

6 Shen Z, Lin SZ. Effects of amphetamine and caffeine on jumping behavior and brain NADH in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 97

7 Shen Z, Lin SZ. Brain NADH and jumping behavior in the rat. *Life Sci* 1985; 37 : 731

8 Andondonskaja-Renz B, Zeitler H-J. Separation of pteridines from blood cells and plasma by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1983; 133 : 68

9 Reich JG, Sci'kov EE. *Energy metabolism of the cell: a theoretical treatise*. London: Academic Press, 1981: 134-46

10 Mandell AJ, Bullard WP, Yellin JB, Russo PV. The influence of D-amphetamine on rat brain striatal reduced biopterin concentration. *J Pharmacol Exp Ther* 1980, 213 : 569

11 Stocchi V, Cucchiari L, Magnani M, Chiarantini L, Palma P, Crescentini G. Simultaneous extraction and reversephase high-performance liquid chromatographic determination of adenine and pyridine nucleotides in human red blood cells. *Anal Biochem* 1985; 146 : 118

12 Nichol CA, Smith GK, Duch DS. Biosynthesis and metabolism of tetrahydrobiopterin and molybdopterin. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 729

13 Stryer L. *Biochemistry*. San Francisco: Freeman,

1975: 506-8

14 Dagan F, Erecińska M. Relationships among ATP synthesis,  $K^+$  gradients, and neurotransmitter amino acid levels in isolated rat brain synaptosomes. *J Neurochem* 1987; 49 : 1229

**异戊巴比妥对大鼠脑内蝶呤类和二核苷酸类含量的影响**

林庶芝、沈政 (北京大学心理系, 北京 100871, 中国)

**提要** 利用 HPLC 反相色谱法及荧光检测技术, 研究了异戊巴比妥( $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 腹腔下注射)在 12 只大鼠脑的 6 个区内对生物蝶呤、蝶呤、还原型烟酰胺二核苷酸(NADH)和黄素腺苷二核苷酸(FAD)含量的影响。结果表明, 异戊巴比妥对 6 个脑区内 NADH 的含量不发生显著性影响。除间脑以外, 在其他 5 个脑区内 FAD 的含量却显著增高。对蝶呤类而言, 异戊巴比妥引起大脑皮层和海马内生物蝶呤含量的降低, 却增加了大脑皮层内蝶呤的含量。这一结果, 说明异戊巴比妥降低了间脑以外其它脑区内的能量代谢过程。并在皮层和海马中抑制了单胺类物质的生物合成。与此同时, 异戊巴比妥却易化了大脑皮层内甘氨酸这种抑制性神经递质的生物合成过程。

**关键词** 异戊巴比妥; 高压液相色谱法; 蝶呤类; NAD; FAD; 生物胺类; 脑; 磷酸二核苷

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Jan; 12 (1) : 16-19

**普罗托品松弛平滑肌的作用**

黄跃华、张子韶、蒋家雄 (昆明医学院药理教研室, 昆明 650031, 中国)

**Relaxant effects of protopine on smooth muscles**

HUANG Yuc-Hua, ZHANG Zi-Zhao, JIANG Jia-Xiong (Department of Pharmacology, Kunming Medical College, Kunming 650031, China)

**ABSTRACT** The relaxant effects of protopine (Pro) on smooth muscles were studied by recording isotonic contraction and radioimmunoassay. Pro relaxed the contraction of rabbit thoracic aorta, mesenteric artery, portal vein and guinea pig ileum and taenia colon induced by high  $K^+$  ( $70 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Pro also in-

hibited the contraction of rabbit thoracic aorta, mesenteric artery, portal vein induced by NE ( $0.3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and guinea pig taenia colon induced by  $\text{BaCl}_2$  ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Pro inhibited the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release, but did not inhibit  $\text{Ca}^{2+}$  influx induced by NE. These results suggested that the smooth muscle relaxant mechanism of action of Pro may be the inhibition of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release.

**KEY WORDS** protopine; verapamil, nor-epinephrine, calcium; potassium; barium; ileum; radioimmunoassay; vascular smooth muscle

**提要** 应用平滑肌等张收缩和放射免疫方法, 研究了普罗托品(protopine, Pro)对平滑肌的作用。结果, Pro

Received 1989 May 8 Accepted 1990 Sep 21

松弛高钾引起的豚鼠回肠、结肠带和兔胸主动脉、门静脉、肠系膜动脉的收缩;抑制 NE 引起的兔胸主动脉、门静脉、肠系膜动脉的收缩;抑制 BaCl<sub>2</sub> 引起的豚鼠结肠带的收缩;抑制 NE 所致的内钙释放;但不影响 NE 作用下的外钙内流。Pro 松弛平滑肌的作用可能是抑制细胞内钙的释放。

**关键词** 普罗托品; 维拉帕米; 去甲肾上腺素; 钾; 钙; 钡; 回肠; 放射免疫测定; 血管平滑肌

普罗托品(Pro)系罂粟科、蓝堇科多种植物所含的一种生物碱<sup>(1)</sup>。本文所用的是从攀援指叶紫堇(*Dactylicapnos scandens* Hutch)根紫金龙中提得。Pro 具有松弛平滑肌<sup>(2)</sup>、抑制血小板聚集<sup>(3)</sup>等作用。为开发利用云南植物药资源,寻找心血管新药,探讨 Pro 的作用机理,本文进一步研究了其对平滑肌的作用。并探讨其作用机理。

#### MATERIALS AND METHODS

醋酸普罗托品(protopine acetate, Pro),由大理医药公司刘晓初提取,含量 99%;维拉

帕米(verapamil, Ver, Knoll 公司);<sup>45</sup>CaCl<sub>2</sub> 药盒,中国原子能研究所产品,放射活性 37 GBq · L<sup>-1</sup>;6-keto-[<sup>3</sup>H] PGF<sub>1α</sub> 药盒,解放军总医院中心实验室提供,放射活性 518 KBq · L<sup>-1</sup>;甲苯及二氧六环均为 AR 级。兔,体重 2.1 ± SD 0.4 kg,豚鼠,体重 320 ± SD 80 g,♀ ♂ 兼用,本院动物科提供。自动平衡记录仪(岛津 U-135C);液体闪烁记数仪(LKB)。

**平滑肌机械收缩的测定** 取出兔血管,剪去周围结缔组织,按螺旋剪法<sup>(4)</sup>与血管呈 45° 角剪制血管平滑肌标本。37℃ 通纯 O<sub>2</sub>, Krebs 液中平衡 1.5-2 h;取 1.5-2 cm 长之豚鼠回肠或结肠带,37℃,通纯 O<sub>2</sub>, Krebs 液中平衡 1 h,用自动平衡记录仪记录药物对不同的激动剂引起平滑肌收缩的影响,以抑制最大收缩的%及药物浓度,绘成量-效曲线,计算 IC<sub>50</sub> 值。

Pro 对高钾所致<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>内流的作用<sup>(5)</sup> 用

Tab 1. Inhibition effect (%) of Protopine and verapamil on high K<sup>+</sup> (70 mmol · L<sup>-1</sup>)-induced contraction of rabbit blood vessels and guinea pig intestines. n = 6,  $\bar{x} \pm SD$ .

	Thoracic aorta	Mesenteric artery	Portal vein	Ileum	Taenia colon
Protopine (mmol · L <sup>-1</sup> )					
0.003				2 ± 3	16 ± 12
0.01	3.3 ± 1.8			13 ± 6	41 ± 14
0.03	23 ± 4	24.1 ± 2.7	36 ± 7	78 ± 12	86.6 ± 2.3
0.1	58 ± 5	60 ± 6	67 ± 7	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
0.3	90 ± 4				
1	98.8 ± 2.7				
IC <sub>50</sub>	0.09			0.018	0.009
(95% CL)	(0.07-0.1)			(0.016-0.021)	(0.008-0.011)
Verapamil (μmol · L <sup>-1</sup> )					
0.003				0.8 ± 1.6	1.1 ± 1.9
0.01	2.9 ± 2.6			6 ± 5	15 ± 9
0.03	18 ± 5			39 ± 10	55 ± 15
0.1	45 ± 10			96 ± 6	98.6 ± 1.7
0.3	74 ± 7				
1	91 ± 9				
IC <sub>50</sub>	0.12			0.03	0.02
(95% CL)	(0.10-0.15)			(0.03-0.04)	(0.02-0.03)

Tab 2. Inhibition effect (%) of protopine and verapamil on NE-induced contractions of rabbit blood vessels and BaCl<sub>2</sub>-induced contraction of guinea pig taenia colon.  $n=6 \bar{x} \pm SD$ .

	Norepinephrine(0.3 μmol · L <sup>-1</sup> )			BaCl <sub>2</sub> (1 mmol · L <sup>-1</sup> ) Guinea pig taenia colon
	Thoracic aorta	Mesenteric artery	Portal vein	
Protopine (mmol · L <sup>-1</sup> )				
0.03	26 ± 9	57 ± 7	28 ± 15	
0.1	53 ± 7	75 ± 12	79 ± 10	31 ± 10
0.3	83 ± 7			100.0 ± 0.0
1	100.0 ± 0.0			
IC <sub>50</sub> (95 % CL)	0.09(0.07-0.1)			
Verapamil (μmol · L <sup>-1</sup> )				
0.1	3 ± 5			
0.3	10 ± 6			
1	18 ± 8			35 ± 7
3	39 ± 10			65 ± 8
10	100.0 ± 0.0			
IC <sub>50</sub> (95 % CL)	5.4 (3.8-7.6)			

高钾(70 mmol · L<sup>-1</sup>)使细胞膜上的钙通道开放,观察药物对钙进入细胞内的影响。

6-keto-PGF<sub>1α</sub>测定 用放射免疫法<sup>(6)</sup>。

NE所致的二相收缩 用有钙及无钙Kreb氏液把NE的收缩分为二相的方法<sup>(7)</sup>,测定Pro对两个收缩相的影响。

## RESULTS

Pro对激动剂引起平滑肌收缩的作用 Pro能松弛高钾(70 mmol · L<sup>-1</sup>)引起的豚鼠回肠、结肠带和兔胸主动脉、门静脉、肠系膜动脉的收缩;能抑制NE(0.3 μmol · L<sup>-1</sup>)引起的兔胸主动脉、门静脉和肠系膜动脉的收缩;还能抑制BaCl<sub>2</sub>引起的豚鼠结肠带的收缩,抑制作用随Pro浓度的增高而增强。结果与Ver相似。见Tab 1, Tab 2。

Pro对高钾所致兔胸主动脉环<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>内流的作用 Pro不抑制高钾(70 mmol · L<sup>-1</sup>)所致的<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>内流,Ver则能抑制之。与对照组相比,给Pro组cpm为对照组的99.2%( $P > 0.05$ ),给Ver组仅为64.8% ( $P < 0.05$ )。

Pro对兔胸主动脉环PGI<sub>2</sub>生成的影响 对照组6-keto-PGF<sub>1α</sub>含量为164 ± 36(pg · mg<sup>-1</sup>组织),Pro 0.01, 0.03, 0.1 mmol · L<sup>-1</sup>三个浓度组分别为192 ± 49, 165 ± 53, 148 ± 47 pg · mg<sup>-1</sup>组织,差异无显著性意义( $P$ 均 $> 0.05$ )。

Pro对NE二相收缩的作用 在兔胸主动脉条,Pro及Ver均能抑制NE引起的第一相收缩,但对第二相收缩均无抑制作用,说明两药均能抑制NE引起的内钙释放,而对NE作用下的外钙内流无作用。结果见Tab 3。

Tab 3. Effects of protopine (30 μmol · L<sup>-1</sup>) and verapamil (0.3 μmol · L<sup>-1</sup>) on the 2 components of NE-induced contraction of rabbit thoracic aorta strips  $\bar{x} \pm SD$ , \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ .

	n	Contraction (g)	
		1 st component	2nd component
Control	7	0.89 ± 0.36	0.96 ± 0.17
Protopine	7	0.41 ± 0.19**	0.95 ± 0.18*
Verapamil	6	0.36 ± 0.09**	1.20 ± 0.41*

## DISCUSSION

本文观察了Pro对不同部位的平滑肌的

作用, Pro 能抑制高钾及 NE 引起的多种平滑肌的收缩, 且抑制 NE 的作用与抑制高钾的作用之间无明显选择性( $P > 0.05$ ), 此点与 Ver 不同, Ver 虽然对高钾及 NE 引起的收缩也都有抑制作用, 但抑制高钾( $IC_{50} 0.21 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 强于抑制 NE ( $IC_{50} 5.4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 引起收缩的作用( $P < 0.05$ ), 与文献报道<sup>(2,4)</sup>相符. 将 Pro 的  $IC_{50}$  与 Ver 的  $IC_{50}$  相比较, 无论是血管平滑肌, 还是肠道平滑肌, Pro 的作用强度均比 Ver 弱.

高钾去极化使细胞膜上电位依赖性钙通道开放,  $\text{Ca}^{2+}$  经此通道进入细胞内<sup>(6)</sup>, 引起平滑肌收缩, Pro 不抑制这一过程, 说明其松弛平滑肌的作用不涉及这一机理.

NE 既能引起细胞外钙内流, 又能使细胞内储存钙释放<sup>(8)</sup>, 利用含钙及无钙 Krebs 氏液, 可把 NE 引起的收缩分为二相<sup>(7)</sup>, 第一相收缩为细胞内钙释放所致, 第二相收缩为外钙内流所致, 本文实验结果, Pro 能抑制 NE 的一相收缩, 而不影响二相收缩, 说明 Pro 松弛平滑肌的作用与抑制细胞内钙释放有关, Ver 也抑制 NE 的一相收缩与文献报道<sup>(4,7)</sup>相符.

钡通过释放细胞内钙引起平滑肌收缩<sup>(9)</sup>, Pro 能抑制  $\text{BaCl}_2$  引起的豚鼠结肠带收缩, 也提示 Pro 具有抑制细胞内钙释放的作用.

$\text{PGI}_2$  为花生四烯酸代谢产物, 能松弛血管平滑肌, 抑制血小板聚集<sup>(10)</sup>, 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$  为  $\text{PGI}_2$  的稳定代谢产物, 测定其含量, 可反映  $\text{PGI}_2$  的生成量, 用放射免疫法证明, Pro 不促进  $\text{PGI}_2$  的生成, 说明其松弛平滑肌不涉及这一机理.

我们的实验表明, Pro 松弛平滑肌的作用

机理主要是抑制细胞内钙的释放.

ACKNOWLEDGMENTS 王德成、陈植和、杨庆周、魏均炳、李 泽等老师给予帮助和支持.

#### REFERENCES

- 1 Jin KC, Tang XC, Xu B. Studies on the pharmacological actions of corydalis. *Acta Pharm Sin* 1962; 9 : 487
- 2 Pandey VB, Dasgupta, Bhattacharya SK, Lal R, Das PK. Chemistry and Pharmacology of the major alkaloid of *Fumaria indica*(Hauusk) Pugsley. *Curr Sci* 1971; 17 : 455
- 3 Ma GY, Zhang ZZ, Chen ZH. Studies on TMVA used as a model for screening antiplatelet drugs. *Zool Res* 1987; 8(Suppl) : S47
- 4 Chen SM, Gong QY, Yang ZC. The effects of verapamil on the contraction of rabbit aortic strips. *Acta Acad Med Primae Shanghai* 1982; 9 : 215
- 5 Yang W, Gao HY, Wang ZG, Jin YC. Influence of bovine parathyroid hormone-(1-34) on contraction of rat vas deferens and effect of calcium. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 51
- 6 Larry R, William B, L. Maximilian Buja, Gregory D, James T. Effects of the selective thromboxane synthetase inhibitor dazoxiben on variations in cyclic blood flow in stenosed canine coronary arteries. *Circulation* 1984; 69 : 1161
- 7 Jia JF, Gao LL, Xia GJ, Lou QF, Fang DC, Jiang MX. Effects of tetrandrine on contractility of isolated pig coronary artery strips. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 32
- 8 van Breemen C, Aaronson P, Loutzenhiser R, Meisner K.  $\text{Ca}^{2+}$  movements in smooth muscle. *Chest* 1980; 78(Suppl 1) : S157
- 9 Caldwell PC, Walster G. Studies on the micro-injection of various substances into crab muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 1963; 169 : 355
- 10 Azuma H, Ishikawa M, Sekizaki S. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 1986; 88 : 411