

文冠果油神经酸乙酯对脱髓鞘小鼠脂肪酸、 血脂的影响

陈方会¹, 杜俊民^{1*}, 张芳荣¹, 贺文彬², 李钦青², 李春江¹, 胡美变¹

(1. 山西中医药大学中药与食品工程学院, 晋中 030619; 2. 山西中医药大学中医脑病山西省重点实验室, 晋中 030619)

摘要: **目的** 探究文冠果油神经酸乙酯对双环己酮草酰二脲(cuprizone, CPZ)诱导的脱髓鞘小鼠脂肪酸、血脂的影响。**方法** SPF 级雌性昆明小鼠 50 只, 除空白组(KO)外, 通过在饲料中加入 0.25% CPZ 饲喂雌性昆明小鼠造模并分为模型组(CPZ)、神经酸乙酯低剂量组(NA-L, 0.001912 mL/g)、神经酸乙酯中剂量组(NA-M, 0.003824 mL/g)、神经酸乙酯高剂量组(NA-H, 0.007648 mL/g), 持续 5 周至实验结束。于造模 2 周后开始给药至第 5 周结束后取材, 并通过气相色谱仪、血脂仪分别检测文冠果油神经酸乙酯对 CPZ 诱导的脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏、血清、粪便里的脂肪酸含量及血液中血脂水平的影响。**结果** 与 KO 组相比, CPZ 组脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏中神经酸、芥酸含量显著下降($P<0.05$); 与 CPZ 组相比, NA-L、NA-M、NA-H 组小鼠脑组织、肝脏、心脏、血清、粪便中的神经酸含量均显著增加($P<0.05$), 其中 KO、CPZ 组小鼠血清、粪便中未检测到神经酸和芥酸, NA-L、NA-M、NA-H 组小鼠血清、粪便中含有一定量的神经酸和芥酸; 与 KO 组相比, CPZ 组血脂升高; 与 CPZ 组相比, NA-L、NA-M、NA-H 组均可降低血液中的甘油三酯(triglyceride, TG)含量, 升高高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量。**结论** 在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会导致小鼠血脂升高, 降低小鼠体内神经酸、芥酸含量, 脱髓鞘疾病与神经酸的积累有关, 脱髓鞘疾病会导致神经酸的供应受损。在这种情况下, 文冠果油神经酸乙酯提取物能够增加脱髓鞘小鼠体内神经酸及芥酸含量, 提高脑组织不饱和脂肪酸含量, 调节脱髓鞘小鼠血脂水平。此外, 神经酸、芥酸参与脱髓鞘小鼠体内代谢, 并在小鼠体内共存, 文冠果油神经酸乙酯提取物可作为脱髓鞘小鼠补充神经酸的外源性物质。

关键词: 文冠果油; 神经酸乙酯; 芥酸; 脂肪酸; 脱髓鞘

Effect of ethyl nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil on fatty acids, blood lipid of demyelinating mice

CHEN Fang-Hui¹, DU Jun-Min^{1*}, ZHANG Fang-Rong¹, HE Wen-Bin²,
LI Qin-Qing², LI Chun-Jiang¹, HU Mei-Bian¹

(1. College Pharmaceutical and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China;
2. Shanxi Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Encephalopathy,
Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China)

基金项目: 山西中医药大学培育项目(2022PH-TH-50、2020PY-ZH-05)、山西中医药大学科研平台基地开放课题项目(2022JD-KF-22)

Fund: Supported by the Shanxi University of Chinese Medicine Breeding Project (2022PH-TH-50, 2020PY-ZH-05), and the Shanxi University of Chinese Medicine Scientific Research Platform Base Open Topic (2022JD-KF-22)

*通信作者: 杜俊民, 博士, 教授, 主要研究方向为天然产物萃取与分离。E-mail: dujmtcm@163.com

*Corresponding author: DU Jun-Min, Ph.D, Professor, College of Pharmaceutical and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, No.121, Jinzhong 030619, China. E-mail: dujmtcm@163.com

ABSTRACT: Objective To explore the effects of fatty acid and blood lipid of cuprizone (CPZ) induced demyelinating mice by ethyl nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil. **Methods** The 50 female Kunming mice with SPF grade, except blank group (KO), were fed 0.25% CPZ and divided into model group (CPZ), low dose group (NA-L, 0.001912 mL/g) and medium dose group (NA-M, 0.003824 mL/g), ethyl nervonic acid high-dose group (NA-H, 0.007648 mL/g) for 5 weeks to the end of the experiment. The samples were taken from 2 weeks after the modeling to the end of the 5th week, and the effects of ethyl nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil on fatty acid content in brain tissue, liver, heart, serum, stool and blood lipid level of CPZ-induced demyelinating mice were detected by gas chromatograph and blood lipid meter. **Results** Compared with KO group, the content of brain tissue, liver, heart nervonic acid and erucic acid in CPZ group were significantly decreased ($P<0.05$); compared with CPZ groups, the content of nervonic acid in brain tissue, liver, heart, serum and stool of mice in NA-L, NA-M and NA-H groups were significantly increased ($P<0.05$), and no neural acid and erucic acid were detected in serum and stool of mice in KO and CPZ groups. The serum and feces of NA-L, NA-M and NA-H groups contained a certain amount of nervonic acid and erucic acid. Lipid levels in the CPZ group were higher than those in the KO group, and compared with CPZ group, NA-L, NA-M and NA-H groups all decreased the content of triglyceride (TG) in blood and increased the content of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). **Conclusion** Supplementation of 0.25% CPZ to induce demyelination of mice can increase blood lipids, reduce the contents of nervonic acid and erucic acid in mice. Demyelinating diseases are related to the accumulation of neuric acid, and demyelinating diseases can lead to the impairment of neuric acid supply. In this case, the extract of ethyl nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil can increase the content of nervonic acid and erucic acid, increase the content of unsaturated fatty acid in brain tissue, and regulate the level of blood lipid in demyelinating mice. In addition, nervonic acid and erucic acid participate in the metabolism of demyelinating mice, and coexist in mice. The extract of ethyl nervonic acid from *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil can be used as an exogenous substance to supplement nervonic acid in demyelinating mice.

KEY WORDS: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge oil; ethyl nervonic acid; erucic acid; fatty acids; demyelination

0 引言

脱髓鞘病是临床上广泛存在的一种病症, 常见于脑小血管病、脑卒中、多发性硬化等神经系统常见重大疾病中^[1-2]。脱髓鞘病主要病理表现为髓鞘的脱失及白质的变性, 临床症状为语言障碍、身体失去知觉、记忆力减退、运动能力下降、视力模糊、抑郁等^[3]。临床上缺少有效的治疗药物, 因此研究无毒副作用、安全的药物治疗脱髓鞘疾病具有重要意义。

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge), 是无患子科, 文冠果属落叶灌木, 别名土木瓜。其种仁油中含有丰富的不饱和脂肪酸^[4-5], 是富含神经酸的植物资源之一^[6]。神经酸(nervonic acid), 一种长链的单不饱和脂肪酸^[7-8], 因其与脑发育密切相关而引起人们的关注, 是神经细胞和神经组织的重要组成部分^[9], 对维持机体神经组织的正常工作和促进神经发育起着至关重要的作用^[10-12]。动物实验发现, 神经酸能够改善帕金森小鼠的运动障碍^[13]、缓解小鼠自身免疫性脑脊髓炎的发展^[14]、预防 Zellweger 综合征^[15]、调节血脂^[16]、提高免疫力^[17]。此外, 神经酸具有治疗与髓鞘相关病症的功能, 如多发性硬化症^[18-19]、肾上腺脑白质退化症等^[20]。

研究发现, 通过体外摄入含脂肪酸的物质能够改变动物体内的脂肪酸含量^[21-22]。目前, 前人的研究阐述了神经酸能够修复髓鞘^[23], 但未检测脱髓鞘小鼠体内的神经酸含量变化。运用双环己酮草酰二胺(cuprizone, CPZ)诱导小鼠髓鞘脱落并利用气相色谱仪分析小鼠体内的脂肪酸含量变化, 以解释脱髓鞘能否导致体内神经酸的供应受损、脱髓鞘是否与神经酸积累有关。实验中发现饲料中添加 CPZ 饲喂小鼠会导致小鼠血脂升高, 通过血脂检测文冠果油神经酸乙酯能否调节血脂水平, 为脱髓鞘疾病的治疗提供依据。神经酸作为脑白质和神经纤维髓鞘的主要成分, 它能修复神经纤维也能促进神经细胞再生。因此, 本研究拟探究文冠果油神经酸乙酯提取物对脱髓鞘小鼠脂肪酸及血脂的影响, 探讨其是否能够恢复和调节脱髓鞘小鼠体内的神经酸含量, 并为神经酸修复髓鞘、辅助治疗脱髓鞘疾病提供科学基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

文冠果油, 实验室自制; 神经酸乙酯标品(纯度 $\geq 98\%$, 美国 Sigma 公司); 氢氧化钾、正己烷、甲醇钠溶液(0.5 mol/L,

取 20 g 氢氧化钠, 溶解于 1 L 的无水甲醇中即得)、乙酸溶液(10%体积分数)、尿素、无水硫酸钠、无水乙醇、无水甲醇、氢氧化钠、石油醚(60~90°C)(分析纯, 天津市天力化学试剂有限公司); 脂类多项测试卡[复兴诊断科技(长沙)有限公司]。

1.2 仪器与设备

7890A 气相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司); HP-5 毛细管柱(30 m×320 μm, 0.25 μm)[安捷伦科技(中国)有限公司]; 85-2B 数显恒温磁力搅拌器(苏州威尔实验用品有限公司); RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器公司); T2600 紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司); 800-1 离心机(慧智仪诚(北京)科技发展有限公司); PR124ZH/E 电子天平[精度 0.0001 g, 奥豪斯仪器(上海)有限公司]。

1.3 实验动物

SPF 级雌性昆明小鼠 50 只, 4~5 周龄, 体重 25~29 g, 许可证号: SCXK(晋)2023-0002, 养殖室温为 22~24°C, 昼夜明暗交替。

1.4 实验方法

1.4.1 文冠果油神经酸乙酯的提取与纯化

取 100 g 的文冠果油, 加入 20% 100 mL 氢氧化钾-乙醇溶液, 在反应温度 80°C 水浴下加热回流 2 h, 不饱和脂肪酸发生皂化反应, 反应结束后, 用 25% 盐酸溶液将 pH 调至 2~3, 将反应液立即转移至分液漏斗中, 水洗至 pH 5~6, 取上层, 无水硫酸钠干燥抽滤, 用旋转蒸发器回收过量无水乙醇, 得到文冠果油脂肪酸混合液^[24-26]。

将适量尿素溶于体积分数为 90% 的乙醇溶液中, 在 60°C 水浴下使尿素溶解后, 加入 5 g 脂肪酸混合液, 在 80°C 水浴下加热至混合液澄清, 冷却至室温后放入冰箱中结晶, 结晶温度 7°C、尿素与脂肪酸混合液质量比 0.6:1.00 (g:g)、液料 90% 的乙醇与脂肪酸混合液体积质量比为 10:1 (mL:g)、包合时间 9 h, 结晶结束后迅速将晶体与液体分离, 并用同等温度下的乙醇溶液润洗晶体 4~5 次, 之后在 80°C 下加适量水溶解晶体, 用 25% 盐酸溶液调 pH 至 2~3, 加石油醚萃取, 水洗醚层至中性, 用无水硫酸钠干燥, 旋蒸后得到神经酸乙酯提取物^[27-28], 通过气相色谱仪检测到纯化后的文冠果油神经酸乙酯含量由 2.25% 提高到 32.42%。

1.4.2 脱髓鞘模型的建立

昆明小鼠 50 只, 适应性喂养 1 周后随机分成 5 组, 每组 10 只, 分别为空白组(KO)、模型组(CPZ)、神经酸乙酯低剂量组(NA-L, 0.001912 mL/g)、神经酸乙酯中剂量组(NA-M, 0.001912 mL/g)、神经酸乙酯高剂量组(NA-H, 0.007648 mL/g), 并对小鼠进行编号。除 KO 组以普通饲料持续喂养外, 其余组别在饲料中加入 0.25% CPZ 饲喂小鼠造模^[29], 持续 5 周至实验结束。于造模 2 周后开始对 NA-L、

NA-M、NA-H 组灌胃相应剂量的文冠果油神经酸提取物, KO 组、CPZ 组灌胃 0.007648 mL/g 纯净水, 每日灌胃 1 次, 连续灌胃 3 周后取材。

1.4.3 小鼠脑组织、心脏、肝脏、血清、粪便脂肪酸的提取及含量测定

分别称 0.1 g 脑组织、心脏、肝脏, 将其剪碎进行充分研磨, 备用; 将粪便放入烘箱 55°C 烘 6 h, 称取烘干的粪便 1 g 研磨成细粉。将以上处理好的样品分别加入甲醇钠 2 mL 充分摇匀反应 1 h, 离心取上层溶液, 加入 0.5 mL 乙酸摇匀反应 15 min, 加入 0.5 mL 正己烷摇匀, 静置分层后取上层溶液 1 μL 用气相色谱仪进样分析, 用峰面积归一法计算神经酸含量。取血清 150 μL 加入甲醇钠 1 mL 充分摇匀反应 1 h, 离心(4000 r/min, 10 min)取上层溶液, 加入 0.25 mL 乙酸摇匀反应 15 min, 加入 0.25 mL 正己烷摇匀, 静置分层后取上层溶液 1 μL 进样分析, 用峰面积归一法计算神经酸含量。

1.4.4 仪器条件

选用 Agilent Technologies 7890A 气相色谱仪, HP-5 毛细管柱(30 m×320 μm, 0.25 μm); 气相色谱检测条件: 检测限设置为 0.001, 初始温度 205°C, 平衡 1 min, 以 20°C/min 的速率升到 230°C 保持 1 min, 运行 2.25 min, 以 10°C/min 的速率升到 240°C 保持 6 min, 运行 9.25 min。氢气流量 20 mL/min、空气流量 150 mL/min, 进样口温度 300°C, 氢火焰离子检测器(flame ionization detector, FID)温度为 250°C, 进样量 1 μL。

1.4.5 小鼠血液中 TG、HDL-C 水平测定

通过 1.4.2 所述方法给药 21 d 后禁食 12 h, 眼球取血, 根据脂类多项测试卡使用说明, 对各组小鼠血液的甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量进行检测。

1.5 数据处理

运用 SPSS 26.0 对实验数据进行对比分析, 每个处理重复 3 次, 实验结果以平均值±标准偏差表示, 各组之间采用单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA) (Tukey's test)进行两两比较分析, 以 $P < 0.05$ 表示具有显著性差异; Origin 2021 软件作图。

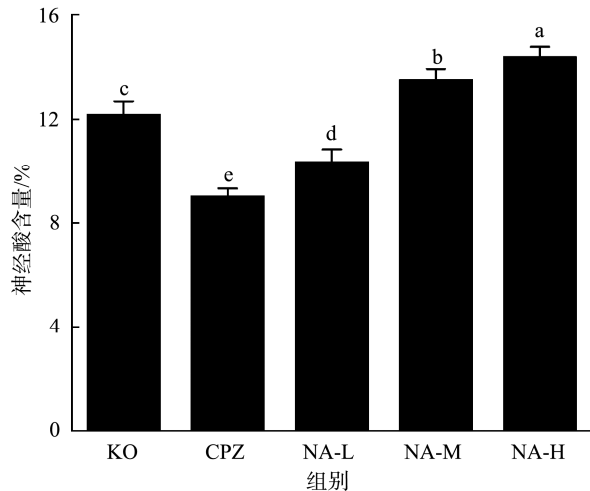
2 结果与分析

2.1 对小鼠脑组织中脂肪酸的影响

神经酸是脑白质和神经纤维髓鞘的主要成分, 它能修复神经纤维也能促进神经细胞再生。如图 1 所示, 与 KO 组相比, CPZ 组、NA-L 组小鼠脑组织神经酸(C24:1)含量显著降低($P < 0.05$), 表明饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低小鼠脑组织中的神经酸含量。通过对脱髓鞘小鼠灌胃神经酸提取物治疗 3 周后, 与 CPZ 组相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组小鼠脑组织神经酸含量显

著增加($P<0.05$), 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够提高脱髓鞘小鼠脑组织中的神经酸含量。脱髓鞘疾病使得小鼠脑部神经酸供应损伤, 通过外源性补充神经酸可合成鞘脂酯和鞘磷脂, 使神经纤维髓鞘化, 脱落的髓鞘再生, 有助于受损神经纤维的恢复。

通过表 1 可以看出, 与 CPZ 组相比, NA-H 组脑组织中的长链不饱和脂肪酸含量(亚油酸、芥酸除外)显著提高($P<0.05$), 饱和脂肪酸含量显著降低($P<0.05$)^[30-31], 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够提高脱髓鞘小鼠脑组织中的不饱和脂肪酸含量, 降低饱和脂肪酸含量。与 KO 组相比, CPZ 组小鼠脑组织芥酸(C22:1)含量显著下降($P<0.05$), 表明在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低小鼠脑组织中的芥酸含量。与 CPZ 组相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组小鼠脑组织中的芥酸含量随着给药剂量的增加而呈现先增加后减少的趋势, 表明通过文冠果油神经酸乙酯提取物灌胃治疗后, 会提高脱髓鞘小鼠脑组织中的芥酸含量。



注: 不同字母表示组间具有显著性差异($P<0.05$), 下同。

图 1 脑组织中的神经酸含量

Fig.1 Nervonic acid content in brain tissue

表 1 脑组织脂肪酸组成(%)
Table 1 Fatty acid composition in brain tissue (%)

脂肪酸	分组				
	KO	CPZ	NA-L	NA-M	NA-H
棕榈酸 [#] (C16:0)	33.31±0.73 ^b	46.54±0.34 ^a	33.49±0.54 ^b	30.91±0.84 ^c	28.22±0.41 ^d
硬脂酸 [#] (C18:0)	22.21±0.50 ^a	18.46±0.13 ^b	19.51±0.62 ^b	19.68±0.86 ^b	16.31±0.92 ^c
油酸 [#] (C18:1)	21.84±0.77 ^d	17.03±0.75 ^e	28.12±0.95 ^b	25.57±2.03 ^c	32.37±0.67 ^a
亚油酸 [#] (C18:2)	0.19±0.03 ^b	0.39±0.02 ^a	0.18±0.02 ^b	0.13±0.01 ^c	0.09±0.01 ^d
芥酸 [#] (C22:1)	9.95±0.56 ^a	8.56±0.38 ^b	8.34±0.41 ^b	10.20±1.08 ^a	8.62±0.37 ^b
神经酸 [#] (C24:1)	12.18±0.51 ^c	9.03±0.29 ^e	10.36±0.46 ^d	13.51±0.42 ^b	14.39±0.38 ^a

注: 同行不同小写字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$); [#]表示饱和脂肪酸, *表示不饱和脂肪酸, 下同。

2.2 对小鼠肝脏中脂肪酸的影响

肝脏具有脂质合成和氧化分解代谢功能的重要器官^[32]。由图 2 所示, 与 KO 组相比, CPZ 组脱髓鞘小鼠肝脏神经酸含量显著下降($P<0.05$), 表明在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低肝脏中的神经酸含量。与 CPZ 组相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组小鼠肝脏中的神经酸含量显著增加($P<0.05$), 表明通过文冠果油神经酸乙酯提取物灌胃治疗后, 会提高脱髓鞘小鼠肝脏中的神经酸含量。

肝脏脂肪酸组成如表 2 所示, 与 KO 组相比, CPZ 组脱髓鞘小鼠肝脏芥酸含量显著下降($P<0.05$), 表明在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低小鼠肝脏中的芥酸含量。与 CPZ 组相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组小鼠肝脏中的芥酸含量随着给药剂量的增加而呈现上升趋势, 表明通过文冠果油神经酸乙酯提取物灌胃治疗后, 会提高脱髓鞘小鼠肝脏中的芥酸含量。

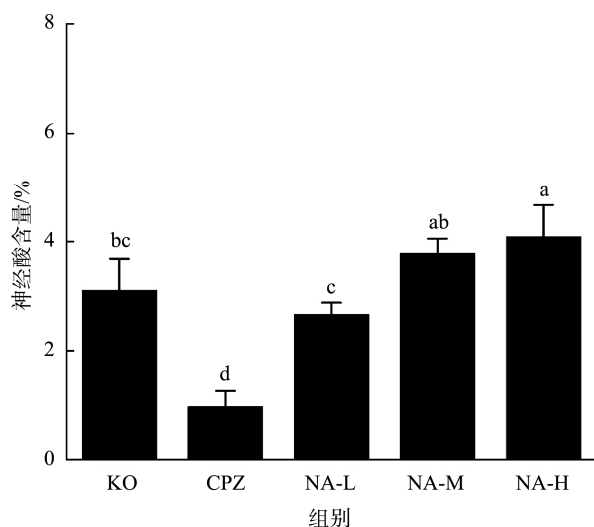


图 2 肝脏中的神经酸含量

Fig.2 Nervonic acid content in the liver

表 2 肝脏脂肪酸组成(%)
Table 2 Fatty acid composition in the liver (%)

脂肪酸	分组				
	KO	CPZ	NA-L	NA-M	NA-H
棕榈酸 [#] (C16:0)	33.11±0.33 ^a	29.33±0.93 ^b	26.11±0.44 ^c	25.01±0.54 ^c	20.23±0.93 ^d
硬脂酸 [#] (C18:0)	12.50±0.34 ^d	15.38±0.70 ^c	24.14±0.34 ^a	18.74±0.76 ^b	23.67±0.85 ^a
油酸 [*] (C18:1)	19.59±0.64 ^b	21.03±0.80 ^a	17.56±0.23 ^c	16.75±0.56 ^c	14.56±0.53 ^d
亚油酸 [*] (C18:2)	20.01±1.55 ^b	24.42±0.29 ^a	18.17±0.35 ^b	23.00±1.44 ^b	24.33±0.47 ^a
芥酸 [*] (C22:1)	11.69±0.38 ^b	8.80±0.95 ^c	11.36±0.07 ^b	12.73±0.34 ^a	13.13±0.20 ^a
神经酸 [*] (C24:1)	3.10±0.58 ^{bc}	0.97±0.29 ^d	2.66±0.21 ^c	3.78±0.27 ^{ab}	4.08±0.59 ^a

2.3 对小鼠心脏中脂肪酸的影响

心脏中的神经酸含量如图 3 所示, 与 KO 相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组神经酸含量显著增加($P<0.05$), 而 CPZ 组未检测到神经酸, 表明在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低小鼠心脏中的神经酸含量, 通过神经酸提取物灌胃治疗后, 能够显著提高小鼠心脏中的神经酸含量。

由表 3 可知, 与 KO 组相比, CPZ 组小鼠心脏中未检测到芥酸, 在给药组中检测到其含量有所提高($P<0.05$), 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够增加脱髓鞘小鼠心脏中的芥酸含量, 并且与神经酸共存于小鼠心脏中。

2.4 对小鼠血清中脂肪酸的影响

小鼠血清中的神经酸含量见图 4, KO 组、CPZ 组均未检测到神经酸, 而 NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组随着给药剂量的提高, 血清中的神经酸含量呈现逐步上升趋势, 表明文冠果油神经酸乙酯提取物可作为脱髓鞘小鼠补充血清中神经酸含量的外源性物质。

由表 4 可以看出, KO 组、CPZ 组均未检测到芥酸, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组监测到小鼠血清中含有少

量的芥酸, 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够增加脱髓鞘小鼠血清中的芥酸含量, 并且与神经酸共存于小鼠血清中。

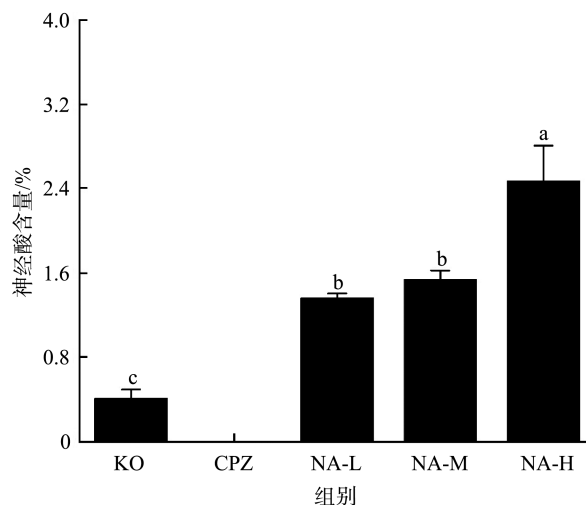


图 3 心脏中的神经酸含量
Fig.3 Nerveic acid content in the heart

表 3 心脏脂肪酸组成(%)
Table 3 Fatty acid composition in the heart (%)

脂肪酸	分组				
	KO	CPZ	NA-L	NA-M	NA-H
棕榈酸 [#] (C16:0)	47.12±0.34 ^a	13.24±0.67 ^c	26.13±0.60 ^d	37.27±0.20 ^b	30.34±0.20 ^c
硬脂酸 [#] (C18:0)	11.74±0.10 ^d	36.44±0.36 ^a	32.97±1.40 ^b	28.63±0.26 ^c	12.40±0.20 ^d
油酸 [*] (C18:1)	28.34±0.10 ^a	29.40±1.12 ^a	18.91±0.65 ^c	12.68±0.49 ^d	25.19±0.09 ^b
亚油酸 [*] (C18:2)	11.86±0.13 ^d	20.93±1.01 ^b	19.23±0.41 ^c	18.50±0.29 ^c	26.94±1.35 ^a
芥酸 [*] (C22:1)	0.52±0.06 ^b	-	1.41±0.07 ^{ab}	1.38±0.14 ^{ab}	2.67±1.30 ^a
神经酸 [*] (C24:1)	0.41±0.08 ^c	-	1.36±0.04 ^b	1.53±0.09 ^b	2.46±0.35 ^a

注: -表示无此项, 下同。

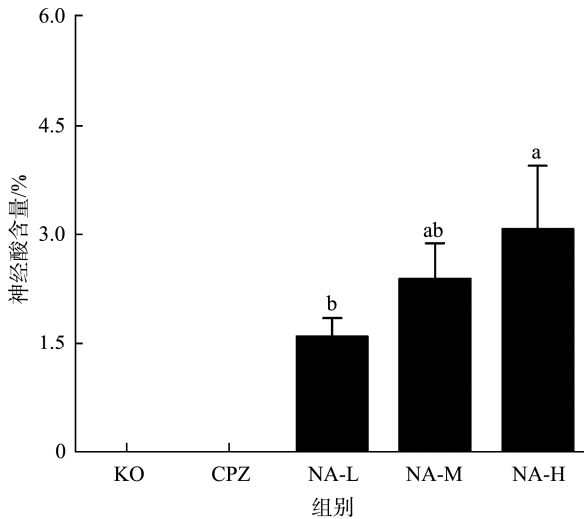


图 4 血清中的神经酸含量
Fig.4 Nervonic acid content in serum

表 4 血清脂肪酸组成(%)
Table 4 Fatty acid composition in serum (%)

脂肪酸	分组				
	KO	CPZ	NA-L	NA-M	NA-H
棕榈酸 [#] (C16:0)	40.25±0.70 ^a	28.19±0.51 ^c	34.53±0.27 ^b	33.84±0.12 ^b	26.39±0.76 ^d
硬脂酸 [#] (C18:0)	13.91±0.71 ^d	30.43±0.40 ^a	20.30±0.16 ^c	23.61±0.33 ^b	19.40±0.89 ^c
油酸 [*] (C18:1)	20.47±0.39 ^a	13.57±0.68 ^c	16.41±0.31 ^b	13.09±0.12 ^c	15.85±0.15 ^b
亚油酸 [*] (C18:2)	25.37±1.38 ^c	27.80±0.62 ^b	22.40±0.39 ^d	21.69±0.46 ^c	31.27±1.04 ^a
芥酸 [*] (C22:1)	-	-	4.77±0.51 ^{ab}	5.37±0.34 ^a	4.02±0.79 ^b
神经酸 [*] (C24:1)	-	-	1.60±0.25 ^b	2.39±0.48 ^{ab}	3.08±0.87 ^a

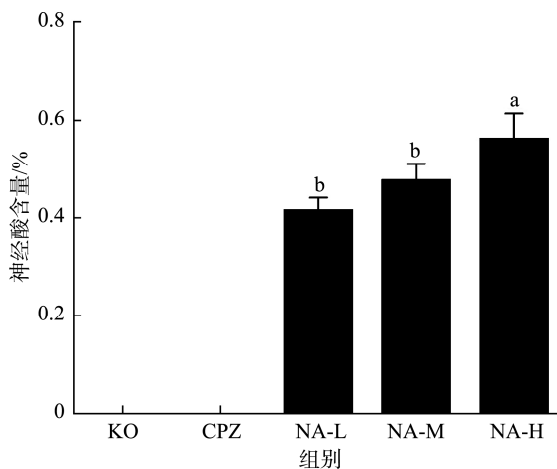


图 5 粪便中的神经酸含量
Fig.5 Nervonic acid content in stool

2.5 对小鼠粪便中脂肪酸的影响

小鼠粪便中的神经酸含量见图 5, KO 组、CPZ 组均未检测到神经酸, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组监测到粪便中含有少量的神经酸。表明通过文冠果油神经酸乙酯提取物治疗后, 神经酸参与了脱髓鞘小鼠体内代谢。

由表 5 可以看出, KO 组、CPZ 组均未检测到芥酸, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组监测到粪便中含有少量的芥酸且其含量随着神经酸含量的提高而上升, 表明神经酸与芥酸在小鼠体内以共存的方式参与代谢。

2.6 对小鼠血液中血脂的影响

小鼠血液中的 TG、HDL-C 含量分别如图 6、7 所示。与 KO 组相比, CPZ 组血脂升高, 表明饲料中添加 CPZ 造模会导致小鼠血脂升高; 与 CPZ 组相比, NA-L 组、NA-M 组、NA-H 组均可降低血液中的 TG 含量, 升高 HDL-C 含量, 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够调节脱髓鞘小鼠的血脂水平^[33]。

鞘, 以研究文冠果油神经酸乙酯提取物对脱髓鞘小鼠脂肪酸、血脂水平的影响。通过气相色谱仪分析脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏、血清、粪便中的脂肪酸可以得出: 与 KO 组相比, CPZ 组脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏中神经酸含量显著下降($P<0.05$), 表明在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会降低小鼠脑组织、肝脏、心脏中的神经酸、芥酸含量。与 CPZ 组相比, 给药组脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏、血清、粪便中的神经酸含量显著增加($P<0.05$), 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够提高脱髓鞘小鼠脑组织、肝脏、心脏、血清、粪便中神经酸含量。KO 组、CPZ 组粪便和血清中未检测到神经酸和芥酸, 而给药组检测到神经酸及芥酸, 且含量显著提高($P<0.05$)。神经酸、芥酸参与脱髓鞘小鼠体内代谢, 并在小鼠体内共存。通过检测小鼠血液中的 TG、HDL-C 含量发现, 与 KO 组相比, CPZ 组血脂升高, 表明饲料中添加 CPZ 造模会导致小鼠血脂升高; 与 CPZ 组相比, 给药组均可降低血液中的 TG 含量, 升高 HDL-C 含量, 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够调节脱髓鞘小鼠血脂水平。

3 结论

本研究通过在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓

表 5 粪便脂肪酸组成(%)
Table 5 Fatty acid composition in stool (%)

脂肪酸	分组				
	KO	CPZ	NA-L	NA-M	NA-H
棕榈酸 [#] (C16:0)	40.71±0.16 ^{cd}	41.25±0.17 ^{bc}	42.54±0.32 ^a	41.32±0.47 ^b	40.55±0.15 ^d
硬脂酸 [#] (C18:0)	20.49±0.14 ^a	20.63±0.27 ^a	11.70±0.30 ^c	14.26±0.46 ^b	20.63±0.96 ^a
油酸 [*] (C18:1)	18.30±0.38 ^b	18.54±0.21 ^b	20.54±0.17 ^a	18.54±0.14 ^b	18.625±0.36 ^b
亚油酸 [*] (C18:2)	20.50±0.29 ^b	19.58±0.11 ^{bc}	24.34±0.18 ^a	24.86±0.81 ^a	18.904±0.73 ^c
芥酸 [*] (C22:1)	-	-	0.46±0.04 ^b	0.54±0.07 ^b	0.73±0.08 ^a
神经酸 [*] (C24:1)	-	-	0.42±0.03 ^b	0.48±0.03 ^b	0.56±0.05 ^a

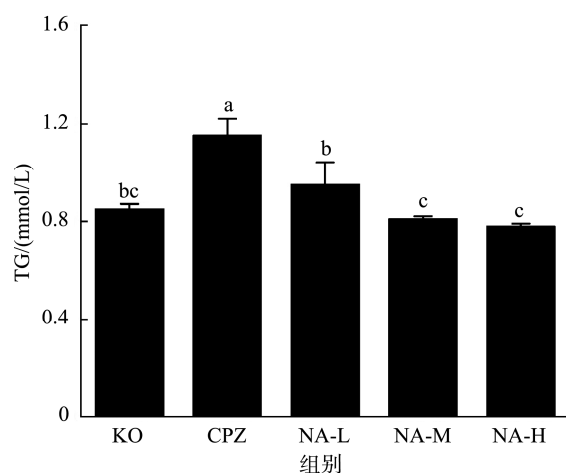


图 6 血液中 TG 含量
Fig.6 TG content in blood

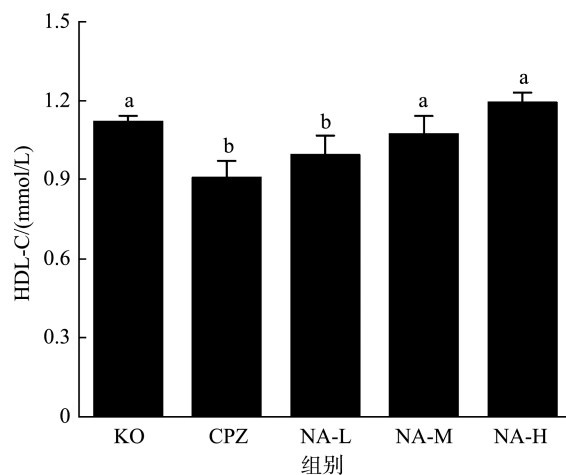


图 7 血液中 HDL-C 含量
Fig.7 HDL-C content in blood

综上所述, 在饲料中添加 0.25% CPZ 诱导小鼠脱髓鞘会导致小鼠血脂升高, 降低小鼠体内神经酸、芥酸含量; 文冠果油神经酸乙酯提取物能够增加脱髓鞘小鼠体内神经酸含量, 调节脱髓鞘小鼠血脂水平。此外, 神经酸、芥酸参与脱髓鞘小鼠体内代谢, 并在小鼠体内共存。脱髓鞘疾病与神经酸的积累有关, 脱髓鞘疾病会导致神经酸的供应

受损。在这种情况下, 表明文冠果油神经酸乙酯提取物能够恢复和调节脱髓鞘小鼠体内的神经酸含量, 可作为脱髓鞘小鼠补充神经酸的外源性物质, 并为神经酸修复髓鞘、辅助治疗脱髓鞘疾病及相关药食同源产品研发提供科学基础。目前市场上含神经酸的产品还比较稀缺, 今后应着力研究植物神经酸更加绿色、高效的分离纯化工艺, 开发含神经酸的特色产品, 以期作为饮食治疗脱髓鞘疾病提供可能。

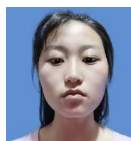
参考文献

- 马登磊, 韦威朋, 张兰, 等. 淫羊藿总黄酮对 cuprizone 致脑白质脱髓鞘小鼠模型的影响及其作用机制探讨[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(7): 514.
MA DL, WEI WP, ZHANG L, *et al.* Effects of epimedium total flavonoids on the mouse model of demyelination and its mechanism caused by cuprizone [J]. *Chin J Pharm Toxicol*, 2023, 37(7): 514.
- 徐璐, 杨佳, 郭静楠, 等. 多发性硬化的认知障碍研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2023, 26(4): 524-528.
XU L, YANG J, GUO JN, *et al.* Progress in cognitive impairment in multiple sclerosis [J]. *Chin J Prac Neurol Dis*, 2023, 26(4): 524-528.
- 栾宣宇, 周东洋, 宁思祎, 等. 多发性硬化治疗药物及潜在治疗药物的研究进展[J]. 神经疾病与精神卫生, 2023, 23(9): 639-645.
LUAN XY, ZHOU DY, NING SY, *et al.* Progress in the study of therapeutic agents and potential treatments for multiple sclerosis [J]. *Neurol Dis Ment Health*, 2023, 23(9): 639-645.
- 刘玉兰, 郭莹莹. 不同产地原料和不同工艺制取文冠果油的综合品质研究[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(6): 1-6.
LIU YL, GUO YY. Research on the comprehensive quality of producing wen crown fruit oil from different raw materials and different processes [J]. *Cere Oils*, 2020, 33(6): 1-6.
- 杨绪强, 解小锋, 孟晓晔, 等. 文冠果油与常见食用油营养成分及脂肪酸组成分析比较[J]. 山东林业科技, 2022, 52(2): 42-46.
YANG XQ, XIE XF, MENG XY, *et al.* Analysis and comparison of nutrient composition and fatty acid composition between crown fruit oil and common edible oil [J]. *J Shandong Forest Sci Technol*, 2022, 52(2): 42-46.
- TU XH, WAN JY, XIE Y, *et al.* Lipid analysis of three special nervonic acid resources in China [J]. *Oil Crop Sci*, 2020, 5(4): 180-186.
- ALTRINOZ MA, OZPINAR A, OZPINAR A, *et al.* Erucic acid, a nutritional PPAR δ -ligand may influence Huntingtons disease pathogenesis [J]. *Metab Brain Dis*, 2019, 35(6): 1-9.
- 田德雨, 王士安, 王立昊, 等. 超长链单不饱和脂肪酸的生物合成和代谢工程[J]. 生物技术通报, 2015, 31(12): 42-49.
TIAN DY, WANG SAN, WANG LH, *et al.* Biosynthesis and metabolic engineering of ultra-long-chain monounsaturated fatty acids [J]. *A*

- Biotechnol, 2015, 31(12): 42–49.
- [9] 许佳敏, 佟祎鑫, 王菊花, 等. 文冠果油的营养成分及功能活性研究进展[J]. 中国油脂, 2022, 47(10): 77–82.
XU JM, TONG YX, WANG JH, *et al.* Progress on nutritional composition and functional activities of fruit oil [J]. China Oils Fats, 2022, 47(10): 77–82.
- [10] FAN Y, MENG HM, HU GR, *et al.* Biosynthesis of nervonic acid and perspectives for its production by microalgae and other microorganisms [J]. Appl Microbiol Biot, 2018, 102(7): 3027–3035.
- [11] LIU F, WU R, MA X, *et al.* The advancements and prospects of nervonic acid production [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70(40): 12772–12783.
- [12] TANAKA K, SHIMIZU T, OHTSUKA Y, *et al.* Early dietary treatments with Lorenzos oil and docosahexaenoic acid for neurological development in a case with Zellweger syndrome [J]. Brain Dev, 2007, 29(9): 586–589.
- [13] HU D, CUI Y, ZHANG J. Nervonic acid amends motor disorder in a mouse model of Parkinsons disease [J]. Transl Neurosci, 2022, 13(1): 71.
- [14] LIU S, SUN H, ZHOU Q, *et al.* Nervonic acid regulates the oxidative imbalance in experimental allergic encephalomyelitis: Original paper [J]. Food Sci Technol Res, 2021, 27(2): 269–280.
- [15] TANAKA K, SHIMIZU T, OHTSUKA Y, *et al.* Early dietary treatments with Lorenzos oil and docosahexaenoic acid for neurological development in a case with Zellweger syndrome [J]. Brain Dev Jpn, 2007, 29(9): 586–589.
- [16] KEPPELY LJW, WALKER SJ, GADEMSEY AN, *et al.* Nervonic acid limits weight gain in a mouse model of diet—induced obesity [J]. FASEB J, 2020, 34(11): 15314–15326.
- [17] UMEMOTO H, YASUGI S, TSUDA S, *et al.* Protective effect of nervonic acid against 6—hydroxydopamine—induced oxidative stress in PC-12 cells [J]. J Oleo Sci, 2021, 70(1): 95–102.
- [18] 薛玉环. 元宝枫油对多发性硬化症的防治作用及其机制研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2022.
XUE YH. Prevention and control effect of ingot maple oil on multiple sclerosis and its mechanism study [D]. Xianyang: Northwest Agriculture & Forestry University, 2022.
- [19] 蒋雨平. 多发性硬化中的脂代谢障碍和多不饱和脂肪酸的治疗[J]. 中国临床神经科学, 2016, (4): 436–439.
JIANG YP. Treatment of lipid metabolic disorders and polyunsaturated fatty acids in multiple sclerosis [J]. Clin Neurosci Chin, 2016, (4): 436–439.
- [20] 王性炎. 我国应重视神经酸植物的发展与利用[J]. 中国油脂, 2011, 36(11): 52–54.
WANG XY. Attention should be paid to the development and utilization of neural acid plants in China [J]. Chin Oils Fats, 2011, 36(11): 52–54.
- [21] 鲁燕妮, 易长文, 聂宏寿, 等. 海南省养殖水产品中脂肪含量及脂肪酸组成分析[J]. 卫生研究, 2023, (6): 890–895.
LU YN, YI CW, NIE HQ, *et al.* Analysis of fat content and fatty acid composition in cultured aquatic products in Hainan Province [J]. J Hyg Res, 2023, (6): 890–895.
- [22] 杨晓萍, 戴有盛, 陈华. 鱼油对小鼠脑磷脂中脂肪酸组成的影响[J]. 营养学报, 1994, (2): 164–168.
YANG XP, DAI YS, CHEN H. Effect of fish oil on fatty acid composition in mouse brain phospholipids [J]. Acta Nutr Sin, 1994, (2): 164–168.
- [23] 刘速速. 神经酸的提取纯化及对脑脊髓炎小鼠髓鞘损伤修复的影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2020.
LIU SS. Extraction and purification of neural acid and effects on repair of myelin injury in encephalomyelitis mice [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2020.
- [24] 李冠文, 王辉敏, 杨金梅, 等. 尿素包合法富集纯化马齿苋中多不饱和脂肪酸的工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6185–6191.
LI GW, WANG HM, YANG JM, *et al.* Process optimization of enrichment and purification of polyunsaturated fatty acids from *Portulaca oleracea* by urea inclusion method [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12 (15): 6185–6191.
- [25] 杜彦鹏, 李进伟, 刘元法. 低温溶剂结晶法富集鸭胆子油不饱和脂肪酸乙酯[J]. 中国油脂, 2020, 45(11): 58–61, 76.
DU YP, LI JW, LIU YF. Cryogenic solvent crystallization method [J]. Chin Oils Fats, 2020, 45(11): 58–61, 76.
- [26] 仲哈实, 康宇, 刘元法, 等. 鸭胆子油的乙酯化工艺研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(9): 112–115.
ZHONG HS, KANG Y, LIU YF, *et al.* Study on ethyl esterification process of arventan oil [J]. Chin Oils Fats, 2018, 43(9): 112–115.
- [27] 郭莹莹, 刘玉兰, 梁绍全, 等. 尿素包合法富集文冠果油中神经酸的研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(7): 119–123.
GUO YY, LIU YL, LIANG SQ, *et al.* The legal enrichment of nerve acids in the crown fruit oil [J]. Chin Oils Fats, 2018, 43(7): 119–123.
- [28] 程亚鹏, 毕艳兰, 刘伟, 等. 尿素包合法制备高纯度油酸乙酯的工艺条件优化[J]. 中国油脂, 2018, 43(9): 1–7.
CHENG YP, BI YL, LIU W, *et al.* Optimization of process conditions for the legal preparation of high purity ethyl oleate by urea package [J]. Chin Oils Fats, 2018, 43(9): 1–7.
- [29] GINGELE S, HENKEL F, HECKERS S, *et al.* Delayed demyelination and impaired remyelination in aged mice in the Cuprizone model [J]. Cells, 2020, 9(4): 945.
- [30] 何凌云. 大豆油或棕榈油替代鱼油对斜带石斑鱼生长性能、脂肪酸组成及脂肪代谢的影响[D]. 厦门: 集美大学, 2019.
HE LY. Effects of replacing fish oil with soybean oil or palm oil on the growth performance, fatty acid composition and fat metabolism of oblique grouper [D]. Xiamen: Jimei University, 2019.
- [31] 高科迪, 任艳华, 樊海莹, 等. 高脂饲料对草鱼生长、肝脏脂肪蓄积、脂肪酸组成及肠道微生物的影响[J]. 河南水产, 2023, 149(1): 16–21, 25.
GAO KD, REN YH, FAN HY, *et al.* Effects of high-fat diet on grass carp growth, liver fat accumulation, fatty acid composition, and gut microbes [J]. Henan Fish, 2023, 149(1): 16–21, 25.
- [32] 谢婉菲, 姜珊, 王成成, 等. γ -亚麻酸对 α -亚麻酸转化为 DHA 的影响研究[J/OL]. 中国油脂: 1-11. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230354>
XIE WF, JIANG S, WANG CC, *et al.* Studies on the effect of γ -linolenic acid on the conversion of α -linolenic acid to DHA [J/OL]. China Oils Fats: 1-11. [2023-12-12]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230354>
- [33] 岳鹏. 高脂日粮 n-6/n-3 脂肪酸比例对小鼠抗氧化、血脂及骨代谢的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2009.
YUE P. Effect of the high-fat diet n-6 / n-3 fatty acid ratio on antioxidant, blood lipid and bone metabolism in mice [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



陈方会, 硕士研究生, 主要研究方向为药食同源中药功能产品研究。
E-mail: 1761270663@qq.com



杜俊民, 博士, 教授, 主要研究方向为天然产物萃取与分离。
E-mail: dujmtcm@163.com