

## DISCUSSION

本文工作表明, Mo 明显抑制静息后增强效应, 提示它可能抑制细胞浆膜外层结合钙的释放<sup>(3,4)</sup>, 实验证明, Ver 使豚鼠左心房正梯级现象反转为负梯级, 与文献报道结果<sup>(5)</sup>相符. Ver 选择性作用于慢通道, 阻滞细胞兴奋时  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>(6)</sup>. Mo 不能完全反转正梯级现象, 表明它与 Ver 在影响心肌细胞  $\text{Ca}^{2+}$  转运方面作用途径不同.

本研究发现, Mo 浓度依赖性地抑制心房肌收缩力, 抑制右心房自律性, 延长功能性不应期; 与我室以往在豚鼠心乳头状肌的实验结果不符. 这种不同心脏组织对同一药物反应性的差异现象, 可能与不同心脏组织上含钼酶的种类和含量不同、受体分布差异<sup>(7)</sup>及药物剂量有关.

## REFERENCES

- 1 Zhou XB, Li XG. Effects of sodium molybdate on action potential and myocardial contraction of guinea pig papillary muscle. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 231
- 2 Govier WC. The mechanism of the atrial refractory period change produced by ouabain. *J Pharmacol Exp Ther* 1965; 148 : 100
- 3 Dhalla NS, Pierce GN, Panagia V, Singal PK, Beamish RE. Calcium movements in relation to heart function. *Basic Res Cardiol* 1982; 77 : 117
- 4 Lullmann H, Ziegler A. Calcium, cell membrane, and excitation — contraction coupling. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 10 (Suppl 1) : S2
- 5 Li GR, Qi JQ, Lu FH. Effects of neferine on isolated rabbit myocardium. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 139
- 6 Kojima M, Sperlakis N. Calcium antagonistic drugs differ in ability to block the slow  $\text{Na}^+$  channels of young embryonic chick hearts. *Eur J Pharmacol* 1983; 94 : 9
- 7 Rajagopalan KV. Molybdenum — an essential trace element. *Nutr Rev* 1987; 45 : 321

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 May; 11 (3) : 241-245

蝙蝠葛碱对心肌慢反应动作电位的影响<sup>1</sup>

宗贤刚、江明性 (同济医科大学药理教研室, 汉口 430030, 中国)

**Effects of dauricine on slow action potentials in myocardium**

ZONG Xian-Gang, JIANG Ming-Xing

(Department of Pharmacology, Tongji Medical University, Hankou 430030, China)

**ABSTRACT** The effects of dauricine were examined on the slow action potentials induced by both high

$\text{K}^+$  (24 mmol/L) or TTX (40  $\mu\text{mol/L}$ ) in guinea pig papillary muscles and in sinoatrial node cells of rabbit. Dauricine 40  $\mu\text{mol/L}$  decreased the maximal upstroke velocity ( $V_{\text{max}}$ ) of slow action potentials and prolonged the action potential duration at 50% repolarization ( $\text{APD}_{50}$ ). Bay K 8644 (50 nmol/L) increased the amplitude and  $V_{\text{max}}$  of slow action potentials, which were antagonized by dauricine (40  $\mu\text{mol/L}$ ). An inhibitory influence of dauricine on the action potential amplitude was observed in papillary muscles superfused with Tyrode's solution containing high  $\text{K}^+$  and in rabbit sinoatrial node cells, but it was not with TTX. The resting potentials of the 3 slow action potentials were not affected by dauricine. The results suggest that dauricine possesses calcium-antagonistic effect

Received 1989 Jul 31 Accepted 1990 Jan 18

<sup>1</sup>Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 3860574

**KEY WORDS** dauricine; action potentials; anti-arrhythmia agents; calcium channel blockers; papillary muscles; sinoatrial node

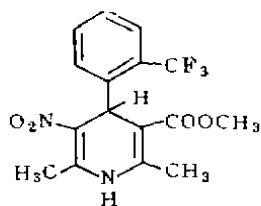
**提要** 蝙蝠葛碱(Dau) 40  $\mu\text{mol/L}$  能显著减小各种慢 AP 的  $V_{\text{max}}$ , 延长  $\text{APD}_{50}$ , 并能对抗 Bay K 8644 增大 APA 和  $V_{\text{max}}$  的作用。对高  $\text{K}^+$  诱发和 SAN 细胞慢 AP 的 APA 尚有抑制, 但不影响 TTX 诱发的慢 AP 的 APA, 对 3 种慢 AP 的 RP 均无影响。这些结果表明, Dau 具有钙拮抗作用。

**关键词** 蝙蝠葛碱; 动作电位; 抗心律失常药; 钙通道阻滞剂; 乳头状肌; 窦房结

蝙蝠葛碱(dauricine, Dau)能对抗多种实验性心律失常<sup>(1)</sup>, 对心律失常患者也具有满意的治疗效果<sup>(2,3)</sup>。早期的电生理实验结果提示, Dau 抗心律失常作用机理可能与其非选择性地阻断心肌细胞膜的  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  转运过程有关<sup>(4)</sup>。本工作研究了 Dau 对高  $\text{K}^+$  部分去极及河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)在豚鼠右心室乳头状肌所诱发的慢反应动作电位(AP)和兔窦房结(SAN)起搏细胞动作电位的作用, 以探讨该药对心肌电生理特性的影响。

#### MATERIALS AND METHODS

**药品** Dau 由本校药学系植物化学教研室提供。TTX 由大连海洋渔业公司海洋药物研究室生产。Bay K 8644 [4-(2'-trifluoromethyl-phenyl)-2,6-dimethyl-3-carbomethoxy-5-nitro-1,4-dihydropyridine] 为西德 Bayer 药厂赠。



Bay K 8644

在豚鼠右心室乳头状肌上诱发慢 AP 豚

鼠, 体重  $348 \pm \text{SD } 22 \text{ g}$ ,  $\text{♀} \text{♂}$  不拘, 制备豚鼠右心室乳头状肌标本, 记录细胞内动作电位<sup>(5)</sup>, 心肌标本灌流液为改良 Tyrode's 液 (Tris: 10  $\text{mmol/L}$ ), 用 100%  $\text{O}_2$  饱和 (pH 7.2-7.4)。在稳定记录正常快反应动作电位 15 min 后, 将台氏液中  $\text{K}^+$  离子浓度提高至 24  $\text{mmol/L}$  (正常为 5.4  $\text{mmol/L}$ ), 使心肌细胞膜部分去极化, 膜电位减小, 快反应动作电位则转变成慢 AP。并加入异丙肾上腺素 0.2  $\mu\text{mol/L}$ , 促进诱发慢 AP。为避免异丙肾上腺素被氧化, 灌流液中尚加入氧化还原剂抗坏血酸 (50  $\text{mg/L}$ )<sup>(5)</sup>。或在稳定记录正常快反应动作电位 15 min 后向灌流液中加入  $\text{Na}^+$  通道阻滞剂 TTX 40  $\mu\text{mol/L}$ , 由于  $\text{Na}^+$  通道被阻滞, 诱发的动作电位则为慢 AP。

**兔 SAN 慢 AP 的记录** 兔  $1.6 \pm \text{SD } 0.3 \text{ kg}$ ,  $\text{♀} \text{♂}$  不拘, 击头致昏后剪开颈动脉放血, 速取心脏, 浸入  $30^\circ\text{C}$  并通有 100%  $\text{O}_2$  的改良台氏液中, 在标本制备槽内, 自右房沟起, 沿右心耳前缘和上腔静脉前壁纵行剪开右心房, 沿界脊剪下带有心房肌的 SAN 部分。心内膜面朝上, 将标本固定于标本灌流浴槽内。用固定微电极技术记录细胞内动作电位。SAN 起搏细胞动作电位的判断标准<sup>(6)</sup>: 即指 4 相自动去极速率较快; 从 4 相到 0 相的过渡平滑; 0 相去极速率缓慢。

各种慢 AP 零相上升最大速率 ( $V_{\text{max}}$ ) 均采用压力信号处理器 (上海红旗仪表厂, YL-1 型) 微分 (高频滤波置空, 时间常数 1 ms) 处理而求得。

#### RESULTS

**高  $\text{K}^+$  诱发的慢 AP 及 Dau 的作用** 当台氏液中  $\text{K}^+$  离子浓度提高至 24  $\text{mmol/L}$  时, 心肌细胞膜部分去极化, 静息电位 (RP) 由  $-85 \pm 4 \text{ mV}$  减小到  $-52 \pm 2 \text{ mV}$  ( $n=7$ )。同时可见动作电位振幅 (APA)、超射 (OS) 及  $V_{\text{max}}$  减小, 复极 50% 的动作电位时程 ( $\text{APD}_{50}$ ) 缩短。这

些改变于提高  $K^+$  离子浓度后 5 min 达到稳定状态。由于 RP 减小到  $-50$  mV 左右,  $Na^+$  通道处于失活态<sup>(7)</sup>, 此 AP 则主要为  $Ca^{2+}$  所中介, 即谓之慢 AP<sup>(8)</sup>。  $Ca^{2+}$  通道激活剂 Bay K 8644 50 nmol/L 能明显增大这种 AP 的  $V_{max}$  (由  $31 \pm 20$  V/s 增至  $43 \pm 21$  V/s,  $n=7$ ,  $P<0.05$ ), APA 似略增大 ( $P>0.05$ )。

在 8 例乳头状肌标本, Dau 40 和 80  $\mu\text{mol/L}$  分别作用 20 min 后, 对高  $K^+$  诱发的慢 AP 的 APA, OS 及  $V_{max}$  有显著抑制作用, 并明显延长  $APD_{50}$ , 但不影响 RP (Tab 1)。 Dau 40  $\mu\text{mol/L}$  尚可对抗 Bay K 8644 50 nmol/L 对慢 AP 的作用 (Fig 1)。然而, 两者延长  $APD_{50}$  的作用相加 (Fig 2)。

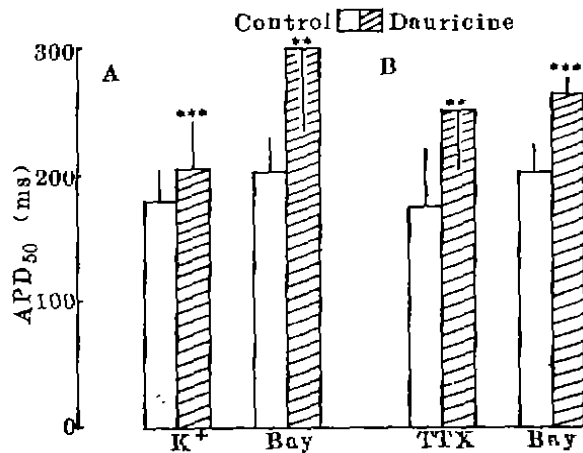


Fig 1. Effects of dauricine 40  $\mu\text{mol/L}$  on the amplitude (APA) and maximal upstroke velocity ( $V_{max}$ ) of slow action potentials induced by KCl 24 mmol/L (A) and tetrodotoxin 40  $\mu\text{mol/L}$  (B) in absent or present of Bay K 8644 50 nmol/L (Bay) in guinea pig papillary muscles. \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ .

**TTX 诱发的慢 AP 及 Dau 的作用** 在稳定记录豚鼠右心室乳头状肌快 AP 15 min 后, 向灌流液中加入 TTX 40  $\mu\text{mol/L}$ , 可见  $V_{max}$  于 3 min 内迅速下降, 10 min 时作用达到稳定,  $V_{max}$  从  $184 \pm 32$  V/s 下降到  $68 \pm 27$  V/s ( $n=5$ )。同时观察到 APA 和 OS 减小,  $APD_{50}$  缩短, 而 RP 无明显变化, 由这些结果可见, TTX 诱发的慢 AP 与高  $K^+$  诱发的慢

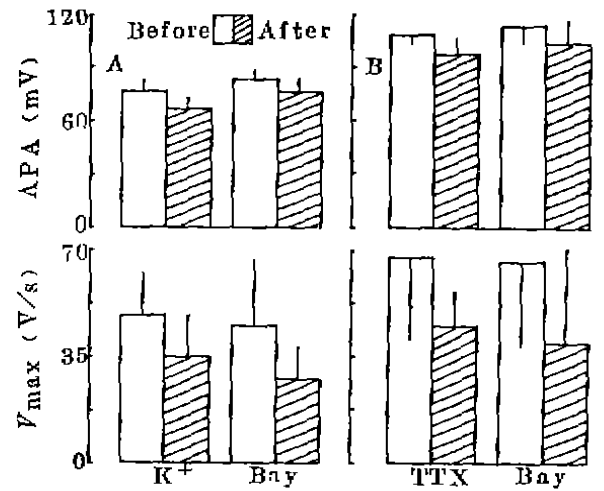


Fig 2. Effects of dauricine 40  $\mu\text{mol/L}$  on the duration of action potentials induced by KCl 24 mmol/L ( $n=7$ , A) and tetrodotoxin 40  $\mu\text{mol/L}$  ( $n=4$ , B) in absent or present of Bay K 8644 50 nmol/L (Bay). \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.05$ , \*\*\* $P<0.01$ .

Tab 1. Effects of dauricine on the slow action potentials induced by KCl 24 mmol/L in guinea pig papillary muscles.  $n=8$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $P>0.05$ , \*\* $P<0.01$  vs control.

	Control	Dauricine ( $\mu\text{mol/L}$ )	
		40	80
APA (mV)	$76 \pm 5$	$67 \pm 4^{***}$	$64 \pm 6^{***}$
RP (mV)	$-50 \pm 2$	$-50 \pm 2^*$	$-50 \pm 2^*$
OS (mV)	$26 \pm 3$	$18 \pm 5^{***}$	$15 \pm 5^{***}$
$APD_{50}$ (ms)	$180 \pm 26$	$205 \pm 36^{***}$	$243 \pm 54^{***}$
$V_{max}$ (V/s)	$49 \pm 12$	$35 \pm 13^{***}$	$24 \pm 6^{***}$

AP 有所差异, 后者表现较低的 RP ( $-50$  mV 左右) 和 APA (80 mV 左右), 而 TTX 诱发的慢 AP 的 RP 为  $-85 \pm 3$  mV, APA 为  $109 \pm 8$  mV ( $n=7$ )。这两种不同的慢 AP 则有利于研究药物不同 RP 水平慢 AP 的作用比较。

Dau 40  $\mu\text{mol/L}$  对 TTX 诱发的慢 AP 的  $V_{max}$  有明显抑制作用, 可使其减小 33.8% (从  $68 \pm 27$  V/s 减小至  $45 \pm 11$  V/s,  $n=5$ ), 并可对抗 Bay K 8644 50 nmol/L 对此慢 AP 的  $V_{max}$  的增大作用 (Fig 1)。此外, Dau 40  $\mu\text{mol/L}$  尚明显延长在有或无 Bay K 8644 存

在时此类慢 AP 的  $APD_{50}$ (Fig 2). 然而  $Ca^{2+}$  对 APA 无明显影响, 但是 Dau 对高  $K^+$  诱发的慢 AP, 无论有无 Bay K 8644 存在, 均显著抑制 APA (Fig 1). 此结果表明, Dau 对 TTX 诱发的慢 AP 同样具有抑制性作用, 但因该类慢 AP 的膜电位较大, Dau 可能具有电压依赖性作用特点, 故对 RP 较大的慢 AP 作用较弱.

#### Dau 对兔 SAN 起搏细胞慢 AP 的作用

为研究 Dau 对生理性慢 AP 的影响, 在 5 例兔 SAN 标本上记录出起搏细胞的 AP, 一般在稳定记录 10 min 后, 向灌流液中加入 Dau  $40 \mu\text{mol/L}$ , 该药明显减小 APA 和  $V_{\text{max}}$ , 并延长  $APD_{50}$  和窦性周长(SCL), 但不影响最大舒张期电位(MDP, Tab 2).

Tab 2. Effects of dauricine  $40 \mu\text{mol/L}$  on the slow action potentials in rabbit sino-atria node cells.  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs control.

	Control	Dauricine
APA (mV)	$66 \pm 8$	$53 \pm 9^{***}$
MDP (mV)	$-52 \pm 2$	$-52 \pm 2^*$
$APD_{50}$ (ms)	$63 \pm 11$	$76 \pm 19^{**}$
SCL(ms)	$333 \pm 78$	$391 \pm 86^{**}$
$V_{\text{max}}$ (V/s)	$15 \pm 3$	$11 \pm 4^{**}$

#### DISCUSSION

心肌细胞的慢 AP 主要由  $Ca^{2+}$  离子所中介<sup>(8)</sup>, 故可利用此特性分析 Dau 对心肌  $Ca^{2+}$  离子跨膜运动的影响.

KCl  $24 \text{ mmol/L}$  诱发的慢 AP, 其 RP 为  $-50 \text{ mV}$  左右, 此值与 Nernst 氏理论值( $-47.5 \text{ mV}$ , 设细胞内  $K^+$  浓度为  $142 \text{ mmol/L}$ )<sup>(10)</sup> 相近. 心肌组织对 TTX 的敏感性较低, 大于  $40 \mu\text{mol/L}$  的 TTX 才使心肌 AP 的  $V_{\text{max}}$  抑制 80% 以上<sup>(11)</sup>, 本研究所取 TTX 为  $40 \mu\text{mol/L}$ , 然而却使豚鼠心乳头状肌 AP 的  $V_{\text{max}}$  降低约 70%, 这一结果与 Watanabe 等报道(在  $1 \text{ Hz}$  频率下, TTX  $> 30 \mu\text{mol/L}$  能降低  $V_{\text{max}}$  70%)<sup>(12)</sup> 相符.

Dau 对高  $K^+$  部分去极及 TTX 诱发的慢 AP, SAN 起搏细胞慢 AP 等的 APA 和  $V_{\text{max}}$  均有显著抑制性效应, 而慢 AP 的 APA 和  $V_{\text{max}}$  之大小主要由  $Ca^{2+}$  跨膜内流的程度和速度所决定<sup>(8)</sup>. Dau 的这种抑制性效应表明, 它具有阻滞  $Ca^{2+}$  跨膜运动的作用. 又知,  $Ca^{2+}$  通道激活剂 Bay K 8644 对慢 AP 的 APA 和  $V_{\text{max}}$  有增大作用, 而 Dau 则能对抗之. Dau 的这种抗  $Ca^{2+}$  效应可能是其具有较好抗心律失常作用的离子通道作用机理之一, 也是其负性肌力作用<sup>(4)</sup> 原因之所在.

Dau 明显延长三种慢 AP 的 APD, 这一作用需用另一机理来解释, 因为阻滞  $Ca^{2+}$  内流只能是缩短 APD. 可见 Dau 尚有抑制心肌细胞膜外向(主要是  $K^+$ )电流的作用, 这与它对快 AP 的 APD 的延长作用<sup>(4)</sup> 相似.

#### REFERENCES

- 1 Li GR, Hu CJ, Lu FH. Antagonistic effect of dauricine of experimental arrhythmias. *J Trad Chin Med* 1984; 4 : 25
- 2 冯克燕, 周际安, 龚培力, 陈 汇, 杨泽卿, 胡崇家. 蝙蝠葛碱治疗心律失常的临床观察. *中华心血管病杂志*. 1984; 12 : 265
- 3 Zhou JA, Feng KY, Leng DM, Yang ZJ, Gong PL, Hu CJ. Investigation of clinical efficacy and hemodynamic effects of dauricine in patients with arrhythmias. *Chin J Clin Pharmacol* 1987; 3 : 95.
- 4 Zong XG, Jin MW, Zhao DY, Hu CJ, Lu FH. Effects of dauricine on electrical and mechanical activities in isolated guinea pig myocardium. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 30.
- 5 Nawrath H, Blei I, Gegner R. Opposite effects of  $\beta$ -adrenoceptor stimulation and 8-bromo-cyclic AMP on potassium efflux in mammalian heart muscle. *Experientia* 1980; 36 : 72
- 6 Blecker WK, Mackaay AJC, Masson-Pévet M, Bouman LN, Becker AE. Functional and morphological organization of the rabbit sinus node. *Circ Res* 1980; 46 : 11
- 7 Mascher D. Electrical and mechanical responses from ventricular muscle fibers after inactivation of the sodium carrying system. *Pflügers Arch* 1970; 317 : 359
- 8 Tritthart H, Volkmann R, Weiss R, Fleckenstein

- A. Calcium-mediated action potentials in mammalian myocardium. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1973; **280** : 239
- 9 Li GR, Fang DC, Hu CJ, Lü FH. Effects of dauricine on physiological properties of myocardium. *Acta Pharmacol Sin* 1984; **5** : 20
- 10 Katz AM. Cardiac action potential. In: Katz AM, ed. *Physiology of the heart*. NY: Raven Press, 1977 : 229-56
- 11 Baer M, Best PM, Reuter H. Voltage-dependent action of tetrodotoxin in mammalian cardiac muscle. *Nature* 1976; **263** : 344
- 12 Watanabe T, McDonald TF. Tetrodotoxin exerts a large frequency-dependent depression of the maximum rate of rise of action potentials in guinea-pig ventricular myocytes. *Pflügers Arch* 1986; **406** : 645

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 May; **11** (3) : 245-249

## 间硝苯啶对异丙肾上腺素诱发大鼠心肌损伤的保护作用<sup>1</sup>

陈念航、饶曼人 (南京医学院心血管药理研究室, 南京 210005, 中国)

### Protecting effects of *m*-nifedipine on isoproterenol-induced myocardial injury in rats<sup>1</sup>

CHEN Nian-Hang, RAO Man-Ren (Department of Cardiovascular Pharmacology, Nanjing Medical College, Nanjing 210005, China)

**ABSTRACT** To test whether *m*-nifedipine (*m*-Nif) protects heart against myocardial injury induced by a single subcutaneous injection of isoproterenol (Iso) 30 mg/kg, male rats were injected subcutaneously twice daily with *m*-Nif 6 μmol/kg for 4 d. Hemodynamic changes, serum creatine kinase activity and ion contents of myocardial tissue and mitochondria were assessed about 6 h after Iso injection. While it did not notably influence blood pressure, heart rate and left ventricular contracting function of rats, *m*-Nif markedly attenuated calcium accumulation in myocardial tissue and mitochondria, reduced magnesium and potassium loss in myocardial tissue, depressed the release of creatine kinase and prevented the elevation of left ventricular end diastolic pressure. These beneficial effects of *m*-Nif were similar to those of nifedipine (Nif). However, *m*-Nif decreased minute tension-time index more significantly than the same dose of Nif. It is possible that *m*-Nif protects the rat heart from isoproterenol-induced injury by inhibiting transsarcolemmal calcium influx.

**KEY WORDS** *m*-nifedipine; nifedipine; isoproterenol; myocardium; mitochondria; calcium;

hemodynamics; creatine kinase

**提要** 给 sc 异丙肾上腺素 (Iso) 30 mg/kg 的大鼠, 预防性小剂量多次 sc 间硝苯啶 (*m*-Nif), 用 Iso 后约 6 h, *m*-Nif 未能显著改变大鼠的 BP, HR 和左室收缩功能, 但部分对抗心肌组织和线粒体钙过负荷; 减少心肌组织镁和钾的丢失; 抑制心肌 CK 释放; 防止 LVEDP 升高。作用程度均近似于等量硝苯啶 (Nif)。但降低 TTI · HR 强于等量 Nif。上述保护作用机理与钙拮抗作用有关。

**关键词** *m*-硝苯啶; 硝苯啶; 异丙肾上腺素; 心肌; 线粒体; 钙; 血液动力学; 肌酸激酶

钙在异丙肾上腺素 (isoproterenol, Iso) 诱发的心肌损伤中起关键作用<sup>(1)</sup>, 能否防止过量 Iso 诱导的心肌钙过负荷是判断钙拮抗剂的重要依据之一<sup>(2)</sup>。已经证明, 硝苯啶 (nifedipine, Nif) 等在较大剂量时可基本对抗过量 Iso 引起的心肌组织钙过负荷并防止心肌细胞坏死<sup>(1)</sup>。但是, 小剂量钙拮抗剂能否防止 Iso 的心脏毒性作用, 尚未见文献报道。本研究拟从心肌组织和线粒体离子含量、细胞损伤程度以及血液动力学变化三方面, 观察新的二氢吡啶类钙拮抗剂间硝苯啶 (*m*-nifedipine, *m*-Nif) 在预防性小剂量多次给药时对 Iso 诱发的心肌损伤的影响, 并与等量 Nif 进行比较。

### MATERIALS AND METHODS

**试剂** *m*-Nif 和 Nif 系天津医药工业研

Received 1989 Jun 15 Accepted 1989 Dec 19  
<sup>1</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No Bio 85-395