

α -苦瓜素和 β -苦瓜素的研究进展

山东大学生物系(济南 250100) 王庆华* 于长春 徐誉泰 王海仁

摘要 综述 α -苦瓜素和 β -苦瓜素的提纯、理化性质、生物学性质及作用机理的探讨。

苦瓜 *Momordica Charanriantia* 系葫芦科苦瓜属植物, 其果实是我国人民常用蔬菜。近年来, 国内外许多学者从苦瓜种仁中分离纯化蛋白质并对其生理作用进行研究, 从中筛选出有效成分作为药用和其它用途。目前已经分离纯化出苦瓜凝集素 (momordica charantia lectin, MCL)、 α -苦瓜素 (α -momorcharin)、 β -苦瓜素 (β -momorcharin)、苦瓜抑制剂 (momordica charantia inhibitor, MCI) 以及核糖体失活蛋白 (ribosome inactivating protein, RIP) 等多种苦瓜种仁蛋白。现主要综述 α -苦瓜素和 β -苦瓜素的研究进展。

1 α -苦瓜素和 β -苦瓜素的分离纯化

1986年Yeung以脱脂苦瓜种仁为材料, 采用生理盐水浸提、丙酮分级沉淀、CM-Sepharose离子交换柱层析和Sephadex G-100凝胶过滤层析等步骤, 分离得到2种均一的具有堕胎作用的蛋白质, 分别定名为 α -苦瓜素和 β -苦瓜素^[1], 经SDS-PAGE检测两者均为一条电泳谱带。

2 α -苦瓜素和 β -苦瓜素的理化性质

α -苦瓜素和 β -苦瓜素都是单链糖蛋白, 均无凝集素活性, 分子量分别为29 000和28 000, 中性糖含量分别为1.6%和1.3%, N-末端氨基酸残基均为Asp并且富含含有Asp/Asn残基, 以及Glu/Gln残基, 但却没有Cys残基。除此之外, α -苦瓜素还含有少量的Met残基, 经BrCN水解可产生几个水解片段而 β -苦瓜素不含有Met残基, 因而BrCN对它无任何水解作用。在免疫扩散实验中, β -苦瓜素不能与 α -苦瓜素的抗血清发生沉淀交叉反应形成沉淀弧, 因而说明它们的免疫化学性质是不相同的^[2], 也进一步证明了 α -苦瓜素和 β -苦瓜素是2种不同的物质。

3 α -苦瓜素和 β -苦瓜素堕胎作用的研究

α -苦瓜素和 β -苦瓜素都能引起怀孕小鼠的早期和中期流产。在早期器官发生阶段, 2种苦瓜素都具有致畸胎作用, 可引起体外培养鼠胚的畸形生长, 头、躯干、四肢出现不正常形态, 对内脏卵黄囊的超结构研究表明, 内胚层出现错乱, 顶端表面内折程度降低, 细胞间距扩大, 这一时期的致畸作用可能是由于苦瓜素对内脏卵黄囊的毒害作用所致^[3]。

给怀孕1~3d的小鼠腹腔注射 α -苦瓜素(0.2mg/25g体重), 50%多的小鼠胚胎着床失败, 体外研究表明, 除非 α -苦瓜素的浓度较高($\geq 0.5\mu\text{g/ml}$), 否则并不能显著影响胚胎从2-细胞阶段发育到桑椹胚阶段, 但随后胚泡形成的能力显著退化, 细胞数目减少, 细胞分裂亦受到抑制^[4]。给怀孕4~6d的小鼠腹腔注射 α -苦瓜素(0.2mg/25g体重), 胚胎着床被抑制^[5]。体外培养胚细胞研究表明, α -苦瓜素不影响桑椹胚到胚泡的发育, 但当把体外培养的胚胎移植到假孕鼠子宫中, 胚胎则显示较低的诱导蜕膜能力并且许多胚胎不能着床, 即使着床, 胚胎发育也很迟缓, 许多部位仅含有滋养层巨细胞和胚外膜^[6]。可见, α -苦瓜素终止

*Address: Wang Qinghua, Department of Biology, Shandong University, Jinan

早孕的作用因怀孕时间的不同而有所差异,在怀孕早期可影响到桑椹胚的发育而终止妊娠,而一旦发育到桑椹胚阶段,直到胚泡以后的发育才受阻,这一时期 α -苦瓜素可能主要对滋养层细胞起毒害作用。

β -苦瓜素抑制假孕鼠子宫对机械刺激的蜕膜反应。经 β -苦瓜素处理的小鼠子宫,基质细胞不能蜕膜,子宫腺体肿胀,内胚层和子宫肌层中退化的细胞重新开始分裂。另外, β -苦瓜素对体外培养的内胚层细胞的生物合成活性有抑制作用, ^3H -尿嘧啶、 ^3H -胸腺嘧啶和 ^3H -亮氨酸的细胞结合率均明显下降^[7]。可能 β -苦瓜素对早孕鼠的堕胎作用是由于它抑制了内胚层的分化而导致的。

4 α -苦瓜素和 β -苦瓜素免疫抑制活性的研究

体外研究表明, α -苦瓜素和 β -苦瓜素的非细胞毒作用剂量可以显著地抑制小鼠脾细胞由于伴刀豆球蛋白A、植物凝集素和脂多糖的存在而产生的促有丝分裂反应,抑制作用与所用苦瓜素的剂量成正比关系。同时,由异物抗原引起的淋巴细胞分裂和由此而引发的溶解淋巴细胞的反应都被显著抑制。相反的是,溶解淋巴细胞的细胞溶解活性和自杀细胞没有受到伤害,而巨噬细胞抑制细胞的作用和吞噬细胞的作用却有明显下降。体内研究表明,给小鼠注射非毒性剂量的苦瓜素可以显著抑制迟延型过敏性反应,由绵羊红细胞引起的抗体形成也受到抑制。同样,由巯基醋酸酯诱导的巨噬细胞的迁移也被抑制,而体内自杀细胞的活性却不受影响^[8]。由此可以看出, α -苦瓜素和 β -苦瓜素强有力的免疫抑制活性不可能是由于直接溶解淋巴细胞所致。

5 α -苦瓜素和 β -苦瓜素抗肿瘤作用的研究

α -苦瓜素能够选择性杀伤绒毛膜癌细胞和黑色素瘤细胞,而对肝癌细胞的作用不明显、它对肿瘤细胞的毒性作用方式与干扰DNA代谢的一些抗癌药物如氨甲喋呤、5-氟尿嘧啶等的作用方式不同,放射性前体物整合研究表明, α -苦瓜素抑制肿瘤细胞的蛋白质合成。用 α -苦瓜素处理后,绒毛膜癌细胞中绒毛膜促性腺激素和黄体酮的分泌显著减少,主要原因是由于癌细胞数目的减少^[9]。 β -苦瓜素能够抑制 ^3H -亮氨酸、 ^3H -尿嘧啶和 ^3H -胸腺嘧啶整合到人舌鳞状上皮癌细胞中,但对鼠肝细胞的蛋白质、DNA和RNA的合成没有影响^[10]。

6 α -苦瓜素和 β -苦瓜素与其它苦瓜种仁蛋白的关系

由于 α -苦瓜素和 β -苦瓜素均无凝集血细胞的活性,因而不同于苦瓜凝集素。据报道, α -苦瓜素和 β -苦瓜素与核糖体失活蛋白的相应抗血清可以发生交叉反应,核糖体失活蛋白也具有堕胎作用^[11],两者之间的关系有待于进一步验证。

总之, α -苦瓜素和 β -苦瓜素的生物学作用中潜在着可观的药用价值,它们与天花粉蛋白都属于葫芦科植物蛋白,其作用也具有许多相似之处。因而,进一步研究它们的作用方式、作用机理,减缓它们的毒害作用以利于临床应用,是非常必要和可行的。

参 考 文 献

- 1 Yeung H W, et al. *Int J Peptide Protein Res*, 1986, 28(5): 518
- 2 Yeung H W, et al. *Planta Medica*, 1987, 53(2): 164
- 3 Chan W Y, et al. *Contraception*, 1986, 34(5): 537
- 4 Tam P P L, et al. *J Reprod Fert*, 1984, 71(1): 33
- 5 Law L K, et al. *J Reprod Fert*, 1983, 69(2): 597
- 6 Tam P P L, et al. *J Reprod Fert*, 1984, 71(2): 567

(下转第271页)

四神胶囊的剂型研究

沧州市药检所(061001) 王晓琦 郑德杰 刘立维 石月岭 张云发

四神丸收载于中国药典(1990年版),是由肉豆蔻、吴茱萸、补骨脂、五味子、干姜、大枣等6味药组成。其崩解缓慢、服用量大,一定程度影响了治疗效果。我们将丸剂改进为胶囊剂,并对其定性鉴别、溶散时限等进行比较研究,认为是可行的。

1 材料和试剂

五味子甲素、五味子乙素、补骨脂素、异补骨脂素均购于中国药品生物制品检定所。四神丸A厂(批号A),B厂(批号B₁, B₂)。所用药材由沧州中药厂提供。其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 四神胶囊的制备:按四神丸处方量,大枣加水煎煮2次,每次0.5h,合并煎液,浓缩成膏。肉豆蔻(制)、补骨脂、五味子照流浸膏与浸膏剂项下的渗滤法,用60%乙醇作溶剂,进行渗滤,干姜照流浸膏与浸膏剂项下的渗滤法,用乙醇作溶剂,进行渗滤,合并以上乙醇渗滤液,回收乙醇,浓缩成膏。吴茱萸(制)粉碎成细粉与水、醇膏混合,低温干燥、粉碎、混匀,装入胶囊即得。共制2批C₁、C₂。

2.2 定性鉴别

2.2.1 五味子的鉴别:取内容物1.5g,加氯仿20ml,超声处理20min,滤过,取滤液蒸干,残渣加氯仿1ml使溶解,制成供试品溶液。取四神丸粉末1.5g,同法制成对照溶液。另取五味子甲素和五味子乙素对照品,加氯仿制成每1ml各含1mg的混合溶液,作为对照品溶液。吸取上述3种溶液各2ml,分别点于同一硅胶GF₂₅₄板上,以石油醚(30~60°C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的

上层溶液展开,置UV灯(254nm)下检视。供试品色谱在与对照溶液及对照品溶液色谱相应的位置上显相同的红棕色斑点。见图。

2.2.2 补骨脂的鉴别:取胶囊内容物2g,加醋酸乙酯20ml,超声处理20min,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯1ml使溶解,作为供试品溶液。同时取四神丸粉末2g,同法制成对照溶液。另取补骨脂素、异补骨脂素对照品加醋酸乙酯制成每1ml各含2mg的混合溶液,作为对照品溶液。吸取上述溶液各2~4μl,分别点于同一硅胶G板上,以正己烷-醋酸乙酯(8:2)展开,喷以10%KOH乙醇溶液。置UV灯(365nm)下检视。供试品色谱在与对照溶液及对照品溶液色谱相应的位置上显相同的荧光斑点。结果见图。

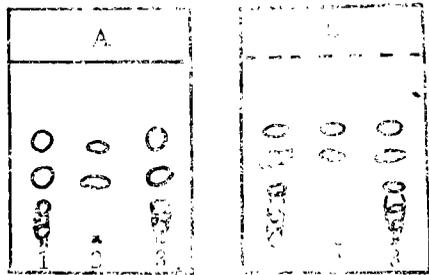


图 TLC鉴别图

A-五味子 B-补骨脂

1-供试品 2-对照品 3-对照溶液

2.3 溶散时限:按中国药典1990年版附录丸剂及胶囊剂项下的方法检查。结果,丸剂为92min(n=3),胶囊剂为57min(n=3)。

(1994-12-29收稿)

(上接第237页)

7 Chan W Y, et al. Contraception, 1985, 31(1): 83

8 Leung S D, et al. Immunopharmacology, 1987, 13(3): 159

9 Tsao S W, et al. Toxicol, 1990, 28(10): 1183

10 Chan W Y, et al. Int J Biochem, 1992, 24(7): 1039

11 Yeung H W, et al. Int J Peptide Protein Res, 1988, 31(3): 265

(1994-10-12收稿)