

右旋四氢巴马汀排空脑内多巴胺的作用

许守奎、金国章、俞蕾平、刘公奎¹、陆薇薇、方圣鼎

(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 *l*-THP 能拮抗 Apo 和 Amp 所诱发的大鼠旋转活动, 是 DA 受体阻滞剂的作用, 而 *d*-THP 没有上述作用。 *d*-THP 无 Amp 样的释放作用, 不能使大鼠向损毁侧旋转, 但它能协同 Amp 诱发大鼠的旋转作用, 也能协同 Amp 加强小鼠的自发活动; *d*-THP 降低大鼠尾核 DA 含量, 并能为 selegiline 所翻转。上述实验结果支持 *d*-THP 是脑内 DA 排空剂的观点。

关键词 左旋四氢巴马汀; 右旋四氢巴马汀; 苯丙胺; 多巴胺排空剂; 旋转行为; 司立吉林

1986年7月3日收稿 1986年9月6日修回

¹ 解放军兽医大学药理教研室进修教师

本实验室从动物行为实验、生化测定和放射受体分析证明左旋四氢巴马汀(*l*-tetrahydropalmatine, *l*-THP)是脑内多巴胺(DA)受体阻滞剂, 而右旋四氢巴马汀(*d*-THP)与 DA 受体无亲和力, 但能选择性地降低大鼠尾核内 DA 的含量^(1,2)。因此, 提出 *d*-THP 可能是 DA 排空剂的设想。如何区别脑内 DA 受体阻滞剂和 DA 的排空剂, 未见有详细和系统地比较报道。本文鉴别这两者作用的特性, 进一步论证 THP 旋光异构体的不同机理, 为 *d*-THP

是 DA 排空剂的论点提供依据。本文选用能反映脑内 DA 生理功能的动物模型和相关的生化试验, 比较 *d*-THP 和 *l*-THP 对 DA 系统的不同作用性质。

材料和试剂

d-THP, mp 141-2°C, $[\alpha]_D^{25} + 289.5^\circ$ (C, 1.0, CHCl₃); *l*-THP, mp 141-2°C, $[\alpha]_D^{25} - 288^\circ$ (C, 1.0, CHCl₃)。均用 10% H₃PO₄ 加热溶解, 加 NaOH 1 mol/L 调至 pH 5 左右, 并稀释到所需浓度。去水吗啡 (apomorphine, Apo) 沈阳制药厂出品; 苯丙胺硫酸盐 (amphetamine, Amp) 美国 L Light 公司出品; 盐酸 DA 英国 BDH 出品; 高香草酸 (homovanillic acid, HVA) 德国 E Merck 出品; [³H]ACh 为 Radiochemical Centre, Amersham 出品; ACh 抗血清由军事医学科学院基础医学研究所提供; 溴化 ACh 上海试剂三厂出品; 司立吉林 (selegiline) 由本所药厂合成; 混合纤维素酯微孔滤膜 (φ 25 mm, 孔径 0.3 μm) 上海医药工业研究院出品。

方法与结果

THP 旋光异构体的僵住症 小鼠体重 $19.2 \pm SD 1.7$ g, ♀♂ 兼用, 随机分组。以悬吊法评定 THP 旋光异构体诱导僵住症的强度⁽³⁾。小鼠 ip *l*-THP 10 mg/kg 后, 能出现较弱的僵住症, 当剂量增大为 30 或 50 mg/kg 时, 僵住作用也随之明显增强, 30 min 出现峰值, 作用持续 5 h。然而 *d*-THP 50 mg/kg 只能引起微弱的僵住症, 仅相当于 *l*-THP 10 mg/kg 的作用强度, *d*-THP 100 mg/kg 的作用接近 *l*-THP 50 mg/kg 的效应, 所以 *d*-THP 的僵住作用约为 *l*-THP 的 1/5-1/2 (图 1)。当 *d*-THP 高于 75 mg/kg 时, 小鼠出现极明显的中枢抑制作用, 2 h 后四肢肌张力下降, 未再观察到僵住现象。

THP 旋光异构体对 Apo 诱导定型活动的影响 大鼠 180 ± 25 g, ♀♂ 兼用, 随机分组,

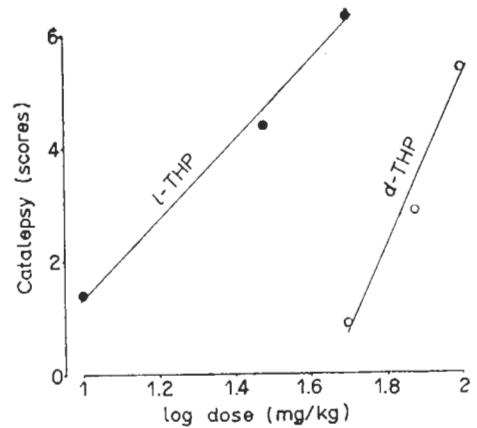


Fig 1. Catalepsy induced by *d*-, or *l*-tetrahydropalmitine (*l*-THP), 9-14 mice/group.

以大鼠出现嗅、舔、啃、咬等异常活动为观察指标, 按分级记分法评定⁽⁴⁾。用 *t*-值法进行显著性测验。

Apo 5 mg/kg sc 能使大鼠产生明显的定型活动, 得分为 3.6 ± 0.5 分, 并能维持 1 h 左右, ip *l*-THP 10, 25 mg/kg 20 min 后, 大鼠的定型活动明显减弱 ($p < 0.01$), 但是, *d*-THP 10 mg/kg 的作用不显著 ($p > 0.05$), 25 mg/kg 有拮抗作用 ($p < 0.01$), 其作用强度仍弱于等量 *l*-THP 的作用 (图 2)。所以, THP 旋光异构体拮抗 Apo 所诱发大鼠的定型活动仅有强度的差异。

THP 旋光异构体对旋转活动的影响 体重为 160 ± 25 g 的 ♂ 大鼠, 仿文献 (5) 法, 用

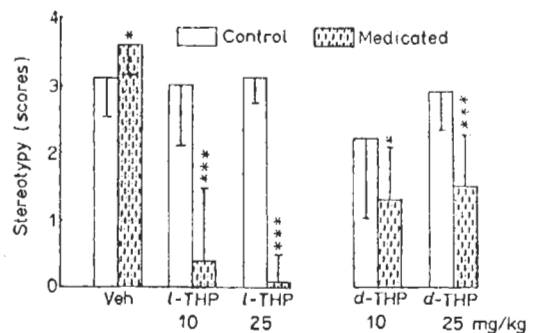


Fig 2. Effects of *l*-, and *d*-tetrahydropalmitine (*d*-THP) on rat stereotypy induced by apomorphine (Apo) 5 mg/kg, sc, 8-10 rats/group. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, *** $p < 0.01$. Vehicle (Veh)

6-OHDA 损毁左侧黑质 DA 神经元。在手术后 4 个月内结束试验全程, 尔后随机抽取 7 只大鼠, 用荧光分光光度计比较双侧尾核内 DA 含量的差别。结果表明, 左侧尾核内 DA 含量比右侧减少 83.4% ($p < 0.01$), 说明大鼠左侧黑质 DA 神经元已达到严重的损毁程度。另随机取大鼠 5 只进行脑组织切片, 在显微镜下见到, 左侧黑质部仍留有针迹, 局部胶质细胞增生, 同时有活跃的新生毛细血管及肉芽样增生等损伤后组织修复现象, 说明本试验所用大鼠左侧黑质部被损毁。该结果与生化测定相一致。

1. 对 Apo 诱导旋转活动的影响 选用损毁的 16 只大鼠, 分 3 组, ip 给药, 每组的部分大鼠先进行对照给药, 另一部分进行测试给药, 尽量减少不同药物和不同给药时间对 Apo 的作用可能引起的误差⁽⁵⁾。对照液 30 min 后 + Apo 1 mg/kg; *l*-THP 50 或 100 mg/kg 30 min 后 + Apo, *d*-THP 50 或 100 mg/kg 30 min 后 + Apo。试验结果表明 *l*-THP 50 或 100 mg/kg 能明显拮抗 Apo 的旋转活动, 平均旋转总数分别降低为对照组的 17% 和 12%, 进行组间比较, *l*-THP 的拮抗作用非常显著 ($p < 0.05$ 和 $p < 0.01$, 表 1), 表现为旋转速度减慢和

Tab 1. Effects of *l*-, and *d*-tetrahydropalmitine(*d*-THP) on rotation induced by apomorphine (Apo, 1 mg/kg) or amphetamine (Amp 5 mg/kg) in the lesioned rats. $\bar{x} \pm SD$. V: vehicle, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

Drug (mg/kg, ip)	Rats	Turns	Duration (min)
V + Apo	8	160 ± 140	42 ± 10
<i>l</i> -THP(50) + Apo	8	20 ± 40**	22 ± 8***
V + Apo	8	140 ± 100	41 ± 6
<i>l</i> -THP(100) + Apo	8	16 ± 27**	16 ± 18***
V + Apo	7	180 ± 130	44 ± 9
<i>d</i> -THP(50) + Apo	7	150 ± 120*	45 ± 17*
V + Apo	9	150 ± 100	41 ± 6
<i>d</i> -THP(100) + Apo	9	120 ± 100*	41 ± 8*
Amp + V	7	60 ± 20	
Amp + <i>l</i> -THP(50)	7	9 ± 6***	
Amp + <i>d</i> -THP(50)	7	80 ± 20**	
Amp + <i>d</i> -THP(100)	7	110 ± 60**	
<i>d</i> -THP(50 or 100)	5	0	

时程缩短, 但等剂量的 *d*-THP 对 Apo 的旋转活动影响不显著 ($p > 0.05$ 表 1)。

2. 对 Amp 旋转活动的影响 选用损毁大鼠 12 只, 分 4 组, 给药方式同上, ip Amp 5 mg/kg 15 min 后, 分别 ip 对照液, *l*-THP 50 mg/kg, *d*-THP 50 或 100 mg/kg 以及单独给予 *d*-THP。30 min 后, 观察大鼠 30 min 内的旋转次数。

结果表明: *l*-THP 50 mg/kg 能拮抗 Amp 的旋转活动, 平均旋转次数下降到 16% ($p < 0.01$)。然而 *d*-THP 50, 100 mg/kg 不但不能拮抗 Amp 的旋转, 反而协同 Amp 的旋转作用, 并随剂量增加而协同作用加强, 分别为对照组的 140% 和 190% ($p < 0.05$)。所以, *d*-THP 的作用完全不同于 *l*-THP。但是当单独给予 *d*-THP 50 或 100 mg/kg 时, 并不能诱发大鼠出现类似 Amp 或 Apo 的旋转作用, 这说明 *d*-THP 不具有 Apo 激动作用和 Amp 样的释放作用(表 1)。所以, *d*-THP 协同 Amp 的作用机理很可能与它排空 DA 的作用有关系。

d-THP 对小鼠自发活动的影响 为了进一步论证 *d*-THP 协同 Amp 的作用, 故观察小鼠自发活动, 实验在 23-24°C 进行, 用 GJI 光电计数器记录小鼠活动。小鼠体重 18.3 ± 2.1 g, ♀♂ 兼用, 4 只为 1 组, 放入活动箱后让其适应 10 min, 再记录 5 min 内的活动次数, 并在相同条件下分批进行给药 ip 实验。设对照组、Amp 6 mg/kg 组、*d*-THP 组、Amp + *d*-THP 组(5 min 后给 *d*-THP)。各组小鼠 ip 给药后, 分别记录 10, 30, 60, 90, 120 min 时的活动次数, 实验表明, Amp 使小鼠在 30 min 内自发活动比对照组显著增强 ($p < 0.01$), 这是由于 Amp 释放胞浆中 DA 的缘故。*d*-THP 25, 50, 100 mg/kg 能明显抑制小鼠的自发活动, 这种抑制作用随剂量增大而加强(表 2), 可能是排空 DA 的作用。但当与 Amp 合用时, *d*-THP 不仅能协同 Amp 加强小鼠自发活动的作用。并且使 Amp 诱发自发活动高峰左移, 并有量效关系(表 2), 这种协同

Tab 2. Effects of *d*-tetrahydropalmatine (*d*-THP) and amphetamine (Amp 6 mg/kg) on the spontaneous activity of mice. * $p > 0.05$, *** $p < 0.01$.

Drugs (mg/kg, ip)	Mice	Counts/4 mice/5 min ($\bar{x} \pm SD$)					
		0	10	30	60	90	120(min)
Saline	40	500 ± 110	460 ± 110	280 ± 100	230 ± 110	240 ± 70	180 ± 110
Amp	36	510 ± 80*	580 ± 170*	860 ± 230***	700 ± 360***	590 ± 290***	260 ± 290***
<i>d</i> -THP(25)	28		240 ± 100	200 ± 70	240 ± 40	190 ± 100	130 ± 120
Amp + <i>d</i> -THP	32		870 ± 160***	910 ± 190***	730 ± 240***	420 ± 170***	200 ± 100*
<i>d</i> -THP(50)	28		120 ± 90	110 ± 70	130 ± 60	90 ± 50	70 ± 40
Amp + <i>d</i> -THP	36		760 ± 110***	1060 ± 120***	810 ± 200***	340 ± 110***	160 ± 60***
<i>d</i> -THP(100)	32		6 ± 6	0	11 ± 22	17 ± 24	30 ± 50
Amp + <i>d</i> -THP	36		1130 ± 170***	680 ± 110***	420 ± 110***	270 ± 200***	150 ± 130***

作用与上述大鼠旋转活动的结果相符, 亦可能是 *d*-THP 排空 DA 的作用。

Selegiline 影响 THP 旋光异构体对尾核 DA 和 HVA 的作用

为了证实 *d*-THP 排空 DA 的作用, 应用单胺氧化酶抑制剂(MAOI)翻转脑内 DA 水平的试验。♂大鼠 165 ± 15 g, ip selegiline 20 mg/kg 30 min 后, 再 ip *l*-THP 或 *d*-THP 50 mg/kg, 1 h 后断头取双侧尾核, 经 Sephadex G-10 分离 DA 和 HVA, 用荧光法检测⁽²⁾, 结果(表 3)表明 *d*-THP 50 mg/kg 明显降低尾核 DA 含量(-56%, $p < 0.01$)和升高 HVA 含量(+133%, $p < 0.01$), 表现出 DA 排空剂的作用, 而等剂量的 *l*-THP 对尾核 DA 含量无影响($p > 0.05$), 却明显升高 HVA 含量(+172%, $p < 0.01$), 这结果与前文报道一致⁽²⁾。这是由于 *l*-THP 属于 DA 受体阻滞剂, 作用于突触前 DA 受体而产生的正反馈调控作用的结果。在应用 selegiline 后, 拮抗 *d*-THP 所引起的 DA 含量下降, 和 HVA 水平的增加(group 5), 与正常对照组的作用(group 1)非常接近($p > 0.05$), 这表明 *d*-THP 排空 DA, 使脑内 DA 水平的下降, 又被 MAOI 所翻转。但是被 *d*-THP 排空的 DA 尚不能全部被 MAOI 所保护, 仍有部分 DA 被 MAO 代谢, 所以组 5 的 DA 水平低于 selegiline 组(group 4), 因而 HVA 含量高于组 4。

l-THP 不排空 DA, 在应用 MAOI 后, 脑内 DA 含量增加的水平(group 6)与 selegiline 组非常相似, 表明 DA 在 MAOI 保护下, 维持在动态平衡中, HVA 的增加可能是由于 *l*-THP 阻滞突触前 DA 受体反馈性加强 DA 释放于突触间隙被代谢的结果。上述结果表明 *l*-THP 的作用显然不同于 *d*-THP。

Tab 3. Effects of ip *d*-, *l*-tetrahydropalmatine (*d*-, *l*-THP, 50 mg/kg) and selegiline (Sel, 20 mg/kg) on dopamine (DA) and homovanillic acid (HVA) levels in rat corpus striatum. 12 rats/group. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, *** $p < 0.01$.

Group	Drug	DA(μg/g)	HVA(μg/g)
1	control	10.0 ± 2.7	0.9 ± 0.3
2	<i>d</i> -THP	4.4 ± 1.8***	2.1 ± 0.9***
3	<i>l</i> -THP	10.0 ± 2.0*	2.3 ± 0.7***
4	Sel	15 ± 3***	0.6 ± 0.2***
5	Sel + <i>d</i> -THP	10.6 ± 1.7*	1.0 ± 0.4*
6	Sel + <i>l</i> -THP	14.0 ± 2.8***	2.0 ± 0.5***

THP 旋光异构体对尾核 ACh 含量的影响 体重为 170 ± 20 g 大鼠, ♀♂兼用, 随机分为 9 组, 分别 ip 对照液, *l*-THP 5, 10, 25, 75, 100 mg/kg 和 *d*-THP 25, 75, 100 mg/kg。所有大鼠均在给药 1 h 后断头处死, 取脑, 分离双侧尾核(30 ± 3 mg), 用放射免疫法测定 ACh 含量⁽⁶⁾, 结果表明(表 4) *l*-THP 5 mg/kg 不降低 ACh 含量, 10-100 mg/kg 使 ACh 含量降低为 60-70%, 与对照组相比, 差异显著($p < 0.01$),

d-THP 25 mg/kg 不影响 ACh 含量, 75, 100 mg/kg 能降低含量到 67% 和 76%。由此可见, *l*-THP 的作用强度约为 *d*-THP 的 3 倍。

Tab 4. Effects of ip *d*-, *l*-tetrahydropalmatine (*d*-, *l*-THP) on the ACh level in rat corpus striatum. $\bar{x} \pm SD$

Drug (mg/kg)	Rats	ACh (pmol/g wet wt) <i>l</i> -THP	ACh (pmol/g wet wt) <i>d</i> -THP
0	12	21 ± 4	21 ± 3
5	8	32 ± 7 [†]	
10	7	25.0 ± 1.4 ^{†††}	
25	8	12 ± 4 ^{***}	21 ± 3*
75	8	12 ± 3 ^{***}	14 ± 6 ^{***}
100	6	24 ± 5 ^{†††}	16 ± 4 ^{**}

Compared with 0 mg/kg, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$; compared with the other control group (36 ± 4, $n = 5$), [†] $p > 0.05$, ^{†††} $p < 0.01$.

讨 论

由于 *d*-THP 有短时的兴奋现象^(7,8)和选择性地减少脑内 DA 的含量⁽²⁾, 因此推论 *d*-THP 的作用机理可能与排空脑内 DA 有关。本文应用单侧损毁黑质的大鼠旋转模型鉴别 *d*-THP 是否具有 Amp 样释放 DA 的作用。损毁侧突触后 DA 受体出现去神经超敏, 使两侧 DA 受体功能失去平衡, Amp 促进健侧神经末梢释放 DA, 使大鼠向损毁侧旋转, DA 受体激动剂 Apo 则使大鼠向健侧旋转, DA 受体阻滞剂 Hal 则使大鼠向损毁侧旋转, 但不产生任何方向的旋转, 但能拮抗 DA 受体激动剂和 DA 释放剂所诱发的旋转活动(图 3)。

实验证明 *l*-THP 是 DA 受体阻滞剂, 与前文结果一致。*d*-THP 不产生任何方向的旋转活动, 说明它不是 DA 受体激动剂, 也不是 DA 的释放剂, 但它协同 Amp 的旋转活动, 这种作用可能通过某种机理排空囊泡内 DA, 进入胞浆的 DA 被 Amp 所释放, 达到增加 Amp 的旋转作用。小鼠自发活动的结果进一步支持 *d*-THP 是脑内 DA 排空剂的论点。

d-THP 排空 DA 的作用, 还可从脑内 DA 和 HVA 含量变化关系加以证实, DA 和 HVA 是反映 DA 神经元活动的可靠指标。*d*-THP 明

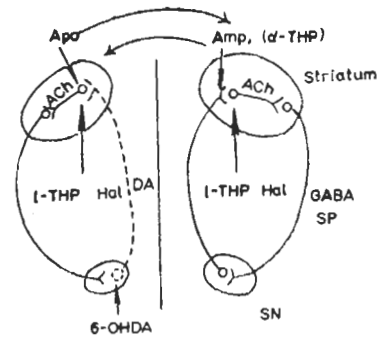


Fig 3. Effects of drugs on rotation in rats lesioned by 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA). The circuit of DA-ACh-GABA, substance P in the nigrostriatum. DA-pathway lesioned by 6-OHDA in left. The contralateral rotational response induced by apomorphine (Apo); the ipsilateral rotational response induced by amphetamine (Amp); *l*-tetrahydropalmatine (*l*-THP) and haloperidol (Hal) blocking both rotations but *d*-THP potentiating the action of Amp.

显降低 DA 含量时, 却明显升高 HVA 含量, 此作用能被 MAOI 所翻转, 显示出 DA 排空剂的作用特征。上述 4 项实验结果进一步证明 *d*-THP 有 DA 排空剂的作用, 并且荧光组织化学的结果也支持 *d*-THP 有 DA 排空剂的作用⁽⁹⁾。

通过本文和前文⁽²⁾系统地比较 THP 旋光异构体对 DA 系统的不同作用, 可提出如下见解: 僵住症, 定型活动, 尾核内 ACh 含量变化, 以及 DA, HVA 含量变化, 对区分 DA 受体阻滞剂和 DA 排空剂只有量的差异, 而受体结合试验⁽²⁾、*l*-dopa 在体积聚⁽²⁾、大鼠旋转模型、荧光组化⁽⁹⁾和 MAOI 对 DA 和 HVA 含量变化的翻转是较好的鉴别指标, 它们能定性区分 DA 受体阻滞剂和 DA 排空剂的不同作用。

参 考 文 献

- 1 Xu SX, Chen Y, Jin GZ. Comparison of affinities of tetrahydroprotoberberines for dopamine receptors in the brain. *Kexue Tongbao* 1986; 31: 563
- 2 Jin GZ, Xu SX, Yu LP. Different effects of enantiomers of tetrahydropalmatine on dopamine system. *Sci Sin [B]* 1986; 29: 746

- 3 汪晓立、洪庚辛、金国章. 四氢小檗碱的僵住症与脑内 DA 能系统的关系. 中国药理学报 1981; 2 : 230
- 4 汪晓立、金国章、俞蕾平、李建华. 四氢小檗碱对中枢多巴胺突触前和突触后受体功能的阻滞作用. 同上 1982; 3 : 73
- 5 Jin GZ, Wang XL, Shi WX. A new chemical type of dopamine receptor antagonists in the brain—tetrahydroprotoberberines. *Sci Sin [B]* 1986; 29 : 527
- 6 金国章、汪晓立、许建. 新多巴胺受体阻滞剂——四氢小檗碱对大鼠纹状体内乙酰胆碱含量的影响. 生理学报 1983; 35 : 112
- 7 金国章、唐希灿、胥彬. 延胡索药理研究 VIII. 延胡索乙素同型物的化学结构和疗效关系. 药理学报 1962; 9 : 487
- 8 金国章、郑秀凤、胥彬. 延胡索药理研究 VII. 延胡索乙素旋光异构体的中枢作用. 生理学报 1964; 27 : 47
- 9 Jin GZ, Xu SX, Huang KX. Effects of *l*-tetrahydropalmatine and its analogues on dopaminergic system. *Chin J Physiol Sci* 1986; 2 : 285

Acta Pharmacologica Sinica 1987 May; 8 (3) : 207-212

Brain dopamine depleted by *d*-tetrahydropalmatine

XU Shou-Xi, JIN Guo-Zhang, YU Lei-Ping, LIU Gong-Xi, LU Wei-Wei, FANG Sheng-Ding

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT *l*-Tetrahydropalmatine (*l*-THP) is a DA receptor antagonist, which could antagonize both contralateral rotation induced by amphetamine (Amp) and ipsilateral rotation challenged by apomorphine (Apo) in rats unilaterally lesioned by 6-OHDA. However, *d*-THP did not antagonize contralateral and ipsilateral rotations, and it did not manifest the Amp- or Apo-like rotation either, but it (50 or 100 mg/kg) potentiated the Amp-induced rotation (+40% or 90%). This suggests that *d*-THP may deplete DA into cytoplasm, in which DA is released by Amp, and enhances the Amp action. Amp increased the spontaneous activity of mice, on the contrary, *d*-THP depressed this activity. When the mice were pretreated with *d*-THP 25, 50, 100 mg/kg, the excitation of Amp was potentiated

markedly in dose-dependent way. This result was very similar to the potentiation of *d*-THP on the rotation induced by Amp. After injection of *d*-THP 50 mg/kg, the striatal DA level was decreased by 56% and HVA level increased by 133% concomitantly, whereas *l*-THP had no effect on the DA level under the same conditions. Therefore, the DA depletion was only observed in *d*-THP, and this effect was reversed by selegiline (20 mg/kg), a MAOI-B. The above findings further support the conclusion that *d*-THP is a DA depletor, and *l*-THP is a brain DA antagonist, which has been reported in our Laboratory.

KEY WORDS *l*-tetrahydropalmatine; *d*-tetrahydropalmatine; amphetamine; dopamine depletor; rotational behavior; selegiline