

铃兰毒甙的正性肌力作用与心肌 cAMP 含量变化无关

石琳 吴焯群 王道生 刘世增 李尹民 胡冠时 周自强 潘建新 (苏州医学院药理学教研室, 苏州)

提要 犬 30 只、豚鼠 80 只、大鼠 18 只, 分析铃兰毒甙的正性肌力作用与心肌 cAMP 的关系。选用 PEP, ICT 和 dp/dt_{max} 评定药物对心肌收缩性能的影响。用竞争性蛋白结合法测定 cAMP 含量。在动物出现强心或中毒作用的同时, 观察心肌及血浆中 cAMP 含量的变化。结果犬静注铃兰毒甙 0.03mg/kg 后, PEP 和 ICT 显著缩短, dp/dt_{max} 显著增大, 同时外周血浆 cAMP 含量明显升高, 中毒性心律失常时升高幅度更大。其正性肌力作用不被心得安所削弱或对抗。无论静注铃兰毒甙的治疗或中毒剂量, 豚鼠及大鼠心肌细胞的 cAMP 含量, 均无显著改变。提示铃兰毒甙的正性肌力作用不是通过 cAMP 而实现。

关键词 铃兰毒甙; 哇巴因; 心肌内 cAMP; 强心甙与血浆 cAMP; 正性肌力作用。

铃兰毒甙 (convallatoxin) 系从百合科玉铃属植物铃兰 (*Convallaria keiskei* Miq.) 全草中提出的强心甙, 其强心作用为植物强心甙中最强的一种。强心甙不仅在治疗各类型心功能不全的地位迄今不衰, 而且近年用于急性心肌梗塞引起的急性心衰, 和心绞痛也取得良好效果⁽¹⁾。已发现某些具有正性肌力作用的活性物质, 其产生正性肌力作用与细胞内第二信使环磷酸腺苷(cAMP)的关系非常密切, 如胰高血糖素、儿茶酚胺等引起正性肌力作用, 系通过激活胞膜上腺苷酸环化酶, 导致细胞内 cAMP 含量升高而实现^(2,3)。至于铃兰毒甙的正性肌力作用是否也以 cAMP 为中介而发挥作用? 这是本实验企图探索的问题。

方法与结果

铃兰毒甙系用黑龙江省一面坡制药厂 1972 年提制的铃兰毒甙单体成分。

一、铃兰毒甙对心肌收缩性的影响 心缩射血前期 (PEP) 及心室内压最大增长速率 (dp/dt_{max}) 的分析: 犬 6 只, 体重 9.5—14.5 kg, 戊巴比妥钠静脉麻醉。用 8 号心导

管经颈总动脉逆行插入主动脉根部, 描记主动脉根部压力曲线。并同步描记心音图、心电图 (II 导程) 及呼吸曲线, 心音图拾音器置于胸骨左缘, 记录二尖瓣和主动脉瓣关闭音最清晰的部位。上述讯号经换能器直接输入 PG-802 型多导生理记录仪 (日本三荣厂), 观察给药前后 2 h 内 PEP、等容收缩期 (ICT)、 dp/dt_{max} 、血压及心率的变化。时相分析系选测 1 或 2 个完整呼吸周期连续的压力波求其均值, 其时程以 ms 计。纸速为 250 mm/s。时相测定法见示意图 1。用作图法测 dp/dt_{max} ⁽⁴⁾。

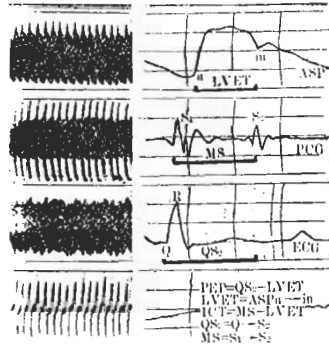


图 1 心缩间期时相分析

曲线自上而下: 1. 计时: 1s 2. 主动脉根部压力曲线 3. 心音图: S₁ 为第 1 心音; S₂ 为第 2 心音 4. II 导程心电图 5. 呼吸曲线。纸速: 2 mm/s, 250 mm/s。

结果见表 1。缓慢静注铃兰毒甙稀释液 0.03 mg/kg 后(注射速度为 10 ml/4—5 min), 心率速度减慢, 以 10 min 为显著 ($P < 0.05$), PEP 和 ICT 至给药后 50 min 缩短最明显, 与用药前相比, 差异显著 (分别为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$), 以后逐渐回升。 dp/dt_{max} 在用药 30 min 增大 24%。血压的升高在 15 min 达

到高峰($P < 0.05$), 以后趋于恢复。上述结果表明, 铃兰毒甙 0.03 mg/kg 能增强心肌收缩性。

表 1 6 犬静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg 后对 PEP 及 ICT 的影响

观察项目	$\bar{x} \pm \text{SE}$		P 值
	给药前	给药后	
射血前期 (PEP)ms	91 ± 5	78 ± 4	< 0.05
等容收缩期 (ICT)ms	49 ± 4	37 ± 3	< 0.01
心率 (HR)beats/min	144 ± 9	122 ± 8	< 0.05
血压 (BP)mmHg	128 ± 5	137 ± 6	< 0.05

二、铃兰毒甙对心肌 cAMP 含量的影响

1. 冠状窦血浆中 cAMP 含量的测定 健康犬 4 只, 体重 $12.5-19.5 \text{ kg}$, 麻醉同上, 用 7 号心导管, 在 X 线下从右侧颈外静脉插入冠状窦。另一根导管经股动脉插至胸主动脉部位, 取冠状窦及动脉血样。在给药前间隔 30 min 采集冠状窦血及动脉血 2 次, 测 cAMP 含量作为对照。给药后 $5, 15, 30, 45, 60, 90$ 和 120 min 抽血观察血浆中 cAMP 含量的动态变化。每次取血约 2.5 ml 于 EDTA 抗凝管中, 迅速分离出血浆置于冰箱中待测。用竞争性蛋白结合法测 cAMP。

实验结果 3 犬静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg 后, 冠状窦及动脉血中 cAMP 含量均逐渐上升, 至给药 45 min 上升达高峰。冠状窦血 cAMP 比给药前升高 75% , 动脉血 cAMP 增高 93% 。以后逐渐下降。但冠状窦血与动脉血中 cAMP 含量差, 与给药前无显著差异。另 1 犬因注药速度过快而产生心律失常, 其血浆中 cAMP 升高幅度更大。

2. 豚鼠和大鼠心肌组织中 cAMP 含量的分析 豚鼠 80 只, 体重 $220-335 \text{ g}$, 雄雌兼用, 共分 10 组。戊巴比妥钠 30 mg/kg 腹腔麻醉后记录第 II 导程心电图, 静注不同剂量铃兰毒甙后, 以出现心律减慢作为判断铃兰毒甙生效的指标; 以发生不同程度心律失常作为中毒

指标, 分别在给药后 30 min , 1 h 或中毒时断头处死, 迅速剖出心脏, 称取心尖部心肌约 100 mg , 按药箱中竞争性蛋白结合法测 cAMP 含量。部分豚鼠, 在断头时同时收集颈部动静脉混合血, 测定血浆中 cAMP 含量。

结果见表 2。给药后 1 h 处死组, 静注铃

表 2 豚鼠及大鼠静注铃兰毒甙对心肌 cAMP 含量的影响

	给药后处死时间 (min)	剂量 (mg/kg)	动物数	cAMP (pmol/mg wet wt)
				$\bar{x} \pm \text{SD}$
豚鼠	30	0	8	1.11 ± 0.11
		0.05	8	1.41 ± 0.18
		0.1	8	1.26 ± 0.13
		0.15	8	1.21 ± 0.18
		0.3	8	1.14 ± 0.10
	60	0	8	1.46 ± 0.11
		0.1	8	1.66 ± 0.12
大鼠	30	0	7	1.25 ± 0.13
		1.0	5	1.11 ± 0.09
		2.0	6	1.03 ± 0.14

兰毒甙 0.1 mg/kg , 心肌 cAMP 含量与对照组无显著差异。给药后 30 min 处死组, 静注铃兰毒甙 $0.05, 0.15, 0.3 \text{ mg/kg}$ 后, 血浆中 cAMP 含量, 对照组平均 9.6 pmol/ml , 给药组分别增至 $12.3, 16.5$ 和 42.4 pmol/ml , 表明血浆中 cAMP 随着铃兰毒甙剂量的增加而明显升高, 但心肌 cAMP 含量与对照组均无显著差异。静注哇巴因 0.15 和 0.3 mg/kg 组, 心肌 cAMP 含量分别为 1.09 ± 0.12 和 $1.02 \pm 0.10 \text{ pmol/mg}$ 心肌湿重, 与对照组比较也无显著差异。

大鼠 18 只, 体重 $185-260 \text{ g}$, 雄雌兼有, 分 3 组, 一组为静注铃兰毒甙 1.0 mg/kg 后, 只出现心率减慢, 另一组为 2.0 mg/kg 部分大鼠出现心律失常。二组在给药 30 min 处死, 所测得心肌 cAMP 含量与对照组比较无显著差异(表 2)。

三、铃兰毒甙对外周血液 cAMP 含量的影响 犬 9 只, 体重 8—14.5 kg, 戊巴比妥钠静脉麻醉。自股动脉及右侧颈外静脉插入直径为 2—3 mm 塑料管, 采集动、静脉血样测定 cAMP 含量。在每次取血前, 先同步快速描记左心室压力曲线、心音图、心电图及呼吸曲线, 测定 dp/dt_{max} 、血压及心率。分析不同剂量铃兰毒甙在增强肌力作用的同时, 外周血液中 cAMP 含量的变化。7 犬在静注铃兰毒甙治疗剂量 0.03 mg/kg 后, 5, 15, 30, 45, 60, 90 和 120 min 取血测 cAMP 含量, 观察 2 h 内血液中 cAMP 的动态变化。其中 6 犬, 在连续观察 2—2.5 h 后, 再追加铃兰毒甙至 0.06 mg/kg。另 2 犬直接静注铃兰毒甙 0.06 mg/kg, 仍按上述预定时间取血, 并同时分析肌力、血压和心率变化。

实验结果: 静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg 后, 在心肌收缩力增强的同时, 动、静脉血浆中 cAMP 含量逐渐上升, 至给药 45 min 上升达高峰, (图 2)。与实验二, 冠状窦及动脉血浆中 cAMP 变化趋势一致。2—2.5 h 后追加铃兰 0.03 mg/kg 的 6 犬, 都在注药后约 5 min

表 3 肌力作用与血浆中 cAMP 含量变化的相对关系 ($\bar{x} \pm SE$)

心得安 (mg/kg)	铃兰毒甙 (mg/kg)	BP (mmHg)		dp/dt_{max} (mm Hg/sec)变化%		cAMP (pmol/ml)		HR (beats/min)	
		前	后	前	后	前	后	前	后
0	0.03	124 ± 6	132 ± 6 (n = 6)	100 ± 16	124 ± 16 (n = 6)	31 ± 4	41 ± 4 (n = 6)	163 ± 8	138 ± 7 (n = 6)
0	0.06	123 ± 7	172 ± 9 (n = 6)	100 ± 11	153 ± 10 (n = 6)	38 ± 6	73 ± 11 (n = 8)	160 ± 11	139 ± 11 (n = 5)
0.75	0.03	127 ± 7	143 ± 9 (n = 5)	100 ± 9	151 ± 5 (n = 5)	35 ± 5	41 ± 8 (n = 7)	133 ± 6	110 ± 6 (n = 5)

四、β受体阻滞剂对铃兰毒甙正性肌力及升高血浆 cAMP 的影响

麻醉犬 10 只, 体重 8—14 kg。肌力、血压、心率及 cAMP 含量测定等方法同上。4 犬缓慢静注心得安 0.75 mg/kg, 注前取动、静脉血 2 次, 测 cAMP 含量为对照, 注后 5, 15, 30, 45, 60, 90 和 120 min 各取血一次, 观察

出现心律失常, 先有血压急骤升高, dp/dt_{max} 迅速增大, 与此同时, 动、静脉血浆中 cAMP 含量迅速上升, 升高幅度远比治疗剂量组为大(见图 2, 表 3)最后出现持续性室性心动过速。实验结果表明, 铃兰毒甙在增强心肌收缩力的同时, 伴有外周血中 cAMP 含量升高。中毒剂量产生心律失常时增高幅度更大。

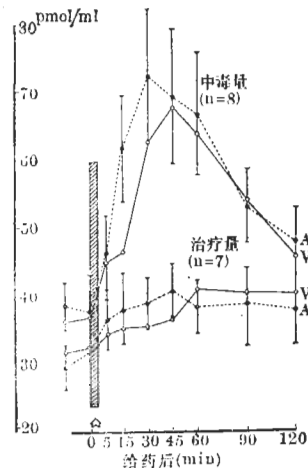


图 2 不同剂量铃兰毒甙对外围血中 cAMP 含量的影响

A: 动脉 V: 静脉 n: 犬数

2 h 内血中 cAMP 含量的动态变化, 并同时对照分析肌力、血压、心率等变化。另 6 犬先静脉给予心得安 0.75—0.9 mg/kg, 15 min 后再静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg, 同样按上述时间采血测 cAMP 含量及分析肌力作用。

实验结果: 心得安注入后 15 min, 左室内压显著降低 ($P < 0.01$), 心率显著减慢 ($P <$

0.001), 心音图幅度明显缩小, dp/dt_{max} 显著下降($P < 0.001$)。动、静脉血中 cAMP 含量亦有所下降。用心得安预处理后再静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg, 外周血 cAMP 升高幅度比对照组低, 但其正性肌力作用反有所增强(表 3)。

讨 论

铃兰毒甙的正性肌力作用: 静注铃兰毒甙 0.03 mg/kg 能显著缩短麻醉犬 PEP 及 ICT 的时程; 增大 dp/dt_{max} 、PEP 及 ICT 是反映心肌收缩速度的定量指标, 常用于比较或评定强心甙类及变力性药物对心脏的效应, 如奏效时间、程度及时限等⁽⁵⁻⁸⁾; dp/dt_{max} 也是反映心肌收缩性的灵敏指标⁽⁹⁾。上述实验结果表明铃兰毒甙能提高心肌收缩性。

铃兰毒甙的正性肌力作用与心肌 cAMP 含量的关系: cAMP 是调节心脏电活动和机械效应的重要物质, 它能依次开放胞膜离子载体, 促进离子转运。当铃兰毒甙发生正性肌力作用时, 是否会增加心肌细胞内的 cAMP 呢? 由于细胞内 cAMP 能向组织间隙溢出, 从而增加血液中 cAMP 浓度。为此, 我们采用从冠状窦及主动脉取血测定血浆 cAMP 含量来间接分析铃兰毒甙在出现正性肌力作用时, 心肌 cAMP 含量的变化。结果麻醉犬肌力作用增强时, 虽冠状窦及主动脉血浆中 cAMP 含量明显升高, 但冠状窦血及动脉血浆中 cAMP 含量的浓度差未见明显增大。似乎提示血浆中 cAMP 含量升高主要来自心外组织, 而不是心脏本身。为进一步证实这一分析, 又直接测定不同剂量铃兰毒甙, 对豚鼠及大鼠心肌细胞中 cAMP 含量的影响。结果也证明, 铃兰毒甙增强心肌收缩作用与心肌 cAMP 含量变化无关。晚近, Henry 的实验曾指出, 心肌 cAMP 含量变化与心肌收缩性无关⁽¹⁰⁾。Erdmann 也认为强心甙能增强心肌收缩性, 但不升高心肌细胞内 cAMP 浓度, 不激活浆膜(胞膜)上腺苷酸环化酶的活性。根据铃兰毒甙引起

正性肌力作用的同时, 不伴心肌细胞内 cAMP 含量升高, 以及它的正性肌力作用不被 β 受体阻滞剂心得安所对抗或削弱, 反有所增强, 这与文献中哇巴因的记载相似⁽¹¹⁾。因此认为, 铃兰毒甙的正性肌力作用, 与儿茶酚胺类有所不同, 不是通过 cAMP 的中介作用而实现。

铃兰毒甙对外周血 cAMP 含量的影响: 强心甙类的拟交感作用日益受到重视⁽¹²⁾。铃兰毒甙出现正性肌力作用的同时, 伴有外周血 cAMP 含量升高, 特别中毒性心律失常时升高幅度更大, 是否与其拟交感作用有关? 铃兰毒甙升高外周血 cAMP 含量的作用, 能被 β 受体阻滞剂心得安所削弱。故初步认为, 外周血 cAMP 升高似有交感因素参与。目前, 尽管对强心甙中毒时外周血 cAMP 升高的生理意义尚缺乏足够认识。但这一现象的发现, 似可为寻找抗心律失常新药, 或拟订强心甙中毒性心律失常的处理方案, 提供线索或开扩思路。

致谢 X 线下插冠状窦导管手术由中国科学院上海药物研究所陈维洲同志进行, 并蒙中国医学科学院基础医学研究所王振纲教授大力支持和帮助。

参 考 文 献

- 1 Vatner SF, Baig H, Manders WT, Murray PA. *Circulation* 1978 Mar; 57 (3) : 568
- 2 Sutherland EW. *Science* 1972 Aug 4; 177 (4047) : 401
- 3 Sobel BE, Mayer SE. *Circ Res* 1973 Apr; 32 (4) : 407
- 4 George M, Taylor SH, Ramsay JA. *Med Res Eng* 1967; 6 (4) : 21
- 5 Schick D, Scheuer J. *Am Heart J* 1974 Feb; 87 (2) : 253
- 6 Ahmed SS, Levinson GE, Schwartz CJ, Ettinger PO. *Circulation* 1972 Sep; 46 (3) : 559
- 7 Tally RC, Mayer JF, McNay JL. *Am J Cardiol* 1971 Apr; 27 (4) : 384
- 8 Lewis RP, Rittgers SE, Forester WF, Boudoulas H. *Circulation* 1977 Aug; 56 (2) : 146
- 9 Sonnenblick EH, Strobeck JE. *N Engl J Med* 1977 Apr 28; 296 (17) : 978
- 10 Henry PD, Dobson JG Jr, Sobel BE. *Circ Res* 1975 Mar; 36 (3) : 392

11 Vatner SF, Higgins CB, Patrick T, Franklin D, Braunwald E. *J Clin Invest* 1971 Dec; 50

(12) : 2585

12 Runge TM, *Am Heart J* 1977 Feb; 93 (2) : 248

Acta Pharmacologica Sinica 1980 Dec; 1 (2) : 100—104

NO RELATIONSHIP BETWEEN MYOCARDIAL cAMP AND POSITIVE INOTROPIC EFFECTS OF CONVALLATOXIN

SHIH Lin, WU Chan-qun, WANG Dao-sheng, LIU Shi-zeng, LI Yin-min, HU Guan-shi, ZHOU Zi-qiang, PAN Jian-xin

(Department of Pharmacology, Suzhou Medical College, Suzhou)

ABSTRACT A study of the relationship between positive inotropic effects of convallatoxin and changes in the myocardial intracellular concentrations of cAMP was performed.

1. Positive inotropic effects of convallatoxin in 6 anesthetized dogs: The pre-ejection period (PEP), isometric contraction time (ICT) and maximum rate of rise of intraventricular pressure (dp/dt_{max}) were measured from simultaneous recordings of the electrocardiogram, phonocardiogram, aortic pressure and a chest pneumograph employing a multichannel polygram system. The maximal effects of convallatoxin on the elevation of myocardial contractility occurred in 45 min after an iv of 0.03 mg/kg. At this time, the PEP was significantly reduced from 91 ± 5 ms to 78 ± 4 ms ($\bar{x} \pm SE$), the IVCT was reduced from 49 ± 4 ms to 37 ± 3 ms, while the dp/dt_{max} was rapidly increased to a maximum of 124% of the control level.

2. Effects of convallatoxin on myocardial intracellular cAMP concentrations in guinea pig and rat hearts: The hearts of 80 guinea pigs were excised and cAMP was

measured in 30 min following the injections of convallatoxin at therapeutic doses (0.05, 0.1 and 0.15 mg/kg) or a toxic dose (0.3 mg/kg). The mean values of myocardial cAMP concentrations showed no significant deviations from those of control guinea pigs. Similar results were obtained on 18 rats.

3. Effects of convallatoxin on plasma cAMP of anesthetized dogs: Forty-five min after the iv of convallatoxin 0.03 mg/kg, a significant increase of cAMP concentration in peripheral blood from 31 ± 5 to 41 ± 4 pmol/ml ($n=6$) was revealed. When the dose of convallatoxin reached 0.06 mg/kg, the blood plasma cAMP concentration was elevated from 38 ± 3 to 73 ± 11 pmol/ml ($n=8$) in 30 min following the injection.

From the above results, it may be concluded that the augmentation of myocardial contractility induced by convallatoxin was not mediated via myocardial intracellular cAMP.

KEY WORDS convallatoxin; ouabain; myocardial intracellular cAMP; cardiac glycoside and plasma cAMP; positive inotropic effect