

中枢苯二氮䓬受体激动剂和反相激动剂对育亨宾鉴别性刺激的影响

杨晓敏、罗质璞、周金黄 (军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

提要 可乐定和激动剂安定均可剂量依赖性阻断育亨宾鉴别性刺激。两者合用, 可乐定显著加强安定阻断作用。戊四氮和反相激动剂 DMCM 对育亨宾鉴别性刺激产生部分泛化, 但 DMCM 0.1 mg/kg 使其量-效曲线显著左移。这一作用可被 flumazepil 和 CL-218872 所阻断, 提示中枢 NE 系统可能既参与激动剂的抗焦虑又参与反相激动剂的致焦虑作用。

关键词 辨别学习; 化学性刺激; 育亨宾; 安定; 甲基-4-乙基-6,7-二甲氧基- β -咪啉-3-羧酸盐; 可乐定; α_1 -氨基丁酸苯二氮䓬受体; 焦虑

中枢苯二氮䓬 (benzodiazepines, BZD) 受体激动剂具有抗焦虑、镇静和肌松等药理作用⁽¹⁾, 而反相激动剂 (inverse agonist) 却具有与激动剂完全相反的药理效应, 即具有致焦虑、致惊厥和肌张力增高等作用⁽²⁾。激动剂和反相激动剂作用于中枢同一受体系统产生相反效应的神经机理尚不清楚。我们以往的工作^(3,4)表明, 中枢去甲肾上腺素 (NE) 系统参与激动剂的抗焦虑和抗惊厥作用。推测 NE 系统可能参与反相激动剂的致焦虑作用。为证实这一设想, 本文采用中枢 NE 突触前 α_2 受体拮抗剂育亨宾鉴别性刺激 (discriminative stimulus, DS) 作为焦虑模型, 观察 BZD 受体激动剂和反相激动剂的影响。

材 料

安定 (diazepam, DZP, 北京制药厂) 仿文献⁽⁵⁾溶于 pH 1.5 生理盐水 (NS), 并用相同 pH NS 作对照。盐酸可乐定 (clonidine hydrochloride, Clo, 常州制药厂) 和盐酸育亨宾 (yohimbine hydrochloride, Yoh, Sigma) 溶于蒸馏水。Flumazepil (Hoffmann-La Roche) 和 CL 218872 (Lederle Pear River) 用 Tween 80 液 (10 ml 蒸馏水加 Tween 80 2滴) 配制成悬浮

液。Methyl-4-ethyl-6,7-dimethoxy- β -carboline-3-carboxylate (DMCM, Shering A/G) 用 pH 3 蒸馏水溶解, 所有药物均作 ip。

实验用本院实验仪器厂研制的微机控制大鼠操作性条件反射仪, 由计算机控制中心和 4 个标准大鼠操作箱组成。操作箱 (29×25×21 cm) 内壁正中装有两个长 3.5 cm 操作杆, 操作杆距箱底电栅板 8 cm, 距强化水盘 6 cm, 强化水盘经电磁阀与箱外储水盒相连。操作箱外装有隔音套板。箱内有掩盖噪声发生器, 以减少环境中背景噪声对大鼠操作行为的干扰。箱内装有 8 W 白炽灯照明。大鼠操作行为由计算机控制和记录。

Sprague-Dawley 大鼠, σ^7 , 体重 250±SD 25 g, 本院动物场提供。单笼饲养。室温控制在 22-25°C。用日光灯辅助, 每日光照 7 a.m.-7 p.m. (12 h)。饲料不限, 饮水仅限于每日实验完成后 5-10 min。

方 法

训练开始前 1 wk, 限制饮水, 以使大鼠体重降至初始体重的 80-85%。然后进行固定比率 (fixed ratio, FR) 训练, 即由计算机控制, 大鼠完成一定数目操作后, 可获得一次水强化。经 10-15 d 训练后淘汰不能学会 FR 1 操作 (即压杆一次可获得一次水强化) 及连续 7 d 在 30 min 内的 FR 1 操作变异大于 40% 的大鼠。对能学会 FR 1 操作的大鼠, 继续进行 FR 10 训练。

DS 训练 学会 FR 10 操作的大鼠接受 DS 训练。DS 训练指令输入微机后, 可将每一操作箱中的 2 个操作杆分别规定为药物杆 (DL) 和盐水杆 (SL)。给药日 (D), ip Yoh 2 mg/kg 30 min 后将大鼠置于操作箱。大鼠在 DL 上完成 FR 10 操作可得到 0.05 ml 水强化, 而在 SL

上的操作无水强化, 仅记录操作数目. 给 NS 日(S)则反之, ip NS 30 min 后大鼠在 SL 上完成 FR 10 操作可获得水强化, 而在 DL 上操作无水强化. 为克服 DL 位置对结果的影响, 一半大鼠的 DL 位于强化水盘右侧, 另一半大鼠的 DL 位于强化水盘的左侧, 并在整个实验过程中保持不变. D 和 S 日每 2 d 变换一次(即 DDSSDDSS……). 用获得第一次强化前, DL 操作的次数占 DL 和 SL 反应次数总和的相对%表示 DS 的正确性, 以此为指标观察药物的作用和相互作用. 如果连续 10 个 D 日有 8 次 DS 的正确性均大于 80% 则认为 Yoh DS 已经获得, 可进行正式实验.

泛化和拮抗实验 获得 DS 的大鼠进行泛化或拮抗实验. 泛化是指受试药物取代 Yoh 而模拟其 DS 反应的药理效应; 拮抗是指受试药物降低 Yoh DS 正确反应的药理效应. ip 受试药物 30 min 后进行泛化实验. ip Yoh 前 10 min ip 受试药物, ip Yoh 后 20 min 进行拮抗实验. 实验日(T)后继续进行两个训练日, 并改变 D 和 S 日顺序(即 SDTDSTDTSTDTST…), 以减少 D 日对 T 日结果的影响.

整个实验采用拉丁方设计, 不同药物或同

一药物的不同剂量安排在同一组大鼠的不同 T 日进行. 实验尽可能安排在每天的同一时间内进行, 以减少大鼠行为昼夜节律的改变对实验结果的影响. 正式实验开始后, 如两个训练日中出现 DS 正确性低于 80% 则须继续进行训练直至连续 4 个 D 日其 DS 正确性均大于 80% 方可进行正式实验. 量效曲线的变化用重复双因素方差分析进行显著性检验.

结 果

Yoh DS 的获得需 51 ± 9 个训练日. Yoh DS 获得后具有良好的量效关系. 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 2.0 mg/kg 其 Yoh DS 正确性分别为 10 ± 6 , 30 ± 11 , 54 ± 15 , 67 ± 11 , $95 \pm 5\%$ ($n=7$).

Clo 30, 100, 300, 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 使 Yoh DS 正确性由 $95 \pm 5\%$ 降至 70 ± 16 , 37 ± 21 , 23 ± 19 , $4 \pm 9\%$. DZP 在 0.1-10 mg/kg 剂量范围内亦可阻断 Yoh DS(图 1-A). Clo 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($F=18.97$, $df=1, 48$, $p<0.01$) 和 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($F=29.40$, $df=1, 48$, $p<0.01$) 可显著加强 DZP 对 Yoh DS 的阻断作用(图 1-A).

如图 1-B 所示, 戊四氮和 DMCM 在 1.0-

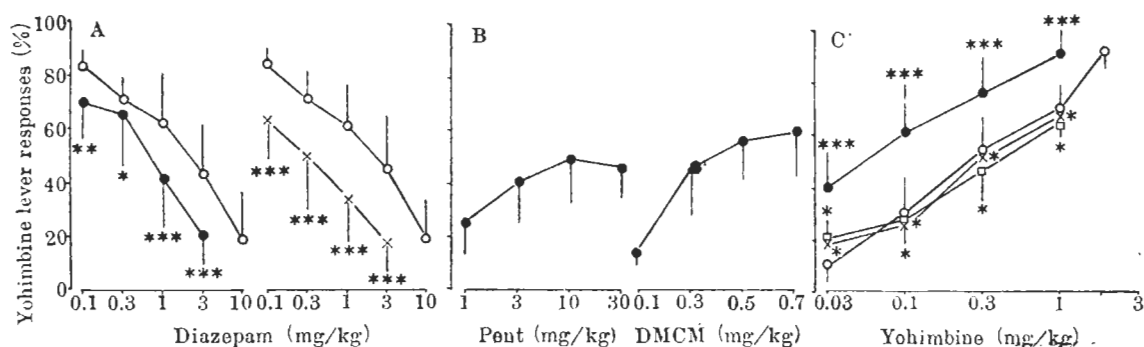


Fig 1. A) Antagonism of the yohimbine (Yoh) stimulus by diazepam (Dia) in rats and the potentiating effect of clonidine (Clo) on the antagonism of diazepam. (○) Dia, (●) Clo 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ + Dia, (×) Clo 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ + Dia. * $p>0.05$, ** $p<0.05$, *** $p<0.01$ vs (○). $n=7$, $\bar{x} \pm \text{SD}$

B) Generalization of Yoh stimulus in rats to pentylentetrazol (Pent) and methyl-4-ethyl-6,7-dimethoxy- β -carboline-3-carboxylate (DMCM). $n=7$, $\bar{x} \pm \text{SD}$

C) Potentiating effect of DMCM (0.1 mg/kg, ip) on the yohimbine stimulus in rats and the antagonism by flumazepil and CL-218872 of the potentiating effect of DMCM. (○) Yoh, (●) DMCM 0.1 mg/kg + Yoh, (□) flumazepil (Ro 15-1788) 3.0 mg/kg + DMCM 0.1 mg/kg + Yoh, (×) CL-218872 3.0 mg/kg + DMCM 0.1 mg/kg + Yoh. * $p>0.05$, *** $p<0.01$ vs (○), $n=7-10$, $\bar{x} \pm \text{SD}$

30和0.1-0.7 mg/kg 剂量范围内,对 Yoh DS 可产生部分泛化。长期 ip Yoh 可提高大鼠对 DMCM 致惊厥的易感性。一次性 ip Yoh 2.0 mg/kg 后 10 min ip DMCM 0.5 mg/kg, 90% 大鼠不发生惊厥,而获得 Yoh DS 后的大鼠仅 ip DMCM 0.3 mg/kg 却有 60% 大鼠发生不同程度的惊厥,因而限制了用更大剂量 DMCM 观察其对 Yoh DS 的泛化作用。DMCM 0.1 mg/kg 与不同剂量 Yoh 合用可显著加强 DMCM 的致焦虑作用,表现为 Yoh DS 量-效曲线显著左移。(F=22.42, df=1,48, p<0.01)(图 1-C)。这一加强作用可被中枢 BZD 受体特异拮抗剂 flumazepil 3.0 mg/kg(与 Yoh DS 量-效曲线相比, F=0.33, df=1, 40, p>0.05)和中枢 I 型 BZD 受体激动剂 CL-218872 3.0 mg/kg(与 Yoh DS 量效曲线相比, F=0.13, df=1, 40, p>0.05)所拮抗。

讨 论

Yoh 为中枢 NE 能突触前 α_2 受体拮抗剂,可增强中枢 NE 系统的功能活动⁽⁶⁾,对健康志愿者和实验动物都具有致焦虑作用⁽⁷⁾。这一作用与其具有较弱的中枢 BZD 受体亲和力无关⁽⁸⁾。Yoh DS 主要反映其致焦虑作用⁽⁹⁾。本实验观察到中枢 NE 能突触前 α_2 受体激动剂 Clo 可剂量依赖性地阻断 Yoh DS,提示 Yoh DS 作用与其阻断突触前 α_2 受体,降低负反馈抑制增强中枢 NE 系统的功能活动有关。

中枢 BZD 受体激动剂 DZP 可剂量依赖性阻断 Yoh DS。这一作用可被 Clo 显著加强,提示 BZD 激活中枢 BZD 受体后,对 NE 系统功能活动的抑制作用是其抗焦虑作用的神经机理之一。这与我们的先前报道⁽⁴⁾一致。

反相激动剂 DMCM 与中枢 BZD 受体有很高的亲和力⁽²⁾,但激活 BZD 受体后却产生致焦虑作用,其神经机理不明。本实验观察到 DMCM 和另一致焦虑剂戊四氮只对 Yoh DS 产生部分泛化,提示 DMCM 的致焦虑作用不是对 NE 能突触前 α_2 受体直接阻断的结果,

若是,则 DMCM 应能对 Yoh DS 产生完全泛化效应。但 DMCM 这种部分泛化效应提示其能产生与 Yoh 相似的焦虑样内源感受性⁽¹⁰⁾,而这种感受性的神经机理之一是中枢 NE 系统的功能活动增强。无泛化作用的小剂量 DMCM 即可显著加强 Yoh DS 作用,支持这一推论。

有文献⁽¹¹⁾认为,中枢 BZD 受体被激动剂和反相激动剂激活后产生完全相反药理效应的原因在于受体构象变化不同。本实验观察到,DMCM 加强 Yoh DS 作用不但可被中枢 BZD 受体拮抗剂拮抗,而且可被 I 型 BZD 受体激动剂 CL 218872 阻断,提示在受体水平研究反相激动剂的致焦虑机理时,亦应从 BZD 受体亚型不同的功能特性进行探讨。

参 考 文 献

- Costa E, Guidotti A, Mao CC, Suria A. New concepts on the mechanism of action of benzodiazepines. *Life Sci* 1975; 17 : 167
- Stephens DN, Kehr W, Scheider HH, Schmiechen R. β -Carbolines with agonistic and inverse agonistic properties at benzodiazepine receptors of the rat. *Neurosci Lett* 1984; 47 : 333
- 杨晓敏、罗质璞、可乐定加强苯二氮䓬类药物抗戊四氮惊厥作用. *中国药理学与毒理学杂志* 1987; 1 : 292
- 杨晓敏、罗质璞、周金黄. 在大鼠群居焦虑模型上可乐定加强安定的抗焦虑作用. *中国药理学报* 1988; 9 : 104
- Shannon HE, Herling S. Discriminative stimulus effects of diazepam in rats: evidence for a maximal effect. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 227 : 160
- Charney DS, Heninger CR, Redmon DE. Yohimbine induced anxiety and increased noradrenergic function in human. Effects of diazepam and clonidine. *Life Sci* 1983; 33 : 19
- Charney DS, Heninger CR, Breier A. Noradrenergic function in panic anxiety. Effects of yohimbine in health subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1984; 41 : 751
- Pellow S, Chopin P, File SE. Are the anxiogenic effects of yohimbine mediated by its action at benzodiazepine receptors? *Neurosci Lett* 1985; 55 : 5

- 9 Browne RC. Anxiolytics antagonize yohimbine's discriminative stimulus properties. *Psychopharmacology* 1981; 74 : 245
- 10 杨晓敏. 药物鉴别性刺激的研究与应用. 生理科学进展 1988; 19 : 47
- 11 Polc P, Bonetti EP, Schaffner R, Haefely W.

A threestate model of the benzodiazepine receptor explains the interactions between the benzodiazepine antagonist Ro 15-1788, benzodiazepine tranquilizers, β -carbolines, and phenobarbitone. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1982; 321 : 260

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Nov; 9 (6) : 522-525

Effects of agonist and inverse agonist of central benzodiazepine receptors on discriminative yohimbine stimulation

YANG Xiao-Min, LUO Zhi-Pu, ZHOU Jin-Huang

(*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850*)

ABSTRACT The effects of agonist and inverse agonist of benzodiazepine receptors on discriminative yohimbine stimulation were assessed in rats trained using a two-lever yohimbine cue discrimination procedure. The yohimbine cue was antagonized by both clonidine (0.03-0.5 mg/kg ip) and diazepam (0.1-10.0 mg/kg ip) in a dose-dependent manner. Clonidine (30,60 μ g/kg ip) significantly potentiated the depressive effects of diazepam on the yohimbine cue. Yohimbine cue was only partially generalized to pentylentetrazol (1-30 mg/kg ip) and DMCM (methyl-4-ethyl-6,7-dimethoxy- β -carboline-3-carboxylate, 0.1-0.7 mg/kg ip). However, DMCM (0.1 mg/kg ip) significantly potentiated the yohimbine cue, which was indicated by the significant shift

of dose-effect curve of yohimbine cue to the left. This potentiating effect of DMCM on the yohimbine cue was antagonized by both flumazepil (3.0 mg/kg ip), an antagonist of benzodiazepine receptors, and CL-218872 (3.0 mg/kg ip), an agonist of type I benzodiazepine receptors, respectively. Our results suggest that the noradrenergic system may be involved in both the anxiolytic effect of benzodiazepine receptor agonists and the axiogenic action of inverse benzodiazepine receptor agonists.

KEY WORDS discrimination learning; chemical stimulations; yohimbine; diazepam; methyl-4-ethyl-6,7-dimethoxy- β -carboline-3-carboxylate (DMCM); clonidine; GABA-benzodiazepine receptors; anxiety