

消乳增胶囊对大鼠胃酸和胃蛋白酶的影响研究^Δ

贾海*,葛斌#,康剑,王辉,张志宏(甘肃省人民医院,兰州 730000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)22-3056-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.22.10

摘要 目的:研究消乳增胶囊对大鼠胃酸和胃蛋白酶的影响。方法:取大鼠随机分为空白(蒸馏水)组、阳性对照(奥美拉唑3.6 mg/kg)组和消乳增胶囊低、中、高剂量[2.25、4.5、9.1 g(生药)/kg]组,依次记为A、B、C、D、E组,每组10只,连续ig给予相应药物10 d。末次给药3 h后收集全部胃液,用pH精密试纸检测胃液pH值,用酸碱中和滴定法测定游离酸度和总酸度;用试剂盒和酶标仪检测并计算胃蛋白酶含量和胃蛋白酶活性;电镜下观察胃病理变化。结果:与A组比较,B、C、D组大鼠胃液的pH升高;C、D、E组大鼠胃液游离酸度减小;B、C、D组大鼠胃液总酸度降低,E组大鼠胃液总酸度增加;B、D、E组大鼠胃蛋白酶活性降低;C组大鼠胃蛋白酶含量增加。与B组比较,D、E组大鼠胃液pH降低;C组大鼠胃液总酸度降低,E组大鼠胃液总酸度增加;C、D、E组大鼠胃蛋白酶活性增强。以上差异具有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。E组大鼠有3例出现胃黏膜糜烂出血,其余各组无明显病理变化。结论:消乳增胶囊在低剂量时对大鼠胃酸有轻度抑制作用,但不会影响胃蛋白酶活性。

关键词 消乳增胶囊;大鼠;胃蛋白酶含量;胃蛋白酶活性;胃游离酸;胃总酸

Study on the Effects of Xiaoruzeng Capsule on the Gastric Acid and Pepsase in Rats

JIA Hai, GE Bin, KANG Jian, WANG Hui, ZHANG Zhi-hong (Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of Xiaoruzeng capsule on the gastric acid and pepsin in rats. METHODS: Rats were randomized into a blank group (distilled water), a positive control group (3.6 mg/kg omeprazole) and the groups of low, middle and high doses of Xiaoruzeng capsule [2.25, 4.5, 9.1 g (crude drug)/kg]. These groups were respectively marked as groups A, B, C, D and E, with 10 rats in each group. All the rats were given corresponding drugs, ig, for consecutive 10 d. Their succus gastricus was collected 3 h after the last administration, and determined for pH value with precision pH test strip and for free acidity and total acidity by acid-base neutralization titration method. The content and activity of pepsin were determined and calculated with the test kit and microplate reader. The pathological change of the stomach was observed under the electron microscope. RESULTS: Compared with group A, groups B, C and D had higher pH value of succus gastricus; groups C, D and E had lower free acidity; groups B, C and D had lower total acidity, group E had higher total acidity; groups B, D and E had lower activity of pepsin; and group C had higher content of pepsin. Compared with group B, group D had lower pH value of succus gastricus; group C had lower total acidity; group E had higher acidity; and groups C, D and E had higher activity of pepsin. There was statistical significance ($P<0.01$ or $P<0.05$). Gastric mucosal erosive haemorrhage was noted in three rats in group E, and other groups demonstrated no obvious pathological change. CONCLUSIONS: Low dose of Xiaoruzeng capsule can slightly inhibit the gastric acid in rats, but will not effect the activity of pepsin.

KEYWORDS Xiaoruzeng capsule; Rats; Pepsin content; Pepsin activity; Free gastric acidity; Total gastric acidity

消乳增胶囊是我院研制开发的特色中药制剂,在我院临床应用超过10年,因疗效确切、毒副作用小,于2010年入选《甘肃省调剂使用院内中药制剂(第一批)目录》。到目前为止,该药累计售出逾千万元,治疗人次超过6万,在治疗乳痛、乳腺增生症方面发挥了重要作用。但经过大量临床经验总结发现,消乳增胶囊散结作用明显但止痛效果不强,同时因原工艺条件限制,处方中部分药材未经提取而直接入药,易引起部分患者服用后胃部出现不适感。

消乳增胶囊方解:原方17味药,柴胡疏肝解郁,配以白芍、当归养血柔肝,白芷活血行气止痛,丹参、三棱活血化瘀等。

Δ 基金项目:甘肃省自然科学基金计划(No.1107RJZA130)

* 副主任药师,硕士。研究方向:中药药理、临床药学。电话:0931-8281726。E-mail: jiahaijiahai@126.com

通信作者:主任药师。研究方向:中药药理。电话:0931-8281345。E-mail: gjy0630@163.com

为了减少原方造成的患者胃部不适,新方除增加1味元胡药材外,还改进了工艺,取消原药材粉末直接入药,而将部分药材水提、部分药材醇提,合并提取物。原方活血行气止痛功效偏弱,新方加以元胡活血化瘀、行气止痛联合白芷加强原方活血止痛之功效。该新工艺、新处方制剂将申报为新的院内自制制剂。笔者研究了新方消乳增胶囊对大鼠胃酸和胃蛋白酶的影响,以为申报新制剂提供部分安全性评价资料,以便该药在临床更好地服务于患者。

1 材料

1.1 仪器

ELX-800型酶标仪(美国Bio-Tek公司);5810型低温高速离心机(德国Eppendorf公司);BlueStar Plus紫外-可见分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

消乳增胶囊[甘肃省人民医院制剂中心提供,批号:

20131001,批准文号:甘药制字H04000801,给药剂量:0.22 g(生药)/kg,由当归、香附、白芍、川楝子、三棱、元胡等18味中药组成];奥美拉唑肠溶胶囊(沈阳澳华制药股份有限公司,批号:20121013,规格:每粒20 mg);对二甲氨基偶氮苯(天津市大茂化学试剂厂,批号:20110811,分析纯);酚酞(天津永晟精细化工有限公司,批号:20130428,分析纯);胃蛋白酶测试盒(南京建成科技有限公司,批号:20140310);大鼠胃蛋白酶酶联免疫检测试剂盒(上海丽臣生物科技有限公司,批号:20140302);其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

1.3 动物

健康SPF级Wistar大鼠,♀,体质量(200±20)g,由甘肃省中医学院动物实验中心提供,实验动物质量合格证号:SCXK(甘)2011-0001。动物购买后适应性饲养7 d后开始实验。

1.4 试纸

精密试纸(上海试剂三厂,批号:20130126,pH:0.5~5.0)。

2 方法^[1]

2.1 分组与给药

取大鼠随机分为空白(蒸馏水)组、阳性对照(奥美拉唑3.6 mg/kg)组和消乳增胶囊低、中、高剂量[2.25、4.5、9.1 g(生药)/kg]组,依次记为A、B、C、D、E组,每组10只,连续ig给予相应药物10 d。消乳增胶囊低、中、高剂量依次相当于人临床常用剂量的10、20、40倍。由于前期实验显示,原方、原工艺消乳增胶囊对胃液分泌及胃蛋白酶均呈现抑制作用,所以在本实验中采用奥美拉唑作为阳性对照药,以评价新方消乳增胶囊能否使消化道不良反应有所减轻。

2.2 胃液pH的检测^[2]

大鼠第9天给药后禁食,第10天给药后禁水。末次ig给药3 h后,用10%水合氯醛(5 ml/kg)ip麻醉并结扎幽门,术后5 h处死大鼠,收集全部胃液于离心管中,以离心半径4 cm、3 000 r/min离心15 min,吸取上清液备用。测量胃液总量,用精密pH试纸测定胃液pH值。

2.3 胃液游离酸度和总酸度的检测^[3-6]

取胃液2 ml,置于锥形瓶中,加入托佛氏试剂[0.5%的对二甲氨基偶氮苯95%乙醇液,测游离酸(pH 2.9~4.0)]及酚酞指示剂[含1%酚酞的95%乙醇液,测总酸度(pH 8.2~10.0)]各2滴,用0.02 mol/L NaOH液滴定,恰至红色消失、出现姜黄色为止,作为游离酸滴定终点。记录消耗NaOH液毫升数乘以10,得游离酸度(mmol/L)。继续用NaOH液滴定至显微红色,为总酸度滴定终点。两次滴定消耗的NaOH液毫升数乘以10,得总酸度(mmol/L)。

2.4 胃蛋白酶活性的检测^[7]

按照胃蛋白酶测试盒说明书进行检测,取反应终止后的样本在660 nm波长处测定光密度(OD),计算胃蛋白酶活性(U/ml)。

2.5 胃蛋白酶含量的测定^[8]

按照大鼠胃蛋白酶酶联免疫检测试剂盒说明书进行操作,反应结束后的酶标板在酶标仪450 nm波长处测定OD,代入回归方程(以胃蛋白酶标准品OD值对质量浓度进行回归分析)计算胃蛋白酶含量。

2.6 胃组织病理变化的观察

镜下观察各组大鼠末次给药后胃组织的病理变化。

2.7 统计学分析

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 胃液pH变化

与A组比较,B、C、D组大鼠胃液的pH升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与B组比较,D、E组大鼠胃液pH降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。其余组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠胃液pH测定结果见表1。

表1 各组大鼠胃液中pH、胃酸、胃蛋白酶的测定结果($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 1 Determination results of pH, gastric acid and pepsin in the succus gastricus in all groups of rats($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	pH值	游离酸度,mmol/L	总酸度,mmol/L	胃蛋白酶活性,U/ml	胃蛋白酶含量,ng/ml
A组	2.1±0.22	30.6±2.70	80.6±4.39	70.18±8.52	12.34±2.55
B组	4.3±0.27**	未检出	65.0±9.46*	4.24±0.70**	13.50±2.60
C组	4.2±0.27**	23.0±3.24*	39.4±4.88**	58.08±7.06*	16.20±2.57*
D组	3.7±0.27***	4.46±1.12*	64.4±6.66*	39.31±3.94***	14.22±3.06
E组	2.4±0.22*	3.0±0.79*	92.0±8.37**	17.48±1.91***	11.24±2.45

注:与A组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与B组比较,* $P < 0.01$

Note: vs. group A, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. group B, * $P < 0.01$

3.2 胃液游离酸度与总酸度变化

与A组比较,C、D、E组大鼠胃液游离酸度降低;B、C、D组大鼠胃液总酸度降低,E组大鼠胃液总酸度增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与B组比较,C组大鼠胃液总酸度降低,E组大鼠胃液总酸度增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其余组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠胃液酸度测定结果见表1。

3.3 胃蛋白酶活性变化

与A组比较,B、D、E组大鼠胃蛋白酶活性降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与B组比较,C、D、E组大鼠胃蛋白酶活性增强,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其余组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠胃液中胃蛋白酶活性的测定结果见表1。

3.4 胃蛋白酶含量变化

胃蛋白酶质量浓度(x)与OD值(y)呈线性关系,回归方程为 $y = 98x - 10.11$ ($r = 0.991$)。与A组比较,C组大鼠胃蛋白酶含量增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其余组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组大鼠胃液中胃蛋白酶含量的测定结果见表1。

3.5 胃组织病理变化

E组大鼠有3例出现胃黏膜糜烂出血,其余各组与A组比较无明显变化。各组大鼠胃组织病理切片见图1。

4 讨论

通过本实验发现,新方消乳增胶囊与空白对照相比有增加大鼠胃液pH、抑制游离酸、促进总酸分泌、抑制胃蛋白酶活性的作用;同时新方消乳增胶囊对胃蛋白酶合成影响并不明显,只有低剂量组大鼠出现胃蛋白酶含量增加并有统计学意义,中、高剂量组并未出现明显变化。结合病理切片结果显示,消乳增胶囊高剂量组有3例大鼠胃黏膜糜烂出血,其他各组未见病理变化,致大鼠胃黏膜糜烂出血相关机制仍需进一步

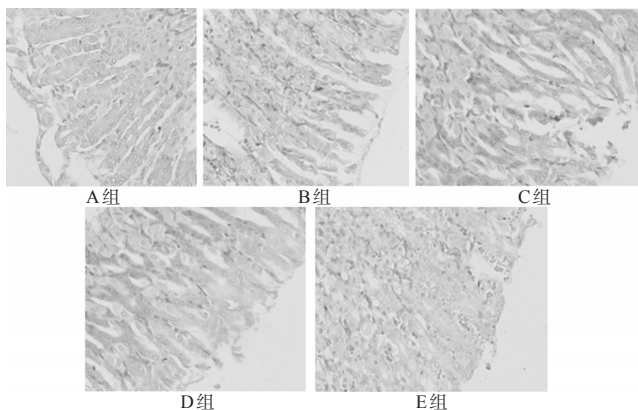


图1 各组大鼠胃组织病理切片图(HE, ×200)

Fig 1 The pathological sections of the stomachs of all groups of rats(HE, ×200)

步研究证实。本实验数据显示出一些矛盾之处,如胃液pH低剂量组高于空白对照而高剂量组与空白相近,但这一结果与胃蛋白酶活性结果相矛盾;此外就是游离酸度数据与总酸度数据不一致。

针对上述矛盾问题,笔者进行了以下分析。先看新方消乳增胶囊对大鼠胃酸的影响,从游离酸度数据可以看出,消乳增胶囊对游离酸度呈现与剂量正相关的抑制作用即剂量升高抑制更显著。而总酸度为什么会与游离酸度相反的结果?笔者分析认为消乳增胶囊可能刺激除游离酸外的结合酸、有机酸等的分泌。在低剂量时药物对结合酸、有机酸等酸呈现抑制作用,联合对游离酸的抑制作用,所以总酸呈现抑制;而剂量升高后药物促使胃内有机酸与结合酸含量升高,程度抵消甚至超过对游离酸的抑制,综合表现出总酸与空白对照接近的水平。消乳增胶囊低剂量组对大鼠胃酸仍表现轻度抑制作用,其抑制胃酸的机制尚需作进一步研究。

通过游离酸与胃蛋白酶活性结果比对,消乳增胶囊对游离酸及胃蛋白酶活性抑制呈现出相同趋势,低剂量对胃蛋白酶活性抑制与空白对照比较未表现统计学差异,剂量升高后抑制作用明显增加($P < 0.01$)。消乳增胶囊剂量升高,总酸度

随之增加但胃蛋白酶活性降低,分析可能原因为剂量升高除了使胃液总酸度增加外,还可能使胃蛋白酶抑制剂等成分随之增加。所以消乳增胶囊低剂量时抑制游离酸作用弱,胃蛋白酶抑制剂等成分少,胃蛋白酶活性相对较高;而高剂量时抑制游离酸作用强,胃蛋白酶抑制剂等成分多,胃蛋白酶活性进一步降低并与空白对照比较有统计学差异。对胃蛋白酶活性抑制作用的机制将在进一步的实验中进行证实。

综上所述,新方消乳增胶囊在低剂量时对大鼠胃酸有轻度抑制作用,但不会影响胃蛋白酶活性。

参考文献

- [1] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,2006:453-472.
- [2] 林飞,梁恽,吕廉,等.富硒大蒜对实验动物上消化道的刺激作用及对胃液成分的影响[J].癌变 畸变 突变,2008,20(4):275.
- [3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:459-461.
- [4] 包勒朝鲁,乌兰图雅,那生桑.蒙药哈日嘎布日-10味片对大鼠胃液分泌、胃蛋白酶活性及小鼠胃肠运动的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(18):262.
- [5] 张涵,巫燕莉,杜群,等.消食饮对大鼠胃酸、胃蛋白酶的影响[J].江西中医学院学报,2011,23(1):68.
- [6] 邱红梅,赖舒,尚京川,等.石榴皮提取物对大鼠幽门结扎所致胃损伤的保护作用研究[J].中国药房,2011,22(7):594.
- [7] 毕珺辉,杨天仁.香砂六君子汤及其拆方对脾虚胃溃疡模型大鼠胃蛋白酶、SOD、MDA水平的影响[J].南京中医药大学学报,2010,26(4):280.
- [8] 唐梅文,王伟,李桂贤,等.加味七方胃痛颗粒对慢性萎缩性胃炎大鼠胃蛋白酶含量及HSP70蛋白表达的影响[J].中药新药与临床药理,2011,22(1):69.

(收稿日期:2014-10-24 修回日期:2015-04-07)

(编辑:邹丽娟)

2015年医改监测工作布置暨培训会在南京召开

本刊讯 为部署2015年医改监测工作,提高监测人员业务能力,确保监测数据质量,国务院医改办于7月1-2日在南京召开2015年医改监测工作布置暨培训会。国务院医改办、国家卫生计生委统计信息中心负责同志出席会议。来自全国各省、自治区、直辖市、计划单列市、副省级城市医改办、卫生计生委医改办及统计信息中心负责医改监测工作的120余名同志参加了会议。

会议肯定了2014年医改监测工作情况,对2015年医改监测工作提出了明确要求。会议指出,医改监测是及早发现政策执行偏差的重要手段,是发现医改好经验好做法的重要平台,是考核任务完成情况的重要工具。会议强调,各地医改办及相关部门要高度重视医改监测工作,切实把好组织动员关、

数据质量关和实际应用关,进一步抓好组织领导、质量控制、规范流程、地市培训和数据分析利用等五项工作,保障医改监测数据及时、准确、完整上报。会议要求,省级医改办按月上报省级监测表,地市级医改办按季度上报地市级监测表,国务院医改领导小组相关成员单位报送相关季报和年报数据。

会议还对医改监测工作进行了技术培训和经验交流,邀请国务院医改领导小组专家咨询委员会专家和国家卫生计生委统计信息中心有关负责同志对医改相关政策和医改监测方案进行了解读,对监测系统的操作和监测数据的审核、报送、订正等工作进行了详细讲解,江苏、黑龙江、安徽、广西、四川、陕西等6个省份代表在会上作了经验交流。