

槐果碱对快速性室性心律失常的影响及其电生理调控机制

吴秋兰¹, 李文燕², 李娃娃², 王明烨², 许柳², 蔡婧琦², 郭冰圆³, 宋涛^{3,4*}, 侯云龙^{1,2,3,4,5*}

1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017

2. 河北中医药大学中西医结合学院, 河北 石家庄 050091

3. 石家庄以岭药业股份有限公司, 河北 石家庄 050023

4. 络病理论创新转化全国重点实验室, 河北 石家庄 050035

5. 河北以岭医院, 国家中医药管理局高水平中医药重点学科—中医络病学, 河北 石家庄 050091

摘要: **目的** 探究槐果碱对快速性室性心律失常的影响及其电生理调控机制。**方法** 应用 Langendorff 离体心脏灌流的方法, 结合电学和光学标测系统, 检测槐果碱给药前(对照)和给药后豚鼠离体心电图和电生理活动的变化。采用单细胞膜片钳技术评估槐果碱对豚鼠、大鼠单个心室肌细胞以及 hERG-HEK293 细胞离子通道的影响。将哇巴因诱导的快速性心律失常豚鼠分为模型组、普萘洛尔(25 mg/kg)组及槐果碱不同剂量(12.5、25.0、50.0 mg/kg)组, 通过计算室性早搏、室颤和心脏停搏发生时的哇巴因用量来评估槐果碱在体内的抗心律失常作用。**结果** 与对照组比较, 槐果碱能够降低心率, 显著延长豚鼠单个心室肌细胞动作电位复极化 90% 时的时程(action potential duration at 90% repolarization, APD₉₀, $P < 0.01$), 100 $\mu\text{mol/L}$ 槐果碱能够显著抑制豚鼠心室肌细胞 L-型钙电流(L-type calcium current, $I_{\text{Ca-L}}$, $P < 0.01$)和大鼠心室肌细胞瞬时外向钾电流(transient outward potassium current, I_{to} , $P < 0.05$)。槐果碱对 hERG-HEK293 细胞电流具有剂量相关性的抑制作用。与模型组比较, 槐果碱给药组(50 mg/kg)可以显著增加室性早搏和室颤($P < 0.05$)发生时的哇巴因用量, 证明其具有潜在的抗心律失常活性。**结论** 槐果碱具有多离子通道阻滞作用, 在体外和体内均显示出抗心律失常活性。

关键词: 槐果碱; 快速性室性心律失常; 离子通道阻滞剂; 电学标测; 光学标测

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)03-0885-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.03.015

Effects of sophocarpine on ventricular tachyarrhythmias and its electrophysiological regulation mechanisms

WU Qiulan¹, LI Wenyan², LI Jiajia², WANG Mingye², XU Liu², CAI Jingqi², GUO Bingyuan³, SONG Tao^{3,4}, HOU Yunlong^{1,2,3,4,5}

1. College of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

2. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China

3. Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050023, China

4. State Key Laboratory for Innovation and Transformation of Luobing Theory, Shijiazhuang 050035, China

5. High-level TCM Key Disciplines of National Administration of Traditional Chinese Medicine—Luobing Theory, Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: Objective To comprehensively evaluate the effects of sophocarpine on ventricular tachyarrhythmias and its electrophysiological regulation mechanisms. **Methods** The Langendorff isolated heart perfusion method was used, combined with electrical and optical mapping systems, to detect changes in the isolated electrocardiogram and electrophysiological activity of guinea

收稿日期: 2024-10-16

基金项目: 河北省省级科技计划资助项目(23379902L); 河北省省级科技计划资助项目(24462501D); 石家庄市高层次科技创新创业人才项目(07202203)

作者简介: 吴秋兰, 女, 硕士研究生, 研究方向为工业药学。E-mail: fz112281220@163.com

*通信作者: 侯云龙, 男, 博士, 正高级工程师, 博士生导师, 从事创新药物研发工作。E-mail: houyunlonghrb@hotmail.com

宋涛, 男, 博士, 工程师, 从事心脏电生理学。E-mail: 18632563419@163.com

pigs before (control) and after sophocarpine administration. The effects of sophocarpine on ion channels in single ventricular myocytes from guinea pigs or rats and hERG-HEK293 cells were evaluated using the whole-cell patch-clamp technique. Guinea pigs with ouabain-induced tachyarrhythmia were divided into model group, propranolol (25 mg/kg) group, and different doses of sophocarpine (12.5, 25.0, 50.0 mg/kg) groups. The antiarrhythmic effect of sophocarpine *in vivo* was evaluated by calculating the dosage of ouabain during premature ventricular contractions, ventricular fibrillation and asystole. **Results** Sophocarpine reduced heart rate and significantly prolonged ($P < 0.01$) the action potential duration at 90% repolarization (APD90) in single guinea pig ventricular myocytes. At a concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$, sophocarpine significantly inhibited the L-type calcium current ($I_{\text{Ca-L}}$, $P < 0.01$) in guinea pig ventricular myocytes and the transient outward potassium current (I_{to} , $P < 0.05$) in rat ventricular myocytes. Furthermore, sophocarpine exhibited a concentration-dependent inhibitory effect on hERG-HEK293 cell currents. Compared with model group, the sophocarpine administration group (50 mg/kg) required a significantly higher dose of ouabain to induce ventricular premature beats ($P < 0.05$) and ventricular fibrillation ($P < 0.05$), demonstrating its potential antiarrhythmic activity. **Conclusion** Sophocarpine has multiple ion channel blocking effects and exhibits antiarrhythmic activity both *in vitro* and *in vivo*.

Key words: sophocarpine; ventricular tachyarrhythmias; ion-channel blockers; electrical mapping; optical mapping

心律失常的防治一直是心血管疾病领域的研究热点, 据中国心源性猝死流行病学调查资料显示, 我国每年心源性猝死事件达 54.4 万例, 其中 80% 以上由恶性心律失常引起^[1]。心律失常是指心脏冲动的频率、节律、起源部位、传导路径和兴奋顺序的不规则^[2]。目前, 抗心律失常药物 (antiarrhythmic drug, AAD) 是临床治疗心律失常的常用药^[3]。然而, 大多 AAD 疗效中等且可能产生明显的致心律失常不良反应^[4]。因此, 满足医疗需求且安全有效的 AAD 仍然短缺。

槐果碱是一种从苦参 *Sophorae Flavescentis Radix*、苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 中获得的天然植物化合物, 现代药理学研究表明其具有多种药理活性, 如抗癌^[5-7]、抗炎^[8-11]、抗病毒^[12-13]、镇痛^[14]等。槐果碱在心血管系统的研究主要集中于缓解心脏损伤, 对抗心律失常的研究较少且大多局限于离体^[15]或细胞水平^[16-17], 缺乏其对抗心律失常作用的系统阐述。据此, 本研究从多个层面综合评估槐果碱的电生理特性, 旨在阐明其潜在的抗心律失常作用机制。

1 材料

1.1 动物与细胞株

SPF 级雄性 DH 豚鼠, 60 只, 体质量 250~300 g, 购自北京市昌扬西山养殖场, 许可证号 SCXK (京) 2021-0008。SPF 级雄性 SD 大鼠, 10 只, 体质量 250~300 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2024-0003。实验动物适应性喂养 1 周, 饲养于屏障环境中, 饲养期间自由进食饮水。本研究动物实验经石家庄以岭药业有限公司新药评价中心动物伦理委员会批

准 (批准号 N2024110)。

人源 hERG-HEK293 稳转细胞系来源于河北医科大学, 经检测无支原体感染。

1.2 药品与试剂

槐果碱 (质量分数 98%, 批号 CHB171229) 购自成都克洛玛生物科技有限公司, 停跳剂 Blebbistatin (批号 ab120425) 购自英国 Abcam 公司; 电压敏感染料 RH237 (批号 D3021) 购自美国 Santa Cruz 公司; 胶原酶-II (批号 43B23274) 购自美国沃辛顿公司; CsOH (批号 C12748668)、NaHCO₃ (批号 C15038796) 购自上海麦克林公司; 灭菌去离子水 (批号 2310003) 购自北京索莱宝公司; NaCl (批号 WXBD4660V)、KCl (批号 WXBC7692V)、MgCl₂·6H₂O (批号 BCCD9633)、KH₂PO₄ (批号 WXBC7788V)、CaCl₂·2H₂O (批号 WXBD4824V)、D-葡萄糖 (批号 WXBD3663V)、HEPES 缓冲液 (批号 WXBD6382V)、CsCl (批号 WXBC9485V)、TEA-Cl (批号 WXBB1042V)、EGTA (批号 SLCK2091)、MgATP (批号)、Na3GTP (批号 SLBZ9114)、L-谷氨酸 (批号 WXBD0270V)、牛磺酸 (批号 WXBD7232V)、哇巴因 (批号 BCBT9038) 购自美国 Sigma 公司, NaOH (批号 20210302)、KOH (批号 20210302) 购自天津市北辰方正公司; BaCl₂·2H₂O (批号 L7B0Q115) 购自北京百灵威公司。

1.3 仪器

德国 HSE 离体心脏灌流系统; EMS128-PXI-1002 多通道电生理标测系统、OMS-PCIE-2002 型高分辨荧光标测系统 (英国 Mapping Lab 公司); ALC-HP 型离体心脏灌流系统 (上海奥尔科特公司); 700B 单细胞膜片钳、DigiData1550B 型数模转

换器（美国 Axon 公司）；IX-53 型倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；MP-225 型微操纵器、P-97 型微电极拉制仪（美国 Sutter instrument 公司）；BT100-2J 型蠕动泵（保定兰格恒流泵有限公司）；Clampex 10.6 数据采集软件；PowerLab 数据采集及分析系统（上海埃德仪器国际贸易有限公司）。

2 方法

2.1 槐果碱对豚鼠离体心电图和电生理活动的检测

2.1.1 豚鼠离体工作心制备 将健康豚鼠 ip 肝素（100 IU/mL、0.1 mL/kg）抗凝 30 min 后，ip 3% 戊巴比妥钠（50 mg/kg）进行麻醉。开胸后，快速取出心脏置于冰冷的 KH 液（119 mmol/L NaCl、25 mmol/L NaHCO₃、4 mmol/L KCl、1.2 mmol/L KH₂PO₄、1 mmol/L MgCl₂、1.8 mmol/L CaCl₂·2H₂O 和 10 mmol/L D-葡萄糖）中，经主动脉逆行灌流悬挂在 HSE 离体心脏灌流系统上。KH 液使用前经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后充氧（95% O₂、5% CO₂）30 min 饱和，灌流体积流量为 8 mL/min，灌流液温度维持在（37.0±0.5）℃。豚鼠离体工作心用于心电图记录、电学和光学标测。

2.1.2 豚鼠离体工作心的心电图记录和电学标测 待离体心脏跳动稳定后，分别在左心尖（正电极）和右心房（负电极）附近放置 2 个独立的电极，同时将 64 单通道笔式电极探头放在右心室，实时观测 64 个通道的场电位信号图谱并记录。参考戚志平等^[17]和 Yang 等^[18]的研究，称取槐果碱溶于 KH 液中配制成 10 μmol/L 的母液，在 100 mL 的循环 KH 液中依次给予适量的槐果碱母液，使终浓度分别为 1、3、10、30、100、300 μmol/L。记录给药前（对照）和不同剂量槐果碱给药 15 min 后的心电图、心室激活时间（active time, AT）和传导速度（conduction velocity, CV），并模拟心室电信号传导热图。后续使用 Emap Scope 5 软件对已保存的数据进行分析。

2.1.3 豚鼠离体工作心的光学标测 待豚鼠的离体工作心心率稳定后，避光，在 100 mL 循环 KH 液中加入 300 μL 质量浓度为 1 mg/mL 的兴奋收缩解偶联剂 blebbistatin 使工作心停跳。停跳后，从给药口缓慢给予 100 μL 质量浓度为 1 mg/mL 的电压敏感染料 RH237，负载 15 min 后，将心脏转移至成像灌流室，使激发光聚焦到心脏上，调节双摄像机与心脏之间的距离以获得最大分辨率。选择心脏成像区域，在心脏自发性窦性频率下记录光学动作电位信号。在 100 mL 的循环 KH 液中依次给予适量的

槐果碱母液（10 μmol/L），使终浓度分别为 30、100、300 μmol/L，使用 OMAP Scope 软件分析窦性节律下给药前后心室 AT、CV 和动作电位时程（action potential duration, APD）。

2.2 急性分离大鼠和豚鼠的心室肌细胞

健康大鼠和豚鼠分别 ip 肝素（100 IU/mL、0.1 mL/kg）抗凝 30 min 后，ip 3% 的戊巴比妥钠（50 mg/kg）进行麻醉。开胸后，将摘取的心脏置于冰冷的无钙台式液（140 mmol/L NaCl、5.4 mmol/L KCl、1 mmol/L MgCl₂·6H₂O、10 mmol/L D-葡萄糖和 10 mmol/L HEPES）中，经由主动脉逆向灌流无钙台式液，待排尽残血后使用消化酶液（50 mL 无钙台式液+25 mg BSA+38 mg 胶原酶-II+25 μL 100 mmol/L CaCl₂）进行消化，待灌流液呈水柱状，心脏质地变软，终止消化。消化停止后，将心脏置于充氧后的 KB 液中，轻轻将心脏剪碎并吹打细胞，之后通过 200 目的筛网进行滤过，把滤液转移至离心管，室温静置 1 h 后，缓慢弃去上清液，进行细胞复钙，使保存细胞 KB 液中钙离子的终浓度为 1.8 mmol/L。分离的大鼠和豚鼠心室肌细胞用于单细胞膜片钳实验。

2.3 单细胞膜片钳记录

采用单细胞膜片钳记录槐果碱对单个豚鼠心室肌细胞动作电位及 L-型钙电流的影响。采用 L-型钙通道阻滞剂维拉帕米来验证 L-型钙电流（L-type calcium current, *I*_{Ca-L}）。利用单个大鼠心室肌细胞检测槐果碱对瞬时外向钾电流（transient outward potassium current, *I*_{to}）的影响，利用人源 hERG-HEK293 稳转细胞系检测槐果碱对人类 Ether-à-go-go 相关基因（human Ether-à-go-go-related gene, hERG）电流的影响。用微电极拉制仪 P-97 拉出电阻为 2~5 MΩ 的贴片电极，并使用 AXON 700B 放大器、数模转换器 DigiData1550B 和数据采集软件 Clampex 10.6 记录和分析。实验在室温下进行，采用电压钳模式进行电流记录，采用电流钳进行神经元动作电位发放（action potential, AP）的记录。

2.4 豚鼠心律失常的造模、分组与给药

豚鼠按体质量随机分为模型组、普萘洛尔（25 mg/kg）组及槐果碱低、中、高剂量（12.5、25.0、50.0 mg/kg）组，每组 8 只。各给药组 ig 相应药物（10 mL/kg），1 次/d，连续 3 d，模型组 ig 等体积蒸馏水。末次给药后，ip 25% 乌拉坦（6 mL/kg）麻醉豚鼠，仰卧位固定，在动物颈部中部纵向切口，分

离颈总静脉,采用连接恒流泵的静脉留置针给予哇巴因溶液 (10 $\mu\text{g}/\text{min}$),利用 Powerlab 电生理记录仪记录自开泵即刻起直至动物心脏停搏的心电图,记录早搏、室颤、心脏停搏出现的时间,换算成哇巴因的用量。

2.5 统计学分析

采用 Origin 9.0 统计软件,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据比较经正态性检验后,采用配对 t 检验进行分析。多组间数据比较经正态性检验后,采用单因素方差分析。通过 Levene 检验方差齐,方差齐性两两比较采用 Tukey 检验。

3 结果

3.1 槐果碱对豚鼠离体心电图和电信号传导的影响

心电图结果如图 1 所示,与对照组比较,100、300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱能显著降低豚鼠心率 ($P < 0.001$) 而槐果碱对 PR 间期、QRS 持续时间和校正的 Q-T 间期无显著影响。图 2-A 所示,给予槐果碱后电兴奋传导方向没有发生改变,与对照组比较,300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱能延长右心室的激活时间。如图 2-B 所示,槐果碱有延长心室激活时间的趋势,传导速度与给药前相比有下降的趋势,但二者均无显著性差异,对去极离散度和复极离散度的影响同样没有显著性差异。

3.2 槐果碱对豚鼠离体心脏的光学信号传导的影响

离体心电图和电学标测结果显示,槐果碱能够降低心率,且基本不影响右心室外膜的传导方向。为进一步检测槐果碱对豚鼠离体心脏全心室外

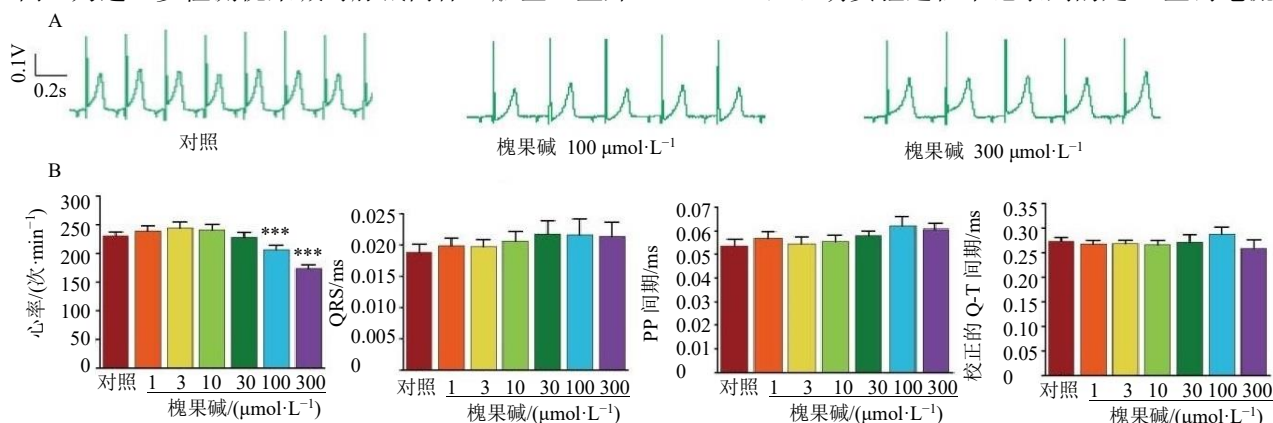
膜电传导的影响,采用高分辨率的光学标测系统对豚鼠离体工作心进行检测。图 3-A、B、D 所示,与对照组比较,300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱能延长心室兴奋传导,显著延长动作电位复极化 90% 时的时程 (action potential duration at 90% repolarization, APD90, $P < 0.001$)。如图 3-C、E 所示,300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱能降低动作电位的传导频率;30、100、300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱能够不同程度地延长 APD90。APD90 代表着整个动作电位的复极化过程,此过程主要与内向的钙离子电流和外向的钾离子电流平衡相关,以上结果表明槐果碱可能对复极化过程的离子通道有影响。

3.3 槐果碱对豚鼠心室肌细胞 APD 和大鼠心室肌细胞 I_{to} 的影响

如图 4-A 所示,与对照组比较,100、300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 槐果碱可以显著延长豚鼠心肌细胞 APD90 ($P < 0.01$)。如图 4-B、D 所示,100、300 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的槐果碱可显著抑制大鼠心肌细胞的 I_{to} ($P < 0.05, 0.001$);如图 4-C 所示,在抑制 I_{to} 的同时不改变电流-电压关系。抑制 I_{to} 会减少心肌细胞在动作电位早期的外向钾离子流,从而使动作电位 1 期复极速度减慢,APD 延长,提示槐果碱可以影响心肌细胞动作电位的早期复极化过程。

3.4 槐果碱对豚鼠单个心室肌细胞 $I_{\text{Ca-L}}$ 的影响

如图 5-C~E 所示,与对照组比较,10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 维拉帕米可显著抑制豚鼠心室肌细胞的钙电流 ($P < 0.001$),证明实验过程中记录到的是 L-型钙电流。

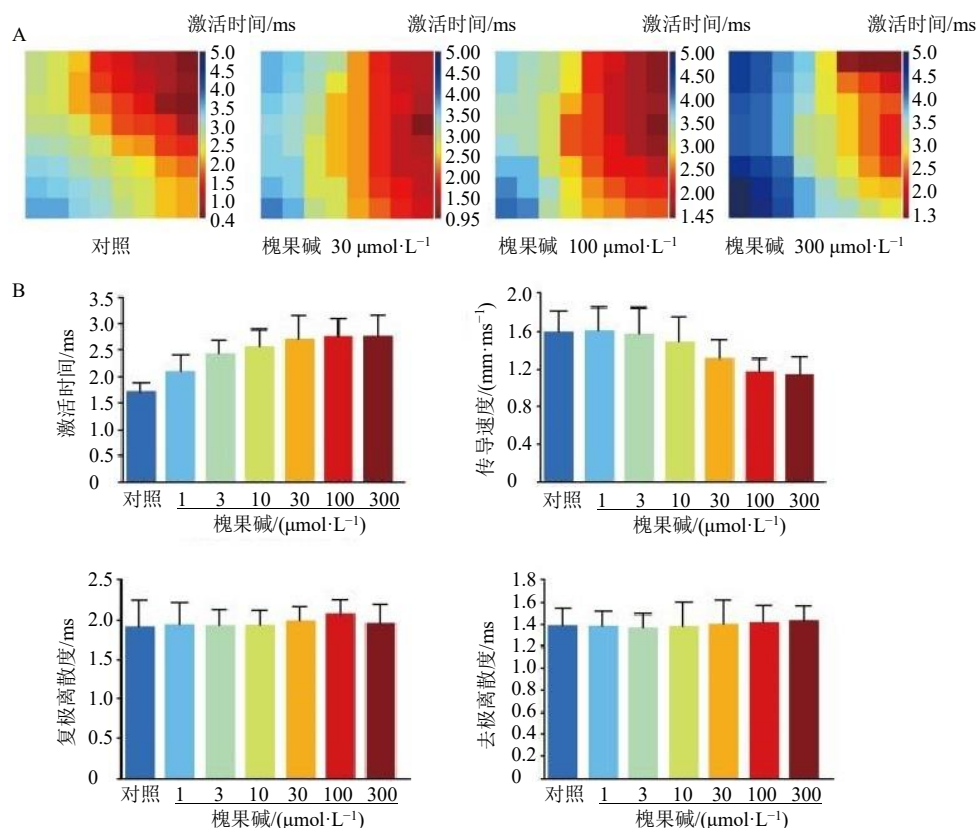


A-给予槐果碱 (100、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理前后的豚鼠离体心脏的代表性心电图; B-给予槐果碱 (1、3、10、30、100、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理前后的心率、QRS 持续时间、PR 间期和校正的 Q-T 间期的统计结果; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同。

A-representative electrocardiograms of guinea pig isolated hearts before and after treatment with sophocarpine (100, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); B- statistical results of heart rate, QRS duration, PR intervals and corrected Q-T interval before and after treatment with sophocarpine (1, 3, 10, 30, 100, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group, same as below figures.

图 1 槐果碱对豚鼠离体心电图的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7 \sim 8$)

Fig. 1 Effects of sophocarpine on isolated electrocardiogram of guinea pigs ($\bar{x} \pm s, n = 7 \sim 8$)



A-槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理前后的豚鼠离体心脏右心室 64 位点的等时传导图; B-64 位点标测信号的激活时间、传导速度、复极离散度和去极离散度的统计结果。

A-isochronous conduction maps of right ventricle at 64 sites in isolated guinea pig hearts before and after sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) treatment; B-statistical results of average activation time, conduction velocity, repolarization dispersion and depolarization dispersion of 64-site mapping signal.

图 2 豚鼠离体心脏的电学标测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 8$)

Fig. 2 Electrical mapping results of isolated guinea pig hearts ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 8$)

如图 5-A、E 所示, 100、300 $\mu\text{mol/L}$ 槐果碱均能显著抑制豚鼠心室肌细胞的 $I_{\text{Ca-L}}$ ($P < 0.01$)。

3.5 槐果碱对 hERG-HEK293 细胞电流的影响

全细胞膜片钳 (电压钳模式) 结果显示, 10~100 $\mu\text{mol/L}$ 槐果碱对稳定表达于 HEK293 细胞上的 hERG 电流具有剂量相关性的抑制作用。如图 6 所示, 10、30、100 $\mu\text{mol/L}$ 槐果碱可呈剂量相关性抑制 hERG 的峰值电流, 这一效应能够在洗脱后部分恢复。

3.6 槐果碱体内抗心律失常效应评估

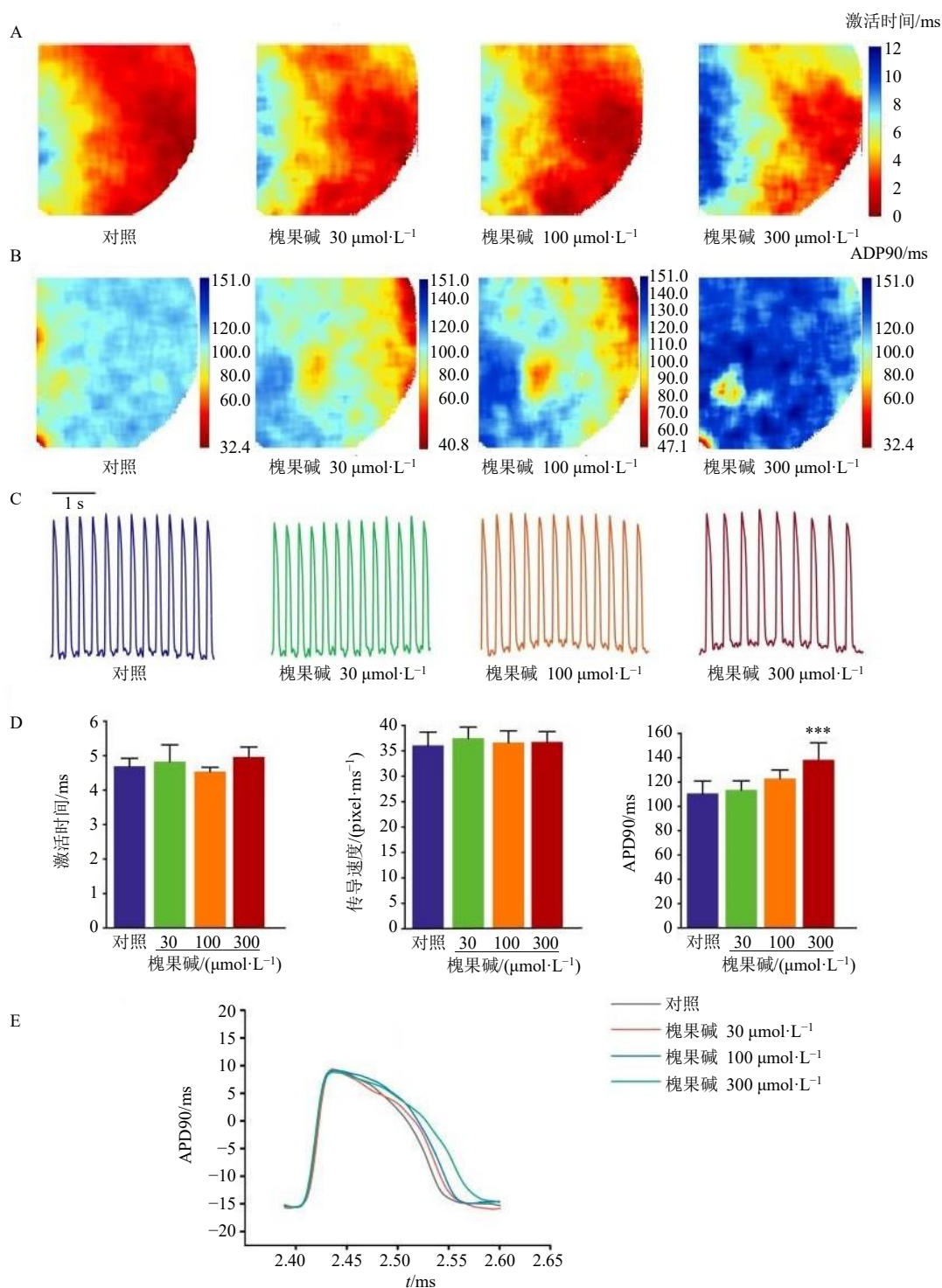
如图 7 所示, 与模型组比较, 25.0 mg/kg 普萘洛尔能够显著增加豚鼠早搏 ($P < 0.01$)、室颤和心脏停搏发生时的哇巴因用量 ($P < 0.001$), 50 mg/kg 槐果碱能够显著增加豚鼠早搏、室颤发生时的哇巴因用量 ($P < 0.05$), 表明槐果碱具有体内抗心律失常活性。

4 讨论

研究表明槐果碱具有潜在的抗心律失常活性,

狄灵等^[19]的研究发现槐果碱可以通过降低心肌缺血大鼠的乳酸脱氢酶、肌酸激酶同工酶 MB 含量, 从而减少心肌细胞损伤来发挥抗心律失常作用。陈颖敏等^[15]发现槐果碱可抑制哇巴因诱导的豚鼠室性心律失常。董扬等^[16]发现槐果碱可能通过抑制钠、钾、钙电流从而逆转异丙肾上腺素引起的心律失常。本研究从离体心脏、细胞水平到整体动物模型 3 个层次全面评估槐果碱对快速性室性心律失常的作用。本研究的创新性不仅体现在对槐果碱抗心律失常作用的全面、多层次评估, 还在于先进技术的运用和多离子通道阻滞机制的发现。这种从基础研究到动物模型验证的系统研究模式, 不仅提升了研究的深度, 也为新型 AAD 的开发提供了重要参考。

心律失常是指心脏冲动的起源、频率、节律和传导等出现异常, 即冲动形成异常、冲动传导异常 (如折返和传导阻滞), 以及由此引发的异常电活动^[20]。心律失常通常通过对心电图记录的分析来诊断, 心

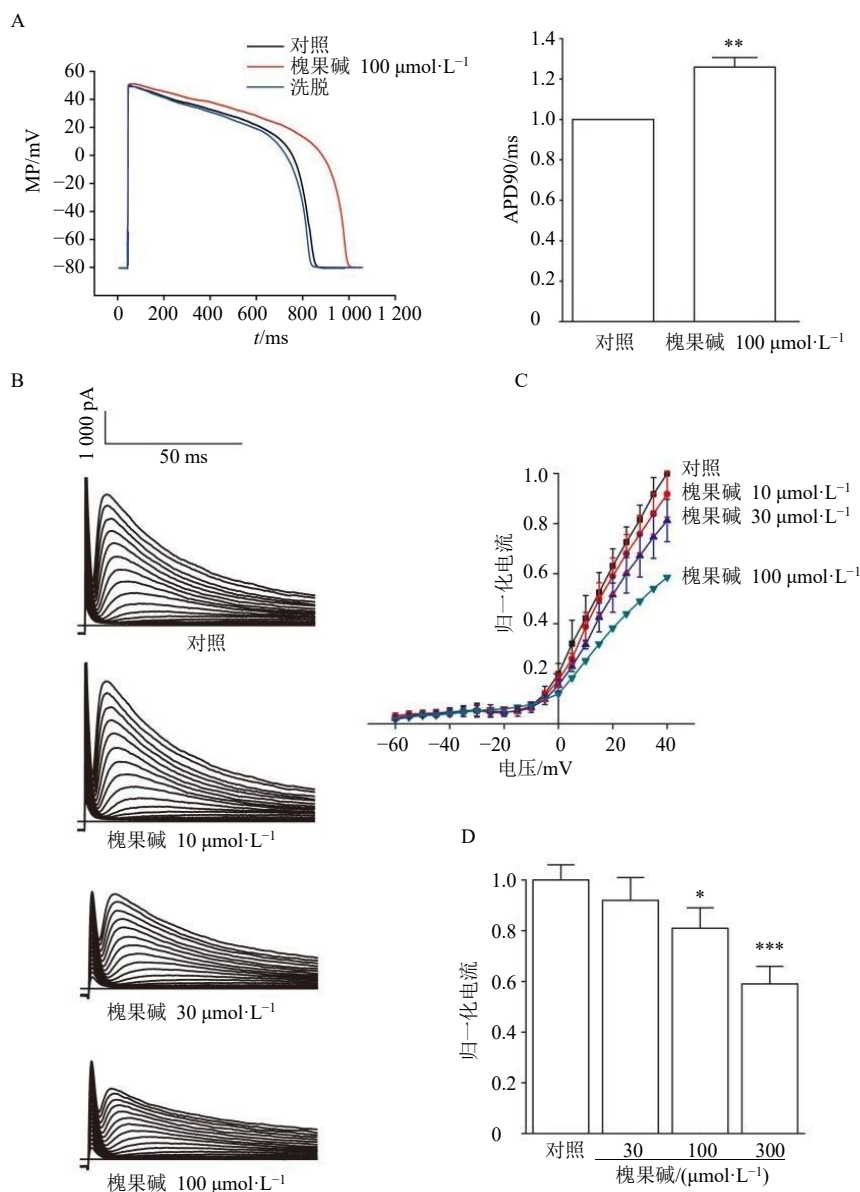


A-给予槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol/L}$) 处理前后的心室兴奋传导图; B-离体心脏灌注电压敏感染料 RH237 得出的 APD90 光学热图; C-给予槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol/L}$) 处理前后的动作电位传导频率图; D-激活时间、传导速度和 APD90 的统计结果图; E-给予槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol/L}$) 处理前后豚鼠离体心脏 APD90 的典型图。

A-ventricular excitation conduction diagram before and after sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol/L}$) treatment; B-APD90 optical thermography obtained by perfusion of voltage-sensitive dye RH237 into isolated hearts; C-action potential conduction frequency before and after treatment with sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol/L}$); D-statistical results of activation time, conduction velocity and APD90; E-typical figure of APD90 in isolated guinea pig heart before and after sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol/L}$) treatment.

图 3 豚鼠离体心脏的光学标测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$)

Fig. 3 Optical mapping results of isolated guinea pig hearts ($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$)



A-单个豚鼠心室肌细胞在给予 $100 \mu\text{mol/L}$ 槐果碱前后的 APD 典型图及统计结果; B-单个大鼠心室肌细胞 I_{to} 的激活典型图; C-给予槐果碱 (10 、 30 、 100 、 $300 \mu\text{mol/L}$) 处理前后的大鼠心室肌细胞 I_{to} 的电流-电压关系; D-在 40 mV 下槐果碱 (30 、 100 、 $300 \mu\text{mol/L}$) 处理前后的归一化电流统计结果。

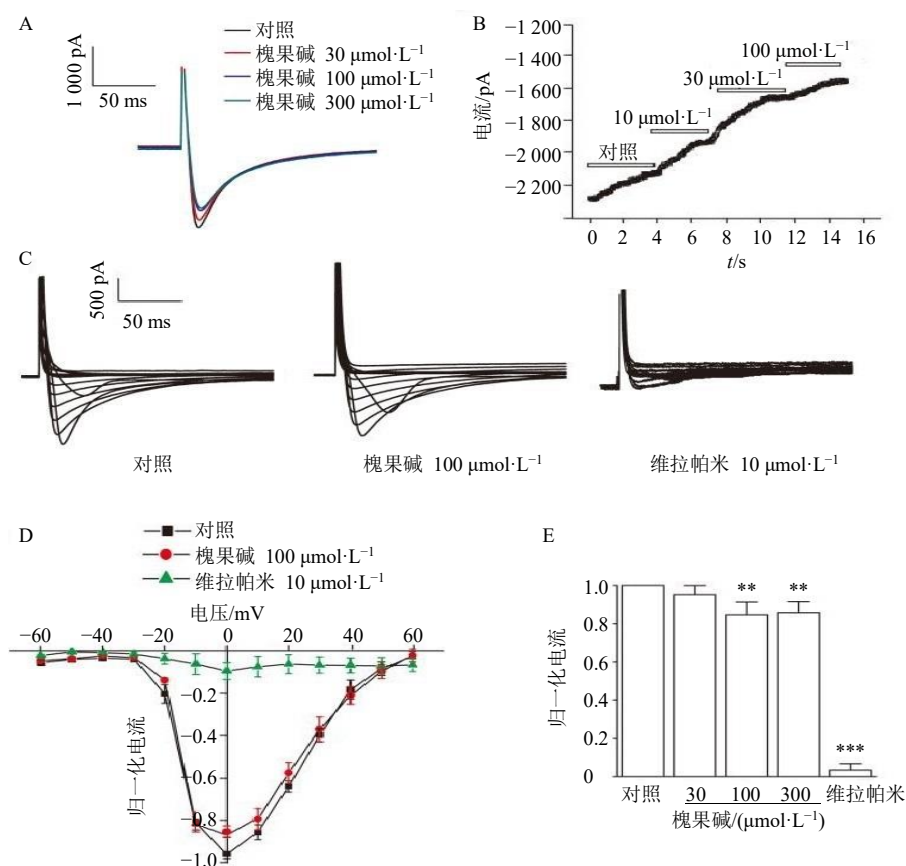
A-APD typical diagram and statistical results of single guinea pig ventricular myocytes before and after administration of $100 \mu\text{mol/L}$ sophocarpine. B-typical activation pattern of I_{to} in rat ventricular myocytes; C-current-voltage relationship of I_{to} in rat ventricular myocytes before and after treatment with sophocarpine (10 , 30 , 100 , $300 \mu\text{mol/L}$); D-normalized current statistics before and after treatment with sophocarpine (30 , 100 , $300 \mu\text{mol/L}$) at 40 mV .

图 4 槐果碱对豚鼠心室肌细胞 APD 和大鼠心室肌细胞 I_{to} 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Fig. 4 Effects of sophocarpine on APD in guinea pig ventricular myocytes and on I_{to} in rat ventricular myocytes ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

电图反映了在体表测量的心脏电活动^[21]。离体心脏是评估药物对心脏靶向作用的理想体外模型^[22]，能够排除神经和体液的干扰，更准确地评估药物的心脏电生理效应。目前，大多数 III 类 AAD 都具有减慢心率的作用，本研究同样观察到槐果碱降低心率的现象，这与 III 类 AAD 对心率的影响相一致。同时，电学标测结果显示槐果碱有减慢心室传导速

度、增加激活时间的趋势，但结果无统计学差异。电学标测仅检测局部心室的电传导现象。为进一步探讨全心室外膜的电活动，采用了相较于电学标测分辨率更高的光学标测进行研究。该技术使用电压敏感染料，允许同时从多个部位记录，能够实现了对全心室外膜电传导方向和速度以及 APD 的可视化分析，非常适合动态研究和心律失常机制的

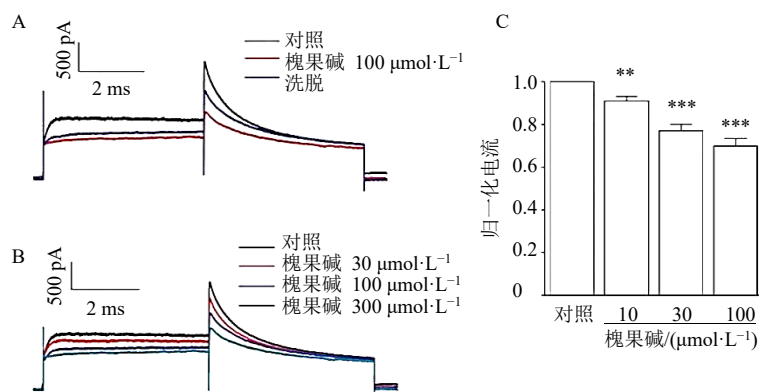


A、C-槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 维拉帕米处理前后的代表性 $I_{\text{Ca-L}}$ 激活曲线; B-连续给予槐果碱 (10、30、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 的时程图; D-对照、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 槐果碱和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 维拉帕米处理后的豚鼠心肌细胞 $I_{\text{Ca-L}}$ 的电流-电压关系; E-在 0 mV 下槐果碱 (30、100、300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 维拉帕米处理前后的归一化电流统计结果。

A, C-representative $I_{\text{Ca-L}}$ activation curves before and after treatment with sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ verapamil; B-time course of continuous administration of sophocarpine (10, 30, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); D-current-voltage relationship of $I_{\text{Ca-L}}$ in cardiomyocytes treated with control, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ sophocarpine and 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ verapamil; E-normalized current statistics before and after treatment with sophocarpine (30, 100, 300 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ verapamil at 0 mV.

图 5 槐果碱对豚鼠心室肌细胞 $I_{\text{Ca-L}}$ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7 \sim 8$)

Fig. 5 Effect of sophocarpine on $I_{\text{Ca-L}}$ in guinea pig ventricular myocytes ($\bar{x} \pm s, n = 7 \sim 8$)

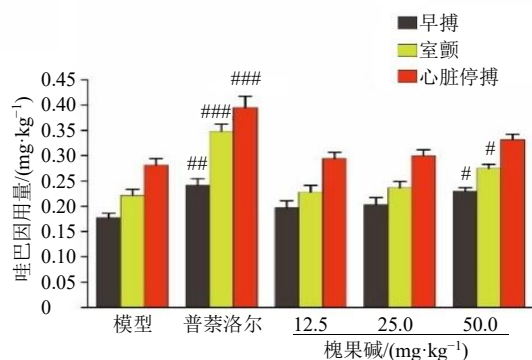


A-对照组、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 槐果碱和洗脱条件下的代表性 hERG 电流曲线; B-给予槐果碱 (10、30、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理前后的典型 hERG 电流轨迹; C-给予槐果碱 (10、30、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 前后 hERG 电流变化的统计结果。

A-representative hERG current curves under control, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ sophocarpine and washout conditions; B-typical hERG current curves before and after treatment with sophocarpine (10, 30, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$); C-statistical data of hERG current changes before and after treatment of sophocarpine (10, 30, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

图 6 槐果碱对 hERG-HEK293 细胞电流的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 6 Effect of sophocarpine on currents of hERG-HEK293 cells ($\bar{x} \pm s, n = 4$)



与模型组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 7 槐果碱对哇巴因模型的抗心律失常效应评估
($\bar{x} \pm s$, $n = 6 \sim 8$)

Fig. 7 Evaluation of antiarrhythmic effect of sophorine on ouabain model ($\bar{x} \pm s$, $n = 6 \sim 8$)

探讨^[23-26]。光学标测结果显示,槐果碱能够延长动作电位时程,因此,在离体水平上,本研究初步发现了槐果碱具有延长 APD 并降低心率的 III 类抗心律失常作用。

心脏正常的节律性收缩和舒张依赖于心肌细胞 APD 的有序产生和传导。APD 的产生与心肌细胞膜上的各种离子通道密切相关,离子通道的失衡会诱发各种心律失常,而 APD 的缩短更是多种快速性心律失常的基础。鉴于豚鼠心室复极化主要依赖于内向整流钾流和延迟整流钾流钾通道^[27],本研究选用了在心室复极化过程中 I_{to} 钾通道起主要作用的大鼠心室肌细胞^[28-29],以尽量减少因大鼠和豚鼠心肌细胞离子通道分布差异导致的药效评价差异。心室肌细胞动作电位 I 相(快速复极化相)的主要电流为 I_{to} 。研究发现,100 $\mu\text{mol/L}$ 的槐果碱能够显著抑制 I_{to} ,减少动作电位早期的外向钾离子流,从而减慢动作电位 I 相的复极速度。hERG 编码的钾离子通道在心脏动作电位复极化过程中发挥着关键作用^[30-32]。动作电位的 II 相平台期是包括内向整流钾流在内的外向电流与 L-型钙通道介导的向内电流相平衡的结果^[33]。结果显示,10~100 $\mu\text{mol/L}$ 的槐果碱对稳定表达于 HEK293 细胞的 hERG 电流具有浓度依赖性的抑制作用。二者的综合作用能够减慢复极化速度,从而延长 APD,这与光学标测结果相一致。有研究表明,100 $\mu\text{mol/L}$ 丹酚酸 B 能够显著抑制 I_{to} 和 I_{Ca-L} ,具有潜在的抗心律失常效果^[34]。本研究结果显示,相比于丹酚酸 B,槐果碱不仅只

作用于 I_{to} 和 I_{Ca-L} ,还对 hERG 电流有明显的抑制作用,但是其诱发尖端扭转性室性心动过速的风险较低^[35]。

哇巴因属于强心苷类化合物,是一种经典的致心律失常工具药,已被广泛用于筛选抗快速性心律失常药物的研究中^[36-37]。研究证实 80 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d}^{-1})$ 人参皂苷 Rg_2 预处理能缩短心律失常持续时间,降低死亡率和恶性心律失常发生率,显示出抗心律失常作用^[38]。本研究发现,50 mg/kg 的槐果碱能够显著增加豚鼠发生早搏和室颤所需的哇巴因剂量,显示了其在动物模型中的抗心律失常活性。

综上,本研究从离体-细胞-动物多水平综合评价了槐果碱的抗心律失常活性,为后续的成药性评价奠定了基础。然而,本研究仅是初步的药效评价结果,后续仍需通过详细的药代动力学研究和安全性评价,综合评估其成药潜力。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 陈璇,王雨峰,张筑欣,等.中国心律失常现状及治疗进展[J].中国研究型医院,2020,7(1):75-78.
- [2] Hammerer-Lercher A, Namdar M, Vuilleumier N. Emerging biomarkers for cardiac arrhythmias [J]. *Clin Biochem*, 2020, 75: 1-6.
- [3] Yang J, Ye K J, Zhang R, et al. The characteristics and molecular targets of antiarrhythmic natural products [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115762.
- [4] Saljic A, Heijman J, Dobrev D. Recent advances in antiarrhythmic drug therapy [J]. *Drugs*, 2023, 83(13): 1147-1160.
- [5] Huang Y J, Chen X H, Guo G H, et al. Sophocarpine inhibits the growth of gastric cancer cells via autophagy and apoptosis [J]. *Front Biosci*, 2019, 24(4): 616-627.
- [6] Weng M, Shi C H, Han H, et al. Sophocarpine inhibits tumor progression by antagonizing the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in castration-resistant prostate cancer [J]. *PeerJ*, 2022, 10: e14042.
- [7] Wang Q L, Wang T, Zhu L, et al. Sophocarpine inhibits tumorigenesis of colorectal cancer via downregulation of MEK/ERK/VEGF pathway [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42(11): 1830-1838.
- [8] Zhu L H, Zhu L Y. Sophocarpine suppress inflammatory response in human fibroblast-like synoviocytes and in mice with collagen-induced arthritis [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2017, 28(3): 120-126.
- [9] Zou F, Wang L, Liu H, et al. Sophocarpine suppresses NF- κ B-mediated inflammation both *in vitro* and *in vivo* and

- inhibits diabetic cardiomyopathy [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1219.
- [10] Jiang R Y, Fang Z H, Lai Y Y, *et al.* Sophocarpine alleviates intestinal fibrosis via inhibition of inflammation and fibroblast into myofibroblast transition by targeting the Sirt1/p65 signaling axis [J]. *Eur J Pharmacol*. 2024, 967: 176318.
- [11] Gao Y L, Jiang W L, Dong C H, *et al.* Anti-inflammatory effects of sophocarpine in LPS-induced RAW 264.7 cells via NF- κ B and MAPKs signaling pathways [J]. *Toxicol In Vitro*, 2012, 26(1): 1-6.
- [12] Jin Z J, Yang L X, Ding G T, *et al.* Sophocarpine against enterovirus 71 *in vitro* [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(4): 3792-3797.
- [13] Ren G, Ding G T, Zhang H Y, *et al.* Antiviral activity of sophoridine against enterovirus 71 *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 236: 124-128.
- [14] Wang F L, Wang H, Wang J H, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory activities of sophocarpine from *Sophora viciifolia* Hance [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 8893563.
- [15] 陈颖敏, 徐瑾, 李洪波, 等. 槐果碱对哇巴因诱发豚鼠室性心律失常的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2008, 27(8): 576-578.
- [16] 董扬, 张芬, 王文标, 等. 槐果碱抗心律失常的电生理机制研究 [J]. 中国现代医生, 2018, 56(19): 26-30.
- [17] 戚志平, 史珊珊, 赵学玲, 等. 槐果碱对 HERG 钾通道电生理功能的影响 [J]. 药科学报, 2008, 43(1): 44-49.
- [18] Yang Z F, Li C Z, Wang W, *et al.* Electrophysiological mechanisms of sophocarpine as a potential antiarrhythmic agent [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(3): 311-320.
- [19] 狄灵, 李睿萍, 杨成志, 等. 槐果碱抗缺血性心律失常的作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(18): 4508-4509.
- [20] Pertsov A M, Davidenko J M, Salomonsz R, *et al.* Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle [J]. *Circ Res*, 1993, 72(3): 631-650.
- [21] Varró A, Tomek J, Nagy N, *et al.* Cardiac transmembrane ion channels and action potentials: Cellular physiology and arrhythmogenic behavior [J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(3): 1083-1176.
- [22] Zou S H, Qiu S H, Su S, *et al.* Inhibitory G-protein-mediated modulation of slow delayed rectifier potassium channels contributes to increased susceptibility to arrhythmogenesis in aging heart [J]. *Heart Rhythm*, 2021, 18(12): 2197-2209.
- [23] Morad M, Salama G. Optical probes of membrane potential in heart muscle [J]. *J Physiol*, 1979, 292: 267-295.
- [24] Salama G, Lombardi R, Elson J. Maps of optical action potentials and NADH fluorescence in intact working hearts [J]. *Am J Physiol*, 1987, 252(2 Pt 2): H384-H394.
- [25] Berenfeld O, Efimov I. Optical mapping [J]. *Card Electrophysiol Clin*, 2019, 11(3): 495-510.
- [26] Jaimes R 3rd, Walton R D, Pasdois P, *et al.* A technical review of optical mapping of intracellular calcium within myocardial tissue [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(11): H1388-H1401.
- [27] Varró A, Lathrop D A, Hester S B, *et al.* Ionic currents and action potentials in rabbit, rat, and guinea pig ventricular myocytes [J]. *Basic Res Cardiol*, 1993, 88(2): 93-102.
- [28] Medei E H, Nascimento J H M, Pedrosa R C, *et al.* Antibodies with beta-adrenergic activity from chronic chagasic patients modulate the QT interval and M cell action potential duration [J]. *Europace*, 2008, 10(7): 868-876.
- [29] Puglisi J L, Yuan W L, Timofeyev V, *et al.* Phorbol ester and endothelin-1 alter functional expression of Na⁺/Ca²⁺ exchange, K⁺, and Ca²⁺ currents in cultured neonatal rat myocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300(2): H617-H626.
- [30] Sanguinetti M C, Jurkiewicz N K. Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents [J]. *J Gen Physiol*, 1990, 96(1): 195-215.
- [31] Noble D, Tsien R W. Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in cardiac Purkinje fibres [J]. *J Physiol*, 1969, 200(1): 205-231.
- [32] Trudeau M C, Warmke J W, Ganetzky B, *et al.* HERG, a human inward rectifier in the voltage-gated potassium channel family [J]. *Science*, 1995, 269(5220): 92-95.
- [33] Sanguinetti M C. HERG1 channel agonists and cardiac arrhythmia [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2014, 15: 22-27.
- [34] 冉玉琴, 李宁, 王蓉蓉, 等. 丹酚酸 B 对大鼠心室肌细胞瞬时外向钾电流和 L 型钙电流的阻滞作用 [J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2010, 24(4): 344-348.
- [35] Song T, Hao Y Y, Wang M Y, *et al.* Sophoridine manifests as a leading compound for anti-arrhythmia with multiple ion-channel blocking effects [J]. *Phytomedicine*, 2023, 112: 154688.
- [36] 宋凌鲲, 宋明宝, 王国强, 等. 牛磺酸镁对哇巴因致豚鼠心肌细胞心律失常模型钙离子通道的作用机制分析 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(32): 6255-6257.
- [37] 韩丽华, 王振涛, 陈舒茵, 等. 律复康胶囊对哇巴因致豚鼠心律失常模型的作用 [J]. 中国医药导报, 2010, 7(12): 36-37.
- [38] Gou D X, Pei X J, Wang J, *et al.* Antiarrhythmic effects of ginsenoside Rg₂ on calcium chloride-induced arrhythmias without oral toxicity [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(5): 717-724.