

**关键词** 甲硫氨酸脑啡肽; 肿瘤坏死因子; 自然杀伤细胞; 白细胞介素-12; 基因表达

NK细胞

**目的:** 研究甲硫氨酸脑啡肽对机体免疫监督功能的影响。 **方法:** 测定 met-enk 对 NK 活性, 抗癌细胞因子如: TNF- $\alpha$  和 IL-12 的产生和基因表达

的影响。 **结果:** Met-enk ( $1 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 能增强 NK 细胞活性。 体外, 体内均能刺激 TNF- $\alpha$  的产生。 ip 0.1 及  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \times 6 \text{ d}$  可增强 IL-12 p35 mRNA 的表达。 **结论:** Met-enk 上调抗癌细胞因子及 NK 活性, 在癌症监督中起一定的作用。

R7303

185-189

### 氯代斯阔任对多巴胺受体的作用<sup>1</sup>

陈丽娟, 奚勇, 庞大伟, 周启建, 金国章 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

R971 R966

**Effect of ( $\pm$ ) 12-chloroscoulerine on brain dopamine receptors**

CHEN Li-Juan, XI Yong, PANG Da-Wei, ZHOU Qi-Ting, JIN Guo-Zhang  
(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

**KEY WORDS** ( $\pm$ ) 12-chloroscoulerine; dopamine receptors; (-) stepholidine; catalepsy; stereotyping

**AIM:** To assess potencies of tetrahydroprotoberberines (THPB) and hydrobenzyltetrahydroisoquinolines (HBTI) on DA receptors. **METHODS:** The receptor binding assay with calf striatum to D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors, and the animal behavior tests were used. **RESULTS:** ( $\pm$ ) 12-Chloroscoulerine (CSL) was the most potent one among the THPB and HBTI. The affinities of CSL to D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors were 13 and 51 nmol·L<sup>-1</sup>, respectively. In rats, CSL showed an antagonistic effect on the stereotypy and induced catalepsy. In the 6-OHDA lesioned rats, however, CSL exerted the agonistic effect to DA receptors. **CONCLUSION:** CSL had dual actions to DA receptors and its effects were similar to that of (-)stepholidine.

**关键词** ( $\pm$ )12-氯代斯阔任; 多巴胺受体; 左旋千金藤立定; 强直性木僵; 刻板

受体

**目的:** 比较四氢原小檗碱同类物(THPB)和氢化苄基-四氢异喹啉类(HBTI)两类化合物对 DA 受体的作用强度, 从而找出对 DA 受体作用更有效的化合物。 **方法:** 用小牛纹状体膜蛋白对 D<sub>1</sub> 和 D<sub>2</sub> 受体进行放射受体结合分析并进行大鼠行为实验。 **结果:** ( $\pm$ )12-氯代斯阔任(CSL)对 D<sub>1</sub> 和 D<sub>2</sub> 受体的亲和力分别为 13 和 51 nmol·L<sup>-1</sup>, 与先导化合物左旋千金藤立定[(-)stepholidine, SPD]在同一水平, 动物行为实验表明它对 DA 受体有阻滞作用, 但在超敏条件下, 出现激动作用, 这些特点与 SPD 的作用类似。 **结论:** CSL 是目前 THPB 中对 DA 受体作用最强者, 与 SPD 类似是对 DA 受体阻滞剂兼有激动作用。

左旋千金藤立定 (SPD) 是四氢原小檗碱同类物 (THPB) 的先导化合物, 经生化药理, 神经药理, 电生理等十多种试验, 证明它为多巴胺 (DA) 受体阻滞剂<sup>[1-4]</sup> 并优先作用于 D<sub>1</sub> 受体<sup>[2]</sup>。用 6-羟基多巴胺 (6-OHDA) 损毁大鼠单侧黑质, 使 DA 受体超敏, SPD 则引起旋转行为的激动作用<sup>[5-7]</sup>。这种特性很引人注意, 因为在 DA 受体阻滞剂中, 尚未见报道这种现象, 颇有研究的价值。SPD 已用于临床治疗血管性头痛和偏头痛, 多动症等疾病<sup>[8]</sup>, 并有降低眼内压作用<sup>[9]</sup>。为了找到更有效的化合物, 化学合成了 THPB 和 HBTI 化合物,

<sup>1</sup> Supported by the National Natural Science Foundation of China, No 39130091 and the State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, No K016. Received 1995-04-11 Accepted 1995-06-12

其中发现 CSL 对 DA 受体的作用最强, 故本文着重研究它 DA 受体的作用及特性.

**MATERIALS**

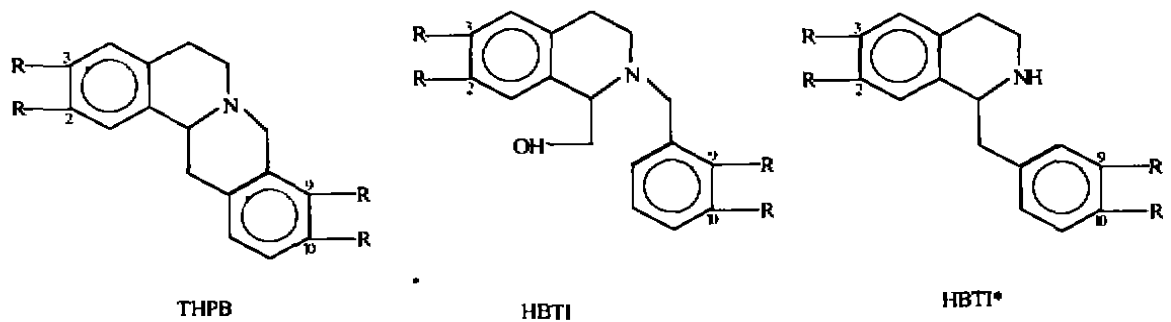
**试剂和化合物** [<sup>3</sup>H]Spiperone (592 TBq·mol<sup>-1</sup>) 和 [<sup>3</sup>H]Sch 23390 (3071 TBq·mol<sup>-1</sup>), 均为 Radiochemical Centre, Amersham 产品. Sch 23390 为 RBI 产品, 氟哌啶醇 (haloperidol, Hal) 为海普制药厂产品, 去水吗啡 (apomorphine, Apo) 为沈阳制药厂产品, 玻璃纤维滤膜红光 49 型, 为上海红光造纸厂产品. 拟测试化合物有 THPB 和 HBTI (Tab 1), 由本所合成室提供. SPD 由植化室提供.

**METHODS AND RESULTS**

**对 D<sub>2</sub> 受体放射结合试验受体膜蛋白的制备**  
取小牛纹状体用 1:50 (v/w) 冰冷的 Tris-HCl 缓冲液 50 mmol·L<sup>-1</sup> (pH 7.7) 匀浆, 经 4 °C, 40 000 × g 10 min, 离心 2 次, 将第二次的沉淀物悬浮于 Tris-离子缓冲液内 (含 NaCl 120, KCl 5, CaCl<sub>2</sub> 1, MgCl<sub>2</sub> 1 mmol·L<sup>-1</sup>, 0.1 % 抗坏血酸和帕吉林 (pargyline) 10 mmol·L<sup>-1</sup>, pH 7.1) 中, 膜蛋白分装保存于 -25 °C 备用 2-3 wk.

[<sup>3</sup>H]Spiperone 与 D<sub>2</sub> 受体结合试验 参照文

Tab 1. Comparison between THPB and HBTI on activities to DA receptors.



Compound	R					mp (°C)	% of inhibition ([compound] = 0.1 mmol·L <sup>-1</sup> )		K <sub>i</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	
	2	3	9	10	12		D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>
Haloperidol										0.14
Sch 23390									0.28	
Stepholidine	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	/	161-162	69	81	8.6	80
(±)-12-Cl-scoulerine	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	136-138	77	76.7	13	51
THPB-9	φ-CH <sub>2</sub> O	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	165-166	0	67.9	/	1 460
THPB-10	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	182-184	43	73	/	2 200
THPB-11	φ-CH <sub>2</sub> O	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Br	158-159	0	64.6	/	255
THPB-12	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Br	191-193	0	57.7	/	69 000
HBTI-2	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	OH	/	157-160	0	3	/	/
HBTI-3	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Cl	OH	/	148	6	24	/	/
HBTI-4	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	OCH <sub>3</sub>	/	128	14	0	/	/
HBTI-5	OCH <sub>3</sub>	OH	Cl	OCH <sub>3</sub>	/	123-125	0	14	/	/
HBTI-7	OH	OCH <sub>3</sub>	Br	OH	/	liquid	0	0	/	/
HBTI-8	OH	OCH <sub>3</sub>	Br	OCH <sub>3</sub>	/	175-176	13	16	/	/
* HBTI-21	OCH <sub>3</sub>	OH	-O-CH <sub>2</sub> -O-		Br	226-227	0	41	/	/
* HBTI-22	OCH <sub>3</sub>	φ-CH <sub>2</sub> O	-O-CH <sub>2</sub> -O-		Br	189-191	8	66	/	/
* HBTI-23	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	/	152-154	0	10	/	/
* HBTI-24	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	/	171-173	0	10	/	/

献<sup>[10]</sup>, 用 LKB 型液体闪烁仪(效率 60%)测其放射强度(dpm).  $[^3\text{H}]$ Spiperone 与  $\text{D}_2$  受体特异性结合曲线平台约在  $1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 用 Scatchard 方法<sup>[11]</sup>计算放射配基与受体结合反应达平衡时的离解常数( $K_d$  值)为  $0.48 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 受体密度( $B_{\text{max}}$ )为  $126 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}/\text{g protein}$ . Hill 系数(nH)为 0.99. 表明放射配基以单分子形式与均匀的  $\text{D}_2$  受体结合(Fig 1).

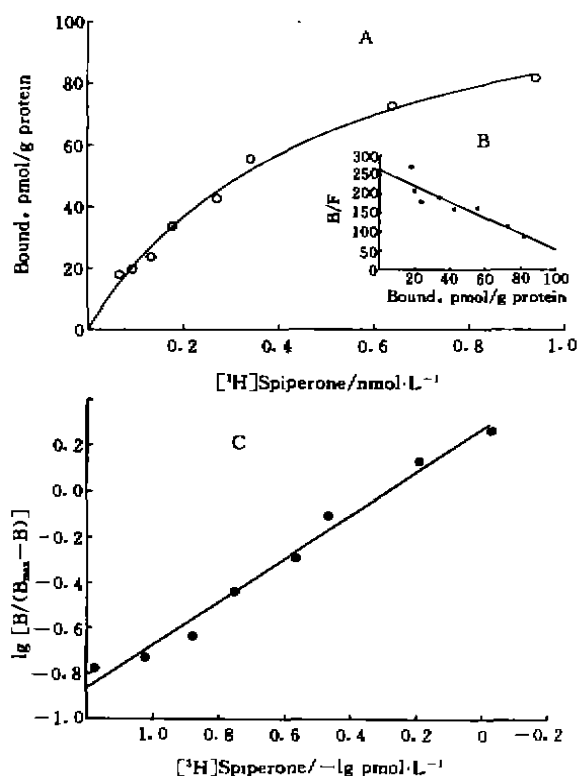


Fig 1. Binding of  $[^3\text{H}]$ spiperone to  $\text{D}_2$  sites on membranes from calf corpus striatum. A. Specific binding of  $[^3\text{H}]$ spiperone; B. Scatchard plots,  $B/F$ , ( $\text{pmol}/\text{g protein}$ )/( $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C. Hill plots.

筛选试验时, 测试物浓度分别为  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 计算它们竞争抑制  $[^3\text{H}]$ spiperone 与  $\text{D}_2$  受体结合的百分率(I%), I% 高于 50% 或 30% 时, 再进行多点( $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  -  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )的竞争抑制结合试验, 求出  $K_i$  值, 每个化合物重复 3 次, 用对数回归方法计算测试物抑制  $[^3\text{H}]$ spiperone 结合达 50% 所需浓度( $\text{IC}_{50}$ ), 再根据  $K_i = \text{IC}_{50}/(1 + L/K_d)$ <sup>[11]</sup> 公式, 计算  $K_i$  值即为测试物对  $\text{D}_2$  受体的亲和力. 它们对

$\text{D}_2$  受体的 I% 和  $K_i$  值分别列入 Tab 1.

**对  $\text{D}_1$  受体放射结合试验**  $\text{D}_1$  受体膜蛋白制备程序同前述( $\text{D}_2$ ). 第二次离心的沉淀物悬浮于咪唑缓冲液  $16.6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (内含茶碱  $16.67$ , edetic acid  $1$  和  $\text{MgSO}_4$   $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  pH 7.4), 保存于  $-25^\circ\text{C}$  备用 3 wk.

$[^3\text{H}]$ Sch 23390 对  $\text{D}_1$  受体结合试验参照文献<sup>[2,12]</sup>,  $K_d$  值为  $1.65 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 最大结合密度( $B_{\text{max}}$ )为  $907.8 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}/\text{g protein}$ , nH 为 0.91.  $[^3\text{H}]$ Sch 23390 与  $\text{D}_1$  受体特异性结合曲线平台约在  $10 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

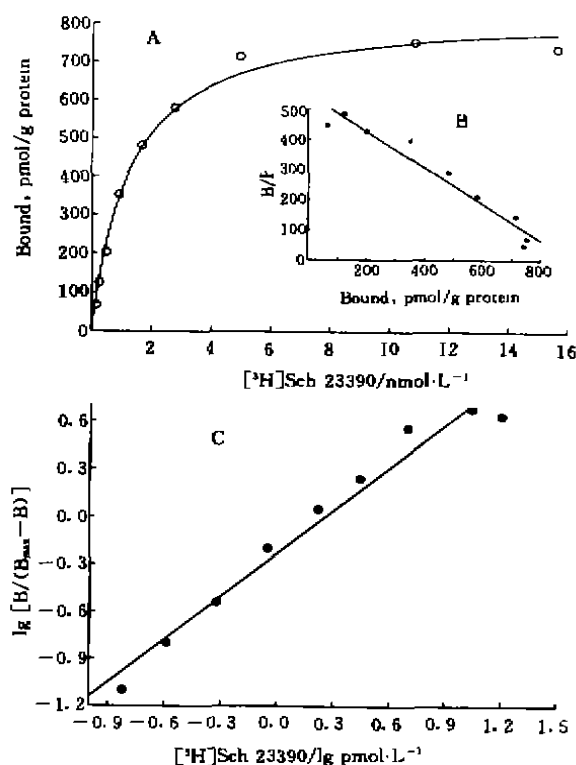


Fig 2. Binding of  $[^3\text{H}]$ Sch 23390 to  $\text{D}_1$  sites on membranes from calf corpus striatum. A. Specific binding of  $[^3\text{H}]$ Sch 23390; B. Scatchard plots,  $B/F$ , ( $\text{pmol}/\text{g protein}$ )/( $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C. Hill plots.

测试物用  $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 观察它们抑制  $[^3\text{H}]$ Sch 23390 与  $\text{D}_1$  受体结合百分率(I%). 发现 THPB 和 HBTI 两类化合物中 CSL 的 I% 较高(77% 和 61%), 其他同类物对  $\text{D}_1$  受体几乎都无亲和力(Tab 1). CSL 与  $\text{D}_1$  受体亲和力( $K_i$ )为  $13 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , SPD 的  $K_i$  为  $8.6 \text{ nmol}$

·L<sup>-1</sup>两者作用强度在同等水平(Tab 1)。

**CSL对DA受体功能的影响** 上述的受体结合试验证明 CSL对DA受体亲和力最强,因此本文进一步研究它对DA受体功能的作用。

**CSL使大鼠产生僵住症** SD大鼠,♂,体重230±s 28 g,大鼠ip CSL 5和10 mg·kg<sup>-1</sup>后,将大鼠垂直悬吊在铁丝网上,药后3-5 min出现双前肢抓住铁丝网,头与身体不动的木僵状态,维持这种姿势不动的时间即为僵住时间<sup>[13]</sup>。5 mg·kg<sup>-1</sup>时其僵住症时间为3.2±3.9 min,10 mg·kg<sup>-1</sup>时为8±4 min,在僵住症期间触摸大鼠可发出叫声或眨眼动作,虽然CSL所致僵住作用较弱并且时间短,但仍为DA受体阻滞剂作用特点。

**CSL拮抗Apo引起的大鼠刻板活动** SD大鼠,♂,体重210±30 g,实验前将大鼠放入40 cm×25 cm×25 cm铁丝笼内适应环境20 min,大鼠sc Apo (5 mg·kg<sup>-1</sup>) 15 min后,再ip CSL (20, 40 mg·kg<sup>-1</sup>),记录ip Apo 15 min内,大鼠出现嗅、添、咬、啃等刻板活动和ip CSL后30 min内活动,并进行评分<sup>[4]</sup>,结果CSL 20 mg·kg<sup>-1</sup>时已使大鼠刻板活动明显减弱,40 mg·kg<sup>-1</sup>时拮抗刻板活动更强,为DA受体阻滞剂的作用特点(Tab 2)。

Tab 2. Antagonistic effect of CSL on apomorphine-induced stereotypy in rats. n = 6. \*P > 0.05, †P < 0.01 vs Apo.

Drugs	Dose/mg·kg <sup>-1</sup>	Score $\bar{x} \pm s$
Apo	5	3.0 ± 0.6
Apo + Saline		3.3 ± 0.5*
Apo	5	3.5 ± 0.6
Apo + CSL	20	1.5 ± 1.1†
Apo	5	3.0 ± 0.6
Apo + CSL	40	0.8 ± 0.7†

**CSL对6-OHDA损毁大鼠旋转行为的激动作用** 制备6-OHDA损毁大鼠单侧黑质DA神经元的旋转模型,按文献<sup>[5,7]</sup>方法,ip CSL (6 mg·kg<sup>-1</sup>)后,记录30 min内动物的旋转数。于给药后3-5 min,大鼠出现向健侧旋转,30 min内平均转数为283±146 (n = 6),激动剂Apo 0.2 mg·kg<sup>-1</sup>引起大鼠向健侧旋转数为247±63 (n = 6),而生理盐水对照液未引起大鼠任何方向的旋转,表明CSL的作用与Apo相类似(Tab 3),有激动作用。

Tab 3. Comparison between SPD and CSL to DA receptor function.

Test	SPD	CSL
Affinities of radioreceptors binding assay		
D <sub>1</sub> K <sub>i</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	8.6	13
D <sub>2</sub> K <sub>i</sub> /nmol·L <sup>-1</sup>	80	51
Antagonism to the stereotypy induced by Apo		
Dose/mg·kg <sup>-1</sup>	15	20
Induced catalepsy		
Dose/mg·kg <sup>-1</sup>	10	10
Induced the rotation in 6-OHDA lesioned rats		
Dose/mg·kg <sup>-1</sup>	5	6

## DISCUSSION

在THPB和HBTI两类化合物中,CSL对DA受体的作用最强,与THPB先导化合物SPD作用强度在同一水平上。CSL使大鼠产生僵住症,能拮抗Apo引起的大鼠刻板活动,表明其作用性质与先导化合物SPD类似,均为DA受体拮抗剂的作用特性;而在6-OHDA损毁大鼠的旋转试验中,DA受体在超敏条件下,使大鼠出现向健侧旋转也有与SPD作用类似的激动作用(Tab 3),所以,CSL对DA受体有激动作用,CSL和SPD均有双重作用特性(dual action)。这与两者的结构相似有密切联系,因为它们都为双羟基-THPB,其中一个羟基都在C<sub>2</sub>上,这是有效作用的重要部位。另一个羟基的位置不同,CSL是在C<sub>9</sub>上,SPD是在C<sub>10</sub>上,这都是有效的结构要素<sup>[14]</sup>。本文证明外消旋CSL的作用强度与左旋SPD相似,推测左旋CSL作用可能比左旋SPD要强。由于SPD很难化学合成,相比之下,CSL可以化学合成,有利于发展成新药。

THPB 9, 10, 11和12只含一个羟基,而不在C<sub>2</sub>上,对DA受体的作用明显减弱,由此证明单羟基THPB对DA受体的作用明显弱于双羟基THPB,这与以前工作<sup>[2]</sup>相一致。把THPB母核开环后成为HBTI化合物。它们对D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>受体几乎丧失亲和力,虽然异噻啉环仍然保留,显然不是对DA受体结合作用最佳的化学结构。

## REFERENCES

- 1 Jin GZ. (-)-Tetrahydropalmatine and its analogues as new

- dopamine receptor antagonists.  
Trends Pharmacol Sci 1987; 8: 81-2.
- 2 Xu SX, Yu LP, Han YR, Chen Y, Jin GZ. Effect of tetrahydroprotoberberines on dopamine receptor subtypes in brain. Acta Pharmacol Sin 1989; 10: 104-10.
  - 3 Huang KX, Jin GZ. Blockaded effect of tetrahydroprotoberberine on dopamine receptor. Sci Sin (B) 1992; 35: 688-96.
  - 4 Wang XL, Jin GZ, Yu LP, Li JH. Effect of tetrahydroberberine on blockade of pre- and postsynaptic dopamine receptors. Acta Pharmacol Sin 1982; 3: 73-7.
  - 5 Shi WX, Chen Y, Jin GZ. Effect of *l*-stepholidine on rotational behavior in rats. Acta Pharmacol Sin 1984; 5: 222-5.
  - 6 Jin GZ, Wang XL, Shi WX. Tetrahydroprotoberberine — A new chemical type of antagonist of dopamine receptors. Sci Sin (B) 1986; 29: 1054-64.
  - 7 Huang KX, Sun BC, Jin GZ. (-)-Stepholidine: a dopamine receptor antagonist shows agonistic effect on rotational behavior in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. Acta Pharmacol Sin 1992; 13: 17-22.
  - 8 Le WD, Zhou XD, Wang WJ, Zhang YD, Yu JZ, Su QG, et al. Clinical study of (-)-SPD, a new dopamine receptors blocker, on vascular headache. Chin J Intern Med 1987; 26: 681-4.
  - 9 Xia XP, Chen BD, Sun Z, Jin GZ. Ocular hypotensive action of (-)-stepholidine. Acta Pharmacol Sin 1990; 11: 137-40.
  - 10 Creese I, Schneider R, Snyder SH. <sup>3</sup>H-spiroperidol labels dopamine receptors in pituitary and brain. Eur J Pharmacol 1977; 46: 377-81.
  - 11 Bennett JP Jr. Methods in binding studies. In: Yamamura HI, Enna SJ, Kuhar MJ, editors. Neurotransmitter receptor binding. New York: Raven Press, 1978: 57-90.
  - 12 Billard W, Ruperto V, Crosby G, Iorio LC, Barnett A. Characterization of the binding of <sup>3</sup>H-SCH23390, a selective D-1 receptor antagonist ligand, in rat striatum. Life Sci 1984; 35: 1885-93.
  - 13 Wang XL, Hong GX, Jin GZ. Relevance of dopaminergic system to the catalepsy induced by tetrahydroberberine. Acta Pharmacol Sin 1981; 2: 230-4.
  - 14 Xuan JC, Lin GD, Jin GZ, Chen Y. Relevance of stereo and quantum chemistry of four tetrahydroprotoberberines to their effects on dopamine receptors. Acta Pharmacol Sin 1988; 9: 197-205.

-----189-192-----

## 阿司匹林, 硝苯地平单用和合用对大鼠肠系膜微循环的影响<sup>1</sup>

宋益民<sup>2</sup>, 覃建民<sup>2</sup>, 李增晔, 石山 (包头医学院心血管研究室, 包头 014010, 中国)

### Effects of aspirin and nifedipine alone or in combination on mesenteric microcirculation of rats<sup>1</sup>

SONG Yi-Min<sup>2</sup>, QIN Jian-Min, LI Zeng-Xi, SHI Shan (Cardiovascular Research Laboratory, Baotou Medical College, Baotou 014010, China)

**KEY WORDS** aspirin; nifedipine; microcirculation; blood flow velocity; combination drug therapy

**AIM:** To study the effects of the combination of aspirin (Asp) and nifedipine (Nif) on mesenteric microcirculation of rats. **METHODS:** Acute microcirculation disturbance (AMD) was produced by high molecular weight dextran ( $M_r$  480 000, 360 mg · kg<sup>-1</sup> iv). Arteriole and venule blood flow velocity

and diameter (ABFV, VBFV, AD, VD) and blood flow state (BFS) were observed by intravital microcirculation method. **RESULTS:** Asp 2.5, 5 mg · kg<sup>-1</sup>, Nif 0.05, 0.1 mg · kg<sup>-1</sup>, Asp + Nif (1 + 0.025), (2.5 + 0.05) mg · kg<sup>-1</sup>, iv had the significant increase of 11.1 %, 31.3 %, 18.5 %, 19.3 %, 30.5 %, 39.8 % of ABFV and 12.5 %, 25.7 %, 12.6 %, 15.2 %, 29.6 %, 36.1 % of VBFV respectively, the marked improvement of BFS, and the distinctive increase of 4.3 %, 17.9 %, 35.9 %, 39.7 %, 15.2 %, 42.8 % of AD and 2.2 %, 4.2 %, 26.2 %, 27.4 %, 3.4 %, 28.9 % of VD separately, and got a raise in the number of capillaries. Asp + Nif (1 + 0.025), 2.5 + 0.05) mg · kg<sup>-1</sup> iv could reverse AMD. **CONCLUSION:** Asp was superior to Nif in the increase of BFV, but Nif was superior to Asp in expansion of blood vessel. Asp in combination with Nif produced marked synergistic action and protection against AMD.

<sup>1</sup> Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 38960058.

<sup>2</sup> Department of Pharmacology, Weifang Medical College, Weifang 261042, China.