

## 칼륨채널 활성물질 Lemakalim의 고칼륨혈증 및 저칼륨혈증에서의 심기능에 대한 영향 및 항 고혈압작용

신흥섭 · 신화섭\* · 권광일#

충남대학교 약학대학, \*한국화학연구소 의약활성연구실

(Received August 19, 1993)

### Pharmacodynamics of Potassium Channel Opener Lemakalim in the Isolated Rat Hearts and Conscious SHRs under Hyperkalemic and Hypokalemic Condition

Hong Sub Shin, Hwa Sup Shin\* and Kwang Il Kwon#

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

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

**Abstract**—Pharmacological effects of lemakalim on cardiovascular system were investigated using isolated rat hearts and conscious SHRs subjected to hyperkalemic and hypokalemic condition. In the isolated hearts perfused with normal physiological salt solution(4.7 mM KCl), lemakalim increased cardiac function and coronary flow, and these effects were significantly potentiated under hypokalemic(1.2, 2.5 mM KCl), but attenuated under hyperkalemic(10 mM KCl) condition. In conscious SHRs, lemakalim(0.1, 0.2, 0.3 mg/kg, p.o.) produced a dose-related decrease in systolic blood pressure, the maximal hypotensive effect being reached around 0.5 hr after dosing. The intensity and the duration of hypotensive effect of lemakalim were significantly increased when administered in combination with dihydrochlorothiazide (2 mg/kg, p.o.), but decreased with triamterene(32 mg/kg, p.o.). It appears that the differential effects of two types of diuretics on the hypotensive action of lemakalim are due to their hypokalemic and hyperkalemic action, respectively. It is concluded that the concomitant use of K<sup>+</sup> channel openers and hypokalemic diuretics may be an appropriate model of combination therapy in the treatment of hypertension.

**Keywords** □ Lemakalim, hyperkalemia, hypokalemia, dihydrochlorothiazide, triamterene.

K<sup>+</sup> channel openers (PCOs)는 임상적으로 사용 중인 기존의 항고혈압제와는 전혀 다른 약물작용 기전에 의해 강력하게 혈관 평활근을 이완시킴으로써 혈압을 강하시키는 항고혈압제로 밝혀져 있다. K<sup>+</sup> channel openers는 혈관 평활근 세포에 존재하는 최소한 2 type 이상의 K<sup>+</sup> channel(중<sup>1)</sup> 일차적으로 ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel (K<sub>APT</sub> channel)을 통한<sup>2-7)</sup> K<sup>+</sup>의 유출을 활성화시켜<sup>2-9)</sup> 혈관평활근 세포의 과분극(hyperpolarization)을<sup>1-3,8,10,11)</sup> 유발하고 이 결과 전위차

의존성 Ca<sup>++</sup> channel (VOCC)이 억제되면서 Ca<sup>++</sup>의 세포내 유입이 차단되어<sup>1,2,9,10,12)</sup> 혈관 평활근 수축의 차단과 평활근 이완이 유발된다.

PCO는 혈압조절에 관여하는 저항성 혈관에 대한 이완작용외에도 신장 혈관에 대한 작용도 갖고 있어 대표적인 PCO인 cromakalim은 흰쥐, 선천성 고혈압 쥐, 개 등의 다양한 동물에서 신장의 혈관 저항을 감소시켜 신혈류량(RBF), 사구체 여과율(GFR), 뇨량(urine flow) 및 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>+</sup>의 뇨중 배설을 증가시키고, 이와 같은 작용은 전신 순환에서 혈역학적

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

변화를 일으키지 못하는 저용량에서도 나타내는 것으로 보고되고 있다.<sup>13, 18)</sup> 이같은 사실은 신장기능과 신장 혈류역학적 기능 부전이 고혈압의 발병 및 유지에 중요한 유발인자인 것을 고려할때 PCOs가 신장혈류, 뇨량 및 뇨중 전해질 배설에 대한 작용을 통해 혈압강화에 기여할 수 있음을 시사한다.

최근의 연구에 의하면 cromakalim은 혈관 평활근에 대한 작용외에 심장의 심실 및 심방근에 존재하는  $K_{ATP}$  channel을 통한  $K^+$ 이온의 세포외 유출을 자극하여 음성변력작용을 유발하며<sup>19)</sup> cromakalim, nicorandil, pinacidil, aprikalim 등의 다양한 구조를 갖는 PCOs가 허혈성 심장질환으로부터의 심장보호작용도 갖고 있는 것으로 밝혀짐에 따라 심근 경색 치료에도 효능이 있을 것으로 보여 큰 관심을 끌고 있다.<sup>20)</sup>

이와같은 혈관, 심장, 신장 등에 대한 PCOs의 다양한 약리작용은 공통적으로 위에서 언급한  $K_{ATP}$  channel의 활성화 기전에 의해 유발되며 이같은 사실은  $K_{ATP}$  channel 차단제로 알려진 sulfonylurea계통의 glibenclamide에 의한 연구 결과 확인되었다.

대동맥, 관상동맥, 폐동맥, 간문맥, 회장, 기관지 등 다양한 종류의 평활근 조직을 사용한 in vitro 연구에 의하면 cromakalim은 약물에 의해 유발된 수축에는 수축제의 농도와 상관없이 이완작용을 보였으나 KCl에 의한 수축에는 농도 의존성을 보여 고  $K^+$  농도 (30~80 mM)에 의한 수축에는 이완작용을 나타내지 못하였다.<sup>3,5,9,21-24)</sup> 반면 세포외액상에서  $K^+$  농도가 정상치(4.7 mM)에 가까우수록 PCOs로서의 혈관평활근 이완 효과가 크다고 보고되었다.<sup>5,7,11,12,21-23,25)</sup> 이같은 사실은 목표장기의 세포막에 존재하는  $K_{ATP}$  channel을 활성화시켜 세포내  $K^+$ 을 세포외부로 유출시키는 작용기전을 갖는 PCOs의 약효는 세포막내외의  $K^+$  이온의 농도경사에 의존적이며 질병 및 투약 등 임상적으로 세포외액 (생리액 또는 혈액) 중의  $K^+$  농도의 이상이 초래될 경우 증감될 수 있음을 시사한다. 그러나, 이와같이 기전 규명을 위하여 적출 장기 실험에 사용된 극한적인  $K^+$ 이온 농도를 배제하고 고칼륨혈증 및 저칼륨혈증과 같이 실제 생체내에서 발생 가능한  $K^+$ 의 농도변화에 따른 PCOs의 약동학적인 효과에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

이에 연자 등은 cromakalim의 active(-) optical isomer로서 cromakalim보다 강력한 혈관이완작용 및

혈압강화 작용을 갖는 것으로 알려진 lemakalim<sup>3,8,26,27)</sup>의 약리작용과 세포외액 중의  $K^+$ 이온 농도의 상관성을 규명하기 위해 저, 고칼륨혈증 유발작용이 있는 것으로 보고된 두종의 이노제와의 병용실험과 저, 고  $K^+$  이온성 생리액으로<sup>28,29)</sup> 관류된 흰쥐의 적출심장을 사용한 실험을 수행하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 여기에 보고한다.

## 실험방법

### 실험방법

본 실험에 사용된 웅성 Sprague Dawley (SD) rat 및 웅성 Spontaneously hypertensive rats(SHR)은 한국화학연구소 GLP시설하의 실험동물 육종실에서 분양받아 일정온도( $22 \pm 2^\circ C$ ) 및 습도(55~60%)가 유지되고 명암 주기가 12시간 단위로 조절되는 동물실에서 고형사료(삼양)와 식수를 무제한 공급하여 사육하였으며 SD rat은 체중이 300~450 g에 도달할 때 SHR(230~300 g)은 생후 11주가 지나 혈압이 충분히 상승되었을 때 실험에 사용하였다.

### 사용약품

Lemakalim(한국화학연구소에서 합성), dihydrochlorothiazide(HCT) (유한양행), triamterene(유한양행), Heparin(녹십자), sodium pentobarbital(한림제약)과 덕산약품 또는 Sigma사에서 구입한 생리액 조제용 시약 및 유기용매를 사용하였다. 적출 심장 실험에 사용된 lemakalim은 실험당인 70% 에탄올에 녹여  $10^{-3} M$  stock solution을 만들어 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer로 연속 희석하여 사용하였고(최종 에탄올 농도는 0.4% 이하) heparin과 sodium pentobarbital은 0.9% Saline으로 희석하였으며 생리액은 탈이온수로 조제하였다. SHR 혈압 강화 실험에서 경구용으로 사용된 lemakalim, HCT, triamterene은 모두 당일 실험직전에 100% 2,5-propylene glycol을 사용 약하게 가열 조제하였다.

### 사용기기

Langedorff Apparatus(H.S.E., Germany), electromagnetic flowmeter(Narco Bio-System, U.S.A.), plugsys bridge amplifier(H.S.E., Germany), BP recor-

der 8006(Ugo basile, Italy), Pulse trasducer(Piezo  $\phi$  10, Italy), Isotec pressure transducer(H.S.E., Germany), Oscilloscope (Hitachi VC-6025, Japan), Rodent ventilator model 683(Harvard, U.S.A.), Electric stimulator(H.S.E., Germany), Linearcorder mark 8 WR 3500(Graphtec, Japan), Heating box(세창공업) 등을 이용하였다.

### 적출 흰쥐 심장에 대한 lemakalim의 작용

**Langendorff 적출심장 set-up**—Rat에 heparin(1000 U/kg i.v.)을 투여한 후 sodium pentobarbital(50 mg/kg i.p.)로 마취시키고 Grover 등의 방법에 따라 심장을 적출하였다.<sup>30-32)</sup>

즉, 기관에 cannula(PE 240)을 삽입하고 rodent ventilator를 이용해 인공호흡시키며 in situ 상태에서 대동맥 cannula를 통한 역행성 관류하에 Langendorff Apparatus에 재빨리 매달고 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거했다. 에탄올과 증류수 혼합액(1:1 vol/vol)으로 채운 고무풍선(latex balloon)을 매달은 금속 cannula를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 isovolumetric하게 측정하기 위해 pressure transducer에 연결하였다. EDP(end diastolic pressure)는 10 mmHg로 주고 Gottlieb valve를 이용해 정압관류(73 mmHg)를 하여 50분 이상 안정화시켰다. 생리액은 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer(mM/L: 116 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 MgSO<sub>4</sub>, 1.17 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 24.9 NaHCO<sub>3</sub>, 2.52 CaCl<sub>2</sub>, 8.32 Glucose, 2.0 Pyruvate)를 사용하였으며 온도는 37°C를 유지시켜 주고 실험을 진행하는 동안 계속 carbo-gen gas를 통해주어 pH를 7.4로 하였다.<sup>30-33)</sup>

**Hemodynamic parameters 측정**—본 실험에서는 심장기능을 평가하는 parameter로 수축기말 좌심실압(LVP, left ventricular peak systolic pressure), 이완기말 좌심실압(LVEDP, left ventricular enddiastolic pressure), LVDP(left ventricular developing pressure),  $+dp/dt_{max}$  및  $-dp/dt_{max} \div +dp/dt_{max}$ (quotient)와 RPP(rate-pressure product)를, 관상혈관기능을 평가하는 parameter로 관상혈류량(CF, coronary flow)과 그밖에 심박동수(HR, heart rate)등을 측정하였다.

LVP의 시간에 대한 미분값인  $+dp/dt_{max}$ 는 심근의

수축력을 나타내는 항목으로서 수축력 평가시 일정한 pulse rate가 요구되므로 coaxial electrode를 좌, 우 심방 사이에 위치시킨 후 electrical stimulator를 이용해 square wave pulses(4V, 0.5 ms duration, 270 beats/min)를 발생시키고<sup>33)</sup> 측정하였다. 또한  $-dp/dt_{max} \div +dp/dt_{max}$ (quotient)는 plugsys brige amplifier에 내장되어 있는 quotient module를 통해 산출되었다. RPP는 working heart와 달리 cardiac output을 측정할 수 없는 Langendorff heart에서 간접적으로 심장의 기능(cardiac performance)을 알아보는 중요한 parameter로서 Watts의 방법에 따라 HR에 LVDP를 곱하여 계산하였다.<sup>34)</sup> 여기서 LVDP는 LVP에서 LVEDP를 감하여 산출하였다.<sup>30-32)</sup> 총 관상혈류량은 aortic cannula위에 고정된 coronary flow probe(직경: 1.0 mm)를 이용하여 electromagnetic flowmeter로 측정하였다. Plugsys bridge amplifier를 통해 처리된 모든 신호를 Linearcorder로 기록하였다.

**실험 protocol**—적출 심장에 대한 lemakalim의 효과와 관류액 중의 K<sup>+</sup>이온 농도의 상관성을 규명하기 위해 생체의 고칼륨혈증([K<sup>+</sup>] > 5.7 mM)과 저칼륨혈증([K<sup>+</sup>] < 3.5 mM) 상태하의 K<sup>+</sup>이온 농도를 고려하여 정상생리액(4.7 mM KCl), 고칼륨성(10 mM KCl) 및 저칼륨성(1.2, 2.5 mM KCl)생리액 등 전부 4 KCl 농도군을 갖는 생리액으로 적출 심장을 관류시켰다. 고, 저칼륨성 생리액은 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer중의 K<sup>+</sup> 농도를 증감시켜 제조하였다.<sup>7)</sup>

각 KCl농도군에 대해 적출한 심장을 Langendorff Apparatus에 매달아 정상 생리액의 관류하에 1시간 안정화시킨 후 고, 저칼륨성 생리액으로 20분간 관류시키고<sup>26)</sup> 이어서 곧바로 lemakalim(7  $\mu$ M, ~ED<sub>80</sub>)을 single bolus(1 ml)씩 Langendorff Apparatus의 관류액내로 주사하였다.  $+dp/dt_{max}$ 이외의 모든 parameter에 대한 lemakalim의 효과는 일정시간 간격으로 연속 3회에 걸쳐 single bolus로 투여해 얻은 반응중 최대반응을 약물 투여전의 수치에 대한 변화율(%)로 나타내었으며  $+dp/dt_{max}$ 에 대한 효과측정을 위해서는 약물투여전 10분간 전기자극(4 V, 0.5 ms, 270 beats/min)을 가해 평형상태를 유도하였으며 약물투여후에도 전기자극을 지속적으로 유지하였다.

### 비마취 SHR에서의 혈압강하 실험

**혈압 및 심박동수 측정**—11~14주령의 SHR을 실험전 24시간동안 절식시킨후  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 가 유지되는 heating box에 약 15분간 방치시켜 보온하였다. 꼬리동맥이 충분히 확장되면 restraining cage에 넣어 5분간 안정화시킨 후 tail cuff(내경: 10 mm)와 pluse transducer를 꼬리 상단에 고정하고 BP recorder 8006을 이용한 tail cuff method<sup>35)</sup>로 혈압 및 심박동수를 측정하였다.

**실험 protocol**—고, 저칼륨혈증 상태에서의 lemakalim의 혈압강하 작용을 연구하기 위해 고칼륨혈증 유발성 이노제인 HCT 및 저칼륨혈증 유발성 이노제인 triamterene과 lemakalim을 병용 투여하고 SHR에서의 혈압 강하작용을 측정하였다. 일차적으로 vehicle군, lemakalim군, HCT군, triamterene군 등 4군의 약물 단독투여군에 대해 혈압 및 심박동수에 대한 용량 반응곡선을 얻었고 이를 구간으로 적절한 용량을 선정하여 lemakalim과 두 이노제와의 병용 투여 실험을 하여 그 결과를 비교하였다.

모든 약물은 경구로 투여하였으며 병용 투여시는 lemakalim을 투여한 직후 곧바로 이노제를 투여하였다. 단독 또는 병용 투여시 각 약물의 투여 용매부피는 2 ml/kg로 하였다. 수축기 혈압 및 심박동수 data는 약물 투여전과 경구 투여후 0.5, 1, 2, 4, 8, 24시간에 걸쳐 측정하였으며 연속 3회 이상 측정한 것을 평균하여 lemakalim투여전의 혈압 및 심박동수에 대한 변화율(%)로써 표시하였다.

### 통계처리

적출심장실험에서 정상 생리액군과 각 KCl 농도 군간의 유의성 검정은 unpaired t-test를 이용하였고, SHR혈압 강하 실험에서 각 시간대에 따른 약물의 SBP 및 HR에 대한 작용은 Newman-Keuls test 및 paired t-test를 이용해 유의성 검정을 하였다. 모든 data는 약물 투여전과 투여후의 변화율(%)의 mean  $\pm$  SEM으로 나타내었다.

### 실험결과

#### 적출หัวใจ 심장에 대한 lemakalim의 작용

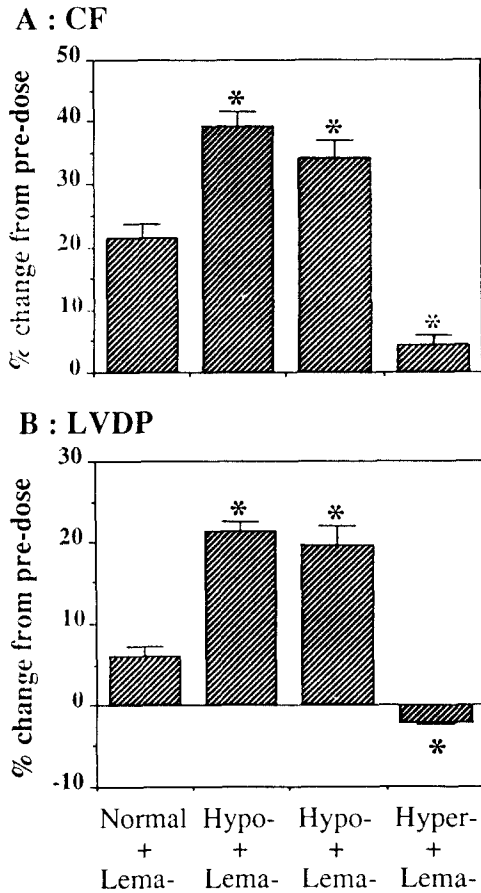
저칼륨성(1.2, 2.5 mM KCl) 및 고칼륨성(10 mM KCl)생리액으로 적출심장을 관류시 정상생리액(4.7

mM KCl)으로 관류시에 비해 각각 독특한 양상의 hemodynamic profile을 나타내었으며 7분 이내에 안정화 되어 최소 30분이상 평형을 유지하였다. 저칼륨성 생리액으로 관류시에는 LVDP와 CF 및 RPP가 유의성 있게 감소하였으나( $p < 0.01$ ), 고칼륨성 생리액으로 관류시에는 LVDP와 CF가 오히려 약간 증가하고 RPP는 약간 감소하는 경향을 나타내었고 HR은 어느 경우나 약간 감소하였다.

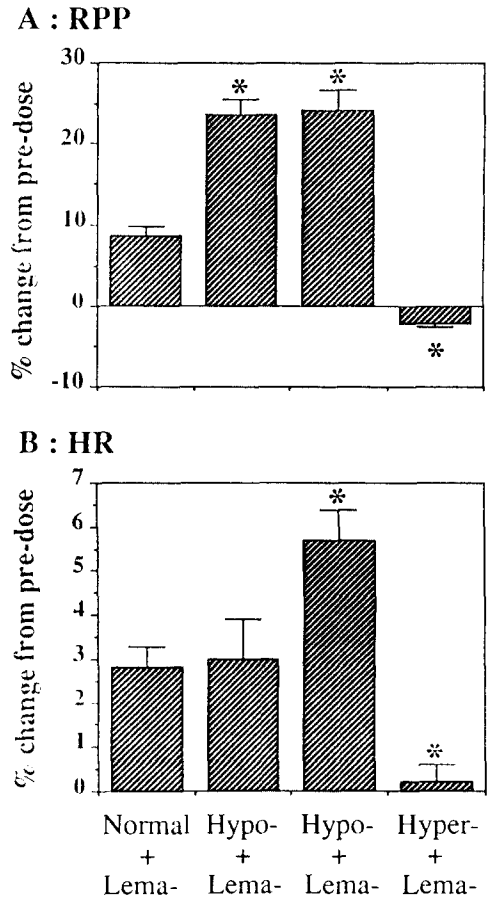
고칼륨성 및 저칼륨성 생리액의 관류시 적출심장에 대한 lemakalim(7  $\mu\text{M}$ )의 약리작용은 다음과 같다. 관상동맥혈류량의 경우 사용된 4종의 생리액에 의한 관류 실험군 모두에서 각각  $21.4 \pm 2.4$ ,  $39.3 \pm 2.2$ ,  $34.3 \pm 2.8$ , 및  $4.3 \pm 1.6\%$ 로 lemakalim에 의해 증가하였고 증가율은 관류액중의 칼륨농도 의존성을 보였다. 따라서 저칼륨성 관류시의 관상혈류의 증가는 정상관류시의 증가의 1.5~2배로서 유의성 있는 차이를( $p < 0.01$ ) 보인 반면 고칼륨성 관류시에는 정상관류시의 증가에 비해 매우 미약하게 증가하였고 두 구간에 유의성있는 차이가 있었다( $p < 0.01$ ) (Fig. 1A).

RPP 및 LVDP의 경우 저칼륨성 관류시 1.2 mM에서 각각  $23.6 \pm 1.8$ ,  $21.3 \pm 1.2$  그리고 2.5 mM에서  $24.1 \pm 2.6$ ,  $19.7 \pm 2.2\%$ 로 가장 크게 증가하여 각각  $8.6 \pm 1.3$ ,  $6.1 \pm 1.1\%$ 로 나타난 정상관류시 증가율의 2.5~3배의 유의성 있는 증가를 보였으나( $p < 0.01$ ) 고칼륨성 관류시는 각각  $-2.1 \pm 0.4$ ,  $-2.2 \pm 0.2\%$ 로 오히려 감소되는 양상을 보였고 정상관류시는 변화와 유의성있는 차이가 있었다( $p < 0.05$ ) (Fig. 1B, 2A). 심박동수의 경우 4 관류실험군에서 각각  $2.8 \pm 0.5$ ,  $3 \pm 0.9$ ,  $5.7 \pm 0.7$  및  $0.2 \pm 0.4\%$ 로 모두 증가하여 양성변시 효과를 보였으며 관류액중의 칼륨농도에 민감한 반응을 나타내었다. 따라서 저칼륨성 관류시도 칼륨농도가 1.2 mM일때는 양성변시 효과가 정상 관류시에 비해 유의성 있는 차이가 없었으나 2.5 mM일때는 유의성 있게 증가하였다. 고칼륨성 관류시의 양성변시효과는 정상 관류시에 비해 미약하였다(Fig. 2B).

LVEDP도 저칼륨성 관류시는  $-5.3 \pm 4.6$ ,  $-11.8 \pm 2.3\%$ 로서  $-15.1 \pm 5.2\%$ 로 나타난 정상생리액의 관류시보다 lemakalim에 의해 미약하게 감소되었으나 두 구간에 유의성있는 차이는 없었고 고칼륨성 관류시는 LVEDP가  $1.8 \pm 1.7\%$ 로 약간 증가하여 정상 관류시의 변화와 비교해 유의성있는 차이가( $p < 0.01$ ) 관찰되었



**Fig. 1**—Effects of lemakalim (7  $\mu$ M) on CF and LVDP in isolated rat heart. They were significantly (\* $p < 0.01$ ) increased by lemakalim under hypokalemic(1.2, 2.5 mM KCl), but decreased under hyperkalemic perfusion(10 mM KCl), compared with those under perfusion with normal KCl solution(4.7 mM KCl). Vertical bar shows mean  $\pm$  SEM of percent change from predose values, (normal KCl group,  $n = 8$ ; other,  $n = 5$ ).



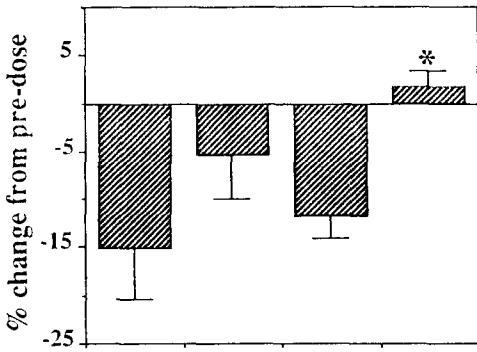
**Fig. 2**—Effects of lemakalim(7  $\mu$ M) on RPP and HR in isolated rat heart. They were significantly (\* $p < 0.01$ ) increased by lemakalim under hypokalemic(A; 1.2, 2.5 mM KCl, B; 2.5 mM KCl), but decreased under hyperkalemic perfusion (10 mM KCl), compared with those under perfusion with normal KCl solution(4.7 mM KCl). Vertical bar shows mean  $\pm$  SEM of percent change from predose values, (normal KCl group,  $n = 8$ ; other,  $n = 5$ ).

다(Fig. 3A).

전기자극으로 심박동수를 270회/분으로 고정시킨 후 측정된 심근 수축력 실험에서 lemakalim은 저칼륨성 관류시 양성변력작용을 보여 칼륨농도가 2.5 mM일때  $24.2 \pm 1.7\%$ 로 정상관류시의  $12.3 \pm 2.9\%$ 으로 나타난 양성변력효과에 비해 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 큰 양성변력효과를 나타냈고 고칼륨성 관류시에는  $-3.8 \pm 2.1\%$ 로 오히려 음성변력 효과를 나타내 정상관류

시의 변화와 비교해 유의성( $p < 0.01$ ) 있는 차이가 있었다(Fig. 3B).  $(-dp/dt_{max}) \div (+dp/dt_{max})$ 의 경우 lemakalim에 의해서 고칼륨성 관류시는  $-0.9 \pm 0.3\%$ 로 약간 감소하였고 저칼륨성 관류시는  $3.5 \pm 1.8, 3.9 \pm 1.5\%$ 로 증가하였으나  $-0.3 \pm 1.6\%$ 인 정상관류시의 감소와 비교해 유의성있는 차이는 없었다(Fig. 4).

A : LVEDP



B : (+) dp/dt<sub>max</sub>

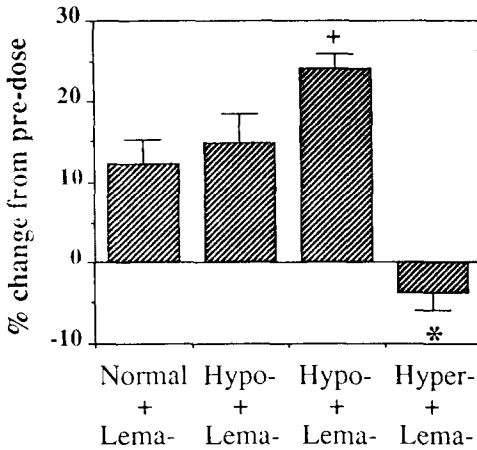


Fig. 3—Effects of lemakalim (7 μM) on LVEDP and (+)dp/dt<sub>max</sub> in isolated rat heart. A; LVEDP was similar by lemakalim under hypokalemic (1.2, 2.5 mM KCl), B; (+)dp/dt<sub>max</sub> was significantly (P<0.05, \*P<0.01) increased by lemakalim under hypokalemic(2.5 mM KCl), compared with those under perfusion with normal KCl solution(4.7 mM KCl). Vertical bar shows mean±SEM of percent change from predose values, (normal KCl group, n=8; other, n=5).

비마취 SHR에서의 혈압강하 실험

**Lemakalim 단독 경구 투여효과**—Lemakalim (0.1, 0.2, 0.3 mg/kg)은 SHR에서 용량의존적으로 수축기 혈압을 강하시켰다. 이들의 혈압강하작용 시작 시간은 매우 빨라 약물 투여후 용량에 따라 30분에서 각각 10±2.5, 35.2±2.0, 43±1.0%의 급격한 혈압감소를 보였으며, 8시간까지 작용이 지속되었고 24시간 후

Quotient

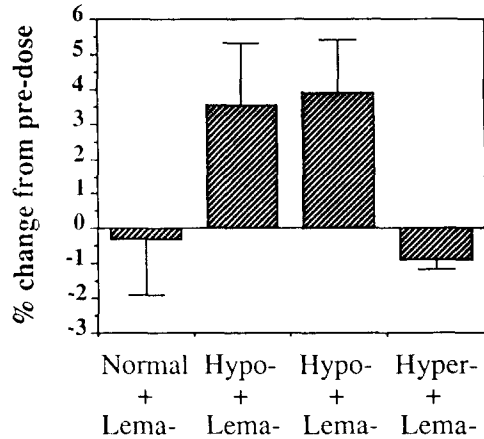
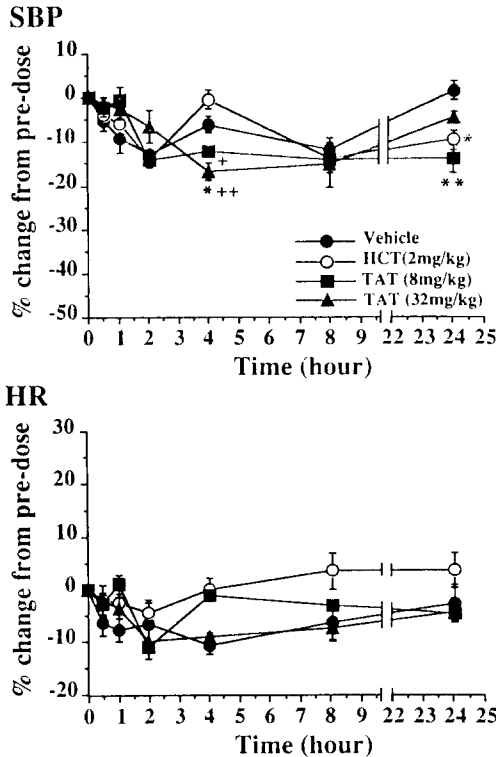


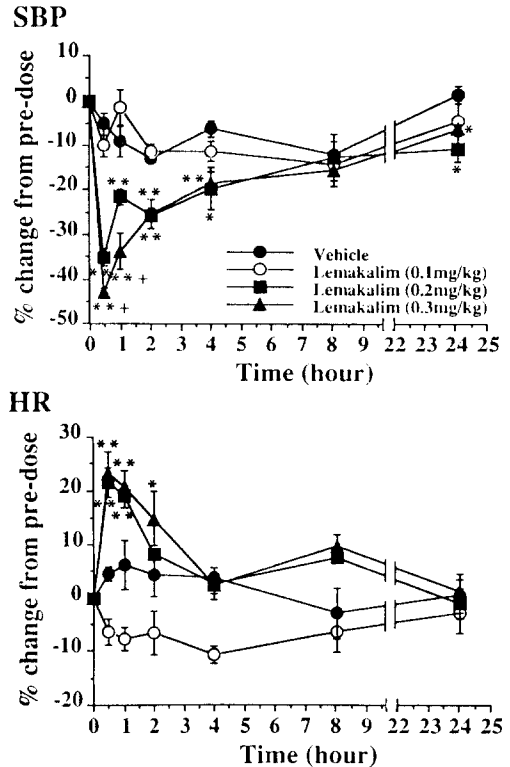
Fig. 4—Effects of lemakalim (7 μM) on Q((-)dp/dt<sub>max</sub> ÷ (+)dp/dt<sub>max</sub>) in isolated rat heart. Q was increased by lemakalim under hypokalemic(1.2, 2.5 mM KCl), but decreased under hyperkalemic perfusion(10 mM KCl), compared with those under perfusion with normal KCl solution(4.7 mM KCl). Vertical bar shows mean±SEM of percent change from predose values, (normal KCl group, n=8; other, n=5).

에도 10% 내외의 혈압강하율을 나타내었다. Lemakalim의 항고혈압효과는 저용량에서는 (0.1 mg/kg) 용매군에 비해 유의성있는 차이를 보이지 못했으나 보다 높은 용량에서는(0.2, 0.3 mg/kg) 약물 투여후 4시간 까지 유의성있게 지속되었으며 반사성 빈맥(reflex tachycardia, 2시간 이하)이 수반되었다(Fig. 5).

**HCT 및 triamterene 단독 경구 투여효과**—HCT (2, 8 mg/kg) 및 triamterene (4, 8, 32 mg/kg)를 각각 단독으로 경구 투여시 시간에 따른 혈압과 심박동수의 변화는 vehicle군에 비해 대체로 유의성있는 차이가 없었다. HCT의 경우 약물 투여후 24시간까지의 혈압의 경시변화 양상이 vehicle군과 유사했으나 혈압강화작용은 용량의존성을 보였다. 따라서 혈압강하율은 투여후 2시간까지는 두 용량군과 vehicle군간에 유의성있는 차이가 없었으나 4시간부터 두 용량군간에 차이가 나타나 저용량(2 mg/kg) 투여시는 투여 24시간 후, 고용량(8 mg/kg)투여시는 투여 8, 24시간후에 각각 vehicle군과 비교시 유의성있는 차이를 보였다. 또한 투여후 4시간 경과시는 두 용량군간에도 유의



**Fig. 5**—Effects of vehicle and lemakalim on SBP and HR in conscious SHRs after oral administration. Point and vertical bar represent mean±SEM of percent change from predose values, (n=4-5). \*\*P<0.01, \*P<0.05 as compared with vehicle; †P<0.05 as compared with lemakalim(0.2 mg/kg)



**Fig. 6**—Effects of vehicle, dihydrochlorothiazide and triamterene on SBP and HR in conscious SHRs after oral administration. Point and vertical bar represent mean±SEM of percent change from predose values, (n=4-5). \*\*P<0.01, \*P<0.05 as compared with vehicle; †P<0.01, †P<0.05 as compared with dihydrochlorothiazide(2 mg/kg).

성있는 차이가 관찰되었다 (미발표 결과).

Triamterene의 경우 혈압강하 작용은 부분적으로 용량의존성을 보였으나(투여후 2, 4시간) vehicle군과 비교시 고용량(32 mg/kg)의 4시간대에서만 혈압강하율의 유의성(p<0.05) 있는 차이를 보였고 각 용량군 간에는 유의성있는 차이가 없었다(Fig. 6). HCT(2 mg/kg)는 투여후 4시간대에서 triamterene(8, 32 mg/kg)보다 약한 혈압강하작용을 보였으나(각각 p<0.05, p<0.01), 다른 모든 측정시간대에서는 유의성있는 차이가 없는 유사한 혈압강하 작용을 나타내었다(Fig. 6).

**Lemakalim과 이뇨제들의 병용투여 효과**—Lemakalim(0.2 mg/kg)을 HCT(2 mg/kg)와 병용투여시는

lemakalim 단독투여시  $-35.2 \pm 2.0$ ,  $-21.6 \pm 1.8$ ,  $-25.6 \pm 1.6\%$ 를 나타낸 것에 비해 투여후 2시간까지 혈압강하 작용이 현저히 증가하여 30분, 1시간에서 각각  $-41.2 \pm 3.7$ ,  $-37.7 \pm 2.6\%$ 를 나타내 유의성있는 차이를 나타냈고(각각 p<0.01, p<0.05), 심박동수는 유의성있는 차이가 없었다. 그러나 lemakalim(0.2 mg/kg)을 triamterene과 병용투여시는 HCT병용투여시와 상이한 결과를 나타내 저용량의 triamterene(8 mg/kg)과의 병용투여시의 혈압강하작용은 각각  $-31 \pm 2.9$ ,  $-24.4 \pm 3.9$ ,  $-30.7 \pm 2.7\%$ 를 나타내 lemakalim 단독투여시와 유사하였으나 고용량(32 mg/kg)과 병용투여시는 투여후 4시간까지 각각  $-31.4 \pm 3.6$ ,  $-27.2 \pm 2.7$ ,

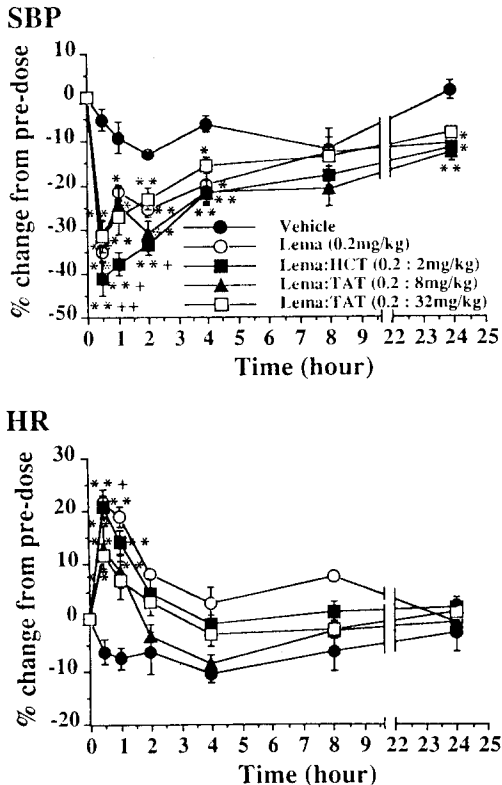


Fig. 7—Effects of vehicle and lemakalim, alone and in combination with hydrochlorothiazide or triamterene, on SBP and HR in conscious SHR rats after oral administration. Point and vertical bar represent mean  $\pm$  SEM of percent change from predose values, (n=4–5).

\*\* p<0.01, \*p<0.05 as compared with vehicle; ++ p<0.01, +p<0.05 as compared with triamterene(32 mg/kg) combination therapy

-23.1  $\pm$  2.5, -15.4  $\pm$  1.9%를 나타내 lemakalim 단독 투여시 보다는 혈압강하작용이 감소되는 경향을 보였다.

Lemakalim(0.2 mg/kg)을 HCT(2 mg/kg)과 병용투여시 혈압강하 작용은 저용량의 triamterene(8 mg/kg)과 병용투여시 보다 투여후 2시간까지 더 큰 증가를 보여 투여후 1시간에서는 유의성있는 차이가 있었으며(p<0.05), 또한 고용량의 triamterene(32 mg/kg) 병용투여시와 비교시는 효과 차이가 매우 분명하여 투여후 24시간까지 지속적으로 보다 큰 혈압강하율을

보였으며 3시간까지 유의성있는 차이를 보였다(p<0.01, p<0.05). 혈압강하에 따른 심박동수의 반사성 변화가 모든 약물 투여군에서 나타났으며 triamterene과의 병용투여군에서 변화가 적었다(Fig. 7).

## 고 찰

본 연구에서는 lemakalim의 약리작용과 세포외액 중의 K<sup>+</sup> 이온농도의 상관성을 규명하기 위해 4종류의 고·저칼륨성 생리액의 관류하에 있는 적출 흰쥐 심장에 대한 실험과 고·저 칼륨혈증 유발작용이 있는 두 종의 이노제의 병용투여시 혈압강하작용을 선천성 고혈압쥐에서 측정 비교하는 실험을 수행하였다.

흰쥐 적출 심장실험에서 적출심장을 저(1.2, 2.5 mM KCl) 및 고칼륨성(10 mM KCl) 생리액으로 관류시 1.2 mM KCl 조성의 생리액 관류군을 제외하고는 부정맥 발생빈도가 낮았고 각각 독특하고도 일정한 양식의 hemodynamic profile의 변화를 나타냈다. 모든 측정 parameter는 5분 이내에 안정화되어 최소 30분 이상 평형상태를 유지하여 심장에 대한 lemakalim의 작용과 관류액중의 K<sup>+</sup> 이온농도의 상관성을 규명하기 위한 실험을 원활히 수행할 수 있었다. 적출 심장 기능을 나타내는 여러 parameter들의 관류액중의 [K<sup>+</sup>]에 따른 변화는 세포외액 중의 [K<sup>+</sup>]가 심장근 세포의 흥분성과 밀접한 관계가 있다는 사실을<sup>19)</sup> 재확인하는 것으로 생각된다.

저칼륨성 및 고칼륨성 생리액의 관류하에서 측정된 lemakalim의 심장에 대한 약역학적인 효과는 매우 대조적이어서 관상혈류량을 포함한 대부분의 측정 parameter에 반영되었다. 즉 관상혈류속도는 관류액 중의 [K<sup>+</sup>] 조성과 상관없이 사용된 4종의 생리액에 의한 관류실험군에서 lemakalim에 의해 증가하였고 증가율은 1.2 mM>2.5 mM>4.7 mM>10 mM순으로 관류액중의 [K<sup>+</sup>] 크기와 반비례하였다. 이 결과는 관상동맥협착 또는 폐색시 혈관이완에 관계된 미세혈관 자가조절 반응(microvascular autoregulation)에 K<sub>ATP</sub> channel이 중요한 역할을 한다는 것을 고려할 때<sup>36)</sup> PCOs는 관상동맥 질환에 적절한 약물이 될 수 있고<sup>26)</sup> 이때 관상혈관 확장작용의 크기는 혈중의 [K<sup>+</sup>]과 상관성이 있음을 시사한다.

심장의 수축기능을 나타내는 parameter인 +dp/dt,



RPP 및 LVDP에 대한 lemakalim의 작용은 서로 유사한  $[K^+]$  의존성 profile을 보였는데 저칼륨성 관류시에는 이들 parameter가 정상생리액의 관류시보다 유의성있게 더 큰 증가를 보였으나 고칼륨성관류시에는 오히려 유의성있게 감소하였다. 또한 심장보호 작용을 나타내는<sup>30-32)</sup> parameter인 LVEDP는 저칼륨성 관류시에는 lemakalim에 의해 정상 생리액의 관류시와 유사한 감소를 보였으나 고칼륨성관류시에는 오히려 약간 증가하여 정상관류시에 비해 유의성있는 차이가 있었다. 이같은 사실은 빈혈성 심장 질환모델에서 심장기능 개선 및 심장보호작용을 갖고 있는 것으로 보고된  $K_{ATP}$  channel opener의 작용이 혈중의  $[K^+]$ 에 따라 가감될 수 있음을 시사한다.<sup>37)</sup>

Lemakalim은 정상 및 저칼륨성 관류시에 5% 내외의 미약한 양성변시효과를 보인 반면 고칼륨성 관류시에는 심박동수의 변화가 거의 없었다. 심박동수에 대한 lemakalim의 작용이 관류액중의  $[K^+]$ 에 크게 영향을 받지 않는 것은 현저한 reflex tachycardia를 유발하는 in vivo 동물실험<sup>13)</sup>과 달리 적출심장에서는 심박동수에 대한 작용이 미약하기 때문인 것으로 사료된다.

이와같이 관상동맥과 심장기능을 나타내는 대부분의 parameter들에 대한 약물효과가 저칼륨성 관류시에 정상 생리액의 관류시보다 증가되었고 고칼륨성 관류시에는 감소하거나 상반된 작용을 나타내는 것으로 보아 lemakalim과 같은 기전을 갖는 PCOs의 심장에 대한 약리작용은 혈중의  $[K^+]$ 에 의존적인 것을 알 수 있다.

일반적으로 체내 수분 및 나트륨 배설작용을 통해 부종치료에 사용되고 있는 이노제제 dihydrochlorothiazide(HCT)같은 thiazide계 이노제는 단독투여시에 항고혈압 작용을 갖고 있고 병용투여시 대부분의 타 항고혈압제의 효능을 증가시키고 부작용을 감소시킬 수 있는 1차 항고혈압제로 사용되고 있다. 그러나, 그 유용성에도 불구하고 이노제는 베타차단제와 더불어 ACE저해제, 알파수용체 길항제 및 칼슘채널 차단제 등과 같은 타 항고혈압제와는 달리 광범위에 걸친 대사기능장애를 유발할 수 있고 이는 관상동맥질환 및 갑작스런 사망에 의한 고혈압환자의 사망율이 감소되지 않고 있는 사실과 관련성이 있을수도 있다고 제기되고 있다.<sup>38)</sup> Thiazide계 이노제에 의한 대사기

능장애 중에서 저칼륨혈증은 관상질환 및 울혈성 심부전 등의 합병증을 갖고 있는 환자에게는 위험을 초래할 수 있으나 건강한 고혈압 환자에게서는 임상적으로 심각한 결과를 초래하지 않는 것으로 알려져 있다.

Thiazide계 이노제가 갖는 이노작용 및 혈압강화 작용과 대사성 부작용은 독특한 용량 의존성을 보이고 있어 저용량에서는 항고혈압 효과가 대부분 나타나고 대사성 부작용은 비교적 적은 반면 증량될수록 혈압강화작용은 약간씩 증가하나 저칼륨혈증과 같은 대사성 부작용은 현저히 증가한다.<sup>38)</sup>

HCT와 달리 칼륨절약성 이노제인 triamterene은 칼륨성 이노를 감소시키고 thiazide의 혈압강화작용을 강화시키기 위해 주로 사용된다.<sup>28,39)</sup> 단독 또는 타제제와 병용 사용시는 고칼륨혈증을 유발할 수 있어 주의를 요하는 이노제이다. 따라서 본 연구에서는 1차 또는 보조 항고혈압제로 주로 사용되며 혈중  $[K^+]$ 에 상반된 작용을 갖는 두 이노제와 전형적인 PCO인 lemakalim을 비마취 SHR에 병용투여하고 그 혈압강화작용을 비교 검토하였다.

두 이노제를 각각 단독으로 경구 투여시 시간에 따른 혈압변화는 vehicle군과 비교시 대체로 유의성 있는 차이가 없었고 HCT(2 mg/kg)는 투여후 4시간에서 triamterene(8, 32 mg/kg)보다 약한 혈압강화작용을 보였으나 다른 모든 측정시간대에서는 유사한 혈압강화작용을 나타내었다. 그러나 단독투여시 두 이노제는 유사한 혈압강화작용을 갖고 있었음에도 불구하고 lemakalim과 HCT병용투여시의 혈압강화작용이 lemakalim 단독투여시나 triamterene과의 병용투여시보다 큰 실험결과를 얻었는데 이를 뒷받침하는 약리작용 기전으로는 병용투여에 의한 염류배출작용의 상승 및 HCT에 의한 저칼륨혈증 유발로 인해 PCO로서의 lemakalim의 활성증가 등을 고려할 수 있다. 첫째 기전에서 lemakalim 및 HCT 각각은 1시간에서 약물투여전에 비해 2배 이상의  $Na^+$ ,  $K^+$ 의 배설 증가를 나타내며 4시간이 경과되면 전해질 배출효과는 더욱 커지고 이노 효과도 증가된다는 보고<sup>40,41)</sup>에 의해 뒷받침되는 것으로 사료된다. 그러나 HCT와 같이  $Na^+$  배출 및 이노작용에 의해 혈압을 강하시키는 triamterene의 고용량(32 mg/kg)을 lemakalim과 병용투여시는 triamterene 단독투여시 저용량(8 mg/

kg)보다 큰 혈압강하 작용을 나타낸 시간대에서도 (투여후 4~8시간) 오히려 triamterene 저용량과의 병용투여시보다 혈압강하율이 감소되었고, 또한 단독투여시 triamterene(8, 32 mg/kg)과 비슷하거나 적은 혈압강하를 나타낸 HCT(2 mg/kg)을 lemakalim과 병용투여시는 측정된 모든 시간대에서 triamterene과 병용투여시보다 혈압강하율이 항상 크게 나타난 실험결과들을 고려할 때 두 이노제에 의해 유발된 저칼륨혈증 및 고칼륨혈증으로 인한 lemakalim의 PCO로서의 활성의 변화에 기인하는 것이 더욱 타당성이 있는 것으로 사료된다.

HCT를 Rat에 1회 경구 투여시는 투여 5~6시간 후에 뇨량 및 뇨중  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ 의 분비가 모두 증가되고<sup>40)</sup> 두이온의 배설기전에는 촉진성 feedback cycle이 형성되어 있어 HCT에 의해 유발된 저칼륨혈증은 collecting duct에서  $\text{Na}^+$  재흡수를 억제하며 이로 인한  $\text{Na}^+$ 의 고갈은 HCT의 저칼륨혈증을 더욱 높여준다는 보고<sup>40,42)</sup>와 HCT 단독투여시 용매투여군과 비교해 혈압강하효과는 큰 차이가 없었으나 투여후 4~8시간대에  $[\text{K}^+]$ 가 크게 감소(3.6 mM/l 이하) 한다는 Solomone 등<sup>29)</sup>에 의한 혈장  $[\text{K}^+]$ 측정결과는 이와같은 가능성을 재차 확인해준다. 이와같은 실험결과로 보아 lemakalim과 같은 ATP-sensitive PCOs를 HCT 및 triamterene 등의 이노제와 병용투여했을 경우의 혈압강하작용의 경시 변화는 이노제의 혈압강하작용보다는 신장에서의 칼륨 이온배출조절 기능에 따른 저칼륨혈증 또는 고칼륨혈증 유발여부에 크게 의존된다는 사실을 시사한다고 사료된다.

본 연구에서는 심장세포 및 평활근에 존재하는  $\text{K}_{\text{ATP}}$  채널을 활성화시켜 안정막 전위를 과분극화시키고 이어서 전위의존성 칼슘채널을 통한 세포내 칼슘이온의 유입을 감소시킴으로서 항고혈압작용, 심장보호작용 및 천식치료작용 등 다양한 약리효과를 갖는 lemakalim, cromakalim, pinacidil 등과 같은 PCOs의 약물학적 효과를 PCOs고유의 작용 기전적인 측면에서 규명하고자 하였다. 즉 적출 흰쥐 심장에 대한 lemakalim의 약리작용은 저칼륨성 생리액으로 관류시 증가되고 고칼륨성 생리액으로 관류시 감소되었으며 이와같은 in vitro 실험결과는 저칼륨혈증 및 고칼륨혈증을 유발하는 것으로 알려진 상이한 두종의 이노제와 lemakalim을 병용투여하여 혈압강하작용을 측

정한 in vivo 동물실험에서도 재현할 수 있었다. 따라서 lemakalim의 약리작용은 심장 및 혈관평활근과 같은 작용 부위의 세포막 내외의  $\text{K}^+$  이온 농도 경사에 따른 driving force에 크게 의존함을 규명할 수 있었다.

실제적으로  $\text{K}^+$  channel opener의 임상 적용시 상승내지 상가작용을 얻기 위해 또는 부작용을 줄이고자 하는 목적으로 타항고혈압제처럼 이노제와 병용투여요법을 시행할 경우 lemakalim은 HCT의 불가피한 부작용인 저칼륨혈증을 역이용하여 지속적으로 고유의 기능을 발현함으로써 항고혈압제로서의 PCO의 efficacy 및 potency를 높일수 있는 장점이 있다고 추정되고 향후 다양한 종류의 PCOs와 이노제의 병용투여에 있어서 혈중  $[\text{K}^+]$ 와 혈압강하작용의 상관성에 대한 연구가 좀더 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

1. Potassium channel opener lemakalim은 흰쥐 적출관류 심장에서 관류액중의 칼륨이온 농도에 따라 관상동맥 혈류량 및 심장수축 기능에 대해 서로 상이한 약리 효과를 보였으며 심장에 유익한 반응효과별 크기는 저칼륨성 관류시 > 정상관류시 > 고칼륨성 관류시 순으로 나타났다.

2. 비마취상태하 SHR에서의 혈압강하 효과는  $\text{K}^+$  배설작용이 있는 이노제인 HCT와의 병용투여시에  $\text{K}^+$  저류작용이 있는 triamterene과의 병용투여시보다 유의성있게 높았다.

3. In vitro 및 in vivo 실험결과는 작용부위의 세포 외액중  $\text{K}^+$  농도 변화에 따른 lemakalim의 potassium channel opening활성의 변화에 기인한 것으로 보인다.

따라서 lemakalim과 같은 PCOs를 이노제 및 타 약제와 병용투여하여 항고혈압제로 사용시 PCOs 고유의 작용기전에 입각해 병용투여 약제의 이노효과 및 혈중  $\text{K}^+$ 에 대한 저류 혹은 배설작용을 고려하여 병용약제를 선택하고 투여용량을 신중하게 조절하여야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1992년도 교육부 지원 학술진흥재단의

지방대학 육성과제 학술연구 조성비에 의하여 연구 되었으며 이에 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Cook, N.S.: The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *Trends Pharmacol. Science.*, **9**, 21 (1986).
- 2) Weston, A.H., Longmore, J., Newgreen, D.T., Edwards, G., Bary, K.M. and Duty, S.: The Potassium Channel Openers: A New Class of Vasorelaxants. *Blood Vessels.*, **27**, 306 (1990).
- 3) Black, J.L., Armour, C.L., Johnson, P.R.A., Alouan, L.A., and Barnes, P.J.: The action of a potassium channel activator, BRL 38227(Lemakalim), on human airway smooth muscle. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **142**, 1384 (1990).
- 4) Weir, S.W. and Weston, A.H.: The effects of BRL 34915 and nicorandil on electrical and mechanical activity and  $^{86}\text{Rb}$  efflux in rat blood vessels. *Br. J. Pharmacol.*, **88**, 121 (1986).
- 5) Allen, S.L., Boyle, J.P., Cortijo, J., Foster, R.W., Morgan, G.P. and Small, R.C.: Electrical and mechanical effects of BRL 34915 in guinea-pig isolated trachea. *Br. J. Pharmacol.*, **89**, 395 (1986).
- 6) Escande, D., Thuringer, D., Leguern, S. and Cavero, I.: the potassium channel opener cromakalim (BRL 34915) activates ATP-dependence  $\text{K}^+$  channels in isolated cardiac myocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **154**(2), 620 (1988).
- 7) Bolton, T.B. and Clapp, L.H.: The diverse effects of noradrenaline and other stimulants of  $^{86}\text{Rb}$  and  $^{42}\text{K}$  efflux in rabbit and guinea pig arterial muscle. *J. physiol.*, **355**, 43 (1984).
- 8) Post, J.M., Stevens, R.J., Sanders, K.A. and Hume, J.R.: Effect of cromakalim and lemakalim on slow waves and membrane currents in colonic smooth muscle. *Am. Physiol. Soc.*, **260**(2pt1), c375 (1991).
- 9) Cook, N.S., Weir, S.W. and Danzeisen, M.C.: Antivasoconstrictor effects of  $\text{K}^+$  channel opener cromakalim on the rabbit aorta comparison with the calcium antagonist isradipine. *Br. J. Pharmacol.*, **95**, 741 (1988).
- 10) Cowlick, I.S., Paciorek, P.M. and Waterfall, J.F.: Cromakalim and calcium movements in vascular smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.*, **95**, 640 (1988).
- 11) Doggrell, S.A., Smith, J.W., Downing, O.A. and Wilson, K.A.: Hyperpolarizing action of cromakalim on the rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, **174**, 131 (1989).
- 12) Eltze, M.: Glibenclamide is a competitive antagonist of cromakalim, pinacidil, and RP-49356 in guinea-pig pulmonary artery. *Eur. J. Pharmacol.*, **165**, 231 (1989).
- 13) Paciorek, P.M., Burden, D.T., Burke, Y.M., Cowlick, I.S., Perkins, R.S., Taylor, J.C. and Waterfall, J.F.: Preclinical pharmacology of Ro-316930, A New Potassium Channel Opener. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **15**, 188 (1990).
- 14) Cavero, I., Mondot, S., Mestre, M. and Escande, D.: Haemodynamic and pharmacological mechanisms of the hypotensive effects of cromakalim in rats: blockade by glibenclamide. *Br. J. Pharmacol.*, **95**, 643 (1988).
- 15) Tamaki, T., Hasui, K., Shoji, T., Fukui, K., Iwao, H. and Abe, Y.: Effects of cromakalim on Renal Hemodynamics and Function in Dogs: Comparison with Nicardipine. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **17**, 305 (1991).
- 16) Buckingham, R.E., Clapam, J.C., Hamilton, T.C., Longman, S.D., Norton, J. and Poyser, R.H.: BRL 34915, a novel antihypertensive agent: Comparison of effects on blood pressure and other haemodynamic parameters with those of nifedipine in animal models. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **8**, 798 (1986).
- 17) Shoji, T., Aki, Y., Fukuri, K., Tamaki, T., Iwao, H. and Abe, Y.: Effects of cromakalim, a potassium channel opener, on regional blood flow in conscious hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **186**, 119 (1990).
- 18) Dumez, D., Zazzi-Sudriez, E., Pautrel, C., Armstrong, J.M. and Hicks, R.E.: Comparison of the cardiovascular and renal effects of BRL 34915 with those of nitrendipine in dogs and shr. *Br. J. Pharmacol.*, **93**, 201 (1988).
- 19) Urguhart, R.A., Ford, W.R. and Broadley, K.J.: Potassium channel blockade of atrial negative inotro-

- pic responses to P<sup>1</sup>-purinoceptor and muscarinic receptor agonists and to cromakalim. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **21**, 279 (1993).
- 20) Escande, D. and Cavero, I.: K<sup>+</sup> channel openers and 'natural' cardioprotection. *Trends. Pharmacol. Sci.*, **13**, 269 (1992).
  - 21) McPherson, G.A. and Angus, J.A.: Characterization of responses to cromakalim and pinacidil in smooth muscle by use of selective antagonists. *Br. J. Pharmacol.*, **100**, 201 (1990).
  - 22) Bray, K.M., Weston, A.H., Mcharg, A.D. and Newgreen, D.T.: Comparison of the inhibitory effects of BRL 34915 and nifedipine on noradrenaline and KCl-induced contractions in rabbit aorta. *Br. J. Pharmacol.*, 93 (1988).
  - 23) Gautier, P., Bertrand, J.P. and Guiraudou, P.: Effects of SR 44866, a potassium channel opener, on action potentials of rabbit, guinea pig, and human heart fibers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **17**, 692 (1991).
  - 24) Cain, C. and Nicholson, C.D.: A comparison of the effects of cromakalim (BRL 34915) on basilar, coronary and mesenteric arteries. *Br. J. Pharmacol.*, **93**, 208 (1988).
  - 25) Wilson, C.: Influence of KCl concentration on the inhibitory activity of cromakalim against contractions to various spasmogens. *Br. J. Pharmacol.*, **95**, 641 (1988).
  - 26) Richer, C., Pratz, J., Mulder, P., Mondot, S., Giudicelli J.F. and Cavero, I.: Cardiovascular and biological effects of K<sup>+</sup> channel openers, a class of drugs with vasorelaxant and cardioprotective properties. *Life Sciences.*, **47**, 1693 (1990).
  - 27) Hof, R.P., Quast, U., Cook, N.S. and Blarer, S.: Mechanism of action and systemic and regional hemodynamics of the potassium channel activator BRL 34915 and its enantiomers. *Cir. Res.*, **62**, 679 (1988).
  - 28) Herfindal, E.T., Gourley, D.R., Hart, L.L.: *Clinical Pharmacy and Therapeutics, 4th Ed.*, Williams & Wilkins, Maryland, pp. 4119 (1988).
  - 29) Solomon, R., Weinberg, M.S. and Dubey, A.: The diurnal rhythm of plasma potassium: relationship to diuretic therapy. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **17**, 854 (1991).
  - 30) Grover, G.J., Dzwonczyk, S., Parham, C.S. and Sleph, P.G.: The Protective effects of cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rat hearts and anesthetized dogs. *Cardiovascular Drugs and Therapy.*, **4**, 465 (1990).
  - 31) Grover, G.J., Sleph, P.G. and Dzwonczyk, S.: Pharmacologic profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat hearts and anesthetized dogs, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **16**, 853 (1990).
  - 32) Grover, G.J., Mccullough, J.R., Henry, D.E., Conder, M.L. and Sleph, P.G.: Anti-ischemic effects of the potassium channel activators pinacidil and cromakalim and the reversal of these effects with the potassium channel blocker glyburide. *Am. Soc. Pharmac. Exp. Ther.*, **251**(1), 98 (1989).
  - 33) Doring, H.J.: Differentiation of various cardiovascular drugs by means of specific myocardial and vascular load tests Experiments at the isolated perfused heart. *Arzneim-Forsch.*, **39**(II), 12: 1535 (1989).
  - 34) Watts, J. and Maiorano, L: Effects of diltiazem upon globally ischemic rat hearts. *Eur. J. Pharmacol.*, **138**, 335 (1987).
  - 35) Gerold, M. and Tschirky, H.: Measurement of blood pressure in unanesthetized rats and mice. *Arzneim.-Forsch.*, **18**, 1285 (1968).
  - 36) Komaru, T., Lamping, K.G. Eastham, C.L. and Dellsperger, K.C.: Role of ATP-sensitive potassium channels in coronary microvascular autoregulatory responses. *Cir. Res.*, **69**, 1146 (1991).
  - 37) Sargent, C.A., Smith, M.A., Dzwonczyk, S., Sleph, P.G. and Grover, G.J.: Effect of potassium channel blockade on the anti-ischemic actions of mechanically diverse agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**, 97 (1991).
  - 38) Morgan, T.O.: Metabolic effects of various antihypertensive agents. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **15**(Suppl. 5), S39 (1990).
  - 39) Spurk, P., Gerlach, A. and Angelkort, B.: Arterial hypertension and hemorheology: the effects of triamterene and hydrochlorothiazide. *Med. Klin.*, **85**(7): abstract (1990).
  - 40) Rosenkranz, R.P., Hayashi, C.M., Lakatos, I. and

- McClelland, D.L.: Diuretic effects of an ACE inhibitor, RS-10085, and hydrochlorothiazide in spontaneously hypertensive rat. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, **32**, 221 (1989).
- 41) Rao, V.S., Menezes, A.M.S. and Gadelha, M.G.T.: Effect of calcium-entry blockers on their diuretic response to hydrochlorothiazide in the rat. *Brazilian. J. Med. Biol. Res.*, **21**, 1023 (1988).
- 42) Shirley, D.G., Skinner, J. and Waiter, S.J.: The effect of hydrochlorothiazide on the composition of renal papillary interstitial fluid in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, **40**, 286 (1988).