

3,4-二羟基苯甲醛缩短心肌细胞动作电位的时程和负性肌力作用¹

范 铮、姚瑞明²、梁子钧 (上海医科大学生物物理教研室, 上海 200032)

摘要 3,4-二羟基苯甲醛(DB)浓度从30-300 $\mu\text{g/ml}$ 逐渐加重对豚鼠乳头状肌 APD 及坪台电位高度的抑制, 同时加速了 AP 3 相复极化率。但是对 AP 的 0 相上升速率、兴奋性阈值无明显作用。DB 在上述浓度范围内还使乳头状肌的最大收缩力下降, 与 AP 的变化呈显著线性相关。在细胞外低 K^+ 溶液中, DB 100 $\mu\text{g/ml}$ 可提高乳头状肌细胞的 RP。

关键词 3,4-二羟基苯甲醛; 乳头状肌; 动作电位; 心肌收缩; 膜电位; 有效不应期

原儿茶醛(3,4-二羟基苯甲醛, 3,4-dihydroxybenzaldehyde, DB)系近年来从常用抗心肌缺血中成药丹参的水溶性部分中提取的有效成份之一^(1,2)。临床试验表明 DB 能减轻冠心病患者胸闷及心绞痛等症状。药理实验显示 DB 具有增加冠状动脉流量、抗缺氧等作用。本文观察了 DB 对心肌细胞膜电位的影响和对心肌收缩力的作用。

材 料 和 方 法

豚鼠, ♀♂均有, 体重 $415 \pm \text{SD } 90 \text{ g}$ 。用常规细胞内微电极法记录细胞膜电位。具体操作同前⁽³⁾。在测定相对不应期(ERP)及兴奋性阈值时, 采用单微电极细胞内同时刺激与记录的方法。所用记录装置为我室研制的 BPE-8201 W 型微电极刺激与记录系统。ERP 测定方法: 由微型计算机发生一串(6个)间隔 2 s, 波宽 2 ms, 4 倍阈值电压的方波驱动标本, 随后插入一方波, 该方波的插入时间由计算机自动程控, 逐串测试并不断加长, 直至能够激发一个期外动作电位(AP)。数据由显示屏显

示。应用悬臂梁式力-电换能器转换肌张力信号, 以 SJ-41 型四道生理记录仪记录肌张力与微分波形。

DB 在临用时溶于 Krebs-Henseleit 液中。连续灌流以累积法给药, 浴槽中的药液更新时间 $< 2 \text{ min}$ 。DB 系上海试剂一厂产品。

结 果

DB 对右心室乳头状肌 AP 的作用 在 7 只豚鼠的右心室乳头状肌, DB 浓度为 30-300 $\mu\text{g/ml}$, 按剂量-反应关系抑制 AP 的 2 相持续期及坪台电位高度, 同时加速 3 相复极化

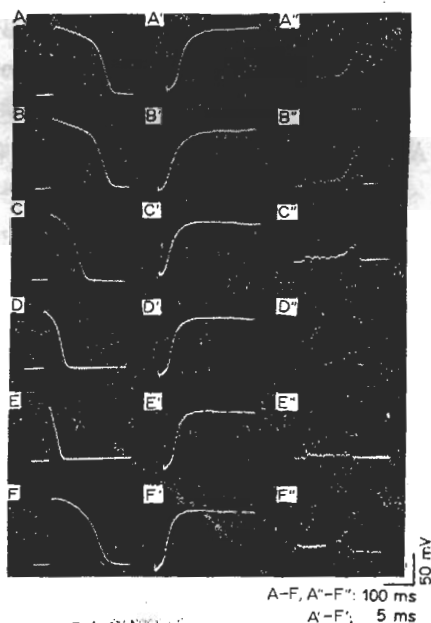


Fig 1. Effect of 3,4-dihydroxybenzaldehyde on action potentials in ventricular cells of guinea pigs. A-E: Before and after exposure to concentrations of DB (5, 50, 100, 300 $\mu\text{g/ml}$, respectively). F: Reperfusion with normal Krebs-Henseleit solution for 10 min. A'-F': Corresponding phase 0 of A-F. A''-f'': Corresponding probability density histograms of A-F.

1985年11月8日收稿 1986年8月29日修回

¹ 中国科学院科学基金资助的课题 № 134

² 现在上海市心血管病研究所药理学室

Tab 1. Effect of 3,4-dihydroxybenzaldehyde on action potentials of papillary muscles in guinea pig ventricles. AA = area under action potential wave; HPM = maximum value of probability density histogram of action potentials; HPD = potential of phase 2. n = 7, $\bar{x} \pm SD$. *p > 0.05, **p < 0.05, ***p < 0.01 vs control.

	3,4-dihydroxybenzaldehyde ($\mu\text{g/ml}$) 20 min				wash
	Control	30	100	300	15 min
RP(mV)	-84 \pm 8	-84 \pm 8*	-82 \pm 8*	-81 \pm 7*	-84 \pm 8*
APA(mV)	121 \pm 10	123 \pm 9*	117 \pm 10*	112 \pm 11*	120 \pm 10*
APD ₅₀ (ms)	141 \pm 37	131 \pm 41*	87 \pm 29**	36 \pm 18***	126 \pm 28*
APD ₉₀ (ms)	176 \pm 38	171 \pm 36*	120 \pm 27***	70 \pm 19***	165 \pm 34*
AA(mV·s)	17 \pm 5	16 \pm 5*	10 \pm 2***	4 \pm 2***	15 \pm 4*
HPM(%)	29 \pm 9	25 \pm 9*	20 \pm 6**	6 \pm 3***	27 \pm 9*
HPD(mV)	31 \pm 6	31 \pm 8*	26 \pm 6*	-1 \pm 9***	30 \pm 5*
\dot{V}_{max} (V/s)	182 \pm 19	185 \pm 15*	181 \pm 10*	177 \pm 11*	176 \pm 7*
ERP(ms)	193 \pm 41	183 \pm 38*	137 \pm 46**	88 \pm 13***	197 \pm 41*
ERP/APD ₉₀	1.10 \pm 0.08	1.08 \pm 0.14*	1.13 \pm 0.16*	1.31 \pm 0.31*	1.09 \pm 0.06*
\dot{V}_{3max} (V/s)	1.8 \pm 0.4	2.0 \pm 0.6*	2.3 \pm 0.4**	2.5 \pm 0.3***	1.8 \pm 0.6*

率。在 DB 300 $\mu\text{g/ml}$ 时，AP 的波形发生畸变，似尖峰电位，2 相平台近乎完全消失。但 DB 30-400 $\mu\text{g/ml}$ 对 AP 的 0 相上升速率和最大振幅没有明显影响。用细胞内给予刺激的方法并同时记录 AP，观察到 DB 对引发 AP 的电兴奋阈值也没有显著的作用。DB 浓度 30 及 100 $\mu\text{g/ml}$ 时，不影响 $(\text{K}^+)_0 = 6 \text{ mmol/L}$ 时的乳头状肌细胞静息电位(RP)；DB 300 $\mu\text{g/ml}$ 时 RP 平均有 4 mV 的下降，但这一效应在统计上不显著。图 1 是一例实验记录(本实验均在同一细胞内记录)。DB 在大幅度缩短 AP 时程(APD)的同时，还缩短有效不应期(ERP)。实验数据表明 DB 对比值 ERP/APD₉₀ 稍有按剂量关系的增大作用。DB 在与心肌标本接触 12 \pm 2 min 后开始出现药物反应并很快趋向于稳定。以上实验结果的数据归于表 1 中。

DB 对右心室乳头状肌收缩力的影响

表 2 的实验数据表明，DB 30-300 $\mu\text{g/ml}$ 可使乳头状肌最大收缩力(PC)和收缩相的上升速率(RRT)下降，且药物作用出现的时间与对 AP 作用的效应开始时间基本平行。在用灌流液清洗标本之后，PC, RRT 能够基本恢复到用药前的水平。图 2 是一实验的原始记录。还观察到 DB 并不明显影响收缩、舒张的时程。

用直线回归法分析 DB 作用 20 min 时，对

APD 的作用与对 PC 的作用之间的线性相关程度(以 \bar{x} 为分析对象)。如果如下：

APD₅₀-PC 的直线回归相关系数 $r = 0.984$,
 $p < 0.05$

$$\overline{\text{PC}} = -4.553 + 0.204 \overline{\text{APD}}_{50}$$

APD₉₀-PC 的直线回归相关系数 $r = 0.987$,
 $p < 0.05$,

$$\overline{\text{PC}} = -10.889 + 0.987 \overline{\text{APD}}_{90}$$

Tab 2. Effect of 3,4-dihydroxybenzaldehyde on contractile force of papillary muscles. PC = peak contraction force; RRT = rising rate of tension in relative unit. n = 7, $\bar{x} \pm SD$. *p > 0.05, **p < 0.05, ***p < 0.01

	min	PC(mg)	RRT
Control		221 \pm 45	11 \pm 2
30 $\mu\text{g/ml}$	20	238 \pm 38*	12 \pm 2*
100 $\mu\text{g/ml}$	20	144 \pm 46***	8 \pm 2**
300 $\mu\text{g/ml}$	20	20 \pm 7***	1 \pm 1***
Wash	40	149 \pm 55	9 \pm 3

不同 $(\text{K}^+)_0$ 时 DB 对 RP 的作用 心肌细胞外液中 K^+ 浓度变化时 RP 随之变化。 $(\text{K}^+)_0 = 10 - 60 \text{ mmol/L}$ 时，RP- $(\text{K}^+)_0$ 间的关系接近于 Nernst 公式计算值。在 $(\text{K}^+)_0 \leq 3 \text{ mmol}$ 时，由于膜的 K^+ 电导降低，RP 明显小于计算值。DB 100 $\mu\text{g/ml}$ 可减少这种偏离的程度(图 3)。

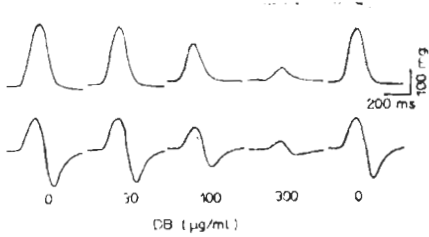


Fig 2. An example recording of negative inotropic effect of 3,4-dihydroxybenzaldehyde on a papillary muscle superfused with DB 0, 30, 100, 300 and returned to 0 $\mu\text{g/ml}$. Each record was made after 20 min in the new concentration. The upper tracings are contractions, and the lower tracings, differentiation of contractions.

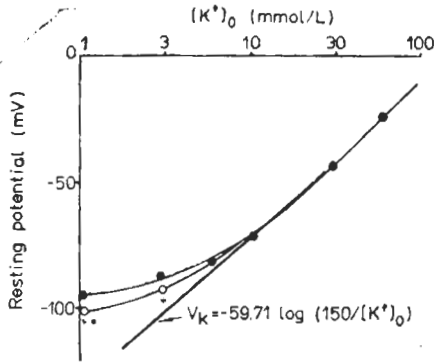


Fig 3. Effect of 3,4-dihydroxybenzaldehyde (100 $\mu\text{g/ml}$; \circ) on the resting potentials in different $(\text{K}^+)_0$. The straight line stands for the values calculated using Nernst equation. (Control; \bullet). * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, between the presence and absence of the drug in each $(\text{K}^+)_0$. $n = 10$

讨 论

本文结果表明, DB 明显缩短豚鼠心室肌细胞的 APD 并减低离体豚鼠心肌的收缩力. 在心室肌细胞, AP 的坪台期和复极相的产生与维持, 主要因素是缓慢的 $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 跨膜内流形成的 I_{si} 电流⁽⁴⁾. DB 使坪台消失, APD 缩短, 因此有可能被解释为对 I_{si} 产生了阻滞作用. 这种最直观的推断似乎也适用于 DB 的负性肌力作用的解释. 但是, DB 与慢通道阻滞剂有所不同, (1) DB 使 AP 3 相复极速率增大, 而慢通道阻滞剂如 verapamil 及 nifedipine 却使其减小, 大剂量 DB(400 $\mu\text{g/ml}$) 不显著影响 AP 的

0 相上升速率, 而 Ca^{2+} 阻滞剂超过一定剂量将使之降低⁽⁵⁾.

Lidocaine 及儿茶酚胺亦能缩短心室肌的 APD, 但前者同时降低 AP 的 0 相上升速率, 后者使坪台电位抬高, 收缩力增强. 因此 DB 的作用机制可能与它们不同.

DB 在有效浓度 30-100 $\mu\text{g/ml}$ 时, 对心肌细胞 AP 产生的作用也不是一种普遍抑制细胞膜离子通道活性的膜毒性作用. 此点基于以下事实: (1) DB 对 Na^+ 通道无明显阻断作用; (2) 不降低 RP; (3) 我们另有工作表明, 向麻醉开胸豚鼠右心室内直接推注 DB, 药液浓度 17 mg/ml , 10 min 内推入药液使体内最终剂量为 200-300 mg/kg , 2 h 内连续监视心电图及用飘浮电极记录右心室细胞内电位, 没有发现心律失常或其它中毒症状. 仅心肌细胞 AP 的坪台电位有所降低, 与本实验结果一致.

心室肌细胞 AP 在复极时, 除 I_{si} 逐渐减小以外, 外向钾电流 I_{K} 逐渐加大. I_{K} 的数学唯象模型见文献(6). 增强 I_{K} , 减小 I_{K} 的激活时间常数, 均导致 APD 缩短与复极加速. DB 可能部分经此途径而对 AP 的复极过程产生影响. DB 提高低 $(\text{K}^+)_0$ 时的 RP 亦表明可能提高膜对 K^+ 的通透性. 又据实验结果分析, DB 对 PC 与 APD_{50} 及 APD_{90} 的作用强度之间分别存在显著性的线性关系. 因而不能排除 DB 通过缩短 APD, 减少 Ca^{2+} 在坪台期的总流入量, 而使收缩力下降的可能性.

本文研究 DB 的实验结果与范世藩等研究 3,4-二羟基苯乙酮的实验结果⁽⁷⁾ 相似. 鉴于这两种化合物的结构类似以及均具有一定的抗心肌缺血疗效, 它们对心肌细胞直接作用的这一共同特点是否有益于抗心肌缺血, 有待研究.

另外, 实验发现 DB 缩短 ERP, 而 ERP/ APD_{90} 仅微有增大, 它可以解释为什么在临床上试用中个别病人服药后有偶发早搏出现.

参 考 文 献

- 1 姚俊严. 丹参中有效成分原儿茶醛的分离鉴定.

- 南京药学院学报 1979, 1: 74
- 2 饶曼人. 四季青的研究和临床应用. 第1版. 南京: 江苏省科学技术出版社, 1978: 65
 - 3 范 铮、梁子钧、杨学义. 丹参酮 II-A 磺酸钠对心肌细胞电和机械活动的影响. 中国药理学报 1986; 7: 525
 - 4 Reuter H, Scholz H. A study of the selectivity and the kinetic properties of the calcium-dependent slow inward current in mammalian cardiac muscle. *J Physiol* 1976; 264: 17
 - 5 Galper JB, Catterall WA. Inhibition of sodium channels by D 600. *Mol Pharmacol* 1979; 15: 174
 - 6 DeFrancesco D, Noble D. A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Philos Trans R Soc Lond[Biol]* 1985; B 307: 353
 - 7 范世藩、周念辉、胡式冷, 等. 3,4-二羟基苯乙酮缩短心肌细胞动作电位持续期的作用. 中国药理学报 1981; 2: 107

Acta Pharmacologica Sinica 1987 May; 8 (3): 234-237

Inhibitory action of 3,4-dihydroxybenzaldehyde on membrane potential duration and contraction of papillary muscles in guinea pigs¹

FAN Zheng, YAO Rui-Ming, LIANG Zi-Jun

(Dept Biophysics, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

ABSTRACT The electrophysiological effects of 3,4-dihydroxybenzaldehyde (DB), a soluble extract from root of *Salvia miltiorrhiza* Bunge, on action potential (AP) and contraction of papillary muscles in right ventricles of guinea pigs were examined with the aid of conventional intracellular microelectrodes. The effects of DB on effective refractory period (ERP) and excitability were also observed by using the technique of stimulating and recording in the same cell through a single microelectrode. DB (30-300 $\mu\text{g/ml}$) markedly shortened action potential duration (APD), and suppressed or eliminated the phase 2 of AP, while within the same range of concentrations it increased the repolarizing rate of the phase 3 of AP. DB up to 400 $\mu\text{g/ml}$ had no significant influence on the rising rate of the phase 0 of AP, excitability and RP

at $(\text{K}^+)_{\text{o}} = 6 \text{ mmol/L}$. ERP was shortened as well as APD, but the rate of ERP/APD₉₀ was slightly enlarged. In the presence of DB, reduction of peak contraction force of papillary muscle was observed. The changes of contraction force were linear with those of APD. The direct Ca^{++} entrance block mechanism was ruled out and finally it was concluded that DB increased the permeability to K^+ and decreased the time constant of repolarizing current I_{K} .

KEY WORDS 3,4-dihydroxybenzaldehyde; papillary muscles; action potentials; myocardial contraction; membrane potentials; effective refractory period

¹ Project supported by the Science Fund of Chinese Academy of Sciences, No 134