

# 1, 4-Dihydropyridine 칼슘길항제가 유두근의 정상활동전압 및 Ca-dependent, Slow Channel Mediated Action Potential에 미치는 영향

충남대학교 의과대학 생리학교실

김 민 형 · 장 석 종

(1988년 10월 21일 접수)

== Abstract ==

## The Effects of 1, 4-Dihydropyridine Calcium Antagonists on the Normal and Ca-dependent, Slow Channel Mediated Action Potentials in the Guinea Pig's Papillary Muscle

Min Hyung Kim and Seok Jong Chang

*Department of Physiology, College of Medicine, Chungnam National University*

Effects of 1, 4-dihydropyridine compounds, such as nifedipine, nisoldipine, nitrendipine, and nimodipine which were calcium antagonists on the normal and Ca-dependent, slow channel mediated action potentials in the guinea pig's papillary muscle were investigated.

The glass microelectrode was impaled into a papillary muscle cell for measurements of potential changes with the simultaneous tracing of isometric contraction. The concentration of Ca antagonists were 1 mg/l (nifedipine and nisoldipine), 2 mg/l (nitrendipine and nimodipine), which showed the maximal inhibition of isometric contraction (above 90%) and simultaneous effects on the normal action potentials and only the halves of those concentrations were sufficient to observe the effects on the calcium action potentials. The data for analysis were only chosen when the microelectrode was maintained in a cell throughout the experiments.

1, 4-Dihydropyridine compounds decreased the action potential duration but did not affect the resting membrane potential, overshoot, and upstroke velocity of the normal action potentials with the decrease in the isometric contraction. And with the decrease in the area and amplitude of isometric contraction, the area, amplitude, upstroke velocity and duration of Ca action potential was decreased. But the differences in the effects of the Ca antagonists were not observed.

Therefore it is inferred that the changes in normal and Ca action potential induced by the 1, 4-dihydropyridine compounds with a common chemical structure would be caused by the slow inward Ca-current, not by a fast Na-current.

**Key Words:** Guinea-pig's papillary muscle, 1, 4-Dihydropyridine calcium antagonists, Action potentials, Calcium potentials

### 서 론

1964년 Fleckenstein (1964)에 의하여 verapamil과

prenylamine이 심근에서 칼슘의 작용에 길항적이라는 보고와 1969년 칼슘길항제 (Ca antagonist)란 용어가 탄생 (Fleckenstein et al, 1969)하면서 칼슘길항제는 의학 분야에 큰 주류를 이루는 약물로서 등

장하게 되었다.

이들 물질의 출현 이후 특히 심근 및 평활근에서 칼슘의 작용에 대한 길항적 기전(Fleckenstein, 1977, 1981)이 규명되었으며 타 세포들에 대한 작용도 검토되고 있다. 심근과 평활근에서 칼슘길항제의 주 작용은 세포외 칼슘의 세포내로의 이동을 억제하는 것이며 이러한 작용때문에 임상적으로 협심증, 부정맥 및 고혈압의 치료(antianginal, antiarrhythmic and antihypertensive)는 물론 심근 보호제(cardio-protective)(Fleckenstein and Fleckenstein-Grün, 1980)로서 활용되고 있다.

Fleckenstein의 칼슘길항제 분류(Fleckenstein, 1983)에 의한 탁월한 칼슘길항적 작용을 갖는 A군에 속하는 대표적인 약물로는 verapamil (Isoptin<sup>®</sup>) 1, 4-dihydropyridine (DHP) 계열의 nifedipine (Adalat<sup>®</sup>)과 diltiazem이 있으며 이들은 화학적으로 서로 상이한 구조를 갖고 있음은 물론 심근세포, 심근향도잡이세포 및 혈관계에 작용하는 효과의 크기가 각각 다르다(Fleckenstein, 1983). 특히 최근 칼슘길항제의 급속한 개발과 더불어 중요한 진전을 보인 것이 nifedipine으로부터 시작한 1, 4-DHP 칼슘길항제들이다.

1, 4-DHP 칼슘길항제는 그림 1에서 보는 바와 같이 기본적인 pyridine 핵의 1, 4번 위치에 2개의 수소이온을 갖는 물질들로서 불수용성이며 빛에 의하여 파괴되는 (photosensitive) 화합물이다. 임상적으로 이 계열에 속하는 칼슘길항제들은 다른 칼슘길항제들 보다 특이적인 혈관확장 효과(Fleckenstein-Grün et al., 1985)와 고혈압과 관련하여 나타나는 혈관의 칼슘과부하(Ca overload)를 줄이는 효과(Fleckenstein-Grün et al., 1985)가 현저하다. 즉 심장에서 보다 혈관에 더 선택적인 작용을 갖는다. 이들 물질의 심근에서의 작용은 타 칼슘길항제와 마찬가지로 완만성 Ca 내향전류를 억제하는 것인 바 Kohlhardt등(1972)은 Reuter와 Beeler(1969)에 의해 기술된 막전압조정법을 이용하여 심근에서 Na 전류와 Ca 전류를 분류하고 verapamil에 의하여 Ca 전류가 선택적으로 억제됨을 관찰하였으며 더우기 nifedipine (Kohlhardt and Fleckenstein, 1977)에 의하여서도 동일하게 Ca 전류가 억제되나 Na 전류에는 영향이 없음을 일찌기 규명하였다.

전기생리학적으로 칼슘길항제에 의한 완만성 Ca 내향전류의 억제를 간접적으로 증명하는 방법으로 완만성 Ca 내향전류에 의하여 매개되는 활동전압(Ca-dependent, slow channel mediated action potential 또는 Ca action potential)이 이용된다(Tritthart et al., 1973, 1974, 1976; Späh and Fleckenstein, 1980). Mascher와 Peper (1969, 1970)는 세포외액의 K 농도를 증가시킴으로써 심장세포를 탈분극시키고 Na 전류를 불활성화 시켰는바 Na 전류가 거의 완전히 불활성화 되는 K 농도인 19 mM(막전압 ; 약-50 mV)에서 발생하는 활동전압은 완만성 Ca 내향전류에 의한 것이다(Reuter, 1973). 따라서 완만성 Ca 내향전류를 억제하는 칼슘길항제의 칼슘활동전압에 미치는 효과는 단순히 세포외액의 칼슘을 빼 또는 낮춘 효과와 유사하게 되는 바 칼슘활동전압은 완만성 내향전류를 억제하는 약물들의 작용기전을 밝히는데 효율적으로 이용되어 왔다.

따라서 저자는 최근 전기생리학 분야의 급속한 발전과 더불어 심근의 수축이완이 지속되며 전 실험을 통하여 유리미세전극이 한 세포에서 계속 유지되는 안정된 실험조건에서 guinea pig의 유두근을 이용하여 정상활동전압과 칼슘활동전압을 기록하면서 1, 4-DHP 칼슘길항제의 대표적인 nifedipine, nisoldipine, nitrendipine, nimodipine을 택하여 이들 약물의 정상 활동전압 및 Ca 활동전압에 미치는 영향을 검토하므로써 이들 계열의 약물이 심근의 전기생리학적 특성에 미치는 영향과 아울러 구조적 공통성에 기인하는 특성도 검토하고자 하였다.

## 실 험 방 법

### 1. 일반적 처치

체중 200 gm 내외의 guinea pig을 암, 수 구별없이 실험동물로서 사용하였다. 후두부를 강타한 후 즉시 경부를 절개하여 내경동맥으로 실험시켜 즉시 케한 후 개흉하여 심장을 적출하였다.

100% O<sub>2</sub>로 평형시킨 tris-완충용액(표 1-A)이 들어 있는 준비용기(muscle preparation chamber)에 적출된 심장을 핀으로 고정시켰다. 심외막을 제거하고 우심실을 절개하여 유두근을 노출시킨 후 산

**Table 1.** Chemical composition of Tyrode solution for measurement of mechanoelectrical properties in guinea pig's papillary muscles (mM/l).

A. Tris-buffered Tyrode for muscle preparation, aerated with 100% O <sub>2</sub> at 22°C	
NaCl	158
KCl	4
CaCl <sub>2</sub>	2
MgCl <sub>2</sub>	1
Tris	5
Glucose	6
pH	7.35-7.40
B. Normal CO <sub>2</sub> -HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> buffered Tyrode for measurement of normal action potential and contraction, aerated with 3% CO <sub>2</sub> +97% O <sub>2</sub> at 30°C.	
NaCl	147
KCl	4
CaCl <sub>2</sub>	2
MgCl <sub>2</sub>	1
NaHCO <sub>3</sub>	11
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.42
Glucose	6
pH	7.35-7.40
C. High K, CO <sub>2</sub> -HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> buffered Tyrode for measurement of Ca-dependent, slow channel mediated action potential and contraction, aerated with 3% CO <sub>2</sub> +97% O <sub>2</sub> at 30°C.	
NaCl	132
KCl	19
Another compositions and pH are same as tyrode B.	

소를 공급하면서 1시간동안 회복시켰다. 유두근의 활동전압과 수축을 동시에 측정할 수 있도록 등장성 장력변환기 (type SS-201, Collins Co.)가 부착된 근육고정기에 유두근(직경 ; 0.3~0.5 mm, wet weight; 0.5~2 mg)의 양 끝을 실로 고정하고 다시 30분간 회복시켰다.

이상의 예비조작이 끝난 후 유두근을 수평형 실험용기 (organ bath 용량; 1 ml)에 옮겼다. 근육의 길이를 늘려 길이-장력 관계를 관찰하면서 최적길이를 결정하고 이 길이에서 30분 정도 회복시킨 후 실험하였다. 실험 용기를 관류하는 관류액(표 1-B)은

peristaltic pump와 온도 (30°C) 및 가스(3% CO<sub>2</sub>+97% O<sub>2</sub>) 평형을 위한 예비 유리병을 이용, 재순환계를 만들어 순환시켰는데 관류속도는 8 ml/min 이었다. 모든 실험에서 전기자극은 사각파(square wave), 자극의 크기는 역치자극의 2배, 30/min로 연속 자극하였다.

## 2. 유두근의 최대 수축억제 효과를 나타내는 약물의 농도 결정

등장성 장력변환기를 통하여 physiograph (Narco Biosystem, Four A)로 기록 측정하였다.

## 3. 정상활동전압의 측정

10 mega ohms 이하의 유리미세전극을 이용하여 활동전압을 측정하였다. 활동전압과 수축력의 감시 및 기록은 2대의 저장형 oscilloscope (Tetronix 5115)를 이용하였고 동시에 analog differentiator를 이용하여 전압변화율도 기록하였다. 약물은 미세전극이 안정되고 측정값이 일정해진 후 투여하였으며 모든 실험에서 약물 투여 전, 후 유리미세전극이 실험도중 이탈되지 않고 동일세포에서 계속 유지된 것을 실험값으로 하였다.

## 4. Ca-dependent, slow channel mediated 활동전압의 측정

정상활동전압의 측정과 비슷한 방법으로 하되 fast Na current가 불활성화 되며 slow Ca channel에 의하여 매개되는 활동전압이 발생하는 19 mM K 용액(표 1-C)에서 실험하였다. K 농도증가시 자극의 역치는 증가된다. 따라서 19 mM 용액에서 반응하는 증가된 역치자극을 다시 구하고 이 크기의 2배 자극을 30/min로 동일하게 연속 자극하였다.

이상의 실험 개요를 그림 2에 요약하였다. 본 실험에서 사용된 1, 4-dihydropyridine 계열의 칼슘길항제인 nifedipine, nimodipine, nisoldipine, nitrendipine은 Bayer사제로서 polyethylene glycol (PEG) 400에 녹여 실험하였는데 예비실험을 통하여 PEG가 유두근에 미치는 영향이 없는 한도를 택하였다.

## 1,4-DHP Ca-Antagonists

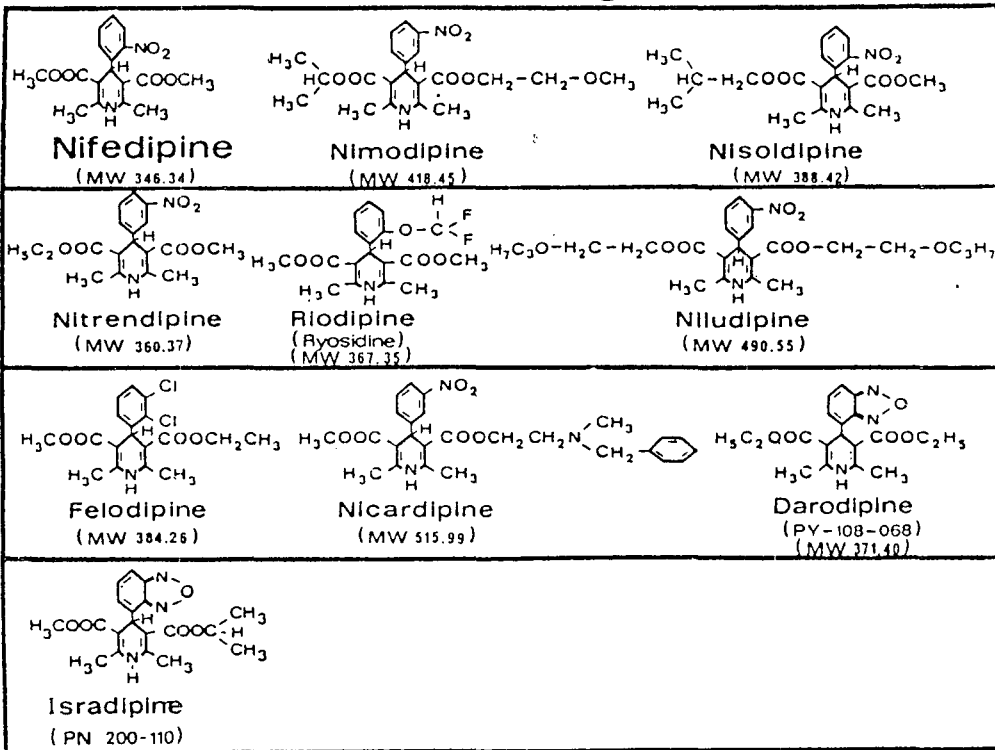


Fig. 1. Molecular structure of 1, 4-dihydropyridine calcium antagonists.

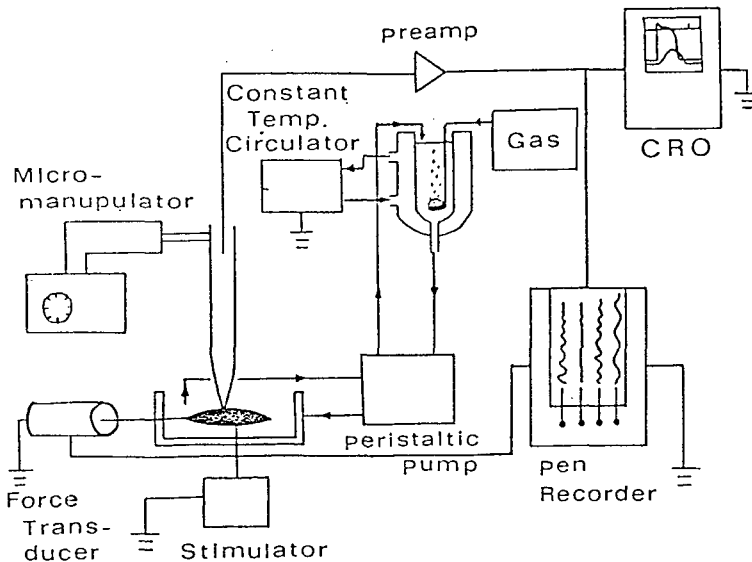


Fig. 2. Experimental set-up for measurement of electrical potential and contraction in the guinea pig's papillary muscle.

### Guinea-Pig Papillary Muscle

Stimulation: 30/min

Temperature: 30°C

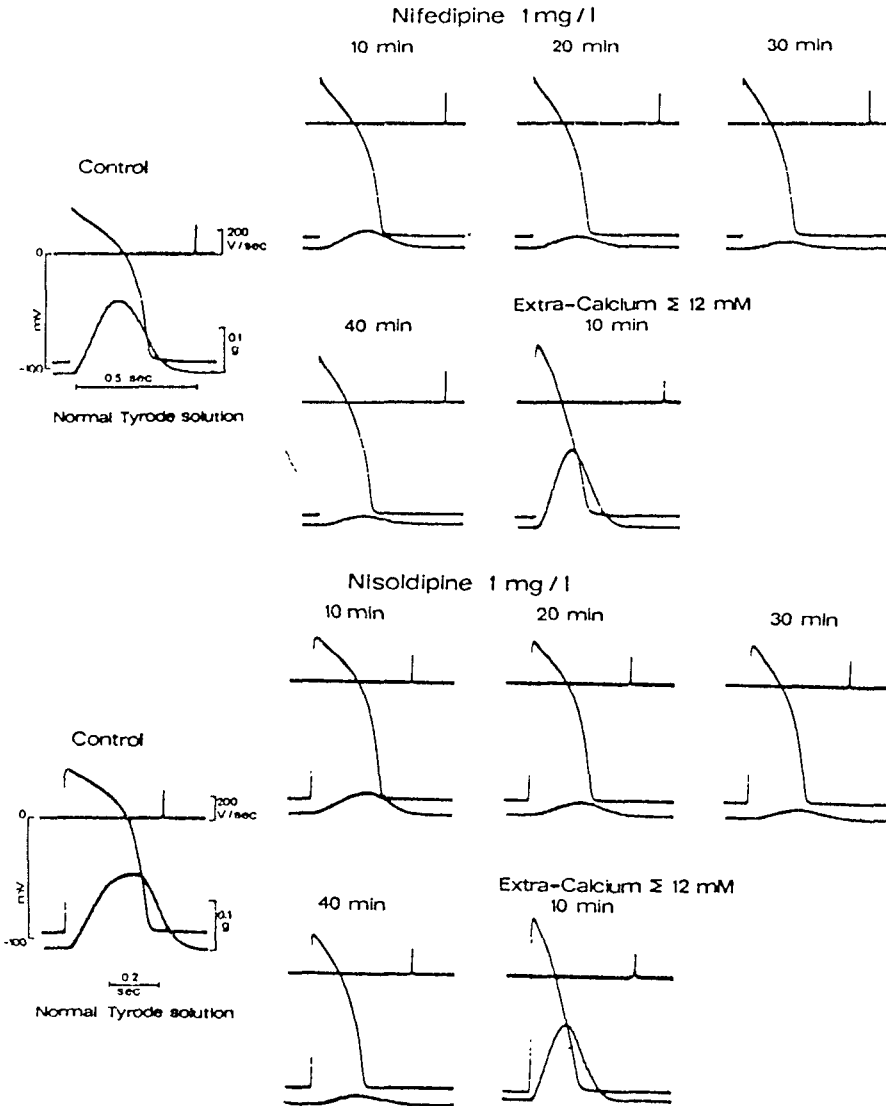


Fig. 3. Effects of 1, 4-dihydropyridine compounds on the normal action potential in the guinea pig's papillary muscle.

### 실 험 성 적

#### 1. 1, 4-DHP 칼슘길항제에 의한 유두근의 최대 수축 억제 농도

Guinea pig의 유두근을 30/min로 연속 자극하면

서 nifedipine, nisoldipine, nitrendipine, nimodipine의 최대 수축억제농도를 측정하였던 바 nifedipine과 nisoldipine의 경우 1 mg/l에서 nitrendipine과 nimodipine의 경우 2 mg/l의 농도에서 최대로 수축이 억제되었으며 억제정도는 전자의 경우 90%정도, 후자의 경우 80% 정도였다.

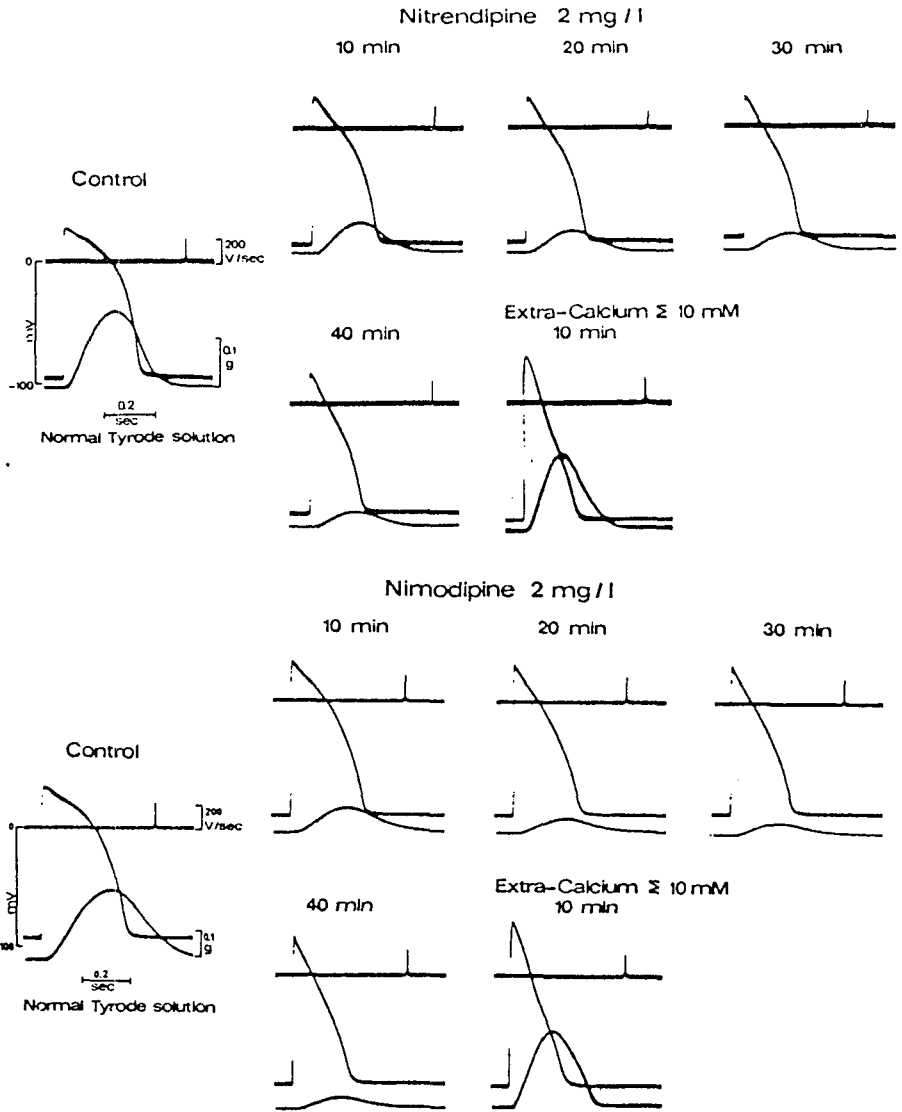


Fig. 3. Continued.

### 2. 1, 4-DHP 칼슘길항제가 정상활동전압에 미치는 영향

Nifedipine, nisoldipine, nitrendipine 및 nimodipine이 유두근의 수축을 최대로 억제하는 농도에서 이들 약물이 활동전압에 미치는 시간경과에 따른 영향을 그림 3에 도시하였으며 그림 3의 수축력 및 활동전압 개개의 변수들을 분석하고 이들의 성적을 대조치의 백분율로 환산하여 그림 4에 표시하였다.

그림 3에서 보는 바처럼 약물 투여전 활동전압의 안정막 전압은  $-85 \sim -90$  mV, 지나치기 전압은  $30 \sim 35$  mV 활동전압의 기간(90%)은  $300 \sim 400$  msec., (dV/dt) max.는  $200 \sim 250$  V/sec.였다. 약물 투여 후 수축력의 감소에 따른 활동전압의 변화양상은 네 가지 약물 모두에서 유사하였다. 즉 그림 3 및 4에서 보는 바처럼 네 가지 약물 투여 후 시간의 경과에 따라 서로 비슷한 정도로 활동전압의 기간이 단축되어 최대로 수축이 억제될 때(40분) 50% 및 90% 활동전

Normal Tyrode Solution

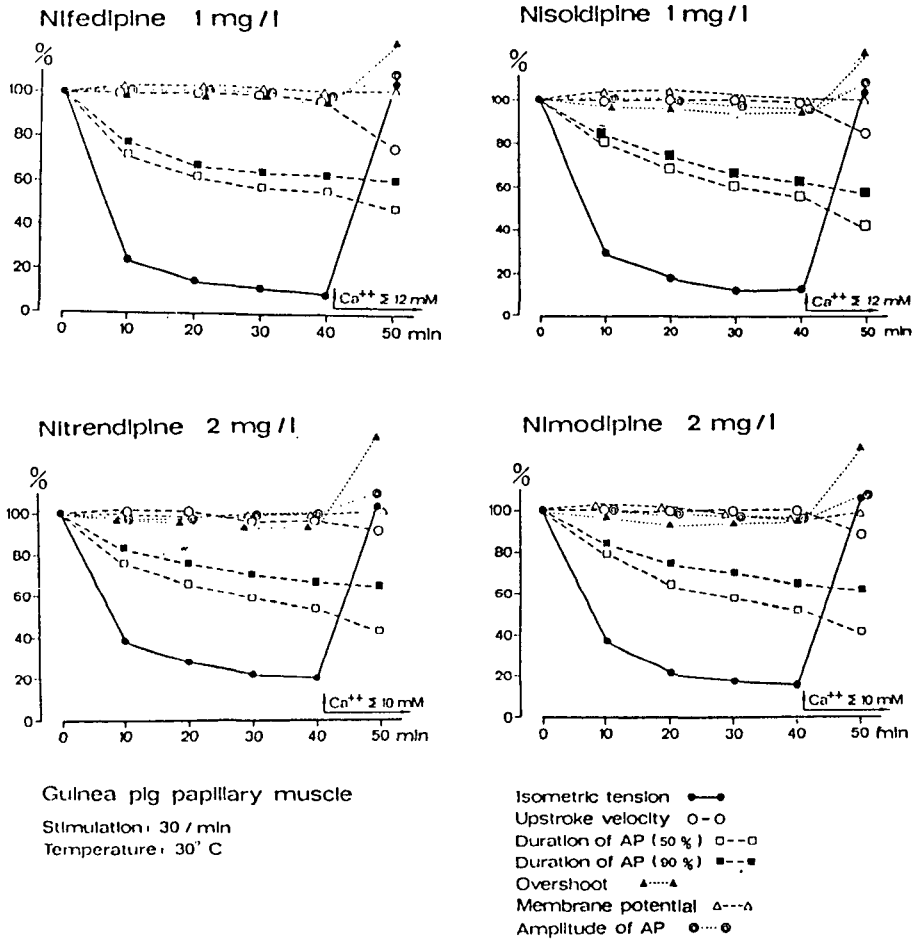


Fig. 4. Graphic evaluation of each parameters of normal action potentials from figure 3.

압의 기간은 30~40% 감소되었다. 그러나 다른 변수들 즉 안정막전압, 지나치기전압, (dV/dt) max.는 영향이 없었고 또한 활동전압의 변화모양도 아주 유사하였다. Nifedipine과 nisoldipine 1 mg/l에 의한 수축억제는 extra-Ca 10 mM/l에 의하여 대조치의 수축고로 환원되었으며 nitrendipine과 nimodipine 2 mg/l의 경우, extra Ca 8 mM/l에 의하여 대조치의 수축고로 환원되었다. 그러나 활동전압 개개의 변수들은 extra Ca에 의하여 원상태로 환원되지 않았다. 즉 활동전압의 기간은 더욱 단축되었으며, 대조치보다 지나치기 전압과 활동전압의 크기는 증가하였고 (dV/dt) max.는 감소하였으며 안정막전압은

변화가 없었다. 이러한 변화와 extra Ca에 의한 활동전압의 모양의 변화는 네 가지 약물 모두 동일하였다.

3. 1, 4-DHP 칼슘길항제가 Ca-dependent, slow channel mediated 활동전압(칼슘활동전압)에 미치는 영향

Nifedipine, nisoldipine, nitrendipine 및 nimodipine이 유두근의 수축을 최대로 억제하는 절반농도에서 이들 약물이 Ca 활동전압에 미치는 시간경과에 따른 영향을 그림 5에 도시하였으며 그림 5의 수축력 및 칼슘활동전압 개개의 변수들의 성적을 분

Guinea-Pig Papillary Muscle

Stimulation: 30/min  
Temperature: 30°C

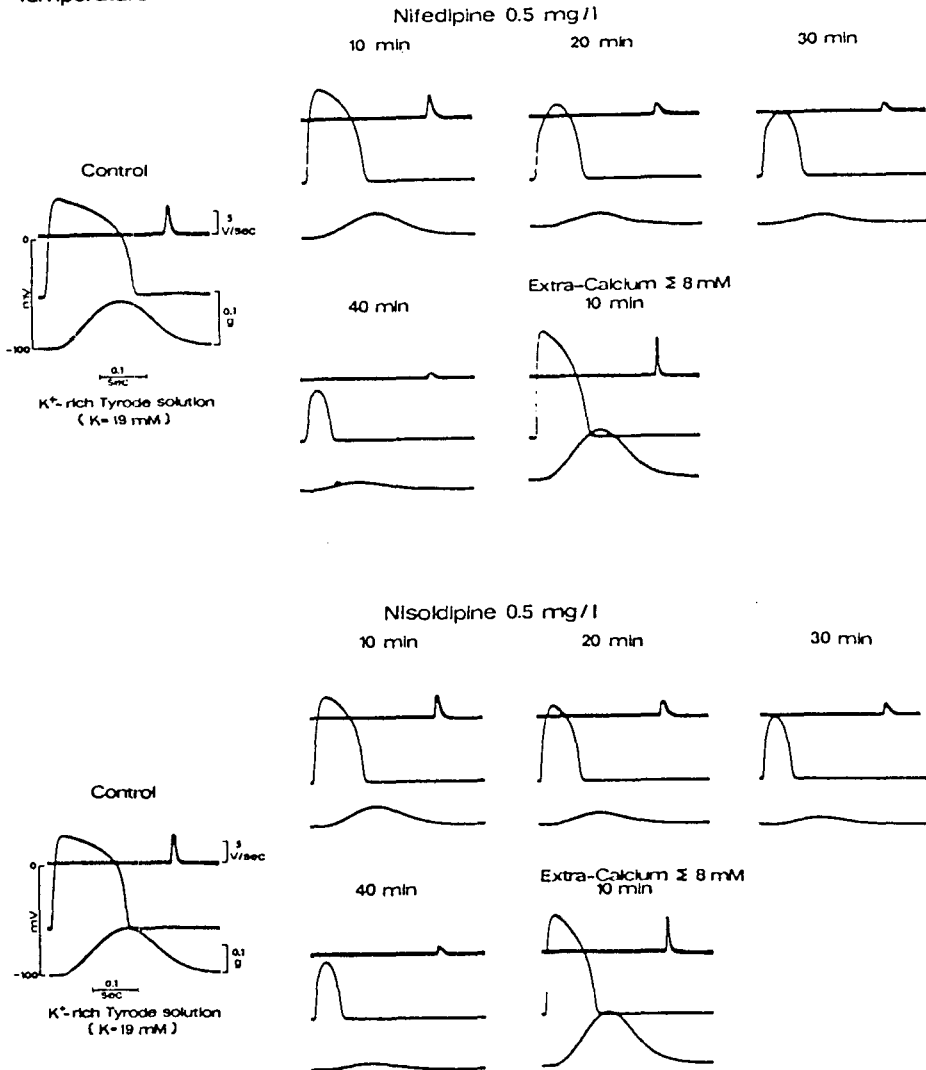


Fig. 5. Effects of 1, 4-dihydropyridine compounds on the Ca-dependent, slow channel mediated action potential in the guinea pig's papillary muscle.

석하고 이들의 성적을 대조치에 대한 백분율로 환산하여 그림 6에 표시하였다. 그림 5에서 보는 바와 같이 약물 투여 전 칼슘활동전압의 안정막 전압은  $-50 \sim -45$  mV, 기간(90%)은 150~200 msec., (dV/dt) max.는 5 V/sec.였다. 약물 투여 후 수축(진폭 및 면적)의 감소에 따른 칼슘활동전압의 변화는 네 가지 약물 모두에서 유사하였다. 즉 그림 5 및

그림 6에서 보는 바처럼 네 가지 약물 모두에서 약물 투여 후 시간의 경과에 따라 서로 비슷하게 칼슘활동전압의 면적, 기간 과 (dV/dt) max.가 서로 비슷한 정도로 감소하였으나 안정막 전압에는 변화가 없었고 또한 칼슘활동전압의 모양의 변화도 유사하였다. Nifedipine과 nisoldipine 0.5 mg/l에 의한 수축억제는 extra Ca 6 mM/l에 의하여 대조치의 수축



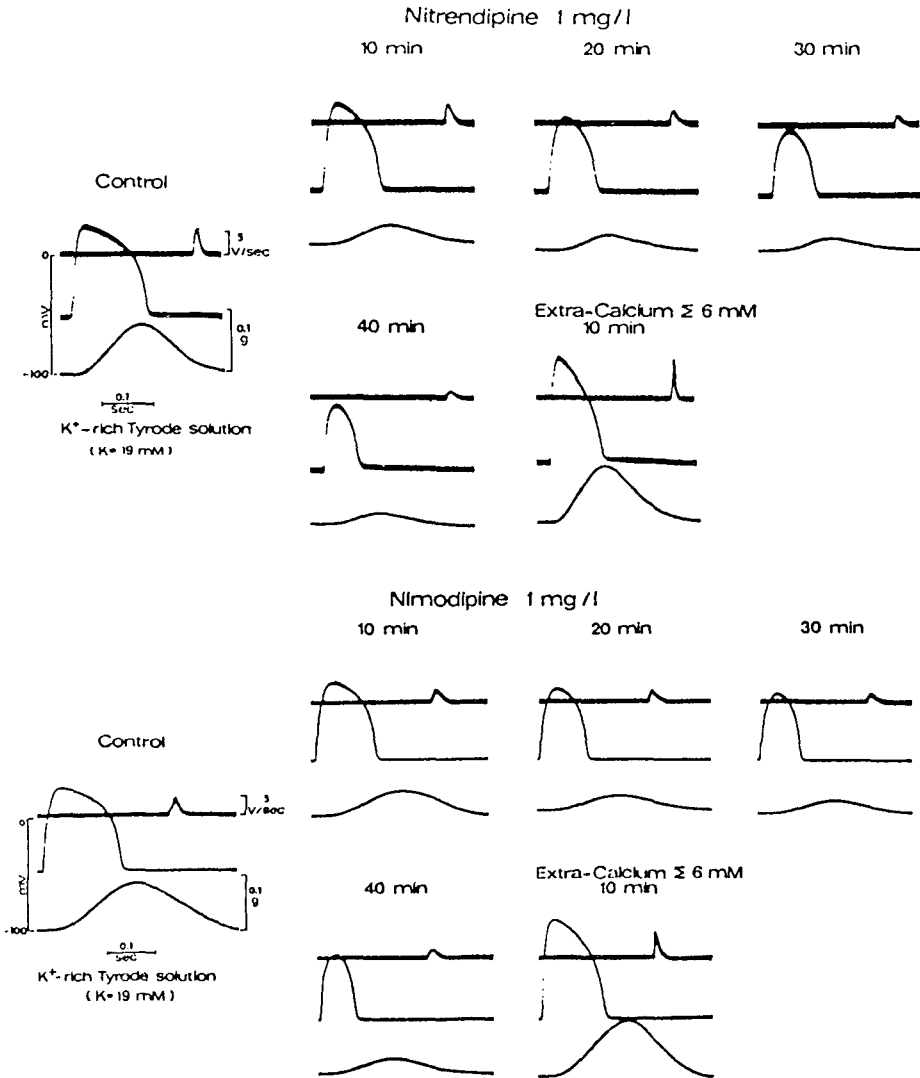


Fig. 5. Continued.

고로 환원되었으며 nitrendipine과 nimodipine 1 mM/l의 경우에는 extra Ca 4 mM/l에 의하여 대조치의 수축고로 환원되었다. 그러나 칼슘활동전압 개개의 변수들은 extra Ca에 의하여 원상태로 환원되지 않았다. 즉 대조치보다 수축의 면적, 칼슘활동전압의 면적, 기간은 감소하였으며 (dV/dt) max.는 오히려 증가하였다. 이러한 변화와 extra Ca에 의한 활동전압의 모양의 변화는 네 가지 약물 모두 동일하였다.

## 고 찰

칼슘길항제는 심근에 있어 Ca 전류 뿐 아니라 Na 전류도 억제하는 것이었다. Fleckenstein은 칼슘길항제 중 Na 전류에는 영향을 주지 않고 Ca 전류만을 선택적으로 억제 (90~100%) 하는 물질들을 칼슘길항제 A 군으로, Ca 전류를 억제 (50~70%) 하며 동시에 Na 전류도 억제하는 물질을 칼슘길항제 B

$K^+$ -rich Tyrode Solution,  $K = 19 \text{ mM}$

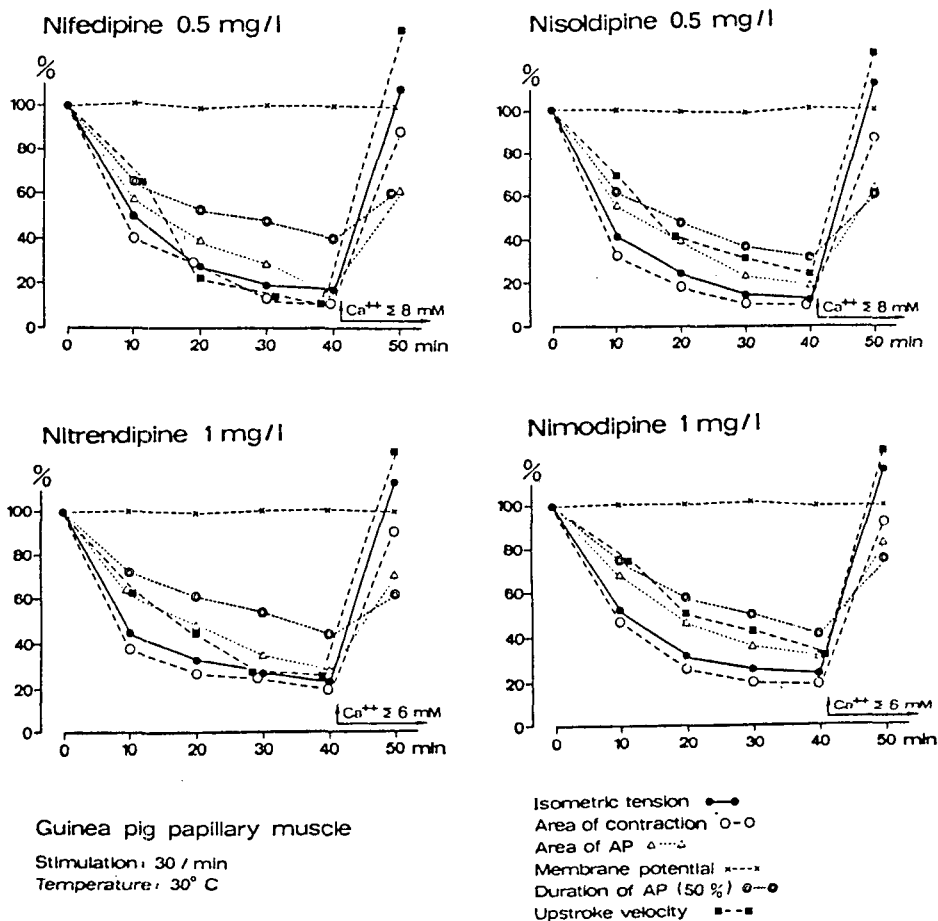


Fig. 6. Graphic evaluation of each parameters of calcium dependent, slow channel mediated action potentials from figure 5.

군으로 분류하였다(Fleckenstein, 1983). 모든 1, 4-DHP 칼슘길항제는 뛰어난 Ca 전류 억제작용을 나타내며 Na 전류에는 영향을 주지 않는 A 군에 속한다(Fleckenstein, 1983). 따라서 본 연구에서 정상 활동전압의 upstroke velocity ((dV/dt) max.) 및 지나치기전압은 Na 전류의 지표로서 1, 4-DHP 칼슘길항제들에 의하여 영향을 받지 않았으며 칼슘활동전압의 경우 (dV/dt) max.는 Na 전류의 지표가 아니라 Ca 전류의 지표인 바 모두 1, 4-DHP 칼슘길항제에 의하여 감소하였다.

본 연구에서 1, 4-DHP 칼슘길항제에 의한 정상활

동전압에 미치는 영향 중 가장 뚜렷한 것은 네 가지 약물 모두에서 활동전압 기간의 단축이었으며 네 가지 물질 상호간에 차이는 없었다. 활동전압의 기간과 수축력 사이에는 역비례의 관계가 성립되어 수축력의 증가시 활동전압의 기간은 단축되는 경우가 많이 관찰된다(Allen, 1977; Boyett, 1978; Boyett and Jewell, 1978). 이를 설명하는 기전으로 수축력의 증감은 세포내 Ca농도( $[Ca]_i$ )에 좌우되며 동시에 활동전압기간도  $[Ca]_i$ 에 좌우되는데 이는  $[Ca]_i$ 가 증가시 즉 수축력의 증가시 세포 자체의 되먹이기 기전에 의하여 Ca전류(Isi)가 억제되고 K 전류(IK)를

증가시켜 재분극이 촉진되어 Ca 유입을 억제하는 효과가 발생되며 이러한 이유 때문에 활동전압의 기간이 단축된다(Allen, 1977). 따라서 활동전압의 기간은 주로 Isi와 IK에 좌우되며 본 실험에서 1, 4-DHP 칼슘길항제에 의한 활동전압 기간의 단축은 칼슘길항제에 의한 Isi 감소에 기인하는 것이며 extra Ca에 대한 활동전압의 감소도 동일한 기전으로 풀이된다.

Na 전류를 없앤 19 mM K Tyrode 용액에서 형성되는 칼슘활동전압은 Isi에 의하여 중재된다(Rutter, 1973). Tritthart등(1973, 1974, 1976)은 칼슘활동전압에 대한 칼슘길항제의 작용은 단순히 세포외액의 Ca( $[Ca]_e$ )를 줄인 효과와 유사하고 칼슘길항제에 의한 수축력의 감소와 더불어 (dV/dt) max.의 감소, 칼슘활동전압기간의 단축, 지나치기전압의 감소와는 직선적인 상관성이 있으며 또한 수축의 면적과 칼슘활동전압의 면적간에도 직선적인 상관성이 있다고 하였다. 따라서 수축력을  $[Ca]_i$ 로 간주할 때 Ca 활동전압의 면적, (dV/dt) max., 기간, 지나치기전압은 Isi의 간접적인 지표로 간주될 수 있는 바 Tritthart등(1973)은 verapamil과 D<sub>600</sub>에서, Kohlhardt와 Fleckenstein(1977)은 nifedipine에서, Späh와 Fleckenstein(1980)은 nifedipine, D<sub>600</sub>, verapamil, diltiazem, perhexilline malate, fendiline에서 Isi의 감소를 간접적으로 증명하였다. 본 연구에서 1, 4-DHP 칼슘길항제들도 다른 칼슘길항제들과 마찬가지로 수축의 감소(높이 및 면적)에 따라 칼슘활동전압의 면적, (dV/dt) max., 기간을 감소시켰으며 약물들 간에 유의한 차는 없었다.

이상에서처럼 1, 4-DHP 칼슘길항제에 속하는 nifedipine, nisoldipine, nitrendipine, nimodipine은 정상 활동전압에서 Na 전류에는 영향을 주지 않으며 수축력의 감소와 더불어 Isi를 감소시켜 활동전압의 기간을 단축시키고 동시에 칼슘활동전압의 면적, (dV/dt) max., 기간을 단축시키는 것으로 사료되며 4 가지 물질간에 뚜렷한 차가 없는 것은 구조적 공통성에 기인하는 성상으로 생각된다.

## 결 론

1, 4-Dihydropyridine 칼슘길항제인 nifedipine,

nisoldipine, nitrendipine과 nimodipine을 택하여 이들 칼슘길항제가 심장유두근의 정상활동전압 및 Ca-dependent, slow-channel mediated action potential에 미치는 영향을 검토하였다. 유리미세전극을 이용하여 guinea pig의 유두근에서 수축력의 측정과 함께 전압변화를 측정하였다. 정상활동전압에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 칼슘길항제의 농도는 유두근의 수축이 최대(90% 이상) 억제되는 농도에서, 칼슘활동전압에 미치는 영향을 관찰하기 위하여는 정상 Tyrode 용액에서 최대 수축억제를 나타내는 절반 농도를 택하여 실험하였으며 측정은 약물 투여 전, 후 유리미세전극이 이탈되지 않고 동일한 세포에 계속 유지된 것을 측정치로 하였다. 얻어진 결과는 다음과 같다.

1) Nifedipine과 nisoldipine의 수축력 최대 억제 효과를 나타내는 농도는 1 mg/l이었으며 nitrendipine과 nimodipine은 2 mg/l였다.

2) 1, 4-DHP 칼슘길항제들은 수축력의 감소에 비례하여 정상활동전압의 기간을 현저히 단축시켰으나 안정막전압, 지나치기전압, (dV/dt) max.에는 영향이 없었다.

3) 1, 4-DHP 칼슘길항제들은 수축의 높이, 수축 면적의 감소에 비례하여 칼슘활동전압의 면적, 기간 및 (dV/dt) max.를 감소시켰다.

4) 1, 4-DHP 칼슘길항제들의 정상활동전압 및 Ca 활동전압에 미치는 영향은 공통적이었으며 약물간의 차이는 없었다.

이상의 성적으로 보아 1, 4-DHP 칼슘길항제는 Na 전류에 영향을 미치지 않고 완만성 Ca 내향전류를 억제하여 정상활동전압 및 칼슘 활동전압에 영향을 미치며 약물간 유의한 차가 없음을 구조적 공통성에 기인하는 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- Allen DG (1977). On the relationship between action potential duration and tension in cat papillary muscle. *Cardiovasc Res* 11, 210-218
- Boyett MR (1978). An analysis of the effect of the rate of stimulation and adrenaline on the duration of the cardiac action potential. *Fluegers Arch Ges Physiol* 377, 155-166

- Boyett MR (1978). A study of the factors responsible for rate-dependent shortening of the action potential in mammalian ventricular muscle. *J Physiol* 285, 359-380
- Fleckenstein A (1964). Die Bedeutung der energiereichen Phosphate für Kontraktibilität und Tonus des Myokards. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 70, 81-99
- Fleckenstein A (1977). Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pace maker, and vascular smooth muscle. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 17, 149-166
- Fleckenstein A (1981). Fundamental actions of calcium antagonists on myocardial and cardiac pace maker cell membranes. In: Weiss GB (ed). *New Perspective on Calcium Antagonists*. Clin Physiol series, Am Physiol Soc, Bethesda, p 59-81
- Fleckenstein A (1983). *Calcium antagonism in heart and smooth muscle-Experimental facts and therapeutic prospects*. John Wiley, New York, p 38-39
- Fleckenstein A (1983). *Calcium antagonism in heart and smooth muscle-Experimental facts and therapeutic prospects*. John Wiley, New York, p 268-290
- Fleckenstein A & Fleckenstein-Grün G (1980). Cardiovascular protection by calcium antagonists. *Europ Heart J* 1 (suppl B), 15-21
- Fleckenstein A, Tritthart H, Fleckenstein B, Herbst A & Grün G (1969). A new group of competitive Ca-antagonist (Iproveratril, D<sub>600</sub>, Prenylamine) with highly potent inhibitory effects on excitation-contraction coupling in mammalian myocardium. *Pflugers Arch Ges Physiol* 307, R25
- Fleckenstein-Grün G, Frey M, Makida Y & Byon YK (1985). New pharmacological aspect of various dihydropyridine calcium antagonists with regard to smooth muscle relaxation. In: Litchen PR (ed). *Recent aspect in calcium antagonism*. Symposium during the IX th Europ Congress of cardiology, Dusseldorf, July, 1984, Schattauer, Stuttgart-New York, p29-47
- Kohlhardt M, Bauer B, Krause H & Fleckenstein A (1972). Differentiation of the transmembrane Na and Ca channel in mammalian cardiac fibers by the use of specific inhibitors. *Pflugers Arch* 335, 309-332
- Kohlhardt M & Fleckenstein A (1977). Inhibition of the slow inward current by nifedipine in mammalian ventricular myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 298, 267-272
- Mascher D (1970). Electrical and mechanical responses from ventricular muscle fiber after inactivation of the sodium carrying system. *Pflugers Arch Ges Physiol* 317, 359-372
- Mascher D & Peper K (1969). Two components of inward current in myocardial muscle fibers *Pflugers Arch Ges Physiol* 307, 190-203
- Reuter H (1973). Divalent cations as charge carriers in excitable membrane. *Prog Biophys Molec Biol* 26, 1-43
- Reuter H & Beeler GW (1969). Calcium current and activation of contraction in ventricular myocardium. *Science* 162, 399-401
- Späh F & Fleckenstein A (1980). Nachweis einer strengen quantitative Korrelation zwischen Hemmung des transmembran Calcium-Influx und der mechanischen Spannungsentwicklung des Myocards unter den Einfluss verschiedener Calcium-Antagonisten. In: Fleckenstein A and Roskamm H (ed). *Calcium Antagonismus*. Proceedings of an international symposium 1978 in Frankfurt, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, p 24-41
- Tritthart H, Volkmann R, Weiss R & Eibach H (1976). The interrelationship of calcium mediated action potential and tension development in cat ventricular myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 8, 249-261
- Tritthart H, Volkmann R, Weiss R & Fleckenstein A (1973). Calcium-mediated action potentials in mammalian myocardium. Alteration of membrane responses as induced by changes of Ca or by promoters and inhibitors of transmembrane Ca inflow. *Naunyn-schmiedebergs Arch Exper Path Pharmacol* 280, 239-252
- Tritthart H, Weiss R, Volkmann R & Späh F (1974). The effects of cardiac glycosides on Ca-mediated action potentials in the mammalian myocardium. *Naunyn-schmiedebergs Arch Exper Path Pharmacol* 282, R 99