

三七中人参三醇甙对羊心浦氏纤维动作电位及延迟整流钾电流的影响*

李学军 范劲松 刘业伟 张宝恒

(北京医科大学药理教研室,北京 100083)

提要 三七中人参三醇甙(PTS) 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 及 5.0 $\mu\text{g/ml}$ 均能明显延长羊心浦氏纤维动作电位时程(APD)包括 APD_{30} , APD_{50} , APD_{90} 。对动作电位幅度(APA)无明显影响。双微电极法电压钳实验证明,PTS 能明显抑制羊心浦氏纤维延迟整流钾电流(I_r)的峰值,且此种抑制作用呈时间及剂量依赖性。揭示 PTS 通过阻滞延迟整流钾通道而延长 APD。

关键词 三七;人参三醇甙;动作电位;延迟整流钾电流;钾通道

三七中人参三醇甙(panaxatriol saponins isolated from *Panax notoginseng*, PTS),是从三七根中分离出的一种组分,我们在实验中已经证明 PTS 能对抗多种动物实验性心律失常;与胺碘酮相似能延长离体豚鼠心室乳头肌细胞 APD 和 ERP,使动作电位 2 相复极化斜率降低⁽¹⁾。为进一步研究其抗心律失常的作用机理,本文观察了 PTS 对离体羊心浦氏纤维(PF)动作电位及 I_r 的作用。

材料与 方法

PTS 由天津中药研究所提供,经中国医学科学院药物研究所分析含有两种单体,即三七皂甙 C_1 和 D_1 。临用前以改良 Tyrode 液配制。

羊体重为 7~15 kg,将双侧颈动脉切断放血,迅速开胸取出心脏,置于 15℃ 以充 100% O_2 的改良 Tyrode 液中冲洗干净,剪开心室腔,放入保温桶,桶内营养液持续充氧,1 h 内带回实验室。暴露羊心左右心室内膜面,剪下游离于心室内壁上的 PF,取直径约为 0.4~0.8 mm,长度 3 mm 以上的 PF 作为实验标本,并排在灌流浴槽底部的有机玻璃上,然后用一不锈钢栅紧压在 PF 标本上,该钢栅的不锈钢丝直径为 0.3 mm,排列方向与 PF 排列方向垂直,PF 被压断为 1.0 或 1.6 mm 长的短段⁽²⁾。PF 标本用充以 100% O_2 的改良 Tyrode 液恒温(35℃),恒速(2.5 ml/min)进行开放式灌流,稳定 1 h。待 PF 恢复愈合后,将一根充以 3 mol/L KCl 溶液的玻璃微电极(阻抗 10 m Ω 以上,后接 Ag-AgCl 电极)插入 PF 短段中,作为注入电流电极。另取一玻璃微电极(阻抗 10~20 m Ω),插入同段 PF 细胞内,用于记录膜电位。将参比电极置于浴槽灌流液中,电位记录电极与此电极构成回路,共同监视膜电位。膜电流引导电极为铂丝电极,在灌流槽底部呈浮地式,以引导膜电流。电压钳放大器为 CEZ-1100 型,三通道电子刺激器为 SEN-

本文于 1992 年 1 月 13 日收到。

*国家自然科学基金资助课题 NO 3880739

7103, 细胞的跨膜电位和电流用双线记忆示波器(VC-10型)监视, 并照相(示波器摄影机RLG-6201)记录。以上仪器均为日本Nihon Kohden公司生产。

先使跨膜电位保持在控制电位(E_c) - 20 mV, 然后给予波宽(T_c)为1~1.5 s, 频率为0.2 Hz的指令电位(E_c) + 10 mV, 可记录到一缓慢激活的外向电流, 此即 I_x ⁽³⁾。PF动作电位的记录⁽⁴⁾, 采用同上法装置标本和仪器, 开始实验记录时, 将电压钳放大器的方式选择开关置于“刺激”一档。此时, 由注入电流电极输出方波刺激。待标本稳定后, 开始实验, 亦采用摄影记录。

全部实验均采用配对资料t检验进行统计学处理。

结 果

PTS对羊心浦氏纤维动作电位的影响

羊心浦氏纤维标本5只, 持续给予方波刺激(波宽为1 ms, 频率为0.33 Hz, 以120%阈强度驱动标本)。待其稳定后, 向灌流液中累积加入PTS 2.5 μ g/ml和5.0 μ g/ml。每次加药后观察15~20 min。结果见表1。

Tab 1 Effect of PTS on action potential of isolated sheep Purkinje fibers ($n=5, \bar{x} \pm SD$)

	Control	PTS(μ g/ml)	
		2.5	5.0
APA(mV)	110 \pm 21	110 \pm 22	108 \pm 22
APD ₃₀ (ms)	267 \pm 17	293 \pm 36	323 \pm 52*
APD ₅₀ (ms)	344 \pm 45	382 \pm 53**	428 \pm 74**
APD ₉₀ (ms)	539 \pm 116	567 \pm 105*	598 \pm 96*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. APA: action potential amplitude. APD: action potential duration

结果可见, PTS可使PF动作电位复极化到30%(APD₃₀), 50%(APD₅₀), 90%(APD₉₀)的时间均显著延长, 且呈剂量依赖性。对动作电位幅度(APA)无明显影响。

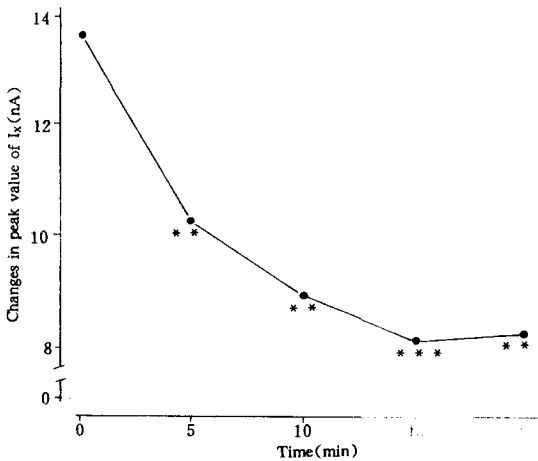


Fig 1 Time-response relationship of PTS 2.5 μ g/ml on I_x in sheep Purkinje fibers.

$n=9$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

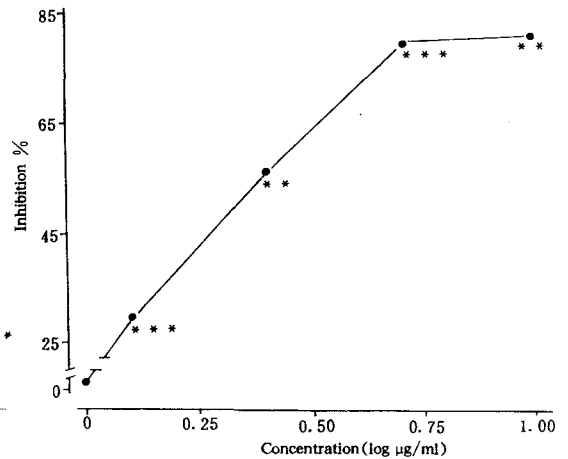


Fig 2 Dose-response curve relating to the effect of PTS on I_x in sheep Purkinje fibers, shown in inhibiting percentage after perfused with PTS at every dose for 10~15 min.

$n=9$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

PTS 对羊心浦氏纤维 I_x 的影响

羊心 PF 标本, 稳定 1 h 后, 使 E_n 为 -20 mV, E_c 为 $+10$ mV, T_c 为 $1\sim 1.5$ s, 频率为 0.2 Hz, 即可记录到一缓慢的外向电流, 即 I_x 这一电流特征为激活时间较长, 激活的电压范围为 $-50\sim +10$ mV. 一般认为此 I_x 主要由 K^+ 跨膜转运形成, 参与动作电位平台期的形成和终止⁽⁵⁾. 按上述钳制信号在 9 例羊心 PF 标本上进行 I_x 测定, 累积加入 PTS $1.25, 2.5, 5.0, 10.0$ $\mu\text{g/ml}$, 记录实验结果(图 1, 2). 结果发现, 加药后 5 min 即可对 I_x 产生明显抑制作用, 至 15 min 时, 达峰效应. 且依药物浓度的增加而作用增强. 在 PTS 为 5 $\mu\text{g/ml}$ 的剂量时, 业已接近最大抑制效应, 抑制率达到 81.2% ($P < 0.001$). 取前三个剂量组与效应作直线回归处理, 相关系数为 0.9999 .

讨 论

心肌细胞跨膜电位 APD 的长短取决于动作电位复极时的内向电流和外向电流的相互平衡, 如果内向电流受阻或外向电流加速, APD 缩短. 若内向电流加速或外向电流受抑制, 则 APD 延长. 在我们的实验中观察到 PTS 可使浦氏纤维 APD 延长, 这与我们对离体豚鼠乳头肌标本所观察到的结果是一致的⁽¹⁾. 提示, PTS 可能抑制外向电流或加速内向电流.

另外, PTS 尚具有与第三类抗心律失常药胺碘酮相似的药理特性, 如都能延长 APD 和 ERP 而不影响动作电位 0 相的上升速率 (V_{\max}) 和幅度等⁽¹⁾. 目前, 已有许多研究资料表明, 第三类抗心律失常药为钾通道阻滞剂⁽⁶⁾ 且多选择性抑制 I_x . 故本文采用电压钳技术分析 PTS 对 I_x 的影响.

延迟整流钾通道, 携带外向钾电流 (I_x), 此钾通道在去极化时激活, 然后缓慢失活, 与心肌组织的晚期复极化相有关, 故称复极电流, 决定着浦氏纤维的最大复极电位. 双微电极电压钳实验证明, PTS 对浦氏纤维 I_x 有明显抑制作用, 说明, PTS 可通过阻滞延迟整流钾通道而延长心肌细胞 APD 和 ERP, 是一个钾通道阻滞剂. PTS 与胺碘酮类似亦属于第三类抗心律失常药.

参 考 文 献

- 1 李学军、张宝恒. 三七中人参三醇甙抗心律失常作用的研究. 药学报 1988; 23: 168.
- 2 Kotake H, et al. Electrophysiological study of cibenzoline in voltage-clamped rabbit sinoatrial node preparations. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 241: 982.
- 3 McDonald TF, Trautwein W. The potassium current underlying delayed rectification in cat ventricular muscle. *J Physiol* 1978; 274: 217.
- 4 Carmeliet E. Electrophysiologic and voltage clamp analysis of the effects of sotalol on isolated cardiac muscle and Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232: 817.
- 5 Trautwein W. Membrane currents in cardiac fibers. *Physiol Rev* 1973; 53: 793.
- 6 David WR, Mitchell IS. Potassium channel modulators: scientific applications and therapeutic promise. *J Med Chem* 1990; 33: 1529.

**EFFECTS OF PANAXATRIOL SAPONINS (PTS) ISOLATED FROM
PANAX NOTOGINSENG ON THE ACTION POTENTIAL
AND DELAYED RECTIFIER CURRENT (I_x)
IN SHEEP CARDIAC PURKINJE FIBERS**

XJ Li, JS Fan, YW Liu and BH Zhang

(*Department of Pharmacology, Beijing Medical University, Beijing 100083*)

ABSTRACT The electrophysiological effects of PTS in sheep cardiac Purkinje fibers were studied. PTS was shown to increase the duration of action potential (APD_{30} , APD_{50} and APD_{90}) at the concentrations of 2.5 $\mu\text{g/ml}$ and 5.0 $\mu\text{g/ml}$. However, the amplitude of action potential (APA) remained unchanged. The result of using double microelectrode voltage clamp method showed that PTS (1.25 ~ 10.0 $\mu\text{g/ml}$) depressed the delayed (outward) rectifier current (I_x) in time- and dose-dependent manners, when the holding potential was held at +20 mV, the command potential was held at +10 mV, 0.2 Hz and the clamping time at 1 ~ 1.5 s.

It may be concluded that the effect of PTS on APD is mainly related to blocking the delayed rectifier potassium channel.

Key words *Panax notoginseng*; Panaxatriol saponins; Action potential; Delayed rectifier current; Potassium channel