

响，并未发现有兴奋作用(资料未发表)，表明烟碱对心肌电活动的作用与洛贝林不同。

#### REFERENCES

- 1 Wang QS, Yin JX, Liu TF. Effects of nicotine on action potentials of guinea pig and rabbit papillary muscles. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11: 143.
- 2 Bassett AL, Gelband H. Nicotine and the action potential of cat ventricle. *J Pharmacol Exp Ther* 1974; 188: 157.
- 3 Yan GX, Tang SB, Zhang HY. Influence of cholinergic N<sub>1</sub>-receptor agonist lobeline on electrical and mechanical responses in guinea pig papillary muscle. *Acta Physiol Sin* 1986; 38: 604.
- 4 Westfall TC, Brasted M. The mechanism of action of nicotine on adrenergic neurons in the perfused guinea-pig heart. *J Pharmacol Exp Ther* 1972; 182: 409.
- 5 Koley J, Saha JK, Koley B. The role of calcium channel in the effect of nicotine on contractility in isolated toad ventricle. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1987; 335: 86.

BIBLID: ISSN 0253-9756 中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Nov; 12(6): 522-525

## 山莨菪碱抗大鼠实验性胃溃疡作用

雍定国、耿宝琴、顾刚果、钟凤鸣、俞伟红 (浙江医科大学药理教研室，杭州 310006，中国)

#### Anti-ulcer effect of anisodamine in rats

YONG Ding-Guo, GENG Bao-Qing, GU Gang-Guo, ZHONG Feng-Ming, YU Wei-Hong  
(Department of Pharmacology, Zhejiang Medical University, Hangzhou 310006, China)

**ABSTRACT** Anisodamine, an analog of atropine, was isolated first in China. anisodamine 12.5, 25, 50 mg · kg<sup>-1</sup> ig protected the gastric mucosal damage induced by indomethacin, restraint, pyloric ligation or absolute ethanol in rats. Pretreatment with anisodamine 25 mg · kg<sup>-1</sup> ig bid for 3 d decreased the incidence of ulcers in all of these models. The inhibitory rates were 27.4%, 75.9%, 80% and 65.4%, respectively. The secretion and activity of pepsin, the content of hexosamine in gastric tissue, the production of malondialdehyde and activity of superoxide dismutase were not affected by anisodamine except the secretion of gastric acid. It increased output of basal bicarbonate from 0.255±0.01 to 0.285±0.01 μmol · min<sup>-1</sup> ( $P<0.05$ ) and pH of content of stomach from 4.3±0.3 to 5.1±0.5 ( $P<0.05$ ) when given by anisodamine 20 mg · kg<sup>-1</sup>.

Received 1990 Jul 5

Accepted 1991 Jun 11

ig. It is apparent that both the inhibition on gastric acid secretion and augmentation of basal bicarbonate content of stomach are related to anti-ulcer effect of anisodamine.

**KEY WORDS** anisodamine; atropine derivatives; stomach ulcer; malondialdehyde; superoxide dismutase; gastric acid; bicarbonates; pepsin

**提要** 山莨菪碱 ig 能抑制吲哚美辛、束缚水浸应激、结扎幽门、无水乙醇引起的胃粘膜损伤及胃酸分泌。增加胃 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 分泌，升高胃内容物 pH，不影响胃蛋白酶分泌，活力和胃粘膜己糖胺含量，不减少胃粘膜脂质过氧化产物(丙二醛)含量和提高胃粘膜超氧化物歧化酶活力，故其抗大鼠实验性胃溃疡作用可能与抑制胃酸分泌和增加胃 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 分泌有关。

**关键词** 山莨菪碱；阿托品衍生物；胃溃疡；丙二醛；超氧化物歧化酶；胃酸；碳酸氢盐类；胃蛋白酶

山莨菪碱(anisodamine)为中国首先自唐古特山莨菪中提得的一种生物碱，作用类似阿托品，iv 治疗胃及十二指肠溃疡病获满意疗效<sup>[1]</sup>，本文研究其对大鼠实验性胃溃疡的作用

及其作用机制。

#### MATERIALS AND METHODS

山莨菪碱，杭州第一制药厂，以生理盐水配成溶液。吲哚美辛(Ind)，北京第三制药厂，用1%羧甲基纤维素(CMC)配制成1%悬液备用。超氧化物歧化酶(SOD)，Sigma产品。二甲基亚砜(DMSO)上海硫酸厂。Luminol，Merck产品。tetraethoxypropane，TEP，Sigma产品。sodium diethyldithiocarbamate (DDC) 上海化学试剂总厂。

Wistar大鼠，雄、雌不拘，共204只，体重 $260 \pm 5$  g，由本校动物房繁殖。

**山莨菪碱对实验性胃溃疡的作用** 按Ind，R，PL，AE诱发胃溃疡的大鼠随机分为治疗组及对照组，治疗组又按ig山莨菪碱12.5，25，50 mg·kg<sup>-1</sup>分组，每日08:00和14:00给药，共5次，于第3次给药后大鼠禁食(不禁水)，对照ig生理盐水，对Ind胃溃疡大鼠，末次ig山莨菪碱后1 h再sc Ind一次，5 h后处死大鼠；R胃溃疡大鼠于末次ig山莨菪碱后1 h给大鼠应激，6 h后杀死大鼠；PL胃溃疡大鼠于末次ig山莨菪碱后2 h，行幽门结扎手术，术后18 h处死大鼠；AE损伤胃粘膜大鼠于末次ig山莨菪碱后1 h以无水乙醇1 ml ig，1 h后处死大鼠。

#### 胃溃疡的制备

1 依照文献<sup>(2)</sup>制备Ind、束缚水浸应激(R)、结扎幽门(PL)胃溃疡，用无水乙醇(AE)损伤胃粘膜<sup>(3)</sup>。

2 观察胃溃疡数目的方法 实验结束时处死大鼠，剖腹取胃，将1%福尔马林液10 ml注入胃腔内，并将胃浸入1%福尔马林液内固定，10 min后取出沿大弯剖开胃，洗去胃内容物后，将胃粘膜面朝上平铺于一白纸上，以放大镜检数胃粘膜溃疡数，比较两组之胃溃疡数，并计算山莨菪碱对胃溃疡的抑制率

(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%)。

#### 山莨菪碱对胃酸、胃蛋白酶活力的影响

1 胃酸测定 以酚酞为指示剂、NaOH 0.01 mmol·L<sup>-1</sup>滴定总酸量，计算胃酸分泌速率(胃酸分泌速率 mmol·h<sup>-1</sup>=胃总酸量/观察时间)。

2 胃蛋白酶活力测定 测定胃蛋白酶活力<sup>(4)</sup>，结果以酪氨酸 μg·min<sup>-1</sup>表示。

**山莨菪碱对Ind胃溃疡组织己糖胺含量的影响** 取Ind胃溃疡大鼠的腺胃组织，测定胃组织己糖胺含量<sup>(5)</sup>。

**山莨菪碱对结扎幽门大鼠胃液pH及HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分泌的影响** 大鼠禁食(不禁水)24 h，以戊巴比妥钠溶液30 mg·kg<sup>-1</sup> ip麻醉，结扎幽门和贲门，放置胃管，收集胃液<sup>(6)</sup>，每20 min取一次胃液标本，共观察120 min，以雷磁pH计测定胃液pH，血气分析仪测定胃液CO<sub>2</sub>分压，并计算出HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分泌量。

#### 山莨菪碱对胃粘膜丙二醛(MDA)和SOD活力的影响

1 取Ind胃溃疡大鼠腺胃粘膜测定MDA含量<sup>(7)</sup>。

2 大鼠分3组，每组6只，对照组ig生理盐水，第2组sc SOD抑制剂 DDC 1 g·kg<sup>-1</sup>，第3组ig山莨菪碱50 mg·kg<sup>-1</sup> bid，共5次，末次ig山莨菪碱后1 h再sc DDC 1 g·kg<sup>-1</sup>一次，1 h后处死大鼠，取腺胃粘膜测定SOD活力<sup>(8-11)</sup>。

**数据处理** 用t检验计算组间差异的显著性。

#### RESULTS

**山莨菪碱对大鼠实验性胃溃疡的影响** 给Ind胃溃疡、R胃溃疡、PL胃溃疡、AE损伤胃粘膜大鼠山莨菪碱ig能减少大鼠胃溃疡数，且呈剂量依赖关系，结果见Tab 1。

Tab 1. Effect of ig anisodamine  $12.5\text{--}50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  bid for 3 d on stomach ulcers in rats. Number of rats in parentheses.  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  vs normal saline (NS).

Gastric ulcer induced by	Saline	12.5	Number of ulcers and inhibitory rate (%)				%
			%	25	%	50	
Indomethacin	$8.4 \pm 2.0 (8)$	$7.4 \pm 2.3 (8)^*$	12	$6.1 \pm 3.4 (8)^*$	27.4	$2.8 \pm 2.0 (8)^{**}$	66.7
Restraint	$8.7 \pm 4.3 (7)$	—	—	$2.1 \pm 0.9 (7)^{***}$	75.9	$1.1 \pm 0.4 (7)^{***}$	87.4
Pyloric ligation	$8.0 \pm 2.2 (7)$	$2.0 \pm 1.1 (7)^{**}$	75	$1.6 \pm 0.5 (7)^{**}$	80.0	—	—
Absolute ethanol	$5.5 \pm 2.2 (8)$	$1.8 \pm 0.4 (8)^{***}$	67.3	$1.9 \pm 0.7 (8)^{***}$	64.4	$0.0 (8)^{***}$	100

山莨菪碱对胃液、胃酸及胃蛋白酶分泌的影响 山莨菪碱 ig 可减少结扎幽门大鼠的胃酸分泌，不影响胃蛋白酶活力，结果见 Tab 2.

Tab 2. Effect of ig anisodamine bid for 3 d on volume of gastric juice, secretion of gastric acid and activity of pepsin in pyloric ligated rats.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$  vs NS.

Anisodamine, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Gastric juice, $\text{ml} \cdot \text{h}^{-1}$	Gastric acid, $\text{mmol} \cdot \text{h}^{-1}$	Peptin, tyrosine, $\mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1}$
NS	$1.1 \pm 0.6$	$82 \pm 57$	$18 \pm 9$
12.5	$0.9 \pm 0.3^*$	$45 \pm 33^*$	$14 \pm 7^*$
25	$0.8 \pm 0.4^*$	$45 \pm 30^*$	$18 \pm 7^*$
50	$0.2 \pm 0.04^{**}$	$33 \pm 16^{**}$	$15 \pm 5^*$

山莨菪碱对胃组织己糖胺含量的影响 山莨菪碱 ig 在  $12.5\text{--}25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  对 Ind 胃溃疡大鼠胃组织己糖胺含量无影响，在 ig 山莨菪碱  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  后，其己糖胺含量分别为  $1.0 \pm 0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  胃组织湿重  $n = 8$  和  $0.8 \pm 0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  胃组织湿重， $n = 8$ ，与对照组( $0.9 \pm 0.2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  胃组织湿重)比无差异。

山莨菪碱对结扎幽门大鼠胃液 pH 及  $\text{HCO}_3^-$  分泌的影响 山莨菪碱 ip  $10$ ,  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  可使胃内容物 pH 升高， $\text{HCO}_3^-$  分泌增加，见 Tab 3.

山莨菪碱对胃粘膜 MDA 含量和 SOD 活力的影响 山莨菪碱  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig，不降低 Ind 胃溃疡大鼠胃粘膜 MDA 含量，对 SOD 抑制剂 DDC  $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  sc 1 h 后引起的

SOD 活力下降无对抗作用，见 Tab 4.

Tab 3. Effect of ig anisodamine  $10$ ,  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip on pH of gastric juice,  $\text{HCO}_3^-$  output of gastric in pyloric ligated rats.  $n = 12$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.05$  vs NS.

Anisodamine, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{HCO}_3^-$ , $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$	pH of gastric juice
NS	$0.26 \pm 0.01$	$4.3 \pm 0.3$
10	$0.30 \pm 0.06^*$	$4.8 \pm 0.5^*$
20	$0.29 \pm 0.01^{**}$	$5.1 \pm 0.5^{**}$

Tab 4. Effect of anisodamine  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ig on content of malondialdehyde (MDA) and activity of superoxide dismutase (SOD).  $n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control. + $P > 0.05$  vs indomethacin (Ind) or sodium diethylthiocarbamate (DDC).

Group	MDA, $\mu\text{mol/g wet wt}$	Activity of SOD, $\text{ng/g wet wt}$
Control	$3.7 \pm 1.1$	$4.1 \pm 0.9$
Ind	$3.1 \pm 1.1^*$	—
Ind+Anisodamine	$3.3 \pm 1.0^{**}$	—
DDC	—	$1.4 \pm 0.4^{***}$
DDC+Anisodamine	—	$1.8 \pm 0.8^{***}$

## DISCUSSION

由实验结果可知，山莨菪碱 ig  $12.5\text{--}50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  对 Ind, R, PL, AE 引起的大鼠胃粘膜损伤均有保护作用，且呈剂量依赖关系。

山莨菪碱 ig 可抑制 PL 胃溃疡，PL 胃溃疡的产生与胃液分泌过多有关，山莨菪碱 ig 虽不降低胃蛋白酶活力，但可减少胃酸分泌，

提高幽门结扎大鼠胃内 pH 及增加胃液中  $\text{HCO}_3^-$  含量，胃酸可激活胃蛋白酶，故胃酸与胃蛋白酶是胃粘膜损伤因子， $\text{HCO}_3^-$  与胃粘膜的粘液层形成胃粘膜屏障，是保护因子。山莨菪碱 ig 能减少胃酸分泌和增加  $\text{HCO}_3^-$  分泌<sup>(12,13)</sup>，这可能与其抗大鼠实验胃溃疡的作用有关。

应激引起胃粘膜损伤有神经及体液因子参与，乙醇引起胃粘膜损伤则与细胞保护作用受损有关，近年来已注意研究胃粘膜损伤与自由基产生的关系<sup>(9-11)</sup>，并认为应激及无水乙醇引起的胃粘膜损伤可能与自由基产生增多有关，因而 SOD 在对抗活性氧的胃粘膜损伤中起重要作用，从本结果可见山莨菪碱 ig 对 Ind 引起的胃粘膜损伤时的 MDA 含量无降低作用，对 DDC 引起的 SOD 活力下降亦无对抗作用，说明山莨菪碱的抗实验胃溃疡作用与其对胃粘膜自由基的产生和清除无关。

胃粘液层是组成胃粘膜屏障的主要成分，胃粘液为糖蛋白，而己糖胺为糖蛋白的重要组成，山莨菪碱 ig 不增加胃组织己糖胺含量，说明其抗大鼠实验胃溃疡作用不是由于增强胃粘液屏障的结果。

Ind 引起的胃粘膜损伤与抑制胃粘膜前列腺素(PG)合成有关，在 PG 合成受抑制的同时可能有白三烯(LT)合成的增加，山莨菪碱 ig 能抑制 Ind 胃粘膜损伤，是否与促进胃粘膜 PG 合成和减少 LT 产生有关，值得研究。

由上可知山莨菪碱 ig 确有抗大鼠胃溃疡作用，这可能与其减少胃酸分泌和增加胃  $\text{HCO}_3^-$  分泌有关。

#### REFERENCES

- 1 周英杰. 654-2静脉滴注治疗胃及十二指肠疾病的临床分析. 实用内科杂志 1981; 1 : 75
- 2 Yong DG, Geng BQ, Gu GG. Effects of GABA on gastric ulcers and gastric mucosal barrier in rats. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 273
- 3 Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77 : 433
- 4 Anson ML. The estimation of pepsin trypsin, papain, and cathepsin with hemoglobin. *J Gen Physiol* 1938; 22 : 79
- 5 Boas NF. Method for the determination of hexosamines in tissues. *J Biol Chem* 1953; 204 : 553
- 6 Garner A, Flemstrom G. Gastric  $\text{HCO}_3^-$  secretion in the guinea pig. *Am J Physiol* 1978; 234 : E535
- 7 Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical system. *Anal Biochem* 1966; 16 : 359
- 8 Zhao ZD, Li A, Yang ZC, Dong YL. A new method for determination of superoxide dismutase activity—alkaline dimethylsulfoxide-luminol chemiluminescence method. *Prog Biochem Biophys* 1987; (6) : 55
- 9 Szelenyi I, Brune K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Dig Dis Sci* 1988; 33 : 865
- 10 Gower JD, Ager S, Wills ED. Lipid peroxidation in the rat small intestinal mucosa. *Med Sci Res* 1988; 16 : 31
- 11 Ogino K, Oka S, Okazaki Y, Takemoto T. Gastric mucosal protection and superoxide dismutase. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10 (Suppl 1) : S129
- 12 Konturek SJ, Kwiecien N, Obtułowicz W, Thor P, Konturek JW, Popiela T, Oleksy J. Vagal cholinergic control of gastric alkaline secretion in normal subjects and duodenal ulcer patients. *Gut* 1987; 28 : 739
- 13 Forssell H, Stenquist B, Olbe L. Vagal stimulation of human gastric bicarbonate secretion. *Gastroenterology* 1985; 89 : 581