

## 비-혈관평활근에서 새로운 K<sup>+</sup> 통로 개방제인 SKP-450의 약리학적 작용의 특성-Levcromakalim의 작용과 비교

홍기환<sup>1</sup> · 박지영<sup>1</sup> · 김현희<sup>1</sup> · 유성은<sup>2</sup>

<sup>1</sup>부산대학교 의과대학 약리학교실 및 <sup>2</sup>대전 한국화학연구소

**In Vitro Pharmacological Characteristics of SKP-450, A Novel K<sup>+</sup> Channel Opener, in Non-Vascular Smooth Muscles in Comparison with Levcromakalim.** Ki Whan Hong<sup>1</sup>, Ji Young Park<sup>1</sup>, Hyun Hee Kim<sup>1</sup>, and Sung-Eun Yoo<sup>2</sup> <sup>1</sup>Department of Pharmacology, College of Medicine, Pusan National University, Pusan, 602-739; and <sup>2</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon, Korea

In the present study, we characterized the non-vascular smooth muscle relaxant effects of a novel benzopyran derivative, SKP-450 (2-[2''(1'',3''-dioxolone)-2-methyl-4-(2'-oxo-1'-pyrrolidinyl)-6-nitro-2H-1- benzopyran) and its metabolite, SKP-310, in comparison with levcromakalim (LCRK). In the rat stomach fundus, the spontaneous motility stimulated by 10<sup>-6.5</sup> M bethanechol was completely eliminated not only by 10<sup>-7</sup> M SKP-450 but also by 10<sup>-6</sup> M LCRK, which were blocked by 10<sup>-6</sup> M glibenclamide. The inhibitory effect of SKP-450 (pD<sub>2</sub>, 3.94 ± 0.66) was much less than LCRK (pD<sub>2</sub>, 5.73 ± 0.38, P < 0.05). In the bethanechol (10<sup>-6.5</sup> M)-stimulated urinary bladder, the tonus was decreased in association with elimination of spontaneous motility by 10<sup>-7</sup> M SKP-450 and 10<sup>-6</sup> M LCRK (pD<sub>2</sub>, 6.77 ± 0.06) (P < 0.05), which were inhibitable by 10<sup>-6</sup> M glibenclamide. The inhibitory effect of SKP-450 (pD<sub>2</sub>, 7.66 ± 0.05) was significantly more potent than that of LCRK (pD<sub>2</sub>, 6.77 ± 0.06, P < 0.05). In the rat uterus stimulated by PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-7</sup> M), both increased tonus and spontaneous motility were eliminated by 10<sup>-6</sup> M LCRK with slight depression of the tonus, but not by SKP-450 (10<sup>-5</sup> M). The stimulated trachea of guinea-pig by 10<sup>-6.5</sup> M bethanechol was moderately suppressed by SKP-450 (10<sup>-6</sup> ~ 10<sup>-5</sup> M) but little by SKP-310. In association with the relaxant effects, SKP-450 (10<sup>-6</sup> M) and LCRK (10<sup>-5</sup> M) caused a significant stimulation of the <sup>86</sup>Rb efflux from rat urinary bladder and stomach fundus, which were antagonized by 10<sup>-5</sup> M glibenclamide, whereas the K<sup>+</sup> channel openers could not exert a stimulation of the <sup>86</sup>Rb efflux from rat uterus.

In conclusion, it is suggested that SKP-450 exerts potent relaxant effects on the urinary bladder detrusor muscle and duodenum, whereas it shows much less effect on stomach fundus and uterus as contrasted to LCRK.

Key Words: Non-Vascular Smooth Muscle, Levcromakalim, SKP-450

### 서 론

최근에 Ashwood et al (1986)에 의하여 benzopyran 유도체인 cromakalim (CRK, BRL 34915)이 개발된 후 이 약물이 강력한 혈압 하강 효과를 가지고 있다는 사실이 많이 보고되었다 (Buckingham et al, 1986; Hof et al, 1988;

Cavero et al, 1989), 아울러, CRK의 약리 작용이 K<sup>+</sup> 통로 개방에 기인한다고 보고되자 K<sup>+</sup> 통로 개방제의 역할에 대한 연구가 활발해졌으며, 아울러 K<sup>+</sup> 통로를 조절하는 새로운 약물의 개발과 함께 약리학적 연구가 활발해졌다.

Racemate인 CRK와 (-)-enantiomer인 levcromakalim (LCRK, BRL 38227)은 혈관평활근에서 K<sup>+</sup> 통로 개방과 K<sup>+</sup> conductance를 증가시켜 막 과분극을 일으키고 결과적으로 혈관 평활근의 이완을 초래한다고 알려졌다 (Hamilton et al, 1986; Weir & Weston, 1986; Kreye et al,

책임저자 : 홍기환, ☎ 602-739 부산시 서구 아미동 1가 10번지  
부산대학교 의과대학 약리학교실

1987; Hof et al, 1988). 또한,  $K^+$  통로 개방제인 cromakalim과 pinacidil은 기니픽 기관지의 자율 운동에 대하여 용량-의존적으로 억제 작용 (Bray et al, 1987; Paciorek et al, 1990)을 나타낼 뿐만 아니라 이 조직에서 prostaglandin  $F_{2\alpha}$ , acetylcholine 및 histamine 등에 의한 수축에 대하여 이들  $K^+$  통로 개방제가 강력한 이완 작용을 나타냄이 보고되었다 (Gillespie & Sheng, 1988; Paciorek et al, 1990). 뿐만 아니라, 기니픽, 흰쥐 및 사람의 방광 배뇨근에서 cromakalim이나 pinacidil이 용량-의존적으로 자율 운동 뿐만 아니라 기저 기장도를 억제시킨다는 사실도 보고되었다 (Foster et al, 1989; Malmgren et al, 1990).

한편, 평활근 세포에서 CRK가  $K^+$  통로를 개방하여 막 과분극을 일으킬 때 그 지시로서  $K^+$  유출을 관찰코자  $^{42}K$ 을 사용한다. 그러나  $^{42}K$ 의 반감기가 짧기 (약 12시간) 때문에  $^{42}K^+$  대신에 반감기가 비교적 긴  $^{86}Rb^+$  (18.6일) 이 효과적으로 대응되고 있다 (Hamilton et al, 1986; Quast, 1987).

최근에 새로운 benzopyran 유도체인 SKP-450 (2-[2''(1'', 3''-dioxolone)-2-methyl-4-(2'-oxo-1'-pyrrolidinyl)-6-nitro-2H-1-benzopyran) (Fig. 1)이 대전 화학 연구소에서 합성되었다. SKP-450은 의식이 있는 자연 고혈압 흰쥐에서 혈압 하강 효과와 혈관 이완 효과를 levromakalim (LCRK)보다 약 5~10배 강하게 나타내고 이들 효과는 ATP-감수성  $K^+$  통로 봉쇄제에 의하여 경쟁적으로 길항되고, 개의 관상동맥 절편에서는  $^{86}Rb^+$  유출에 대하여 LCRK보다 SKP-450이 10배 강한 것으로 나타났다.

본 연구에서는 비-혈관 평활근 장기에 대한 SKP-450의 장기 선택성 유무를 확인하고자 하였다. 흰쥐의 위저부 (stomach fundus), 방광 배뇨근 (urinary bladder detrusor) 및 비임신 자궁 조직에서 SKP-450과 LCRK의 이완 효과와 glibenclamide의 길항 효과를 비교하였다. 나아가 기니픽의 결장유 (taenia coli), 회장말단 (terminal ileum), 기관 (trachea) 및 방광 배뇨근에서 SKP-450과 이의 대사물인 SKP-310의 이완 효과를 관찰하였다. 아울러, 흰쥐 방광 배뇨근, 위저부 및 자궁 평활근에서  $^{86}Rb^+$ 의 기저 유출에 대한 SKP-450의 효과를 LCRK의 효과와 비교하였다.

## 실험재료 및 방법

### 근장력 측정

Secobarbital (50 mg/kg i.p.)로 마취한 Sprague-Dawley 흰쥐 (250~300 g)로부터 위저부, 방광 배뇨근, 십이지장 근 및 자궁근을 적출 하였고, 마취 기니픽 (350~400 g)으로부터 결장유, 기관, 회장말단 및 방광 배뇨근을 적출

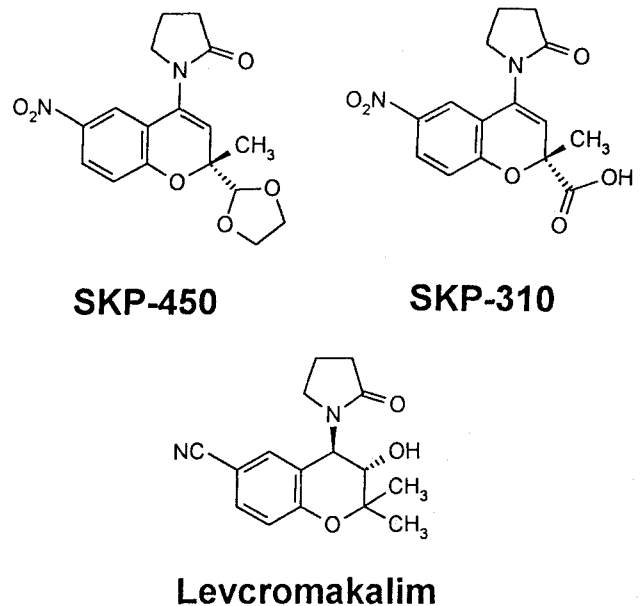


Fig. 1. Chemical structures of SKP-450, SKP-310, its metabolite and levromakalim.

하였다. 각각의 조직을 적출한 후 생리적 영양액 (PSS, physiological salt solution)에 담근 후 지방과 결체조직을 제거하였다. PSS는 NaCl 130, KCl 4.7,  $NaH_2PO_4$  1.18,  $MgSO_4$  1.17,  $CaCl_2$  1.6,  $NaHCO_3$  14.9, dextrose 5.5 mM로 조성되었다. 적출한 조직을 4 ml PSS가 담긴 근실 (37°C)에 메달고 95%  $O_2$ ~5%  $CO_2$ 로 포화시키고 1 g의 안정 장력을 부하하고 매 20분 마다 신선한 PSS로 바꿔 주면서 90분간 평형을 유지시켰다. 등장력(isometric force)은 force displacement transducer (FT .03, Grass Instrument CO. Quincy, MA)를 이용하여 측정되었고 Polygraph에 기록하였다. PSS 내에는 indomethacin (2  $\mu M$ )과 propranolol (0.2  $\mu M$ )을 첨가하여 국소적으로 prostaglandin과 catecholamine의 관여를 배제하였다.  $K^+$  통로 개방 약물의 이완 효과를 관찰하기 위하여 조직에 따라 bethanechol  $10^{-6.5}$  M 또는  $PGF_{2\alpha}$   $10^{-7}$  M을 투여하여 근 긴장도 및 자율 운동을 증가시켰다. 근 긴장도가 일정하게 유지되면  $K^+$  통로 개방제를 투여하여 이완 작용을 관찰하고, 처음 긴장도 값을 100%로 하여 백분율을 구하고, 50%의 이완을 일으키는 값  $EC_{50}$ 을 구한 다음  $-\log EC_{50}$  (M) 값을  $pD_2$ 로 하였다.

### $^{86}Rb$ 유출실험

$K^+$  유출의 표시자로  $^{86}RbCl$ 를 사용하였다. 조직을 스테인레스 고리에 고정시킨 후 기저 장력 없이 30분 동안 37°C의 PSS에 담그고 95%  $O_2$ ~5%  $CO_2$ 로 포화시켰다.

안정을 시킨 후 조직은  $^{86}\text{RbCl}$  ( $1 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ )를 첨가한 PSS에 90분 동안 담가 두었다. 이 과정이 끝난 후 조직을 신선한 PSS로 헹구고 각각의 조직을 매 5분마다 시험관에서 시험관으로 옮기면서  $^{86}\text{Rb}$ 의 유출을 결정하였다. 시험관에는  $\text{Ca}^{2+}$ -free와 2 mM EGTA [ethylene glycol-bis ( $\beta$ -aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid]와 10 mM  $\text{MgCl}_2$ 가 포함된  $\text{Ca}^{2+}$ 이 들어 있지 않은 PSS를 사용하였다. 이들은  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^+$  통로의 관여를 배제하고 glibenclamide-sensitive  $\text{K}^+$  유출을 증가시키기 위함이었다. 시험관에 들어 있는 용액 내의  $^{86}\text{Rb}$ 의 양은 Liquid Scintillation Analyzer (Packard, model A 2100, TRI-CARB 2100TR)를 이용하여 방사능을 측정하였고 유출에 대한 결과는 유출 계수 (rate coefficient, 조직으로부터의  $^{86}\text{Rb}$ 의 기능적 소실로서  $\%/ \text{min}$ 로 표시)로 표시하였다.

#### 약 물

SKP-450, 그의 대사물인 SKP-310과 levcromakalim

(LCRK)은 대전 한국 화학 연구소에서 합성되었다. LCRK는 ethanol-polyethylene glycol (50:50 v/v)에 녹여 10 mM로 저장 용액을 만들었고, SKP-450은 dimethylsulfoxide (DMSO)에 녹인 후 역시 10 mM의 저장 용액을 만들어 사용하였다. Glibenclamide (Sigma Chemical Co.)는 NaOH (0.1 N) 1 ml에서 sonication 시킨 후 5% glucose로 희석하여 10 mM로 저장 용액을 만들어 사용하였다.

#### 통계처리

실험 결과는  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ 으로 표시하였다. 통계적 분석은 Student's *t*-test로 unpaired *t*-test나 group 간의 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행하였다.  $P < 0.05$ 일 경우, 각각의 차이에 대해 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

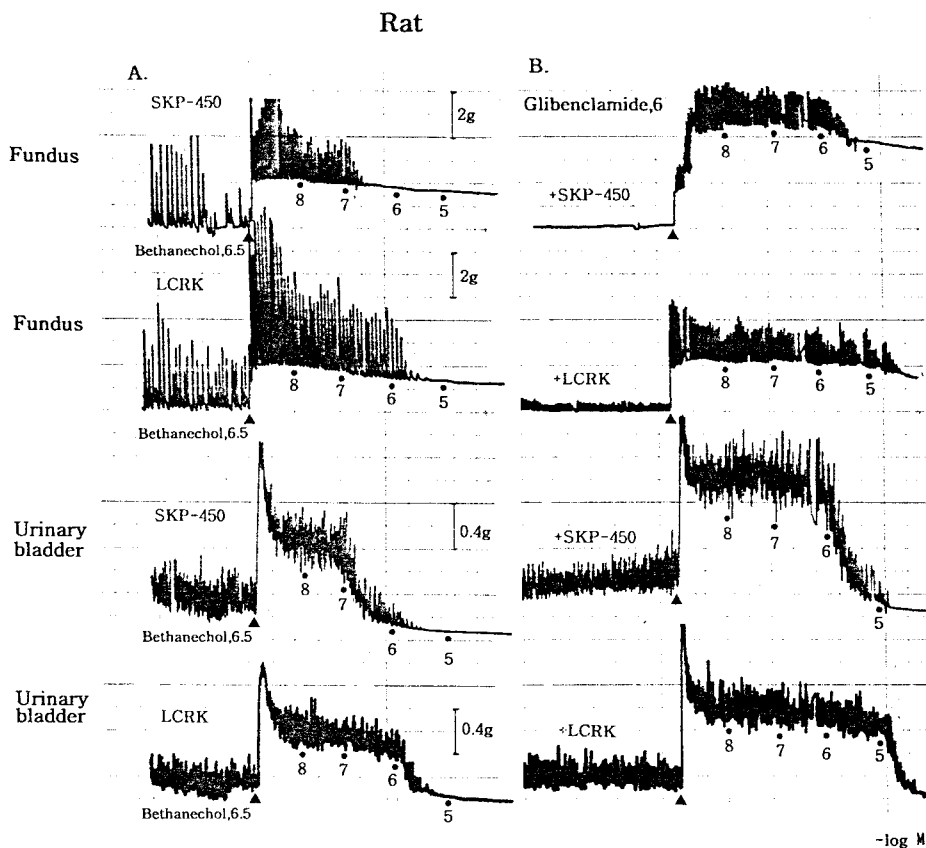


Fig. 2. Tracings of effects of SKP-450 and levcromakalim (LCRK) in the absence (A) and presence (B) of glibenclamide ( $10^{-6}$  M) on the rat fundus strips and urinary bladder detrusor muscle contracted by muscarinic agonist, bethanechol ( $10^{-6.5}$  M).

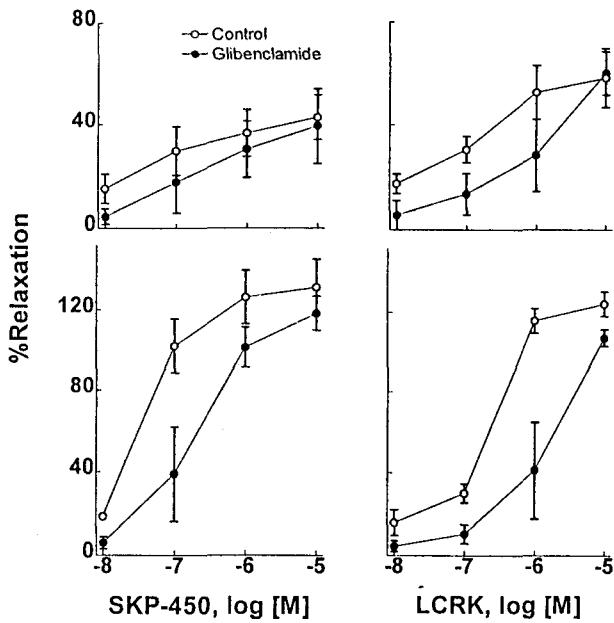


Fig. 3. Concentration-dependent decrease in tone in response to SKP-450 (A & C) and levromakalim (LCRK; B & D) of the bethanechol ( $10^{-6.5}$  M)-induced contraction of rat stomach fundus (A & B) and urinary bladder (C & D) in the absence and presence of glibenclamide ( $10^{-6}$  M). The results represent mean  $\pm$  S.E.M. of four experiments.

실험결과

흰쥐의 위저부와 방광 배뇨관에 대한 실험

Fig. 2에서는 흰쥐의 위저부와 방광 배뇨관에서 SKP-450과 LCRK의 작용을 비교하고, 아울러  $K^+$  통로 봉쇄제인 glibenclamide ( $10^{-6}$  M) 전처치 하에서 이들의 이완 작용을 비교하였다. 흰쥐 위저부 절편에 bethanechol  $10^{-6.5}$  M을 가하였을 때 근 긴장도와 자율 운동이 증가되었고 이때 SKP-450과 LCRK를 투여하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 흰쥐 위저부에서 SKP-450은  $10^{-7}$  M에서, LCRK는  $10^{-6}$  M에서 자율 운동은 쉽게 소실되었으나 SKP-450과 LCRK가 근 긴장도를 저하시키는 정도는 약하였다. Glibenclamide  $10^{-6}$  M 전처치 하에서는 SKP-450  $10^{-6}$  M과 LCRK  $10^{-5}$  M 농도에서 자율 운동의 소실이 야기되었다. 이들 성적을 정리하면 Fig. 3에서 보는 바와 같다. SKP-450과 LCRK는 용량 의존적으로 위저부의 이완을 일으키고 glibenclamide ( $10^{-6}$  M)의 전처치에 의하여 용량-반응 곡선이 우측으로 이동하였다. 약물의 감수성을 고려하면 위저부에서는 SKP-450 (추정치  $pD_2$ ,  $3.94 \pm 0.66$ )은 LCRK ( $pD_2$ ,  $5.73 \pm 0.38$ )에 비하여 약 100배나

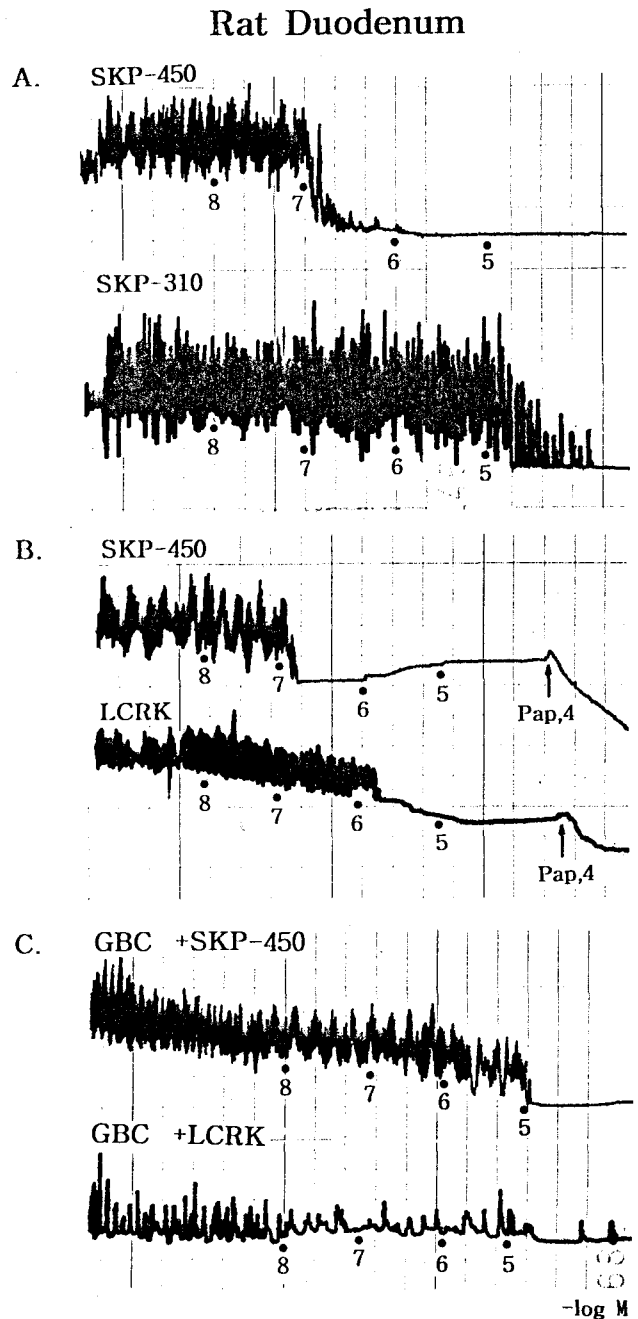


Fig. 4. Comparisons of the relaxant effect of SKP-450 with SKP-310 (A) and levromakalim (LCRK; B), and effect of glibenclamide (GBC,  $10^{-6}$  M) on the SKP-450- and LCRK-induced relaxations (C) of the rat duodenum.

약하였다 ( $P < 0.05$ ) (Fig. 3A, 3B). 한편, 흰쥐 방광 배뇨관에서는 bethanechol  $10^{-6.5}$  M에 의하여 기저 긴장도를 증가시킨 후 SKP-450을 투여시  $10^{-7}$  M SKP-450과  $10^{-6}$  M LCRK에 의하여 근 긴장도의 저하가 야기되고  $10^{-6}$  및

$10^{-5}$  M에 의하여 자율 운동의 소실이 일어났다. Glibenclamide  $10^{-6}$  M의 전처치에 의하여서는 SKP-450  $10^{-6}$  M과 LCRK  $10^{-5}$  M에 의하여 근 긴장도가 각각 감소되었으나 자율 운동은 그대로 지속 되었다 (Fig. 3C, 3D). 흰쥐 방광 배뇨근에서 SKP-450과 LCRK는 둘다 bethanechol에 의한 근 긴장도 증가 분에 대하여 용량 의존적으로 긴장 저하를 일으켰고 glibenclamide ( $10^{-6}$  M) 전처치에 의하여 곡선이 우측으로 이동하였다. 근이완을 50% 일으키는데 소요되는 약물 농도를  $pD_2$ 로 나타내면 SKP-450은  $pD_2$  값이  $7.66 \pm 0.05$ 이고, LCRK는  $pD_2$ 가  $6.77 \pm 0.06$  ( $P < 0.001$ ) 이었다. 따라서 흰쥐 방광 배뇨근은 LCRK에 대한 것보다 SKP-450에 대하여 감수성이 훨씬 높게 나타났었다.

이상의 결과는 흰쥐 위저부는  $K^+$  통로 개방제에 의하여 자율 운동이 예민하게 소실되나 근 긴장도는 크게 영향을 받지 아니 하였고, 그 정도는 LCRK가 SKP-450보다 강하였다. 방광 배뇨근은 위저부와는 대조적으로 근 긴장도는 쉽게 저하되나 자율 운동의 소실은 비교적 고농도의 약물 용량을 요구하였으며, 이 조직에서는 SKP-450이 LCRK보다 훨씬 강하였다.

#### 흰쥐 심이지장근에 대한 실험

Fig. 4에서 보는 바와 같이 심이지장 절편은 SKP-450  $10^{-7}$  M에 의하여 자율운동의 급격한 소실과 근 긴장도의 저하가 초래되었으나 SKP-310에 의하여서는  $10^{-5}$  M에 의하여 서서히 자율 운동이 소실되고 이에 동반하여 근 긴장도가 저하되었다. SKP-450과 LCRK를 비교한 실험에서는 (Fig. 4) LCRK는  $10^{-6}$  M에 의하여 급격히 자율 운동의 소실과 함께 긴장도가 감소한 데 비하여 SKP-450은  $10^{-7}$  M에 의하여 자율 운동의 소실과 긴장 저하가 야기되었다. Glibenclamide  $10^{-6}$  M을 전처치한 경우에는 SKP-450  $10^{-5}$  M에 의하여 자율 운동의 소실과 함께 긴장도가 급격히 떨어졌으나, LCRK는  $10^{-5}$  M에 의하여서도 자율 운동의 빈도는 낮으나 지속되었고 긴장도의 감소는 없었다.

#### 흰쥐 자궁에 대한 실험

$PGF_{2\alpha}$   $10^{-7}$  M을 사용하여 자율 운동을 유도하였을 때는 SKP-450이나 SKP-310은  $10^{-5}$  M에서도 억제 작용을 나타내지 못하였다 (Fig. 5). Fig. 6에서는  $PGF_{2\alpha}$   $10^{-7}$  M 첨가에 의하여 자율 운동을 유도하였을 때 SKP-450은  $10^{-5}$

### Rat uterus

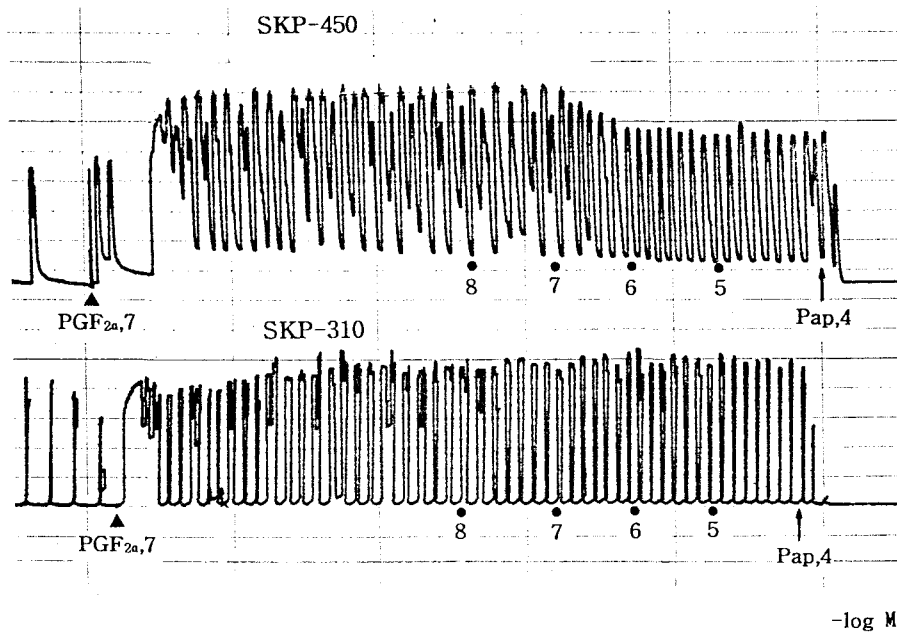


Fig. 5. Effect of SKP-450 and SKP-310 on the motility of rat uterus stimulated by  $PGF_{2\alpha}$  ( $10^{-7}$  M).

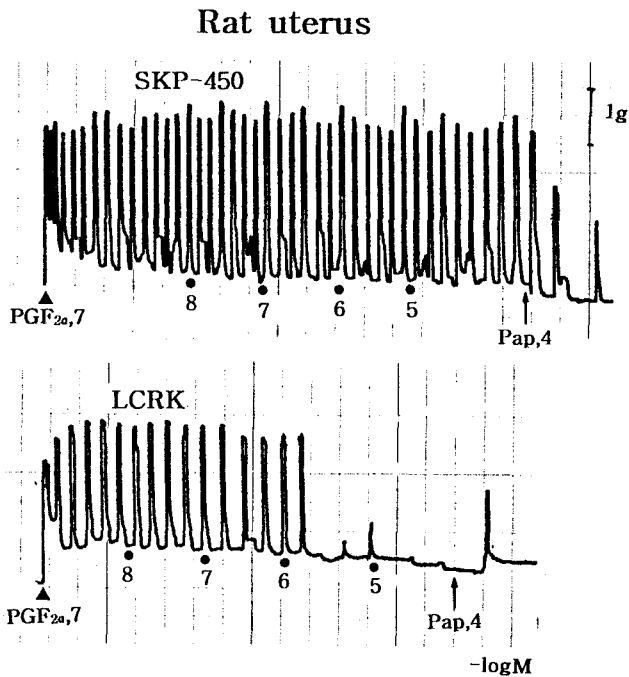


Fig. 6. Comparison of effect of SKP-450 with that of levromakalim (LCRK) in the rat uterus stimulated by  $PGF_{2\alpha}$  ( $10^{-7}$  M).

M의 고농도에서 자율 운동의 빈도 수가 경미하게 감소되었으나 긴장도는 크게 변동되지 아니하였다. 그러나 LCRK는  $10^{-6}$  M에서 자율 운동을 급격히 감소시켰다.

기니피크의 각종 평활근에 대한 실험

Fig. 7에서는 기니피크의 결장유, 회장말단, 기관 및 방광 배뇨근에서 SKP-450과 이의 대사물인 SKP-310의 효과를 비교 관찰하였다. 결장유와 회장말단은 근실내에서 자율 운동을 나타내었다. 결장유나 회장말단에서 야기된 자율 운동은 SKP-450  $10^{-7.5}$  M의 투여에 의하여 소실되었으나 SKP-310은  $10^{-5}$  M 이상의 농도에서는 약화되었다. 기관은 muscarine성 효현제인 bethanechol  $10^{-6.5}$  M에 의한 수축반응은 SKP-450  $10^{-7}$  M에 의하여 이완이 야기되었으나,  $10^{-6} \sim 10^{-5}$  M을 더 첨가하여도 일정한 정도 이상의 이완은 일어나지 아니하였다. SKP-310에 의하여서는  $10^{-5}$  M에서 경미한 이완이 일어났다. 한편, 방광 배뇨근에서도 자율 운동을 유발하기 위하여 bethanechol  $10^{-6.5}$  M을 투여하였다. 이때 SKP-450  $10^{-7}$  M에 의하여 자율 운동의 소실 및 근 긴장도의 감소가 야기되었으나 SKP-310은  $10^{-5}$  M에 의하여 이들 반응이 비로소 억제되기 시작하였다.

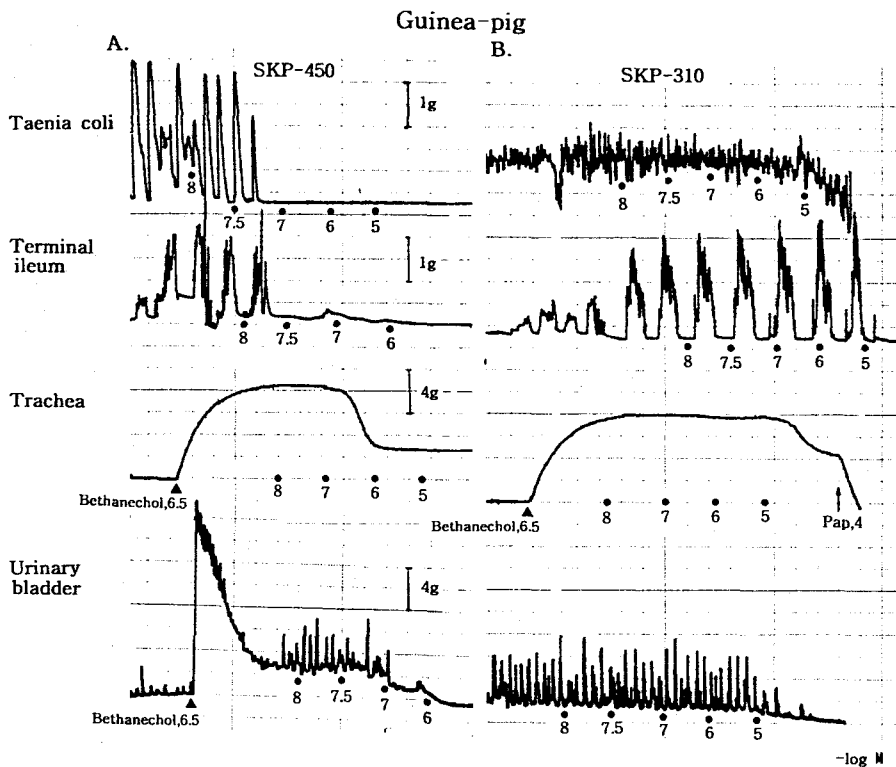
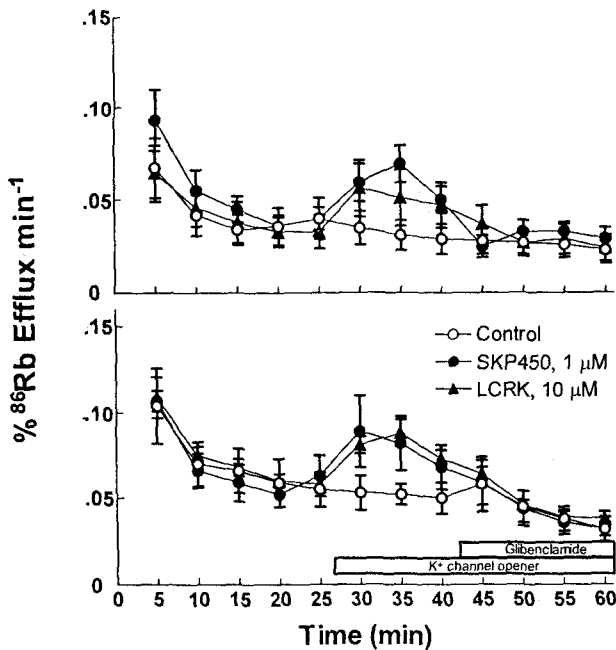


Fig. 7. Tracings of effects of SKP-450 (A) and SKP-310 (B) on the spontaneous motility of taenia coli, and terminal ileum and on the bethanechol-stimulated contractility of the trachea and urinary bladder of the guinea-pig.



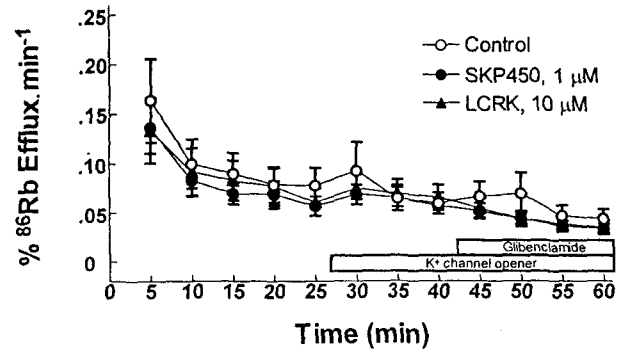
**Fig. 8.** Effect of SKP-450 and levcromakalim (LCRK) on the basal  $^{86}\text{Rb}^+$  efflux from resting strips of rat urinary bladder (A) and stomach fundus (B). The  $^{86}\text{Rb}^+$  experiment was conducted in  $\text{Ca}^{2+}$ -free PSS with 2 mM EGTA and 10 mM  $\text{MgCl}_2$ . From 6th to the 12th tube, SKP-450 (0.1 or 1  $\mu\text{M}$ ) and levcromakalim (1 or 10  $\mu\text{M}$ ) were included, respectively, and from 9th to 12th tube, 10  $\mu\text{M}$  glibenclamide was added throughout. Values represent means  $\pm$  SEM derived from 3 duplicate experiments.

#### $^{86}\text{Rb}^+$ 유출실험

이 실험에서는 2 mM EGTA와 10 mM  $\text{MgCl}_2$ 를 보충한  $\text{Ca}^{2+}$ -free PSS 용액을 사용하였다. 흰쥐 방광 배뇨근 절편에서  $^{86}\text{Rb}^+$ 의 기저 유출이 SKP-450과 LCRK에 의하여 항진되었고 SKP-450  $10^{-6}$  M의 효과는 LCRK  $10^{-5}$  M을 처치한 때와 아주 유사한 정도의  $^{86}\text{Rb}^+$  유출을 일으켰다. Glibenclamide  $10^{-5}$  M 후처치에 의하여 이들  $\text{K}^+$  통로 개방제의 효과는 소실되었다 (Fig. 8A). 흰쥐 위저부 절편에 SKP-450  $10^{-6}$  M과 LCRK  $10^{-5}$  M을 처치시 흰쥐 방광 배뇨근 절편에서 관찰된 결과와 유사한 결과를 나타내었다 (Fig. 8B). 그러나 흰쥐 자궁 절편에서는 SKP-450이나 LCRK에 의하여  $^{86}\text{Rb}^+$  유출의 증가는 관찰되지 아니하였다 (Fig. 9).

## 고 찰

방광은 뇨를 저류시켰다가 적당한 시간에 배뇨시키는



**Fig. 9.** Effect of SKP-450 and levcromakalim (LCRK) on the basal  $^{86}\text{Rb}^+$  efflux from resting strips of rat uterus.

기능을 가지고 있다. 대부분의 동물에서 방광의 수축은 코린성과 비아드레날린-비코린성 흥분기전에 의하여 조절되고, 방광의 기저 긴장도, 자율 운동 및 약물에 의한 수축 등은 세포 내의  $\text{Ca}^{2+}$  변동에 의하여 좌우된다 (Brading, 1987). 노인들은 배뇨근의 민감한 수축으로 인한 뇨실금 (urinary incontinence)과 빈뇨 등을 흔히 호소한다. 배뇨근의 민감한 반응으로 야기되는 불수의적인 수축을 치료하는 새로운 약물로서  $\text{K}^+$  통로 개방제가 크게 주목을 받고 있고, cromakalim과 pinacidil이 기니픽, 흰쥐 및 사람의 배뇨근 절편의 자율운동과 근 긴장도를 저하시킨다고 알려져 있으며, 특히 방광비대나 배뇨근 불안정으로 인한 심한 뇨폐쇄 등 방광 기능 부전시 cromakalim이나 pinacidil이 더욱 효과적으로 자율 운동을 억제한다고 보고되었다 (Foster et al, 1989; Malmgren et al, 1990).

흰쥐 방광 배뇨근에서는 SKP-450이 LCRK보다 약 10 배 낮은 농도에서 근 긴장의 저하를 일으켰다. 흰쥐 위저부와 방광 배뇨근에 대한 SKP-450과 LCRK의 약리 작용이 ATP-sensitive  $\text{K}^+$  통로 봉쇄제인 glibenclamide에 의하여 길항이 되는 점으로 보아 SKP-450의 작용은  $\text{K}^+$  통로를 개방하여 야기된 결과라고 할 수 있다. Edwards et al (1991)이 보고한 바에 의하면 흰쥐 방광 절편에서 근 긴장도에 대한 levcromakalim (levcromakalim)과 pinacidil의 이완 효과는  $\text{EC}_{50}$  값이 0.86  $\mu\text{M}$ 과 1.59  $\mu\text{M}$ 이었고, 본 실험에서는 levcromakalim의  $\text{EC}_{50}$  값이 0.17  $\mu\text{M}$ 이었다. 이와 같이 방광은  $\text{K}^+$  통로 개방제에 대하여 민감하게 반응한다. 본 실험과 타 보고에서 LCRK 용량의 차이가 나타난 이유는 본 실험에서는 방광 수축을 일으키기 위하여 bethanechol을 사용하였고 그들은 20 mM KCl를 사용하였기 때문인 것으로 추측된다. Fujii et al (1990)은 기니픽 방광근에서 cromakalim은  $\text{K}^+$  투과성을 증가시키는 점에서 방광근에는 혈관평활근에서 볼 수 있는 ATP 의존  $\text{K}^+$  통로

(Standen et al, 1989)와 유사한 통로가 있을 뿐 아니라 spike repolarization을 일으키는 delayed rectifier  $K^+$  통로 (Klöckner & Isenberg, 1985)와도 유사한 통로가 함께 관여 하였을 것이라고 보고하였다. 본 연구에서는 비록 방광비대증 동물을 사용한 실험결과는 없지만 Malmgren et al (1989)은 흰쥐 뇨도의 부분 폐쇄로 야기된 방광비대증에 대하여 cromakalim이나 pinacidil을 사용할 때 방광 수축력의 감소와 동반하여 배뇨압의 감소가 일어나고 잔뇨가 발생한다고 하였다. SKP-450은 LCRK보다 낮은 용량에서 방광기능부전에 유효하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구의 흰쥐 위저부에서 SKP-450과 LCRK의 작용을 비교하였을 때, 위저부의 자율 운동은 SKP-450이 LCRK보다 약 100배 정도 낮은 농도에서 소실되었으나 bethanechol에 의하여 증가된 근긴장은 두 약물 모두  $10^{-5}$  M에 의하여서도 억제되지 아니하였다. Tomita와 Brading (1990)에 의하면 위근의 자율 운동은 규칙적인 slow wave 또는 slow depolarizing potential을 동반하는 율동성 phasic 수축으로 구성되는데 기니픽 위근에서 cromakalim을 투여시 전기적 slow wave는 존속되나 근 긴장은 소실된다고 하였다. 본 연구에서 흰쥐 위저부는 bethanechol 투여에 의하여 SKP-450과 LCRK에 의하여 자율운동이 소실되고 근 긴장도의 저하는 거의 없었다는 점에서 그들의 결과와 일치하지는 않는다. 더구나  $^{86}Rb^+$  유출이 농도의 차이는 있으나 두 약물에 의하여 현저히 증가되었고 glibenclamide에 의하여 봉쇄된 점으로 보아 위저부의 운동성 소실에는  $K^+$  통로의 개방이 관여한다고 볼 수 있다. 그럼에도 근 긴장도의 저하가 높은 농도의 SKP-450에 의하여 이루어지지 않은 점은 이 실험결과로서는 알 수 없다.

Buchheit & Bertholet (1988)는 cromakalim이 기니픽 회장에서 신경성과 근성 기능의 조정에 의한 연동 반사 활동을 억제한다고 하였다. 또한 Schwörer & Kilbinger (1989)는 기니픽 소장에서 muscarine성  $M_1$ -수용체 매개에 의한 acetylcholine의 유리가 cromakalim-sensitive  $K^+$  통로의 개방에 의하여 억제된다고 하였다. 본 연구에서는 흰쥐 십이지장근에서 SKP-450과 LCRK가 자율성 운동뿐만 아니라 bethanechol에 의한 근 긴장을 억제시켰고 SKP-450이 LCRK보다 10배 낮은 농도에서 이루어졌다. den Hertog et al (1989)은 cromakalim이 기니픽의 결장유의 평활근 세포에서 glibenclamide-sensitive  $K^+$  통로를 경유하여  $K^+$  유출을 증가시키고 결과적으로 막과분극과 spike activity의 억제와 근이완을 초래한다고 보고하였다. 이상의 문헌과 이 실험결과들을 종합해 보면 이러한 자율 운동의 소실은  $K^+$  conductance의 증가로 십이지장의 myen-

teric neurone의 muscarine  $M_1$ -수용체 매개에 의한 acetylcholine의 유리를 억제시킨 결과 (Schwörer & Kilbinger, 1989)라고 할 수 있고, 근 긴장 저하는 평활근의  $K^+$  conductance의 증가로 인한 막과분극으로 세포내  $Ca^{2+}$  량의 감소에 기인한다고 추측된다. SKP-450의 대사물인 SKP-310은 SKP-450에 비하여 약 100배로 높은 농도에서 약물 효과를 나타내었다.

한편, 흰쥐 자궁에서  $PGF_{2\alpha}$ 에 의하여 유발된 자율 운동은 SKP-450  $10^{-7} \sim 10^{-5}$  M에 의하여서도 영향을 받지 아니하였으나 LCRK는  $10^{-6}$  M 농도에서 자율 운동을 현저히 감소시키는 차이를 나타내었다. Hollingsworth et al (1987)은 흰쥐 평활근에서 cromakalim이  $K^+$  통로 개방으로 추정되는 이완 효과를 나타내지만 다른 평활근과는 달리  $^{86}Rb^+$  유출이나 현저한 과분극은 동반되지 않는다고 한 점은 본 실험의 결과와 일치되는 바이다. 그후 Piper & Hollingsworth (1989)는 cromakalim, RP49356과 pinacidil이 흰쥐 자궁근을 이완시키고 glibenclamide에 의하여 이들 이완이 봉쇄되고 minoxidil sulfate는 이들  $K^+$  통로 개방제와는 달리 작용이 약할 뿐 아니라 glibenclamide에 의하여 길항되지 않는다고 하였다. 이러한 사실들을 종합해 볼때 혈관근에서 나타내는 이들  $K^+$  통로 개방제의 작용점이 자궁근에는 없거나 비활동성이라고 추측할 수 있다.

$PGF_{2\alpha}$ 에 의한 유도 자율 운동에 대하여 SKP-450과 LCRK가 작용의 차이를 나타내는 현상은 두 약물의 구조적 차이에 기인한다고 할 수 있다. SKP-450은 2번 위치에 dioxolane moiety를 가지고 있는 반면에 LCRK는 methyl기를 가지고 있으며 3번 위치에는 SKP-450에서 hydroxyl기 대신에 olefin moiety를 가지고 있다. LCRK는 phenyl ring에 cyan기를 가지고 있는 대신에 SKP-450은 nitro기를 가지고 있다. 더욱 특징적인 것은 LCRK는 3번과 4번 위치에 chiral center가 있는데 SKP-450은 2번 위치에 chiral기를 가지고 있다. 이상의 구조적 차이로 보아 이들 약물이  $K^+$  통로에서 결합할 때 결합 conformation이 달라지기 때문에 약물 효과의 강도와 작용의 차이가 나타난 것으로 추정하고 있다.

이상의 결과를 종합하면 비-혈관 평활근은 혈관근과는 달리 장기에 따라 그리고 평활근의 활동 상태에 따라 SKP-450의 이완 효과가 다르게 나타남을 보여주었고, 흰쥐의 방광 배뇨근과 십이지장에서 SKP-450의 작용은 LCRK와 크게 차이가 없이 강력한 이완 효과를 나타내지만 위저부나 자궁근에서는 LCRK와는 달리 억제 작용이 훨씬 약하였다.



## 감사의 글

이 논문은 한국과학재단과 선정인더스트리의 연구비 지원으로 이루어졌음.

## 참 고 문 헌

- Ashwood VA, Buckingham RE, Cassidy F, Evans JM, Faruk EA, Hamilton TC, Nash DJ, Stemp G, Willcolks K. Synthesis and antihypertensive activity of 4-(cyclic amido)-2H-1-benzopyrans. *J Med Chem* 29: 2194–2201, 1986
- Brading AF. Physiology of bladder smooth muscle. In: *The Physiology of Lower Urinary Tract*. ed. by Torrens, M. & Morrison, J.F.B. Berlin, Springer-Verlag, pp. 161–191, 1987
- Bray KM, Newgreen DT, Weston AH. Some effects of the enantiomers of the potassium channel openers, BRL 34915 and pinacidil, on rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 91: 357P, 1987
- Buchheit KH, Bertholet A. Inhibition of small intestine motility by cromakalim (BRL 34915). *Eur J Pharmacol* 154: 335–337, 1988
- Buckingham RE, Clapham JC, Hamilton TC, Longman SD, Norton J, Poyser RH. BRL 34915, a novel antihypertensive agent: comparison of effect on blood pressure and other haemodynamic parameters with those of nifedipine in animal models. *J Cardiovas Pharmacol* 8: 798–804, 1986
- Cavero I, Mondot S, Mestre M. Vasorelaxant effects of cromakalim in rats are mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 248: 1261–1268, 1989
- Edwards G, Henshaw M, Miller M, Weston AH. Comparison of the effects of several potassium-channel openers on rat bladder and portal vein *in vitro*. *Br J Pharmacol* 102: 679–686, 1991
- Foster CD, Speakman MJ, Fujii K, Brading AF. The effects of cromakalim on the detrusor muscle of human and pig urinary bladder. *Br J Urol* 63: 284–294, 1989
- Fujii K., Foster CD, Brading AF, Parekh AB. Potassium channel blockers and the effects of cromakalim on the smooth muscle of the guinea-pig bladder. *Br J Pharmacol* 99: 779–785, 1990
- Gillespie JS, Sheng H. The lack of involvement of cyclic nucleotides in the smooth muscle relaxant action of BRL 34915. *Br J Pharmacol* 94: 1189–1197, 1988
- Hamilton TC, Weir SW, Weston AH. Comparison of the effects of BRL 34915 and verapamil on electrical and mechanical activity in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 88: 103–111, 1986
- den Hertog A, Van den Akker J, Nelemans A. Effect of cromakalim on smooth muscle cells of guinea-pig taenia caeci. *Eur J Pharmacol* 174: 287–291, 1989
- Hof RP, Quast U, Cook NS, Blarer S. Mechanism of action and systemic and regional hemodynamics of the potassium channel activator BRL 34915 and its enantiomers. *Circ Res* 62: 679–686, 1988
- Hollingsworth M, Amédéc T, Edwards D, Mironneau J, Savineau JP, Small RC, Weston AH. The relaxant action of BRL 34915 in rat uterus. *Br J Pharmacol* 91: 803–813, 1987
- Klößner U, Isenberg G. Action potentials and net membrane currents of isolated smooth muscle cells (urinary bladder of the guinea-pig). *Pflügers Arch* 405: 329–339, 1985
- Kreye VAW, Gerstheimer F, Weston AH. Effects of BRL 34915 on resting membrane potential and <sup>86</sup>Rb efflux in rabbit tonic vascular smooth muscle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 335: R64, 1987
- Malmgren A, Andersson K-E, Andersson P-O, Fovaeus M, Sjögren C. Effects of cromakalim (BRL 34915) and pinacidil on normal and hypertrophied rat detrusor *in vitro*. *J Urol* 143: 828–834, 1990
- Malmgren A, Andersson K-E, Sjögren C, Andersson P-O. Effects of pinacidil and cromakalim (BRL 34915) on bladder function in rats with detrusor instability. *J Urol* 142: 1134–1138, 1989
- Paciorek PM, Cowlrick IS, Perkins RS, Taylor JC, Wilkinson GF, Waterfall JF. Evaluation of the bronchodilator properties of Ro 31-6930, a novel potassium channel opener, in the guinea-pig. *Br J Pharmacol* 100: 289–294, 1990
- Piper I, Hollingsworth M. Cromakalim, RP 49356, pinacidil and minoxidil sulfate in the rat uterus and their antagonism by glibenclamide. *Br J Pharmacol Proc* 13-15th C33, 1989
- Quast U. Effect of the K<sup>+</sup> efflux stimulating vasodilator BRL 34915 on <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup> efflux and spontaneous activity in guinea-pig portal vein. *Br J Pharmacol* 91: 569–578, 1987
- Schwörer H, Kilbinger H. Effects of cromakalim on acetylcholine release and smooth muscle contraction in guinea-pig small intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol* 339: 706–708, 1989
- Tomita T, Brading AF. The effect of cromakalim in guinea-pig stomach cannot be ascribed solely to opening K<sup>+</sup> channels. *Br J Pharmacol* 99: 9P, 1990
- Weir SW, Weston AH. The effects of BRL 34915 and nicorandil on electrical and mechanical activity and on <sup>86</sup>Rb<sup>+</sup> efflux in rat blood vessels. *Br J Pharmacol* 88: 121–128, 1986

