

羊角拗甙剂在体内的破坏及其与血清蛋白的结合*

鄧士賢

(武汉医学院药理教研组)

自朱任宏氏^[1]从羊角拗 *Strophanthus divaricatus* (Lour.) Hook. et Arn. 果实提得有效物后, 經吳瑛^[2], 俞德章^[3]及吳熙瑞等^[4]实验, 一致肯定其強心作用。江明性等^[5-7]又研究了黃維垣从羊角拗种子里所提取的甙剂(编号为 38434)的生物效价、吸收、蓄积、消除及毒性, 測定其临界灌注速度及临界轉向点, 并探討了該甙剂和 K-毒毛旋花子甙对衰竭心脏的作用比較。

据武汉医学院内科教研组^[8]試用本品治疗充血性心力衰竭 55 例的报告, 也証明其有良好疗效。

为了向临床繼續提供理論基础, 我們研究了此药在体内的破坏及其与血清蛋白的结合。

本实验所用羊角拗甙剂系中国科学院有机化学研究所黃維垣所供給, 编号 369, 为白色晶状物。

实验方法及結果

一、在体内破坏

1. 为了确定羊角拗甙剂是否被肝脏所破坏, 乃分两个步骤进行实验: (1)由豚鼠頸靜脉灌注药液测其致死量(即豚鼠单位), 但由于羊角拗甙剂每批提制品的效价不同, 故又以同批样品測定猫单位, 以便比較。(2)由豚鼠門靜脉系灌注药液测其致死量。目的是使药物避过腸道, 先經肝脏, 而后再入大循环。比較这两組結果, 即能間接推知本品在肝脏中的破坏程度。

(1) 猫单位的測定: 参考 Hatcher 及 Brody^[9] 及苏联药典^[10]。选体重 1.8—2.7 公斤的猫, 用乙醚麻醉, 由股靜脉灌入羊角拗甙剂溶液(1:50,000, 以乐氏液配制), 每分鐘一毫升, 直至心脏停止为止, 計算其每公斤的致死量。結果見表 1。

由表 1 可見, 羊角拗甙剂每公斤致死量为 0.333 毫克/公斤 \pm 0.0163 (标准誤, 下同), 即一克相当于 3003 猫单位。

(2) 豚鼠单位的測定: 参考 Knaffl-Lenz 氏法^[9] 及中国药典^[11], 取体重 423—550 克健康豚鼠用 25% 烏拉坦溶液腹腔注射麻醉(7 毫升/公斤), 在气管中插入套管联結人工呼吸

* 1958 年 8 月 19 日收到。

表1 貓單位的測定

貓 号	体 重 (公斤)	心跳停止時間 (分鐘)	总 量 (毫升)	致 死 量 (毫克/公斤)
1	2.1	39	39	0.371
2	2.25	34	34	0.302
3	1.80	30	30	0.333
4	2.70	38	38	0.281
5	2.25	44	44	0.391
6	1.85	35	35	0.379
7	2.25	38	38	0.338
8	2.40	47	47	0.392
9	2.50	31	31	0.248
10	2.10	31	31	0.295

器。由頸靜脈灌入羊角拗貳劑溶液(1:5000,以乐氏液配制),每分鐘 0.25 毫升(折合貳劑 0.05 毫克),当心脏將近停止时,立即剖开胸腔,开动人工呼吸器,直至心脏完全停止跳动为止,結果見表 2:

表 2 豚鼠單位的測定(由頸靜脈以每分鐘进入血循环羊角拗貳劑 0.05 毫克的灌注速度的致死量)

豚鼠号	体 重 (克)	心跳停止時間 (分鐘)	总 量 (毫升)	致 死 量 (毫克/公斤)
1	536	20	4.9	1.83
2	499	20	5.0	2.00
3	451	20	4.9	2.17
4	522	24	6.0	2.29
5	483	24	6.2	2.57
6	423	22	5.5	2.60
7	550	30	7.5	2.73
8	478	30	7.2	3.01
9	478	30	7.5	3.14
10	533	35	8.8	3.30

由表 2 可見:羊角拗貳劑每公斤致死量为 2.564 毫克/公斤 \pm 0.155, 即每克相当于 385 豚鼠單位。

(3) 由門靜脈系灌注藥液求致死量:依 Bätge^[12]氏法,由豚鼠門靜脈系之迴背靜脈灌入羊角拗貳劑溶液(1:10,000),每分鐘 0.5 毫升(折合貳劑 0.05 毫克),每分鐘灌入的藥量完全与前者相等,其他条件也与頸靜脈灌注时相同,結果如表 3。

由表 3 可見:灌注時間为 54—74 分鐘,每公斤致死量为 6.535 毫克/公斤 \pm 0.1981。

由上兩項得知,以每分鐘灌入羊角拗貳劑 0.05 毫克計算,頸靜脈灌注的致死量为 2.564 毫克/公斤 \pm 0.155, 而迴背靜脈灌注的致死量为 6.535 毫克/公斤 \pm 0.1981, 后者比前者增加 3.971 毫克/公斤, 即为前者之 2.6 倍。

(4) 众所週知,測定強心貳的致死量,受灌注時間之影响甚大,因此,乃使迴背靜脈灌注时与頸靜脈灌注时之豚鼠死亡時間相接近(即 20—35 分鐘之間), 将羊角拗貳劑溶液

表 3 由豚鼠迴背靜脈以每分鐘輸入羊角拗武剂 0.05 毫克的速度作灌注时的致死量

豚鼠号	体 重 (克)	心跳停止時間 (分钟)	总 量 (毫升)	致 死 量 (毫克/公斤)
1	545	64	32.0	5.87
2	455	70	35.0	7.69
3	482	57	28.5	5.91
4	434	60	30.0	6.91
5	461	66	33.0	7.16
6	490	58	29.0	5.92
7	498	74	37.0	7.43
8	539	54	27.0	5.00
9	468	64	32.0	6.81
10	466	62	31.0	6.65

調整为 1:5,000, 灌注速度改为每分鐘 0.5 毫升, 即每分鐘灌入迴背靜脈的羊角拗武剂为 0.1 毫克, 其他实验条件仍同前, 結果見表 4:

表 4 由豚鼠迴背靜脈以每分鐘輸入羊角拗武剂 0.1 毫克的速度作灌注时的致死量

豚鼠号	体 重 (克)	心跳停止時間 (分钟)	总 量 (毫升)	致 死 量 (毫克/公斤)
1	429	26.0	13.0	6.07
2	413	24.0	12.0	5.81
3	420	25.0	12.5	5.95
4	400	20.0	10.0	5.00
5	418	25.0	12.5	5.98
6	406	20.0	10.0	4.93
7	409	21.5	10.8	5.28
8	455	28.0	14.0	6.15
9	450	24.0	12.0	5.33
10	430	28.5	14.3	6.65

由表 4 可見: 灌注時間为 20—28.5 分钟, 每公斤致死量为 5.715 毫克/公斤 \pm 0.5567. 此数与(3)項結果相近, 比頸靜脈灌注者增加 3.151 毫克/公斤, 为后者的 2.2 倍.

2. 为了确定豚鼠經口投予羊角拗武剂是否受胃腸道影响而失效, 乃分別由頸靜脈及消化道一次注入以求最小全死量. 比較兩組結果, 推算其在胃腸道失效的程度.

(1) 由頸靜脈一次注入时的最小全死量: 取健康豚鼠用乙醚淺麻醉, 切开頸部皮膚, 將所需葯物溶于 4 毫升乐氏液中, 一次注入頸靜脈, 观察 24 小时内死亡数, 結果見表 5.

最小全死量为 0.9 豚鼠单位, 即 2.3076 毫克/公斤, 豚鼠死前 2—5 分钟內出現短暫的惊厥, 断續的呼吸, 終因心脏停止跳动而死亡.

(2) 由食道一次注入时的最小全死量: 取健康豚鼠, 前晚禁食, 用乙醚麻醉, 切开皮膚找出食道, 將所需羊角拗武剂溶于 4 毫升乐氏液中, 一次注入食道, 观察一天內的死亡例数, 結果如表 6.

得出最小全死量为 12 豚鼠单位, 即 30.768 毫克/公斤, 豚鼠在死前 10 分钟—1 小时之間也有上述中毒現象, 最后心脏停止而死.

表 5 由豚鼠颈静脉一次注射羊角拗甙剂溶液时的最小全死量

豚鼠数	剂 量		死 亡	
	豚鼠单位	毫克/公斤	时 间(分 钟)	例 数
10	0.9	2.308	4—16分	10/10
5	0.8	2.051	10—30分	4/5
7	0.7	1.795	9—28分	4/7
3	0.6	1.538	14分	1/3
1	0.5	1.282	—	—

表 6 由豚鼠食道一次注入羊角拗甙剂溶液时的最小全死量

豚鼠数	剂 量		死 亡	
	豚鼠单位	毫克/公斤	时 间(小 时)	例 数
10	12	30.77	1/2—16	10/10
8	11	28.20	1/2—20	1/8
6	10	25.64	2—24	3/6
4	8	20.51	—	0/4
1	5	12.82	—	0/1
2 (对 照)	乐氏液 4 毫升		—	0/2

由上得知, 颈静脉一次注射最小全死量为 2.308 毫克/公斤。经食道投与 30.768 毫克/公斤, 后者比前者增加 28.460 毫克/公斤, 即为前者的 13.3 倍。

二、与血清蛋白结合

据文献[12], 各种毒毛旋花子甙不与蛋白质结合, 洋地黄毒甙具与蛋白质结合, 海葱

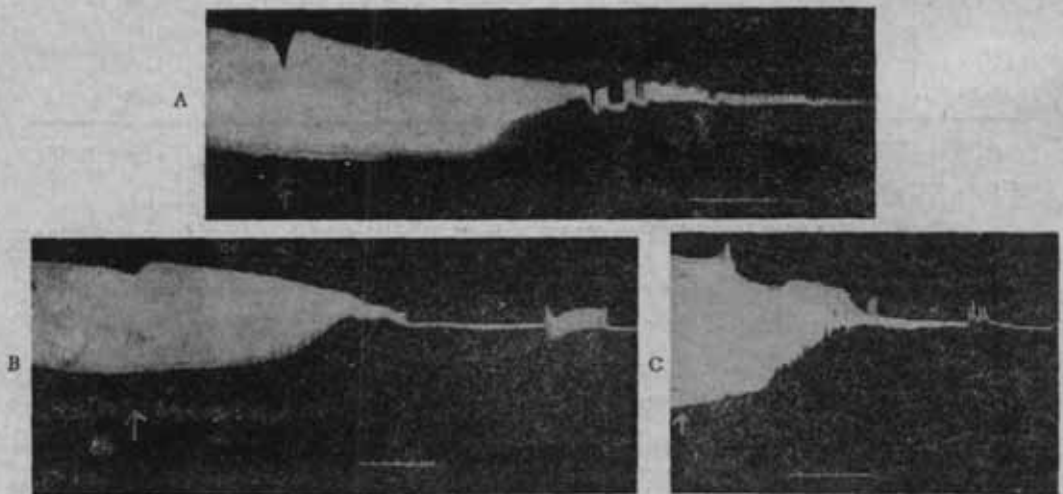


图 1 羊角拗甙剂与 K-毒毛旋花子甙对离体蛙心作用

A: 用 1:200,000 羊角拗甙剂牛血清溶液灌流

B: 用 1:200,000 羊角拗甙剂任氏液灌流

C: 用 1:200,000 K-毒毛旋花子甙牛血清溶液灌流

↑ 为加药记号

时间: 每格一分钟

甙 (Scillaren A) 介于二者之間。而羊角拗甙剂与蛋白質之結合情况則尙无报告, 为此进行了实验。

取武汉市郊的黑斑蛙作离体蛙心实验。牛血清用任氏液稀释为 1:3 或 1:5。实验时间为 1958 年 6 月。

分别观察用牛血清及任氏液配制的 1:200,000 的羊角拗甙剂溶液对蛙心的作用, 并以 K-毒毛旋花子甙为对照, 这些结果列于图 1。

由图 1 知羊角拗甙剂的牛血清稀释液仍对蛙心发生作用, 在 30 分钟内使其停于收缩期, K-毒毛旋花子甙的牛血清稀释液也有相同作用, 可见二者同样地不与蛋白質結合。

討 論

据文献記載^[13], K-毒毛旋花子甙每 1 毫克約合 8.3 貓单位, 或 1.7 豚鼠单位, 二者之比为 1:4.9。据我們实验结果, 本批羊角拗甙剂每 1 克相当于 3003 貓单位或 385 豚鼠单位, 二者之比为 1:7.7。

由本实验得知, 若以每分鐘灌入羊角拗甙剂 0.05 毫克計算, 迴肯靜脉灌注所需的致死量比頸靜脉灌注时大 2.6 倍。若以每分鐘經迴肯靜脉灌入本品 0.1 毫克計算, 使动物死亡时间与由頸靜脉灌注者相近, 則前者之致死量比后者大 2.2 倍。这些结果說明羊角拗甙剂經迴肯靜脉灌注时, 首先进入肝脏而被解毒, 以致作用减弱, 仅达同量頸靜脉注入之 38—45%。

由实验得知: 羊角拗甙剂口服的最小全死量为靜脉注射时的 13.3 倍, 即口服后作用仅达同量靜脉注射时之 7.5%, 而有 90% 以上的药不能发挥作用, 据一般推想, 这种口服失效, 可能受二种因素的影响, 一为腸胃道的破坏与吸收不全, 二为肝脏的解毒, 以下, 就此二因素作一粗略的分析:

肝脏对各种強心甙的破坏程度是不同的, 对君影草破坏甚多, 对 Gofrusid (*Gomphocarpus fruticosus*) 破坏甚少^[22], 而对羊角拗甙, 据上文, 破坏可达 61—54% (迴肯靜脉灌注时仅能发挥 38—45% 的作用), 可见肝脏已起了一定的解毒作用。

文献称毒毛旋花子甙等, 經胃給药后的作用减弱, 与胃酸有关^[14]。但 Reinert 氏^[15]认为这种影响并非胃酸所决定, 也不能証明甙在酸性环境中受酶的水解而失效, 他推測強心甙的化学结构中固醇环的不同, 以及其与蛋白質类如胃粘液素之吸附程度之差别, 可能是其經胃而吸收减少的原因。本实验虽未涉及甙剂經胃破坏的原因, 但仍对腸胃破坏程度的估价, 提供了材料。如羊角拗甙剂經食道給药仅能发挥 7.5% 的作用, 将此数据与經肝后发挥作用的的数据相比, 即能推知进入肝脏之甙剂仅为 20—7% ($\frac{7.5}{38} - \frac{7.5}{45}$), 換言之, 80—83% 的甙剂是通过腸胃破坏与吸收不全而失效的。因此可以說, 这一因素是甙剂口服失效中的主要因素, 而肝脏的解毒在口服失效中似屬次要因素。

洋地黄毒甙进入血液后大部分与血浆蛋白产生物理性結合^[16-21]。在哺乳动物, 此种結合不影响其对心脏的主要作用及致死量, 但可借以解释其对心脏作用开始時間迟緩, 而作用持續時間較长。与此不同, 毒毛旋花子甙則不与血清蛋白結合。据我們实验, 羊角拗甙剂与毒毛旋花子甙一样, 也不与血清蛋白結合。这似能解释其对心脏作用开始較快, 而

持續較短的現象。

結 論

(1) 本批羊角拗甙剂(编号 369)的效价:猫单位为 0.333 毫克/公斤 \pm 0.163, 每克相当于 300.3 猫单位;豚鼠单位为 2.564 毫克/公斤 \pm 0.155; 每克相当于 385 豚鼠单位,猫单位与豚鼠单位之比为 1:7.7。

(2) 若以每分鐘灌入羊角拗甙剂 0.05 毫克計算,豚鼠迴肯靜脉灌注时的致死量为 6.535 毫克/公斤 \pm 0.1981, 此数为由頸靜脉灌注的 2.6 倍。由此推論由迴肯靜脉灌注时肝脏起了一定的解毒作用。

(3) 由豚鼠頸靜脉一次注射羊角拗甙剂溶液,其最小全死量为 2.3076 毫克/公斤(0.9 豚鼠单位),一次口服时,其最小全死量为 30.768 毫克/公斤(12 豚鼠单位),后者为前者的 13.3 倍。由此推論,豚鼠口服本品后之失效,受腸胃道之破坏及吸收不全之影响甚大,而肝脏的解毒似占次要地位。

(4) 离体蛙心实验証明:羊角拗甙剂与 K-毒毛旋花子甙一样,不与牛血清蛋白結合。

志謝 承中国科学院有机化学研究所黃繼垣先生供給羊角拗甙剂,实验中得程紹瑜同志协助,本工作系在呂富華教授指导下完成,特此一併志謝。

参 考 文 献

- [1] 朱任宏: The Sapogenins of Chinese Drug Yang-Chiao-Ou, *Chinese J. Physiol.* 1940, 15: 30—315.
- [2] 吳珏: A Pharmacologic Study of the Saponin of Yang-Chiao-Ou, 中华医学杂志(英文版), 1941, 63: 91—95.
- [3] 中国生理科学会会訊第五期, 1955 年 10 月份第 18 頁, 杭州通訊。
- [4] 吳熙瑞、李章文、呂富華: 国产毒毛旋花-羊角拗的藥理作用, 中华医学杂志, 1956, 43—643.
- [5] 江明性、李章文、張覃沐、呂富華: 毒毛旋花-羊角拗的生物效价、吸收、蓄积、消除与毒性, 中华医学杂志, 1957, 43: 25.
- [6] 江明性、李章文、張覃沐、呂富華: 測定強心苷的“临界灌注速度”与“临界轉向点”的意义, 生理科学进展, 1957, 1: 291—296.
- [7] 江明性、李章文: 羊角拗甙和 K-毒毛旋花子甙对代謝抑制劑所致衰竭心脏的作用比較, 生理学报 1958, 22: 294—303.
- [8] 蔭内、采内、内基教研組: 羊角拗甙剂治疗 55 例心力衰竭之临床疗效初步观察报告, 武汉医学院学报, 1958, 2: 117—122.
- [9] Burn, J. H., Goodwin, L. G.: Biological Standardization, 1950, 298—302. 2nd ed. Oxford Med. Publications.
- [10] Министерство Здравоохранения СССР: 736, Государственная фармакопея СССР, 1952, Москва.
- [11] 中央人民政府卫生部: 中华人民共和国药典, 1953. 附录 45 頁, 第一版, 商务印书館。
- [12] Bätge, T. und Rohr, H.: Über die Wirkungsbedingungen des herzwirksamen Glykosides Transvaalin, *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, 1953, 218: 375—384.
- [13] Hauschild, F.: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie, 1956.
- [14] Sollmann, T.: A Manual of Pharmacology, 1948, 469—470, 7th ed.
- [15] Reinert, H.: Die enterale Resorption des g-strophanthins, k-strophanthols-r und Digitoxins bei der Katze, *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, 1952, 215: 1—7.
- [16] Fawaz, G., and Farah, A.: Study of Digitoxin in Binding Power of Serum and Other Soluble Tissue Protein of Rabbit, *J. Pharmacol.*, 1944, 80: 193.
- [17] Farah, A.: Combination of Cardioactive Glycosides with Serum Proteins, *J. Pharmacol.*, 1945, 8: 143.
- [18] Haarmann, W., Korfacher, H., und Lendle, L.: Bedingungen der Bindung von Digitalisglykosiden auf die Serumweisstoffe, *Arch. J. exper. Path. u. Pharmacol.*, 1940, 194: 229.

- [19] Suter, E.: Über die Bindung herwirksamer Glykoside im Blutserum, *Helv. Physiol. Acta*, 1944, 2: 211.
- [20] Rothlin, E., und Kallenberger, A.: Über das Glykosidbindungs Vermögen verschiedener Eiweissfraktionen des Blutes, *Arch. internat. de Pharmacodyn et de Therap.*, 1950, 81: 520.
- [21] Lendle, L., und Pusch, P.: Über die Bindung der Digitaliskörper an die Eiweißstoffe des Blutes, 1935, 177: 550.
- [22] Генденштейн Э. И.: К фармакологии гофрузида, *Фармакол. И. Токсикол.*, 1957, № 4, 66.

THE DESTRUCTION OF DIVASID, A CARDIAC GLYCOSIDE PREPARATION FROM YANG-CHIAO-OU (羊角拗) IN THE BODY AND ITS BINDING WITH SERUM PROTEIN

DENG SHI-HSIEN

(Department of Pharmacology, Wuhan Medical College, Hankow)

ABSTRACT

The destruction of Divasid in the body and its binding with serum protein have been studied, using guinea pigs in the former and isolated frog hearts in the latter case. Divasid is a designation proposed for a cardiac glycoside preparation of Huang (黃維垣) from the seeds of Yang-Chiao-Ou (*Strophanthus divuricatus* (Lour.) Hook. et Arn.) As the potency of different batches of the preparation varies, so material of one and the same batch (No. 369) is employed throughout the experiments. The results are as follows:

1. Determined by the method of Hatcher and Brody (in the modification of Soviet Pharmacopoeia, 1952) and the method of Knaffl-Lenz (in the modification of the Chinese Pharmacopoeia, 1953), the cat unit of the present batch was found to be 0.333 mg/kg \pm 0.0163 (S.E.), 3003 cat units being equivalent to one gram; while the guinea pig unit (g.p.u.) was 2.564 mg/kg \pm 0.155, 385 g.p.u. being equivalent to one gram.

2. When instead of the jugular vein the ileo-cecal vein was utilized for the infusion, the g.p.u. was found to be 6.535 mg/kg \pm 0.1981, which is 2.6 times higher than the ordinary g.p.u., apparently due to the destruction taken place in the liver.

3. When injected intravenously, the minimal lethal dose for g.p. was 2.3067 mg/kg (0.9 g.p.u.); orally, 30.768 mg/kg (12 g.p.u.). The latter dose is 13.3 times higher. The destruction in the gastro-intestinal tract is the main cause, the liver can play only a minor rôle.

4. Experiments with the Straub's frog heart preparation have shown that Divasid like K-strophanthin, is not bound with bovine serum.

The author wishes to express his gratitude to Prof. Lü Fu-hua for his guidance in the performance of the work.