

注入式量-效和速-效曲线

周元晏、唐志广¹、井连平、何洁虹、陈 棣、侯大宜²、楚 立³

(天津医学院药理教研室、数学教研室¹, 天津 300070)

提要 用4种平滑肌建立注入式量-效和速-效曲线测定法。分析量-效曲线的3种不同的形态和注入效应与释放效应之间的关系; 并证明激动剂有拮抗作用, 因而对激动剂和拮抗剂的定义提出一元论的解释。由速-效曲线证明药物的效应不仅决定于给药的浓度, 也决定于给药的速度。并根据给药速度可以控制 E_p 和 E_{eq} 的形成, 对受体学说提出修正。

关键词 药物受体; 乙酰胆碱; 卡巴胆碱; 去甲肾上腺素; 药物剂量-效应关系; 药效学; 自抗

在药理学研究中, 常用的量-效曲线只反映药效达高峰前一半的量-效关系⁽¹⁻³⁾。本文仿临床静滴给药的方式, 制定半自动化的注入式量-效曲线测定法, 可以观察量-效关系的全过程; 并能衍生出速-效曲线, 一般量-效曲线无法做到, 而且方法简便。

自抗-它抗的研究实质上是探讨激动剂的拮抗作用⁽⁴⁻⁶⁾。从某种角度来看, 激动剂也是拮抗剂。激动剂的激动与拮抗同在。这是一个重要的观点, 涉及到分子药理学中一些基本概念和受体学说的探讨, 有深入研究的必要。

材料与 方法

大鼠胃底条实验 大鼠(0.34±SD 0.08 kg)击死后制备胃底条。取长约2 cm一段, 悬于浴管内。Krebs液保温37℃, 通入95%O₂+5%CO₂或用空气。标本负荷2 g, 连接ZH-5型微拉力传感器(贵阳医疗器械厂)和XWT 200型台式自动平衡记录仪(天津自动化仪表六厂)描记等张收缩曲线。

豚鼠输精管实验 豚鼠(0.61±0.06 kg)击死后取出输精管, 负荷1 g, 其它实验条件同上。

兔主动脉条实验 兔(2.9±0.3 kg)击死后取出主动脉, 按螺旋形剪成条, 保温29℃, 负荷2 g, 其它实验条件同上。

大鼠肛尾肌实验 大鼠(0.33±0.10 kg)击死后取出肛尾肌⁽⁶⁾, 保温37℃, 负荷1 g, 其它实验条件同上。

药物 氯化乙酰胆碱(ACh, 上海试剂三厂); 卡巴胆碱(carbachol, CC; 上海百达制药厂); 重酒石酸去甲肾上腺素(NE; 天津和平制药厂)。临用时, 将注射剂或贮备液用Krebs液稀释至所需的%浓度, 称工作溶液。置于恒温水浴内保持同温, 用WBD-1型电子微量泵(江苏沙洲仪器厂)选择适当的泵速, 向浴管内连续注入。记录给药开始和终止的时间; 观察药效的变化。

浴管中药物浓度的计算 可按下式换算:

令G为工作溶液的%浓度(g/100 ml); W为药物的分子量; S为泵速(ml/min); V为加药前浴管中Krebs液的容量(ml); t为给药时间(min); C_t为t时刻浴管中药物的浓度(mol/L)。

则工作溶液浓度为10 G/W(mol/L); t时刻流入浴管的工作溶液的容量为St(ml) = St/1000(L); t时刻流入的药量为(10 G/W)·(St/1000) = GSt/100 W(mol); C_t = (GSt/100 W)·1000/(V + St) = (10 G/W)·St/(V + St)。

结 果

上式中, 工作溶液的浓度和容量、泵速以及给药时间可以任意调节; 共有5种不同的组合法。

1986年3月14日收稿 1987年2月2日修回

² 张家口医学院药理教研室

³ 河北省中医学院药理教研室

国家自然科学基金资助项目 No 187

注入式量-效曲线测定法 采用第1种组合, 即泵速和工作溶液的浓度固定, 给药的时间不限。

1. 注入式量-效曲线的稳定性 装好平滑肌和配好工作溶液后, 将微量泵的胶管一端插入药液中, 另一端插入浴管中的 Krebs 液内, 选一适当泵速, 启动微量泵, 药液即源源不断地注入浴管内, 直至效应充分显现为止。方法简便, 图形稳定(图1)。

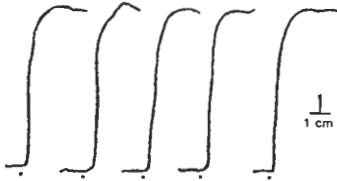


Fig 1. Stability of the infusing concentration-response curve (rat fundus). (•) beginning of ACh infusing 10 $\mu\text{g/ml}$; S (pump speed) = 0.18 ml/min; V (initial volume of Krebs solution in bath) = 25 ml.

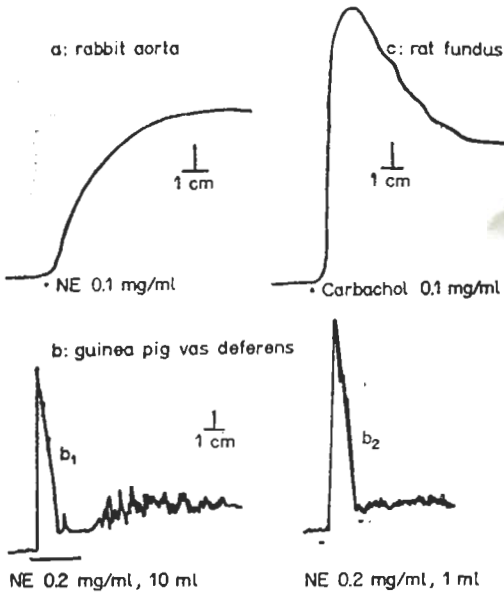


Fig 2. Three types of infusing drug concentration-response curves. Curve a: rabbit aorta; NE 0.1 mg/ml; S = 0.18 ml/min; V = 25 ml; chart speed = 2 mm/min. Curve b: guinea pig vas deferens; NE 0.2 mg/ml; S = 6 ml/min; V = 12.5 ml; chart speed = 0.25 mm/min. Curve c: rat fundus; carbachol 0.1 mg/ml; S = 0.18 ml/min; V = 25 ml; chart speed = 5 mm/min.

2. 注入式量-效曲线的形态和激动剂的拮抗作用 3种平滑肌的曲线形态不同(图2)。在兔主动脉条实验中, NE的曲线上升很慢, 达平衡效应(E_{eq})后, 继续给药坪值不变, 出现明显的自抗作用。在豚鼠输精管实验中, NE有很强的峰值效应(E_{peak} 或 E_{p}), 并迅速衰落; E_{eq} 极弱。从图2 b₁看, 在 E_{p} 之后, 虽继续给药不能阻止衰落。这可能是: 药物与受体形成复合物后, 一方面产生刺激, 引起效应; 另一方面, 在形成复合物时有化学键生成, 产生结合力, 不能象分子的布朗运动那样, 一碰即散。因此, 激动发生在结合的最初阶段, 拮抗则在结合的全过程, 随后进药无效。为了证实衰落是自抗, 在图2 b₂中, 于衰落后重复给药, 结果亦无效应。再比较图2 b₁和图2 b₂, 两者给药的剂量比为10:1, 而 E_{p} 近似。说明决定效应强度的是进药的速度, 而非浴管内的药物最终浓度, 后文再进一步提供证据。

在大鼠胃底条实验中, ACh和CC的量-效曲线介乎上两图之间。进药速度快时, 也可见到 E_{p} (图2 c)。但衰落稍慢而弱。如进药慢时, 只有 E_{eq} 。

3. 注入效应与释放效应 由于给药是连续的, 而效应出现需要潜伏期; 所以, 在曲线上上升阶段的任何一点停药, 效应还会上升。这就是说: 注入时的效应(称注入效应)与其对应的药浓度不一致。停药后, 曲线继续上升的部分我们称之为释放效应。释放效应的大小与停药的水平有关系。实验时, 先测 E_{eq} 作为100; 然后在不同水平停药观察释放效应。在大鼠胃底条与兔主动脉条所得结果类似。将前者10例的资料经曲线拟合得公式及图3如下:

$$Y = 0.21 X^{0.84} e^{-0.484X}$$

在注入效应达 E_{eq} 时停药, 释放效应为零; 在15% E_{eq} 时停药最大, 为62.2%。

如给药的容量很小, 泵速又快, 在注入效应未出现之前药已给完, 只有释放效应(见图2 b₂)。如泵速减慢, 可无释放效应。

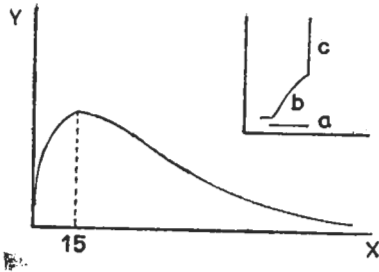


Fig 3. Releasing effects on infusing effect (10 rat fundi). carbachol 10 $\mu\text{g/ml}$; $V = 12.5 \text{ ml}$; $S = 0.2 \text{ ml/min}$; a) course of infusing; b) infusing effect; c) releasing effect; (X) infusing effect (% of E_{eq}); (Y) releasing effect (% of E_{eq}).

速-效曲线测定法

1. 第2,3种组合 固定泵速, 改变工作溶液的浓度, 或者反之, 给药的时间不限。这两种组合的结果一致, 均可得到一系列的量-效曲线。如将每条量-效曲线的顶点连接起来, 即成一条速-效曲线。但分析各条曲线达 E_{eq} 时的浴管内药浓度, 依然是浓度高者效应强, 易被误认为仅是浓度决定效应。由于给药的时间不限, E_{eq} 不会再增加, 所以还是进药的速度起决定性作用。用大鼠胃底条(CC)和兔主动脉条(NE)进行实验, 结果相同。以前者为例, 见图4。

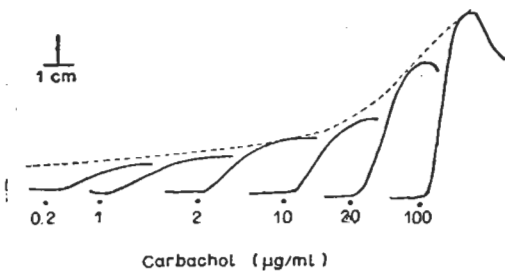


Fig 4. Speed-response curve of carbachol (rat fundus). It consisted of a series of infusing concentration-response curves. If the apices of curves are connected with a line, this line is a speed-response curve. $S = 0.18 \text{ ml/min}$; $V = 25 \text{ ml}$; chart speed = 5 mm/min.

2. 第4种组合 将药物的工作溶液的浓度和容量均固定, 使浴管中的终浓度相等, 唯泵速不同。在豚鼠输精管(NE)、大鼠胃底条

(CC)和肛尾肌(NE)所得的结果相似。以输精管实验为例, 将8次实验数据取均数绘成速-效曲线如图5。如将给药速度取对数值, 也呈S状曲线。

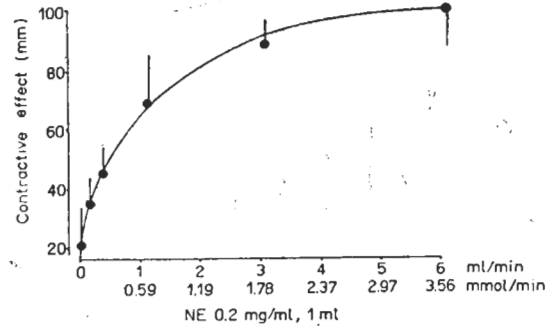


Fig 5. Speed-response curve of NE (8 guinea pig vas deferens). $V = 12.5 \text{ ml}$; chart speed = 0.25 mm/s.

由图5看, 泵速最慢时效应微弱, 但给药的时间也长。应考虑药物在 Krebs 液内可受温度、氧、酶和组织摄取的影响。一般说, ACh 和 NE 易受酶的破坏, 本身也不稳定; 但 CC 是稳定的, 且有抗胆碱酯酶的性质, 它们的结果相同。为了进一步排除这些因素, 采用大鼠肛尾肌分两组实验:

第1组 取 a, b, c 3管各盛 Krebs 液 9 ml, 保温 37°C , a管给氧, b管不给氧, c管给氧并加肛尾肌一片。将 NE 1 $\mu\text{g/ml}$, 1 ml 以 0.1 ml/min 的泵速注入上述3管, 注完即取出, 用另一片肛尾肌观察注入效应。给药的泵速为 4.83 ml/min。结果如下: a管: $\bar{x} = 8 \pm 4 \text{ cm}$ ($n = 9$); b管: $\bar{x} = 9 \pm 5 \text{ cm}$ ($n = 4$); c管: $\bar{x} = 8 \pm 4 \text{ cm}$ ($n = 9$)。由 a, b 两管可知给氧的影响不大, $p > 0.05$; 由 a, c 两管可知组织摄取和酶破坏的影响也不大, $p > 0.05$ 。

第2组 取 a, b 两管各盛 NE 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 ml, a管保温 37°C , 12 min; b管不保温。再用肛尾肌观察注入效应。各取 1 ml, 以 4.83 ml/min 的泵速注入。结果如下: a管: $\bar{x} = 10.9 \pm 2.9 \text{ cm}$; b管: $\bar{x} = 13.8 \pm 2.3 \text{ cm}$,

$n = 5$, $p > 0.05$. 看来温度的影响也不显著,可能与保温的时间不长有关。

3. 第5种组合 将工作溶液的浓度和泵速均改变,出现了惊人的结果。即泵速快时可使浴管中药物终浓度低数百倍者出现等效或较强的反应,见图6。足见给药速度的重要性。

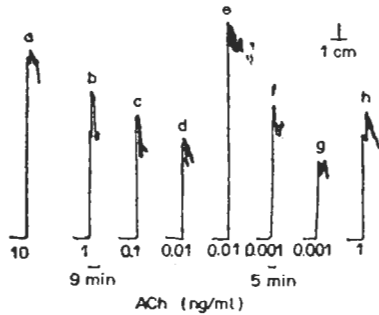


Fig 6. Relation among drug infusing speeds, concentrations and effects of ACh (rat fundus). $V = 20$ ml, chart speed = 0.5 mm/min; S was 1.8 ml/min for the curves e & f and 0.23 ml/min for the others. The ratio of concentrations reaching to their E_{peak} of curve b (9 min) to curve f (5 min) was 5.16 pmol/L : 0.017 pmol/L (>300).

讨 论

激动剂与拮抗剂的定义 本文再次证实激动剂有拮抗作用。其实,这种例子很多,竞争性拮抗是相互拮抗,否则量-效曲线不能平行右移;放射配体结合实验的标记物与非标记物可为激动剂或拮抗剂^(7,8),都发生拮抗。目前的定义缺乏这一内容⁽⁹⁻¹¹⁾,建议修正为:“药物与受体作用必须结合或占领受体,阻止一切分子的再结合而有拮抗作用;其次看结合后有无效应,分为激动剂与拮抗剂”。纯激动剂是不存在的。

受体学说 速率学说⁽¹²⁾从理论推测有 E_p ,但难证实。我们从实验出发,证明有 E_p ,而且给药速度能控制 E_p 和 E_{eq} 的形成。但双方所说的 E_p 和 E_{eq} 是不同的。我们的 E_p 不是发生快得难以记录⁽⁹⁾,而 E_{eq} 是在药浓度不断上升的情况下出现的。如此时结合与

解离的速率也相等,则可能另有因素控制着药物-受体复合物的形成。推测与游离受体减少,亲和力下降有关系(未发表资料)。我们同意速率学说用自抗解释衰落现象,占领学说难以解释。但速率学说忽视占领的观点。建议修正如下:“给药当时全部受体游离,亲和力最大。进药快,复合物迅速形成出现 E_p ,但已结合的受体一时不易解离而失活,亲和力迅速下降发生自抗,效应衰落。进药慢,复合物逐渐形成,亲和力相应下降,最终达平衡状态,出现 E_{eq} ,无 E_p 。”

如何解释注入式量-效曲线的3种形态,推测进药速度只是因素之一,决定效应的是药物进入生物相的速度,不同的组织和药物可能不同。目前尚无法测定⁽⁹⁾。据经验,豚鼠输精管对药物的反应发生快,洗去消失也快;兔主动脉条完全相反;大鼠胃底条介乎其间,似也吻合。

参 考 文 献

- 1 van Rossum JM, Van den Brink FG. Cumulative dose-response curves. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143 : 240
- 2 van Rossum JM. Cumulative dose-response curves. *Ibid* 1963; 143 : 299
- 3 Kenakin TP. The classification of drugs and drug receptors in isolated tissues. *Pharmacol Rev* 1984; 36 : 165
- 4 周元晏、王宏镛。药物的自抗作用与它抗作用。中国药理学报 1982; 3 : 251
- 5 周元晏、王宏镛、唐志广、马德录。衡量合并用药效应的两个新公式——兼论 Bürgi 氏公式及金氏修正式。同上 1984; 5 : 217
- 6 Gillespie JS. The rat anococcygeus muscle and its response to nerve stimulation and to some drugs. *Br J Pharmacol* 1972; 45 : 404
- 7 冯亦璞、张丽英、曾贵云。肾上腺素能受体的测定方法及我们的一些经验。中华核医学杂志 1983; 3 : 8
- 8 Williams LT, Lefkowitz RJ. *Receptor binding studies in adrenergic pharmacology*. NY : Raven, 1978 : 83-109
- 9 Bowman WC, Rand MJ. *Textbook of pharmacology*. 2nd ed. Oxford : Blackwell, 1980 : 9,15, 39,18-19, 39,27-33
- 10 Ross EM, Gilman AG. *Pharmacodynamics*:

Mechanisms of drug action and the relationship between drug concentration and effect. In: Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F, eds. *The pharmacological basis of therapeutics*. 7th ed. NY : Macmillan, 1985: 35

- 11 Csáky TZ. *Introduction to general pharmacology*. 2nd ed. NY : Appleton-Century-Crofts, 1979 : 17-18
- 12 Paton WDM. A theory of drug action based on the rate of drug-receptor combination. *Proc R Soc Lond [Biol]* 1961; 154 : 21

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Sep, 8 (5) : 385-389

Infusing drug concentration- and speed-response curves

ZHOU Yuan-Yan, TANG Zhi-Guang, JING Lian-Ping, HE Jie-Hong, CHEN Di, HOU Da-Yi, CHU Li (Department of Pharmacology, Tianjin Medical College, Tianjin 300070)

ABSTRACT A semi-mechanized method for the determination of infusing drug concentration- and speed-response curves in isolated rabbit aortic strips, rat gastric fundi, guinea pig vas deferens and rat anococcygeal muscles was developed. The natures of the infusing drug concentration-response curves and relation between the infusing effect and releasing effect were analysed. Our experimental results showed the agonism and antagonism of agonists coexisted, and so-called "pure" agonists did not exist. A revised definition for agonists and antagonists was put forward. The results also showed that the drug effects not only depended on the

terminal concentration in organ bath, but also the speed of drug infusion. For lack of the new concept of speed-response relationship, both occupation theory and rate theory based only on the drug concentration-response relationship can hardly interpret the formations of E_{peak} and $E_{equilibrium}$ observed in our experiments. Summing up the useful views of both theories, the authors proposed an alternative theory.

KEY WORDS drug receptors; acetylcholine; carbachol; norepinephrine; drug dose-response relationship; pharmacodynamics; auto-antagonism