

Carbon Tetrachloride의 독성에 미치는 Chlorpromazine의 영향

양 기 천

Yang Ki-chun : Influences of Chlorpromazine on the CCl_4 Toxicity.

SUMMARY

The author investigated the influences of Chlorpromazine(CPZ) on the acute CCl_4 toxicity by measurement of S-GOT, S-GPT activities and LD_{50} .

Animals used were healthy mice weighing 20—30g and healthy albino rabbits weighing 1.7—2.2kg. The LD_{50} was estimated by Behrens-Kaerher method and S-GOT and S-GPT activities by Reitman-Frankel method.

The results obtained were summarized as follows.

1. The LD_{50} of CCl_4 in control was 10.7ml/kg b. w. for grouped mice.

When, however the grouped mice was pretreated with CPZ (5mg/kg.), it raised the LD_{50} of CCl_4 as 14.0ml/kg. (Table 1)

2. The activities of GOT, GPT in the rabbit blood serum pretreated with CPZ seemed to be increased slightly in comparison with them of CCl_4 alone, but it was not significant. (Table 2,3, Fig. 1,2)

1. 緒 論

Carbon tetrachloride(CCl_4)는 여러 종류의 약물과 함께 전형적으로 간장(liver)에 손상을 일으키는 것으로서 실험적 간손상의 목적으로 많이 사용하고 있는 물질이다.

Jones 등⁷⁾은 CCl_4 의 급성중독은 중추신경계통을 억압함으로써 야기되고, 만성중독증상은 간에 대한 독성으로 나타난다고 하였다. mouse, rat, rabbit등의 실험동물에서 CCl_4 단독투여 24시간 후에 극심한 간엽중심성 피사병변을 나타내고, 약 1주일 후에는 손상부위가 거의 원상으로 회복되며⁸⁾, 이 CCl_4 중독시에는 간의 mitochondria에 심한 장애가 온다는 것은 널리 알려져 있는 사실이다¹⁰⁾.

Wroblewski¹¹⁾는 간세포에 다량 함유되어 있는 transaminase(TA)는 간세포의 파괴로 인하여

혈액중에 빠져 나오게 되는데, 이 transaminase의 혈액중 활성치가 상승됨은 간세포손상의 예민한 지표가 되어 있으며 그 상승도는 대체로 손상범위에 비례한다 하였고, 특히, CCl₄에 의한 간손상시에 현저한 상승을 나타낸다는 것이 알려져 있다¹⁴⁾.

한편, Chlorpromazine(CPZ)은 tranquilizers의 대표적인 것으로서 정신적 불안과 공포증 따위를 경감시키고 감정적인 안정을 갖도록 하기 위한 psychotherapeutic agent로써 임상에 널리 이용되고 있는 약물인 것은 주지의 사실이다^{4, 5)}.

CPZ의 해독의 주요 부위는 간장으로서 CPZ가 간에서 산화되는 동안에 간에 대한 여러가지의 독작용을 일으키는 것 같다^{3, 11)}.

Shay, et al¹²⁾은 CPZ를 계속 투여한 환자에서 S-GOT (Serm glutamic oxalacetic transaminase) 활성도가 약간 증가하는 양상을 나타낸다는 CPZ의 간장에 대한 독성을 지적한 바 있고, Kamm등⁸⁾ 및 Goth⁵⁾에 의하면 CPZ를 투여한 환자에 있어서 1~2%에서 황달(Jaundice)이 관찰되었는데 간의 기능에 대한 이 연구들은 그 황달이 간세포형(hepatocellular type)보다는 오히려 폐색성(obstructive)에 유사하다는 것을 보여 주었다고 하였다. 의리한 것은 이 약품에 대한 특수한 생체의 앨러지 반응이라고 믿어졌다^{5, 12)}.

Lasagna등⁹⁾은 Amphetamine의 독성이 주위환경에 의하여 현저히 영향을 받는다는 이전의 관찰에 근거를 두어 주위환경의 불안한 조건을 CPZ로 없애 주었을때 Amphetamine의 LD₅₀은 상당히 증가 하였다고 보고한 바 있다.

본인은 이러한 고찰들을 기초로 하여 CPZ가 CCl₄의 LD₅₀에 어떻게 작용할 것인가, 그리고 간장에 대한 독성에 있어서는 서로 어떤 작용을 나타낼 것인가를 규명하여 CPZ의 임상적 응용에 참고자료를 얻고자 본 실험에 착수하였다.

2. 실험재료 및 방법

실험동물로서는 일정한 사료(콩비지, 소맥)로써 일주일이상 사육한 체중 2kg 내외의 건강하고 성숙한 백색 토끼와, 체중 20~30g의 mouse를 성의 구별없이 사용하였다.

본 실험에서는 CCl₄의 독성에 대한 Chlorpromazine의 효과를 보기 위해서 CCl₄의 mouse에 대한 LD₅₀을 CPZ 전혀 치군과 대조군을 비교해 보았고, 간장의 기능에 대한 효과를 보기 위해서 혈청중의 TA활성도를 측정 비교 하였다.

A, LD₅₀의 측정

각군을 mouse 7마리로 하고 전부를 사망케 하는 량과 전부가 생존하는 량을 구하고, 그 중간을 십여구분으로 나누어 각군의 생존수와 사망수를 관찰한 후 LD₅₀을 Behrens-kaerher¹⁷⁾

의 평균치사량법에 의하여 각각 계산하였다. CCl_4 를 피하주사하여 Mouse의 CCl_4 에 대한 LD_{50} 을 정하여 대조군의 LD_{50} 으로 하고, CPZ로 전처치(5mg/kg. b. w, 복강내 주사)한 군의 CCl_4 에 대한 LD_{50} 과 비교 하였다.

B. 혈청 transaminase 활성도 측정

혈청 TA는 토끼혈청의 Glutamic oxalacetic transaminase(GOT), Glutamic pyruvic transaminase(GPT)의 활성도를 측정하였다. 토끼에서 채혈한 후 혈청을 분리하여 Reitman-Frankel법¹⁰⁾에 의하여 그 활성도를 측정하였다. 측정시에는 정확을 기하기 위하여 용혈의 흔적이 있는 혈청은 사용하지 않았으며 시약은 미국 Sigma회사 제품을 사용하였고, Baush & Lomb회사의 Spectrophotometer로 비색 측정하였다. 토끼 6마리를 한 그룹으로 하여 90% CCl_4 0.1ml/kg를 근육주사하여 3시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일에 각각 측정하였고, 다른 한 그룹은 CPZ 5mg/kg을 피하주사한 후 30분 후에 CCl_4 를 근육주사 하여 3시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일에 각각 채혈하여 그 TA 활성도를 측정 비교하였다.

III. 실험 성적

A. LD_{50}

1. CCl_4 단독 투여시의 LD_{50}

100마리의 mouse에 CCl_4 를 피하주사하여 모두 생존하는 량 6ml/kg를 구하고 모두 사망하는 량 16ml/kg를 결정한 후 그 생사수를 계산하여 구한 LD_{50} 은 10.7ml/kg이었다.

2. CPZ로 전처치한 mouse에 대한 CCl_4 의 LD_{50}

100마리의 mouse에 CPZ 5mg/kg를 복강내 주사한 후 20분 후에 CCl_4 를 피하주사하여 구한 LD_{50} 은 14.0ml/kg로서 CCl_4 단독투여시의 LD_{50} 에 비하여 3.3ml/kg나 증가 하였다. (Table 1)

Table 1. Effect of chlorpromazine CPZ on the LD_{50} of mouse for CCl_4 .

Treatment	$LD_{50}(ml/kg)$
CCl_4 in control	10.7
CCl_4 in mice treated with CPZ	14.0

B. Transaminase활성도 측정

0. S-GOT 활성도

a) CCl_4 단독투여시

6마리의 토끼에 CCl_4 0.1ml/kg를 근육내 투여한 후 3시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일에 검사

Carbon Tetrachloride의 독성에 미치는 Chlorpromazine의 영향

한 혈청 GOT활성도는 Reitman-Frankel unit로 각각 58 ± 12.31 , 320 ± 34.88 , 259 ± 28.09 , 23 ± 23.30 , 143 ± 16.78 , 85 ± 10.57 units로서 정상적인 백색 토끼의 GOT활성도인 47 ± 8.20 units에 견주어 대단히 많은 증가를 볼 수 있었다.

b) CPZ로 전처치한 후 CCl₄를 투여한 경우

6마리의 토끼에 5mg/kg를 피하주사한 후 30분후에 CCl₄ 0.1ml/kg를 근육주사하여 전항과 같은 방법으로 측정한 S-GOT활성도는 각각 50 ± 14.89 , 382 ± 26.36 , 388 ± 32.79 , 269 ± 24.98 , 134 ± 14.02 , 71 ± 7.19 units로써 CCl₄ 단독투여시와 비교하여 보면 약간 상승한 느낌을 보여 주었으나 통계적 유의차는 없었다.

이상의 S-GOT활성도에서 대조군과 CPZ 시험군을 비교하면 Table 2, Fig.1과 같았다.

Table 2. The S-GOT activity of rabbits Pretreated with CPZ in CCl₄ toxicity

No. of Ani.	CCl ₄ in control	CCl ₄ in rabbits with CPZ injection
	M±S. E. (unit)	M±S. E. (unit)
	6	6
0	47 ± 8.20	47 ± 8.20
3hr	58 ± 12.31	50 ± 14.89
1st day	320 ± 30.83	382 ± 26.36
2nd "	259 ± 26.09	388 ± 32.79
3rd "	231 ± 23.30	269 ± 24.98
5th "	143 ± 16.78	134 ± 14.02
7th "	85 ± 10.57	71 ± 7.19
P	P<0.05	P<0.05

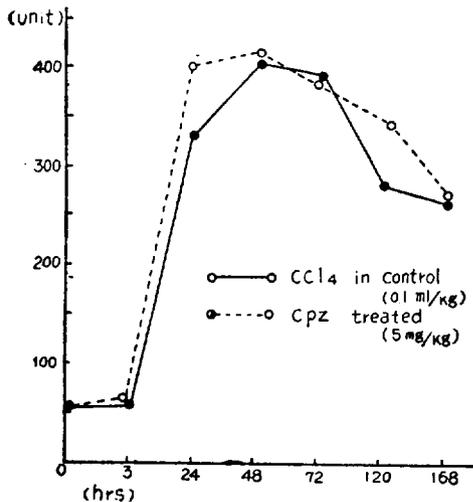


Fig. 1. Comparison of the S-GOT Activity of Rabbits Pretreated With CPZ in CCl₄ Toxicity.

2, S-GPT 활성도

a) CCl₄ in control

6마리의 토끼에 CCl₄ 0.1ml/kg를 근육내 주사한 후 3시간, 1일, 2일, 3일, 5일, 7일에 측정된 혈청 GPT는 Reitman-Frankel치로서 각각 54 ± 11.67 , 331 ± 24.25 , 404 ± 34.18 , 388 ± 31.28 , 289 ± 17.87 , 271 ± 15.65 units로 정상토끼의 GPT 51 ± 7.08 units에 비하여 대단히 많은 증가를 보였다.

b) CPZ 전처치후 CCl₄를 투여할 경우.

9마리의 토끼에 CPZ 5mg/kg를 피하주사한 후 30분 후에 CCl₄ 0.1ml/kg를 근육내 주사하

여 전항과 같은 방법으로 측정된 S-GPT는 각각 56 ± 10.11 , 400 ± 29.20 , 420 ± 30.19 , 385 ± 24.34 , 347 ± 19.71 , 279 ± 16.31 units로서 CCl_4 단독 투여시에 비하여 다소 증가 하였으나 통계적 유의차는 없었다. (Table 3, Fig. 2)

Table 3. The S-GPT activity of rabbits treated with CPZ in CCl_4 toxicity.

No. of Ani.	CCl_4 in control	CCl_4 in abbits with CPZ injection
	M \pm S. E. (unit)	M \pm S. rE. (unit)
	6	6
0	51 ± 7.08	51 ± 7.08
3hr	54 ± 11.67	56 ± 10.11
1st day	331 ± 24.25	400 ± 29.20
2nd "	404 ± 34.18	420 ± 30.19
3rd "	388 ± 31.28	385 ± 24.34
5th "	289 ± 17.87	347 ± 19.71
7th "	271 ± 15.65	279 ± 16.31
P	P<0.05	P<0.05

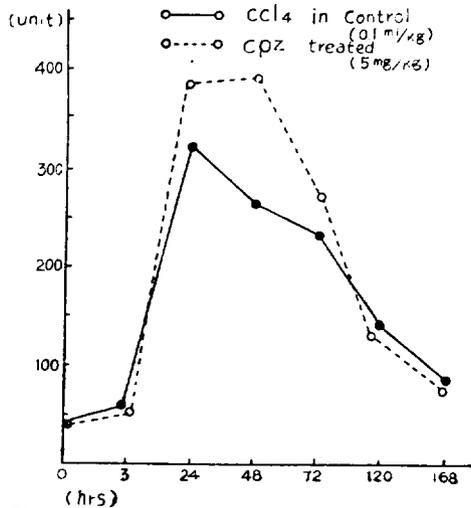


Fig. 2. Comparison of the S-GPT Activity of Rabbits Pretreated With CPZ in CCl_4 Toxicity.

IV. 고찰

본 실험은 Chlorpromazine (CPZ) 이 생체내에서 CCl_4 의 독성에 어떻게 작용하는가를 밝히 임상에서 CPZ를 사용할 때 참고하고자 실시하였다.

mouse에 대한 CCl_4 단독 투여시의 LD_{50} 은 10.7 ml/kg이었는데, CPZ로 전처치 할 경우 CCl_4 의 LD_{50} 은 14.0ml/kg로 증가하였다.

혈청 TA 활성도 (S-GOT 및 S-GPT) 에서 보면 CCl_4 투여 후에 시간이 경과함에 따라서 상승 하는 데 1~2일에 최고에 달했다가 그후 계속 떨어지는 것을 관찰하였다. CPZ로 전처치한 후 CCl_4 를 투여했을 경우에는 CCl_4 를 단독 투여했을시에 비하여

S-GOT, S-GPT 양쪽 모두 다소 증가된 것을 관찰할 수 있었다.

위의 성적을 볼 때 CPZ는 CCl_4 의 LD_{50} 을 증가 시켰다 물론 이것이 뚜렷한 증가를 의미하는 것은 아니라 할지라도 다소의 방어 작용이 나타난 것은 무시할 수 없는 사실이다. 이 사실은 Lasagna²⁾에 의해서 설명될 수 있을런지 모르겠다. 즉, 그는 Amphetamine의 중추신경에 대한 독성이 주위 환경에 의해서 현저히 영향을 받는다는 이전의 고찰에 기초를 두어 연구한 결과 격리된 mouse를 위한 Amphetamine의 LD_{50} 은 111mg/kg이었고, 자그마한 통속에 새마리의

mice를 밀집되게 두었을 때는 Amphetamine은 더욱 적은량(약 15mg/kg)으로 다 죽일수 있었다. 그러나, CPZ로 전처치(5mg/kg)했을 경우에는 격리된 mouse에서는 144mg/kg으로서 약간의 상승율을 얻었을 뿐이나 집단을 형성한 mice에선 121mg/kg로 뚜렷한 증가율을 나타냈다고 하였다. Goth⁵⁾는 이를 주위환경의 불리한 효과를 감소시키는 tranquilizing drug의 좋은 예로서, 밀집된 mice에 있어서 과민한 주위조건에 의하여 야기된 불안은 Amphetamine의 중추흥분 효과를 증가시킨다고 논한바 있다.

그러나, CCl₄는 중추신경흥분제가 아니다. 그의 뚜렷한 독작용은 간에서 나타난다. 그래서, 간손상의 지표가 되는 TA활성도 측정을 시도하였다. CCl₄ 단독 투여한 대조군에서 최고치는 S-GOT가 320±30.88 units, S-GPT가 404±34.18 units인데 비하여 CPZ전처치시에는 S-GOT 388±32.79, S-GPT 420±30.19 units로서 다소 상승한 느낌을 주었다.

S-GOT 및 S-GPT 활성치는 40~50 units가 정상치의 한계라고한 Chinsky¹⁾에 의하면 이것은 간 조직이 심한 손상을 입은 것을 뜻한다. 그러나, CPZ전처치군이 대조군에 비하여 약간의 상승을 보였으나 이것은 중요시 될만한 증가율을 나타낸 것은 아니었다.

CPZ는 비교적 독성이 약한 약물로서 이것이 간에서 산화되는 동안에 약간의 독작용이 간에서 나타나지만 그것은 몇주일동안 계속 사용했을 경우의 환자에서 드물게 (1~2%)발생하는 문제일 따름이다^{4,7,12)}. Shay¹²⁾에 의하면 CPZ를 계속 투여할 경우 S-GOT 활성도가 약간 증가함을 보고한 바 있고, Goodman, et al⁴⁾에 의하면 CPZ가 간에 대한 독성은 아주 미약하나 만약 약간에 어떤 손상이 있을 경우엔 그의 독작용은 증강된다고 하였다.

그런데, 韓¹⁸⁾에 의하면 수종의 Sulfa제가 CCl₄의 간에 대한 독작용을 방어한다 하였다. 즉, Wilson and LeDuc¹³⁾은 세포학적 및 조직화학적 검사를 통하여 CCl₄는 간세포 Mitochondria의 투과성을 항진시켜 효소계통의 외해를 초래함으로써 비가역성 변화를 일으켜 손상을 유발하는 바, Sulfa제는 Mitochondria의 이런 변화를 억제함으로써 방어작용을 수행한다 하였다. Emmerson²⁾ 및 Kamm³⁾에 의하면 CPZ는 간에서 분해되어 CPZ Sulfoxide로 되었다가 마지막엔 CPZ Sulfone으로 변화되는 것 같다고 하였는데, 여기서 Sulfone기가 Sulfa제가 일으키는 방어작용을 수행할 것이라는 것은 실험결과 기대할 수 없었고, 간이 손상을 입었을 경우에 CPZ의 간에 대한 독작용은 약간 증강될 것이라는 여러학자들^{4,5)}의 의견과 일치한 셈이다.

그리고, 실험도중 韓¹⁸⁾이 발견한 것 같이 S-GOT 활성치는 CCl₄ 투여를 중단하여 1주일 후엔 정상치에 가까와지나 (71±7.19, 85±10.57), S-GPT는 1주일 후에도 계속 높은치(279±16.31, 271±15.65)를 나타내고 있는 것은 주목을 끈다.

결국, CPZ의 임상에서의 응용은 환축이 간에 어떤 장애가 있을 경우엔 그 사용을 가능한 한 금해야 한다는 것은 확인된 셈이나, CCl₄의 LD₅₀을 증가시키는 CPZ의 영향은 간에서가 아니라 신경계통에서 이루어지는 것이 아닌가 생각된다. (Goodman, et al⁴⁾, Goth⁵⁾ 및 Lasagna⁹⁾에 의해서)

그러나, 그 정확한 규명은 다수례에서 광범위한 연구가 수반되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

mouse에 대한 CCl₄의 LD₅₀에 미치는 CPZ의 영향과 토끼에 있어서 CCl₄에 의한 간손상시에 관여하는 효소활성도에 대한 CPZ의 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

① CPZ 5mg/kg로 전처치 했을때 mouse에 대한 CCl₄의 LD₅₀을 10.7ml/kg에서 14.0ml/kg로 증가시켰다.

② 그러나, CCl₄에 의해서 증가되는 S-GOT 및 S-GPT 활성도에 있어서는 현저하지는 않으나 오히려 다소 상승시키는 듯 하였다.

③ CCl₄ 투여 중단후 S-GOT 치는 1주일 후 정상으로 회복되나, S-GPT 활성치는 1주일 후에도 계속 높은치를 나타냈다.

References

- 1) Chinsky, N. and Sherry, S.: Serum- Transaminase as a Diagnostic Aid, *A. M. A. Arch. Int. Med.*, 99:556~561 (1957)
- 2) Emmerson, J. L. and Miya, T. S. : The metabolism and excretion of Sy 35- CPZ by the rat, *J. Pharm. Exp. Thera.*, 137:148~155 (1962)
- 3) Goldstein, F. et al: Serum glutamic oxalacetic Transaminase and Iron in the Differential Diagnosis of Jaundice, *Gastroenterol.*, 36:487~500 (1959)
- 4) Goodman, L. S. and Gilman, A.: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 3rd Ed., The Macmillan Co., N. Y. : 160~178 (1966)
- 5) Goth, A.: *Medical Pharmacology*, 2nd Ed. Maruzen Co. ; 180~195 (1964)
- 6) Hoffman, T., et al : Response of the Liver to Injury ; Effect of Acute Carbon Tetrachloride Poisoning, *A. M. A. Arch. Path.*, 59:429 (1955)
- 7) Jones, L. M. and Link, R. P.: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 3rd Ed. Iowa state Univ. Press; 208~210, 598~599 (1966)
- 8) Kamm, J. J., Gillette, J. R. and Brodie, B. B.: Metabolism of CPZ to CPZ sulfoxide by Liver microsomes, *Federation Proceedings* 17:382 (1958)
- 9) Lasagna, L. and McCann, W. P.: †Effect of "Tranquilizing" drug an Amphetamine Toxicity in Aggregated mice, *Scienc* 125:1241~1242 (1957)
- 10) Recknagel, R. O.: Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity, *Pharmacol. Rev.* 19:145 (1962)
- 11) Samorajski, T., et al: Prenatal CPZ Effects on Liver Enzymes, Glycogen and Ultrastructure in mice Offspring, *Am. J. Path.*, 47:803~31 (1965)
- 12) Shay, H. and Siple, H.: Study of CPZ Jaundice, its Mechanism and Prevention, Special References to Serum Alkaline Phosphatase and Glutamic oxllacetic Transaminase, *Gastroenterology* 32:571~591 (1957)

- 13) Wilson, J. W., LeDuc, E. H. and Arnold, L. E.: Protective Action of Sulfa Drugs against CCl_4 Poisoning in Mice, *Fed. Proc.*, 9: 349 (1950)
- 14) Wroblewski, F. and LaDue, J. S.: S-GOT Activity as An Index of Liver Cell Injury, *Ann. Int. Med.*, 43:345 (1955)
- 15) Wroblewski, F., Jervis, G. and LaDue, J. S.: The Diagnostic, Prognostic and Epidemiologic Significance of S-GOT Alterations in Acute Hepatitis, *Ann. Int. Med.*, 45:782~802 (1956)
- 16) 金井泉: Reitman-Frankel 法 變法, 血清臨床檢査法提要, 第24版, Transaminase 活性測定法, VII~79 (1966)
- 17) 池田良雄: Behrens-kaerher 法의 致死量을 定하는 方法, 藥物致死量集, 南山堂: 220 (1955)
- 18) 韓圭錄: 4염화 탄소 급성중독 家兔肝損傷에 對한 Sulfadimethoxine의 방어작용, 수도의 대잡지, 1, 3:139~146 (1964)