

目錄

中文摘要.....	1
英文摘要.....	1
緣由與目的.....	2
材料與方法.....	2
結果與討論.....	3
計畫成果自評.....	4
參考文獻.....	4
附圖.....	6

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

探討以三環抗憂鬱藥應用於減輕嗎啡戒斷反應及藥效機轉探討

Study on the efficacy and mechanism of tricyclic antidepressants in reducing morphine-withdrawal symptoms

計畫編號：NSC 96-2314-B-041-002-MY2

執行期限：96年9月1日至98年7月31日

主持人：劉國盛 嘉南藥理科技大學藥物科技研究所

共同主持人：王志中 財團法人奇美醫院醫學研究部

宋國峻 嘉南藥理科技大學藥物科技研究所

計畫參與人員：李維揚 南藥理科技大學藥物科技研究所

麥宜傑 南藥理科技大學藥物科技研究所

吳靜玉 財團法人奇美醫院醫學研究部

一、中文摘要

急性戒毒(acute detoxification)常會產生許多不舒服之戒斷症候群(withdrawal symptoms)，而目前臨床上並無一完整的治療方式，常是造成患者畏拒治療或無法完成治療的主要原因。本研究之主要目的為探討三環抗憂鬱藥(tricyclic antidepressants;TCAs)應用於減輕小鼠嗎啡戒斷反應及其藥效機轉，並探討其中最佳之藥物和目前常用之減癮藥物 buprenorphine 合併給藥之情形。

小鼠以漸進式增加劑量的方式給予嗎啡皮下注射共3天，而在第四天給予皮下注射 naloxone 誘發嗎啡身體依賴性之跳躍反應。在給予 naloxone 之前1小時給予各種不同之TCAs，而在給予 naloxone 之後記錄30分鐘內小鼠跳躍次數。

我們發現六種TCAs在以生理食鹽水為對照組之下，皆能減輕誘發嗎啡身體依賴性之跳躍反應($P < 0.05$)。在合併給藥之研究中發現 desipramine 可增加 buprenorphine 之效果。推測 desipramine 和 buprenorphine 合併給藥對於減輕小鼠上所誘發嗎啡身體依賴性之跳躍反應可產生增強效果(synergistic effect)。

關鍵詞：三環抗憂鬱藥、嗎啡、急性戒毒、戒斷現象、跳躍

Abstract

Acute detoxification can lead to a very unpleasant withdrawal syndrome. The syndrome is sufficiently aversive for those who dependent to morphine and thus an obstacle to abstinence. Here, we aim to evaluate the effect for the treatment of physical dependence to opioids of tricyclic antidepressants (TCAs) and interactions between the most effective TCA and buprenorphine (one of the most important current-used therapeutic drugs for opioid dependence) during acute detoxification in mice.

Adult NRL mice were rendered physical dependence on morphine by escalating daily doses of subcutaneous morphine for 4 days and precipitated by a subcutaneous naloxone to withdrawal jumping after the last morphine on day 4. Mice were assigned to receive intramuscular saline or one of the six TCAs treatment one hour before naloxone precipitation. The withdrawal jumps over the next 30 minutes after naloxone were counted.

We found that all six TCAs attenuated the severity of morphine withdrawal jumping as compared to saline group ($P < 0.05$). In the drug combination study, we used desipramine and buprenorphine. Desipramine increased the potency of buprenorphine. Desipramine and buprenorphine combination in the treatment of physical dependence to morphine in mice may produced a synergistic effect.

Keywords: tricyclic antidepressants、
morphine、acute detoxification、
withdrawal、jumping

二、緣由與目的

在一般治療類鴉片藥物成癮者之戒斷時，常有自律神經亢奮引發的身體不適症狀、情緒問題(如焦慮、憂鬱、躁動不安等)、渴癮(craving)及失眠等問題。在急性戒斷期後之延長戒斷症候群也長達數月之久，這些症狀也包含了失眠、情緒不安及憂鬱等精神上的問題。成癮者常因戒斷症狀難耐、渴癮非常，進而鋌而走險，引發各種社會問題。

對於藥物成癮者之治療，一直是世界各國急待解決的問題(1-4)。然而不論何種療法及其施行區域為何，目前之成效皆不佳，其在藥物使用上之主要思維仍以類嗎啡為主。然而類嗎啡之成癮因素很多，精神因素也是其中重要之一環，因此若能以治療精神病用之藥物如三環抗憂鬱藥(tricyclic antidepressants, TCAs)來做為輔助療法之藥物，將有可能加強原本藥物之療效並減輕其戒斷症狀。

TCAs 因其具有多項和類鴉片減癮相關之作用如：誘發內生性嗎啡生肽之釋放、直接地結合至類鴉片接受器、影響類鴉片接受器結合之能力(5)、和 μ 及 δ 類鴉片接受器作用(6)，更可以與類鴉片或腺苷接受器產生交互作用(6,7)等，且由於目前已有少許研究報告指出，使用 TCAs 可以減輕戒斷現象(8,9)，然而其中還有許多種 TCAs 未被提及，且對其作用機制也未進行深入之探討，因此本研究即廣泛性地以最常使用且仍未被探討之 TCAs 如 amitriptyline 等為研究主題，再延續 buprenorphine 治療類嗎啡藥物成癮之優勢，採用兩種藥物同時給藥的模式，以 buprenorphine 為主要之治療藥物，配合具有減輕戒斷症狀及治療精神疾病之 TCAs 為輔助治療藥物，探討兩者在單獨及合併使用時之減癮效果，以及對於降低戒斷症候群之影響。

三、材料與方法

1. 動物：

成年雄性小鼠(ICR)體重 25-30 gm，購自國科會國家動物中心。

2. 飼養環境：

每三隻小鼠飼養於標準之小鼠飼養籠(29×19×13 cm³)中，食物及水可以自由取食，室溫控制在 20±1 °C，溼度控制在 50±10 %，光照控制在 7 AM~7 PM，各動物將於上述環境飼養至少 7 日後方進行實驗。所有動物之試驗皆在奇美醫學中心動物實驗管理小組之同意下進行。

3. 藥物：

morphine 向管制藥品管理局購買，naloxone、TCAs (amoxapine、desipramine、nortriptyline、protriptyline、amitriptyline、clomipramine) 購自 Sigma-Aldrich (Missouri, 美國)，buprenorphine 購自 Siegfried 公司(Switzerland)，所有藥物均溶於 0.9 % saline 中，製成水溶性注射液，morphine 和 naloxone 行皮下注射(subcutaneous)。皮下注射位置為小鼠背上頸部中間以下 2 公分處，TCAs、buprenorphine 則行肌肉注射，注射位置為小鼠右後腿之股二頭肌和半腱肌。以上所用之注射體積皆為 3 ml/kg。

4. 方法：

第一部份 建立誘發嗎啡身體依賴性之動物模式

(1) 誘發嗎啡身體依賴性之動物模式：嗎啡身體依賴性的誘發，小鼠每日接受 3 次(9:00, 13:00, 17:00)相同劑量嗎啡皮下注射共 3 天，第一天、第二天及第三天之劑量分別為 20, 40 及 80 mg/kg。而在第四天早上 10 點，行皮下注射 naloxone 50 mg/kg，而後觀察 30 分鐘，並記錄所發生的戒斷反應。每隻小鼠僅使用一次，即一旦注射 naloxone，並觀察 30 分鐘後，就不再使用。

(2) 戒斷反應之評估(assessment of dependence)：在小鼠接受皮下注射 naloxone 後，小鼠將被置於個別的透明觀察籠中(individual plexiglas observation

cages), 在無人且很安靜的狀況下, 我們將以錄影機記錄小鼠的戒斷反應—跳躍(jumping)。跳躍之定義為: 當小鼠四腳同時離開桌面成跳躍情形時, 則記錄為一次, 我們記錄 naloxone 皮下注射後每隻小鼠在 30 分鐘內共跳躍幾次。並記錄每組小鼠中(各組為 6 隻)有多少小鼠在 30 分鐘內有跳躍的情形。

第二部份 TCAs 對於誘發嗎啡身體依賴性動物之療效評估

(1) 單一劑量: 在小鼠依照以上給藥的規則給予三天的嗎啡皮下注射, 在第四天早上 9 點, 分別給予 amoxapine、desipramine、nortriptyline、protriptyline、amitriptyline、clomipramine 30 μ mol/kg 並以 saline 為對照組, 在一小時後(10 點)給予皮下注射 naloxone 50 mg/kg, 而後觀察 30 分鐘小鼠產生戒斷症狀 jumping 之情形。戒斷反應之評估如同上所述。

(2) 劑量和療效之相關性: 由以上選出最具發展力之五個 TCAs (amoxapine、desipramine、protriptyline、amitriptyline、clomipramine), 依照上述之方法在第四天早上 9 點, 分別給予不同劑量之以上五種 TCAs。分別為 amoxapine 0.3、3、60 μ mol/kg, desipramine 0.0003、0.003、0.03 μ mol/kg, protriptyline 0.003、0.01、0.03 μ mol/kg, amitriptyline 3、30、300 μ mol/kg, clomipramine 3、30、300 μ mol/kg, 並以 saline 為對照組, 之後戒斷反應之評估亦如同上所述。

第三部份 以 isobologram 探討 TCA 及 buprenorphine 在療效上之交互作用

(1) 求單獨 buprenorphine 之 ED₅₀: 將不同劑量之 buprenorphine 以取代上述之不同劑量之 TCAs, 重覆以上之實驗。再將所得之劑量反應曲線圖, 轉換成% MPE 圖, 即可利用非線性迴歸法(SAS NLIN)求得單獨 buprenorphine 之 ED₅₀。同樣方法亦可得 desipramine 之 ED₅₀。

(2) 求共同給予 desipramine 及 buprenorphine 之 ED₅₀: 依照上述之方法在第四天早上 9 點, 分別給予不同劑量之 desipramine 和 buprenorphine 混合藥物。分

別為 1/2 ED₅₀ 之 desipramine 及 1/2 ED₅₀ 之 buprenorphine, 1/4 ED₅₀ 之 desipramine 及 1/4 ED₅₀ 之 buprenorphine, 1/8 ED₅₀ 之 desipramine 及 1/8 ED₅₀ 之 buprenorphine, 並以注射 saline 為對照組, 之後戒斷反應之評估亦如同上所述。

如同以上之方法, 亦可求得共同給予 desipramine 及 buprenorphine 時之 ED₅₀。

4. 資料統計與分析:

實驗所得之數值以平均值的標準誤差表示。student's t-test 將被使用在評估每日特定測試時間點之給藥組和對照組之間的差異。當 P 值小於 0.05 視為具有顯著差異。以 isobologram 分析藥物之交互作用, 計算總分率劑量值(total fractional dose value)以判別 desipramine 及 buprenorphine 之間為何種作用。總分率劑量值(10)等於

$$\frac{[(ED_{50} \text{ of X or Y or Z in combination}) / (ED_{50} \text{ of X or Y or Z alone})] + [(ED_{50} \text{ of buprenorphine in combination}) / (ED_{50} \text{ of buprenorphine alone})]}{10}$$

設每一單獨藥物之 ED₅₀ 為 1, 藉此平準化總分率劑量值。若總分率劑量值接近 1, 則表示此兩種藥物之作用情形為 additive interaction; 若大於 1, 則為 antagonistic interaction; 若小於 1, 則為 synergistic interaction。

四、結果與討論:

第一部份 建立誘發嗎啡身體依賴性之動物模式

我們依照實驗方法, 已成功地建立穩定之誘發嗎啡身體依賴性動物模式。在空白組之平均跳躍次數為 78 \pm 9。

第二部份 TCAs 對於誘發嗎啡身體依賴性動物之療效評估

我們利用上述之動物模式, 很有效率地、廣泛性地探討 TCAs 對於誘發嗎啡身體依賴性動物在戒斷上之療效, 其結果如 Fig. 1. 所示。在 30 μ mol/kg 等劑量下, 其中除了 nortriptyline 之效果較不理想之外(% MPE>50), 其餘五種藥物顯示能有效地減

輕小白鼠之跳躍反應(% MPE<50)，其平均 % MPE 分別為 43、16、18、37、45，顯示皆可能為具有發展潛力之藥物。接著我們即以此五種藥物深入探討其劑量反應之間之相關性，其結果如 Fig. 2.所示。劑量反應曲線可發現此五種藥物對於減輕小白鼠之跳躍反應，有隨著劑量之增加而增強之效果。其中又以 desipramine 之強度最強，在 50% MPE 時約只需 0.003 μ mol/kg 之劑量。最有機會發展成為 buprenorphine 之輔助治療藥物。

第三部份 以 isobologram 探討 TCA 及 buprenorphine 在療效上之交互作用

我們求得單獨給予 desipramine、buprenorphine 及共同給予 desipramine 及 buprenorphine 時之 ED₅₀ 分別 0.003005、0.01100、0.0008239、0.003017 μ mol/kg(Fig. 3-6)。其總分率劑量值等於 0.54 表示此兩種藥物之作用情形為 synergistic interaction (Fig. 7)。

五、計畫成果自評：

本研究順利地在第一年中完成建立小鼠之誘發嗎啡身體依賴性之動物模式，利用此客觀方便之動物模式可廣泛性地探討 TCAs 對於誘發嗎啡身體依賴性動物在戒斷上之療效(single use)，發現六種 TCAs 皆有減輕嗎啡戒斷反應之效果，並建立其中五種藥物之劑量反應之相關性。隨後並以其中較有發展潛力之藥物-desipramine，做為 buprenorphine 之輔助治療藥物。在第二年進一步探討 desipramine 和 buprenorphine 合併使用之情形，發現其可增強 buprenorphine 之療效。相信此項研究結果對於減輕嗎啡戒斷反應之相關課題上，將可提供學術上或在臨床上很重要之參考資訊，是一件非常有意義且值得做的事。

六、參考文獻

1. SE Robinson.: Buprenorphine: An analgesic with an expanding role in the treatment of opioid addiction. CNS Drugs 2002; 8: 377-390.
2. BA DiPaula, PD, BCPP, et al.: Heroin

detoxification with buprenorphine on an inpatient psychiatric unit. J. Subst. Abuse Treat. 2002; 23: 163-169.

3. S Petitjean, R Stohler, JJ Déglon, et al.: Double-blind randomized trial of buprenorphine and methadone in opiate dependence. Drug Alcohol Depen. 2001; 62: 97-104.

4. DA Fiellin, MV Pantalon, JP Pakes, et al.: Treatment of heroin dependence with buprenorphine in primary care. Am. J. Drug Alcohol Abuse 2002; 28: 231-241.

5. F Chen, AJ Lawrence.: Chronic antidepressant treatment causes a selective reduction of μ -opioid receptor binding and functional coupling to G proteins in the amygdala of Fawn-Hooded rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004; 310: 1020-1026.

6. AM Gray, PS Spencer, RDE Sewell.: The involvement of the opioidergic system in the antinociceptive mechanism of action of antidepressant compounds. Br. J. Pharmacol. 1998; 124: 669-674.

7. J Sawynok, AR Reid, MJ Esser.: Peripheral antinociceptive action of amitriptyline in the rat formalin test: Involvement of adenosine. Pain 1999; 80: 45-55.

8. E Contreras, L Tamayo, L Quijada.: Effects of tricyclic compounds and other drugs having a membrane stabilizing action on analgesia, tolerance to and dependence on morphine. Arch. Int. Pharmacodyn. 1977; 228: 293-299.

9. L Lu, WJ Su,; W Yue, et al.: Attenuation of morphine dependence and withdrawal in rats by venlafaxine, a serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor. Life Sci. 2001; 69: 37-46

10. T Nishiyama, K Hanaoka.: Intrathecal and bupivacaine have

synergistic analgesia for acute thermally or inflammatory-induced pain in rats. *Anesth. Analg.* 2004; 98: 1056-1061.

附圖：

Figure Legends

Figure 1 The effect of six different TCAs on morphine dependence on an equimolar basis of 30 $\mu\text{mol/kg}$. Six mice were used at each testing and all mice received only one injection of naloxone. Values are expressed as mean \pm SEM. The volume of injection was 3 mL/kg.

Figure 2 The dose-response study of five different TCAs for the treatment of morphine dependence. Six mice were used at each time-point of testing and all mice received only one injection of naloxone. The volume of injection was 3 mL/kg. Values are expressed as mean \pm SEM. ● amitriptyline、○ amoxapine、▼ clomipramine、△ desipramine and ■ protriptyline.

Figure 3 The dose-response cure of single desipramine in mice. The dose-response curve was fitted by a nonlinear regression method (SAS NLIN).

Figure 4 The dose-response cure of single buprenorphine in mice. The dose-response curve was fitted by a nonlinear regression method (SAS NLIN).

Figure 5 The dose-response cure of combination desipramine in mice. The dose-response curve was fitted by a nonlinear regression method (SAS NLIN).

Figure 6 The dose-response cure of combination buprenorphine in mice. The dose-response curve was fitted by a nonlinear regression method (SAS NLIN).

Figure 7 Isobolographic analysis of drug interaction. Data points on the x and y axes indicate the $\text{ED}_{50\text{s}}$ of drugs alone. The symbol ■ mean the experimental ED_{50} of combined drug.

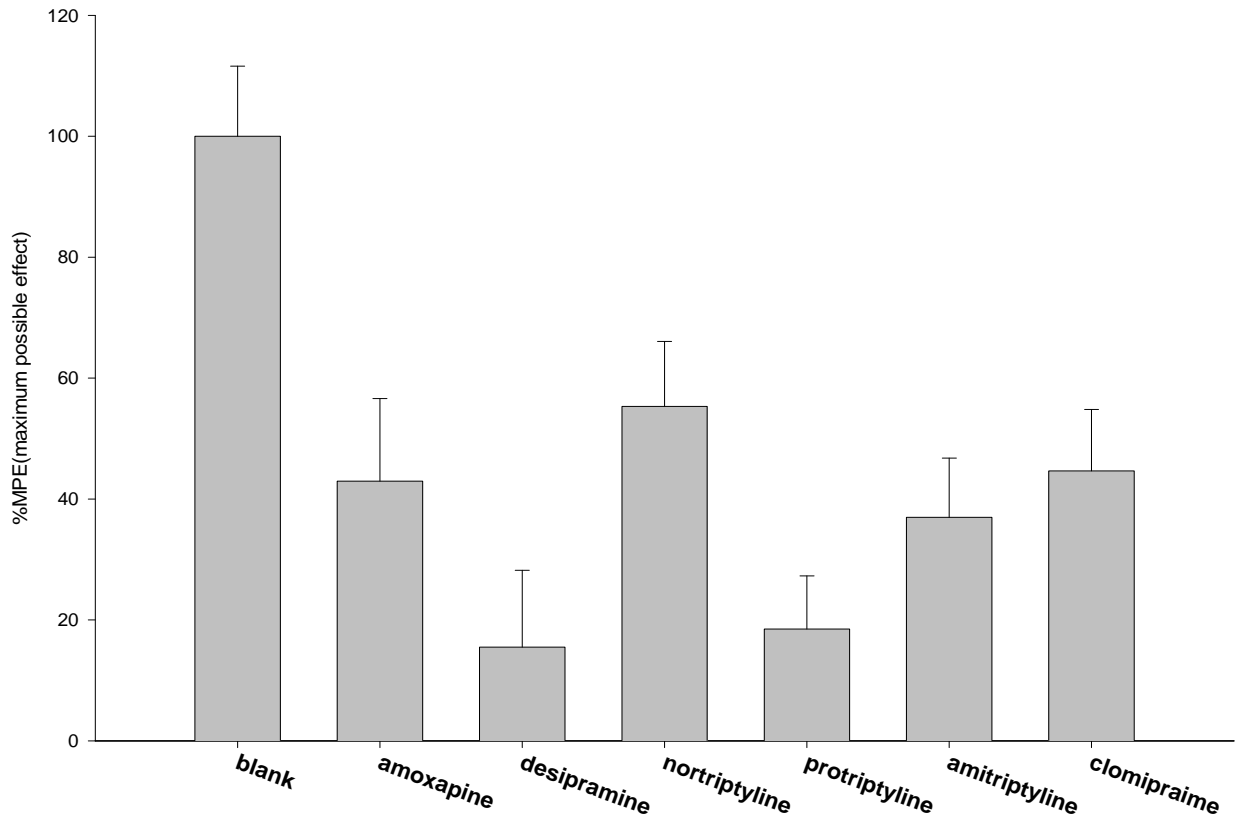


Fig. 1

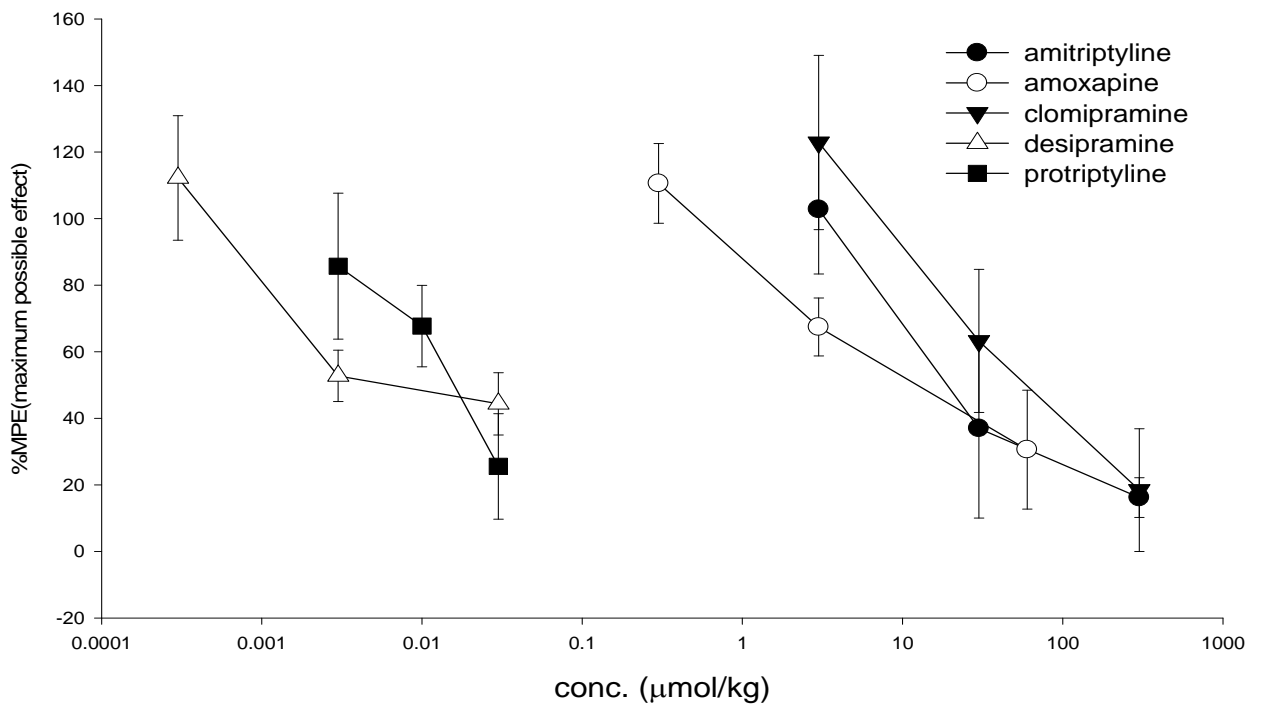


Fig. 2

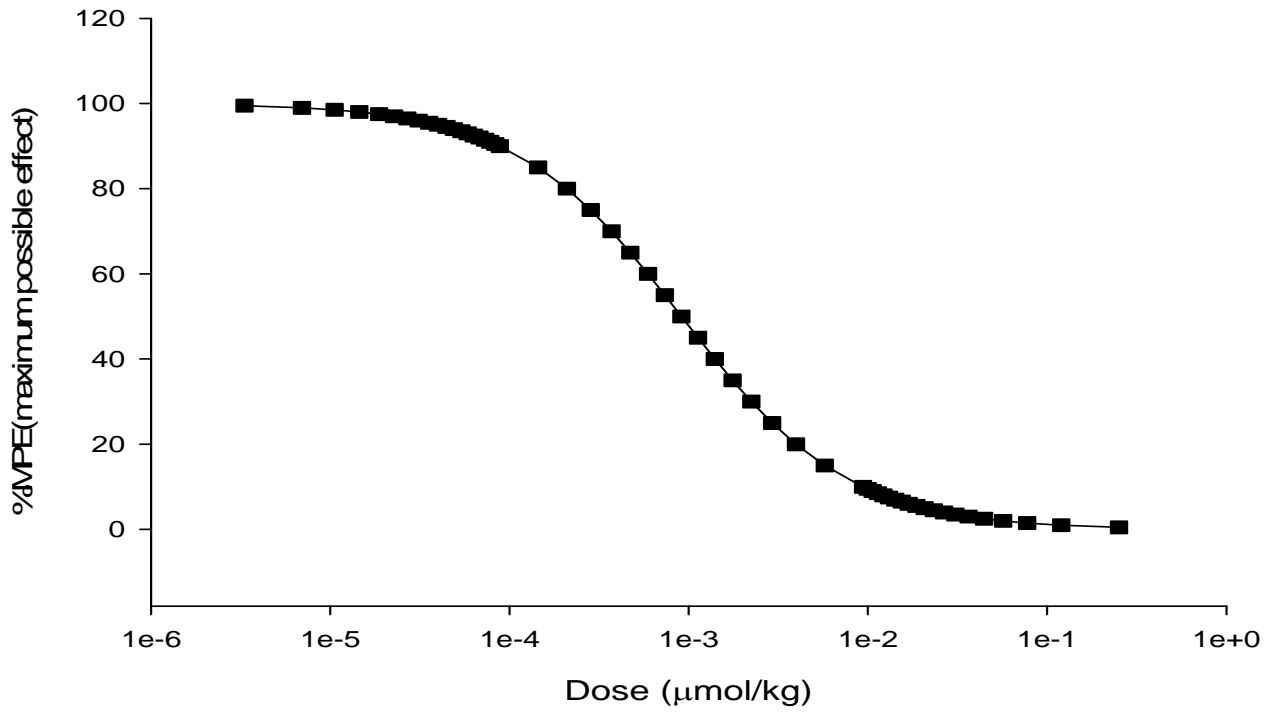


Fig. 3

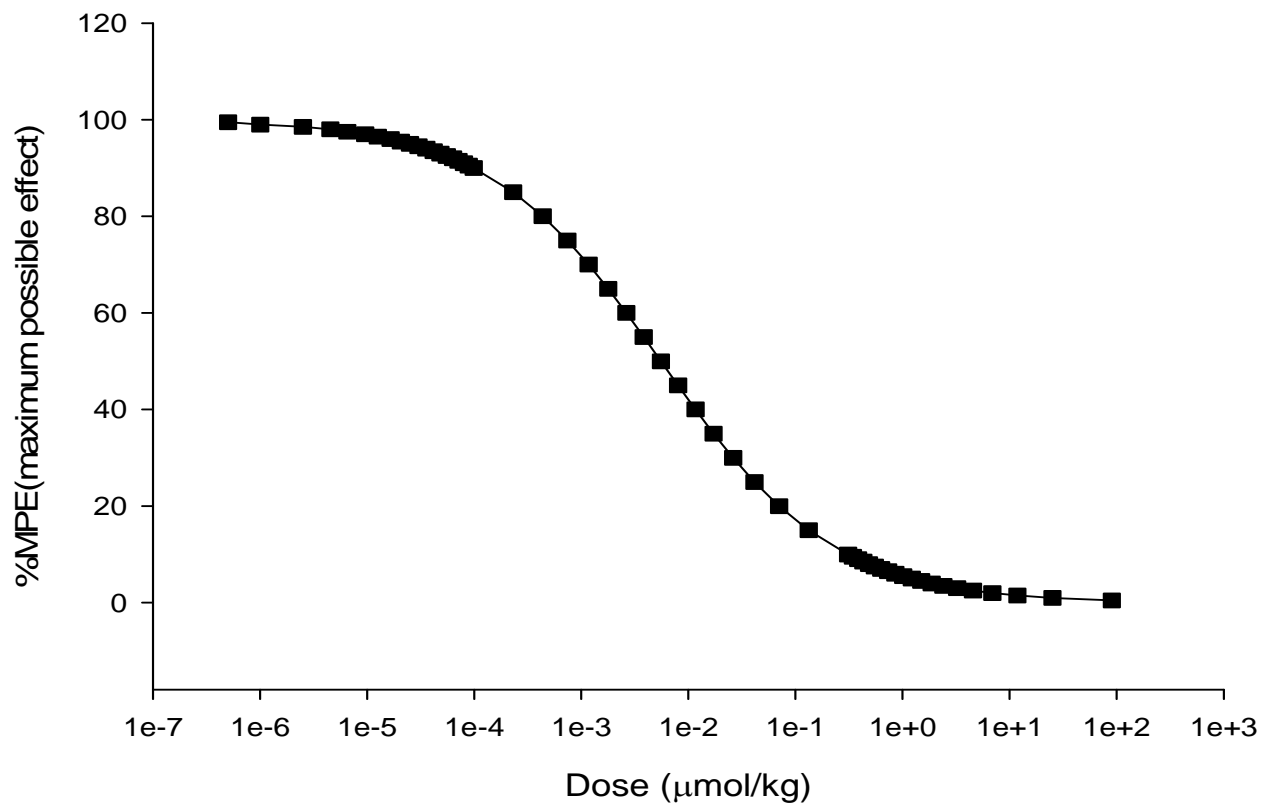


Fig. 4

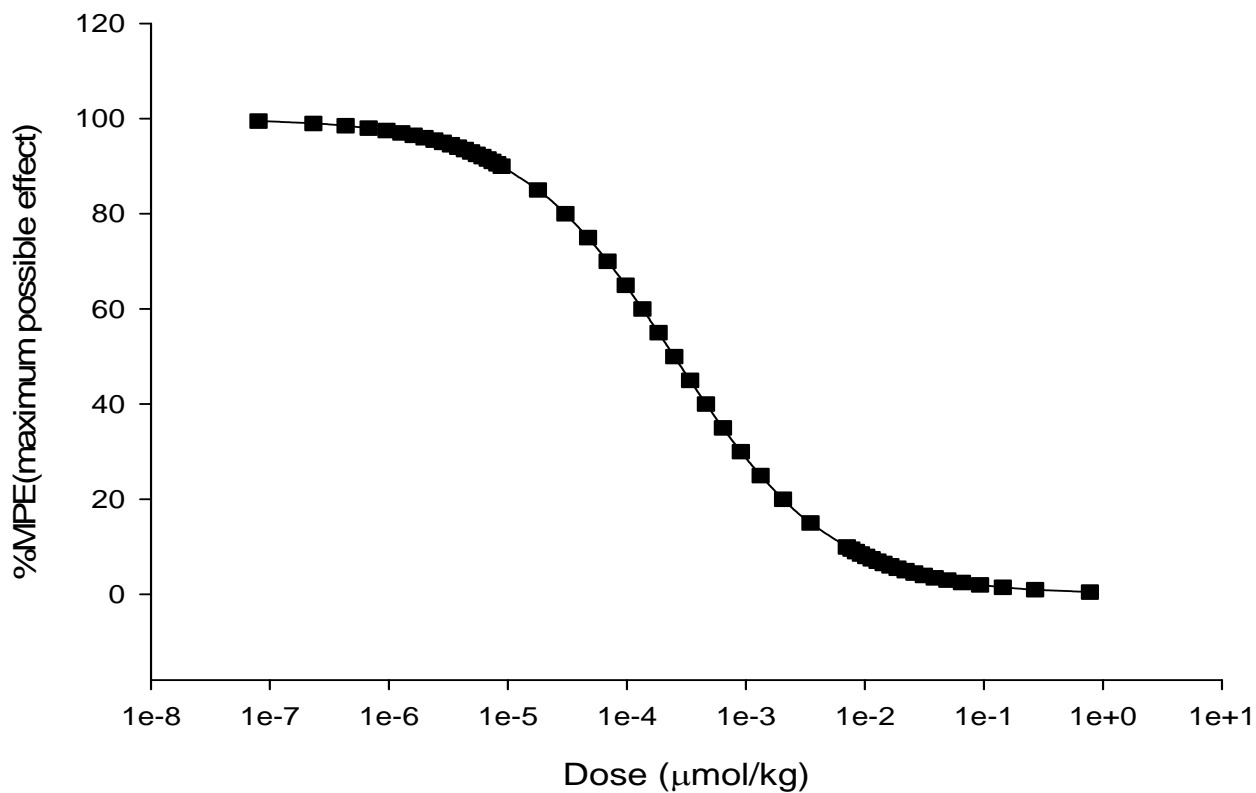


Fig.5

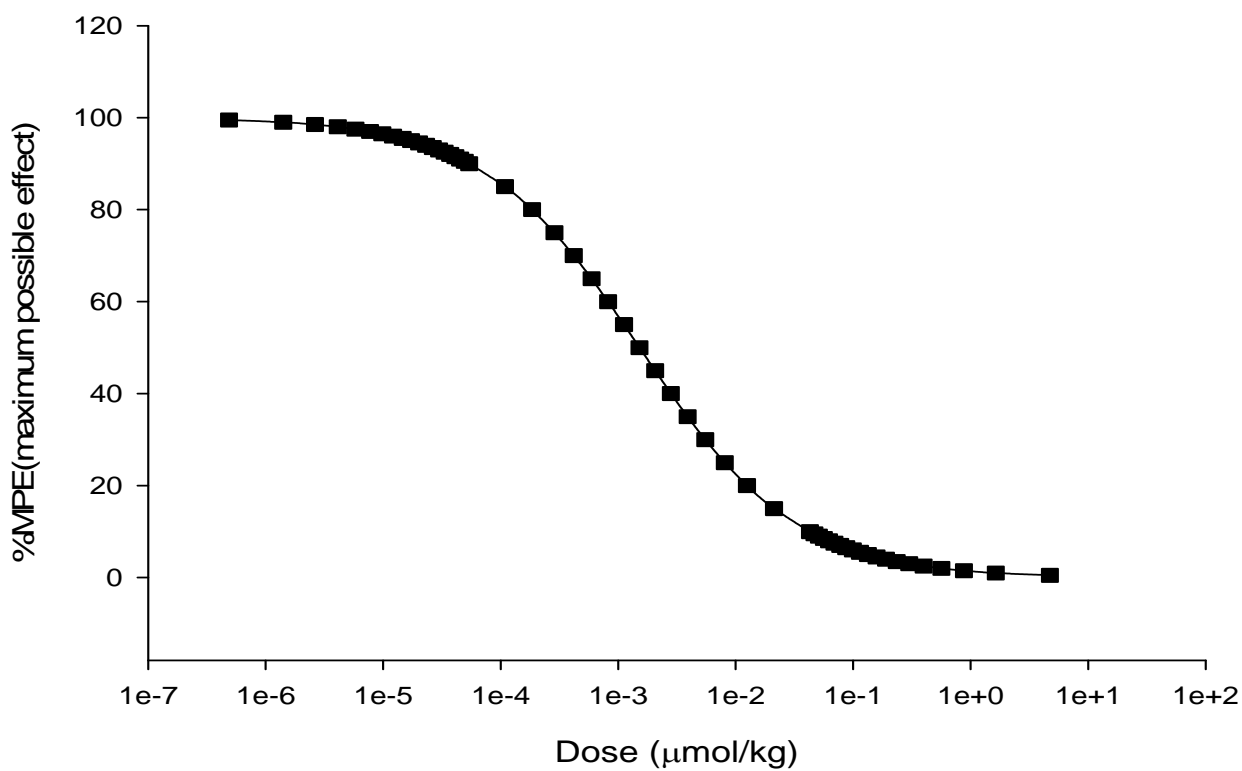


Fig. 6

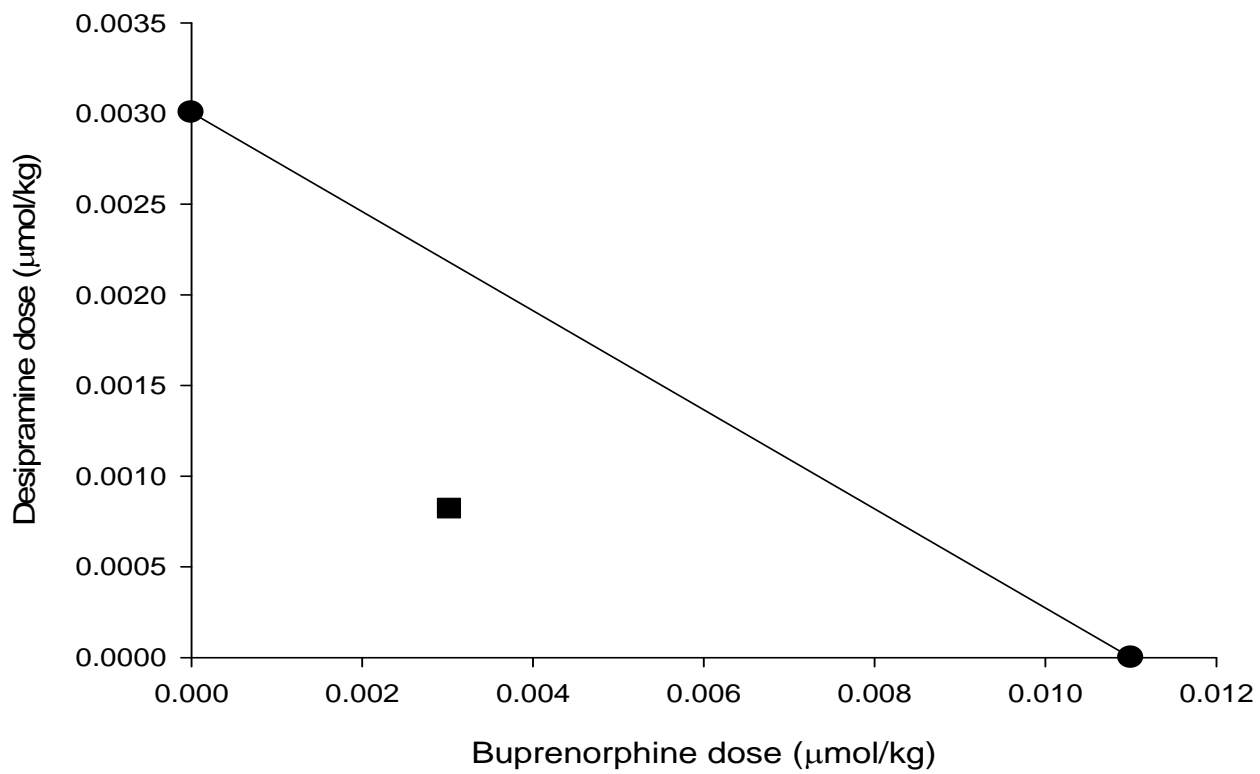


Fig. 7