

香连丸对幽门结扎型胃溃疡大鼠一氧化氮 和前列腺素 E₂ 的影响

张秀萍, 刘环清, 王 俊, 王鸣慧, 肖洪彬*
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究香连丸对幽门结扎型胃溃疡大鼠的作用机理。方法: 采用 Shay-大鼠幽门结扎法。观察胃液中一氧化氮(NO)、前列腺素 E₂(PGE₂)、表皮生长因子(EGF)含量的改变。结果: 香连丸可使血清中 PGE₂ 浓度明显上升, 其作用强度同西咪替丁(70 mg·kg⁻¹) 基本相同, 而对 EGF 的影响不显著。同时, 香连丸能使幽门结扎型消化性溃疡大鼠的胃液中 NO 含量显著增多, 其作用强度同西咪替丁和胃康胶囊基本相同; 结论: 香连丸抗急性胃黏膜损伤可能与促进 PGE₂ 分泌与合成有关。并可能通过诱导一氧化氮合酶(NOS)催化生成 NO 来实现其抗溃疡作用。

[关键词] 幽门结扎型胃溃疡; 香连丸; 一氧化氮; 前列腺素 E₂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-0055-03

香连丸是临床常用的方剂(中成药), 出自《太平惠民和剂局方》, 具有清热化湿, 行气止痛之功, 主治湿热痢疾, 腹痛泻泄等症, 现代医学多用其治疗菌痢、肠炎等。历史文献记载中同名但药味组成却不同的方剂不下几十种, 例如唐·李绛《兵部手集方》、宋·杨士瀛《仁斋直指方》。而自宋以后则多以黄连(吴茱萸制)与木香 4:1 制成丸剂, 治疗湿热痢疾^[1]。

查阅大量的文献资料, 仅见到一篇关于其与雷尼替丁合用治疗溃疡的临床报道, 而关于其治疗消化性溃疡作用的实验研究未见任何报道。本课题在前期的研究中证实^[2], 香连丸对大鼠幽门结扎型、应激型和醋酸涂抹型溃疡有较好的治疗效果, 能够缩小动物溃疡面积, 降低溃疡程度, 减少溃疡指数, 其作用强度同临床常用的抗酸药西咪替丁(70 mg·kg⁻¹) 作用基本相同或略强。本研究旨在观察其抗幽门结扎型胃溃疡大鼠的作用机理。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大白鼠, 雌雄各半, 体重(180 ± 20)g, 由上海斯莱克实验动物有限公司提供。

[收稿日期] 2008-12-01

[基金项目] 黑龙江省中医药管理局资助项目(ZHY06-Z33)

[通讯作者] * 肖洪彬, Tel: (0451) 82193409; E-mail: hrbxiaohongbin@126.com

1.2 药品与试剂 香连丸: 黄连、吴茱萸、木香由黑龙江中医药大学附属一院门诊提供, 经黑龙江中医药大学药学院生药教研室王振月教授鉴定符合《中华人民共和国药典》2005 版规定的标准。参照现行《中国药典》2005 版香连丸制法要求制成。取黄连 800 g 加入吴茱萸 400 g, 二味药混均同炒, 炒至赤色, 去吴茱萸不用, 将炒制后的黄连加入木香 200 g 混均, 粉碎成细粉, 过 100 目筛, 每 100 g 粉末加入米醋 8 mL 混均, 干燥, 备用。经检测符合“鉴别”“含量测定”项下的要求, 并符合丸剂项下的有关各项规定。香连丸在药典中规定的用法与用量为一次 3~6 g, 一日 2~3 次, 口服。西咪替丁: 天津力生制药股份有限公司生产, 批号: 0611018; 胃康胶囊: 云南保元堂药业有限责任公司生产, 批号: 20060501; 大鼠前列腺素 E₂(PGE₂) 定量 EIA 试剂盒: 尚柏生物医学技术(北京)有限公司生产, 批号: 20071192; 一氧化氮(NO)测试盒: 南京建成生物工程研究所生产, 批号: 20071128; 大鼠表皮生长因子(EGF)定量 EIA 试剂盒: 尚柏生物医学技术(北京)有限公司生产, 批号: 20071190。

1.3 主要仪器 2010 型酶标仪(奥地利)。

2 方法与结果

2.1 动物分组与模型制备 大鼠每组 10 只, 雌雄各半, 按体重随机分为 7 组: 正常对照组灌胃 10 mL·kg⁻¹生理盐水; 模型组灌胃 10 mL·kg⁻¹生理盐水; 西药阳性药对照组灌胃 0.07 g·kg⁻¹西米替丁; 中药阳性药对照组灌胃 0.33 g·kg⁻¹胃康胶囊混悬液; 香连丸低、中、高剂量组分别灌胃 0.80, 1.60, 3.20 g·kg⁻¹香连丸混悬液。各组给药体积均为 10 mL·kg⁻¹。采用 Shay 大鼠幽门结扎法^[3], 将各组大鼠单笼(每笼 1 只, 接触不到粪便和垫料)禁食不禁水 48 h。

术前 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, 在左侧肋缘部位用手指轻轻往上推使胃暴露, 在幽门和十二指肠结合部穿线将幽门结扎, 结扎后各组动物均经十二指肠注射给药 1 次, 然后缝合腹壁切口, 常规消毒, 纱布包扎, 放回饲养笼。

2.2 指标观察 术后 18 h 麻醉大鼠, 颈动脉采血。分离出血清, 采用酶联免疫法检测 EGF, PGE₂ 的含量。同时取适量胃液亦采用酶联免疫方法检测胃液中 NO 的含量。

2.3 统计学方法 数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表

示, 采用 SPSS13.0 统计软件, 组间比较用 *t* 检验进行分析。

3 结果

3.1 对幽门结扎型大鼠胃液中 NO 的影响 结果表明, 各给药组与模型对照组相比较, 香连丸低、中、高剂量组、西咪替丁组和胃康胶囊组均有显著性增高胃液中 NO 的含量($P < 0.05$)。提示香连丸各剂量组均能增高幽门结扎型消化性溃疡大鼠胃液的 NO 的含量。结果见表 1。

表 1 香连丸对幽门结扎型大鼠胃液中 NO 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 (g·kg ⁻¹) | NO (μmol·L ⁻¹) |
|------|-----------------------------|-------------------------------|
| 正常对照 | — | 531.7 ± 136.2 ²⁾ |
| 模型对照 | — | 295.3 ± 62.5 |
| 西咪替丁 | 0.07 | 482.6 ± 192.0 ¹⁾ |
| 胃康胶囊 | 0.33 | 446.3 ± 162.4 ¹⁾ |
| 香连丸 | 0.80 | 482.6 ± 189.0 ¹⁾ |
| | 1.60 | 473.1 ± 176.3 ¹⁾ |
| | 3.20 | 427.9 ± 194.7 ¹⁾ |

注: 与模型组相比: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 对幽门结扎型大鼠血清 EGF, PGE₂ 的影响 各组随机抽取 6~7 个血清样本, 检测血清中 EGF, PGE₂ 含量。结果表明, 各给药组与模型对照组相比较, 对血清 EGF 含量无明显影响($P > 0.05$); 对血清 PGE₂ 的含量, 香连丸中、高剂量组与西咪替丁组均有显著性统计学差异($P < 0.05$), 但香连丸低剂量组和胃康胶囊组均无显著性差异($P > 0.05$)。

对于增加幽门结扎型消化性溃疡大鼠的 PGE₂ 的含量, 香连丸各剂量组均有显著作用; 而对其 EGF 浓度的影响, 各组药物的作用均不显著。结果见表 2。

表 2 香连丸对幽门结扎型大鼠血清 EGF, PGE₂ 的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 (g·kg ⁻¹) | 例数 (n) | EGF (Pg·mL ⁻¹) | PGE ₂ (Pg·mL ⁻¹) |
|------|-----------------------------|-----------|-------------------------------|--|
| 正常对照 | — | 6 | 75.4 ± 9.5 | 78.6 ± 6.35 ²⁾ |
| 模型对照 | — | 6 | 67.1 ± 10.1 | 64.1 ± 7.71 |
| 西咪替丁 | 0.07 | 6 | 71.5 ± 14.6 | 74.4 ± 6.07 ¹⁾ |
| 胃康胶囊 | 0.33 | 7 | 67.6 ± 11.7 | 69.1 ± 3.33 |
| 香连丸 | 0.80 | 7 | 69.9 ± 10.3 | 72.4 ± 8.92 |
| | 1.60 | 7 | 72.9 ± 10.0 | 73.3 ± 9.03 ¹⁾ |
| | 3.20 | 7 | 72.7 ± 8.7 | 71.1 ± 7.26 ¹⁾ |

4 讨论

香连丸由黄连(吴茱萸制)、木香组成。其中黄连苦、寒,归心、肝、胃、大肠经,具有清热燥湿,泻火解毒功能。木香辛、苦、温,归脾、胃、大肠、胆经,具有行气、调中、止痛功能。吴茱萸辛、苦、热,有小毒,归肝、脾、胃经,具有散寒止痛、疏肝下气、燥湿功能。共同起到清热燥湿,行气化滞功效。

目前实验研究表明,NO 对胃酸分泌有一定的抑制作用^[4],对胃黏膜有保护作用^[5-6],其保护的机制普遍认为是 NO 介导胃黏膜产生前列腺素和增加胃黏膜血流量来实现。这对揭示消化性溃疡等慢性胃病的发病机制,同样有重要意义。NO 与胃黏膜损伤及溃疡的动物实验报道较多,并普遍认为消化性溃疡时 NO 水平下降^[7]。本实验结果显示,香连丸能使幽门结扎型消化性溃疡大鼠的 NO 含量显著增多,其作用强度同西咪替丁和胃康胶囊基本相同。提示,香连丸可能通过诱导一氧化氮合酶(NOS)催化生成 NO,从而 NO 对胃酸分泌有一定的抑制作用,并且其介导胃黏膜产生前列腺素和增加胃黏膜血流量来实现对胃黏膜的保护作用。

研究报道^[8]前列腺素可能通过刺激胃黏液的生成和分泌,促进 HCO₃⁻ 的分泌,增加表面磷脂的生成,加强胃黏膜屏障的疏水性;以及保护胃黏微循环结构的完整,维持胃黏膜的血液供应,保护增殖区细胞,促进黏膜上皮的更新及修复和抑制运动过强等机制来实现对胃黏膜的保护作用。前列腺素在胃黏膜保护机制中居中心地位,起到加强其他因素的作用^[9]。

表皮生长因子(EGF)可刺激多种细胞的分裂增殖,主要是表皮细胞、内皮细胞,对多种创面的组织修复均有显著促进作用^[10]。临床研究中发现,EGF 能够影响胃酸分泌,刺激肠上皮细胞生长^[11],因而促使人们将 EGF 用于胃肠溃疡的治疗^[12]。

本实验在幽门结扎型消化性溃疡模型中,香连丸可使 PGE₂ 浓度明显上升,其作用强度同西咪替丁

基本相同;而对 EGF 的影响则不显著。因此,香连丸抗急性胃黏膜损伤可能与促进 PGE₂ 分泌与合成有关。前列腺素的产生和释放,能削弱攻击因子对黏膜的损伤,对胃黏膜起保护作用,促进胃黏膜细胞愈合。前列腺素 E₂ 在胃黏膜损伤的保护和修复方面发挥着重要作用。

[参考文献]

- [1] 李胜志,史殿龙. 香连丸的源流及衍变[J]. 中医药学报, 2004, 3: 15-16.
- [2] 王海,肖洪彬,姚风云,等. 香连丸治疗消化性溃疡拆方实验研究[J]. 中医药信息, 2005, 22(4): 86-87.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社: 2006: 430.
- [4] 汪晓,李爱红. 348 例血清 NO-2/NO-3 水平与临床关系探讨[J]. 天津医药, 1996, 24: 589-592.
- [5] Naito Y, Yoshikawa T, Matsuyama K, *et al.* Neutrophils, lipid peroxidation, and nitric oxide in gastric reperfusion injury in rats[J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 24: 494-502.
- [6] Andrews FJ, Malcontenti-Wilson C, O'Brien PE. Protection against gastric ischemia-reperfusion injury by nitric oxide generators[J]. *Dig Dis Sci*, 1994, 39: 366-373.
- [7] 严海密,李运科. 慢性胃病中一氧化氮的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 1999, 4: 355-356.
- [8] 吴灵飞,郑万强. 前列腺素对阿司匹林诱发大鼠急性胃黏膜损伤的保护作用[J]. 汕头大学医学院学报, 1996, 1: 28-31.
- [9] 刘春英,王丽杰,孙梅. PGE₂ 在内毒素诱导的幼鼠急性胃黏膜损伤中的变化及 PAF 受体拮抗剂对其影响[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(2): 163-166.
- [10] 王洪京,赵明,杨瑞莲,等. 清热化湿愈疡合剂对实验性胃溃疡(脾胃湿热证)的影响[J]. 中国中医急症, 2006, 7: 768-770.
- [11] 杨春敏,陈寿坡. 表皮生长因子对十二指肠溃疡发病的影响[J]. 中华实验外科杂志, 1996, 13(1): 37.
- [12] 杨思凤,潘伯荣. 内镜注射 EGF 快速治愈消化性溃疡的研究[J]. 新消化病学杂志, 1996, 4(3): 132-134.