



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106632572 B

(45)授权公告日 2018.08.14

(21)申请号 201611166597.2

(22)申请日 2016.12.16

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106632572 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(73)专利权人 中国科学院成都生物研究所

地址 610041 四川省成都市人民南路四段九号

(72)发明人 青琳森 丁立生 彭树林 李帮经 梁健

(51)Int.Cl.

C07J 53/00(2006.01) (续)

(56)对比文件

CN 104147030 A,2014.11.19,说明书第[0019]-[0050]段.

CN 104147030 A,2014.11.19,

WO 9967265 A1,1999.12.29,全文.

CN 101096377 A,2008.01.02,全文.

EP 1679058 A1,2006.07.12,全文.

CN 103623039 A,2014.03.12,全文.

郭璐.黄芪中皂苷类成分及黄芪甲苷结构修饰的研究.《西南交通大学硕士学位论文》.2014,第1,3章.

任戎.黄芪甲苷的提取及其磷酸酯水溶性前药.《天津大学硕士学位论文》.2011,第1,3-4章.

M. Pilar Bosch等.Synthesis and Biological Activity of New Potential Agonists for the Human Adenosine A2A Receptor.《J. Med. Chem.》.2004,第47卷第4041-4053页. (续)

审查员 吴姗姗

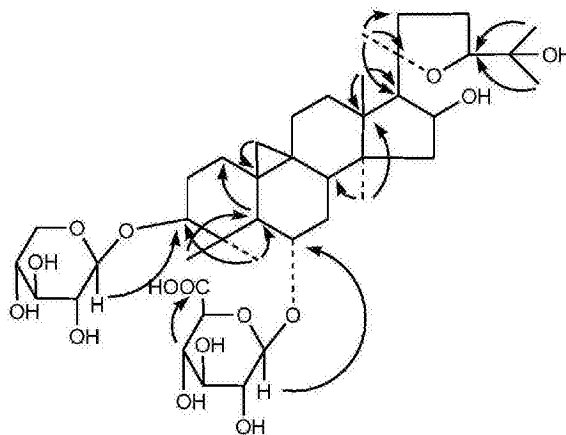
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种黄芪甲苷衍生物及其制备方法和应用

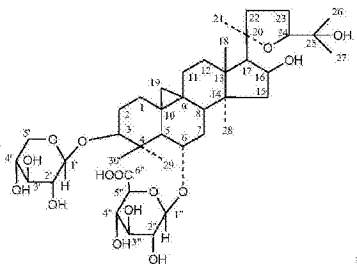
(57)摘要

本发明公开了一种具有式1结构的黄芪甲苷水溶性衍生物黄芪苷酸或其可药用盐、酯和酰胺。本发明针对黄芪甲苷水溶性差而影响其生物利用度、无法开发成单组份药物的缺陷,巧妙地将黄芪甲苷分子中特定醇羟基定向氧化成羧基,制备成黄芪甲苷水溶性衍生物黄芪苷酸。本发明所提供的制备方法步骤简单、反应条件温和、副反应小、收率高,容易实现,适合规模化生产。具有式1结构的黄芪甲苷水溶性衍生物黄芪苷酸或其可药用盐、酯和酰胺对体外培养心肌细胞缺氧损伤具有保护作用,可用于预防和(或)治疗相关



CN 106632572 B

心血管疾病。



式1

[接上页]

(51) Int.Cl.

*A61K 31/704*(2006.01)

*A61P 9/00*(2006.01)

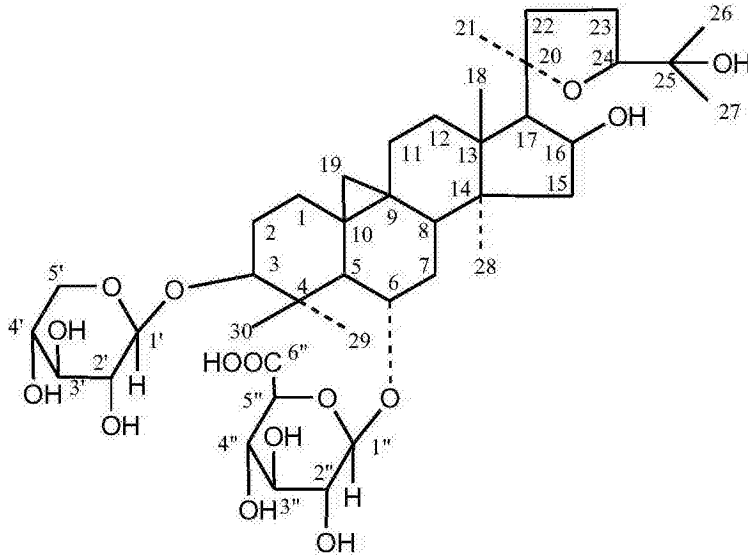
*A61P 9/10*(2006.01)

(56) 对比文件

Clotilde d'Errico等.Enzymatic

Degradation of Lignin-Carbohydrate  
Complexes (LCCs): Model Studies Using a  
Fungal Glucuronoyl Esterase from *Cerrena*  
*Unicolor*.《Biotechnology and  
Bioengineering》.2015,第112卷(第5期),第  
914-922页.

1. 一种具有式1结构的化合物或其可药用盐,其结构式为:



式 1。

2. 根据权利要求1所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

取一定量的黄芪甲苷,加入到0.1~10倍质量的第一溶剂中,依次加入0.01~5倍质量的卤化碱、0.01~5倍质量的哌啶类氮氧化合物、0.01~5倍质量的次卤酸或其盐,在-10℃~100℃中反应10~600min,过滤,滤液用酸调pH至酸性,待固体析出后,浓缩,固液分离,固体用第二溶剂溶解、转移、浓缩至干,得白色粉末即为具有式1结构的化合物。

3. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:第一溶剂选自0%~90%的DMSO水溶液、0%~90%的DMF水溶液、0%~90%的乙腈水溶液或0%~90%的吡啶水溶液。

4. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:第二溶剂选自0%~100%的醇水溶液、0%~100%的DMSO水溶液、0%~100%的DMF水溶液、0%~100%的乙腈水溶液或0%~100%的吡啶水溶液。

5. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:卤化碱选自NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub>、CaCl<sub>2</sub>、NaBr、KBr、MgBr<sub>2</sub>或CaBr<sub>2</sub>。

6. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:哌啶类氮氧化合物选自2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基、4-氧-TEMPO、氮氧自由基哌啶醇、TEMPO甲基丙烯酸甲酯、4-(2-溴乙酰胺)-TEMPO、4-氨基-2,2,6,6-四甲基哌啶氧自由基、4-膦酰氧基-2,2,6,6-四甲基-1-哌啶酮、4-氰基-2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧基自由基、4-羧基-2,2,6,6-四甲基氮杂环己烷-1-氧基自由基、4-(2-氯乙酰氨基)-2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧基自由基、4-(2-碘代乙酰氨基)-2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧基自由基或4-甲氧基-2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧基自由基。

7. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:次卤酸选自次氯酸或次溴酸。

8. 根据权利要求2所述的具有式1结构的化合物的制备方法,其特征在于:次卤酸盐选自次氯酸钠、次氯酸钾、次氯酸钙、次氯酸镁、次溴酸钠、次溴酸钾、次溴酸钙或次溴酸镁。

9. 根据权利要求1所述的具有式1结构的化合物或其可药用盐在制备心血管疾病的药物中的用途。

10. 根据权利要求9所述的用途,其特征在于:所述药物是预防和/或治疗冠心病的药物。

11. 根据权利要求10所述的用途,其特征在于:所述药物对心肌细胞缺氧损伤具有保护作用。

12. 一种用于心血管疾病的药物组合物,其特征在于:它是由有效剂量的权利要求1所述的具有式1结构的化合物或其可药用盐为活性成分,加入药学上可接受的辅料制备而成的制剂。

13. 根据权利要求12所述的药物组合物,其特征在于:所述的制剂是口服制剂或注射制剂。

## 一种黄芪甲苷衍生物及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,具体涉及一种具有心血管疾病预防和治疗活性的黄芪甲苷衍生物黄芪苷酸或其可药用盐、酯和酰胺的制备方法及应用。

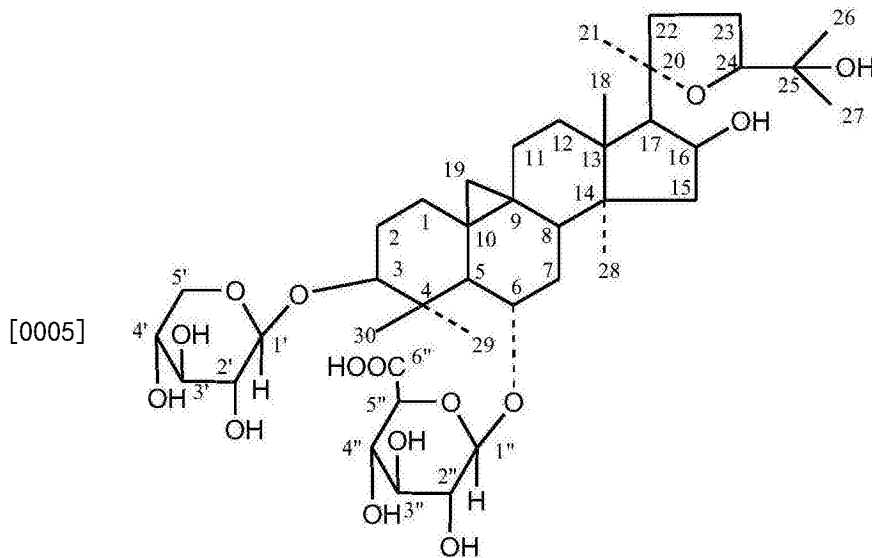
### 背景技术

[0002] 黄芪甲苷是中药黄芪的主要活性成分之一,也是《中国药典》中多种中药复方制剂的定性定量指标成分。药理学研究表明,黄芪甲苷具有可改善心肺功能、增强机体免疫力、抗病毒、抗应激等多种功效(Ren S, et al. Pharmacological effects of Astragaloside IV: a literature review. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2013, 33(3): 413-416)。虽然黄芪甲苷药效显著,但其水溶性差、胞膜通透性差,决定了其吸收不好,生物利用度低,成药性很差。如黄芪甲苷在大鼠模型中的绝对生物利用度仅有2.2% (Gu Y, et al. Transport and bioavailability studies of Astragaloside IV, an active ingredient in Radix Astragali. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2004, 95(6): 295-298)。这些严重阻碍了其单方制剂的开发,尤其是注射液、大输液等水溶性剂型的开发。目前有少量研究通过制剂的方式来增加其水溶性,如将其制成糊精包合物(CN100393319C; 陈国广, 陈振华, 刘伯成, 等. 羟丙基-β-环糊精对黄芪甲苷包合作用的研究. 时珍国医国药, 2007, 18(6): 1457-1458)或磷脂复合物(刘爱娜, 陈昊, 唐星. 黄芪甲苷脂质微球注射液的制备及其物理稳定性研究. 中国药剂学杂志: 网络版, 2009(4): 290-298)。

[0003] 众多学者希望通过引入水溶性基团的方法直接增加黄芪甲苷水溶性,以更适合于药物(尤其是一类新药)的开发。但是,由于黄芪甲苷分子活性反应位点较多:涉及伯、仲、叔三种不同类型9个羟基的保护与脱保护、两个糖链在反应过程中极易脱落、母核中的环丙烷结构和四氢呋喃环结构均极易开环,因此,到目前为止尚无一个切实可行的方法制备黄芪甲苷水溶性衍生物。如任戎尝试合成了水溶性的黄芪甲苷-C6"-O-磷酸酯衍生物,但是该合成路线副反应多、收率低、分离纯化复杂,而且药代预试验表明该衍生物并不具有前药性质(任戎. 黄芪甲苷的提取及其磷酸酯水溶性前药的合成研究[D]. 天津大学硕士学位论文, 2009)。

### 发明内容

[0004] 本发明的第一目的在于提供一种具有式1结构的化合物(我们将其命名为黄芪苷酸)或其可药用盐、酯和酰胺,其结构式为:



式1

[0006] 本发明的第二目的在于提供具有式1结构的化合物的制备方法,巧妙地实现了将黄芪甲苷分子中特定醇羟基定向氧化为羧基,得到黄芪苷酸。该方法步骤简单、反应条件温和、副反应小、收率高,适合规模化生产。

[0007] 本发明的第三目的在于提供具有式1结构的化合物或其药学上可接受的盐、酯和酰胺的应用,即用该化合物来预防与治疗心血管疾病。

[0008] 为了实现本发明的上述目的,特采用以下技术方案:

[0009] 本发明所述的具有式1结构的化合物的制备方法,主要包括如下步骤:

[0010] 取一定量的黄芪甲苷,加入到0.1~10倍质量的第一溶剂中,依次加入0.01~5倍质量的卤化碱、0.01~5倍质量的哌啶类氮氧化合物、0.01~5倍质量的次卤酸或其盐,在-10℃~100℃中反应10~600min,过滤,滤液用酸调pH至酸性,待固体析出后,浓缩,固液分离,固体用第二溶剂溶解、转移、浓缩至干,得白色粉末即为具有式1结构的化合物。

[0011] 根据上述制备方法制得的具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺,包括:具有式1结构的化合物与碱金属、碱土金属、无机氨、有机胺在常规的成盐条件下所形成的盐,具有式1结构的化合物与醇在常规的酯化条件下所形成的酯,和具有式1结构的化合物与无机氨、有机胺在常规的成酰胺条件下所形成的酰胺。具体而言,指其钾盐、钠盐、钙盐、锂盐、铁盐、锌盐、镁盐、铵盐、一甲胺盐、二甲胺盐、三甲胺盐、乙二胺盐、一乙醇胺盐、二乙醇胺盐、三乙醇胺盐、一乙胺盐、二乙胺盐、三乙胺盐,以及甲酯、乙酯、丙酯、异丙醇酯、丙二醇酯、丁酯、叔丁酯、甘油酯、甲酰胺、乙酰胺、哌嗪酰胺、氯化吡啶酰胺、咪唑酰胺、吡咯酰胺或哌啶酰胺。

[0012] 本发明还提供了具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺在心血管疾病预防和(或)治疗中的应用。

[0013] 通过对体外培养心肌细胞缺氧损伤的保护作用实验,发现具有式1结构的化合物可显著提高急性缺氧复氧诱导的心肌细胞存活率和线粒体活性,降低心肌酶释放,减轻细胞氧化损伤,对体外培养的心肌细胞缺氧损伤表现出亦具有显著的保护作用,提示了具有式1结构的化合物在制备抗急性心肌缺血药物中的用途。

[0014] 本发明还提供了一种可用于心血管疾病预防和(或)治疗作用的药物组合物,它是由有效量的所述的化合物为活性成分,加入药学上可接收的辅料制备而成的制剂。其中,所述的制剂是口服制剂或者注射制剂。

[0015] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0016] ①明显增加了黄芪皂苷类化合物的水溶性,大大改善了黄芪甲苷的成药性,可以将所得到的具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺为单方制剂开发,尤其是注射液、大输液等水溶性剂型的开发。

[0017] ②经检索,本发明所得的具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺是全新结构的化合物,可作为活性先导化合物开发成一类新药。

[0018] ③本发明提供的具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺的制备方法,巧妙地一步反应即实现了黄芪甲苷分子中特定醇羟基的定向氧化,步骤简单、反应条件温和、副反应小、收率高,容易实现,适合工业大生产。

[0019] ④药理学实验表明,具有式1结构的化合物或其可药用盐、酯和酰胺具有保护心肌细胞缺氧损伤作用,可用于心血管疾病的预防和(或)治疗。

#### 附图说明

[0020] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,以下将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0021] 图1为具有式1结构化合物部分关键结构单元的HMBC相关信号;

[0022] 图2为具有式1结构化合物对缺氧复氧诱导损伤心肌细胞细胞存活率的影响(X $\pm$ s, n=6~8)与NOEMOXIA组比较,####P<0.001,与H/R组比较,\*\*\*P<0.001;

[0023] 图3为具有式1结构化合物对缺氧复氧诱导损伤心肌细胞线粒体活性的影响(X $\pm$ s, n=6~12)与NOEMOXIA组比较,####P<0.001,与H/R组比较,\*P<0.05,\*\*\*P<0.001;

[0024] 图4为具有式1结构化合物对缺氧复氧诱导损伤心肌细胞LDH、CK的影响(X $\pm$ s, n=3)与NOEMOXIA组比较,####P<0.001,与H/R组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01,\*\*\*P<0.001。

#### 具体实施方式

[0025] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限制本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0026] 实施例1

[0027] 本实施例提供权利要求1所述的具有式1结构的化合物的制备方法及其结构鉴定:

[0028] (1) 化合物制备:取100mg黄芪甲苷,加入到500mL的10%吡啶中,依次加入25mg溴化钠、5mg的2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基、1mL次氯酸钠,在0℃中反应120min,过滤,滤液用浓盐酸调pH 3,待固体析出后,浓缩至20mL,固液分离,固体用甲醇溶解转移,浓缩至干,得白色粉末89.7mg即为具有式1结构的化合物(HPLC纯度98.8%)。

[0029] (2) 结构鉴定:

[0030] 白色无定形粉末;TLC展开后喷5%浓硫酸/乙醇显紫红色;  $[\alpha]_D^{20} +8.4^\circ$  (c, 1.0,

MeOH); IR (KBr):  $\nu_{\max}$ : 3417, 2968, 1732, 1621, 1378, 1156, 1066, 1045  $\text{cm}^{-1}$ . HR-ESI-MS 准分子离子峰  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  821.4294 (Calcd. for  $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{NaO}_{15}$ : 821.4294), 推断该化合物的分子式为:  $\text{C}_{41}\text{H}_{66}\text{O}_{15}$ 。

[0031]  $^1\text{H}$  NMR 显示有 2 个糖基异头氢信号:  $\delta_{\text{H}}$  5.05 和  $\delta_{\text{H}}$  4.83,  $^{13}\text{C}$  NMR 也显示了 2 个相应的碳信号:  $\delta_{\text{C}}$  107.4 和 105.4, 据此推测化合物含有 2 个糖基片段。负离子 ESI-MS 显示  $m/z$  797  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ,  $\text{MS}^n$  碎片峰分别为  $m/z$  621  $[(\text{M}-\text{H})-177]^-$  (掉一个葡萄糖醛酸基)、665  $[(\text{M}-\text{H})-132]^-$  (掉一个木糖基); 将该化合物酸水解后, TLC 显示在葡萄糖醛酸和木糖相同位置处有显色斑点; 这些结果表明糖链由葡萄糖醛酸和木糖两种构成。

[0032]  $^1\text{H}$ -NMR 谱图上在  $\delta_{\text{H}}$  1.96、1.53、1.35、1.29、1.26、1.24 和 0.96 处显示 7 个甲基信号峰, 通过与黄芪甲苷的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据对照, 确定该化合物的母核未变化, 仍然为环阿屯烷型。结合上述 2 个糖基的分析, 表明苷元为黄芪皂苷元。

[0033] 与黄芪甲苷相比, 化合物的  $^{13}\text{C}$  NMR 显示有一个的羧基信号峰  $\delta_{\text{C}}$  172.7, 没有黄芪甲苷的葡萄糖基 6'' 信号峰; 化合物的  $^{13}\text{C}$  NMR 显示苷元的 C-3 和 C-6 均产生了苷化位移, 分别是  $\delta_{\text{C}}$  88.2 和  $\delta_{\text{C}}$  79.0, 从而确定化合物糖基应该连接在苷元的 C-3 和 C-6 位; HMBC 谱上木糖 H-1 与苷元 C-3、葡萄糖醛酸 H-1 与苷元 C-6 之间的远程相关证实这种推测。HMBC 谱的关键远程相关见图 1。

[0034] 综合 ESI- $\text{MS}^n$ 、HR-ESI-MS、 $^1\text{H}$  NMR、 $^{13}\text{C}$  NMR、DEPT、 $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY、HMBC、HMQC 等波谱分析, 并与黄芪甲苷对照, 鉴定化合物结构为式 1。经查, 该化合物为一个新化合物, 命名为黄芪苷酸。式 1 化合物的 NMR 数据见表 1。

[0035] 表 1 黄芪苷酸  $^{13}\text{C}$ -NMR (150MHz) 及 DEPT 数据 ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ )

[0036]

Position	$\delta_{\text{C}}$	DEPT	Position	$\delta_{\text{C}}$	DEPT
1	28.7	$\text{CH}_2$	23	26.2	$\text{CH}_2$
2	30	$\text{CH}_2$	24	81.4	CH
3	88.2	CH	25	71.1	C
4	42.4	C	26	28.4	$\text{CH}_3$
5	52.2	CH	27	28.5	$\text{CH}_3$
6	79	CH	28	19.6	$\text{CH}_3$
7	34.6	$\text{CH}_2$	29	28.3	$\text{CH}_3$
8	45.4	CH	30	16.6	$\text{CH}_3$
9	20.8	C	Sugar moieties		
10	27.9	C	D-Xylcose		
11	25.9	$\text{CH}_2$	1'	107.4	CH
12	33.2	$\text{CH}_2$	2'	75.4	CH
13	44.8	C	3'	78.3	CH
14	45.9	C	4'	71	CH
15	46	$\text{CH}_2$	5'	66.8	$\text{CH}_2$
16	73.2	CH	D-Glucuronic acid		
17	58	CH	1''	105.4	CH
18	20.9	$\text{CH}_3$	2''	75.3	CH
19	32	$\text{CH}_2$	3''	78.2	CH



[0037]

20	87	C	4"	73	CH
21	26.9	CH <sub>3</sub>	5"	77.1	CH
22	34.6	CH <sub>2</sub>	6"	172.7	C

[0038] 实施例2

[0039] 本实施例提供权利要求1所述的具有式1结构的化合物的制备方法,与实施例1相比不同之处在于调整了溶剂和试剂的比例:

[0040] 取100mg黄芪甲苷,加入到50mL的水中,依次加入25mg溴化钠、10mg的2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基、0.25mL次氯酸钠,在20℃中反应120min,过滤,滤液用浓盐酸调pH 2,待固体析出后,浓缩至10mL,固液分离,固体用乙醇溶解转移,浓缩至干,得白色粉末91.3mg即为具有式1结构的化合物(HPLC纯度99.1%)。

[0041] 实施例3

[0042] 本实施例提供权利要求1所述的具有式1结构的化合物的制备方法,与实施例1相比不同之处在于调整了溶剂和试剂的比例:

[0043] 取100mg黄芪甲苷,加入到10mL的10%DMF中,依次加入20mg溴化钠、8mg的2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基、0.20mL次氯酸钠,在0℃中反应120min,过滤,滤液用浓盐酸调pH 3,待固体析出后,浓缩至10mL,固液分离,固体用乙醇溶解转移,浓缩至干,得白色粉末82.7mg即为具有式1结构的化合物(HPLC纯度97.9%)。

[0044] 实施例4

[0045] 本实施例提供权利要求1所述的具有式1结构的化合物的制备方法,与实施例1相比不同之处在于调整了溶剂和试剂的比例:

[0046] 取100mg黄芪甲苷,加入到1L水中,依次加入500mg溴化钠、500mg的2,2,6,6-四甲基哌啶-1-氧自由基、5mL次氯酸钠,在0℃中反应120min,过滤,滤液用浓盐酸调pH 2,待固体析出后,浓缩至10mL,固液分离,固体用乙醇溶解转移,浓缩至干,得白色粉末86.8mg即为具有式1结构的化合物(HPLC纯度98.2%)。

[0047] 实施例5

[0048] 本实施例提供权利要求13所述的具有式1结构的化合物(本实施例中以DQ798作代号)对体外培养心肌细胞缺氧损伤的保护作用:

[0049] 1、实验方法:

[0050] 1.1大鼠心室肌细胞系H9c2细胞培养:H9c2细胞培养于含10%FBS的高糖DMEM培养基中,于5%CO<sub>2</sub>,饱和湿度及37℃条件下培养,每2~3d更换一次培养基,当细胞达到80-90%融合时传代或冻存或进入实验。将对数生长期的细胞以 $8 \times 10^4$ 或 $1.2 \times 10^5$  cells/ml的密度分别接种于96或6孔板中,于常规细胞培养箱中培养。

[0051] 1.2心肌细胞缺氧再复氧模型建立:取培养48h的H9c2细胞,用K-B buffer(预先充入95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>混合气饱和30min)替代正常培养基,而后迅速将培养板移入通有95%N<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>混合气的缺氧装置中,37℃缺氧培养3h。取出培养板,更换正常培养基并置于常规培养箱复氧3h。

[0052] 1.3实验分组:实验设正常对照组(Normoxia)、缺氧复氧组(H/R)、DQ798预处理组高、中、低剂量组(2.5、5和10mg/L),共5组,每组设6复孔。除正常对照组外,其他各组均缺氧

处理3h再复氧3h,正常对照组则于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中同步孵育6h。

[0053] 1.4 MTT检测方法:取出各组样本,每孔加入20u1 MTT (5g/L),于37℃、5%CO<sub>2</sub>箱中继续孵育4h,终止培养,倒板。加入150u1 DMSO振摇15min,使结晶充分溶解,于测定波长570nm、参考波长630nm处,测定各孔吸亮度(OD)值。

[0054] MTT代谢率(%) = 实验组OD值/正常对照组OD值X 100%

[0055] 1.5线粒体活性检测:按照线粒体活性试剂盒(Abcam,USA)标准操作,多孔读板仪(Infinite M200pro microplate reader)读取荧光强度(590nm/550nm)计算活性强度。

[0056] 1.6生化指标检测:取培养于24孔板的各组细胞培养上清液,用比色法测定LDH、CK活性,用黄嘌呤氧化酶法测定细胞内SOD活性;用硫代巴比妥酸比色法测定细胞内MDA含量,具体检测过程及操作方法按试剂盒说明书进行。

[0057] 2.实验结果:

[0058] 2.1 DQ798显著提高心肌细胞存活率

[0059] 与Normoxia组比较,H/R组细胞存活率明显降低(P<0.01)。2.5、5和10mg/L DQ798预处理组能够提高细胞存活率,其作用并呈浓度依赖关系。5和10mg/L DQ798预处理组明显提高细胞存活率为76.04%(P<0.01)和82.44%(P<0.001),结果如图2所示。

[0060] 2.2 DQ798显著提高心肌细胞线粒体活性

[0061] 体外培养心肌细胞由缺氧复氧诱导损失后,线粒体功能异常,氧化呼吸链受损,ATP产生减少。通过快速检测细胞内线粒体活性,可以提示化合物对线粒体损失的保护作用。本实验结果显示:2.5、5和10mg/L DQ798预处理组,荧光分光亮度计测得荧光强度显著高于H/R组,表明均可显著增加线粒体活性(P<0.01),结果如图3所示,说明DQ798能对抗缺氧复氧对心肌细胞线粒体的损害,可能通过保护线粒体功能发挥心肌细胞保护作用。

[0062] 2.3 DQ798显著降低缺氧诱导心肌酶升高

[0063] 缺氧复氧导致心肌细胞损伤时,心肌损伤标志物LDH和CK将明显升高。2.5、5和10mg/L DQ798预处理组的3个剂量组与H/R组相比,LDH、CK均明显降低,表明DQ798可在急性缺氧条件下保护心肌细胞,上述结果见图4。

[0064] 3实验结论

[0065] DQ798可显著提高急性缺氧复氧诱导的心肌细胞存活率和线粒体活性,降低心肌酶释放,减轻细胞氧化损伤,对体外培养的心肌细胞缺氧损伤表现出具有显著的保护作用,提示了DQ798在制备抗急性心肌缺血药物中的用途。

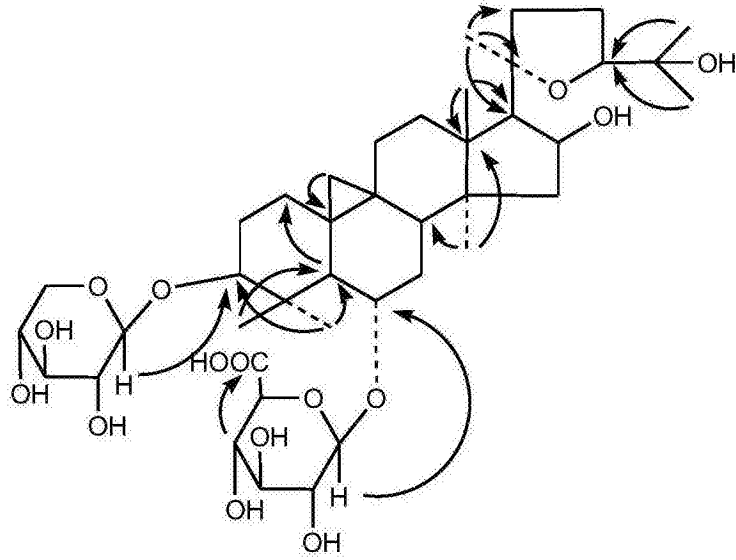


图1

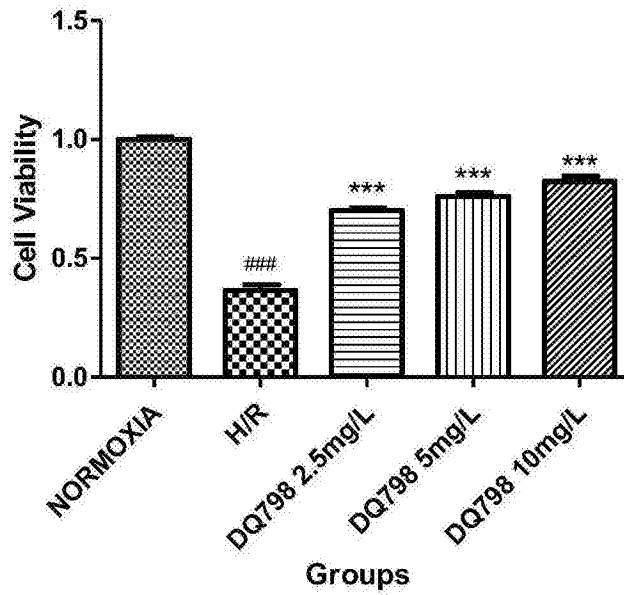


图2

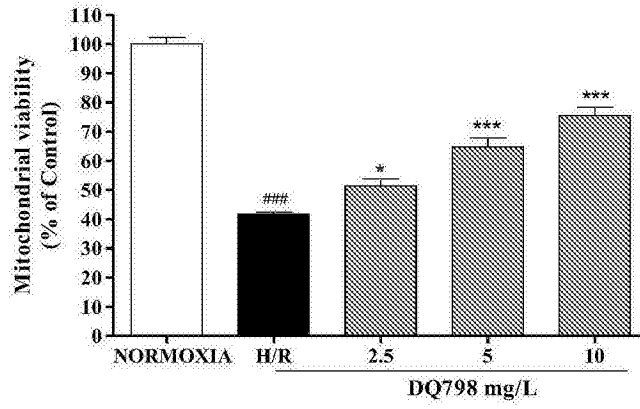


图3

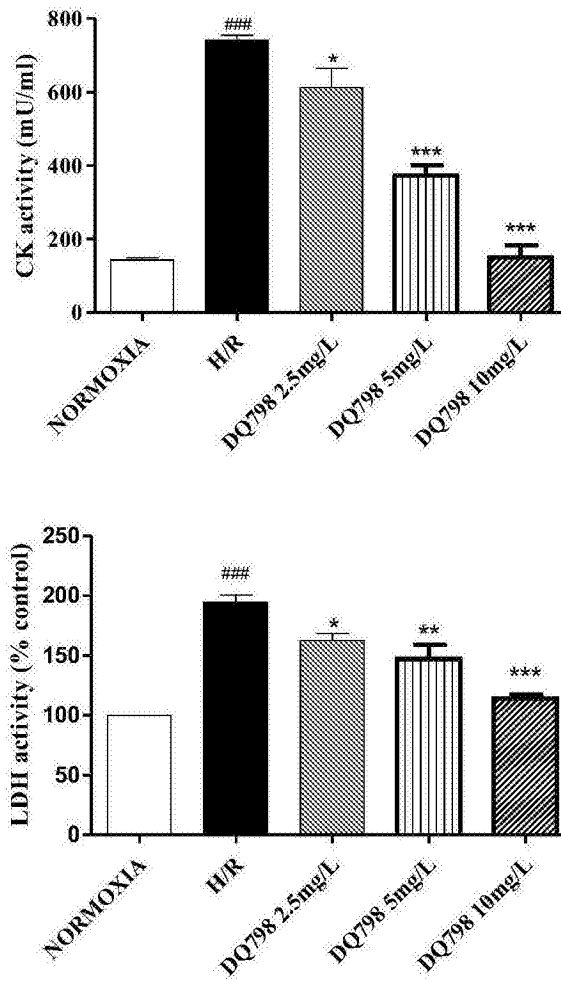


图4