

## Clonidine의 血壓降下 및 摘出精管 平滑筋收縮에 미치는 6-Hydroxydopamine의 影響

尹 再 順 · 張 文 禧

梨花女子大學校 藥學大學

(Received February 23, 1987)

### The Effect of 6-Hydroxydopamine on the Hypotensive Action and Contractile Force of Isolated Vas Deferens Smooth Muscle by Clonidine

Jae Soon Yun and Moon Hee Chang

College of Pharmacy, Ewha Woman's University, Seoul 120, Korea

**Abstract**—The effect of neurotoxic compound 6-hydroxydopamine (6-OHDA) on the change in blood pressure and contractile response of Vas deference by centrally acting agents has been studied in normal and DOCA-salt induced hypertensive rats. The treatment of neonatal rats with 6-OHDA ( $2 \times 100\text{mg}$ ,  $250\text{mg Kg}^{-1}\text{s.c}$ ) significantly inhibited the antihypertensive and relaxant effects of Vas deference of clonidine ( $100\mu\text{g Kg}^{-1}\text{iv}$ ). The simultaneous administration of desipramine with clonidine into neonatal rats decreased the antihypertensive response of clonidine although treated did not affect the relaxative response of Vas deference. Furthermore, the antihypertensive and relaxant responses of clonidine were reduced by the neonatal rats with 6-OHDA regardless of the administration of desipramine. When neonatal rats were administered with 6-OHDA, the development of DOCA-salt hypertension was prevented. These results suggest that 6-OHDA, clonidine and desipramine had a significant effect on the development and the inhibition of central hypertension mediating the central adrenergic neuron due to their affinity to the central nervous system.

6-Hydroxydopamine(6-OHDA)은 최초로 마우스 심장<sup>1)</sup>과 흰쥐의 심장 및 비장등<sup>2)</sup> 말초기관의 adrenaline 效能神經末端을破壞하여 지속적으로 norepinephrine(NE)을 고갈시켜 交感神經의 傳導機能을 상실한다고 보고 하였다. 똑같은 결과가 형광조직학적연구<sup>3,4)</sup>와 전자현미경실험<sup>5)</sup>으로도 再確認되었다. 또 腦室內에 6-OHDA를注射하면 中樞 dopamine 效能神經과 noradrenaline 效能神經의退化가 腦에서도 일어나고 있음이證明되었다.<sup>6,7)</sup>

6-OHDA를 皮下注射하면 noradrenaline效能神經이破壞되어 交感神經支配下の末梢器管이나<sup>8)</sup> 腦의 특수영역에서<sup>9,10)</sup> NE의 고갈이 일어나고 交感神經의 선택적인破壞가 지속되어 用量依存性으로 交感神經破壞가 認定되었으므로 化學的

交感神經切除手段으로 利用되었다.<sup>11,12)</sup>

中樞性交感神經은 高血壓 發生機轉에 重要な 役割을 함으로<sup>13)</sup> 6-OHDA으로 交感神經 除去한 흰쥐에게 中樞性抗高血壓藥 clonidine을 투여하였을 때와 삼환계 항우울약 desipramine을 전치치하였을 때의 血壓降下效果와 desoxycorticosterone-salt 誘發高血壓症 發現에 미치는 交感神經의 役割等を 比較檢討하고 또 哺乳動物의 輸精管에는  $\alpha_2$ -adrenoceptor가 광범위하게 밀집하여 유효한  $\alpha_2$ -adrenoceptor 活性藥物의 screening에 사용한다는 報告에 따라<sup>14)</sup> 輸精管을 利用하여 血壓變化에 큰 要因이 되는 平滑筋의 收縮作用을 測定하여 이에 미치는 交感神經등의 役割을 6-OHDA을 利用하여 檢討하고자 本實驗을 하였다.

### 實驗材料 및 方法

**役與藥物 및 試藥**—6-Hydroxydopamine hydrobromide와 desipramine hydrochloride은 Sigma Chem. Co.에서 clonidine hydrochloride와 deoxycorticosterone acetate은 Tokyo Kasei, Chem. Co.에서 norepinephrine bitartrate는 Nako pure Chem. Ine. Ltd에서, prazosin hydrochloride는 Pfizer 제품을 사용했다.

Norepinephrine bitartrate는 catecholamine diluent(조성 NaCl 154mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.2mM, ascorbic acid 0.23mM)에 용해하였고 prazosin은 glycerol에 현탁시켜 20分間 暗所에 방치후 0.5% dextrose 용액을 넣어 원액을 만들고 用時 희석하여 사용하였다.

**영양액**—CKS-Ringer 용액으로 그 조성은 NaCl 133mM,  $\text{NaHCO}_3$  15mM, glucose 5.56mM,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  1mM,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  2mM, KCl 5mM이며 사용하기 직전에 증류수에 용해하여 95%  $\text{O}_2$ 와 5%  $\text{CO}_2$  혼합 gas를 충분히 포화시킨 후에 사용하였다.

**실험기기**—筋收縮力 測定에는 Physiograph Recording System Model RP-5(Nihon Kodon)과 Force Displacement Transducer Model SB-1T를, 血壓測定에는 Physiograph Recording System Model MK IV (Narco Biosystem) 및 Universal Coupler와 Pressure Transducer P 1000B를 사용하였다.

**실험동물**—Sprague-Dawley계 흰쥐를 2주이상 본 실험실에서 사육하여 250~280g가 된 흰쥐를 교배시키고 여기에서 출산한 흰쥐 숫컷만을 골라 실험에 사용하였다.

**6-OHDA處置法**—본 실험실에서 출산시킨 숫 흰쥐만을 1,2일에 6-OHDA 100mg/kg씩을, 8일에 250mg/kg, 총 450m/kg을 3회에 걸쳐 피하 주사하였다. 6-OHDA은 ascorbic acid 0.1% 함유 0.9% 생리식염수에 용해하여 냉장고 보관 하에서 용해 즉시 repeating dispenser (PB 600-1)로 이용하여 均一用量을 각 동물에게 연속 투여하였다. 對照群에 대해서는 6-OHDA만을 제

외시킨 ascorbic acid 0.1% 함유한 생리식염수 용액을 같은 조건으로 투여하였다. 수유기간이 지난후 어미를 분리하고 고품사료(삼양유지) 및 물을 자유로이 섭취토록 14~17주를 사육하여 실험에 사용하였다.

**DOCA · salt 處置法**—본 실험실에서 출산시킨 흰쥐를 정상적인 방법으로 6주간 사육한 후 식수를 0.9% 생리식염액으로 대치시키고 deoxycorticosterone acetate (DOCA) 250mg/kg을 1주에 2회 7주간 피하주사하고 平均動脈壓이 150 mmHg 이상되는 高血壓 쥐를 골라 실험에 사용하였다.

**Desipramine 전처치법**—실험을 시작하기전에 dopamine은 주사용 생리식염수에 용해하여 10mg/kg을 1日 1回 14日間 복강내 주사하고 24시간 후에 실험에 사용하였다.

**血壓測定法**—Chloral hydrate 400mg/kg을 증류수에 용해하고 복강내 주사하여 마취시킨 흰쥐를 固定台위에 고정시킨 후 기도에 cannula를 삽입하여 호흡을 원활하게 하였다. 왼쪽 頸動脈에 심장쪽으로 heparin희석액을 채운 polyethylene cannula(23Ga)를 삽입하여 Pressure Transducer 및 Universal Coupler에 연결시켜 혈압을 측정하였다. 오른쪽 경동맥에는 뇌쪽으로 polyethylene cannula(23Ga)를 삽입하여 腦幹쪽으로 약물을 서서히 주입(0.1ml/min)하였다. 약물 투여전에 血壓이 안정을 유지할 때까지 약 30분간 정상상태의 血壓을 측정하였다. 혈압은 平均動脈壓으로 표시하였으며 약물에 의한 평균 동맥압의 변화는 각 동물의 최초 動脈壓과의 차로 표시하였다.

**輸精管 平滑筋 收縮力 測定法**—흰쥐의 후두부를 강타하여 실신시킨 후 수정관을 적출하여 미리 95%  $\text{O}_2$ 와 5%  $\text{CO}_2$  혼합가스로 충분히 포화시켜 놓은 petri dish내의 CKS-Ringer 용액에서 적출 수정관 주위의 혈관과 결체조직을 제거하고 약 20mm 정도의 절편을 만들어 미리  $\text{O}_2$ 와  $\text{CO}_2$  혼합 gas를 충분히 공급한 37°C의 CKS-Ringer용액 20ml가 담긴 Magnus관에 담구어 절편의 한끝은 force displacement transducer에 연결하고, 다른 한끝은 Magnus관 고

정봉에 고정시켜 수정관의 수축력을 oscillograph에 기록하였다. 이때 resting tension은 1g을 주었다. 이 절편을 매 15분마다 영양액을 갖아주면서 약 1시간 정도 평형시킨 후 실험을 행하였다.

약물반응의 평가는 20ml의 CKS-Ringer용액 중에 norepinephrine(NE)농도  $10^{-9}$ M에서 점차 증가하여 수정관평활근의 수축이 그 이상 일어나지 않는 최대반응시의 수축을 100으로 하고 이에 대한 각 농도에서 일어난 반응의 백분율을 구하여 누적 용량반응곡선을 작성하였으며, 약물은 같은 Magnus 관내의 절편에 30분간 작용시킨 후 다시 NE에 의한 누적 용량 반응곡선을 동일한 방법으로 작성하여 그 수축도의 변화를 관찰하였다.

각 용량 반응곡선은 50% 반응하는 NE의 농도를  $PD_2$ 값으로 계산하여 약물의 강도를 나타내었다.

실험결과는 평균±표준오차로 표시하였으며 각 군간의 차이의 유의성은 paired, unpaired t-test로 검정하였다.

### 實驗結果 및 考察

#### 血壓에 미치는 영향

1) Clonidine 작용에 미치는 6-OHDA의 영향  
—Clonidine  $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 우측 경동맥내 투여하고 다른 한쪽의 경동맥에 Cannula를 삽입하여 직접법으로 혈압을 측정하였을 때  $33\sim 40\text{mmHg}$

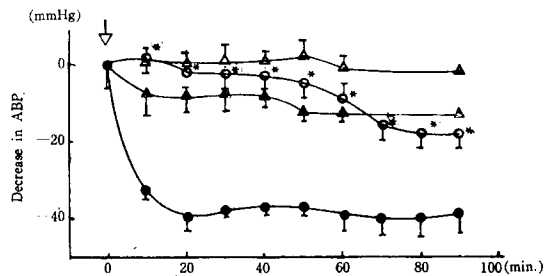


Fig. 1—Effect of 6-hydroxydopamine neonatal pretreatment on the change of average blood pressure to clonidine alone and that to clonidine after desipramine administration in the anesthetized rats.

Each point represent as means±S.E. of 8 rats. Clonidine  $100\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$  was infused in vehicle treated rats (●-●, 0.9% NaCl soln. Containing 0.1% ascorbic acid), in 6-OHDA neonatal treated rats (○-○,  $100\text{mg}/\text{kg}^{-1}$  was given at 1st and 2nd day,  $250\text{mg}/\text{kg}^{-1}$  was given at 8th day from birth), in desipramine  $600\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$  infused rats (▲-▲), and in desipramine and 6-OHDA treated rats (△-△).

\* Significantly different from corresponding 6-OHDA untreated control values at  $p < 0.01$ .

의 혈압강하작용이 90분이상 지속하였으며 이것은 이미 많은 보고에서 밝혀지고 있다.<sup>15,16)</sup>

한편 신생쥐의 생후 1, 2 및 8일에 6-OHDA 100, 100,  $250\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 피하주사하고 14~17주 사육한 후 같은 방법으로 clonidine  $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 주입하고 혈압을 측정하였을때의 최대혈압변화는 clonidine만을 투여하였을때에 비하여 60%의

Table I—Effect of neonatal 6-OHDA pretreatment on the change in average arterial blood pressure to clonidine in normal and DOCA-salt treated rats.

Pretreatment agent		Average arterial blood pressure		
		Initial(mmHg)	Maximum decrease (mmHg)	Rate of inhibition(%)*
Vehicle	Clonidine	$122\pm 4.6$	40	—
6-OHDA	Clonidine	$112\pm 4.5$	16	60.0
DOCA-salt	Clonidine	$159\pm 3.8$	65	—
6-OHDA & DOCA-salt	Clonidine	$140\pm 4.3$	5	92.3

All values are given as means±S.E. of 8 rats.

\* has been expressed as percentage of inhibition of 6-OHDA pretreatment over hypotensive response to clonidine.

억제율을 나타냈다.

Dollery 등<sup>17)</sup>은 6-OHDA은 clonidine의 혈압강하작용을 억제한다고 하였으나 Finch 등<sup>18)</sup>은 영향을 미치지 않는다고 하였다. 본 실험에서는 6-OHDA 전처치 흰쥐에게 clonidine 투여 50분후부터 약간 강하하여 최대 16mmHg의 혈압강하가 일어났을뿐으로 clonidine만 투여시의 현저한 혈압강하작용에 비하여 매우 유의성있는 차이가 있었으며 이것은 Dollery 등의 보고를 재확인하는 결과이다. 이는 6-OHDA으로 중추성 noradrenaline 효능신경이 파괴되어 clonidine에 의한 항고혈압용이 나타나지 않았다고 생각된다. 또한 6-OHDA은 성숙한 정상흰쥐에 있어서는 말초투여로 혈액뇌관문을 통과하지 못하여 중추의 교감신경작용에 영향을 미치지 못하나<sup>19)</sup> 신생쥐에 투여시 성숙한 후도 clonidine의 중추성 항고혈압작용이 유의성있게 저지되었다는것은 6-OHDA이 신생 쥐에서는 아직 미형성된 혈액뇌관문을 통과하여 腦內中樞交感神經을 파괴하고 이 파괴된 신경은 회복되지 못하고 동물이 완전히 성숙된 후까지도 지속되었음을 증명해 준 결과라 생각된다.

頸動脈을 통하여 desipramine 600 $\mu$ g/kg을注入한 30分後 clonidine을注入하였을때 血壓變比는 Table I 과 같다.

Clonidine의 血壓降下效果는 삼환계 항우울약 前處置로 억제된다는 Finch<sup>18)</sup>와 Robin<sup>20,21)</sup> 등의 보고와 같이 本實驗에서도 desipramine 前處置는 clonidine의 抗高血壓作用을 매우 有意의으로 억제하였다. 그리고 6-OHDA을 출산직후 투

여한 흰쥐에서도 desipramine 前處置는 clonidine의 血壓降下作用을 크게 억제 하여 전혀 血壓이 내려가지 않았다. 6-OHDA은 desipramine의 前處置에 상관없이 clonidine의 血壓降下作用을 억제하였다. 이는 中樞性作用藥物인 desipramine이 나이 clonidine이 中樞性交感神經 破壞된 동물에서는 本來의 藥理效果를 나타내지 못하는 것으로 사료된다.

2) DOCA-salt 高血壓쥐에서 clonidine作用에 미치는 6-OHDA의 영향—DOCA와 生理食鹽水投與로 誘發시킨 DOCA-salt 高血壓쥐에 clonidine 100 $\mu$ g/kg을 頸動脈을 통하여 注入하고 직접법으로 血壓을 측정하였을 때 정상쥐에서 보다 큰 血壓降下作用을 나타내어 最大血壓降下는 65mmHg에 이르렀다. 그러나 出生直後 미리 6-OHDA을 3回 前處置한 쥐에게 똑같은 方法으로 DOCA-salt 처치후 clonidine을 注入하고 血壓을 측정하였을때는 clonidine의 抗高血壓作用이 억제되었다. 또 出生直後 6-OHDA 前處置한 흰쥐에서는 DOCA-salt 投與로 高血壓發症反應이 약화되었으며 정상쥐에 DOCA-salt 投與時보다 30% 낮은 血壓을 보였다. 이는 高血壓 誘發이 신생시 6-OHDA 투여로 억제된다는 Clark<sup>22)</sup>, Kubo 등<sup>23)</sup>과 Finch 등<sup>24)</sup>의 보고와도 一致한 結果였다.

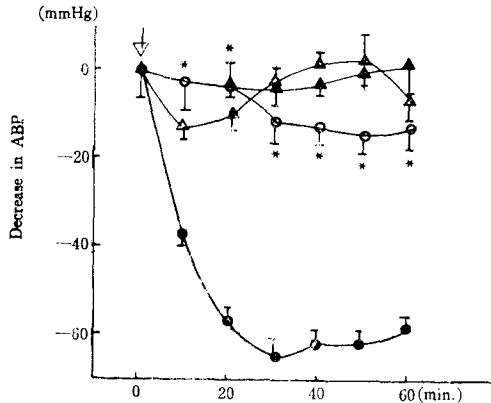
6-OHDA처치로 交感神經破壞되어 DOCA-salt의 高血壓發症이나 clonidine의 抗高血壓作用이 나타나지 못한것은 高血壓發症에 交感神經이 重要的 역할을 하여 또 clonidine은 交感神經의  $\alpha$ -adrenoceptor를 개제하여 血壓降下作用을 나타낸

**Table II**—Effect of neonatal 6-hydroxydopamine pretreatment on the change in average arterial blood pressure to clonidine after desipramine infusion in normal and DOCA-salt treated rats.

Pretreatment agent		Average arterial blood pressure		
		Initial (mmHg)	Maximum decrease (mmHg)	Rate of Inhibition (%) <sup>*</sup>
Vehicle	Des-Clo	135 $\pm$ 3.7	12	—
6-OHDA	Des-Clo	110 $\pm$ 4.1	2	83.3
DOCA-salt	Des-Clo	156 $\pm$ 6.8	15	—
6-OHDA & DOCA-salt	Des-Clo	141 $\pm$ 2.5	14	6.6

All values are given as mean $\pm$ S.E. of 8 rats.

\* has been expressed as percentage of inhibition of 6-OHDA pretreatment over hypotensive response to clonidine and desipramine.



**Fig. 2**—Effect of 9-hydroxydopamine neonatal pretreatment on the change of average blood pressure to clonidine alone and that to clonidine after desipramine administration in the hypertensive rats induced with DOCA-salt.

Each point represents as means  $\pm$  S.E. of 8 rats. Clonidine  $100\mu\text{gKg}^{-1}$  was infused in vehicle treated rats (●-●), in 6-OHDA neonatal treated rats (○-○), in desipramine treated rats (▲-▲), and in desipramine and 6-OHDA treated rats (△-△).

All rats were pretreated with DOCA  $25\text{mgKg}^{-1}$  (S.C., twice a week) and 0.9% NaCl soln. for drinking water during 7 weeks after 6 weeks from birth.

\* Significantly different from corresponding 6-OHDA untreated control values at  $p < 0.01$ .

다는 것을 간접적으로 증명해준 결과라고 생각된다.

DOCA-salt 高血壓쥐에 clonidine  $100\mu\text{g/kg}$ 의 투여로 나타난  $37\sim 65\text{mmHg}$ 의 血壓降下效果는 desipramine 前處置로  $3\sim 15\text{mmHg}$ 의 血壓降下를 나타냈을 뿐으로 매우 有意의으로 억제되었던 이는 Finch<sup>24)</sup> 등의 報告와 一致하였다. 6-OHDA 처치로 交感神經破壞된 흰쥐에게 DOCA-salt 처치하였을때는 clonidine에 의해서 血壓降下作用이 平均  $2\text{mmHg}$ 였고 여기에 desipramine을 전처치하면 clonidine에 의한 血壓降下作用은 平均  $4\text{mmHg}$ 였다. 이러한 결과에서 6-OHDA 처치한 DOCA-salt 高血壓쥐에서는 desipramine 投與와는 關係없이 clonidine에 의한 血壓變化는 매우 약하게 일어나고 있음을 알 수 있다.

신생시에 6-OHDA 투여로 DOCA-salt 高血壓

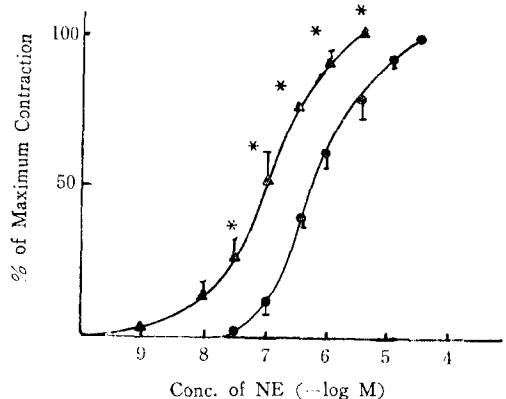
誘發이 억제된 事實以外에도 自然發生高血壓 쥐<sup>25)</sup>, 先天性高血壓 쥐<sup>22)</sup> 및 腎藏依存性高血壓 쥐 등도 6-OHDA 투여로 高血壓生成이 억제된다는 보고로 미루어 中樞의 交感神經이 高血壓의 發生初期機轉에 매우 중요한 役割을 하며 clonidine의 血壓降下作用도 中樞交感神經興奮作用을介한 것으로 사료된다.

輸精管 收縮作用에 미치는 영향

### 1) 輸精管 收縮力에 미치는 6-OHDA의 영향—

Norepinephrine  $10^{-9}\text{M}$  농도에서 시작하여 누적용량반응곡선을 작성한 결과 두번째와 세번째가 가장 유사한 곡선을 나타내었으므로 본 실험에서는 두번째 곡선을 대조로 하고, 세번째에서 약물의 반응곡선을 얻었다.

14~17주 사육한 정상흰쥐와 6-OHDA 처치한 흰쥐의 輸精管切片을 이용하여 Norepinephrine (NE)에 대한 용량 반응 곡선을 비교해 본 결과, 정상흰쥐의 경우  $3 \times 10^{-8}\text{M}$ 에서 수축반응이 일어나 최대 수축반응은  $3 \times 10^{-5}\text{M}$ 에서 나타났으며, 6-OHDA 전처리군의 경우  $10^{-9}\text{M}$ 에서 수축반응



**Fig. 3**—Effect of 6-OHDA neonatal treatment on the cumulative dose-response curve to norepinephrine of vas deference strips from rats.

Each point (mean  $\pm$  S.E. of 8 rats) represent as percentage over maximum contractile force. 6-OHDA was subcutaneously injected at 1st and 2nd day ( $100\text{mgKg}^{-1}$ ), and 8th day ( $250\text{mgKg}^{-1}$ ) from birth.

Control group (●-●),  $\text{PD}_2$ : 6.23, 6-OHDA pretreated group (▲-▲)  $\text{PD}_2$ : 7.1.

\* Significantly different from control value at  $p < 0.001$ .

이 일어나  $3 \times 10^{-6}M$ 에서 최대 수축반응이 나타났다.

각 농도에서 수축반응의 정도는 최대 수축반응에 대한 백분율로 표시하였다.

신생쥐에 6-OHDA를 투여한 흰쥐에서 적출한 輸精管平滑筋의 收縮曲線은 정상 흰쥐에 있어서의 收縮曲線에 비하여, 보다 예민한 收縮作用이 있으며 용량 반응곡선이 왼쪽으로 이동하였다. 이러한 현상은 신생쥐에 6-OHDA를 투여하여 交感神經末梢가 破壞되어 內因性 NE량이 감소되고 외부에서 加해준 NE에 대하여 超過敏反應을 나타냈기 때문이라 사료되며 이것은 Versteeg 등<sup>26)</sup>과 Clark 등<sup>27)</sup>의 보고와 일치한다.

2) Prazosin의 輸精管 收縮作用에 미치는 6-OHDA의 영향—정상쥐의 輸精管切片을 매달은 Magnus관에 prazosin  $10^{-7}M$ 을 전처리하였을 때 NE  $3 \times 10^{-6}M$  농도에서 수축하기 시작하여  $10^{-4}M$ 에서 최대의 수축을 나타내어 NE에 의한 용량 반응곡선은 우측으로 이동하였다. 따라서  $\alpha$ -antagonist인 prazosin은 NE에 의한 수정관 평활근수축 작용을 매우 유의성있게 ( $p < 0.001$ ) 억제하였다.

6-OHDA를 투여한 輸精管切片은 prazosin  $10^{-7}M$ 로 전처리하였을 때 NE  $3 \times 10^{-7}M$  농도에서 수축하기 시작하여  $3 \times 10^{-5}M$ 에서 최대의 수축을 나타내어 交感神經 破壞時에도 平滑筋 收縮作用은 매우 유의성있게 억제함이 나타났으나 정상쥐에 prazosin 전처치와 비교하면 NE에 의한 輸精管平滑筋收縮作用은 증가되었다.

따라서 prazosin 前處置로 NE에 대한 輸精管收縮作用의 억제효과는 6-OHDA 전처치로 약화되어 유의성있게 輸精管收縮增加作用이 나타났다.

3) Clonidine의 輸精管 收縮作用에 미치는 6-OHDA의 영향— $\alpha$ -adrenoceptor는 效能藥 및 拮抗藥의 親和力, 效力의 강도와 선택성에 따라 presynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptor 및 postsynaptic  $\alpha_1$ -adrenoceptor로 약물학적인 세분을 하는 것이 적당하다고 하였으나<sup>28-31)</sup> 최근에는  $\alpha_2$ -adrenoceptor는 pre 및 postsynaptic에 모두 존재함이 확인된 바 있고<sup>31)</sup> Clonidine은 presynaptic  $\alpha_2$ -

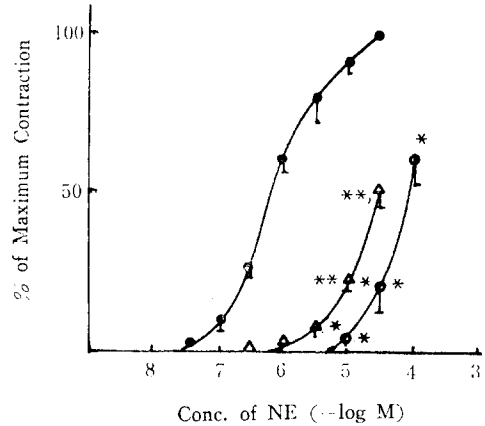


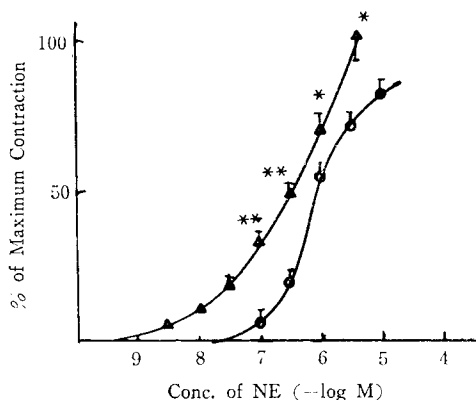
Fig. 4—Effect of 6-OHDA neonatal treatment on the contractile response to norepinephrine of the prazosin treated vas deference strips from rats. Each point (mean  $\pm$  S.E. of 5 rats) represent as percentage over maximum contractile force. Control group (●-●) was administered only norepinephrine. Prazosin  $10^{-7}M$  was pretreated before 30min. of norepinephrine treatment to vas deference strips from normal rats (○-○) and 6-OHDA injected rats ( $\Delta$ - $\Delta$ ).

\* Significantly different from control values at  $p < 0.001$

\*\*Significantly different from prazosin treated group at  $p < 0.01$  PD<sub>2</sub> value; control group: 6.23, prazosin treated group: 4.33, 6-OHDA and prazosin treated group: 4.78.

adrenoceptor에, 보다 作用이 강하여 神經末梢의  $\alpha_2$ -adrenoceptor의 흥분으로 NE 유리를 억제하여 백관계에 약리효능을 나타낸다고 하였으며<sup>32,33)</sup> 특히 輸精管에는  $\alpha_2$ -adrenoceptor가 많이 존재하므로<sup>14)</sup> 輸精管을 이용하여 clonidine의 효과를 시험하였을 때 clonidine을 전처치한 輸精管전편의 용량반응곡선은 右側으로 이동하였으므로 수정관 平滑筋의 이완작용이 있음을 알 수 있다.

그러나 6-OHDA를 신생시 투여한 輸精管전편의 clonidine에 의한 용량反應曲線은 정상쥐의 輸精管切片에 대한 clonidine의 용량反應曲線에 비하여 左側으로 이동하였다. 이것은 clonidine이 보여준 平滑筋弛緩作用이 6-OHDA 전처치로 억제되었음을 나타내는 것으로 血壓反應에 있어서도 Clonidine의 血壓降下作用이 6-OHDA 전처치



**Fig. 5**—Effect of 6-OHDA neonatal treatment on the contractile response to norepinephrine of vas deference strips from clonidine pretreated rats. Each point (mean±S.E. 8 rats) represents as percentage over maximum contractile force. Clonidine  $3 \times 10^{-7}$ M was pretreated before 30 min. of NE treatment to vas deference strips from normal rats (○-○) and 6-OHDA neonatal injected rats (△-△). Significantly different from control value at \* $p < 0.01$  \*\* $p < 0.001$ .  $PD_2$  value; Control (clonidine treated) group: 6.15, 6-OHDA and clonidine treated group: 6.63.

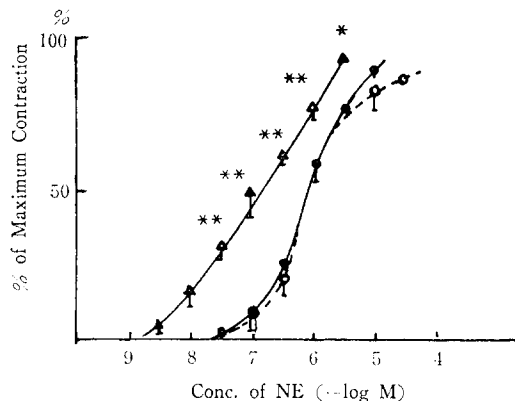
로 억제되었던 실험결과와 일치하였다. 6-OHDA 으로 중추교감신경 및 말초교감신경이 파괴되었을 때는 clonidine의血壓降下作用과 평활근이완 작용도 나타나지않음을 알 수 있다.

$\alpha_2$ -adrenoceptor가 밀집해 있는 輸精管의 NE에 대한 수축반응이 clonidine에 의해서 억제되었으며 이것은 6-OHDA 투여로 交感神經破壞時 다시 억제된 事實로 미루어 clonidine은 中樞교감신경을 특히  $\alpha_2$ -adrenoceptor를 介在하여 藥效가 나타남을 再確認할 수 있었다.

4) Desipramine 투여후 clonidine의 輸精管收縮에 미치는 6-OHDA의 영향—경상쥐에 desipramine을 14日間 注射後 摘出한 輸精管切片에  $5 \times 10^{-7}$ M의 clonidine을 作用시켰을 때 NE  $3 \times 10^{-8}$ M에서 수축하기 시작하여  $10^{-5}$ M에서 최대의 수축을 나타내어 clonidine 단독투여시의 效果와 비교할 때 거의 差異가 없었으며 血壓變化에서 clonidine에 의한 顯저한 血壓降下作用이 desipramine 前處置로 약화된 것과는 크게 다

르다.

신생쥐에 6-OHDA을 투여하여 交感神經切除하고 desipramine을 14日間 투여후 摘出한 輸精管切片에  $5 \times 10^{-7}$ M의 clonidine을 反應시켰을 때 NE  $3 \times 10^{-8}$ M에서 수축이 시작하여  $3 \times 10^{-6}$ M에서 최대의 수축을 나타냈으며 그 用量反應曲線은 6-OHDA을 투여하지 않은 군에 비하여 左側으로 이동하였다. Desipramine 장기투여후 clonidine의 NE에 대한 平滑筋收縮緩和作用은 6-OHDA 투여로 억제되어 보다 저농도의 NE에 대해서도 예민하게 수축하였다. clonidine의 輸精管收縮反應에 대하여 desipramine의 長期投與는 영향을 미치지 않았으나 6-OHDA은 desipramine 長期投與後의 clonidine의 平滑筋收縮緩和 即 이완작용을 매우 유의성있게 억제하였다. Clonidine



**Fig. 6**—Effect of 6-OHDA neonatal treatment on the contractile response to NE after clonidine pretreatment of vas deference strips from chronic desipramine injected rats.

Each point (mean±S.E. of 6 rats) represents as percentage over maximum contractile force. Desipramine was intraperitoneally injected  $10 \text{ mg Kg}^{-1}$  once daily during 14 days (total  $140 \text{ mg Kg}^{-1}$ ).

Clonidine  $3 \times 10^{-7}$ M was pretreated Before 30min. of NE treatment to vas deferens strips from normal rats (○-○), desipramine injected rats (□-□) and 6-OHDA-desipramine treated rats (△-△).

\*, \*\*, Significantly different from corresponding 6-OHDA untreated control value at \* $p < 0.01$ , \*\* $p < 0.001$   $PD_2$  value; control (desipramine-clonidine treated) group: 6.1, 6-OHDA-desipramine-clonidine treated group: 7.08.

의 血壓降下作用이 6-OHDA 前處置로 나타나지 못한것과 똑같이, clonidine의 平滑筋弛緩作用도 6-OHDA으로 억제되었다.

이는 6-OHDA이 交感神經破壞와 함께 desipramine을 장기간 투여하면 presynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptor가 NE에 過敏性을 일으켜 NE의 유리조절기구가 원활하지 않아 synaptic cleft에 NE량이 많아져서 clonidine이 결합할 presynaptic receptor의 수가 감소하여 clonidine에 의한 效果가 나타나지 않는 것으로 사료된다.

## 結 論

中樞性 抗高血壓藥 clonidine의 血壓降下 및 輸精管平滑筋弛緩作用과 catecholamine 제 도입 차단 작용성 항우울약 desipramine 前處置後의 血壓降下와 輸精管平滑筋弛緩效果를 비교함으로써 血壓變化와 平滑筋收縮力에 미치는 交感神經의 役割과 DOCA-salt 투여로 高血壓發症에 미치는 交感神經의 役割을 증명하고자 신생쥐에 6-OHDA을 투여하여 化學的交感神切除後 各藥物의 效果를 對照群과 비교하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1) Clonidine을 투여하면 血壓降下 및 摘出輸精管平滑筋弛緩作用이 나타났으나 6-OHDA前處置한 쥐에서는 clonidine에 의한 血壓降下作用이나 輸精管平滑筋弛緩作用이 모두 有意性있게 억제되었다.

2) Desipramine을 前處置하면 clonidine의 血壓降下作用은 억제되나 輸精管平滑筋弛緩作用에는 영향을 미치지 않으며 6-OHDA을 투여한 쥐에서는 desipramine의 前處置與否에 관계없이 clonidine의 血壓降下作用과 輸精管平滑筋弛緩作用이 모두 억제되었다.

3) DOCA-salt 투여로 高血壓發症은 6-OHDA 투여로 淸化되었으며 一日 生成된 DOCA-salt高血壓 쥐는 clonidine투여로 매우 有意的인 큰 쪽으로 血壓降下作用에 나타났으며 desipramine 전처치시는 6-OHDA 투여에 관계없이 clonidine의 血壓降下作用을 억제하였다.

4) Norepinephrine에 대한 摘出輸精管平滑筋의 收縮反應은 6-OHDA 전처치로 超過敏性을 나타

냈으며 prazosin의 平滑筋弛緩作用은 6-OHDA 전처치로 억제되었다.

以上の 結果에서 6-OHDA, clonidine 및 desipramine 등은 모두 腦神經과의 높은 親和力으로 中樞性高血壓症의 발현과 억제에 中樞交感神經을 介在하여 큰 영향을 미치며 또한  $\alpha_2$ -adrenoceptor가 밀집해 있는 輸精管平滑筋收縮力에도 영향을 미쳐 clonidine의  $\alpha_2$ -adrenoceptor 흥분에 의한 抗高血壓反應은 desipramine으로 억제되었고 6-OHDA으로 交感神經을 파괴하였을 때는 desipramine 전처치에 관계없이 clonidine의 中樞性抗高血壓反應과 末梢平滑筋弛緩作用은 나타나지 않았고, 특히 여러 要因의 高血壓發生初期의 機轉에 중요한 役割을 하는 것으로 나타났다.

## 감사의 말씀

本研究를 진행함에 있어서 研究費의 一部는 韓國生活科學研究院 研究費로 充當하였으므로 이에 謝意를 표합니다.

## 文 獻

- 1) Porter, C.C., Totaro, J.A. and Stone, C.A.: Effect of 6-hydroxydopamine and some other compounds on the concentration of norepinephrine in the hearts of mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **140**, 308 (1963).
- 2) Thoenen, H. and Tranzer, J.P.: Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-hydroxydopamine. *N.S. Arch. Pharmacol.* **261**, 271 (1968).
- 3) Goldman, H. and Jacobowitz, D.: Correlation of norepinephrine content with observations of adrenergic nerves after a single dose of 6-hydroxydopamine in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **176**, 119 (1971).
- 4) Jonsson, G. & Sachs, C.H., Effects of 6-OHDA on the uptake and storage of noradrenaline in sympathetic adrenergic neurons, *Eur. J. Pharmacol.* **9**, 141 (1970).
- 5) Tranzer, J.P. and Thoenen, H., An electron microscopic study of selective acute degeneration



- of sympathetic nerve terminals after administration of 6-hydroxydopamine, *Experientia* **24**, 155 (1968).
- 6) Uretsky, N.J. and Iversen, L.L., Effect of 6-hydroxydopamine on noradrenaline-containing neurones in the rat brain, *Nature* **221**, 557 (1969).
  - 7) Ungerstedt, U., 6-Hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurons, *Eur. J. Pharmacol.* **5**, 107 (1968).
  - 8) Etcheverry, J.G. and M. Zicher, Permanent depletion of peripheral norepinephrine in rats treated at birth with 6-OHDA, *Eur. J. Pharmacol.* **13**, 272 (1971).
  - 9) Min Chu Liew and Richard Laverty: Mechanism of Selective depletion of brain regional noradrenaline by systemic 6-OHDA in necobom rats: *Eur. J. Pharmacol.*, **33**, 165 (1975).
  - 10) Versteeg, D.H.G., Wijnen, H.J.L.M., Kloet, E.R. and Jong, W., Differential effect of neonatal 6-OHDA treatment on the catecholamine content of hypothalamic nuclei and brainstem regions. *Neuroscience Letters* **7**, 341 (1977).
  - 11) Matthews, W.D. and Gerald, P.C., Gerald., Effects of chemical sympathectomy by 6-hydroxydopamine on  $\alpha$ -adrenoceptor-mediated pressor responses in pithed rat. *J. Cardiovascular Pharmacol.*, **6**, 233 (1984).
  - 12) Provoost, A.P., Bohus, B. and Wybren, J., Neonatal chemical sympathectomy: Functional control of denervation of the vascular system and tissue noradrenaline level in the rat after 6-hydroxydopamine. *N.S. Arch. Pharmacol.*, **284** 353 (1974).
  - 13) Doba, N. and Reis, D.J., Role of central and peripheral adrenergic mechanism in neurogenic hypertension produced by brain-stem lesion in rat. *Cir. Res.*, **34**:293 (1974).
  - 14) Doxey, J.C., Gadie, A.C., Lane and Tulloch, I.F. Evidence for pharmacological similarity between  $\alpha_2$ -adrenoceptors in the vas deferens and central nervous system of the rat. *Br. J. Pharmac.*, **80**, 155 (1983).
  - 15) Srimal, R.C., Gulati, K. and Dhawan, B.N., On the mechanism of central hypotensive action of clonidine. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **55**, 1007 (1976).
  - 16) Conway, E.L. and Jarrott, B., Clonidine distribution in the rat: Temporal relationship between tissue levels and blood pressure response. *Br. J. Pharmac.*, **473** (1980).
  - 17) Dollery, D.R. and Koizurmi, K. Central noradrenergic neurons and the cardiovascular actions of clonidine in the rabbit, *Br. J. Pharmac.*, **47**, 206 (1973).
  - 18) Finch, L., Buckingham, R.E., Moore, R.A. and Bucher, T.T., Bucher., Evidence for a central  $\alpha$ -sympathomimetic action of clonidine in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, **27**, 181 (1975).
  - 19) Laverty, R., Sharman, D.F. and Vogt, M., *Br. J. Pharmacol.*, **24**:759 (1965).
  - 20) Robin, H.B. and Reid, J.L., Desmethylinipramine and the hypotensive action of clonidine in the rabbit. *Br. J. Pharmacol.*, **46**, 593 (1972).
  - 21) Van Spanning, H.W. and Van Zwieten, P.A., The interference of tricyclic antidepressants with the central hypotensive effect of clonidine. *Eur. J. Pharmacol.*, **24**, 402 (1973).
  - 22) Clark, D.W.J., D.R. Jones, E.L. Phelan, and C.E. Devine. Blood pressure and vascular resistance in genetically hypertensive rats treated at birth with 6-hydroxydopamine. *Cir. Res.*, **43**, 293 (1978).
  - 23) Kubo, T. and M. Hashimoto, Effects of intraventricular and intraspinal 6-hydroxydopamine on blood pressure of DOCA-saline hypertensive rats. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **238**, 50 (1979).
  - 24) Finch, L.G. Haeusler, and H. Thoenen, Failure to induce experimental hypertension in rats after intraventricular injection of 6-hydroxydopamine. *Pro. Bri. Pharmacol. Soc.* **359** (1972).
  - 25) Vapaatalo, H., R. Hackman, P. Anttila, V. Vainionpää, and P.J. Neuvonen., Effects of 6-hydroxydopamine on spontaneously hypertensive rats. *N.S. Arch. Pharmacol.*, **284**, 1 (1974).
  - 26) Versteeg, D.H.G., Jan M. van Ree, Abraham P. Provoost and Wybren de Jong, Neonatal 6-OHDA treatment: Noradrenaline levels and in vitro  $^3\text{H}$ -Catecholamine synthesis in discrete brain

- regions of adult rats. *Life Science* 15, 2127 (1975).
- 27) Clark, D.W.J., Laverty, R, and Phelan, E.L. Long-lasting peripheral and central effects of 6-hydroxydopamine in rats, *Br. J. Pharmacol.*, 44, 233 (1972).
- 28) Langer, S.Z., Presynaptic receptors and their role in the regulation of transmitter release. *Br. J. Pharmac.*, 60, 481 (1977).
- 29) Wikberg, J. Differentiation between pre-and post junctional  $\alpha$ -adrenoceptors in guinea pig ileum and rabbit aorta, *Acta. Physiol. Scand.*, 103, 225 (1978).
- 30) Berthelsen, S. and Pettinger, W.A., A functional basis for classification of  $\alpha$ -adrenergic receptors. *Life Sci.*, 21, 595 (1977).
- 31) Kobinger W. and Pichler, L. Relation between central sympathoinhibitory and peripheral pre-and postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors as evaluated by different clonidine-like substances in rats. *N.S. Arch. Pharmacol.*, 315, 21 (1980).
- 32) Milt Titeler and Philip Seeman, Effect of antihypertensive clonidine congeners on alpha-adrenergic receptors, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 60, 342, (1981).
- 33) Conway, E.L. and Jarott, B. Clonidine distribution in the rat: Temporal relationship between tissue levels and blood pressure response, *Br. J. Pharmacol.*, 71, 473 (1980).