

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/00

A61K 31/425 A61K 31/44

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 99808983.4

[43]公开日 2001 年 8 月 29 日

[11]公开号 CN 1310620A

[22]申请日 1999.7.21 [21]申请号 99808983.4

[30]优先权

[32]1998.7.21 [33]GB [31]9815871.0

[32]1998.7.21 [33]GB [31]9815872.8

[32]1999.3.9 [33]GB [31]9905387.8

[86]国际申请 PCT/GB99/02361 1999.7.21

[87]国际公布 WO00/04890 英 2000.2.3

[85]进入国家阶段日期 2001.1.21

[71]申请人 史密丝克莱恩比彻姆有限公司

地址 英国英格兰米德尔塞克斯郡

共同申请人 史密丝克莱恩比彻姆药物实验室

[72]发明人 A·M·A·布里尔 R·E·布金哈姆
N·坎杜迪

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 关立新 杨丽琴

权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图页数 2 页

[54]发明名称 利用葡萄糖摄入增强剂减少编程性细胞死亡

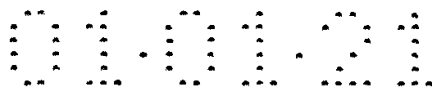
[57]摘要

减小或阻止人或非人哺乳动物中选自心肌细胞、胰腺β细胞、内皮细胞或神经元细胞的分化细胞的编程性细胞死亡的方法,该方法包括向需要的人或非人哺乳动物施用,包括急性施用,有效和无毒性数量的葡萄糖摄入增强剂。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 减小或阻止人或非人哺乳动物中选自心肌细胞、胰腺 β 细胞、内皮细胞和神经元细胞的分化细胞的编程性细胞死亡的方法，该方法包括向需要的人或非人哺乳动物施用，包括急性施用，有效和无毒性数量葡萄糖摄入增强剂。
2. 减小或阻止人或非人哺乳动物中由于选自缺血性伤害、血清丧失、细胞因子活化的因素引起的编程性细胞死亡的方法，该方法包括向需要的人或非人哺乳动物施用，包括急性施用，有效和无毒数量的葡萄糖摄入增强剂。
3. 一种减小心脏的缺血后损伤和/或改善心肌缺血后的心脏机能恢复的方法，该方法包括对需要的人或非人哺乳动物施用有效和无毒数量的葡萄糖摄入增强剂。
4. 权利要求 1-3 的方法，其中的葡萄糖摄入增强剂是噻唑烷二酮。
5. 权利要求 4 的方法，其中的噻唑烷二酮是化合物 (I)，或是其互变异构形式，或其可药用的衍生物。
6. 权利要求 4 的方法，其中的噻二唑二酮是选自：(+)-5-[[4-[(3,4-二氢-6-羟基-2,5,7,8-四甲基-2H-1-苯并吡喃-2-基)甲氧基]苄基]甲基]-2,4-噻唑烷二酮(或曲格列酮)，5-[4-[(1-甲基环己基)甲氧基]苄基]噻唑烷-2,4-二酮(或环格列酮)，5-[4-[2-(5-乙基吡啶-2-基)乙氧基]苄基]噻唑烷-2,4-二酮(或吡格列酮)或 5-[(2-苄基-2,3-二氢苯并吡喃)-5-基甲基]噻唑烷-2,4-二酮(或恩格列酮)；或其可药用的衍生物。
7. 适合急性给药的含有葡萄糖摄入增强剂和可药用载体的药物组合物。



说明书

利用葡萄糖摄入增强剂减少编程性细胞死亡

本发明涉及一种减少或防止某些哺乳动物细胞的编程性细胞死亡的新方法及这种方法的医学应用。

心血管疾病对于 I 型和 II 型病因的成年糖尿病患者都是主要的死因。糖尿病人中心血管病的存在不仅意味着糖尿病人群体中心肌梗塞的可能发生率较非糖尿病人高，而且它的发生造成死亡的危险性也显著地大。欧洲专利申请 0,306,228 涉及某些具有抗高血糖和抗高血脂活性的噻唑烷二酮衍生物。在 EP 0306228 中公开的一种特殊的噻唑烷二酮是 5-[4-[2-(N-甲基-N-(2-吡啶基)氨基)乙氧基]苄基]噻唑烷-2,4-二酮（以后称作“化合物（I）”）。WO 94/05659 在其实施例 1 公开了一些化合物（1）的盐，包括马来酸盐。

化合物（1）是称作“胰岛素敏化剂”的一类抗高血糖剂的一个实例。具体地说，化合物（I）是噻唑烷二酮胰岛素敏化剂。噻唑烷二酮胰岛素敏化剂包括含有一个 2,4-噻唑烷二酮部分的化合物。

欧洲专利申请 0008203、0139421、0032128、0428312、0489663、0155845、0257781、0208420、0177353、0193256、0319189、0332331、0332332、0528734、0508740，国际专利申请 92/18501、93/02079、93/22445 和美国专利 4687777、5104888 及 5478852 也公开了某些噻唑烷二酮胰岛素敏化剂。

通常认为具有胰岛素敏化剂活性的另一系列化合物以国际专利申请 WO 93/21166 和 WO 94/01420 中公开的化合物为代表。这些化合物在本文中称作“无环类胰岛素敏化剂”。无环类胰岛素敏化剂的其它实例是美国专利 5232945 和国际专利申请 WO 92/03425 及 WO 91/19702 中公开的化合物。

其它的胰岛素敏化剂的实例是欧洲专利申请 0533933、日本专利申请 05271204 和美国专利 526 4451 中公开的那些。

以上提到的出版物均在本申请中引用作为参考。

Shimabukuro 等人提出（糖尿病（Diabetes）44[增刊 1]: 797（摘要）1995），长期用噻唑烷二酮曲格列酮治疗能保护糖尿病人心脏的机能。同样，Eckel 等（糖尿病（Diabetes），46[增刊 1]: 575

(摘要), 1997) 也提出, 长期性服用曲格列酮可以通过增加向糖尿病人心脏的肌细胞的葡萄糖供应而产生心脏保护作用。

现已令人惊奇地表明, 急性施用化合物 (1) 对糖尿病人心脏产生心脏保护作用, 因此在防止或减小缺血后伤害 (例如心肌梗塞) 方面有效。急性施用化合物 (1) 也显示出能改善心肌缺血后糖尿病人心脏的机能恢复。

此外, 或许更令人惊奇的是, 施用 (特别是急性施用) 化合物 (1) 对于非糖尿病人的心脏也产生特别有效的心脏保护作用。

还有证据表明, 化合物 (1) 抑制或阻止心肌细胞和其它类型分化细胞, 特别是末端分化的细胞 (即, 不能进行有丝分裂的细胞) 的编程性细胞死亡。

因此, 本发明提供了用于减少或阻止分化细胞的编程性细胞死亡的方法, 所述分化细胞选自人和非人哺乳动物的心肌细胞、胰腺 β 细胞、内皮细胞和神经元细胞, 该方法包括对需要的人或非人哺乳动物施用 (包括急性施用) 有效和无毒数量的葡萄糖摄入增强剂。分化细胞优选是末端分化细胞。合适的细胞是心肌细胞。合适的细胞是胰腺 β 细胞。合适的细胞是内皮细胞。合适的细胞是神经元细胞。

另一方面, 本发明提供用于减少或阻止人或非人哺乳动物中由于选自缺血性伤害、血清丧失或细胞因子活化的因素造成的编程性细胞死亡, 该方法包括对于需要的人或非人哺乳动物施用, 包括急性施用, 有效和无毒性的葡萄糖摄入增强剂。在一个方面, 细胞的编程性死亡是由缺血性伤害造成的。在另一方面, 细胞的编程性死亡是由血清丧失造成的。在又一方面, 细胞的编程性死亡是由细胞因子活化引起的。

本发明的一个具体方面是提供了用于减小心脏缺血后损伤、尤其是心肌梗塞的方法, 该方法包括对需要的人或非人哺乳动物施用, 尤其是急性施用, 有效和无毒数量的葡萄糖摄入增强剂。

本发明还提供改善心肌缺血后心脏的机能恢复的方法, 该方法包括对需要的人或非人哺乳动物施用, 尤其是急性施用, 有效和无毒数量的葡萄糖摄入增强剂。

本发明还提供了葡萄糖摄入增强剂, 例如化合物 (1) 或其互变异构形式或其可药用的衍生物, 用于减小或阻止选自心肌细胞、胰腺

β细胞、内皮细胞和神经元细胞的分化细胞的编程性细胞死亡。

在另一方面，本发明提供葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（1）或其互变异构形式或其可药用的衍生物，用于减小或阻止由于选自缺血性伤害、血清丧失或细胞因子活化的因素引起的细胞编程性死亡。

5 本发明在一个具体方面提供了葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（I）或其互变异构形式或可药用的衍生物，它们可用于减小心脏的缺血后损伤，特别是心肌梗塞，或用于改善心肌缺血后的心脏机能恢复。

某些人或非人哺乳动物可能患有糖尿病或有关病症。具体地说，
10 该糖尿病是 I 型糖尿病和 II 型糖尿病。

合适的葡萄糖摄入增强剂是胰岛素敏化剂。

合适的葡萄糖摄入增强剂是噻唑烷二酮。

合适的噻唑烷二酮是上述出版物中公开的那些化合物。

15 优选的噻唑烷二酮是化合物（I），或其互变异构形式，或其可药用的衍生物。

其它合适的噻唑烷二酮包括 (+)-5-[4-[(3,4-二氢-6-羟基-2,5,7,8-四甲基-2H-1-苯并吡喃-2-基)甲氧基]苄基]甲基]-2,4-噻唑烷二酮（或曲格列酮），5-[4-[(1-甲基环己基)甲氧基]苄基]噻唑烷-2,4-二酮（或环格列酮），5-[4-[2-(5-乙基吡啶-2-基)乙氧基]苄基]噻唑烷-2,4-二酮（或吡格列酮）或 5-[(2-苄基-2,3-二氢苯并吡喃)-5-基甲基]噻唑烷-2,4-二酮（或恩格列酮）；或其可药用的衍生物。

合适的可药用的衍生物是可药用的盐或可药用的溶剂化物，包括可药用的盐的可药用的溶剂化物。

25 这种葡萄糖摄入增强剂（例如噻唑烷二酮类）的合适的可药用衍生物，包括可药用盐和可药用溶剂化物，是如上述出版物和标准参考书如英国和美国药典、Remington 的 药物科学（Remington's pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co.）、Martindale 超级药典（Martindale The Extra pharmacopoeia. London, The
30 Pharmaceutical Press）中所述。

化合物（1）的合适的可药用盐包括在 EP 0306228 和 WO 94/05659 中所述的盐。一种优选的可药用盐是马来酸盐。

化合物(1)的合适的可药用的溶剂化形式包括在 EP 0306228 和 WO 94/05659 中所述的那些,特别是水合物。

某些葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮,如化合物(1),可以以几种互变异构形式存在,它们均被包括在本发明的方法中,无论是个别的互变异构形式或是其混合物的形式。

某些葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮,如化合物(1),还可以含有手性碳原子,因此可以以几种立体异构形式存在,它们均被包括在本发明的方法中,无论是作为个别的异构体或是作为异构体的混合物。

这些葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮,包括其可药用的衍生物,是用常规方法制备的;例如,噻唑烷二酮化合物可方便地按照上述出版物中公开的方法制备。化合物(I),或其互变异构形式,或其可药用的衍生物如其盐或其可药用的溶剂化物,可以用 EP 0306228 和 WO 94/05659 中所述的方法制备。

上述的立体异构形式,例如噻唑烷二酮的立体异构形式,可以根据需要,按照例如在上述出版物中公开的已知方法制备和分离。

上述的急性施用葡萄糖摄入增强剂(尤其是噻唑烷二酮例如化合物(1))这一特征,由于其本身重要性而被认为构成了本发明的另一部分。因此,本发明还提供了作为可急性施用的治疗用物质使用的葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮,如化合物(1)或其互变异构形式,或其可药用的衍生物。

本发明还提供了葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮,如化合物(1)或其互变异构形式,或其可药用的衍生物,用来作为可急性施用的心脏保护剂,尤其是用于防止或减小心脏的缺血后损伤,特别是心肌梗塞。

本发明还提供了葡萄糖摄入增强剂,例如噻唑烷二酮如化合物(1)或其互变异构形式或其可药用的衍生物,用于急性施用以改善心肌缺血后心脏机能的恢复。

在所有的上述治疗中,葡萄糖摄入增强剂如化合物(1)或其互变异构形式或其可药用的衍生物,可以以其本身形式给药,或者优选以还含有可药用载体的药物组合物的形式给药。

因此,本发明还提供一种适合急性施用的药物组合物,其中含有

葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（1）或其互变异构形式或其可药用的衍生物，以及可药用的载体。

更具体地说，本发明提共作为可急性施用的心脏保护剂使用的，尤其是用于防止或减小心脏的缺血后损伤，特别是心肌梗塞的药物组合物，该组合物中含有葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（1）或其互变异构形式或其可药用的衍生物，以及可药用的载体。

本发明还提供了用于急性施用以改善心肌缺血后心脏机能恢复的药物组合物，该组合物含有葡萄糖摄入增强剂，如化合物（1）或其互变异构形式或其可药用的衍生物，以及可药用的载体。

葡萄糖摄入增强剂的急性心脏保护作用预期还可用于改善手术后的恢复。因此，本发明进一步提供了用于手术后，尤其是较大手术如心脏手术后的恢复，该方法包括施用（通常是急性施用）有效和无毒性数量的葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（1），或其互变异构形式或其可药用的衍生物。葡萄糖摄入增强剂的施用可以是在手术之前或手术之后。

这里所用的术语“可药用的”包括人用和兽用的化合物，组合物和组分。例如，术语“可药用的盐”包括兽医可用的盐。

本文所说的“心脏的缺血后损伤”包括心肌梗塞和某些心律失常，尤其是心肌梗塞。

本文所说的“改善心脏的机能恢复”包括改善或恢复心输出量和/或提高心输出量的恢复，尤其是恢复速度。

本文所说的“急性施用”或用来传达与急性施用等价含义的短语或名词，是指一次服用或短期服用药物。短时间使用噻唑烷二酮胰岛素敏化剂意味着比与抗高血糖作用相关的时间要短的一段时间。合适的短使用时间使用期是3-4周。

本文所用的“葡萄糖摄入增强剂”是指增强葡萄糖向细胞内的基础摄入或胰岛素激发的摄入的药剂。

在本发明的方法中，活性药物优选以药物组合物形式给药。

这些组合物通常采用口服。但它们也可以采用其它的给药方式，例如非胃肠道给药、舌下给药或经皮给药。

这些组合物的形式可以是片剂、胶囊、粉剂、粒剂、锭剂、栓剂、可重组的粉剂或液体制剂，例如口服的或非胃肠道用的无菌溶液剂或

悬浮剂。

为了作到用药的一致性，本发明组合物优选采用单位剂量形式。

用于口服给药的单位剂量形式可以是片剂和胶囊，并且可含有常规的赋形剂，例如粘合剂，如糖浆、阿拉伯胶、明胶、山梨糖醇、黄
5 芪胶或聚乙烯吡咯烷酮；填充剂，便如乳糖、糖、玉米淀粉、磷酸钙、山梨糖醇或甘氨酸；制片润滑剂，例如硬脂酸镁；崩解剂，例如淀粉、聚乙烯吡咯烷酮、羧基乙酸淀粉钠或微晶纤维素；或可药用的润湿剂，如十二烷基硫酸钠。

组合物优选采用其数量适合相关日剂量的单位剂量形式。

10 适合噻唑烷二酮的给药方案，包括单位剂量的细节，包括在上述出版物或参考书中提到的各种方案，例如见英国和美国药典，Remington 药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publisbing Co.) Martindale 超级药典 (Martindale The Extra Pharmacopoeia. London, The pharmaceutical Press)。

15 该组合物优选采用数量适合于相关日剂量的单位剂型。例如，对于化合物(1)，单位剂量适合含最高达 12mg 的化合物(1)。

在本发明的急性治疗中，葡萄糖摄入增强剂，例如化合物(1)，或其互变异构形式，或其可药用的衍生物，一般是以单剂量给药，但是如果需要，可以服用额外的剂量以提供合适的短期非慢性治疗，例
20 如防止或减小由于后继的缺血事件造成的缺血后损伤，如心肌梗塞，以及/或防止或减小这些事件和/或其再发的严重程度。

在上述的葡萄糖摄入增强剂(例如噻唑烷二酮)的急性施用中，预料其剂量包括比涉及抗高血糖作用时的剂量更高的剂量。

在另一方面，这种治疗包括与葡萄糖摄入增强剂，例如化合物
25 (1)或其互变异构形式或其可药用的盐，顺序服用或一起服用血栓溶解剂，例如链激酶。

具体的血栓溶解剂及其所需剂量包括在参考书如英国和美国药典、Remington 药物科学 (Remington's pharmaceutical Sciences, Mack publi shing Co.)、Martindle 超级药典(Martindale
30 The Extra pharmacopoeia, London, The pharmaceutical press)中所述的那些。

固体的口服组合物可以通过常规的掺混、填充或压片等方法制

备。可以利用重复掺混操作使活性药物均匀分布在使用大量的填料的组合物中。这类操作当然是本领域内常规的工艺操作。片剂可以按照通常的制药惯例中公知的方法包衣，特别是用肠溶涂层包衣。

口服的液体制剂可以是例如乳剂、糖浆剂或酏剂的形式，或者可以是干的产物，用于在使用前与水或其它的合适载液重新配制。这类液体制剂可以含有常规添加剂，例如悬浮剂，如山梨糖醇、糖浆、甲基纤维素、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶、氢化的食用脂、乳化剂，如卵磷脂、脱水山梨醇单油酸酯、或阿拉伯胶；非水载体（可包括食用油），如杏仁油、分馏的椰子油、油质的酯例如甘油酯、丙二醇、或乙醇；防腐剂，如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯，或山梨酸；以及需要时的常规矫味剂或着色剂。

对于非胃肠道给药，流体单位剂型是用化合物和无菌的载液制备的，根据使用的浓度，化合物可以是悬浮或者溶解在载体中。在制备溶液时，可以将化合物溶解在注射用水中并且过滤灭菌，然后装入合适的小瓶或安瓿瓶中并封口。有利的是，可以将辅助剂如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂溶解在载体中。为提高稳定性，可以将组合物装入小瓶后冷冻并在真空下除水。非胃肠道用的悬浮剂以基本上相同的方式制备，只是活性化合物可以悬浮而不是溶解在载体中，而且不能用过滤方式灭菌。可以在化合物悬浮于灭菌的载液之前将其暴露于环氧乙烷中进行灭菌。组合物中最好含有表面活性剂或润湿剂以促进化合物均匀分布。

组合物可以含 0.1 - 99% 重量，优选 10 - 60% 重量的活性物质，这取决于给药的方式。

如果需要，组合物可以是带有书写的或印刷的使用说明的包装形式。

最后，葡萄糖摄入增强剂如化合物（1）或其互变异构形式或其可药用的衍生物的急性心脏保护作用，还被认为提供了作为心麻痹剂使用的可能。因此，本发明还提供了葡萄糖摄入增强剂，例如化合物（1）或其互变异构形式，或其可药用的衍生物，用来作为心麻痹剂，尤其是用在心停跳液中，以便在手术期间保护心脏机能。

心麻痹剂的具体应用包括用在心脏旁路手术中。心麻痹剂的具体应用还包括在心脏移植手术中用来维持心脏的成活力。

用于心麻痹用途所需的活性药物的数量应由例如本文中所述的那些标准试验方法确定，例如，化合物（1）的心停跳液预期含 0.01-10 μ M 的化合物（1）。

组合物按照常规方法制备和配制，例如标准参考书如英国和美国药典、Remington 药物科学（Remington's pharmaceutical Sciences, Mack publishing Co.）、Martindale 超级药典（Martindale The Extra pharmacopeia, London, The Pharmaceutical press）及 Harry 的美容学（Cosmeticology）（Leonard Hill Books）或上述出版物中公开的方法。

本发明的心脏保护作用可以使用例如后文提供的试验方法或本领域已知的试验方法鉴定，例如使用 Khandoudi N、Bernard M、Cozzzone P、Feuvray D 公开的（在正常的和患糖尿病的鼠心脏缺血与再灌注期间的细胞内 pH 及 Na⁺/H⁺ 交换的作用，心血管研究（Cardiovasc Res 24:873-878, 1990）或 Khando di N、Laxille MP、Bril A（全心低流量缺血期间钠/氢交换抑制剂的保护作用，心血管药理学杂志（J. Cardiovasc Pharmacol.）28:540-546, 1996）公开的试验方法。

对于指定的葡萄糖摄入增强剂，本发明的抗编程性细胞死亡作用可以用常规方法确定，例如在标准参考书或在分子细胞学与心脏病学杂志（J Mol Cell Cardiol）1998 年 3 月号 30(3): 495-507 或循环研究（Circ Res）1994 年 9 月号 75(3): 426-33 或上述一些出版物中公开的方法。

本发明的组合物或方法在上述剂量范围内没有不利的毒理作用。

在下面列出的表格和图中：

表 1 表示由雄性 Wistar 大鼠分离出的工作心脏的基线心室功能：缺血前向灌注液中加入载液或化合物（1）；

表 2 表示由 STZ-糖尿病大鼠分离出的工作心脏的基线心室功能：缺血前向灌注液中加入载液或化合物（1）；

图 1 表示化合物（1）对正常的雄性 Wistar 大鼠工作心脏的缺血后功能损伤的影响；和

图 2 表示化合物（1）对 STZ-糖尿病雄性 Wistar 大鼠工作心脏

的缺血后功能损伤的影响。

以下实施例说明了本发明，但不以任何方式构成对本发明的限制。

材料与方法

5 材料：

化合物（1）的储备溶液是新鲜配制的二甲基亚砷（DMSO）溶液，并用灌注缓冲液进一步稀释。载体 DMSO 的最大浓度为 0.001%，当在对照试验中加入这一浓度时对所有参数均无影响。

链脲霉素（STZ，市售品）的溶液是配制在柠檬酸盐缓冲液中
10 （40mg/ml）。

试验体系：

体重 260-280g 的雄性 Wistar 大鼠（Charles River; St Aubin
lès Elbeuf, France）按照 12 小时/12 小时的明/暗周期饲养，可随
意接近水和标准鼠食。实验前有至少一周的环境适应期。

15 实验糖尿病病的引入

将体重在 300 至 320g 之间的雄性 Wistar 大鼠禁食过夜。通过一
次静脉注射 40mg/kg 体重的 STZ 使其患糖尿病。用试剂条连续定量测
定尿中的葡萄糖来监测糖尿病的发展及其持续性。在试验的当天，通
过测定在心脏切除时收集的血液中的葡萄糖浓度来测定糖尿病的严
20 重程度。只有血浆中葡萄糖含量超过 20mM 的大鼠才被认为患了糖尿
病并被包括在这些实验中。

实验步骤

分离的心脏的灌注：

将大鼠用戊硫巴比妥钠麻醉（每 kg 体重腹腔内施用 50mg）。快
25 速地取下血糖正常的大鼠和 STZ - 诱导一个月的糖尿病大鼠的心脏，
浸在冰冷的缓冲液中以便使心脏立即停止收缩。剥离出主动脉，固定
在与灌注装置相连的导管上。用 Langendorff 方法开始心脏逆行灌注
10 分钟，然后转换成用工作心脏法进行灌注[16]。灌注流体是成分
（mM）如下的 Krebs-Henseleit 缓冲液（pH7.4）：NaCl 118，NaHCO₃
30 23，KCl 4.7，KH₂PO₄ 1.2，MgCl₂ 1.2，CaCl₂ 1.25，葡萄糖 11，丙
酮酸盐 2。向此缓冲液中连续鼓入 95% O₂/5% CO₂ 混合物，并将整个体
系温度调节在 37℃。灌注液不再循环。前负载保持压力为 15cm H₂O，

后负载及冠状动脉灌注压力保持恒定在 80cm H₂O。

心脏功能的测定

利用与压力传感器 (Statham P23D6) 连接的主动脉导管上充满流体的支臂监测心率 (次/分) 和峰值收缩压 (mmHg), 并记录在一台 Gould Pen-记录仪上 (model 8188.602)。用定时收集法测定主

5 动脉和冠状动脉流量 (ml/分)。由主动脉和冠状动脉流量之和得出心脏输出量 (ml/分)。将心脏输出量除以心率, 得到心搏量 (ml/次)。

全心缺血的产生和再灌注:

通过夹住左心房和主动脉灌注管并将冠状动脉流量降至零 30 分钟来造成全心缺血。然后按照工作心脏模式在 37℃ 下对心脏进行再灌注, 跟踪心室功能的恢复情况 30 分钟。

10

为研究化合物 (1) 的作用, 将该试剂在缺血产生前 15 分钟加到灌注液中, 然后在整个再灌注期间一直保持存在。

数据处理与分析:

数据表示成平均值 $\pm$ SEM。用“学生氏” t-检验法确定差别的统计显著性。P $\leq$ 0.05 的差别被认为是统计显著的。

15

结果

体外灌注的正常雄性 Wistar 大鼠心脏的基线功能参数列于表 1 中。在这里使用的灌注系统中, 在恒定的流出阻力下, 主动脉流量反映了心室收缩性 [16]。

20

图 1 表示了零流量缺血 (30 分) 15 分钟之前向灌注液中加入化合物 (1) (1 μ M) 并随后再灌注对心脏功能的影响。这些数据表明, 对对照样心脏的缺血后恢复较慢, 而且即使在再灌注 30 分之后, 也不是所有的功能参数 (例如心脏输出量) 都回到缺血前的水平。在缺血之前向灌注液中加入化合物 (1) 显著地提高了各种功能指标的恢复速度。例如, 在缺血前 15 分钟、缺血期间和随后的再灌注阶段期间, 灌注液中含有化合物 (1) (1 μ M) 能增强心脏输出量和心率的恢复。

25

结论

此项研究的结果说明, 化合物 (1) 对于遭受体外零流量缺血的正常大鼠和糖尿病大鼠的心脏都具有快速发生的保护性能。

30

参考文献:

表和图

表 1

	雄性 Wistar 大鼠: 对 照 样	雄性 Wistar 大鼠: 化 合 物 (I) (1 μ M)
主动脉流量 (ml/min)	36.5 $\pm$ 1.6	34.0 $\pm$ 0.7
冠状动脉流量 (ml/min)	15.0 $\pm$ 0.6	16.6 $\pm$ 0.6
心脏输出量 (ml/min)	52 $\pm$ 2	51 $\pm$ 1
峰值收缩压 (mmHg)	79 $\pm$ 1	73 $\pm$ 1
心搏量 (ml/次)	0.16 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01
心率 (次/min)	314 $\pm$ 10	317 $\pm$ 15

表 2

	雄性 Wistar STZ-糖尿病大鼠: 对照样 (n=6)	雄性 Wistar STZ-糖尿病大鼠: 化合物 (I) (1 μ M) (n=6)
主动脉流量 (ml/min)	42.5 $\pm$ 1.7	42.3 $\pm$ 1.5
冠状动脉流量 (ml/min)	13.6 $\pm$ 0.5	12.1 $\pm$ 0.4
心脏输出量 (ml/min)	56.2 $\pm$ 2.0	54.4 $\pm$ 1.7
峰值收缩压 (mmHg)	77 $\pm$ 2	76 $\pm$ 2
心搏量 (ml/次)	0.24 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.01
心率 (次/min)	242 $\pm$ 19	225 $\pm$ 14

说明书附图

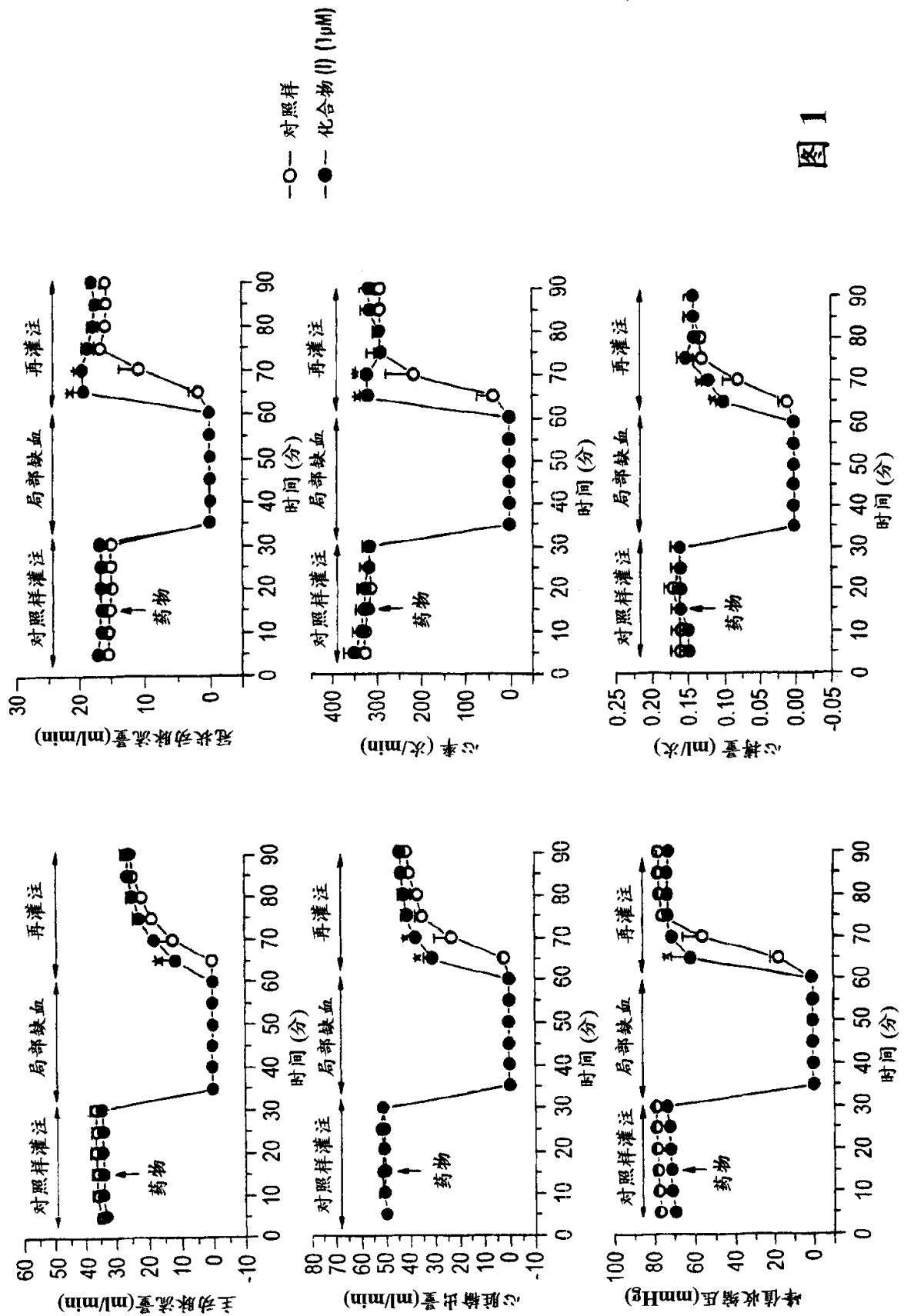


图 1

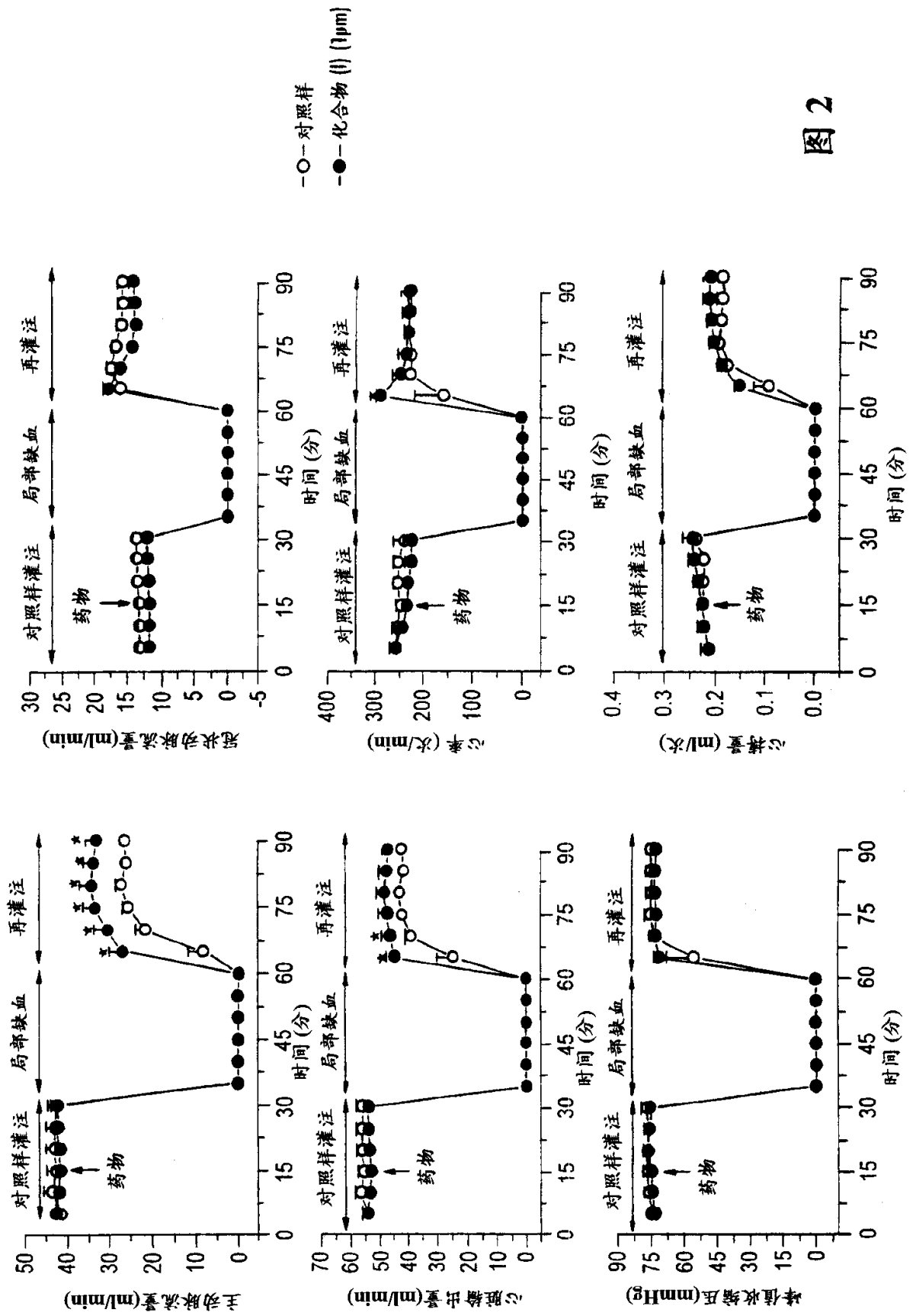


图 2