

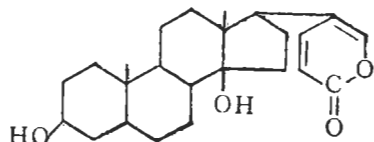
## 蟾蜍灵促进离体豚鼠输精管释放去甲肾上腺素

韩永晶、靳珠华、侯庆昌、崔荣芬、宋汉英 (天津医学院药理教研室, 天津 300070)

**提要** 蟾蜍灵(B)使离体豚鼠输精管产生剂量依赖性收缩反应。利血平化豚鼠输精管对B几无反应。给溴苄铵、酚妥拉明、维拉帕米后, 输精管对B的收缩反应均有抑制。用荧光分析法测得输精管与B一起温育的营养液中NA的含量比对照组明显增多。提示B收缩输精管反应可能是由于促进了肾上腺素能神经末梢NA释放的间接作用。

**关键词** 蟾蜍灵; 输精管; 去甲肾上腺素

蟾蜍灵(bufalin, B)是蟾酥中的一种有效成分<sup>(1,2)</sup>, 结构式<sup>(3)</sup>如下:



Bufalin

B的作用与哇巴因有相似之处, 后者可增加肾上腺髓质<sup>(4)</sup>以及输精管<sup>(5,6)</sup>去甲肾上腺素(NA)的释放。B是否有促进NA释放的作用尚未见报道。为此, 我们将B对离体豚鼠输精管的作用进行药理分析。

1985年2月4日收稿 1985年8月11日修回

### 材料与 方法

**离体豚鼠输精管试验** 用体重 $267 \pm SD$  41 g ♂豚鼠, 取两侧输精管悬于5 ml Krebs液中, 通 $O_2$ ,  $37^\circ C$ , 静止时张力负荷为1 g, 稳定40 min后开始试验。用位移张力换能器及记录仪记录输精管收缩活动。药物对输精管的收缩作用以张力增加的g数表示之。

**利血平化豚鼠** 每天ip利血平2 mg/kg, 第二次注射后24 h进行试验。

**冷藏输精管<sup>(7,8)</sup>** 输精管浸泡于Krebs液中, 贮于 $4^\circ C$ , 7 d后观察其对药物的反应。

以B( $6.5 \mu M$ )所引起的输精管张力增加克数作为对照组与给B( $6.5 \mu M$ )前10 min给各种药物所致输精管张力变化作为给药组进行比较。

**温育液中NA的荧光测定** 加入酚苄明( $0.05 \text{ mM}$ )和抗坏血酸( $0.06 \text{ mM}$ )以抑制NA的再摄取及防止其氧化<sup>(5)</sup>。30 min后分别收集以下的温育液: 1) 正常输精管的温育液为对照组。2) 正常输精管给B( $7.8 \mu M$ )的温育液。3) 利血平化豚鼠输精管给B( $7.8 \mu M$ )的温育

液。

用高氯酸( $\text{HClO}_4$ )酸化(最终浓度为0.4 N)按荧光分析法<sup>(9)</sup>于394/504 nm测定NA含量。

蟾蜍灵由天津中药研究所植化室提供。利血平(天津人民制药厂),维拉帕米(天津医药工业研究所),酚妥拉明注射剂(上海十三制药厂),盐酸去甲肾上腺素(瑞士Fluka药厂),酚苄明(Smith Kline & French Lab),抗坏血酸(天津化学试剂一厂AR),溴苄铵注射剂(上海第七制药厂),可卡因(沈阳片剂制药厂),阿托品(天津人民制药厂),赛庚啶(常州向阳制药厂)。其它试剂均为AR。

## 结 果

**蟾蜍灵对离体豚鼠输精管的收缩作用** 浴管中加入B 1.3-9.1  $\mu\text{M}$ , 立即或经1-15 min后输精管节律性收缩加强, 张力增高(图1)。随着剂量增大, 最高张力克数增加, 且作用出

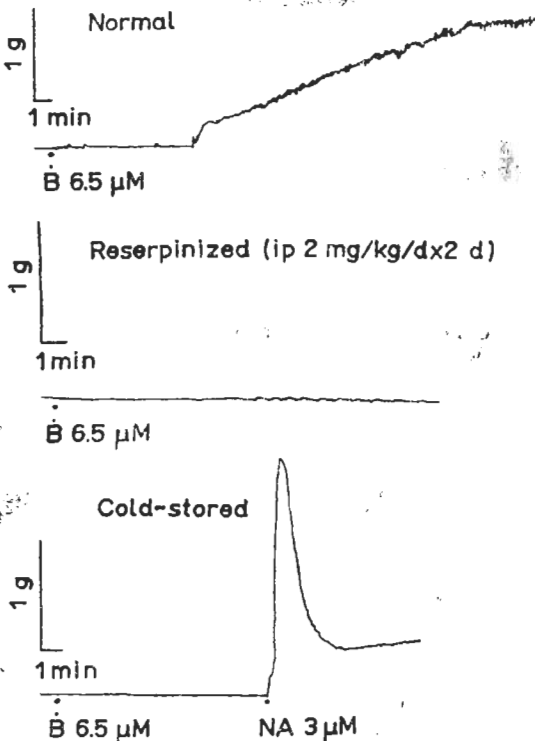


Fig 1. Bufalin ( $6.5 \mu\text{M}$ )-induced contractions in isolated vas deferens of guinea pig.

现亦愈快。约25-35 min后, 张力达最高点。然后逐渐降低, 作用持续约1 h, 重复给药则作用减弱, 故每个制备标本仅给一次B。

剂量-效应曲线 以B( $1.3 \mu\text{M}$ )的7个倍数(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7)浓度与输精管张力增加值g数做剂量-效应曲线(图2), 显示出剂量依赖性收缩反应。

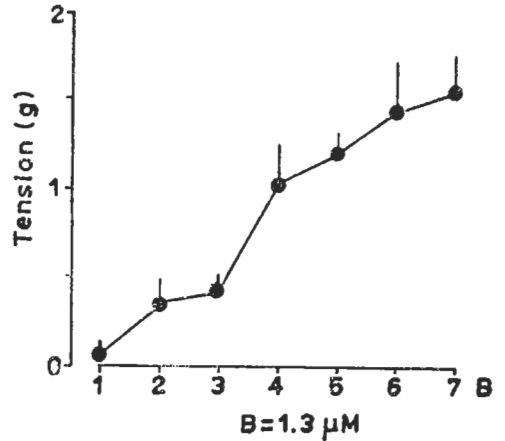


Fig 2. Bufalin-induced contractions of isolated guinea pig vas deferens,  $n=5$ .  $\bar{x} \pm \text{SD}$

**以利血平耗竭去甲肾上腺素及输精管冷藏对B( $6.5 \mu\text{M}$ )所致输精管收缩作用的影响** 利血平化豚鼠[ip 2 (mg/kg)d $\times$ 2 d]输精管中NA已耗竭<sup>(10)</sup>, 对B几无反应(图1)冷藏输精管其肾上腺素能神经末梢已退化, 给B后亦无反应, 而给NA( $3 \mu\text{M}$ )仍能立即出现收缩高峰(图1)。

**阻断肾上腺素受体对B( $6.5 \mu\text{M}$ )所致输精管收缩作用的影响** 给B前10 min给酚妥拉明( $10 \mu\text{M}$ )阻断肾上腺素受体后, 输精管对B的收缩反应明显降低, 为对照组的18% ( $p < 0.001$ )(图3 D)。给阿托品( $0.43 \mu\text{M}$ )和赛庚啶( $1 \mu\text{M}$ )对B的反应无大影响。

**其它影响去甲肾上腺素释放的药对B( $6.5 \mu\text{M}$ )所致输精管收缩作用的影响** 给B前10 min分别给溴苄铵( $0.73 \text{mM}$ ), 可卡因( $15 \mu\text{M}$ ), 和维拉帕米( $1 \mu\text{M}$ ), 输精管对B的收缩反应明显降低, 分别为对照值的55%

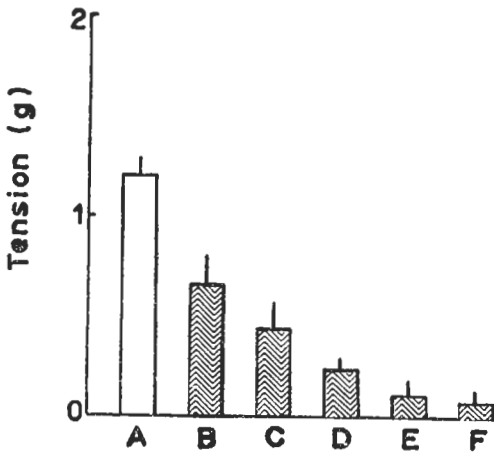


Fig 3. Effects of pretreatments with bretylium 0.73 mM (B), cocaine 15  $\mu$ M (C), phentolamine 10  $\mu$ M (D), verapamil 1  $\mu$ M (E) and reserpine 2 mg/kg/d x 2 d (F) on bufalin (6.5  $\mu$ M)-induced contractions of isolated guinea pig vas deferens. n=5.  $\bar{x}$ ±SD. B-F all  $p < 0.001$  in comparison to A.

( $p < 0.001$ ), 38% ( $p < 0.001$ ) 和 8% ( $p < 0.001$ ) (图 3 BCE)。

**对温育液中 NA 含量的影响** 以上收集的三组温育液作 NA 的荧光测定, 对照组(1 组)及利血平化豚鼠输精管给 B(7.8  $\mu$ M)组(2 组)温育液中 NA 含量太低, 因实验条件所限未能检出。正常输精管给 B(7.8  $\mu$ M)组(3 组)温育液中 NA 含量为  $690 \pm 130$  ng/g 组织湿重。

## 讨 论

本实验表明 B 有明显地增强离体豚鼠输精管收缩的作用, 且有剂量依赖性, 这一作用被酚妥拉明所对抗, 说明是直接作用于  $\alpha$  受体或影响递质。

用儿茶酚胺耗竭剂利血平及输精管冷藏处理使神经末梢退化可明显地抑制或取消 B 的这一作用; 抗肾上腺素能神经药溴苄铵可抑制儿茶酚胺释放; 可卡因<sup>(11)</sup>可稳定囊泡膜, 使泡裂外排有所困难, 它们对 B 收缩输精管的作用均有不同程度的抑制。B 的这一作用不被胆碱能受体阻滞剂阿托品和 5-羟色胺及组胺对抗剂——赛庚啶(cyproheptadine)所对抗, 根据以上

作用分析, B 增强输精管收缩作用可能是促进了肾上腺素能神经末梢 NA 的释放。

钙通道阻断剂——维拉帕米明显地抑制 B 收缩输精管, 说明 B 的作用似与  $Ca^{++}$  有关。

B 1.3-3.9  $\mu$ M 增强输精管收缩作用常出现在给药后 10-15 min 而高浓度 B 6.5-9.1  $\mu$ M 则在给药后 1-2 min 或立即出现作用。

将输精管与 B 一起温育, 用荧光分光光度法从温育液中测得 NA, 其含量比对照组明显增多, 这就进一步支持这一设想, 即 B 增强输精管收缩作用是由于促进肾上腺素能神经源性 NA 释放的结果。

**致谢** 天津中药研究所植化室 钱进、聂荣海同志提供蟾蜍灵。

## 参 考 文 献

- 1 Chen KK, Anderson RC, Henderson FG. Comparison of cardiac action of bufalin, cinobufalin and telocinobufagin with cinobufagin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951; 76 : 372
- 2 Yoshida S, Kamano Y, Sakai T. Studies on the surface anesthetic activity of bufadienolides isolated from Chan Su. *Chem Pharm Bull* 1976; 24 : 1714
- 3 Chen KK, Kovaříková A. Pharmacology and toxicology of toad venom. *J Pharm Sci* 1967; 56 : 1535
- 4 Garcia AG, Hernandez M, Horga JF, Sanchez-Garcia P. On the release of catecholamines and dopamine-hydroxylase evoked by ouabain in the perfused cat adrenal gland. *Br J Pharmacol* 1980; 68 : 571
- 5 Nakazato Y, Ohga A, Onoda Y. The effect of ouabain on NA output from peripheral adrenergic neurones of isolated guinea-pig vas deferens. *J Physiol (Lond)* 1978; 278 : 45
- 6 Katsuragi T, Fukushi Y, Suzuki T. Neuronal NE as mediator for ouabain smooth muscle contraction. *Eur J Pharmacol* 1978; 47 : 407
- 7 Varma DR, McCullough HN. Dissociation of the supersensitivity to norepinephrine caused by cocaine from inhibition of [ $^3$ H]norepinephrine uptake in cold stored smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1969; 166 : 26
- 8 Ohizumi Y. Contractions induced by grayanotoxin I in the guinea-pig vas deferens.

- Br J Pharmacol* 1983; 78 : 461
- 9 Anto AH, Sayre DF. A study of the factors affecting the aluminum oxidetrihydroxy indole procedure for the analysis of catecholamines. *J Pharmacol Exp Ther* 1962; 138 : 360
- 10 Ohizumi Y, Shibata S, Tachibana K. Mode

- of the excitatory and inhibitory action of ciguatoxin in the guinea-pig vas deferens. *Ibid* 1981; 217 : 475
- 11 Macmillan WH. A hypothesis concerning the effect of cocaine on the action of sympathomimetic amines. *Br J Pharmacol* 1959; 14 : 385

*Acta Pharmacologica Sinica* 1986 Jul, 7 (4) : 314-317

## Bufalin promotes the release of noradrenaline from isolated guinea pig vas deferens

HAN Yong-jing, JIN Zhu-hua, HOU Qing-chang, CUI Rong-fen, SONG Han-ying  
(Dept Pharmacology, Tianjin Medical College, Tianjin 300070)

**ABSTRACT** Bufalin (B), one of the active principles extracted from toad venom, caused a long-lasting contraction of isolated vas deferens of guinea pig at the concentrations of 1.3-9.1  $\mu\text{M}$ .

The B-induced contraction was blocked or even abolished by a pretreatment with phentolamine 10  $\mu\text{M}$ , reserpine 2 (mg/kg)  $\times$  2 d, verapamil 1  $\mu\text{M}$  or stored at 4°C for 7 d, and was partly inhibited by a pretreatment with bretylium 0.73 mM or cocaine 15  $\mu\text{M}$ , but unaffected by atropine 0.43  $\mu\text{M}$

or cyproheptadine 1  $\mu\text{M}$ .

When the vas deferens was incubated with B, a marked release of NA was observed. This response was prevented by reserpine.

These results suggested that the B-induced contraction of vas deferens might be due to NA released from the adrenergic nerve terminals.

**KEY WORDS** bufalin; vas deferens; norepinephrine