

## 去甲乌药碱对心肌细胞电生理特性的影响

王彬尧\* 俞国瑞 郑道声 黄铭新 (上海第二医学院附属第三人民医院内科, 上海 200001)  
顾培堃 陈延连 尚 鸣 金正均 (上海第二医学院药理教研组, 上海 200025)

**提要** 根据 11 个猪心标本 84 个细胞的微电极记录结果, 猪心室肌细胞的 APA 是  $115 \pm 9$  mV,  $APD_{50}$   $170 \pm 33$  ms,  $APD_{100}$   $242 \pm 30$  ms,  $V_{max}$   $151 \pm 27$  V/s,  $RP -85 \pm 5$  mV. 表明猪心室肌细胞的 AP 和 RP 与其他哺乳动物相似. DMC 显著增加猪心室肌细胞的 APA, APD, PLA, PAH 和 PL, 此作用可被  $Mn^{++}$  阻断, DMC 增加高  $K^+$  台氏液中的 RP, 使原先完全失活的快  $Na^+$  通道和部分失活的慢通道复活, 改善高  $K^+$  诱发的传导阻滞. 以上结果表明 DMC 是慢通道激动剂. 文中对 DMC 的作用机制及其临床意义进行了讨论.

**关键词** 去甲乌药碱; 慢电流; 高  $K^+$  去极化;  $Mn^{++}$ ; 猪心肌细胞电活动

附子系毛茛科植物乌头的旁生块根, 是中  
医常用的“温阳”药物. 去甲乌药碱 (*dl*-de-  
methylcoclaurine 即 higenamine 简称 DMC)  
是从附子中分离所得的有效成分之一<sup>(1)</sup>, 现可  
人工合成<sup>(2)</sup>. 近年来, 北京、上海等地通过临  
床观察<sup>(3,4)</sup>和实验研究<sup>(2,5)</sup>证明其具有提高窦  
房结激动频率, 促进窦房和房室传导以及增强

---

1981年8月13日收稿 1981年12月15日修回

\* 研究生

心肌收缩力的作用。本文以正常猪心为材料,观察 DMC 对离体猪心室肌细胞的电生理作用。

## 材料和方 法

心肌标本的制作:猪经放血后立即取出心脏,剖开右心室,速将乳头肌和调节带(moderator band)连同部分心室肌切下投入经95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 饱和的4℃的台氏液(pH7.3)中,在1h内带回实验室,逐渐复温。标本在浴槽内用台氏液进行循环灌流,10-12 ml/min。实验主要用调节带,部分用右室乳头肌。标本放入浴槽经2½ h的稳定后,开始进行实验,槽内温度为37±1℃。

刺激和记录系统:实验采用标准玻璃微电极技术<sup>(6,7)</sup>。微电极内灌注3 M KCl溶液,其阻抗为10-40 MΩ,微电极从心肌细胞内引出的动作电位,以Ag-AgCl丝连接到FW-2微电极放大器,其输出经自制的电位平衡调节器分3个回路:一路经JSD-731电生理仪放大器导入SBR-1型双线示波器的上线显示动作电位,另一路经动作电位微分器后再显示在SBR-1型示波器的下线以显示动作电位0相最大上升速率(V<sub>max</sub>),微分器仿上海生理所的设计<sup>(7)</sup>自行制作。第三回路则输入到另一示波器(SBD-6型双线示波器)用作监视和观察用药后静息膜电位的变化。心肌标本的刺激采用双极银质电极,其外包以teflon绝缘,尖端裸露,用显微操纵器将其尖端轻压在标本表面,刺激脉冲由JSD-731刺激器产生,经刺激隔离器后再输入到标本上,刺激强度为2倍阈值,频率为60次/min,波宽1 ms,摄影记录。

动作电位参数的测量和分析:具体测量方法如图1。为了减少测量误差,所有的测量数据均用长城BW-1缩微阅读器对照片进行放大后测量。本实验是在同一个细胞内完成对照和药物作用的观察。所得结果用配对t-测验处理。

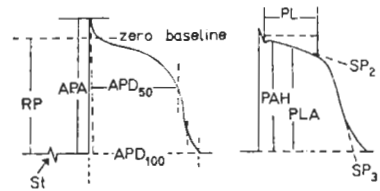


Fig 1. Action potential parameters. APA = action potential amplitude; APD<sub>50</sub> = action potential duration of 50% repolarization; APD<sub>100</sub> = action potential duration of 100% repolarization; PAH = maximum height of plateau amplitude; PL = plateau length; PLA = amplitude of 50% plateau length; RP = resting potential; SP<sub>2</sub> = slope of phase 2; SP<sub>3</sub> = slope of phase 3; St = Stimulus artifact.

DMC 由中国医学科学院药物研究所和上海第九制药厂提供,系合成品,实验时依所需浓度直接溶解于灌流的台氏液中。

## 结 果

**正常猪心室肌细胞动作电位特点** 根据组织学的检查和用Lugol氏液染色的结果表明猪心室肌纤维和浦肯野纤维在肉眼和显微镜下均易区分,前者呈红色,后者呈白色。我们选择红色的心室肌处插入微电极,记录得到的动作电位如图2(A)所示,根据11个猪心的84个心肌细胞的记录结果,其动作电位(AP)的各参数如下:动作电位振幅(APA)为115±(SD)9 mV,动作电位复极50%的时限(APD<sub>50</sub>)170±33 ms,动作电位完全复极的时限(APD<sub>100</sub>)242±30 ms。V<sub>max</sub>为151±27 V/s,静息膜电位(RP) -85±5 mV。

**DMC对猪心室肌AP各参数的影响** 本实验首先对DMC的作用时间,药物浓度和效应之间的关系进行了初步的观察。药物浓度达到3 μg/ml时就出现反应,而超过15 μg/ml时,则出现节律紊乱的异常反应,同时APD缩短。因此确定实验用的药物浓度为5 μg/ml。以此浓度灌流标本,5 min就出现作用,20-25 min作用达高峰,从16个猪心标本的系统实验,结果有如下表现:

Table 1. Effect of DMC perfusion on action potential characteristics of pig's ventricular muscle. ( $\bar{x} \pm SD$ )

Parameter	Before	After	Change(%)	P value
APA(mV)	114 ± 5	117 ± 6	+2	<0.05
APD <sub>50</sub> (ms)	184 ± 30	218 ± 42	+19	<0.01
APD <sub>100</sub> (ms)	253 ± 32	292 ± 46	+16	<0.05
PL(ms)	150 ± 15	184 ± 42	+23	<0.05
PLA(mV)	101 ± 7	106 ± 9	+6	<0.05
PAH(mV)	108 ± 7	113 ± 9	+4	<0.05
SP <sub>2</sub> (mV/s)	206 ± 23	156 ± 43	-24	<0.05
SP <sub>3</sub> (mV/s)	909 ± 225	896 ± 219	-1	>0.05
V <sub>max</sub> (V/s)	146 ± 29	146 ± 26	0	>0.05
RP(mV)	-86 ± 5	-87 ± 4	+1	>0.05

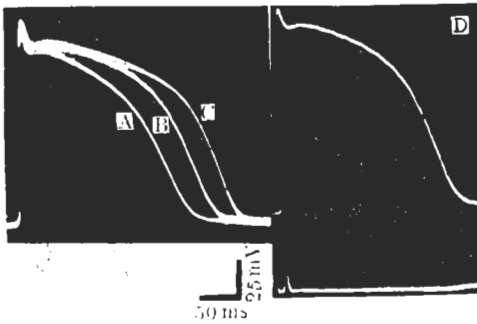


Fig 2. Effect of DMC on action potential of pig's ventricular muscle in normal Tyrode's solution. (A) Control. (B) 10 min exposure to DMC 5 µg/ml. (C) 20 min exposure. (D) 10 min after return to drug-free Tyrode's solution. The bottom traces represent the differentiated signal of action potential upstroke. The vertical calibration in the bottom line = 125 V/s.

1. 以含有 DMC 5 µg/ml 的台氏液灌流标本后, 心肌细胞动作电位平台的幅度显著增高, 持续时间 (APD) 亦显著延长, 2 相斜率 (SP<sub>2</sub>) 显著减小, APA 显著增高, 而 V<sub>max</sub>, RP 和 3 相斜率 (SP<sub>3</sub>) 则无明显的改变. 图 2 是结果的一例. 其中微电极持续稳定在同一个细胞内的 6 个猪心标本的实验结果如表 1.

2. 当猪心肌标本预先经含有 Mn<sup>2+</sup> 3 mM 的台氏液处理后再作上述观察, 则上述 DMC 对心肌细胞的电生理作用完全消失如图 3 所示.

3. DMC 对高 K<sup>+</sup> 传导阻滞的作用在正常的台氏液中, 标本对 60 次/min 的刺激均有反

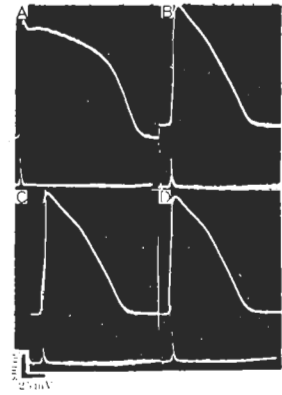


Fig 3. Action potentials of pig's ventricular muscle in Tyrode's solution. (A) Control. (B) 30 min in Tyrode's solution containing Mn<sup>2+</sup> 3 mM. (C) 15 min of exposure to DMC 5 µg/ml Tyrode's solution containing Mn<sup>2+</sup> 3 mM. (D) 20 min of exposure to DMC 10 µg/ml Tyrode's solution containing Mn<sup>2+</sup> 3 mM. The top traces are action potential, the bottom traces are differentiated signals of action potential upstroke. The vertical calibration of bottom line = 125 V/s.

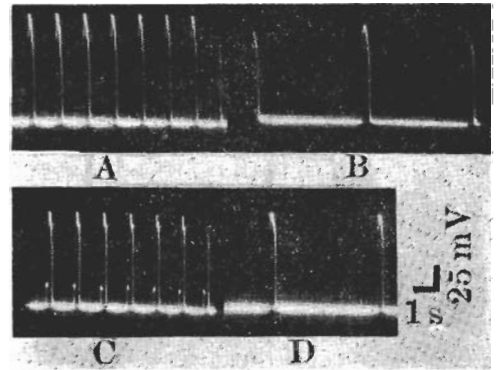


Fig 4. Effect of DMC on the conduction block induced by K<sup>+</sup>-rich solution. (A) In normal Tyrode's solution; (B) In K<sup>+</sup>-rich Tyrode's solution; (C) After 7 min of exposure to DMC 5 µg/ml; (D) After addition of Mn<sup>2+</sup> 3 mM.

应如图 4(A), 在加入 K<sup>+</sup> 23 mM 后, 对 60 次/min 的刺激出现 4:1 的传导阻滞如图 4(B). 此时加入 DMC 5 µg/ml 后 7 min, 传导阻滞消失, 同时 AP 上升肢分为 2 个时相如图 4(C), 再加入 Mn<sup>2+</sup> 3 mM 后, 再次出现 4:1 的传导阻滞如图 4(D).

4. DMC 在高 K<sup>+</sup> 台氏液中的作用在含有

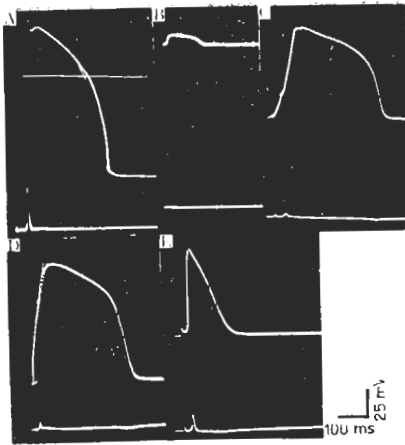


Fig 5. Effect of DMC on action potential of pig's ventricular muscle in Tyrode's solution containing  $K^+$  32 mM. (A) Control; (B) 60 min in hyperpotassium Tyrode's solution; (C) 25 min exposure to DMC 5  $\mu$ g/ml hyperpotassium Tyrode's solution; (D) 40 min exposure to DMC; (E) After addition of  $Mn^{2+}$  3 mM. The vertical calibration of bottom line = 125 V/s.

$K^+$  32 mM 的台氏液中, 示 RP 从  $-82$  mV 下降到  $-23$  mV, 心肌细胞对电刺激仅能产生慢反应电位见图 5(B)。加入 DMC 后, 此慢反应的 APA 和 APD 均增大, 上升部分出现 2 个时相如图 5(C, D), 同时 RP 恢复至  $-63$  mV,  $V_{max}$  增至 70 V/s。加入  $Mn^{2+}$  3 mM 后, 上升部分的第 2 相消失, 但上升部分的第 1 相及  $V_{max}$  仍保持不变如图 5(E)。

## 讨 论

**猪心室肌细胞动作电位特点** 晚近认识到猪心在解剖和功能上更接近人类心脏<sup>(8)</sup>, 故以猪心作实验研究的报道日益增多。刘泰樑等<sup>(9)</sup>报告猪心室肌动作电位和其他哺乳动物相类似, 唯  $V_{max}$  较低。我们结果则表明猪心室肌的  $V_{max}$  也和其他哺乳动物<sup>(10)</sup>相似。同时我们曾对大白鼠、豚鼠、兔和狗的心室肌作过电生理的观察, 发现用微电极从这些动物心肌细胞内记录出的 AP 稳定性较差, 而从猪心室肌细胞内记录出的 AP 可较长时间的稳定在一个水平上, 一般可达 2 h 以上。故猪心更适于观察

药物的电生理作用。

**DMC 对心肌细胞 AP 的作用机理** 电压钳制(voltage-clamp)实验表明心肌细胞的动作电位的平台相与慢电流密切相关。慢电流增加可使平台相的幅度增高, 持续时间亦可延长。 $Mn^{2+}$  是慢通道特异性的阻断剂<sup>(11,12)</sup>。应用 DMC 灌流标本显示 AP 的平台相的幅度显著增加, APD 显著延长, 且此作用可被  $Mn^{2+}$  完全阻断。在高  $K^+$  的台氏液中, DMC 增加慢电流的作用更为明显。以上结果表明 DMC 是慢通道的激动剂。

动作电位平台相的持续时间即平台相的长度主要由内向的慢电流和外向的  $K^+$  电流( $i_{x1}$ )的相互平衡来决定的, 若慢电流增大和/或  $K^+$  电流减小, 平台持续时间延长, 反之则缩短。DMC 对  $SP_3$  无明显作用, 亦不改变含有  $Mn^{2+}$  的台氏液中 AP 的形状, 表明其不影响外向的  $K^+$  电流, 故 DMC 延长平台相作用不是通过改变  $K^+$  电流, 而是通过增加慢电流产生的。APD 的延长则可能是继发于平台相的延长所致。

DMC 使 APA 显著地增高, 但对  $V_{max}$  没有影响。在含有  $Mn^{2+}$  的台氏液中使其 APA 增高的作用消失, 说明 DMC 增加 APA 是通过增加 0 相的慢电流成份的<sup>(12)</sup>。

细胞外高  $K^+$  引起 RP 的降低, 在导致快速  $Na^+$  通道完全失活的同时, 慢通道亦可部分失活, DMC 增加高  $K^+$  台氏液中的 RP, 使原先完全失活的  $Na^+$  通道和部分失活的慢通道得以复活, APA 和  $V_{max}$  增大, 从而使高  $K^+$  诱发的传导阻滞得以改善。

**临床意义** 窦房结和房室结细胞均属慢反应纤维。慢电流内流增加, 窦房结功能改善, 房室传导加快。故从本文的结果提示 DMC 提高窦房结功能, 促进房室传导, 临床上改善慢性心律失常有效的细胞机制可能是通过激活慢通道, 增加慢反应纤维中的慢电流内流而产生的。由于  $Ca^{2+}$  内流是产生慢电流的主要原因,  $Mn^{2+}$  对慢通道的阻断主要是通过阻断

Ca<sup>++</sup> 内流而发挥作用。DMC 增加慢电流,因而增加心肌每次兴奋时从细胞外进入细胞内的 Ca<sup>++</sup> 量<sup>(11,12)</sup>这也可部分解释 DMC 的正性肌力作用<sup>(2,5)</sup>。

DMC 在正常台氏液中对心肌的 V<sub>max</sub> 没有明显的作用,表明 DMC 难以改善位于希氏束远端的房室传导阻滞,这与临床观察和希氏束电图的研究<sup>(3,4)</sup>结果相一致。

**致谢** 去甲乌药碱由原上海第九制药厂陈炜同志提供。

### 参 考 文 献

- 1 Kosuge T, Yokota M. *Chem Pharm Bull* 1976 Jan; 24 (1): 176
- 2 周远鹏、范礼理、张丽英、曾贵云. 中华医学杂志 1978 年 11 月, 58 (11): 664
- 3 姜文卿、陶寿淇、李介鸣、范爱萍、陈可冀、张向渠、郭士魁、钱振维、涂秀华、竺清渝、沈潞华、顾复生、曾贵云. 中华心血管病杂志 1980 年 6 月;

8(2):95

- 4 鲍延熙 徐济民、徐有秋、边毓士、俞国瑞、郑道声. 上海医学 1979 年 12 月; 2(12):2
- 5 韩慧婉、王家珍、孙福立、曾贵云. 中国药理学报 1981 年 6 月; 2(2):111
- 6 Hoffman BF, Cranefield PF. *Electrophysiology of the heart*. 1st ed. New York: McGraw-Hill, 1960: 1—19
- 7 范世藩、徐森根、周念辉、王志敏. 生理学报 1979 年 4 月; 31(2):175
- 8 Pond WG, Houpt KA. *The biology of the pig*. 1st ed. New York: Cornell University Press, 1978: 31—5
- 9 刘泰燧、周曾铨、董俐雯. 北京大学学报 自然科学版 1980 年 9 月; (3):69
- 10 Beeler GW, Reuter H. *J Physiol (Lond)* 1977 Jun; 268 (1): 177
- 11 Trautwein W. *Physiol Rev* 1973 Oct; 53 (4): 793
- 12 Carmeliet E. The slow inward current: non-voltage-clamp studies. In: Zipes DP, Bailey JC, Elharrar V, eds. *The slow inward current and cardiac arrhythmias*. 1st ed. Hague: Martinus Nijhoff, 1980: 97—110

*Acta Pharmacologica Sinica* 1982 Jun; 3 (2): 112—117

## EFFECTS OF *dl*-DEMETHYLCOCLAURINE ON ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF PORCINE MYOCARDIAL CELLS

WANG Bin-yao, YU Guo-rui, ZHENG Dao-sheng, HUANG Ming-xin  
(Department of Medicine, Shanghai Third People's Hospital, Shanghai Second Medical College, Shanghai 200001)

GU Bei-kun, CHEN Yian-lian, SHANG Ming, JIN Zheng-jun  
(Department of Pharmacology, Shanghai Second Medical College, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** Action potentials of isolated ventricular myocardial fibers of pigs and the electrophysiological actions of *dl*-demethylcoclaurine (DMC) on the porcine myocardial cells were studied by glass microelectrodes.

The action potentials of porcine ventricular myocardial fibers were similar to those of other mammalian hearts. Amplitude of the action potential was  $115 \pm 9$  mV, duration of action potential  $242 \pm 30$

ms, resting membrane potential  $-85 \pm 5$  mV and the maximum rise of depolarization of action potential  $151 \pm 27$  V/s.

After perfusion with normal Tyrode's solution containing DMC  $5 \mu\text{g/ml}$ , the amplitude of action potential was increased and the duration of action potential was prolonged, the amplitude and the duration of plateau of action potential were increased and the slope of phase 2 of action potential was reduced ( $P < 0.05$ ). The

resting potential, the slope of phase 3 and the maximum depolarization rate of phase 0 of action potential did not change.

In Tyrode's solution containing  $Mn^{++}$  3 mM, these electrophysiological actions of DMC disappeared. DMC may abolish the conduction block induced by  $K^+$ -rich solution. In Tyrode's solution containing  $K^+$  32 mM, the upstroke of action potential showed 2 phases under influence of

DMC. The 2nd phase disappeared when  $Mn^{++}$  was added.

All findings indicate that DMC can be considered as an activator of the slow channel. The electrophysiological mechanism and clinical significance of DMC were discussed.

**KEY WORDS** *dl*-demethylcoclaurine; slow current;  $Mn^{++}$ ; hyperpotassium; electrophysiology of swine heart