

# 肠襻法结合药动力学探讨复合红花籽油的吸收特性

商雪珂, 杨晓君\*, 杨冬梅, 敬磊, 赵得秀

(新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

**摘要:** 该研究旨在初步考察复合红花籽油 (Complex Safflower Seed Oil, CSSO) 的肠吸收特性。采用肠襻吸收模型结合药代动力学, 通过计算液相色谱测定的  $\alpha$ -亚麻酸 ( $\alpha$ -Linolenic Acid, ALA) 和亚油酸 (Linoleic Acid, LA) 浓度, 计算吸收参数  $M$  (吸收药量)、 $P$  (累计吸收率)、 $Ka$  (吸收速率常数)、 $t_{1/2}$  (吸收半衰期) 以及药动力学参数, 考察 CSSO 的药物浓度、pH 值条件及吸收促进剂对其吸收的影响, 以及在动物体内不同给药剂量 CSSO 的吸收速度与吸收程度, 以此来阐明 CSSO 的吸收特性。由在体肠吸收实验可知, 高浓度 CSSO 中 ALA 和 LA 的  $M$  (ALA: 23.77 mg, LA: 42.27 mg) 和  $P$  (ALA: 94.92%; LA: 91.89%) 最高, 且均随着浓度的升高而增加, pH 值为 8.0 时 CSSO 中 ALA 和 LA 的  $M$  (ALA: 24.19 mg; LA: 43.38 mg) 和  $P$  (ALA: 96.60%; LA: 94.295%) 最高, 吸收促进剂对 CSSO 的吸收无影响。由药代动力学实验可知, CSSO 吸收速度较快, 在 1~2 h 即可达到峰浓度, 在 2.604~5.208 g/kg 内生物利用度较高。结果表明, CSSO 的吸收特性为具有浓度 (剂量) 依赖性且以被动扩散方式在大鼠体内吸收, 为不饱和脂肪酸制剂的开发提供理论基础。

**关键词:** 复合红花籽油; 肠襻法; 药代动力学

文章编号: 1673-9078(2024)04-27-34

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.4.0482

## Intestinal Loop Method Combined with Pharmacokinetics for the Investigation on the Absorption Characteristics of Compound Safflower Seed Oil

SHANG Xueke, YANG Xiaojun\*, YANG Dongmei, JING Lei, ZHAO Dexiu

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract:** In this study, the intestinal absorption characteristics of compound safflower seed oil (CSSO) were preliminarily investigated. The absorption parameters  $M$  (absorbed drug dose),  $P$  (cumulative absorption rate),  $Ka$  (absorption rate constant),  $t_{1/2}$  (absorption half-life) and pharmacokinetic parameters were calculated via the analysis of  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) and linoleic acid (LA) concentrations by liquid chromatography using an intestinal loop absorption model in combination with pharmacokinetics. The effects of drug concentration, pH value and absorption enhancers on the absorption of CSSO were investigated, as well as the absorption rate and extent of CSSO at different doses administered in animals, in order to elucidate the absorption characteristics of CSSO. The *in vivo* intestinal absorption experiments revealed that the  $M$

引文格式:

商雪珂, 杨晓君, 杨冬梅, 等. 肠襻法结合药动力学探讨复合红花籽油的吸收特性[J]. 现代食品科技, 2024, 40(4): 27-34.

SHANG Xueke, YANG Xiaojun, YANG Dongmei, et al. Intestinal loop method combined with pharmacokinetics for the investigation on the absorption characteristics of compound safflower seed oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(4): 27-34.

收稿日期: 2023-04-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960475); 新疆农业大学研究生科研创新项目 (XJAUGRI2022014)

作者简介: 商雪珂 (1998-), 女, 硕士, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: 1586787490@qq.com

通讯作者: 杨晓君 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: xjxiaojun@163.com

(ALA: 23.77 mg, LA: 42.27 mg) and *P* (ALA: 94.92%; LA: 91.89%) of ALA and LA in high concentrations of CSSO were the highest, and both increased with an elevated concentration: The *M* (ALA: 24.19 mg; LA: 43.38 mg) and *P* (ALA: 96.60%; LA: 94.295%) in CSSO were the highest at pH 8.0. The absorption enhancers had no effect on the absorption of CSSO. The pharmacokinetic experiments revealed that CSSO was absorbed rapidly, reaching the peak concentration within 1~2 h. The bioavailability was relatively high in the range of 2.604~5.208 g/kg. The results showed that the absorption characteristics of CSSO was concentration (dose)-dependent and CSSO was absorbed in a passive diffusion in rats, providing a theoretical basis for the development of unsaturated fatty acid preparations.

**Key words:** complex safflower seed oil; intestinal loop; pharmacokinetics

复合红花籽油 (Complex Safflower Seed Oil, CSSO) 由红花籽油和亚麻籽油提取物按照 3:2 的比例复配而得。其中亚麻籽油富含亚麻酸 (Linolenic Acid)、亚油酸 (Linoleic Acid, LA) 和油酸 (Olenic Acid, OA) 等不饱和脂肪酸, 尤其富含  $\alpha$ - 亚麻酸 ( $\alpha$ -Linolenic Acid, ALA), 其含量达 50% 以上, 是  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸 ( $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acids,  $\omega$ -3 PUFA) 的主要植物来源<sup>[1]</sup>。红花籽油也富含不饱和脂肪酸, 在已知作物中, 其亚油酸含量可达 73%~85%, 被誉为“亚油酸之王”<sup>[2]</sup>。 $\alpha$ - 亚麻酸和亚油酸均为人体必需脂肪酸, 具有调节血脂血糖、抗血栓、抗炎、抗癌及改善眼睛疾病等功能<sup>[3-8]</sup>。

吸收是影响口服药物生物利用度的主要环节, 小肠是药物吸收的主要场所<sup>[9]</sup>, 且肠道是脂肪酸吸收的主要场所<sup>[10]</sup>, 课题组前期通过体外模型 (外翻肠囊法) 对 CSSO 的肠吸收部位进行了研究, 结果表明 LA 和 ALA 在十二指肠肠段吸收较好<sup>[11]</sup>, 与文献报道一致<sup>[12]</sup>, 故本实验将以十二指肠为主要吸收肠段来考察 CSSO 的吸收情况。肠襻法是将含有一定药物浓度的人工肠液注入肠襻中, 经过一定时间后取出肠襻, 收集肠襻液, 测定药物剩余量计算吸收参数, 进而了解药物的吸收情况。采用肠襻法研究药物吸收, 未切断血管和神经, 不冲洗肠道, 破坏肠道菌群, 使整个生理状态更接近自然给药, 可以更真实、全面的反映药物在肠道的吸收代谢情况。药代动力学是口服给药后, 于不同时间点采集血液, 分离血清 (血浆) 后, 测定其中主要组分的含量, 以此来评价药物的吸收情况。

口服药物的吸收特性无法使用单一方法或模型来判断<sup>[13]</sup>, 因此, 本实验以 CSSO 为受试物, 以 LA 和 ALA 为目标成分, 建立大鼠肠襻吸收模型结合药代动力学, 考察药物浓度、pH 值条件、吸收促进剂对药物吸收的影响, 以阐明其吸收特性以及 CSSO 在动物体内的吸收速度与程度, 为后续药物

研究及制剂开发提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SD 大鼠 (200±20 g), 均购自新疆医科大学实验动物中心 (生产许可证号: SCXK (新) 2018-0002), 于新疆维吾尔自治区药物研究所饲养, 温度 20~25 °C, 湿度 50%~60%, 自由摄食及饮水。实验动物伦理审查批准号为 XJIMM-2019004。

### 1.2 实验仪器

AL204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器有限公司; TGL-16M 冷冻离心机, 湖南湘鑫仪器仪表有限公司; SF-TDL-40D 离心机, 上海菲恰尔分析仪器股份有限公司; PHS-3G 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司。

### 1.3 实验试剂

复合红花籽油, 实验室自制; 正己烷 (色谱纯), 天津市光复科技发展有限公司; 乙腈 (色谱纯), 天津市鑫铂特化工有限公司; 盐酸维拉帕米, 北京索莱宝科技有限公司; 壳聚糖, 北京索莱宝科技有限公司; 脱氧胆酸钠, 北京索莱宝科技有限公司; 羧甲基纤维素钠, 上海山浦化工有限公司; Krebs-Ringer's 缓冲液, 武汉普诺赛生命科技有限公司。

### 1.4 药液的配制

#### 1.4.1 在体肠吸收溶液配制

在体肠吸收药物浓度参考文献<sup>[14,15]</sup>, 并根据《中国居民膳食指南》(2022) 中建议成年人每天摄入烹调油 25~30 g<sup>[16]</sup>, 故 CSSO 用 0.5% CMC-Na 溶液和 Krebs-Ringer's 缓冲溶液配置为低 (13.02 mg/mL)、中 (26.04 mg/mL)、高 (52.08 mg/mL) 梯度质量浓度。

### 1.4.2 药代动力学溶液配制

根据《药物非临床药代动力学研究技术指导原则》(2014年5月)<sup>[17]</sup>及《中国居民膳食指南》(2022)中建议成年人每天摄入烹调油25~30 g<sup>[16]</sup>,按照人与大鼠剂量换算,故大鼠给药剂量为低(1.302 g/kg)、中(2.604 g/kg)和高(5.208 g/kg),给药质量浓度为0.13、0.26、0.52 g/mL(用0.5% CMC-Na溶液配置)。

### 1.5 肠襻吸收实验

参考文献<sup>[18]</sup>,取实验前禁食18 h(自由饮水)的SD雌性大鼠,随机分组,分为空白对照组、复合红花籽油组,每组6只,麻醉后固定,沿腹中线打开腹腔,暴露肠段,结扎十二指肠肠段(距幽门1~10 cm处)。用注射器将含有一定浓度的药液注入肠襻中,将肠襻放回腹腔,覆盖37℃生理盐水浸湿的纱布,保持体温37℃,2 h后剪下肠襻,将肠内容物完全转移至10 mL棕色容量瓶,用Krebs-Ringer's溶液少量多次冲洗肠襻内部肠腔,洗涤液转移至容量瓶中,并用Krebs-Ringer's溶液定容至10 mL,样品前处理后,进行HPLC检测。

### 1.6 药代动力学实验设计

按照体质量,随机分为高、中、低三个给药剂量组,每组3只大鼠,均为雄性。采用单次灌胃给药,给药前禁食不禁水16 h。给药前每只大鼠分别取空白血0.5 mL后,以给药体积为10 mL/kg,灌胃以不同剂量CSSO(1.302、2.604和5.208 g/kg)。分别在给药后1、2、3、4、6、8、10、12、24 h于眼眶静脉丛取血500 μL于1.5 mL EP管中,3 000 r/min离心15 min,取上层血清,于-80℃保存备用。按“2.2.2”及“2.2.3”项下方法前处理并测定ALA和LA浓度。

### 1.7 样品前处理及检测方法

#### 1.7.1 肠收集液样品前处理

参考文献<sup>[11]</sup>,将收集液转移至20 mL离心管中,-4℃,3 000 r/min,冷冻离心15 min后,吸取上清液置另一离心管中,加1/2上清液的正己烷,以每分钟75次的频率室温振荡10 min后,冷冻离心,取正己烷层用0.25 μm有机滤膜过滤后,测定其中ALA和LA的含量。

#### 1.7.2 血清样品前处理

参考文献并优化<sup>[19]</sup>,取血清200 μL于5 mL离心管中,加入1.5 mL乙腈,振摇5 min后,离心10 min(3 000 r/min)后取上清,氮气吹干,加1 mL甲醇复溶后上机检测。

#### 1.7.3 检测方法

Agilent 1260液相色谱仪,紫外检测器,波长203 nm,色谱柱Thermo Tris C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温30℃,流动相:乙腈:水=80:20(V/V)。

### 1.8 CSSO中ALA和LA的标准曲线

配制0.5、1、2、5、10、25、50、100 mg/mL梯度质量浓度的ALA和LA标准溶液后,按2.4项下“样品的预处理及检测条件”进行HPLC检测,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,如图1和图2所示,ALA的线性方程为 $y=57.111x+21.975$ ( $R^2=0.9998$ ),LA的线性方程为 $y=30.062x+13.071$ ( $R^2=0.9999$ ), $R^2$ 均>0.999,表明ALA和LA的线性符合要求。

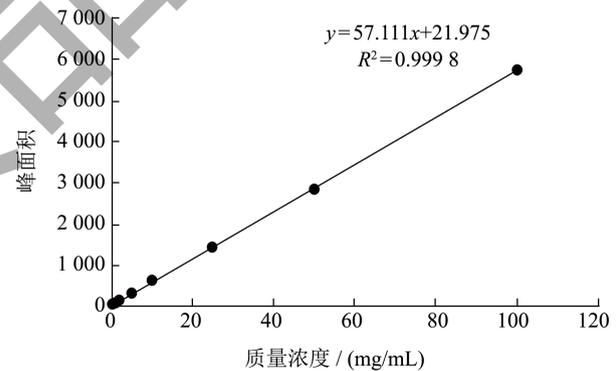


图1 CSSO中ALA的标准曲线

Fig.1 Standard curve of ALA in compound safflower seed oil

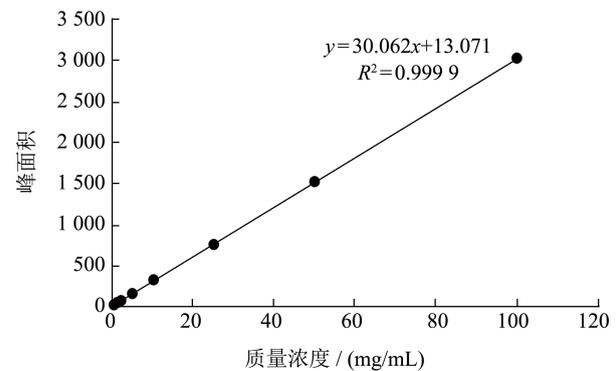


图2 CSSO中LA的标准曲线

Fig.2 Standard curve of LA in compound safflower seed oil

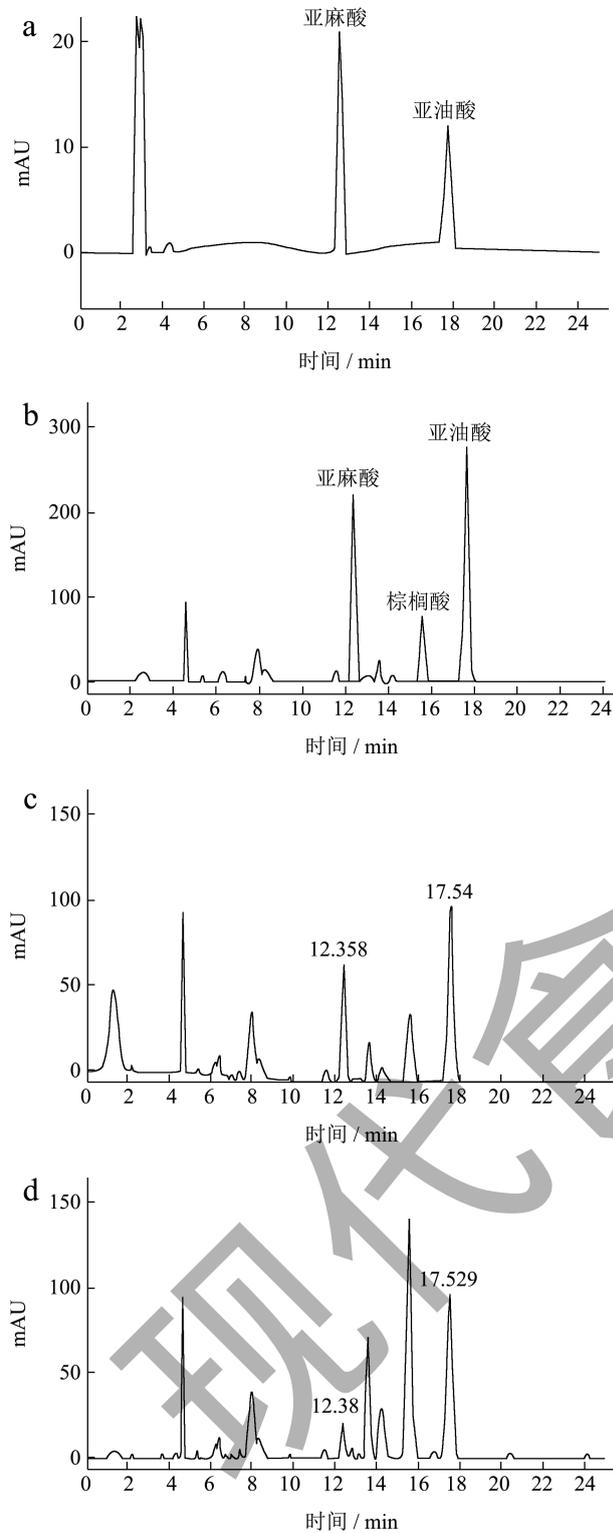


图3 CSSO中ALA和LA的部分HPLC检测图谱

Fig.3 Partial HPLC detection map of ALA and LA in compound safflower seed oil

注：(a) 亚油酸和亚麻酸标准品检测图谱；(b) 高浓度 CSSO 肠收集液中 ALA 和 LA 检测图谱；(c) CSSO 溶液 pH 值为 4.0 时肠收集液中 ALA 和 LA 检测图谱；(d) 添加胆酸钠的 CSSO 肠收集液中 ALA 和 LA 检测图谱。

## 1.9 数据分析

### 1.9.1 在体肠吸收参数计算及数据处理

肠收集液中 ALA 和 LA 吸收参数用 Excel 进行计算，并用 IBM SPSS Statistics 26 进行统计分析，文中数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。在体肠吸收计算公式如下<sup>[20,21]</sup>：

$$M = C_0 V_0 - C_t V_t \quad (1)$$

$$B = \frac{C_0 V_0 - C_t V_t}{C_0 V_0} \times 100\% \quad (2)$$

$$Ka = \frac{\ln C_0 - \ln C_t}{t} \quad (3)$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{Ka} \quad (4)$$

式中：

$M$ ——吸收药量，mg；

$B$ ——累计吸收率，%；

$Ka$ ——吸收速率常数， $h^{-1}$ ；

$t_{1/2}$ ——吸收半衰期，h；

$C_0$ ——加入肠管内药物溶液初始质量浓度，mg/mL；

$V_0$ ——加入肠管内药物溶液体积，mL；

$C_t$ ——试验结束后肠收集液中药物溶液质量浓度，mg/mL；

$V_t$ ——试验结束后肠收集液总体积，mL；

$t$ ——时间，h。

### 1.9.2 药代动力学数据处理

不同时间 CSSO 中 ALA 和 LA 浓度用 IBM SPSS Statistics 26 进行统计学分析，药动学参数采用 DAS 2.0 进行分析，利用 Graph pad 8.0.2 作血药浓度-时间曲线图，文中数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 在体肠吸收部分

#### 2.1.1 CSSO 质量浓度依赖性考察

按“2.2”项下建立大鼠肠管吸收模型，用 0.5% CMC-Na 溶液配制为高（52.08 mg/mL）、中（26.04 mg/mL）、低（13.02 mg/mL）三种药物质量浓度进行试验，120 min 时取下肠管，取出肠收集液后，按“2.4”项下进行样品前处理及 HPLC 检测。吸收参数结果见表 1。

表 1 不同质量浓度CSSO中ALA和LA的吸收参数

Table 1 Absorption parameters of ALA and LA in different concentrations of CSSO ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

成分	分组	$M/\text{mg}$	$B/\%$	$Ka/\text{h}^{-1}$	$t_{1/2}/\text{h}$
ALA	低	$5.91 \pm 0.46^c$	$94.33 \pm 7.32^a$	$2.03 \pm 0.10^a$	$0.43 \pm 0.11^a$
	中	$11.67 \pm 0.61^b$	$93.21 \pm 4.89^a$	$1.49 \pm 0.45^a$	$0.50 \pm 0.15^a$
	高	$23.77 \pm 0.65^a$	$94.92 \pm 2.58^a$	$1.54 \pm 0.25^a$	$0.46 \pm 0.08^a$
LA	低	$10.37 \pm 1.39^c$	$90.20 \pm 12.06^a$	$1.61 \pm 0.82^a$	$0.57 \pm 0.35^a$
	中	$20.06 \pm 1.98^b$	$87.23 \pm 8.59^a$	$1.14 \pm 0.39^a$	$0.67 \pm 0.23^a$
	高	$42.27 \pm 1.84^a$	$91.88 \pm 3.99^a$	$1.31 \pm 0.25^a$	$0.55 \pm 0.11^a$

注: 表中小写字母相同表示无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 小写字母不同表示有显著性差异 ( $P<0.05$ )。下表同。

表 2 不同pH值条件下CSSO中ALA和LA的吸收参数

Table 2 Absorption parameters of ALA and LA in CSSO at different pH values ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

成分	分组	$M/\text{mg}$	$B/\%$	$Ka/\text{h}^{-1}$	$t_{1/2}/\text{h}$
ALA	pH 值 4.0	$23.92 \pm 0.81^a$	$95.52 \pm 3.23^a$	$1.68 \pm 0.42^a$	$0.43 \pm 0.11^a$
	pH 值 6.0	$24.02 \pm 1.32^a$	$95.91 \pm 5.27^a$	$1.98 \pm 0.80^a$	$0.40 \pm 0.17^a$
	pH 值 8.0	$24.19 \pm 0.67^a$	$96.59 \pm 2.66^a$	$1.93 \pm 0.64^a$	$0.39 \pm 0.11^a$
LA	pH 值 4.0	$42.17 \pm 2.96^a$	$91.66 \pm 6.44^a$	$1.39 \pm 0.46^a$	$0.55 \pm 0.18^a$
	pH 值 6.0	$42.80 \pm 4.17^a$	$93.03 \pm 9.07^a$	$1.61 \pm 0.55^a$	$0.50 \pm 0.26^a$
	pH 值 8.0	$43.38 \pm 1.95^a$	$94.29 \pm 4.25^a$	$1.73 \pm 0.78^a$	$0.46 \pm 0.16^a$

由表 1 可见, 随着 CSSO 质量浓度的升高, ALA 和 LA 的  $M$  随之增加, 高质量浓度时吸收量最大 (ALA: 23.77 mg; LA: 42.27 mg), 组间均有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 说明药物质量浓度对 CSSO 的吸收有一定影响; 同时, 随着 CSSO 质量浓度的升高, ALA 和 LA 的  $B$  均随着质量浓度的升高呈现先降低后升高的趋势, 其中高质量浓度吸收率最高 (ALA: 94.92%; LA: 91.89%), 低质量浓度次之 (ALA: 91.33%; LA: 90.20%), 中质量浓度最低 (ALA: 93.21%; LA: 87.23%), 组间无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 其中高质量浓度的吸收率最高, 无高质量浓度饱和现象, 提示 CSSO 的吸收具有质量浓度依赖性<sup>[22]</sup>。综上所述, 在试验 120 min 内高质量浓度的 CSSO 的吸收最好, 故后续试验选择高质量浓度 CSSO (52.08 mg/mL) 为受试药物质量浓度。

$Ka$  和  $t_{1/2}$  均随着质量浓度的升高呈现下降趋势, 但各组间均无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 提示 CSSO 在大鼠十二指肠肠段的吸收无自身质量浓度抑制, 转运机制可能为被动扩散<sup>[23]</sup>。有研究表明, 当肠腔浓度高于肠上皮细胞浓度时主要通过扩散的方式进行吸收跨膜, 当肠腔浓度较低时, 其吸收主要通过转运酶类介导<sup>[24]</sup>。因此, 在此实验药物质量浓度范围内 (13.02~52.08 mg/mL)

$M$  未出现饱和现象可能是由于肠腔浓度高于肠上皮细胞, 转运机制为被动扩散<sup>[25,26]</sup>。

### 2.1.2 CSSO 的 pH 值条件依赖性考察

采用高质量浓度 CSSO (52.08 mg/mL) 进行 pH 值条件依赖性实验。按“2.2”项下建立大鼠肠攀吸收模型, 将药物溶液 pH 值调至 4.0、6.0、8.0 进行试验, 120 min 时取下肠攀, 取出肠收集液后, 按“2.4”项下进行样品前处理及 HPLC 检测。吸收参数结果见表 2。

由表 2 可见, 随着 CSSO 溶液 pH 值的变化, ALA 和 LA 的  $B$  和  $M$  均呈现逐渐升高的趋势, 其中, pH 值为 8.0 时吸收量 (ALA: 24.19 mg; LA: 43.38 mg) 和吸收率 (ALA: 96.59%; LA: 94.29%) 最高, 组间均无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 说明 pH 值为 8.0 时 CSSO 的吸收情况较好, 提示在酸性条件下 CSSO 的吸收较差, 弱碱性环境时 CSSO 主要以分子形式存在, 易于药物的吸收<sup>[27]</sup>, 故后续试验将药物溶液酸碱条件调至 pH 值为 8.0。

随着药液 pH 值的增加, CSSO 中 ALA 的  $Ka$  呈先升高后缓慢降低的趋势, 其中, pH 值 6.0 ( $1.98 \text{ h}^{-1}$ )  $\approx$  pH 值 8.0 ( $1.93 \text{ h}^{-1}$ )  $>$  pH 值 4.0 ( $1.68 \text{ h}^{-1}$ ), 组间均无显著性差异 ( $P>0.05$ ); CSSO 中 LA 的  $Ka$  随着 pH 值的升高逐渐增加, pH 值为 8.0 时最大

(1.73 h<sup>-1</sup>), 说明药物溶液的 pH 值条件会影响 CSSO 的吸收。其次, CSSO 中 ALA 和 LA 的  $t_{1/2}$  均呈现下降趋势, 其中 LA 的  $t_{1/2}$  呈线性变化, 但其组间均无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 说明 pH 值条件为 8.0 时 CSSO 吸收较快。

### 2.1.3 吸收促进剂对 CSSO 吸收的影响

采用高质量浓度 CSSO (52.08 mg/mL, pH 值为 8.0) 进行吸收促进剂对吸收影响的考察。按“2.2”项下建立大鼠肠襻吸收模型, 含药溶液中加入盐酸维拉帕米 (50 μg/mL)、壳聚糖 (5 mg/mL)、胆酸钠 (1 mg/mL) 进行试验, 120 min 时取下肠襻, 取出肠收集液后, 按“2.4”项下进行样品前处理及 HPLC 检测。吸收参数结果见表 3。

由表 3 可见, CSSO 添加吸收促进剂后, 各组 ALA 和 LA 的  $P$  与  $M$  均低于空白组 (ALA: 94.49%, 23.66 mg; LA: 88.56%, 40.74 mg), 且无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 各吸收促进剂组  $Ka$  均低于空白组 (ALA: 1.61 h<sup>-1</sup>; LA: 1.22 h<sup>-1</sup>), 但无显著性差异 ( $P>0.05$ ), CSSO 中 ALA 和 LA 均为脂溶性较好的成分, 壳聚糖和胆酸盐均能提高药物脂溶性, 从而使药物吸收量增加<sup>[28]</sup>, 推测 CSSO 不受吸收促进剂的影响且不是 P-gp 的底物, 后续将通过细胞实验进一步考察 CSSO 的吸收是否受 P-gp 介导。

### 2.2 药代动力学部分

由图 4 和表 4 可见, 各剂量组 ALA 的  $T_{max}$  均为 2.33 h, 说明在此实验给药剂量 (1.302 g/kg、2.604 g/kg 和 5.208 g/kg) 对 ALA 吸收的速度影响不大, 其中高剂量 ALA 出现“双峰”现象, 在 2 h 时, ALA 质量浓度为 2.72 mg/mL, 4 h 时, ALA 质量浓度为 2.67 mg/mL; ALA 的  $AUC_{(0-t)}$  随着药物剂量

的升高而增加, 高剂量最高 [18 565.72 mg/(L·h)], 中剂量次之 [14 209.78 mg/(L·h)], 低剂量最小 [4 321.11 mg/(L·h)], 提示高剂量 CSSO 中 ALA 生物利用度较高; 由 ALA 的  $C_{max}$  可见, 从高到低顺序为: 中剂量 > 高剂量 > 低剂量, 提示中剂量 CSSO 中 ALA 的吸收程度较好; 由 ALA 的  $t_{1/2z}$  可见, 高剂量半衰期最短 (1.76 h), 低剂量次之 (3.44 h), 中剂量半衰期最长 (4.84 h), 提示高剂量 CSSO 中 ALA 在动物机体内消除速度最快。

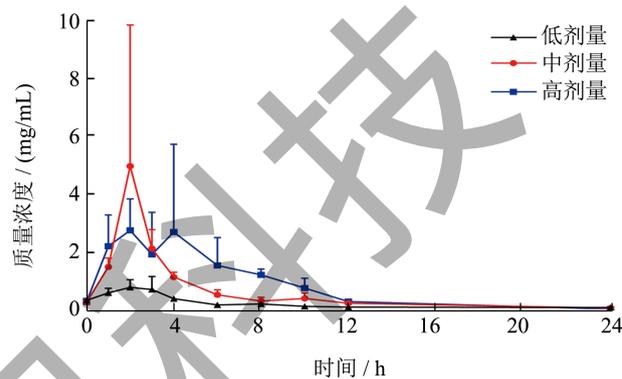


图 4 不同给药剂量 CSSO 中 ALA 药-时曲线

Fig.4 ALA drug-time curves in CSSO at different doses

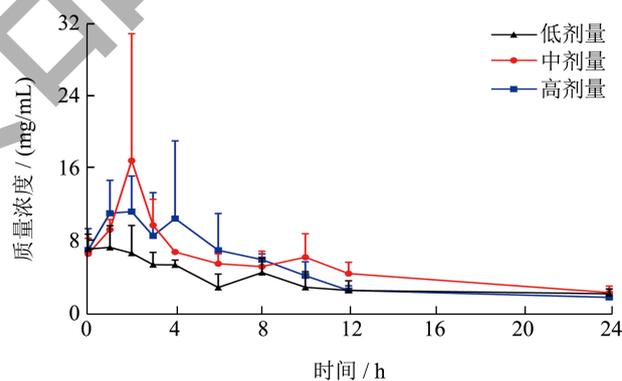


图 5 不同给药剂量 CSSO 中 LA 药-时曲线

Fig.5 LA drug-time curves in CSSO at different doses

表 3 添加吸收促进剂的 CSSO 中 ALA 和 LA 的吸收参数

Table 3 Absorption parameters of ALA and LA in CSSO with absorption enhancers (n=6, $\bar{x} \pm s$ )					
成分	分组	M/mg	P/%	Ka/h <sup>-1</sup>	$t_{1/2}$ /h
ALA	空白	23.66 ± 0.82 <sup>a</sup>	94.49 ± 3.25 <sup>a</sup>	1.61 ± 0.54 <sup>a</sup>	0.46 ± 0.12 <sup>a</sup>
	壳聚糖	23.21 ± 0.67 <sup>a</sup>	92.68 ± 2.68 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.08 <sup>a</sup>
	胆酸钠	23.06 ± 0.92 <sup>a</sup>	92.10 ± 3.68 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.29 <sup>a</sup>	0.54 ± 0.11 <sup>a</sup>
	维拉帕米	23.20 ± 0.58 <sup>a</sup>	92.66 ± 2.33 <sup>a</sup>	1.33 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.07 <sup>a</sup>
LA	空白	40.74 ± 3.02 <sup>a</sup>	88.56 ± 6.57 <sup>a</sup>	1.22 ± 0.48 <sup>a</sup>	0.63 ± 0.19 <sup>a</sup>
	壳聚糖	40.29 ± 2.56 <sup>a</sup>	87.59 ± 4.90 <sup>a</sup>	1.08 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.13 <sup>a</sup>
	胆酸钠	39.94 ± 3.05 <sup>a</sup>	86.83 ± 6.63 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.32 <sup>a</sup>	0.68 ± 0.18 <sup>a</sup>
	维拉帕米	40.25 ± 1.74 <sup>a</sup>	87.50 ± 3.78 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.67 ± 0.10 <sup>a</sup>

表 4 CSSO中ALA在大鼠体内的药动学统计矩参数

Table 4 Pharmacokinetic statistical moment parameters of ALA in CSSO in rats ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

参数	单位	低剂量	中剂量	高剂量
AUC <sub>(0-t)</sub>	mg/(L·h)	4 321.11 ± 1 304.59	14 209.78 ± 5 431.25	18 565.72 ± 4 291.92
AUC <sub>(0-∞)</sub>	mg/(L·h)	4 383.29 ± 1 251.14	14 466.67 ± 5 543.04	18 878.47 ± 4 205.10
$t_{1/2z}$	h	3.44 ± 2.01	4.86 ± 0.83	1.77 ± 0.36
$T_{max}$	h	2.33 ± 0.58	2.33 ± 0.58	2.33 ± 1.53
$C_{max}$	mg/mL	0.76 ± 0.26	4.95 ± 4.89	2.72 ± 1.09

表 5 CSSO中LA在大鼠体内的药动学统计矩参数

Table 5 Pharmacokinetic statistical moment parameters of LA in rats in CSSO ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

参数	单位	低剂量	中剂量	高剂量
AUC <sub>(0-t)</sub>	mg/(L·h)	74 134.89 ± 22 609.66	119 632.17 ± 31 567.44	104 732.56 ± 12 517.37
AUC <sub>(0-∞)</sub>	mg/(L·h)	93 676.10 ± 12 037.91	156 719.26 ± 46 310.63	123 085.70 ± 19 919.09
$t_{1/2z}$	h	9.58 ± 5.68	12.65 ± 3.90	8.64 ± 2.13
$T_{max}$	h	1.33 ± 1.16	2.33 ± 0.58	2.33 ± 1.53
$C_{max}$	mg/mL	6.98 ± 2.39	16.59 ± 14.10	10.94 ± 3.96

由图 5 和表 5 可见, 低剂量组  $T_{max}$  为 1.33 h, 中、高剂量组  $T_{max}$  均为 2.33 h, 说明低剂量吸收较其余组快, 其中高剂量 LA 质量浓度出现“双峰”现象, 在 2 h 时, LA 质量浓度为 10.94 mg/mL, 4 h 时, LA 质量浓度为 10.18 mg/mL; 各剂量组 AUC<sub>(0-t)</sub> 的高低顺序为: 中剂量 > 高剂量 > 低剂量, 故中剂量 CSSO 中 LA 的生物利用度较高; 由 ALA 的  $C_{max}$  可见, 中剂量最高 (16.59 mg/mL), 高剂量次之 (10.94 mg/mL), 低剂量最低 (6.98 mg/mL), 提示中剂量 CSSO 中 LA 的吸收程度较好; 由  $t_{1/2z}$  可见, 中剂量的消除速度最慢 (12.65 h), 低剂量消除速度较快 (9.58 h), 高剂量次之 (8.64 h), 提示低剂量 CSSO 中 LA 在动物机体内消除速度较快。

综上所述, 中剂量 CSSO 中 ALA 和 LA 的  $C_{max}$  均最高, 高剂量 CSSO 中 ALA 和 LA 的血药质量浓度均出现“双峰”现象, 与文献报道一致<sup>[29]</sup>, 提示高剂量药物溶液在小肠停留时间长, 在胃肠道内吸收有快有慢, 或存在肝肠循环<sup>[30]</sup>。LA 和 ALA 均属于内源性成分, 药物含量过高时可能在分布到各组织后, 经肝肠循环出现二次释放入血, 导致血药质量浓度二次升高至  $C_{max}$  附近, 且 CSSO 吸收较快, 在 1.33~2.33 h 可达到最大血药浓度。CSSO 中 ALA 的生物利用度与剂量呈正相关, 其中高剂量组中 ALA 生物利用度较高, 中剂量组中 LA 生物利用度较高, 高剂量中 ALA 吸收速度较快, 低剂量中 LA 的吸收速度较快<sup>[31]</sup>。有文献报道, LA 的达峰时

间为 3.83 h, ALA 的达峰时间为 4.53 h<sup>[32,33]</sup>, 均高于本实验 CSSO 的达峰时间, 表明 CSSO 的复配能够使 ALA 和 LA 在动物机体内更快的发挥作用。由 ALA 和 LA 药动学参数可知, LA 的  $C_{max}$ 、AUC、 $t_{1/2z}$  均大于 ALA 药动学参数, 且差异较大, 可能是由于在大鼠血清中 LA 的质量浓度本就较高所致<sup>[32]</sup>。

### 3 结论

由在体肠吸收实验可以得出: 高质量浓度且 pH 值 8.0 时 CSSO 吸收较好, 吸收促进剂对 CSSO 吸收无影响, 因此, 推测 CSSO 在大鼠十二指肠肠段可能的吸收机制以被动扩散为主, 具有质量浓度依赖性, CSSO 在偏碱性条件下较易吸收, 可能不是 P-gp 的底物。由药动学实验可以得出: CSSO 吸收速度较快, 在 1~2 h 即可达到峰质量浓度, 在 2.604~5.208 g/kg 内生物利用度较高, 中剂量 CSSO 吸收程度较好。口服药物的转运特性与机制不能仅用一或两种方法确定, 应采用多种方法或模型进行综合性的考察时结论更可靠, 本实验为后续的研究工作提供数据支持, 更全面的解释 CSSO 的吸收转运机制, 为临床应用提供科学依据。

### 参考文献

- [1] 廖振林, 李倩滢, 陈俊杰, 等. 亚麻籽油组分的功能活性研究进展[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 379-389, 337.
- [2] 梁慧珍, 许兰杰, 余永亮, 等. 红花籽油中脂肪酸组成评价与分析[J]. 食品科学, 2021, 42(6): 244-249.

- [3] KEISUKE ARAO, WANG YUMING, NAO INOUE, et al. Dietary effect of pomegranate seed oil rich in 9cis,11trans, 13cis conjugated linolenic acid on lipid metabolism in obese, hyperlipidemic OLETF Rats [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2004, 3: 24.
- [4] KHADIJEH NASIRI, ABOLFAZL AKBARI, MAJID NIMROUZI, et al. Safflower seed oil improves steroidogenesis and spermatogenesis in rats with type II diabetes mellitus by modulating the genes expression involved in steroidogenesis, inflammation and oxidative stress [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 275: 114139.
- [5] GITIT K, JAYASIMHA R D, UZI M, et al. Alpha-linolenic acid modulates systemic and adipose tissue-specific insulin sensitivity, inflammation, and the endocannabinoid system in dairy cows [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13(1): 5280.
- [6] ZHANG WENLONG, ZHAO CHENWEI, EMAD KARRAR, et al. Analysis of chemical composition and antioxidant activity of *Idesia polycarpa* pulp oil from five regions in China [J]. *Foods*, 2023, 12(6): 1251.
- [7] ZHOU Tianxiao, YANG Kaige, HUANG Jin, et al. Effect of short-chain fatty acids and polyunsaturated fatty acids on metabolites in H460 lung cancer cells [J]. *Molecules*, 2023, 28(5): 2357.
- [8] TAYLOR L RICHARDS, SCARLETT BURRON, DAVID W L MA, et al. Effects of dietary camelina, flaxseed, and canola oil supplementation on inflammatory and oxidative markers, transepidermal water loss, and coat quality in healthy adult dogs [J]. *Front in Veterinary Science*, 2023, 10: 1085890.
- [9] 杨婕,雷婷婷,赵德璋,等.二阿魏酰基甲烷纳米乳的肠吸收和药代动力学研究[J].*中国临床药理学杂志*,2022,38(15):1810-1814.
- [10] YANG QIN, WANG SHUNHE, JI YUNQI, et al. Dietary intake of n-3 PUFAs modifies the absorption, distribution and bioavailability of fatty acids in the mouse gastrointestinal tract [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2017, 16(1): 10.
- [11] 商雪珂,杨晓君,丁泽人.外翻肠囊法考察复合红花籽油的肠吸收特性[J].*现代食品科技*,2023,39(3):10-17.
- [12] XU E, CHEN CHAO, FU JIE, et al. Dietary fatty acids in gut health: Absorption, metabolism and function [J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(4): 1337-1344.
- [13] 高惠静,王鑫,李玉玲,等.基于在体单向肠灌注模型探究去氢骆驼蓬碱衍生物HM-Y-A的肠吸收特性[J].*中南药学*,2023,21(3):607-611.
- [14] 吴军,翁春梅,刘晓东,等.外翻肠囊法研究灵仙新苷肠吸收动力学[J].*中国新药杂志*,2014,23(5):601-605.
- [15] 徐爱萍,薛文静,陈新梅,等.雪菊水提物对小鼠肠道形态结构的影响及马里昔在大鼠体内肠吸收特性研究[J].*山东中医药大学学报*,2021,45(6):799-805,854.
- [16] 中国营养学会.中国居民膳食指南:2022[M].北京:人民卫生出版社,2022.
- [17] CDE.药物非临床药代动力学研究技术指导原则[DB/OL],(2014-05-13)[2018-04-04]. <http://www.cde.org.cn/attachmentout.do?mothed=list&id=5264>.
- [18] 马国.山楂叶总黄酮吸收机理与吸收调控研究[D].成都:四川大学,2007.
- [19] ZHOU BEIBEI, LIN CHAO, XIE SAILI, et al. Determination of four omega-3 polyunsaturated fatty acids by UPLC-MS/MS in plasma of hyperlipidemic and normolipidemic subjects [J]. *Journal of Chromatography B*, 2019, 1126-1127(15): 121762.
- [20] 高飞,周菲,甘帅,等.四逆汤全方与拆方主要药效成分肠吸收动力学对比研究[J].*中国中药杂志*,2022,47(18):5064-5070.
- [21] 张琳,马国,蔡卫民,等.炔丙基半胱氨酸的HPLC法测定及其大鼠在体肠吸收[J].*中国医药工业杂志*,2011,42(5): 370-373.
- [22] YU Yi, LU Lin, WANG Ruilin, et al. Effects of zinc source and phytate on zinc absorption by in situ ligated intestinal loops of broilers [J]. *Poult Science*, 2010, 89(10): 2157-2165.
- [23] 胡律江,赵晓娟,郭慧玲,等.基于大鼠在体单向肠灌注模型研究四制香附主成分肠吸收机制[J].*中华中医药杂志*,2021,36(3):1392-1396.
- [24] 叶展.典型膳食油脂胃肠道消化吸收特性及其对肠道健康的影响研究[D].无锡:江南大学,2020.
- [25] 黄婷,蒋学华,马国.牡荆素鼠李糖苷的大鼠在体肠吸收动力学[J].*华西药理学杂志*,2008,23(1):61-63.
- [26] ISABELLE NIOT, HÉLÈNE POIRIER, THI THU TRANG TRAN, et al. Intestinal absorption of long-chain fatty acids: evidence and uncertainties [J]. *Progress in Lipid Research*, 2009, 48(2): 101-115.
- [27] 高惠静,王鑫,李玉玲,等.基于在体单向肠灌注模型探究去氢骆驼蓬碱衍生物HM-Y-A的肠吸收特性[J].*中南药学*,2023,21(3):607-611.
- [28] 宋波.口服药物吸收促进剂应用与开发研究进展[J].*中国药业*,2022,31(22):127-132.
- [29] 邵阿丽.鸦胆子油乳剂药代动力学的研究及直肠给药制剂的开发[D].广州:广东药学院,2014.
- [30] 高霞,王善丽,王佳佳,等.金振口服液的2种成分在大鼠体内的药理学[J].*中国新药杂志*,2023,32(5):522-530.
- [31] 文学平,臧程,田义超,等.银杏内酯B注射液比格犬毒代动力学[J].*医药导报*,2018,37(3):284-288.
- [32] 项琪,周莉玲,张卉,等.鸦胆子油微乳在大鼠体内的药理学研究[J].*中药材*,2007,9:1113-1115.
- [33] 孔令辉,陈济民,姚崇舜,等.沙棘油中 $\alpha$ -LNA在大鼠体内的药理学[J].*中国药理学杂志*,2001,36(9):36-39.