

# 艳山姜提取物对急性胃溃疡模型小鼠的保护作用研究<sup>△</sup>

魏 晴<sup>1\*</sup>, 梁珊珊<sup>1</sup>, 熊 瑞<sup>1</sup>, 魏 娜<sup>2</sup>, 薛 娟<sup>1#</sup>(1. 贵州中医药大学药学院, 贵阳 550025; 2. 海南医学院药学院, 海口 570100)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)18-2190-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.18.03

**摘 要** 目的: 探讨艳山姜提取物对急性胃溃疡模型小鼠的保护作用。方法: 取小鼠48只, 随机分为空白组、模型组、阳性组(三九胃泰颗粒, 20 mg/kg)和艳山姜提取物高、中、低剂量组(2.34、1.17、0.59 g/kg, 按生药量计), 每组8只, 每天灌胃生理盐水或相应药物1次, 连续给药7 d后, 除空白组外的其余组小鼠均一次性灌胃无水乙醇0.1 mL/10 g, 以建立急性胃溃疡模型。另取小鼠48只, 同法分组, 连续给药15 d, 并于给药第10天起对除空白组外的其余组小鼠连续6 d灌胃阿司匹林(20 mg/kg), 以建立急性胃溃疡模型。在乙醇诱导模型实验中, 观察各组小鼠胃溃疡形成情况并测定胃溃疡指数; 采用苏木精-伊红染色法观察胃组织病理变化; 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中胃泌素(GAS)和胃组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)的水平。在阿司匹林诱导模型实验中, 同法观察并测定各组小鼠胃溃疡形成情况、胃溃疡指数; 采用ELISA法检测血清中GAS、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )和胃组织中前列腺素 $E_2$ (PGE $_2$ )、环氧合酶2(COX-2)的水平。结果: 与空白组比较, 模型组小鼠胃组织均出现了明显的溃疡病变; 血清中GAS、TNF- $\alpha$ 、IL- $1\beta$ 和胃组织中MDA、NO水平均显著升高, 胃组织中SOD、PGE $_2$ 、COX-2水平均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与模型组比较, 给药组小鼠的胃组织病变程度有不同程度减轻; 胃溃疡指数有不同程度降低, 血清和胃组织中上述指标水平均有不同程度改善, 大部分指标差异有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结论: 艳山姜提取物对无水乙醇和阿司匹林诱导的小鼠急性胃溃疡均有保护作用; 其机制可能是通过抑制氧化应激和炎症反应, 从而减轻胃黏膜损伤。

**关键词** 艳山姜; 提取物; 急性胃溃疡; 无水乙醇; 阿司匹林; 保护作用; 小鼠

## Study on the Protective Effect of *Alpinia zerumbet* Extract on Acute Gastric Ulcer Model Mice

WEI Qing<sup>1</sup>, LIANG Shanshan<sup>1</sup>, XIONG Rui<sup>1</sup>, WEI Na<sup>2</sup>, XUE Juan<sup>1</sup>(1. College of Pharmacy, Guizhou University of TCM, Guiyang 550025, China; 2. College of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 570100, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To explore the protective effect of *Alpinia zerumbet* extract on acute gastric ulcer model mice. METHODS: Totally 48 mice were collected and randomly divided into blank group, model group, positive group (Sanjiu weitai granules, 20 mg/kg), *A. zerumbet* extract high-dose, medium-dose and low-dose groups (2.34, 1.17, 0.59 g/kg, by crude drug), with 8 mice in each group. They were given normal saline or relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 7 d. Then, except for blank group, other groups were given disposable intragastric administration of absolute ethanol 0.1 mL/10 g to establish acute gastric ulcer model. Another 48 mice were collected and grouped with same method, and then given relevant medicine for consecutive 15 d. From the 10th day of administration, except for blank group, other groups were given intragastric administration of aspirin (20 mg/kg) for consecutive 6 d to establish acute gastric ulcer model. In ethanol induction model experiment, the formation of gastric ulcer and the index of gastric ulcer were observed in each group; HE staining was used to observe the pathological changes of gastric tissue; the levels of gastrin (GAS) in serum, and the levels of SOD, MDA and NO in gastric tissue were determined by ELISA. In the aspirin induced model experiment, the formation of gastric ulcer and the index of gastric ulcer were observed and measured by the same method; the levels of GAS, TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  in serum, and the levels of PGE $_2$  and COX-2 in gastric tissue were determined by ELISA. RESULTS: Compared with model group, obvious ulcer lesions were found in gastric tissue of rats in model group; the levels of GAS, TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$  in serum, and MDA, NO in gastric tissue were increased significantly, while the levels of SOD, PGE $_2$ , COX-2 in gastric tissue were decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Compared with model group, the degree of gastric lesions in administration groups was alleviated to some extent; gastric ulcer index was decreased to some extent, while the levels of the above indexes in serum and gastric tissue were improved in varying degrees, with statistical significance in most indexes ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ).

<sup>△</sup> 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81660649); 贵州中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(No.QZYY-2019-063); 贵州中医药大学博士启动基金(No.[2019]38); 贵州中医药大学科研项目(No.贵中医科院内[2019]39号)

\* 讲师, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及作用机制。E-mail: 997845460@qq.com

# 通信作者: 讲师, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及作用机制。E-mail: 672863283@qq.com

CONCLUSIONS: *A. zerumbet* extract exerts its protective effect on absolute ethanol and aspirin-induced acute gastric ulcer model mice, the mechanism of which may be relieving gastric mucosal injury through inhibiting oxidative stress and inflammatory response.

KEYWORDS *Alpinia zerumbet*; Extract; Acute gastric ulcer; Absolute ethanol; Aspirin; Protective effect; Mice

溃疡是一种消化系统常见病,随着社会老龄化和人们生活压力的增加,胃溃疡的发病率显著上升<sup>[1]</sup>。胃溃疡若治疗不及时,患者胃部可发生出血、穿孔、梗阻甚至癌变等并发症<sup>[2]</sup>。幽门螺杆菌感染、非甾体抗炎药的使用、吸烟和饮酒均为胃溃疡主要的危险因素<sup>[3]</sup>。

艳山姜是姜科山姜属植物艳山姜 [*Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtet Smith] 的干燥根,其味辛、涩,性温,具有温中燥湿、行气止痛、截疟的功效,主治心腹冷痛、胸腹胀满、消化不良、呕吐腹泻等症,已被收录于2003版《贵州省中药材、民族药材质量标准》<sup>[4]</sup>。艳山姜作为贵州地产特色民族药材,是贵州各少数民族的常用药,水族常用艳山姜治疗胃溃疡,且效果良好<sup>[5]</sup>。国外有关艳山姜的研究多集中在叶的化学成分及药理作用上<sup>[6-8]</sup>;而近年来国内研究主要集中在其抗心肌缺血、抗动脉粥样硬化、抗炎、镇痛和降压作用上<sup>[9-11]</sup>,但对其传统功效抗胃溃疡作用的研究较少。

基于民族药艳山姜的传统功效,本研究分别以无水乙醇和阿司匹林建立小鼠急性胃溃疡模型,通过测定小鼠溃疡指数和溃疡组织中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)、环氧合酶2(COX-2)、前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>),以及血清中胃泌素(GAS)、白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等指标,来评价艳山姜提取物对小鼠急性胃溃疡的保护作用,为艳山姜相关新药的开发和利用提供实验基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Victor™ X3型多标记微孔板检测仪、Victor X3型酶标仪(美国PekinElmer公司);TDZ5-WS离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)型舜宇解剖显微镜(河南予华仪器有限公司);BSA224S型分析天平(德国Sartorius公司);R-200型旋转蒸发仪(日本Buchi公司);Vert.A1型倒置显微镜(德国Zeiss公司)。

### 1.2 药品与试剂

艳山姜药材由广州弘联医药药材有限公司提供,经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为姜科山姜属植物艳山姜 [*A. zerumbet* (Pers.) Burtet Smith] 的干燥根,标本存放于贵州中医药大学药学院炮制与产地加工实验室(标本号:GY20191005001)。

三九胃泰颗粒(阳性药物,华润三九医药股份有限公司,批号:Z44020705,规格:20g);阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司,批号:J20171021,规格:100mg);小鼠GAS、PGE<sub>2</sub>、COX-2、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、SOD酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒(武汉华联科生物工程有限公司,批号:20190618、A190879、A190719、A1910069、A190613、20190128);小鼠MDA、NO ELISA试剂盒(南

京建成生物工程研究所,批号:20190127、20190126);甲醛、盐酸、无水乙醇等其余试剂均为分析纯或实验室常用规格,水为蒸馏水。

### 1.3 动物

SPF级昆明种小鼠,雌雄各半,8周龄,体质量18~22g,由长沙市天勤生物技术有限公司提供,动物生产合格证号:SCXK(湘)2019-0014。所有小鼠均饲养于12h/12h明暗交替的房间内,室内温度为(25.0 $\pm$ 1.0) $^{\circ}$ C、相对湿度为(50.0 $\pm$ 10.0)% ,均给予标准饲料和饮用水喂养。

## 2 方法

### 2.1 药物溶液的制备

取艳山姜药材,粉碎成粗粉,取粗粉100g,加95%乙醇1000mL加热回流提取3次,每次回流2h;滤过,合并3次滤液,在45 $^{\circ}$ C水浴条件下减压旋蒸浓缩,制得浸膏(浸膏得率为20.79%)。实验时,取该提取物浸膏适量,用水溶解制成100mg/mL(按生药量计)的艳山姜提取物溶液。

阿司匹林以生理盐水配制质量浓度为1.3mg/mL的溶液,阳性药三九胃泰颗粒以水配制成质量浓度为2.6mg/mL的溶液。

### 2.2 艳山姜提取物对无水乙醇诱导急性胃溃疡模型小鼠的影响考察

2.2.1 分组、给药与造模 参考文献方法<sup>[12]</sup>,取小鼠48只,随机分为空白组、模型组、阳性组和艳山姜提取物高、中、低剂量组,每组8只,雌雄各半。其中,阳性组小鼠灌胃三九胃泰颗粒溶液(20mg/kg;剂量根据药品说明书规定并经人/小鼠等效剂量折算后设置);艳山姜各剂量组小鼠分别灌胃艳山姜提取物溶液(2.34、1.17、0.585g/kg,按生药量计;剂量依据《贵州省中药材、民族药材质量标准》中艳山姜人用剂量<sup>[4]</sup>的8、4、2倍并经人/小鼠等效剂量折算后设置);模型组、空白组灌胃生理盐水(0.1mL/10g)。每天给药1次,连续给药7d。末次给药前禁食不禁水24h,末次给药后1h,除空白组外,其余组小鼠均一次性灌胃无水乙醇(0.1mL/10g)以诱导胃溃疡。

2.2.2 取材 灌胃无水乙醇后,各组小鼠继续禁食不禁水1h,然后摘眼球取血,以4000r/min离心15min,取上层血清,于-20 $^{\circ}$ C保存,备测。小鼠采血后均脱颈椎处死,剖腹取全胃,沿胃大弯剪开,用生理盐水洗净,备测。

2.2.3 胃溃疡形成情况观察及胃溃疡指数测定 将各组小鼠洗净后的全胃自然展开,胃内面朝上平铺于白色洁净滤纸上,肉眼观察胃黏膜面溃疡形成情况,并采用解剖显微镜(10倍)拍照并计算胃溃疡指数。溃疡指数计算方法:解剖显微镜下观察胃黏膜出血、溃疡面的多

少、大小及其分布部位,测量各个溃疡面的长径,长径 $\leq 1\text{ mm}$ 者计为1分; $>1\sim 2\text{ mm}$ 者计为2分; $>2\sim 3\text{ mm}$ 者计为3分; $>3\sim 4\text{ mm}$ 者计为4分; $>4\text{ mm}$ 者计为5分,各溃疡面计分之之和即为溃疡指数<sup>[13]</sup>。

**2.2.4 血清和胃组织中相关指标检测** 取各组小鼠血清,按相应ELISA试剂盒说明书操作检测GAS水平。另称取各组小鼠胃溃疡组织约100 mg,剪碎,按5 mL/g的量加入预冷的生理盐水,冰浴中进行组织匀浆,在4℃下以4 000 r/min离心10 min,取上清液,按相应ELISA试剂盒说明书操作检测胃组织中MDA、SOD、NO的水平。

**2.2.5 胃组织病理学检查** 取各组小鼠约6 mm $\times$ 6 mm大小的溃疡面部位组织,浸泡于10%甲醛溶液中固定24 h以上,再进行苏木精-伊红(HE)染色,采用倒置显微镜进行病理组织学检查<sup>[14]</sup>。

### 2.3 艳山姜提取物对阿司匹林诱导急性胃溃疡模型小鼠的影响考察

**2.3.1 分组、给药与造模** 参考文献方法<sup>[13]</sup>,取小鼠48只,按“2.2”项下方法分组、给药,每天给药1次,连续给药15 d。从第10天起,除空白组外,其余组小鼠均灌胃阿司匹林溶液(20 mg/kg),连续灌胃6 d,以诱导胃溃疡。末次给药前禁食不禁水24 h,末次灌胃药物溶液或生理盐水0.5 h后,再末次灌胃阿司匹林溶液。

**2.3.2 取材** 末次灌胃阿司匹林溶液后,各组小鼠继续禁食不禁水4 h,然后按“2.2.2”项下方法取血并制备血清,于-20℃保存,备测;脱颈椎处死小鼠后取全胃、剪开、洗净,备测。

**2.3.3 胃溃疡形成情况观察及胃溃疡指数测定** 按“2.2.3”项下方法观察各组小鼠胃黏膜面溃疡形成情况,测定并计算胃溃疡指数。

**2.3.4 血清和胃组织中相关指标检测** 取各组小鼠血清,按相应ELISA试剂盒说明书操作检测GAS、TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 水平。另称取各组小鼠胃溃疡组织约100 mg,按“2.2.4”项下方法制备组织匀浆后,按相应ELISA试剂盒说明书操作检测胃组织中PGE<sub>2</sub>和COX-2水平。

**2.3.5 胃组织病理学检查** 按“2.2.5”项下方法取各组小鼠胃溃疡面部位组织,固定后行HE染色,并进行组织病理学检查。

### 2.4 统计学方法

采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析。数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 $t$ 检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 艳山姜提取物对无水乙醇诱导急性胃溃疡模型小鼠的影响

**3.1.1 胃溃疡形成情况及溃疡指数** 肉眼可见,空白组小鼠胃黏膜组织颜色正常,无溃疡面或出血点;模型组小鼠胃内壁出现大量出血点,形成了连片的出血面,有严重糜烂和溃疡现象;阳性组小鼠胃内壁有极少量出血点,无溃疡面或糜烂现象;艳山姜高剂量组小鼠胃内壁

出现少量出血点,有较少溃疡面,无糜烂现象;艳山姜中剂量组小鼠胃内壁出现较多出血点,有溃疡面和轻微糜烂现象;艳山姜低剂量组小鼠胃内壁出现大量出血点,局部溃疡面面积较大,糜烂现象明显。与模型组比较,阳性组和艳山姜高、中剂量组小鼠溃疡指数均显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),详见表1。

**表1 各组小鼠胃溃疡指数和血清中GAS水平测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8$ )**

**Tab 1 Determination results of index of gastric ulcer and serum level of GAS in mice of each group ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )**

组别	溃疡指数,分	GAS,ng/mL
空白组		25.61 $\pm$ 1.18
模型组	20.88 $\pm$ 7.45	30.06 $\pm$ 1.22**
阳性组	12.11 $\pm$ 2.78 <sup>##</sup>	23.44 $\pm$ 0.53 <sup>##</sup>
艳山姜高剂量组	13.38 $\pm$ 6.48 <sup>#</sup>	24.27 $\pm$ 1.31 <sup>##</sup>
艳山姜中剂量组	14.13 $\pm$ 3.95 <sup>#</sup>	27.48 $\pm$ 1.06 <sup>#</sup>
艳山姜低剂量组	15.63 $\pm$ 5.58	28.22 $\pm$ 1.58

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$

**3.1.2 血清和胃组织中相关指标** 与空白组比较,模型组小鼠血清中GAS水平和胃组织中MDA、NO水平均显著升高,胃组织中SOD水平显著降低( $P<0.01$ )。与模型组比较,阳性组和艳山姜高、中剂量组小鼠血清中GAS水平,胃组织中NO水平以及各给药组小鼠胃组织中MDA水平均显著降低,各给药组小鼠胃组织中SOD水平均显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),详见表1、表2。

**表2 各组小鼠胃组织中MDA、NO、SOD水平测定结果( $\bar{x}\pm s, n=8$ )**

**Tab 2 Determination results of levels of MDA, NO and SOD in gastric tissue of mice in each group( $\bar{x}\pm s, n=8$ )**

组别	MDA, $\mu\text{mol/g}$	NO, $\mu\text{mol/g}$	SOD, $\mu\text{mol/g}$
空白组	0.45 $\pm$ 0.06	1.84 $\pm$ 0.12	26.47 $\pm$ 1.69
模型组	1.73 $\pm$ 0.19**	3.83 $\pm$ 0.14**	20.88 $\pm$ 2.03**
阳性组	1.29 $\pm$ 1.64 <sup>#</sup>	2.17 $\pm$ 0.16 <sup>##</sup>	25.38 $\pm$ 0.70 <sup>##</sup>
艳山姜高剂量组	1.36 $\pm$ 0.15 <sup>#</sup>	2.42 $\pm$ 0.17 <sup>#</sup>	23.57 $\pm$ 2.51 <sup>#</sup>
艳山姜中剂量组	1.42 $\pm$ 0.17 <sup>#</sup>	2.68 $\pm$ 0.18 <sup>#</sup>	23.34 $\pm$ 1.96 <sup>#</sup>
艳山姜低剂量组	1.51 $\pm$ 0.18 <sup>#</sup>	2.99 $\pm$ 0.17	22.86 $\pm$ 1.54 <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ,<sup>##</sup> $P<0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P<0.01$ ; vs. model group, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>##</sup> $P<0.01$

**3.1.3 胃组织病理学变化** 镜下观察可见,空白组小鼠胃壁组织结构致密,黏膜结构完整。模型组小鼠胃黏膜破损、不完整,可见慢性炎症细胞浸润、核固缩、腺体结构消失,胃窦部胃黏膜可见多灶性凝固性坏死,并伴有较严重的炎症、出血和水肿。阳性组小鼠胃黏膜充血和黏膜下水肿减轻,损伤较轻。艳山姜高、中剂量组小鼠胃黏膜结构的破坏和腺体结构的消失等现象均有不同程度改善,但核固缩以及炎症细胞浸润现象改善不明显。艳山姜低剂量组小鼠胃黏膜结构破坏较严重,可见

核固缩及炎症细胞浸润,详见图1。

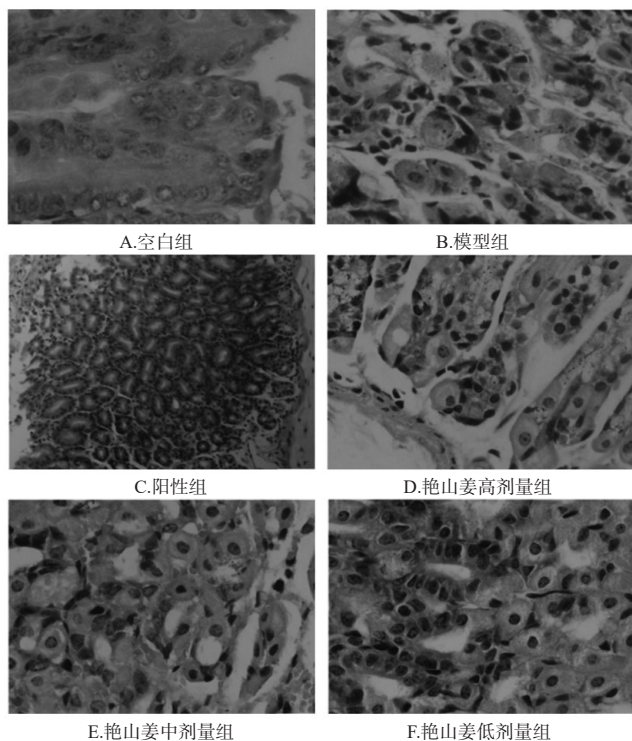


图1 各组小鼠胃组织病理学显微图(HE染色,×400)

Fig 1 Histopathological micrographs of gastric tissue of mice in each group(HE staining, × 400)

### 3.2 艳山姜提取物对阿司匹林诱导急性胃溃疡模型小鼠的影响

3.2.1 胃溃疡形成情况及溃疡指数 肉眼可见,空白组小鼠胃黏膜组织颜色正常,无溃疡面和出血点;模型组小鼠胃内壁出现大量出血点,有严重溃疡和糜烂现象;阳性组小鼠胃内壁出血点极少,且无溃疡和糜烂现象;艳山姜高剂量组小鼠胃内壁出现少量出血点,溃疡面较少,但无糜烂现象;艳山姜中剂量组小鼠胃内壁出血点较多,有溃疡和轻微糜烂现象;艳山姜低剂量组小鼠胃内壁可见大量出血点,局部溃疡面面积较大且有粘连现象,同时糜烂现象明显。与模型组比较,阳性组和艳山姜高、中剂量组小鼠溃疡指数均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),详见表3。

3.2.2 血清和胃组织中相关指标 与空白组比较,模型组小鼠血清中GAS、TNF- $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 水平均显著升高,胃组织中PGE<sub>2</sub>、COX-2水平均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与模型组比较,阳性组和艳山姜高、中剂量组小鼠血清中GAS、TNF- $\alpha$ 水平均显著降低,胃组织中COX-2水平均显著升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );阳性组和艳山姜高剂量组小鼠血清中IL-1 $\beta$ 水平均显著降低,胃组织中PGE<sub>2</sub>水平均显著升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),详见表3、表4。

3.2.3 胃组织病理学变化 镜下观察可见,空白组小鼠胃黏膜层、固有层、肌层结构完整,腺体排列紧密;模型组小鼠胃黏膜可见多灶性凝固性坏死,伴有较严重的炎

症、出血、水肿;阳性组和艳山姜高剂量组小鼠胃组织炎症、出血明显减轻;艳山姜中、低剂量组小鼠胃黏膜损伤严重,上皮不完整,黏膜充血,腺体排列不整齐,详见图2。

表3 各组小鼠胃溃疡指数和血清中GAS、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab 3 Determination results of index of gastric ulcer and serum levels of GAS, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in mice of each group( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	溃疡指数	GAS,ng/mL	TNF- $\alpha$ ,ng/mL	IL-1 $\beta$ ,ng/mL
空白组		24.76 $\pm$ 1.21	79.20 $\pm$ 8.22	19.53 $\pm$ 5.16
模型组	22.57 $\pm$ 6.23	29.95 $\pm$ 1.24*	119.21 $\pm$ 12.16**	31.34 $\pm$ 6.57**
阳性组	11.98 $\pm$ 2.56**	23.41 $\pm$ 0.47**	64.87 $\pm$ 10.20**	24.85 $\pm$ 6.01*
艳山姜高剂量组	14.21 $\pm$ 5.85*	25.01 $\pm$ 1.37**	90.53 $\pm$ 9.70**	25.11 $\pm$ 6.65*
艳山姜中剂量组	15.38 $\pm$ 3.57*	26.96 $\pm$ 1.33*	102.86 $\pm$ 9.35*	28.19 $\pm$ 6.01
艳山姜低剂量组	16.16 $\pm$ 5.26	28.56 $\pm$ 1.62	113.67 $\pm$ 12.78	29.31 $\pm$ 4.35

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

Note:vs. blank group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;vs. model group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

表4 各组小鼠胃组织中PGE<sub>2</sub>、COX-2水平测定结果( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab 4 Determination results of levels of PGE<sub>2</sub> and COX-2 in gastric tissue of mice in each group( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	PGE <sub>2</sub> ,ng/g	COX-2,pg/g
空白组	4.99 $\pm$ 0.28	117.21 $\pm$ 22.18
模型组	4.35 $\pm$ 0.39*	91.87 $\pm$ 6.56**
阳性组	6.10 $\pm$ 0.28**	107.21 $\pm$ 7.79**
艳山姜高剂量组	4.92 $\pm$ 0.27*	103.37 $\pm$ 3.18**
艳山姜中剂量组	4.68 $\pm$ 0.27	99.46 $\pm$ 4.81*
艳山姜低剂量组	4.59 $\pm$ 0.37	97.73 $\pm$ 0.47

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

Note:vs. blank group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;vs. model group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

## 4 讨论

艳山姜为贵州各少数民族常用的民族药,在民间常用于治疗胃溃疡。目前,从艳山姜中分离得到的化学成分已有200多种,包括挥发油类、黄酮类、甾体类以及有机酸类等<sup>[15]</sup>。挥发油类化合物是艳山姜中报道最多的一类化学成分,近期研究发现,艳山姜挥发油类中以有机酸类、碳烯类及醇类化合物为主要成分<sup>[16]</sup>。除挥发油之外,艳山姜的黄酮类成分主要有芦丁、槲皮素和山柰酚等,这些成分具有降血压、利尿和抗溃疡的活性<sup>[6]</sup>。有研究者从艳山姜中分离出二氢-5,6-脱氢香豆素、5,6-脱氢卡因、二氢-5,6-去氢醉椒素、5,6-去氢醉椒素等化合物,并发现这些化合物具有抗溃疡的作用<sup>[17-18]</sup>。此外,山柰酚也具有明显的抗溃疡作用,其机制可能与影响白三烯C4和PGE的水平有关<sup>[19]</sup>。

胃溃疡主要是指胃黏膜因胃消化液自身消化等因素造成的超过黏膜肌层的组织损伤。当胃黏膜的黏液-黏膜屏障受到破坏后,会造成上皮细胞受损并引发黏膜

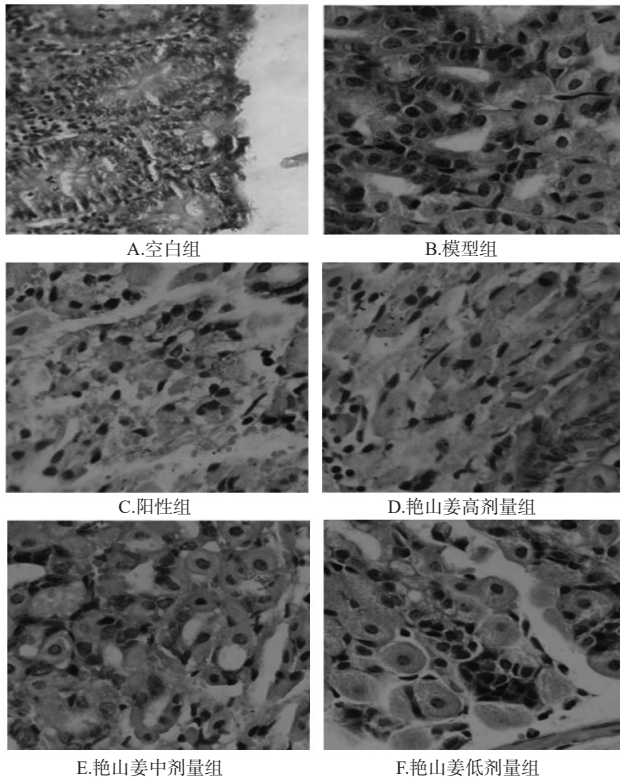


图2 各组小鼠胃组织病理学显微图(HE染色,×400)  
 Fig 2 Histopathological micrographs of gastric tissue of mice in each group (HE staining, ×400)

炎症,进而可逐渐发展为溃疡<sup>[20]</sup>。现代人在饮食、饮酒、吸烟等方面的不良习惯会对胃黏膜及其屏障造成物理性或化学性损害,进而破坏黏膜屏障,引发胃溃疡,故本研究选取无水乙醇建立模型以模拟饮酒等刺激诱导的胃溃疡。此外,由于现代人的工作和生活压力过大,经常服用如阿司匹林、肾上腺皮质激素等药物进行疼痛或炎症缓解,这些药物可削弱胃黏膜屏障或增加胃酸分泌从而促进溃疡发生,故本研究同时选取阿司匹林建立模型以模拟药物诱导的胃溃疡。上述两种模型所对应的发病机制也有所不同,乙醇诱导的胃溃疡会引发氧化应激反应,氧化应激损伤会破坏胃黏膜液层进而破坏胃的防御系统,还能够活化某些氧化还原敏感的转录因子从而加重机体的炎症反应<sup>[21]</sup>;而阿司匹林能够刺激免疫系统,导致促炎细胞因子如IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的释放,引起细胞内炎症反应<sup>[22]</sup>。本研究采用两种不同机制的模型,旨在多角度阐明艳山姜提取物对胃黏膜的保护作用。同时,考虑到艳山姜是一味传统中药,故本研究选择经典胃药三九胃泰颗粒作为阳性药,该药主要成分均为中药,具有清热祛湿、消炎止痛、理气除胀、养胃益肠之效,应用广泛、疗效确切,具有很好的类比性。

本研究结果显示,在两种模型下采用艳山姜提取物进行预处理后,均可有效减少小鼠胃内壁的出血点、缩小溃疡面积并降低溃疡指数;组织病理学观察结果显示,艳山姜提取物可减轻小鼠胃黏膜充血和黏膜下水

肿,不同程度地减轻胃黏膜结构破坏和腺体结构消失等现象。GAS是一种胃肠类激素,能够维持胃肠道分泌功能的正常运作,同时还可刺激胃壁细胞分泌胃酸,通常在机体发生炎症时该指标水平会呈升高趋势,进而加快胃酸分泌速度,因此其可以作为判断溃疡模型是否成功建立的一个指标<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,采用无水乙醇和阿司匹林分别刺激后,小鼠血清中GAS水平均显著升高,证明模型建立成功;而给予艳山姜提取物预处理,能有效降低血清中GAS水平。

乙醇诱导胃溃疡发生时,会引发氧化应激反应,并导致脂质衍生的自由基(如MDA)的产生,引起线粒体和溶酶体的损伤,从而加速了溃疡的形成<sup>[24]</sup>。MDA是氧化应激的标志物,其在胃组织发生损伤后会大量生成,打破氧化与抗氧化平衡体系,加剧局部氧化应激<sup>[25]</sup>。SOD是机体重要的抗氧化酶,可通过将有害的超氧化物转化分解为无害成分,从而保护胃免受氧化应激损伤<sup>[25]</sup>。疾病情况下,大量产生的NO可与氧自由基结合,使细胞脂质发生过氧化反应,从而引起炎症损伤<sup>[26]</sup>。因此,本研究在乙醇诱导模型实验中选取MDA、SOD、NO等3个指标进行检测。结果显示,艳山姜提取物预处理能升高模型小鼠SOD水平,降低MDA和NO水平。这提示该提取物可以通过促进SOD的产生,保护胃黏膜免受氧化损伤;同时通过抑制MDA和NO的产生,减少过氧化反应引发的溃疡形成。

阿司匹林能够刺激免疫系统,引起炎症反应;能够抑制COX-1,干扰PGE<sub>2</sub>的合成,减弱PGE<sub>2</sub>对胃肠黏膜的保护作用<sup>[27]</sup>。促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 是多种组织中炎症损伤和癌变发展的攻击性因素之一,可在早期免疫应答和炎症的各个阶段调节多种因子,如IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-6、IL-8、IL-12、iNOS和COX-2等<sup>[27]</sup>。IL-1 $\beta$ 是另一种诱导中性粒细胞积聚的细胞因子,可最终导致炎症介质的释放<sup>[28]</sup>。IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平与胃黏膜炎症的严重程度有关。PGE<sub>2</sub>是炎症部位COX-2的主要产物,可通过改善血流、刺激黏液和碳酸氢根的分泌并增强上皮细胞对刺激的抵抗力,从而在胃黏膜防御中起重要作用<sup>[29-30]</sup>。因此,本研究在阿司匹林诱导模型实验中选取IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、COX-2、PGE<sub>2</sub>等4个指标进行检测。结果显示,艳山姜提取物预处理能降低小鼠血清中促炎因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平,升高溃疡组织中COX-2和PGE<sub>2</sub>水平。这提示该提取物可以通过抑制IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 分泌、抑制炎症因子释放,促进溃疡愈合;同时可通过提高COX-2和PGE<sub>2</sub>水平,增强上皮细胞的抵抗能力,抵抗炎症损伤,保护受损胃黏膜。

综上所述,艳山姜提取物对无水乙醇和阿司匹林诱导的小鼠急性胃溃疡均有保护作用,其机制可能是通过抑制氧化应激和炎症反应,从而减轻无水乙醇/阿司匹林造成的胃黏膜损伤。

## 参考文献

- [1] MUSTAFA M, MENON J, MUIANDY RK, et al. Risk factors, diagnosis, and management of peptic ulcer disease[J]. *J Dental Med Sci*, 2015, 14(7): 40-46.
- [2] 张俊,付再林,宋必卫,等.天然产物治疗胃溃疡所涉信号通路研究进展[J]. *药学服务与研究*, 2017, 17(6): 405-410.
- [3] 李朝芬.奥美拉唑治疗胃溃疡的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2017, 17(41): 77.
- [4] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药材、民族药材质量标准[S].贵阳:贵州科技出版社, 2003: 290.
- [5] 王献献,刘维明.中医药治疗幽门螺杆菌感染相关胃病研究进展[J]. *云南中医中药杂志*, 2016, 37(9): 84-86.
- [6] MPALANTINOS MA, MOURA RS, PARENTE JP, et al. Biologically active flavonoids and kava pyrones from the aqueous extract of *Alpinia zerumbet*[J]. *Phytother Res*, 1998, 12(6): 442-444.
- [7] CHOMPOO J, UPADHYAY A, GIMA S, et al. Antiatherogenic properties of acetone extract of *Alpinia zerumbet* seeds[J]. *Molecules*, 2012, 17(6): 6237-6248.
- [8] CHEN JJ, LIAO HR, CHEN KS, et al. A new 2H-pyran-2-one derivative and anti-inflammatory constituents of *Alpinia zerumbet*[J]. *Chem Nat Compd*, 2017, 53(1): 40-43.
- [9] 杨红,林丹,李晨,等.艳山姜挥发油对高糖诱导大鼠视网膜 Müller 细胞 VEGF 表达的调控作用[J]. *中药材*, 2018, 41(3): 686-690.
- [10] 陶玲,沈祥春,彭佼,等.艳山姜挥发油抗炎镇痛作用的实验研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2010, 30(9): 722-724.
- [11] 林丹,石廷雨,杨红,等.艳山姜挥发油调控 NF- $\kappa$ B 信号抑制 LPS 诱导 HAECs 炎性损伤[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19): 139-144.
- [12] 魏丹丹,郭盛,宿树兰,等.黄秋葵种子油对急性胃溃疡小鼠的保护作用[J]. *中国药科大学学报*, 2017, 48(3): 334-342.
- [13] 魏娜,谭银丰,魏晴,等.高良姜不同提取部位对实验性胃溃疡的影响及作用机理研究[J]. *海南医学院学报*, 2015, 21(2): 158-160.
- [14] 徐晶晶,黄萍,吴清和,等.胃疡宁丸抗实验性胃溃疡的药效及机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(5): 736-739.
- [15] 魏晴,李玮,柴桂芳.苗族药艳山姜的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(11): 206-216.
- [16] ELZAAWELY AA, XUAN TD, KOYAMA H, et al. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burtt. & R. M. Sm[J]. *Food Chem*, 2007, 104(4): 1648-1653.
- [17] HSU SY. Effects of the constituents of *Alpinia speciosa* rhizome on experimental ulcers[J]. *Taiwan Yi Xue Hui Za Zhi*, 1987, 86(1): 58-64.
- [18] ROMAN WA JR, GOMES DB, ZANCHET B, et al. Antiproliferative effects of pinostrobin and 5, 6-dehydrokavain isolated from leaves of *Alpinia zerumbet*[J]. *Brazilian J Pharm*, 2017, 27(5): 592-598.
- [19] ZHOU D, YANG Q, TIAN T, et al. Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110075.
- [20] 董新民,罗会明.胃溃疡的发生机制[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2000, 9(3): 155-159.
- [21] LI CL, AI GX, WANG YF, et al. Oxyberberine, a novel gut microbiota-mediated metabolite of berberine, possesses superior anti-colitis effect: impact on intestinal epithelial barrier, gut microbiota profile and TLR4-MyD88-NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Pharm Res*, 2019. DOI: 10.1016/j.phrs.2019.104603.
- [22] YOSHIHIKO S, ATSUSHI N, OSAMU I, et al. Sodium absorption stimulator prostasin (PRSS8) has an anti-inflammatory effect via downregulation of TLR4 signaling in inflammatory bowel disease[J]. *J Gastro*, 2020. DOI: 10.1007/s00535-019-01660-z.
- [23] 金佳熹,周冰玉,李柳蓉,等.新鲜山药提取物对小鼠胃溃疡的预防作用研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(3): 8-13.
- [24] 尹斌,刘真,张亚洁,等. miRNA-146a 对过氧化氢所致人胃腺癌细胞株 AGS 氧化应激损伤的影响[J/CD]. *中华损伤与修复杂志: 电子版*, 2015, 11(6): 416-421.
- [25] JEONG D, YI YS, SUNG GH, et al. Anti-inflammatory activities and mechanisms of *Artemisia asiatica* ethanol extract[J]. *J Ethnopharm*, 2014, 152(3): 487-496.
- [26] LUO XJ, LIU B, DAI Z, et al. Expression of apoptosis-associated microRNAs in ethanol induced acute gastric mucosal injury via JNK pathway[J]. *Alcohol*, 2013, 47(6): 481-493.
- [27] LUO JC, PENG YL, CHEN TS, et al. Clopidogrel inhibits angiogenesis of gastric ulcer healing via downregulation of vascular endothelial growth factor receptor 2[J]. *J Formos Med Assoc*, 2016, 115(9): 764-772.
- [28] CHANG XY, LUO F, JIANG WJ, et al. Protective activity of salidroside against ethanol-induced gastric ulcer via the MAPK/NF- $\kappa$ B pathway in vivo and in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 604-615.
- [29] CHAKRABORTYA S, YADAVA SK, SAHAA B, et al. A bis-resorcinol resveratrol congener prevents indomethacin-induced gastric ulceration by inhibiting TNF- $\alpha$  as well as NF- $\kappa$ B and JNK pathways[J]. *Free Radical Res*, 2019, 53(6): 596-610.
- [30] WANG Y, WANG S, BAO YR, et al. Multipathway integrated adjustment mechanism of *Glycyrrhiza* triterpenes curing gastric ulcer in rats[J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(50): 209-215.

(收稿日期:2020-02-19 修回日期:2020-08-02)  
(编辑:段思怡)