

BR-900317의 *In vivo*에 있어서 Angiotensin 변환효소 저해작용 및 고혈압 model rat (SHR, RHR)에 있어 단회 경구투여에 의한 강압작용

장경진* · 김지한 · 백우현

보령제약 중앙연구소

Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity of BR-900317 *in vivo*, and Antihypertensive Effect of its Single Oral Administration on Blood Pressure and Effect on the Renin-angiotensin System in Hypertensive Model Rats (SHR, RHR)

Kyung Jin JANG*, Ji Han KIM and Woo Hyun PAIK

Boryung Pharmaceutical Central Research Laboratories,
689 Kumjeong-Dong, Kunpo-Si, Kyunggi-Do, Korea.

(Received August 3, 1993; accepted October 4, 1993)

Abstract—Effect of BR-900317 on the angiotensin I-induced pressor response in pithed rats and the effects of its single oral administration on plasma angiotensin converting enzyme (ACE) activities in normotensive rats and on the cardiovascular system in hypertensive model rats (SHR, RHR), were compared with those of captopril. BR-900317 attenuated the angiotensin I-induced pressor effects in pithed rats. In a single oral dose administration study, BR-900317 inhibited the plasma ACE activities in a dose-dependent fashion. Duration of the action of BR-900317 was similar to that of captopril. BR-900317 produced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats and dose-dependent antihypertensive effect in 2-kidney Goldblatt hypertensive rats without affecting heart rate. These results suggest that the main mechanism of the antihypertensive effect of BR-900317 is the suppression of angiotensin II production due to the inhibition of the ACE.

Keywords □ angiotensin I-induced pressor response, pithed rat, renin-angiotensin system, oral administration, SHR, 2-kidney Goldblatt hypertensive rat (RHR), ACE (Angiotensin Converting Enzyme).

1960년대 Ferreira(1965)는 *Bothrops jararaca*라는 뱀의 독으로부터 bradykinin potentiating factors(BPFs)라는 bradykinin의 반응을 증강시키는 인자를 발견하여, Bokle(1968)은 이것이 bradykinin의 분해 및 불활성화를 촉매하는 효소(현재 kininase II로 알려져 있음)를 저해한다는 것을 밝혀냈다. 그 후 Erdös 등(1971)은 angiotensin 변환효소인 angiotensin converting enzyme(ACE)과 kininase II는 동일물질로 같은 효소 peptidyl peptidase(dipeptidylcarboxypeptidase, EC 3.4.15.1)인 것으로 밝혔다.

즉 하나의 효소가 강력한 체내 승압물질인 angiotensin II의 합성과 강력한 혈관확장 물질인 bradykinin의 분해를 촉매한다. Schaeffer 등(1971)은 BPFs의 발견에 뒤이어 nonapeptide인 teprotide(BPF_{9α})를 합성하여, 이것이 본태성 고혈압 환자에 있어 혈압을 강하게 떨어뜨린다는 것을 밝혔다. 그러나 teprotide는 심부전 환자에 있어서도 양호한 효과를 나타내었지만, peptide이기 때문에 경구투여에 문제가 발생하였다. 그 후 기질에 대한 변환효소 작용의 추정과 변환효소와 carboxypeptidase A와의 유의성 및 carboxypeptidase A에 대한 기질의 저해약인 D-benzylsuccinic acid와의 관계연구, 또한 C

* To whom correspondence should be addressed.

말단의 proline이 ACE 활성저해에 중요하다는 사실 등에 의해, Ondetti 등(1977)은 최초의 경구투여 가능한 ACE 저해제인 captopril을 개발하였다. 그 후 변환효소의 활성부위, 그 중에서도 Zn^{2+} 와 결합할 수 있는 새로운 화학기를 갖는 Enalapril이 개발되었으며, 고혈압에 관한 미국 합동위원회(1988)에서는 ACE 저해제를 고혈압 치료제의 first choice로 인정하게 되었다. ACE 저해제는 아직까지도 수많은 화합물이 개발 중(Imidapril, Trandolapril, CS-622, Temocapril, CV-3317 등)에 있지만 어떤 것은 captopril과 같은 활성체로, 어떤 것은 prodrug type로 화학구조는 극히 다양하다. 이에 본 연구자들은 BR-900317, 즉 N-[D-3-(1-Benzoyl-1-ethoxycarbonyl-methylthio)-2-methylpropanoyl]-L-proline을 합성하여, *in vivo*에 있어 angiotensin 변환효소 저해작용 및 고혈압 model rat(SHR, RHR)에서의 항고혈압 작용을 기지의 ACE 저해제인 captopril과 비교하여 검토한 것을 본 물질의 항고혈압 작용에 대한 기초자료로 삼고자 하였다.

실험방법

사용약물

Angiotensin I(Lot No. 59F58301)과 angiotensin II(Lot No. 32H58131)는 sigma사로부터 구입하였고, hippuryl-L-histidyl-L-leucine(Lot No. WDL1836)은 和光純藥사로부터, hydralazine(Lot No. 77F-0136)은 sigma사로부터 각각 구입하였다. 대조약물인 captopril(Lot No. 248-2-002-00)은 보령제약 주식회사의 것을 사용하였다. 각 약물은 생리식염수에 용해하였고, 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine은 반응용 완충액에 용해하였다. 경구투여의 경우에는 각 약물을 5% arabic gum액에 용해하여 0.5 ml/100 g의 비율로 경구투여 하였다. 대조군에는 매 체단(5% arabic gum액 : 0.5 ml/100 g)을 경구투여 하였다.

Angiotensin 변환효소 저해작용의 검토

척수파괴 rat(pithed rat) 정맥내 투여 : 웅성 Wistar-SLC rat(체중 300~350 g)를 sodium pentobarbital(30 mg/kg, i. p.)로 마취시켜 polyethylene tube를 좌측경동맥에 삽입하였다. 동맥에 삽입한 tube를 transducer(Sanei-HORIZ-8K, Sanei Instrument Ltd.)에 접속하여 동맥압을 연속적으로 측정하였고, rat에는 기관 cannula를 통해 호흡 pump(Harvard Rodent Ventilator Model 683)로 인공호흡을 행하였다. 그 후 rat의 척수를 파괴하였다. 척수파괴된 rat의 혈압은 낮았지만, 대단히 인정하였으며 반사성 혈압변화의 복잡한 영향을 받지않았다. 전체의 약물은 cannula를 삽입한 좌대퇴정맥을 통해 투여하였다.

경구투여 : 웅성 Wistar-SLC rat(체중 180~250 g)를 사용하여 각군은 4마리씩 하였으며, 약물은 각 용량별로 5분 간격으로 rat에 경구투여하여 2, 4, 8시간 경과 후 시간별로 ether 마취하여 rat의 복부를 개복한 후, 복부

대정맥으로부터 4 ml 정도 채혈하였다. 채혈한 혈액은 원심분리(3000 rpm, 15분간, 4°C)하여 혈청을 얻은 후, 얻어진 혈청은 측정시까지 -40°C에 동결보존하였다. angiotensin 변환효소 활성측정은 혈청 0.05 ml와 기질액(hippuryl-L-histidyl-L-leucine, 7 mM) 0.45 ml를 혼합하여, 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 0.5 ml를 첨가하여 반응을 정지시켰다. ethylacetate 3 ml를 첨가하여 30초간 강하게 교반한 후 원심분리하여 기질로부터 유리된 hippuric acid가 용해되어 있는 ethylacetate를 2 ml 취하여 centrifugal freeze dryer(EYELA)에서 ethyl acetate를 완전히 증발시켰다. 잔고물은 4 ml 증류수에 용해하여 흡광광도계(UVIDEC-340, JAS)를 이용하여 228 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

고혈압 model rat에 있어 단회 경구투여에 의한 감압작용

선천성 고혈압 rat(SHR) : 실험에 사용한 SHR은 일본 CRJ(Charles River Japan)에서 13주령의 웅성 SHR(체중 250~310 g)를 구입하였으며, 각 군은 5~6마리씩 하여 아래와 같이 약물을 각각의 용량으로 단회 경구 투여하여 투여 전, 투여 후 2, 4, 8시간의 혈압, 심박수를 측정하였다.

대조군 : 5% arabic gum액 5 ml/kg, BR-900317군 : 100 mg/kg, captopril군 : 100 mg/kg, hydralazine군 : 30 mg/kg.

혈압은 tail-cuff법에 의해 rat를 37°C의 incubator에서 약 20분간 가온 후, rat 꼬리에 압박대와 혈류검출기를 장착하여 실험에 앞서 rat를 2~3회 혈압측정에 대비한 훈련을 하였다. 꼬리 동맥 수축기 혈압은 비관혈식 혈압 측정장치(Narco Bio-System)를 이용하여 측정하였다. rat가 되도록이면 정지상태에 있을 때의 혈압을 통상 5~6회 반복 측정하여 그 평균치를 수축기 혈압으로 하였다. 심박수는 수축기 혈압측정시 맥파의 궤적으로부터 산출하여 5~6회의 측정 평균으로부터 구하였다.

2신성 Goldblatt형 고혈압 rat(RHR) : Ether 마취하에서 웅성 Wistar-SLC rat(체중 160~200 g)의 좌측복부를 절개하여 신장을 꺼낸 후 0.2 mm의 은제 clip을 좌신동맥사이에 협착하였다. 반대측의 신장 및 신동맥은 무처리하였다. 8주 후에 비관혈식 혈압측정장치(Narco Bio-System)를 이용하여 tail-cuff법에 의해 수축기 혈압을 측정하여 160 mmHg 이상의 rat을 선별하여 실험에 이용하였다. 각 군은 1군 5~6마리로 하여 아래와 같은 용량으로 단회경구투여하여 SHR의 경우와 똑같이 투여 전, 투여 후 2, 4, 8시간의 혈압, 심박수를 측정하였다.

대조군 : 5% arabic gum액 5 ml/kg, BR-900317군 : 10, 30, 100 mg/kg, captopril군 : 10, 30, 100 mg/kg, hydralazine군 : 30 mg/kg.

정상혈압 rat와 고혈압 rat(SHR, RHR)의 비교

정상혈압 rat와 고혈압 rat의 체중을 각각 평량하여 복부를 절개한 후, 좌신장, 우신장, 좌심실, 우심실을 꺼

내어 무게를 평량하였다. 시험결과의 통계학적 해석은 α 값 0.05에서 유의할 경우 Dunnett's test를 이용하여 군간 유의차를 검정하였다.

실험결과

Angiotensin 변환효소 저해작용의 검토

척수파괴 rat(pithed rat) 정맥내 투여 : 척수파괴 rat에서의 angiotensin I과 II의 정맥내 투여량은 Fig. 1과 같이 0.1 μ g/kg으로부터 10.0 μ g/kg로 용량의존적으로 혈압상승작용이 나타났으며, 약 60 mmHg의 혈압상승을 나타내는 angiotensin I 1 μ g/kg을 투여용량으로 결정하

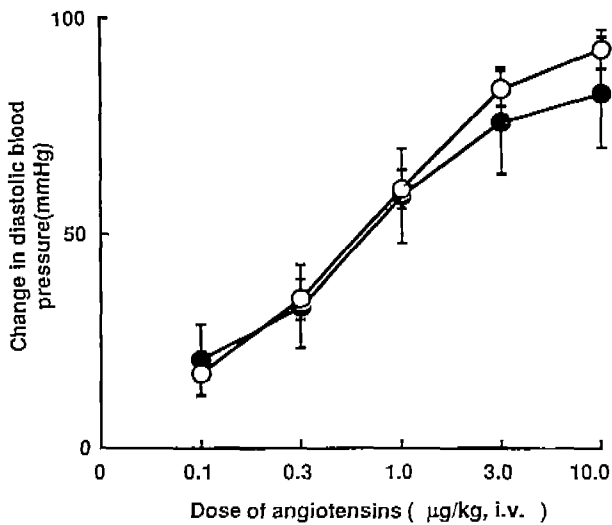


Fig. 1. Pressor responses to angiotensin I and II by their increasing doses in pithed rats. Values are mean \pm SE, n=4, -○- : Angiotensin I, -●- : Angiotensin II.

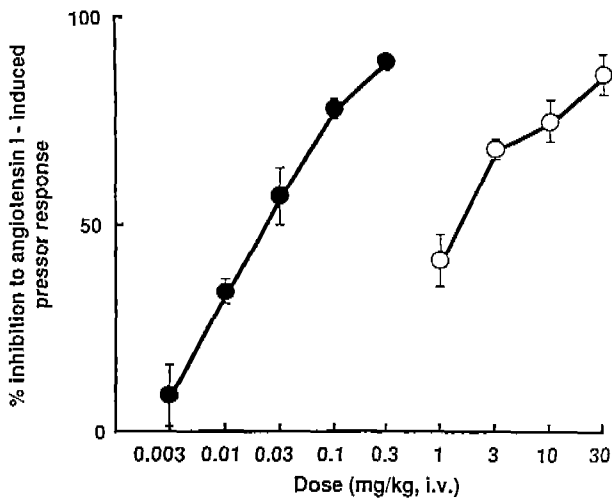


Fig. 2. Effect of BR-900317 and captopril on the angiotensin I-induced pressor response in pithed rats. Values are mean \pm SE, n=4, -●- : captopril, -○- : BR-900317.

였다. BR-900317 및 captopril의 정맥내 투여 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 BR-900317 및 captopril은 angiotensin I 정맥내 투여에 의한 승압작용을 용량의존적으로 억제하였으며, angiotensin I의 승압작용을 50% 저해하는 농도(IC₅₀)는 각각 BR-900317은 1.4 mg/kg, captopril은 0.023 mg/kg이었다.

경구투여 : 정상혈압 rat에 용량별 단회경구투여 하였을 때의 혈장의 ACE 활성저해를 Fig. 3에 나타내었다. 결과로서 BR-900317 및 captopril은 투여 2시간에서는 용량의존적으로 혈장 ACE에 대해 강한 저해활성을 나타내었으며, 4시간에서의 각 용량별 저해활성은 BR-900317이 captopril보다 강하게 나타났다. 그러나 양 ACE 저해제는 8시간에서는 혈장 ACE에 대한 저해작용이 거의 소실되었다. 이러한 결과로부터 BR-900317은 경구투여에 있어서도 효과가 있음을 알 수 있었으며 captopril과 동 정도의 활성 및 작용 지속시간을 나타내었다.

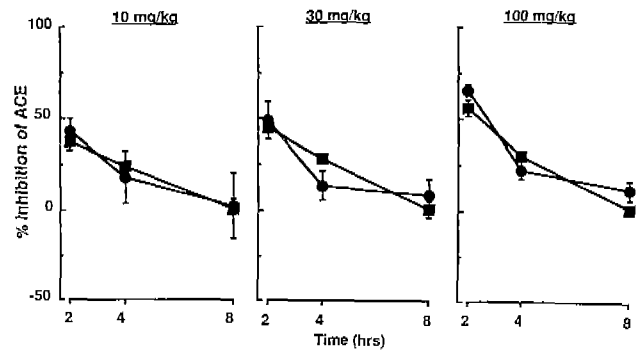


Fig. 3. Plasma angiotensin converting enzyme activities in normotensive rats after a single oral administration of BR-900317 and captopril. Values are mean \pm SE, n=4, -●- : captopril, -■- : BR-900317.

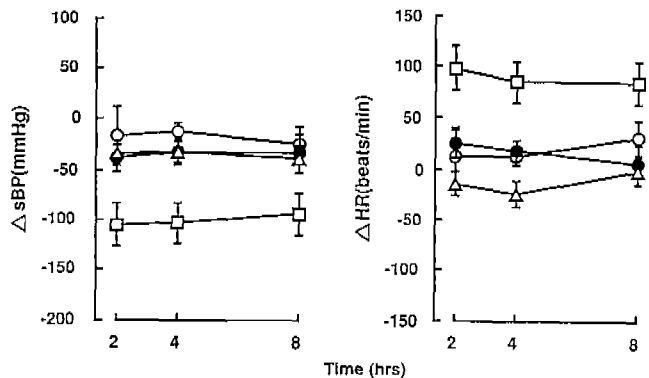


Fig. 4. Effects of BR-900317, captopril and hydralazine by single oral administration on systolic blood pressure and heart rate in spontaneously hypertensive rats. Values are mean \pm SE, n=5~6, -○- : control, -●- : captopril (100 mg/kg), -△- : BR-900317 (100 mg/kg), -□- : hydralazine (30 mg/kg).

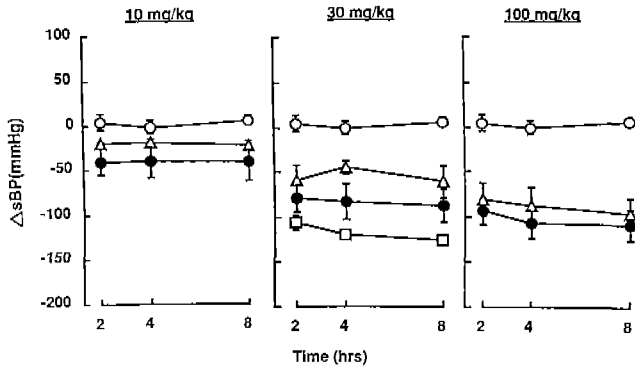


Fig. 5. Effects of BR-900317, captopril and hydralazine by single oral administration on systolic blood pressure in 2-kidney renal hypertensive rats. Values are mean \pm SE, n=5~6, -○-: control, -●-: captopril, -△-: BR-900317, -□-: hydralazine.

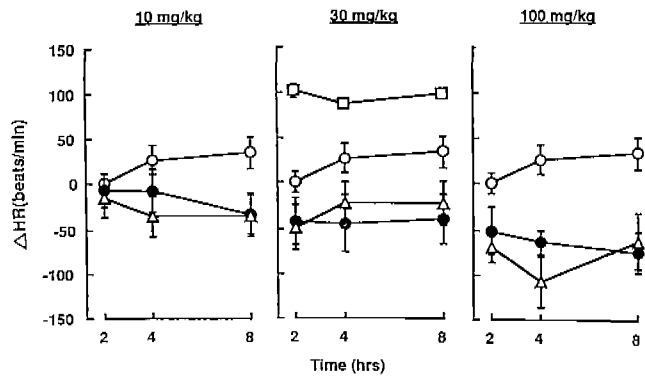


Fig. 6. Effects of BR-900317, captopril and hydralazine by single oral administration on heart rate in 2-kidney renal hypertensive rats. Values are mean \pm SE, n=5~6, -○-: control, -●-: captopril, -△-: BR-900317, -□-: hydralazine.

고혈압 model rat에 있어서 단회 경구투여에 의한 강압 작용

선천성 고혈압 rat(SHR) : BR-900317 100 mg/kg과 captopril 100 mg/kg 및 hydralazine 30 mg/kg의 단회경구투여에 의한 혈압 및 심박수의 변화를 Fig. 4에 나타내었다. BR-900317 및 captopril은 공히 투여 8시간까지 동정도의 혈압강하작용을 나타냈지만 hydralazine은 그보다 강한 혈압강하작용을 나타내었다. 심박수에 있어서는 BR-900317은 감소경향이 captopril은 증가경향이 보여졌지만, 모두 유의성 있는 심박수의 변동은 없었다. 그러나 hydralazine의 경우에는 현저한 심박수의 증가가 보여졌다.

2신성 Goldblatt형 고혈압 rat(RHR) : BR-900317 및 captopril의 용량별 단회경구투여에 의한 혈압 및 심박수의 변화를 Fig. 5, 6에 나타내었다. 양 ACE 저해제는 용량의존성의 현저한 강압작용을 나타내었으며, 강압효과가 투여 8시간까지 지속하며 유의성 있는 강압작용을 나타내었다. BR-900317의 100 mg/kg의 투여에서 captopril의

Table I. Comparisons of various parameters in normotensive and hypertensive rats

Parameters	NR	SHR	RHR	N
sBP (mmHg)	120.0 \pm 2.0	180.0 \pm 9.5	190.0 \pm 9.0	5
HR (beats/min)	455.2 \pm 9.5	390.0 \pm 10.8	379.2 \pm 22.0	5
B.W. (g)	394.0 \pm 6.8	388.8 \pm 4.1	289.5 \pm 10.6**	13
R.K. (g)	1.05 \pm 0.04	1.12 \pm 0.03	1.21 \pm 0.04**	13
L.K. (g)	1.06 \pm 0.03	1.14 \pm 0.04	0.80 \pm 0.03**	13
R.V. (g)	0.13 \pm 0.00	0.13 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01*	13
L.V. (g)	0.66 \pm 0.11	0.94 \pm 0.03**	0.76 \pm 0.03*	13
R.K./B.W. (g/g)	2.66 \pm 0.07	2.87 \pm 0.07	4.24 \pm 0.19**	13
L.K./B.W. (g/g)	2.68 \pm 0.07	2.93 \pm 0.08	2.83 \pm 0.15	13
R.V./B.W. (g/g)	0.32 \pm 0.01	0.33 \pm 0.03	0.32 \pm 0.03	13
L.V./B.W. (g/g)	1.68 \pm 0.04	2.42 \pm 0.06**	2.65 \pm 0.09**	13

The value represents the mean \pm SE.

*, **: Significantly different from the value of NR group (*: p<0.05, **: p<0.01) abbreviations: NR; normotensive rat, SHR; spontaneously hypertensive rat, RHR; two kidney-one clip Goldblatt hypertensive rat, sBP; systolic blood pressure, HR; heart rate, B.W.; body weight, R.K.; right kidney, L.K.; left kidney, R.V.; right ventricle, L.V.; left ventricle, N; number of animals.

30 mg/kg과 동정도의 강압효과를 나타내어 용량비교에 있어 BR-900317은 captopril의 약 1/3 정도의 강압활성을 나타내었다. 심박수에 있어서는 BR-900317 및 captopril은 심박수의 감소경향이 보여졌지만, 모두 유의한 변동은 없었다. 한편 혈관확장제인 hydralazine의 경우에는 투여 8시간까지 강압효과가 captopril보다 강하였지만, 심박수는 현저히 상승하였다.

정상혈압 rat와 고혈압 rat(SHR, RHR)의 비교

정상혈압 rat와 고혈압 rat를 여러가지 parameter에 의해 비교한 결과를 Table I에 나타내었다. Table I에 나타난 바와 같이 SHR은 체중, 좌, 우심장의 중량 및 우심실의 중량이 정상혈압 rat와의 차이가 보여지지 않았지만 좌심실의 비대가 나타났다. 또한 RHR에서는 체중 및 좌심장은 정상혈압 rat에 비해 작았으며, 우심장 및 좌심실의 중량은 정상혈압 rat에 비해 비대한 것으로 나타났다.

고찰

고혈압의 원인에는 여러가지 조절인자가 관여하고 있으며 그 중에서도 Renin-Angiotensin(R-A)계는 중요한 요소의 하나로 되어있다. R-A계는 혈관 및 신장에 작용하여 혈압상승, 체액저류에 중요한 계로서 인식되어져 고혈압 치료를 목적으로한 여러가지 R-A계 저해약이 발견, 개발되어왔다(宇留, 1992). 그 중에서 ACE 저해약은 순환혈장 중 및 뇌내의 angiotensin II를 감소시키고 bradykinin의 분해를 억제하며, 말초교감신경계에서는 norepinephrine의 유리를 저해한다. 또한 신장에 있어서는 Kallikrein-Kinin계를 매체로 Na 이뇨작용을 갖고

있다(澤 등, 1989). Czau(1988)는 혈관계에서는 ACE 저해약이 동맥을 확장시킴으로써 심장의 후부하를 감소시키고, 정맥을 확장하여 심장의 전부하를 감소시킨다고 하였으며, 관상동맥에 있어서는 혈관확장 작용으로 인해 심기능이 개선되고, 심장에 대해서는, 부정맥 예방, 심근비대 예방효과가 있다고 하였다.

본 연구에서 ACE 저해약의 강압작용을 조사하기 위한 일련의 실험결과 BR-900317은 정맥내투여 및 경구투여에 있어서도 angiotensin I의 승압작용을 억제하여 ACE 저해작용이 있음을 확인하였다. 척수과과 rat 정맥내 투여에서 BR-900317은 captopril과 비교하여 angiotensin I 승압작용에 대한 억제력은 떨어졌으나 정상혈압 rat의 경구투여에 있어서는 용량의존적으로 angiotensin I 변환효소 저해작용을 나타내었으며, 용량 및 작용시간은 captopril과 동정도로 나타났다. 이러한 결과는 BR-900317이 prodrug type이기 때문에 정맥내 투여에서는 체내 활성화가 아닌 형태로 작용하며, 경구투여에서는 투여 후 체내대사를 받아 체내 활성화체로 변환되거나 경구 흡수성이 captopril보다 양호한 것이 아닌가 사료된다. 고혈압 model 동물의 하나인 SHR에 있어서 BR-900317은 2신성 Goldblatt 고혈압 rat의 강압작용에 비해 강압효과는 낮았지만 captopril과 동정도의 유의한 강압효과를 나타내었다. SHR에 있어서 ACE 저해약의 유효성은 captopril를 비롯하여 MK-421(Sweet 등, 1981), SA-446(Katsuhiko 등, 1986) 및 Hoe 498(Scholken 등, 1984)에 있어서도 보고되어 있다. SHR의 혈장 renin 활성은 정상혈압의 것과 동정도로 알려져 있으며(Shiono와 Sokabe, 1976), SHR에 있어서 ACE 저해약의 강압작용은 혈장 R-A계 이외에 신장 및 대동맥 등의 국소조직 부위의 R-A계의 억제에 의해 발현할 가능성이 있다는 것을 Cohen 등(1982) 및 Unger 등(1983)이 보고하였다. 또한 Kawashima 등(1980)은 ACE 저해약의 장기투여에 있어 SHR의 혈장 renin 활성이 정상 혹은 그 이하로 떨어진다는 사실을 보고하여 이는 혈장 R-A계의 억제만으로는 생각하기 어렵고, 혈관 등의 국소의 R-A계 억제에 의한 가능성도 있다고 하였다. 2신성 Goldblatt 고혈압 rat에 있어서도 BR-900317은 용량의존적인 현저한 강압작용을 나타내었으며, 투여 후 8시간까지도 유의한 강압효과가 보여졌다. 또한 심박수에서도 유의한 영향이 보여지지 않았다. 2신성 Goldblatt 고혈압 rat는 고혈장 renin 활성을 갖는 전형적인 renin 의존성 고혈압 동물로서 알려져 있으며(Goldblatt 등, 1934), 고혈압 유지에 R-A계의 항진의 관여가 시사되고 있다. R-A계가 항진한 고혈압의 실험적 model 동물에서는 ACE 저해약이 유의한 강압작용을 나타낸다고 보고되어 있다(Masami 등, 1990; Yoshiyuki 등, 1988). 2신성 Goldblatt 고혈압 rat에 있어서 Sweet 등(1981)은 ACE 저해약이 시간적 변화에 따른 angiotensin I 승압반응에 대한 억제효과와 강압작용이 일치하지 않는다는 사실로부터 혈장 angiotensin 변환효소의 저

해보다는 국소조직의 ACE 저해로 인해 강압작용이 발현할 가능성이 있다고 하였다. 또한 Ipei 등(1985)은 혈장, 신장 및 대동맥의 ACE에 대한 MK-421 및 captopril의 억제효과와 강압작용과의 시간적 변화를 검토한 결과, 양 ACE 저해약이 혈장 angiotensin 변환효소에 대한 저해보다도 신장 및 대동맥의 ACE에 대한 억제효과와 강압작용에 크게 관여하고 있음을 확인하였다. 이러한 사실로 볼 때 ACE 저해약이 정상혈압 rat에 있어서도 2신성 Goldblatt고혈압 rat와 똑같이 혈장 및 조직의 ACE 활성을 억제하고 있으나 그것에 관계없이 그다지 혈압 강하작용이 나타나지 않는 것은 정상혈압 유지에 대한 R-A계의 관여가 2신성 Goldblatt 고혈압 rat에 비해 대단히 적기 때문이며, 2신성 Goldblatt 고혈압 rat에서는 강압작용이 주로 R-A계가 강하게 억제되기 때문인 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구를 수행하는데 많은 도움을 주셨던 大塚製藥 徳島研究所 응용연구부의 池圓勝美 박사와 응용연구부 순환기 group 여러분께 감사의 뜻을 포함한다.

참고문헌

- Bokhle, Y. S. (1968). Conversion of angiotensin I to angiotensin II by cell-free extracts of dog lung. *Nature* **220**, 919.
- Cohen, M. L. and Kurz, K. D. (1982). Angiotensin converting enzyme inhibition in tissues from spontaneously hypertensive rats after treatment with captopril or MK 421. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **220**, 63.
- Cushman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E. F. and Ondetti, M. A. (1977). Design of potent competitive inhibitors of angiotensin converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry* **16**, 5484.
- Czau, V. J. (1988). Cardiac renin angiotensin system molecular and functional aspects. *Am. J. Med.* **84** (Suppl. 3A), 22.
- Ferreira, S. H. (1965). A bradykinin potentiating factor (BPF) present in venom of *Borthrops jararaca*. *Brit. J. Pharmacol.* **24**, 163.
- Goldblatt, H., Lynch, J., Hanzal, R. F., Summerville, W. W. (1934). Studies on experimental hypertension.: The production of persistent elevation of systolic blood pressure by renal ischemia. *J. Exp. Med.* **59**, 347.
- Hayashi, K., Nunami, K. and Kato, J. et al. (1989). Studies on angiotensin converting enzyme inhibitors.: Synthesis and angiotensin converting enzyme inhibitory activities of 3-acyl-1-alkyl-2-oxoimidazolidine-4-carboxylic acid derivatives. *J. Med. Chem.* **32**, 289.
- Ipei, O., Eij, M., Tomohiro, N., Noriji, I., Terumi, A. and Naotoshi, S. (1985). Correlation between inhibition of renin angiotensin system and antihypertensive effect of MK-421 and captopril in 2-kidney, 1-clip renal hypertensive rats after a single and repeated oral administration of MK-421 and captopril. *Folia Pharmacol. Japan* **86**, 303.

- 1988 Joint National Committee. (1988). The 1988 report of the joint national Committee on detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *Arch. Intern. Med.* **148**, 1023.
- Katsuhiko, N., Kazuo, N., Toyokazu, T., Hideyasu, Y. and Tadashi, I. (1986). Antihypertensive effects of SA-446, hydralazine and combination on renal hypertensive rats and spontaneously hypertensive rats by long term treatment. *Folia Pharmacol. Japon.* **87**, 113.
- Kawashima, K., Shiono, K. and Sokabe, H. (1980). Variation of plasma and kidney renin activities among substrains of spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Hypertension* **2**, 229.
- Masami, K., Jyoruji, K., Takashi, O. and Ryuichi, I. (1990). Pharmacological studies on (4S)-1-Methyl-3-[(2S)-2-[N-(1S)-1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl]amino]propionyl]-2-oxoimidazolidine-4-carboxylic acid hydrochloride(TA-6366), a new ACE inhibitor: 1. ACE inhibitory and Antihypertensive activities. *Japan, J. Pharmacol.* **53**, 201.
- Miyake, A., Itoh, K. and Oka, Y. (1986). Design and synthesis of N-N-(S)-1-ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl-L-alanine-N-(indan-2-yl) glycin (CV-3317), a new potent angiotensin converting enzyme inhibitor. *Chem, Pharm. Bull.* **34**, 2852.
- Patchett, A. A., Harris, E., Tristram, E. W. *et al.* (1980). A new class of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Nature* **288**, 280.
- Schaeffer, T., Engel, S. L., Gold, B. I. and Rubin, B. (1971). Inhibition of pressor effect of angiotensin (A-I) and augmentation of depressor effect of bradykinin (B) by synthetic peptides. *Pharmacologist* **13**, 215.
- Scholken, B. A., Becker, R. H. A. and Kaiser, J. (1984). Cardiovascular and antihypertensive activities of the novel non-sulfhydryl converting enzyme inhibitor 2-[N-(S)-1-ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl]-L-alanyl]-(1S,3S,5S)-2-azabicyclo-[3,3,0]octane-3-carboxylic acid (Hoe 498). *Arzneimittelforschung* **34**, 1417.
- Shiono, K. and Sokabe, H. (1976). Renin angiotensin system in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Physiol.* **231**, 1295.
- Sweet, C. S., Gross, D. M. and Arbogast, P. T. *et al.* (1981). Antihypertensive activity of N-[(S)-1-(Ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]-L-ala-L-pro (MK-421), an orally active converting enzyme inhibitor. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **216**, 558.
- Unger, T., Ganten, D. and Lang, R. E. (1983). Converting enzyme inhibitors: antihypertensive drugs with unexpected mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* **4**, 514.
- Yang, H. Y. T., Erdös, E. C. and Levin, Y. (1971). Characterization of a dipeptide hydrolase (Kininase II: Angiotensin I converting enzyme). *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **177**, 291.
- Yoshiyuki, I., Maso, T., Katsuyoshi, K. and Kohei, N. (1988). Antihypertensive action of a new angiotensin converting enzyme inhibitor. (R)-3-[(S)-1-carboxy-5-(4-piperidyl)pentyl]amino-4-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzothiazepine-5-acetic acid (CV-5975), in various hypertensive models, *Japan. J. Pharmacol.* **47**, 311.
- 澤洋文, 望月植樹, 川口秀明, 安田壽日. (1989). ACE 阻害薬は心肥大を改善するか. *Therapeutic Research.* **10**, 43.
- 宇留野強. (1992). ACE 阻害薬の作用機序. *薬局.* **43**, 19.