

玉叶金花皂苷U对M胆碱能神经支配器官的影响

曾宪彪¹, 李嘉^{2*}, 韦桂宁¹, 张颖², 韦宝伟¹

(1. 广西壮族自治区中医药研究院, 南宁 530022; 2. 广西中药质量标准重点实验室, 南宁 530022)

[摘要] 目的:研究玉叶金花皂苷U对M胆碱能神经支配器官(回肠平滑肌、瞳孔、唾液腺)的影响。方法:①用离体肌收缩力测量装置获取肌收缩力信息。分别往装置浴槽加入阿托品,使其终质量浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 或玉叶金花皂苷U,使其终质量浓度分别为 $100, 50, 25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,10 min后开始累积加入溴化乙酰胆碱,观察药物对不同终浓度溴化乙酰胆碱引起肌收缩力的影响,重复试验10次。②小鼠分为正常组和5个造模组,每组10只,模型组ip毛果芸香碱 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 1次,造成M胆碱能神经兴奋模型,15 min后,给成模小鼠尾静脉注射阿托品 $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 或玉叶金花皂苷U $10, 5, 2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,并ig碳末悬液,测量ig碳末30 min后小肠碳末推进率。③小鼠分组、造模和给药方法同2,分别于给药后15,60,240 min,测量瞳孔直径和唾液腺分泌量。结果:玉叶金花皂苷U降低肠平滑肌收缩力,使溴化乙酰胆碱终质量浓度与肌收缩力之间的量-效反应曲线右移;玉叶金花皂苷U($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,小肠碳末推进为 $(64.20\pm 10.14)\%$,较模型组降低;给药后15,60,240 min,瞳孔直径分别为 $(2.5\pm 0.19), (2.2\pm 0.18), (2.1\pm 0.40)\text{ mm}$,较模型组扩大,唾液腺分泌量分别为 $(102.3\pm 13.57), (90.2\pm 20.51), (68.0\pm 21.52)\text{ mg}$,较模型组减少($P<0.05$)。结论:玉叶金花皂苷U能抑制M胆碱能神经兴奋。

[关键词] 玉叶金花皂苷U; M胆碱能神经; 平滑肌; 瞳孔; 唾液腺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0159-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200159

Effect of Mussaendoside U on M Cholinergic Innervation Organs ZENG Xian-biao¹, LI Jia^{2*}, WEI Gui-ning¹, ZHANG Ying², WEI Bao-wei¹ (1. Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of mussaendoside U on M cholinergic innervation organs (ileum smooth muscle, pupil and salivary gland). **Method:** ①Muscle contraction force information was obtained using muscle force measuring device *in vitro*. Atropine was added to bath to achieve a final concentration of $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, or mussaendoside U was added in bath to achieve a final concentration of 100, 50, 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively. After 10 min, acetylcholine bromide was cumulatively added to observed the effect of drug on contraction force of muscle induced by different final concentration of acetylcholine bromide. The experiment was repeated for 10 times. ②Mice were divided into normal group and 5 model groups, with 10 mice in each group. Model group received intraperitoneal injection of pilocarpine once at a dose of $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to make M cholinergic nerve excitement model. After 15 min, modeled mice received intravenous injection of atropine at a dose of $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, or mussaendoside U at a dose of 10, 5, $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, and received telecarbon suspension ig at the same time. Telecarbon propulsion rate at intestine was measured after 30 min. ③Methods of mice grouping, modeling and treatment were identical with those in above. Pupil diameter and salivary gland secretion were measured respectively 15, 60, 240 min after administration. **Result:** Mussaendoside U reduced contraction force of intestine smooth muscle; dose-effect curve between acetylcholine bromide and muscle contraction force was shifted to right; telecarbon propulsion rate at intestine in mussaendoside U ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) group was $(64.20\pm 10.14)\%$,

[收稿日期] 20150201(004)

[基金项目] 广西科技厅科技能力建设基金项目(桂科能12239004-2);广西卫生厅中医药科技基金项目(GZPT13-30);广西中药质量标准研究重点实验室主任基金项目(桂中重科201106)

[第一作者] 曾宪彪,副主任药师,从事药理学研究, Tel:0771-5869102, E-mail: zxb51963@163.com

[通讯作者] *李嘉,硕士,副主任药师,从事植物化学研究, Tel:0771-5868986, E-mail: 1343157882@qq.com

lower than that in model group; pupil diameters were (2.5 ± 0.19) , (2.2 ± 0.18) , (2.1 ± 0.40) mm respectively 15, 60, 240 min after administration, bigger than those in model group; salivary gland secretion was (102.3 ± 13.6) , (90.2 ± 20.5) , (68.0 ± 21.5) mg, lower than those in model group ($P < 0.05$).

Conclusion: Mussaendoside U may inhibit M cholinergic nerve excitement as a kind of anticholinergic drug.

[Key words] mussaendoside U; M cholinergic nerve; smooth muscle; pupil; salivary gland

玉叶金花皂苷 U (简称皂苷 U) 是从茜草科玉叶金花属植物玉叶金花 *Mussaenda pubescens*^[1-2] 的根茎提取分离的 3 萜皂苷^[3]。Zhao W M 报道与本品有相同苷元的玉叶金花皂苷 O (mussaendoside O) 有抗胆碱作用^[4]。新近研究认为抗胆碱药的结构多有氨基和酯基部份, 氨基和胆碱受体结合, 酯基疏水胆碱受体, 从而竞争性阻断乙酰胆碱作用^[5]。皂苷 U 和玉叶金花皂苷 O 化学结构式如图 1, 它们的苷元相同, 有氨基没有酯基。文献少见没有酯基的抗胆碱药报道。笔者认为玉叶金花皂苷 O 发挥抗胆碱作用的基团是其苷元中的含氨基。推断皂苷 U 也是一个没有酯基的新型抗胆碱药。本文用溴化乙酰胆碱或毛果芸香碱激发 M 胆碱能神经兴奋, 研究皂苷 U 对 M 胆碱能神经支配器官的影响。

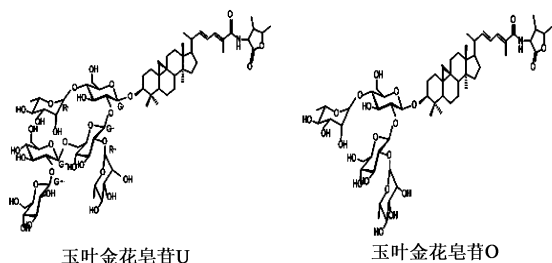


图 1 玉叶金花皂苷 U 和玉叶金花皂苷 O 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structural formula of mussaendoside U and mussaendoside O

1 材料

1.1 药物 皂苷 U 是从玉叶金花 *Mussaenda pubescens* 根茎提取的结晶, 批号 20110503, 其质谱等理化特征作者已发表^[6], 易溶于水, 与皂苷 U 对照品 (mussaendoside U, Sigma 公司产品) 用液相色谱法比较, 其含 mussaendoside U $>95\%$ 。

1.2 仪器和试剂 生物机能实验系统 (成都泰盟公司)。张力感应器 (北京航天医学研究所)。溴化乙酰胆碱 (AR 级, 批号 34832, Aladdin Chemistry Co. Ltd.), 阿托品 (批号 1308211, 河南润弘制药公司)。毛果芸香碱 (AR 级, 批号 201309151, 成都艾科达公司)。

1.3 动物 小白鼠, 体重 (20 ± 2) g; 豚鼠, 体重

(300 ± 25) g, 雌雄兼用, 广西医科大学医学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(桂)2009-0002。

2 方法

2.1 对溴化乙酰胆碱致离体回肠平滑肌收缩力的影响^[7] 速取 2 cm 豚鼠盲肠端回肠, 分离纵行平滑肌, 肌束两端以丝线结扎后连接于浴槽挂钩和张力的传感器。立即往浴槽加入 19.6 mL Krebs 氏液, 维持 37 °C 恒温, 通入混合气体 (5% CO₂, 95% O₂)。从张力传感器引出电信号至生物机能实验系统, 调节丝线张力, 使肌束负荷 1 g, 待肌束舒缩稳定 30 min 后作下列加药实验。①模型组: 每隔 2 min 往浴槽累积加入质量浓度为 1 g·L⁻¹ 溴化乙酰胆碱溶液 0.4 mL, 共 5 次, 使溴化乙酰胆碱终质量浓度分别为 20, 40, 60, 80, 100 mg·L⁻¹, 连续记录肌束舒缩状况, 以每次加溴化乙酰胆碱后的最小和最大肌收缩力均值为该溴化乙酰胆碱终浓度下的肌收缩力。②阿托品组: 往浴槽加入质量浓度为 1 g·L⁻¹ 的阿托品溶液 0.2 mL, 使阿托品终质量浓度为 10 mg·L⁻¹, 10 min 后, 同法累加溴化乙酰胆碱并记录肌束舒缩状况。③皂苷 U 组: 往浴槽加入质量浓度为 10, 5, 2.5 g·L⁻¹ 的皂苷 U 溶液 0.2 mL, 使皂苷 U 终质量浓度为 100, 50, 25 mg·L⁻¹, 10 min 后, 同法累加溴化乙酰胆碱, 同法试验。各组试验重复 10 次。以溴化乙酰胆碱终浓度为 X 轴, 肌收缩力为 Y 轴, 作量效反应曲线。各组量效反应曲线在同一坐标系比较, 以模型组曲线为基准线。

2.2 对 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠小肠碳末推进率的影响^[8] 取空腹小鼠 60 只, 随机分为正常组、模型组、阿托品组和皂苷 U 3 个剂量组, 每组 10 只。除正常组外, 其余各组按 10 mL·kg⁻¹, ip 质量浓度为 2 g·L⁻¹ 毛果芸香碱药液, 剂量 20 mg·kg⁻¹。注射后 15 min, 模型组尾静脉注射蒸馏水 10 mL·kg⁻¹; 阿托品组尾静脉注射质量浓度为 0.25 g·L⁻¹ 阿托品药液 10 mL·kg⁻¹, 剂量 2.5 mg·kg⁻¹; 皂苷 U 3 个质量浓度组分别尾静脉注射质量浓度为 1.0, 0.5, 0.25 g·L⁻¹ 皂苷 U 药液 10 mL·kg⁻¹, 剂量分别为 10, 5, 2.5 mg·kg⁻¹; 正常组不给药。同时 ig 10% 碳末悬液 20 mL·kg⁻¹, 30 min 后处死, 测量小肠长

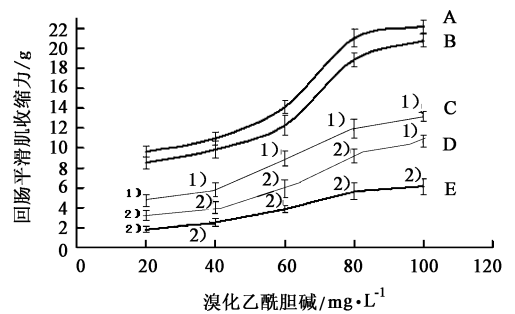
度和幽门至碳末推进最远处的小肠长度,计算碳末推进率。

2.3 对 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠瞳孔直径和唾液腺分泌的影响 小鼠分组、造模和给药方法同 2.2。试验前,用 10 倍解剖镜对瞳孔照相,测量瞳孔直径^[9];用棉纱吸取称重法测量 5 min 内唾液腺分泌量^[10]。分别于尾静脉给药后 15, 60, 240 min 测量瞳孔直径和 5 min 内唾液腺分泌量。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件包进行数据处理,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *F* 检验, *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对溴化乙酰胆碱致离体回肠平滑肌收缩力的影响 模型组见溴化乙酰胆碱终浓度与肌收缩力呈正相关,浓度越高,肌收缩力越大。皂苷 U 组见终浓度与肌收缩力呈负相关,在相同溴化乙酰胆碱终浓度下,肌收缩力低于模型组。阿托品组、皂苷 U (终质量浓度 100, 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 与模型组比较组间差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。各组量效反应曲线在同一坐标系比较,阿托品组和皂苷 U 组曲线均较模型组右移(图 2)。



A. 模型组; B. 皂苷 U 组 (25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); C. 皂苷 U 组 (50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); D. 皂苷 U 组 (100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); E. 阿托品组 (10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 皂苷 U 对溴化乙酰胆碱致豚鼠回肠平滑肌收缩的量效反应曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 2 Dose-effect curve of mussaenoside U on contraction of longitudinal muscle strip isolated from guinea pig ileum induced by acetylcholine bromide ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2 对 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠小肠碳末推进率的影响 模型组与正常组比较,小肠碳末推进率增加,模型组小鼠排稀便。与模型组比较阿托品组和皂苷 U 组 (10, 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 给药后小肠碳末推进率明显降低 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 皂苷 U 对毛果芸香碱致 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠小肠碳末推进率和瞳孔直径的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of mussaenoside U on carbon powder forward percentile and pupil diameter in M cholinergic nerve excitement modle mice induced by pilocarpine ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	碳末推进率/%	瞳孔直径/mm			
			造模后, 给药前	给药后 15 min	给药后 60 min	给药后 240 min
正常	-	30.9 ± 6.9	2.4 ± 0.2	2.4 ± 0.2	2.3 ± 0.2	2.4 ± 0.2
模型	-	82.2 ± 13.3 ¹⁾	1.5 ± 0.2 ¹⁾	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.2
阿托品	2.5	48.6 ± 12.4 ³⁾	1.4 ± 0.1 ¹⁾	3.4 ± 0.2 ³⁾	3.4 ± 0.1 ³⁾	2.7 ± 0.4 ³⁾
皂苷 U	10	50.9 ± 13.9 ³⁾	1.4 ± 0.2 ¹⁾	3.2 ± 0.3 ³⁾	3.1 ± 0.4 ³⁾	2.4 ± 0.3 ³⁾
	5	64.2 ± 10.1 ³⁾	1.3 ± 0.2 ¹⁾	2.5 ± 0.2 ³⁾	2.2 ± 0.2 ³⁾	2.1 ± 0.4 ³⁾
	2.5	72.5 ± 13.7	1.4 ± 0.2 ¹⁾	1.4 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.5 ± 0.4

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.3 对 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠瞳孔和唾液腺的影响 与正常组比较模型组小鼠瞳孔缩小,对光反射消失,流涎,症状持续 4 h 以上。与模型组比较,阿托品组和皂苷 U 组 (10, 5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 给药后 15, 60, 240 min,瞳孔明显扩大 ($P < 0.01$),见表 1,唾液腺分泌明显减少 ($P < 0.01$),见表 2。

4 讨论

溴化乙酰胆碱和毛果芸香碱都是拟胆碱药,能引起 M 胆碱能神经兴奋^[11],形成用药后平滑肌收缩、小肠碳末推进百分量增加、瞳孔缩小,唾液腺分

泌增多等症状。阳性药(阿托品)是抗胆碱药,通过阻碍乙酰胆碱与 M 胆碱受体结合,拮抗溴化乙酰胆碱和毛果芸香碱的拟胆碱作用。本研究观察到皂苷 U 有阿托品样作用,能抑制溴化乙酰胆碱致平滑肌收缩,使溴化乙酰胆碱终浓度与肌收缩力之间的量效反应曲线右移;降低毛果芸香碱致 M 胆碱能神经兴奋模型小鼠小肠碳末推进百分量,扩大瞳孔,减少唾液腺分泌量。提示皂苷 U 与溴化乙酰胆碱或毛果芸香碱有拮抗作用,是抗胆碱药。从离体试验结果观察到皂苷 U 组(终质量浓度 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和阿

表 2 皂苷 U 对毛果芸香碱致 M 胆碱神经兴奋模型小鼠唾液腺分泌量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of mussaendoside U on salivary gland secretion in M cholinergic nerve excitement modle mice induced by pilocarpine ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	5 min 唾液腺分泌量/mg				
		造模前	造模后, 给药前	给药后 15 min	给药后 60 min	给药后 240 min
正常	-	11.5 ± 3.0	11.7 ± 2.2	11.7 ± 2.2	11.7 ± 2.2	11.7 ± 2.2
模型	-	11.8 ± 3.6	72.1 ± 7.1 ¹⁾	117.3 ± 17.7	131.5 ± 17.7	87.0 ± 17.1
阿托品	2.5	12.0 ± 2.7	70.0 ± 9.3 ¹⁾	61.9 ± 14.2 ³⁾	52.6 ± 10.2 ³⁾	30.6 ± 7.6 ³⁾
皂苷 U	10	11.7 ± 3.7	73.5 ± 14.9 ¹⁾	98.2 ± 15.2 ³⁾	82.7 ± 11.6 ³⁾	67.2 ± 9.4 ³⁾
	5	12.2 ± 3.0	74.0 ± 10.5 ¹⁾	102.3 ± 13.6 ²⁾	90.2 ± 20.5 ³⁾	68.0 ± 21.5 ²⁾
	2.5	11.6 ± 3.6	75.5 ± 11.7 ¹⁾	106.0 ± 13.5	120.3 ± 24.0	76.3 ± 11.6

托品组(终质量浓度 10 mg·L⁻¹)量效反应曲线较接近,后者较前者右移,提示在抗溴化乙酰胆碱致平滑肌收缩的影响方面,皂苷 U 的作用弱于阿托品,1 mg 皂苷 U 的作用接近于 0.1 mg 阿托品。从小鼠试验结果观察到阿托品组和皂苷 U 组(10 mg·kg⁻¹)所有测量指标,组间比较差异无显著性,提示在抗毛果芸香碱致 M 胆碱能神经兴奋的影响方面,尾静脉注射 10 mg·kg⁻¹ 剂量皂苷 U 与 2.5 mg·kg⁻¹ 剂量阿托品相当。抗胆碱药是以氮基结合胆碱受体和酯基疏水胆碱受体,竞争性阻碍乙酰胆碱与 M 胆碱受体结合而发挥作用。但皂苷 U 没有酯基也能发挥抗胆碱作用,此是其新颖之处。推侧皂苷 U 是通过其苷元中的氮基与乙酰胆碱竞争 M 胆碱受体,从而发挥其阿托品样抗胆碱作用。本研究只涉及皂苷 U 对部份外周 M 胆碱能神经支配器官的影响,由于 M 胆碱能神经分布广泛,该药对其他外周 M 胆碱能神经支配器官的影响、以及中枢抗胆碱作用,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志. 第 71 (1)卷 [M]. 北京:科学出版社,1999:296.
[2] 广西中药资源普查办公室. 广西中药源名录 [M]. 南宁:广西民族出版社,1993:204.

[3] Zhao W M, Xu R S, Qin G W, et al. Saponins from *Mussaenda pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42 (4):1131-1134.
[4] Zhao W M, Wolfender J L, Hostettmang K, et al. Triterpenes and triterpenoid saponins from *Mussaenda pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45 (5): 1073-1078.
[5] 许海涛,胡文祥. 抗胆碱能药物设计合成的研究进展 [J]. *合成化学*, 2007, 15(5):528-535.
[6] 张颖,李嘉,姜平川. 玉叶金花化学成分研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2013, 24(3):278-281.
[7] 林艳艳,马洪新,卢燕,等. 连翘对豚鼠离体回肠运动的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37 (10): 1483-1486.
[8] 阎新欣,陈玲玲,王宁,等. 原钒酸钠对小鼠肠运动的影响 [J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2008, 42 (5): 451-455.
[9] 付惠,焦飞. 6-乙酰氧基去甲托烷对家兔瞳孔直径的影响 [J]. *牡丹江医学院学报*, 2001, 22(2):8-9.
[10] 周定华,张前德,魏睦新,等. 丹地琼玉颗粒对干燥综合征小鼠唾液腺的影响 [J]. *南京医科大学学报*, 2003, 25(4):266-267.
[11] 李丹露,刘艳,王丽艳,等. M3 受体激动剂毛果芸香碱对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国药学杂志*, 2007, 42(19):1473-1476.

[责任编辑 聂淑琴]