

环维黄杨星 D 抗心律失常与诱发心律失常作用的实验分析*

胡式冷 周念辉 范世藩 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提要 环维黄杨星 D(CVB)对离体豚鼠心室肌细胞的电活动有明显作用。CVB $1.2-3.6 \times 10^{-5}M$ 显著延长动作电位持续期与有效不应期, 抑制心肌自发活动及由哇巴因、异丙肾上腺素诱发的节律活动, 并能改善缺 O_2 心肌的动作电位; CVB 高于 $3.6 \times 10^{-5}M$ 会使动作电位变为带舒张期去极化的慢反应电位,

1980年12月19日收稿 1981年1月12日修回

* On poster presentation in The Bucharest International Congress on "Water and Ion in Biological System" in June 1980

并使细胞兴奋性明显下降。本文关于 CVB 作用于心肌细胞电活动的机理、其抗心律失常与诱发心律失常作用的可能机制及在临床应用中可能的危险等问题作了讨论。

关键词 环维黄杨星 D; 有效不应期; 舒张期去极化; 缓慢内向电流; 折返兴奋; 自律性; 室颤

黄杨 (*Buxus microphylla* var. *sinica*) 在本草纲目中载有行气活血、祛湿通络等作用。1969 年在安徽民间发现吞服黄杨木粉治疗“心病”的郭氏验方, 经试用对风心病与冠心病均有较好疗效⁽¹⁾。以后从黄杨木中分离到 5 种生物碱, 其中强碱部分的一个组份——环维黄杨星 D (以下简称 CVB) 能对抗家兔由垂体后叶素引起的心电图 ST-T 的改变, 对在体狗心和离体蛙心有强心作用⁽²⁾。临床试用 CVB 对心绞痛和心功能不全有效外, 还能对抗心律失常。本文报告用电生理方法研究 CVB 对离体豚鼠心室肌细胞兴奋过程的作用。

材料与方 法

材料及方法同前文⁽³⁾。

CVB 结晶粉末由南京空军后勤部卫生处提供, 配制成 10 mM (2.04 mg/ml) 的母液, 实验时按需要量加入灌流液中。

结 果

一、CVB 对心肌细胞动作电位的作用

CVB 对心肌细胞电活动的作用带有明显的剂量依赖性。较低浓度(如 $2.4 \times 10^{-5} \text{M}$) 的 CVB 在作用后约 10 min 动作电位 2 相电位水平稍稍压低, 且平台斜率增大。随药物作用时间增加, 第 2 相持续时间 (SPD) 明显延长, 同时第 3 相复极化速率减慢, 以至动作电位的持续期 (APD) 可长达药物作用前的一倍以上, 而细胞的静息电位 (RP) 与 0 相最大上升速率 (V_{\max}) 并不变化。图 1 是上述作用的一次记录。随作用时间继续增加, APD 并不继续延长, 相反有逐渐复原的趋势。

浓度高于 $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 的 CVB 作用使 SPD 的延长不如低浓度作用时明显, 当作用时间超

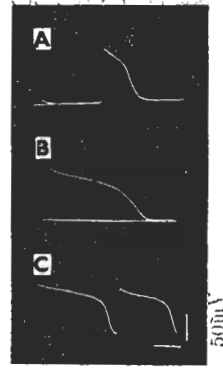


图 1 Effect of CVB $2.4 \times 10^{-5} \text{M}$ in prolonging SPD of action potential

A: control, B and C: 20 and 40 min after the addition of CVB. Horizontal scale: 200 ms for A and B, 400ms for C.

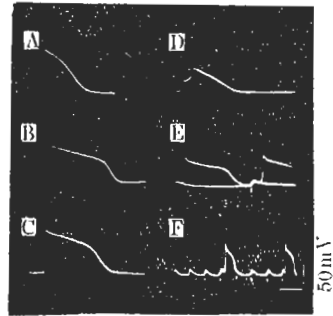


图 2 CVB $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ evoked slow response and lower excitability of the cells

A: control; B: the slowly rising response appearing 45 min after the addition of CVB; C: the action potential 28 min after the wash-out of CVB; D: over the course of 1 h following exposure to CVB, the excitability of the cell got lower, the excitation of neighbouring cells elicited only a local response of recorded cell followed by slow response; E: the record of two exposures superimposed in one film, at the first sweep, local responses were recorded; F: the slow sweep record from the same cell as that in E; Horizontal calibration was 200 ms for A to E, 1s for F.

过 30 min 后, V_{\max} 和 RP 均明显下降, 动作电位的形状变为类似由起搏细胞记得的慢反应电位, 如图 2B 所示, 此时洗去 CVB, 慢反应电位又逐渐恢复为带有快速去极化 0 相的动作电位, 见图 2C。该浓度的 CVB 持续作用会使

心肌细胞的兴奋性显著下降，邻近细胞的活动往往只能在所记录细胞引起一个局部反应，当它使膜电位上升至阈值便引起一个慢反应电位，局部反应与慢反应动作电位出现的时间间隔可达 100 ms，见图 2 D 的记录。从图 2 E, F 中可以看到，邻近细胞的每次活动并不都能引起一个动作电位，此外 V_{max} 明显减小，RP 从原来的约 -90 mV 降到 -50 mV 至 -60 mV 。

CVB 作用所引起的慢反应电位对外液 Na^+ 浓度变化不敏感(见图 3)，但却被外液中约 10 mM 的 Mn^{2+} 所完全抑制，此时 RP 并不发生任何变化(图 4)。

对于不同的标本要引起上述变化所需之 CVB 浓度有较大差异，可以相差 3-6 倍，且

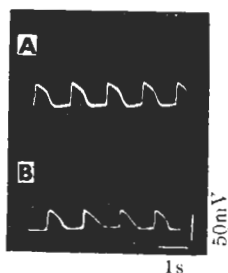


图 3 The slow response was insensitive to the change in extracellular Na^+ concentration

A: the slow response appearing 56 min after addition of CVB $3.6 \times 10^{-5}\text{ M}$; B: the record 5 min after the replacement of 75% Na^+ in bathing fluid by equimolar sucrose.

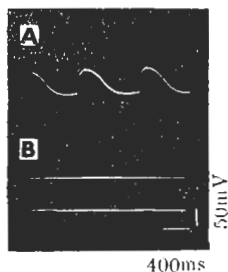


图 4 The slow response was completely abolished by CVB.

A: 30 min after the exposure to CVB $7.2 \times 10^{-5}\text{ M}$; B: 2 min after the addition of about 10 mM Mn^{2+} , the response lost, entirely while RP remained unchanged.

这些变化往往不是逐渐发生的，通常在 CVB 作用的一段时间内动作电位并不呈现变化的迹象，而在此后几分钟内突然明显出现。

二、CVB 抑制心肌自发活动的作用 在部分实验中，心肌会在没有明显外因作用下表现频率稳定的自发活动，从其节律的规则来看，这种自发活动多为单源性的。浓度在 $1.2-3.6 \times 10^{-5}\text{ M}$ 的 CVB 可以使自发活动频率减慢，甚至消失。另外 CVB 能完全消除由哇巴因诱发的高频节律活动，见图 5 记录。

实验中还比较了标本在异丙肾上腺素(ISO)与 CVB 共同作用下及在 ISO 单独作用下心肌的活动频率，发现 CVB 也能有力抑制由 ISO 引起的自发活动，见图 6。

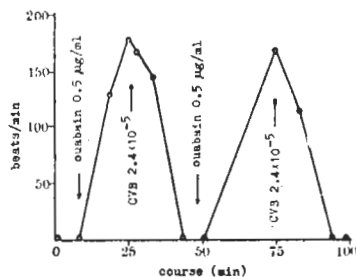


图 5 CVB inhibited the spontaneous activity induced by ouabain.

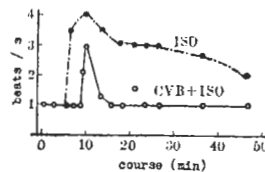


图 6 The depressing effect of CVB on the spontaneous activity of the cell induced by isoproterenol.

The cells were stimulated at the rate of 1 time/s throughout the experiment. The upper trace showed that the rate of the rhythmic activity of the cells quickly rose to 4-time/s soon after the addition of ISO ($1.4 \times 10^{-5}\text{ M}$) and then remained at higher level than the stimulus frequency; the lower trace showed the results of simultaneous treatment with CVB ($2.4 \times 10^{-5}\text{ M}$) and ISO. As the latent period of CVB action was rather long, the spontaneous activity-inducing effect of ISO was depressed in 10 min.

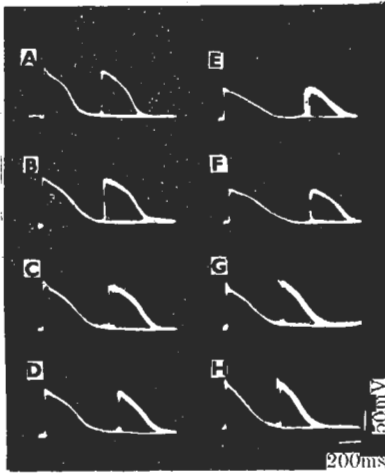


图 7 The reversible increase of APD and ERP by CVB.

A to E: after treating with CVB ($4.8 \times 10^{-5} M$);
F to H: after washout of CVB.

心肌细胞经 CVB 处理后, 除 APD 延长外, 有效不应期(ERP)的增加也十分明显, 而且 ERP 的增加往往更甚于 APD 的延长, 以致 ERP/APD 的值增加。这种变化也是可逆的。洗去药物后, 上述比值逐渐恢复, 见图 7 记录, 其中各图的 APD 与 ERP 值见表 1。

三、CVB 诱发心肌自发活动的作用 在某些 CVB 实验中, 心室肌自发活动会明显增加, 此时, 细胞的动作电位变为类似起搏细胞的慢反应, 并带有明显的舒张期自动去极化, 见图 8。当舒张期去极化至阈值, 便产生下一个动作电位, 这将使心室肌自律性大大提高。

四、CVB 对缺 O₂ 心肌动作电位的改善作用 减少通入灌流液的 O₂ 使心肌处于缺氧状态, 细胞的 APD 大大缩短, 2 相几乎完全消失。CVB 能使缺 O₂ 心肌的 SPD 与 APD 延长,

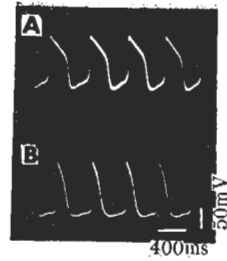


图 8 CVB caused slow response accompanied by a diastolic depolarization.

A: action potential of one cell recorded 45 min after exposure to CVB $3.6 \times 10^{-5} M$;
B: action potential of another cell recorded 90 min after the exposure.

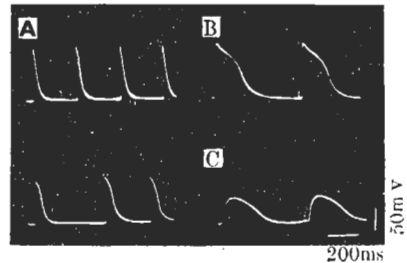


图 9 The effect of CVB on the action potential of myocardial cells under the condition of hypoxia.

A: action potential recorded from the cell under the condition of hypoxia for 2 h; B: 30 min after the addition of CVB $3.6 \times 10^{-5} M$;
C: as the treating course lasted 42 min, slow response took the place of normal one.

且形状变得比较正常(图 9)。在解剖显微镜下见到心肌的收缩比加药前明显加强。

讨 论

一、CVB 对心肌动作电位的作用机理

CVB $2.4 \times 10^{-5} M$ 对心肌细胞动作电位的主要效应是影响其第 2 相。已经知道, 平台期间随

表 1 The effects of CVB on PAD and ERP

	After treating with CVB ($4.8 \times 10^{-5} M$)					After washout of CVB		
	A	B	C	D	E	F	G	H
Time (min)	14	20	27	33	54	15	20	38
APD(ms)	333	350	363	380	380	376	297	281
ERP(ms)	357	393	429	500	512	500	369	321
ERP/APD	1.07	1.12	1.18	1.32	1.34	1.33	1.24	1.14

时间变化的膜电流的主要组份是 Ca^{2+} 所载的缓慢内向电流 (I_{si})⁽⁴⁾。按照适用于心肌的修正的 Hodgkin-Huxley 方程, I_{si} 可由两个分别控制激活与失活的门控参数 d 与 f 描述, 即

$$I_{si} = \bar{I}_{si} \cdot d \cdot f$$

且 d 与 f 分别遵循一级动力学方程⁽⁵⁾。从 CVB $2.4 \times 10^{-5} \text{M}$ 作用初期使 2 相电位水平压低及斜率增大来看, 它可能缩短到达 I_{si} 离子通道完全开启之时间, 使 d 参数在动作电位发展到平台初期已从完全激活状态的值开始下跌, 这将导致 Ca^{2+} 电导的稍稍下降。对心室肌而言, I_{si} 的失活提供了足够的外向正电荷流动, 而成为复极化电流的主要来源与平台终止的主要原因⁽⁵⁾。CVB 引起的 2 相平台明显延长强烈提示, CVB 显著改变 I_{si} 的失活过程。正常情况下, 当膜电位在 0 mV 水平时, 失活的时间常数约为 100 ms⁽⁶⁾, CVB 的作用可能使 f 参数随复极化发展的时间常数超过 100 ms。从而能使整个复极化过程推迟或减慢。另外由电压钳制技术在心肌得到的结果知道, I_{si} 的激活阈值在 -30 至 -40 mV⁽⁷⁾。而经 CVB $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 处理的心肌细胞, 当膜电位高于 -55 mV 甚至在 -70 mV 左右, 动作电位已变为类似起搏细胞的慢反应, 这种慢反应对外液 Na^{+} 浓度变化不敏感, 对 Mn^{2+} 却十分敏感⁽⁸⁾。这些事实指示, 由于 CVB 作用后在 -55 mV 以上激活的慢反应电位确实是 Ca^{2+} 所载的 I_{si} 引起的。由此推测 CVB 的另一作用可能是使 I_{si} 更易被激活, 使 d 参数对膜电位的依赖关系向超极化方向移动。

CVB $2.4 \times 10^{-5} \text{M}$ 对动作电位幅值与 V_{\max} 没有明显作用, 显示它对快速内向 Na^{+} 通道的激活过程不发生作用。上面已经提到, 当 CVB 作用使膜电位下降到 -60 mV 左右, 细胞活动时内向跨膜电流已基本不存在快速 Na^{+} 电流组份。而心室肌电压钳制实验结果指示, 即使膜电位下降至 -55 mV, Na^{+} 通道只失活 50%⁽⁷⁾。由此推测 CVB $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 可能使 Na^{+} 通道加速失活, 减小 h 参数发展的时

间常数, 使完全失活提前到达。此外引起 I_{si} 通道失活的另一原因可能是 CVB 激活 I_{si} 而引起舒张期去极化, 由于这种去极化发展缓慢, Na^{+} 系统可因不同程度的适应过程而失活⁽⁹⁾。

二、CVB 抗心律失常作用的类型及可能机制 根据对心肌细胞的电生理作用, 抗心律失常药物可分 4 型^(10,11)。CVB $2.4 \times 10^{-5} \text{M}$ 有明显的抗心律失常作用, 它使细胞的 APD 与 ERP 延长, 但不改变 V_{\max} 与动作电位幅值, 因而似可归入第 3 类。

能否使 ERP/APD 比值增大是衡量抗心律失常作用的重要指标⁽¹²⁾。从表 1 看, $4.8 \times 10^{-5} \text{M}$ 的 CVB 作用 50 min 后该比值增加 25%; 同时 APD 与 ERP 的绝对延长又保证心肌活动频率不致过高, 这两种状况均有利于减少折返兴奋发生的可能。

三、CVB 诱发心律失常作用的可能机制 高于 $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 的 CVB 作用超过 1 h 后, 心肌动作电位 0 相 V_{\max} 下降不仅导致它使邻近细胞的膜电位从静息值到达正常兴奋阈值的时间延长, 而且因适应过程使邻近细胞的兴奋阈值本身升高(向膜电位去极化方向移动), 这就更加延迟了到达该细胞兴奋阈值所需之时间, 从而使动作电位传导速度减慢。当存在因单向阻滞而引起折返兴奋的可能性时, 传导速度降低有利于折返回路的形成⁽¹³⁾。心肌细胞因 CVB 作用后, 动作电位变为带有明显舒张期去极化的慢反应电位, 这使心室肌细胞的自律性大大提高。上述两个因素的结果往往使心肌标本出现活跃的、多源性的自发活动。

四、临床使用 CVB 的可能危险 上面已指出, $3.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 以上的 CVB 作用往往使心肌细胞出现频繁的多源性自发活动。因此, 在临床使用 CVB 过量情况下, 不是没有引起室颤的可能性。此外 CVB 长时间作用引起细胞兴奋性下降, 甚至丧失产生动作电位的能力, 从而可能导致完全性传导阻滞。

CVB 诱发活跃的自发活动的剂量与安全使用剂量之比不超过 5 倍, 故临床使用时必须严格控制剂量, 用它作 iv 更需谨慎; 此外, CVB 作用往往突然出现, 故对上述一些并不期望的效应宜在适当时候采取一定的预防措施。

参 考 文 献

- 1 中国人民解放军 86489 部队卫生队. 中草药通讯 1977 年 8 月, (8):40
- 2 方泰惠、伍必英、姚明辉、孙瑞元、吴人川. 同上 1979 年 4 月, 10(4):33
- 3 范世藩、徐森根、周念辉. 生理学报 1979 年 4 月, 31(2):175
- 4 Beeler GW, Reuter H. *J Physiol (Lond)* 1970 Mar; 207(1):191

- 5 Hauswirth O. *Pharmacol Rev* 1978 Mar; 30 (1):3
- 6 Vitek M, Trautwein W. *Pflügers Arch Ges Physiol* 1971 Oct; 323(3):204
- 7 Beeler GW, Reuter H. *J Physiol (Lond)* 1970 Mar; 207(1):165
- 8 Ochi R. *Pflügers Arch Ges Physiol* 1970 Mar; 316 (1):81
- 9 Noble D, Stein RB. *J Physiol (Lond)* 1966 Nov; 187(1):129
- 10 Singh BN, Hauswirth O. *Am Heart J* 1974 Mar; 87(3):367
- 11 Vaughan Williams EM. *J Pharmacol Ther* 1975; 1:115
- 12 Bassett AL, Hoffman BF. *Annu Rev Pharmacol* 1971; 11:143
- 13 Moe GK. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1975; 72:55

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Jun; 2 (2) : 101—107

EXPERIMENTAL ANALYSIS OF THE ANTI-ARRHYTHMIC AND ARRHYTHMIA-INDUCING ACTIONS OF CYCLOVIROBUXINE D

HU Shi-ling, ZHOU Nian-hui, FAN Shi-fan

(Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Cyclovirobuxine D (CVB), an active principle of *Buxus microphylla* var. *sinica*, has some therapeutic effect on cardiac arrhythmia. This paper reported its effects on action potential of cardiac cells of isolated ventricular septum of guinea pig. CVB 1.2×10^{-5} M prolonged conspicuously the duration of action potential (APD) and even more the effective refractory period (ERP); it depressed spontaneous activity of myocardial cell as well as rhythmic activity induced by ouabain and isoproterenol. CVB could lengthen the duration of phase 2 (APD) of action potential which had already been shortened from hypoxia. CVB (above 3.6×10^{-6} M) decreased the depolarizing rate of

phase 0, but evoked the diastolic depolarization, thus the cell fired spontaneously; the slowly rising response was unaffected by 75% reduction of extracellular Na^+ concentration, but abolished completely by Mn^{2+} in bathing fluid. Over the course of 1 h following exposure to CVB, the cell lost excitability almost entirely. All these effects were reversible. It is then supposed that CVB may not only inactivate the fast inward current, but also decrease the extent of depolarization required for activation of the slow inward current (I_{si}), speed up the development of the activation process and slow down the inactivation process of this current component. The possible mechanisms of

antiarrhythmic and arrhythmia-inducing actions as well as the underlying hazard for the clinical application of CVB were discussed.

KEY WORDS Cyclovirobuxine D; effective refractory period; diastolic depolarization; slow inward current; reentry excitation; automaticity; ventricular fibrillation

* * * * *