

莨菪类药对家兔心肌细胞膜Na-K-ATP酶活性的影响

宁波市微循环与莨菪类药研究所 蓝庆荣 洪方耀 杨国栋

提要 在家兔心肌细胞膜Na-K-ATPase各测定管中加入不同稀释度的阿托品(0.4mg/ml)、东莨菪碱(0.6mg/ml)及樟柳碱(0.6mg/ml)后,最终稀释度为 $10^0 \sim 10^{-2}$ 。其释放Pi与对照管的差额, $10^0 \sim 10^{-1}$ 稀释度时,加哇巴因管和不加哇巴因管的代数均为正值。说明三种莨菪类药对Na-K-ATPase均有兴奋作用。

关键词 阿托品 东莨菪碱 樟柳碱 兔心肌细胞膜 钠钾三磷酸腺苷酶

莨菪类药物在临床上表现出多相药理作用,对冠心病和高脂血症也有效。经临床和动物实验证明:该类药既能改善冠脉微循环,也有调正心律失常及缩小心肌梗塞范围等作用^[1]。据报导心肌细胞膜(下简称心肌膜)钠钾三磷酸腺苷酶(Na-K-ATPase)在心肌收缩、传导中有重要作用^[2]。本文通过莨菪类药物对家兔心肌细胞膜Na-K-ATPase活性的影响,初步探讨该类药对心肌的作用,为临床应用提供理论依据。

材料和方法

一、试剂

硫酸阿托品(杭州民生药厂,批号810603);氢溴酸东莨菪碱(成都制药一厂,批号810701);氢溴酸樟柳碱(成都制药一厂,批号810105)。以上药物分别用10mM Tris-HCl(pH7.4)配成0.4mg/ml、0.6mg/ml、0.6mg/ml,调节pH为7.0~7.5,以

此作原液($C \times 10^0$),再依次稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 。

ATP- Na_2 (上海东风生化试剂厂),哇巴因(E. Merk 德国),其余化学试剂规格均为分析纯或优级纯。

试剂I液:蔗糖0.25M, EDTA 2mM, 咪唑1mM, pH7.4。

试剂II液:尿素1.3M, 咪唑12mM, EDTA 2mM, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1mM, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 7.6mM pH7.4。

试剂III液:咪唑25mM, 组氨酸125mM, EDTA 13 μ M, pH6.8。

试剂IV液:咪唑100mM, 组氨酸50mM, EDTA 0.3mM, pH6.8。

上述试剂均用重蒸馏水配制。

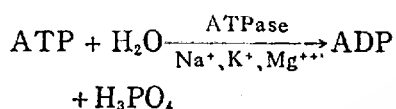
二、方法

(一) 心肌膜的制备^[3]

日本大耳兔(由宁波市卫生防疫站动物室培育)体重2.5kg左右,共6只,性别不拘。击昏杀死后,迅速取出心肠,放入冰冷

的生理盐水中洗净血液, 仅取无心内外膜的左心室前侧壁心肌, 剪取1g左右, 加少许试剂I液于冰浴中剪碎、匀浆, 二层纱布过滤, 滤液最后浓度为10%(W/V)。滤液离心1000rpm 20分钟, 沉淀物再以试剂I液洗二次。加约10ml试剂II液, 混匀, 于0℃放置约48小时, 然后以试剂III液洗二次, 最后沉淀物鉴于约10ml试剂IV液中即为心肌膜。置0℃中保存, 于48小时内测定酶活性。

(二) 心肌膜 Na-K-ATPase 活性测定^[4]



1. 反应管总体积1ml。

2. 反应管中所需各成分的终浓度: ATP-Na₂ 2mM, MgCl₂·6H₂O 2mM, KCl 16mM, NaCl 80mM, 咪唑 8mM, EDTA

0.2mM。

3. 膜酶制剂终浓度为4mg蛋白/ml。

4. 反应于二个平行管中进行, 甲管不加哇巴因, 乙管加入哇巴因(终浓度2mM)。

5. 酶反应在 pH7.6, 37℃ 恒温水浴振荡条件下, 保温一个小时, 以12%三氯醋酸终止酶反应, 离心取上清液, 测定无机磷(P_i)含量。

结果与讨论

一般表示Na-K-ATPase活性的方法为 μmol(甲P_i-乙P_i)/mg 蛋白/小时, 本实验以酶的相对活力表示, 即加入试验药后酶活性与同批未加药物的样品酶活性之比的百分数。

酶反应管中分别加入不同稀释度的莨菪类药, 测定各样品酶的相对活性, 以6只动物的平均数列于表1。结果表明阿托品及东莨菪硷在原浓度作10⁻¹~10⁻²稀释时, 对

表1 莨菪类药对家兔心肌膜 Na-K-ATPase 活性影响

药 物	Na-K-ATPase 相对活性 (%) $\bar{x} \pm \text{SD}$ n=6			
	对 照	C×10 ⁰	C×10 ⁻¹	C×10 ⁻²
阿 托 品	100	73.3±21.5 P<0.05	78.85±12.66 P<0.01	77.1±10.01 P<0.005
东 莨 菪 硷	100	60.75±10.37 P<0.001	69.7±18.9 P<0.05	71.73±9.85 P<0.001
樟 柳 硷	100	127.42±36.76 P>0.1	121.2±25.26 P<0.025	114.15±34.63 P>0.2

C₁ 为药物原浓度, 即阿托品0.4mg/ml, 东莨菪硷0.6mg/ml, 樟柳硷0.6mg/ml

Na-K-ATPase 均有明显抑制作用 (P<0.05)。浓度愈高抑制率也似愈高, 但其间差异不显著。在实验浓度内二药的抑制率分别为21~26%及28~39%。而樟柳硷在同样稀释度范围内呈兴奋作用, 提高活性0.7~18.1%, 和剂量也相关, 但仅在10⁻¹稀释时(0.06mg/ml)有显著性 (P<0.025)。由于Na-K-ATPase活性是由有或无哇巴因的反应管所分解ATP释放P_i之差来计算的。为

探讨阿托品、东莨菪硷、樟柳硷之间是否有本质区别。我们对各反应管释放的无机磷做进一步分析(表2), 结果表明三种莨菪类药于原浓度时(阿托品0.4mg/ml, 东莨菪硷及樟柳硷0.6mg/ml)均增加ATP的分解。其中阿托品及东莨菪硷提高乙管的P_i比甲管明显, 樟柳硷则甲管的P_i略高于乙管。而二管的P_i与正常管P_i的差值代数和, 在原浓度和10⁻¹稀释度时均为正数(见表3)。由

表2 茛菪类药对心肌膜Na-K-ATP_{ase}分解底物(ATP)释放Pi的影响

药 物	哇 巴 因	释 放 Pi 的 相 对 数 (%) $\bar{x} \pm SD$ n=6			
		对 照	C $\times 10^0$	C $\times 10^{-1}$	C $\times 10^{-2}$
阿 托 品	-	100	102.8 $\pm 1.5^A$	96.1 ± 8.1	92.6 ± 9.6
	+	100	130.8 ± 26.4	110.4 ± 14.2	109.0 ± 16.9
东 莨 菪 硷	-	100	101.5 ± 9.0	94.4 ± 15.0	94.7 ± 12.7
	+	100	145.8 $\pm 23.1^A$	125.3 ± 24.2	119.1 ± 26.2
樟 柳 硷	-	100	118.1 $\pm 13.8^A$	106.1 ± 16.6	100.7 ± 12.1
	+	100	115.1 ± 18.7	99.0 ± 22.8	91.9 ± 18.5

C: 同表一说明, Δ 与对照比较 $P < 0.05$, -代表不加哇巴因, +代表加哇巴因。

表3 茛菪类药对心肌膜Na-K-ATP_{ase}分解底物(ATP)释放Pi的代数和

药 物	哇巴因	Pi (实验-对照) μg $\bar{x}$ n=6		
		C $\times 10^0$	C $\times 10^{-1}$	C $\times 10^{-2}$
阿 托 品	-	0.92	-1.38	-2.46
	+	5.3	1.74	1.5
	代数和	6.22	0.36	-1.96
东 莨 菪 硷	-	0.5	-1.76	-1.74
	+	7.74	4.44	3.28
	代数和	8.24	2.68	1.54
樟 柳 硷	-	4.63	1.17	-0.73
	+	2.65	-0.95	-1.98
	代数和	6.68	0.22	-2.71

C、-、+、 同表一、二、说明。

此可见, 实际上茛菪类药对Na-K-ATPase活性均呈兴奋作用, 尤其表现在对哇巴因抑制酶作用的解除方面。我们认为应从释放无机磷(P_i)的量来具体分析茛菪类药对Na-K-ATPase的作用本质更为合理。

参 考 文 献

- [1] 杨国栋等 中华内科杂志 1980, 19:303.
- [2] 江明性 国外医学参考资料(药学分册)1978, 3:153.
- [3] Epstein EH et al. Biochem J 1966, 90:232.
- [4] Prasand K Japan Heart J 1972, 13:59.