

· 论著 ·

艾力沙坦钾单次给药对自发性高血压大鼠血压的影响

苏凤云^a, 刘伟^a, 王威^b, 张浩^b, 刘爱军^a, 苏定冯^a (第二军医大学, a 药学院药理学教研室; b 第二临床医学院学员队, 上海 200433)

[摘要] 目的 本实验通过观察艾力沙坦钾 (allisartan potassium, ALS3K)对自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats SHR) 单次给药前后血压变化的情况, 研究艾力沙坦钾对 SHR的降压作用及量效关系。方法 SHR随机分为 7 组, 每组 9 只。SHR 麻醉状态下行股动脉插管并造胃瘘管, 恢复 1 d 后, 动物在清醒自由活动状态下, 由计算机连续记录每搏收缩压 (systolic blood pressure, SBP), 舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 和心动间期 (heart period, HP)。记录给药前 1 h 内血压和心动间期作为给药前基础值。然后每组 SHR 经胃瘘管分别给予 0.5% 的羧甲基纤维素钠 (sodium carboxymethylcellulose, CMC-Na)、艾力沙坦酯 (allisartan, ALS-3) 2.5 mg/kg、氯沙坦钾 (losartan potassium, Los) 2.5 mg/kg 和受试药品 ALS3K 各 1.0、2.5、5.0、10 mg/kg 给药后连续记录 6 h SBP、DBP 和 HP 的变化。结果 ALS3K 在 2.5 mg/kg 剂量开始明显降压, 与给药前比较, SBP 和 DBP 分别下降 15/16 mmHg ($P < 0.01$); ALS3K 5.0 和 10 mg/kg 降压效果与 2.5 mg/kg 相近; 各剂量对 HP 没有明显的影响。ALS-3 以及 Los 在 2.5 mg/kg 给药剂量下无明显的降压作用。结论 ALS3K 单次给药能平稳持久地降低 SHR 的血压, 在一定剂量范围内有较好的量效关系。经过结构改造, ALS3K 可以通过更低的给药剂量而获得比 ALS-3 更好的降压疗效。

[关键词] 艾力沙坦钾; 血压; 自发性高血压大鼠; 心动间期

[中图分类号] R 965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)04-0255-04

Effect of a single dose of ALS3K on blood pressure in spontaneously hypertensive rats

SU Fengyun^a, LIU Wei^a, WANG Wei^b, ZHANG Hao^b, LIU Aijun^a, SU Dingfeng^a (Department of Pharmacology, Second Military University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of a single dose of allisartan potassium (ALS3K) on the blood pressure (BP) in spontaneously hypertensive rats (SHR). **Methods** SHR were randomly divided into seven groups ($n = 9$ per group) and given 0.5% CMC-Na, allisartan 2.5 mg/kg, Losartan potassium 2.5 mg/kg, ALS3K 1.0, 2.5, 5.0 and 10 mg/kg respectively. Rats were anesthetized and two catheters were inserted into the lower abdominal aorta via the left femoral artery and the stomach. After 24 h recovery period, the drugs were dissolved in 0.5% carboxymethylcellulose sodium (CMC) and given via a catheter inserted into the stomach. The BP and HP 1 h before drug administration and 6 h after drug administration were determined in conscious freely moving SHR by computer. **Results** Compared to before administration, the BP was significantly decreased by ALS3K at the dose of 2.5 mg/kg (SBP/DBP, 15/16 mmHg ($P < 0.01$)). Similar results were found by ALS3K at the dose of 5.0 and 10 mg/kg. The BP had no change in ALS-3 (2.5 mg/kg) and Los (2.5 mg/kg) treatment groups. HP had no change in any groups. **Conclusion** Compared with the basal values, levels of SBP and DBP after drug administration were significantly decreased dose-dependently by ALS3K. In the way of changing the structure, SHR can be given lower dose by ALS3K to get the same BP reduction as ALS-3.

[Key words] allisartan potassium; hypertensive; spontaneously hypertensive rats; heart period

高血压病在中国成人的发生率高达 18%, 目前我国有 1.6 亿高血压患者。鉴于高血压及其导致的心脑肾的并发症的严重后果, 临床上对于高血压的

治疗非常重视。对于目前临床上使用的五类一线抗高血压药物, 许多文献报道血管紧张素 II 受体亚型 1 (angiotensin II type I receptor, AT₁) 拮抗药是对血压控制效果最好, 并对心血管系统的保护作用优于其他四类药物的一类降压药^[1,2]。

作为 AT₁ 拮抗药的经典药物, 氯沙坦钾 (losartan potassium, Los) 以降压平稳、疗效好、作用时间长、耐受性好等优点, 广泛地应用于各型高血压病的

[基金项目] 国家自然科学基金 (30730106, 30901809), 国家科技部重大专项基金平台建设 (National Science & Technology Major Project (2009ZX09303-002))。

[作者简介] 苏凤云 (1983-), 女, 硕士研究生, E-mail: sufengyun112@163.com.cn。

[通讯作者] 苏定冯, E-mail: dsu2008@gmail.com。

治疗^[3,4]。Los在人体内经肝脏代谢产生许多产物,其中起到降血压作用的主要是羧酸 EXP 3174 其作用与母体类似,以 AT₁ 为靶分子,在受体水平拮抗 AngII 通过 AT₁ 介导的效应,但 EXP 3174 的作用强度较 Los 更大,也更为专一。Los 经代谢转化后仅 14% 可转化为 EXP 3174 其它成分虽也具有一定的降压效力,但活性仅为 EXP 3174 的 3%^[5-7]。艾力沙坦酯 (alisanan ALS-3) 是一种口服沙坦类抗高血压新药,其在体内经酯酶水解全部转化为单一成分 EXP 3174 其与氯沙坦相比,起效更快,代谢产物更少,相应的毒性更小^[7]。理论上讲因 ALS-3 水解代谢后全部转化为 EXP 3174,而氯沙坦仅 14% 转化,那么在相同给药剂量时,ALS-3 的降压作用应较氯沙坦有显著性增强,但先前的实验结果^[8]显示 ALS-3 降压绝对值与氯沙坦相近,区别并不明显。我们考虑可能是因为 ALS-3 在体内的生物利用度太低造成;为此,本实验采用 ALS-3 的钾盐剂型,即艾力沙坦钾 (alisanan potassium, ALS3K),以自发性高血压大鼠 (spontaneously hypertensive rats, SHR) 为研究对象,研究艾力沙坦钾对 SHR 的降压作用及量效关系,并通过比较二者在降压疗效方面的差异,确定药物生物利用度改进情况。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 受试药物: ALS3K (上海艾力斯医药科技有限公司,批号: 20090304), ALS-3 (上海艾力斯医药科技有限公司,批号: PALS3 081201), Los (上海艾力斯医药科技有限公司,批号: 20081202); CMC-Na (中国医药集团上海化学试剂公司)。盐酸氯胺酮注射液 0.1 g / 2 ml (上海中西药业股份有限公司)。地西洋注射液 10 mg / 2 ml (上海旭东海普药业有限公司)。动态血流动力学监测系统: 微型计算机 (联想天麟 11106C / I. 2G); 压力换能器 (复旦大学电子工程系 PT14M 2 型生理实验压力传感器); 压力信号放大器 (第二军医大学 MPA-2000 生物信号分析系统); 单通道转动装置 (美国 Spalding Medical products); 恒速推注泵 (浙江医科大学仪器厂 WZ-50G 注射机)。

1.2 动物分组 SHR 63 只,由第二军医大学实验动物中心提供。雄性: 35 只,4 月龄,体重 230~290 g 雌性: 28 只,5 月龄,体重 150~190 g 动物随机分为 7 个组: 溶媒对照组: 0.5% CMC-Na ALS3K 1.0 mg/kg 剂量组; ALS3K 2.5 mg/kg 剂量组; ALS3K 5.0 mg/kg 剂量组; ALS3K 10 mg/kg 剂量组; ALS-3 2.5 mg/kg 剂量组; Los 2.5 mg/kg 剂量组。每组 9 只 SHR。

1.3 实验流程 把 63 只 SHR 按每组 9 只 (5 雄 4 雌),随机分为 7 组。手术前大鼠禁食不禁水一晚,参照文献^[9,10]进行手术操作,手术当天用地西洋 5 mg/kg + 盐酸氯胺酮 50 mg/kg 腹腔注射麻醉后,仰卧固定于鼠板上。经左侧股动脉插入自制动脉导管至低位腹主动脉用于测量血压,然后进行胃造瘘插管。胃管和动脉导管均经背部皮下至颈部切口处引出。动物术后置恒温 (23~25 °C)、光亮自动切换的动物室恢复 24 h 期间禁食不禁水。次日将动物接入清醒自由活动大鼠血压监测装置稳定 3~4 h 动脉导管经灌注三通管与压力换能器连接。由计算机实时记录每搏收缩压 (systolic blood pressure, SBP),舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 和心动间期 (heart period, HP)。待血压稳定后,记录一个小时的 SBP、DBP 和 HP 作为基础值,然后按 5 ml/kg 的容积经由胃管给药 (除 0.5% 的 CMC 外,其余药物均现用现配)。给药后连续记录 6 h 的 SBR、DBP 和 HP。给药后各个小时的 SBR、DBP 和 HP 值的平均值,作为给药后的 SBR、DBP、HP 值。

1.4 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,给药前后数据的比较采用成对 *t* 检验法统计, $P < 0.05$ 为具有统计学差异, $P < 0.01$ 为有显著的统计学差异。

2 实验结果

2.1 ALS3K 单次给药对 SHR 血压的影响 对 SBP 的影响: ALS3K 2.5, 5, 10 mg/kg 3 个剂量组均呈现较明显的平稳的降压作用,降压效果相近。以上三组剂量,给药后第一小时 SBP 下降最快,下降幅度最大,给药后第二小时达到最大降压效果,较基础值下降约 15 mmHg 以后 4 h 稳定维持在此最大降压水平,与基础值比较有明显统计学差异 ($P < 0.01$)。除去个别小时外,ALS3K 1.0 mg/kg 剂量组、ALS-3 2.5 mg/kg 剂量组和 Los 2.5 mg/kg 剂量组降压作用较基础值均不显著 ($P > 0.05$)。见图 1。

对 DBP 的影响: ALS3K 2.5, 5, 10 mg/kg 三个剂量组均呈现较明显的平稳的降压作用,降压效果相近。以上三组剂量,给药后第一小时 DBP 下降最快,下降幅度最大,给药后第二小时达到最大降压效果,较基础值下降约 16 mmHg 以后 4 h 稳定维持在此最大降压水平,与基础值比较有明显统计学差异 ($P < 0.01$)。除去个别小时外,ALS3K 1.0 mg/kg 剂量组和 Los 2.5 mg/kg 剂量组降压效果较基础值均不显著 ($P > 0.05$), ALS-3 2.5 mg/kg 剂量组给药后前 5 个小时有明显的降压效果 ($P < 0.05$)。见图 2。

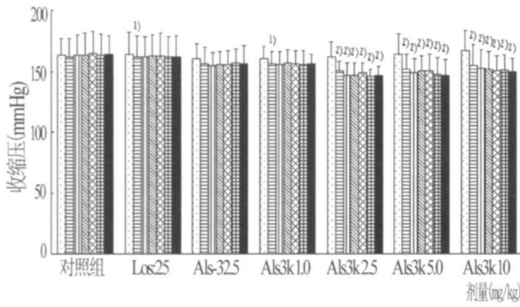


图1 ALS3K单次给药对自发性高血压大鼠的收缩压的影响

¹⁾ $p < 0.05$, ²⁾ $p < 0.01$, 与基础值比较
□-基础值, ▨-1 h, ▩-2 h, ▪-3 h, ▫-4 h, ▬-5 h, ■-6 h

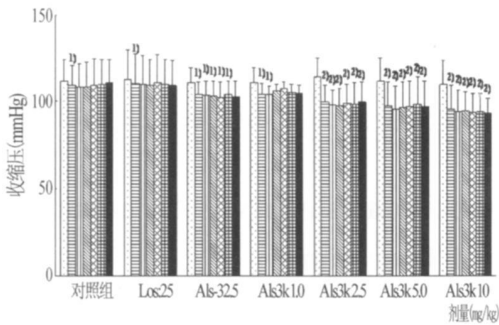


图2 ALS3K单次给药对自发性高血压大鼠的舒张压的影响

¹⁾ $p < 0.05$, ²⁾ $p < 0.01$, 与基础值比较
□-基础值, ▨-1 h, ▩-2 h, ▪-3 h, ▫-4 h, ▬-5 h, ■-6 h

2.2 ALS3K 单次给药对 SHR 心动间期的影响

ALS3K 2.5, 5, 10 mg/kg 三个剂量组及 Los 2.5 mg/kg, ALS-3 2.5 mg/kg 剂量组对心动间期均无明显影响。见图 3

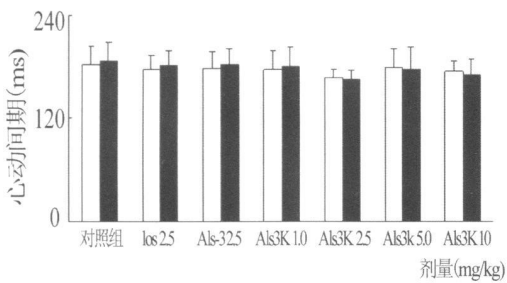


图3 ALS3K单次给药对自发性高血压大鼠的心动间期的影响

¹⁾ $p < 0.05$, ²⁾ $p < 0.01$, 与基础值比较
□-基础值 ■-给药后6h平均值

3 讨论

结果显示: ALS3K 在 2.5 mg/kg 剂量组有明显和平稳的降压作用, 给药后 SBP 和 DBP 较基础值分别下降 15 和 16 mmHg。在相同给药剂量下, Los 无明显的降压效果, ALS-3 对 SBP 无明显的降压效果。参照本教研室吴明月等人在 ALS-3 对 SHR 血压影

响的急性实验结果^[8]可知, ALS3K 在 2.5 mg/kg 剂量组给药后与 ALS-3 7.5 mg/kg 剂量组给药后血压下降值相当或更佳, 说明 ALS3K 的生物利用度有较大地提高。

Los 作为沙坦类降压药物的一种, 通过其在体内的代谢产物竞争性地与 AT₁ 结合, 阻断 AngII 引起的收缩血管和正性肌力等生理学作用而发挥降压效应^[11]。自 Los 第一个被美国 FDA 批准以后, 经结构改造发现了 L-158 809 咪唑啉酮类化合物、苯并咪唑类化合物、喹啉类化合物 D8731、嘧啶类化合物 A-81828 以及 SKF108566 等化合物^[12]。Los 在肝脏经细胞色素 P450 酶代谢, 形成有药理活性的产物为羧酸 EXP3174 转化率为 14%。EXP3174 活性比 Los 约强 10~40 倍, pKa 为 2.8 蛋白结合率大于 99%, 半衰期约为 6~9 h 且对 AT₁ 以外受体没有活性, 因此较 Los 降压作用进一步加强和持久^[5]。ALS3K 和 ALS-3 经水解代谢后全部转化为 EXP3174 理论上在药物剂量和生物利用度相同情况下, ALS3K 和 ALS-3 具有相同的降压效果, 并且二者作用应该高于 Los。而我们在实验中发现, ALS3K 在 2.5 mg/kg 剂量下, 就可以显著地降低动物血压, 最大降压幅度为 15 mmHg 而 ALS-3 和 Los 在相同剂量下, 对 SHR 血压没有显著地影响。说明二者的生物利用度均显著地低于 ALS3K。

在本实验中, 我们将 ALS3 改造为其钾盐形式, 即为 ALS3K, 使其生物利用度有了显著的提高, ALS3K 2.5 mg/kg 作用效果等同于 ALS3 在 7.5 mg/kg 的作用, 极大地节省了药物使用成本, 也减少了药物与剂量相关的一些不良反应发生的机率。由于大多数高血压病人需要终身用药, 所以这一新剂型的研发, 对于病人减少开支, 减轻可能的不良反应发生具有重要的临床意义。

【参考文献】

- [1] Briscoe DJ, Honour AJ, Pickering GW, et al. Diminished baroreflex sensitivity in high blood pressure[J]. Circulation 1969; 39(1): 48
- [2] chobanian AV, Bakris GL, Black HR, et al. Seventh report on the Joint National Committee on Prevention Detection Evaluation and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 (Express) Report[J]. JAMA, 2003; 289(19): 2560.
- [3] Tsunoda K, Abe K, Hagino T, et al. Hypotensive effect of losartan, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, in essential hypertension[J]. Am J Hypertens 1993; 6(1): 28
- [4] Rakugi H, Ogihara T. The usefulness of a new class antihypertensive drug: angiotensin II receptor antagonist for essential hypertension[J]. Nippon Rinsho 1999; 57(5): 1141.

组与对照组差别在第 1周即出现。

3.2.4 患者对瘙痒症状评分 直观模拟尺法评分试验组于治疗后第 1、2、3、4周时明显下降, 平均治疗前后差值为 4.62 ± 2.2 与对照组的 2.3 ± 1.6 相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

3.3 安全性 治疗组外用他克莫司后, 9例局部出现不同程度灼热、瘙痒等不适感, 无需特殊处理, 均于 2~3 d后消失; 对照组外用丁酸氢化可的松软膏后, 3例出现一过性皮肤发红、刺痛, 停药后消失。所有实验室检测指标平均值治疗前后比较, 差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

4 讨论

手部湿疹在普通成年人中的患病率是 10%, 好发于既往有特应性皮炎和接触性过敏反应的患者, 以及从事“潮湿工作的人员”增加了病假率和失业率, 加重了社会经济负担^[3]。外用糖皮质激素制剂是治疗手部湿疹常用的方法, 但长期应用易导致皮肤萎缩变薄、毛细血管扩张、色素沉着等不良反应, 并且慢性手部湿疹由于皮肤的屏障功能已遭到破坏, 大多数对传统的治疗方法不敏感^[1]。患者迫切需要一种有效的、非皮质类固醇激素的外用制剂。

Schlimann等^[2]的先导性研究显示, 他克莫司软膏可作为慢性职业性手部皮炎的有效治疗选择, 从而减少外用皮质类固醇的使用; KrejciManwaring等^[4]的研究显示, 他克莫司软膏可以明显改善手部湿疹的鳞屑和苔藓化, 并且有延缓复发的趋势。国内一项他克莫司软膏治疗慢性手部湿疹的临床观察中, 显示他克莫司软膏治疗慢性手部湿疹具有良好的疗效和安全性^[5]。

本试验结果显示, 0.1% 他克莫司软膏组与丁酸氢化可的松乳膏组有效率分别为 83.7% 和 46.5%, 两者相比差异均有高度统计学意义 ($P < 0.05$)。

0.1% 他克莫司软膏在缓解手部湿疹瘙痒症状和各项主要体征、降低皮损受累面积方面均明显优于丁酸氢化可的松乳膏组, 一般均在治疗后 1~2周内即显出明显疗效。医生和患者对治疗的总体评估亦显示 0.1% 他克莫司软膏均优于丁酸氢化可的松乳膏组 ($P < 0.05$)。

安全性分析表明, 0.1% 他克莫司软膏常见的不良反应为局部刺激, 如瘙痒和皮肤烧灼感, 但多为轻到中度, 持续时间短, 一般发生在治疗早期, 一般不需作特殊处理或停药, 即可自行缓解。总之, 试验结果表明, 0.1% 他克莫司软膏治疗慢性手部湿疹, 疗效肯定, 安全性好。

【参考文献】

- [1] Kyllonen H, Remitz A, Mandelin M, *et al* Effects of 1-year intermittent treatment with topical tacrolimus monotherapy on skin collagen synthesis in patients with atopic dermatitis [J]. *Br J Dermatol* 2004, 150(6): 1174
- [2] Schlimann S, Kellerer D, Bauer A, *et al* Tacrolimus ointment in the treatment of occupationally induced chronic hand dermatitis [J]. *Contact Dermatitis* 2008, 58(5): 299.
- [3] Meding B, Jarvholm B Hand eczema in Swedish adults changes in prevalence between 1983 and 1996 [J]. *J Invest Dermatol* 2002, 118(4): 719.
- [4] Krejci Manwaring J, McCarty MA, Canacho F, *et al* Topical tacrolimus 0.1% improves symptoms of hand dermatitis in patients treated with a prednisone taper [J]. *J Drugs Dermatol* 2008, 7(7): 643.
- [5] 王秋枫, 张昊, 夏汝山, 等. 他克莫司软膏治疗慢性手部湿疹临床观察 [J]. *华国防医药*, 2009, 21(6): 22.
- [6] Thaci D, Steimeyer K, Ebeling ME, *et al* Occlusive treatment of chronic hand dermatitis with pimecrolimus cream 1% results in low systemic exposure, is well tolerated, safe and effective [J]. *Dermatology* 2003, 207(1): 37.

[收稿日期] 2010-06-10

[修回日期] 2010-07-19

(上接第 257页)

- [5] Wong PC, Price WA, Chiu AT, *et al* Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. XI. Pharmacology of EXP3174, an active metabolite of DuP 753, an orally active antihypertensive agent [J]. *J Pharmacol Exp Ther* 1990, 255(1): 211.
- [6] Munafò A, Christin Y, Nussberger J, *et al* Drug concentration response relationships in normal volunteers after oral administration of losartan, an angiotensin II receptor antagonist [J]. *Clin Pharmacol Ther* 1992, 51(5): 513.
- [7] Stearns RA, Chakravarty HK, Chen R, *et al* Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily members [J]. *Drug Metab Dispos* 1995, 23(2): 207.
- [8] Wu MY, Ma XJ, Yang C. Effects of losartan, a new AT1 receptor

blocker, on blood pressure and end-organ damage in hypertensive animals [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(3): 307.

- [9] Liu AJ, Ma XJ, Shen FM, *et al* Arterial baroreflex: a novel target for preventing stroke in rat hypertension [J]. *Stroke* 2007, 38(6): 1916.
- [10] Liu AJ, Ling G, Wu J, *et al* Arterial baroreflex function is an important determinant of acute cerebral ischemia in rats with middle cerebral artery occlusion [J]. *Life Sci* 2008, 83(11-12): 388.
- [11] Goodfriend T I, Elliott M E, Cart K J Angiotensin receptors and their antagonists [J]. *N Engl J Med*, 1996, 334(25): 1649.
- [12] 张万年, 现代药物设计学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 680.

[收稿日期] 2009-12-22

[修回日期] 2010-01-19