

消旋(15*R*)-15 甲基 PGE₂ 甲酯(PG₆E) 对大鼠实验性胃溃疡的保护作用

张守仁 徐瑞明 金碧燕 吴元鏊 韩 超

(中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所,北京 100050)

摘要 用实验性胃溃疡模型研究了 PG₆E 的抗溃疡作用,结果表明 PG₆E 有抗胃酸分泌作用,而对胃肠运动无明显影响;PG₆E 在剂量为 10~80 μg·kg⁻¹时,对无水乙醇型、盐酸型、消炎痛型、慢性醋酸型和幽门结扎型胃溃疡有明显保护作用,并能显著减少幽门结扎大鼠的胃液体积、胃酸分泌、胃蛋白酶活性和 DNA 含量。小鼠 po PG₆E 30~60 μg·kg⁻¹, 3 d 后粘膜氨基己糖含量显著增加。研究结果提示 PG₆E 能抑制对胃粘膜的攻击性因素,增加保护性因素的作用,可望成为一种新型抗胃溃疡药。

关键词 前列腺素; 消旋(15*R*)-15 甲基 PGE₂ 甲酯(PG₆E); 实验性胃溃疡

前列腺素(prostaglandins, 简称 PGs)是广泛存在于机体内的一类活性物质,有多种生理活性。PGs 有很强的胃粘膜保护和抑制胃酸分泌作用,其作用机制包括促进粘液合成与排泄;提高上皮细胞半衰期;加强胃粘膜屏障;刺激钠转运,激活腺苷酸环化酶及促进粘膜血流或刺激氧化物转运等^[1]。由于天然 PGs 半衰期短,胃肠道副作用强,不适宜临床应用,故临床多用其衍生物,目前,国外已经应用于临床治疗消化性溃疡病的前列腺素类药物有恩前列素(enprostil)、阿巴前列素(arbaprostil)、米索前列醇(misoprostol)等,国内尚无同类产品。

消旋(15*R*)-15 甲基 PGE₂ 甲酯(PG₆E)是 E 型 PG 类化合物,已由我所合成室合成,本文报道其对大鼠实验性胃溃疡的保护作用。

PG₆E 由本所合成室合成提供,其化学结构见图 1,用无水乙醇配成 1 mg·ml⁻¹作为原液保存于 -20℃ 冰箱中。对于非胃内给药,PG₆E 需进行预处理,方法是,取原液加入 0.1 mol HCl 生理盐水中(乙醇含量为 6.6%~10%),37℃ 水浴 10 min。

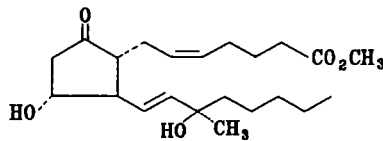


Fig 1 Chemical structure of PG₆E.

Wistar 大鼠,体重 180~250 g,♀♂均可,雄性昆明种小鼠,22~24 g,由本院动物研究所提供。

方法和结果

实验性胃溃疡模型的建立 按文献报道的方法进行^[2]

PG₆E 对大鼠无水乙醇型胃溃疡模型的作用 大鼠禁食 48 h, po PG₆E, 对照大鼠给生理盐水。0.5 h 后各组均 po 无水乙醇 1.0 ml/鼠。1.0 h 后处死动物, 取胃, 测量腺胃部溃疡长度。

结果表明大鼠 po 无水乙醇可引起大鼠胃粘膜严重损伤, 出现条状出血。预先给大鼠 po PG₆E 40 及 80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 可明显减轻无水乙醇诱导的溃疡, 结果见表 1。

Tab 1 Cytoprotective action of PG₆E (po 40, 80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) on absolute alcohol (po 1.0 ml/rat) induced gastric damage (n = 8 $\bar{x} \pm s$)

Group	Dose ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Total length of ulcer (mm)
Control	-	64.4 \pm 38.9
PG ₆ E	40	6.0 \pm 10.4**
	80	3.5 \pm 5.1**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

PG₆E 对消炎痛型胃溃疡模型的影响 禁食大鼠, po PG₆E, 对照组给予生理盐水。0.5 h 后, ip 消炎痛 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。4.5 h 后断颈椎处死动物, 取胃, 计算溃疡数。

po PG₆E 20, 40 及 60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 3 个剂量组均能显著减轻消炎痛引起的大鼠胃粘膜溃疡。以损伤数计, 在剂量 40 和 60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时与对照组相比均有显著性差异, 见表 2。

Tab 2 Effect of PG₆E given po 20, 40 or 80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ on indomethacin (ip 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) induced gastric lesion in rats ($\bar{x} \pm s$)

Treatment	Dose ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	n	No. of lesion	Inhibition (%)
Control	-	12	12.8 \pm 11.9	0
PG ₆ E	20	8	8.6 \pm 12.3	32.7
	40	8	6.1 \pm 7.2*	52.2*
	60	8	1.3 \pm 2.4*	90.3**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

PG₆E 对慢性醋酸型胃溃疡模型的影响 禁食大鼠, 在乙醚麻醉下打开腹腔, 暴露胃, 用醋酸外涂法造成大鼠慢性溃疡模型。手术完成后, 将动物随机分组。连续 9 d po PG₆E, 对照组灌胃等体积生理盐水。术后 10 d 断颈椎处死动物, 剖腹取胃, 量取溃疡面积, 用注入蓝墨水法, 计算溃疡体积。

用醋酸外涂法可造成大鼠慢性溃疡, 其形状类似人凹陷性溃疡, 术后 10 d 仍不能愈合, 连续 po PG₆E 25 及 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均能显著促进醋酸诱导的大鼠慢性溃疡的愈合。表现为溃疡面积缩小, 溃疡体积显著减少, 与对照组相比均有显著性差异。结果如表 3 所示。

Tab 3 Effect of PG₆E given once daily for 10 d (25, 50 μg·kg⁻¹ po) on acetic acid-induced chronic ulcer in rats ($\bar{x} \pm s$)

Treatment	Dose (μg·kg ⁻¹ × 9)	n	Area of ulcer (mm ²)	Volume of ulcer (μl)
Control	-	8	27.0 ± 12.7	226 ± 253
PG ₆ E	25	12	15.9 ± 5.7*	64 ± 68*
	50	12	13.3 ± 5.4**	18 ± 17**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

PG₆E 对大鼠幽门结扎型胃溃疡模型及胃液生化指标的影响 禁食大鼠, 在乙醚麻醉下, 行幽门结扎术。术时实验组经十二指肠给予 PG₆E, 对照组给生理盐水, 关闭腹腔。术后 4 h, ip 给药一次, 术后 11 h 断颈椎处死动物, 取出胃, 计算溃疡数及溃疡发生率。并收集胃液, 量取胃液体积, 用 NaOH 滴定胃酸含量, 按文献方法测胃蛋白酶活性和 DNA 含量^[3,4], 分别以 mg/stom.·h 和 mg·g⁻¹组织表示。

幽门结扎胃溃疡模型的特点是大鼠前胃部点状出血性浅表性溃疡。在给予大鼠 ip PG₆E 10 及 20 μg·kg⁻¹ × 2 剂量下, 可明显减少溃疡点, 与对照组相比, 统计有显著性差异, 结果见表 4。同时显示 PG₆E 能显著减少胃液体积、降胃蛋白酶活性和 DNA 含量, 见表 5。

Tab 4 Anti-ulcer effect of PG₆E (ip) on pylorus ligation for 11 h in rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (μg·kg ⁻¹)	n	No. of ulcer	Occurrence of erosion (%)
Control	-	10	8.3 ± 10.2	80
PG ₆ E	10 × 2	7	1.4 ± 1.8*	57
	20 × 2	8	0**	0**

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

Tab 5 Influence of PG₆E (ip) on acid secretion, DNA and peptic activity of gastric juice collected from pylorus ligated stomach of rats ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (μg·kg ⁻¹)	n	Volume of gastric juice (ml)	HCl (μmol/stom.)	DNA (mg/stom.)	Peptic activity (mg/stom.·h)
Control	-	10	10.2 ± 2.1	1.0 ± 0.2	241.6 ± 58.6	169.3 ± 35.8
PG ₆ E	10 × 2	7	5.2 ± 2.3*	0.5 ± 0.3*	158.0 ± 60.9*	92.7 ± 41.6*
	20 × 2	8	2.1 ± 1.2**	0.2 ± 0.2*	114.0 ± 15.3*	43.7 ± 22.8*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control.

PG₆E 对小鼠胃粘膜氨基己糖含量的影响 小鼠 po PG₆E 30, 60 μg·kg⁻¹, qd × 3。末次给药后 1 h 杀死小鼠, 取出胃, 用蒸馏水将胃打成匀浆, 按 Blix G 的改良法测定氨基己糖含量^[5], 结果以 mg·g⁻¹组织表示。

正常小鼠胃粘膜氨基己糖含量为 89.3 ± 10.2 mg·g⁻¹ ($\bar{x} \pm s$, n = 9), PG₆E 30 或 60 μg·kg⁻¹ 组的小鼠胃粘膜氨基己糖含量明显增多, 分别为 130.8 ± 23.4 mg·g⁻¹ 和 114.8 ± 17.8 mg·g⁻¹ (n = 8), 与对照组相比有显著性差异。

PG₆E 对大鼠胃排空的影响 按 Scarpignato C 报道方法进行胃排空试验^[6]。大鼠禁食 24 h, po PG₆E 0.5 h 后, 给含酚红的食物, 30, 45 min 后分别杀死动物, 取出胃。用剪刀把胃剪碎, 加入

0.1 mol HCl, 振荡, 离心, 取上清液 560 nm 比色, 测定酚红含量。以给酚红食物后, 立即杀死作为标准(100% 酚红在胃中), 计算给药后各组大鼠胃内酚红相对含量。

结果表明, 大鼠 po PG₆E 40 μg·kg⁻¹ 时, 对给酚红食物后 30 和 45 min 组的大鼠胃排空无显著影响。

PG₆E 对小鼠胃肠运动的影响 小鼠禁食 4 h 后, po PG₆E。30 min 后再 po 10% 活性炭(悬于 8% 淀粉糊中)0.25 ml/鼠。15 min 后杀死小鼠, 取出全部胃肠, 测定活性炭在肠道中的位置, 以活性炭位置与胃肠道长度之比作为指标, 计算活性炭在肠道中相对位置。

结果显示, po PG₆E 40 及 80 μg·kg⁻¹, 对小鼠胃肠运动未见明显影响。而阳性对照药阿托品 5 mg·kg⁻¹ po, 可明显减慢胃肠运动(见表 6)。

Tab 6 Influence of PG₆E (po) on gastrointestinal tract movement in mice (relative location of activated charcoal)

Group	Dose (μg·kg ⁻¹)	n	Relative location (%)
Control	-	9	58.8 ± 12.5
PG ₆ E	40	8	55.1 ± 9.9
	80	8	54.4 ± 16.8
Atropine	5000	8	38.9 ± 19.0*

$\bar{x} \pm s$, * $P < 0.01$ vs control.

讨 论

本研究表明, PG₆E 对无水乙醇型、盐酸型、消炎痛型和幽门结扎型溃疡模型均有明显的保护作用, 对大鼠慢性醋酸型溃疡模型有促进愈合作用。PG₆E 可显著减少幽门结扎大鼠的胃液体积、胃酸分泌、胃蛋白酶活性和 DNA 含量。小鼠灌胃可使胃粘膜氨基己糖含量显著增加。

胃溃疡的发病机理一般认为是攻击因子(胃酸、胃蛋白酶等)和保护因子(粘液、PG 等)的作用不平衡所致。研究证明 PG₆E 抗溃疡机制是通过降低攻击因子(胃酸、胃蛋白酶等)和增加保护因子(氨基己糖)两个因素起作用的。

PG 类治疗消化性溃疡药物的副作用小, 耐受性好。副作用以胃肠道系统反应为主, 腹泻最为常见, 有些病人因此而停药。PG₆E 对胃肠道运动影响研究表明, PG₆E 对胃肠道运动未见明显影响, 可见 PG₆E 胃肠副作用小。

PG₆E 属 PGE₂ 类, 其结构为 S 型。除灌胃给药外, 其它给药途径均需将 PG₆E 在酸性条件下处理, 使之转化为有效的 R 构型后给药^[7]。

PGs 有多种生理活性, 研究证明 E 型 PG 除胃粘膜保护作用外, 也有保护肝细胞、阻止肝细胞坏死、抑制肝纤维化等效应, 已开始用于临床并取得较肯定的疗效^[8]。PG₆E 同属 E 型 PG, 其对肝细胞的保护作用有待进一步研究。

目前, 国外已经应用于临床治疗的消化性溃疡药物有恩前列素、阿巴前列素、米索前列醇等。国内尚无 PG 类治疗消化性溃疡药物研制和生产。PG₆E 的研制有望为国内消化性溃疡治疗增加一新的药物。

参 考 文 献

- 1 Robert A. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology*, 1979, **77**:761
- 2 张守仁, 邵金莺, 於毓文. 呋喃唑酮和一些常用抗溃疡药对四种大鼠胃溃疡模型的影响. *药学报*, 1984, **19**:5
- 3 Prino G, Palialunga S, Nardi G. Inhibition of experimentally-induced gastric ulcer in the rat by a new sulfated glycopeptide. *Eur J Pharmacol*, 1971, **15**:119
- 4 Burton K. A study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem J*, 1956, **62**:315
- 5 Blix G. The determination of hexosamines according to Elser and Morgan. *Acta Chem Scand*, 1948, **2**:466
- 6 Scarpignato C, Capovilla T, Bertacconi G. Action of caerulein on gastric emptying of the conscious rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1980, **246**:286
- 7 Robert A, Yankee EW. Gastric antisecretory effect of 15(*R*)-15-methyl PGE₂, methyl ester and of 15(*S*)-15-methyl PGE₂, methyl ester(38707). *Proc Soc Exp Biol Med*, 1975, **148**:1155
- 8 张成平. 前列腺素 E 的生物学效应及在肝脏病理生理作用. 国外医学消化系统疾病分册, 1995, **15**:88

PROTECTION OF *dl*-(15*R*)-15 METHYL-PGE₂ METHYL ESTER (PG₆E) ON EXPERIMENTAL ULCERS IN RATS

SR Zhang, RM Xu, BY Jin, YL Wu and C Han

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences
and Peking Union Medical College, Beijing 100050*)

ABSTRACT The effects of *dl*-(15*R*)-15 methyl-PGE₂ methyl ester (PG₆E), in experimental ulcers induced by absolute alcohol, HCl, indomethacin, pyloric ligation and chronic acetic acid in rats were studied. PG₆E at doses 10~80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ was shown to have significant protective effect. PG₆E (30~60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) was also found to reduce markedly the acid secretion, pepsin activity, DNA content of the juice collected from pylorus ligated stomach of rats and increase markedly the content of gastric mucosa hexosamine in mice given PG₆E (30~60 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ po for 3 d). At doses of 40~80 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG₆E was able to have no significant effect on gastric emptying time in rats and gastrointestinal tract movement in mice. It appears that PG₆E was shown to inhibit the aggressive factors and increase the protective factors of gastric mucosa. This may hopefully become a new antiulcer agent.

Key words Prostaglandin; *dl*-(15*R*)-15 methyl-PGE₂ methyl ester; Experimental gastric ulcer