

## $\alpha$ -肾上腺素受体激动剂和拮抗剂对小鼠眼睑裂和流泪的影响

齐建华、李宝华 (江西医学院药理教研室, 南昌 330006, 中国)

R 968<sup>5.1</sup>

Effects of alpha adrenoceptor agonists and antagonists on palpebral fissure and lacrimation in mice

QI Jian-Hua, LI Bao-Hua (Department of Pharmacology, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006, China)

**ABSTRACT** Ip methoxamine (Met), norepinephrine (NE), xylazine (Xyl), and clonidine (Clo) produced dose-related reversal of ptosis induced by reserpine. These agonists had equivalent  $E_{max}$  values, however, the order of potency was: Clo > Met  $\approx$  NE > Xyl. Met-induced antiprotic action was competitively inhibited by prazosin (Pra) (apparent  $pA_2=6.86$ ), but not by idazoxan (Ida); Xyl-induced antiprotic action was competitively inhibited by Ida (apparent  $pA_2=6.39$ ), but inhibited by Pra in a noncompetitive manner. These results suggested that the eyelids of mice had both alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors. In mice lacrimal gland, Met, and NE elicited dose-related lacrimal secretions, however, Xyl and Clo had no such reaction. Lacrimal secretions elicited by Met or NE were inhibited by Pra, but not by Ida. These results suggested that the lacrimal gland of mice had only alpha-1 adrenoceptor.

**KEY WORDS** xylazine; methoxamine; idazoxan; prazosin; reserpine; eyelids; lacrimal apparatus

**摘要** Ip Met, NE, Xyl 和 Clo 能逆转利血平所致小鼠睑下垂, 它们的  $E_{max}$  相似, 而作用强度的顺序为 Clo > Met  $\approx$  NE > Xyl. Met 的作用不被 Ida 但被 Pra 竞争地抑制. Xyl 的作用不被 Pra 但被 Ida 竞争地抑制. 提示小鼠眼睑有  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体. Met 和 NE 有催泪作用, Clo 和 Xyl 则否, 且其催泪作用不被 Ida 而被 Pra 抑制. 提示小鼠泪腺只有  $\alpha_1$  受体.

**关键词** 噻拉嗪; 甲氧明; 咪唑克生; 哌唑嗪; 利血平; 眼睑; 泪器. 肾上腺素受体 激动剂

Received 1990 Dec 21

Accepted 1991 Nov 21

小鼠眼睑受交感神经细胞支配, 因而有人用引起睑下垂和抗睑下垂来研究肾上腺素能神经阻断药<sup>(1-3)</sup>和  $\alpha$  受体激动药的作用<sup>(4,5)</sup>. 但以往是采用半定量的分级法, 不能准确地测定药物作用强度. 我们用照相放大直接测量麻醉小鼠睑裂宽度能定量测定药物的作用强度, 并用这一方法观察了  $\alpha$  受体激动剂和拮抗剂的作用, 以鉴别眼睑的  $\alpha$  受体亚型. 已知小鼠泪腺的肾上腺素受体是  $\alpha$  受体<sup>(6)</sup>, 但不了解究竟是  $\alpha_1$  或  $\alpha_2$  受体, 或两者均存在, 所以也观察了  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体激动剂和拮抗剂对麻醉小鼠泪腺的作用.

### MATERIALS AND METHODS

Swiss 小鼠体重为  $21 \pm s 1.5$  g,  $\sigma$   $\delta$  兼用.  $\alpha_1$  受体激动剂盐酸甲氧明 (methoxamine, Met) 和  $\alpha_1/\alpha_2$  受体混和激动剂重酒石酸去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 武汉制药厂生产;  $\alpha_2$  受体激动剂盐酸可乐定 (clonidine, Clo), 江苏丹阳制药厂生产;  $\alpha_2$  受体激动剂盐酸噻拉嗪<sup>(7)</sup> (xylazine, Xyl) 和  $\alpha_2$  受体拮抗剂盐酸咪唑克生<sup>(8)</sup> (idazoxan, Ida), 中国人民解放军防化学研究院药物化学研究所提供;  $\alpha_1$  受体拮抗剂盐酸哌唑嗪 (prazosin, Pra), 北京制药工业研究所供应. Xyl, Met, Clo 和 NE 用生理盐水溶解, Ida 用蒸馏水溶解, Pra 先用 30% 甲醇配成 0.1% 工作母液, 再用蒸馏水稀释至所需浓度. 药物均在实验前新鲜配制. 每鼠所给各药总量不超过 0.5 ml.

**眼睑裂实验** 实验前 12-16 h 给小鼠 ip 利血平  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 以引起睑下垂. 实验时, 先用戊巴妥钠  $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  麻醉小鼠, 10 min 后再 ip  $\alpha$  受体激动剂, 然后置小鼠侧卧于特

制的卧槽内, 头部方位保持一致, 左眼朝上, 将分度为 0.1 mm 的直尺置于左脸一侧. 在 ip Met, Xyl 和 Clo 30 min 后, ip NE 15 min 后, 用带有近摄镜头的 DF-1 照相机拍照(照度  $1.2 \times 10^3$  lx), 再通过放大机放大. 根据放大照片测算睑裂宽度.

观察  $\alpha$  受体激动剂的作用, 每一剂量用 8 只小鼠, 计算各组睑裂宽度( $\bar{x} \pm s$ ). 以剂量为横坐标, 睑裂宽度作纵坐标, 绘制量-效曲线. 通过双倒数作图测算各药引起 50% 最大效应的剂量<sup>(9)</sup>即  $ED_{50}$ , 以比较各药的作用强度. 还观察了 Met 和 Xyl 结膜囊内给药的作用, 将所给剂量溶于 4  $\mu$ l 生理盐水内, 用微量送液器给药, 15 min 后测定结果. 观察  $\alpha$  受体拮抗剂对  $\alpha$  受体激动剂作用的影响时, 在给激动剂前 10 min sc 拮抗剂, 对照组则给相应拮抗剂的溶剂. 如增加激动剂剂量可完全克服一定量拮抗剂的作用, 而且能恢复原来效应时, 则计算给拮抗剂与不给拮抗剂时激动剂  $ED_{50}$  的比值, 通过  $\lg(ED_{50} \text{ 比值} - 1)$  与拮抗剂剂量( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ )负对数作图测算  $pA_2$ <sup>(10,11)</sup>.

**流泪实验** 用 pH 试纸吸泪法<sup>(6)</sup>.  $\alpha$  受体激动剂和拮抗剂的给药途径及给药间隔时间, 以及每组小鼠数, 均与睑裂实验的情况相同. 计算各组流泪量.

均数差异的显著性用  $t$  检验法测定.

**RESULTS**

**眼睑裂实验**

**1  $\alpha$  受体激动剂的作用** ip Met, NE, Xyl 和 Clo 可产生剂量相关的抗利血平所致睑下垂作用, 这些激动剂的最大效应( $E_{max}$ )皆相似( $P > 0.05$ ),  $ED_{50}$  分别为  $6.25 \pm 0.02$  (Clo),  $5.47 \pm 0.20$  (Met),  $5.45 \pm 0.14$  (NE)和  $5.08 \pm 0.20$  (Xyl)  $-\lg \text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ . 给小鼠结膜囊内滴入 Met 和 Xyl 也产生与 ip 给药相似的情况, 前者的作用比后者的作用更强.

**2 Pra 和 Ida 对 Met 和 Xyl 作用的影响** Pra 可拮抗 Met 开大眼睑裂作用. 但是, 增加 Met 剂量又可克服一定剂量 Pra 的拮抗作用, 恢复原有的效应, 所以  $E_{max}$  不降低,  $pA_2$  值为 6.86, 斜率为  $-1.16 \pm 0.16$ . Pra 也可拮抗 Xyl 开大眼睑裂的作用, 但是, 增大 Xyl 剂量不能克服 Pra 的拮抗作用, 因此 Xyl 不能恢复原有的效应,  $E_{max}$  明显降低. Ida 可拮抗 Xyl 开大眼睑裂的作用, 但是增加 Xyl 剂量也可克服 Ida 的拮抗作用, 恢复原有的效应, 所以  $E_{max}$  不降低.  $pA_2$  值为 6.39, 斜率为  $-0.85 \pm 0.08$ . Ida 并不影响 Met 的作用(Fig 1).

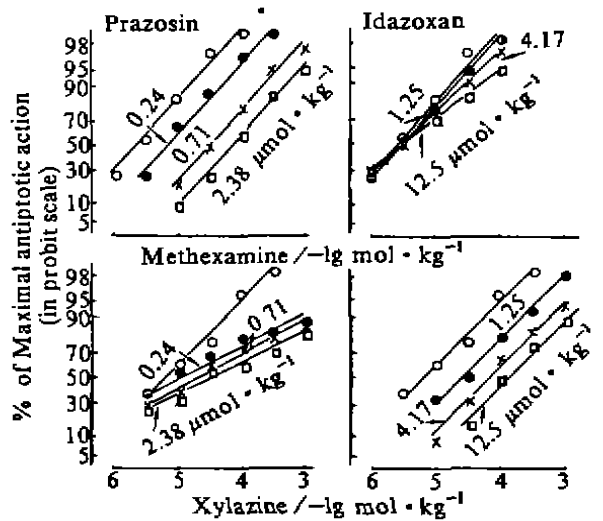


Fig 1. Antiphotic action of methoxamine, xylazine in the absence and presence of prazosin or idazoxan in reserpinized anesthetized mice.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ .

**流泪实验**

**1 Met 和 NE 的作用** Met 和 NE 可产生与剂量相关的催泪作用, 然而 Xyl 和 Clo 所用的几种剂量均不引起催泪效应(Tab 1).

**2 Pra 和 Ida 对 Met 和 NE 作用的影响** 小剂量 Pra 明显抑制 Met 和 NE 的催泪作用, 而较大剂量 Ida 并不影响这两个药的作用(Tab 1).

Tab 1. Effects of prazosin ( $0.71 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and idazoxan ( $4.17 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) on lacrimation induced by norepinephrine and methoxamine measured by wet area of indicator paper ( $\text{mm}^2$ ).  $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ , \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs saline, + $P > 0.05$ , ++ $P < 0.01$  vs norepinephrine or methoxamine.

Agonists	mmol $\cdot$ kg <sup>-1</sup>	Wet area ( $\text{mm}^2$ )
Saline		2.4 $\pm$ 0
Clonidine	0.01	2.0 $\pm$ 0*
	0.03	2.3 $\pm$ 0*
Xylazine	0.03	3.1 $\pm$ 0*
	0.10	2.9 $\pm$ 0*
Norepinephrine	0.01	7.2 $\pm$ 2.3***
	0.03	19.7 $\pm$ 2.2***
Methoxamine	0.03	14.7 $\pm$ 2.7**
	0.10	22.0 $\pm$ 2.0**
Prazosin+ Norepinephrine	0.01	3.9 $\pm$ 0.8++
	0.03	14.8 $\pm$ 2.7++
Idazoxan+ Norepinephrine	0.01	9.1 $\pm$ 1.5+
	0.03	19.1 $\pm$ 5.7+
Prazosin+ Methoxamine	0.03	5.2 $\pm$ 1.1+++
	0.10	10.8 $\pm$ 2.7++
Idazoxan+ Methoxamine	0.03	13.7 $\pm$ 3.1+
	0.10	22.4 $\pm$ 2.4+

## DISCUSSION

实验结果表明, Clo 的抗利血平所致睑下垂作用最大, 大约为 Met 和 NE 的 6 倍, 为 Xyl 的 15 倍。由于 Pra 对 Met 呈竞争性拮抗, 对 Xyl 呈非竞争性拮抗; Ida 对 Xyl 呈竞争性拮抗, 对 Met 作用没有影响, 因而提示 Met 和 Xyl 是分别作用于  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体。应当指出, Xyl 的作用不是中枢性效应, 因为结膜囊给药可以产生抗睑下垂作用。Xyl 作用的  $\alpha_2$  受体不是突触前  $\alpha_2$  受体, 因为激动突触前  $\alpha_2$  受体的效应是抑制肾上腺素能神经末梢释放递质, 其结果是引起睑下垂。其次, 激动突触前  $\alpha_2$  受体的实验通常要在刺激交感神经的基础上进行<sup>(12,13)</sup>, 而本实验为有利于准确地观察  $\alpha$  受体激动剂的作用, 先用利血平<sup>(14)</sup>引起睑下垂, 交感神经是处于抑制状态。因此, Xyl

的抗睑下垂是对突触后  $\alpha_2$  受体作用的结果。

由于 Met 和 NE 对泪腺的作用与 Xyl 和 Clo 的作用不同, 从而间接支持 Met 和 Xyl 在眼睑作用的  $\alpha$  受体亚型不同。由于只有 Pra 抑制 Met 和 NE 的催泪作用, 因而提示催泪效应与兴奋  $\alpha_1$  受体有关。Kaniucki 等报道<sup>(14)</sup> Ida 可明显增强 NE 对大鼠颌下腺的催泪作用, 认为颌下腺存在抑制性突触后  $\alpha_2$  受体。而本实验结果表明, Ida 并不增强 NE 的催泪作用, 提示泪腺不存在抑制性突触后  $\alpha_2$  受体。

以上结果表明, 小鼠眼睑兼有  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体, 而泪腺只有  $\alpha_1$  受体。如联合应用眼睑裂实验和流泪实验, 则可将  $\alpha_2$  受体激动剂与  $\alpha_1$  受体激动剂和  $\alpha_1/\alpha_2$  受体混合激动剂区分开来。

**ACKNOWLEDGMENTS** 中国人民解放军防化学研究院药物化学研究所汤洛湘同志赠送 Xyl 和 Ida。

## REFERENCES

- 1 Rubin B, Malone MH, Waugh MH, Burke JC. Bioassay of rauwolfia roots and alkaloids. *J Pharmacol Exp Ther* 1957; 120: 125-36.
- 2 Doxey JC, Smith CFC, Walker JM. Selectivity of blocking agents for pre- and postsynaptic  $\alpha$ -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1977; 60: 91-6.
- 3 Starke K, Docherty JR. Recent developments in  $\alpha$ -adrenoceptor research. *J Cardiovasc Pharmacol* 1980; 2 Suppl 3: S269-S86.
- 4 Deniard MJ, Meignen J, Defeudis FV. Reversal of reserpine-induced ptosis in the mouse by  $\alpha$ -adrenoceptor agonists. *Psychopharmacology* 1983; 80: 243-8.
- 5 Megens AAHP, Leysen JE, Awouters FHL, Njemegeers CJE. Further validation of in vivo and in vitro pharmacological procedures for assessing the  $\alpha_2/\alpha_1$ -selectivity of test compounds: (2)  $\alpha$ -adrenoceptor agonists. *Eur J Pharmacol* 1986; 129: 57-64.
- 6 Li BH, Gao WX. Adrenoceptors in lacrimal glands of mice. *Acta Pharmacol Sin* 1981; 2: 149-52.

- 7 Greene SA, Thurmon JC. Xylazine—a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 1988; 11 : 295–313.
- 8 Doxey JC, Roach AG, Smith CFC. Studies on RX781094: A selective, potent and specific antagonist of  $\alpha_2$ -adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 1983; 78 : 489–505.
- 9 Tallarida RJ, Murray RB. Manual of pharmacologic calculations with computer programs. New York: Springer-Verlag, 1981 : 14–9.
- 10 Arunlakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol* 1959; 14 : 48–58.
- 11 Smits SE, Takemori AE. Quantitative studies on the antagonism by naloxone of some narcotic and narcotic-antagonist analgesics. *Br J Pharmacol* 1970; 39 : 627–38.
- 12 Drew GM. Pharmacological characterisation of the presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptor in the rat vas deferens. *Eur J Pharmacol* 1977; 42 : 123–30.
- 13 Docherty JR, MacDonald A, McGrath JC. Further sub-classification of  $\alpha$ -adrenoceptors in the cardiovascular system, vas deferens and anococcygeus of the rat. *Br J Pharmacol* 1979; 67 : 421p–2p.
- 14 Kaniucki MD, Perek CJ, Stefano FJE. Blockade of postsynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptors enhances responses to mixed  $\alpha_1/\alpha_2$ -agonists in rat submaxillary gland. *Eur J Pharmacol* 1986; 121 : 245–9.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1992 Mar; 13 (2) : 156-158

### 降钙素的中枢性镇痛作用及与中枢单胺类递质的关系

杨晓丽、唐毓环、赵晓平<sup>1</sup>、王 绍<sup>1</sup> (白求恩医科大学大学生化教研室, <sup>1</sup>生理教研室, 长春 130021, 中国)

**Central analgesic action of calcitonin and its relationship with central monoamine transmitters**

YANG Xiao-Li, TANG Yu-Huan, ZHAO Xiao-Ping<sup>1</sup>, WANG Shao<sup>1</sup> (Department of Biochemistry, <sup>1</sup>Department of Physiology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** The analgesic action of calcitonin (0.25 MRC units · kg<sup>-1</sup>) injected into lateral cerebro-ventricle was investigated in rats. The pain threshold was evaluated by the tail-flick test. The influences of icv naloxone 5  $\mu$ g/rat, a blocker of opiate receptor, on the analgesic action of calcitonin were observed. The results showed that icv calcitonin produced a significant analgesic action, which was reversed by naloxone. While the pain threshold was raised by calcitonin, the contents of central monoamines (5-HT, NE, DA) in brain (diencephalon,

brain stem) were examined by fluorophotometry, which were increased remarkably. It is suggested that calcitonin-induced analgesia is related to the opiate receptors and the contents of 5-HT, NE, and DA in CNS.

**KEY WORDS** calcitonin; naloxone; analgesia; brain

**提要** 用辐射热-甩尾法测定大鼠痛阈, 观察 calcitonin 注入侧脑室引起的痛阈变化。结果表明, calcitonin 具有显著镇痛作用, 此镇痛作用可被侧脑室注射 naloxone 翻转。在 calcitonin 引起痛阈升高时, 用荧光分光光度法测得脑组织(间脑和脑干)的单胺类递质(NE, DA, 5-HT)含量明显升高。Calcitonin 的镇痛作用与脑内阿片受体及单胺类递质的含量有关。

**关键词** 降钙素; 纳洛酮; 镇痛; 脑

大鼠及兔侧脑室注入 calcitonin 均引起痛阈升高<sup>(1,2)</sup>, 但 calcitonin 的中枢性镇痛作用是

Received 1991 Jan 29

Accepted 1991 Nov 29