

미우스 Carbonic anhydrase 활성에 미치는 Xanthine 유도체의 영향

가톨릭의학부 약리학교실

〈지도 조 규 철 교 수〉
〈도 조 조 별 현 부 교 수〉

유 명 열 · 박 형 경 · 이 정 의

=Abstract=

Effect of Xanthine Derivatives on the Carbonic Anhydrase Activity in the Mouse

Myung Yul Yu, M.D., Hyung Kyung Park, M.D. and Chung Ik Lee, M. D.

Department of Pharmacology, Catholic Medical College, Seoul, Korea

(Director: Prof. Kyu Chul Cho, Assoc. Prof. Byung Heon Cho)

This study was undertaken to observe the effect of xanthine such as caffeine and aminophylline on the activity of carbonic anhydrase in the kidney and stomach of the mouse.

Carbonic anhydrase activities were measured by Philpot & Philpot method (1936).

The results of this experiment were as follows:

1. The activity of carbonic anhydrase in the kidney of the mouse was slightly inhibited by the administration of caffeine (0.1 mg/gm, B. W.) or aminophylline (0.08 mg/gm, B. W.). The inhibition was more pronounced by the administration of aminophylline than that of caffeine.
2. In the stomach, there was no significant change in the activity of the carbonic anhydrase after the administration of either caffeine or aminophylline.

I. 머릿말

Xanthine 유도체는 임상적으로 널리 사용되고 있으나 이 약물들의 여러 약리작용에 대한 기전(機轉)은 아직도 확실히 규명되지 않은 바가 많다. 특히 이뇨작용이나 위장에 대한 작용기전에 관한 연구업적은 희유한 실정이다.

일반적으로 xanthine 유도체의 이뇨작용은 일차적인 것이 아니라 순환기 계통에 대한 작용에 따르는 신혈류(腎血流)의 증가(Goodman & Gilman, 1970¹⁾; Davis & Shock, 1949²⁾)와 신사구체(腎糸球體) 여과율의 증가(Dipalma 1965³⁾)에 의한다고 알려져 있다. 또한 위장에 대한 작용은 xanthine 유도체가 부교감신경을 자극함으로써 parietal cell 에서 산의 분비를 증가시킨다고 알려져 있다. (Robertson et al., 1950⁴⁾)

한편 신장이나 위장에서는 carbonic anhydrase 가 다

량으로 존재하고 있어 배뇨(Maren, 1967⁵⁾)와 위산의 분비에 관여하고(Maren, 1967⁶⁾)있음은 주지(周知)의 사실이다.

이러한 carbonic anhydrase 에 대한 xanthine 유도체의 작용을 규명하고자 본 실험을 시도하여 몇가지 흥미로운 결과를 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

실험동물은 체중 25 gm 내외의 건강한 성숙 숫마우스를 사용하였다. 실험동물 8마리를 1군으로 하여 다음과 같이 4군으로 분류 관찰하였다.

제 1 군 : 생리적 식염수 투여군

제 2 군 : Caffeine 투여군

제 3 군 : Aminophylline 투여군

제 4 군 : Acetazolamide 투여군

대조군에는 생리적 식염수를 투여하였고, caffeine 투여

군에는 Caffeine & sodium benzoate(大元製藥제품) 1 mg/10 gm 을, Aminophylline 투여군에는 Aminophylline(大元製藥제품) 0.8 mg/10 gm 그리고 Acetazolamide 투여군에는 Acetazolamide soduim(American cyanamid company, Pearl River N. Y.) 0.4 mg/10 gm 을 생리적 식염수에 희석하여 체중 10 gm 마다 0.4 ml 가 되도록하여 마우스의 꼬리정맥 안에 주사하였다.

약물 투여 30분 및 90분 경과시 각 군의 마우스를 에텔마취로 도살하고 신장과 위장을 적출하였다. 적출한 신장은 전 조직을, 위장은 유문부(幽門部) 조직을 갈아서 4°C의 생리적 식염수로 50배 희석하였으며 이 용액 1 ml 속에 있는 carbonic anhydrase의 활성을 측정하였다.

Carbonic anhydrase 활성 측정방법 :

Carbonic anhydrase의 활성 측정은 Philpot와 Philpot(1936)¹³⁾의 방법에 따라 측정하였으며 이때의 모든 조작은 4°C에서 시행하였다. carbonic anhydrase의 활성치는 편의상 다음과 같이 계산하였다. 즉 공(空)실험에 요하는 值(秒)에서 실험(值秒)를 감하여 얻은 수로써 이 값의 증가는 carbonic anhydrase의 활성이 높아짐을 가리킨다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 신장의 carbonic anhydrase 활성치

약물 투여 후 30분 경과시 얻은 신장에 있어서의 car-

bonic anhydrase의 활성치는 대조군에서 평균 37.3을 나타내고 있는 반면 caffeine 및 aminophylline 투여군에서는 carbonic anhydrase의 활성치가 평균 각각 35.2와 34.0으로 aminophylline 투여군은 대조군에 비하여 유의성있는 억제효과를 나타내었다($p < 0.05$). 그러나 acetazolamide 군의 평균 14.0에 비교할 때 aminophylline 투여로 인한 억제효과는 대단히 미약하였다.

약물 투여 90분 경과 후, 대조군에서는 평균 43.0을 나타내었고, caffeine 및 aminophylline 투여군에서는 각각 평균 40.0과 34.7로써 대조군에 비하여 약간의 억제효과를 나타내고 있으며 특히 aminophylline 투여로 인하여 뚜렷이 carbonic anhydrase의 활성은 억제되고 있음을 관찰하였다($p < 0.05$). 투여시간 경과에 따른 영향은 aminophylline 투여 90분 군에서 현저히 carbonic anhydrase의 활성이 억제되고 있으며 caffeine 투여군에서는 90분 군이나 30분 군에서 별다른 차이를 관찰할 수 없었다.

acetazolamide 투여군에서는 억제효과가 90분 군에서 감소되고 있다(Table 1 참조).

2. 위(胃)의 carbonic anhydrase 활성치

위에서 carbonic anhydrase의 활성은 위저부에서는 완전히 없었으므로 이 부분에서의 활성치 측정은 제외하였다.

위 유문부의 carbonic anhydrase의 활성치는 약물 투여 30분에 caffeine 투여군 및 aminophylline 투여군에서

Table 1. Carbonic anhydrase activity in the kidney of the mouse after single injection (i. v.) of caffeine, aminophylline and acetazolamide

Minutes after injection	Dilution	Carbonic anhydrase activity			
		Control	Caffeine (1mg/10mg, B. W.)	Aminophylline (0.8mg/10gm, B. W.)	Acetazolamide (0.4mg/10gm, B. W.)
30 min	50×	37.3 ± 1.37†	35.2 ± 2.38	34.0 ± 3.00*	14.0 ± 8.30**
90 min	50×	43.0 ± 0.89	40.0 ± 3.39	34.7 ± 7.42*	28.6 ± 4.87**

† The value of each groups represents the mean and S. D. of 8 mice.

* $P < 0.05$ ** $p < 0.01$

Table 2. Carbonic anhydrase activity in the stomach of the mouse after single injection (i. v.) of caffeine, aminophylline and acetazolamide

Minutes after injection	Dilution	Carbonic anhydrase activity			
		Control	Caffeine (1mg/10gm, B. W.)	Aminophylline (0.8mg/10gm, B. W.)	Acetazolamide (0.4mg/10gm, B. W.)
30 min	50×	38.5 ± 2.34†	39.2 ± 3.86	39.7 ± 1.95	33.5 ± 5.96*
90 min	50×	42.8 ± 4.73	44.8 ± 2.18	44.4 ± 3.96	43.2 ± 4.52

† The value of each groups represents the mean and S. D. of 8 mice.

* $P < 0.05$

각각 평균 39.2와 39.7를 나타내었으며 대조군의 평균 38.5와 비교할 때 뚜렷한 차이를 발견할 수가 없었다. 그러나 acetazolamide 투여로 유의성(有意性)있는 억제 효과를 나타내었으며 그 値는 평균 33.5이었다. 그러나 약물 투여 90분 경과군들의 4군 모두에서는 서로 비슷한 값을 나타내고 뚜렷한 차이는 발견할 수 없었다 (Table 2 참조).

IV. 고 찰

최근에 이르러 여러 학자들의 연구에 의하여 xanthine 유도체가 사구체 여과치의 세노판에서 재흡수를 감소 시키고(Nechay 1961⁸⁾; Nechay & Sanner 1961⁹⁾ 또 free water clearance 를 증가시킨다는(Goldstein et al. 1961³⁾; Kleeman et al. 1962⁴⁾ 것이 알려졌다. Sutherland 등 (1960)¹⁵⁾은 xanthine 이 phosphodiesterase 를 억제시킴으로서 adenosine-3'5'-phosphate 의 분해를 방해한다고 하였으며 Orloff 와 Handler 들(1962)¹²⁾은 이러한 adenosine-3'5'-phosphate 가 Na⁺와 H₂O 의 이동에 영향을 준다는 것을 두꺼비의 방광실험으로 관찰하고 신장에서도 역시 이러한 영향을 미칠 것이라고 암시하였다.

Nielson(1961)¹¹⁾은 정상적으로 알카리성 뇨를 배설하는 초식동물에서 aminophylline 의 이뇨작용이 chlorothiazide 보다 더 강하게 나타난다고 하였다. 마우스를 이용한 본 실험에서 aminophylline 이 미약하게 carbonic anhydrase 의 활성을 억제시킴을 관찰하였으며 aminophylline 을 투여한 군에서 약물 투여후 30분 경과군 보다 90분 경과군에서 더 뚜렷한 억제작용을 관찰하였다. 이것은 aminophylline 의 작용이 carbonic anhydrase 억제제인 acetazolamide 와 같이 직접적으로 enzyme system 을 강력하게 억제함으로 나타나는 결과와는 상이(相異)하다. 즉 aminophylline 의 carbonic anhydrase 의 활성을 억제하는 작용은 acetazolamide 와 같이 직접적으로 그 작용을 나타내지 않고 어떤 중간 기전을 통하여 억제 작용을 나타낼을 암시하고 있다.

Acetazolamide 투여로 인하여 나타나는 뇨의 전해질 변동이 aminophylline 투여로 인한 것과 상이하다는 점 (Goodman & Gilman 1970)⁶⁾과 앞에서 언급한 aminophylline 의 작용기전등으로 미루어 볼 때 저자들이 관찰한 xanthine 유도체의 carbonic anhydrase 억제효과가 이 유도체의 이뇨작용에 극히 미약하게 기여하였다고 생각한다.

Nechay(1964)¹⁰⁾는 carbonic anhydrase에 의하여 aminophylline 의 작용이 증강된다고 하였는데 이러한 보고는 본 실험의 결과를 확실히 한다고 생각한다.

위에서 xanthine 투여로 carbonic anhydrase 의 활성의 변동은 별로 뚜렷한 차이를 발견할 수가 없으며 단지 acetazolamide 투여 30분군 만이 억제작용을 나타내고 있었으나 신장에서 관찰한 acetazolamide 의 30분군과 비교할 때 carbonic anhydrase 억제작용이 상당히 약화되었음을 알 수 있다. 또 90분 경과군에서 위에서 나타난 결과는 caffeine, aminophylline 및 acetazolamide 군 전부 가 대조군과 비슷한 값을 나타내고 있다. acetazolamide 투여 30분 경과에서 그 작용이 약화되고 90분 경과에 carbonic anhydrase 억제작용이 소실함을 생각할 때 caffeine 및 aminophylline 은 위의 carbonic anhydrase 에는 어떠한 변동도 일으키지 못하였다고 추측하며 따라서 carbonic anhydrase 에 영향을 주어 나타나는 위산의 분비작용에 xanthine 유도체는 하등의 영향을 미치지 못한다고 생각한다.

V. 결 론

Xanthine 유도체인 caffeine 및 aminophylline 이 마우스의 신장 및 위에서 carbonic anhydrase 활성에 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 신장에서 aminophylline 투여로는 carbonic anhydrase 활성을 유의성있게 억제시켰다.
2. 위(胃)에서 caffeine 및 aminophylline 투여로는 carbonic anhydrase 활성에 영향을 미치지 못하였다.

REFERENCES

- 1) Davis, J. O. and Shock, N. W.: *The effect of theophylline ethylenediamine on renal function in control subject and in patient with congestive heart failure.* *J. Clin. Invest.* 28:1459, 1949.
- 2) Dipalma, J. R.: *Drill's pharmacology in medicine.* 3rd edition. 683, 1965.
- 3) Goldstein, M. H., Levitt, M. F., Hauser, A. D. and Polimeros, D.: *Effect of meraluride on solute and water excretion in hydrated man.* *J. Clin. Invest.* 40:731, 1961.
- 4) Kleeman, C. R., Cutter, R., Maxwell, M. H., Bernstein, L. and Dowling, J. T.: *Effect of various diuretic agents on maximal sustained water diuresis.* *J. Lab. Clin. Med.* 60:224, 1962.
- 5) Louis, S. Goodman and Alfred Gilman: *The pharmacological basis of therapeutics.* 4th. edition. 861-871, 1970.
- 6) Maren, T. H.: *Carbonic anhydrase. Physiology*

- and inhibition. *Physiol. Rev.* 47:690-709, 1967.
- 7) Maren, T.H.: *Carbonic anhydrase. Physiology and inhibition. Physiol. Rev.* 47:732-738, 1967.
- 8) Nechay, B. R.: *Aminophylline and its relationship to some other diuretic agents in dog. J. P. E. T.* 132:339, 1961.
- 9) Nechay, B. R. and Sanner, E.: *Theophylline diuresis in the chicken. Acta. Pharmac. Toxicol.* 18:329, 1961.
- 10) Nechay, B. R.: *Potentialiation of diuretic effect of methylxanthine and pyrimidines by carbonic anhydrase. J. P. E. T.* 144:276, 1964.
- 11) Nielson, O. E.: *Acta. Pharmac. Toxicol.* 18:329, 1961. Cited from Nechay, B. R.: *Potentialiation of diuretic effect of methylxanthine and pyrimidines by carbonic anhydrase. J. P. E. T.* 144:276, 1964.
- 12) Orloff, J. and Handler, J. S.: *The similarity of effect of vasopressin adenosine-3'5'-phosphate (cyclic AMP) and theophylline on the toad bladder. J. Clin. Invest.* 41:702, 1962.
- 13) Philpot, F. J. and Philpot, J. S.: *A modified colorimetric estimation of carbonic anhydrase. Biochem. J.* 30:2191, 1936.
- 14) Robertson, C. R., Rosiere, C. E., Blickenstaff, D. and Grossman, M. I.: *The potentiating action of certain xanthine derivatives on gastric secretory response in the dog. J. P. E. T.* 99:362, 1950.
- 15) Sutherland, E. W. and Hall, T. W.: *The relation of adenosine-3'5'-phosphate and phosphorylase to the actions of catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev.* 12:265, 1960.