

吡咯类新衍生物在大鼠胸主动脉的钙拮抗作用

邓 兰¹, 徐鸣夏^{1*}, 莫尚武², 杨远友²

(1. 四川大学华西药学院药物化学教研室, 四川 成都 610041; 2. 四川大学
原子核科学技术研究所, 四川 成都 610065)

摘要:目的 观察4个吡咯类新化合物是否具有钙拮抗作用。方法 采用⁴⁵Ca跨膜内流动测定技术, 考查4个新化合物对大鼠主动脉电压依赖性钙通道的钙拮抗活性。化合物分别为化合物1:3,5-二甲基-4-(4-甲基-1-甲酰基哌嗪基)-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯; 化合物2:3,5-二甲基-4-[4-(4-硝基苯基)-1-甲酰基哌嗪基]-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯; 化合物3:3,5-二甲基-4-[4-(3-对甲基苯基丙烯酰基)-1-甲酰基哌嗪基]-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯; 化合物4:4-[4-[3-(2-氯苯基)丙烯酰基]-1-甲酰基哌嗪基]-3,5-二甲基-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯。结果 4个化合物均不同程度降低⁴⁵Ca跨膜内流, 化合物1和化合物2的活性强于阳性对照药硝苯地平。结论 4个吡咯类化合物有一定的钙拮抗活性。

关键词: 吡咯类衍生物; 钙通道阻滞药; 主动脉, 胸; 放射性同位素; 钙, 细胞内

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2003)06-0417-03

钙通道阻滞剂是在通道水平上选择性地阻滞Ca²⁺经细胞膜上的钙离子选择性通道进入细胞内, 从而减少细胞内Ca²⁺浓度的药物。其广泛用于治疗劳力型、变异型及不稳定性心绞痛和无症状性心肌缺血等缺血性综合征, 如心肌梗死、高血压及其危象, 脑血管痉挛、脑梗死等疾病^[1]。传统的钙通道阻滞剂主要有二氢吡啶类、苯烷胺类、地尔硫草类等结构类型化合物。但由于在临床应用此类药物普

遍存在着与血流动力学效应有关的继发作用, 并且由于患者的个体差异, 不同结构类型药物效果不一, 因而对新结构类型钙通道阻滞剂的研究成为近年来在心血管药物研究领域的热点之一^[2]。四川大学华西药学院药物化学教研室曾设计合成了一系列新衍生物^[3,4]。为考查其中吡咯类化合物的钙拮抗活性, 采用⁴⁵Ca跨膜内流动测定技术^[5], 研究了4个新化合物对大鼠主动脉电压依赖性钙通道(potential-dependent Ca²⁺ channels, PDC)的拮抗作用。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂、仪器和动物

4个吡咯类化合物为自行合成, 纯度均为99.0%, 化合物1:3,5-二甲基-4-(4-甲基-1-甲酰基哌嗪基)-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯[3,5-dimethyl-4-(4-methyl-piperazine-1-carbonyl)-1*H*-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester]; 化合物2:3,5-二甲基-4-[4-(4-硝基苯基)-1-甲酰基哌嗪基]-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯[3,5-dimethyl-4-[4-(4-nitro-phenyl)-piperazine-1-carbonyl]-1*H*-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester]; 化合物3:3,5-二甲基-4-[4-(3-对甲基苯基丙烯酰基)-1-甲酰基哌嗪基]-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯[3,5-dimethyl-4-[4-(3-*p*-tolyl-acryloyl)-piperazine-1-carbonyl]-1*H*-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester]; 化合物4:4-[4-[3-(2-氯苯基)丙烯酰基]-1-甲酰基哌嗪基]-3,5-二甲基-1*H*-吡咯-2-甲酸乙酯[4-[4-[3-(2-chlorophenyl)-acryloyl]-piperazine-1-carbonyl]-3,5-dimethyl-1*H*-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester], 化学结构式见图1。硝苯地平(nifedipine), 浙江万马药业有限公司产品。⁴⁵CaCl₂(1.75 GBq·g⁻¹Ca), 英国Amersham公司产品。其余试剂均为市售分析纯。

PSS溶液(mmol·L⁻¹): NaCl 137, CaCl₂ 1.5, MgCl₂ 1.0, KCl 4.6, HEPES 20, 葡萄糖 10。高钾PSS溶液(mmol·L⁻¹): KCl 100, NaCl 41.6, 其余成分

收稿日期: 2002-09-10 接受日期: 2003-01-17

作者简介: 邓 兰(1971-), 女, 四川省南充人, 药学博士, 主要从事药物合成研究; 徐鸣夏(1935-), 博士生导师, 主要从事新药设计及研究开发。

* 联系作者 E-mail: denglan234@sina.com Tel: (028)

85501390

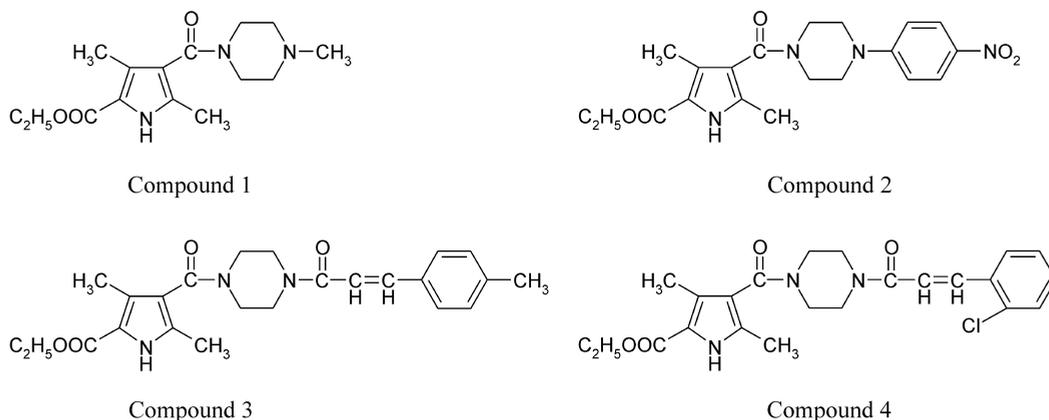


Fig 1. Chemical structures of tested pyrrole derivative compounds.

同 PSS。含 ^{45}Ca PSS 溶液:加入的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 和 Ca^{2+} 总浓度为 $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PSS 溶液。无 Ca^{2+} -EDTA 洗涤液:无 CaCl_2 , 其余成分同 PSS。甲苯闪烁液: PPO 7 g; 萘 60 g; 乙二醇乙醚 300 mL, 加甲苯至 1 L。

Wistar 大鼠, 体重 180 ~ 240 g, 四川大学华西实验动物中心提供。FJ-210P 型液体闪烁计数器, 国营 262 厂生产。

1.2 ^{45}Ca 测定方法^[5]

击昏大鼠取出胸主动脉, 在 PSS 液中去除结缔组织, 每条动脉管剪切成 6 段, 迅速放入 37°C 盛有 2.0 mL PSS 生理盐水的安瓿管中, 恒温通氧平衡 40 min, 此过程是保持组织细胞生物活力, 恢复手术和剪切造成的细胞损伤。然后将动脉管迅速转移到加有被测样品(终浓度约为 $0.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 2 mL PSS 液中, 恒温通氧 20 min。再将其移入含 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 和相同浓度被测样品的 2 mL PSS 液中, 预处理 10 min, 让 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 进入细胞及间隙。再次转移至含相同浓度被测样品的高钾 PSS 液中处理 10 min, 恒温通氧。最后将动脉管转移至 0°C 无 Ca^{2+} -EDTA 中, 洗去细胞间隙中的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$, 洗涤 3 次, 间隔时间为 20 min。取出动脉管后, 用滤纸吸干, 置于称量瓶中, 用分析天平精确称出动脉管的质量。然后向装有动脉管的安瓿瓶中分别依次加入 70% HClO_4 25 μL 和 30% H_2O_2 50 μL , 恒温 70°C 消化 20 ~ 30 min。此步旨在破坏分解细胞组织, 分解蛋白质和糖类等, 让细胞中的 $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 全部游离出来, 瓶内防止进水。观察动脉管是否消化完全(消化液至澄清), 如未消化完全, 可酌

加 HClO_4 和 H_2O_2 继续加热消化。冷却后分别加入 3.5 ~ 4 mL 甲苯闪烁液, 密闭, 在黑暗中放置 3 h。最后用 FJ-210P 型液体闪烁计数器测量 ^{45}Ca 计数率 (cpm), 采用外标准道比法对样品进行淬灭校正。按公式计算 Ca^{2+} 内流量: Ca^{2+} 内流量 ($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$) = [动脉条 ^{45}Ca (cpm) / 动脉条重量 (g)] \times [溶液 Ca^{2+} 浓度 ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) / 溶液 ^{45}Ca 活度 ($\text{cpm} \cdot \text{L}^{-1}$)]^[6]。

2 结果及讨论

^{45}Ca 跨膜内流动测定方法, 是先取大鼠主动脉条置于被测样品的生理盐水中, 使被测样品进入相应的作用部位, 然后采用同位素 ^{45}Ca 标记, 维持细胞内外 ^{45}Ca 平衡, 用高钾液使电压依赖性钙通道开启, ^{45}Ca 跨膜内流, 然后钙通道瞬时关闭, 用 EDTA 络合细胞外的游离 ^{45}Ca , 将动脉条组织消化, 液闪计数细胞内 ^{45}Ca , 以 ^{45}Ca 的计数率降低表征药物对钙通道的阻滞作用, 钙内流率越小, 表明阻滞效果越好。

据此分析结果(表 1), 可看出化合物 1 ~ 4 的钙内流率均小于阴性对照值, 表明它们具有阻滞钙内流的作用。其阻滞效果与阳性对照硝苯地平比, 化合物 1 和 2 显著优于硝苯地平。

该类化合物的设计以吡咯环为母体结构, 与二氢吡啶类的六元吡啶环结构有较大差异, 尚未见文献报道该类结构化合物的钙拮抗作用。通过本研究对大鼠胸主动脉钙拮抗实验的初步筛选, 表明该类化合物有一定程度的钙拮抗活性, 值得进一步对其进行药理学(如抗心绞痛或降压作用)及毒理学的研究。

Tab 1. Effect of pyrrole derivatives on Ca²⁺ transmembrane influx in rat aorta

Drug/mmole·L ⁻¹	Ca ²⁺ influx/nmol·g ⁻¹
Control	324 ± 31
Nifedipine 0.25	257 ± 9 ^{**}
Compound 1 0.25	170 ± 12 ^{**##}
Compound 2 0.25	225 ± 12 ^{**##}
Compound 3 0.25	265 ± 14 ^{**}
Compound 4 0.25	273 ± 16 ^{**}

Rat aorta was incubated with drug for 40 min. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$.
^{**} $P < 0.01$, compared with control; ^{##} $P < 0.01$, compared with nifedipine.

3 参考文献:

- [1] Cheng X, Cheng WZ, Zeng GY, eds. *Cardiovascular Pharmacology*(心血管药理学)[M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997. 214-224.
 [2] Jia HJ, Wang ZL, Yang QD, eds. *Ion Channels and Car-*

diocerebral Vascular Diseases(离子通道与心脑血管疾病)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001. 73-87.

- [3] Deng L, Xu MX. Synthesis of new dihydropyridines derivatives[J]. *Chem Res Appl*(化学研究与应用), 2002, 14(2):233-235.
 [4] Deng L, Xu MX. Study on synthesis and Ca²⁺ antagonizing activity of piperazine substituted new dihydropyridine derivatives[J]. *Chin J Pharm*(中国医药工业杂志), 2002, 33(10):472-474.
 [5] Mo SW, Liu L, Zhang ZK, Wu YR, Yang T. Influence of extract of mesocarp of mongolian snakegourd (*Trichosanthes kirilowii*) on transmembrane Ca²⁺ influx in rat aortic ring [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 1999, 30(9):674-676.
 [6] Chen HL, Mo SW, Zhou ML, Zhou ZZ, Cheng JP, Liu ZR. Influence of di-ao-xin-xue-kang on ⁴⁵Ca²⁺ transmembrane influx in rat aorta[J]. *New Drugs Clin Rem*(新药与临床), 1994, 13(3):144-146.

Antagonistic effect on calcium influx in rat aorta by new pyrrole derivatives

DENG Lan¹, XU Ming-Xia¹, MO Shang-Wu², YANG Yuan-You²

(1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Institute of Nuclear Sciences and Technology, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: AIM To explore if four new pyrrole derivatives having Ca²⁺ antagonizing activity. **METHODS** Compound 1: 3,5-dimethyl-4-(4-methyl-piperazine-1-carbonyl)-1H-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester; compound 2: 3,5-dimethyl-4-[4-(4-nitro-phenyl)-piperazine-1-carbonyl]-1H-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester; compound 3: 3,5-dimethyl-4-[4-(3-*p*-tolyl-acryloyl)-piperazine-1-carbonyl]-1H-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester; compound 4: 4-[4-[3-(2-chloro-phenyl)-acryloyl]-piperazine-1-carbonyl]-3,5-dimethyl-1H-pyrrole-2-carboxylic acid ethyl ester. The inhibitory effect of 4 compounds

on potential-dependent calcium channels(PDC) of rat aorta was determined by ⁴⁵Ca transmembrane influx technique. **RESULTS** ⁴⁵Ca transmembrane influx was reduced by four new pyrrole derivatives. Compounds 1 and 2 appeared strong inhibitory effect on PDC and were better than nifedipine. **CONCLUSION** Four new pyrrole derivatives possessed Ca²⁺ antagonizing activity. **Key words:** pyrrole derivatives; calcium channel blockers; aorta, thoracic; radioisotopes; calcium, cytosolic

(本文编辑 董立春)