

# 奎尼丁阻滞心肌钠通道的闸门相关受体分析\*

吴跃进

(广东医学院药理教研室, 湛江 524023)

**提要** 根据闸门相关受体假说,应用计算机模拟分析了奎尼丁与心肌钠通道相互作用的动力学特点及其作用的闸门相关受体。模型预测的奎尼丁(15  $\mu\text{mol/L}$ )在刺激频率为 1.0 Hz 时,表观阻滞起效速率为 0.371  $\text{AP}^{-1}$ ,静息阻滞恢复时间常数为 4.13 s,均与文献报道一致。门控过程依赖性分析表明,其阻滞作用依赖于激活门控过程,奎尼丁 15  $\mu\text{mol/L}$  对失活曲线无影响,但使激活曲线峰值降低,提示其作用于激活门相关受体。

**关键词** 奎尼丁; 抗心律失常药; 钠通道; 计算机模拟; 闸门相关受体

奎尼丁(quinidine)是一典型的 Ia 类抗心律失常药,能有效地防治房性及室性心律失常。电生理实验表明,其对心肌动作电位的  $V_{\text{max}}$  或钠电流有频率和电压依赖的抑制作用<sup>(1)</sup>,并提示主要作用于钠通道的激活态<sup>(2)</sup>。但其阻滞钠通道作用与门控过程的相互关系至今尚未完全阐明。本文根据闸门相关受体假说<sup>(3)</sup>,应用计算机模拟分析了奎尼丁与心肌钠通道相互作用的动力学特点及其作用的门控过程依赖性,以及所结合的闸门相关受体,试图在受体水平阐明奎尼丁阻滞钠通道及致心律失常的作用特点及机制。

## 材料与方 法

Clarkson 等研究了奎尼丁对豚鼠心室肌动作电位  $V_{\text{max}}$  的频率及电压依赖性抑制作用<sup>(4)</sup>,根据文献<sup>(4)</sup>图 4 提供的数据,奎尼丁 15  $\mu\text{mol/L}$  在刺激频率 0.5, 1.0, 1.67 和 2.5 Hz 时频率依赖性地抑制  $V_{\text{max}}$  所达到的稳态阻滞分数分别为 0.204, 0.298, 0.383 和 0.453。

根据上述数据及文献<sup>(4)</sup>采用的实验条件及方案,以  $V_{\text{max}}$  作为反映钠电流幅度的指标,我们用文献<sup>(3)</sup>所描述的数据分析及参数估测方法模拟分析奎尼丁阻滞心肌钠通道的动力学过程,用不同的状态依赖性函数  $f(v)$ ,  $g(v)$ <sup>(3)</sup> 分析其作用的闸门相关受体。模拟中所用实验参数如下:温度 36 $^{\circ}\text{C}$ ,静息电位 -85 mV,除极电位 20 mV,除极时间 180 ms,模拟失活期阻滞;除极电位 40 mV,除极时间 1 ms,模拟激活期阻滞。刺激频率 0.5~3.3 Hz,药物分子荷电数 1。心室肌钠通道门控动力学方程采用了 B-R 模型<sup>(5)</sup>中的方程。

本文于 1993 年 4 月 7 日收到。

\* 国家自然科学基金资助项目 No 39100133

## 结 果

### 频率依赖性阻滞的动力学特点

根据模型计算得到,在刺激频率为 0.5, 1.0, 1.67, 2.5 和 3.3 Hz 时,奎尼丁频率依赖性抑制  $V_{max}$  的表观起效速率分别为 0.613, 0.371, 0.274, 0.226 和 0.201  $AP^{-1}$ 。与实验所得  $0.300 \pm 0.063 AP^{-1}$  (1.0 Hz)<sup>(6)</sup>,  $0.214 AP^{-1}$  (3.3 Hz)<sup>(7)</sup> 的阻滞起效速率一致。模型计算的阻滞恢复时间常数为 4.13 s, 与实验值 3~8 s<sup>(2,4,6,7)</sup> 相一致。其动力学特点为阻滞起效及恢复速率比 Ib 类慢而比 Ic 类快,属于中速类。用模型计算在不同膜电位时奎尼丁的阻滞恢复时间常数,可见此时间常数在膜电位 -50~-73 mV 之间表现出明显的电压依赖性,即阻滞恢复时间常数随着膜电位的复极化而延长(图 1),提示结合的药物可能被关闭的激活门滞留在通道内。

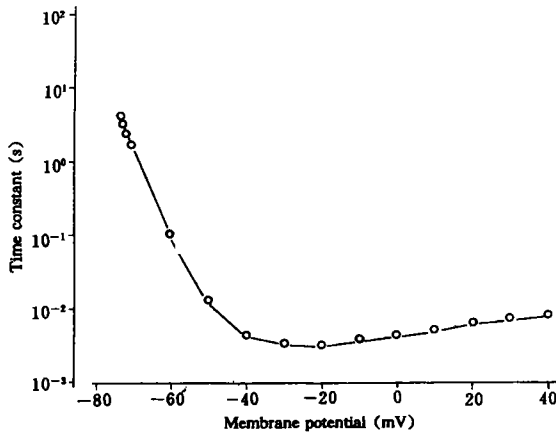


Fig 1 Model-predicted dependence of the time constants of recovery from block of sodium channels on membrane potentials at 15  $\mu\text{mol/L}$  quinidine.

### 门控过程依赖性阻滞分析

采用除极电位 40 mV, 除极时间 1 ms 模拟激活期阻滞, 可得到与实验结果<sup>(2,4,6,7)</sup> 吻合的动力学数据, 并得到在除极期 1 ms 内(钠通道平均开放时间), 奎尼丁 15  $\mu\text{mol/L}$  阻滞钠通道所达到的平衡阻滞分数为 0.751, 而其静息期(膜电位 -85 mV) 阻滞分数为 0.097, 此结果与实验<sup>(6)</sup> 所得静息阻滞值  $8.5 \pm 4.4\%$  (quinidine 10  $\mu\text{mol/L}$ ) 一致, 表明奎尼丁对静息态的钠通道亲和力很低。

为分析奎尼丁阻滞钠通道作用对门控过程的依赖性, 即弄清其作用于何种闸门相关受体, 我们分别采用了不同的状态依赖性函数  $f(v)$ ,  $g(v)$ <sup>(3)</sup> 模拟奎尼丁阻滞钠通道的作用, 但发现只有采用作用于激活门相关受体的  $f(v)$ ,  $g(v)$  函数, 能够使模型所得结果与实验结果相吻合, 即  $g(v) = f(v) = m^3$ 。图 2 给出了在不同膜电位时模型, 计算得到的平衡阻滞 ( $b_{\infty}$ ) 与钠通道激活过程 ( $m_{\infty}^3$ ) 及失活过程 ( $h_{\infty}$ ) 的相互关系。可见在较 -60 mV 为正的电压方向  $b_{\infty}$  的增加(从 0.066 增加到 0.751) 与激活过程相关; 而在失活过程期间(-60 到 -90 mV) 阻滞并无明显增加(从 0.022 增加到 0.066), 仍在静息阻滞的范围内。此结果提示奎尼丁作用于激活门相关受体, 其阻滞作用主要受激活门调控。计算得到其与受体的结合速率  $K$  为  $6.459 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 解

离速率  $L$  为  $144.162 \text{ s}^{-1}$ ,  $K_d$  值为  $22.3 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 。此结果与受体结合实验所得到的  $K_d$  及  $\text{IC}_{50}$  值  $20 \text{ } \mu\text{mol/L}$ <sup>(6)</sup> 及电生理实验所得  $K_d$  值  $27 \text{ } \mu\text{mol/L}$ <sup>(7)</sup> 结果一致。

用上述结果模拟奎尼丁  $15 \text{ } \mu\text{mol/L}$  在刺激频率  $0.5 \sim 3.3 \text{ Hz}$  时, 频率依赖性地抑制  $V_{\text{max}}$  的动态过程(图 3), 此结果亦与文献<sup>(4)</sup> 结果一致。

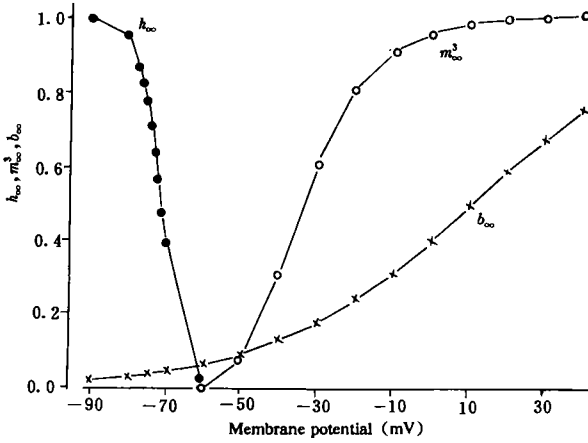


Fig 2 Relationship between the equilibrium blocking ( $b_{\infty}$ ) reached by quinidine  $15 \text{ } \mu\text{mol/L}$  and activation ( $m_{\infty}^3$ ) as well as inactivation ( $h_{\infty}$ ) process of sodium channels at various membrane potentials.

### 对钠通道稳态失活及激活曲线的影响

根据上述结果模拟奎尼丁对钠通道稳态失活及激活的影响(图 4)。可见奎尼丁  $15 \text{ } \mu\text{mol/L}$  对  $h_{\infty}$  曲线几无影响, 而使  $m_{\infty}^3$  曲线峰值降低。这些结果提示其不影响失活动力学, 但可使激活通道减少。表观激活曲线  $m_a$  的计算按下列公式:  $m_a = m^3 \{1/[1 + f(v)KD/g(v)L(v)]\}$  其中  $D$  为药物浓度,  $L(v)$  为电压依赖性的解离速率,  $K, f(v), g(v)$  意义同上述。

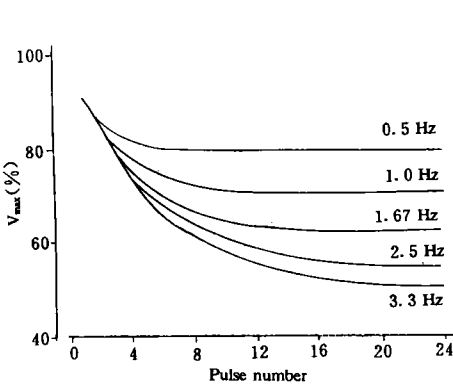


Fig 3 Simulated use-dependent inhibition of  $V_{\text{max}}$  by quinidine  $15 \text{ } \mu\text{mol/L}$  at stimulation rates from  $0.5$  to  $3.3 \text{ Hz}$ .

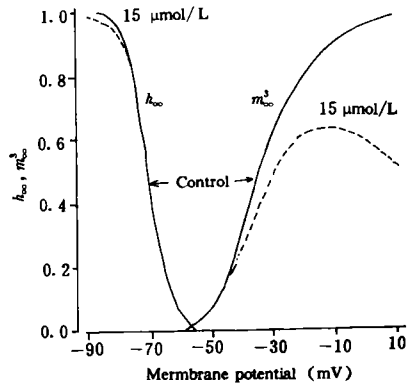


Fig 4 Model-predicted effects of quinidine  $15 \text{ } \mu\text{mol/L}$  (dashed lines) on the steady-state inactivation curve ( $h_{\infty}$  curve) and activation curve ( $m_{\infty}^3$ ) of cardiac sodium channels. Control; Normal  $h_{\infty}$  and  $m_{\infty}^3$  curves in drug-free condition.

## 讨 论

从上述对奎尼丁阻滞钠通道动力学特点的研究可见,根据模型计算的结果不仅与已有的实验结果一致,还可得到实验未给出的结果,如在刺激频率 0.5~3.3 Hz 时的表观起效速率以及在不同膜电位时的阻滞恢复时间常数(图 1)。图 1 显示,在膜电位 -73 mV 时计算的时间常数恰为 4.136 s。由于在此电位激活分数已近似为 0,即激活门处于关闭状态,阻滞恢复不再依赖于激活过程,故在负于 -73 mV 的电位阻滞恢复过程不再有电压依赖性,即在膜电位 -85 mV 时的阻滞恢复时间常数应与 -73 mV 时的相似,此已被 Weld 等的实验<sup>(9)</sup>所证实。关于奎尼丁在激活门关闭后的解离方式,有可能通过去质子化后由膜脂相扩散出通道,但模拟这一过程尚缺乏实验数据,有待进一步的实验研究。尽管如此,上述数据依然有助于更全面地了解奎尼丁阻滞钠通道的动力学特点。如其阻滞恢复时间常数在正于 -60 mV 膜电位时不超过 100 ms (3.06~95.5 ms),而在 -60 到 -73 mV 之间则从 95.5 ms 急剧增加到 4.136 s。此提示在通道的激活态阻滞恢复很快,但在部分除极或极化的电位则恢复较慢。据此可解释为何奎尼丁能引起传导阻滞等毒性反应。

我们在模拟中所用的刺激方案及状态依赖性函数,均表明唯有设定激活门的调控作用才能拟合实验结果<sup>(2,4,6~9)</sup>。因而我们认为奎尼丁主要作用于激活门相关受体,其与受体的结合及解离均受激活门调控,此推论亦被其它实验所证实<sup>(2)</sup>。

对奎尼丁影响稳态失活及激活曲线的模拟,提示其可抑制激活过程,但对失活过程几无影响。这与 Chen 等的实验结果<sup>(10)</sup>相符合,进一步支持上述推论。

闸门相关受体分析意在透过表观现象深入了解药物与受体的相互作用。作者认为药物作用的状态依赖性依然只是表观现象,并不能完全真实地反映闸门调控机制,因而在本文中使用了门控过程依赖性阻滞这一概念,以更好地描述钠通道阻滞剂的作用机制。

## 参 考 文 献

- 1 Hondeghem LM and Katzung BG. Time- and voltage- dependent interactions of antiarrhythmic drugs with cardiac sodium channels. *Biochem Biophys Acta* 1977;472:373.
- 2 Hondeghem LM and Matsubara T. Quinidine block cardiac sodium channels during opening and slow inactivation in guinea-pig papillary muscle. *Br J Pharmacol* 1988;93:311.
- 3 Wu YJ and Fang DC. Mechanisms of action of sodium channel blocker: Gate-related receptor hypothesis. *Sci Sin (Series B)* 1992;35:1222.
- 4 Clarkson CW and Hondeghem LM. Evidence for a specific receptor site for lidocaine, quinidine and bupivacaine associated with cardiac sodium channels in guinea-pig ventricular myocardium. *Circ Res* 1985;56:496.
- 5 Beeler GW and Reuter H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres. *J Physiol* 1977;286:177.
- 6 Kohlhardt M and Seifert C. Properties of  $V_{max}$  block of  $I_{Na}$ -mediated action potentials during combined application of antiarrhythmic drugs in cardiac muscle. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1985;330:235.

- 7 Langenfeld H, et al. Comparative analysis of the action of class I antiarrhythmic drugs (lidocaine, quinidine, and prajmaline) in rabbit atrial and ventricular myocardium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990;15 : 338.
- 8 Hill RJ, et al. Class I antiarrhythmic drug receptor : biochemical evidence for state-dependent interaction with quinidine and lidocaine. *Mol Pharmacol* 1989;36 : 150.
- 9 Weld FM, et al. Mechanisms of quinidine-induced depression of maximum upstroke velocity in ovine cardiac Purkinje fibers. *Circ Res* 1982;50 : 369.
- 10 Chen CM, et al. Effect of lidocaine and quinidine on steady-state characteristics and recovery kinetics of  $(dV/dt)_{\max}$  in guinea pig ventricular myocardium. *Ibid* 1975;37 : 20.

## A GATE-RELATED RECEPTOR ANALYSIS OF CARDIAC SODIUM CHANNEL BLOKADE BY QUINIDINE \*

YJ Wu

(Department of Pharmacology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023)

**ABSTRACT** Based on the gate-related receptor hypothesis, an analysis of the kinetics of interactions of quinidine with cardiac sodium channels and the gate-related receptor bound by the drug was performed by computer simulation. Model-predicted apparent rates of onset of quinidine (15  $\mu\text{mol/L}$ ) blocking were shown to be 0.613, 0.371, 0.274, 0.226 and 0.201  $\text{AP}^{-1}$  respectively at stimulation frequencies of 0.5, 1.0, 1.67, 2.5 and 3.3 Hz. The estimated time constant of recovery from block by quinidine was 4.13 s. These results are in agreement with documented experimental data. Analysis of gating process dependent block by quinidine showed that the block depends on the activation gating process. No shift of  $h_{\infty}$  curve but a significant decrease of  $m_{\infty}^3$  curve was found in the presence of quinidine (15  $\mu\text{mol/L}$ ). The results suggest that quinidine binds to the activation gate-related receptor, and might be trapped in the channel by the activation gate. The binding and unbinding of quinidine are modulated by the activation process.

**Key words** Quinidine; Antiarrhythmic agents; Sodium channel; Computer simulation; Gate-related receptor

\* Project supported by the China National Natural Science Foundation No. 39100133