

维替新拉亭降压作用的机理

田宝鸿、曾贵云 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050)

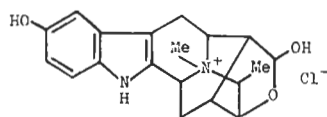
提要 iv 维替新拉亭(Vtc) 对交感和副交感神经节均有明显阻断作用, ED_{50} 分别为 1.03 和 0.80 mg/kg. 用放射配体结合测定法证明 Vtc 对大鼠脑皮层细胞膜 α_1 和 α_2 受体有亲和力, K_i 值分别为 0.22 和 0.11

$\mu\text{mol/L}$. 离体肛尾肌、输精管实验表明 Vtc 对 α_1 和 α_2 受体均有阻断作用. 说明 Vtc 是兼有神经节和 α 受体阻断作用的新型降压药物.

关键词 维替新拉亭; 六甲季铵; 神经节阻断剂; 放射配位体测定; 肾上腺素能 α 受体阻断剂; 肛尾肌; 输精管

1986年4月19日收稿 1987年6月15日接受

萝芙木 *Rauwolfia verticillata*(Lour.)Baill. 分布于我国的广东、广西和云南等地, 其根中含有二十多种生物碱, 总生物碱(降压灵)已广泛用于临床。我所植化室从中国萝芙木提取降压灵的母液中分离出一含量较高的生物碱, 最初定名为萝芙木中强碱 II 号, 后证明是一新生物碱, 林茂命名为维替新拉亭 (verticillatine, Vtc)⁽¹⁾。我们观察到 Vtc 对正常血压和高血压动物均有较强和快速的降压作用。高血压病人在 im 和 iv 后也有明显降压效果, 不良反应甚微⁽²⁾。本工作研究了 Vtc 的降压作用机理。



Verticillatine

材料和方法

药品 Vtc 为我所植化室林茂提供, 白色结晶, 分子量 376.5。六甲双铵 (hexamethonium, C₆, 德国 E Merck 公司), 重酒石酸去甲肾上腺素 (NE, 天津市和平制药厂), 氯化乙酰胆碱 (ACh, 上海试剂三厂), 肾上腺素 (E, 北京制药厂), 五羟色胺 (5-HT, 瑞士 Fluka AG, Buchs SG 公司), 哌唑嗪 (prazosin) 和可乐定 (clonidine) 为北京制药工业研究所惠赠, 烯丙咯尔 (alprenolol, Alp) 和育亨宾 (yohimbine, 美国 Sigma 公司产品)。[³H]prazosin (777 GBq/mmol), [³H]DHA (1887 GBq/mmol), [³H] clonidine (888 GBq/mmol) 均为英国 Amersham 公司产品。

动物 除北京鸭购自北京禽类加工厂外, 其余均由中国医学科学院动物中心供给。

猫, 体重 $2.7 \pm SD 0.7$ kg ♀ ♂ 不拘, Wistar 大鼠体重 231 ± 18 g, ♀。均 ip 乌拉坦 $1.0-1.5$ g/kg 麻醉。股动脉插管至腹主动脉 (猫) 或直接从腹主动脉插管 (大鼠), 另一端与压力换能器 (0.5 MPU) 相连测定主动脉平均血压 (MAP)。

给药方法 椎动脉给药: 在麻醉猫右侧颈下部切口, 暴露锁骨下动脉和椎动脉, 用细聚乙烯管从锁骨下动脉插入至椎动脉分支处 (其它的分支均结扎)。给药时间动脉夹暂时阻断锁骨下动脉血流, 在 45 s 内恒速注入药液 0.2 ml 和冲洗插管的 NS 0.5 ml。

侧脑室给药: 沿麻醉大鼠头盖骨矢状线切开, 在冠状缝后 1.5-2.0 mm 矢状线左侧 1.2-2.0 mm 处钻孔, 将头皮针插入侧脑室, 用微量注射器注入药物 20 μ l。

神经节阻断实验⁽³⁾ 分离麻醉猫的左侧颈上交感神经节和节后纤维及右侧迷走神经, 在左瞬膜边缘中央软骨上缝线, 将线与力位移换能器 (TB-611 T) 相连, 瞬膜初始张力调到 3-5 g, 瞬膜收缩记录在 RM-86 型生理记录仪上, 刺激电极由双铂金电极组成, 与输出方波电刺激器相连。电刺激参数: 交感神经节前、节后纤维 3-5 V, 迷走神经节前纤维 7-10 V, 频率 8-16 Hz, 脉宽 1-3 ms, 刺激 5 s, 按顺序刺激交感神经节前、节后、迷走神经节前纤维和 iv ACh, 两次刺激间隔为 2 min, 重复两次对照刺激后, iv 所试药物, 当血压下降到最低时重复上述刺激, 由不同剂量抑制瞬膜收缩幅度% 和剂量对数值作直线回归方程, 计算出药物抑制瞬膜收缩 50% 的剂量 (阻断交感神经节的 ED₅₀)。同样计算给药后抑制刺激迷走神经外周端引起心率变化 50% 的剂量 (阻断副交感神经节的 ED₅₀)。

放射配体结合测定法 制备大鼠脑皮层细胞膜⁽⁴⁾和鸭红细胞膜⁽⁵⁾。反应管中加入 30 μ l [³H]prazosin 或 [³H]clonidine, 终浓度分别为 0.2 和 2 nmol/L, 加入药物 (Vtc, prazosin, clonidine) 100 或 200 μ l, 大鼠脑皮层膜蛋白液及缓冲液, 反应总容量 1 ml 或 2 ml, 在 25°C 温孵 60 min ([³H]prazosin) 或 30 min ([³H]clonidine)。用 5 ml 冷缓冲液终止反应, 倒入铺有玻璃纤维滤膜的抽滤器内, 真空抽滤用 5 ml 冷缓冲液重复冲洗滤器和滤膜三次。滤膜置 80°C 烤 10 min, 用 Beckman 液体闪烁测定仪测

定滤膜上的放射强度,以存在 prazosin 或 clonidine $1 \mu\text{mol/L}$ 的放射配体结合量为非特异结合量,画出竞争曲线,计算药物取代放射配体与膜受体特异结合 50% 的浓度 (IC_{50}) 和表观离解常数 (K_i)。β 受体结合测定法与上述相似,在试管内加入 [^3H]DHA (终浓度 2 nmol/L) 不同浓度的 Alp 或 Vtc $100 \mu\text{l}$, 鸭红细胞膜 $850 \mu\text{l}$, 反应总容量 1 ml , 于 25°C 水浴中温孵 15 min , 以 Alp $1 \mu\text{mol/L}$ 存在时的 [^3H]DHA 结合量为非特异结合量。

离体标本制备 制备大鼠肛尾肌⁽⁴⁾、输精管⁽⁴⁾、右心房⁽⁶⁾和兔胸主动脉条⁽⁷⁾。悬挂在 10 ml Krebs 液浴槽中,一端固定在通气钩上,另一端与力位移换能器相连,用台式平衡记录仪记录收缩幅度。在大鼠输精管两端安置两个铂金电极环,场刺激是方波脉冲,电压 30 V , 频率 0.1 Hz , 脉宽 3 ms , 上述制备的静止负荷为 1 g 。通以 $95\% \text{ O}_2 + 5\% \text{ CO}_2$, 温度 37°C 或 32°C (大鼠右心房制备), 每 $10\text{--}15 \text{ min}$ 换液一次,平衡 $30\text{--}60 \text{ min}$ 开始实验,在给所试药物前后,分别制作 NE 引起肛尾肌或血管条的收缩、clonidine 抑制场刺激引起的输精管收缩和异丙肾上腺素引起的右心房自律性加快的累积量-效曲线,然后计算 pA_2 值。

结 果

对血管运动中枢的影响

1. 推动脉给药 (ia) 与 iv 给药降压作用的

比较 给麻醉猫 ia Vtc $0.1, 0.5 \text{ mg/kg}$ 后, 血压分别下降 9% 和 37% , iv 后血压分别下降 20% 和 45% (表 1)。ia 的降压效力比 iv 弱 ($p < 0.01$)。C₆ 两种途径给药的降压作用相似, clonidine ia $5 \mu\text{g/kg}$ 后血压降低 10% ($p < 0.05$), 同剂量 iv 出现升压反应。

Tab 1. Effect of verticillatine on mean arterial pressure and heart rate by intravertebral artery injection (ia) or iv in 5 anesthetized cats. $\bar{x} \pm \text{SD}$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs before.

Dosage mg/kg	Route	Before	After	Fall %
Mean arterial pressure (kPa)				
0.1	ia	12.1 ± 1.6	10.9 ± 1.7	9***
	iv	11.5 ± 1.6	9.1 ± 1.4	20***
0.5	ia	11.7 ± 1.7	7.5 ± 1.8	37***
	iv	11.6 ± 0.8	6.4 ± 0.5	45***
Heart rate (bpm)				
0.1	ia	178 ± 27	176 ± 28	1*
	iv	177 ± 23	174 ± 25	2*
0.5	ia	171 ± 30	150 ± 22	13**
	iv	161 ± 32	154 ± 15	8**

2. 侧脑室给药 (icv) 对血压的影响 麻醉大鼠 10 只, icv Vtc 0.2 mg/kg 后, $1\text{--}2 \text{ min}$ 出现升压作用, $5\text{--}10 \text{ min}$ 达最大, 平均压由 10.5 kPa (79 mm Hg) 升高到 12 kPa (92 mm Hg), 升高了 14% , 给药后 $20\text{--}30 \text{ min}$ 血压仍比给药前高 $0.4\text{--}0.8 \text{ kPa}$ ($3\text{--}6 \text{ mm Hg}$)。C₆ icv 0.2 mg/kg 后也有升高作用, 将 clonidine ($5\text{--}10 \mu\text{g/kg}$) 注入大鼠侧脑室, 血压降低约 10% 。

上述结果表明 Vtc 和 C₆ 的降压作用不是

Tab 2. Effects of iv verticillatine (Vtc) and hexamethonium (C₆) on superior cervical sympathetic ganglions in anesthetized cats. Nictating membrane contractions induced by stimulation of pre- or post-ganglionic nerve. $\bar{x} \pm \text{SD}$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Drug	Dosage (mg/kg)	Preganglionic nerve			Postganglionic nerve	
		Control (g)	Inhibition %	ED ₅₀	Control (g)	Inhibition %
Vtc (n=8)	0.5	3.2	$16 \pm 13^{**}$	1.03	3.2	$16 \pm 28^*$
	1.0	3.5	$52 \pm 29^{***}$		3.6	$16 \pm 16^*$
	2.0	2.6	$79 \pm 18^{***}$		3.4	$32 \pm 26^{***}$
C ₆ (n=3)	0.5	5.5	$22 \pm 19^*$	1.17	5.0	$14 \pm 12^*$
	1.0	4.6	$42 \pm 24^*$		5.1	$7 \pm 8^*$
	2.0	4.3	$70 \pm 16^{**}$		5.1	$6 \pm 25^*$

Tab 3. Effects of Vtc and C₆ (iv) on vagal parasympathetic ganglion in anesthetized cats. $\bar{x} \pm SD$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

Drug	Dosage (mg/kg)	Stimulation of peripheral vagal nerve				After ACh	
		Mean arterial pressure		Heart rate		Mean arterial pressure	
		Control (kPa)	Inhibition %	Control (bpm)	Inhibition %	Control (kPa)	Inhibition %
Vtc (n=7)	0.5	-3.6±0.8	78±30***	-90±15	32±24**	-6.9±0.7	-2±2*
	1.0	-3.7±0.8	85±20***	-103±16	56±29**	-7.3±0.8	3±4*
	2.0	4.3±0.9	100***	-100±15	92±9***	-7.5±0.7	10±6*
C ₆ (n=3)	0.5	-2.7±1.5	0±20*	-127±11	32±17*	-5.7±1.9	17±26*
	1.0	-2.4±1.5	36±17*	-99±13	40±21*	-6.9±1.3	-4±4*
	2.0	-3.5±1.5	27±5**	-92±13	45±6***	-7.6±2.3	2±2*

通过作用于血管运动中枢。

对神经节的阻断作用 麻醉猫 iv Vtc 0.5-2.0 mg/kg 后, 在引起血压下降和心率减慢同时, 抑制电刺激颈上交感神经节前纤维引起的瞬膜收缩和刺激迷走神经外周端引起的血压和心率的改变, 作用随剂量增加而增强。Vtc 对于刺激节后交感神经纤维引起的瞬膜收缩有轻度降低作用, 对于 iv ACh 引起的血压降低没有影响(表 2, 3)。表明 Vtc 对交感神经节和副交感神经节均有阻断作用, 阻断交感神经节和副交感神经节的 ED₅₀ 分别为 1.03, 0.80 mg/kg, C₆ 阻断上颈交感神经节的 ED₅₀ 是 1.17 mg/kg, 2.0 mg/kg 时抑制迷走副交感神经节不超过 50%。

对肾上腺素 α 受体的作用

1. 对 α 受体亲和力

α₁ 受体 图 1 A 是 prazosin 和 Vtc 取代 [³H]prazosin 与大鼠脑皮层细胞膜 α 受体结合的竞争曲线, 随被试药物浓度增加, [³H]prazosin 与受体的结合减少, prazosin 1 μmol/L 可完全抑制 [³H]prazosin 的特异结合, Vtc 1 mmol/L 抑制 [³H]prazosin 特异结合 87%。prazosin 和 Vtc 的 K_i 值分别为 0.8 nmol/L 和 0.22 μmol/L, 表明 Vtc 对 α₁ 受体有亲和力, 但比 prazosin 弱。

α₂ 受体 以 [³H]clonidine 为 α₂ 受体放射配体, 作 clonidine 和 Vtc 抑制 [³H]clonidine 与大鼠脑皮层膜 α₂ 受体结合的竞争曲线(图 1 B)。clonidine 的 K_i 值为 0.13 nmol/L, Vtc 为 0.11

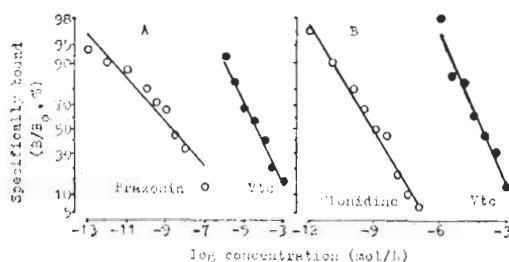


Fig 1. Competitions of verticillatine (Vtc) and prazosin with [³H]prazosin (A); Vtc and clonidine with [³H]clonidine (B) for specific binding to rat cerebral cortex.

μmol/L。表明 Vtc 对 α₂ 受体的亲和力与 α₁ 受体相似。C₆(10 mmol/L) 对 α₁ 和 α₂ 受体均无亲和力。

2. 对 α 受体功能的影响

α₁ 受体 用 NE 作为突触后 α₁ 受体激动剂, 研究 Vtc 对大鼠肛尾肌和兔离体血管制备突触后 α₁ 受体功能。结果表明 Vtc 抑制 NE 激动 α₁ 受体引起的肛尾肌和血管条收缩, 使 NE 量效曲线平行右移(图 2)。在肛尾肌和胸主动脉条制备上 pA₂ 值分别为 4.33 和 4.55。说明 Vtc 对 α 受体有竞争性抑制作用。

α₂ 受体 低频(0.1 Hz)场刺激可使输精管产生规律性收缩, 此收缩可被 clonidine 10 nmol/L 抑制。α₂ 受体阻断剂 yohimbine 10 μmol/L 可对抗 clonidine 的作用, 使 clonidine 量-效曲线平行右移, pA₂ 值是 8.05 和 10 μmol/L 的 Vtc 也能使 clonidine 的量效曲线平行右

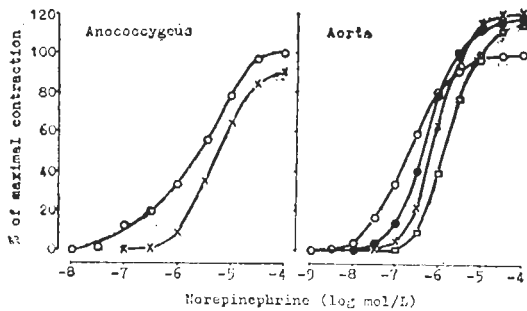


Fig 2. Inhibition of norepinephrine-induced contractions of isolated rat anococcygeus ($n=4$) and rabbit aorta ($n=6$) by verticillatine 0 (\circ), 0.01 (\bullet), 0.05 (\times), 0.1 (\square) mmol/L.

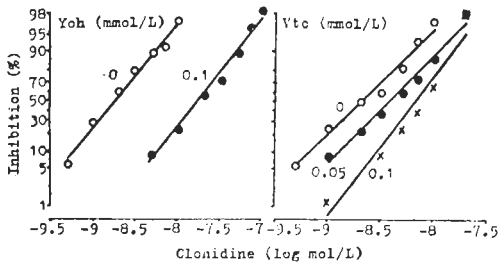


Fig 3. Concentration-response curves for inhibitory effects of clonidine in field stimulation of vas deferens after yohimbine (Yoh) or verticillatine (Vtc).

移, pA_2 值是 4.3(图 3)。表明 Vtc 对 α_2 受体也有竞争性拮抗作用, 是非选择性 α 受体拮抗剂。C₆ 对 α 受体没有抑制作用。

对肾上腺素 β 受体的作用 以 [3H]DHA 为放射配体测定 A_{1p} , Vtc 对鸭红细胞膜 β 受体亲和力, 结果表明 Vtc 对 β 受体没有亲和力。在大鼠右心房制备上 Vtc(10 mmol/L) 对其自律性和收缩力均无影响。也不改变异丙肾肾上腺素使大鼠右心房自律性加快的作用。C₆ 对 β 受体也没有抑制作用。

对离体血管的直接作用 Vtc 0.01, 0.1 mmol/L 除了抑制 NE 引起的血管收缩外, 对 5-HT (0.05 μ mol/L), $PGF_{2\alpha}$ (0.1 μ mol/L), $CaCl_2$ (1 mmol/L), KCl (0.4 mmol/L) 所引起的血管收缩均无拮抗作用, 不改变 5-HT, $PGF_{2\alpha}$, $CaCl_2$ 引起的兔胸主动脉环收缩的量效

曲线。说明 Vtc 对外周血管无直接扩张作用。

讨 论

给麻醉大鼠 icv Vtc 和 C₆ 不引起血压下降, 尚出现升压反应, 这可能与神经节阻断药对血管运动中枢有一定兴奋作用有关, 和其他作者⁽⁸⁾报告神经节阻断剂有兴奋血管运动中枢作用相符。给麻醉猫 ia Vtc 引起血压下降的程度比等剂量 iv 的降压作用要弱。小剂量 clonidine icv 和 ia 均出现降压作用, 说明 Vtc 的降压作用不是通过影响血管运动中枢。本研究观察到 Vtc 和 C₆ 对交感神经节和副交感神经节均有明显阻断作用, 此外 Vtc 对于刺激交感神经节后纤维和 iv 肾上腺素引起的瞬膜收缩也有轻度抑制作用, C₆ 则无此作用。表明 Vtc 除神经节阻断作用外, 对肾上腺素能受体还可能有阻断作用。进一步用放射配体结合实验和离体实验证明 Vtc 对 α 受体有弱的亲合力和阻断作用, 对 α 受体的阻断在整体条件下对降低血压所起的作用尚不能肯定。从 Vtc 和 C₆ 作用的比较, 我们发现 Vtc 和 C₆ 对于神经节的阻断作用相近似, 而前者的降压作用比后者强。临床上观察到 Vtc 降压效力比 C₆ 强而副反应较少, 因此认为 Vtc 对 α 受体阻断在其发挥降压效力方面可能起了一定作用。在萝芙木中含有不少 α 受体阻断剂, 但一个生物碱同时具有 α 受体和神经节阻断作用则还未见报告。Vtc 降压机制的研究为临床应用此药提供了有意义的资料。

致谢 本工作得到刘文化、张丽英、冯亦璞、孙亚丁、高红的协助。

参 考 文 献

- 1 林 茂、于德泉、刘 欣, 等。红果萝芙木季胺碱的化学研究。药学报 1985; 20 : 198
- 2 曾贵云、田宝红、刘力生、吴锡桂。中国萝芙木生物碱 II 号的降压作用。中华心血管病杂志 1986; 6 : 350
- 3 Stone CA, Torchiana ML, Navarro A, Beyer KH. Ganglionic blocking properties of 3-

- methylaminoisocamphane hydrochlorid (mecamylamine): a secondary amine. *J Pharmacol Exp Ther* 1956; 117 : 269
- 4 冯亦璞、高红、曾贵云. Spegatrine 及其双聚体 Dispegatrine 对 α -肾上腺素受体的影响. *药理学报* 1986; 21 : 1
- 5 孙亚丁、冯亦璞、曾贵云. 北京鸭红细胞膜 β 肾上腺素受体放射配基结合测定法. *药理学报* 1985; 20 : 405
- 6 Tejerina MT, Delgado C, Diez J, Tamargo J. Inotropic and electrophysiological effects of PY 108-068 on isolated cardiac preparations. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1984; 271 : 64
- 7 Hof RP, Scholtysik G, Loutzenhiser R, Vuorela HJ, Neumann P. PN 200-110, a new calcium antagonist: electrophysiological, inotropic and chronotropic effects on guinea pig myocardial tissue and effects on contraction and calcium uptake of rabbit aorta. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984; 6 : 399
- 8 Corne SJ, Edge ND. Pharmacological properties of pempidine (1:2:2:6:6-pentamethylpiperidine), a new ganglion-blocking compound. *Br J Pharmacol* 1958; 13 : 339

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jan; 9 (1) : 58-63

Mechanism of hypotensive effects of verticillatine

TIAN Bao-Hong, ZENG Gui-Yun

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100050)

ABSTRACT Verticillatine (Vtc) is a new alkaloid first isolated in our institute from the water-soluble fraction of the root of *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill.

In anesthetized cats, iv Vtc 0.5-2.0 mg/kg produced dose-dependent ganglion blocking effects and the ED_{50} of blocking action on the sympathetic and parasympathetic ganglion were 1.03 and 0.8 mg/kg, respectively. The affinity of Vtc to α -adrenoceptor was studied using radioligand binding assay in the rat brain cortex. The competitive curves showed that the apparent dissociation constant (K_i) of Vtc for α_1 and α_2 -adrenoceptor were 0.22 and 0.11 μ mol/L, respectively. Vtc antagonized NE-induced contraction of the rat anococcygeus and rabbit aorta (postsynaptic α_1 -adrenoceptor) and

pA_2 value were 4.3 and 4.6, respectively. Vtc antagonized the inhibiting effects of clonidine on field stimulation twitch of the rat vas deferens (presynaptic α_2 -adrenoceptor) and pA_2 value was 4.3.

Vtc and hexamethonium (C_6) manifested neither the central antihypertensive effect nor direct peripheral vasodilating action. C_6 was found to be only a ganglionic blocking agent in this case. Vtc, in addition to its ganglion blocking action, showed α -adrenoceptor blocking properties.

KEY WORDS verticillatine; hexamethonium; ganglionic blockaders; radioligand assay; adrenergic alpha receptor blockaders; anococcygeus muscle; vas deferens