

MX. An improved tissue bath for voltage clamp. *Acta Tongji Med Univ* 1990; 19 : 275.

5 Kass RS, Siegelbaum SA, Tsien RW. Three-micro-electrode voltage clamp experiments in calf cardiac Purkinje fibers : Is slow inward current adequately measured? *J Physiol (Lond)* 1979; 290 : 201

6 DiFrancesco D, Noma A, Trautwein W. Kinetics and magnitude of the time-dependent potassium current in the rabbit sinoatrial node : effect of external potassium. *Pflugers Arch* 1979; 381 : 271

7 Kass RS, Tsien RW. Multiple effects of calcium antagonists on plateau currents in cardiac Purkinje fibers. *J Gen Physiol* 1975; 66 : 169

8 Cooks NS. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. *TIPS* 1988; 9 : 21

9 Carmeliet E. Electrophysiologic and voltage clamp analysis of the effects of sotalol on isolated cardiac muscle and Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232 : 817

10 Sch Itzyk G. Evidence for inhibition by ICS<sub>205-930</sub> and stimulation by BRL34915 of K<sup>+</sup> conductance in cardiac muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1987; 335 : 692

11 Bacaner MB, Clay JR, Shrier A, Brochu RM. Potassium channel blockade : a mechanism for suppressing ventricular fibrillation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83 : 2223

12 Yao WX, Xia GJ, Zhang JS, Zeng WZ, Zhang SD, Jiang MX. A new kalium channel blocker of chinese medicinal origin - benzyltetrahydropalmitine hydrochloride. *J Tongji Med Univ* 1990; 10 : 1

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jul; 11 (4) : 317-321

### 常咯啉对豚鼠乳头状肌动作电位零相最大除极速率频率和电压依赖的作用

潘 慧、沈为群、于志铭、徐 斌 (苏州医学院生理学教研室, 苏州 215007, 中国)

**Frequency- and voltage-dependent effects of changrolin on maximal upstroke velocity of action potentials in guinea pig papillary muscles**

PAN Hui, SHEN Wei-Qun, YU Zhi-Ming, XU Bin  
(Department of Physiology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007, China)

**ABSTRACT** Changrolin (CRL) is a new anti-arrhythmic drug originated in China in 1970s. The effects of CRL on maximal upstroke velocity ( $V_{max}$ ) of action potentials were studied with standard microelectrode and computer in guinea pig papillary muscles. CRL depressed the  $V_{max}$ . This effect was dependent on the rate of stimulations. The onset of use-dependent depression was monoexponential and dependent on drug concentration and rate of stimulations. The rate of recovery from use-dependent depression also followed a single exponential time course. CRL shifted the curve relating normalized  $V_{max}$  to membrane potential in the hyperpolarizing direction. The onset rate was  $0.156 \pm 0.025 \text{ AP}^{-1}$  (RDB 50%), and offset rate ( $\tau_c$ ) was  $4.7 \pm 0.9 \text{ s}$ . These suggest that CRL belongs to class I<sub>a</sub> anti-

arrhythmic drugs.

**KEY WORDS** changrolin; quinazolines; microelectrodes; action potentials; papillary muscles; anti-arrhythmia agents

**提要** 采用微电极细胞内记录和电子计算机实时采样技术, 观察了常咯啉(CRL)对豚鼠右心室乳头状肌动作电位零相最大除极速率( $V_{max}$ )的影响。结果表明, CRL对 $V_{max}$ 的阻滞作用表现为频率和电压依赖性; 当CRL  $40 \mu\text{mol/L}$ , 刺激频率为2 Hz, RDB为50%时, 启动速率为 $0.156 \pm 0.025 \text{ AP}^{-1}$ , 当CRL  $40 \mu\text{mol/L}$ 时, 恢复速率为 $4.7 \pm 0.9 \text{ s}$ 。提示CRL属于I<sub>a</sub>类抗心律失常药。

**关键词** 常咯啉; 喹唑啉类; 微电极; 动作电位; 乳头状肌; 抗心律失常药

常咯啉(changrolin, CRL)是一种国产抗心律失常新药, 化学名为4-{3',5'-[(N-吡咯烷基)甲基]-4'-羟苯胺基}喹唑啉, 临床疗效显著<sup>(1)</sup>, 目前一般认为CRL属I类抗心律失常药, 但其亚类划分尚未明确<sup>(2,3)</sup>, 该药抗心律失常的电生理学机理研究尚属初步。为此, 本实

Received 1989 Jun 30 Accepted 1990 Mar 01

验采用微电极细胞内记录和电子计算机实时采样技术,观察了CRL对豚鼠心室乳头状肌动作电位  $V_{max}$  的频率和电压依赖作用,深入探讨CRL抗心律失常的细胞电生理学机理及其在抗心律失常药中的归类.

MATERIALS AND METHODS

豚鼠体重  $325 \pm SD 49$  g, ♀ 不抱 击昏开胸后速取心脏,选右室乳头状肌标本固定于肌槽内,用含 95%  $O_2$ +5%  $CO_2$  的台氏液灌流 7 ml/min, 温度 35℃, pH 7.4. 肌槽容量为 2.5 ml.

刺激电极为一对外涂特氟隆绝缘、尖端裸露的不锈钢丝,通过电子刺激器(SEN-710j)输出矩形波驱动标本,波宽 1 ms, 电压强度为阈强度的 1.5 倍. 引导电极为充灌 KCl 3 mol/L 的玻璃微电极,电极尖端直径 <10μm, 电阻为 8-15MΩ. 心肌细胞的电位变化经微电极引导入微电极放大器(MEZ-7101), 然后分为二路并联输出<sup>(5)</sup>: 一路接计算机(Apple II), 记录动作电位(采样速率 8 bit/ms)及其零相除极曲线(采样速率 8 bit/16 μs); 另一路经电子微分器(BIM-1)处理后再接计算机, 记录动作电位零相除极速率曲线(采样速率 8 bit/16 μs).

CRL对  $V_{max}$  的阻滞作用

1 CRL对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞作用 分别给予 0.5, 1, 2 和 4 Hz 4 种频率的刺激,观察CRL对心肌细胞  $V_{max}$  的静息阻滞作用(resting block, RB)和频率依赖性阻滞作用(rate-dependent block, RDB)<sup>(6)</sup>.

2 CRL对  $V_{max}$  阻滞后恢复过程的影响 在频率为 1 Hz 的 20 个连续刺激后,分别给予不同舒张间隔(diastolic interval)的单个试验刺激,记录每个试验刺激产生的 AP 零相除极速率曲线. 舒张间隔(t)为连续刺激最后一个 AP 的  $APD_{90}$  到试验刺激诱发的 AP 零相起始点所经历的时间

3 CRL对  $V_{max}$  的电压依赖性阻滞作用 以 2 beats/min 频率驱动标本,通过灌流液中逐次增加 KCl 1-2 mmol/L, 使静息膜电位降低(负值减小),当膜电位达 -65 mV 左右时停止加 KCl. 每次加入 KCl 后稳定 7 min 开始记录,观察在各种膜电位下 CRL 对  $V_{max}$  的影响.

数据处理 所有资料均由电子计算机(Apple II)处理,统计学分析采用最佳曲线拟合和 t 检验作同一细胞自身对照比较

1 对  $V_{max}$  的静息阻滞率和稳态时  $V_{max}$  阻滞率计算方法

静息阻滞率(%) =  $[1 - V_{max}(\text{静息, 用药后}) / V_{max}(\text{静息, 用药前})] \times 100\%$

稳态时  $V_{max}$  阻滞(%) =  $[1 - V_{max}(ss) / V_{max}(0)] \times 100\%$

$V_{max}(ss)$ 指稳态(steady state)时的  $V_{max}$ ;  $V_{max}(0)$ 指第一个 AP 的  $V_{max}$ .

2 CRL对  $V_{max}$  阻滞的启动和恢复动力学(kinetics of onset and recovery)分析 在分析CRL对  $V_{max}$  阻滞的启动动力学影响时,将用药后连续刺激产生的  $V_{max}$  校正值(Y)与 AP 序数(n)以单指数曲线进行拟合,方程为  $Y = A \exp(-n / \tau_0)$ .  $1 / \tau_0$  为启动速率(onset rate). 校正值(Y)的计算: 稳态前各  $V_{max}$  减去稳态  $V_{max}$  所得的一系列  $V_{max}$ ,又以这一系列  $V_{max}$  各除以第一个  $V_{max}$  所得的结果. 在分析CRL对  $V_{max}$  阻滞后恢复过程的影响时,将校正值  $Y[V_{max}(\text{test}) / V_{max}(\text{first})]$  与舒张间隔(t)之间的关系以单指数曲线进行拟合,方程为  $Y = A \exp(-t / \tau_r) + B \cdot \tau_r$  为  $V_{max}$  阻滞后恢复过程的时间常数<sup>(7)</sup>.

3 CRL对  $V_{max}$  的电压依赖性阻滞作用分析 运用改良方程进行曲线拟合<sup>(8)</sup>,方程为  $V_{max}(\text{test}) / V_{max}(\text{first}) = 1 / [1 + \exp(V_m - V_{50} / s)]$ .  $V_{max}(\text{test})$ 为每加 KCl 后的各膜电位下的  $V_{max}$ ;  $V_{max}(\text{first})$ 为正常膜电位下的  $V_{max}$ ;  $V_m$  为以后各  $V_{max}(\text{test})$  时的膜电位;  $V_{50}$  为  $V_{max}$

下降到最大  $V_{max}$  值一半时的膜电位; S 为常数, 决定曲线的斜率

药品 CRL 为上海第十六制药厂生产的粉剂, 采用累积加药法, 将 CRL 加入灌流液中, 每次加药后稳定 30 min 开始记录.

RESULTS

CRL 对  $V_{max}$  的静息阻滞作用 CRL 对静态心肌细胞受驱动后产生的第一个 AP 的  $V_{max}$  阻滞作用称为静息阻滞. 本实验观察了 CRL 10, 20, 40  $\mu\text{mol/L}$  对  $V_{max}$  的静息阻滞作用 ( $n=7$ ), 用药前  $V_{max}$  为  $317 \pm 29 \text{ V/s}$ , 给 CRL 10  $\mu\text{mol/L}$  后,  $V_{max}$  下降到  $307 \pm 28 \text{ V/s}$ , 与对照相比  $P > 0.05$ . CRL 浓度增加到 20 和 40  $\mu\text{mol/L}$  后,  $V_{max}$  分别下降到  $298 \pm 30$  和  $294 \pm 31 \text{ V/s}$ , 与对照相比  $P < 0.05$ , 静息阻滞率分别为  $6.4 \pm 1.8\%$  和  $7.9 \pm 2.6\%$ .

刺激频率对 CRL 的稳态  $V_{max}$  阻滞的影响 对稳态  $V_{max}$  分析显示, 用药前  $V_{max}$  的阻滞作用随刺激频率的增加而略增大, 当 CRL 作用后这种效应变得更明显, 说明 CRL 对  $V_{max}$  的阻滞作用随刺激频率的增大而增强. 结果还显示, 在同一刺激频率下, 稳态时  $V_{max}$  的阻滞作用随 CRL 浓度增加而增强 (Tab 1).

Tab 1. Effect of stimulation frequency on changrolin (CRL)-induced block of maximal upstroke velocity ( $V_{max}$ ) at steady state level. Values were block of  $V_{max}$  (%).  $n=7$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \*\*\* $P < 0.01$  vs control. \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs 0.5 Hz.

Frequency (Hz)	Changrolin ( $\mu\text{mol/L}$ )			
	Control	10	20	40
-	$31 \pm 2.4$	$13 \pm 6^{***}$	$23 \pm 9^{***}$	$38 \pm 9^{***}$
1	$4.0 \pm 2.5$	$16 \pm 9^{***}$	$29 \pm 10^{***}$	$43 \pm 11^{***}$
2	$7.0 \pm 3.0$	$21 \pm 9^{***}$	$35 \pm 10^{***}$	$50 \pm 11^{***}$
4	$10.0 \pm 4.0$	$27 \pm 9^{***}$	$39 \pm 10^{***}$	$58 \pm 12^{***}$

CRL 对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞的启动动力学影响 静态心肌细胞被连续刺激驱动后, AP 的  $V_{max}$  逐渐下降, 最后达到稳态水平, 称为  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞. CRL 对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞达到稳态大约需经

15-20 个动作电位. 在 CRL 作用下, 曲线拟合比较显示,  $V_{max}$  的动态下降过程符合单指数曲线. 在同一刺激频率下,  $V_{max}$  阻滞的启动速率随 CRL 浓度增加而增大; CRL 20, 40  $\mu\text{mol/L}$  作用下,  $V_{max}$  阻滞的启动速率随刺激频率增大而减小 (Tab 2).

Tab 2. Onset rate for the rate-dependent block of  $V_{max}$  by CRL ( $\text{AP}^{-1}$ ).  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs CRL 10  $\mu\text{mol/L}$ ; \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs 0.5 Hz.

Frequency (Hz)	Changrolin ( $\mu\text{mol/L}$ )		
	10	20	40
0.5	$0.120 \pm 0.030$	$0.154 \pm 0.025^*$	$0.190 \pm 0.050^{**}$
1	$0.120 \pm 0.030^+$	$0.142 \pm 0.023^{**}$	$0.170 \pm 0.040^{***}$
2	$0.120 \pm 0.030^+$	$0.132 \pm 0.019^{**}$	$0.157 \pm 0.027^{***}$
4	$0.117 \pm 0.014^+$	$0.123 \pm 0.019^{***}$	$0.150 \pm 0.030^{**}$

CRL 对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞恢复过程的影响 给予 CRL 前, AP 的  $V_{max}$  阻滞恢复很快, 舒张间隔为 100 ms 时,  $V_{max}$  即已恢复稳态,  $\tau_r < 100 \text{ ms}$ . 当 CRL 40  $\mu\text{mol/L}$  作用后,  $V_{max}$  阻滞的恢复过程明显减慢. 其变化规律符合单指数曲线, 所有  $P$  值均小于 0.01,  $\tau_r$  为  $4.7 \pm 0.9 \text{ s}$ ,  $n=6$ .

CRL 对  $V_{max}$  的电压依赖性阻滞作用 CRL 10  $\mu\text{mol/L}$  即可显著影响  $V_{max}$  与静息膜电位之间的关系 (Fig 1). 与对照相比, 用药后的  $V_{50}$  增大, S 减小 (Tab 3), 提示 CRL 对  $V_{max}$  的阻滞作用随膜电位下降 (负值减小) 而增强, 表现为电压依赖性阻滞作用.

Tab 3. Effect of CRL 10  $\mu\text{mol/L}$  on relationship between resting membrane potentials and  $V_{max}$ .  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$  vs control.

	Control	CRL
$V_{50}$ (mV)	$-66.700 \pm 1.106$	$-70.000 \pm 3.000^*$
S	$4.800 \pm 0.400$	$4.200 \pm 0.500^*$
CC	$0.987 \pm 0.010$	$0.985 \pm 0.007^*$
CI	$0.997 \pm 0.003$	$0.989 \pm 0.007^*$

$V_{50}$  = the membrane potential at which  $V_{max}$  is 50% of its peak value, S = the slope factor, CC = correlation coefficient of fitting equation, CI = correlation index of fitting equation.

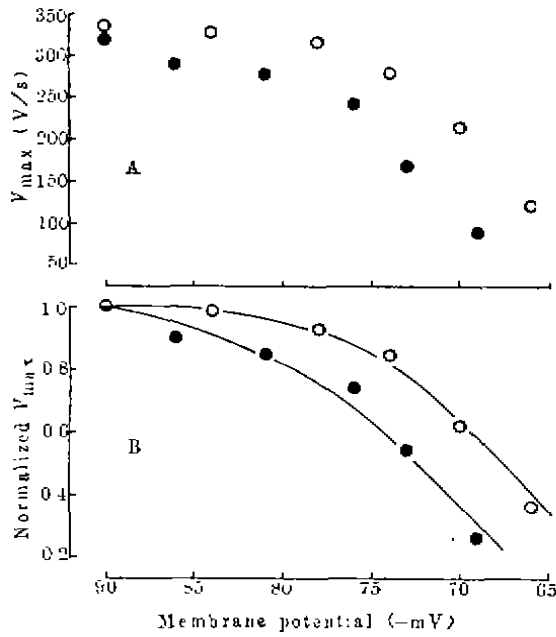


Fig 1. Effect of CRL on relationship between resting membrane potentials and  $V_{max}$ . Values were obtained before (○) and after application of CRL  $10\mu\text{mol/L}$  (●). A) Actual data from a representative experiment (No 3 cell), B) Normalized data from panel A obtained by taking the values of  $V_{max}$  for each resting membrane potential and dividing it by the value of  $V_{max}$  observed at first resting potential. Lines are best fit to the equation:  $V_{max}(\text{test})/V_{max}(\text{first}) = 1/[1 + \exp(V_m - V_{50})/S]$

DISCUSSION

在研究药物对心肌细胞电生理作用的机理时,常以  $V_{max}$  作为药物导致钠电流改变的评定指标. CRL 对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞作用是 I 类抗心律失常药的重要特性之一,反映了药物与心肌钠通道之间的相互作用. 本实验发现较高浓度的 CRL 对  $V_{max}$  还具有静息阻滞作用,因此,在临床使用 CRL 时应注意避免达到产生静息阻滞的剂量.

对  $V_{max}$  的频率依赖性阻滞特性是划分 I 类抗心律失常药亚类的依据,不同亚类药物的启动和恢复速率差别显著<sup>(9-11)</sup>,主要受药物的分子量大小和脂溶性高低的影响. 本实验中,根据 CRL 的启动速率和恢复速率等参数,表

明 CRL 属于 I<sub>a</sub>类抗心律失常药.

对 CRL 的心肌细胞电生理学特性及其归类研究,有利于指导临床用药. CRL 对  $V_{max}$  具有频率和电压依赖性阻滞作用. 前者提示在临床应用时,该药对快速型心律失常的疗效优于缓慢型心律失常,后者提示该药能有效地治疗缺血、缺氧等病理性心肌的心律失常.

ACKNOWLEDGMENTS 本实验得到葛子山和周希平老师的大力支持

REFERENCES

- 1 常咯啉临床研究协作组. 抗心律失常药常咯啉临床观察. 中华医学杂志 1978; 58 : 84.
- 2 Gu PK, Wang BY, Chen YL, Shang M, Liu XJ, Jin ZJ. Effect of changrolin on electrophysiological properties of canine Purkinje fibers. *Acta Pharmacol Sin* 1983; 4 : 170
- 3 Yu Y, Yu FS, Gu PK, Jin ZJ. Electrophysiologic effects of changrolin on cardiac conduction system in anesthetized rabbits. *Ibid* 1987; 8 : 421
- 4 Yu ZM, Tang SH, Ten AF, Xu B. The correlations between the phase 2 and the duration percent of repolarization of the action potential in the isolated ventricular muscle of guinea pigs. *Chin J Appl Physiol* 1988; 4 : 72
- 5 Shen WQ, Xu XY, Zhao WW, et al. Dynamic changes in depolarization of action potentials by high frequency stimulation in guinea pig papillary muscles. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10 : 332
- 6 Grant AO, Starmer CF, Strauss HC. Antiarrhythmic drug action. Blockade of the inward sodium current. *Circ Res* 1984; 55 : 427
- 7 Grant AO, Trantham JL, Brown KK, Strauss HC. pH-dependent effects of quinidine on the kinetics of  $dV/dt_{max}$  in guinea pig ventricular myocardium. *Ibid* 1982; 50 : 210
- 8 Hodgkin AL, Huxley AF. The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of Loligo. *J Physiol* 1952; 116 : 497
- 9 Campbell TJ. Kinetics of onset of rate-dependent effects of Class I antiarrhythmic drugs are important in determining their effects on refractoriness in guinea-pig ventricle, and provide a theoretical basis for their subclassification. *Cardiovasc Res* 1983; 17 : 344
- 10 Arena JP, McArdle JJ, Argentieri TM. Antiarrhythmic-like actions of the smooth muscle

spasmolytic agent, cinnamedrine, on action potentials of mammalian ventricular tissue. *Pharmacology* 1987; 34 : 286

11 Harrison DC. Antiarrhythmic drug classification: new science and practical applications. *Am J Cardiol* 1985; 56 : 185

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jul; 11 (4) : 321-323

### 尼可地尔对兔心肌缺血再灌注脂质过氧化的保护作用

张英民、赵德化、盛宝恒 (第四军医大学药理教研室, 西安 710032, 中国)

#### Protective effects of nicorandil on lipid peroxidation in ischemic and reperfused myocardium of rabbits

ZHANG Ying-Min, ZHAO De-Hua, SHENG Bao-Heng (*Department of Pharmacology, Fourth Military Medical University, Xi-an 710032, China*)

**ABSTRACT** The experiments of recirculating blood perfusion device showed that nicorandil (Nic) 0.15 mmol/L significantly decreased the content of malondialdehyde (MDA), inhibited the release of creatine kinase (CK), counteracted the increase of coronary vascular resistance (CR), and abolished the reperfusion-induced arrhythmias in isolated rabbit hearts during ischemia and reperfusion. The results indicate that Nic has protective effects on myocardial ischemic and reperfused damage, which may relate to the prevention of lipid peroxidation.

**KEY WORDS** nicorandil; myocardial reperfusion injury; lipid peroxidation; malondialdehyde; creatine kinase; vascular resistance; arrhythmia

**摘要** 循环式血液灌注装置实验表明, 尼可地尔 (Nic) 0.15 mmol/L 能明显降低离体兔心缺血再灌注期间丙二醛 (MDA) 的含量; 抑制肌酸激酶 (CK) 释放; 对抗再灌注损伤所致的冠脉阻力 (CR) 增加; 并具有抗再灌注心律失常作用。提示 Nic 对心肌缺血再灌注损伤有保护作用, 其作用机理可能与抗脂质过氧化有关。

**关键词** 尼可地尔; 心肌再灌注损伤; 脂质过氧化; 丙二醛; 肌酸激酶; 血管阻力; 心律失常

尼可地尔 (nicorandil, Nic) 是临床治疗心

绞痛的新药, 1977 年日本首先合成。我们发现其还具有抗实验性心律失常效应<sup>(1)</sup>, 这可能与钙拮抗作用有关<sup>(2)</sup>。近年来, 许多资料表明, 心肌缺血再灌注损伤与氧自由基有关; 而后的主要细胞毒性反应是膜的脂质过氧化<sup>(3)</sup>, Nic 对心肌缺血再灌注损伤有保护作用<sup>(4)</sup>, 其机理是否通过影响氧自由基代谢及抗脂质过氧化, 尚未见文献报道, 本文用循环式血液灌注离体兔心模型, 观察 Nic 对心肌缺血再灌注损伤的影响, 并探讨其作用机理。

#### MATERIALS AND METHODS

**药品** Nic 系陕西省医药工业研究所合成, 用生理盐水配成 0.5% 溶液备用。

**灌注装置** 实验应用的循环式血液灌注装置, 仿文献<sup>(5)</sup>以国产 RDB-III 型恒速灌流泵为动力系统, 内径 3 mm 的硅胶管为动脉泵管, 人工肺为自制的小型鼓泡式氧合器, 它具有氧合、去泡、变温、贮血及过滤功能。辅助装置有重庆产 WC/09-05 超级恒温器, 苏州产气体流量计和自制的玻璃恒温罩, NIHON KOHDEN 四导生理记录仪。

**动物模型的制备及分组** ♂兔 14 只, 体重 2.0 ± SD 0.2 kg, 3% 戊巴比妥钠 20mg/kg 和氯胺酮 10 mg/kg iv 麻醉, 肝素 5 mg/kg iv 抗凝, 1 min 后纵劈胸骨, 迅速剪取心脏, 放入 4℃ Ringer 液中停跳, 将主动脉连接于循环式血液灌注装置上。用 Ringer 液 30ml 和自体兔血 50ml 预充并逆灌注。通入