

盐酸小檗胺对豚鼠及人离体心肌的作用

李宁元、李文汉、李亦秀 (哈尔滨医科大学药理教研室, 哈尔滨 150006)

提要 小檗胺(BA)抑制离体豚鼠乳头状肌和人心耳梳状肌收缩性和自律性, 延长功能不应期, 而对兴奋性无影响。BA不同于普萘洛尔竞争性拮抗异丙肾上腺素正性肌力作用; 也不同于西米替丁竞争性拮抗组胺正性肌力作用。BA右移CaCl₂量-效曲线与维拉帕米相似, 回归直线斜率分别为-0.49和-0.58, 提示两者均非竞争性地拮抗CaCl₂的正性肌力作用。

关键词 小檗胺; 粉防己碱; 维拉帕米; 异丙肾上腺素; 组胺; 钙通道阻断剂; 豚鼠心室乳头状肌; 人右心耳梳状肌

小檗胺(berbamine, BA)是一种双苄基异喹啉生物碱, 有降压⁽¹⁾, 升白细胞⁽²⁾, 抗心肌缺血⁽³⁾及抗心律失常⁽⁴⁾等药理作用。近年发现粉防己碱为一种钙通道阻断剂⁽⁵⁾。BA同粉防己碱结构相似, 是否也可能具有与粉防己碱相似的作用。本实验目的在于观察BA对离体豚鼠心室乳头状肌和人右心耳梳状肌的收缩性, 兴奋性, 自律性和不应期的影响。

方法^(6,7)与结果

盐酸小檗胺系中国科学院林业土壤研究所提供。

BA对离体心肌的作用 豚鼠体重378±SD 36g, ♀♂不拘。取右心室乳头状肌, 下端固定于刺激电极后置于含13ml 30℃通95% O₂+5% CO₂的K-H液的浴槽中, 上端连到LZ-1型张力传感器, 用JL-3型三道生理记录仪进行描记, 并用SBR-1型双线示波器监测。pH 7.35-7.45。用1Hz, 1ms, 120%阈电压驱动。标本稳定期间每隔15min换液一次, 同时调整心肌初长, 使之能产生适宜的收缩张力, 负荷为0.8-1.2g。稳定1h后给药。

人右心耳梳状肌取材于临床心脏直视手术

的患者25人, 年龄16±11岁。取梳状肌肌束长约4-6mm直径约1mm, 放入通以95%O₂+5%CO₂的K-H液中, 除实验温度为37℃以外, 其余均与豚鼠心室乳头状肌实验方法及条件相同。

收缩性 以离体心肌半等长收缩张力变化为指标。标本稳定后, 描记收缩曲线作为对照值。然后向浴槽中加入BA, 观察给药后收缩曲线的变化, 绘制BA作用的时-效曲线。每个标本只观察一个剂量BA的作用。

BA剂量分12.5和50μM两组, 在两种心肌标本上, BA均显示出负性肌力作用, 且有时间依赖性, 时-效曲线方差分析结果均非常显著(p<0.01, n=6/组)。相同时间大剂量BA的作用强度也大(图1)。

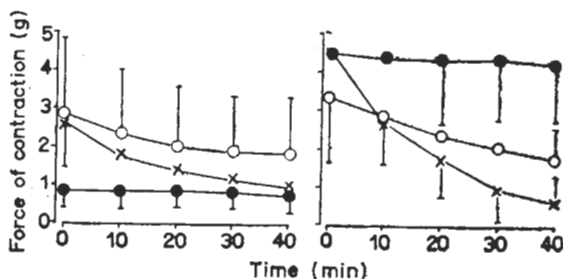


Fig 1. Effect of berbamine on contraction of guinea pig papillary muscles (left) and human pectinate muscles (right). (●) control; (○) berbamine 12.5 μM; (×) berbamine 50 μM. n=6/group, $\bar{x} \pm SD$.

兴奋性 用强度-时间曲线法测定BA对心肌兴奋性的影响。刺激波宽(时间)分别为0.2, 0.5, 1, 3, 5和10ms。

对于豚鼠心室乳头状肌标本, BA分12.5和50μM两个剂量, 测定给药前和给药后15min引起心肌收缩的阈电压(强度); 对于人心耳梳状肌标本, BA剂量为12.5μM, 测定给

药前和给药后 10 min 和 30 min 的强度。结果各测量点给药前后数值无明显改变。

不应性 采用连续双次刺激法。以心肌收缩时的功能不应期(FRP)为指标。刺激参数为 0.5 Hz, 3 ms, 5 倍阈电压。双脉冲间隔从 0 ms 开始, 逐渐延长至第二个脉冲刚好引起心肌可见收缩时的最小间隔时间即为 FRP。每隔 10 min 测定一次, 观察药物对该项指标的影响。

BA 的剂量分 12.5 和 50 μM 两组, 给药后可延长离体豚鼠心室乳头状肌和人心耳梳状肌的 FRP(表 1)。

Tab 1. FRP (ms) of papillary muscles of 6 guinea pigs and pectinate muscles of 6 persons before and after berbamine. $\bar{x} \pm \text{SD}$. ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	Papillary muscles		Pectinate muscles	
	12.5 μM	50 μM	12.5 μM	50 μM
0 min	269 \pm 22	288 \pm 27	220 \pm 16	224 \pm 12
10 min	280 \pm 23	302 \pm 33	226 \pm 21	260 \pm 9***
20 min	289 \pm 30**	308 \pm 35**	238 \pm 23***	298 \pm 16***
30 min	289 \pm 29**	326 \pm 40**	240 \pm 22***	(n = 4)

自律性 在乳头状肌静止状态下加入肾上腺素, 观察 3 min, 如无自动节律, 于 3 min 末施予阈上刺激(1 Hz, 5 ms, 120% 阈电压) 30 s, 无论静止状态或于电刺激下被肾上腺素诱发的自律性收缩, 其持续时间超过 10 s 者作为阳性反应。诱发自律性的最低浓度经两次测定不变时定为阈浓度。给药后按同法再测肾上腺素阈浓度的变化。

BA 剂量分 12.5 和 50 μM 两组。给 BA 前肾上腺素诱发自律性的阈浓度为 0.07-0.23 μM , 给 BA 12.5 μM 15 min 后, 诱发自律性的肾上腺素阈浓度提高到 2.3 μM ; 当加入 BA 50 μM 15 min 后, 按 $\frac{1}{2} \log(M)$ 的比例提高肾上腺素浓度, 高达 230 μM 时有的标本仍未出现阳性反应, 统计结果表明差异非常显著(图 2)。

在 3 例具有自律性的人心耳梳状肌标本上观察 BA 对其自律性的影响。给药前收缩频率

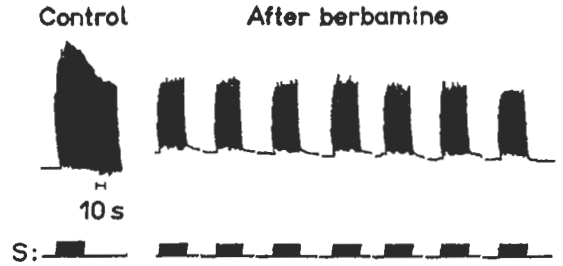


Fig 2. Effect of berbamine 50 μM on adrenaline-induced automaticity of guinea pig papillary muscle. Control; automaticity induced by adrenaline 0.23 μM + electrical stimulation. Disappearance of adrenaline-induced automaticity after berbamine. S; stimulation.

为 32 bpm, 给 BA 3.2 μM 后, 10 min 时为 27 bpm, 20 min 为 21 bpm。

量-效曲线 离体豚鼠心室乳头状肌标本制备方法同前。用 0.4 Hz, 3 ms, 2 倍阈电压的方波刺激驱动标本。在观察 BA 对三种不同激动剂作用的影响中, 所用 K-H 液成分稍有不同, 异丙肾 上腺素 量-效曲线 KCl 4.7 mM, CaCl_2 2.55 mM; 组胺量-效曲线 KCl 7.73 mM; 氯化钙量-效曲线 CaCl_2 0.5 mM。其它实验条件同前。

对异丙肾 上腺素(Iso)量-效曲线的影响⁽⁸⁾ 以收缩张力为观察指标。标本稳定后, 记录空白对照值, 然后分次加入 Iso, 使 Iso 的浓度按 $\frac{1}{2} \log(M)$ 的比例递增。每次给药后收缩张力曲线稳定时再加下一剂量的 Iso, 累加至收缩张力不再随剂量增加为止, 得出最大效应值。以最大值与对照值之差作为 100%, 同时求出 Iso 各剂量产生的效应值与对照值之差在其中所占的比例, 绘出 Iso 的累积量-效曲线。然后用营养液冲洗标本, 每 10 min 一次。40 min 后分别加入普萘洛尔(Pro)维拉帕米(Ver)或 BA。30 min 后按上述方法再测得一条量-效曲线。曲线平行右移时计算拮抗剂的 pA_2 值, 曲线非平行右移且最大值降低者计算拮抗剂的 pD'_2 值。加入的试药与激动剂的总容量不超过浴槽中原液体容量的 5%。每个标本只用一种拮抗剂。

BA 12.5 μM 和 Ver 1.0 μM 都使 Iso 量-效曲线右移, 且最大值分别下降 15.7% ($p < 0.05$) 和 21.3% ($p < 0.05$), pD'_2 值分别为 4.19 和 5.45. Pro 0.5 μM 使 Iso 量-效曲线平行右移, pA_2 值为 7.82 (图 3)。

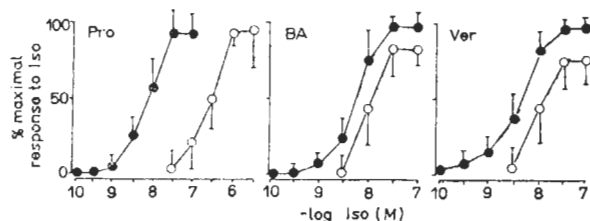


Fig 3. Effects of propranolol (0.5 μM), berbamine (12.5 μM) and verapamil (1.0 μM) on isoproterenol-mediated increase in peak tension in isolated guinea pig papillary muscles. (●) isoproterenol; (○) isoproterenol + antagonists. $n = 6/\text{group}$, $\bar{x} \pm \text{SD}$.

对组胺累积量-效曲线的影响⁽⁹⁾除按 10^{-n}M ($n = 8, 7, 6 \dots$) 的比例向浴槽中加入组胺以外, 累积量-效曲线的绘制和结果计算与 Iso 量-效曲线相同。

BA 12.5 μM 和 Ver 1.0 μM 都使组胺量-效曲线右移, 并分别使最大效应值下降 29.7% ($p < 0.01$) 和 32.3% ($p < 0.01$), pD'_2 值分别为 4.54 和 5.68. 西米替丁(Cim) 10 μM 使组胺量-效曲线平行右移, pA_2 值为 6.58 (图 4)。

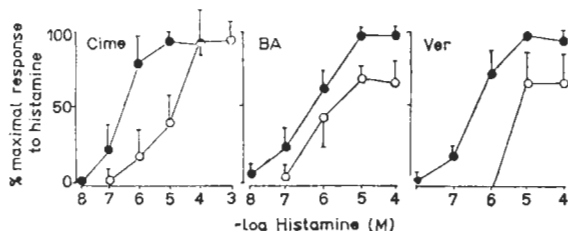


Fig 4. Effects of cimetidine 10 μM , berbamine 12.5 μM and verapamil 1.0 μM on histamine-mediated increase in peak tension in isolated guinea pig papillary muscles. (●) histamine; (○) histamine + antagonists. $n = 6/\text{group}$, $\bar{x} \pm \text{SD}$.

对 CaCl_2 累积量-效曲线的影响⁽⁸⁾除按 1.5 nM ($n = 0, 1, 2 \dots$) 的比例向浴槽中加入 CaCl_2 以外, 实验方法和累积量-效曲线的绘制

与 Iso 量-效曲线相同. BA 和 Ver 的剂量均分为低、中、高三组, 每个标本只用一个剂量的拮抗剂. 以 $\log(X-1)$ 对 $-\log[B]$ 作图, 求出两种拮抗剂的回归直线斜率. X 为加入拮抗剂前后 CaCl_2 量-效曲线的 EC_{50} 之比, $[B]$ 为拮抗剂的 M 浓度。

Ver 0.1, 1.0, 10 μM 使 CaCl_2 量-效曲线平行右移, BA 1.25, 12.5 μM 使 CaCl_2 量-效曲线平行右移, 当剂量增大至 125 μM 时, 曲线右移且最大值下降 20% ($p < 0.05$). 以 $\log(X-1)$ 对 $-\log[B]$ 作图求得 BA 和 Ver 的回归直线斜率分别为 -0.49 和 -0.58 (图 5, 6)。

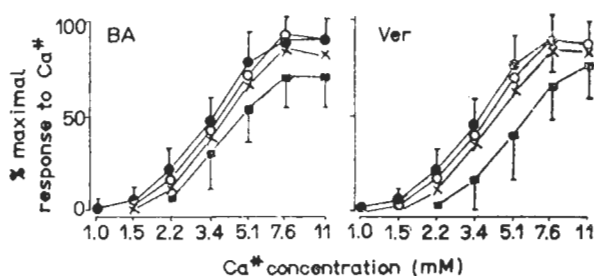


Fig 5. Effects of berbamine (1.25, 12.5 and 125 μM) and verapamil (0.1, 1.0 and 10 μM) on calcium-mediated increase in peak tension in isolated guinea pig papillary muscles. (●) Ca^{2+} ; Ca^{2+} + berbamine or verapamil in low (○), middle (×) and high (■) concentrations, respectively. $n = 6/\text{group}$, $\bar{x} \pm \text{SD}$.

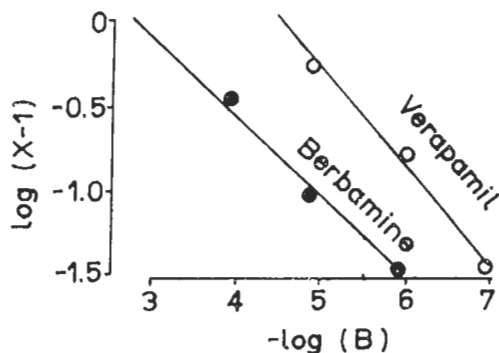


Fig 6. Antagonism of calcium by berbamine and verapamil in guinea pig papillary muscles.

讨 论

BA 对离体豚鼠心室乳头状肌及人心耳梳

状肌都有负性肌力作用,但同等剂量的 BA 对心肌兴奋性却无明显影响。

在离体心肌标本上,BA 的负性肌力作用随着时间的延长而加强,但对在体心脏只有一过性的抑制作用⁽¹⁾,原因可能是在体内 BA 抑制心肌收缩力,又扩张外周血管使血压下降,反射性地刺激交感神经对心脏功能的调节所致。同粉防己碱一样,BA 对离体心肌的抑制作用也较难恢复⁽⁸⁾。

BA 明显提高肾上腺素诱发心肌自律性的阈浓度,也降低有自律性的梳状肌收缩频率,反映了它有抑制异位节律的作用,BA 的这一作用以及它延长心肌的 FRP,可能是其抗心律失常作用的原因之一。

BA 对豚鼠心室乳头状肌和人心耳梳状肌的收缩性、兴奋性、自律性和不应期的影响基本一致,提示 BA 对这两类不同种属的心肌功能影响是相同的。

BA、Ver 与普萘洛尔不同,在右移 Iso 量-效曲线的同时,使最大值明显下降。由此推测在豚鼠乳头状肌标本上,它们两者对 Iso 的拮抗不是竞争性阻断 β -受体。普萘洛尔拮抗 Iso 的 pA_2 值为 7.82,与文献结果^(5,10)相近。

组胺可激动 H_2 -受体增加 cAMP 含量,促进 Ca^{++} 内流,产生与 β -受体激动后相似的阳性频率作用和正性肌力作用⁽¹¹⁾。BA 和 Ver 不象西米替丁那样右移组胺量-效曲线,而使最大值下降,因此推测 BA 和 Ver 对组胺的拮抗不是竞争性阻断 H_2 -受体。

BA 和 Ver 右移 $CaCl_2$ 量-效曲线的作用相

似,若采用回归直线斜率等于 -1 作为竞争性拮抗的判定标准⁽¹²⁾,两者均不满足此条件。本实验测得 Ver 的回归直线斜率为 -0.58,与国内外文献所报结果^(5,8)接近。

实验结果表明,BA 对离体心肌的作用与文献所报告的粉防己碱的作用很相似,BA 很可能同粉防己碱一样,为一种具有抗钙作用的生物碱。

致谢 得到哈尔滨医科大学附属第二医院夏求明、陈子道、陈厚坤等同志的大力支持。

参 考 文 献

- 1 周仲达、韩传环、王 萍. 药学学报 1980; 15 : 248
- 2 刘昌孝、李广粹、籍秀娟. 中草药通讯 1979; 10 : 36
- 3 李亦秀、李文汉. 哈尔滨医科大学学报 1984; 18 : 14
- 4 杨宝峰、王晓虹、李亦秀、李文汉. 同上 1984; 18 : 78
- 5 金满文、方达超、江明性. 中国药理学报 1982; 3 : 97
- 6 方达超、姚伟星、曲 玲、江明性. 同上 1981; 2 : 163
- 7 Levi R, Malm JR, Bowman FO, Rosen MR. *Circ Res* 1981; 49 : 545
- 8 Bristow MR, Green RD. *Eur J Pharmacol* 1977; 45 : 267
- 9 Verma SC, McNeill JH. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 200 : 352
- 10 茅玉康、杨藻宸. 中国药理学报 1980; 1 : 7
- 11 Verma SC, McNeill JH. *Life Sci* 1976; 19 : 1797
- 12 徐端正. 生理科学进展 1981; 12 : 318

Effects of berbamine on isolated myocardium in guinea pigs and humans

LI Ning-yuan, LI Wen-han, LI Yi-xiu

(Dept Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin 150006)

ABSTRACT Berbamine depressed contractility and automaticity, prolonged the FRP without any influence on the excitability. Berbamine, like verapamil, did not antagonize competitively the positive inotropic actions of isoproterenol, histamine or CaCl_2 . The results suggest that berbamine

is a calcium channel blocker from plant origin.

KEY WORDS berbamine; tetrandrine; verapamil; isoproterenol; histamine; calcium channel blockers; guinea pig papillary muscles; human pectinate muscles