

异钩藤碱对猫的心血管作用与血药浓度的关系

余俊先, 吴 芹, 谢笑龙, 黄燮南, 孙安盛, 石京山*

(遵义医学院药理学教研室, 遵义 563003)

摘要:目的 用麻醉猫研究异钩藤碱(Iso)的心血管药理效应与血药浓度的关系。方法 异钩藤碱粉末, 分别临用时配制(FPI)和配好后室温放置1周备用(DPI)。以RM-6000八道生理仪记录猫的收缩压、舒张压和心率的变化, 相应时间点取血1.0 mL。用反相高效液相色谱法测定血药浓度。结果 Iso的降压及负性频率效应与其给药剂量及血药浓度呈明显的量-效关系, 同剂量的DPI和FPI给药, FPI的起效时间、疗效维持时间及最大效应均强于DPI。结论 Iso的降压及负性频率效应与其给药剂量及血药浓度呈明显的量-效关系; Iso的溶液剂型不稳定, 室温放置1周后可降低其心血管药理效应。

关键词: 异钩藤碱; 药代动力学; 量-效关系

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2002)03-0191-04

异钩藤碱(isorhynchophylline, Iso)的药理作用广泛, 其心血管效应已有较多研究^[1~3], 但有关Iso在猫体内的血药浓度与其心血管系统的药理效应的关系尚未见报道。本实验观察了Iso对麻醉猫血压及心率的影响, 并用高效液相色谱法测定血浆中Iso的浓度, 分析其药理效应与血药浓度的关系, 为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

日本岛津LC-10A高效液相色谱仪, 包括LC-

10AD高压泵工作站, SPD-10A紫外检测器, CBM色谱数据处理机, NEC软件包; RM-600型八道生理记录仪, 日本光电公司产品; Iso纯度96%以上, 由广西中医药研究所提供。

1.2 实验动物

市售杂种家猫, 体重2.1~2.6 kg, ♂♀兼用。

1.3 药效学观察

3%戊巴比妥钠30 mg·kg⁻¹ ip将猫麻醉后, 仰位固定于兔解剖台上, 然后分离一侧颈总动脉, 结扎远心端, 近心端插管连接于八道生理记录仪换能器上, 记录动脉收缩压(systolic arterial pressure, SAP)、舒张压(diastolic arterial pressure, DAP), 同时通过II导心电图记录心率(heart rate, HR)。于股静脉插管备取血用。手术完毕, 待动物的各项生理指标稳定后, 分别静脉注射(约3 min注射完毕)不同剂量的新鲜配制或放置1周的Iso溶液, 记录上述生理指标, 并于相应的时间点取血1.0 mL, 测血药浓度。

1.4 色谱条件

Supelcosil C₁₈反相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-重蒸水(75:25), 用前先过滤及脱气, 检测波长为254 nm, 流速为1.0 mL·min⁻¹。

1.5 样品制备

精确吸取空白血浆和含Iso标准品血浆0.4 mL, 置干燥离心管中, 加0.1 mol·L⁻¹ NaOH 0.4 mL和乙醚2 mL, 旋涡振荡2 min, 3000×g离心10 min, 吸取上层有机相; 无机相中再加乙醚2 mL如法萃取一次; 合并两次乙醚提取液置尖底试管内, 于恒温(50℃)水浴中蒸干, 甲醇200 μL定溶, 取20 μL进样。

1.6 标准曲线与检测限

于空白血浆中加入不同量的Iso标准液, 配成系列浓度, 按上述方法处理血浆样品和进样。结果在0.5~500.0 mg·L⁻¹的浓度范围内, Iso浓度与HPLC响应值曲线线性关系良好($r=0.9997$)。当信噪比(S/N)为2时, 最低检测限为0.5 ng。

1.7 回收率和精密度

在本实验条件下, Iso的回收率为86.3%~

收稿日期: 2001-11-05 接受日期: 2002-04-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(980639)

作者简介: 余俊先(1973-), 男, 江西省临川人, 硕士研究生, 现在江苏大学医学院药理室工作; 石京山(1959-), 男, 贵州省锦屏人, 博士, 教授, 主要从事神经药理和药代动力学的研究。

* 联系作者 Tel: (0852)8205416, Fax: (0852)8204729, E-mail: jsshi@zmc.gz.cn

92.9%,而日内精密度 $\leq 4.4\%$, 日间精密度 $\leq 8.1\%$ 。

1.8 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用组间 t 检验进行统计分析。

2 结果

2.1 异钩藤碱对麻醉猫血压及心率的影响

Iso 5 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ iv 可使麻醉猫血压下降及心率减慢,并显示出明显的量-效关系趋势,具体表现为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Iso 组的最大效应和维持疗效均大于 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(表 1)。

2.2 新鲜配制异钩藤碱的浓度-时间曲线和效应-时间曲线

从图 1A~F 中可以看到, Iso 降低血压及减慢心率的心血管药理效应有较明显的剂量-效应关系趋势, Iso $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ iv 的心血管效应大于 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ iv 组,同时,其效应与血药浓度呈正相关。然而, Iso $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的血药浓度-降压效应曲线的相关性 ($r = 0.8414 \sim 0.8830$) 低于 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组 ($r = 0.9021 \sim 0.9283$), 该两剂量下, 其血药浓度-负性频率效应曲线的相关性也较低 ($r = 0.8912$)。

2.3 新配制异钩藤碱和异钩藤碱放置液的时-效曲线比较

从图 2A-C 的时间-效曲线结果表明,在均为 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量下, Iso 放置液的起效时间略滞后于新配制的 Iso 液,但达到最大效应的时间二者相似,均为 5~10 min。

3 讨论

Iso 的降压与负性频率效应已有报道,本研究观察到 Iso 在麻醉猫的降压及减慢心率作用与其在麻醉大鼠和犬的作用相似^[1,2],提示 Iso 的心血管药理效应在动物种属间的选择性不大。以往的研究结果表明, Iso 的心血管系统作用与其阻滞 Ca^{2+} 通道,扩张血管,降低外周阻力有关^[3,4]。本研究观察到, Iso 的降压与减慢心率的效应与原药在血浆浓度基本上处于正相关关系,即血药浓度越高,效应越明显,随着浓度降低,效应逐渐减弱直至消失,这一结果提示, Iso 的心血管效应主要取决于原药,而与代谢产物的关系不大。传统中药用药中,凡含有钩藤的方剂在煎药时都要求钩藤后下,以维持高的临床

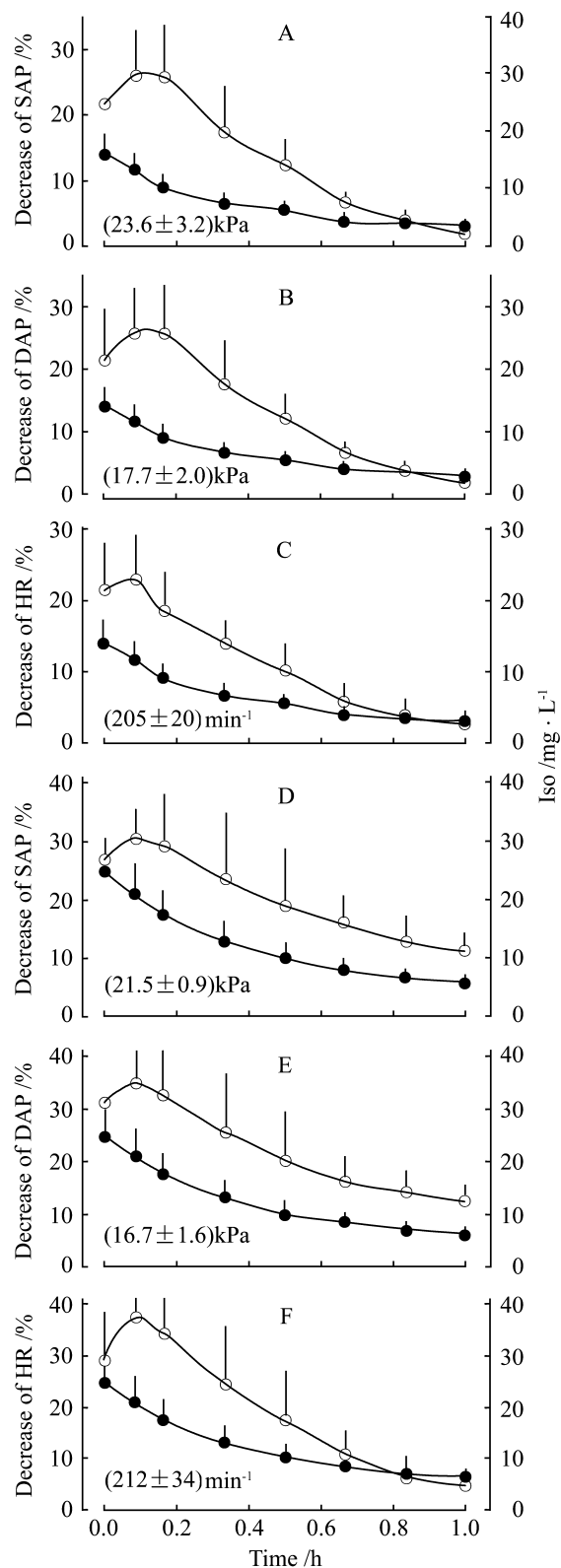


Fig 1. Time-concentration curves and time-effect curves of isorhynchophylline (Iso) after iv in anesthetized cats. (○) Concentration; (●) effect. A - C: Iso $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. D - F: Iso $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Iso was prepared just before used. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$.

Tab 1. Effects of Iso on blood pressure and heart rate in anesthetized cats

Time/min	SAP/kPa	DAP/kPa	HR/min ⁻¹
Iso 5 mg·kg ⁻¹			
Before	23.6 ± 3.2	17.7 ± 2.0	205 ± 29
0	18.5 ± 3.6 ^{**}	14.7 ± 4.0 [*]	161 ± 28 [*]
5	17.9 ± 2.7 ^{**}	13.1 ± 2.1 ^{**}	158 ± 28 [*]
10	17.3 ± 2.1 ^{**}	14.6 ± 2.1 ^{**}	167 ± 31 [*]
20	18.7 ± 2.1 ^{**}	15.8 ± 2.4 [*]	176 ± 31 [*]
30	20.5 ± 3.0 [*]	17.2 ± 2.8 [*]	183 ± 32
40	21.7 ± 3.2 [*]	17.9 ± 2.8	193 ± 31
50	22.5 ± 3.1	18.1 ± 3.1	197 ± 32
60	22.8 ± 3.2	17.8 ± 2.4	199 ± 30
90	22.7 ± 4.2	18.0 ± 2.9	207 ± 32
Iso 10 mg·kg ⁻¹			
Before	21.5 ± 0.9	16.7 ± 1.6	212 ± 34
0	15.7 ± 1.4 ^{**}	11.5 ± 2.1 ^{**}	150 ± 20 ^{**}
5	14.9 ± 0.9 ^{**}	10.9 ± 1.8 ^{**}	133 ± 11 ^{**}
10	15.2 ± 1.9 ^{**}	11.3 ± 3.5 ^{**}	139 ± 20 ^{**}
20	16.8 ± 3.6 ^{**}	12.5 ± 4.7 [*]	160 ± 44 [*]
30	17.4 ± 3.7 ^{**}	13.3 ± 4.9 [*]	175 ± 49 [*]
40	18.1 ± 3.4 ^{**}	14.0 ± 4.7 [*]	189 ± 42
50	18.7 ± 2.9 ^{**}	14.4 ± 4.4 [*]	199 ± 36
60	19.2 ± 2.4 [*]	14.6 ± 3.9	202 ± 36
90	20.8 ± 1.4	15.3 ± 2.9	211 ± 34

$\bar{x} \pm s$, $n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with before administration of Iso.

药效^[5]。本研究试图同时从药效学及药代动力学两方面观察和了解 Iso 溶液剂型的不稳定性。作者发现,当 Iso 溶液放置 1 周后,Iso 的心血管效应明显减弱,溶液中的非 Iso 的 HPLC 峰也增高(内部资料),从图 2A ~ C 可看出,Iso 放置液的心血管药理效应比新鲜配制的 Iso 溶液的弱,相同剂量下前者的 Iso 的原药血药浓度明显低于后者,提示 Iso 放置液效应的减弱是由于溶液中的部分 Iso 变构为其他成分所致。因此,为维持 Iso 制剂的高活性,宜采用的是片剂等非溶液性剂型。

根据受体占领学说,药物的最大效应应该出现在药物浓度最高的时候。但在本实验中,当于 3 min 内缓慢静注完 Iso 后立即记录其效应,在注射完毕

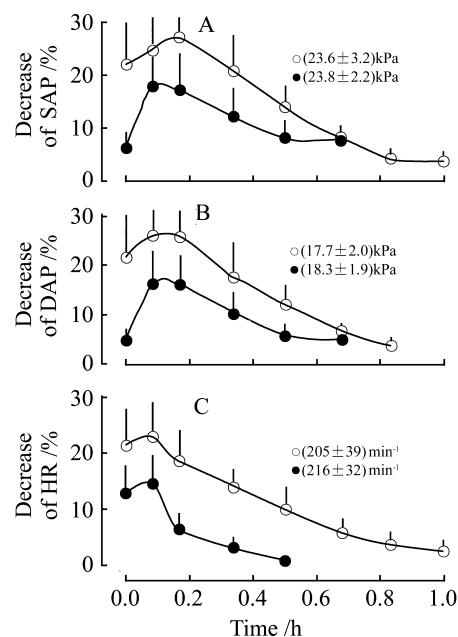


Fig 2. Time-effect curves of isorhynchophylline after iv in anesthetized cats. (○) 5 mg·kg⁻¹ fresh preparation of Iso; (●) 5 mg·kg⁻¹ dated preparation of Iso. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$.

的立即点的效应都不是最高(图 1A ~ F),在所用的剂量下,包括新鲜配制的 Iso 和 Iso 放置液,其最大效应都是滞后几分钟,提示 Iso 进入血液后到达作用点有一个短暂的分布过程。此外,从图 1A ~ F 可以看到,虽然 Iso 10 mg·kg⁻¹ iv 后的心血管效应与血药浓度相关性较高,但给予 5 mg·kg⁻¹ Iso 的血药浓度-降压效应曲线的相关性则较低($r = 0.8414 \sim 0.8830$),该两剂量下,其血药浓度-负性频率效应曲线的相关性也较低($r = 0.8912$)。这一差异的原因可能亦与药物的组织分布有关。

4 参考文献:

- [1] Shi JS, Liu GX, Wu Q, Zhang W, Huang XN. Hypotensive and hemodynamic effects of isorhynchophylline in conscious rat and anesthetized dog[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1989, 3(3):205-211.
- [2] Sun AS, Zhang W, Liu GX. Effects of isorhynchophylline on heart conduction function in anesthetized rabbits [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1995, 9(2):113-115.
- [3] Shi JS, Wu Q, Liu GX. Effects of isorhynchophylline on isolated rabbit aortic strip[J]. *Acta Acad Med Zunyi* (遵义医学院学报), 1990, 13(4):16-19.
- [4] Zhu Y, Liu GX, Huang XN. Negatively chronotropic and

inotropic effects of rhynchophylline and isorhynchophylline on isolated guinea pig atria[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1993, 7(2):117-121.

[5] Xu GJ, ed. *Pharmacognosy*(生药学)[M]. 2nd ed. Beijing, People's Medical Publishing House, 1995. 355-358.

Relationship of cardiovascular effects and plasma concentration of isorhynchophylline in anesthetized cats

YU Jun-Xian, WU Qin, XIE Xiao-Long, HUANG Xie-Nan, SUN An-Sheng, SHI Jing-Shan
(Department of Pharmacology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

Abstract: **AIM** To explore the relationship of the cardiovascular effects and blood plasma concentration of isorhynchophylline (Iso) in anesthetized cats. **METHODS** The powder of Iso was dissolved by $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl, and adapted pH to 6.0-6.5 with $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH and water just before use, or the preparation of Iso was placed for a week under room temperature before use. A catheter was performed in anesthetized cats, and the systolic artery pressure, diastolic artery pressure as well as the heart rate were simultaneously recorded with a physiologic instrument (RM-6000, Japan). The sample of blood plasma (1 mL) was collected in different time interval. The samples were then pretreated with NaOH and ether. A reversed phase HPLC method was developed to determine the concentration of

Iso in cat plasma. **RESULTS** A marked hypotensive effect and negative frequency action of Iso were observed. The efficacy and duration of the fresh preparation of Iso were higher than that of the dated preparation of Iso. **CONCLUSION** The relationships of dose-effect and concentration-effect of Iso were positively correlated. Iso was unstable in the solution, the cardiovascular effects would be decreased if the solution of Iso was placed under room temperature for one week.

Key words: isorhynchophylline; pharmacodynamics; dose-response relationship

Fundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China(980639).

(本文编辑 石 涛)