

·成果简介·

四氢原小檗碱同类物(THPB)对DA受体的新药理作用

金国章 周启霆 陈丽娟 俞蕾平 朱子涛 胡江元
丁允闽 唐放鸣 金昔陆 傅雨

(中国科学院上海药物研究所,上海 200031)

[关键词] 左旋四氢巴马汀;左旋千金藤碱;多巴胺受体;D₁激动-D₂阻滞双重作用

我们实验室通过把科研工作的方向集中于脑内多巴胺(dopamine, DA)受体的研究领域,并选准我国天然产物四氢原小檗碱同类物(tetrahydroprotoberberines, THPB)为研究靶目标。经过20多年的系统研究,工作逐步深入和发展,在这个领域创造出自己的优势和特色,已经取得一些结果。

1 THPB与DA受体作用关系的研究源头: l-THP的镇痛机理

左旋四氢巴马汀(*l*-Tetrahydropalmatine, *l*-THP)是我们开拓THPB与DA受体作用关系研究领域的第一个化合物。它是中药延胡索的主要有效成份。延胡索是著名的镇痛中药,用于止痛已有一千多年历史。明朝李时珍在《本草纲目》中对延胡索的镇痛效能作了生动的描述,能“治一身上下诸痛,用之中的,妙不可言”的神奇功效。它是依赖什么机制产生镇痛作用,这就是我们要研究工作的序幕。

我国对延胡索的化学研究开始于1928年,由著名药物化学家赵承嘏教授首先从国产延胡索(*Corydalis ambigua* Cham et Sch, 现更名为 *Corydalis turtshaninovi* Bess. f. Yanhusuo, Y. H. Chou et C. C. Hsu)中提取出13种生物碱(1928—1936),开创了中药延胡索的科学研究,迄今已有70多年。在此期间,我们应用现代科学技术,对它进行了多学科的系统、深入的研究。

延胡索的十多种生物碱的化学结构于1981年全部鉴定清楚^[1],并以四氢巴马汀(*dl*-tetrahydropalmatine, *dl*-THP)含量最高。金国章等人

(1956—1964)对延胡索的药理作用进行了系统研究,证实*dl*-THP是其中主要的镇痛有效成份;经化学拆分后,证明左旋体(*l*-THP)是有效的旋光异构体,具有良好的镇痛作用,并伴有镇静、安定和催眠作用;而右旋体(*d*-THP)无明显镇痛作用^[2]。后又从千金藤(*Stephania*)属植物中,发现含量丰富的*l*-THP(又称颅痛定, rotundine),成为用于临床的主要药源^[3]。*l*-THP正式列入中国药典的非麻醉性镇痛药(见1977、1985、1990、1995和2000年诸版),在临床上应用达30多年(1964—2000)是经得起时间考验的药物;自1962年以来,它的药理作用成为我国药理学各种版本教本内容,是中药科学研究的一个范例^[4]。尽管如此,*l*-THP的镇痛作用机制仍然不清楚。为了回答*l*-THP的作用机制问题,作者于80年代应用神经药理、动物行为、神经生化和电生理等十多项实验(表1),证实*l*-THP和其他的THPB为DA受体的新型阻滞剂;*d*-THP则不是DA受体阻滞剂,而是排空DA的始型物(prototype),有协同*l*-THP阻滞DA受体的作用^[5]。所以说,*l*-THP是研究THPB与DA受体作用关系的源头。

然而,*l*-THP阻滞DA受体的功能与它的镇痛作用有什么关系?两者在脑内的作用部位在何处?又是如何联系的?换言之,*l*-THP镇痛作用如何通过DA受体来实现的?

试验证实:D₁激动剂或D₁拮抗剂均无镇痛作用;D₂激动剂的镇痛作用部位在脊髓水平,不在脑干以上部位;D₂受体拮抗剂的镇痛作用部位相反,不在脊髓,而在脑干以上部位。*l*-THP被静脉、

本文于2000年4月6日收到。

腹腔注射或口服后所产生的镇痛作用不在脊髓水平,也在脑干以上水平,它是以 D₂ 拮抗剂的作用特性产生镇痛作用的。

表 1 THPB 对 DA 系统的作用^[6]

实 验	<i>l</i> -SPD	THB	<i>l</i> -THP	<i>l</i> -THP	HAL
与 D ₂ 受体结合 [³ H]-spiperone, K _i (nM)	85	750	850	> 100 000	6
与 D ₁ 受体结合 [³ H]-SCH23390, K _i (nM)	13	330	1 100	—	—
Adenylate cyclase IC ₅₀ (μM)	2	9	13	—	—
Steeotype	拮抗	拮抗	拮抗	—	拮抗
纹状体 ACh 含量	减少	减少	减少	—	减少
纹状体 L-dopa 累积	增加	增加	增加	不明显	增加
对苯丙胺兴奋活动	拮抗	拮抗	拮抗	协同	拮抗
对去水吗啡旋转行为	协同	拮抗	拮抗	不明显	拮抗
对 6-OHDA 旋转模型	有激动作用	无	无	无	无
DA 荧光组化强度	—	—	不明显	减弱荧光	—
SNC DA 神经元放电活动	翻转 APO 的抑制作用	翻转	翻转	作用很弱	翻转
与 DA 受体的作用特性	阻滞兼激动	拮抗剂	拮抗剂	DA 排空剂	拮抗剂

并且,应用免疫组化、双标技术、逆行追踪与功能相结合等现代方法也证实, *l*-THP 进入中枢后, 优先阻滞脑内 DA 受体最丰富的脑区, 例如纹状体、伏膈核、前额叶大脑皮层的 D₂ 受体亚型(不是 D₁ 受体亚型); 然后通过纹状体/伏膈核→下丘脑弓状核内啡肽→中脑导水管周围灰质(PAG)通路, 加强脑干部位(Rpgl)的内在抗痛系统功能, 同时由 PAG→Rpgl→脊髓背角通路抑制痛信息传入中枢。脑内内啡肽、脑啡肽、强啡肽等内源性阿片肽是内在抗痛系统的物质基础, *l*-THP 的镇痛作用与增强阿片肽的功能密切相关(图 1)^[7,8]。这些结果既为 *l*-THP, 亦为一个应用一千多年的中药延胡索的镇痛作用机制绘出一个清晰的轮廓。*l*-THP 的研究成果是中药科学研究的一个现代化范例, 将会成为中国的药理学教科书新内容: 在药理学中, 以 DA 受体拮抗剂用于镇痛药, *l*-THP 是第一个实例, 将为非成瘾性镇痛剂的研究提供新思路, 会受到国际关注。

2 开拓研究领域: 我国天然产物 THPB 与脑内 DA 受体的药理作用关系

l-THP 的化学结构属于四氢原小檗碱同类物(tetrahydropprotoberberines, THPB), 内含四氢异喹啉环, 可以看成由两个 DA(dopamine)的分子缩合而成(图 2)。THPB 的 C_{2,3,9,10} 位由 OCH₃ 或 OH 取代, C₁₄ 是手性碳, 由此形成旋光异构体, 天然产物中绝大多数为左旋体或消旋体。我国延胡索和千金藤属(*Stephania*)植物中含有多种 THPB 同类物, 均为 DA 受体拮抗剂, 左旋千金藤啶碱(*l*-stepholidine, *l*-SPD)是 THPB 的先导化合物^[9]。

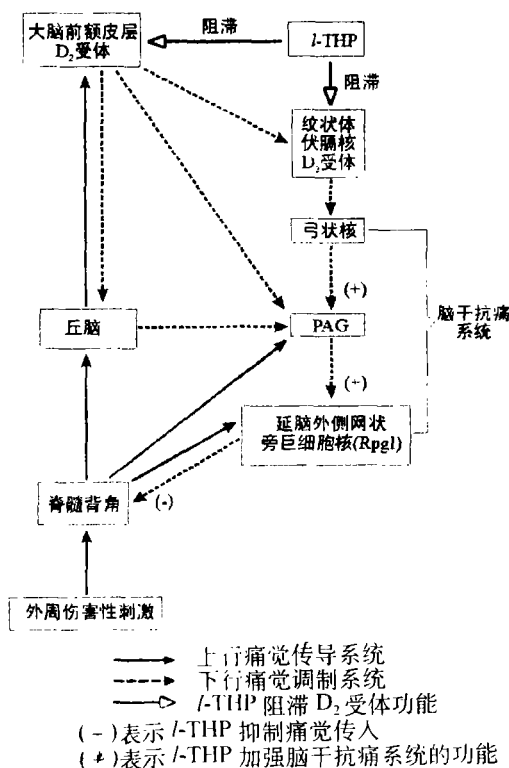


图 1 *l*-THP 镇痛作用机制的示意图

构效关系研究提示 THPB 的 C_{2,3,9,10} 位上的 OH 与 DA 受体的亲和力有密切关系, 含有两个羟基者, 其亲和力强于单羟基者; 单羟基者又强于无羟基者^[10]。*l*-SPD 在同类物中作用最强, 与 D₁ DA 受体的亲和力比 D₂ 高 4—7 倍, 作用性质特殊(见表 1), 成为 THPB 作用于 DA 受体的先导化合物, 为发现更理想的新化合物提供启迪。在我国含有 THPB 同类物的中草药科属, 品种繁多。据不完全统计, 在我国

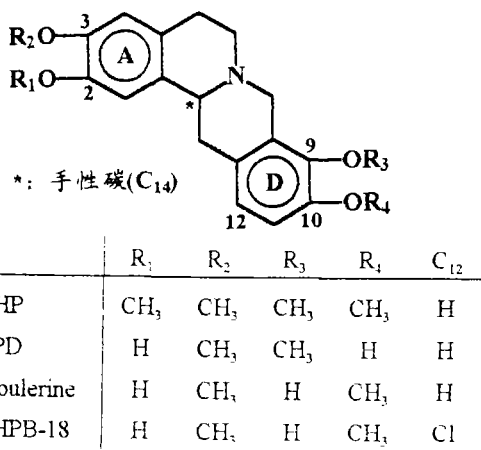


图2 THPB的化学结构

防己科、小檗科、罂粟科中有20多属,50—60多种植物中含有THPB,其中以千金藤属(*Stephania*)最为重要^[18]。本项目的研究结果对这些中草药的应用和发展提供了重要的科学依据。

l-SPD是如何与DA受体相结合,产生药理作用的?应用X光衍射和量子化学计算^[11,12],已确定THPB的绝对构型,其左旋体N⁺原子朝下,而C₁₄的H原子朝上,无空间阻碍,有利于N⁺原子与DA受体残基上-COO⁻形成离子对结合,产生药理效应。右旋体的绝对构型正好相反,因此与DA受体无亲和力。THPB结构中的A环和D环的扭曲度制约着其与DA受体的亲和力,扭曲度的变化又受到A和D两环上OH的制约;OH基可与受体形成氢键。*l*-SPD在C₂和C₁₀位上分别有一个OH,扭曲度最大,与DA受体亲和力最强。*l*-SPD的OH使苯环上电子云密度增加,也增强了其与DA受体的亲和力(图3)。此外,与DA受体结合时,A环是电子的授予者,而D环是电子接受者。

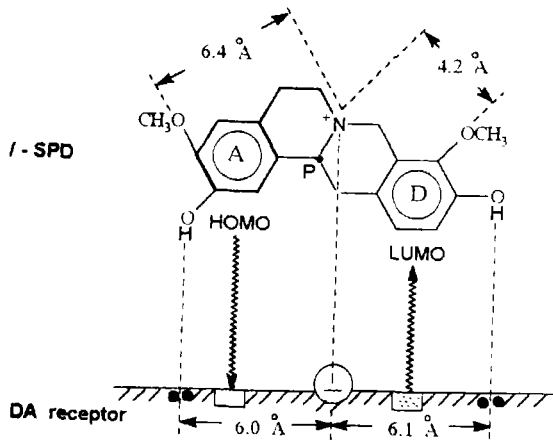


图3 *l*-SPD与DA受体结合的设想图

上述工作开拓出我国天然产物THPB与脑内DA受体作用关系的研究领域,形成我们自己工作的特色和优势,成为目前国际上研究THPB与DA受体作用关系最为系统的工作,并发现*l*-SPD有阻滞兼激动双重作用,是国际上最早发现有双重作用的DA受体药物。

3 *l*-SPD对DA受体双重作用机制:D₁激动-D₂阻滞

从生化效应和生理功能的表现,DA受体分为D₁和D₂两种亚型,它们在脑内分布和功能是有差别的。脑内D₁受体的功能不易单独表达,而D₂受体功能则易于单独表达,两者常相互协同。实验证明*l*-SPD的双重作用是属于D₁激动-D₂阻滞不同受体亚型的不同作用。它对DA受体的阻滞作用是由D₂参与,它的激动作用由D₁受体参与作用的结果。然而,它的D₁激动作用是有条件的,需要使DA受体超敏,分离D₁和D₂的相互作用。应用6-羟基多巴胺(6-OHDA)损毁中脑的黑质(A₉)DA神经元后,*l*-SPD能引起大鼠出现旋转行为,是属于D₁受体的激动作用(表2)^[13-15],未见他人报道过其他药物具有“D₁激动-D₂阻滞”的双重作用特性,因此*l*-SPD双重作用的发现是颇有新意的。

l-SPD对D₁受体的激动作用机制是由于D₁受体介导的信号转导级联效应提高的缘故,首先使腺苷酸环化酶(AC)活力增强,cAMP水平增加30%,D₁贮备受体(spare receptor)增加,D₁受体的标志蛋白DARPP-32也明显增加,使生理效应显示出增强作用(图4)。从功能上已证实*l*-SPD的D₁激动作用部位在纹状体、黑质等部位,其中以黑质部位最为重要。*l*-SPD通过D₁受体增强基底节的直接环路的兴奋性能,重新平衡运动功能。这种作用对帕金森症晚期病人治疗值得研究。

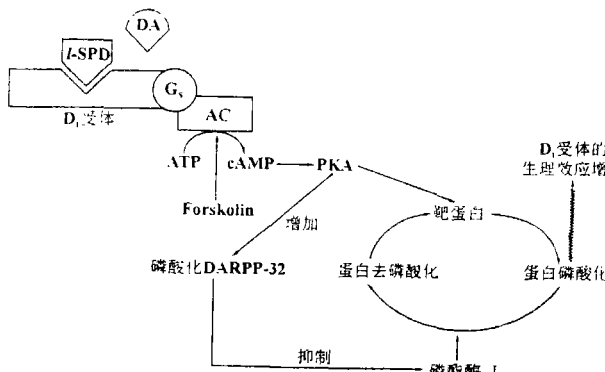


图4 *l*-SPD对D₁受体信号转导的级联效应

表 2 *l*-SPD 对 DA 受体的阻滞和激动双重作用

实验	SPD 作用	作用性质
受体结合		
1. [³ H]Sch23390, D ₁ K _i 值	13nmol/L	—
2. [³ H]spiperone, D ₂ K _i 值	85nmol/L	—
3. 小牛纹状体 D ₁ 受体结合	两个结合位点 (R _H , R _L)	D ₁ 激动
4. D ₁ 受体结合试验中加入 GTP	R _H 位点消失	D ₁ 激动 ^[16]
5. 小牛纹状体 D ₂ 受体结合	一个结合位点	D ₂ 阻滞
行为学		
6. DA 激动剂诱发的大鼠定型活动	拮抗	阻滞
7. DA 激动剂诱发的小鼠自发活动	拮抗	阻滞
8. 对 6-OHDA 损毁大鼠模型	引起旋转	D ₁ 激动
9. SCH23390 对 6-HDA 损毁大鼠旋转	拮抗 SPD	D ₁ 激动
生化实验		
10. 新纹状体乙酰胆碱含量	减少	D ₂ 阻滞
11. 新纹状体 L-dopa 累积	增加	D ₂ 阻滞
12. 新纹状体 DA 神经末梢 DA 释放	易化	D ₂ 阻滞
13. 电刺激引起的尾核脑片 [³ H]DA 释放	加强	D ₂ 阻滞
14. 催乳激素释放	增强	D ₂ 阻滞
15. DA 刺激的 cAMP 形成	拮抗	D ₁ 阻滞
16. 损侧储备受体	增强	D ₁ 激动 ^[17]
17. 损侧 Fos 表达	增强	D ₁ 激动
电生理		
18. 利血平化大鼠 D ₁ 激动剂抑制 SHC DA 神经元放电	翻转	D ₁ 阻滞
19. DA 激动剂引起的 SNC 或 VTA DA 细胞放电抑制	翻转	D ₂ 阻滞

4 双羟基-THPB 的双重作用的前景:开创新型抗精神病药物

前述的 *l*-SPD、*l*-scoulerine、*l*-THPB-18 均为双羟基-THPB(图 2)。它们均有 D₁ 激动-D₂ 阻滞双重作用的共同药理特性。THPB-18 作用性质比 *l*-SPD 更强,已获得国家专利。新近,在中脑(VTA, A₁₀)-伏隔核(NAc)-大脑皮层前额叶(mPFC)的 DA 神经系统,也证实 *l*-SPD 有 D₁ 激动-D₂ 阻滞双重药理作用,即对 mPFC 有 D₁ 激动作用(并且强于对 A₉ 的作用),而对 NAc 有 D₂ 阻滞作用。此结果的重要学术价值,是意味着 *l*-SPD 治疗精神病有很好的前景。因为,新近对精神分裂症病因有新论点,即 mPFC 的 D₁ 受体功能低下,而皮层下的 NAc 的 D₂ 功能亢进的缘故,指出以往只认为 D₂ 受体亢进是病人病因的观点,是非常不全面的,难怪以前许多抗精神病药物的治疗效果不理想,病情难愈。根据新的病因论点,需要用 D₁ 激动-D₂ 阻滞双重作用的药物治疗,才显示出合理性。但迄今国际上,尚未发现这类双重作用的药物。很高兴的是,我们首先发现了双羟基-THPB 药理作用正好符合这个论点(图 5),并在临床初步证实,确有令人惊喜的苗头,令人翘首以待,希望能成为开创性的新型治疗药物。

5 结 语

在我国 THPB 同类物中,开拓了 DA 系统的研究领域,做出以下两点有创新性的贡献:

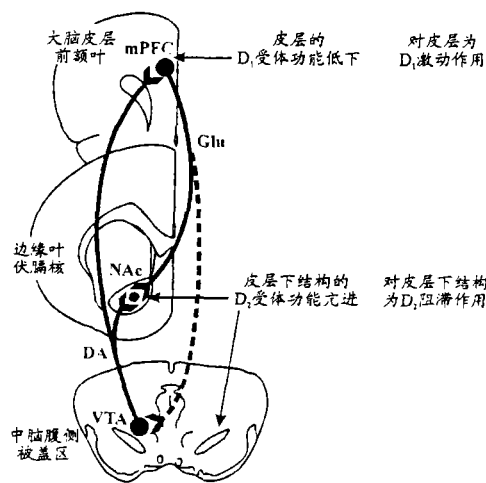


图 5 精神分裂症病因的新概念和 *l*-SPD 的双重作用

(1)阐明中药延胡索的主要有效组份 *l*-THP,阻滞脑内 D₂ 受体,增强内源性抗痛功能,为它的镇痛作用机制,绘出一个清晰的轮廓,这是研究中医药的现代化的一个可贵的范例。今后,对许多含有 THPB 同类物的中草药研究有启迪作用。在药理学中,以 D₂ 拮抗剂用镇痛剂的, *l*-THP 一个很好的先例。

(2)发现双羟基-THPB 的 D₁ 激动-D₂ 阻滞双重药理作用,为精神分裂症病的治疗提供新思路,开创新型的优良治疗药物,起了先锋作用。

参 考 文 献

- [1] 朱大元,宋纯青,高耀良等. 延胡索乙素、壬素、癸素和子素的结构鉴定. 化学学报, 1981, **39**:280—283.
- [2] 金国章,郑秀凤,胥彬. 延胡索乙素旋光异构体的中枢作用. 生理学报, 1964, **27**:47—58.
- [3] 金国章,王月娥,胥彬. 颠通定(Rotundine)的神经药理作用. 药理学学报, 1964, **11**:754—761.
- [4] 张昌绍. 药理学进展, 1962, 245, 249.
- [5] Jin G Z, Xu S X, Yu L P. Different effect of enantiomers of tetrahydropalmatine on dopaminergic system. *Science in China (B)*, 1986, **29**: 1 054—1 064.
- [6] 金国章. 左旋四氢巴马汀和它的二代新药——左旋千金藤叮碱的药理研究进展. 药理学报, 1987, **22**:472—480.
- [7] Hu J Y, Jin G Z. Effect of tetrahydropalmatine analogs on Fos expression induced by formalin-pain. *Acta Pharmacol. Sin.*, 1999, **20**:193—200.
- [8] Hu J Y, Jin G Z. Superspinal D₂ receptor involved in antinociception induced by *l*-tetrahydropalmatine. *Acta Pharmacol. Sin.*, 1999, **20**: 715—719.
- [9] Jin G Z. (-)-Tetrahydropalmatine and its analogues as new dopamine receptor antagonists. *Trends Pharmacol Sci.*, 1987, **8**:81—82.
- [10] Xu S X, Yu L P, Han Y R et al. Effects of tetrahydropyroberberines on dopamine receptor subtypes in brain. *Acta Pharmacol. Sin.*, 1989, **10**: 104—110.
- [11] 宜建成,林光大,金国章等. 4种四氢原小檗碱同类物的立体结构和量子化学对多巴胺受体的作用关系. 中国药理学报, 1988, **9**:197—205.
- [12] Tang Y, Chen K X, Jiang H L et al. Molecular modeling of interactions between tetrahydropyroberberines and dopamine receptors. *Acta Pharmacol. Sin.*, 1996, **17**:8—12.
- [13] 金国章,孙宝存. 左旋千金藤碱及其同类物作用于脑内多巴胺受体的研究进展. 自然科学进展, 1995, **5**:55)63.
- [14] Huang K X, Jin G Z. The antagonistic effects of tetrahydropyroberberines on dopamine receptors: Electrophysiological studies. *Science in China(B)*, 1992, **8**:688—694.
- [15] Jin G Z, Huang K X, Sun B C. Dual action of (-)-stepholidine on dopamine receptor subtypes after substantia nigra lesion. *Neurochem. Int.*, 1992, **20**(suppl):175—178.
- [16] Dong Z J. GTP regulation of (-)-stepholidine binding to RH of D₁ dopamine receptors in calf striatum. *Biochem. Pharmacol.*, 1997, **54**: 227—232.
- [17] Zou L L, Liu J, Jin G Z. Increase of receptor reserve in D₁ agonistic action of (-)-stepholidine in lesioned ratio. *Biochem. Pharmacol.*, 1997, **54**:233—240.
- [18] 杨鹤鸣,陈燕. 中国千金藤属植物化学分类概况. 植物学报, 1994, **36**(增刊):14—22.

NEW PHARMACOLOGICAL EFFECTS OF TETRAHYDROPROTOBERBERINES ON DOPAMINE RECEPTOR

Jin Guozhang Zhou Qiting Chen Lijuan Yu Leiping Zhu Zitao Hu Jianguan
Ding Yunmin Tang Fangming Jin Xilu Fu Yu

(Shanghai Institute of Materia Medica, CAS, Shanghai 200031)

Key words *l*-tetrahydropalmatine, *l*-stepholidine; dopamine receptor, D₁ agonistic-D₂ antagonistic dual action