DOI:10.12441/spyswjs.20250118002 [文章编号] 1673-1689(2025)03-0082-11

新型磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸的两步控释作用

于婧晗[1,2,3,4] 王 茜[1,2,3,4] 郭 旭[1,2,3,4] 牛威元[1,2,3,4] 阴法文[1,2,3,4*] 周大勇[1,2,3,4]

(1. 大连工业大学海洋食品加工与安全控制全国重点实验室,辽宁 大连 116034; 2. 大连工业大学国家海洋食品工程技术研究中心,辽宁 大连 116034; 3. 大连工业大学辽宁省海洋食品科学与技术重点实验室,辽宁 大连 116034; 4. 大连工业大学食品学院,辽宁 大连 116034)

摘要:【目的】没食子酸烷基酯可以与磷脂发生相互作用,生成磷脂-没食子酸烷基酯复合物,作者探究了磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸的缓释作用。**【方法】**采用薄膜分散法制备了不同酰基链长的磷脂-没食子酸烷基酯复合物。基于大鼠翻转肠囊模型结合高效液相色谱检测,研究了磷脂-没食子酸烷基酯复合物的胃肠消化吸收特性。**【结果】**没食子酸烷基酯逐渐从其磷脂复合物中释放出来(第一步缓释),并被肠道脂肪酶水解产生了游离没食子酸(第二步缓释)。此外,没食子酸和短链没食子酸烷基酯(甲酯、乙酯、丙酯、丁酯)均能够跨越小肠黏膜,且跨膜后的短链没食子酸烷基酯进一步水解产生了游离没食子酸(第二步缓释)。随着酰基链长的增加,水解速率常数呈现先升高(甲酯:1.081×10^{-5} min^{-1};乙酯:1.768×10^{-5} min^{-1};丙酯:2.193×10^{-5} min^{-1};丁酯:2.520×10^{-5} min^{-1};辛酯:2.901×10^{-5} min^{-1})后降低(辛酯:2.901×10^{-5} min^{-1};十二烷基酯:2.048×10^{-5} min^{-1};十四烷基酯:1.136×10^{-5} min^{-1};十六烷基酯:0.689×10^{-5} min^{-1};十八烷基酯:0.409×10^{-5} min^{-1})的趋势。**【结论】**通过调整没食子酸烷基酯部分的酰基链长,可有效实现磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸的两步可控缓释。

关键词:没食子酸烷基酯;没食子酸;磷脂;控释

Two-step Controlled Release of Gallic Acid by Novel Phospholipid Complexes of Alkyl Gallates

YU Jinghan[1,2,3,4] *WANG Qian*[1,2,3,4] *GUO Xu*[1,2,3,4] *NIU Weiyuan*[1,2,3,4] *YIN Fawen*[1,2,3,4*] *ZHOU Dayong*[1,2,3,4]

(1. SKL of Marine Food Processing & Safety Control, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China; 2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China; 3. Liaoning Province Key Laboratory for Marine Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China; 4. School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: [**Objective**] Alkyl gallates can interact with phospholipids to form phospholipid complexes of alkyl gallates. This study aims to investigate the sustained release of gallic acid by such phospholipid complexes. [**Method**] A thin-film dispersion method was employed to prepare phospholipid complexes of alkyl gallates with different acyl chain lengths. The gastrointestinal digestion and absorption characteristics of these phospholipid complexes were studied based on a rat model of everted gut sac and high-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) detection. [**Result**] Alkyl gallates were gradually released from their phospholipid complexes (Step 1) and hydrolyzed by intestinal lipase to produce free gallic acid (Step 2). In addition, both gallic

基金项目:国家自然科学基金面上项目(32472260);大连市科技人才创新支持政策项目(2023RY018).
通信作者:阴法文(1988—),男,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事功能脂质研究。E-mail: yinfawen198@126.com
收稿日期:2025-01-18 **修回日期:**2025-02-21

acid and short-chain alkyl gallates (methyl gallate, ethyl gallate, propyl gallate, and butyl gallate) can cross the small intestinal mucosa, and the short-chain alkyl gallates that cross the membrane were further hydrolyzed to produce free gallic acid (Step 2). As the acyl chain length increased, the hydrolysis rate constant showed a trend of first increasing (methyl gallate: 1.081×10^{-5} min^{-1}; ethyl gallate: 1.768×10^{-5} min^{-1}; propyl gallate: 2.193×10^{-5} min^{-1}; butyl gallate: 2.520×10^{-5} min^{-1}; octyl gallate: 2.901×10^{-5} min^{-1}) and then decreasing (octyl gallate: 2.901×10^{-5} min^{-1}; dodecyl gallate: 2.048×10^{-5} min^{-1}; tetradecyl gallate: 1.136×10^{-5} min^{-1}; hexadecyl gallate: 0.689×10^{-5} min^{-1}; stearyl gallate: 0.409×10^{-5} min^{-1}).[**Conclusion**] Therefore, by adjusting the acyl chain length of alkyl gallates, a two-step controllable sustained release of gallic acid by phospholipid complexes of alkyl gallates can be effectively achieved.

Keywords: alkyl gallate; gallic acid; phospholipid; controlled release

磷脂是一类含有磷酸基团的脂质化合物，在脂质家族中占有重要地位。这类分子具有独特的双亲性特征：其磷酸基团表现出显著的亲水性，而长链烃基则呈现出明显的疏水性[1]，磷脂酰胆碱的分子结构见图1。在特定环境条件下，磷脂的磷酸基团能够与植物多酚发生分子间相互作用，从而形成稳定的磷脂-多酚复合物[2]。多酚与其他物质的复合作用不仅能够维持多酚原有的生物活性，还能显著改善多酚溶解特性，进而提升多酚类物质的生物利用度并扩展其应用范围[3]。以多种多酚类物质如没食子酸、槲皮素和白藜芦醇等为原料，研究者已经成功制备出相应的磷脂复合物[4]。凭借其良好的脂溶性，这类新型磷脂-多酚复合物已在多个工业领域获得广泛应用，特别是在化妆品、医药制剂以及功能性食品等产业中展现出良好的应用前景。

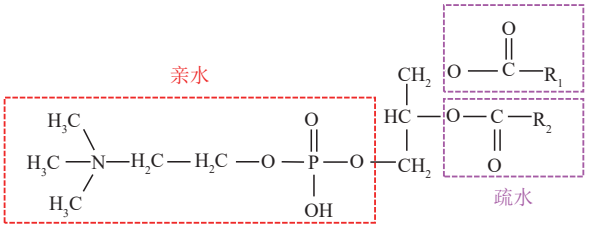


图1　磷脂酰胆碱的分子结构

Fig. 1　Molecular structure of phosphatidylcholine

多酚酸作为多酚化合物的一个重要亚类，因其显著的药理活性而备受关注，这些活性包括抗氧化、抗炎、抗突变和抗血栓等[5]。这类化合物广泛存在于蔬菜、水果、坚果及种子中。其中，没食子酸的化学名称为3，4，5-三羟基苯甲酸，是天然多酚酸中化学结构最为简单的一种[6]，见图2。由于其独特的化学性质，没食子酸在化学、工业及医药等多个领域得到了广泛应用，特别是在食品工业中，没食子酸已经被批准作为天然食品抗氧化剂使用[7]，然而，其脂溶性较差，在一定程度上限制了没食子酸在食品领域的进一步应用。

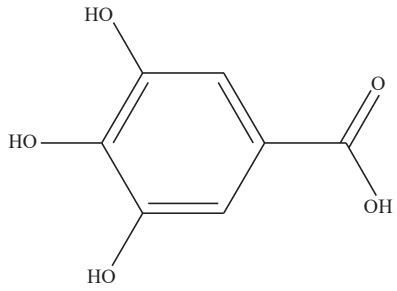


图2　没食子酸的分子结构

Fig. 2　Molecular structure of gallic acid

为了提升没食子酸的脂溶性，除了磷脂-没食子酸复合物的合成方法外，还可以用没食子酸为原料来制备不同酰基链长的没食子酸烷基酯类化合物，如没食子酸甲酯、没食子酸丙酯、没食子酸辛酯以及没食子酸十八烷基酯等。这些酯类化合物表现出优异的脂溶性和抗氧化性能，其中没食子酸丙酯作为一种常见的食品添加剂，已经在多个国家获批使用[7]。此外，没食子酸烷基酯类化合物还具有显著的清除自由基能力，以及抗氧化、抗炎和神经保护等多种生物活性[8]。由于磷脂复合物的形成能够改变化合物的理化性质（如水溶性和油水分配系数等），从而改善其释放和吸收特性，进而提高化合物的生物利用度[9]，因此合成磷脂-没食子酸烷基酯复合物更有利于增强没食子酸烷基酯的健康效益。同时，通过缓慢释放没食子酸，也有助于提高其生物利用度。例如，Shah等[10]于2024年制备了大豆磷

脂-没食子酸丙酯复合物，并证实了其对角叉菜胶诱导的大鼠足肿具有良好的缓解作用，但磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸控释的构效关系尚未清晰。

作者以大豆卵磷脂（磷脂酰胆碱）和不同酰基链长没食子酸烷基酯（没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、没食子酸丙酯、没食子酸丁酯、没食子酸辛酯、没食子酸十二烷基酯、没食子酸十四烷基酯、没食子酸十六烷基酯、没食子酸十八烷基酯）为原料，制备了磷脂-没食子酸烷基酯复合物，并进行了结构表征。采用大鼠翻转肠囊模型结合高效液相色谱-紫外（HPLC-UV）检测分析，研究了磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸的缓释作用，为新型磷脂-没食子酸烷基酯复合物的开发应用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

卵磷脂（phosphatidylcholine，PC，纯度≥98%）、没食子酸 $C_7H_6O_5$（gallic acid，GA，纯度≥99%）、没食子酸甲酯 $C_8H_8O_5$（methyl gallate，MG，纯度≥98%）、没食子酸乙酯 $C_9H_{10}O_5$（ethyl gallate，EG，纯度≥98%）、没食子酸丙酯 $C_{10}H_{12}O_5$（propyl gallate，PG，纯度≥98%）、没食子酸丁酯 $C_{11}H_{14}O_5$（butyl gallate，BG，纯度≥98%）、没食子酸辛酯 $C_{15}H_{22}O_5$（octyl gallate，OG，纯度≥98%）、没食子酸十二烷基酯 $C_{19}H_{30}O_5$（dodecyl gallate，DG，纯度≥98%）、没食子酸十六烷基酯 $C_{23}H_{38}O_5$（hexadecyl gallate，HG，纯度≥95%）、没食子酸十八烷基酯 $C_{25}H_{42}O_5$（stearyl gallate，SG，纯度≥97%）：阿拉丁试剂有限公司（中国北京）；没食子酸十四烷基酯 $C_{21}H_{34}O_5$（tetradecyl gallate，TG，纯度≥95%）：加拿大多伦多化学研究公司；甲醇（色谱纯，纯度≥99.9%）、乙醇（纯度≥99.9%）：美国 Spectrum 公司；乙酸（色谱纯，纯度≥99.9%）：麦克林试剂有限公司（中国上海）；液相色谱用水：娃哈哈集团有限公司（中国杭州）。

1.2 仪器与设备

傅里叶红外光谱仪：Spectrum two 型，美国铂金埃尔默公司；紫外可见分光光度计：Lambda 35 型，美国铂金埃尔默公司；高效液相色谱仪：LC-20AVP 型，日本岛津公司；旋转蒸发仪：SY-2000 型，上海亚荣生化仪器公司；电子分析天平：AB204-N 型，瑞士梅特勒-托利多有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 磷脂-没食子酸烷基酯复合物的制备

采用薄膜分散法[11]制备不同酰基链长的磷脂-没食子酸烷基酯复合物。将磷脂（0.1 mol）和没食子酸烷基酯（0.1 mol）混合溶解于无水乙醇（15 mL），磁力搅拌（50 ℃，300 r/mim）3 h，再于 50 ℃下真空旋转蒸发除去溶剂。添加适量三氯甲烷对粗产物进行复溶，并使用有机微孔滤膜（0.45 μm）过滤除去游离状态的没食子酸烷基酯，经氮吹除去溶剂即得到各个酰基链长的磷脂-没食子酸烷基酯复合物：磷脂-没食子酸甲酯复合物（$C_8H_8O_5$-PC、MG-PC）；磷脂-没食子酸乙酯复合物（$C_9H_{10}O_5$-PC、EG-PC）；磷脂-没食子酸丙酯复合物（$C_{10}H_{12}O_5$-PC、PG-PC）；磷脂-没食子酸丁酯复合物（$C_{11}H_{14}O_5$-PC、BG-PC）；磷脂-没食子酸辛酯复合物（$C_{15}H_{22}O_5$-PC、OG-PC）；磷脂-没食子酸十二烷基酯复合物（$C_{19}H_{30}O_5$-PC、DG-PC）；磷脂-没食子酸十四烷基酯复合物（$C_{21}H_{34}O_5$-PC、TG-PC）；磷脂-没食子酸十六烷基酯复合物（$C_{23}H_{38}O_5$-PC、HG-PC）；磷脂-没食子酸十八烷基酯复合物（$C_{25}H_{42}O_5$-PC、SG-PC））。

1.3.2 磷脂-没食子酸烷基酯复合物的表征

将样品粉碎后，与溴化钾粉末混合，然后压制成圆盘状，在光谱范围 4 000~400 cm^{-1}、分辨率 2 cm^{-1}、扫描次数 32 的条件下，通过傅里叶红外光谱仪进行扫描分析；将样品溶解于乙醇，在波长范围 200~400 nm 的条件下，通过紫外分光光度计进行扫描分析；分别准确称量 0.2 g 磷脂、没食子酸烷基酯、磷脂-没食子酸烷基酯复合物、磷脂和没食子酸烷基酯的物理混合物溶解于 10 mL 三氯甲烷中，充分摇晃并静置 10 min 后，对溶液外观形态进行拍照。

1.3.3 大鼠翻转肠囊模型的制作

采用课题组前期报道的方法[12]进行大鼠翻转肠囊模型的制作，具体如下：将雄性 SD 大鼠（200~220 g）禁食 24 h，禁食期间可以自由饮水。通过腹腔注射水合氯醛（0.04 g/mL）的方式对大鼠进行麻醉处理，然后进行腹部切口，切取长度约为 6 cm 的小肠片段。以 4 ℃的生理盐水对小肠片段进行多次冲洗，并立即置于 0 ℃通有

$V(O_2)$∶$V(CO_2)$为95∶5的Krebs-Ringer缓冲溶液（119.95 mmol/L氯化钠、4.49 mmol/L氯化钾、0.49 mmol/L氯化镁、15.00 mmol/L碳酸氢钠、0.93 mmol/L磷酸氢二钠、1.95 mmol/L磷酸二氢钠、1.20 mmol/L氯化钙、11.10 mmol/L葡萄糖、体积分数2%的吐温-20）中。将小肠片段一端用丝线系牢，以玻璃棒（直径2.5 mm）对小肠片段进行内外翻转。将小肠片段的另一端与200 μL移液器枪头相连，并用丝线系牢，向肠囊内加入1 mL的KR缓冲溶液，即得到大鼠翻转肠囊。最后，对麻醉大鼠继续注射过量的水合氯醛处死。

1.3.4　检测样本的收集和处理

在10 mL离心管中加入7 mL的KR缓冲溶液（浆膜侧溶液），置于37 ℃水浴中，并保持通入$V(O_2)$∶$V(CO_2)$为95∶5的混合气体。将装有1 mL KR缓冲溶液（黏膜侧溶液）的大鼠翻转肠囊置于离心管液体中，平衡5 min。将100 μL的没食子酸烷基酯（150 mmol/L）溶液添加到7 mL的浆膜侧溶液中充分振荡，继续置于37 ℃水浴中，并分别于0、20、60、100 min吸取50 μL浆膜侧溶液和黏膜侧溶液于1.5 mL离心管中，立即加入50 μL甲醇，并充分振荡，使其所含脂肪酶失活。然后将混合溶液于4 ℃、8 000 r/min条件下离心10 min，收集上层溶液，选用0.22 μm有机滤膜进行过滤处理，所有样品均一式三份制备。取样完成后，向浆膜侧溶液和黏膜侧溶液分别添加50 μL的KR缓冲溶液以作补充。

1.3.5　HPLC-UV检测

检测器：岛津SPD-M20A；色谱柱：Zhong Pu Blue XR-C18柱（4.6 mm×250 mm×5 μm）；检测波长：273 nm；柱温箱温度：45 ℃；进样量：3 μL；流动相A为体积分数0.1%的乙酸-超纯水溶液；流动相B为甲醇；洗脱条件：体积分数85%流动相B洗脱9 min，体积分数85%~5%流动相B洗脱1 min，体积分数5%流动相B洗脱14 min，体积分数5%~85%流动相B洗脱1 min，体积分数85%流动相B洗脱10 min；流量：0.8 mL/min。

采用标准曲线法对没食子酸、没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、没食子酸丙酯和没食子酸丁酯进行定量分析，相应标准曲线如下：y=2 115 599x-1 239.37（R^2=0.999 5）、y=195 366x+3 505（R^2=0.999 5）、y=1 855 562x+12 571（R^2=0.999 2）、y=2 243 590x-18 102（R^2=0.999 3）、y=1 835 788x-14 433（R^2=0.998 9）。在3.91~1 000.00 μmol/L时检测方法的加标回收率在90%~110%，日内和日间检测差异系数小于15%，表明检测方法具有良好的准确度和精密度。

1.3.6　没食子酸烷基酯和没食子酸的转运特性分析

将肠囊剖开，测量其横截面的长度和宽度，计算其横截面积；根据HPLC-UV检测的数据计算没食子酸烷基酯或没食子酸的浓度。按式（1）计算没食子酸烷基酯或没食子酸的跨膜转运量。

$$T=C_sV_s/S \quad (1)$$

式中：

T——没食子酸烷基酯（T_1）或没食子酸（T_2）的跨膜转运量，nmol/cm^2；

C_S——浆膜侧溶液中没食子酸烷基酯或没食子酸的浓度，μmol/L；

V_S——肠囊内的溶液体积，mL；

S——肠囊的横截面积，cm^2。

1.3.7　没食子酸烷基酯的水解特性分析

为评价磷脂复合物中没食子酸烷基酯的水解特性，按式（2）计算没食子酸烷基酯的水解度。

$$D=(C_sV_s+C_mV_m)/C_0V_0\times100\% \quad (2)$$

式中：

D——没食子酸烷基酯的水解度，%；

C_S——浆膜侧溶液中没食子酸的浓度，μmol/L；

V_S——肠囊内溶液的体积，mL；

C_m——黏膜侧溶液中没食子酸的浓度，μmol/L；

V_m——肠囊外溶液的体积，mL；

C_0——黏膜侧溶液中没食子酸烷基酯的初始浓度，μmol/L；

V_0——肠囊外溶液的初始体积，mL；

1.3.8　统计分析

所有试验均重复进行3次，试验数据以平均值±标准差（M±SD）的方式表示。使用SPSS 22.0软件进行单因素方差分析（one-way AVOVA中的Student-Newman-Keuls比较模式）或T检验分析，在P<0.05时认为有显著性统计学差异，在P<0.01时认为有极显著性统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 磷脂-没食子酸烷基酯复合物的结构表征和溶解特性分析

对磷脂-没食子酸烷基酯复合物进行FTIR、UV全波长扫描和溶解特性分析。从图3(a)的FTIR分析谱图中可以看出，磷脂酰胆碱的特征性信号峰包括P—O—C（1 092 cm^{-1}）、P═O（1 253 cm^{-1}）、C═O（1 737 cm^{-1}）以及C—H（2 926 cm^{-1}和2 854 cm^{-1}）；没食子酸丁酯的特征性信号峰则包括C═O（1 669 cm^{-1}）、CH_3（2 917 cm^{-1}）和O—H（3 451 cm^{-1}和3 349 cm^{-1}）。在磷脂酰胆碱和没食子酸丁酯物理混合物的谱图中，上述特征性信号峰仍然存在。在相应磷脂复合物的谱图中，属于没食子酸丁酯的O—H特征信号峰（3 451 cm^{-1}和3 349 cm^{-1}）则消失；属于磷脂酰胆碱的P═O（1 253 cm^{-1}）和P—O—C（1 092 cm^{-1}）信号峰的强度有所下降，且这些峰的宽度有所增加，这说明磷脂酰胆碱的含磷极性基团可能与没食子酸丁酯的酚羟基之间存在分子间相互作用。

如图3(b)所示，UV全波长扫描的谱图也证实了分子间非共价结合的可能性。没食子酸丁酯、磷脂复合物、物理混合物的紫外光谱图的形状相似，且最大吸收波长均为276 nm。然而，由于没食子酸丁酯和磷脂酰胆碱之间存在相互作用，导致与其他2组相比磷脂复合物组的吸光度有所降低。此外，与物理混合物组相比，磷脂复合物组没有新的吸收峰产生，这表明在复合反应过程中没有新的共价键生成。与物理混合物相比，磷脂复合物的溶解特征也发生了显著变化。从图3(c)可以看出，没食子酸丁酯不溶于氯仿，但是其磷脂复合物在氯仿中具有良好的溶解特性。相关研究表明[13]，活性分子与磷脂形成复合物后，其理化性质、生物学活性等都会发生很大程度的改变，表现出很多与母体活性分子不同的特性。

2.2 磷脂复合物释放的没食子酸烷基酯的转运特性

采用HPLC-UV分析了各磷脂复合物试验组

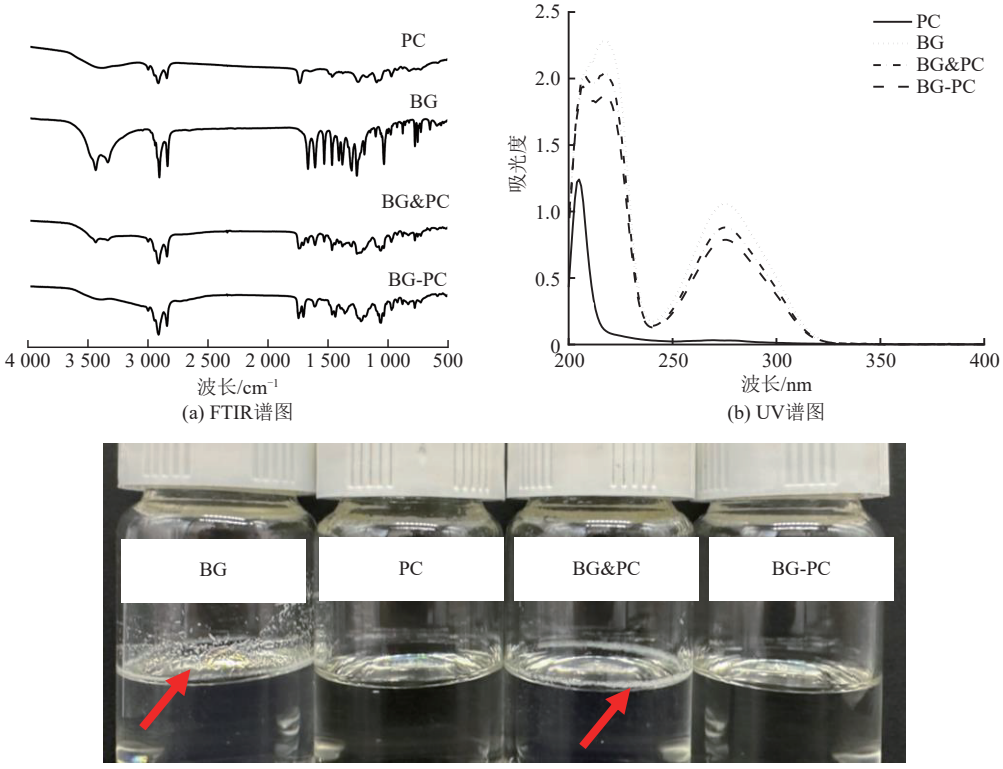
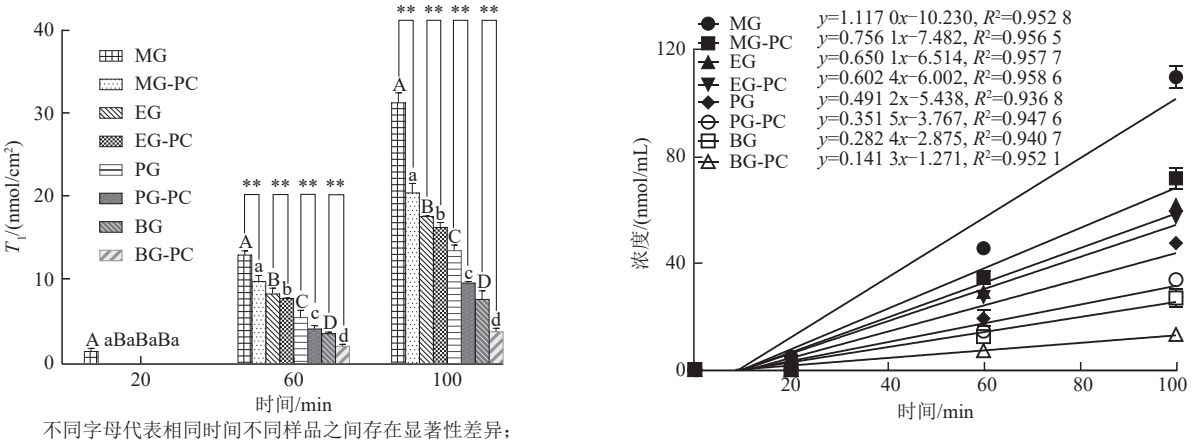


图3 磷脂(PC)、没食子酸丁酯(BG)、没食子酸丁酯和磷脂的物理混合物(BG&PC)、没食子酸丁酯的磷脂复合物(BG-PC)的结构和特性表征

Fig. 3 Structures and characteristics of phosphatidylcholine (PC), butyl gallate (BG), the physical mixture of butyl gallate and phosphatidylcholine (BG&PC), and the phospholipid complex of butyl gallate (BG-PC)

中不同酰基链长没食子酸烷基酯从黏膜侧到浆膜侧的转运情况。磷脂复合物释放的长酰基链长没食子酸烷基酯不能发生跨膜转运，而没食子酸甲酯、没食子酸乙酯、没食子酸丙酯和没食子酸丁酯等短链没食子酸烷基酯则可以发生跨膜转运，其跨膜转运情况见图4。没食子酸烷基酯分子结构中包含亲水性的没食子酸基团和疏水性的烷基链，这种两亲性特征为其跨膜转运提供了有利条件。然而，随着烷基链长度的增加，从没食子酸辛酯到没食子酸十八烷基酯等系列化合物均可能发生分子自缔合现象[14]。这种自缔合行为会显著降低没食子酸烷基酯与细胞膜之间的相互作用能力，从而严重阻碍其跨膜转运过程[15]。



不同字母代表相同时间不同样品之间存在显著性差异；
**表示2组在P< 0.01时存在极显著差异。

(a) 转运量　　(b) 转运动力学

图4　不同试验组中短链没食子酸烷基酯的转运特性分析

Fig. 4　Transport characteristics of short-chain alkyl gallates in different experimental groups

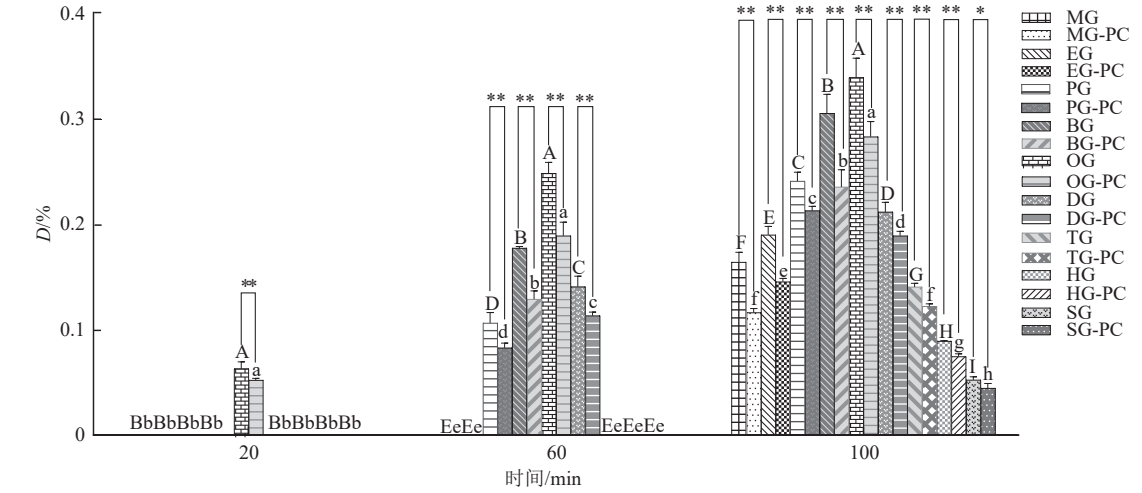
可以看出，各试验组的短链没食子酸烷基酯的跨膜转运呈现显著时间依赖性，且随着酰基链长的增加，短链没食子酸烷基酯的跨膜转运能力越来越弱。例如，MG-PC、EG-PC、PG-PC和BG-PC的跨膜转运系数（K_{TI}）值分别为0.756 1、0.602 4、0.351 5、0.141 3 nmol/min。此外，100 min时MG-PC、EG-PC、PG-PC、BG-PC组中相应短链没食子酸烷基酯的T_I分别为20.488 8、16.342 4、9.647 4、3.774 1 nmol/cm²。亲脂性是控制营养物质在生物膜上渗透的一个非常重要的指标，其与生物利用度、生物活性和毒性等也密切相关[16]。在一定的亲脂性范围内，两者呈现正相关关系。Lu等[17]研究了没食子酸烷基酯的亲脂性，结果表明，亲脂性依次为：没食子酸丁酯＞没食子酸丙酯＞没食子酸甲酯＞没食子酸。此外，Eler等[18]于2013年采用大鼠肝灌注模型研究了没食子酸烷基酯的转运特性，结果表明，由于亲脂性较高的没食子酸烷基酯（如没食子酸丁酯）与细胞内疏水结构紧密结合，导致跨膜转运量降低，这与本研究结果一致。

2.3　磷脂复合物释放的没食子酸烷基酯的水解特性

采用HPLC-UV检测水解度，用以评价不同链长没食子酸烷基酯形成的磷脂复合物的水解特性，结果见图5。可以看出，磷脂复合物释放的没食子酸烷基酯被逐渐水解释放出没食子酸。释放的没食子酸烷基酯的水解曲线遵循一级动力学，拟合斜率的绝对值称为水解速率系数（K_D）。MG-PC、EG-PC、PG-PC、BG-PC、OG-PC、DG-PC、TG-PC、HG-PC、SG-PC的K_D值分别为1.081×10^{-5}、1.768×10^{-5}、2.193×10^{-5}、2.520×10^{-5}、2.901×10^{-5}、2.048×10^{-5}、1.136×10^{-5}、0.689×10^{-5}、0.409×10^{-5} min^{-1}。通常来说，K_D越大水解反应越容易进行。因此，随着烷基链长度的增加，没食子酸烷基酯的水解度呈现先升高后降低的趋势，并于没食子酸辛酯处达到最大值。小肠脂肪酶对作用底物具有广泛性[19]，这是其能水解没食子酸烷基酯的原因。此外，一些体外试验表明，小肠脂肪酶水解甘油三酯时，水解速率存在一定的差异性[20]，水解甘油三酯中不同脂肪酸的速度从大到小排序为C8：0、C10：0、

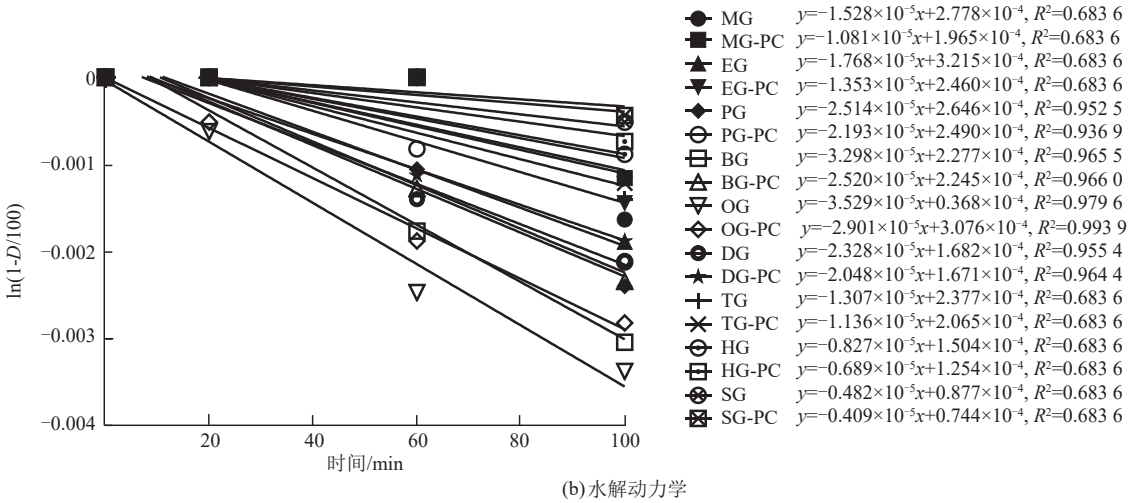
C12：0、C14：0、C16：0[21]，这与本研究的结果一致。

游离没食子酸烷基酯试验组表现出与磷脂复合物试验组相同的跨膜转运模式，这与文献[22]的研究结果一致。与游离没食子酸烷基酯相比，磷脂复合物的K_D值更低。例如MG-PC和MG的K_D值分别为1.081×10^{-5} min^{-1}和1.528×10^{-5} min^{-1}。这说明没食子酸烷基酯从复合物中释放出来需要一定的时间，进而会引起没食子酸的延迟产生。



不同字母代表相同时间不同样品之间存在显著性差异；
*(或**)表示2组在$P<0.05$(或$P<0.01$)时存在显著(或极显著)差异。

(a) 水解度



(b)水解动力学

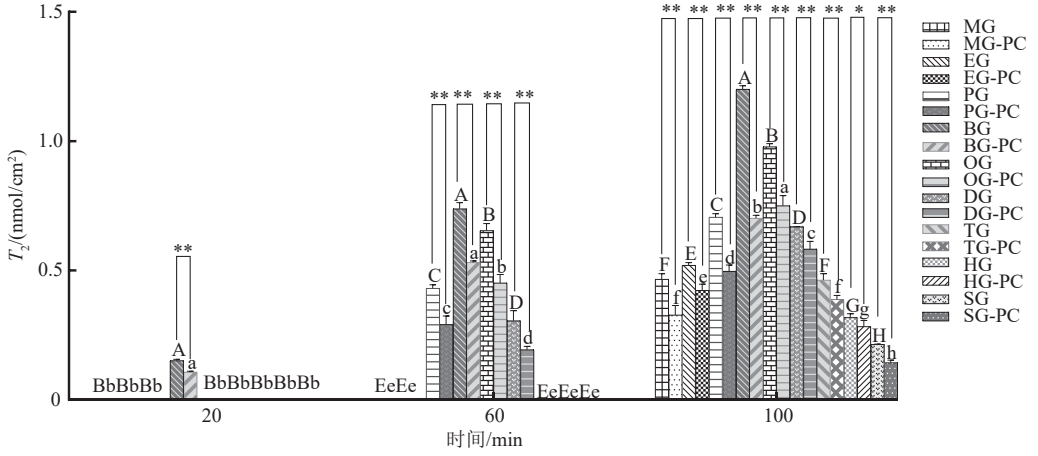
图5　不同试验组中没食子酸烷基酯的水解特性分析

Fig. 5　Hydrolysis characteristics of alkyl gallates in different experimental groups

2.4　水解产生没食子酸的转运特性

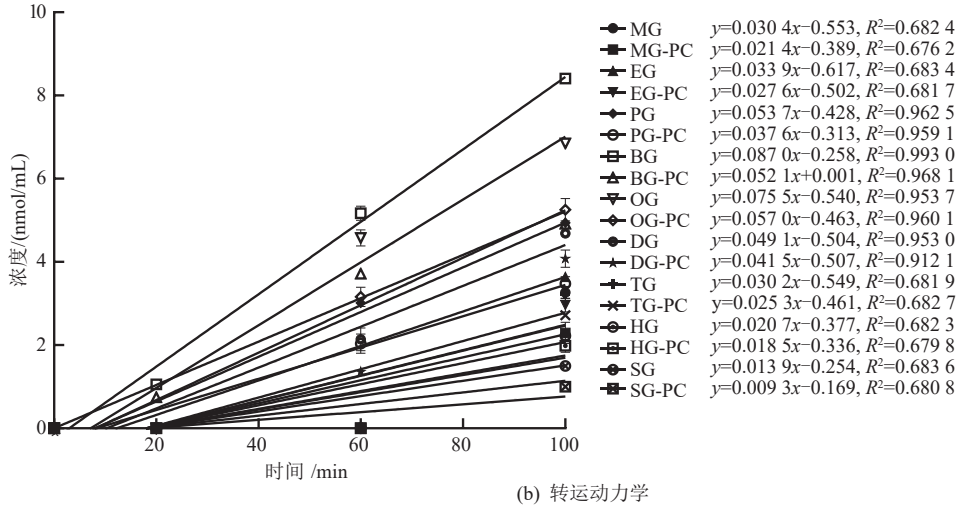
采用HPLC-UV检测，计算没食子酸烷基酯水解释放的游离没食子酸的跨膜转运量，用以评价释放游离没食子酸的转运特性，其跨膜转运量见图6。可以看出，没食子酸烷基酯水解释放游离没食子酸的跨膜转运量呈现时间依赖性。随着烷基链长度的延长，水解过程中释放游离没食子酸的跨膜转运量呈现先升高后降低的趋势。例如，100 min时MG-PC（MG）、EG-PC（EG）、PG-PC（PG）、BG-PC（BG）、OG-PC（OG）、DG-PC（DG）、TG-PC（TG）、HG-PC（HG）、SG-PC（SG）的水解产生没食子酸的跨膜转运量分别为0.327 8（0.466 0）、0.422 9（0.520 1）、0.496 7（0.705 7）、0.702 2（1.200 8）、0.750 7（0.978 3）、0.582 4（0.669 1）、0.388 4（0.462 6）、0.283 4（0.317 8）、0.143 0（0.214 0）$nmol/cm^2$。

对各试验组水解产生没食子酸的跨膜转运情



不同字母(A-D,a-d)代表相同时间样品之间存在显著性差异；
*(或**)表示两组在P<0.05或(P<0.01)时存在显著(或极显著)差异。

(a) 转运量



(b) 转运动力学

图 6　不同试验组中水解产生没食子酸的转运特性分析

Fig. 6　Transport characteristics of gallic acid produced by hydrolysis in different experimental groups

况进行动力学拟合，MG-PC（MG）、EG-PC（EG）、PG-PC（PG）、BG-PC（BG）、OG-PC（OG）、DG-PC（DG）、TG-PC（TG）、HG-PC（HG）、SG-PC（SG）的跨膜转运系数（K_{T2}）分别为0.021 4（0.030 4）、0.027 6（0.033 9）、0.037 6（0.053 7）、0.052 1（0.087 0）、0.057 0（0.075 5）、0.041 5（0.049 1）、0.025 3（0.030 2）、0.018 5（0.020 7）、0.009 3（0.013 9）nmol/min。与游离的没食子酸烷基酯相比，磷脂复合物的K_{T2}值较低，这表明磷脂复合物对没食子酸具有更好的两步控释作用。

没食子酸、白藜芦醇、酪醇和羟基酪醇等多酚具有多种生物活性，如抗氧化、抗炎、心脏保护、肿瘤抑制等[23-25]。然而，没食子酸在体内的停留时间（半衰期）很短，这极大影响了其对机体健康方面的有益作用。研究者发现，缓释制剂技术可以有效延长各种生物活性物质的半衰期[26]。之前的研究表明，没食子酸烷基酯、酪醇脂肪酸酯、羟基酪醇脂肪酸酯等酚酯对没食子酸、酪醇、羟基酪醇具有良好的缓释作用[12,23,27]。在本研究中，与游离的没食子酸烷基酯相比，其形成的磷脂复合物显示出对没食子酸良好的两步控释行为，即没食子酸烷基酯首先从复合物中释放出来（第一步缓释），然后经肠道脂肪酶水解产生没食子酸（第二步缓释），见图7。此外，跨膜后的短链没食子酸烷基酯也可以进一步水解生成没食子酸（第二步缓释）。由此可见，磷脂-没食子酸烷基酯复合物对没食子酸的两步控释作用将有助于延长没食子酸的体内作用时间，从而进一步提升其生物利用度和生物活性。

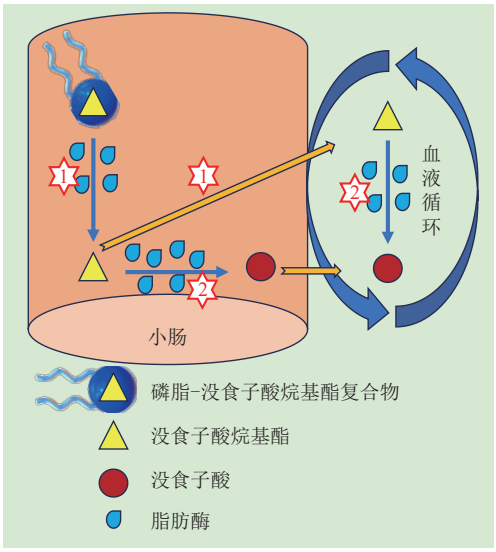


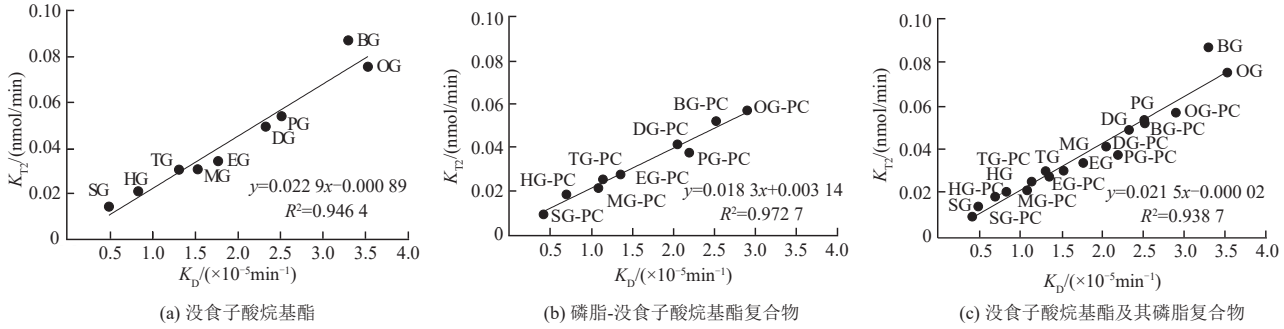
图 7　没食子酸烷基酯-磷脂复合物对没食子酸的两步缓释作用

Fig. 7　Two-step sustained release of gallic acid by phospholipid complexes of alkyl gallates

2.5　没食子酸烷基酯的水解与产生没食子酸的转运动力学的相关性分析

对没食子酸烷基酯的水解速率系数（K_D）和释放的游离没食子酸转运速率常数（K_{T2}）进行相关性分析，结果见图 8。可以看出，K_D 和 K_{T2} 之间呈显著正相关（R^2>0.9），这说明没食子酸烷基酯的水解是游离没食子酸跨膜的重要影响因素。

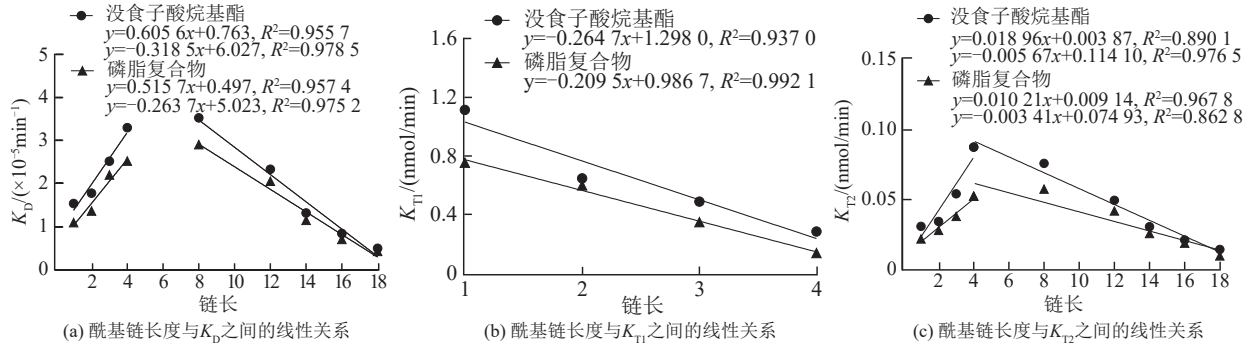
此外，酰基链长可以显著影响 K_D、K_{T1}、K_{T2} 这 3 个指标，通过调整酰基链长控制水解速率，可以实现对没食子酸的可控两步控释效应，见图 9。在之前的研究中，作者所在实验室合成了酪醇脂肪酸酯和羟基酪醇脂肪酸酯，发现酪醇或羟基酪醇的跨膜转运速率与相应酯的水解速率系数之间也存在线性关系[12, 22, 27]。酪醇脂肪酸酯和羟基酪醇脂肪酸酯是脂肪酸和多酚醇的缩合产物，而没食子酸烷基酯是脂肪醇和多酚酸的缩合产物。脂肪酶更易识别脂肪酸酯的酯键，不易识别脂肪醇的酯键[28-29]，从而导致了 2 种不同构型酚酯在缓释速率上的差异。因此，通过调整酯键结构（即多酚酸—COO—C_nH_{2n+1} 或多酚醇—OOC—C_nH_{2n+1}）和酚羟基的数量，可以进一步实现对磷脂-酚酯复合物（如磷脂-没食子酸烷基酯复合物）两步缓释行为的可控调节。



(a) 没食子酸烷基酯　(b) 磷脂-没食子酸烷基酯复合物　(c) 没食子酸烷基酯及其磷脂复合物

图 8　大鼠翻转肠囊模型中不同试验组的 K_{T2} 值与 K_D 值之间的线性关系

Fig. 8　Linear relationships between K_{T2} values and K_D values in different experimental groups in a rat model of everted intestinal sac



(a) 酰基链长度与 K_D 之间的线性关系　(b) 酰基链长度与 K_{T1} 之间的线性关系　(c) 酰基链长度与 K_{T2} 之间的线性关系

图 9　大鼠翻转肠囊模型中不同试验组的酰基链长度与水解转运参数之间的线性关系

Fig. 9　Linear relationships between acyl chain length and hydrolysis transport parameters in different experimental groups in a rat model of everted intestinal sac

3 结论

没食子酸烷基酯与磷脂酰胆碱的极性头部发生相互作用后，可以形成磷脂-没食子酸烷基酯复合物。在小肠中，没食子酸烷基酯可以逐渐从复合物中释放出来，并进一步被肠道脂肪酶水解产生游离没食子酸。此外，短链没食子酸烷基酯（甲酯、乙酯、丙酯、丁酯）和没食子酸能够跨越小肠黏膜，跨膜后的短链没食子酸烷基酯进一步水解产生游离没食子酸。随着酰基链长的增加，水解速率呈现先升高（甲酯→辛酯）后降低（辛酯→十八烷基酯）的趋势。通过调整酰基链长，可以实现磷脂-酚酯复合物对多酚化合物的可控两步缓释。在后续研究中，将继续考察酚羟基数量和酯键结构等其他因素对这种两步控释作用的影响。

参考文献

[1] 周丽，王兴国，张康逸，等. 甘油磷脂酰胆碱的分离纯化研究[J]. 食品与生物技术学报，2012，31(1)：67-70.
ZHOU L，WANG X G，ZHANG K Y，et al. Separation and purification of glycerophosphocholine (GPC)[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2012，31(1)：67-70. (in Chinese)

[2] 宫璇，齐筱莹，赵志康，等. 卵磷脂及复合物的功能活性研究进展[J]. 食品与发酵工业，2021，47(6)：295-299.
GONG X，QI X Y，ZHAO Z K，et al. Research progress on the functional activity of lecithin and lecithin complex[J]. Food and Fermentation Industries，2021，47(6)：295-299. (in Chinese)

[3] 蒋新龙，吴小刚，郭叶莹，等. 鞣花酸磷脂复合物制备及其对植物油抗氧化作用[J]. 中国粮油学报，2021，36(2)：81-88.
JIANG X L，WU X G，GUO Y Y，et al. Preparation of ellagic acid phospholipid complex and its antioxidative effect on vegetable oil[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils，2021，36(2)：81-88. (in Chinese)

[4] 李培骏，曹兴业，谢闰生，等. 多酚-果胶复合物的合成表征及生物活性研究进展[J]. 食品与机械，2024，40(11)：219-228.
LI P J，CAO X Y，XIE R S，et al. Progress in the synthesis，characterization，and biological activity of polyphenol pectin complexes[J]. Food & Machinery，2024，40(11)：219-228. (in Chinese)

[5] 裴雪晨，阴法文，钟旭，等. 没食子酸酯对核桃油及其乳液的抗氧化作用[J]. 食品与生物技术学报，2022，41(6)：91-97.
PEI X C，YIN F W，ZHONG X，et al. Antioxidative effects of gallic acid esters on walnut oil and its emulsion[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2022，41(6)：91-97. (in Chinese)

[6] 马存强，周斌星，马冰淞，等. 茶叶微生物发酵过程中没食子酸代谢研究进展[J]. 中国食品学报，2024，24(7)：450-459.
MA C Q，ZHOU B X，MA B S，et al. Research advances on gallic acid metabolism during tea-leaves microbial fermentation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2024，24(7)：450-459. (in Chinese)

[7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会，国家市场监督管理总局. 食品添加剂使用标准：GB 2760—2024[S]. 北京：中国标准出版社，2024.

[8] 许晗，罗志军，胡鹏刚，等. 五倍子制备没食子酸丙酯的抗氧化活性研究[J]. 中国酿造，2017，36(5)：166-169.
XU H，LUO Z J，HU P G，et al. Antioxidant activity of propyl gallate from Chinese nutgall[J]. China Brewing，2017，36(5)：166-169. (in Chinese)

[9] 林亚楠，王海星，阳丽红，等. 磷脂茶多酚复合物的制备及其对淡水鱼松的抗氧化作用[J]. 中国食品学报，2020，20(1)：205-211.
LIN Y N，WANG H X，YANG L H，et al. Preparation of tea polyphenol phospholipids complex and its antioxidant effect on the freshwater fish floss[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2020，20(1)：205-211. (in Chinese)

[10] SHAH S F，SHAMS S，NAQVI F，et al. Lecithin derived nano-propyl gallate as non-toxic anti-inflammatory agent：synthesis，*in-vitro* and *in-vivo* investigations[J]. Journal of Cluster Science，2024，35(6)：2007-2017.

[11] 杜伊晗，何强，董怡. 没食子酸-磷脂复合物的制备与表征及其对核桃油氧化稳定性的影响[J]. 现代食品科技，2024，40(4)：156-166.
DU Y H，HE Q，DONG Y. Preparation and characterization of gallic acid-phospholipid complex and its effect on the oxidative stability of walnut oil[J]. Modern Food Science and Technology，2024，40(4)：156-166. (in Chinese)

[12] 阴法文. 酪醇脂肪酸酯对贻贝油的抗氧化作用及其吸收代谢机制[D]. 大连：大连工业大学，2018.

[13] PATIL J，PAWDE D，BHATTACHARYA S，et al. Phospholipid complex formulation technology for improved drug delivery in oncological settings：a comprehensive review[J]. AAPS PharmSciTech，2024，

25(5)：91-91.

[14] TAKAI E，HIRANO A，SHIRAKI K. Effects of alkyl chain length of gallate on self-association and membrane binding [J]. The Journal of Biochemistry，2011，150(2)：165-171.

[15] 朱国飞，滕腾，邓斌. 分子对接模拟与光谱法研究没食子酸丙酯和牛血清白蛋白的相互作用[J]. 食品工业科技，2016，37(18)：158-164，191.
ZHU G F，TENG T，DENG B. Study on the interaction between propyl gallate and bovine serum albumin using fluorescence spectroscopy and molecular docking [J]. Science and Technology of Food Industry，2016，37(18)：158-164，191. (in Chinese)

[16] KONSOULA R，BARILE F A. Correlation of *in vitro* cytotoxicity with paracellular permeability in Caco-2 cells [J]. Toxicology *in Vitro*，2005，19(5)：675-684.

[17] LU L，LU Y. Solubilities of gallic acid and its esters in water[J]. Journal of Chemical and Engineering Data，2007，52(1)：37-39.

[18] ELER G J，SANTOS I S，MORAES A D，et al. Kinetics of the transformation of *n*-propyl gallate and structural analogs in the perfused rat liver [J]. Toxicology and Applied Pharmacology，2013，273(1)：35-46.

[19] WANG C S，FLOYD R A，KLOER H U. Effect of aging on pancreatic lipolytic enzymes [J]. Pancreas，1986，1(5)：438-442.

[20] YANG L Y，KUKSIS A，MYHER J J. Lipolysis of menhaden oil triacylglycerols and the corresponding fatty acid alkyl esters by pancreatic lipase *in vitro*：a reexamination[J]. Journal of Lipid Research，1990，31(1)：137-147.

[21] GIANG T M，GAUCEL S，BRESTAZ P，et al. Dynamic modeling of in vitro lipid digestion：individual fatty acid release and bioaccessibility kinetics[J]. Food Chemistry，2016，194：1180-1188.

[22] WANG X，CHEN K，ZHANG X，et al. Effect of carbon chain length on the hydrolysis and transport characteristics of alkyl gallates in rat intestine[J]. Food & Function，2021，12(21)：10581-10588.

[23] 代文婷，王世萍，张晶，等. 多酚与膳食成分的相互作用及应用研究进展[J]. 保鲜与加工，2024，24(6)：120-130.
DAI W T，WANG S P，ZHANG J，et al. Research progress on the interaction and application between polyphenols and dietary components [J]. Storage and Process，2024，24(6)：120-130. (in Chinese)

[24] 靳素媛，耿燕，周琦，等. 24种食用植物酵素功能成分分析与生物活性初步研究[J]. 食品与生物技术学报，2023，42(8)：62-67.
JIN S Y，GENG Y，ZHOU Q，et al. Analysis of functional components of 24 fermented juice of edible plant and preliminary study on their biological activities [J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2023，42(8)：62-67. (in Chinese)

[25] 杨端. 响应面法优化莲子多酚闪式提取工艺及其生物活性研究[J]. 粮食与油脂，2023，36(9)：96-100.
YANG D. Study on optimization of flash extraction technology of polyphenols from lotus seeds by response surface methodology and its bioactivity [J]. Cereals & Oils，2023，36(9)：96-100. (in Chinese)

[26] 彭颖. 冠突散囊菌与茶多酚复合物对免疫抑制小鼠的保护作用[J]. 食品与机械，2023，39(8)：160-165.
PENG Y. Protective effect of *Eurotium cristatum* fermentation broth mixed with tea polyphenols on immunosuppressive mice[J]. Food & Machinery，2023，36(9)：96-100. (in Chinese)

[27] WANG X，WANG Q，CAI D，et al. *In vitro* gastrointestinal digestion and microbial hydrolysis of hydroxytyrosol-SCFA and tyrosol-SCFA acyl esters：Controlled-release of SCFAs and polyphenols [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry，2023，71(24)：9361-9369.

[28] FRÉDÉRIC C，SOFIANE B，ROBERT V. Molecular evolution of the pancreatic lipase and two related enzymes towards different substrate selectivities [J]. Journal of Molecular Catalysis B：Enzymatic，1997，10(1)：55-64.

[29] SANTAMARINA-FOJO S，BREWER H. Lipoprotein lipase：structure，function and mechanism of action[J]. International Journal of Clinical and Laboratory Research，1994，24(3)：143-147.

（责任编辑：李春丽）