

REFERENCES

1. Niu XY, Ren ZH. A study of the structure-action relationships between some scopolin alkaloid derivatives and their effects on muscarinic receptors. *Acta Pharm Sin* 1984; **19**: 326-32.
2. Zhang JR, Zhan WZ, Pan LH, Sun ZH, He JR, Gong QL, et al. Central mechanism of respiratory control. *Prog Physiol Sci* 1982; **13**: 11-5.
3. Yao T, Lin RJ, Xu NS, He JR, Gong QL, Sun ZH, et al. Effects of microiontophoretically applied morphine on medullary respiratory neurones in the region of the solitary tract of rabbit. *Acta Physiol Sin* 1980; **32**: 117-22.
4. Uchida Y, Nomoto T. Effect of intracerebroventricular administration of chlorpromazine on the serum level of free fatty acids in rats. *Jpn J Pharmacol* 1982; **32**: 709-18.
5. Yu LC, Liu L. A study of the medullary nictitans-sensitive region in the rabbit. *Acta Physiol Sin* 1984; **38**: 424-30.
6. Bian CF, Zhou J, Hong XM, Yu XX. Effects of anti-cholinergic drugs on rabbit efferent phrenic discharges. *Acta Pharmacol Sin* 1991; **12**: 294-7.
7. Pan LH, Zhan WZ, Zhang JR. Relation between high-frequency oscillation in phrenic discharge and duration of inspiration. *Acta Physiol Sin* 1982; **34**: 49-54.
8. Bian CF, Xing SH, Shao LN, Qin W. Central inhibitory effects of pirenzepine. *Acta Pharmacol Sin* 1987; **8**: 396-9.
9. Xu NS, Zheng WA, Zhang JR. Respiratory response of diazepam in the rabbit. *Acta Physiol Sin* 1984; **36**: 25-32.

169-172

BIBLID: ISSN 0253-9756

Acta Pharmacologica Sinica 中国药理学报 1994 Mar; 15 (2); 169-172

19

槲寄生黄酮甙对心脏快反应动作电位的效应

吴维雄¹, 俞国瑞¹, 王彬尧, 钟戴三², 黄定九
(上海第二医科大学附属仁济医院心内科, 上海200002, 中国)

R972.2

Effects of *Viscum coloratum* flavonoids on fast response action potentials of hearts

WU Ji-Xiong¹, YU Guo-Rui, WANG Bin-Yao, ZHONG Dai-San², HUANG Ding-Jiu (Department of Cardiovascular Medicine, Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200002, China)

ABSTRACT The effects of the total flavonoids of *Viscum coloratum* (VCF) on the fast response action potentials (FAP) of canine Purkinje fibers and guinea pig ventricular papillary muscles were studied by glass-microelectrode technique. The effects of VCF on the

ionic currents through cellular membrane were analysed with selective ion blockers (CsCl, verapamil, and TEA⁻), respectively. VCF (100 µg·ml⁻¹) accelerated the repolarization of FAP and increased ΔERP/ΔAPD ratio, which were related to decreasing I₁ and increasing I₂. It was suggested that the anti-tachyarrhythmic mechanism of VCF was attributed to prolonging ERP relatively and to abolishing reentrant excitation.

KEY WORDS *Viscum coloratum*; flavones; anti-arrhythmia agents; action potentials

Received 1992-01-30

Accepted 1993-04-24

¹ Now in: Department of Cardiovascular Diseases, The First Affiliated Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230032, China.

² Laboratory of Cardiovascular Diseases, Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200002, China.

A 摘要 用玻璃微电极术观察 VCF 对狗心脏浦氏细胞和豚鼠心室乳头状肌细胞快反应动作电位 (FAP) 的影响; 并利用选择性膜通道阻滞剂初步分析 VCF 对 FAP 各相跨膜离子流的影响。100 µg·ml⁻¹ VCF 加速 FAP 复极进程, 使

ΔERP/ΔAPD 比值增加, 该作用与减少 I_{Ca} 及增加 I_K 有关. 提示 VCF 抗快速心律失常机制主要与其相对延长 ERP 消除折返有关.

关键词 槲寄生; 黄酮甙; 抗心律失常药; 动作电位

从桑寄生科植物槲寄生 *Viscum coloratum* (Komar) Nakai 茎叶中提取的双氢黄酮总甙 (total flavonoids, VCF)¹, 具强心、降压、增加冠脉流量等药理作用^{2,3}, 已制成注射液供临床使用, 动物试验及临床应用中均显示 VCF 有抗快速型心律失常作用^{4,5}, 但因缺乏药物对心肌细胞电生理影响的研究, 尚未能解释其抗心律失常的确切机制. 本文观察了 VCF 对离体心脏 FAP 的影响; 并利用选择性膜通道阻滞剂初步分析其对跨膜离子流的影响; 探讨该药抗心律失常的细胞电生理机制.

MATERIALS AND METHODS

杂种狗 (11.5 ± 2.4 kg) 8 只, 豚鼠 (270 ± 33 g) 30 只, 子 ↑ 不拘, 均无术前用药. 狗颈动脉放血, 豚鼠击晕后, 取心, 在充以 95% O₂ + 5% CO₂ 台氏液中制备狗“假腱” (false tendons) 及豚鼠心室乳头状肌标本. 分别将其固定于浴槽中用台氏液 (37 ± 0.5 °C, pH 7.4 ± 0.5) 灌流⁶.

采用常规玻璃微电极术, 记录细胞内 FAP 的方法与我们以前报道⁷相同. FAP 被驱动的基本刺激 (S₁) 频率 1 Hz, 波宽 2 ms, 强度为阈强度 2 倍. 在每 8 个 S₁ 中插入 1 个期前刺激 (S₂), S₁ - S₂ 在狗为 350 ms, 在豚鼠为 200 ms. S₂ 以 5 ms 步长负扫描, 直至 S₂ 不能引起 FAP 为止. 此最短 S₁ - S₂ 为有效不应期 (ERP). 以给药前、后 ERP 变化的绝对值为 ΔERP. 微电极插入细胞内得到 FAP 后, 至少稳定 1 h 后开始实验.

VCF 安甙剂, 由上海中药一厂提供, 鉴定结果见文献 (1); 维拉帕米 (verapamil, Ver) 安甙剂, 上海第十制药厂出品; 氯化铯 (CsCl) AR, 新疆有色冶金研究所出品; 四乙季铵 (TEA⁺) AR, 上海试剂一厂出品. 实验时用台氏灌流液稀释药物至所需浓度, 加药后台氏液 pH 不变.

结果均在同一细胞内获得, 经摄片放大后测量各参数, 采用给药前、后自身对照, 配对 *t* 检验进行统计学处理.

RESULTS

VCF 对 FAP 各参数的影响 狗浦氏细胞 (n=8) 经 VCF (100 μg·ml⁻¹) 处理 2 min 后即可见 FAP 发生变化, 10 min 后变化趋于稳定, 统计用药后 10 min 的结果表明 (Tab 1), FAP 的 V_{max} 和快速复极化 1 相幅度 (P₁A) 无显著变化; 最大舒张电位 (MDP) 及动作电位幅度 (APA) 略减少; 动作电位时程 (APD)、复极至

Tab 1. Effects of *Viscum coloratum* flavonoid (VCF, 100 μg·ml⁻¹) on fast action potentials of canine Purkinje fibers and guinea pig ventricular papillary muscles. $\bar{x} \pm s$. ^aP > 0.05, ^bP < 0.05, ^cP < 0.01 vs control.

Parameter	Purkinje fibers (n=8)			Ventricular muscles (n=17)		
	Control	VCF	Wash	Control	VCF	Wash
MDP (-mV)	-87 ± 5	-82 ± 6 ^c	-87 ± 5 ^a	-89 ± 3	-82 ± 4 ^c	-89 ± 3 ^a
RP (-mV)						
P ₁ A (mV)	30 ± 6	30 ± 6 ^a	30 ± 6 ^a			
APA (mV)	118 ± 6	111 ± 5 ^c	116 ± 6 ^a	121 ± 5	115 ± 6 ^c	120 ± 1 ^a
V _{max} (V/s)	761 ± 191	770 ± 170 ^a	746 ± 119 ^a	408 ± 111	375 ± 111 ^b	382 ± 110 ^a
APD (ms)	310 ± 56	284 ± 58 ^c	311 ± 58 ^a	133 ± 17	119 ± 29 ^c	131 ± 18 ^a
APD ₅₀ (ms)	209 ± 39	184 ± 38 ^c	202 ± 39 ^a	98 ± 13	95 ± 17 ^b	99 ± 17 ^a
APD ₉₀ (ms)	271 ± 45	254 ± 48 ^c	272 ± 49 ^a	120 ± 16	113 ± 18 ^c	119 ± 17 ^a
ERP (ms)	227 ± 52	213 ± 45 ^b	224 ± 59 ^a	109 ± 15	105 ± 17 ^c	111 ± 16 ^a
ΔERP/ΔAPD	1	0.7 ± 0.1		1	0.6 ± 0.1	

50 %动作电位时程 (APD₅₀) 及 90 %动作电位时程 (APD₉₀) 显著缩短; ERP 虽较用药前缩短, 但 ΔERP/ΔAPD 比值用药后显著增加, 故 ERP 相对延长。

用同样浓度 VCF 处理豚鼠心室乳头状肌细胞 (n=17) 10 min 后, 除 ERP 用药后不变外, 其余变化均同浦氏细胞。因心室乳头状肌 P₁A 不明显, 未做测量统计。

上述各变化在用不含 VCF 的台氏液冲洗 15 min 后, FAP 各参数可恢复至用药前水平。

选择性膜通道阻滞剂对 VCF 作用的影响
用 CsCl (20 mmol·L⁻¹) 处理豚鼠心室乳头状肌 (n=4) 15 min 后, FAP 的 RP 负值减少, APD 延长趋于稳定。在此浓度 CsCl 的灌流液中加入 VCF (100 μg·ml⁻¹), 继续灌流标本 10 min 可见 RP 负值再次减少; APD, APD₅₀ 及 APD₉₀ 显著缩短 (Tab 2)。

用 Ver (6 μmol·L⁻¹) 处理豚鼠心室乳头状肌 (n=5) 35 min 后, FAP 的平台消失变化趋于稳定, RP 及 APD 则无明显变化。在此浓度 Ver 的灌流液中加入 VCF (100 μg·ml⁻¹) 继续灌流标本 10 min, 可见 RP 负值略减少, APD, APD₅₀ 及 APD₉₀ 显著缩短。

用 TEA⁺ (20 mmol·L⁻¹) 处理豚鼠心室乳头状肌 (n=4) 100 min 后, FAP 的 APD 延长变化趋于稳定。在此浓度 TEA⁺ 的灌流液中加入 VCF (100 μg·ml⁻¹) 继续灌流标本 10 min, 可见 RP 负值减少; APD, APD₅₀ 及

APD₉₀ 显著缩短。

DISCUSSION

VCF 对狗心脏浦氏细胞和豚鼠心室肌细胞 FAP 的电生理效应在 2 min 出现, 10 min 趋于稳定, 冲洗药物 15 min 后作用消失, 表明 VCF 作用迅速, 维持时间较短, 作用具可逆性。

VCF 不影响狗和豚鼠 FAP 的 V_{max} 值, 提示药物对 FAP 0 相快速除极化中的快钠内向离子流 (I_{Na})¹⁸ 无作用。

VCF 不影响狗 FAP 的 P₁A 值, 提示药物对 FAP 1 相快速复极化中的正动态离子流 (I_{qr})¹⁷ 无作用。

文献报道, 20 mmol·L⁻¹ 浓度的 CsCl 在 1—2 min 内可阻断心脏浦氏细胞的时间非依赖性外向钾离子流 (I_{K1})¹⁸, 该离子流是 RP 产生的主要离子流¹⁸。我们用上述浓度 CsCl 灌流标本 15 min 后不能消除 VCF 轻度降低狗 MDP 及豚鼠 RP 的作用, 提示 VCF 影响 RP 的作用与 I_{K1} 无关。

VCF 对狗和豚鼠 FAP 影响的最主要变化是加速 FAP 2 相及 3 相复极化进程。现认为, 参与 2 相缓慢复极的主要内向离子流是慢内向离子流 (I_s), 其次尚有钠窗流; 主要外向离子流有时间依赖性钾离子流 (I_x) 及 I_{K1}。3 相快速复极与 I_s 逐步减少及外向钾离子流 I_x, I_{K1} 增加有关^{10,11}。凡减少内向离子流或/和增加外

Tab 2. Effects of *Viscum coloratum* flavonoids (VCF, 100 μg·ml⁻¹) on fast action potentials of guinea pig ventricular papillary muscles perfused with cesium chloride, verapamil, and tetraethylammonium. $\bar{x} \pm s$. *P < 0.05, ^bP < 0.05, ^cP < 0.01 vs CsCl, Ver, and TEA⁺, respectively.

Parameter	CsCl 20 mmol·L ⁻¹ (n=4)		Ver 6 μmol·L ⁻¹ (n=5)		TEA ⁺ 20 mmol·L ⁻¹ (n=4)	
	No VCF	+ VCF	No VCF	+ VCF	No VCF	+ VCF
RP (-mV)	-63 ± 6	-54 ± 7 ^b	-90 ± 1	-82 ± 5 ^b	-88 ± 6	-79 ± 6 ^c
APD (ms)	155 ± 14	136 ± 23 ^b	153 ± 13	133 ± 10 ^c	118 ± 13	138 ± 13 ^c
APD ₅₀ (ms)	100 ± 23	93 ± 25 ^b	101 ± 6	86 ± 5 ^b	109 ± 15	98 ± 12 ^b
APC ₅₀ (ms)	131 ± 17	120 ± 22 ^b	138 ± 12	119 ± 5 ^b	135 ± 11	123 ± 11 ^b

向离子流均使细胞内电位向负值改变有利于复极化。因 VCF 对 I_{Na} 及 I_{K1} 无影响, 故其加速 FAP 2 和 3 相复极化应该通过减少 I_{Ca} 和/或增加 I_s 的途径来实现。文献报道, Ver ($5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 约 30 min 可完全阻断 I_{Ca} ^[12]。我们用 $6 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 Ver 灌流标本 35 min 后, 不能消除 VCF 加速 FAP 复极化作用, 提示该作用与 VCF 增加 I_s 有关。文献报道, TEA⁺ ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 约在 2 h 内可阻断 I_s ^[13,14]。我们用该浓度 TEA⁺ 灌流标本 100 min 后, 不能消除 VCF 加速 FAP 复极化作用, 提示该作用与 VCF 减少 I_s 有关。上二作用有待电压钳或膜片钳研究进一步验证。

VCF 对快速型心律失常(如室早, 房颤)有效, 而对缓慢型心律失常(如窦缓, 传导阻滞)无效^[1]。折返形成是快速心律失常发生的重要机制之一, VCF 使 $\Delta\text{ERP}/\Delta\text{APD}$ 比值增大, 说明 VCF 缩短 APD 的程度较缩短 ERP 的程度更大, 故 ERP 相对延长, 这可使折返冲动较多机会落入不应期从而有利中止折返。这可能是 VCF 抗快速型心律失常的重要机制所在。

REFERENCES

- 1 Shanghai cooperative group of studing viscum coloratum. Studies of effective components of *Viscum coloratum* on treating angina pectoris. *Pharm Ind* 1977; **8** (3): 39-54.
- 2 Gu DG, Mao SY, Gu TH, Wu SW, Shen JQ. Laboratory studies of *Viscum coloratum* on circulation and myocardium. *Pharm Ind* 1981; **12** (12): 9-15.
- 3 Gu TH, Gu DG, Mao SY, Shen JQ. Observation of antiarrhythmic actions of *Viscum coloratum*. *Pharm Ind* 1983; **14** (5): 9-12.
- 4 Yu GR, Wang BY, Zheng DS, Huang MX, Gu BK, Chen YL, *et al*. Effect of higenamine on action potential of ventricular myocardial cell. *J Electrocardiol* 1985; **18** (1): 97-104.
- 5 Yu GR, Chao SY, Zheng DS, Huang MX, Bian YT, Cheng TO. Effect of higenamine on action potential of Purkinje and ventricular myocardial cells. *Acta Cardiol* 1985; **40**: 409-20.
- 6 Hondeghem LM. Validity of V_{max} as a measure of the sodium current in cardiac and nervous tissues. *Biophys J* 1978; **23**: 147-52.
- 7 Kenyon JL, Gibbons WR. Influence of chloride, potassium, tetraethylammonium on the early outward current of sheep cardiac Purkinje fibers. *J Gen Physiol* 1979; **73**: 117-38.
- 8 Isenberg G. Cardiac Purkinje fibers: cesium as a tool to block inward rectifying potassium current. *Pflugers Arch* 1976; **365**: 99-106.
- 9 Kurachi Y. Ionic mechanisms underlying the negative slope formation of the inward-rectifying potassium background current in ventricular cell of guinea-pig heart. *Jpn Heart J* 1986; **27** Suppl: 65-72.
- 10 Beeler GW, Reuter H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. *J Physiol* 1977; **268**: 177-210.
- 11 Noble D. Ionic mechanisms controlling the action potential duration and the timing of repolarization. *Jpn Heart J* 1986; **27** Suppl: 3-19.
- 12 Sperelakis N. Electrophysiology of calcium antagonists. *J Mol Cell Cardiol* 1987; **19** Suppl 2: 19-47.
- 13 Ito S, Surawicz B. Effect of tetraethylammonium chloride on action potential in cardiac Purkinje fibers. *Am J Physiol* 1981; **241**: H 139-144.
- 14 Stanfield PR. Tetraethylammonium ions and the potassium permeability of excitable cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1983; **97**: 2-67.