

## SKF 525A가 흰쥐의 대동맥에서 Sodium nitroprusside, Acetylcholine, Pinacidil에 의한 이완반응에 미치는 효과

박조영 · 김학림 · 김주원 · 신창열 · 최윤미 · 김진학 · 안형수\*\* · 손의동 · 허인회#

중앙대학교, \*\*동덕여대, 약학대학 약물학교실

(Received October 1, 1999)

### The effect of SKF 525A on SNP-, Ach-, or Pinacidil-Induced Relaxation in the Aorta of Rat

Jo Young Park, Hak Lim Kim, Ju Won Kim, Chang Yell Shin, Yoon Mee Choi, Jin Hak Kim, Hyung Soo Ahn\*\*, Uy Dong Sohn and In Hoi Huh#

Dept of Pharmacology, College of Pharmacy, Chung Ang University and

\*\*Dong Duck Women's University, Seoul156-756, Korea

**Abstract** — TEA, glibenclamide, L-NAME and SKF 525A-induced contraction were investigated using acetylcholine, sodium nitroprusside (SNP, NO donor) and pinacidil (ATP sensitive  $K^+$  channel opener) in rat abdominal and thoracic aorta. The relaxant effects of acetylcholine, SNP and pinacidil were not different in the abdominal aorta and in the thoracic aorta. Acetylcholine-induced relaxation was dependent on endothelial cell, but pinacidil was independent endothelial cell. In the presence of TEA, glibenclamide, L-NAME, mepacrine and SKF 525A, acetylcholine and SNP did not change, but pinacidil-induced relaxation was significantly reduced in presence of glibenclamide, which is ATP sensitive  $K^+$  channel blocker. SKF 525A, which is inhibitor of cytochrome  $P_{450}$  dependent epoxygenase, partially inhibited the pinacidil-induced relaxation. These results indicate that the pinacidil-induced relaxation may be mediated by ATP sensitive  $K^+$  channel and partially by EETs, which is produced by cytochrome  $P_{450}$  dependent epoxygenase.

**Keywords** □ SKF 525A, TEA, SNP, pinacidil, glibenclamide, L-NAME, mepacrine, EETs

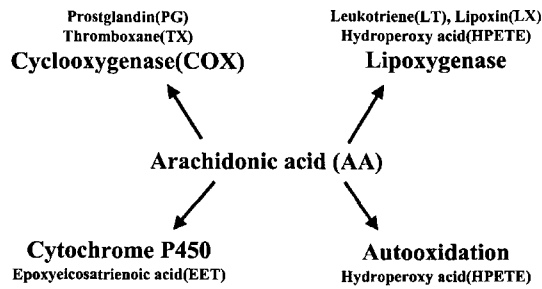
내피에서 유리되어 평활근 이완 작용을 나타내는 물질로는 nitric oxide(NO)<sup>1,2)</sup>와 prostaglandin  $I_2$ ( $PGI_2$ )와 endothelium derived hyperpolarizing factor(EDHF)가 있고,<sup>3)</sup> 수축작용을 나타내는 주물질로는 Thromboxane  $A_2$ ( $TXA_2$ ), endothelin 등이 있다. 내피에서 유리된 NO와 nitrovasodilators는 혈관 평활근 내에 존재하는 guanylate cyclase의 soluble form를 활성화시키며,<sup>4)</sup> atrial natriuretic factor(ANF)와 adenosine은 세포표면의 receptor를 경유하는 guanylate cyclase의 particulate form를 활성화하여 GTP를 cGMP로 만들며, 이는 cGMP dependent kinase를 활성화시킨다.

cGMP dependent protein kinase는 여러 단백질을 인산화 시키는데, 그 중에도 특히 평활근 이완을 담당하는 myosin light chain kinase(MLCK)을 인산화하거나, 세포내의  $Ca^{2+}$ 농도를 낮추는 기전을 통한 이완작용을 하는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup>

Agonist에 의해 내피세포내의 cytoplasmic  $Ca^{2+}$ 농도 증가에 의한 cNOS의 활성화뿐 아니라, cPLA2가 활성화되어 arachidonic acid(AA)의 생성을 증가시킨다.<sup>6)</sup> 생성된 AA는 여러 경로를 통해 prostaglandin(PG), thromboxane(TX), epoxyeicosatrienoic acid(EET), leukotriene(LT), lipoxin(LX), hydroperoxy acid(HPETE)로 대사<sup>7-8)</sup> 된다(Fig. 1).

혈관내피세포를 제거하고 arterial tissue에 muscarinic agonists를 가하면, smooth muscle mem-

# 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-820-5614 (팩스) 02-826-8752



**Fig. 1** – Arachidonic acid cascade. Arachidonic acid is converted enzymatically to PGs and TXs by cyclooxygenase; to LTs, LXs and various hydroperoxy acids (HPETE) by lipoxygenase; and to EETs by cytochrome P450 dependent epoxygenase.

brane의 hyperpolarization이 depolarization 반응으로 변환되는 것으로 보아 내피에서 hyperpolarizing factor가 유리된다고 보고되었다.<sup>9-11)</sup> 또한 내피에서 생성되는 diffusible hyperpolarizing factor는 methylene blue<sup>12)</sup>나 hemoglobin,<sup>13)</sup> NOS inhibitors를 가한, 내피의존성 이완반응을 억제한 실험에서도 hyperpolarization을 유발하였고, cyclooxygenase inhibitors를 가한 경우에도 hyperpolarization이 유지되었다.<sup>14)</sup>

이와 같이 endothelium에서는 EDHF, prostaglandin I<sub>2</sub> 이외의 물질로서 평활근의 membrane potential에 관여하는 EDHF물질이 존재한다고 보고되었다. Acetylcholine으로 유도된 hyperpolarization은 K<sup>+</sup> channel의 opening에 관여하는 것으로 보고되었다.<sup>15-16)</sup> 최근연구에서, 혈관의 hyperpolarization을 유발하는 물질로 NO, PGI<sub>2</sub>, EETs,<sup>17-18)</sup> endocannabinoids, reactive oxygen와 일산화탄소(CO)를 후보로 지목하고 있다.<sup>19)</sup>

그 중에서 NO는 흰쥐의 장간막 동맥에서 과분극을 유발하고,<sup>20-22)</sup> 이는 glibenclamide에 의해 억제되므로, KATP channel이 관여한다고 보고되었고, 기니아피크의 자궁 동맥과 토끼의 대동맥에서는 NO가 BK<sub>Ca</sub> channel을 활성화하는 것이<sup>20)</sup> 보고되었다.

또한 돼지,<sup>23-24)</sup> 개,<sup>25)</sup> 흰쥐<sup>9,26)</sup> 등의 혈관에서 K<sup>+</sup> channel에 활성을 보이며<sup>27)</sup> (Rb<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> efflux), 과분극을 유발시키는 물질로, arachidonic acid가 cytochrome P<sub>450</sub> dependent epoxygenase(monooxygenase)에 의해 대사되어 생성되는 epoxyeicosatrienoic acids가 주목되고 있다.<sup>28-29)</sup> Epoxygenase는 NADPH와 O<sub>2</sub>를 필요로 하며, 대사물인 epoxyeicosatrienoic acids는 4가지 구조 이성질체가 존재하는데, 각각이 5, 6-EET,

8, 9-EET, 11, 12-EET, 14, 15-EET이다.<sup>29)</sup> 4가지 이성질체 중에서도 흰쥐의 신장의 경우 microsomal arachidonic acid epoxygenase에 의한 생산은 특히 11, 12-EET를 주 대사물로 한다.<sup>18,30)</sup>

Epoxyeicosatrienoic acids는 patch clamp를 이용한 실험에 의하면 돼지, 개, 토끼, 흰쥐<sup>30)</sup> 등의 일부 평활근에서 막전압을 낮추는 것으로 보고되었다. EETs가 막전압에 관여하는 것<sup>30)</sup> 이외에도, cytochrome P<sub>450</sub> 대사체는 쥐의 신장에 있어서 이온수송에 주요한 역할을 하고 있음이 연구되었고,<sup>1)</sup> 이 물질은 고혈압 쥐의 실험모델에서 체액량과 항상성에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다.<sup>18)</sup>

본 연구는 NO와 EETs가 K<sup>+</sup> channel에 관여하므로, Ca<sup>2+</sup> activated K<sup>+</sup> channel blocker인 TEA(tetraethylammonium chloride)와 ATP sensitive K<sup>+</sup> channel blocker인 glibenclamide를 사용하여 간접적으로 K<sup>+</sup> channel연관 여부를 혈관 이완 반응의 변화를 통해 알아본다. 또한 NOS inhibitor인 L-NAME, cPLA<sub>2</sub> inhibitor인 mepacrine 및 cytochrome P<sub>450</sub> dependent epoxygenase의 inhibitor인 SKF 525A를 사용하여 혈관의 반응 변화를 알아보고, 여기에 각각 K<sup>+</sup> channel blocker를 전처리하여, K<sup>+</sup> channel의 연관 여부를 간접적으로 조사하였다.

## 실험방법

### 시약과 실험동물

Acetylcholine · HCl은(Merck, Rahway, USA)에서 제공되었으며, (R)-(-)-phenyl-ephine hydrochloride은 Aldrich(ST. Paul, USA)에서 제공되었다. 또한 sodium nitro-prusside, SKF 525A(proadifen), pinacidil, glibenclamide, tetraethylammonium chloride, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester, methylene blue 등은 Sigma (St. Louis, USA)에서 제공되었다. 다른 기본시약은 특급의 국산시약을 사용하였다. 실험동물은 Sprague-Dawley계 흰쥐 암컷을 사용하였다. 항온 항습(20±1 °C, 55±3%)의 조건 하에서 사육하였으며, 물과 사료는 제한하지 않았다. 실험시 흰쥐의 체중은 200~300 g이었다.

### 복부대동맥 및 흉곽대동맥 적출

흰쥐를 thiopental · sodium 마취하에 개복하여 오른

쪽 신장 뒤에 보이는 복부대동맥을 찾은 후 적출하기 쉽게 주위조직을 제거하고, 개흉하여 대정맥을 절단하여 사혈 시킨 후 즉시 복부대동맥을 적출하였다. 흉곽 대동맥은 하대 정맥 절단으로 사혈 시키고, 즉시 개흉하여 심장과 함께 흉곽 대동맥을 절단하였다.

적출한 혈관은 37°C로 유지된 Krebs용액 속에서 산소를 공급하며, 지방 조직과 결합 조직을 제거하여 길이 2~4 mm 정도의 ring으로 절단하였다. 이 ring을 28G needle hook에 걸어 organ bath내의 Krebs용액. (단위 mM: NaCl 118, KCl 4.8, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 24, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, glucose 11)에서 hook에 걸어 organ bath내의 Krebs' sol.속에서 hook holder와 force displacement transducer의 고리 사이에 현수하고 organ bath내에서는 Krebs용액을 15 ml씩 채운다. Organ bath 외벽의 water jacket을 통해 circulator로 37°C를 유지시켰으며, medical oxygen(95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)을 공급 시켰다.

#### 수축, 이완 측정

Arterial ring에 2 g의 resting tension이 주어지도록 baseline을 조정하고, 2 cm/1g tension으로 반응하도록 sensitivity를 조정한 다음, 15분마다 Krebs용액으로 세척하면서 60분 동안 평형 시켰다. 평형을 이룬 ring을 10<sup>-7</sup> M phenylephrine으로 수축시킨 후, 이완제로 acetylcholine, SNP, pinacidil을 가하였다.

Phenylephrine을 가하기 10분전에 SKF 525A, TEA, glibenclamide, L-NAME, methylene blue와 mepacrine을 처리하였고, 실험 결과는 force displacement transducer를 low-level D.C. pre-amplifier에 연결하여 isometric tension의 변화를 polygraph로 기록하여 혈관의 수축, 이완 반응을 기록하였다.

#### 통계처리

모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student t-test를 사용하여 P값이 5%미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 원위의 복부대동맥 및 흉곽대동맥에서 SNP, Acetylcholine 과 Pinacidil의 이완 반응

적출한 복부대동맥과 흉곽대동맥에 phenylephrine

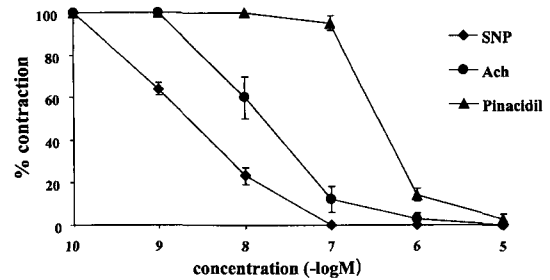


Fig. 2 - Concentration-contractions curve for SNP, acetylcholine and pinacidil on abdominal aorta. After being contracted with phenylephrine (10<sup>-7</sup> M), rings were relaxed with SNP (10<sup>-10</sup> to 10<sup>-6</sup> M), acetylcholine (10<sup>-10</sup> to 10<sup>-5</sup> M) and pinacidil (10<sup>-9</sup> to 10<sup>-5</sup> M). Result is expressed as percent of the phenylephrine induced-contraction. Each point represents the mean and vertical lines show SEM (n=6).

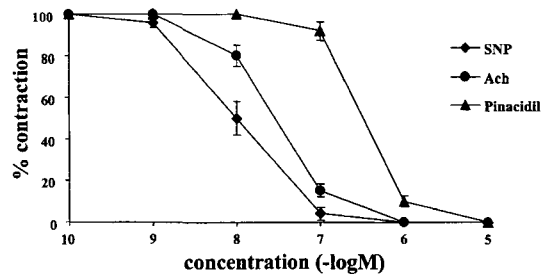


Fig. 3 - Concentration-contractions curve for SNP, acetylcholine and pinacidil on thoracic aorta. After being contracted with phenylephrine (10<sup>-7</sup> M), rings were relaxed with SNP (10<sup>-10</sup> to 10<sup>-6</sup> M), acetylcholine (10<sup>-10</sup> to 10<sup>-5</sup> M) and pinacidil (10<sup>-9</sup> to 10<sup>-5</sup> M). Result is expressed as percent of the phenylephrine induced-contraction. Each point represents the mean and vertical lines show SEM (n=6).

(10<sup>-7</sup> M)으로 수축시켜 평행에 도달한 후, SNP(10<sup>-10</sup> M to 10<sup>-6</sup> M)과 pinacidil(10<sup>-9</sup> to 10<sup>-5</sup> M)을 투여한 결과 Fig. 2과 Fig. 3와 같은 결과를 얻었다. 복부대동맥과 흉곽대동맥에서의 이완반응에는 유의성 있는 차이가 없었다. 복부대동맥과 흉곽대동맥의 혈관의 크기와 receptor의 sensitivity 차이로 인해 약간의 차이가 있어 보였다. SNP는 10<sup>-7</sup> M, acetylcholine는 10<sup>-6</sup> M 그리고 pinacidil는 10<sup>-5</sup> M 농도에서 95%이상의 수축 억제력을 보였다.

#### Acetylcholine, SNP 과 Pinacidil의 이완 및 억제 반응

Acetylcholine 10<sup>-6</sup> M에 대한 이완 반응은 93.56

±2.14%로 나타났다. Phenylephrine( $10^{-7}$  M)을 가하기 전에 L-NAME( $3 \times 10^{-5}$  M)을 전처리 하였을 경우  $18.92 \times 4.24\%$ 로, methylene blue( $3 \times 10^{-2}$  M)를 전처리 하였을 경우  $1.63 \pm 1.53\%$ 로 감소하였다. 또한 endothelial cell을 제거한 복부대동맥에서는 acetylcholine에 의한 이완반응이 유의성 있게 감소함( $5.11 \pm 3.20\%$ )을 보였다. SNP와 pinacidil의 경우 각각의 이완 반응은  $97.78 \pm 1.66\%$ ,  $92.21 \pm 2.46\%$  이었고, endothelial cell을 제거한 후 pinacidil의 이완 반응은  $98.67 \pm 1.78\%$ 로 변화가 없었다. 이것은 pinacidil이 내피세포와 무관한 것임을 보여준다.

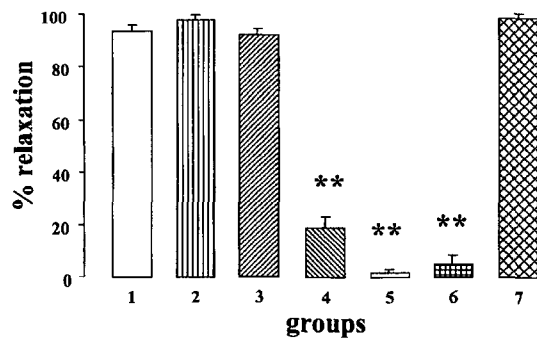
**TEA, Glibenclamide, SKF 525A, Mepacrine 전처리시 Acetylcholine, SNP, Pinacidil의 이완 반응**

Cytochrome P<sub>450</sub> dependent epoxygenase의 inhibitor인 17-ODYA(17-octadecynoic acid), SKF 525A (diethylaminoethyl diphenylpropyl acetate),<sup>29)</sup> metyrapone, ketoconazole, mitocozazole, clotrimazole등을 처리한 혈관은 이완 반응이 억제되는<sup>30)</sup> 것으로 보아 EETs가 혈관 이완반응에 관계하고 있음을 시사하고 있다. 또한 EET를 직접 토끼의 문정맥, 기니아피크의 대동맥과 돼지의 관상동맥을 사용한 실험에서 K<sup>+</sup>

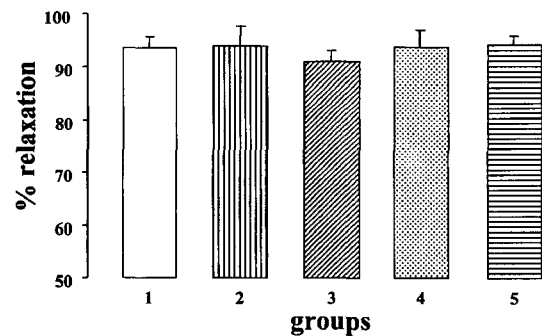
channel이 활성화된다고 보고되고 있다. 따라서 acetylcholine에 의해 생성 가능한 vasodilator인 AA와 EETs의 inhibitor를 사용하여 이완 반응의 변화를 보고, NO와 기타 vasodilators가 K<sup>+</sup> channel에 얼마나 관여하는지 보기위해, 주로 관여하는 2개의 K<sup>+</sup> channel의 blockers를 전처리하여 반응의 변화를 관찰하였다.

혈관 내피에 의존적 이완 반응을 나타내는 acetylcholine을 가하기 전에 각각 Ca<sup>2+</sup> activated K<sup>+</sup> channel blocker인 TEA( $10^{-3}$  M)와 ATP sensitive K<sup>+</sup> channel blocker인 glibenclamide( $10^{-5}$  M) 및 epoxygenase inhibitor인 SKF 525A( $10^{-5}$  M), cPLA<sub>2</sub> inhibitor인 mepacrine( $10^{-6}$  M)을 각각 phenylephrine( $10^{-7}$  M)으로 수축시키기 전에 각각 10분 전처리하여 Fig. 5와 같은 이완 반응 결과를 얻었다.

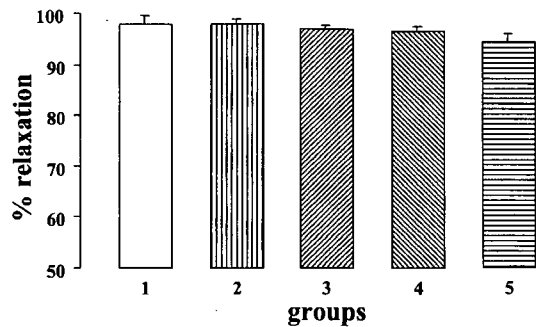
TEA 전처리는  $94.07 \pm 3.58\%$ , glibenclamide 전처리 시는  $91.12 \pm 2.02\%$ , SKF 525A 전처리 시는  $93.89 \pm 3.18\%$ 이고, mepacrine 전처리 이완 반응은  $94.30 \pm 1.56\%$ 로 control( $93.56 \pm 2.14\%$ )에 비하여 유의성이 없었다. 위의 결과로 보아 혈관의 이완 반응에는 NO 이외의 여러 이완 물질(arachidonic acid, PGI<sub>2</sub>, EETs)이 관여하고 있어, 단일 억제에 의해서는 이완 반응에 변화를 주지 못함을 보여주고 있다. 또한 혈관의 이완 반응에 있어 NOS inhibitor를 사용한 경우 유



**Fig. 4** – Effects of acetylcholine, SNP, pinacidil in intact abdominal aorta and abdominal aorta without endothelial cell. 1, 2, 3, 4, 5 intact abdominal aorta. 6,7 abdominal aorta without endothelial cell. 1. Acetylcholine ( $10^{-6}$  M); 2. SNP ( $10^{-7}$  M); 3. Pinacidil ( $10^{-5}$  M); 4. Acetylcholine ( $10^{-6}$  M); in the presence L-NAME ( $3 \times 10^{-5}$  M); 5. Acetylcholine ( $10^{-6}$  M) in presence methylene blue ( $3 \times 10^{-2}$  M); 6. Removed endothelial cell with acetylcholine ( $10^{-6}$  M); 7. Removed endothelial cell with pinacidil ( $10^{-5}$  M). Result is expressed as mean  $\pm$  SEM (n=6). \*\* p<0.01 vs. 1.



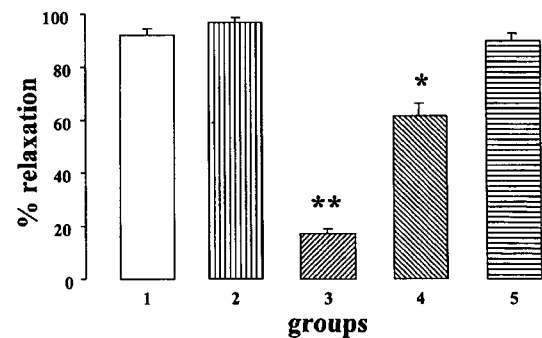
**Fig. 5** – Effects of TEA, Glibenclamide, SKF 525A and mepacrine on the Ach ( $10^{-6}$  M) induced relaxation. 1. Vehicle; 2. Ca<sup>2+</sup> activated K<sup>+</sup> channel blocker TEA ( $10^{-3}$  M); 3. ATP sensitive K<sup>+</sup> channel blocker glibenclamide ( $10^{-5}$  M); 4. epoxygenase inhibitor SKF 525A ( $10^{-5}$  M); 5. cPLA<sub>2</sub> inhibitor mepacrine ( $10^{-6}$  M). After being pretreated 2, 3, 4, 5 drugs, rings were contracted with phenylephrine ( $10^{-7}$  M) and relaxed by acetylcholine. Result is expressed as mean  $\pm$  SEM (n=6).



**Fig. 6** – Effects of TEA, glibenclamide, SKF 525A and mepacrine on the SNP ( $10^{-7}$  M) induced relaxation. 1. Vehicle; 2.  $Ca^{2+}$  activated  $K^+$  channel blocker TEA ( $10^{-3}$  M); 3. ATP sensitive  $K^+$  channel blocker glibenclamide ( $10^{-5}$  M); 4. epoxygenase inhibitor SKF 525A ( $10^{-5}$  M); 5. cPLA<sub>2</sub> inhibitor mepacrine ( $10^{-6}$  M). After being pretreated 2,3,4,5 drugs, rings were contracted with phenylephrine ( $10^{-7}$  M) and relaxed by SNP. Result is expressed as mean  $\pm$  SEM (n=6).

의성 있는 억제효과를 보이므로(Fig. 4), NO의 작용이 다른 vasodilator보다 효과가 커 혈관의 이완 반응에서 주역할을 담당하고 있다고 추정된다.

Fig. 6는 NO에 의한 직접적인 혈관의 반응을 보고자 하였다. 각 이완 반응은 TEA로 전처리한 경우 실험은  $97.97 \pm 1.77\%$ , glibenclamide 전처리 시는  $96.85 \pm 1.74\%$ , SKF 525A 전처리 시는  $96.45 \pm 1.02\%$ 이고, mepacrine으로 전처리한 후 SNP에 의한 이완 반응은  $94.43 \pm 1.62\%$ 로 control( $97.77 \pm 1.66\%$ )에 유의성 없는 이완 반응을 보였다. 이는 NO가 혈관의 평활근에서 cGMP dependent protein kinase를 활성화하여 이완 반응을 유도하는 mechanism 중, 앞서 논문에서 실험한 cGMP dependent protein kinase에 의해  $K^+$  channel을 활성화하여 이완시킨다는 결과를 증명해 주지는 못하나 cGMP dependent protein kinase가  $K^+$  channel을 활성화하는 것 이외에 여러 pathway에 의해 이완 반응을 일으키는 것으로 생각된다. 또한 NO는 endothelium independent relaxation을 유발하므로 혈관의 내피에서 생성되어 평활근에 작용하는 vasodilator inhibitor(SKf 525A와 mepacrine 등)을 처리해도 이완 반응에 변화가 없으므로 endothelium independent relaxation을 유발한다는 것을 재증명 해 주고, NO에 의한 평활근 이완에 있어 SKf 525A와 mepacrine이 영향을 주지 않는다고 생



**Fig. 7** – Effects of TEA, glibenclamide, SKF 525A and mepacrine on the pinacidil ( $10^{-5}$  M) induced relaxation. 1. Vehicle; 2.  $Ca^{2+}$  activated  $K^+$  channel blocker TEA ( $10^{-3}$  M); 3. ATP sensitive  $K^+$  channel blocker glibenclamide ( $10^{-5}$  M); 4. epoxygenase inhibitor SKF 525A ( $10^{-5}$  M); 5. cPLA<sub>2</sub> inhibitor mepacrine ( $10^{-6}$  M). After being pretreated 2, 3, 4, 5 drugs, rings were contracted with phenylephrine ( $10^{-7}$  M) and relaxed by pinacidil. Result is expressed as mean  $\pm$  SEM. \*\*p<0.01, \*p<0.05 vs. 1. (n=6)

각된다.

Fig. 7에서는 이완제로 ATP sensitive  $K^+$  channel opener인 pinacidil( $10^{-5}$ M)을 사용하였다. Fig. 5, 6과는 달리 glibenclamide에 유의성 있는 이완 반응 감소( $17.19 \pm 1.82\%$ )을 나타내었다. 이는 control ( $92.21 \pm 2.46\%$ ), TEA( $96.75 \pm 1.69\%$ ), SKf 525A ( $61.56 \pm 5.02\%$ ), mepacrine( $90.24 \pm 2.69\%$ )과 비교하였을 때, endothelium independent relaxation을 유발함을 보여주고, 혈관의 평활근에서 pinacidil은 ATP sensitive  $K^+$  channel에 특이적인 이완 반응을 갖고 있음을 보여 주고 있다. SKf 525A에 의해 부분적으로 이완 반응 감소가 나타난 것으로 보아,  $K^+$  channel간의 상호작용과 SKf 525A의 비특이적 억제 반응에 의한 것으로 추정된다.

## 결 론

흰쥐의 복부대동맥에서의 acetylcholine, SNP와 pinacidil(ATP sensitive  $K^+$  channel opener)에 대한 혈관 이완 반응과  $K^+$  channel blocker인 TEA, glibenclamide 및 L-NAME, mepacrine와 cytochrome P<sub>450</sub> dependent epoxygenase inhibitor인 SKf 525A 전처리에 대한 혈관 이완 반응에서 얻은 결론은 다음과 같다.

1. 흰쥐의 복부대동맥과 흉곽대동맥에서 acetylcholine, SNP와 pinacidil에 대한 혈관 이완 반응은 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

2. Acetylcholine에 의한 이완반응은 NOS inhibitor 및 soluble guanylate cyclase inhibitor에 의해 유의성 있게 억제되며, endothelial cell에 의존적으로 발생한다.

3. Pinacidil에 의한 이완반응은 endothelial cell에 비의존적으로 발생한다.

4. Acetylcholine과 SNP(NO donor)으로 이완에서  $K^+$  channel blocker인 TEA와 glibenclamide 전처리 및 SKF 525A 전처리에 대해 혈관 이완 반응은 유의성 있는 변화를 나타내지 않았고 pinacidil의 경우 glibenclamide에 의해서 유의성 있는 억제 반응을 나타내며, SKF 525A에 의해서 부분적으로 억제된다.

이상의 결과로, cytochrome  $P_{450}$  dependent epoxygenase inhibitor인 SKF 525A은 pinacidil에 의한 이완반응을 부분적으로 억제하며, 이것은 EETs가  $K^+$  channel에 관여함을 나타낸다. 또한 흰쥐의 복부대동맥과 흉곽대동맥에서, pinacidil에 의한 이완반응은 ATP sensitive  $K^+$  channel을 경유한다.

## 문 헌

- Ralph, A. K. : Nitric oxide and nitrovasodilators : similarities, differences and interactions. *Am. J. Cardiol.* **77**, 2C (1996).
- Toshio, N. : Nitric oxide in vascular remodeling. *Jpn. Heart. J.* **37**, 431 (1997).
- Kimihito, K. : Endothelium-derived Hyperpolarizing factor. *Blood Vessels.* **27**, 238 (1990).
- Robert, M. R. : Cyclic guanosine monophosphate inhibition of contraction may be mediated through inhibition of phosphatidyl inositol hydrolysis in rat aorta. *Circ. Res.* **58**, 407 (1986).
- David, L. W. : Guanosine 5-(monophosphate) modulates gating of high-conductance  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channels in vascular smooth muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **85**, 9360 (1988).
- Keiko, M. : Cytochrome  $P_{450}$ , the arachidonic acid cascade and hypertension : New vistas for an old enzyme system. *FASEB. J.* **10**, 1456 (1996).
- Trudy, L. C. : Regulation of intracellular Ca levels in cultured vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* **264**, 1146 (1989).
- Jean, V. M. : Endothelium-derived hyperpolarizing factor(s) : updating the unknown. *TIPS-July.* **18**, 252 (1997).
- Guifa, D. : Some electrical properties of the endothelium-dependent hyperpolarization recorded from rat arterial smooth muscle cells. *J. Physiol.* **410**, 91 (1989).
- Zhiling, X. : Regulation of L-type calcium channels of vascular smooth muscle cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **27**, 75 (1995).
- Cathetine, C. : Endothelium-derived factors and hyperpolarization of the carotid artery of the guinea-pig. *Br. J. Pharmacol.* **119**, 959 (1996).
- Guifa, C. : Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarization factor and EDRF from rat blood vessels. *Br. J. Pharmacol.* **95**, 1165 (1988).
- William, M. : Selective blockade of endothelium-dependent and glyceryl trinitrate-induced relaxation by hemoglobin and by methylene blue in the rabbit aorta. *J. Pharmacol.* **232**, 708 (1985).
- Wolfgang, F. G. : Mechanisms of L- $N^G$  nitroarginine/indomethacin-resistant relaxation in bovine and porcine coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.* **119**, 1177 (1996).
- Katharine, B. : Difference in the  $K^+$  channels opened by cromakalim, acetylcholine and substance P in rat aorta and porcine coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* **102**, 585 (1991).
- Tohann, B. : Display of the characteristics of endothelium-derived hyperpolarizing factor by a cytochrome  $P_{450}$ -derived arachidonic acid metabolite in the coronary microcirculation. *Br. J. Pharmacol.* **113**, 1548 (1994).
- Barbara, E. E. : The pharmacology of intracellular  $Ca^{2+}$ -release channels. *TIPS-May.* **15**, 145 (1994).
- Stephan, L. A. : Differential distribution of electrophysiologically distinct myocytes in conduit and resistance arteries determines their response to nitric oxide and hypoxia. *Circ. Res.* **78**, 431 (1996).
- Andrey, I. M. : Characterization and modulation of EDHF-mediated relaxation in the rat isolated superior mesenteric arterial bed. *Br. J. Pharmacol.* **120**, 1431 (1997).

- 20) Uictria, M. B. : Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature*. **368**, 850 (1994).
- 21) Francisco, S. C. :  $K^+$  channel opening mediates hyperpolarizations by nitric oxide donors and IJPs in opossum esophagus. *Am. Physiol. Society*. **31**, G831 (1995).
- 22) Neal, L. W. : Relationship of arachidonic acid release to porcine coronary artery relaxation. *Hypertension*. **26**, 684 (1995).
- 23) Tetsuhiko, N. : Characterization of endothelium-dependent relaxations resistant to nitro-L-arginine in the porcine coronary artery. *Br. J. Pharmacol.* **107**, 1102 (1992).
- 24) Jean, V. M. : Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization evoked by bradykinin in canine coronary arteries : enhancement by exercise-training. *Br. J. Pharmacol.* **117**, 413 (1996).
- 25) Sandra, L. P. : Vasorelaxation by an endothelium-derived metabolite of arachidonic acid. *Am. J. Physiol.* **270**, H1021 (1996).
- 26) Zygamut, P. M. : Regional differences in endothelium-dependent relaxation in the rat; contraction of nitric oxide and nitric oxide independent mechanisms. *Acta. Physiol. Scand.* **155**, 257 (1995).
- 27) Stephan, L. A. : Nitric oxide and cGMP cause vasorelaxation by activation of a charybdotoxin-sensitive  $K^+$  channel by cGMP-dependent protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91**, 7583 (1994).
- 28) William, B. C. : Identification of epoxyeicosatrienoic acids as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ. Res.* **78**, 415 (1996).
- 29) Markus, H. : Characterization of endothelium-derived hyperpolarizing factors as a cytochrome  $P_{450}$ -derived arachidonic acid metabolite in mammals. *J. Physiol.* **481.2**, 407.
- 30) Peter, M. Z. : Effects of cytochrome  $P_{450}$  inhibitors on EDHF-mediated relaxation in the rat hepatic artery. *Br. J. Pharmacol.* **118**, 1147 (1996).