

JAN VENULET
z pomocą techniczną
MARII KALINOWSKIEJ

O KORELACJI DZIAŁANIA PRZECIWSEROTONINOWEGO I DEPRESYJNEGO NIEKTÓRYCH POCHODNYCH FENOTIAZyny

Z Zakładu Farmakologii Instytutu Leków w Warszawie
Kierownik: doc. dr J. Venulet

Mechanizm depresyjnego działania niektórych pochodnych fenotiazyny pozostaje w znacznej mierze niewyjaśniony. *Gyermek* i współpr. wykazali, że związki należące do tej grupy, a przede wszystkim chloropromazyna są bardzo silnymi antagonistami serotoniny w doświadczeniach na wyosobnionej macicy szczura. Inni autorzy bardziej sceptycznie odnoszą się do działania przeciwserotoninowego chloropromazyny (*Brodie*). Ze względu na problematyczny związek testu na macicy z czynnością ośrodkowego układu nerwowego poddaliśmy dwa typowe związki fenotiazynowe o działaniu neuroplegicznym ocenie opartej na ich wpływie na reakcję odruchowo-warunkową. Jednocześnie dążeniem naszym było porównać siłę działania badanych preparatów w kilku układach doświadczalnych.

METODYKA

Wszystkie doświadczenia były wykonywane na białych szczurach. W doświadczeniach z odruchami bodźcem bezwarunkowym było drażnienie prądem łap szczura przebywającego na metalowej podłodze klatki. Reakcja bólowa zmuszała zwierzę do ucieczki do drugiej, nieco wyżej położonej części klatki, która znajdowała się w odrębnym obwodzie elektrycznym. Każdą z użytych w toku pracy dawek wstrzykiwano grupie z 10 zwierząt, przy czym w toku badania efektu u każdego szczura staraliśmy się wywołać odruch dwudziestokrotnie. Bodziec dźwiękowy stosowaliśmy co 30 sekund, przy czym w przypadku braku reakcji po 6 sekundach uzupełniliśmy go bodźcem bezwarunkowym. Tak więc teoretycznie maksymalna liczba pozytywnych reakcji wynosiła dla 1 szczura 20, a dla całej grupy 200. Zwierzęta używano do doświadczeń nie częściej niż raz w tygodniu, z tym że w międzyczasie podtrzymywano natężenie reakcji odruchowej. W doborze stosunków czasowych i długotrwałości bodźców w znacznej mierze opieraliśmy się na wnikliwej pracy *Bättig'a* i współpr.

Działanie antagonistyczne pochodnych fenotiazyny na porażenie nerwowe sznurów wyrosobnionych badaliśmy na dziewiczej i uczulonej; estrogenami matki szczura oraz na odpowiednio spreparowanym żołądku szczura (Wojna 1958). Badania przeprowadziliśmy doświadczeń, a przede wszystkim użyte dawki wymienione są w tabeli doświadczenia.

W toku pracy używaliśmy następujących preparatów: chloropromazyne (Lergal-Specia), acetopromazyne (Plegicil-Clin-Byla), kreatynino-siarczan serotoniny (Rona-iprotoniazyd (Marsilid-Roche), amfetamina, kofeina, pikrotoksyna, kwas diwaleńcowy-biturowy.

WYNIKI

Wpływ na odruchy warunkowe. Acetopromazyne i chloropromazyne wstrzykiwaliśmy podskórnie, po czym po upływie 30—60 minut wywoływaliśmy reakcję odruchową (tab. 1).

Tabela 1.
Table 1.

| L. p. | Dawka 1) preparat 2) | 0 | 2,5 mg/kg | 5 mg/kg | 7,5 mg/kg | 10 mg/kg |
|-------|----------------------|-----|-----------|---------|-----------|----------|
| 1 | Kontrola 3) | 188 | | | | |
| 2 | Chloropromazyne 4) | | 123 | 91 | 69 | 51 |
| 3 | Acetopromazyne 5) | | 100 | 56 | 61 | 28 |

Uwaga: Liczby wyrażające wyniki stanowią sumę pozytywnych reakcji odruchowych dla całej grupy 10 zwierząt używanych na każdą dawkę.

Dosage 1); Preparation 2); Control 3); Chlorpromazine 4); Acetopromazine 5).

Note: the figures that represent the results are the total of positive reflex reactions for the entire group of ten animals obtained by a given dosis on single administration.

Jak widać, działanie chloropromazyne jest słabsze i stanowi jedynie 66,7% działania acetopromazyne. Oba środki w sposób proporcjonalny do dawki osłabiają reakcje warunkowe szczurów, przy czym zachowanie się zwierząt nawet po otrzymaniu dawki 10 mg/kg niewiele odbiega od normalnego.

Opierając się na wykazanym przez Gyermka i współpr. antagonizmie chloropromazyne i serotoniny w działaniu na wyrosobnioną macicę szczura postanowiliśmy i w naszym układzie doświadczalnym przebadać wzajemny wpływ obu preparatów oraz acetopromazyne. Oceniane w tym przypadku działanie ośrodkowe mogłoby być interesujące. W tym celu zwierzętom podzielonym na grupy po 10 sztuk wstrzykiwaliśmy badane preparaty podskórnie w różnych dawkach na 30 minut przed próbą wywoływania odruchu. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 2.

Tabela 2. — Table 2.

| L. p. | Preparat 1) dawki w mg/kg 2) | Liczba reakcji pozytywnych dla grupy 10 szczurów 3) | Uwagi 4) |
|-------|---|---|-----------------------------------|
| 1 | Kontrola 5) | 188 | |
| 2 | Serotonina 5 6) | 171 | |
| 3 | Serotonina 20 | 176 | |
| 4 | Serotonina 50 | 185 | na 4 godz. przed dośw. 9) |
| 5 | Chloropromazyna 2,5 7) Serotonina 5 | 141 | |
| 6 | Chloropromazyna 5 Serotonina j. w. | 112 | |
| 7 | Chloropromazyna 7,5 Serotonina j. w. | 34 | |
| 8 | Chloropromazyna 10 Serotonina j. w. | 53 | |
| 9 | Chloropromazyna 5 Serotonina 20 | 113 | |
| 10 | Chloropromazyna 5 Serotonina 20 | 109 | Serot. na 1 godz. przed dośw. 10) |
| 11 | Chloropromazyna 5 Serotonina 20 | 161 | Serot. na 4 godz. przed dośw. 10) |
| 12 | Chloropromazyna 5 Serotonina 50 | | objawy porażenia 11) |
| 13 | Acetopromazyna 2,5 8) Serotonina 5 | 75 | |
| 14 | Acetopromazyna 5 Serotonina j. w. | 109 | |
| 15 | Acetopromazyna 7,5 Serotonina j. w. | 70 | |
| 16 | Acetopromazyna 10 Serotonina j. w. | 51 | |
| 17 | Acetopromazyna 5 Serotonina 20 | 96 | |
| 18 | Acetopromazyna 5 Serotonina 20 | 75 | Serot. na 1 godz. przed dośw. 10) |
| 19 | Acetopromazyna 5 Serotonina 20 | 127 | Serot. na 4 godz. przed dośw. 10) |
| 20 | Chloropromazyna 5 | 91 | |
| 21 | Acetopromazyna 5 | 56 | |

Preparation 1); Doses in mg kg 2); Number of positive reactions in the group of 10 rats 3); Notes 4); Control 5); Serotonin 6); Chlorpromazine 7); Acetopromazine 8); 4 hours before the experiment 9); Serotonin 1 hour before the experiment 10); Paralysis symptoms 11).

Porównując działanie depresyjne samych pochodnych fenotiazyny z działaniem kombinacji fenotiazyn z serotoniną rzuca się w oczy występujące w większości przypadków wzmocnienie reakcji odruchowej na skutek dodania serotoniny. Osiąga ono wartości statystycznie znaczące dla grupy 11, 14 i 19. Duża dawka serotoniny (50 mg/kg) w połączeniu z chlorpromazyną daje silny efekt depresyjny.

Opierając się na znanym spostrzeżeniu, że iproniazyd jest silnym inhibitorem aminooksydazy rozkładającej serotoninę, skontrolowano wpływ tego preparatu na działanie obu badanych pochodnych fenotiazyny. W tym celu iproniazyd wstrzykiwany był podskórnie na 5 godzin przed wywołaniem odruchów czyli na 4 i pół godziny przed wstrzyknięciem fenotiazyn. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 3.

Tabela 3.

Table 3.

| L. p. | Preparat 1); dawka w mg kg 2) | Liczba reakcji pozytywnych dla grupy 10 szczurów 3) | Prawdopodobieństwo P 4) |
|-------|--|---|--------------------------|
| 1 | Kontrola 5) | 188 | |
| 2 | iproniazyd 100 6) | 199 | wobec grupy 1 P<0,05 10) |
| 3 | Chlorpromazyna 5 7) , iproniazyd 100 8) | 162 | wobec grupy 5 P<0,001 |
| 4 | Acetopromazyna 5 9) iproniazyd 100 | 133 | wobec grupy 6 P<0,001 |
| 5 | Chlorpromazyna 5 7) | 91 | |
| 6 | Acetopromazyna 5 9) | 56 | |

Preparation 1); Dosis 2); Number of positive reactions in the group of 10 rats 3); Probability P. 4); Control 5); Iproniazyd 100 6); Chlorpromazine 7); Iproniazyd 100 8); Acetopromazine 5 9); With reference to the group 10).

Jak widać, iproniazyd w stopniu wysoce znaczącym znosi działanie chlorpromazyny i acetopromazyny. Również zastosowany sam, silnie pobudza reaktywność zwierząt. Ponieważ wyniki te pośrednio przemawiają za znaczeniem działania przeciwserotoninowego w mechanizmie badanych preparatów, przebadaliśmy wpływ kilku analeptyków na depresję pofenotiazynową oraz na depresję pobarbituranową. Uzyskane wyniki przedstawia tab. 4.

Jak widać z tabeli 4 szereg znanych analeptyków podobnie jak iproniazyd znosi lub ogranicza działanie depresyjne pochodnych fenotiazyny. W nie mniejszym stopniu dotyczy to i działania dialu. Iproniazyd, który

znosił działanie fenotiazyny nie zapobiega następstwom zastosowania dialu. Serotonina z dialem jest toksyczna. Działanie narkotyczne i depresyjne jest spotęgowane.

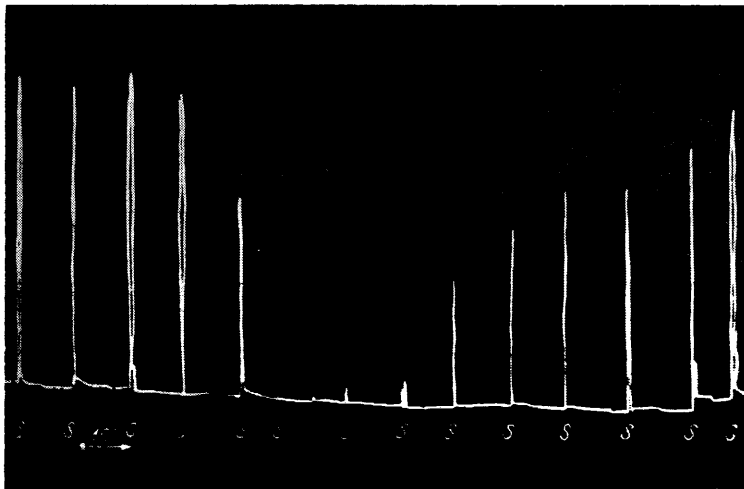
Tabela 4.

Table 4.

| L. p. | Preparat 1) (w mg/kg) | Liczba reakcji pozytywnych dla grupy 10 szczurów 2) | |
|-------|-----------------------|---|--|
| 1 | Amfetamina 0,3 3) | 197 | |
| 2 | Chloropromazyna 5 4) | 191 | P 0,01 wobec grupy 15 11) |
| | Amfetamina 0,3 3) | | P nieist. „ „ 1 12) |
| 3 | Acetopromazyna 5 5) | 151 | P 0,01 wobec grupy 16 |
| | Amfetamina 0,3 3) | | P 0,01 „ „ 1 |
| 4 | Pikrotoksyna 0,5 6) | 200 | |
| 5 | Chloropromazyna 5 4) | 114 | P 0,01 wobec grupy 4 |
| | Pikrotoksyna 0,5 6) | | P nieist. „ „ 15 |
| 6 | Acetopromazyna 5 5) | 118 | P 0,01 wobec grupy 4 |
| | Pikrotoksyna 0,5 6) | | P 0,01 „ „ 16 |
| 7 | Kofeina 30 7) | 200 | |
| 8 | Chloropromazyna 5 4) | 189 | P 0,01 wobec grupy 15 |
| | Kofeina 30 7) | | P 0,05 „ „ 7 |
| 9 | Acetopromazyna 5 5) | 189 | P 0,01 wobec grupy 16 |
| | Kofeina 7) | | P nieist. „ „ 7 |
| 10 | Dial 20 8) | 163 | |
| 11 | Dial 20 8) | 186 | |
| | Pikrotoksyna 0,5 6) | | P nieist. wobec grupy 10 |
| 12 | Dial 20 8) | 185 | |
| | Kofeina 30 7) | | P nieist. wobec grupy 10 |
| 13 | Dial 20 8) | 144 | |
| | Iproniazyd 100 9) | | Iproniazyd na 5 godz. przed dośw. 13) P nieist. |
| 14 | Dial 20 8) | 78 | |
| | Serotonina 20 | | Serot. 5 godz. przed dośw. obj. toksyczne, porażenia. Część zwierząt padła 14) |
| 15 | Chloropromazyna 5 | 91 | |
| 16 | Acetopromazyna 5 | 56 | |

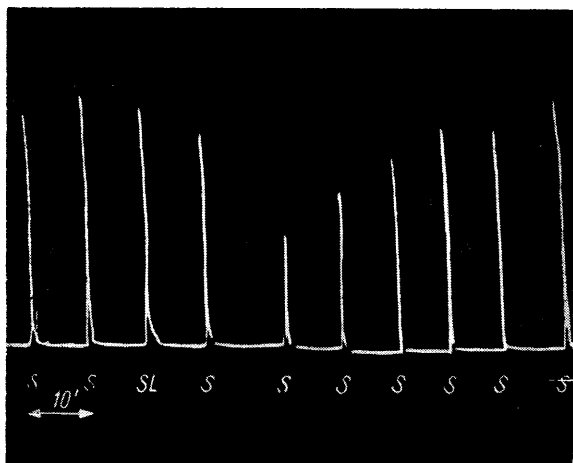
Preparation 1; Number of positive reactions for the group of 10 rats 2); Amphetamine 3); Chlorpromazine 4); Acetopromazine 5); Picrotoxin 6); Caffeine 7); Diallyl-barbituric acid 8); Iproniazyd 9); Serotonin 10); With reference to group 11); P not signif. 12); Iproniazyd 5 hours before the experiment 13); Serotonin 5 hours before the experiment; poisoning symptoms, paralyse. Some animals died 14).

Stwierdzony z pomocą odruchów warunkowych wzajemny stosunek siły działania depresyjnego chloro- i acetopromazyny postanowiliśmy potwier-



Ryc. 1. Wpływ acetopromazyny na poserotoninowe skurcze wyosobnionego rogu macicy szczura. *S* — oznacza dodanie serotoniny dla uzyskania stężenia 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$; *P* — oznacza dodanie acetopromazyny dla uzyskania stężenia 0,02 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

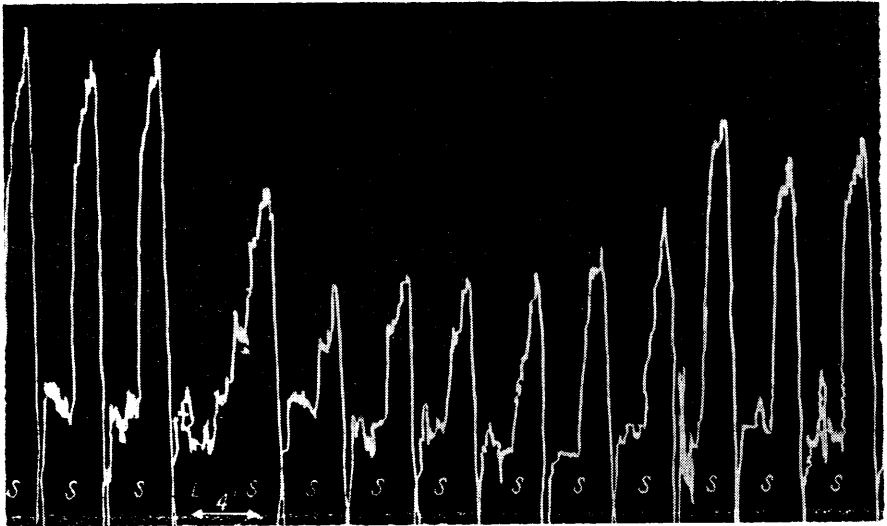
Fig. 1. The effect of acetopromazine on serotonin-induced contractions of the isolated rat's uterus. *S* — indicates addition of serotonin to a final concentration of 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$; *P* — indicates addition of acetopromazine to final concentration of 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$.



Ryc. 2. Wpływ chlorpromazyny na poserotoninowe skurcze wyosobnionego rogu macicy szczura. *S* — jak na ryc. 1.; *L* — oznacza dodanie chlorpromazyny dla uzyskania stężenia 0,02 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

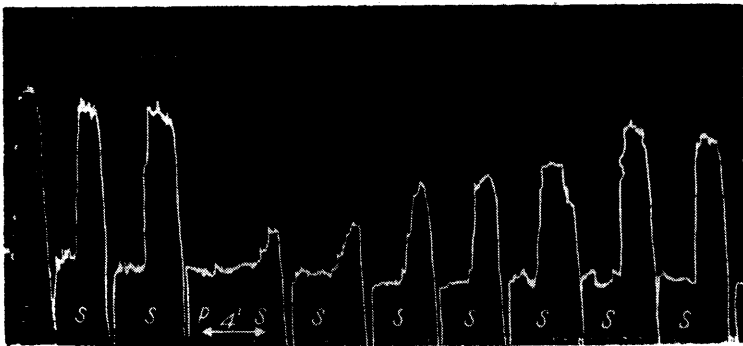
Fig. 2. The effect of chlorpromazine on serotonin-induced contractions of the isolated rat's uterus. *S* — as in Fig. 1; *L* — indicates addition of chlorpromazine to a final concentration of 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

działanie z pomocą bardziej przejrzystego układu doświadczalnego. W tym celu użyliśmy wyosobnionej macicy szczura uczulonej estrogenami. Jeden róg służył do oceny działania chlorpromazyny, a drugi zawieszony w innej łaźni, acetopromazyny. Środowiskiem był ubogi w Ca^{++} płyn Jalona. Charakterystyczną krzywą takiego doświadczenia przedstawia ryc. 1 i 2.



Ryc. 3. Wpływ chlorpromazyny na poserotoninowe skurcze wyosobnionego żołądka szczura. S — oznacza dodanie serotoniny dla uzyskania stężenia $2,5 \mu\text{g/ml}$. L — oznacza dodanie chlorpromazyny dla uzyskania stężenia $25 \mu\text{g/ml}$.

Fig. 3. The effect of chlorpromazine on serotonin-induced contractions of a rat's isolated stomach. S — indicates addition of serotonin to a final concentration of $2.5 \mu\text{g/ml}$. L — indicates addition of chlorpromazine to a final concentration of $25 \mu\text{g/ml}$.



Ryc. 4. Wpływ acetopromazyny na poserotoninowe skurcze wyosobnionego żołądka szczura. S — jak na ryc. 3; P — oznacza dodanie acetopromazyny dla uzyskania stężenia $25 \mu\text{g/ml}$.

Fig. 4. The effect of acetopromazine on serotonin-induced contractions of a rat's isolated stomach. S — as in Fig. 3; P — indicates addition of acetopromazine to a final concentration of $25 \mu\text{g/ml}$.

Stężenie serotoniny w większości doświadczeń wynosiło 20,0 $\mu\text{g/ml}$ łązni, a stężenie pochodnych fenotiazyny było rzędu 0,02 $\mu\text{g/ml}$. Jak wynika z analizy statystycznej chloropromazyna działa o blisko 60% (58,8%) słabiej od acetopromazyny.

Analogiczne doświadczenie wykonano na wyosobnionym żołądku szczura metodą Vane'a. Odpowiednio rozcięty żołądek pozostaje w środowisku płynu Krebsa, przy czym dla wykluczenia bodźców cholinergicznyc, do płynu dodaje się skopolaminę w stężeniu 1 mg/litr. Stężenie serotoniny w tym doświadczeniu wynosiło 2,5 $\mu\text{g/ml}$, natomiast stężenie pochodnych fenotiazyny ze względu na ich słabe w tym układzie działanie było znacznie wyższe — 25 $\mu\text{g/ml}$. Jak widać żołądek szczura jest około 10 razy wrażliwszy na serotoninę od macicy. Uzyskane krzywe przedstawia ryc. 3 i 4.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Doświadczenia wykonane z pomocą metody odruchów warunkowych nie tylko potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia innych autorów (Votava i wsp.), ale rzucają dodatkowe światło na mechanizm działania depresyjnego badanych pochodnych fenotiazyny. Acetopromazyna działa blisko dwukrotnie silniej niż chloropromazyna i ten stosunek siły działania pozostaje niezmienny niezależnie od tego czy doświadczenia wykonano metodą odruchów warunkowych czy też na narządach wyosobnionych. Wydaje się nam charakterystycznym, że wpływ depresyjny na odruchy jest proporcjonalny do działania przeciwserotoninowego *in vitro*. Wynikające stąd przypuszczenia odnośnie roli serotoniny w mechanizmie ośrodkowego działania badanych leków skłoniły nas do rozszerzenia doświadczeń z odruchami warunkowymi. Okazało się, że serotonina podana w odpowiedniej dawce i na dłuższy czas przed fenotiazynami znacząco poprawia sprawność zwierząt. Zastosowana dawka jest stosunkowo duża, należy jednak wziąć pod uwagę znane złe przenikanie serotoniny do ośrodkowego układu nerwowego. Tak serotonina jak i iproniazyd zastosowane same nie mają większego wpływu na reakcje odruchowe. Podobne wyniki uzyskał Horesberger i wsp. O swoistym, tj. wynikającym z korelacji z serotoniną mechanizmie działania badanych fenotiazyn świadczy ponadto fakt, że ani iproniazyd ani serotonina nie antagonizują działania dialu. Tak więc analeptyki i typowe leki pobudzające ośrodkowo wywierają swoje działanie niezależnie od mechanizmu farmakologicznego preparatów powodujących depresję; serotonina natomiast i iproniazyd działają tylko przeciwfenotiazynowo, a nie przeciw barbituranowo. Iproniazyd, a w jeszcze większym stopniu serotonina potęgują działanie dialu. Na fakt, że serotonina potęguje działanie heksobarbitonu zwrócono uwagę już poprzednio (Shore i wsp.).

Wyniki doświadczeń na narządach wyosobnionych pozwalają na szereg wniosków. O ile dawka serotoniny powodująca skurcz narządu w przypadku mięśnia macicy jest tylko około 10 razy większa niż w przypadku żołądka, to dawka chloropromazyny znosząca działanie serotoniny jest w każdym przypadku różna. Dla macicy wynosi ona 0,02 $\mu\text{g/ml}$, a dla żołądka 25 $\mu\text{g/ml}$, żołądek zatem jest około milion razy mniej wrażliwy na chloropromazynę niż macica. Ta ogromna różnica znajduje, jak się to nam udało wykazać, swoje wytłumaczenie w osłabiającym kurczliwość żołądka działaniu skopolaminy.

Doświadczenie z macicą wykonane w środowisku zawierającym tyleż samo skopolaminy, wykazało słabsze działanie chloropromazyny. Nie mniej i w tym przypadku jest ono 1000 razy silniejsze niż na żołądek. Świadczy to o niejednakowej wrażliwości znajdujących się w różnych narządach receptorów serotoniny na działanie jej antagonistów.

Я. Венулет

При технической помощи *М. Калиновской*

О КОРРЕЛЯЦИИ ПРОТИВОСЕРОТОНИЧЕСКОГО И ДЕПРЕССИВНОГО ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОТИАЗИНА

Резюме

При помощи метода условных рефлексов сравнивалась сила действия хлорпромазина и ацетопромазина, а также исследовалось влияние серотонина, ипрониазида, амфетамина, пикротоксина и кофеина на действие обоих производных фенотиазина.

Все указанные субстанции вместе с серотонином и ипрониазидом противодействовали ослаблению рефлекторно-условной способности, вызываемой фенотиазинами, причем только две последние субстанции были лишены такого же влияния на действие дву-аллилобарбитуровой кислоты. Это может свидетельствовать о их значительной специфичности.

Так хлорпромазин, как и ацетопромазин уменьшают действие серотонина на обособленный рог матки крысы и на обособленный желудок крысы по Vane. В последнем случае реактивность на производные фенотиазина почти в тысячу раз меньше, чем в случае с маткой.

Сравнение силы действия хлорпромазина и ацетопромазина в таких различных экспериментах, как условные рефлексы и противосеротоническое действие на выделенные органы в обоих случаях показало почти вдвое сильное действие ацетопромазина. Это может служить доказательством той роли, какую противосеротоническое действие играет в механизме депрессивного влияния на условные рефлексы.

J. Venulet

with the technical assistance of *Maria Kalinowska*

ON CORRELATION BETWEEN THE ANTISEROTONIN AND THE DEPRESSIVE ACTION OF SOME PHENOTHIAZINE DERIVATIVES

Summary

The conditioned reflex method was used to compare chlorpromazine and acetopromazine in potency and to explore the effects on either of serotonin, iproniazid, amphetamine, picrotoxin, and caffeine.

All the latter substances, including serotonin and iproniazid, weakened the conditioned reflex-inhibiting effects of phenothiazine derivatives, and only the two last-named had no such influence on the action of diallylbarbituric acid. This may be indicative of their considerable specificity.

Both chlorpromazine and acetopromazine suppress the effects of serotonin on the isolated rat's uterus and isolated stomach after Vane. In the latter case, the sensitivity to phenothiazine derivatives is roughly one-thousandth that of the uterus.

On comparison — in experiments as widely different as involving conditioned reflexes and antiserotonin action on isolated organs — the potency of acetopromazine proved in either case roughly twice that of chlorpromazine. This may be indicative of antiserotonin action in the mechanism of conditioned reflex depression.

PISMIENNIC TWO

1. Battig K., Grandjean E.: Arch. Exper. Path. Pharmacol. 1957, 231, 119.
2. Brodie B. B.: Modern Medicine, 1958, 69.
3. Gyermek L., Lazar I., Csak A. Z. S.: Arch. In. Pharmacodyn. 1956, 107, 62.
4. Horesberger B., Grandjean E.: Helv. Physiol. Acta, 1958, 16, 146.
5. Shore P. A., Silver S. L., Brodie B. B.: Science, 1955, 122, 284.
6. Vane J. R.: Brit. J. Pharmacol. 1957, 12, 344.
7. Votava Z., Vanecek M.: Phys. Bohemoslov. 1956, Suppl., 5, 58.

Otrzymano: 24. V. 1960 r.

Adres autora: Warszawa, Instytut Leków, ul. Długa 16.