

## 3,6-[二甲氨基]-二苯骈碘杂六环枸橼酸盐(I-65)

## 对豚鼠乳头状肌动作电位和收缩力的影响

崔毅 谭月华 (第四军医大学药理教研室, 西安 710033)

*Acta Pharmacologica Sinica* 1989 Mar; 10(2): 126-130

## Effects of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65) on action potentials and contractions in guinea pig papillary muscles

CUI Yi, TAN Yue-Hua

(Department of Pharmacology, Fourth Military Medical University, Xi-an 710033)

**Abstract** Synchronous recordings of action potentials and contractile force in isolated guinea pig papillary muscles administered 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65) 30  $\mu\text{mol/L}$  showed excitation-contraction uncoupling, ie, the contractile force was markedly depressed although the  $\dot{V}_{\text{max}}$  and amplitudes of the action potentials were unaffected. At the same concentration, I-65 shortened the duration of the action potentials at 50% and 90% repolarization. However, I-65 at lower concentrations (1-10  $\mu\text{mol/L}$ ) decreased  $\dot{V}_{\text{max}}$  and the amplitude of the slow action potentials which were elicited by isoprenaline in papillary muscles were rendered partially depolarized by KCl 25 mmol/L Tyrode solution. These effects were partially reversed by elevation of the concentration of  $\text{Ca}^{2+}$  from 2.7 to 5.4 mmol/L. I-65 also suppressed the abnormal automaticity elicited by  $\text{BaCl}_2$  and DAD and triggered activity induced by ouabain. The results suggest that I-65 may be a calcium channel blocker.

**Key words** 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65); barium; ouabain;

papillary muscles; action potentials; myocardial contraction

**提要** I-65 10-30  $\mu\text{mol/L}$  可抑制豚鼠离体乳头状肌的 Fc, 同时缩短 AP 的  $\text{APD}_{50}$ , 对  $\dot{V}_{\text{max}}$  无影响, 表现出兴奋-收缩脱耦联现象。I-65 1-10  $\mu\text{mol/L}$  可降低慢反应 AP 的  $\dot{V}_{\text{max}}$ , 提高细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  可部分拮抗 I-65 对慢反应 AP 的抑制作用。I-65 可抑制 Ouabain 诱发的 DAD 和触发节律, 降低  $\text{BaCl}_2$  诱发的异常自律性的频率。结果提示 I-65 可能是钙通道阻滞剂。

**关键词** 3,6-[二甲氨基]-二苯骈碘杂六环枸橼酸盐 (I-65); 钡; 哇巴因; 乳头状肌; 动作电位; 心肌收缩

3,6-[二甲氨基]-二苯骈碘杂六环枸橼酸盐 (I-65) 是由兰州大学化学系合成。它能减弱心肌收缩力, 抑制 KCl,  $\text{CaCl}_2$ , 去甲肾上腺素、血管紧张素和垂体后叶素引起的大鼠主动脉条的收缩, 其作用可能和阻滞  $\text{Ca}^{2+}$  内流有关<sup>(1,2)</sup>。本实验采用同步记录心肌机械和电活动的方法, 观察 I-65 对豚鼠乳头状肌收缩力、快反应动作电位以及慢反应动作电位的影响, 探讨其作用机理。

**Materials and methods**

豚鼠, 39 只, 体重  $366 \pm \text{SD } 66 \text{ g}$ , ♀♂ 兼用。击头致昏, 取右心室乳头状肌, 固定于

容量为 1 ml 的浴槽内, 用充以 95%O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> 的台氏液灌流, 流速 5 ml/min, 槽内温度 36 ± 0.5°C, pH 7.35-7.45. 由刺激器 (SEN-7103) 经隔离器 (SS-201 J) 输出方波 (1 Hz, 3 ms, 150% 阈电压) 驱动标本. 平衡 60 min 后, 记录动作电位 (AP)<sup>(3)</sup>. 给药前后在同一细胞内记录到的结果才纳入统计. 同步记录肌肉收缩 (F<sub>c</sub>) 时, 将乳头状肌根部用不锈钢针固定, 另一端连于机械换能器, 经前置放大器将信号输入示波器 (SR-35) 下线. 结果均用示波器照像机 (SB 408B) 拍片记录.

引导慢反应 AP 时, 提高台氏液中的 KCl 浓度至 25 mmol/L (Na<sup>+</sup> 浓度相应降低以保持渗透压平衡). 将刺激改为 0.2 Hz, 5 ms, 2 倍阈电压, 同时台氏液中加入异丙肾上腺素 (isoprenaline, Iso) 1 μmol/L, 可引出慢反应 AP, 稳定 15 min 后开始给药.

标本在 1 Hz, 3 ms, 150% 阈电压的刺激下平衡 60 min 然后换用含哇巴因 (ouabain, Oua) 1 μmol/L 的台氏液灌流. 每隔 5 min 改用 5 Hz 的刺激驱动标本 3 s, 刺激后观察有无延迟后去极化 (delayed afterdepolarization, DAD) 或触发节律发生. 灌流 40 min, 改用不含 Oua 或不含 Oua 含 I-65 的台氏液灌流, 观察乳头状肌的 DAD 和触发节律.

用含 BaCl<sub>2</sub> 4-8 mmol/L 的台氏液灌流标本, 可诱发乳头状肌产生异常自律性. 自律性稳定后用含 I-65 的台氏液灌流, 观察药物对异常自律性的影响.

I-65 系兰州大学化学系陈淑英教授赠, Oua 系 E Merck 药厂产品, 维拉帕米 (verapamil, Ver) 系天津和平制药厂产品, Iso 系北京制药厂产品. 药物均以实验用台氏液配成所需浓度.

## Results

**对快反应 AP 和 F<sub>c</sub> 的影响** I-65 30 μmol/L 可明显抑制 F<sub>c</sub>, 使 F<sub>c</sub> 降低为给药前的 44 ± 10% (n = 4, P < 0.01), 同时使快反应

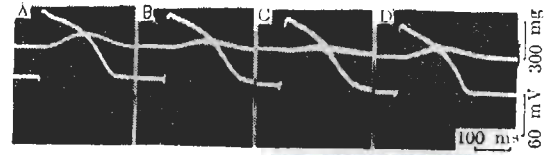


Fig 1. Effects of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65, 30 μmol/L) on the contractions (upper tracing) and the action potentials (lower tracing) in guinea pig papillary muscles. A) Control. B, C) Superfusion with I-65 for 10 and 30 min, respectively. D) 30 min after wash-out.

AP 复极到 50% 的时程 (APD<sub>50</sub>) 和复极到 90% 的时程 (APD<sub>90</sub>) 由给药前的 122 ± 19 和 175 ± 21 ms 分别缩短到 104 ± 16 和 166 ± 19 ms (n = 9, P < 0.01), 但不影响快反应 AP 的 0 相幅度 (APA), 0 相最大上升速率 ( $\dot{V}_{max}$ ) 和静息电位 (RP). 上述作用在灌流 5 min 时出现, 20 min 达稳态. I-65 30 μmol/L 作用 30 min 后冲洗 0.5 h, 快反应 AP 的变化基本恢复, F<sub>c</sub> 部分恢复 (Fig 1). 采用累积给药法, 间隔 20 min 提高浓度一次, 观察 I-65 10, 30, 100 μmol/L 对快反应 AP 的影响. 结果 I-65 10 μmol/L 不影响快反应 AP 的 APA,  $\dot{V}_{max}$  和 RP, 但明显缩短 APD<sub>50</sub>; 30 μmol/L 使 APD<sub>50</sub> 进一步缩短, 同时 APD<sub>90</sub> 也减小; 100 μmol/L 除使 APD<sub>50</sub> 缩短外, 还降低 APA,  $\dot{V}_{max}$  和 RP (Tab 1, Fig 2).

**对慢反应 AP 的影响** I-65 0.1 μmol/L 对慢反应 AP 无明显影响. 1, 10 μmol/L 作用 20 min 明显降低慢反应 AP 的 APA 和  $\dot{V}_{max}$ .

Tab 1. Effect of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65) on action potentials in guinea pig papillary muscles. n = 10,  $\bar{x} \pm SD$ . \*P > 0.05, \*\*P < 0.05, \*\*\*P < 0.01 vs control.

	0	10	30	100 (μmol/L)
APA (mV)	119 ± 8	119 ± 8*	116 ± 9*	112 ± 6***
$\dot{V}_{max}$ (V/s)	255 ± 47	265 ± 28*	263 ± 36*	220 ± 60***
RP (mV)	92 ± 9	91 ± 7*	89 ± 8†	87 ± 7**
APD <sub>50</sub> (ms)	133 ± 26	120 ± 22*	112 ± 21**	105 ± 24***
APD <sub>90</sub> (ms)	185 ± 30	176 ± 30*	169 ± 30**	174 ± 26*

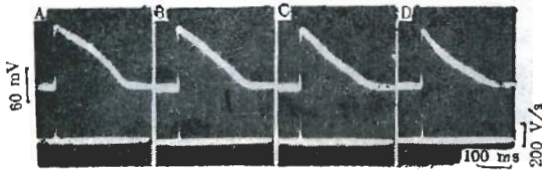


Fig 2. Effects of I-65 on the action potentials in guinea pig papillary muscles. A) Control, B-D) 20 min after superfusion with I-65 10, 30, 100 μmol/L, respectively.

Tab 2. Effects of I-65 on the slow action potentials elicited by isoprenaline (1 μmol/L) in guinea pig papillary muscles superfused with KCl 25 mmol/L Tyrode solution and antagonistic effect of elevation of the concentration of Ca<sup>2+</sup> 2.7-5.4 mmol/L.  $\bar{x} \pm SD$ . \**P*>0.05, \*\**P*<0.05, \*\*\**P*<0.01 vs control.

I-65 (μmol/L)	n	APA (mV)	$\dot{V}_{max}$ (V/s)	APD <sub>90</sub> (ms)
0	10	79 ± 11	5.6 ± 1.4	136 ± 13
0.1	10	74 ± 9*	5.4 ± 1.4*	136 ± 12*
1.0	10	61 ± 9***	3.6 ± 1.3***	137 ± 14*
10.0	5	40 ± 12**	2.8 ± 1.4**	115 ± 22**
10.0	4	66 ± 12*	3.4 ± 1.2*	137 ± 9*

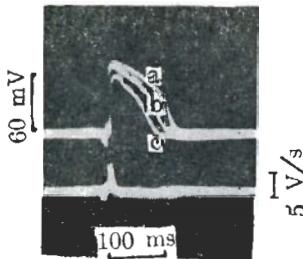


Fig 3. Effects of I-65 on the slow action potentials elicited by isoprenaline (1 μmol/L) in guinea pig papillary muscles superfused with KCl 25 mmol/L Tyrode solution. a) Control, b, c) 20 min after superfusion with I-65 1, 10 μmol/L, respectively.

将台氏液 Ca<sup>2+</sup> 浓度由 2.7 提高到 5.4 mmol/L, 灌流其中 4 只标本, 可部分拮抗 I-65 10 μmol/L 对 APA 和  $\dot{V}_{max}$  的抑制作用 (Tab 2, Fig 3).

和 Ver 对快反应 AP 及慢反应 AP 作用的比较 另有 2 组标本, 分别观察 Ver 对快反应 AP 和慢反应 AP 的影响。和 Ver 相比, I-65 缩短快反应 AP 的 APD<sub>50</sub> 及降低慢反应 AP 的  $\dot{V}_{max}$  的作用较弱 (Fig 4)。

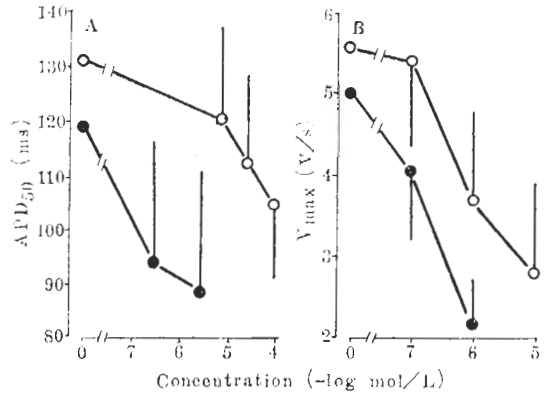


Fig 4. Effects of I-65 and verapamil on APD<sub>50</sub> of action potential (A) and  $\dot{V}_{max}$  of the slow action potential (B) elicited by isoprenaline (1 μmol/L) in guinea pig papillary muscles superfused with KCl 25 mmol/L Tyrode solution.  $\bar{x} \pm SD$ .

对 Oua 诱发 DAD 和触发节律的作用 12 例标本中, 4 例诱发出 DAD, 8 例诱发出触发节律。将其中 2 例产生 DAD, 4 例产生触发节律的标本, 换以不含 Oua 的台氏液冲洗, Oua 的作用尚能持续 40 min; 其余标本以含 I-65 30 μmol/L 的台氏液灌流 20 min, 触发节律消失, DAD 幅度降低或消失 (Fig 5)。

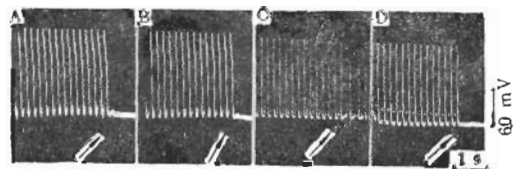


Fig 5. Effects of I-65 (30 μmol/L) on delayed afterdepolarization (DAD) and triggered activity induced by ouabain in guinea pig papillary muscles. After superfusion with ouabain (1 μmol/L), DAD (A) and triggered activity (C) were seen on discontinuation of drive (arrow). Superfusing with I-65 for 20 min, the amplitude of DAD was decreased (B) and triggered activity disappeared (D).

**对 BaCl<sub>2</sub> 诱发异常自律性的作用** BaCl<sub>2</sub> 诱发快反应细胞的异常自律性, 其 AP 具有起搏细胞的特点。I-65 10 μmol/L 作用 20 min, 可使 APA 由给药前的 78±12 降低到 75±8 mV (n=7, P<0.01)。提高 I-65 浓度至 30 μmol/L, 除进一步降低 APA 至 52±9 mV 外 (n=6, P<0.01), 还使冲动发放频率由 92±12 减慢至 74±12 bpm (n=6, P<0.05, Fig 6)。

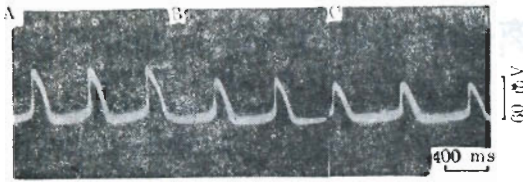


Fig 6. Effects of I-65 on BaCl<sub>2</sub>-induced abnormal automaticity in guinea pig papillary muscles. A) Control. B,C) 20 min after superfusion with I-65 10, 30 μmol/L, respectively.

## Discussion

心肌快反应 AP 的 0 相  $\dot{V}_{max}$  由快速 Na<sup>+</sup> 内流形成, 心肌收缩则主要依靠快反应 AP 平台期缓慢的 Ca<sup>2+</sup> 内流 ( $I_{si}$ ) 维持。I-65 30 μmol/L 明显抑制  $F_o$ , 缩短快反应 AP 的 APD<sub>50</sub>, 而不影响 APA 和  $\dot{V}_{max}$ , 呈兴奋-收缩脱耦联, 提示其对  $I_{si}$  具有抑制作用而不影响 Na<sup>+</sup> 内流。100 μmol/L 不仅缩短 APD<sub>50</sub>, 而且降低 APA,  $\dot{V}_{max}$  和 RP, 可能是药物高浓度的非特异性作用。

高 K<sup>+</sup> 除极可以使 Na<sup>+</sup> 通道失活, Iso 通过增加 Ca<sup>2+</sup> 内流使慢反应 AP 易于诱发<sup>(4)</sup>, 此慢反应 AP 的  $\dot{V}_{max}$  可作为  $I_{si}$  的间接指标<sup>(5)</sup>。I-65 和 Ver 相似, 明显抑制慢反应 AP 的  $\dot{V}_{max}$  和 APA, 提示其对  $I_{si}$  具有抑制作用。

提高细胞外 Ca<sup>2+</sup> 可拮抗 Ver 对慢反应 AP 的  $\dot{V}_{max}$  的抑制作用, 而 Ver 可抑制 Ca<sup>2+</sup> 与肌膜制备的结合<sup>(6,7)</sup>。本研究证明, I-65 对慢反应 AP 的抑制作用可部分地被增高细胞外 Ca<sup>2+</sup> 浓度所拮抗, 这或许是由于 I-65 和 Ca<sup>2+</sup> 竞争

细胞膜上 Ca<sup>2+</sup> 结合点的结果。其次, 也可能与高浓度 Ca<sup>2+</sup> 提高了驱动 Ca<sup>2+</sup> 内流的电化学梯度 ( $E_m - E_{Ca}$ ) 有关。

Ba<sup>2+</sup> 主要通过降低心肌细胞膜的 K<sup>+</sup> 电导而诱发自律性<sup>(8)</sup>。其 AP 具有慢反应的特点, 缓慢的 0 相主要由 Ca<sup>2+</sup> 内流形成<sup>(9,10)</sup>。I-65 明显抑制 APA, 降低异常自律性的频率, 可能是阻滞 Ca<sup>2+</sup> 内流的结果。

DAD 和触发节律在心律失常发生中的作用日益受到重视。Oua 通过抑制 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> 泵, 提高细胞内 Ca<sup>2+</sup>, 引起肌浆网内 Ca<sup>2+</sup> 的振荡性释放, 触发由 Na<sup>+</sup> 携带的暂时性内向电流 (TL), 产生 DAD<sup>(11)</sup>。I-65 可抑制 DAD 和触发节律, 可能和阻滞 Ca<sup>2+</sup> 内流, 降低细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度有关。

## References

- 1 Tan DX, Chen JX. Effects of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65) on contractions of rat aortic strips and cat papillary muscles. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 516
- 2 Tan DX, Chen JX. Antihypertensive and hemodynamic effects of 3,6-dimethamidodibenzopyridonium citrate (I-65). *Ibid* 1988; 9 : 69
- 3 汪永孝, 谭月华. 小檗碱对离体豚鼠乳头状肌跨膜电位和大鼠左室心肌收缩性能的影响. *西北药学杂志* 1987; 2 : 155
- 4 Pappano AJ. Calcium-dependent action potentials produced by catecholamines in guinea pig atrial muscle fibers depolarized by potassium. *Circ Res* 1970; 27 : 379
- 5 Woods JP, West TC. Frequency-dependence of  $\dot{V}_{max}$  in K-depolarized guinea pig ventricle: effects of nifedipine and verapamil. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7 : 197
- 6 Hachisu M, Pappano AJ. A comparative study of the blockade of calcium-dependent action potentials by verapamil, nifedipine and nisidipine in ventricular muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 225 : 112
- 7 Pang DC, Sperelakis N. Differential actions of calcium antagonists on calcium binding to cardiac sarcolemma. *Eur J Pharmacol* 1982; 81 : 403
- 8 Reid JA, Hecht HH. Barium-induced auto-

- maticity in right ventricular muscle in dog. *Circ Res* 1967; 21 : 849
- 9 Fleckenstein A. Induction of typically calcium-dependent ectopic pacemaker activity by barium ions. In: Fleckenstein A, ed. *Calcium antagonism in heart and smooth muscle*. 1st ed. NY: Wiley, 1983 : 202-8
- 10 Dangman KH, Hoffman BF. Effects of nifedipine on electrical activity of cardiac cell. *Am J Cardiol* 1980; 46 : 1059
- 11 Kass RS, Tsien RW, Weingart R. Ionic basis of transient inward current induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibres. *J Physiol (Lond)* 1978; 281 : 209

\* \* \* \* \*