

## 洛土辛对心肌及阴茎海绵体环核苷酸含量和收缩功能的影响

赵志方<sup>1\*</sup>, 张延琳<sup>2</sup>, 喻欣<sup>1</sup>, 冯秀玲<sup>1</sup>, 王嘉陵<sup>1</sup>

(华中科技大学 1. 同济医学院药理学教研室, 2. 同济医院口腔医学中心, 湖北 武汉 430030)

**摘要:**目的 研究洛土辛(Lot)对磷酸二酯酶(PDE) III或V亚型的抑制作用及选择性。方法 采用放射免疫测定法及收缩张力记录。结果 Lot和氨力农(Amr)剂量依赖性地增加大鼠心肌cAMP含量,且Lot的作用强于Amr。在家兔阴茎海绵体, Lot和扎普司特(Zap)可剂量依赖性地增加海绵体cGMP含量, Lot的作用远弱于Zap。Lot, 罂粟碱(Pap)、Zap及Amr可显著抑制预先用苯肾上腺素诱发的阴茎海绵体血管收缩, 其 $EC_{50}$ 分别依次为Zap > Pap > Amr > Lot。结论 提示洛土辛的作用机理可能与选择性的抑制PDE III有关。

**关键词** 洛土辛; 扎普司特; 环核苷酸; 磷酸二酯酶类; 心肌; 阴茎海绵体

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2002)03-0202-04

中药莲子心(Plumula nelumbinis)“清心安神, 涩精止血”, 洛土辛(lotusine, Lot)是从莲子心中提取的一种异喹啉类生物碱, 它增强心肌收缩力<sup>[1]</sup>, 舒张离体大动脉及大静脉血管<sup>[2]</sup>, 具有磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE)抑制剂性质。PDE至少可分为9型, PDE III<sup>[3]</sup>和PDE V型<sup>[4]</sup>分别主要存在于心脏和阴茎海绵体, 参与调节环核苷酸(3', 5'环腺苷一磷酸和3', 5'环鸟苷一磷酸)含量, 氨力农(amrinone, Amr)<sup>[4]</sup>和扎普司特(zaprinast, Zap)<sup>[3]</sup>分别为PDE III和V型选择性抑制药。

预实验中作者发现Lot还舒张阴茎海绵体血

管。为进一步了解其对PDE III或V抑制作用的选择性及其效价强度。本文观察了Lot对大鼠心肌cAMP及家兔阴茎海绵体组织cGMP含量和收缩功能的影响, 并与Amr和Zap等进行了比较。

### 1 材料与方法

#### 1.1 药品

Lot<sup>[5,6]</sup>盐酸盐为无色方晶, 熔点: 213 ~ 214℃, 饱和溶液pH 6.5, 由本室植化组提供。Amr齐鲁制药厂产粉针剂, 肾上腺素(epinephrine, Epi)市售水针剂, 硝普钠(sodium nitroprusside, SNP)粉针剂, 罂粟碱(papaverine, Pap)水针剂, 苯肾上腺素(phenylephrine, Phe)和Zap为Sigma产品。 [<sup>125</sup>I]cAMP及 [<sup>125</sup>I]cGMP放射免疫试剂盒为上海中医学院产品。

#### 1.2 标本制备

SD大鼠190 ~ 240 g, 雄性家兔2 ~ 2.3 kg, 用戊巴比妥钠30 mg·kg<sup>-1</sup>, 麻醉, 迅速取出心脏或家兔阴茎海绵体, 放入预先通有95% O<sub>2</sub>和5% CO<sub>2</sub>混合气的DMEM培养基中, 迅速切割成8 ~ 10份, 37℃温育1 h, 每20 min换液1次。

#### 1.3 量效反应

每两份心肌组织或海绵体组织用于一个剂量的药物效应反应。心肌实验: 分Lot、Lot加Epi及Amr加Epi 3组。分别加入不同浓度的Lot或Amr, 温育10 min, 然后参照文献[7]的方法加入Epi至其终浓度10 μmol·L<sup>-1</sup>。海绵体实验: 分Lot、Lot加SNP及Zap加SNP 3组。分别加入不同浓度的Lot和Zap, 37℃温育10 min, 然后参照文献[8]法, 加入SNP至终浓度达10 μmol·L<sup>-1</sup>, 继续温育30 min后弃除上清, 加入1 mol·L<sup>-1</sup>高氯酸终止反应。

#### 1.4 组织样品处理

取组织50 mg左右, 放入盛有预冷的2 mL醋酸缓冲液(50 mmol·L<sup>-1</sup>, pH 4.75)中, 于冰浴下进行组织粉碎匀浆, 75%乙醇洗涤沉淀, 2000 × g离心15 min, 收集合并上清液, 吹干。

收稿日期: 2001-11-09 接受日期: 2002-02-25

基金项目: 湖北省科技厅科学基金项目(99-JJ-1590)

作者简介: 赵志方(1971-), 女, 辽宁省沈阳人, 硕士; 王嘉陵(1951-), 河南省开封人, 华中科技大学同济医学院药理学教授, 博士生导师。

\* 联系作者 Tel: (027)82692627, E-mail: Zhifang Zhao @ tjmu.edu.cn.

### 1.5 大鼠心肌 cAMP 含量及家兔阴茎海绵体 cGMP 含量的测定

按照 [<sup>125</sup>I]cAMP 或 [<sup>125</sup>I]cGMP 放射免疫试剂盒使用说明进行放射免疫测定。

### 1.6 家兔心肌及阴茎海绵体血管收缩功能实验

家兔 1.6 ~ 2.4 kg, ♂ ♀ 兼用, 参照文献[11]的方法, 制备兔左心房肌标本, 悬吊于盛有 10 mL 台氏液的浴槽内, 保持温度(34 ± 0.5) °C, 通入 95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 混合气, pH 7.3 ~ 7.4, 负荷 2 g, 平衡 1.5 ~ 2 h。电刺激(波宽 2 ms, 频率 1 Hz, 120% 阈电压)驱动左房肌收缩, 收缩信号经肌力换能器输入二道生理仪。按半对数摩尔浓度累积给药, 每次给药间隔 5 ~ 10 min, 制作浓度-效应曲线。参照文献[8,10]制备阴茎海绵体螺旋条, 悬吊于盛有 10 mL 克-亨氏液的浴槽中, 温度(36 ± 0.5) °C, 负荷 4 g, 平衡 2 h 后开始实验, 收缩信号输入台式平衡记录仪。先给予 Phe(10 μmol · L<sup>-1</sup>) 诱发的收缩, 再按半对数摩尔浓度累积给受试药, 每次给药间隔 5 ~ 10 min, 制作药物抑制 Phe 作用的剂量-效应曲线。

### 1.7 统计学处理

结果采用 Microsoft office 97 软件处理, 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 显著性差异采用 *t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 洛土辛和氨力农对大鼠心肌组织 cAMP 含量的影响

表1 结果显示, 单用 Lot 或将 Lot(0.1 ~ 3.0 μmol · L<sup>-1</sup>)、Amr(0.1 ~ 10 μmol · L<sup>-1</sup>) 与 Epi(3 μmol · L<sup>-1</sup>) 合用, 均可剂量依赖性地增加心肌组织 cAMP 含量, 比较发现 Lot 的作用强于 Amr。

### 2.2 洛土辛和扎普司特对家兔阴茎海绵体组织 cGMP 含量的影响

图 1 结果显示, Lot 或 Zap(0.1 ~ 100 μmol · L<sup>-1</sup>) 与 SNP(10 μmol · L<sup>-1</sup>) 合用, 可剂量依赖性地增加家兔阴茎海绵体组织 cGMP 含量。比较 Lot 和 Zap 量效曲线可见, Lot 的作用远弱于 Zap。

### 2.3 洛土辛及扎普司特对家兔左心房肌收缩功能的影响

Lot(1 ~ 100 μmol · L<sup>-1</sup>) 可剂量依赖性地增加家兔左心房肌收缩力, 3、30 μmol · L<sup>-1</sup> 使收缩力从给药前(0.56 ± 0.09) g(100%) 分别增至(0.66 ± 0.10) g(118%) 和(0.91 ± 0.10) g(163%) (*n* = 6, *P* <

Tab 1. Effect of lotusine and amrinone on cAMP levels in rat myocardium

Drug/μmol · L <sup>-1</sup>	cAMP/pmol · mg <sup>-1</sup>
Control	1.52 ± 0.22
Lot 0.1	2.26 ± 0.54 * *
1	2.47 ± 0.45 * *
3	2.71 ± 0.46 * *
Epi 3 + Lot 0.1	2.51 ± 0.31 * * #
1	2.78 ± 0.41 * * #
3	3.05 ± 0.37 * * # #
Epi 3 + Amr 0.1	2.10 ± 0.29 * *
1	2.24 ± 0.31 * *
3	2.33 ± 0.31 * *
10	2.66 ± 0.38 * *

Lot: lotusine, Amr: amrinone, Epi: epinephrine.  $\bar{x} \pm s$ , *n* = 6 - 8, \* \* *P* < 0.001, compared with control; # *P* < 0.05, # # *P* < 0.01, compared with corresponding Amr + Epi group.

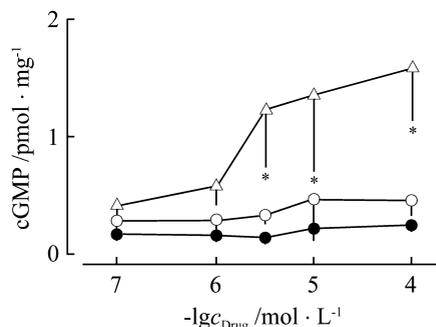


Fig 1. Effects of zaprinast(Zap) and lotusine(Lot) on cyclic GMP level in rabbit corpus cavernosum. SNP: sodium nitroprusside. (○) Lot + SNP, (●) Zap + SNP.  $\bar{x} \pm s$ , *n* = 6 - 7. \* *P* < 0.05, compared with Lot + SNP group.

0.05)。而 Zap 对收缩力却无明显影响, 给药前后分别为(0.57 ± 0.09) g (100%)、(0.58 ± 0.10) g (102%) (*n* = 8, *P* > 0.05)。随机取 4 例, 在 Zap(30 μmol · L<sup>-1</sup>) 存在下, 再加用 Lot(30 μmol · L<sup>-1</sup>), 心肌收缩力仍可显著增高, 合用前后分别为(0.58 ± 0.10) g (100%) 及(0.90 ± 0.10) g (160%) (*P* < 0.05)。

### 2.4 洛土辛、罂粟碱、扎普司特及氨力农对家兔阴茎海绵体收缩功能的影响

在家兔阴茎海绵体标本上, Lot、Pap、Zap 及 Amr 可剂量依赖性地抑制预先用 Phe(10 μmol · L<sup>-1</sup>) 诱发

阴茎海绵体血管收缩(图2),其 $-\lg EC_{50}(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ 分别依次为 Zap(5) > Pap(4.9) > Amr(4.6) > Lot(3.7)。

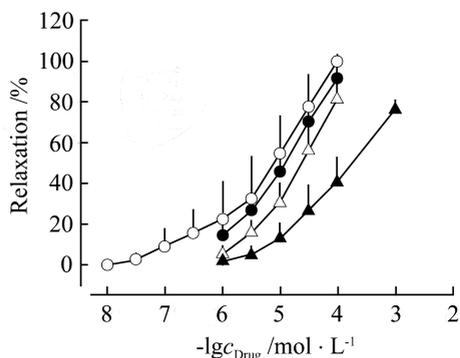


Fig 2. Effects of papaverine (●), zaprinast (○), amrinone (△) and lotusine (▲) on rabbit corpus cavernosum contractions induced by phenylephrine  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 7 - 9$ .

### 3 讨论

本文选用心肌、阴茎海绵体血管分别作为研究 PDE III 或 V 型对象, cAMP、cGMP 含量为测定指标, Amr 和 Zap 为工具药, 比较性研究了 Lot 对 PDE III 或 V 型的选择性。所获 Amr 剂量依赖性地增加心肌 cAMP 和 Zap 剂量依赖性地增加家兔阴茎海绵体组织 cGMP 的结果与文献报道相似<sup>[7,8,10]</sup>, 表明本实验条件是可靠的。Lot、Amr 与 Epi ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 合用, 两受试药可剂量依赖性地增加心肌组织 cAMP 含量, 此与先前报告的两者增加大鼠心肌收缩力结果是相吻合的<sup>[1]</sup>。比较它们对心肌 cAMP 含量, 发现 Lot 的效价强度高于 Amr, 提示 Lot 对 PDE III 有较高的选择性抑制作用。

家兔阴茎海绵体血管的收缩及舒张反应受多因素影响, 其舒张效应主要受 NO-GC-cGMP 信号传导系统调控, SNP 作为 NO 的“供体”引起舒张反应, PDE 抑制药减少 cGMP 的分解而增强这一舒张反应<sup>[8~10]</sup>, 其中 PDE V 抑制药的舒张作用尤为强大。本实验表明 Zap 与 SNP ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 合用增加 cGMP 的作用远强于洛土辛与 SNP 合用效果, 表明 Lot 对 PDE V 型的选择性差, 而 Zap 对其的选择性则高。 $\alpha$ -受体激动是引起阴茎海绵体血管收缩的重要因素, PDE 抑制药可通过抑制 PDE V, 在机能上对抗  $\alpha$ -受体激动剂的这一效应。机能实验结果表明

Zap、Pap、Amr 和 Lot 均可削弱 Phe ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 诱发的海绵体收缩反应, 其强度依次为 Zap > Pap > Amr > Lot。由此可见, 对 PDE V 型的选择性作用, 特异性 PDE V 抑制剂 Zap 最强, 非特异性 PDE 抑制药 Pap 及特异性 PDE III 抑制药 Amr 次之, Lot 则最低。Lot 明显增加心肌 cAMP 浓度, 轻度抑制苯肾上腺素诱发的阴茎海绵体的收缩作用, 提示其作用机理可能与选择性的抑制 PDE III 有关。

### 4 参考文献:

- [1] Wang JL, Zhao ZF, Li M, Liu C, Feng XL. Positive inotropic effect of lotusine on isolated myocardium and its mechanism[J]. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1999, **28**(5):385 - 388.
- [2] Wang JL, Zhao ZF, Cao Q, Yu J, Feng XL. Effects of lotusine on contractions of blood vessels and platelet cyclic nucleotides[J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1999, **15**(4):14 - 17.
- [3] Perry MJ, Higgs GA. Chemotherapeutic potential of phosphodiesterase inhibitors[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 1998, **2**(4):472 - 475.
- [4] Nicholson CD, Challiss RA, Shahid M. Differential modulation of tissue function and therapeutic potential of selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1991, **12**(1):19 - 27.
- [5] Furukawa H, Yang TH, Lin TJ. On the alkaloids of *Nelumbo nucifera* Gaertn. XI. Alkaloids of loti embryo. (4). Structure of lotusine, a new water-soluble quaternary base[J]. *J Pharm Soc Jpn*, 1965, **85**(5):472 - 475.
- [6] Wang JL, Hu XM, Chai HS. Studies of alkaloid components extracted from the green seed embryo of *Nelumbo nucifera* Gaertn [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1991, **16**(6):673 - 675.
- [7] Miller MA, Morgan RJ, Thompson CS, Mikhailidis DP, Jeremy JY. Adenylate and guanylate cyclase activity in the penis and aorta of diabetic rat: an *in vitro* study[J]. *Br J Urol*, 1994, **74**(1):106 - 111.
- [8] Stief CG, Uckert S, Becker AJ, Truss MC, Jonas U. The effect of the specific phosphodiesterase (PDE) inhibitors on human and rabbit cavernous tissue *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Urol*, 1998, **159**(4):1390 - 1393.
- [9] Degerman E, Belfrage P, Manganiello VC. Structure, location and regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE) [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272**(11):6823 - 6826.
- [10] Jeremy JY, Ballard SA, Naylor AM, Miller MA, Angelini

GD. Effect of sildenafil' a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor, and papaverine on cyclic GMP and cyclic AMP levels in the rabbit corpus cavernosum *in vitro* [J]. *Br J Urol*, 1997, **79**(6):958 - 963.

[11] Guo ZG, Zhou CJ. Experimental methods of separated pap-

illary muscles[A]. In: Xu SY, Bian RL, Chen X, ed. *Methods of Pharmacological Experiments* (药理学实验方法)[M]. 2nd ed. Beijing: Peoples' Medical Publishing House, 1991. 866 - 871.

## Effects of lotusine on cyclic nucleotide levels and contractile function in rat myocardium and rabbit corpus cavernosum

ZHAO Zhi-Fang<sup>1</sup>, ZHANG Yan-Lin<sup>2</sup>, YU Xin<sup>1</sup>, FENG Xiu-Ling<sup>1</sup>, WANG Jia-Ling<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacology, Tongji Medical College, 2. The Center of Stomatology, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**Abstract: AIM** To study the inhibitory effect and selectivity of lotusine (Lot), an alkaloid extracted from *Nelumbo nucifera* Gaertn., on phosphodiesterase III or V. **METHODS** To use radioimmunoassay and recording of contractile force. **RESULTS** Lot ( $0.1 - 3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and amrinone (Amr,  $0.1 - 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) concentration-dependently increased the cyclic AMP level of the rat myocardium. The effect of Lot was stronger than that of Amr. Lot and zaprinast (Zap) enhanced the cyclic GMP level in rabbit corpus cavernosum in concentration-dependent manner. This effect of Lot was much weaker than that of Zap. Lot, papaverine (Pap), Zap and Amr obviously inhibited the rabbit corpus cavernosum contractile

response induced by phenylephrine ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). The  $-\lg \text{EC}_{50}(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$  of them was Zap (5) > Pap(4.9) > Amr(4.6) > Lot (3.7) respectively. **CONCLUSION** Lot selectively inhibits phosphodiesterase (PDE) III activity and maybe a novel PDE III inhibitor.

**Key words:** lotusine; zaprinast; cyclic nucleotides; phosphodiesterases; myocardium; corpus cavernosum

**Foundation item:** The project supported by Science Foundation Grant from Science and Technology Ministry of Hubei (99-JJ-1590)

(本文编辑 石涛)