

• 基础研究 •

别隐品碱抗心律失常效应及其对动作电位的影响

李泱 王琳 程芮 刘鹏 薛桥

【摘要】目的 研究别隐品碱(ALL)抗心律失常效应及其对心肌动作电位的影响。方法 选择大鼠和豚鼠以静脉给乌头碱、哇巴因和氯化钡造动物心律失常的模型,观察 ALL 对心律失常的效应,分离豚鼠乳头状肌观察 ALL 对动作电位的影响。结果 ALL (30 和 100 mg/kg)对乌头碱、哇巴因和氯化钡致动物实验性心律失常有良好的对抗作用,使各种试剂诱发的室早、室速、室颤及停搏的剂量增加。ALL 可降低动作电位上升幅度(APA)和 0 相最大上升速率(V_{max})。3.0~100.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 ALL 以浓度依赖性方式使豚鼠乳头状肌动作单位时程(APD)延长,其中 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 ALL 使 APD₉₀ 延长 67.5 %。结论 ALL 具有抗实验性心律失常的效应,此效应可能与其影响心肌组织的电生理密切相关。

【关键词】别隐品碱;心律失常;动物模型;动作电位

Effects of allocryptoine on arrhythmia of animals and action potential of the papillary muscles of guinea pigs

LI Yang, WANG Lin, CHENG Rui, et al

Institute of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

【Abstract】 Objective To study the effects of allocryptoine (ALL) on arrhythmia of animals and action potential of the papillary muscles of guinea pigs. Methods 1) Arrhythmia models of rats and guinea pigs were established using aconitine, ouabain and calcium chloride and the preventive effect of ALL on arrhythmia in animals were observed. 2) The action potential of papillary muscle was recorded with standard microelectrode techniques. Results The threshold doses of aconitine, ouabain and calcium chloride inducing ventricular ectopic beats (VEBs), ventricular tachycardia (VT), ventricular fibrillation (VF) and cardiac arrest (CA) in rats and guinea pigs were increased by both the large dose and the small dose of allocryptoine. Especially, the obvious effects of ALL 100 mg/kg on antiarrhythmias were found ($P < 0.01$, $n = 15$). The action potential amplitude (APA) and maximum velocity of 0 phase of action potential (V_{max}) were markedly decreased by ALL. The 20 %, 50 % and 90 % of repolarization of action potential duration (APD₂₀, APD₅₀ and APD₉₀) of the guinea pigs papillary muscles was prolonged by ALL (3–100 $\mu\text{mol/L}$) in a dose-dependent manner. Conclusion Allocryptoine can be used to prevent and treat animal arrhythmia. The mechanism of these actions may be related to its electrophysiological effect.

【Key words】 allocryptoine; arrhythmia; animal model; action potential

别隐品碱(allocryptoine, ALL)为存在于夏天无(*C. decumbens*)中的叔胺生物碱,其在毛茛黄(*C. pubescens*)中也存在,后者均属罂粟科紫堇属延胡索亚属植物 *Corydalis decumbens* (Thunb.) Pers。本品无色,溶于甲醇-氯仿(1:1)中,熔点(mp):168℃^[1,2]。夏天无主要用于通经、活络祛瘀、行气止痛,临床用于风湿性关节炎、坐骨神经痛。夏天无的总生物碱具有拮抗 β 受体和抗心律失常作用^[3]。由于 ALL 母

核具有与许多抗心律失常中药成分相似的异喹啉结构^[4](图 1),作者推测其可能也有抗心律失常的效应。因此,本文观察 ALL 对由乌头碱、哇巴因和氯

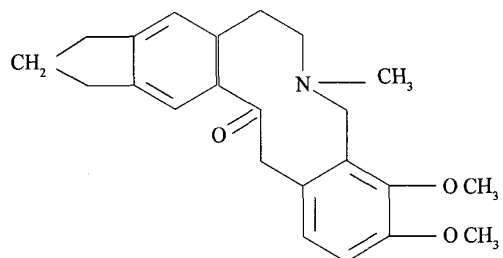


图 1 别隐品碱的结构式

收稿日期:2004-08-03

作者单位:100853 北京市,解放军总医院老年心血管病研究所

作者简介:李泱,男,1962年3月生,河北省沧州人,医学博士,副研究

员。Tel:010-66936762

化钡等诱发动物心律失常的效应及其对离体乳头肌动作电位各项电生理参数的影响,为探讨 ALL 是否具有抗心律失常的作用,并对其作用机制进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂与药物 ALL(兰州大学化学系馈赠),溶于二甲亚砜中,用吐温-80 助溶并以蒸馏水稀释成 5 mmol/L 的贮备液备用;哇巴因(ouabain)、乌头碱(aconitine)系德国 Merck 公司产品, CaCl_2 、 BaCl_2 为美国 Sigma 公司产品。微电极放大器(MEZ-8201, Nihon, 日本),动作电位信号记录处理系统(华中科技大学)。YG-1 型刺激隔离器(成都仪器厂),GY-2000B 生物信号采集与处理系统(华南电子有限公司生产,开封)。

1.1.2 Tyrode 液成分(mmol/L) NaCl 137, KCl 5.4, MgCl_2 1.05, NaH_2PO_4 0.42, CaCl_2 1.8, NaHCO_3 11.9, 葡萄糖 5.5, 用 NaOH 调 pH 至 7.4。

1.1.3 动物 健康雄性 SD 大鼠(200 ~ 250 g)与豚鼠(250 ~ 350g),所用动物均来自解放军总医院动物实验中心。

1.2 实验方法

1.2.1 ALL 对乌头碱诱发大鼠心律失常的效应 以 20 % 乌拉坦按 0.8 ml/100g 腹腔注射麻醉大鼠,仰卧固定,颈静脉插管备用;各组动物分别于腹腔静脉给予 ALL (30、100 mg/kg) 和奎尼丁(quinidine, Qui) 10 mg/kg 及等容积生理盐水。稳定 10 min 后由颈静脉通过微量恒速注射泵恒速注入 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 乌头碱溶液(0.2 ml/min)。通过 GY-2000B 生物信号采集与处理系统记录心电图,连续监测动物心电活动的变化,记录首次出现室性早搏(ventricular ectopic beats, VEBs)、室速(ventricular tachycardia, VT)、室颤(ventricular fibrillation, VF)和心脏停搏(cardiac arrest, CA)时间,实验结束后将时间数据换算成所需乌头碱的剂量。

1.2.2 ALL 对哇巴因诱发豚鼠心律失常的效应 实验步骤基本同前,不同处在于实验动物选择健康豚鼠,注射 ALL (30、100 mg/kg) 和利多卡因(lidocaine, Lid) 5 mg/kg 及等容积生理盐水。稳定 10 min 后由颈静脉通过微量恒速注射泵恒速注入 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 哇巴因溶液(0.2 ml/min)。记录心电图,连续监测动物心电活动的变化,用秒表记录首次出现 VEBs、VT、VF 和 CA 时间,并准确计算诱发异常心电图的哇巴

因用药剂量。

1.2.3 ALL 预防给药抗氯化钡诱发大鼠心律失常的效应 实验步骤基本同前,不同处在于给大鼠静脉注射 ALL (30、100 mg/kg) 和维拉帕米(verapamil, Ver) 5 mg/kg 及等容积生理盐水。稳定 10 min 后由颈静脉通过微量恒速注射泵恒速注入 4% 氯化钡(0.2 ml/min)。记录和计算均同前。

1.2.4 ALL 对豚鼠乳头肌动作电位的影响 依文献[5]制备心室乳头状肌标本:取雄性豚鼠,击昏致死,迅速开胸取出心脏,置入经 95 % O_2 和 5 % CO_2 混合气体饱和的 Tyrode 溶液中,分离右心室乳头状肌,两端用 3-0 号丝线结扎后水平放入 1 ml 恒温浴槽中。用氧饱和的 30 ml Tyrode 液体(温度为 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, pH 值为 7.3)持续表面灌流,流速为 4 ml/min。给予标本 0.5 g 的前负荷,平衡 1 h 后进行实验。

动作电位的记录:取有芯毛细管在自制的拉制仪上一步拉制成玻璃微电极,用 3 mol/L 的 KCl 溶液充灌。电极电阻为 30 ~ 40 M Ω 。将充灌好的微电极固定在三维微操纵器上,插入 Ag-AgCl 引导电极。电极入水后调零,缓慢插入电极,直至引出稳定的动作电位。动作电位信号经微电极放大器输入记录系统。系统输出波宽 7.0 ms, 1.0 Hz, 120 % 阈电压的方波,通过 YG-1 型刺激隔离器诱发乳头状肌动作电位,由计算机实时采集和分析数据。

以刺激频率为 1.0 Hz 及正常 Tyrode 氏液灌流标本 45 min 后,记录心肌细胞动作电位,待其波形稳定 30 min 后开始实验并记录动作电位各项电生理参数,此数值作为对照值。实验时换用含不同浓度(1.0, 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$) ALL 的 Tyrode 氏液灌流标本 20 min 以上,以保证药物的充分作用。记录动作电位各项参数并与用药灌流前比较,同时以正常 Tyrode 氏液洗脱观察药物效应的变化。

1.3 数据处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理用 t 检验分析, $P < 0.05$ 示差异有显著性, $P < 0.01$ 差异有极显著性。

2 结果

2.1 ALL 对乌头碱致大鼠心律失常的效应 结果显示,ALL 可明显增加乌头碱导致大鼠室性早搏、室速、室颤和心跳停搏的剂量,尤以 100 mg/kg 组增加明显,其效应虽与 Qui 组有差异,但此差异无统计学意义,结果见表 1。

2.2 ALL 对哇巴因致豚鼠心律失常的效应 结果显示,ALL 可明显增加哇巴因导致豚鼠室性早搏、室

速、室颤和心跳停搏的剂量,虽然其效应与 Lid 组有差异,但 100 mg/kg 组增加已非常明显,结果见表 2。

2.3 ALL 对氯化钡致心律失常的效应 与对照组比较,ALL 与 Lid 均使氯化钡诱发的大鼠室性早搏、室速、室颤及和心跳停搏的剂量增加,且 ALL 组与 Ver 组两者比较差异无显著性意义,见表 3。

2.4 ALL 对豚鼠乳头肌动作电位及各参数的影响

1~100 $\mu\text{mol/L}$ 的 ALL 作用于乳头肌上,当剂量为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,药物作用 60 min 动作电位几乎无变化,当剂量为 3 $\mu\text{mol/L}$ 可以使动作电位发生改变,但幅度较小,而 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 ALL 则可使动作电位的幅度 (APA) 及动作电位时程 (APD) 明显改变,并且在 3~100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内,药物效应呈剂量依赖性特征。此效应用正常 Tyrode 氏液洗脱后减弱。其中 30 $\mu\text{mol/L}$

ALL 对乳头肌动作单位的效应见表 4 和图 2。

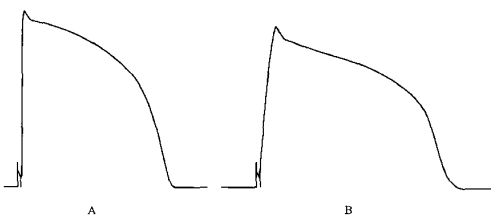


图 2 别隐品碱对豚鼠乳头肌动作电位的作用
A:用药前;B:应用 30 $\mu\text{mol/L}$ 别隐品碱后

2.5 溶剂对各项实验结果的影响 取二甲亚砜、吐温-80,以蒸馏水稀释分别与各项实验溶解药物所用溶剂的相同浓度,进行上述各项对照实验,结果显示,溶剂系统对各项实验影响不大。

表 1 别隐品碱对乌头碱诱发大鼠心律失常的效应 (mg/kg, n = 15)

组 别	剂量(mg/kg)	VEBS	VT	VF	CA
NS	—	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.14 ± 0.01
ALL	30	0.08 ± 0.01 [#]	0.09 ± 0.01 [*]	0.13 ± 0.01 [#]	0.16 ± 0.02 [*]
ALL	100	0.09 ± 0.01 [#]	0.11 ± 0.02 [#]	0.16 ± 0.02 [#]	0.19 ± 0.02 [#]
Qui	10	0.10 ± 0.01 [#]	0.12 ± 0.02 [#]	0.15 ± 0.03 [#]	0.20 ± 0.02 [#]

注:与 NS 组比较,^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

表 2 别隐品碱对哇巴因诱发豚鼠心律失常的效应 (mg/kg, n = 15)

组 别	剂量(mg/kg)	VEBS	VT	VF	CA
NS	—	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.25 ± 0.02
ALL	30	0.15 ± 0.01	0.19 ± 0.02 [#]	0.24 ± 0.01 [*]	0.36 ± 0.02 [#]
ALL	100	0.20 ± 0.02 ^{#△}	0.21 ± 0.02 ^{#△}	0.27 ± 0.03 ^{#△}	0.38 ± 0.03 ^{#△}
Lid	20	0.22 ± 0.02 [#]	0.24 ± 0.04 [#]	0.29 ± 0.04 [#]	0.41 ± 0.04 [#]

注:与 NS 组比较,^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$; 与 Lid 组比较,[△] $P < 0.05$

表 3 别隐品碱对 BaCl₂ 诱发大鼠心律失常的效应 (mg/kg, n = 15)

组 别	剂量(mg/kg)	VEBS	VT	VF	CA
NS	—	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.01
ALL	30	0.17 ± 0.01 [#]	0.19 ± 0.02 [*]	0.23 ± 0.02 [*]	0.26 ± 0.02 [#]
ALL	100	0.18 ± 0.01 [#]	0.23 ± 0.02 [#]	0.24 ± 0.02 [#]	0.27 ± 0.02 [#]
Ver	5	0.19 ± 0.02 [#]	0.24 ± 0.02 [#]	0.25 ± 0.03 [#]	0.27 ± 0.03 [#]

注:与 NS 组比较,^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

表 4 别隐品碱对豚鼠乳头肌动作电位的效应 (n = 10)

组 别	剂量($\mu\text{mol/L}$)	RP(mV)	APA(mV)	V_{max} (V/s)	APD ₂₀ (ms)	APD ₃₀ (ms)	APD ₉₀ (ms)
NS	—	92 ± 5	117 ± 7	253 ± 9	132 ± 13	198 ± 24	237 ± 19
ALL	1	91 ± 3	114 ± 8	246 ± 7	129 ± 23	202 ± 17	237 ± 23
ALL	3	90 ± 2	111 ± 5	233 ± 10 [*]	135 ± 17	214 ± 16	255 ± 18
ALL	10	92 ± 5	101 ± 6 [*]	213 ± 11 [#]	146 ± 21 [*]	226 ± 13 [*]	278 ± 23 [*]
ALL	30	93 ± 6	87 ± 6 [#]	169 ± 11 [#]	155 ± 11 [#]	249 ± 22 [#]	308 ± 21 [#]
ALL	100	91 ± 3	85 ± 4 [#]	145 ± 13 [#]	167 ± 14 [#]	263 ± 23 [#]	354 ± 19 [#]

注:与 NS 组比较,^{*} $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$

3 讨 论

心律失常多伴随心血管疾病出现,临床上常见于心肌缺血及再灌注损伤时。严重的室性心律失常可导致患者迅速死亡。因此,寻找一种高效无副作用的抗心律失常药一直为国内外学者所关注。现已发现很多中药有效成分如粉防己碱、蝙蝠葛碱、莲心碱及苜蓿碱等通过影响心肌组织的电生理过程能有效防治心律失常^[6]。而且这些中药成分皆属于异喹啉类生物碱。因此,作者选择了含异喹啉母核的别隐品碱进行抗动物心律失常的实验,结果显示,该生物碱同样也具有抗动物心律失常的效应。

乌头碱能加速心肌细胞 Na^+ 内流,加速心肌细胞 0 相去极化速率,提高心房传导组织和房室束-浦氏纤维等快反应细胞的自律性,形成异位节律,缩短不应期而导致心律失常,诱发异位节律点,缩短心肌不应期,而导致心律失常^[7]。哇巴因诱发豚鼠心律失常作用与其对心肌细胞膜上 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的严重抑制,导致细胞内钙超负荷及失钾有关^[8]。 Ba^{2+} 与钙离子相似,与心肌细胞膜上钙离子的内流有关;也可能是由于抑制钾离子的流出,因而增加 4 相坡度,提高心房传导组织房室束-浦氏纤维等快反应细胞的自律性,导致异位节律而产生心律失常^[9]。ALL 显著提高哇巴因诱发豚鼠、乌头碱和氯化钡诱发大鼠出现室性早搏、室速、室颤及心脏停跳所需剂量,表明 ALL 具有抗哇巴因、乌头碱和氯化钡所致心律失常作用。

本实验还显示 ALL 可降低乳头肌动作电位 APA,减少 V_{max} ,结合其可拮抗乌头碱作用,推测其抗心律失常作用可能与钠离子通道有关。同时,ALL 可显著延长 APD,结合其抑制 Ba^{2+} 的作用,推测其抗药理效应可能与钙离子通道及钾离子通道有关^[10]。尤其是其延长 APD_{90} 更为明显,可能 ALL 通过对延迟整流钾电流及内向整流钾电流的影响发挥作用^[11]。进一步可以看出,ALL 将通过多个途径发

挥其抗心律失常效应。然而心律失常的机制复杂,影响心律失常的因素比较多。因此,别隐品碱抗心律失常的机制及对离子通道的影响尚需进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 樊竹婷,蒋思萍,陈金瑞. 毛黄堇的化学成分. 西藏科技, 2002,6:63-64.
- 2 廖静,梁文藻,涂国土. 夏天无化学成分. 中国中药杂志, 1994,19:612-613.
- 3 张志祖,何晓南,曾靖. 夏天无生物碱的抗心律失常作用. 赣南医学院学报, 1997,17:7-9.
- 4 李洪. 离子通道与膜片钳技术. 兰州:甘肃文化出版社, 2001. 240-241.
- 5 Qin K, Ren LM, Zhao D. Uridine triphosphate prolongs action potential duration of guinea pig papillary muscles via P2Y2 purinoceptors. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22: 21-25.
- 6 Li Y, Fu LY, Yao WX, et al. Effects of benzyltetrahydropalmatine on two components of the delayed rectifier K^+ current in guinea pig. Cardiovasc Drugs Ther, 2002, 16: 317-325.
- 7 陆凤琴,聂桂丽,刘慧颖,等. 炙甘草水提液与牛磺酸合用抗乌头碱所致小鼠心律失常的实验研究. 天津中医学院学报,2002,12:31-32.
- 8 李振彬,周仲瑛,金妙文,等. 益阴助阳活血通脉法对哇巴因所致豚鼠心律失常的实验观察. 河北中医药学报, 2003,18:4-6.
- 9 王丽娟,林宇,邱丽萍,等. 灯盏花素对氯化钡所致心律失常的预防作用. 齐齐哈尔医学院学报,2000,21:1-2.
- 10 Ferrini B, Jurkewicz NK, Jow B, et al. Use dependent effects of class III antiarrhythmic agent NE-10064 (aminilide) on cardiac repolarization: block of delayed rectifier potassium and L-type calcium current. J Cardiovasc Pharmacol, 1995, 26: 259-271.
- 11 Zhiguo W, Bernard F, Stanley N. Effect of flecainide, quinidine, and 4-aminopyridine on transient outward and ultrarapid delayed rectifier current in human atrial myocytes. J Pharmacol Exp Ther, 1995, 272: 184-196.