

개구리 心房의 Adrenotropic Receptor

全南大學校 醫科大學 藥理學教室

<指導 曹圭瓚 教授>
金永寅

曹 順 壬

=Abstract=

Adrenotropic Receptor in the Frog Atria

Soon-Im Cho

Dept. of Pharmacology, Chonnam National University Medical School

Kwangju, Korea

<Directed by Profs. Kyu-Chan Cho & Yung-In Kim>

1. On isolated atrial preparation of frog, effects of sympathomimetic amines were investigated.
2. Isoproterenol, epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine produced positive chronotropic and inotropic effects. The relative potencies for the effects of these agents were: isoproterenol > epinephrine > norepinephrine > phenylephrine. Methoxamine had no effects or depressed the atria.
3. Pronethalol antagonized the positive effects of these adrenergic agents competitively.
4. Regitine did not affect the effects of these agents.
5. These data indicate that the adrenergic agents activate the atrial tissue of the frog via stimulation of adrenergic beta-receptor.

Sympathomimetic amine(isoproterenol,epinephrine,nor-epinephrine)은 개구리 剔出心臟, 자라 剔出心房, 거북이 剔出心臟에 있어서 溫血動物心臟에 있어서처럼 收縮力의 強化 및 搏動數의 增加를 일으킴이 諸家에 依하여 報告되어 있으며 (Nickerson & Nomaguchi,¹⁾ Lands & Howard,²⁾ Erlj 등,³⁾ 白,⁴⁾ Meester 등⁵⁾ 개구리에 있어서의 收縮力 增加効果는 isoproterenol이 가장 強하고, epinephrine, norepinephrine의 順序임이 밝혀져 있다. 卽 Ahlquist⁶⁾가 말한 adrenergic β -receptor에 作用하는 amine일수록 그 効力이 強하고, 또한 adrenergic β -receptor의 遮斷劑인 dichloroisoproterenol로 epinephrine 作用이 遮斷됨이(Erlj 등³⁾ 提示되어 있으며, 개구리心臟의 sympathomimetic amine에 依한 興奮은 Ahlquist가 分類한 β -receptor를 通하여 일어나는 것으로 생각되고 있다. 그러나 他面 sympathomimetic amine에 依한 개구리 心臟의 收縮 및 搏動增加가 adrenergic α -receptor의 遮斷劑에 依하여 拮抗되며(Nickerson⁷⁾, Hydergin

에 依하여 遮斷되고(Erlj 등³⁾), 先述의 dichloroisoproterenol의 拮抗效果가 뚜렷치 못하다는 報告(Powell & Slater⁸⁾)도 있다. 近年 또한 개구리의 心臟에서는 α 및 β -receptor를 區別할 수 없다는 見解를 發表한 사람도 있다(Kunos & Szentivanyi⁹⁾).

上述한 개구리 心臟에 對한 實驗은 개구리 剔出心臟을 利用한 結果이다. 著者는 개구리 剔出心房標本을 利用하여 上記 sympathomimetic amine의 心房收縮 및 心房搏動數에 미치는 效果와 이에 미치는 遮斷劑의 影響을 觀察하였으므로, 여기에 報告하는 바이다.

實驗 方法

夏節에 개구리(Rana nigromaculata)(25~40 g)의 心臟을 剔出한 後 이를 冷血動物用 Ringer 液이 들어있는 小容器에 옮겨 兩心房을 心室과 離斷하여, 한쪽 心房端은 bath(10 ml, 25°C, 酸素飽和)에 固定하고, 他側 心房端을 isotonic lever에 連結하여 그 自動運動을 kymograph

상에 약 7 배擴大하여 描記하였다. 心房收縮力の變化는 kymograph 上的 振幅의 變化로 觀察하고, 心房搏動數는 張¹⁰⁾의 post-office-counter 를 利用한 方法에 依하여 測하거나, 또는 直接 그 搏動數를 測하여 觀察하였다. 藥物은 10 ml 의 bath 中の 1 ml 를, 0.6% NaCl 液에 稀釋한 藥液으로 交換함으로써 投與하여, 2~5 分間 그 效果를 觀察하였다.

使用한 藥物은 dl-isoproterenol HCl (Sigma), l-epinephrine bitartrate (Sigma), l-norepinephrine bitartrate (Sigma), l-phenylephrine (Neosynephrin, Winthrop), dl-methoxamine (Vasoxyl, Burroughs Wellcome)이며, 藥物의 濃度는 base 로 換算하여 $\mu\text{g/ml}$ 로 表示하였다. 遮斷劑로서는 pronethalol (Alderlin, I.C.I.) 및 regitine methanesulfonate (Ciba) 를 使用하였다.

藥物投與 順序는 처음 한가지 amine 을 15~20 分 間隔으로 2~3 回 作用시켜, 그 反應이 一定함을 確認한 後 單 amine 을 作用시켜 첫째 amine 과 거의 비슷한 反應(收縮力增大)을 일으키는 濃度를 定하고, 또 다시 처음에 投與한 amine 을 作用시켜 그 反應이 變하지 않았음을 確認하여 第 3 의 amine 을 投與하여 비슷한 反應을 일으키는 濃度를 定하였다. 그 後 또 다시 첫째 投與한 amine 을 作用시켜 그 反應이 變하지 않고 있을 때는 第 4 의 amine 을 投與하여 비슷한 反應을 일으키는 濃度를 定하였다.

遮斷劑의 影響을 보는 實驗에서는 한가지 amine 의 3 가지 量에 對한 反應을 觀察한 後, 遮斷劑를 적어도 20 分間 作用시켜 遮斷劑 存在下에서 그 amine 에 對한 反應을 보았다. amine 은 bath 에 加한 2~5 分 後에 bath 液을 交換하여 amine 을 씻어내고 遮斷劑를 또 다시 作用시켜 10~15 分 기다려 다음 量의 amine 을 加하였 으며, 이 操作을 反復하면서 amine 量을 漸次 올렸다.

實驗 成績

[I] Sympathomimetic amine 의 心房收縮力

및 搏動數에 미치는 影響

개구리 心房標本은 bath 에 매달면 規則的인 自動運動을 보였으며, 5~6 時間 동안 一定한 運動을 보였다. Sympathomimetic amine 中 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine 에 對하여서는 藥物投與 後 1 分內에 最高反應을 보였다. 그러나 phenylephrine 에 對하여서는 投與 後 漸次 그 振幅이 增加하고 2~3 分後에 最高反應을 보였다. 各 標本에 따라 amine 에 對한 感受性에는 差異가 있었으나, 한 標本에 있어서는 그 反應性은 거의 一定하였다.

一定한 反應(大略 15~30%의 收縮高의 增加)을 일으키는 데 要하는 各 amine 의 濃度는 Table 1 에 表示되어

있다. 即 어느 標本에서나 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine 의 順序로 많은 量이 必要하였으며, phenylephrine 은 標本에 따라서는 norepinephrine 과 비슷한 效果를 나타냈으나, 大部分에 있어서 norepinephrine 보다 약간 그 効力이 弱하였다. Methoxamine 은 $1\mu\text{g/ml}$ 는 거의 收縮力에 影響을 미치지 않거나, 若干의 收縮力 減少를 일으켰으며, $10\mu\text{g/ml}$ 로서는 6 例 平均 8.5%(S.E. 2.3)의 減少, $100\mu\text{g/ml}$ 로서는 24.3%(S.E. 6.0)의 減少를 일으켰다.

Table 1 에서 보는 것처럼 isoproterenol 은 epinephrine 의 10 배, norepinephrine 의 20~100 배, phenylephrine 의 100~200 배 強力함을 알 수 있었다. 本實驗에서 본 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine 의 効力의 差異는 Nickerson & Nomaguchi,¹⁾ Lands & Howard²⁾ 등이 개구리 心臟에서 報告한 成績과 거의 一致한다. 그러나, Erlij 等³⁾의 成績(isoproterenol 이 epinephrine 의 10,000 배 強力)과는 다르다. 또한 epinephrine 의 効力도 phenylephrine 의 100 배라 하였는데 (Erlij 等³⁾), 本實驗에서는 약 20 배였다. 白⁴⁾은 자라 心房에서 norepinephrine 과 epinephrine 의 効力이 비슷하고 phenylephrine 보다 약 10 배 強力하다 하였으며, 本 개구리에서의 實驗 結果와는 차이를 알 수 있다. methoxamine 이 收縮力 增加를 일으키지 못한 點은 Erlij 等,³⁾ 白⁴⁾의 成績과 一致한다.

Table 1 에 表示되어 있는 量의 各 amine 으으로써 心房搏動數도 大略 비슷한 增加를 일으켰다. 개구리 心房

Table 1. Approximate equieffective doses of isoproterenol, epinephrine, norepinephrine, and phenylephrine to produce their positive inotropic effects on isolated preparation of frog atria

| Expt. No. | Isoproterenol | Epinephrine | Norepinephrine | Phenylephrine |
|-----------|---------------|-------------|----------------|---------------|
| 1 | 0.01 | 0.1 | — | — |
| 2 | 0.01 | 0.1 | — | — |
| 3 | 0.01 | 0.1 | — | — |
| 4 | 0.05 | 0.5 | 3 | 10 |
| 5 | 0.05 | 0.5 | 3 | 10 |
| 6 | 0.05 | 0.5 | 5 | 10 |
| 7 | 0.05 | 0.5 | 5 | 10 |
| 8 | 0.05 | 0.5 | 3 | 10 |
| 9 | 0.01 | 0.1 | 1 | 1 |
| 10 | — | 0.5 | 3 | 10 |
| 11 | 0.05 | — | 10 | 10 |
| 12 | — | — | 3 | 10 |

Concentration ($\mu\text{g/ml}$) of amine required for approximate equal submaximal response (20 to 30 percent of increase in amplitude over a control amplitude)

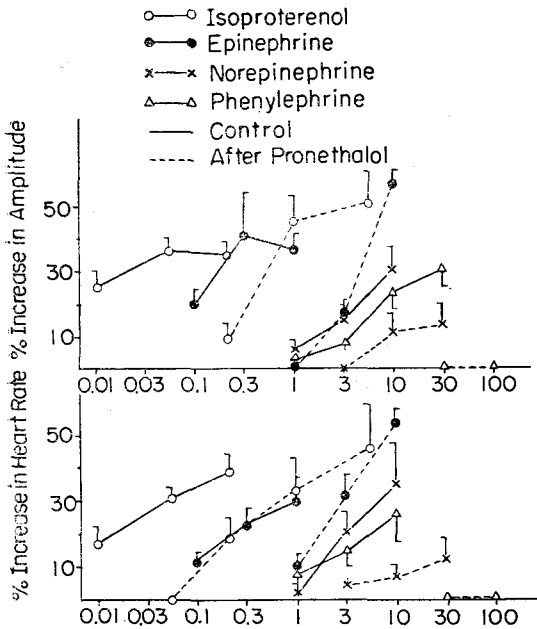


Fig. 1. Effect of pronethalol (0.5 µg/ml) on the dose-response curves of sympathomimetic amines. Abscissae: doses (µg/ml) of amines. Ordinate: average percentage of increase in amplitude (upper) and in heart rate (lower) over a control which was checked prior to addition of amines. Each point denotes the mean of 6 preparations with S.E.

搏動數는 大略 1 分間 96~56의 搏動數를 보였는데 20~45%의 增加를 일으켰다. methoxamine은 亦是 搏動數의 增加도 일으키지 못하였으며, 10 µg/ml로써는 搏動數는 影響받지 않았으나, 100 µg/ml로써 收縮力의 弱화에 一致하여 搏動數도 減少하였다.

〔Ⅱ〕 Pronethalol의 sympathomimetic amine 効果에 미치는 影響

Pronethalol(0.5 µg/ml)은 大部分의 標本에서 心房自體運動에 거의 影響을 미치지 못하였으나, 一部例에서는 약간의(5~10%) 心房收縮高의 減少를 보였다.

本 遮斷劑 存在下에서는 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine의 少量은 아무런 反應을 일으키지 못하였으나, 增量하면 收縮力增加 및 搏動數 增加를 나타냈다(Fig. 1). 即 本 遮斷劑와 competitive antagonism을 함을 알 수 있었으며 pronethalol과 amine이 같은 receptor에 作用함을 推測할 수 있었다. phenylephrine의 効果는 完全히 消失되어 나타나지 않았으며 100 µg/ml까지 增量하여도 無効였다.

〔Ⅲ〕 Regitine의 sympathomimetic amine 効果에 미치는 影響

Regitine(1 µg/ml)은 收縮力에는 거의 影響을 미치지 않았으나, 搏動數는 減少시킴이 普通이었다. 即 22例에서, 6例에서는 搏動數에 거의 變動이 없었으나 16例에서는 16~35%의 減少를 일으켰다. 그러나 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine, phenylephrine의 收縮力 및 搏動數에 對한 增加效果는 遮斷劑 못하였다(Table 2). 뿐만 아니라 norepinephrine 및 phenylephrine의 搏動數 增加效果는 오히려 增加하는 傾向을 보였다. methoxamine의 抑制效果는 regitine으로써 影響받지 않았다.

Table 2. Effects of regitine(1 µg/ml) on positive inotropic and chronotropic response of frog atrial preparation to sympathomimetic amines

| Amines (µg/ml) | Inotropic response | | Chronotropic response | |
|-------------------|--------------------|---------|-----------------------|----------|
| | before | after | before | after |
| Isoproterenol (4) | | | | |
| 0.01 | 18±4.3 | 24±7.9 | — | — |
| 0.2 | 25±5.1 | 36±10.7 | 57±7.6 | 62±18.2 |
| Epinephrine (6) | | | | |
| 0.1 | 5±2.3 | 7±2.2 | 5±2.5 | 9±3.8 |
| 1.0 | 17±5.1 | 30±9.6 | 40±3.8 | 80±33.1 |
| Norepinephrine(6) | | | | |
| 1 | 7±2.8 | 18±8.3 | 12±3.7 | 36±31.0 |
| 10 | 23±4.0 | 28±10.8 | 35±7.7 | 36±31.7 |
| Phenylephrine (6) | | | | |
| 1 | 9±1.9 | 13±4.0 | 27±8.9 | 55±21.9 |
| 10 | 13±2.6 | 49±24.2 | 55±11.3 | 115±18.3 |

Responses (mean±S.E.) were expressed as percentage of increase over a control which was checked prior to addition of amines. The number of experiments is indicated in parenthesis.

考 按

개구리 心房이 isoproterenol, epinephrine, norepinephrine에 對하여 收縮力 및 搏動數 增加로 反應하고, 그 效果를 일으키는 amine은 効力順位가 isoproterenol이 強하고 norepinephrine이 弱한點, 또한 adrenergic β-receptor의 遮斷劑인 pronethalol과 competitive antagonism을 하는點은, 이들 sympathomimetic amine이 β-receptor에 作用하여 이러한 效果를 일으킴이 分明하다.

主로 adrenergic α-receptor에 作用한다는 phenylephrine(Ahlquist & Levy¹¹⁾이 isoproterenol과 비슷한 反應을 일으키나, 그 効力이 大端히 낮은點, 또한 그 作用

이 pronethalol로遮斷되는點, regitine으로는遮斷되지 않은點은 phenylephrine이 α -receptor에作用하였다고 보기는困難하며亦是微弱하나 이 amine이 갖고 있는 β -receptor에對한作用結果로推測된다. Methoxamine은 β -receptor에는作用치 않는物質로써 알려져 있는데 (Imai 등¹²⁾), 本實驗에서도 心房運動에 昂進의影響을 미치지 못하였다. 이點도 α -receptor를通하여 心房運動昂進이 오지 않음을 가리키고 있다.

本實驗에서 regitine下에서 上記各 amine, 특히 norepinephrine과 phenylephrine의 心房搏動增加效果가 더 強化되는 傾向을 보였는데 이點은 이 兩 amine이 α -receptor에作用하여 抑制的인 效果를 나타내는 性質이 있으나 β -receptor에對한作用이 強하기 때문에 은폐되어 있다가 α -receptor遮斷劑인 regitine으로 이 抑制因子가 除去되기 때문에 強化된다고 解釋할 수 있다. 그러나 β -receptor遮斷劑인 pronethalol下에서 心房搏動 및 收縮效果의 抑制를 보지 못한點으로 생각할 때는 이러한 推測도 不當한 것 같다. 著者の 推測으로는 regitine自體로써 心搏動數가 減少되게 되어 있기 때문에 이러한 條件下에서는 增加限界는 regitine이 存在치 않았을 때와 비슷하나, 成績을 百分率增加로 表示하였기 때문에 數字가 커져서 是 artifact로 생각된다.

本實驗成績과 이제까지 發表된 여러 報告를 參酌할 때, 冷血動物心臟(개구리, 자라, 거북이)의 sympathomimetic amine에 依한 收縮力 및 搏動增加는 Ahlquist가 말한 β -receptor를 通하여 일어난을 알 수 있다.

結 論

1) 개구리 剔出心房標本에 있어서 sympathomimetic amine(isoproterenol, epinephrine, norepinephrine, phenylephrine, methoxamine)의 效果를 檢討하였다.

2) Isoproterenol, epinephrine, norepinephrine, phenylephrine은 心房收縮力 및 搏動數增加를 일으켰으며 그 効力은 isoproterenol이 가장 強하였고, epinephrine은 그 1/10, norepinephrine은 그 1/20~1/100, phenylephrine은 그 1/100~1/200의 効力을 갖고 있었다. Methoxamine은 收縮力 및 搏動數增加를 일으키지 못하고 오히려 減少시키는 傾向이 있었다.

3) Isoproterenol, epinephrine, norepinephrine에 依한 收縮力 및 搏動數增加效果는 pronethalol下에서는 모두 "competitive" antagonism을 보였고, phenylephrine은 pronethalol下에서는 全히 그 效果를 일으키지 못하였다.

4) Regitine은 上記 4가지 amine의 效果에 影響을 미치지 않았다.

5) 개구리 心房에서 sympathomimetic amine에 依한 收縮 및 搏動數增加效果는 β -receptor를 通하여 일어난을 알 수 있었다.

參 考 文 獻

- 1) Nickerson, M. & Nomaguchi, G.M.: *Blockade of epinephrine-induced cardioacceleration in the frog.* *Amer. J. Physiol.*, 163, 484-504, 1950.
- 2) Lands, A.M. & Howard, J.W.: *A comparative study of the effects of 1-arterenol, epinephrine and isopropylarterenol on the heart.* *J. Pharmacol. exp. Therap.* 106, 65-76, 1962.
- 3) Erlj, D., Cetrangolo, R. & Valadez, R.: *Adrenotropic receptors in the frog.* *Ibid.*, 149, 65-70, 1965.
- 4) 白英欽: 자라循環器系의 Adrenotropic receptor의 性質. 全南醫大雜誌, 2, 171-181, 1966.
- 5) Meester, W.D., Hardman, H.F. & Barboriak, J.J.: *Evaluation of various adrenergic blocking agents in isolated rabbit and turtle hearts.* *J. Pharmacol. exp. Therap.*, 150, 34-40, 1965.
- 6) Ahlquist, R.P.: *A study of the adrenotropic receptors.* *Am. J. Physiol.*, 153, 586-600, 1948.
- 7) Nickerson, M.: *The pharmacology of adrenergic blockade.* *Pharmacol. Rev.* 1, 27-101, 1949.
- 8) Powell, C.E. & Slater, I.H.: *Blocking of inhibitory adrenergic receptors by a dichloroanalog of isoproterenol.* *J. Pharmacol. exp. Therap.* 122, 480-488, 1958.
- 9) Kunos, G. & Szentivanyi, M.: *Evidence favouring the existence of a single adrenergic receptor.* *Nature*, 217, 1077-1078, 1968.
- 10) 張晃男: 大韓藥理學雜誌 印刷中.
- 11) Ahlquist, R.P. & Levy, B.: *Adrenergic receptive mechanism of canine ileum.* *J. Pharmacol. exp. Therap.* 127, 146-149, 1959.
- 12) Imai, S., Shigei, T. & Hashimoto, K.: *Cardiac actions of methoxamine with special reference to its antagonistic action to epinephrine.* *Circulation Res.*, 9, 552-560, 1961.