

抗抑郁新化合物 SIPI-C 和 SIPI-F 对 PC12 细胞内游离钙离子浓度的影响

周 慧¹, 汪溪洁¹, 翁志洁², 李建其², 马 璟¹

(1. 上海医药工业研究院国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203; 2. 上海医药工业研究院化学制药新技术中心, 上海 200040)

摘要: 目的 研究抗抑郁新化合物 SIPI-C 和 SIPI-F 对 PC12 细胞内游离钙离子浓度 ($[Ca^{2+}]_i$) 的影响, 初步探讨其神经毒性的机制。方法 接种 PC12 细胞于经胶原|包被的培养皿, 加入钙离子荧光探针 Fluo-3/AM 染色后, 用激光共聚焦显微镜分别记录 ① 有钙外液中, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-A, B, C 和 F 对 PC12 细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响; ② 有钙外液中, 1, 10 和 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-C 和 SIPI-F 对 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响; ③ 有钙外液中, 硝苯地平 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-C 或 SIPI-F 作用的影响; ④ 无钙细胞外液中, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SIPI-C 和 SIPI-F 对 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响。结果 有钙外液中, SIPI-A 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 给药后 $[Ca^{2+}]_i$ 下降, 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-B, SIPI-C 和 SIPI-F 分别使 $[Ca^{2+}]_i$ 增加 27% ($P < 0.05$), 84% ($P < 0.05$) 和 87% ($P < 0.01$); SIPI-C 和 SIPI-F 明显升高 $[Ca^{2+}]_i$; 同时给予 SIPI-C 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和硝苯地平 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 SIPI-F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和硝苯地平 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 给药后荧光强度立即上升达到峰值, 随后下降, $[Ca^{2+}]_i$ 分别增加 24% 和 15% ($P < 0.05$)。在无钙外液中, SIPI-C 和 SIPI-F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 分别使 $[Ca^{2+}]_i$ 增加 16% 和 18% ($P < 0.01$)。结论 抗抑郁化合物 SIPI-C 和 SIPI-F 可以引起 PC12 细胞中 $[Ca^{2+}]_i$ 显著增加, 此影响可能与其神经毒性有关。

关键词: 抗抑郁药物; 烷醇哌嗪衍生物; SIPI-C; SIPI-F; PC12 细胞; 细胞内钙离子浓度

中图分类号: R971.43, R966 文献标志码: A 文章编号: 1000-3002(2013)02-0145-05

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2013.02.004

SIPI-A ~ SIPI-F 是根据药物作用靶点, 定向设计和合成的系列新型抗抑郁化合物, 属于芳烷醇哌嗪衍生物^[1], 6 个化合物分别为同一化学结构的不同光学异构体, 其结构式见图 1。体外研究表明, 6 个化合物对去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)、5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) 和多巴胺 (dopamine, DA) 均有较强的再摄取抑制作用, 在小鼠体内表现出显著的抗抑郁作用^[2]。在进行 6 个化合物的成药性比较研究时发现, SIPI-C 和 SIPI-F 组有小鼠出现四肢抽搐等毒性反应 (未发表的数据), 推测它们可能具有神经系统的副作用, 其他 4 个化合物未出现该毒性反应。因此, 对化合物 SIPI-C 和 SIPI-F 产生神经毒性反应的机制进行研究。

基金项目: 国家科技重大专项 (2012ZX09102-101-008)

作者简介: 周 慧 (1986 -), 女, 硕士研究生, 主要从事神经毒理学研究; 马 璟 (1963 -), 女, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事毒理学研究; 李建其 (1957 -), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事新药设计和药物合成研究。

通讯作者: 马 璟, E-mail: jma@ncdser.com, Tel: (021)50800333-101; 李建其, E-mail: li.jianqi@sipi.com.cn, Tel: (021)55514600-288

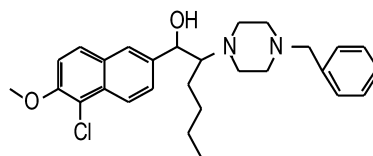


Fig. 1 Core structure of SIPI-A – SIPI-F. SIPI-A is erythro form racemic; SIPI-B is (1R,2S)-optical isomer; SIPI-C is (1R,2R)-optical isomer; SIPI-D is (1S,2R)-optical isomer; SIPI-E is (1S,2S)-optical isomer; and SIPI-F is threo form racemic.

细胞内钙离子浓度的增高是许多生理病理性过程的一个关键信号, 神经细胞内的钙离子超载是造成神经元损伤的主要原因之一^[3]。Shimizu 等^[4]发现, 米帕明 (imipramine) 和米安色林 (mianserin) 等通过促进细胞内钙离子释放, 浓度依赖性地增加大鼠额皮质原代培养神经元内钙离子浓度; Joshi 等^[5]发现, 高浓度的阿米替林 (amitriptyline) 和地昔帕明 (desipramine) 可以增加神经内分泌细胞 PC12 细胞和人脑星形胶质细胞瘤 U-87 MG 细胞内的钙离子浓度。在这两个实验中, 药物引起细胞内钙离子浓度升高的剂量远高于其治疗剂量, 对其药效学作用的产生意义不大。因此, 米帕明、米安色林、阿米替林和地昔帕明对细胞内钙离子的作用可能与其神经系统不良反应相关。

研究发现,SIPI-C 和 SIPI-F 抑制未分化 PC12 细胞中的延迟整流钾电流的 IC_{50} 分别为 0.6 和 $1.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 在该浓度条件下,SIPI-C 和 SIPI-F 可以使神经细胞持续去极化,从而增加神经递质的释放和神经细胞的兴奋性^[6]。抑制延迟整流钾通道可以延缓动作电位的复极化过程,从而使进入细胞的游离钙离子增多。本研究应用激光共聚焦显微镜观察 PC12 细胞给予 SIPI-C 和 SIPI-F 后,细胞内游离钙离子浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的动态变化,研究这两种化合物对细胞内 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的影响,以探讨其可能的神经毒性作用及机制。

1 材料与方法

1.1 药物、试剂及主要仪器

抗抑郁化合物 SIPI-A, B, C 和 F 由上海医药工业研究院提供,纯度分别为 98.53%, 98.36%, 99.65% 和 99.25%。将 SIPI-A, B, C 和 F 用二甲亚砜(DMSO)溶解,配制成终浓度为 $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液,于 -20°C 保存,实验时超纯水稀释到所需浓度。青霉素/链霉素,硝苯地平 and 胶原 I 型均购自 Sigma 公司; Hank 液, D-Hank 液, 胰蛋白酶, DMEM/F12 培养基,胎牛血清和 马血清均购自 Gibco 公司; DMSO 为国产分析纯;钙离子荧光探针 (Fluo-3/AM) 购自 Molecular Probe 公司。激光扫描共聚焦显微镜 LSM-510 德国 Zeiss 产品。

1.2 细胞培养

PC12 细胞(购自中科院上海生命科学研究院细胞库),置于含有 10% 马血清、5% 胎牛血清、青霉素 $100 \text{ kU}\cdot\text{L}^{-1}$ 和链霉素 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DMEM/F12 培养基中,接种于经胶原 I 型包被的培养皿,置 CO_2 培养箱 (37°C , 5% CO_2) 中培养过夜。

1.3 实验分组

将 Hank 液和 D-Hank 液分别作为有钙组和无钙组的细胞外液,根据细胞外液有钙或无钙以及加入药物的不同,将实验分为以下几部分:① 有钙外液中,SIPI-A, B, C 和 F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 PC12 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响;② 有钙外液中,SIPI-C 和 SIPI-F $1, 10$ 和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 PC12 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响;③ 有钙外液中,同时加入硝苯地平 and SIPI-C 或 SIPI-F, 观察硝苯地平 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 SIPI-C 和 SIPI-F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用的影响;④ 无钙外液中 SIPI-C 和 SIPI-F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 PC12 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响。

1.4 激光共聚焦显微镜检测 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的动态变化

待 PC12 细胞贴壁后,加入荧光离子探针

Fluo-3/AM,终浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,在 37°C 避光孵育 40 ~ 50 min。将细胞用 Hank 液(有钙组)或 D-Hank 液(无钙组)轻轻冲洗 3 次,然后加入 1 ml 相应细胞外液。激光扫描共聚焦显微镜采用激发光 488 nm,发射光 505 ~ 550 nm,连续扫描 600 次,扫描速率为 2 s/次。各组开始连续扫描约 50 次后加入相应药物,继续扫描,扫描速率为 2 s/次,观察荧光强度的动态变化,并用 ZEISS-SP2 工作软件计算出每次钙离子的荧光强度。以各时间点的荧光强度与初始荧光强度的比值作为 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的相对值。

1.5 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Sigmaplot 10.0 软件分析实验结果,给药前后同一细胞荧光强度相对值的变化采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 有钙细胞外液条件下 SIPI-A, B, C 和 F 对 PC12 细胞内游离钙离子浓度的影响

图 2 结果显示,给予 DMSO 前后的荧光强度相对值分别为 0.96 ± 0.01 和 0.92 ± 0.13 ,提示实验浓度的 DMSO 对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无明显影响。给予 SIPI-A $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后的相对荧光强度降低 (14 ± 7)% ($n=5, P < 0.01$),提示 SIPI-A 使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 减少。给予 SIPI-B, SIPI-C 和 SIPI-F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后的相对荧光强度升高 (27 ± 14)% ($n=5, P < 0.05$), (84 ± 9)% ($n=5, P < 0.05$) 和 (87 ± 17)% ($n=6, P < 0.01$), 给药后荧光强度增加,提示 SIPI-B, SIPI-C 和 SIPI-F 使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加。

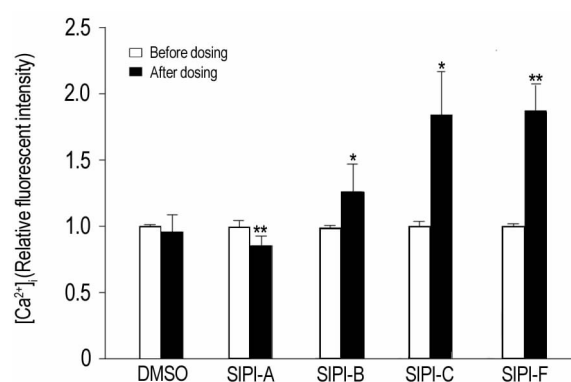


Fig. 2 Effect of SIPI-A, B, C and F on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ of PC12 cells in Hank's solution. SIPI-A, B, C and F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ were added after successive scanning for 50 times, respectively. The fluorescence intensity at each time point was compared with the basal level before SIPI-A, B, C or F stimulation. The ratio was considered the relative value of $[\text{Ca}^{2+}]_i$. $\bar{x} \pm s$, $n = 5 - 6$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the corresponding before dosing group.

2.2 SIPI-C 和 SIPI-F 对 PC12 细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响

2.2.1 有钙细胞外液

图 3 结果显示,与给药前相比,SIPI-C 1, 10 和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 100 s 后的相对荧光强度分别升高 $(10 \pm 9)\%$ ($n=8, P<0.05$), $(74 \pm 39)\%$ ($n=5, P<0.05$) 和 $(91 \pm 39)\%$ ($n=7, P<0.01$), 说明 $[Ca^{2+}]_i$ 显著增加, 并且随着药物浓度的增加, SIPI-C 对 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响逐渐增加。与给药前相比, SIPI-F $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 100 s 对 $[Ca^{2+}]_i$ 无显著影响, SIPI-F 10 和 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用 100 s 后, 相对荧光强度分别升高 $(55 \pm 14)\%$ ($n=6, P<0.01$) 和

$(173 \pm 10)\%$ ($n=16, P<0.01$), 说明 $[Ca^{2+}]_i$ 显著增加, 并且随着药物浓度的增加, SIPI-F 对 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响逐渐增加。图 4 结果显示, 硝苯地平 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 使 PC12 细胞荧光强度下降, 给药后相对荧光强度降低 $(20 \pm 11)\%$ ($n=5, P<0.05$), 提示 $[Ca^{2+}]_i$ 减少。同时给予 SIPI-C 和硝苯地平或 SIPI-F 和硝苯地平, PC12 细胞荧光强度立即上升达到峰值, 随后下降。给予 SIPI-C 和硝苯地平后的相对荧光强度升高 $(24 \pm 6)\%$ ($n=6, P<0.05$); 给予 SIPI-F 和硝苯地平后的相对荧光强度升高 $(15 \pm 14)\%$ ($n=6, P<0.05$)。

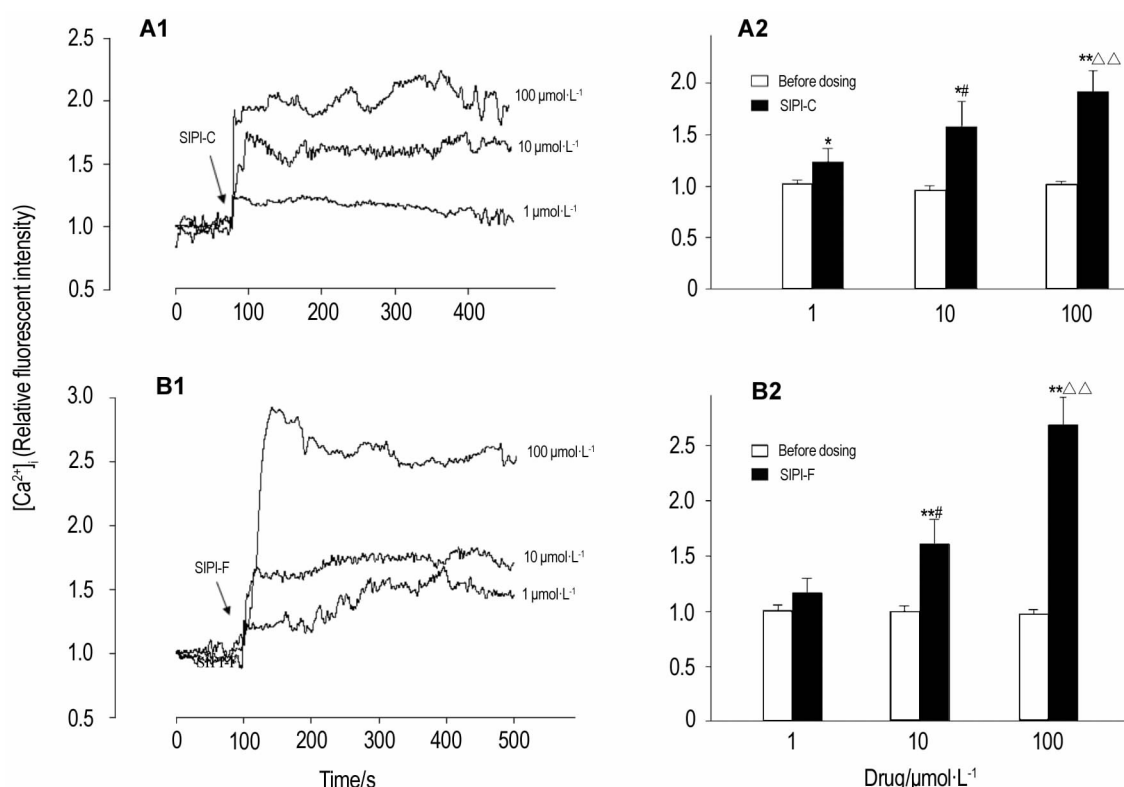


Fig. 3 Effect of SIPI-C (A1, A2) and SIPI-F (B1, B2) on $[Ca^{2+}]_i$ of PC12 cells. $\bar{x} \pm s, n=5-8$. ** $P<0.01$, compared with the corresponding before dosing group; # $P<0.01$, compared with $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group; $\Delta\Delta P<0.01$, compared with $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group.

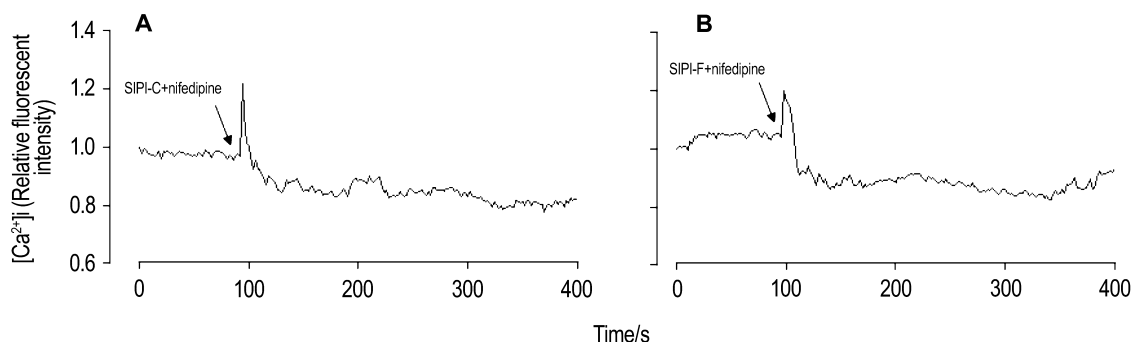


Fig. 4 Effects of combination of SIPI-C (A) or SIPI-F (B) $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ with nifedipine $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on $[Ca^{2+}]_i$ of PC12 cells.

2.2.2 无钙细胞外液

给予 SIPI-C 或 SIPI-F $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 荧光强度立即升高达到峰值, 幅度较在 Hank 液中明显减小(图 5), 给药后相对荧光强度升高 (16 ± 33)% 和 (18 ± 9)% ($n=5, P<0.01$), 随后荧光强度回到静息水平。提示在 D-Hank 液中, SIPI-C 或 SIPI-F 对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响较小。

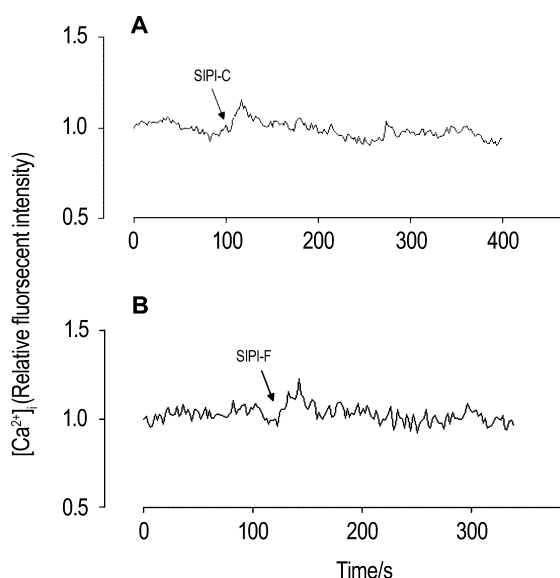


Fig. 5 Effect of SIPI-C (A) and SIPI-F (B) $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ of PC12 cells in D-Hank's solution.

3 讨论

本研究发现, 在 Hank 液中, SIPI-C 和 SIPI-F 均可使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加, SIPI-A 使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 下降, SIPI-B 使 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加。因此, 推测 SIPI-C 和 SIPI-F 引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高可能与其神经毒性反应密切相关。因长时间的胞内钙离子急剧增多最终导致神经细胞膜的通透性增高, 细胞肿胀损伤^[7], 神经细胞内的钙离子超载是造成神经元损伤的主要原因。

未分化 PC12 细胞的钙通道主要由 L 型钙通道组成, 只表达小部分的 N 型钙通道^[8]。有文献报道, L 型钙通道参与抗抑郁药舍曲林和马普替林等引起的 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高^[9-10]。研究发现, 硝苯地平 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可以完全抑制 PC12 细胞 L 型钙离子通道^[11-12]。本研究结果显示, 硝苯地平 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 明显抑制 SIPI-C 和 SIPI-F 引起的细胞外钙离子内流, 说明 L 型钙离子通道在 SIPI-C 和 SIPI-F 引起的反应中发挥重要作用。同时硝苯地平未完全阻断 PC12 细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加, 表明细胞膜上其他类型

钙离子通道或细胞内钙库释放可能参与 SIPI-C 和 SIPI-F 引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高。本研究发现, 在 D-Hank 液中, 给予 SIPI-C 或 SIPI-F 后, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 略有增加。与在 Hank 液中相比, 药物作用后 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加的幅度明显下降, 提示细胞外钙离子内流和细胞内钙库释放可能同时作用引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高。

小鼠急性毒性实验中(未发表的数据), SIPI-C 和 SIPI-F 产生抽搐毒性反应的剂量分别为 1600 和 $800 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 根据体表面积折算相当于大鼠 800 和 $400 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。动物体内药代动力学研究结果显示, 大鼠灌胃给予 SIPI-C 和 SIPI-F $25 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后, 最大血药浓度分别为 0.59 和 $0.70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。采用脑突触体对单胺类神经递质再摄取的方法研究发现, SIPI-C 和 SIPI-F 抑制 5-HT, NE 和 DA 再摄取的 IC_{50} 平均值分别为 1.67 和 $0.76 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在本研究中, $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-C 或 SIPI-F 对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 影响较小或无影响, $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SIPI-C 或 SIPI-F 对 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 有明显影响, 此浓度高于 SIPI-C 或 SIPI-F 的药效学剂量。因此, 给予 SIPI-C 或 SIPI-F 后, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的变化可能并不参与其抗抑郁作用的发挥, 而与其神经系统不良反应密切相关。

前期研究发现, SIPI-C 和 SIPI-F 抑制未分化 PC12 细胞中的延迟整流钾电流(半数有效抑制浓度分别为 0.64 和 $12.05 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 使神经细胞持续去极化^[6]。当细胞去极化达到一定的水平时, 就会激活细胞膜电压依赖性钙离子通道, 从而使细胞外的钙离子向细胞内流动。细胞外钙离子进入细胞内可以引起细胞内的钙库释放, 细胞内钙库主要有内质网、肌浆网以及线粒体等, 分别受 1,4,5-三磷酸肌醇受体系统^[14] 和 RyR 系统调控^[15]。SIPI-C 和 SIPI-F 引起的细胞内钙库释放的机制尚有待于进一步研究。

综上所述, 抗抑郁化合物 SIPI-C 和 SIPI-F 可以引起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 显著增加, 最终造成神经元损伤, 推测 SIPI-C 和 SIPI-F 对神经细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的影响可能是引起神经系统的不良反应的机制之一。

参考文献:

- [1] He XD, Jiang D, Chen C, Chu YQ, Ding CF, Weng ZJ, et al. Non-covalent complexes of the antidepressant compound SIPI5358 with cyclodextrins [J]. *Acta Phys Chim Sin* (物理化学学报), 2010, **26**(10):2604-2612
- [2] Li JQ, Huang LY, Dong WX, Weng ZJ, Jin H, Ni XL, et al. Synthesis and antidepressant activities of aryl alkanol piperazine derivatives [J]. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2006, **16**(5):270-276.
- [3] Rothman SM, Olney JW. Excitotoxicity and the NMDA receptor-still lethal after eight years [J]. *Trends Neurosci*,

- 1995, **18**(2):57-58.
- [4] Shimizu M, Nishida A, Hayakawa H, Yamawaki S. Ca^{2+} release from inositol 1, 4, 5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} store by antidepressant drugs in cultured neurons of rat frontal cortex[J]. *J Neurochem*, 1993, **60**(2):595-601.
- [5] Joshi PG, Singh A, Ravichandra B. High concentrations of tricyclic antidepressants increase intracellular Ca^{2+} in cultured neural cells[J]. *Neurochem Res*, 1999, **24**(3):391-398.
- [6] Zhou H, Wang XJ, Weng ZJ, Ma J, Li JQ. Inhibition of (1R,2R)-SIPI5358 and SIPI5358 on delayed rectifier potassium current in undifferentiated PC12 cells[J]. *Chin J Pharm(中国医药工业杂志)*, 2012, **43**(6):443-447.
- [7] Xiong H, Liang WL, Wu XR. Pathophysiological alterations in cultured astrocytes exposed to hypoxia/reoxygenation[J]. *Prog Physiol Sci(生理科学进展)*, 2000, **31**(3):217-221.
- [8] Andrade A, de León MB, Hernández-Hernández O, Cisneros B, Felix R. Myotonic dystrophy CTG repeat expansion alters Ca^{2+} channel functional expression in PC12 cells[J]. *FEBS Lett*, 2007, **581**(23):4430-4438.
- [9] Huang CJ, Kuo DH, Chang KH, Shieh P, Chen FA, Fang YC, et al. Effect of the antidepressant sertraline on Ca^{2+} fluxes in Madin-Darby canine renal tubular cells[J]. *Recept Signal Transduct Res*, 2009, **29**(6):342-348.
- [10] Hsu SS, Chen WC, Lo YK, Cheng JS, Yeh JH, Cheng HH, et al. Effect of maprotiline on Ca^{2+} movement in human neuroblastoma cells[J]. *Life Sci*, 2004, **75**(9):1105-1112.
- [11] Nowycky MC, Fox AP, Tsien RW. Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity[J]. *Nature*, 1985, **316**(6027):440-443.
- [12] Grantham CJ, Main MJ, Cannell MB. Fluspirilene block of N-type calcium current in NGF-differentiated PC12 cells[J]. *Br J Pharmacol*, 1994, **111**(2):483-488.
- [13] Fill M, Copello JA. Ryanodine receptor calcium release channels[J]. *Physiol Rev*, 2002, **82**(4):893-922.
- [14] Foskett JK, White C, Cheung KH, Mak DO. Inositol trisphosphate receptor Ca^{2+} release channels[J]. *Physiol Rev*, 2007, **87**(2):593-658.

Effect of new antidepressants SIPI-C and SIPI-F on cytosolic free Ca^{2+} concentration in PC12 cells

ZHOU Hui¹, WANG Xi-jie¹, WENG Zhi-jie², LI Jian-qi², MA Jing¹

(1. National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation & Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China; 2. Novel Technology Center of Pharmaceutical Chemistry, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To investigate the effect of SIPI-C and SIPI-F on cytosolic free Ca^{2+} concentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) in PC12 cells. **METHODS** PC12 cells were cultured in culture dish coated with collagen I. After incubation at 37°C for 40–50 min in 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Fluo-3/AM enriched media, the $[\text{Ca}^{2+}]_i$ changes were continuously measured by the confocal laser scanning microscope: ① effect of SIPI-A, B, C and F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in normal extracellular fluid; ② effect of SIPI-C and SIPI-F 1, 10 and 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in normal extracellular fluid; ③ effect of nifedipine 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ on effects of SIPI-C or SIPI-F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ in normal extracellular fluid; ④ effect of 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ SIPI-C or SIPI-F on $[\text{Ca}^{2+}]_i$ in non-calcium extracellular fluid. **RESULTS** SIPI-A 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ decreased $[\text{Ca}^{2+}]_i$ while SIPI-B, SIPI-C and SIPI-F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ resulted in the elevation of intracellular calcium by 27%, 84% and 87% in normal extracellular fluid. In SIPI-C or SIPI-F 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ combined with nifedipine 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ was elevated by 24% and 15% after application of compounds. At the same concentration, SIPI-C and SIPI-F resulted in the elevation of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ by 16% and 18% in non-calcium extracellular fluid. **CONCLUSION** SIPI-C and SIPI-F increase $[\text{Ca}^{2+}]_i$ which could be related to SIPI-C and SIPI-F induced neurotoxicity.

Key words: antidepressive drugs; aryl alkanol piperazine derivatives; SIPI-C; SIPI-F; PC12 cells; cytosolic Ca^{2+} concentration

Foundation item: The project supported by National Mega-project of Science Research of China(2012ZX09102-101-008)

Corresponding author: MA Jing, E-mail: jma@ncdser.com, Tel: (021) 50800333-101; LI Jian-qi, E-mail: li.jianqi@sipi.com.cn, Tel: (021)55514600-288

(收稿日期: 2012-03-31 接受日期: 2012-09-06)

(本文编辑: 乔虹)