

温中益气胶囊对幽门结扎型胃溃疡大鼠的治疗作用

尤艳芳, 纪博硕, 毕悦, 凌爽, 翟慧颖, 宋维才, 杨茂波, 牛雯颖, 肖洪彬*

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**研究温中益气胶囊对幽门结扎型胃溃疡大鼠的治疗作用以及对小鼠的抗炎、镇痛作用。**方法:**采用幽门结扎法复制大鼠胃溃疡模型。取清洁级健康 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,随机分成空白组,模型组,阳性对照药三九胃泰颗粒组(3.69 g·kg⁻¹),温中益气胶囊高、中、低剂量组(2.21, 1.11, 0.55 g·kg⁻¹)。每天 ig 给药 1 次,连续给药 7 d,模型组和空白组给予等量蒸馏水。第 5 天给药后各组动物禁食不禁水 48 h,末次给药后 2 h 麻醉,进行幽门结扎手术,缝合后直肠给药 1 次,禁食水。18 h 后麻醉大鼠,颈总动脉取血。取全胃观察大鼠胃溃疡面积和溃疡指数,胃组织匀浆测定丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、H⁺-K⁺-ATP 酶、生长抑素(SS)含量。采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀和热板刺激法进行抗炎和镇痛实验,测定小鼠耳廓肿胀度、抑制率及痛阈值的大小。分别取清洁级小鼠 50 只,随机分成空白组、阳性对照药三九胃泰颗粒组(5.19 g·kg⁻¹)、温中益气胶囊高、中、低剂量组(3.12, 1.56, 0.78 g·kg⁻¹)。**结果:**胃溃疡实验中,与空白组比较,模型组 H⁺-K⁺-ATP 酶活性和 MDA 含量显著增加($P < 0.01$),SS 和 SOD 活性显著降低($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,温中益气胶囊能显著减小大鼠胃溃疡面积和溃疡指数,降低 H⁺-K⁺-ATP 酶的活性和 MDA 含量并增加胃组织中 SS 和 SOD 水平($P < 0.01, P < 0.05$)。抗炎、镇痛实验中,与空白组比较,温中益气胶囊能降低二甲苯致小鼠耳廓肿胀度,提高小鼠痛阈值($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。**结论:**温中益气胶囊可能通过降低 H⁺-K⁺-ATP 酶活性和 MDA 含量、增强 SOD 活性、增加 SS 的含量来实现抗幽门结扎型胃溃疡作用,并具有明显的抗炎、镇痛作用。

[关键词] 温中益气胶囊; 幽门结扎型; 胃溃疡; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)14-0137-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140137

Effect of Wenzhong Yiqi Capsule on Type Pylorus Ligature Gastric Ulcer in Rats

YOU Yan-fang, JI Bo-shuo, BI Yue, LING Shuang, ZHAI Hui-ying,

SONG Wei-cai, YANG Mao-bo, NIU Wen-ying, XIAO Hong-bin*

(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutic effect of Wenzhong Yiqi capsule on type pylorus ligature gastric ulcer in rats and anti-inflammation and analgesic action of mice. **Method:** The rat gastric ulcer models was induced by the ligated pylorus. Sixty SD rats were randomly divided into control group, model group, positive control drug (Sanjiu Weitai granules) group (3.69 g·kg⁻¹) of high, medium and low dose groups (2.21, 1.11, 0.55 g·kg⁻¹) of, Wenzhong Yiqi capsule, intragastric administration was carried out once daily for 7 days, the model group and blank group were given distilled water for 5 days. All animals fasted for 48 h. 2 h after the last administration the pyloric ligation surgery, suture was performed after 18 h, common carotid artery blood was collected. The gastric ulcer area and the index of ulcer were observed, the gastric tissue homogenate was collected for determination of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and H⁺-K⁺-ATPase, somatostatin (SS) content. The mouse auricle swelling induced by xylene and hot plate stimulation were used to observe anti-inflammatory and analgesic actions. 50 mice were randomly divided into control group, positive control drug (Sanjiu Weitai granules) group (5.19 g·kg⁻¹), Wenzhong Yiqi capsule high, medium and low dose group (3.12,

[收稿日期] 20131110(003)

[第一作者] 尤艳芳, 硕士, Tel:18045178389, E-mail: ynyouyanfang@126.com

[通讯作者] * 肖洪彬, 教授, 博士生导师, Tel:0451-82194309, E-mail: hrbxiaohongbin@126.com

1.56, 0.78 g·kg⁻¹). **Result:** The gastric ulcer experiment, compared with blank group, in model group H⁺-K⁺-ATPase activity and MDA content increased significantly ($P < 0.01$), SS and SOD content decreased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), compared with model group, Wenzhong Yiqi capsules significantly reduced the rat gastric ulcer area and ulcer index, the H⁺-K⁺-ATPase activity and MDA content and increased the SS and SOD content in stomach tissue ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Anti-inflammatory and analgesic experiment, compared with the blank group Wenzhong Yiqi capsule reduced the degree of mouse auricle swelling induced by xylene, increased the pain threshold in mice ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** Wenzhong Yiqi capsule can reduce the H⁺-K⁺-ATPase activity and MDA content, enhance SOD activity and increase the content of SS, and has obvious anti-inflammatory and analgesic effects.

[Key words] Wenzhong Yiqi capsule; pyloric ligation type; gastric ulcer; anti-inflammatory; analgesic

胃溃疡是临床常见病、多发病,是消化性溃疡的一种常见疾病。据调查显示约 10% 的人口一生中患过此病。现代医学在治疗上取得一定成绩,但是停药后复发率很高,中医药在防治消化性溃疡方面有着悠久的历史和丰富的临床经验,但发病机制较为复杂,迄今为止还未完全阐明。本实验采用幽门结扎法建立大鼠胃溃疡模型,观察温中益气胶囊对大鼠胃溃疡的治疗作用。温中益气胶囊是多年临床经验方,具有温中益气、清热燥湿的功效。临床主要用于胃炎、胃溃疡等属脾胃虚弱,寒热错杂的胃脘痛。本文通过观察温中益气胶囊对胃组织中 H⁺-K⁺-ATP 酶活性、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、生长抑素(SS)分泌的影响及抗炎、镇痛作用来探讨其对幽门结扎型胃溃疡的保护作用。

1 材料

1.1 药物与试剂 温中益气胶囊(黑龙江省嫩江县中医院提供,口服 1 次 3~4 粒,1 日 3 次;批号黑制 L130014)。温中益气胶囊药物组成:人参 130 g,大枣 65 g,炙甘草 130 g,法半夏 195 g,白术 130 g,干姜 130 g,茯苓 130 g,黄连 65 g,黄芩 130 g。9 味药中白术、茯苓粉碎成细粉,其余人参等 7 味加水煎煮提取 2 次、浓缩、干燥,粉碎成细粉,与上述细粉过筛,混匀,装胶囊制得。质控指标为白术挥发性成分苍术酮等,盐酸小檗碱。阳性药:三九胃泰颗粒(湖南三九南开药业有限公司产品,批号 1209018N),二甲苯(北京北化精细化学品有限责任公司,批号 20111123),冰醋酸(天津市耀华化学试剂有限责任公司生产,批号 20111205),H-K-ATP 酶试剂盒(南京建成生物工程研究所生产,批号 20130318),SOD,MDA 试剂盒(南京建成生物工程研究所生产,批号 20130311),生长抑素(SS)ELISA 试剂盒(为美国 R&D 公司产品,批号 20130118)。

1.2 仪器 Anthos 2010 酶标仪(郑州博赛生物工程有限责任公司),722 型可见分光光度计(上海光

谱仪器有限公司),KDC-40 低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司制造),PL202-100 型电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司],HSS-1(B)型恒温水槽(成都仪器厂)。

1.3 动物 清洁级健康 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体重为(220±20)g,清洁级健康小鼠 100 只,体重为(20±2)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

2 方法

2.1 动物分组及给药 SD 大鼠 60 只,随机分成空白组和模型组(蒸馏水 10 mL·kg⁻¹)、阳性对照药(三九胃泰颗粒,3.69 g·kg⁻¹)、温中益气胶囊高、中、低剂量组(2.21, 1.11, 0.55 g·kg⁻¹),每组 10 只。每天 ig 给药 1 次,连续给药 7 d。昆明种小鼠随机分成空白对照组、阳性对照药(三九胃泰颗粒,5.19 g·kg⁻¹)、温中益气胶囊高、中、低剂量组(3.12, 1.56, 0.78 g·kg⁻¹),每天 ig 给药 1 次,连续给药 3 d。

2.2 胃溃疡大鼠模型制备及指标测定 具体造模方法采用 Shay 大鼠幽门结扎法^[1]。第 5 天给药后将各组动物禁食 48 h(不禁水,严格控制大鼠吃自己的粪便和垫料),实验前 2 h 经口灌胃给药 1 次,2 h 后乙醚麻醉,自剑突下沿腹中线切开腹壁,切口约为 2~3 cm,在左侧肋缘部位用手指轻轻往上推,使胃暴露于切口,在幽门和十二指肠结合部穿线将幽门结扎,然后缝合腹壁切口,常规消毒,纱布包扎,缝合后各组动物均经直肠给药 1 次,放回饲养笼,禁食水。18 h 后麻醉大鼠,颈总动脉取血。打开腹腔,摘取全胃,沿胃大弯剪开胃,记录溃疡情况,测量每一个黏膜的损伤长度,将每只鼠所有损伤长度的总和作为该鼠溃疡指数,并且将每个损伤评分,计算每只鼠所有损伤评分的总和,按“分”表示溃疡指数^[8],用四方格测量溃疡面积。取胃组织制备 10% 和 2% 匀浆,3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液。-20℃ 冷冻保存,10% 匀浆用于测定 SOD,

MDA,2% 匀浆用于测定 H^+-K^+-ATP 酶。另取组织,用电子天平称重后迅速加热煮沸,再将其放入 1 mL 盛有 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸的组织匀浆器中匀浆,随后用 1 mL $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 中和,组织匀浆液以 $3\ 500\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,将上清液分装标记后置 $-4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内冻存待测 SS。

2.3 抗炎实验 采用小鼠耳廓肿胀法,50 只昆明种小鼠,雌雄各半,分组及给药同 2.1。末次给药 1 h 后在每只小鼠右耳廓两面均匀涂抹 0.02 mL 二甲苯致炎。4 h 后脱颈处死小鼠,沿耳廓基线剪下两耳,用 8 mm 的打孔器分别在同一部位打下耳片,用分析天平称重,每只鼠的右耳片质量减去左耳片质量即为肿胀度,并计算抑制率。

2.4 镇痛实验 采用热板法,实验前 24 h 于热板测痛仪上测定痛阈值(第 1 次添后足的时间作为指标),重复测取 2 次正常痛阈值作为该组给药前痛阈值。挑选当水温为 $(55\pm 0.5)\text{ }^\circ\text{C}$ 时阈值在 5~30 s 内的雌性昆明种小鼠 50 只,分组及给药同 2.1。给药后 1 h 用温水擦拭干净,开始测小鼠痛阈值,之后 4 h 每隔 1 h 时测定各小鼠痛阈值。记录小鼠给药前后痛阈值,并进行统计分析。

2.5 统计学处理 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 统计软件包进行组间 *t* 检验。 $P<0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对幽门结扎型大鼠胃溃疡面积、溃疡指数的影响 与模型组比较,温中益气胶囊 3 个剂量组能够极显著减小胃溃疡面积($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较温中益气胶囊高、低剂量组能显著降低大鼠胃溃疡指数($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表 1。

表 1 温中益气胶囊对幽门结扎型大鼠胃溃疡总面积的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	溃疡面积 / mm^2	溃疡指数 /分
模型对照	-	9	27.5 ± 9.1	28.9 ± 9.0
温中益气胶囊	2.21	10	$16.4\pm 8.7^{2)}$	$20.2\pm 7.6^{1)}$
	1.11	10	$18.9\pm 8.8^{1)}$	21.4 ± 9.9
	0.55	7	$19.5\pm 7.4^{1)}$	$20.3\pm 8.2^{1)}$
三九胃泰	3.69	9	$18.4\pm 10.5^{1)}$	22.8 ± 6.5

注:与模型对照组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 对幽门结扎型大鼠胃组织 H^+-K^+-ATP 酶活性和 SS 含量的影响 与空白组比较,模型组 H^+-K^+-ATP 酶活性极显著增强($P<0.01$);SS 含量显著减少($P<0.05$)。在影响 H^+-K^+-ATP 酶的活性上,与模型组比较,温中益气胶囊高剂量组具有显著

性差异($P<0.05$)。温中益气胶囊高、中、低剂量组与三九胃泰颗粒组均能增加生长抑素的分泌($P<0.05$)。见表 2。

表 2 温中益气胶囊对幽门结扎型大鼠 H^+-K^+-ATP 酶、生长抑素的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	H^+-K^+-ATP 酶 / $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	SS / $\text{pg}\cdot\text{mg}^{-1}$
空白对照	-	9	$7.4\pm 3.6^{2)}$	$13.7\pm 3.8^{1)}$
模型对照	-	9	14.8 ± 4.9	9.5 ± 3.3
温中益气胶囊	2.21	10	$10.6\pm 4.5^{1)}$	$13.4\pm 5.2^{1)}$
	1.11	10	11.7 ± 5.0	$13.6\pm 5.1^{1)}$
	0.55	7	12.9 ± 4.3	$13.6\pm 5.0^{1)}$
三九胃泰	3.69	9	11.0 ± 5.6	$12.0\pm 2.3^{1)}$

3.3 对幽门结扎型大鼠胃组织中 SOD 活性、MDA 含量的影响 与空白组比较,模型组 MDA 含量显著增加,SOD 活性显著降低($P<0.01$)。与模型组比较温中益气胶囊高、中、低剂量组能显著增强胃组织中 SOD 的活性并降低 MDA 含量($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表 3。

表 3 温中益气胶囊对幽门结扎型大鼠 MDA,SOD 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	<i>n</i>	MDA / $\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$	SOD / $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$
空白对照	-	9	$5.3\pm 1.3^{2)}$	$11.0\pm 1.7^{2)}$
模型对照	-	9	8.1 ± 1.6	8.1 ± 2.0
温中益气胶囊	2.21	10	$6.2\pm 1.4^{2)}$	$10.8\pm 2.5^{2)}$
	1.11	10	$6.7\pm 1.5^{1)}$	$10.1\pm 2.0^{1)}$
	0.55	7	6.7 ± 1.6	10.3 ± 3.0
三九胃泰	3.69	9	6.7 ± 1.8	$10.1\pm 2.7^{1)}$

3.4 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 温中益气胶囊高、中剂量组和三九胃泰颗粒组均可降低小鼠耳肿胀程度($P<0.05$)。见表 4。

表 4 温中益气胶囊对二甲苯致小鼠耳肿胀作用的影响($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	剂量 / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	耳肿胀 / mg	肿胀抑制率 /%
空白对照	-	5.2 ± 2.8	-
温中益气胶囊	3.12	$2.5\pm 1.6^{1)}$	51.7
	1.56	$2.8\pm 2.2^{1)}$	45.4
	0.78	4.1 ± 2.4	22.1
三九胃泰	5.19	$2.8\pm 2.5^{1)}$	46.7

3.5 对小鼠镇痛作用的影响 与空白组比较,从 3 h 时开始,温中益气胶囊各给药组和三九胃泰颗粒

均能不同程度增加小鼠痛阈值 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。各给药组与给药前比较,从 3 h 开始,温中

益气胶囊给药组和三九胃泰颗粒组均具有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 5。

表 5 温中益气胶囊不同剂量组对小鼠镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	镇痛作用					
		0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
空白对照	-	17 ± 6	15 ± 6	20 ± 12	21 ± 10	18 ± 8	20 ± 7
温中益气胶囊	3.12	17 ± 6	14 ± 4	24 ± 14	28 ± 18 ¹⁾	33 ± 15 ^{2,4)}	32 ± 19 ^{1,3)}
	1.56	18 ± 7	19 ± 16	19 ± 15	23 ± 16	31 ± 19 ^{1,3)}	29 ± 18 ¹⁾
	0.78	18 ± 6	15 ± 5	19 ± 9	22 ± 12	21 ± 11	29 ± 16 ¹⁾
三九胃泰	5.19	18 ± 6	16.6 ± 8.4	16 ± 5	23 ± 9	29 ± 15 ^{1,3)}	26 ± 14 ¹⁾

注:与给药前比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白对照组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

胃溃疡的病机、病因迄今尚未完全阐明,普遍认为其形成是由于胃局部黏膜损害因素和黏膜保护因素之间失衡所致^[3-5]。攻击因子如胃酸、胃蛋白酶等,在溃疡的形成中占有主要地位,持续性分泌过多胃酸可引起消化性胃溃疡。胃酸分泌的最终环节是壁细胞中的质子泵^[6-7],它将壁细胞内的 H⁺ 转运至胃腔,故抑制 H⁺-K⁺-ATP 酶的活性即能抑制基础胃酸的分泌及组胺、进食等多种刺激引起的酸分泌^[6-7]。温中益气胶囊对 H⁺-K⁺-ATP 酶活性产生抑制作用,导致胃壁细胞 H⁺ 分泌减少,从而不仅能防止溃疡的形成,而且还能促进溃疡的愈合;SS 由 D 细胞分泌,广泛存在于胃肠中。有人认为内源性生长抑素可能参与对胃肠道黏膜的适应性保护机制。外源性 SS 可减轻胃黏膜损伤,其保护机制可能与它对胃酸分泌的抑制作用有关^[8]。氧自由基是导致胃黏膜损伤的另一重要致病因子,SOD 是生物体内氧自由基清除系统的首要防线,胃溃疡的形成与氧自由基所致的细胞损伤密切相关,而 SOD 强大的抗氧化作用,能中断氧自由基的连锁反应,保护细胞免受损伤,其活力的高低间接反映了机体清除氧自由基的能力。MDA 是反映体内氧自由基代谢的重要指标^[9];MDA 是脂质过氧化物的降解产物,其含量可反映机体内脂质过氧化物的程度,间接地反映出细胞损伤程度。

本实验选择三九胃泰颗粒为阳性药,因其所治疗的胃痛的临床表现与温中益气胶囊一致,并且给药途径与本实验研究一致。本实验中温中益气胶囊内含法半夏、黄连清热燥湿,和胃消痞;茯苓、白术健脾益气,利水渗湿;人参、大枣、甘草补益脾胃,标

本兼治。给药后,可明显抑制胃酸分泌,增加 SOD 活性,降低 MDA 水平并调节 SS 分泌。温中益气胶囊临床应用 20 余年,对于胃炎、胃溃疡等属脾胃虚弱,寒热错杂证引起的脘腹痞满疼痛,恶心呕吐,吞酸嘈杂,不欲饮食疗效显著。

[参考文献]

- [1] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991.
- [2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2006.
- [3] 吴丽萌,丘炜霞,赖东梅,等. 金不换总碱对幽门结扎型胃溃疡大鼠模型的作用及机理研究[J]. 中药材, 2012, 35(9):1474.
- [4] Nillson B I. Relationship between interdigestive gallbladder emptying, plasma motilin and migrating motor complex in man [J]. Acta Physiol-scand, 1990, 139(1):55.
- [5] 林晓春,陈玉尧,白殊同,等. 甘草总黄酮对慢性浅表性胃炎大鼠胃黏膜损伤的保护作用[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(2):299.
- [6] 谭建荣. 消化性溃疡的病理生理学及治疗研究进展[J]. 吉林医学, 2014, 35(3):598.
- [7] 刘伟,戎兰. 质子泵抑制剂的研究进展[J]. 临床内科杂志, 2006, 23(2):80.
- [8] 范勤,陈英,杜斌,等. 大鼠胃黏膜 SS、EGF、PGE₂ 含量在模拟 + Gz 值暴露下得变化及机制[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2014, 23(2):141.
- [9] 问慧娟,李玉巧,崔玉英,等. 白藜芦醇对大鼠应激性胃溃疡的保护作用[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(1):18.

[责任编辑 聂淑琴]