

# 麻黄碱及其类似物对大鼠肺细胞膜 $\beta$ 肾上腺素受体的作用<sup>1</sup>

江明华、刘璐、王蓄<sup>2</sup>、占伟祥<sup>2</sup> (上海医科大学药学院药理教研室, 上海 200032)

束怀德 (上海医科大学基础医学部药理教研室, 上海 200032)

**提要** *l*-Eph 在离体大鼠肺细胞膜制备, 竞争 [<sup>3</sup>H]DHA 特异结合和激活腺苷酸环化酶的作用强度均大于 *d*-伪 Eph 和 *l*-甲基 Eph, 但三者的内在活性相近。*d*-去甲伪 Eph 对  $\beta$ -肾上腺素受体的亲和力仅次于 *l*-Eph, 但对腺苷酸环化酶活性没有影响。还能对抗 Iso 激活腺苷酸环化酶的作用, 表明它是  $\beta$ -受体阻断剂。

**关键词**  $\beta$ -肾上腺素能受体; 大鼠肺细胞膜; *l*-麻黄碱; *d*-伪麻黄碱; *l*-甲基麻黄碱; *d*-去甲伪麻黄碱; 腺苷酸环化酶; 异丙肾上腺素; 普萘洛尔

从中药麻黄中, 除可分离提取 *l*-麻黄碱 (*l*-Eph) 外, 尚可得到 *d*-伪麻黄碱 (*d*-伪 Eph) *l*-甲基麻黄碱 (*l*-甲基 Eph) 和 *d*-去甲伪麻黄碱 (*d*-去甲基伪 Eph) 等生物碱。已知 *d*-伪 Eph 和 *l*-甲基 Eph 的药理作用与 *l*-Eph 基本相同, 其升压和中枢兴奋作用较弱。*d*-去甲伪 Eph 的药理作用很少报道。为了进一步阐明 Eph 异构体及类似物的作用, 本工作比较研究 *l*-Eph、*d*-伪 Eph、*l*-甲基 Eph 和 *d*-去甲 Eph 对大鼠肺细胞膜  $\beta$ -肾上腺素受体的亲和力及对腺苷酸环化酶 (AC) 活性的影响。

## 材料和方法

*l*-盐酸麻黄碱、*d*-盐酸伪麻黄碱、*l*-盐酸甲基麻黄碱和 *d*-盐酸去甲基伪麻黄碱 (以上均由内蒙古自治区赤峰制药厂赠); 异丙肾上腺素 (Iso) 和普萘洛尔 (Pro) (北京制药厂出品); DTT (dithiothreitol, 西德 Serva 生化制药厂产品); ATP (美国 Sigma 化学公司); 茶碱 (上海试剂二厂出品); [<sup>3</sup>H]双氢烯丙洛尔 (心得舒) ([<sup>3</sup>H]DHA, 比活度 1702 GBq/mmol, 北京

401 所产品); cAMP 药箱 (上海第二医科大学同位素室产品)。

**大鼠肺细胞膜的分离和制备** 取大鼠两肺, 加磷酸缓冲液 (pH 7.4 制成匀浆, 1000 × g 离心 10 min, 取上清液, 再以 32 000 × g 离心 15 min, 弃上清液, 沉淀加磷酸缓冲液 (2 ml/g 湿组织) 制成膜混悬液。以上操作均在 4℃ 以下进行。膜蛋白含量测定参照比色溶解方法<sup>(1)</sup>。

**放射配基结合测定** 将 [<sup>3</sup>H]DHA 2 nmol/L 和不同浓度的受试药物加于大鼠肺膜制备中, 反应容量为 0.25 ml。温育 15 min, 用 5 ml 冷磷酸缓冲液终止反应。然后在玻璃纤维滤纸 (上海虹光纸厂 49 型) 上减压抽滤, 测定滤片上的放射活性, 并制作竞争曲线, 算出这些药物抑制 [<sup>3</sup>H]DHA 与肺细胞膜特异性结合 50% 的浓度 (IC<sub>50</sub>) 并按下式求出该药物的表现离解常数 K<sub>i</sub><sup>(2)</sup>:

$$K_i = IC_{50} / (1 + L / K_D)$$

式中 [L] 为放射配基 [<sup>3</sup>H]DHA 的浓度, K<sub>D</sub> 为离解常数。

根据 Scatchard 法求 [<sup>3</sup>H]DHA 的 K<sub>D</sub> 值为 2.14 nmol/L, 最大结合值为 428.5 fmol/mg。

**AC 活性测定** 参照文献方法<sup>(3)</sup>, 稍作修改。膜蛋白量改为 10 μg, 终止反应时置沸水浴中 5 min, 测定在 ATP 存在情况下生成的 cAMP 量, 作为反映 AC 活性的指标。各种药物激活 AC 的作用强度以 ED<sub>50</sub> 值 (即引起 AC 最大兴奋的半效浓度) 表示, 效能以该化合物激活 AC 的最大活性与 Iso 的最大活性比率 (E<sub>R</sub>) 表示。

## 结果

**对 [<sup>3</sup>H]DHA 特异性结合的抑制** 根据麻黄碱及其类似物竞争 [<sup>3</sup>H]DHA 特异性结合的

1985年9月11日收稿 1987年1月23日修回

<sup>1</sup> 中国科学院科学基金资助课题 No 365

<sup>2</sup> 本校 80 级药理专业学生

IC<sub>50</sub> 算出的 K<sub>i</sub> 值见表 1。竞争 [<sup>3</sup>H]DHA 的强度顺序为 Iso > l-Eph > d-去甲伪 Eph > l-甲基 Eph 和 d-伪 Eph。

Tab 1. K<sub>i</sub> of ephedrine analogs on [<sup>3</sup>H]dlhydroalprenolol binding (n = 3)

Compound	Structure	K <sub>i</sub> (μmol/L)
Isoproterenol		0.69 ± 0.15
l-Ephedrine		18.1 ± 0.97
d-Pseudoephedrine		353 ± 31
l-Methylephedrine		424 ± 24
d-Pseudonorephedrine		124 ± 31

Tab 2. Effects of ephedrine analogs on adenylyl cyclase activity (n = 2).

Compound	ED <sub>50</sub>	E <sub>R</sub> value*
Isoproterenol	18.4 ± 0.6 μmol/L	1
l-Ephedrine	4.3 ± 1.5 mmol/L	0.56 ± 0.01
d-Pseudoephedrine	-	0.61 ± 0.19
l-Methylephedrine	-	0.68 ± 0.1

\* The ratios of the maximal activity to activate AC between compounds tested and isoproterenol.

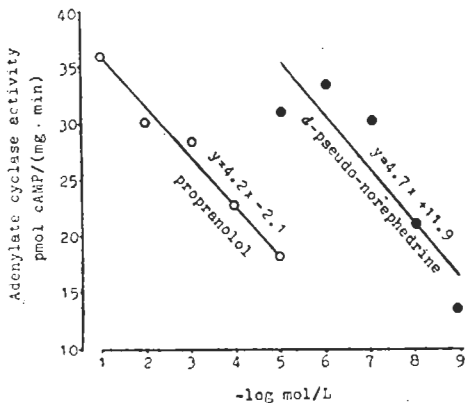


Fig 1. Antagonism by propranolol and d-pseudo-norephedrine on adenylyl cyclase activity induced by isoproterenol 0.01 mmol/L.

对 AC 活性的影响 Iso, l-Eph, d-伪 Eph, l-甲基 Eph 均能增加 AC 活性。Iso 和 l-Eph 的 ED<sub>50</sub> 值分别为 18.4 ± 0.6 μmol/L 和 4.3 ± 1.5 mmol/L, d-伪 Eph 和 l-甲基 Eph 激活 AC 的作用强度较弱, 不能算出 ED<sub>50</sub> 值。l-Eph, d-伪 Eph, l-甲基 Eph 的 E<sub>R</sub> 值分别为 0.56 ± 0.01, 0.61 ± 0.19, 0.68 ± 0.10, 表明三者激活 AC 的效能相近, 均较 Iso 为弱。l-去甲伪 Eph 对 AC 活性没有影响(表 2)。

#### d-去甲伪 Eph 拮抗 Iso 激活 AC 的作用

按文献(4)方法, 测定 d-去甲伪 Eph 抑制 Iso(10 μmol/L)激活 AC 活性的 50% 的浓度(IC<sub>50</sub>)并与 Pro 比较。结果表明 l-去甲伪 Eph 和 Pro 的 IC<sub>50</sub> 值分别为 2.44 ± 0.17 mmol/L 0.30 ± 0.07 μmol/L(图 1)。

## 讨 论

文献报道, 采用放射配基结合试验法, 结合 AC 活性测定可以平行观察 β-激动剂对 β-肾上腺素受体的亲和力和内在活性。β-激动剂与拮抗剂虽都有竞争放射配基与受体特异结合的能力, 但 β-激动剂能激活 AC 而拮抗剂不能<sup>(5,6)</sup>。

大鼠肺细胞膜制备, 具 β<sub>1</sub> 与 β<sub>2</sub> 两个结合位点<sup>(7)</sup>, 放射配基双氢烯丙洛尔对 β<sub>1</sub> 和 β<sub>2</sub> 均有结合能力。本文采用 [<sup>3</sup>H]DHA 与肺细胞膜制备, 用以比较 Eph 及其异构体和类似物对 β-肾上腺素受体的作用。实验表明 Eph 及其类似物均有不同程度竞争 [<sup>3</sup>H]DHA 特异性结合的作用, 虽此种作用明显较 Iso 为弱, 但说明它们对 β-肾上腺素受体均具不同程度的亲和力, 从而为 Eph 对 β-肾上腺素受体有直接作用提供了证据。

l-Eph、d-伪 Eph 和 l-甲基 Eph 与 Iso 一样均有激活 AC 的作用, 故为 β-肾上腺素受体激动剂。d-伪 Eph 和 l-甲基 Eph 激活 AC 的作用强度较 l-Eph 为弱, 与它们和 β-肾上腺素受体的亲和力较低相一致; 临床报道 d-伪 Eph 的支气管扩张作用不及 l-Eph 的 1/2<sup>(8)</sup>,

可用其对 $\beta$ -受体的亲和力较低解释。三种激动剂激活AC的效能 $E_R$ 值接近,则表明三者具相似的内在活性,约为Iso的56-68%。

*d*-去甲伪Eph与*d*-伪Eph在化学结构上的差别,在于前者胺基上没有 $-\text{CH}_3$ ,其结果虽然它们 $\beta$ -受体的亲和力较*d*-伪Eph和*l*-甲基Eph均强,但不仅不能激活AC还能拮抗Iso激活AC的作用,由于此作用仅及普萘洛尔的1/875,故属弱型 $\beta$ -受体阻断剂。

致谢 李佩芬参加部分技术工作。

### 参 考 文 献

- 1 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193 : 265
- 2 Bennett JP Jr. Methods in binding studies. In: Yamamura HI, Enna SJ, Kuhar MJ, eds. *Neurotransmitter receptor binding*. 1st ed. NY:

Raven Press, 1978 : 57-90

- 3 冯亦璞、贾宏钧、张丽英、曾贵云. 去甲乌药碱对火鸡红细胞膜 $\beta$ 受体及腺苷酸环化酶活性的影响. *药理学报* 1982; 17 : 641
- 4 冯亦璞、张丽英、曾贵云. 葛根素和黄豆甙元衍生物对肾上腺素受体的影响. *中国药理学报* 1984; 5 : 238
- 5 Lefkowitz RJ, Limbird LE, Mukherjee C, Caron MG. The  $\beta$ -adrenergic receptor and adenylate cyclase. *Biochim Biophys Acta* 1976; 457 : 1
- 6 Minneman KP, Hegstrand LR, Molinoff PB. The pharmacological specificity of beta-1 and beta-2 adrenergic receptors in rat heart and lung *in vitro*. *Mol Pharmacol* 1979; 16 : 21
- 7 Lefkowitz RJ. Heterogeneity of adenylate cyclase-coupled  $\beta$ -adrenergic receptors. *Biochem Pharmacol* 1975; 24 : 583
- 8 Drew CD, Knight GT, Hughes DT, Bash M. Comparison of the effects of D-(-)-ephedrine and L-(+)-pseudoephedrine on the cardiovascular and respiratory systems in man. *Br J Clin Pharmacol* 1978; 6 : 221

*Acta Pharmacologica Sinica* 1987 Jul, 8 (4) : 318-320

## Effects of ephedrine and its analogs on $\beta$ -adrenoceptors of rat lung cell membrane<sup>1</sup>

JIANG Ming-Hua, LIU Lu, WANG Qiang, ZHAN Wei-Xiang (Dept Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Shanghai Medical University, Shanghai 200032) SHU Huai-De (Dept Pharmacology, Faculty of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

**ABSTRACT** The affinities of *l*-ephedrine (*l*-Eph), *d*-pseudoephedrine (*d*-pseudo-Eph), *l*-methylephedrine (*l*-Me-Eph) and *d*-pseudonorephedrine (*d*-pseudo-nor-Eph) to  $\beta$ -adrenoceptors were investigated on isolated rat lung cell membranes by ligand binding assay. All the compounds competed with the binding of [<sup>3</sup>H]dihydroalprenolol to the rat lung cell membrane preparations. The orders of affinity to  $\beta$ -adrenoceptors were: *l*-Eph > *d*-pseudo-nor-Eph > *d*-pseudo-Eph > *l*-Me-Eph. The action of *l*-Eph to activate the adenylyl cyclase (AC) was greater than those of *d*-pseudo-Eph and *l*-Me-Eph, which appeared to be consistent with

the orders of affinity to  $\beta$ -adrenoceptors. The facts that *d*-pseudo-nor-Eph has no effect on AC activity and antagonizes the stimulating action of isoproterenol on AC activity suggest that *d*-pseudo-nor-Eph is a  $\beta$ -adrenoceptor blockader.

**KEY WORDS** beta adrenergic receptors; rat lung cell membrane; *l*-ephedrine; *d*-pseudoephedrine; *l*-methylephedrine; *d*-pseudonorephedrine; adenylyl cyclase; isoproterenol; propranolol

<sup>1</sup>Project supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences, No 365