

葡甲胺环腺苷酸对心脏的负性变时效应

贾力¹、后德辉 (中国药科大学生理教研组, 南京 210009)

提要 葡甲胺环腺苷酸(MCA)100 mg/kg iv 显著减慢小鼠、大鼠、豚鼠和兔的心率, 延长 ECG 的 P-P 间期, 对离体兔右心房呈剂量依赖性负变时效应。同浓度的 cAMP 和 MCA 的变时效应相同。MCA 或 cAMP 1.8 mmol/L 均显著减少窦房结细胞自发活动频率, 减慢舒张期去极化速度和延长 APD 值。MCA 可拮抗

异丙肾上腺素 5 nmol/L 诱发窦房结细胞自发活动频率加快的作用。

关键词 葡甲胺环腺苷酸; 心率; 心房; 窦房结; 动作电位; 腺苷环一磷酸

1987年4月14日收稿 1988年3月10日接受

¹现在南京军区福州总医院药理室 福州 350001

葡甲胺环腺苷酸(meglumine cyclic adenylate, MCA)原名心先安, 是以5'腺苷酸和

葡甲胺为原料合成的新药⁽¹⁾，具有舒张血管，降低血压和加强整体麻醉犬心收缩性能的作用^(2,3)。临床试用于心力衰竭、病态窦房结综合症、心绞痛和心肌病。但文献对 MCA 影响整体动物心率、离体心脏和体外培养心肌细胞活动频率的报道结果不一致；临床试用后 MCA 又有使患者心率增快或减慢的矛盾报道。为此本文系统地研究 MCA 对心脏产生变时作用的性质，以明确其对心脏活动的影响；通过与外源性环腺苷酸(cAMP)进行比较，了解 MCA 和 cAMP 对心脏变时作用的异同。

方法与结果

MCA 为白色粉状结晶，徐州生化制药厂产品，整体动物实验时用生理盐水稀释。cAMP，中科院上海生物化学研究所产品。

MCA 对四种动物心率的影响 25 只 ♂ 性昆明种小鼠，体重 30 ± 5 g，ip 乌拉坦 1.4 g/kg 麻醉后，用第 II 导联描记 ECG，心电示波器连续观察心电变化。小鼠分成 3 组，分别自尾静脉缓慢注入 MCA 10, 100 mg/kg 和等容量生理盐水，记录 iv 后 3, 5, 10, 15 min 的心电变化，并与盐水组比较。结果(表 1)可见，给予生理盐水后小鼠心率增加，约 15 min 回复。MCA 10 mg/kg 虽使小鼠心率略增加，但心率的增加值低于对照组，表明 MCA 有减慢心率的作用，MCA /100 mg/kg 则使小鼠心率显著减慢，其作用持续约 10 min。

Tab 1. Effects of meglumine cyclic adenylate (MCA) on heart rate (bpm) of anesthetized mice. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs NS groups

(n)	NS (9)	MCA (mg/kg)	
		10 (8)	100 (8)
Control	628 ± 25	588 ± 62*	668 ± 72*
3 min	+39 ± 38	+26 ± 68*	-34 ± 46***
5 min	+53 ± 31	+32 ± 59*	-27 ± 60***
10 min	+38 ± 37	+21 ± 39*	-28 ± 60**
15 min	+6 ± 82	+12 ± 34*	-13 ± 60*

兔 15 只，体重 2.3 ± 0.3 kg，♀♂兼用。背位固定后于清醒状态下由耳 iv MCA 100 mg/kg，观察方法与上相同。给予 MCA 后兔心率减慢，给药前为 197 ± 29 bpm ($n = 5$)，给药后 4 min 下降到 173 ± 30 bpm ($p < 0.05$)。生理盐水组的兔心率由 201 ± 13 bpm ($n = 10$) 改变到 197 ± 13 bpm ($p > 0.05$)。比较给药后 2, 4, 8, 16 min 时两组间的心率改变值，发现 4 min 时有显著差异。

大鼠体重 194 ± 44 g，♀♂兼用，♀性豚鼠，体重 410 ± 65 g。ip 乌拉坦 1.4 g/kg 麻醉后，分离一侧颈静脉，记录给药前的心率，缓慢 iv MCA 100 mg/kg，对照组 iv 等容量生理盐水，记录给药后 3 min 时的心率，结果(表 2)表明，MCA 对麻醉大鼠、豚鼠有显著减慢心率的作用。

Tab 2. Effects of MCA 100 mg/kg on heart rate of anesthetized rats and guinea pigs. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs before drug

Animal	Drug	n	Heart rate (bpm)		
			Before drug	3 min after	Change (%)
Rat	NS	18	387 ± 71	385 ± 66*	-0.5
	MCA	17	362 ± 75	246 ± 79***	-32.0
Guinea pig	NS	9	285 ± 83	283 ± 54*	-0.7
	MCA	9	254 ± 39	225 ± 55**	-11.4

MCA 对动物 ECG 波形无甚影响，产生负性心率作用时可使 ECG P-P 间期显著延长，P-R 间期略延长但作用不显著。例如给予小鼠 MCA 100 mg/kg 后 5 min，ECG 的 P-P 间期延长了 4 ± 7 ms ($n = 8$)，给兔 MCA 后 4 min，P-P 间期延长了 28 ± 26 ms ($n = 5$)，这些结果与同时刻对照组的 P-P 间期比较有显著差异。提示 MCA 可能会抑制心脏的起搏活动。

MCA 对兔右心房的变时效应 兔体重 2.0 ± 0.5 kg，♀♂兼用。击昏后分离右心房，将其置入含 Locke 溶液的浴槽中， 37°C ，pH 7.4，通 95% $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ ，心房下端固定，上端接于张力换能器后输入台式平衡自动记录仪。调整静息张力约 1 g，平衡 1 h 后开始实

验。每次实验加入药液的总容量不超过浴槽中 Locke 液的 5%。记录给药前的兔心房率后, 分别一次加入 MCA 终浓度为 0.14, 2.24 mmol/L 或 cAMP 2.24 mmol/L。观察给药后 2, 4, 8, 16 min 时的右心房率, 并与溶媒 (H₂O) 组比较, 了解 MCA 变时作用和时间关系。结果(图 1)可见加入 MCA 后右心房率即刻下降, 2 min 内下降的程度最大。MCA 0.14, 2.24 mmol/L 的负性频率作用显著, 而溶媒组的右心房率几乎未见改变。外源性 cAMP 2.24 mmol/L 与 MCA 的负性频率作用相似。

记录给药前的心房率后, 累积加入 MCA, 二次加药间隔 5 min, 得到 MCA 影响心房率的剂量一效应曲线(图 1), 由曲线可见 MCA 对心房率的负性变时作用呈剂量依赖性。

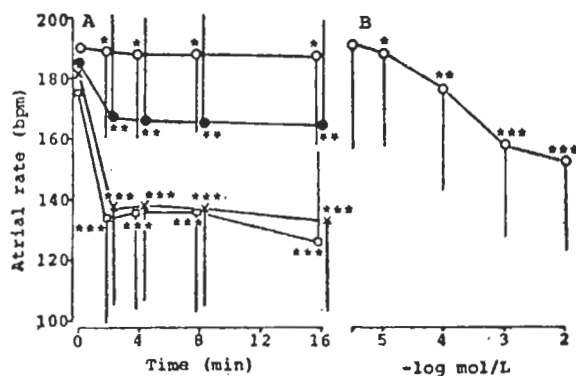


Fig 1. Negative chronotropic effects of MCA and cAMP on right atria of rabbits. A) Time-effect curves. (○) Solvent, (●) MCA 0.14 mmol/L, (×) MCA 2.24 mmol/L, (□) cAMP 2.24 mmol/L. n=5. B) Dose-effect curve of MCA. n=7, $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$ vs before drug.

MCA 对兔窦房结优势起搏细胞动作电位的影响 取体重 2.1 ± 0.4 kg 兔, 雌雄不拘, 击昏后取出心脏浸泡于改良 Locke 液中, 制备离体兔心窦房结标本⁽⁴⁾。标本的心内膜面朝上, 用不锈钢针固定于恒温浴槽的硅胶片上, 持续用 95% O₂ + 5% CO₂ 饱和的改良 Locke 液 35 ± 0.5 °C、3.5 ml/min 灌注。改良 Locke 液成分 (mmol/L): NaCl 157; KCl 5.6; NaHCO₃

1.8; CaCl₂ 2.2; Glucose 5.6; pH 7.3-7.4。标本持续灌注 1 h 后开始实验。

玻璃微电极尖端直径小于 0.5 μ m, 内充以 KCl 3 mol/L, 直流阻抗 15-40 M Ω 。首先探查优势起搏细胞, 其特点是^(4,5): 具有明显的 4 相自动去极化, 且速率较高; 4 相自动去极化向 0 相去极化的转变是平滑的; 0 相上升速率和复极化速率缓慢; 与心肌工作细胞电位相比, 其最大舒张期电位 (MDP) 小; 超射小或无;

窦房结细胞动作电位 (AP) 用玻璃微电极引导到微电极放大器后, 一路输至 SBR-1 型二线示波器上显示, 另一路经放大器和专用接口将生物电讯号按文献法^(6,7) 用微机联机实时连续采集, 并在微机屏幕上与示波器同步显示 AP 波形。微机自动测量 AP 各参数, 最后由打印机打出分析结果和 AP 波形。

AP 稳定 15 min 后, 用含 MCA 或 cAMP 1.8 mmol/L 的改良 Locke 液恒速灌注标本, 连续观察用药后 AP 各参数的变化, 记录 10 min 时的结果。另外三例标本先用含异丙肾上腺素 (Iso) 5 nmol/L 的改良 Locke 液灌注 20 min 后, 再观察加入 MCA 对 AP 各参数的影响。用药前后资料均在同一细胞内取得。数据处理采用配对 t 检验。

8 例标本用 MCA 灌注后窦房结自发活动频率逐渐减慢。与用药前比较, 灌注 10 min 后窦房结优势起搏细胞自发活动频率减少了

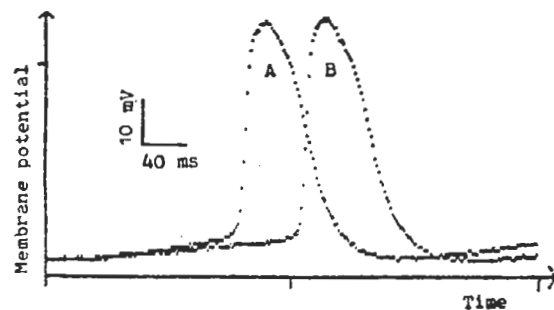


Fig 2. Effects of MCA 2.24 mmol/L on action potential of a dominant pacemaker cell in sinus node. A) Control, B) 10 min after MCA. MCA slowed down the rate of diastolic depolarization of the dominant pacemaker cell.

Tab 3. Effects of MCA or cAMP 1.8 mmol/L on the action potential of the dominant pacemaker cells in the rabbit sinoatrial node. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	MCA (n=8)		cAMP (n=4)	
	Control	10 min after MCA	Control	10 min after cAMP
Action potential amplitude (mV)	56 ± 13	55 ± 17*	61 ± 5	62 ± 6*
Maximum diastolic potential (mV)	-51 ± 8	-51 ± 11*	-61 ± 4	-62 ± 4*
Mean rate of repolarization (V/s)	0.70 ± 0.22	0.60 ± 0.21*	0.83 ± 0.17	0.86 ± 0.25*
Rate of diastolic depolarization (mV/s)	33 ± 13	21 ± 9**	29 ± 6	10 ± 4**
Spontaneous firing frequency (bpm)	146 ± 37	105 ± 28***	133 ± 44	104 ± 43**
Diastolic depolarization time (ms)	251 ± 144	402 ± 252**	229 ± 56	301 ± 50**
Maximum rate of depolarization (V/s)	4.3 ± 2.1	4.6 ± 3.3*	5.3 ± 0.9	5.4 ± 1.1*
Action potential duration from peak to maximum diastolic potential				
APD ₅₀ (ms)	45 ± 9	47 ± 8*	49 ± 9	50 ± 8*
APD ₉₀ (ms)	85 ± 14	91 ± 17*	80 ± 10	83 ± 14*
APD ₁₀₀ (ms)	141 ± 26	163 ± 39**	126 ± 16	139 ± 27*

28% ($p < 0.01$); 舒张期去极化速度减慢 36% ($p < 0.05$); 舒张期去极化时间延长 ($p < 0.05$); 动作电位时程 (APD, 从动作电位峰值到 MDP 50, 90, 100% 所需的时间) 延长, 以 APD₁₀₀ 为最显著, 延长了 16% ($p < 0.05$)。动作电位幅度 (APA) 和 MDP 均未见明显改变 (表 3)。

图 2 是给予 MCA 后窦房结细胞 AP 形态的变化。给予 MCA 后的标本再换用改良 Locke 液灌流, 上述改变了的参数仍可逐渐恢复。

4 例标本用 cAMP 灌流 10 min 后, 窦房结优势起搏细胞自发活动频率减少了 22% ($p < 0.05$); 舒张期去极化速度减慢了 34% ($p < 0.05$); 舒张期去极化时间相应延长了 ($p < 0.05$); APD 未见显著延长, 可能例数略少。APA 和 MDP 值无明显改变 (表 3)。在同一细胞中从 20 $\mu\text{mol/L}$ 开始累积加入 cAMP, 发现当灌流液中 cAMP 的浓度达 1.0 mmol/L 以上时, 方可对窦房结细胞 AP 产生较显著的负性变时效应。

3 例标本用含 5 nmol/L 的 Iso 灌流 20 min 后, 窦房结优势起搏细胞自发活动频率增加到 235 ± 35 bpm, 舒张期去极化速率加快到 59 ± 13 mV/s, 舒张期去极化时间相应缩短到 107 ± 34 ms, APD 缩短, 其它参数的改变不明显。随后加入终浓度 1.8 mmol/L 的 MCA 继续灌

流标本, 5 min 后窦房结自发活动频率降到 105 ± 31 bpm, 舒张期去极化速度减慢到 16 ± 6 mV/s, 舒张期去极化时间相应延长到 458 ± 186 ms, APD 延长。3 例标本换用改良 Locke 液灌流后, 上述改变了的参数又逐渐恢复到给药前水平。

讨 论

小鼠 iv MCA 测得 LD₅₀ 为 1966 ± 149 mg/kg⁽⁸⁾。本文用 MCA 约 1/20 LD₅₀ 剂量, 发现 MCA 对麻醉小鼠、大鼠、豚鼠和非麻醉兔都有减慢心率的作用, 这些结果与文献用整体麻醉狗观察的结果⁽²⁾相同。MCA 对离体兔右心房标本呈剂量依赖性的负性变时效应 (图 1), 并使窦房结细胞舒张期去极化速率减慢, 自发活动频率减少, 因而导致整体动物 ECG 的 P-P 间期延长, 出现窦性起搏缓慢现象。

为了解 MCA 减慢整体动物心率的作用是否与迷走神经活动有关, 我们对行迷走神经切断术后的兔 ($n=2$), iv MCA 100 mg/kg, 给药后仍可看到兔心率减慢, 表明 MCA 可能具有外周性直接负变时效应。以上结果提示 MCA 似不宜用于以窦性心动过缓为主要特征的病态窦房结综合症。

外源性 cAMP 可减慢整体动物心率^(2,9);

在 0.1–2 mmol/L 范围内, cAMP 对离体心房^(10,11)、心脏^(12,13)和窦房结起搏细胞⁽¹¹⁾也可产生负性变时效应。本实验亦观察到外源性 cAMP 的负性变时效应。值得注意而以前的文献未报道的是, 外源性 cAMP 和 MCA 都显著减慢窦房结细胞舒张期去极化速度, 延长舒张期去极化时间和 APD 值。同浓度的外源性 cAMP 和 MCA 的负性变时效应相同, 这可能与两者分子中的腺苷结构有关, 腺苷结构中的氨基和 D-核糖是这类物质产生负性变时效应的必需基团⁽⁹⁾。近来发现⁽¹⁵⁾, 腺苷类物质可兴奋心脏腺苷受体, 导致心肌细胞钾导增加和拮抗 Iso 刺激增加的慢钙内向离子流。MCA 对抗 Iso 诱发起搏细胞活动频率加快的作用可能与腺苷的上述作用有关。

参 考 文 献

- 1 赵升皓. 心先安作用的分子基础. 徐州医学院学报 1984; 4(4): 3
- 2 饶曼人、梁满达、刘广余、刘丰. 心先安对心脏血流动力学的影响. 同上 1984; 4(4): 32
- 3 饶曼人、梁满达、潘光蓉、赵文君. 心先安对心血管影响的研究. 同上 1984; 4(4): 24
- 4 吴瑞林、王羽迅、朱思明、葛志恒. 离体兔心窦房结起搏细胞跨膜电位的引导. 南京医学院学报 1984; 4: 8
- 5 Bleeker WK, Mackaay AJC, Mireille MP, Bouman LN, Becker AE. Functional and morphological organization of the rabbit sinus node. *Circ Res* 1980; 46: 11
- 6 叶定忠、朱思明. 在微型计算机的显示器上实

- 现生理信息记忆示波. 应用生理学杂志 1986; 2: 64
- 7 顾炎平、吴瑞林、朱思明、葛志恒. 高钙对兔窦房结的负性变时作用. 生理学报 1986; 38: 157
 - 8 陈锦明、赵文君、张传琳. 心先安的毒性实验与抗心肌缺血的研究. 徐州医学院学报 1984; 4(4): 19
 - 9 James TN. The chronotropic action of ATP and related compounds studied by direct perfusion of the sinus node. *J Pharmacol Exp Ther* 1965; 149: 233
 - 10 Yamaji N, Kato M, Matsubara I, Shimamoto N, Miura K, Imai S. Inotropic and chronotropic action of 2-substituted and 8-substituted derivatives of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Chem Pharm Bull* 1980; 28: 1683
 - 11 Yamasaki Y, Fujiwara M, Toda N. Effects of intracellularly applied cyclic 3',5'-adenosine monophosphate and dibutyryl cyclic 3',5'-adenosine monophosphate on the electrical activity of sinoatrial nodal cells of the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1974; 190: 15
 - 12 Gartner SL, Vahouny GV. Effects of epinephrine and cyclic 3',5'-AMP on perfused rat hearts. *Am J Physiol* 1972; 222: 1121
 - 13 Kjekshus JK, Henry PD, Sobel BE. Activation of phosphorylase by cyclic AMP without augmentation of contractility in the perfused guinea pig heart. *Circ Res* 1971; 29: 468
 - 14 Robison GA, Butcher RW, Oye I, Morgan HE, Sutherland EW. The effect of epinephrine on adenosine 3',5'-phosphate levels in the isolated perfused rat heart. *Mol Pharmacol* 1965; 1: 168
 - 15 Schütz W, Freissmuth M. Adenosine receptors in the heart: controversy about signal transmission. *Trend Pharmacol Sci* 1985; 6: 301

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep, 9 (5): 421-426

Negative chronotropic effects of meglumine cyclic adenylate on heart

JIA Li¹, HOU De-Hui

(Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

ABSTRACT A new cyclic adenylate analog meglumine cyclic adenylate (MCA) 100 mg/kg iv markedly slowed the heart rates of anesthetized mice, rats, guinea pigs and unanesthetized rabbits and significantly pro-

longed the P-P intervals in the ECG. The negative chronotropic effects of MCA on the isolated right rabbit atria were dose dependent. The negative chronotropic effects of exogenous cAMP were consistent with

that of MCA at the same concentration (2.24 mmol/L). An on-line microcomputer was used to analyze in real time the action potential parameters of the dominant pacemaker cells in the rabbit sinoatrial nodes. MCA or cAMP 1.8 mmol/L significantly decreased the spontaneous firing frequencies, slowed the rate of diastolic depolarization and prolonged the action potential duration. MCA also antagonized the positive

chronotropic action induced by isoprenaline 5 nmol/L in the sinoatrial nodes.

KEY WORDS meglumine cyclic adenylylate; heart rate; heart atrium; sinoatrial node; action potentials; adenosine cyclic monophosphate

¹Now in *Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350001*

* * * * *