

新托品、阿托品和东莨菪碱对大鼠大脑匀浆摄取 γ -氨基丁酸的影响¹

任蕴芳、金道山、周廷冲 (军事医学科学院基础医学研究所, 北京 100800)

提要 用大鼠大脑匀浆摄取 [^3H]GABA 的定量分析法测定了三种抗胆碱药对依赖 Na^+ 的、高亲和力的 GABA 摄取的抑制作用, 强度为: 新托品 > 阿托品 > 东莨菪碱, 其 IC_{50} 分别为 $5\ \mu\text{mol/L}$ 、 $1\ \text{mmol/L}$ 、 $1.8\ \text{mmol/L}$ 和安定类药物比较: 氟安定的 IC_{50} 为 $120\ \mu\text{mol/L}$. ip 给药结果提示, 大鼠分别 ip 新托品 $2.5\ \text{mg/kg}$ 或 ip 氟安定 $25\ \text{mg/kg}$ 所导致对 GABA 摄取的抑制效应均很明显。

关键词 γ -氨基丁酸摄取; 新托品; 阿托品; 东莨菪碱; 氟安定

GABA 摄取具有控制神经突触间隙 GABA 浓度的重要功能。七十年代初期, Beart 等⁽¹⁾ 及 Harris 等⁽²⁾ 分别从构效关系和临床药理学角度考虑, 利用大鼠大脑皮层薄片摄取 [^3H]GABA 定量分析方法⁽³⁾, 测试了一些 GABA 类似物和几十种中枢性作用药物对大鼠大脑皮层薄片体内摄取 [^3H]GABA 的影响。新托品是一种和阿托品结构类似的合成托品酯, 具有较

强抗毒蕈碱样作用的解胆碱能药。近年来药理实验提示它具有确切的抗实验性巴金森氏病的作用, 但关于新托品对 GABA 摄取的影响尚未见报道。本文在文献(3)方法的基础上建立了大鼠大脑匀浆摄取 [^3H]GABA 的定量分析法, 观察了新托品、东莨菪碱和阿托品对该摄取反应的影响, 并与安定类药物作了初步比较, 为研究新托品的临床药理和应用提供某些依据。

材 料 和 方 法

新托品[1,1-二苯基-2(3-托品基)乙烷盐酸盐]、东莨菪碱、阿托品由本院药理毒理所赠。氟安定系上海第二制药厂产品。 [^3H]GABA ($1.48\ \text{TBq}$, 电泳纯)由上海原子核研究所合成。

脑匀浆制备及实验处理 大鼠断头活杀后立即取出大脑, 迅速投入 10 倍量冰冷的 $0.3\ \text{mol/L}$ 蔗糖溶液中, 用玻璃匀浆器磨成匀浆, 离心 ($1000 \times g$, 4°C , $10\ \text{min}$), 上清液用 $0.3\ \text{mol/L}$ 蔗糖溶液稀释 8 倍, 用于测定。体

外试验是将一定浓度的药品溶液在试管与脑匀浆 25°C 预孵温 10 min 后测定。体内试验是将体重 $142 \pm SD 90$ 的♂大鼠随机分组, ip 一定剂量的药物溶液(对照组 ip 蒸馏水), 30 min 后取大脑测定。受试药物的 IC_{50} 值按 logit 作图法测算。

大脑匀浆摄取 $[^3H]$ GABA 的测定 大脑匀浆(1:8 稀释度, 相当于 2.5 mg 湿重组织) 在 Na^+ 浓度为 126 mmol/L、pH 7.1 的基质液中与 $[^3H]$ GABA 一起孵温(25°C, 30 min), 反应总体积为 2 ml。孵温完毕立即移置冰浴, 用国产玻璃纤维滤片(直径 22 mm, 孔径 0.3 μm) 分离结合的和游离的 $[^3H]$ GABA, 并以冰冷的基质液 4 ml \times 4 滤洗, 滤片于 37°C 烘 2 h 后放入 0.4% PPO-0.01% POPOP 二甲苯液中, 暗化 10 h 左右以 LKB₁₂₁₅ 型液闪仪计数测定, 计数效率为 35%。在加入 0.1 mmol/L(终浓度)非标记 GABA 的情况下测定非特异结合, 测定时, 一式三管, 总结合计数减去非特异结合计数即为特异结合计数。

结 果

大脑匀浆与 $[^3H]$ GABA 摄取结合的特征

该结合反应于 25°C 保温 30 min 达到平衡, 反应最适 pH 6.7-7.2。结合反应是依赖 Na^+ 的, 当 Na^+ 浓度为 126 mmol/L 时其特异结合计数最高(图 1)。其特异结合是可饱和的, 按 Scatchard 作图求得离解常数 $K_d = 2.3$ nmol/L, $B_{max} = 8.7$ pmol/g tissue(图 2)。新鲜制备的大脑匀浆对于 $[^3H]$ GABA 摄取是专一的: 谷氨酸和甘氨酸 1 mmol/L(终浓度)均不影响该结合反应; GABA 竞争抑制该结合反应, 其 $IC_{50} = 0.6$ μmol ; GABA 摄取抑制剂氯丙嗪和哌啶酸的 IC_{50} 分别为 29 μmol 和 0.8 nmol。

药物对大脑匀浆摄取 $[^3H]$ GABA 的影响

所试药物在 0.1 mmol/L 终浓度对大鼠脑匀浆摄取 $[^3H]$ GABA 的影响及其 IC_{50} 值见表 1。大鼠分别 ip 新托品、阿托品、氟安定和安定, 30 min 后取大脑测定设对照组的 $[^3H]$ GABA 特

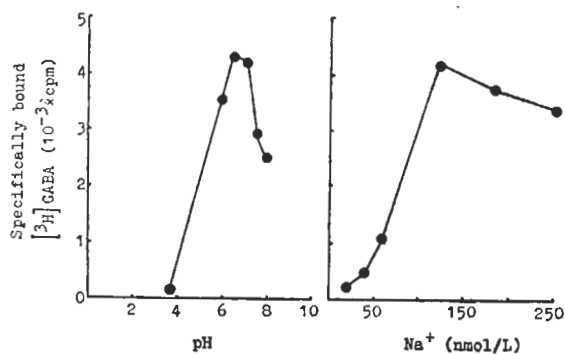


Fig 1. Effect of Na^+ concentration and pH on $[^3H]$ GABA uptake in rat cerebral homogenates incubated for 30 min at 25°C with $[^3H]$ GABA (final concentration 2.5 nmol/L). Two determinations.

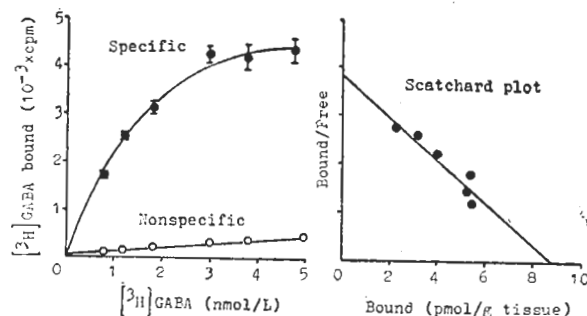


Fig 2. Homogenates of rat cerebrum at pH 7.1, 25°C were incubated with $[^3H]$ GABA (final concentration 0.8-4.8 nmol/L). Scatchard analysis indicated only one binding site. Each point is the mean of 2 determinations.

异结合的计数为 B_0 , 给药组为 B , 则给药组的抑制摄取% = $(B_0 - B)/B_0$ 。结果表明(表 2)。新托品或氟安定明显抑制大脑匀浆摄取 $[^3H]$ GABA, 而阿托品或安定组抑制作用不明显。

Tab 1. Effects of 4 drugs (0.1 mmol/L) on $[^3H]$ GABA uptake by homogenates of rat cerebrum *in vitro*. $\bar{x} \pm SD$

Drug	Rats	GABA uptake (%)	IC_{50} ($\mu mol/L$)
Syntropan	9	10 \pm 2	5
Flurazepam	5	43 \pm 11	120
Atropine	3	62 \pm 9	1000
Scopolamine	9	62 \pm 8	1800

Tab 2. Effects of ip 4 drugs in rats on [³H]GABA uptake by homogenates of rat cerebrum.

Drug	Dose (mg/kg)	Rats	Inhibition of uptake (% control $\bar{x} \pm SD$)
Syntropan	2.5	6	48 ± 19***
Atropine	2.5	6	5 ± 8*
Flurazepam	25.0	5	52 ± 7***
Diazepam	25.0	3	15 ± 13*

* $p > 0.05$, *** $p < 0.01$

讨 论

GABA是哺乳动物中枢神经系统的一种抑制性递质。它可由GABA转氨酶代谢,但此酶是线粒体酶,仅存在于突触体内。神经末梢释放到突触间的GABA主要由突触前神经末梢和胶质细胞的高、低亲和力摄取部位(载体蛋白)转运到细胞内而终止其生理作用。研究表明:低亲和力部位无专一性,同时摄取神经活性和非活性氨基酸,GABA能神经末梢主要通过依赖温度和Na⁺的高亲和力部位摄取GABA⁽⁴⁾。鉴于GABA不能透过血脑屏障,GABA摄取的研究主要采用体外试验方法。新鲜脑组织薄片、脑匀浆、新鲜制备的突触体或突触膜粗制剂都可以作为实验材料。本文用新鲜制备的大鼠大脑皮层匀浆作摄取[³H]GABA的定量分析,结果表明其最适反应条件(温度、pH、Na⁺浓度)同大鼠大脑皮层薄片切片的方法一致。本文方法较简便、重复性较好。

新托品是一个合成较早的、和阿托品结构类似的抗胆碱药。早期药理实验已经发现新托品的外周作用弱(例如其抑制狗胃酸分泌的作用比阿托品弱1000-3000倍),而新托品在产生某些中枢效应(如镇静、骨骼肌松弛)方面似乎更有效^(5,6)。近年来,动物药理实验进一步发现新托品对实验性帕金森氏(Parkinson's)病具有确切的治疗作用。我们考虑GABA对大脑、小脑、海马迴、延脑、脊髓以及锥体外系

的功能均有明显的影响,并与癫痫、帕金森氏症等关系密切,而GABA摄取具有控制GABA能神经突触间GABA浓度的重要功能。据此,我们推测很可能新托品的中枢抑制作用与GABA系统有相关。本文实验结果表明:新托品无论体外试验或体内给药均对GABA摄取有明显的抑制作用,其作用强度比阿托品、东莨菪碱强得多,而与氟安定相近或稍强。提示新托品的某些中枢抑制效应(例如镇静、解痉)有可能与修饰GABA介导的突触传递相关。但GABA功能系统较为复杂,下结论时要从多方面进行考虑,进一步观察该药对GABA-安定受体复合物的影响即将进行。本文结果为抗胆碱药新托品的临床应用初步展示了乐观的前景。

参 考 文 献

- 1 Beart PM, Johnton GAR, Uhr ML. Competitive inhibition of GABA uptake in rat brain slices by some GABA analogues of restricted conformation. *J Neurochem* 1972; 19 : 1855
- 2 Harris M, Hopkin JM, Neal MJ. Effect of centrally acting drugs on the uptake of γ -aminobutyric acid (GABA) by slices of rat cerebral cortex. *Br J Pharmacol* 1973; 47 : 229
- 3 Iversen LL, Johnson GAR. GABA uptake in rat central nervous system: comparison of uptake in slices and homogenates and the effects of some inhibitors. *J Neurochem* 1971; 18 : 1939
- 4 Roskoski R Jr. Comparison of DABA and GABA transport into plasma membrane vesicles derived from synaptosomes. *Ibid* 1981; 36 : 544
- 5 Meyers FH, Abreu BE. A comparison of the central and peripheral effects of atropine, scopolamine and some synthetic atropinelike compounds. *J Pharmacol Exp Ther* 1952; 104 : 387
- 6 Clark BB, Romano JJ. A comparison of the effect on gastric secretion of syntropan, demerol, and transentine with atropine. *Gastroenterology* 1947; 9 : 454

Effects of syntropan, atropine and scopolamine on uptake of GABA by homogenates of rat cerebrum

REN Yun-fang, JIN Dao-shan, ZHOU Ting-chong

(Inst Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)

ABSTRACT The brain tissue has a specific uptake process for GABA and this may provide an effective mechanism for terminating its inhibitory action on neurones. Thus, it is possible that some drugs might produce their effects by blocking the uptake of GABA after its release from nerve endings. In the present investigation we determined the effects of 3 anticholinergic drugs and flurazepam on uptake of GABA with a quantitative analysis for the uptake of [³H]GABA by homogenates of rat cerebrum. At a concentration of 0.1 mmol/L,

atropine and scopolamine had only small inhibitory effect reducing the uptake of [³H]GABA to 62%, but syntropan (IC₅₀ 5 μmol/L) was more potent inhibitor than flurazepam (IC₅₀ 120 μmol/L) *in vitro*. After ip of syntropan (2.5 mg/kg) or flurazepam (25 mg/kg), the rat cerebral homogenates showed significantly lower (p<0.01) uptake of [³H]GABA as compared with the control.

KEY WORDS GABA uptake; syntropan; atropine; scopolamine; flurazepam