

# 色满类化合物HEF-19对家兔离体肠管平滑肌的舒张作用

韦元元, 付守廷, 胡春, 朱岚, 王冰, 汪慧慧

## ■背景资料

近年来, 药物对肠管平滑肌的舒张作用的研究比较广泛。而离体肠管实验以其具有操作简便, 经济易行, 实验条件易控制, 影响因素少, 重现性好, 结果准确可靠等优点被广泛采用去进行药物作用机制的探讨。神经递质、胃肠道激素和药物通过受体和第二信使系统作用于离子通道, 从而对肠道平滑肌电生理和收缩活性进行调节。因此, 通过对离子通道的研究而了解肠管平滑肌舒张药物的作用机制已逐渐成为热点。

## ■同行评议者

许文燮, 教授, 上海交通大学医学院生物医学工程系; 陈贻胜, 教授, 福建省立医院消化内科

韦元元, 付守廷, 朱岚, 王冰, 汪慧慧, 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院 辽宁省沈阳市 110016

胡春, 沈阳药科大学制药工程学院 辽宁省沈阳市 110016

作者贡献分布: 此课题由付守廷与韦元元设计; 研究过程由韦元元、朱岚、王冰及汪慧慧操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由付守廷与胡春提供; 数据分析由韦元元完成; 本论文写作由韦元元与朱岚完成。

通讯作者: 付守廷, 110016, 辽宁省沈阳市文化路103号, 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院. fushout@msn.com  
电话: 024-23986331

收稿日期: 2009-03-02 修回日期: 2009-05-11

接受日期: 2009-05-28 在线出版日期: 2009-06-28

## Relaxant effect of a chromane HEF-19 on intestinal smooth muscles isolated from rabbits

Yuan-Yuan Wei, Shou-Ting Fu, Chun Hu, Lan Zhu, Bing Wang, Hui-Hui Wang

Yuan-Yuan Wei, Shou-Ting Fu, Lan Zhu, Bing Wang, Hui-Hui Wang, School of the Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Chun Hu, School of Pharmaceutical Engineering, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Correspondence to: Shou-Ting Fu, School of the Life Science and Biopharmaceutics, Shenyang Pharmaceutical University, 103 Wenhua Road, Shenyang 110016, Liaoning Province, China. fushout@msn.com

Received: 2009-03-02 Revised: 2009-05-11

Accepted: 2009-05-28 Published online: 2009-06-28

## Abstract

**AIM:** To study the relaxant effect of a chromane HEF-19 on isolated small intestinal smooth muscle of rabbits and its underlying mechanism.

**METHODS:** Routine experimental methods using isolated small intestine smooth muscle of rabbits, the effect of HEF-19 on automatic contraction of small intestinal smooth muscle was investigated. The relaxant effects of glibenclamide ( $10^{-5}$  mol/L), Verapamil ( $10^{-7}$  mol/L) Phentolamine ( $10^{-7}$  mol/L) and Propranolol ( $10^{-7}$  mol/L) on HEF-19 with contraction induced by BaCl<sub>2</sub> were studied.

**RESULTS:** HEF-19 significantly attenuated the tension and amplitude of automatic contraction of isolated small intestinal smooth muscle in a

dose-dependent manner. The relaxing concentration-response curves of HEF-19 ( $10^{-6}$ - $10^{-3}$  mol/L) were significantly different after incubation with glibenclamide ( $EC_{50}$ :  $4.16 \pm 0.22$  mol/L vs  $4.36 \pm 0.12$  mol/L,  $P < 0.05$ ) and Verapamil ( $EC_{50}$ :  $3.96 \pm 0.24$  mol/L vs  $4.43 \pm 0.19$  mol/L,  $P < 0.05$ ). Phentolamine and Propranolol had no effect on relaxant effect of HEF-19.

**CONCLUSION:** HEF-19 relaxes isolated small intestinal smooth muscle of rabbits and the mechanism may be related to K<sup>+</sup>-ATP opening and L-calcium channel but not related to  $\alpha$ -receptor and  $\beta$ -receptor.

**Key Words:** Rabbit; Intestine; Smooth muscle; Relaxation

Wei YY, Fu ST, Hu C, Zhu L, Wang B, Wang HH. Relaxant effect of a chromane HEF-19 on intestinal smooth muscles isolated from rabbits. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(18): 1864-1867

## 摘要

**目的:** 探讨色满类化合物HEF-19对家兔离体小肠平滑肌的舒张作用及其机制。

**方法:** 采用家兔小肠离体实验法, 观察HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响, 研究BaCl<sub>2</sub>诱导收缩时格列苯脲( $10^{-5}$  mol/L)、维拉帕米( $10^{-7}$  mol/L)、酚妥拉明( $10^{-7}$  mol/L)和普萘洛尔( $10^{-7}$  mol/L)对HEF-19的舒张作用的影响。

**结果:** HEF-19可以剂量依赖性地降低家兔离体小肠平滑肌自发性收缩的张力和振幅; 分别加入格列苯脲和维拉帕米孵育后, HEF-19( $10^{-6}$  mol/L- $10^{-3}$  mol/L)的舒张量效曲线均发生明显变化,  $EC_{50}$ 值分别由 $4.36 \pm 0.12$  mol/L和 $4.43 \pm 0.19$  mol/L转变为 $4.16 \pm 0.22$  mol/L和 $3.96 \pm 0.24$  mol/L, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。酚妥拉明和普萘洛尔对HEF-19的舒张作用没有影响。

**结论:** HEF-19具有舒张小肠平滑肌的作用并且其作用机制与ATP-敏感性钾通道和L型钙通道开放有关。而与 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体无关。

**关键词:** 家兔; 肠管; 平滑肌; 舒张作用

韦元元, 付守廷, 胡春, 朱岚, 王冰, 汪慧慧. 色满类化合物HEF-19对家兔离体肠管平滑肌的舒张作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(18): 1864-1867

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1864.asp>

## 0 引言

胃肠平滑肌痉挛可引起腹痛、腹泻, 是临床常见的疾病之一. 传统的抗胆碱能药物由于其不良反应在临床应用中受到一定限制, 寻找一种作用强大, 不良反应小的平滑肌舒张药物有着重要的意义. HEF-19是由我校有机实验室研制的色满类化合物, 性质稳定, 易溶于水, 有文献报道其类似化合物具有抗炎活性和抗血小板凝聚活性<sup>[1]</sup>. 本文发现HEF-19具有明显的肠管平滑肌舒张作用, 就其药效机制作了初步探讨.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康家兔, 雌雄兼用, 体质量2.0-3.0 kg, 合格证号SCXK20030011, 由沈阳药科大学实验动物中心提供. HEF-19由沈阳药科大学有机教研室提供. 格列苯脲(glibenclamide tablets)为北京太洋药业有限公司生产. 维拉帕米(verapamil)为天津市和平制药厂生产. 甲磺酸酚妥拉明注射液(Phentolamine methanesulfonate, Phen)上海旭东海普药业有限公司生产. 盐酸普萘洛尔片(Propranolol Hydrochloride Tablets)为沈阳东药克达制药有限公司生产. 氯化钡( $\text{BaCl}_2$ )为沈阳市兴东试剂厂产品. 其他普通试剂均为市售分析纯, 实验用Tyrod液:  $\text{NaCl}$  136.86 mmol/L、 $\text{KCl}$  2.68 mmol/L、 $\text{NaHCO}_3$  11.9 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  1.05 mmol/L、 $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.41 mmol/L、 $\text{CaCl}_2$  1.8 mmol/L、 $\text{Gluocses}$  5.6 mmol/L<sup>[2]</sup>. RM6240B型多通道生理信号采集处理系统为成都仪器厂生产.

### 1.2 方法

**1.2.1 标本制备:** 兔禁食12 h, 自由饮水. 将其击昏后剖开腹腔, 以胃幽门与十二指肠交界处为起点剪取肠管, 将其剪成约1 cm的肠段, 置于盛有Tyrode's液的浴管中, 调节基本张力为1 g左右, 恒温 $37^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 水浴, 通气钩以每秒1-2个气泡的速度持续通混合气(950 mL/L  $\text{O}_2$ 和50 mL/L  $\text{CO}_2$ ). 小肠平滑肌收缩活动及变化信号经张力换能器引至RM6240多道生理信号采集处理系统<sup>[3]</sup>.

**1.2.2 HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响:** 单剂量加入溶剂和不同浓度的HEF-19( $10^{-6}$ 、

表 1 HEF-19对家兔小肠平滑肌自发活动的影响 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, %)

分组	给药后	
	张力	振幅
溶剂	$99.82 \pm 1.03$	$101.22 \pm 2.67$
HEF-19(mol/L)		
$10^{-6}$	$82.75 \pm 6.09$	$86.91 \pm 3.66$
$10^{-5}$	$54.43 \pm 18.32$	$60.56 \pm 8.16$
$10^{-4}$	$18.88 \pm 20.56$	$30.65 \pm 12.13$

$10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L), 以给药前的值为100%, 记录给药后小肠自发活动振幅和张力的百分比<sup>[4]</sup>.

**1.2.3 阻滞剂对HEF-19舒张作用的影响:** 加入 $\text{BaCl}_2$ ( $8.2 \times 10^{-3}$  mol/L)收缩稳定后, 累积加入HEF-19( $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L- $3 \times 10^{-3}$  mol/L), 得到HEF-19舒张 $\text{BaCl}_2$ 收缩的累积量效曲线(实验对照组). 冲洗待标本张力稳定后, 分别加入格列苯脲溶液( $10^{-5}$  mol/L)、维拉帕米( $10^{-7}$  mol/L)、酚妥拉明( $10^{-7}$  mol/L)和普萘洛尔( $10^{-7}$  mol/L)孵育10 min, 再次得到由 $\text{BaCl}_2$ 收缩时HEF-19舒张累积量效曲线<sup>[5-8]</sup>, 并求出 $\text{EC}_{50}$ 值.

**统计学处理** RM6240多道生理信号采集及处理系统的分析软件计算 $\text{EC}_{50}$ ( $\text{pD}_2 = -\log \text{EC}_{50}$ ), 采用mean  $\pm$  SD表示. 采用组间 $t$ 检验.

## 2 结果

**2.1 HEF-19对家兔离体小肠自发活动的影响** HEF-19可抑制家兔离体小肠平滑肌自发性收缩张力和振幅, 并呈现一定的剂量依赖性. HEF-19舒张作用与溶剂组比较具有显著性差异(表1, 图1).

**2.2 阻滞剂对HEF-19舒张作用的影响** 格列苯脲和维拉帕米孵育后, 由 $\text{BaCl}_2$ 引起收缩的HEF-19的舒张量效曲线均右移(图2),  $\text{EC}_{50}$ 值分别由 $4.36 \pm 0.12$  mol/L和 $4.43 \pm 0.19$  mol/L转变为 $4.16 \pm 0.22$  mol/L和 $3.96 \pm 0.24$  mol/L. 进行统计学 $t$ 检验, 有显著差异( $P < 0.05$ ). 酚妥拉明和普萘洛尔对HEF-19的舒张作用没有影响,  $\text{EC}_{50}$ 值分别由 $4.44 \pm 0.25$  mol/L和 $4.23 \pm 0.11$  mol/L转变为 $4.22 \pm 0.29$  mol/L和 $4.27 \pm 0.14$  mol/L, 统计学无显著差异.

## 3 讨论

肠壁平滑肌收缩, 细胞外 $\text{Ca}^{2+}$ 内流产生内向电流, 导致平滑肌细胞膜去极化, 从而形成动作电位升支, 同时激活细胞内 $\text{K}^+$ 外流形成外向电流, 使膜逐渐复极化至静息电位<sup>[9]</sup>. 平滑肌细胞的

### ■研发前沿

传统的抗胆碱能药物由于其不良反应在临床应用中受到一定限制, 近年来发现了一些非抗胆碱能药物具有良好的解痉止痛效果, 且起效迅速, 不良反应小, 易于被患者接受, 引起普遍重视.

### ■创新盘点

本文首次报道了色满类化合物对家兔肠管平滑肌的舒张作用, 并通过研究格列苯脲、维拉帕米、酚妥拉明和普萘洛尔对此化合物舒张作用的影响研究了其舒张作用机制可能与ATP敏感性钾通道和L型电压依赖性钙通道有关, 而与 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体无关.

### ■同行评价

本文利用药理学方法观察了色满酮类化合物HEF-19对离体家兔小肠自发收缩活动的影响,从新药开发角度具有一定的理论和潜在的临床意义。

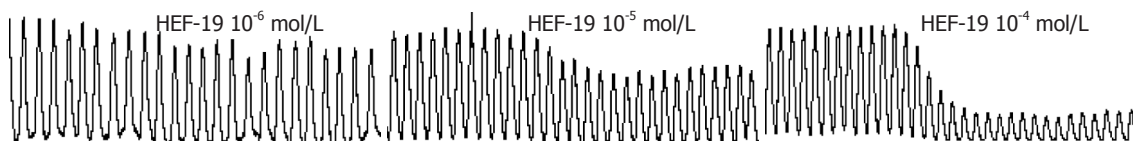


图1 HEF-19对家兔离体小肠平滑肌自主收缩活动的影响。

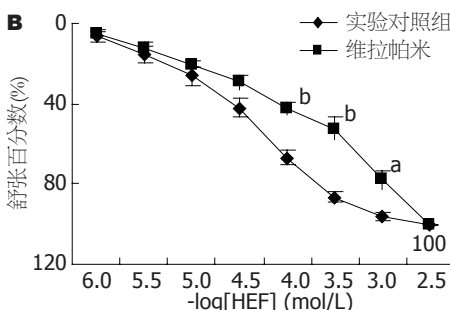
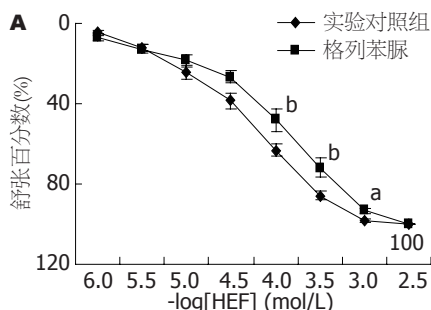


图2 HEF-19舒张家兔离体小肠平滑肌的累积量效曲线( $n = 6$ ). <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 实验对照组。

松弛与细胞膜超极化有关,可能影响动作电位或减少电压依赖性钙通道(VDCs)开放机率减少 $\text{Ca}^{2+}$ 内流<sup>[10]</sup>。 $\text{BaCl}_2$ 可能通过与钙调蛋白结合,增加 $\text{Ca}^{2+}$ 内流引起小肠平滑肌的收缩。

ATP敏感性钾通道(ATP-sensitive K channels,  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channels)是电压非依赖性、配体门控通道<sup>[11]</sup>存在于平滑肌上,实验所用的格列苯脲是 $\text{K}_{\text{ATP}}$ 通道的特异性拮抗药<sup>[12]</sup>。加入格列苯脲阻断 $\text{K}_{\text{ATP}}$ 通道后,HEF-19舒张 $\text{BaCl}_2$ 收缩的量效曲线右移, $\text{EC}_{50}$ 值降低,HEF-19的舒张作用被抑制。这说明HEF-19舒张小肠平滑肌的作用同ATP敏感性钾通道开放有关。有可能通过开放钾通道,使细胞膜超极化,抑制细胞外钙离子内流及细胞内贮钙释放,降低细胞内游离钙离子的浓度,从而降低细胞的兴奋性<sup>[13]</sup>,缓解肠痉挛。

电压依赖性的钙通道开放使外钙内流和内钙释放增加而使平滑肌收缩<sup>[14]</sup>。胃肠平滑肌中主要的钙通道是L型电压依赖性钙通道(L- $\text{Ca}^{2+}$ )。他选择性地容许 $\text{Ca}^{2+}$ 跨膜通过,参与平滑肌兴奋收缩偶联<sup>[15]</sup>。本实验观察到,HEF-19浓度依赖性地降低小肠自发性收缩的张力和振幅,有研究表明,胞外钙通过L型电压依赖性钙通道进入胞质而参与小肠的自发收缩活动<sup>[2]</sup>,这提示HEF-19对电压依赖性钙通道可能有阻断作用。维拉帕米选择性的阻断L- $\text{Ca}^{2+}$ 后,HEF-19在 $\text{BaCl}_2$ 诱导收缩时的平滑肌舒张量效曲线明显右移,这进一步说明HEF-19可能是阻断了L- $\text{Ca}^{2+}$ 开放,抑制外钙内流及细胞内贮钙释放而舒张由 $\text{BaCl}_2$ 收缩的小肠平滑肌<sup>[8]</sup>。

酚妥拉明和普奈洛尔分别为 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体阻断药,他们不影响HEF-19作用提示HEF-19的作用机制可能与 $\alpha$ 受体和 $\beta$ 受体无关。

总之,HEF-19性质稳定,具有舒张家兔小肠平滑肌的作用,作为平滑肌舒张药物具有良好的开发前景。本实验初步证明其舒张作用机制与ATP敏感性钾通道和L型电压依赖性钙通道有关,但其是否还有其他作用途径以及其具体作用位点尚需做深入的研究。

### 4 参考文献

- 李慧媛,张琳琳,张传明,刘晓平,刘玉兰,詹华强,胡春. 4-色满酮芳环Mannich碱类化合物的合成及其抗血小板聚集活性研究. 精细化工中间体 2008; 38: 13-17
- Grasa L, Rebollar E, Arruebo MP, Plaza MA, Murillo MD. The role of  $\text{Ca}^{2+}$  in the contractility of rabbit small intestine in vitro. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 639-650
- 吕军,陈晓东,王立军,王艳国. 藏茵陈对家兔小肠平滑肌活动的影响. 包头医学院学报 2005; 21: 114-115
- 宋士军,李芳芳,张丽华,吴振州,秦玉珍,连晓东,张翼. 何首乌对家兔小肠平滑肌收缩活动和电活动的影响. 河北医科大学学报 2007; 28: 85-88
- Bian ZX, Zhang GS, Wong KL, Hu XG, Liu L, Yang Z, Li M. Inhibitory effects of magnolol on distal colon of guinea pig in vitro. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 790-794
- 程艳芹,孙秀梅,张兆旺,李明春. 甘草5种方法提取液对兔离体肠平滑肌的影响. 解放军药学报 2009; 25: 49-50
- Gilani AH, Shah AJ, Ghayur MN, Majeed K. Pharmacological basis for the use of turmeric in gastrointestinal and respiratory disorders. *Life Sci* 2005; 76: 3089-3105
- 王九辉,何佟,林连波. 山苦茶提取物对豚鼠离体胆囊肌条的作用及其机制. 中南药学 2004; 2: 131-133
- 陈明谕,罗和生,余保平. 小檗碱对豚鼠结肠平滑肌细胞膜离子通道的影响. 中华消化杂志 2003; 23: 689-690
- 戴芸. 钙离子在胃肠平滑肌收缩机制中的作用. 国外医学·消化系疾病分册 2002; 22: 17-20
- 朱斌,赵金宪,叶铁虎. ATP敏感性钾通道的阻断剂与开放剂研究进展. 中国临床药理学杂志 2005; 21: 70-73
- 陈岗,李利生,张俊民,米卫东. 格列苯脲对丙泊酚、氯胺酮、依托咪酯及咪唑安定致兔离体气管平滑肌



- 舒张作用的影响. 临床麻醉学杂志 2003; 19: 158-159
- 13 李在璇, 许文燮. 胃肠平滑肌细胞的离子通道及其调制. 基础医学与临床 2003; 23: 19-20
- 14 柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德. 皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 165-167
- 15 曾煜, 郭忻. 胃肠离子通道及其影响因素与平滑肌运动的研究进展. 中国药房 2007; 18: 1268-1269

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 2007 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	19	44	-0.98	0.059	44	-0.89
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	4431	1	3.46	0.745	10	0.38
G803	肝脏	467	28	-0.53	0.537	17	-0.01
G938	国际呼吸杂志	521	25	-0.48	0.386	32	-0.29
G415	国际内分泌代谢杂志	654	20	-0.34	0.520	19	-0.04
G939	国际脑血管病杂志	662	19	-0.33	0.480	22	-0.11
G501	临床肝胆病杂志	497	26	-0.50	0.318	36	-0.41
G291	临床骨科杂志	689	18	-0.31	0.455	25	-0.16
G658	临床荟萃	1169	13	0.18	0.233	40	-0.57
G257	临床内科杂志	651	21	-0.35	0.367	34	-0.32
G855	临床消化病杂志	292	36	-0.71	0.394	30	-0.27
G261	临床心血管病杂志	866	17	-0.13	0.474	24	-0.12
G293	临床血液学杂志	341	34	-0.66	0.347	35	-0.36
G491	岭南心血管病杂志	157	41	-0.84	0.110	43	-0.79
G662	内科急危重症杂志	276	37	-0.72	0.318	36	-0.41
G746	实用肝脏病杂志	297	35	-0.70	1.100	3	1.04
G190	世界华人消化杂志	2353	5	1.37	0.568	15	0.05
G800	胃肠病学	376	33	-0.62	0.372	33	-0.31
G326	胃肠病学和肝病学杂志	468	27	-0.53	0.399	29	-0.26
G451	现代消化及介入诊疗	84	43	-0.92	0.230	41	-0.58
G083	心肺血管病杂志	214	40	-0.78	0.206	42	-0.62
G419	心血管病学进展	467	28	-0.53	0.419	27	-0.23
G260	心脏杂志	523	24	-0.47	0.392	31	-0.28
G610	胰腺病学	223	38	-0.78	0.282	38	-0.48
G234	中国动脉硬化杂志	869	16	-0.13	0.521	18	-0.04
G422	中国脑血管病杂志	223	38	-0.78	0.503	21	-0.07
G267	中国实用内科杂志	2121	7	1.13	0.601	13	0.11
G211	中国糖尿病杂志	1284	11	0.29	0.931	7	0.72
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	616	23	-0.38	0.599	14	0.11
G633	中国血液净化	449	31	-0.55	0.478	23	-0.12
G119	中国循环杂志	643	22	-0.35	0.411	28	-0.24
G231	中华肝脏病杂志	2746	4	1.76	1.056	4	0.95
G235	中华高血压杂志	982	15	-0.01	0.757	9	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	143	42	-0.86	0.235	39	-0.57
G876	中华老年心脑血管病杂志	465	30	-0.53	0.431	26	-0.20
G150	中华老年医学杂志	1010	14	0.02	0.510	20	-0.06
G155	中华内分泌代谢杂志	1548	9	0.56	1.032	5	0.91
G156	中华内科杂志	3238	3	2.26	0.847	8	0.57
G161	中华肾脏病杂志	1477	10	0.49	1.018	6	0.88
G285	中华消化内镜杂志	1271	12	0.28	0.607	12	0.12
G168	中华消化杂志	2249	6	1.26	1.123	2	1.08
G892	中华心率先失常杂志	384	32	-0.61	0.568	15	0.05
G170	中华心血管病杂志	3705	2	2.73	1.217	1	1.25
G172	中华血液学杂志	1632	8	0.64	0.633	11	0.17
	平均值	994			0.541		

以上数据摘自《中国科技期刊引证报告》(2008年版). 科学技术文献出版社, 160-161.