신 증후군 환자에서 Loop Diuretics(Bumetanide)의 내성 기전 규명을 위한 약동학/약력학 동시 모델 연구[†]

포천중문 의과대학교 분당차 병원 신장내과¹, 가천의과대학교 약리학교실², 인하대학교 의과대학 약리학교실³,
서울대학교 의과대학 약리학교실⁴ 및 내과학교실⁵

김경수¹, 임동석², 이경훈³, 장인진⁴, 유경상⁴, 배균섭⁴,
신상구⁴, 한진석⁵, 김성권⁵, 이정상⁵

= Abstract =

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Analysis of Bumetanide in Patients with Nephrotic Syndrome

Kyung-Soo Kim, M.D.¹, Dong-Seok Yim², Kyung-Hoon Lee³, In-Jin Jang⁴,
Kyung-Sang Yu⁴, Kyun-Seop Bae⁴, Sang-Goo Shin⁴, Jin-Suk Han, M.D.⁵,
Suhnggwon Kim, M.D.⁵, Jung-Sang Lee, M.D.⁵

*Renal Division, Department of Internal Medicine, Pundang CHA Hospital, College of Medicine,
Pochon CHA University¹, Department of Pharmacology, Gachon Medical School²,
Department of Pharmacology, Inha University College of Medicine³, Department of Pharmacology⁴
and Internal Medicine⁵, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background : This study was performed to evaluate diuretic resistance of bumetanide in patients with nephrotic syndrome and elucidate the mechanism of the diuretic resistance using pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling.

Methods : Single oral doses of bumetanide 1 mg were administered to 8 normal subjects and to 8 patients with nephrotic syndrome. After administration of bumetanide, serial blood and urine samples were collected while fluid balances were maintained throughout the sampling period. For pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis, plasma concentration of bumetanide, urinary excretion rates of total and free bumetanide, urine flow rates, and urinary excretion rates of electrolytes were determined. The

[†]본 연구는 서울대학교병원 대형 공동과제 연구비 지원(03-1993-052)에 의하여 이루어졌음.

교신저자 : 신상구

소 속 : 서울대학교 의과대학 약리학교실

주 소 : 서울특별시 종로구 연건동 28 ☎ 110-799

전 화 : (02) 740-8286 FAX : (02) 745-7996

pharmacodynamic characteristics were analysed with Hill's, Emax or linear models.

Results : There were no differences in pharmacokinetic parameters between normal subjects and patients with nephrotic syndrome. The mean values of urine volume, sodium and chloride amount excreted in 24-hour urine after administration of bumetanide were significantly lower in patients with nephrotic syndrome compared to those in normal subjects. The clockwise hysteresis patterns were evident in pharmacodynamic plots for urine flow rate, urinary excretion rate of sodium & chloride versus urinary excretion rate of free bumetanide, which implied the development of acute tolerance to bumetanide in both of normal subjects and patients with nephrotic syndrome. The ratios of urine volume, sodium or chloride to free bumetanide excretion amount in 24 hour urine after administration of bumetanide in patients with nephrotic syndrome were significantly less than those of normal subjects. The urine flow rate, excretory rate of sodium & chloride to the urinary excretory rate of free bumetanide were best fitted to the linear model in patients with nephrotic syndrome, but to the Emax or linear model in normal subjects.

Conclusion : The results suggest that the diuretic resistance of bumetanide in patients with nephrotic syndrome seems to be due to the changes of receptor characteristics in the ascending limb of loop of Henle, as well as the protein binding of bumetanide in the renal tubule.

KEY WORDS : Bumetanide · Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling · Nephrotic syndrome · Diuretic resistance.

서 론

신 증후군 환자에서 이뇨제 사용시 이뇨작용의 저하가 나타나는 이뇨제 저항현상(diuretic resistance)은 임상적으로 잘 알려져 있다. 이러한 경우 이뇨효과가 미약한 thiazide 계열의 이뇨제는 사용이 제한되고 있으며, 강력한 이뇨효과를 지닌 환상이뇨제(loop diuretics)를 사용하여야 기대하는 이뇨효과를 얻을 수 있다. 그러나 이 경우에도 정상인에 비해 투여용량을 증가시켜야 하는데¹⁾, 이러한 이뇨제 내성기전에 대하여 대표적인 환상이뇨제인 furosemide에 대한 연구가 많이 시행되었다. 그 결과 제시된 내성의 원인기전으로 첫째, 신 증후군 환자에서 저 알부민 혈증에 의한 신 혈류량의 감소로 작용 부위로의 약물 이동 감소 및 사구체 여과율의 감소²⁾, 둘째, 환상이뇨제의 체내 약동학적 동태의 변화, 셋째, 근위세뇨관에서의 환상이뇨제의 세뇨관 내강으로의 약물 분비 저하, 넷째, 신세뇨관으로 배설된 환상이뇨제의 세뇨관 내 알부민

과의 결합에 따른 활성 유리약물농도의 저하, 다섯째, 근위세뇨관 내 존재하는 환상이뇨제 수용체의 양적 또는 질적인 변화 등 여러 가설이 대두되었다. 이러한 내성기전들 중 신 증후군 환자에서 약물의 체내동태 변화가 이뇨제 이외의 많은 약물에서 관찰된 것을 감안할 때, 신 증후군 환자에서 furosemide의 약동학적 변화가 이뇨작용을 나타낼 때 필수적인 furosemide의 신세뇨관 분비에 영향을 줌으로써 이뇨제 저항현상의 중요 요인으로 생각될 수 있다. 그러나 신 증후군 환자에서 furosemide의 약동학적 성상은 정상인과 비교시 혈장 단백 결합의 감소가 약간 나타나나 정상인과 비교하여 유의한 차이는 아니며, furosemide의 신 청소율은 별 차이를 보이지 않고, 다만 신 증후군 환자에서 약간 신장 외 청소율이 정상인에 비해 증가되어 있다고 보고되고 있어¹⁾, 이뇨제 저항기전은 신세뇨관 내에서의 문제일 가능성이 클 것으로 시사되고 있다. 한편 신세뇨관 내에서는 세뇨관 내로 배설된 furosemide가 비정상적으로 세뇨관 내에 존재하는 알

부민과 결합하여 활성을 나타내는 유리약물농도가 저하되는 것이 이뇨작용 내성의 주원인으로 생각되고 있으나, 일부에서는 이뇨효과 감소 정도가 유리약물농도의 저하로 설명하기에는 불충분하기 때문에 신세뇨관 내 수용체 수준의 변화의 동반도 시사되고 있다³⁾.

Bumetanide는 주로 TAHL(thick ascending limb of Henle's loop) 내강에서 sodium 이온, chloride 이온 재흡수를 감소시킴으로써 이뇨작용을 나타내는 furosemide와 같은 환상이뇨제로, 생체이용률이 furosemide의 두 배 가량 되고, 간을 통한 약물 제거가 furosemide보다 많은 점 등이 신 증후군 환자 또는 신부전증 환자의 부종 치료에 대한 장점으로 여겨질 수 있다⁴⁾. 그러나 이러한 bumetanide의 약동학 및 약력학적 연구는 주로 정상인에서 시행되어 왔고, 이환 상태에서의 연구로는 만성 신부전 및 간 경변증 환자를 대상으로 시행되었을 뿐, 신 증후군 환자를 대상으로 한 보고는 드물다⁵⁾. 따라서 신 증후군 환자에서의 bumetanide의 이뇨제 저항증에 대해서는 거의 알려진 바가 없으며, 이에 대한 약력학적 분석과 이를 통한 내성기전 원인 규명이 필요한 실정이다.

이러한 기전을 밝히려면 약동학/약력학 동시모델을 적용하여 검증하여야 하는데, 이러한 약동학/약력학 모델의 통합에 있어 가장 큰 문제점은 약력학적 모델 적용시의 약물 수용체 부위의 약물농도에 관한 것이다. 인체를 대상으로 하는 임상 연구에서 투여용량과 혈장 약물농도 변화는 약동학적 모델에 의해 해석할 수 있으나, 약력학적 분석시 수용체 부위 약물농도와 약효 사이의 관계 설정에서 수용체 부위의 약물농도는 각 약물의 체내 분포 특성에 따라 결정되기 때문에, 투약 후 혈장 약물농도와 약효의 경시적인 변화 측정만으로 약물 수용체 부위의 약물농도를 예측하기는 어렵다. 다시 말하면, 약물투여 후의 경시적인 혈장 약물농도와 약효의 상관성은 많은 경우 투약 후 시간 경과에 따라 hysteresis가 발생하는 문제를 안고 있다. 따라서 이의 난점을 해결을 위해서는 이들 모델의 통합, 즉 혈장 약물농도와 약물 수용체 부위의 약물농도의 시간에 따른 간격을 해결할 수 있는 약동학/약력

학 동시모델 적용이 필요하다.

최근 약동학/약력학 동시 모델로 가장 보편 타당성을 지닌 것으로 알려진 Holford와 Sheiner의 모델⁶⁾은 투약된 약물용량 중 수용체 부위에 이행된 약물의 양은 무시할 정도의 극미량으로 간주하여 분석함으로써 약물투여 후 경시적인 혈장 약물농도, 약효의 양적 분석 데이터로부터 수용체 부위 농도의 경시적 변화를 시뮬레이션(simulation)함으로써 약동학적 파라미터(V_d , CL 등) 및 수용체 부위 약물농도와 약효간의 약력학적 파라미터(E_{max} , EC_{50} 등)를 분석하는 것으로, 이런 방법을 통하여 약물투여 후 약효 출현까지의 각 단계의 특성을 파악해낼 수 있는 장점을 지니고 있어 약동학/약력학 동시 모델 분석시 그 도입이 활발히 이루어지고 있다.

따라서 본 연구에서는 furosemide 이후에 개발되어 보다 강력한 이뇨효과를 보이며($40\sim60$ 배), 다소 다른 약리 작용을 보이는 환상이뇨제인 bumetanide의 정상인과 신 증후군 환자에서 약물의 체내동태 및 이뇨효과의 비교연구를 시행함으로써, bumetanide의 정상인과 신 증후군 환자의 두 군에서 약동학적 성상 파악과 동시에 세뇨관으로 배설된 유리약물과 이뇨효과의 약력학적 상호 작용을 약동학/약력학적 동시모델을 통한 검증에 의하여 신 증후군에서의 환상이뇨제 bumetanide의 내성발현 여부와 그 내성기전을 규명하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구대상

병력 및 진찰 소견이 정상이며 혈청 단백 및 알부민, blood urea nitrogen, 혈청 크레아티닌이 정상범위인 정상 성인 남자 8명(연령: 25 ± 2)과 24시간 단백뇨가 3.5gm 이상인 신 증후군 환자 8명(남 4명, 여 4명, 연령: 37 ± 15)을 대상으로 하였다(Table 1). 정상인은 약물에 대한 과민 반응이 없고 약물 또는 알코올 중독력이 없는 사람을 대상으로 하

Table 1. Characteristics of normal subjects and patients with nephrotic syndrome.

Normal subjects							
Subject No.	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Height (cm)	Scr (mg/dl)	Ccr (ml/min)	AST (IU/L)
1	M	27	55	168	0.9	96	10
2	M	20	62	169	0.9	115	20
3	M	27	63	175	1.2	82	33
4	M	25	67	177	0.9	119	25
5	M	25	75	178	1.1	109	16
6	M	22	61	170	1.0	100	19
7	M	25	70	169	1.3	86	29
8	M	25	60	169	1.2	80	31
Mean±S.D.		25±2	64±6	172±4	1.1±0.2	98±15	23±8

Patients with nephrotic syndrome									
Subject No.	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Height (cm)	Scr (mg/dl)	Ccr (ml/min)	AST (IU/L)	24hr Urine protein(g/day)	Underlying Disease
1	M	37	70	170	1.2	65	32	4.3	MGN
2	M	47	47	162	0.8	83	19	6.3	MCNS
3	M	20	69	173	0.9	130	21	9.9	FSGS
4	M	45	64	163	0.9	120	39	14.3	MCNS
5	F	37	61	155	0.7	116	20	8.9	IgAN
6	F	53	58	157	0.9	62	38	10.9	MGN
7	F	24	55	163	0.9	79	25	3.7	IgAN
8	F	57	57	160	1.0	53	35	5.0	IgAN
Mean±S.D.		37±15	60±8	163±6	0.9±0.1	89±30	29±8	7.9±3.7	

Scr : Serum creatinine, AST : Aspartate transaminase

MGN : Membranous glomerulonephropathy, MCNS : Minimal change nephrotic syndrome

IgAN : Ig A nephropathy, FSGS : Focal segmental glomerulosclerosis

였다. 신 증후군 환자는 혈장 크레아티닌이 1.5mg/dl 이하이며 연구 시작 전 7일 이내에 다른 이뇨제를 복용하지 않았고 환상이뇨제의 약리 작용에 영향을 미치는 것으로 알려진 부신 피질 호르몬제나 prostaglandin 억제제를 복용하지 않은 환자를 대상으로 하였다. 모든 피험자에게 연구내용에 대하여 충분히 설명하고 서면으로 동의를 득한 후 연구를 시행하였다.

2. 투약 및 검체 채취

모든 피험자는 연구 전날 밤부터 약 12시간 동안 금식하였으며, 약물투여 2시간 전에 배뇨로 방광을 비우고 상박 주전부에 heparin(100 unit/ml)을 채운 정맥 카테터를 삽입 고정하고, 침대에서 2시간 동안 앙와위로 안정시킨 후, 약물 투입 전 혈압 및 맥박수

를 측정하고 혈액 및 요 검사를 위한 대조 검사물을 채취한 후 bumetanide (Burex®, Roche) 1mg를 물 200ml와 함께 경구투여하였다.

이후 7시간 동안 배뇨 시간외에는 침대에 누운 상태를 유지하였으며, 연구 진행 동안 체액량을 일정하게 유지하도록 하기 위해 정상인은 이온 음료(포카리스웨트®, 동아 식품 주식회사, 성분: sodium 21 mEq/L, potassium 5 mEq/L, calcium 1 mEq/L, magnesium 0.5 mEq/L, chloride 16.5 mEq/L, citrate 10 mEq/L, lactate 1 mEq/L)를 배설된 요량만큼 경구투여로 보충하였으며, 신 증후군 환자는 half-saline을 정맥 주사하여 보충하였다. 혈액은 bumetanide 투여 후 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 9시간에 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 30분내에 혈장을 원심분리한 후 약물농도 측정시까지 -70°C 냉동고에 보관하였다.

요 채취는 약물투여 2시간 전에 배뇨로 방광을 비운 후 약물투여 직전 및 약물투여 후 0.25, 0.75, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 24, 30시간에 채취하여 요량을 기록하였고 10ml는 전해질, 혈청 크레아티닌 및 단백 측정과 10ml는 약물농도 측정을 위하여 -70°C에 냉동 보관하였다. 특히 신 증후군 환자의 요 검체는 이중으로 나누어 한 검체는 요중 총 bumetanide 농도, 전해질, 단백, 크레아티닌 치를 측정하기 위하여 보관하였으며, 다른 검체는 Amicon filter(MW cut-off : 1,500)를 이용하여 단백 분리 후 유리 bumetanide 농도를 측정하기 위하여 보관하였다.

3. 체액 내 bumetanide의 농도 측정

혈장 및 요중의 bumetanide의 농도는 Wells 등의 방법을 수정하여 HPLC로 측정하였다^{7,8)}. 즉 혈장 및 요중에서 bumetanide를 추출하기 위하여, 혈장 및 요 검체 0.2ml에 0.1 M sulfuric acid 0.2ml를 첨가한 후 6ml의 diethyl ether를 첨가하고 5분간 와동 혼합(vortex mixing)한 다음 4°C에서 1000g 15분

간 원심분리한 후 상층액을 분리 추출하여 45°C에서 SVC 100H Speed Vac 농축기(Savant Instruments Inc., Farmingdale, NY, U.S.A.)를 이용하여 증발시킨 후 남은 잔사에 acetonitrile : water : triethylamine을 50 : 49 : 1로 혼합하여 만든 pH 4.0의 유동상 300 μ l를 첨가하여 충분히 혼합한 후, 이중 100 μ l를 Rheodyne loop에 주사하였다⁹⁻¹¹⁾. 분석은 Gilson model 302 펌프 및 excitation wave-length 228 nm, emission wave-length 418 nm로 장치된 Model 470 형광 검출기(Gilson, France) 및 C-R 6A chromatopac integrator(Shimadzu, Japan), 그리고 six-port rotary value injector (Model 7125, Rheodyne, Cotati, California, U.S.A.) 100 μ l sample loop를 사용하였다. 크로마토그램 분리는 normal phase liquid-solid 30cm $\times$ 1.9mm I.D. stainless-steel silica column(5 μ m particle size, Gilson, France)를 사용하였으며 유동상의 유속은 1.0ml/min으로 하였다. 상기 조건하에서 bumetanide의 retention time은 혈장에서 4.3분, 요중에서 3.7분이었으며 일상 분석시 bumetanide 검출 최소 한계 농도는 혈장농도 5ng/ml이었다.

유리 bumetanide의 농도는 Amicon filter(MW cut-off : 1,500)를 이용한 단백 분리 후 기술한 방법으로 측정하였다. 요중 단백 농도는 Bradford 법¹²⁾을 이용하여 측정하였고, 혈장 및 요중 크레아티닌 농도는 Jaffe 반응 방법¹³⁾을 이용하여 측정하였으며 요중 sodium 이온 농도는 flame photometry, chloride 이온 농도는 chloridometry를 이용하여 측정하였다.

4. 약동학 분석

정상인 및 신 증후군 환자에서의 경구 bumetanide 투여 후 흡수, 혈장농도, 체내 약물 분포 및 배설의 약동학적 과정의 분석은 non-compartmental 모델을 이용하였다. 경구투여 후의 혈장 bumetanide 농도-시간 곡선의 소실기 농도자료로부터 비선형 회귀

분석법(non-linear regression)에 의해 소실속도상수(terminal elimination rate constant : β)를 산출하였으며 이로부터 혈장 반감기($t_{1/2\beta}$)를 산출하였다($t_{1/2\beta}=0.693/\beta$). 혈장 bumetanide의 혈장농도-곡선하 면적(area under the plasma concentration-time curve : AUC)은 linear/log-trapezoidal rule을 이용하여 구하였다.

Bumetanide의 체내 분포 용적은

$$Vd_{\beta}/F = \frac{\text{Dose}}{\beta \times \text{AUC}}$$

(F : 생체이용률)

의 공식으로부터 산출하였고, bumetanide 경구투여 후 최고 혈장농도(Cmax) 및 최고 혈장농도에 도달하는 시간(Tmax)은 개별 피험자에서 관찰된 값으로부터 구하였다.

신장을 통한 bumetanide의 청소율은 24시간 동안 요중으로 배설된 bumetanide의 양을 동일한 시간 동안의 혈장농도 곡선하 면적으로 나누어 산출하였다.

$$CL/F = \frac{\text{Dose}}{\text{AUC}}$$

5. 약력학 분석

정상인 및 신 증후군 환자에서의 bumetanide에 의한 이뇨효과의 약력학적 성상 분석은 하기의 linear, log-linear 또는 Hill's 모델을 적용하였다¹⁴⁾.

$$E = C \cdot ER + E_0 \quad \text{공식 (1)}$$

$$E = C \cdot \log ER + E_0 \quad \text{공식 (2)}$$

$$E = \frac{(E_{\max} - E_0) \cdot ER^s}{ER_{50}^s + ER^s} + E_0 \quad \text{공식 (3)}$$

E : Effect, C : Constant, Slope factor,

$E_{\max}$: maximal effect,

E_0 : the basal urine flow rate, sodium or chloride excretion rate,

ER : the urinary excretion rate of drug,

ER_{50} : the urinary excretion rate of drug at half-maximal effect.

상기의 적용 모델을 선택한 이유는 이뇨제 특히 특히 환상이뇨제에 대해서는 이뇨효과가 혈중농도 보다 는 약물의 요중으로의 단위 시간당 배설량에 보다 밀접하게 관련되는 것으로 알려져 있기 때문이다.

Bumetanide에 대한 이뇨효과의 급성 내성(acute tolerance)의 분석은 기존의 furosemide에 적용된 급성 내성 분석모델 공식(4)을

$$ER_{50} = EF_{50}^0 \cdot e^{(k \cdot \Sigma_0^t F)} \quad \text{공식 (4)}$$

K : constant (mg^{-1})

$\Sigma_0^t F$: cumulative excretion amount of furosemide up to time t (μg)

적용하여 통합한 공식을 bumetanide의 단위 시간당 요중 배설량과 요량의 변화 및 전해질 단위 시간당 배설량을 적용하여 PCNONLIN program으로 nonlinear least square fitting한 후 C, $E_{\max}$, E_0 , ER_{50} , 내성지표인 k 등의 약력학적 파라미터를 산출하였다. $E_{\max}$ 모델에서 내성 모델을 적용한 수식은 공식 (5)와 같다.

$$E = \frac{(E_{\max} - E_0) \cdot ER^s}{[EF_{50}^0 \cdot e^{(k \cdot \Sigma_0^t F)}]^s + ER^s} + E_0 \quad \text{공식 (5)}$$

정상인 및 신 증후군 환자에서의 약동학 및 약력학적 성상의 차이는 Student t-test를 이용하여 분석하였다.

결 과

8명의 정상인과 8명의 신 증후군 환자에서 bumetanide 1mg을 1회 경구투여 후 시간 경과에 따른 bumetanide 평균 혈장농도의 변화는 Fig. 1과 같았다.

Bumetanide 1mg을 1회 경구투여 후 정상인과 신

Fig. 1. Semilogarithmic plots of the mean bumetanide plasma concentration vs time after single oral administration of 1 mg bumetanide in normal subjects(○) and patients with nephrotic syndrome(●). (*: $p < 0.05$, when compared with those of normal subjects. Error bars indicate the standard error.)

증후군 환자에서의 약동학적 파라미터는 Table 2와 같았다. 정상인에서 약물투여 후 T_{max} 는 1시간 36분이었고 C_{max} 는 $76.33 \pm 20.40 \text{ ng/ml}$ 이었으며, 신증후군 환자에서는 T_{max} 는 2시간 12분, C_{max} $76.22 \pm 18.12 \text{ ng/ml}$ 로 약간의 지연이 보였으나 두 군간

에 유의한 차이는 없었다. 경구투여시 평균 혈장농도 곡선하 면적(AUC)은 정상인 군에서는 $184.68 \pm 124.45 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 이었고, 신증후군 환자에서는 $197.76 \pm 101.06 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 로 두 군간에 차이는 없었다. 체중당 평균 분포 용적($V_{d\beta}/F/Wt$)은 정상인에서 $104.5 \pm 51.1 \text{ ml/kg}$, 신증후군 환자에서 $160.9 \pm 78.5 \text{ ml/kg}$ 로 유의한 차이는 보이지 않았으며, 신 청소율은 정상인에서 $4.98 \pm 1.70 \text{ L/hr}$ 로 총 청소율 $6.87 \pm 2.44 \text{ L/hr}$ 의 71.0%, 신증후군 환자에서는 $5.12 \pm 1.76 \text{ L/hr}$ 로 총 청소율 $6.80 \pm 2.34 \text{ L/hr}$ 의 75.3%로 두 군간에 차이가 없었다. 또한 계산된 bumetanide의 혈장 반감기($T_{1/2}$)는 정상인에서 $0.99 \pm 0.24 \text{ hr}$ 로 신증후군 환자 $1.11 \pm 0.29 \text{ hr}$ 와 비교하여 거의 유사한 값을 보였다.

요증으로 24시간 동안 배설된 bumetanide 총량은 정상인에서 $0.71 \pm 0.09 \text{ mg}$ 이었고, 신증후군 환자에서 $0.71 \pm 0.11 \text{ mg}$ 으로 두 군에서 유사하였다. 24시간 동안 배설된 유리 bumetanide의 양은 정상인에서는 배설되는 모든 양이 유리형이라는 것을 가정하고, 신증후군 환자군의 경우 유리형이 $0.52 \pm 0.07 \text{ mg}$ 으로 총량의 73%에 해당되었다(Table 3).

Bumetanide 1mg을 1회 경구투여 후 신증후군 환자에서 24시간 동안 배설된 요량은 $2061.3 \pm 747.4 \text{ ml}$ 로 정상인 $6281.2 \pm 974.6 \text{ ml}$ 에 비해 유의하게 적

Table 2. Pharmacokinetic parameters following single oral administration of 1mg bumetanide in normal subjects and patients with nephrotic syndrome.

	Normal subjects (Mean $\pm$ S.D.)	Patients with nephrotic syndrome (Mean $\pm$ S.D.)
$AUC_{total}(\text{ng} \cdot \text{hr/ml})$	184.7 ± 124.5	197.8 ± 101.1
$C_{max}(\text{ng/ml})$	76.3 ± 20.4	76.2 ± 18.1
$T_{max}(\text{hr})$	1.6 ± 1.0	2.2 ± 0.8
$V_{d_{area}}/F/Wt(\text{ml/kg})$	104.5 ± 51.1	160.9 ± 78.5
$CL_{total}/F(\text{L/hr})$	6.87 ± 2.44	6.80 ± 2.34
Half-life(hr)	0.99 ± 0.24	1.11 ± 0.29
$CL_{renal}(\text{L/hr})$	4.93 ± 1.70	5.12 ± 1.76

Table 3. Urine volume, Na⁺ and Cl⁻ amount excreted in 24 hr urine after single oral administration in normal subjects and patients with nephrotic syndrome.

	Normal Subjects	Patients with Nephrotic Syndrome
24 hr urine volume	6281.2 ± 974.6 ml/day	2061.3 ± 747.4 ml/day*
24 hr Na ⁺ amount	326.0 ± 49.3 mEq/day	169.6 ± 118.4 mEq/day*
24 hr Cl ⁻ amount	334.6 ± 39.2 mEq/day	176.0 ± 107.8 mEq/day*
24 hr bumetanide		
total amount	0.71 ± 0.09 mg/day	0.71 ± 0.11 mg/day
free amount	0.71 ± 0.09 mg/day**	0.52 ± 0.07 mg/day*

Values are presented as mean ± S.D.

*P < 0.05 compared to patients with nephrotic syndrome

**Most bumetanide excreted in urine in normal patients is assumed to be excreted by free form

Table 4. Urine volume, Na⁺ and Cl⁻ to bumetanide excretion amount ratio in 24hrs urine after single oral administration of 1 mg bumetanide

	Normal Subjects	Patients with Nephrotic Syndrome
Urine volume/T.B.	9.01 ± 2.00	3.01 ± 1.30*
Na ⁺ amount/T.B.	0.46 ± 0.11	0.25 ± 0.16*
Cl ⁻ amount/T.B.	0.47 ± 0.09	0.25 ± 0.16*
Urine volume/F.B.	9.01 ± 2.00	3.62 ± 1.62*
Na ⁺ amount/F.B.	0.46 ± 0.11	0.35 ± 0.01*
Cl ⁻ amount/F.B.	0.47 ± 0.09	0.33 ± 0.05*

T.B. : total bumetanide, F.B. free bumetanide

*p < 0.05 when compared to normal subjects

었다(p < 0.05). 또한 sodium 이온과 chloride 이온의 24시간 요중 배설량은 신 증후군 환자에서 각각 169.6 ± 118.4, 176.0 ± 107.8 mEq로, 정상인 326.0 ± 49.3, 334.6 ± 39.2 mEq에 비해 적었다(Table 3).

24시간 동안 요중으로 배설된 bumetanide 총량에 대한 24시간 요량의 비율은 신 증후군 환자에서 3.01 ± 1.30으로 정상인의 9.01 ± 2.00에 비해 적었으며, 신 증후군 환자에서 각각 24시간 요중 배설 bumetanide 총량에 대한 sodium 이온 및 chloride 이온의 24시간 배설량 비율도 각각 0.25 ± 0.16, 0.25 ± 0.15로 정상인의 0.46 ± 0.11, 0.47 ± 0.09에 비해 적었다. 신 증후군 환자에서 24시간 동안 배설된

유리 bumetanide에 대한 24시간 요량, sodium 이온 및 chloride 이온의 배설량 비율도 3.62 ± 1.62, 0.35 ± 0.01, 0.33 ± 0.05로 정상인의 9.01 ± 2.00, 0.46 ± 0.11, 0.47 ± 0.09에 비해 적었다(Table 4).

유리 bumetanide의 단위 시간당 요중 배설량에 대한 단위 시간당 배설 요량의 평균치 변화를 시간경과에 따라서 도시하면 Fig. 2-(A)와 같은 clockwise hysteresis를 보여 bumetanide에 대한 급성 내성이 존재함을 보여주었으며, 단위 시간당 sodium 이온 및 chloride 이온의 요중 배설량도 같은 양상을 보였다(Fig. 2-(B)&(C)).

이러한 약물 내성을 고려한 약력학 모델에서 산출한

Fig. 2. Response curve for free bumetanide excretion rate after oral administration of 1 mg bumetanide in normal subjects (○) and patients with nephrotic syndrome (●). Data is given as mean values*standard error.

(A) Urine flow response, (B) Urinary sodium excretion rate, and (C) Urinary chloride excretion rate.

약력학적 파라미터는 Table 5와 같다. Table 5에서 알 수 있듯이 정상인의 경우 약력학적 모델이 Emax 모델과 linear 모델에 모두 잘 적용되었으나 환자군에서는 모두 linear 모델에 적합하였다. 모델의 선택은 Akaike information criteria (AIC)를 기준으로 하였다. Linear 모델에 잘 부합되는 정상인과 신 중후군환자의 비교에 있어서 단위 시간당 요중 bumetanide 배설량에 대한 sodium 이온과 chloride 이온 배설량의 기울기(slope)는 각각 $2.06 \pm 1.17 \text{ mEq/min}$ 대 $1.32 \pm 3.13 \text{ mEq/min}$, $1.47 \pm 1.18 \text{ mEq/min}$ 대 $1.39 \pm 3.05 \text{ mEq/min}$ 으로 큰 차이가 없었으나 단위 시간당 배설 요량의 기울기는 정상인은 $5.17 \pm 0.84 \text{ ml/min}$, 환자 군에서는 $3.54 \pm 1.41 \text{ ml/min}$ 으로 상당히 저하된 양상을 보였다.

고 찰

본 연구에서 정상인 8명과 신 중후군 환자 8명을 대상으로 bumetanide를 경구투여한 후의 혈중 및 단위 시간에 따라 수집한 뇨에서의 약물농도 결과로 얻어진 bumetanide의 약동학적 파라미터들은 기존의 연구보고들과의 비교에서 큰 차이가 없었다¹⁵⁻¹⁷⁾. Marcantonio 등의 보고에 의하면 백인 정상인에 bumetanide 1mg을 경구투여하였을 경우 30~90분 후에 혈장 최고 농도 $48 \pm 8.7 \text{ ng/ml}$ 에 도달한다고 보고하였는데, 본 연구에서는 정상인에서 약물투여 96분 후에 혈장 최고 농도 $76.33 \pm 20.40 \text{ ng/ml}$, 신 중후군 환자에서는 132분 후에 $76.22 \pm 18.62 \text{ ng/ml}$ 에 도달하여 Marcantonio의 보고보다 조금 높은 최고 혈중농도를 보였다. 또한 혈장농도 곡선하 면적 (AUC)도 정상인에서 $184.68 \pm 124.45 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$, 신 중후군 환자에서 $197.76 \pm 101.06 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 로 두 군 간에는 차이가 없었으나 Marcantonio가 보고한 정상인에서의 AUC $122.9 \pm 22.7 \text{ ng} \cdot \text{hr/ml}$ 보다는 큰 결과를 얻었는데 이는 본 연구에서 최고 혈장농

Table 5. Pharmacodynamic parameters following single oral administration of 1 mg bumetanide in normal subjects and patients with nephrotic syndrome.

		Linear Model			Emax Model				
		Eo	Slope	k		Emax	ER ₅₀	Eo	k
Normal	U.V(n=2)	3.39±0.83	5.17±0.84	0.18±0.10	(n=6)	27.07±8.56	0.44±0.56	2.11±1.60	5.11±2.65
	Na ⁺ (n=4)	0.91±0.03	2.06±1.77	4.19±2.63	(n=4)	2.15±0.44	0.30±0.36	0.07±0.06	7.89±5.23
	Cl ⁻ (N=3)	0.08±0.04	1.47±1.18	3.05±1.91	(n=5)	2.70±0.07	0.34±0.50	0.07±0.06	8.76±4.61
Nephrotic syndrome	U.V(n=8)	0.98±1.09	3.54±1.41	1.80±1.06					
	Na ⁺ (n=8)	0.08±0.12	1.32±3.13	0.86±1.96					
	Cl ⁻ (n=8)	0.04±0.05	1.39±3.05	0.94±2.01					

: Urine Volume

도 및 도달 시간이 Marcantonio의 측정치 보다 크기 때문인 것으로 생각되었다.

정상인 군과 신 증후군 환자 군간 약동학적 특성 비교에서도 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 2). 대표적 약동학 파라미터인 총 청소율과 신장 청소율을 볼 때 정상인 군의 경우 6.87±2.44L/hr, 4.93±1.70L/hr이고 신 증후군 환자의 경우 6.80±2.34L/hr, 5.12±1.76L/hr로 거의 유사한 값을 보여주었으며, 다른 연구자의 보고 7.66±5.30, 4.98±3.4L/hr 와도 큰 차이가 없었다^{15,16)}. 계산된 bumetanide의 혈장 반감기($t_{1/2}$) 또한 정상인에서 0.99±0.24hr, 신 증후군 환자 1.11±0.29 hr로 비교하여 차이가 없었다. Bumetanide에 대한 상기 결과는 종래의 furosemide에 대한 정상인과 신 증후군 환자간에서 유의한 약동학 특성의 차이를 볼 수 없었던 연구 결과와 유사한 양상임을 알 수 있었다.

본 연구 약력학 분석상 신 증후군 환자에서 24시간 동안 배설된 요량 및 sodium, chloride 이온 배설량은 정상인과의 비교에서 유의하게 적었고($p<0.05$, table 3), 요중으로 배설된 bumetanide 총량 및 유리 bumetanide에 대한 요량, sodium 이온 및 chloride 이온의 배설량 비율도 신 증후군 환자 군이 정상인 군에 비해 유의하게 적은 값을 나타냈다($p<0.05$, table 3). 뇨로 배설되는 bumetanide 양이 두 군에서 차이가 없을 때 상기 결과들이 나타난 것으로 신

증후군 환자에서 bumetanide에 대한 이뇨 저항 현상이 명백히 나타나는 것을 확인 할 수 있었다.

정상인과 신 증후군 환자 모두에서 단위 시간당 bumetanide 요중 배설량에 대한 요량, sodium 및 chloride 이온 배설량의 변화는 경시적으로 clock-wise hysteresis를 보여 bumetanide 사용시 약력학적 반응은 두 군 모두에서 급성 내성이 존재함을 보여 주었다(Fig. 2). 그러나 두 군에서 나타난 내성 양상은 신 증후군 환자 군에서 정상인 군에 비해 반응이 훨씬 감퇴되어 있는 것으로 나타났다. Hysteresis를 보정하는 급성 내성 모델을 이용한 약력학적 분석 결과상에서 정상인 군은 Emax 모델과 linear 모델이, 신 증후군 환자 군에서는 linear 모델이 요량, sodium 및 chloride 이온의 단위 시간당 배설량과 bumetanide 배설량의 상관 관계를 가장 잘 설명하는 것으로 나타났다(Table 5).

앞서 기술한 신 증후군 환자 군과 정상인 군에서의 약동학적 파라미터의 비교에서 유의한 차이가 없었고, 24시간 동안 요중으로 배설된 bumetanide의 총량도 두 군에서 거의 유사한 양이 배설되는 것으로 확인되었으며, 활성형으로 여겨지는 유리 bumetanide의 배설량이 bumetanide 배설 총량에 대하여 정상인 100%, 신 증후군 환자 군 73%로 다소 차이가 있었으나, 요량의 경우 신 증후군 환자 군이 정상인의 33%에 지나지 않고 Na과 Cl의 배설량도 유리약물 감소

세에 비해 상당히 감소되어 있다는 사실을 감안할 때 신 증후군 환자에서 이뇨제 저항 유발 요인으로 bumetanide가 뇨에 과량으로 배설되는 알부민을 비롯한 세뇨관 내 단백질과 결합하여 활성형인 유리약물 농도가 저하되어 저항이 생기는 것 이외에 bumetanide에 대한 신세뇨관 내 약물 수용체의 양적 또는 질적 저하가 중요한 다른 요인으로 존재할 것으로 판단되었다. 단위 시간 당 요중 유리 bumetanide 평균 배설량에 대한 단위 시간당 요량, sodium 이온 및 chloride 이온 평균 배설량을 시간 경과에 따라 도시한 Fig. 2에서 알 수 있듯이 신 증후군 환자와 정상인 양 군 모두에서 급성 내성을 보이기는 하나, 신 증후군 환자가 정상인에 비해 요량, sodium 이온 및 chloride 이온 반응도가 훨씬 저하되어 있는 현상은 신세뇨관 내 약물 수용체 수준의 변화로 인한 약물 반응도의 감소에 기인한 이뇨제 저항 발생을 부연하는 사실로 사료되었다.

요 약

연구배경 :

본 연구는 신 증후군 환자에서 환상이뇨제(loop diuretics) bumetanide에 대한 이뇨 저항현상이 나타나는지의 여부를 검토하고, 신 증후군 환자에서의 환상이뇨제에 대한 이뇨 저항증의 기전을 밝히기 위하여 약동학/약력학 모델링을 시행하였다.

방 법 :

8명의 정상인과 8명의 신 증후군 환자에서 bumetanide 1mg을 1회 경구투여한 후 체액 평형을 유지하면서 혈장 bumetanide의 약동학적 분석 및 bumetanide의 단위 시간당 요중 배설량, 단위 시간당 요량 및 전해질 배설량 측정을 시작하였다. 또한 신 증후군 환자에서의 이뇨 저항증 여부를 검토하기 위해 단위 시간당 유리 bumetanide의 요중 배설량과 요량, 전해질 배설량 등을 약력학적 모델(Hill's model, Emax model, linear model)로 검토하여 그

기전을 추정하였다.

결 과 :

Bumetanide 경구투여시 약동학적 파라미터는 신 증후군 환자와 정상인 간에 차이를 보이지 않았다.

Bumetanide 1회 경구투여 후 24시간동안 요중으로 배설된 bumetanide 총량은 정상인에서 $0.71 \pm 0.09\text{mg}$, 신 증후군 환자에서 $0.71 \pm 0.11\text{mg}$ 로 같았고, 정상인 및 신 증후군 환자에서 bumetanide의 총 청소율 및 신 청소율은 차이를 보이지 않았다. 그러나, 신 증후군 환자에서 bumetanide 1mg 경구투여 후 24시간 동안 요량, sodium 이온 및 chloride 이온 배설량은 정상인에 비하여 유의하게 적었다. 24시간 동안 요중으로 단위 시간당 배설된 bumetanide 총량 및 유리 bumetanide 양에 대한 요량, sodium 이온 및 chloride 이온의 요중 배설량은 clockwise hysteresis를 보여 양 군 모두에서 bumetanide에 대한 급성 내성(acute tolerance)이 나타났다. 그리고, 신 증후군 환자에서 유리 bumetanide에 대한 요량, Na^+ , Cl^- 배설량의 비는 정상인에 비하여 유의하게 적었다. 급성 내성을 감안하여 이뇨효과의 약력학적 성상 검토 시 환자 군에서는 linear 모델, 정상인에서는 Emax 모델 및 linear 모델에 의해 요량, sodium 이온 및 chloride 이온의 단위 시간당 요중 배설량이 잘 설명되었다.

결 론 :

신 증후군 환자에서 요량, sodium 및 chloride 이온 배설량의 감소 정도는 bumetanide의 세뇨관내 단백질결합에 의한 활성형 유리 bumetanide 양의 감소 정도에 비해 크고, 단위 시간당 유리 bumetanide 요중 배설량에 대한 요량, sodium 및 chloride 이온 배설량이 적어서, 신 증후군 환자에서 bumetanide 저항증은 신세뇨관 내 약물과 알부민의 결합에 의한 유리 bumetanide 농도 저하뿐만 아니라 신세뇨관 내 약물 수용체 수준의 변화로 인한 양적, 질적 약물 반응도의 감소에 기인하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Keller E, Hoppe-Seyler G, Schollmeyer P. *Disposition and diuretic effect of furosemide in the nephrotic syndrome. Clin Pharmacol Ther.* 1982, 32:442-449.
2. Brenner BM, Rector FC. *The Kidney. 4th ed, Brenner BM, Rector FC, W.B.Saunders, Philadelphia, 1991:2123*
3. Kirchner KA, Voelker JR, Brater DC. *Intratubular albumin blunts the response to furosemide—a mechanism for diuretic resistance in the nephrotic syndrome. J Pharmacol Exp Ther.* 1990, 252:1097-1101
4. Halladay SC, Sipes IG, Carter DE. *Diuretic effect and metabolism of bumetanide in man. Clin Pharmacol Ther.* 1977, 22(2):179-188.
5. Marcantonio LA, Auld WHR, Murdoch WR, Purohit R, Skellern GG, Howes CA. *The pharmacokinetics and pharmacodynamics of the diuretic bumetanide in hepatic and renal disease. Br J Clin Pharmac.* 1983, 15:245-252.
6. Holford NHG, Sheiner LB. *Understanding the dose-effect relationship: clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. Clin Pharmacokinet.* 1981, 6:429-453.
7. Wells TG, Hendry IR, Kearns GL. *Measurement of bumetanide in plasma and urine by high performance liquid chromatography and application to bumetanide disposition. J Chromatogr.* 1991, 570:235-242.
8. Boekens H, Bourscheidt C, Müller RF. *Determination of bumetanide in plasma by high performance liquid chromatography. J Chromatogr.* 1988, 434:327-329.
9. Ameer B, Burlingame MB. *Determination of bumetanide in human plasma and urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Analytical Letters.* 1988, 21:1589-1601.
10. Marcantonio LA, Auld WHR. *Determination of the diuretic bumetanide in biological fluids by high performance liquid chromatography. J Chromatogr.* 1980, 183:118-123.
11. Smith DE. *High performance liquid chromatographic assay for bumetanide in plasma and urine. J Pharmac Sci.* 1982, 71:520-523.
12. Bradford MM. *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem.* 1976, 72:248-254.
13. Jaffe M. *Ueber den Niederschlag welchen Pikrinsäure in normalen Harn erzeugt and über eine neue Reaction des Kreatinins. Z Physiol Chem.* 1886, 10:391-402.
14. Alvan G, Hammarlund-U M, Odling B. *The validity of the sigmoid Emax and efficiency concept in diuretic studies. Br J Clin Pharmac.* 1991, 31:210-211.
15. Davis DL, Lant AF, Millard NR, Smith AJ, Ward JW. *Renal action, therapeutic use, and pharmacokinetics of the diuretic bumetanide. Clin Pharmacol Ther.* 1974, 15:141-153.
16. Pentikäinen PJ, Neuvonen PJ, Kekki M, Penttilä A. *Pharmacokinetics of intravenously administered bumetanide in man. J Pharmacokinetic Biopharm.* 1980, 8:219-228.
17. Marcantonio LA, Auld WHR, Skellern GG, Howes CA, Murdoch WR, Purohit R. *The pharmacokinetics and pharmacodynamics of bumetanide in normal subjects. J Pharmacokinetic Biopharm.* 1982, 10:393-409.