

双苯氟嗪对表达于爪蟾卵母细胞上的 KCNQ1/KCNE1 钾通道电流的影响

张国红¹, 耿仙^{1,2}, 赵志英¹, 王娜¹, 贝俊杰¹, 张海林^{1*}

(1. 河北医科大学药理学教研室, 河北石家庄 050017; 2. 河北大学医学部药理学教研室, 河北保定 071000)

摘要: 目的 研究双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 钾通道电流的影响, 以探讨其抗心律失常作用的可能机制。方法 采用双电极电压钳技术, 观察双苯氟嗪对表达于非洲爪蟾卵母细胞上的 KCNQ1/KCNE1 钾通道电流的影响。结果 双苯氟嗪 ($0.3 \sim 30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 浓度依赖性地抑制 KCNQ1/KCNE1 电流, IC_{50} 为 $(8.9 \pm 1.8) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在 $-10 \sim 90 \text{ mV}$ 范围内双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制作用具有电压依赖性。双苯氟嗪 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 使 KCNQ1/KCNE1 电流的半数激活电压右移 3 mV , 增大激活时间常数, 减慢 KCNQ1/KCNE1 电流的激活; 降低慢去活时间常数和快去活时间常数, 加速 KCNQ1/KCNE1 电流的去活。结论 双苯氟嗪降低 KCNQ1/KCNE1 钾通道电流并改变其动力学特征, 提示双苯氟嗪抗心律失常的作用可能与其有关。

关键词: 双苯氟嗪; 钾通道; 电压钳技术; 爪蟾属; 卵母细胞

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2007)01-0011-06

延迟整流性钾电流 (delayed rectifier potassium current, I_K) 在心肌细胞动作电位复极过程中起着重要作用。心肌细胞上的 I_K 主要包括快激活延迟整

流钾电流 (rapidly activated delayed rectifier potassium current, I_{Kr}) 和慢激活延迟整流钾电流 (slowly activated delayed rectifier potassium current, I_{Ks})^[1]。Ⅲ类抗心律失常药是目前常用的抗心律失常药物之一, 而传统的Ⅲ类抗心律失常药主要阻断 I_{Kr} , 其作用具有逆频率依赖性, 易导致心律失常^[2]。 I_{Ks} 由 KCNQ1 和 KCNE1 基因共同编码^[3], 在心率加快时表达上调^[4], 因此对于快速性的心律失常, 阻断 I_{Ks} 比阻断 I_{Kr} 显得更为重要。双苯氟嗪 (dipfluzine) 属新型哌嗪类钙拮抗剂, 化学结构与氟桂利嗪 (flunarizine) 相似, 前期实验表明, 双苯氟嗪可抑制异丙肾上腺 (isoprenaline) 和毒毛花苷 G (strophanthin G) 诱导的豚鼠乳头肌细胞的早后除极及触发活动, 具有抗心律失常作用^[5-6]。已有研究表明, 氟桂利嗪可浓度依赖性地抑制表达于 CHO 细胞的 hERG 和 KCNQ1/KCNE1 钾电流^[7], 终止毒毛花苷 G 诱导的室性心动过速^[8], 抑制早后除极^[9], 具有抗心律失常的作用。本文旨在探讨双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 钾电流的影响。

1 材料和方法

1.1 药物、试剂与仪器

双苯氟嗪由河北医科大学药学院提供, 为浅黄色粉末状固体, 不溶于水, 微溶于乙醇, 相对分子质量 416, 熔点 $136.2 \sim 137.0^\circ\text{C}$, 纯度 $>99.5\%$, 溶于二甲亚砜 (DMSO), 配成 $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液, 临用前先用 DMSO 稀释, 再用灌流液 ND96 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$: NaCl 96, KCl 1, CaCl_2 1.8, MgCl_2 1, HEPES 5, 用 NaOH 调 pH 至 7.4) 稀释至所需浓度, 并保证灌流液中含 0.1% DMSO。用 0.1% DMSO 作为溶剂对照。DMSO (Sigma, 美国), 色原烷醇 (chromanol) 293B (Sigma, 美国), 质粒快速小量提取试剂盒 (北京赛百盛), Nhe I 限制性核酸内切酶 (TaKaRa, 日

收稿日期: 2006-05-16 接受日期: 2006-09-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270361); 国家自然科学基金资助项目 (30325038); 河北省自然科学基金资助项目 (303464)

作者简介: 张国红 (1969 -), 女, 博士研究生, Tel: (0311)86265644-8108, E-mail: zghmxh@163.com; 张海林 (1960 -), 男, 博士生导师, 研究方向为离子通道和信号转导。

* 联系作者. E-mail: zhanghl@hebm.u.edu.cn Tel: (0311)86265562

本),体外 RNA 转录试剂盒(Promega,美国),其他试剂为分析纯。EC250-90 电泳仪(Thermo,美国),5417R 型低温高速离心机(Eppendorf,德国),微注射器(WPI,美国),GeneClamp 500B 放大器(Axon,美国),Digidata 1322A 信号收集器(Axon,美国),Model P-97 电极控制器(Sutter,美国)。

1.2 cRNA 的制备^[10]

KCNQ1, KCNE1 的 cDNA 分别克隆于 pGEMHE 质粒载体中,将 pGEMHE-KCNQ1, pGEMHE-KCNE1 质粒 DNA 分别转化至大肠杆菌 Top10 感受态细胞中,利用载体上所携带的筛选基因抗氨苄青霉素基因筛选阳性克隆,提取 KCNQ1 和 KCNE1 质粒 DNA,经 *Nhe* I 限制性核酸内切酶消化及纯化,以线性化的质粒 DNA 为模板,用 T7 转录试剂盒,转录为 KCNQ1, KCNE1 的 cRNA,纯化后进行 RNA 的定量。

1.3 非洲爪蟾卵母细胞的制备^[10]

将非洲爪蟾冰冻麻醉,于下腹部正中偏外纵向切开一约 0.5 cm 的小口,取出卵母细胞,放入含 2 g·L⁻¹ II 型胶原酶(Sigma,美国)的卵母细胞林格液(mmol·L⁻¹: NaCl 82.5, KCl 2, MgCl₂ 1, HEPES 5, 用 NaOH 调 pH 至 7.4)中,室温下在旋转器(GFL,德国)上翻摇 1.5~2 h,制成单个卵母细胞,挑选 V-VI 级卵母细胞放入 ND96 培养液中,将 5 ng KCNQ1 和 1 ng KCNE1 cRNA 混合后注射入卵母细胞中,注射容积为每个细胞 46 nL,将卵母细胞置于 18℃ 培养箱中,于注射后 2~6 d 进行电生理实验。

1.4 双电极电压钳实验^[10]

拉制两根内径为 0.8 mm 的玻璃电极,拉制后的微电极尖端外径约为 20 μm,向电极内灌注含 1% 琼脂糖的 3 mol·L⁻¹ KCl,电阻 < 1 MΩ。将卵母细胞放入灌注槽中央的圆形凹槽中,以 0.5 mL·min⁻¹ 的速度灌注 ND96 液,将两个电极分别刺入卵母细胞中,观察在钳制电压 -60 mV,去极化至 10 mV,维持 5 s,然后电压恢复至 -60 mV 时,灌注不同浓度双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的影响。

1.5 数据处理

用 Hill 方程 $y = V_{\max} [x^n / (k^n + x^n)]$ 拟合量效关系曲线,其中 k 即半数抑制浓度(IC₅₀);通道激活的电流-电压关系曲线用 Boltzmann 方程^[11] $I/I_{\max} = 1 / (1 + \exp[(V_1 - V_{1/2})/k])$ 拟合,其中 $V_{1/2}$ 为半数激活电压。用单指数方程 $y = A_1 \times \exp(-t/\tau) + A_0$ 拟合激活电流,得到激活时间常数(τ);用双指数方程 $y = A_1 \times \exp(-t/\tau_1) + A_2 \times \exp(-t/\tau_2) + A_0$ 拟合去活

尾电流,得到快、慢去活时间常数(τ_1, τ_2)。所有实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 OriginPro7.0, Adobe Illustrator 10 及 STATA 8.0 软件进行图像处理及数据分析。组间比较采用方差分析及 t 检验。

2 结果

2.1 双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流

RNA 琼脂糖凝胶电泳表明 KCNQ1 及 KCNE1 cRNA 转录成功,将 cRNA 注射入爪蟾卵母细胞中,24 h 后记录到 KCNQ1/KCNE1 电流,表现为电压依赖性的外向电流,激活缓慢,非失活,快速去活,对 I_{Ks} 特异性阻断剂敏感等特征,表明 KCNQ1 和 KCNE1 蛋白已成功表达在非洲爪蟾卵母细胞膜上。将电压钳制在 -60 mV,然后去极化至 10 mV,维持 5 s,再复极至 -60 mV,观察双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的影响。图 1A, B 显示双苯氟嗪作用达稳态后(即灌注 15~20 min 后)可明显抑制 KCNQ1/KCNE1 电流。以 I_{Ks} 特异性阻断剂色原烷醇 293B 50 μmol·L⁻¹^[12] 对电流的抑制作为完全抑制的标准,按公式:抑制率(%) = $(I_{\text{DMSO}} - I_{\text{Dip}}) / (I_{\text{DMSO}} - I_{\text{Chromanol}}) \times 100\%$ 得到双苯氟嗪 0.3, 1, 3, 10 和 30 μmol·L⁻¹ 对 KCNQ1/KCNE1 电流的相对抑制率分别为 $(6.0 \pm 0.9)\%$, $(11.6 \pm 0.8)\%$, $(25.7 \pm 2.9)\%$, $(45.6 \pm 2.5)\%$ 和 $(63.5 \pm 1.6)\%$, 与 0.1% DMSO 的 $(1.1 \pm 0.3)\%$ 相比有显著差异(图 1C)。双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流的作用随着浓度的增大而增加,用 Hill 方程拟合量效关系曲线后所得 IC₅₀ 为 $(8.9 \pm 1.8) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用 ND96 液冲洗后,电流可部分恢复,但很难恢复至给药前水平。

2.2 双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流的作用呈电压依赖性

将电压钳制在 -80 mV,从 -60 mV 开始以阶跃电压 10 mV 的方式逐步去极化至 90 mV,维持 4 s,观察通道激活至稳态电流,然后电压恢复至 -50 mV,观察尾电流的去活。用溶剂对照的最大电流标准化双苯氟嗪各浓度的电流,做峰尾电流-电压关系曲线(图 2)。图 2C 显示在 10~90 mV 范围内双苯氟嗪 3 和 10 μmol·L⁻¹ 明显抑制 KCNQ1/KCNE1 电流。图 3 用每一个电压下溶剂对照的电流分别标准化双苯氟嗪 10 μmol·L⁻¹ 作用后的 KCNQ1/KCNE1 电流,进一步分析双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制与电压之间的关系,发

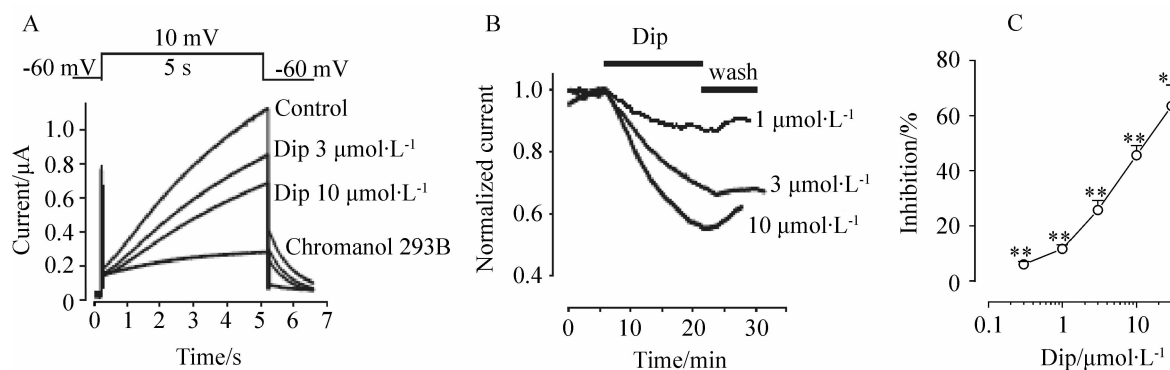


Fig 1. Inhibition of KCNQ1/KCNE1 currents by dipfluzine (Dip). (A) Representative current traces recorded from a typical oocyte in control and in the presence of 3 and 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip and 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ chromanol 293B after 20 min application. (B) Time courses of KCNQ1/KCNE1 currents recorded at 10 mV. (C) Concentration-dependent effect of Dip on KCNQ1/KCNE1 currents. The KCNQ1/KCNE1 currents were recorded at 10 mV 20 min after Dip was applied. Percentage inhibition of the current by Dip at different concentrations was normalized based on the effect of 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ chromanol 293B. The curve shown is the Hill function fitting of the data. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$. ** $P < 0.01$, compared with DMSO [(1.1 \pm 0.3) %].

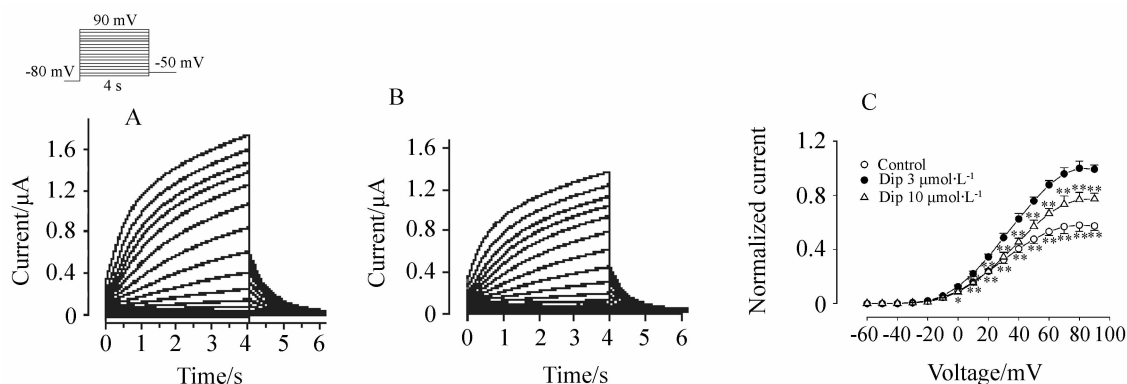


Fig 2. Effect of dipfluzine on KCNQ1/KCNE1 current-voltage relationship. Current traces were recorded using voltage protocol shown in up panel from a single representative oocyte in the absence (A) and presence of 3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip (B). Current-voltage relationships were summarized at C. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with DMSO.

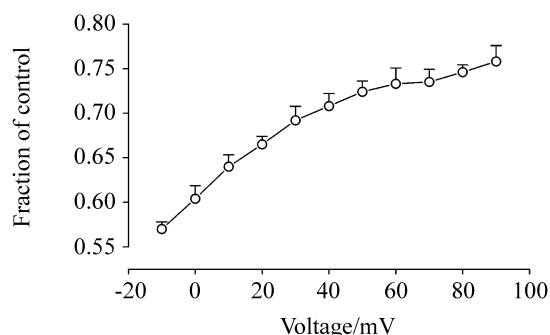


Fig 3. Voltage-dependent inhibitory effect of dipfluzine on KCNQ1/KCNE1 currents. Peak tail currents were recorded at -50 mV preceded by multiple depolarizing steps from -10 to +90 mV. The current amplitudes in the presence of 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip were normalized based on the current amplitudes from control at each potential. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.

现在 -10 ~ 90 mV 之间,随着电压的增大,双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流的作用逐渐减小,说明双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流在 -10 ~ 90 mV 之间呈电压依赖性。

2.3 双苯氟嗪对电流激活特性的影响

用 Boltzmann 方程拟合标准化的尾电流-电压关系曲线,得到对照 $V_{1/2}$ 为 (32.6 \pm 0.6) mV,双苯氟嗪 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $V_{1/2}$ 为 (35.5 \pm 0.5) mV ($P < 0.01$, 图 4),双苯氟嗪右移 KCNQ1/KCNE1 电流的半数激活电压约 3 mV。用单指数方程拟合激活电流曲线,得到激活时间常数,图 5A, B 显示在钳制电压为 -80 mV,去极至 30 mV 时,溶剂对照的激活时间常数为 (3.7 \pm 0.6) s,给予双苯氟嗪 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,激活时间常数增大至 (5.0 \pm 0.5) s ($P < 0.01$)。说

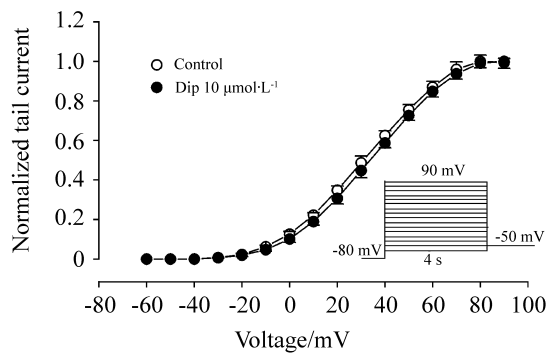


Fig 4. Effect of dipfluzine on voltage-dependent activation of KCNQ1/KCNE1 currents. Voltage-dependent activation of KCNQ1/KCNE1 currents in the absence and presence of $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip was shown. The tail current at -50 mV proceeded by depolarizing potentials were recorded. Data were normalized to maximum currents for each condition. The half-point of activation ($V_{1/2}$) in DMSO was $(32.6 \pm 0.6) \text{ mV}$; Dip $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ shifted $V_{1/2}$ to $(35.5 \pm 0.5) \text{ mV}$. $\bar{x} \pm s, n = 6$.

明双苯氟嗪可以减慢 KCNQ1/KCNE1 电流的激活速度。在钳制电压为 10 mV , 复极至 -50 mV 时, 记录 KCNQ1/KCNE1 电流的去活, 用双指数方程拟合尾电流曲线, 得到快速和缓慢去活时间常数, 双苯氟嗪 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的慢去活和快去活时间常数分别为 (879 ± 78) 和 $(313 \pm 45) \text{ ms}$, 与对照组 (1135 ± 91) 和 $(368 \pm 27) \text{ ms}$ 相比显著降低 (图 5C, D)。说明双苯氟嗪 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可加速 KCNQ1/KCNE1 电流的去活。

3 讨论

本研究表明双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流具有明显的浓度依赖性抑制作用, 随着双苯氟嗪浓度的增大, 对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制作用增强, 冲洗双苯氟嗪后, KCNQ1/KCNE1 电流恢复缓

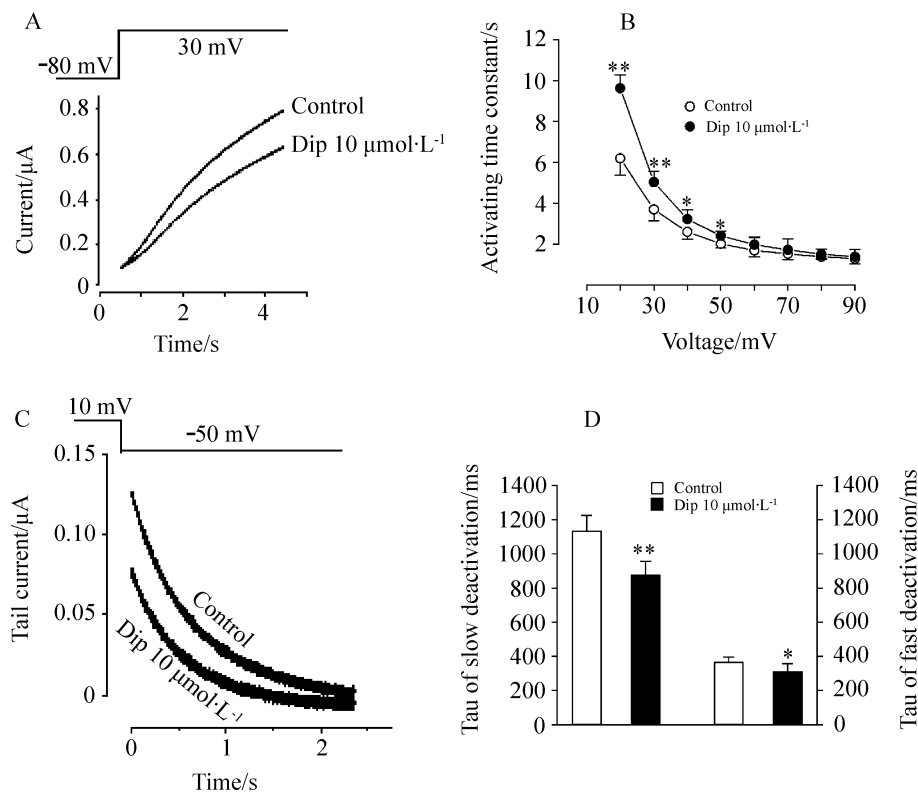


Fig 5. Effect of dipfluzine on activation and deactivation kinetics of KCNQ1/KCNE1 currents. (A) Current traces of KCNQ1/KCNE1 currents activation from an individual oocyte in the absence and presence of $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip. (B) Summary data of Dip effect on the time constants of activation at different potentials. (C) Tail current traces of KCNQ1/KCNE1 currents deactivation from an individual oocyte in the absence and presence of $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Dip. (D) Summary data of Dip effect on the time constants of deactivation of tail currents at -50 mV potentials. $\bar{x} \pm s, n = 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control.

慢,不能达到给药前水平。在 $-10 \sim 90$ mV 范围内双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制具有电压依赖性,即随着电压变正,对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制作用降低。此外,双苯氟嗪改变 KCNQ1/KCNE1 电流的激活特性,使半数激活电压向右移动 3 mV。双苯氟嗪减慢 KCNQ1/KCNE1 电流的激活速度,加快 KCNQ1/KCNE1 电流的去活速度。

双苯氟嗪抑制 KCNQ1/KCNE1 电流的 IC_{50} 为 $8.9 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,由于受到双苯氟嗪的溶解度的限制,本实验所用的最大浓度为 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,而以 I_{Ks} 特异性阻断剂色原烷醇 293B $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 对 KCNQ1/KCNE1 电流的抑制率作为 100%,计算双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的相对抑制率,有可能低估了双苯氟嗪对 KCNQ1/KCNE1 电流的半数抑制浓度。

I_K 主要参与心肌细胞动作电位的复极化过程,与心肌细胞动作电位时程 (APD) 和有效不应期 (ERP) 的长短密切相关,是目前抗心律失常药物作用的主要靶点之一。1990 年 Sanguinetti 等^[1]在豚鼠心肌细胞上证实 I_K 主要由两部分组成,并根据它们对 E-4031 敏感性的不同,分为 I_{Kr} 和 I_{Ks} 。电生理研究表明,KCNQ1 编码的 α 亚基与 KCNE1 编码的 β 亚基 (minK) 共同装配成有活性的 I_{Ks} , I_{Ks} 的激活具有延迟的特点,且去活缓慢^[3]。Ⅲ类抗心律失常药主要阻断心脏延迟整流外向钾电流,延长动作电位时程和有效不应期,终止折返。常见的Ⅲ类抗心律失常药主要作用于 I_{Kr} ,在临床研究中证实,单纯性阻滞 I_{Kr} 的药物具有逆频率依赖性,即在心率快时延长 APD 的作用减弱或消失,对快速性心律失常的作用具有局限性,而当心率缓慢时药效增强,使 APD 明显延长,易诱发早后除极而产生尖端扭转型室性心动过速 (torsades de pointes, TdP)^[2]。在交感神经兴奋及心肌缺血等病理情况下, I_{Ks} 被激活而 I_{Kr} 被抑制。这可能是由于心率加快,静息期缩短, I_{Ks} 在复极后难以完全失活,从而导致其电流强度在连续快速的去极化过程中不断积累和增加^[4]。研究表明,同时阻断 I_{Ks} 和 I_{Kr} 的药物如特罗地林 (terodiline),阿齐利特 (azimilide) 和苜普地尔 (bepridil) 等比选择性 I_{Kr} 阻断剂更具抗心律失常作用^[13]。由于心律失常涉及多种离子通道功能的异常,开发可阻断多种离子通道及克服单纯阻断 I_{Kr} 不足的复合型抗心律失常药成为当前研究热点。

实验已表明双苯氟嗪 $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 促进豚鼠心肌细胞 L 型 Ca^{2+} 通道的失活,减慢其从失活态的

恢复^[14];降低兔窦房结起搏细胞和人心房肌细胞的动作电位幅值、0 期最大除极速率和 4 期自动除极速率^[15-16];抑制异丙肾上腺素或毒毛花苷 G 诱导的豚鼠乳头肌细胞的后除极及触发活动^[5-6],具有抗心律失常的作用。研究表明阻滞 K^+ 和 Ca^{2+} 通道的药物如 BRL-32872 可增强抗心律失常的作用,同时降低致心律失常的发生率^[17]。双苯氟嗪同时具有阻断 I_{Ks} 和 L-型 Ca^{2+} 通道的特性,有望成为新型抗心律失常药物。

4 参考文献:

- [1] Sanguinetti MC, Jurkiewicz NK. 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.
- [2] Fenichel RR, Malik M, Antzelevitch C, Sanguinetti M, Roden DM, Priori SG, et al. Drug-induced torsades de pointes and implications for drug development [J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2004, **15**(4):475-495.
- [3] Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A, Shen J, Spector PS, Atkinson DL, et al. Coassembly of K_v LQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac I_{Ks} potassium channel [J]. *Nature*, 1996, **384**(6604):80-83.
- [4] Dorian P, Newman D. Rate dependence of the effect of antiarrhythmic drugs delaying cardiac repolarization: an overview [J]. *Europace*, 2000, **2**(4):277-285.
- [5] Zhang YJ, Wang YL, He RR. Effect of dipfluzine on isoprenaline-induced early afterdepolarizations and triggered activity [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2000, **14**(4):318-320.
- [6] Wang C, Zhang YJ, Wang YL. Effects of dipfluzine on delayed afterdepolarizations and triggered activity induced by ouabain in guinea pig papillary muscles [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2002, **23**(10):905-909.
- [7] Trepakova ES, Dech SJ, Salata JJ. Flunarizine is a highly potent inhibitor of cardiac hERG potassium current [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006, **47**(2):211-220.
- [8] Vos MA, Gorgels AP, Leunissen JD, Wellens HJ. Flunarizine allows differentiation between mechanisms of arrhythmias in the intact heart [J]. *Circulation*, 1990, **81**(1):343-349.
- [9] Verduyn SC, Vos MA, Gorgels AP, van der Zande J, Leunissen JD, Wellens HJ. The effect of flunarizine and ryanodine on acquired torsades de pointes arrhythmias in

- the intact canine heart[J]. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 1995, **6**(3):189–200.
- [10] Du X, Zhang H, Lopes C, Mirshahi T, Rohacs T, Logothetis DE. Characteristic interactions with phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate determine regulation of kir channels by diverse modulators[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(36):37271–37281.
- [11] Seebohm G, Westenskow P, Lang F, Sanguinetti MC. Mutation of colocalized residues of the pore helix and transmembrane segments S5 and S6 disrupt deactivation and modify inactivation of KCNQ1 K⁺ channels[J]. *J Physiol*, 2005, **563**(Pt 2):359–368.
- [12] Takahara A, Sugiyama A, Hashimoto K. Characterization of the halothane-anesthetized guinea-pig heart as a model to detect the K⁺ channel blocker-induced QT-interval prolongation[J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, **29**(4):827–829.
- [13] Abrol R, Page RL. Azimilide dihydrochloride: a new class III anti-arrhythmic agent[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, **9**(11):2705–2715.
- [14] Zhang YJ, Li DP, Xue BJ, Wang YL, He RR. Effect of dipfluzine on L-type calcium current in guinea pig ventricular myocytes[J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2001, **22**(8):701–705.
- [15] Zhang YJ, Guo MF, Wang YL, He RR. Electrophysiological effect of dipfluzine on pacemaker cells in sinoatrial node of rabbits[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1999, **13**:179–182.
- [16] Zhang YJ, Liu S, Duan HR, Zhang WL, Liu LL, Wang YL, *et al.* Effect of dipfluzine on electrophysiology of human atrial fibers[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2000, **14**(1):8–11.
- [17] Bril A, Gout B, Bonhomme M, Landais L, Faivre JF, Linee P, *et al.* Combined potassium and calcium channel blocking activities as a basis for antiarrhythmic efficacy with low proarrhythmic risk: experimental profile of BRL-32872[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, **276**(2):637–646.

Effect of dipfluzine on KCNQ1/KCNE1 potassium currents expressed in *Xenopus* oocytes

ZHANG Guo-Hong¹, GENG Xian^{1,2}, ZHAO Zhi-Ying¹, WANG Na¹, BEI Jun-Jie¹, ZHANG Hai-Lin^{1*}
(1. Department of Pharmacology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. Department of Pharmacology, Health Science Center, Hebei University, Baoding 071000, China)

Abstract: **AIM** To investigate the effect of dipfluzine on KCNQ1/KCNE1 potassium currents in order to explore its antiarrhythmic mechanism. **METHODS** Using two electrode voltage-clamp technique, KCNQ1/KCNE1 currents heterologously expressed in *Xenopus* oocytes were studied. **RESULTS** Dipfluzine (0.3–30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) concentration-dependently inhibited KCNQ1/KCNE1 currents. The concentration for half maximal inhibition (IC_{50}) is $(8.9 \pm 1.8) \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Dipfluzine-induced inhibition of KCNQ1/KCNE1 currents was voltage-dependent at membrane potentials between –10 and 90 mV. Dipfluzine at 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ shifted the half-point of activation ($V_{1/2}$) of KCNQ1/KCNE1 currents activation by 3 mV toward more positive potentials, and significantly increased the activating time constant

thus slowed KCNQ1/KCNE1 currents activation. Dipfluzine at 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ significantly decreased the slow and fast deactivating time constants thus enhanced KCNQ1/KCNE1 currents deactivation. **CONCLUSION** Dipfluzine inhibits KCNQ1/KCNE1 currents and modifies its kinetic characteristics, which may be correlated with its antiarrhythmic effect. **Key words:** dipfluzine; potassium channels; voltage-clamp techniques; *Xenopus*; oocytes

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China (30270361); National Natural Science Foundation of China (30325038); Natural Science Foundation of Hebei Province(303464)

* Corresponding author.

(本文编辑 董立春)