坦度螺酮改善芬太尼致呼吸抑制并增强镇痛镇静作用的研究

黄明智[1,2], 雍 政[2*], 苏瑞斌[1,2*]

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 军事医学研究院, 北京 100850)

摘要: 评价坦度螺酮 (tandospirone, TS) 对芬太尼 (fentanyl, FEN) 致呼吸抑制的改善作用及对其镇痛镇静效应影响。以芬太尼建立大鼠呼吸抑制模型, 检测呼吸频率 (respiratory frequency, F)、潮气量 (tidal volume, TV)、呼气量 (expired volume, EV)、气道阻力 (enhanced pause, PENH) 与检测血氧饱和度 (oxygen saturation, SaO_2); 选择醋酸扭体、热板和自发活动模型检测小鼠扭体次数、反应时间及运动距离; 翻正反射实验检测大鼠消失率及制动时间 (本实验获得军事医学研究院实验动物管理与使用委员会批准, 批准号: IACUC-2023-001C)。结果显示与呼吸抑制模型组比较, 坦度螺酮预防及治疗给药显著改善F值、TV值、EV值、PENH值变化幅度与SaO_2的降低, 表明TS改善FEN致呼吸抑制。TS单用及与FEN联用后显著减少扭体次数与运动总距离, 增加最大镇痛百分率 (maximmal possible effect, MPE), 表明TS本身镇痛镇静并增加FEN的镇痛镇静作用; 翻正反射消失半数有效量 (median effect concentration, EC_{50}) 增加和制动时间减少, 进一步证实TS预处理对FEN中毒具有较明显的保护效应。以上结论表明, 坦度螺酮能有效改善芬太尼所致呼吸抑制, 其本身具有镇静镇痛作用, 与芬太尼联用可以增强芬太尼的镇痛镇静作用, 作为非阿片类药物改善阿片类药物致呼吸抑制值得进一步开发研究。

关键词: 坦度螺酮; 芬太尼; 呼吸抑制; 镇痛; 镇静作用

中图分类号: R964 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)07-2237-09

Tandospirone ameliorates fentanyl-induced respiratory depression and potentiates analgesic and sedative effects

HUANG Ming-zhi[1,2], YONG Zheng[2*], SU Rui-bin[1,2*]

(*1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;*
2. Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: To evaluate the effect of tandospirone (TS) on fentanyl (FEN)-induced respiratory depression and its impact on fentanyl's analgesic and sedative effects, a rat model of respiratory depression was established using FEN. After drug administration, respiratory frequency (F), tidal volume (TV), expiratory volume (EV), and enhanced pause (PENH) were measured using plethysmography. Blood oxygen saturation (SaO_2) was measured using a non-invasive pulse meter. The acetic acid writhing test, hot-plate test, and spontaneous activity test were used to evaluate the number of writhes, reaction time, and locomotor activity in mice. The righting reflex test was used to measure the loss rate and immobility time in rats [this experiment was approved by the Institute of Military Medicine Experimental Animal Management and Utilization Committee (approval number: IACUC-2023-001C)]. Compared with the respiratory depression model group (FEN 160 μg·kg^{-1}), the changes of F, TV, EV, PENH, SaO_2 in rats at the same time points after pre-treatment and treatment of different doses of TS were improved. TS (2 mg·kg^{-1}) and TS+FEN groups reduced the number of writhing movements, total distance of spontaneous activity and increased the maximmal possible effect (MPE), indicating that TS has its own analgesic and sedative effect and enhances the analgesic and sedative effect of FEN. The increase in the median effective concentration (EC_{50}) of loss

收稿日期: 2025-04-29; 修回日期: 2025-05-19.
*通讯作者 E-mail: yongzhabc@126.com; ruibinsu@126.com
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0496

of the righting reflex (LORR) and the reduction in immobilization time confirm that preconditioning with TS has a protective effect against FEN poisoning. In conclusion, TS ameliorates FEN-induced respiratory depression, and it possesses inherent sedative and analgesic effects. When co-administered with FEN, TS can enhance the analgesic and sedative effects of FEN. TS could serve as a non-opioid medication to improve opioid-induced respiratory depression and warrants further development and research.

Key words: tandospirone; fentanyl; respiratory depression; analgesia; sedation

阿片类药物, 包括从罂粟植物提取的吗啡、可待因及合成或半合成物质如芬太尼 (fentanyl, FEN) 和氢吗啡酮, 通过激活阿片受体产生镇痛和镇静效果[1], 临床广泛应用于治疗急性疼痛和术后疼痛[2]。近年来这类药物的非医疗使用急剧增加, 美国相关死亡病例翻倍, 凸显了全球性药物滥用危机[3]。呼吸抑制是这类药物致死的主要原因[4], 术后患者在使用阿片类药物后面临高致命性呼吸抑制的风险[5]。目前临床选择阿片受体特异性拮抗剂如纳洛酮用于逆转术后阿片类药物包括呼吸抑制在内的不良反应, 但其效果在多种过量情形下受限, 且存在逆转时引发急性戒断反应的局限性[6,7]。因此急需开发一种既能逆转呼吸抑制又不影响镇痛或镇静效果的新型治疗药物。

文献[8]证据表明, 5-羟色胺1A (5-hydroxytryptamine 1A, 5-HT_{1A}) 受体在脑中表达广泛, 与阿片受体可能共同存在调控呼吸的关键部位, 并对下行疼痛通路产生抑制。因此5-HT_{1A}受体激动剂逆转阿片类药物导致的呼吸抑制和暂停的同时可能不影响其镇痛效果, 在改善阿片类药物致呼吸抑制方面具有发展潜力。

坦度螺酮 (tandospirone, TS) 对5-HT_{1A}受体具有高度选择性和亲和性, 通过作用于大脑边缘系统与情绪调节密切相关的区域如海马、杏仁核等及投射5-HT能神经的中缝核, 激动5-HT_{1A}自身受体调节从中缝核投射至海马的5-HT, 抑制5-HT的合成和释放, 引起细胞超极化, 降低神经元的兴奋性产生抗焦虑作用; 长期应用TS可使5-HT_{1A}受体向下调节产生抗抑郁作用。TS是临床上具有显著作用的新型抗焦虑和抗抑郁药物[9], 具有低不良反应[10]。本研究拟采用FEN作为工具药物诱导大鼠建立呼吸抑制模型, 通过肺功能参数及血氧饱和度 (oxygen saturation, SaO_2) 检测, 系统评价TS预防和治疗改善模型大鼠呼吸抑制的量效时效关系, 同时采用小鼠醋酸扭体、热板实验、自发活动实验和大鼠翻正反射实验观察TS对FEN的镇痛镇静效果的影响。

材料与方法

药物、主要试剂和仪器 TS (批号T001-1027719), 上海陶术生物科技有限公司; FEN (批号091023), 军事医学研究院毒物药物研究所合成; 乙酸溶液 (批号20210129), 国药集团化学试剂有限公司; 生理盐水 (批号1802243205), 石家庄四药有限公司; EMKA清醒动物肺功能检测仪 (EMKA Whole Body Plethysmograph System), 北京艾慕卡生物技术有限公司; Mouse Ox小动物无创脉搏仪 (SLS-MP-00016), 美国Starr Life Sciences公司; 冷热板测痛仪 (35150-001), 上海玉研科学仪器有限公司; 自发活动仪器 (Anilab, Cat#AES-210), 宁波安来科学仪器有限公司。

动物 SPF级雄性SD大鼠, 体重为180～220 g, SPF级雌/雄性昆明小鼠, 体重18～22 g, 均购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 生产许可证号为SCXK (京) 2019-0008。动物于SPF级环境中适应性饲养3天, 室温25 ± 1 ℃, 12 h/12 h光/暗循环, 湿度40%～60%, 动物自由摄取食物和水。动物实验均获得军事医学研究院实验动物管理与使用委员会批准 (批准号: IACUC-2023-001C)。

大鼠肺功能参数检测 实验设置预防/治疗给药两种方式, FEN均为160 μg·kg^{-1}, 每组5只。预防给药设置模型 (FEN) 组和TS预防 (TS + FEN) 组: 模型组静脉注射 (iv) 给予FEN; TS预防组iv给予TS (0.5、1.0、2.0、4.0 mg·kg^{-1}), 5 min后iv给予FEN。治疗给药设置模型 (FEN) 组和TS治疗 (FEN + TS) 组: 模型组iv给予FEN, 5 min后iv给予生理盐水; TS治疗组iv给予FEN, 5 min后iv给予TS (各剂量同TS预防组)。

检测前将大鼠提前放入仪器舱内适应, 稳定后连续测定20 min肺功能参数[呼吸频率 (respiratory frequency, F)、潮气量 (tidal volume, TV)、呼气量 (expired volume, EV) 和呼吸气道阻力 (enhanced pause, PENH)]基础值, 每组大鼠给药后持续记录数据60 min。

大鼠SaO_2检测 实验设置预防/治疗给药两种给药方式: FEN均为80 μg·kg^{-1}, 每组6只, 实验分组及处理方式同大鼠肺功能参数检测。

实验前将红外脉搏血氧仪传感器颈动脉夹放置于大鼠两侧颈动脉适应至少30 min。稳定后记录有效SaO_2基础值, 大鼠按处理方案给药后连续记录SaO_2。给药后动物每5 min检测一次, 每次15 s, 持续检测60 min。

小鼠醋酸扭体实验 雄性昆明小鼠随机分为模

型 (vehicle) 组、TS 组、FEN 组和 TS + FEN (联合用药) 组, 每组 10 只。模型组 iv 给予生理盐水; TS 组 iv 给予 2.0 mg·kg^{-1} TS, 5 min 后 iv 给予生理盐水; FEN 组 iv 给予 FEN (5、10、15 μg·kg^{-1}); TS + FEN 组 iv 给予 2.0 mg·kg^{-1} TS, 5 min 后 iv 给予 FEN (各剂量同 FEN 组)。

动物按处理方案注射药物, 5 min 后再对每只小鼠 ip 给予 0.6% 醋酸溶液, 观察并记录 15 min 内扭体次数。以扭体药物抑制率评估测试药物在醋酸扭体疼痛模型中的镇痛效应, 计算公式为: 扭体药物抑制率= 100%× (空白组扭体次数−给药组扭体次数)/空白组扭体次数。

小鼠热板实验 雌性昆明小鼠按照基础痛阈值进行均衡分组, 分组及给药处理同醋酸扭体实验。

实验开始前将小鼠放进冷热板中适应 30 min, 设置温度为 55 ± 0.5 ℃, 温度稳定后将小鼠放进装置并计时, 观察小鼠后肢出现舔足/跳跃行为的时间, 每只小鼠测试两遍, 测试间隔至少 30 min, 以检测均值作为基础痛阈值, 合格小鼠基础痛阈值范围在 5～30 s, 最长测试时间为 60 s。每组动物按处理方案给药后间隔 10 min 进行痛阈值测试。最大镇痛 (maximmal possible effect, MPE) 百分率计算公式为: 100%×[(给药后痛阈值−基础痛阈值)/(60−基础痛阈值)]。

小鼠自发活动实验 雄性昆明小鼠分组及给药处理同醋酸扭体实验。

动物按处理方案给药后放入自发活动箱中自由活动 1 h, 记录小鼠期间的运动总距离和分时运动距离。每只小鼠测试后用 75% 酒精擦拭底板及内侧, 散味 10 min 后开始下组实验。

大鼠翻正反射实验 翻正反射实验分为消失率检测与制动时间检测。消失率检测: 雄性 SD 大鼠随机分为 FEN 组和 TS + FEN (联合用药) 组, 每组 5 只。FEN 组 iv 给予 FEN (10.0、12.5、15.0、17.5、20.0 μg·kg^{-1}); TS + FEN 组 iv 给予 2.0 mg·kg^{-1} TS, 5 min 后 iv 给予 FEN (12.5、15.0、17.5、20.0、25.0 μg·kg^{-1})。制动时间检测: 雄性 SD 大鼠随机分成 FEN 组和 TS + FEN 组 (联合用药组), 每组 5 只。FEN 组 iv 给予 80 μg·kg^{-1} FEN; TS + FEN 组 iv 给予 2.0 mg·kg^{-1} TS, 5 min 后 iv 给予 80 μg·kg^{-1} FEN。

消失率: 动物按处理方案给药后, 记录大鼠仰卧位维持时间, 维持时间超过 60 s 则视为该只动物翻正反射消失。消失率=100%×翻正反射消失动物数/每组实验动物总数, 并以消失率拟合半数有效量 (median effect concentration, EC_{50})。制动时间: 实验动物按处理方案给药后, 采用仰卧位将大鼠放入笼中, 记录大鼠翻正反射开始消失至恢复的时间。以制动时间的变化评估药物的镇静效应。

统计学分析 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 GraphPad Prism 10.0 软件对数据进行统计学处理, 肺功能参数与 SaO_2 结果中模型组与其他实验组间采用重复测量双因素方差分析和 Bonferroni 后检验; 醋酸扭体与自发活动结果中模型组、TS 组、FEN 组和 TS + FEN 组之间采用双因素方差分析和 Bonferroni 后检验。热板实验反应时间结果中 TS 组、FEN 组和 TS + FEN 组每组动物给药前后采用配对 t 检验; SaO_2 结果中曲线下面积、MPE 结果中 FEN 组与 TS + FEN 对应组之间采用单因素方差分析和 Bonferroni 后检验。自发活动分时运动距离模型组与其他实验组间采用重复测量双因素方差分析和 Bonferroni 后检验。翻正反射实验结果中以消失率拟合计算半数有效量; 制动时间实验结果中 FEN 组与 TS + FEN 组之间采用 student t 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结果

1 TS 对 FEN 致呼吸抑制大鼠肺功能参数的影响

1.1 TS 预防给药 iv 给予 160 μg·kg^{-1} FEN 后 5 min, 如图 1A 所示, 模型组 (FEN) 大鼠 F 由基础值 (113 ± 18) 次降至 (50 ± 20) 次, 降幅为 55.75%; 如图 1B 所示, TV 由 (1.108 ± 0.204) mL 降至 (1.000 ± 0.100) mL, 降幅为 9.75%; 如图 1C 所示, EV 由 (1.036 ± 0.146) mL 升至 (1.052 ± 0.133) mL, 增幅为 1.54%; 如图 1D 所示, PENH 由 (0.926 ± 0.224) 升至 (2.858 ± 1.285), 增幅为 208.64%。表明 FEN 对大鼠呼吸作用产生显著抑制作用, 成功建立模型。

预先给予不同剂量 TS 均可以剂量依赖地翻转呼吸抑制大鼠肺功能参数的变化, 经 TS 处理后 5 min 与模型组相同时间点比较, 2.0 mg·kg^{-1} TS + FEN 组 F 和 TV 改善效果最显著: F 降幅为 12.00% ($P < 0.05$), TV 降幅为 3.57%; 1.0 mg·kg^{-1} TS + FEN 组 EV 与 PENH 改善效果最显著: EV 降幅为 14.29%, PENH 增幅为 8.30%。

模型组与预防组的 F 降幅比高达 4.6∶1, TV 降幅比高达 2.7∶1, EV 给药前后变化趋势翻转, 其变化幅度 0.1∶1, PENH 增幅比为 25.1∶1, 提示 TS 预防给药可明显对抗呼吸抑制大鼠肺功能参数的变化。

1.2 TS 治疗给药 治疗给药实验中, iv 给予 160 μg·kg^{-1} FEN 后, 如图 2A 所示, 模型组 (FEN) 大鼠 F 由 (113 ± 19) 次降至 (58 ± 13) 次; 如图 2B 所示, TV 由 (0.846 ± 0.061) mL 降至 (0.724 ± 0.119) mL; 如图 2C 所示, EV 由 (0.848 ± 0.065) mL 降至 (0.728 ± 0.111) mL; 如图 2D 所示, PENH 由 (1.058 ± 0.203) 升至 (1.496 ± 0.567)。

给药后模型组 F 增幅为 79.31%, TV 降幅为

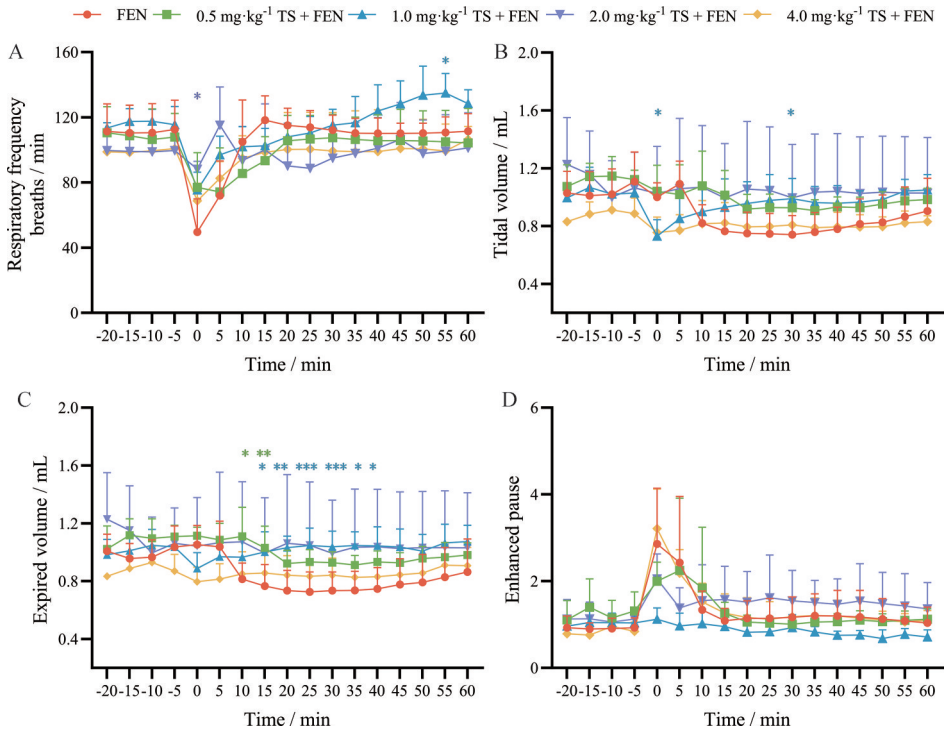


Figure 1 Pre-treatment with TS attenuates FEN-induced respiratory depression with WBP recordings in rats. A−D: Effect of TS on F/TV/EV/PENH of FEN-induced respiratory depression. The F/TV/EV/PENH of each rat was measured for 20 minutes as baseline, the rats were administered intravenous TS (0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg·kg^{-1}) and monitored continuously for 60 min after FEN injection (160 μg·kg^{-1}). n = 5, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ *vs* FEN group. TS: Tandospirone; FEN: Fentanyl; WBP: Whole-body plethysmographic; F: Respiratory frequency; TV: Tidal volume; EV: Expired volume; PENH: Enhanced pause

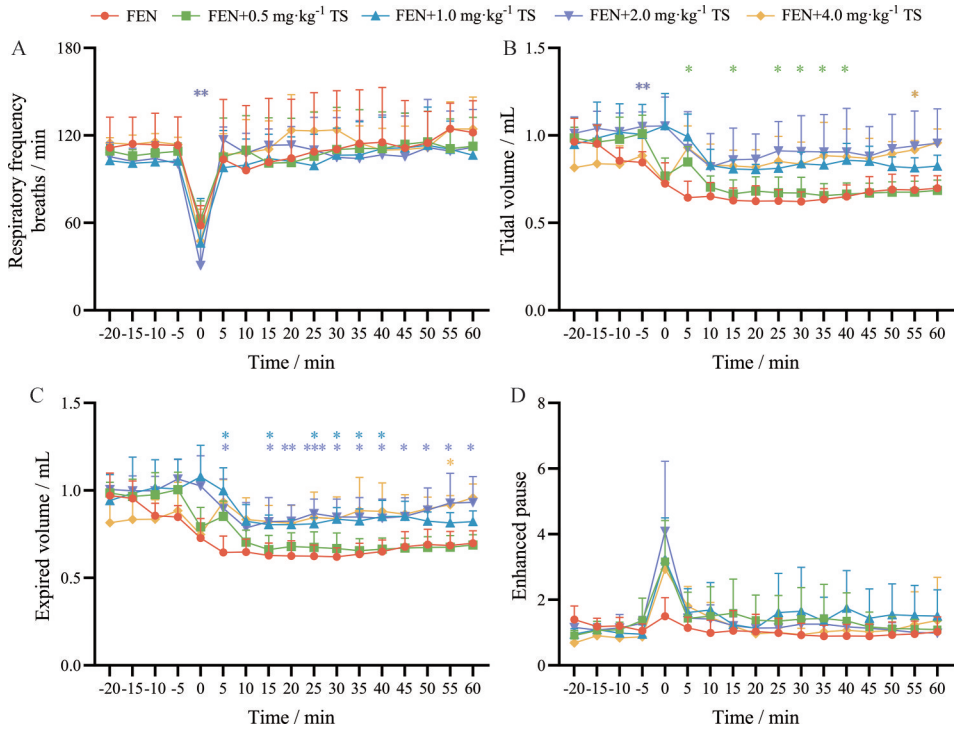


Figure 2 Treatment with TS attenuates FEN-induced respiratory depression with WBP recordings in rats. A−D: Effect of TS on F/TV/EV/PENH of FEN-induced respiratory depression. The F/TV/EV/PENH of each rat was measured for 20 minutes as baseline, the rats were administered intravenous FEN (160 μg·kg^{-1}) and monitored continuously for 60 min after TS (0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg·kg^{-1}). n = 5, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ *vs* FEN group

11.05%, EV 降幅为 11.26%, PENH 降幅为 23.53%。经不同剂量 TS 治疗, 2.0 mg·kg^{-1} TS+FEN 组 F 与 PENH 改善效果最显著: F 增幅为 277.42%, PENH 降幅为 64.71%; 4.0 mg·kg^{-1} TS+FEN 组 TV 和 EV 改善效果最显著: TV 增幅为 27.40%, EV 增幅为 24.87%。

治疗组与模型组相比, F 增幅比为 3.5∶1, TV 和 EV 变化趋势均翻转, 其变化幅度比分别为 2.5∶1 与 2.2∶1, PENH 降幅比为 2.8∶1, 提示 TS 治疗给药可明显对抗呼吸抑制大鼠肺功能参数的变化。

肺功能参数实验结果提示 TS 对 FEN 致肺功能参数的变化具有改善作用。

2 TS 提高对 FEN 致呼吸抑制大鼠 SaO_2

2.1 TS 预防给药 如图 3 所示, 预防给药实验 iv 给予 80 μg·kg^{-1} FEN 后, 模型组 (FEN) 大鼠 SaO_2 由基础值 (94.2 ± 0.8)%降至 (44.9 ± 8.3)%, 降幅为 52.3%, 表明 FEN 对大鼠呼吸产生显著抑制作用。预先给予不同剂量 TS 均翻转呼吸抑制大鼠 SaO_2 的降低: 2.0 mg·kg^{-1} TS 预处理后改善效果最显著, 相同时间点 SaO_2 从 (94.5 ± 1.3)%仅降至 (72.3 ± 12.6)% ($P < 0.01$), 降幅为 23.5%。模型组与 2.0 mg·kg^{-1} TS 预防组 SaO_2 降幅比高达 2.2∶1, 提示 TS 预防给药可明显对抗呼吸抑制大鼠 SaO_2 的降低。

2.2 TS 治疗给药 如图 4 所示, iv 给予 80 μg·kg^{-1} FEN 后, 大鼠 SaO_2 从 (95.5 ± 0.8)%降至 (44.8 ± 14.1)%, 20 min 后给予生理盐水治疗, 模型组 (FEN) SaO_2 由 (59.8 ± 9.8)%增加至 (68.2 ± 3.7)%, 增幅为 14.0%, 表明 FEN 具有显著的呼吸抑制作用。FEN 给药后 20 min 经 TS 治疗均剂量依赖地翻转呼吸抑制大鼠 SaO_2 的降低。2.0 mg·kg^{-1} TS 治疗效果最显著: SaO_2 从 (58.4 ± 5.4)%恢复至 (87.1 ± 3.2)%, 增幅为 49.1% ($P < 0.01$)。与模型组相比, 治疗组在相同时间点 SaO_2 明显升高并加快 FEN 致 SaO_2 降低的恢复进程。2.0 mg·kg^{-1} TS + FEN 组与模型组增幅比高达 3.5∶1, 提示了 TS 治疗给药可明显对抗呼吸抑制大鼠 SaO_2 的降低。

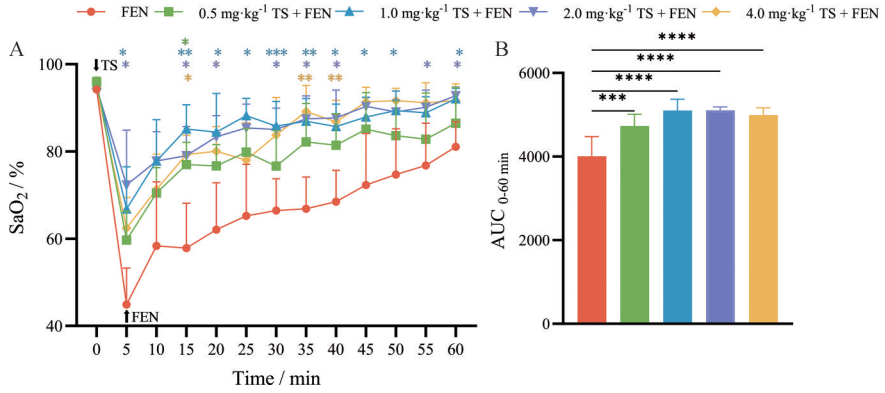


Figure 3 Pharmacodynamic ability of TS to ameliorate FEN-induced respiratory depression. Pre-treatment with TS attenuated the FEN-induced reduction of SaO_2 in rats. A: The rats were administered intravenous TS (0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg·kg^{-1}) and monitored continuously for 60 min at 5-minute intervals after FEN (80 μg·kg^{-1}); B: The area under the curve for each experimental group. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$. SaO_2: Oxygen saturation

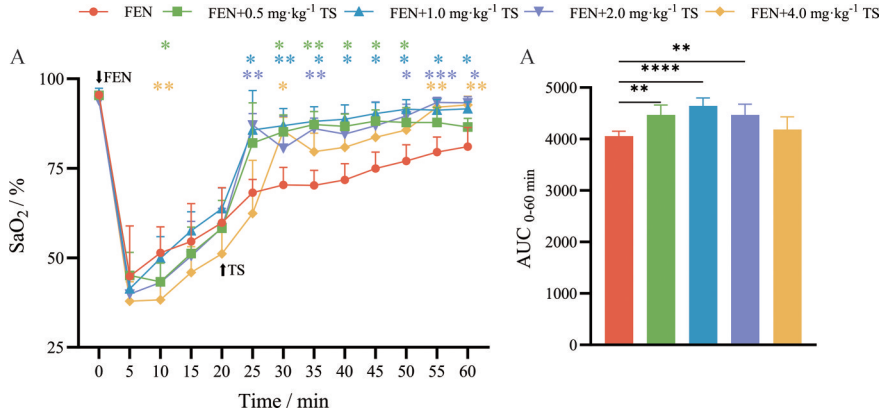


Figure 4 Pharmacodynamic ability of TS to ameliorate FEN-induced respiratory depression. Treatment with TS attenuated the FEN-induced reduction of SaO_2 in rats. A: The rats were administered intravenous FEN (80 μg·kg^{-1}) and monitored continuously for 60 min at 5-minute intervals after TS (0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mg·kg^{-1}); B: The area under the curve for each experimental group. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$

SaO_2实验结果提示TS对FEN致SaO_2的降低具有改善作用。

3 TS对FEN镇痛作用的影响

3.1 醋酸扭体实验 如图5所示, 与模型组相比, TS单药组扭体次数显著降低至 (10.5 ± 8.6) 次 (P < 0.000 1), 药物抑制率为70.25%, 提示TS本身具有镇痛作用。与5 μg·kg^{-1} FEN组相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS处理后的扭体次数显著降低至 (5.8 ± 6.4) 次 (P < 0.01), 抑制率增幅为137.9%; 与10 μg·kg^{-1} FEN组相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS处理后的扭体次数显著降低至 (3.7 ± 4.5) 次 (P < 0.05), 抑制率增幅为49.8%; 与15 μg·kg^{-1} FEN组相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS处理后药物抑制率增幅为5.4%。

扭体次数的减少及药物抑制率的增加提示TS本身具有镇痛作用以及与FEN联合使用增加FEN的镇痛作用。

3.2 热板实验 如图6A所示, 与基础值相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS组小鼠反应时间显著上升至 (26.76 ± 6.45) min (P < 0.01), 表明2.0 mg·kg^{-1} TS产生镇痛作用; 5 μg·kg^{-1} FEN组反应时间上升至 (20.55 ± 8.78) min, 10、15 μg·kg^{-1} FEN组反应时间分别显著上升至 (26.15 ± 10.38) min (P < 0.05) 和 (38.70 ± 16.55) min (P < 0.01), 提示10、15 μg·kg^{-1} FEN产生镇痛作用; TS + FEN各组反应时间分别显著上升至 (34.16 ± 16.46) min (P < 0.01)、(42.49 ± 12.87) min (P < 0.01) 和 (44.6 ± 14.08) min (P < 0.01), 表明TS + FEN各组产生镇痛作用。

MPE结果如图6B所示, FEN单药组与联合组相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS处理后各组MPE均增加, 提示2.0 mg·kg^{-1} TS增加FEN的镇痛作用。TS处理后反应时间的增加及MPE结果提示TS本身具有镇痛作用以及增加FEN的镇痛作用。

4 TS对FEN镇静作用的影响

4.1 自发活动实验 如图7A～C所示, 模型组小鼠运动总距离为 (5 059 ± 2 258) cm。与模型组相比, TS+FEN (10、15 μg·kg^{-1}) 组总距离显著降低。与FEN组 (5、10、15 μg·kg^{-1}) 相比, 2.0 mg·kg^{-1} TS处理后总距离显著降低至 (2 706 ± 890) cm (P < 0.01)、(2 487 ± 901) cm (P < 0.000 1) 与 (2 365 ± 1 164) cm (P < 0.000 1)。如图7D与图8运动轨迹图所示, TS单用后及联合给药后

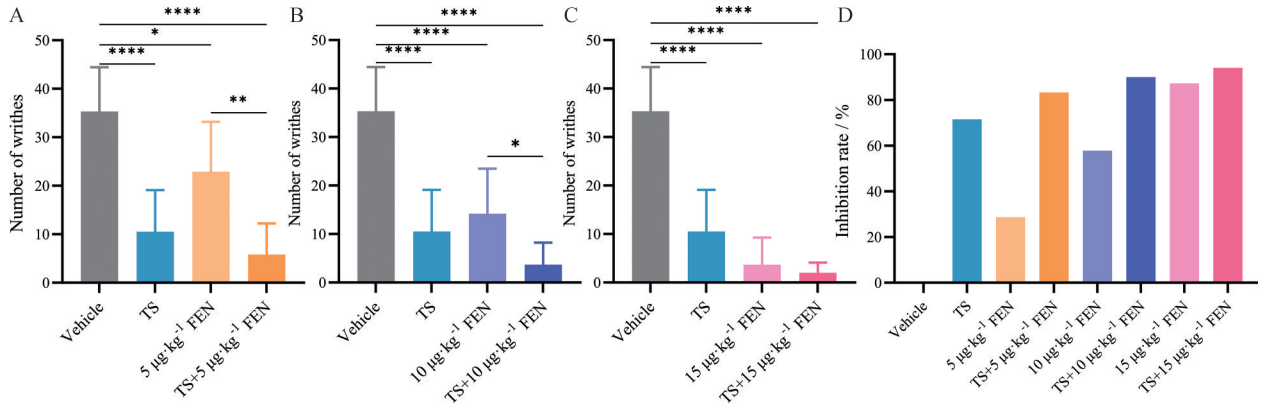


Figure 5 Comparison of the effects of TS (2.0 mg·kg^{-1}) and FEN (5, 10, 15 μg·kg^{-1}) on the acetic acid-induced nociceptive responses in the acetic acid-induced-writhing test as assessed by its extended 15-minute behavioural evaluation. A − C: The data obtained from the evaluation of the effects of administration on the writhing test following 0.6% acetic acid; D: The inhibition rates for each group. TS (2.0 mg·kg^{-1}) and FEN (5, 10, 15 μg·kg^{-1}) each reduced the number of twists. Pre-treatment with TS (2.0 mg·kg^{-1}) enhanced the FEN-induced reduction of the number of twists in mice. n = 10, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P$ < 0.05, $^{**}P$ < 0.01, $^{****}P$ < 0.000 1

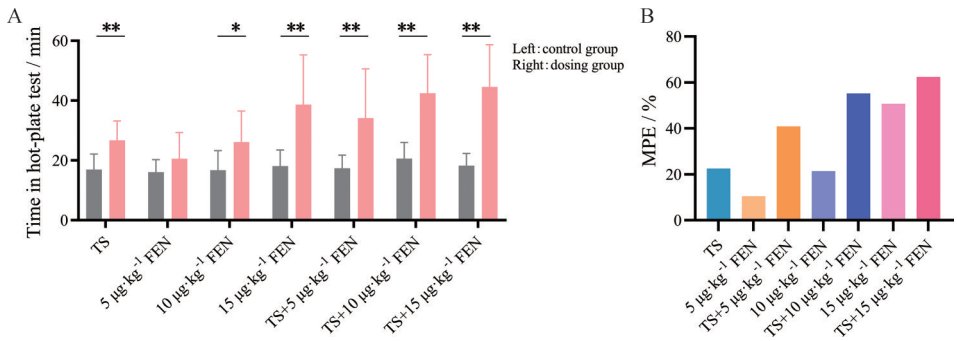


Figure 6 The analgesic effects of TS (2.0 mg·kg^{-1}), FEN, and TS + FEN in the hot-plate test. A: The reaction times before and after drug administration; B: The MPE (%) for each group. n = 10, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P$ < 0.05, $^{**}P$ < 0.01. MPE: Maximmal possible effect

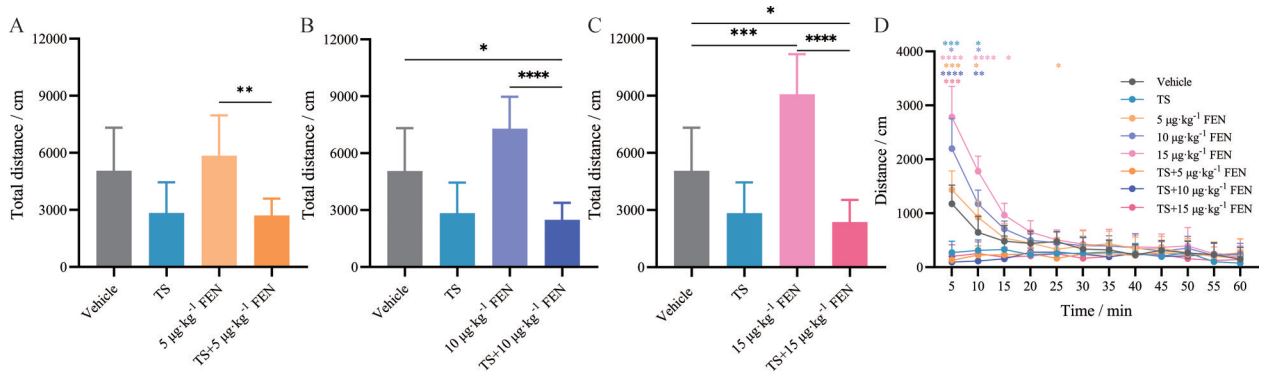


Figure 7 Comparison of the effects of TS (2.0 mg·kg^{-1}) and FEN (5, 10, 15 μg·kg^{-1}) on spontaneous activity by its extended 60-minute behavioural evaluation. A−C: The total distance traveled by mice under different dosing conditions in the spontaneous activity test. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$; D: The time-sharing distance of each dose experimental group. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.000\ 1$ *vs* vehicle group. FEN (10, 15 μg·kg^{-1}) reduced the total distance (B, C). Pre-treatment with TS (2.0 mg·kg^{-1}) enhanced the FEN-induced reduction of the total distance in mice. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$

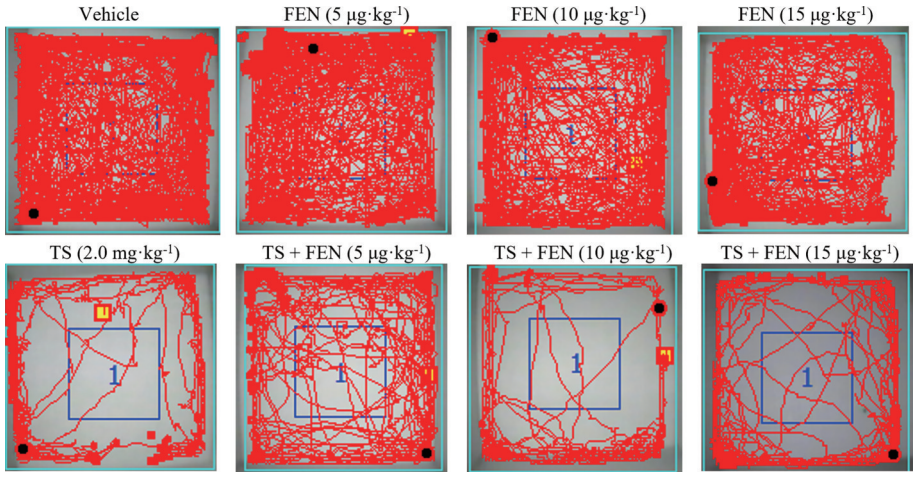


Figure 8 Examples of movement trajectories for groups

小鼠均持续呈现低活动量的状态, 表明TS给药后的持续镇静; 相较于FEN组, 联合用药后TS可以增强FEN的镇静作用。

总运动距离的降低和运动轨迹图例、分时运动距离的结果提示TS本身存在镇静作用以及与FEN联合使用增加FEN的镇静作用。

4.2 翻正反射实验 如图9A, iv给予FEN (10.0、12.5、15.0、17.5、20.0 μg·kg^{-1}) 后翻正反射消失率分别为0、40%、80%、80%、100%; 如图9C, 2.0 mg·kg^{-1} TS+FEN (12.5、15.0、17.5、20.0、25.0 μg·kg^{-1}) 处理后翻正反射消失率分别为0、20%、20%、80%、100%; 如图9B、D所示, FEN组与TS+FEN组大鼠翻正反射消失的半数有效量分别为12.19和19.00 μg·kg^{-1}, TS处理后半数有效量增幅为55.87%。

如图9E所示, iv给予80 μg·kg^{-1} FEN后翻正反射消失制动时间为 (58.07 ± 12.78) min; 2.0 mg·kg^{-1} TS预处理翻正反射消失制动时间为 (34.25 ± 10.29) min, 与80 μg·kg^{-1} FEN组相比, 制动时间降低41.02%, 翻正反射消失半数有效量增加和制动时间的降低, 提示TS预处理对大剂量FEN中毒大鼠表现出较为明显的预保护效应。

讨论

非阿片类药物改善阿片类药物所致呼吸抑制可以避免因使用阿片类拮抗剂而逆转阿片类药物镇痛镇静效应的出现。本课题组选择5-HT$_{1A}$受体激动剂TS改善FEN所致呼吸抑制并同时观察对其镇痛镇静作用的影响, 结果表明TS预防给药和治疗给药两种方式均可以有效翻转FEN致呼吸抑制的肺功能参数变化, 减少FEN致SaO_2的降幅, 改善FEN的低氧作用; 同时TS与FEN联用后可增强其镇痛镇静效果。

阿片类药物滥用现状因面临着高发的死亡率成为目前全球面临的严峻考验[11,12]。此类药物诱发的呼吸抑制是导致死亡的主要原因, 其导致的呼吸抑制特征是呼吸迟缓甚至是暂停[13]。临床上针对呼吸抑制的治

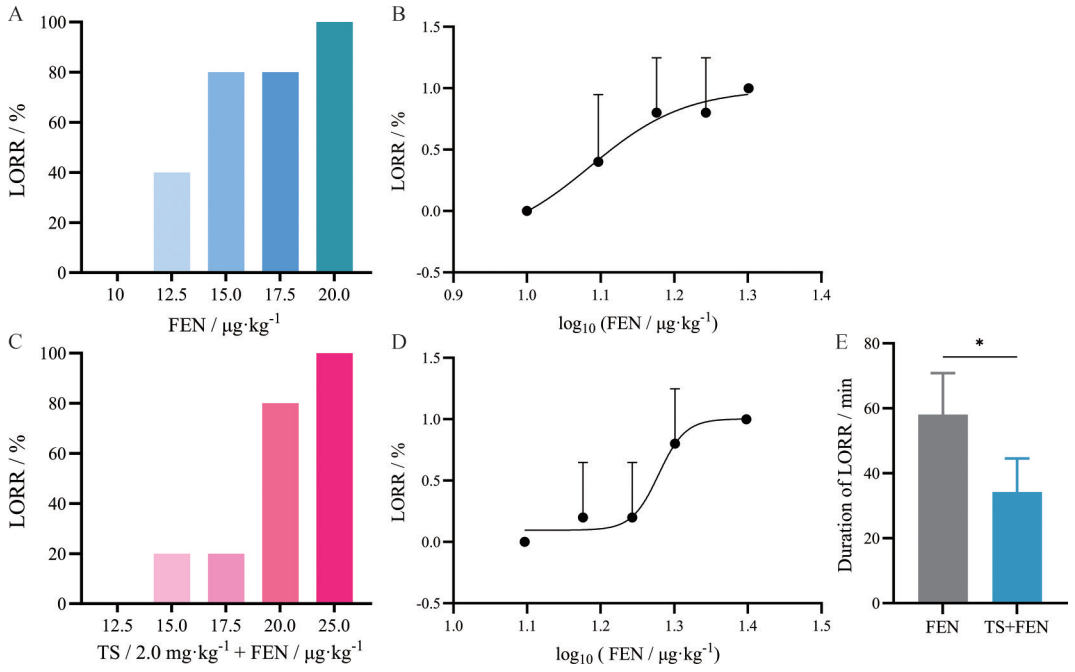


Figure 9 Comparison of the effects of TS and FEN on the disappearance rate and immobility time of the LORR. A: The disappearance rate of FEN group (10.0, 12.5, 15.0, 17.5 and 20.0 μg·kg^{-1}); B: The curve of nonlinear fitting for the disappearance rate of the FEN group; C: The disappearance rate of TS+FEN group (12.5, 15.0, 17.5, 20.0 and 25.0 μg·kg^{-1}); D: The curve of nonlinear fitting of FEN dosage after TS pretreatment; E: The immobility time following the LORR for FEN (80.0 μg·kg^{-1}) and TS (2.0 mg·kg^{-1}) + FEN. n = 5, $\bar{x} \pm s$. $^{*}P < 0.05$. LORR: Loss of the righting reflex

疗药物主要为阿片受体拮抗剂 (如纳洛酮)[14], 拮抗剂在应用过程中快速起效且不会产生依赖性, 但存在拮抗阿片类药物的镇痛镇静、诱发交感神经活动激增而导致患者出现药物耐受及术后肺水肿、心律失常等现象[5-7]。为避免阿片类药物拮抗剂治疗对该类药物原有镇痛镇静效果的影响, 本课题组前期工作发现5-HT$_{1A}$受体激动剂TS具备逆转阿片类药物所致呼吸抑制且不影响其镇痛效果的潜力, 对非阿片类药物改善阿片类药物致呼吸抑制研究提供新思路。

本研究中首先使用FEN建立大鼠呼吸抑制模型, 经TS处理后, 肺功能参数检测结果发现模型组与预防组的F降幅比高达4.6∶1、TV降幅比为2.7∶1、EV变化幅度比为0.1∶1、PENH增幅比为25.1∶1。治疗组对FEN诱发的呼吸抑制同样有拮抗效果, 提示TS对FEN致呼吸抑制大鼠肺功能参数变化的翻转作用。为了进一步明确TS对FEN呼吸抑制的改善作用, 在SaO_2检测中发现FEN给药后模型组SaO_2降幅为52.3%, 经TS处理后模型组与预防组SaO_2降幅比高达2.2∶1, 治疗组与模型组增幅比高达3.5∶1。结果提示TS可以翻转FEN致SaO_2的降低。

TS是一种临床应用的抗焦虑药物, 可以选择性地作用于脑内5-HT$_{1A}$受体。目前认为阿片类药物导致的呼吸抑制是μ阿片受体广泛分布及表达的多个受体区域共同作用的结果[15]。脑干中重要的呼吸中枢preBötC在阿片类药物导致的呼吸抑制中占主导地位[16]。5-HT$_{1A}$受体在脑内表达广泛, 可能与阿片受体共同存在于有关呼吸的关键调控部位如preBötC等。TS作为5-HT$_{1A}$受体选择性激动剂, 与其受体的结合导致G蛋白偶联受体的激活, 改善细胞内cAMP水平的降低与FEN对G蛋白下游信号通路的抑制[8,17], 同时对5-HT神经元中有关细胞外信号调节激酶信号传导的抑制具有改善作用[18], 在共同作用下对阿片类药物导致的呼吸抑制起到改善作用。

本研究通过醋酸扭体、热板与自发活动模型进一步证实TS不仅本身具有镇痛镇静作用, 联合使用时可增加FEN的镇痛镇静效果; 而在大剂量FEN中毒后翻正反射消失实验中, TS进一步表现出对FEN中毒较明显的保护效应。目前研究认为5-HT系统在脊髓中发挥普遍的抗伤害作用[19,20], 5-HT$_{1A}$R在整个疼痛神经轴上高度表达, 参与中枢伤害感受机制, 在抑制性下行疼痛通路中起关键作用[21-23]。有研究表明, 在神经性疼痛动物模型中发现注射选择性5-HT$_{1A}$R激动剂后可以阻止神经元变形并改善疼痛[24,25]。TS通过激动5-HT$_{1A}$受体产生镇痛镇静作用并与FEN联用协同增强其镇痛镇静效应。

TS是已经被批准用于抗焦虑/抗抑郁适应症的上

市口服药物, 本研究证实TS在拮抗FEN致呼吸抑制的同时与之联用会增加FEN的镇痛镇静效果, 为以非阿片类药物治疗阿片类药物致呼吸抑制提供了一个临床替代药物的新方向, 基于老药新用策略开发新型呼吸抑制改善药物值得进一步深入探讨。

作者贡献: 黄明智负责实验实施、数据分析、文章撰写及修订; 雍政负责研究构思及设计、研究指导及文章修订; 苏瑞斌负责研究构思及设计、研究指导及提供资金支持。

利益冲突: 所有作者声明本文无利益冲突。

References

[1] Varshneya NB, Walentiny DM, Moisa LT, et al. Fentanyl-related substances elicit antinociception and hyperlocomotion in mice *via* opioid receptors [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2021, 208: 173242.

[2] Belardo ZE, Talwar D, Blumberg TJ, et al. Opioid analgesia compared with non-opioid analgesia after operative treatment for pediatric supracondylar humeral fractures: results from a prospective multicenter trial [J]. J Bone Joint Surg Am, 2023, 105: 1875-1885.

[3] Bailey NR, Mitchell KA, Miller TM. Opioid misuse harm reduction [J]. J Addict Nurs, 2024, 35: 3-14.

[4] Kiyatkin EA, Choi S. Brain oxygen responses induced by opioids: focus on heroin, fentanyl, and their adulterants [J]. Front Psychiatry, 2024, 15: 1354722.

[5] Farkas A, Lynch MJ, Westover R, et al. Pulmonary complications of opioid overdose treated with naloxone [J]. Ann Emerg Med, 2020, 75: 39-48.

[6] Maloney LM, Alptunaer T, Coleman G, et al. Prehospital naloxone and emergency department adverse events: a dose-dependent relationship [J]. J Emerg Med, 2020, 59: 872-883.

[7] Al-Azzawi M, Alshami A, Douedi S, et al. Naloxone-induced acute pulmonary edema is dose-dependent: a case series [J]. Am J Case Rep, 2021, 22: e929412.

[8] Ragini, Sakshi, Saini A, et al. Endocytosis and signaling of 5-HT_{1A} receptor [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2023, 196: 113-123.

[9] Li R, Chen Y, Jia M, et al. Pharmacokinetics and absorption mechanism of tandospirone citrate [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1283103.

[10] Fu Y, Ji JL, Shi SX, et al. Early outcomes, associated factors and predictive values of clinical outcomes of tandospirone in generalized anxiety disorder: a post-hoc analysis of a randomized, controlled, multicenter clinical trial [J]. Curr Med Res Opin, 2023, 39: 597-603.

[11] Powell D, Peet ED, Pacula RL. Understanding the rise in overdose deaths involving opioids and non-opioid prescription drugs in the United States [J]. Int J Drug Policy, 2023. DOI: 10.1016/j.drugpo.2023.104104.

[12] Chhatwal J, Mueller PP, Chen Q, et al. Estimated reductions in opioid overdose deaths with sustainment of public health interventions in 4 US states [J]. JAMA Netw Open, 2023, 6: e2314925.

[13] Adler AC, Chandrakantan A, Nathanson BH, et al. An assessment of opioids on respiratory depression in children with and without obstructive sleep apnea [J]. Paediatr Anaesth, 2021, 31: 977-984.

[14] Behrends CN, Trinidad AJ, Nolan ML, et al. Expanded naloxone distribution by opioid overdose prevention programs to high-need populations and neighborhoods in New York city [J]. J Urban Health, 2025, 102: 459-464.

[15] Bateman JT, Levitt ES. Opioid suppression of an excitatory pontomedullary respiratory circuit by convergent mechanisms [J]. Elife, 2023, 12: e81119.

[16] Jørgensen AB, Rasmussen CM, Rekling JC. Micro-opioid receptor activation reduces glutamate release in the preBotzinger complex in organotypic slice cultures [J]. J Neurosci, 2022, 42: 8066-8077.

[17] Albert PR, Vahid-Ansari F. The 5-HT_{1A} receptor: signaling to behavior [J]. Biochimie, 2019, 161: 34-45.

[18] Cai CY, Wu HY, Luo CX, et al. Extracellular regulated protein kinase is critical for the role of 5-HT_{1A} receptor in modulating nNOS expression and anxiety-related behaviors [J]. Behav Brain Res, 2019, 357-358: 88-97.

[19] Aby F, Lorenzo LE, Grivet Z, et al. Switch of serotonergic descending inhibition into facilitation by a spinal chloride imbalance in neuropathic pain [J]. Sci Adv, 2022, 8: eabo0689.

[20] Nakamura S, Komatsu S, Yamada T, et al. Oral morphine induces spinal 5-hydroxytryptamine (5-HT) release using an opioid receptor-independent mechanism [J]. Pharmacol Res Perspect, 2023, 11: e01119.

[21] de Kort AR, Joosten EAJ, Patijn J, et al. The development of descending serotonergic modulation of the spinal nociceptive network: a life span perspective [J]. Pediatr Res, 2022, 91: 1361-1369.

[22] Munawar N, Bitar MS, Masocha W. Activation of 5-HT_{1A} receptors normalizes the overexpression of presynaptic 5-HT_{1A} receptors and alleviates diabetic neuropathic pain [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24: 14334.

[23] de Kort AR, Joosten EA, Patijn J, et al. Selective targeting of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_3 receptors attenuates acute and long-term hypersensitivity associated with neonatal procedural pain [J]. Front Pain Res (Lausanne), 2022, 3: 872587.

[24] Dai H, Kitami Y, Goto YI, et al. 5-HT_{1A} receptor agonist treatment partially ameliorates Rett syndrome phenotypes in *mecp2*-null mice by rescuing impairment of neuron transmission and the CREB/BDNF signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23: 14025.

[25] Cervantes-Durán C, Avalos-Viveros M, Torner L, et al. The 5-HT_{1A} receptor agonist, 8-OH-DPAT, attenuates long-lasting pain in imiquimod-induced psoriasis in mice [J]. Exp Dermatol, 2022, 31: 600-607.