

토끼의 적출장관 운동에 대한 Choline Esters의 pD_2 값

박준형 · 김영환 · 김길수

경북대학교 수의과대학

pD_2 Value of Choline Esters on Motility of Isolated Rabbit Jejunum Segment.

Park, Joon Hyoung · Kim, Young Whan · Kim, Kil Soo

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University

Summary

The effects of choline and choline esters (acetylcholine, methacholine, carbachol, bethanechol) on motility of isolated rabbit jejunum segment were examined and pD_2 values of each drugs were compared.

The results were as follows.

In choline, there were revealed that maximum effective concentration was $10^{-2}M$, ED_{50} was $2.4 \times 10^{-3}M$, and pD_2 value was 2.619.

In acetylcholine, there were revealed that maximum effective concentration was $10^{-4}M$, effect was hardly shown in $10^{-9}M$ concentration, ED_{50} was $0.5 \times 10^{-5}M$, and pD_2 value was 5.154

In methacholine, there were revealed that maximum effective concentration was $10^{-5}M$, effect was hardly shown in $10^{-9}M$ concentration, ED_{50} was $9 \times 10^{-7}M$, and pD_2 value was 6.045

In carbachol, there were revealed that maximum effective concentration was $10^{-5}M$, effect was hardly shown in $10^{-11}M$ concentration, ED_{50} was $5.7 \times 10^{-7}M$, and pD_2 value was 6.244.

In bethanechol, there were revealed that maximum effective concentration was $10^{-4}M$, effect was hardly shown in $10^{-6}M$ concentration, ED_{50} was $3.3 \times 10^{-6}M$, and pD_2 value was 5.480.

Choline and choline esters caused contraction on motility of isolated rabbit jejunum segment.

The order of pD_2 values of drugs was carbachol, methacholine, bethanechol, acetylcholine and choline (in the descending order of potency).

서 론

Choline esters는 choline에서 유도된 화합물로서 약리학적으로 콜린성 약물(cholinergic drugs)에 속하며 acetylcholine, methacholine, carbachol 및 bethanechol 등이 있다(Fig. 1). 이들 중 acetylcholine은

동물의 생체내에서 신경충격을 전달하는 물질로서 자율신경 중 특히 부교감신경의 기능에 중요한 역할을 하고 있음은 잘 알려진 사실이다.^{2,8,13)}

한편, pD_2 값이란 어떤 약물의 용량을 기준으로 하여 그때 나타나는 효과를 수치로 나타낸 것으로서 약물의 효력을 비교하는데 흔히 사용되는 값이다.¹⁴⁾

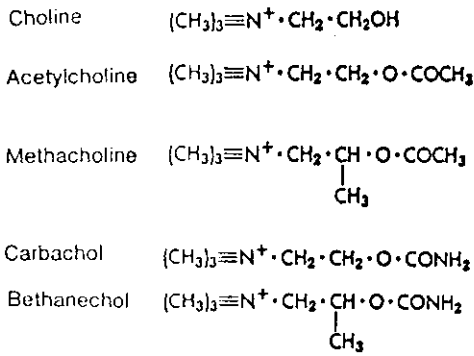


Fig. 1. Chemical structures of choline and choline esters.

Choline esters는 부교감신경계의 기능을 촉진하여 눈에서는 축동, 평활근에서는 수축, 각종 분비선에서는 분비항진, 순환기계통에서는 혈관의 확장 및 심장박동수의 억제 등 여러 약리작용을 발현하며 이같은 약리작용의 특성을 이용하여 임상상의 치료 또는 기타 실험 등 여러가지 목적으로 이용된다.¹

6.7.11.12)

그러나 이들 choline esters가 화학적 구조가 유사하고 약리작용도 유사함에도 불구하고 그들이 가지고 있는 효력의 크기가 불명확함으로 임상적 혹은 실험적 목적으로 이용시 약물선택에 어려움이 있다고 하겠다. 따라서 이들 choline esters의 효력의 크기를 비교하여 약물선택에 참고자료를 제공 할 목적으로 이들 choline esters의 pD₂ 값을 토끼의 적출장관을 이용하여 알아보고자 실험을 행하였던 바 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

→실험동물 및 근 절편제작 : 실험동물로는 0.7~1.3kg 전후의 건강한 토끼 30마리를 암수구별없이 사용하였다. 근절편제작은 토끼의 후두부를 타격하여 치사시킨 후 개복하여 공장 부위를 신속히 적출하여 Tyrode용액에 담그고 0°C에서 1시간 이상

냉장 보관한 후 1.5cm정도의 크기로 잘라 장간막을 모두 제거하였다. 이 절편의 양단을 명주실로 묶고 상부는 writing lever에 연결하고 하부는 Magnus bath내의 고정고리에 연결하였으며 모든 제작 과정은 Tyrode용액 내에서 실시하였다.

→적출장관 운동의 묘기 : Magnus법에 따라 공기를 계속적으로 공급하고 39.5±0.5°C로 유지되는 Tyrode용액 50ml가 담긴 Magnus bath내에 공장 절편을 현수하고 0.3g의 부하를 가하여 30분이상 적응시킨 후 electric kymograph (Model. 811-10 550-5, Bioscience, England)를 사용하여 등장성 수축(isotonic contraction)을 묘기하였으며 장관이 규칙적인 운동을 할 때 각 약물들을 투여하여 장관의 운동을 관찰하였으며 각각의 약물을 한 농도당 7예씩 실험하였으며 모든 약물들은 mol농도로 하여 투여하였다.

또한 각 약물들의 potency는 log dose-response curve로부터 ED₅₀을 구하여 pD₂값을 구하였다.

→약물 : 본 실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

acetylcholine chloride (Wako pure Chemical Industries)

choline chloride (sigma)

methacholine chloride (sigma)

carbachol chloride (sigma)

bethanechol chloride (sigma)

결 과

토끼의 적출장관이 규칙적으로 수축과 이완을 반복하며 운동을 하고 있을 때 choline과 choline esters를 적용시키면 수축반응을 나타내었고 choline을 적용시키면 최대유효농도는 10⁻⁶M에서 나타났으며 ED₅₀은 2.4×10⁻⁶M이었고 pD₂값은 2.619이었다(Fig. 2).

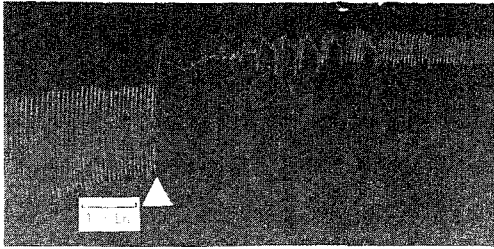


Fig. 2. Effect of choline chloride ($10^{-2}M$) on motility of isolated rabbit jejunum segment.

Acetylcholine을 적용시키면 최대유효농도는 $10^{-4}M$ 에서 나타났으며 $10^{-6}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $0.5 \times 10^{-5}M$ 이었고 pD_2 값은 5.154이었다.(Fig.3).

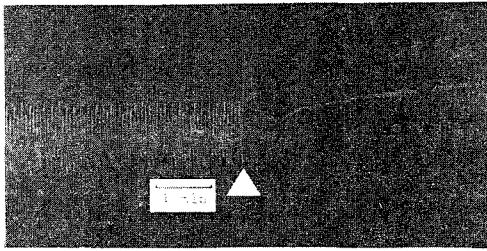


Fig. 3. Effect of acetylcholine chloride ($10^{-4}M$) on motility of isolated rabbit jejunum segment.

Bethanechol을 적용시키면 최대유효농도는 $10^{-4}M$ 에서 나타났으며 $10^{-6}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $3.3 \times 10^{-6}M$ 이었고 pD_2 값은 5.480이었다.(Fig.4).

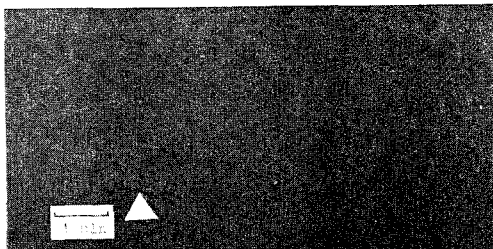


Fig. 4. Effect of bethanechol chloride ($10^{-4}M$) on motility of isolated rabbit jejunum segment.

Carbachol을 적용시키면 최대유효농도는 $10^{-6}M$ 에서 나타났으며 $10^{-11}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $5.7 \times 10^{-7}M$ 이었고 pD_2 값은 6.244이었다(Fig.5).

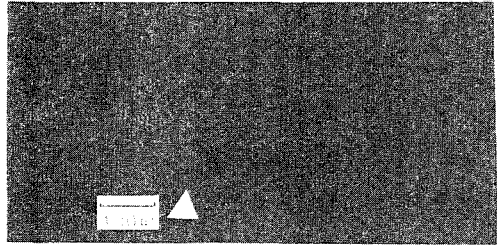


Fig. 5. Effect of carbachol chloride ($10^{-6}M$) on motility of isolated rabbit jejunum segment.

Methacholine을 적용시키면 최대유효농도는 $10^{-6}M$ 에서 나타났으며 $10^{-8}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $9 \times 10^{-7}M$ 이었고 pD_2 값은 6.045이었다(Fig.6). 토끼의 적출장관 운동에 대한 choline esters의 pD_2 값을 이용한 각 약물의 potency는 carbachol이 가장 강하게 나타났으며 다음으로 methacholine, bethanechol, acetylcholine, choline의 순으로 나타났다.

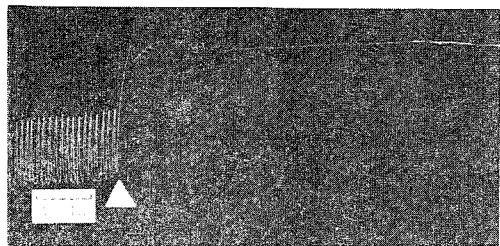


Fig. 6. Effect of methacholine chloride ($10^{-6}M$) on motility of isolated rabbit jejunum segment.

고 찰

Choline esters는 콜린성 신경의 자극효과와 비

스한 모든 작용을 일으키는 약물로서 콜린성 신경 충격전달물질인 acetylcholine 및 그와 화학적 구조가 비슷한 methacholine, carbachol, bethanechol 등이 이에 포함된다.^{25, 7)}

Choline esters의 화학구조에는 3개의 methyl족이 부착된 4가 질소원자를 가지고 있으며 4가 질소부분은 대개 콜린성 수용체에 대하여 직접적으로 강한 작용을 일으키는데 필요하다고 알려져 있다.²⁾

콜린성 수용체에는 무스카린성 수용체(muscarinic receptors)와 니코틴성 수용체(nicotinic receptors)가 있으며 무스카린성 작용은 절후(post-synaptic) 부교감신경섬유로 분포된 주효세포에 있는 무스카린성 수용체를 흥분시켜 나타나는 작용이고 니코틴성 작용은 자율신경절과 신경-근접합부에 있는 니코틴성 수용체에 대하여 니코틴(nicotine)과 비슷한 작용을 일으키는 것을 말하며 평활근 장기에는 무스카린성 수용체가 분포되어 있어 acetylcholine에 의해 위 및 장의 운동과 긴장성이 항진되고 기관지근도 수축된다고 알려져 있다.^{9, 10, 13, 15)}

한편, pD₂값은 최고효과의 50%를 나타내는 용량의 역수의 대수와 관련된 해당 장기조직 중의 수용체와의 친화도이며 친화도의 대수에 대한 직접적인 측정으로 동일한 활성을 일으키는 농도를 결정하는 것보다 활성의 측정에 더 좋다고 알려져 있다.¹⁴⁾

Acetylcholine은 choline acetylase에 의해 choline과 acetyl CoA가 결합하여 생성이 되며 생체의 항상성(homeostasis) 유지에 절대적으로 필요한데도 불구하고 임상적으로는 응용되지 않는데 이는 acetylcholine이 체내의 모든 콜린성 수용체를 흥분시켜 선택적인 치료효과를 기대하기 어렵고 acetylcholinesterase에 의해 순간적으로 분해되어 작용시간이 매우 짧기 때문이며 그래서 acetylcholine은 다만 학술적인 연구에 많이 사용되고 있다.²⁶⁾

Methacholine은 acetylcholine의 β-탄소에 me-

thyl기가 치환된 약물로 acetylcholine에 비하여 안정성이 있고 작용지속시간이 길지만 수의 임상에서의 응용은 빈번하지 않으며 니코틴성 작용은 매우 약하고 주로 무스카린성 작용이 순환기 계통에 대해서는 강하게 나타나나 위장관 계통에 대해서는 약하게 나타난다고 알려져 있다.^{2, 7)}

Carbachol은 acetylcholine의 acetyl기 대신에 carbamyl기(NH₂CO⁻)로 치환된 화합물로서 acetylcholinesterase나 pseudocholinesterase에 의해 전혀 분해되지 않고 작용지속시간이 길며 무스카린성 작용과 니코틴성 작용을 모두 가지고 있으며 순환기 계통에 대한 작용은 약하고 위장관 및 방광 등의 평활근을 수축시키는 작용이 현저히 나타나며, bethanechol은 carbachol의 β-탄소에 methyl기가 치환된 화합물로서 carbachol과 작용이 비슷하나 carbachol에 비하여 니코틴성 작용이 거의 없고 평활근 장기 특히 방광근에 대한 작용이 강하다고 보고되어 있다.^{2, 7, 12)}

본 연구의 결과로 choline esters는 장관운동에 대해 수축을 일으키는 것을 확인할 수 있었고 토끼의 적출장관운동에 대한 choline esters의 potency를 비교하기 위하여 pD₂값을 산출하였던 바 carbachol이 6.244, methacholine이 6.045, bethanechol이 5.480, acetylcholine이 5.154 그리고 choline이 2.619의 순으로 나타났다.

동물의 종에 따라 또는 장기 조직에 따라 약물의 반응성 및 반응정도가 다양하므로 본 실험에서 나타난 토끼의 적출장관 운동에 대한 choline esters의 pD₂값의 비교가 절대적인 기준은 되지 못하지만 choline esters의 토끼의 장관에 대한 약리학적 효력을 구체적으로 설정함으로써 각 약물의 약리 작용과 동물의 종에 따른 민감성을 연구하는데 혹은 장관의 산통(colic)과 감돈(impaction) 및 위무력증(gastric atony) 등과 같은 임상적 적용시의 이들 약물 사용에 지표가 되리라고 사료된다.

그리고 choline esters의 약리학적 작용 및 potency에 대해서는 동물의 종류를 달리하고 또한 장기 조직의 종류를 달리한 보다 넓고 심도있는 연구가 있어야 하리라고 생각된다.

적 요

Choline과 choline esters인 acetylcholine, methacholine, carbachol, bethanechol이 토끼의 적출장관 운동에 미치는 영향과 각 약물의 pD_2 값을 산출하여 각각 비교를 하였다.

Choline은 최대유효농도가 $10^{-2}M$ 이었으며 ED_{50} 은 $2.4 \times 10^{-3}M$ 이었고 pD_2 값은 2.619이었다.

Acetylcholine은 최대유효농도가 $10^{-4}M$ 이었으며 $10^{-6}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $0.5 \times 10^{-4}M$ 이었고 pD_2 값은 5.154이었다.

Methacholine은 최대유효농도가 $10^{-5}M$ 이었으며 $10^{-6}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $9 \times 10^{-5}M$ 이었고 pD_2 값은 6.045이었다.

Carbachol은 최대유효농도가 $10^{-6}M$ 이었으며 $10^{-10}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $5.7 \times 10^{-6}M$ 이었고 pD_2 값은 6.244이었다.

Bethanechol은 최대유효농도가 $10^{-4}M$ 이었으며 $10^{-6}M$ 에서는 거의 효과가 나타나지 않았고 ED_{50} 은 $3.3 \times 10^{-6}M$ 이었고 pD_2 값은 5.480이었다.

Choline esters는 토끼의 적출장관 운동에 대하여 수축을 일으켰으며 각 약물의 potency의 순서는 carbachol이 가장 강하게 나타났고 methacholine, bethanechol, acetylcholine, choline의 순으로 나타났다.

인용문헌

- Alexander, J. 1976. An Introduction to Veterinary Pharmacology. 3rd ed. pp. 74-78. Churchill Livingstone. Edinburgh London and New York.
- Booth, N. H., McDonald, L. E. 1988. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th ed. pp. 117-136. Iowa State University Press. Ames, Iowa.
- Bowman, W. C., Rand, M. J. 1980. Textbook of Pharmacology. 2nd ed. pp. 9.1-10.41. Blackwell Scientific Publication. Oxford London Edinburgh Melbourne.
- Clark, W. G., Brater, D. C and Johnson, A. R. 1988. Goth's Medical Pharmacology. 12th ed. pp. 102-104. Mosby. Saint Louis, Washington DC, Toronto.
- Day, M. D. 1979. Autonomic Pharmacology Experimental and Clinical Aspects. pp. 43-52. Churchill Livingstone. New York.
- 한국약학대학협의회 약물분과회. 1980. 약물학. pp. 55-57. 문성사.
- 홍사석. 1987. 이우주의 약리학강의. 제2판. pp. 138-141. 선일문화사.
- Itoh, H. 1979. Pharmacology. 5th ed. pp. 183-185. Eikodo. Tokyo.
- Jacob, L. S. 1987. Pharmacology. 2nd ed. pp. 40-41. Wiley Medical Publication. New York.
- Katzung, B. G. 1989. Basic and Clinical Pharmacology. 4th ed. pp. 70-75. Appleton and Lange. Norwalk Connecticut.
- 이장락. 1987. 수의약리학. pp. 113-120. 서울대학교출판부.
- Spinelli, J. S., Enos, L. R. 1978. Drugs in Veterinary Practice. p. 313. C. V. Mosby Company, Saint Louis.
- Upson, D. W. 1980. Upson's Handbook of Clinical Veterinary Pharmacology. pp. 174-179. VM Publishing Inc. Manhattan Kansas.
- Van Rossum, J. M. 1963. Cumulative Dose-Response Curves. II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and the evaluation of drug parameters(1). Arch. Int. Pharmacodyn. 143: 299-330.
- 柳谷岩雄, 浦川紀元, 大賀 皓 1985. 獸醫藥理學 pp. 108-113. 文永堂. 東京.