

猫豆胍镇静催眠和抗震颤麻痹作用研究

黄增琼^{1,2}, 蒋伟哲^{1*}, 黄兴振¹, 黄敏¹, 巫世红¹, 韦永冠¹

(1. 广西医科大学药学院, 广西南宁 530021; 2. 右江民族医学院药理学系, 广西百色 533000)

摘要:目的 研究从猫豆中提取的单体成分猫豆胍(MDG)的镇静催眠、抗惊厥和抗震颤麻痹作用,为猫豆的综合利用奠定基础。方法 采用小鼠自主活动法、戊巴比妥钠阈下剂量催眠法、延长戊巴比妥钠睡眠时间法、抗硝酸土的宁致惊厥试验法和氧化震颤素致小鼠震颤试验法,观察MDG的镇静催眠、抗惊厥和抗震颤麻痹作用。结果 在375 mg/kg剂量下MDG能减少小鼠自主活动次数和活动路程($P < 0.05$);500、625 mg/kg MDG能增加阈下剂量戊巴比妥钠入睡小鼠只数($P < 0.05, 0.01$);625 mg/kg MDG能延长戊巴比妥钠睡眠时间($P < 0.05$)和显著延长小鼠发生惊厥的潜伏期和死亡时间($P < 0.01$);MDG在375和625 mg/kg剂量时,对小鼠震颤潜伏期和持续时间均无显著影响($P > 0.05$)。结论 猫豆中提取的MDG具有一定的镇静催眠和抗惊厥作用,但没有抗震颤麻痹作用。

关键词:猫豆;镇静;催眠;震颤麻痹

中图分类号:R286.14

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)02-0276-03

猫豆又名猫爪豆、狗爪豆、白藜豆、龙爪豆、狗蹄豆,是豆科藜豆属植物龙爪藜豆 *Stizolobium chin-chinensis* (Lour.) Tang et Wang 的种子^[1],广西是其最主要的产区。猫豆中含左旋多巴,是国内提取左旋多巴最主要的原料药材。提取左旋多巴后的猫豆渣饲喂猪后表现出一定的镇静、催眠作用,提示猫豆中可能含有引起镇静催眠的物质。为此,本实验采用经典的药理学实验方法,对从猫豆中分离得到的单体成分猫豆胍(MDG)开展镇静催眠、抗惊厥和抗震颤麻痹作用研究,为阐明猫豆的药理活性提供可靠的实验依据。

1 材料

1.1 药材及提取物制备:猫豆由广西邦尔植物制品有限公司提供,经右江民族医学院附属医院刘春荣副主任中药师鉴定。猫豆干燥后粉碎,用盐酸浸泡渗漉提取,采用732强酸性苯乙烯系阳离子交换树脂进行分离,以氨水洗脱,洗脱液分两部分收集。第1部分洗脱液主要成分为左旋多巴,第2部分洗脱液经分离纯化得到猫豆胍(MDG)(经HPLC检测,质量分数 $> 90\%$)。样品临用前用蒸馏水配制,并调节pH至中性。

1.2 药品与试剂:盐酸,广东省廉江市爱廉化试剂有限公司,批号06051808;氨水,广东光华化学厂有限公司,批号20051222;戊巴比妥钠,东京化成工业

株式会社,批号035131;地西泮片,上海医药集团有限公司信宜制药总厂,批号070401;硝酸土的宁注射液,上海禾丰制药有限公司,批号060921;氧化震颤素,南京德宝生化器材有限公司;左旋多巴片,广西河丰药业有限公司,批号070610。

1.3 动物:清洁级昆明种小鼠,体质量18~22 g,雌雄各半,由广西医科大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYKG桂2003-0005。

1.4 仪器:Dig Behv-CPP动物行为分析系统条件性位置偏爱视频分析系统,上海吉量软件科技有限公司。

2 方法

2.1 对小鼠自主活动的影响^[2]:取小鼠50只,随机分成5组,即空白对照组(蒸馏水10 mL/kg),阳性对照组(安定1 mg/kg),MDG大、中、小剂量(625、500、375 mg/kg)组。给药前把各小鼠投入动物行为分析系统活动箱中适应5 min,记录2 min内小鼠活动路程和穿梭次数。然后各组小鼠分别ig给药1次,给药60 min后,同法测定小鼠活动路程和穿梭次数。

2.2 对戊巴比妥钠阈下催眠剂量小鼠睡眠的影响^[3]:动物分组及给药方法同2.1项。给药30 min后,各组小鼠分别ip 30 mg/kg戊巴比妥钠,以注射戊巴比妥钠后15 min内小鼠翻正反射消失达1

* 收稿日期:2008-05-12

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30760309);广西科学基金项目(桂科自0832014Z);广西研究生教育创新计划项目(2007105981007M15)

作者简介:黄增琼(1979-),男(壮族),广西百色市人,讲师,硕士研究生,研究方向为新药研究与开发。

Tel: (0771) 5358955 E-mail: huangzengqiong@163.com

*通讯作者 蒋伟哲 Tel: (0771) 5358955 Fax: (0771) 5358269 E-mail: jiangweizhe6812@yahoo.com.cn

min 以上为入睡指标,记录各组入睡小鼠的只数及睡眠时间。

2.3 延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用^[3]:动物分组及给药方法同 2.1 项。给药 60 min 后,各组小鼠分别 ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg,以注射戊巴比妥钠后 15 min 内小鼠翻正反射消失时间为睡眠潜伏期,以动物翻正反射消失至恢复为睡眠持续时间,观察并记录各组小鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间。

2.4 对硝酸士的宁致小鼠惊厥作用的影响^[3,4]:动物分组及给药方法同 2.1 项。给药 60 min 后,各组小鼠分别 sc 硝酸士的宁 1.5 mg/kg,记录出现惊厥反应的时间、动物数和死亡时间。

2.5 对氧化震颤素致小鼠震颤作用的影响^[3]:取小鼠 40 只,随机分成 4 组,即空白对照组(蒸馏水 10 mL/kg),阳性对照组(左旋多巴片 125 mg/kg),MDG 大、小剂量(625、375 mg/kg)组。各组小鼠连续 ig 给药 5 d,末次给药后 1 h,各组小鼠分别 ip 氧化震颤素 0.15 mg/kg,记录小鼠发生震颤的潜伏期和持续时间。

2.6 统计学处理:计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料用 χ^2 检验进行统计分析。

3 结果

3.1 对小鼠自主活动的影响:MDG 小剂量可减少小鼠活动路程和穿梭次数,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.05$),表明 MDG 小剂量对小鼠自主活动有抑制作用。结果见表 1。

表 1 MDG 对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of MDG on autonomic mobility in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	给药前		给药后	
		活动路程/mm	穿梭次数/次	活动路程/mm	穿梭次数/次
空白对照	-	5 590.76 ± 528.71	5.9 ± 3.1	4 583.43 ± 758.22	4.1 ± 3.0 *
安定	1	4 840.86 ± 330.20	5.0 ± 3.3	1 423.42 ± 993.51 *	0.4 ± 0.3 **
MDG	375	4 908.91 ± 916.52	4.7 ± 3.3	3 433.23 ± 827.93 *	1.3 ± 0.9 *
	500	6 391.24 ± 280.14	7.2 ± 4.1	4 019.05 ± 305.14	3.2 ± 1.9
	625	4 638.42 ± 134.16	3.9 ± 2.4	4 181.36 ± 943.30	3.4 ± 1.3

与空白对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs blank control group

3.2 对戊巴比妥钠阈下催眠剂量小鼠睡眠的影响:MDG 中剂量和大剂量可增加入睡小鼠只数,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01),表明 MDG 中剂量和大剂量具有催眠作用。结果见表 2。

3.3 延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用:MDG 各剂量组对小鼠入睡潜伏期无显著影响,但大剂量组能延长小鼠戊巴比妥钠睡眠时间,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.05$),表明 MDG 大剂量有一定催

眠作用。结果见表 2。

表 2 MDG 对小鼠戊巴比妥钠阈下催眠剂量和戊巴比妥钠睡眠时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of MDG on sub-threshold hypnotic dosage and sleep time-prolonging test with pentobarbital sodium in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	入睡动物数/只	入睡率/%	潜伏期/min	睡眠时间/min
空白对照	-	1	10	4.9 ± 1.6	41.3 ± 7.7
安定	1	7	70 **	3.8 ± 0.4	123.1 ± 6.0 *
MDG	375	4	40	4.8 ± 2.7	66.7 ± 9.6
	500	5	50 *	6.5 ± 3.1	43.5 ± 3.6
	625	7	70 **	4.1 ± 0.8	78.7 ± 11.8 *

与空白对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs blank control group

3.4 对硝酸士的宁致小鼠惊厥作用的影响:MDG 各剂量组均不能减少发生惊厥小鼠数量,但大剂量组可延长小鼠出现惊厥反应的时间和死亡时间,与空白对照组比较差异显著 ($P < 0.01$),表明 MDG 大剂量可延缓硝酸士的宁致惊厥作用。结果见表 3。

3.5 对氧化震颤素致小鼠震颤作用的影响:MDG 大、小剂量对小鼠产生震颤的潜伏期和持续时间均无显著影响,与空白对照组比较差异不显著 ($P > 0.05$)。表明在实验剂量下,MDG 不能对抗氧化震颤素致小鼠肌肉震颤作用。结果见表 4。

表 3 MDG 对硝酸士的宁致惊厥作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effects of MDG on anti-convulsion induced by strychnine nitrate in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	惊厥反应时间/min	死亡时间/min	惊厥数/只	惊厥率/%
空白对照	-	4.9 ± 0.7	3.4 ± 3.1	10	100
安定	1	8.0 ± 1.8 **	14.4 ± 1.2 **	7	70
MDG	375	5.0 ± 1.3	2.2 ± 1.3	10	100
	500	4.7 ± 0.9	2.7 ± 1.8	10	100
	625	6.5 ± 1.2 **	8.8 ± 3.2 **	10	100

与空白对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs blank control group

表 4 MDG 对氧化震颤素致小鼠震颤作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 Effects of MDG on paralysis agitans induced by oxotremorine in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	潜伏期/min	持续时间/min
空白对照	-	2.6 ± 8.3	34.2 ± 7.1
左旋多巴	125	3.4 ± 0.4 *	28.6 ± 4.2 *
MDG	375	2.8 ± 2.7	33.5 ± 6.8
	625	2.5 ± 0.8	35.7 ± 11.8

与空白对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs blank control group

4 讨论

猫豆为广西特色药食两用资源植物,其主要药

效成分为左旋多巴。从猫豆中提取左旋多巴已经在广西实现工业化生产。为拓展猫豆的用途,综合利用猫豆资源,本实验对猫豆中的单体成分猫豆甾(MDG)进行了药理活性研究。研究表明,MDG在较低剂量时,能抑制小鼠自主活动,增大剂量可协同戊巴比妥钠的镇静催眠作用;大剂量时虽不能减少硝酸土的宁致小鼠惊厥的动物数和死亡动物数,但可延长惊厥反应发生的时间和死亡时间;在实验剂量范围内,MDG对氧化震颤素所致小鼠震颤没有明显的对抗作用,不能延长小鼠发生震颤的潜伏期,对震颤持续时间影响不显著,表明MDG在

该实验剂量时,没有抗震颤麻痹作用。

综上所述,猫豆中存在一种具有镇静催眠的化学成分,但活性较弱,经结构修饰有继续研究开发的价值,其镇静催眠作用机制及在其他方面的药理作用有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上册. 上海:上海科学技术出版社, 1977.
- [2] 石世德, 周民伟, 李建军, 等. 安可梦口服液镇静催眠作用的实验研究 [J]. 广东药学院学报, 2004, 20(6): 654-656.
- [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2002.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2000.

土槿乙酸酰胺对 HeLa 细胞周期的影响

王 辉¹, 雷志勇², 陈 虹^{2*}, 王 贺³, 王 敏¹

(1. 武警宁夏总队医院 外一科, 宁夏 银川 750004; 2. 武警医学院 生药教研室, 天津 300162;

3. 河北医科大学 寄生虫教研室, 河北 石家庄 050017)

摘要:目的 通过研究土槿乙酸衍生物土槿乙酸酰胺 (PB-L Y) 对 HeLa 细胞周期的影响, 探讨 PB-L Y 的抗肿瘤作用机制。方法 采用流式细胞术检测 PB-L Y 对 HeLa 细胞周期的影响; 采用 RT-PCR 法检测 PB-L Y 对 HeLa 细胞周期相关基因 p53 和 p21 mRNA 表达的影响。结果 PB-L Y 可明显减少 G₁ 期的 HeLa 细胞比例, 明显增加 G₂ + M 期细胞的比例, 上调 p53 基因的表达, 同时协同下调 p21 基因的表达。结论 PB-L Y 可通过增加细胞周期相关基因 p53 基因的表达和减少 p21 基因的表达, 使 HeLa 细胞的周期阻断在 G₂ + M 期, 从而阻滞 HeLa 细胞的生长。

关键词: 土槿乙酸酰胺; 细胞周期; HeLa 细胞

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)02-0278-02

土槿乙酸 (pseudolaric acid B, PLAB) 的抗肿瘤作用近年来引起人们的高度关注, 最近研究表明土槿乙酸及其衍生物可破坏肿瘤细胞的微管结构, 抑制微管的聚合和解聚, 阻滞肿瘤细胞周期, 促进肿瘤细胞发生凋亡^[1~3]。土槿乙酸衍生物土槿乙酸酰胺 (18-amide-pseudolaric acid B, PB-L Y) 是将土槿乙酸与具有组蛋白转移乙酰化酶抑制活性的基因偶联得到的新颖化合物 (图 1), 对 HeLa 细胞有很强的抑制作用。本实验旨在初步探讨 PB-L Y 对 HeLa 细胞周期的影响及其作用机制, 为 PB-L Y 作为抗肿瘤新药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料: PB-L Y (质量分数 > 95%, 由天津武警

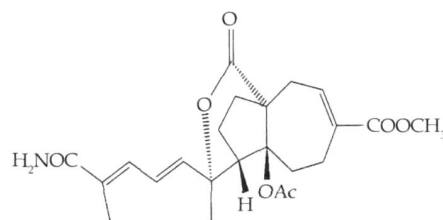


图 1 PBLY 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of PBLY

医学院生药教研室提供); 人宫颈癌 HeLa 细胞 (中国医学科学院药物研究所药理室提供); RPMI 1640 培养基 (Gibco 公司); Trizol (Invitrogen 公司); RT-PCR 两步法试剂盒 [宝生物工程 (大连) 有限公司]; EPICS-XL 型流式细胞仪 (Comlter Epics 公

* 收稿日期: 2008-05-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30171108); 武警总部课题 (WKH2005-7)

作者简介: 王 辉 (1981-), 男, 安徽阜阳市人, 硕士, 研究方向为抗肿瘤药理学。

Tel: 13895640605 E-mail: wanghui2178324@163.com

* 通讯作者 陈 虹 Tel: (022) 60578193 E-mail: chen hongtian06@yahoo.com