

◇讲座与综述◇

选择性磷酸二酯酶抑制剂研究进展

王晓英 吴俊芳 张均田

(中国医学科学院·中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

中国图书分类号 R 345; R 698.1; R 977.3

文献标识码 A 文章编号 1001-1978(2000)02-0121-04

摘要 磷酸二酯酶(PDEs)迄今已报道有9个基因家族,每个家族又包括多个亚家族。PDEs分布于多个组织中,其抑制剂具有广泛的生理作用。其中,PDE 4抑制剂被认为是作用于细胞内靶点的新型免疫调节、抗炎药物。新型PDE 5抑制剂sildenafil通过NO/cGMP通路舒张海绵体血管及平滑肌,应用于阳痿治疗取得了较好的临床效果。该文简要综述选择性PDEs抑制剂近年研究进展。

关键词 磷酸二酯酶抑制剂; 同工酶; 抗炎; 抗阳痿

cAMP和cGMP是细胞内第二信使,对于细胞活动起着重要的调节作用。而其浓度的调节主要由核苷酸环化酶的合成和磷酸二酯酶(PDEs)水解作用之间的平衡决定。PDEs在人体内分布广泛,生理作用涉及多个研究领域。近年来,PDEs作为新的治疗靶点^[1],引起了众多学者广泛的关注,成为一个新的研究热点,选择性PDE 4和PDE 5抑制剂的临床研究受到格外的重视。下面就近年来关于PDEs抑制剂的相关研究进展作一综述。

1 PDEs同工酶家族概述

1.1 家族成员及特点 PDEs大家族中,据其对底物作用的特异选择性、抑制剂的敏感性和钙/钙调素的依赖性及不同的氨基酸序列分为7种PDEs基因家族^[2]。家族1:钙/钙调素激活,水解cAMP、cGMP;家族2:由cGMP刺激,以cGMP、cAMP为作用底物;家族3:被cGMP抑制;家族4:为cAMP特异性的;家族5:在酶非催化部位结合cGMP,并特异水解cGMP;家族6:视网膜特有PDE,水解cGMP;家族7:为一种 K_m 很低的cAMP特异性PDE。

近年,Fisher DA等^[3]报道了PDE 8A这种PDE家族新成员。它与PDE 4结构最接近,在催化结构域有38.5%氨基酸同源序列。但它不属于任何已报道的7个成员。PDE 8A mRNA约4.5 kb,在许

多组织得以表达,其中,在卵巢,结肠,小肠和睾丸中表达最高。PDE 8A为一种高亲和力的cAMP特异性PDE,它对不同的PDE抑制剂如:rolipram, zapinast, vinpocetine, SKF-94120和IBMX不敏感,但能被dipyridimole抑制, $IC_{50} = 9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随后,Scott H等^[2]报道了PDE家族第9个成员——PDE 9A₁,为cGMP高特异性的,它在肾中呈现出高mRNA表达,而在肝、肺、脑中表达较低,经Northern杂交分析,mRNA约2.0 kb,当在COS-7细胞中表达时,PDE 9A₁活性没有被非选择性抑制剂IBMX抑制,也没有被新的选择性PDE 5抑制剂sildenafil抑制。但它被PDE 1/5抑制剂SCH 51866抑制, $IC_{50} = 1.55 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 PDEs同工酶作用机制 cAMP和cGMP作为神经递质、激素、光和气味等物质的第二信使,广泛作用于细胞内靶器官,如:激酶、离子通道及各种PDEs。当外来信号经跨膜传递并引起一系列生理反应使核苷酸环化酶激活后(如图1所示),cAMP和cGMP产生,PDEs家族的使命便是使之水解失活为5'单磷酸核苷(5' monophosphate nucleoside, 5'AMP)。核苷酸环化酶的合成和PDEs水解失活之间的平衡决定了第二信使cAMP和cGMP的浓度。值得注意的是^[4],cGMP不但被PDEs水解,而且能调节一些PDEs活性,如PDE 2可被cGMP刺激,而PDE 3可被cGMP抑制,PDE 4对cGMP不敏感。

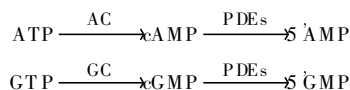


Fig 1 Action mechanism of PDE isoenzymes

2 选择性磷酸二酯酶分布、特点及其抑制剂作用机制

2.1 PDE 4分布、特点及其抑制剂相关作用机制

PDE 4主要分布于各种炎性细胞内,包括肥大细胞、巨噬细胞(MΦ)、嗜酸粒细胞(EOS)、淋巴细胞和上皮细胞等。PDE 4的组织分布说明它与中枢神经系统和免疫系统息息相关,其抑制剂被认为是作用于细胞内作用靶点的新的抗炎药和中枢神经系统药

1999-06-03收稿,1999-07-28修回

作者简介:王晓英,女,29岁,博士研究生;

张均田,男,68岁,教授,博士生导师 中国药理学会理事

物^[5]。研究表明,选择性 PDE 4 抑制剂可作用于中性粒细胞、巨噬细胞、嗜碱粒细胞、单核细胞和嗜酸粒细胞^[6]。

PDE 4 共分为 4 种亚型,即 PDE 4A、4B、4C、4D,各种亚型又有新的分支,如 4D、4B 各有 3 种次亚型^[7]。各亚型的开发将有可能更有针对性增加疗效,减少不良反应。较早研究的选择性 PDE 4 抑制剂主要有 zaprinast, rolipram, Ro20-1724 等。其中,rolipram 和 ro20-174 具有抑制呼吸道肥大细胞及嗜碱粒细胞释放组胺和白三烯及嗜酸粒细胞产生的超氧化物歧化酶(SOD),还可抑制中性粒细胞释放的溶菌酶、PAF、LTB₄。PDE 4 抑制剂中,rolipram 的抑制作用最大,它主要作用在淋巴细胞,对单核细胞抑制作用最小。晚近有 CP-0633, SB 207499(Ariflo)等,其中 CDP 840 正在进行临床试验。

PDE 4 抑制剂的抗炎作用机制主要涉及^[5, 8, 9]:

- ①抑制多种炎症介质/细胞因子的释放,能够抑制 TH 2 细胞 IL-4、IL-5 基因的表达。
- ②抑制白细胞的激活(呼吸爆发),抑制白细胞游走。
- ③抑制细胞粘附因子(CAM)的表达或上调。
- ④诱导产生具有抑制活性的细胞因子,如 IL-6。
- ⑤诱导细胞凋亡。
- ⑥刺激内源性激素和儿茶酚胺类物质的释放。

总之,经研究证实,PDE 4 抑制剂具有明显抗炎、抗过敏、抗血小板活化作用。甚至有人认为 PDE 4 抑制剂的抗炎作用仅次于肾上腺皮质激素。

2.2 PDE 5 的分布、特点及其抑制剂相关作用机制

PDE 5 主要分布在海绵体组织及血小板中,以 cGMP 为特异性底物^[10],PDE 5 抑制剂 sildenafil 近年来成为研究的热点,1998 年 3 月,美国 FDA 批准其口服应用于阳痿的治疗,取得了较好的临床效果^[11, 12]。

2.2.1 结构特征及理化性质 sildenafil 为新型甲基哌嗪衍生物,其化学结构见图 2,化学名为 1-[4-乙氧基-3-(6,7-二氢-1-甲基-7-氧代-3-丙基-1-氢-吡唑啉酮[4,3-d]嘧啶-5)-苯磺酰基]4-甲基哌嗪枸橼酸盐,其水溶解度为 $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,相对分子量为 666.7。白色结晶,成品为蓝色片剂,规格为 25、50、100 mg。其中除活性成分外,尚有微晶纤维素、磷酸盐、硬脂酸盐、乳糖、甘油三酯等。

2.2.2 sildenafil 作用机制 关于阴茎勃起的机制很复杂,目前尚无统一认识。现在多数研究者已将注意力从血流动力学转向神经介质。已证实有三种神经机制共同参与海绵体平滑肌和螺旋动脉张力调控。即肾上腺素能、胆碱能、和非肾上腺素能非胆碱

能(NANC)。现在认为 NANC 机制是海绵体血管、平滑肌舒张的主要机制,而 NO 为 NANC 的神经介质^[13]。在整个勃起生理过程中,阴茎血管及海绵体平滑肌舒张是关键因素。sildenafil 通过 NO/cGMP 通路而发挥作用^[14](见图 3)。

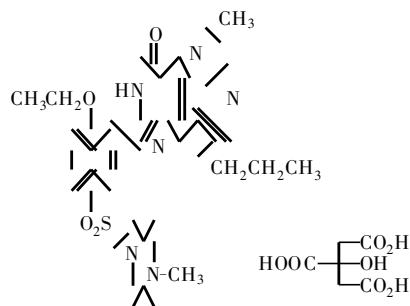


Fig 2 Chemical structure of sildenafil

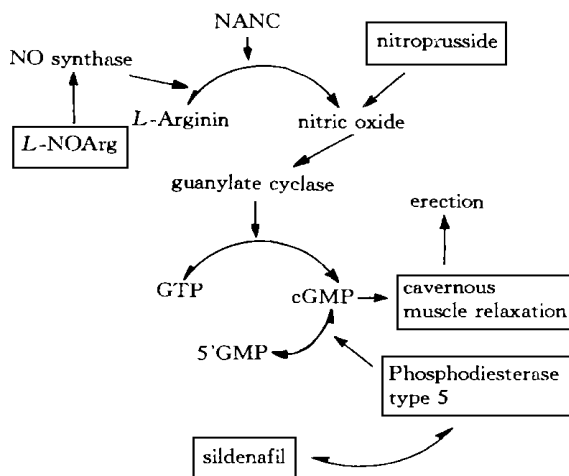


Fig 3 Action mechanism of sildenafil

在盆腔神经 NANC 神经系统刺激下,NO 合酶(NOS)作用于 L-精氨酸的胍基氮末端产生 NO,由于其亲脂性,可透过细胞膜在邻近细胞间迅速扩散,并作用于细胞中的鸟苷酸环化酶(GC),与其亚铁血红素分子中的铁离子结合,形成 NO-GC 复合物。这种复合物与该酶的卟啉部位相结合,导致构型的改变而激活 GC,使细胞中 cGMP 大量产生,cGMP 作为细胞内第二信使,可产生一系列生理反应,使海绵体平滑肌及血管舒张。cGMP 传递信息的同时被 PDE 5 水解转化为 5'GMP 而失活。sildenafil 选择性抑制 PDE 5 对 cGMP 水解,从而使 cGMP 积聚性浓度提高,大大增强了其血管舒张效果^[15]。

在动物离体器官试验中^[15],用新西兰大白兔取其海绵体组织,用不同浓度的 sildenafil 在 NO 供体硝普钠存在下,孵育不同时间,检测 cGMP 浓度,结果 cGMP 浓度呈时间依赖性增加,且对 sildenafil 呈剂量依赖性。当硝普钠达最大浓度时,可使 cGMP 浓度增加 28 倍。

阴茎组织中的 NO 有血管内皮细胞系和 NANC 神经纤维两种来源^[16]。在离体器官水浴试验中^[17], 将兔海绵体条用苯丙肾上腺素 (PE) 收缩以后, 用类似神经冲动的电刺激方法, 在 1~16 Hz 进行舒张试验, 结果单纯用 sildenafil 对 PE 的收缩基本无作用, 而用 sildenafil 合并电刺激, 可大大提高其舒张百分率。说明 sildenafil 通过类似神经冲动的电刺激而使海绵体组织 NO 释放, 进而通过 NO/cGMP 通路发挥其舒张作用。同样用乙酰甲基胆碱 (MCH) 对 PE 收缩后的海绵体进行舒张, 结果 sildenafil 可大大提高 MCH 的舒张幅度。说明 sildenafil 通过内皮依赖性海绵体组织 NO 释放, 继之利用 NO/cGMP 通路达到舒张效果。

3 展望

PDEs 同工酶分布在不同组织中, 具有不同的生理功能。同时^[18], 不只每个 PDE 家族有特异性底物和调节特点, 而且每个家族各成员间也有组织、细胞、亚细胞特异性表达的不同, 参与不同的信号传导通路。选择性 PDEs 抑制剂可特异性作用于不同的同工酶而发挥不同的作用。所以 PDEs 成为药物开发很有吸引力的作用靶点。在心血管、生殖、抗炎、免疫等诸多领域均涉及到 PDE 同工酶家族。而且随着分子生物学、生物化学、药理学的发展, PDE 同工酶被细分为若干亚家族及次亚家族, 所以药物可高特异性作用于某靶点, 而大大减少毒副作用。对于选择性 PDEs 抑制剂的研究, 目前大多尚处于基础试验阶段, 临床试验刚刚起步。而且, 新的家族成员不断被发现, 家族成员之间的差异也逐步达到能够精细的定位。这预示药理工作者在此领域将拥有一个艰辛而又前景无限的未来。

参考文献

- Palacios JM, Beleta J, Segarra V. Second messenger systems as targets for new therapeutic agents; focus on selective phosphodiesterase inhibitor. *Farmacol*, 1995; **150**: 819~27
- Scott H, Sharon J, Joseph A. A novel family of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *The Journal of Biology Chemistry*, 1998; **273**: 15553~8
- Fisher DA, Smith JF, Pillar JS. Isolation and characterization of PDE8A, a novel human cGMP-specific phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998; **246**: 570~7
- Eckly AE, Lugnier C. Role of phosphodiesterase III and IV in the modulation of vascular cyclic AMP content by the NO/cyclic GMP pathway. *Br J Pharmacol*, 1994; **113**: 445~50
- Teixeira MM, Gristwood RW, Cooper N. Phosphodiesterase (PDE) inhibitors: anti-inflammatory drugs of the future? *TIPS*, 1997; **18**: 164~70
- Wright KF, Tumer CR, Beck JR *et al*. Differential *in vivo* and *in vitro* bronchorelaxant activities of CP-80, 633, a selective phosphodiesterase 4 inhibitor. *Can J Physiol Pharmacol*, 1997; **75**: 1001~8
- Kostic MM. Altered expression of PDE 1 and PDE 4 cyclic nucleotide phosphodiesterase isoforms in 7-oxo-prostacyclin-preconditioned rat heart. *J Mol Cell Cardiol*, 1997; **29**: 3135~46
- Barnette MS, Bartus JO. Association of the anti-inflammatory activity of phosphodiesterase 4 (PDE 4) inhibitors with either inhibitor of PDE 4 catalytic activity or competition for [³H] rolipram binding. *Biochem Pharmacol*, 1996; **51**: 949~56
- Barnette MS, Christensen SB. SB 207499 (Arifb), a potent and selective second generation phosphodiesterase 4 inhibitor *in vitro* anti-inflammatory actions. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998; **284**: 420~6
- Taher AM, Meyer CG, Stief UJ, Forssmann WG. Cyclic nucleotide phosphodiesterase in human cavernous smooth muscle. *World J Urol*, 1997; **15**: 32~5
- Weidmann P. New principle in therapy of erectile dysfunction: sildenafil. *Ther Umsch*, 1996; **55**: 384~8
- Morales A, Gingell C, Collins M. Clinical safety of oral sildenafil citrate (VIAGRA) in the treatment of erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, 1998; **10**: 69~73, discussion 73~4
- Alex T, John D, Richard A. Sildenafil, a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor, specifically amplifies endogenous cGMP-dependent relaxation in rabbit corpus cavernosum smooth muscle *in vitro*. *J Urol*, 1998; **160**: 257~61
- Anthony J, Stephen A, Alasdair M. Effect of the selective phosphodiesterase type 5 inhibitor-sildenafil on erectile function in the anesthetized dog. *J Urol*, 1998; **160**: 242~6
- Jeremy JY. Effect of sildenafil, a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor and papaverine on cyclic GMP and cyclic AMP in the rabbit corpus cavernosum *in vitro*. *Br J Urol*, 1997; **179**: 958~63
- Burnett A. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. *J Urol*, 1998; **157**: 320~4
- Stephen AB, Clive JG, Tang GK. Effect of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue *in vitro* and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J Urol*, 1998; **159**: 2164~71
- Christian G, Stefan U, Armin J. The effect of the specific phosphodiesterase (PDE) inhibitor on human and rabbit cavernous tissue *in vitro* and *in vivo*. *J Urol*, 1998; **159**: 1390~3

Progress in selective inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase

WANG Xiao-Ying, WU Jun-Fang, ZHANG Jun-Tian

(Dept of Pharmacology, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of

Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050)

ABSTRACT Till now, nine different gene families of phosphodiesterases (PDEs) have been isolated from 1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

内源性哇巴因对高血压动物模型的血压调节机制

原卫清 王 颢 吕卓人

(西安医科大学第一附属医院内科, 西安 710061)

中国图书分类号 R-332; R 331. 3; R 347; R 544. 1

文献标识码 A 文章编号 1001-1978(2000)02-0124-04

摘要 内源性哇巴因(endogenous ouabain, EO)是新近发现的由肾上腺皮质所分泌的一种类固醇激素,体内EO含量升高在高血压的发病中可能起着重要作用,该文针对各种高血压模型体内EO含量的改变以及这种改变在血压升高中的意义作一综述。

关键词 内源性哇巴因; 高血压; 动物模型

内源性哇巴因(endogenous ouabain, EO)是新近发现的由肾上腺皮质所分泌的一种类固醇激素,具有多种生理和病理生理意义^[1~3]。EO与高血压发病关系的研究成为该领域研究的重点与热点之一,而该方面目前又针对各种高血压模型体内EO含量的改变以及这种改变在血压升高中的意义研究较多^[2~3]。本文就内源性哇巴因对高血压动物模型的血压调节机制及所涉及的EO分泌的调节等方面作一综述。

1 自发性高血压鼠(SHR)

作为经典的高血压动物模型之一,SHR无疑是研究EO与高血压发病关系的重要模型之一,该方面的研究可归纳为3个方面:①SHR体内EO含量的改变:Leenen等^[4]的研究发现SHR大鼠组织及血浆中EO含量在正常饮食时明显高于对照组(WKY大鼠),长期给予高盐饮食SHR及WKY中枢及外周EO含量均明显增高,但SHR的增加幅度

大大高于WKY大鼠。②SHR对EO敏感性的改变:有研究显示,相同剂量的哇巴因导致SHR血管平滑肌细胞内游离钙增加的程度较对照组(WKY鼠)高,提示SHR血管平滑肌可能对哇巴因所引起的收缩更加敏感^[5]。Ou等^[6]的研究发现,高盐饮食可使SHR组织内EO的特异性受体钠泵各亚单位的表达改变,对哇巴因的抑制更加敏感,从而可能在高血压的发病中起着重要作用。③哇巴因在SHR体内的分布:Nishibe等给SHR及WKY大鼠喂养相同剂量的哇巴因,观察其在体内的分布情况,结果发现SHR大鼠血浆、心脏、肾脏,尤其是肾上腺内哇巴因含量明显高于WKY大鼠,这可能与SHR大鼠的血压升高有关。

SHR及下面将要讨论的Milan高血压鼠等具有遗传性的高血压动物体内EO含量的增加,使人们推测血浆EO含量的增高可能具有遗传性,对人类的研究也发现有高血压家族史的人群血浆EO含量明显高于无高血压家族史者^[7]。

2 Milan高血压鼠

Milan高血压鼠体内EO含量较Milan正常血压鼠要高。Holland等^[8]对3wk及9wk龄Milan高血压鼠(MHS)的研究发现,3wk时模型组血压与对照组比较无明显差异,9wk时血压则明显升高;而3wk时血浆钠泵抑制物(目前证明即为EO)的含量却高于对照组(虽然低于9wk组),提示内源性哇巴因的增加可能并不是继发于血压的升高,而是导致血压上升的因素之一。

为了研究食物中外源性哇巴因对EO的影响,Ferrandi等^[9]给予血压正常及血压升高的Milan鼠

1999-07-09 收稿, 1999-09-17 修回

作者简介:原卫清,女,31岁,博士生;

吕卓人,男,55岁,教授,博士生导师,曾在美国及意大利长期从事“内源性哇巴因与高血压”的研究

a variety of tissues. Each PDE family and even members within a family also exhibit tissue-, cell-, and subcell-specific expression patterns and therefore PDEs inhibitors have extensive physiological actions. Among these families, PDE 4 is currently considered as intracellular target for new anti-inflammatory drugs and CNS drugs. Sildenafil, a selective phosphodiesterase type-5 inhibitor, specifically amplifies

endogenous cGMP-dependent relaxation in corpus cavernosum smooth muscle, and has good effect in the treatment of erectile dysfunction. In this review, a brief summarization is made on inhibitors of PDEs along with their clinical use.

KEY WORDS cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitor; isozyme; anti-inflammatory; anti-erectile dysfunction