

黄连吴茱萸药对水提物对乙醇致大鼠胃损伤的保护作用

于 肖^{1,2}, 吴大正^{1,2*}

(1. 上海中医药大学 中药研究所, 上海 201203; 2. 上海市复方中药重点实验室, 上海 201203)

[摘要] **目的:**研究不同配比黄连吴茱萸药对水提物对乙醇致大鼠急性胃损伤的保护作用及其可能的机制。**方法:**大鼠经腹腔注射 6:1, 6:6, 1:6 3 种不同配比的黄连吴茱萸药对水提物后,通过形态测量法测定胃损伤程度;用 *ex-vivo* chamber 法测定 50% 乙醇造成胃损伤前后的胃电压(PD)变化及灌流液 pH 值和 H⁺ 含量。**结果:**与对照组比较,黄连吴茱萸 1:6 药对水提物显著降低胃损伤指数,加快 PD 的恢复,降低胃灌流液 pH 值和增加 H⁺ 含量;黄连吴茱萸 6:6 降低胃损伤指数。**结论:**黄连吴茱萸 1:6 水提物对 50% 乙醇造成的大鼠急性胃损伤具有较好的保护作用,显著优于黄连吴茱萸 6:1 和 6:6;其机制可能与抑制酸反渗,增强胃黏膜屏障功能有关,提示吴茱萸在介导胃黏膜保护作用中担当着重要的作用。

[关键词] 黄连;吴茱萸;胃电压;胃损伤指数;大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0060-05

Protective Effects of Water Extract of Rhizoma Coptidis and Fructus Evodiae on Ethanol-induced Rat Gastric Lesions

YU Xiao^{1,2}, WU Da-zheng^{1,2*}

(1. *Institute of Materia Medica, Shanghai University of Tradition Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;*
2. *Shanghai Key Laboratory of Complex Prescription, Shanghai 201203, China*)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of water extract of *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa* on ethanol-induced acute gastric lesions in rats. **Methods:** In this study, animals were intraperitoneally pretreated with vehicle (normal saline) or *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa* water extract at 1050 (6:1), 1800 (6:6), 1050 (1:6) mg · kg⁻¹. Three hours later, gastric lesions were induced by topical application of 50% ethanol for 10 min. The length index of gastric lesions were determined by morphological analysis in a gastric intubation model. The rat gastric transmucosal potential difference (PD) was recorded continuously by *ex-vivo* chamber technique. The pH value and H⁺ content of gastric perfusate were measured by pH meter and pH-stat technique, respectively. **Results:** Compared with control, *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa* water extract (1:6) accelerated PD recovery and reduced gastric morphologic lesions. *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa* water extract (1:6) elevated H⁺ content and reduced pH value. *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa* water extract (6:6) reduced gastric morphologic lesions. **Conclusions:** *Coptis chinensis* and *E. rutaecarpa* water extract (1:6) showed effectively protective actions on ethanol-induced acute gastric lesions in rats, and the gastroprotective mechanisms maybe due

[收稿日期] 2009-04-28

[基金项目] 国家自然科学基金(30171147);上海市科委重大基础研究项目(04DZ19843);上海市复方中药重点实验室开放课题基金(09DZ2270900);上海市教委高校高水平项目建设(2008GSP19)

[通讯作者] * 吴大正, Tel: (021) 51322498; E-mail: wdazheng@ hotmail. com

to the strengthening action on gastric mucosal lining and the inhibition of acid backdiffusion. This investigation also indicated that *E. rutaecarpa* maybe have a critical role in gastroprotective effect.

[Key words] *Coptis chinensis*; *Evodia rutaecarpa*; gastric potential difference; gastric lesion index; rat

黄连、吴茱萸药对伍用历史悠久,配比不同,组方不同,临床效果也不同。黄连吴茱萸 6:1 组成左金丸,清肝泻火,降逆止呕;主治肝郁化火,胃使和降,吞酸嘈杂,呕吐胁痛等,临床主要用于治疗胃和十二指肠溃疡、急慢性胃炎、食道炎和腹泻等。有文献记载,如其脘痞嘈杂泛酸,又呕吐清水,畏寒,舌苔白滑,偏于胃寒甚者,则颠倒两药的用量比例,就是反左金的方法^[1],在临床治疗胃肠疾病中颇有成效。黄连吴茱萸 1:1 组成茱萸丸,用于下痢水泻,现代临床主要用于治疗炎症性肠病。

实验研究证明,左金丸能对抗应激性溃疡^[2]及盐酸乙醇所致的急性胃黏膜损伤^[3]。反左金水煎剂也有对抗急性胃黏膜损伤的作用^[4]。并且在不同的胃损伤模型,黄连吴茱萸药对不同配比产生的功效也不同。以往研究黄连吴茱萸不同配比水煎液或汤剂对胃损伤的保护作用的给药时间多为 3~14 d,尚未观察短期给予的作用。为此,本实验应用 *ex-vivo* chamber 方法观察造模前 3 h 给予不同配比的黄连吴茱萸药对水提取物对 50% 乙醇引起的大鼠急性胃损伤的保护作用及其可能机制。

1 材料

1.1 药物及试剂 黄连(*Coptis chinensis* Franch.)、石虎吴茱萸(*Evodia rutaecarpa* var. *officinalis* Huang)(黄连产地四川;石虎吴茱萸产地贵州,均购自上海华宇药业有限公司),生药经上海中医药大学吴立宏博士鉴定。无水乙醇(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 T20040712)。

1.2 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性,体重 220~280 g,上海中医药大学动物实验中心提供。合格证书:SCXK(沪)2003-003。动物在标准环境下[温度(21±1)℃,光照 12 h/黑暗 12 h]饲养。

1.3 主要仪器 pH211 型 pH 计(HANNA, USA)、Metrohm 电位测定仪(Metrohm Co., Switzerland)、MZ7101 型微电极放大器(Nihon Kohden, Japan)、TYPE3066 型笔式记录仪(YEW, Japan)、BP211D 型精密分析天平(Sartorius, Germany)、BT00-100M 型恒流泵(中国)、磁力搅拌器(IKA, Germany)、解剖显微镜、电热恒温水浴锅、手术台、聚乙烯导管、Ag-

AgCl 电极。

2 方法

2.1 分组及给药 大鼠饲养在网孔钢丝饲养笼中禁食不禁水 48 h,50% 乙醇损伤刺激前 3 h,将药物溶于生理盐水,经 0.25 μm 微孔滤膜过滤后 ip 不同配伍的黄连(HL)吴茱萸(WZY)药对(药物经直径 0.45 μm 微孔滤膜过滤):黄连:吴茱萸的比例依次为 6:1,1:6,6:6。各组给药剂量见表 1。模型组给予等量的生理盐水。每组动物数 6~8 只。

表 1 黄连吴茱萸不同配伍药对的给药量

组别	黄连生药 (mg·kg ⁻¹)	吴茱萸生药 (mg·kg ⁻¹)	总计 (mg·kg ⁻¹)
HL:WZY(6:1)	900	150	1 050
HL:WZY(6:6)	900	900	1 800
HL:WZY(1:6)	150	900	1 050

2.2 对大鼠急性胃损伤的形态学观察^[5] 应用插管法测定大鼠胃跨膜电压(PD)及灌流液 pH 值和 H⁺ 含量。实验结束后,取出全胃,沿胃大弯曲部剪开,生理盐水漂洗干净,浸入 2% 福尔马林中固定 10 min。取出平铺于蜡版上,大头针固定,测量损伤程度。在 320042 型实体显微镜下(Olympus,日本)用目镜(×10)测微尺测量胃出血性损伤长度(mm),其总和代表损伤长度指数。并用 1×1 mm 透明方格纸测量损伤面积(mm²),每个动物损伤长度的总和代表长度损伤指数、面积总和代表面积损伤指数。

2.3 应用插管法测定大鼠胃 PD 及灌流液 pH 值和 H⁺ 含量^[6] 动物用 25% 乌拉坦麻醉(1.25 g·kg⁻¹ 体重, i. p.),将其仰卧于手术台上,分离气管并插入气管套管,行自主呼吸。腹部剃毛,沿腹正中线切开,小心轻柔地暴露胃体,仔细分离食管,勿损伤迷走神经,在距贲门 1~2 cm 处作一切口,插入聚乙烯导管作灌流用。另在十二指肠前端(球部)作一切口,插入带双管的聚乙烯导管,其中较长的一管延伸至前胃附近,作为记录跨膜胃电压的引导电极(内含 3% 琼脂和 3 mol·L⁻¹ 的 KCl),其参比电极(内含 3% 琼脂和 3 mol·L⁻¹ 的 KCl)置于腹腔,尽可能靠近引导电极,引导电极和参比电极通过连接的 Ag-AgCl 电极输入至微电极放大器及万用电表、笔式记

录仪;较短的一管延伸至胃窦部作为灌流液的引流管,此端引流的液体至蓄液管,pH 计电极插入其中测定 pH 值,最后灌流液收集于滴定杯测定 H⁺ 含量。当手术和仪器连接完毕后,启动恒流泵,向胃内灌流充灌 100% O₂ 的 37 ℃ 生理盐水(154 mM NaCl),速度 1.5 mL · min⁻¹,连续记录胃黏膜 PD 及测定 pH 值;应用 pH-stat 技术测定灌流液中 H⁺ 含量,每 10 min 1 次。待动物平衡稳定 40 min 后,给予 37 ℃ 50% 乙醇灌胃 10 min,速度 1.5 mL · min⁻¹,之后复灌 100% O₂ 饱和的 37 ℃ 生理盐水,并连续记录胃黏膜 PD 及测定 pH 值、H⁺ 含量(每 10 min 1 次),连续记录 120 min。

2.4 统计分析 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数用配对或非配对 *t* 检验法检验,*P* < 0.05 表示有显著性意义。

3 结果

3.1 黄连吴茱萸药对不同配比对 50% 乙醇致大鼠胃损伤后的形态学影响 结果见表 1。胃损伤长度指数与损伤面积指数表明,黄连:吴茱萸 1:6、6:6 均有抑制胃损伤的作用;黄连:吴茱萸 6:1 有降低胃损伤面积指数的趋势,但无统计学意义。其中黄连:吴茱萸 1:6 的作用明显优于其他各组。

表 2 黄连吴茱萸药对不同配比对模型大鼠胃黏膜损伤后损伤指数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	损伤长度(mm)	损伤面积(mm ²)
模型	7	104.5 ± 24.9	103.7 ± 29.0
HL: WZY(6:1)	9	103.0 ± 10.0	86.0 ± 19.0
HL: WZY(1:6)	9	52.2 ± 8.5 ¹⁾	45.4 ± 10.4 ¹⁾
HL: WZY(6:6)	6	68.0 ± 8.9 ¹⁾	72.5 ± 10.0

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01(下同)

3.2 黄连吴茱萸药对不同配比水提物对大鼠胃损伤前后 PD 的影响 应用插管法所测的正常大鼠胃 PD 值在 -35 ~ -40 mV 之间,在 PD 值稳定 30 min 后,向胃内灌流 50% 乙醇 10 min,至乙醇灌流结束及复灌 154 mM NaCl 之际,各组的 PD 为(-9.9 ± 2.2) mV (模型组)、(-11.0 ± 1.7) mV (HL: WZY(6:1))、(-21.3 ± 2.2) mV (HL: WZY(1:6))、(-17.5 ± 2.7) mV (HL: WZY(6:6))。灌流乙醇后 10 min,模型组动物的 PD 下降至对照值的 26.1%,黄连:吴茱萸(6:1)组动物的 PD 下降至对照值的 28.9%,黄连:吴茱萸(1:6)组动物的 PD 下降至对照值的 55.9%,黄连:吴茱萸(6:6)组动物的 PD 下

降至对照值的 42.9%。以上结果表明,黄连:吴茱萸(1:6)能显著抑制乙醇造成的 PD 下降。当复灌 154 mM NaCl 120 min 后,黄连:吴茱萸 1:6 组 PD 的恢复较佳。茱萸丸组对 PD 也有一定的促进恢复的作用,但无统计学意义。而左金丸对 PD 的恢复无促进作用。

表 3 黄连吴茱萸药对不同配比对模型大鼠胃黏膜损伤后胃 PD 的影响($\bar{x} \pm s$)

时间 (min)	模型	PD(mV)		
		HL: WZY (6:1)	HL: WZY (1:6)	HL: WZY (6:6)
-30	37.9 ± 1.1	38.0 ± 0.8	38.1 ± 1.1	40.7 ± 1.1
-20	38.3 ± 1.2	37.6 ± 0.9	37.8 ± 0.8	41.0 ± 1.0
-10	38.7 ± 1.4	37.6 ± 0.9	38.2 ± 0.9	40.8 ± 0.9
0	38.9 ± 1.5	37.4 ± 0.9	37.9 ± 1.1	41.2 ± 0.8
10	9.9 ± 2.2	11.0 ± 1.7	21.3 ± 2.2 ¹⁾	17.5 ± 2.7
20	12.6 ± 2.0	13.3 ± 1.8	23.4 ± 2.3 ¹⁾	20.0 ± 2.4
30	13.4 ± 2.1	14.3 ± 1.8	25.8 ± 2.0 ¹⁾	20.8 ± 2.4
40	14.7 ± 2.0	14.9 ± 2.1	26.8 ± 1.8 ¹⁾	21.8 ± 2.3
50	15.7 ± 1.9	15.4 ± 2.0	27.6 ± 1.7 ¹⁾	22.8 ± 2.2
60	16.4 ± 1.6	16.3 ± 1.9	28.8 ± 1.6 ¹⁾	24.0 ± 2.2
70	17.1 ± 1.8	16.7 ± 2.0	29.9 ± 1.6 ¹⁾	24.5 ± 2.0
80	16.9 ± 2.0	16.3 ± 2.4	30.9 ± 1.5 ¹⁾	25.2 ± 2.0
90	18.1 ± 2.0	16.6 ± 2.3	31.3 ± 1.2 ¹⁾	26.2 ± 1.7
100	18.6 ± 2.0	17.0 ± 2.5	31.7 ± 1.1 ¹⁾	27.2 ± 1.8
110	19.4 ± 1.9	17.3 ± 2.4	32.1 ± 1.3 ¹⁾	26.7 ± 1.8
120	19.6 ± 2.1	17.7 ± 2.4	33.1 ± 1.3 ¹⁾	27.2 ± 2.0

3.3 黄连吴茱萸药对不同配比水提物对大鼠胃损伤后灌流液 pH 和 H⁺ 含量的影响 结果见表 4~5。大鼠正常胃灌流液的 pH 值在 3.7~4.0 之间,H⁺ 含量在 4.0~4.8 μeq · 10 min⁻¹ 之间,用 50% 乙醇刺激 10 min 后,引起 pH 的急剧上升和 H⁺ 含量的下降,各组的 pH 值达到 6.1 至 6.3,H⁺ 含量在 0.3~1.6 μeq · 10 min⁻¹ 之间。经复灌 154 mM NaCl 后 120 min,黄连:吴茱萸 1:6 组的 pH 值明显降低,而 H⁺ 含量也明显增加。黄连:吴茱萸 6:1 组和 6:6 组的 pH 值和 H⁺ 含量改变不大。

4 讨论

60% 酒精灌胃后 3 min 内即引起胃黏膜血管损伤和通透性增强^[7]。本研究结果表明,50% 酒精灌胃 10 min,胃损伤指数显著升高,这与高明奇等的研究结果一致^[7]。黄连:吴茱萸(6:6)能明显降低

表 4 黄连吴茱萸药对不同配比对模型大鼠胃黏膜损伤后胃灌流液 pH 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

时间 (min)	模型	HL: WZY (6:1)	HL: WZY (1:6)	HL: WZY (6:6)
-30	3.70 ± 0.08	3.85 ± 0.13	3.95 ± 0.07	4.05 ± 0.08
-20	3.75 ± 0.07	3.83 ± 0.12	3.94 ± 0.10	4.08 ± 0.11
-10	3.75 ± 0.08	3.81 ± 0.12	3.99 ± 0.07	4.07 ± 0.11
0	3.75 ± 0.09	3.82 ± 0.13	3.99 ± 0.08	4.03 ± 0.10
10	6.12 ± 0.17	6.13 ± 0.14	6.26 ± 0.18	6.20 ± 0.21
20	6.00 ± 0.11	5.77 ± 0.23	5.63 ± 0.32	5.94 ± 0.32
30	5.86 ± 0.10	5.81 ± 0.12	5.22 ± 0.33	6.09 ± 0.19
40	5.84 ± 0.09	5.58 ± 0.19	4.89 ± 0.31 ¹⁾	6.01 ± 0.14
50	5.69 ± 0.08	5.44 ± 0.16	4.98 ± 0.26 ¹⁾	5.71 ± 0.17
60	5.59 ± 0.14	5.26 ± 0.17	4.81 ± 0.27 ¹⁾	5.58 ± 0.21
70	5.57 ± 0.14	5.25 ± 0.17	4.75 ± 0.28 ¹⁾	5.45 ± 0.28
80	5.60 ± 0.15	5.29 ± 0.18	4.51 ± 0.27 ²⁾	5.36 ± 0.32
90	5.56 ± 0.12	5.31 ± 0.20	4.51 ± 0.26 ²⁾	5.29 ± 0.30
100	5.52 ± 0.11	5.06 ± 0.21	4.59 ± 0.35 ¹⁾	5.22 ± 0.35
110	5.49 ± 0.14	5.29 ± 0.22	4.35 ± 0.24 ²⁾	5.40 ± 0.37
120	5.49 ± 0.13	5.17 ± 0.23	4.38 ± 0.25 ²⁾	5.19 ± 0.36

表 5 黄连吴茱萸药对不同配比对模型大鼠胃损伤后灌流液 H⁺ 含量影响 ($\mu\text{eq} \cdot 10 \text{ min}^{-1}, \bar{x} \pm s$)

时间 (min)	模型	HL: WZY (6:1)	HL: WZY (1:6)	HL: WZY (6:6)
-30	4.85 ± 0.20	4.39 ± 0.57	4.10 ± 0.41	4.13 ± 0.10
-20	4.81 ± 0.36	4.26 ± 0.41	4.11 ± 0.50	4.05 ± 0.19
-10	4.77 ± 0.29	4.22 ± 0.32	4.04 ± 0.68	4.08 ± 0.18
0	4.71 ± 0.28	4.31 ± 0.48	4.04 ± 0.44	3.97 ± 0.22
10	0.70 ± 0.14	1.60 ± 0.47	0.81 ± 0.34	0.38 ± 0.10
20	1.10 ± 0.15	0.99 ± 0.13	0.92 ± 0.27	0.83 ± 0.30
30	1.26 ± 0.15	1.24 ± 0.17	2.02 ± 0.67	0.87 ± 0.33
40	1.34 ± 0.11	1.40 ± 0.26	2.42 ± 0.66	0.92 ± 0.17
50	1.47 ± 0.11	1.68 ± 0.41	2.47 ± 0.57	0.92 ± 0.08
60	1.56 ± 0.08	1.83 ± 0.51	2.50 ± 0.54	1.00 ± 0.27
70	1.56 ± 0.12	1.92 ± 0.27	2.57 ± 0.51 ¹⁾	1.10 ± 0.16
80	1.50 ± 0.11	1.77 ± 0.23	2.73 ± 0.47 ¹⁾	1.38 ± 0.41
90	1.49 ± 0.16	1.97 ± 0.27	2.98 ± 0.68 ¹⁾	1.42 ± 0.37
100	1.47 ± 0.06	1.71 ± 0.28	3.03 ± 0.71 ¹⁾	1.40 ± 0.49
110	1.44 ± 0.14	1.80 ± 0.35	3.12 ± 0.66 ¹⁾	1.38 ± 0.42
120	1.44 ± 0.11	1.53 ± 0.28	3.09 ± 0.71 ¹⁾	1.37 ± 0.45

胃损伤面积,而黄连:吴茱萸(1:6)对胃损伤长度和损伤面积均有明显的改善作用,说明黄连:吴茱萸(6

:6和1:6)均能对抗50%乙醇造成的这种病理改变,其作用可能与改善胃黏膜微循环障碍有关。黄连:吴茱萸(1:6)的作用优于黄连:吴茱萸(6:6和6:1),提示,本实验中吴茱萸在药对作用的发挥中起着更重要的作用。于肖等研究结果也表明,吴茱萸能明显降低胃损伤指数,能显著促进乙醇损伤后的PD恢复,并通过增加胃黏膜NO含量起到保护胃黏膜的作用^[3]。

胃黏膜防御机构的破坏在急性胃黏膜损伤中起主导作用。而胃黏膜上皮屏障和黏液-HCO₃-屏障是胃黏膜防御机构的重要组成部分。PD是一个反映胃黏膜表面上皮细胞屏障功能完整性的指标,其下降幅度与胃黏膜损伤的程度密切相关。黄连:吴茱萸(1:6)能明显加快模型动物胃PD的恢复,表明黄连:吴茱萸(1:6)水提物具有保护50%乙醇引起的胃黏膜损伤作用。

在正常情况下,胃黏膜表面有一层动态的黏液-HCO₃-屏障,起着物理隔离与中和胃腔内向黏膜表面渗透的H⁺的作用,以保护上皮细胞避免直接受损。据陈艳芬等报道,左金丸与反左金丸都能促进胃壁结合黏液的分泌,增强胃“黏液-HCO₃-屏障”的作用,而反左金丸增加胃壁结合黏液含量的作用更强于左金丸^[8]。胃黏膜损伤时可引起酸反渗,导致胃黏膜的进一步损伤。本实验中,胃灌流液pH值和H⁺含量主要反映胃酸分泌、酸反渗、HCO₃-分泌的综合改变,也是综合反映胃黏膜黏液-HCO₃-屏障功能好坏的重要参数。黄连:吴茱萸(1:6)能够明显降低胃灌流液pH值、增加H⁺含量,说明黄连:吴茱萸(1:6)有抑制胃黏膜损伤引起的黏液-HCO₃-屏障功能的降低和抑制酸反渗增加的作用。

本实验结果表明黄连:吴茱萸(1:6)水提物有较好的保护模型大鼠胃黏膜损伤作用,明显优于其他两个配比,其主要机制可能是改善胃黏膜血液循环以及抑制黏液-HCO₃-屏障的降低和降低酸反渗的增加。现代社会,很多人因为工作需要喝酒应酬,常导致胃黏膜出血损伤,本研究结果提示,喝酒前几h服用黄连:吴茱萸(1:6)药对,有可能有效预防酒精造成的胃出血性损伤。

[参考文献]

[1] 丁光迪. 中药的配伍运用[M]. 北京:人民卫生出版社, 1982.

- [2] 谢子英, 戚振红, 廖 剑, 等. 左金丸对大鼠应激性溃疡预防作用的实验研究[J]. 甘肃中医, 2004, 17(12): 46.
- [3] 陈蔚文, 蓝韶清. 左金丸抗溃疡及抑制胃液分泌的实验研究[J]. 广州中医学院学报, 1991, 8(2): 224.
- [4] 陈艳芬, 陈蔚文, 李茹柳, 等. “左金丸”与“反左金”的药效学反应比较研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(10): 787.
- [5] Yu X, Wu DZ, Yuan JY, *et al.* Gastroprotective effect of fructus evodiae water extract on ethanol-induced gastric lesions in rats[J]. *Am J Chin Med*, 2006, 34(6): 1027.
- [6] Atuma C. Gastrointestinal mucosal protective mechanisms: Modulatory effects of *Helicobacter pylori* on the gastric mucus gel barrier and mucosal blood flow in vivo [J]. *Acta Universitatis Uppsaliensis*, 2000, 972(4): 25.
- [7] 高明奇, 聂 桦. 酒精致大鼠胃黏膜微循环变化及早期血管损伤的研究[J]. 中国微循环, 1998, 2(2): 76.
- [8] 陈艳芬, 陈蔚文, 李茹柳, 等. 左金丸和反左金对大鼠胃黏膜保护机制的比较研究[J]. 广州中医药大学学报, 2003, 20(2): 133.