

蝙蝠葛碱阻滞心肌钠通道的定量研究

吴跃进¹, 方达超 (同济医科大学药理教研室, 汉口 430030, 中国) R965.1

Quantitative studies on dauricine block of cardiac sodium channels

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

ABSTRACT Quantitative studies on kinetics of dauricine (Dau) blockade of cardiac sodium channels based on the model of gate-related receptor hypothesis were performed by using computer simulation. The time constant of recovery from blocking of Dau at holding potential -80 mV was 9.8 s and increased with membrane potential hyperpolarization, which suggested that Dau might be trapped in channel by activation gate. The apparent rate of onset of blocking of Dau was 0.33 / pulse at stimulation frequency of 1.0 Hz. These results showed that Dau blocks sodium channel in a fast-in-slow-out (FISO) fashion. The binding rate of drug-receptor at clamping potential -50 mV was 753 $\text{kL} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, the unbinding rate was 32.86 / s, with K_d of 44 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ which coincided reasonably with documented IC_{50} value of 46 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for inhibition of sodium current. The studies also showed a shift by -4 mV on the mid-point of h_{∞} curve. All these studies lead us to suggest that the binding site of Dau in cardiac sodium channel is activation gate-related receptor site.

KEY WORDS dauricine; sodium channels; computer simulation; anti-arrhythmia agents

提要 根据闸门相关受体假说及模型, 应用计算机模拟研究了蝙蝠葛碱阻滞心肌钠通道的动力学特点及其作用的状态依赖性。模型预测蝙蝠葛碱在刺激频率 1.0 Hz 时的表现阻滞起效速率为 0.33 / pulse, 膜电位 -80 mV 时的阻滞恢复时间常数为 9.8 s, 表明其具有起效快, 恢复慢的动力学特点。其阻滞依赖于通道的开放, 并可被激活门滞留。

Received 1991 Apr 20 Accepted 1991 Jun 14
¹Now in Department of Pharmacology, Zhanjiang Medical College, Zhanjiang 524023, China

关键词 蝙蝠葛碱; 钠通道; 计算机模拟; 抗心律失常药

蝙蝠葛碱(dauricine, Dau)为已经临床和实验证实的抗心律失常药⁽¹⁾。电压钳实验表明⁽²⁾其具有阻滞钠通道作用, 但其阻滞钠通道的动力学特点及状态依赖性尚未见报道。

根据我们提出的闸门相关受体假说⁽³⁾, 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, 作用于不同受体的药物受相应的门控调控, 因而药物的阻滞作用表现出状态依赖性。通过模拟不同门控变化对药物作用的影响, 可以弄清药物作用的动力学及状态依赖性特点。据此设想及其数学模型, 我们对 Dau 阻滞钠通道的作用所作的定量研究进一步阐明了其抗心律失常的作用机制。

MATERIALS AND METHODS

宗贤刚⁽²⁾采用电压钳方法研究了 Dau 对心肌浦氏纤维钠电流的抑制作用。在保持电位 -80 mV, 钳制电位 -50 mV 分别记录了刺激频率 0.33 , 1.0 和 3.3 Hz 时, Dau 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 频率依赖性地抑制钠电流所达到的稳态阻滞分数为 0.21 , 0.33 和 0.42 。

根据以上数据, 我们用闸门相关受体模型及分析方法模拟分析 Dau 阻滞心肌钠通道的动力学过程及其阻滞作用的状态依赖性。具体方法参见文献(4), 心肌浦氏纤维钠通道门控动力学模型采用了 D-N 模型⁽⁵⁾中的相应方程。

RESULTS

1 频率依赖性阻滞的动力学特点 根据模型计算得到在刺激频率 0.33 , 1.0 和 3.3 Hz 时 Dau 阻滞钠通道的表现起效速率 r 分别为

0.535, 0.33 和 0.259 / pulse. 在膜电位 -80 mV 时阻滞恢复时间常数为 9.8 s. 其动力学特点为阻滞起效快而静息期阻滞恢复慢.

2 状态依赖性阻滞特点 根据模型计算在膜电位固定在 -50 mV 时 Dau 阻滞钠通道所达到的平衡阻滞分数为 0.478, 而在膜电位 -80 mV (静息态) 时平衡阻滞分数为 0.058, 表明 Dau 对静息态的钠通道几无作用, 这与实验观察结果⁽²⁾一致.

为弄清 Dau 阻滞钠通道的作用依赖于激活态还是失活态, 我们分别采用了不同的状态依赖性函数 $f(v)$ 和 $g(v)$ 进行模拟分析发现: Dau 阻滞钠通道的作用主要受激活门控变化影响, 随着激活门的开放 ($m^3 \rightarrow 1$) Dau 与通道受体的亲和力增大 (Fig 1). Dau 的阻滞恢复时间常数随着激活门的关闭 (膜电位复极化) 而延长 (Fig 2), 提示激活门的关闭可将结合的 Dau 滞留 (trap) 在通道内. 这表明通道的开放不仅有利于药物与受体的结合, 且有利于药物的解离. 分别计算去极化 1.0 ms 和 200 ms 间期 Dau 的阻滞起效时间常数分别为 4.37 ms 和 800 ms, 表明当通道进入失活态 (失活门关闭) 后阻滞起效速率大大减慢.

分析在不同膜电位时 Dau 所达到的平衡

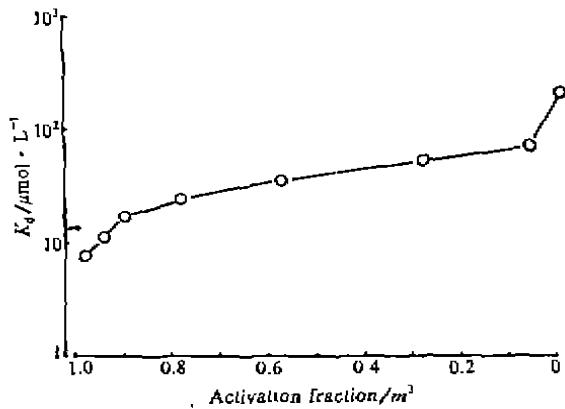


Fig 1. Simulated dependence of apparent affinity K_d of dauricine binding to cardiac sodium channels on activation fraction (m^3) of sodium channels.

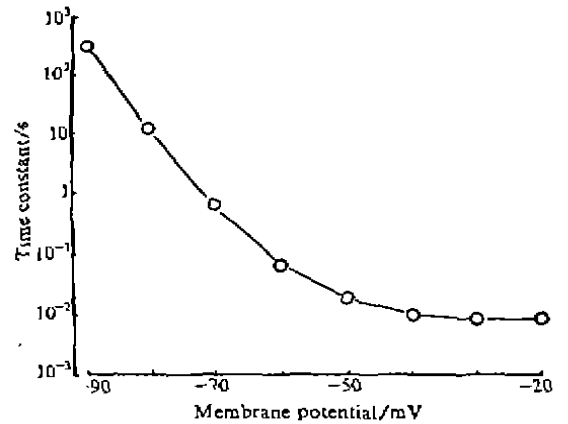


Fig 2. Dependence of time constants of recovery from block of sodium channels on membrane potentials in dauricine $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

阻滞与钠通道激活过程的关系 (Fig 3), 可见在 -40 mV 阻滞曲线与激活曲线交叉, 在较 -40 mV 为正的电压 Dau 所达到的平衡阻滞与通道的开放分数之比相对弱于在较 -40 mV 为负的电压所达到的平衡阻滞与通道开放分数之比. 这一结果与文献 (2) 的 I-V 曲线的结果一致.

上述结果提示 Dau 主要作用于钠通道的激活态. 据模型计算得到其与钠通道激活门相关受体的固有结合速率 K 为 $2.73 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 解离速率 L 为 18.28 / s, 则平衡解离常数 K_d 为 $6.69 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 在膜电位 -50 mV 时, 其表现 K_d 为 $44 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 此与实验所得 Dau 在钳制电压 -50 mV 时抑制钠电流的 IC_{50} 值 $46 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 十分接近.

用上述结果模拟文献 (2) 的实验, 得到实验未能记录的在不同刺激频率时 Dau 频率依赖性抑制钠电流的动态过程 (Fig 4).

3 对钠通道稳态失活曲线的影响 根据模型及上述数据模拟 Dau 对心肌浦氏纤维钠通道稳态失活 h_∞ 曲线的影响 (Fig 5), 可见 Dau 仅使 h_∞ 曲线中点向超极化方向偏移约 4 mV, 且呈非平行偏移及偏移随膜电位超极化

而加大的特点(如表观稳态失活曲线 $h_{s\infty}$ 所示).

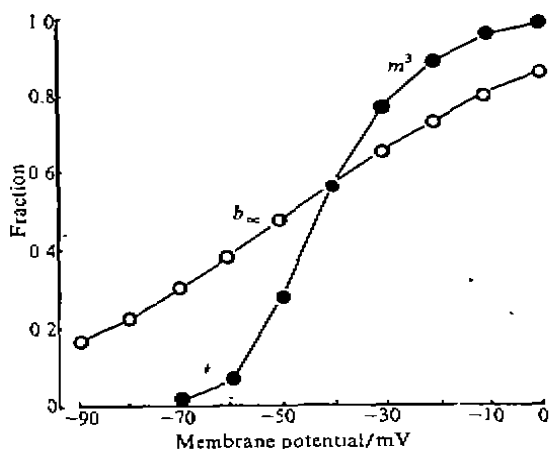


Fig 3. Relation between activation process of sodium channels and equilibrium blocking after dauricine $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ at various membrane potentials. b_{∞} : Equilibrium blocking. m^3 : Activation fraction of sodium channels.

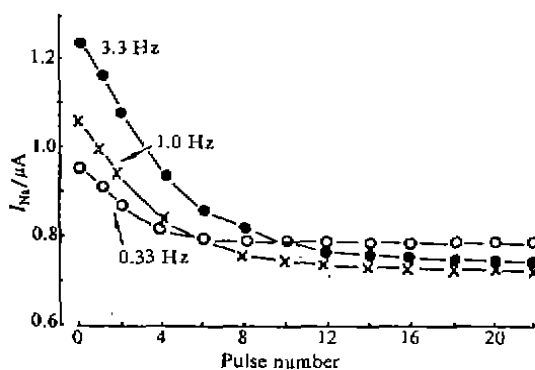


Fig 4. Simulated use-dependent inhibition of sodium current (I_{Na}) by dauricine. The curves from top to bottom represented I_{Na} declines in dauricine $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ at stimulation rate of 3.3, 1.0, and 0.33 Hz respectively.

DISCUSSION

Campbell⁽⁶⁾根据 I 类抗心律失常药抑制动作电位 V_{max} 的动力学特点将其分为快, 中,

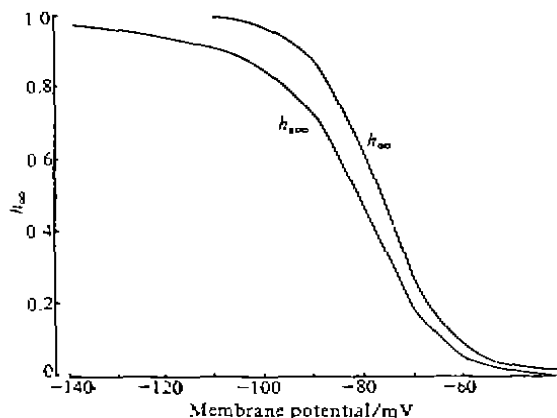


Fig 5. Model-predicted effect of dauricine $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ on steady-state inactivation (h_{∞}) curve of cardiac sodium channels. $h_{\infty\infty}$: Steady-state inactivation curve in drug-free condition. $h_{\infty s}$: Apparent steady-state inactivation curve in dauricine $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

慢三类, 恰相应于 Ib, Ia 和 Ic 类. Ib 类的动力学特点为阻滞起效及恢复均快, 即所谓的快进快出 (fast-in-fast-out, FIFO). Ic 类则为慢进慢出 (SISO), Ia 类居中. 对 Dau 阻滞钠通道动力学特点的分析表明其为快进慢出类 (FISO), 从而在动力学上证实了 Dau 为不能归于 Ia, Ib, Ic 类的新型抗心律失常药的说法⁽²⁾. 由其动力学特点可推测其对各种早搏及快速型心律失常有效, 但其较慢的静息阻滞恢复有可能引起传导阻滞, 心动过缓等毒性反应. 这些已得到临床应用结果^(7,8)的证实.

对 Dau 阻滞作用状态依赖性特点的分析提示其主要作用于钠通道的开放态, 激活门的关闭可将 Dau 滞留于通道内, 导致 Dau 较慢的静息阻滞恢复. 宗⁽²⁾实验发现在刺激频率 0.1 Hz 时未见明显阻滞发生, 表明 Dau 对静息态钠通道几无作用. 计算结果与此一致. Fig 3 与实验⁽²⁾发现 Dau 在负于 -60 mV 的电压范围内抑制钠电流作用较强, 而较 -60 mV 为正的电压水平时抑制作用较弱相一致. 在以

上排除了静息阻滞的可能性之后,则可认为此现象是由于 Dau 缓慢的静息阻滞恢复所致。Dau 对钠通道稳态失活曲线的影响亦可由此解释,即缓慢的静息阻滞恢复导致静息态可开放通道减少。Fig 5 可见电位越负, h_{∞} 曲线偏移越大。

朱等⁽⁹⁾在心肌浦氏纤维上对联合应用 Dau 和 lidocaine 对动作电位 V_{max} 的影响所做的观察发现,在 lidocaine 缩短由 Dau 所延长的 APD 时,并不影响 Dau 对 V_{max} 的作用,此点支持我们对 Dau 阻滞钠通道的状态依赖性特点所做的分析。因为在 APD 期间钠通道处于失活态,对于作用于失活态钠通道的药物,缩短 APD 将减弱其对于 V_{max} 的作用,而对作用于激活态的药物无影响^(10,11)。

根据闸门相关受体假说,我们认为联合应用作用于不同闸门相关受体及具有不同动力学特点的药物可能有利于提高抗心律失常药的疗效、减少毒性作用。对于 Dau,联合应用 Ib 类药物如 lidocaine 可能有利于增强 Dau 的抗早搏疗效,减少其毒性反应。

REFERENCES

- Zhou JA, Feng KY, Leng DM, Yang ZJ, Gong PL, Hu CJ. Investigation of clinical efficacy and hemodynamic effects of dauricine in patients with arrhythmias. *Chin J Clin Pharmacol* 1987; 3 : 95-9.
- Zong XG. *Studies on the electrophysiological effects of three bisbenzylisoguinoline compounds in mammalian myocardium* [dissertation]. Wuhan: Tongji Medical University, 1988.
- Wu YJ. Studies on mechanism of action of ion channel blockers on myocardial cells: Computer simulation and kinetics analysis. *Ann Biomed Eng* 1990; 18 : 568-9.
- Wu YJ, Fang DC. Modeling and kinetic analysis on changrolin block of cardiac Na^+ channels. *Acta Pharmacol Sin* 1991; 12 : 363-7.
- DiFrancesco D, Noble D. A model of cardiac electrical activity incorporating ionic pumps and concentration changes. *Philos Trans R Soc Lond* 1985; B307 : 353-98.
- Campbell TJ. Kinetics of onset of rate-dependent effects of class I antiarrhythmic drugs are important in determining their effects on refractoriness in guinea-pig ventricle, and provide a theoretical basis for their subclassification. *Cardiovasc Res* 1983; 17 : 344-52.
- Zeng WC, Zeng FD, Leng DM, Hu CJ, Liu YW, Mao HY. Cardiac electrophysiologic effect of dauricine. *Chin J Clin Pharmacol* 1990; 6 : 178-82.
- Du ZH, Liu HG, Zeng FD, Hu CJ. Effects of dauricine combined with other anti-arrhythmia agents on electrically induced ventricular fibrillation in rabbits. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 33-6.
- Zhu JQ, Zeng FD, Hu CJ. Effects of dauricine and lidocaine alone or combined on electrophysiological properties of canine Purkinje fibers. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11 : 220-5.
- Kojima M, Ban T. Nicorandil shortens action potential duration and antagonists the reduction of V_{max} by lidocaine but not by disopyramide in guinea-pig papillary muscles. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1988; 337 : 203-12.
- Kojima M, Hamamoto T, Ban T. Sodium channel-blocking properties of flecainide, a class IC antiarrhythmic drug, in guinea-pig papillary muscles: an open channel blocker or an inactivated channel blocker. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989; 339 : 441-7.