

质刺激中枢某些核团的方法明显优于电刺激方法, 因 KA 只作用于神经元胞体而对神经纤维无明显影响。本实验采用 KA 这种化学物质刺激 Hab 其优点更为突出, 因为 Hab 内神经元胞体之间穿行着大量的既不投射至 Hab 也不发源于 Hab 的过往神经纤维, 如果采用电刺激方法, 不仅可使 Hab 内神经元胞体兴奋, 而且也可使 Hab 内过往神经纤维兴奋, 从而难以确定 Hab 兴奋产生的生理效应是神经元胞体还是过往神经纤维兴奋的结果。

REFERENCES

- 1 Herkenham M, Nauta WJH. Afferent connections of the habenular nuclei in the rat. A horseradish peroxidase study, with a note on the fiber-of-passage problem. *J Comp Neurol* 1977; **173** : 123-46.
- 2 Herkenham M, Nauta WJH. Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 1979; **187** : 19-48.
- 3 Hilton SM. Ways of viewing the central nervous

- control of the circulation—old and new. *Brain Res* 1975; **87** : 213-9.
- 4 Gelsema AJ, Calaresu FR. Chemical microstimulation of the septal area lowers arterial pressure in the rat. *Am J Physiol* 1987; **252** : R760-7.
- 5 Spyer KM. Central nervous integration of cardiovascular control. *J Exp Biol* 1982; **100** : 109-28.
- 6 Nadler JV. Kainic acid: neurophysiological and neurotoxic actions. *Life Sci* 1979; **24** : 289-300.
- 7 Gatti PJ, Dias Souza J, Taveira Da Silva AM, Quest JA, Gillis RA. Chemical stimulation of the area postrema induces cardiorespiratory changes in the cat. *Brain Res* 1985; **346** : 115-23.
- 8 Gatti PJ, Taveira Da Silva AM, Hamosh P, Gillis RA. Cardiorespiratory effects produced by application of L-glutamic and kainic acid to the ventral surface of the cat hindbrain. *Brain Res* 1985; **330** : 21-9.
- 9 Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Sydney: Academic Press, 1982: 21-2.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1992 Mar; 13 (2) : 176-179  
176-179

羰甲异喹对兔离体血管条收缩及钙流动的影响

朱卫忠、杨毓麟 (南通医学院药理教研室, 南通 226001, 中国) R 985.1

Effects of naphthylmethyl isoquinoline on contraction and calcium flux of rabbit vascular strips *in vitro*

ZHU Wei-Zhong, YANG Yu-Lin (Department of Pharmacology, Nantong Medical College, Nantong 226001, China)

ABSTRACT Naphthylmethyl isoquinoline (NI)  $1-30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  inhibited the contraction of rabbit vascular smooth muscle *in vitro* induced by KCl,  $\text{CaCl}_2$ , and norepinephrine (NE). NI  $0.3-30 \mu\text{mol}$

$\cdot \text{L}^{-1}$  blocked  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  influx process in vascular smooth muscle of aorta, mesenteric and femoral arteries by addition of KCl and NE. NI  $3-10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  had no effect on  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  efflux from aorta at resting state. These results suggest that the relaxing effect of NI on rabbit blood vessels may be relevant to the inhibition of  $\text{Ca}^{2+}$  influx into vascular smooth muscle.

KEY WORDS naphthylmethyl isoquinoline; potassium chloride; norepinephrine; calcium radioisotopes; vascular smooth muscle

Received 1990 Sep 28

Accepted 1991 Dec 17

**提要** 萘甲异喹(NI) 1-30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 KCl, NE,  $\text{CaCl}_2$  引起的兔离体血管条收缩均有抑制作用。NI 0.3-30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  能阻滞由 NE 或 KCl 诱发的兔主动脉(TA), 肠系膜动脉(MA)及股动脉(FA)  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流, 对后两者的作用更明显。NI 3-10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对静息状态 TA 的  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  外流无影响。结果提示 NI 的血管松弛作用, 可能与抑制血管平滑肌膜  $\text{Ca}^{2+}$  内流有关。

**关键词** 萘甲异喹; 氯化钾类; 氯化钙类; 去甲肾上腺素; 钙放射性同位素; 血管平滑肌, 血管条, 兔

萘甲异喹(naphthylmethyl isoquinoline, NI)为粉防己碱(tetrandrine)的类似物, 对正常和高血压动物均有降压作用<sup>[1]</sup>。为阐明 NI 对血管作用性质, 本文采用家兔的胸主动脉(TA)、肺动脉(PA)、股动脉(FA)、肠系膜动脉(MA)、门静脉(PV)及肾动脉(RA)条标本进行研究, 以了解 NI 对兔血管条作用特点。

**MATERIALS**

家兔体重  $2.5 \pm s 0.3 \text{ kg}$ , 雌雄不拘, NI 纯度  $>99.8\%$ , 中国药科大学提供;  $^{45}\text{CaCl}_2$  为中国科学院原子能研究所产品, 放射性活度  $758.5 \text{ MBq} \cdot \text{g}^{-1}$ ; Beckman LS-5801 型自动液体闪烁计数器。

**METHODS AND RESULTS**

**NI 对兔血管条收缩力的影响** 兔击昏处死, 取出各血管段, 制备螺旋条<sup>[2]</sup>宽 2.0-2.5 mm, 长 25-30 mm, 置于 Krebs 液中, pH 7.4。血管条连于张力换能器, 浴槽容量 20 ml, 通 95%  $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ , 37 $^{\circ}\text{C}$ 。标本负荷: TA 为 4 g, PA, FA 为 3 g, 其余为 2 g。血管标本每 15 min 换营养液一次, 平衡 2 h。

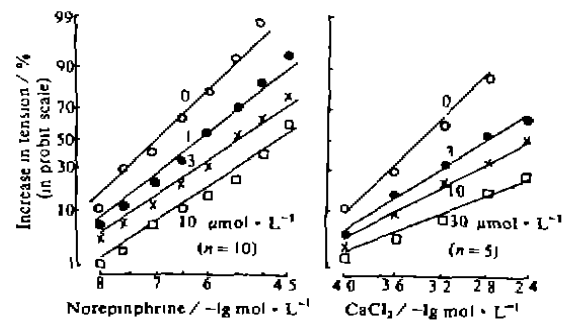
**1 NI 对 KCl 致 TA 和 MA 收缩的影响** 给予 KCl  $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  引起血管收缩, 并持续观察 30 min, 然后冲洗标本至基线, 稳定 30 min 后分别重复加入上述浓度 KCl, 每次待肌条收缩达坪值时, 加入 NI 作用 30 min。单给 KCl 引起 TA 和 MA 收缩而增加的肌张

力, 在 30 min 内均无明显变化。NI 1-30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对 KCl 致 TA 和 MA 收缩的抑制作用呈剂量依赖性,  $r$  均为 0.99 (Tab 1)。

**Tab 1. Effects of naphthylmethyl isoquinoline on contraction induced by KCl in rabbit thoracic aorta and mesenteric artery.  $n=6, \bar{x} \pm s, *P > 0.05, **P < 0.05, ***P < 0.01$  vs before.**

Dose / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Force of contraction / g			
	Thoracic aorta		Mesenteric artery	
	Before	After	Before	After
0	$2.7 \pm 0.9$	$2.8 \pm 0.8$	$2.2 \pm 1.2$	$2.1 \pm 1.1$ *
1			$2.1 \pm 0.8$	$1.8 \pm 0.8$ **
3	$2.6 \pm 1.1$	$2.3 \pm 1.2$ *	$2.2 \pm 0.9$	$1.4 \pm 0.7$ **
10	$2.8 \pm 1.2$	$2.2 \pm 1.4$ **	$1.9 \pm 0.6$	$0.6 \pm 0.5$ **
30	$2.9 \pm 1.1$	$1.6 \pm 1.2$ **		

**2 NI 对 NE 致 TA 收缩的影响** 按文献<sup>[3]</sup>测定 NE 量-效曲线, 洗至基线, 加入 NI, 15 min 后, 分别描记 NE 量-效曲线。结果表明, NI 1-30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  减弱 NE 致 TA 收缩, 使最大反应压低, 呈非竞争性拮抗性质 (Fig 1)。NI 对 NE 致 MA, FA 等血管条的收缩均呈非竞争拮抗,  $\text{pD}_2'$  值见 Tab 2。



**Fig 1. Effects of naphthylmethyl isoquinoline on contraction induced by NE and  $\text{CaCl}_2$  in rabbit aorta.**

**3 NI 对  $\text{CaCl}_2$  致 TA 收缩的影响** 标本先置于无钙 Krebs 液中, 平衡 1 h 后换无  $\text{Ca}^{2+}$  高  $\text{K}^+$  ( $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Krebs 液(相应减少等浓度  $\text{Na}^+$ )。15 min 后用累积加药法加入  $\text{CaCl}_2$ , 每次间隔 10 min, 获得  $\text{CaCl}_2$  量-效

曲线, 洗至基线, 加入 NI, 15 min 后分别描记不同浓度 NI 存在时的  $\text{CaCl}_2$  量-效曲线。结果表明, NI  $1-30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  减弱  $\text{CaCl}_2$  致 TA 的收缩, 呈非竞争性拮抗 (Fig 1)。NI 对  $\text{CaCl}_2$  致 MA, FA 等血管条收缩均呈非竞争性拮抗,  $pD_2'$  值见 Tab 2。

Tab 2.  $pD_2'$  values ( $\lg \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of naphthylmethyl isoquinoline against NE,  $\text{CaCl}_2$  in rabbit blood vessels.  $\bar{x} \pm s$ , \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs thoracic aorta.

Blood vessels	NE (n=10)	$\text{CaCl}_2$ (n=5)
Thoracic Aorta	$4.9 \pm 0.3$	$4.81 \pm 0.24$
Pulmonary Artery	$5.2 \pm 0.6^*$	$5.47 \pm 0.27^{**}$
Mesenteric Artery	$5.4 \pm 0.4^{**}$	$5.21 \pm 0.18^*$
Renal Artery	$5.61 \pm 0.22^{**}$	$5.48 \pm 0.09^{**}$
Portal Vein	$5.72 \pm 0.19^{***}$	
Femoral Artery	$5.71 \pm 0.19^{***}$	$5.43 \pm 0.08^{**}$

NI 对动脉条  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  交换的影响 核素法<sup>(4,5)</sup>, TA, MA, FA 分别剪成若干纵形肌条, 置于通 95%  $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ , 37°C 的 Krebs 液中, 每 15 min 换液一次, 平衡 1 h。

1 NI 对 KCl 致 TA 和 MA  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流的影响 TA 和 MA 的每一标本置于含 NI 的 Krebs 液中作用 15 min, 随即将标本移入同时含  $^{45}\text{Ca}^{2+}$   $37 \text{ kBq} \cdot \text{ml}^{-1}$  的 NI (或等容量 normal saline, NS 作对照) 和高  $\text{K}^+$   $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 Krebs 液中温育 5 min 后, 标本迅速移入无  $\text{Ca}^{2+}$ , 含 EGTA  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的冰水混合的 Krebs 液中。45 min 后取出, 加压 300 g, 滤纸吸干, 精确称重, 加 NS 0.4 ml ( $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 沸水浴消化 20 min, 冷却后加甲苯闪烁剂 7 ml, 无水乙醇 4 ml, 测定 dpm 数。以下列公式计算湿组织中  $\text{Ca}^{2+}$  流动量 ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ):

$$\frac{\text{肌条或温育液之 dpm 数}}{\text{肌条湿重 (g)}} \times \frac{\text{温育液中 } \text{CaCl}_2 \text{ 量 } (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})}{\text{温育液中 } ^{45}\text{CaCl}_2 \text{ (dpm} \cdot \text{ml}^{-1})}$$

NI 能抑制 KCl 致 TA 和 MA 的  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流,  $\text{IC}_{50}$  及其 95% 可信限分别为 2.67 (2.35-2.99) 和 0.99 (0.76-1.21)  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。两  $\text{IC}_{50}$  值有

显著性差异 ( $P < 0.01$ )。如 Fig 2。

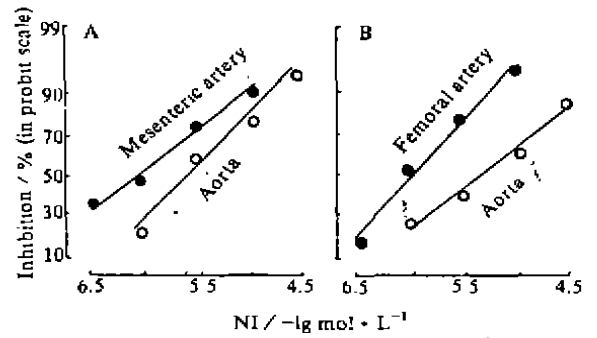


Fig 2. Effects of naphthylmethyl isoquinoline on net  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  uptake induced by high  $\text{K}^+$  ( $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , A) or NE ( $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , B) in rabbit vascular strips.  $n=5$ .

2 NI 对 NE 致 TA 和 FA  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流的影响 NI  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 温育 3 min, 其余方法同上。NI 抑制 NE 致 TA 和 FA 的  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流,  $\text{IC}_{50}$  及其 95% 可信限分别为 3.96 (3.65-4.27) 和 0.84 (0.63-1.05)  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。两者有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。 (Fig 2)。

NI 阻滞 NE 和 KCl 引起 TA  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  内流与抑制其收缩是一致的 (Fig 3)。r 分别为 0.99, 0.98。

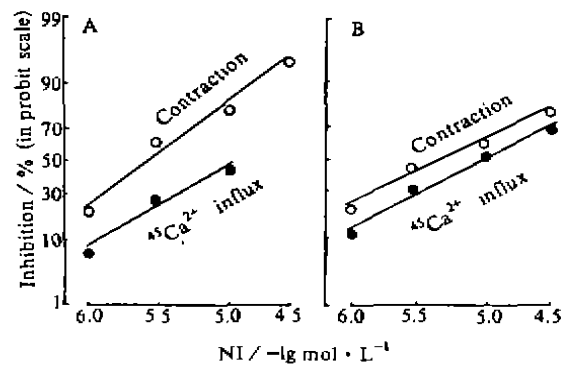


Fig 3. Effects of naphthylmethyl isoquinoline on the contraction and  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  influx induced by high  $\text{K}^+$  (A: contraction  $60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  influx  $80 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) or NE (B: contraction,  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  influx  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in rabbit thoracic aorta.  $n=5-6$ .

NI  $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对无激动剂存在时, TA 净  $\text{Ca}^{2+}$  摄入量为  $334 \pm 61 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  与 NS 组  $327 \pm 97 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$  无差异 ( $P > 0.05$ ).

3 NI 对 TA  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  外流的影响 TA 条在含  $^{45}\text{Ca}^{2+}$   $13.5 \text{ kBq} \cdot \text{ml}^{-1}$  的 NS 中,  $37^\circ\text{C}$  温育 60 min, 用无  $\text{Ca}^{2+}$  含 EGTA  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的冰水混合的 NS 洗两次, 然后各标本置于含 NI  $3-10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  或维拉帕米(verapamil)的 NS 1 ml 中,  $37^\circ\text{C}$  温育 15 min. 取出标本, 精确称重, 温育液沸浴蒸干, 测定其 dpm 数. 结果 NI 和 verapamil 对预先用含  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  溶液温育后的 TA  $\text{Ca}^{2+}$  外流均无影响. (Tab 3).

Tab 3. Effects of naphthylmethyl isoquinoline and verapamil on  $\text{Ca}^{2+}$  efflux from rabbit thoracic aorta.  $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ , \*  $P > 0.05$  vs control.

Drug	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{Ca}^{2+}$ efflux, $\text{nmol} \cdot (\text{g tissue})^{-1}$
control	0	$287 \pm 53$
NI	3	$314 \pm 32^*$
	10	$287 \pm 59^*$
verapamil	3	$280 \pm 82^*$
	10	$287 \pm 52^*$

## DISCUSSION

本实验表明, NI 对 KCl,  $\text{CaCl}_2$  及 NE 引起的血管收缩均有抑制作用. 在无  $\text{Ca}^{2+}$  液中高  $\text{K}^+$  去极化时,  $\text{CaCl}_2$  引起的血管收缩反应主要依赖于细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>(6)</sup>, NI 使  $\text{CaCl}_2$  致 TA 收缩反应减弱, 呈非竞争性抑制. 提示 NI 可能通过某一途径抑制  $\text{Ca}^{2+}$  内流.

目前认为<sup>(4,7)</sup>, 在平滑肌上存在两种  $\text{Ca}^{2+}$  通道, 电压依赖的通道(PDC)和受体激活的通道(ROC). 高  $\text{K}^+$  引起膜去极化, PDC 开放, 而 NE 激活 ROC, 增加  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 并导致细

胞内结合  $\text{Ca}^{2+}$  释放<sup>(8)</sup>, NI 阻滞 KCl 和 NE 引起 TA 的  $\text{Ca}^{2+}$  内流与抑制其收缩力有良好相关性, 提示 NI 对 PDC 和 ROC 均有抑制作用. NI 对 NE 和  $\text{CaCl}_2$  引起 TA 收缩的  $\text{pD}_2$  值之差仅为 0.08 ( $P > 0.05$ ), 故其对 ROC 和 PDC 无选择性. 结果提示 NI 的血管松弛作用, 可能与抑制血管平滑肌膜  $\text{Ca}^{2+}$  内流有关, NI 可能为一钙拮抗剂.

## REFERENCES

- 1 Yang HT, Yang YL, Peng SX, Huang WL. Hypotensive effect of naphthylmethyl isoquinoline. *Acta Pharm Sin* 1990; 25 : 551-4.
- 2 Furchgott RF, Bhadrakom S. Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropyl-arterenol, sodium nitrite and other drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 1953; 108 : 129-143.
- 3 Van Rossum JM. Cumulative dose-response curves. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143 : 299-306.
- 4 Meisheri KD, Hwang O, van Breemen C. Evidence for two separate  $\text{Ca}^{2+}$  pathways in smooth muscle plasmalemma. *J Membr Biol* 1981; 59 : 19-25.
- 5 Zeng XP, Cheng JX, Wang ZG. Effect of bovine parathyroid hormone 1-34 on calcium flux and 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  release of rabbit aorta. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 224-7.
- 6 Spedding M, Cavero I. "Calcium antagonists"; a class of drugs with a bright future. *Life Sci* 1984; 35 : 575-87.
- 7 Chiu AT, McCall DF, Timmermans PBMWM. Pharmacological characteristics of receptor-operated and potential-operated  $\text{Ca}^{2+}$  channels in rat aorta. *Eur J Pharmacol* 1986; 127 : 1-8.
- 8 Hudgins PM, Weiss GB. Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. *J Pharmacol Exp Ther* 1968; 159 : 91-7.