

大果阿魏石油醚提取物成分分析及其对胃黏膜保护作用的评价

仲超逸^{1,2}, 田洪磊^{2,*}, 詹萍^{2,*}, 王鹏^{1,2}, 周文杰^{1,2}

(1.石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832000; 2.陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 目的: 明晰新疆大果阿魏石油醚提取物中的物质组成及其对乙酸损伤型大鼠胃黏膜的保护作用, 为胃黏膜保护及抗氧化类功能食品的开发提供借鉴。方法: 采用乙酸所致大鼠胃黏膜损伤模型, 将60只SD大鼠分为正常组、模型组、阳性组(雷尼替丁0.03 g/kg), 大果阿魏石油醚提取物分为高、中、低剂量组(1.0、0.2、0.04 g/kg m_b), 均连续灌胃两周, 并采用气相色谱-质谱联用技术分析大果阿魏石油醚提取物中的化学成分。修复效果以胃黏膜损伤面积变化为评价指标, 并计算损伤抑制率。同时, 测定胃组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)及一氧化氮(NO)含量。结果: 大果阿魏石油醚提取物中共分离鉴定出25种物质, 其中萜类化合物含量最多, 相对含量为49.47%, 其次是含硫化合物, 相对含量为24.01%。各剂量大果阿魏石油醚提取物组均能明显改善大鼠胃黏膜损伤程度, 与其他实验组相比, 低、中、高剂量组损伤面积平均减小了7.68~13.10 mm²; 与模型组相比, 高剂量提取物组效果最佳, 损伤抑制率达到31.84%, SOD活力增加了37.27%, MDA含量降低了32.51%, PGE₂和NO含量分别增加了22.41%和28.13%。结论: 大果阿魏石油醚提取物对大鼠乙酸性胃黏膜损伤具有明显的保护作用, 作用机制可能与其提高胃黏膜抗氧化能力有关。

关键词: 大果阿魏提取物; 气相色谱-质谱联用; 成分分析; 胃黏膜损伤; 抗氧化活性

Component Analysis of Petroleum Ether Extract from *Ferula lehmannii* Boiss and Evaluation of Its Protective Effect on Gastric Mucosal Injury

ZHONG Chaoyi^{1,2}, TIAN Honglei^{2,*}, ZHAN Ping^{2,*}, WANG Peng^{1,2}, ZHOU Wenjie^{1,2}

(1. College of Food, Shihezi University, Shihezi 832000, China;

2. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: Purpose: The present study aimed to characterize the chemical profile of petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss and evaluate its gastroprotective activity, so as to provide an experimental basis for the development of functional foods with antioxidant activity and gastric mucosal protection. Methods: The gastroprotective activity of *Ferula lehmannii* Boiss was investigated using an animal model of gastric ulcer induced by acetic acid. Totally 60 rats were divided into normal, model, ranitidine (positive control, at 0.03 g/kg), and high, medium and low-dose petroleum ether extract groups (1.0, 0.2 and 0.04 g/kg m_b). The components of the extract were analyzed by gas-phase chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The administration lasted for 2 weeks. At the end of the experimental period, all rats were sacrificed to collect stomach samples for evaluation of antioxidant indexes including superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) level, and protective factors of gastric mucosa such as prostaglandin E₂ (PGE₂) and nitric oxide (NO). The change in gastric mucosal injury area was considered to evaluate the protective effect of the extract against gastric mucosal injury, and the percentage of injury inhibition was calculated. Results: Totally 25 compounds were identified from the extract, including terpenoids (49.47%) and sulphur-containing compounds (24.01%). The petroleum ether extract significantly attenuated gastric mucosal damage and reduced lesion area by 7.68 to 13.10 mm² on average compared with other experimental groups. Compared with the model group, the extract at the high dose gave the maximum percentage of injury inhibition of 31.84%.

收稿日期: 2018-02-20

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2016YFD0400705)

第一作者简介: 仲超逸(1993—)(ORCID: 0000-0001-7360-089X), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养。

E-mail: 843144682@qq.com

*通信作者简介: 田洪磊(1979—)(ORCID: 0000-0001-6101-5466), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品风味与营养化学。

E-mail: thl0993@sina.com

詹萍(1981—)(ORCID: 0000-0003-3649-1860), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品风味化学。

E-mail: zhanping0993@126.com

increased SOD activity by 37.27%, decreased MDA level by 32.51%, and augmented the contents of PEG₂ and NO by 22.41% and 28.13%. Conclusion: The petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss can exert protective effect against chronic gastric mucosal injury, and the mechanism may be associated with the enhancement of antioxidant capacity.

Keywords: extract from *Ferula lehmannii* Boiss; gas chromatography-mass spectrometry; component analysis; gastric mucosal injury; antioxidant activity

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180220-177

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2019)09-0159-07

引文格式:

仲超逸, 田洪磊, 詹萍, 等. 大果阿魏石油醚提取物成分分析及其对胃黏膜保护作用的评价[J]. 食品科学, 2019, 40(9): 159-165. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180220-177. <http://www.spkx.net.cn>

ZHONG Chaoyi, TIAN Honglei, ZHAN Ping, et al. Component analysis of petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss and evaluation of its protective effect on gastric mucosal injury[J]. Food Science, 2019, 40(9): 159-165. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180220-177. <http://www.spkx.net.cn>

当今社会快节奏的生活方式导致大多数人的饮食变得不规律、饮酒过量或频繁服用各类药物,这使得胃黏膜变得很脆弱且易受到损伤^[1]。目前,对胃黏膜保护的手段主要有胃黏膜保护剂(如生胃酮、硫铝糖等)^[2]及具有健胃养胃功效的天然提取物,如能促进胃黏膜细胞增殖和DNA合成的丹参^[3]、能提高胃组织中前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)和一氧化氮(NO)含量的盐藻多糖等^[4]。因此作为新疆特有的药食两用资源——大果阿魏在对胃肠道疾病辅助治疗方面的功能性食品开发与研究具有良好的前景。

大果阿魏(*Ferula lehmannii* Boiss)属于伞形科阿魏属(*Ferula*),因具有强烈葱蒜样气味常作为调味食材^[5]。多种阿魏属植物在民间已经广泛用于抗惊厥、祛风、解痉、滋补、润肠等方面,也能用于治疗神经紊乱、糖尿病、风湿病和背痛等慢性疾病^[6-8],因此部分研究学者针对阿魏属植物的主要化学成分进行了分离与鉴定,试图获得阿魏属植物对胃部功能性修复的关键组分及明确具体的保护机理^[9-10]。目前国内已有部分关于阿魏属植物对胃肠道损伤修复功能的报道,如王飒^[11]研究发现多伞阿魏的挥发油及其多种提取物对胃癌细胞增殖有一定的抑制作用;熊元君等^[12]建立与临床急性胃黏膜损伤相近的大鼠动物模型,比较并评价了乌恰阿魏、多伞阿魏和阿魏原汁对胃黏膜的保护及修复作用。然而针对新疆大果阿魏对胃黏膜保护作用的研究鲜见报道。

本实验采用国内外常用的乙酸所致大鼠胃黏膜损伤模型,观察大果阿魏石油醚提取物对胃黏膜损伤的修复作用,以损伤面积、损伤抑制率、胃组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)活力和PGE₂、NO含量为指标,评价了大果阿魏石油醚提取物对胃黏膜的保护作用,同时将分离与鉴定提取物中的化学成分与各指标建立构效关系,为开发以大果阿魏为原料的具有养胃功能特性的食品提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 动物、材料与试剂

SD(清洁级)雄性大鼠60只,体质量180~220 g,由新疆医科大学动物中心提供,许可证号:SCX(新)XJ-0001。

大果阿魏采摘于新疆石河子市南山红土地带(2017年4月),挑选出新鲜完整的地上部分后,迅速平铺于空地并在室温下自然阴干,在室温下密封保存。

冰乙酸(分析纯,乙酸含量≥99.5%) 天津市东丽区天大化学试剂厂;盐酸雷尼替丁 山西太原制药有限公司;羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na) 国药集团化学试剂有限公司;SOD、MDA、PGE₂、NO试剂盒 南京建成生物工程研究所;正构烷烃混合标准品(C7~C40) 美国Sigma-Aldrich公司。

1.2 仪器与设备

5977A气相色谱-质谱联用仪 美国Agilent公司;游标卡尺(量程0~125 mm,精密度0.02 mm) 上海精密仪器仪表有限公司;低温离心机 德国Sigma公司。

1.3 方法

1.3.1 大果阿魏石油醚提取物制备

参考文献[13]的方法,称取干燥粉末100 g,加入8倍体积的石油醚溶剂,水浴回流提取3次,合并提取液,减压抽滤得到上清液,用旋转蒸发器真空浓缩得到浸膏。

1.3.2 大果阿魏石油醚提取物成分分析

气相色谱-质谱条件:HP-5色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);升温程序:初始温度60℃,保持5 min,以4℃/min升高到230℃,保持10 min;载气流量为1.0 mL/min,进样量1 μL,不分流进样。离子源为电子轰击离子源,温度230℃;四极杆温度150℃;电子能量70 eV;扫描范围30~450 amu。

定性定量方法：分离出的未知物各色谱峰与NIST 14 Library相匹配，为使化合物匹配更为精确，同时通过与文献化合物中的相对保留指数（retention index, RI）进行比对验证所鉴定的化合物。RI标准值为保留指数值，通过NIST数据库（http://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser.html）查阅得到。RI值根据式（1）计算。

$$RI = 100 \times m + 100 \times \frac{TR_{(X)} - TR_{(m)}}{TR_{(m+1)} - TR_{(m)}} \quad (1)$$

式中：TR_(m)、TR_(m+1)、TR_(X)分别为碳原子数m、m+1的正构烷和待测物X的保留时间，且通常TR_(m) < TR_(X) < TR_(m+1)。

1.3.3 大鼠乙酸性胃黏膜损伤模型的建立及分组

所有动物在相对湿度50%~60%、温度23~25℃的动物房适应性喂养3d，给予正常饮食自由饮水。

模型建立前12h大鼠禁食不禁水，由于乙酸所致胃黏膜损伤与人类慢性胃黏膜损伤最相似，故采用Okabe等^[14]的方法经过改良后制作乙酸损伤胃黏膜实验大鼠模型。大鼠腹腔注射体积分数3%苯巴比妥钠麻醉，剂量为0.18 mL/100 g。注射后约10 min完全麻醉，麻醉时间5 h左右。将大鼠固定在动物手术台上，用碘酒、乙醇常规消毒，剑突下1 cm纵向切开皮肤，找出胃，移出腹腔，用微量注射器（5 μL）将胃前壁胃窦部膜下近肌层处注入体积分数20%冰乙酸0.05 mL，注射结束后，将胃复位，涂抹适量抗生素。术后当日将大鼠放回笼中，给予自由饮水，次日给予自由饮食。

造模完成后将大鼠随机分成6组，分别为正常组（未造模）、模型组、阳性组（雷尼替丁）及大果阿魏石油醚提取物高（1.0 g/kg m_b）、中（0.2 g/kg m_b）、低（0.04 g/kg m_b）剂量组，每组8只。

1.3.4 胃组织损伤面积及损伤抑制率的测定

给药方法：术后次日开始给药，正常组和模型组每天灌胃等体积的0.5% CMC-Na溶液；阳性组每天按照0.03 g/kg m_b灌胃雷尼替丁；大果阿魏石油醚提取物高、中、低剂量组用0.5% CMC-Na混悬配制，大鼠给药体积为1 mL/100 g m_b，连续灌胃2周。

末次给药后，所有大鼠禁食12 h不禁水，处死后打开腹腔，结扎幽门和贲门，取出全胃。然后放入体积分数1%福尔马林溶液中，用蒸馏水洗净内容物，滤纸吸干，平展在玻璃板上，观察损伤愈合情况，用游标卡尺量取损伤部分的最大纵径和横径，分别根据式（2）、（3）计算损伤面积及损伤抑制率。

$$\text{损伤面积}/\text{mm}^2 = \frac{1}{4} \times \text{损伤长度} \times \text{损伤宽度} \times \pi \quad (2)$$

$$\text{损伤抑制率}/\% = \frac{\text{模型组损伤面积} - \text{给药组损伤面积}}{\text{模型组损伤面积}} \times 100 \quad (3)$$

1.3.5 胃组织病理切片观察

胃组织病理切片观察参考文献[15]。用体积分数4%

甲醛溶液固定各组胃组织，用流水冲去固定液后放入体积分数70%的乙醇溶液中保存。将各胃组织依次置于不同体积分数的乙醇中梯度脱水至组织块完全脱水透明，然后进行包埋、切片、染色，于显微镜下观察。

1.3.6 胃组织生化指标的测定

各组取损伤边缘相同部位的一块胃组织，称取0.3~0.4 g，用质量分数0.9%的冰生理盐水制备成10%的组织匀浆，离心后取上清液，置于4℃下测定SOD活力、MDA含量、PGE₂质量浓度及NO含量。

1.3.7 主成分分析

主成分分析（principal component analysis, PCA）是一种较为经典的特征抽取和降维技术之一，同时在无监督的模式下对各因素进行分类与可视化识别^[16]。以所测指标即SOD、MDA、PGE₂和NO水平为分类变量，对提取物中的挥发性物质进行分类。依据PCA分析的基本原则，即各化合物在得分图上距离越接近某项指标，其对于该指标的贡献率越大。

1.4 数据处理与分析

测定结果及主成分分析均采用SPSS 19.0软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用单因素方差分析，检验水准 $\alpha = 0.05$ ，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 大果阿魏石油醚提取物成分分析

采用气相色谱-质谱分析得到大果阿魏石油醚提取物的总离子流图如图1所示，共鉴定出25种成分，结果详见表1。大果阿魏石油醚提取物中主要有萜类及含硫化合物。相对含量最高的是萜类物质，玫瑰醚、侧柏醇、橙花醇3种单萜和马兜铃烯、橙花叔醇等10种倍半萜相对含量为49.47%，其中橙花叔醇、玫瑰醚相对含量较高，分别为8.70%和6.59%。1-(1-(甲硫基)丙基)-2-丙基二硫醚（10.88%）、(Z)-仲丁基丙烯基二硫醚（7.52%）、(Z)-2-丁烯基1-甲基丙二硫醚（3.73%）和二甲基三硫醚4种含硫化合物相对含量为24.01%，这些含硫物质的存在赋予了大果阿魏特殊的葱蒜样气味^[17]。

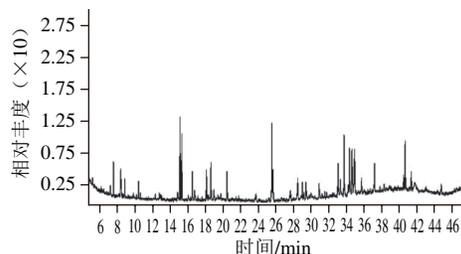


图1 大果阿魏石油醚提取物的总离子流图
Fig. 1 Total ion current chromatography of the petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss

表1 大果阿魏石油醚提取物成分分析

Table 1 Chemical composition of the petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss

| 序号 | 化合物名称 | RI计算值 | RI标准值 | 相对含量 |
|----|-----------------------|-------|-------|------------|
| 1 | (E)-2-己烯-1-醇 | 861 | 868 | 0.92±0.03 |
| 2 | 二甲基三硫醚 | 969 | 972 | 1.88±0.10 |
| 3 | 正辛醛 | 1 004 | 1 001 | 1.14±0.02 |
| 4 | 苯乙醛 | 1 045 | 1 049 | 1.16±0.04 |
| 5 | (E)-2-辛烯醛 | 1 061 | 1 063 | 0.56±0.02 |
| 6 | 3-庚-2-癸醇 | 1 097 | 1 101 | 1.49±0.16 |
| 7 | 玫瑰醚 | 1 104 | 1 109 | 6.59±1.02 |
| 8 | 4-侧柏醇 | 1 167 | 1 166 | 1.44±0.05 |
| 9 | (Z)-仲丁基丙烯酸二硫醚 | 1 168 | 1 170 | 7.52±1.11 |
| 10 | 橙花醇 | 1 220 | 1 226 | 2.16±1.01 |
| 11 | (Z)-2-丁烯基-1-甲基丙二硫醚 | 1 250 | 1 255 | 3.73±0.09 |
| 12 | 对乙炔基愈创木酚 | 1 313 | 1 315 | 1.98±0.17 |
| 13 | 1-(1-(甲硫基)丙基)-2-丙基二硫醚 | 1 423 | 1 426 | 10.88±2.21 |
| 14 | 马兜铃烯 | 1 428 | 1 428 | 3.55±1.21 |
| 15 | β -紫罗兰酮 | 1 487 | 1 490 | 2.26±0.22 |
| 16 | 榄香醇 | 1 546 | 1 549 | 4.17±0.41 |
| 17 | 橙花叔醇 | 1 560 | 1 565 | 8.70±2.16 |
| 18 | 石竹烯氧化物 | 1 561 | 1 561 | 6.39±1.05 |
| 19 | 愈创木醇 | 1 599 | 1 599 | 3.26±0.12 |
| 20 | 绿花白千层醇 | 1 607 | 1 600 | 1.77±0.10 |
| 21 | 桉叶油醇 | 1 625 | 1 630 | 4.66±1.91 |
| 22 | 杜松醇 | 1 634 | 1 640 | 0.87±0.01 |
| 23 | 沉香螺醇 | 1 639 | 1 646 | 3.60±0.32 |
| 24 | 金合欢醇 | 1 695 | 1 695 | 2.31±0.10 |
| 25 | 1,2-环氧十六烷 | 1 704 | 1 708 | 3.22±0.73 |
| | 单萜类 | | | 10.19 |
| | 倍半萜类 | | | 39.28 |
| | 含硫化合物 | | | 24.01 |
| | 其他 | | | 12.73 |
| | 总量 | | | 86.21 |

2.2 大果阿魏石油醚提取物对大鼠体质量的影响

大鼠体质量的变化是评价提取物是否具有毒性的一个重要指标,由表2可知,空白组、模型组、阳性组及大果阿魏石油醚提取物高、中、低剂量组间大鼠的初始体质量无显著差异($P>0.05$)。经过灌胃给药2周后,各组间大鼠体质量无显著性差异($P>0.05$),可以说明大鼠在受试过程中正常生长,未受到大果阿魏提取物的影响。

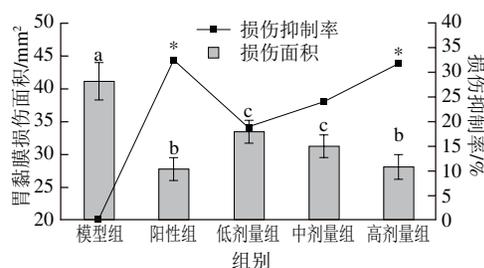
表2 大鼠体质量 ($n=8$)
Table 2 Body mass of rats ($n=8$)

| 组别 | 初始体质量/g | 处理后体质量/g |
|------|--------------|--------------|
| 空白组 | 206.41±14.25 | 305.47±16.81 |
| 模型组 | 203.86±12.63 | 296.81±16.14 |
| 阳性组 | 205.33±13.32 | 299.57±13.22 |
| 低剂量组 | 208.19±15.74 | 303.19±18.20 |
| 中剂量组 | 202.51±13.66 | 305.84±16.62 |
| 高剂量组 | 207.42±15.20 | 310.52±18.31 |

2.3 大果阿魏石油醚提取物对乙酸所致大鼠胃黏膜损伤的影响

图2可以直观地体现出不同实验组胃黏膜损伤面积的

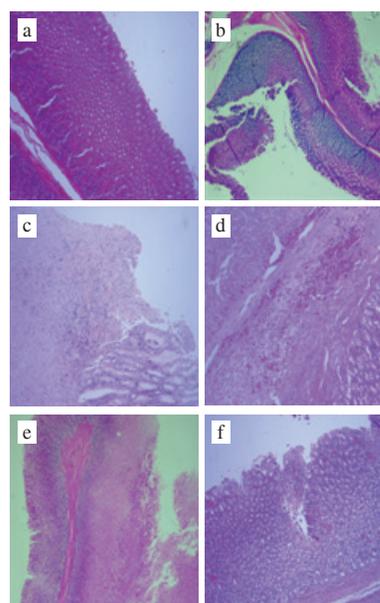
变化情况。与空白组相比,模型组胃黏膜损伤程度最严重,损伤面积达到41.14 mm²。经过灌胃给予不同剂量的药物及提取物干预后,胃黏膜损伤呈现出不同程度的修复。其中,阳性组损伤面积为27.78 mm²,相比于模型组减小了13.36 mm²,抑制率达到32.47%;大果阿魏石油醚提取物高剂量组(1.0 g/kg)的损伤面积为28.04 mm²,相比于模型组减小了13.10 mm²,抑制率达到31.84%,效果与阳性组差异不明显。低剂量组对胃黏膜损伤也有一定的修复作用,其损伤抑制率达到18.67%,但与高剂量组相比,修复能力相对较弱。中剂量组对受损胃黏膜的修复作用介于低剂量组及高剂量组之间,高剂量组与中、低剂量组对胃黏膜的修复能力存在显著差异。然而通过胃黏膜损伤面积的测量无法明确提取物中的物质成分与胃黏膜修复之间存在何种作用效果,因此需要对大鼠胃组织中的生化指标进行测定,从而明确具体的构效关系。



*.与模型组比较,差异显著($P<0.05$);不同字母表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

图2 大果阿魏石油醚提取物对大鼠胃黏膜损伤面积和损伤抑制率的影响
Fig. 2 Influence of the petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss on gastric mucosal injury area and injury inhibition percentage

2.4 大鼠胃黏膜损伤的组织病理学分析



a.空白组; b.模型组; c.阳性组; d.低剂量组; e.中剂量组; f.高剂量组。

图3 各组大鼠胃组织HE染色切片

Fig. 3 Microscopic observation of stomach tissues of rats

如图3所示, 空白组大鼠胃壁结构正常, 胃黏膜各层次清晰, 胃腺呈管状整齐有序, 可以看见正常的黏膜柱状细胞和完整的腺细胞, 无炎症细胞浸润; 与此形成对比的是, 模型组大鼠胃黏膜破坏严重, 损伤已经到达肌层, 表面黏膜上皮细胞脱落, 可见充血、水肿且有大量炎细胞浸润。缺口处有较少的黏膜再生, 组织结构较为紊乱。相比于模型组, 阳性组及提取物组胃黏膜组织形态存在较大差异。阳性组损伤部位愈合现象明显, 有新生上皮细胞覆盖在损伤处, 炎症细胞减少并有新生腺体。低剂量组大鼠胃黏膜缺损程度依然较为严重, 损伤累及肌层, 有出血、淤血现象; 中剂量组和高剂量组大鼠表现出胃黏膜中度再生, 损伤底部可见新生的肉芽组织, 高剂量组大鼠新生的腺体覆盖在损伤部位, 并出现许多新生的结缔组织, 仍有少量炎症细胞浸润, 但愈合趋势明显。

2.5 大果阿魏石油醚提取物对乙酸所致大鼠胃黏膜损伤胃组织生化指标的影响

表3 大果阿魏石油醚提取物对大鼠胃组织生化指标的影响 (n=8)
Table 3 Effect of the petroleum ether extract from *Ferula lehmannii* Boiss on biochemical indexes of gastric tissue in rats (n = 8)

| 组别 | SOD活力/ (U/mg pro) | MDA含量/ (nmol/mg pro) | PGE ₂ 质量浓度/ (pg/mL pro) | NO含量/ (μmol/g pro) |
|------|----------------------|-------------------------|---------------------------------------|-----------------------|
| 空白组 | 212.42±21.17** | 4.35±0.42** | 284.56±27.38* | 16.11±2.26* |
| 模型组 | 130.53±10.54 | 8.12±1.61 | 203.15±14.12 | 8.71±0.77 |
| 阳性组 | 185.15±13.82* | 5.42±1.04* | 265.71±25.80* | 13.63±2.05 |
| 低剂量组 | 137.89±12.25 | 7.36±1.29 | 216.48±19.83 | 9.64±1.53 |
| 中剂量组 | 152.53±14.95 | 6.41±1.17 | 237.22±22.03 | 10.39±1.86 |
| 高剂量组 | 179.18±16.51* | 5.48±0.84* | 248.67±23.10 | 11.16±1.44 |

注: 与模型组比较, *.差异显著 (P<0.05); **.差异极显著 (P<0.01)。

如表3所示, 与空白组相比, 乙酸引起的胃黏膜损伤使得大鼠胃组织中SOD活力下降而MDA活力上升。与模型组相比, 高剂量组中SOD活力显著增加37.27% (P<0.05), 与阳性组SOD活力增加程度(41.84%)较为接近; 高剂量组MDA含量减少了32.51% (P<0.05), 阳性组减少了33.25%。中、低剂量组这两个指标的活力发生变化但差异性不显著。说明高剂量提取物能明显提高自由基的清除能力, 从而加快胃黏膜修复进程。乙酸刺激大鼠胃部后胃组织中PGE₂和NO含量都有所下降。与模型组相比, 阳性组中PGE₂和NO含量显著增加了30.79%和56.49%。经过提取物干预后, 各组大鼠胃组织中PGE₂和NO含量增加。其中, 高剂量组大鼠PGE₂增加了22.41%, NO增加了28.13%, 但并无明显影响。由此可见, 提取物对胃黏膜保护因子的增强作用并不显著, 其对胃黏膜损伤的修复作用主要是由于存在的抗氧化物质能够有效地清除各种自由基, 提高了胃黏膜的抗氧化能力。为了更进一步明晰提取物中化合物和所测生化指标间的内在联系, 从

而确定胃黏膜修复机理, 采用PCA法构建了已鉴定化合物与各生化指标的相关性模型。

2.6 PCA分析

PCA属于无监督判别模式^[18], 因此所构建PCA模型分析提取物中化合物和抗氧化因子及胃黏膜保护因子之间的关系是客观科学的, 具体结果如图4所示。

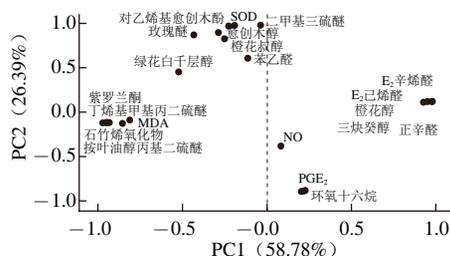


图4 提取物中化合物与指标间的PCA分析

Fig. 4 Principal component analysis plots of chemical composition and biochemical indexes

PCA模型中PC1 (58.78%) 和PC2 (26.39%) 累计方差贡献为85.71%, 可以反映化合物的大部分信息, 因此保留PC1-PC2主成分的化合物分布图。根据PCA分析的基本原则, 即化合物与指标在得分图上距离越近, 化合物对于该指标的贡献率就越大。由图4可以看出, 各指标与成分分布在X轴中轴线两侧, 且分布具有明显的区分度。以图中中轴线为界, 代表抗氧化能力的SOD与MDA分布在左半边, 代表胃黏膜修复因子指标的NO与PGE₂分布在图的右边, 且各参数间能够明显地区分开。其中, SOD附近主要聚集了包括对乙烯基愈创木酚、愈创木醇、橙花叔醇等在内的6种化合物, 这些物质对于自由基的清除有显著影响。例如苯乙醛除存在于竹叶、木瓜籽等多种植物具有抗氧化活性的挥发油中, 还广泛存在于啤酒中, 其含量的增加可以提高啤酒的还原力^[19]; 马士巧^[20]以抗菌和抗氧化活性为指标, 筛选了东北黑蜂蜂胶中的极性活性物质并进行分析, 发现愈创木醇为其主要的活性物质。MDA周围主要成分是紫罗兰酮、石竹烯氧化物、桉叶油醇及两种含硫化物((Z)-2-丁烯基1-甲基丙二硫醚、1-(1-(甲硫基)丙基)-2-丙基二硫醚)。陈景明等^[21]发现石竹烯氧化物为赤楠叶挥发油中的主要成分并评价了其抗氧化性及抗氧化效果; 桉叶油醇具有良好的抗氧化及抗菌活性存在于多种植物的精油中^[22]。(Z)-2-丁烯基1-甲基丙二硫醚和1-(1-(甲硫基)丙基)-2-丙基二硫醚广泛存在于新疆阿魏中, 但鲜有研究表明其抑制脂质过氧化活性。综上所述, 桉叶油醇及石竹烯氧化物对于MDA活性的减少起到关键的积极作用。除环氧十六烷外, 没有与NO和PGE₂距离相近的化合物, 可能是由于各组分与各生化指标间的相关性评价是一个十分复杂的体系, 单纯的采用一种判别模式无法全面揭示出全部的

内在关联, 仅仅从二维PCA图以PC1-PC2为坐标轴, 只是在无监督的判别模式下得出较为全面的相关性模型, 因此研究与NO和PGE₂指标最大相关性成分, 有待后期更进一步深层次的数据分析及模型构建。

3 讨论

国内外很多学者对阿魏属植物的挥发油进行研究, 结果表明该属多种植物的不同部分的挥发油具备良好的抗菌性及抗氧化性。Iranshahi等^[23]发现从*F. latisecta*果实中提取出的挥发油存在大量硫化物, 对革兰氏阳性菌尤其是金黄色葡萄球菌有着显著的抑制活性; Kavvoosi等^[24]提取并分析了3批不同时间采集的*F. assa-foetida*的挥发油, 发现(Z/E)-仲丁基丙基二硫醚、 β -蒎烯及桉叶油醇为其主要的化合物, 并且提取的挥发油对自由基具有良好的清除能力。通过对阿魏草石油醚提取物物质组成分析, 可以看出提取物中所含大量萜类化合物, 这些物质具有许多生理活性。如愈创木醇广泛存在于植物的挥发油中, 具有抗菌、抗氧化等功能^[25]; 王慧英等^[26]的研究表明, 玫瑰精油中存在的玫瑰醚等物质不仅赋予其天然的香味, 更是具有很好的抗氧化活性; 石竹烯、橙花叔醇等倍半萜类物质存在于很多药用植物中, 这些植物的挥发油具有良好的抗菌、抗肿瘤活性^[27]。含硫化合物也是阿魏草石油醚提取物中物质的重要组成部分。有研究表明, 二甲基硫醚作为催化抗氧化体系的重要小分子底物, 在氧化应激条件下, 可以快速和活性氧反应生成二甲基亚砷, 从而发挥其抗氧化作用^[28]。

乙酸性胃黏膜病变的起源是一个多因素的过程, 主要是由于胃壁黏液的消耗, 这种消耗经常与自由基的含量显著相关, 结果导致黏膜损伤, 包括溃疡、糜烂、出血。氧自由基, 主要是羟自由基、超氧化物阴离子自由基和脂质过氧化物, 是导致胃黏膜损伤的有害化合物^[29], 抗氧化能力及胃黏膜防御因子的含量对胃黏膜的保护意义重大。乙酸性胃黏膜损伤程度与自由基的含量显著相关。正是由于如羟基自由基、超氧化物阴离子和脂质过氧化物等大量氧自由基的存在使胃黏膜损伤加剧。SOD是体内清除自由基的首要物质, 它能够对抗和阻断由于氧自由基对细胞造成的损伤并及时修复受损细胞^[30], 是生物体内重要的抗氧化酶。而MDA是一种重要的脂质过氧化物, 其含量增加会破坏细胞膜的完整性增加通透性, 从而引起组织损伤^[31]。PGE₂和NO被认为是胃黏膜保护因子, PGE₂具有通过影响黏膜上皮细胞的增殖、黏液生成和黏膜血液供应来保护胃黏膜^[32]。NO能够使黏膜血管扩张, 也可以有效地调节胃黏膜保护因子及胃酸、酸根等损伤因子, 同时增加胃黏膜血流量达到胃黏膜防御作用^[33]。本实验的结果表明, 大果阿魏石油醚提取物能

明显提升大鼠胃黏膜中SOD活力, 降低MDA含量。随着用药剂量增加, 其作用效果愈明显, 相比模型组, 提取物高剂量组效果更加明显。

综上, 大果阿魏石油醚提取物具有明显的促进损伤胃黏膜修复的作用, 且治疗效果接近雷尼替丁。潜在的作用机制主要是通过提高胃黏膜的抗氧化能力, 提高SOD活力, 降低MDA含量, 加快胃黏膜的增殖与修复, 从而达到保护胃黏膜的作用。

参考文献:

- [1] 凌关庭. 保健食品原料手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 253-254.
- [2] BORATO D G, SCOPARO C T, MARIA-FERRRIRA D, et al. Healing mechanisms of the hydroalcoholic extract and ethyl acetate fraction of green tea (*Camellia sinensis*, (L.) Kuntze) on chronic gastric ulcers[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2015, 389(3): 259-268. DOI:10.1007/s00210-015-1200-8
- [3] 王国中, 陈志伟, 潘洪明, 等. 丹参抗大鼠乙醇性胃黏膜损伤的作用及机制[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2002, 10(6): 340-341. DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2002.06.007.
- [4] 阮研硕, 赵江燕, 李艳梅, 等. 岩藻多糖对急性酒精性胃黏膜损伤的保护作用[J]. 中国食品学报, 2015, 15(1): 19-24. DOI:10.16429/j.1009-7848.2015.01.004.
- [5] 李肖宇, 李国玉, 王航宇, 等. 大果阿魏化学成分的研究[J]. 中国现代中药, 2010, 12(8): 17-20. DOI:10.13313/j.issn.1673-4890.2010.08.007.
- [6] DASTAN D, SALEHI P, GOHARI G A, et al. Disesquiterpene and sesquiterpene coumarins from *Ferula pseudalliacea*, and determination of their absolute configurations[J]. Phytochemistry, 2012, 78(2): 170-178. DOI:10.1016/j.phytochem.2012.02.016.
- [7] ABEDI D, JALALI M, ASGHARIG, et al. Composition and antimicrobial activity of oleogumresin of *Ferula gumosa* Bioss. essential oil using Alamar Blue™[J]. Research in Pharmaceutical Sciences, 2008, 3(1): 41-45.
- [8] POONAM M, SHRADHA B. *Ferula asafoetida*: traditional uses and pharmacological activity[J]. Pharmacognosy Reviews, 2012, 6(12): 141-146. DOI:10.4103/0973-7847.99948.
- [9] AMIRHOSSEIN S, MOHAMMAD H K, MEHRDAD I. Qualitative analysis of the hydro-distilled essential oil of *Ferula latisecta* Rech. f. and Aell. roots from Iran[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2010, 13(3): 340-346. DOI:10.1080/0972060X.2010.10643832.
- [10] SAHEBKAR A, IRANSHAHI M. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiaceae)[J]. Asian Biomedicine, 2011, 4(6): 835-847. DOI:10.2478/abm-2010-0110.
- [11] 王飒. 新疆多伞阿魏体外抗胃癌活性部位指纹图谱研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2015: 23-43.
- [12] 熊元君, 刘发, 叶尔波, 等. 新疆三种阿魏对胃肠道作用的比较[J]. 新疆医学院学报, 1993(4): 300-302.
- [13] 潘年松, 张学愈, 邹俊, 等. 水蒸汽蒸馏和石油醚浸提两法提取莜术粗粉挥发油收率比较[J]. 中成药, 2007, 29(10): 1519-1521. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2007.10.039.
- [14] OKABE S, PFEIFFER C J. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach[J]. American Journal of Digestive Diseases, 1972, 17(7): 619-629.
- [15] 袁松. 不同分子量海带岩藻聚糖硫酸酯对大鼠抗胃溃疡作用的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 17-20.
- [16] 詹萍, 田洪磊, 李卫国, 等. 羊肉特征风味指纹图谱的构建[J]. 现代食品科技, 2013, 29(10): 2522-2527. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2013.10.043.

- [17] IRANSHAHI M, YAZDI M C, HASSANZADEHKHAYYAT M, et al. Sulfur containing compounds in the volatile oil of *Ferula latisecta* Rech. f. & Aell. leaves[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2009, 12(1): 64-68. DOI:10.1080/0972060X.2009.10643693.
- [18] 李新蕊. 主成分分析、因子分析、聚类分析的比较与应用[J]. 齐鲁师范学院学报, 2007, 22(6): 23-26.
- [19] 孙桂芳. 啤酒抗氧化力和风味稳定性的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2011: 20-45.
- [20] 马士巧. 超声辅助提取东北黑蜂蜂胶活性成分及其指纹图谱研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2015: 33-52.
- [21] 陈景明, 许嵘, 黄晓冬, 等. 惠安产赤楠叶挥发油的化学成分与体外抗氧化活性评价[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 2016, 28(2): 147-154. DOI:10.3969/j.issn.2095-2481.2016.02.008.
- [22] 陈建烟. 花叶艳山姜叶片精油提纯、结构鉴定及生物活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2014: 40-46.
- [23] IRANSHAHI A S M. Volatile constituents of the genus (Apiaceae): a review[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2011, 14(5): 504-531. DOI:10.1080/0972060X.2011.10643969.
- [24] KAVOOSI G, ROWSHAN V. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil obtained from *Ferula assafoetida* oleo-gum-resin: effect of collection time[J]. Food Chemistry, 2013, 138(4): 2180-2187. DOI:10.1016/j.foodchem.2012.11.131.
- [25] 邓超澄, 霍丽妮, 李培源, 等. 广西阴香叶挥发油化学成分及其抗氧化性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 105-109. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2010.17.039.
- [26] 王慧英, 王金亭. 玫瑰精油的研究与应用现状[J]. 粮食与油脂, 2015, 28(10): 5-9. DOI:10.3969/j.issn.1008-9578.2015.10.002.
- [27] 张大帅, 王燕, 陈光英, 等. 铁椏叶挥发油成分及生物活性研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17): 115-118. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2013.17.018.
- [28] 关鑫磊. 内源性小分子二甲基硫醚对氧化应激损伤的作用及机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2015: 1-29.
- [29] LI W, WANG X, ZHANG H, et al. Anti-ulcerogenic effect of cavidine against ethanol-induced acute gastric ulcer in mice and possible underlying mechanism[J]. International Immunopharmacology, 2016, 38: 450-459. DOI:10.1016/j.intimp.2016.06.016.
- [30] MCCORD J M, KEELE B B, FRIDOVICH I. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1971, 68(5): 1024-1027.
- [31] NING J W, LIN G B, JI F, et al. Preventive effects of geranylgeranylacetone on rat ethanol-induced gastritis[J]. World Journal of Gastroenterology, 2012, 18(18): 2262-2269. DOI:10.3748/wjg.v18.i18.2262.
- [32] 张琪. 绿茶中茶多酚的提取分离及其对慢性胃炎大鼠胃粘膜的保护作用[D]. 西安: 陕西师范大学, 2015: 41-49.
- [33] 马凤余, 鄢顺琴, 凤良元. 胃舒灵II对大鼠胃黏膜保护因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 48-50. DOI:10.13422/j.cnki.syfjx.2009.01.019.