

# 青藤碱对豚鼠心室乳头状肌慢 反应动作电位的效应

李朝兴\* 赵更生 李孝光\*\*

(西安医科大学药理教研室; \*\*医学电子工程研究室, 西安)

**提要** 用细胞内微电极技术, 观察青藤碱对几种慢反应活动的影响, 发现青藤碱  $82 \mu\text{mol}$  降低高  $\text{K}^+$  除极化慢反应动作电位幅度 (APA) 和  $\dot{V}_{\text{max}}$ , 同时延长  $\text{APD}_{50}$ 。进一步的研究发现, 青藤碱对  $\dot{V}_{\text{max}}$  的抑制呈频率依赖性, 频率愈高, 抑制作用愈强。小剂量青藤碱抑制  $\text{Ba}^{2+}$  诱发的乳头状肌自发电活动, 大剂量可以取消此种自发电活动。对  $\text{Mg}^{2+}$  引起的  $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$  混合电位, 青藤碱有非选择性抑制作用。结果提示青藤碱对钙通道具有阻滞作用, 其抗心律失常作用也可能与此有关。

**关键词** 青藤碱; 乳头状肌; 动作电位; 钡; 频率依赖性; 慢内向电流; 钙通道

青藤碱 (sinomenine, 简称 Sin) 系从陕西产防己科植物毛青藤 (*Sinomenium acutum* (Thunb) var. *cineveum* (Diels) Rehd et wils) 的根基中提取的一种生物碱, 有降低血压<sup>(1)</sup> 和抗实验性心律失常作用, 其降压作用可能与抗肾上腺素和阻断神经节有关<sup>(2)</sup> 从离体豚鼠心房标本观察到, Sin 有负性变力和变时作用<sup>(3)</sup>, 然而这些作用似乎与  $\beta$ -受体和  $\text{H}_2$ -受体无关, 而与抗钙剂戊脉安颇为相似<sup>(4)</sup>, 说明 Sin 必定影响心肌兴奋收缩偶联中受体激动之后的某些环节。为了进一步明确其作用机理, 本文在离体豚鼠右心室乳头状肌, 用玻璃微电极技术, 观察 Sin 对几种不同慢反应电活动及其特性的影响, 同时, 为 Sin 的抗心律失常作用提供电生理学依据。

## 方 法

将豚鼠击头致昏后, 迅速取出心脏, 从右心室选择剪取直径大于 1 mm, 长度为 4~6 mm 的乳头状肌, 固定于 1.5 ml 的肌槽内, 用持续通入  $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$  的 Tyrode 液循环灌流, 灌流速度为 10 ml/min,  $37^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} 7.35 \pm 0.04$ 。

刺激电极为铂金丝双电极, 采用电场刺激方式, 用 1 Hz, 2 ms, 120% 阈电压的方波驱动标本, 其中一些实验则 KC 根据实验的要求选择刺激电压。

玻璃微电极内充 2.5 mmol/L KCl, 电极电阻 15~20 M $\Omega$ , 用 Ag-AgCl 丝引导出细胞内动作电位, 经电子微分器导出 O 相上升最大速率, 全部结果均以摄影记录。

盐酸青藤碱由西安制药厂提供, 为淡黄色结晶粉末, 用蒸馏水稀释成 25 mg/ml 的溶液备用。

## 结 果

### 一. 对高 $\text{K}^+$ 除极化慢反应动作电位的影响

本文于 1986 年 6 月 6 日收到。

\* 现在武汉同济医科大学药理教研室

标本平衡 30 min 后, 换 25 mmol  $K^+$ Tyrode 液,  $NaCl$  相应降低到 117 mmol, 以保持溶液渗透压保持不变。由于高  $K^+$  除极化心肌组织兴奋性很低, 本实验加  $BaCl_2$  (0.4 mmol) 使心肌的兴奋性恢复, 待引导出慢反应动作电位后、再稳定 30 min。在高  $K^+$ Tyrode 液中, 可见膜电位从  $-80$  mV 除极到大约  $-60$  mV 左右,  $O$  相  $\dot{V}_{max}$  大约为 3 v/s。此时, 心肌快通道已基本失活。而慢通道被激活。青藤碱 82  $\mu$ mol 作用 20 min 后, APA 由  $73 \pm 3.6$  mV 下降到  $67 \pm 4.5$  mV, ( $p < 0.01$ ,  $n=7$ ),  $\dot{V}_{max}$  由  $3.1 \pm 1.7$  v/s 下降到  $1.9 \pm 1.1$  v/s, ( $p < 0.01$ ,  $n=7$ ), 而  $APD_{90}$  明显延长, 由  $129 \pm 26$  ms 延长至  $226 \pm 29$  ms, ( $p < 0.01$ ,  $n=7$ )。图 1 是一示例。

## 二. Sin 对慢反应动作电位 $\dot{V}_{max}$ 频率依赖性效应

以不同频率 (0.1~2 Hz) 的刺激来驱动标本, 刺激强度调节到每一刺激频率获得最大的  $\dot{V}_{max}$ , 但不超过 0.1 Hz 时阈电压的 2.5 倍。将 0.1 Hz 刺激时稳态  $\dot{V}_{max}$  作为反应的%, 然后, 每 3~5 min 更换一次频率, 直到各次频率下稳态  $\dot{V}_{max}$  出现, 观察加入 Sin 前, 后在各个刺激频率时稳态  $\dot{V}_{max}$  降低的百分数, 以频率对  $\dot{V}_{max}$  作图, 绘出给药前、后稳态  $\dot{V}_{max}$  的频率依赖性曲线。0.1 Hz 时, Sin (82  $\mu$ mol) 作用 40 min, 其作用达到最大, 为排除药物作用时效关系对频率依赖性的干扰, 对  $\dot{V}_{max}$  频率依赖性观察是在加药后 40 min 进行。实验观察到: 0.1 Hz 时,  $\dot{V}_{max}$  仅轻度降低, 随着刺激频率的增加, 对  $\dot{V}_{max}$  抑制越明显, 2 Hz 时,  $\dot{V}_{max}$  下降至对照的  $45 \pm 15\%$ , 呈明显的频率依赖性 (图 2)。

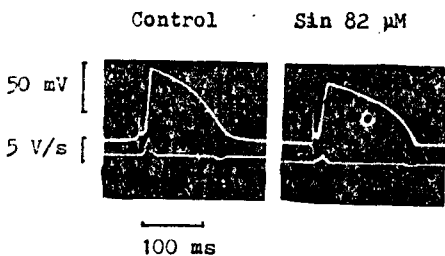


Fig 1. Effect of sinomenine on  $Ca^{2+}$ -mediated action potential of partially depolarized guinea pig papillary muscle. Upper tracing: AP; Lower tracing:  $\dot{V}_{max}$ .

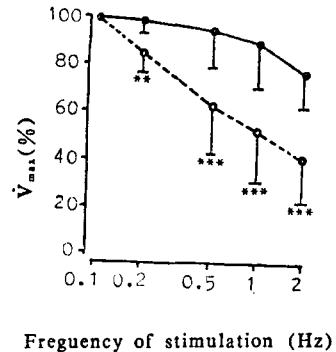


Fig 2. Frequency-dependent changes in  $\dot{V}_{max}$  relative to  $\dot{V}_{max}$  at 0.1 Hz for 0.4 mmol  $Ba^{2+}$  (—•—,  $n=5$ ) and 0.4 mmol  $Ba^{2+}$  + 82  $\mu$ mol sinomenine (o---o,  $n=5$ ).

## 三. Sin 对 $Ba^{2+}$ 诱发的心室肌自发电活动的影响

标本在 1 Hz 的电刺激下稳定 1 h, 然后停止刺激 2 min, 加入 1 mmol  $BaCl_2$ , 插入微电极。待自发电活动出现后, 再稳定 30 min。静息乳头状肌在  $Ba^{2+}$  的作用下, 舒张电位从  $-80$  mV 降低  $-45$  mV 左右, 并且出现同步的自发电活动。Sin (82  $\mu$ mol) 作用 20 min 后, APA 降低至对照  $98 \pm 6.5\%$  ( $p < 0.05$ ,  $n=5$ ),  $V_{max}$  由  $4.5 \pm 1.5$  v/s 降低至  $2.8 \pm 1.0$  v/s ( $p < 0.01$ ,  $n=5$ ), 而周期长明显延长, 由  $408 \pm 18$  ms 延长至  $456 \pm 17$  ms, ( $p < 0.01$ ,  $n=5$ )。随 Sin 浓度的增加, 作用进一步增强, Sin (820  $\mu$ mol) 基本上可以取消这种自发电活动 (图 3)。

## 四. Sin 对 $Mg^{2+}$ 引起的慢反应动作电位的影响

根据 Späh<sup>(5)</sup> 提出的  $Mg^{2+}$  引起的慢反应动作电位的药理作用模型, 在部分除极化的心肌组织,  $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  都具有产生电兴奋性和传导的能力。加入  $MgCl_2$  (14 mmol) 到高  $K^+$

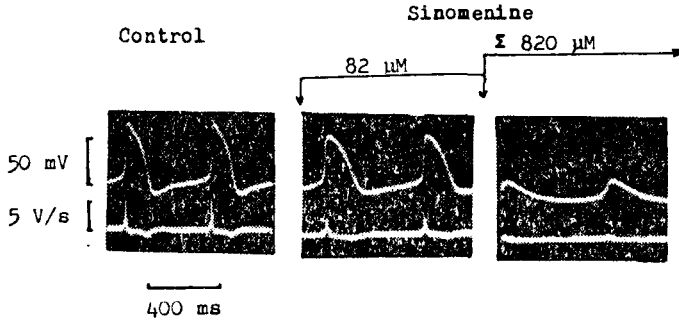


Fig 3. Effects of sinomenine on  $[Ba^{2+}]$ -induced spontaneous rhythm in guinea pig papillary muscle. Upper tracing: AP; Lower tracing:  $\dot{V}_{max}$ .

(19 mmol) 正常  $Ca^{2+}$  (2 mmol) 的 Tyrode 液中, 用快扫描方法, 可以见到动作电位 O 相的双相变化, 第一时相 (快时相) 为  $Mg^{2+}$  内流所引起, 第二时相 (慢时相) 为  $Ca^{2+}$  内流所致。Sin (82  $\mu$ mol 作用 20 min 后, 可见  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$  混合电位都受到抑制, 由  $Mg^{2+}$  引起的峰 1 和  $Ca^{2+}$  引起的峰 2 都明显降低 (图 4)

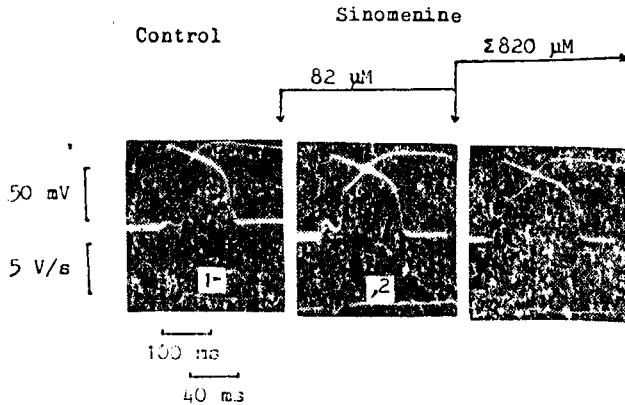


Fig 4. Effects of sinomenine on "mixed"  $Mg^{2+}/Ca^{2+}$ -induced action potentials of partially depolarized guinea pig papillary muscle. Upper tracing: AP; Lower tracing:  $\dot{V}_{max}$  ( $Mg^{2+}$ -induced peak 1 and  $Ca^{2+}$ -induced peak 2).

## 讨 论

用  $\dot{V}_{max}$  来衡量慢内向电流 ( $I_{si}$ ) 的大小虽然是一种间接的方法, 但仍不失为衡量  $I_{si}$  的一个合适的指标。实验证明: 高  $K^+$  除极化慢反应动作电位  $\dot{V}_{max}$  和超射 (OS) 与细胞外  $Ca^{2+}$  呈高度相关<sup>(6)</sup>,  $\dot{V}_{max}$  的频率依赖性改变和电压固定术所观察到的  $I_{si}$  的频率依赖性改变相一致<sup>(7)</sup>。  $Ba^{2+}$  的加入虽然影响  $\dot{V}_{max}$  值, 但并不影响实验结果的分析, 已有资料表明: 2 mmol  $BaCl_2$  虽然增加  $I_{si}$ , 但并不改变  $I_{si}$  的激活和失活动力学<sup>(8)</sup>。

25 mmol  $K^+$  除极的心肌, 快通道已基本失活, 因此,  $\dot{V}_{max}$  和 APA 基本上能反映  $Ca^{2+}$  内流的情况, Sin 抑制 APA 和  $\dot{V}_{max}$ , 提示其对  $I_{si}$  具有抑制作用。Sin 对  $\dot{V}_{max}$  的抑制作用尤其在频率高时明显, 这可能是通道开放时药物易于进入或药物与失活状态的  $Ca^{2+}$  通道结合, 而延缓从失活状态的恢复时间。Sin 对  $\dot{V}_{max}$  抑制的频率依赖性提示其对由慢反应电活动引起的快速型心律失常可能具有更强的抑制作用。

已经知道,  $Ba^{2+}$  诱发的自发节律主要是通过降低  $g_K$  而增加跨膜净  $I_{si}$  内流, 它不仅参

与缓慢舒张期自动除极化,而且参与O相 $\dot{V}_{max}$ 的形成<sup>(9)</sup>。Sin抑制Ba<sup>2+</sup>诱发的心室乳头状肌自发电活动,大剂量能基本上取消这种自发电活动,在自律性方面,也表明Sin对I<sub>1</sub>具有抑制作用。心肌缺血时,膜电位降低和儿茶酚胺的释放均可以导致慢反应的电活动,这种电活动是缺血性心律失常的重要电生理学基础。Sin能够抑制慢反应电活动,使它不能产生动作电位,因此可以中止异常的自发电活动。

Späh<sup>(5)</sup>指出:心肌细胞肌膜存在着三种离子转运系统,除经典的Na<sup>+</sup>和慢Ca<sup>2+</sup>通道外,还有Mg<sup>2+</sup>转运系统,优先转运Mg<sup>2+</sup>进入心肌细胞内,当膜电位减小时,Na<sup>+</sup>通道失活,Ca<sup>2+</sup>通道则被激活,Mg<sup>2+</sup>通道则介于此二者之间。利多卡因和河豚毒素能抑制Na<sup>+</sup>和Mg<sup>2+</sup>的跨膜内流而不影响慢Ca<sup>2+</sup>内流,特异性的A组Ca<sup>2+</sup>通道阻断剂戊脉安和硝苯吡啶选择性阻滞Ca<sup>2+</sup>内流而对Mg<sup>2+</sup>跨膜内流几无影响。Sin在82μmol浓度对Ca<sup>2+</sup>和Mg<sup>2+</sup>电位表现出非选择性的抑制作用,说明其作用方式与戊脉安不同,而与B组钙拮抗剂心舒宁(perhexiline)<sup>(10)</sup>相似。

### 参 考 文 献

1. 凌秀珍,等. 防石生物碱的毒性及降压作用. 药理学报 1962;9:393.
2. 王耐勤,等. 青藤碱的药理作用 IV 青藤碱降压机制的研究. 药理学报 1965;12:86.
3. 李朝兴,赵更生. 青藤碱对离体豚鼠心房的作用. 西安医科大学学报 1986;7:24.
4. 李朝兴,赵更生. 青藤碱对异丙肾上腺素、组胺、氯化钙正性频率作用的影响. 中国药理学通报 1987;3:17.
5. Späh F, Fleckenstein A. Evidence of a new, preferentially Mg-carrying, transport system besides the fast Na and the slow Ca channels in the excited myocardial sarcolemma membrane. *J Mol Cell Cardiol* 1979;11:1109.
6. Windisch H, Tritthart HA. Calcium ion effects on the rising phases of action potentials obtained from guinea pig papillary muscles at different potassium concentrations. *Ibid* 1981;13:457.
7. Kohlhardt M, Fleckenstein A. Inhibition of the slow inward current by nifedipine in mammalian ventricular myocardium. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1977;293:167.
8. Kohlhardt M, et al. Evidence of nonspecificity of the Ca channel in mammalian myocardial fiber membranes. *Pflüegers Arch* 1973;342:125.
9. Shibata J. The effects of barium on the action potential and the membrane current on sheep heart purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 1973;185:418.
10. Fleckenstein A. *Calcium Antagonism in Heart and Smooth Muscle*. NY: Wiley-Interscience, 1983: 75.

## EFFECTS OF SINOMENINE ON SLOW RESPONSE ACTION POTENTIAL IN GUINEA PIG PAPILLARY MUSCLE

LI Chao-Xing, ZHAO Geng-Sheng and LI Xiao-Guang\*

(Department of Pharmacology, \*Institute of Medical Electronic Engineering, Xi'an Medical University, Xi'an)

**ABSTRACT** Effects of sinomenine on slow response action potentials were investigated with intracellular microelectrode. In K-depolarized guinea pig papillary muscle, sinomenine at 82 μmol decreased the amplitude of slow action potential and the maximum upstroke velocity ( $\dot{V}_{max}$ ) and prolonged 90% repolarization (APD<sub>90</sub>). The inhibition of sinomenine on  $\dot{V}_{max}$  was shown to be markedly frequency-dependent. Ba<sup>2+</sup>-induced ventricular autorhythmicity, representing a mode of slow-channel-dependent spontaneous rhythm, was suppressed by sinomenine at 82 μmol and abolished at 0.82 mmol. Moreover, Mg<sup>2+</sup>-induced "mixed" Mg<sup>2+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-carried action potential was suppressed non-selectively by sinomenine at 82 μmol. These results indicate that sinomenine may have calcium channel antagonistic action which results in the antiarrhythmic effect.

**Key words** Sinomenine; Papillary muscle; Action potential; Barium; Frequency-dependence; Slow inward current; Calcium channel