

异紫堇定对离体胆囊和离体胆道口括约肌的解痉作用

陈植和 张正仙 王懋德 (昆明医学院药理教研室, 昆明 650031)

提要 在离体胆囊或胆道口括约肌, Isoc 明显拮抗 ACh, Hist, angiotensin II 和 K^+ 引起的收缩, 呈现非竞争性拮抗方式。在离体胆道口括约肌, 有节律的自发收缩及 K^+ 引起的两相收缩: 最初的时相收缩和继后的持久相收缩。Isoc 对此两相收缩的 IC_{50} 接近(比值为 2), 而 Ver 对持久相的 IC_{50} 远低于对时相收缩的 IC_{50} (比值为 76)。

关键词 异紫堇定; 戊脉安; 胆囊; 胆道口括约肌; 药效学; 钙通道阻滞剂

前文⁽¹⁾报道右旋异紫堇定(*d*-isocorydine, Isoc)在离体血管条拮抗 NA 和 K^+ 去极化收缩, 其解痉作用强度接近罂粟碱。在豚鼠回肠、输精管和子宫, 兔十二指肠和大鼠子宫等离体内脏平滑肌制备上, Isoc 也显示非特异性解痉作用。本文报道, 在豚鼠胆囊和胆道口括约肌及兔胆道口括约肌的离体制备上, Isoc 拮抗 ACh, histamine (Hist), angiotensin II (Ang II) 和 K^+ 。

药 品

Isoc 盐酸盐结晶由昆明植物所植化室和大理医药公司药研室联合研制并提供。戊脉安(iproveratril, verapamil, Ver) 盐酸盐注射液系芬兰 Orion 公司出品。Ang II 系 Ciba 公司出品。

方 法

豚鼠 30 只, 体重 $480 \pm SD 135$ g, 兔 10 只, 体重 2.8 ± 0.4 kg。离体胆囊或胆道口括约肌的每种实验均用 5 个标本, 每个标本只作一种拮抗实验。

离体胆囊底剪开一小口, 胆囊底和颈分别穿线, 纵向悬挂, 负荷 1.5 g, 等张杠杆描记

于烟鼓。平衡 1 h 以上。

离体胆道口括约肌取法如下: 动物放血处死后, 沿腹壁正中剪开, 先取胆囊, 然后沿胆总管分离至十二指肠, 将括约肌连同周围肠壁一并剪下, 置于盛营养液的平皿中仔细分离胆道口括约肌。豚鼠胆道口括约肌约米粒大, 多呈 S 形弯曲, 大部分独立于十二指肠浆膜面外。兔胆道口括约肌呈棍棒状, 几乎完全埋于十二指肠肠壁内, 但从浆膜面隐约可见。可用一细竹竿从乳突口导入兔括约肌内作指引, 将周围肠组织修剪干净。胆道口括约肌两端穿线, 一端固定于通气钩, 另一端系于肌力换能器, 描记等长收缩张力于记录仪。豚鼠和兔之括约肌的静息负荷分别为 0.5 和 0.75 g 均平衡 1 h 以上。

麦氏浴管盛液量为 25 ml, 浴温 $37 \pm 0.5^\circ C$, 离体胆管用营养液组成如下: NaCl 7.0, KCl 0.2, $CaCl_2$ 0.2, $MgCl_2$ 0.05, NaH_2PO_4 0.05, $NaHCO_3$ 1.2, glucose 1.0 g/l, 通 O_2 后 pH 约 7.5。

所有激动剂均在平衡后先作 1-2 次对照收缩, 实验后再作一次对照收缩。拮抗剂均温浴 5 min 后再加激动剂。ACh 和 Hist 按累积剂量法加入; 其余激动剂采用次最大剂量(submaximal dose), 均按单次剂量法测定。有钙营养液条件, Ang II $0.3 \mu M$, K^+ 40 mM; 无钙营养液条件, Ang II $3 \mu M$, K^+ 80 mM。拮抗剂浓度范围: Isoc 1-300 μM ; Ver 0.01-3 μM 。由低到高进行拮抗实验, 每回换液 3 次, 毕后让标本休息 45-60 min。

结 果

离体豚鼠胆囊实验

1. Isoc 拮抗 ACh, Hist 从 5 次实验数据绘制的量效曲线发现 Isoc 主要使 ACh 或

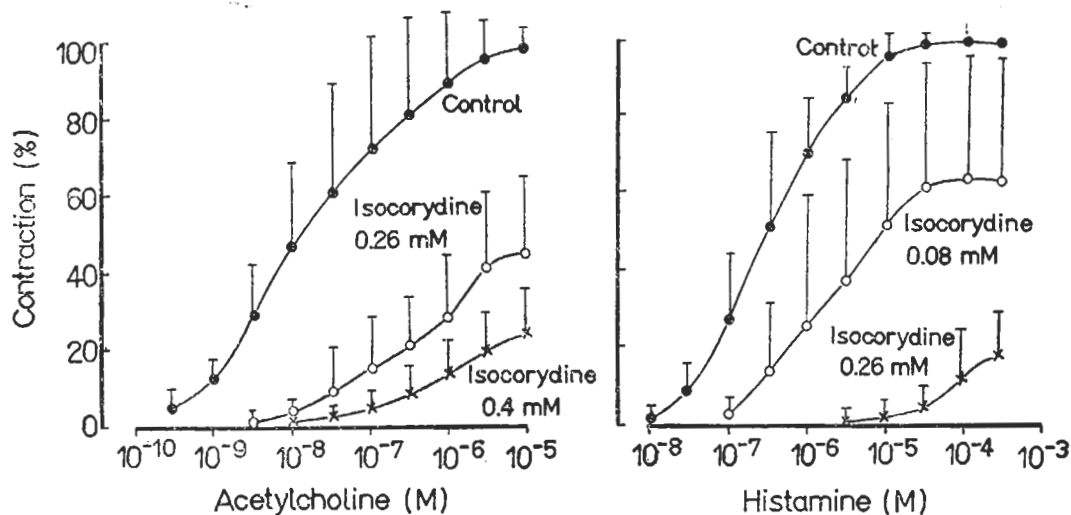


Fig 1. Cumulative dose-response curves of the non-competitive antagonism between isocorydine and ACh (left) or Hist (right) on guinea pig gallbladders. $n=5$, $\bar{x} \pm SD$.

Hist 收缩的最大效应降低(图 1)按文献⁽²⁾求得抑制 50% 收缩高度的浓度(IC_{50} 下同)。Isoc 对 ACh 和 Hist 的 IC_{50} 分别为 0.17 ± 0.04 mM 和 58 ± 3.5 μ M。

2. Isoc 拮抗 AngII

2.1 有钙正常营养液中拮抗 Ang II 求得有钙条件下 Isoc 对 Ang II 的 IC_{50} 为 0.12 ± 0.02 mM ($n=5$)。

2.2 无钙营养液中拮抗 Ang II 先在有钙营养液中充分平衡后, 换成无钙营养液(预热为 $37^{\circ}C$, 共换 3 次)后 5 min 进行对照收缩或拮抗实验(拮抗剂于最末一次无钙营养液换后立即加入)。无钙条件下, Isoc 对 Ang II 的 IC_{50} 为 56 ± 4.1 μ M ($n=5$)。

从以上两项可见, Isoc 在两种营养液条件下拮抗 Ang II 的 IC_{50} 相近。

3. Isoc 或 Ver 拮抗 K^+ Isoc 和 Ver 对 K^+ 的 IC_{50} 分别为 77 ± 6.7 μ M 和 0.18 ± 0.06 μ M ($n=5$)

离体豚鼠胆道口括约肌实验

1. Isoc 和 Ver 拮抗 K^+ 充分平衡后, 离体豚鼠胆道口括约肌可有自发收缩。 K^+ 引起的收缩显示两相: 最初的时相收缩(initial

phasic contraction) 和继后的持久相收缩(late tonic contraction)(图 2.A) 为此, 需要分别统计拮抗剂对每一相收缩的影响。结果, 时相收缩按峰值计其对照张力为 1.15 ± 0.36 g ($n=15$), 持久相按低限计其对照张力为 0.65 ± 0.18 g ($n=15$)。Isoc 拮抗两相收缩的 IC_{50} 分别为 0.17 ± 0.06 mM 与 83 ± 6.2 μ M ($n=5$), 两者的比值为 2, 说明它对两相的拮抗无选择性。与此不同, Ver 拮抗两相的 IC_{50} 分别为 2.2 ± 0.55 μ M 与 29 ± 8.3 nM ($n=5$), 比值为 76, 说明 Ver 主要拮抗持久相收缩。

2. 无钙营养液中 Isoc 拮抗 K^+ 无钙营养液实验换液方法同离体胆囊实验 2.2 项。无钙

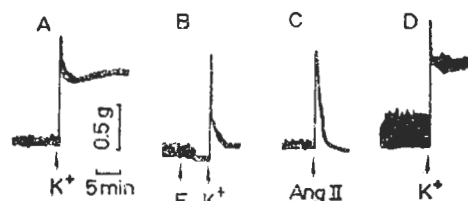


Fig 2. Contractile responses induced by A) K^+ 40 mM; B) K^+ 80 mM in Ca^{++} -free (F) 5 min; C) Ang II 0.3 μ M on guinea pig Oddi's sphincter; and D) K^+ 40 mM on rabbit Oddi's sphincter. Note the initial phasic and the late tonic contractions induced by K^+ in A) and D).

营养液中 K^+ 主要引起时相收缩, 持久相收缩不明显(图 2.B), 对照收缩张力为 $0.88 \pm 0.23 \text{ g} (n=5)$ 。Isoc 对时相收缩的 IC_{50} 为 $12 \pm 4.0 \mu\text{M}$ 。

3. Isoc 拮抗 Ang II Ang II 主要引起时相收缩, 几无持久相收缩(图 2.C)。时相收缩对照张力为 $1.14 \pm 0.24 \text{ g} (n=5)$, Isoc 对 Ang II 的 IC_{50} 为 $24 \pm 5.5 \mu\text{M}$ 。

离体兔胆道口括约肌, Isoc 和 Ver 拮抗 K^+ 兔胆道口括约肌亦有自发收缩, 其幅度较豚鼠括约肌更大; K^+ 引起两相收缩(图 2.D)。但仅统计对时相收缩的拮抗效应。结果, 对照时相收缩张力为 $1.62 \pm 0.46 \text{ g} (n=10)$ 。Isoc 对 K^+ 的 IC_{50} 为 $37 \pm 5.5 \mu\text{M} (n=5)$; Ver 对 K^+ 的 IC_{50} 为 $0.81 \pm 0.07 \mu\text{M} (n=5)$ 。

讨 论

有关小动物胆道平滑肌的生理药理, 前人已有研究^(3,4)。我们发现离体豚鼠胆囊对 ACh, Hist, Ang II 和 K^+ 的反应十分敏感, 较离体兔胆囊更为满意。豚鼠胆道口括约肌的解剖生理特性较兔独立^(5,6)。豚鼠胆道口括约肌虽小, 但其大部分突出于十二指肠浆膜外, 界限清晰, 易于分离。兔胆道口括约肌则完全埋没于十二指肠壁内, 不易将肠组织分离除净。因此, 其自发收缩幅度较大, 很难排除是否混有十二指肠肠肌的干扰。

多种激动剂引起的胆囊和胆道口括约肌收缩, Isoc 都可以拮抗, 与在其它内脏和血管平滑肌所见相似, 进一步支持 Isoc 为一种非特异性平滑肌解痉剂。

我们的结果与文献⁽⁷⁾记载一致: 在有钙营养液中高 K^+ 引起的胆道口括约肌收缩呈现两相收缩; 而在无钙营养液中高 K^+ 主要引起最初的时相收缩, 继后的持久相收缩不明显。这就提示, 高 K^+ 去极化收缩除了使外钙内流, 尚有内钙释放的机制。Ver 为一种已知的特异性钙拮抗剂, 即主要影响电位依赖的钙通道(PDC)⁽⁸⁾。本实验 Ver 抑制豚鼠胆道口括约肌

持久相收缩比时相收缩强 76 倍。由此推测豚鼠胆道口括约肌持久相收缩可能主要依赖于外钙内流。相比之下, Isoc 抑制两相收缩的效价强度相近。况且, 它能对抗各种激动剂。其中, Ang II, Hist, NA 等通过受体控制的钙通道(ROC)可使血管平滑肌内钙释放⁽⁹⁾。我们在有钙或无钙营养液均观察到 Ang II 引起胆道平滑肌收缩; 在胆道口括约肌则引起时相收缩为主, 说明 Ang II 确系使内钙释放。Isoc 可能是一种非特异性钙拮抗剂, 它是否类似罂粟碱或茶碱具备抑制磷酸二酯酶的能力, 尚待研究。

离体豚鼠和兔的全胆道口括约肌均有自发收缩; 切成螺旋或纵长条易损伤其肌纤维的复杂结构^(3,10)。自发收缩的张力可阻止胆管内液体通过括约肌。这种自发活性大概属于一种肌原性特征, 酚苄明、阿托品、六烃季铵和河豚毒均不易影响之。低浓度 Isoc 和 Ver 亦很少影响, 但分别在 0.1 mM 和 $1 \mu\text{M}$ 以上时都可以抑制该种自发收缩, 并降低其静息张力, 说明两药高药浓时有直接抑制作用。Isoc 临床试用于胆绞痛等有较好疗效, 我们未能证实本品有镇痛作用, 故其疗效可能是通过解痉而发挥的。

参 考 文 献

- 1 陈植和、张正仙、王懋德、王德成、张子昭。中国药理学报 1982; 3: 240
- 2 Van Rossum JM. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143: 299
- 3 Persson CGA. *Acta Physiol Scand* 1972; (suppl 383): 1
- 4 Jansson R. *ibid* 1978; (suppl 456): 1
- 5 Crema A. *Proc Soc Exp Biol Med* 1965; 120:158
- 6 柳浦才三、石川 滋。日本薬理学雜誌 1975; 71: 39
- 7 东 洋、服部圭佑、藤原元始。 *ibid* 1973; 69: 387
- 8 Triggie DJ, Swamy VC. *Chest* 1980; 78 (suppl): 174
- 9 Van Breemen C, Aaronson P, Loutzenhiser R, Meisheri K. *ibid* 1980; 78 (suppl): 157
- 10 Persson CGA. *Br J Pharmacol* 1971; 42: 447

SPASMOLYTIC EFFECTS OF ISOCORYDINE ON ISOLATED GALL-BLADDER AND ODDI'S SPHINCTER *IN VITRO*

CHEN Zhi-he, ZHANG Zheng-xian, WANG Mao-de

(Dept Pharmacology, Kunming Medical College, Kunming 650031)

ABSTRACT The contractions induced by acetylcholine (ACh), histamine (Hist), angiotensin II (Ang II) and K^+ on the biliary system of guinea pigs or rabbits were antagonized by *d*-isocorydine (Isoc) *in vitro*. The antagonism presented a depression of the maximal response of the dose-response curve for the agonists in a non-competitive manner.

The spontaneous activity of the Oddi's sphincter *in vitro* was inhibited by both Isoc (>0.1 mM) and verapamil (Ver $1 \mu M$). The initial phasic and the late tonic contractions induced by K^+ (40 mM) in the isolated Oddi's sphincters of guinea pigs were inhibited by Isoc

or Ver. Ver showed mainly an inhibition of the late phase, whereas Isoc showed inhibition of both the initial and late phases. The ratios of IC_{50} between the initial and the late phases for Isoc and Ver were 2 and 76, respectively.

These results suggest that spasmolytic effects of Isoc on biliary smooth muscles may be due to its Ca^{++} -antagonism and the mode of its action differs from that of Ver.

KEY WORDS isocorydine; iproveratril; gallbladder; Oddi's sphincter; pharmacodynamics; calcium channel blockers