

曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的影响

陆颖, 韩容, 梁建辉*

(北京大学中国药物依赖性研究所, 北京 100083)

摘要: 目的 观察曲马朵是否对吗啡所致小鼠僵住症产生影响及其作用机制。方法 采用“抓棒”实验测定小鼠的僵住持续时间。结果 ①曲马朵在10~90 mg·kg⁻¹范围内不能诱发小鼠产生僵住症, 但呈剂量依赖性抑制40 mg·kg⁻¹吗啡诱发的小鼠僵住症; ②氟西汀(20, 30和40 mg·kg⁻¹)、吗氯贝胺(12.5, 25, 50 mg·kg⁻¹)、5-羟色氨酸(12.5, 25和50 mg·kg⁻¹)增强曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症的作用; ③对氯苯丙氨酸(300和350 mg·kg⁻¹)拮抗曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用。结论 中枢5-HT能神经系统参与曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用。

关键词: 僵住; 曲马朵; 吗啡; 行为, 动物

中图分类号: R971

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2004)05-0360-05

动物的僵住症(catalepsy)是指一种以肌肉强直和运动不能为特征的状态, 是研究锥体外系功能状况常用的动物模型。多种药物, 包括安定剂(neuroleptics)和阿片受体激动剂等均可诱发僵住症。通常认为, 僵住症与中枢神经系统中乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)/多巴胺(dopamine, DA)功能的平衡失调有关^[1]。研究资料表明, 在黑质-纹状体存在DA-ACh-GABA-DA神经环路, 该神经环路与僵住症密切相关。阿片神经元从该环路的旁侧参与控制DA神经元或GABA神经元^[2]。吗啡(morphine)是阿片受体激动剂, 可影响人和动物锥体外系的功能, 诱

发僵住症^[1,3]。

曲马朵(tramadol)是一种非典型的阿片类镇痛药^[4]。曲马朵可与 μ 受体结合, 产生与吗啡相似的药理学作用, 但是曲马朵与僵住症之间的关系尚未见文献报道。研究资料表明曲马朵可以增强吗啡的镇痛作用^[5], 然而在诱导小鼠僵住症方面, 曲马朵与吗啡之间是否存在相互作用尚不清楚。因此, 本文旨在评价曲马朵诱发小鼠僵住症的作用, 及其对吗啡诱导僵住症的影响, 并进一步探讨曲马朵影响吗啡所致小鼠僵住症的机制。

1 材料和方法

1.1 动物与药物

昆明种小鼠, ♂, 体重20~25 g, 由北京大学医学部动物中心提供。每笼6~10只, 温度20~24℃, 湿度45%~55%, 12 h昼/夜循环光照(光照时间08:00~20:00)。实验前至少在实验室饲养3 d, 食水不限。

盐酸吗啡由青海制药厂生产。盐酸曲马朵为德国格兰泰公司产品。盐酸氟西汀(flouxetine)为常州第四制药有限公司产品。吗氯贝胺(moclobemide)由军事医学科学院毒物药物研究所合成。5-羟色氨酸(5-hydroxy-L-tryptophan, 5-HTP)和对氯苯丙氨酸(*p*-chlorophenylalanine, PCPA)均为Sigma产品。所有药物均溶于生理盐水(normal saline, NS), 制成所需浓度, 均ip给药。PCPA注射体积为20 mL·kg⁻¹, 其余药物注射体积为10 mL·kg⁻¹, 各组均以NS为对照。

1.2 僵住行为测定

采用“抓棒”实验(bar test)方法^[3,6]测定小鼠的僵住持续时间。将小鼠两只前爪轻柔地放在长20 cm, 直径0.3 cm, 高于工作台5.5 cm的小棒上, 测定小鼠两只前爪在棒上保持姿势的持续时间。如果小鼠前爪一直没有放下, 180 s时终止观察。

1.3 实验程序

评价吗啡和曲马朵致僵住症的作用。将小鼠随

收稿日期: 2003-12-22 接受日期: 2004-04-28

基金资助: 国家重大基础研究计划项目(2003CB515400)

作者简介: 陆颖(1979-), 女, 吉林省四平人, 硕士研究生; 梁建辉(1962-), 男, 湖南省耒阳人, 副研究员, 医学博士, 主要从事神经精神药理学研究。

*联系作者 E-mail: liangjh@hotmail.com Tel: (8610) 82802452 Fax: (8610)62032624

机分组, 每组 6~10 只。分别注射不同剂量的吗啡或曲马朵, 观察给药后 0, 30, 60, 90 min 时小鼠的僵住持续时间。

观察曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的影响。将小鼠随机分组, 每组 12~15 只。分别注射不同剂量的曲马朵或 NS 30 min 后, 注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡, 观察小鼠在给予吗啡后 30 min 时的僵住持续时间。

观察氟西汀、吗氯贝胺和 5-HTP 对曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症的影响。将小鼠随机分组, 每组 10 只。首先, 分别注射不同剂量的氟西汀、吗氯贝胺、5-HTP 或 NS, 测定给药后 0, 30, 60 和 90 min 时小鼠的僵住持续时间, 观察每种药物单独给药是否诱导小鼠产生僵住症。然后观察药物对吗啡诱导的小鼠僵住症是否有影响: 注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡 30 min 前, 给予小鼠氟西汀、吗氯贝胺或 5-HTP, 测定给予吗啡后 30 min 时小鼠的僵住持续时间。最后观察药物与曲马朵联合用药时, 对吗啡诱导的小鼠僵住症是否有影响: 注射氟西汀、吗氯贝胺或 5-HTP 30 min 后, 注射 30 mg·kg⁻¹ 曲马朵, 再过 30 min 后注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡, 观察小鼠在给予吗啡 30 min 时的僵住持续时间。

观察 PCPA 对曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症的影响。将小鼠随机分组, 每组 8~10 只。分别注射不同剂量的 PCPA, 24 h 后测定小鼠的僵住持续时间, 观察 PCPA 是否能够诱导小鼠产生僵住症。注射 PCPA 24 h 后, 注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡, 测定给予吗啡 30 min 后小鼠的僵住持续时间, 观察 PCPA 对吗啡诱导僵住症的影响。给予 PCPA 24 h 后, 注射 60 mg·kg⁻¹ 曲马朵, 30 min 后再注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡, 测定小鼠在给予吗啡后 30 min 时的僵住持续时间, 观察 PCPA 对曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症的影响。

1.4 统计学方法

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 统计软件中的方差分析 (ANOVA) 和 LSD 多重比较检验处理数据。

2 结果

2.1 曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症

给予吗啡后, 小鼠表现出僵住状态。10~40 mg·kg⁻¹ 吗啡呈剂量依赖性延长小鼠的僵住持续时间 (图 1A)。注射 40 mg·kg⁻¹ 吗啡后 30 min 时, 与

NS 对照组相比较, 小鼠的僵住持续时间非常显著性延长。给小鼠注射曲马朵, 在 10~90 mg·kg⁻¹ 范围内不引起僵住症 (图 1B)。给予小鼠吗啡前 30 min 注射不同剂量曲马朵, 曲马朵呈剂量依赖性抑制吗啡所致的僵住症, 如图 2 所示。

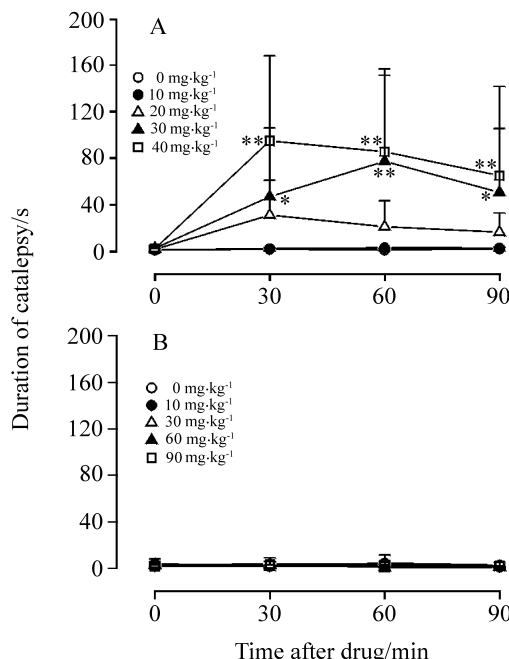


Fig 1. Effects of morphine (Mor)-or tramadol (Tra)-induced catalepsy in mice. Mice were injected ip with Mor (A, n = 10) or Tra (B, n = 6). $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with 0 mg·kg⁻¹ by one-way ANOVA and LSD test.

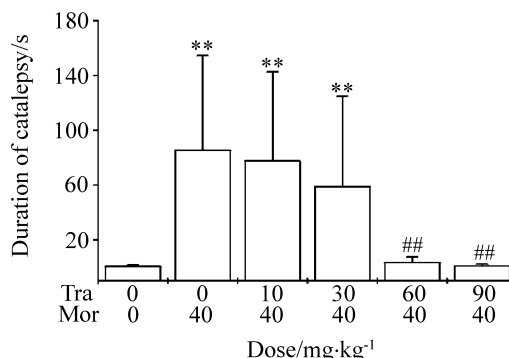


Fig 2. Effects of tramadol on morphine-induced catalepsy in mice. Tra was administered (ip) 30 min before ip Mor in mice. Catalepsy was recorded 30 min after Mor injection. $\bar{x} \pm s$, n = 12-15. ** $P < 0.01$, compared with control group; ## $P < 0.01$, compared with the Mor alone group by one-way ANOVA and LSD test.

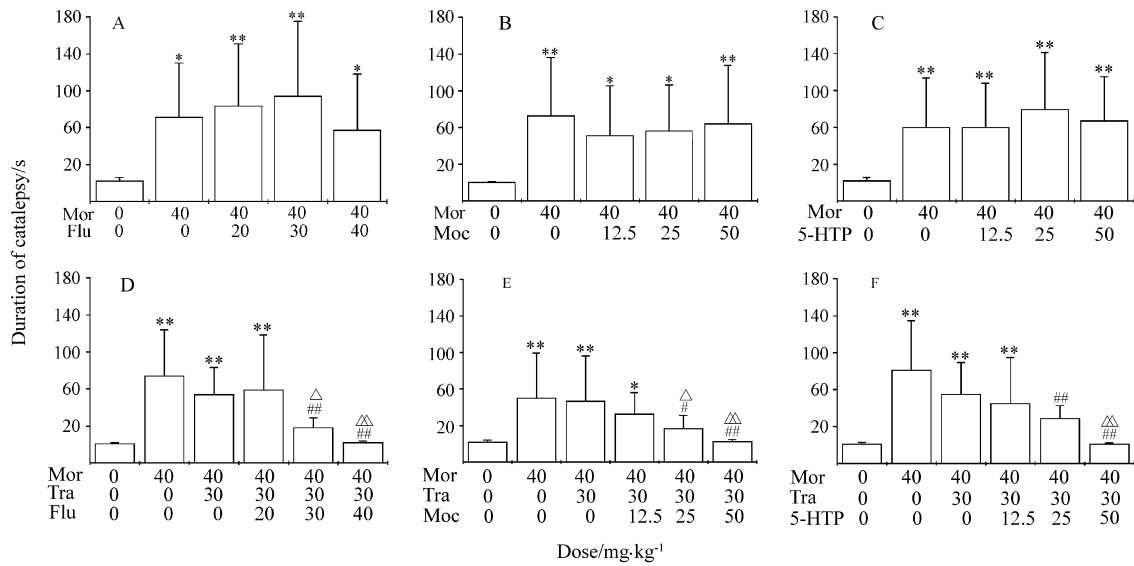


Fig 3. Fluoxetine (Flu), moclobemide (Moc), 5-hydroxy-L-tryptophan (5-HTP) increased the inhibitory effect of tramadol on morphine-induced catalepsy in mice. A – C: Flu, Moc and 5-HTP were administered ip 30 min before ip injection of Mor. D – F: Flu, Moc, 5-HTP were ip 30 min before ip Tra, and Mor was administered ip 30 min after Tra. Catalepsy was recorded 30 min after Mor injection. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with the Mor alone group; Δ $P < 0.05$, $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, compared with Mor + Tra group, by one-way ANOVA and LSD test.

2.2 氟西汀、吗氯贝胺、5-羟色氨酸增强曲马朵抑制吗啡所致小鼠僵住症的作用

给小鼠注射 $20 \sim 40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 氟西汀, $12.5 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吗氯贝胺或 $12.5 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 5-HTP 后, 测定小鼠的僵住持续时间, 与 NS 组相比较无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明此剂量范围内的氟西汀、吗氯贝胺、5-HTP 不能诱导小鼠产生僵住症。如图 3 所示, 给予小鼠氟西汀、吗氯贝胺或 5-HTP, 对吗啡诱导的僵住症无显著性影响 (A, B, C), 但是呈剂量依赖性地增强曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用 (D, E, F)。

2.3 对氯苯丙氨酸拮抗曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用

单独给小鼠注射 PCPA $300, 350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 既不诱导小鼠产生僵住症 ($P > 0.05$), 也不影响吗啡所致小鼠的僵住症 (图 4A), 但是当 PCPA 与曲马朵联合使用时, 翻转曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用 (图 4B)。

3 讨论

本研究结果表明, ip 吗啡诱发小鼠僵住症, 并呈剂量依赖性。给予吗啡 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后 30 min 时达到效应峰值, 与 Zarrindast 等^[6] 和 Tzschentke 等^[1] 报道

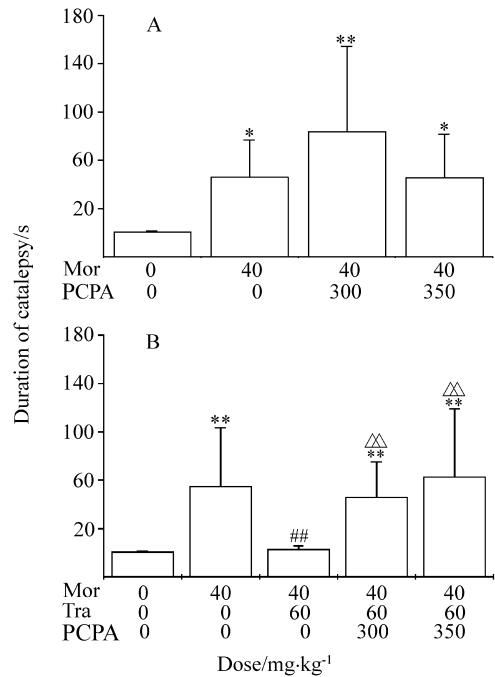


Fig 4. p-Chlorophenylalanine (PCPA) attenuated the inhibition of tramadol on morphine-induced catalepsy in mice. A: PCPA was administered ip 24 h before ip Mor. B: PCPA was administered ip 24 h before ip Tra, and Mor was administered 30 min after ip Tra. Catalepsy was recorded 30 min after Mor injection. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with control group; ## $P < 0.01$, compared with the Mor alone group; $\Delta\Delta$ $P < 0.01$, compared with Mor + Tra group, by one-way ANOVA and LSD test.

的结果一致。因此,在后面的研究中选取 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 吗啡作为实验剂量,给予吗啡后 30 min 作为观察时间点。吗啡诱导的僵住症,作为一种中枢 DA/ACh 功能平衡失调的动物模型,已得到广泛的研究。有学者发现在 DA 轴突末梢突触前膜上存在 μ 受体,吗啡可能通过激活纹状体或伏隔核内 DA 能神经元突触前膜的 μ 受体,阻断 DA 的释放,诱发僵住症^[1]。曲马朵为非典型的阿片受体激动剂。体外研究结果显示,曲马朵对 μ 受体具有中等强度的亲和力,只有可待因的 $1/10$ ^[4]。这种较弱的亲和力可能不足以引起黑质-纹状体 DA 功能的不足,从而不能诱导小鼠产生僵住症。此外,曲马朵不能诱发小鼠僵住症,可能与单胺类递质也有关。研究资料表明,僵住症不仅与脑内阿片样物质有关,还与脑内去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)、5-羟色胺(5-HT)、ACh 和 GABA 等系统有密切关系,作用部位涉及纹状体、伏隔核和杏仁核等^[7]。曲马朵在激活阿片受体的同时,还可以促进 NA 和 5-HT 的释放,抑制 NA 和 5-HT 的重摄取^[4]。因此,曲马朵一方面可以激活 μ 受体阻断 DA 的释放,另一方面又增强单胺类递质系统的功能活动,两种作用之间相互影响,达到某种平衡状态,这可能是曲马朵不诱发僵住症的作用机制之一。

吗啡和曲马朵都是中枢性镇痛药。由于吗啡具有依赖性和呼吸抑制等副作用,其应用受到很大限制。临床上,将曲马朵与吗啡联合用药,可以增强吗啡的镇痛作用,减轻吗啡的副作用^[5]。在诱发僵住症方面,两者联合用药的效果尚无文献报道。本研究结果表明,曲马朵不仅没有增加吗啡所致小鼠僵住症的强度,反而抑制吗啡诱发的僵住症。说明在诱导小鼠僵住症的药理作用方面,曲马朵和吗啡之间并不存在正性协同作用。曲马朵对吗啡所致僵住症的抑制作用为曲马朵与吗啡联合用药,以减轻吗啡引起的锥体外系副作用,提供了动物实验依据。

实验结果表明,氟西汀、吗氯贝胺和 5-HTP 都不能诱导小鼠产生僵住症,对吗啡诱发的僵住症也无显著性影响,但是它们都呈剂量依赖性地增强曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用。氟西汀属于特异性 5-HT 重摄取抑制剂,通过抑制突触前膜对 5-HT 的重摄取,提高突触间隙内有效 5-HT 的水平,发挥其药理作用^[8]。吗氯贝胺属于可逆性单胺氧化酶 A 抑制剂,通过抑制单胺氧化酶 A 的活性,减少 5-HT 的降解^[9]。5-HTP 是 5-HT 的前体^[10],在 5-羟色

氨酸脱羧酶的作用下脱去羧基转化为 5-HT。尽管这 3 种药物的作用机制不同,但是都可以提高突触间隙内有效 5-HT 的水平。从以上结果可以看到,提高中枢 5-HT 能神经系统的功能活动,可以增强曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用。提示曲马朵抑制吗啡所致僵住症的作用,与中枢 5-HT 能神经系统的功能活动有关。

PCPA 是特异性的色氨酸羟化酶抑制剂,抑制色氨酸转化为 5-HTP,从而降低突触间隙内有效 5-HT 的水平^[11]。在本研究中,PCPA 本身不能诱导小鼠产生僵住症。用 PCPA 24 h 前预处理小鼠,对吗啡所致小鼠僵住症也无显著性影响,但却能拮抗曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用。研究资料表明^[11,12],单次 ip PCPA $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 或者 3 d 连续给药,每日 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,可使脑内 5-HT 水平降低 80% ~ 90%。所以本实验选取单次 ip PCPA 300 和 $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,提前 24 h 预处理小鼠,以降低脑内 5-HT 的水平。结果表明中枢 5-HT 能神经系统功能活动的降低可以拮抗曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用,进一步证实了前面的推论。

曲马朵不仅能够增加突触间隙内有效 5-HT 的水平,还可以提高中枢 NE 能神经系统的功能活动。有研究表明,中枢 NE 能神经系统功能状况的变化对吗啡诱发的僵住症存在明显影响。Malec 等^[13]观察到,给予大鼠 α_2 受体激动剂可乐定能增强吗啡所致僵住症的强度。但是中枢 NE 能神经系统功能状况的变化是否影响曲马朵对吗啡所致小鼠僵住症的抑制作用,还有待进一步的研究。

4 参考文献:

- [1] Tzschentke TM, Schmidt WJ. Morphine-induced catalepsy is augmented by NMDA receptor antagonists, but is partially attenuated by an AMPA receptor antagonist [J]. *Eur J Pharmacol*, 1996, **295**(2-3):137-146.
- [2] Xu J, Jin GZ, Yu LP, Liu XJ. Differentiation between catalepsies induced by *l*-tetrahydropalmatine and by haloperidol and morphine [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1981, **2**(3):152-155.
- [3] Zarrindast MR, Samadi P, Haeri-Rohani A, Moazami N, Shafizadeh M. Nicotine potentiation of morphine-induced catalepsy in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2002, **72**(1-2):197-202.
- [4] Sun HL, Liang JH, Zheng JW. Progress in pharmacological

- mechanisms of tramadol[J]. *Chin J Drug Depend*(中国药物依赖性杂志), 2003, **12**(1):6-9.
- [5] Lin WQ, Zeng WA, Li W, Xu MX, Zhong ZJ. Comparison of postoperative analgesia with tramadol, morphine *versus* their combination in patients undergoing abdominal cancer surgery[J]. *Cancer*(癌症), 2002, **21**(7):794-796.
- [6] Zarrindast MR, Iraie F, Heidari MR, Mohagheghi-Badi M. Effect of adenosine receptor agonists and antagonists on morphine-induced catalepsy in mice[J]. *Eur J Pharmacol*, 1997, **338**(1):11-16.
- [7] Jin GZ, Lin XJ, Yu LP, Xu J. Serotonergic implication *l*-tetrahydropalmatine-induced catalepsy in rats[J]. *Acta Pharmacol Sin*(中国药理学报), 1980, **1**(1):12-17.
- [8] Liang JH, Lu Y, Wang XP, Sun HL, Li SM, Li LJ. Comparison of fluoxetine and mianserin effects on spontaneous activity, exploration and aggression in mice[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*(中国药理学与毒理学杂志), 2001, **15**(6):423-426.
- [9] Schreiber S, Getslev V, Weizman A, Pick CG. The antinociceptive effect of moclobemide in mice is mediated by noradrenergic pathways[J]. *Neurosci Lett*, 1998, **253**(3):183-186.
- [10] Groppa G, Kuschinsky K. Stimulation and inhibition of serotonergic mechanisms in rat brain; alterations of morphine effects on striatal dopamine metabolism and on motility[J]. *Neuropharmacology*, 1975, **14**(9):659-664.
- [11] Han JS. *Principles in Neuroscience*(神经科学纲要)[M]. 2nd ed. Beijing: Peking University Health Science Center Publishing House, 1999. 504-522.
- [12] Fidecka S, Langwinski R. Central action of narcotic analgesics. V. Participation of serotonin in the mechanism of action of narcotic analgesics[J]. *Pol J Pharmacol Pharm*, 1979, **31**(5):461-471.
- [13] Malec D, Grabowska E, Langwinski R. Central action of narcotic analgesics. IV. Noradrenergic influences on the activity of analgesics in rats[J]. *Pol J Pharmacol Pharm*, 1978, **30**(5):627-637.

Effects of tramadol on morphine-induced catalepsy in mice

LU Ying, HAN Rong, LIANG Jian-Hui*

(National Institute on Drug Dependence, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: **AIM** To investigate if tramadol has effect on morphine-induced catalepsy in mice and its mechanisms. **METHODS** The durations of catalepsy in mice were investigated using bar test. **RESULTS** ① Tramadol (10-90 mg·kg⁻¹, ip) did not induce catalepsy in mice. However, tramadol dose-dependently decreased the duration of catalepsy produced by morphine (40 mg·kg⁻¹, ip). ② Fluoxetine (20, 30 and 40 mg·kg⁻¹, ip), moclobemide (12.5, 25 and 50 mg·kg⁻¹, ip), and 5-hydroxy-*L*-tryptophan (12.5, 25 and 50 mg·kg⁻¹, ip) potentiated the inhibitory effect of tramadol (30 mg·kg⁻¹) on morphine-induced catalepsy. ③ *p*-Chlorophenylalanine (300 and

350 mg·kg⁻¹, ip) reversed the inhibitory effect of tramadol (60 mg·kg⁻¹) on the catalepsy induced by morphine. **CONCLUSION** The inhibitory effect of tramadol on morphine-induced catalepsy may be mediated through central serotonergic system.

Key words: catalepsy; morphine; tramadol; behavior, animal

Foundation item: The project supported by National Basic Research Program of China Grants (2003CB515400)

* Corresponding author.

(本文编辑 董立春)