

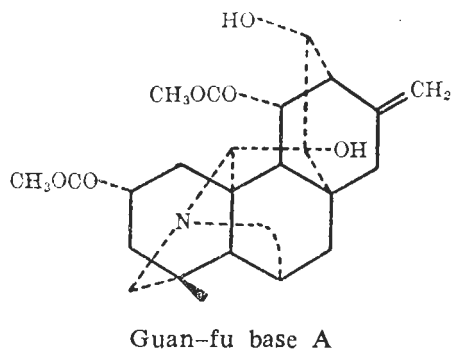
关附甲素对兔红细胞膜、大鼠毛细血管通透性和豚鼠右心房的作用

汪长根、周丽菊¹、陈维洲、丁光生 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 关附甲素对低渗、加热、低 pH 和皂素性溶血均有保护作用。10-20 mg/kg 能降低大鼠毛细血管通透性 0.12 mM 对离体豚鼠右心房有减慢收缩频率的作用, 但对收缩力无明显影响。它不能完全阻断异丙肾上腺素加快右心房收缩频率的作用。

关键词 关附甲素; 溶血; 毛细血管通透性; 右心房; 异丙肾上腺素

关附甲素(guan-fu base A)是我所植化室从黄花乌头 *Aconitum coreanum* (Lévl.) Ra-paics 中提取的一种新生物碱^(1,2), 结构式如下:



它在多种整体动物上有抗心律失常作用^(3,4)。关附甲素同心得安一样能减慢心率。本文报道关附甲素对家兔红细胞膜、大白鼠血管通透性和豚鼠右心房的作用。

药 品

关附甲素盐酸盐由本所植化室提供, 用重蒸馏水配制。

Evans 蓝为 BDH 产品, 用生理盐水配成 2% 溶液。

硫酸异丙肾上腺素(Iso)为上海天丰制药厂生产的针剂, 用重蒸馏水配制。

方法与结果

对兔红细胞膜的作用 方法参照前文⁽⁵⁾, 取抗凝兔血离心, 将红细胞以生理盐水洗 3 次后, 用生理盐水和磷酸缓冲液 (PBS) 稀释成不同浓度的悬液进行溶血实验。在 541 nm (上海第三分析仪器厂 721 型分光光度计) 测定上清液中的血红蛋白(Hb)量。本实验用试验中取得最佳效果的关附甲素剂量。

1. 低渗性溶血 在低渗 NaCl 中, 加入关附甲素和红细胞悬液, 使它们的最终浓度分别为 0.5%, 5 mM 和 0.12%。置 37°C 保温 30 min 后离心测定 Hb。

2. 加热性溶血 将红细胞在 M/8 的 PBS (pH 7.4) 中配成 5% (v/v) 的悬液。在此悬液中加终浓度为 0.6 mM 的关附甲素。在 50°C 保温 20 min 后离心测定 Hb。

3. 酸性溶血 将红细胞在 M/8 的 PBS (pH 5.5) 中配成 5% (v/v) 的悬液。在此悬液中加终浓度为 1.2 mM 的关附甲素。在 37°C 保温 30 min 后离心测定 Hb。

4. 皂素性溶血 取红细胞 NS 悬液, 加入关附甲素和皂素, 它们的最终浓度分别为 1.7%, 0.12 mM 和 0.04 mM。在室温 (16-18°C) 放 3 min 后离心测定 Hb。

表 1 为溶血结果。关附甲素对以上 4 种溶血均有明显的保护作用。

对大白鼠毛细血管通透性的作用 ♂ 大鼠, 每组 8 只。关附甲素 20 mg/kg 组, 体重 195 ± SD 13 g。10 mg/kg 组体重 188 ± 21 g。剪去腹部毛, ip 戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉后,

Tab 1. Effects of guan-fu base A on hemolysis by measuring Hb in supernatant (g/l whole blood). $\bar{x} \pm SD$. ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Hemolysis by	0.5% NaCl	50°C	pH 5.5	Saponin
Drug concn	5.0 mM	0.6 mM	1.2 mM	0.12 mM
Rabbits	9	9	12	9
Control	4.71 ± 0.17	1.6 ± 0.4	4.1 ± 1.5	18 ± 5
Base A	2.99 ± 0.17**	1.3 ± 0.4**	3.1 ± 1.2**	10.9 ± 1.6***

iv 2% Evans 蓝 2.5 ml/kg, 然后在腹部两个不同部位皮内注入 2% 关附甲素 10 mg/kg (0.075-0.11 ml) 或 3% 关附甲素 20 mg/kg (0.12-0.15 ml), 对照组注入等容量水。30 min 后, 对照部位的皮肤蓝色比给药部位显著为深。剪下蓝色的皮肤, 剪碎, 浸入含 7 ml 丙酮和 3 ml 0.5% Na_2SO_4 溶液中, 室温中放置 24 h 后离心 (1000 rpm) 20 min. 置 620 nm 测定上清液吸光度⁽⁶⁾。结果见表 2。关附甲素的吸光度远比对照要小。

Tab 2. Effects of guan-fu base A on capillary permeability. 8 rats/group. $\bar{x} \pm SD$. ** $p < 0.05$

Base A	Concentration	Absorbance
0	0	0.22 ± 0.17
10 mg/kg	2%	0.040 ± 0.024**
0	0	0.24 ± 0.18
20 mg/kg	3%	0.09 ± 0.06**

提示关附甲素显著降低大白鼠的毛细血管通透性。

对豚鼠右心房的作用 制备方法按文献⁽⁷⁾。豚鼠♀♂兼用, 12 只均分两组, 体重 240 ± 50 g。右心房一端联于力位移换能器上加 Krebs 液 20 ml 于浴槽 (30°C) 内, 通 95% O_2 + 5% CO_2 , 接记录仪 (上海自动化仪表二厂生产 XWT-200 型台式自动平衡记录仪) 稳定 40 min 左右, 记录 2-3 次收缩频率及幅度, 标本状态良好即进行测定。结果见图 1 A,

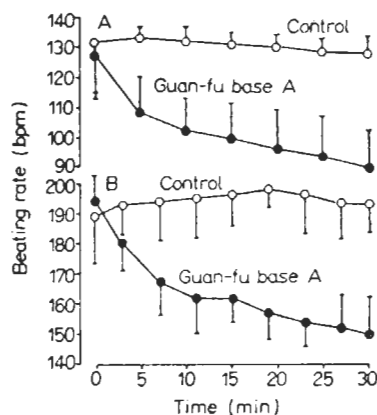


Fig 1. Effects of guan-fu base A 0.12 mM on rate of spontaneous beating (A) and isoproterenol (0.4 μM)-induced tachycardia (B) of right heart atria. 6 guinea pigs/group. $\bar{x} \pm SD$. $p > 0.05$ before (at 0 time) and all $p < 0.01$ after guan-fu base B.

浴槽中注入关附甲素 0.12 mM, 每 5 min 记录一次收缩, 观察 30 min. 开始 5 min 后, 收缩频率从 128 ± 17 减为 109 ± 12 bpm ($p < 0.01$). 以后依次递减. 对照组收缩频率无明显变化. 给药组同对照组收缩力变化之间无显著差异。

对 Iso 加快豚鼠右心房收缩的作用 豚鼠♀♂兼用, 体重 270 ± 40 g. 12 只均分两组. 制备与装置同前. 标本稳定后注入 Iso 0.4 μM , 2 min 后再注入关附甲素 0.12 mM. 对照组加入等容量水. 观察 30 min. 结果见图 1 B.

可见加入 Iso 后 2 min, 右心房收缩频率从 123 ± 10 迅速加快到 194 ± 7 bpm, 再加入关附

甲素 3 min 后, 收缩频率减慢 7% ($p < 0.01$). 以后仍持续下降, 至 30 min 下降 23%. 但不降低 Iso 的正性肌力作用. 对照组加入 Iso 后 2 min, 右心房收缩频率从 115 ± 22 增加到 189 ± 50 bpm, 30 min 内基本维持不变.

以上结果表明关附甲素 0.12 mM 对 Iso 加快的收缩频率有明显的抑制作用, 而不是由于收缩频率自然减慢所致.

另 2 个豚鼠右心房标本, 给予 $0.4 \mu\text{M}$ Iso 后 2 min, 平均收缩频率从 140 ± 30 bpm 加快到 201 ± 4 bpm (+43.6%). 收缩幅度也大为增加. 然后冲洗标本至对照状态, 加入关附甲素 0.12 mM, 10 min 后收缩频率已减慢至 110 ± 40 bpm, 此时再加入 Iso $0.4 \mu\text{M}$, 收缩频率又显著加快, 收缩幅度也明显增大, 2 min 后收缩频率为 148 ± 2 bpm, 增加了 34%.

讨 论

关附甲素能减慢心率和保护稳定细胞膜, 可望降低心肌耗氧量并可能调节心肌膜内外离子浓度, 对心肌缺血引起的心律失常可能会有一定的防治作用.

在大白鼠毛细血管通透性实验中, 为使关附甲素的注射容量减小到最低限度, 在配制药液时, 我们未用生理溶液, 而用重蒸馏水配制, 以增加关附甲素的溶解度. 为了排除实验中渗透压可能带来的不利影响, 我们比较了注射 Krebs 生理溶液和重蒸馏水对大鼠毛细血管通透性的作用. 结果发现在本文实验所用的注射容量范围内, 它们对大鼠毛细血管外渗 Evans 蓝的吸光度影响无显著差异, 证明了我们实验中大鼠毛细血管通透性的差异不是由于渗透压改变, 而是药物本身作用所致. 至于 20 mg/kg

降低通透性的作用不如 10 mg/kg, 可能是药物的刺激作用造成的.

关附甲素能减慢麻醉大鼠及猫的心率^(3,4), 这与本文报告的关附甲素对豚鼠右心房收缩频率有减慢作用的结果一致. iv 关附甲素前后, 麻醉开胸猫由 Iso 引起的心率加快和血压下降无明显影响⁽³⁾. 这同文献⁽⁴⁾报道的结果有区别. 本文报告关附甲素也能减慢 Iso 引起的豚鼠离体右心房的快速收缩, 但不降低收缩力, 且在加入关附甲素后 10 min, 同样浓度的 Iso 仍然能加快右心房收缩频率和增加收缩力. 以前我们曾报道关附甲素无 β -受体阻滞作用⁽³⁾, 现在离体实验也证实关附甲素确不能完全阻断 β -受体激动剂 Iso 的作用. 因此, 关附甲素减慢豚鼠右心房收缩频率可能是通过直接提高窦房结自律细胞的兴奋阈值、减小窦房结动作电位的第 4 相除极坡度、降低兴奋性和自律性而实现的.

致谢 本所植化室王洪诚同志提供关附甲素

参 考 文 献

- 1 高宏瑾、岳凤仙、朱任宏. 药学报 1966; 13: 186
- 2 刘静涵、王洪诚、高耀良、朱任宏. 中草药 1981; 12:97
- 3 陈维洲、董月丽、张月芳、丁光生. 中国药理学报 1983; 4:247
- 4 后德辉、李玲、王秋娟、刘静涵. 南京药学院学报 1981; (2):68
- 5 汪长根、王志敏、张月芳、丁光生. 中国药理学报 1981; 2:214
- 6 O'Duffy G, Chahl LA. *Eur J Pharmacol* 1979; 57:377
- 7 Levy VJ. Isolated atrial preparations. In: Schwartz A, ed. *Methods in pharmacology*; vol 1. NY: Appleton-Century-Crofts, 1971:97-100

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jan, 7 (1) : 56-59

EFFECTS OF GUAN-FU BASE A ON RABBIT RED CELL MEMBRANE, RAT CAPILLARY PERMEABILITY AND GUINEA PIG HEART ATRIUM

WANG Chang-gen, ZHOU Li-ju, CHEN Wei-zhou, DING Guang-sheng
(*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031*)

ABSTRACT Guan-fu base A is a new anti-arrhythmia alkaloid, isolated from the tuber of *Aconitum coreanum* in this Institute. In hemolysis tests by 0.5% NaCl, 50°C, pH 5.5 and saponin the rabbit rbc were stabilized by Base A 5, 0.6, 1.2 and 0.12 mM, respectively.

Intradermal injections of base A 10 or 20 mg/kg decreased the capillary permeability in rat skin, as seen by the extravasation of Evans blue.

In isolated spontaneously beating right heart atrium of guinea pigs base A (0.12 mM)

caused a 29% reduction of beating rate and a 23% reduction of the tachycardia rate produced by isoproterenol 0.4 μ M, but did not depress the contractile force in 30 min. Iso (0.4 μ M) still accelerated the beating and enhanced the force after the beating rate had been reduced by Base A. Hence base A is not an adrenergic beta receptor blockader.

KEY WORDS guan-fu base A; hemolysis; capillary permeability; right heart atrium; isoproterenol