

葛根素和黄豆甙元衍生物对肾上腺素受体的影响

冯亦璞 张丽英 曾贵云 (中国医学科学院药物研究所药理室, 北京 100050)

提要 观察葛根素和葛根黄豆甙元衍生物 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -异丙胺基-丙氧基)异黄酮(F_8), 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -叔丁胺基-丙氧基)异黄酮(F_{11})和 F_{12} 对 β 受体亲和力、腺苷环化酶活性和兔左心房肌条收缩力的影响。发现 F_8 、 F_{11} 和 F_{12} 有 β 受体阻断作用。葛根素对 α 、 β 受体均无作用, 表明其作用机制并非通过肾上腺素受体。

关键词 β 肾上腺素受体; 腺苷环化酶; 左心房; 葛根素; 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -异丙胺基-丙氧基)异黄酮; 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -叔丁胺基-丙氧基)异黄酮

葛根用于临床治疗高血压和心绞痛, 葛根素和葛根黄豆甙元为其有效成分。动物实验证明葛根素能扩张冠脉, 降低血压, 减慢心率和心肌氧耗^(1,2)。葛根黄豆甙元不溶于水, 为提

高其水溶性和疗效, 我所合成室合成了黄豆甙元衍生物 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -异丙胺基-丙氧基)异黄酮(F_8); 4'-甲氧基-7-(β -羟基- γ -叔丁胺基-丙氧基)异黄酮(F_{11})及 F_{12} (结构待定)。我们比较了葛根素及这些衍生物对大鼠心肌和脑皮层 β 受体以及葛根素对皮层 α 受体的亲和力; 并研究了这些药物对火鸡红细胞膜腺苷环化酶(AC)活性以及兔离体左心房条的影响。

方法和结果

对大鼠脑皮层 α , β 和心肌细胞膜 β 受体的影响

1. 膜提取 将大鼠脑皮层或心室肌加冷的缓冲液(5 mM Tris-HCl, 1 mM MgCl₂, 0.25

Tab 1. Effects of puerarin and daidzein analogues on the affinity of β -adrenoceptor in rat myocardial cell membranes, adenylyl cyclase activity in turkey erythrocyte membranes and contraction of isolated rabbit atria

Compound	Chemical Structure			IC ₅₀ (μ M)		pA ₂
	R ₁	R ₂	R ₃	[³ H] dihydro-alprenolol binding	Adenylyl cyclase activity	ISO-induced atrial contraction
Puerarin	glucose	H	H	---- (0.1-1000)	---- (10-1000)	---- (10-100)
F ₈	H	<chem>CC(C)C(O)CNC(C)C</chem>	CH ₃	60	26	5.48
F ₁₁	H	<chem>CC(C)C(O)CNC(C)C</chem>	CH ₃	53	72	5.68
F ₁₂	under investigation			50	46	5.49
Propranolol	<chem>CC(O)CNC(C)C</chem>			0.0007	0.2	7.27
F ₁₃	<chem>CC(O)CNC(C)C</chem>			----	----	----

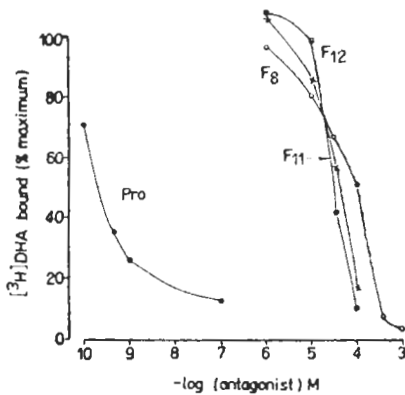


Fig 1. Competition curve of displacement of [³H]DHA binding by propranolol (PRO), F₈, F₁₁ and F₁₂ (n = 3).

M sucrose, pH 7.5) 制成匀浆, 单层纱布过滤, 1000 × g 离心 10 min, 去含有纤维组织和致密碎片的沉淀。上清液以 40000 × g 离心 10 min, 去上清液后, 沉淀物加等容量缓冲液 (75 mM

Tris-HCl, 25 mM MgCl₂ 或 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, pH 7.7) 洗, 并离心一次, 去上清液后, 沉淀用适量缓冲液重新悬浮 (约 1 mg 膜蛋白/ml)⁽³⁾。

2. 放射配基结合测定 用 [³H]dihydro-alprenolol ([³H]DHA, 1.5-2.0 nM, 比活度 49.4 Ci/mmol, New England Nuclear) 和葛根素及黄豆甙元衍生物与心肌膜在 25 °C 温孵 20 min, 用 5 ml 冷缓冲液结束反应, 倒在玻璃纤维滤片 (上海虹光纸厂 49) 上抽滤, 再用同容量缓冲液洗 2 次, 测定滤片上放射活性, 制作竞争曲线。计算这些药物抑制 [³H]DHA 与心肌膜特异性结合 50% 的药物浓度 (IC₅₀)⁽⁴⁾。结果表明, 心得安, E₈, F₁₁ 和 F₁₂ 的 IC₅₀ 分别为 0.7 nM, 60, 53 和 50 μ M。而葛根素浓度在 0.1 μ M-1 mM (mol. wt, 416, 先用双蒸馏水配成 10 mM, 即 4.16 mg/ml, 然后用缓冲液稀释到所需浓度) 时, 对脑皮层及心肌膜的 β 受体无

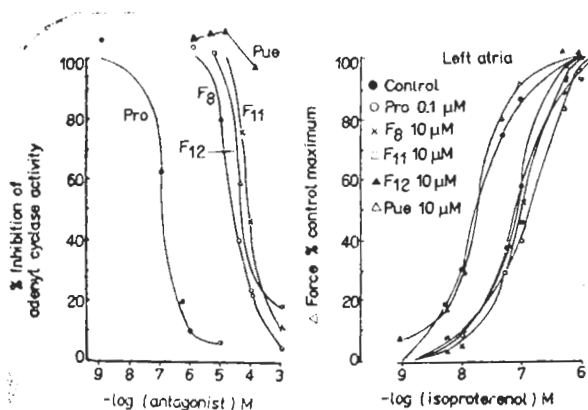


Fig 2. Effects of propranolol (PRO), F_8 , F_{11} , F_{12} and puerarin (PUR) on 0.01 mM isoproterenol-induced adenylyl cyclase activity ($n=2$) and on contractile responses to isoproterenolo in isolated rabbit left atria ($n=3$).

作用(图1,表1)。此外,葛根素与0.4-0.6 nM $[^3H]DHE$ ($[^3H]$ dihydroergocryptine 比活度23 Ci/mmol, Amersham)及大鼠脑皮层膜温孵⁽⁵⁾, 结果葛根素不能抑制 $[^3H]DHE$ 与大鼠脑膜 α 受体的结合。说明对 α 受体无影响。

对AC活性的影响 AC活性的测定是加一定量ATP,在AC和 Mg^{++} 作用下(pH 7.5, 30 °C, 15min)生成cAMP,然后测定cAMP含量,用cAMP量来表示AC活性⁽⁶⁾。结果表明 F_8 , F_{11} , F_{12} 及心得安抑制异丙肾上腺素(ISO, 10 μM)激动AC活性50%的浓度分别为26, 72, 46及0.2 μM,而葛根素(10 μM-1 mM)对ISO (10-50 μM)激动AC活性无抑制作用(表1,图2)。

对兔离体左心房肌条的影响 家兔(2.1 ± SD 0.3 kg)击昏后立即制备左心房条,一端连于浴槽(10 ml Krebs液)中的固定钩,另一端连接位移传感器(TB 611T)上,生理记录仪记录心肌收缩力。肌条负荷1 g。通95% O_2 +5% CO_2 , pH 7.4,保温30 °C,电刺激诱发收缩强度为3-4 v,波宽3 ms,频率1 Hz,实验前将制备平衡45 min,每隔20 min换液一次,用累积法给ISO,求出给药前ISO量-效曲线。换液后,给所试药物,于20 min后重复测定ISO量-效

曲线。结果表明,葛根素10 μM-0.1 mM不能对抗ISO引起心房条收缩作用,而 F_8 , F_{11} , F_{12} (10-50 μM)以及心得安(0.5或0.1 μM)均能竞争性拮抗ISO引起左心房收缩,量-效曲线平行右移(图2), pA_2 值分别为5.48, 5.68, 5.49和7.27,其作用强度与对 β 受体亲和力和对AC活性的抑制强度一致(表1)。

讨 论

我们用3种不同实验方法研究了葛根素及黄豆甙元衍生物对 β 受体的亲和力,AC活性及左心房条收缩力的影响。结果表明 F_8 , F_{11} 和 F_{12} 均有 β 阻断作用,用这3种方法均观察到这些化合物的作用强度相似,但均较心得安为弱。葛根素对 α 和 β 受体均无作用。另一结构类型化合物 F_{13} 对 β 受体和AC无影响。当葛根素浓度为10 μM时,对ISO引起左房条收缩的量-效曲线与对照ISO量-效曲线重叠;浓度在0.1 mM时,对较高浓度ISO (50 nM-1 μM)所引起的左房条收缩力虽有轻度抑制作用($p > 0.05$),但在此剂量下,有半数标本出现心律不齐,可见这不是 β 阻断作用,可能是对肌条的毒性反应。

单独给 F_8 , F_{11} 可使左房收缩力增加,给药后5-10 min均增加1倍,15-20 min后,逐渐出现抑制,表明该两药对左心房肌先兴奋后抑制,可能有内在拟交感活性。而 F_{12} 对心房条只有抑制作用。

此外,葛根素对脑皮层的 α 受体也无影响,说明葛根素不是通过肾上腺受体而起作用。甙元衍生物有 β 阻断作用,可能是由于加入羟乙胺基团所致。

致谢 得到邵国贤教授大力支持,并提供药物。

参 考 文 献

- 1 曾贵云、周远鹏、张丽英、范礼理. 中华医学杂志 1974; 54: 265
- 2 范礼理、曾贵云、周远鹏、张丽英、程雨时. 同上 1975; 55: 724

- 3 Williams RS, Lefkowitz RJ. *Circ Res* 1978; 43 : 721
 4 冯亦璞、张丽英、曾贵云. 中华核医学杂志 1983; 3 : 8

- 5 Greenberg DA, Snyder SH. *Mol Pharmacol* 1978; 14 : 38
 6 冯亦璞、贾宏钧、张丽英、曾贵云. 药学报 1982; 17 : 641

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Dec; 5 (4) : 238-241

EFFECT OF PUERARIN AND ANALOGUES OF DAIDZEIN ON ADRENOCEPTORS

FENG Yi-pu, ZHANG Li-ying, ZENG Gui-yun

(*Inst Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050*)

ABSTRACT The effects of puerarin and analogues of daidzein (F_8 , F_{11} , F_{12}) on the affinity of β -adrenoceptors, adenylyl cyclase (AC) activity and the contractile force of the isolated left atria were studied. The order of drug potencies on the affinity of β -adrenoceptors appears to be consistent with that of inhibition on AC activity and on the contractile response of the left atria. The IC_{50} for AC activity and pA_2 value for the contractile force of the left atria of propranolol, F_8 , F_{11} , F_{12} were 0.2, 26, 72, 46 μM and 7.27, 5.48, 5.68, 5.49, respectively.

The results show that F_8 , F_{11} , F_{12} are all β -blockers, F_8 and F_{11} stimulate the preparation first and then depress gradually. Both seem to be β -blockers with intrinsic sympathomimetic activity.

Puerarin is not a β -blocker and has no effect on α -adrenoceptor either.

KEY WORDS β -adrenoceptor; adenylyl cyclase; left heart atrium; puerarin; 4'-methoxy-7-(β -hydroxy- γ -isopropylamino-propoxy) isoflavone (F_8); 4'-methoxy-7-(β -hydroxy- γ -t-butylamino-propoxy) isoflavone (F_{11})