

새로운 항궤양제(IY-80843과 IY-80845)의 기니픽 위점막세포 H₂-수용체에 대한 결합반응연구

김승희[‡] · 우승희 · 정숙영 · 문애리 · 이송득 · 김동연* · 이승룡*
국립보건안전연구원, *일양약품 중앙연구소

(Received February 23, 1995)

Study on the Binding of New Anti-ulcer Agent(IY-80843 and IY-80845) to Histamine H₂-Receptor in Isolated Guinea Pig Gastric Glands

Seung Hee Kim[‡], Seung Hee Woo, Sook Young Jung, Aree Moon, Song Deuk Lee,
Dong Yeon Kim* and Seung Yong Lee*

Department of Biochemical Pharmacology, National Institute of Safety Research, Seoul 122-020, Korea
*Il-Yang Pharm. Co., Yongin-Kun, Kyungki-Do 449-900, Korea

Abstract – Receptor binding study was carried out as an *in vitro* assay to test the anti-ulcer effect for newly synthesized test compounds(IY-80843 and IY-80845) which were reported to have a strong anti-secretory effect in Shay-ligated rats. The histamine H₂-receptor fraction was prepared from the membranes of the isolated gastric glands in guinea pigs and ³H-cimetidine was used as a radioligand. The binding of ³H-cimetidine to the membranes of the isolated gastric glands was found to be time dependent, saturable and confined to a single population of binding sites with K_D value of 0.13±0.03 μM and B_{max} value of 52.5±1.5 pmol/mg. From the competition experiments, both IY-80843 and IY-80845 were shown to have a strong blocking effect against binding of ³H-cimetidine to the histamine H₂-receptor. The IC₅₀, K_i, and Hill coefficient(nH) values for IY-80843 were 0.18±0.02 μM, 0.16±0.02 μM, and 0.97±0.15, respectively and those values for IY-80845 were 0.27±0.02 μM, 0.24±0.02 μM, and 0.82±0.13, respectively. The results demonstrated that the blocking effects of IY-80843 and IY-80845 were 7 and 5 times stronger than that of cimetidine, respectively. Therefore, the newly synthesized compounds, IY-80843 and IY-80845, appeared to be the highly potent competitive inhibitors of histamine on the H₂-receptor.

Keywords □ N-(imidazolyl phenyl)formamide derivatives, H₂-antagonist, H₂-receptor binding

히스타민은 세포막에 존재하는 수용체를 통하여 여러가지 생리적인 반응을 중재하며¹⁾ 히스타민에 의한 기관지 및 장평활근의 수축억제효과는 diphenhydramine, mepyramine에 의하여 차단됨이 발견되었다. 그러나 이 약물은 위산분비 촉진작용, 심박수의 증가작용 및 흰쥐 자궁의 수축억제작용 등의 효과를 억제하지는 못하였다. 이러한 관찰결과, 히스타민의 작용을 매개하는 수용체는 2가지가 있다는 것을 알아내었고 그중 하나만이 diphenhydramine 및 그 유사 화합물의 항히스타민제에 의해 차단된다고 보고

되었다.²⁾ Catecholamine계에 있어서 α-차단약은 구조적으로 noradrenaline과 유사점이 없는 반면에 β-차단약은 β-작용제인 isoprenaline과 구조적으로 매우 유사하였다. 마찬가지로 히스타민에 있어서도 재래의 항히스타민제(H₁ 길항제)는 히스타민과 구조유사성이 거의 없었고 따라서 히스타민의 non-H₁ 작용의 길항제는 히스타민과 구조적으로 밀접한 화합물임에 착안하여 결국 히스타민 구조에서 methyl group을 치환시킨 화합물을 선두로 하여 약 700여종의 항히스타민제가 합성되었다.³⁾ 그중에서 burinamide와 그후 methiamide가 개발되었다.^{4) 6)} 그러나 methiamide는 십이지장궤양에 대한 치료량이 확립

[‡]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

되기는 하였지만 가끔 가역적인 granulocytopenia가 생기기 때문에 통증이 심한 환자에게는 사용이 제한되었다.⁷⁾ 이러한 부작용은 화합물의 화학구조인 thiourea group에서 기인됨이 밝혀졌고 따라서 non-thiourea 화합물인 cimetidine이 개발되었다.⁸⁾ Cimetidine은 수년간 세계시장 판매 1위에 올라 있었으며 그 후 famotidine, ranitidine 등이 개발되어 현재까지 위궤양 치료제로서 각광을 받고 있다.¹¹⁾

위산은 위점막에 존재하는 parietal cell에서 분비되며 세포막에는 가스트린, 아세틸콜린, 히스타민 자극에 대응하는 세가지 수용체가 존재하는 것으로 밝혀졌다. 이들 분비자극물 가운데 히스타민은 위점막 세포에 존재하는 H_2 수용체와의 결합반응을 통하여 cAMP를 second messenger로 하여 위산분비를 조절한다고 보고되었다.¹¹⁾ Burimamide, metiamide, cimetidine 등은 강력하고 선택적인 H_2 길항제로 알려져 있으나 이들 화합물과 연결된 구조의 화합물을 합성하여 좀더 뛰어난 효과와 부작용이 감소된 약물을 개발하고자 저자 등은 N-치환된 N-(imidazolyl phenyl)formamide 유도체를 합성하였다. 이들 후보물질의 *in vivo* 약효실험결과 강력한 위산분비 억제효과와 산도저하효과를 용량의존적으로 나타낸 두가지 화합물(IY-80843, IY-80845)에 대하여 위점막세포의 수용체 결합반응 실험을 통하여 항궤양제의 생화학적 약효평가 연구를 수행하였다.

실험방법

실험동물

국립보건안전연구원 실험동물 관리실로부터 250~400g의 수컷 기니픽을 공급받아 발육상태가 양호하고 건강한 동물을 실험에 사용하였다. 동물사육조건은 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 5\%$, 명암교대 12시간으로 하였다. 물과 사료는 자유롭게 섭취할 수 있도록 충분히 공급하였다.

시약 및 재료

신규 합성된 H_2 -길항제 후보물질인 IY-80843, IY-80845은 일약약품에서 제공받았으며 ^3H -cimetidine (21 Ci/mmol)은 Amersham/Searle Co. (Arlington Heights, IL, U.S.A.)으로부터, Hank's-MEM, collagenase, bovine serum albumin, HEPES는 Gibco

(Gaithersburg, MD, U.S.A.)로부터, scintillation cocktail은 Packard(Meriden, CT, U.S.A.)로부터, glass-fiber filter는 Inotech(Wohlen, Switzerland)으로부터, protein assay dye reagent는 Bio-Rad(Richmond, CA, U.S.A.)로부터 구입하여 사용하였다. 그 외의 모든 시약은 특급을 사용하였다.

기니픽 위점막세포 분리

체중 250~400g의 건강한 기니픽을 단두 도살하여 위를 적출한 후 Berglinth와 Öbrink의 방법¹⁸⁾과 이전에 기술된 방법¹⁹⁻²¹⁾을 약간 변형하여 위점막세포를 분리하였다. 적출한 위를 대만부에 따라 절개하여 내용물을 대략 제거하고 ice-cold 0.9% NaCl로 세척하였다. Spatula를 사용하여 위점막층(fundic mucosa)을 근층으로부터 분리해낸 후 oxygenated Hank's-MEM 용액(with 0.2% BSA, 25 mM HEPES, pH 7.4)으로 3회 세척하였다. 0.1% collagenase가 첨가된 위와 동일한 Hank's-MEM용액으로 37°C 에서 30분 동안 흔들어주면서 배양한 후 fresh Hank's-MEM 용액으로 갈아준 후 30분간 더 배양하였다. Ice-cold Hank's-MEM 용액으로 3회 세척하여 collagenase를 제거한 후 trypan blue를 사용하여 현미경으로 세포의 생존율을 측정하였다.

수용체 분획제조

분리된 위점막세포를 3 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)를 포함하는 0.25M sucrose로 균질화하였다. 700 x g에서 10분 원심분리하여 상등액을 취하고 45,000 x g에서 20분동안 원심분리하여 pellet을 취한 후 동일 buffer로 부유시켜 다시 원심분리하여 취한 pellet을 동일 buffer로 단백질 농도가 10 mg/ml가 되도록 부유시켜 0.5 ml씩 분주하여 -70°C 에서 보관하였다가 약물결합실험에 사용하였다.

약물 수용체 결합실험

약물수용체 결합실험은 여과법에 의해 행하였다. 14 mM Tris-HCl(pH 7.4), 50 μM CuCl_2 , 20 nM ^3H -cimetidine 존재하에 수용체 단백질을 50~100 μg 가하여 4°C 에서 1시간 배양하여 평형결합에 도달하도록 하였다. Ice-cold 14 mM Tris-HCl 2 ml로 반응을 종결시켰다. 수용체에 결합된 방사능은 여과장치(Inotech Cell Harvester)를 사용하여 glass-fiber fi-

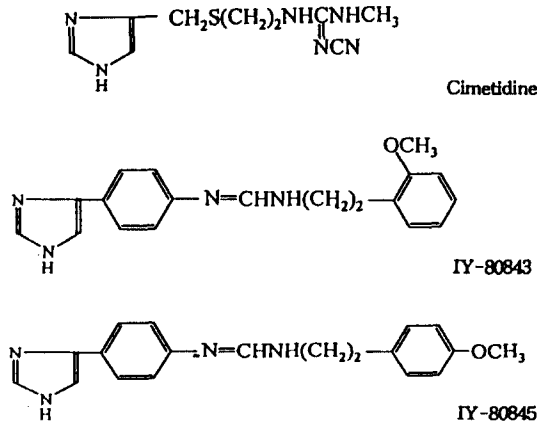


Fig. 1—Chemical Structures of Cimetidine and Newly Synthesized Compounds(IY-80843, IY-80845) Used.

lter(Type G-10, 50 pcs)를 통하여 여과시킨 후 14 mM Tris-HCl (pH 7.4) 완충용액으로 3회 세척하였다. Filter를 vial에 넣어 건조시킨 후 scintillation cocktail 용액 5ml/씩 넣어 흔들어서 12시간 이상 방치한 후 liquid scintillation counter로 방사능을 측정하였다. 이때 ³H-cimetidine의 비특이결합은 0.1 mM cimetidine 존재하에 측정하였으며 총결합에서 비특이결합을 뺀으로써 특이결합을 산출하였다.

결과분석

포화결합실험—³H-cimetidine 결합의 해리상수(K_D)와 결합부위농도(B_{max})는 ³H-cimetidine 각 농도에서의 ³H-cimetidine 결합(B)을 $B = \frac{KD \times B_{max}}{F + KD}$ (F: ³H-cimetidine의 free concentration)에 적용시켜 Scatchard plot하여 구하였고, ³H-cimetidine의 Hill coefficient는 ³H-cimetidine 포화결합 실험성적을 $\log \frac{Y}{1-Y} = n \times \log \frac{F}{K_D}$ (Y=B/B_{max}, n=Hill coefficient)식에 적용시킨 후에 각점을 잇는 회귀선의 기울기로부터 구하였다.

경쟁적 결합실험—비표지약물의 해리상수(K_i)는 Cheng and Prusoff²³⁾의 방법에 따라 ³H-cimetidine 결합의 50%를 억제하는 비표지약물의 농도(IC₅₀), 사용한 ³H-cimetidine의 농도(F), ³H-cimetidine의 해리상수(K_D)로부터 유도된 $K_i = \frac{IC_{50}}{1 + F/K_D}$ 식에 의하여 산출하였다. ³H-cimetidine결합 억제에 대한 비표지약물의 Hill coefficient는 여러농도의 표지약물 존재하에서 구해진 ³H-cimetidine결합 억제정도를

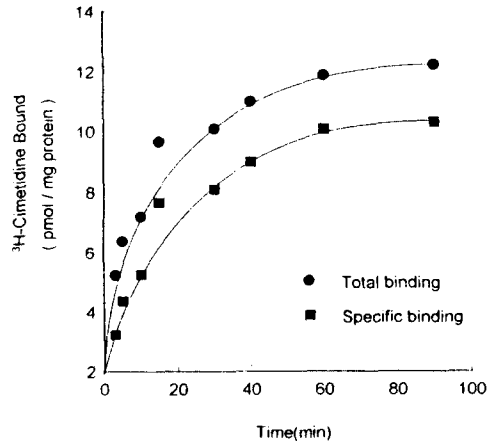


Fig. 2—The Effect of Incubation Time on Specific ³H-Cimetidine Binding in the Membranes of Isolated Guinea Pig Gastric Glands. Membranes were incubated with ³H-cimetidine(20 nM) in the presence of 50 μM CuCl₂ for 60 min at 4°C. Specific binding was calculated by subtracting the non-specific binding measured in the presence of unlabelled ³H-cimetidine(0.1 mM) from total binding. Data are expressed as pmol/mg protein.

$\log(I/100-I) = n \times \log[D] - \log[IC_{50}]$ (I: 비표지약물 일정농도 [D]에서의 ³H-cimetidine 결합억제 %, n: Hill coefficient)식에 적용시켜 Hill plot하여 그 기울기로부터 구하였다.

결 과

시간경과에 따른 ³H-cimetidine 결합—³H-cimetidine의 평형결합 시간을 조사하기 위하여 20 nM ³H-cimetidine 존재하에서 시간경과에 따른 ³H-cimetidine결합정도를 측정하였다. 위벽세포의 히스타민 수용체에 대한 ³H-cimetidine의 특이결합은 시간경과에 따라 증가되다가 45분에 거의 평형에 도달하였으며 비특이결합은 반응시간에 거의 영향을 받지 않았다 (Fig. 2). 따라서 이후의 수용체에 대한 ³H-cimetidine의 평형결합실험은 평형에 도달하는 충분한 시간인 60분으로 하였다.

위 히스타민 수용체에 대한 ³H-cimetidine 결합특성—위벽세포에 존재하는 히스타민 수용체에 대한 ³H-cimetidine 결합의 친화력과 결합부위 농도를 측정하기 위하여 ³H-cimetidine 농도변화(1-500 nM)에

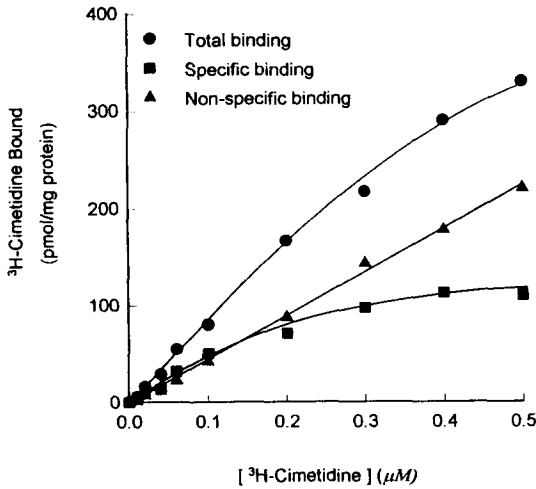


Fig. 3—Saturation Curve of ³H-Cimetidine Binding in the Membranes of Guinea Pig Gastric Glands. Membranes(100 μg protein) were incubated with various concentrations of ³H-cimetidine in the absence(total binding) or presence(non-specific binding) of 0.1 mM cimetidine for 60 min at 4°C in a final volume of 250 μl. Each point represents the mean value from three experiments performed in duplicate.

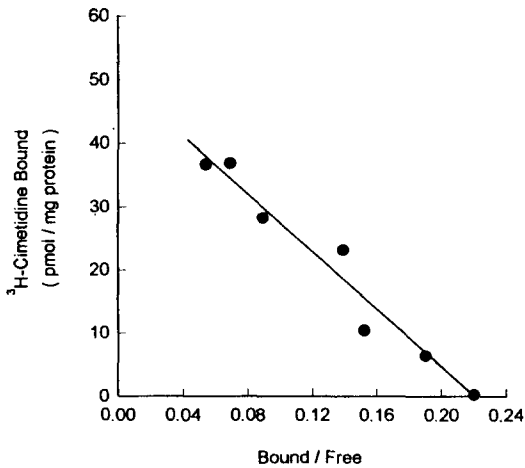


Fig. 4—Scatchard Plot of Specific Binding to the Membranes of Isolated Guinea Pig Gastric Glands. Bound ³H-cimetidine was plotted as a function of bound ³H-cimetidine(B)/free ³H-cimetidine (F).

다른 ³H-cimetidine 포화결합실험을 실시하였다. ³H-cimetidine의 총결합은 ³H-cimetidine 농도 증가에

Table I—Binding parameters of ³H-cimetidine to the membranes of isolated guinea pig gastric glands

K _D (μM)	B _{max} (pmol/mg)	nH
0.13± 0.03	52.5± 1.5	0.93± 0.09

K_D and B_{max} were calculated from Scatchard analysis. Hill coefficient(nH) was calculated from Hill plot.

Values are the mean± SD of three assays.

따라 증가하다가 점차 증가율이 둔화되어 고농도에서는 완만한 증가를 보였으며 비특이결합은 ³H-cimetidine 농도에 비례하여 증가하였다. ³H-cimetidine 총결합에서 비특이결합을 뺀 특이결합은 ³H-cimetidine 농도에 따라 포화성을 나타내었다 (Fig. 3). 실험결과를 Scatchard 분석하였을 때 위벽세포의 히스타민 수용체에 대한 ³H-cimetidine의 K_D치는 약 0.13± 0.03 μM 이었고 결합부위 농도는 약 52.5± 1.5 pmol/mg이었다. Hill plot에서 ³H-cimetidine의 Hill coefficient는 0.93± 0.09 이었다(Fig. 4, Table I).

시험물질(IY-80843, IY-80845)이 수용체에 대한 ³H-cimetidine 결합에 미치는 영향—신규 합성된 H₂ 길항제 후보물질중에서 위산분비억제효과가 현저하게 나타난 두가지 시험물질인 IY-80843과 IY-80845를 사용하여 위벽세포의 수용체 분획에 대한 ³H-cimetidine 결합에 미치는 영향을 측정하였다. 시험물질의 농도변화에 따른 ³H-cimetidine과의 경쟁적 결합실험 결과, 10 nM IY-80843에서 ³H-cimetidine 결합이 억제되기 시작하여 용량의존적으로 억제되어 10 μM에서는 거의 100% 억제되었으며 ³H-cimetidine 평형결합의 50%를 억제하는 IY-80843의 농도는 약 0.18 ± 0.02 μM이었다. 본 실험에 사용된 ³H-cimetidine의 농도를 고려하여 계산된 IY-80843의 K_i치는 0.16± 0.02 μM이었으며 상당히 강한 H₂-수용체 차단작용을 나타내었다(Fig. 5, Table 2). IY-80843의 ³H-cimetidine 결합억제곡선을 분석하여 산출한 IY-80843의 Hill coefficient(nH)는 0.97± 0.15이었으며(Fig. 6), 따라서 IY-80843은 위벽세포의 단일 히스타민 수용체 결합부위에 반응하여 ³H-cimetidine 결합을 경쟁적으로 억제하는 것으로 추정되었다. IY-80845의 경우에도 Fig. 5에서 보는 바와 같이 여러 농도의 IY-80845 존재하에서 ³H-cimetidine과의 경쟁적 결합억제곡선을 분석하여 K_i치와 Hill coefficient를 구하였다. 10 nM에서 ³H-cimetidine의 결합이 억제되기 시작하여

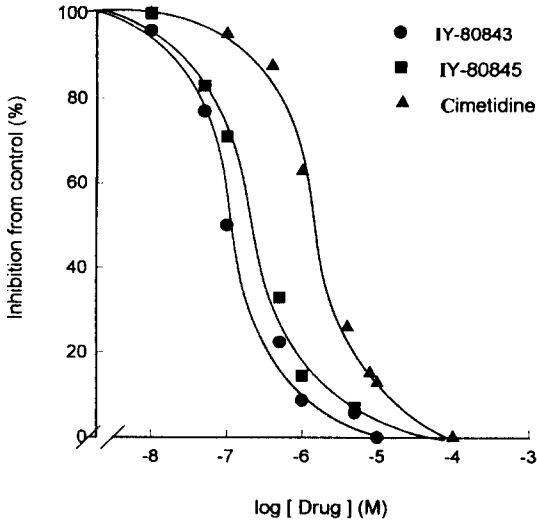


Fig. 5—Inhibition of Specific ³H-Cimetidine Binding to the Membranes of Isolated Guinea Pig Gastric Glands by Cimetidine and Other Compounds. Prepared membrane was incubated with ³H-cimetidine(20 nM) in the presence of 50 μM CuCl₂ for 60 min at 4°C. Data are expressed as a percentage of the specific binding obtained with ³H-cimetidine alone.

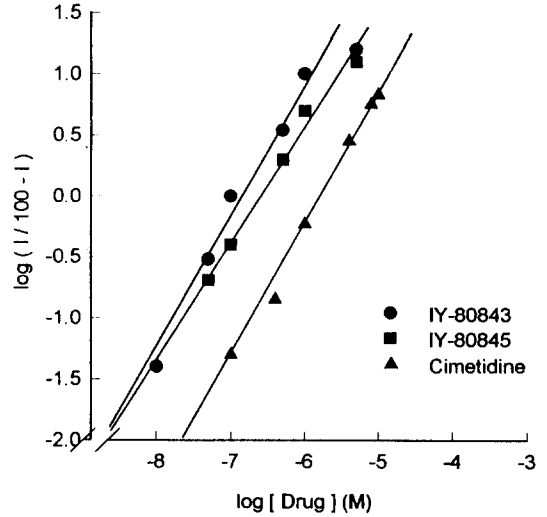


Fig. 6—Hill Plot of the Compositive Binding of ³H-Cimetidine and Inhibitors.

Table II—Inhibition of ³H-cimetidine binding to the membranes of isolated guinea pig gastric glands by test compounds

Test Compounds	IC ₅₀ (μM)	Ki(μM)	nH
Cimetidine	1.33 ± 0.75	1.15 ± 0.65	0.95 ± 0.23
IY-80843	0.18 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.97 ± 0.15
IY-80845	0.27 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.82 ± 0.13

IC₅₀: Concentration of test compounds which inhibited 50% of the specific ³H-cimetidine binding in the presence of 20 nM ³H-cimetidine.

Ki: Calculated from $Ki = IC_{50} / (1 + F/K_D)$.

nH: Hill coefficient(nH) calculated from Hill plot of the inhibition curves shown in Fig. 5 and Fig. 6.

Values are the mean ± SD of three assays.

용량의존적으로 억제되었으며 100 μM에서 거의 대부분이 억제되었다. IC₅₀치는 0.27 ± 0.02 μM, Ki치는 0.24 ± 0.02 μM이었으며 이는 cimetidine보다 5배 강한 histamine H₂-수용체 차단작용을 나타내었다. IY-80845의 Hill coefficient는 0.82 ± 0.13이었다(Fig. 6).

고찰

수용체에 대한 약물의 친화력을 *in vitro*에서 측정하여 약물의 약리적인 반응을 예측하고 약리기전을 검토하고자 약물-수용체 결합반응 실험을 실시하였다. 본 실험에 사용된 시험물질 IY-80843과 IY-80845는 N-(imidazolyl phenyl)formamide 유도체로서 흰쥐를 사용한 *in vivo* 유문결찰실험에서 현재 시판 중인 cimetidine, ranitidine, famotidine보다 강력한 약효를 나타낸 이 일양약품 주식회사의 약리실험팀에 의해 보고되었으며,²³⁾ IY-80843과 IY-80845의 30 mg/kg투여군에서 위액분비억제효과가 famotidine보다 각각 57%, 46% 높았고 산도저하 효과는 각각 31%, 27% 높은 경향을 보임이 보고되었다.²³⁾

히스타민-H₂ 수용체에 대한 길항제와의 여러가지 결합반응실험에서 Bristow 등²⁴⁾은 기니픽의 심장세 포분획을 사용하여 측정하였을 때 cimetidine(imidazol H₂-길항제)은 ³H-ranitidine결합을, ranitidine(non-imidazol H₂-길항제)은 ³H-cimetidine의 결합을 억제할 수 없음을 관찰하였고 Smith 등²⁵⁾도 흰쥐 뇌 조직을 사용한 실험에서 non-imidazol H₂-길항제에 의한 ³H-cimetidine의 치환효과가 나타나지 않음을 관찰하였다. 이와 같은 실험결과는 측정된 수용체의

길항제 결합부위와 히스타민 결합에 의한 생리적인 작용을 중재하는 H_2 수용체 결합부위가 다를 수도 있다는 논쟁을 야기시켰다.²⁶⁾ 그러나 Hersey 등²⁷⁾에 의해 H_2 -수용체에는 적어도 셋 이상의 배위자 결합 부위가 존재하며 히스타민은 모든 부위에 걸쳐 결합하나 길항제는 일부에만 결합함이 제시되었다. 따라서 다른 화학적 구조를 가진 길항제의 수용체 결합부위가 다를 수 있으며 이는 모두 히스타민의 H_2 수용체 결합부위임을 보고하였다. Tanaka 등²⁸⁾도 기니픽 위점막세포의 H_2 -수용체에는 히스타민 결합부위가 여럿이 존재하며 imidazol H_2 -길항제와 non-imidazol H_2 -길항제는 H_2 -수용체의 서로 다른 부위에서 히스타민과 경쟁적으로 결합할 수 있다는 동일한 주장을 제시하였다. 따라서 본 실험에서는 시험물질(IY-80843과 IY-80845)이 imidazol moiety를 가짐을 고려하여 방사성 표지화합물을 cimetidine으로 선정하여 실험하였다.

기니픽 위점막세포의 수용체 분획과 3H -cimetidine의 결합반응은 $4^\circ C$ 에서 $50 \mu M$ $CuCl_2$ 존재하에 수행하였으며 $50 \mu M$ $CuCl_2$ 는 생체 혈중농도와 유사하며 $CuCl_2$ 를 반응액에 첨가하였을 때 현저하게 특이적인 cimetidine의 수용체 결합반응이 증가됨을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 Greenaway 등²⁹⁾에 의해 제시된 바와 같이 첨가된 Cu^{2+} 가 약물과 반응하여 Cu^{2+} -약물 복합체를 형성하여 수용체와의 특이적인 반응을 증가시키는 보조인자로 작용하기 때문인 것으로 사료된다. 모든 3H -cimetidine 수용체 결합반응 실험은 $4^\circ C$ 에서 수행하였으며 이는 예비실험결과 저온에서 3H -cimetidine과 수용체와의 결합이 안정되고 최대로 나타남을 근거로하였고 Tanaka 등²⁸⁾에 의한 실험결과와 일치하였다. 분리된 위점막세포의 H_2 -수용체는 3H -cimetidine에 대하여 결합이 포화성이었으며 결합상수가 $0.13 \mu M$, 결합부위농도가 $52.5 pmol/mg$ 로 나타났다. 3H -cimetidine 포화결합 실험 자료를 Scatchard plot하였을 때 각 점의 직선성이 인정되고 Hill coefficient가 1에 가까웠다는 점은 이 조직에 3H -cimetidine에 대한 일정한 단일결합부위가 존재함을 시사하고 있다. 또한 본연구에서 측정된 K_D 치는 이미 보고²⁷⁾된 값과 유사하였으며 이는 3H -cimetidine의 수용체에 대한 결합성질을 지표로 하여 약물의 수용체에 대한 결합성질을 추정할 수 있음을 제시하였다. 수용체에 대하여 3H -cimetidine과 치환

반응을 나타낸 두가지 시험물질 IY-80843과 IY-80845의 K_i 치는 $0.16 \mu M$ 과 $0.24 \mu M$ 로서 이미 시판되는 H_2 -antagonist인 cimetidine의 K_i 치 $1.33 \mu M$ 에 비해 5배와 7배 강한 H_2 -수용체 차단작용을 나타냈으며 IY-80843이 IY-80845보다 1.5배 정도 차단효과가 크게 나타났다. 이 결과는 시험물질의 methoxy group(CH_3O-)이 para 위치보다 ortho 위치 일때 수용체와의 결합이 용이하여 수용체에 대한 히스타민 치환효과가 크게 나타난 것으로 추정된다. 또한 두가지 시험물질에 의한 3H -cimetidine 결합억제가 농도의존적이고 고농도에서 3H -cimetidine의 결합을 거의 100% 억제하였다는 점은 수용체와의 결합이 가역적이고 포화성 결합임을 시사하며 Hill coefficient가 약 1에 근사함은 결합부위에 3H -cimetidine과 시험물질이 1:1로 경쟁적으로 결합할 것으로 사료된다.

본 연구 결과, 신규합성된 화합물 IY-80843과 IY-80845는 강력한 히스타민 H_2 -길항제이며 이들 화합물에 의한 위산분비억제효과의 약리기전은 히스타민의 H_2 -수용체 결합억제작용에 기인된다고 추측할 수 있다.

결 론

신규 합성된 H_2 -길항제 후보물질 중 Shay 결찰실험을 통하여 위산분비 억제효과가 현저하게 나타난 두가지 화합물(IY-80843, IY-80845)에 대한 위점막세포의 수용체 결합반응실험을 통하여 항체양제의 약효평가 연구를 수행하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 기니픽 위점막 세포로부터 분리된 parietal cell에 대한 3H -cimetidine 결합은 포화성이었으며 결합상수는 $0.13 \pm 0.03 \mu M$, B_{max} 는 $52.5 \pm 1.5 pmol/mg$ 이었다.

2. Parietal cell에 대한 3H -cimetidine의 Hill coefficient는 약 0.93으로서 parietal cell에는 3H -cimetidine에 대하여 친화성이 같은 단일결합부위가 존재하였다.

3. IY-80843과 IY-80845의 IC_{50} 치는 각각 $0.18 \pm 0.02 \mu M$, $0.27 \pm 0.02 \mu M$ 이었고 K_i 치는 각각 $0.16 \pm 0.02 \mu M$, $0.24 \pm 0.02 \mu M$ 이었으며 Hill coefficient는 0.97 ± 0.15 , 0.82 ± 0.13 이었다.

4. 이상 실험결과 IY-80843과 IY-80845는 위점막

세포에 존재하는 H₂-수용체에 차단작용을 나타냈으며 cimetidine에 비해 IY-80843는 약 7배, IY-80845는 약 5배 강한 H₂ 수용체 차단작용을 나타내었다. 따라서 이들 화합물의 위산분비억제 효과의 약리기전은 H₂-수용체 차단작용에 기인된다고 사료된다.

문 헌

- 1) Ash, A. S. F. and Schild, H. O.: Receptors mediating some actions of histamine. *Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, **27**, 427-439, (1966).
- 2) Black, J. W., Duncan, W. A. M., Durant, C. J., Ganellin, C. R. and Parsons, M. E.: Definition and antagonism of histamine H₂-receptors. *Nature (London)*, **236**, 385-390, (1972).
- 3) Ganellin, C. R., Durant, G. J. and Emmett, J. C.: Some chemical aspects of histamine H₂-receptor antagonists. *Fed. Proc.*, **35**, 1924-1930, (1976).
- 4) Durant, G. J., Ganellin, C. R. and Parsons, M. E.: Chemical differentiation of histamine H₁- and H₂-receptor agonists. *J. Med. Chem.*, **18**, 905-909, (1975).
- 5) Black, J. W., Durant, G. J., Emmett, J. C. and Ganellin, C. R.: Sulphur-methylene isomerism in the development of metiamide, a new histamine H₂ receptor antagonist. *Nature (London)*, **248**, 65-67, (1974).
- 6) Grossman, M. I., Konturek, S. J.: Inhibition of acid secretion in dog by metiamide, a histamine antagonist acting on H₂-receptors. *Gastroenterology*, **66**, 517-521, (1974).
- 7) Haggie, S. J., Clarke, C. G., Black, J. W. and Wyllie, J. H.: Clinical experience with metiamide. *Fed. Proc.* **35**, 1948-1952, (1976).
- 8) Brimblecombe, R. W., Duncan, W. A. M., Durant, G. J., Emmett, J. C., Ganellin, C. R. and Parsons, M. E.: Cimetidine-a non-thiourea H₂-receptor antagonist. *J. Int. Med. Res.* **3**, 86-92, (1975).
- 9) Henn, R. M., Isenberg, J. I., Maxwell, V. and Sturdevant, R. A. L.: Inhibition of gastric acid secretion by cimetidine in patients with duodenal ulcer. *N. Engl. J. Med.* **293**, 371-375, (1975).
- 10) Winship, D. H.: Cimetidine in the treatment of duodenal ulcer: Review and commentary. *Gastroenterology*, **74**, 402-406, (1978).
- 11) Bradshaw, J., Brittain, R. T. and Clitherow, J. W.: Ranitidine(AH 19065): A New potent, selective histamine H₂-receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.*, **66**, 464P, (1976).
- 12) Bohman, T., Myren, J. and Larsen, S.: Inhibition of the histamine-stimulated gastric secretion in healthy subjects by the H₂-receptor antagonist ranitidine. *Scand. J. Gastroenterol.*, **15**, 183-185, (1980).
- 13) Daly, M. J., Humphray, J. M. and Stables, R.: Inhibition of gastric acid secretion in the H₂-receptor antagonists, ranitidine, cimetidine, and metiamide. *Gut*, **21**(5), 408-412, (1980).
- 14) Karppanen, H. O. and Westermann, E.: Increased production of cyclic AMP in gastric tissue by stimulation of histamine(H₂)-receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **279**, 83-87, (1973).
- 15) Hegstrand, L. R., Kanof, P. D. and Greengard, P.: Histamine-sensitive adenylate cyclase in mammalian brain. *Nature(London)* **260**, 163-165, (1976).
- 16) Chasin, M., Mamrack, F., Samaniego, S. G. and Hess, S. M.: Characteristics of the catecholamine and histamine receptor sites mediating accumulation of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in guinea pig brain. *J. Neurochem.*, **21**, 1415-1427, (1973).
- 17) Shimizu, H., Daly, J. W. and Creveling, C. R.: A radioisotopic method for measuring the formation of adenosine 3',5'-monophosphate in incubated slices of brain. *J. Neurochem.*, **16**, 1609-1619, (1969).
- 18) Berglinde, T. and Obrink, K. J.: A method for preparing isolated glands from the rabbit gastric mucosa. *Acta physiol. scand.*, **96**, 150-159, (1976).
- 19) Kendall, D. A., Ferkany, J. W. and Enna, S. J.: Properties of ³H-cimetidine binding in rat brain membrane fractions. *Life Sci.*, **26**, 1293-1302, (1980).
- 20) Batzri, S. and Gardner, J. D.: Cellular cyclic AMP in dispersed mucosal cells from guinea pig stomach. *Biochim. Biophys. Acta*, **541**, 181-189, (1978).
- 21) Batzri, S., Harmon, J. W. and Toles, R.: Comparison of cimetidine with H₂-antagonists in rabbit and guinea pig gastric cells. *Eur. J. Pharmacol.*, **94**, 1-8, (1983).
- 22) Cheng, Y. C. and Prusoff, W. H.: Relationship bet-

- ween the constant(K_i) and the concentration of inhibitor which cause 50 percent inhibition(IC_{50}) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 3099, (1973).
- 23) 이용석, 이승복, 조순희, 정기주, 홍성길, 김동연: 새로운 H_2 receptor antagonist IY-80843과 IY-80845의 항궤양작용. 일양약품연구보고서, 제9권, 1-13, (1991).
- 24) Bristow, D. R., Hare, J. R., Hearn, J. R. and Martin, L. E.: Radioligand binding studies using 3H -cimetidine and 3H -ranitidine. *Br. J. Pharmacol.* **72**, 547-548, (1980).
- 25) Smith, I. R., Cleverley, M. T., Ganellin, C. R. and Metters, K. M.: Binding of 3H cimetidine to rat brain tissue. *Agents Actions*, **10**, 422-426, (1980).
- 26) Rising, T. J., Norris, D. B., Warrander, S. E. and Wood, T. P.: High affinity 3H -cimetidine binding in guinea-pig tissues. *Life Sci.*, **27**, 199-206, (1980).
- 27) Hersey, S. J.: Histamine receptor in bullfrog gastric mucosa. *Am. J. Physiol.* **241**, G93-G97, (1981).
- 28) Tanaka, A., Nishihara, S., Misawa, T. and Ibayashi, H.: Effects of H_2 -receptor antagonists on 3H -cimetidine binding and histamine-stimulation of cellular cAMP in isolated guinea pig gastric glands. *Japan. J. Pharmacol.* **45**, 97-105, (1987).
- 29) Greenaway, F. T., Brown, L. M. and Dabrowiak, J. C.: Copper(II) complexes of the antiulcer drug cimetidine. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7782-7784, (1980).