多甘烷醇的模拟胃肠吸收及代谢产物分析

朱艳娇[1]，黎鹏[2,3]，孟飞[2,3]，黄冬婷[2,3]，黄俊生[2,3]，项辉[1]
（1.中山大学生命科学学院，广东广州 510006）（2.广东省科学院生物工程研究所，广东广州 510316）
（3.广东省绿色制糖工程技术研究中心，广东广州 510316）

摘要：为探究多甘烷醇在胃肠道系统及整体动物的吸收和代谢情况，本文分别利用单相静态胃肠模拟系统、大鼠在体肠循环灌流及整体动物进行了一系列研究。研究结果显示：多甘烷醇能在单相静态胃肠模拟系统中被代谢成 C12:0、C16:0 和 C18:0 三种饱和脂肪酸，人工肠液比人工胃液多降解 42%的多甘烷醇并转化成饱和脂肪酸；在大鼠在体肠循环灌流实验中，多甘烷醇 P_{app} 值为 7.02×10^{-2} cm/min，其易被大鼠肠道吸收，且在肠道中可被代谢成饱和脂肪酸和一定量的不饱和脂肪酸；在小鼠整体动物实验中，100 mg/kg 多甘烷醇灌胃 1、4、12 h 后检测烷醇和脂肪酸，发现多甘烷醇能以原型进入机体，也能通过肠道代谢成脂肪酸进入机体，影响血清脂肪酸水平，使动物血清某些不饱和脂肪酸水平增加。本实验揭示，多甘烷醇可在胃肠道代谢，并以烷醇原型或者代谢产物的形式进入机体，影响了机体脂肪酸水平，这可能是其发挥血脂调节功能的物质基础。

关键词：多甘烷醇；二十八烷醇；脂肪酸；代谢产物
文章篇号：1673-9078(2020)11-9-16 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0465

Simulated Gastrointestinal Absorption and Metabolite Analysis of Policosanol

ZHU Yan-jiao[1], LI Peng[2,3], MENG Fei[2,3], HUANG Dong-ting[2,3], HUANG Jun-sheng[2,3], XIANG Hui[1]
(1.School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China) (2. Institute of Bioengineering, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510316, China) (3.Guangdong Province Engineering Research Center for Green Technology of Sugar Industry, Guangzhou 510316, China)

Abstract: To investigate the gastrointestinal absorption and metabolite analysis of policosanol *in vitro* and *in vivo*, single-phase static gastrointestinal simulation system, *in situ* circulating intestinal perfusion in rats and integral animal experiments were conducted. The results showed that policosanol could be metabolized into three saturated fatty acids including C12:0, C16:0 and C18:0 in the single-phase static gastrointestinal simulation system. Compared with artificial gastric juice, artificial intestinal juice degraded 42% more policosanol, which was converted to the saturated fatty acid. In intestinal system of rat, policosanol could be absorbed easily by the intestinal tract of rats, and the P_{app} value of policosanol was 7.02×10^{-2} cm/min. Moreover, policosanol were able to be brokn down into fatty acids and unsaturated fatty acids in the intestinal tract. In the integral animal experiments, at 1, 4, 12 hours after oral gavage of 100 mg/kg policosanol, the alkanol and its metabolites fatty acid could be identified in the serum of mice, which may contribute to regulate serum fatty acid levels and increase the serum level of some unsaturated fatty acids. In summary, our results revealed that policosanol can be metabolized and absorbed by the gastrointestinal tract and can also be detected in the animal body in the form of prototypes or metabolites, affecting the level of fatty acids in the body, which may be the basis for its lipid regulation function.

Key words: policosanol; octacosanol; fatty acid; metabolites

引文格式：

朱艳娇,黎鹏,孟飞,等.多甘烷醇的模拟胃肠吸收及代谢产物分析[J].现代食品科技,2020,36(11):9-16

ZHU Yan-jiao, LI Peng, MENG Fei, et al. Simulated gastrointestinal absorption and metabolite analysis of policosanol [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 9-16

收稿日期：2020-05-15

基金项目：广州市科技计划项目(201707010357)；广东省科学院发展专项资金项目(2020GDASYL-20200103069)

作者简介：朱艳娇（1993-），女，硕士，研究方向：生理学与神经生物学；共同第一作者：黎鹏（1992-），女，博士，研究方向：天然产物及药理活性

通讯作者：项辉（1966-），男，博士，教授，研究方向：生理学与神经生物学

多廿烷醇（policosanol），是从甘蔗蜡中提取得到的 C20 到 C34 等多种饱和一元脂肪醇组成的混合物，主要成分是二十八烷醇，占比约 60%~70%[1,2]。从 1980 年代首次报道其具有降血脂作用以来，随着研究的不断全面和深入，多廿烷醇还具有抗血小板聚集、防止血栓形成和抑制动脉粥样硬化发展等功效[3-6]。由于组成多廿烷醇的脂肪醇都具有多碳饱和烃链结构，直接导致多廿烷醇不溶于水，也几乎不溶于甲醇、乙腈、正己烷等有机溶剂，一般认为其很难被人体吸收利用[7]。故而文献中出现了对多廿烷醇降脂功能否定的研究报道，这让多廿烷醇的降脂功能开始受到质疑[8-10]。因此，多廿烷醇的胃肠道吸收及代谢研究至关重要。

Kabir 和 Kimura（1993）的研究发现，放射性标记的二十八烷醇能进入机体，一部分通过呼吸，以 CO_2 形式释放，另一部分以尿液和粪便的形式排出体外，只有少量的放射性物质留在机体内，且主要集中在脂肪组织和肝脏[11]，而连续给予二十八烷醇几天之后，运动会使试验动物肝脏中放射性物质迅速下降，肌肉中逐渐升高，血液中浓度升高，最终通过粪便排出[12]。Menendez（2005）等人认为多廿烷醇在机体内能被代谢成多种脂肪酸，如 C14:0、C16:0、C16:1 和 C18:0 等[13]。Marinangeli（2007）等人也认为多廿烷醇是以某种代谢产物而并非脂肪醇的形式存在于组织中[14]。Ng（2007）等人的研究结果表明随着多廿烷醇给药剂量的升高，粪便对相应脂肪醇的排泄量也增加[15]。

综上所述，目前推测的多廿烷醇代谢过程为：多廿烷醇经口服摄入后，大部分会以原药即脂肪醇的形式随粪便排出体外，部分脂肪醇可能进入机体，或者经胃肠道代谢成相应的碳原子数的脂肪酸进入机体；之后，肝脏有可能将之进一步代谢成不同碳原子数的饱和或不饱和脂肪酸发挥其作用，最后通过呼吸、排便和泌尿等途径排出体外。这个过程中多廿烷醇本身是否能进入机体以及程度有多大并不明确，其能否在胃肠道代谢也不清楚。本文利用单相静态胃肠模拟系统来探究多廿烷醇是否能在胃肠道消化降解，通过大鼠原位循环肠灌流和小鼠单次给药实验来探究多廿烷醇的在体吸收及代谢情况，从而为多廿烷醇的进一步研究和临床应用提供理论指导。

1 材料方法

1.1 实验动物

7~8 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠和 5~6 周龄 KM 雄性小鼠（许可证号：SCXK（粤）2016-0029），来自中山大学实验动物中心，喂食基础饲料。相关动物实验均按中山大学实验动物管理和使用委员会以及中山大学实验动物伦理委员会的实验指导原则进行。

1.2 药品与试剂

胃蛋白酶（250 U/mg）、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G-6-P-DH）、吐温 80、二十六到三十二碳烷醇标准品等购自 Sigma；还原型辅酶Ⅱ（NADPH）购自上海翊圣生物科技有限公司；葡萄糖-6-磷酸（G-6-P）、BF3-乙醚购自麦克林；胰酶（4000 U/g）、BCA 蛋白定量/浓度测定试剂盒购自大连美仑生物技术有限公司；胃蛋白酶活性检测试剂盒、脂肪酶活性检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所；脂肪酸甲酯混标购自 USA NU-CHEK；十七碳酸甲酯购自上海源叶生物科技有限公司；三氯甲烷、无水乙醚（色谱级）购自 Fisher；甲醇、正己烷（色谱级），连二亚硫酸钠购自天津市科密欧化学试剂有限公司；无水乙醇（分析纯）购自广州化学试剂厂。

1.3 实验设备

KQ-300DE 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；多功能恒温水浴振荡器，江苏正基仪器有限公司；分析天平，Sartorius Gottingen Germany；Mill-Q 超纯水纯化系统，Millipore Massachusetts USA；高速离心机，Eppendorf Corporation Hamburg Germany；Clarus 680T 气相色谱，Perkin Elmer Shelton USA；7890/5975C-GC/MSD 气相色谱-质谱联用仪，Agilent California USA；紫外分光光度计，岛津 UV1240；pH 计，Hanna Italy。

1.4 试验样品

多廿烷醇由广东省科学院生物工程研究所提供，通过建立二十六烷醇、二十八烷醇、三十烷醇和三十二烷醇标准品的气相色谱（GC）图，检测分析本实验的多廿烷醇样品，如图 1 所示，其主要成分是二十八烷醇，占 68%~79%；二十六烷醇，占 14%~18%，三十烷醇含量占 3.6%~4.0%。由于多廿烷醇极不溶于水，实验时，先按照配制体积的 10%加入无水乙醇，沸水浴加热 1 min 使其充分溶解，后加入吐温 80 一滴，充分摇匀，加水至总体积，漩涡震荡 15 min，再超声 30 min，即得多廿烷醇溶液，配制不加多廿烷醇的上述溶液作为溶媒对照。

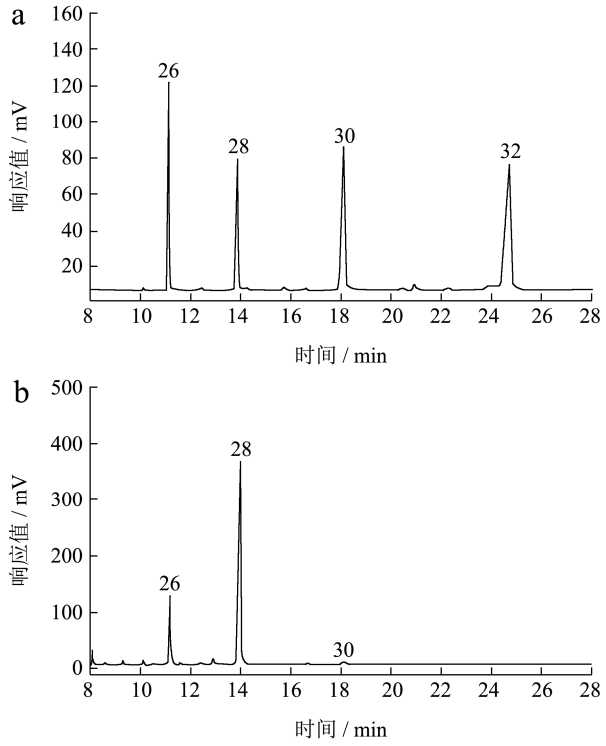

图 1 二十六到三十二碳烷醇标准品（a）及多廿烷醇样品（b）色谱图

Fig.1 The chromatograms of mixed standard of C26~C32 alkanol (a) and sample of policosanol (b)

1.5 单相静态胃肠模拟

本实验参考周存山等人的方法制备人工胃液和人工肠液[16]，取 9 个洁净干燥的锥形瓶，各倒入 25 mL 人工胃液，37 ℃恒温水浴 5 min，随机分成 3 组，每组锥形瓶中各分别加入 2 mL 生理盐水，溶媒对照和浓度为 5 mg/mL 的多廿烷醇溶液，37 ℃、130 r/min 水浴振荡，准确记录时间，4 h 之后，分别取样 10 mL，-20 ℃保存备用；在剩余的人工胃液孵育体系中各加入 25 mL 人工肠液，调节 pH 值至 7.5±0.1，37 ℃、45 r/min 水浴振荡，准确记录时间，7 h 之后，分别取样 10 mL，-20 ℃保存备用[17,18]；将人工胃液样品分别取样 5 mL 采用试剂盒检测胃蛋白酶活性，将人工肠液样品分别取样 5 mL 采用试剂盒检测脂肪酶活性，对其余人工胃液和人工肠液样品分别提取脂肪酸，进行脂肪酸衍生化及气相色谱-质谱（GC-MS）检测分析。

配制人工胃液和人工肠液，分别分成 5 份，每份 25 mL，其中两份不加任何试剂或材料，余下三份加入 2 mL 浓度为 5 mg/mL 的多廿烷醇溶液，同上方法分别进行孵育并取样，得到人工胃液样品和人工肠液样品各 5 份。将得到的人工胃液样品和人工肠液样品加入 10 mL 氯仿，超声 2 h，再取三氯甲烷层，氮气吹干，-20 ℃保存。检测前加入 4 mL 氯仿复溶，直接进样，后通过气相色谱法检测样品中多廿烷醇的含量。

1.6 大鼠在体肠循环灌流

SPF 级健康 SD 雄性大鼠 6 只，体重 280~320 g，随机分为溶媒对照组和多廿烷醇组（0.5 mg/mL），每组 3 只。实验前，禁食 18 h，自由饮水。次日，按 50 mg/kg 的剂量腹腔注射 2%戊巴比妥钠麻醉，固定在恒温板上，剔除腹部部分毛发，打开大鼠腹腔，开口长约 3 cm，找出小肠，然后按文献方法建立原位肠循环灌流系统[19,20]，打开蠕动泵，以 5 mL/min 的流速灌流 2 h，灌流结束后，测定灌流肠段的长度（l）和内径（r），再按照 Sierra（2002）等人的方法提取多廿烷醇[21]，分析多廿烷醇在原位肠循环灌流中的吸收情况。另取 9 只大鼠随机分成生理盐水组、溶媒组和多廿烷醇组，同样进行原位肠循环灌流，然后取 5 mL 各组灌流流出液样品采用试剂盒检测脂肪酶活性，其余样品进行脂肪酸提取、衍生化和 GC-MS 检测测定，分析多廿烷醇在肠循环灌流中的物质代谢。

由于小肠在吸收药物的同时也会吸收和分泌水分，会引起灌流液体积发生变化，因此，参照文献方法来消除由体积变化带来的影响[22]，并按公式 1 和公式 2 计算吸收速率常数（K_a）和表观吸收系数（P_{app}）[23,24]。

$$Ka = \left(1-\frac{C_{out}}{C_{in}}\times\frac{V_{out}}{V_{in}}\right)\times\frac{Q_{in}}{\pi r^2 l} \quad (1)$$

$$Papp = \frac{-Q_{in}\ln\left(\frac{C_{out}}{C_{in}}\times\frac{V_{out}}{V_{in}}\right)}{2\pi rl} \quad (2)$$

式中：C_{out}、C_{in} 分别为灌流前和灌流后灌流液的多廿烷醇浓度（μg/mL）；V_{out}、V_{in} 分别为灌流前和灌流后灌流液的体积（mL）；Q_{in} 为灌流速度（mL/min）；l 和 r 分别为灌流肠段的长度和内径（cm）。本实验利用气相色谱法（GC）检测样品中多廿烷醇的含量。

1.7 小鼠体内代谢实验

SPF 级雄性 KM 小鼠 12 只，体重 28~35 g，禁食 12 h，自由饮水。次日，按体重随机分成 4 组，每组 3 只，随机挑选 3 组，按 0.2 mL/10 g 的灌胃体积，用浓度为 5 mg/mL 的多廿烷醇溶液灌胃，给药剂量为 100 mg/kg，准确记录时间，于灌胃后 1 h、4 h 和 12 h 时摘眼球取血[25]。剩余 1 组小鼠用溶媒剂进行灌胃，4 h 后摘眼球取血，所得结果作为多廿烷醇组的 0 h 对照。所有血液样品均常温放置 20 min，3000 r/min 离心 15 min，得新鲜无溶血血清，4 ℃保存备用。对血清分别进行多廿烷醇提取、脂肪酸提取和衍生化及分析测定。

1.8 脂肪酸提取、衍生化及检测

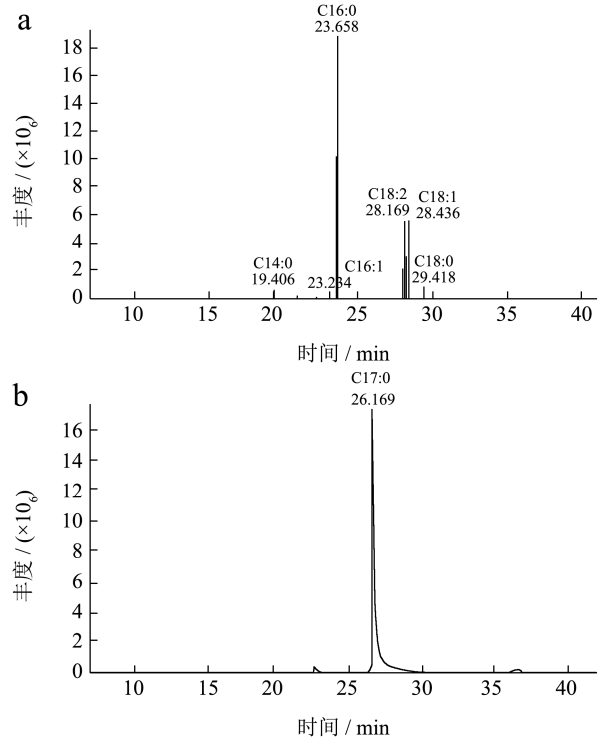

图 2 脂肪酸甲酯标准品总离子流色谱图

Fig.2 Total ion flow chromatogram of fatty acid methyl ester standard

注:(a)表示六种脂肪酸甲酯混标的总离子流色谱图,按照出峰时间,从左到右依次是 C14:0、C16:1、C16:0、C18:2、C18:1 和 C18:0;(b)表示十七碳酸甲酯内标的总离子流色谱图,C17:0 的出峰时间在 26.17 min 左右。

对 1.5、1.6 实验得到的收集液进行脂肪酸的提取与衍生化,具体操作如下:取收集液 5 mL,分别加无水乙醚 6 mL,超声助溶 10 min,旋涡振荡 1 min,重复超声和旋涡三次,静置分层后,收集乙醚层,氮气吹干。干燥品中加入 1 mL 0.5 mol/L KOH-甲醇溶液,置于 60 ℃水浴中 10 min,然后加入 1.5 mL BF_3-乙醚/甲醇(2:1)溶液,60 ℃水浴 30 min。冷却后,加入 1 mL 正己烷,涡流 30 s 提取。然后加入 1 mL 饱和 NaCl 溶液,3000 r/min 离心 5 min。吸取上清液,氮气吹干后于-20 ℃保存[21,26]。1.7 实验中血清提取脂肪酸方法[27]:取适量血清,加入等体积的异丙醇:正庚烷:2 mol/L 磷酸(40:10:1)混合液(现配现用),旋涡震荡 2 min,再依次加入 1.0 mL 正庚烷和 1.5 mL 蒸馏水,旋涡震荡 1 min,于 4 ℃下,4000 r/min 离心 10 min,取上清液,氮气吹干,-20 ℃保存。按照上述方法进行衍生化处理,采用 GC-MS 进行分析,分别通过脂肪酸甲酯混标和十七碳酸甲酯内标来实现对样品的定性和半定量(图 2)。检测时加含内标十七碳酸甲酯(5 μg/mL)的正己烷复溶,再通过气相色谱-质谱联用仪检测样品中脂肪酸组成及含量。

GC-MS 测定条件如下[26]:GC 条件:毛细管色谱柱 HP-5MS(30 m×250 μm×0.25 μm);载气为氦气,不分流,流速 1.0 mL/min;进样口温度 260 ℃;程序升温:初始柱温 100 ℃保持 3 min,以 5 ℃/min 升至 200 ℃,以 20 ℃/min 升至 310 ℃保持 25 min,进样量 1 μL。MS 条件:电子轰击离子源(EI),电子能量 70 eV;离子源温度为 325 ℃;接口温度为 230 ℃;四级杆温度为 150 ℃;全扫描方式,范围:30~550 *m*/*z*。

1.9 多廿烷醇的提取与检测

实验所得样品溶液或者血清均加入 10 mL 三氯甲烷,超声 2 h,再从各试管吸取等体积有机层,氮气吹干,-20 ℃保存待用。采用 GC 对样品中多廿烷醇进行组分和含量检测。

GC 测定条件如下[21,28]:色谱柱:HP-5(30 m×320 μm×0.25 μm);FID 检测器;载气:氮气(N_2),流速:1.0 mL/min;尾吹气:氮气(N_2),流速:45.0 mL/min;氢气(H_2),流速:40.0 mL/min;助燃气(Air)流速:450.0 mL/min;进样器温度:280 ℃,分流比:10:1,进样量:5 μL;气化室温度:300 ℃;检测器温度:300 ℃;程序升温:180 ℃保持 2 min,以 10 ℃/min 的速度升至 260 ℃,保持 12 min。

1.10 数据统计分析

本论文中所有实验数据均用"平均值±标准误(mean ± SEM)"表示。两组数据之间用 Student's T-test 检验,三组及以上数据用 One-way ANOVA 检验。$p<0.05$ 为具有显著性差异。所用数据分析、作图软件有 Excel 2017,SPSS,Origin 2017 等。

2 结果与讨论

2.1 多廿烷醇在单相静态胃肠模拟系统中的代谢研究

配制好的人工胃液和人工肠液与试验样品反应后,分别取样进行了胃蛋白酶和胰脂肪酶活性检测,人工胃液胃蛋白酶活性为 5.39 U/mL,人工肠液胰脂肪酶活性为 74.52 U/mL。在多廿烷醇组的人工胃液和人工肠液中均检测出 C16:0 和 C18:0 饱和脂肪酸,C12:0 仅在人工胃液中有检测出。C16:0 和 C18:0 脂肪酸在人工肠液中的浓度高于在人工胃液中的浓度,在生理盐水组和溶媒组均没有检测到任何脂肪酸成分。

脂肪酸结果呈现是以开始反应时人工胃液和人工肠液含多廿烷醇的浓度来标准化处理的（图 3a），在人工胃液，多廿烷醇转化成脂肪酸合计 21.15%，而在人工肠液则达到 44.86%。在人工胃液中，仅是酸性环境加上胃蛋白酶，实验检测到 C16:0 和 C18:0 饱和脂肪酸，可能是温度、溶媒中有乙醇、酸性环境加摇动综合作用的结果。

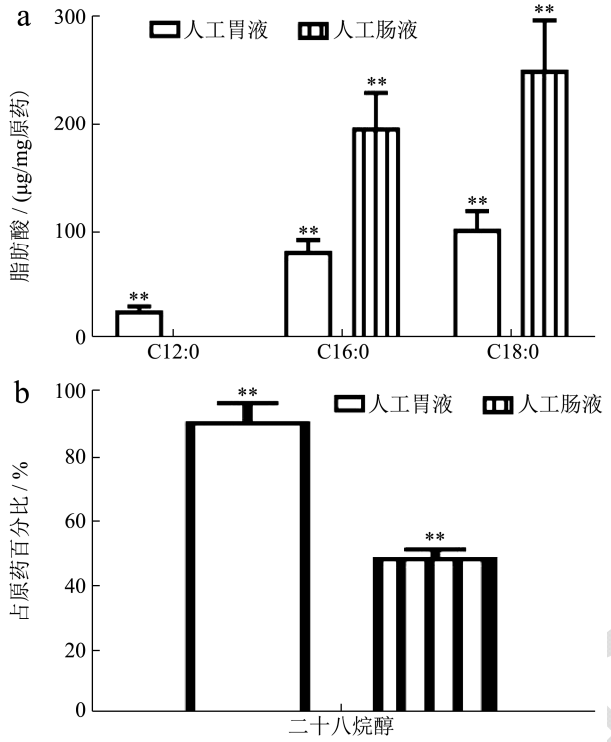

图 3 人工胃液和人工肠液处理多廿烷醇的结果

Fig.3 Results of artificial gastric solution and artificial intestinal solution action on policosanol

注：（a）多廿烷醇组人工胃液和人工肠液中检测到的脂肪酸，以人工胃液和人工肠液中多廿烷醇初始浓度来分别标准化，显著性检验是以同类脂肪酸出峰时间下多廿烷醇组与溶媒组峰面积进行比较，$^{**}p<0.05$。（b）多廿烷醇组在人工胃液和人工肠液作用后，其二十八烷醇浓度与原多廿烷醇初始浓度的百分比；显著性检验是二十八烷醇出峰时间下多廿烷醇组与溶媒组峰面积的比较，$^{**}p<0.05$。数值均以平均值±标准误表示（n=3）。

本文还通过多廿烷醇分别加入人工胃液和人工肠液来进行模拟反应，检测反应后多廿烷醇含量来判断人工胃液和人工肠液对多廿烷醇的代谢作用。结果如图 3b 所示，孵育结束之后，在多廿烷醇组的人工胃液和人工肠液中检测出二十八烷醇，以多廿烷醇初始浓度进行标准化后，人工胃液作用后二十八烷醇减少了 9.29%，而人工肠液作用后二十八烷醇减少了 51.29%。结果说明多廿烷醇在单相静态胃肠模拟系统中可被代谢，人工肠液降解多廿烷醇作用更显著，与脂肪酸测定的结果一致。

2.2 多廿烷醇在大鼠在体循环肠灌流模型中的代谢研究

利用大鼠在体肠循环灌流实验，首先探讨了大鼠肠道对多廿烷醇的吸收情况。灌流溶媒剂，收集的灌流液没有检测出烷醇物质，而多廿烷醇组的灌流液中检测出二十八烷醇。通过二十八烷醇的浓度变化及相关参数，得到二十八烷醇在大鼠小肠段的 K_a 值和 P_{app} 值，结果见表 1。文献报道，大鼠在体肠灌流中 $P_{app}<0.18\times10^{-3}$ cm/min 和 $P_{app}>1.2\times10^{-3}$ cm/min 分别表示药物难以吸收和易于吸收[23,24]，多廿烷醇组 3 个样品的 P_{app} 值表明大鼠肠道对二十八烷醇具有较强的吸收能力。文献报道[13]二十八烷醇在体实验 15 min 即可被吸收并代谢成 C18:0 脂肪酸，也印证了二十八烷醇较易被吸收。以多廿烷醇组的灌流液的烷醇浓度变化来看，灌流流出液二十八烷醇浓度占初始多廿烷醇浓度的百分比平均减少了 34.14%，虽然与 2.1 实验人工肠液处理有差别，但结果是一致的。

通过在体循环肠灌流实验，本文也检测了灌流流出液中的脂肪酸含量，探究多廿烷醇在大鼠肠道的代谢情况，结果见图 4。在生理盐水组灌流流出液中检测出 7 种饱和、不饱和脂肪酸，说明大鼠肠腔本身就存在含量不等的多种脂肪酸。溶媒组与多廿烷醇组也检测到同样的 7 种脂肪酸，生理盐水组、溶媒组、多廿烷醇组均以 C16:0 和 C18:0 脂肪酸为主（图 4a），其含量明显高于其他五种脂肪酸，与溶媒组比较，多廿烷醇组 C16:0 和 C18:0 饱和脂肪酸含量分别提高了 7.62%和 18.93%，多廿烷醇组 C14:0、及 C18:2 和 C20:4 两种不饱和脂肪酸的含量显著升高（图 4b），与溶媒组相比，分别提高了 17.27%，48.74%和 94.61%。本实验也检测了各组灌流流出液的脂肪酶活性，生理盐水组与多廿烷醇组肠脂肪酶活性分别为 259.97 U/mL 和 249.57 U/mL，而有趣的是溶媒组脂肪酶活性达到 594.04 U/mL，本文未做深入探讨。这些酶的存在可能是多廿烷醇在肠道代谢的物质基础。

本实验结果再次说明大鼠肠道能将多廿烷醇代谢成以 C16:0 和 C18:0 为主的饱和脂肪酸，与 2.1 结果一致，另外也显著增加了不饱和脂肪酸 C18:2 和 C20:4 的含量，与文献报道一致，Menendez（2005）等人[13]的研究结果发现受试动物在口服多廿烷醇之后能被机体代谢成不同碳原子数的饱和及不饱和脂肪酸，本实验结果与此报道一致，揭示了多廿烷醇以原型进入机体的可能性。

表 1 二十八烷醇在大鼠肠道的 K_a、P_{app} 值

Table 1 K_a and P_{app} value of octacosanol in small intestine of rats

样品	灌流液多廿烷醇初始浓度/(μg/mL)	肠灌流后流出液二十八烷醇浓度/(μg/mL)	流出液二十八烷醇浓度与原多廿烷醇浓度百分比/%	K_a/(×10^{-1}/min)	P_{app}/(×10^{-2} cm/min)
1	138.20	77.09	55.8	3.81	6.83
2	138.20	79.28	57.4	4.70	8.70
3	138.20	116.6	84.4	3.33	5.53
平均±SEM	138.20±0.00	90.99±22.21	65.87±16.07	3.95±0.69	7.02±1.59

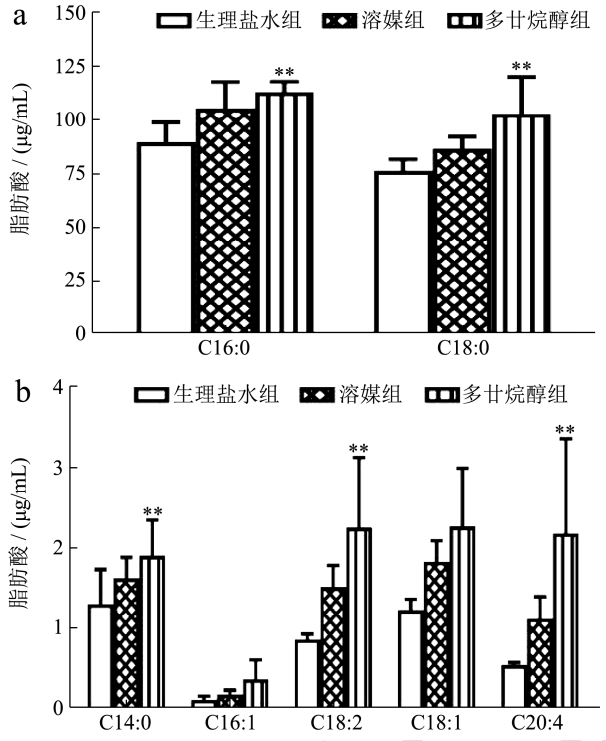

图 4 多廿烷醇在大鼠在体循环肠灌流后灌流液脂肪酸检测结果

Fig.4 Detection results of fatty acids in lavage effluent after in situ circulating intestinal perfusion of policosanol in rats

注：（a）灌流流出液中含量较高的两种脂肪酸，C16:0 和 C18:0;（b）灌流流出液中含量较低的五种脂肪酸，包括 C14:0、C16:1、C18:1、C18:2 和 C20:4。数值均以平均值±标准误来表示（n=3），显著性检验是以同类脂肪酸多廿烷醇组与溶媒组浓度进行比较，**p<0.05。

2.3 多廿烷醇在小鼠体内的代谢研究

2.3.1 单次给药后血清烷醇组成及含量

溶媒组灌胃 4 h 后取血清检测，可检测到二十六烷醇和二十八烷醇，浓度分别为 14.02 μg/mL，8.21 μg/mL，本文以此作为对照，设置成多廿烷醇组的 0 h 点。此结果说明机体中可检测到烷醇物质，而且机体本身二十六烷醇含量比较高。多廿烷醇 100 mg/kg 单次灌胃给药后，血清中二十六烷醇和二十八烷醇均有一定的增加（图 5），尤其是二十八烷醇，与溶媒组比较，在灌胃多廿烷醇 1 h、4 h、12 h，分别增加了 106.94%、96.83%、81.57%，结果表明二十八烷醇在 1 h 即被吸收进入机体，可在 12 h 内维持高水平。在 2.2 在体循环肠灌流实验，实验数据只是揭示多廿烷醇易于吸收，但上面实验同时也表明多廿烷醇能在肠道代谢，因此前面实验没法证明多廿烷醇是否直接进入了机体，而本实验则说明了多廿烷醇的某些成份能直接以原型进入机体。通过这两个实验，本文揭示了多廿烷醇能以原型进入机体，而且易于吸收，这是以前文献没有报道的。

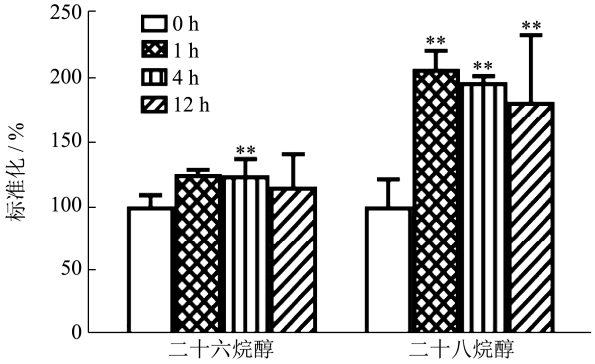

图 5 多廿烷醇单次给药不同时间后小鼠血清脂肪醇含量变化

Fig.5 Changes of serum fatty alcohol levels of KM mice after single-dose policosanol administration for 1 h, 4 h and 12 h

注：多廿烷醇 100 mg/kg 灌胃不同时间后小鼠血清二十六烷醇和二十八烷醇含量变化，溶媒剂灌胃 4 h 的结果作对照，计为多廿烷醇组的 0 h 点，以溶媒剂灌胃 4 h 后测得的小鼠血清二十六烷醇和二十八烷醇浓度平均值来分别标准化；数值均以平均值±标准误表示（n=4），显著性检验是多廿烷醇不同时间点二十六烷醇和二十八烷醇浓度与溶媒组分别进行比较，**p<0.05。

2.3.2 血清脂肪酸组成及含量

血清脂肪酸的检测结果（图 6）表明，溶媒剂灌胃 4 h（设为多廿烷醇组的 0 h）与多廿烷醇组均在血清检测出 C14:0、C16:0、C18:0、C18:1 和 C18:2 五种脂肪酸，其中 C16:0 和 C18:0 脂肪酸含量要远高于其他三种。多廿烷醇处理后，血清中 C14:0、C16:0、C18:0

等饱和脂肪酸含量与溶媒组比较无显著性差别，而不饱和脂肪酸 C18:1 和 C18:2 含量在灌胃给药 1 h、4 h、12 h 均比溶媒组显著升高，在灌胃 12 h 后分别升高了 72.88%和 61.75%。文献报道[13]，二十八烷醇经受试动物在体代谢 3 h 后，在其血清中检测到 C14:0、C16:0、C18:0 三种饱和脂肪酸和 C16:1、C18:1 两种不饱和脂肪酸，其中 C16:0、C18:0 含量最高，这与本文的小鼠体内代谢研究结果基本一致。本文的三个实验综合来看，胃肠道能将多廿烷醇代谢成脂肪酸，胃部主要是降解；而在肠部，因为肠道的复杂性能代谢产生不饱和脂肪酸；而在整体动物，多廿烷醇处理后血清不饱和脂肪酸水平变化更显著。

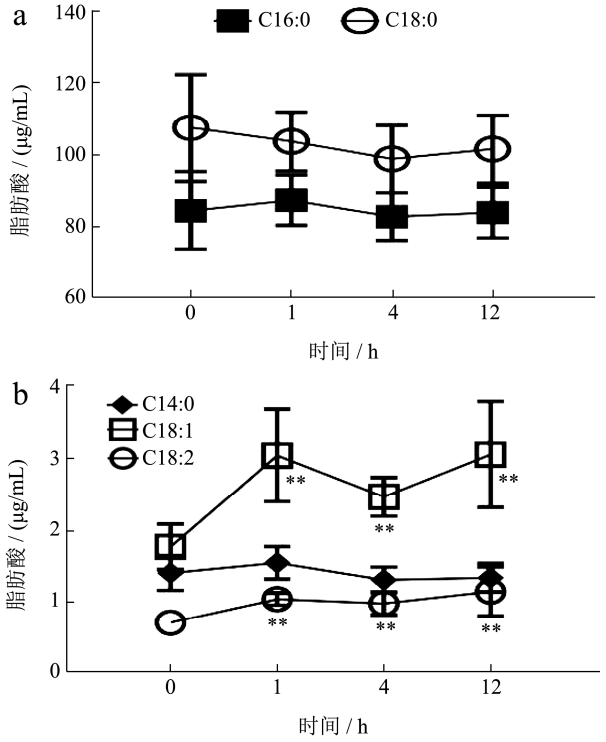

图 6 多廿烷醇单次给药不同时间后小鼠血清脂肪酸含量变化

Fig.6 Changes of serum fatty acid levels of KM mice after single-dose policosanol administration for 1h, 4h and 12h.

注：（a）多廿烷醇 100 mg/kg 给药后，小鼠血清 C16:0 和 C18:0 脂肪酸的含量变化；（b）多廿烷醇 100 mg/kg 给药后，小鼠血清 C14:0、C18:1 和 C18:2 脂肪酸的含量变化；溶媒剂灌胃 4 h 所得脂肪酸值作为对照，设为多廿烷醇组的 0 h 点，数值均以平均值±标准误来表示（n=4），显著性检验是以同类脂肪酸某时间点多廿烷醇组与溶媒组浓度进行比较，**p<0.05。

本次实验中在多廿烷醇的作用下使得小鼠血液的不饱和脂肪酸产生变化，一方面可能是多廿烷醇直接以原型进入机体后代谢而产生，或者多廿烷醇在肠道代谢成脂肪酸然后以几种脂肪酸形式进入机体后改变了血清脂肪酸水平，另一方面可能是多廿烷醇或者其代谢产物进入机体可能调节机体的脂肪代谢，从而调节了血清脂肪酸水平。

3 结论

通过单相静态胃肠模拟实验，发现多廿烷醇在人工胃液和人工肠液作用下能够代谢成以 C16:0 和 C18:0 为主的饱和脂肪酸。通过在体循环肠灌流实验，明确大鼠肠道对多廿烷醇有很强的代谢和吸收能力，并能引起肠道内的脂肪酸含量发生显著变化。通过测定小鼠 100 mg/kg 多廿烷醇单次给药后 1 h、4 h、12 h 血清中脂肪酸和烷醇的含量，发现多廿烷醇能显著影响血清的脂肪酸水平。本实验研究表明，不溶于水的多廿烷醇一方面能以原型的形式进入机体，另一方面也能在胃肠道被代谢成不同碳链的饱和及不饱和脂肪酸，这些物质进入机体后引起机体内饱和及不饱和脂肪酸水平发生改变，而这或许是多廿烷醇具有血脂调节功能的物质基础，本研究为多廿烷醇的临床应用提供了较强的科学依据。

参考文献

[1] Kim J Y, Ju H L, Jeong D Y, et al. Preparation and characterization of aqueous dispersions of dextrin and policosanol composites [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 121: 140-146

[2] Weerawatanakorn M, Meerod K, Wongwaiwech D, et al. Policosanols: Chemistry, occurrence, and health effects [J]. Current Pharmacology Reports, 2019, 5(3): 131-149

[3] Poli A, Visioli F. Pharmacology of nutraceuticals with lipid lowering properties [J]. High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention, 2019, 26(2): 113-118

[4] Bianconi V, Mannarino M R, Sahebkar A, et al. Cholesterol-lowering nutraceuticals affecting vascular function and cardiovascular disease risk [J]. Current Cardiology Reports, 2018, 20(7): 53-53

[5] Askarpour M, Ghaedi E, Roshanravan N, et al. Policosanol supplementation significantly improves blood pressure among adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Complementary Therapies in Medicine, 2019, 45: 89-97

[6] Lee JY, Choi HY, Kang YR, et al. Effects of long-term supplementation of policosanol on blood cholesterol/glucose levels and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase activity in a rat model fed high cholesterol diets [J]. Food Science and Biotechnology, 2016; 25(3):899-904

[7] SHEN Jun-jun, LUO Fei-jun, LIN Qin-lu, et al. Policosanol: Extraction and biological functions [J]. Journal of Functional

Foods, 2019, 57: 351-360

[8] Dulin M, Hatcher L, Sasser H C, et al. Policosanol is ineffective in the treatment of hypercholesterolemia: a randomized controlled trial [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2006, 84(6): 1543-1548

[9] Francinipesenti F, Beltramolli D, Dallacqua S, et al. Effect of sugar cane policosanol on lipid profile in primary hypercholesterolemia [J]. Phytotherapy Research, 2008, 22(3): 318-322

[10] Jones P J, Kassis A N, Marinangeli C P, et al. Policosanols lose their lustre as cholesterol-lowering agents [J]. Journal of Functional Foods, 2009, 1(2): 236-239

[11] Kabir Y, Kimura S. Biodistribution and metabolism of orally administered octacosanol in rats [J]. Annals of Nutrition and Metabolism, 1993, 37(1): 33-38

[12] Kabir Y, Kimura S. Tissue distribution of (8-14C)-octacosanol in liver and muscle of rats after serial administration [J]. Annals of Nutrition and Metabolism, 1995, 39(5): 279-284

[13] Menendez R, Marrero D, Mas R, et al. *In vitro* and *in vivo* study of octacosanol metabolism [J]. Archives of Medical Research, 2005, 36(2): 113-119

[14] Marinangeli C P, Kassis A N, Jain D, et al. Comparison of composition and absorption of sugarcane policosanols [J]. British Journal of Nutrition, 2007, 97(2): 381-388

[15] Ng C H, Leung K Y, HUANG Yu, et al. Policosanol has no antioxidant activity in human low-density lipoprotein but increases excretion of bile acids in hamsters [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(16): 6289-6293

[16] 周存山,秦晓佩,余筱洁,等.绿鳍马面鲀鱼皮蛋白抗氧化肽模拟胃肠消化制备[J].农业机械学报,2015,46(8):211-216
ZHOU Cun-shan, QIN Xiao-pei, YU Xiao-jie, et al. Antioxidant activity and characteristics of simulated gastrointestinal digestion hydrolysate from filefish Navodon septentrionalis skin protein [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(8): 211-216

[17] 王兴,黄忠明,王莉,等.苦荞蛋白模拟消化产物抗氧化活性及组成研究[J].中国食品学报,2009,9(6):10-15
WANG Xing, HUANG Zhong-ming, WANG Li, et al. The antioxidation activity and composition of tartary buckwheat protein products produced by simulating gastrointestinal digestion [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2009, 9(6): 10-15

[18] 江慎华,蔡志鹏,廖亮,等.丁香抗氧化活性物质提取及人工胃肠液对其活性的影响[J].农业机械学报,2012,43(7):149-155
JIANG Shen-hua, CAI Zhi-peng, LIAO Liang, et al. Extraction of antioxidants from clove and effect of artificial gastrointestinal juice immersion on its antioxidant properties [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(7): 149-155

[19] 方静,姜冬梅,欧阳臻,等.原位单向肠灌流模型研究几种甾醇的大鼠在体肠吸收[J].中药新药与临床药理,2011,22(4):437-440
FNAG Jing, JIANG Dong-mei, OUYANG Zhen, et al. Studies on in vivo intestinal absorption of several sterols in rats with in situ single-pass intestinal perfu-sion model [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2011, 22(4): 437-440

[20] Ponz F, Ilundain A, Lluch M, et al. Method for successive absorptions with intestinal perfusion *in vivo* [J]. Revista española defisiología, 1979, 35(1): 97-103

[21] Sierra R, Gonzalez V L, Magraner J, et al. Validation of a gas chromatographic method for determination of fatty alcohols in 10 mg film-coated tablets of policosanol [J]. Journal of AOAC International, 2002, 85(3): 563-566

[22] 翟雪珍,黄恋琦,刘松,等.雷帕霉素自微乳化释药系统的大鼠在体单向灌流肠吸收[J].中国医院药学杂志,2011,31(3):217-221
ZHAI Xue-zhen, HUANG Lian-qi, LIU Song, et al. Study on the rat intestinal absorption of rapamycin formulated in self-microemulsifying drug delivery system by single-pass intestinal perfusion technique [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2011, 31(3): 217-221

[23] 肖智锋,邓艳平,林宝姝,等.大鼠单向灌流模型研究姜黄素衍生物 FM0807 肠吸收代谢特性[J].中国医院药学杂志,2014,34(13):1049-1052
XIAO Zhi-feng, DENG Yan-ping, LIN Bao-shu, et al. Absorption and metabolism characteristics of curcumin derivative FM0807 in situ single-pass perfused rat intestinal model [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2014, 34(13): 1049-1052

[24] Fagerholm U, Johansson M, Lennernas H, et al. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. Pharmaceutical Research, 1996, 13(9): 1336-1342

（下转第 262 页）