

# 人参茎叶皂甙对兔大脑 $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATP酶、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶和 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活力的影响

胡刚<sup>1</sup>、宗瑞义、邵春杰<sup>2</sup> (白求恩医科大学药理教研室、<sup>2</sup>化学教研室, 长春 130021)

**提要** 体外实验表明, 人参茎叶总皂甙(GNS) 0.10, 1.00 mg/ml 显著抑制兔大脑微粒体 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶和 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶的活力, 对 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶也具有抑制作用。人参茎叶二醇组皂甙(PAD)和三醇组皂甙(PAT) 0.05, 0.50 mg/ml也显著抑制 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活力。氯丙嗪对三种ATP酶活力均具有抑制作用, 而GABA无抑制 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶的作用。提示人参的中枢抑制作用可能与ATP酶的抑制有关。

**关键词** 人参皂甙; 钠, 钾-腺苷三磷酸酶; 钙-腺苷三磷酸酶; 镁-腺苷三磷酸酶; 氯丙嗪;  $\gamma$ -氨基丁酸

人参对中枢神经系统的影响为其主要的药理作用之一。人参皂甙对中枢神经系统具有抑制作用<sup>(1)</sup>, 此抑制作用是否与脑内ATP酶的活力有关, 尚未见报道。

哺乳动物脑组织富含 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶、 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶和 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶, 对于维持神经细胞的兴奋性、传导性, 调节神经递质的代谢等方面发挥重要作用<sup>(2,3)</sup>。氯丙嗪(CPZ)能抑制脑内上述三种酶的活力, 由此而阻断神经的兴奋和传导, 影响神经递质的代谢, 发挥其中枢抑制作用<sup>(2,4,5)</sup>。

本文比较了人参茎叶皂甙(包括GNS, PAD和PAT)与氯丙嗪在体外对兔大脑微粒体 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶和 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活力的影响, 旨在探讨人参的中枢抑制作用及其对脑内ATP酶活力的关系。

## 材料与方 法

GNS, PAD和PAT均由本校化学教研室从人参茎叶中提取分离并经鉴定<sup>(6)</sup>, 氯丙嗪

(CPZ, 上海第一制药厂);  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA, 日本Waters公司); 三磷酸腺苷钠盐( $\text{Na}_2\text{ATP}$ , Sigma公司); 哇巴因(E Merck公司), 其它试剂均为国产AR。

**兔大脑微粒体的制备**<sup>(7)</sup> 日本大耳兔7只, ♀♂兼用, 体重 $2.3 \pm \text{SD } 0.3 \text{ kg}$ 。放血处死后, 立即开颅取两侧大脑, 置于预冷(0-4℃)的蔗糖溶液(0.25 mol/L, 含Tris-EDTA 1 mmol/L, imidazole HCl 10 mmol/L, pH 7.7)内冲洗两次, 然后制成匀浆, 经多次离心制得大脑微粒体, 以上述缓冲液混匀之。按酚试剂法<sup>(8)</sup>测蛋白, 配成蛋白含量为1-2 mg/ml的微粒体混悬液, 分装, -40℃保存备用, 上述操作均在0-4℃进行。

**酶活力的测定** 应用光电比色法<sup>(7,9)</sup>测定 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶和 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶的活力, 酶活力单位以1 mg蛋白在1 h内水解生成的磷 $\mu\text{mol P}_i/(\text{mg}\cdot\text{h})$ 示之。

## 结 果

**GNS, PAD和PAT对兔大脑微粒体 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活力的影响** 实验分7组(每组重复5管, 以下相同)。结果见表1。

GNS (0.10, 1.00 mg/ml), PAD和PAT (0.05, 0.50 mg/ml)均能显著抑制兔大脑微粒体 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶的活力, 且抑制程度与剂量呈正相关。在相同剂量时, PAT对 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活力的抑制效应明显强于PAD。

**GNS和CPZ对兔大脑微粒体 $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP酶活力的影响** 结果见表1。

与对照组比较, GNS (0.10, 0.50 mg/ml)和CPZ (0.35, 0.70 mmol/L)均能显著抑制兔

Tab 1. Effects of ginsenoside (GNS), panaxadiol (PAD), panaxatriol (PAT), chlorpromazine (CPZ) and GABA on the activity of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase in rabbit cerebral microsome *in vitro*.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Drug	Activity $\mu\text{mol P}_i/(\text{mg}\cdot\text{h})$	Inhibitory rate (%)
Control	42.5 ± 0.7	
GNS(mg/ml)		
0.10	33.7 ± 0.9**	20.7
1.00	8.27 ± 1.18***	80.5
PAD(mg/ml)		
0.05	36.2 ± 2.3**	14.8
0.50	31.5 ± 1.6**	25.9
PAT(mg/ml)		
0.05	32.6 ± 0.8**	23.3
0.50	19.3 ± 1.7***	54.6
Control	30.6 ± 1.0	
GNS(mg/ml)		
0.10	25.4 ± 0.16**	17.0
0.50	14.8 ± 0.8***	51.6
CPZ(mmol/L)		
0.35	17.9 ± 1.5***	41.5
0.70	0.44 ± 0.07***	98.6
Control	40.7 ± 0.7	
GNS(mg/ml)		
0.10	33.0 ± 1.4**	18.9
0.50	20.0 ± 1.0***	50.8
GABA (mmol/L)		
0.10	38.3 ± 1.3*	5.9
1.00	38.2 ± 1.13*	6.2

大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶的活力, 且 GNS 0.50 mg/ml 对  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活力的抑制效应强于 0.35 mmol/L 的 CPZ (抑制率分别为 51.6 和 41.5%)。

**GNS 和 GABA 对兔大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活力的影响** 结果见表 1。

GNS (0.10, 0.50 mg/ml) 能显著抑制兔大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶的活力, 而 GABA (0.10, 1.00 mmol/L) 对酶活力虽具有抑制作用 (抑制率分别为 5.9 和 6.2%), 但无统计学意义 ( $p > 0.05$ )。

**GNS 和 CPZ 对兔大脑微粒体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活力的影响** 结果见表 2。

在本实验条件下, GNS (0.10, 1.00 mg/ml) 显著抑制兔大脑微粒体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶的活

Tab 2. Effects of GNS and CPZ on activities of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase in rabbit cerebral microsome *in vitro*.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

Drug	ATPase activity $\mu\text{mol P}_i/(\text{mg}\cdot\text{h})$	
	$\text{Ca}^{2+}$ -ATPase	$\text{Mg}^{2+}$ -ATPase
Control	19.7 ± 1.0	17.7 ± 1.2
GNS(mg/ml)		
0.01	19.4 ± 1.3*	17.3 ± 0.8*
0.10	14.2 ± 1.3**	15.9 ± 0.9*
1.00	9.6 ± 1.1***	13.2 ± 1.3**
CPZ(mmol/L)		
0.35	7.3 ± 1.8***	10.0 ± 0.4***
0.70	5.2 ± 1.3***	9.8 ± 1.0***

力 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 抑制率分别为 27.7 和 53.5%。CPZ (0.35, 0.70 mmol/L) 非常显著抑制  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶的活力 ( $p < 0.01$ ), 其抑制率分别为 62.9 和 73.4%。

**GNS 和 CPZ 对兔大脑微粒体  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力的影响** 结果见表 2。

GNS 0.01, 0.10 mg/ml 对兔大脑微粒体  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活力无显著抑制作用 ( $p > 0.05$ ), 1.00 mg/ml 则具有抑制  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力的作用 ( $p < 0.05$ ), 其抑制率为 25.4%。与对  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶的作用相似, CPZ (0.35, 0.70 mmol/L) 非常显著抑制兔大脑微粒体  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活力 ( $p < 0.01$ ), 其抑制率分别为 43.5 和 44.7%。

## 讨 论

本文观察到了人参茎叶皂甙在体外具有类似 CPZ 的作用, 即具有抑制兔大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力的作用, 但是能否说明这些作用与人参皂甙的中枢抑制作用有关? 在以往的研究工作中, 我们根据文献报道<sup>(1)</sup>, 观察比较了 GNS 和 CPZ 在整体水平对大鼠大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活力的影响。结果发现, 腹腔注射 GNS 400 mg/kg 和 CPZ 10 mg/kg, 均能显著抑制大鼠大脑微粒体  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶的活力

(待发表资料)。结合本文结果,我们推测人参皂甙的中枢抑制作用可能与其对脑内 $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATP酶, $\text{Ca}^{2+}$ -ATP酶和 $\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶的抑制有关。至于人参皂甙抑制脑内ATP酶,继之是如何进一步发挥其中枢抑制作用?这还有待于深入研究证实。

人参皂甙可影响脑内单胺类神经递质的代谢,大剂量时可抑制腺苷酸环化酶和磷酸二酯酶的活力<sup>(1)</sup>,而脑内ATP酶与单胺类神经递质和第二信使系统的代谢有着密切的关系<sup>(10-12)</sup>。因此,推测人参皂甙可能通过如下途径发挥其中枢抑制作用:1)影响脑内单胺类神经递质的代谢(合成、贮存、释放和摄取);2)影响神经细胞的极化状态;3)黑质-纹状体通路多巴胺受体的阻断,由于突触后 $\text{Ca}^{2+}$ 内流受抑所致<sup>(4)</sup>;4)影响脑内第二信使系统的代谢。

GABA是哺乳动物中枢神经系统的一种抑制性递质,在神经元活动中具有重要功能。本文观察到GABA对兔大脑微粒体的 $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATP酶活力无显著抑制作用( $p>0.05$ ),这和文献结果<sup>(13)</sup>相同。我们已报道<sup>(14)</sup>人参茎叶皂甙对正常动物脑内GABA含量无明显影响。因此,认为人参皂甙不影响GABA能神经功能,其中枢抑制作用方式也和GABA不同。

致谢 本文承蒙徐景达教授审阅

### 参 考 文 献

- 1 王本祥. 人参的研究. 第1版. 天津: 天津科学技术出版社, 1985: 107-15
- 2 Stekhoven FS, Bonting SL. Transport adenosine triphosphatases: properties and functions. *Physiol Rev* 1981; 61: 1

- 3 Ohashi T, Uchida S, Nagai K, Yoshida H. Studies on phosphate hydrolyzing activities in synaptic membrane. *J Biochem* 1970; 67: 635
- 4 Seegers JC, Haag M, Heerden OJ, Jobert WS, Theron JJ. Effect of chlorpromazine on the localization of cAMP phosphodiesterase. *Acta Neuropathol* 1985; 66: 199
- 5 Seeman P. The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. *Pharmacol Rev* 1972; 24: 583
- 6 邵春杰、徐景达. 薄层扫描法和比色法测定人参皂甙的含量. *中草药* 1982; 13: 355
- 7 Mayand RR, Fullerton DS, Ahmed K. A simple method for the purification of rat brain  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -adenosine triphosphatase (ATPase). *J Pharmacol Meth* 1982; 7: 279
- 8 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RL. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265
- 9 Prasadarao KS, Chetty CS, Trotman CH, Uzodinma JE, Desaiiah D. Effect of tricyclohexylhydroxytin on synaptosomal  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent ATP hydrolysis and rat brain subcellular calmodulin. *Cell Biochem Funct* 1985; 3: 267
- 10 Lingham RB, Sen AK. Regulation of rat brain ( $\text{Na}^+$  +  $\text{K}^+$ )-ATPase activity by cyclic AMP. *Biochim Biophys Acta* 1982; 688: 475
- 11 Stewart DJ, Sen AK. Role of cyclic GMP in cholinergic activation of Na-K pump in duck salt gland. *Am J Physiol* 1981; 240: C207
- 12 Mayanil CSK, Baquer NZ. Mechanism of the involvement of monoamine oxidase in the regulation of ( $\text{Na}^+$  +  $\text{K}^+$ )-ATPase in rat brain. *Biochim Biophys Acta* 1983; 757: 151
- 13 Desaiiah D, Ho IK. Kinetics of catecholamine sensitive  $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase activity in mouse brain synaptosomes. *Biochem Pharmacol* 1977; 26: 2029
- 14 宗瑞义、陈声武. 人参茎叶皂甙对大鼠脑内 $\gamma$ -氨基丁酸的影响. *白求恩医科大学学报* 1987; 13: 215

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Nov, 9 (6) : 486-489

## Effects of ginsenosides from stems and leaves on activities of $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase, $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase in rabbit cerebrum *in vitro*

HU Gang<sup>1</sup>, ZONG Rui-Yi, SHAO Chun-Jie<sup>2</sup> (Department of Pharmacology, Department of Chemistry<sup>2</sup>, Bethune Medical University, Changchun 130021)

**ABSTRACT** The effects of saponins extracted from stems and leaves of *Panax ginseng* CA Meyer (including the total ginsenoside-GNS, panaxadiol-PAD and panaxatriol-PAT) on the activities of ATPase in rabbit cerebral microsomes were studied *in vitro*. GNS produced dramatic inhibition of the activity of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase at concentrations of 0.10 and 1.00 mg/ml, and it significantly inhibited the activity of  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase at the same concentrations. An inhibitory effect on the activity of  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase was also found at concentration of 1.00 mg/ml. PAD and PAT, at concentrations of 0.05 and 0.50 mg/ml, exhibited inhibitory effects on the activities

of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase. The activities of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase were inhibited significantly by chlorpromazine at 0.35 and 0.70 mmol/L. GABA, however, did not significantly alter the activity of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase at 0.10 or 1.00 mmol/L. These results indicate that the inhibitory effect of ginsenoside on the central nervous system is associated with its effect on brain ATPase activity.

**KEY WORDS** ginsenosides; sodium potassium adenosine triphosphatase; calcium adenosine triphosphatase; magnesium adenosine triphosphatase; chlorpromazine; GABA

<sup>1</sup> Now in Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000