

## 7-甲氧基-4'-羟基-3'-二乙胺甲基异黄酮对豚鼠心房和心室乳头状肌的作用

苗 慧、肖文彬、秦伯益 (军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850, 中国)

**Effects of 7-methoxy-4'-hydroxyl-3'-diethylaminomethylisoflavone on heart atrium and ventricular papillary muscles of guinea pig**MIAO Hui, XIAO Wen-Bin, QIN Bo-Yi (*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*)

**ABSTRACT** In isolated guinea pig right atria, 7-methoxy-4'-hydroxyl-3'-diethylaminomethylisoflavone (MHDF), a new synthetic isoflavone produced noncompetitive antagonisms to isoproterenol- and histamine-induced positive chronotropic actions with  $pD'_2$  values of  $5.04 \pm 0.10$  and  $4.90 \pm 0.18$ , respectively. MHDF inhibited the positive chronotropic response to  $CaCl_2$ . In isolated left atria, the negative inotropic action of MHDF increased as the frequency increased. In papillary muscles, MHDF  $3 \mu\text{mol/L}$  reduced the contractile force, while  $V_{max}$  was decreased and APD and ERP were prolonged. These results indicated that the mechanism of MHDF on myocardium is related to inhibition of  $Ca^{2+}$  influx,  $Na^+$  influx and  $K^+$  efflux, not by blocking  $\beta$  or  $H_2$  receptors.

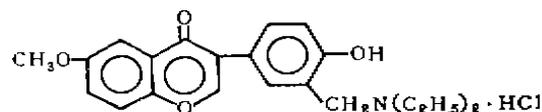
**KEY WORDS** flavones; heart atrium; papillary muscles; myocardial contraction

**提要** 7-甲氧基-4'-羟基-3'-二乙胺甲基异黄酮(MHDF)能非竞争拮抗异丙肾上腺素和组胺对豚鼠右心房的正性频率作用,  $pD'_2$  为  $5.04 \pm 0.10$  和  $4.90 \pm 0.18$ ; 抑制  $CaCl_2$  的正性频率作用. MHDF  $3 \mu\text{mol/L}$  还抑制豚鼠心室乳头状肌收缩力, 并降低动作电位  $V_{max}$ , 延长 APD 和 ERP, 提示其对心肌的作用可能与阻滞钙内流、钠内流和钾外流有关.

**关键词** 黄酮类; 心房; 乳头状肌; 心肌收缩

7-甲氧基-4'-羟基-3'-二乙胺甲基异黄酮(7-methoxy-4'-hydroxyl-3'-diethylaminomethylisoflavone, MHDF)是新合成的异黄酮衍生物<sup>(1)</sup>, 它对动物有抗心肌缺血作用, 进一

步实验证明其能抑制整体大鼠左室心肌收缩, 并减慢心率(未发表资料). 为研究其作用机理, 本实验观察了其离体豚鼠心房肌的变力时效应, 以及对豚鼠心室乳头状肌动作电位和机械收缩的影响.



**7-Methoxy-4'-hydroxyl-3'-diethylamino-methylisoflavone (MHDF)**

**MATERIALS AND METHODS**

药物 MHDF 由本所合成, 维拉帕米(verapamil, Ver)由天津中央制药厂生产, 异丙肾上腺素(isoproterenol, Iso)由北京制药厂生产, 普萘洛尔(propranolol, Pro)由英国 Imperial chemical Industries Ltd 生产, 组胺(histamine, His)为美国 SERVA 产品, 西咪替丁(cimetidine, Cim)由上海第一制药厂生产, 奎尼丁(quinidine, Qui)由荷兰 Bandoengsche Kininesabriek 生产.

**离体豚鼠心房实验** 豚鼠体重  $310 \pm \text{SD } 35 \text{ g}$ , ♀ ♂ 兼用. 按文献<sup>(2)</sup>方法制备左右心房标本. 将右心房悬于含 10 ml R-L 液的恒温浴槽中, 温度  $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , pH 约 7.4. 上端连于肌力换能器, 静息张力 1g, 连续通入 95%  $O_2$  + 5%  $CO_2$ . 用 XWT-164 型台式自动平衡记录仪记录右心房的自发收缩. 将左心房悬于含 10 ml 改良台氏液 (mmol/L: NaCl 147, KCl 5.4,  $CaCl_2$  1.8,  $MgCl_2$  1.05, Tris 10, Glucose 11, 用 HCl 1 mol/L 调 pH 至

Received 1989 Sep 02

Accepted 1990 Apr 01

7.2-7.4)的恒温( $32 \pm 0.1^\circ\text{C}$ )浴槽中,静息张力0.5g,连续通入纯  $\text{O}_2$ .以频率 1Hz、脉宽 3ms、120%阈电压刺激左心房使其收缩,用 LMS-2A 型二道生理记录仪记录其收缩幅度.

**心室乳头状肌动作电位和机械收缩实验<sup>(3)</sup>**豚鼠体重  $345 \pm \text{SD } 50 \text{ g}$ , ♀ ♂ 不拘,将右心室乳头状肌标本水平固定于标本槽内,一端与肌力换能器相连,用连续通入纯  $\text{O}_2$  饱和的改良台氏液恒温( $37^\circ\text{C}$ )恒速( $3-4 \text{ ml/min}$ )灌流.由刺激器(SEN-3201, Nihon Kohden)经隔离器产生的方波以 1Hz、5ms、115%阈电压刺激标本.用尖径  $0.5 \mu\text{m}$ 、电阻  $10-30 \text{ M}\Omega$ 、内含  $\text{KCl } 3 \text{ mol/L}$  的玻璃微电极记录细胞内动作电位.用双脉冲刺激法测定有效不应期

## RESULTS

**MHDF 的负性频率作用** 在不同的标本上分别加入 MHDF  $4.6$  和  $10 \mu\text{mol/L}$ , 观察给药后 30 min 内右心房频率变化,以同容量蒸馏水做对照.结果表明 MHDF 明显减慢心房率, MHDF  $4.6$  和  $10 \mu\text{mol/L}$  在 30 min 内分别使心房率由  $140 \pm 10$  和  $146 \pm 6 \text{ bpm}$  减为  $110 \pm 8 (n=6, P<0.01)$ ,  $104 \pm 8 \text{ bpm}$  ( $n=6, P<0.01$ ), 分别减慢 21% 和 29%.

**MHDF 和 Pro 对 Iso 正性频率作用的影响** 用累加法加入 Iso 直到产生最大反应,以最大反应与给 Iso 前心房率之差为 100% 反应,制做 Iso 的累积量-效反应曲线(cumulative concentration-response curves, CCRC).用 R-L 液冲洗恢复,分别在不同的标本上加入 Pro ( $0.01, 0.1 \mu\text{mol/L}$ )和 MHDF ( $1, 3, 10 \mu\text{mol/L}$ ), 20 min 后重新测定 Iso 的 CCRC, 每个标本只测两次 CCRC, 约 150 min 测一次. Pro 为竞争性拮抗,  $pA_2 = 8.31 \pm 0.11$ . MHDF 与 Pro 不同,为非竞争性拮抗,  $pD'_2 = 5.04 \pm 0.10$ (Fig 1).

**MHDF 和 Cim 对 His 正性频率作用的影**

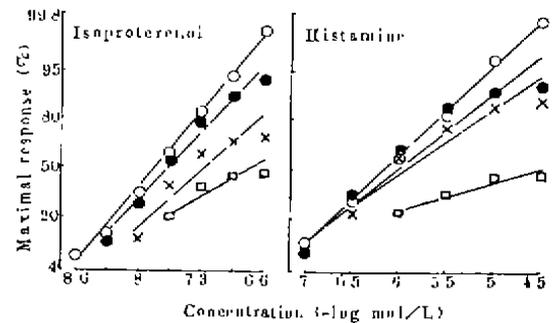


Fig 1. Effects of 7-methoxy-4'-hydroxyl-3'-diethylaminomethylisoflavone (MHDF)  $0$  ( $\circ$ ),  $1$  ( $\bullet$ ),  $3$  ( $\times$ ),  $10$  ( $\square$ )  $\mu\text{mol/L}$  on isoproterenol- and histamine-induced positive chronotropic action on guinea pig right atria.  $n=5, \bar{x} \pm \text{SD}$ .

**响** 右心房标本预先用 Pro  $0.1 \mu\text{mol/L}$  处理,以阻止 His 的促儿茶酚胺释放作用.参照 Iso 的 CCRC 的测定方法测定 His 的 CCRC.用 R-L 液冲洗恢复.分别加入 Cim ( $1, 3 \mu\text{mol/L}$ )和 MHDF ( $1, 3, 10 \mu\text{mol/L}$ ), 20 min 后重新测定 His 的 CCRC.每个标本只测两次 CCRC, 每 150 min 测一次.结果表明, Cim 为竞争性拮抗,  $pA_2 = 6.67 \pm 0.06$ . 而 MHDF 则为非竞争性拮抗,  $pD'_2 = 4.90 \pm 0.18$ .

**MHDF 和 Ver 对  $\text{CaCl}_2$  正性频率作用的影响** 在预实验中发现  $\text{CaCl}_2$  正性频率作用的量-效关系较难做出,且重现性差,与文献<sup>(4)</sup>报道情况相同,因此只观察了其时-效关系,右心房标本在低  $\text{Ca}^{2+}$  ( $0.5 \text{ mmol/L}$ )液中平衡 1h,加入  $\text{CaCl}_2$   $4.0 \text{ mmol/L}$ ,使心房率增加 30% 以上的标本供本实验用.加入  $\text{CaCl}_2$  10 min 后在不同标本上分别加入 Ver  $0.25 \mu\text{mol/L}$  和 MHDF  $10 \mu\text{mol/L}$ , 观察 30 min 内心房率的变化,并做空白对照.结果表明空白对照组在低  $\text{Ca}^{2+}$  液中的心房率为  $115 \pm 6 \text{ bpm}$ , 加入  $\text{CaCl}_2$  10 min 后升高到  $156 \pm 9 \text{ bpm}$ , 经过 30 min 下降到  $155 \pm 8 \text{ bpm}$  ( $P>0.05, n=5$ ), 仅衰减 2.4%. Ver 组和

MHDF 组在低  $Ca^{2+}$  液中的心房率分别是  $125 \pm 11$  和  $106 \pm 10$  bpm, 加入  $CaCl_2$  10 min 后升高到  $167 \pm 13$  和  $150 \pm 14$  bpm, 此时加入 Ver 和 MHDF, 30 min 内使心房率减为  $104 \pm 21$  ( $P < 0.01, n = 5$ ), 和  $109 \pm 10$  bpm ( $P < 0.01, n = 5$ ) 分别下降了 150% 和 93% (从加入  $CaCl_2$  后 10 min 时心房率到低  $Ca^{2+}$  时的心房率之差值为下降 100%)。表明 MHDF 和 Ver 均可对抗  $CaCl_2$  的正性频率作用, 但 MHDF 的作用较 Ver 为弱。

**MHDF 对豚鼠左心房的变力作用** 标本平衡量 1h 后观察 MHDF 在 1, 2, 4 Hz 频率下对左心房收缩力的影响。结果表明 MHDF 在较低浓度 ( $1 \mu mol/L$ ) 时, 随着频率的加快由正性肌力转变为负性肌力作用。随着浓度的增加和频率的加快其负性肌力作用加强 (Fig 2)。可见 MHDF 的变力作用具有频率和浓度依赖性。

**MHDF 对豚鼠心室乳头状肌动作电位和机械收缩的影响** MHDF  $3 \mu mol/L$  能显著减弱机械收缩力 (CF), 同时降低动作电位 0 相最大去极化速率  $V_{max}$ , 延长动作电位时程 (APD) 和有效不应期 (ERP), 随着浓度的增加, MHDF 对动作电位幅度 (APA)、静息电位 (RP) 和超射 (OS) 也有抑制 (Tab 1)。

**MHDF、Ver 和 Qui 对心室乳头状肌电-机械活动的影响的比较** Ver  $2 \mu mol/L$  能明

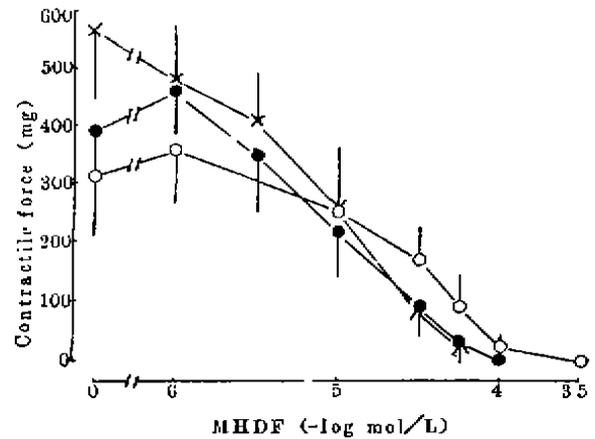


Fig 2. Inotropic actions of MHDF on guinea pig left atria. 1 Hz (O), 2 Hz (●), 4 Hz (×).  $n = 5, \bar{x} \pm SD$ .

显减弱 CF, 而同时几乎不影响动作电位  $V_{max}$ , 即有兴奋-收缩脱耦联作用; Qui  $50 \mu mol/L$  显著降低  $V_{max}$ , 同时对 CF 也有一定程度的抑制; MHDF  $30 \mu mol/L$  能同时抑制 CF 和  $V_{max}$ , 其对 CF 的减弱程度与 Ver 相近, 而对  $V_{max}$  的降低程度与 Qui 相近, 与 Ver 和 Qui 均不同的是 MHDF 能显著延长  $APD_{90}$ , 而 Ver 缩短之, Qui 对  $APD_{90}$  影响无统计学意义 (Tab 2)。

DISCUSSION

离体右心房实验表明 MHDF 与  $\beta$  受体阻断剂 Pro 和  $H_2$  受体阻断剂 Cim 不同, 它对 Iso 和 His 致正性频率作用呈非竞争性拮

Tab 1. Effects of MHDF on action potentials and contractile force in guinea pig papillary muscles.  $n = 8, \bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$ .

MHDF ( $\mu mol/L$ )	APA (mV)	RP (mV)	OS (mV)	APD <sub>50</sub> (ms)	APD <sub>90</sub> (ms)	ERP (ms)	$V_{max}$ (V/s)	CF (mg)
0	$113 \pm 7$	$80 \pm 3$	$34 \pm 5$	$169 \pm 23$	$212 \pm 26$	$170 \pm 18$	$194 \pm 18$	$60 \pm 23$
3	$113 \pm 7^*$	$78 \pm 3^*$	$34 \pm 5^*$	$175 \pm 25^{**}$	$222 \pm 28^{***}$	$188 \pm 24^{***}$	$184 \pm 20^{***}$	$45 \pm 14^{**}$
10	$108 \pm 6^*$	$77 \pm 4^{**}$	$31 \pm 4^{**}$	$184 \pm 29^{***}$	$241 \pm 27^{**}$	$215 \pm 29^{***}$	$167 \pm 24^{***}$	$28 \pm 8^{**}$
30	$95 \pm 14^{**}$	$70 \pm 7^{***}$	$26 \pm 6^{**}$	$188 \pm 23^{***}$	$275 \pm 39^{**}$	$418 \pm 135^{**}$	$98 \pm 51^{***}$	$14 \pm 5^{**}$
56	$86 \pm 11^{**}$	$69 \pm 8^{**}$	$21 \pm 6^{**}$	$187 \pm 13$	$289 \pm 53^{***}$	-	$90 \pm 45^{***}$	$9 \pm 3^{***}$

APA: action potential amplitude; RP: resting potentials; OS: overshoot; APD: duration of action potential measured at either 50% or 90% repolarization; ERP: effective refractory period;  $V_{max}$ : maximal rate of rise of action potentials; CF: contractile force.

Tab 2. Effects of MHDF, verapamil (Ver) and quinidine (Qui) on action potentials and contractile force in guinea pig papillary muscles.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs control.

Drug ( $\mu\text{mol/L}$ )	n	Time (min)	APA (mV)	APD <sub>90</sub> (ms)	V <sub>max</sub> (V/s)	CF (mg)
Control	12	15	112 ± 6	215 ± 11	189 ± 17	59 ± 22
MHDF30			96 ± 12**	255 ± 40***	113 ± 47**	12 ± 6**
Control	5	15	110 ± 3	201 ± 28	185 ± 9	59 ± 15
Ver 2			104 ± 6*	190 ± 35*	183 ± 7*	12 ± 6**
Control	5	20	108 ± 5	231 ± 21	202 ± 15	70 ± 32
Qui 50			97 ± 9***	239 ± 18*	123 ± 10***	32 ± 17**

抗;MHDF与Ver一样能拮抗CaCl<sub>2</sub>致正性频率作用.提示MHDF的负性频率作用可能不是直接阻断 $\beta$ 或H<sub>2</sub>受体造成的,而可能与钙拮抗作用有关.

MHDF对左心房的负性肌力作用有频率依赖性,这一特点与Ver<sup>(5)</sup>很相似.Ver负性肌力作用的频率依赖性与其对慢内向电流抑制的频率依赖性是一致的,其频率依赖性可能与慢通道动力学过程有关,已知慢通道从失活状态中恢复的过程是一时间依赖性过程.Ver可能延缓慢通道的这一恢复过程,造成在高频率时被阻滞慢通道的累积,使Ca<sup>2+</sup>的通透性不能达到最大<sup>(6)</sup>,实验结果提示MHDF的作用方式可能与Ver相似.

心室肌细胞动作电位0相主要由Na<sup>+</sup>经钠通道快速内流形成,MHDF能降低V<sub>max</sub>,因而对Na<sup>+</sup>内流有阻滞作用;心肌收缩与Ca<sup>2+</sup>在2相平台期的内流密切相关,MHDF能显著抑制心室乳头状肌收缩力,提示其可能阻滞Ca<sup>2+</sup>内流;另外,心室肌细胞去极化后的复极化过程与K<sup>+</sup>外流有关,MHDF能使动作电位时程显著延长,又提示其对K<sup>+</sup>外流可能也有抑制作用.通过电生理实验初步认为MHDF与膜稳定剂Qui有相似之处,但其对Ca<sup>2+</sup>内流和K<sup>+</sup>外流的抑制作用较Qui强.

**ACKNOWLEDGMENTS** 本实验得到同济医科大学药理研究室江明性教授、宗贤刚讲师和姚伟星副教授等同志的帮助.

#### REFERENCES

- 1 Ji QE, Wei YL. Studies on cardiovascular drugs—synthesis of isoflavones. *Acta Pharm Sin* 1989; 24 : 906
- 2 Levy JV. Isolated atrial preparations. In: Schwartz A. ed. *Methods in pharmacology*; vol 1. NY: Appleton—Century—Crofts, 1971 : 97—100
- 3 Zong XG, Wang G, Xiang JZ, Fang DC, Jiang MX, Schölkens BA. Effects of atriopeptin III on the electrical and mechanical activity in mammalian myocardium. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1989; 2 : 188
- 4 Fang DC, Yao WX, Xia GJ, Jiang MX. Effects of tetrandrine on isoprenaline and calcium-mediated positive chronotropic action in isolated rabbit atria. *Acta Pharmacol Sin* 1982; 3 : 233
- 5 Bayer R, Hennekes R, Kaufmann R, Mannhold R. Inotropic and electrophysiological actions of verapamil and D600 in mammalian myocardium. I. Pattern of inotropic effects of the racemic compounds. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1975; 290 : 49
- 6 Ehara T, Daufmann R. The voltage- and time-dependent effects of (-)-verapamil on the slow inwards current in isolated cat ventricular myocardium. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 207 : 49