

三九胃泰方抗胃溃疡有效部位的研究

罗辉, 麦扬, 钟天恒, 李绪乾, 雷晓璐, 刘中秋, 蔡铮*

(南方医科大学药学院, 广州 510515)

[摘要] 目的:对三九胃泰方抗胃溃疡的有效部位进行筛选。方法:将SD大鼠分为正常对照组、模型组、阳性对照(西米替丁 $0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)与三九胃泰颗粒剂($2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)组、石油醚萃取物组、醋酸乙酯萃取物组、正丁醇萃取组及水萃取组,按生药剂量均为 $2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给药7 d,采用乙醇造大鼠胃黏膜损伤模型,以胃溃疡抑制率、胃蛋白酶活力、血清中丙二醛(MDA)含量与超氧化物歧化酶(SOD)活力为检测指标,对不同极性溶剂(石油醚、醋酸乙酯、正丁醇与水)萃取部位的抗胃溃疡活性进行评价。结果:三九胃泰方各极性萃取部位均能显著抑制乙醇致大鼠胃黏膜损伤($P<0.05$),其中石油醚萃取部位胃溃疡抑制率最高(89.15%),高于西米替丁组(59.90%)及三九胃泰颗粒剂组(55.31%)。三九胃泰方各极性萃取部位均可显著降低大鼠胃蛋白酶活力,同时增强血清中SOD的活力($P<0.05$)。结论:三九胃泰方不同极性萃取部位均具有显著的抗胃溃疡作用,其中石油醚萃取部位活性最强。

[关键词] 三九胃泰; 抗胃溃疡; 有效部位

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0215-04

[doi] 10.11653/syfy2013120215

Study on the Effective Fractions of Sanjiu Weitai Prescription for Anti-gastric Ulcer Activity

LUO Hui, MAI Yang, ZHONG Tian-heng, LI Xu-qian, LEI Xiao-lu, LIU Zhong-qiu, CAI Zheng*

(College of Pharmaceutical, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[收稿日期] 20130301(010)

[基金项目] 广东省高等学校科技创新重点项目(CXZD1121)

[第一作者] 罗辉, 硕士, 从事中药新型给药系统的研究工作, Tel: 020-61648597, E-mail: aluohui@sina.com

[通讯作者] * 蔡铮, 博士, 副教授, 从事中药新型给药系统的研究工作, Tel: 020-61648597, E-mail: caizheng2002@sina.com

[参考文献]

- [1] 崔金涛. 白虎汤在高热急症中的运用[J]. 新疆中医药, 2007, 26(6): 52.
- [2] 邝巧玲. 白虎汤合大承气汤加减治疗大叶性肺炎[J]. 广东医学, 1997, 11(5): 67.
- [3] 吴冉冉, 王欣. 白虎汤、大承气汤对不同发热模型大鼠退热作用实验研究[J]. 山东中医杂志, 2012, 31(31): 506.
- [4] 刘学伟, 曹敏, 刘树民, 等. 龙胆碱的解热作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 128.
- [5] 隋峰, 闫美娟, 林娜, 等. 大黄不同炮制品解热作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 167.
- [6] 李楠, 范颖, 贾旭鸣, 等. 黄芪不同有效部位对糖尿病模型大鼠血清胰岛素、脂联素的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 144.
- [7] 吴磊. 枳实、厚朴不同配伍对小鼠小肠推进功能的影响[J]. 河南中医, 2012, 32(5): 578.
- [8] 刘璐. “有效部位群”相关问题的思考及刍议[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(10): 725.
- [9] 张晓东, 张磊, 潘国凤. 中药有效部位新药研发中有效部位筛选存在问题浅析[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(4): 58.
- [10] 黄显章, 赵清超, 袁林. 中药有效部位(群)研究在中药及复方研究中的优势与展望[J]. 江苏中医药, 2010, 42(5): 1.
- [11] 史红, 程丽艳, 陶亮. 中药复方有效部位群研究现状[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(2): 156.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] Objective: To screen the effective fractions of Sanjiu Weitai prescription for anti-gastric ulcer activity. **Method:** The SD rats were divided into eight groups, including normal control group, model group, positive control (cimetidine and Sanjiu Weitai granules) groups, petroleum ether extract group, ethyl acetate extract group, *n*-butyl alcohol extraction group and water extraction group, with different dose lavage for seven days. Rat experimental gastric ulcer model was induced by intragastric administration of ethanol. Gastric ulcer inhibition rate, pepsin activity, malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity in serum were determined to evaluate anti-gastric ulcer activities of different fractions extracted by petroleum ether, ethyl acetate, *n*-butanol and water extraction parts. **Result:** All of the extracts of Sanjiu Weitai prescription could significantly inhibit gastric mucosa damage in rats induced by ethanol ($P < 0.05$). The gastric ulcer inhibition rate of petroleum ether extract was 89.15%, higher than those of Sanjiu Weitai capsules group (55.31%) and cimetidine group (59.90%). All of the extracts could significantly reduce pepsin activity ($P < 0.05$) and increase activity of SOD in serum ($P < 0.05$). **Conclusion:** All of the various polarity fractions of Sanjiu Weitai prescription can significantly inhibit gastric ulcer. The petroleum ether fraction exhibits the best anti-gastric ulcer activity.

[Key words] Sanjiu Weitai; gastric ulcer; effective fraction

胃溃疡是临床常见、多发病,据卫生部门统计,我国有近10%的人患有各种胃溃疡。三九胃泰是一个在市场上畅销20多年的药界长青树,由三叉苦、九里香、两面针、黄芩、木香、茯苓、白芍、地黄8味药组成,是临床治疗胃溃疡、慢性胃炎的主要药物。尽管三九胃泰已在临床上应用多年,但其抗胃溃疡的主要有效部位尚不清楚,其制剂的提取工艺为传统的水煎煮法^[1],一些水不溶性成分难免会流失。本研究旨在探索三九胃泰方不同极性溶剂萃取物对乙醇造大鼠胃黏膜损伤的影响,筛选有效部位,为其制备工艺的改进与质量标准的提高提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠,雄性,体重180~220g,购于广州中医药大学实验动物中心,动物许可证号SCXK(粤)2008-0020。

1.2 药物及试剂 三叉苦、九里香、两面针、黄芩、木香、茯苓、白芍、地黄均购自南京泽朗医药有限公司,经南方医科大学中医药学院药用植物学中药鉴定学教研室晁志教授鉴定均为正品;三九胃泰颗粒(华润三九医药股份有限公司,批号1201004S);西米替丁(广东恒健制药有限公司,批号120202);胃蛋白酶试剂盒(批号20120302),丙二醛(MDA)试剂盒(批号20120222),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号20120222)均购自南京建成生物工程研究所;乙醇、石油醚、醋酸乙酯、正丁醇等均为分析纯。

1.3 仪器 UV-1700型紫外分光光度计(日本岛津公司),HHW-210U-600型高精密度水浴箱(上海福

玛公司),BT21S型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司),N-1001型旋转蒸发器(日本Eyela公司),HITACHI超速冷冻离心机(日本日立公司)。

2 方法

2.1 三九胃泰方不同极性萃取部位的制备 按三九胃泰处方配比称取药材1kg,用10倍量95%乙醇加热回流提取1h,放冷后过滤,往滤渣中加10倍量50%乙醇,加热回流提取2次,每次1h,放冷滤过,合并滤液,60℃旋转蒸发浓缩至无醇味,得到乙醇提取物浓缩液。乙醇提取物浓缩液依次用石油醚、醋酸乙酯与正丁醇萃取,剩余水溶性部分,分别回收溶剂,浓缩干燥,称重得到石油醚萃取物8.08g,醋酸乙酯萃取物9.17g,正丁醇萃取物13.46g,水萃取物46.15g,备用。各萃取物给药前均用0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液配成适宜浓度的混悬液。

2.2 乙醇造大鼠胃黏膜损伤模型的制备及给药 将大鼠随机分为8组,包括正常对照组、模型组、阳性对照(西米替丁与三九胃泰颗粒剂)组、石油醚萃取物组、醋酸乙酯萃取物组、正丁醇萃取组及水萃取组,每组8只。正常对照组与模型组给予等体积的0.5%CMC-Na溶液,西米替丁组给药剂量为 $0.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,三九胃泰颗粒剂组与各萃取物组给药剂量按生药量^[2]计均为 $2.00 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,每天ig给药1次,连续7d,第6天给药后禁食不禁水24h,第7d末次给药后2h,除正常对照组外其余各组ig90%乙醇^[3] $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,1h后眼眶取血,以 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心8min,取上清液存置于-20℃冰箱内

保存,采血后脱颈处死大鼠,迅速剖取胃,收集胃内容物置于离心管内,以 $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $15\ \text{min}$,取上清液备用。

2.3 胃黏膜损伤面积评定标准 沿大鼠胃大弯处剪开胃,用生理盐水冲洗胃壁,滤纸吸干,展平,观察胃黏膜损伤程度,并按 Guth 标准^[4]计算胃溃疡面积与抑制率。胃黏膜溃疡或糜烂面积(mm^2)计算方法:斑点状糜烂 $<1\ \text{mm}^2$ 的记为 $1\ \text{mm}^2$, $1\sim 2\ \text{mm}^2$ 记为 $2\ \text{mm}^2$, $2\sim 3\ \text{mm}^2$ 记为 $3\ \text{mm}^2$, $3\sim 4\ \text{mm}^2$ 记为 $4\ \text{mm}^2$,依此类推,全胃损伤面积累计之和,即为该大鼠的胃黏膜损伤面积,计算溃疡抑制率。

$$\text{溃疡抑制率} = (\text{模型组溃疡面积} - \text{给药组溃疡面积}) / \text{模型组溃疡面积} \times 100\%$$

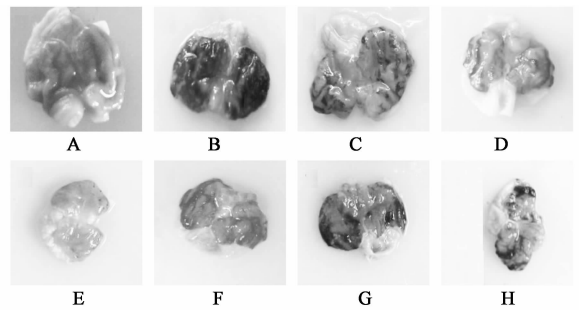
2.4 胃蛋白酶活力测定 采用氨基酸还原法测定胃蛋白酶的活力,严格按试剂盒说明操作。

2.5 血清中 MDA 含量与 SOD 活力的测定 将存放于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中的血清取出,采用硫代巴比妥酸法测定血清中 MDA 含量,采用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活力,严格按试剂盒说明操作。

2.6 统计学方法 所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同极性萃取部位对乙醇造胃黏膜损伤的影响 大鼠服用不同极性萃取部位后采用乙醇灌胃造胃黏膜损伤模型,其中模型组溃疡面积较大,损伤严重;与模型组相比较,西米替丁组、三九胃泰颗粒剂组、醋酸乙酯萃取物组、正丁醇萃取物组与水萃取物组均能显著抑制乙醇造胃黏膜损伤的形成($P < 0.05$),石油醚萃取物组具有极显著抑制作用($P < 0.01$),见表 1,图 1。



A. 正常对照组;B. 模型组;C. 西米替丁 $0.1\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组; D. 三九胃泰颗粒剂 $2\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;E. 石油醚萃取物 $2\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组; F. 醋酸乙酯萃取物 $2\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组;G. 正丁醇萃取物 $2\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组; H. 水萃取物 $2\ \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组

图 1 不同极性萃取部位对乙醇致胃黏膜损伤的影响

3.2 不同极性萃取部位对胃蛋白酶的影响 大鼠服用不同极性萃取部位后采用乙醇灌胃造胃黏膜损伤模型,模型组胃蛋白酶活性显著增强,约为正常对照组的 2.5 倍;与模型组相比较,西米替丁组、三九胃泰颗粒剂组、石油醚萃取物组、正丁醇萃取物组与水萃取物组均能显著抑制大鼠造模后胃液中胃蛋白酶的活力的增加($P < 0.05$),醋酸乙酯萃取物组对胃蛋白酶活力具有极显著的抑制作用($P < 0.01$),见表 2。

3.3 不同极性萃取部位对血清中 MDA 含量与 SOD 活力的影响 大鼠服用不同极性萃取部位后采用乙醇灌胃致胃黏膜损伤模型,与正常对照组相比较,模型组 MDA 含量升高,SOD 活力下降。西米替丁组、三九胃泰颗粒剂组、石油醚萃取物组、醋酸乙酯萃取物组与正丁醇萃取物组均能显著降低造模大鼠血清中 MDA 的含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),同时血清中 SOD 的活力略有增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。水萃取物组未能降低血清中的 MDA 含量,但能增加血清中 SOD 的活力($P < 0.05$),见表 2。

表 1 三九胃泰方不同极性萃取部位对乙醇造胃黏膜损伤的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	溃疡面积/ mm^2	溃疡抑制率/%
正常对照	-	0	-
模型	-	122.8 ± 27.4	-
西米替丁	0.1	$49.3 \pm 19.6^{(1)}$	59.9
三九胃泰颗粒剂	2.0	$54.9 \pm 12.1^{(1)}$	55.3
石油醚萃取物	2.0	$13.3 \pm 7.6^{(2)}$	89.2
醋酸乙酯萃取物	2.0	$66.5 \pm 16.7^{(1)}$	45.9
正丁醇萃取物	2.0	$86.8 \pm 22.2^{(1)}$	29.3
水萃取物	2.0	$58.2 \pm 10.9^{(1)}$	52.6

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

表 2 三九胃泰方不同极性萃取部位对胃蛋白酶,MDA,SOD 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	胃蛋白酶活力/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$
正常对照	-	$1.6 \pm 1.0^{(1)}$	2.8 ± 0.9	$115.8 \pm 0.8^{(2)}$
模型	-	4.0 ± 1.2	3.8 ± 0.9	53.6 ± 0.8
西米替丁	0.1	$1.1 \pm 0.4^{(1)}$	$1.4 \pm 0.3^{(1)}$	$63.5 \pm 7.9^{(1)}$
三九胃泰颗粒剂	2.0	$1.9 \pm 0.7^{(1)}$	$1.1 \pm 0.1^{(1)}$	$57.8 \pm 2.6^{(1)}$
石油醚萃取物	2.0	$1.4 \pm 0.8^{(1)}$	$1.7 \pm 0.9^{(1)}$	$59.3 \pm 1.4^{(1)}$
醋酸乙酯萃取物	2.0	$0.6 \pm 0.3^{(2)}$	$1.3 \pm 0.7^{(1)}$	$58.6 \pm 2.1^{(1)}$
正丁醇萃取物	2.0	$1.3 \pm 1.2^{(1)}$	$0.9 \pm 0.2^{(2)}$	$56.7 \pm 1.2^{(1)}$
水萃取物	2.0	$1.6 \pm 0.9^{(1)}$	5.2 ± 1.2	$56.8 \pm 2.7^{(1)}$

4 讨论

胃溃疡为临床常见多发病,其发病机制目前尚未完全阐明。现代研究认为它主要与胃黏膜攻击因子(胃酸、胃蛋白酶、氧自由基等)和保护因子(胃黏膜血流量、碳酸氢盐和前列腺素等)之间失衡有关^[5]。胃酸和胃蛋白酶是胃黏膜的攻击因素,中药有减少胃酸分泌,降低胃蛋白酶活性而抗胃黏膜损伤的作用^[6]。

乙醇造胃溃疡损伤是由于胃局部黏膜受到乙醇直接刺激,导致机体抗氧化能力下降,氧自由基形成增多,从而引起胃黏膜保护作用受损^[7]。氧自由基在人体可以引起胃黏膜或黏膜细胞的脂质过氧化,导致胃黏膜血流障碍,引发胃黏膜损伤。MDA是氧自由基作用于脂质过氧化反应的终产物,可间接反映机体细胞受氧自由基攻击的损伤程度。SOD为消除生物体内氧自由基的首要物质,并及时修复受损细胞。因此,在本研究中除了较为直观的胃溃疡抑制率,同时还选择了胃蛋白酶活力,以及MDA含量与SOD活力为检测指标,评价三九胃泰不同极性萃取部位的抗胃溃疡活性。

研究表明,三九胃泰方石油醚萃取部位、醋酸乙酯萃取部位、正丁醇萃取部位与水萃取部位均能显著抑制乙醇造大鼠胃溃疡的发生。各极性萃取部位均能显著降低胃蛋白酶活力,同时增强SOD活力,正是因为这种对胃黏膜攻击因子的抑制,对保护因子的促进作用使得三九胃泰方有效部位具有较强的抗胃溃疡活性。

三九胃泰方所含化学成分复杂,本研究前期通过对其不同极性萃取部位化学成分的一般鉴别试验发现,石油醚萃取部位中主要含萜类化合物,醋酸乙酯萃取部位中主要含有皂苷类化合物及少量黄酮类化合物,正丁醇萃取部位中主要含有黄酮类化合物,水萃取部位主要含有生物碱类化合物。这些成分都有关于抗胃溃疡活性的报道^[8-13],这是三九胃泰各极性萃取部位均具有抗胃溃疡活性的主要原因。

目前,三九胃泰制剂仍采用传统的水煎煮法提取有效成分。研究表明,三九胃泰方的脂溶性成分具有很好的抗胃溃疡活性,特别是石油醚萃取部位,胃溃疡抑制率高达89.15%,明显高于西米替

丁组(59.90%)与三九胃泰颗粒剂组(55.31%)。因此,在三九胃泰制剂制备工艺的设计中也应重视脂溶性成分的提取。此外,通过进一步分离、筛选技术追踪三九胃泰的有效成分,有望开发出新的抗胃溃疡药物。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 452.
- [2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 202.
- [3] 张一芳, 冯怡, 徐德生, 等. 枸杞多糖抗溃疡活性部位筛选研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (12): 209.
- [4] Guth P H, Aures D, Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin cimetidine, and probanthine [J]. Gastroenterology, 1979, 76 (1): 88.
- [5] 叶任高. 内科学 [M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 398.
- [6] 杨同广, 许鑫梅. 中药抗非甾体抗炎药胃黏膜损伤实验研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10 (3): 62.
- [7] Mutoh H, Hiraishi H, Ota S, et al. Role of oxygen radicals in ethanol-induced damage to cultured gastric mucosal cells [J]. Am J Physiol, 1990, 258: 603.
- [8] 魏华, 彭勇, 马国需, 等. 木香有效成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43 (3): 613.
- [9] 姜平川, 周军, 曹斌, 等. 九里香挥发油成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32 (8): 1224.
- [10] 康辉, 李强, 王丽. 黄芩提取物、黄芩苷抗氧化和保肝作用研究 [J]. 中医研究, 2010, 23 (4): 28.
- [11] 毕和平, 张立伟, 任蕾, 等. 三叉苦水提取物清除羟自由基作用的研究 [J]. 中华临床医药, 2003, 22 (4): 32.
- [12] 毕和平, 张立伟, 韩长日, 等. 三叉苦提取物抗氧化作用的研究 [J]. 食品科学, 2007, 28 (7): 57.
- [13] 庞辉, 何惠, 简丽娟, 等. 两面针总碱抗胃溃疡作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23 (1): 38.

[责任编辑 聂淑琴]