

咖啡酸类衍生物 hit 1 对肾血管性高血压大鼠的降压作用研究

张建丰¹, 曹米林¹, 梁琦², 延保国^{1*}(1.西安市第八医院药剂科, 西安 710061; 2.西北大学生命科学学院, 西安 710069)

摘要:目的 对血管紧张素 II 1 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT₁R)的特异性拮抗剂 hit 1(咖啡酸类衍生物)进行体内药效学评价。方法 制作双肾双夹高血压大鼠模型, 设定假手术组、高血压模型组、缬沙坦组(8.3 mg·kg⁻¹)和 hit 1 低、中、高剂量组(5, 15, 30 mg·kg⁻¹), 每日 8:00 灌胃给药 1 次, 持续 4 周。从大鼠体质量、血压、心率、心重指数以及组织形态学五方面系统评价 hit 1 的体内药效学。Western blotting 分析 hit 1 对大鼠股动脉 AT₁R 表达量的影响。结果 大鼠双肾双夹手术后, 平均收缩压和舒张压分别达到(153.87±7.03)mmHg 和(116.50±8.68)mmHg, 提示高血压大鼠造模成功。与模型组相比, hit 1 中、高剂量组与缬沙坦组作用相当, 能以剂量依赖性的方式显著降低肾性高血压大鼠的血压, 且不影响其心率; 而 hit 1 低剂量组血压无显著改善。组织形态学研究证明 hit 1 能够改善大鼠高血压所致的心肌细胞肥大, 降低心重指数; 且能够通过显著降低壁腔比的方式改善肾性高血压大鼠股动脉血管壁的顺应性与抵抗力。Western blotting 结果表明, hit 1 能特异性作用于 AT₁R, 显著降低其在大鼠股动脉血管中的表达。结论 化合物 hit 1 在大鼠体内的抗高血压活性显著, 具有进一步深入开发的价值。

关键词: 咖啡酸衍生物; 血管紧张素 II 1 型受体; 抗高血压

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)05-0626-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20214304

引用本文: 张建丰, 曹米林, 梁琦, 等. 咖啡酸类衍生物 hit 1 对肾血管性高血压大鼠的降压作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(5): 626-631.

Anti-hypertensive Effect of a Caffeic Acid Derivative hit 1 on Renovascular Hypertensive Rats

ZHANG Jianfeng¹, CAO Milin¹, LIANG Qi², YAN Baoguo^{1*}(1.Department of Pharmacy, The Eighth Hospital of Xi'an City, Xi'an 710061, China; 2.College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the *in vivo* pharmacodynamic of a specific antagonist of angiotensin II type 1 receptor(AT₁R) named hit 1(caffeic acid derivatives). **METHODS** The rat's hypertension model by a two-kidney two clip(2k2c) method was performed. The rats were divided into 6 groups including sham group, model group, valsartan group (8.3 mg·kg⁻¹), hit 1 low, middle and high dose group(5, 15, 30 mg·kg⁻¹). These groups were orally administered at 8:00 once a day for 4 weeks. The *in vivo* pharmacodynamics of hit 1 was evaluated from 5 aspects including body weight, blood pressure, heart rate, cardiac mass index and histomorphology. And the effect of hit 1 on the expression of AT₁R in rat femoral artery was determined by Western blotting. **RESULTS** The mean systolic and diastolic blood pressure values of the rats after the 2k2c operation were (153.87±7.03)mmHg and (116.50±8.68)mmHg, indicating that the model of renovascular hypertensive rats was established successfully. Compared with the model group, hit 1 medium and high dose groups had the same effect as valsartan group, and could significantly reduce the blood pressure of renovascular hypertensive rats in a dose-dependent manner, without affecting their heart rate. However, the blood pressure of low dose hit 1 group was not significantly improved. Histomorphological studies showed that hit 1 could improve cardiac hypertrophy induced by hypertension in rats and reduce cardiac weight index. Moreover, hit 1 could also enhance the compliance and resistance of the femoral artery wall in renovascular hypertensive rats by significantly reducing the ratio of membrane area to cavity area. The result of Western blotting showed that hit 1 could significantly decrease the expression of AT₁R in rat femoral arteries. **CONCLUSION** This work provide potential possibilities for further evaluation of hit 1 which have significant antihypertensive activity in rats.

KEYWORDS: caffeic acid derivative; angiotensin II type 1 receptor; anti-hypertensive

高血压作为常见病, 其创新药物研发一直是医药领域的重点^[1]。血管紧张素 II 1 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT₁R)是肾素-血管紧张素系统的主要效应蛋白, 与高血压、冠心病

和心律失常等心血管类疾病密切相关, 主要分布在人体的肾脏、心脏、血管等器官, 是绝大部分已知心血管疾病的重要靶点^[2-3]。

中药具有多靶点的治疗优势, 在高血压等相

作者简介: 张建丰, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: zhangjf202112@163.com

*通信作者: 延保国, 男, 副主任药师 E-mail: 13709188719@163.com

关心血管疾病的防治中取得了确切的疗效。在目前的临床实践中,丹参多酚酸盐注射液、复方丹参滴丸等药物已经成功应用于心血管疾病的治疗中。然而,中药多以复方用药,依然存在成分复杂、靶点不明等不足。因此,高效发现中药活性成分,在相关靶点活性成分的基础上进行创新药物研发已成为新药开发的重要途径。

在前期的工作中,笔者采用受体色谱法^[4-6]从丹参、当归、三七等活血药中筛选得到了阿魏酸、咖啡酸、原儿茶酸和没食子酸等一系列酚酸化合物。该类化合物能特异性得作用于AT₁R,然而与临床药物相比,这些成分普遍活性较低。因此,笔者拟通过结构修饰进一步提升其活性。

以阿魏酸、咖啡酸、原儿茶酸和没食子酸为母核,经结构修饰和活性筛选^[7-8]得到了咖啡酸类酰胺衍生物hit 1^[9]。经前期体外评价,该化合物能够特异性作用于AT₁R,其结合常数为 $5.43 \times 10^6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,解离速率常数为 0.0579 min^{-1} 。为进一步评价hit 1的体内活性,本研究以该衍生物为研究对象,采用双肾双夹法构建肾性高血压大鼠模型,观察其对肾性高血压大鼠血压以及心率的影响。

1 材料

BP-2010A 大小鼠无创血压测量仪(北京软隆生物有限公司);R206D 旋转蒸发器(上海申生科技有限公司);Ts2-FL 倒置显微镜(日本尼康公司);0.3 mm 肾动脉银夹(上海奥尔科特生物科技有限公司);12号大鼠灌胃直针(北京铭泰佳信科技有限公司); $\Delta 1/2 6 \times 14$ 三角缝合针(河南省显达医疗器械有限公司);L530 多管架自动平衡离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

10%水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号:30037517);80万单位注射用青霉素[石药集团中诺药业(石家庄)有限公司,批号:20200716];缬沙坦(上海毕得医药科技股份有限公司,批号:1020760);医用碘伏(北京洁美达经贸有限公司,批号:202003);伊红染液(批号:SNM352)、苏木精染液(批号:BTN160253)均购自西安依科生物有限公司;多聚甲醛溶液(上海阿拉丁有限公司,批号:F111941);山羊抗兔二抗(比玛特生物医药有限公司,批号:EK020);重组血管紧张素II 1型受体抗体[艾博抗(上海)贸易有限公司,批号:ab124734]。

SPF级雄性Sprague-Dawley大鼠70只,体质量90~120 g,生产许可证号为SCXK(陕)2018-001,购自西安交通大学医学院动物研究中心。动物房室内温度 $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$,湿度为50.0%~75.0%,昼夜循环12 h。实验开始前,动物在上述条件下喂养1周以适应周围环境。所有动物实验均按照西北大学动物伦理委员会实验动物指南开展(伦理批号为NWU-AWC-20200801R)。

2 方法

2.1 肾性高血压大鼠模型的制作

按照标准的双肾双夹法^[10-11]对60只体质量90~120 g的雄性SD大鼠行双侧肾动脉收缩术:配置10%水合氯醛,以 $2.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量对大鼠行腹腔注射术,仰卧位固定大鼠,备皮消毒后沿腹部中线纵切,分离双侧肾动脉,用银夹小心钳夹动脉起始部位,手术完成后关腹,缝合皮肤。腹腔注射青霉素($4 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$)预防大鼠术后感染,每日16:00给药1次,连续给药3 d。经连续监测,各组大鼠的血压随时间推移呈现递增趋势,术后2周,手术组大鼠的收缩压和舒张压显著升高,术后4周,手术组大鼠的平均收缩压为 $(153 \pm 7) \text{ mmHg}$,提示高血压大鼠造模成功。

造模结束后,将实验鼠分为6组,每组8只,包括假手术组、模型组、缬沙坦组($8.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和hit 1低、中、高剂量组(5, 15, $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。按照分组进行灌胃给药(采用0.2%吐温20将阳性药和hit 1分别配制成 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液,每日早8时灌胃1次,连续4周),假手术组则给予生理盐水。

2.2 大鼠体质量、血压、心率的测量

采用小型电子秤测量每只大鼠体质量并记录,每日1次。每周测量并记录大鼠血压、心率2次。测量步骤:连接大小鼠无创血压测量仪,设置温度为 37°C ,预热,迅速将大鼠固定,置于预热箱,待大鼠安静,将尾根部固定于感应器探头槽中,测量并记录大鼠尾动脉的收缩压、舒张压以及心率,每组测量3次。

2.3 大鼠心重指数的测量

给药结束后,称重,给予 $2.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的10%水合氯醛麻醉后颈椎脱臼,采用生理盐水进行心脏灌注后切下心脏,吸干残留水分,精确称重。计算大鼠的心重指数/ $\text{g} \cdot (100 \text{ g})^{-1} = \text{心脏质量} / \text{体质量}$ 。

2.4 组织形态学观察

小心切下大鼠股动脉血管及左心室部分,生理

盐水洗涤,多聚甲醛溶液固定心肌组织和股动脉血管,石蜡包埋,切片,行HE染色,树脂封片。通过倒置显微镜观察各组大鼠心肌细胞的结构完整性、排列方式、肥厚程度等指标;观察股动脉血管的血管腔面积和血管壁厚度等指标^[12]。最后,使用NIS-Elements Imaging软件分析各组大鼠股动脉血管总面积和血管腔面积,总面积与腔面积之差即为血管中膜面积,各组大鼠股动脉的壁腔比可根据公式“壁腔比=血管中膜面积/血管腔面积”求得,据此可判断各组大鼠的血管重构情况。大鼠心肌细胞形态的变化情况在普通光镜下(20倍)观察。

2.5 股动脉血管 Western blotting 试验

精密称取各组大鼠股动脉血管 20 mg 剪碎,按质量(g):体积(mL)=1:10的比例加入含有 1 mmol·L⁻¹蛋白酶抑制剂的 RIPA 组织裂解液,低温匀浆后静置 30 min,待组织充分裂解,以 11 000×g,4℃离心 10 min,收集上清液。BCA 试剂盒测定上清液中总蛋白浓度。取一定体积的上清液加入 SDS 缓冲液煮沸 8 min,使蛋白变性。待样品冷却至室温后,离心,分装保存于-20℃用于 Western blotting 分析。配置 SDS-PAGE,将上述各组样品上样,120 V 电压分离蛋白,100 V 转膜 1.5 h,室温封闭 2 h 后洗膜,一抗 4℃孵育过夜,洗膜(5 min×6 次),二抗 37℃孵育 2 h,洗膜(5 min×6 次),显影。

2.6 统计学分析

所有数据采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析,以 $\bar{x} \pm s$ 进行表示,并且运用方差分析和 Dunnett's-*t* 检验的方法分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血压和心率的影响

表 1 总结了连续给药 4 周后各组大鼠的血压

变化情况,结果显示,模型组大鼠在给药 4 周后平均收缩压超过(183±9)mmHg,证实了采用双肾双夹法诱发大鼠高血压的显著效果。经缬沙坦给药干预 1 周后,肾性高血压大鼠的血压显著降低,至给药期结束该组大鼠血压保持正常。就实验组来看,hit 1 在中、高剂量下以剂量依赖的方式显著降低高血压大鼠的收缩压和舒张压,且与缬沙坦给药组差异无统计学意义。通过对给药期间各组大鼠的心率监测发现,hit 1 连续给药 4 周对大鼠的心率无影响。以上结果表明,hit 1 在 15 mg·kg⁻¹ 和 30 mg·kg⁻¹ 的口服给药剂量下能显著降低肾性高血压大鼠的血压,且不影响其心率,结果见表 1~2。

3.2 对大鼠心重指数的影响

模型组大鼠的心重指数较假手术组明显升高($P < 0.05$),经给药干预后,缬沙坦组的心重指数明显下降($P < 0.05$),hit 1 中、高剂量组的心重指数也显著降低($P < 0.05$),而 hit 1 低剂量组与模型组并无显著性差异。该结果提示 hit 1 在 ≥ 15 mg·kg⁻¹ 的给药剂量下能显著降低肾性高血压大鼠的心重指数,对心脏具有一定的保护作用。结果见表 3。

3.3 对大鼠心肌结构的影响

为进一步评价化合物 hit 1 对大鼠心脏的影响,本研究对大鼠心脏组织石蜡切片进行 HE 染色。结果显示,假手术组大鼠的心肌细胞排列紧密,结构完整,而模型组大鼠心肌细胞出现排列紊乱、结构损坏的现象,同时,笔者观察到模型组出现了心肌纤维缺损,心肌细胞边界模糊的病理现象。结果见图 1。

与模型组高血压大鼠相比,hit 1 中、高剂量组大鼠心肌细胞结构排列整齐,组织边界清晰,纤维完整。提示 hit 1 在一定程度上能够改善肾性高血压大鼠的心肌细胞肥大和心肌纤维缺损,进一步证明了 hit 1 对肾性高血压大鼠心脏的保护作用。

表 1 hit 1 连续给药 4 周对大鼠血压的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	收缩压					舒张压				
	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
假手术组	108.87±7.72 ¹⁾	117.87±3.67 ¹⁾	124.62±4.93 ¹⁾	121.62±7.02 ¹⁾	128.25±11.63 ¹⁾	76.25±6.38 ¹⁾	85.25±7.67 ¹⁾	91.00±3.53 ¹⁾	91.37±7.52 ¹⁾	91.50±14.23 ¹⁾
模型组	153.87±7.03 ²⁾	158.37±10.42 ²⁾	164.12±10.67 ²⁾	175.62±9.64 ²⁾	183.12±9.03 ²⁾	116.50±8.68 ²⁾	124.50±9.13 ²⁾	134.00±8.79 ²⁾	141.62±8.91 ²⁾	146.50±11.36 ²⁾
缬沙坦组	151.37±6.34 ²⁾	119.62±5.50 ¹⁾	122.12±8.78 ¹⁾	117.62±8.44 ¹⁾	118.25±10.23 ¹⁾²⁾	113.00±7.51 ²⁾	81.00±15.41 ¹⁾	83.62±19.91 ¹⁾²⁾	90.37±7.62 ¹⁾	77.37±5.38 ¹⁾²⁾
hit 1 低剂量组	157.50±6.48 ²⁾	156.00±8.38 ²⁾	160.25±8.52 ²⁾	170.25±7.52 ²⁾	171.00±10.69 ²⁾	112.25±8.82 ²⁾	117.50±5.61 ²⁾	125.50±6.63 ²⁾	134.62±4.26 ²⁾	134.62±8.72 ²⁾
hit 1 中剂量组	158.87±9.53 ²⁾	137.87±9.71 ¹⁾²⁾	126.50±6.16 ¹⁾	119.37±10.78 ¹⁾	125.25±7.36 ¹⁾	121.37±11.54 ²⁾	102.87±5.68 ¹⁾²⁾	100.25±10.22 ¹⁾²⁾	86.62±10.91 ¹⁾	98.37±10.46 ¹⁾
hit 1 高剂量组	157.25±8.19 ²⁾	124.25±8.38 ¹⁾	116.62±8.07 ¹⁾²⁾	118.62±7.61 ¹⁾	119.37±7.08 ¹⁾²⁾	118.25±5.43 ²⁾	86.25±7.81 ¹⁾	91.00±7.90 ¹⁾	88.62±11.62 ¹⁾	91.62±9.12 ¹⁾

注:与模型组相比,¹⁾ $P < 0.05$;与假手术组相比,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with the sham group, ²⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 hit 1 连续给药 4 周对大鼠心率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 2 Effect of hit 1 on heart rate in rats after 4 weeks of continuous administration($\bar{x} \pm s$, $n=8$) 次·min⁻¹

组别	第 0 周	第 0.5 周	第 1 周	第 1.5 周	第 2 周	第 2.5 周	第 3 周	第 3.5 周	第 4 周
假手术组	344.37±18.11	325.25±24.24	304.75±43.24	312.12±27.55	311.87±39.47	318.87±51.34	328.87±41.48	309.00±41.12	319.87±24.11
模型组	305.12±42.01	333.75±33.85	340.25±36.41	291.37±25.24	308.37±31.64	319.00±36.14	337.12±39.33	343.37±43.22	350.12±24.24
缬沙坦组	341.87±46.32	352.50±29.11	318.37±32.33	304.12±28.32	322.00±48.52	317.12±35.77	302.37±36.64	312.00±24.25	351.25±42.08
hit 1 低剂量组	322.12±46.54	343.12±15.47	313.75±43.87	321.62±36.11	309.37±25.24	329.62±39.07	315.62±28.50	302.50±29.31	328.25±37.14
hit 1 中剂量组	318.00±32.21	322.50±43.64	308.50±30.77	323.75±29.02	325.62±29.63	324.37±40.33	329.50±47.04	325.12±52.25	315.87±17.47
hit 1 高剂量组	345.12±40.82	304.37±34.22	318.37±26.67	323.25±30.08	311.00±36.57	302.37±35.88	344.62±29.45	335.50±40.75	337.12±23.97

表 3 hit 1 连续给药 4 周对大鼠心重指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 3 Effect of hit 1 on heart weight in dextrin rats after 4 weeks of continuous administration($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	心脏质量/g	体质量/g	心重指数/ g·(100 g) ⁻¹
假手术组	0.70±0.08	299.54±29.91	0.23±0.02 ¹⁾
模型组	0.88±0.13	319.18±18.56	0.28±0.04 ²⁾
缬沙坦组	0.72±0.07	312.49±30.61	0.23±0.03 ¹⁾
hit 1 低剂量组	0.85±0.16	313.22±30.83	0.28±0.06 ²⁾
hit 1 中剂量组	0.76±0.07	306.58±27.29	0.25±0.02 ¹⁾
hit 1 高剂量组	0.77±0.07	313.44±18.93	0.25±0.03 ¹⁾

注: 与模型组比 ¹⁾P<0.05; 与假手术组比 ²⁾P<0.05。

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05; compared with the sham group, ²⁾P<0.05.

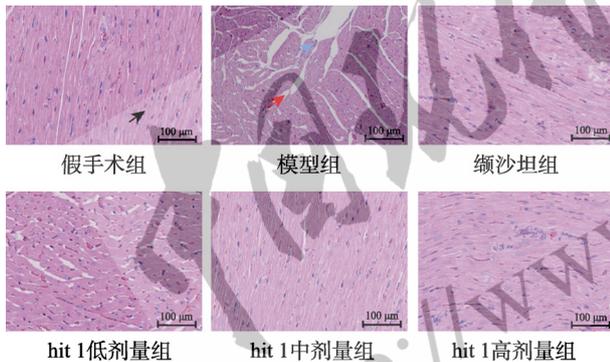


图 1 6 组大鼠的心肌结构(HE, 20×)

▲-正常细胞; ▲-肥大细胞; ▲-缺损细胞。

Fig. 1 Myocardial structure of rats in 6 groups(HE, 20×)

▲-normal cells; ▲-hypertrophic cardiomyocytes; ▲-defective cardiomyocytes.

3.4 对大鼠股动脉血管的影响

通过对各组大鼠股动脉血管的切片分析发现, 模型组大鼠股动脉血管壁较假手术组显著增厚, 血管腔面积显著减小, 壁腔比显著提升, 提示持续高血压损伤了大鼠股动脉。灌胃给药 4 周后, 与模型组比较, 缬沙坦组和 hit 1 中、高剂量组的股动脉壁腔比明显降低($P<0.05$), 而 hit 1 低剂量组无显著性差异, 表明 hit 1 中、高剂量组能够有效降低肾性高血压大鼠股动脉的壁腔比, 改善高血压大鼠股动脉血管壁的顺应性与抵抗力。结

果见图 2 和表 4。

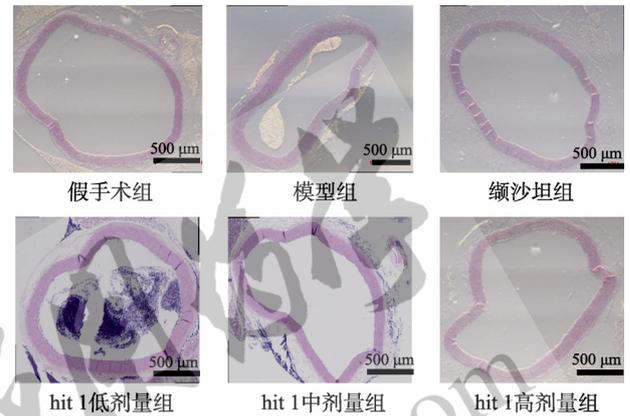


图 2 6 组大鼠股动脉血管结构(HE, 4×)

Fig. 2 Vascular structure of femoral artery of rats in 6 groups(HE, 4×)

表 4 hit 1 连续给药 4 周对大鼠股动脉壁腔比的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab. 4 Effect of hit 1 on wall-cavity ratio of femoral artery in rats after 4 weeks of continuous administration($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	血管中膜面积/mm ²	血管腔面积/mm ²	壁腔比
假手术组	0.55±0.18 ¹⁾	1.71±0.17 ¹⁾	0.32±0.05 ¹⁾
模型组	0.81±0.29 ²⁾	1.20±0.23 ²⁾	0.67±0.05 ²⁾
缬沙坦组	0.51±0.14 ¹⁾	1.30±0.16 ¹⁾²⁾	0.39±0.04 ¹⁾
hit 1 低剂量组	0.80±0.21 ²⁾	1.38±0.21 ¹⁾²⁾	0.58±0.05 ²⁾
hit 1 中剂量组	0.51±0.24 ¹⁾	1.21±0.27 ²⁾	0.43±0.07 ¹⁾²⁾
hit 1 高剂量组	0.60±0.21 ¹⁾	1.27±0.18 ²⁾	0.48±0.03 ¹⁾²⁾

注: 与模型组比 ¹⁾P<0.05; 与假手术组比 ²⁾P<0.05。

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05; compared with the sham group, ²⁾P<0.05.

3.5 对股动脉血管 AT₁R 表达量的影响

采用 Western blotting 技术分析 6 组大鼠股动脉血管中 AT₁R 表达情况, 结果显示, 模型组大鼠蛋白表达量显著增加, 提示高血压大鼠造模成功, hit 15 mg·kg⁻¹(中剂量)和 30 mg·kg⁻¹(高剂量)的给药剂量下, 可以显著降低 AT₁R 的表达量, 具有一定的剂量依赖性, 且高剂量下其对 AT₁R 的抑制作用与阳性药无显著性差异, 提示该化合物通过拮抗 AT₁R 的表达发挥降低血压、保护心肌和改善血

管等药理作用。结果见图 3。

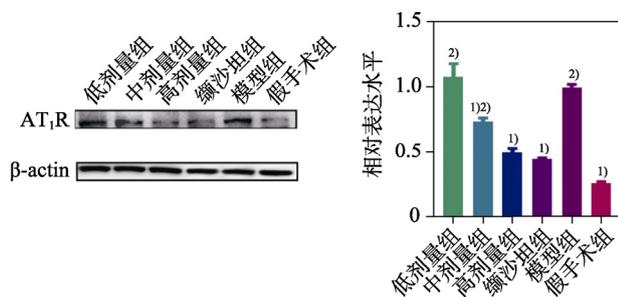


图 3 6 组大鼠股动脉血管组织中 AT₁R 表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

与模型组相比, ¹⁾ $P<0.05$; 与假手术组相比, ²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 3 Expression of AT₁R in femoral artery of rats in six groups ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the sham group, ²⁾ $P<0.05$.

4 讨论

4.1 造模方法的选择

肾性高血压大鼠模型的制作方法主要包括单肾单夹法、双肾单夹法和双肾双夹法。单肾单夹法由于切除了一侧肾脏,在造模后期容易引起大鼠肾衰竭而造成手术组死亡率增加;双肾单夹法只钳夹了单侧肾脏,在模型组血压升高的过程中正常肾脏会产生代偿现象而导致血压出现恢复正常的趋势。而双肾双夹法则改善了以上 2 种方法的不足,而且该模型大鼠的器官损伤单纯由高血压因素引起,更适用于研究单纯由高血压因素引起的器官损伤。因此,本研究采用了双肾双夹的方式制作肾性高血压大鼠模型。

4.2 体内药效学评价

hit 1 在 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的给药剂量下能显著降低肾性高血压大鼠的血压,该剂量较咖啡酸有效剂量($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)有了显著提升^[13]。这可能是由于在 hit 1 的结构修饰过程中引入了与 AT₁R 拮抗剂相似的多肽结构而造成的。该化合物在 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量下连续给药 4 周,未监测到大鼠心率的显著改变,提示 hit 1 并未作用于大鼠心率的相关靶点。

心脏作为高血压病最重要的靶器官之一,其结构和功能极易在长期高血压的情况下发生病变。此类病变最典型和最常见的症状是左心室由于长期代偿而导致的心肌肥厚和扩张,这也是并发高血压性心脏病的基础^[14],任由发展则可能诱发心力衰竭^[15-17]。因此,本研究通过测定各组大鼠的心重指数来评价化合物 hit 1 对高血压大鼠心脏的保护功能。结果表明,在 $15, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂

量下, hit 1 对肾性高血压大鼠的心脏具有一定的保护作用,提示该化合物在预防高血压性心脏病方面具有潜在前景。

长期高血压会增加血流对动脉血管的作用力,造成血管平滑肌细胞的增生和肥大,进而导致动脉血管壁增厚,血管腔变小,使得血管阻力相应增大^[18],因此,高血压并发症血管重构的主要体现是血管壁腔比增大。临床认为,血管重构是高血压疾病的重要病理变化和病情加重的生理基础^[19]。结果证明,在 $15, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量下, hit 1 能显著降低肾性高血压大鼠股动脉壁腔比,提示该化合物在改善血管顺应性方面具有一定的作用。

4.3 对股动脉血管 AT₁R 表达量的影响

中、高剂量组的 hit 1 连续给药 1 周后,股动脉血管 AT₁R 表达量呈剂量依赖性降低。且高剂量组 AT₁R 的表达量与假手术组差异无统计学意义,提示化合物 hit 1 能够特异性作用于 AT₁R,具备成为其特异性拮抗剂的潜力。股动脉血管中 AT₁R 的表达量显著减少,提示化合物 hit 1 可能能够激活细胞膜蛋白质降解相关通路。

5 结论

本研究采用双肾双夹法成功制备了肾性高血压大鼠模型,对化合物 hit 1 的体内药效学研究结果表明,在 $15, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的给药剂量下能够显著降低肾性高血压大鼠的舒张压和收缩压,且不影响大鼠心率;病理切片结果证明,化合物 hit 1 能够抑制心肌细胞肥大,对心肌细胞有一定的修复作用,且不影响其心率。同时,该化合物能够显著降低肾性高血压大鼠的股动脉壁腔比,改善高血压大鼠股动脉血管壁的顺应性与抵抗力。该化合物能够显著降低 AT₁R 的表达,且呈剂量依赖性。综上所述,化合物 hit 1 对高血压具有显著的药理作用,具有进一步深入开发的价值。

REFERENCES

- [1] FU Y Y, HU X H, XUAN J W. Fixed-dose-combinations of olmesartan/amlodipine and valsartan/amlodipine for treatment of essential hypertension: a network meta-analysis[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(24): 3034-3040.
- [2] WEICHERT D, KRUSE A C, MANGLIK A, et al. Covalent agonists for studying G protein-coupled receptor activation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(29): 10744-10748.
- [3] XU R X, MU T Y, NI X L, et al. Meta-analysis of medication adherence among Chinese patients with hypertension[J]. Chin

- J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(19): 2383-2389.
- [4] ZENG K Z, LI Q, WANG J, et al. One-step methodology for the direct covalent capture of GPCRs from complex matrices onto solid surfaces based on the bioorthogonal reaction between haloalkane dehalogenase and chloroalkanes[J]. Chem Sci, 2017, 9(2): 446-456.
- [5] WANG J, WANG Y X, LIU J J, et al. Site-specific immobilization of β 2-AR using O6-benzylguanine derivative-functionalized supporter for high-throughput receptor-targeting lead discovery[J]. Anal Chem, 2019, 91(11): 7385-7393.
- [6] ZHAO X F, JIN Y H, YUAN X Y, et al. Covalent inhibitor-based one-step method for endothelin receptor A immobilization: From ligand recognition to lead identification[J]. Anal Chem, 2020, 92(20): 13750-13758.
- [7] SU W J, GE R, DING D C, et al. Triaging of DNA-encoded library selection results by high-throughput resynthesis of DNA-conjugate and affinity selection mass spectrometry[J]. Bioconjug Chem, 2021, 32(5): 1001-1007.
- [8] SCHEUERMANN J, NERI D. DNA-encoded chemical libraries: A tool for drug discovery and for chemical biology[J]. Chembiochem, 2010, 11(7): 931-937.
- [9] LIANG Q, ZHAO X, FU X Y, et al. Identification of selective ligands targeting two GPCRs by receptor-affinity chromatography coupled with high-throughput sequencing techniques[J]. Bioorg Chem, 2021(112): 104986.
- [10] YANG X M, LU D Q, LI X Y, et al. Two-kidney two-clip method of producing renovascular hypertensive model in rats[J]. Prev Treat Cardio Cereb Vasc Dis(心脑血管病防治), 2009, 9(5): 341-343, 346, 320.
- [11] YANG Z H, SHENG W L, HOU Q H, et al. Establishment and postoperative management of 2K2C renovascular hypertensive model[J]. Chin J Lab Animal Sci(中国比较医学杂志), 2005, 15(2): 92-94.
- [12] HU Y, MA Z H, ZHANG Y J. Experimental Study of miRNA-210 modified MSCs in the treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. J Hainan Med Univ(海南医学院学报), 2020, 26(7): 481-485.
- [13] BHULLAR K S, LASSALLE-CLAUX G, TOUAIBIA M, et al. Antihypertensive effect of caffeic acid and its analogs through dual renin-angiotensin-aldosterone system inhibition[J]. Eur J Pharmacol, 2014(730): 125-132.
- [14] KONG L L, YAN L D, GONG Z H. Endothelins system and myocardial hypertrophy[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2008, 24(9): 1127-1130.
- [15] HUNTER J J, CHIEN K R. Signaling pathways for cardiac hypertrophy and failure[J]. N Engl J Med, 1999, 341(17): 1276-1283.
- [16] MAULIK S K, KUMAR S. Oxidative stress and cardiac hypertrophy: a review[J]. Toxicol Mech Methods, 2012, 22(5): 359-366.
- [17] HUANG C Y, CHEN S Z, WU S J, et al. Pharmaceutical practice of clinical pharmacists participated in a patient with heart failure and hypotension caused by left ventricular noncompaction[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2021, 38(17): 2120-2123.
- [18] HEISTAD D D, BAUMBACH G L. Cerebral vascular changes during chronic hypertension: Good guys and bad guys[J]. J Hypertens Suppl, 1992, 10(7): S71-S75.
- [19] LU Q B, WANG H P, TANG Z H, et al. Nesfatin-1 functions as a switch for phenotype transformation and proliferation of VSMCs in hypertensive vascular remodeling[J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis, 2018, 1864(6): 2154-2168.

收稿日期: 2022-03-18
(本文责编: 李艳芳)