

새로운 Dihydropyridine 유도체, KR-30006과 KR-1008의 심장순환계 약리작용

이병호·정이숙·권광일·지우표
한국화학연구소 의약품성연구실
(Received May 27, 1989)

Cardiovascular Actions of KR-30006 and KR-1008, a New Dihydropyridine derivatives

Byung Ho Lee, Yee Sook Jung, Kwang Il Kwon, Ok Pyo Zee
Pharmaceutical Screening Center
Korea Research Institute of Chemical Technology (KRICT)
P.O. Box 9, Daedeog-Danji, Daegon, Korea 302-243

Abstract— KR-1008 and KR-30006 are 1,4-dihydropyridine derivatives, new vasodilatory calcium antagonists from KRICT. Calcium antagonistic properties of the compounds were studied in the isolated heart (Langendorff preparation), pulmonary artery (vasodilation), and in the papillary muscle (negative inotropic effect) of the guinea pig. Antihypertensive effect were also investigated after i.v. or oral administration in the SHR (spontaneously hypertensive rat).

They produced a significant inhibition of Ca-induced contraction in the guinea pig pulmonary artery at the concentrations of above 10^{-8} M. The negative inotropic effect of the electrically stimulated papillary muscle appeared from the concentration of 10^{-6} M, which is about hundred times higher than the concentration of vasodilation effect. Left ventricular pressure also decreased from the concentration of 3×10^{-6} M in KR-1008 and KR-30006 in the Langendorff heart preparations.

Coronary flow rate increased from 10^{-6} M in KR-1008 and nocardipine and appeared no change in KR-30006.

The antihypertensive effect of KR-1008 (EC 20: $2.9 \mu\text{g}/\text{kg}$) was potent more than nocardipine (EC 20: $3.4 \mu\text{g}/\text{kg}$) and than Kr-30006 (EC 20: $6.8 \mu\text{g}/\text{kg}$) was, after i.v. bolus injection in the anesthetized SHR. The antihypertensive effect in the conscious SHR appeared 30 minutes after oral administration of $10 \text{ mg}/\text{kg}$ and persisted 4 hrs in KR-1008 and 12 hrs in KR-30006. Heart rate tended to increase for 0.5-1 hr after oral administration of the test compounds.

Keywords □ Dihydropyridine derivatives, guinea pig, calcium antagonistic properties, antihypertensive effect, KR-1008, KR-30006

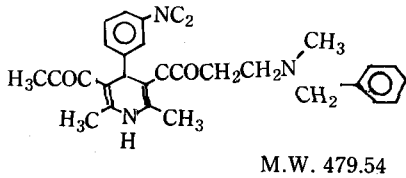
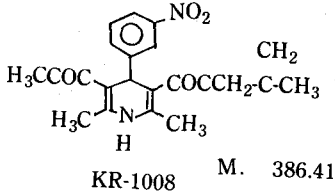
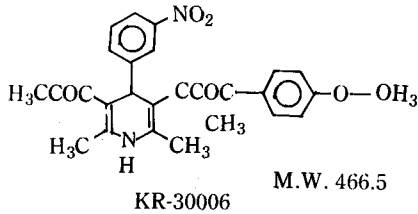
1, 4-dihydropyridine (DHP) 유도체들은 임상적으로 협심증의 완화에 사용되어 왔으며,^{1,2)} 이런 류의 약물들은 뇌 또는 관상동맥 뿐만 아니라 말초혈관도 함께 확장시킴으로써 혈압 강하를 나타내기 때문에 고혈압 치료제로도 많이 응용되고 있다.³⁻⁶⁾

Nicardipine은 뇌동맥이나 관상동맥 등에 대해 강한 혈관확장을 일으키는데, 이러한 평활근 이완작용은 주로 voltage dependent Ca^{++} channel을

통한 Ca^{++} 의 유입을 억제함으로써 일어난다.⁷⁾ 또 nocardipine은 cyclic AMP phosphodiesterase (PDE)의 억제제로 cAMP 농도를 증가시킨다고 알려져 있으나⁸⁾ Endoh 등⁹⁾은 nocardipine이 비록 세포 밖에서는 강한 PDE 억제제로 작용하지만, 세포 내의 cyclic AMP 증가에는 영향을 주지 않으므로 심장의 흥분작용은 일어나지 않는다고 보고하였다. 또한 nocardipine은 체액 저류(fluid retention)나

체중 증가(weight gain) 등의 부작용이 작아 고혈압 치료제로서의 개발 가능성이 높다.²¹⁾

이에 본 연구실에서는 새로이 합성한 DHP 계열의 nicardipine 유도체들 중 일차 검색에서 유효한 작용을 보인 Kr-30006과 Kr-1008의 심혈관계에 대한 작용을 nicardipine 과 비교 검색하였다. 상기한 두 물질 및 nicardipine 의 구조는 다음과 같다.



상기 물질들에 대하여 본 실험실에서는 적출 심장의 좌심실압 및 심박동수에의 영향을 관찰하기 위하여 Langendorff 실험을 행하였고 적출 폐동맥(pulmonary artery)에 대한 이완작용 및 적출 유두근(papillary muscle)에 대한 음성 변력작용(negative inotropic effect)을 organ bath 상에서 검색하였다. *In vivo* 실험으로서 마취상태의 선천성 고혈압 쥐(SHR: spontaneously hypertensive rat)에 대한 혈압강화 작용을 관찰하였고 경구투여 후의 효과를 보기 위한 비마취상태 SHR에서의 혈압강화작용도 검색하였다.

실험방법

시료 및 시약-Nicardipine, KR-30006, KR-1008 등은 한국화학연구소에서 합성한 것으로서 10⁻³ M 용액을 100% Dimethyl sulfoxide

(DMSO)에 녹여 만들었고 이를 saline 으로 연속 희석하여 사용하였다. Langendorff 실험에서는 한 용량당 100 μl, organ bath 를 사용한 실험에서는 200 μl 를 투여하여 최종 DMSO 농도를 1% 이하로 하였으며, 마취 SHR에서는 0.3ml/rat 용량으로서 약물의 최고 농도에서의 DMSO 농도는 100%를 사용하였다.

경구용 시험물질은 tween 80이나 arabia gum 으로 현탁시켜 10mg/3ml/Kg 를 투여하였다. 모든 시험물질은 사용직전 암실에서 조제하며, 조제한 약물은 갈색병에 담아 암실에 보관하였다.

실험동물-Chales River 사 (일본)에서 수입한 SHR(Okamoto & Aoki strain)을 한국화학연구소 GLP 시설하에서 breeding, 사육한 동물을 사용하였다. 생후 12주가 지나 혈압이 충분히 상승된 양성 SHR(동맥압: 215.6±3.8, 심박동수: 406.4±10.2)을 사용하였으며, 경구투여 동물은 실험전 18 시간 절식시켰다.

Guinea pig 은 삼육 실험동물 농장에서 구입한 것을 본 연구소 일반 사육실에서 사육하였으며, SHR 은 rat 용, guinea pig 은 토끼용 고형사료를 공급하였고 특히 guinea pig 에는 식수에 ascorbic acid 적당량을 녹여서 공급하였다.

Langendorff 실험-양성 guinea pig(250-350g)의 후두부를 강타하여 기절시킨 후 경동맥을 잘라 실험시켰다. 흉강을 열고 심막과 다른 조직들을 분리시켜 심장을 적출한 다음 생리액이 들어있는 petri dish 에 담았다. 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거한 다음 aorta 를 Langendorff 실험기의 perfusion cannula 에 약 3mm 정도 집어넣은 다음 실로 묶어 고정시켰다.

Perfusion pressure 는 심장과 perfusion 생리액 reservoir 사이의 거리에 따라 변하게 되는데, 이때의 hydrostatic pressure 는 80 cm H₂O 로 조정하였다.¹¹⁾ 생리액은 Krebs-Henseleit solution¹²⁾ (mmol/l: NaCl 118.40, KCl 4.75, MgSO₄ 7 H₂O 1.19, KH₂PO₄ 1.19, NaHCO₃ 25.0, CaCl₂ 1.8, glucose 11.1)을 사용하였고 혼합가스(O₂ 95%, CO₂ 5%)를 생리액에 통하게 하여 pH 를 7.4로 하였으며, 온도는 31-33°C 를 유지하였다.

약 1시간 정도 안정시킨 후 시험물질을 저농도부

터 cumulative dose로 15분 간격마다 주사하여 (10^{-7} – 10^{-4} M) 투여전의 수치에 대한 변화율(%)을 측정하였다.

좌심실압(left ventricular pressure: LVP)은 polygraph(Grass model 7)에 연결된 pressure transducer (Gould P23 XL)를 사용하였는데, balloon이 달린 catheter를 폐정맥을 통해 좌심실에 넣은 다음 balloon에 전달되는 압력을 측정하였다. 이 LVP로부터 tachograph를 이용하여 심박동수(heart rate: H. R.)를 측정하였으며, coronary flow rate(CFR)는 1분당 폐정맥을 통해 떨어지는 액을 메스실린더에 받아 그 용량(ml)을 측정하였다.¹³⁾

Vasodilation effect^{14,15)}—Guinea pig의 폐동맥을 잘라 낸 다음 넓이 1mm, 길이 1.5cm의 나선형 strip을 만들어 20ml Tyrode soln. (g/l: KCl 0.37, CaCl₂ 0.13, KH₂PO₄ 0.14, MgSO₄ 0.14, NaCl 6.55, NaHCO₃ 2.10, glucose H₂O 2.50)이 들어있는 organ bath에 muscle holder로 고정시켰다. 생리액의 온도는 37°C를 유지하였고, 혼합가스(O₂ 95%, CO₂ 5%)를 통해 주었으며, resting tension은 1g이 되도록 하였다. 20분마다 생리액을 바꿔주면서 약 1시간 정도 안정시킨 후, 생리액을 Ca⁺⁺ free Tyrode solution (Tyrode soln.에서 CaCl₂만 제외)으로 바꾸고 20mM EDTA 200 μl를 가하여 strip을 약 5분 동안 이완시켰다. 이 조작을 3회 반복 실시하여 strip을 충분히 이완시킨 다음 K⁺ rich Tyrode soln. (g/l: KCl 2.95, NaCl 4.2, KH₂PO₄ 0.14, MgSO₄ 0.14, NaHCO₃ 2.10, glucose H₂O 2.50)으로 바꾸어 주고 약 10분 동안 방치하였다. 이때 strip은 K⁺ ion에 대해 일시적으로 수축된 다음 다시 원상태로 이완된다. 이어서 50mM CaCl₂ 200 μl를 organ bath에 가하면 수축이 일어나기 시작하여 약 1시간 후에는 최대 수축이 유지되는데 이 때, 시험물질을 저농도부터 cumulative dose로 20분 간격으로 투여하여 혈관의 이완성 정도를 측정하였다.

혈관의 이완성 측정은 Multirecorder (MC 6625, Hugo sachs elek.)에 연결시킨 isotonic lever transducer (Type B 368, Hugo sachs

elek.)로 하였으며, 투여전의 폐동맥 길이에 대한 변화율(%)로써 나타내었다.

Negative inotropic effect—Guinea pig의 심장을 Langendorff 실험에서와 같은 방법으로 적출하였다. 생리액이 담겨 있는 petri dish 상에서 right papillary muscle을 조심스럽게 떼내어 holder를 이용하여 20ml organ bath에 고정시켰다.

papillary muscle을 조심스럽게 떼내어 holder를 이용하여 20ml organ bath에 고정시켰다.

생리액은 modified Krebs-Henseleit soln.¹⁶⁾ (mmol/l: NaCl 115, NaHCO₃ 25, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 3.2, MgSO₄ 1.2, glucose 10)을 사용하였고 혼합가스(O₂ 95%, CO₂ 5%)를 통하여 pH를 7.6으로 조정하였다. Organ bath 내의 온도는 37°C를 유지하였으며, resting tension은 1g으로 하였다. Stimulation rate는 1.5 pps (90 pulses/min), voltage는 역치의 2배, duration은 5ms로 조정된 다음 약 40분간 안정시켰다. 시험물질은 저농도부터 cumulative dose로 5분 간격으로 organ bath내에 직접 가하였으며 (200 μl, 10^{-6} – 10^{-3} M), 시험물질 투여전의 force에 대한 변화율(%)을 측정하였다.

Force의 측정은 polygraph(Grass model 7)에 연결된 strain gauge isometric transducer(Grass FT 03)를 사용하여 측정하였다.

마취 SHR에 대한 혈압강하 작용—12주 이상의 웅성 SHR(250–350g)을 urethane 900mg/kg, α-chloralose 90mg/kg으로 마취한 후,¹⁷⁾ 목 앞쪽의 피부를 1.5cm 정도 세로로 자른 다음 핏셋을 이용하여 left carotid artery를 찾아 지방이나 다른 결합조직들을 혈관과 분리하였다. 미세혈관가위를 이용하여 혈관을 반 정도 자른 뒤 heparinized saline(12IU)으로 채운 PE50 tube를 삽입하여 cannulation 하였다. Catheter의 한쪽 끝은 pressure transducer(Grass P23XL)에 연결하여 polygraph(Grass model 7)로 동맥압(arterial pressure)을 측정하였다.

시험물질의 투여(i. v.)를 위해 right juglar vein을 같은 방법으로 cannulation 하였다. 심박동수(H. R.)는 tachograph를 이용하여 ECG로부터

측정하였으며, 시험물질은 저농도부터 cumulative dose로 5분 간격마다 right juglar vein을 통하여 투여하였다.

결과는 약물투여전의 혈압에 대한 변화율(%)로써 나타내었다. 한편, 약효의 지속성 정도를 측정하기 위하여 시험물질 $10\mu\text{g}/0.3\text{ml}/\text{kg}$ 을 정맥주사한 후 60분간 혈압변화를 측정하였다.

비마취 SHR에 대한 혈압강화작용—실험실시 2-3일전에 12주 이상의 웅성 SHR(250-350g)을 실험실로 옮겨 안정시켰다. SHR을 heating box에 넣어 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 하에서 15분 동안 방치하여 warming 하였다. 꼬리동맥이 충분히 확장된 후 restraining cage에 SHR을 고정시킨 다음 Tail-cuff method에 따라¹⁸⁾ BP Recorder 8006(Ugo basile, UK)을 사용하여 수축기 동맥압 및 심박동수를 측정하였다.

이때 혈압은 동물을 가운시키는 방법이나,¹⁹⁾ tail cuff의 크기 및 고정위치 등에 따라²⁰⁾ 변화가 있다고 알려져 있는데, 본 실험에서는 heating box 내의 온도를 $35\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 내경 10.5mm의 tail cuff를 꼬리 상단에 고정하여 혈압을 측정하였다.

시험동물을 경구투여한 후 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24시간 후의 혈압변화를 측정하였으며, 혈압 및 심박동수는 연속 2회 이상 측정된 것을 평균하여 시험물질 투여전의 혈압에 대한 변화율(%)로써 표시하였다.

실험결과 및 고찰

Langendorff 실험—Guinea pig의 심장에 대한 좌심실압(LVP)은 시험물질에 대해 용량 의존적으로 감소하였으며, $4\times 10^{-6}\text{M}$ 에서 감소하기 시작하여 KR-30006, KR-1008 및 nicardipine의 EC₅₀는 2.1, 1.7, $1.7\times 10^{-5}\text{M}$ 로서 모두다 비슷한 효과를 보였다.

Coronary flow rate(CFR)는 KR-1008, nicardipine을 투여한 경우 $4\times 10^{-6}\text{M}$ 농도에서 각각 29.3%, 37.7% 증가를 나타냈으며, 고용량에서는 CFR이 감소하였다. 한편, KR-30006은 CFR를 증가시키지 않았으며, 약간 감소하는 경향을 나

타내었다.

심박동수에 대한 영향은 모든 농도에서 나타나지 않았다(Fig. 1). Fig. 2는 시험물질 $4\times 10^{-5}\text{M}$ 을 일회 투여한 후 시간경과에 따른 좌심실압의 감소를 측정한 것으로써, KR-1008은 nicardipine보다 강한 효과를 보였고, 최대 반응에 도달 후 60분 이상 지속되었다. KR-30006은 비교 시험물질보다 더 강한 효과를 나타냈으며, 60분 후에도 98%까지 억제력을 나타내는 지속 효과를 보였다.

Vasodilation effect— Ca^{++} 으로 수축시킨 guinea pig pulmonary artery에 대한 혈관 이완효과는 KR-30006, KR-1008 및 nicardipine의 EC₅₀가 각각 1.7, 1.2, $2.9\times 10^{-6}\text{M}$ 로서 KR-1008은 nicardipine에 비해 약 2배 강한 혈관 이완효과를 나타내었다(Fig. 3).

시험약물 및 비교약물은 모두 linear 한 dose-response 관계를 나타내어 Ca^{++} 에 대한 길항작용을

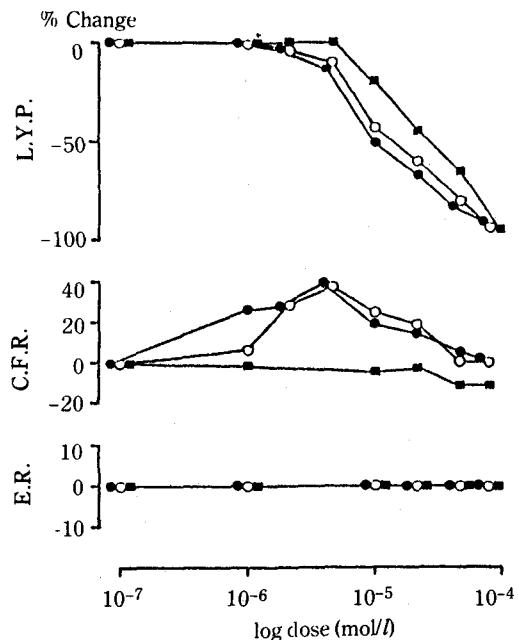


Fig. 1— Dose response curves for the effect of KR-1008 (●-●), KR-30006(■-■) and nicardipine (○-○) on the left ventricular pressure(LVP), coronary flow rate(CFR) and heart rate(HR) in the Langendorff guinea pig heart preparation (n=3). EC₅₀ of LVP: KR-1008, $1.7\times 10^{-5}\text{mol/l}$; KR-30006, $2.2\times 10^{-5}\text{mol/l}$; Nicardipine, $1.7\times 10^{-5}\text{mol/l}$.

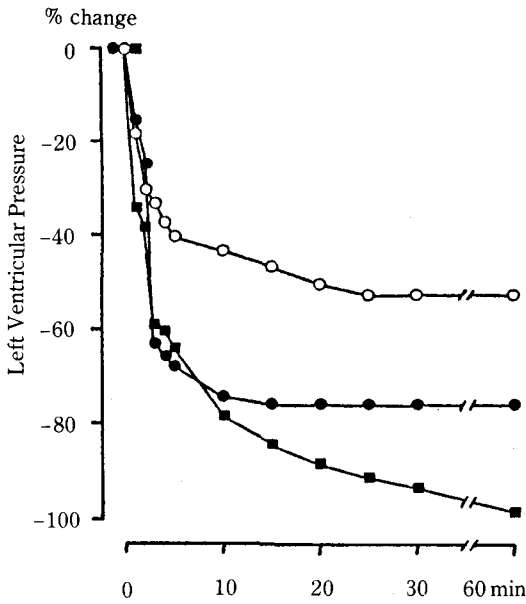


Fig. 2— Time course for the decrease in left ventricular pressure by 4×10^{-5} mol/l KR-1008 (●-●), KR-30006(■-■) and nicardipine(○-○) in the isolated guinea pig Langendorff heart preparation. (n = 3)

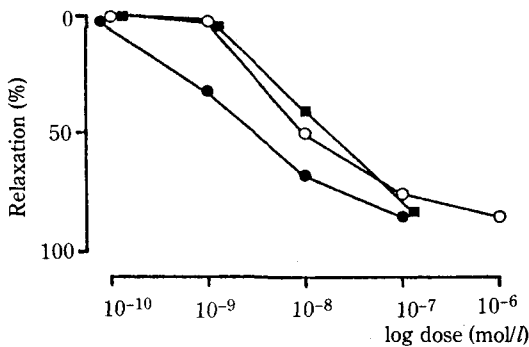


Fig. 3— Dose response curves of KR-1008(●-●), KR-30006(■-■), and nicardipine(○-○) on the Ca-induced contractions of guinea pig pulmonary arteries (n=4). EC 50: KR-1008, 1.2×10^{-8} mol/l; KR-30006, 1.7×10^{-8} mol/l; Nicardipine, 2.9×10^{-8} mol/l.

보여주었다.

Negative inotropic effect—Guinea pig 우심실에서 적출한 papillary muscle에 대한 시험약물의 음성변력작용은 폐동맥 혈관 이완효과에 비해 약 50배 고농도에서 나타나서 시험약물 혈압 강하작

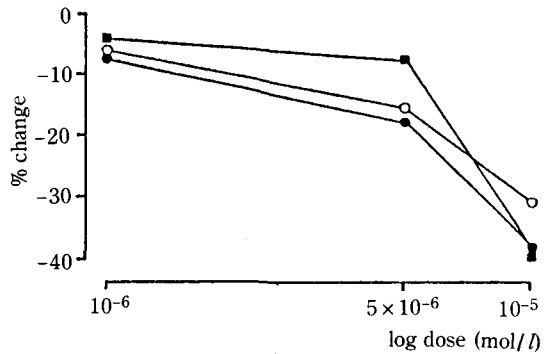


Fig. 4— Effects of KR-1008(●-●), KR-30006(■-■) and nicardipine(○-○) on the change of isometric tension in the isolated papillary muscle of guinea pig (n=4). EC 20: KR-1008, 4.4×10^{-6} mol/l; KR-30006, 6.9×10^{-6} mol/l; Nicardipine, 5.0×10^{-6} mol/l.

용이 negative inotropic effect에 의한 심박출량 감소보다는 혈관 확장작용에 우선적으로 기인되는 것을 확인할 수 있다.

KR-30006, KR-1008, nicardipine 각각에 대한 EC 20는 $6.9, 4.4, 5.0 \times 10^{-6}$ M로서 모두 비슷하였다(Fig. 4).

마취 SHR에 대한 혈압 강하작용—마취 SHR에 대한 혈압 강하작용은 용량의존적으로 나타났으며, 시험물질을 $1 \mu\text{g/kg}$ (i.v.) 투여했을 때는 혈압변화가 없었으나, $3 \mu\text{g/kg}$ 용량에서부터 강하하기 시작하였다. KR-1008는 EC 20가 $2.9 \mu\text{g/kg}$ 으로서 nicardipine(EC 20: $3.4 \mu\text{g/kg}$)과 비슷한 혈압 강하효과를 보여주었다. KR-30006의 EC 20는 $6.8 \mu\text{g/kg}$ 이었다.

심박동수에 대한 약물의 영향은 모든 시험물질에 의해 심박동수가 용량의존적으로 감소하였으며, $100 \mu\text{g/kg}$ 고용량에서는 약 40%까지 감소하였다(Fig. 5).

Fig. 6은 시험물질을 $10 \mu\text{g/kg}$ 1회 i.v. 투여했을 때 시간에 따른 혈압변화를 측정된 것이다. KR-1008과 nicardipine에 의하여 혈압이 최대 감소(45%)된 다음 다시 회복되어 약 20%의 혈압 감소를 유지하면서 1시간 이상 지속되었다. KR-30006 경우는 혈압 강하가 최대 (20%)에 도달한 후 일정하게 1시간 이상 지속되었다.

비마취 SHR에 대한 혈압 강하효과—시험물질

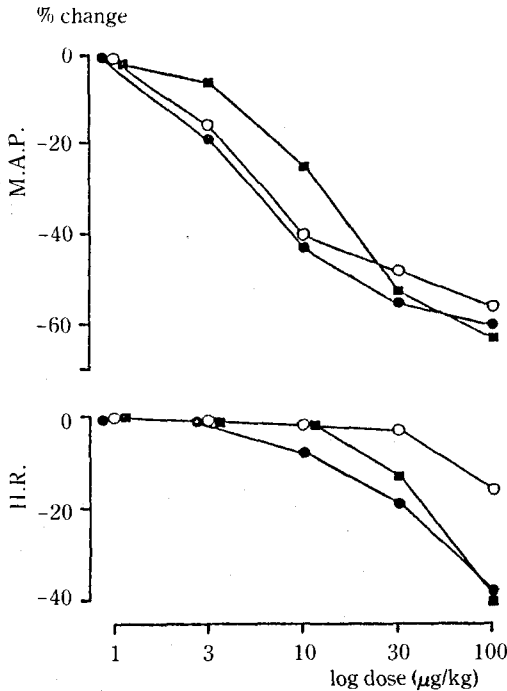


Fig. 5— Effects of KR-1008 (●-●), KR-30006 (■-■) and nicardipine (○-○) on the mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR) in the anesthetized spontaneously hypertensive rats (n = 3).

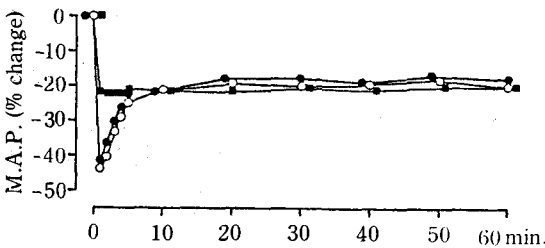


Fig. 6— Time course of the changes in the mean arterial blood pressure (MAP) following i.v. injection of 10 μg/Kg KR-1008 (●-●), KR-30006 (■-■) and nicardipine (○-○), respectively (n + 2).

10 μg/kg을 SHR에 경구투여 한 후 나타나는 혈압 변화를 Fig. 7에 나타내었다. 대부분의 시험물질은 투여 30분 내에 최대반응에 도달했으며, 작용시간은 12시간까지 지속적이었다.

KR-30006은 투여 1시간 후에 최대 혈압강하를 나타냈으며, 그 강하율은 39.9%로서 투여 6시간 이상까지 유의성 있는 혈압강하를 나타냈다. 실험동물 9마리 중 3마리가 투여 2시간 후에 죽은 것으로

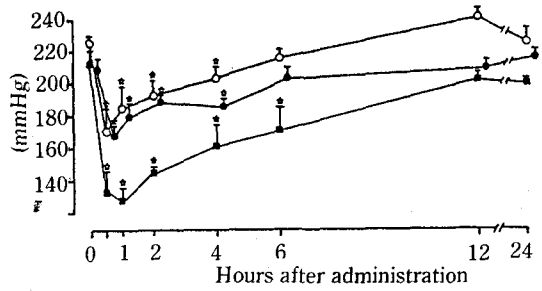


Fig. 7— Changes of the systolic blood pressure (SBP) followed by the oral administration of 10 mg/kg KR-1008 (●-●), KR-30006 (■-■) and nicardipine (○-○) each in the spontaneously hypertensive rats (n = 6). Data are expressed as a mean ± S.E. *: Significantly different from control, at P < 0.05.

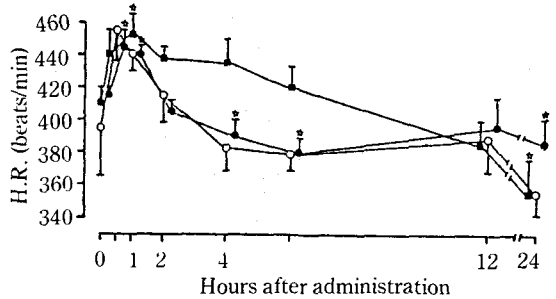


Fig. 8— Changes of the heart rate (HR) followed by the oral administration of 10 mg/kg KR-1008 (●-●), KR-30006 (■-■) and nicardipine (○-○) each in the spontaneously hypertensive rats (n = 6). Data are expressed as mean ± S.E. *: Significantly different from control, at P < 0.05.

미루어 투여된 용량에서 독성이 있을 것으로 추정된다.

KR-1008은 30분 후에 최대 혈압강하치 19.7%를 나타냈으며 투여 4시간 이상 유의성 있는 혈압강하를 나타냈으나, 정맥주사 실험시와 달리 KR-30006보다 효과가 적은 것으로 보아 흡수가 충분치 않은 것이라 생각된다.

심박동수는 시험물질 투여 0.5-1시간 내에 유의성 있는 증가를 나타내었다가 다시 감소하는 추세를 보였다 (Fig. 8). 심박동수의 일시적인 증가는 혈관확장에 기인된 peripheral resistance의 감소에 따른 adrenergic reflex 때문인 것으로 사료된다.²¹⁾

결 론

새로운 dihydropyridine 유도체인 KR-30006과 KR-1008의 심장순환계에 미치는 영향을 nica-dipine 과 비교 실험하였다.

In vitro 실험에서 두 시험물질은 nica-dipine 보 다 더 낮은 농도에서 Ca⁺⁺에 의해 수축된 폐동맥을 이완시켰다. 두 시험물질이 K⁺으로 탈분극시켜 Ca⁺⁺으로 수축을 일으킨 폐동맥의 수축을 억제함으 로써 혈관 평활근에 대해 Ca 길항작용이 있을 가능 성을 보여주었다.

KR-1008은 *in vitro* 실험에서 nica-dipine 과 같 거나 더 강한 효과를 나타냈으며, 마취상태의 SHR 에 정맥주사시에도 비슷하였으나 경구투여시에는 다 소 효과가 낮게 나타났다.

한편, KR-30006은 *in vitro* 실험에서 nica-dipine 과 같거나 약한 효과를 나타냈으나 SHR 에 경구투여시 강한 혈압 강하작용과 높은 지속성을 보 였으나 사용된 용량(10mg/kg)에서 독성이 있을 것으로 우려된다.

이상의 실험결과 KR-30006 및 KR-1008은 Ca⁺⁺ 길항제로서 강한 혈관 확장작용 또는 항고혈압작용 이 있는 것으로 추정되며 새로운 협심증 치료제 혹 은 고혈압 치료제로의 개발을 위해 계속적인 연구로 서 좀 더 구체적인 기전과 작용양상을 밝히기 위해 H₁ 혹은 H₂ receptor 에 대한 작용 및 세포전기구 배(cellular action potential)에 대한 본 제제의 연구가 계속되어야 할 것이다.

감사의 말씀

이 논문은 과학기술처의 특정연구개발사업의 일환 으로 이루어진 것이며, KR-30006을 합성하신 한국 화학연구소 유성은 박사과 KR-1008을 합성하신 김 완주 박사께 감사드립니다.

문 헌

1) Armstrong, C., Garnham, J., Blackwood, R.: Comparison of the efficacy of nica-dipine and nifedipine in patients with chronic stable angina. *Br. J. Clin. Phar-*

mac. **22**, 3255 (1986).

2) Rousseau, M.F., Vincent, M.F., Van Hoof, F., Van Den Berghe, G., Charlier, A.A., & Pouleur, H.: Effects of nica-dipine and nisoldipine on myocardial metabolism, coronary blood flow and oxygen supply in angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* **54**, 1189 (1984).

3) Taylor, S.H., Frais, M.A., Lee, P., Verma, S.P., Jackson, N., Silke, B.: Anti-hypertensive dose-response effects of nica-dipine in stable essential hypertension. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **20**, 135S (1985).

4) Lee, S.M., Williams, R., Warnock, D., Emmett, M., Wolbach, R.A.: The effects of nica-dipine in hypertensive subjects with impaired renal function. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **22**, 297S (1986).

5) Takabatake, T., Ohta, H., Yamamoto, Y., Maekawa, M., Arai, S., Hattori, N.: Antihypertensive effect of nica-dipine hydrochloride in essential hypertension. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **20**, 346 (1982).

6) Bertel, O., Conen, D., Radu, E.W., Muller, J., Lang, C., Dubach, U.C.: Nifedipine in hypertensive emergencies. *Br. Med. J.*, **286**, 19 (1983).

7) Nakayama, K., Kurihara, J., Miyajima, Y., Ishii, K., Kato, H.: Calcium antagonistic properties of nica-dipine, a dihydropyridine derivative assessed in isolated cerebral arteries and cardiac muscle. *Anzheim.-Forsch./Drug Res.* **35**(1), 687 (1985).

8) Sakamoto, N., Terai, M., Takenaka, T., Maeno, H.: Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase by 2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylic acid 3-[2-(N-benzyl-N-methyl-amino)]ethyl ester 5-methyl ester hydrochloride (YC-93), a potent vasodilator. *Biochem. Pharmacol.*, **27**, 1269 (1978).

9) Endoh, M., Yanagisawa, T., Taira, N.: Dissociation of cyclic AMP and contractile responses to isoprenaline: Effects of a dihydropyridine derivative, Nica-dipine (YC-93), on canine ventricular muscle. *Eur. J. Pharmacol.*, **67**, 225 (1980).

10) Kimura, Y., Fukui, H., Tanaka, M., Okamoto, M., Morino, A., Miura, A., Kimura, K., Enomoto, H.: Antihypertensive effects of a new dihydropyridine calcium antagonist. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* **36**(2), 1329 (1986).

11) Tamura, M., Oshino, N., Chance, B., Silver, I.A.,

- Optical measurement of intracellular oxygen concentration of rat heart *in vitro*. *Arch. Biochem. Biophys.* **191**, 8 (1978).
- 12) Fleetwood G., Poole-Wilson P.A.: Diastolic coronary resistance after ischemia in the isolated rabbit heart: Effect of nifedipine. *J. Mol. Cell. Cardiol* **18**, 139 (1986).
 - 13) Kazda, S., Garthoff, B., Meyer H., Schlossmann K., Stoepel, K., Towart, R., Vater, W., Wehinger, E., Pharmacology of a new calcium antagonistic compound, isobutyl methyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-3,5-pyridine dicarboxylate (Nisoldipine, Bay K5552). *Arzneim-Forsch./Drug. Res.* **30**(2), 2144 (1980).
 - 14) Hoshi, K., Fujino, S.: Effects of alpha blockers on blood pressure and on the Ca-contracture of cat aortic strips. *Japan. J. Pharmacol.*, **30**, 427 (1980).
 - 15) Schumann, H.J., Gorlitz, B.D., Wagner, J.: Influence of papaverine, D600, and Nifedipine on the effects of noradrenaline and calcium on the isolated aorta and mesenteric artery of the rabbit. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **289**, 409 (1975).
 - 16) Honerjager, P., Schafer M., Reiter, M.: Involvement of cyclic AMP in the direct inotropic action of amrinone; *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **318**, 112 (1981).
 - 17) Mauck, H.P., Freund, J., Porter, R.R., The level and stage of amesthesia; It's influence on cardiac output and related hemodynamics. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **7**, 301 (1965).
 - 18) Gerold, M., Tschirky, H.: Measurement of blood pressure in unanesthetized rats and mice. *Arzneim.-Forsch./Drug. Res.* **18**, 1285 (1968).
 - 19) Olmsted, F., Corcoran, A.C.: Page, I.H., Blood pressure in the unanesthetized rat: II. Spontaneous variations and effect of heat. *Circulation* **III**, 727 (1951).
 - 20) Fregly, M.J.: Factors affecting indirect determination of systolic blood pressure of rats. *J. Lab. Clin. Med.* **62**, 223 (1963).
 - 21) Sorokin, E.M., Clissold, S.P., Nicardipine, a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy, in the treatment of angina pectoris, hypertension and related cardiovascular disorders. *Drugs* **33**, 296 (1987).