

3
★
1
0 (1730)

2 Liu GT, Wei HL. Induction of hepatic microsomal monooxygenases by schisanhenol in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 41

3 Lesca P, Lecoq P, Paoletti C, Mansuy D. Induction des mono-oxygénases hépatiques par l'ellipticine chez le rat : Formation de cytochrome P₄₄₈. Activité hydroxylante. *C R Hebd Séances Acad Sci, Ser D* 1976; 282 : 1457.

4 Lowry OH, Rosebrough NJ, Lewis Farr A, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193 : 265

5 Omura T, Sato R. Carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *Ibid* 1964; 239 : 2370

6 Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Ibid* 1974 249 : 7130

7 Bock KW, Burchell B, Dutton GJ, et al UDP-glucuronosyl-transferase activities. Guidelines for consistent interim terminology and assay conditions. *Biochem Pharmacol* 1983; 32 : 953

8 Wishart GJ. Demonstration of functional heterogeneity of hepatic uridine diphosphate glucuronosyltransferase activities after administration of 3-methylcholanthrene and phenobarbital to rats. *Biochem J* 1978; 174 : 671

9 Roy Chowdhury J, Roy Chowdhury N, Falany CN, Tephly TR, Arias IM. Isolation and characterization of multiple forms of rat liver UDP-glucuronate glucuronosyltransferase. *Ibid* 1986; 233 : 827

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jul; 11 (4) : 335-337

青蒿酯钠对小鼠小肠电性能和 Na⁺,K⁺-ATP 酶活性的影响^{1,2}

王京燕、袁丽珍³、王明道 (军事医学科学院微生物流行病学研究所, 北京 100071, 中国)

Effects of sodium artesunate on electrical properties and Na⁺, K⁺-ATPase activities of mouse small intestine^{1,2}

WANG Jing-Yan, YUAN Li-Zhen³, WANG Ming-Dao (*Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China*)

ABSTRACT Sodium artesunate (SA), a synthetic derivative of artemisinin first isolated in China, is a water soluble antimalaria used clinically in China. The jejunum of mouse was mounted in Ussing chambers and bathed in NaCl Ringer. There was a potential difference (PD) across the intestinal wall with the serosa being positive. Addition of SA to the mucosal side of the D-glucose (5.5 mmol/L) NaCl Ringer

bathing solution, caused a significant decrease in both PD and short circuit current (*I_{sc}*). However, SA had little effect when added to the glucose free Ringer bathing solution. SA 0.1-1.0 mmol/L caused a decrease in Na⁺, K⁺-ATPase activities *in vitro*. The results suggest that the inhibitory effect on the electrical properties of mouse jejunum is associated with the inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase activities.

KEY WORDS artesunate, intestinal mucosa; glucose; sodium, potassium adenosine triphosphatase; jejunum

提要 小鼠空肠置于含 NaCl Ringer 液的 Ussing chamber 中, 观察到以浆膜侧为正的小肠电位差 (PD)。当 NaCl Ringer 液内含有 D-葡萄糖 5.5mmol/L 时, 青蒿酯钠(SA)加入 Ussing chamber 的粘膜侧, PD 和 *I_{sc}* 显著下降。然而在无糖 Ringer 液内 SA 则没有此作用。此外, 试管测定 SA 0.1-1.0 mmol/L 可显著抑制 Na⁺, K⁺-ATP 酶的活性。结果提示, SA 对小鼠空肠电参数的抑制与 Na⁺,K⁺-ATP 酶活性受抑有关。

Received 1989 Sep 12 Accepted 1990 Apr 17

¹ Project supported by the National Natural Science Foundation of China, № 3870895

² Preliminary report at FASEB meeting in New Orleans LA, USA on 1989 Mar 21.

³ *Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China.*

关键词 青蒿酯钠; 肠粘膜; 葡萄糖; 钠钾腺苷三磷酸酶; 空肠

青蒿酯钠(sodium artesunate, SA)是我国研制的新型抗疟药。在毒性实验中,发现其对胃肠组织具有明显的损伤作用⁽¹⁾。我们利用Ussing chamber技术⁽²⁾,观察了SA对离体小鼠小肠PD和 I_{sc} 的影响,以探讨SA对小肠损伤的毒性机理。

MATERIALS AND METHODS

小鼠 80 只,由本院动物中心提供,体重 $27.0 \pm 2.5g$, ♂ ♀ 兼用。SA 系广西桂林第二制药厂产品,批号 880401。小鼠脱颈处死,取空肠约 2cm,沿连接肠系膜的线将其剪开,固定在 Ussing chamber 上,小肠两侧各加入 7 ml NaCl Ringer 液,两个甘汞电极用于测定小肠两侧的电位差(potential different, PD),两个琼脂电极用于测定短路电流(short circuit current, I_{sc})。Na⁺,K⁺-ATP 酶的活性是通过测定反应系统中释放的无机磷量的方法来表示⁽³⁾。

RESULTS

正常小鼠小肠电参数的测定 小鼠空肠置于 NaCl Ringer 液内,以浆膜侧为正,测得 PD 和 I_{sc} 分别为 4.1 ± 1.3 mV, 19.9 ± 3.6 $\mu A/cm^2$ 。当 Ringer 液内含有 D-葡萄糖 5.5 mmol/L 时,因葡萄糖具有促进离子转运的作用,故 PD 和 I_{sc} 分别上升到 5.1 ± 0.8 mV, 40.8 ± 8.2 $\mu A/cm^2$,与文献报道相符⁽⁴⁾。

在含糖 Ringer 液内 SA 的作用 NaCl Ringer 液内含有 D-葡萄糖 5.5mmol/L 时,将 SA(文中除特别说明外,SA 的浓度均为 0.7 mmol/L)加入粘膜侧(M),PD 和 I_{sc} 显著下降,加药后的电参数值与加药前相比 $P < 0.01$ 。将同样浓度的 SA 加入浆膜侧(S),电参数有轻度变化。(Tab 1)

将不同浓度的 SA 加入 M 侧,终浓度为 0.7, 4.0, 7.0 mmol/L 时,随着药物浓度增高,对 PD 和 I_{sc} 抑制作用也随之增强(Fig 1)。

Tab 1. Effects of sodium artesunate (SA) 0.7 mmol/L (mucosal and serosal side) on potential difference (PD) and short circuit current (I_{sc}) across mouse jejunum bathed in glucose (5.5 mmol/L) Ringer solution. $n=8$, $\bar{x} \pm SD$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs 0 min.

Time (min)	Mucosal side		Serosal side	
	I_{sc} ($\mu A/cm^2$)	PD (mV)	I_{sc} ($\mu A/cm^2$)	PD (mV)
0	46 ± 10	4.9 ± 1.0	43 ± 10	4.2 ± 1.4
10	$41 \pm 10^{***}$	$4.3 \pm 1.1^{***}$	$39 \pm 9^{**}$	$3.6 \pm 1.1^{**}$
20	$36 \pm 10^{***}$	$3.7 \pm 0.9^{***}$	$38 \pm 10^{**}$	$3.5 \pm 1.2^{**}$
30	$34 \pm 9^{***}$	$3.4 \pm 0.8^{***}$	$40 \pm 10^*$	$3.6 \pm 1.1^{**}$
40	$32 \pm 8^{***}$	$3.2 \pm 0.7^{**}$	$39 \pm 10^*$	$3.5 \pm 1.1^{**}$
50	$30 \pm 8^{***}$	$2.9 \pm 0.8^{**}$	$39 \pm 9^*$	$3.4 \pm 0.9^{**}$
60	$27 \pm 8^{***}$	$2.6 \pm 0.8^{**}$	$38 \pm 9^*$	$3.3 \pm 0.8^{**}$

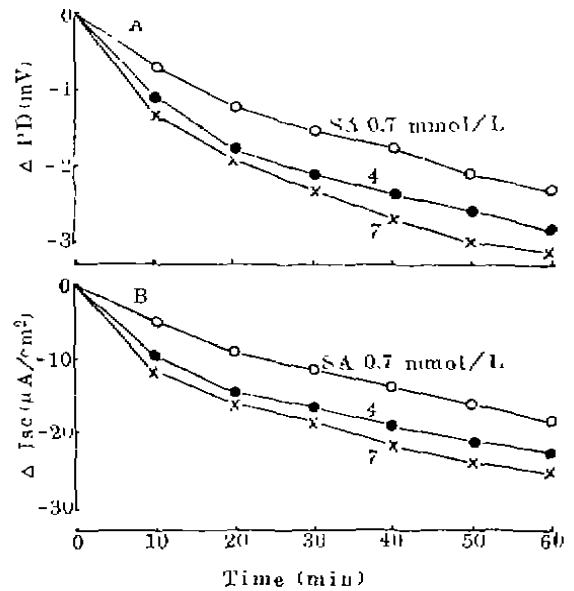


Fig 1. Effects of SA (mucosal side) on PD (A) and I_{sc} (B) across mouse jejunum bathed in glucose (5.5 mmol/L) Ringer solution. $n=8$.

SA 引起 I_{sc} 的明显下降与小肠上皮细胞的 Na⁺,K⁺-ATP 酶受到抑制有关。通过测定反应系统中释放的无机磷量的方法,测定了 SA 对小肠上皮细胞 Na⁺,K⁺-ATP 酶活性的影响。结果表明 SA 0.1 和 1.0 mmol/L 时对酶活性的抑制率分别为 76.7%和 84.8%(Tab 2)。

为了解 SA 的作用是否可逆,又进行了 SA 对 I_{sc} 影响的可逆性观察。将 SA 加入 M

Tab 2. Inhibitory effects of SA on Na^+, K^+ -ATPase activity. $n=8, \bar{x} \pm \text{SD}$. * $P > 0.05$, *** $P < 0.01$.

SA mmol/L	Na^+, K^+ -ATPase activity [$\mu\text{mol P}_i / (\text{mg protein} \cdot \text{h})$]	Inhibitory effect (%)
0	2.68 ± 0.46	-
0.01	1.30 ± 0.29	$52 \pm 11^*$
0.10	0.73 ± 0.22	$77 \pm 7^{***}$
1.00	0.42 ± 0.13	$85 \pm 5^{***}$

侧, I_{sc} 明显下降, 30 min 时用正常 Ringer 液洗 3 次, I_{sc} 随之恢复. 30 min 后再次加入 SA, I_{sc} 仍可下降, 表明 SA 的作用是可逆的.

在无糖 Ringer 液内 SA 的作用 在不含糖的 NaCl Ringer 液内, 将 SA 加入 M 侧观察其对电参数的影响. 加药前 PD 和 I_{sc} 分别为 $4.1 \pm 1.3\text{mV}$, $19.9 \pm 3.6 \mu\text{A} / \text{cm}^2 (n=8)$. 加药后 30 min PD 和 I_{sc} 分别为 $4.1 \pm 1.2\text{mV}$, $18.4 \pm 3.1 \mu\text{A} / \text{cm}^2$. 连续观察 1h 电参数没有明显变化.

将 SA 加入 S 侧也得到相似的结果. 由此可见, SA 引起电参数下降是取决于 Ringer 液内是否存在 D-葡萄糖.

DISCUSSION

小鼠小肠固定在 Ussing chamber 上, 某些电解质和非电解质可通过主动或被动转运的方式穿过小肠上皮, 从而使小肠两侧产生 PD. I_{sc} 就是将 PD 调到零, 此时电解质的被动转运被抑制, 但主动转运仍在继续, 因此 I_{sc} 的改变就反应了生物膜离子主动转运的改

变^[5]. SA 加入 M 侧引起 I_{sc} 的显著下降, 提示 SA 影响生物膜离子的主动转运. 已知离子主动转运需要消耗能量, 也就是需要 Na^+, K^+ -ATP 酶的参与. 因此离子主动转运的下降, 就提示可能该酶受到抑制. 我们用生化测定的结果与用 Ussing chamber 技术所得到的结果是一致的, SA 可抑制小肠粘膜上皮细胞 Na^+, K^+ -ATP 酶的活性.

SA 引起电参数的下降与 Ringer 液中是否存在 D-葡萄糖有关. 当 Ringer 液内含有 D-葡萄糖时, SA 可引起电参数明显下降, 反之, SA 则没有此作用. 在小肠粘膜, 葡萄糖与 Na^+ 的转运密切相关. 因此, SA 的作用很可能与 Na^+ 有关, 但需由同位素实验予以证实.

REFERENCES

- 1 Ning DX, Xu ZH, Teng XH. Acute toxicity of intravenously injected sodium artesunate in dogs. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1987; 1 : 129
- 2 Ussing HH, Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol Scand* 1951; 23 : 110
- 3 Pearson TW. (Na^+, K^+)-ATPase of duchenne muscular dystrophy erythrocyte ghosts. *Life Science* 1978; 22 : 127
- 4 Wang MD, Chen TST. Effect of thiocyanate on ions transport across the rat gastric mucosa. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 46
- 5 Phillips TD, Fedorowski T, Hayes AW. Techniques in membrane toxicology. In: Hayes AW, ed. *Principles and methods of toxicology*. NY : Raven Press, 1982; 587-608

欢迎 购 阅 《投 稿 须 知》

中国药理学报根据国内外的新规定, 修改了投稿须知, 登载于本刊 1990 年 1 月第 1 期 1-6 页, 为投稿者必读的规范. 现印少量单印本以满足作者需要, 每本收成本费 4 角(包括邮资), 请汇寄本刊编辑部.

11730104