

白矾及其不同炮制品对急性胃溃疡小鼠的作用机制

王楚盈, 张 晶, 黄梓骏, 刘 婧, 冉娇娇, 杨辛欣*, 于 澎*

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

摘 要: **目的** 比较白矾及其不同炮制品[枯矾、蜂巢煅制白矾(蜡矾)]对急性胃溃疡小鼠的治疗作用, 优选最佳炮制方法, 并借助代谢组学技术揭示其潜在机制。**方法** 采用乙醇诱导急性胃溃疡小鼠模型, 通过胃溃疡指数、胃组织病理学染色、氧化应激指标、炎症因子及黏膜修复因子评估药效; 采用非靶向代谢组学分析白矾及其不同炮制品治疗急性胃溃疡的潜在作用机制。**结果** 模型组小鼠胃黏膜呈现大面积出血性糜烂, 各给药组胃溃疡评分、胃溃疡指数均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 溃疡抑制率排序由高到低为蜡矾 > 白矾 > 枯矾。胃组织病理学染色结果表明, 各给药组均能减轻胃黏膜损伤, 炎症细胞浸润、胶原纤维降解较模型组减少, 糖蛋白含量较模型组升高, 其中蜡矾组效果最佳。与模型组比较, 各给药组均能显著提高血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性 ($P < 0.01$ 、 0.001), 降低血清中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平 ($P < 0.01$ 、 0.001), 上调胃组织中表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的表达 ($P < 0.01$ 、 0.001), 下调胃组织中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达 ($P < 0.01$ 、 0.001)。代谢组学分析揭示了白矾和蜡矾在调节 α -亚麻酸代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、卟啉和叶绿素代谢、类固醇生物合成以及 *D*-精氨酸和 *D*-鸟氨酸代谢等关键代谢途径中的作用, 其中蜡矾的代谢特征与黏膜保护和氧化应激缓解的相关性最强。**结论** 白矾及其不同炮制品对急性胃溃疡均有疗效, 其中蜡矾组综合效果最佳, 表明古法炮制可增强白矾药效。白矾和蜡矾可调节 α -亚麻酸代谢、牛磺酸代谢等关键途径, 蜡矾的代谢特征与黏膜保护和氧化应激缓解相关性最强, 可能通过抗氧化、抗炎及促进黏膜修复发挥疗效。

关键词: 白矾; 枯矾; 蜡矾; 急性胃溃疡; 抗炎; 抗氧化; 黏膜保护; 代谢组学; α -亚麻酸代谢; 牛磺酸代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)14-5086-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.14.014

Mechanism of *Alumen* and its different processed products on mice with acute gastric ulcer

WANG Chuying, ZHANG Jing, HUANG Zijun, LIU Jing, RAN Jiaojiao, YANG Xinxin, YU Peng

School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To compare the therapeutic effects of Baifan (*Alumen*) and its different processed products (calcined *Alumen*, honeycomb calcined *Alumen*) on mice with acute gastric ulcer, and select the optimal processing method, reveal its potential mechanism through metabolomics technology. **Methods** Ethanol-induced acute gastric ulcer mouse model was used, and the efficacy was evaluated by gastric ulcer index, gastric histopathological staining, oxidative stress index, inflammatory factors and mucosal repair factors. Non targeted metabolomics was used to analyze the potential mechanisms of *Alumen* and its different processed products in the treatment of acute gastric ulcers. **Results** The model group showed extensive hemorrhagic erosion of gastric mucosa, and the gastric ulcer score and index of each treatment group were significantly reduced ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001). The ulcer inhibition rate was ranked from high to low as honeycomb calcined *Alumen* > *Alumen* > calcined *Alumen*. The pathological staining results of gastric tissue showed that all treatment groups were able to alleviate gastric mucosal damage, reduce inflammatory cell infiltration and collagen fiber degradation compared to model group, and increase glycoprotein content compared to model group, with honeycomb calcined *Alumen* group showing the best effect. Compared with model group, all treatment groups were able to significantly increase the activity

收稿日期: 2025-04-09

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目(YDZJ202501ZYTS271)

作者简介: 王楚盈, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药性理论及中药作用机制研究。E-mail: wangcy@ccucm.edu.cn

*通信作者: 杨辛欣, 副教授, 硕士生导师, 从事中药炮制研究。E-mail: yangxx@ccucm.edu.cn

于 澎, 教授, 博士生导师, 从事中药炮制研究。E-mail: yupeng@ccucm.edu.cn

of superoxide dismutase (SOD) in serum ($P < 0.01$, 0.001), reduce the levels of malondialdehyde (MDA), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum ($P < 0.01$, 0.001), up-regulate the expressions of epidermal growth factor (EGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in gastric tissue ($P < 0.01$, 0.001), and down-regulate the expressions of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in gastric tissue ($P < 0.01$, 0.001). Metabolomics analysis revealed the effects of *Alumen* and honeycomb calcined *Alumen* on regulating key metabolic pathways such as α -linolenic acid metabolism, taurine and hypotaurine metabolism, porphyrin and chlorophyll metabolism, steroid biosynthesis, and *D*-arginine and *D*-ornithine metabolism. Among them, the metabolic characteristics of honeycomb calcined *Alumen* showed the strongest correlation with mucosal protection and oxidative stress relief. **Conclusion** *Alumen* and its different processed products have therapeutic effects on acute gastric ulcers, among which honeycomb calcined *Alumen* group has the best comprehensive effect, indicating that ancient processing can enhance the efficacy of *Alumen*. *Alumen* and honeycomb calcined *Alumen* can regulate key pathways such as α -linolenic acid metabolism and taurine metabolism. The metabolic characteristics of honeycomb calcined *Alumen* are most strongly correlated with mucosal protection and oxidative stress relief, and may exert therapeutic effects through antioxidant, anti-inflammatory and promotion of mucosal repair.

Key words: *Alumen*; calcined *Alumen*; honeycomb calcined *Alumen*; acute gastric ulcer; anti-inflammatory; antioxidant; mucosal protection; metabolomics; α -linolenic acid metabolism; taurine metabolism

白矾 *Alumen* 作为传统矿物药，自古以来便在中医药领域占据着不可忽视的地位，首载于《神农本草经》，是明矾石（硫酸盐类矿物）经加工提炼制成的结晶状物，主成分为含水硫酸铝钾 $[KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O]$ [1-2]。白矾外用能解毒止痒，内服更能止血止泻、祛风化痰。其性寒味酸涩，收敛止血之效显著，适用于多种出血病症。研究发现在治疗胃溃疡的含矾中药复方中，白矾的应用呈现出生熟混用的复杂局面。如胃刻宁胶囊、敛溃愈腐汤、安胃汤及《儒门事亲》《普济方》中的方剂使用了白矾，而胃病安胃片、快胃片、复方田七胃痛片等制剂中则采用了枯矾。这种应用差异折射出白矾炮制科学体系的深层问题，白矾炮制缺乏机制研究，从古至今，其炮制方法历经熬制、火飞、烧灰、炒干等多种工艺演变，最终明煅法凭借操作简便的优势成为主流，《中国药典》及地方标准均以此为规范。然而，这种单一化的现代炮制体系忽视了古籍中“因病施制”的智慧——如《雷公炮炙论》记载的蜂巢制蜡矾法[3-4]等特色技术几近失传，尽管《本草纲目》高度评价其“平肿护膜，愈溃不伤”的独特功效，并以“蜡矾丸”为典型制剂载入《本草纲目》、《本草蒙筌》和《本草备要》等多部医典[5-9]，但这些传统技术在现代炮制中却鲜有应用。现代研究揭示，蜂巢基质中长链脂肪酸与萜烯类化合物在高温下形成的缓释性蜡膜结构，既能降低白矾对胃肠黏膜的刺激性，又可调控药物释放增强黏膜保护[10-12]，这为传统炮制技术的科学价值提供了关键佐证。

然而，当前白矾炮制研究仍固守“煅制”范式，既未系统挖掘不同炮制工艺（如蜡矾制备）对药效

物质的影响机制，也缺乏针对胃溃疡等特定疾病的差异化炮制策略探索，导致传统“因病制宜”的炮制理念难以在现代制剂中延续。这种传统技艺断代与现代研究局限的双重困境，凸显了重建白矾炮制理论与应用体系的迫切性。基于此，本研究系统比较生品白矾、枯矾与蜡矾的效应差异，以乙醇诱导的急性胃溃疡小鼠为模型，通过药理实验和代谢组学技术研究白矾、枯矾、蜡矾对胃溃疡损伤的保护作用，从而科学地阐述不同炮制方法的白矾对于治疗急性胃溃疡的影响，从而用于指导临床实践。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 ICR 小鼠，体质量 (20 ± 2) g，雌雄各半，由长春市亿斯实验动物技术有限公司提供，生产许可证号 SCXK（吉）2018-0007。动物饲养于室温 (20 ± 2) °C，相对湿度为 50%~60%，自然光照 12 h/d，无太阳直射的环境中，环境安静并空气新鲜，自由进食饮水[15]。动物实验经长春中医药大学动物伦理委员会批准（批准号 2023417）。

1.2 药品与试剂

白矾购自安国市药材市场（产地山东，批号 20191127），经长春中医药大学中药鉴定教研室王哲副教授鉴定均为硫酸盐类矿物白矾，炮制品枯矾和蜡矾由本实验室炮制课题组提供[13-14]；二甲苯（批号 1330-20-7）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司；苏木素（批号 H8070）购自北京索莱宝科技有限公司；曙红 Y（批号 A600190）购自生工生物工程（上海）股份有限公司；无水乙醇（批号 10009218）、丽春红（批号 p8330）、酸性品红（批号 71019360）、

磷酸（批号 20029916）购自国药集团；PAS 染色液（批号 WL033a）购自沈阳万类生物科技有限公司；丙二醛（malondialdehyde, MDA）试剂盒（批号 A003-1-1）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）试剂盒（批号 A001-1-2）购自南京建成科技有限公司；肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）ELISA 检测试剂盒（批号 EMC102aQT.48）、白细胞介素-6（interleukin-6, IL-6）ELISA 检测试剂盒（批号 EMC004QT.48）购自欣博盛生物科技有限公司；碱性成纤维细胞生长因子（basic fibroblast growth factor, bFGF）抗体（批号 DF6038）、表皮生长因子（epidermal growth factor, EGF）抗体（批号 AF5148）购自 Affinity 公司；HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗（批号 31460）购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.3 仪器

RM2235 型石蜡切片机（德国 Leica 公司）；NW10LVF 型超纯水系统（HealForce 公司）；BX53 型显微镜、DP73 型显微镜拍照系统（日本 Olympus 公司）；5424R 型离心机、Research plus 移液器（德国 Eppendorf 公司）；TripleTOF 6600+型质谱仪（美国 SCIEX 公司）；LC-30A 型超高效液相色谱仪（日本 Shimadzu 公司）；MU-G02-0448 型恒温金属混匀仪（杭州米欧仪器有限公司）；CentriVap 型离心浓缩仪（美国 Labconco 公司）；VORTEX-5 型涡旋混合器（其林贝尔仪器制造有限公司）；MS105DM 型十万分之一电子天平（梅特勒托利多仪器有限公司）；KQ5200E 型超声清洗仪（昆山市超声仪器有限公司）；Biomek i5 型自动化工作站（美国 Beckman Coulter 公司）；Mini HES 型封膜仪（莫纳生物科技有限公司）。

2 方法

2.1 白矾及其不同炮制品溶液的制备

2.1.1 白矾溶液的制备 将白矾研碎，加入适量的蒸馏水使其完全溶解。

2.1.2 枯矾溶液的制备 参照《中国药典》2020 年版一部白矾项下炮制枯矾方法^[16]制备样品，结合实验室前期考察结果，按以下工艺制备样品^[13]：取白矾生品，置坩埚中铺设厚度约 2 cm。分 2 个阶段煅制，第 1 阶段：煅制温度 250 °C，煅制时间 1.5 h；第 2 阶段：煅制温度 160 °C，煅制时间 1 h。将所得的枯矾样品研碎，逐渐加入适量的蒸馏水直至完全溶解。

2.1.3 蜡矾溶液的制备

《雷公炮炙论》中记载：“凡使，须以瓷瓶盛，于火中。令内外通赤，用钳揭起盖，旋安石蜂巢于赤瓶子中，烧蜂巢尽为度；将钳夹出，放冷，敲碎，入钵中研如粉后，于屋下掘一坑，可深五寸，却，以纸裹，留坑中一宿，取出，再研。每修事十两，用石蜂巢六两，尽为度”。结合本实验室对蜡矾炮制工艺的考察结果，按以下工艺制备样品^[14]：取白矾生品，置于煅药炉中煅烧，加热温度为 587 °C，加热时间为 1 h，取出，趁热加入 0.6 倍量蜂巢，保持温度继续加热 3 h，取出晾凉后，研成粉末状，用麻纸包裹，埋于深 12~15 cm 的土壤中，土壤温度为 20~25 °C，土壤水分为 20%~40%，坑埋时长为 12 h，再研成粉末即得。逐渐加入适量的蒸馏水直至完全溶解。

2.2 动物分组、造模、给药及取材

ICR 小鼠雌雄各半，随机分为对照组、模型组、白矾（0.25 g/kg）组、枯矾（0.25 g/kg）组和蜡矾（0.25 g/kg）组，每组 10 只。小鼠适应性饲养 7 d 后，各给药组分别 ig 质量浓度为 0.025 g/mL 的相应药物（10 mL/kg），对照组和模型组 ig 等体积的蒸馏水，1 次/d，连续给药 14 d。于末次给药次日进行造模，造模前禁食不禁水 24 h，小鼠 ig 无水乙醇（10 mL/kg）建立急性胃溃疡模型^[16]。2 h 后眼球取血，脱颈椎处死小鼠，用手术剪将腹腔小心剪开并取出胃。用手术刀剪沿胃大弯一侧剪开，用生理盐水反复冲洗内容物至干净，用滤纸吸干表面的水分，一部分展开用于观察溃疡情况，另一部分于 -80 °C 保存备用。

2.3 胃组织损伤程度评分

观察各组小鼠胃组织形态，按照胃溃疡评分标准^[17]对胃组织损伤程度进行评分，使用 Image J 软件统计胃黏膜溃疡面积，计算胃溃疡指数和抑制率。

胃溃疡指数 = 胃黏膜溃疡面积 / 胃组织总面积

抑制率 = 1 - 给药组胃溃疡指数 / 模型组胃溃疡指数

2.4 胃组织病理学观察

取各组小鼠含溃疡组织的胃黏膜样本（约 1.0 cm × 1.0 cm），经 40% 甲醛溶液固定 24 h 后，依次进行石蜡包埋、切片（厚度为 4 μ m）及染色。苏木素-伊红（hematoxylin-eosin, HE）染色参照文献方法^[18]：切片经梯度乙醇脱水后，苏木素染核 5 min，1% 盐酸乙醇分化 30 s，伊红复染 2 min，中性树脂胶封片后于光学显微镜下观察黏膜上皮完整性、炎性细胞浸润及溃疡修复情况。Masson 染色参照文献方法^[19]：切片脱蜡水化后，依次进行苏木素核染 5

min, 丽春红-苯胺蓝复合染色 (丽春红 10 min、2% 磷钼酸分化 3 min、苯胺蓝复染 3 min), 脱水封片后观察胶原纤维 (蓝色) 与肌纤维 (红色) 的空间分布特征。PAS 染色参照文献方法^[20]: 切片经 1% 高碘酸氧化 10 min, 雪夫试剂避光染色 15 min, 苏木素复染 2 min, 通过黏膜糖原 (紫红色) 染色强度评估胃黏膜屏障功能。所有染色切片于显微镜下观察并拍照。

2.5 血清中氧化应激及炎症因子水平的测定

血液于室温静置 10~20 min 后, 4 °C、2 500 r/min 离心 20 min, 取上清液。按照试剂盒说明书检测血清中 SOD 活性及 MDA、IL-6、TNF- α 水平。

2.6 免疫组化检测胃组织 EGF 和 bFGF 蛋白表达

取各组小鼠含溃疡组织的胃黏膜样本 (约 1.0 cm $\times$ 1.0 cm), 浸泡于 40% 甲醛溶液中固定 24 h 以上, 经切片、脱蜡、抗原修复、过氧化氢孵育、封闭、一抗孵育、二抗孵育、DAB 显色、苏木素复染、脱水、透明、封片后, 于显微镜下观察并拍照, 采用 Image J 软件进行图像分析, 每张切片随机选取 5 个视野以细胞膜或胞质中出现棕黄色颗粒为阳性细胞表达, 测定各组小鼠胃黏膜组织的平均吸光度 (A) 值。

2.7 Western blotting 检测胃组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达

取各组小鼠胃组织, 加入裂解液匀浆后提取总蛋白, 使用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h, 加入一抗, 4 °C 孵育过夜; 洗膜 3 次后, 加入二抗, 室温孵育 1 h; 洗膜 3 次后, 加入 ECL 化学发光试剂显影, 采用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.8 非靶向代谢组数据分析

取模型组、白矾组和蜡矾组小鼠胃组织, 加入裂解液, 使用球磨仪匀浆 20 s, 3 000 r/min 离心取上清; 加入 70% 甲醇, 1 500 r/min 振荡 5 min, 于冰上静置 15 min; 4 °C、12 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 用于上机分析。

采用 LC-30A 型超高效液相色谱仪联用 TripleTOF 6600+ 型质谱仪进行代谢组学分析。Waters Acquity Premier HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m), 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, 流动相 B 为 0.1% 甲酸-乙腈溶液, 梯度洗脱: 0~2 min, 5%~20% B; 2~5 min, 20%~60% B; 5~6

min, 60%~99% B; 6~10 min, 99%~5% B。柱温 40 °C; 体积流量 0.4 mL/min; 进样量 4 μ L。质谱设备配备电喷雾离子源 (electro-spray ionization, ESI), ESI⁺、ESI⁻ 模式检测, 采集时间 10 min, 候选离子数 18, 离子化电压 5 000 V (ESI⁺) /-4 000 V (ESI⁻), 离子源温度 550 °C (ESI⁺) /450 °C (ESI⁻)。数据采集后, 经过 ProteoWizard 转换为 mzXML 格式, 采用 XCMS 程序进行峰提取、对齐、保留时间校正。采用正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 对各组进行分析, 根据 $P<0.05$ 、变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) >1 , 筛选出差异代谢物, 后续进行数据的分布及数据密度的分析 (<https://cloud.metware.cn>)。将差异代谢物导入 MebaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 数据库, 识别相关代谢途径。

2.9 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件对数据进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布的数据, 采用单因素方差分析进行组间比较, 方差齐者用最小显著性差异法 (LSD) 进行两两比较, 若方差不齐, 则采用 Tamhane 法两两比较。

3 结果

3.1 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织损伤程度的影响

对照组小鼠胃黏膜光滑平整, 无散在出血点; 模型组有明显胃黏膜损伤, 具有大面积出血点和散在斑瘀, 表明胃溃疡模型建立成功。与模型组比较, 白矾组出血面积、斑瘀数目明显减少; 枯矾组有明显胃黏膜损伤, 具有大面积出血点; 蜡矾组治疗效果明显, 无大面积出血点, 存在少量斑瘀。如表 1 所示, 模型组胃黏膜呈现大面积出血性糜烂, 各给

表 1 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织损伤程度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *Alumen* and its processed products on degree of gastric tissue damage in mice with gastric ulcers ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g $\cdot$ kg ⁻¹)	胃溃疡评分	胃溃疡指数/%	抑制率/%
模型	—	9.50 $\pm$ 1.05	39.96 $\pm$ 2.80	—
白矾	0.25	7.17 $\pm$ 0.75**	21.77 $\pm$ 1.99***	45.53
蜡矾	0.25	2.33 $\pm$ 1.63***	14.94 $\pm$ 3.09***	62.62
枯矾	0.25	9.00 $\pm$ 1.26*	22.92 $\pm$ 3.38***	42.65

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs model group.

药组胃溃疡评分、胃溃疡指数均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 溃疡抑制率排序由高到低为蜡矾 > 白矾 > 枯矾。

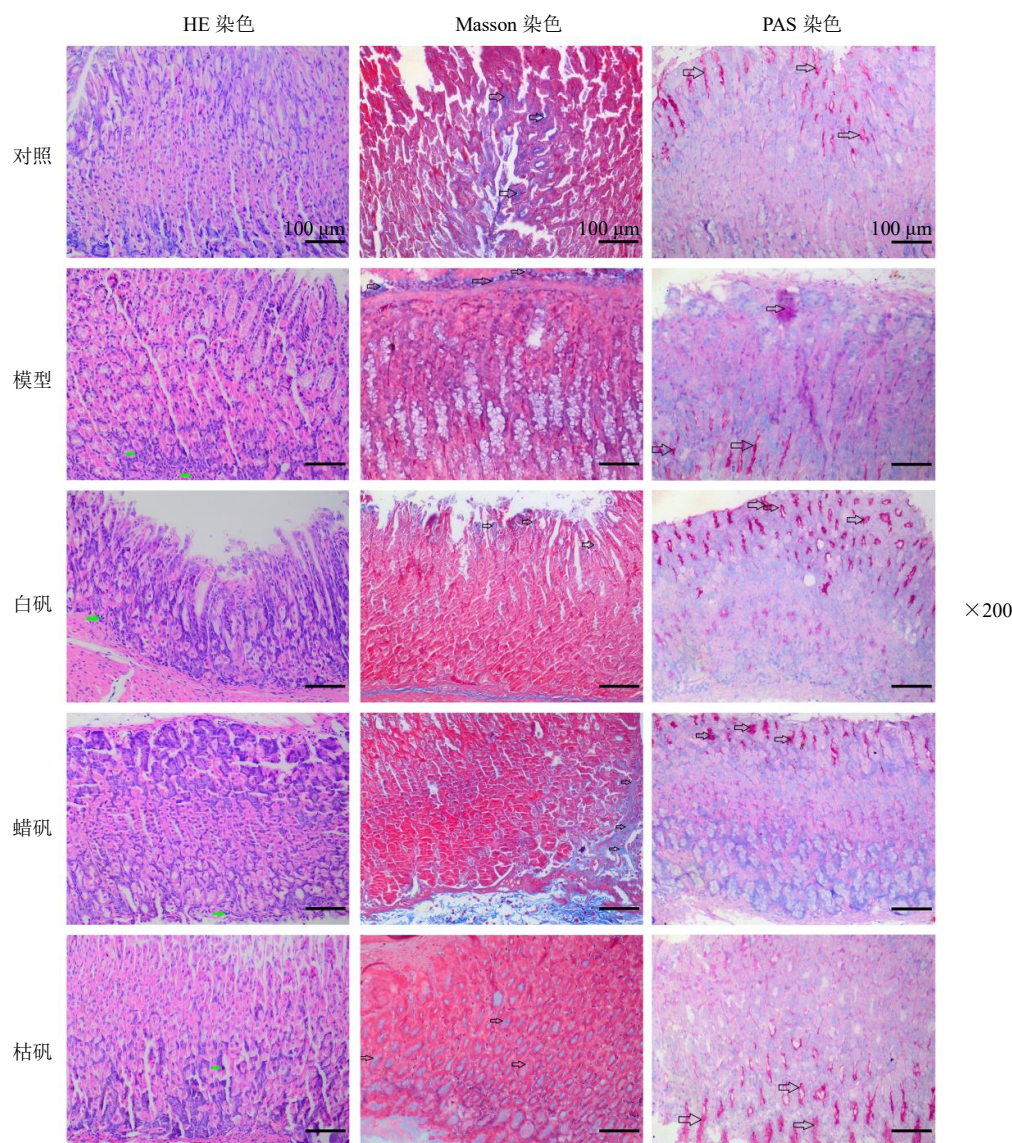
3.2 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织病理变化的影响

如图 1 所示, HE 染色结果表明, 对照组小鼠胃黏膜完整光滑, 无充血、水肿及溃烂等异常病理形态, 腺体排列整齐, 无脱落及缺损。与对照组比较, 模型组黏膜上皮脱落伴炎性浸润。与模型组比较, 各给药组胃黏膜损伤均有不同程度的减轻, 白矾组黏膜水肿减轻, 腺体排列部分恢复; 枯矾组黏

膜下层出血减少, 但炎性细胞浸润仍明显; 蜡矾组黏膜结构完整, 腺体排列紧密, 炎性浸润最轻。

Masson 染色结果表明, 与对照组比较, 模型组小鼠胃黏膜中胶原纤维呈现碎片化和紊乱的状态, 表明胃黏膜的结构受到了严重破坏。而各给药组小鼠显示出显著的保护效果, 胶原纤维的结构较为完整。其中蜡矾组保护效果最为显著, 表明蜂巢煅制工艺能够有效减轻胃黏膜损伤, 促进胃黏膜的修复和再生。

PAS 染色结果表明, 模型组黏膜糖蛋白丢失, 胃组织出现排列不均匀、散在分布的糖分, 表明黏



HE 染色中绿色箭头表示炎性细胞浸润; Masson 染色中箭头所指为胶原沉积; PAS 染色中箭头所指为糖原。

Green arrow indicates inflammatory cell infiltration in HE staining; Arrow indicates collagen deposition in Masson staining; Arrow indicates glycogen in PAS staining.

图 1 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织病理变化的影响

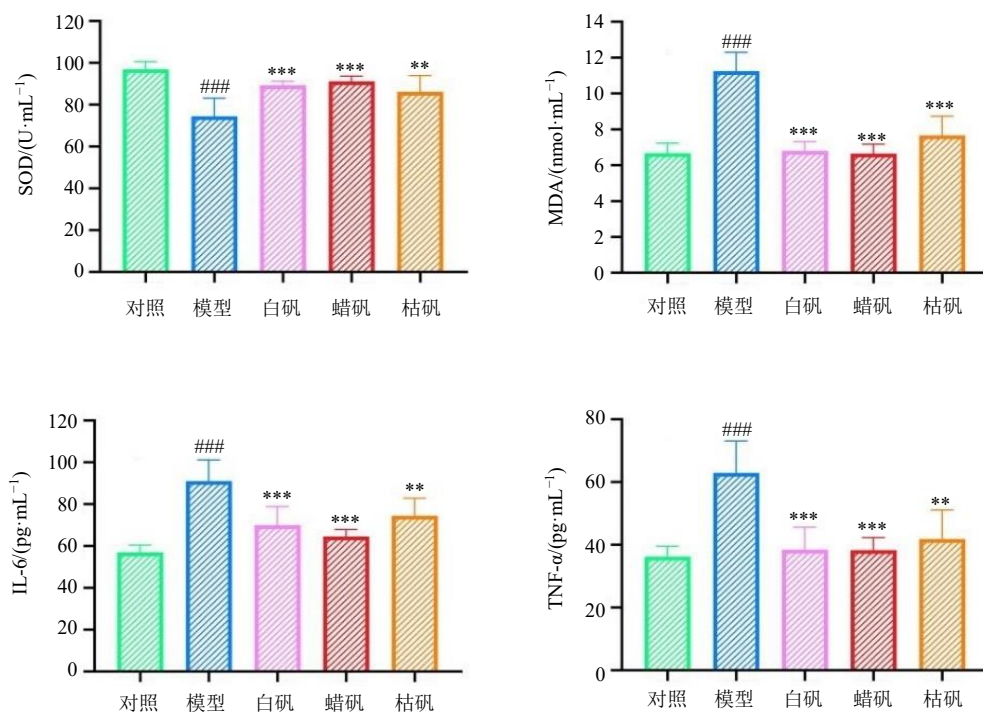
Fig. 1 Effect of *Alumen* and its processed products on pathological changes in gastric tissue of mice with gastric ulcers

膜损伤；与模型组比较，白矾组、枯矾组、蜡矾组黏膜糖蛋白的含量增加，表明白矾可以增强黏膜的保护作用，其中蜡矾组作用优于白矾组与枯矾组。

3.3 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠血清中 SOD 活性及 MDA、IL-6、TNF- α 水平的影响

如图 2 所示，与对照组比较，模型组小鼠血清

中 SOD 活性显著降低 ($P < 0.001$)，MDA、IL-6、TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.001$)；与模型组比较，白矾组、蜡矾组、枯矾组小鼠血清中 SOD 活性显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001)，MDA、IL-6、TNF- α 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。表明白矾及其炮制品均能对乙醇诱导的胃溃疡小鼠产生保护作用。



与对照组比较：### $P < 0.001$ ；与模型组比较：** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ ，下图同。

$P < 0.001$ vs control group; ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠血清中 SOD 活性及 MDA、IL-6、TNF- α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig. 2 Effect of Alumen and its processed products on activity of SOD and levels of MDA, IL-6, TNF- α in serum of mice with gastric ulcers ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.4 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织 EGF 和 bFGF 表达的影响

如图 3 所示，与对照组比较，模型组小鼠胃黏膜组织 EGF、bFGF 阳性表达显著减少 ($P < 0.001$)；与模型组比较，白矾组、枯矾组、蜡矾组胃黏膜组织 EGF、bFGF 阳性表达均显著增加 ($P < 0.01$ 、 0.001)，表明白矾及其炮制品均能增加胃溃疡小鼠胃黏膜中 EGF 和 bFGF 的表达，表明白矾及其炮制品能够显著促进胃黏膜的修复。

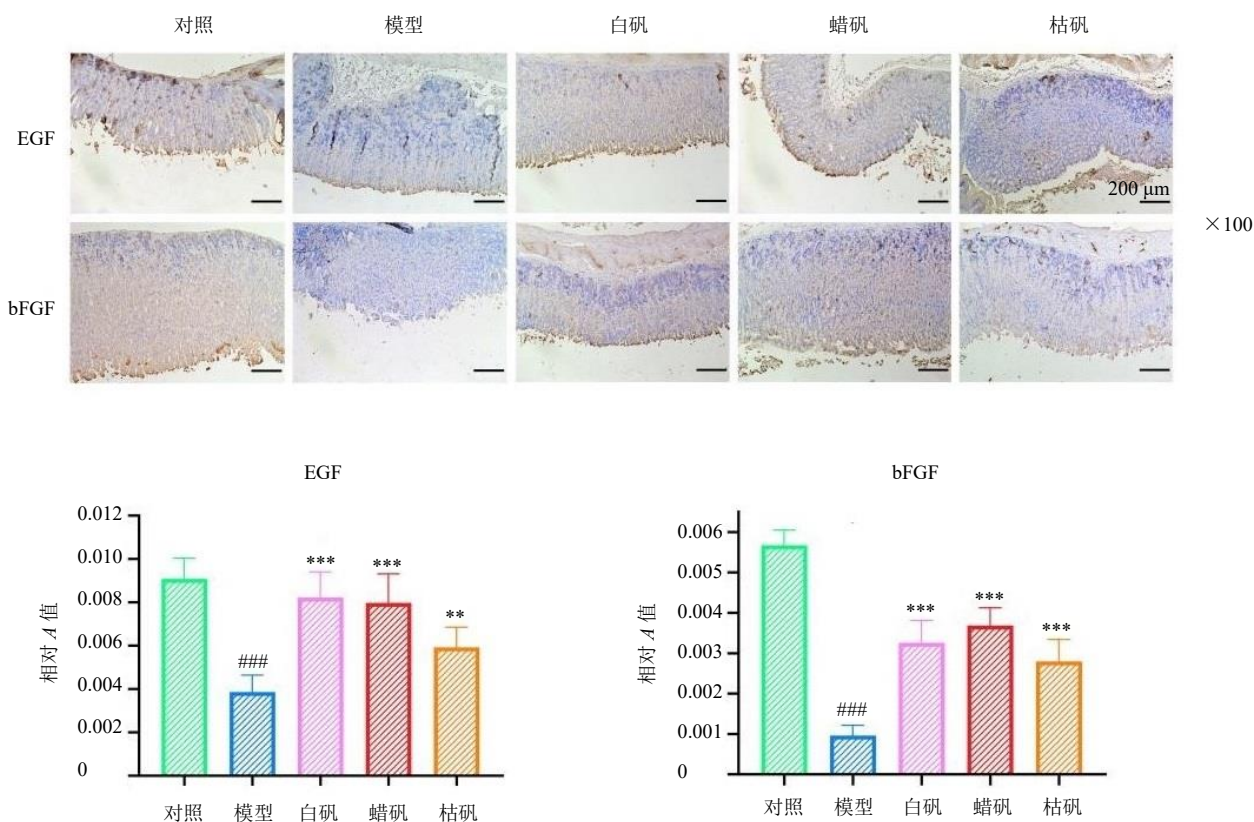
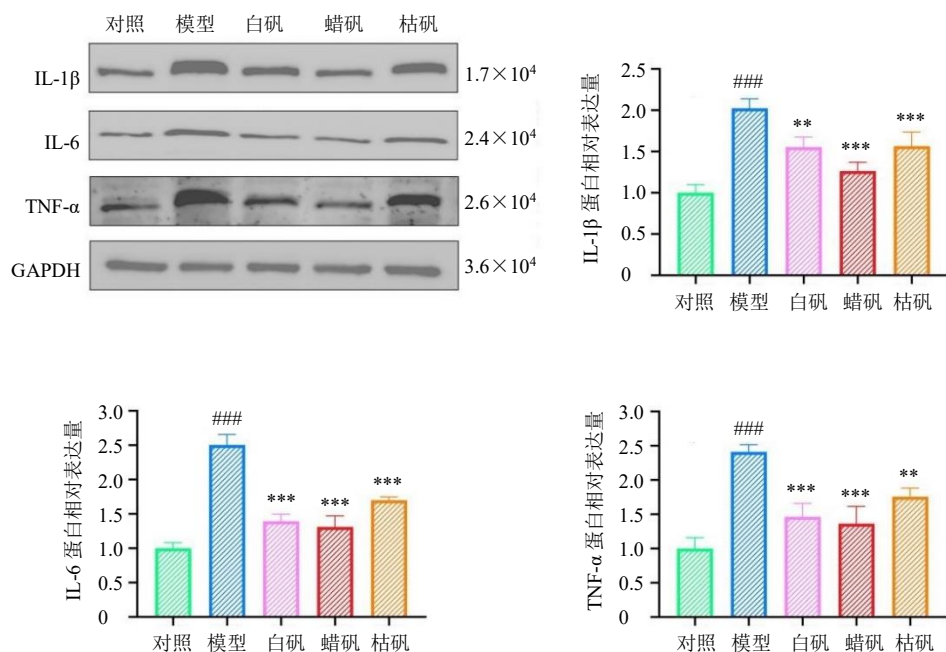
3.5 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达的影响

如图 4 所示，与对照组比较，模型组小鼠胃组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.001$)；与模型组比较，各给药组小鼠胃组织中 IL-

1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达水平均明显降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。表明白矾及其炮制品能够降低炎症因子的表达，从而抑制胃溃疡小鼠胃组织炎症反应。

3.6 代谢组学分析

3.6.1 OPLS-DA OPLS-DA 通过将样本定量信息矩阵 X 分解为与样本分组信息矩阵 Y 相关和不相关的 2 部分，以最大化组间区分并筛选差异变量。OPLS-DA 模型的稳定性和预测能力通过 R^2_X 、 R^2_Y 和 Q^2 参数进行评估，其中 Q^2 值大于 0.5 表示模型有效，大于 0.9 则为出色的模型。本研究建立的 OPLS-DA 模型得分图和验证图见图 5-A、B，白矾组 vs 模型组模型参数显示出良好的区分能力，蜡矾组 vs 模型组模型参数显示出更好的预测能力，表明其在治疗中可能具有更优的效果。

图 3 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织 EGF 和 bFGF 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Fig. 3 Effect of *Alumen* and its processed products on expressions of EGF and bFGF in gastric tissue of mice with gastric ulcers ($\bar{x} \pm s, n = 8$)图 4 白矾及其炮制品对胃溃疡小鼠胃组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Fig. 4 Effect of *Alumen* and its processed products with expressions of IL-1 β , IL-6 and TNF- α proteins in gastric tissue of mice with gastric ulcers ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

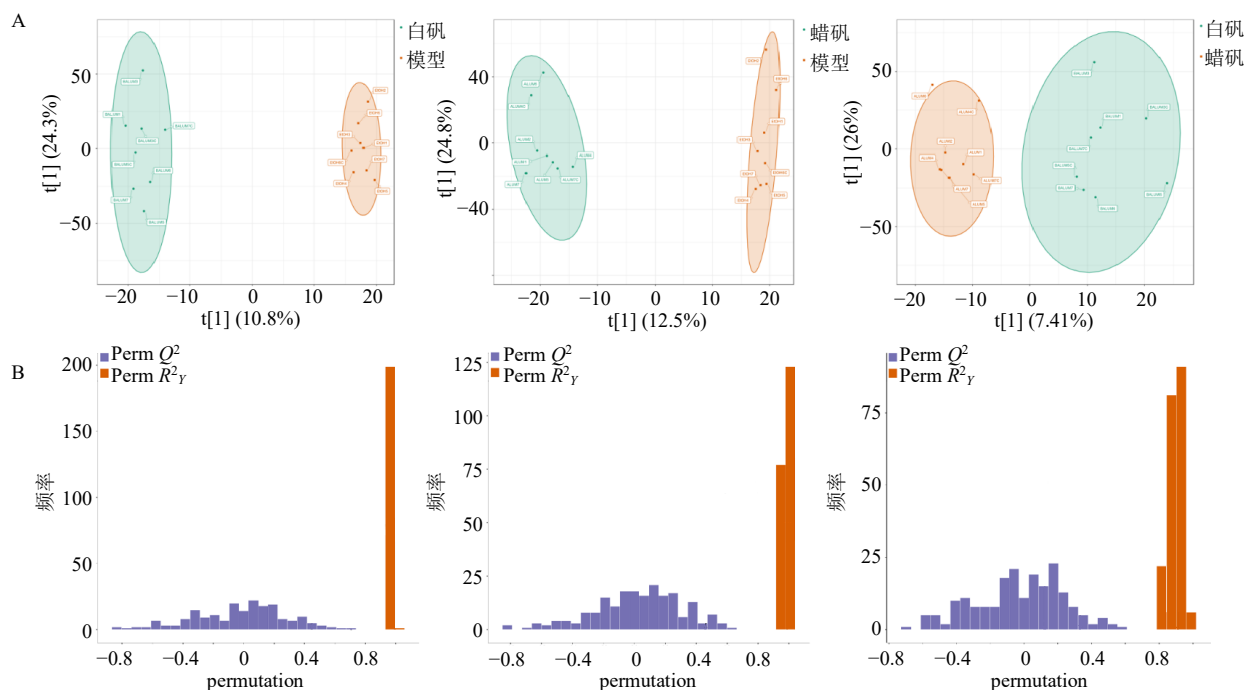


图 5 OPLS-DA 得分图 (A) 及验证图 (B)

Fig. 5 Score plot (A) and verification plot (B) of OPLS-DA

3.6.2 差异代谢物和代谢通路分析 各组间差异代谢物火山图如图 6 所示, 白矾组 vs 模型组筛选出 192 个差异代谢物, 其中上调的差异代谢物 134 个, 下调的差异代谢物 58 个; 蜡矾组 vs 模型组共筛选出 184 个差异代谢物, 其中上调的差异代谢物 120 个, 下调的差异代谢物 64 个; 白矾组 vs 蜡矾组筛选出 31 个差异代谢物, 其中上调的差异代谢物 10 个, 下调的差异代谢物 21 个。各组间差异代谢物韦恩图如图 7 所示, 筛出共同差异代谢物 8 个, 分别为茶碱、氧化茛菪满、亮霉素 A1、苯胺硫、乙硫异烟胺、烯啶虫胺、4-甲基伞形酮、1-十六烷基-2-(9Z-十八烷基)-sn-甘油-3-磷酸-(1'-肌醇)。

进一步分析差异代谢物的代谢途径, 在

MetaboAnalyst 网站导入差异代谢物 KEGG ID 进行代谢途径分析 (图 8), P 值越接近于 0 表示富集越显著, 根据 P 值排名前 20 位分析, 3 组差异代谢物的代谢途径为 α -亚麻酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢、卟啉与叶绿素代谢、类固醇生物合成、 D -精氨酸和 D -鸟氨酸代谢、类固醇激素生物合成。

将差异代谢物与本研究检测指标 (胃溃疡评分、溃疡抑制率及血清 MDA、TNF- α 、IL-6 水平和胃组织 EGF、bFGF 表达) 进行相关性聚类热图分析, 结果见图 8, 共有 6 个差异代谢物与本研究检测指标高度相关。蜡矾相较于白矾在多个关键代谢途径上展现出显著的调控优势。在抗炎与抗氧化中, 蜡矾在抑制脂质过氧化方面的能力显著强于白

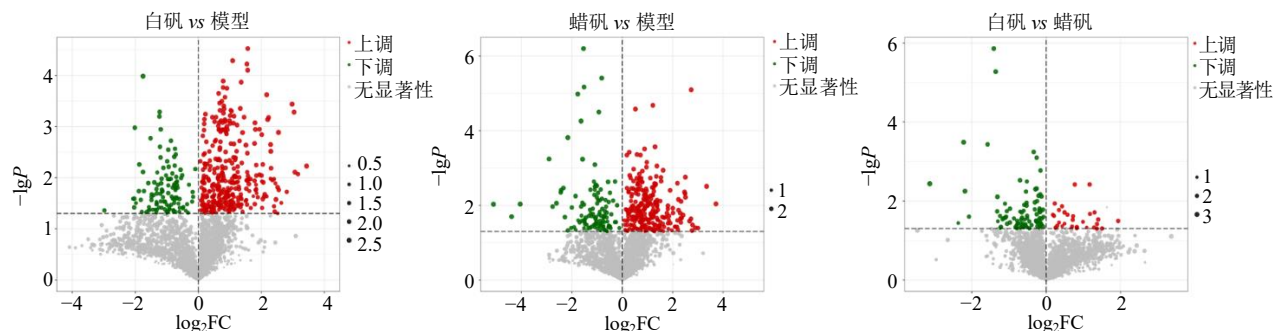


图 6 差异代谢物火山图

Fig. 6 Volcano plot of differential metabolites

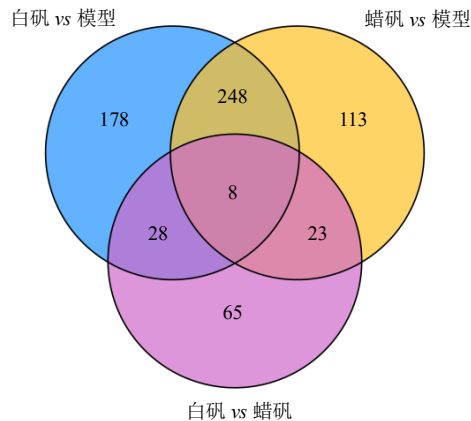


图 7 差异代谢物的韦恩图

Fig. 7 Venn diagram of differential metabolites

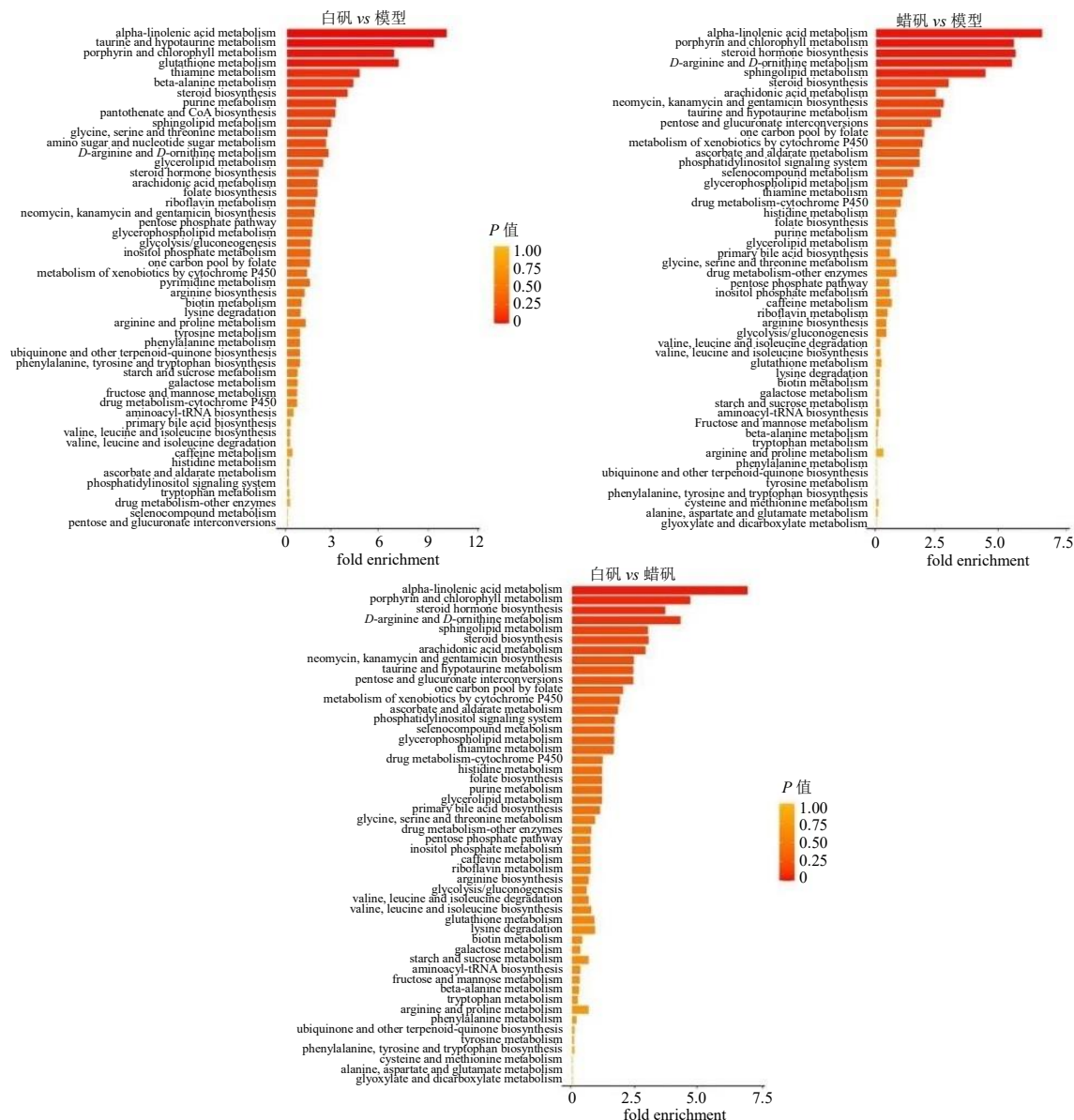


图 8 代谢途径分析

Fig. 8 Metabolic pathway analysis

矾, 并且其与血清 MDA 的负相关性远高于白矾, 表明其抑制脂质过氧化的能力显著提升。在炎症因子调控方面, 蜡矾与血清 TNF- α 的负相关强度远高于白矾, 提示其通过下调炎症因子减轻黏膜损伤的效应更为显著。在促黏膜修复中, 蜡矾与 EGF 的正相关性较白矾大大提升, 表明其通过激活生长因子信号加速溃疡愈合的潜力更强; 蜡矾对 bFGF 的调控呈现双峰特征, 而白矾仅单峰, 提示其多靶点协同修复机制。在磷脂代谢重编程优势中, 蜡矾对 1-十六烷基-2-(9Z 十八烷基)-sn-甘油-3-磷酸-(1'-肌醇) (膜磷脂成分)、2-油酰基-1-硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸丝氨酸 (细胞信号脂质) 的正向调控较白矾增强, 可能通过增强胃黏膜细胞膜稳定性并激活磷脂酰

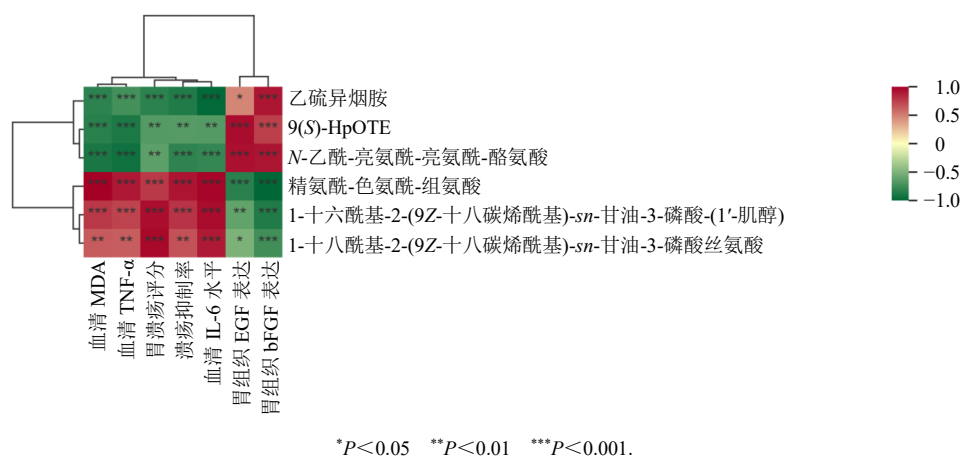


图 9 差异代谢物的热图分析

Fig. 9 Heatmap analysis of differential metabolites

肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) - 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 细胞存活信号通路相关。在乙硫异烟胺相关代谢增效中, 蜡矾与乙硫异烟胺代谢产物的正相关性显著高于白矾, 结合前期研究推测, 蜡矾可能通过缓释效应减少乙硫异烟胺的胃肠道刺激性代谢物积累, 蜂蜡辅料中的萜烯类物质可能协同增强抗菌活性。从代谢层面印证传统炮制“减白矾之峻烈, 增护膜之柔润”的理论, 为蜡矾治疗胃溃疡的“缓释-增效”机制提供分子依据。

4 讨论

乙醇诱导的胃溃疡模型与人类急性消化性溃疡具有高度相似性, 被广泛应用于研究^[21-22]。乙醇通过破坏胃黏膜黏液层^[23], 导致黏膜水肿、出血性糜烂及炎症浸润等急性损伤特征^[24-25]。其病理机制与上皮细胞凋亡、炎症因子过表达 (如 TNF- α 、IL-6) 及氧化应激增强密切相关^[26-28], 而临床合成类抗溃疡药物存在细菌耐药等风险^[29]。本研究针对乙醇诱导的急性胃溃疡, 系统比较白矾、蜡矾及枯矾的疗效。结果显示, 蜡矾在组织病理、生化和代谢组学指标中表现出较好的效果, 尤其在某些关键指标上优于其他炮制品, 使其成为黏膜保护和溃疡修复的优选之一。

白矾作为常用矿物药在临床应用广泛。白矾具有解毒杀虫、燥湿止痒等功效^[30]。早在 1847 年《西医学杂志》就记载其与阿拉伯胶混合治疗鼻出血的案例。经明煅法炮制的枯矾可与黏膜蛋白结合形成保护膜, 增强止血作用^[31]。本研究显示, 蜡矾对乙醇诱导胃溃疡的抑制率达 62.62%, 显著优于白矾

(45.53%) 和枯矾 (42.65%)。组织病理学证实, 蜡矾组胃黏膜完整性最佳, 胶原降解最少, 糖蛋白含量较模型组高 2.1 倍。机制研究表明, 蜡矾可恢复氧化还原平衡, 使 SOD 活性提高, MDA 水平降低, 并显著抑制 IL-6 和 TNF- α 表达。其协同机制源于: ①白矾经炮制形成多孔结构, 铝盐通过结合黏膜蛋白形成保护膜; ②蜂巢^[32]含多酚、果胶等成分, 既可抑制胃酸分泌^[33], 其糖皮质激素成分又能抗炎消肿。免疫组化实验结果显示各给药组胃黏膜中 EGF 和 bFGF 表达水平升高, 其中白矾组、蜡矾组上调更为显著, 这些生长因子可能通过调节细胞增殖迁移促进腺体结构再生, 并激活 PI3K/Akt 通路协同增强黏膜修复能力, 印证古法炮制工艺的增效作用。Western blotting 结果显示, 与模型组比较, 各给药组小鼠胃组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 蛋白表达明显下调, 进一步证实了白矾及其炮制品在治疗急性胃溃疡方面的较为显著的抗炎效果。

非靶向代谢组学分析揭示了白矾和蜡矾在治疗胃溃疡中的关键作用, 特别是它们对 α -亚麻酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢、卟啉与叶绿素代谢、类固醇生物合成、D-精氨酸和 D-鸟氨酸代谢等途径的影响。其中, α -亚麻酸代谢通过双重机制抑制炎症: ①其衍生物可阻断 5-脂氧合酶减少中性粒细胞浸润; ② ω -3 多不饱和脂肪酸中二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) /二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 竞争性抑制花生四烯酸代谢, 降低白三烯 B₄ 合成, 同时激活 PI3K/Akt 通路^[34-36]。蜡矾特异性提高牛磺酸水平, 维持牛磺胆酸低于胆汁反流阈值。蜂巢黄酮类物质使铝生物

利用度提升,协同磷脂重塑(如1-十六酰基磷脂酰肌醇)促进膜稳定及前列腺素E₂合成,OPLS-DA模型证实其代谢特征与黏膜保护和氧化应激缓解高度相关。牛磺酸作为内源性抗氧化剂,通过增强SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶和还原型谷胱甘肽等酶活性对抗胃溃疡损伤^[37];D-精氨酸通过促进胶原合成加速溃疡愈合^[38];类固醇生物合成可能调控皮质醇等抗炎激素分泌。尽管卟啉代谢与胃溃疡的直接关联较弱,但其在维持代谢稳态中发挥间接保护作用。这些多靶点效应印证了古法蜂巢炮制工艺的科学性——蜂蜡黄酮不仅作为天然稳定剂防止铝离子过度释放,其糖皮质激素成分(如倍他米松)还可协同 α -亚麻酸代谢实现抗炎-再生双重调控。这些发现表明,白矾和蜡矾通过调节关键代谢途径,对胃溃疡的治疗具有潜在的积极影响。

本研究结果显示,白矾对胃黏膜具有一定的保护作用。在采用不同炮制方法的比较中,尤其是传统蜂巢炮制方法制备的蜡矾,在多数关键指标上显示出较为显著的保护效果,提示其在胃黏膜保护方面可能具有潜在优势。本研究系统对比白矾炮制工艺的疗效差异,证实传统蜂巢炮制工艺可显著提升矿物药的黏膜保护效能,为胃溃疡治疗的“减毒存效”炮制理论提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2020:111-112.
- [2] 张彩霞,姬亮亮,朱仁愿,等.药用白矾评价检验质量分析及建议[J].甘肃科技,2019,35(8):72-75.
- [3] 高如汐,赵启苗,郑威,等.白矾减压炮制工艺研究[J].中草药,2022,53(8):2324-2330.
- [4] 刘宋·雷教撰.雷公炮炙论[M].南京:江苏科技出版社,1985:24.
- [5] 青葫芦.图解本草纲目[M].福州:福建科学技术出版社,2020:237-238.
- [6] 明·陈嘉谟,范颖,梁茂新.本草蒙筌[M].北京:中国医药科技出版社,2021:212.
- [7] 清·汪昂撰,郑金生整理.本草备要[M].北京:人民卫生出版社,2017:294-295.
- [8] 清·黄宫绣.本草求真[M].太原:山西科学技术出版社,2015:192-193.
- [9] 李迅著,郑金生校注.太平圣惠方(下册)[M].北京:人民卫生出版社,2016:1277.
- [10] 童长忆,袁芝琼.蜂房的成分和药理作用研究概况[J].云南中医中药杂志,2022,43(2):91-95.
- [11] 柳宝华,马天翔,史光伟,等.中药蜂房的药理作用及临床应用研究[J].中兽医医药杂志,2021,40(3):86-88.
- [12] 张娜,解红霞.蜂房的化学成分及药理作用研究进展[J].中国药房,2015,26(24):3447-3449.
- [13] 杨欣欣,钱圳,许天阳,等.白矾煅制工艺优化[J].中成药,2018,40(6):1351-1354.
- [14] 杨欣欣,黄梓骏,洪禹昕,等.基于《雷公炮炙论》的白矾蜂巢制炮制工艺研究[J].中草药,2024,55(12):4008-4019.
- [15] 乌日汉,毕力格,乌日罕,等.川楝子亚急性毒性实验研究[J].云南中医中药杂志,2022,43(9):70-73.
- [16] 王慧,周星,张一云,等.小鼠三种急性胃溃疡模型比较[J].实验动物与比较医学,2012,32(1):17-19.
- [17] 刘彬编著.中药大辞典[M].北京:中医古籍出版社,2008:4.
- [18] 胡嘉影,陈雨萍,罗志飞,等.不同分类器对苏木精-伊红染色在早期胃癌组织病理图像分级研究[J].中国医学装备,2020,17(12):63-68.
- [19] 王逸聪,李鑫宇,郑雨潇,等.胶原纤维Masson染色中亮绿SF和灿烂绿的应用比较[J].诊断病理学杂志,2020,27(7):519-520.
- [20] 潘恋恋,朱晨,梅勇.真菌荧光染色法与PAS染色法在肺隐球菌病病理学诊断中的比较[J].中国真菌学杂志,2023,18(3):229-231.
- [21] Balaky S T J. Anti H. pylori, anti-secretory and gastroprotective effects of *Thymus vulgaris* on ethanol-induced gastric ulcer in Sprague Dawley rats [J]. *PLoS One*, 2024, 19(1): e0287569.
- [22] Abdelwahab S I, Mohan S, Abdulla M A, et al. The methanolic extract of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. and its major compound pinostrobin induces anti-ulcerogenic property *in vivo*: Possible involvement of indirect antioxidant action [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(2): 963-970.
- [23] Huang H B, Hou Y Y, Chen L H, et al. Multifunctional gallic acid self-assembled hydrogel for alleviation of ethanol-induced acute gastric injury [J]. *Int J Pharm*, 2023, 645: 123372.
- [24] 高慧娟. 香椿籽总黄酮对损伤胃黏膜细胞和胃癌细胞的影响研究[D]. 阜阳: 阜阳师范大学, 2023.
- [25] Liu H F, Chen Y Q, Hu Y L, et al. Protective effects of an alcoholic extract of *Kaempferia galanga* L. rhizome on ethanol-induced gastric ulcer in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 325: 117845.
- [26] Zheng H, Chen Y L, Zhang J Z, et al. Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 250: 68-

- 77.
- [27] Abdoulrahman K. Anti-ulcer effect of *Ranunculus millefoliatus* on absolute alcohol-induced stomach ulceration [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30(8): 103711.
- [28] Ke Y, Zhan L, Lu T, *et al*. Corrigendum: Polysaccharides of *Dendrobium officinale* Kimura & Migo leaves protect against ethanol-induced gastric mucosal injury via the AMPK/mTOR signaling pathway *in vitro* and *vivo* [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 948569.
- [29] Yu M L, Qian J H, Guo D H, *et al*. Severe adverse reactions caused by omeprazole: A case report [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2): 1103-1106.
- [30] 尤淑霞, 吴德康, 刘圣金, 等. 白矾的基原考证及药理作用 [J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(7): 111-112.
- [31] 栾英杰, 侯万升. 神农本草经合注 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 8-9.
- [32] 任冰. 天山黑蜂巢蜜伊犁百信特供 [J]. 中国蜂业, 2013, 64(18): 49-50.
- [33] Kangwan N, Park J M, Kim E H, *et al*. Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression [J]. *World J Gastrointest Pathophysiol*, 2014, 5(1): 40-47.
- [34] Paradee N, Koonyosying P, Kusirisin W, *et al*. Analgesic, anti-inflammatory and anti-ulcer properties of Thai *Perilla frutescence* fruit oil in animals [J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(1): BSR20203166.
- [35] Djuric Z, Aslam M N, Simon B R, *et al*. Effects of fish oil supplementation on prostaglandins in normal and tumor colon tissue: Modulation by the lipogenic phenotype of colon tumors [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 46: 90-99.
- [36] Zhao G X, Etherton T D, Martin K R, *et al*. Dietary alpha-linolenic acid inhibits proinflammatory cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in hypercholesterolemic subjects [J]. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85(2): 385-391.
- [37] Balasubramanian T, Somasundaram M, John William Felix A. Taurine prevents Ibuprofen-induced gastric mucosal lesions and influences endogenous antioxidant status of stomach in rats [J]. *Sci World J*, 2004, 4: 1046-1054.
- [38] Brzozowski T, Konturek S J, Sliwowski Z, *et al*. Role of L-arginine, a substrate for nitric oxide-synthase, in gastroprotection and ulcer healing [J]. *J Gastroenterol*, 1997, 32(4): 442-452.

[责任编辑 李亚楠]