

地西洋与咪达唑仑对离体大鼠子宫平滑肌收缩功能的影响

李子刚¹, 汤慧芳², 陈季强^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属妇产科医院, 浙江 杭州 310006; 2. 浙江大学医学院国家药品监督管理局
浙江呼吸药物研究实验室, 浙江 杭州 310031)

摘要: **目的** 比较苯二氮革类药物(BDZ)地西洋和咪达唑仑对孕和未孕大鼠子宫平滑肌收缩的影响是否不同。**方法** 分离、制备孕和未孕SD大鼠子宫平滑肌条,采用累积给药法在浴槽内加入地西洋和咪达唑仑 $0.01 \sim 300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, MedLab生物信号采集系统记录给药前后子宫平滑肌收缩幅度和频率。**结果** 地西洋和咪达唑仑对孕和未孕大鼠子宫平滑肌的收缩幅度均呈浓度依赖性抑制,且咪达唑仑的抑制作用明显较地西洋强。对于未孕大鼠,地西洋和咪达唑仑抑制子宫平滑肌收缩的 IC_{50} 分别为 280.6 和 $1.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对于孕大鼠,地西洋与咪达唑仑抑制子宫平滑肌收缩的 IC_{50} 分别为 52.2 和 $28.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。地西洋对子宫平滑肌收缩频率的影响较小,而咪达唑仑在高浓度时能完全抑制子宫平滑肌的收缩。**结论** 咪达唑仑对未孕及孕大鼠子宫平滑肌收缩幅度和频率的抑制作用强于地西洋,尤其是对未孕大鼠子宫平滑肌,为临床选择BDZ药物用于分娩提供了实验依据。

关键词: 地西洋; 咪达唑仑; 子宫收缩; 肌, 平滑; 子宫; 大鼠

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2006)05-0372-05

地西洋(diazepam)与咪达唑仑(midazolam)是最常用的两种苯二氮革类(benzodiazepines, BDZ)药物,这类药物由于毒性小,临床用途多,已逐渐替代

巴比妥类药,成为当前临床应用最广的镇静安定药,在临床麻醉中作为麻醉前用药、辅助用药和复合全麻的组成部分^[1,2]。

地西洋是BDZ中的代表性药物,为长效BDZ类,临床上常用于控制肌痉挛和抽搐,如破伤风、癫痫发作、局麻药中毒等^[1]。咪达唑仑具有水溶性和消除半衰期短的特点,是目前应用最广的BDZ药物,主要应用于麻醉前用药、全麻诱导和维持、局麻和部位麻醉时的辅助用药及重症监护病人镇静等^[2]。

除了镇静作用之外,BDZ对多种平滑肌有直接松弛的作用,包括子宫平滑肌。早期的研究提示地西洋对子宫颈和子宫体平滑肌有松弛作用^[3],对于催产素诱导的未孕大鼠子宫平滑肌收缩及未孕大鼠子宫平滑肌的自发节律性收缩有抑制作用^[4]。其松弛子宫平滑肌的作用机制与抑制钙内流有关,同时不同的雌性激素对此作用有调节作用^[5]。Karsli等^[6]研究发现,咪达唑仑在高浓度($10 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时能降低孕鼠子宫肌条的自发收缩。但地西洋和咪达唑仑对子宫平滑肌收缩特性的比较研究尚未见报道。本实验比较了地西洋和咪达唑仑对孕鼠和未孕鼠子宫平滑肌收缩特性的影响,为临床选择应用BDZ药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

己烯雌酚(diethylstilbestrol)注射液(上海通用药业股份有限公司,批号041101);地西洋(天津金耀氨基酸有限公司,批号050601);咪达唑仑(徐州恩华药业有限责任公司,批号20050603)。分别用De-Jalon平衡溶液〔大鼠子宫平滑肌专用营养液,主要成分($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$): NaCl 153.9, KCl 5.6, NaHCO₃ 5.9, CaCl₂ 0.27, 葡萄糖 2.7^[7]〕稀释成不同浓度。

收稿日期: 2006-04-25 接受日期: 2006-07-21

作者简介: 李子刚(1968-),男,本科,主治医师,从事麻醉学工作及研究。E-mail: ziganglee@hotmail.com, Tel: (0571)87061501-2041;陈季强(1946-),男,博导,从事药理学研究。

* 联系作者 E-mail: chenjq@zju.edu.cn Tel: (0571)87217150

1.2 动物与仪器

SD大鼠, ♀, 未孕鼠体重200~220 g, 孕18~21 d大鼠体重280~320 g, 由浙江大学医学院实验动物中心提供, 合格证号: SYXK(浙)2004-0052。Med-Lab生物信号采集处理系统(V5.5), 南京美易公司; JZ100型肌力换能器, 高碑店市新航机电设备有限公司; 超级恒温循环水浴槽, Fisher Scientific公司。

1.3 未孕大鼠子宫平滑肌收缩的测定方法

按参考文献[8]所述, 未孕大鼠于实验前48 h sc 己烯雌酚 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 人工促使大鼠处于动情前期或动情期, 以提高子宫对药物的敏感性。实验时颈椎脱臼处死, 打开腹腔, 迅速从子宫角和子宫颈部剪取子宫, 立即置于盛有经混合气(95% O_2 , 5% CO_2)饱和的预冷大鼠子宫液中, 清除子宫周围的结缔及脂肪组织, 制成长1.5~2 cm小段, 将标本转入另一盛有混合气饱和的De-Jalon平衡溶液的烧杯中, 于4℃冰箱中静置15 h取出, 使子宫平滑肌的收缩节律规则, 存活时间延长^[8]。将标本的一端固定在标本板小钩上, 置于盛有10 mL De-Jalon平衡溶液的浴槽内, 另一端与肌力换能器相连, 用MedLab生物信号采集系统记录子宫收缩活动。恒温水浴保持浴槽内温31.5~32.5℃, 通入混合气每秒4~6个气泡。标本负荷2 g, 平衡1 h。当子宫肌出现节律性自主收缩后开始实验。在没有药物干预的情况, 子宫收缩活性在整个实验中保持一致, 观察120 min没有明显下降。采用累积给药法, 终浓度0.01~300 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 以给药前15 min子宫平滑肌收缩幅度和频率为基础值, 给予每一浓度药物后记录幅度和频率变化, 给药间隔为15 min。药物抑制子宫平滑肌收缩的百分率 = (基础值 - 效应值) / 基础值 × 100%。

1.4 孕鼠子宫平滑肌收缩的测定方法

按参考文献[9]所述, 孕18~21 d的SD大鼠, 颈椎脱臼处死, 打开腹腔, 迅速从子宫角和子宫颈部剪取子宫, 分离周围血管、脂肪, 游离出两侧子宫, 沿血供侧小心纵向剖开全层子宫平滑肌, 去除胎鼠及胎盘, 用预冷的De-Jalon平衡溶液洗去表面血迹后, 立即置于盛有经混合气(95% O_2 , 5% CO_2)饱和的预冷大鼠子宫液中, 制成约4 mm × 10 mm的全层子宫肌条, 将标本转入另一盛有混合气饱和的De-Jalon平衡溶液烧杯中, 于4℃冰箱中静置15 h取出。标本负荷1 g, 平衡30 min, 子宫肌条出现节律性自

主收缩后, 开始实验。同上固定标本并记录子宫收缩活动。在没有药物干预的情况, 子宫收缩活性在整个实验中保持一致, 观察180 min没有明显下降。

1.5 统计处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组内比较采用配对 *t* 检验, 组间比较采用 Student *t* 检验。药物抑制子宫平滑肌50%最大收缩的浓度(IC_{50})采用数据处理程序 Version 1.00(蓝宙药学专业软件)计算。

2 结果

2.1 地西洋和咪达唑仑对未孕大鼠子宫平滑肌收缩幅度与频率的影响

地西洋和咪达唑仑对未孕大鼠子宫平滑肌的收缩幅度呈浓度依赖性的抑制, 且咪达唑仑的抑制作用明显较地西洋强, 两者对子宫平滑肌收缩幅度的抑制程度在0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时即有显著性差异(图1, 2)。咪达唑仑0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时已明显抑制子宫平滑肌收缩, 收缩幅度与基础水平有显著差异。地西洋0.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时子宫平滑肌收缩幅度有增大的趋势, 但与基础水平比较无显著性差异($P > 0.05$)。在浴槽浓度达100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 咪达唑仑能完全抑制子宫平滑肌的收缩, 而地西洋约抑制子宫平滑肌收缩幅度的52%。地西洋与咪达唑仑抑制子宫平滑肌 IC_{50} 分别为280.6和1.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。地西洋对子宫平滑肌收缩频率的影响较小, 而咪达唑仑在100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时能完全抑制子宫平滑肌的收缩活动。

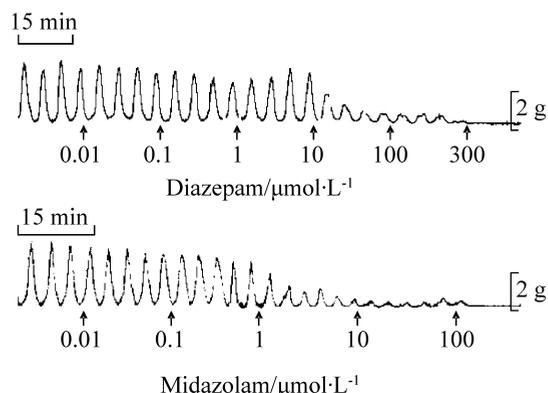


Fig 1. Effects of cumulative concentrations of diazepam and midazolam on contraction in non-pregnant myomerium strips.

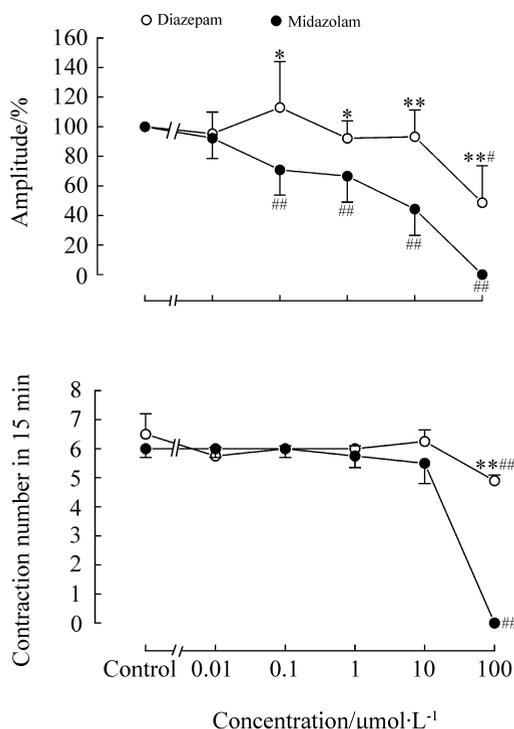


Fig 2. Effects of midazolam and diazepam on the amplitude and frequency of contraction of myometrial strips isolated from nonpregnant rats. $\bar{x} \pm s$, $n = 8$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with midazolam; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with control.

2.2 地西洋和咪达唑仑对孕大鼠子宫平滑肌收缩幅度与频率的影响

图 3,4 结果可见,地西洋和咪达唑仑对孕大鼠子宫平滑肌的收缩幅度和频率也呈现出浓度依赖性的抑制,且咪达唑仑的抑制作用也明显较地西洋强。两者对子宫平滑肌收缩幅度的抑制程度在 $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

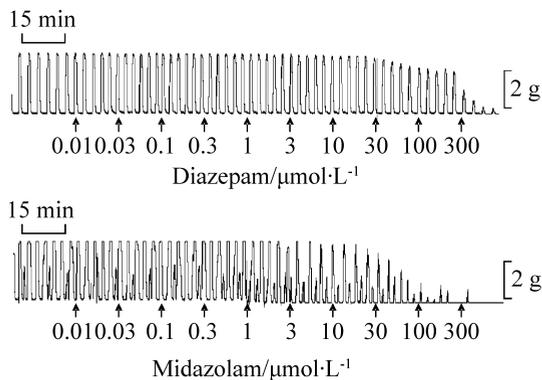


Fig 3. Effects of cumulative concentrations of diazepam and midazolam on contraction in pregnant myometrium strips.

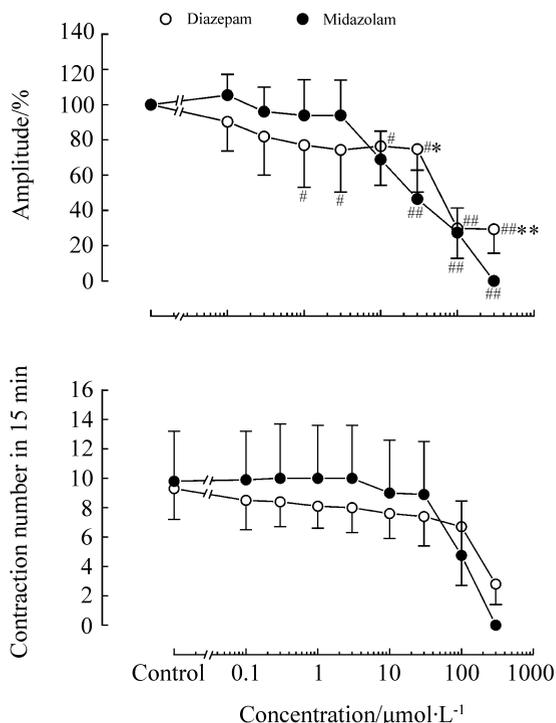


Fig 4. Effects of midazolam and diazepam on the amplitude and frequency of contraction of myometrial strips isolated from pregnant rats. $\bar{x} \pm s$, $n = 8$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with midazolam; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with control.

L^{-1} 时有显著性差异,在浴槽浓度达 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,咪达唑仑能完全抑制子宫平滑肌的收缩活动,而地西洋约抑制子宫平滑肌收缩幅度的 71%,提示子宫平滑肌对咪达唑仑作用较地西洋敏感。地西洋与咪达唑仑的 IC_{50} 分别为 52.2 和 $28.2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。地西洋对子宫平滑肌收缩的频率影响较小,在高达 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,才有较明显抑制作用,而咪达唑仑在 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,能完全抑制子宫平滑肌的收缩活动。

3 讨论

咪达唑仑为新型 BDZ 类药,具有起效快,耐受性好,顺行性遗忘作用可靠,半衰期短 ($1.5 \sim 2.5 \text{ h}$),溶于水,稳定性好等特点。而地西洋的半衰期则长达 30 h ,镇静、抗焦虑作用均只有咪达唑仑的 $1/3 \sim 1/2$ ^[1]。因此,目前已将咪达唑仑广泛应用于重症监护病人的镇静,以及麻醉诱导和术中镇静^[2]。作为术前药,咪达唑仑与常用的地西洋、巴

比妥类或哌替啶等比较,前者有抑制心理应激作用较明显^[12]、血流动力学影响轻微^[13]、顺行性遗忘作用较强等优点,新近的研究还表明咪达唑仑能提高痛阈^[14]。同时应用咪达唑仑后,宫颈易于扩张,并减少患者的不自主肢体扭动^[15]。目前临床常用咪达唑仑辅助静脉麻醉或硬膜外麻醉应用于子宫全切术及人工流产等^[15,16]。对于剖腹产手术,也有研究认为对胎儿呼吸无明显影响^[17]。临床也有报道地西洋能解除宫颈痉挛,加快子宫口扩张速度,适当的应用有利于分娩^[18]。

比较咪达唑仑和地西洋对子宫平滑肌的作用,本研究发现咪达唑仑和地西洋对未孕大鼠和孕大鼠子宫平滑肌的收缩均呈浓度依赖性抑制。但BDZ子宫平滑肌松弛作用的机制目前尚不清楚。对产后大鼠子宫平滑肌在体和离体的研究表明地西洋和硝基安定的平滑肌松弛作用是通过调节 α_1 肾上腺素受体介导的^[10]。而Fioretti等^[11]早期的研究提示,在人的子宫平滑肌上存在外周型BDZ受体,BDZ药物与其的亲和力依次为RO5-4864 > 地西洋 > 氟硝西泮 > 劳拉西泮 > 氯氮卓。活化外周型BDZ受体,可能介导BDZ的子宫平滑肌松弛作用,且可避免BDZ的中枢作用。程绍瑜等^[3]的研究认为地西洋对子宫体肌收缩的抑制可能是通过钙拮抗作用所致。

本研究还发现,大鼠子宫平滑肌对咪达唑仑松弛作用的敏感性高于地西洋,未孕大鼠子宫平滑肌对BDZ的敏感性高于孕大鼠。咪达唑仑 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,即能完全抑制未孕大鼠子宫平滑肌的收缩,而在 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时才能完全抑制孕大鼠子宫平滑肌的收缩,与Karsli等^[6]的研究结果一致。地西洋在 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时能完全抑制未孕大鼠子宫平滑肌的收缩,而不能完全抑制孕大鼠子宫平滑肌的收缩。这与早期对地西洋的研究结果相似,雌性激素的水平可能影响子宫平滑肌对地西洋的反应^[5]。在妊娠过程中,雌性激素可能改变子宫平滑肌生理生化特性,使其对BDZ松弛作用的敏感性下降,可能是机体自身保护机制之一。

综上所述,咪达唑仑对孕及未孕大鼠子宫平滑肌的松弛作用均较地西洋强。在临床妇产科应用中,咪达唑仑和地西洋的最高血药浓度约 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[19,20],尚不足以引起子宫平滑肌的松弛。但考虑到其可能对子宫平滑肌有松弛作用,在妇产科手术中应用地西洋对病人子宫收缩的影响可能较咪达

唑仑小,但具体情况还需临床试验来明确。

4 参考文献:

- [1] Venkatakrisnan K, von Moltke LL, Greenblatt DJ. Effects of the antifungal agents on oxidative drug metabolism; clinical relevance [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2000, **38**(2):111-180.
- [2] Young C, Knudsen N, Hilton A, Reves JG. Sedation in the intensive care unit [J]. *Crit Care Med*, 2000, **28**(3):854-866.
- [3] Cheng SY, Qian JQ. The inhibitory effect of diazepam and nifedipine on rat isolated uterus [J]. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1991, **20**(4):233-235.
- [4] Khan AA. Preliminary *in vitro* study of diazepam and droperidol on oestrus rat uterus [J]. *Br J Anaesth*, 1980, **52**(3):349-354.
- [5] Yiu MK, Kwan YW, Ngan MP. Hormonal modulation of benzodiazepines' actions on rat isolated uterus [J]. *Eur J Pharmacol*, 1996, **302**(1-3):99-108.
- [6] Karsli B, Kaya T, Cetin A. Effects of intravenous anesthetic agents on pregnant myometrium [J]. *Pol J Pharmacol*, 1999, **51**(6):505-510.
- [7] Dogru K, Yildiz K, Dalgic H, Sezer Z, Yaba G, Madenoglu H. Inhibitory effects of desflurane and sevoflurane on contractions of isolated gravid rat myometrium under oxytocin stimulation [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2003, **47**(4):472-474.
- [8] Yan S, Qiao GF, Liu ZF, Liu K, Wang JL. Effect of the oil of *Angelica sinensis* on the contractile function of isolated uterine smooth muscle of mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, **31**(8):604-606.
- [9] Karsli B, Kayacan N, Kucukyavuz Z, Mimaroglu C. Effects of local anesthetics on pregnant uterine muscles [J]. *Pol J Pharmacol*, 2003, **55**(1):51-56.
- [10] Zupko I, Janossy K, Maul K, Marki A, Falkay G. Alpha-adrenergic blockade: a possible mechanism of tocolytic action of certain benzodiazepines in a postpartum rat model *in vivo* [J]. *Life Sci*, 2003, **72**(10):1093-1102.
- [11] Fioretti P, Melis GB, Gambacciani M, Galbani P, Ronca-Testoni S. Evidence of specific benzodiazepine binding to myometrial membrane preparations from human pregnant uterus [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1986, **65**(4):341-343.
- [12] Mizutani A, Taniguchi K, Miyakawa H, Yoshitake S, Kitano T, Honda N. Stress hormone response during

- midazolam/fentanyl anesthesia combined with epidural anesthesia for abdominal total hysterectomy [J]. *Masui*, 1996, **45**(3):276-280.
- [13] Ye XP, Liang QB, Zhao WX, Xiao GY. The effect of midazolam and propofol anaesthesia induction on hemodynamics of heart valve disease patient [J]. *Chin J Anesthesiol* (中华麻醉学杂志), 1999, **12**:746-747.
- [14] Nishiyama T. The post-operative analgesic action of midazolam following epidural administration [J]. *Eur J Anaesthesiol*, 1995, **12**(4):369-374.
- [15] Wang YQ, Zhang Y, Ma QJ. The effect of propofol combination with midazolam on induced abortion [J]. *Chin J Fam Plann* (中国计划生育学杂志), 2006, **14**(4):239-240.
- [16] LI JX, Liu WX, Zhao XY. The effect of midazolam and fentanyl assisted epidural anesthesia on 40 patients selected complete hysterectomy [J]. *Shandong Med J* (山东医药), 2006, **46**(3):63-64.
- [17] Zhang LJ, Wang AD, Liu XW, Du Q, Li JD, Zheng B, *et al.* The effect of small dose of ketamine intravenous anesthesia using in cesarean on the blood-gas analysis of newborn umbilical control blood [J]. *Sichuan Med J* (四川医学), 2006, **27**(3):296-298.
- [18] Wang YF. Application of diazepam combined with 654-2 on labor period [J]. *Hainan Med* (海南医学), 2004, **15**(2):52.
- [19] Wan J, Xia H, Zhou HH. Quantitative analysis of diazepam's central nervous system effects [J]. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 1996, **12**(1):29-34.
- [20] Zhao Y, Wu XM, Jiang JY, Geng QM, Li M. Determination of the blood plasma midazolam concentration in intraspinal anesthesia and the changes of blood midazolam concentration in target controlled infusion for sedation [J]. *Chin J Anesthesiol* (中华麻醉学杂志), 2003, **23**(12):927-929.

Effects of diazepam and midazolam on contraction of rat uterine smooth muscles

LI Zi-Gang¹, TANG Hui-Fang², CHEN Ji-Qiang^{2*}

(1. Women's Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310006, China;

2. Zhejiang Respiratory Drugs Research Laboratory of State Drugs Administration of China, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract: **AIM** To compare effects of diazepam and midazolam on the isolated pregnant and nonpregnant rat uterine smooth muscles.

METHODS Uterine strips from the pregnant and nonpregnant rats isolated and prepared. After contractions became regular, strips were exposed to cumulative concentrations (0.01 - 300 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) of diazepam and midazolam. Contractile amplitude and frequency of the isolated uterine smooth muscles were recorded by MedLab Biological Signal Collection System.

RESULTS Both drugs inhibited contractile amplitude in a concentration-dependent manner on myometrium from non-pregnant and pregnant rats. On myometrium of non-pregnant rats, the IC_{50} of diazepam and midazolam was 280.6 and 1.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. On myometrium

of pregnant rats, the IC_{50} of diazepam and midazolam was 52.2 and 28.2 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. Diazepam had slight inhibitory effect on the contractile frequency, while midazolam completely depressed the contractile activity at the highest concentration. **CONCLUSION** The inhibitory effect of midazolam is stronger than that of diazepam, especially on the myometrium from nonpregnant rats, providing experimental basis for clinical use of midazolam on parturition.

Key words: diazepam; midazolam; uterine contraction; muscle, smooth; uterus; rats

* Corresponding author.