

常咯啉阻滞心肌钠通道的计算机模拟及动力学分析

吴跃进¹、方达超 (同济医科大学药理教研室, 汉口 430030, 中国)

Modeling and kinetic analysis on changrolin block of cardiac Na⁺ channels

WU Yue-Jin¹, FANG Da-Chao
(Department of Pharmacology, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Modeling and kinetic analysis on changrolin (CRL) blockade of cardiac Na⁺ channels based on the model of gate-related receptor hypothesis were performed by using computer simulation. A simple procedure suitable for analyzing steady-state blocking data was developed and used in the present studies. CRL blocks activated Na⁺ channels, and with the onset rate of 0.0347 AP⁻¹ at driving rate of 1.0 Hz. The time constant of recovery from block at resting potential of -81 mV was 43.29 s, and increased with hyperpolarization, which suggested that CRL might be trapped in channel by activation gate. The studies also showed no shift on the h_{∞} curve in the presence of CRL. All these studies lead us to suggest that the binding site of CRL in Na⁺ channel is activation gate-related receptor site.

KEY WORDS changrolin; quinazolines; sodium channels; computer simulation; anti-arrhythmia agents

提要 根据闸门相关受体假说及模型, 应用计算机模拟方法研究了常咯啉阻滞心肌钠通道的动力学特点及状态依赖性。模拟得到在刺激频率 1.0 Hz 时常咯啉的表观阻滞起效速率为 0.0347 AP⁻¹, 静息电位 -81 mV 时的阻滞恢复时间常数为 43.29 s, 表明其阻滞钠通道的动力学特点为阻滞起效及恢复均慢。其阻滞的状态依赖性为开放态阻滞, 并可被激活门滞留。

关键词 常咯啉; 喹唑啉类; 钠通道; 计算机模拟; 抗心律失常药

常咯啉(changrolin, CRL)为我国研制的抗心律失常新药⁽¹⁾。刘启营等⁽²⁾在心肌单细胞

上研究了 CRL 对动作电位 V_{max} 的影响, 得到其在刺激频率 1.0 Hz 时抑制 V_{max} 的起效速率为 $0.036 \pm 0.004 \text{ AP}^{-1}$, 提示其属 Ic 类药, 但其他包括阻滞恢复速率在内的详细动力学特点及阻滞钠通道的状态依赖性特点尚待阐明。

根据我们提出的闸门相关受体假说, I 类抗心律失常药在钠通道有两个分别与激活门或失活门相关的受体部位, 作用于不同闸门相关受体的药物受不同的闸门调控, 因而表现出不同的状态依赖性阻滞。依据此设想及相应的数学模型, 我们模拟分析了 CRL 阻滞心肌钠通道的动力学特点及状态依赖性, 进一步阐明了其阻滞钠通道的作用机制。

MATERIALS AND METHODS

抗心律失常类的钠通道阻滞剂可与心肌细胞钠通道上的特异受体结合并阻滞 Na⁺ 内流⁽³⁾。药物与通道受体的基本作用可用经典的药物-受体反应方程的形式表示:



其中 C 为未阻滞通道, D 为药物, CD 为药物与受体结合的分率, 亦即被阻滞的通道分率。K, L 分别为结合及解离速率常数。

与通常的药物-受体相互作用不同的是, 通道阻滞剂与受体的相互作用要受门控变化及膜电场的影响, 表现为此类药物作用的电压依赖性及频率依赖性, 亦可称为状态依赖性 (state-dependency)。因而, 要描述通道阻滞剂的这种特点必须要考虑门控及膜电场对药物-受体相互作用的影响。

我们假定钠通道内有两个分别受激活门或失活门调控的受体部位, 即激活门相关受体 Ar 和失活门相关受体 Ir。药物可与其中一个

Received 1990 Jun 16 Accepted 1991 Jan 28
¹ Now in Department of Pharmacology, Zhanjiang Medical College, Zhanjiang 524023, China

受体部位相结合, 或对其有高亲和力. 我们用两个状态(电压)依赖性函数 $f(v)$, $g(v)$ 来描述药物作用于不同闸门相关受体时, 门控变化的影响. $f(v)$ 表示未阻滞通道中(处于)可结合态的通道分数, $g(v)$ 表示已阻滞通道中药物可解离的通道分数. 其基本公式如下:

与激活门相关受体 A_r 结合的药物
季胺类药物 $f(v) = m^3h$, $g(v) = m^3h$ (2)

叔胺类药物 $f(v) = m^3$, $g(v) = m^3$ (3)

中性类药物 $f(v) = g(v) = 1$ (4)

与失活门相关受体 I_r 结合的药物
 $f(v) = 1-h$, $g(v) = 1$ (5)

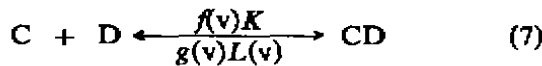
上述各式中 m , h 分别为钠通道的激活门变量和失活门变量, 其值可由心肌钠通道电流的 Ebihara & Johnson 模型⁽⁴⁾中的门控动力学方程求得.

药物与通道受体的解离速率亦受膜电场的影响, 在膜电位变化时, 解离速率的变化可用下式表达:

$$L(v) = L \exp(-zvF / RT) \quad (6)$$

其中 z 为药物分子的电荷数, v 为膜电位, F 为法拉第常数, R 为普适气体常数, T 为热力学温度.

综合上述对各影响因素的描述, 通道阻滞剂与受体的相互作用可表示如下:



设通道阻滞分数为 b , 未阻滞通道分数为 $1-b$, 则阻滞的时间过程可表示为:

$$db / dt = f(v)KD(1-b) - g(v)L(v)b \quad (8)$$

解得 $b(t) = b(\infty) + (b(0) - b(\infty)) \exp(-t / \tau)$ (9)

其中 $b(0)$ 为零时刻的初始阻滞, $b(\infty)$ 为平衡阻滞,

$$b(\infty) = 1 / (1 + g(v)L(v) / f(v)KD) \quad (10)$$

时间常数 $\tau = 1 / (f(v)KD + g(v)L(v))$ (11)

在心肌细胞周期性兴奋时, 通道也随之启闭. 药物对通道的阻滞作用在其解离小于结合的情况下将表现出进行性地发展, 即频率依

赖性地阻滞作用增强. 如用(9)式求得每一兴奋间期的阻滞, 将前一兴奋间期未恢复的阻滞作为后一兴奋间期阻滞发展的初始阻滞, 则通过一系列的递推可得到第 n 次兴奋后所达到的阻滞 b_n 为

$$b_n = b_{ss} + (b(0) - b_{ss}) \exp(-nr) \quad (12)$$

其中 b_{ss} 为稳态阻滞, r 为表观阻滞起效速率, r 可表示为兴奋间期阻滞起效速率 r_a 和阻滞恢复速率 r_b 的加权和:

$$r = r_a + r_b \tau \quad (13)$$

其中 τ_e 为兴奋除极时间, τ_r 为静息时间.

为能利用实验易得的稳态阻滞数据求解动力学参数, 根据由(9)式递推得到的稳态阻滞公式如下:

$$b_{ss} = (E(\infty)(1 - \exp(-rate)) \exp(-r_b \tau) + R(\infty)(1 - \exp(-r_b \tau))) / (1 - \exp(-r)) \quad (14)$$

式中 $E(\infty)$, $R(\infty)$ 分别为兴奋间期及静息间期达到的平衡阻滞. 将上式进一步变换得

$$b_{ss} = E(\infty) + (1 - \exp(-r_b \tau))(R(\infty) - E(\infty)) / (1 - \exp(-rate - r_b \tau)) \quad (15)$$

利用上式拟合实验所得的在不同刺激频率下药物所达到的稳态阻滞数据, 可求出 $E(\infty)$, $R(\infty)$, r_b 和 r_a , 进而可解出其它动力学参数.

关于药物对通道表观稳态失活曲线的影响, 我们认为可用药物使可开放通道总数减少来描述. 如用 h_a 表示通道表观失活变量, h 表示正常失活变量, 则在药物阻滞通道的情况下, 只有 $(1-b)$ 的可开放通道分数, 则

$$h_a = h(1-b) \quad (16)$$

当阻滞达到平衡时,

$$h_a = h(1 / (1 + f(v)KD / g(v)L(v))) \quad (17)$$

由上式可见, 表观失活曲线的偏移取决于药物作用的不同闸门相关受体, 药物与受体结合的亲和力及药物浓度, 以及膜电场的作用. 根据 $f(v)$, $g(v)$ 的定义, 理论分析及模拟结果表明, 作用于失活门相关受体的药物将使稳态失活曲线向更负的方向平行偏移, 而作用于激活门相关受体的药物依其与受体结合的亲和力可

使稳态失活曲线向超极化方向非平行偏移或不偏移, 其偏移特点是电位越负偏移越大。

对于作用于激活门相关受体的药物, 其解离亦可受激活门调控, 表现在激活门关闭时对已结合的药物滞留(trap)作用⁽⁸⁾。这种作用将阻碍药物解离, 使阻滞恢复时间常数随激活门的关闭(膜电位复极)而延长。滞留作用通过对 $g(v)$ 的定义来表达。

RESULTS

根据刘启营等⁽²⁾报道的在刺激频率 0.5 Hz, 1.0 Hz 和 2.0 Hz 时, CRL $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 频率依赖性地抑制心肌动作电位 V_{max} 所达到的稳态阻滞分别为 $32 \pm 4\%$, $36 \pm 6\%$ 和 $41 \pm 6\%$ 。我们利用此数据(稳态阻滞取均值), 以 V_{max} 作为反映钠电流的指标, 用上述模型和方法模拟分析了 CRL 阻滞钠通道的动力学机制, 结果如下:

1 频率依赖性阻滞的动力学特点 计算在刺激频率为 0.5 Hz, 1.0 Hz, 2.0 Hz 时 CRL 抑制动作电位 V_{max} 的表观阻滞起效速率 r 分别为 0.058 AP^{-1} , 0.0347 AP^{-1} 和 0.023 AP^{-1} 。静息电位 -81 mV 时的阻滞恢复时间常数为 43.29 s。其动力学特点为阻滞起效及静息阻滞恢复均慢。

2 状态依赖性阻滞特点 计算 CRL 在除极期阻滞钠通道所达到的平衡阻滞为 0.56, 静息期平衡阻滞为 0.26, 表明 CRL 主要作用于钠通道的激活及/或失活态, 对静息态的钠通道亲和力较低。

通过变换 $f(v)$, $g(v)$ 的不同设置模拟分析发现: CRL 阻滞钠通道的作用主要受激活门控变化影响, 其与钠通道受体的表观亲和力随激活门控及膜电位的变化(Fig 1a, Fig 1b)提示其对激活态亲和力高。CRL 的阻滞恢复时间常数随激活门的关闭(膜电位复极)而延长(Fig 2), 提示与通道结合的 CRL 可被激活门关闭所滞留。

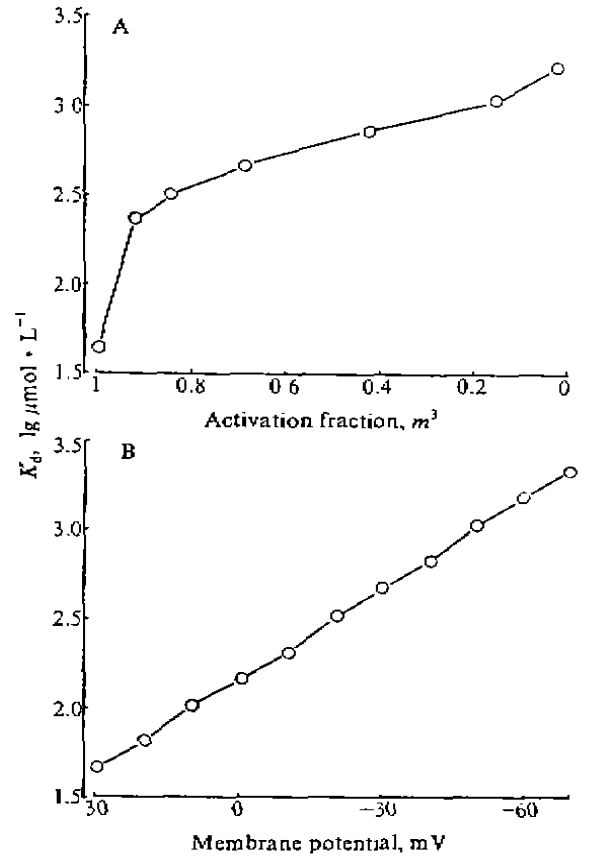


Fig 1. Dependence of the apparent affinity K_d of changrolin binding to cardiac Na^+ channels on activation gate m^3 (A) or membrane potentials (B).

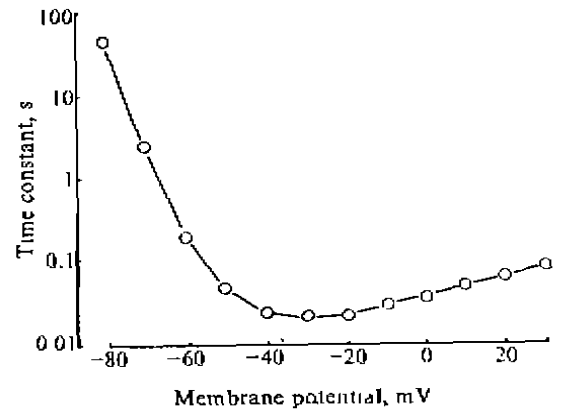


Fig 2. Dependence of the time constants of recovery from block of Na^+ channels on membrane potentials at changrolin $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

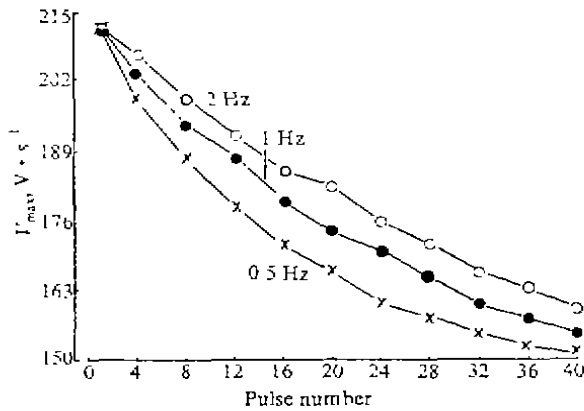


Fig 3. Predicted use-dependent inhibition of V_{max} by changrolin. The curves from bottom to top represented V_{max} decline in the presence of changrolin $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ at stimulation rate 0.5–2.0 Hz.

用上述结果模拟刘等⁽²⁾的实验, 得到在不同刺激频率时 CRL 频率依赖性抑制 V_{max} 的动态过程(Fig 3).

3 对钠通道稳态失活曲线的影响 根据(17)式及上述计算结果模拟 CRL 对钠通道稳态失活曲线的影响(Fig 4), 可见其对该曲线几无影响. 此与前述 CRL 主要作用于钠通道激活态或与 Ar 结合的分析结果一致.

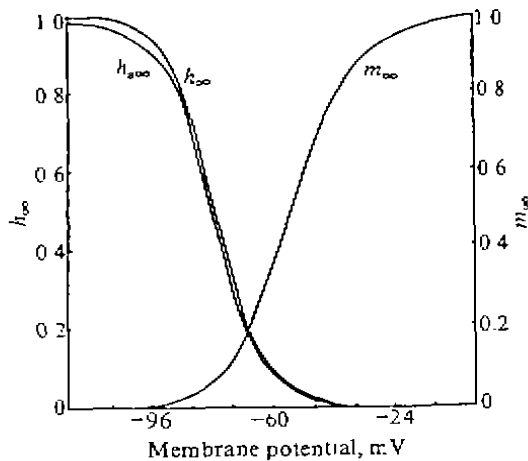


Fig 4. Model-predicted effect of changrolin $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on steady-state inactivation of cardiac Na^+ channels. The h_{∞} curve: apparent h_{∞} curve in the presence of changrolin.

DISCUSSION

我们用模型计算所得在刺激频率 1.0 Hz 时 CRL 阻滞钠通道的起效速率与实验⁽²⁾报道结果相当一致. 此外还得出在刺激频率 0.5 Hz 和 2.0 Hz 时的阻滞起效速率. 计算所得 CRL 在膜电位 -81 mV 时的阻滞恢复时间常数为 43.29 s , 这与实验⁽²⁾发现冲洗 10 min 后, CRL 的作用仅可部分恢复是一致的. 上述结果不仅提供了 CRL 阻滞钠通道的更多的动力学数据, 且进一步阐明了其阻滞起效及恢复的动力学特点, 证实了 CRL 确属 Ic 类抗心律失常药.

对 CRL 阻滞钠通道状态依赖性特点的分析提示其主要作用于开放态或与激活门相关受体结合, 激活门的关闭可将 CRL 滞留于通道内, 导致其较慢的静息阻滞恢复. 计算的静息态平衡阻滞似乎比实验⁽²⁾表明的静息阻滞大, 其差异的产生有待于进一步实验检验. 但据 Brown⁽⁵⁾报道的 CRL 类似药 ACC-9358 具有与 CRL 类似的阻滞钠通道特点, 其静息阻滞为 $15.3 \pm 1.8\%$ (ACC-9358, $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$). 而我们计算所得 CRL $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 产生的静息态平衡阻滞为 26% 似有一定的合理性. 实验⁽²⁾发现冲洗 10 min 后, CRL 的作用仅可部分恢复也表明 CRL 具有一定的静息态平衡阻滞. 我们认为这是由于 CRL 被激活门滞留所导致的表观静息阻滞.

从 CRL 对稳态失活曲线的影响可见仅在此 -80 mV 更负的电位有很小的偏移, 此亦可认为是由于静息阻滞恢复受阻造成的表观偏移, 而该曲线中点几无偏移, 从而支持 CRL 作用于钠通道激活态的结论.

根据 CRL 阻滞钠通道的动力学特点可推测其对单个早搏的作用较差, 而对各种持续性, 快速心律失常效果较好, 这已有临床证实^(6,7). 由于 CRL 较慢的静息阻滞恢复, 故在正常心率时亦可能有一定的心脏抑制作用.

这可解释 CRI 在快速静注时导致的 P-R 延长, QRS 增宽等现象。

利用闸门相关受体模型对 CRL 阻滞钠通道作用分析的结果与实验及临床观察结果基本一致且进一步阐明了 CRL 阻滞心肌钠通道的作用机制。

REFERENCES

1 Li LQ, Qu ZX, Wang ZM, et al. Studies on a new antiarrhythmic drug changrolin — 4-(3',5'-bis((N-pyrrolidiny)methyl)-4'-hydroxy-anilino)-quinazoline. *Sci Sin* 1979; 22: 1220

2 Liu QY, Chen WZ, Wei PJ, Gu PK, Jin ZI. Electrophysiological effects of changrolin on single ventricular myocytes isolated from adult guinea pig. *Acta Pharmacol Sin* 1989; 10: 526

3 Hill RJ, Duff HJ, Sheldon RS. Class I antiarrhythmic drug receptor: biochemical evidence for state-dependent interaction with

quinidine and lidocaine. *Mol Pharmacol* 1989; 36: 150

4 Ebihara L, Johnson EA. Fast sodium current in cardiac muscle: a quantitative description. *Biophys J* 1980; 32: 779

5 Brown BS. Electrophysiological effects of ACC-9358, a novel class I antiarrhythmic agent, on isolated canine Purkinje fibers and ventricular muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248: 552

6 Xu JM, Yang XY, Li ZS, et al. Changrolin by intravenous administration in the treatment of arrhythmia. *New Drugs Clin Remedy* 1987; 6: 133

7 Chen WZ, Li LQ. A new antiarrhythmic drug — changrolin. *New Drugs Clin Remedy* 1982; 1: 64

8 Yeh JZ, Tanguy J. Na channel activation gate modulates slow recovery from use-dependent block by local anesthetics in squid giant axons. *Biophys J* 1985; 47: 685

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Jul; 12 (4) : 367-371

体外培养的细粒棘球蚴囊对甲苯达唑、阿苯达唑和阿苯达唑亚砷的摄入与释放¹

尤纪青、肖树华、郭惠芳、焦佩英

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025, 中国)

柴君杰、焦伟 (新疆自治区地方病防治研究所, 乌鲁木齐 830002, 中国)

Uptake and release of mebendazole, albendazole and albendazole sulfoxide by secondary cysts of *Echinococcus granulosus* in vitro

CHAI Jun-Jie, JIAO Wei
(Xinjiang Institute for Endemic Disease Control and Research, Urumqi 830002, China)

YOU Ji-Qing, XIAO Shu-Hua, GUO Hui-Fang, JIAO Pei-Ying (Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine; WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT Mebendazole (Meb), albendazole (Alb) or albendazole sulfoxide (AlbSO) were taken rapidly in vitro by secondary cysts of *Echinococcus granulosus* removed out from mice infected with protoscoleces 8-9 months previously. The amounts of the drugs taken by the cysts were apparently increased followed by exposure of the cysts to the drugs at 10 µg · ml⁻¹. The Alb penetrated into the cysts was distributed mainly in cyst wall, whereas the content

Received 1990 Jun 12 Accepted 1991 Mar 15
¹ Project supported by the Scientific Foundation of Public Health of Ministry of China. No 88109051