약학회지 제 44 권 제 4 호 362~370(2000)
Yakhak Hoeji Vol. 44, No. 4

K^+ Channel 개방제인 BRL 34915의 신장작용에 대한 신장 신경제거와 선택성 ATP-의존성 K^+Channel 차단제인 Glibenclamide의 영향

고석태# · 최홍석
조선대학교 약학대학
(Received June 1, 2000)

Effect of Renal Denervation and Glibenclamide, a selective ATP-sensitive K^+ Channel Blocker, on Renal Action of BRL 34915, a ATP-sensitive K^+ Channel Opener, in Dog

Suk-Tai Ko# and Hong-Seok Choi
College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea

Abstract — In anesthetized dogs, antidiuretic action of intravenously administered BRL 34915 (10.0~30.0 μg/kg) was blocked by renal denervation, whereas it was not affected by glibenclamide, a selective K_{ATP} blocker, given into renal artery. Diuretic action in ipsilateral kidney produced by intrarenal administration of BRL 34915 was not influenced by renal denervation, but blocked completely by glibenclamide given into the vein. Above results suggest that the antidiuretic action of BRL 34915 is mediated by renal sympathetic nerves and the diuretic action is caused by opening of K^+ channel within kidney.

Keywords □ BRL 34915, diuretic and antidiuretic action, denervation, glibenclamide, dog.

K^+ channel이 개방되면 K^+이 세포밖으로 유출되어 세포막 전위를 K^+ 평형전압으로 이동시키고 세포막을 과분극시킴으로써 세포의 흥분성이 감소하게 된다.[1] 그 결과 혈관평활근이 이완되고 이에 따라 혈압이 하강한다.[2,3] 또한 K^+ channel 개방제는 관상동맥 확장제로 작용하여 혈관경련성이나 만성적 협심증에 사용한다.[4,5] 개방제로는 minoxidol을 비롯하여 diazoxide, pinacidil, BRL 34915, nicorandil 등을 들 수 있고 이의 차단제로는 glibenclamide와 tolbutamide, TMB-8, efaroxan, phentolamine 등이 있다.[6,7] K^+ channel 개방제 중 BRL 34915로 개의 정맥내 또는 경동맥내 투여하였을 때 뇨중의 Na^+ 배설량의 감소와 신세뇨관에서의 Na^+ 재흡수율의 증가에 의한 뇨량의 감소현상이 나타났으나 한쪽 신장 동맥내에 투여하였을 때에는 정맥내 투여하였을 때와는 정반대로 투여 신장에서 뇨중 Na^+과 K^+의 증가와 신세뇨관에서의 Na^+과 K^+의 재흡수율의 감소에 의하여 뇨량의 증가현상이 나타났다. 결과적으로 BRL 34915는 중추적인 항이뇨작용과 신장내에서의 이뇨작용을 겸유하는 것으로 결론하였다.[8] 따라서 이러한 BRL 34915의 신장작용의 기전을 규명하기 위하여 BRL 34915의 신장작용에 대한 신장 신경제거와 K^+ channel 차단제인 glibenclamide의 영향을 검토하였다.

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 062-230-6368 (팩스) 062-234-3016

실험방법

재료 – 사용약물은 BRL 34915(Sigma, USA), glibenclamide(RBI. USA), creatinine anhydrous(Sigma, USA), p-aminohippuric acid(Sigma, USA), pentobarbital sodium(Entobar® 한림제약) 등이며 pentobarbital sodium은 주사제인 Entobar®을 그대로 사용하였다.

BRL 34915은 Taylor, S. G. 등[9]의 방법을 수정 보완하여 DMSO(Dimethylsulfoxide) 1~2 drop을 BRL 34915 극소량에 적하하여 용해시킨 후 0.9% saline으로 희석시켜 사용하였으며 glibenclamide는 Quast 등[10]의 방법에 따라 1M-NaCl 0.6 ml, ethanol 1.0 ml, polyethyleneglycol 400 1.0 ml, H_2O 0.4 ml(total 3.0 ml)에 glibenclamide 30.0 mg을 용해시켜 사용하였다. BRL 34915와 glibenclamide는 사용 직전에 각각의 용매에 용해시켜 사용하였고 기타 약물은 0.9% saline에 용해시켜 사용하였다. 사용기기는 spectrophotometer(Shimadzu, Japan), flame photometer(Ciba-Corning, England), osmometer(Aadvanced, USA), peristaltic pump(Tokyo Rikakikai, Japan), infusion pump (KD Scientific, USA), physiograph(Grass, USA), centrifuge(Vision Scientific, Korea), thermoregulating apparatus(Fine Science Tools, USA)등이며 실험동물은 체중 10~15 kg의 잡견을 암수 구별없이 사용하였으나 발정기 상태에 있거나 잉태중인 암컷은 제외시켰다.

방법 – 실험동물인 개는 실험 전날부터 단식 시켰으나 물은 자유로이 취하도록 하였다. 마취는 pentobarbital sodium을 35.0 mg/kg, i.v.로 투여하고 필요에 따라 실험중 추가 투여하였다. 마취된 개는 동물 고정대에 背位로 고정하고 호흡을 용이하게 하기 위하여 기도내에 endotracheal tube를 삽입 고정하였다. 주입액의 주입과 정맥내의 약물 투여는 상지 정맥내에 peristaltic pump를 이용하여 시행하였고, 집뇨는 배위로 고정한 개를 정중절개로 개복한 다음 방광을 노출시켜 양측 수뇨관에 적당한 크기의 polyethylene관(PE관)을 삽입 고정하여 10분 간격으로 시행하였다. 한쪽 신동맥내의 약물 투여는 양측 수뇨관에 PE관을 삽입 고정하여 뇨를 따로 모으도록 한 다음 개를 측좌위로 재고정하고 좌측 절개로 좌측 신동맥을 노출시켜 낚시 모양으로 구부린 23 gauge 주사침을 PE관으로 infusion pump와 연결한 다음 신동맥내로 穿刺하여 12 ml/hr의 속도로 생리 식염액을 계속 주입하여 주사침이 막히지 않도록 하였다가 약액과 교환하여 주입하거나 주사기를 이용하여 bolus로 주사하였다. 한쪽 신장의 신경 제거는 Elsa 등[11]의 방법에 따라 한쪽 신동맥내 약물 투여시 처럼 좌측 신동맥을 노출시킨 후 신장 pedicle 주위의 조직을 분리한 다음 육안으로 볼 수 있는 모든 신경을 절단하고 엷은 막(adventitia)을 완전히 벗긴 후 10% alcoholic phenol 용액을 흠뻑 적신 탈지면으로 신동맥의 주위를 약 20분 동안 피복하여 신장 신경의 기능을 제거하였다. 10% alcoholic phenol 용액으로 피복이 끝난 후에는 0.9% 생리 식염액으로 여러 번 세척하였다. 신장 신경을 제거한 후 일부 동물에서는 신장 동맥의 경축이 나타났다. 이런 동물 중 일정 시간 후까지 회복되지 않으면 실험에서 제외시켰다. K^+ channel 차단제와의 관계 실험은 차단제를 투여한 일정시간 후 신장기능이 일정하게 되었을 때 BRL 34915를 투여하여 나타나는 신장기능의 변화를 관찰하였다. Clearance는 clearance 물질(creatinine, PAH)을 일정한 혈중 농도에 일시에 도달하도록 초회량(creatinine 50.0 mg/kg, PAH 6.0 mg/kg)을 투여한 후 곧이어 뇨중에 배설되는 양만큼 주입액에 첨가하여 계속 주입하였으며 매 clearance 중간에 한쪽 대퇴동맥에 heparin-saline을 채워 삽입 고정하여 둔 PE관을 통해 채혈하여 곧 원침한 다음 혈장을 분리하여 냉장고에 보관하였다가 뇨와 함께 분석에 사용하였다. 혈압의 변동은 다른 쪽 대퇴동맥에 pressure transducer를 연결하여 physiograph 상에 기록하여 계측하였다. 실험중 개의 체온을 일정하게 유지하기 위하여 thermoregulating apparatus를 사용하였다. Clearance 물질인 creatinine은 Phillips[12]의 방법, PAH는 Smith 등[13]의 방법에 의하였으며 Na^+과 K^+는 flame photometer로, osmolarity는 osmometer로 측정하였다. 통계적 유의성의 검토는 대조치로 부터의 변동을 Student's paired t-test[14]로 하였다.

실험결과

BRL 34915의 신장작용에 대한 신장신경 제거의 영향 – 정맥내 또는 경동맥내에 투여한 BRL 34915가 다 같이 항이뇨작용을 나타내었다. 더욱이 경동맥에 투여한 BRL 34915의 양은 정맥내에 투여한 양에 비하여 훨씬 적은양인데도 불구하고 정맥내에 투여하였을 때와 비슷한 항이뇨 효과를 나타내었다. 그러므로 BRL 34195의 항이뇨작용은 중추적인 요소가 관여하는 것으로 판단하였다.[8] 또한 한쪽 신동맥내에 투여한 BRL 34915는 투여 신장에 국한된 이뇨작용이 나타났다.[8] 따라서 이런 신장작용의 신장 신경 간여 여부를 검토하기 위하여 신장 신경 제거의 실험을 시행하였다. 먼저 정맥내 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용에 대한

Table I – Effect of renal denervation on antidiuretic action of BRL34915 (10.0 μg/kg) given into vein in dog

Parameters		Control	Times (min.) after administration of BRL 34915		
			0~10	10~20	20~30
Vol	(ml/min)	D 2.38 ± 0.26	2.57 ± 0.15	2.23 ± 0.26	2.27 ± 0.02
		I 1.03 ± 0.10	0.73 ± 0.05°	0.77 ± 0.05°	0.83 ± 0.07°
GFR	(ml/min)	D 24.7 ± 0.54	26.3 ± 0.53	25.7 ± 0.49	25.9 ± 0.33
		I 18.9 ± 1.16	18.9 ± 1.16	21.4 ± 1.59	19.0 ± 1.03
RPF	(ml/min)	D 38.2 ± 2.37	42.2 ± 1.69*	41.7 ± 1.67	41.8 ± 1.49
		I 33.4 ± 2.37	35.1 ± 1.33	39.9 ± 2.26	36.0 ± 1.66
C_{osm}	(ml/min)	D 2.63 ± 0.20	2.76 ± 0.16	2.55 ± 0.14	2.58 ± 0.12
		I 1.65 ± 0.52	1.25 ± 0.30	1.39 ± 0.32	1.43 ± 0.40
C_{H20}	(ml/min)	D -0.25 ± 0.33	-0.19 ± 0.28	-0.32 ± 0.22	-0.32 ± 0.22
		I -0.42 ± 0.25	-0.52 ± 0.09	-0.62 ± 0.12	-0.59 ± 0.13
E_{Na}	(μEq/min)	D 222.9 ± 10.25	246.4 ± 7.71	228.2 ± 8.54	234.9 ± 5.36
		I 111.1 ± 8.59	91.2 ± 5.51°	105.1 ± 6.52	111.1 ± 5.63
R_{Na}	(%)	D 94.0 ± 0.30	93.8 ± 0.13	94.1 ± 0.27	94.0 ± 0.20
		I 95.1 ± 1.99	95.8 ± 1.58	95.7 ± 1.65	95.0 ± 2.01
E_K	(μEq/min)	D 34.1 ± 2.49	37.9 ± 3.00	36.7 ± 3.05	37.4 ± 3.10
		I 20.4 ± 4.10	19.7 ± 3.65	21.8 ± 3.62	22.3 ± 4.35
R_K	(%)	D 72.4 ± 1.43	71.3 ± 1.67	71.6 ± 2.01	71.2 ± 2.17
		I 74.1 ± 7.72	74.6 ± 7.44	74.4 ± 7.24	72.3 ± 7.88
K^+/Na^+	(%)	D 15.5 ± 0.83	15.4 ± 0.79	16.0 ± 0.62	15.8 ± 0.66
		I 22.6 ± 2.32	23.7 ± 2.19	23.7 ± 2.23	24.0 ± 2.47

Mean ± S.E. from 6 experiments. Abbreviation: Vol; Urine flow rate, GFR; Glomerular filtration rate calculated by creatinine clearance, RPF; Renal plasma flow calculated by p-aminohippuric acid clearance, C_{osm} and $C_{H2O;}$ Clearances of osmolar substance and free water, resp. E_{Na} and E_K; Amount of sodium and potassium excreted in urine, resp. R_{Na} and R_K; Reabsorption rates of sodium and potassium in renal tubules, resp. MAP; Mean arterial pressure as calculated from(diastolic pressure1/3 pulse pressure). Asterisk(*) indicates the significant increase, open circle(o) significant decrease as compared with corresponding control value ($P<0.05$). The agent was given at 0 min time. D; Denervated experimental kidney. I; Innervated control kidney.

신장 신경 제거의 영향을 검토하였다.

Table I은 한쪽 신장 신경을 제거한 후 BRL 34915을 10.0 μg/kg으로 정맥내에 투여하여 나타나는 신장의 기능 변화를 관찰한 실험 6예를 종합하여 통계 처리한 것이다. 뇨량의 경우 신장신경이 존재하는 정상 신장인 대조신(I)에서는 뇨량의 감소현상이 나타났으나 신장신경을 제거한 실험신(D)에서는 뇨량의 감소현상은 나타나지 않았다. 대조치(control) 1.03±0.10 ml/min에서 BRL 34915 투여 후 첫 번째 기에서 세 번째 기까지 각각 0.73±0.05, 0.77±0.05와 0.83±0.07 ml/min로써 유의적인 감소현상이 나타났다. 이때의 신장기능은 E_{Na}의 부분적 감소 외에는 별다른 변화가 없었다.

Table II는 한쪽 신장 신경을 제거한 후 BRL 34915를 30.0 mg/kg로 정맥내 증량 투여하여 나타나는 신장의 기능의 변화를 관찰한 실험 6예를 종합하여 통계 처리한 것이다. 실험신에서 BRL 34915 투여 후 오히려 첫 번째 기에서 유의적인 뇨량 증가 현상이 나타났다. 이때의 신장기능의 변화는 RPF, C_{osm}, E_{Na}, E_K의 증가가 나타났으며 R_{Na}의 유의적인 감소를 나타내었다. 대조신에서는 뇨량의 감소와 더불어 모든 신장기능 변화가 정상적인 개에서 정맥내에 투여한 실험에서 나타난 결과와 같은 양상을 나타내었다.

다음은 한쪽 신동맥내에 BRL 34915을 투여하였을 때 투여 신장에 국한한 이뇨작용에 대한 신장신경 제거의 영향을 검토하였다. Fig. 1은 한쪽 신동맥내 투여한 BRL 34915의 투여 신장에 국한한 이뇨작용에 대한 신장신경 제거의 영향을 검토한 실험 6예를 종합하여 그림으로 나타낸 것이다.

그림에서 black circle은 실험 신장(신장 신경을 제거한 신장=D)의, triangle은 대조신장(신장신경이 존재하는 정상 신장=I)의 기능 변화를 나타낸 것이다. Fig. 1에서 나타난 바를 검토하면 BRL 34915를 투여한 신장에서는 정상적인 신장의 신장 동맥내에 투여하

Table II – Effect of renal denervation on antidiuretic action of BRL34915 (30.0 μg/kg) given into vein in dog

Parameters		Control	Times (min.) after administration of BRL34915			
			0~10	10~20	20~30	30~40
Vol	(ml/min)	D 2.38 ± 0.26	3.42 ± 0.04*	2.40 ± 0.23	2.13 ± 0.22	2.02 ± 0.23
		I 1.03 ± 0.39	0.48 ± 0.03°	0.45 ± 0.03°	0.43 ± 0.06°	0.43 ± 0.06°
GFR	(ml/min)	D 24.7 ± 1.08	28.3 ± 1.74	26.5 ± 0.88	26.2 ± 0.59	26.3 ± 1.11
		I 18.9 ± 2.31	22.0 ± 1.20	24.6 ± 1.68	22.6 ± 0.31	21.3 ± 0.44
RPF	(ml/min)	D 38.2 ± 4.74	48.7 ± 4.92Z*	40.7 ± 3.27	43.4 ± 3.60	44.1 ± 2.87
		I 33.4 ± 2.46	34.4 ± 3.33	42.5 ± 5.02	39.3 ± 2.60	36.6 ± 2.51
C_{osm}	(ml/min)	D 2.63 ± 0.40	3.58 ± 0.25*	2.80 ± 0.27	2.53 ± 0.21	2.42 ± 0.20
		I 1.65 ± 0.52	0.89 ± 0.03°	0.94 ± 0.08°	0.88 ± 0.10°	0.88 ± 0.11
C_{H20}	(ml/min)	D -0.25 ± 0.33	-0.17 ± 0.26	-0.40 ± 0.18	-0.39 ± 0.21	-0.40 ± 0.20
		I -0.42 ± 0.25	-0.41 ± 0.03v	-0.49 ± 0.06	-0.45 ± 0.05	-0.45 ± 0.07
E_{Na}	(μEq/min)	D 222.9 ± 10.45	345.0 ± 7.58*	255.0 ± 16.94	230.3 ± 13.80	226.0 ± 13.38
		I 111.1 ± 8.62	68.5 ± 2.80°	67.5 ± 2.51°	66.4 ± 4.78°	66.7 ± 5.21°
R_{Na}	(%)	D 94.0 ± 0.30	91.8 ± 0.37°	93.7 ± 0.69	94.2 ± 0.64	94.3 ± 0.54
		I 95.1 ± 1.99	97.9 ± 0.26*	98.1 ± 0.21*	98.0 ± 0.27*	97.9 ± 0.31*
E_K	(μEq/min)	D 34.1 ± 2.49	48.7 ± 4.34*	41.1 ± 3.89	39.1 ± 2.04	38.7 ± 1.55
		I 20.4 ± 4.10	17.8 ± 3.29	18.8 ± 2.36	18.9 ± 3.13	18.9 ± 3.18
R_K	(%)	D 72.4 ± 1.43	65.7 ± 2.15	69.3 ± 2.17	70.2 ± 1.23	70.5 ± 0.84
		I 74.1 ± 7.72	83.2 ± 3.40*	83.7 ± 2.84*	83.1 ± 2.94*	82.2 ± 3.00*
K^+/Na^+	(%)	D 15.5 ± 0.83	14.0 ± 0.69	16.6 ± 0.77	17.8 ± 1.31	18.0 ± 1.53
		I 22.6 ± 4.64	25.2 ± 3.03*	27.6 ± 2.75*	28.2 ± 3.05*	28.0 ± 2.40*

Mean ± S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

였을 때의 실험에서와 같은 양상의 이뇨작용을 나타내었다. 이때의 신장기능의 변화는 주로 E_{Na}와 E_K의 증가, R_{Na}와 R_K의 감소가 나타났다. 그러나 대조 신장에서는 별다른 변화를 나타내지 않았다.

BRL 34915의 신장작용에 대한 K^+ channel 차단제인 glibenclamide의 영향 – BRL 34915는 동맥혈관을 확장시킴으로써 고혈압 치료제로 사용되는 약물인데 이 혈관 확장작용은 K^+ channel의 활성화에 기인하는 것으로 알려져 있다.[2,3] 따라서 BRL 34915의 신장작용이 K^+ channel과 관련성이 있는 것 인지의 여부와 관련성이 있다면 신장 또는 중추의 어느 부위의 K^+ channel과 관련이 있는지를 검토하기 위하여 본 실험을 시행하였다. 먼저 정맥내 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용에 대한 glibenclamide의 영향을 검토하였다.

Table III는 한쪽 신동맥내에 glibenclamide, 0.3 mg/kg을 투여한 후 BRL 34915를 10.0 μg/kg로 정맥내 투여한 후 나타난 신장 기능의 변화를 glibenclamide를 투여하지 않은 신장기능의 변화와 비교 검토한 실험 6예를 종합한 것이다. Table III에서 나타난 바와 같이 양쪽 신장에서 다같이 뇨량의 감소 현상이 나타났다. 다시 설명하면 한쪽 신동맥내에 투여한 glibenclamide는 정맥에 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용에 대한 하등의 영향을 미치지 않았다.

Table IV는 한쪽 신동맥내 glibenclamide, 0.3 mg/kg을 투여한 후 BRL 34915를 30.0 μg/kg로 정맥내 증량 투여한 실험 6예를 종합한 것이다. Table IV에서 나타난 바와 같이 양쪽 신장에서 항이뇨작용과 신장기능의 변화가 전혀 차이가 없이 나타났다.

다음은 한쪽 신동맥내에 투여한 BRL 34915의 투여 신장에서의 이뇨작용에 대한 glibenclamide의 영향을 검토하였다. Fig. 2는 glibenclamide를 정맥에 투여한 후 신장기능이 안정상태에 이르렀을 때 대조기 후에 BRL 34915를 한쪽 신동맥에 투여하여 나타나는 신장기능의 변화를 대조신의 변화와 비교 관찰한 실험 3예 중 대표적인 한 예이다.

Fig. 2에서 나타난 바와 같이 glibenclamide에 의하여 BRL 34915의 이뇨작용은 완전히 차단되었음을 확인 할 수 있었다.

고 찰

정맥내 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용은 신장신

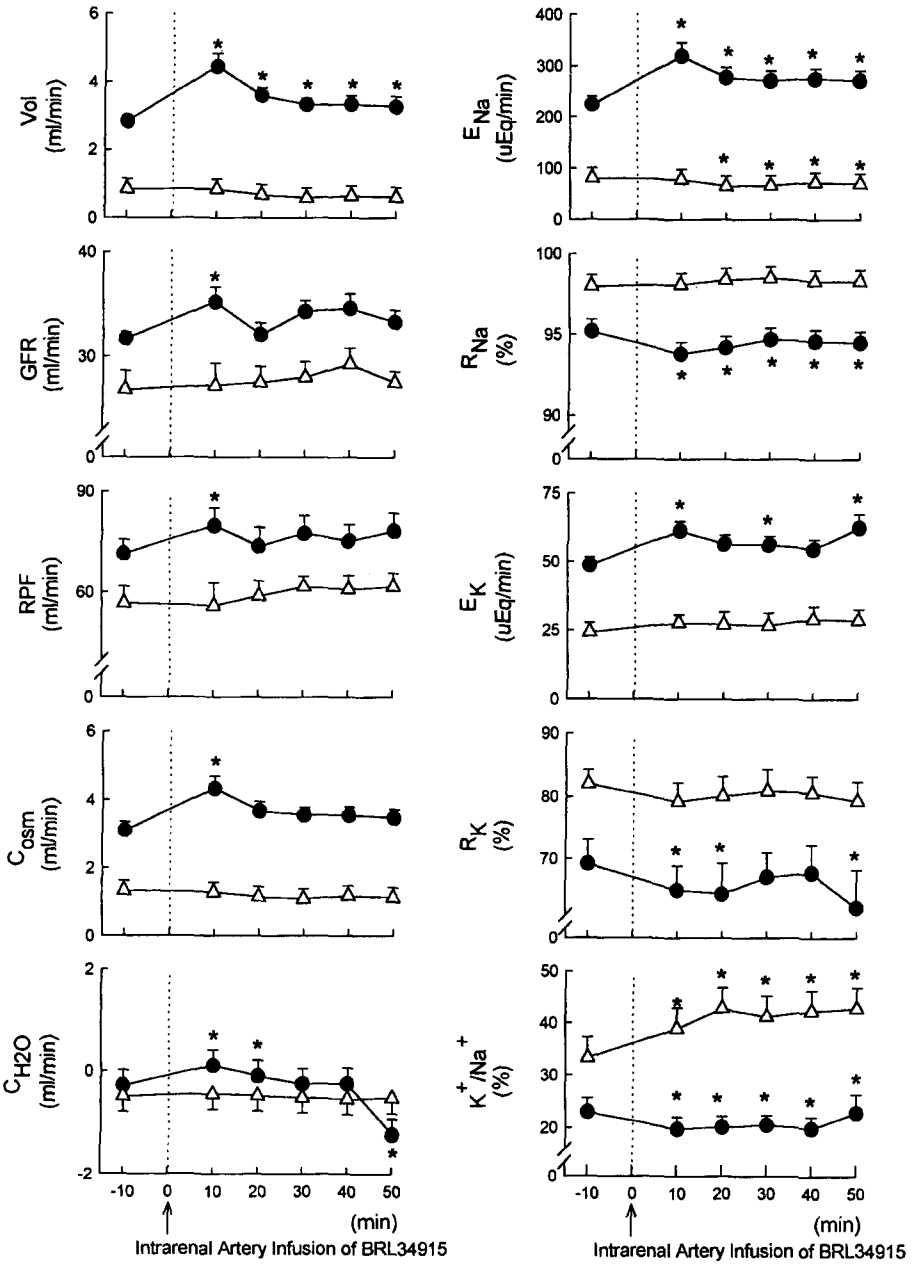

Fig. 1 – Effects of renal denervation on diuretic action of *BRL 34915 (1.0 μg/kg, bolus+0.2 μg/kg/min) given into a renal* artery in dog. Mean ± S.E. from 6 experiments. black circle (●) : Denervated experimental kidney. Triangle (△) : Innervated control kidney. Asterisk indicate the signiicant increase or decrease compared with the value observed before the BRL 34915 administration ($P<0.05$). Legends are the same as shown in Table I.

경 제거에 의하여 봉쇄되었으나 신장 동맥내에 투여한 K^+ channel 차단제인 glibenclamide에 의하여서는 영향을 받지 않았다. 한쪽 신동맥내 투여한 BRL 34915의 투여신장에서의 이뇨작용은 신장신경 제거에 의하여 영향을 받지 않았으나 정맥내 투여한 glibenclamide에 의하여 완전히 차단되었다. 이상의 결과로 보아 신장내의 BRL 34915의 항이뇨작용은 신장 신경이 매개하며 신장내에서의 이뇨작용은 신장내에 있는 K^+

Table III – Effect of glibenclamide (0.3 mg/kg) given into a renal artery on antidiuretic action of BRL34915 (10.0 μg/kg) given into vein in dog

Parameters		Control	Times (min) after administration of BRL 34915		
			0~10	10~20	20~30
Vol	(ml/min)	E 2.19 ± 0.15	1.85 ± 0.16	1.43 ± 0.03°	1.55 ± 0.07°
		C 2.28 ± 0.05	1.98 ± 0.03	1.43 ± 0.08°	1.38 ± 0.10°
GFR	(ml/min)	E 18.8 ± 0.52	17.8 ± 0.42	17.7 ± 0.25	18.5 ± 0.29
		C 32.6 ± 1.60	30.1 ± 0.63	30.0 ± 1.01	30.8 ± 1.25
RPF	(ml/min)	E 32.3 ± 1.62	29.4 ± 2.37	33.0 ± 3.04	30.5 ± 1.19
		C 61.7 ± 6.99	57.1 ± 1.95	64.6 ± 7.65	58.2 ± 3.40
C_{osm}	(ml/min)	E 2.43 ± 0.21	2.15 ± 0.20	2.17 ± 0.23	2.48 ± 0.32
		C 3.31 ± 0.04	2.94 ± 0.00	2.37 ± 0.07	2.40 ± 0.11
C_{H20}	(ml/min)	E -0.24 ± 0.06	-0.30 ± 0.04	-0.74 ± 0.19	-0.93 ± 0.25
		C -1.03 ± 0.05	-0.96 ± 0.04	-0.94 ± 0.01	-1.02 ± 0.00
E_{Na}	(μEq/min)	E 147.1 ± 9.09	137.0 ± 9.91	123.5 ± 2.50°	139.2 ± 2.39
		C 205.3 ± 7.65	194.8 ± 1.36	152.4 ± 6.37°	153.9 ± 8.72°
R_{Na}	(%)	E 95.8 ± 0.96	94.9 ± 0.25	95.4 ± 0.16	95.0 ± 0.00
		C 95.8 ± 0.15	95.7 ± 0.07	96.6 ± 0.25	96.6 ± 0.31
E_K	(μEq/min)	E 20.5 ± 1.11	18.5 ± 1.57	17.5 ± 0.25°	19.5 ± 0.40
		C 30.4 ± 0.73	26.5 ± 0.54	23.6 ± 0.89°	23.5 ± 0.96
R_K	(%)	E 78.3 ± 0.64	79.3 ± 1.25	80.2 ± 0.00	78.9 ± 0.11
		C 76.2 ± 1.77	82.3 ± 0.72	84.1 ± 1.14	84.5 ± 1.25
K^+/Na^+	(%)	E 14.0 ± 0.19	13.5 ± 0.16	14.2 ± 0.49	14.0 ± 0.04
		C 14.9 ± 0.31	13.6 ± 0.36	15.6 ± 0.07	15.3 ± 0.22

Mean ± S.E. from 6 experiments. E; Expeimental kidney administered the glibenclamide. C; Control kidney without the glibenclamide. Legends are the same as in Table I.

Table IV – Effect of glibenclamide (0.3 mg/kg) given into a renal artery on antidiuretic action of BRL34915 (30.0 μg/kg given into vein in dog

Parameters		Control	Times (min) after administration of BRL 34915			
			0~10	10~20	20~30	30~40
Vol	(ml/min)	E 2.19 ± 0.15	0.78 ± 0.17°	0.48 ± 0.04°	0.63 ± 0.08°	0.50 ± 0.00°
		C 2.28 ± 0.05	0.70 ± 0.20°	0.58 ± 0.15°	0.65 ± 0.13°	0.60 ± 0.07°
GFR	(ml/min)	E 18.8 ± 0.52	14.1 ± 1.50	15.6 ± 0.74	17.6 ± 0.69	13.7 ± 0.13
		C 32.6 ± 1.60	20.7 ± 2.73	28.5 ± 0.38	29.1 ± 0.49	27.1 ± 0.80
RPF	(ml/min)	E 32.3 ± 1.62	29.0 ± 1.05	25.3 ± 1.01	26.5 ± 0.22	20.7 ± 0.29
		C 61.7 ± 6.99	57.8 ± 2.91	56.5 ± 3.47	54.6 ± 2.57	49.5 ± 1.12
C_{osm}	(ml/min)	E 2.43 ± 0.21	1.14 ± 0.17°	0.91 ± 0.08°	1.02 ± 0.11°	0.81 ± 0.01°
		C 3.31 ± 0.04	1.22 ± 0.34°	1.22 ± 0.22°	1.34 ± 0.20°	1.23 ± 0.11°
C_{H20}	(ml/min)	E -0.24 ± 0.06	-0.36 ± 0.00	-0.43 ± 0.02	-0.40 ± 0.03	-0.31 ± 0.01
		C -1.03 ± 0.05	-0.52 ± 0.14*	-0.65 ± 0.08*	-0.69 ± 0.07*	-0.63 ± 0.04*
E_{Na}	(μEq/min)	E 147.1 ± 9.09	71.6 ± 4.29°	51.6 ± 2.56°	68.4 ± 1.86°	51.0 ± 1.43°
		C 205.3 ± 7.65	74.9 ± 5.57°	69.8 ± 4.17°	78.3 ± 3.68°	69.8 ± 2.34°
R_{Na}	(%)	E 95.8 ± 0.96	96.9 ± 0.47*	97.9 ± 0.34*	97.4 ± 0.18*	97.5 ± 0.09*
		C 95.8 ± 0.15	97.9 ± 0.45*	98.4 ± 0.42*	99.4 ± 0.16*	98.3 ± 0.29*
E_K	(μEq/min)	E 20.5 ± 1.11	11.6 ± 2.57°	11.3 ± 1.48°	16.0 ± 0.29°	12.0 ± 0.36°
		C 30.4 ± 0.73	12.3 ± 3.49°	16.1 ± 0.76°	19.1 ± 0.13°	16.6 ± 0.27°
R_K	(%)	E 78.3 ± 0.64	84.7 ± 2.03*	85.8 ± 1.23*	81.8 ± 0.38*	82.5 ± 0.36*
		C 76.2 ± 1.77	89.4 ± 1.97*	88.7 ± 0.69*	86.9 ± 0.13*	87.8 ± 0.16*
K^+/Na^+	(%)	E 14.0 ± 0.19	16.6 ± 0.40	23.7 ± 1.83*	24.6 ± 2.24*	23.7 ± 1.36*
		C 14.9 ± 0.31	17.1 ± 0.42	30.4 ± 6.24*	29.8 ± 5.77*	26.5 ± 3.96*

Mean ± S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I and III.

channel을 통하는 것으로 사료된다. BRL 34915의 중추적인 항이뇨작용이 신장신경을 매개로 한다는 것은 신장신경을 제거한 신장에서 정맥내 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용이 나타나지 않았기 때문이다(Table I, II). 중추적 항이뇨작용은 aldosterone[15,16]이나 norepinephrine[17] 및 antidiuretic hormone(ADH)[15,18,19] 등의 분비 증가, oxytocin[20]이나 artrial natriuretic factor(ANF)[21,22]등의 분비 억제 등과 같은 내인성 물질

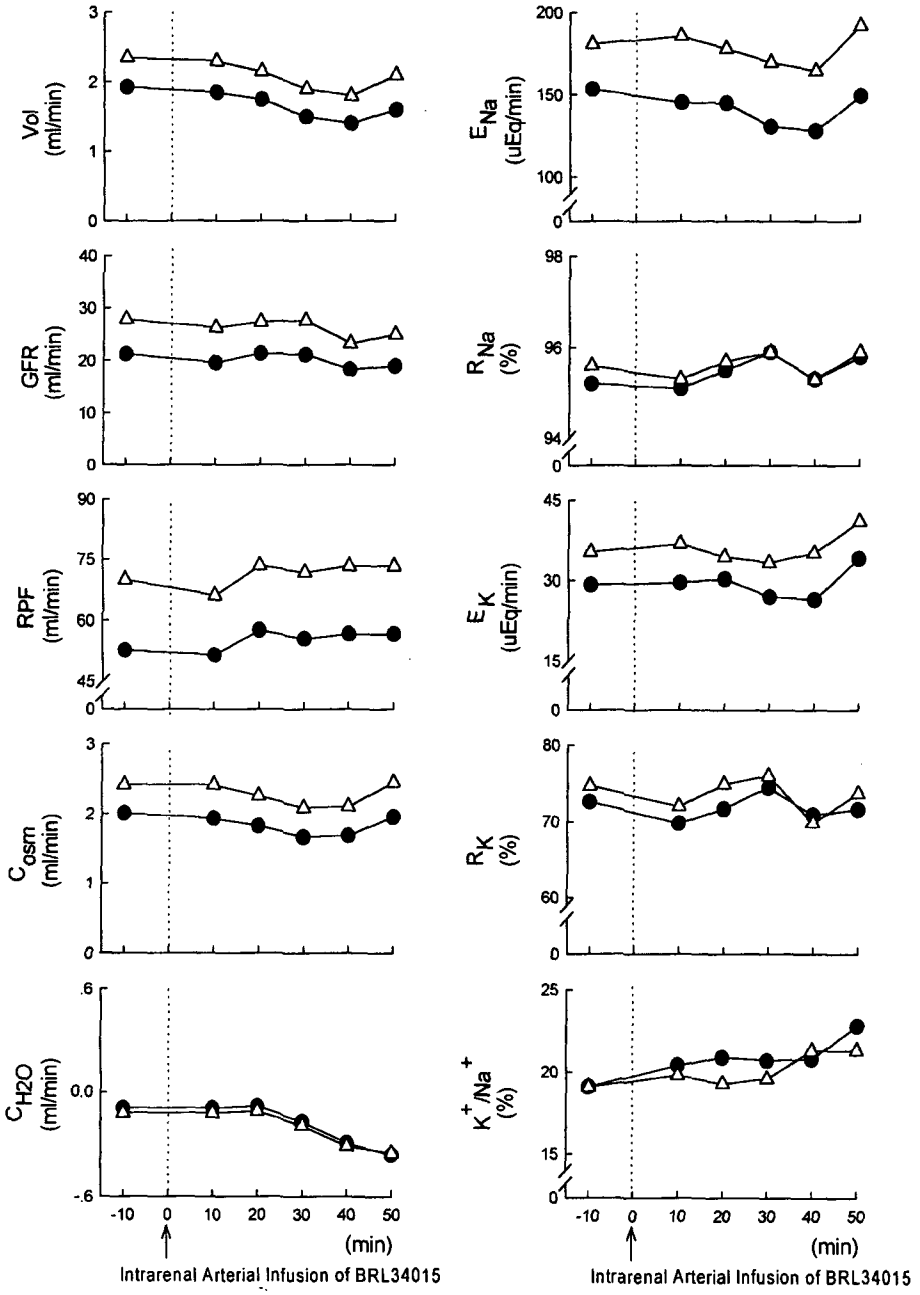

Fig. 2 – A representative experiment showing the effect of glibenclarnide (3.0 mg/kg) give into vein on diuretic action of BRL 34915 (1.0 μg/kg, bolus+0.2 mg/kg/min) given into a renal artery in dog. Black circle (●); Experimental kidnery given the BRL 34915. Triangle (△); Control kidney without the BRL 34915. Legends are the same as shown in Table I.

이 관여하는 경우와 신장신경이 관여하는 경우를 고려할 수 있다. 개의 신장신경은 alpha 교감신경을 흥분시키거나 낮은 주파수로 전기 자극하면 신세뇨관에서 peritubular capillary staring force를 통해서가 아니라 직접작용에 의하여 Na^+ 재흡수를 촉진시킨다.[23,24] 이와 반대로 개[25]나 흰쥐[11,26]에서 신장신경을 제거하거나 억제하면 GFR이나 RPF의 변화 없이 세뇨관에서 R_{Na}의 감소가 나타나고 이에 따라 E_{Na}의 증가와 더불어 이뇨작용이 나타난다.[25] 따라서 신장신경의 활성화는 E_{Na}의 감소와 더불어 항이뇨작용을, 반대로 신장신경의 억제는 E_{Na}의 증가와 더불어 이뇨작용을 나타내게 된다.[11,25,26] 신장에는 부교감신경이 분포되어 있긴 하지만 많은 부분이 교감신경임이 알려져 있다.[16,24] 이런 점을 고려하였을 때 신장신경의 활성화가 E_{Na}의 감소와 더불어 항이뇨의 원인일 가능성을 확실하게 하였다. 또한 BRL 34915가 K^+ channel의 활성제[27]이기 때문에 항이뇨작용과 신장내에 존재하는 K^+ channel[28,29]과의 관계를 검토하기 위하여 K^+ channel 차단제인 glibenclamide[10,30,31]를 한쪽 신동맥내에 투여한 후 정맥내에 BRL 34915를 투여하였다. Glibenclamide를 투여하지 않은 신장과 비교 검토한 결과 양쪽 신장에서 똑같이 뇨량의 감소 현상이 나타났다 (Table III, IV). 이 실험결과로 보아 BRL 34915의 항이뇨작용은 신장내의 K^+ channel과의 관련성은 희박하다고 생각된다. 나아가 한쪽 신동맥내에 BRL 34915를 투여하였을 때 나타나는 이뇨작용은 신장신경과는 무관하며 신장내의 K^+ channel의 활성화가 그 원인임을 확인할 수 있었다. 그 이유는 먼저 신장신경을 제거한 후 이 신경제거 신장의 동맥내에 BRL 34915를 투여하였을 때, 정상 신장의 동맥내에 투여하였을 때[8]와 같이 투여 신장에 한한 뇨량의 증가현상이 나타났다(Fig. 1). 이점은 BRL 34915의 이뇨작용은 신장신경과 무관함을 뜻한다. 그러나 정맥내 K^+ channel 차단제인 glibenclamide를 투여하여 신장내의 K^+ channel를 차단한 다음, 신동맥내에 BRL 34915를 투여하는 경우의 실험에서는 뇨량의 증가현상이 전혀 나타나지 않았다. 이점은 BRL 34915의 이뇨작용은 K^+ channel의 활성화가 연유되었음을 의미한다.

결 론

정맥내 투여한 BRL 34915의 항이뇨작용은 신장신경 제거에 의하여 봉쇄되었으나 신동맥내에 투여한 K^+ channel 차단제인 glibenclamide에 의하여서는 영향을 받지 않았다. 한쪽 신동맥내 투여한 BRL 34915의 투여신장에서의 이뇨작용은 신장신경 제거에 의하여 영향을 받지 않았으나 정맥내 투여한 glibenclamide에 의하여 완전히 차단되었다. 이상의 결과로 보아 BRL 34915의 항이뇨작용은 신장신경이 매개하며 신장내에서의 이뇨작용은 신장내의 K^+ channel을 통하는 것으로 사료된다.

문 헌

1) Cook, N. S., Quast, U., Hof, R. P., Baumlin, Y. and Pally, C. : Similarities in the mechanism of action of two new vasodilator drugs : Pinancidil and BRL 34915. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **11**, 90 (1988).
2) Hamilton, T. C., Weir, S. W. and Weston, A. H. : Comparison of the effects of BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br. J. Pharmacol.* **88**, 103 (1986).
3) Neugreen, D. T., Bray, K. M., McHarg, A. D., Weston, A. H., Dutdy, S., Brown, P. S. Kay, P. B., Edwards, G., Longmore, J. and Southereon, S. : The action of diazoxide and minoxidil sulfate on rat blood vessels; a comparison with cromakalim. *Br. J. Pharmacol.* **100**, 605 (1990).
4) Why, H. J., Richardson, P. J. : A Potassium channel opner as momotherapy in chronic stable angina pectories; comparion with placebo. *Eur. Heart J.* **14**. Suppl. B; 25 (1993).
5) Why, H. J., Bauters, C., McFadden, E. P., Quandalle, P. and Bertrand, M. E. : Potassium channel activators in vasospastic angina. *Eur. Heart J.* **14**. Suppl. B; 22 (1993).
6) Hardman, I. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B. and Ruddon, R. W. : Goodman & Gilman's *The pharmacological basis of therapeutics.* 9th Ed. McGraw Hill, New York, p.776 (1996).
7) Kebabian, J. W. and Neumeyer, J. L. : The RBI Hnad Book of Receptor Classification. *Research Biochemicals Int.* Natick, MA, USA. p.54 (1994).
8) 고석태, 최홍석 : K^+ channel 개방제인 BRL 34915의 신장작용. 약학회지, **44**, 205 (2000).
9) Taylor, S. G., Arch, J. R. S., Bond, J., Buckle, D. R.,

Shaw, D. J., Taylor, J. F. and Ward, J. S. : The inhibitory effects of cromakalim and its active enantiomer BRL 38227 against various agonists in guniea pig and human airway : Comparison with pinacidil and verapamil. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **261**, 429 (1992).

10) Quast, U. and Cook, N. S. : In vitro and in vivo comparison of two K^+-channel openers, diazoxide and cromakalim and their inhibitor by glybenclamide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **250**, 261 (1989).

11) Elsa, B. R., Colindres, R. E., Enrique, P. M., Muller, R. A. and Gottschalk, C. W. : Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. *J. Clin. Invest.* **56**, 208 (1975).

12) Phillips, B. A. : Quantitative Clinical Chemistry by Peters and Van Slyke, Baltimore, Williams, Wilkins. Vol. 2. Methods. (1944).

13) Smith, H. W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B. and Graber, B. : The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J. Clin. Invest.* **21**, 388(1945).

14) Snedecor, G. W., and Cochran, W. G. : Statistical Methods, 7th.eds. Iowa State Univ. (1980).

15) Hardman, I. G., Limbird, L. E., Molinoff, P. B. and Ruddon, R. W. : Goodman & Gilman's *The pharmacological basis of therapeutics.* 9th Ed. McGraw Hill, New York, p.724 (1996).

16) Pitts, R. F. : Physiology of the kidney and body fluids. *Year Book Medical Pubulishers, Inc., Chicago.* (1964).

17) Gill, J. R., J_R. and Caster, A. G. T. Effect of renal alpha adrenergic stimulation on proximal tubular sodium reabsorption. *Am. J. Physiol.* **223**, 1201 (1972).

18) Burnatowska-Hledin, M. and Spielman, W. : Vasopressin receptor on the principal cells of the rabbit cortical collecting tubule. *J. Clin. Invest.* **83**, 84 (1989).

19) Edwards, R., Trizna, W. and Kinter, L. : Renal microvascular effects of vasopressin and vasopressin antagonists. *Am. Physiol.* **256**, F274 (1989).

20) 고석태 : 닭의 신장기능에 미치는 oxytocin의 영향. 약제학회지. **1**, 34 (1971).

21) Borenstein, H. B., Cupples, W. A., Sonnenberg, H. and Veress, A. T. : The effects of natriuretic atrial extract on renal hemodynamics and urinary excretion in anethetized rats. *J. Physiol. (Lond.)* **334**, 133 (1983).

22) De Bold, A. J., Borenstein, H. B., Veress, A. T. and Sonnenberg, H. : A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocadial extract in rats. *Life Sci.* **28**, 89 (1981).

23) Bello-Reuss, E., Pastoriza-Munoz, E. and colinders, R. E. : Acute unilateral renal denervation in rats with extracellular volume expansion. *Am. J. Physiol.* **232(1)**, F26 (1977).

24) Slick, G. L., Agilera, A. J., Zambrack, E. J., Di Bona, G. F. and Kaloyanides, G. F. Renal neuroadrenergic transmision. *Am. J. Physiol*, **229**, 60 (1975).

25) Nomura, G., Takabatake, T., Arai, S., Uno, D., Shimao, M. and Hatfori, N. : Effect of acute unilateral renal denervation on tubular sodium reabsorption in the dog. *Am. J. Physiol.* **232**, F16 (1977).

26) Berne, R. M. : Hemodynamics and sodium excretion of denervated kidney in anethetized and unanethethized dog. *Am. J. Physiol.* **171**, 148 (1952).

27) Hayashi, K., Matsumura, Y., Yoshida, Y., Ohyama, T., Hisaki, K., Suzuki, Y. and Morimoto, S. : Effects of BRL 34915(cromakalim) on renal hemodynamics and function in anesthetized dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **252**, 1240 (1989).

28) Clark, M. A., Hunphrey, S. J., Smith, M. P. and Ludens, J. H. : Unique natriuretic properties of the ATP-sensitive K^+ channel blocker glyburide in concious rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **265**, 933 (1993).

29) Wang, W., Sackin, H. and Geibisch, G. : Renal potassium channels and their regulation, *Annu. Rev. Physiol.* **54**, 81 (1992).

30) Skilman, T. G. and Feldman, J. M. : The pharmacology of sulfonylurea. *Am. J. Med.* **70**, 361 (1981).

31) Zini, S., Ben-Ari, Y. and Ashcroft, M. L. : Characterization of sulfonylurea receptors and the action of potassium channel openers on cholinergic neurotransmission in guinea pig isolated small intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **259**, 566 (1991).