

单缬螺复方对 Beagle 犬的长期毒性研究

李 欣, 李 斌, 赵 涛, 高 雷, 牟丽丽, 杨 鉴*

鲁南制药集团股份有限公司新药安评中心, 山东 临沂 273400

摘 要: **目的** 观察 Beagle 犬连续 6 个月 *po* 单硝酸异山梨酯、缬沙坦、螺内酯复方 (ISMN-V-S) 降压药物所产生的毒性反应, 比较 3 种药物联合应用后, 毒性是否增加或产生新的毒性。**方法** 健康 Beagle 犬 40 只, 雌雄各半, 分为 5 组, 空白对照组、单缬螺复方 15、50、150 mg/(kg·d) 及缬沙坦对照组, 每组 8 只动物。给药体积为 5 mL/kg, 每日 *ig* 给药 1 次, 每周给药 6 d, 连续给药 26 周, 停药观察 4 周。实验期间, 每日进行一般状态观察, 每周测定 1 次体质量及摄食量, 并于给药前、给药第 13、26 周及停药恢复期第 4 周, 分别对眼科、体温、尿常规、心电图、血液学及血液生化学进行检查, 在给药期结束前及恢复期结束前测量动物血压, 末次给药后及恢复期结束后分两批对动物剖检并进行病理组织学检查。**结果** 各组动物行为活动、饮食、饮水正常。动物体质量、摄食量组间无差异。试验进行过程中进行的眼科、体温、尿常规、心电图、血液学及血液生化学等指标的检查, 未见异常。各给药组动物血压同空白对照组比较明显降低, 停药后恢复正常。组织病理学检查, 除个别动物肾脏发生自发性病变, 其他动物未见明显病理器官改变。**结论** 本试验条件下, 单缬螺复方降压药物除药理作用延伸引起的血压降低外, 未出现药物的蓄积现象, 同各成分单独使用相比, 未见毒性增加或产生新的毒性。

关键词: 单缬螺复方; 长期毒性; 单硝酸异山梨酯; 缬沙坦; 螺内酯

中图分类号: R965.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2014)01-0047-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.011

Long term toxicity study of Isosorbide Mononitrate Valsartan Spironolactone Compound in Beagle's dogs

LI Xin, LI Bin, ZHAO Tao, GAO Lei, MOU Li-li, YANG Jian

Center for New Durg Safety Evaluation of Lunan Pharmaceutical, Linyi 273400, China

Abstract: **Objective** To observe the toxicity of (ISMN), Valsartan, and Isosorbide Mononitrate Valsartan Spironolactone (ISMN-V-S) Compound in Beagle's dogs for 6 months by oral administration, and to compare whether the toxicity increased or new toxicity was generated after three ingredients combined application. **Methods** Forty healthy Beagle's dogs, half male and half female, were randomly divided into control, Valsartan, low-, mid-, and high-dose [15, 50, and 150 mg/(kg·d)] ISMN-V-S Compound groups, eight in each group. Dose volume was 5 mL/kg, with *ig* administration for 26 weeks once daily, 6 d per week, and observed for 4 weeks after the last administration. During the experiment, the general conditions of animals were observed daily. Body weight and food consumption were weighed weekly. The related indexes including ophthalmology, body temperature, urinary routine, electrocardiogram, blood routine, and blood biochemistry were detected at different time points such as before administration, weeks 13 and 26 of administration, and week 4 in recovery period. Blood pressure were measured at the end of administration and at the end of recovery period, then the dogs were dissected and histopathologic examination was carried out. **Results** The states of behavior, food and drink intake in each group were normal. No significant differences in weight and food consumption among groups were observed. The indexes of ophthalmology, body temperature, urinary routine, electrocardiogram, blood routine, and biochemistry during the experiment were normal. The blood pressure in all the drug groups declined obviously compared with the control group, but returned to normal after drug withdrawal. No obvious pathological changes in organs were observed except spontaneous lesions in kidney appeared in few animals. **Conclusion** No accumulative antihypertensive effect is observed in ISMN-V-S Compound groups. The toxicity was not increased or generated compared with all ingredients used alone.

Key words: Isosorbide Mononitrate Valsartan Spironolactone Compound; long term toxicity; isosorbide mononitrate; Valsartan; spironolactone

收稿日期: 2013-09-06

作者简介: 李 欣 (1979-), 男, 硕士研究生, 主要从事药理毒理实验研究。E-mail: ss07ss@163.com

*通信作者: 杨 鉴 E-mail: 13573984731@163.com

单纯收缩期高血压 (ISH) 是老年高血压的最常见类型, 占老年高血压患者的 79.8%, 如何在降低收缩压 (SBP) 的同时不过分降低舒张压 (DBP), 是降压治疗中的一个难点。目前抗高血压药物虽然品种繁多, 但对于老年单纯收缩期高血压患者, 尚没有十分理想的治疗药物。不同类别的降压药物联合应用能较单一用药更大幅度地降低血压, 对于很多高血压患者来说, 单一药物治疗并不能使血压降至理想水平, 而单一药物剂量的增加常伴随不良反应的加大, 此时最佳的选择便是联合用药^[1-2]。针对 ISH 研发单硝酸异山梨酯 (ISMN)、缬沙坦 (Valsartan)、螺内酯 (Spironolactone) 复方降压药物 (单缬螺复方降压药物), 可以有效提高降压效果并起到器官保护作用, 本研究即针对单缬螺复方降压药物进行 Beagle 犬的长期毒性实验, 观察连续给药后机体产生的毒性反应、靶器官、损害的可逆性等, 为本品临床试验人的安全剂量设置提供参考^[3-4]。

1 材料与方法

1.1 受试药物

单缬螺复方降压药物由山东某研发单位提供, 该复方由缬沙坦、单硝酸异山梨酯、螺内酯根据不同含量配比组成, 成人临床最大用量为 100 mg/d, 复方中缬沙坦的含量最大, 单硝酸异山梨酯和螺内酯的用量远低于临床报道的使用剂量, 因此该复方长期毒性试验的剂量确定以缬沙坦的剂量为主要参考剂量, 并根据复方高剂量组中缬沙坦的用量, 另设缬沙坦对照组, 以比较是否毒性增加或产生新的毒性。检测试剂均为市售, 由美国雅培及深圳越华科技有限公司提供。

1.2 仪器

SLM 眼科裂隙灯显微镜检查仪, 重庆康华科技有限公司; SP2006 型心电图分析系统, 北京软隆生物技术有限公司; Cell-Dyn3700 型血液分析仪, 美国雅培公司; BP—98E 型智能无创血压计, 北京软隆生物技术有限公司; BS—200 型全自动生化分析仪, 深圳迈瑞生物医疗股份有限公司; Clinitek Status 型尿液分析仪, 德国拜耳公司; MI—921D 型全自动电解质分析仪, 深圳越华科技发展有限公司。

1.3 动物分组及给药

Beagle 犬 40 只, 雌雄各半, 购入时年龄 > 6 月龄, 体质量 6~8 kg, 由南京安立默科技有限公司提供, 生产许可证号 SCXK (苏) 2005-0003。适应性观察驯养 1 个月, 完成外观体征、行为活动、摄食

量、体质量、体温、心电图、血液学和血液生化学等指标数据采集, 所有动物均未见异常。40 只 Beagle 犬随机分为 5 组, 每组 8 只, 雌雄各半, 设空白对照组、缬沙坦对照组 [120 mg/(kg·d)] 及单缬螺复方低、中、高 [15、50、150 mg/(kg·d)] 剂量组。供试品使用前用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 溶液制备成混悬液, 每日 ig 给药 1 次, 给药体积为 5 mL/kg, 空白对照组给予等体积的溶媒, 每周给药 6 d, 连续给药 26 周, 停药观察 4 周。

1.4 指标检测

(1) 每日进行一般状态观察, 观察动物行为活动、饮食饮水、排便等。(2) 每周测定 1 次体质量及摄食量, 并根据体质量及时调整动物给药量。(3) 给药第 13、26 周及恢复期第 4 周完成眼科、体温、尿常规、心电图 (II 导)、血液学、血液生化学指标检测。血液学指标包括: 红细胞计数 (RBC)、红细胞容积 (HCT)、网织红细胞计数 (Ret)、血小板计数 (PLT)、血红蛋白 (Hb)、平均红细胞血红蛋白 (MCH)、平均红细胞容积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、白细胞计数及其分类 (WBC)。血液生化学指标包括: 天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP)、肌酸激酶 (CK)、尿素 (UREA)、肌酐 (CREA)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、葡萄糖 (GLU)、总胆红素 (T-Bil)、总胆固醇 (TC)、 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -GT)、三酰甘油 (TG)、氯离子 (Cl^-)、钾离子 (K^+)、钠离子 (Na^+)。(4) 在给药期结束前及恢复期结束前, 测量动物血压, 分两批对动物剖检并进行病理组织学检查, 组织病理学检查的器官: 脑 (大脑、小脑、脑干)、脊髓 (颈、胸、腰段)、垂体、胸腺、甲状腺、甲状旁腺、食管、唾液腺、胃、小肠、大肠、肝脏、胆囊、肾上腺、肾脏、胰腺、脾脏、肺、气管、心脏、主动脉、睾丸、附睾、子宫、卵巢、乳腺、前列腺、膀胱、眼 (眼科检查发现异常时)、视神经、坐骨神经、骨髓、肠系膜淋巴结。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行数据处理, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 定量指标采用单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计学检验, 定性指标使用频数计数描述, 采用秩和检验进行分析。

2 结果

2.1 一般状态及生长发育

实验期间无因药物致死的动物, 各组动物活动

正常, 皮毛光滑, 口、鼻、眼及生殖器官无异常分泌物, 排便、排尿正常, 体质量及摄食量增长稳定, 停药观察 4 周后, 亦无明显异常变化。

2.2 眼科、体温、尿常规及心电图 (II 导)

各组动物给药第 13、26 周及停药第 4 周, 眼科、体温、尿常规及心电图 (II 导) 检查无明显差异。

2.3 血压

末次给药后各给药组动物血压明显降低, 同空白对照组比较差异明显 ($P < 0.05$), 复方高剂量组同缬沙坦对照组比较, 收缩压略有降低, 但差异无统计学意义。停药 4 周后, 各给药组动物血压恢复正常, 与空白对照组比较无差异。见表 1。

表 1 单缬螺复方对 Beagle 犬血压指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of ISMN-V-S Compound on blood pressure indexes of Beagle's dogs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	给药末期 (n = 8)			恢复期结束 (n = 2)		
		SBP	DBP	MBP	SBP	DBP	MBP
对照	—	169.94 ± 8.40	118.89 ± 9.34	136.22 ± 9.99	163.75 ± 9.06	117.08 ± 8.73	129.83 ± 8.14
缬沙坦	—	124.96 ± 16.42*	79.04 ± 14.67*	97.21 ± 10.94*	164.83 ± 6.68	115.33 ± 7.36	121.00 ± 4.24
单缬螺复方	15	132.56 ± 16.96*	81.33 ± 18.53*	98.28 ± 15.00*	170.42 ± 5.18	119.33 ± 8.78	123.00 ± 6.13
	50	127.54 ± 16.67*	79.04 ± 18.82*	98.63 ± 16.78*	166.67 ± 7.41	112.83 ± 8.71	133.83 ± 1.18
	150	116.95 ± 13.49*	77.57 ± 16.45*	92.81 ± 13.92*	169.67 ± 6.94	115.83 ± 2.71	127.50 ± 4.71

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

2.4 血液学、血液生化学指标变化

给药期间, 缬沙坦组于给药第 13 周及低剂量组于给药第 26 周, 淋巴细胞 (LYM) 低于同期空白对照组 ($P < 0.05$), 停药 4 周后, 各给药组中性粒细胞 (NEU) 及 LYM 与同期空白对照组出现较大差异, 但因上述血液学指标变化均在正常参考值范围内^[5], 判断该差异无生物学意义。ALP 在动物不同生长周期内检测值发生较大变化, 但在同一时期内组间比较未见差异, 且肝脏血液生化学指标及组织病理学检查均未见异常, 考虑 ALP 发生较大变化原因可能与动物生长周期有关。见表 2~3。

2.5 脏器系数及病理组织学检查

称质量并计算脏器系数的器官: 脑、心脏、肝脏、肾脏、肾上腺、胸腺、脾脏、睾丸、附睾、卵巢、子宫、肺脏, 上述器官在给药结束及停药恢复期后, 脏器湿质量及脏器系数进行组间比较, 未见明显差异。组织病理学检查: 泌尿系统空白对照组 (1/8) 和中剂量组 (1/8) 各有 1 例轻度肾脏改变, 出现肾小管变性、坏死、蛋白管型、间质有轻度的慢性炎细胞浸润等症状外, 其他受试动物肾脏均未见明显的病理改变, 说明中剂量组肾脏的改变并非与给药相关, 可能为动物的自发改变^[6], 各组动物其他组织器官病理学检查未见明显病理学改变。

3 讨论

供试品是由单硝酸异山梨酯、缬沙坦、螺内酯

组成的复方制剂, 其中单硝酸异山梨酯^[7]是一种长效的硝酸酯类药物, 在体内巯基的作用下, 可形成外源性 NO, 直接舒张大动脉血管平滑肌, 使脉搏波速度明显减弱延迟, 从而选择性降低 SBP, 而 DBP 几乎无变化; 缬沙坦^[8]是血管紧张素受体抑制剂, 主要作用是选择性地竞争抑制血管紧张素 II 受体与血管紧张素 II 1 型受体 (AT1) 结合, 强效阻断肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统 (RAAs), 扩张全身血管, 从而起到降压作用; 螺内酯^[9]作为一种利尿剂可减少血容量而使血压降低, 也可以降低血管僵硬, 同时它又是醛固酮的竞争性抑制剂, 可与醛固酮竞争性的结合醛固酮受体, 阻止醛固酮-受体复合物的形成, 从而防止心肌间质纤维化和心肌结构病理性重构。这三种药物均起到一定的降压作用, 但是螺内酯在减少血容量而使血压降低的同时会激活 RAAs 系统, 由此引发的血管收缩和醛固酮分泌增高会部分抵消其降压作用, 而血管紧张素受体抑制剂 (ARB) 缬沙坦则可以阻断 RAAs 系统, 两药联用使降压作用进一步增强, ARB 还可降低因醛固酮增加而引起的低血钾等不良反应。因此, 缬沙坦与螺内酯联用既可以加强降压作用, 又减轻了不良反应。

单硝酸异山梨酯、缬沙坦、螺内酯安全性已有大量文献报道。缬沙坦临床安全性良好, 不良反应极低, 临床偶见转氨酶增高, 现有动物毒性试验资

表2 单缬螺复方对 Beagle 犬血液学指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)
 Table 2 Effects of ISMN-V-S Compound on hematological indexes of Beagle's dogs ($\bar{x} \pm s$)

组别	时期	WBC/ ($10^9 \cdot L^{-1}$)	WBC 分类/%					RBC/ ($10^{12} \cdot L^{-1}$)
			NEU	LYM	MONO	ESO	BASO	
对照	给药前	11.58±1.39	76.20±13.00	19.52±14.54	1.70±1.82	2.50±2.42	0.12±0.27	6.59±0.61
	给药 13 周	10.22±2.57	70.57±11.96	26.39±10.48	1.02±0.88	1.69±1.88	0.35±0.40	7.31±0.33
	给药 26 周	10.57±2.98	76.38±12.66	17.93±11.77	2.86±1.98	2.13±2.02	0.70±0.71	7.08±0.45
	停药 4 周	8.50±0.76	58.25± 4.88	36.15± 6.29	0.27±0.11	5.24±1.54	0.06±0.04	7.04±0.46
缬沙坦	给药前	10.66±1.98	76.38±10.72	16.62±12.42	1.89±2.44	5.08±3.79	0.05±0.13	6.60±0.52
	给药 13 周	10.88±2.62	83.13± 9.50	11.23± 9.20*	2.97±2.54	1.98±3.46	0.71±1.16	7.03±0.70
	给药 26 周	9.63±1.87	68.60±11.47	21.91±12.86	3.06±3.04	5.51±2.92	0.91±1.06	7.25±0.47
	停药 4 周	9.68±1.49	72.80±10.04	22.65±15.63	0.38±0.08	4.14±5.59	0.02±0.03	6.42±0.46
单缬螺复方 15 mg·kg ⁻¹	给药前	11.22±1.53	74.70±13.66	19.93±13.54	2.96±3.31	2.00±3.14	0.42±0.65	7.12±0.53
	给药 13 周	8.96±3.59	75.95±11.34	18.70±13.64	2.74±2.40	1.90±2.76	0.68±0.78	7.52±0.20
	给药 26 周	9.96±2.28	85.22± 7.99	8.78± 9.73*	4.18±2.35	0.92±1.56	0.91±0.27	7.33±0.66
	停药 4 周	8.40±0.28	77.35±18.03	22.28±18.00	0.36±0.05	0.01±0.01	0.00±0.00	7.12±0.02
单缬螺复方 50 mg·kg ⁻¹	给药前	10.42±2.48	76.36±13.39	19.08±13.66	1.80±2.30	2.63±3.68	0.14±0.31	6.40±0.30
	给药 13 周	8.50±1.66	75.32±10.76	17.40±14.70	2.92±2.01	3.48±4.67	0.86±1.32	6.96±0.33
	给药 26 周	9.93±3.06	69.96± 9.28	25.85±10.77	1.58±2.59	2.22±3.43	0.36±0.56	7.46±0.32
	恢复期 4 周	9.30±1.70	74.40±21.78	23.54±19.17	0.24±0.00	1.84±2.58	0.00±0.00	7.09±0.52
单缬螺复方 150 mg·kg ⁻¹	给药前	10.42±1.13	75.22±10.36	17.46±12.53	2.63±2.96	4.56±6.53	0.10±0.22	6.62±0.66
	给药 13 周	8.88±2.18	70.50±11.30	23.06±14.08	2.98±2.60	2.50±2.81	0.95±1.20	7.26±0.46
	给药 26 周	9.02±1.39	75.70±13.86	19.69±14.56	2.38±2.50	1.76±2.97	0.48±0.52	7.40±0.64
	停药 4 周	11.38±2.57	73.05±24.54	21.36±25.94	1.34±1.60	3.93±0.61	0.32±0.41	7.13±0.85
组别	时期	HGB/(g·L ⁻¹)	HCT/%	MCV/fL	MCH/pg	MCHC/(g·L ⁻¹)	PLT/($10^9 \cdot L^{-1}$)	Ret/%
对照	给药前	148.00±11.49	41.65±3.04	63.33±2.63	22.48±1.41	354.83±11.75	235.87±102.48	2.31±0.58
	给药 13 周	173.00± 5.97	47.30±1.36	64.70±1.46	23.65±0.47	365.67± 3.61	267.50± 66.42	1.91±1.00
	给药 26 周	166.00± 9.92	45.93±2.43	64.93±1.57	23.45±0.68	360.83± 3.87	286.00± 63.51	1.28±0.92
	停药 4 周	161.50±14.85	44.95±4.17	63.70±1.84	22.90±0.57	359.50± 2.12	213.75±195.52	1.34±0.22
缬沙坦	给药前	144.75±10.61	41.10±2.63	62.38±2.81	21.98±1.44	352.12± 8.04	250.24±100.48	2.10±0.71
	给药 13 周	166.57± 9.93	44.90±3.84	64.03±1.82	23.87±1.95	372.43±21.63	292.86± 69.58	1.85±0.30
	给药 26 周	166.75± 9.41	45.91±3.05	63.36±1.69	23.00±0.46	363.38± 4.87	274.85±117.42	1.89±0.35
	停药 4 周	142.50± 2.12	41.10±3.96	64.05±1.63	22.25±1.34	347.50±28.99	294.00± 66.47	1.50±0.04
单缬螺复方 15 mg·kg ⁻¹	给药前	153.83±14.76	43.82±4.00	61.57±1.48	21.60±0.82	351.00± 7.56	260.83±117.40	1.81±0.70
	给药 13 周	169.83± 6.34	46.73±1.75	62.22±2.08	22.57±0.72	363.17± 1.47	262.00± 35.86	1.80±0.28
	给药 26 周	167.67±16.79	46.12±4.49	62.90±1.08	22.85±0.39	363.50± 3.02	286.67±100.51	1.67±0.54
	停药 4 周	158.00± 4.24	43.80±0.57	61.50±0.57	22.20±0.57	361.00± 5.66	229.00± 50.91	1.74±0.18
单缬螺复方 50 mg·kg ⁻¹	给药前	138.38±10.38	39.31±1.93	61.49±3.53	21.64±1.84	351.38±11.56	223.96±118.31	2.16±0.60
	给药 13 周	157.63± 8.47	43.29±2.12	62.18±1.83	22.66±0.77	364.38± 2.88	260.12± 57.45	1.88±0.26
	给药 26 周	168.13± 5.03	46.21±1.54	62.01±1.98	22.53±0.74	363.25± 4.53	267.75± 57.03	1.75±0.18
	恢复期 4 周	159.00± 4.24	44.15±0.92	62.35±3.32	22.45±0.92	360.50± 3.54	170.50± 99.70	1.44±0.30
单缬螺复方 150 mg·kg ⁻¹	给药前	145.00±11.58	41.35±3.92	62.50±1.46	21.96±0.89	351.38± 9.88	297.12±115.18	1.93±0.52
	给药 13 周	167.14±10.56	45.96±3.02	63.34±1.25	23.03±0.37	363.86± 3.34	306.71± 94.24	1.74±0.33
	给药 26 周	171.57±15.46	47.01±4.19	63.59±0.60	23.17±0.39	364.57± 7.02	287.57± 96.27	1.84±0.24
	停药 4 周	165.00±16.97	45.80±5.66	64.25±0.21	23.15±0.35	360.50± 6.36	201.50± 7.78	1.54±0.08

表3 单缬螺复方对 Beagle 犬血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Effects of ISMN-V-S Compound on blood biochemical indexes of Beagle's dogs ($\bar{x} \pm s$)

组别	时期	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)	ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	GLB/ (g·L ⁻¹)	A/G
对照	给药前	3.49±0.58	0.39±0.08	3.67±0.44	34.67± 3.67	39.17±11.92	55.20±2.71	26.52±1.07	28.68±2.84	0.93±0.11
	给药 13 周	3.57±0.46	0.43±0.16	4.27±1.00	33.50± 4.14	40.17± 8.42	57.90±2.18	27.30±1.00	30.60±1.97	0.90±0.06
	给药 26 周	3.73±0.53	0.51±0.13	4.12±0.40	40.83± 9.41	37.17± 9.58	59.82±5.38	28.13±1.46	31.68±5.05	0.90±0.12
	停药 4 周	4.10±0.25	0.54±0.22	4.64±1.40	38.00±21.21	36.50±10.61	65.00±3.39	32.35±1.77	32.65±1.63	0.99±0.00
缬沙坦	给药前	3.91±0.20	0.46±0.16	3.89±0.97	32.88± 4.79	33.50± 8.77	55.81±2.27	25.76±1.27	30.05±2.54	0.86±0.10
	给药 13 周	3.61±0.27	0.42±0.08	4.17±0.55	30.13± 3.83	36.63± 7.40	57.30±4.22	26.86±1.22	30.44±3.55	0.89±0.09
	给药 26 周	4.07±0.38	0.46±0.11	4.14±0.54	33.63± 3.38	35.63± 3.74	58.20±1.82	27.18±0.90	31.46±1.74	0.86±0.07
	停药 4 周	3.50±0.88	0.38±0.11	3.58±1.07	35.00± 1.41	43.50± 5.62	73.75±2.90	32.30±2.83	41.45±0.07	0.78±0.07
单缬螺复方 15 mg·kg ⁻¹	给药前	3.98±0.42	0.54±0.25	3.57±0.64	31.50± 5.75	36.83± 6.27	55.53±3.00	25.98±2.20	29.55±3.61	0.89±0.16
	给药 13 周	3.71±0.33	0.38±0.07	3.87±0.34	28.33± 7.28	38.33± 7.68	57.62±4.38	25.90±1.88	31.72±5.47	0.84±0.18
	给药 26 周	3.94±0.35	0.55±0.13	4.16±0.53	32.33± 7.37	39.33± 7.17	60.28±4.07	27.08±1.59	33.20±5.35	0.84±0.16
	停药 4 周	3.87±0.11	0.46±0.00	3.65±0.61	28.00± 1.41	56.50±12.02	75.55±4.17	29.65±0.07	45.90±4.24	0.65±0.06
单缬螺复方 50 mg·kg ⁻¹	给药前	3.89±0.32	0.44±0.09	3.69±0.54	35.38± 7.21	39.13± 4.02	55.80±3.07	25.59±1.79	30.21±3.91	0.86±0.15
	给药 13 周	3.63±0.35	0.41±0.06	4.11±0.73	32.13± 6.33	40.25± 7.17	60.59±3.32	26.35±1.16	34.24±3.98	0.78±0.11
	给药 26 周	3.83±0.94	0.59±0.09	3.98±0.52	35.88± 8.34	44.00±10.39	61.45±5.15	26.03±1.20	35.42±5.70	0.76±0.14
	恢复期 4 周	3.75±0.07	0.40±0.08	3.71±0.37	32.00± 1.41	54.50± 0.71	67.35±7.85	31.50±0.85	35.85±8.70	0.91±0.24
单缬螺复方 150 mg·kg ⁻¹	给药前	3.73±0.30	0.46±0.08	3.28±0.35	37.75±11.61	40.13± 8.81	55.66±1.36	26.52±0.91	29.14±1.91	0.91±0.08
	给药 13 周	3.70±0.19	0.40±0.12	3.87±0.79	34.38±10.45	36.00± 4.76	57.26±4.62	26.09±2.04	31.17±3.10	0.84±0.07
	给药 26 周	4.43±0.29	0.52±0.12	3.44±0.57	42.71±14.81	39.00± 4.04	59.16±4.12	27.50±1.34	31.77±3.61	0.87±0.10
	停药 4 周	4.09±1.03	0.53±0.14	3.31±0.20	31.00± 4.24	52.00± 2.83	66.30±6.36	31.60±0.56	34.70±5.80	0.92±0.14
组别	时期	γ -GT/ (U·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	CK/ (U·L ⁻¹)	UREA/ (U·L ⁻¹)	CREA (μ mol/L)	T-B (μ mol/L)	K ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Na ⁺ / (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mmol·L ⁻¹)
对照	给药前	8.00±0.63	147.00±80.30	189.33± 63.06	5.85±1.43	84.60±11.24	2.07±0.60	4.85±0.35	147.08± 0.72	113.60± 3.38
	给药 13 周	8.67±0.82	86.83±26.39	181.50± 79.52	5.61±0.98	96.15±14.49	2.25±0.80	4.73±0.34	152.28± 0.45	114.83± 1.94
	给药 26 周	6.67±0.82	68.17±17.61	159.00± 45.55	5.41±1.60	88.40±15.07	2.03±1.22	5.39±0.90	187.55±32.52	136.22±19.33
	停药 4 周	8.00±0.00	33.00±8.48	122.50± 3.54	5.34±0.80	88.65± 8.13	1.55±1.20	5.14±0.11	165.45± 6.44	125.20± 3.39
缬沙坦	给药前	7.13±2.10	90.88±16.46	160.88± 45.42	4.80±1.06	74.25± 8.69	1.80±0.74	5.03±0.25	146.88± 1.91	113.11± 2.04
	给药 13 周	8.50±0.93	68.50±12.22	173.63± 62.72	4.51±0.60	84.84± 7.45	1.90±0.44	4.98±0.11	152.90± 1.20	116.15± 1.76
	给药 26 周	6.38±0.52	51.50± 9.72	154.88± 43.97	4.91±0.87	78.41±10.22	1.34±0.46	5.07±0.22	164.05± 3.54	122.40± 3.09
	停药 4 周	6.00±0.00	36.00±25.46	238.00±120.21	5.44±1.06	83.75± 0.50	1.60±0.14	5.26±0.01	142.40±29.84	111.75±16.05
单缬螺复方 15 mg·kg ⁻¹	给药前	7.67±1.86	90.83±25.32	218.17±109.32	4.43±1.21	73.82±13.32	1.62±0.67	5.40±0.23	148.05± 1.24	113.73± 1.57
	给药 13 周	8.17±0.75	60.50±13.84	181.50± 41.18	4.06±0.51	86.28±16.31	2.28±0.97	4.84±0.44	153.33± 1.05	116.37± 0.31
	给药 26 周	6.67±0.52	50.17±15.14	203.67±139.59	4.27±0.57	76.25±10.45	1.58±0.91	4.98±0.29	164.87± 2.01	121.87± 1.64
	停药 4 周	7.00±1.41	30.00±12.73	164.50± 16.26	3.87±0.81	80.10±16.69	1.60±0.14	5.75±0.91	195.00±43.98	143.60±24.46
单缬螺复方 50 mg·kg ⁻¹	给药前	8.75±0.89	101.25±29.56	214.63± 71.75	5.24±1.50	77.84±11.42	1.56±1.37	4.78±0.28	146.92± 1.88	113.95± 1.86
	给药 13 周	7.75±0.89	64.13±10.18	173.75± 83.56	5.52±1.08	89.88± 9.98	2.11±0.74	4.70±0.28	153.85± 2.29	116.22± 1.31
	给药 26 周	6.75±1.16	58.50±14.88	247.50±187.23	4.96±1.08	81.45±10.91	1.22±0.74	5.02±0.28	162.08± 1.84	121.11± 1.93
	恢复期 4 周	7.50±0.71	32.00±21.21	149.50± 21.92	5.08±0.54	84.30±17.82	1.50±0.42	5.40±0.13	178.85± 3.75	136.15± 1.34
单缬螺复方 150 mg·kg ⁻¹	给药前	8.50±0.76	95.88±24.85	251.13±101.01	4.86±1.22	80.22± 8.93	1.51±0.83	5.08±0.37	146.90± 2.54	113.41± 2.69
	给药 13 周	8.00±1.73	71.86±20.83	154.00± 45.50	5.92±2.34	95.34± 6.20	1.93±1.06	4.86±0.44	156.19± 3.92	118.24± 2.69
	给药 26 周	5.71±0.95	56.71±14.91	168.29± 41.30	4.56±0.35	86.44± 8.72	1.74±1.05	4.88±0.29	163.94± 1.56	123.20± 1.62
	停药 4 周	7.00±0.00	32.00± 5.66	151.00± 7.07	3.80±0.50	93.55±14.21	2.25±0.92	5.86±0.29	181.10±24.89	136.55±16.90

料表明,大鼠 600 mg/kg 连续 ig 3 个月,除水摄入量和尿量增加、雄性大鼠轻度肾小球增生和嗜碱细胞增加、雌性大鼠肾小球输入小动脉肥大外,未见其他不良反应。单硝酸异山梨酯长期过量使用,可出现高铁血红蛋白血症,螺内酯大剂量服用可见高钾血症、胃肠道反应、低钠血症以及抗雄激素样作用,虽然上述 3 种药物各有一定的不良反应,但在 3 种药物联合应用后,随着使用剂量的降低,由于该复方中单硝酸异山梨酯及螺内酯用量极低,因此二者不良反应的发生率亦随之降低。本实验中,Beagle 犬 ig 给予单缬螺复方 15、50、150 mg/(kg·d) (分别约相当于拟临床人用剂量的 10、35、105 倍),除药理作用延伸引起的血压降低外,未见不良反应的发生,亦未见新的毒性产生。

参考文献

- [1] 华琦,刘力松. 解读 2005 年《中国高血压防治指南(修订版)》(续),高血压治疗中收缩压与脉压的临床意义 [J]. 中国心血管病研究杂志, 2007, (4): 481-483.
- [2] Chobanian A V, Bakris G L, Black H R, *et al.* The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure the JNC 7 report [J]. *JAMA*, 2003, 289(19): 2560-2572.
- [3] 国家食品药品监督管理局. 化学药物长期毒性试验技术指导原则 [S]. GPT2-1.
- [4] 袁伯俊,廖明阳,李波. 药物毒理学实验方法与技术 [M]. 第一版. 北京: 化学工业出版社. 2007: 213-214.
- [5] 陈云,池景锋,何永恒,等. Beagle 犬不同生长时期的血液学指标 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(5): 304-306.
- [6] 罗灼玲,张立群,李文,等. 实验动物比格犬自发性病变的研究 [J]. 广州中医药大学学报, 1999, 16(2): 151-154.
- [7] 中华医学会心血管病学分会. 硝酸酯在心血管疾病中规范化应用的专家共识 [J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(9): 770-774.
- [8] Waldmeier F, Flesch G, Muller P, *et al.* Pharmacokinetics, disposition and biotransformation of [14C]-radiolabelled valsartan in healthy male volunteers after a single oral dose [J]. *Xenobiotica*, 1997, 27(1): 59-71.
- [9] Hans W P M, Overdiek, Walter A J J. New insights into the pharmacokinetics of spironolactone [J]. *Clin Pharmacol Therap*, 1985, 38(4): 469-474.