

## 去甲乌药碱对 $\alpha$ 肾上腺素受体的影响

冯亦璞、高红、曾贵云 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

**提要** 用 $[^3\text{H}]$ WB 4101和 $[^3\text{H}]$ clonidine 配体结合法证明去甲乌药碱(DMC)和异丙肾上腺素(ISO)对脑皮层 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 肾上腺素受体均有一定程度的亲和力,但DMC比ISO强,DMC能抑制NA引起的大鼠肛尾肌收缩和电刺引起大鼠的输精管收缩。提示对 $\alpha_1$ 受体有阻断而使 $\alpha_2$ 受体激动,但以 $\alpha_1$ 阻断为主。ISO对 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体均有激动作用,而以 $\alpha_2$ 为主。

**关键词** 去甲乌药碱; 异丙肾上腺素; 肾上腺素能 $\alpha$ 受体促效剂; 肾上腺素能 $\alpha$ 受体阻滞剂; 放射配位体测定; 输精管; 肛尾肌

我们曾用小鼠血浆cAMP<sup>(1)</sup>, 火鸡红细胞膜 $\beta$ 受体和腺苷环化酶(AC)<sup>(2)</sup>为指标,证明去甲乌药碱(*dl*-demethylcoclaurine, higenamine, DMC)(Fig 1)是 $\beta$ 受体部分激动剂。DMC和ISO对麻醉狗血流动力学和大鼠培养心肌细胞有相似的作用<sup>(3,4)</sup>。临床上用DMC治疗缓慢性心律失常<sup>(5)</sup>和中毒性休克病人也有一定疗效,为研究它与ISO的异同,我们用放射配体结合法和离体器官测定法比较了DMC和ISO对 $\alpha$ 受体的作用。

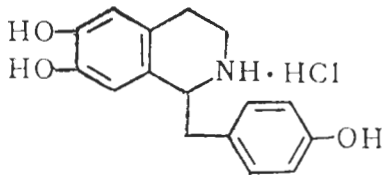


Fig 1. Chemical structure of (*dl*-demethylcoclaurine, higenamine, DMC).

### 材料和方法

**药品** DMC(本所合成室), ISO(上海第十制药厂), clonidine(北京制药厂), prazosin(北京制药工业研究所), noradrenaline(天津和平制药厂), yohimbine 和 phenylephrine(Sigma),

$[^3\text{H}]$ WB 4101 和  $[^3\text{H}]$ clonidine (比活度分别为 999 和 888 GBq/mmol, Amersham)。

**大鼠脑皮层细胞膜的制备** 按文献<sup>(6)</sup>略加修改。将 180-200 g 大鼠(♀♂兼有)断头,取脑皮层,按 1 g 湿组织加 50 mM Tris-HCl 缓冲液(pH 7.7) 20 ml,用 polytron (4, 10 s)制成匀浆,单层纱布过滤,去致密物及脂肪。在 50 000 × g 离心 10 min。去上清液,沉淀加等体积缓冲液,用 polytron 再次研匀,重覆离心 50 000 × g, 10 min。去上清液,沉淀按 1 g 湿组织加缓冲液 49 ml, polytron 研匀,使膜悬浮(湿组织 20 mg/ml),待测定 $\alpha$ 受体用。

**结合测定** 在一组反应管中加入  $[^3\text{H}]$ WB 4101(终浓度 0.2 nM)或  $[^3\text{H}]$ clonidine(终浓度 1.5-2 nM)20  $\mu$ l,不同浓度 DMC 或 ISO 200  $\mu$ l, 50 mM Tris-HCl 缓冲液 780  $\mu$ l,皮层膜悬液 1 ml,在 25°C 温孵 15 min(测定  $[^3\text{H}]$ WB 4101 结合)或 30 min(测  $[^3\text{H}]$ clonidine 结合),总容量 2 ml。用 5 ml 冷缓冲液终止反应,立即倒入玻璃纤维滤纸上(上海虹光纸厂 49°),真空抽滤,再用 5 ml 冷缓冲液洗 3 次。滤片烘干(80°C, 10 min),置闪烁液中,在 Beckman LS 9800 液闪仪测放射强度,计算出放射配体特异结合量,画出未标记化合物取代  $[^3\text{H}]$ WB 4101 或  $[^3\text{H}]$ clonidine 与  $\alpha_1$  或  $\alpha_2$  受体结合的竞争曲线。求 DMC 或 ISO 取代放射配体特异性结合 50% 的浓度,以  $IC_{50}$  表示。按  $K_i = IC_{50}/(1 + L/K_D)$ , 计算 DMC 和 ISO 表观离解常数。

**大鼠肛尾肌和输精管标本的制备** ♂大鼠(284 ± 12 g)断头后,剖腹取两侧输精管,挤出精液,游离端连力位移换能器。制备两端靠近两个铂电极环,但不接触。制备放在 10 ml Krebs 液中(含 corticosterone 0.04 mM,

propranolol  $4 \mu\text{M}$ ), 通  $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$ . 用低频电场 ( $0.3 \text{ Hz}$ ,  $3 \text{ ms}$ ,  $30 \text{ V}$ ) 刺激输精管引起收缩。  $\alpha_2$  激动剂 clonidine 能明显抑制此收缩, 给药前后分别制作 clonidine 抑制收缩的量-效曲线。 若为  $\alpha_2$  阻断剂, 则可求  $\text{pA}_2$  值。  $\alpha_1$  受体活性的测定则用同一大鼠的肛尾肌, 用线悬挂在  $10 \text{ ml}$  Krebs 液中 (含 corticosterone  $0.04 \text{ mM}$ , propranolol  $4 \mu\text{M}$ ), 通  $95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ ,  $37^\circ\text{C}$ , 用 NA 引起收缩反应, 在给药前后制作 NA 引起收缩的累积量-效曲线, 计算  $\text{pA}_2$  值 (阻断剂) 或  $\text{EC}_{50}$  (激动剂)。 这两种制备的负荷均为  $1 \text{ g}$ 。

## 结 果

### 对大鼠脑皮层细胞膜 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体的影响

图 2, 3 是药物取代  $[^3\text{H}]\text{WB 4101}$  和  $[^3\text{H}]\text{clonidine}$  与脑皮层膜  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体结合的竞争曲线。 DMC, ISO 和 clonidine 取代  $[^3\text{H}]\text{clonidine}$  和大鼠脑皮层膜  $\alpha_2$  受体特异性结合的  $\text{IC}_{50}$  分别为  $1.6 \mu\text{M}$ ,  $7.0 \mu\text{M}$  与  $5.0 \text{ nM}$ , 表观离解常数为  $0.23 \mu\text{M}$ ,  $1 \mu\text{M}$  和  $0.74 \text{ nM}$  (图 2)。

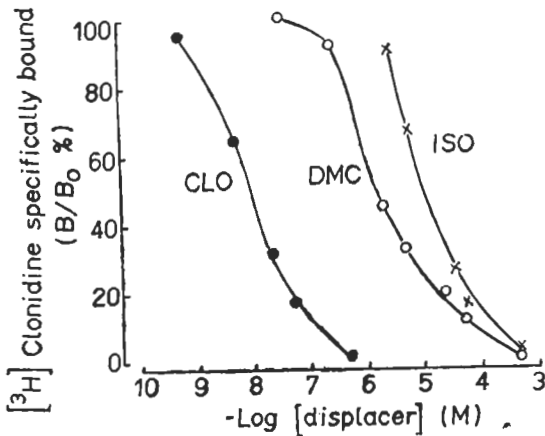


Fig 2. Inhibition of  $[^3\text{H}]\text{clonidine}$  specific binding to membrane of rat cortex by DMC, clonidine (CLO) and isoproterenol (ISO). Membranes were incubated with  $1.5\text{--}2 \text{ nM}$   $[^3\text{H}]\text{clonidine}$  in the presence of DMC, ISO and CLO at  $25^\circ\text{C}$  for 25 min.

由图 3 可见, DMC, phenylephrine 和 ISO 取代  $[^3\text{H}]\text{WB 4101}$  与脑皮层膜  $\alpha_1$  受体特异性

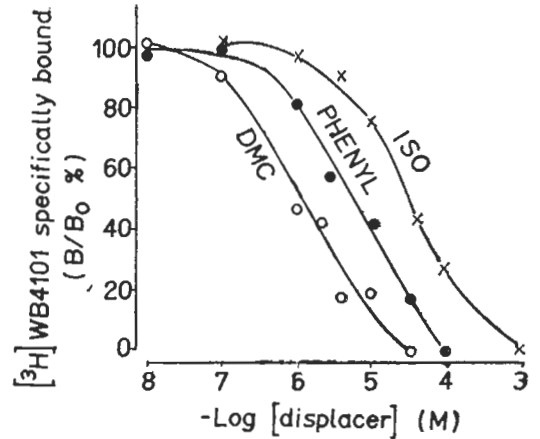


Fig 3. Inhibition of  $[^3\text{H}]\text{WB 4101}$  specific binding to membrane of rat cortex by DMC, phenylephrine (PHENYL) and isoproterenol (ISO). Membranes were incubated with  $0.2 \text{ nM}$   $[^3\text{H}]\text{WB 4101}$  in the presence of DMC, PHENYL and ISO at  $25^\circ\text{C}$  for 15 min.

结合的  $\text{IC}_{50}$  分别为  $0.5$ ,  $2.5$  和  $20 \mu\text{M}$ ; 表观离解常数为  $0.3$ ,  $1.7$  和  $13 \mu\text{M}$  (本实验室测得  $[^3\text{H}]\text{clonidine}$  和  $[^3\text{H}]\text{WB 4101}$  对大鼠脑皮层细胞膜  $\alpha_2$  和  $\alpha_1$  受体的  $K_D$  值分别为  $0.42$  和  $0.58 \text{ nM}$ )。 以上结果表明 DMC 和 ISO 对  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体均有一定程度的亲和力, 而 DMC 的作用比 ISO 强。

对大鼠肛尾肌突触后  $\alpha_1$  受体的影响 给 DMC  $5$ ,  $10$ ,  $50 \mu\text{M}$   $15 \text{ min}$  后, NA 引起大

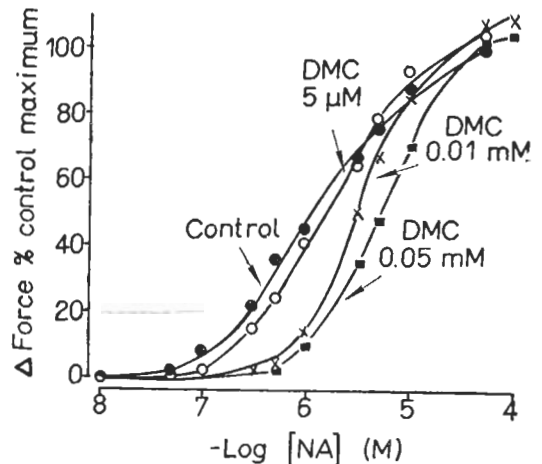


Fig 4. Contractile effect of noradrenaline (NA) on rat anococcygeus muscles in the absence or presence of DMC,  $n=3$ .

鼠肛尾肌收缩的量-效曲线出现浓度依赖性平行右移,  $pA_2 = 4.95$ 。(图4)表明 DMC 是  $\alpha_1$  阻断剂。相反, ISO 对大鼠肛尾肌呈兴奋作用, 此作用可被 DMC 所对抗。ISO 的收缩反应随其浓度增加而加强, ISO 与 NA 的量-效曲线平行, 但收缩反应不能达到与 NA 相似的高度(图5), 表明它可能是  $\alpha_1$  受体的部分激动剂。

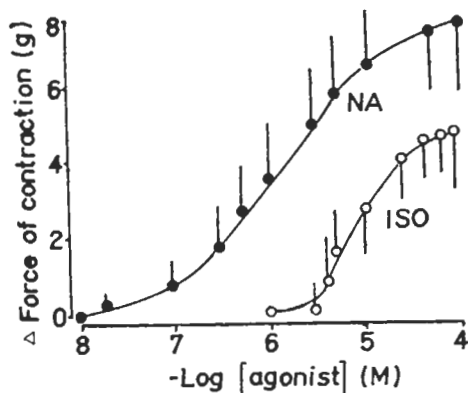


Fig 5. Contractile effect of noradrenaline (NA) and ISO on rat anococcygeus muscles.  $n = 3$ .  $\bar{x} \pm SD$ .

**对大鼠输精管突触前  $\alpha_2$  受体的影响** 用低频电场刺激大鼠输精管所引起的收缩可被 clonidine, DMC 和 ISO 抑制, 三者的量-效曲线基本上是平行的(图6)。说明 DMC 和 ISO 也能激动  $\alpha_2$  受体。其  $EC_{50}$  分别为 150 和 1.2

$\mu M$  (clonidine 1.8 nM), 可见 DMC 激动突触前膜  $\alpha_2$  受体的作用远比 clonidine 和 ISO 弱。

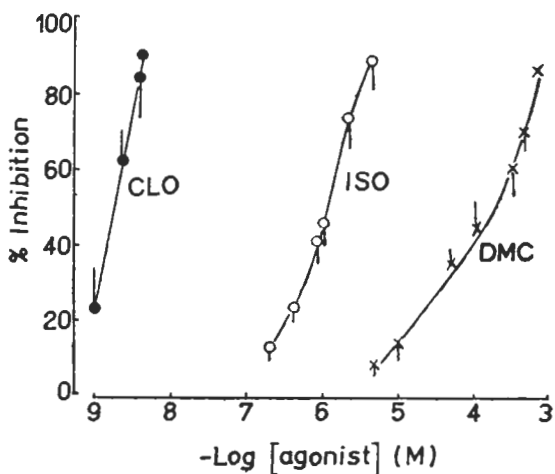


Fig 6. Twitch-inhibitory effects of CLO, DMC and ISO on field-stimulated vas deferens of 3 rats.  $\bar{x} \pm SD$ .

## 讨 论

本实验表明, DMC 和 ISO 对  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体均有一定程度的亲和力。DMC 对  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  受体的表观离解常数  $K_i$  均比 ISO 小, 表明它与  $\alpha$  受体的亲和力比 ISO 大(表1)。放射配体结合实验只能反映药物对受体的亲和力, 而不能预测是激动剂还是阻断剂。离体大鼠输精管和肛尾肌标本能很好反应药物对突触前  $\alpha_2$  和突触后  $\alpha_1$  受体的作用<sup>(7,8)</sup>。我们的工作证实了这一

Tab 1. Effect of higenamine (DMC) and isoproterenol (ISO) on the affinity of  $\alpha$ -receptors and the activity of presynaptic  $\alpha_2$ -adrenoceptor of rat vas deferens and postsynaptic  $\alpha_1$ -adrenoceptor of rat anococcygeus muscle

	$K_i$ ( $\mu M$ )		$EC_{50}$ ( $\mu M$ )		$pA_2$ (anococcygeus)
	$[^3H]WB$ 4101 binding	$[^3H]$ clonidine binding	Inhibitory effect on vas deferens	Induced contraction of anococcygeus	
Clonidine	—	0.00074	0.0018	—	—
DMC	0.33	0.23	150	—	4.95
ISO	13	1.0	1.2	20	—
NA	—	—	—	2.75	—
Prazosin	—	—	—	—	7.62
Phenylephrine	1.70	—	—	—	—

结论: clonidine 能明显抑制电刺输精管引起的收缩, yohimbine 可拮抗此反应;  $\alpha_1$  激动剂 NA 引起肛尾肌收缩, 呈量-效关系,  $\alpha_1$  阻断剂能使此量-效曲线右移。说明这两种标本能反映  $\alpha_2$  和  $\alpha_1$  受体的效应。本研究观察到 DMC 可对抗 NA 引起的肛尾肌收缩反应, 表明它对  $\alpha_1$  受体有拮抗作用 ( $pA_2 = 4.95$ )。DMC 还能抑制电刺输精管所引起的收缩, 提示它对突触前  $\alpha_2$  受体有很弱的激动作用 ( $EC_{50} = 150 \mu M$ ), 而它对脑皮层膜  $\alpha_2$  受体有较大亲和力 ( $K_i = 1.6 \mu M$ ), 这是由于脑皮层膜含有突触前和后的  $\alpha_2$  受体。ISO 的作用性质和 DMC 不同, 对这两种制备均表现为  $\alpha$  受体激动性质, 而以  $\alpha_2$  兴奋作用较强(表 1)。结合我们过去的研究, 观察到 DMC 对  $\beta$  受体有激动作用。从放射配体结合测定的结果表明, DMC 对  $\beta$  受体的亲和力与  $\alpha_1$  受体相似, 预计治疗剂量的 DMC 对  $\beta$  受体激动和对  $\alpha_1$  受体阻断均发挥了

效力。因此, 在用于治疗缓慢性心律失常时有较好疗效, 而它引起异位节律的副反应则比 ISO 轻, 这可能与它兼有阻断  $\alpha_1$  受体有关。

致谢 黄龙珍同志提供去甲乌药碱

### 参 考 文 献

- 1 冯亦璞、张 远、战洪生、曾贵云。中国药理学学报 1981; 2 : 114
- 2 冯亦璞、贾宏钧、张丽英、曾贵云。药理学学报 1982; 17 : 641
- 3 周远鹏、范礼理、张丽英、曾贵云。中华医学杂志 1978; 58 : 664
- 4 韩慧婉、王家珍、孙福立、曾贵云。中国药理学学报 1981; 2 : 111
- 5 姜文卿、陶寿淇、李介鸣, 等。中华心血管病杂志 1980; 8 : 95
- 6 U'Prichard DC, Greenberg DA, Snyder SH. *Mol Pharmacol* 1977; 13 : 454
- 7 Doxey JC, Smith CFC, Walker JM. *Br J Pharmacol* 1977; 60 : 91
- 8 Drew GM. *Eur J Pharmacol* 1977; 42 : 123

*Acta Pharmacologica Sinica* 1986 May; 7 (2) : 208-211

## Effect of higenamine on $\alpha$ -adrenoceptors

FENG Yi-pu, GAO Hong, ZENG Gui-yun

(*Inst Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050*)

**ABSTRACT** The apparent dissociation constants ( $K_i$ ) calculated from competition curves of higenamine (*dl*-demethylcocclaurine, DMC), isoproterenol (ISO) and phenylephrine with [ $^3H$ ]WB 4101 for  $\alpha_1$  receptor were found to be 0.3, 13 and  $1.7 \mu M$ , and that the  $K_i$ 's of DMC, ISO and clonidine with [ $^3H$ ]clonidine for  $\alpha_2$  receptors were 1.6,  $7 \mu M$  and 5 nM, respectively. These data showed that both DMC and ISO had affinity for  $\alpha$  receptors. The contractions of anococcygeus muscles induced by noradrenaline (NA) were reduced by DMC at 5, 10 and  $50 \mu M$ . The  $pA_2$  value was 4.95. In contrast with DMC, ISO also induced dose-dependent contraction of this muscle ( $EC_{50} = 20 \mu M$ ), but its maximal action was lower than that induced by

NA. It seemed that ISO was a partial  $\alpha_1$  agonist.

The electrically induced contractions of the vas deferens were inhibited by DMC, ISO and clonidine. Their  $EC_{50}$ 's were  $150 \mu M$ ,  $1.2 \mu M$  and 1.8 nM, respectively.

These results indicated that DMC was an  $\alpha_1$  antagonist and a weak  $\alpha_2$  agonist while ISO was an agonist of  $\alpha_1$  and  $\alpha_2$  adrenoceptors. However, the effect of ISO on  $\alpha_2$  adrenoceptor was more potent than that on  $\alpha_1$  receptor.

**KEY WORDS** *dl*-demethylcocclaurine (higenamine); isoproterenol; adrenergic alpha receptor agonists; adrenergic alpha receptor blockers; radioligand assay; vas deferens; anococcygeus muscles