

胶饴对甘草炭纳米类成分抗胃溃疡的协同增效作用

王淑贤¹, 吴佳姝¹, 邹 鹏¹, 邢洪霞², 李梦含¹, 程国良¹, 张 越³, 赵 琰^{1*}, 孔 慧^{1*}

1. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029

2. 曲阜市中医院, 山东 曲阜 273100

3. 北京中医药大学生命科学院, 北京 100029

摘要: **目的** 探讨胶饴对甘草炭纳米类成分 (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Carbonisata* nano-components, GRRC-NCs) 抗胃溃疡的协同增效作用。**方法** 利用马弗炉高温煅烧法制备甘草炭, 加水提取后利用透析法纯化, 制备 GRRC-NCs 溶液; 将煮熟大黄米、大麦蘖末混合、糖化、熬煮, 制备胶饴。利用扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM)、紫外-可见分光光谱 (ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)、荧光光谱 (fluorescence spectrum, FL)、X 射线光电子能谱 (X ray photoelectron spectroscopy, XPS)、傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、X 射线衍射 (X ray diffraction, XRD) 技术对胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物进行表征。构建大鼠胃溃疡模型, 通过比较各组大鼠胃溃疡程度、病理学变化、血清中白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 和胃组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-1 β 、大鼠前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH) 的水平, 评价胶饴对 GRRC-NCs 抗胃溃疡的协同增效作用。**结果** 通过初步表征推测出, 胶饴与 GRRC-NCs 混合后引起了物质结构的变化, 其中胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物的结构状态更为稳定。动物实验结果显示, 与胶饴和 GRRC-NCs 单用相比, 胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合溶液能有效减轻胃组织损伤, 显著降低 IL-1 β 、TNF- α 水平 ($P<0.05$), 明显升高 IL-10、PGE₂ 水平 ($P<0.05$); 与模型组比较, 胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合溶液能显著升高 SOD、GSH、CAT 水平 ($P<0.001$), 大幅下调 MDA 水平 ($P<0.001$)。**结论** 胶饴对 GRRC-NCs 抗胃溃疡有协同增效作用, 在胶饴与 GRRC-NCs 1:2 时抗胃溃疡的药效最好, 为小建中汤中胶饴与炙甘草的配伍比例提供了实验依据。

关键词: 胶饴; 炙甘草; 甘草炭纳米类成分; 胃溃疡; 协同增效

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)24-8479-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.016

Synergistic effect of Jiaoyi on *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Carbonisata* nano-components against gastric ulcer

WANG Shuxian¹, WU Jiashu¹, ZOU Peng¹, XING Hongxia², LI Menghan¹, CHENG Guoliang¹, ZHANG Yue³, ZHAO Yan¹, KONG Hui¹

1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. Qufu City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qufu 273100, China

3. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the synergistic effect of Jiaoyi (胶饴, JY) on Gancaotan (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Carbonisata* nano-components, GRRC-NCs) against gastric ulcer. **Methods** The GRRC-NCs solution is prepared by high temperature calcination in Muffle furnace, extracted with water and purified by dialysis. The cooked rhubarb rice and barley tiller are mixed, saccharated and boiled to prepare Jiaoyi. Scanning electron microscope (SEM), ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis), fluorescence

收稿日期: 2024-07-09

基金项目: 国家中医药管理局岐黄学者支持项目 (90020172120064); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2024-JYB-JBZD-040, 2024-JYB-JBZD-045)

作者简介: 王淑贤, 女, 硕士研究生, 研究方向为经方的现代应用。E-mail: zywsx0803@163.com

***通信作者:** 孔 慧 (1976—), 女, 硕士生导师, 副研究员, 研究方向为中药炭药物质基础研究。E-mail: doris7629@126.com

赵 琰 (1973—), 女, 博士生导师, 教授, 研究方向为经典方药现代应用的基础研究。E-mail: zhaoyandr@bucm.edu.cn

spectrum (FL), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), Fourier transform infrared (FTIR), X-ray diffraction (XRD) were used to characterize Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixtures in different proportions. The gastric ulcer model of rats was used to compare degree of gastric ulcer, pathological changes, levels of interleukin-10 (IL-10) in the serum, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and prostaglandin E₂ (PGE₂), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), reduced glutathione (GSH) in gastric tissue to evaluate the synergistic effect of Jiaoyi on GRRC-NCs against gastric ulcer. **Results** It was inferred from the preliminary characterization that the mixing of Jiaoyi and GRRC-NCs caused material structural changes, and the structural state of the mixture of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 was more stable. The results of animal experiments showed that compared with Jiaoyi and GRRC-NCs alone, Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 mixed solution could effectively reduce gastric tissue damage, significantly reduce the levels of IL-1 β and TNF- α ($P < 0.05$), and significantly increase the levels of IL-10 and PGE₂ ($P < 0.05$). Compared with the model group, the mixed solution of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 significantly increased the levels of SOD, GSH and CAT ($P < 0.001$), and significantly decreased the levels of MDA ($P < 0.001$). **Conclusion** Jiaoyi has a synergistic effect on the anti-ulcer effect of GRRC-NCs, and the anti-ulcer effect is the best when Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2, which provides a certain experimental basis for revealing the compatibility significance of Jiaoyi and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melles* in Xiaojianzhong Decoction.

Key words: Jiaoyi; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Carbonisata* nano-components; gastric ulcer; synergistic effect

胃溃疡是指胃黏膜损伤剥落,甚至损伤延伸至黏膜下层或固有肌层的 1 种炎性坏死性病变,其典型症状表现为周期性上腹部疼痛,常伴有反酸、嗝气等症状,可引发胃出血、胃穿孔、幽门梗阻、癌变等症状,危及生命健康^[1]。胃溃疡在中医学中隶属于“胃痛”范畴,其病在胃脘,与肝、脾密切相关。临床中常用小建中汤治疗胃溃疡,有调肝理脾止痛、平和阴阳气血之功效^[2]。

小建中汤原方中应用了炙甘草,需明确的是,“炙甘草”并非蜜制甘草,而是经过烘烤加热后^[3],去除一定水分并产生少量焦化的甘草^[4]。本课题组通过前期文献研究^[5]发现,炙甘草含有的甘草炭纳米类成分(*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Carbonisata* nano-components, GRRC-NCs),是炙甘草发挥抗溃疡作用的物质基础之一,优化条件下制备的 GRRC-NCs 显示出良好的抗胃溃疡作用^[6]。而胶饴作为小建中汤的君药,“功专扶土,力可建中,入太阴而补脾精,走阳明而化胃气,善缓里急,最止腹痛^[7]”,可能会增强 GRRC-NCs 的抗溃疡作用。本研究从甘草炭中提取 GRRC-NCs,与胶饴制成不同比例混合溶液,利用扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)、紫外-可见分光光谱(ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)、荧光光谱(fluorescence spectrum, FL)、X 射线光电子能谱(X ray photoelectron spectroscopy, XPS)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、X 射线衍射(X ray diffraction,

XRD)技术对胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物进行表征。通过酒精性胃溃疡大鼠模型评价胶饴对 GRRC-NCs 抗胃溃疡的协同增效作用。

1 仪器与材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 64 只,体质量(180±10)g,购自北京斯贝福生物技术有限公司,合格证号 110324201103658567。所有大鼠在温度(24±1)℃,相对湿度 55%~65%,12 h/12 h 交替黑暗/光照,通风良好的环境下饲养,饲养期间采用普通大鼠维持饲料喂养,所有大鼠自由进食水。本研究动物实验经过北京中医药大学动物实验伦理委员会批准(伦理号 BUCM-4-2018101601-4006),并且符合《实验动物饲养和使用指南》的规定。

1.2 药品与试剂

GRRC-NCs、胶饴由实验室自制;生甘草(批号 190711008,经北京中医药大学中医学院赵琰教授鉴定为胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 的干燥根和根茎,购自北京仟草中药饮片有限公司;雷尼替丁(质量分数 99.34%,批号 1451255-59-6)购自上海陶素生化科技有限公司;氯化钠注射液(批号 2008012003)购自石家庄四药有限公司;白细胞介素-10(interleukin-10)试剂盒(批号 SEA056Ra)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)试剂盒(批号 SEA133Ra)、IL-1 β 试剂盒(批号 SEA563Ra)、大鼠前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)试剂盒(批号 CEA538Ge)购自武汉云克隆

科技股份有限公司；超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）试剂盒（批号 A001-2-2）、丙二醛（malondialdehyde, MDA）试剂盒（批号 A003-1-2）、过氧化氢酶（catalase, CAT）试剂盒（批号 A007-1-1）、还原型谷胱甘肽（reduced glutathione, GSH）试剂盒（批号 A006-2-1）购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器

T1612X 型马弗炉（北京中科澳博科技股份有限公司）；HH-1 型水浴锅（金坛市华城开元实验仪器厂）；ASP3005 型全自动真空脱水机、EG1150 型分体式包埋机、RM2245 型半自动轮转式切片机（德国徕卡公司）；HC-2518R 型高速冰冻离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司）；Biotek 型酶标仪（美国伯腾仪器有限公司）；S10 型手提式高速匀浆机（宁波新芝生物科技有限公司）；Thermo mixer comfort 型恒温混匀仪、5427R 型低温离心机（艾本德中国有限公司）；JSM-6510 型扫描电子显微镜（日本电子株式会社）；CECIL 型紫外-可见分光光度计（英国 Cambridge 公司）；F-4500 型荧光分光光度计、JEN-1230 型傅里叶变换红外光谱仪、ESCALAB 250Xi 型 X-射线光电子能谱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；D8DISCOVER 型 X-射线衍射仪（德国 Bruker 公司）。

2 方法

2.1 胶饴、GRRC-NCs 及其不同比例混合物的制备与表征

2.1.1 样品的制备 按照本课题组优化条件制备 GRRC-NCs^[6]。利用马弗炉烧制甘草炭，5 min 升温至 70 °C，保温 25 min；25 min 升温至 375 °C，保温 1 h。甘草炭经粉碎、煎煮、滤过、浓缩、纯化，制备质量浓度为 0.5 g/mL（以甘草炭质量计）的 GRRC-NCs 溶液。依照《食经》作饴法原材料比例，将 600 mL 煮熟大黄米、60 mL 大麦蘖末混合，在 40 °C 条件下糖化 5 h 后，加入 900 mL 沸水搅匀，滤出汁液后熬煮 45 min 制备胶饴^[8]。称取 120 g 胶饴，加入 240 mL 去离子水，加热至完全溶解，100 °C 水浴 10 min，使溶液最终质量浓度维持在 0.5 g/mL。将上述 2 种溶液混合，配制胶饴与 GRRC-NCs 分别为 1:1、1:2、2:1 不同比例的混合溶液。

2.1.2 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的表征 利用 SEM、UV-Vis、FL、XPS、FTIR、XRD 技术

对胶饴、GRRC-NCs、胶饴与 GRRC-NCs 不同比例混合物进行形貌、光学、结构组成表征。

2.2 动物分组、造模及给药

将 64 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、雷尼替丁（50 mg/kg）组，胶饴（5 g/kg^[9]）组、GRRC-NCs 组（5 g/kg^[10]，以甘草炭质量计）、胶饴与 GRRC-NCs 1:1、1:2、2:1 混合溶液（5 g/kg）组，每组 8 只。各给药组 ig 相应药物（10 mL/kg），对照组和模型组 ig 等体积生理盐水。适应性喂养 3 d 后，1 次/d，连续给药 5 d。于给药第 4 天，所有大鼠禁食不禁水 16 h，末次给药 2 h 后，对除对照组外，其余各组大鼠 ig 无水乙醇（10 mL/kg）。造模 1 h 后，腹主动脉取血，脱颈处死大鼠，取出胃组织，沿胃大弯剪开，剪取适量胃组织，于 4%多聚甲醛中固定，其余胃组织置于-80 °C 保存备用。

2.3 大鼠胃溃疡程度评估

采用计算胃溃疡面积比率评估大鼠胃溃疡程度。运用数码相机对大鼠胃内表面进行拍摄，通过 Image-J 软件将照片中的胃内表面图形选中，计算溃疡面积。通过全胃面积与溃疡面积以计算大鼠胃溃疡比率以及溃疡抑制率。

大鼠胃溃疡比率=大鼠胃内表面溃疡面积/大鼠胃内表面全胃面积

溃疡抑制率=(模型组胃溃疡面积比率-给药组胃溃疡面积比率)/模型组胃溃疡面积比率

2.4 胃组织切片 HE 染色

将固定好的胃组织脱水浸蜡包埋，脱蜡后 HE 染色，于光学显微镜下观察各组大鼠胃组织的病理变化。

2.5 ELISA 法检测血清和胃组织中相关因子水平

按照试剂盒说明书检测各组大鼠血清中 IL-10 水平及胃组织中 TNF- α 、IL-1 β 、PGE₂ 水平。

2.6 生化法检测胃组织中 SOD、MDA、CAT、GSH 水平

按照总蛋白定量测试盒说明书测定大鼠胃组织匀浆中的蛋白含量，采用生化法检测大鼠胃组织匀浆中 SOD、MDA、CAT、GSH 水平。

2.7 统计学分析

实验数据通过 IBM SPSS Statistics 软件(21.0 版)进行统计分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用单因素方差分析(ANOVA)进行分析，方差齐时，采用 LSD 法进行两两比较分析组间差异；方差不

齐时,通过 Dunnett T3 法进行两两比较以分析组间差异。

3 结果

3.1 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物表征

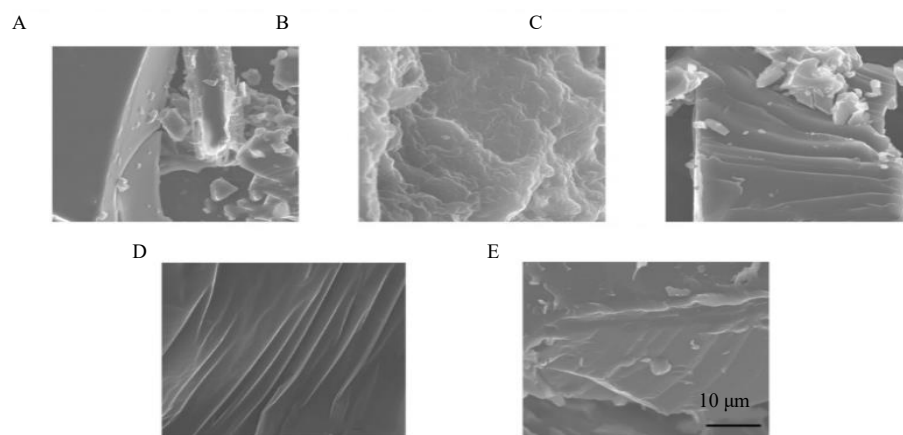
3.1.1 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的形貌表征 如图 1 所示,胶饴断面主要存在 2 种形式,1 种为明显的平滑断面,另 1 种呈现出拉丝状态的不规则断面。GRRC-NCs 的断面呈现为云层状,与胶饴明显不同,而二者混合物的粉末却出现了明显的条纹断面,胶饴与 GRRC-NCs 1:1 混合物(以下简称 1:1 混合物)以及胶饴与 GRRC-NCs 2:1 混合物(以下简称 2:1 混合物)都呈现出了明显的纹理,胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物(以下简称 1:2 混合物)中呈现出褶皱条纹,相对更为平滑。

3.1.2 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的光学特性 如图 2 所示,胶饴、GRRC-NCs、胶饴与 GRRC-NCs 不同比例的混合物的紫外光谱均在

250~270 nm 出现明显的吸收峰,推测与 $\pi-\pi^*$ 电子跃迁有关。如图 3 所示,胶饴最大激发波长为 317 nm,最大发射波长为 413 nm;GRRC-NCs 最大激发波长为 316 nm,最大发射波长为 424 nm;1:1 混合物最大激发波长为 314 nm,最大发射波长为 403 nm;1:2 混合物最大激发波长为 313 nm,最大发射波长为 402 nm;2:1 混合物最大激发波长为 319 nm,最大发射波长为 409 nm。

3.1.3 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的元素组成 如图 4-A 所示,胶饴主要组成元素为 C 和 O,其中 C 1s 占比为 57.81%,O 1s 占比为 41.1%,N 1s 占比为 0.88%,此外,还有极少的 P 2p 占比为 0.21%。285 eV 处的峰对应 C 1s、532 eV 处的峰对应 O 1s。胶饴 C 原子的配位方式为 C=O (287 eV)、C-O (285.6 eV)、C-H (284 eV);O 原子由 C=O (531.6 eV)、OH⁻ (532 eV)、O-H (532.4 eV) 3 种化学键相连接。

如图 4-B 所示,GRRC-NCs 主要组成元素为



A-胶饴; B-GRRC-NCs; C-胶饴与 GRRC-NCs 1:1 混合物; D-胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物; E-胶饴与 GRRC-NCs 2:1 混合物, 下图同。

A-Jiaoyi; B- GRRC-NCs; C-1:1 mixture of Jiaoyi and GRRC-NCs; D-1:2 mixture of Jiaoyi and GRRC-NCs; E-2:1 mixture of Jiaoyi and GRRC-NCs, same as below figures.

图 1 扫描电镜下胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物断面外观

Fig. 1 Cross-sectional appearance of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions under scanning electron microscope

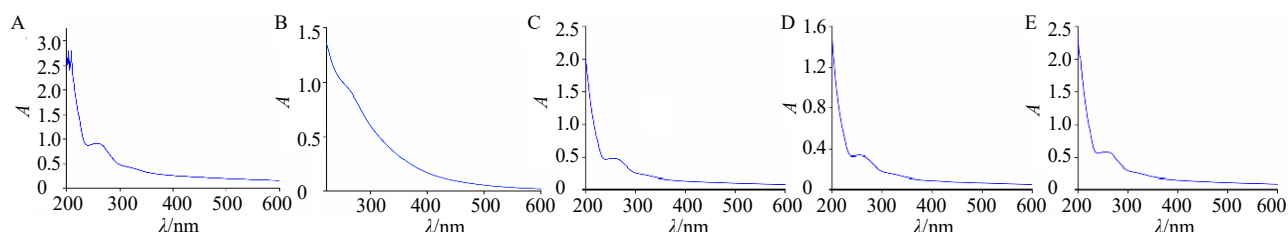


图 2 胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物紫外可见吸收光谱

Fig. 2 Ultraviolet-visible absorption of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions

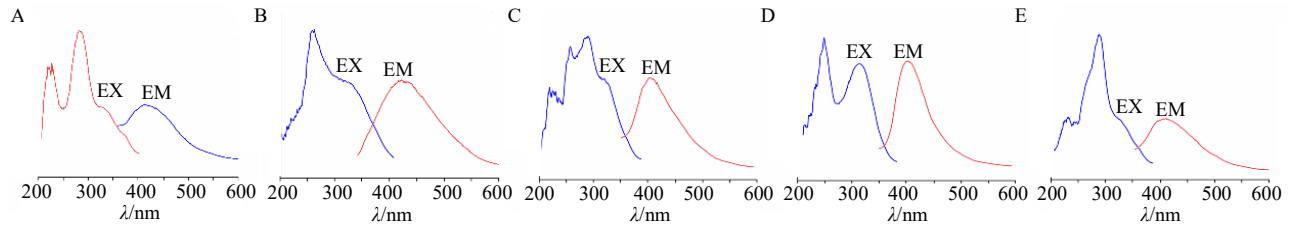
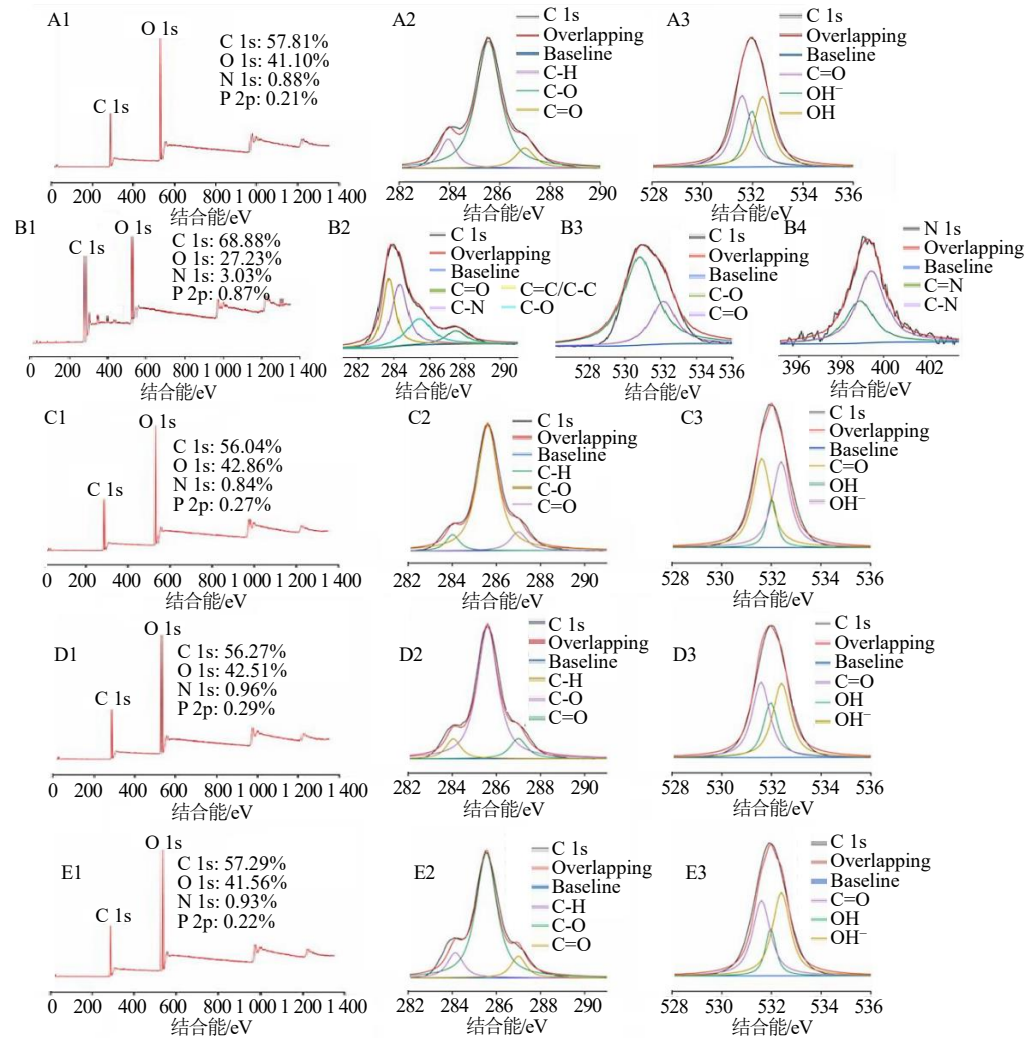


图 3 胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectra of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions



A1-胶饴全扫描图谱; A2-胶饴 C 1s 图谱 A3-胶饴 O 1s 图谱; B1-GRRC-NCs 全扫描图谱; B2-GRRC-NCs C 1s 图谱; B3-GRRC-NCs O 1s 图谱; B4-GRRC-NCs N 1s 图谱; C1-胶饴与 GRRC-NCs 1:1 混合物全扫描图谱; C2-胶饴与 GRRC-NCs 1:1 混合物 C 1s 图谱; C3-胶饴与 GRRC-NCs 1:1 混合物 O 1s 图谱; D1-胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物全扫描图谱; D2-胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物 C 1s 图谱; D3-胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物 O 1s 图谱; E1-胶饴与 GRRC-NCs 2:1 混合物全扫描图谱; E2-胶饴与 GRRC-NCs 2:1 混合物 C 1s 图谱; E3-胶饴与 GRRC-NCs 2:1 混合物 O 1s 图谱。

A1-full-scan spectrum of Jiaoyi; A2-C 1s spectrum of Jiaoyi; A3-O 1s spectrum of Jiaoyi; B1-full-scan spectrum of GRRC-NCs; B2-C 1s spectrum of GRRC-NCs; B3-O 1s spectrum of GRRC-NCs; B4-N 1s spectrum of GRRC-NCs; C1-full-scan spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:1 mixture; C2-C 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:1 mixture; C3-O 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:1 mixture; D1-full-scan spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 mixture; D2-C 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 mixture; D3-O 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 1:2 mixture; E1-full-scan spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 2:1 mixture; E2-C 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 2:1 mixture; E3-O 1s spectrum of Jiaoyi and GRRC-NCs 2:1 mixture.

图 4 胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物 XPS 图谱

Fig. 4 XPS pattern of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions

C、O 和 N，其中 C 1s 占比为 68.88%，O 1s 占比为 27.23%，N 1s 占比为 3.03%，此外，还有极少的 P 2p 占比为 0.87%。284 eV 处的峰对应 C 1s、398 eV 处的峰对应 N 1s、531 eV 处的峰对应 O 1s。GRRC-NCsC 原子的配位方式为 C=C/C-C (283.7 eV)、C-N (284.3 eV)、C-O (285.4 eV)、C=O (287.5 eV)；O 原子由 C=O (530.8 eV)、C-O (532.2 eV) 2 种化学键相连接；N 原子可以分成 2 个峰，位于 398.9 eV 与 399.4 eV，分别对应了 C=N 与 C-N。

如图 4-C 所示，1:1 混合物主要组成元素为 C 和 O，其中 C 1s 占比为 56.04%，O 1s 占比为 42.86%，N 1s 占比为 0.84%，此外，还有极少的 P 2p 占比为 0.27%。286 eV 处的峰对应 C 1s、532 eV 处的峰对应 O 1s。1:1 混合物 C 原子的配位方式为 C=O (287 eV)、C-O (285.6 eV)、C-H (284 eV)；O 原子由 C=O (531.6 eV)、OH⁻ (532 eV)、OH (532.4 eV) 3 种化学键相连接。

如图 4-D 所示，1:2 混合物主要组成元素为 C 和 O，其中 C 1s 占比为 56.27%，O 1s 占比为 42.51%，N 1s 占比为 0.96%，此外，还有极少的 P 2p 占比为 0.25%。286 eV 处的峰对应 C 1s、532 eV 处的峰对应 O 1s。1:2 混合物 C 原子的配位方式为 C=O (287 eV)、C-O (285.6 eV)、C-H (284 eV)；O 原子由 C=O (531.6 eV)、OH⁻ (532 eV)、OH (532.4 eV) 3 种化学键相连接。

图 4-E 所示，2:1 混合物主要组成元素为 C 和 O，其中 C 1s 占比为 57.29%，O 1s 占比为 41.56%，N 1s 占比为 0.93%，此外，还有极少的 P 2p 占比为 0.22%。285 eV 处的峰对应 C 1s、532 eV 处的峰对应 O 1s。2:1 混合物碳原子的配位方式为 C=O (287 eV)、C-O (285.6 eV)、C-H (284 eV)；O 原子由 C=O (531.6 eV)、OH⁻ (532 eV)、OH (532.4 eV) 3 种化学键相连接。

3.1.4 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的结构特征 如图 5-A 所示，胶饴约在 3 424、2 924、

1 630、1 384、1 032、559 cm⁻¹ 处存在吸收峰。3 424 cm⁻¹ 的强吸收峰是由于 O-H 伸缩振动产生。2 924 cm⁻¹ 的弱吸收峰对应了饱和 C-H 伸缩振动吸收。1 630 cm⁻¹ 处的中等峰可能是由于 C=C 双键伸缩振动的存在所引起。1 384 cm⁻¹ 处的吸收尖峰对应了 C-N=O/NO₃ 的出现。1 032 cm⁻¹ 处的吸收峰由 C-N 伸缩振动吸收引起。而 559 cm⁻¹ 处的吸收峰很可能是由于材料中含有羟基或胺基所致。

如图 5-B 所示，GRRC-NCs 约在 3 440、2 919、1 633、1 384、1 058、561 cm⁻¹ 处存在吸收峰。3 440 cm⁻¹ 的强吸收峰是由于 O-H 伸缩振动产生。2 919 cm⁻¹ 的弱吸收峰对应了饱和 C-H 伸缩振动吸收。1 633 cm⁻¹ 处的中等峰可能是由于 C=C 双键伸缩振动的存在所引起。1 384 cm⁻¹ 处的强吸收尖峰对应了 -OH 的出现。1 058 cm⁻¹ 处的吸收峰由 C-N 伸缩振动吸收引起。而 561 cm⁻¹ 处的吸收峰很可能是由于材料中含有羟基或胺基所致。

如图 5-C 所示，1:1 混合物约在 3 432、2 924、1 631、1 032、560 cm⁻¹ 处存在吸收峰。3 432 cm⁻¹ 的强吸收峰是由于 O-H 伸缩振动产生。2 924 cm⁻¹ 的弱吸收峰对应了 C-H 伸缩振动。1 631 cm⁻¹ 处的中等峰可能是由于 C=C 双键伸缩振动的存在所引起。1 032 cm⁻¹ 处的吸收峰由 C-N 伸缩振动吸收引起。而 560 cm⁻¹ 处的吸收峰很可能是由于材料中含有羟基或胺基所致。

如图 5-D 所示，1:2 混合物约在 3 434、1 631、1 032、554 cm⁻¹ 处存在吸收峰。3 434 cm⁻¹ 的强吸收峰是由于 O-H 伸缩振动产生。1 631 cm⁻¹ 处的中等峰可能是由于 C=C 双键伸缩振动的存在所引起。1 032 cm⁻¹ 处的吸收峰由 C-N 伸缩振动吸收引起。而 554 cm⁻¹ 处的吸收峰很可能是由于材料中含有羟基或胺基所致。

如图 5-E 所示，2:1 混合物约在 3 421、2 923、2 360、1 631、1 383、1 147、1 031、572 cm⁻¹ 处存在吸收峰。3 421 cm⁻¹ 的强吸收峰是由于 O-H 伸

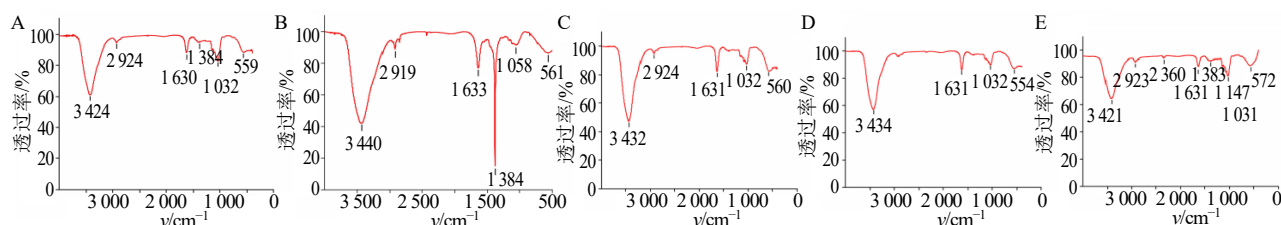


图 5 胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物红外光谱

Fig. 5 Fourier transform infrared spectrum of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions

缩振动产生。 $2\,923\text{ cm}^{-1}$ 的弱吸收峰对应了 C-H 伸缩振动。 $2\,360\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰对应了 $\text{C}=\text{C}=\text{O}/\text{C}=\text{N}/\text{O}=\text{C}=\text{O}$ 键。 $1\,631\text{ cm}^{-1}$ 处的中等峰可能是由于 $\text{C}=\text{C}$ 双键伸缩振动的存在所引起。 $1\,383\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰对应了 $\text{C}-\text{N}=\text{O}/\text{NO}_3$ 的出现。 $1\,147\text{ cm}^{-1}$ 很可能对应了 C-F 键的出现。 $1\,031\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰由 C-N 伸缩振动吸收引起。而 572 cm^{-1} 处的吸收峰很可能是由于材料中含有羟基或氨基所致。

3.1.5 胶饴、GRRC-NCs 及不同比例混合物的晶格间距 如图 6-A 所示, 胶饴主要衍射峰 2θ 角为 18.7° , 计算的晶格间距为 $0.473\,1\text{ nm}$, 在 2θ 角为 48.3° 处存在另一较弱峰, 计算的晶格间距为 $0.188\,3\text{ nm}$; 如图 6-B 所示, GRRC-NCs 主要衍射峰 2θ 角为 29.5° , 计算得晶格间距为 $0.302\,6\text{ nm}$, 在 2θ 角为 42.2° 处存在另一较弱峰, 对应晶格间距为 0.214 nm ; 如图 6-C 所示, 1:1 混合物主要衍射峰 2θ 角为 18.1° , 计算的晶格间距为 $0.490\,3\text{ nm}$, 在 2θ 角为 34.2° 处存在另一较弱峰, 计算的晶格间距为 $0.262\,2\text{ nm}$; 如图 6-D 所示, 1:2 混合物主要衍射峰 2θ 角为 25.2° , 计算的晶格间距为 $0.353\,3\text{ nm}$, 在 2θ 角为 31.6° 处存在另一较弱峰, 计算的晶格间距为 $0.283\,2\text{ nm}$; 如图 6-E 所示, 2:1 混合物主要衍射峰 2θ 角为 19.1° , 计算的晶格间距为 $0.465\,5\text{ nm}$, 在 2θ 角为 37.6° 处存在另一较弱峰, 计算的晶格间距为 $0.238\,9\text{ nm}$ 。

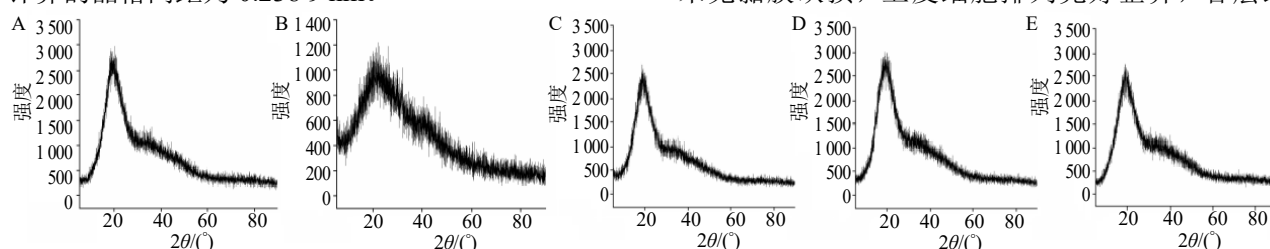


图 6 胶饴、GRRC-NCs 以及不同比例混合物 XRD 图谱

Fig. 6 XRD pattern of Jiaoyi, GRRC-NCs and their mixture with different proportions.

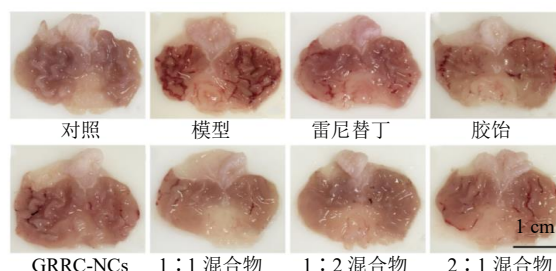


图 7 各组大鼠胃溃疡形态

Fig. 7 Morphology of gastric ulcer in each group

3.2 胃溃疡形态学评估

如图 7 所示, 对照组大鼠胃黏膜表面无损伤出血, 状态完好。模型组大鼠胃内表面出现明显的条索、块状出血区域, 呈现出深红色的损伤纹路, 整个胃内黏膜均被波及, 出血量大。与模型组比较, 各给药组大鼠胃黏膜损伤程度均有所减轻。其中雷尼替丁组、胶饴组、GRRC-NCs 组和 2:1 混合物组仍有较明显的点状、线状出血及溃疡面, 而 1:1 混合物组偶见轻微短线状出血, 1:2 混合物组仅出现了点状出血点。结果表明, 1:2 混合物组抗溃疡效果优于其他给药组。

3.3 胃溃疡面积比率与溃疡抑制率评估

各组大鼠胃溃疡面积比率与溃疡抑制率见表 1。对照组大鼠未出现胃内损伤, 溃疡面积比率为 0, 溃疡抑制率计为 100%。与对照组比较, 模型组大鼠胃溃疡面积比率显著升高 ($P<0.001$)。与模型组比较, 各给药组大鼠的胃溃疡面积比率均显著降低 ($P<0.001$)。其中, 1:2 混合物组的溃疡抑制率高达 82.47%, 抗溃疡药效最佳, 而 1:2、2:1 混合物组与雷尼替丁组、胶饴组、GRRC-NCs 组的药效相接近。

3.4 胃溃疡病理学观察

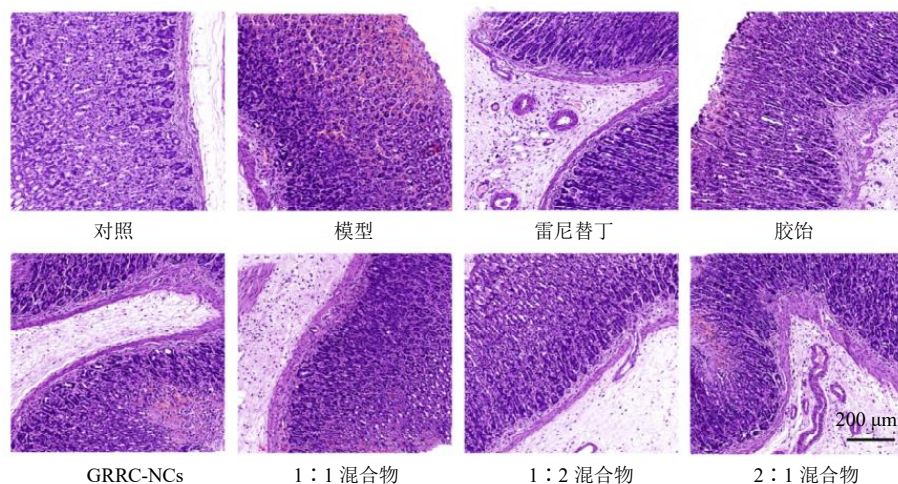
如图 8 所示, 对照组大鼠胃黏膜表面平整光滑, 可以观察到完整的胃小凹及大量的胃腺开口, 未见黏膜缺损, 上皮细胞排列完好整齐, 各层组

表 1 各组大鼠胃溃疡面积比率与溃疡抑制率 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 1 Gastric ulcer area ratios and ulcer inhibition rates in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	胃溃疡面积比率/%	溃疡抑制率/%
对照	—	0	100.00
模型	—	18.04±6.35 ^{###}	0
雷尼替丁	0.05	7.38±2.37 ^{***}	59.11
胶饴	5.00	7.39±3.18 ^{***}	59.05
GRRC-NCs	5.00	7.01±4.60 ^{***}	61.14
1:1 混合物	5.00	6.71±3.43 ^{***}	62.80
1:2 混合物	5.00	3.16±2.21 ^{***}	82.47
2:1 混合物	5.00	6.98±5.86 ^{***}	61.32

与对照组比较: ^{###} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$, 下表同。

^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs model group, same as bellow tables.

图 8 各组大鼠胃组织病理变化 ($\times 200$)Fig. 8 Pathological changes of gastric tissue in each group ($\times 200$)

组织的分界清晰,无炎性细胞浸润。模型组大鼠胃黏膜严重破损,整体呈现出凹凸不平的状态,可见明显的出血点以及片状瘀斑,呈现为火山口样损伤,胃小凹消失,整体腺体结构紊乱,各层组织黏膜松散,可见明显的上皮细胞脱落、坏死,血管扩张充血,胃黏膜各层出现溢出的血细胞,组织结构变宽,出现了明显的炎性细胞浸润与黏膜下水肿。与模型比较,各给药组大鼠胃黏膜病理损伤程度均得到显著改善,其中雷尼替丁组、胶饴组、GRRC-NCs 组、1:1 及 2:1 混合物组大鼠胃黏膜情况特征较为类似,黏膜上皮细胞较模型组更加整齐,缺损、撕裂以及脱落的情况明显减少,火山口样损伤与大片状出血瘀斑基本消失,损伤一般存在于黏膜层,但仍存在炎性细胞浸润。而 1:2 混合物组仅有少量的血细胞溢出,黏膜表层存在黏液层保护,黏膜基本完整,损伤仅存在于黏膜上皮层与固有层,下层的水肿最轻,仅有轻微的血管扩张,炎性细胞零星存

在,分布散乱,多以淋巴细胞为主,整体胃黏膜状态与对照组接近。结果表明,1:2 混合物胃黏膜保护作用最佳。

3.5 对大鼠 IL-10、IL-1 β 、TNF- α 和 PEG₂ 水平的影响

各组大鼠血清中 IL-10 和胃组织中 IL-1 β 、TNF- α 、PGE₂ 水平见表 2。与对照组比较,模型组大鼠 IL-1 β 、TNF- α 水平显著升高 ($P<0.001$),IL-10、PGE₂ 水平均显著降低 ($P<0.001$)。与模型组比较,各给药组 IL-1 β 、TNF- α 水平显著降低 ($P<0.001$),IL-10、PGE₂ 水平显著升高 ($P<0.001$)。

3.6 对大鼠胃组织中 SOD、CAT、GSH、MDA 水平的影响

各组大鼠胃组织中 SOD、CAT、GSH、MDA 水平见表 3。与对照组比较,模型组大鼠胃组织中 SOD、CAT、GSH 水平均显著降低 ($P<0.001$),MDA 水平均显著升高 ($P<0.001$);与模型组

表 2 胶飴与 GRRC-NCs 对大鼠 IL-10、IL-1 β 、TNF- α 、PGE₂ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effects of Jiaoyi and GRRC-NCs on levels of IL-10, IL-1 β , TNF- α and PGE₂ in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-10/(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	49.58±6.81	136.83±31.81	96.72±19.84	94.05±8.05
模型	—	5.27±3.88 ^{###}	451.74±71.85 ^{###}	290.71±49.06 ^{###}	32.82±6.35 ^{###}
雷尼替丁	0.05	16.32±5.40 ^{***}	251.14±51.35 ^{***}	179.69±25.01 ^{***}	58.99±11.05 ^{***}
胶飴	5.00	14.77±6.00 ^{***}	253.11±27.30 ^{***}	180.24±32.69 ^{***}	58.22±8.2 ^{***}
GRRC-NCs	5.00	17.94±4.53 ^{***}	249.96±26.35 ^{***}	174.52±27.15 ^{***}	65.60±8.45 ^{***}
1:1 混合物	5.00	21.09±6.15 ^{***}	238.33±49.29 ^{***}	146.48±32.13 ^{***}	73.00±11.52 ^{***}
1:2 混合物	5.00	31.90±7.76 ^{***}	200.73±42.9 ^{***}	119.65±18.98 ^{***}	80.20±7.65 ^{***}
2:1 混合物	5.00	20.24±5.94 ^{***}	242.20±38.75 ^{***}	158.91±43.3 ^{***}	69.55±6.55 ^{***}

表 3 胶飴与 GRRC-NCs 对大鼠胃组织中 SOD、CAT、GSH、MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effects of Jiaoyi and GRRC-NCs on SOD, CAT, GSH and MDA levels in gastric tissue of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	GSH/(μ mol·L ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	102.96±15.78	8.84±1.51	32.66±8.1	1.24±0.46
模型	—	69.82±14.72 ^{###}	4.80±1.83 ^{###}	8.47±3.33 ^{###}	4.16±0.74 ^{###}
雷尼替丁	0.05	90.83±19.21 ^{**}	7.02±2.42 [*]	21.12±5.53 ^{***}	2.82±0.73 ^{***}
胶飴	5.00	90.23±14.72 ^{**}	6.41±1.93	20.15±5.52 ^{***}	2.87±0.76 ^{***}
GRRC-NCs	5.00	91.18±13.16 ^{**}	7.20±1.81 [*]	22.52±4.03 ^{***}	1.91±0.45 ^{***}
1:1 混合物	5.00	93.96±12.93 ^{**}	8.34±2.23 ^{***}	25.77±5.16 ^{***}	1.80±0.8 ^{***}
1:2 混合物	5.00	97.98±12.86 ^{***}	8.67±0.86 ^{***}	29.65±4.96 ^{***}	1.41±0.45 ^{***}
2:1 混合物	5.00	93.31±14.92 ^{**}	8.14±1.58 ^{**}	23.27±4.61 ^{***}	1.81±0.51 ^{***}

比较,雷尼替丁组、胶飴组、GRRC-NCs 组及 1:1、2:1 混合物组大鼠胃组织中 SOD 水平均显著升高 ($P < 0.01$), 1:2 组大鼠胃组织中 SOD 水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较,雷尼替丁组、GRRC-NCs 组大鼠胃组织中 CAT 水平显著升高 ($P < 0.05$), 1:1、1:2、2:1 混合物组大鼠胃组织中 CAT 水平显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001); 各给药组大鼠胃组织中 GSH 水平均显著升高 ($P < 0.001$), MDA 水平均显著降低 ($P < 0.001$), 其中 1:2 混合物组大鼠胃组织中 GSH 水平最高, MDA 水平最低。

4 讨论

据报道,全世界约有 5%~10%的人口患有胃溃疡^[11],其发病机制尚未明确,一般认为胃溃疡是由于胃黏膜保护机制(EGF、PGE₂ 等保护因子)与损伤因素(胃酸、胃蛋白酶、乙醇等)之间的不平衡而发生的^[12]。本研究采用无水乙醇致胃溃疡模型研究胶飴对 GRRC-NCs 抗胃溃疡的协同增效作用。结果表明,胶飴与 GRRC-NCs 的混合溶液能有效减轻胃组织损伤,如黏膜缺损、出血和炎性细胞浸润等,降低 IL-1 β 、TNF- α 水平,升高 IL-10、PGE₂ 水平,作用显著优于胶飴和 GRRC-NCs 单独使用,说明胶飴对 GRRC-

NCs 抗胃溃疡有协同增效作用。

过量饮酒会激活自身免疫系统,促进多种炎性细胞因子的表达,如 IL-1 β 、TNF- α 等,诱发胃黏膜病变^[13]。而 IL-10 作为炎症抑制的细胞因子可以下调炎症级联反应,改善胃黏膜病变^[14]。同时,胃黏膜保护因子 PGE₂ 可以改善血流和增强胃黏膜对损伤的抵抗力,在维持粘膜细胞的完整性方面发挥关键作用^[15]。实验结果发现,与胶飴或 GRRC-NCs 单用比较,胶飴与 GRRC-NCs 1:2 混合溶液能显著升高 IL-10、PGE₂ 水平,降低 IL-1 β 、TNF- α 水平。乙醇诱导的急性胃溃疡能通过产生高度细胞毒性的自由基^[16],与膜内多价不饱和脂肪酸结合,并作用于巯基使蛋白质变性、酶失活^[17],导致氧化应激的发生,进而使胃黏膜发生病变。但自由基可以通过机体的抗氧化防御系统来清除。SOD、GSH、GSH-PX、CAT 是抵抗胃黏膜氧化应激的一线防御机制,可以催化超氧化物的歧化反应,对胃细胞起到至关重要的保护作用^[18-19]。而 MDA 是氧自由基作用于脂质过氧化反应降解所形成的产物,其含量可直接反映体内氧自由基代谢产物数量^[20]。结果表明,胶飴与 GRRC-NCs 1:2 混合溶液能显著升高 SOD、GSH、CAT 水平,降低 MDA 水平,说明胶飴与 GRRC-

NCs 混合溶液可能是通过抑制促炎因子释放、增强胃黏膜防御性因子活力,减轻氧化应激反应产生抗溃疡作用。

扫描电镜下,胶饴与 GRRC-NCs 混合物的断面与胶饴、GRRC-NCs 的断面呈现出不同的形态,研究表明,量子点与麦芽糖会产生吸附行为^[21],由此推测胶饴与 GRRC-NCs 混合后很可能引起了结构的变化。进一步借助纳米技术手段,发现不同比例的胶饴与 GRRC-NCs 混合物表征结果与胶饴的表征结果较为类似。而胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物的荧光光谱峰形相对对称,荧光性能较佳,红外图谱显示出吸收峰相对较少,推测可能为胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物的结构更为稳定,这可能是其药效结果更佳的重要原因之一。

不同比例的胶饴与 GRRC-NCs 混合溶液均可以有效改善胃溃疡模型的损伤情况,其中胶饴与 GRRC-NCs 的溶液在 1:2 的混合比例之下表现出最佳的抗溃疡药效。而《伤寒论》所载小建中汤中胶饴与甘草的剂量分别为 1 升与 3 两^[22],按现代比例换算胶饴与甘草的比例大约为 4.4:1,于本实验得出的最佳配比并不相符,其原因可能是本研究所使用的 GRRC-NCs 是甘草由马弗炉煅烧后,过滤纯化而来,GRRC-NCs 溶液中溶质相较于甘草原饮片的质量大大减少,且胶饴在不同温度、不同工艺制备条件下,其质量也有所不同。另外,本研究基于胃溃疡模型侧重探讨胶饴与 GRRC-NCs 的比例问题,而从方剂的整体角度出发,小建中汤中胶饴与甘草的比例并不能完全与本实验得出的最佳配比结果相等同。因此,胶饴与 GRRC-NCs 1:2 的混合比例可作为探讨小建中汤中胶饴甘草应用比例问题的一个参考,而在整体方剂中优效比问题还有待进一步研究。

综上,胶饴对 GRRC-NCs 抗胃溃疡有协同增效作用。通过初步的鉴定可以推测出,胶饴与 GRRC-NCs 混合后引起了结构的变化,其中胶饴与 GRRC-NCs 1:2 混合物的结构状态更为稳定,部分揭示了小建中汤应用胶饴与炙甘草配伍的科学内涵。对胶饴与 GRRC-NCs 混合物的结构鉴定尚需待更高端的仪器设备问世后进一步提高。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 史奇,陈正君,刘雪枫,等. 党参治疗胃溃疡的作

用机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2338-2348.

[2] 李志敏,殷浩辉,郭超峰. 小建中汤治疗消化系统疾病研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(12): 224-227.

[3] 高新颜,朱晶晶,朱建平. 《金匱要略》中甘草炮制的文献考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(21): 181-187.

[4] 段君,许海,沈峰. 甘草古今炮制方法考证及饮片质量研究现状 [J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(9): 1655-1658.

[5] 朱雅凡,孙紫薇,屈会化,等. 张仲景所用“火制”炮制法原貌的考证 [J]. 中医杂志, 2018, 59(24): 2155-2157.

[6] Liu Y H, Zhang M L, Cheng J J, et al. Novel carbon dots derived from *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* and their anti-gastric ulcer effect [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1512.

[7] 清·黄元御撰,张蕾,翟燕,孙清伟校注. 长沙药解 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 5.

[8] 贾思勰. 齐民要术 [M]. 北京: 团结出版社, 1996: 299.

[9] 周祯祥,李晶晶. 张仲景药理学 [M]. 3 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 330.

[10] 刘楚好,刘育含,吴佳姝,等. 甘草炭纳米类成分对应激性胃溃疡大鼠的保护作用研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(4): 581-586.

[11] Sumbul S, Ahmad M A, Mohd A, et al. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview [J]. *J Pharm Bioallied Sci*, 2011, 3(3): 361-367.

[12] 刘芳,张芮苑,沈才佳,等. 基于胃脑相关探讨厚朴三物汤防治急性胃溃疡大鼠的作用机制 [J]. 中草药, 2024, 55 (16): 5525-5540.

[13] Zhai C M, Lu F, Du X, et al. Green carbon dots derived from *Atractylodes macrocephala*: A potential nanodrug for treating alcoholic gastric ulcer [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2023, 230: 113492.

[14] Li S, Zhou S B, Yang W, et al. Gastro-protective effect of edible plant *Artemisia argyi* in ethanol-induced rats via normalizing inflammatory responses and oxidative stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 214: 207-217.

[15] Wang X Y, Yin J Y, Zhao M M, et al. Gastroprotective activity of polysaccharide from *Hericium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal lesion and pylorus ligation-induced gastric ulcer, and its antioxidant activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 186: 100-109.

[16] Hou C L, Liu L Y, Ren J Y, et al. Structural

- characterization of two *Hericium erinaceus* polysaccharides and their protective effects on the alcohol-induced gastric mucosal injury [J]. *Food Chem*, 2022, 375: 131896.
- [17] 林海鸣, 许琮明, 孙晓飞, 等. 猴头菌抗胃溃疡作用的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(12): 1861-1863.
- [18] 孙广达, 蒋瑞智, 吴啟南, 等. 芡实石油醚部位对脑缺血再灌注模型大鼠 SOD、CAT 和 GSH 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(9): 2087-2089.
- [19] 宫健伟, 孙喜灵, 王超云, 等. 四君子汤对脾气虚模型大鼠血清 SOD, CAT 和 GSH-Px 及 MDA 的影响 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 46-47.
- [20] 刘文, 杜平, 卿勇军, 等. 基于“药辅合一”的芍药甘草胃漂浮片对急性胃溃疡家兔的药效及机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(3): 647-652.
- [21] 杜保安, 王晓薇, 王妍, 等. 麦芽糖在 CdS 量子点表面吸附的荧光光谱 [J]. 河北师范大学学报: 自然科学版, 2016, 36(1): 52-57.
- [22] 刘渡舟. 伤寒论校注 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 82.

[责任编辑 罗 曦]