

Angiotensin II AT₁ 수용체 길항제인 SK-1080의 적출심장에 대한 허혈후 재관류시의 작용 및 혈소판응집과 혈액응고에 대한 효과

우수경 · 최상수 · 이병호* · 권광일[#]

충남대학교 약학대학, *한국화학연구소

(Received August 26, 2000)

Effects of the AngiotensinII AT₁ Receptor Antagonist SK-1080 on Ischemia/reperfusion in Isolated Rat Hearts and on Platelet Aggregation and Coagulation in Human Blood

Su-Kyoung Woo, Sang-Su Choi, Byung-Ho Lee* and Kwang-Il Kwon[#]

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

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejon, 305-343, Korea

Abstract — SK-1080 is one of the newly developed orally active nonpeptide angiotensinII AT₁-receptor antagonist that selectively acts at AT₁ receptor with high affinity. The cardiac effect on ischemia/reperfusion injury of SK-1080 was compared with those of losartan, a prototype of this class, in isolated rat hearts. Isolated perfused rat heart was pretreated with drug for 10 min and then subjected to global ischemia for 30 min followed by reperfusion with- or without drug for 30 min. The possible additive effect of SK-1080 on the platelet aggregation and coagulation in human blood was also studied. We investigated whether SK-1080 effects the platelet aggregation induced by ADP, a platelet agonist partially dependent on thromboxaneA₂. The clotting times in the prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) were also examined in human plasma in vitro as coagulation screening test. SK-1080 improved reperfusion function (LVDP, left ventricular developed pressure; PRP, rate-pressure product) in a dose-dependent manner. SK-1080 reduced ADP-induced platelet aggregation compared with vehicle but less than losartan, and did not affect clotting times.

Keywords □ AngiotensinII, AT₁-receptor antagonist, SK-1080, ischemia/reperfusion injury, platelet aggregation, clotting time.

AngiotensinII(으)와 AngII는 심근의 수축과 대사에 직접적인 조절효과를 나타내는 RAS(Renin Angiotensin System)의 주요 매개체이다.^{1,2)} AngII는 cardiotoxic effect를 갖고 심근괴사를 증가시키며, 외부에서 넣어준 AngII는 심근의 functionic recovery를 악화시킨다.^{3,4)} 따라서 AngII가 허혈/재관류에 의해 일어나는 심근손상의 진행에 주요한 역할을 담당하는 것으로 보고되고 있다.¹⁾

AngII의 receptor은 AT₁과 AT₂ 두 개의 subtype이 밝혀져 있는데 AngII의 심혈관 작용은 주로 AT₁ receptor를 경유하며 AT₁ receptor antagonist에 의해 차단된다.^{6,7)}

AT₁ antagonist가 허혈성 심근 손상에 대한 보호작용과 함께 관상혈관 확장 작용 등을 갖고 있음이 적출심장을 이용한 *in vitro* 허혈/재관류 모델 및 마취 동물을 이용한 *in vivo* 허혈/재관류 실험으로 보고되었다.⁸⁻¹¹⁾ 또한 이러한 효과가 다양한 동물실험 모델¹²⁾에서 확인되고 있어 AT₁ antagonist가 협심증을 포함한 허혈성 심장치료제로서의 가능성을 보이고 있다.

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-821-5937 (팩스) 042-823-6781

Losartan은 최초의 경구용 AT₁ receptor antagonist로 개발되어 현재 시판 중에 있다. Losartan은 AngII에 의해 유도되는 혈압반응 및 growth factor로서의 작용을 모두 차단한다.³⁻⁵⁾ 또 최근 연구에 의하면 losartan 및 그 대사체는 thromboxane A₂/prostagladin endoperoxide H₂(TxA₂/PGH₂) receptor와 결합하여 항혈소판 응집효과를 갖는다.^{14,15)} TxA₂/PGH₂ receptor를 억제하는 효과는 다른 AT₁ antagonist들이 함께 가지는 공통적인 특징이 아니라 losartan에서만 보여지고 있는데 이것은 losartan의 cardiovascular action과는 분리된 다른 화학적 특성과 관계되는 것으로 생각된다.^{14,16)}

SK-1080은 이 계열의 새로운 합성 유도체로서 AT₁ receptor에 강한 친화력을 갖는다.²⁰⁾ 여러 가지 혈압반응 모델에서 SK-1080은 losartan보다 효과발현시간이 신속하며 지속시간도 길게 나타났다. Furosemide를 투여한 실험개에게 SK-1080을 경구투여시 용량 의존적으로 항고혈압효과를 보이며, losartan보다 10배 강한 효과를 나타내었다.²¹⁾

SK-1080의 심장보호 효과를 알아보기 위해 흰쥐의 심장을 이용한 허혈/재관류 모델에서 허혈 전 또는 전·후에 SK-1080을 처리하여 재관류 후의 회복율을 losartan과 비교하였다.⁸⁾ 또한 혈소판응집 작용²²⁻²⁴⁾ 및 혈액응고 작용¹⁸⁾에 대한 SK-1080의 영향을 실험하였다.

실험방법

심장 적출 실험

흰쥐 심장 적출 및 관류 – 본 실험에 사용된 웅성 Sprague Dawley(SD) 흰쥐는 일정온도($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) 및 습도(55-60%)가 유지되고 명암 주기가 12시간 단위로 조절되는 동물실에서 고형사료(삼양)와 식수를 무제한 공급하여 사육하였으며 흰쥐는 체중이 400~500 g에 도달했을 때 실험에 사용하였다.

흰쥐를 urethane과 α -chloralose의 혼합액(각각 900 mg/kg, 80 mg/kg i.p.)으로 마취시킨 후 heparin(1000 I.U./kg i.v.)을 꼬리정맥에 투여하고 Grover등의 방법에 따라 심장을 적출하였다.²⁶⁾ 즉, 기관에 cannula(PE 240)을 삽입하고 rodent ventilator를 이용해 인공 호흡시키며 in situ 상태에서 대동맥 cannula를 대동맥에 삽입하고 역행성 관류 하에 심장을 적출 해 Langendorff Apparatus(Hugo Sachs Electronic, Ger-

many)에 재빨리 매달고 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거한 후 정압 관류(75 mmHg)하에서 산소로 포화된 37°C의 생리액으로 관류하였다.

에탄올과 중류수 혼합액(1:1 vol/vol)으로 채운 고무 풍선(latex balloon)을 매달은 금속 cannula를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 isovolumetric하게 측정하기 위해 pressure transducer(Isotec, H.S.E., Germany)에 연결하였다. Syringe를 이용해 balloon의 부피를 증가시킴으로서 LVEDP(left ventricular end diastolic pressure)를 5mmHg로 하여 안정화시키고 이 풍선 부피를 전 실험 기간 동안 유지시켰다. 생리액은 Modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer(조성<mM> : 116 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 MgSO₄, 1.17 KH₂PO₄, 24.9 NaHCO₃, 2.52 CaCl₂, 8.32 Glucose, 2.0 Pyruvate)를 사용하였으며 Lauda pump를 이용하여 온도를 37°C로 일정하게 유지시켜 주고 실험을 진행하는 동안 계속 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 통해 주어 생리액의 pH를 7.4로 유지하였다.

측정 parameters – 심장 수축 기능과 심박동수(HR, heart rate) 및 관상동맥혈류량(CF, coronary flow)을 측정하여 심장 기능 및 관상 혈관 기능을 평가하였다.²⁶⁾ LVP(Left ventricular pressure)는 Isotec transducer를 이용하여 Linearcoder WR 3310 Physiograph(Graphtec, H.S.E., Germany)로 측정하였다. 심장 수축 기능을 평가하는 parameter인 좌심실 발생압(LVDP; Left ventricular developed pressure)은 좌심실 최대 수축기압(LVP; Left ventricular peak systolic pressure)과 이완기말 좌심실압(LVEDP; Left ventricular end diastolic pressure)의 차이로부터 산출하였다. HR는 LVP로부터 측정하였으며 RPP(Rate-Pressure Product)는 J. Watts방법에 따라 HR에 LVDP를 곱하여 산출하였다.²⁶⁾

관상 혈류량은 관상동맥을 관류하여 유실되는 생리액의 양을 5분 간격으로 1분 동안 측정하였다. 전 실험에 걸쳐 모든 parameter는 약물처리 전후 및 재관류 30분 후에 각각 측정하였다. 각 parameter의 통계적인 유의성은 Student t-test를 통해 검정하였다.

Global 허혈 및 재관류 – 적출한 심장을 Langendorff Apparatus에 연결하여 15분 정도 안정화시킨 상태에서 Fig. 1에서와 같이 각각의 군으로 나누어 실험하였다. 허혈 전 처리(preischemic treatment)군은

| Group | baseline 15min | pretreatment 10min | ischemia 30min | reperfusion 30min |
|---------------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|----------------------|
| control | | vehicle | | |
| preischemic treatment | | SK-1080 | | |
| pre- and postischemic treatment | | losartan | | SK-1080 |

Fig. 1 – The experimental protocol.

SK-1080(1, 10, 100, 1000 nM) 또는 losartan(10, 100, 1000 nM)을 각각의 농도로 허혈 유발 전 10분간 infusion한 후 30분간 perfusion pressure를 0 mmHg로 즉 생리액 공급을 차단하여 허혈을 유발시켰다. 30분 후에는 정상적인 관류를 해주고 허혈 유발 전·후의 심장기능을 비교를 통해 허혈 유발 전 약물의 투여로 인한 심장보호 효과를 알아보았다. 허혈 전·후처리(pre- and postischemic treatment)군은 재관류시 약물의 포함 여부에 따른 심장기능 회복 효과를 알아보기 위한 것으로 SK-1080(1, 10, 100 nM)을 재관류시에도 infusion과 같은 농도를 갖는 생리액을 30분 동안 관류시키면서 허혈 후의 심기능 회복율을 허혈 전 처리 군과 비교하였다.^{5,7)}

실험 약물 – SK-1080 및 losartan은 한국화학연구소에서 합성한 것을 제공받았으며 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹인 후 생리액으로 희석하여 사용하였다. DMSO의 최종 농도는 0.01%로 맞추고 0.01% DMSO를 vehicle로 사용하였다.

항혈소판 응집 작용

지원자의 상박 정맥으로부터 채취한 혈액을 3.8% 구연산나트륨이 들어있는 일회용 시험관에 혈액과 1:9의 비율로 넣고 원심분리(160 g, 10분)하여 상등액으로부터 platelet rich plasma(PR)를 얻고 잔액을 다시 원심분리(2000 g, 10분)하여 platelet poor plasma(PPP)를 얻었다.

PRP는 채취 즉시 microtube에 넣고 실험기간동안 마개를 하여 공기 노출에 의한 pH 변화를 막고 얼음이 들어있는 용기에 방치하였다.¹⁷⁾

약물의 항혈소판 응집효과는 Platelet Aggregation Profiler Model PAP-4(BIO/DATA Co. Ltd., USA)를 사용하여 Born에 의한 turbidimetric method로 측정하였다.²²⁾ Aggregation inducer로 ADP(Sigma chemical, St. Louis, USA)를 사용하였으며 최종농도가 6 μM이

되도록 하였다. Micro-magnetic bar를 넣은 silicon-treated cuvette에는 미리 37°C에서 incubation시킨 PRP 160 μl와 vehicle(0.8% sodium bicarbonate) 또는 시험약물(isosartan 또는 SK-1080) 20 μl를 넣고 ADP 20 μl를 가하여 5분간 반응시켰다.

SK-1080과 losartan은 0.8% sodium bicarbonate에 용해시키고 희석하여 사용하였으며 최종 농도가 3, 10, 30, 100 μM이 되도록 PRP에 가하고 응집 유도제를 넣기 전까지 37°C에서 3분간 incubation시켰다. 실험의 처음과 마지막에는 PRP에 volume을 맞추기 위해 생리식염수 20 μl을 가한 뒤 최대응집%를 측정하였으며, PRP를 얻은 후 2시간 안에 모든 실험을 진행시켰다. 실험조작 동안 온도는 37°C로 유지하고 stirrer speed는 500~1500 rpm으로 하며 528 nm에서 응집도를 측정하였다.¹³⁻¹⁴⁾

약물에 의해 aggregation⁹⁾ 억제되는 정도를 다음 식에 의거하여 transmission maximum reduction percent를 산출하였다.¹³⁻¹⁴⁾

$$\text{Inhibition \%} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A=control(vehicle)의 maximum aggregation %

B=약물처리시의 maximum aggregation %

각각의 농도에서의 aggregation(%)은 Mean ± S.E.M.으로 나타내었고 시험약물의 통계적인 유의성은 Student t-test를 통해 검정하였다.

항혈액응고 작용

건강한 지원자로부터 채취한 혈액과 3.8% 구연산나트륨을 9:1의 비율로 넣고 약하게 아래위로 흔들어 혈액응고를 방지한 후 원심분리(2000 g, 10분, break 사용 금지)하여 상등액으로부터 혈장을 분리하였다. 원심분리 시 마개를 하여 공기 노출에 의한 pH 변화를 최소화하고 증발을 방지하였다. 혈액 채취시 용혈이 일어나지 않도록 주의하고 사용 전까지 -20°C에서 냉동 보관하였다.

Coagulation assay는 ACL 100 automated coagulometer(Instrumentation Laboratory, Milan, Italy)를 이용하여 PT 및 APTT를 측정하였다. ACL 100은 nephelometric centrifuged analyzer로서 혈장에서 clot¹⁰⁾ 형성되기 전과 thromboplastin¹¹⁾이나 CaCl₂와 같

은 활성제를 가하여 clot α 형성될 때의 빛의 산란 정도의 차이를 비교하여 PT 및 APTT를 측정한다.

PT 측정시 ACL 100의 rotor에 37°C에서 4분간 incubated된 citrated plasma 0.1 ml에 Calcium thromboplastin 0.2 ml을 가하였고 APTT 측정시에는 incubated citrated plasma 0.1 ml에 cephalin reagent 0.1 ml과 CaCl₂ 0.1 ml을 가했다.

Sample rack의 pool에는 calibration plasma 0.5 ml가 담긴 cuvette을 넣고 각 sample cuvette에는 citrated plasma 450 μ l와 vehicle(0.5 mM KOH) 또는 시험약물 50 μ l를 넣어 37°C에서 incubation시켰다. SK-1080 및 losartan은 0.5M KOH에 용해시킨 후 saline으로 0.1, 1, 10 μ M의 농도로 희석하여 사용하였으며 용매의 최종농도를 0.5 mM KOH로 맞추었다.

결과 및 고찰

적출심장에 대한 허혈 / 재관류 실험

약물의 허혈 전 처리 효과 – 흰쥐의 적출심장에 대해 SK-1080, losartan 또는 vehicle(0.01% DMSO)을 허혈 유발 전에 일정농도로 10분간 infusion하고, 30분간의 허혈 후에 생리액을 30분 동안 재관류 시키면서 좌심실발생압(LVDP), 심박동수(HR) 및 관상동맥혈류(CF)를 측정하여 결과를 비교하였다.

Fig. 2은 SK-1080과 losartan의 LVDP 회복율을 나타낸 것으로 허혈 직전의 LVDP에 대한 재관류 30

분 후의 LVDP의 비율(%)로 산출하여 각각의 농도별로 나타낸 것이다. SK-1080은 1, 10, 100, 1000 nM에서 LVDP 회복율이 각각 31.33±0.80%, 40.80±5.44%, 51.91±10.67% 그리고 60.01±7.58%로 나타나 대조군의 20.01±11.24%에 비해 투여한 모든 농도에서 효과를 보였으며 농도 의존적으로 유의성 있게 증가하였다($p<0.05$). Losartan의 LVDP 회복율은 10, 100, 1000 nM에서 33.31±15.12%, 35.05±6.70%, 54.30±17.23%로 나타나 대조군에 비해서는 높은 수치를 보였으나, 10, 100, 1000 nM의 농도에서 LVDP 회복력을 SK-1080과 비교해볼 때 SK-1080이 losartan에 비해 각각 1.2, 1.5 및 1.1배로 나타났다.

Langendorff heart에서 심장의 기능을 간접적으로 알 수 있는 RPP는 HR과 LVDP와의 곱으로 산출하였고, RPP 회복율은 LVDP 회복율과 같은 방법으로 산출하여 Fig. 3에 나타내었다. Fig. 3에 볼 수 있듯이 대조군의 RPP 회복율 9.49±13.42%과 비교할 때 SK-1080의 RPP 회복율은 1, 10, 100, 1000 nM에서 각각 21.04±4.58%, 31.31±9.55%, 46.05±14.90%, 55.22±10.24%로 투여 약물의 농도가 증가할수록 RPP 회복율도 유의성 있게 증가함을 알 수 있었다($p<0.05$). Losartan의 경우 RPP 회복율은 10 nM에서 10.91±11.08, 100 nM에서 26.06±15.64로 증가했으나 1000 nM에서는 22.77±24.50으로 오히려 증가율이 감소하였다.

심장보호 효과에 유익한 parameter인 관상 혈류량의 경우, Fig. 4에 나타난바와 같이 농도 변화에 따라

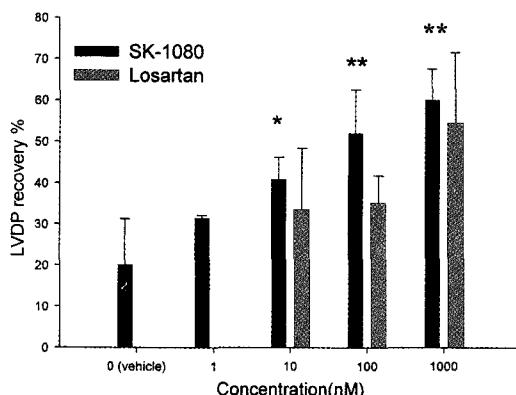


Fig. 2 – Effects of infusion (10 minutes) of SK-1080 and losartan on LVDP in isolated perfused rat hearts. Each point and vertical bar represent mean ± S.D. (n=5). * $p<0.05$, ** $p<0.01$ versus vehicle

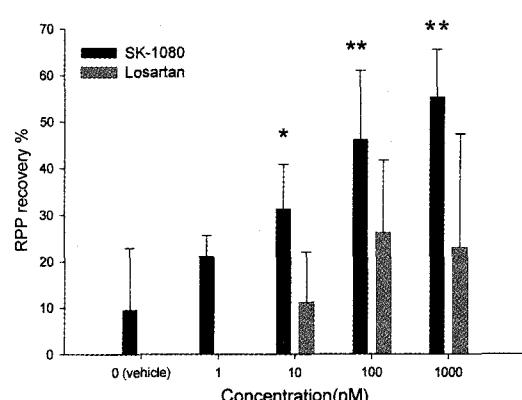


Fig. 3 – Effects of infusion (10 minutes) of SK-1080 and losartan on RPP in isolated perfused rat hearts. Each point and vertical bar represent mean ± S.D. (n=5). * $p<0.05$, ** $p<0.01$ versus vehicle

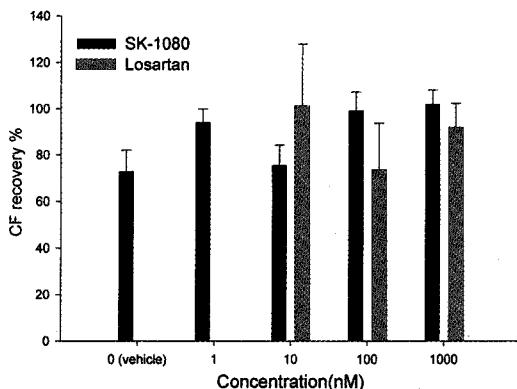


Fig. 4 – Effects of infusion (10 minutes) of SK-1080 and losartan on coronary flow in isolated perfused rat hearts. Each point and vertical bar represent mean \pm S.D. ($n=5$).

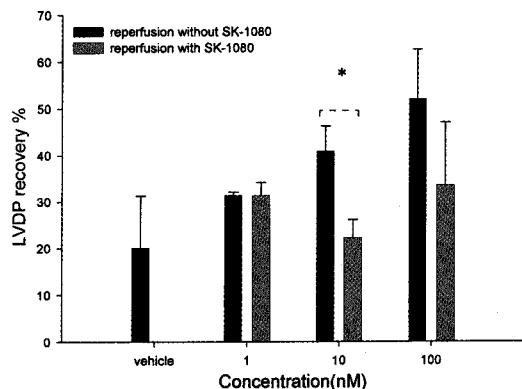


Fig. 5 – Effects of infusion (10 minutes) followed by reperfusion with- or without SK-1080 for 30 min on LVDP in isolated perfused rat hearts. Each point and vertical bar represent mean \pm S.D. ($n=5$). * $p<0.05$ versus two groups

일정하게 증가하는 경향은 관찰되지 않았다. SK-1080과 losartan 모두 어느 농도에서도 재관류시의 관상 혈류량에 유의성 있는 영향을 미치지 않았으며 대조군과 비슷한 회복율을 나타내었다. AT₁ antagonist인 candesartan도 허혈/재관류 모델에서 재관류시 관상동맥 혈류량에 유의성 있는 영향을 나타내지 않는 것으로 보고되었다.⁸⁾ 일반적으로 AT₁ antagonist를 처리했을 경우 재관류 하는 동안 관상 혈류량 변화가 적은 것으로 나타나 AT₁ antagonist는 재관류시 허혈 부위로의 관상동맥 혈류량을 증가시켜 간접적으로 작용하기보다는 허혈/재관류시 심근손상의 주요 매개체인 AngII가 AT₁ receptor에 결합하는 것을 차단함으로서 간접적으로 심근손상을 막는 것으로 생각된다.⁷⁾

SK-1080과 losartan을 각각 infusion시 약물 투여로 인한 심박동수의 변화는 나타나지 않았으며 농도에 따른 차이도 나타나지 않아 고혈압 치료제로서의 유익한 측면도 관찰되었다.

약물의 허혈 전·후 처리 효과 – Fig. 2는 SK-1080을 각각의 농도로 infusion하고 허혈 후 재관류시 약물을 포함하지 않은 생리액을 사용하였을 때의 LVDP 회복율을 나타낸 것이다. 이것은 ischemia 유발 전에 약물을 투여하여 약물이 허혈에 의한 심근손상을 막는 효과를 보기 위한 것이다. 그러나 Fig. 5는 SK-1080을 1, 10, 100 nM의 농도로 infusion하고 재관류시 infusion때와 같은 농도의 생리액을 관류하였을 때의 LVDP 회복율을 나타낸 것으로 허혈 유발 전이나 유발 후에도 약물이 같은 농도로 생리액에 존재하는 것

을 의미한다. Fig. 5에서 알 수 있듯이 재관류시 약물의 포함 여부에 따른 LVDP 회복율을 비교하였을 때 SK-1080 1, 10, 100 nM의 농도에서 LVDP 회복율은 약물을 포함하지 않은 생리액을 관류하였을 때 더 높게 나타났다. 허혈 전 처리 군에서는 infusion시의 SK-1080의 농도증가에 따라 LVDP 회복률도 증가를 보였으나 재관류 하는 동안 SK-1080을 포함하는 생리액을 관류할 때의 LVDP 회복력은 SK-1080 1, 10, 100 nM의 재관류 농도에 따라 각각 31.20, 22.12, 33.31%로 나타나 별다른 농도 상관성을 보이지 않았다.

Ford에 의하면 losartan(1000 nM)을 허혈 전·후에 처리한 경우 LVDP 회복율은 0%이며 관상 혈류량도 거의 회복되지 않았다.⁷⁾ 그러나 TCV-116의 경우 장기간 처리로 재관류 동안 심장기능 회복율이 증가하였다.¹⁹⁾

AT₁ antagonist는 허혈 유발을 기준으로 하여 투여하는 시점과 허혈 전 약물 처리 시간에 따라 심장보호 효과가 다르게 나타내고 있다. 또한 허혈 지속 시간의 차이가 심근에 가역적 또는 비가역적인 손상을 줄 수 있으므로 같은 약물이라 하더라도 심장기능 회복율은 상이한 결과를 보여주고 있다. Losartan을 허혈 전·후에 투여하는 모델에서 Zhu(15 min ischemia)에서는 심근 회복력을 증가시키는 반면 Ford(30 min ischemia)에서는 심장보호 효과가 전혀 나타나지 않았다.^{5,7)}

Zhu에 의하면 losartan을 허혈 전·후(30 min/30 min) 처리한 경우 허혈 후 재관류(30 min) 동안 처리

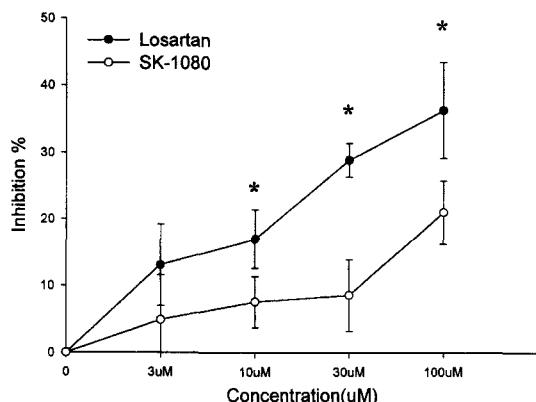


Fig. 6 – Effects of increased concentration of SK-1080 or losartan on ADP (6 μM)-induced human platelet activation. Each point and vertical bar represent mean \pm S.E.M. ($n=7$). * $p<0.01$ versus vehicle.

한 경우보다 LVDP 회복율은 더 높게 나타났다. 이것을 통해 losartan은 허혈 전 또는 후에 투여하더라도 허혈/재관류에 의한 심근 손상에 대해 심장보호 효과를 나타낸다는 사실을 알 수 있다. 그리고 허혈 유발 후보다는 허혈 유발 전에 투여하는 것이 허혈/재관류에 대한 심보호 효과를 더 크게 발휘함을 알 수 있다. SK-1080은 허혈 전 · 후 처리가 허혈 전 처리한 경우보다 LVDP 회복율이 낮게 나타났다. 그러나 허혈 전 단기간 처리만으로도 충분한 심보호 효과를 나타냈기 때문에 SK-1080을 포함한 AT₁ antagonist는 허혈 전 처리가 허혈/재관류에 의한 심근손상을 줄이는데 중요하다는 것을 알 수 있다.

항혈소판 응집 작용

혈소판 응집 유도제로서 ADP(6 μM)을 이용한 SK-1080과 losartan의 항혈소판 응집작용에 대한 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 인체 혈액의 대조군 PRP(0.8% sodium bicarbonate)에서 최대 혈소판 응집율은 74.58 \pm 4.76%를 나타내었고, losartan의 항혈소판 응집 효

과는 농도가 3, 10, 30, 100 μM로 증가할수록 각각 13.08 \pm 3.05, 17.02 \pm 1.81, 28.85 \pm 1.03, 36.31 \pm 2.70 (%)로 유의성 있게 증가하였고($p<0.01$) Guerra-Fernando에 의해 보고된 것과 유사한 결과를 나타내었다.¹⁴⁾ 같은 농도에서 SK-100의 혈소판 응집 억제 효과가 각각 4.86 \pm 3.00, 7.55 \pm 1.35, 8.56 \pm 1.62, 21.02 \pm 1.42 (%)로 항혈소판 응집 작용이 증가하는 경향을 나타내었으나 losartan에 비해서는 억제효과가 다소 낮았다.

혈액응고에 대한 작용

대조혈장(vehicle)의 PT와 APTT는 각각 13.9 \pm 0.5 초와 39.4 \pm 1.0초를 나타내었는데 SK-1080과 losartan을 각각 0.1~10 μM의 농도로 가한 혈장의 PT와 APTT는 모두 대조혈장에 비해 변화가 적었고 임상적 인 정상치 범위 내에 있었다(Table I). 농도에 따른 차이 역시 SK-1080과 losartan 모두 없는 것으로 나타났으며 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

결 론

1. 허혈 전 처리 군에서 LVDP 회복율은 SK-1080과 losartan은 대조군에 비해 투여한 모든 농도에서 효과를 보였으며 농도 의존적으로 유의성 있게 증가하였다.($p<0.05$)

2. RPP는 SK-1080의 농도가 1, 10, 100, 1000 nM으로 증가할수록 RPP 수치도 유의성 있게 증가하였으며($p<0.05$) SK-1080이 10, 100, 1000 nM의 농도에서 losartan보다 각각 2.86, 1.77, 2.43배 크게 나타났다.

3. 재관류시 관상 혈류량은 농도 의존적인 증가경향은 관찰되지 않았으며 어느 농도에서도 유의성 있는 영향을 미치지 않았다.

4. SK-1080을 허혈 전 10분 동안 처리하였을 때

Table I – Effects of SK-1080 or losartan on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT) in human plasma(mean \pm S.E.M.)

| | SK-1080 | | losartan | |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | PT (sec) | APTT (sec) | PT (sec) | APTT (sec) |
| vehicle | 13.9 \pm 0.5 | 39.4 \pm 1.0 | 13.9 \pm 0.5 | 39.4 \pm 1.0 |
| 0.1 μM | 12.9 \pm 0.9 | 39.1 \pm 1.2 | 13.4 \pm 0.5 | 39.5 \pm 0.9 |
| 1 μM | 13.4 \pm 0.8 | 38.5 \pm 0.9 | 14.2 \pm 0.2 | 37 \pm 0.7 |
| 10 μM | 13.9 \pm 0.6 | 37.9 \pm 1.3 | 14.0 \pm 0.5 | 38.9 \pm 0.8 |

허혈 전 · 후 처리한 경우보다 LVDP 회복율은 더 크게 나타났다.

5. ADP에 의한 혈소판 응집에 대해 SK-1080은 응집 억제효과가 $3, 10, 30, 100 \mu\text{M}$ 에서 각각 $4.86 \pm 3.00, 7.55 \pm 1.35, 8.56 \pm 1.62, 21.02 \pm 1.42\%$ 로 나타났으며 같은 농도에서의 losartan의 효과에 비해 낮은 작용을 나타내었다.

6. 혈액응고에 대해서는 SK-1080과 losartan 모두 별다른 효과를 나타내지 않았다.

이상의 결과로 보아 허혈/재관류에 의한 심근 손상은 AngII가 주요 매개체이며 SK-1080은 AT₁ 수용체를 차단함으로서 직접적인 심장보호 효과를 나타내는 것으로 보인다. 그리고 다른 AT₁ antagonist와 마찬가지로 재관류시 관상 혈류 증가를 통한 심장보호 효과를 나타내지는 않는 것으로 생각된다. 또한 SK-1080은 허혈 전 · 후 처리와 허혈 전 처리의 비교 실험을 통해 허혈 전 처리가 심장보호 효과를 나타내는데 더 중요함을 알 수 있었다.

문 헌

- 1) Morgan L., Pipkin B. and Kalsheker N. : Angiotensin : Molecular biology, biochemistry and physiology, Rev. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **28**(11), 1211 (1996).
- 2) Stroth U. and Unger T. : The renin-angiotensin system and its receptors. *J. Cardiovas Pharmacol* **33**, S21 (1999).
- 3) Colin I. Johnston. : Angiotensin receptor antagonists: focus on losartan. *Lancet* **346**, 1403 (1995).
- 4) Smith R. D., Sweet C. S., Goldberg and Timmermans P. B. M. W. M. : Losartan potassium(COZAAR): A non-peptide antagonist II of angiotensin. *Drugs of Today* **32**(suppl. F), 1 (1996).
- 5) Zhu Peili, Zaugg Christian E., Hornstein Pius S., Allegrini Peter R., and Buser Peter T. : Bradykinin-dependent cardioprotective effects of Losartan against ischemia and reperfusion in rat hearts. *J. Cardiovas Pharmacol.* **33**, 785 (1999).
- 6) Lee W. J., Kim K. S., Yang E. K., Lee J. H., Lee E. J., Park J. S., and Kim H. J. : Effect of brain angiotensin AT1, AT2, and cholinergic receptor antagonist on drinking in water-deprived rats. *Regulatory Peptides* **66**, 41 (1996).
- 7) Ford William R., Clanachan Alexander S, and Jugdutt Bodh I. : Opposite effects of angiotensin AT₁, and AT2 receptor antagonists on recovery of mechanical function after ischemia-reperfusion in isolated working rat hearts. *Circulation* **94** (1996).
- 8) Masafumi, Sjoquist Per-ove, Wang Qing-dong, and Ryden Lars : Effects of the Angiotensin AT₁ receptor blocker Candesartan on myocardial ischemic/reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* **10**, S137 (1999).
- 9) Ajay Sharma and Manjeet Singh : Role of angiotensin in cardioprotective effect of ischemic preconditioning. *J. Cardiovas Pharmacol.* **33**, 772 (1999).
- 10) Cazes Michele, Provost Daniel, Versigny Annie and Cloarec Alix : In vivo pharmacological characterization of UP 269-6, a novel nonpeptide angiotensin receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* **284**, 157 (1995).
- 11) Wong Y. N. and Wong P. C. : Pharmacological and pharmacokinetic evaluation of EXP3312, an orally-active non-peptide angiotensin-receptor antagonists. *J. Pharm. Pharmacol.* **48**, 492 (1996).
- 12) Liu Y. H., Yang X. P., Sharov V. G., Nass O., Sabbah H. N., Peterson E. and Carretero O. A. : Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensintype 1 receptor antagonists in rats with heart failure. *J. Clin. Invest.* **99**, 8, 1926 (1997).
- 13) Lee J. H., Lee Y. S. and Kwon K. I. : Protective effects of Phellinus linteus on reperfusion of the isolated perfused Guinea pig hearts and anti-platelet aggregation effects of Phellinus linteus. *J. Pharm. Sci.(C.N.U.)* **10**, 17 (1994).
- 14) Guerra-Fernando J. I. et al. Effect of losartan on human platelet activation. *J. Hypertension* **17**, 447 (1999).
- 15) Li P., Ferrario C. M. and Brosnihan K. B. : Losartan inhibits thromboxane A₂-induced platelet aggregation and vascular constriction in spontaneously hypertensive rats. *J. Cardiovas Pharmacol.* **32**, 198 (1998).
- 16) Ping Li, Carlos M. Ferrario and K. Bridget Brosnihan : Novel angiotensinAT₁ receptor antagonist Irbesartan prevents thromboxane A₂-induced vasoconstriction in canine coronary arteries and human platelet aggregation. *JPET* **292** (2000).
- 17) Lewis S. M. and Verwilghen R. L. : Quality assurance in haematology. p113.

- 18) Toru Okayama : Anticoagulant activity of the novel thrombin inhibitor 1-butyl-3-(6,7-dimethoxy-2-naphthylsulfonyl)amino-3-(3-guanidinopropyl)-2-pyrrolodinone hydrochloride. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **47**(II) (1997).
- 19) Yoshiyama M., Kim S., Yamagishi H., Omura T., Tani T., Yanagi S., Toda I., Teragaki M., Akioka K., Takiuchi K., Takeda T. : Cardioprotective effect of the angiotensin II type 1 receptor antagonist TCV-116 on ischemia-reperfusion injury. *Am. Heart J.* **128**, 1 (1994).
- 20) Lee S. H., Jung Y. S., Lee B. H., Yun S. I., Yoo S. E., and Shin H. S. : Characterization of angiotensin antagonism displayed by SK-1080, a novel nonpeptide AT₁-receptor antagonist. *J. Cardiovas Pharmacol.* **33**, 367 (1999).
- 21) Lee B. H., Seo H. W., Kwon K. J., Yoo S. E. and Shin H. S. : In vivo pharmacologic profile of SK-1080, an orally active nonpeptide AT₁-receptor antagonist. *J. Cardiovas Pharmacol.* **33**, 375 (1999).
- 22) Cazzola M., Matera M.G., Santangelo G., Lampa E and Angrisani M. : Effects of some cephalosporins and teicoplanin on platelet aggregation. *Int. J. Clin. Pharm. Res.* **8**, 2, 69 (1993).
- 23) Kimura Y. : Effect of cilostazol on platelet aggregation and experimental thrombosis. *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **35**(II) (1985).
- 24) Moser L., Callahan K. S. Callahan, Cheung A. K. Cheung, Stoddard G. J. and Munger M. A. : ACE inhibitor effects on platelet function in stages I-II hypertension. *J. Cardiovas Pharmacol.* **30**, 461 (1997).
- 25) Jung Y. S., Moon C. H., Cho T. S., Yoo S. E., and Shin H. S. : Cardioprotective effects of KR-30450, a novel K⁺ATP opener, and its major metabolite KR-30818 on isolated rat hearts. *Jpn. J. Pharmacol.* **76**, 65 (1998).
- 26) Watts J. and Maiorano L. : Effects of diltiazem upon globally ischemic rat hearts. *European J. Pharmacol.* **138**, 335 (1987).
- 27) Grover G. J. : Pharmacological profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat heart and anesthetized dogs. *J. Cardiovas Pharmacol.* **16**, 853 (1990).