

脑内5-羟色胺能系统与左旋四氢巴马汀僵住症的关系

金国章 刘雪君* 俞蕾平 许建 (中国科学院上海药物研究所, 上海)

提要 左旋四氢巴马汀(100 mg/kg, ip)能使大白鼠出现僵住症, 并明显增加脑内5-HIAA水平, 表明增强5-HT能神经原的活动。但用PCA或PCPA降低脑内5-HT和5-HIAA水平, 5-HT能神经原机能被抑制后l-THP的僵住症有明显而持久的增强; 应用肉桂硫胺亦获得相同结果。反之, 应用外源性l-Try或丙磺舒后, 增加脑内l-Try水平, 增强5-HT能神经原活动, 则l-THP的僵住症被减弱。这表明脑内5-HT能系统与l-THP僵住症有内在的相反关系。

关键词 左旋四氢巴马汀; 僵住症; 5-羟吲哚乙酸; 对氯苯丙胺; 对氯苯丙氨酸; 肉桂硫胺; 左旋色氨酸; 丙磺舒

延胡索乙素即消旋四氢巴马汀(*dl*-tetrahydropalmatine, *dl*-THP), 是中药延胡索(*Corydalis ambigua*)的主要有效成分。经分旋后, 证实左旋四氢巴马汀(*l*-THP)是有效的⁽¹⁾。1964年以来, 从华千金藤(*Stephania sinica*

Diels)及其同属植物中获得颅通定(*rotundine*), 即天然的*l*-THP⁽²⁾。延胡索乙素和颅通定均有良好的镇痛和镇静催眠作用, 已在临床广泛应用。本实验室对它们的药理作用机理曾作系统研究^(1,3)。已知神经递质与许多中枢药物有密切的关系。因此探索*l*-THP的作用原理与脑内递质的关系, 是一个很有意义的课题。

l-THP的药理作用有镇痛, 镇静催眠^(1,3), 中枢性肌松⁽⁴⁾, 以及僵住症(*catalepsy*)。由于药物性僵住症与脑内递质常有一定的专一关

1979年11月9日收稿 1980年1月15日修回
本文缩写有, 5-HIAA; 5-羟吲哚乙酸, 5-HT; 5-羟色胺, PCA; 对氯苯丙胺(*P*-chloramphetamine), PCPA; 对氯苯丙氨酸, THP; 四氢巴马汀, *l*-Try; *l*-色氨酸。

本文于1979年9月在全国药理学会(成都)上报告过。

* 山东昌潍医学院进修教师。

系⁽⁵⁾，故能确定药物选择性作用的环节，又可阐明神经递质间的交互作用。因此，作者以僵住症为指标，观察 *l*-THP 与神经递质的作用关系，本文仅报道 5-羟色胺能系统的结果。

材 料 和 方 法

一、试剂 *l*-THP 为游离碱，系湛江制药厂 1974 年产，用 2% 吐温-80 配成 5% 的混悬液。PCPA、PCA，肉桂硫胺 (cinanserin) 均系本所中间工厂合成。氟哌啶醇 (haloperidol) 针剂系上海第十二制药厂出品。氟非那嗪 (fluphenazine) 为上海第二制药厂出品。

二、僵住试验 选用体重 150 ~ 250 g 大鼠，雌雄兼用，随机分组，参考 Simon 等人⁽⁶⁾ 的评分法进行僵住症试验。观察指标共 4 项：木柱高有 3 cm 和 9 cm 两种，把大鼠前肢放在木柱上不动；平行棒相距 13 cm，把大鼠的前后肢分别放在平行棒上，躯体悬空，维持不动；把大鼠放在垂直铁丝网上，头朝上，四肢抓网不动。规定每项指标的姿势维持不动的时间达到 10-19 秒得 1 分，20 秒以上得 2 分，4 项指标满分者共计 8 分。在给药后不同时间内进行试验，得分按 *t* 测验进行统计处理，比较僵住症的显著程度。有些大鼠预先注射 PCA 或 PCPA，或肉桂硫胺抑制脑内 5-HT 能系统的功能，另有大鼠预先注射丙磺舒或 *l*-Try 加强脑内 5-HT 能系统的功能，然后观察僵住症的变化。

三、大鼠脑内 5-HT 和 5-HIAA 含量测定方法⁽⁷⁾ 将大鼠快速断头，放入干冰。次日取脑 (去小脑) 约 600 mg，加入预先冰冷的酸性正丁醇 6 ml，0.1 M EDTA (pH 6) 0.01 ml 和 0.1% 半胱氨酸 0.01 ml，进行匀浆。离心后，吸取上层液 2.5 ml，倒入具塞离心管中。加入 0.1 N HCl 0.75 ml 和石油醚 5 ml，振荡，离心。上层有机相内含 5-HIAA，下层水相内含 5-HT，再用 OPT 作反应，测定荧光强度，激发光/发射光波长分别为 365/480 (5-HT)，370/490 (5-HIAA) nm。

结 果

一、*l*-THP 的僵住症和对脑内 5-HT，5-HIAA 含量的影响

1. *l*-THP 的试验： 腹腔注射 70 或 100 mg/kg 后，大鼠很快出现中枢抑制状态，闭眼少动，或自动悬在铁丝笼壁上。给药 10-30 分钟后，僵住症最明显，并以铁丝网悬吊试验最典型，但作用时间较短，历 1 ~ 2 小时后，大鼠恢复活动能力，僵住症明显减弱或消失。此时大鼠的镇静催眠表现仍存在。在剂量增大为 150 mg/kg 时，僵住症并没有明显的增强和延长。

另取大鼠 20 只，仿僵住试验程序在上午 8 时停食，下午 1:30 给予 *l*-THP 100 mg/kg，3:30 断头，进行递质测定，生理盐水对照组仿此处理。实验表明，*l*-THP 使大鼠脑内 5-HT 水平略增，而 5-HIAA 有明显的增加 ($P < 0.01$)。由此提示脑内 5-HT 能神经原活动是增强的。

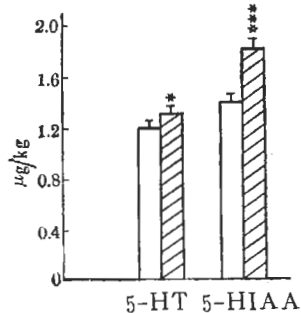


图 1 *l*-THP 对大鼠脑内 5-HT 和 5-HIAA 含量的影响 ($\bar{x} \pm SE$)

□ 生理盐水对照组。(n = 18)

▨ 腹腔注射 *l*-THP 100 mg/kg，2 小时后测定脑内 5-HT 和 5-HIAA (n = 20)
*: $P < 0.05$ ***: $P < 0.001$

2. 安定剂和吗啡的试验： 腹腔注射氟哌啶醇或氟非那嗪 (0.25-0.5 mg/kg) 数分钟后，大鼠即出现抑制状态，外观安静，闭眼俯伏不动，或自动悬垂于铁丝笼壁上。僵住症在

30-60 分钟达到高峰, 并持续甚久, 达 8 小时以上, 可观察到四肢强直, 尾巴挺硬, 能持久地悬吊于铁丝网上。

吗啡(30 mg/kg, ip)所引起的僵住症, 作用出现快, 持续时间短, 与 *l*-THP 相似。大鼠睁眼, 竖尾明显, 四肢僵住, 在平行棒和木柱上能维持甚久, 但悬吊铁丝网时常因前肢握力较差而落下。

二、加强脑内 5-HT 能神经原的功能对僵住症的影响

1. *l*-Try 试验 给大鼠 19 只腹腔注射 100 mg/kg, 1 小时后再给予 *l*-THP 100 mg/kg (ip); 另有大鼠 19 只不给 *l*-Try, 仅注射 *l*-THP。预先给 *l*-Try 的大鼠对 *l*-THP 的僵住症减弱。表明 *l*-Try 可拮抗 *l*-THP 的僵住症。

另有大鼠 4 组, 按上述程序试验, 它们分别给予 *l*-Try + 氟哌啶醇(0.25 mg/kg, ip),

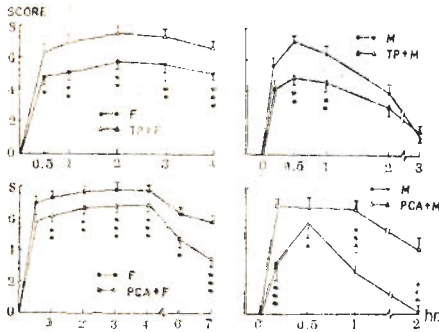


图 2 *l*-Try 和 PCA 对氟哌啶醇和吗啡僵住现象的影响

F: 给大鼠注射氟哌啶醇(0.25 mg/kg, ip)组(n=13)

TP+F: 给予 *l*-Try(100 mg/kg, ip)后 1 小时, 再注射氟哌啶醇(n=13)

PCA+F: 给予 PCA(20 mg/kg, ip)后 2 小时, 再注射氟哌啶醇(n=13)

M: 给大鼠注射吗啡(30 mg/kg, ip)组(n=14)

TP+M: 给予 *l*-Try(10 mg/kg, ip)后 1 小时, 再注射吗啡(n=16)

PCA+M: 给予 PCA(20 mg/kg, ip)后 24 小时, 再注射吗啡(n=9)

P 值表示同表 1 和图 1

l-Try + 吗啡(30 mg/kg, ip), 氟哌啶醇以及吗啡。发现 *l*-Try 增强氟哌啶醇的僵住症, 刚与它对 *l*-THP 的作用相反; 而 *l*-Try 减弱吗啡的作用, 与它对 *l*-THP 的作用相同(图 2)。这说明脑内 5-HT 能神经原机能对不同药物的僵住症有不同的影响, 提示药物的作用环节不相同。

2. 丙磺舒的试验 大鼠 12 只腹腔注射丙磺舒 200mg/kg, 1 小时后再注射 *l*-THP(100 mg/kg, ip), 另有大鼠 12 只, 给予对照液后, 再注射 *l*-THP。给予丙磺舒后, *l*-THP 的僵住症比对照液者减弱, 峰值降低, 下降快, 持续时间短, 两组有显著差异($P < 0.01$)。这说明丙磺舒的作用与注射外源性 *l*-Try 是一致的。

3. 递质测定 大鼠 3 组按上述实验程序分别给予 *l*-Try + *l*-THP, *l*-Try, 以及生理盐水。在给 *l*-Try 后 3 小时断头取脑, 测定其中的 5-HT 和 5-HIAA。结果表明, 给予 *l*-Try 后, 脑内 5-HIAA 水平比盐水对照组有显著的增加($P < 0.001$), 给予 *l*-Try + *l*-THP 后, 则增加更明显; 但脑内 5-HT 水平的变化并不明显。由此说明, 以 5-HIAA 为指标, 易于反映脑内 5-HT 神经原的活动; 给予 *l*-Try 使它的活动增强, 理所当然, 再给予 *l*-THP 后, 则活动更强一些(表 1)。

表 1 色氨酸对大鼠脑内 5-HT 及 5-HIAA 含量($\mu\text{g/g}$)的影响。每组 5 鼠

试 验	5-HT	5-HIAA
<i>l</i> -Try + <i>l</i> -THP	1.57 ± 0.03	3.27 ± 1.02
<i>l</i> -Try	1.57 ± 0.08	2.38 ± 1.10
对 照	1.47 ± 0.16	1.18 ± 0.11

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

上述结果表明, 脑内 5-HT 能系统的机能增强后, *l*-THP 的僵住症被拮抗。

三、抑制大鼠脑内 5-HT 能系统的机能对僵住症的影响

1. PCA 和 PCPA 的试验 当腹腔注射

PCA(15-20 mg/kg, 分2天注射), 于48小时后再注射 *l*-THP(70 mg/kg), 另一组大鼠给予对照液后, 再注射 *l*-THP。试验证明PCA使 *l*-THP的僵住症显著地增强, 峰值很高, 维持在高水平达4小时而不降低, 有部分大鼠一直观察到7小时还是如此; 对照组在2小时已降低到近于原水平。这种持久作用与对照组形成鲜明的对比, 差异极为显著(图3)。将上述观察7小时的大鼠, 断头取脑, 测定其中的5-HT和5-HIAA的含量。给予PCA者, 脑内5-HT和5-HIAA的水平均明显降低(表2), 与单给 *l*-THP者有显著的差异($P < 0.001$)。

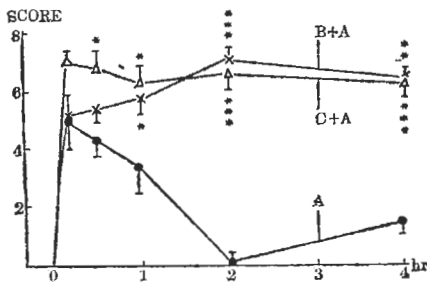


图3 PCA和PCPA对 *l*-THP 僵住现象的影响

A: 给大鼠注射 *l*-THP 70 mg/kg, ip 组。
($n = 5$)

B + A: 注射 PCPA 300-400 mg/kg, ip 后 24 小时, 再注射 *l*-THP。
($n = 10$)

C + A: 注射 PCA 15-20 mg/kg, ip 后 24 小时, 再注射 *l*-THP。
($n = 12$)

P 值表示同表 1 和图 1。

表 2 PCA 和 PCPA 对大鼠脑内 5-HT 和 5-HIAA 含量 ($\mu\text{g/g}$) 的影响。
每组 5 鼠

(mg/kg)	5-HT	5-HIAA
PCA 20	0.82 ± 0.06	0.68 ± 0.04
<i>l</i> -THP 70	1.41 ± 0.05	1.26 ± 0.04
[PCA 20 <i>l</i> -THP 70	0.94 ± 0.04	0.87 ± 0.04
<i>l</i> -THP 70	1.70 ± 0.06	1.37 ± 0.09
[PCPA 300 <i>l</i> -THP 70	0.58 ± 0.07	0.38 ± 0.02

由此推论, *l*-THP 的僵住症出现持久性增强, 是由于脑内 5-HT 能神经原活动被 PCA 抑制的结果。

大鼠先注射 PCPA (300-400 mg/kg, ip, 分2天注射)后, 亦使 *l*-THP 的僵住症出现持久增强, 作用与 PCA 相同。

另有大鼠按上述程序注射 PCA, 再分别注射氟哌啶醇和吗啡(各 0.5, 30 mg/kg, ip); 对照组, 亦分别给予上述两药。结果表明: PCA 减弱氟哌啶醇的僵住症, 刚与它对 *l*-THP 的作用相反(图2); 而吗啡的僵住症被增强(图2), 与 *l*-THP 相同, 但作用不及 *l*-THP 为持久。

2. 肉桂硫胺: 大鼠 12 只腹腔注射肉桂硫胺(10-15 mg/kg)后 10 分钟, 并给予 *l*-THP (70 mg/kg), 另一组大鼠 12 只仅给予等剂量的 *l*-THP。结果表明肉桂硫胺能增强 *l*-THP 的僵住症。这结果与 PCA 和 PCPA 的结果是一致的, 都说明脑内 5-HT 能系统的机能抑制后, *l*-THP 的僵住症就被增强。

讨 论

药物引起的实验动物僵住症或临床上出现的震颤麻痹(即帕金森氏综合征), 均与纹状体有密切联系。由于这些症状与脑内多种神经递质的机能有内在联系, 已成为研究 DA、ACh 相互制约关系的好模型^(5,8,9)。这些实验确定帕金森氏综合征的病因是由于黑质致密区 DA 神经原胞体变性。失去对纹状体内胆碱能神经原的调控作用, 可用 *l*-dopa 补偿性治疗, 或用安坦作对抗性治疗, 从理论上很合理, 在实际中收到效果, 成为神经递质药理学重大贡献之一。近年来, 进一步发现 GABA、5-HT、Glu 均参与其中的作用, 作用部位亦涉及伏隔核和杏仁核^(6,8-11)。因此, 吸引着更多学者致力这方面的研究。

我们曾注意到 *l*-THP 能引起动物出现僵住症, 但它与脑内神经递质的作用关系一无所知。所以, 作者着手这方面的研究工作。本文

资料表明,较大剂量的 *l*-THP (70-150 mg/kg),使大鼠出现明显的中枢抑制作用,包括僵住症和明显的镇静催眠作用(前者作用较短,后者较持久),并使脑内 5-HIAA 水平显著提高,提示 5-HT 神经原活动被增强。为了探索神经机能的变化与递质变化的关系,故应用一些药物选择性增强或抑制脑内 5-HT 能系统的功能。已从中发现,5-HT 能系统的机能被抑制后,*l*-THP 的僵住症显示出明显而持久的增强;反之,5-HT 能系统机能被增强时,*l*-THP 的僵住症则减弱。显然,两者有内在联系,可以认为 5-HT 能系统对调控 *l*-THP 的僵住症有重要作用,但不能认为因果关系。但是,又如何解释 *l*-THP 既有僵住症,又增强脑内 5-HT 神经原活动呢?这可能由于 *l*-THP 既影响神经机能,亦能影响神经递质与受体的作用关系。这是 *l*-THP 作用的两个方面,僵住症与 5-HT 机能不是平行关系,而呈相反的关系。但是尚不排除 *l*-THP 的镇静催眠与 5-HT 机能有平行关系。针对上述问题,我们正在继续研究中。

能引起动物僵住症的药物,首推安定剂,其次为镇痛剂。故本文选用氟哌啶醇、氟非那嗪和吗啡作比较观察。安定剂引起的僵住强现象非常典型,前述 4 项试验均适用,并以铁丝网悬吊法更理想,尤以氟非那嗪强大而持久。吗啡的僵住症出现快而较短暂,不宜以悬吊法来评比,以平行棒试验较理想。*l*-THP 的僵住症出现快而不持久,并以悬吊观察较适当。安定剂和吗啡与神经递质的专一作用关系,文献有所报道⁽⁹⁻¹³⁾。本文作者已将它们与 *l*-THP 进行比较,另有详细报道⁽¹⁴⁾。归纳起来,安定剂的僵住症可用东莨菪硷作选择性拮抗,可以与吗啡和 *l*-THP 相区分;吗啡的僵住症可用 naloxone 选择性拮抗,能与安定剂和 *l*-THP 相区分;*l*-THP 的僵住症可用氨氧乙酸

(AOAA) 选择性增强,表示它与 GABA 能系统有联系,可与安定剂和吗啡相区分,这是很有趣的事实,我们正在进一步研究中。

参 考 文 献

- 1 金国章、郑秀凤、胥彬. 生理学报 1964 年 3 月; 27 (1): 47
- 2 徐任生、朱任宏. 1964 年未发表资料.
- 3 金国章、王月娥、胥彬. 药学报 1964 年 11 月; 11 (11): 754
- 4 金国章、王月娥、胥彬. 生理学报 1980 年 4 月; 32 (2): 111
- 5 Costa E. Introduction: morphine, amphetamine and noncataleptogenic neuroleptics. In: Costa E, Greengard P, eds. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, vol 16. 1st ed. New York: Raven Press, 1977: 557-563
- 6 Käykkölä S, Ahtee L. *Psychopharmacology* 1977 Mar; 52 (1): 7
- 7 金国章、韩怡凡、俞蕾平、冯洁、汪范生、张振德、张安中、盛美萍、吕燕燕、石国富、王莉娟、胡继旺、黄利群. 生理学报 1979 年 4 月; 31 (2): 121
- 8 Ladinsky H, Consolo S, Peri G, Crunelli V, Samnín R. Pharmacological evidence for a serotonergic-cholinergic link in the striatum. In: Jenden DJ, ed. *Cholinergic mechanism and psychopharmacology*. 1st ed. New York: Plenum Press, 1978: 615-27
- 9 Kuschinsky K, Hornykiewicz O. *Eur J Pharmacol* 1972 Jul; 19 (1): 119
- 10 Drill RE, Costa E. *Neuropharmacology* 1977 May; 16 (5): 323
- 11 Carter CJ, Pycock CJ. *Br J Pharmacol* 1977 Jun; 60 (2): 267
- 12 Carter CJ, Pycock CJ. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1978 Aug; 304 (2): 135
- 13 Costall B, Fortune DH, Naylor RJ, Marsden CD, Pycock CJ. *Neuropharmacology* 1975 Nov; 14 (11): 859
- 14 金国章、许建、俞蕾平、刘雪君. 中国药理学会会议论文摘要汇编, 1979

SEROTONINERGIC IMPLICATION IN *l*-TETRAHYDROPALMATINE-INDUCED CATALEPSY IN RATS

JIN Guo-zhang (K C Kin), LIU Xue-jun, YU Lei-ping, XU Jian

(*Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai*)

ABSTRACT *l*-Tetrahydropalmatine (*l*-THP) is a drug for assuaging dull pain and anxiety insomnia. In this paper, a study on the catalepsy was made on rats.

1. Given intraperitoneally 70~100 mg/kg in rats, *l*-THP caused not only a catalepsy, but also a significant rise of 5-HIAA in the brain, which is a valid index of serotonergic neuronal activities.

2. If the activities of 5-HT neurons were depressed by PCA (20 mg/kg, ip) or PCPA (300 mg/kg, ip) 48 hours previously, *l*-THP produced in rats a marked augmentation of catalepsy associated with a significant decrease of 5-HT and 5-HIAA contents in brain. This augmentation lasted

more than 7 hours. Cinanserin, a blocking agent of 5-HT receptor, also exhibited a similar but less augmentation.

3. If the activities of 5-HT neurons were strengthened by an injection of a load-dosage of *l*-tryptophan or probenecid, the catalepsy induced by *l*-THP was reduced.

These results showed that the brain serotonergic system was involved in *l*-THP-induced catalepsy, which bore an inverse relationship to the content of brain serotonin.

KEY WORDS *l*-tetrahydropalmatine; catalepsy; 5-HIAA; PCA; PCPA; cinanserin; *l*-tryptophan; probenecid