

GABA_A受体对鞘内注射氧化槐定碱镇痛作用的影响

杨 光¹, 高进贤², 易正洪¹, 闫 琳¹, 蒋袁絮^{1*}

(1. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏回药现代化工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004;

2. 甘肃省人民医院药剂科, 甘肃 兰州 730000)

摘要: 观察氧化槐定碱 (oxysophoridine, OSR) 鞘内注射 (intrathecal injection, ith) 的镇痛作用并探讨与 GABA_A受体相关的作用机制。采用小鼠温浴法测定痛阈, 观察 OSR (ith) 的镇痛作用及 GABA_A受体激动剂和拮抗剂对 OSR 镇痛作用的影响; 采用免疫组化法检测 OSR 对小鼠脊髓背角 GABA_ARα1 蛋白表达的影响。结果显示, OSR (12.5 和 6.25 mg·kg⁻¹, ith) 能明显延长热甩尾潜伏期 ($P<0.05$, $P<0.01$), 痛阈提高率达 68.45%。GABA 和蝇蕈醇 (MUS) 与 OSR 有协同镇痛作用, 印防己毒素 (PTX) 和荷包牡丹碱 (BIC) 能拮抗 OSR 的镇痛作用。OSR (12.5 mg·kg⁻¹, ith) 可使脊髓背角 GABA_ARα1 表达明显增多 ($P<0.01$)。结果提示, OSR (ith) 具有明显的镇痛作用, 脊髓 GABA_A受体参与了 OSR 的镇痛机制。

关键词: 氧化槐定碱; 鞘内注射; 镇痛作用; GABA_ARα1

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 05-0534-05

The influence of GABA_A receptor on the analgesic action of intrathecally injected oxysophoridine

YANG Guang¹, GAO Jin-xian², YI Zheng-hong¹, YAN Lin¹, JIANG Yuan-xu^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Ningxia Engineering & Technology Research Center for Modernization of Hui Medicine, Yinchuan 750004, China;

2. Department of Pharmacy, the People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730000, China)

Abstract: This study is to investigate the analgesic effect produced by intrathecal injection (ith) of oxysophoridine (OSR) and the mechanism of GABA_A receptor. Warm water tail-flick test was used to detect the analgesic effect of OSR (12.5, 6.25, and 3.13 mg·kg⁻¹, ith) and to observe the influence of GABA (gamma aminobutyric acid) agonist or antagonist on the analgesic effect of OSR in mice. Immunohistochemistry method were used to detect the influence of OSR (12.5 mg·kg⁻¹, ith) on the GABA_ARα1 protein expression in spinal cord. The results obtained covers that OSR (12.5 and 6.25 mg·kg⁻¹, ith) alleviates pain significantly with the warm water tail-flick test ($P<0.05$, $P<0.01$), the rate of pain threshold increases by 68.45%; GABA and muscimol (MUS) produces analgesic synergism together with the OSR, picrotoxin (PTX) and bicuculline (BIC) antagonize the analgesic effect of OSR; OSR (12.5 mg·kg⁻¹, ith) significantly increase the positive number of GABA_ARα1 nerve cell in spinal cord ($P<0.01$) and significantly decrease the average grey levels ($P<0.01$). In conclusion, OSR intrathecal injection has significant analgesic effect. And GABA_A receptor in spinal cord is involved in the analgesic mechanism.

Key words: oxysophoridine; intrathecal injection; analgesic effect; GABA_ARα1

收稿日期: 2010-12-10.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30860372).

*通讯作者 Tel: 86-951-6980123, Fax: 86-951-6980110, E-mail: jiangyuanxu33@163.com

氧化槐定碱 (oxysophoridine, OSR) 是从苦豆子 (*Sophora alopecuroides* L.) 中提取的主要生物碱之一, 其基本结构是由两个三价氮原子稠和的双哌啶环^[1]。本室前期研究发现, OSR 在热板和福尔马林两种致痛模型中均具有一定的镇痛作用, 其镇痛作用部位涉及中枢和外周神经系统^[2]。对 OSR 镇痛作用机制的初步研究提示, 中枢 GABA 能神经参与了其镇痛作用, OSR 能明显增加大鼠皮层、海马 GABA 免疫阳性细胞, 下调 GABA 转运体 (GABA transporter-1, GAT-1) 的基因表达^[3-5]。本文在此基础上进一步研究 OSR 鞘内注射 (intrathecal injection, ith) 的镇痛作用及其脊髓 GABA_A受体在 OSR 镇痛中的作用。

材料与方法

实验动物 昆明种小鼠, 雌雄兼用, 体重 18~22 g, 宁夏医学院实验动物中心提供[合格证号: SCXK (宁) 2005-001]。小鼠分笼饲养, 温度 20~22 °C, 相对湿度 50%~60%, 光照明暗各 12 h。

药品及试剂 OSR: 宁夏紫荆花药业公司, 批号: 071217; 盐酸吗啡注射液 (morphine, Mor): 沈阳第一制药厂, 批号: 051106; γ -氨基丁酸 (gamma aminobutyric acid, GABA)、蝇蕈醇 (muscimol, MUS)、印防己毒素 (picrotoxin, PTX) 及荷包牡丹碱 (bicuculine, BIC) 均购于 Sigma 公司, 使用前均用生理盐水溶解, 置 4 °C 冰箱备用。羊抗 GABA_AR α 1 抗体: 美国 Santa Cruz 公司, 批号: J0509; 山羊 SP 检测试剂盒 (批号: 740415A) 和 DAB 显色试剂盒 (批号: K102721D): 北京中杉金桥生物技术有限公司。

主要仪器和设备 DK-420S 型三用恒温水箱: 上海精宏试验设备有限公司; BMJ-III型包埋机、BMJ-III型病理组织包埋冷冻台: 常州中威电子仪器厂; LEICA RM2235 切片机: 德国 Leica 公司; OLYMPUS BH-2 显微镜: 中日合资 Olympus Optical Co. Ltd.; IPP6.0 图像分析软件包。

温浴法痛阈测定^[6] 将小鼠尾尖浸入 (50±0.5) °C 恒温水中约 3 cm, 以鼠尾甩出水面的潜伏期, 即缩尾反应潜伏期 (tail-curling latencies, TCL) 作为痛阈, 预先筛选痛阈 2~5 s 者为合格鼠, 为避免小鼠皮肤烫伤, 15 s 停止。给药前测定痛阈 2 次, 每次间隔 10 min, 取其平均值作为基础痛阈。于给药后 10、20、30、45、60 及 90 min 测定痛阈变化, 并按下式计算痛阈提高率。痛阈提高率 (%)=[(给药后 TCL-给药前 TCL)/(15 s-给药前 TCL)]×100%。

给药方法及分组 鞘内注射 (ith)^[7]时一只手抓牢小鼠, 另一只手握微量进样器, 刺破 L5 硬膜, 使针尖从脊椎 L5 和 L6 之间的凹槽状间隙刺进。给药体积为 5 μ L, 注药后停留 10 s 以防药液渗出。

小鼠共 150 只, 随机分为 3 组, 每组 50 只。第 1 组: 观察 OSR 对小鼠热甩尾痛阈的影响。小鼠随机分为 5 个小组, 每组 10 只: ① 空白对照组; ② Mor (40 mg·kg⁻¹) 对照组; ③~⑤分别为 OSR 3.13、6.25 和 12.5 mg·kg⁻¹ 组。Mor 为腹腔注射 (ip), 其余均采用鞘内注射 (ith), 体积为 5 μ L/只, 空白对照组鞘内注射 (ith) 等体积生理盐水 (normal saline, NS)。第 2 组: 观察 GABA 和 MUS 对 OSR 镇痛作用的影响。小鼠随机分为 5 个小组: ① 空白对照组; ②与③分别为 GABA (1.60 mg·kg⁻¹) 和 MUS (0.10 μ g/只) 组; ④与⑤于给予 OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith) 后 10 min 分别给予 GABA (1.60 mg·kg⁻¹) 或 MUS (0.10 μ g/只)。GABA 和 MUS 均为侧脑室注射 (intra cerebroventricle injection, icv), 空白对照组给予等体积 NS。第 3 组: 观察 PTX 和 BIC 对 OSR 镇痛作用的影响。小鼠随机分为 5 个小组: ① 空白对照组; ②与③分别为 PTX (2.0 mg·kg⁻¹) 和 BIC (0.2 μ g/只) 组; ④与⑤于给予 OSR (6.25 mg·kg⁻¹, ith) 10 min 后分别给予 PTX (2.0 mg·kg⁻¹) 或 BIC (0.2 μ g/只)。PTX 采用腹腔注射 (ip), BIC 为鞘内注射 (ith), 空白对照组给予等体积 NS。各组给药后按“温浴法痛阈测定”所述的温浴热甩尾法, 测量并记录小鼠甩尾潜伏期。

免疫组织化学法 取小鼠 20 只 (雌雄兼用), 随机分成 OSR 组和对照组, 每组 10 只, 分别鞘内注射 OSR (12.5 mg·kg⁻¹) 和等体积的生理盐水 (NS)。给药后 60 min 用 1%戊巴比妥钠 (10 mg·kg⁻¹) 腹腔注射麻醉, 灌注 4 °C 的 4%多聚甲醛 100 mL (pH 7.4), 取脊髓 (L5-L6), 放入 4 °C 的 4%多聚甲醛固定 48 h, 石蜡包埋, 制成 4 μ m 切片, 常规脱水, 30% H₂O₂ 室温孵育 15 min 封闭内源性过氧化物酶, 抗原微波修复后滴加 1:1 000 羊抗 GABA_AR α 1 抗体 37 °C 烘箱 4 h, 滴加生物素化山羊抗兔二抗, 37 °C 培养箱内孵育 45 min, DAB 显色, 苏木素复染。每个样本随机取 3 张切片, 每个切片随机抽取 2 个不重叠代表性视野, 显微镜下观察 GABA_AR α 1 免疫阳性细胞并分析阳性细胞数和平均灰度值。

统计学处理 实验结果用 SPSS11.5 统计软件包进行分析, 数值采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组之间的统计学处理选用方差分析 (one-way ANOVA) 和 *t* 检验。

结果

1 氧化槐定碱 (OSR, ith) 对小鼠热甩尾痛阈的影响

Mor (40 mg·kg⁻¹, ip) 可使小鼠热甩尾潜伏期明显延长 ($P < 0.01$), 作用持续 90 min 以上。与给药前及空白对照组比较, OSR (12.5 和 6.25 mg·kg⁻¹, ith) 也能明显延长小鼠热甩尾潜伏期 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其镇痛作用可持续 60 min 以上。与 Mor (40 mg·kg⁻¹, ip) 组的作用强度比较, OSR 的最大痛阈提高率可达 68.45% (表 1)。

2 GABA_A 受体激动药和拮抗药对 OSR 镇痛作用的影响

OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith)、GABA (1.60 mg·kg⁻¹, icv) 和 MUS (0.10 μg/只, icv) 组与给药前及对照组比较未见镇痛作用, 也无行为异常。鞘内注射 (ith) OSR 10 min 后侧脑室注射 (icv) GABA 或 MUS, 小鼠温浴热甩尾潜伏期较给药前及对照组明显延长

($P < 0.05$, $P < 0.01$), 给药后 10、20、30、45、60 和 90 min 的痛阈提高率分别为 45.67%、39.24%、41.58%、45.03%、38.66%、28.70%和 31.45%、33.38%、25.60%、33.67%、34.64%、8.27% (图 1 和图 2)。

OSR (6.25 mg·kg⁻¹, ith) 可明显增加小鼠温浴热甩尾潜伏期 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 见表 1。PTX (2.0 mg·kg⁻¹, ip) 和 BIC (0.2 μg/只, ith) 对小鼠热甩尾痛阈无明显影响。鞘内注射 (ith) OSR 10 min 后给予 PTX 或 BIC 可使小鼠温浴热甩尾潜伏期明显缩短 (图 3 和图 4)。

3 OSR 对小鼠脊髓背角 GABA_ARα1 蛋白表达的影响

GABA_ARα1 染色阳性物质呈棕黄色颗粒, 主要位于神经细胞的胞膜, 神经元的轴突也有表达。与空白对照组比较, OSR (12.5 mg·kg⁻¹) 组的 GABA_ARα1 表达明显增加 ($P < 0.01$), 平均灰度值显著降低 ($P < 0.01$), 见表 2 和图 5。

Table 1 Effect of oxysphoridine (OSR, ith) on the tail-flick latency in the warm water tail-flick test in mice. Animals were pretreated with injection of saline (ith), morphine (ip), OSR (12.5, 6.25, and 3.13 mg·kg⁻¹, ith). $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs pre-dose

Group	Dose /mg·kg ⁻¹	Tail-flick latency/s						
		Pre-dose	10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	90 min
Control	—	3.07 ± 0.51	3.18 ± 0.57	3.29 ± 0.57	3.52 ± 1.01	3.44 ± 0.84	3.11 ± 0.57	3.36 ± 0.95
Mor	40	3.44 ± 1.07	15.00 ± 0.00***	15.00 ± 0.00***	15.00 ± 0.00***	15.00 ± 0.00***	15.00 ± 0.00***	14.50 ± 0.96***
OSR	12.5	3.31 ± 1.05	9.16 ± 1.23***	11.31 ± 1.59***	10.77 ± 1.37***	8.71 ± 1.33***	5.61 ± 2.20#	3.42 ± 1.55
	6.25	3.28 ± 0.72	7.25 ± 1.62***	7.34 ± 0.79***	3.86 ± 1.75	4.79 ± 0.79#	3.59 ± 1.35	3.67 ± 0.58
	3.13	3.32 ± 0.78	3.65 ± 1.42	3.78 ± 0.84	3.74 ± 0.71	3.59 ± 0.93	3.73 ± 0.98	3.46 ± 0.83

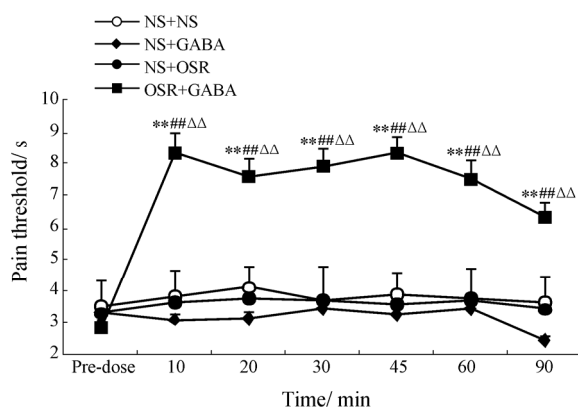


Figure 1 The influence of GABA on the analgesic effect of OSR. Mice were divided into four groups: NS+NS, NS+GABA (1.60 mg·kg⁻¹, icv), NS+OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith) and OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith)+GABA (1.60 mg·kg⁻¹, icv) group, $n = 10$. NS+NS group was given the same volume of NS, GABA was given 10 min after OSR. Before and after administration at 10, 20, 30, 45, 60, and 90 min respectively, tail-flick latency of each group in the warm-water tail-flick test was measured and recorded. ** $P < 0.01$ vs NS+NS; ## $P < 0.01$ vs pre-dose; ΔΔ $P < 0.01$ vs NS+GABA

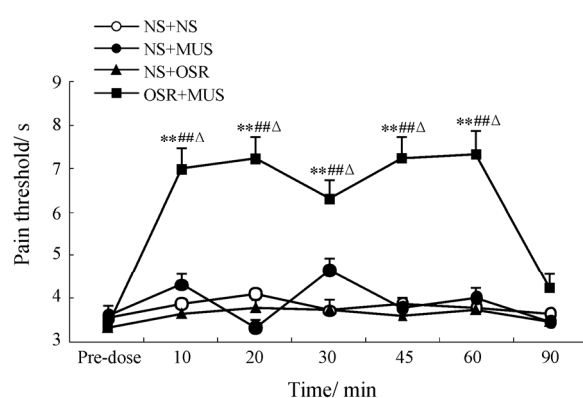


Figure 2 The influence of MUS on the analgesic effect of OSR. Mice were divided into four groups: NS+NS, NS+MUS (0.10 μg/mouse, icv), NS+OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith) and OSR (3.13 mg·kg⁻¹, ith) + MUS (0.10 μg/mouse, icv) group, $n = 10$. NS+NS group was given the same volume of NS, MUS was given 10 min after OSR. Before and after administration at 10, 20, 30, 45, 60, and 90 min respectively, tail-flick latency of each group in the warm-water tail-flick test was measured and recorded. ** $P < 0.01$ vs NS+NS; ## $P < 0.01$ vs pre-dose; Δ $P < 0.05$ vs NS+MUS

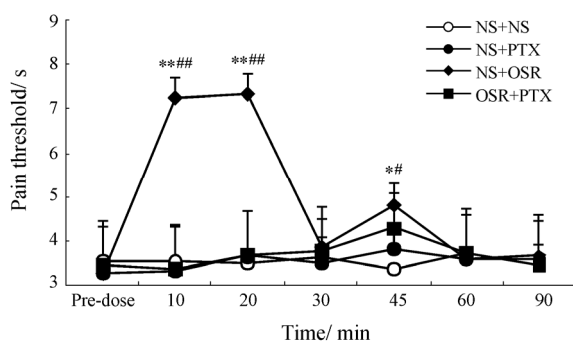


Figure 3 The influence of PTX on the analgesic effect of OSR. Mice were divided into four groups: NS+NS, NS+PTX ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip), NS+OSR ($6.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) and OSR ($6.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) + PTX ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip) group, $n = 10$. NS+NS group was given the same volume of NS, PTX was given 10 min after OSR. Before and after administration at 10, 20, 30, 45, 60, and 90 min respectively, tail-flick latency of each group in the warm-water tail-flick test was measured and recorded. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NS+NS; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs pre-dose

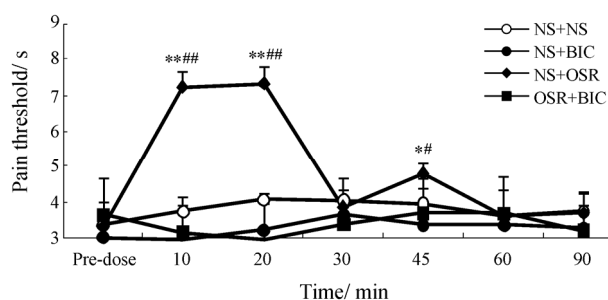


Figure 4 The influence of BIC on the analgesic effect of OSR. Mice were divided into four groups: NS+NS, NS+BIC ($0.2 \text{ } \mu\text{g}/\text{mouse}$, ith), NS+OSR ($6.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) and OSR ($6.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) + BIC ($0.2 \text{ } \mu\text{g}/\text{mouse}$, ith) group, $n = 10$. NS+NS group was given the same volume of NS, BIC was given 10 min after OSR. Before and after administration at 10, 20, 30, 45, 60, and 90 min respectively, tail-flick latency of each group in the warm-water tail-flick test was measured and recorded. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NS+NS; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs pre-dose

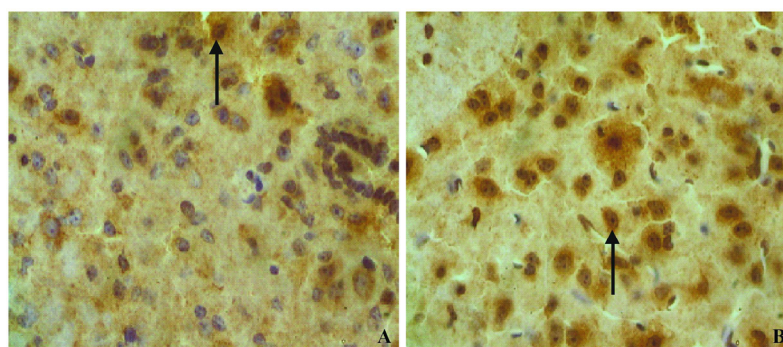


Figure 5 GABA_ARα1 receptor immuno-staining positive neurons in the lumbar spinal cord in mice. A: Photomicrographs of the GABA_ARα1 receptor in the L5-6 spinal segment of control mouse (Magnification, 400×). B: GABA_ARα1 receptor positive cells in the L5-6 spinal segment of an animal in OSR ($12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group (Magnification, 400×). The arrowheads point to typically deposited GABA_ARα1 receptor immunoreactive neurons with plasma membrane labeling

Table 2 Average counts of GABA_ARα1 positive cells and average grey levels for each region of interest in mice. Animals were treated ith with saline or OSR $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs control

Group	Dose / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	The spinal cord	
		Average grey level	Positive nerve cell number (number/ mm^2)
Control		130.86 ± 8.59	115 ± 5.61
OSR	12.5	$112.55 \pm 9.57^{**}$	$249 \pm 6.30^{**}$

讨论

GABA 是中枢神经系统主要的抑制性氨基酸类神经递质, 近年来, 有关 GABA 受体药理作用方面的研究已成为神经药理学领域中发展活跃的方向之一, GABA_A 受体与疼痛的关系越来越受到人们的关注, 脊髓背角中含有丰富的 GABA 能抑制性神经元, 可在突触前形成轴-轴突触和在突触后形成轴-树突触,

在痛觉调制中起重要作用^[8]。

GABA 是 GABA_A 受体非特异性内源性激动剂, 本实验结果显示, 阈下镇痛剂量 GABA ($1.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, icv) 与阈下镇痛剂量的 OSR ($3.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) 合用时小鼠痛阈明显提高 ($P < 0.01$), 提示中枢 GABA 能神经参与了 OSR 的镇痛机制。MUS 是选择性 GABA_A 受体激动剂, 通过使神经元发生超级化反应而产生抑制作用^[9]。阈下镇痛剂量 MUS ($0.1 \text{ } \mu\text{g}/\text{只}$, icv) 能明显增强阈下镇痛剂量 OSR ($3.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ith) 镇痛作用的结果提示, GABA_A 受体参与了 OSR 的镇痛作用。GABA_A 受体在伤害性信息调制中起着重要作用, 如镇痛^[10]、抗焦虑^[11]、记忆^[12]等。GABA_A 受体被激活后引起细胞膜上的 Cl^- 通透性增加, Cl^- 顺细胞浓度梯度差进入细胞内产生超极化, 兴奋性也相应下降进而产生镇痛作用^[13]。在神经传递通路中, 轴突末梢

A 与运动神经元构成轴突-胞体式突触, 当神经冲动到达轴突末梢 A, 能引起运动神经元产生兴奋性突触后抑制 (EPSP); 轴突末梢 B 与轴突末梢 A 构成轴突-轴突式突触, 当末梢 B 兴奋时, 释放 GABA, GABA 作用于末梢 A 上的 GABA_A 受体, 使 Cl⁻ 通道打开, 末梢 A 去极化, 末梢 A 的动作电位幅度变小, 释放兴奋性神经递质减少, 导致运动神经元的 EPSP 变小^[14], 因此, GABA 作用于 GABA_A 受体可产生突触后抑制作用, 进而影响痛觉的传导, 产生镇痛作用。PTX 和 BIC 均为经典的 GABA_A 受体拮抗剂, 前者为 GABA_A 受体非特异性拮抗剂, 后者为特异性拮抗剂。PTX 通过阻断 GABA 激活的 Cl⁻ 通道, 而 BIC 则通过与 GABA 竞争结合部位阻断 GABA_A 受体^[15]。本实验结果显示: PTX (2.0 mg·kg⁻¹, ip) 和 BIC (0.2 μg/只, ith) 均能完全阻断 OSR (6.25 mg·kg⁻¹) 的镇痛作用 ($P < 0.01$), 此结果进一步提示脊髓 GABA_A 受体在 OSR 镇痛作用中发挥了作用。本研究的免疫组化结果也显示, OSR (12.5 mg·kg⁻¹, ith) 可显著增加脊髓背角 GABA_ARα1 受体蛋白表达, 此结果提示 OSR 镇痛机制与上调脊髓背角 GABA_ARα1 受体有关。关于中枢 GABA 能神经参与 OSR 镇痛作用的详细机制有待进一步研究。

References

- [1] Zhong RS. Research and Application of Sophora (苦豆子研究应用) [M]. Yinchuan: Ningxia People's Publishing House, 1983: 10–20.
- [2] Yao WX, Zhou JJ, Yan L, et al. Analgesic effect of oxyphoridine and its mechanism [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2008, 39: 569–571.
- [3] Yu JQ, Jiang YX. The effects of sophoridine on the positive cells Glu and GABA immunoreactions in CNS of rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2006, 10: 1611–1614.
- [4] Gao JX, Tao LJ, Yu JQ, et al. The analgesic action of oxyphoridine and its effect on the expression of PKCγ in central nervous system of mice [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2009, 25: 1453–1456.
- [5] Yu JQ, Jiang YX, Wang LW, et al. The inhibitory effects of oxyphoridine and oxymartine on central nervous system in mice [J]. Ningxia Med J (宁夏医学杂志), 2002, 1: 13–15.
- [6] Xia ZY. Psychiatry (精神病学) [M]. Beijing: People's Publishing House, 1984: 141–143.
- [7] Hylden JKL, Wilcox GL. Intrathecal morphine in mice: a new technique [J]. Eur J Pharmacol, 1980, 67: 313–316.
- [8] Belelli D, Harrison NL, Maguire J, et al. Extrasynaptic GABA_A receptors: form, pharmacology and function [J]. J Neurosci, 2009, 29: 12757–12763.
- [9] Enna SJ, McCarron KE. The role of GABA in the mediation and perception of pain [J]. Adv Pharmacol, 2006, 54: 1–27.
- [10] Mirza NR, Munro G. The role of GABA (A) receptor subtypes as analgesic targets [J]. Drug News Perspect, 2010, 23: 351–360.
- [11] Tiurenkov IN, Perfilova VN. GABA receptors: structure and functions [J]. Eksp Klin Farmakol, 2010, 73: 43–48.
- [12] Zhang SS, Zhang L. The Glu / GABA-conditioning system of learning and memory in brain [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1997, 32: 638–640.
- [13] Olsen RW, Hancher HJ, Meera P, et al. GABA_A receptor subtypes: the “one glass of wine” receptors [J]. Alcohol, 2007, 41: 201–209.
- [14] Rudolph U, Möhler H. GABA-based therapeutic approaches: GABA_A receptor subtype functions [J]. Curr Opin Pharmacol, 2006, 6: 18–23.
- [15] Krogsgaard-Larsen P, Frølund B, Liljefors T. Specific GABA (A) agonists and partial agonists [J]. Chem Rec, 2002, 2: 419–430.