

四氢异喹啉类生物碱对大鼠脑内 α 肾上腺素受体的作用*

韩邦媛** 刘国卿

(中国药科大学药理教研室, 南京)

提要 应用放射受体结合法研究了近 30 种四氢异喹啉类 (TIQs) 生物碱对大鼠脑内 α 肾上腺素受体的作用。其中 *l*-CBN, *l*-THC 和 *l*-STP 对 α_1 受体亲和力最高, K_i 值为 $\sim 2.0 \times 10^{-7}$ mol/L。其次是 DHS, XLP 和 *l*-DCT, K_i 值分别为 4.7×10^{-7} , 6.5×10^{-7} 和 7.6×10^{-7} mol/L。DHS 对 α_2 受体亲和力最高 ($K_i = 1.25 \times 10^{-8}$ mol/L), *l*-REM 次之。对 α 受体亚型亲和力选择比 $K_i(\alpha_2)/K_i(\alpha_1)$ 最高的是 *l*-STP (357) 和 XLP (154), 它们对 α_2 受体几无亲和力 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L)。提示 *l*-STP 和 XLP 对 α_1 受体有较高的选择性。*l*-SPD 和 *l*-THP 对 α_1 和 α_2 受体亲和力相近, 均为中等强度。THJ, DRC 及 *l*-TTD 等 6 种 TIQs 对 α_1 和 α_2 受体均无亲和力 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L)。

关键词 四氢异喹啉类生物碱; 左旋千金藤碱; 左旋克班宁; 左旋四氢黄连碱; α 肾上腺素受体

四氢异喹啉类 (tetrahydroisoquinolines, TIQs) 生物碱对神经递质传递的不同环节有一定影响^(1~3)。本实验室曾报道某些 TIQs 如四氢巴马汀、四氢小檗碱和千金藤碱等不仅能明显降低脑内及心脏中单胺递质含量, 增加其酸性代谢物含量^(4,5); 而且对多巴胺和 5-羟色胺受体也有作用⁽⁶⁾。最近研究表明, 千金藤碱等 TIQs 对去甲肾上腺素引起的离体豚鼠输精管收缩有不同程度的对抗作用, 提示这些 TIQs 可能对 α 受体也有影响⁽⁷⁾。为进一步阐明这些生物碱对单胺能神经系统的作用, 我们应用放射受体结合法, 考察了它们对 α 肾上腺素受体的影响。

材料与方法

药品 四氢巴马汀 (*l*-THP), 千金藤碱 (*l*-SPD), 四氢黄连碱 (*l*-THC), 莲碱 (*l*-roemerine, *l*-REM), 山乌龟碱 (*l*-DCT), 去氢山乌龟碱 (DHD), 克班宁 (*l*-crebanine, *l*-CBN), 去氢克班宁 (DCB), 千金藤碱 (*l*-stephanine, *l*-STP), 去氢千金藤碱 (DHS), 四氢药根碱 (THJ), 小檗碱 (BBA) 和粉防己碱 (*l*-TTD) 等由本校植化室提供。蝙蝠葛碱 (DRC) 及其衍生物 D 6 等由本校药化室提供。海罂粟碱 (GLC) 和千金藤素 (CPT) 分别为卫生部药品生物制品检定所和贵州省药检所赠送 (见表 1)。 $[^3\text{H}]$ WB 4101 77.7×10^{10} Bq/mmol (21 Ci/mmol) 和 $[^3\text{H}]$ clonidine 89.17×10^{10} Bq/mmol (24.1 Ci/mmol) 均为 Amersham 产品。酚妥拉明 (Ciba 产品), 可乐宁 (北京制药厂)。

大鼠大脑皮层膜匀浆制备⁽⁸⁾ 大鼠体重 150~200 g (♀♂ 兼用), 迅速断头取下大脑皮层, 称重, 按 1 g 湿组织加 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.7) 20 ml, 用玻璃匀浆器制成匀浆, 在 27,000 × g 离心 15 min (0~4°C)。去上清液, 沉淀加等体积缓冲液混匀, 再同

本文于 1987 年 10 月 4 日收到。

* 中国科学院科学基金资助课题

** 1988 届研究生

上离心一次。去上清液，沉淀按湿组织 1 g 加缓冲液 49 ml，制成湿组织 20 mg/ml 的膜悬浮液待用。

结合测定⁽⁹⁾ 反应管中加^[3H]WB 4101 (终浓度 0.2 nmol/L) 或^[3H]clonidine (终浓度 1.3 nmol/L) 不同浓度的TIQS 200 μ l, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.7) 缓冲液 780 μ l。非特异结合管加 20 μ l 酚妥拉明或可乐宁 (终浓度为 10^{-5} mol/L), 缓冲液 960 μ l。大脑皮层膜悬浮液 1 ml, 总反应体积为 2 ml。混匀后, 在 25°C 下振荡温孵 15 min (α_1 受体) 或 30 min (α_2 受体), 立即用 4 ml 冰冷缓冲液终止反应, 经Whatman GF/B 玻璃纤维滤膜迅速真空抽滤, 再用 4 ml 冰冷缓冲液洗 3 次, 滤膜烘干, 置闪烁液中测定。测得数据经Scatchard 或 Hill 分析, 分别求出放射配体与受体结合的平衡解离常数 (K_D), 受体密度 (B_{max}) 及待测药物取代放射配体特异性结合 50% 的浓度 (IC_{50})。按 $K_i = IC_{50} / (1 + \text{放射配体浓度} / K_D)$, 求出其表现解离常数 (K_i)。

结 果

一. α 受体饱和结合特性

分析饱和试验数据, 求出各放射配体与相应受体结合的动力学参数 (见表 2)。^[3H]WB 4101 对 α_1 受体和 ^[3H]clonidine 对 α_2 受体的 K_D 值分别为 0.40 和 2.62 nmol/L, 与文献相符⁽¹⁰⁾。

Tab 2. Scatchard and Hill analyses of specific ^[3H] ligand to rat cerebral cortex

Tissue	Radioligand	Receptor	Conc. range (nmol/L)	K_D (nmol/L)	B_{max} (pmol/gT)	n_H
Cerebral cortex	^[3H] WB4101	α_1	0.05~2.0	0.40 \pm 0.02	9.18 \pm 1.71	1.05 \pm 0.04
	^[3H] Clonidine	α_2	0.10~10.0	2.62 \pm 0.20	5.16 \pm 0.70	1.02 \pm 0.005

The results are the means \pm SD of 3~4 independent experiments performed in duplicate.

二. TIQs 对大鼠脑内的 α_1 受体的影响

表 3 是 TIQs 竞争放射配体与受体结合的试验结果。从表中可看出 *l*-CBN, *l*-THC 和 *l*-STP 对 α_1 受体亲和力最高, K_i 值 2.0×10^{-7} mol/L (亲和力用 K_i 表示, 下同)。*l*-THC 属原小檗碱型, 其同类物 *l*-SPD 和 *l*-THP 对 α_1 受体均有亲和力, 但 *l*-SPD (2.72×10^{-6} mol/L) 的亲和力比 *l*-THP (4.70×10^{-6} mol/L) 高一倍左右。THJ 和 *l*-CYC 对 α_1 受体几无亲和力 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L)。

阿朴菲型生物碱 *l*-CBN 及其去氢体 DCB 对 α_1 受体亲和力相差很大, 前者对 α_1 受体亲和力最强 ($K_i = 1.9 \times 10^{-7}$ mol/L), 而后者对 α_1 受体几无亲和力 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L)。同样, *l*-DCT 及其去氢体 DHD 也是如此, *l*-DCT 对 α_1 受体亲和力为 7.6×10^{-7} mol/L (与 *l*-CBN 在同一数量级), 而 DHD 对 α_1 受体亲和力甚微 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L, 与 DCB 相同)。DHS 对 α_1 受体亲和力也比其去氢前 *l*-STP ($K_i = 2.8 \times 10^{-7}$ mol/L) 有所下降, K_i 值为 4.7×10^{-7} mol/L。XLP ($K_i = 6.5 \times 10^{-7}$ mol/L) 对 α_1 受体亲和力较强。

双苄基异喹啉型生物碱中, 蝙蝠葛碱 (DRC) 衍生物 D 6 对 α_1 受体作用最强, K_i 为 4.5×10^{-7} mol/L。BBA, *l*-TTD 和 DRC 作用最弱 ($K_i > 10^{-4}$ mol/L), CPT 介于它们之间, 表现出中等强度亲和力 ($K_i = 1.72 \times 10^{-6}$ mol/L)。

Tab 3. Effect of some tetrahydroisoquinolines on [^3H] WB 4101 or [^3H]clonidine binding to α_1 - or α_2 -adrenoceptors in rat cerebral cortex

Compound	K_i ($\mu\text{mol/L}$)		Selectivity ratio $K_i(\alpha_2)/K_i(\alpha_1)$
	α_1	α_2	
<i>l</i> -CBN	0.19	4.88	25
<i>l</i> -THC	0.20	5.61	28
<i>l</i> -STP	0.28	>100	357
D 6	0.45	11.20	24
DHS	0.47	1.25	2
XLP	0.65	>100	154
<i>l</i> -DCT	0.76	13.71	18
<i>l</i> -REM	1.32	2.62	2
D 2	1.61	6.28	4
<i>d</i> -CDL	1.63	8.58	5
CPT	1.72	4.16	2
<i>d</i> -ICD	2.69	14.50	5
<i>l</i> -SPD	2.72	2.72	1
7-benzyl-THP	3.51	3.20	1
DHC	4.58	>100	21
<i>l</i> -THP	4.70	4.97	1
<i>l</i> -CAP	8.58	>100	11
GLC	>100	15.35	0.15
BBA	>10	6.16	0.62
THJ, <i>l</i> -CYC, DCB, DHD, <i>l</i> -TTD, DRC	>100	>100	
Phentolamine	0.0021		
Tolazoline	3.21		
Clonidine		0.0034	
Yohimbine		0.066	

IC_{50} values were determined from Hill analysis and apparent K_i values were calculated from the Cheng-Prusov equation $K_i = IC_{50}/(1 - [^3\text{H}] \text{ ligand}/K_D)$. Values given are the means of 3~4 experiments, each performed in duplicate.

三. TIQs 对 α_2 受体的影响

如表 3 所示, 阿朴菲型生物碱 DHS 对 α_2 受体亲和力最高, K_i 为 $1.25 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 。*l*-STP 和 XLP 与之相差很大 ($K_i > 10^{-4} \text{mol/L}$)。*l*-REM ($2.62 \times 10^{-6} \text{mol/L}$) 对 α_2 受体亲和力稍弱于 DHS。*l*-CBN 对 α_2 受体亲和力 ($4.88 \times 10^{-6} \text{mol/L}$) 没有对 α_1 受体 ($1.9 \times 10^{-7} \text{mol/L}$) 强。

原小檗碱型生物碱 *l*-SPD 对 α_2 受体与 α_1 受体亲和力相当, K_i 均为 $2.72 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 。*l*-THP 对 α_2 受体亲和力不如 *l*-SPD, K_i 为 $4.97 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 。*l*-THC 对 α_1 受体 ($2.0 \times 10^{-7} \text{mol/L}$) 和 α_2 受体 ($5.61 \times 10^{-6} \text{mol/L}$) 亲和力相差 28 倍。

双苄基异喹啉型生物碱, 除 *l*-TTD 和 DRC, 其它生物碱对 α_2 受体均有亲和力。CPT 稍强, K_i 为 $4.16 \times 10^{-6} \text{mol/L}$, BBA 次之 ($6.16 \times 10^{-6} \text{mol/L}$)。*l*-TTD 和 DRC 对 α_1 和 α_2 受体均无明显作用。

讨 论

l-CBN 和 *l*-THC 对 α_1 和 α_2 受体均有作用。其对 α_1 受体的亲和力比内源性配体去甲肾上腺素(4.0×10^{-6} mol/L)高 20 倍, 比经典 α 受体阻断剂妥拉苏林高一个数量级。两者对 α_1 和 α_2 受体亲和力的选择比值($K_i(\alpha_2)/K_i(\alpha_1)$, 下简称受体选择比值)分别为 25 和 28。表明 *l*-CBN 和 *l*-THC 对 α_1 受体有较高的亲和力和一定的选择性。*l*-STP 和 XLP 对 α_1 受体作用也很强, 但对 α_2 受体几无亲和力。其受体选择比值更高, 分别为 357 和 154。远高于临床上应用的对 α_1 受体有较高选择性的酚苄明(15)⁽⁹⁾。*l*-STP 的选择比值甚至接近特异性 α_1 受体阻断剂 WB 4101(333)⁽⁹⁾。可见这两种 TIQs 可能对 α_1 受体有更高的选择性。最近在离体大鼠肛尾肌和输精管实验进一步证实, *l*-CBN 和 *l*-THC 对 α_1 和 α_2 受体均有阻断作用, 并表现出一定的选择性。*l*-STP 和 XLP 阻断 α_1 受体作用最强($pA_2 > 6$), 但对可乐宁抑制电刺激输精管收缩无明显影响⁽¹¹⁾。表明对 α_2 受体作用甚微, 这与受体结合实验结果完全一致。认为 *l*-STP 和 XLP 是作用较强, 选择性较高的 α_1 受体阻断剂。

阿朴非型生物碱的 7 位手性碳原子对 α 受体亲和力影响很大。生物碱随其 7, 8 位去氢成双键, 分子内消旋失去光学活性, 表现出对 α_1 受体亲和力下降乃至消失。*l*-DCT, *l*-CBN 和 *l*-STP 对 α_1 受体亲和力较高, 而其相应的 7, 8 位去氢体 DCD, DCB 对 α_1 受体几无亲和力, DHS 对 α_1 受体亲和力也比去氢前的 *l*-STP 有所降低。值得注意的是, 对 *l*-STP 和 DHS 来讲, 这种结构变化似乎对 α_2 受体亲和力影响更大, 也与 α_1 受体有所不同, 即无手性碳原子的 DHS 对 α_2 受体亲和力最高($K_i = 1.25 \times 10^{-6}$ mol/L), 而有手性碳原子的 *l*-STP 对 α_2 受体几乎不表现亲和力($K_i 10^{-4}$ mol/L)。一些对 α_1 受体有较高亲和力的生物碱($K_i 10^{-7}$ mol/L) 在结构上有共性, 即在 A 环上都具有 O-CH₂-O 基团, 如 *l*-CBN, *l*-THC 和 *l*-STP 等。其它生物碱如 *l*-THP 和 *d*-ICD 等, 即使在相应的 A 环位置上具有 OCH₃ 基团, 但如未经环化, 其对 α_1 受体亲和力只在 10^{-6} mol/L 水平。证明 A 环上的 O-CH₂-O 取代基团对 α_1 受体亲和力有利。

鉴于上述 TIQs 多数对 α 受体有亲和力和一定选择性, 并存在一些明确的构效关系, 故进一步研究对于其作用机制、寻找新药及指导化学合成都是很有意义的。

致谢 1987 届毕业生何忠平参加部分技术工作。

参 考 文 献

1. Hollinger JL, et al. Epileptogenic and behavioral effects of some formaldehyde-derived alkaloids of monoamine. In: Morselli PL, et al. eds. *Neurotransm, Seizures, Epilepsy*. New York: Raven Press, 1981: 275~91.
2. Nimit Y, et al. Interaction of catecholamine-derived alkaloids with central neurotransmitter receptors. *J Neurosci Res* 1983; 10:175.
3. 马志清、刘国卿. 四氢巴马汀等异喹啉生物碱对突触体及囊泡摄取 [³H]多巴胺的影响. *药理学报* 1987; 22: 335.
4. 刘国卿, 等. 某些异喹啉类生物碱对大鼠脑内单胺的影响. 同上 1985; 20:566.
5. 刘国卿, 等. 千金藤碱对大鼠脑内单胺的影响. 同上 1986; 21:336.
6. 陈曙光、刘国卿. 某些四氢异喹啉类生物碱对大鼠脑内多巴胺和 5-羟色胺受体的作用. 同上 1987; 22:341.
7. 刘国卿、马志清. 四氢巴马汀等单胺排空作用的比较. 同上 23:721.
8. 冯亦璞, 等. 去甲乌药碱对 α 肾上腺素受体的影响. *中国药理学报* 1986; 7:208.
9. U'Prichard DC, et al. Binding characteristics of a radiolabeled agonist and antagonist at central nervous system alpha noradrenergic receptors. *Mol Pharmacol* 1977; 13:454.
10. U'Prichard DC, et al. Multiple apparent alpha-noradrenergic receptor binding sites in rat brain: effect of 6-hydroxydopamine. *Mol Pharmacol* 1979; 16:47.
11. 刘国卿、韩邦媛. 几种四氢异喹啉类生物碱对 α 肾上腺素受体的阻断作用比较. *药理学报* 待发表

EFFECT OF TETRAHYDROISOQUINOLINE ALKALOIDS ON ALPHA ADRENOCEPTORS IN RAT BRAIN*

BY Han** and GQ Liu

(Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing)

ABSTRACT About 30 tetrahydroisoquinolines have been investigated for their *in vitro* affinities to rat brain alpha adrenoceptors. *l*-Crebanine(*l*-CBN) and *l*-tetrahydrocoptisine (*l*-THC) were found to be the most potent inhibitors of [³H] WB 4101 binding to alpha-1 adrenoceptors ($K_i=1.9 \times 10^{-7}$ and 2.0×10^{-7} mol/L, respectively). *l*-Stephanine(*l*-STP), dehydrostephanine(DHS) and xylopine(XLP) were also shown to be effective on alpha-1 adrenoceptors ($K_i=2.8 \times 10^{-7}$, 4.7×10^{-7} and 6.5×10^{-7} mol/L, respectively). DHS appeared to be the most active in displacing [³H] clonidine binding to alpha-2 adrenoceptors ($K_i=1.25 \times 10^{-6}$ mol/L). *l*-tetrahydropalmatine(*l*-THP) and *l*-stepholidine (*l*-SPD) exhibited similar affinities to alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors. Berbamine(BBA)interacted moderately with alpha-2 adrenoceptors ($K_i=6.16 \times 10^{-6}$ mol/L). *l*-STP and XLP have relatively high affinities to alpha-1 adrenoceptors (as above), but they did not show any affinity to alpha-2 adrenoceptors. Their alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors binding selectivity ratios $K_i(\text{alpha-2})/K_i(\text{alpha-1})$ were 357 and 154 respectively. It is suggested that *l*-STP and XLP are more selective to alpha-1 adrenoceptors.

Key words Tetrahydroisoquinoline alkaloids; *l*-Stephanine; *l*-Crebanine; *l*-Tetrahydrocoptisine; Alpha adrenoceptors

* Supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences

** 1988 graduate student