

缩胆囊素及其拮抗物氯戊米特、devazepide 和 L-365 260 对大鼠胃肠活动功能的影响¹

王淑仙 (中国医药研究开发中心, 药理研究室, 北京102206, 中国)

R 375.

Effect of cholecystokinin and its antagonists lorglumide, devazepide, and L-365 260 on gastrointestinal motility in rats

WANG Shu-Xian (Department of Pharmacology, National Institute of Pharmaceutical Research and Development, Beijing 102206, China)

ABSTRACT Cholecystokinin (CCK) plays an important role in gallbladder contraction and gut motility. Sincalide (CCK-8) evoked guinea pig isolated ileum contraction at 10^{-5} – 10^{-1} $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ in a concentration-dependent manner, EC_{50} being 207 $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$. It delayed the gastric emptying as well. The rate of inhibition of gastric emptying was $71\pm 12\%$ at $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ by ip. Sincalide antagonists, lorglumide, devazepide, and L-365 260 antagonized the ileal smooth muscle response to sincalide in a concentration-dependent manner. Their pA_2 were 7.30, 10.02, and 7.77, respectively. Lorglumide, devazepide, and L-365 260 inhibited the delaying of gastric emptying evoked by sincalide. The IC_{50} were 0.11, 0.0064, and 0.66 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively.

KEY WORDS cholecystokinin; sincalide; ileum; gastrointestinal motility; gastric emptying

摘要 应用离体豚鼠回肠收缩和饲以半固态实验餐的大鼠胃排空方法, 研究了辛卡利特(sincalide, CCK-8)及不同亚型的辛卡利特受体拮抗剂氯戊米特(lorglumide)、devazepide 和 L-365 260 的活性。结果, 辛卡利特呈浓度相关地引起回肠收缩和胃排空延迟, 三种拮抗剂亦呈浓度相关地拮抗辛卡利特的胃肠道平滑肌收缩和胃排空延迟活性, 但其作用方式和强度不同。

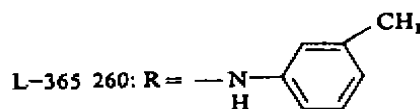
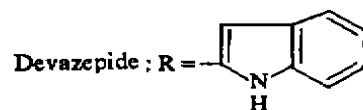
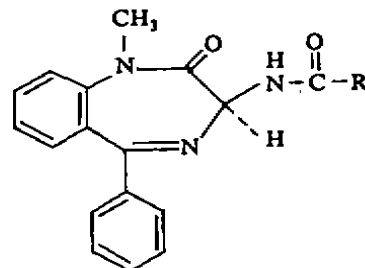
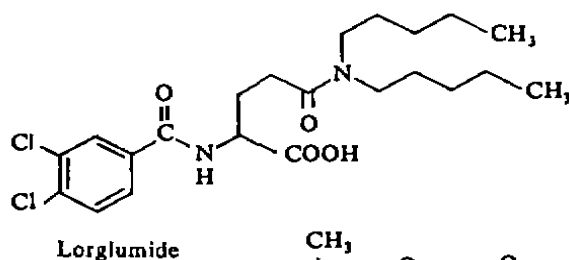
关键词 缩胆囊素; 辛卡利特; 回肠; 胃肠活动; 胃排空

Received 1991-10-03

Accepted 1993-02-22

¹ This study was engaged in Division of R & D, GIDR Lab, G D Searle & Co, Skokie IL 60077, USA.

消化道激素缩胆囊素(cholecystokinin, CCK), 分布于中枢及周围组织中, 在胃肠道含量高。辛卡利特(sincalide, CCK-8)与天然的CCK生理作用相同且活性更强, 与由于胃肠道功能失调而引起的激惹性综合症、非溃疡性消化不良、胰腺炎、饱胀等有关^[1-3]。寻找非肽类的辛卡利特拮抗剂具有广泛的临床应用前景。辛卡利特拮抗剂氯戊米特^[4,5], devazepide^[6,7]和 L-365 260^[8]在抑制辛卡利特引起的胆囊和胃肠平滑肌收缩及对不同部位的CCK受体结合等方面有不同的特性。用回肠及胃排



空模型研究了辛卡利特对胃肠活动的影响及3种拮抗剂的抑制特性,以评价其不同的作用强度和类型.

MATERIALS AND METHODS

辛卡利特(Sigma)溶于生理盐水(NS)中备用. 氯戊米特(lorglumide), devazepide (L-364 718)和 L-365 260分别由 Rotte Co 和 Merck Sharp & Dohme Research Lab 赠给,溶于 Me₂SO (1 mmol·L⁻¹)后用 NS 稀释.

消化道平滑肌收缩作用 CRL:COBS (HA)豚鼠 ♂,体重199±12 g,禁食不禁水24 h后击头处死,取回肠约20 cm,分成约2 cm 长数段,垂直悬挂于含有改良的 Krebs 缓冲液10 ml 的浴槽内,浴温37℃,通5% CO₂+95% O₂约1 h

缓冲液组分(μmol·L⁻¹): NaCl 113, KCl 5, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄·7H₂O 1.2, NaHCO₃ 25, CaCl₂ 2.5, dextrose 11.5.

用 Gould 2800 S 八导生理记录仪描记肌肉收缩张力变化,负荷1 g.

1 辛卡利特积累浓度收缩反应曲线 在1-2 min 间隔内依次向浴槽内加入由低到高(浴槽内终浓度为 10⁻⁵-10⁻¹ μmol·L⁻¹)的辛卡利特,待到最高浓度0.1 μmol·L⁻¹加入后2 min,以新鲜缓冲液换洗2次,平衡30 min,然后进行下次实验. 同样过程重复3次,以求出 EC₅₀.

2 辛卡利特拮抗剂对辛卡利特引起离体平滑肌收缩的抑制作用 回肠于浴槽内平衡1 h后,分别加入固定浓度的3种拮抗剂3-5 min 后再加入由低到高不同浓度的辛卡利特(同1),求出加入拮抗剂后的 EC₅₀.

3 计算 求出有或无拮抗剂时辛卡利特引起回肠的最大反应与浓度为辛卡利特0.1 μmol·L⁻¹的反应之比,分别求出引起50%收缩反应的辛卡利特及拮抗剂浓度 EC₅₀,并按下式求出 K_b 及 pA₂值.

$K_b = \text{剂量} \cdot (R-1)^{-1}$

$R = EC_{50}(\text{拮抗剂}) \cdot (EC_{50} \text{辛卡利特})^{-1}$

$pA_2 = -\lg K_b$

胃排空实验⁽⁹⁾ Charles River (SD)大鼠, ♂, 191 ± 6 g, 每组6只,禁食不禁水24 h. 将实验药物混悬于0.5%甲基纤维素中,按5 ml·kg⁻¹ ig 后30 min, ip 辛卡利特100 μg·kg⁻¹. 30 min 后,每鼠给予实验餐

3.0 ml, 1 h 后用干冰处死大鼠,取出整胃,剔除周围组织称重,沿胃大弯剖开,将胃内容物冲洗干净,将胃体于滤纸上吸干、称重,计算每鼠胃内残留食物重量,并由3 ml 实验餐的重量计算由胃内排出的食物量,计算胃排空率.

统计处理 所有实验数据用 IBM 计算机程序 Minitab (Minitab Inc 1987)进行统计学处理. 计算均值、百分率. 按 Bliss 法计算 IC₅₀.

RESULTS

回肠收缩作用 辛卡利特引起豚鼠回肠收缩,反应迅速,持续1 min,并呈浓度相关性. 典型的积累反应曲线如 Fig 1. EC₅₀为207 pmol·L⁻¹, 95%可信限为170-262 pmol·L⁻¹.

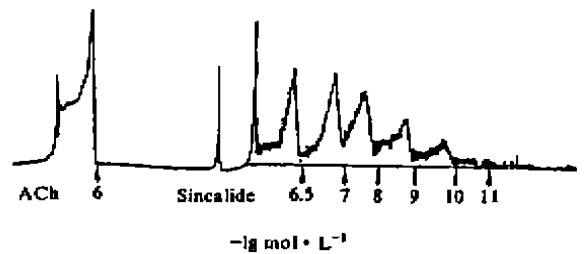


Fig 1. Contraction of an isolated guinea pig ileum evoked by sincalide.

当回肠首先与不同浓度的氯戊米特, devazepide 和 L-365 260接触时,相同剂量的辛卡利特引起的回肠反应被不同程度抑制,收缩幅度下降,收缩反应曲线平行右移,并呈浓度相关(Fig 2).

胃排空试验 辛卡利特可以明显延迟大鼠胃排空速率,30及100 μg·kg⁻¹延迟胃排空率分别为36.9% (P<0.01)和70.9% (P<0.01). 本试验选用辛卡利特100 μg·kg⁻¹引起胃排空延缓以确定拮抗剂的对抗作用.

在 ip 辛卡利特30 min 前 ig 不同剂量的拮抗剂都显示了剂量相关的对抗胃排空的延缓作用,氯戊米特, L-364 718及 L-365 260的 IC₅₀ 分别为0.11, 0.0064和0.66 mg·kg⁻¹, 95%可信限分别为0.08-0.16, 0.0026-0.0153和

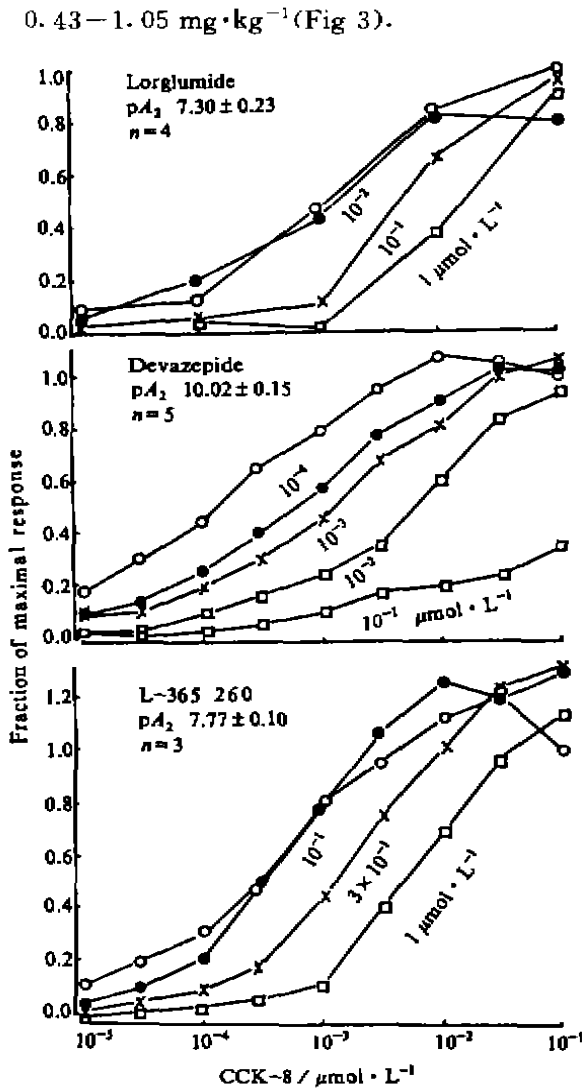


Fig 2. Effect of antagonists on contraction of isolated guinea pig ileum evoked by sincalide. (○) Control.

DISCUSSION

在离体回肠实验中, 为方便易行, 本实验未采用回肠的长肌^[10,11], 而使用完整的肠道. 从测得的 pA₂ 值可以看出3种拮抗剂对抗辛卡利特引起回肠收缩的效价依次为 devazepide > L-365 260 ≥ 氟戊米特. 在相同实验条件下, 我们测定上述化合物拮抗辛卡利特引起的胆囊收缩的 pA₂ 值分别为10.8及7.8(不含氟戊米特

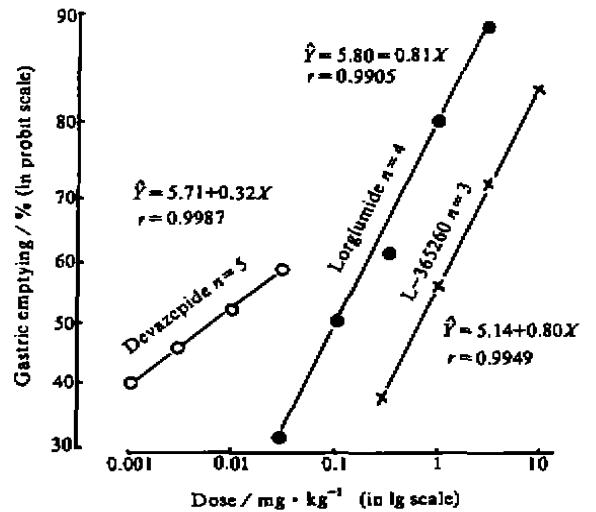


Fig 3. Effect of devazepide, lorglumide, and L-365 260 on gastric emptying delayed by sincalide in rats.

值) (待发表资料), 两者结果非常相近.

胃排空亦是一种研究胃肠道传递功能的稳定的实验方法^[9], 采用甲基纤维素为基质的半固态营养性的实验餐技术, 重复性好, 操作方便. 在实验周期内, 不论大鼠胃内残留的食物或胃液的分泌都不影响实验结果, 可以用于比较不同实验药物对胃活动及胃肠传递功能的影响. 不同剂量的辛卡利特 ip 给予大鼠后, 均可引起不同程度的胃排空抑制^[12,13], 但过低的抑制率不宜用于比较拮抗剂的活性, 为了得到较稳定且高于50%的胃排空抑制率, 我们采用了 ip 100 μg·kg⁻¹ 辛卡利特造成大鼠胃排空延缓状态. 实验结果显示3种拮抗剂均呈剂量相关地抑制辛卡利特引起的胃排空延缓作用. 其结果与前人报导^[12,13] 稍有差异, 可能与实验方法, 选用动物的体重, 实验餐, 辛卡利特的剂量及给药时间不完全一致有关.

近年来研究表明, 辛卡利特受体至少有两种亚型^[14] (待发表资料), CCK-A 主要分布在周围组织, 对胃肠活动功能影响很大, 而 CCK-B 主要分布在大脑. 氟戊米特, devazepide 和 L-365 260 为一类分子内含有 -CO-NH-

功能团的非肽类口服有效的辛卡利特拮抗剂, 对不同亚型的辛卡利特受体的作用方式和强度有很大差别, devazepide 为一强效的 CCK-A 受体拮抗剂, 对胃肠运动显示了极强的活性, 效价远高于氟戊米特, 而 L-365 260 为选择性的 CCK-B 受体拮抗剂^[6,8], 对胃肠道的活性很弱, 我们的实验结果验证了这一论点。

ACKNOWLEDGMENTS 本实验得到了 Dr G Gullikson, Dr T Gaginella 和 Dr H Jones 的指导和帮助。

REFERENCES

- 1 Morley JE. The ascent of cholecystokinin (CCK) from gut to brain. *Life Sci* 1982; **30** : 479-93.
- 2 Albus M. Cholecystokinin. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 1988; **12** : S5-21.
- 3 Williams JA. Cholecystokinin, a hormone and a neurotransmitter. *Biomed Res* 1982; **3** : 107-21.
- 4 Makovec F, Bani M, Cereda R, Chuste R, Pacini MA, Revel L, et al. Pharmacological properties of lorglumide as a member of a new class of cholecystokinin antagonists. *Arzneimittelforschung* 1987; **37** : 1265-8.
- 5 Freidinger RM. Cholecystokinin and gastrin antagonists. *Med Res Rev* 1989; **9** : 271-90.
- 6 Huang SC, Zhang L, Chiang H-CV, Wank SA, Maton PN, Gardner JD, et al. Benzodiazepine analogues L365, 260 and L364, 718 as gastrin and pancreatic CCK receptor antagonists. *Am J Physiol* 1989; **257** (1 Pt 1) : G169-74.

- 7 Chang RSL, Lotti VJ. Biochemical and pharmacological characterization of an extremely potent and selective non-peptide cholecystokinin antagonist. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83** : 4923-6.
- 8 Lotti VJ, Chang RSL. A new potent and selective non-peptide gastrin antagonist and brain cholecystokinin receptor (CCK-B) ligand; L-365, 260. *Eur J Pharmacol* 1989; **162** : 273-80.
- 9 Droppleman DA, Gregory RL, Alphin RS. A simplified method for assessing drug effects on gastric emptying in rats. *J Pharmacol Methods* 1980; **4** : 227-30.
- 10 Hutchison JB, Dockray GJ. Evidence that the action of cholecystokinin octapeptide on the guinea-pig ileum longitudinal muscle is mediated in part by substance P release from the myenteric plexus. *Eur J Pharmacol* 1981; **69** : 87-93.
- 11 Bartho L, Holzer P, Lembeck F, Lippe ITH, Setmker I. Evaluation of a new and potent cholecystokinin antagonist on motor responses of the guinea-pig intestine. *Br J Pharmacol* 1987; **90** : 753-61.
- 12 Raybould HE, Taché Y. Cholecystokinin inhibits gastric motility and emptying via a capsaicin-sensitive vagal pathway in rats. *Am J Physiol* 1988; **255** : (2 Pt 1) : G242-6.
- 13 Lotti VJ, Pendleton RG, Gould RJ, Hanson HM, Chang RSL, Clineschmidt BV. In vivo pharmacology of L-364, 718, a new potent nonpeptide peripheral cholecystokinin antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; **241** : 103-9.
- 14 Innis RB, Snyder SH. Distinct cholecystokinin receptors in brain and pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; **77** : 6917-21.

~~~~~  
**Instruction to authors**

Please read *Acta Pharmacol Sin* 1993 Jan; **14** (1) : 3-8.  
*Br Med J* 1991 Feb 9; **302** (6772) : 388-41.  
*N Engl J Med* 1991 Feb 7; **324** (6) : 424-8.