

丙泊酚前药 HX0969w 及磷丙泊酚钠与丙泊酚乳剂灌胃对大鼠的镇静催眠效应及其安全性比较^{*}

王海燕, 杨俊, 殷望, 杨玲慧, 张文胜[△]

四川大学华西医院 神经转化科学中心 麻醉与危重病急救研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 采用序贯法测定大鼠口服(灌胃)HX0969w、磷丙泊酚钠(fospropofol disodium)和丙泊酚乳剂后产生镇静催眠效应的半数有效量(ED_{50}),并观察 3 种药物等效剂量($2ED_{50}$)灌胃大鼠后的镇静催眠作用及安全性。**方法** 采用序贯实验法确定各药物最小剂量和最大剂量后,根据 ED_{50} 计算公式计算 3 种药物的 ED_{50} 。选择 30 只健康 SD 成年大鼠,随机分为 3 组:HX0969w 组($n=10$)、磷丙泊酚钠组($n=10$)和丙泊酚乳剂组($n=10$)。大鼠灌胃给药后立即观察大鼠的神经行为学表现,并记录镇静催眠起效时间和恢复时间。**结果** HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂的 ED_{50} 分别为 96.5 mg/kg、130.0 mg/kg 和 113.8 mg/kg。灌胃等效剂量($2ED_{50}$)的 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂后,大鼠翻正反射消失的平均时间分别是:(10.0 ± 2.9) min、(7.5 ± 2.8) min 和 (16.0 ± 5.9) min;恢复时间的平均值分别为(66.9 ± 21.5) min、(131.9 ± 32.7) min 和 (198.9 ± 110.0) min。**结论** 3 种药物灌胃后均可产生镇静催眠作用且安全。两种丙泊酚前药(HX0969w 和磷丙泊酚钠)灌胃后的镇静催眠起效时间均快于丙泊酚乳剂,且 HX0969w 翻正反射恢复最快。

【关键词】 HX0969w 磷丙泊酚钠 丙泊酚乳剂 ED_{50} 镇静催眠

The Sedative-hypnotic Effects and Safety of Oral Administrated Propofol Prodrugs HX0969w and Fospropofol Disodium in Comparison with Propofol Emulsion in Rats WANG Hai-yan, YANG Jun, YIN Wang, YANG Ling-hui, ZHANG Wen-sheng[△]. Laboratory of Anesthesia and Critical Care Medicine, Translational Neuroscience Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: zhang_ws@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To estimate the median effective dose (ED_{50}) of oral administrated HX0969w, fospropofol disodium and propofol emulsion in rats, and to compare the sedative-hypnotic effects and safety of the three drugs. **Methods** The ED_{50} of the three drugs were determined using sequential method. Thirty healthy adult Sprague-Dawley rats were divided into three groups randomly, being orally administered with HX0969w ($n=10$), fospropofol disodium ($n=10$) and propofol emulsion ($n=10$), respectively. The neurobehavioral performance of the rats was observed. The time of loss of forepaw righting reflex (LRR) and the time of recovery of forepaw righting reflex (RRR) were recorded. **Results** The ED_{50} of oral HX0969w, fospropofol disodium and propofol emulsion were 96.5 mg/kg, 130.0 mg/kg and 113.8 mg/kg, respectively. HX0969w, fospropofol disodium and propofol emulsion had a mean LRR of (10.0 ± 2.9) min, (7.5 ± 2.8) min and (16.0 ± 5.9) min, respectively; and a mean RRR of (66.9 ± 21.5) min, (131.9 ± 32.7) min and (198.9 ± 110.0) min, respectively. **Conclusion** HX0969w, fospropofol disodium and propofol emulsion can produce sedative-hypnotic effects and they are safe when administered by oral route. The two propofol prodrugs HX0969w and fospropofol disodium have shorter LRR than propofol emulsion. HX0969w also has a shorter RRR than fospropofol disodium and propofol emulsion.

【Key words】 HX0969w Fospropofol disodium Propofol emulsion ED_{50} Sedative-hypnotic

丙泊酚是目前临床上常用的静脉全身麻醉药之一,普遍用于全麻的诱导和维持,也可用于门诊短小手术如胃肠镜的检查以及 ICU 患者的镇静,具有起效快、短效、苏醒质量高的药理特点。这些特点使丙泊酚有可能用于术前口服镇静催眠药。有研究显示

口服丙泊酚可以剂量依赖性的对小鼠产生镇静、麻醉作用^[1]。前药设计可以提高原型药的水溶性,增加药物的吸收和减轻不良反应^[2],HX0969w 和磷丙泊酚钠都是丙泊酚的水溶性前药。因此,推测这两种丙泊酚前药在大鼠灌胃后也可产生镇静催眠作用,而且效果可能更好。本研究采用序贯法测定了 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂在大鼠灌胃后的半数有效剂量(ED_{50}),并以等效剂量($2ED_{50}$)对

^{*} 国家自然科学基金(No. 81302640)资助

[△] 通讯作者, E-mail: zhang_ws@scu.edu.cn

大鼠灌胃后记录大鼠翻正反射消失和恢复的时间,观察镇静催眠效应及其安全性。该研究为进一步的实验研究提供了基础数据,同时为以后可能的临床应用提供参考。

1 对象和方法

1.1 实验动物

健康SD大鼠30只,体质量250~350 g,周龄8~10周,雌雄不限,购自四川大学实验动物中心,在室温20~25℃的条件下群居饲养。实验前禁食12 h,不禁水。

1.2 实验药品

HX0969w 白色粉末(由宜昌人福药业有限公司提供,批号:120215);磷丙泊酚钠:白色粉末(由宜昌人福药业有限公司提供,规格:0.5 g,批号:091002),使用时将 HX0969w 和磷丙泊酚钠用0.9%的生理盐水配制成50 mg/mL的无色澄清溶液;口服用丙泊酚乳剂(由丙泊酚纯品和30%脂肪乳混合而成,丙泊酚纯品由济南中科一通化工有限公司提供,脂肪乳由华瑞制药有限公司提供),两者的混匀由粒度分析仪(英国马尔文仪器有限公司)检测,以保证脂肪乳粒径在100~600 nm。

1.3 实验方法

1.3.1 序贯实验法测定各药 ED_{50} 找出各药灌胃大鼠催眠反应率为100%的最小剂量(D_m)和催眠反应率0%的最大剂量(D_n)。方法:选择12只SD大鼠(由四川大学实验动物中心提供),每组4只,按设定的剂量给药,如给予一个剂量后本组4只大鼠翻正反射均消失,则降低一个剂量给药,如翻正反射均未消失,则增加一个剂量,如此来确定 D_m 和 D_n 值。本实验在此范围内分成5个剂量组,根据 D_m 值、 D_n 值和确定的组数(G),按公式1求出公比 r : $r = G^{-1} \sqrt[G]{D_m/D_n}$ 。根据组数 G 和公比 r 计算各组给药剂量,按大鼠体质量计算每只大鼠的给药容量^[3]。

根据上述实验结果,设定 HX0969w 的5个剂量为143.5、117.7、96.5、79.1、64.9 mg/kg。以96.5 mg/kg 为起始剂量,0.82 为剂量组间公比。磷丙泊酚钠5个剂量组为295.8、223.4、168.7、127.4、96.2 mg/kg,剂量组间 r 为0.76,以中间剂量168.7 mg/kg 为初始剂量。丙泊酚乳剂的5个剂量组为150.0、132.0、116.2、102.3、90.0 mg/kg,以116.2 mg/kg 为丙泊酚乳剂的初始剂量,剂量组间公比为0.88。HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚

乳剂组分别取第一只大鼠给予初始剂量,若在初始剂量下大鼠翻正反射消失,记为“+”,则将低一级剂量的药物灌胃下一只大鼠;若翻正反射未消失,记为“-”,则将高一级剂量的药物给予下一只大鼠,如此反复,直到出现6个同向的“+”“-”或“-”“+”交叉点结束。本实验中产生镇静催眠效应的阳性标准为30 min 内大鼠前爪翻正反射消失,镇静催眠效应结束的标准为前爪翻正反射恢复。计算 ED_{50} 的公式为: $ED_{50} = \lg^{-1}(\sum C / \sum t)$ 。 ED_{50} 的95%可信区间计算公式为: $\lg^{-1}(\lg ED_{50} \pm 1.96s \lg ED_{50})$ 。其中, $C = tX$, t 为序贯实验中每组剂量下大鼠产生翻正反射消失的阳性数, X 为每组剂量的对数值。

1.3.2 观察3种药物 $2ED_{50}$ 剂量灌胃后对大鼠的镇静催眠作用以及安全性 将30只SD大鼠随机分为 HX0969w 组、磷丙泊酚钠组和丙泊酚乳剂组,均以 $2ED_{50}$ 药物灌胃,每组10只。

神经行为学变化:分别在灌胃后5、10、15、20、25、30、45、60、90、180、240、300、360、420 min 14个时间点观察大鼠的神经行为学变化,并采用 Shimoyama 镇静评分标准^[4]进行评分。0分:正常;1分:明显的趋触性运动;2分:后退平衡失调(轻微的共济失调);3分:前肢直立不到60°(共济失调);4分:俯卧,不能站立;5分:翻正反射消失。记录大鼠的镇静催眠起效时间(从给药到翻正反射消失的时间,即睡眠潜伏期)和持续时间(翻正反射消失到恢复的时间,即睡眠持续期)。

意识情况:灌胃给药后各时间点观察大鼠神经行为学变化的同时观察大鼠的意识情况,大鼠意识消失的表现为睫毛反射消失。呼吸系统:灌胃给药后观察大鼠有无呼吸抑制,是否还保留自主呼吸,口唇有无发绀等症状。消化系统症状:灌胃给药后观察各组大鼠有无呕吐等症状,饲养7 d 观察能否健康成长、体质量有无增加、有无大鼠死亡。中枢神经系统症状:灌胃给药后观察各组大鼠在翻正反射消失前和翻正反射恢复后的镇静程度,有无精神兴奋症状(兴奋躁动)。评价灌胃给药后 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂的安全性。

1.4 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组之间计量资料比较采用多样本均数的两两比较的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各药 ED_{50} 测定结果

经过序贯实验,最后得出 HX0969w 的 ED_{50} 为 96.5 mg/kg, 95% 可信区间为 (88.9, 104.8); 磷丙泊酚钠的 ED_{50} 为 130.0 mg/kg, 95% 可信区间为 (129.9, 130.1); 丙泊酚乳剂的 ED_{50} 为 113.8 mg/kg, 95% 可信区间为 (113.7, 118.2)。

2.2 2ED₅₀ 剂量灌胃给药后大鼠的神经行为学变化及药物对意识、呼吸系统、消化系统、中枢的影响

HX0969w 组和磷丙泊酚钠组在给药后, 3 min 左右大鼠自主活动便开始减少, 很快出现后肢平衡失调, 随后出现共济失调, 行为评分由 1 分很快转为 3~4 分; 5~10 min 左右大鼠翻正反射消失, 行为评分 5 分。丙泊酚乳剂组在给药后 5 min 左右活动减少, 静卧于笼子边缘, 对外界刺激反应迟钝, 开始处于镇静状态, 行为评分 1 分; 10 min 左右后肢平衡失调; 15 min 左右出现共济失调, 四肢无力, 行为评分 4~5 分; 15~30 min 左右, 翻正反射消失, 评分 5 分。各组大鼠神经行为学评分结果见表 1。

HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂灌胃对大鼠意识状态的影响: HX0969w 组、磷丙泊酚钠组和丙泊酚乳剂组大鼠灌胃给予 2 ED_{50} 药物后, 3 组 30 只大鼠全部入睡, 入睡率 100%, 眼睫毛反射均消失。睡眠时间见表 2, 丙泊酚前药 (HX0969w 和磷丙泊酚钠) 组大鼠的睡眠潜伏时间均快于丙泊酚乳剂 ($P<0.05$), 而 HX0969w 的睡眠持续时间最短 ($P<0.05$)。呼吸系统症状: 3 组大鼠在实验过程中

均能保留自主呼吸, 口唇无发绀症状。消化系统症状: 3 组中只有丙泊酚乳剂组在灌胃给药 1 min 后表现出了呕吐的症状。HX0969w 组和磷丙泊酚钠组均无明显消化系统症状。3 组大鼠饲养 7 d 后, 均无死亡, 毛发色泽正常, 体质量增加, 能够健康成长。中枢神经系统症状: 3 组大鼠在整个实验过程中均无明显的抽搐、躁动等精神兴奋症状, 均表现出静止、镇静状态。

表 1 各组大鼠在不同时间点的神经行为学评分结果 (n=10)
Table 1 The neurobehavioral score of the rats by time (n=10)

Time (min)	HX0969w	Fospropofol disodium	Propofol emulsion
1	1±0.3	0±0	0±0
3	1±0.5	2±1.4	2±0.7
5	5±0.7	5±1.2	4±0.6
10	5±0	5±0	4±0
15	5±0	5±0	5±1.1
20	5±0	5±0	5±0.7
25	5±0	5±0	5±0
30	5±0	5±0	5±0
45	5±0	5±0	5±0
60	5±0	5±0	5±0
90	5±0.6	5±0	5±0
120	3±0	5±0	5±0.3
180	2±0	3±2.8	5±0.7
240	1±0	2±1.0	5±0.6
300	1±0.5	1±0.4	3±1.1
360	1±0.4	1±0.4	2±0.9
420	0±0	0±0	1±0.4

表 2 大鼠口服药物后产生镇静催眠效应的时间和镇静催眠效应消失的时间 (n=10)
Table 2 The time of producing sedative-hypnotic effects of orally administered drugs in rats (n=10)

Group	Dose (mg/kg)	Sleep latency (min)	Sleep duration (min)
HX0969w	193.1	10.0±2.9	66.9±21.5 [#]
Fospropofol disodium	260.0	7.5±2.8	131.9±32.7
Propofol emulsion	227.5	16.0±5.9 [*]	198.9±110.0

* $P<0.05$, vs. fospropofol disodium group and HX0969w group; # $P<0.05$, vs. fospropofol disodium group and propofol emulsion group

3 讨论

序贯法也称上下法, 采用序贯法测定药物的 ED_{50} 具有简便易行、可靠、节约所需动物数和药物的特点。本实验测定丙泊酚乳剂口服的 ED_{50} , 摸索剂量范围时的初始剂量是根据丙泊酚临床常用静脉注射剂量来估计的^[5], 而 HX0969w 和磷丙泊酚钠的初始剂量是根据它们与丙泊酚的摩尔质量比来进行估计。HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂 3 组大鼠在给予 2 ED_{50} (绝对有效量) 药物后均全部入睡, 说明测定得到的 ED_{50} 数据可靠。磷丙泊酚钠是丙泊酚已经上市的磷酸酯水溶性前药, 而

HX0969w 是由本实验室合成的羧酸酯水溶性前药。HX0969w 和磷丙泊酚钠在体内分解后均可释放出活性产物丙泊酚。经计算后得到 HX0969w 的 ED_{50} 值小于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂, 说明 3 种药物达到等效时, HX0969w 所需剂量小于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂, HX0969w 的效价高于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂。

从神经行为学的评分结果可以看出, HX0969w 和磷丙泊酚钠在灌胃后 3 min 左右均开始起效, 0~10 min 和 0~7 min 分别为 HX0969w 和磷丙泊酚钠的睡眠潜伏期, 大鼠此期间自主活动减少, 开始进入镇静状态, 之后出现共济失调, 四肢肌张力降低,

说明中枢神经系统被抑制; 10~70 min 和 7~140 min 分别为 HX0969w 和磷丙泊酚钠的睡眠持续期, 大鼠此期间翻正反射和意识均消失, 对外界刺激无任何反应, 进入深睡眠状态; HX0969w 在 70 min 之后大鼠的翻正反射开始恢复, 直到 240 min 大鼠完全恢复自主活动。磷丙泊酚钠在 300 min 之后基本恢复自主活动。丙泊酚乳剂灌胃后 15 min 左右开始起效, 0~30 min 为睡眠潜伏期, 30~240 min 为睡眠持续期, 240 min 之后大鼠翻正反射开始恢复, 直到 420 min 自主活动能基本恢复正常。因此, 单次用 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂对大鼠灌胃, 可产生有效可逆的镇静催眠效应。丙泊酚乳剂组仅有一只大鼠表现出了呕吐反应, HX0969w 组和磷丙泊酚钠组无不良反应。因此口服给药途径是安全可行的。

HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂对大鼠灌胃后, 两种前药产生镇静催眠效应的时间快于丙泊酚乳剂; 对于镇静催眠效应持续时间, HX0969w 短于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂。并且 HX0969w 的 ED_{50} 小于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂, 由此可以看出 HX0969w 的镇静催眠效能高于磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂。丙泊酚乳剂灌胃后, 睡眠持续时间远远超过 HX0969w, 这可能是由于丙泊酚本身会抑制肝脏 CYP2C11 等多种代谢异丙酚的 P450 同工酶, 从而影响丙泊酚本身在肝脏的代谢^[6]。

目前, 口服术前药在美国和欧洲一些国家应用越来越普遍^[7]。咪达唑仑和氯胺酮早已用于术前口服麻醉^[8], 并已开发出了口服制剂, 为临床用药途径提供了更多选择。本实验将 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂对大鼠灌胃后产生了镇静催眠作用, 若将 3 种药物作口服术前药也是可行的。理想的手术前镇静催眠药应满足以下条件: 起效快、持续时间长, 不良反应少。本实验中 HX0969w 口服后镇静催眠效应产生快, 消失也快, 初步满足上述条件。如果 HX0969w 用于临床术前口服镇静也能满足上述条件, 必将为临床一些短小手术以及仪器检查的药物镇静提供又一选择。特别是现在临床上治疗失眠症以及一些内镜手术使用的口服镇静催眠药如苯二氮卓类和阿片类多为管制性精神类药品, 有一定的成瘾性和依赖性, 管理起来有很多不便之处, 管理

不当会带来较多的社会和法律问题。目前尚无丙泊酚以及丙泊酚前药成瘾的报道, 因此本研究中的 HX0969w 不属于管制类药品, 研究证明其口服后的镇静催眠作用具有更大的实用价值, 但尚需大量的研究来证明。

但是口服药物是否吸收良好还取决于口服药物在体内的生物利用度。丙泊酚在肝脏的首过消除较严重, 口服后可能会减少药物进入体循环的药量, 降低药物的口服生物利用度。HX0969w 和磷丙泊酚钠这两种水溶性的前药有望会增加丙泊酚的吸收, 并提高活性代谢物丙泊酚的生物利用度。两种前药和丙泊酚乳剂的口服药代动力学及生物利用度有待于进一步研究。

口服给药较静脉注射安全性高, 且具有给药方便、经济、患者容易接受等优点尤其是在小儿患者。本研究为口服 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂用于术前的镇静催眠提供了实验基础, 并为探讨 HX0969w、磷丙泊酚钠和丙泊酚乳剂新的临床给药途径提供参考。

参 考 文 献

- 1 王惠霞, 徐礼鲜, 马加海等. 口服丙泊酚对小鼠的麻醉作用与安全性. 临床麻醉学杂志, 2006; 22(4): 280-281.
- 2 Ettayer P, Amidon GL, Clement B, *et al.* Lessons learned from marketed and investigational prodrugs. J Med Chem, 2004; 47(10): 2393-2404.
- 3 孙瑞元. 定量药理学. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 184-208.
- 4 Shimoyama M, Shimoyama N. Oral ketamine is antinociceptive in the rat formalintest role of the metabolite norketamine. Pain, 1999; 81(1): 85-93.
- 5 施新猷. 医用实验动物学. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998: 418-428.
- 6 Yamazaki H, Shimizu M, Nagashima T, *et al.* Rat cytochrome P450 2C11 in liver microsomes involved in oxidation of anesthetic agent propofol and deactivated by prior treatment with propofol. Drug Metab Dispos, 2006; 34(11): 1803-1805.
- 7 Kain ZN, Mayes LC, Bell C, *et al.* Premedication in the United States: a status report. Anesth Analg, 1997; 84(2): 427-432.
- 8 Gupta R, Sharma K, Dhiman UK. Effect of a combination of oral midazolam and low-dose ketamine on anxiety, pain, swelling, and comfort during and after surgical extractions of mandibular third molars. Indian J Dent Res, 2012; 23(2): 295-296.

(2014-06-07 收稿, 2014-09-28 修回)

编辑 汤洁