

速激肽受体拮抗剂对白三烯 C₄ 引起的豚鼠心血管反应的抑制作用

吴仁毅 魏尔清

(浙江医科大学药理学教研室; 神经生物学实验室, 杭州 310031)

摘要 iv 白三烯 C₄(LTC₄) 0.8 nmol·kg⁻¹引起麻醉豚鼠血压降低和心脏微血管依文思蓝渗出增加。速激肽 NK-1 受体拮抗剂 CP-96345 (2.06 μmol·kg⁻¹, iv) 和 NK-2 受体拮抗剂 SR-48968 (1.66 μmol·kg⁻¹, iv) 部分抑制心房微血管渗漏(分别为 46.6% 和 37.5%); 两药合用可明显抑制 LTC₄ 引起的低血压和心房、心室微血管渗漏(分别为 58.1% 和 54.1%), 其作用与白三烯特异性拮抗剂 ONO-1078 (0.06 μmol·kg⁻¹, iv) 相似。结果表明速激肽 NK-1 和 NK-2 受体可能参与白三烯引起的低血压和心脏炎症反应。

关键词 白三烯 C₄; 速激肽受体拮抗剂(CP-96345, SR-48968); 白三烯拮抗剂(ONO-1078); 微血管渗漏性

感觉神经末梢释放的速激肽类 (tachykinins, TKs) 可引起心脏微血管渗漏等神经原性炎症反应^[1~3]。硫肽白三烯类(LTs), 包括 LTC₄, LTD₄, LTE₄, 是肥大细胞等炎症细胞释放的重要的炎症介质, 可引起心脏冠状血管收缩、心肌抑制以及微血管渗漏等心脏炎症病变^[3~5]。LTC₄ 在离体灌流的豚鼠肺中可引起 P 物质(SP), 神经激肽 A(NKA)等 TKs 的释放^[5], 后者可发挥各种效应, 这可能是 LTs 的一种作用机制。最近, 我们实验中发现 LT 拮抗剂 ONO-1078 可抑制迷走神经电刺激和辣椒素 (TKs 释放剂) 引起的血压下降和心脏微血管渗漏, 说明在心脏也有这种相互作用^[3]。为了进一步证实 TKs 和 LTs 在心脏的相互作用, 本实验在豚鼠观察了新型非肽类速激肽 NK-1 受体拮抗剂 CP-96345 [(2S, 3S)-顺式-2-(二苯甲基)-N-[(2-甲氧苯)-甲基]-1-杂氮双环[2, 2, 2]辛烷-3-胺] 和 NK-2 受体拮抗剂 SR-48968 [(S)-N-甲基-N-[4-(4-乙酰氨基-4-苯基哌啶)-2-(3, 4-二氯苯基)丁基]苯甲酰胺] (两者的结构式如图 1 所示) 对外源性 LTC₄ 引起低血压和心脏微血管渗漏的作用, 并与 LT 拮抗剂 ONO-1078 [4-氧-8-[对-(4-苯丁氧基)苯甲酰氨基]-2-(5-四唑基)-4H-1-苯并吡喃半水合物] 作了比较。

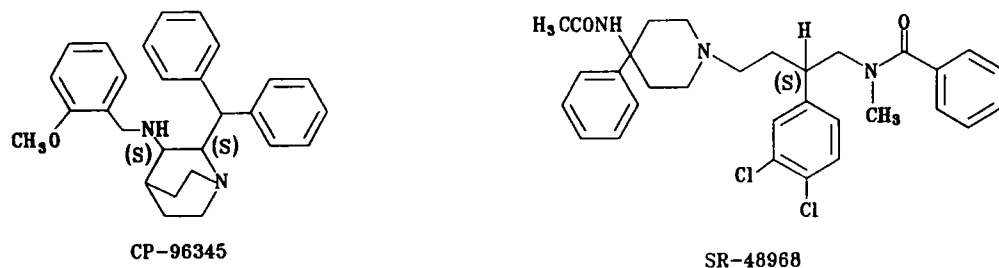


Fig 1 Chemical structures of CP-96345 and SR-48968.

材 料 与 方 法

主要试剂和药品 依文思蓝(Evans blue) 和 LTC₄(美国 Sigma 公司); CP-96345(美国 Prizer 公司赠送); SR-48968(法国 Sanofi 公司赠送); ONO-1078(日本 Ono 公司赠送); 其他均为市售产品。

动物 Hartley 健康豚鼠 350~450 g, ♀♂兼用, 由浙江医科大学实验动物中心提供。

方法 动物以戊巴比妥钠(30 mg·kg⁻¹, ip) 麻醉, 气管插管后连接人工呼吸机(DH-140, 浙江医科大学医疗仪器厂, 潮气量: 5 ml, 80 次/min), 左侧颈动脉插管连接压力换能器(MPX50DP, 美国 Motorola 公司)测平均动脉压(MAP)的变化。

iv 依文思蓝 30 mg·kg⁻¹, 10 min 后注射 CP-96345 (2.06 μmol·kg⁻¹)和/或 SR-48968 (1.66 μmol·kg⁻¹), 或 ONO-1078(0.06 μmol·kg⁻¹), 随后 iv LTC₄(0.8 nmol·kg⁻¹), 记录 10 min 内的 MAP 变化。对照组注射 LTC₄ 前给予生理盐水。LTC₄ 注射 10 min 后将颈动脉切断, 1~2 min 内经颈静脉注射生理盐水 50 ml 以冲洗血管中残留的染料, 取出心房及心室组织, 测定组织中渗出的依文思蓝染料含量^[2]。

结 果

对 LTC₄ 降低血压反应的作用

iv NK 受体拮抗剂 CP-96345(2.06 μmol·kg⁻¹), SR-48968(1.66 μmol·kg⁻¹), 两药合用, 及 LT 受体拮抗剂 ONO-1078(0.06 μmol·kg⁻¹)均不影响麻醉豚鼠的基础血压(表 1), 并且在 iv 生理盐水后 10 min 内 MAP 变动无显著差异, 幅度在 5%之内。iv LTC₄(0.8 nmol·kg⁻¹)显著降低血压; CP-96345 对 LTC₄降血压反应无明显作用, SR-48968 可减弱这一反应, 两药合用以及 ONO-1078 对此反应都有非常显著的抑制作用(见图 2)。

Tab 1 Baseline levels of mean arterial pressure (MAP) in guinea pigs pretreated with various agents before LTC₄ or saline administration

Agent	Dose (μmol·kg ⁻¹)	MAP (kPa)	
		Saline group (n)	LTC ₄ group (n)
Control	-	6.80 ± 0.45 (5)	6.61 ± 0.38 (7)
CP-96345	2.06	6.71 ± 0.53 (4)	6.88 ± 0.22 (6)
SR-48968	1.66	6.85 ± 0.67 (4)	6.75 ± 0.19 (6)
CP-96345 + SR-48968	2.06 + 1.66	6.80 ± 0.78 (4)	6.81 ± 0.36 (6)
ONO-1078	0.06	7.06 ± 0.36 (3)	6.81 ± 0.36 (5)

$\bar{x} \pm s$, no significant differences were found among groups (*t* test).

对依文思蓝渗漏的作用

CP-96345, SR-48968 和 ONO-1078 本身对心脏组织依文思蓝渗出无明显作用(表 2)。iv LTC₄ 引起麻醉豚鼠心房和心室组织内依文思蓝渗漏的显著增加。在心房, 单用 CP-96345(2.06 μmol·kg⁻¹, iv) 或 SR-48968(1.66 μmol·kg⁻¹, iv) 可减弱渗漏反应, 抑制率分别为 46.6% 和 37.5%, 但单用 NK 受体拮抗剂对心室的抑制作用不明显; 两药合用对心房和心室都有作用, 抑制

率分别为 58.1% 和 54.1%，ONO-1078 ($0.06 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, iv) 对心房和心室也有显著的抑制作用 (表 2)。

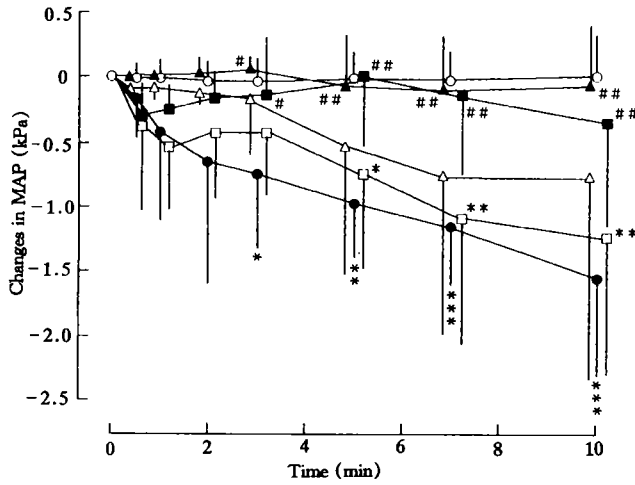


Fig 2 Effects of CP-96345, SR-48968, and ONO-1078 on LTC_4 -induced hypotensive response in guinea pigs. (○): saline control; (●): LTC_4 $0.8 \text{ nmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, iv; (□): CP-96345 + LTC_4 ; (△): SR-48968 + LTC_4 ; (■): CP-96345 + SR-48968 + LTC_4 ; (▲): ONO-1078 + LTC_4 ; $n = 4 \sim 7$, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with relative saline controls; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with LTC_4 alone (t test and Mann-Whitney U test).

Tab 2 Effects of CP-96345, SR-48968 and ONO-1078 on LTC_4 ($0.8 \text{ nmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)-induced Evans blue extravasation in the atria and ventricles of guinea pigs

	n	Evans blue extravasation ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ tissue)	
		Atria	Ventricles
Control	5	34.1 ± 11.1	14.5 ± 7.7
CP-96345	4	32.4 ± 7.8	12.6 ± 6.6
SR-48968	4	38.9 ± 17.2	14.5 ± 9.0
CP-96345 + SR-48968	4	25.0 ± 5.6	10.7 ± 5.3
ONO-1078	3	36.8 ± 12.4	19.1 ± 4.1
LTC_4	7	$132.6 \pm 10.8^{***}$	$45.8 \pm 18.8^{**}$
+ CP-96345	6	$70.8 \pm 27.2^{##}$	$33.6 \pm 16.1^*$
+ SR-48968	6	$82.8 \pm 33.1^{##}$	$32.0 \pm 16.1^*$
+ CP-96345 + SR-48968	6	$55.6 \pm 22.4^{##}$	$21.0 \pm 7.8^{##}$
+ ONO-1078	5	$55.0 \pm 15.5^{##}$	$19.4 \pm 5.4^{##}$

$\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with control; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with LTC_4 alone (t test and Mann-Whitney U test).

讨 论

LTC_4 引起豚鼠低血压和心脏微血管渗漏的显著增加, 表明 LTC_4 是一种心血管系统炎症介质。 LTC_4 的作用既可被特异性 LT 拮抗剂 ONO-1078 所阻断, 又能被 NK 受体拮抗剂 CP-96345

和 SR-48968 减弱或抑制。本实验室已证明 CP-96345($0.69 \sim 2.06 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)选择性阻断 SP 的低血压和微血管渗漏作用(待发表资料), SR-48968($0.55 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)也能完全阻断辣椒素和 NKA 引起的低血压^[6]。因此,本实验使用的剂量能够阻断速激肽的作用,也说明 LTs 引起的心脏炎症反应中有 TKs 参与。豚鼠呼吸道实验提示 LTs 是感觉神经末梢释放 TKs 的促进剂^[7],也就是说 TKs 是 LTs 致炎过程中的增强因素,本实验的心血管反应支持这一观点。LTs 参与心肌梗死^[8,9]、心脏变态反应^[5]等炎症病变;TKs 也参与心脏的生理和病理过程的调节,阐明两者间的相关关系对心脏炎症研究有较大的参考意义。

TKs 通过兴奋速激肽受体起作用。在气道, NK-1 受体主要介导微血管渗漏, NK-2 受体主要介导平滑肌收缩^[10]。本实验发现,两药均可减弱 LTC₄ 诱导的心脏微血管渗漏,说明两种受体都与这一反应有关。LTC₄ 的低血压反应是一种炎症的全身反应,反映心输出量和血管张力的综合改变, CP-96345 和 SR-48968 合用能显著抑制 LTC₄ 的低血压反应,其具体作用环节尚不清楚。

许多炎症介质(包括 LTC₄)通过促进 TKs 释放而增强炎症反应,因此, NK 受体拮抗剂有一定抗炎作用。近年开发的非肽类 NK-1 和 NK-2 受体拮抗剂有潜在的临床价值^[11]。已证明 CP-96345 可对抗甲醛、角叉菜胶、辣椒素等化学物质诱导的大鼠足趾肿胀、疼痛^[12]以及气道微血管渗漏^[13]。本实验初步证明这两类拮抗剂在心血管的药理作用,但对其作用部位和作用机制,有待深入探讨。

致谢 Dr. Kadin SB (Pfizer 公司)提供 CP-96345; Dr. Emonds-Alt X (Sanofi 公司)提供 SR-48968; Dr. Tsuboshima M (Ono 公司)提供 ONO-1078, 谨表谢意。

参 考 文 献

- 1 Manzini S, Perretti F, De Benedetti LD, *et al.* A comparison of bradykinin- and capsaicin-induced myocardial and coronary effects in isolated perfused heart of guinea-pig: involvement of substance P and calcitonin gene-related peptide release. *Br J Pharmacol*, 1989, **97**:303
- 2 Wei EQ, Bian RL. Vascular permeability increased by histamine aerosol, capsaicin, and electric stimulation of vagus nerves in guinea pigs. *Acta Pharmacol Sin*, 1992, **13**:312
- 3 Wei EQ, Xin XH, Wang YC, *et al.* Effects of ONO-1078, a leukotriene antagonist, on the cardiovascular responses induced by vagal stimulation, capsaicin, and substance P in guinea pigs. *Acta Pharmacol Sin*, 1995, **16**:485
- 4 McLeod JD, Piper PJ. Effect of K⁺ channel-modulating drugs on the vasoconstrictor responses of leukotriene C₄, D₄ and angiotensin II in the guinea-pig isolated perfused heart. *Br J Pharmacol*, 1992, **105**:739
- 5 Thelen KI, Dembinska-Kiec A, Pallapie D, *et al.* Effect of 3-morpholinostydomimine (SIN-1) and N^G-nitro-L-arginine (NAN) on isolated perfused anaphylactic guinea-pig hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1992, **345**:93
- 6 Lou YP, Lee LY, Satoh H, *et al.* Postjunctional inhibitory effect of the NK₂ receptor antagonist, SR 48968, on sensory NANC bronchoconstriction in the guinea-pig. *Br J Pharmacol*, 1993, **109**:765
- 7 Martins MA, Shore SA, Drazen JM. Release of tachykinins by histamine, methacholine, PAF, LTD₄, and substance P from guinea pig lungs. *Am J Physiol*, 1991, **261**:L449

- 8 Ito T, Toki Y, Hieda N, *et al.* Protective effects of a thromboxane synthetase inhibitor, a thromboxane antagonist, a lipoxygenase inhibitor and a leukotriene C₄, D₄ antagonist on myocardial injury caused by acute myocardial infarction in the canine heart. *Jpn Circ J*, 1989, **53**: 1115
- 9 Carry M, Korley V, Willerson JT, *et al.* Increased urinary leukotriene excretion in patients with cardiac ischemia: *In vivo* evidence for 5-lipoxygenase activation. *Circulation*, 1992, **85**:230
- 10 Maggi CA. Tachykinin receptors and airway patho-physiology. *Eur Respir J*, 1993, **6**:735
- 11 Regoli D, Boudon A, Fauchere JL. Receptors and antagonists for substance P and related peptides. *Pharmacol Rev*, 1994, **46**:551
- 12 Birch PJ, Harrison SM, Hayes AG, *et al.* The non-peptide NK₁ receptor antagonist, (±)-CP-96345, produces antinociceptive and anti-oedema effects in the rat. *Br J Pharmacol*, 1992, **105**: 508
- 13 Lei YH, Barnes PJ, Rogers DF. Inhibition of neurogenic plasma exudation in guinea-pig airways by CP-96345, a new non-peptide NK₁ receptor antagonist. *Br J Pharmacol*, 1992, **105**:261

INHIBITORY EFFECTS OF TACHYKININ RECEPTOR ANTAGONISTS ON LEUKOTRIENE C₄-INDUCED CARDIOVASCULAR RESPONSES IN GUINEA PIGS

RY Wu and EQ Wei

(*Department of Pharmacology and Laboratory of Neurobiology,
Zhejiang Medical University, Hangzhou 310031*)

ABSTRACT This study is to determine whether sensory neuropeptides are involved in the cardiovascular effects of leukotriene C₄ (LTC₄). LTC₄ (0.8 nmol·kg⁻¹, iv) caused hypotensive response and increased Evans blue extravasation from the atria and ventricles in anaesthetized guinea pigs. CP-96345 (2.06 μmol·kg⁻¹, iv), a tachykinin NK-1 receptor antagonist, and SR-48968 (1.66 μmol·kg⁻¹, iv), an NK-2 receptor antagonist, partially inhibited LTC₄-induced increase (46.6% and 37.5%, respectively) of dye extravasation from the atria of guinea pigs. Combination of CP-96345 and SR-48968 markedly inhibited LTC₄-induced hypotension and increase of microvascular leakage in both atria and ventricles (58.1% and 54.1%, respectively), similar to the inhibition by ONO-1078 (0.06 μmol·kg⁻¹, iv), a specific leukotriene antagonist. These results suggest that NK-1 and NK-2 receptors may be involved in the hypotension and the inflammation of heart induced by LTC₄.

Key words Leukotriene C₄; Tachykinin receptor antagonists (CP-96345, SR-48968); Leukotriene antagonist (ONO-1078); Microvascular leakage