

J 1989; 11 : 1
 7 Yabu H. Regulatory mechanism of contraction-relaxation cycle in smooth cells. *J Physiol Soc Jpn* 1986; 48 : 453
 8 Itoh T, Kuriyama H, Suzuki H. Differences and similarities in the noradrenaline- and caffeine-induced mechanical responses in the rabbit

mesenteric artery. *J Physiol (Lond)* 1983; 337 : 609
 9 Ahn HY, Karaki H, Urakawa N. Inhibitory effects of caffeine on contractions and calcium movement in vascular and intestinal smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1988; 93 : 267

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Sep; 11 (5) : 445-449

左旋千金藤立定的降压作用与多巴胺受体关系¹

顾天华、张照英、周恺荣 (上海第二医科大学,上海市高血压研究所,上海 200025, 中国)
 张振德、金国章 (中国科学院上海药物研究所,上海 200031, 中国)

Hypotensive action of *l*-stepholidine in relation of dopamine receptors

GU Tian-Hua, ZHANG Zhao-Ying, ZHOU Kai-Rong (*Shanghai Institute of Hypertension, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China*), ZHANG Zhen-De, JIN Guo-Zhang (*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China*)

ABSTRACT Spontaneously hypertensive (SH) and 2 kidney 1 clip hypertensive (2k1cH) rats were treated with ig *l*-stepholidine (SPD) 200 mg / (kg · d). Two wk after medication, the average blood pressure (BP) of SH and 2k1cH were 21.3 ± 3.8 and 25.5 ± 3.8 kPa lower than their controls respectively. The concentration of serum prolactin in treated SH and 2k1cH decreased by 48% and 54%, respectively with its decrease of BP. The levels of plasma norepinephrine and epinephrine were increased and the excretion of urinary sodium was reduced or not changed. Since the level of prolactin is a biochemical index of central dopamine receptor (D-2) activity, so these results suggest that the regulation of central dopamine receptors may take part in hypotensive action of ig SPD and the peripheral dopamine receptors are neither agonistic to SPD nor involved in hypotensive action.

KEY WORDS stepholidine; berbines; inbred SHR rats; renovascular hypertension; blood pressure; dopamine; prolactin; norepinephrine; epinephrine

摘要 左旋千金藤立定 (SPD), 200 mg / kg ig 使自发性及两肾一夹型高血压大鼠血压下降。降压同时血清催乳素含量降低, 而血浆去甲肾上腺素及肾上腺素浓度增加, 尿钠排泄减少, 提示 SPD 激动中枢多巴胺受体, 不激动外周多巴胺受体。因此 ig SPD 的降压作用可能涉及中枢多巴胺受体的调控, 与外周多巴胺受体关系不密切。

关键词 千金藤立定; 小檗因类; 近交系自发性高血压大鼠; 肾血管高血压; 血压; 多巴胺; 催乳素; 去甲肾上腺素; 肾上腺素

左旋千金藤立定 (*l*-stepholidine, SPD) 是从千金藤属 (*Stephania*) 植物中分离取得, 化学结构属于四氢原小檗碱同类物 (tetra-hydroprotoberberines, THPB), 药理试验证明 THPB 是新型的多巴胺 (DA) 受体阻滞剂^(1,2)。SPD 是 THPB 的导向物, 在 DA 受体超敏条件下, 它的阻滞作用转化为激动作用⁽¹⁾。近十年来 DA 及其受体与高血压的关系受到重视, 一些 DA 受体激动剂治疗高血压病已取得一定效果^(3,4), 有可能发展为新类型降压药, SPD 在正常血压麻醉犬有显著降压作用⁽⁵⁾, 降压同时外周阻力下降, 但降压与

Received 1989 Sep 20 Accepted 1990 Apr 21
¹ Project supported by National New Drug Foundation No. 1987-B004

DA受体的关系尚未研究。本文在两肾一夹(2 kidney 1 clip, 2k1c)型高血压大鼠和自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)中进一步观察SPD对血压(BP)的影响,并同时测定能反映DA受体功能状态的生化指标,以探讨两者之间可能存在的关系。

MATERIALS AND METHODS

2k1c型高血压大鼠系用Wistar Kyoto大鼠(♂, 2月龄)制备,大鼠于戊巴比妥钠(30mg/kg, ip)麻醉下,分离左肾动脉,嵌置内径0.2mm的银夹(右肾不触及),术后第5wk测量BP 2次, BP高于21.3kPa(140mmHg)之大鼠被选入实验,选用的大鼠体重 $207 \pm SD 20g$, SHR系自日本引进繁殖的第14代大鼠,♂, 4月龄,体重 $276 \pm 29g$,大鼠饲养条件为温度20-27℃,湿度50-70%,光照时间6:00-18:00,大鼠自由取食固定配方的鼠用颗粒饲料,饮用过滤的自来水。

BP测定 灌胃(ig)给药实验中采用CRS-III型大鼠电脑血压心率仪测量清醒大鼠尾动脉收缩压及脉率,每次连续测量数遍,每遍相隔0.5min,取稳定后3遍读数平均数作为一次BP值,多次给药的大鼠在实验前测BP 2次,取 \bar{x} 作为给药前BP,实验开始后,在每周末ig后30-45min测量BP,一次给药实验时,大鼠于ig前及ig后15, 30, 45, 60, 90和120min测量BP,大鼠每次测BP前于40℃预热10-15min, Iv组实验大鼠在戊巴比妥钠麻醉后,经颈动脉插管,通过YS 0.5-II型血压换能器,于SJ-42型生理记录仪描记BP曲线。

尿样及血样的收集 大鼠置于代谢笼内收取24h尿液,在此期间大鼠停喂饲料,但可饮水,在末次给药后45-60min,用断头集血法采集血样,置于试管或肝素抗凝管(含NaHSO₃抗氧化),分离血清或血浆,于-70℃保存待测。

代谢物测定 采用离子选择电极在

Beckman E-2A电解质分析仪上测定尿液或血清中Na⁺和K⁺浓度,用萤光滴定法分别在Corning Chloride Analyzer 925 A和Corning Calcium Analyzer 940 A测定Cl⁻和Ca²⁺,用磷钼酸还原法于波长690μm处在721型分光光度计比色测定磷,用放射免疫分析法测定血清催乳素(prolactin, Pro),药盒购自天津利科生物科技有限公司,敏感度1.1ng/ml,批内变异系数4.8%,用BaS-400型高效液相色谱电化学检测仪测定血浆儿茶酚胺(包括去甲肾上腺素NE,肾上腺素E和DA),二羟苄胺作内标,NE, E和DA标准品(Sigma公司)作外标,血浆样品经氧化铝吸附,过氟酸洗脱后取10μl进样,仪器工作条件:ODS反相色谱柱,5μm,150×4mm,磷酸缓冲液(pH 3.0)作流动相,流速1ml/min,柱温39℃⁽⁶⁾。

SPD由中国科学院上海药物研究所提供,用前溶于H₂SO₄ 0.02mol/L中,然后滴加NaOH稀溶液至pH 5左右,再用蒸馏水稀释至所需浓度,按10ml/kg给大鼠ig,或1ml/kg iv,用不加药的溶液作对照。

RESULTS

对BP的影响

1 2k1c型高血压大鼠ig给药 2k1c型高血压大鼠24只,根据BP和体重分成3组,第1组为对照组,大鼠每天ig对照液,在4wk ig过程中BP稍有上升趋势,由给对照液前的 $27.6 \pm 3.4kPa$ 升至4wk的 $29.3 \pm 2.3kPa$ ($P < 0.05$),第2组大鼠ig SPD 100mg/(kg·d), BP自 $27.7 \pm 3.4kPa$ 升至第1wk末的 $32.0 \pm 2.6kPa$ ($P < 0.05$),以后BP逐周下降,在第4wk末时与第1组大鼠相同,第3组大鼠在前2wk每天一次ig SPD 50mg/kg, BP在第1wk轻度下降($P < 0.05$),继续用药降压作用消失,第3wk起改用每天200mg/kg, BP又缓慢下降,在第4wk末,该组大鼠BP显著低于对照组(分别为 $25.5 \pm$

3.8 和 29.3 ± 2.3 kPa, $P < 0.05$).

2 SHR 单次 ig 给药 SHR 8 只, 同一鼠交叉 ig 服用 SPD 100, 200 mg/kg 及等容量对照液. 每两次给药间隔 2-3 d. 大鼠给对照液后 BP 有上升趋势, 尤以 1 h 内为甚. 给对照液前及后 45 min BP 分别为 28.4 ± 2.7 及 31.5 ± 3.1 kPa ($P < 0.05$). ig SPD 100 mg/kg 抑制了这种 BP 上升趋势, 因此, BP 虽与 ig 前差别不显著, 但与 ig 对照液后相比, 灌药后 15 min 时降低 3.6 ± 4.0 kPa ($P < 0.05$). SPD 200 mg/kg 降压效应更为显著, 在 15 及 30 min 时 BP 比对照组分别低 8.0 ± 5.6 和 7.3 ± 4.0 kPa ($P < 0.05$).

3 SHR 多次 ig 给药 SHR 22 只, 分 3 组. 每天 1 次 ig SPD 100, 200 mg/kg 或对照液. 共 14 d. 对照组在 2 wk 内 BP 未见显著变化. 100 mg/kg 组 d 3 及 d 7 BP 高于给药前 ($P < 0.05$), 但与对照组无显著区别. SPD 200 mg/kg 组无论与给药前还是与对照组相比, BP 均非常显著地下降.

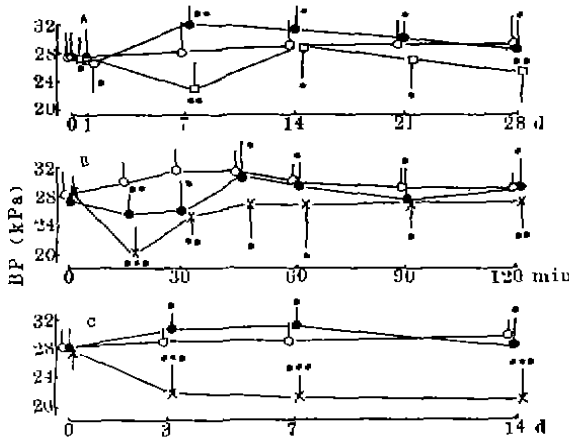


Fig 1. Hypotensive action of *l*-stepholidine (SPD), ig, A) 28 d, in 2 kidney 1 clip hypertensive rats (2k1c), B) once, in spontaneously hypertensive rats (SHR), and C) 14 d, in SHR. Control (O), 100 mg/kg (●), 200 mg/kg (x), 50 (first 14 d) and 200 mg/kg (later 14 d) (□) * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control.

由上可见 SHR 及 2k1c 型高血压大鼠单次或多次 ig SPD 200 mg/kg 确有降压作用.

多次 ig 的对照 SHR 在实验期间脉率 324 ± 47 bpm. ig SPD 100 mg/kg 的 SHR, 脉率自给药前的 324 ± 48 bpm 增至 d 14 的 384 ± 47 bpm, 高于同一时间之对照大鼠 (323 ± 50 bpm, $P < 0.05$). SPD 200 mg/kg 组脉率虽也上升 (328 ± 24 增至 377 ± 71 bpm), 但与对照组无显著差别.

4 SHR iv 给药 SHR 7 只, ♂, 麻醉后经股静脉交叉 iv SPD 375, 750 ng/kg 或对照液. 每次 iv 均待前次 BP 反应恢复后 3-5 min 进行. iv SPD 后降压作用出现迅速, 最大降压反应在 1-2 min 内达到, 维持 7-10 min, iv SPD 前后 BP 以及最大 BP 变化见 Tab 1. SPD 剂量与收缩压, 舒张压, 最大收缩及舒张压变化间的相互关系系数依次为 -0.80 ($P < 0.01$), -0.54 ($P < 0.05$), 0.95 ($P < 0.01$) 和 0.86 ($P < 0.01$).

Tab 1. Effects of iv SPD on blood pressure in SHR. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control.

SPD (ng/kg)	n	Before iv	After iv	Maximal change
Systolic blood pressure (kPa)				
0	7	37.1 ± 5.0	37.5 ± 5.0	0.3 ± 0.5
375	6	$35.1 \pm 3.3^*$	$28.0 \pm 0.8^{**}$	$6.9 \pm 3.3^{***}$
750	7	$36.7 \pm 3.6^*$	$24.9 \pm 4.0^{***}$	$11.7 \pm 2.2^{***}$
Diastolic blood pressure (kPa)				
0	7	30.0 ± 5.7	29.7 ± 6.0	0.3 ± 0.4
375	6	$29.6 \pm 4.8^*$	$24.3 \pm 1.7^{**}$	$5.3 \pm 3.2^{**}$
750	7	$29.5 \pm 4.0^*$	$22.4 \pm 4.3^{***}$	$7.1 \pm 2.4^{***}$

尿及血清电解质变化 2k1c 型高血压大鼠及 SHR 经多次 ig, 在实验结束前留 24 h 尿样. 最后断头取血测定尿和血清电解质, 结果表明 2k1c 型大鼠 ig SPD 200 mg/kg 后 2 wk, 电解质排泄及血清浓度与对照组无显著区别. SPD 100 mg/kg 使尿钾排泄增加 ($P < 0.05$), 血清钠浓度下降 ($P < 0.05$). SHR ig

Tab 2. Effects of ig SPD on excretion and concentration of electrolytes in 2k1c rats and SHR rats. **P*>0.05, ***P*<0.05, ****P*<0.01 vs control.

Model	SPD(mg/kg)	n	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	PO ₄ ³⁻
Excretion (mmol/L)							
2k1c	0	7	0.26±0.18	0.18±0.08	0.32±0.17	0.010±0.005	0.09±0.08
	100	7	0.24±0.05*	0.23±0.09*	0.42±0.06**	0.014±0.005*	0.07±0.04*
	200	6	0.27±0.14*	0.22±0.06*	0.32±0.09*	0.014±0.007*	0.07±0.04*
SHR	0	9	0.36±0.17	0.51±0.26	0.95±0.27	0.010±0.005	0.14±0.06
	100	7	0.20±0.06**	0.50±0.11*	1.07±0.36*	0.014±0.004*	0.14±0.05*
	200	6	0.15±0.06**	0.35±0.08*	0.64±0.12**	0.018±0.008**	0.17±0.06*
Concentration (mmol/L)							
2k1c	0	8	99.6±6.1	140±3.3	6.2±0.8	2.3±1.3	1.7±0.3
	100	8	97.9±5.3*	133±6.7*	5.8±0.3*	2.3±0.3*	1.7±0.2*
	200	8	98.1±5.2*	134±7.5*	5.8±0.6*	2.2±1.4*	1.7±0.2*
SHR	0	9	115±5.0	152±14.4	6.8±1.4	2.0±0.2	2.0±0.3
	100	7	111±4.5*	139±11.0*	5.8±0.9*	2.0±0.2*	1.8±0.3*
	200	6	120±6.3*	133±10.4**	5.1±0.5*	1.9±0.2*	2.2±0.6*

SPD 200 mg/kg 后氯和钾排泄减少 (*P*<0.01, 0.05), 血清钠、钾浓度降低 (*P*<0.05). ig 100 mg/kg 后除尿氯降低外, 其余被测电解质排泄或浓度均未见显著改变.

血清 Pro 变化 未 ig SPD 的 2k1c 型高血压大鼠及 SHR 血清 Pro 浓度分别为 13.3±3.3 及 10.2±4.7 ng/ml. 多次 ig SPD 大鼠血清 Pro 浓度显著低于对照组. 其下降幅度在 2k1c 型大鼠 100, 200 mg/kg 及 SHR 100, 200 mg/kg 分别为 62%, 54% 及 31%, 48%. 除 SHR 100 mg/kg 组外, 均有统计学意义 (*P*<0.05, 0.01).

血浆 CA 的变化 多次给对照液的 SHR 血浆 NE, E 及 DA 浓度分别为 2.2±1.3,

5.4±2.5 及 0.08±0.03 ng/ml. ig SPD 100 或 200 ng/kg 2 wk 后 NE 及 E 浓度按剂量明显地升高. 其回归方程及相关系数为 NE: *Y* = 2.50 *X* + 0.014, *r* = 0.542 (*P*<0.01), E: *Y* = 5.54 *X* + 0.031, *r* = 0.578 (*P*<0.01). SPD 对 DA 含量影响不大.

Tab 4. Effects of ig SPD on plasma catecholamines concentration in SHR. **P*>0.05, ***P*<0.05, ****P*<0.01 vs control.

SPD (mg/kg)	n	Catecholamine (ng/ml)		
		NE	E	DA
0	10	2.3±1.3	5.4±2.7	0.08±0.03
100	8	4.8±2.6**	9.0±3.8**	0.15±0.10*
200	7	5.9±1.9***	11.5±4.9***	0.09±0.05*

Tab 3. Effects of ig SPD on serum concentration of prolactin in 2k1c rats and SHR. Number of rats in parentheses. **P*>0.05, ***P*<0.05, ****P*<0.01 vs control.

SPD (mg/kg)	Prolactin (ng/ml)	
	2k1c	SHR
0	13.3±3.3(8)	10.2±4.7(8)
100	5.1±2.4**(7)	7.0±1.9*(8)
200	6.1±3.0**(7)	5.7±2.0*(7)

DISCUSSION

以往实验及本文均证明麻醉大鼠 iv SPD 低于 1 mg/kg 已产生降压作用⁽⁷⁾. 而 ig SPD 剂量 100 mg/kg 以上才显降压效应. 究其原因除药物代谢动力学问题⁽⁸⁾外, 也可能与两种给药途径降压机理不完全相同有关. 麻醉大鼠 iv SPD 的降压机理以兴奋外周突触前 α₂ 受体为主^(7,9). ig SPD 的降压作用我们认为则可能与中

枢 DA 受体功能的激动有关。其根据是: Pro 分泌主要受中枢 DA 受体的抑制性控制, Pro 浓度的高低是中枢 DA 受体兴奋的主要生化指标^(10, 11)。本文中两种高血压大鼠多次灌服 SPD 后, 血清 Pro 水平显著低于对照组, 因此也标志着中枢 DA 受体为 SPD 所兴奋, 进而, 一些研究已证实各种高血压或正常血压大鼠中枢注射 DA 或 DA 受体激动剂后能通过兴奋中枢 DA 受体而产生降压作用及使 Pro 分泌减少^(12, 13)。在部分高血压病人中也曾观察到 Pro 水平的升高, 用 Bromocriptine 治疗后 BP 及 Pro 均有降低⁽¹⁰⁾。因此 ig SPD 很可能通过中枢 DA 受体而发挥降压作用。我们在标记同位素和其他生理功能试验中亦已证明 SPD 易于通过血脑屏障, 且在脑内与 DA 受体的亲和力比 α 受体强 20 倍以上⁽⁸⁾, 表明 ig SPD 的中枢效应当以 DA 受体为优先, 这些均支持 ig SPD 通过兴奋中枢 DA 受体引起 BP 下降的可能性。外周 DA₁ 受体的兴奋能增加肾脏排钠和产生利尿, 外周 DA₂ 受体的兴奋则抑制交感神经末梢分泌 NE 和 E^(14, 15)。本文中大鼠 ig SPD 后血浆 NE 和 E 浓度升高, 尿钠排泄不增或有减少表明外周 DA₁ 及 DA₂ 受体均未为它明显激动, 因此在其降压作用中不占重要地位。

总之, 本文只是提出中枢 DA 系统的兴奋可能积极参与 ig SPD 的降压, 但并不排除有其它降压机制参与作用。

REFERENCES

1 Jin GZ, Wang XL, Shi WX. Tetrahydroprotoberberine - a new chemical type of antagonist of dopamine receptors. *Sci Sin [B]* 1986; 29 : 527
 2 Shi WX, Chen Y, Jin GZ. Effect of l-stepholidine on rotational behavior in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 222
 3 Caruana MP, Heber M, Brigden G, Raftery EB. Effects of fenoldopam, a specific dopamine receptor agonist, on blood pressure and left ventricular function in systemic hypertension. *Br J*

Clin Pharmacol 1987; 24 : 721
 4 Taylor AA, Fennell WH, Ruud CO, et al. Propylbutyldopamine, mechanism of blood pressure lowering in hypertensive patients. *Hypertension* 1984; 6(2 Part II) : I-40
 5 Zhang ZD, Jin GZ, Xu SX, et al. Effect of l-stepholidine on central nervous and cardiovascular systems. *Acta Pharmacol Sin* 1986; 7 : 522
 6 Eriksson BM, Persson BA. Determination of catecholamines in rat heart tissue and plasma samples by liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr* 1982; 228 : 143
 7 Xiong ZL, Sun Z, Gao WX, Jiang XY. Study of hypotensive action induced by l-stepholidine. *Chin Pharmacol Bull* 1988; 4 : 39
 8 Zhang ZD, Zhou JM, Jin GZ, Zhong X, YANG L. Pharmacokinetics and autoradiography of [³H] or [¹⁴C]stepholidine. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11 : 289
 9 Xiong ZL, Sun Z, Jin GZ, Chen Y. Influence of l-stepholidine on blood pressure and its relation to α -adrenoceptors. *Ibid* 1987; 8 : 497
 10 Saruta T, Kawabe H, Fujimaki M, Nagahama S, Saito I, Kondo K. Prolactin, renin and catecholamines in essential hypertension. *Clin Exp Hypertens(A)* 1983; 5 : 53
 11 Ho KY, Thorner MO. Therapeutic applications of bromocriptine in endocrine and neurological disease. *Drugs* 1988; 36 : 67
 12 Mok ISL, Sim MK. The actions of dopamine on the blood pressure and heart rate of conscious hypertensive rats: evidence for reduced dopaminergic activity in rats of the Japanese strains. *Clin Exp Hypertens (A)* 1987; 9 : 1615
 13 Nagahama S, Chen YF, Oparil S. Mechanism of the depressor effect of bromocriptine in the spontaneously hypertensive rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 228 : 370
 14 Racz K, Kuchel O, Buu NT. Bromocriptine decrease blood pressure of spontaneously hypertensive rats without affecting the adrenomedullary synthesis of catecholamines. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8 : 676
 15 Yashimura M, Kambara S, Takehashi H, Okabayashi H, Ijichi H. Involvement of dopamine in development of hypertension in spontaneously hypertensive rats: effect of carbidopa, inhibitor of peripheral dopa decarboxylase. *Clin Exp Hypertens (A)* 1987; 9 : 1585

1797105