

## 常咯啉和磷酸咯啉对兔心肌细胞膜上ATP酶活性的影响

陈思鸿 屠曾宏 杨惠华 吴巍巍 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 常咯啉浓度为1 mM时对兔心肌细胞膜上 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活性的抑制为24%, 而磷酸咯啉在0.25 mM时抑制为87%。常咯啉对 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶没有明显地抑制, 磷酸咯啉只有轻度地抑制。提示常咯啉的母核唑啉环换成有取代基的吡啶环可以明显地增强对 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶的抑制作用。

**关键词** 常咯啉; 磷酸咯啉; 心肌细胞膜; 钠, 钾-三磷酸腺苷酶; 钙-三磷酸腺苷酶; 奎尼丁

常咯啉是我所合成的一个抗心律失常新药<sup>(1)</sup>, 其类似物磷酸咯啉(7-甲氧基, 3-氯, 9-{3', 5'-双[(N-吡啶烷基)甲基]-4'-羟苯胺基}吡啶磷酸盐)也有抗心律失常作用<sup>(2)</sup>。常咯啉对心电图P-R和QRS间期的延长和心脏血流动力学的抑制作用与奎尼丁相似<sup>(3)</sup>, 而奎尼丁对心肌细胞膜上 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶有一定抑制作用<sup>(4)</sup>。因此本文研究了常咯啉和磷酸咯啉对心肌细胞膜上 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶和 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶活力的影响。

### 材料和方法

ATP和葡萄糖-6-磷酸为生化试剂(ATP·2Na盐为层析纯, 含量为94%, 无机P含量<0.1%), 中国科学院生物化学研究所东风试剂厂生产。Tris为生化试剂, 上海试剂二厂生产。细胞色素C为江苏省泰州肉类加工厂生物制药厂生产。磷酸咯啉为上海第十四制药厂生产。奎尼丁和乌头碱为E. Merck生产。哇巴因为英国“宝威牌”产品。

兔心肌细胞膜的制备和 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶活性测定参照McNamara方法<sup>(5)</sup>。所不同的只是用玻璃匀浆器代替组织捣碎机制备匀浆, 以及用2 M LiBr处理用于 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶测定的心肌细胞膜<sup>(6)</sup>。测定药物(除哇巴因外)对ATP酶活性的影响时, 先在碱性条件下用3 ml 氯仿提取2次, 以去除药物的干扰。

**兔心肌细胞膜纯度的鉴定** 兔心肌细胞膜的纯度经电子显微镜( $\times 15000$ )检查证明所制备的膜几乎看不到细胞核、线粒体、肌原纤维、溶酶体等污染。进一步用酶学方法<sup>(5)</sup>检查线粒体, 是将家兔心肌细胞匀浆(10%, w/v)和比原体积浓缩10倍以上的心肌细胞膜悬液各取0.2 ml, 总反应体积为2 ml。线粒体标记酶丁二酸脱氢酶活性的测定是在Specord分光光度计550 nm, 分别扫描2次的结果见图1。经换算后, 心肌细胞匀浆的丁二酸脱氢酶的活性为还原细胞色素C 24 nmol/mg蛋白/min(27°C), 兔心肌细胞膜已测不出丁二酸脱氢酶活性。微粒体标记酶葡萄糖-6-磷酸水解酶的活性, 兔心肌细胞匀浆和膜均未能测出。也证明心肌细胞膜无或极少有线粒体的污染。

**$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶和 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶活性的测定** 酶活性采用间接法测定, 即将不加哇巴因时所测ATP酶活力减去加该酶专一性抑制剂哇巴因时的ATP酶活力之差为 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活性。4次实验的心肌细胞膜上的 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活性, 即被哇巴因所抑制的部分相当于所测ATP酶活性的99.4%±(SD) 0.8, 表明经LiBr处理过的膜制备上的 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活性以外的ATP酶活性只

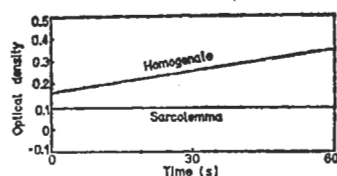


Fig 1. Succinic dehydrogenase activity of rabbit heart homogenate and heart sarcolemma assayed by Specord spectrophotometer, 550 nm, 27°C

1981年1月22日收稿 1981年3月10日修回  
1979年3月全国生物膜会议及5月全国生物化学学会第三次会议上宣读

Table 1. Inhibition % of 4 drugs on  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase activity of rabbit heart sarcolemma. Activity:  $\mu\text{mol Pi/mg protein/h}$

$\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase activity	Purity of $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase	Drug concn. mM	Changrolin	Quinidine	Pyracrine phosphate	Mepacrine
(4)		1	23.9±9.2	50±5	92±28	74.0±7.8
15.5±2.8	99.4±0.8	0.25	9.9±0.6	38±7	87±26	64.5±2.7

Purity of  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase activity of membrane fraction =  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase activity/ATPase activity × 100

Table 2. Effects of 4 drugs on  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of rabbit heart sarcolemma. Normal activity: 13.4±(SD) 1.7  $\mu\text{mol Pi/mg protein/h}$  (N=10 hearts)

Drug concn. (mM)	Changrolin	Quinidine	Pyracrine phosphate	Aconitine
1	12.5±1.4	11.4±3.3	10.0±2.4	13.6±1.7
0.5	13.0±1.2	12.3±2.3	12.5±2.2	13.4±2.1

占 0.6% 左右。所测家兔心肌细胞膜上正常  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP 酶活性为 15.5±(SD)2.8  $\mu\text{mol Pi/mg protein/h}$ 。  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性可以直接测得，其活性为 13.4±(SD)1.7  $\mu\text{mol Pi/mg protein/h}$ 。

#### 4 种药物对兔心肌细胞膜上 ATP 酶活性的影响

1. 对  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响 常咯啉、奎尼丁、磷酸咯啉和麦帕克林对该酶的抑制%见表 1。其中两批实验结果均表明磷酸咯啉抑制作用最强，麦帕克林次之，常咯啉的抑制作用最弱。1 mM 时磷酸咯啉的抑制作用超过 100%，表明其中  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶也受到抑制。

2. 对  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性的影响 只有磷酸咯啉在 1 mM 时有轻度的抑制作用，其余均无明显影响。结果见表 2。

#### 讨 论

常咯啉和奎尼丁的小鼠急性  $\text{LD}_{50}$  分别为 377 和 180 mg/kg，常咯啉毒性比奎尼丁小一半，以等分子量水平比较，常咯啉对  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -

ATP 酶的抑制%约为奎尼丁的 1/2，而对室性心律失常模型的防治作用，常咯啉明显地优于奎尼丁<sup>(6)</sup>。因此常咯啉和奎尼丁的毒性和  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP 酶的抑制作用之间似乎有平行关系，而  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP 酶的抑制与抗心律失常的效果之间可能不存在某种因果关系。

如将常咯啉的啞啉环换成有取代基的吡啶环，即磷酸咯啉，就成为一个类似于哇巴因的  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATP 酶抑制剂。麦帕克林结构也具有同样取代基的吡啶环，对该酶的抑制作用也很强。表明这种结构与酶的活性部位之间的关系可能具有一定的分子药理学意义。

常咯啉和奎尼丁对细胞表面膜上  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性均无明显作用，表明它们在发挥其药理作用过程中与钙离子通过细胞表面膜时需能的主动转运系统无明显影响。文献报道奎尼丁降低心肌收缩力与其影响心肌细胞内部肌浆网囊泡与钙离子的结合与摄取有关<sup>(7)</sup>。我们曾证明常咯啉在去核和线粒体后的上清液中分布较高<sup>(8)</sup>，是否也存在类似奎尼丁的生化机制？有待研究。

致谢 中国科学院生物化学研究所汪静英和李筠同志指导，上海第一医学院陈细法同志帮助做电镜检查。

#### 参 考 文 献

- 1 李良泉、瞿志祥、王志敏、曾衍霖、丁光生、胡国钧、杨学义。中国科学 1979 年 7 月；(7):723
- 2 孙金琳、王淑云、魏月芳、张洪禄、张炎生、王嘉荣、王建颖、金燕燕。全国第一届心血管药理专业学术会议论文摘要汇编（长沙）1980 年 11 月：41
- 3 陈维洲、董月丽、丁光生。药学报 1979 年 12 月；14(12):710

- 4 Kennedy KG, Nayler WG. *Biochim Biophys Acta* 1965 Oct 25; 110 (1):174
- 5 McNamara DB, Sulakhe PV, Singh JN, Dhalla NS. *J Biochem* 1974 Apr; 75 (4):795
- 6 王志敏、张月芳、陈立信、丁光生. 生理学报 1979年4月, 31 (2):175
- 7 Besch HR Jr, Watanabe AM. *J Pharmacol Exp Ther* 1977 Aug; 202 (2):354
- 8 屠曾宏、陈恩鸿、吴巍巍、杨惠华. 药学报 1979年10月, 14 (10):594
- 9 陈恩鸿、屠曾宏、杨惠华、吴巍巍. 医学文选 1981年, 1期:17

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Sep, 3 (3) : 183—185

## EFFECTS OF CHANGROLIN AND PYRACRINE PHOSPHATE ON ATPase OF RABBIT HEART SARCOLEMMMA

CHEN En-hong, TU Zeng-hong, YANG Hui-hua, WU Wei-wei  
(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** Changrolin, 4- {3', 5'- bis [ (N-pyrrolidiny)l methyl] -4'- hydroxy-anilino} quinazoline, was synthesized in our institute for treatment of arrhythmia. When the quinazoline ring of changrolin was substituted by an acridine ring, the compound was named pyracrine phosphate.

The rabbit heart sarcolemma was prepared according to the method of McNamara<sup>(5)</sup>, except that the left ventricle was homogenized by a glass homogenizer and, in the last step, the membrane was extracted with 2 M LiBr. The inhibitory effects of changrolin and quinidine (1 mM)

on the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity were 24% and 50%, respectively.

The inhibitory effects of pyracrine phosphate and mepacrine on Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase were more potent. The inhibitory effect of pyracrine phosphate was similar to that of ouabain.

The effects of changrolin and pyracrine phosphate on Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity were not significant at 0.5 and 1 mM.

**KEY WORDS** changrolin; pyracrine phosphate; heart sarcolemma; Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase; Ca<sup>2+</sup>-ATPase; quinidine