

흰쥐에서의 관상동맥 결찰/재관류로 유도된 심근경색에 대한 칼륨통로 개방제 KR-30450의 약리학적 효과

이재흥 · 권광일 · 신화섭**

충남대학교 약학대학, *한국화학연구소 의약품성연구실

(Received October 30, 1996)

The Pharmacological Effects of KR-30450, A Potassium Channel Opener on Coronary Artery Occlusion/Reperfusion-Induced Myocardial Infarction in the Rat.

Jae-Heung Lee, Kwang-Il Kwon and Hwa-Sup Shin**

College of Pharmacy, Chungnam National University, Yusong-Gu, Taejon 305-764, Korea

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taedeogdang, Taejon 305-606, Korea

Abstract—The pharmacological effects of benzopyran potassium channel openers (lemakalim, KR-30450 and KR-30818) on the occlusion/reperfusion-induced myocardial infarction were investigated. In anesthetized rats, subjected to 45-min occlusion of the left anterior descending coronary artery (LAD) followed by 90-min reperfusion, the infarct size was measured by calculating the ratio of infarct zone to area at risk (IZ/AAR) with the Evans blue/TTC technique. Rats were intravenously given vehicle (1% DMSO), lemakalim, KR-30450, and KR-30818 alone or in combination with a selective K_{ATP} blocker glibenclamide, 30 min prior to coronary occlusion. Compared to vehicle, lemakalim (30 μ g/kg i.v.), the active enantiomer of cromakalim, had a tendency to decrease infarct size. KR-30450 (30 μ g/kg, i.v.), the newly synthesized potassium channel openers (PCOs), caused a reduction of infarct size (from $70 \pm 4\%$ to $57 \pm 5\%$), but KR-30818 (30 μ g/kg, i.v.), a metabolite of KR-30450, did not modify infarct size. It seemed likely that glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.), given in combination, reduced the effects of these PCOs, especially KR-30450 (30 μ g/kg, i.v.) on the infarct size. These results indicate that, in the coronary occluded rat model of ischemia, lemakalim and KR-30450 may exert cardioprotective activity through a reduction of infarct size, the effect being considered related to the opening of K_{ATP} channel.

Keywords □ Lemakalim, KR-30450, infarct size, myocardial ischemia/reperfusion.

임상적으로 사용중인 기존의 항고혈압제와는 다른 새로운 약물 작용 기전에 의한 항고혈압제로서 혈관 평활근에 대한 이완 작용과 혈압 강화작용을 갖고 있는 것으로 밝혀져 연구된 K^+ channel openers (PCOs)는 화학적으로 다양한 구조를 갖고 있으며 이중에서도 lemakalim (benzopyran), pinacidil (cyanoguanidine), aprikalim (thioformamide) 과 nicorandil (pyridine)은 주요군을 대표하는 prototype PCOs 이

다.^{1,2)} 최근에는 이 계열의 PCOs 가 허혈성 심근 손상에 대한 보호작용과 함께 관상혈관 확장 작용 등을 갖고 있음이 적출 심장을 이용한 *in vitro* 허혈/재관류 모델 및 마취 동물을 이용한 *in vivo* 허혈/재관류 실험에서 보고되었다.³⁻⁵⁾ 또한 이러한 효과가 다양한 동물실험 모델에서 확인되고 있어 협심증을 포함한 허혈성 심장치료제로서의 개발 가능성을 보이고 있다.¹⁾ 다양한 구조의 PCOs 군 중에서도 lemakalim 은 (\pm) racemic mixture 인 cromakalim 의 active (-) optical isomer 로서²⁾ 선천성고혈압쥐에 경구 투여시 cromakalim 보다 최소 2 배 이상의 항고혈압 작용을 나타낸다고 보고되고

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

(전화) 042-860-7408 (팩스) 042-861-4246

있다.⁶⁾

⁸⁶Rb 유출 (efflux)과 혈관 이완작용에 대해 광학이성체 선택성(stereoselectivity)이 있어서 K⁺ channel blocker 인 glibenclamide 에 의한 lemaklim 작용 차단 효과는 cromakalim 작용차단 효과보다 더욱 선택성 있게 나타났다.¹⁵⁾ 또한 lemakalim 은 cromakalim 보다 활동전위기간 (action potential duration-APD)을 더욱 단축시키고 L-type 칼슘채널 (Ca²⁺ channel)의 직접적인 억제없이 칼륨 전도도 (K⁺ conductance)의 자극에만 관여해 나타나기 때문에⁶⁾ K⁺ 채널에 cromakalim 보다 선택성이 높다고 보고되고 있다.^{6, 7, 8)} 항고혈압 작용에 대한 연구는 비교적 많이 되었지만 심장 보호 작용에 대한 lemakalim 의 연구가 비교적 적게 보고되어 있다. 또한 최근에 새로이 합성된 lemakalim 의 유도체인 KR-30450 과 이것의 대표적인 대사체인 KR-30818 이 흰쥐 적출 심장에 대한 허혈/재관류 실험에서 vehicle 군에 비해서 cardiac function (HR×LVDP/1000)은 향상시키고 EDP (End diastolic pressure)는 감소시켰으며 LDH (Lactic dehydrogenase) 유리를 감소시키는 것과 같은 심장보호효과를 나타내는 것으로 보고되었으나¹⁾ *in vivo* 모델을 이용한 심장 보호 작용 연구는 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 Left anterior descending coronary artery (LAD) 결찰과 재관류에 의한 심근경색의 크기(infarct size)를 측정함으로써 약물에 대한 효과를 관찰할 수 있는 stunned myocardium model⁹⁾를 이용하여 신규 합성된 benzopyran계 PCOs인 KR-30450과 주대사체인 KR-30818의 심장 보호 약리 작용 및 작용 기전을 규명하고자 하였으며 표준물질인 lemakalim 과 비교 분석하였다.

실험방법

사용약물 - Lemakalim, KR-30450 그리고 KR-30818 은 한국화학연구소에서 합성한 것을 사용하였다. Heparin (녹십자), sodium pentobarbital (한림제약), 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (Sigma[®]), evans blue (Koch-Light Ltd.), glibenclamide (Sigma[®]), ketamine(유한양행) 그리고 phosphate buffer 에 사용된 시약들은 덕산약품에서 구입하였다. 실험에 소요된 기타 유기 용매들은 특급 시약을 사용하였다.

사용기기 - Rodent ventilator (UGOVASILE 7025, ITALY), Physiograph (HSE WR 3310, GERMANY), Cautery (HSE D79232, GERMANY), Illuminator (Dolan-Jenner Industries, Inc.), Isotec pressure transducer (Healthdyne Inc.), Homeothermic blanket control unit (Havard, USA), Hi-Scope system (Hirox, Japan), Image analyzer (Image-Pro, USA) 등을 사용하였다.

관상동맥 결찰 및 재관류 - 수컷 흰쥐 (350~450 g)에 pentobarbital (50 mg/kg)을 복강주사하여 마취시켰다. 기관절개술(tracheotomy)후 10 ml/kg의 stroke volume 과 60 strokes/min 의 속도로 인공호흡 시켜주었다. 대퇴정맥 및 좌경동맥에 카테터를 삽입해 각각 약물 투여, 혈압 및 심박동수 측정에 이용하였다. 허혈성 심근손상모델에서 중요한 영향을 미치는 체온을 직장 probe 와 heating blanket 으로 37°C로 일정하게 유지하였다.

좌관상동맥 결찰은 Selye H. 의 방법에 의해 행하였다.¹⁰⁾ 좌개흉술(left thoracotomy)에 의해 가슴을 일부 열고, 장지(長指)로 오른쪽 가슴에 압력을 가하여 심장을 외부로 밀어낸후 수술사 (5~0 silk ligature)가 부착된 바늘로 조심스럽게 LAD 를 뜯 뒤 재빨리 심장을 흉곽강(thoracic cavity)에 재위치시키고 수술사 양끝을 외부에 위치시켰다. 수술사 양끝을 Polyethylene tube (PE100, 2.5 cm)에 통과시키고 30분 동안 안정화시켰다. 혈압이 안정화된 후 실에 끼워는 PE tube를 밀어넣고 tube 의 끝부분 실을 hemostatic 핀셋으로 당겨 PE 100 tube를 관상동맥에 수직으로 밀착시켜 압력을 가하게 했다. 45분 동안 결찰(occlusion) 시킨 후 hemostatic 핀셋을 제거하고 1.5 시간 동안 재관류 시켜 주었다.

Area at risk (AAR)와 infarct zone (IZ)의 측정 - 실험의 마지막 부분에 관상동맥을 재결찰(reocclusion)시키고 1% Evans blue (2 ml)를 area at risk (AAR)를 측정하기 위해서 정맥투여 했다.^{2~11)} Pentobarbital overdose를 정맥 투여하여 흰쥐를 도살시키고 심장을 떼어내어 우심실과 양쪽 심방을 제거했다. 좌심실을 5~6 절편(slice)으로 절단하였고 각각의 절편(slice) 무게를 측정하였다. 각각의 심장 절편 표면을 Hi-scope 를 이용하여 컴퓨터에 입력시키고 화상분석기(image analyzer)로 각 절편에서 푸른색으로 착색된 정상 조직과 구별되는 착색되지않은 AAR의 영역

(area)을 측정하였다. 총면적에 대한 AAR의 면적비를 산출하고 각 절편의 무게를 곱하여 각 절편의 AAR를 산출하였다. 좌심실 전체에 대한 AAR(%)은 다음 공식에 의하여 산출하였다.

$$AAR(\%) = \frac{\sum \text{risk area weight in each slice}}{\text{total LV weight}} \times 100$$

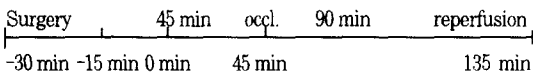
심장 절편(slice)을 15분 동안 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) phosphate buffer (37°C, pH 7.4)에서 배양(incubation)시키고 10% formalin 용액에서 20~24시간 동안 고정(fixation)시켰다. 조직의 정상 부위는 심근의 dehydrogenase와 보조인자(cofactor)인 NADH에 의해 TTC가 환원되어 formazan dye가 되어 brick-red color가 나타난다.¹³⁾ 이와는 대조적으로 경색지역은 효소 및 보조인자가 없어 TTC와 반응하지 않아 brick-red color가 나타나지 않는다.¹⁴⁾ TTC 착색 유무에 의해 각 절편의 정상 및 경색영역의 면적을 측정하고 위와 같은 방법으로 경색 지역의 크기를 AAR 또는 좌심실의 총무게 %로 나타냈다.

$$IZ(\%) = \frac{\sum \text{infarct weight in each slice}}{\text{total LV or AAR weight}} \times 100$$

평균동맥압 및 심박동수 측정 - 평균동맥압(mean arterial blood pressure)과 심박동수(HR)를 실험동안에 계속 측정했다.²¹⁾

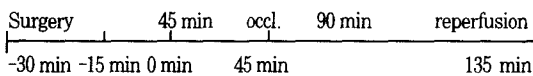
약물투여 및 실험계획 - 모든 수술 조작을 끝낸 후에 동물을 다음에 도시한 4가지 실험 계획 중의 하나를 시행하였다.

▶ Group 1, 2 & 3



- ↑
- Vehicle (1% DMSO 1 ml/kg, i.v.)
- Lemakalim (30, 100 µg/kg, i.v.)
- KR-30450 (30 µg/kg, i.v.), KR-30818 (30, 100 µg/kg, i.v.)
- Glibenclamide (0.3, 1 mg/kg, i.v.)

▶ Group 4.



↑
Glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.) + KR-30450 (30 µg/kg, i.v.) or Glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.) + Lemakalim (30 µg/kg, i.v.)

통계처리 - 모든 data는 mean ± S.E.M. (standard error of the mean)으로 나타냈다. 심근경색크기는 unpaired Student's t-test로 유의성 검정을 실시하였다.¹²⁾ 시간에 따른 group 측정치인 평균동맥압과 심박동수는 two way 분산분석 (analysis of variance)으로 처리하였다.¹²⁾ 통계학적 유의성은 p<0.05 수준에서 판정하였다.

실험결과

심근 경색에 대한 PCOs의 약리 효과 - Triphenyl tetrazolium chloride (TTC)를 이용한 negative staining에 의해 측정된 area at risk(AAR)가 약물 투여군 사이에 거의 비슷한 수치를 나타내었는데, 이것은 각 군별로 결찰에 의해 비슷한 양의 조직이 위험에

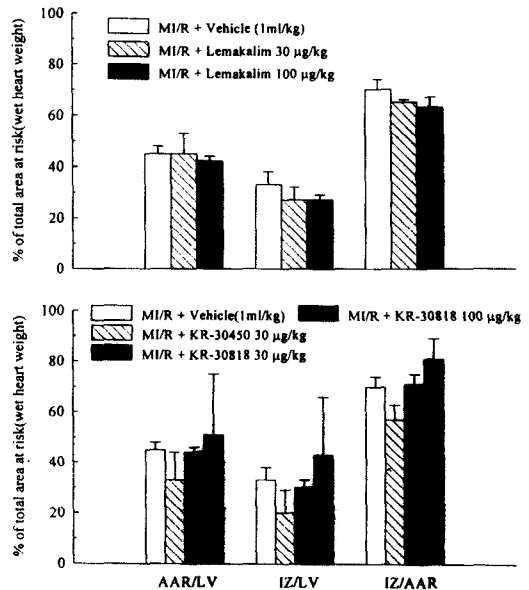


Fig. 1 - Effects of lemekalim, KR-30450 and KR-30818 on infarct size in the rat subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R). Area at risk(AAR) is calculated as a percentage of left ventricle(AAR/LV×100) and infarct zone area(IZ) as a percentage of AAR(IZ/AAR×100) or total left ventricle(IZ/LV×100) in wet weight. Data represent mean±S.E.M. n=4-8.

빠졌다는 것을 의미한다. 반면에 vehicle의 경우는 경색 부위가 AAR의 퍼센트로 표현했을 경우는 $70 \pm 4\%$ 또는 좌심실의 퍼센트로 표현했을 경우는 $33 \pm 3\%$ 를 나타내어 많은 양의 심근 조직에서 경색이 발생되었다.

Lemakalim $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 투여할 경우 심근 경색 부위가 감소되었지만($\text{IZ}/\text{LV} = 27 \pm 5\%$; $\text{IZ}/\text{AAR} = 65 \pm 1\%$), 유의성은 있지 않았고 lemakalim $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 을 투여하여도 저농도인 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 보다 경색 부위가 감소되지 않아 용량 의존적인 효과를 나타내지는 않았다 (Fig 1). 한편 KR-30450 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 투여군은 vehicle군에 비해 lemakalim 보다 심근 경색 부위를 감소시켰으며($\text{IZ}/\text{LV} = 20 \pm 9\%$; $\text{IZ}/\text{AAR} = 57 \pm 6\%$), 특히 glibenclamide $0.3 \text{ mg}/\text{kg}$ 투여군에 비해 심근 경색 크기를 유의성 있게($p < 0.05$) 감소시켰다. 하지만 대사체인 KR-30818군은 vehicle과 유사한 값을 나타내어 심근 경색 억제에 대한 작용을 나타내지 않았다 (Fig. 1). Glibenclamide 단독 투여군은 lemakalim과 KR-30450 투여군에서 보인 심근보호 작용을 나타내지 않고 vehicle 군과 유사한 심근 경색 크기를 나타내었다 (Fig. 2). KR-30450과 glibenclamide 병용 투여군은 vehicle과 유사한 수치를 나타내어 KR-30450 단독투

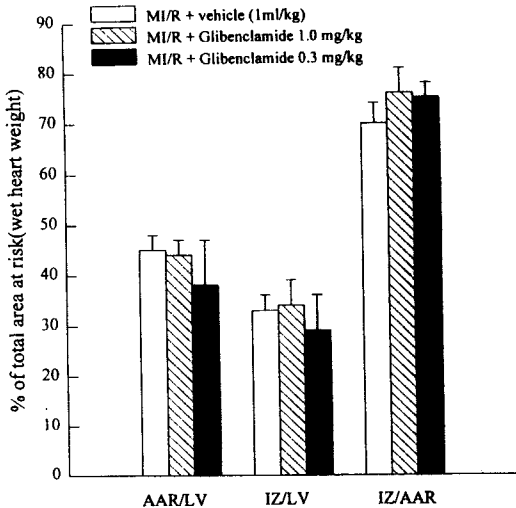


Fig. 2—Calculated percentage of infarct size in the rats subjected to ischemia/reperfusion injury (MI/R). Area at risk(AAR) is expressed as percentage of total left ventricle(AAR/LV and infarct zone area(IZ) as percentage of AAR($\text{IZ}/\text{AAR} \times 100$) or total left ventricle($\text{IZ}/\text{LV} \times 100$) in wet weight. Bar heights represent mean \pm S.E.M. n=4-8.

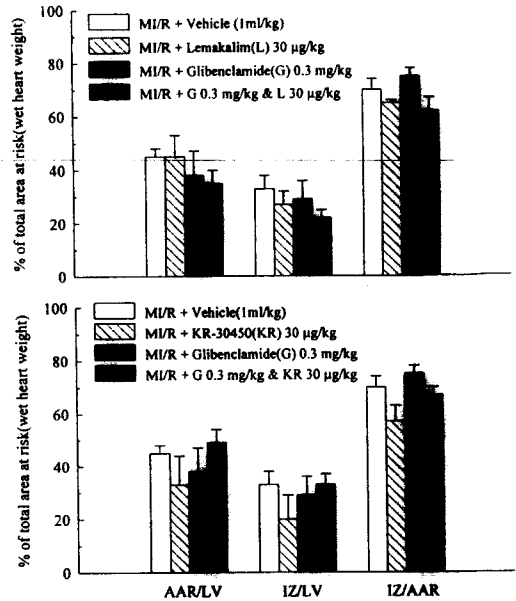


Fig. 3—Effects of lemakalim, and KR-30450 alone or in combination with glibenclamide on the infarct size in the rat subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R). Area at risk(AAR) is calculated as a percentage of left ventricle ($\text{AAR}/\text{LV} \times 100$) and infarct zone area(IZ) as a percentage of AAR($\text{IZ}/\text{AAR} \times 100$) or total left ventricle($\text{IZ}/\text{LV} \times 100$) in wet weight. Data heights represent mean \pm S.E.M. n=4-8.

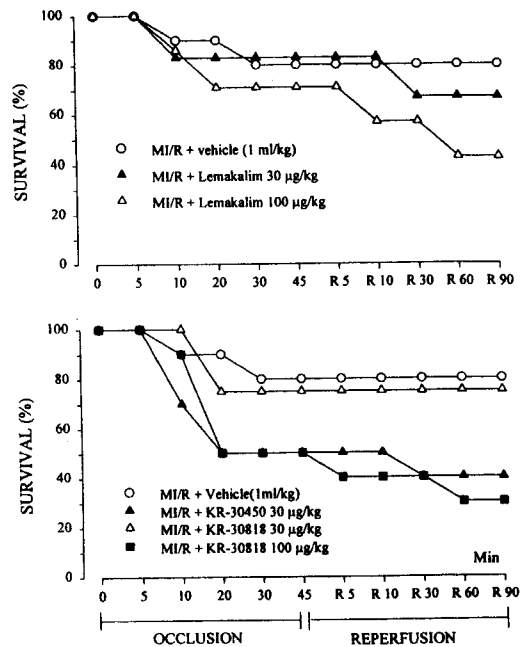


Fig. 4—Effects on survival rate in the rats subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R). n=4-8.

여에 비해 심근 경색 크기가 증가하였으나 lemakalim과 glibenclamide 병용 투여한 군은 lemakalim 단독 투여에 비해 심근 경색크기가 크게 변화하지 않는 양상을 나타내었다(Fig. 3).

생존율 변화 - 관상 동맥 결찰/재관류에 의해 생존율이 감소하였으며 Fig. 4에서 보는 것과 같이 실험이 끝날 때 까지의 생존율이 vehicle 군에서는 80%를 나타내었다. 심실성 빈맥 (VT)과 심실성 세동 (VF)이 생존율이 낮아지는 주된 원인으로 생각되었다. Lemakalim 30 µg/kg 투여군은 생존율이 67%로 vehicle 군

보다 낮았으며 고농도의 lemakalim 에서는 생존율이 급격히 하강하였다(Fig. 4). KR 투여군도 lemakalim과 유사하게 생존율이 vehicle 보다 낮은 경향을 나타내었으며 특히 KR-30450 30 µg/kg과 KR-30818 100 µg/kg 투여군은 치사율이 매우 높았다(Fig. 4). 그런데 glibenclamide 투여군에서는 상반된 결과가 도출되었는데, 고농도에서는 비교적 높은 생존율을 나타내었으나 저농도인 0.3 mg/kg에서는 모든 군중 가장 낮은 생존율을 나타냈다(Fig. 5). 한편 병용 투여한 군은 모두 비교적 높은 생존율을 나타내었으며 특히 KR-30450 병용군은 vehicle 보다 높은 86%로 가장 좋은 생존율을 나타냈다(Fig. 6).

평균동맥압(MAP) - Vehicle 군과 glibenclamide 투여군은 vehicle 또는 glibenclamide 투여에 의해서 약간 상승하였다가 결찰 조작에 의해서 혈압이 하강한 뒤 서서히 혈압을 회복하여 재관류시에는 base-line 과

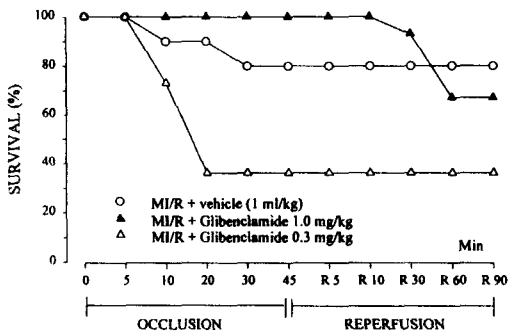


Fig. 5 - Survival rate subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R) in the rat. n=4-8.

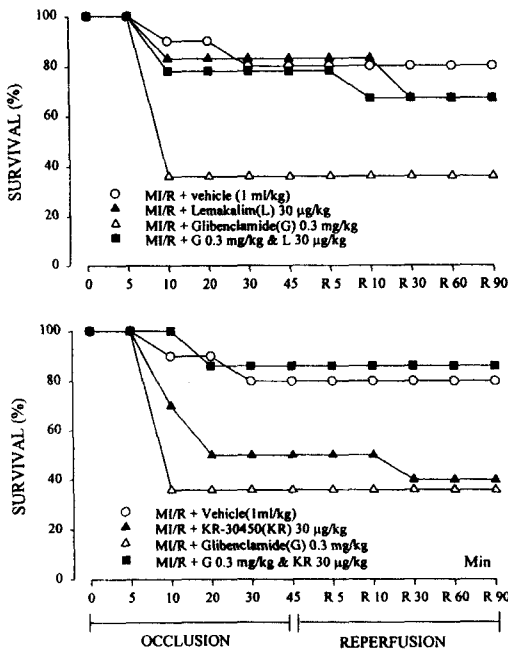


Fig. 6 - Effects on survival rate in the rats subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R). n=4-8.

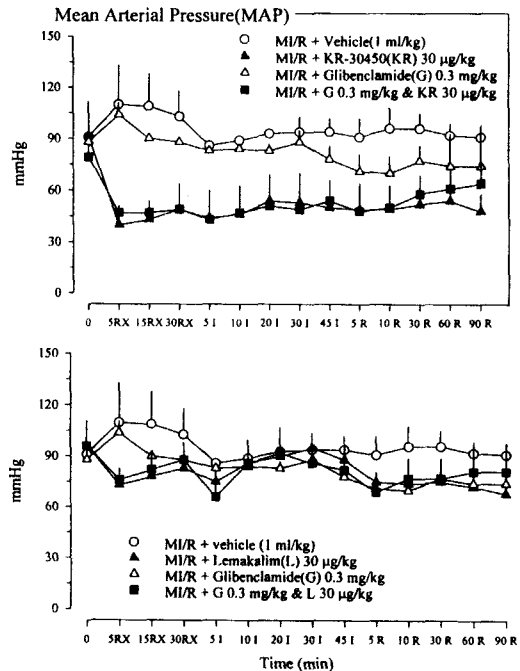


Fig. 7 - Effects of Lemakalim and KR-30450 alone or in combination with glibenclamide on mean arterial pressure(MAP) in the rat subjected to ischemia/reperfusion injury(MI/R). Each point represents mean ± S.E.M. Key: (0,) baseline measurement: 5RX, 15RX and 30RX, 5, 15 and 30 min post-drug treatment: 5I, 10I, 20I, 30I and 45I, 5, 10, 20, 30 and 45 min of ischemia: 5R, 10R, 30R, 60R, and 90R, 5, 10, 30, 60 and 90 min of reperfusion. n=4-8.

유사한 수치를 나타내었다. 그러나 lemakalim과 KR 군은 약물 투여 직후(5RX)에 혈압이 급격히 하강하였다가 결찰에 의해 역시 하강하여 점차로 회복하였으나 재관류시에도 base-line 보다 낮은 수치를 나타냈다. 혈압 강하 현상은 lemakalim과 KR군 모두 농도 의존적으로 나타났으며, lemakalim 100 µg/kg 투여에 의해 47% 그리고 KR-30450 30 µg/kg에 의해 55% 혈압이 하강하였다. KR-30450과 lemakalim 어느 경우나 glibenclamide와 병용투여시 혈압 강하 효과가 단독 투여시와 유사하였다 (Fig. 7).

심박동수(HR) - Vehicle 군과 glibenclamide 투여군은 vehicle과 glibenclamide 투여에 의해 각각 약간 상승하거나 투여전과 유사한 경향을 보이다가 결찰에 의해서 vehicle 과 glibenclamide 0.3 mg/kg 투여군은 별 변화가 없었으나 glibenclamide 1.0 mg/kg 군

은 심박동수가 상승하여 재관류시에는 base-line 보다 높은 심박동수를 나타내었다. 반면에 약물 처치에 의해 혈압이 급격히 하강한 lemakalim과 KR-30450 군에서는 심박동수가 상승하였다가 결찰에 의해 약간 감소하였다가 다시 회복하여 초기값보다 약간 높은 심박동수를 유지하면서 재관류시까지 지속되었다. PCOs 투여군 중에서도 특히 KR-30450 투여군은 실험기간 대부분에서 vehicle군 보다 높은 심박동수를 보였으며 glibenclamide 병용 투여에 의해 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 8).

고 찰

Lemakalim 및 KR-30450 투여 결과 관상동맥 결찰/재관류로 유도된 심근 경색의 크기가 vehicle 투여군에 비해 감소하는 경향을 보여 심근 보호 효과가 나타남을 시사하였다. PCOs 투여시 심근 K_{ATP} channel 개방을 통해서 허혈/재관류에 의한 심근 손상이 감소된다는 여러 보고가 있다. Nicorandil¹⁶⁾, cromakalim³⁾, pinacidil³⁾ 그리고 RP 52891¹⁶⁾를 global ischemia와 reperfusion 실험 조건하의 rat에 투여시 심근기능이 향상되었다. 이와 비슷하게 pinacidil의 경우 guinea pig ventricular wall을 이용한 허혈/재관류 실험시에도 심근 보호 효과를 나타냈다.¹⁷⁾ Rat 적출 심장 모델에서 K_{ATP} channel blocker인 glibenclamide 와 sodium 5-hydroxydecanoate 에 의해 cromakalim, pinacidil 그리고 RP 52891의 심근 보호효과가 억제되었다. *In vitro*에서 K_{ATP} channel opener가 K_{ATP} channel을 활성화시켜 허혈/재관류된 심장에 심근 보호효과를 나타내는 것으로 명확히 밝혀졌지만, 동물 모델에 있어서는 심근경색 감소 작용에 대한 K_{ATP} channel opener의 명확한 기전은 아직 밝혀지지 않았다.

한편 K_{ATP} blocker 인 glibenclamide 투여군은 vehicle 군과 유사한 심근 경색 크기를 나타내 PCOs 와 달리 심근 경색 억제 효과가 나타나지 않았다. Lemakalim 및 KR-30450의 작용 기전을 밝히기 위해 glibenclamide와 병용 투여한 결과 PCOs에 의한 경색 크기 감소 경향이 감소하였다. 이러한 결과로 보아 lemakalim 및 KR-30450의 심근 보호 작용은 K_{ATP} channel을 경유하여 약리 작용이 발생하는 것으로 사료된다.^{4, 5, 18)}

그리고 본 실험에서 glibenclamide 투여군은 고용량

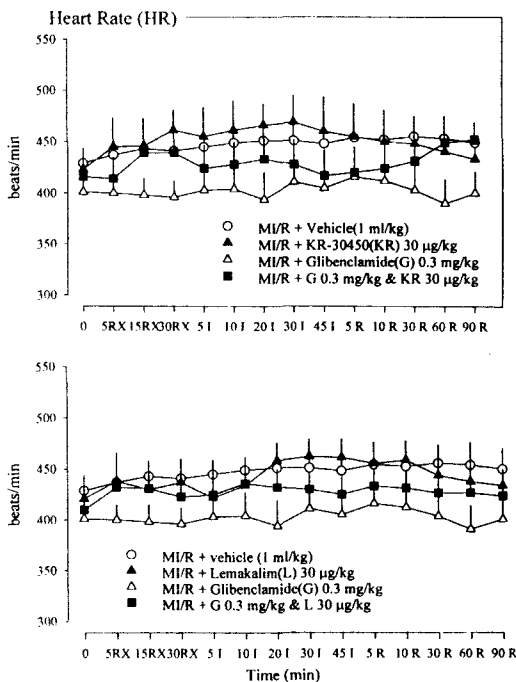


Fig. 8— Effects of lemakalim and KR-30450 alone or in combination with glibenclamide on heart rate (HR) in the rat subjected to ischemia/reperfusion injury(MIR). Each point represents mean±S.E.M. Key: 0, base-line measurement; 5RX, 15RX and 30RX, 5, 15 and 30 min post-drug treatment; 5I, 10I, 20I, 30I and 45I, 5, 10, 20, 30 and 45 min of ischemia; 5R, 10R, 30R, 60R and 90R, 5, 10, 30, 60 and 90 min of reperfusion. n=4-8.

(1.0 mg/kg)에서는 vehicle군 보다 비교적 높은 생존율을 나타냈으나 저용량 (0.3 mg/kg)에서는 오히려 낮은 생존율을 나타냈다. 이와같은 용량에 따른 생존율의 차이는 본 실험결과로는 그 기전이 명확치 않아 이에 대한 추가 실험이 요청된다. 생존율의 경향을 살펴보면 vehicle 군은 결찰시 허혈 기간 동안 사망을 하나 재관류시에는 사망하지 않는 경향을 나타내었으나, lemakalim 및 KR 군은 결찰시 뿐만 아니라 재관류시에도 사망율이 계속 증가하였다. K_{ATP} 가 재관류 손상 발전과 관련이 없거나 재관류 손상시 약물이 작용을 나타내기까지는 시간이 불충분하다는 가설을 내세워 PCOs를 재관류시에 투여하면 그 작용이 감소한다는 보고가 있는데 허혈 전에 약물을 투여한 본 실험 조건하에서는 약물작용이 재관류시에도 충분히 지속되어 PCOs 투여군에서는 결찰 뿐만 아니라 재관류시에도 사망율이 계속 증가하는 것 같다.^{20, 21)} 본 실험의 모든 군에서 관찰된 생존율의 감소는 허혈/재관류 손상에 의한 심한 부정맥 발생에 기인하며 PCOs 투여시 사망율의 증가는 칼륨통로 개구작용에 의해 활동전위 기간 (APD)의 단축으로 인한 부정맥의 악화로 인한 것으로 사료된다.

한편, PCOs를 임상 적용시 약물 농도 설정이 중요할 것으로 보인다. 실제 Grover³⁾는 적출 허혈 심장 실험에서 cromakalim 투여시 (1, 3, 7, 10 그리고 100 μ M) 약물 농도가 증가할수록 심장보호 작용이 증가되는 것이 아니라 7 μ M 투여시 가장 우수한 심근보호 작용이 나타남을 보고하였다. Cromakalim의 경우 농도-반응 curve의 기울기가 매우 큰 것으로 나타났다. 100 μ M 투여시 심박동수와 수축기능이 허혈 시작전에 상쇄되었는데, 이것은 아마도 극도의 APD 단축 또는 과분극에 의해서 나타나지 않았나 추측된다. 본 실험에서도 KR-30450 100 μ g/kg 투여군은 100% 사망율을 나타냈고 KR-30818 및 lemakalim 100 μ g/kg 투여군이 저농도 보다 심근 보호 작용이 크지 않고 사망율이 훨씬 높아, 본 실험에서는 100 μ g/kg가 부작용을 나타내기 시작되는 농도로 생각된다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 PCOs가 혈압 강하 작용이 강하기 때문에 실제 임상 적용시 심근 보호 작용 혹은 혈압 강하 작용을 선택성있게 나타내기 위해 적절한 농도 선택이 중요한 사항으로 지적된다.²⁰⁾

그리고 이상의 결과로 볼때 PCOs가 혈압에 대한 변화를 최소로 나타내는 것이 더욱 심근 보호 작용을 선택성 있게 나타낼 것으로 사려되고, 실제 이러한

PCOs가 외국 제약 회사에 의해 개발중에 있으며 (예, Bristol-Myers Squibb의 BMS-180448 등) 관상동맥 확장기능이 있는 혈관이완제는 관상동맥 질환이 있는 환자의 경우 심근경색 크기를 증가시키거나 이들의 효과를 무력화 시킬 수 있으므로 급성 심근경색 환자에게 투여시 신중을 기해야 할 것이다. 본 실험에서는 관상동맥 결찰/재관류에 의해 유도된 심근 손상 모델을 이용하여 이에 대한 신규 합성 benzopyran 계 PCOs의 약리 효과를 평가하였으나 심근 손상의 주된 요인으로 부각되고 있는 free radical에 대한 작용 등도 향후 연구해야할 필요가 있을 것으로 보인다. 또한 지질과산화의 최종 대사물인 malondialdehyde의 정량²¹⁾ 및 호중구 침윤(infiltration)의 평가 대상¹²⁾인 myeloperoxidase activity 등을 측정하게 된다면 약효 평가 뿐만 아니라 허혈/재관류에 의한 심근 손상 기전 전반에 대한 작용을 명확히 밝힐 수 있는 계기를 마련 할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 마취 흰쥐에서 관상동맥 결찰/재관류에 의해 유발된 심근 손상(심근 경색)에 대한 potassium channel openers (PCOs)의 약리작용을 연구하였다.

1. KR-30450 (30 μ g/kg, i.v.) 과 lemakalim (30 μ g/kg, i.v.)이 심근 경색 크기를 감소시키는 경향을 보여 심근 보호 작용이 있음을 시사하였다.
2. Potassium channel blocker 인 glibenclamide 투여군 (1 mg/kg, 0.3 mg/kg, i.v.)은 심근 경색 크기를 감소시키지 못했다.
3. KR-30450 (30 μ g/kg, i.v.) 및 lemakalim (30 μ g/kg, i.v.)을 glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.)과 병용 투여한 결과 PCOs에 의한 심근 경색 감소 경향이 감소되었다.
4. KR-30450의 대사체인 KR-30818 (100 μ g/kg, 30 μ g/kg, i.v.) 투여 시 심근 경색 크기를 감소시키지 못하였다.

이러한 결과를 종합하면 PCOs인 lemakalim 및 KR-30450은 심근 경색크기를 감소시켜 심근 보호 작용을 나타낼 가능성이 있으나 용량 선택에 신중을 기해야 할 것으로 생각된다. 또한 PCOs의 심근 보호 작용이 길항제인 glibenclamide에 의해 억제되는 것으로

보아 이 작용은 K_{ATP} channel을 통해 약리작용을 나타내는 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구에 사용된 lemakalim과 KR-30405, KR-30818을 합성해 주신 한국화학연구소의 유성은 박사께 감사드립니다.

문헌

- 1) 1994 International Congress of pharmacology (IUPHAR) Meeting. Montreal, Canada, *Can. J. Physiol. Pharmacol. Abs.* (P1.5.19), (1994).
- 2) Schierwagen, C., Bylund-Fellenius, A. C. and Lundberg, C. : Improved method for quantification of tissue PMN accumulation measured by myeloperoxidase activity. *J. Pharmacol. Methods* **23**, 179 (1990).
- 3) Grover, G. J., Dzwonczyk, S., Parham, C. S. and Sleph, P. : The protective effects cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rats hearts and anesthetized dogs. *Cardiovascular. Drugs and Therapy* **4**, 465 (1990).
- 4) Grover, G. J., Dzwonczy, S., Parham, C. S. and Sleph, P. : Pharmacologic profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat hearts and anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **16**, 853 (1990).
- 5) Auchampach, J. A., Maruyama, M., Cavero, I. and Gross, G. A. : The new K^+ channel opener aprikalim (RP 52891) reduces experimental infarct size in dogs in the absence of hemodynamic changes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **259**, 961 (1991).
- 6) Richer, C., Pratz, J., Mulder, P., Mondot, S., Giudicelli, J. F. and Cavero, I. : Cardiovascular and biological effects of K^+ channel openers, a class of drugs with vasorelaxants and cardioprotective properties. *Life Sci.* **47**, 1693 (1990).
- 7) Buckle, D. R., Arch, J. E., Fenwick, A. E., Houge-Frydrych, C. S. and Pinto, I. L. : Relaxant activity of 4-amino-3, 4-dihydro-2H-1-benzopyran-3-ols and 4-amino-2H-1-benzopyrens on guinea pig isolated trachealis. *J. Med. Chem.* **33**, 3028 (1990).
- 8) Post, J. M., Stevens, R. J., Sanders, K. A. and Hume, J. R. : Effects of cromakalim and lemakalim on slow waves and membrane currents in colonic smooth muscle. *Am. Physiol. Soc.* **260**, c 375 (1991).
- 9) Gross, G. J., Pieper, G. M. and Waltier, D. C. : *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **10**, S76 (1987).
- 10) Selye, H., Bajusz, E., Grasso, S. and Mendell, P. : Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat. *Angiology* **11**, 298 (1960).
- 11) Ioculano, M., Squadrito, F. and Altavilla, D. : Protective effects of L-659,989, a platelet-activating factor receptor antagonist, in myocardial ischemia and reperfusion in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **23**, 7 (1994).
- 12) Auchampach, J. A., Maruyama, M., Cavero, I. and Gross, G. : Pharmacological evidence for a role of ATP-dependent potassium channels in myocardial stunning. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **86**, 311 (1992).
- 13) Martorana, P. A., Linz, W., Gobel, H. and Petry, P. : Effects of nicainoprol on reperfusion arrhythmia in the isolated working rat heart and on ischemia and reperfusion arrhythmia and myocardial infarct size in the anesthetized rat. *Eur. J. Pharmacol.* **143**, 391 (1987).
- 14) Vivaldi, M. T., Kloner, R. A. and Schoen, F. J. : Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am. J. Pathol.* **121**, 522 (1985).
- 15) Pieper, G. M. and Gross, G. J. : K^+ channel activation with EMD 52692 supresses superoxide anion production by zymosan-activated neutrophils. *J. Mol. Cell Cardiol.* **23**, S99 (1989).
- 16) Grover, G. J., Dzwonczyk, S. and Sleph, P. G. : Reduction of ischemic damage in isolated rat hearts by the potassium channel opener, RP 52891. *Eur. J. Pharmacol.* **191**, 11 (1990).
- 17) Cole, W. C., Mcpherson, C. D. and Sontag, D. P. : ATP-regulated K^+ channels protect the myocardium against ischemia-reperfusion damage

- (Abstract). *J. Moll. Cell Cardiol.* **23**, S101 (1991).
- 18) Walsh, R. S., Tsuchida, A., Daly, J. J. F., Thornton, J. D., Cohen, M. V. and Downey, J. M. : Ketamine-xylazine anesthesia permits a K_{ATP} channel antagonist to attenuate preconditioning in rabbit myocardium. *Cardiovasc. Res.* **28**, 1337 (1994).
- 19) Niho, T., Notsu, T. and Ishikawa, H. et. al. : Study of mechanisms and effects of sodium 5-hydroxydecanoate on experimental ischemic ventricular arrhythmia. *Folia Pharmacol. Japon* **89**, 155 (1987).
- 20) D'Alonzo, A. J. and Grover, G. J. : Potassium channel openers are unlikely to be proarrhythmic in the diseased human heart. *Cardiovasc. Res.* **28**, 924 (1994).
- 21) Campo, G., Squadrito, F. and Altavilla, D. : Reduction of myocardial infarct size in rat by IRFI-048, a selective analogue of vitamin E. *Free Radical Biology & Medicine* **16**, 427 (1994).