

桂竹糖芥强心苷 G 对 Na^+, K^+ -ATP 酶的抑制作用 Δ

黑龙江商学院中药系(哈尔滨 150076) 张晓丹* 季宇彬 马瑛** 乔国芬*** 孔琪

摘要 对照哇巴因观察糖芥强心苷 G 对大鼠心肌 ATP 酶活性的影响。结果表明糖芥苷 G 体外显著抑制心肌 Na^+, K^+ -ATP 酶, 并呈浓度依赖性。而 ATP 对糖芥苷 G 的作用几无影响。

关键词 糖芥苷 G Na^+, K^+ -ATP 酶 抑制剂

Inhibitory Action of Cheiranthoside G on Na^+, K^+ -ATPase

Zhang Xiaodan, Ji Yubin, Ma Ying, *et al.* (Department of Chinese Materia Medica, Heilongjiang Commercial College, Harbin 150076)

Abstract The mechanism of inhibition of Na^+, K^+ -ATPase by cheiranthoside G was studied. Characteristics of its inhibitory action of Na^+, K^+ -ATPase were compared with those of ouahain. Results indicated that cheiranthoside G was a noncompetitive inhibitor with respect to Na^+, K^+ , and the effect was dose dependent. ATP was without effect on Na^+, K^+ -ATPase inhibition by cheiranthoside G.

Key words cheiranthoside G Na^+, K^+ -ATPase

桂竹糖芥 *Erysimum cheiranthoides* L. 系十字花科二年生草本植物, 主产于我国东北地区, 除华南外全国各省均有分布。该植物的全草和种子都含有多种强心苷^[1], 具有毒毛旋花子苷作用, 生物活性强、作用快、毒性小, 几无积蓄性^[2]。桂竹糖芥强心苷 G (以下简称糖芥苷 G) 是自桂竹糖芥种子强心苷中分离纯化含量较高的有效成分, 经化学分析和光谱 (UV, IR, FAB-MS, ¹HNMR, ¹³CNMR) 鉴定, 其化学结构为毒毛旋花子苷元-3-O- β -D-洋地黄毒糖 1 \rightarrow 4 α -L 鼠李糖苷 (见图 1)。我们对糖芥苷 G 抑制大鼠心肌 Na^+, K^+ -ATP 酶活力作用进行了研究, 并与 Oua (哇巴因) 进行比较, 探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料: 桂竹糖芥强心苷 G 由黑龙江商学院中药系台宝山教授提供, 纯度为

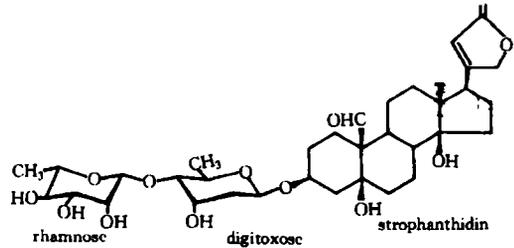


图 1 桂竹糖芥苷 G

99.99%; Oua 系 Sigma 公司出品; 上述药物均用少量乙醇溶解后用蒸馏水稀释至所需浓度。三磷酸腺苷 (ATP- Na_2^+) 为中科院上海生物化学研究所产品。SD 雄性大鼠, 体重 (200 \pm 19.8) g, 由哈尔滨医科大学动物实验中心提供。

1.2 方法

1.2.1 Na^+, K^+ -ATP 酶的制备^[3]; SD 大鼠断头处死, 速取心脏, 置于预冷的 Tris-HCl 缓冲液中, 冲洗 2 次后加入 5 倍体积的 Tris

* Address: Department of Chinese Materia Medica, Heilongjiang Commercial College, Haerbin

张晓丹 毕业于哈尔滨医科大学, 在职硕士研究生, 副教授, 黑龙江商学院中药系药理教研室主任。专业研究方向: 心血管药理及抗衰老药理, 先后承担了国家科委及黑龙江省科委自然科学基金项目多项, 其中《抗心衰新药——桂竹糖芥的开发研究》获黑龙江省教委科学技术进步一等奖。主要著作有《新编医药商品学》(主编)、《中药活血化瘀有效成分药理与应用》(副主编)。

** 黑龙江省计划生育药具站 ** 哈尔滨医科大学药理教研室

Δ 该课题为黑龙江省科委自然科学基金资助项目

缓冲液(含蔗糖 0.25 mol/L, Tris-EDTA 1 mmol/L, HCl 10 mmol/L, pH7.4), 剪碎并制成匀浆, 高速离心(1.1×10^4 r/min, 15 min), 取上层溶液再行超速离心(1.0×10^5 r/min, 30 min, 2次), 将沉淀物加上上述缓冲液混匀, 即得大鼠心微粒体液悬液, 以 Bradford 比色法^[4]测定酶蛋白含量, 配成 0.5 g/L 的心微粒体液蛋白混悬液, 备用。上述操作均在 0~4 °C 进行。

1.2.2 酶活力测定: 应用光电比色法以复管测定 ATP 酶活力。在 1 mL 反应体系中含咪唑-盐酸 30 mmol/L, Mg^{2+} 5 mmol/L, 含或不含 Na^+ 100 mmol/L, 含或不含 K^+ 5 mmol/L, 测心肌酶活力与酶蛋白浓度为 25 mg/L, pH 为 7.4, 不含 Na^+ , K^+ 的酶活力与 Mg^{2+} -ATP 酶活力。37 °C 温育 10 min 后加入 5 mmol/L 的 ATP 开始反应, 10 min 后取各测定浓度反应液 0.1 mL 按文献^[5]方法测定无机磷含量。酶活力单位以 1 h 由 1 mg 蛋白水解生成的无机磷的微摩尔数表示, 即 $\mu\text{mol Pi}/(\text{mg} \cdot \text{h})$ 。总酶活力减去 Mg^{2+} -ATP 酶活力即得 Na^+ , K^+ -ATP 酶活力。

2 结果

2.1 糖芥苷 G 对大鼠心 Na^+ , K^+ -ATP 酶的抑制作用: 不同浓度的糖芥苷 G 对大鼠心 Na^+ , K^+ -ATP 酶的抑制作用曲线与哇巴因的抑制曲线形状相似, 在 1 $\mu\text{mol/L}$ 时都能达到最大抑制, 其抑制率糖芥苷 G 为 95%, 哇巴因为 100%, 见图 2。

2.2 Na^+ , K^+ 对糖芥苷 G 抑酶作用的影响: 在 $[Na^+]$ 和 $[K^+]$ 改变时, 糖芥苷 G 和哇巴因对 Na^+ , K^+ -ATP 酶的抑制作用, 都符合 Michaelis-Menten 图型, 见图 3, 4。所得数据以 $1/[K^+]$ (或 $1/[Na^+]$ 对 $[Na^+$, K^+ -ATP 酶] $^{-1}$ 作图, 两者呈现相似的动力学图型, 见图 5。

2.3 不同浓度 ATP 对糖芥甘 G 抑酶作用的影响: 见表 1。结果可见, 不同浓度 ATP 对糖芥苷 G 抑制 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性几乎无影响。哇巴因对 ATP 为非竞争抑制。

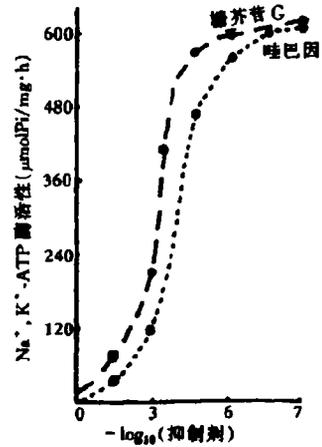


图 2 糖芥苷 G 对 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的影响

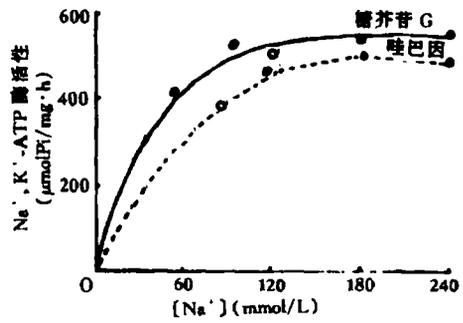


图 3 Michaelis-Menten 作图 (Na^+) 不同时糖芥苷 G 和哇巴因对 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性影响

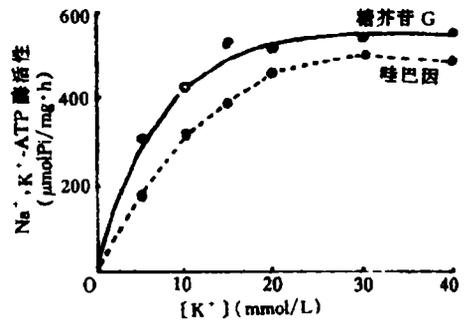
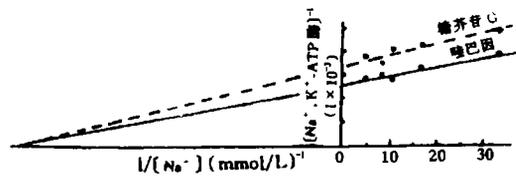


图 4 Michaelis-Menten 作图 (K^+) 不同时糖芥苷 G 和哇巴因对 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性影响

3 讨论

本文结果表明, 糖芥苷 G 对大鼠心肌 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性具有显著的抑制作用, 并与哇巴因对 Na^+ , K^+ -ATP 酶抑制作用极为相似, 故我们推测糖芥苷 G 的强心作用可能与对心肌 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性的抑制作用有关。这种作用与其共同的强心甾烯的基



〔糖芥苷 G〕1 μmol/L;〔哇巴因〕1 μmol/L
图 5 Lineweaver-Burk 作图〔Na⁺〕不同时糖芥苷 G 对 Na⁺, K⁺-ATP 酶抑制曲线

本结构^[6]有关,如 C₁₄和 β-OH、C₁₇的 β-不饱和和内酯环及 C/D 环顺式耦合有关,可能形成一个具有相当刚性的非极性凹陷,通过疏水作用,使非极性同酶表面互相补合,而起抑制作用。两者的结构的不同,均在于 C₁₀, C₁₁及 C₁₅位上的取代基不同而已。糖芥苷 G 对 Na⁺, K⁺-ATP 酶的抑制几乎不受 ATP 浓度

表 1 不同浓度 ATP 对糖芥苷 G 抑制 Na⁺, K⁺-ATP 酶活性的影响〔μmol Pi/(mg · h)〕

ATP(mmol/L)	0	0.75	1.5	2.25	3.0	4.5	6.0
糖芥苷 G(1 μmol/L)	0	261.4	273.3	272.4	266.2	254.4	263.4
哇巴因(1 μmol/L)	0	336.2	512.2	526.4	662.2	631.3	563.5

的影响,提示糖芥苷 G 可能主要作用于 Na⁺, K⁺-ATP 酶作用机制的第一步。

参 考 文 献

1 台宝山,等. 药学通报,1982,16(6):325
 2 常福久,等. 中医药学报,1977,(1):27

3 韩晓燕,等. 中国中药杂志,1996,21(5):299
 4 Bordford M M. Anal Biochem,1979,72:248
 5 徐友涵,等. 生物化学与生物物理进展,1986,4(1):64
 6 北京医学院北京中医学院主编. 中草药成分化学. 北京:科学出版社,1980:408

(1999-05-17 收稿)

当归四逆加吴茱萸生姜汤和关木通、 八月扎茎短期肾毒性实验研究[△]

天津中医学院(300193) 马红梅* 张伯礼 范英昌 孙静美 李 苓

摘 要 对比进行关木通及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤旧方和八月扎茎及其所在的当归四逆加吴茱萸生姜汤新方短期小鼠肾毒性实验,每日 ig 1 次,关木通组 9 g/kg、旧方组 30 g/kg、八月扎茎组 9 g/kg 和新方组 30 g/kg,连续 7 d。观察小鼠体重和血红蛋白、肾功能及肾组织学变化。结果发现:关木通组及旧方组的体重、尿蛋白和肾组织均明显异常,与阴性对照组比有显著性差异(P<0.05),关木通组病变较重;而八月扎茎组及新方组未见明显异常。提示:关木通及其组成的旧方有相同的肾毒性趋向,而八月扎茎及其组成的新方未见肾毒性反应,因而,当归四逆加吴茱萸生姜汤中用木通科八月扎茎可能比用马兜铃科关木通更安全。

关键词 当归四逆加吴茱萸生姜汤 关木通 八月扎茎 肾毒性

中草药安全性日益受到重视,自 1993 年始国际上连续报道中草药肾病^[1~5],1997 年日本又报告多例服用天津当归四逆加吴茱萸生姜汤颗粒剂(代号 KM-38,其中关木通用量 1 g/d)和关木通茶后出现肾损害的病

人^[6,7]。国内也有报道因大量服用关木通导致急性肾衰的病例^[8],但关木通作为当归四逆加吴茱萸生姜汤复方中的非君药成分,在中国药典(九五版)常用剂量(6 g 以下)下使用,以前未见肾毒性的报道。为指导临床安全

* Address:Ma Hongmen,Tianjin College of Traditional Chinese medicine, Tianjin
[△]本课题为天津市自然科学基金资助项目(983609311)