

## 三氟拉嗪抗大鼠胃溃疡的作用及机制

李 阳、雍定国、耿宝琴、顾刚果 (浙江医科大学药理教研室, 杭州 310006, 中国)

**Antilucer action and mechanism of trifluoperazine in rat stomach**

LI Yang, YONG Ding-Guo, GENG Bao-Qin, GU Gang-Guo

(Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006, China)

**ABSTRACT** Trifluoperazine (TFP) 5, 10, 20 mg · kg<sup>-1</sup> ig inhibited the formation of gastric ulcers induced by pyloric ligation, stress and indomethacin in rats and showed dose-effect dependence. TFP 10, 20 mg · kg<sup>-1</sup> ig depressed the secretion of gastric juice, acid, and pepsin, but TFP 5, 10, 20 mg · kg<sup>-1</sup> ig had no influence on the pepsin activity. TFP 20 mg · kg<sup>-1</sup> ig inhibited the gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity of both stress and indomethacin ulcers in rats *in vivo*, and the gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity was also inhibited by TFP 50 μmol · L<sup>-1</sup> *in vitro*. The results suggested that the inhibition of gastric H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and gastric secretion might be related to the antiulcer mechanism of TFP.

**KEY WORDS** trifluoperazine; stomach ulcer; gastric juice; gastric acid; pepsin; adenosine triphosphatase

**摘要** 三氟拉嗪 5, 10, 20 mg · kg<sup>-1</sup> ig 能抑制大鼠幽门结扎、应激性和吲哚美辛胃溃疡的形成, 明显减少胃液、胃酸和胃蛋白酶的分泌, 并直接抑制胃粘膜 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶的活性。因此, 其抗溃疡作用与抑制胃 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶, 减少胃酸和胃蛋白酶的分泌有关

**关键词** 三氟拉嗪; 胃溃疡; 胃液; 胃酸; 胃蛋白酶; 腺苷三磷酸酶

近年来已认识到胃壁细胞上的 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶是胃酸分泌的最后环节, 抑制该酶活性, 减少胃酸分泌, 对于抗消化性溃疡有重要意义<sup>(1-4)</sup>。据报道三氟拉嗪 (trifluo-

perazine, TFP) 可以抑制离体蛙胃粘膜 H<sup>+</sup> 的分泌<sup>(5)</sup>, 也有抑制离体胃 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶的作用<sup>(6)</sup>, 另外在研究镇静剂对应激性溃疡的保护作用时发现, TFP 可以抑制应激性溃疡的发生<sup>(7)</sup>, 但这三者之间的关系目前研究很少。本文观察了 TFP 对大鼠多种胃溃疡模型的作用, 并研究了其对胃液、胃酸分泌, 胃蛋白酶分泌和活力及对胃粘膜 H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的影响, 进一步探讨其抗溃疡的作用和机制。

### MATERIALS AND METHODS

TFP 粉剂与片剂(上海黄河药厂), 粉剂溶于无水乙醇中, 浓度 5.0 mmol · L<sup>-1</sup> (离体实验), 片剂研成粉末, 用 1% 羧甲基纤维素 (CMC) 分别配制成浓度为 0.25%, 0.5%, 1.0% 的悬液 (整体实验); 奥美拉唑 (omeprazole) (瑞典 AB Hässle 胃肠道研究室 Larsson 教授提供), 溶于无水乙醇中, 浓度 1.0 mmol · L<sup>-1</sup> (离体实验); 吲哚美辛 (indomethacin) 片剂(浙江宁波制药厂) 研成粉末, 用 1% CMC 配制成 1.5% 的悬液。

Wistar 大鼠, ♀、♂ 不拘, 共 179 只, 体重 224 ± SD 50 g, 由本校动物房繁殖。

**TFP 对大鼠实验性胃溃疡的作用** 将胃溃疡大鼠随机分为治疗组和对照组, 治疗组每日 8:00 及 15:00 分别 ig TFP 5, 10, 20 mg · kg<sup>-1</sup>, 对照组 ig 同容量的 1% CMC, 共 7 次。幽门结扎胃溃疡于第 1 次 ig 后禁食, 共 72 h, 并于第 7 次 ig 后 5 h 结扎幽门, 术后 18 h 处死大鼠; 应激性胃溃疡于第 4 次 ig 后禁食, 共 36 h, 并于第 7 次 ig 后 1 h 给大鼠应激, 应激后 6 h 处死大鼠; 吲哚美辛胃溃疡于第 4 次 ig 后禁食 36 h, 并于第 7 次 ig 同时 sc 吲哚美辛 30 mg · kg<sup>-1</sup> 1 次, 5 h 后处死大鼠。

Received 1989 Dec 21

Accepted 1991 Mar 29

1 大鼠实验性胃溃疡 以乙醚麻醉行幽门结扎术制备幽门结扎胃溃疡和以吲哚美辛皮下注射法制备吲哚美辛胃溃疡<sup>(8)</sup>；以束缚水浸应激法制备应激性胃溃疡<sup>(9)</sup>。

2 观察大鼠胃溃疡数目的方法 实验结束时处死大鼠，取出胃，将1%福尔马林液10 ml注入胃腔内，再将胃浸入1%福尔马林液内固定10 min后，沿胃大弯剖开，洗去胃内容物，将胃粘膜朝上平铺于白色底板上，检数胃粘膜溃疡数，比较治疗组与对照组之胃溃疡数，并计算TFP对胃溃疡的抑制率。抑制率=(对照组胃溃疡数-治疗组胃溃疡数)/对照组胃溃疡数×100%。

胃液、胃酸、胃蛋白酶分泌率及胃蛋白酶活力的测定 以幽门结扎法收集胃液，测定5 h内胃液总量，换算成胃液分泌率，以 $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示；以 $\text{NaOH } 0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 滴定法测定胃酸浓度，并根据胃液分泌率计算胃酸分泌率，以 $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示；以酪蛋白法测定胃蛋白酶活力，以酪氨酸 $\mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}$ 表示，并以胃蛋白酶活力和胃液分泌率计算胃蛋白酶分泌率，以酪氨酸 $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示<sup>(10)</sup>。

TFP对溃疡大鼠在体 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶活性作用的测定<sup>(11,12)</sup> 选用应激性胃溃疡和吲哚美辛胃溃疡，分TFP $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 治疗组和1%CMC对照组，每组大鼠均为8只。取ig 7次后的应激性和吲哚美辛胃溃疡大鼠的胃粘膜，置于冰冷的蔗糖 $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ -Tris-HCl $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 7.4)缓冲液中，制备匀浆后作高速离心( $20\,000 \times g$ , 30 min, 4℃)和超速离心( $100\,000 \times g$ , 60 min, 4℃)，取沉淀用上述缓冲液悬浮后即分离提取的 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶制品。取酶制品1 ml(约含酶蛋白量30-50  $\mu\text{g}$ )分别加入无KCl和含KCl的酶底物液1 ml(无KCl底物液为基底酶底物液，含有Tris-HCl $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 7.4,  $\text{MgCl}_2$   $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , ATP 2

$\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ；含KCl底物液为总酶底物液，是在上述底物液中加入KCl $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )，于37℃温育10 min，加入15%三氯醋酸1 ml终止反应，然后测定酶水解ATP后释放的无机磷( $\text{P}_i$ )量。 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶活性为含KCl $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 底物液中的 $\text{P}_i$ 量减去无KCl底物液中的 $\text{P}_i$ 量，并换算成酶的活性单位 $[\mu\text{mol } \text{P}_i \cdot (\text{mg protein})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}]$ 。在此，ig 1% CMC对照组的 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶活性亦代表胃溃疡情况下酶的活性。

TFP对离体 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶活性作用的测定<sup>(13)</sup> 大鼠22只，♀♂兼用，体重 $236 \pm 36 \text{ g}$ 。处死大鼠，分离提取出 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶后，取酶制品100  $\mu\text{l}$ (酶蛋白量30-50  $\mu\text{g}$ )，加入TFP $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  10  $\mu\text{l}$ ，Pipes-Tris $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 6.1)缓冲液890  $\mu\text{l}$ ，(总容量1 ml，最后乙醇浓度小于1%，对酶活性无影响，TFP浓度为 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )，于37℃温育30 min后测定 $\text{H}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP酶活性(酶活性测定方法同前)，以奥美拉唑 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  10  $\mu\text{l}$ )作为阳性对照。比较TFP、奥美拉唑和对照组(正常组，无水乙醇10  $\mu\text{l}$ )之间酶活性的差异。在此，对照组酶活性亦代表无溃疡时的酶活性。

统计分析 按*t*和*t'*检验比较给药组与对照组结果的差异。

## RESULTS

TFP对大鼠实验性胃溃疡的影响 TFP 5, 10, 20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig明显抑制幽门结扎、应激性和吲哚美辛胃溃疡的形成，除吲哚美辛胃溃疡组外，其余呈剂量效应依赖关系(Tab 1)。

对胃液、胃酸、胃蛋白酶分泌率及胃蛋白酶活力的影响 TFP 10, 20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig组能明显减少幽门结扎5 h后大鼠胃液、胃酸和胃蛋白酶的分泌，但三个剂量组对胃蛋白酶活力均无抑制作用(Tab 1)。

Tab 1. Effects of ig trifluoperazine (TFP) on experimental ulcers, gastric juice, acid, pepsin output, pepsin activity in rats.  $n=7$ .  $\bar{x} \pm SD$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs  $0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

	Doses of TFP, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$			
	0	5	10	20
Number of gastric ulcers				
Pyloric ligation	70 ± 36	36 ± 22*	26 ± 15***	9 ± 7***
Stress	37 ± 4	22 ± 3***	15 ± 2***	6 ± 3***
Indomethacin	31 ± 14	15 ± 11**	5 ± 2***	6 ± 3***
Gastric juice output, $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1}$	0.84 ± 0.27	0.67 ± 0.29*	0.33 ± 0.17***	0.40 ± 0.11***
Acid output, $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1}$	0.48 ± 0.36	0.39 ± 0.35*	0.13 ± 0.07**	0.12 ± 0.04**
Pepsin output, $\mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1}$	27 ± 11	22 ± 8*	11 ± 5***	12 ± 5*
Pepsin activity, $\mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}$	30 ± 5	27 ± 4*	33 ± 4*	30 ± 12*

对大鼠在体胃粘膜  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响 TFP  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig 能明显抑制应激性和吲哚美辛胃溃疡大鼠在体胃粘膜  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性(Tab 2). 同时也发现这两种溃疡大鼠的  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性增高, 和正常大鼠比较, 差异有显著意义; 而用了 TFP 后酶活性降低, 和正常大鼠比较, 应激性胃溃疡组差异无显著意义, 而吲哚美辛胃溃疡组比正常组更低(Tab 2).

Tab 2. Effect of ig TFP on the gastric  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity of stress and indomethacin ulcer in rats *in vivo*.  $n=8$ . Normal control  $n=22$ .  $\bar{x} \pm SD$ . \*\*\* $P < 0.01$  vs  $0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs normal control.

	TFP, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Gastric $\text{H}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase activity, $\mu\text{mol P}_i \cdot (\text{mg protein})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
Normal control		13.5 ± 3.4
Ulcer induced by		
Stress	0	25.8 ± 6.4***
	20	15.5 ± 5.4***
Indomethacin	0	19.1 ± 4.4**
	20	10.3 ± 3.3***

对大鼠离体胃粘膜  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响 TFP  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  及奥美拉唑  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  对大鼠离体胃粘膜  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性均有明显抑制作用. 对照组(正常组)酶

活性为  $13.5 \pm 3.4 \mu\text{mol P}_i \cdot (\text{mg protein})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 而 TFP 组和奥美拉唑组分别为  $9.5 \pm 3.4$  和  $5.6 \pm 2.8 \mu\text{mol P}_i \cdot (\text{mg protein})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 与对照组比较, 差异都显著(两者  $P$  均  $< 0.01$ ).

### DISCUSSION

TFP 系哌嗪类抗精神病药, 但本实验结果表明, 它还有较强的抗多种实验性大鼠胃溃疡的作用, 并呈剂量效应依赖关系. 本研究所用的胃溃疡模型, 其发生机制虽然与多种因素有关, 但胃酸过多及  $\text{H}^+$  返流损伤胃壁是一个重要的因素<sup>(8,9)</sup>. 在本实验中, TFP  $10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  具有抑制大鼠胃液、胃酸和胃蛋白酶分泌的作用, 文献<sup>(5)</sup>也曾报道 TFP 可以抑制离体蛙胃粘膜  $\text{H}^+$  的分泌. 但 TFP  $5, 10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  对胃蛋白酶活力无影响, 由此看来 TFP 的抗溃疡作用可能主要是通过抑制胃分泌、减少胃酸和胃蛋白酶对胃粘膜的自身损伤作用而实现的. 由于 TFP  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  虽不影响胃分泌, 但对三种胃溃疡模型仍显示抗溃疡作用, 揭示其可能还有其它抗溃疡机制, 需进一步探讨.

TFP 对应激性胃溃疡和吲哚美辛胃溃疡大鼠在体胃  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性具有抑制作用, 而且对大鼠离体胃  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性亦有直接抑制作用. 前一结果尚未见文献报

道, 后一结果与文献结果<sup>(6)</sup>相符. 目前认为胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶是胃酸分泌的最后环节<sup>(4)</sup>. 因此根据本实验结果, TFP 的抗胃分泌作用可能主要是由抑制胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶所致. 实验还发现, 应激性胃溃疡和吡噪美辛胃溃疡大鼠的胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶活性明显高于正常大鼠, 而 TFP 抗溃疡组的酶活性与正常组接近, 这提示胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶与溃疡的发生和抗溃疡有内在联系. 由于目前尚未有明确可增强该酶活性的药物, 因此有关该酶活性增高和溃疡形成增多的关系还需进一步研究.

有关 TFP 抑制胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶的机制, 目前还不十分清楚. 文献<sup>(6)</sup>报道它在胃壁细胞中被质子化后和  $K^+$  竞争与  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶结合, 阻断  $K^+$  对酶的激活而抑制酶的活性.

综上所述, TFP 主要是通过抑制胃  $H^+$ ,  $K^+$ -ATP 酶, 减少胃分泌而起抗溃疡作用的.

REFERENCES

1 Saccomani G, Chang HH, Mihas AA, Crago S, Sachs G. An acid transporting enzyme in human gastric mucosa. *J Clin Invest* 1979; 64: 627  
 2 Wallmark B, Larsson H, Humble L. The relationship between gastric acid secretion and gastric  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase activity. *J Biol Chem* 1985; 260: 13681  
 3 Malinowska DH, Sachs G. Cellular mechanisms of acid secretion. *Clin Gastroenterol* 1984; 13: 309  
 4 Sachs G. The parietal cell as a therapeutic target. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21 (Suppl 118): 1

5 Raphael N, Ekbad EBM, Machen TE. Reversible effects of phenothiazines on frog gastric stimulation. *Am J Physiol* 1984; 247: G366  
 6 Im WB, Blakeman DP, Mendlein J, Sachs G. Inhibition of  $(H^+K^+)$ -ATPase and  $H^+$  accumulation in hog gastric membranes by trifluoperazine, verapamil and 8-(N,N-diethylamino)octyl-3,4,5-trimethoxybenzoate. *Biochim Biophys Acta* 1984; 770: 65  
 7 Gupta MB, Nath R, Gupta GP, Bhargava KP. A study of the anti-ulcer activity of diazepam and other tranqilloscdatives in albino rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1985; 12: 61  
 8 Geng BQ, Yong DG. The effect of Hericum Erinaccus on experimental gastric ulcer in rats. *J Zhejiang Med Univ* 1982; 11: 171  
 9 Yong DG, Geng BQ, Gu GG. Antiulcer activity of the decoction of root of aralia chinensis L. *J Zhejiang Med University* 1984; 13: 26  
 10 Zheng W, Yong DG, Geng BQ, Gu GG. Antiulcer effects of pirenzepine in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9: 442  
 11 Saccomani G, Stewart HB, Shaw D, Lewin M, Sachs G. Characterization of gastric mucosal membranes. IX. Fractionation and purification of  $K^+$ -ATPase-containing vesicles by zonal centrifugation and free-flow electrophoresis technique. *Biochim Biophys Acta* 1977; 465: 311  
 12 Sachs G, Chang HH, Rabon E, Schackman R, Lewin M, Saccomani G. A nonelectrogenic  $H^+$  pump in plasma membranes of hog stomach. *J Biol Chem* 1976; 251: 7690  
 13 Wallmark B, Jaresten BM, Larsson H, Ryberg B, Brandstrom A, Fellenius E. Differentiation among inhibitory actions of omeprazole, cimetidine, and  $SCN^-$  on gastric acid secretion. *Am J Physiol* 1983; 245: G64

~~~~~

First World Congress on Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare

1992 Jul 19-24 Maastricht, Netherlands

Please contact Wageningen Academic Press, Englaan 1, 6703 ET Wageningen, Netherlands.  
 Phone: (31) 8370-21747. Fax: (31) 8370-21586.