

# 胃乃安新制剂对碘代乙酰胺致慢性浅表性胃炎的干预作用

林传权<sup>1</sup>, 陈娟<sup>2</sup>, 李茹柳<sup>1</sup>, 詹若挺<sup>2</sup>, 苏碧茹<sup>3</sup>, 赖晓明<sup>3</sup>, 陈蔚文<sup>1,2,4\*</sup>

(1. 广州中医药大学脾胃研究所, 广州 510405;

2. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心, 岭南中药资源教育部重点实验室, 广州 510006;

3. 广州白云山中一药业有限公司, 广州 510530;

4. 上海市高校中医内科学 E-研究院, 上海中医药大学, 上海 201203)

**[摘要]** 目的: 观察胃乃安新制剂对慢性浅表性胃炎的作用。方法: SD大鼠按随机数字表分为正常组(10只)、模型组、胃乃安新制剂高、中、低剂量(9.10, 2.87, 0.91 g·kg<sup>-1</sup>)组和胃乃安胶囊(9.10 g·kg<sup>-1</sup>)组(每组各15只), 予模型组及各给药组大鼠自由饮用0.1%碘代乙酰胺3周构建慢性浅表性胃炎模型的同时, 各给药组予相应药物干预, 模型组和正常对照组予等量自来水灌胃; 3周后取胃组织从肉眼观察、病理切片、透射电镜3个层面评价胃乃安新制剂抗碘代乙酰胺致胃黏膜损伤作用, 并检测胃组织的丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平以探讨其可能的作用机制。结果: 正常组胃组织未见明显损伤, 未见明显炎细胞浸润; 与正常组比较, 模型组胃组织肉眼可见明显充血水肿, 甚至糜烂, 镜下见大量炎细胞浸润( $P < 0.01$ ); 由肉眼、病理评分结果, 胃乃安新制剂高剂量组、胃乃安胶囊组均有抗胃黏膜损伤作用(与模型组比较 $P < 0.01$ ), 且新制剂抗溃疡效果呈剂量依赖性关系; 透射电镜观察结果表明, 新制剂可明显逆转主细胞、壁细胞的超微结构损伤性改变; 新制剂可降低胃组织MDA含量, 提升SOD活性, 可明显降低胃黏膜的自由基水平(与模型组比较,  $P < 0.01$ )。结论: 胃乃安新制剂对碘代乙酰胺所致慢性浅表性胃炎有显著抗损伤作用, 可能通过清除胃黏膜自由基水平的途径发挥作用。

**[关键词]** 胃乃安; 碘代乙酰胺; 慢性浅表性胃炎; 自由基

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)19-0146-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2014190146

## Effects of New Weinaian Preparation on Chronic Superficial Gastritis Induced by Iodoacetamide

LIN Chuan-quan<sup>1</sup>, CHEN Juan<sup>2</sup>, LI Ru-liu<sup>1</sup>, ZHAN Ruo-ting<sup>2</sup>,  
SU Bi-ru<sup>3</sup>, LAI Xiao-ming<sup>3</sup>, CHEN Wei-wen<sup>1,2,4\*</sup>

(1. Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;

2. Research Center of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Medicinal Resource from Lingnan, Ministry of Education, Guangzhou 510006, China;

3. Guangzhou Baiyun Mountain Zhongyi Pharmaceutical Company Limited, Guangzhou 510530, China;

4. Shanghai University of Chinese Medicine, Chinese Medicine Internal Medicine E-Academy of Shanghai Higher Education College, Shanghai 201203, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effect and mechanism of new Weinaian preparation (NWP) on the rat chronic superficial gastritis (CSG) induced by iodoacetamide. **Method:** SD rats were randomly divided into normal control group (NC,  $n = 10$ ), CSG group ( $n = 15$ ), NWP (9.10, 2.87, 0.91 g·kg<sup>-1</sup>) groups

**[收稿日期]** 20131004(010)

**[基金项目]** 粤港关键领域重点突破招标项目(GDDRC2007ZY002);上海市教育委员会 E-研究院建设计划项目(E03008);中央财政支持地方高校发展专项资金项目(财教[2013]338号)

**[第一作者]** 林传权, 博士, 助理研究员, 从事创新中药研制及脾胃病虚实证本质研究, Tel: 020-36585444, E-mail: chuanquanlin@gzucm.edu.cn

**[通讯作者]** \* 陈蔚文, 教授, 博士, 从事创新中药研制研究, Tel: 020-36585444, E-mail: piwei@gzhtcm.edu.cn

( $n = 15$ , respectively) and Weinaian capsule group ( $n = 15$ ). The CSG rats were induced by 0.1% iodoacetamide for 3 weeks, the drug groups were given by gavage once a day for 3 weeks with appropriate drugs simultaneously, and the normal control and CSG groups were given the same amount of water. The effects of NWP on the CSG rats were evaluated by naked eye, pathological section and transmission electron microscope. The action mechanism of Weinaian was studied by detection the level of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in the rat gastric mucosal. **Result:** Contrasted with the NC group, there was obvious injury and inflammation cell in the gastric mucosa of the CSG group. The effects of anti-injury were found in the ranitidine and high-dose group of Weinaian groups ( $P < 0.01$ ), there was dose-reponse relationship in the three Weinaian groups. The ultrastructure injury of chief and parietal cell were improved by the high-dose group of Weinaian. The group also reduced the level of MDA and increased the activity of SOD in the gastric mucosa ( $P < 0.01$ , vs CSG group). **Conclusion:** The new Weinaian preparation can alleviate the gastric mucosal injury of CSG rat induced by iodoacetamide which maybe related to clearing gastric mucosa radical.

**[Key words]** Weinaian; iodoacetamide; chronic superficial gastritis; radical

胃乃安胶囊是国家中药保护品种,广东省名老中医梁乃津的经验方,对胃及十二指肠溃疡、慢性胃炎等胃肠黏膜损伤性疾病疗效显著<sup>[1-2]</sup>。考虑其临床服用量较大(4粒/次),本课题组前期在药效导向下优化原提取分离纯化及制剂学工艺,制备胃乃安新制剂(片剂)明显降低服用量(2片/次),更有利于患者服用,尤其是吞咽困难的患者,但新制剂的对胃黏膜损伤的药效作用有待验证。碘代乙酰胺致大鼠慢性浅表性胃炎是典型的胃黏膜损伤动物模型<sup>[3-4]</sup>。本文拟在模型上考察新制剂对胃肠黏膜损伤的药效作用,并探讨对胃组织自由基水平的影响,旨在探究自由基与胃乃安新制剂抗黏膜损伤作用机制的关系,为新制剂的开发研究及其临床应用提供客观参考依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SD大鼠,SPF级,雌雄各半,160~180g,由广东省医学实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(粤)2008-0020,本批动物合格证号0057168。

**1.2 试剂与试药** 碘代乙酰胺(Sigma公司提供,批号20100723),胃乃安浸膏(中试研究供试品,批号20101001),胃乃安胶囊(广州中一药业有限公司,批号M00022),超微珍珠层粉(批号20090416)与人工牛黄粉(批号20070810)均由中山中智药业有限公司提供,考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒及丙二醛(MDA)测定试剂盒(批号分别为20100511,20100618,2010821,均由南京建成生物制品研究所提供)等,实验所用试剂均为分析纯。

**1.3 仪器** H-600E-M型透射电镜(日本HITACHI公司),Zeiss显微镜(Axiostar Plus),DY89-II电动玻

璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司),UVmini-1240紫外分光光度计(岛津制作所,分析仪器事业部)。

## 2 方法

**2.1 试剂配制** 0.1%碘代乙酰胺:精密称取1g加纯水800mL充分摇匀,再加纯水定容至1000mL。

**2.2 试药配制** 胃乃安胶囊药液:取45粒胃乃安胶囊,加纯水40mL混匀,再纯水定容至50mL;胃乃安新制剂高、中、低剂量药液配制:按原处方配比纯水配制生药量0.910,0.287,0.091g·mL<sup>-1</sup>药液备用。

**2.3 慢性胃炎模型构建** 运用随机数字表方法将动物随机分成正常组(10只),模型组与各给药组(15只),参照文献[3-4]予模型组及各给药组大鼠0.1%碘代乙酰胺自由饮用(不再予自来水)3周构建模型,正常对照组予自来水,动物均予常规饲料进食。同时,高、中、低剂量组与胃乃安胶囊组每日按相应剂量10mL·kg<sup>-1</sup>灌胃给药,正常对照组与模型组灌等量自来水。3周后,脱颈处死动物,肉眼观察胃黏膜损伤的程度,并剪取胃组织行HE病理观察、透射电镜检测评价损伤程度,余下胃组织保存备测自由基水平。

## 2.4 观察指标

**2.4.1 肉眼观察与评价疗效** 参照慢性胃炎诊断标准<sup>[5]</sup>,拟定分级标准 I级:红斑分散或间断线状; II级:密集斑点或连续线状; III级:红斑广泛融合; IV级:糜烂单发; V级:糜烂多发局部≤5; VI级:糜烂多发广泛≥6。分别计为1,2,3,4,5,6分。

**2.4.2 镜下观察与评价疗效** 胃组织常规病理切

片、HE 染色,病理分级标准参照 1994 年休斯顿胃炎诊断标准,半定量评价炎细胞浸润情况。0:无炎症为 0;+:在胃黏膜上皮内(胃小凹区)或固有腺底部可见多个慢性炎细胞为 1;++:在胃黏膜小凹区至黏膜肌层均有较多的炎细胞浸润为 2;+++ :胃黏膜内可见成堆炎细胞聚集灶为 3。凡介于以上各级之间者,在低级别炎症数字上加 0.5,如 + ~ ++ 为 1.5。随机选取 HE 切片 3 个视野进行观测评分,合计 3 个视野评分评价药效作用。

**2.4.3 按下式计算炎症抑制率。**主细胞与壁细胞超微结构变化 剪取胃组织置于电镜保存液,包埋切片,8 × 10<sup>3</sup> 倍下观测主细胞粗面内质网和线粒体结构改变情况,1.2 × 10<sup>4</sup> 倍下观测壁细胞的滑面内质网和线粒体结构改变情况。

$$\text{炎症抑制率} = (\text{模型组炎症积分} - \text{给药组炎症积分}) / \text{模型组炎症积分} \times 100\%$$

**2.4.4 MDA 含量测定** 胃黏膜经组织匀浆后,采用考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒测试组织蛋白含量,再严格按照试剂盒说明书进行操作,在 532 nm 最大吸收峰处测定各管吸光度(A),参照以下计算公式计算测得胃组织 MDA 含量。

$$\text{MDA} = (\text{测定管} A - \text{测定空白管} A) / (\text{标准管} A - \text{标准空白管} A) \times \text{标准品浓度} \div \text{样本蛋白含量} (\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$$

**2.4.5 SOD 活力测定** 同上法测定组织蛋白含量后,严格按照试剂盒说明书进行操作,在 550 nm 最大吸收峰处测定各管 A,参照以下计算公式计算测得胃组织 SOD。

$$\text{SOD 活力} = [(\text{对照管} A - \text{测定管} A) / \text{对照管} A] / 50\% \times \text{反应液总体积} / \text{取样量} \times \text{样本蛋白含量}$$

### 3 结果

**3.1 炎症肉眼观察与疗效评价** 模型组动物胃组织有明显充血水肿、红斑点、呈线状或片状,甚至糜烂灶;胃乃安胶囊组和高剂量组胃组织有黏膜充血水肿、点状或线状红斑,部分胃组织未见黏膜充血、红斑;中、低剂量组胃组织病变情况介于上述两者间;正常对照组胃组织未见黏膜充血水肿、红斑改变。由表 1 结果可知,与模型组比较,高剂量组和胃乃安胶囊组炎症明显减轻( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$  与模型组比较),新制剂药效作用表现剂量依赖性关系;高剂量组炎症抑制率明显高于胃乃安胶囊组。

**3.2 炎症病理观察与疗效评价** 正常对照组胃组织黏膜结构正常,黏膜间质中未见炎细胞浸润;模

型组黏膜间质大量(黏膜层弥漫炎细胞、或炎细胞聚集成团、或脓肿形成)淋巴细胞、浆细胞及散在中性粒细胞浸润;胃乃安胶囊组和胃乃安新制剂高剂量组仅有少量炎细胞浸润;中、低剂量组病理改变介于上述两者之间。由表 2、图 1 结果可知,新制剂高剂量组和胃乃安胶囊组均有抗胃黏膜损伤作用(与模型组比  $P < 0.05$ ),且新制剂抗胃黏膜损伤效果呈剂量依赖性关系。

表 1 胃乃安 2 种制剂对胃组织炎症的肉眼观察炎症积分及炎症抑制率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	n	生药剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	炎症积分 /分	炎症抑制率 /%
正常	10	-	0.40 ± 0.52	-
模型	15	-	3.33 ± 1.63	-
胃乃安新制剂	15	9.10	1.20 ± 1.01 <sup>2)</sup>	63.96
	15	2.87	2.47 ± 0.83	25.83
	15	0.91	2.20 ± 0.56	33.93
胃乃安胶囊	15	9.10	1.67 ± 0.90 <sup>1)</sup>	49.85

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

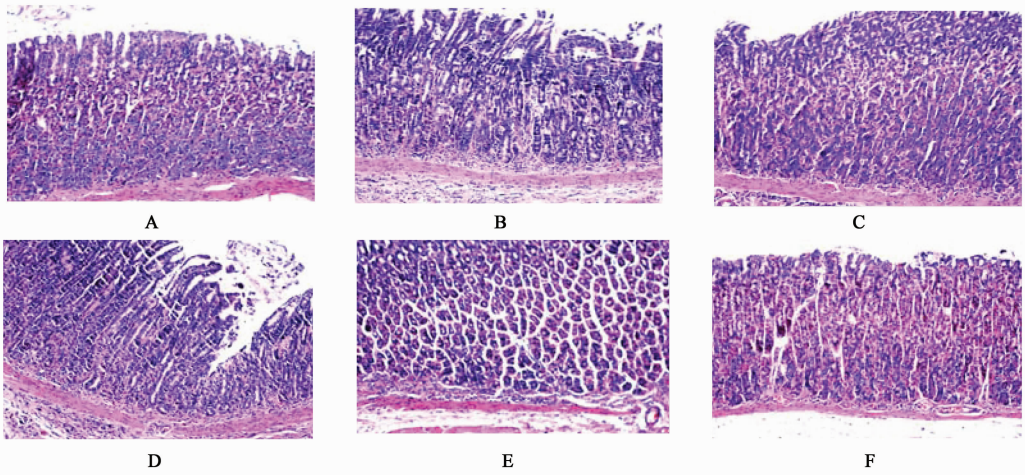
表 2 胃乃安 2 种制剂对胃组织炎症的病理观察评分及炎症抑制率的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	n	生药量 /g·kg <sup>-1</sup>	炎症积分 /分	炎症抑制率 /%
正常	10	-	0.30 ± 0.48	-
模型	15	-	6.47 ± 1.96	-
胃乃安新制剂	15	9.10	3.73 ± 1.91 <sup>2)</sup>	42.35
	15	2.87	4.40 ± 1.55 <sup>1)</sup>	31.99
	15	0.91	5.13 ± 0.92	20.71
胃乃安胶囊	15	9.10	3.87 ± 2.26 <sup>1)</sup>	40.19

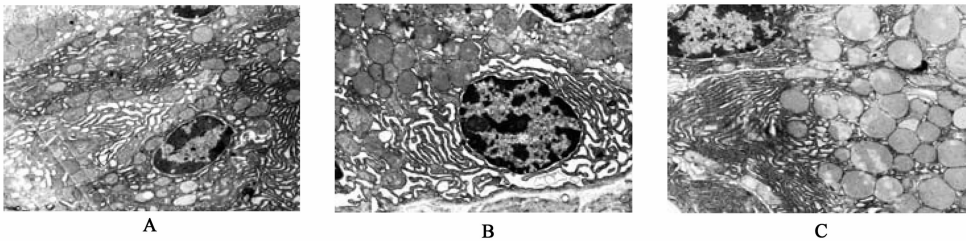
### 3.3 透射电镜观测主细胞与壁细胞超微结构变化

**主细胞超微结构变化** 在 8 × 10<sup>3</sup> 倍透射电镜下,正常对照组主细胞粗面内质网丰富,未见扩张或间隙增宽,线粒体未见肿胀,嵴清晰可见;而模型组主细胞粗面内质网明显扩张,核周间隙增宽,线粒体肿胀,嵴模糊,异染色质增多;胃乃安新制剂高剂量组主细胞粗面内质网丰富未见扩张,间隙未增宽,线粒体轻微肿胀,可见少量嵴,该结果表明经胃乃安新制剂高剂量组可逆转模型引起的主细胞超微结构改变。如图 2 所示。

1.2 × 10<sup>4</sup> 倍透射电镜下壁细胞超微结构观测,正常对照组壁细胞线粒体未见肿胀,嵴清晰可见,滑面内质网丰富无扩张。模型组壁细胞线粒体肿胀、增多,滑面内质网扩张、增多等变化;胃乃安新制剂高剂量组的壁细胞线粒体轻微肿胀,可见少量嵴模糊,滑面内质网无扩张,该结果表明经高剂量组可修复模型引起的壁细胞超微结构改变。结果如图 3 所示。



A. 正常对照组;B. 模型组;C~E. 胃乃安新制剂 9.10,2.87,0.91 g·kg<sup>-1</sup>组;F. 胃乃安胶囊 9.10 g·kg<sup>-1</sup>组  
图1 胃乃安2种制剂对慢性浅表性胃炎胃组织炎症的影响(HE, ×100)



A. 正常对照组;B. 模型组;C. 胃乃安新制剂 9.10 g·kg<sup>-1</sup>组(图3同)

图2 胃乃安2种制剂对慢性浅表性胃炎胃黏膜主细胞粗面内质网与线粒体超微结构的影响(透射电镜, ×8 000)

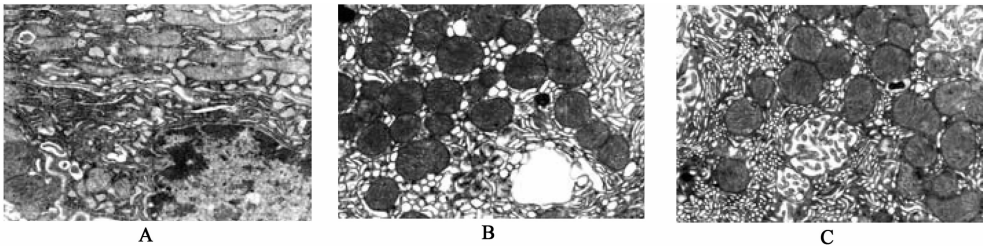


图3 胃乃安2种制剂对慢性浅表性胃炎胃黏膜壁细胞滑面内质网与线粒体超微结构的影响(透射电镜, ×12 000)

**3.4 胃组织 MDA 含量和 SOD 活力** 模型组 MDA 含量明显升高、SOD 活力明显下降( $P < 0.01$ , vs 正常对照组);胃乃安新制剂高剂量组、胃乃安胶囊组的 MDA 含量显著降低、SOD 活力升高( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ , vs 模型组);新制剂对 MDA, SOD 作用表现剂量依赖性改变。

#### 4 讨论

慢性胃炎系指不同病因引起的各种慢性胃黏膜炎性病变,是一种常见病,其发病率在胃病中居首位。临床研究表明,胃乃安胶囊对慢性胃炎具有良好的疗效<sup>[6]</sup>,且安全无毒副作用<sup>[7]</sup>。经过系统优化胃乃安胶囊工艺后,降低单次服用量,本文根据其主治病症,选取慢性浅表性胃炎模型,考察新工艺所制

表3 胃乃安2种制剂对慢性浅表性胃炎胃组织的 MDA 含量与 SOD 活力的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	n	生药量 /g·kg <sup>-1</sup>	MDA /nmol·mg <sup>-1</sup>	SOD /U·mg <sup>-1</sup>
正常对照	5	-	3.51 ± 1.39	92.66 ± 3.31
模型	8	-	7.62 ± 1.56	63.46 ± 10.03
胃乃安新制剂	8	9.10	4.40 ± 1.36 <sup>2)</sup>	86.82 ± 9.29 <sup>2)</sup>
	8	2.87	6.01 ± 2.43 <sup>1)</sup>	75.38 ± 7.60
	7	0.91	8.19 ± 1.70 <sup>1)</sup>	65.14 ± 15.02
胃乃安胶囊	7	9.10	4.45 ± 1.11 <sup>2)</sup>	87.70 ± 8.06 <sup>2)</sup>

备胃乃安新制剂的抗黏膜损伤作用,并与原剂型比较药效程度。本研究从肉眼观察及病理镜下结果,可知新制剂可明显对抗碘代乙酰胺所致胃黏膜损

伤,其药效有优于胃乃安胶囊的趋势,表明新制剂不仅降低单次服用量,而且保留原制剂的药效作用,尚有增强作用的趋势。

线粒体是真核细胞内的氧化磷酸化和形成 ATP 的主要场所,内质网是细胞质的膜系统,具有合成膜蛋白、分泌蛋白和运输细胞内物质的作用,它们在体内具有重要的生理功能。线粒体、内质网的超微结构与其功能有密切关系,透射电镜观察结果表明胃乃安新制剂具有逆转胃黏膜损伤的超微结构改变,但完全恢复至正常结构还需更长的给药周期,提示该制剂今后临床治疗周期需延长,具体给药周期有待后期研究确立。

研究表明<sup>[8-9]</sup>,自由基是一种胃黏膜的独立损伤因子,在胃黏膜损伤和溃疡发生过程中起着重要作用。阻断和清除自由基的产生对维持胃黏膜的完整性、保护胃黏膜免于损伤具有重要意义。MDA 含量的高低可反映机体组织细胞受自由基攻击的严重程度,SOD 是生物体内清除氧自由基的主要大分子抗氧化酶,SOD 活性的大小间接反映机体清除氧自由基的能力。体内抗氧化物质 SOD 活性下降与 MDA 含量上升,是公认的能较好反映体内氧自由基损伤的指标<sup>[10]</sup>。既有文献表明胃乃安主要组成药物黄芪<sup>[11-12]</sup>、三七<sup>[13]</sup>、珍珠层粉<sup>[14]</sup>均有清除自由基作用,本文探讨胃乃安新制剂对胃组织的自由基水平影响,旨在探究自由基与胃乃安新制剂抗黏膜损伤作用机制的关系。本文研究发现,胃乃安新制剂可降低 MDA 含量,提升 SOD 活性,明显降低胃黏膜的自由基水平。由此提示,胃乃安新制剂可能通过清除自由基水平的途径发挥治疗胃黏膜损伤作用。

#### [参考文献]

[1] 李波,赵雅灵,周海钧. 复方胃乃安的药理学研究[J]. 中药药理与临床,1991,7(2):15.  
[2] 刘少勇. 梁乃津验方胃乃安组方机理初探[J]. 辽宁

中医药大学学报,2010,12(4):145.  
[3] Piqueras L, Corpa J M, Martinez J, et al. Gastric hypersecretion associated to iodoacetamide induced mild gastritis in mice[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,2003,367(2):140.  
[4] Xiang Z,Si J M,Huang H D. Chronic gastritis rat model and role of inducing factors[J]. World J Gastroenterol, 2004,10(21):3212.  
[5] 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胃炎的内镜分型分级标准及治疗的试行意见[J]. 中华消化内镜杂志,2004,21(2):77.  
[6] 倪依东,刘友章,张惠臣. 胃乃安胶囊治疗胃脘痛的临床研究[J]. 中药新药与临床药理,2002,13(6):353.  
[7] 陈丹曼,黄芝瑛. 胃乃安胶囊的毒理学研究[J]. 中草药,2005,36(7):1055.  
[8] 李勇,孔令青,高洪. 自由基与疾病研究进展[J]. 动物医学进展,2008,29(4):85.  
[9] Kim Y J, Kim E H, Hahm K B. Oxidative stress in inflammation-based gastrointestinal tract diseases: challenges and opportunities [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012,27(6):1004.  
[10] Ock C Y, Kim E H, Choi D J, et al. 8-Hydroxydeoxyguanosine: not mere biomarker for oxidative stress, but remedy for oxidative stress-implicated gastrointestinal diseases [J]. World J Gastroenterol, 2012,18(4):302.  
[11] 李燕舞,宋宁,王汝俊. 黄芪总苷对应激大鼠胃黏膜氧自由基及褪黑素受体的影响[J]. 世界华人消化杂志,2008,16(29):3321.  
[12] 张冬青,汪德清. 黄芪总黄酮生物学活性作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2010,35(2):253.  
[13] 李淑慧,李晓辉,楚延. 三七总皂苷抗炎作用机制的实验研究[J]. 中草药,2000,31(9):676.  
[14] 李端,徐翔,吴佩君. 水解珍珠层粉在小鼠体内的抗氧化作用[J]. 中成药,1996,18(12):30.

[责任编辑 聂淑琴]