

부자 강심성분의 작용기전에 관한 연구*

서울대학교 의과대학 약리학교실

김 명 석 · 김 용 식

=Abstract=

Studies on the Positive Inotropic Mechanism of Aconiti Tuber

Myung Suk Kim and Yong Sik Kim

Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Aconiti tuber butanol fraction, which is isolated from the chloroform insoluble and water soluble extract of Aconitum volubile, has been recently known to have a potent positive inotropic effect in the isolated cardiac muscle preparations of various animals. The positive inotropic mechanism of Aconiti tuber butanol fraction, in relation with the external calcium, was studied using the isolated cat papillary muscle. The positive inotropic effect was dependent on the calcium concentration in the nutrient medium, and a synergistic relation could be demonstrated between Aconiti tuber butanol fraction and the external calcium. The inotropic effect of 10^{-4} g/ml of Aconiti tuber butanol fraction was equivalent to that of 0.06 mM of calcium in the medium. After the treatment with a calcium influx inhibitor, Verapamil (2×10^{-7} – 10^{-6} M), the contractile force of the papillary muscle was markedly inhibited. In these preparations, Aconiti tuber butanol fraction restored the decreased contractility in a dose-dependent manner. It was suggested that the positive inotropic effect of Aconiti tuber butanol fraction might be related with the stimulating action on the calcium influx through the slow inward calcium channels in the cardiac cell membrane.

In contrast with digitalis cardiac glycoside, Aconiti tuber butanol fraction infused intravenously into the anesthetized rabbit decreased the systemic arterial blood pressure and increased the carotid blood flow, but produced no prominent changes in the heart rate.

서 론

附子(또는 草烏頭)의 알콜추출물중에서 클로로포름으로 알카로이드성분을 제거한 수용성분획이 개구리 적출심장에 대하여 강심작용을 나타냄이 보고된 이후(矢數, 1958) 그 강심작용을 보이는 부자성분은 n-부타놀에 또한 주로 이행됨이 알려졌다(김, 1973). 그 이래 부자추출물중 부타놀분획의 강심효과는 각종 동물의 심근표본에서 현저하게 나타남이 반복 증명되었으므로 본 연구는 1979년도 아산사회복지사업 재단 연구비 보조로 이루어 졌음.

며, 기존의 유일한 강심약물인 디지탈리스배당체와 비교 연구한 보고들이 많다(박 및 김, 1981). 부자부타놀분획은 디지탈리스배당체에 대하여 감수성이 높은 교양이(윤, 1976), 토끼(홍등, 1975)의 심방근, 유두근 등에서 뿐만아니라, 흰쥐와 같이 디지탈리스에 대하여 민감한 반응을 보이지 않는 동물의 심방근 표본에서도 현저한 수축력증강효과를 보여(홍등, 1977, 1980) 동물의 종에 따른 강심작용의 차이를 보이지 않으며, 최초의 심근수축 효과를 나타내는 농도의 약 1,000배에서나 부정맥을 보이는등 독성도 비교적 낮은 것으로 여겨지고 있다. 그러나 부자부타놀분획이 보이는 이러한 강심작용의 기전에 관하여 현재로서는 명확히 밝히

진 바가 많지 못하며 단지 세포수준에서 보았을 때 디지털리스배당체에서와 같이 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 를 억제하고(신, 1976), 그 강심효과가 심근의 칼슘이온과 상승 또는 상가적으로 나타난다는 보고가 있을뿐이다(홍등, 1980).

심근수축의 세포막흥분-수축연결과정에 있어서 세포내 칼슘이 절대적으로 중심적인 역할을 한다는 것은 잘알려진 사실로써 디지털리스배당체를 위시한 강심약물의 심근수축증강작용은 심근세포내의 유리칼슘농도가 증가되는 것에 기인하는 것으로 받아들여지고 있다(Lee, 1971).

본 연구에 있어서는 부자부타놀분획의 작용기전을 밝히려는 연구의 하나로 심근수축증강효과에 있어서 부자부타놀분획과 칼슘이온과의 상호관련성을 보다 구체적으로 양적인 면에서 검토하고자 심근의 칼슘농도의 변화와 심근세포로의 칼슘유입을 억제한 조건이 부자부타놀분획의 심근수축증강작용에 미치는 영향 등을 관찰하였다. 아울러 동물생체내에서 부자부타놀분획의 약리작용을 검토하는 시도의 일환으로 정상가토에서의 혈동력학에 대한 영향을 또한 관찰하였다.

실험재료 및 방법

부자부타놀분획 : 부자부타놀분획은 시중 건재상에서 구입한 草烏頭를 잘게 찌른다음 50%알콜로 열탕추출하여 알콜추출물을 얻은후 김(1973)의 방법으로 처리하고 최종으로 n-부타놀에 이행시켰다. 얻어진 부타놀분획은 감압하에서 증발 건조한후 실험에 사용하였으며 草烏頭 3 kg에서 약 250 g의 최종 부자부타놀 분획을 얻었다.

칼슘과의 상호작용 : 성의 구별없이 체중 약 1 kg 내외의 어린 고양이에서 적출해낸 유두근을 사용하였다. 고양이는 뒷머리에 강한 타격을 가하여 급사시킨후 심장을 절제해내었으며 산소로 포화시킨 *Kreb's* 용액(NaCl 119.8 mM, KCl 4.6 mM, CaCl_2 2.6 mM, MgCl_2 1.2 mM, NaHCO_3 25 mM, KH_2PO_4 1.2 mM, Glucose 11.1 mM, pH 7.4)속에서 즉시 우심실을 절개하고 유두근을 절출하였다. 95% O_2 ~5% CO_2 가 연속주입되는 *Kreb's* 용액(35°C)이 들어있는 50 ml 짜리 *magnus* 장치의 근육고정기에 유두근을 고정하고 그 상단은 등장성근수축변환기(isometric force transducer, Device 제)에 연결한후 생리기록기(Device 제)에 등장성수축을 연속 기록하였다. 이때 유두근의 전기자극은 근육고정기에 부착되어 있는 전극으로 역치전압보다 10% 높은 전압에

서 빈도 1Hz, 기간 2 msec의 square wave pulse를 Grass 전기자극기(Model S-4)를 통하여 가하였다.

실험은 상기조건에서 근수축이 일정 평형상태를 유지하도록 1시간 경과한 후부터 시작하였다. 심근의 칼슘농도의 변화에 따른 영향을 검토한 실험에서는 *magnus* 용기내의 *Kreb's* 용액을 부자부타놀분획이 10^{-4} ~ 10^{-3} g/ml로 들어있고 칼슘농도가 0인 영양액으로 대체하여 유두근 수축이 거의 완전히 정지되었을때 칼슘을 점차적으로 첨가하여(0.1~2.5 mM) 근수축이 다시 회복되어 나타나는 정도를 관찰하였다. 한편 심근세포로의 칼슘유입을 억제한 상태에서 부자부타놀분획의 작용을 관찰하기 위하여는 상기조건의 Ca^{++} 2.6 mM을 포함한 정상 *Kreb's* 용액에서 근수축이 일정해졌을때 Verapamil을 2×10^{-7} ~ 10^{-6} M이 되도록 첨가하고, 각 첨가농도에서 그 작용이 완전히 나타났을때 부자부타놀 분획물을 10^{-4} g/ml에서부터 점차 증가시키면서 용량-반응관계를 관찰하였다.

가토의 혈동력학에 미치는 영향 : 체중 1.5~2.5 kg의 건강한 성숙 가토를 성의 구별없이 사용하였다.

Pentobarbital Na 30 mg/kg, I.V.로 마취한후 좌측 경동맥에 polyethylene 카테터를 삽입하고 혈압변환기(pressure transducer, Bell & Howell 제)에 연결하여 전신동맥압을 생리기록기에 기록하였으며, 우측경동맥 주위에는 전자기혈류측정기(electromagnetic flow meter, Cardio Vascular Instruments Ltd.)의 probe를 끼워 혈류량을 측정하였다. 심박동수는 심전도에 연결한 rate meter(Device 제)로 측정하였고 부자부타놀분획은 고정맥을 통하여 천천히 주입하였다.

실험 결과

심근의 칼슘의 영향 : 칼슘이 전혀 들어 있지 않은 *Kreb's* 용액에서 약 30분동안 경과한 후 0.1~2.5 mM의 칼슘을 영양액내에 첨가하므로써 유두근의 수축능이 회복되는 양상을 관찰하였다. Fig. 1에서와 같이 부자부타놀분획을 첨가하지 않은 대조 유두근에서는 영양액내의 칼슘농도가 0.5 mM에서부터 근수축이 기록되었으나 부자부타놀분획을 첨가한 경우에는 훨씬 낮은 칼슘농도인 0.1 mM에서도 인지할 수 있는 유두근 수축이 관찰되었다.

각칼슘농도에서의 유두근수축은 Table 1에서와 같이 부자부타놀분획의 농도에 따라 용량의존적으로 증가되어 0.5 mM의 칼슘의 경우 최고 칼슘농도인 2.5 mM에서 보이는 수축에 대하여 대조유두근에서는 11.

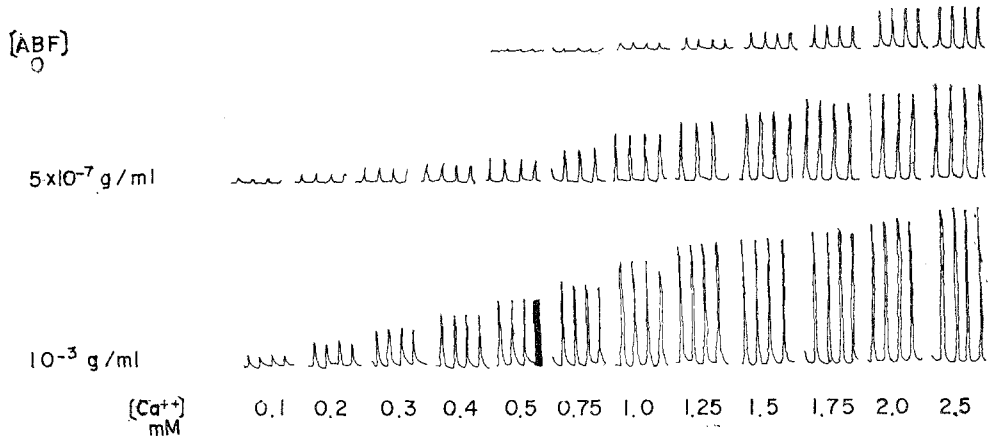


Fig. 1. Effect of external calcium on the contractility of cat papillary muscle treated with Aconiti tuber butanol fraction(ABF).

Table 1. Influence of Aconiti tuber butanol fraction(ABF) on the inotropic effect of external calcium in the cat papillary muscle preparation

Ca ⁺⁺ mM	ABF (×10 ⁻⁴ g/ml), % of Maximum contraction (Mean±S.E.)				
	0	3	5	7	10
0.5	11.96±1.08	18.03±3.23	22.93±1.92	33.39±4.00	37.74±3.45
1.0	32.63±1.83	39.12±4.40	46.96±2.49	55.73±3.86	64.39±2.03
1.5	62.46±4.18	67.75±2.38	73.56±1.38	76.90±3.58	80.8±0.22
2.0	83.00±2.81	87.57±2.03	88.62±1.58	89.49±1.73	90.95±0.93
2.5	100	100	100	100	100

Table 2. Calcium concentration which produces 50-percentile response at the given concentrations of Aconiti tuber butanol fraction (ABF). The [Ca⁺⁺₅₀] values have been determined from Fig. 2

[ABF] 10 ⁻⁴ g/ml	[Ca ⁺⁺ ₅₀]mM
0	1.3
3	1.2
5	1.06
7	0.89
10	0.75

96%의 수축을 나타내었으나, 부자부타놀분획 3×10⁻⁴g/ml 존재시에는 18.03%, 그리고, 10⁻³g/ml에서는 37.74%로 수축력이 증가되었다.

한편 첨가되어 있는 각부자부타놀농도에서 칼슘농도를 높임에 따라 보이는 유두근수축의 칼슘용량-반응 관계는 Fig. 2에서와 같은 칼슘농도 범위내에서는 직선적인 양상을 보였으며 각 농도의 부자부타놀 분획사이에는 평행적인 관계를 나타내었다.

Verapamil의 영향 : 심근세포로의 칼슘유입억제약물인 verapamil은 영양액내의 농도에 따라(2×10⁻⁷~10⁻⁶M) 용량의존적으로 교양이 유두근의 수축력을 감소시켰다. Verapamil 각 처치농도에서 수축력감소가 완전히 나타나서 일정한 상태를 보였을때 부자부타놀분획의 첨가는(10⁻⁴~10⁻³g/ml) Fig. 4에서와 같이 유두근수축을 점차 회복시켰다. Verapamil 2×10⁻⁷M을 처치한 유두근의 경우 10⁻³g/ml 부자부타놀분획에 의한 수축력의 증가는 대조군 수축력증가의 87.1%였으며, 5×10⁻⁷M 및 10⁻⁶M verapamil에서는 수축력증

Table 3. Effect of Aconiti tuber butanol fraction on the blood pressure, heart rate and blood flow in anesthetized rabbit

	Aconiti tuber butanol fraction, (mg/kg)					
	Control	10	Control	50	Control	100
Blood Pressure(mmHg)						
Systolic	80.3±7.0	77.5±10.3	89.4±7.9	78.3±14.9	82.1±16.6	62.1±17.8
%change		-3.5		-12.4		-24
Diastolic	73.3±7.6	70.8±11.8	81.5±6.5	69.4±14.3	74.4±16.3	54.1±21.4
%change		-3.4		-14.8		-27.3
Heart Rate(per min.)	230±43.6	231±45.4	249±41.0	243±39.9	205±38.3	198±33.3
%change		—		-2.4		-3.3
Carotid Blood						
Flow (ml/min)	104.9±44.7	105.3±45.2	83.0±50.0	88.6±52.7	87.8±20.5	101.2±17.0
%change		—		+6.7		+15.3

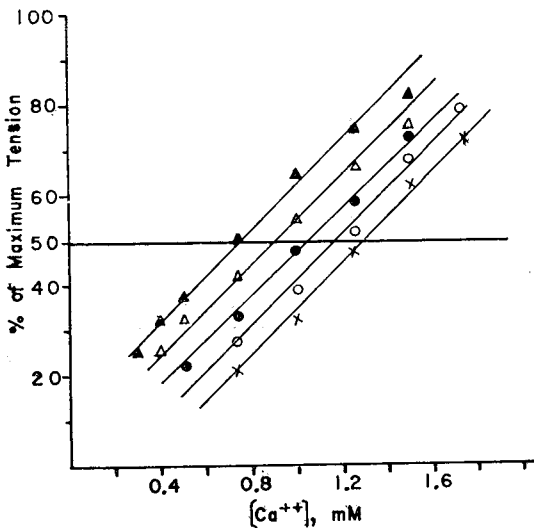


Fig. 2. Contractile response of cat papillary muscle to the Aconiti tuber butanol fraction and the external calcium. Aconiti tuber butanol fraction (g/ml), X-X, O; O-O 3×10^{-4} ; ● 5×10^{-4} ; △-△ 7×10^{-4} ; ▲-▲ 10^{-3}

가가 대조의 각각 59.2%와 27.3%에 불과하였고, verapamil 은 부자부타놀분획의 용량—수축반응곡선을 현저히 우측이동시켰다(Fig. 5).

가트의 활동력학에 대한 영향 : Pentobarbital 로 마취한 가트의 전심동맥압, 경동맥혈류량 및 심박동수에 대한 부자부타놀분획의 영향을 30분동안 동시에 관찰하였다. 부자부타놀분획의 투여량에 따라(10~100 mg/kg, Femoral infusion) 전심동맥압은 수축기 및 이완기에서 모두 용량의존적으로 급격히 저하한후 서서히 회복되었으며, 반면에 경동맥혈류량은 10 mg/kg 의 낮은 용량에서는 변화가 없었으나 50 mg/kg 및 100

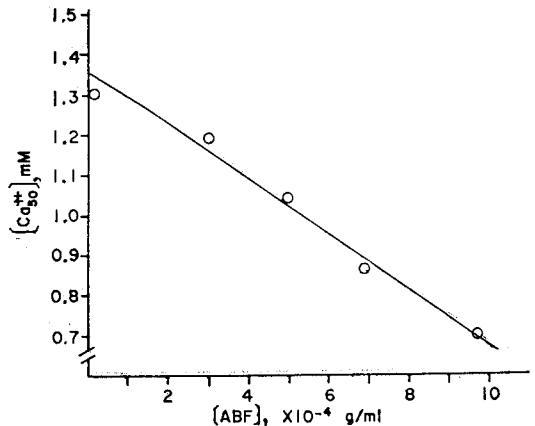


Fig. 3. Inotropic relation of the Aconiti tuber butanol fraction(ABF) to the external calcium which is plotted from Table 2.

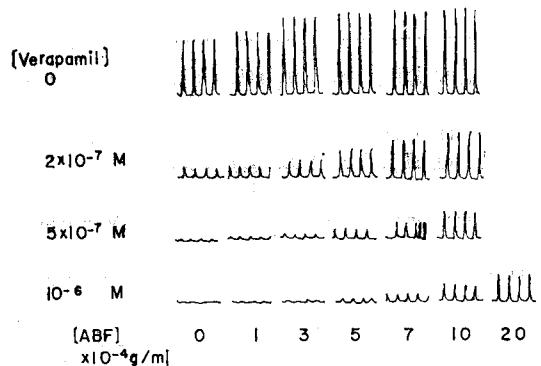


Fig. 4. Influence of Verapamil on the positive inotropic effect of Aconiti tuber butanol fraction(ABF) in cat papillary muscle.

mg/kg 에서는 각각 투여전에 비하여 6.7% 및 15.3% 가 증가하였다.

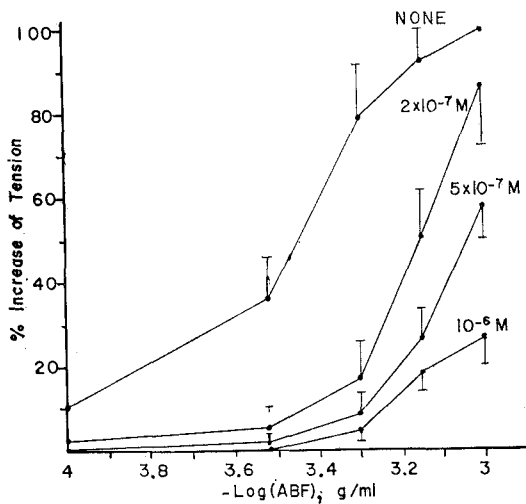


Fig. 5. Effect of Verapamil on the dose-response curve of Aconiti tuber butanol fraction (ABF) in cat papillary muscle preparation.

한편 심박동수는 낮은 용량에서는 역시 변화가 없었으며 높은 용량에서는 대조에 비하여 감소하는 경향을 보이거나 현저하지는 않았다(Table 3).

고 찰

심장근을 포함하여 골격근, 평활근등 모든근육의 수축기전에 있어서 칼슘이온이 세포막흥분과 근수축을 연결시켜주는 매개물로써 절대적인 중요역할을 담당하고 있음은 주지의 사실이다. 심장근수축의 경우 골격근에서와는 달리 세포막흥분과 더불어 세포질내에 증가되는 칼슘은 세포내 저장부로부터 유리되어 나오는것 뿐만아니라 세포외로부터 세포막을 통하여 유입되어 들어오는 칼슘도 또한 포함된다. 따라서 심장근수축의 조절에 있어서는 세포내칼슘과 더불어 세포외 칼슘도 또한 필연적으로 중요하게 마련이며 기존의 디지탈리스배당체의 강심작용은 세포외칼슘에 의존적임이 잘 알려져 있다.

부자부타놀분획은 in vitro 심근표본에서 나타내는 수축력증강작용이 동물의 종에 따라 차이를 보이지 않는등 디지탈리스 강심배당체와는 그 작용기전이 상이할 것으로 여겨지나(박 및 김, 1981), 심근외칼슘과 상호보완적인 상승 또는 상가작용을 나타냄에 있어서는 강심배당체와 유사함이 발표된 바와 같다(홍등, 1980) 본 연구에서는 이러한 부자부타놀분획의 강심작용에 있어서 세포외칼슘에 대한 의존성 및 그 상승작용을 이

미 보고한 바와는 달리 고양이 유두근표본을 사용하여 좀 더 구체적이고 양적인면에서 확인하고자 하였다. 결과에서와 같이 칼슘이 들어있지 않은 영양액내에서 소실되었던 유두근수축이 칼슘첨가로 인하여 회복되는 능력은 부자부타놀분획에 의하여 촉진되었으며, 그 수축력회복의 촉진은 부자부타놀분획의 농도에따라 용량의존적으로 증가하므로써(Fig. 1,2 및 Table 1) 심근수축력증가 작용에 있어서 부자부타놀분획과 세포외칼슘은 상호 의존적이고, 상승적임을 다시 확인하였다. 한편 세포외칼슘농도에 따른 유두근 수축반응의 증가에 대한 부자부타놀분획의 영향을 분석했을때 Fig. 2에서와 같은 범위의 칼슘농도에서는 용량-반응관계가 직선적이었으며, 그러한 칼슘의 용량 반응 관계는 부자부타놀 분획의 농도가 높을수록 일정 비율로 좌측으로 평행이동되는 양상을 보임으로써 각 부자부타놀농도에서 최대수축반응의 50%를 나타내게 하는 칼슘농도[Ca⁺⁺]₅₀와 부자부타놀분획간에는 Table 2 및 Fig. 3에서 처럼 직선적인 비례관계를 나타내었고, Fig. 3의 기울기에 해당하는 Δ[Ca⁺⁺]₅₀/Δ[부자부타놀분획]이 -0.06이 되어 부자부타놀분획 10⁻⁶g/ml는 세포외칼슘 0.06 mM에 해당하는 심근수축증강효과를 보이는 것으로 나타났다.

Verapamil은 심근세포막의 전기적 탈분극에 의한 활동전압 발생시 plateau phase의 완만내향전류에 책임이 있는 세포막의 칼슘통로를 차단하므로써 세포막 흥분-수축연결과정을 방해하고, 따라서 심근수축을 억제하는 칼슘길항제로 알려져 있다(Fleckenstein, 1971, 1977). Verapamil 2x10⁻⁷~10⁻⁶M을 처치하므로써 수축력이 저하된 고양이 유두근표본에서 부자부타놀분획은 비록 verapamil을 처치하지 않은 대조유두근에 비하여는 그 반응이 약하였지만 수축력을 다시 증가시켰으며, 그 수축증가작용은 부자부타놀분획의 투여량에 따라 용량의존적으로 나타났다(Fig. 4,5). 이러한 결과는 verapamil의 작용기전으로 볼때 부자부타놀분획이 verapamil에 의한 칼슘의 완만내향전류억제를 완화하며 세포막 칼슘통로의 개통을 오래동안 지속 시키게 하므로써 심근세포내로의 칼슘유입을 촉진하고 따라서 심근수축력을 증가시키기 때문이라고 해석될 수도 있겠으나 현재의 결과만으로는 단언하기 곤란하다. 왜냐하면 이와같이 verapamil 존재하에서도 부자부타놀분획이 억제된 수축력을 다시 회복시킨다는 현상은 다른 한편으로는 완만내향성 칼슘통로가 부자부타놀분획이 나타내는 강심작용의 기전과는크게 관계가 없기 때문일 수도 있는 것이며 또 한편으로는 완만내향성 칼슘통로

를 억제하는 것보다 높은 농도에서이기는 하나 verapamil이 세포막에서의 급속소디움통로(Cranefield, 1974; Kass and Tsien, 1975) 및 칼슘-소디움교환기전(Shigenobu, 1974)을 억제한다는 보고가 또한 있는 점으로 볼때도 완만내향성 칼슘통로에 대한 작용 이외의 다른 기전에 의하여 부자부타놀분획이 강심작용을 나타낼 수 있는 가능성도 제거할 수 없을 것으로 여겨지기 때문이다.

가토에 정맥투여한 부자부타놀분획은(10mg/kg~100 mg/kg) 심박동수에는 크게 영향을 미치지 않으면서 용량의존적으로 투여량 증가에 따라 경동맥혈류량을 증가시켰다. 이러한 결과는 생체내에서도 부자부타놀분획이 심장근수축력을 증가시키고 따라서 혈액펌프로서의 심기능을 증진시키기 때문이라고도 생각할 수 있다. 그러나 한편으로는 부자부타놀분획의 투여와 동시에 역시 용량의존적으로 전신혈압이 저하되고 그 회복이 느린점으로 볼때는 부자부타놀분획이 말초혈관저항을 감소시키며 그 결과 이차적으로 혈류량이 증가되는 결과를 보이는 것이 아닐까로 여겨진다. 이러한 정상동물에서의 혈동력학에 대한 영향은 디지탈리스강심배당체가 미주신경중추를 흥분하여 심박동수를 저하시키고, 말초혈관저항을 증가하여 전신혈압은 오히려 약간 상승시키므로 직접적인 심근수축력증가에 따른 심박출량의 증가가 현저히 발현되지 못하는 것과는(Mason, 1974) 상이한 결과로서 부자부타놀분획의 생체내에서의 약리학적작용은 디지탈리스배당체와 같지는 않을 것으로 보여진다.

요 약

부자성분중 강심효과를 나타내는 부자부타놀분획의 작용기전을 심근수축기전에 있어서 중심적인 역할을 하는 칼슘이온과의 상호관계에서 검토하였으며 아울러 동물생체내 혈동력학에 대한 영향을 관찰하였다. 부자부타놀분획은 적출 고양어 유두근표본의 수축력증가작용에 있어서 심근외칼슘과 상승적이었으며 부자부타놀분획 10^{-4} g/ml는 칼슘 0.06 mM과 동등한 심근수축증강 효과를 나타내었다. 심근세포막의 칼슘통로 억제약물인 verapamil 존재하에서 저하된 유두근 수축력은 부자부타놀분획에 의하여 용량의존적으로 회복되었으며, 이로부터 부자부타놀분획의 강심작용기전의 일부는 심근세포막의 완만내향성 칼슘통로를 통한 칼슘유입을 촉진하는 것과 관계가 있을 것으로 추측하였다. 정상가토의 혈동력학에 있어서 부자부타놀분획은 디

지탈리스배당체와는 달리 용량의존적으로 전신동맥압을 저하시키고, 경동맥혈류량을 증가시켰으며, 심박동수에는 크게 의미있는 변화를 보이지 않았다.

참 고 문 헌

김광철, 홍사악, 박찬웅: 부자에서의 강심작용물질 검색에 관한 연구. 최신회학, 16:1395, 1973.

박찬웅, 김명석: 부자의 강심작용에 대한 약리학적 검토. 서울의대학술지, 22:1, 1981.

신상구, 임정규, 박찬웅, 김명석: 부자 *Butanol Fraction*이 가토 심장근 *microsomal Na⁺-K⁺-ATPase* 활성도에 미치는 영향. 대학약리학잡지, 12:7, 1976.

윤중, 박길수, 박찬웅, 임정규: 수종 강심약물과 부자부타놀분획이 심장근의 기계적 성질에 미치는 영향. 대한약리학잡지, 12:1, 1976.

홍사악, 박찬웅, 김명석, 신상구: 부자 *Butanol Fraction*의 강심작용에 관한 연구. 대한약리학잡지, 11:7, 1975.

홍사악, 김명석, 박찬웅: 부자부타놀분획의 강심 작용에 대한 *Potassium* 이온의 효과. 대한약리학잡지, 13:11, 1977.

홍사악, 박찬웅, 김명석, 신상구, 윤효인: 부자의 강심 성분검색에 관한 연구. 서울의대학술지, 21:365, 1980.

矢數一郎: 東亞産 *Aconite* 根(烏頭, 附子)의藥理學的硏究及び治療應用の檢計. 日本藥理學雜誌, 54:880, 1958.

Cranefield, P.F., Aronson, R.S., Wit, A.L.: *Effect of verapamil on the normal action potential and on a calcium-dependent slow response of canine cardiac purkinje fibers.* *Cir. Res.*, 34:204, 1974.

Fleckenstein, A.: *Specific inhibitors and promoters of calcium action in the excitation-contraction coupling of heart muscle and their role in the prevention or production of myocardial lesions. Calcium and the heart, Ed. by P. Harris and L.H. Opie, pp 135~188, Acad. Press, N.Y., 1971.*

Fleckenstein, A.: *Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle.* *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 17:149, 1977.

- Kass, R.S., Tsien, R.W.: *Multiple effects of calcium antagonists on plateau currents in cardiac purkinje fibers. J.Gen.Physiol., 66:169, 1975.*
- Lee, K.S., Klaus, W.: *The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides. Pharmacol. Rev., 23:193, 1971.*
- Mason, D.T.: *Digitalis pharmacology and therapeutics. Ann. Int. Med., 80:520, 1974.*
- Shigenobu, K., Schneider, J.H., Sperelakis, N.: *Verapamil blockade of slow Na⁺ and Ca⁺⁺ responses in myocardial cells. J. Pharmacol. Exp Ther., 190:280, 1974.*