

분리 위선세포에서 가역성 프로톤 펌프 억제제 YH1238 및 YH1885의 위산분비 억제효과

김혜영 · 김동구 · 이봉용¹ · 이종욱¹ · 김경환

연세대학교 의과대학 약리학교실, ¹유한양행 중앙연구소

Inhibitory Effects of Reversible Proton Pump Inhibitors YH 1238 and YH1885 on Acid Secretion in Isolated Gastric Cells. Hyeyoung Kim, Dong Goo Kim, Bong Yong Lee¹, Jong Wook Lee¹, and Kyung Hwan Kim Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine and ¹Yuhan Research Center, Yuhan Corporation

Antiulcer effects of YH1238 and YH1885 were determined in the isolated gastric cells from human and rabbit stomach. Intracellular accumulation of [¹⁴C]-aminopyrine and [¹⁴C]-glucose oxidation were used as indicators of acid secretory ability of the gastric cells. Unstimulated and stimulated gastric cells with dibutyryl cAMP (10⁻³M) were used and the inhibitory effects of YH1238 and YH1885 on acid secretion were compared with known proton pump inhibitors such as omeprazole and SK&F 96067. Dibutyryl cAMP stimulated the [¹⁴C]-aminopyrine accumulation and [¹⁴C]-glucose oxidation, which were inhibited by YH1238, YH1885, SK&F 96067 and omeprazole. Inhibitory effects of YH1238, YH1885 and omeprazole on [¹⁴C]-aminopyrine accumulation in stimulated gastric cells were more potent than that of SK&F 96067 at the concentration of 10⁻⁵M. It is suggested that the reversible proton pump inhibitors YH1238 and YH1885 would be effective antiulcer agents.

Key Words: Antiulcer, YH1238, YH1885, Acid secretion, Gastric cells

서 론

소화성 궤양은 전세계 인구의 10%에서 나타나는 가장 흔한 주요 건강문제이다. 소화성 궤양으로 인한 생산성 저하는 경제적으로나 사회적으로 큰 손실을 가져오고 있다. 병태생리와 병인론적으로 볼 때 소화성 궤양은 공격인자와 방어인자 사이의 균형이 깨어지므로 나타난다. 공격인자로는 산과 pepsin을 들 수 있으며 방어인자로는 점막 방어기전을 들 수 있다(Berglindh & Sachs, 1981). 따라서 소화성 궤양의 치료 역시 공격인자 측면에서 산을 중화하거나 산분비를 억제하는 방법을 쓰며, 방어인자측면에서 점막 보호제를 사용한다(Flemstrom & Turnberg, 1984). 소화성 궤양의 치료에는 제산제, 산분비를 일으키는 수용체를 봉쇄하는 약물 및 산분비의 최종단계인 프로톤 펌프(H⁺ pump, H⁺/K⁺ ATPase) 억제제를 사용한다. 제산제는 일단 분비된 산을 중화시키는 약물로서 소화성

궤양치료의 가장 기초적인 접근방법이며 주로 증상 완화에 쓰인다. 수용체 봉쇄제는 위산분비를 유발하는 gastrin, acetylcholine 및 histamine이 작용하는 각각의 수용체를 차단하는 것으로 무스카린성 M₁ 수용체 봉쇄제인 pirenzepine 및 telenzepine이 있으며 H₂ 수용체 봉쇄제로 70년대말에 상품화된 cimetidine을 비롯하여 ranitidine, famotidine, nizatidine 등이 소화성 궤양치료제로서 현재 가장 널리 쓰이고 있다(Soll, 1983). 그러나 위산분비를 일으키는 최종단계는 세포내 H⁺와 세포외 K⁺를 교환하여 H⁺을 분비하는 프로톤 펌프이며, 이 효소를 억제하면 어떤 자극에 의한 위산분비도 모두 봉쇄되므로 H₂ 수용체 봉쇄약물보다 그 효과가 우수하다(Berglindh & Sachs, 1985). 1980년대 중반 개발되어 쓰이고 있는 omeprazole은 단순히 소화성 궤양뿐만 아니라 H₂ 봉쇄제에도 잘 듣지 않는 Zollinger-Ellison 증후군과 같이 대량의 위산이 분비되어 치료되지 않는 궤양에도 효과가 입증되고 있다(Wallmark et al, 1985). Omeprazole과 더불어 lamsopratole과 pantopraole이 임상에서 사용되고 있으며(Tomiyama, 1994) 또 다른 프로톤 펌프 억제제도 개발되고 있어 2000년대에는

프로톤 펌프 억제제가 주종을 이룰 것이 확실시되고 있다. 그러나 불가역성 효소 억제제는 과다한 gastrin 분비 항진 및 2차적인 위점막 증진 등의 가능성을 내포하고 있으므로, 투여량 조절이 용이하고 gastrin 분비항진을 유발하지 않는 가역성 효소억제제로서 quinoline계의 SK&F 96067이 1990년대에 연구된 바 있다(Keeling et al, 1991).

본 연구에서는 소화성 궤양 치료약물로 개발중에 있는 가역성 프로톤 펌프 억제제인 YH1238 및 YH1885의 위산분비 억제 효능을 [14 C]-aminopyrine 축적비율과 포도당 산화율(glucose oxidation)을 통하여 토끼 및 인체의 위점막으로부터 분리한 위선세포를 이용하여 관찰하였으며, 프로톤 펌프 억제제인 omeprazole 및 SK&F 96067과 효능을 비교함으로써 YH1238 및 YH1885의 위궤양 치료효능을 평가하고자 하였다.

실험재료 및 방법

토끼로부터 위관류 및 적출

수컷 New Zealand 흰토끼(1.5~2.5 Kg)에 secobarbital sodium(30 mg/Kg, i.v.)을 주사하여 마취하였다. 복부를 절개하여 복부 동맥에 혈류와 역행하는 방향으로 도관을 삽입하고 도관을 통하여 5 ml의 heparin(250 U/ml)을 주사하였다. 도관을 통하여 출혈이 시작되면 소장으로 유입되는 장관막 혈관을 절찰하였다. 곧이어 가슴을 절개하고 흉부 대동맥을 절찰한 후 37°C의 산소포화 phosphate buffer solution(PBS: NaCl 149.6 mM, K₂HPO₄ 3 mM, NaH₂PO₄ 0.64 mM, pH 7.3)을 복부의 동맥도관을 통하여 관류하고 문맥을 통하여 관류액이 나오도록 하였다. 이 관류방법으로 대부분의 PBS 용액은 위혈관을 통과하였으며, PBS 관류로 위를 통한 혈액이 완전히 제거되기까지 대략 500 ml의 PBS가 필요하였다. 관류후 위를 적출하고 소만을 따라 절개한 후 위 내용물을 제거하였다.

인체 및 토끼 위점막으로부터 위선세포 분리

인체의 경우는 신선하게 입수된 위조직(위절제 환자에서 절제한 위조직 중 육안으로 이상이 발견되지 않은 부위)의 혈액 제거를 위하여 3회 PBS로 세척하였다. 토끼 위는 관류후 위를 적출하고 체부만을 절개하여 PBS로 여러 번 세척한 후 여과지로 물기를 제거하였다. 인체 및 토끼의 위 점막을 근층으로부터 분리하여 잘게 분쇄하고 37°C의 산소포화 PBS로 두 번 세척하였다. 위점막 분쇄물을 collagenase 효소용액(NaCl 130 mM, NaHCO₃ 12 mM, NaH₂PO₄ 3 mM, Na₂HPO₄ 3 mM, K₂HPO₄ 3 mM, MgSO₄ 2 mM, CaCl₂ 1 mM, phenol red 10 mg/L, pH 7.4 ; 사용직

전에 Type I collagenase 1 mg/ml, rabbit 또는 human albumin 1 mg/ml, glucose 2 mg/ml 를 첨가) 50 ml가 담긴 200 ml 플라스크에 옮기고 100% 산소를 주입한 후 봉하여 37°C 수조에서 가볍게 흔들며 incubation하였다. 위 적출에서 incubation 시작까지 전 과정을 5분 이내에 행하였다. 토끼 위의 경우 90분, 인체 위의 경우 120분 incubation후, 위선세포가 분리되면 반응을 정지시키고 그 후 실험조작은 실온에서 행하였다. 분리한 위선세포의 분산액을 nylon mesh(200 μ m)로 여과한 다음 15 ml 시험관에 옮겼다. 시험관에 위선세포가 가라앉은 다음 상층액을 버렸으며, 이후 incubation medium을 사용하여 3회 세척함으로 위선 세포를 collagenase 없는 상태로 유지시켰다(Berglindh et al, 1976, Leth et al, 1991). 실험에 사용한 incubation medium의 조성은 NaH₂PO₄ 0.5 mM, Na₂HPO₄ 1 mM, NaHCO₃ 20 mM, NaCl 70 mM, KCl 5 mM, glucose 11 mM, HEPES 50 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1.5 mM, BSA 1 mg/ml(pH 7.4)이었다(Ostrowski & Bomszyk, 1989). 분리한 위선세포는 trypan blue dye exclusion 방법으로 세포 생존율 90% 이상과 위상차현미경(inverted microscope)으로 정상적인 세포형태를 확인한 후 실험에 사용하였다.

[14 C]-Aminopyrine 축적비율

Aminopyrine은 약염기로서 산성인 위벽 세포안으로 확산된다. 그러므로 위선세포 내외의 [14 C]-Aminopyrine 축적비율은 위산분비 능력의 지표로 사용된다(Berglindh et al, 1976; Sack & Spenny, 1982). [14 C]-Aminopyrine의 축적실험은 Berglindh 등의 방법(1976)을 수정하여 사용하였다. 요약하면 위선세포 분산액(25mg 습중량/ml)을 약물투여군(YH1238, YH1885, SK&F 96067, omeprazole)과 대조군으로 나누어 37°C에서 100% 산소 공급하에 30분 동안 반응시켰다. 30분후 위산분비 촉진상태를 유도하기 위해 dibutyryl cAMP(10^{-3} M)을 투여하고 동시에 0.2 μ Ci/ml 농도의 [14 C]-aminopyrine(109 mCi/mmol; Amersham, U.K.)을 위선세포 분산액에 첨가하여 37°C에서 60분간 100% 산소 공급하에서 흔들며 반응시켰다. 기초 산 분비를 유지하는 대조군엔 vehicle만 첨가한 후 동일조건으로 반응시켰다. Dibutyryl cAMP에 의한 위산분비 촉진에 대한 용량 반응곡선은 dibutyryl cAMP 10^{-4} - 10^{-3} M 농도(10^{-4} M, 2.5×10^{-4} M, 5×10^{-4} M, 7.5×10^{-4} M, 10^{-3} M)를 위선세포 분산액에 [14 C]-aminopyrine과 동시 첨가한 후 37°C에서 60분 후 산소조건하에서 반응시켰다. 반응액을 원심분리하여 (20,000 x g, 2분) 침전한 세포(pellet)는 1N NaOH 0.5 ml를 가하여 용해시켰으며, 상층액(1 ml)은 그대로 10 ml의 Instagel[®](Packard Instrument, Downers Grove, IL, U.S.A.)을 가한후 방사능을 Beckman LS 5000 TA Counter

(Fullerton, CA, U.S.A.)로 측정하였다. 위선세포 용해액의 방사능(radioactivity of pellet, cpm_p)과 위선세포의 반응액의 방사능(radioactivity of supernatant, cpm_m)과의 비율로 위선세포의 산 분비를 평가하였다.

$$[^{14}\text{C}]\text{-Aminopyrine 축적비율}(\%) = \text{cpm}_p / \text{cpm}_m \times 100$$

[¹⁴C]-Glucose oxidation 측정

토끼로부터 분리한 위선세포를 75 mg 습중량/ml 되도록 incubation medium에 분산시키고 위선세포분산액 1 ml 을 20 ml counting vial에 옮긴 후, 2 ml incubation medium 과 약물을 첨가하였다. ¹⁴CO₂ 흡착제로서 20% KOH 100 μl를 함유한 여과지를 eppendorf tube에 담은 후, 반응액을 함유한 counting vial 중앙에 두었다. 위선 세포의 산소 소모 실험은 [¹⁴C]-glucose 10 μl(최종농도 0.5 μCi)를 반응액에 첨가한 즉시 counting vial의 뚜껑을 닫고 37°C에서 70 rpm으로 30분간 진탕시켰다. 2M Perchloric acid 1.5 ml 을 가하여 반응을 정지시키고 vial내 남은 여분의 ¹⁴CO₂ 를 KOH용액에 완전히 흡착시키기 위하여 37°C에서 30 분간 더 반응시켰다. 20% KOH 함유 여과지에 흡착된 ¹⁴CO₂를 10 ml Instagel[®] 존재하에서 급격하게 진탕한후 counting 하였다. 위선세포를 함유하지 않은 incubation medium도 상기와 동일한 방법으로 반응시킨 후 여과지에 흡착된 ¹⁴CO₂를 counting하여 [¹⁴C] glucose의 spontaneous oxidation을 측정하여, 각 실험값(cpm)에서 제하여 주었다(Davidson et al, 1981).

통계처리

모든 결과는 “평균값±표준오차”로 표현하였으며 실험군간의 변화 양상을 검토하기 위하여 분산분석을 이용하였다 (n=6). Post-hoc test로는 Newman-Keul test로 유의성을 검정하며 P값이 0.05 이하일 경우 유의적 차이가 있는 것으로 평가하였다(Zar, 1984).

결 과

토끼 위선세포에서 dibutyryl cAMP에 의한 위산분비 촉진

토끼에서 분리한 위선세포에 dibutyryl cAMP를 최종농도 10⁻⁴M, 2.5×10⁻⁴M, 5×10⁻⁴M, 7.5×10⁻⁴M 및 10⁻³M 되도록 투여한 후 위산분비의 지표로서 세포내의 [¹⁴C]-aminopyrine 축적비율을 측정하였다. 약물을 투여하지 않은 대조군에 비하여 dibutyryl cAMP를 투여한 경우 10⁻⁴M, 2.5×10⁻⁴M, 5×10⁻⁴M, 7.5×10⁻⁴M, 10⁻³M 농도에서 각각

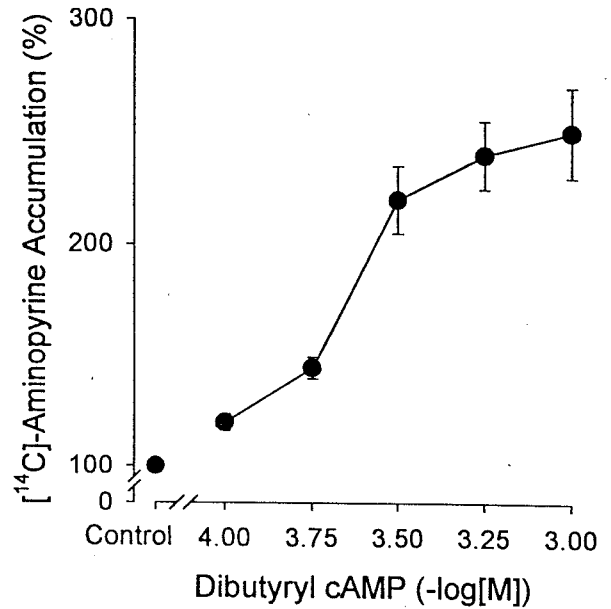


Fig. 1. Dose response curve of dibutyryl cAMP for acid secretion of gastric cells from rabbit stomach. Dibutyryl cAMP (final concentration, 10⁻⁴M- 10⁻³M) and [¹⁴C]-aminopyrine(0.2 μCi/ml) were treated to gastric cell suspension to stimulate acid secretion. Acid secretion was determined by the ratio of [¹⁴C]-aminopyrine accumulation between intra- and extra-cells. Each point represents mean ± S.E.

120±4%, 145±5%, 220±15%, 240±15%, 250±20%로 [¹⁴C]-aminopyrine 축적비율은 증가하였다. 그러므로 본 연구에서는 위산분비 촉진상태를 유도하기 위하여 10⁻³M 농도의 dibutyryl cAMP를 투여하였다.

토끼 위선세포에서 기초 및 촉진 위산분비에 대한 YH1238, SK&F 96067 및 omeprazole의 영향

기초상태의 토끼 위선세포에 YH1238, SK&F 96067 및 omeprazole을 10⁻⁷M에서 10⁻⁴M까지 농도별로 투여한 결과 세 약물 모두 유사한 정도의 위산억제 효능을 보였으며, 약물투여시 대조군의 50-76% 수준의 위산분비를 나타내었다(Fig. 2). 세 약물 모두 50%의 위산분비를 억제하는 농도는 10⁻⁴M이었다. Dibutyryl cAMP 투여에 의한 촉진상태의 위산분비에 대한 YH1238, SK&F 96067 및 omeprazole의 영향을 Fig. 3에 나타난 바와 같다. YH1238 과 omeprazole은 비교적 유사한 정도로 촉진상태의 위산분비를 억제하였으며(IC₅₀, 5×10⁻⁷M), SK&F 06067은 이 두 약물에 비하여 비교적 낮은 위산분비 억제효능을 나타내었다(IC₅₀, 10⁻⁶M). 그러나 고농도(10⁻⁴M)의 약물을 투

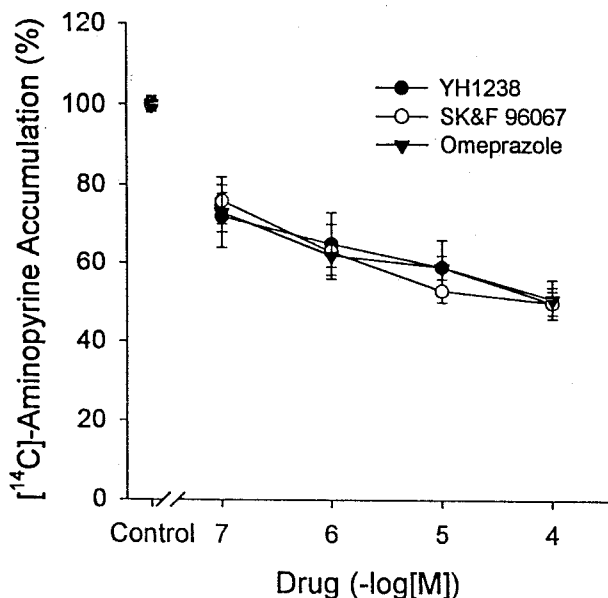


Fig. 2. Inhibitory effects of YH1238, SK&F 96067 and omeprazole on aminopyrine accumulation in unstimulated gastric cells from rabbit stomach. Drugs ($10^{-7}M$ - $10^{-4}M$) were treated 30 min prior to the treatment of [^{14}C]-aminopyrine($0.2\mu Ci/ml$). Further incubation was performed at $37^{\circ}C$ for 60 min. Each point represents mean \pm S.E.

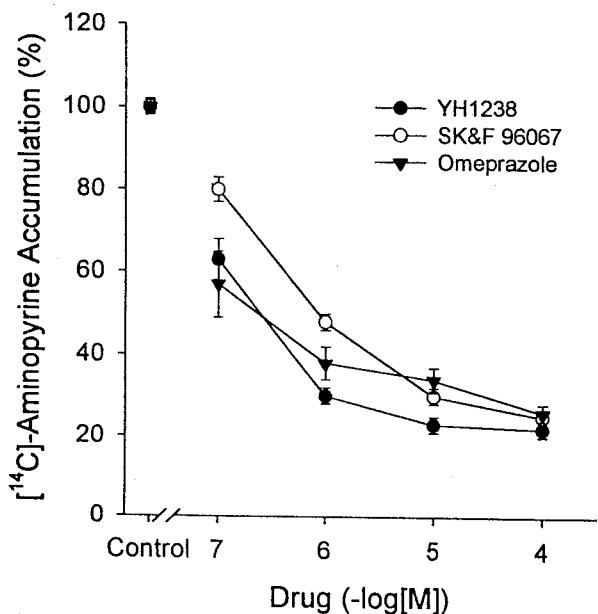


Fig. 3. Inhibitory effects of YH1238, SK&F 96067 and omeprazole on aminopyrine accumulation in stimulated gastric cells from rabbit stomach. Drugs ($10^{-7}M$ - $10^{-4}M$) were treated 30 min prior to the treatment of dibutyryl cAMP($10^{-3}M$) with [^{14}C]-aminopyrine($0.2\mu Ci/ml$). Further incubation was performed at $37^{\circ}C$ for 60 min. Each point represents mean \pm S.E.

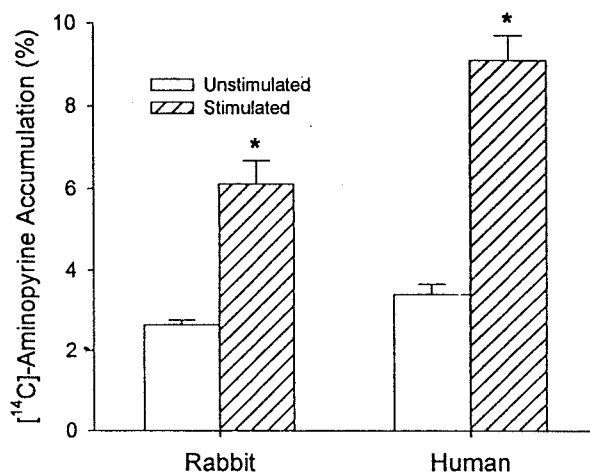


Fig. 4. [^{14}C]-Aminopyrine accumulation in unstimulated and stimulated gastric cells from rabbit and human stomach. Dibutyryl cAMP($10^{-3}M$) and [^{14}C]-aminopyrine($0.2\mu Ci/ml$) were treated to gastric cell suspension. Each bar represents mean \pm S.E. * $P < 0.01$ difference from corresponding unstimulated gastric cells.

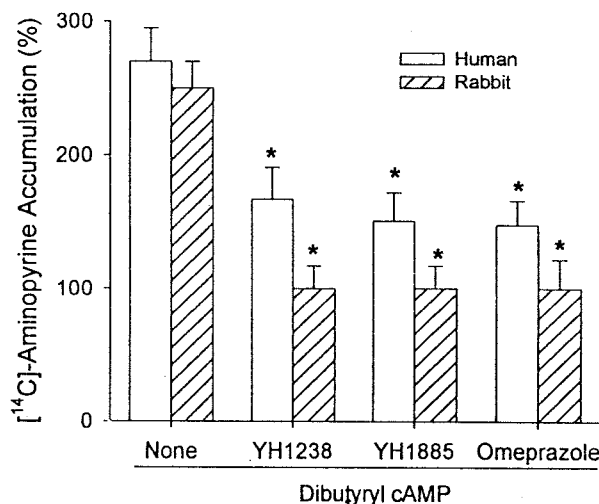


Fig. 5. Inhibitory effects of YH1238, YH1885 and omeprazole on aminopyrine accumulation in stimulated gastric cells from human and rabbit stomach. Drugs ($10^{-5}M$) were treated 30 min prior to the treatment of dibutyryl cAMP($10^{-3}M$) with [^{14}C]-aminopyrine($0.2\mu Ci/ml$). Further incubation was performed at $37^{\circ}C$ for 60 min. Each bar represents mean \pm S.E. * $P < 0.01$ difference from corresponding stimulated gastric cells without drugs.

여한 경우 새 약물은 대조군의 22~26%로 위산분비를 유사하게 억제하였다.

인체 및 토끼 위선세포에서 기초 및 촉진 위산분비에 대한 YH1238, YH1885 및 omeprazole의 영향

인체 위 및 토끼 위에서 분리한 위선세포에 YH1238 및 YH1885의 위산분비 억제효능을 omeprazole의 효능과 비교하였다. 인체 위선세포의 기초 산분비율은 3.4%로서 토끼의 2.64%에 비하여 높은 편이나, dibutyryl cAMP ($10^{-3}M$)에 의한 산분비의 촉진율은 토끼 위선세포의 경우 2.3배, 인체 위선세포의 경우 2.7배 증가로 비슷한 산분비 촉진 현상을 나타내었다(Fig. 4). Dibutyryl cAMP ($10^{-3}M$)로 촉진된 인체 위선세포에 $10^{-5}M$ 의 YH1238, YH1885 및 omeprazole를 투여한 경우 위산분비는 촉진상태의 $62 \pm 9\%$, $56 \pm 8\%$ 및 $55 \pm 7\%$ 이었으며, 토끼 위선세포의 경우 $40 \pm 7\%$, $40 \pm 9\%$ 및 $40 \pm 9\%$ 였다(Fig. 5).

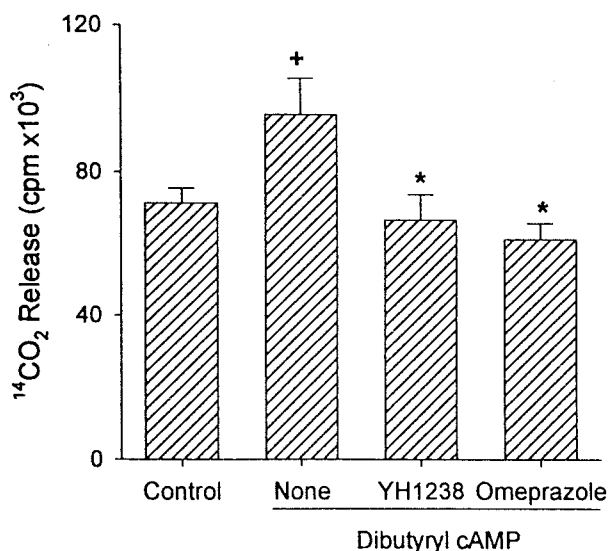


Fig. 6. Inhibitory effects of YH1238 and omeprazole on glucose oxidation in stimulated gastric cells from rabbit stomach. Drugs ($10^{-5}M$) and [^{14}C]-glucose($0.5 \mu Ci/ml$) were treated to gastric cells with dibutyryl cAMP($10^{-3}M$). Incubation was performed at $37^\circ C$ for 30 min and the reaction was stopped by the addition of perchloric acid. To adsorb the remaining $^{14}CO_2$ into filter paper, another 30 min-incubation was performed. Each bar represents mean \pm S.E.

* $P < 0.01$ difference from control.

* $P < 0.01$ difference from stimulated gastric cells without drugs.

토끼 위선세포에서 YH1238 및 omeprazole이 [^{14}C]-glucose oxidation에 미치는 영향

Glucose oxidation은 [^{14}C]-glucose와 YH1238 혹은 omeprazole을 함유한 incubation medium에 분리 토끼 위선세포분산액을 첨가함으로써 시작되며, 30분의 incubation과 perchloric acid로 반응정지 시킨후 남아 있는 CO_2 흡착을 위한 30분 incubation 후 CO_2 absorber에 흡착된 $^{14}CO_2$ 를 counting 함으로써 평가하였다. Fig.6에 나타난 바와 같이 dibutyryl cAMP $10^{-3}M$ 에 의하여 $^{14}CO_2$ 유리는 통계적으로 유의성있게 증가하였으며, YH1238($10^{-5}M$)과 omeprazole ($10^{-5}M$)를 dibutyryl cAMP와 함께 투여한 경우, dibutyryl cAMP 단독투여시 보다 glucose oxidation이 31~36% 억제되었다. YH1238과 omeprazole을 $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ 로 첨가되었을 때 농도 의존적으로 위선세포의 glucose oxidation은 억제되었다(Fig. 7). YH1238과 omeprazole의 glucose oxidation 억제정도 사이에는 큰 차이가 없었으나, $10^{-5}M$ 에서만 omeprazole이 유의적으로 YH1238보다 glucose oxidation을 더 크게 억제하였다.

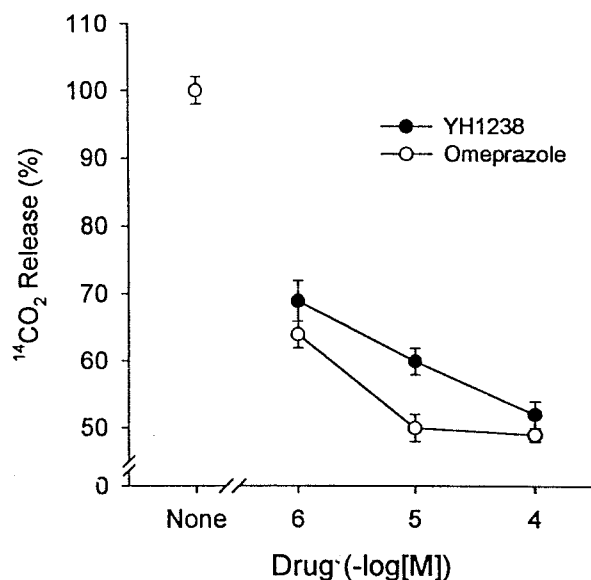


Fig. 7. Inhibitory effects of YH1238 and omeprazole on glucose oxidation in stimulated gastric cells from rabbit stomach. Drugs($10^{-6}M$ - $10^{-4}M$) and [^{14}C]-glucose($0.5 \mu Ci/ml$) were treated to gastric cells with dibutyryl cAMP($10^{-3}M$). Incubation was performed at $37^\circ C$ for 30 min and the reaction was stopped by perchloric acid. Another 30 min-incubation was performed to adsorb remaining $^{14}CO_2$ into filter papers. Each points represents mean \pm S.E.

고 찰

cAMP는 histamine이 H_2 -histamine receptor에 결합되어 G-protein매개 adenylyl cyclase가 활성화되면서 위벽세포에 축적되며, cAMP 의존성 protein kinase A (PKA)를 촉진시켜 K^+/H^+ -ATPase에 의한 proton pumping을 증가시킨다 (Soll & Berglinth, 1994). Aminopyrine은 약염기로서 위벽세포내 산성부위(acidic compartments)에 유입되므로 위선세포 내외의 aminopyrine의 축적비율이 위산분비 능력의 지표로 사용된다(Berglinth et al, 1976). 토끼 위선세포를 이용한 본 실험에서 dibutyryl cAMP는 농도의존적으로 [^{14}C]-aminopyrine 축적비율을 증가시켰으며, $10^{-3}M$ 농도의 dibutyryl cAMP는 대조군에 비하여 위산분비를 2.5 배 증가시켰으며, 이는 Wallmark 등의 보고(1985)와 일치하는 결과였다. 그러므로 YH1238의 위산분비 억제 효능 실험에 $10^{-3}M$ 의 dibutyryl cAMP를 위산분비 촉진 농도로 사용하였다. 기초상태의 토끼 위선세포에 YH1238, SK & F96067과 omeprazole을 $10^{-7}M$ 에서 $10^{-4}M$ 까지 농도별로 투여한 결과 세 약물 모두 유사한 정도의 위산 억제효능을 보였으며, 세 약물 모두 50%의 위산분비를 억제하는 농도는 $10^{-4}M$ 로서, 이는 Wallmark 등(1983)의 기초 상태의 토끼 위선세포에 대한 omeprazole의 IC_{50} 로 보고된 $10^{-5}M$ 보다는 높은 농도였다. $10^{-3}M$ dibutyryl cAMP로 촉진된 위선세포에 YH1238, SK&F 96067 및 omeprazole을 $10^{-7}M$ 에서 $10^{-4}M$ 농도로 투여하여 ^{14}C -aminopyrine 축적비율로 위산분비 억제정도를 평가한 결과, YH1238과 omeprazole은 비교적 유사한 정도로 억제 pattern을 보였다(IC_{50} $5 \times 10^{-7}M$). Omeprazole의 histamine($5 \times 10^{-7}M$), dibutyryl cAMP ($10^{-3}M$)과 K^+ ($10^{-4}M$)에 의해 촉진된 위선세포에 대한 위산분비에 대한 50% 억제농도가 $5 \times 10^{-7}M$ 이라는 보고(Wallmark et al, 1983)는 본 실험에서도 입증되었으며, YH1238은 토끼 위선세포를 이용한 생체의 실험에서 omeprazole과 유사한 정도로 위산분비 억제효능을 나타내었다. 실험동물에서 입증된 YH계 화합물의 약리효능이 인체에서도 그대로 적용될수 있는가는 매우 중요한 문제이며, 이를 검색함이 신약개발에서 필수적인 과정이다. YH1238 및 YH1885의 인체 및 토끼에서의 위산분비 억제효과를 검토하기 위하여, 인체 위 및 토끼 위에서 분리한 위선세포를 이용, 위산분비 작용이 있는 위벽세포를 함유한 위선세포 내외의 [^{14}C]-aminopyrine 축적비율로 YH1238 및 YH1885의 위산분비 억제효능을 평가하였다. 인체 위선세포의 경우 $10^{-5}M$ 의 농도에서 omeprazole 및 YH1885가 YH1238보다 약제효능은 좋은 듯하나 통계적 유의성은 없었다. 토끼 위선세포의 경우 세 약물에 의한 촉진된 상태의 위산분비 억제효과는 세 약물간

에 차이를 보이지 않았다. Elander 등(1986)이 인체위선을 대상으로 omeprazole의 효과를 본 결과는 본 실험에서 관찰된 산분비 억제효과보다 더욱 강한 억제효과를 나타내었다. 이는 실험대상의 인종의 차이에 기인하거나 실험방법상의 미세한 차이에서 비롯된 것이라고 생각할수 있고 인종적 차이에 대한 연구는 앞으로 계속되어야 할 것으로 사료된다. 인체 위선세포에 대하여 YH1238 및 YH1885가 omeprazole과 같은 정도의 위산분비 억제효과가 있다는 것은 YH1238 및 YH1885의 임상응용 가능성에 대한 매우 희망적인 결과라고 하겠다. 토끼 및 인체 위선세포 실험과 비교해 보면 위산분비 억제정도는 토끼보다 인체에서 그 효능이 떨어지나 토끼에서도 YH1238 및 YH1885가 omeprazole과 같은 정도의 위산분비 억제효과를 나타냄으로써 세 약물의 효능이 유사함을 확인할수 있었다.

위산분비는 에너지를 필요로 하는 과정이다. 위벽세포는 호흡에 관여하는 mitochondria가 세포부피의 30~40%를 차지하는 산화능력이 큰 세포이다. 그러므로 세포의 산화능력은 위산분비와 밀접한 관계가 있다. 생체에서 위산분비는 산소소모율과 비례하며 산소소모율은 Warburg respirometer나 oxygen electrodes로 직접 구할수 있다. 간접적인 측정 방법으로는 세포분산 상태에서 glucose oxidation의 정도를 측정하는 것인데, 이방법은 필요한 기구가 간단하고 multiple sampling을 할수 있는 장점이 있다. 따라서 본 실험에서는 glucose oxidation방법을 이용하여 YH계 화합물의 위산분비 억제 효능을 [^{14}C]-aminopyrine 축적비율 결과와 비교하였다. 토끼 위선세포에 dibutyryl cAMP($10^{-3}M$)을 투여하였을 때 glucose oxidation이 증가됨을 확인할수 있었으며, YH1238과 omeprazole을 $10^{-6}M$, $10^{-5}M$, $10^{-4}M$ 로 첨가하였을 때 농도의존적으로 위선세포의 glucose oxidation은 억제되었다. YH1238과 omeprazole의 glucose oxidation 억제정도 사이에는 큰 차이가 없었으며 $10^{-5}M$ 에서만 omeprazole이 유의적으로 YH1238보다 glucose oxidation을 더 크게 억제하였다. 프로톤 펌프의 활성과 glucose oxidation이 coupling되어 있다는 보고(Fryklund et al, 1990)는 본 연구에서도 입증되었으며, YH1238 및 YH1885의 위산분비 억제 작용기전이 직접적인 프로톤 펌프 활성 억제에 있음을 확인하였다.

결 론

신물질인 YH1238 및 YH1885에 대한 기초 및 촉진 상태의 위산분비에 대한 억제효능이 분리한 토끼 및 인체 위선세포를 이용한 생체의 실험에서 입증되었다. YH1238

및 YH1885의 위산분비 억제효능은 omeprazole과 유사하며, omeprazole이 비가역성 프로톤 펌프 억제제인데 반하여 YH1238 및 YH1885은 가역성 프로톤 펌프 억제제이므로 임상적응용면에서 여러 가지 장점을 가지고 있어 효과적인 항궤양 약물로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술처 G7 연구(위궤양치료제의 개발)의 위탁연구비로 이루어졌음.

참 고 문 헌

- Berglindh T, Helander HP and Obrink KJ. Effects of secretagogues on oxygen consumption, aminopyrine accumulation and morphology in isolated gastric glands. *Acta Physiol Scand* 97: 401-414, 1976
- Berglindh T and Sachs G. Emerging strategies in ulcer therapy: pumps and receptors. *Scan J Gastroenterol* 20(Suppl 108): 7-14, 1985
- Davidson WD, Klein KL, Kurokawa K and Soll AH. Continuous measurement of ¹⁴C-labeled substrate oxidation to ¹⁴CO₂ by minute tissue specimens and ionization chamber method. *Metabolism* 30(6): 596-600, 1981
- Elander B, Fellenius E, Leth R, Olbe L and Wallmark B. Inhibitory action of omeprazole on acid formation in gastric glands and on H⁺, K⁺-ATPase isolated from human gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol* 21: 268-272, 1986
- Flemstron G and Turnberg LA. Gastroduodenal defence mechanism. *Clin Gastroenterol* 13: 327-54, 1984
- Fryklund J, Gedda K, Scott D, Sachs G and Wallmark B. Coupling of H⁺-K⁺-ATPase activity and glucose oxidation in gastric glands. *Am J Physiol* 258: G719-727, 1990
- Keeling DJ, Malcolm RC, Laing SM, Ife RJ and Leach CA. SK&F 96067 is a reversible, lumenally acting inhibitor of the gastric (H⁺+K⁺)-ATPase. *Biochem Pharm* 42(1): 123-130, 1991
- Leth R, Lundell L and Olbe L. Effects of some gastrointestinal peptides on isolated human and rabbit gastric glands. *Scan J Gastroenterol* 26: 89-96, 1991
- Ostrowski J and Bomsztyk K. Interaction of signal transduction pathways in mediating and secretion by rat parietal cells. *Am J Physiol* 256: C873-879, 1989
- Sachs G. The gastric H⁺, K⁺-ATPase: Regulation and structure/function of the acid pump of the stomach. (ed. LR Johnson) *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York, pp 1119-1138, 1994
- Sack J and Spenny JR. Aminopyrine accumulation by mammalian gastric glands: an analysis of the technique. *Am J Physiol* 243: G313-9, 1982
- Soll AH. Fundic mucosal muscarinic receptors modulating acid secretion. In: Hirschowitz BL, Hammer R, Giachetti A, Keirns JJ and Levine RR, eds. *Subtypes of muscarinic receptors*. Elsevier Press. 60-2, 1983
- Soll AH and Berglindh T. Receptors that regulate gastric acid-secretory function. (ed. LR Johnson) *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York, pp 1140-1169, 1994
- Tomiyama Y, Morii M and Takeguchi N. Specific proton pump inhibitors E3810 and lansoprazole affect the recovery process of gastric secretion in rats differently. *Biochem Pharmacol* 48(11): 2049-2055, 1994
- Wallmark B, Jaresten BM, Larsson H, Ryberg B, Brandstrom A and Fellenius E. Differentiation among inhibitory action of omeprazole, cimetidine and SCN⁻ on gastric acid secretion. *Am J Physiol* 245: G64-71, 1983
- Wallmark B, Lorentzon P, Larsson H. The mechanism of action of omeprazole - a survey of its inhibitory actions in vitro. *Scan J Gastroenterol* 20(Suppl 108): 37-51, 1985