

· 论 著 ·

新化合物 SIPI5052 对离体血管收缩功能的影响*

徐添颖, 缪朝玉[△]

【摘要】 目的 为了了解抗脑缺血新化合物 SIPI5052 是否具有钙拮抗作用,本研究观察它对去甲肾上腺素或高钾诱导的离体血管收缩功能的影响。**方法** 采用计算机化离体血管功能测定系统观察 SIPI5052 对离体大鼠胸主动脉、家兔胸主动脉和肠系膜动脉收缩功能的影响。**结果** SIPI5052 可明显抑制受试血管去甲肾上腺素或高钾诱导的收缩反应,呈剂量依赖性。在大鼠血管上,起效浓度为 3×10^{-6} mol/L, IC_{50} 为 1.66×10^{-4} mol/L, 100% 抑制浓度为 3×10^{-3} mol/L。在家兔血管上,起效浓度为 3×10^{-4} mol/L, IC_{50} 为 $4.17 \times 10^{-4} \sim 5.37 \times 10^{-4}$ mol/L, 100% 抑制浓度 $\geq 3 \times 10^{-3}$ mol/L。**结论** SIPI5052 具有钙拮抗作用。大鼠血管对 SIPI5052 的反应较家兔血管敏感。钙拮抗作用很可能是 SIPI5052 的抗脑缺血作用机制之一。

【关键词】 哌嗪类; 主动脉; 肠系膜动脉; 收缩反应; 钙通道; 抗脑缺血

【中图分类号】 R-33

【文献标识码】 A

【文章编号】 1606-8106(2006)18-1636-03

Effect of SIPI5052, a new chemical entity, on the contraction of isolated arteries

XU Tian-ying, MIAO Chao-yu. Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

【Abstract】 Objective To study the effect of a new anti-stroke chemical entity SIPI5052 on Ca^{2+} channels, by observing its effect on norepinephrine or KCl induced contraction in isolated blood vessels. **Methods** Using IOX computerized system (EMKA Technologies, Paris, France) to record the changes of isometric tension in isolated rat aorta, rabbit aorta and rabbit mesenteric artery. **Results** SIPI5052 can significantly inhibit norepinephrine or KCl induced contraction in the examined blood vessels and the effect is concentration-dependent. The minimum inhibitory concentration in rat aorta is 3×10^{-6} mol/L, with the IC_{50} value of 1.66×10^{-4} mol/L. The minimum inhibitory concentration in rabbit aorta and mesenteric artery is 3×10^{-4} mol/L, and the IC_{50} value is between 4.17×10^{-4} and 5.37×10^{-4} mol/L. **Conclusion** SIPI5052 can block Ca^{2+} channels. Rat isolated blood vessels are more sensitive to SIPI5052 than rabbit isolated blood vessels. Ca^{2+} channel blocking may be involved in the anti-stroke action of SIPI5052.

【Key words】 piperazines; aorta; mesenteric artery; contraction; calcium channel; anti-cerebral ischemia

SIPI5052 属芳烷甲酰基哌嗪类结构,化学名为 N^1 -苯甲酰甲基- N^4 -苄胺甲酰甲基哌嗪二盐酸盐。本品是上海医药工业研究院定向设计、合成、筛选出的兼有抗局灶性脑梗死作用和对受损脑神经元有保护功能的全新化合物^[1]。SIPI5052 已获得中国发明专利授权,专利号为:ZL 02111614.8,亦已申请美国和欧洲专利,申请号分别为 10/513,699 和 03720098.7。SIPI5052 作为抗脑中风急救用药正在进行一期临床试验,国家食品药品监督管理局的批件号为 2006L01411,被批准的药品名为盐酸非那嗪奈。SIPI5052 可能成为新一代 NMDA 受体多胺调节位点拮抗剂,但目前其脑神经保护作用机理不甚明确。初步的机制研究显示其抗脑缺血的作用与拮

抗 ADP 诱导的血小板聚集无关,并且 SIPI5052 抗 NMDA 受体的作用机制与传统的 NMDA 受体 NR1/NR2A 亚单位拮抗剂不同,可能与阻断兴奋性氨基酸的作用通路有关。本研究目的在大鼠胸主动脉、家兔胸主动脉和肠系膜动脉上,观察一类新药 SIPI5052 对去甲肾上腺素或高钾诱导的血管收缩反应的影响,以明确 SIPI5052 是否具有钙通道阻断作用,进一步阐明其抗脑缺血的机制。

1 材料与方法

1.1 药品 SIPI5052,上海医药工业研究院提供,批号 040107,含量 99.65%;重酒石酸去甲肾上腺素,2mg/ml,上海禾丰制药有限公司生产,批号 030701。氯化乙酰胆碱,美国 SIGMA 公司生产,批号 033K260。Krebs-Henseleit 生理溶液(K-H 液)的组成为(mmol/L):NaCl 118.4, KCl 4.7, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.2, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25.0, Glucose 11.1, $CaNa_2-EDTA$ 0.026。

* 基金项目:国家杰出青年科学基金(No30525045),全国优秀博士学位论文作者专项资金(No200369)

作者单位:200433 上海,第二军医大学([△] 通讯作者)

1.2 仪器 法国 EMKA 公司制造的计算机化离体血管功能测定系统^[2]。

1.3 实验动物 雄性 Sprague - Dawley 大鼠, 体重 350 ~ 450g, 由上海 SIPPR/BK 实验动物中心提供。雄性家兔, 体重 2 ~ 2.5kg, 由第二军医大学实验动物中心提供。

1.4 方法 大鼠采用戊巴比妥 60mg/kg 腹腔注射麻醉, 开胸, 取胸主动脉。家兔采用戊巴比妥耳缘静脉注射麻醉, 先开腹取肠系膜动脉, 再开胸取胸主动脉。将取出的血管立即移入 95% O₂ + 5% CO₂ 饱和的 K - H 生理溶液内, 仔细剔除粘附于动脉周围的脂肪结缔组织, 截取 3mm 左右 (大鼠胸主动脉和家兔肠系膜动脉) 或 5mm 左右 (家兔胸主动脉) 的动脉环。随后用金属钩将动脉环悬置于含 K - H 液, 95% O₂ + 5% CO₂, 37℃ 浴槽中, 一端连接张力换能器及整个计算机化记录系统, 另一端固定。通过观察动脉环等长张力改变以衡量血管的收缩和舒张反应^[2,3]。调节静息张力为 2g (大鼠胸主动脉) 或 2.5g (家兔肠系膜动脉) 或 5g (家兔胸主动脉)^[3,4], 稳定 60min。采用去甲肾上腺素 (10⁻⁷ mol/L) 或高钾 (家兔主动脉, 20mmol/L; 家兔肠系膜动脉, 30mmol/L) 引起血管收缩反应, 用乙酰胆碱 10⁻⁵ mol/L 引起血管舒张反应检验内皮存在与否, 清洗后再稳定 20min 进行分组实验。分别给予不同浓度的试药 SIPI5052 (10⁻⁷ ~ 3 × 10⁻³ mol/L), 孵育 10min 后, 再观察去甲肾上腺素或高钾引起的收缩反应, 计算给药后收缩反应的抑制百分率, 制作量 - 效曲线, 并采用绘图法计算 IC₅₀^[5]。

1.5 数据处理及统计学方法 SIPI5052 对去甲肾上腺素或高钾诱导的血管收缩的抑制作用以去甲肾上腺素 (10⁻⁷ mol/L) 或高钾 (家兔主动脉, 20mmol/L; 家兔肠系膜动脉, 30mmol/L) 引起血管收缩反应的最大张力为基准 (100%), 用张力减少的百分比表示, 绘图法计算 IC₅₀。实验结果用均数 ± 标准误表示。

2 结果

实验显示, 在所有动脉环上均观察到乙酰胆碱引起的血管舒张反应, 表明血管内皮存在。SIPI5052 对大鼠和家兔的主动脉血管及肠系膜血管的收缩反应均有抑制作用, 呈剂量依赖性。在大鼠主动脉上, SIPI5052 10⁻⁶ mol/L 时对去甲肾上腺素诱导的血管收缩的平均抑制率为 1.48%, 3 × 10⁻⁶ mol/L 时观察到明显的抑制作用, 且随浓度增加其抑制作用增强, IC₅₀ = 1.66 × 10⁻⁴ mol/L, 100% 抑制浓度为 3 × 10⁻³ mol/L (图 1)。在家兔主动脉和肠系膜动脉上, SIPI5052

10⁻⁴ mol/L 时对高钾或去甲肾上腺素诱导的血管收缩反应几乎没有抑制作用, 3 × 10⁻⁴ mol/L 时显示明显的抑制作用, 并随药物浓度增加其抑制作用增强, 100% 抑制浓度 ≥ 3 × 10⁻³ mol/L (见图 2, 见图 3)。SIPI5052 抑制高钾诱导的家兔肠系膜动脉收缩的 IC₅₀ = 4.17 × 10⁻⁴ mol/L, 抑制高钾诱导的家兔主动脉收缩的 IC₅₀ = 5.37 × 10⁻⁴ mol/L (图 2)。SIPI5052 抑制去甲肾上腺素诱导的家兔肠系膜动脉收缩的 IC₅₀ = 4.68 × 10⁻⁴ mol/L, 抑制去甲肾上腺素诱导的家兔主动脉收缩的 IC₅₀ = 5.01 × 10⁻⁴ mol/L (图 3)。由此可见, SIPI5052 抑制大鼠血管收缩的起效浓度和 IC₅₀ 较家兔血管低, 最大抑制浓度相接近。

3 讨论

去甲肾上腺素和高钾是经典的血管平滑肌收缩剂。去甲肾上腺素和高钾分别通过开放受体操纵的 Ca²⁺ 通道和电压依赖性 Ca²⁺ 通道使细胞内 Ca²⁺ 增加^[6], 同时高钾还可以导致钙增敏^[7], 从而引起平滑肌收缩。本实验在大鼠和家兔的离体血管上, 观察到 SIPI5052 可明显抑制去甲肾上腺素或高钾诱导的收缩反应, 并且随着药物浓度的升高可以达到完全抑制, 说明 SIPI5052 可通过抑制受体依赖性 Ca²⁺ 通道和电压依赖性 Ca²⁺ 通道使平滑肌张力降低, 具有钙拮抗作用。

从实验现象可知, SIPI5052 对去甲肾上腺素或高钾诱导的血管收缩反应的抑制呈剂量依赖性。在大鼠血管上, 起效浓度为 3 × 10⁻⁶ mol/L, IC₅₀ 为 1.66 × 10⁻⁴ mol/L, 100% 抑制浓度为 3 × 10⁻³ mol/L。在家兔血管上, 起效浓度为 3 × 10⁻⁴ mol/L, IC₅₀ 为 4.17 × 10⁻⁴ ~ 5.37 × 10⁻⁴ mol/L, 100% 抑制浓度 ≥ 3 × 10⁻³ mol/L。由此可见, SIPI5052 抑制大鼠血管收缩的起效浓度和 IC₅₀ 较家兔血低, 而最大抑制浓度相接近。这一结果提示大鼠血管对 SIPI5052 的反应较家兔血管敏感。

目前, 该化合物已作为抗脑中风急救用药进行一期临床试验。动物实验已证明 SIPI5052 静脉注射可剂量依赖性地明显对抗动物实验性脑梗死, 对缺血引起的组织学和神经学损害有明显的预防和治疗作用。SIPI5052 的初步机制研究显示其抗脑缺血的作用与拮抗 ADP 诱导的血小板聚集无关, 并且对抗 NMDA 的作用机制与传统的 NMDA 受体 NR1/NR2A 亚单位拮抗剂不同, 可能与阻断兴奋性氨基酸的作用通路有关。本实验观察到 SIPI5052 有钙通道阻断作用, 这一作用很可能是 SIPI5052 抗脑缺血的作用机制之一。大量临床试验证实钙拮抗剂对

于脑缺血的预防和促急性脑缺血后的功能恢复有很好的疗效。尼莫地平就是常用的治疗急性脑缺血的钙拮抗剂。经典理论认为细胞内钙超载是脑缺血后病理生理变化的主要发生机制之一^[8]。钙拮抗剂作用于钙通道,阻滞细胞膜 Ca^{2+} 内流,减轻或防止细胞内钙超载引起的一系列病理改变,同时扩张脑血管,解除脑血管痉挛,改善缺血区的血流和 O_2 供应外,最终减轻缺血性损伤,减轻脑水肿,缩小脑梗死范围。我们还通过换算比较了离体血管上观察到的 SIPI5052 最低起效浓度与整体动物上抗脑缺血的最低有效剂量,发现离体实验的最低起效浓度落在整体实验中与最低有效剂量相应的血药浓度范围之内。由此我们推测钙拮抗作用是 SIPI5052 抗脑缺血的作用机制之一。(本文图片见封三)

【参考文献】

- 1 李建其,黄丽瑛,夏玉叶,等. 芳甲酰烷基哌嗪类化合物的合成及抗脑缺氧缺血活性. 中国药物化学杂志, 2006, 16(1): 6-14.
- 2 Miao CY, Villeneuve N, Brunel-Jacquemin C, et al. Chronic mild

hyperhomocystinemia induces aortic endothelial dysfunction but does not elevate arterial pressure in rats. *J Vasc Res*, 2005, 42(2): 148-156.

- 3 Miao CY, Tao X, Gong K, et al. Arterial remodeling in chronic sinoaortic-denervated rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2001, 37(1): 6-15.
- 4 Adegunloye BJ, Su X, Camper EV, et al. Sensitivity of rabbit aorta and mesenteric artery to norepinephrine: role of tyrosine kinases. *Eur J Pharmacol*, 2003, 476(3): 201-209.
- 5 【日】高柳一成(李长格译). 用 Magnus 法的实验 (PD_2 , PA_2 , PD_2' 的求法). 见: 高木敬次郎主编. 药理实验法. 北京: 化学工业出版社, 1981, 759-772.
- 6 Karaki H, Ozaki H, Hori M, et al. Calcium movements, distribution and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev*, 1997, 49(2): 157-230.
- 7 Low AM, Loke JC, Kwan CY, et al. Sensitivity to protein kinase C inhibitors of nifedipine-insensitive component of high K^+ contraction in rat and guinea-pig aorta. *Br J Pharmacol*, 1994, 112(2): 604-610.
- 8 苏定冯. 心血管药理学. 北京: 科学出版社, 2001, 327-337.

(编辑:悦 铭)

• 病例报告 •

连续大剂量服用消心痛 5 年 1 例报告

鲁永梅

【中图分类号】 R972⁺.3

【文献标识码】 D

【文章编号】 1606-8106(2006)18-1638-01

1 病历摘要

患者,女,50岁时发现房颤,无明显不适,未接受治疗。70岁时出现心绞痛发作开始服用消心痛(30mg/d),同时服用阿替洛尔和阿司匹林,症状基本控制。72岁时心电图显示前壁陈旧性心肌梗死,78岁时发生全心衰住院治疗,期间服用消心痛(1400mg/d),鲁南欣康(40mg/d),病情稳定时作冠状动脉造影显示冠状动脉三支慢性阻塞性病变,不适宜介入手术治疗,1个月后出院。出院后服用消心痛8片(40mg)每日3次,睡前加服2片,起床前含服1片,大便前含服1片,偶尔活动时加服2片,一日总量平均30片左右(最大量40片),患者没有出现头痛晕厥等情况,持续大量服用消心痛5年,目前状态尚好。偶尔心前区不适服用消心痛即可缓解,该患者近13年(其中大剂量5年)的治疗中共服用消心痛约81395片。

2 讨论

(1)目前观点是大剂量消心痛易产生耐药性,但本例患者在连续大剂量服用本药后未发生耐药现象,疗效耐受性和依从性均很好,该病例再次证实硝酸盐类药物具有较少严重副作用,且有较强的耐受性;(2)消心痛作为硝酸盐类药物在对本例患者不同阶段发挥不同的作用。一开始它被应用于治疗心绞痛,后来被应用于急性和陈旧性心肌梗死的治疗。最后尤其重要的是用于充血性心力衰竭的联合治疗,它对改善患者的症状及提高活动耐力均有效;(3)虽然硝酸盐类药物药效减弱或称为硝酸盐类耐药是目前临床用药的主要障碍,但本例患者没有停药10~12h的间歇来避免耐药性的产生,该患者在连续大剂量5年没有出现明显耐药,心前区不适时服用即可缓解;(4)本例再次证实充血性心衰患者对硝酸盐类药物的耐受性是惊人的。提示我们平时常规剂量硝酸异山梨酯30mg、单硝酸异山梨酯缓释剂60mg都小于临床有效剂量,如果临床效果不满意试着加大剂量。