

可乐定加强丁螺环酮对大鼠的抗焦虑作用

R 365.2

张汉瑾, 罗质璞 (军事医学科学院毒物药物研究所, 北京100850, 中国)

Potentiating effect of clonidine on anxiolytic action of buspirone in rats

ZHANG Han-Ting, LUO Zhi-Pu

(Institute of Pharmacology & Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

ABSTRACT The anxiolytic effects of buspirone (Bus) and clonidine (Clo) were studied in the social interaction (SI) test and the elevated plus-maze (EPM) in rats. Bus $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (ip, 15 min) and Clo $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (ip, 15 min) prolonged the active interaction time (AIT) in the SI test. While neither Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ nor Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ was effective in this model, combination of them increased AIT. Yohimbine $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (ip, 15 min before Bus) reversed such a potentiating effect. On the other hand, Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ or/and Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ did not affect the VI (variable interval) schedule-controlled behavior. In EPM test, neither Bus $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ nor Clo $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ increased the percentages of open-arms entries (OE%) or of the time spent in open-arms (OT%). But these 2 indices were increased by combining Bus $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ with Clo $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The results suggested that Clo potentiated the anxiolytic effect of Bus probably by its α_2 -adrenoceptor agonist action in SI and EPM tests.

KEY WORDS buspirone; clonidine; combination drug therapy; animal behavior

摘要 在群居焦虑模型上, 5-HT_{1A}受体激动剂丁螺环酮与可乐定的无效剂量合用可使大鼠主动接触时间明显延长, 并可被育亨宾所拮抗。在抬高十字迷宫模型上, 这两药的无效剂量合用可显著提高大鼠进入开臂的次数%和时间%。提示可乐定可加强丁螺环酮的抗焦虑作用; 中枢5-HT能神经与去甲肾上腺素能神经在抗焦虑作用中相互关联。

关键词 丁螺环酮; 可乐定; 联合药物疗法; 动物行为

Received 1991-11-09

Accepted 1992-09-07

丁螺环酮(buspirone, Bus)是一种新型选择性抗焦虑剂⁽¹⁾。它通过激活中枢5-HT_{1A}受体负反馈降低5-HT能神经活性而产生抗焦虑作用^(2,3); 阻断中枢 α_2 受体, 反馈性提高去甲肾上腺素(NE)能神经元的活性^(4,5)。但Bus对NE能神经的影响在其抗焦虑作用的地位尚不清楚。为此, 本实验在大鼠高架十字迷宫(elevated plus-maze, EPM)和群居相互接触(social interaction, SI)焦虑模型上观察了 α_2 受体激动剂可乐定对Bus抗焦虑作用的影响。

MATERIALS AND METHODS

Bus由本所合成, Clo和育亨宾(yohimbine, Yoh)购自sigma公司。所有药物溶于蒸馏水, 并以蒸馏水做对照, ip $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。Wistar大鼠131只, ♂, 体重 $238 \pm 25 \text{ g}$, 由本院动物中心提供。室温 $20-25^\circ\text{C}$, 光照07:00-19:00。

1 群居焦虑模型 大鼠分7组: (A)蒸馏水组; (B) Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; (C) Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; (D) Bus $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; (E) Clo $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; (F) Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ + Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; (G) Yoh $30 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ + Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ + Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。大鼠单笼单养7 d, 自由饮水进食。实验于08:00-12:00在安静环境下进行。A-F组于实验前15 min ip药物, G组ip Yoh 15 min后同时ip Bus与Clo, 15 min后进行实验。实验方法同文献⁽⁶⁾。将每组的大鼠配对(体重差小于15 g)分两批, 每批5-6对大鼠, 其中一批置于强光(350 lx)不熟悉环境(high illuminance and unfamiliar condition, HU), 另一批置于弱光(40 lx)不熟悉环境(low illuminance and unfamiliar condition, LU)的 $52 \times 46 \times 35 \text{ cm}$ 木箱内进行; 观察配对大鼠在HU或LU条件下10 min内主动接触(嗅、追逐、踢、咬、格斗、理毛、骑等)时间(active interaction time, AIT), 并记录每2 min的AIT。上述实验完成后, 在室内自然光照下, 每天将大鼠单独放入木箱熟悉环境10 min, 连续2 d继之进行强光熟悉环境(high illuminance and

familiar condition, HF)和弱光熟悉环境(low illuminance and familiar condition, LF)的实验,条件及过程同上,结果用重复双因素方差分析进行显著性检验。

2 高架十字迷宫模型 迷宫装置和实验方法见 Fellow⁽²⁾, 并作以下修改,实验前将大鼠每天在实验用房用抓、摸等方法适应(adaptation) 10 min,连续10 d,以减少由于环境改变带来的应激性影响。大鼠随机分组:(A)蒸馏水组;(B) Bus 0.5 mg·kg⁻¹组;(C) Clo 30 μg·kg⁻¹组;(D) Bus 0.5 mg·kg⁻¹ + Clo 30 μg·kg⁻¹组;(F) Bus 1 mg·kg⁻¹。实验于09:00—16:00进行,保持环境安静。实验前15 min ip 药物,然后将大鼠放入一个50×36×20 cm的塑料盒内5 min,再将大鼠置于迷宫中央,记录5 min内大鼠分别进入开臂(open arms)和闭臂(enclosed arms)的次数和在两臂内滞留时间⁽³⁾。计算大鼠进入开臂的次数(open-arms entries, OE)和在开臂滞留时间(open-arms time, OT)分别占两臂总次数(total entries, TE)和总时间(total time, TT)的百分比。对照组与给药组之间的显著性用 *t* 检验。

3 VI 程控操作 大鼠实验前体重250±21 g,每笼3—4只。食物不限,饮水按每日每只5 ml 给予,使体重控制在实验前的80—85%。实验方法参见文献⁽⁴⁾。本实验采用VI程序,即在大鼠学会FR4 (fixed ratio, 固定比率, FR 4即每压杆4次获得1次水强化)后转入VI训练:每间隔7—13 s 强化(reinforcement)一次,强化保持5 s。连续5次训练日,30 min内操作总数变异不大于15%者,则认为VI操作达到稳态水平。可进行药物实验。实验分3组:(1) Bus 0.3 mg·kg⁻¹组;(2) Clo 3 μg·kg⁻¹组;(3) Clo 3 μg·kg⁻¹ + Bus 0.3 mg·kg⁻¹组。实验前20 min ip 药物, Bus 于 Clo 前30 min ip。给药前分别安排3个蒸馏水日(w)。用3个w日单位时间(min)内的操作速率均数作为对照值,计算给药日操作速率与对照值相比的百分率作为观察药物作用的指标。药物作用的显著性用自身对照 *t* 检验。

RESULTS

1 群居焦虑模型 与对照组相比, Bus 1 mg·kg⁻¹和 Clo 10 μg·kg⁻¹均可显著延长大鼠在 HU 的主动接触时间(AIT) ($P < 0.01$); Bus 0.3 mg·kg⁻¹和 Clo 3 μg·kg⁻¹单用时对

HU 条件下的 AIT 无影响($P > 0.05$),但二者合用则显著延长 HU 的 AIT ($P < 0.01$); Yoh 30 μg·kg⁻¹可翻转 Bus 0.3 mg·kg⁻¹ + Clo 3 μg·kg⁻¹的这一效应($P < 0.05$);在 LF 条件下,对照大鼠 AIT 增多,所有药物均无作用(Tab 1)。在强光熟悉环境和弱光不熟悉环境下,大鼠焦虑表现均不突出,药物也均无作用(资料未列出)。

Tab 1. Effect of buspirone (Bus) and clonidine (Clo) on model of social interaction in rats, tested 15 min after ip Bus or/and Clo which was preceded 15 min by yohimbine (Yoh). $n = 5-6$ pairs of rats, $\bar{x} \pm s$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, * $P < 0.01$ vs control. **** $P < 0.01$ vs Bus.**

Drugs/ mg·kg ⁻¹	Duration of interaction/s	
	Illuminance 350 lx Unfamiliar environment	Illuminance 40 lx Familiar environment
Control	202±13	262±28
Bus 0.3	206±39*	252±37*
Clo 0.003	201±14*	213±39*
Bus 0.3 +Clo 0.003	270±33***	244±42*
Bus 1	258±19***	268±22*
Clo 0.01	237±4*	237±38*
Bus 0.3+Clo 0.003 +Yoh 0.03	171±14****	—

从10 min 观察期间大鼠 AIT 的时间分布上看, Bus 0.3 mg·kg⁻¹与 Clo 3 μg·kg⁻¹合用后的 AIT 峰值时间在4—10 min,与 Bus 1 mg·kg⁻¹的峰值时间分布基本一致。Bus 0.3 mg·kg⁻¹, Clo 3 μg·kg⁻¹单用的时间分布与对照组无明显不同(Fig 1)。

VI 程控操作行为 Bus 0.3 mg·kg⁻¹和 Clo 3 μg·kg⁻¹单用及合用后 VI 操作速率均无明显改变(Tab 2)。

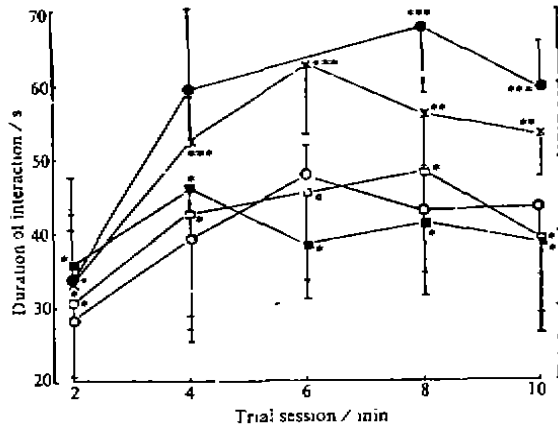


Fig 1. Active social interaction in high illuminance (350 lx) and unfamiliar condition in 10 min. The drugs were given ip 15 min before the test. (○) control, (●) buspirone 0.3 mg · kg⁻¹ + clonidine 3 µg · kg⁻¹, (×) buspirone 1 mg · kg⁻¹, (□) buspirone 0.3 mg · kg⁻¹, (■) clonidine 3 µg · kg⁻¹. n = 5-6 pairs of rats. *P > 0.05, **P < 0.05, ***P < 0.01 vs control.

Tab 2. Effect of buspirone and clonidine at anti-anxiety doses on schedule-controlled performance (variable interval, VI) of rats, tested 20 min after ip clonidine which was preceded 30 min by buspirone. n = 6, $\bar{x} \pm s$. *P > 0.05, vs predrug.

Drugs/ mg · kg ⁻¹	Performance rate/ Number of levering · min ⁻¹		% of change (Post/Pre)
	Predrug	Postdrug	
Buspirone 0.3	32.7 ± 9.0	31.4 ± 8.7*	96 ± 4
Clonidine 0.003	26.9 ± 9.4	24.1 ± 8.9*	91 ± 14
Buspirone 0.3 + clonidine 0.003	36.7 ± 2.1	33.4 ± 4.8*	91 ± 10

2 EMP 模型 与对照组相比, Bus 0.5 mg · kg⁻¹和 Clo 30 µg · kg⁻¹均不能明显增加 OE 或 OT (P > 0.05); 两者合用则明显提高 OE 和 OT 及其相应的百分比 (P < 0.01), 与 Bus 1 mg · kg⁻¹作用相当 (Fig 2A), 表现出明显的抗

焦虑效应. 上述剂量的 Bus 与 Clo 对 TE 和 TT 均无明显影响 (Fig 2B).

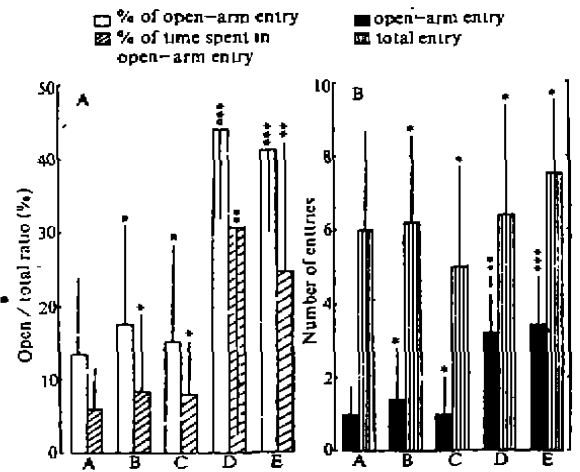


Fig 2. Effect of buspirone and clonidine in elevated plus-maze. Rats were tested 20 min after ip: (A) distilled water; (B) buspirone 0.5 mg · kg⁻¹; (C) clonidine 30 µg · kg⁻¹; (D) buspirone 0.5 mg · kg⁻¹ + clonidine 30 µg · kg⁻¹; (E) buspirone 1 mg · kg⁻¹. n = 5-8. *P > 0.05, **P < 0.05, ***P < 0.01 vs (A).

DISCUSSION

群居焦虑模型是以强光和不熟悉环境作为刺激引起焦虑. 抗焦虑剂明显延长动物在 HU 条件下的主动接触时间, 致焦虑剂则相反⁽⁹⁾. 高架十字迷宫是利用动物对新异环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧形成动物的矛盾冲突行为. 进入开臂的次数 (OE)% 和在开臂滞留时间 (OT)% 反映动物的焦虑状态; 而入臂总次数 (TE) 与总时间 (TT) 反映动物的活动性⁽¹⁰⁾. 抗焦虑剂可使 OE% 与 OT% 明显增高, 致焦虑剂使这两者降低; 具有镇静作用的药物可明显降低 TE 或 TT⁽¹⁰⁾. 由于这两种方法以动物的“自发行” (spontaneous behavior) 为基础, 动物不需特殊训练, 且不必禁水禁食, 具有快速简便、保持动物的生理状

态等优点, 因此常用来评价抗焦虑药物.

对 VI 程控操作速率的抑制是衡量药物镇静作用的一个敏感指标. Bus $0.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 Clo $3 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 单用或合用对 VI 操作速率均无明显影响; 表明其抗焦虑作用并非因为药物改变动物的兴奋、抑制状态而产生的.

Bus 及其体内主要代谢产物 1-PP, 均具有中枢 α_2 受体拮抗作用; 并反馈性增强 NE 神经系统活性^(4,5,11). Clo 为中枢 α_2 受体激动剂, 通过负反馈作用降低中枢 NE 能神经元功能⁽¹²⁾. 在大鼠群居焦虑模型和高架十字迷宫模型, 两药合用比其单药的抗焦虑作用明显加强, 提示 Bus 增强 NE 神经元活性, 对 Bus 的抗焦虑作用无重要影响; 中枢 α_2 受体拮抗剂 Yoh 可翻转 Clo 对 Bus 抗焦虑效应的加强作用, 表明 Clo 可能通过激活 α_2 受体降低 NE 神经功能而加强 Bus 的抗焦虑作用, 而且这种增强作用对大鼠兴奋抑制状态无明显影响. 已知 Bus 在体内可激活中枢 5-HT_{1A} 受体, 负反馈降低 5-HT 能神经元活性^(2,3). 因此, 本实验结果提示, 在抗焦虑作用中, 中枢 NE 系统与 5-HT 系统之间存在某种形式的联系.

ACKNOWLEDGMENTS 本实验得到徐玉坤和杨征同志的帮助, 黄世杰副研究员协助数据处理.

REFERENCES

- 1 Taylor DP, Eison MS, Riblet LA, Vandermaelen CP. Pharmacological and clinical effects of buspirone. *Pharmacol Biochem Behav* 1985; **23**: 687-94.
- 2 Trickleband MD, Neill J, Kidd EJ, Fozard JR. Mediation of the discriminative stimulus properties of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) by the putative 5-HT_{1A} receptor. *Eur J Pharmacol* 1987; **133**: 47-56.
- 3 Vandermaelen CP, Matheson GK, Wilderman RC, Paterson LA. Inhibition of serotonergic dorsal raphe neurons by systemic and iontophoretic administration of buspirone, a non-benzodiazepine anxiolytic drug. *Eur J Pharmacol* 1986; **129**: 123-30.
- 4 Bianchi G, Garattini S. Blockade of α_2 -adrenoceptors by 1-(2-pyrimidinyl)-piperazine (PmP) *in vivo* and its relation to the activity of buspirone. *Eur J Pharmacol* 1988; **147**: 343-50.
- 5 Gower AJ, Tricklebank MD. α_2 -Adrenoceptor antagonist activity may account for the effects of buspirone in an anticonflict test in the rat. *Eur J Pharmacol* 1988; **155**: 129-37.
- 6 Yang XM, Luo ZP, Zhou JH. Potentiating effect of clonidine on the anxiolytic action of diazepam in rat social interaction model of anxiety. *Acta Pharmacol Sin* 1988; **9**: 104-7.
- 7 Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze; a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; **24**: 525-9.
- 8 Yang XM, Luo ZP, Zhou JH. Effect of clonidine on the schedule-controlled performance action of two benzodiazepine receptor agonists. *Acta Pharm Sin* 1989; **24**: 11-5.
- 9 File SE, Hyde JRG. A test of anxiety that distinguishes between the actions of benzodiazepines and those of other minor tranquilizers and of stimulants. *Pharmacol Biochem Behav* 1979; **11**: 65-9.
- 10 Pellow S, Chopin P, File SE, Bentley M. Validation of open; closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985; **14**: 149-67.
- 11 Caccia S, Conti I, Vigano G, Garattini S. 1-(2-Pyrimidinyl)-piperazine as active metabolite of buspirone in man and rat. *Pharmacology* 1986; **33**: 46-51.
- 12 Kalsner S. Clonidine and presynaptic adrenoceptor theory. *Br J Pharmacol* 1985; **85**: 143-7.