

· 论 著 ·

新型 AMPA 受体调节剂 LCX001 抗阿片受体激动剂 TH-030418 致呼吸抑制效应及其机制

高翔¹, 樊永正^{1,2}, 代威¹, 雍政¹, 苏瑞斌¹

(1. 军事科学院军事医学研究院毒物药物研究所, 抗毒药物与毒理学国家重点实验室, 神经精神药理学北京市重点实验室, 北京 100850; 2. 联勤保障部队第九九一医院, 湖北 襄阳 441000)

摘要: 目的 评价新型 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸 (AMPA) 受体调节剂 LCX001 对抗阿片类药物致呼吸抑制效应, 并探讨其可能的作用机制。方法 ① SD 大鼠 iv 给予阿片受体激动剂 TH-030418 $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 建立呼吸抑制模型, 15 min 后, iv 给予 LCX001 0 (模型组), 5, 10 和 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (模型+LCX001 治疗组), 并检测大鼠肺功能参数 [每分钟通气量 (MV)、呼吸频率 (RF) 和呼吸气道阻力 (EP)]。② 大鼠 iv 给予阿片受体激动剂 TH-030418 $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 建立呼吸抑制模型, 5 min 后, iv 给予 LCX001 0 (模型组), 5, 10 和 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (模型+LCX001 治疗组), 并检测大鼠动脉血气参数 [氧分压 ($p\text{O}_2$)、二氧化碳分压 ($p\text{CO}_2$) 和血氧饱和度 ($s\text{O}_2$)] 变化。③ 大鼠 ip 给予 20% 羟丙基- β -环糊精作为溶剂对照组, ip 给予 LCX001 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作为 LCX001 对照组, iv 给予 TH-030418 $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作为模型组和 ip 给予 LCX001 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 15 min 后再 iv 给予 TH-030418 $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作为模型+LCX001 预防组, 并采用脑微透析法测定清醒大鼠海马脑区内谷氨酸 (Glu) 的含量变化。结果 ① 呼吸抑制模型组大鼠在给予 TH-030418 后 2.5 min MV 和 RF 显著下降 ($P < 0.01$), EP 显著上升 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 模型+LCX001 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗组在给予 TH-030418 后 22.5 min MV 和 RF 显著升高 ($P < 0.05$), 在给予 TH-030418 后 47.5 min EP 显著降低 ($P < 0.05$)。② 模型组大鼠在给予 TH-030418 后 5 min $p\text{O}_2$ 和 $s\text{O}_2$ 显著下降, $p\text{CO}_2$ 显著上升 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 模型+LCX001 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗组在给予 TH-030418 后 15 min $p\text{O}_2$ 和 $s\text{O}_2$ 显著上升, $p\text{CO}_2$ 显著下降 ($P < 0.01$)。③ 清醒大鼠脑微透析结果显示, 模型组大鼠给予 TH-030418 后 20 min 海马神经细胞外液的 Glu 含量与基础值相比显著下降 ($P < 0.05$); 模型+LCX001 $20 \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 预防组大鼠在给予 TH-030418 后 20, 60, 120 和 160 min 时间点海马神经细胞外液的 Glu 含量较相同时间点模型组大鼠显著提高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 LCX001 能有效改善 TH-030418 所致呼吸抑制, 其效应可能与调节海马脑区 Glu 神经递质含量有关。

关键词: AMPA 受体调节剂; LCX001; 阿片; 呼吸抑制

中图分类号: R965, R974

文献标志码: A

文章编号: 1000-3002-(2022)01-0034-07

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2022.01.005

以阿片类药物为代表的镇痛药在疼痛治疗和诱导麻醉中的作用迄今无可替代, 但该类物质引发的严重呼吸抑制是导致死亡的重要原因之一^[1-2]。虽然临床上常用阿片受体拮抗剂 (如纳洛酮等) 缓解阿片致呼吸抑制, 但其在缓解呼吸抑制效应的同时会抵消阿片的镇痛效果, 同时存在给药方式单一、持续时间短、剂量不可控、需长时间密切观察等缺点^[3-5], 用于对抗呼吸抑制需要进一步评估和密切监测患者各

项体征。因此, 探索可以改善阿片致呼吸抑制且并不影响阿片镇痛效果的新型药物, 成为目前该类物质开发的新思路, 对于提升临床急救能力具有重要意义。

近几年众多文献报道, α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸 (α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid, AMPA) 受体调节剂可调控呼吸功能, 该受体在延髓呼吸中枢的前包钦格复合体广泛分布, 对调节呼吸节律的形成和呼吸冲动的传导发挥着关键作用^[6-7]。有研究证实, 以安帕金 (ampakine) 为代表的 AMPA 受体调节剂可对抗多种药物所致的呼吸抑制^[8-11]。AMPA 受体调节剂潜在的镇痛、改善学习记忆和神经保护作用, 与纳洛酮等阿片受体拮抗剂相比, 具有显著优势, 可使救治预

基金项目: 国家科技重大专项 (2015ZX09501003)**作者简介:** 高翔, 博士, 副研究员, 主要从事神经精神药理学研究, E-mail: gaoliang609@163.com**通讯作者:** 雍政, E-mail: yongzhabc@126.com; 苏瑞斌, E-mail: ruibinsu@126.com

后更好,有望成为非特异性抗阿片致呼吸抑制药物。

基于以上研究背景,本研究所药物化学研究室在美国 RespireRx 制药公司研发的苯甲酰胺类系列 AMPA 受体调节剂基础上,通过三维药效团模型模拟、计算机辅助设计及虚拟筛选,合成了 200 余个潜在 AMPA 受体调节剂。其中代号为 LCX001 的化合物(相对分子质量 275,化学结构见图 1)可显著提高阿片受体激动剂 TH-030418 所致小鼠急性死亡生存率^[12-15],且具有良好的镇痛及镇静效应,同时放射性配体受体结合实验显示,LCX001 与^[3H]AMPA 无竞争结合,但可以明显促进^[3H]AMPA 与 AMPA 受体结合,表明 LCX001 通过调节 AMPA 受体发挥效应,属于 AMPA 受体调节剂范畴,而非 AMPA 受体激动剂或拮抗剂^[14-15]。提示 LCX001 是具有抗阿片致呼吸抑制效应的新型 AMPA 受体调节剂。本研究拟在前期初步筛选基础上,对 LCX001 抗呼吸抑制量效和时效关系进行系统评价,并初步探讨其作用机制。

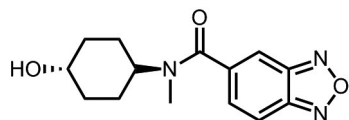


Fig.1 Chemical structure of LCX001.

1 材料与方法

1.1 动物、试剂和仪器

SD 大鼠,雄性,SPF 级,体重为 180~220 g,由军事医学研究院动物中心提供,合格证号:SCXK-(军)2016-004。大鼠饲养环境室温 24~26℃,湿度 40%~60%,12 h/12 h 交替日光灯照明。每笼 5 只,自由饮水与摄食。所有操作均按照军事医学研究院实验动物管理与使用委员会的要求(批准编号:06-2018-020)进行。

LCX001(批号:140315,纯度≥98%)和 TH-030418(批号:030418,纯度≥98%)由本所药物化学研究室合成;羟丙基-β-环糊精(批号 E0276),北京凤礼精求商贸有限公司;邻苯二甲醛(批号:BCCC3481,纯度≥99%),美国 Sigma 公司。LCX001 加入 20% 羟丙基-β-环糊精溶液配制至所需浓度;TH-030418 溶于注射用水配制至所需浓度;以上药物均现用现配。

清醒动物肺功能测定仪,美国 DSI 公司;雷度 ABL90 系列血气分析仪和 PICO70 自吸式动脉血气针,丹麦 Radiometer 公司;安捷伦 1200 系列液相色谱工作站,美国 Agilent 公司;DECAYDE II 电化学检测器,荷兰 Antec Leyden 公司;HoneyCombTM

低温样品自动收集器、M2250 型微透析探针(透析膜长度 4 mm)和 Ω-型脑内引导管,美国 BAS 公司;CMA120 清醒动物装置和 CMA100 微量注射泵,瑞典 CMA 公司;ODS-C18 色谱柱(10 μm, 250 mm×4.6 mm),迪马公司。

1.2 大鼠肺功能参数检测

肺功能检测仪由气泵、透明有机玻璃箱、压力传感器、信号调节器和计算机操作界面相继连接组成。气泵用于连续输送新鲜空气和滤除二氧化碳,压力传感器测量气压变化,信号调节器将气压变化通过电信号转化成具体数据在计算机界面上显示。设置清醒无创大鼠肺功能检测仪参数和监测条件:气泵流量 1.5 L·min⁻¹,增益放大倍数 1 倍,传感器放大倍数 200 倍,采样功率 500 Hz。将大鼠随机分为呼吸抑制模型组(iv 给予 TH-030418 20 μg·kg⁻¹)和模型+LCX001 治疗组(iv 给予 TH-030418 20 μg·kg⁻¹, 17.5 min 后,iv 给予 LCX001 5, 10 和 20 mg·kg⁻¹),每组 5 只。检测时,将大鼠置于透明有机玻璃箱内适应 30~40 min,而后连续测定 15 min 稳定的肺功能参数[每分钟通气量(minute ventilation, MV)、呼吸频率(respiratory frequency, RF)和呼吸气道阻力(enhanced pause, EP)]的基础值,而后取出大鼠按分组给药,给药后放回检测仪中,2.5 min 后开始记录肺功能参数,随后每 5 min 测 1 次,直至 62.5 min。将给予 TH-030418 前 17.5, 12.5 和 7.5 min 3 个时间点的大鼠肺功能参数测量值的平均值定义为基线值,实验结果以各测量值与基线值的百分比表示。

1.3 大鼠血气参数检测

将大鼠随机分为模型组(iv 给予 TH-030418 20 μg·kg⁻¹ 构建呼吸抑制模型)和模型+LCX001 治疗组(iv 给予 TH-030418 20 μg·kg⁻¹, 5 min 后,iv 给予 LCX001 5, 10 和 20 mg·kg⁻¹),每组 5 只。分别在给予 TH-030418 后 0, 5, 15, 30 和 60 min 5 个时间点,使用雷度 PICO70 血气针自大鼠腹主动脉取血(每次取血量>65 μL),每次取血后 1~2 min 内将血气针置入 ABL90 血气分析仪进样口,仪器自动取样并检测动脉血气参数[氧分压(oxygen partial pressure, pO₂)、二氧化碳分压(carbon dioxide partial pressure, pCO₂)和血氧饱和度(oxygen saturation, sO₂)]值。

1.4 脑微透析和高效液相-电化学(high-performance liquid chromatography-electrochemical detector, HPLC-ECD)法检测大鼠海马神经细胞外液谷氨酸(Glu)含量

1.4.1 大鼠脑立体定位置管手术

大鼠 ip 给予水合氯醛(400 mg·kg⁻¹)麻醉,俯

卧固定于立体定位仪上,充分暴露颅骨表面,定位海马区的坐标:前囟后 5.2~5.5 mm,前囟侧 4~6 mm,颅骨面下 5 mm。将引导管垂直插至指定深度,用小螺钉和牙科水泥将其固定于颅骨面。术后缝合皮肤,将大鼠单笼饲养,恢复 48~72 h 后用于脑微透析实验。

1.4.2 大鼠药物处理和脑微透析样品采集

置管手术后,将大鼠随机分为 4 组,分别为溶剂对照组(ip 给予 20% 羟丙基- β -环糊精)、LCX001 对照组(ip 给予 LCX001 20 mg·kg⁻¹)、模型组(iv 给予 TH-030418 20 μ g·kg⁻¹)和模型+LCX001 预防组(ip 给予 LCX001 20 mg·kg⁻¹, 15 min 后, iv 给予 TH-030418 20 μ g·kg⁻¹), 每组 5 只。给药前,将大鼠用乙醚轻微麻醉,小心取出引导管内的钢芯,将 M2250 型探针置入导管内,探针事先通过连接管与微量注射泵和收集器的收集针相连,微量注射泵以 1.5 μ L·min⁻¹ 的速度灌流人工脑脊液(mmol·L⁻¹: NaCl 124, KCl 5, NaH₂PO₄ 1.25, MgSO₄ 2, 葡萄糖 10, CaCl₂ 2 和 NaHCO₃ 26), 收集器温度调至 4°C。将大鼠置于观察笼内,每 20 min 收集 25 μ L 脑脊液微透析样品,平衡透析 1 h 后,加入 2 μ L 邻苯二甲醛进行衍生化反应 10 min,随后取 25 μ L 样品进行 HPLC-ECD 检测。呼吸抑制组在给药前测定 40 min 的 Glu 基础释放值变化,并于 0 min 时间点给予 TH-030418,随后每隔 20 min 收集一次透析样品并进行 HPLC-ECD 检测至 160 min;溶剂对照组、LCX001 对照组和模型+LCX001 预防组在给药前测定 20 min 的 Glu 基础释放值变化,并于 -15 min 时间点分别给予溶剂和 LCX001 (其中模型+LCX001 预防组在给 LCX001 15 min 后给予 TH-030418), 15 min 后取样 1 次并进行 HPLC-ECD 检测,随后每隔 20 min 收集 1 次透析样品并进行 HPLC-ECD 检测至 160 min。将给予 TH-030418 前 40 和 20 min 2 个时间点的谷氨酸含量测量值的平均值定义为基线值,实验结果以各测量值与基线值的百分比表示。实验结束后处死大鼠,取全脑切片检查,剔除置管位置不正确的动物数据。

1.4.3 HPLC-ECD 色谱条件

流动相配制:磷酸二氢钠 15.59 g, 辛烷磺酸钠 0.1605 g, EDTA0.0080 g, 氯化钾 0.1493 g, 溶于 800 mL 双蒸水中,加入乙腈 10 mL, 乙酸 5 mL, 甲醇 150 mL, 用浓磷酸调 pH 至 3.32, 加双蒸水定容至 1000 mL, 0.22 μ m 微孔滤膜抽滤。电化学检测器的工作电极为玻璃碳,参比电极为固态 Ag/AgCl, 检测工作电压为 \pm 0.70 V, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 28°C。

1.5 统计学分析

实验结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析。采用双因素方差分析,组间两两比较采用 Bonferroni 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 LCX001 对 TH-030418 致呼吸抑制大鼠肺功能参数的影响

iv 给予 TH-030418 20 μ g·kg⁻¹ 后,大鼠立即出现静止不动、木僵、竖尾和呼吸困难等现象。肺功能参数检测结果(图 2)显示,在给予 TH-030418 后 2.5 min 时间点,呼吸抑制模型组大鼠 MV 和 RF 均

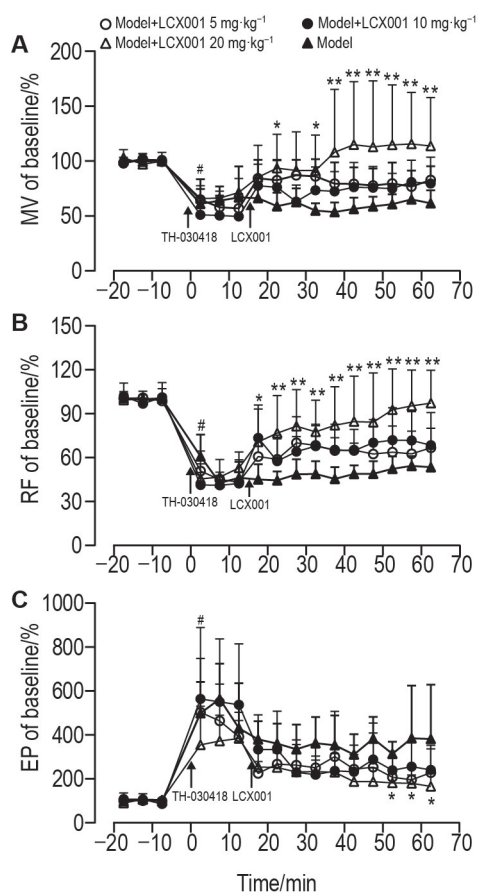


Fig.2 Effects of LCX001 on lung function parameters in TH-030418-induced respiratory depression rats.

Rats were divided into respiratory depression model group that was iv given TH-030418 20 μ g·kg⁻¹ (0 min) and model+LCX001 groups [iv given TH-030418 20 μ g·kg⁻¹ (0 min), 15 min later iv given LCX001 5, 10 or 20 mg·kg⁻¹]. The mean of the measured values at -17.5 (17.5 min before TH-030418 administration), -12.5 and -7.5 min was defined as 100%. All the data were normalized to a percentage by dividing the mean. Lung function parameters were measured every 5 min. MV: minute ventilation; RF: respiratory frequency; EP: enhanced pause. $\bar{x} \pm s$, $n=5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the corresponding time point of model group; # $P < 0.01$, compared with -7.5 min of model group.

比基础值显著下降 ($P < 0.01$), 而 EP 则比基础值显著增加 ($P < 0.01$)。而模型+不同剂量 LCX001 组大鼠 MV, RF 和 EP 均表现出一定程度的改善, 其中模型+LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组在给予 TH-030418 后 22.5 min 时间点 MV 迅速上升至与基础值相近的水平 ($P = 0.67$); 与相同时间点模型组相比, 模型+LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组在 37.5~62.5 min MV 显著升高 ($P < 0.01$), 在 22.5~62.5 min RF 显著升高 ($P < 0.01$); 在 47.5, 57.5 和 62.5 min EP 显著降低 ($P < 0.05$), 提示 LCX001 能有效逆转 TH-030418 所致的大鼠 MV 和 RF 下降及 EP 升高, 改善大鼠呼吸状态。

2.2 LCX001 对 TH-030418 致呼吸抑制大鼠动脉血气参数的影响

大鼠 iv 给予 TH-030418 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后腹主动

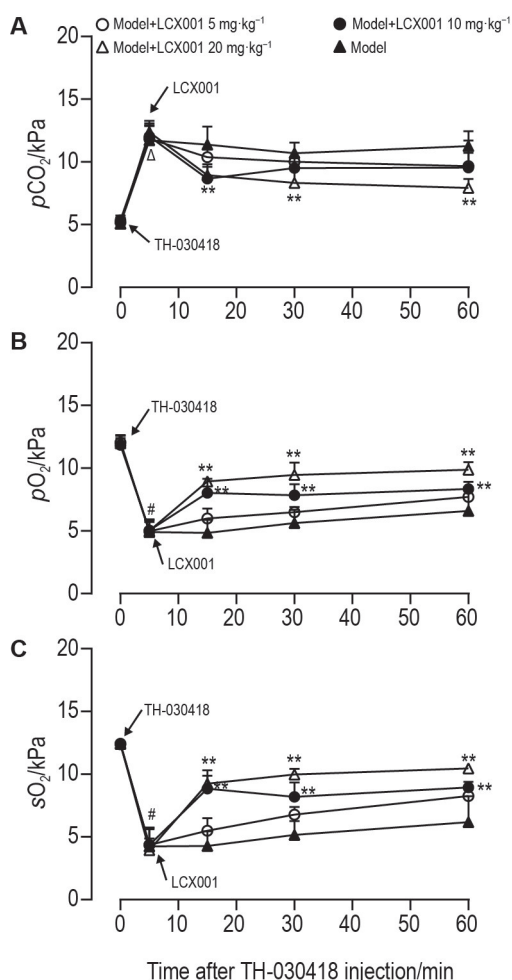


Fig.3 Effects of LCX001 on arterial blood gas parameters in TH-030418-induced respiratory depression rats.

Rats were divided into respiratory depression model group (iv given TH-030418 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and model+LCX001 groups (iv given TH-030418 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 5 min later iv given LCX001 5, 10 and 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). $p\text{CO}_2$: carbon dioxide partial pressure; $p\text{O}_2$: oxygen partial pressure; $s\text{O}_2$: oxygen saturation. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$. ** $P < 0.01$, compared with the corresponding time point of TH - 030418 group; # $P < 0.01$, compared with 0 min of model group.

脉血颜色暗红, 给予 LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后 15, 30 和 60 min 由暗红逐渐变为鲜红。动脉血气参数检测结果(图 3)显示, 在给予 TH-030418 后 5 min, 模型组大鼠 $p\text{CO}_2$ 显著上升, $p\text{O}_2$ 和 $s\text{O}_2$ 显著下降 ($P < 0.01$), 提示 TH-030418 引发大鼠明显呼吸抑制。与相同时间点模型组相比, 模型+LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组大鼠 $p\text{CO}_2$ 显著下降, $p\text{O}_2$ 和 $s\text{O}_2$ 显著上升 ($P < 0.01$)。提示 LCX001 可以逆转 TH-030418 所致呼吸抑制大鼠动脉血气参数的变化, 使其恢复或接近基础值水平。

2.3 LCX001 对 TH-030418 致呼吸抑制大鼠海马神经细胞外液中 Glu 含量的影响

LCX001 对照组 ($P = 0.12$) 和溶剂对照组 ($P = 0.40$) 各时间点脑脊液中 Glu 含量均未见明显变化, 提示单用 LCX001 并不引起 Glu 含量释放的明显改变。模型组大鼠给予 TH-030418 后 20 min 与该组给予 TH-030418 前 20 min 时间点相比, 大鼠脑脊液中 Glu 含量明显下降 ($P < 0.05$)。模型+LCX001 组在给予 TH-030418 后 20, 60, 120 和 160 min 时间点大鼠脑脊液中 Glu 含量均比相应时间点的模型组显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 提示 LCX001 可逆转 TH-030418 引起的大鼠脑脊液 Glu 含量减少(图 4)。

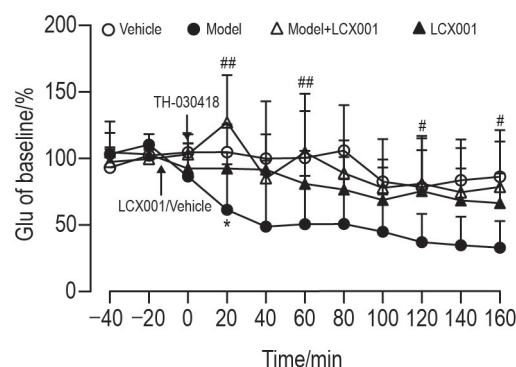


Fig.4 Effect of LCX001 on glutamate (Glu) release in TH-030418-induced respiratory depression rats.

Rats were divided into vehicle [ip given 20% hydroxypropyl- β -cyclodextrin at 15 min before TH-030418 injection (-15 min)], LCX001 control group (ip given LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ at -15 min), model group (iv given TH-030418 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ at -15 min) and model+LCX001 group (ip given LCX001 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ at -15 min, 15 min later iv given TH-030418 20 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The mean of the measured values at -40 and -20 min was defined as 100%. All the data were normalized to a percentage by dividing the mean. Glu content was measured every 20 min. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$. * $P < 0.05$, compared with -20 min time point of model group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with the corresponding time point of model group.

3 讨论

本研究对新型 AMPA 受体调节剂 LCX001 改善

阿片类药物所致呼吸抑制的量效和时效进行评价,并对其作用机制进行初步探讨,结果提示,LCX001 可明显逆转 TH-030418 所致呼吸抑制大鼠的肺功能参数,并显著改善动脉血气,有效对抗阿片类致大鼠呼吸抑制,这一效应可能与 LCX001 调节呼吸抑制大鼠海马脑区神经细胞外液的 Glu 神经递质释放有关。

近几年众多研究表明,AMPA 受体与呼吸功能关系密切,尤其表达于介导呼吸节律产生的重要核团前包钦格复合体的 AMPA 受体参与呼吸节律和幅度的调控,在内源性激动剂 Glu 的激活作用下,AMPA 受体对中枢神经元的兴奋和抑制平衡进行调节,并维持呼吸中枢的正常功能^[16-17]。与现有临床使用的特异性拮抗剂及呼吸兴奋剂相比较,AMPA 受体调节剂表现出对抗呼吸抑制特点,具有副作用低、安全性好等优势,同时可能具有的镇静、镇痛、改善学习记忆和神经保护等作用,可以使救治预后更好。

LCX001 是在 AMPA 受体调节剂 CX717 和 CX1739 结构基础上进行改构合成的新结构类型的化合物,可通过调节 AMPA 受体的功能发挥生物学效应,与 AMPA 受体激动剂不同的是,该类化合物不会产生抽搐等惊厥样行为,目前 CX717 已经作为改善阿片类致呼吸抑制药物进入 II 期临床试验^[18]。本课题组前期体外实验已证实,LCX001 对 AMPA 受体有正向调节作用,可以促进神经元的兴奋性传递^[15]。本研究选用阿片类药物 TH-030418 建立呼吸抑制大鼠模型,系统考察了 LCX001 改善呼吸抑制的量效和时效关系。TH-030418 是我所自行设计合成的一个结构新颖的长效阿片受体激动剂,作为噻吩诺啡的衍生物,可以非选择性地与各亚型阿片受体结合,并具有很强的亲和力,是一类比吗啡和二氢埃托啡更为强效的阿片类镇痛药。TH-030418 的镇静和麻醉作用明确,呼吸抑制强度具有明显剂量依赖性,在较低剂量下($8 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)即可产生呼吸抑制,且持续时间长,更有意义的是,在纳洛酮催促戒断、条件性位置偏爱和自身给药实验中,均未发现有明显身体依赖和精神依赖潜能^[12-14]。上述药理学特点说明,TH-030418 可作为良好的工具药用于中重度呼吸抑制模型的建立。考虑到避免雌性发情周期对实验结果的干扰及性别导致的阿片受体敏感性差异,本研究选择了雄性大鼠给予 TH-030418 建立呼吸抑制模型,测定处于清醒和自由活动大鼠的 MV、RF 和 EP 等呼吸指标,结果显示,LCX001 能有效逆转 TH-030418 所致大鼠 RF 降低、MV 下降和 EP 增加等呼吸抑制状态。呼吸抑制大鼠的动脉血气参数 $p\text{O}_2$ 、 $p\text{CO}_2$ 和 $s\text{O}_2$ 也进一步确证

LCX001 抗阿片类致呼吸抑制的有效性。

目前已证实,阿片受体、Glu、 γ -氨基丁酸、甘氨酸和 Ca^{2+} 等都参与呼吸节律的调控。延髓呼吸中枢产生的节律性呼吸依赖于延髓呼吸中枢内各神经元之间复杂的相互联系和相互作用,其中 Glu 系统是兴奋呼吸中枢的主要神经系统,可调控呼吸节律,增强兴奋性神经冲动向膈肌运动神经元的传递。中枢 Glu 释放与激动 AMPA 受体和 NMDA 受体密切相关。而直接作用于 AMPA 受体的激动剂,由于直接与受体的结合位点结合,易对受体产生过度刺激引发神经毒性^[19-21]。为了考察 LCX001 改善呼吸抑制的作用机制,本研究采用微透析法测定与呼吸密切相关的海马脑区的 Glu 释放。结果显示,TH-030418 使海马脑区细胞外液 Glu 释放明显减少,单用 LCX001 对海马脑区细胞外液 Glu 含量无影响,但预先给予 LCX001 后可缓解 TH-030418 所致的 Glu 释放减少,使其恢复至接近基础值状态,且未造成过度激活。以上结果表明,LCX001 发挥构调节功能,可能是通过与 AMPA 受体激动剂不同的受体结合位点,通过增强 AMPA 受体激动剂与 AMPA 受体的结合,影响 AMPA 受体的脱敏和失活过程实现对 AMPA 受体的精确调控,相比于直接作用于 AMPA 受体的激动剂更具优势。

参考文献:

- [1] Kimura S, Haji A. Pharmacological strategy for overcoming opioid-induced ventilatory disturbances[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 725: 87-90.
- [2] Dahan A, Aarts L, Smith TW. Incidence, reversal, and prevention of opioid-induced respiratory depression[J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(1): 226-238.
- [3] Morris PL, Hopwood M, Whelan G, et al. Naltrexone for alcohol dependence: a randomized controlled trial [J]. *Addiction*, 2001, 96(11): 1565-1573.
- [4] Roozkrans M, Olofsen E, Schrier R, et al. Reversal of opioid-induced respiratory depression by BK-channel blocker GAL021: a pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling study in healthy volunteers[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2015, 97(6): 641-649.
- [5] Dorp E, Yassen A, Dahan A. Naloxone treatment in opioid addiction: the risks and benefits[J]. *Expert Opinion On Drug Safety*, 2007, 6:125-132.
- [6] Henley JM, Wilkinson KA. Synaptic AMPA receptor composition in development, plasticity and disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(6): 337-350.
- [7] Ward SE, Bax BD, Harries M. Challenges for and

- current status of research into positive modulators of AMPA receptors[J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(2): 181-190.
- [8] Ren J, Ding X, Greer JJ. Ampakines enhance weak endogenous respiratory drive and alleviate apnea in perinatal rats[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2015, 191(6): 704-710.
- [9] Lorier AR, Funk GD, Greer JJ. Opiate-induced suppression of rat hypoglossal motoneuron activity and its reversal by ampakine therapy[J / OL]. *PLoS One*, 2010,5(1): e8766 [2020-12-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20098731/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0008766.
- [10] Ren J, Lenal F, Yang M, *et al.* Coadministration of the AMPAKINE CX717 with propofol reduces respiratory depression and fatal apneas[J]. *Anesthesiology*, 2013, 118(6): 1437-1445.
- [11] Ren J, Ding X, Funk GD, *et al.* Ampakine CX717 protects against fentanyl-induced respiratory depression and lethal apnea in rats[J]. *Anesthesiology*, 2009, 110(6): 1364-1370.
- [12] Wen Q, Yu G, Li YL, *et al.* Pharmacological mechanisms underlying the antinociceptive and tolerance effects of the 6, 14-bridged oripavine compound 030418[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(10): 1215-1224.
- [13] Yu G, Yan LD, Li YL, *et al.* TH-030418: a potent long-acting opioid analgesic with low dependence liability[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2011, 384(2): 125-131.
- [14] Xiao D, Meng FH, Dai W, *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of brain-targeted thiamine disulfide prodrugs of ampakine compound LCX001 [J]. *Molecules*, 2016, 21(4): 488-501.
- [15] Dai W, Gao X, Xiao D, *et al.* The impact and mechanism of a novel allosteric AMPA receptor modulator LCX001 on protection against respiratory depression in rodents[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 105-118 [2020-12-03]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00105>.
- [16] Harms JE, Benveniste M, Maclean JK, *et al.* Functional analysis of a novel positive allosteric modulator of AMPA receptors derived from a structure-based drug design strategy[J]. *Neuropharmacology*, 2013, 64(1): 45-52.
- [17] Weeks AM, Harms JE, Partin KM, *et al.* Functional insight into development of positive allosteric modulators of AMPA receptors[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 85: 57-66.
- [18] Oertel BG, Felden L, Tran PV, *et al.* Selective antagonism of opioid-induced ventilatory depression by an ampakine molecule in humans without loss of opioid analgesia[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2010, 87(2): 204-211.
- [19] Lee K, Goodman L, Fourie C, *et al.* AMPA receptors as therapeutic targets for neurological disorders [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2016, 103: 203-261.
- [20] Santos SD, Carvalho AL, Caldeira MV, *et al.* Regulation of AMPA receptors and synaptic plasticity[J]. *Neuroscience*, 2009, 158(1): 105-125.
- [21] Jin RL, Clark S, Weeks AM, *et al.* Mechanism of positive allosteric modulators acting on AMPA receptors[J]. *J Neurosci*, 2005, 25(39): 9027-9036.

Effect of a novel AMPA receptor modulator LCX001 against respiratory depression induced by opioid receptor agonist TH-030418

GAO Xiang¹, FAN Yong-zheng^{1,2}, DAI Wei¹, YONG Zheng¹, SU Rui-bin¹

(1. State Key Laboratory of Toxicology and Medical Countermeasures, Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China; 2. The 991th Hospital of Joint Logistic Support Force, Xiangyang 441000, China)

Abstract: OBJECTIVE To evaluate the effect of LCX001, a novel α -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA) receptor modulator, on opioid-induced respiratory depression, and to explore its possible mechanism. **METHODS** ① Rats were iv given opioid receptor agonist TH-030418 $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ to establish a respiratory depression model. LCX001 0 (model group), 5, 10 and $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (model+LCX001 treatment group) were iv given 15 min later, and lung function parameters of rats [minute ventilation (MV), respiratory frequency (RF) and enhanced pause (EP)] were detected. ② Rats were iv

given opioid receptor agonist TH-030418 $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ to establish a respiratory depression model, and LCX001 0 (model group), 5, 10 and $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ was iv given 5 min later (model+LCX001 treatment group). The changes of arterial blood gas parameters [oxygen partial pressure ($p\text{O}_2$), carbon dioxide partial pressure ($p\text{CO}_2$) and oxygen saturation ($s\text{O}_2$)] were detected. ③ Rats were ip given 20% hydroxypropyl- β -cyclodextrin as the solvent control group, ip given LCX001 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ as the LCX001 control group, iv given TH-030418 $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ as the model group and ip given LCX001 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 15 min later, iv given TH-030418 $20 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ as the model+LCX001 prevention group. The content of glutamate (Glu) in the hippocampus of awake rats was measured by brain microdialysis. **RESULTS** ① In the model group, MV, RF and EP decreased significantly 2.5 min after TH-030418 injection ($P < 0.01$). Compared with the model group, the MV and RF of rats in the model+LCX001 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group at the 22.5 min time point significantly increased ($P < 0.05$), while EP decreased significantly at 47.5 min ($P < 0.05$). ② In the model group, $p\text{O}_2$ and $s\text{O}_2$ decreased significantly 5 min after injection with TH-030418, while $p\text{CO}_2$ increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, $p\text{O}_2$ and $s\text{O}_2$ of the model+LCX001 group ($20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were significantly increased, but $p\text{CO}_2$ was significantly decreased at the 15 min time point ($P < 0.01$). ③ The result of brain microdialysis showed that the content of Glu in the extracellular fluid of the hippocampus in the model group was significantly decreased 20 min after TH-030418 injection compared with the basal value ($P < 0.05$). At the time points of 20, 60, 120 and 160 min after TH-030418 injection, the Glu content in the hippocampal nerve extracellular fluid of rats in the model+LCX001 $20 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ group was significantly increased compared with the corresponding time points of rats in the model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** LCX001 can effectively improve the respiratory depression induced by TH-030418, and the effect may be related to regulating the content of Glu neurotransmitters in the hippocampus.

Key words: AMPA receptor modulator; LCX001; opioid; respiratory depression

Foundation item: National Science and Technology Major Project of China (2015ZX09501003)

Corresponding author: YONG Zheng, E-mail: yongzhabc@126.com; SU Rui-bin, E-mail: ruibinsu@126.com

(收稿日期: 2020-12-28 接受日期: 2021-12-07)

(本文编辑: 赵楠)