

4 种川芎化学成分与心肌细胞膜受体作用的研究

张延妮, 岳宣峰, 张志琪*

(陕西师范大学 药用植物资源与天然药物化学教育部重点实验室, 陕西 西安 710062)

[摘要] 目的:研究川芎化学成分与心肌细胞膜受体的作用。方法:通过 4 种川芎化学成分(川芎嗪、香兰素、大黄酚和阿魏酸)在心肌细胞膜固定相色谱柱上的保留特性,研究其与心肌细胞膜受体的作用;进一步将这些保留特性与心肌细胞膜上已知受体拮抗剂和激动剂的色谱保留特性比较以研究作用的受体类型。结果:川芎嗪、香兰素、大黄酚在心肌细胞膜固定相色谱柱上有保留特性,阿魏酸无保留;川芎嗪的保留特性与 α 受体拮抗剂和 α 受体激动剂相近,香兰素的保留特性与 β_1 受体激动剂相近。结论:川芎嗪、香兰素、大黄酚均可作用于心肌细胞膜受体,阿魏酸不与心肌细胞膜上的受体作用;川芎嗪有可能作用于 α 受体,香兰素有可能作用于 β_1 受体。

[关键词] 川芎;化学成分;心肌细胞膜受体;细胞膜色谱

[中图分类号] R 285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5302(2004)07-0660-03

川芎为伞形科植物 *Ligusticum chuanxiong* Hort 的干燥根茎,味辛、性温,具有活血止痛、行气开郁、祛风燥湿之功效^[1]。川芎的化学成分主要为生物碱、酸性物质、酚性物质、挥发油和中性物质(内酯类)等。目前,虽然对川芎的化学成分及药理作用的研究都比较深入,但在细胞水平上研究其与膜受体的作用还很不够。贺浪冲等^[2-4]曾将活性细胞膜固定在硅胶载体表面,对几种常见中药的色谱保留特性进行了比较,得到了化合物在细胞膜色谱中的保留特性和其药理作用显著相关的结论。作者将家兔心肌细胞膜固定在硅胶载体上,研究了川芎中 4 种已知化学成分(川芎嗪、香兰素、大黄酚和阿魏酸)在心肌细胞膜固定相色谱柱上的保留特性,以比较这些成分与心肌细胞膜受体的作用。

1 仪器与材料

TCL-16G 冷冻离心机(上海安听科学仪器厂);玻璃匀浆器(西安玻璃仪器厂);L8-80 低温超速离心机(美国 Beckman 公司);TY-60A 脱色摇床(南京大学生物技术开发公司);KS-300D 超声清洗仪(宁波科申仪器厂);CGY-100 装柱机(北京福思源机械加工部);Waters1500 高效液相色谱仪(美国 Waters

公司),配有 2996 二级管阵列检测器,1525 型色谱泵,Empower personal 色谱工作站。

盐酸川芎嗪注射液(齐齐哈尔第二制药厂,批号 02090801),香兰素(浙江省温州东升化学试剂厂),阿魏酸(上海试剂一厂),标准品大黄酚(宣州市貳尔塔天然有机化合物信息中心)。已知心肌细胞膜受体激动剂和拮抗剂:重酒石酸去甲肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 010301),甲磺酸酚妥拉明注射液(上海旭东海普药业有限公司,批号 020502),盐酸异丙肾上腺素(上海禾丰制药有限公司,批号 990301),盐酸多巴酚丁胺注射液(江苏省黄海药业有限公司,批号 020207),盐酸异丙嗪注射液(无锡市第七制药有限公司,批号 020117),西咪替丁注射液(山东省方明药业有限公司,批号 057026),盐酸氟西汀片(常州四药制药有限公司,批号 020506),恬尔心(上海延安制药厂,批号 000302)。健康家兔,雌雄不限;大孔球形硅胶(粒径 4~5 μm ,孔径 10~11 nm),购自中国科学院化学研究所。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱 4.6 mm $\times$ 250 mm,填充心肌细胞膜固定相;流速 0.3 mL $\cdot$ min⁻¹;检测波长 278 nm;流动相 50 mmol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)。

2.2 样品溶液配制 取样品适量,加入适量的 50 mmol $\cdot$ L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液(pH 7.4)溶解,配成 0.1 g $\cdot$ L⁻¹ 的供试品溶液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过。

2.3 心肌细胞膜固定相(CMSP)色谱柱的制备 心

[收稿日期] 2004-01-05

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(20175012);教育部科技重点项目(01156)

[通讯作者] *张志琪, Tel: (029) 85308349, Fax: (029) 85300809, E-mail: zqzhang@snnu.edu.cn

肌细胞膜制备参阅 Lee 等^[5]的方法,并加以改进。具体步骤如下:取健康家兔,注射空气,迅速开胸取出心脏,置于 4 °C Tris-HCl 缓冲液中(pH 7.4,整个膜制备均用该缓冲液);洗净残余血液,剪去心房,用滤纸吸干,研碎,用 10 倍体积的缓冲液制备成匀浆液;用 2 层纱布过滤,所得滤液 12 000 r·min⁻¹离心 30 min,再反复匀浆、离心 2 次;收集 3 次离心后的上清液,再以 32 000 r·min⁻¹离心 30 min,弃上清,沉淀用缓冲液冲洗 2 次,每次均 32 000 r·min⁻¹离心 30 min;最后,将所得沉淀用缓冲液混悬,即得心肌细胞膜悬液。取经表面活化处理过的硅胶于反应管中,加入细胞膜悬液,振荡吸附,至吸附反应达到平衡,2 000 r·min⁻¹离心除去未结合的细胞膜,得到家兔心肌细胞膜固定相。超声脱气,采用低压湿法装柱,即得家兔心肌细胞膜固定相色谱柱。

3 实验结果

3.1 盐酸川芎嗪的 CMSP 色谱保留特性 以磷酸缓冲液为流动相,考察盐酸川芎嗪在心肌 CMSP 色谱柱上的保留特性,发现在保留时间为 66.72 min 处有一强色谱峰(图 1),说明盐酸川芎嗪可作用于心肌细胞膜受体;在相同的色谱条件下,将盐酸川芎嗪心肌 CMSP 色谱图与心肌细胞膜上部分已知受体拮抗剂和激动剂的色谱流出曲线比较,其保留时间与 α 受体拮抗剂甲磺酸酚妥拉明(图 2)和 α 受体激动剂重酒石酸去甲肾上腺素(图 3)的保留时间基本一致,提示盐酸川芎嗪有可能作用于 α 受体,这也与文献^[6]报道的“川芎嗪可能作用于 α 受体”一致。

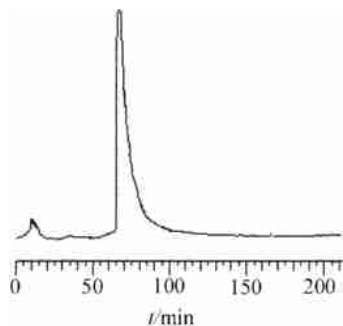


图 1 盐酸川芎嗪 CMSP 色谱图

3.2 香兰素的 CMSP 色谱保留特性 以磷酸缓冲液为流动相,考察香兰素在 CMSP 色谱柱上的保留特性,发现香兰素在保留时间为 22.74 min 处有一色谱峰(图 4);相同的色谱条件下, β_1 受体激动剂盐酸异丙肾上腺素的色谱峰位于保留时间 22.27 min 处(图 5),盐酸多巴酚丁胺的色谱峰位于保留时间

22.25 min 处(图 6)。说明香兰素可作用于心肌细胞膜受体,而且有可能作用于 β_1 受体。

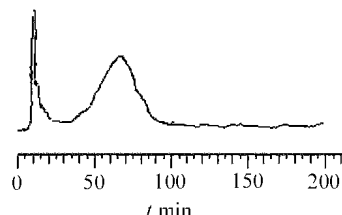


图 2 甲磺酸酚妥拉明 CMSP 色谱图

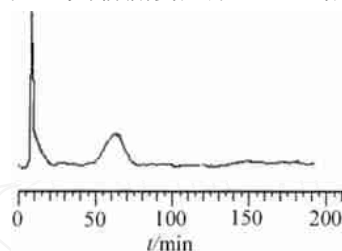


图 3 重酒石酸去甲肾上腺素 CMSP 色谱图

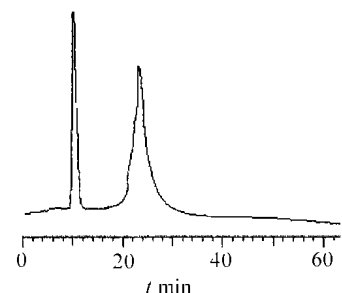


图 4 香兰素 CMSP 色谱图

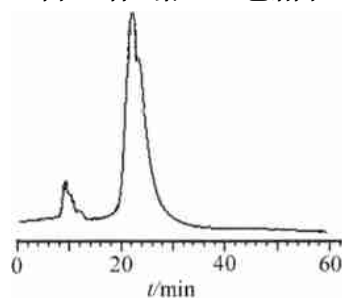


图 5 盐酸异丙肾上腺素 CMSP 色谱图

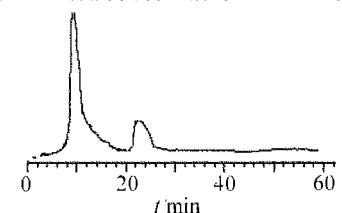


图 6 盐酸多巴酚丁胺 CMSP 色谱图

3.3 大黄酚的 CMSP 色谱保留特性 以磷酸缓冲液为流动相,考察大黄酚在 CMSP 色谱柱上的保留特性,发现大黄酚在保留时间为 18.69 min 处有一色谱峰(图 7),说明大黄酚可作用于心肌细胞膜上的某种受体。在相同的色谱条件下,所试验的心肌细胞膜上已知受体拮抗剂和激动剂在此保留时间附近

均无明显的色谱峰出现。

3.4 阿魏酸的 CMSP 色谱保留特性 对阿魏酸在 CMSP 色谱柱上的保留特性进行研究发现,阿魏酸在 CMSP 色谱柱上无任何保留,说明阿魏酸不与心肌细胞膜上的任何受体作用。

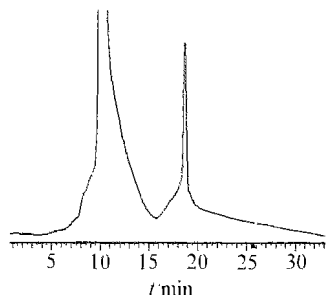


图 7 大黄酚 CMSP 色谱图

4 讨论

作者所采用的硅胶载体心肌细胞膜固定相色谱柱具有细胞膜活性和色谱分离双重特性,其与药物的作用能够模仿药物在体内与受体的作用过程,有利于反映药物与细胞膜受体的相互作用,克服了经

典的研究方法步骤烦琐,劳动强度高,并且成功概率低的缺点,是研究药物与受体作用的一种较为理想的模型。实验结果表明,川芎嗪、香兰素以及大黄酚均可作用于心肌细胞膜上的某种受体,这些研究为进一步的药理实验奠定了一定的基础。至于他们是与何种受体作用还有待于进一步的试验确证。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海:上海人民出版社,1997. 220.
- [2] 贺浪冲,杨广德,耿信笃. 固定在硅胶表面细胞膜的酶活性及其色谱特性. 科学通报,1999,44(6):632.
- [3] 赵惠茹,杨广德,贺浪冲,等. 用细胞膜色谱法筛选当归中的有效成分. 中国药理学杂志,2000,35(1):13.
- [4] 高 琨,贺浪冲,杨广德. 用细胞膜色谱法筛选研究红毛七中的有效成分. 中国药理学杂志,2003,38(1):14.
- [5] Lee H R, Roeske W R, Yamamura H I. High affinity specific [^3H] (+) PN 200-110 binding to dihydropyridine receptors associated with calcium channels in rat cerebral cortex and heart. Life sciences, 1984, 35(7):721.
- [6] 韩 玲,陈可冀. 川芎嗪对缺血再灌注心肌保护作用的研究进展. 解放军药学报,2002,18(1):41.

Study on the interactions between four components in

Ligusticum chuanxiong rhizome and acceptors on cardiac muscle membrane

ZHANG Yan-ni, YUE Xuan-feng, ZHANG Zhi-qi

(Key Laboratory of Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry
of Ministry of Education, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

[Abstract] **Objective:** To study the interactions between four components in *Ligusticum chuanxiong* rhizome and heart cell membrane acceptors. **Method:** Through observing the retention characteristics of the four components (tetramethylpyrazine, vanillic, chrysophol, ferulic acid) on cell membrane stationary phase (CMSP) chromatographic column, whether the components combine with cell membrane acceptors was studied, and through further comparing the retention characteristics with those of known activators or antagonists corresponding to cell membrane acceptors, the kind of acceptor with which one component combines was studied. **Result:** Tetramethylpyrazine, vanillic and chrysophol had retention on CMSP chromatographic column while ferulic acid hadn't. The retention characteristics of tetramethylpyrazine were similar to activator and antagonist corresponding to α acceptor, vanillic with β_1 acceptor activator. **Conclusion:** Tetramethylpyrazine, vanillic and chrysophol can all combine with cardiac muscle membrane acceptors, while ferulic acid can not; tetramethylpyrazine probably acts on α acceptor and vanillic acts on β_1 acceptor.

[Key words] *Ligusticum chuanxiong*; chemical components; cardiac muscle membrane acceptor; cell membrane chromatography

[责任编辑 方文贤]