

赤土茯苓苷对实验性胃溃疡的保护作用

新疆医科大学附属中医医院药剂部(乌鲁木齐 830000) 杜鹏* 薛洁 周承明** 毛新民**

摘要 观察赤土茯苓苷(Smi)对动物实验性胃溃疡的作用。以昆明种小鼠和Wistar大鼠为实验材料,通过3种胃溃疡动物模型判断药效。结果: Smi对小鼠利血平型、应激型及大鼠幽门结扎型胃溃疡均有保护作用。Smi各组: 溃疡指数、出血点数均明显小于生理盐水组(Smi 100 200 mg/kg $P < 0.05$, Smi 300 mg/kg $P < 0.01$);提高应激型小鼠胃粘膜Se-GSH-Px活力($P < 0.05$),降低MDA含量(Smi 100 200 mg/kg $P < 0.05$, Smi 300mg/kg $P < 0.01$);提高幽门结扎型大鼠胃液量、胃液pH值(Smi 100 200 mg/kg $P < 0.05$, Smi 300 mg/kg $P < 0.01$)。各组均对胃蛋白酶无显著影响($P > 0.05$);对小鼠胃肠推进蠕动无影响($P > 0.05$)。结论: Smi有明显的防治胃溃疡的作用。这可能与其增加胃粘膜Se-GSH-Px活力,降低MDA含量,减轻自由基对胃粘膜的损害有关。

关键词 赤土茯苓 赤土茯苓苷 胃溃疡 抗溃疡作用

Protective Effects of Smiglabran on Experimental Animal Models of Gastric Ulcer

Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of TCM, Xinjiang University of Medical Sciences (Wulumuqi 830000)

Du Peng, Xue Jie, Zhou Chengming and Mao Xinmin

Abstract Protective effects of smiglabran (SM), a glucoside isolated from *Smilax glabra* Roxb., on experimental models of peptic ulcers induced by reserpine, stress and pylorus ligation were studied. SM at doses of 100~300 mg/kg resulted in a decrease of peptic ulceration index and number of blood clots, increased the Se-GSH-Px activity of gastric mucosa, lower the amount of malondialdehyde (MDA) and elevated gastric fluid and pH levels as compared with the normal saline control, but without effects on pepsin and gastrointestinal peristalsis. These results indicated that SM could obviously prevent peptic ulceration probably through its actions to enhance Se-GSH-Px activity and lower MDA and free radical damage on gastric mucosa.

Key words *Smilax glabra* Roxb. smiglabran (SM) peptic ulcer protection against peptic ulceration

赤土茯苓是百合科(Liliaceae)植物光叶菝葜 *Smilax glabra* Roxb. 的干燥根茎,分布于我国长江流域,《本草纲目》始称土茯苓,有赤白两种。中医用它作解毒、除湿、利关节药,治疗梅毒、筋骨疼痛、银屑病、疮痛等^[1]。本室张克锦教授等由赤土茯苓醋酸乙酯提取物经柱层析分离得赤土茯苓苷(落新妇苷 astilbin),我们研究赤土茯苓苷对多种实验性动物胃溃疡模型的影响,并初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药品:赤土茯苓苷(smiglabran简称Smi)本室自制(兰州大学化学系鉴定);利血平(reserpine)注射剂,上海医科大学红旗制药厂,批号950702;安胃疡(甘草总黄酮)胶囊剂,新疆湖光制药厂,批号951115,制成1%混悬液;MDA测定试剂(TBA比色法);Se-GSH-Px测定试剂(DTNB法)

1.2 动物:昆明种小鼠,雄性;Wistar大鼠,雌雄兼用。由新疆医学实验动物中心提供

1.3 实验器材:解剖镜(K 6.3,云南光学仪器厂),显微镜(CHC-212 Olympus,日本),751-G紫外分光光度计(上海分析仪器厂),WFJ-1(722)分光光度计(上海电子光学技术研究所),石蜡组织切片机(上海医疗器械四厂),GS501型超级恒温水浴器(重庆试验设备厂),H H S电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)。

2 方法

2.1 Smi对利血平所致小鼠胃溃疡的影响^[2]:取昆明种小鼠50只,雄性,体重(20±3)g,随机均分为5组;生理盐水(NS)组20 mL/(kg·d),安胃疡组200 mg/(kg·d),Smi 300, 200, 100 mg/(kg·d)组连续ig给药4d,第4次给药后禁食20h,sc利血平注射液7 mg/kg,再ig一次,18h后处死。先将1%的甲醛0.5 mL注入胃中,15 min后,取胃,沿胃大弯剖开,缓慢冲净胃内容物,放于载玻片上展平,在解剖镜下观察测量:全胃出血点数、溃疡指数(以

* Address: Du Peng, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang University of Medical Sciences, Wulumuqi

杜鹏 男,1990年7月毕业于新疆石河子医学院药理学系。在药厂工作后参与“雪莲注射液的澄明度及稳定性”的研究课题。1998年7月毕业于新疆医科大学,获硕士学位,现在新疆医科大学附属中医医院“卫生部临床药理基地”主要从事临床药学工作,职称为主管药师。

** 新疆医科大学基础医学部药理室

各溃疡的长度求和得到)并计算溃疡抑制率。

$$\text{溃疡抑制率} = \frac{\text{对照组溃疡指数} - \text{实验组溃疡指数}}{\text{对照组溃疡指数}} \times 100\%$$

将胃放入 10% 甲醛液固定,各组随机取小鼠胃 5 个,取腺胃部制作切片, HE 染色,作病理组织观察。

2.2 Smi 对水浸应激所致小鼠胃溃疡的影响^[3]: 取小鼠 50 只,雄性,体重 (22± 2) g,分组及给药同 2.1,禁食 24 h 后再给药 1 次,仰位将四肢固定于带孔铁板上,浸于水槽中,水温 (20± 1) °C,水深至小鼠剑突处,浸 24 h 解下,处死取胃,测量方法同前,计算溃疡指数、出血点数、抑制率。

病理组织观察取材、切片、HE 染色同 2.1

另取小鼠 50 只,雄性,体重 (2± 2) g,分组、给药、造模型同上。取胃,用生理水洗去胃内容物,取腺胃粘膜 100 mg 制成匀浆,测胃粘膜内硒谷胱甘肽酶 (Se-GSH-Px) 活力 (DTNB 法) 及丙二醛 (MDA) 含量 (TBA 比色法)^[4]。用考马斯亮蓝比色法测定蛋白含量。

2.3 Smi 对大鼠幽门结扎所致胃溃疡的影响^[5]: 取 Wistar 大鼠 50 只,雌雄兼用,体重 (210± 23) g,分组及剂量同 2.1 连续 ig 给药 4 d,第 4 次给药后禁食 24 h 再 ig 给药 1 次,继续禁食 24 h,乙醚麻醉,手术结扎幽门,再禁食、禁水 12 h 后,处死大鼠,取胃 (先结扎贲门完整取出胃测胃液量、pH 值、胃蛋白酶活力 (麦特法)^[4]、出血点数、溃疡指数 [大鼠溃疡指数以面积计算, $S = \pi (d_1/2)(d_2/2)$, d_1 、 d_2 为椭圆的长、短径] 病理组织观察:取材、切片、HE 染色同 2.1

2.4 Smi 对小鼠胃肠推进运动的影响^[6]: 分组及剂量同 2.1 禁食 12 h 后 ig 给药 1 次,50 min 后灌服生理盐水配制的 5% 的活性炭混悬液 20 mL/kg,20 min 后处死小鼠,从贲门至直肠完整取出胃肠道展直,测量炭末推进长度和胃肠道全长,计算推进百分率 (推进百分率 = 炭末推进长度 / 胃肠道全长 × 100%)。

2.5 统计学处理: 实验数据均以组间 *t* 检验判断是否有显著性变异。

3 结果

3.1 Smi 对利血平所致小鼠胃溃疡的影响: 见表 1 Smi 在 100, 200, 300 mg/kg 均可显著降低利血平所致小鼠胃溃疡的溃疡指数和出血点数, Smi 各组与安胃疡组相比无显著差异。

表 1 Smi 对利血平所致小鼠胃溃疡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	溃疡指数 (mm)	抑制率 (%)	出血点数
NS	—	10	2.37± 0.65		5.10± 1.23
安胃疡	200	10	1.46± 0.63*	38.39	3.70± 1.56
Smi	300	10	1.2± 0.71**	48.94	3.20± 1.75#
	200	10	1.3± 0.66**	44.72	3.60± 1.77#
	100	10	1.58± 0.72#	33.33	3.40± 1.64#

与 NS 组比较: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01

与安胃疡比较: # *P* > 0.05

3.2 Smi 对水浸应激所致小鼠胃溃疡的影响: 见表 2 Smi 在 100 200 300 mg/kg 均可显著抑制水浸应激所致小鼠胃溃疡的溃疡指数、出血点。Smi 各组与安胃疡组相比均无显著差异。

表 2 Smi 对水浸应激所致小鼠胃溃疡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	溃疡指数 (mm)	抑制率 (%)	出血点数
NS	—	10	3.87± 1.39		8.50± 2.34
安胃疡	200	10	2.65± 1.17	31.52	5.70± 2.08
Smi	300	10	2.26± 1.02**	41.60	5.77± 1.97#
	200	10	2.40± 1.27#	37.98	5.90± 1.92#
	100	10	2.48± 1.25#	35.91	6.04± 1.39#

与 NS 组比较: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01

与安胃疡比较: # *P* > 0.05

3.3 Smi 对水浸应激小鼠胃粘膜 Se-GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响: 见表 3 结果表明: Smi 在 100, 200, 300 mg/kg 均可显著升高小鼠胃粘膜 Se-GSH-Px 活力,降低 MDA 含量。Smi 各组与安胃疡组相比均无显著差异。

表 3 Smi 对水浸应激小鼠胃粘膜 Se-GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	Se-GSH-Px (U/min·mg ⁻¹ ·pro)	MDA (nmol/g ⁻¹ ·pro)
NS	—	10	2.05± 0.47	17.75± 2.11
安胃疡	200	10	2.6± 0.51*	14.68± 1.63*
Smi	300	10	2.83± 0.72#	14.09± 2.37**#
	200	10	2.53± 0.54#	15.52± 1.68#
	100	10	2.80± 0.74#	15.48± 2.57#

与 NS 组比较: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01

与安胃疡比较: # *P* > 0.05

3.4 Smi 对幽门结扎所致大鼠胃溃疡及胃液分泌的影响: 见表 4 结果表明: Smi 在 100, 200, 300 mg/kg 均可显著抑制幽门结扎所致大鼠胃溃疡的溃疡指数、出血点数。Smi 各组均显著升高胃液分泌量和胃酸 pH 值。Smi 各组与安胃疡组相比均无显著差异。Smi 各组及安胃疡对胃蛋白酶活力均无显著影响。

3.5 Smi对小鼠胃肠推进运动的影响:见表5 Smi 小鼠胃肠推进运动均无显著性影响。
在 100, 200, 300 mg/kg 及安胃疡在 200 mg/kg对 3.6 病理学检查

表 4 Smi对幽门结扎所致大鼠胃溃疡及胃液分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	溃疡指数 (mm)	抑制率 (%)	出血点数	胃液量 (mL)	胃酸 (pH值)	胃蛋白酶 (U)
NS	—	10	11.03 ± 2.73		5.1 ± 1.61	7.3 ± 1.90	1.8 ± 0.59	63.3 ± 17.81
安胃疡	200	10	7.07 ± 2.18* [*]	35.90	3.17 ± 1.19* [*]	9.42 ± 1.84 [#]	2.87 ± 0.68* [*]	55.83 ± 13.91
Smi	300	10	7.29 ± 2.05* [*] #	33.90	2.96 ± 1.26* [*]	11.2 ± 2.73* [*] #	2.87 ± 0.68* [*] #	74.02 ± 12.13
	200	10	7.99 ± 2.62* [*] #	27.56	3.44 ± 1.01* [*] #	9.37 ± 1.68* [*] #	2.6 ± 0.89* [*] #	75.47 ± 11.54
	100	10	8.46 ± 2.21* [*] #	23.30	3.56 ± 1.22* [*] #	9.45 ± 2.12* [*] #	2.56 ± 0.86* [*] #	74.3 ± 14.41

与 NS组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01; 与安胃疡比较: # P > 0.05

表 5 Smi对小鼠胃肠推进运动的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	n	全长 (cm)	推进长 (cm)	推进率 (%)
NS	—	10	62.0 ± 2.98	38.6 ± 7.22	61.2 ± 11.15
安胃疡	200	10	64.9 ± 4.59	38.0 ± 9.51	58.2 ± 12.5 [#]
Smi	300	10	62.9 ± 4.99	38. ± 4.73	60.8 ± 8.00 [#]
	200	10	61.4 ± 3.78	37.6 ± 4.31	61.2 ± 9.43 [#]
	100	10	64. ± 2.43	40.7 ± 7.16	63.6 ± 11.29 [#]

与 NS组比较: # P > 0.05

3.6.1 大体检视: 小鼠溃疡集中分布于腺胃部, 大鼠溃疡分布于全胃。利血平所致小鼠胃溃疡模型胃粘膜出血点呈条索状, 溃疡浅表。水浸应激所致小鼠胃溃疡模型胃粘膜出血点散在、点状, 糜烂性溃疡。幽门结扎大鼠所致溃疡模型胃粘膜出血点面积大, 数量少, 溃疡深。3种模型中 NS组均表现为: 胃内咖啡样血块较多, 出血点较多, 胃粘膜色泽较白。给药组: 胃内咖啡样血块较少, 出血点明显减少, 溃疡较浅, 胃粘膜色泽粉红接近于正常。安胃疡组与给药组相似。

3.6.2 镜下观察: ① 水浸应激模型: NS组溃疡处粘膜层细胞脱落, 粘膜肌层断裂, 粘膜下层轻度水肿, 少量炎细胞浸润, 肌层、浆膜层轻度水肿。邻近溃疡处粘膜层细胞变性, 部分细胞脱落, 粘膜下层明显水肿, 毛细血管破裂, 小动脉内有血栓形成。给药组溃疡处粘膜层细胞脱落, 粘膜肌层完整, 肌层及浆膜层无明显病变。邻近溃疡处粘膜固有层细胞疏松, 部分脱落, 粘膜下层轻度水肿, 少量炎细胞浸润, 肌层及浆膜层无明显病变。安胃疡组与给药组相似。② 利血平所致小鼠胃溃疡模型镜下观察所见 NS组、Smi 各组及安胃疡组基本同上。③ 幽门结扎大鼠所致溃疡模型: NS组溃疡深, 粘膜层、粘膜肌层脱落, 肌层轻度紊乱, 断裂, 少量炎细胞浸润, 浆膜层基本完整。邻近溃疡处粘膜层水肿疏松, 肌层轻度水肿紊乱。给药组溃疡较浅, 粘膜固有层脱落, 粘膜肌层存在, 肌层、浆膜层完整。安胃疡组与给药组相似。

4 讨论

赤土茯苓苷对利血平、水浸应激 幽门结扎所致实验性胃溃疡有较好的保护作用, 在本实验中观察到 Smi 200, 300 mg/kg 的抗溃疡作用近似于安胃疡 (200 mg/kg)

应用多种胃溃疡动物模型可从不同的角度观察 Smi对胃粘膜的保护作用并初步分析其机制。水浸应激所致胃溃疡, 主要是胃粘膜下层微小动脉痉挛以及毛细血管有血栓形成导致胃粘膜下层微循环障碍, 组织缺血、缺氧, 细胞变性坏死, 进而微小血管破裂出血, 粘膜屏障消失, H⁺ 反流而不能被有效清除^[7]。微循环障碍时胃粘膜氧自由基清除酶系统活性降低, 而白细胞等激活产生的自由基增加, 从而使自由基聚积造成组织细胞损害^[8]。上述因素共同作用导致胃溃疡的产生。本实验表明 Smi 能减少胃粘膜脂质过氧化反应, 各给药组 MDA 含量均显著低于生理盐水组, 而胃粘膜 Se-GSH-Px 的活力高于生理盐水组, 提示其抗氧化、清除自由基的作用与胃粘膜的保护有关。Smi 能抑制血小板聚积, 促其解聚, 抗血栓形成^[9]。这对改善胃粘膜微循环、防止微血管破裂出血也有一定意义。

利血平所致小鼠胃溃疡主要是由于交感神经递质的耗竭使副交感兴奋占优势而造成胃酸、胃蛋白酶分泌上升, 对胃粘膜的攻击作用增加。同时利血平导致血压下降, 粘膜微循环血流不足, 不能充分供应能量和养料, 不能快速清除有害物, 削弱了粘膜防御、修复功能。有研究表明利血平致溃疡大鼠胃粘膜 MDA 含量显著高于生理盐水组, 而 SOD 活力无明显变化, 说明利血平所致溃疡形成过程中氧自由基的生成增加超出了清除能力而参与溃疡形成^[10]。提示 Smi 抗利血平所致小鼠胃溃疡可能与其抗自由基损伤, 防止血栓改善微循环有关。

幽门结扎所致大鼠胃溃疡是由于胃酸、胃蛋白酶阻滞于胃中, 侵蚀、消化胃粘膜而形成^[11]。Smi 各

组均促进胃液分泌,升高胃液 pH值,而对胃蛋白酶的活力无显著影响。胃液 pH值升高可能是由于胃液分泌增加中和胃酸的结果,而胃液分泌增加的原因还有待研究。上述作用有利于粘液层对 H⁺ 的缓冲,可减轻胃酸对胃粘膜的侵蚀。同时 S_{mi}减轻该类溃疡的发生,也不能排除与其清除自由基的能力有关。

胃肠推进蠕动减少有利于解痉止痛;推进蠕动增强有利于毒素排除,减少其对胃肠粘膜的侵害。实验表明 S_{mi} 各组对胃肠推进蠕动均无影响,提示 S_{mi} 抗溃疡作用应与此无关。

致谢:本研究得到王晓雯、韩茂莉、王雪飞、杨永

新、程瑞芬等老师的热情帮助。

参考文献

- 1 苑辉卿,等. 中国中药杂志,1997,22(5): 315
- 2 刘若庸,等. 中草药,1991,22(1): 24
- 3 赵群,等. 中草药,1997,28(5): 292
- 4 徐叔云,等. 药理实验方法学. 第二版. 北京:人民卫生出版社,1991: 508,1159,08
- 5 陈奇. 中药药理研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1993: 462
- 6 申庆亮,等. 中国实验方剂学杂志,1995,1(2): 36
- 7 李志军,等. 中国危重病急救医学,1996,8(9): 516
- 8 Yoshida M, et al. Dig Dis Sci, 1995, 40(6): 1306
- 9 安尼瓦尔·吾买尔,等. 中草药,1997,28(增刊): 270
- 10 郝志明,等. 中华消化杂志,1995,15(5): 279
- 11 朴世浩,等. 中草药,1996,27(7): 410

(1999-09-01收稿)

新疆党参和潞党参对小鼠脑 SOD MDA的影响[△]

新疆中药民族药研究所(乌鲁木齐 830002) 陈敏* 熊元君 李晓瑾 申世坤 陈继东

摘要 潞党参与新疆党参体外均具有抗自由基作用,且 IC₅₀分别为 0.111和 0.101 mg/mL。动物体内实验发现潞党参对小鼠脑 SOD MDA无明显影响,而新疆党参可使小鼠脑 SOD活性增强和使 MDA含量减少明显高于对照组(P < 0.01)。

关键词 新疆党参 潞党参 超氧化物歧化酶(SOD) 丙二醛(MDA)

Effect of Clematis Asiabell (*Codonopsis clematidea*) and Pilose Asiabell (*Codonopsis pilosula*) on SOD and MDA of Mouse Brain

Xinjiang Institute of Chinese and Minority's Materia Medica (Wulumuqi 830002) Chen Min, Xiong Yuanjun, Li Xiaojin, Shen Shikun and Chen Jidong

Abstract *In vitro*, both *Codonopsis clematidea* (Schrenk) C. B. Cl. and *Codonopsis pilosula* Nannf. have scavenging effects on superoxide radicals with IC₅₀= 0.111 and 1.101 mg/mL respectively. While *in vivo* *C. clematidea* and *C. pilosula* showed different action in brain superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA). *C. pilosula* showed no statistic significant effect but *C. clematidea* increased the activities of SOD and reduced the content of MDA.

Key words *Codonopsis clematidea* (Schrenk) Clarke *Codonopsis pilosula* Nannf. superoxide dismutase (SOD) melondialdehyde (MDA)

1 实验材料

1.1 药品:潞党参 *Codonopsis pilosula* Nannf,新疆药材公司市售;新疆党参 *Codonopsis cleratidea* Clarke,由新疆中药民族药研究所自伊犁州采得;两者水煎药液浓度为 20% (100 mL 相当于生药量 200 g)。Vit E,新北制药厂产品,批号 970110

1.2 试剂:黄嘌呤,美国 Sigma 公司产品。硫代巴

比妥酸, Sigma 公司产品

1.3 动物:MIH小鼠,由新疆流行病研究所实验动物中心提供 [生产证书,新医动字(94)第 16001号]

1.4 仪器:SHG-1生物化学发光测量仪,上海上立检测仪器厂;721-分光光度计,上海第三光学仪器厂产品;医用超速低温离心机,上海安亭离心机厂。

* Address: Chen Min, Xinjiang Institute of Chinese and Minority's Materia Medica, Wulumuqi

陈敏女,大学毕业,副研究员。20多年来一直从事药品的质控及新产品的研制开发工作。最近主持完成了新疆自然科学基金项目《新疆党参化学成分及药理作用的研究》。

[△]新疆自然科学基金项目,编号 95907