였으며 HPLC의 분석조건은 다음과 같다: 분석파장, 280 nm (Spectra-physics SP8480 XR); Lichrosorb RP-C₈ 칼럼(5 µm, 250×4 mm, Merck); 이동상, 7.8 mM N,N-Dimethylbutylamine을 함유한 methanol/phosphate buffer (pH 6.0) (7:93); 유속, 1.2 ml/min; 감도, 0.002 aufs; 내부표준물질, caffeine. 생체내 theophylline의 체내동태 해석은 two compartment open model로 하여 non-linear regression program인 MULTI로 계산하였다.

간경화 흰쥐의 microsomal incubation system에서 theophylline의 대사

간조직중의 microsome은 calcium aggregation 방법¹²⁾에 의하여 분리하였고 protein양 측정은 Lowry법¹³⁾을 이용하였다. Microsomal incubation system은 다음과 같이 사용하였다. 즉, microsome (protein으로서 4 mg)에 0.1 M phosphate buffer, 10 mM theophylline, 1.2 mM NADPH를 가하여 37°C에서 30분간 incubation은 한 다음 ice bath를 이용하여 급속히 온도를 떨어뜨렸다. 여기에 2% zinc sulfate 400 μ l를 가하고 14,000 g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 -75°C에 보관하였다. Theophylline 대사체 분석은 다음과 같이 sample 전처리 과정은 Robson등의 방법¹⁴⁾에 따라 처리하였다.

Theophylline의 주요 대사체인 1,3-dimethyluric acid의 정량은 HPLC를 사용하여 Slusher 등의 방법¹⁵⁾에 따라 측정하였으며 HPLC의 분석조건은 다음과 같다: 분석파장, 280 nm (Spectra-physics SP8480 XR); μ -Bondapak C₁₈칼럼(5 μ m, 250 \times 4 mm, Waters); 이동상, 0.5% acetic acid/acetonitrile (97:3); 유속, 1.0 ml/min; 감도, 0.002 a.u.; 내부표준물질, theobromine.

자료의 통계처리

Student's t test를 이용하여 유의성을 비교하였으며

결과는 mean \pm S.D로 나타내었으며 p치가 0.05 이하인 경우 유의성이 있다고 판정하였다.

실험결과

흰쥐에서 간경화 유도 확인

간중량의 경우 Table 1과 같이 DMN군은 그 대조군의 49%로 유의성있게 감소하여 현저한 간의 위축을 보였으며 CCl₄군 역시 대조군의 78%로 유의성있는 감소를 보였다(p<0.05). 혈청의 임상화학적 변화는 Table 2와 같다. 일반적으로 간기능상태를 나타내는 파라미터인 ALT, AST, ALP, total bilirubin 등이 모든 간경화군에서 현저히 증가하였고 albumin은 감소하는 경향을 보였다. DMN군은 ALT, AST치는 대조군보다 약 200% 증가하였으나 유의성은 없었고 ALP는 약 280%의 유의성있는 증가를 보였고(p<0.05) total-bilirubin은 증가하는 경향을 보였으나 개체차가 커서 유의성은 없었다. 또 albumin치는 대조군의 57%로 감소하였으나 유의성은 없었다. 사염화탄소군은 ALT, AST, ALP, total bilirubin치 모두 대조군보다 각각 383%, 300%, 500%, 700% 정도의 유의성있는 증가를 보였으며(p<0.01) albumin은 정상치의 36%로 유의성있는 감소를 보였다(p<0.01). 간조직중 hydroxyproline 양은 DMN군이 대조군의 843%, 사염화탄소군이 대

Table 1. Body and liver weight (g) changes in normal and cirrhotic rats treated with N,N-dimethylnitrosamine or carbon tetrachloride

Group	Week	N	Final liver	Final body	Liver/body
DMN	3	8	3.08 \pm 1.05	175.3 \pm 22.1	1.7 \pm 0.5**
DMN-ctrl	3	4	8.56 \pm 1.25	247.4 \pm 21.3	3.5 \pm 0.4
CCl ₄	12	8	7.02 \pm 1.45	265.0 \pm 28.8	2.6 \pm 0.5*
CCl ₄ -ctrl	12	4	11.98 \pm 1.32	342.2 \pm 42.3	3.5 \pm 0.5

Each data represents the mean \pm S.D.

The significance of differences as compared with each control group, *p<0.05, **p<0.01.

Table 2. Serum biochemical values in normal and cirrhotic rats treated with N,N-dimethylnitrosamine or carbon tetrachloride

Group	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	ALP (IU/L)	Total bilirubin (mg/dL)	Albumin (g/dL)
DMN	124 \pm 73*	268 \pm 109	312 \pm 157	0.80 \pm 0.30*	2.1 \pm 0.6
DMN-ctrl	65 \pm 18	179 \pm 28	119 \pm 35	0.13 \pm 0.05	3.7 \pm 1.1
CCl ₄	249 \pm 67**	534 \pm 116**	598 \pm 167**	0.86 \pm 0.30*	1.0 \pm 0.2**
CCl ₄ -ctrl	69 \pm 11	289 \pm 31	177 \pm 89	0.13 \pm 0.05	2.6 \pm 0.8

Each data represents the mean \pm S.D.

The significance of differences as compared with each control group, *p<0.05, **p<0.01.

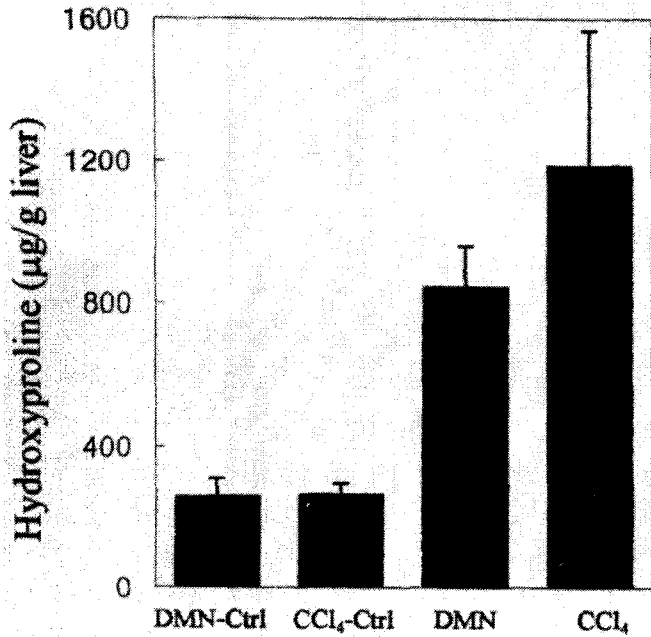


Fig. 1. Hydroxyproline in liver of cirrhotic rats induced by N,N-dimethylnitrosamine (DMN) or carbon tetrachloride (CCl₄) treatment. Each data represents the mean \pm S.D. The significance of differences as compared with each control group, ** $p < 0.01$.

조군의 1182%로 유의성있는 증가를 보여($p < 0.01$) 간 조직중 결합조직이 현저히 증가했음을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

간경화 흰쥐에서 theophylline의 체내동태

흰쥐에 theophylline으로서 8 mg/kg을 정맥주사하였을 때 혈중 theophylline의 시간별 농도변화는 Fig. 2와 같다. 간경화군 모두에서 theophylline의 혈중농도가 120분부터 각 대조군보다 높아지기 시작하였으며 DMN 및 사염화탄소군 각각 240분과 480분부터 유의성있게 대조군보다 높아지기 시작하였다($p < 0.01$). Theophylline의 주대사체인 1,3-dimethyluric acid는 각 대조군에서 유사한 혈중농도의 변화를 보였으나 간경화군에서는 측정되지 않았다. Two compartment open model을 적용하여 정맥주사한 theophylline의 혈중농도로부터 산출한 pharmacokinetic parameter는 Table 3과 같다.

분포후상의 반감기 즉 $t_{(1/2)\beta}$ 는 DMN 및 사염화탄소군 모두 각 대조군보다 10배정도 유의성있는 증가를 보였다($p < 0.01$). 혈중농도 곡선하 면적(AUC) 역시 간경화군 모두 각 대조군보다 약 6배 정도 유의성있게 증가하였으며 겉보기 분포면적(V_d) β 도 각 대조군보다 유의성있게 증가하였다($p < 0.05$). 전신 클리어런스(Cl)의 경우 간경화군 모두 각 대조군의 1/6수준으로 감소하였다($p < 0.01$).

간경화 흰쥐의 microsomal incubation system에서 theophylline의 대사

Theophylline 10 mM에 4 mg의 protein의 microsome

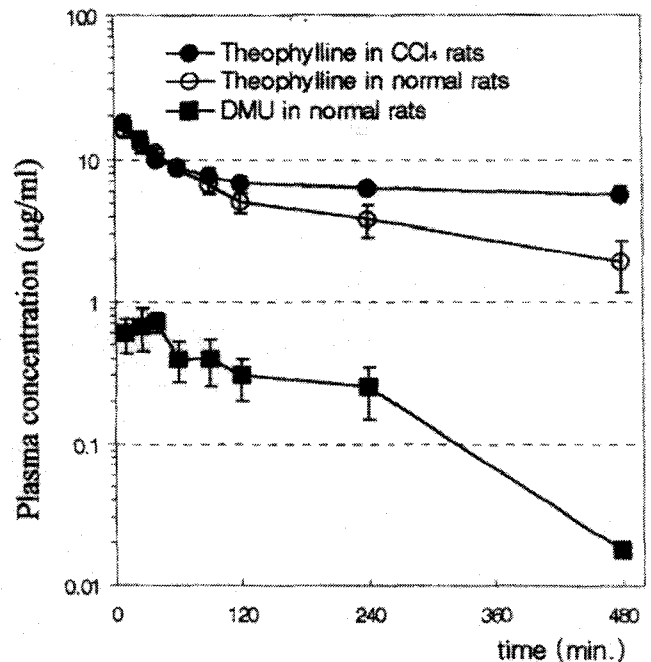
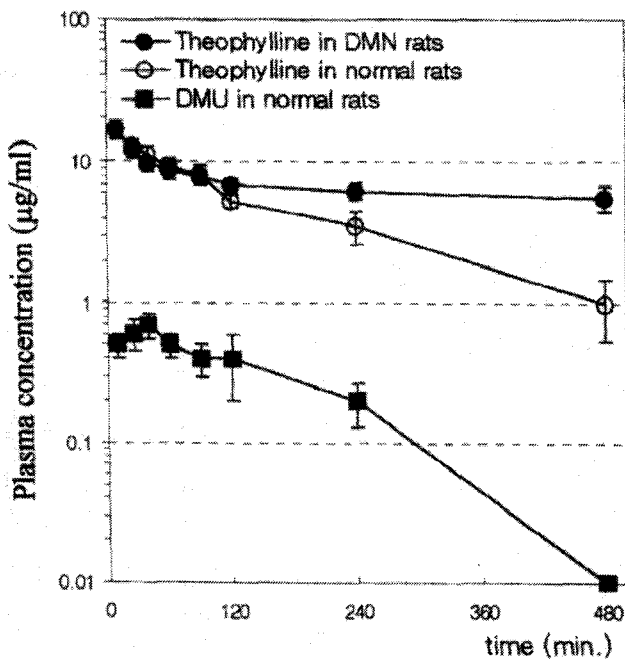


Fig. 2. Semilog plot of theophylline and 1,3-dimethyluric acid(DMU) concentration in plasma of normal rats and cirrhotic rats induced by N,N-dimethylnitrosamine (DMN; left panel) or carbon tetrachloride (CCl₄; right panel) treatment. Each data represents the mean \pm S.D. The significance of differences as compared with each control group, ** $p < 0.01$.

Table 3. Pharmacokinetic parameters of theophylline after intravenous injection (8 mg/kg as theophylline) in cirrhotic rats treated with N,N-dimethylnitrosamine or carbon tetrachloride

Parameter	DMN	DMN-ctrl	CCl ₄	CCl ₄ -ctrl
(t _{1/2}) _α (hr)	0.28 ± 0.09	0.35 ± 0.06	0.32 ± 0.12	0.38 ± 0.21
(t _{1/2}) _β (hr)	24.08 ± 12.27**	2.93 ± 0.56	23.94 ± 4.57**	3.54 ± 1.14
k ₁₂ (hr ⁻¹)	1.75 ± 0.99	1.99 ± 0.10	1.57 ± 0.42	1.86 ± 0.73
k ₂₁ (hr ⁻¹)	0.90 ± 0.16	1.67 ± 0.15	0.89 ± 0.12	1.39 ± 0.42
k ₁₀ (hr ⁻¹)	0.11 ± 0.07**	0.47 ± 0.05	0.10 ± 0.05**	0.54 ± 0.09
AUC (μg · hr/ml)	276 ± 96**	42 ± 8	283 ± 55**	41 ± 7
Cl _s (ml/hr/kg)	35 ± 17**	190 ± 13	33 ± 11**	193 ± 21
(V _d) _β (ml/kg)	1012 ± 66*	799 ± 102	1121 ± 43*	693 ± 176

Each data represents the mean ± S.D.

The significance of differences as compared with each control group, *p<0.05, **p<0.01.

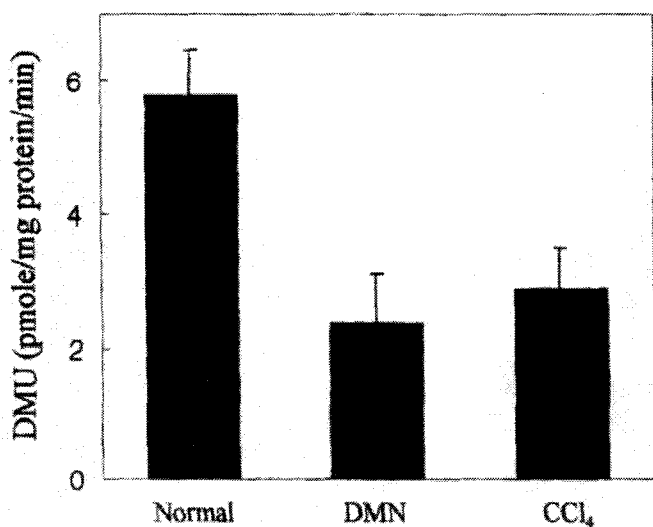


Fig. 3. Formation of 1,3-dimethyluric acid (DMU) from 10 mM theophylline in rat liver microsomes of cirrhotic rats. DMN: cirrhotic rats treated with N,N-dimethylnitrosamine. CCl₄: cirrhotic rats treated with carbon tetrachloride. Each data represents the mean ± S.D. The significance of differences as compared with each control group, **p<0.01.

을 가하여 37°C에서 30분간 incubation하여 생성된 1,3-dimethyluric acid (DMU)의 농도는 Fig. 3과 같다. DMN 및 사염화탄소군은 정상군의 41% 및 33%로 유의성 있는 감소를 보여 간경화시 theophylline의 대사능력이 현저히 감소됨을 확인할 수 있었다.

고 찰

간경변증(hepatic cirrhosis)은 결합조직의 과다침착된 fibrosis상태와 더불어 정상적인 간소엽구조가 파괴되고 nodule이 형성됨으로써 간기능저하와 더불어 portal hypertension, esophageal varices 등의 증상을 나타내는 질환으로서 초기에 발견되기 어렵고 사망률

또한 높은 질환이다.⁹⁾ 그 원인은 매우 다양하지만 가장 많은 비율을 차지하는 것으로는 바이러스 감염과 알콜중독, 담도질환 등을 들 수 있으며 원인은 다르더라도 공통적으로 최종단계에는 간경변증에 이르게 된다.⁹⁾

간경화시 가장 특징적인 조직학적 소견은 간조직중 collagen 등의 결합조직단백(extracellular matrix)이 과다침착하여 정상의 약 5-6배까지 증가하게 된다.^{16,17)} 이와 같이 결합조직이 과다침착하는 현상은 fibrogenesis와 fibrolysis간의 균형이 파괴됨으로써 나타난다. 간경변시 과다침착되는 결합조직단백에는 collagen, proteoglycan, fibronectin, hyaluronic acid 등이 있다.^{16,18)} 이중 가장 대표적인 것으로 collagen을 들 수 있다. 정상간에 존재하는 collagen으로는 type I, III, IV, V, VI 등 5가지 종류가 보고되고 있는데^{19,20)} 이중 type I과 type III가 각각 40%정도로 가장 많이 존재하는 것으로 알려지고 있다.¹⁸⁾ 간 질환 초기에 collagen type I과 type III가 증가하기 시작하며²¹⁾ 간경변시 조직중 가장 많이 축적되는 collagen은 type I으로서 그 비율이 60-70%까지 증가한다.²²⁾ Collagen은 (Gly-Xaa-Yaa)의 특이한 아미노산 배열을 갖고 있으며 Yaa위치에 proline 또는 hydroxyproline이 배열된다.²³⁾ Hydroxyproline은 collagen중에만 특이적으로 약 10% 함유되어 있어 간조직중의 hydroxyproline을 측정함으로써 간조직중의 collagen양을 예측할 수 있다.¹⁰⁾

Theophylline은 안전역이 10-20 μg/ml로 상당히 좁고 또 개체차가 심해 혈중 모니터링이 필요한 약물중 하나이다.^{24,25)} Theophylline은 90% 이상이 간의 cytochrome P450-dependent monooxygenase에 의해 대사를 받아 1,3-dimethyluric acid, 3-methyl xanthine과 1-methyl xanthine으로 산화된 다음, 1-methyl xanthine

은 다시 xanthine oxidase에 의해 1-methyluric acid로 전환된다.^{26,27)} 사람, 가토, rat에서 theophylline의 주요 대사체는 1,3-dimethyluric acid로서 전 대사체중 사람의 경우 59%, 가토는 77%, rat에서는 94%정도를 차지한다.²⁸⁾ 반면에 혈중 단백결합률은 40-80%²⁹⁾로 작은 편이어서 theophylline의 대사는 주로 간의 고유대사능에 의한 영향을 제일 많이 받는 것으로 생각되고 있다. 그러므로 위와 같은 특징을 갖는 theophylline은 간질환시 체내동태에 변화가 오리라 하는 것은 쉽게 예측할 수 있다. 이에 본 실험에서는 간경화시 theophylline 및 그 대사체의 체내동태 변화를 측정하고 간의 theophylline 대사능 변화를 밝혀보고자 하였다.

간 질환시 약물의 소실에 영향을 미치는 인자로서 간혈류량(hepatic blood flow), 약물의 단백결합(protein binding), 간의 고유대사능(hepatic enzyme activity) 등이 있으며²⁹⁾ 약물중 간추출률이 큰 약물일 경우에는 주로 간혈류에 의한 영향을 많이 받고, 간추출률이 작은 약물은 고유대사능과 단백결합에 의해 영향을 받는 것으로 알려지고 있다.³⁰⁾ Theophylline의 특성상 간 추출률과 단백결합률이 낮아 간혈류와 단백결합에 의한 영향은 배제해도 무방한 것으로 알려져 있다. 그외의 배설경로인 신배설의 경우 theophylline의 신클리어런스는 혈중 클리어런스의 8-12%밖에 담당하지 않는 것으로 알려져 있어 크게 고려할 사항은 아닌 것으로 생각된다.³¹⁾

그동안 간경화 및 섬유화의 원인, 기전, 및 간경화시 간기능의 변화 등을 연구하기 위해 많은 간경화 및 섬유화 실험동물을 사용해 왔다. 실험동물은 사람과는 달리 실험시 제약이 많지 않아 그동안 간질환의 연구에 많은 공헌을 하였다. N,N-dimethylnitrosamine에 의한 간경화 모델은 소량으로 비교적 짧은 기간인 3주안에 사람의 알콜성 간경화와 유사한 병리적 소견을 보이고 투약을 중단하여도 간경화 상태가 그대로 유지된다는 장점이 있다. Carbon tetrachloride 모델은 간 질환 모델로 가장 널리 사용되고 있으나 치사율이 높고 간경화 유도시 8주 이상의 장기간이 소요되는 단점이 있다. 본 연구실의 실험결과 이 두 모델은 결과적으로는 간경화에 이르나 간경화 상태에서 간내 cytochrome P450s의 isozymes 즉, theophylline의 대사에 관여하는 것으로 사료되는 CYP2E1, CYP1A1, CYP1A2, CYP3A 등의 활성 및 단백질양 변화가 두 모델간에 서로 차이가 있었다 (data not published). 이에 본 실험에서는 간경화시 theophylline의 체내동태 및 대사정도의 변화와 더불어 CYPs의 변화가 다른

두 모델간에 체내동태 및 대사정도에 차이가 있는지를 알아보하고자 두가지 모델을 이용하여 실험을 실시하였다.

각 동물모델에서의 theophylline의 혈중농도와 그 pharmacokinetic parameter 측정 결과 간경화시 반감기, AUC 등이 상당히 증가하고 또 전신 클리어런스가 현저히 감소하였음을 알 수 있었으며 이러한 파라미터의 모델간 유의적인 차이는 없었다. 이러한 파라미터의 변화는 임상에서 보고된 바와 유사한 결과로서 간 질환시 약물투약계획 변경의 필요성을 시사하고 있다.^{7,32-34)} 또한 혈중 주요 대사체인 1,3-dimethyluric acid의 측정결과 간경화 유도군은 정상군과는 달리 전혀 측정이 되지 않거나 측정이 되더라도 정상군의 농도에는 현저히 미치지 못하는 것으로 나타나 간 질환시 theophylline의 체내동태의 변화가 간에서의 대사의 감소에 의한 것임을 한층 더 확고히 해주고 있다.

감 사

본 연구는 1997년도 원광대학교 교내연구비에 의해 수행되었기에 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Sherlock S. Disease of the liver and biliary system 8th ed., London:Blackwell Scientific Publications, 1989: 1-18
2. Meeks R.G., Harrison, S.D., Bull, R.J. Hepatotoxicology, New York: CRC Press, 1991: 139-80
3. Meeks, R.G., Harrison, S.D., Bull, R.J. Hepatotoxicology, New York: CRC Press, 1991: 78-9
4. Hogemann B., Domschke W. Hepatic fibrosis-current concepts of pathogenesis and therapy. Gastroenterol Jpn. 1993; 28: 570-9
5. Bickel, M., Baader, E., Brocks, D.G., et al. Beneficial effects of prolyl 4-hydroxylase in CCl₄-induced fibrosis of the liver in rats. J Hepatol 1991; 13(suppl): s26-34
6. Anthony P.P., Ishack, K.G., Nayak, N.C., et al. The morphology of cirrhosis. J Clin Pathol 1978; 31: 395-414
7. Mangione A., Imhoff, T.E., Lee, R.V., et al. Pharmacokinetics of theophylline in hepatic disease. Chest 1978; 73: 616-22
8. Gaspari F. and Bonati M. Interspecies metabolism and pharmacokinetic scaling of theophylline disposition. Drug Metab Rev 1990; 22: 179-207
9. Jezequel, A.M., Mancini, R., Rinaldesi M.L., et al. A morphological study of the early stages of hepatic fibrosis induced by low doses of dimethylnitro-

- samine in the rat. *J Hepatol* 1987; 5: 174-81
0. Jamall I.S., Finelli V.N., Que Hee S.S. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues. *Anal Biochem* 1981; 112: 70-5
 1. Daoud N., Arvidsson T., Wahlund K.G. The liquid chromatographic determination of theophylline in untreated plasma by simple direct injection. *J Pharm Biomed Anal* 1986; 4: 253-60
 2. Ravindanath V., Anandatheerthavarada H.K. Preparation of brain microsomes with cytochrome P 450 activity using calcium aggregation method. *Anal Biochem* 1990; 187: 310-3
 3. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 269-75
 4. Robson R.A., Matthews A.P., Miners J.O., et al. Characterization of theophylline metabolism in human liver microsomes. *Br J Clin Pharmacol* 1987; 24: 293-300
 5. Slusher L.B., Park S.S., Gelboin, H.V., et al. Studies on the metabolism of aminopyrine, antipyrine and theophylline using monoclonal antibodies to cytochrome P450 isozymes purified from rat liver. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2359-67
 6. Bissell D.M., Friedman S.L., Mahler, J.J., et al. Connective tissue biology and hepatic fibrosis: Report of a conference. *Hepatol* 1990; 11: 488-98
 7. Ikeda H., Wu G.Y., Wu C.H. Ito cells in a model of chronic biliary cirrhosis lack feedback inhibition by procollagen propeptides. [Abstract] *Hepatol* 1991; 14: 115
 8. Lissos T.W., Davis B.H. Pathogenesis of hepatic fibrosis and the role of cytokines. *J Clin Gastroenterol* 1992; 15: 64-8
 9. Schuppan D. Connective tissue polypeptides in serum as parameters to monitor antifibrotic treatment in hepatic fibrogenesis. *J Hepatol* 1992; 13(suppl): s17-25
 0. Popper H., Schaffner F. Cell-matrix interaction and hepatic fibrosis. *Prog Liv Dis* 1990; 9: 143-55
 1. Brenner D.A., Alcorn, J.M. Therapy for hepatic fibrosis. *Sem Liv Dis* 1990; 10: 75-83
 2. Rojkind M., Giambrone MA., Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterol* 1979; 76: 710-9
 3. Stryer L. Connective-Tissue Proteins In: *Biochemistry*, 3rd ed. New York: W.H. Freeman and Co. 1988: 261-74
 24. Yano, I., Tanigawara, Yasuhara, M., et al. Population pharmacokinetics of theophylline II: intravenous infusion to patients with stable chronic airway obstruction. *Biol Pharm Bull* 1993; 16: 501-5
 25. Winter ME. *Basic Clinical Pharmacokinetics*, 2nd ed. Washington: Applied Therapeutics, Inc., 1988: 125-51
 26. Sarkar M., Polk R.E., Guzelian P.S., et al. In vitro effect of fluoroquinolones on theophylline metabolism in human liver metabolism. *Antimicrob Agents Chemotherap* 1990; 34: 594-600
 27. Mcmanus M.E., Miners J.O., Gregors D., et al. Theophylline metabolism by human, rabbit and rat liver microsomes and by purified forms of cytochrome P450. *J Pharm Pharmacol* 1988; 40: 388-91
 28. Sarkar M.A., Hunt C., Guzelian P.S., et al. Characterization of human liver cytochrome P450 involved in theophylline metabolism. *Drug Metab & Dispos* 1992; 20: 31-7
 29. Callaghan R., Desmond P.V., Paull P., et al. Hepatic enzyme activity is the major factor determining elimination rate of high-clearance drugs in cirrhosis. *Hepatol* 1993; 18: 54-60
 30. Fenyves D., Garipey L., Villeneuve J.P. Clearance by the liver in cirrhosis. I. Relationship between propranolol metabolism in vitro and its extraction by the perfused liver in the rat. *Hepatol* 1993; 17: 301-6
 31. American Society of Hospital Pharmacists. *AHFS Drug Information*. Bethesda: American Society of Hospital Pharmacists, Inc. 1994: 2026-33
 32. Piasfsky, K.M., Sitar, D.S., Rangno, R.E., et al. Theophylline disposition in patients with hepatic cirrhosis. *New Engl J Med* 1977; 296: 1495-7
 33. Cukier A., Strauss E., Filho, M.T., et al. Theophylline metabolism in patients with hepatosplenic mansoniasis and cirrhosis. *J Hepatol* 1992; 15: 39-9
 34. Jusko W.J., Gardner M.J., Mangione A., et al. Factors affecting theophylline clearances: age, tobacco, marijuana, cirrhosis, congestive heart failur, obesity, oral contraceptives, benzodiazepines, barbiturates and ethanol. *J Pharm Sci* 1979; 68: 1358-66