

粉防己碱对血管平滑肌作用方式

武汉医学院基础部药理教研室 胡文淑 庞雪冰 王 玉 胡崇家 吕富华

粉防己碱(即汉防己甲素 Tetrandrine),系从植物粉防己中提出的有效成分,实验研究^(1~3)和临床观察^(4,5)证实,是一无明显副作用的抗高血压药物。以往实验研究表明粉防己碱能扩张离体兔耳血管。为进一步探讨其降压机理,采用家兔和大白鼠离体动脉肌条作实验,与已知血管平滑肌扩张药双胍苯哒嗪及抗钙剂异搏停进行比较。

实验方法

家兔体重 2~3.5 公斤,大白鼠 350~400 克,根据 Furchgott 法⁽⁶⁾取出胸主动脉,制成螺旋形主动脉肌条。取家兔长 3 厘米、宽 3 毫米(大白鼠长 2.5 厘米、宽 2.5 毫米)主动脉肌条一段,置于盛有 Krebs 营养液的 37℃ 恒温浴槽内,肌条一端连通气钩,另一端加 4 克负荷(小白鼠为 2 克),平衡 2 小时后将肌条与张力换能器连接,然后开始实验。溶液 pH 7.2~7.4,通以 95% O₂ 和 5% CO₂ 混合气体。

一、粉防己碱对离体动脉平滑肌的作用^(7~9)

(一)粉防己碱对家兔主动脉平滑肌张力的影响:

1. 粉防己碱对去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 所致血管平滑肌收缩的影响:选择适宜浓度去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 加入营养液中,使肌条处于中等张力状态,待收缩反应达最高点并稳定 2 分钟后,分别给粉防己碱 3.2×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 6.4×10^{-5} M,观察给药后 30 分钟内肌张力的变化。以单给去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 组 30 分钟内的变化作为对照。

2. 粉防己碱对 KCl 40 mM 所致血管平滑肌收缩的影响:用含 40 mM KCl 的营养液使肌条(去极化)出现收缩反应,待达到坪值时,分别加入粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 6.4×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 6.4×10^{-5} M,观察给药后肌张力的变化。

3. 粉防己碱 6.4×10^{-6} M 对去甲肾上腺素累加剂量引起血管平滑肌收缩的剂量反应曲线的影响:取去甲肾上腺素 6×10^{-10} 、 6×10^{-9} 、 6×10^{-8} 、 6×10^{-7} 、 6×10^{-6} M 分别加入溶液中,每递增一浓度,均于前一剂量引起的反应达到坪值时加入,记录去甲肾上腺素累加剂量所引起的收缩反应,然后冲洗 3 次,使肌条张力恢复到给药前水平,再加入粉防己碱 6.4×10^{-6} M,

20 分钟后重复上述实验,记录肌张力变化。

(二)粉防己碱与双胍苯哒嗪对家兔主动脉平滑肌的作用比较:实验分为两组,选择去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 加入溶液中,待肌条出现收缩反应达到坪值时,一组加入粉防己碱 1.6×10^{-5} M,另一组加入双胍苯哒嗪 5×10^{-5} M,分别比较两组给药后 30 分钟内的肌张力的变化。

二、粉防己碱对主动脉平滑肌作用的方式

(一)粉防己碱对血管平滑肌肾上腺素能受体的影响:

1. 对 α 受体的影响:为了观察粉防己碱对家兔主动脉平滑肌 α 受体有无阻断作用,分两组进行实验:

甲组:又分两组。A 组:用 KCl 40 mM 引起主动脉平滑肌收缩,待达到坪值时,加入粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 6.4×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 6.4×10^{-5} M; B 组:先加入酚妥拉明 10^{-6} M,1 小时后加入上述浓度的粉防己碱。

乙组:用去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 加入有或无酚妥拉明的溶液中作为对照。

2. 对 β 受体的影响:用去甲肾上腺素兴奋大白鼠主动脉平滑肌条后,比较给心得安前及给心得安后 1 小时,粉防己碱与异丙肾肾上腺素对大白鼠主动脉平滑肌的松弛作用。实验亦分两组进行。

甲组:又分为两组。A 组:去甲肾上腺素 6×10^{-8} M 引起主动脉平滑肌收缩,待达到坪值时加入粉防己碱 1.6×10^{-5} 、 1.6×10^{-6} M; B 组:加入心得安 3×10^{-6} M 1 小时后依次加入上述浓度药物。

乙组:在去甲肾上腺素 6×10^{-8} M 引起主动脉平滑肌收缩的基础上,加入异丙肾肾上腺素 8×10^{-7} M,在有或无心得安存在下引起血管平滑肌张力变化为对照。

(二)粉防己碱对钙剂剂量反应曲线的影响⁽¹⁰⁾:用无钙 Krebs 营养液浸泡家兔主动脉肌条 2 小时,使肌条钙耗竭,然后用 KCl 40 mM 使去钙肌条去极化,观察粉防己碱 1.6×10^{-6} M 对加入累加剂量 CaCl₂ (0.05、0.25、0.5、1.0、2.0、4.5 mM) 的剂量反应曲线的影响。并以 10^{-7} M 异搏停对 CaCl₂ 剂量反应曲线的影响作对照。

(三)粉防己碱和异搏停对去甲肾上腺素引起家

免主动脉平滑肌收缩的两种反应的影响：标本制备同前，在 Krebs 液中平衡 2 小时后，加入去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ ，待动脉肌条出现收缩达到坪值时，用无钙 Krebs 液冲洗 3 次，每次间隔 5 分钟，再以无钙浴液浸泡 20 分钟后，加入相同浓度之去甲肾上腺素，约 1~2 分钟内反应即不再增加，此时按 Krebs 液中含量的比例，加入 CaCl_2 2.5 mM，肌条继而产生收缩，待达到最大反应时，用无钙液冲洗，直至反应完全恢复，换入含钙 Krebs 液，平衡 1 小时，再重复以上实验过程，置于无钙液中浸泡 20 分钟期间，分别加入粉防己碱 $1.6 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 $3.2 \times 10^{-6} \text{M}$ ，观察给药后变化，并与等量异搏停作比较。

实验结果

一、粉防己碱对家兔离体主动脉平滑肌的作用

(一) 粉防己碱对家兔主动脉平滑肌张力影响：

1. 粉防己碱对去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ 所致血管平滑肌收缩的影响：单给去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ ，30 分钟后血管平滑肌张力由 3.05 ± 0.36 克（均值 ± 标准误，下同）下降到 2.75 ± 0.33 克，给药后较给药前下降 $9.82 \pm 1.98\%$ ($n=11$)。粉防己碱 $3.2 \times 10^{-6} \text{M}$ 使平滑肌张力由 3.34 ± 0.16 克下降到 2.18 ± 0.3 克，下降 $29.94 \pm 5.97\%$ ($n=11$)； $1.6 \times 10^{-6} \text{M}$ 使平滑肌张力由 2.8 ± 0.31 克下降到 1.63 ± 0.27 克，下降 $46.2 \pm 5.06\%$ ($n=13$)； $6.4 \times 10^{-6} \text{M}$ 使平滑肌张力由 3.15 ± 0.21 克下降到 1.01 ± 0.2 克，下降 $68.7 \pm 5.72\%$ ($n=12$)。经方差分析处理，各组张力下降值与单给去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ 半小时内下降值相比较，均有显著性差异 (P 值均 < 0.01)。

2. 粉防己碱对 KCl 所致血管平滑肌收缩的影响：应用 KCl 40 mM 引起收缩的主动脉平滑肌，在给粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 6.4×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 $6.4 \times 10^{-6} \text{M}$ 后，肌张力由 2.99 ± 0.33 克 ($n=12$)，分别下降到 2.5 ± 0.31 克 ($n=12$)、 1.91 ± 0.25 克 ($n=12$)、 1.31 ± 0.19 克 ($n=12$)、 0.69 ± 0.12 克 ($n=12$)，较给药前分别下降 $17.27 \pm 2.25\%$ 、 $36.1 \pm 1.80\%$ 、 $56.96 \pm 2.76\%$ 、 $77.21 \pm 2.31\%$ 。给药后的肌张力分别与给药前相比较，经方差分析处理均有显著性差异 (P 值均 < 0.01)。

3. 粉防己碱对去甲肾上腺素累积剂量的剂量反应曲线影响：粉防己碱 $6.4 \times 10^{-6} \text{M}$ 使去甲肾上腺素累积剂量引起的剂量反应曲线降低。（图 1）

(二) 粉防己碱与双胍苯哒嗪对家兔主动脉平滑肌的作用比较：粉防己碱 $1.6 \times 10^{-6} \text{M}$ 组给药后主动

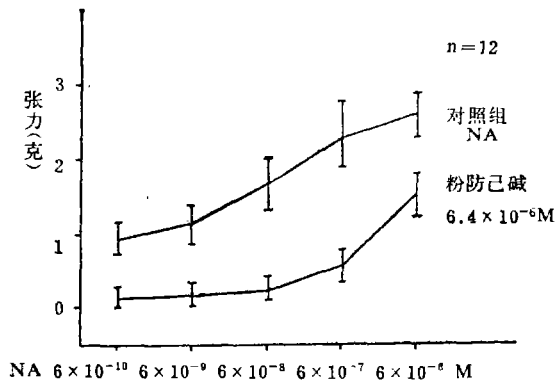


图 1 粉防己碱 $6.4 \times 10^{-6} \text{M}$ 对去甲肾上腺素累积剂量引起家兔主动脉平滑肌收缩的剂量反应曲线的影响

脉平滑肌张力由 2.8 ± 0.3 克下降到 1.63 ± 0.27 克，下降 $46.2 \pm 5.06\%$ ($n=13$)。双胍苯哒嗪 $5 \times 10^{-5} \text{M}$ 组给药后主动脉平滑肌张力由 2.57 ± 0.22 克下降到 1.55 ± 0.22 克，下降 $40.96 \pm 7.3\%$ ($n=8$)。两组给药后的下降值相比较，经统计学处理无显著性差异。

二、粉防己碱对主动脉平滑肌的作用方式

(一) 粉防己碱对血管平滑肌肾上腺素能受体的影响：

1. 对 α 受体的影响：由 KCl 40 mM 引起收缩的家兔主动脉平滑肌，加入粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 6.4×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} 、 $6.4 \times 10^{-5} \text{M}$ 后，未加酚妥拉明组（甲-A 组）给药后肌张力由 2.99 ± 0.33 克分别下降 0.5 ± 0.06 克、 1.07 ± 0.11 克、 1.68 ± 0.17 克、 2.37 ± 0.25 克，下降率分别为 $17.22 \pm 2.24\%$ ($n=5$)、 $36.10 \pm 1.80\%$ ($n=5$)、 $56.96 \pm 2.76\%$ ($n=5$)、 $77.21 \pm 2.31\%$ ($n=5$)；加酚妥拉明 10^{-5}M 组（甲-B 组）给药后肌张力由 2.92 ± 0.11 克分别下降 0.91 ± 0.25 克、 1.12 ± 0.14 克、 1.76 ± 0.18 克、 2.36 ± 0.21 克，下降率分别为 $30.93 \pm 8.26\%$ ($n=5$)、 $37.80 \pm 3.35\%$ ($n=5$)、 $59.78 \pm 4.24\%$ ($n=5$)、 $80.00 \pm 4.62\%$ ($n=5$)。给药后两组肌张力下降率的对应值相比较，经统计学处理，均无显著性差异 (P 值均 > 0.1)。实验表明粉防己碱对家兔主动脉平滑肌的松弛作用不受酚妥拉明的影响。

对照组（乙组）用去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ 引起反应后，未加和加酚妥拉明组的肌张力分别为 2.22 ± 0.44 克 ($n=6$) 和 0.1 ± 0.05 克 ($n=6$)，经统计学处理两组有显著性差异 ($P < 0.01$)。

2. 对 β 受体的影响：由去甲肾上腺素 $6 \times 10^{-7} \text{M}$ 引起收缩的大白鼠主动脉平滑肌，加入粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 $1.6 \times 10^{-5} \text{M}$ 后，不加心得安组（甲-A 组）给

药后肌张力由 936 ± 123 毫克 分别下降 205 ± 57 毫克、 855 ± 115 毫克, 下降率分别为 $22.08 \pm 6.07\%$ ($n=5$)、 $91.4 \pm 3.09\%$ ($n=5$); 加心得安 3×10^{-6} M 组(甲-B组)给药后肌张力由 694 ± 80 毫克 分别下降 130 ± 21 毫克、 626 ± 60 毫克, 下降率分别为 $20.79 \pm 5.3\%$ ($n=5$)、 $91.46 \pm 5.4\%$ ($n=5$)。两组肌张力下降率的对应值相比较, 经统计学处理均无显著性差异(P 均 > 0.1)。结果显示, 粉防己碱对大白鼠主动脉平滑肌的松弛作用不受心得安的影响。

对照组(乙组)应用去甲肾上腺素 8×10^{-7} M 引起收缩的主动脉平滑肌, 加入异丙肾上腺素 8×10^{-7} M 后, 未加心得安组肌张力由 565 ± 122 毫克 下降 167 ± 29 毫克, 下降率为 $35.93 \pm 8.05\%$ ($n=6$); 加心得安 3×10^{-6} M 组肌张力由 596 ± 154 毫克 下降 35 ± 25 毫克, 肌张力下降率为 $6.33 \pm 3.34\%$ ($n=6$)。两组肌张力下降率相比较, 经统计学处理有显著性差异($P < 0.01$)。

(二) 粉防己碱对钙剂剂量反应曲线的影响: 粉防己碱 1.6×10^{-5} M 能使钙耗竭的家兔主动脉平滑肌对细胞外累加剂量钙的剂量反应曲线压低, 但当 CaCl_2 浓度增加到 4.5 mM 时所引起的反应, 其抑制程度即开始降低, 和异搏停 10^{-7} M 所得结果一致(图 2, 3)。

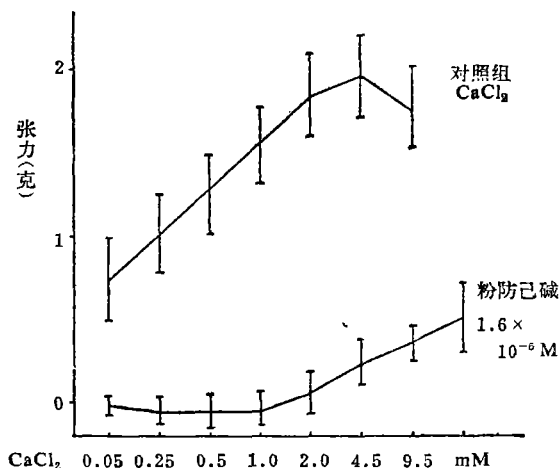


图 2 粉防己碱 1.6×10^{-5} M 对 CaCl_2 累加剂量引起家兔主动脉平滑肌收缩的剂量反应曲线的影响

(三) 粉防己碱和异搏停对去甲肾上腺素引起的家兔主动脉平滑肌收缩两种反应的影响: 家兔胸主动脉肌条, 用无钙 Krebs 液处理后, 加入去甲肾上腺素 6×10^{-7} M, 引起快而短暂的收缩反应(下称快反应), 当恢复溶液中钙浓度 (2.5 mM) 时, 继而出现慢而持久的收缩反应(下称慢反应)。粉防己碱 1.6×10^{-5} M 使快反应由 $46.4 \pm 4.8\%$ 下降到 $25.9 \pm 2.9\%$ ($n=$

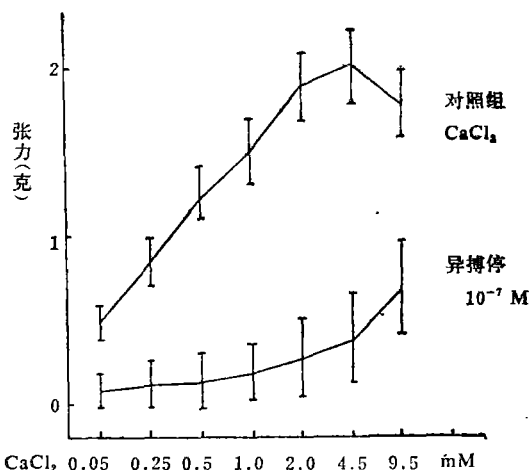


图 3 异搏停 10^{-7} M 对 CaCl_2 累加剂量引起家兔主动脉平滑肌收缩的剂量反应曲线的影响

9), 给药后较给药前下降 $20.6 \pm 3.3\%$ ($P < 0.001$); 慢反应由 $53.7 \pm 4.9\%$ 下降到 $45.3 \pm 5.5\%$ ($n=9$), 给药后较给药前下降 $8.3 \pm 5.6\%$ ($P > 0.05$)。粉防己碱 3.2×10^{-5} M 使快反应由 $48.1 \pm 6.8\%$ 下降到 $19.7 \pm 3.2\%$ ($n=7$), 给药后较给药前下降 $28.4 \pm 4.9\%$ ($P < 0.01$); 慢反应由 $51.9 \pm 6.8\%$ 下降到 $28.7 \pm 4.3\%$ ($n=7$), 给药后较给药前下降 $23.1 \pm 8.4\%$ ($P < 0.05$)。

加入异搏停 1.6×10^{-5} M 使快反应由 $41.3 \pm 4.1\%$ 下降到 $19.9 \pm 4.0\%$ ($n=9$), 给药后较给药前下降 $21.4 \pm 5.4\%$ ($P < 0.01$); 慢反应由 $58.7 \pm 4.1\%$ 下降到 $43.0 \pm 6.5\%$ ($n=9$), 给药后较给药前下降 $15.7 \pm 5.7\%$ ($P < 0.05$)。加入异搏停 3.2×10^{-5} M 使快反应由 $41.3 \pm 1.7\%$ 下降到 $14.0 \pm 2.2\%$ ($n=7$), 给药后较给药前下降 $27.3 \pm 2.9\%$ ($P < 0.001$); 慢反应由 58.7 ± 1.7 下降到 $37.9 \pm 4.4\%$ ($n=7$), 给药后较给药前下降 $20.9 \pm 5.7\%$ ($P < 0.05$)。

讨 论

在研究粉防己碱对家兔主动脉平滑肌张力影响时发现, 粉防己碱对去甲肾上腺素 6×10^{-7} M 引起的主动脉平滑肌收缩具有松弛作用。其作用强度随药物浓度增加而增加。粉防己碱 6.4×10^{-5} M 能使主动脉平滑肌张力下降 $68.7 \pm 5.72\%$ 。粉防己碱 6.4×10^{-5} M 可使去甲肾上腺素累加剂量引起的剂量反应曲线降低, 并对 K^+ 引起的动脉肌条收缩具有明显的松弛作用。粉防己碱 1.6×10^{-5} 、双胍苯吡嗪 5×10^{-5} M, 使主动脉肌条张力分别下降 $46.2 \pm 5.06\%$ 、 $40.96 \pm 7.3\%$, 经统计学处理两药作用无显著差异。可见粉防己碱对

主动脉平滑肌具有直接松弛作用,其作用强度为双胍苯哒嗪的3倍以上。

在进一步探讨粉防己碱对血管平滑肌的作用方式时,观察到酚妥拉明 10^{-5} M能阻断血管平滑肌的 α 受体,取消去甲肾上腺素 6×10^{-7} M对血管平滑肌的收缩作用。用上述浓度酚妥拉明阻断 α 受体前后对以KCl 40 mM引起收缩的动脉肌条,粉防己碱各种浓度对血管平滑肌的松弛作用并无明显影响,给与不给酚妥拉明两组结果并无差异。在另一次实验中观察到,心得安 3×10^{-6} M能对异丙肾肾上腺素 8×10^{-7} M对主动脉平滑肌的松弛作用,粉防己碱 1.6×10^{-6} 、 1.6×10^{-5} M对血管平滑肌的松弛作用则不受加入心得安 3×10^{-6} M的影响,给与不给心得安两组结果并无差异。上述结果表明,粉防己碱对血管平滑肌的扩张作用与 α 、 β 受体无关。

粉防己碱 1.6×10^{-5} M能够抑制溶液中累加浓度 Ca^{++} 对钙耗竭的主动脉肌条的收缩作用,与异搏停 10^{-7} M所得结果一致。并且对引起最大反应的 CaCl_2 (4.5 mM)所引起的收缩,其抑制程度均有所降低。本实验提示,粉防己碱对血管平滑肌的松弛作用可能与阻断细胞外钙对血管平滑肌的作用有关。其作用与异搏停相似,但所需浓度远较异搏停为大。我室过去研究⁽¹¹⁾粉防己碱对抗强心甙的作用时发现它与钙可能有直接拮抗作用。本实验结果进一步证实了上述推论。

为了进一步弄清粉防己碱对细胞内外 Ca^{++} 的影响,选用去甲肾上腺素作为激动剂,并将依内钙与依外钙的反应分离,据报道⁽¹²⁾去甲肾上腺素在无钙溶液中引起主动脉平滑肌快而短暂的收缩反应,为依细胞内钙的反应(使胞内 Ca^{++} 释放等),而恢复溶液中 Ca^{++} 浓度时,去甲肾上腺素继而引起慢而持久的收缩反应,是依细胞外钙的反应(即促膜外 Ca^{++} 内流)。本实验结果表明,粉防己碱 1.6×10^{-5} M(相当于10微克/毫升)及 3.2×10^{-5} M(相当于20微克/毫升)均对依内钙的收缩反应有显著抑制作用;而对依外钙的收缩反应前一剂量无明显抑制作用,后一剂量则有抑制作用。两个与粉防己碱等浓度的异搏停,对依内钙的收缩反应均有显著抑制作用;而对依外钙的收缩反应亦有一定的抑制作用。

前述实验中选用高钾(KCl 40mM)作为激动剂时所引起的血管平滑肌收缩反应,不受 α 受体阻断剂酚妥拉明所影响,可见这一收缩反应不是通过受体而发挥作用的。高钾可引起肌膜去极化使细胞膜对 Ca^{++} 的通透性增加,因 Ca^{++} 内流而使平滑肌收缩,粉防己碱各种浓度对这一收缩反应均有不同程度的抑制作用,

并随浓度增加,抑制作用增强。

上述实验提示,粉防己碱对血管平滑肌的松弛作用是通过以下作用所引起:(1)阻断细胞外 Ca^{++} 向膜内转运,可能与降低膜的通透性有关;(2)降低细胞内 Ca^{++} 的活性,可能与抑制细胞内 Ca^{++} 从肌浆网、线粒体、浆膜等部位的释放作用,或促进 Ca^{++} 的摄取作用有关,且以作用(2)更为显著。血管平滑肌的收缩是因细胞内 Ca^{++} 的活性增加而始动的,抑制这一过程无疑能有效地松弛血管平滑肌。这一作用在临床上对于治疗因外周阻力增加而引起的各类高血压病是十分有意义的。关于粉防己碱与 Ca^{++} 的对抗性质还有待进一步研究。

小 结

家兔和大白鼠离体主动脉肌条实验,显示粉防己碱对去甲肾上腺素引起收缩之血管平滑肌有明显松弛作用,作用强度为双胍苯哒嗪的3倍以上。用酚妥拉明阻断血管 α 受体及用心得安阻断 β 受体后,均不影响粉防己碱对血管平滑肌的松弛作用。实验表明粉防己碱 1.6×10^{-5} M能够抑制溶液中累加浓度 Ca^{++} 对钙耗竭的主动脉平滑肌的收缩作用,与异搏停 10^{-7} M所得结果一致。当 CaCl_2 增加到引起最大反应浓度(4.5 mM)时,对其引起的反应、抑制程度均有所降低。选用去甲肾上腺素作为激动剂,将依内钙与依外钙的收缩反应分离的情况下,证明粉防己碱对两种反应过程均有抑制作用,以对依内钙的收缩反应抑制作用更为显著。

参 考 文 献

- (1) 张覃沐等:药学报 6 (3):147, 1958。
- (2) 张覃沐等:药学报 6 (3):155, 1958。
- (3) 赵国举等:生理学报 23 (3):237, 1959。
- (4) 高裕等:中华内科杂志 13 (6):504, 1965。
- (5) Department of pharmacology, Wuhan Medical College, et al: Chinese Medical Journal 92 (3): 193, 1979。
- (6) Furchgott RF, et al: J Pharm Exp Ther 108:129, 1953。
- (7) Kreye VA, et al: N S Arch Pharmacol 288:381, 1975。
- (8) Schultz KD, et al: N S Arch Pharmacol 306:1, 1979。
- (9) Roubin AA, et al: J Pharm Exp Ther 136:344, 1961。
- (10) Haeusler G: J Pharm Exp Ther 180:672, 1972。
- (11) 陈一岳等:汉防己素对抗强心甙毒性作用与钙离子的关系。待发表资料, 1980。
- (12) Broekaert A, et al: European J Pharmacology 53:281, 1979。