

· 论 著 ·

玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 预防 D-半乳糖性白内障的实验研究

黄才国*, 魏善建

(第二军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的:探讨玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 对 D-半乳糖性白内障形成的干预作用。方法:大鼠随机分为正常对照组、模型组、样品高、低剂量组和阳性对照组,每组 10 只。模型组腹腔注射 D-半乳糖诱导大鼠白内障模型;样品高、低剂量组在注射 D-半乳糖同时分别给予 20、10 mg/kg 环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 灌胃;正常对照组仅仅灌胃生理盐水;晶体混浊度和山梨醇含量的变化阳性对照为依帕司他(10 mg/kg),SOD 活性和丙二醛含量变化的阳性对照为 VitE(30 mg/kg)。3、6 周后用裂隙灯观察晶体混浊程度,处死动物后检测晶体中 SOD 的活性,丙二醛以及山梨醇的含量。结果:样品高、低剂量组大鼠白内障的晶体混浊度明显低于模型组,样品高剂量组低于低剂量组($P < 0.01$)。晶体中 SOD 活性($\text{Nu} \cdot \text{mg}^{-1}$)由模型组的 32.1 ± 11.2 分别升高到样品低剂量组的 65.9 ± 16.7 和样品高剂量组的 83.2 ± 15.6 ($P < 0.01$);丙二醛含量($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)由模型组的 26.72 ± 5.36 分别降到样品低剂量组的 18.34 ± 4.29 和样品高剂量组的 15.66 ± 5.47 ($P < 0.01$);山梨醇含量($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)在第 3 周时由模型组的 24.33 ± 2.57 分别降到样品低剂量组的 15.46 ± 2.07 和样品高剂量组的 11.45 ± 1.39 ($P < 0.01$),在第 6 周时由模型组的 20.04 ± 1.59 分别降到样品低剂量组的 15.82 ± 1.42 和样品高剂量组的 13.22 ± 1.37 ($P < 0.05$ 或 0.01)。结论:玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 对大鼠糖性白内障形成有一定的预防作用。

[关键词] 白内障;Epibueroypyridinium A;超氧化物歧化酶;丙二醛;山梨醇

[中图分类号] R 286.81 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)11-1204-03

Prevention of D-galactose-induced cataract in rats by Epibueroypyridinium A extracted from *Scrophularia ningpoensis*

HUANG Cai-guo*, WEI Shan-jian (Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the effect of Epibueroypyridinium A (EA), extracted from *Scrophularia ningpoensis*, in prevention of D-galactose-induced cataract in rats. **Methods:** SD rats were randomly divided into 5 groups ($n = 10$), namely, the normal control, cataract model, 20 mg/kg EA, 10 mg/kg EA, and positive control groups. The cataract model was induced by intraabdominal administration of D-galactose into rats. Rats of the 2 EA groups received corresponding amount of EA and those in the positive control group received epalrestat (10 mg/kg) or VitE (30 mg/kg). The changes of the lens were examined with slit lamp microscope at defined time points. The activities of superoxide dismutase (SOD) and the content of malonaldehyde (MDA) and sorbitol were determined in the lens 3 and 6 weeks later. **Results:** EA obviously improved the lens opacification in the 2 EA groups compared to cataract model group, and the improvement in high EA group was more obvious than that in the low EA group ($P < 0.01$). The activities of SOD raised from $(32.1 \pm 11.2) \text{Nu} \cdot \text{mg}^{-1}$ in cataract model group to $(65.9 \pm 16.7) \text{Nu} \cdot \text{mg}^{-1}$ in low EA group and $(83.2 \pm 15.6) \text{Nu} \cdot \text{mg}^{-1}$ in high EA group ($P < 0.01$). The content of MDA reduced from $(26.72 \pm 5.36) \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ to $(18.34 \pm 4.29) \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ in low EA group and $(15.66 \pm 5.47) \text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ in high EA group ($P < 0.01$). The content of sorbitol in lens reduced from $(24.33 \pm 2.57) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ to $(15.46 \pm 2.07) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ in the low EA group and $(11.45 \pm 1.39) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ in the high EA group after 3 weeks ($P < 0.01$); and after 6 weeks, it reduced from $(20.04 \pm 1.59) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ to $(15.82 \pm 1.42) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ and $(13.22 \pm 1.37) \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively ($P < 0.05$ or 0.01). **Conclusion:** Epibueroypyridinium A has preventive effect on development of sugar cataract in experimental models.

[KEY WORDS] cataract; Epibueroypyridinium A; superoxide dismutase; malondialdehyde; sorbitol

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(11): 1204-1206]

醛糖还原酶抑制剂是治疗糖尿病并发症的重要药物之一,在高血糖时,醛糖还原酶催化葡萄糖大量转化为不易透过细胞膜的山梨醇,致使山梨醇在晶体等组织中大量蓄积,引起细胞渗透性损伤,最后导致糖性白内障的发生^[1-3]。我们以往的研究^[4]发现玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 体外对醛糖

还原酶有较强的抑制作用,本研究拟进一步探讨其

[基金项目] 上海-SK 研究发展基金(2004004-t)。Supported by Shanghai-SK Research and Development Foundation(2004004-t)。

[作者简介] 黄才国,副教授,硕士生导师。

* Corresponding author. E-mail: huangcaig @hotmail.com

在大鼠体内对糖性白内障形成的预防作用。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂 SD 大鼠由第二军医大学实验动物中心提供, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 测定试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, Epibueroypyridinium A 由中国科学院上海药物研究所提供 (纯度 > 99%), 山梨醇标准品为 Sigma 公司产品, 752C 紫外分光光度计为上海分析仪器厂产品。

1.2 糖性白内障大鼠模型的建立^[5] 出生后 6 周的 SD 大鼠, 50% D-半乳糖水溶液腹腔注射 [10 g/(kg·d)], 同时自由饮用 10% 半乳糖水溶液, 5~6 周后观察白内障进展状况。

1.3 分组和处理 大鼠随机分为正常对照组、模型组、样品高、低剂量组和阳性对照组, 每组 10 只。模型组予 50% D-半乳糖水溶液腹腔注射建立糖性白内障大鼠模型; 样品高、低剂量组在 D-半乳糖水溶液腹腔注射同时分别予 20、10 mg/kg 环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 灌胃; 正常对照组予生理盐水灌胃, 晶体混浊度和山梨醇含量的变化阳性对照为依帕司他 (10 mg/kg), SOD 活性和 MDA 含量变化的阳性对照为维生素 E (VitE) (30 mg/kg)。6 周后分别检查晶体混浊度和测定晶体中 SOD 活性及 MDA、山梨醇含量。

1.4 晶体混浊的检查与分级 用裂隙灯观察晶体的混浊程度, 双眼计数, 晶体混浊程度参照何守志等^[6] 的标准分级: . 无混浊, 晶体透明清亮; . 轻度混浊, 晶体周边部出现空泡; . 中度混浊, 晶体周边部空泡向中心区发展, 核出现雾状混浊; . 高度混浊, 空泡发展到核区, 核区雾状混浊加深; . 核混浊, 成熟白内障。

1.5 大鼠晶体中 SOD 活性和 MDA 含量测定 大鼠断头处死, 摘出眼球, 置于冰生理盐水中, 小心取出晶体, 晶体中 SOD 活性和 MDA 含量测定按照试剂盒说明书进行。

1.6 大鼠晶体中山梨醇含量的测定 大鼠断头处死, 取晶体, 加入 1.0 ml 重蒸水匀浆, 再加入 2.4 ml 无水乙醇, 放置 30 min 后 1 000 ×g 离心 15 min, 取上清备用, 采用荧光分光光度法^[7] 测定山梨醇含量。

1.7 统计学处理 白内障程度按分级采用 Ridit 检验, SOD 活性和 MDA、山梨醇含量比较采用组间 *t* 检验。

2 结果

2.1 Epibueroypyridinium A 对大鼠晶体混浊度的影响 经过 6 周后, 模型组大鼠晶体混浊度在 Ⅰ级和 Ⅱ级的占 18/20, 而低剂量组大鼠晶体混浊度在 Ⅰ级和 Ⅱ级的占 15/20, 高剂量组大鼠晶体混浊度在 Ⅰ级和 Ⅱ级的占 14/20, 阳性对照依帕司他组大鼠晶体混浊度在 Ⅰ级和 Ⅱ级的占 13/20, 样品高、低剂量组和阳性对照组与模型组相比有非常显著的差别 ($P < 0.01$)。这说明经过 Epibueroypyridinium A 干预后可以延缓白内障的发展速度。

2.2 Epibueroypyridinium A 对模型大鼠晶体 SOD 活性和 MDA 含量的影响 从表 1 可以看出, 大鼠灌胃 Epibueroypyridinium A 后, 晶体 SOD 活性与模型组相比有明显升高 ($P < 0.01$), 而 MDA 含量则明显降低 ($P < 0.01$)。

表 1 Epibueroypyridinium A 对糖性白内障大鼠晶体中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Fig 1 Effect of Epibueroypyridinium A on SOD activities and MDA contents in lens of rats with cataract induced by D-galactose

Group	SOD ($\mu\text{B}/\text{Nu} \cdot \text{mg}^{-1}$)		MDA ($\mu\text{B}/\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$)	
	(n = 10, $\bar{x} \pm s$)			
Normal control	135.3	$\pm 12.8^{**}$	5.29	$\pm 1.20^{**}$
Model	32.1	± 11.2	26.72	± 5.36
Epibueroypyridinium A ($\text{w}_B/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				
10	65.9	$\pm 16.7^{**}$	18.34	$\pm 4.29^{**}$
20	83.2	$\pm 15.6^{**}$	15.66	$\pm 5.47^{**}$
VitE ($\text{w}_B/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				
30	88.3	$\pm 22.4^{**}$	11.32	$\pm 3.58^{**}$

** $P < 0.01$ vs model group

2.3 Epibueroypyridinium A 对模型大鼠晶体中山梨醇含量的影响 模型组经过 3 周和 6 周造模后, 晶体中山梨醇含量较正常对照组有明显升高, 而 Epibueroypyridinium A 和依帕司他干预组与模型组相比均有不同程度的降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见表 2。

3 讨论

大量醛糖在晶体中积聚可使正常代谢醛糖的己糖激酶活性饱和, 并激活醛糖还原酶, 通过多元醇代谢通路大量生成山梨醇及果糖。两者因不能通过晶体膜而在晶体内聚积, 增加了晶体内渗透压, 产生渗透性水肿, 导致细胞代谢和功能的损害,

表2 大鼠晶体山梨醇含量变化

Fig 2 Variation of sorbitol contents in rats' lens

 $(n=10, \bar{x} \pm s, b_b / \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$

Group	Week 3	Week 6
Normal control	0.85 \pm 0.13 **	0.97 \pm 0.24 **
Model	24.33 \pm 2.57	20.04 \pm 1.59
Epibueroypyridinium A ($w_B / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
10	18.67 \pm 2.38 *	15.82 \pm 1.42 *
20	15.46 \pm 2.07 **	13.22 \pm 1.37 **
Epalrestat ($w_B / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
10	11.45 \pm 1.39 **	9.08 \pm 0.87 **

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs model group

这是糖性白内障形成的重要原因之一。因而醛糖还原酶可以作为糖性白内障药物设计的一个靶点。目前有多种醛糖还原酶抑制剂在临床上用于治疗糖性白内障,但长期应用会产生较大的不良反应,因此从中草药中寻找天然的醛糖还原酶抑制剂有一定的现实意义^[8]。我们在体外实验^[4]中发现玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 是较强的醛糖还原酶抑制剂,其强度与依帕司他相当。本研究进一步证明其在体内对糖性白内障的形成有一定的预防作用。

本实验的结果提示 Epibueroypyridinium A 除了抑制醛糖还原酶、降低山梨醇的含量以外,还能升高

SOD 活性、降低 MDA 的含量,也可能同时通过抗氧化途径抑制白内障的形成,具体的作用机制有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 刘小鹏,文格波. 醛糖还原酶研究进展[J]. 南华大学学报:医学版,2004,32:94-96.
- [2] Kador PF, Inoue J, Secchi EF, et al. Effect of sorbitol dehydrogenase inhibition on sugar cataract formation in galactose-fed and diabetic rats[J]. Exp Eye Res, 1998, 67:203-208.
- [3] Suryanarayana P, Krishnaswamy K, Reddy GB. Effect of curcumin on galactose-induced cataractogenesis in rats[J]. Mol Vis, 2003, 9:223-230.
- [4] 黄才国,魏善建,刘军华. 玄参中环烯醚萜 Epibueroypyridinium A 对醛糖还原酶的抑制作用[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27:760-762.
- [5] 杨涛,梁康,张昌颖. 四种中草药对大鼠半乳糖性白内障防治效用的研究[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23:97-99.
- [6] 何守志,伊素云,宋琛,等. 半乳糖性白内障形成及逆转的实验研究[J]. 中华眼科杂志, 1987, 23:39-42.
- [7] 张亚超,王仁杰,王红,等. 大鼠白内障模型血清和晶体山梨醇的测定[J]. 北京军区医药, 2000, 12:128-129.
- [8] 冯长根,张琳霞,刘霞. 中草药来源的醛糖还原酶抑制剂的研

[收稿日期] 2006-04-13

[修回日期] 2006-06-25

[本文编辑] 尹茶

《护士英语必读》(第2版)已出版

本书由李树贞、吴嘉中编著,在初版的基础上补充了新内容,及时反映了护士英语的新进展,匡正了初版中的不当之处。新版书共分3部分:(1)口语部分,以最精练的语言使护士和护生能够充分掌握最常用、最实用的专业口语内容;(2)阅读部分,选取护理学中迅速发展的国内外热门话题,吸收最新信息和知识;(3)考试部分,按照最新国际护士考试要求编写,并附有参考答案和考点解析。

由第二军医大学出版社出版、发行,ISBN 7-81060-584-4,定价:30.00元。

订购电话:021-65493093,地址:上海市翔殷路800号 第二军医大学出版社发行科,邮编:200433