

不同浓度 Omega-3 脂酸乙酯制剂的药效学和药物动力学特征

摘要

Omega-3 脂肪酸作为膳食补充剂的使用已经具有很长历史，并且最近开始被使用为治疗性处方药。对于开发方便有效的治疗配方，至关重要的一点是获取该药物的有效血液高浓度。本研究的目的是探讨人体对浓度不同的 Omega-3 脂酸乙酯的摄取和治疗效果。本次临床试验征集受试者 101 名。受试者分别被给予每天 5.1 克，连续 14 天，浓度分别为 62.5%、80% 和 85% 的二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）。实验的观察重点是检测 14 天后血清磷脂和空腹血脂浓度。

尽管给予了同样总量的 Omega-3 脂肪酸，接受更高浓度剂型的受试者获得了更高血清磷脂中的 EPA 和 DHA 浓度，以及更低的血清甘油三酯和极低密度脂蛋白胆固醇浓度。接受这三种剂型后，所有受试者的血清中总胆固醇和非高密度脂蛋白胆固醇水平都显著降低。

总之，在短期实验中，Omega-3 脂肪酸在制剂中的浓度对于其吸收和作用有不同的影响。与低浓度相比，非常高的 Omega-3 脂肪酸乙酯浓度（ $\geq 80\%$ ）显示了更好的吸收率并且更能特异的降低血清甘油三酯和极低密度脂蛋白胆固醇水平。

1、前言

Omega-3 脂肪酸对健康的促进作用已经得到世界的公认。很多国家性和国际性的健康权威机构也为其建立了不同的摄入方案，这些包括美国食品药品监督管理局[1]、美国心脏病协会[2]、欧洲心脏病协会、英国科学营养咨询委员会以及国际脂肪酸和脂质研究协会[3]。同时 Omega-3 脂肪酸在心血管疾病危险因素控制中的治疗性使用也在不断增加。但是，为获得可靠的临床疗效则通常需要使用比膳食补充方式更高的剂量[3, 4]。随着给药剂量的增高，达到临床疗效的 Omega-3 脂肪酸胶囊的给予数量成为一个需要考虑的关键因素。每日给予胶囊过多可能使病人难以顺从。因此一个合服逻辑的步骤就是构建方便剂型以提高 Omega-3 在胶囊中的浓度。

我们成功构建了这样一个可以用于临床治疗的 Omega-3 脂肪酸剂型。这个产品含有超过 90% 的乙酯形式的 Omega-3，主要是乙酯形式的 EPA 和 DHA（ $\geq 84\%$ ）。这种 Omega-3 含量为 90% 的乙酯产品已被广泛地应用于研究并显示其能用于心血管适应症，如治疗高甘油三酯血症[5-9]和对心血管疾病的二级预防[10, 11]。例如，有大型 GISSI-Prevenzione 研究（N = 11324）证实其能显著改善心肌梗死后患者生存率[10, 11]。本产品目前已经在大多数欧洲国家和美国获得批准用于高甘油三酯血症和/或用于心血管疾病的二级预防。

尽管 Omega-3 脂肪酸的作用机制尚不完全明确，但目前认为有两个主要因素导致甘油三酯（TGS）在血液中的减少。首先，Omega-3 脂肪酸可以抑制乙酰辅酶 A：1, 2 - 二酰基甘油酰基转移酶以降低甘油三酯在肝脏中的合成[12]。由于 Omega-3 脂肪酸，如 EPA 和 DHA，对甘油三酯合成酶有高亲和力但同时也是这些酶较差的基质，从而使肝脏的酯化功能及其他脂肪酸的释放受到抑制 [13, 14]。其次，Omega-3 脂肪酸似乎可通过对 PPAR 子类的高亲和性来增加过氧化物酶在肝脏的 β - 氧化功能，从而上调脂肪酸在肝脏的代谢[14-16]。

经过努力我们开发了这一 Omega-3 脂肪酸派生的处方药，我们调查了高浓度的 Omega-3 乙酯制剂的相对摄取和疗效。我们发起了这项临床试验，以评估三种浓度的 Omega-3 脂肪酸（EPA 和 DHA 乙酯：62.5%、80%和 85%）的相对摄取和对血脂的影响。由于鱼油中 Omega-3 脂肪酸的浓度低，通常为 20 -35%，因而没有纳入本次试验。这样低的浓度使鱼油产品在用于治疗方面不切实际。

2、材料与方法

本试验经挪威的第二区域伦理委员会批准。以双盲的方式，101 名男性受试者被随机分配到浓度分别为 62.5%、80%或 85%的乙酯（Omega-3 脂酸乙酯分别为总量的 71%、88.5% 93.5%），每日 5.1 克 EPA 和 DHA 的治疗组。EPA 和 DHA 的比例约为 1.0 比 0.8。对于具有相对低血清甘油三酸酯水平的人群，我们选择了相对高的剂量，以确保该操作是在治疗剂量水平上。试验选择液体制剂，以方便不同浓度的给药。所有受试者年龄均在 18 至 60 岁之间，给予书面知情同意后参与这项研究。所有数据的记录通过情况记录表收集。临床试验监测用来检查和收集完成的情况记录表，并根据欧盟对良好临床实践的指导方针执行了源数据验证。

本试验设计提供了等量 Omega-3 脂肪酸给每个受试组。试验用药以深色并带有编码的玻璃瓶给予受试者，以确保受试者对治疗分组不知情。最低浓度为 62.5%的瓶内含有 9.20 毫升制剂，80%的瓶内含 7.75 毫升制剂，而浓度最高的 EPA / DHA 制剂包含在容量最低为 7.25 毫升的瓶内。为防止氧化，瓶子在氮气冲灌下密封。试验药物是在早晨空腹状态下进食清淡的早餐后给予，连续服用 14 天。在平时，试验的治疗药物在研究人员的观察下服用，在周末则由受试者自行服用所提供的药物。研究人员进行了检查，以确保所有的瓶子被完全清空。

体重、身高、血压和吸烟习惯在试验开始时记录下来。对所有试验过程中使用的合并用药进行了备注。试验期间受试者均未服用降脂药物。服用了鱼肝油或其他任何 Omega-3 辅食的受试者均被排除在外。在试验过程中受试者被指示避免摄入 Omega-3 脂肪酸量高的鱼类（如鲭鱼，鲱鱼，鳕鱼和鲑鱼）。

静脉血是在受试者开始试验时、试验第7天和第14天分别在早上空腹状态下采取。不良事件的记录采取自发报道或非引领性的提问引出。试验中如果受试者患上可能干扰试验结果的疾病、没有按要求服药、或者不论任何原因的自愿终止试验，则被退出试验。

EPA 和 DHA 的血清磷脂部分采用气相色谱测定。血浆总胆固醇，高密度脂蛋白（HDL）胆固醇和甘油三酯使用标准方法进行测定。低密度脂蛋白（LDL）胆固醇的计算根据 Friedewald 公式： $LDL \text{ 胆固醇 (mg/dL)} = \text{总胆固醇} - \text{HDL 胆固醇} - \text{甘油三酯} / 5$ 。

每个样本完成后进行统计分析。个体如有缺失的数据点则不进入统计分析。统计显著性差异设定在双侧 $\alpha = 0.05$ 。统计分析采用 SAS 8.2 版（北卡州卡里市 SAS 研究所）。年龄、身高、体重、生命体征测量和血脂基线值数据比较采用方差分析进行评估。

每个受试者从基线（第0天），到第7天、第14天和第28天的变化进行了分别计算。从基线到每次复诊时的绝对数值、变化的量、变化百分比的均数和标准偏差被计算出来作为生化参数。

模型建立包括以治疗为一个独立变量，治疗组从基线（第0天）到第7天和第14天变化的不同来评估组间的差异。组内变化的评价通过配对 t 检验进行，以比较从基线（第0天）到每个复诊时变化的量和变化百分比。

3、结果

受试者各项指标与人口普查和其他调查的基线值相似。试验期间无受试者违反协议记录。实验1星期后，62.5%剂型治疗组内一例受试者因胆囊疾病引起的腹痛而退出。六例受试者报告了不良反应：四例62.5%组受试者有腹泻和食管返流。一例80%组受试者患胃肠道不适，但可能为病毒感染，因其家庭几个成员有类似的症状。没有受试者报道其他任何不良事件。

表1
按治疗分组的血清磷脂EPA浓度

Day	5.1克 EPA/DHA 为62.5% N=35			5.1克 EPA/DHA 为80% N=35			5.1克 EPA/DHA 为85% N=30		
	均数 (方差) (mg/ml)	与基线值比较 所得变化 (mg/ml)	与基线值比较 所得变化的 百分比	均数 (方差) (mg/ml)	与基线值比较 所得变化 (mg/ml)	与基线值比较 所得变化的 百分比	均数 (方差) (mg/ml)	与基线值比较 所得变化 (mg/ml)	与基线值比较 所得变化的 百分比
0	21.7 (17.9)			18.5 (11.0)			17.3 (9.8)		
7	59.3 (20.4)	37.6 (19.2)	249% (154%)	57.3 (13.5)	38.8 (17.9)	315% (246%)	65.3 (17.5)	48.0 (15.9)	317% (226%)
14	66.4 (19.6)	44.7 (24.6)	308% (190%)	62.4 (18.4)	43.9 (21.7)	345% (255%)	72.6 (18.7)	55.3 (16.5)	417% (236%)

所有治疗组第0天的基线值与第14天相比的统计学分析结果， $p < 0.001$ 。

第0天与第7天相比的增加量 (mg/ml) :85%相比62.5%， $p < 0.05$ 。

第0天与第14天相比的增加量 (mg/ml) :85%相比80%， $p < 0.05$ 。

第0天与第14天相比的增加量 (mg/ml) :85%相比62.5%， $p < 0.05$ 。

100 名受试者完成了试验：62.5%组 35 例、80%组 35 例和 85%组 30 例。血清磷脂中 EPA 的平均值、变化的均值、变化百分比的均值和标准偏差示于表 1。

与基线的血清磷脂相比，治疗 14 天后所有组都有 EPA 含量的显著增加。然而，接受 85%剂型组的升幅显著高于接受 62.5%和 80%的治疗组，结果如图 1。

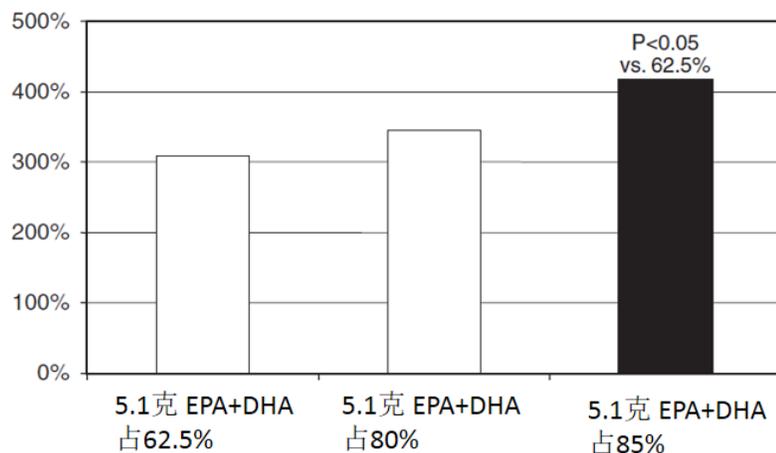


图1. 与基线值相比，14天后血清磷脂中EPA的升高百分比。

血清磷脂 DHA 的基线值组间比较没有显著性差异。治疗第 0 天与第 14 天相比，改变的绝对值是：62.5%组变化为 24%，80%组为 32%，85%组为 30%。这些变化无统计学差异。

表2
按治疗分组后的血脂参数值

	5.1 g EPA/DHA in 62.5% concentration N = 35			5.1 g EPA/DHA in 80% concentration N = 35			5.1 g EPA/DHA in 85% concentration N = 30		
	均数 (方差 (mg/ml))	第14天与基线值 比较所得变化 (mg/ml)	与基线值比 较所得变化 的p值	均数 (方差 (mg/ml))	第14天与基线值 比较所得变化 (mg/ml)	与基线值比 较所得变化 的p值	均数 (方差 (mg/ml))	第14天与基线值 比较所得变化 (mg/ml)	与基线值比 较所得变化 的p值
TG	151.4 (67.3)	-3.8 (39.9)	-1.5% (NS)	130.5 (47.3)	-19.5 (43.5)	-12.1% (0.034)	130.1 (46.8)	-20.9 (39.2)	-13.0% (0.012)
VLDL-C ^a	30.0 (13.4)	-0.8 (7.9)	-1.5% (NS)	25.9 (9.4)	-3.9 (8.6)	-12.1% (0.034)	25.8 (9.3)	-4.2 (7.8)	-13.0% (0.012)
CHOL	225.9 (47.3)	-10.3 (22.3)	-3.9% (0.012)	210.0 (46.8)	-8.3 (14.9)	-3.6% (0.002)	221.9 (44.1)	-7.6 (20.3)	-2.6% (NS)
LDL-C	153.4 (43.3)	-10.4 (19.8)	-5.7% (0.006)	140.8 (40.3)	-5.7 (16.6)	-2.9% (NS)	152.4 (40.1)	-5.2 (22.7)	-1.7% (NS)
Non-HDL-C	183.4 (50.2)	-11.2 (19.7)	-5.3% (0.001)	166.7 (46.4)	-9.6 (15.3)	-5.6% (<.001)	178.2 (45.3)	-9.4 (21.8)	-4.0% (NS)
HDL-C	42.5 (9.0)	0.9 (5.2)	+3.3% (NS)	43.4 (6.3)	1.3 (6.7)	+3.7% (NS)	43.7 (8.7)	1.8 (6.0)	+5.1% (0.062)

TG=甘油三酯；VLDL-C=极低密度脂蛋白胆固醇；CHOL=总胆固醇；LDL-C=低密度脂蛋白胆固醇；Non-HDL-C=非高密度脂蛋白胆固醇；HDL-C=高密度脂蛋白胆固醇。

*极低密度脂蛋白胆固醇的计算根据Friedewald公式：VLDL-C (mg/dL) =油三酯/5.0。

血脂参数和其变化值示于表 2 中。除甘油三酯和 VLDL-胆固醇以外，所有组脂质参数的改变是相似的。与基线值相比甘油三酯和 VLDL-胆固醇降低只在浓度为 80% 和 85% 的 EPA / DHA 组有显著性差异，结果如图 2。

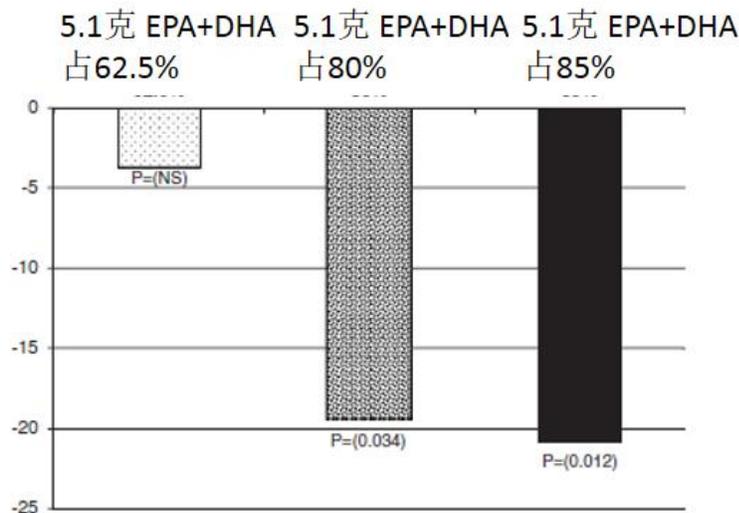


图2. 第0天基线值与第14天比较所得血清甘油三酯的降低（p值为相比于基线值）。

4、讨论和结论

服用含有 Omega-3 脂肪酸的制剂能够增加全身 Omega-3 脂肪酸的水平。三个治疗组均分别给予了同样总量的 Omega-3 脂肪酸，然而，EPA 在血浆磷脂中的增加于组间比较有显著性差异。即使是在相对的基础上，服用 85% 浓度剂型的治疗组表现出血浆磷脂中 EPA 含量的增加量显著高于服用 62.5% 浓度剂型的治疗组。这是一个意想不到的发现，因为对所有治疗组施用 Omega-3 脂肪酸的剂量是相同的。

这种变化并没有在另一种 Omega-3 脂肪酸—DHA 含量的变化中观察到。在本次试验中，血浆磷脂中 DHA 含量从基线到第 14 天的增加量为 24% 到 32% 之间，不同浓度组间比较并没有明显不同。血浆磷脂 DHA 的增加缺乏差异性的原因，可以由 Omega-3 脂肪酸选择性吸收和血清磷脂纳入来解释。EPA 通常积聚在血液细胞或接近循环血的细胞中的磷脂部分，诸如血细胞和血管内皮细胞中，而 DHA 主要被转运到大脑、眼睛的视网膜、肺和其他组织中 [17]。有趣的是在一个以剂量探索为基础的研究中，使用具有 DHA 低剂量 0.75 克/天和高剂量 1.50 克/天的两种制剂共 6 周后，研究人员发现：在第 21 天和第 42 天两剂量组进行 DHA 含量比较时，即使组内分别与基线值比较具有统计学差异，但组间比较 DHA 含量并没有明显增高 [18]。另有研究表明，在使用 Omega-3 脂肪

酸治疗类风湿关节炎以后，DHA 的洗脱时间显著长于 EPA [19]。这些数据提示了 EPA 在人体内的分布不同于 DHA。

这项试验中的效果参数是血脂质成分的甘油三酯和胆固醇。浓度高的 Omega-3 脂肪酸配方对降低甘油三酯非常有效。即使受试者在进入试验时甘油三酯值基本正常（约 130 毫克/分升），治疗浓度为 85%和 80%的 EPA / DHA 使甘油三酯值降低了约 15%。与此相反，62.5%的治疗浓度对甘油三酯的影响不大。虽然 62.5%浓度治疗组的受试者具有略高的基线甘油三酯水平（约 150 毫克/分升），但用此浓度，即使给予与 85%和 80%组相同的 Omega-3 脂肪酸的含量，仍未对甘油三酯水平产生有意义的影响。

虽然 EPA / DHA 的吸收在 62.5%治疗组低于 85%和 80%的治疗组，但在这组仍有血清大幅（308%）的磷脂 EPA 水平增长。这仅较 80%组中血清磷脂 EPA 345%的增长略低，这表明脂肪酸的相对摄取不是 62.5%治疗组对甘油三酯降低效力低的原因。

综述文献为 Omega-3 脂肪酸治疗血脂异常的作用机制提供了一个可能的解释。文献为 Omega-3 脂肪酸脂质管理提出两大机制途径：

- Omega-3 脂肪酸是合成甘油三酯的不良底物，因为它们的相对高亲和力和低的催化速率从而抑制酰基辅酶 A: 1, 2 - 甘油二酯酰基转移酶[12, 13]，
- 并且 Omega-3 脂肪酸能够通过上调肝脏中的过氧化物酶体的 β -氧化功能来增加脂肪酸氧化，并与转录因子相互作用调控脂肪酸在线粒体的氧化 [14~16]。

特别值得强调的是，上面第一通路可解释 62.5%和 85%浓度剂型之间它们在降低甘油三酯药效上的差异。浓度为 85%的 EPA / DHA 制剂含有 91%的 Omega-3 脂肪酸和极少数量的其他脂肪酸。相反，浓度为 62.5%的 EPA / DHA 制剂含有超过三分之一的非 Omega-3 脂肪酸。因为 Omega-3 脂肪酸对酰基辅酶 A: 1, 2 -二酰基甘油酰基转移酶具有高的亲和力，但难以转化成甘油三酯，所以 Omega-3 脂肪酸能够有效阻断 TG 产生。62.5%浓度制剂中更多的其它脂肪酸不会以相同的方式发生反应，从而使其降低甘油三酯的效力下降。

这项研究还表明高剂量的 Omega-3 脂肪酸总体上对治疗血脂是有利的。尽管研究中受试者具有相对低的基线胆固醇水平，但总胆固醇、非 HDL-胆固醇和 LDL-胆固醇仍显著降低。EPA /DHA 为 85%的治疗组 LDL 胆固醇水平轻微降低的原因可能是由于甘油三酯大幅度降低进而导致 VLDL 胆固醇转变为 LDL 胆固醇[20]。事实上，对于甘油三酯基线水平高的受试者，这种转变可能会增加 LDL 胆固醇。然而，对于具有超高血清甘油三酯水平的患者，利用 Omega-3 衍生制剂治疗会使致粥样硬

化颗粒携带的胆固醇总量得到降低。（致粥样硬化颗粒携带的胆固醇总量，通常可以按非 HDL 胆固醇（LDL-C + VLDL-C）的水平来衡量）[5]。另外，Omega-3 脂肪酸可能对 LDL 胆固醇颗粒大小的分布有积极作用，能够诱导小而密富含甘油三酯的颗粒转变为密度低的富含胆固醇的粒子[21]。然而，粒度大小分析是这项研究尚未完成的一部分。

本研究的主要发现是：具有相同总量但不同活性成分浓度的 Omega-3 脂肪酸配方的吸收和疗效属性会有差异。此外，与低浓缩剂型相比，高浓缩的 Omega-3 制剂给药效率更高，这一结果可以提高服药的方便性和患者对药物的顺从性。这些发现对 Omega-3 脂肪酸衍生物的治疗性应用是重要的。

总之，与相同剂量的浓度较低的 Omega-3 脂肪酸衍生物制剂相比，高度浓缩的 Omega-3 脂肪酸衍生物的吸收和降脂属性都更优秀。

致谢

这项研究是由挪威 Pronova Biocare 公司资助，前身为一间全资附属公司、挪威海德鲁公司。

Hide edit box