

EIKOZANOIDI U TERAPIJI ASTME

SOTE VLADIMIROV,

DANICA AGBABA

Institut za Farmaceutsku hemiju i Analitiku lekova, Farmaceutski fakultet, Beograd

UVOD

Astma je relativno često oboljenje disajnih puteva savremenog čoveka. Etiologiju i kliničku sliku bolesti po pravilu prate kompleksni procesi inflamacije koji su izazvani dejstvom jednog ili većeg broja inflamatornih agenasa. U produkciju i lučenje ovih agenasa su uključeni više tipova leukocita: eozinofili, bazofili, makrofazi i T-limfociti. Iz bronhoalveolarnog eksudata kod astmatičara izolovane su navedene diferencirane ćelije. Utvrđena je izvestna korelacija između povećanog nivoa *imunoglobulina E (IgE)* i određene genetske predispozicije prema ovom oboljenju.

Vezivanjem alergena za bazofile ili mastocite preko dva molekula *IgE* dolazi do aktivacije i oslobađanja brojnih inflamatornih medijatora. Neki medijatori odgovorni za proces inflamacije se oslobađaju iz odgovarajućih depoa (vezikula), kao što je histamin, ili se pod uticajem alergena biosintetišu (leukotrieni, prostaciklini, citokini, faktori agregacije trombocita i drugi).

Biosinteza i oslobađanje inflamatornih medijatora se vrši intraćelijski, na membranama odgovarajućih ćelija ili ekstracelularno. Imunološkom stimulacijom bazofila dolazi do biosinteze proinflamatornih citokina kao što su *IL-4* i *IL-13*. U razvoju astme i procesu inflamacije pored bazofila i mastocita učestvuju i eozinofili, T-limfociti, a kao medijatori inflamacije su označeni: *bazni i katjonski proteini, neurotoksini, leukotrieni, interleukini, histamin, tumor nekrosis faktor (TNF), prostaglandini, proteaze, faktori agregacije trombocita (PAF), citokini i drugi.*

Biosinteza lipidnih medijatora, leukotriena (*LT*) i prostaciklina se vrši pod direktnim uticajem alergena koji aktiviraju odgovarajuću enzimsku kaskadu. Ovaj složeni proces može da se zaustavi upotrebom odgovarajućih preferentnih ili neselektivnih inhibitora enzima kao što su glukokortikoidi, inhibitori *lipooksigenaze, ciklooksigenaze (COX), tromboksan sintetaze (TX), fosfodiesteraze (PDE).*

Pod direktnim uticajem navedenih medijatora dolazi do razvoja reakcije inflamacije koja je praćena brojnim patološkim procesima: vazodilatacija, povećana propustljivost kapilara, hemotaksa leukocita, pojačana mukozna sekrecija, bronhokonstrikcija, kašalj, smanjen plućni kapacitet.

S obzirom na veliki broj inflamatornih medijatora koji mogu biti uzročnici razvoja astme, u prevenciji i lečenju klinički se koriste brojne farmakološke grupe lekova: selektivni β_2 -agonisti, antiinflamatorni glukokortikoidi, antiholinergici, antihistaminici antagonisti H_1 -receptora, teofilin i njegovi derivati, antagonisti leukotriena i drugih eikozanoida. Najnovija naučna saznanja ukazuju na moguću primenu i nekih selektivnih inhibitora fosfodiesteraze i specifičnih monoklonskih antitela.

BIOSINTEZA EIKOZANOIDA

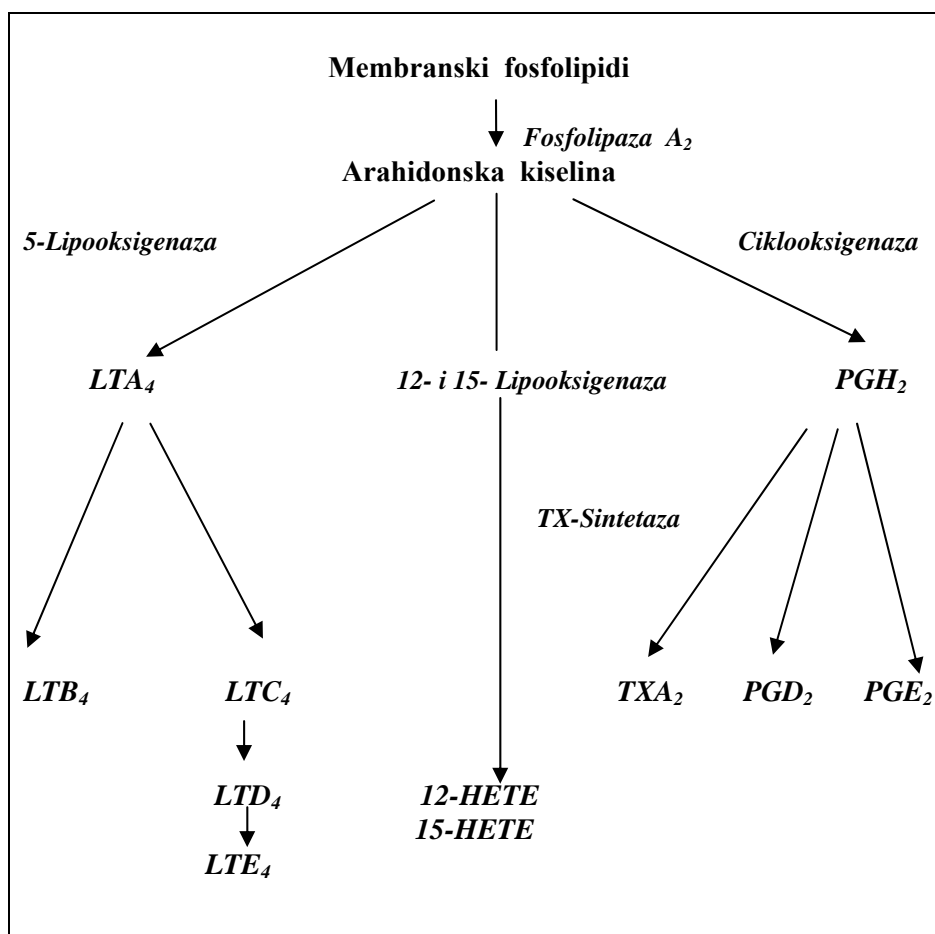
Leukotrieni i prostaciklini su metaboliti arahidonske kiseline i u literaturi se označavaju kao eikozanoidi, imaju veoma značajne fiziološke i patofiziološke funkcije.

Arahidonska kiselina [(*all-Z*)-5,8,11,14-eikozatetraenska kiselina] je esencijalna poli-nezasićena masna kiselina koja se ishranom unosi u organizam. Ona ulazi u sastav životinjskih fosfatida odnosno membranskih fosfolipida koji su zastupljeni i kod nekih veoma diferenciranih ćelija kao što su: mastociti, trombociti i limfociti (1). Tetraenska struktura je uslov za fiziološku aktivnost ove kiseline. Uvođenje odgovarajućih *inskih* veza umesto *tetraenske* strukture dolazi do inhibicije fiziološke uloge arahidonske kiseline (antagonisti arahidonske kiseline).

Prvi metabolički put uključuje enzim *5-lipooksigenazu (5-LO)* i jedan specifičan protein koji aktivira enzim (*FLAP*). U reakciji po tipu radikala javlja se nestabilan hidrogenperoksi intermedijer koji se transformiše intramolekulskim preuređivanjem rasporeda dvostrukih veza u konjugovanu triensku strukturu, odnosno u odgovarajući epoksid (*LTA₄*). Ovaj leukotrien je nestabilan, metaboliše se do *LTB₄* ili *LTC₄*. Leukotrien *LTC₄* je stabilniji od *LTB₄* i predstavlja *leading-molecul* u sintezi brojnih antagonista leukotriena kao potencijalnih antiastmatika i antialergika (2).

Drugi metabolički put predstavlja enzimsku biotransformaciju arahidonske kiseline do intermedijera *prostaciklina (PGH₂)*, koji je snažan vazodilatator i inhibitor agregacije trombocita. *Prostaciklin* se biosintetiše u endotelu krvnih sudova i veoma je nestabilan. U rastvorima je podložan hidrolizi do *6-okso-PGF_{1 α} -prostaglandina*. Biološko poluvreme prostaciklina u fosfatnom puferu na 4 °C iznosi 14,5 min, a antiagregacijska aktivnost se ispoljava u toku 15 s na 37 °C. Koristi se higroskopna natrijumova so, koja je relativno stabilna oko 2 meseca ako se čuva na -30 °C. Klinički se koristi kao inhibitor agregacije trombocita, a utvrđen je i izvestan antimetastatički efekat.

Pod uticajem *tromboksansintetaze* PGH_2 se metaboliše u trombocitima, leukocitima, plućima, i drugim organima do tromboksana A_2 (TXA_2), a pod uticajem *prostaglandinsintetaze* do prostaglandina PGD_2 odnosno PGE_2 . Ovi fiziološki aktivni eikozanoidi su veoma nestabilni i imaju izuzetno kratko biološko poluvreme; oko 30 s na telesnoj temperaturi. TXA_2 dovodi do agregacije trombocita, metaboliše se adicijom molekula vode do stabilnog tromboksana B_2 koji je kao medijator izolovan i u toku anafilaktične reakcije, a dovodi i do pozitivne hemotakse koja je veoma značajan proces patogeneze astme. Šema biosinteze i metabolizma inflamatornih medijatora, derivata arahidonske kiseline je prikazan na Slici 1.

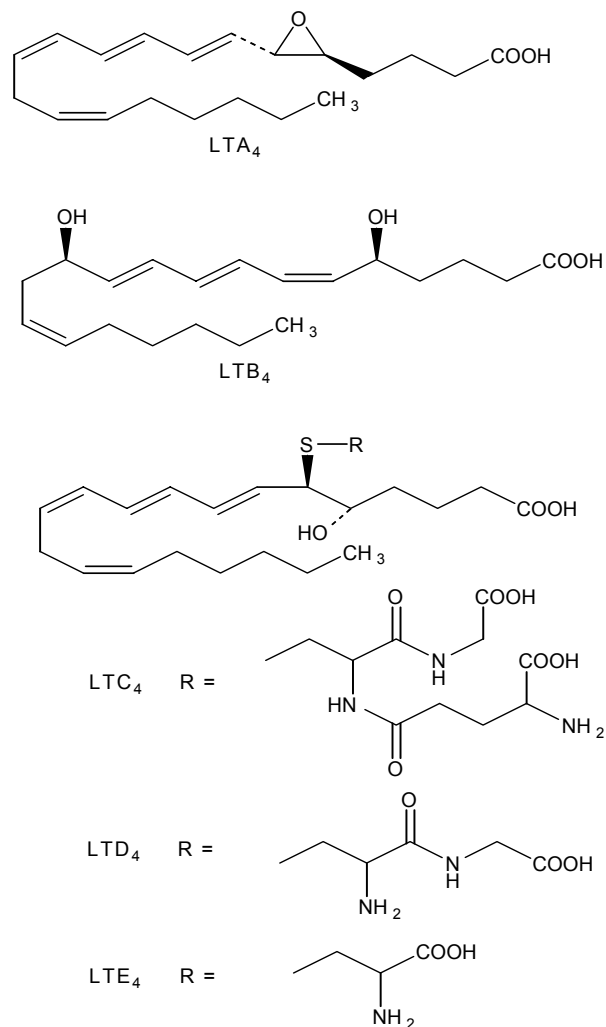


Slika 1. Biosineza i metabolizam eikozanoida
Fig. 1. Biosynthesis and metabolism of eicosanoides

Utvrđeno je da leukotrieni, prostaciklin i tromboksan TXA_2 i TXB_2 učestvuju u reakcijama inflamacije, dovode do bronhokonstrukcije, modifikuju propustljivost krvnih sudova u plućima, dovode do pojačane sekrecije odnosno imaju značajnu ulogu u patogenezi nekih oblika astme (3).

Aplikovani leukotrieni kod eksperimentalnih životinja dovode do veoma snažne bronhokonstrukcije kod životinja. Najaktivniji LTC_4 i LTD_4 su oko 1000 puta aktivniji kao spazmogeni stimuli prema humanoj bronhijalnoj muskulaturi u odnosu na histamin (4). Slično PGD_2 i njegovi metaboliti 9α - i 11β - PGF_2 su od 45 do 112 puta aktivniji antiastmatici u odnosu na metaholin (5). Najaktivniji leukotrieni LTC_4 i LTD_4 (*5-cisteinileikozanoidi*) su oko 1000 puta aktivniji kao induktor zadržavanja plazma proteina iz bronhijalne cirkulacije u lumen vazdušnih puteva zamorca (6) i dovode do povećanja propustljivosti kapilara u odnosu na histamin. Plazma proteini su izolovani iz sputuma astmatičara (7) i oni u kombinaciji sa mucinom, čije lučenje stimulišu leukotrieni LTC_4 i LTD_4 formiraju mukozne naslage koje su karakteristične kod astmatičara. Pored ovih efekata, LTB_4 izaziva nagomilavanje leukocita (8), što ukazuje na to da pod uticajem leukotriena dolazi do nagomilavanja inflamatornih ćelija koje su prisutne u bronhoalveolarnim putevima astmatičnih bolesnika. Potvrda ovih činjenica je izolovanje navedenih leukotriena i prostaciklina iz eksudata i bronhopulmonalnog tkiva astmatičara.

Biosinteza leukotriena se vrši iz peroksidnog intermedijera na položaju C(5) arahidonske kiseline, koji je nestabilan i prelazi u 5,6-epoksi proizvod (LTA_4) koji se biotransformiše pod uticajem LTA_4 hidrolaze u 5-hidroksiproizvod (LTB_4). Sintetisani proizvod LTB_4 u prisustvu drugih specifičnih enzima se prevodi u derivate cisteina: LTC_4 , LTD_4 i njegov metabolit koji je manje aktivan LTE_4 . Fiziološki najaktivniji su LTC_4 i LTD_4 . Molekulske formule najznačajnijih leukotriena su predstavljene na Slici 2.



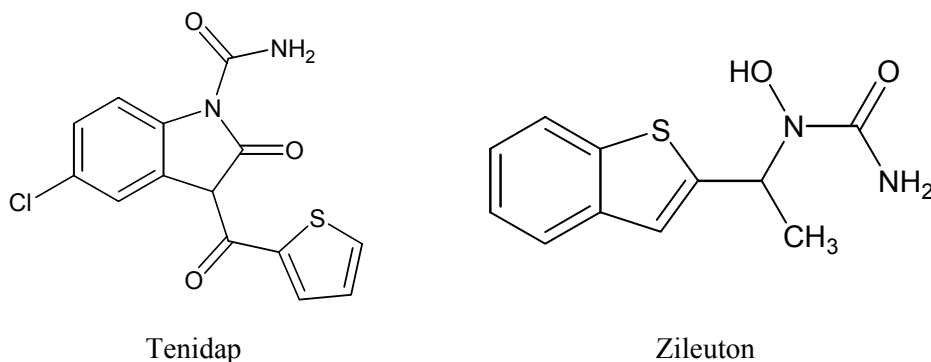
Slika2. Molekulske formule leukotriena
Fig. 2. Formulas of leucotrienes

Za aktivnost enzima *5-LO* je neophodno prisustvo *5-lipooksigenaze aktivirajućeg proteina (FLAP)* koji je uključen u proces aktivacije arahidonske kiseline.

Enzimi *5-LO* i *LTA₄-hidrolaza* su metaloproteidi koji sadrže Fe⁺³ odnosno Zn⁺²-jon. Enzim *5-LO* je membranski nestabilan enzim, postupak izolovanja dovodi do pomene *3D* strukture, gvožđe nije vezano u obliku hema. Primarna struktura proteina relativne molekulske mase oko 78000 rešena je 1988. godine (9) na izolovanom enzimu koji je prethodno kloniran. Gvožđe je vezano preko

His-372, *His-550* i *Ile-673*, dok je četvrta veza varijabilna. Za aktivaciju samog enzima neophodno je prisustvo Ca^{+2} -jona ATP-a i fosfatidilholina. Peptidni fragment od 17 aminokiselina sadrži identičnu sekvencu aminokiselina kao Ca-zavisni membranski proteini lipokortin, endoneksin i kalmodulin. Jedinjenja koja poseduju odgovarajući redoks potencijal, koji omogućava redukciju Fe^{+3} -jona su potencijalni inhibitori ovog enzima.

Derivati indazolinona, fenotiazina, fenola, benzofuranola, tetrasupstituisanih hinona, derivata hidroksiureje, enantioselektivni inhibitori *5-LO* (metoksialkiltiazoli, derivati 2-metiltetrahidro pirana, β -enaminoestri i drugi) i drugi proizvodi se intenzivno ispituju i nalaze se u različitim fazama prekliničkih i kliničkih ispitivanja.



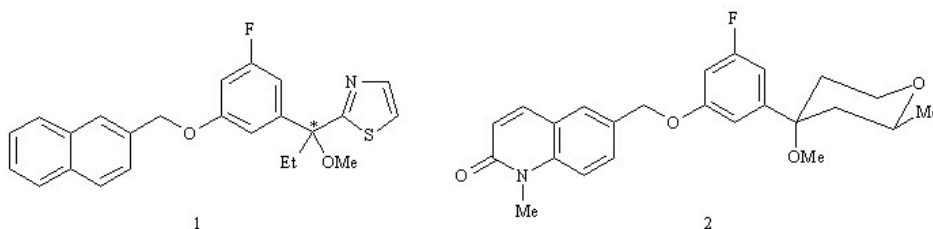
Slika 3. Molekulske formule nekih inhibitora *5-LO*
Fig. 3. Formulas of some inhibitors *5-LO*

Tenidap [(*Z*)-5-hlor-2,3-dihidro-3-(hidroksi-2-tienilmetilen)-2-okso-1*H*-indol-1-karboksamid] poseduje antiinflamatorne osobine, inhibira medijatore inflamacije: *5-LO* i *IL-1*.

Zileuton [(±) *N*-(1-benzo[*b*]tien-2-iletil)-*N*-hidroksiurea] je novi antiastmatik inhibitor enzima *5-LO*, registrovan je i u našoj zemlji. Oba proizvoda predstavljaju slabe kiseline ($\text{pK}_a \sim 6$), *tenidap* se terapijski koristi kao natrijumova so (Slici 3.)

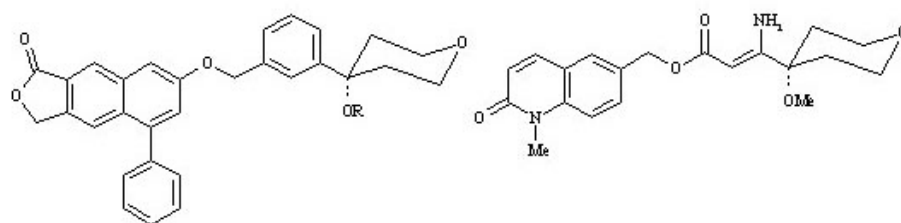
U Tabeli 1 su predstavljeni neki enantioselektivni inhibitori *5-LO*, derivati metoksialkiltiazola i 2-metil-4-metoksitetrahidropirana

Tabela 1. Enantioselektivna inhibicija enzima 5-LO
 Table 1. Enantioselective inhibition of enzymes 5-LO



Proizvod	Makrofazi miša IC_{50} (μM)	Humana krv IC_{50} (μM)
1 (<i>S</i>)(+)	0,0007	0,73
1 (<i>R</i>)(-)	0,51	6,5
2 (<i>2S,4R</i>)	0,0004	0,02
2 (<i>2R,4S</i>)	0,009	0,7

Veoma efikasni inhibitori su i drugi derivati 4-metoksitetrahidropirana ($IC_{50}=0,4$ nM) koji se veoma intenzivno ispituju kao potencijalni antialergijski agensi. I kod ovih agenasa je uočena enantioselektivnost. Uvođenjem ove strukture u neke prirodne biljne proizvode (derivate lignana) dobijen je molekul L-697,198 i njegov hidroksilni derivat L-702,539. Sintetski proizvodi koji sadrže aromatični policiklični sistem sa *N*-metil-2*H*-2-oksohinolinom kao enaminoestri 4-metoksitetrahidropirana, veoma efikasno inaktiviraju enzim 5-LO (Slici 4).

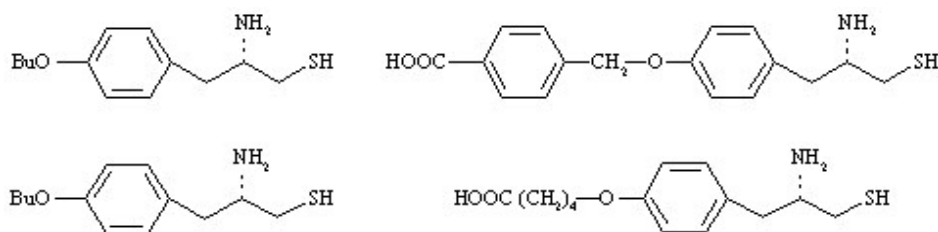


L-697,198; R=Me
 L-702,539; R=H

4(β -enaminoestri)4-metoksitetrahidropirana

Slika 4. Derivati 4-alkiloksitetrahidropirana
 Fig. 4. Derivates of 4-alkiloxytetrahydropiran

Inhibitori enzima *LTA₄-hidrolaze* su 2-amino-3-(4-benziloksi) fenilpropiltiol i odgovarajući derivat *N*-supstituisane acetohidroksamske kiseline. Merkapto i hidroksamska grupa veoma efikasno kompleksiraju Zn⁺²-jon koji ulazi u sastav prostetične grupe enzima. Ovi agensi pokazuju izvesnu enantioselektivnost. (*R*)-izomeri su oko 100 puta efikasniji u odnosu na odgovarajuće enantiomere. Acetilovanjem tiolne grupe ili oksidacijom se dolazi do inaktivnih proizvoda. Derivati 2-amino-3-fenilpropiltiola i *N*-supstituisane acetohidroksamske kiseline su predstavljene formulama.



Slika 5. Derivati β -aminotiola
Fig. 5. Derivates of β -aminotiol

Ako se u lipofilni benzoiloksi radikal u *p*-položaju uvede karboksilna grupa, dolazi do promene stepena lipofilnosti molekula (gradi se *zwitter-jonska* struktura). Ovi derivati su oko 1000 puta manje aktivni kao inhibitori, pošto je moguća jonska interakcija sa slobodnim karboksilnim grupama leukotriena *LTA₄* (Slika 5).

ANTAGONISTI *LT₁*-RECEPTORA

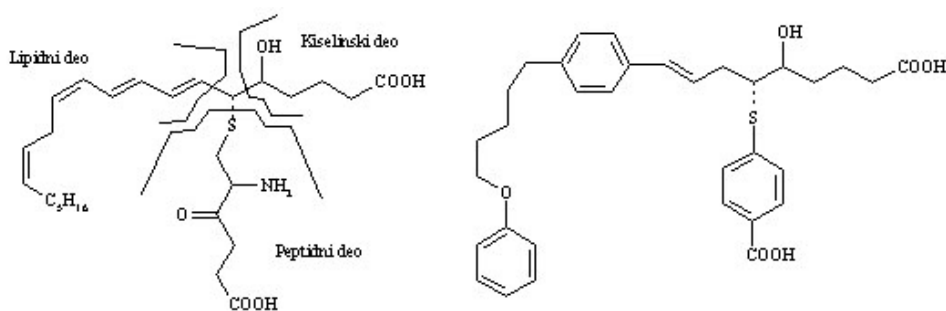
Peptidni leukotrieni su derivati cisteina: *LTC₄*, *LTD₄* i *LTE₄* (Sl. 2.). Receptori za navedene leukotriene se označavaju kao *LT₁-receptori*. Stimulacija ovih receptora dovodi do bronhokonstrikcije, a prisustvo *LTB₄-receptora* je ustanovljeno u humanim leukocitima. Utvrđeno je i prisustvo *LT₂-receptora* za koje se ne vezuju *LT₁-antagonisti* iz pulmonarne vaskulature. Specifični antagonisti ovih receptora nisu do sada sintetisani.

Sintetisan je veliki broj jedinjenja potencijalnih antagonista *LT₁-receptora*. Veoma mali broj, samo oko dvadesetak, je zadovoljio stroge kriterijume pertkliničkih ispitivanja (bezbednost i niska toksičnost). Ova jedinjenja su podvrgnuta višim fazama ispitivanja kao potencijalni antiastmatici i antiinflamatorni agensi. Ispitivanja antagonističke aktivnosti leukotriena *in-vitro* i *in-vivo* su veoma kompleksna. Razvojem metoda sinteze i izolovanja leukotriena, došlo se do proizvoda visoke čistoće. To je veoma značajno za samo proučavanje mehanizma vezivanja i definisanja odgovarajućih bioloških

parametara, kao što je inhibicija stepena kontraktilnosti mišića traheje zamorca ili izolovanih traka glatke muskulature ileuma nekih eksperimentalnih životinja pod uticajem potencijalnih antagonista leukotriena. Definiše se IC_{50} konstanta inhibicije pK_i ili izračunava pK_a vrednost (negativni \log molarne konstante disocijacije) koja pretstavlja merilo stepena inhibicije vezivanja LTD_4 za odgovarajuće receptore pod uticajem antagonista. Osnovni strukturni uslov za vezivanje za LT_1 -receptore je anjonska struktura molekula. Definisavanje samog kompleksa *leukotrien-receptor* i kinetika reakcije inhibicije u prisustvu inhibitora leukotriena se proučava markiranim [3H] LTD_4 .

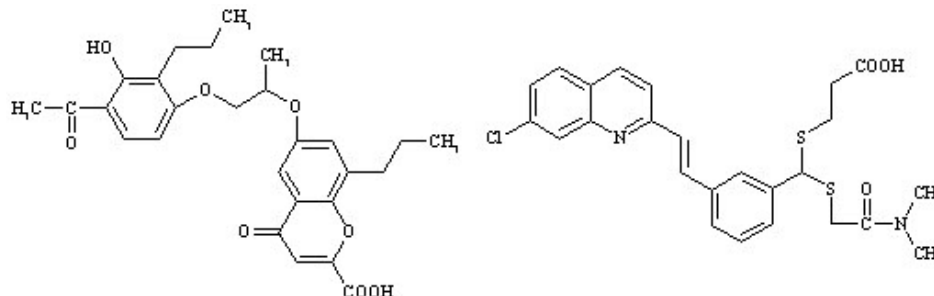
SAR- STUDIJE

Kao prvi LT_1 -antagonist sintetisan je derivat *hromona* FLP55712, koji ima delimičnu strukturnu sličnost sa LTD_4 . Strukturni prikaz LTD_4 i *BAY v3991* je predstavljen na Slici 6.



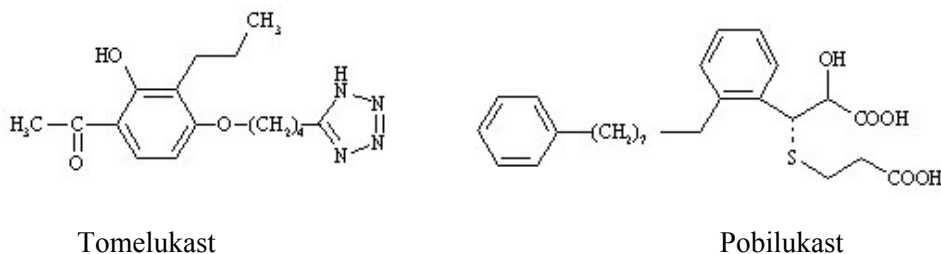
Slika 6. SAR-studije: LTD_4 i *BAY v3991*
Fig. 6. SAR-studies: LTD_4 and *BAYv3991*

Hemiske promene su vršene u lipidnom, kiselinskom i peptidnom delu strukture molekula. Za razliku od fleksibilnih struktura (polienski alkilradikal), u lipidnom delu molekula, izvršena je supstitucija, odnosno uvođenje rigidnih (nefleksibilnih) struktura koje sadrže *ariloksi* ili *ariloksialkil*-radikale). Izvšen je veliki broj strukturnih modifikacija na molekulu LTD_4 . Ostatak fleksibilnog peptidnog dela molekula je zamenjen *karboksialkiltio*-radikalom, *karboksiariltio*-radikalom. Karboksialkiltio derivati su pokazivali parcijalnu agonističku i antagonističku aktivnost (10). Derivat tiosalicilne kiseline je parcijalni agonist, dok je derivat položajnog *p*-izomera tiosalicilne kiseline antagonist. Derivati koji sadrže navedene strukturne modifikacije su *FLP 55712* i *MKS 571* (Slika 7) i pokazuju veoma efikasnu antagonističku aktivnost.



Slika 7. Antagonisti LT_1 -receptora: FLP 55712 i MKS 571
Fig. 7. Antagonists of LT_1 -receptors: FLP 55712 i MKS 571

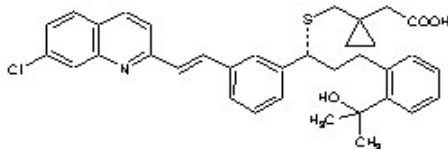
Navedeni derivat hormona *FLP 55712* je dalje strukturno modifikovan pri čemu su dobijeni veoma efikasni inhibitori: *tomelukast* i *pobilukast*. Studijom odnosa strukture i biološke aktivnosti, utvrđeno je da je za inhibiciju *LT₁-receptora* osnovni strukturni uslov prisustvo kisele funkcionalne grupe (anjonski oblik je aktivan). Ovaj deo strukture koji je odgovoran za jonske interakcije sa receptorom preko jednog središnjeg niza sa heteroatomima (supstituisana tiolna, amidska, etarska ili estarska grupa) je vezan u nastavku relativno rigidan, lipofilan deo molekula koji sadrži duže alkil-radikale i aromatične supstituente.



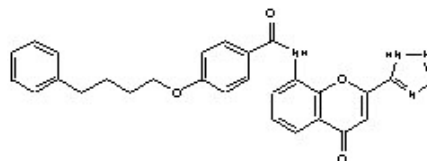
Tomelukast

Pobilukast

Tomelukast pokazuje znatno manju aktivnost *in-vivo* u odnosu na *in-vitro* inhibitornu aktivnost, što je uslovljeno slobodnom rotacijom tetrazolovog prstena (jedan rotamer je 10 puta aktivniji u odnosu na drugi u *in-vitro* uslovima). Kisele osobine derivata tetrazola su uslovljene elektronskim (mezomernim) efektima ovog heterociklusa, koji disosuje u biosredini i gradi tetrazolijum-anjon. *Pobilukast* ima nisku bioraspoloživost. Skoro istovremeno od strane drugih istraživača su sintetisani *montelukast* i *pranlukast*.



Montelukast

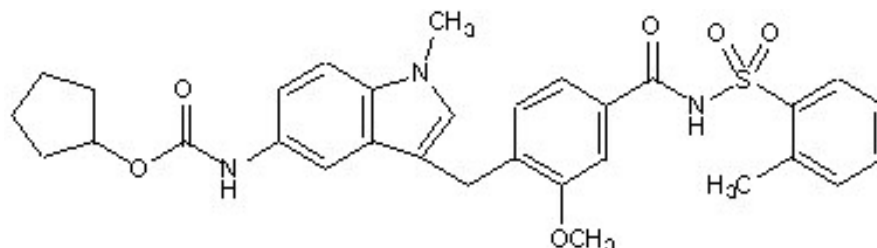


Pranlukast

Supstituisani derivati 2(7-hlorhinolin2-il)etena (*montelukast*) kao Na-so i strukturno sličan *verlukast* (MKS 571) se klinički koriste kao efikasni antiastmatici.

Pranlukast je derivat hormona, koristi se kao hemihidrat, pokazuje znatno veću inhibitornu aktivnost u odnosu na strukturno slične derivate benzojeve kiseline ($IC_{50}=0,044\text{ nM}$).

Zafirlukast je derivat indola [3-[[2-metoksi-4-[[[(2-metilfenil) sulfonil]amino]karbonil]fenil]metil]-1-metil-1*H*-indol-5-il]karbaminske kiseline ciklopentilestar. Sulfamoilaminokarbonil-grupa ima izražene kisele osobine.

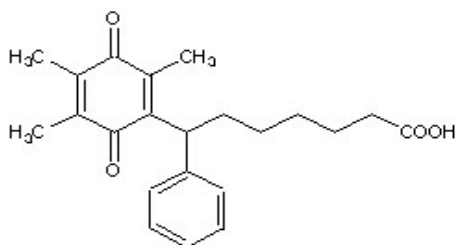


Zafirlukast

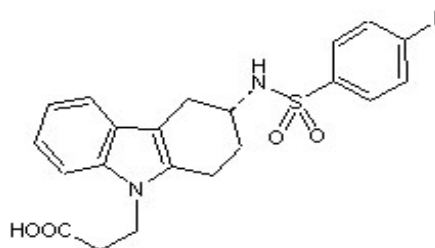
Vršeni su pokušaji sinteze kompetitivnih LTB_4 antagonista promjenama vezane za strukturu konjugovanog trienskog sistema, npr. uvođenjem benzenovog prstena umesto trienskog sistema. Ovi derivati pokazuju visoku toksičnost (neutropenija) i nemaju klinički značaj.

Antagonisti tromboksanskih TXA_2 -receptora imaju antiinflamatorne i antiastmatične osobine. Nekoliko sintetskih derivata ima klinički značaj kao sto su:

Seratrodast (\pm)- ζ -(2,4,5-trimetil-3,6-diokso-1,4-cicloheksadien-1-il) benzenheptanska kiselina; *ramatromban* [(*R*)-3-[[4-fluorofenil] sulfonil] amino] - 1,2,3,4 - tetrahydro - 9*H* - karbazol - 9 - propanska kiselina]. Oba navedena proizvoda imaju kiseli karakter. *Ramatromban* ima dve pK_a vrednosti.

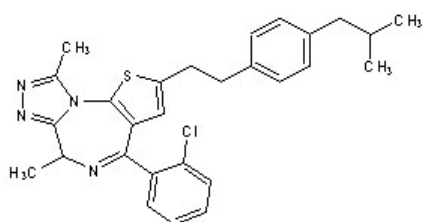


Seratrodast

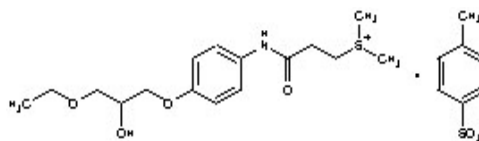


Ramatromban

U terapiji astme u novije vreme se koriste i neki inhibitori faktora agregacije trombocita (*PAF*) kao što je *israpafant* (4-(2-hlorfenil)-6,9-dimetil-2-[2-[4-(2-metilpropil)fenil]etil]-6*H*-tieno[3,2-*f*][1,2,4]triazolo[4,3-*]*[1,4]diazepin) i supresor interleukina IL-4 i inflamatornog *IgE* kao što je *suplastat-tozilat* [3-[[4-(3-etoksi-2-hidroksipropoksi)fenil]amino]-3-oksopropil] dimetilsulfonium-tozilat.



Israpafant



Suplastat-tozilat

Ovi lekovi se koriste kao antiastmatici, antialergici i antiinflamatorna sredstva. Sulplastat-tozilat ima neuobičajenu sulfinsku (anjonsku) strukturu.

ZAKLJUČAK

U terapiji astme koristi se veliki broj lekova različitog mehanizma dejstva. Najbrojniji su lekovi koji više ili manje selektivno inhibiraju reakciju inflamacije, koja ima centralno mesto u patogenezi astme. U novije vreme sintetisani su antiastmatici iz grupe inhibitora inflamatornih medijatora arahidonske kiseline (eikozanoidi), kao što su inhibitori biosinteze leukotriena, antagonisti *LT₁-receptora*, prostaciklini, antagonisti interleukina, inhibitori biosinteze *IgE* i faktora agregacije trombocita. Specifični inhibitori *fosfodiesteraze (PDE) izoenzimi tipa 3, 4 i 5*, predstavljaju novo područje u istraživanju i razvoju antiastmatika.

Nova naučna saznanja iz ove oblasti će inicirati novi pristup u dijagnostičkim postupcima, koji će omogućiti diferenciranu i preciznu definiciju određenih podtipova ove bolesti. Primena adekvatne, ciljane i efikasne terapije biće sprovedena u zavisnosti od uzročnika bolesti, odnosno inflamatornog medijatora.

SUMMARY

Many novel types of asthma therapeutic procedures have been investigated in the past decade. A vast amount of work in the *5-LO* inhibitor and *LT₁-receptor* antagonist area has resulted in a various of compounds being identified for clinical trails, and several compounds are used in the clinic. The impact of the *LT₁-receptor* antagonist and *5-LO* inhibitors on allergy therapy will be significant, if these compounds have an antiinflammatory effect within their mechanism. The area with possibly the most promise is selective inhibitors of *phosphodiesterase enzymes (PDEs)*. Selective inhibitors of three isoenzymes of *PDEs (PDE III, IV and V)* may be possess both activity; bronchodilatory and anti-inflammatory effects.

This results imply that this agents may lead to a re-examination and further subclassification of various types of asthma diseases.

LITERATURA

1. B.Testa, W.Fuhrer, E.Kyburtz, R.Giger; in Perspectives in Medicinal Chemistry; W.A. Taylor: *Eikosanoids in Asthma; The Therapeutic Options*, VCH, Weinheim · New York · Basel · Cambridge, 1993.
2. M. E. Wolff; Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Vth Ed., Vol 5, Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons Inc., New York · Chichester · Weinheim · Brisbane · Singapore · Toronto, 1993.
3. J.G.Hardman, L.E.Limbird, A. Goodman Gilman: Goodman & Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th Ed., McGraw-Hill Co, Medical Publishing Division, New York, 2001.
4. S.E. Dahlen, P.Hedquist, S. Hammerstrom, B.Samuelsson, *Nature* **288** (1980) 484.
5. R. Beasley, J. Varley, C.Robinson, S.T. Holgate, *Am.Rev.Respir.Dis.***136** (1987) 1140.
6. C.G.A. Persson, I.Erjefalt, P.Andreson, *Acta Physiol.Scand.***127** (1987) 95.
7. C.G.A Persson, *Lung* **166** (1988) 1.

8. R.D.R. Camp, A.A. Curtis, M.W. Greaves, A.B. Kay, M.J. Walport, *Br.J.Pharmacol.* **75** (1982)168.
9. T. Matsumoto, C.D. Funk, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **85**(1988)26.
10. A. Shaw, R., D. Krell, *J. Med. Chem.* **34**(1991)1235-1242.