

신규 합성 K_{ATP} 통로 개방제인 SKP-450 과 대사체 SKP-818의 현취 적출 심장 및 대동맥에 대한 작용

정이숙 · 문창현 · 유성은* · 신화섭**

아주대학교 의과대학 생리학교실, *한국화학연구소 의약활성실

(Received March 8, 1997)

Cardiovascular Effects of Novel Potassium Channel Opener SKP-450 and SKP-818 in Isolated Rat Heart and Aorta

Yi-Sook Jung, Chang-Hyun Moon, Sung-Eun Yoo* and Hwa-Sup Shin**

School of Medicine, Ajou University, Suwon 441-749, Korea and

*Pharmacologic Screening Center, Korea, Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-606, Korea

Abstract—The effect of potassium channel openers, SKP-450, SKP-818 and lemakalim have been compared in rat heart and aorta. In rat isolated heart, SKP-450 had a greater negative inotropic effect than lemakalim and KR-30818 against left ventricular developed pressure (LVDP) and double product of heart rate and LVDP (DP). In addition, SKP-450 had a greater effect than lemakalim and KR-30818 in increasing coronary flow, indicating a more potent vasodilating effect in coronary artery. Negative inotropic effect and coronary vasodilating effect of SKP-450 and SKP-818 were significantly reduced by 10 min-perfusion with 10^{-6} M glyburide, a selective blocker of ATP-sensitive potassium channel. In rat aorta, SKP-30450 and SKP-30818 as well as lemakalim induced powerful concentration-dependent relaxations against norepinephrine-induced tone (EC_{50} , μ M: SKP-30450, 0.107 ± 0.009 ; SKP-30818, 0.476 ± 0.022 ; lemakalim, 0.565 ± 0.039). These relaxant effects were significantly reduced by pretreatment with glyburide. In summary, SKP-30450 and SKP-30818 showed greater negative inotropic and vasorelaxant effect than lemakalim in rat aorta with order of potency of SKP-30450 > SKP-30818 > lemakalim. These actions are suggested to be mediated at least in part by a mechanism which involves the opening of ATP-sensitive potassium channel.

Keywords □ Potassium channel opener SKP-450, SKP-818, lemakalim, negative inotropic effect, vasorelaxant effect.

각종 심장순환계 질병의 주요한 위험인자로 알려진 고혈압에 대한 치료제 개발을 위해 최근 새로운 작용양식으로 관심을 끌고 있는 것은 cromakalim, nicorandil, pinacidil 등의 ATP 의존성 칼륨 통로 (iK_{ATP})에 대한 조절 작용이 있는 물질들로서¹⁻³⁾ 이들 계열 약물은 지난 수년간 이온 통로 조절제 연구 분야 중에서 가장 많은 연구가 진행되었다. K_{ATP} 는 심장세포에서 처음 밝혀진 K^+ channel이며 심장 뿐아니라 골격근세포, 혈관평활근,

췌장 β 세포 등에서도 널리 발견된다. 정상상태에서는 세포내 충분한 ATP로 인해 K_{ATP} 는 닫혀진 상태로 존재하다가 hypoxia 등의 상태에서는 이 channel이 활성화되어 열려짐으로써 과분극 (hyperpolarization)이 일어나고 세포내 calcium 유입이 감소되므로 평활근 등을 이완시킨다.⁴⁾ 한편 K_{ATP} 개방제는 평활근 막을 통해 K^+ 이온을 세포밖으로 이동시켜 과분극을 일으키고 이결과 세포막 내외의 전압차 의존적인 Ca^{2+} channel을 통한 Ca^{2+} 이온의 유입이 억제되어 평활근을 이완시킨다. 이 계열의 약물들은 기존의 Ca^{2+} 길항제를 능가하는 장점을 갖는데^{4,5)} 즉 보다 큰 효능, 작용의 지속성, 보다 적은

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-860-7408 (팩스) 042-861-4246

반사성 빈맥 등의 특성과 함께 협심증, 고혈압, 말초혈관 질환과 같은 심장순환계 질병은 물론 천식과 같은 호흡기 질병의 치료를 위한 신약으로서의 개발가능성이 큰 것으로 보고되고 있다.^{6,7)}

본 연구소에서는 최근 수 년간에 걸쳐 신약후보물질 개발에 관한 연구의 일환으로 다양한 구조의 새로운 benzopyran 유도체들을 합성하여 약효를 검색한 결과 SKP-450이 강력한 혈압강하효과, 기니픽 기관지 확장 효과 등을 나타낸다는 사실과 patch clamp 방법으로 K_{ATP} channel에 선택적으로 작용함을 발견하여 보고한 바 있다.^{8,9)} 그러나 심장 및 적출 혈관에 대한 자료는 미비한 실정이므로 본 연구에서는 흰쥐 적출심장과 적출 대동맥을 사용하여 SKP-450과 그 주된 대사체 SKP-818의 심혈관계 작용을 관찰하였으며 이러한 작용이 K_{ATP} 와 관계되어 일어나는 가를 관찰함으로써 신약후보물질로서의 가능성을 검토하였다.

실험방법

시약 및 사용기기 - SKP-450, SKP-818, lemakalim (한국화학연구소에서 합성), heparin (녹십자), sodium pentobarbital (한림제약)과 기타 덕산약품 또는 Sigma사에서 구입한 생리액 조제용 시약 및 유기용매 등을 사용하였으며 모든 시료는 실험당일 100% DMSO에 녹여 $10^{-3}M$ stock solution을 만들어 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer로 연속 희석하여 사용하였고 (최종 DMSO 농도는 0.05%) heparin과 sodium pentobarbital은 0.9% saline으로 희석하였으며 생리액은 탈이온수로 조제하였다. SKP-450, lemakalim은 한국화학연구소에서 합성한 것을 사용하였다. Sodium pentobarbital은 한림제약으로 부터, Krebs-Henseleit bicarbonate buffer 제조에 사용된 시약은 Sigma (미국)와 덕산약품으로 부터 최고 순품을 구입하였다. 실험에 소요된 기타 유기용매들은 특급 시약을 사용하였다.

실험동물 - 본 실험에 사용된 웅성 Sprague Dawley (SD) rat은 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 도달할때 실험에 사용하였다. Langendorff Ap-

paratus (H.S.E., Germany), Electromagnetic flowmeter (Narco Bio-System, U.S.A.), Plugsys bridge amplifier (H.S.E., Germany), Isotec pressure transducer (H.S.E., Germany), Linear-corder mark 8 WR 3500 (Graphtec, Japan), Rodent ventilator (Ugobasile 7025, Italy), Physiograph (HSE WR 3310, Germany; Modular 8000, Modular Instruments Inc., USA), Illuminator (Dolan-Jenner Industries, Inc., USA), Biowindow Hemodynamic Program (Modular Instruments Inc., USA) 등을 사용하였다.

흰쥐 심장 적출 및 perfusion - 흰쥐를 sodium pentobarbital (50mg/kg i.p.)로 마취시킨후 heparin (1000 U/kg i.v.)을 투여하고 Grover 등¹⁰⁻¹³⁾의 방법에 따라 심장을 적출하였다. 즉, 기관에 cannula (PE 240)을 삽입하고 rodent ventilator를 이용해 인공호흡시키며 in situ 상태에서 대동맥 cannula를 대동맥에 삽입하고 역행성 관류하에 심장을 적출해 Langendorff Apparatus에 재빨리 매달고 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거하고 정압 관류 (75 mmHg)하에서 산소로 포화된 $37^\circ C$ 의 생리액으로 관류하였다. 에탄올과 증류수 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 transducer에 연결하였다. 심장을 15 분간 안정화되도록 한 후 LVEDP (left ventricular enddiastolic pressure)를 10 mmHg로 주고 이 풍선 부피를 전 실험 기간 동안 유지시켰다. 생리액은 modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (조성(mM): 116 NaCl, 4.7 KCl, 1.1 $MgSO_4$, 1.17 KH_2PO_4 , 24.9 $NaHCO_3$, 2.52 $CaCl_2$, 8.32 Glucose, 2.0 Pyruvate)를 사용하였으며 온도는 $37^\circ C$ 를 유지시켜 주고 실험을 진행하는 동안 계속 95 % O_2 와 5% CO_2 의 혼합가스를 통해주어 pH를 7.4로 하였다.

심장 기능 측정 parameter - 심장 수축 기능과 심박동수 (HR, heart rate) 및 관상혈류 (CF, coronary flow)을 약물 처치 전과 처치 후에 측정하여 심장기능 및 관상혈관기능을 평가하였다. 심장 수축 기능을 평가하는 parameter인 좌심실 발생압 (LVDP, left ventricular developed pressure)은 좌심실 최대 수축기압 (LVP, left ventricular peak systolic pressure)과 이

완기말 좌심실압 (LVDP, left ventricular end-diastolic pressure)의 차이로 부터 산출하였다. Working heart와 달리 cardiac output을 측정할 수 없는 Langendorff heart에서 간접적으로 심장의 기능 (cardiac performance)을 알아보는 중요한 parameter인 Double product RPP (rate-pressure product)는 Watts의 방법에¹⁴⁾ 따라 HR에 LVDP를 곱하여 계산하였다. 총 관상혈류량은 aortic cannula위에 고정된 coronary flow probe (직경: 1.0 mm)를 이용하여 electromagnetic flowmeter로 측정하였다. Plugsys bridge amplifier를 통해 처리된 모든 신호를 Linear corder로 기록하였다. 심장의 온도는 실험 전 기간에 걸쳐 심장을 37°C의 생리액에 담금으로서 일정하게 유지하였다. 안정화 후 심장은 vehicle (0.05% dimethylsulfoxide [DMSO]) 또는 SKP-450 및 SKP-818 (0.1, 0.3, 1, 3 μ M), lemakalim (0.3, 1, 3 μ M)로 각각 10 분간 관류시키고 약물 관류 직전 및 관류 후에 각 parameter를 측정하였다.

원위 대동맥 적출 및 혈관 반응 - 음성 SD 원위의 후 두부를 강타하여 기절시킨 후 경동맥을 잘라 흐르는 물에 의해 혈액을 유실시켰다. 가슴 부분을 절개하여 흉곽 대동맥을 재빨리 적출하여 지방조직 등을 제거하고 3~

5 mm 길이로 잘라 aortic ring을 얻었다. 내피를 제거 시키기위해 솜방망이로 가볍게 문지른 혈관조직을 생리액 (modified Krebs-bicarbonate buffer, mM: 118 NaCl, 4.7 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.2 MgSO₄, 25 NaHCO₃, 1.2 KH₂PO₄, 10 Glucose, 0.01 disodium EDTA)이 담긴 organ bath 내에 걸고 0.5~1.0 g의 resting tension을 준 상태에서 37°C하에 O₂: CO₂ (95:5) 혼합 가스 (carbogen)를 공급하여 주었다. 혈관 조직을 1-2 시간 안정화 시킨 후 norepinephrine (NE) 10⁻⁷ M을 가하여 최대수축의 70~80%에 달하는 수축을 유발시킨 후 lemakalim (10⁻⁸~10⁻⁵ M)과 SKP-450, SKP-818 (10⁻⁸~10⁻⁵ M)을 저농도부터 cumulative하게 가하여 농도-이완반응곡선을 얻었다.

통계처리 - 모든 자료는 mean \pm S.E. 로 나타내었고 paired 또는 unpaired student's *t*-test로 유의성 검정을 수행하였으며 p<0.05 수준에서 판정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 현재 항고혈압제로 개발 중에 있는 K_{ATP} 개방제인 SKP-450과 주 대사제인 SKP-818의

Table I— Effect of lemakalim, SKP-450 and SKP-818 on heart rate and left ventricular developed pressure with and without glyburide

		Heart rate (beats/min)		LVDP (mmHg)	
		predrug	postdrug	predrug	postdrug
Vehicle		252 \pm 5	233 \pm 5	95.5 \pm 4.4	94.1 \pm 5.6
Lemakalim	0.3 μ M	249 \pm 6	235 \pm 7	94.0 \pm 5.3	86.0 \pm 6.7
	1 μ M	264 \pm 9	234 \pm 7	93.8 \pm 4.8	97.2 \pm 11
	3 μ M	267 \pm 8	252 \pm 8	93.0 \pm 6.3	84.5 \pm 6.9
Lemakalim + glyburide	3 μ M				
	1 μ M	256 \pm 9	247 \pm 9	87.8 \pm 7.8	97.8 \pm 5.5
SKP-450	0.1 μ M	238 \pm 7	234 \pm 10	95.6 \pm 7.1	102.6 \pm 9.5
	0.3 μ M	236 \pm 9	234 \pm 9	93.3 \pm 5.0	90.9 \pm 7.9
	1 μ M	258 \pm 9	242 \pm 6	93.7 \pm 6.2	79.5 \pm 5.0 ^{ab}
	3 μ M	263 \pm 4	240 \pm 5 ^a	90.3 \pm 5.1	73.3 \pm 10.3 ^{ab}
SKP-450 + glyburide	3 μ M				
	1 μ M	271 \pm 8	255 \pm 6	88.8 \pm 8.5	88.0 \pm 8.910
SKP-818	0.3 μ M	256 \pm 5	242 \pm 6	93.5 \pm 4.7	93.5 \pm 6.4
	1 μ M	244 \pm 3	223 \pm 5	93.7 \pm 5.8	105.0 \pm 7.7
	3 μ M	248 \pm 9	238 \pm 7	92.4 \pm 5.3	91.6 \pm 8.3
SKP-818 + glyburide	3 μ M				
	1 μ M	260 \pm 8	244 \pm 9	89.5 \pm 6.6	100.5 \pm 5.9

LVDP : left ventricular developed pressure

All values are mean \pm SE

^a Significantly different from its respective predrug value (p<0.05).

^b Significantly different from all of the the respective vehicle group values (p<0.05).

흰쥐의 적출 심장에 대한 작용을 현재 항고혈압제로 임상시험 중인 lemakalim 과 비교 평가하였다. 심장 수축 기능에 대한 결과는 Table I과 Fig. 1에 나타내었다. 흰쥐 적출 심장에서 lemakalim은 3 μ M의 고 농도에서 LVDP를 감소 시키는 경향이 있었으나 유의성은 없었으며 SKP-450은 1 μ M과 3 μ M의 고농도에서 LVDP를 유의성 있게 감소 (1 μ M : 87.4 \pm 9.1% , 3 μ M : 80.5 \pm 9.2%)시키는 경향이 있었다. 또한 주 대사체인 SKP-818은 LVDP에 대해 유의성 있는 작용을 갖지 않았다. 심박동수와 LVDP를 같이 고려하여 심장의 수축기능을 더 잘 반영하는 Double Product parameter가 SKP-450 1, 3 μ M 을 10 분간 관류 시 vehicle군과 비교해 각각 81.7 \pm 7.1, 72.9 \pm 5.9%로 유의성 있게 감소 하는 것으로부터 SKP-450은 흰쥐 적출 심장에서 음성변력작용을 나타냄을 시사 하였다. 한편 Urguhart 등의 보고에 의하면 cromakalim 이 심장의 심실 및 심방근에 존재하는 K_{ATP} channel 을 통한 K^+ 이온의 세포의 유출을 자극하여 음성변력작용을 유발한다고 하였다. 본 연구에서 lemakalim에 의한 심장수축기능의 변화는 미약한데 반하여 SKP-450의 음성변력작용은 뚜렷하였으므로 SKP-450이 lemakalim에 비하여 강한 음성변력작용을 가짐을 시사하였다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 lemakalim, SKP-450 그리고 SKP-818은 관상혈류를 유의성있게 증가시켰다. Lemakalim 0.3, 1, 3 μ M을 10 분간 관류시킴으로써 관상혈류는 처치 전에 비하여 각각 130.8 \pm 7.9, 122.8 \pm

9.7, 134.2 \pm 10.0%로 증가하였으며, SKP-450 0.3, 1, 3 μ M의 10 분간 관류에 의해서는 129.6 \pm 11.6, 143.9 \pm 14.1, 152.6 \pm 10.1%, SKP-818 0.3, 1, 3 μ M의 10 분간 관류에 의해서는 145.6 \pm 5.9, 138.9 \pm 9.9, 138.8 \pm 7.8로 관상혈류가 각각 증가됨으로 부터 관상혈관에 대한 이완작용의 정도는 1, 3 μ M 의 경우 SKP-450 > SKP-818 > lemakalim의 순서로 나타남을 알 수 있었다. 한편 이와 같은 관상혈류 증가작용과 위에서 언급한 심장에 대한 음성변력작용이 K_{ATP} -channel을 통해 일어나는 가를 보기위해 K_{ATP} -channel에 대한 선택적 차단제인 glibenclamide (glyburide)를 사용하였다.

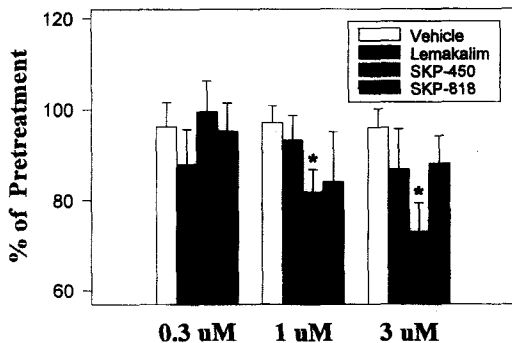


Fig. 1—Effect of lemakalim, SKP-450 and SKP-818 on double product (DP) in rat isolated heart, DP (produce of heart rate and left ventricular developed pressure divided by 1000) express the cardiac contractile function. Data represent mean \pm S.E.M. of 4-8 experiments in each. *Significantly different from vehicle (p<0.05).

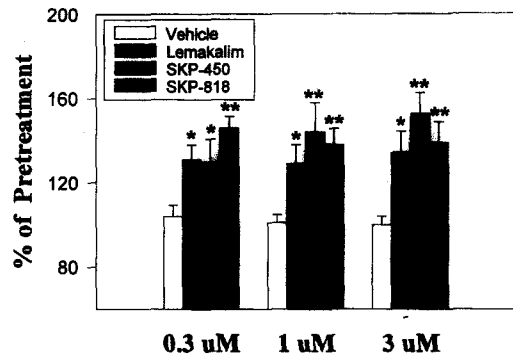


Fig. 2—Effect of lemakalim, SKP-450 and SKP-818 on coronary flow in rat isolated heart, Coronary flow was measured as ml/min and calculated as % of pretreatment Data represent mean \pm S.E.M. of 4-8 experiments in each. *Significantly different from vehicle (p<0.05), ** p<0.01.

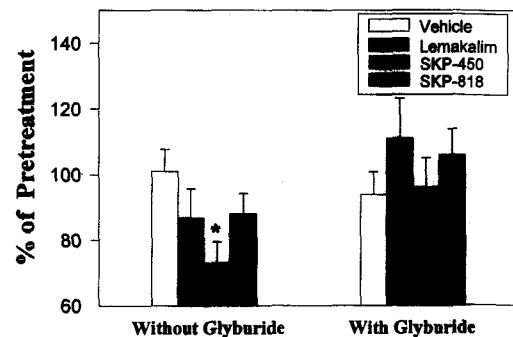


Fig. 3—Influence of 1 μ M glyburide on the effects of 3 μ M lemakalim, SKP-450 and its major metabolite, SKP-818 on cardiac function (DP) in rat isolated heart. *Significantly different from vehicle (p<0.05), ** p<0.01.

Fig. 3과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 심장 수축기능 과 관상혈류에 대한 SKP-450, SKP-818 및 lemakalim의 작용은 glyburide (1 μM) 동시 처치에 의하여 거의 완전히 차단되어 이들 화합물의 작용이 심근에 존재하는 K_{ATP} channel을 통해 나타남을 알 수 있었다. Nicorandil, pinacidil, aprikalim 등의 다양한 구조를 갖는 기존의 K_{ATP}-channel opener들 또한 K_{ATP}를 통해 K⁺의 유출을 활성화시켜 혈관평활근세포의 과분극을 유발하고 이 결과 전위차 의존성 Ca²⁺ channel (VOCC)이 억제 되면서 Ca²⁺의 세포내 유입이 차단되

어 혈관평활근 수축의 차단과 평활근 이완이 유발됨으로써 강한 항고혈압효과를 나타낸다. 최근에는 K_{ATP} opening이 세포내 ATP농도에 의존하고 허혈된 심근 부위에서 칼륨 누출 (leakage)이 부분적으로 K_{ATP} 개방에 의한 것으로 생각되어 심근에 존재하는 K_{ATP}의 개방이 ischemic preconditioning이란 현상에 의해 나타나는 심장보호작용에 적어도 일부 관련되어 있는 것으로 알려져 내인성 허혈 심근 보호 기전으로 작용하는 것으로 보고되었다.¹⁵⁾ 따라서 K_{ATP}를 약리학적으로 조절할 수 있는 개방제를 이용한 심장보호제 개발 연구는 흥미로운 연구 분야로 인식되었고 K_{ATP}는 chemical preconditioning agent로서 작용할 수 있다는 가설 하에 많은 연구가 이루어지고 있으며¹⁶⁾ 본 연구실에서도 이에 관한 연구를 수행 중에 있다.

심장 및 관상혈관에 대한 작용 외에 대동맥에 대해서도 유사한 작용양상을 가지는 것을 알아보기 위해 흰쥐 적출대동맥에 대한 SKP 약물의 직접적인 작용을 관찰한 결과 SKP-450 > SKP-818 > lemakalim의 순으로 강한 혈관확장 작용을 나타내었고 (EC₅₀, μM : SKP-450, 0.107 ± 0.009; SKP-818, 0.476 ± 0.022; lemakalim, 0.565 ± 0.039). 이러한 대동맥 확장작용 역시 glyburide 동시 처치에 의해 유의적으로 억제되었다 (Fig. 5).

결론적으로, 음성변력작용 및 관상동맥, 대동맥 등에서 혈관확장작용이 lemakalim 보다 더 강하게 나타남

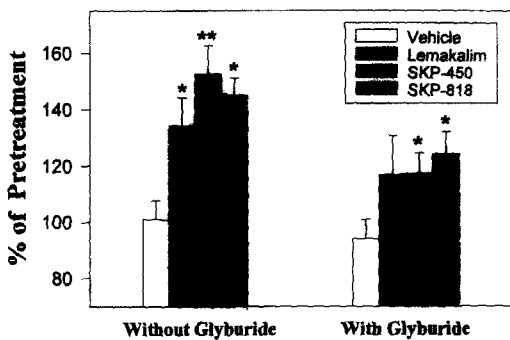


Fig. 4—Influence of 1 μM glyburide on the effects of 3 μM lemakalim, SKP450 and its major metabolite, SKP-818 on coronary flow in rat isolated heart. *Significantly different from vehicle (p<0.05), ** p<0.01

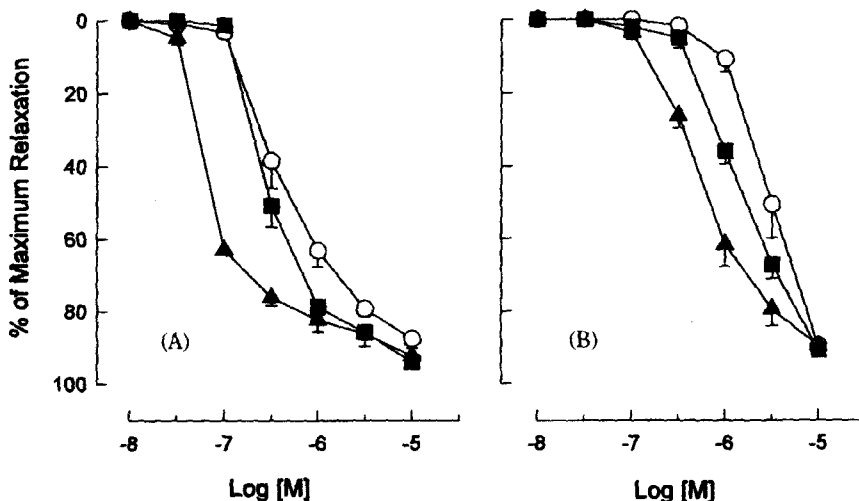


Fig. 5—Effect of lemakalim (O), SKP-450 (▲) and SKP-818 (■) in rat aortic rings against 10⁻⁷M norepinephrine-induced tone in the absence (panel A) or presence (panel B) of 10⁻⁶M glyburide. Maximum relaxation was produced by 10⁻⁵M papaverine. Each value represent mean ± S.E.M. of at least 4 experiments.

본 실험의 결과로부터 SKP-450과 SKP-818이 새로운 고혈압 치료제로 개발될 가능성을 잘 보이고 있다.

문 헌

- 1) Cook, N. S. : The pharmacology of potassium channels and their therapeutic applications. *Trends Pharmacol. Sci.*, **9**, 21-8 (198).
- 2) Quast, U., and Cook, N. S. : Moving together: K⁺ channel openers and ATP-sensitive K⁺ channels. *Trends Pharmacol. Sci.*, **10**, 431-5 (1989).
- 3) Gopalakrishnan, M., Janis, R. A., and Triggle, D. J. : ATP-sensitive K⁺ channels: pharmacological properties, regulation, and therapeutic potential. *Drug Dev. Res.*, **28**, 95-127 (1993).
- 4) Evans, J. M., and Stemp, G. : The discovery of cromakalim. *Chem. Britain*, **27**, 439-42 (1991).
- 5) Quast, U. : Do the K⁺ channel openers relax smooth muscle by opening K⁺ channels? *Trends Pharmacol. Sci.*, **14**, 332-7 (1993).
- 6) Opie, L. H. : Modulation of ischemia by regulation of the ATP-sensitive potassium channel. *Cardiovasc. Drugs Ther.*, **7**, 507-513 (1993).
- 7) Atwal, K. S. : Pharmacology and structure-activity relationships for KATP modulators: tissue-selective K_{ATP} openers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **24** (Suppl. 4), S12-S17 (1994).
- 8) Kwak, Y. G., Park, S. K., Kang, H. S., Kim, J. S., Chae, S. W., Cho, K. P., Yoo, S. E. and Kim, D. H. : KR-30450, a newly synthesized benzopyran derivative, activates the cardiac ATP-sensitive K⁺ channel. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **276**, 807-812 (1995).
- 9) Jung, Y. S., Moon, C. H., Yoo, S. Y. and Shin, H. S. : Effects of novel potassium channel opener KR-30450 and its metabolite KR-30818 on the smooth muscle of the guinea pig. *J. Appl. Pharm.*, **4**(4), 373-377 (1996).
- 10) Grover, G. J., McCullough, J. R., D'Alonzo, A. J., Sargent, C. A., and Atwal, K. S. : Cardio-protective profile of the cardiac-selective ATP-sensitive potassium channel opener BMS-180448. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **25**, 40-50 (1995).
- 11) Grover, G. J., Dzwonczyk, S., Parham, C. S., and Sleph, P. : The protective effects of cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rats hearts and anesthetized dogs. *Cardiovascular. Drugs and Therapy*, **4**, 465-74 (1990).
- 12) Grover, G. J., Dzwonczy, S., Parham, C. S., and Sleph, P. : Pharmacologic profile of cromakalim in the treatment of myocardial ischemia in isolated rat hearts and anesthetized dogs. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **16**, 853-864 (1990).
- 13) Grover, G., J., Dzwonczy, S., and Sleph, P. G. : Reduction of ischemic damage in isolated rat hearts by the potassium channel opener RP 53891. *Eur. J. Pharmacol.*, **191**, 11-19 (1990).
- 14) Watts, J., and Maiorano, L. : Effects of diltiazem upon globally ischemic rat hearts. *Eur. J. Pharmacol.*, **138**, 335 (1987).
- 15) Gross, G. J., Auchampach, J. A. : Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs. *Cir. Res.*, **70**, 223-33 (1992).
- 16) Escande, D., Caverio, I. : K⁺ channel openers and natural cardioprotection. *Trends Pharmacol. Sci.*, **23**, 269 (1992).