

郭海波,王慧. 对氯苯丙氨酸在动物失眠模型中的应用概述[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 135 - 140.

Guo HB, Wang H. Application of para-chlorophenylalanine in animal models of insomnia [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(6): 135 - 140.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.06.022

对氯苯丙氨酸在动物失眠模型中的应用概述

郭海波,王 慧*

(贵州中医药大学, 贵阳 550002)

【摘要】 对氯苯丙氨酸作为色氨酸羟化酶抑制剂,可以阻断和耗竭脑内5-羟色胺的合成,导致失眠。近年来,使用对氯苯丙氨酸建立失眠动物模型,因其简单实用、造模效果确切等因素在动物实验中越来越受到学者的认可并被广泛使用。但对氯苯丙氨酸在水中的溶解度较低、悬浮液不易注射,以及在不同动物中使用的剂量和方法不统一等因素阻碍了实验的进展。本文查阅了对氯苯丙氨酸相关研究和使用的文献,概述了对氯苯丙氨酸在实验中的使用,试图找出使用对氯苯丙氨酸建立失眠动物模型的最佳方法。

【关键词】 对氯苯丙氨酸;实验;制备;用法;概述;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 06-0135-06

Application of para-chlorophenylalanine in animal models of insomnia

GUO Haibo, WANG Hui*

(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

【Abstract】 Para-chlorophenylalanine (PCPA), a tryptophan hydroxylase inhibitor consumes 5-hydroxytryptamine in the brain that leads to insomnia. In recent years, the establishment of an insomnia animal model using PCPA has been recognized and widely used for animal experiments because of its simplicity and practicality. However, the low solubility of PCPA in water and the difficulty of its injection has hindered the progress of experiments. In this paper, we review literature regarding the use of PCPA, summarize the method for using PCPA in experiments, and discuss the best way to use PCPA.

【Keywords】 PCPA; experiment; preparation; usage; overview; animal model

中枢神经机制的研究离不开动物模型,睡眠-觉醒的研究更是如此。失眠模型的建立和复制,能否成功尤为关键。利用药物建立失眠动物模型,因效果确切、操作方便受到诸多学者的青睐,而对氯苯丙氨酸是建立失眠动物模型中最常用的药物之一。对氯苯丙氨酸,又称芬克洛宁,英文名称:4-Chloro-DL-phenylalanine, Fenclonine,简称PCPA,CAS编号:7424-00-2,其它化学或英文名称还有:para-chlorophenylalanine, Fencloninum, DL-4-

chlorophenylalanine, 2-amino-3-(4-chlorophenyl) propanoic acid, P-chlorophenylalanine等。它是5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)生物合成中的起始酶和限速酶—色氨酸羟化酶(tryptophan hydroxylase, TPH)的选择性和不可逆抑制剂^[1]。色氨酸经色氨酸羟化酶生成5-羟色氨酸(5-hydroxytryptamine, 5-HTA),5-HTA脱羧生成5-HT。PCPA通过抑制色氨酸羟化而阻断5-HT的合成,可显著降低脑内和外周血中的5-HT浓度,达到排

[基金项目]国家自然科学基金(81760816)。

[作者简介]郭海波(1984-),男,主治医师,硕士研究生,专业:中西医结合。E-mail: nanlouyue@foxmail.com

[通信作者]王慧(1967-),女,教授,博士,硕士生导师,研究方向:中西医结合睡眠医学。E-mail: 51763846@qq.com

空 5-HT 的目的,在睡眠-觉醒、镇痛和行为学等多种中枢机制研究中具有广泛应用。

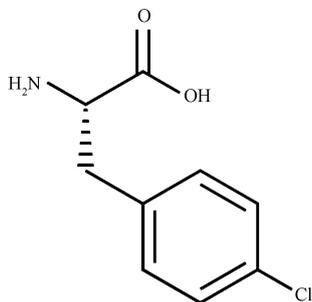


图 1 PCPA 分子式

Figure 1 Molecular formula of PCPA

PCPA 分子式 $C_9H_{10}ClNO_2$ (见图 1), 分子量 199.634 g/mol, 密度 1.336 g/cm^3 , 熔点 $238^\circ\text{C} \sim 240^\circ\text{C}$, 沸点 339.5°C ; 在 25°C 的水中可溶性为 961 mg/L ^[2], 属于微溶物质。在平均体重 7.5 kg 的猴子实验中观察到的血浆半衰期约为 10.5 h ^[3]。大量口服可导致急性中毒, 皮肤接触可能会出现过敏反应。

最早在 1953 年, 就已经有文献观察了 PCPA 对金黄色葡萄球菌中掺入苯丙氨酸的抑制作用, 并以此来研究细菌对氨基酸的同化影响。在 1966 年 PCPA 被明确为“一种新的、脑血清素(5-HT)的特定消耗剂”^[4], 发现它可以“抑制睡眠”^[5], 并能改变 5-HT 转运蛋白 mRNA 水平和基因产物的表达^[6]。有文献^[7]还报道了 PCPA 的首次人体试验: “在 6 名正常的监狱囚犯志愿者中, 每天给予 PCPA 3000 mg, 可使血清中 5-HT 下降至治疗前水平的 60% ~ 70%, 尿中 5-羟吲哚乙酸(5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA)排泄至 10% ~ 50%”, 并从药理学角度对 PCPA 进行了诠释。还有学者利用 PCPA 研究了脑内 5-HT 合成、储存和释放之间的关系^[8]。之后越来越多的学者利用 PCPA 抑制 TPH 的作用对睡眠和呼吸^[9]、昼夜节律^[10]、认知和情感^[11]、学习^[12]、行为^[13]、记忆、食欲^[14]、饮酒和生殖^[15]、性行为^[16]和杀戮^[17]等多种中枢神经机制进行了广泛研究。PCPA 还曾被作为 5-HT 拮抗剂而被用于实验性治疗类癌综合征导致的腹泻、腹痛和潮红等^[18], 但骨髓抑制^[19]、过敏反应和精神障碍^[20]阻碍了它在临床中的使用。此后, 它被更多的用于和 5-HT 相关的病理或生理机制研究中。

在我国, PCPA 的应用较为局限, 大多用于动物失眠模型的建立, 其中应用最多的是大鼠失眠模型

的复制, 并被认为是经典的动物失眠模型^[21]。有研究显示, 在一次性腹腔注射 PCPA 后, 24 h 内大鼠活动和摄食开始减少, 之后是持续 1 ~ 2 d 的失眠阶段, 大鼠昼夜节律消失, 白天活动增加, 这是 5-HT 水平降低的结果^[22]。还有研究显示在给予 PCPA 后, 5-HT 能神经元末梢中的 TPH 活性降低至对照组的 10%, 使用免疫组化方法甚至检测不到 5-HT^[23]。

1 PCPA 悬浮液的配制及使用

1.1 PCPA 悬浮液的配制

PCPA 悬浮液的制备在不同的文献中有所区别, 但限于 PCPA 在水中溶解度不高, 直接溶于生理盐水中使用容易堵塞注射器针头, 阻碍造模进展。有部分学者加用增溶剂、表面活性剂, 如阿拉伯胶、甲基纤维素、聚山梨酯 80 等来促溶; 还有学者利用 PCPA 在弱碱性环境中溶解度更高的特点, 在 PCPA 悬浮液中加入少量氢氧化钠(NaOH)以促进溶解。本文统计了在不同文献中使用 PCPA 的各种方法(见表 1)。

但遗憾的是各文献未给出使用促溶剂或表面活性剂的具体剂量以及与 PCPA 的详细比例。依据本课题组制作失眠模型的经验, 以聚山梨酯 80 为例, 认为 1.0 g PCPA 加入聚山梨酯 80 溶液 $10 \sim 20 \mu\text{L}$ 较为合适。有学者^[25]对比了单次腹腔注射相同剂量 (450 mg/kg) 使用 1.0% 阿拉伯树胶促溶的 PCPA 和使用 0.1% 聚山梨酯 80 促溶的 PCPA 在实验中的作用, 结果显示, 5-HT 水平下降的幅度二者类似。但含有阿拉伯树胶的 PCPA 治疗组中, 观察到猫的情绪防御反应增加; 含有聚山梨酯 80 治疗组中去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)水平显著降低, 而含有阿拉伯树胶 PCPA 治疗组中的 NE 水平没有任何变化。认为聚山梨酯 80 对生化和行为过程都能发挥作用, 在研究大脑机制中使用脱水山梨糖醇是不可取的^[25], 因为聚山梨酯 80 是由山梨糖醇及其脱水物单油酸酯与环氧乙烷共聚所得。但本课题组未查到更多的文献支持聚山梨酯 80 在大脑机制研究中具有影响作用, 而用来促溶的量又极少。但犬类对聚山梨酯 80 十分敏感, 可产生明显的组胺反应, 如果选择犬作为实验动物, 可能不适合用聚山梨酯 80 来对 PCPA 促溶。

1.2 PCPA 在动物中的应用及使用方法

已有文献报道 PCPA 对多种实验性哺乳动物,

表 1 文献中使用的 PCPA 溶解方法
Table 1 PCPA dissolution methods reported in the literature

溶质 Solute	溶剂 Solvent	促溶剂 Chaetotropic
PCPA 粉末 PCPA powder	生理盐水 Normal saline	0.5%~1.0%阿拉伯树胶 ^[24] 0.5%~1.0% arabic gum
	生理盐水 Normal saline	聚山梨酯 80 ^[25] Tween 80
	生理盐水 Normal saline	甲基纤维素 ^[26] Methylcellulose
	生理盐水 Normal saline	5% NaOH ^[27]
	1 N NaOH	磷酸盐缓冲溶液 ^[28] Phosphate buffer solution
	弱碱性生理盐水 ^[29] Weak alkaline saline	

注:生理盐水 pH 值 5.5~6.5,弱碱性生理盐水 pH 值 7.4。

Note. Normal saline pH 5.5~6.5, weak alkaline saline pH 7.4.

如:小鼠^[5]、大鼠^[30]、猫^[31]、绵羊^[32]、猪^[11]、豚鼠^[33]和猴子^[3,34]等脑内的 5-HT 可产生有效和选择性抑制。直到现在,这些实验动物在睡眠-觉醒机制研究中仍是不可或缺的。其它实验动物还有果蝇^[35]、蜗牛^[36]等。需要明确的是,应用 PCPA,不完全是建立失眠动物模型,它还可以在动物体内产生一系列代谢失衡,如模拟人类苯丙酮尿症^[37],但这种模型与人体病理并不完全相同,应用较少。

1.2.1 给药浓度

在不同实验中,根据实验设计不同以及实验动物的差别选择的 PCPA 浓度也不同,但总体来说,浓度范围较为宽泛,例如:选择猫作为实验动物口服 PCPA 浓度从 75 mg/kg 到 800 mg/kg 不等^[38];选择大鼠作为实验动物腹腔注射 PCPA 的浓度从 50 mg/kg 到 500 mg/kg 不等^[24,39-40];选择猪作为实验动物 PCPA 的腹腔注射浓度从 50~100 mg/kg 不等^[11,41]。而大鼠脑内(脑室或中缝核)给药从 2.5 μg/μL、10 μg/μL 到 0.6 mg/μL 不等^[42-44]。连续给予小剂量和单次给予大剂量有没有差别呢?在行为学研究中以大鼠作为实验动物连续 3 d 口服较小剂量(200 mg/kg 或 400 mg/kg)与单次口服更高剂量(1600 mg/kg 或 3200 mg/kg)显示出相当的效果^[45],但文章未探讨不同剂量 PCPA 的血药浓度和代谢情况,笔者在 Pubmed 和中国知网上查阅了大量文献,未看到有国内外文献研究 PCPA 在实验中的剂量和血药浓度之间的变化关系,大多文献通过检测脑内 5-HT、TPH、5-HTA、5-HIAA 的浓度和尿中的色氨酸、5-HIAA 的排泄来观察和确定 PCPA 的效果。

1.2.2 给药方法

实验设计不同决定了给药途径也不同,有口

服^[40,46]、皮下注射^[27]、腹腔注射^[47]、侧脑室或中缝核微量注射^[43-44]等。其中腹腔注射和口服给药是文献中使用最多的方法。有研究显示口服和腹腔注射 PCPA 对大鼠脑内 5-HT 和 5-HIAA 含量的影响没有显著差异^[48]。

1.2.3 给药时间

给药时间从一次性给药到连续性给药 5~7 d 不等,最长的达到了 37 d^[49]。有研究显示腹腔注射 PCPA 后,大鼠脑内 5-HT 含量逐渐降低,在第 3 天效果达到最大化,至少在一周内保持较低水平^[14]。如 PCPA 400 mg/(kg·2 mL),腹腔注射 3 d 后,与治疗前对比大鼠中脑的 5-HT 浓度降低了 74%^[50]。根据相关研究^[51]以及在实验中所积累的数据,以成年大鼠为例,每日 1 次腹腔注射 PCPA 300~350 mg/kg,给药 3 d,可出现白天活动增加、昼夜节律消失、毛发无光泽、脱毛增加、攻击性增加相互撕咬等,这预示着失眠模型的建模成功,与以往的文献研究基本一致^[52]。其他动物给药方法可参考相关文献或依据实验设计来决定给药量。

2 与造模无关的不良反应以及造模失败的处理

PCPA 在人类中用于类癌综合征时统计到的副作用有头晕、头痛、骨髓抑制等^[20],接触皮肤可能会出现过敏反应(见表 2)。在实验动物中,以大鼠为例,使用 PCPA 后,出现昼夜节律消失、攻击性增加等表现(见表 2),这些症状大多学者认为是失眠造模成功所致。有学者认为 5-HT 的单独消耗在未成熟的大鼠中引起的损伤很少或没有损伤^[24]。但也有研究显示:PCPA 可使断奶大鼠的前后晶状体发生特征性改变,而其中大约有 35% 发展成白内障,

表 2 使用 PCPA 后出现的症状和病理状态
Table 2 Symptoms and pathology after using PCPA

药物 Drug	人类 Human	动物(以大鼠为例) Animal(Taking rats as an example)
PCPA	头晕、头痛 Dizziness, headache	活动增加 Activities increased
	焦虑 Anxiety	昼夜节律消失 Circadian rhythm disappears
	抑郁 Depression	毛发无光泽、脱毛增加 Hair lusterless, increased hair loss increased
	幻觉 Hallucination	攻击性增加、相互撕咬 Mutual attack
	四肢肌肉疼痛 Limb muscle pain	体重增加缓慢 Slow weight gain
	骨髓抑制 Myelosuppression	晶状体改变、白内障 Change of lens, Cataract
	皮肤过敏反应 Skin allergy	性冲动 Sexual excitement

但以同样剂量处理的猴子中却未发现任何眼部毒性,显示只对大鼠具有特异性^[53]。还有研究显示 PCPA 可诱导雄性大鼠的性冲动^[16]。使用 PCPA 后的大鼠表现,与失眠模型联系较少的除了性兴奋和晶状体改变,尚未看到有文献记录与失眠模型有关的其他不良反应,也未看到有实验使用 PCPA 造模失败的记录。另外,造模成功与否与剂量和浓度密切相关,如果浓度过低、剂量过小,可能会使 5-HT 的消耗缓慢,从而延迟失眠的出现。

3 结语

PCPA 作为 TPH 抑制剂,最早在 1966 年就有文献从临床药理学的角度对 PCPA 进行了评价^[6],并用志愿者进行了人体实验,到 70 年代开始试用于类癌综合征的治疗^[54]。但因其副作用的影响阻碍了其临床使用,文献中报道的临床案例也较少,到 90 年代已经看不到 PCPA 在人体上使用的报道。与此相反的是,PCPA 在动物实验中使用的文献越来越多的被报道,特别是在失眠模型的建立以及与 5-HT 相关的中枢神经机制研究中。

PCPA 可阻碍 5-HT 的合成,而 5-HT 作为单胺类神经递质,在慢波睡眠(SWS)的诱导和维持中具有重要作用^[55]。利用 PCPA 制作失眠动物模型,可进一步探索 SWS 形成的机制、5-HT 在睡眠稳态中的作用,以及与此相关的多种中枢神经机制。但有研究发现,PCPA 不仅影响 5-HT 合成,还可使中缝背核和尾状壳核 NA 和多巴胺(dopamine, DA)水平下降,但对纹状体的 NA 含量无影响^[50]。还有研究显示:PCPA 使前后下丘脑、中脑和杏仁核中的 5-

HT 和 5-HIAA 的水平下降、杏仁核和后下丘脑的 DA 水平增加、下丘脑前部和中脑也有增加的倾向^[56],显示 PCPA 导致失眠的机制可能不仅仅是阻断 5-HT 合成这一条途径。利用 PCPA 建立失眠动物模型,因其在水中溶解度较低在注射时极易出现针头堵塞,这容易阻碍造模工作的进展,因此,改良制备方法和寻找更合适的 TPH 或 5-HT 抑制剂作为替代药物具有积极意义。对乙炔基苯丙氨酸(p-ethynylphenylalanine, PEPA)是一种比 PCPA 更有效、特异性更强的 TPH 抑制剂^[57],研究显示 PEPA 体外抑制 TPH 活性达 40%~65%,而 PCPA 在体外抑制 TPH 活性为 30%~50%^[58]。这些证据表明,与经典使用的 TPH 抑制剂 PCPA 相比,化合物 PEPA 在体外是更有效的 TPH 抑制剂。而在注射 PEPA 后,在 5-HT 神经元投射区域,海马、纹状体和额叶皮质中细胞外 5-HT 水平分别在 90、40 和 30 min 迅速下降^[59]。与 PCPA 对照相比,仅为 PCPA 浓度的十分之一,就降低了 5-HT 和 5-HIAA 水平的 85%,抑制 TPH 活性高达 97%,显示 PEPA 能够有力、迅速和不可逆地降低 5-HT 水平。这些结果表明 PEPA 与 PCPA 相比是一种更为有效的药理工具,有望取代 PCPA 在动物失眠模型中得到更广泛的使用。

参考文献:

- [1] Jouvett M. Sleep and serotonin: an unfinished story [J]. Neuropsychopharmacology, 1999, 21(2):24-27.
- [2] 美国国家生物技术信息中心. Fenclonine [DB/OL]. (2005-3-25) [2018-08-10]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4652>.

- [3] Davies JA, Nicholson AN. Studies in the monkey (*Macaca mulatta*) on the effect of (+/-)-6-fluorotryptophan and (+/-)-p-chlorophenylalanine on plasma tryptophan [proceedings] [J]. Br J Pharmacol, 1978, 62(3):451P-452P.
- [4] Koe BK, Weissman A. p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1966, 154(3):499-516.
- [5] Delorme F, Froment JL, Jouvét M. Suppression of sleep with p-chloromethamphetamine and p-chlorophenylalanine [J]. C R Seances Soc Biol Fil, 1966, 160(12):2347-2351.
- [6] Rattray M, Baldessari S, Gobbi M, et al. p-Chlorophenylalanine changes serotonin transporter mRNA levels and expression of the gene product [J]. J Neurochem, 1996, 67(2):463-472.
- [7] Cremata VY Jr, Koe BK. Clinical-pharmacological evaluation of p-chlorophenylalanine: A new serotonin-depleting agent [J]. Clin Pharmacol Ther, 1966, 7(6):768-776.
- [8] O'Connell MT, Portas CM, Sarna GS, et al. Effect of p-chlorophenylalanine on release of 5-hydroxytryptamine from the rat frontal cortex *in vivo* [J]. Br J Pharmacol, 1991, 102(4):831-836.
- [9] Demesquita S. p-Chloroamphetamine; effect on sleep and respiration in the rat [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1985, 22(5):889-891.
- [10] Singleton C, Marsden CA. Circadian variation in the head twitch response produced by 5-methoxy-N1, N1-dimethyltryptamine and p-chloroamphetamine in the mouse [J]. Psychopharmacology (Berl), 1981, 74(2):173-176.
- [11] Stracke J, Otten W, Tuchscherer A, et al. Serotonin depletion induces pessimistic-like behavior in a cognitive bias paradigm in pigs [J]. Physiol Behav, 2017, 174:18-26.
- [12] Vataeva LA, Kudrin VS, Vershinina EA, et al. Behavioral alteration in the adult rats prenatally exposed to para-chlorophenylalanine [J]. Brain Res, 2007, 1169(3):9-16.
- [13] Vataeva LA, Kudrin VS, Vershinina EA, et al. Maternal para-chlorophenylalanine exposure modifies central monoamines and behaviors in the adult offspring [J]. Brain Res, 2008, 1234(3):1-7.
- [14] Deryabina IB, Muranova LN, Andrianov VV, et al. Impairing of serotonin synthesis by p-chlorophenylalanine prevents the forgetting of contextual memory after reminder and the protein synthesis inhibition [J]. Front Pharmacol, 2018, 9:607.
- [15] Paxinos G, Burt J, Atrens DM, et al. 5-Hydroxytryptamine depletion with para-chlorophenylalanine: Effects on eating, drinking, irritability, muricide, and copulation [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1977, 6(4):439-447.
- [16] Tagliamonte A, Tagliamonte P, Gessa GL, et al. Compulsive sexual activity induced by p-chlorophenylalanine in normal and pinealectomized male rats [J]. Science, 1969, 166(3911):1433-1435.
- [17] Miczek KA, Altman JL, Appel JB, et al. Para-chlorophenylalanine, serotonin and killing behavior [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1975, 3(3):355-361.
- [18] Satterlee WG, Serpick A, Bianchine JR. The carcinoid syndrome: chronic treatment with para-chlorophenylalanine [J]. Ann Intern Med, 1970, 72(6):919-921.
- [19] 叶超平. 类癌综合征临床处理近况 [J]. 临床荟萃, 1988(12):18-21.
- [20] Gruner W. Exogenous psychosis in a patient with carcinoid syndrome following treatment with p-chlorophenylalanine (PCPA) [J]. Psychiatr Clin(Basel), 1975, 8(5):266-276.
- [21] 肖成荣, 马增春, 李海静, 等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制 [J]. 毒理学杂志, 2007(4):326-326.
- [22] Borbély AA, Neuhaus HU, Tobler I. Effect of p-chlorophenylalanine and tryptophan on sleep, EEG and motor activity in the rat [J]. Behav Brain Res, 1981, 2(1):1-22.
- [23] Park DH, Stone DM, Baker H, et al. Early induction of rat brain tryptophan hydroxylase (TPH) mRNA following parachlorophenylalanine (PCPA) treatment [J]. Brain Res Mol Brain Res, 1994, 22(1-4):20-28.
- [24] Kenton L, Boon F, Cain DP. Combined but not individual administration of beta-adrenergic and serotonergic antagonists impairs water maze acquisition in the rat [J]. Neuropsychopharmacology, 2008, 33(6):1298-1311.
- [25] Romaniuk A, Strzelczuk M, Wieczorek M. Further evidence against using sorbitans in the brain mechanisms investigation [J]. Acta Neurobiol Exp(Wars), 1990, 50(6):619-627.
- [26] Fukumoto K, Iijima M, Chaki S. The Antidepressant effects of an mGlu2/3 receptor antagonist and ketamine require AMPA receptor stimulation in the mPFC and subsequent activation of the 5-HT neurons in the DRN [J]. Neuropsychopharmacology, 2016, 41(4):1046-1056.
- [27] 张林挺. 酸枣仁汤对虚劳失眠大鼠干预机理的研究 [D]. 广州:广州中医药大学, 2009.
- [28] Rai S, Haldar C, Singh R. Modulation of immunity in young-adult and aged squirrel, *Funambulus pennanti* by melatonin and p-chlorophenylalanine [J]. Immun Ageing, 2009, 23:6:5.
- [29] Martinez-Cruz F, Osuna C, Guerrero JM. Mitochondrial damage induced by fetal hyperphenylalaninemia in the rat brain and liver: its prevention by melatonin, Vitamin E, and Vitamin C [J]. Neurosci Lett, 2006, 392(1-2):1-4.
- [30] Furlong TM, Leavitt LS, Keefe KA, et al. Methamphetamine-, d-Amphetamine-, and p-chloroamphetamine-induced neurotoxicity differentially effect impulsive responding on the stop-signal task in rats [J]. Neurotox Res, 2016, 29(4):569-582.
- [31] Bobillier P, Froment JL, Seguin S, et al. Effects of p-chlorophenylalanine and 5-hydroxytryptophan on sleep and central metabolism of monoamines and proteins of the cat [J]. Biochem Pharmacol, 1973, 22(23):3077-3090.
- [32] Doyle RE, Hinch GN, Fisher AD, et al. Administration of serotonin inhibitor p-chlorophenylalanine induces pessimistic-like judgement bias in sheep [J]. Psychoneuroendocrinology, 2011, 36(2):279-288.
- [33] Cuomo V, Marino A. Effects of P-chlorophenylalanine (PCPA) on avoidance conditioning in guinea pigs [J]. Pharmacol Res

- Commun, 1974, 6(6):531-537.
- [34] Weitzman ED, Rapport MM, McGregor P, et al. Sleep patterns of the monkey and brain serotonin concentration: effect of p-chlorophenylalanine [J]. Science, 1968, 160(3834):1361-1363.
- [35] Dasari S, Viele K, Turner AC, et al. Influence of PCPA and MDMA (ecstasy) on physiology, development and behavior in drosophilamelanogaster [J]. Eur J Neurosci, 2007, 26(2):424-438.
- [36] Gainutdinov KhL, Andrianov VV, Gainutdinova TKh. The action of the neurotoxins 5, 6-dihydroxytryptamine and p-chlorophenylalanine on the electrical activity parameters of the command neurons during long-term sensitization and learning in the snail [J]. Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova, 1999, 49(1):48-58.
- [37] Wapnir RA, Hawkins RL, Stevenson JH, et al. Effects of oral administration of p-chlorophenylalanine to experimental animals [J]. Biochem Med, 1970, 3(5):397-403.
- [38] Hoyland VJ, Shillito EE, Vogt M. The effect of parachlorophenylalanine on the behaviour of cats [J]. Br J Pharmacol, 1970, 40(4):659-667.
- [39] Keleta YB, Lumia AR, Anderson GM, et al. Behavioral effects of pubertal anabolic androgenic steroid exposure in male rats with low serotonin [J]. Brain Res, 2007, 1132(1):129-138.
- [40] Dyer K, Cain DP. Water maze impairments after combined depletion of somatostatin and serotonin in the rat [J]. Behav Brain Res, 2007, 181(1):85-95.
- [41] Ettrup A, Kornum BR, Weikop P, et al. An approach for serotonin depletion in pigs: Effects on serotonin receptor binding [J]. Synapse, 2015, 65(2):136-145.
- [42] Gao J, Zhang JX, Xu TL. Modulation of serotonergic projection from dorsal raphe nucleus to basolateral amygdala on sleep-waking cycle of rats [J]. Brain Res, 2002, 945(1):60-70.
- [43] Medeiros MA, Costaesousa RH, Olivares EL, et al. A reassessment of the role of serotonergic system in the control of feeding behavior [J]. An Acad Bras Cienc, 2005, 77(1):103-111.
- [44] 赵乐章, 高隽, 张景行, 等. 中缝背核投射到基底外侧杏仁核的 5-羟色胺能纤维对睡眠的调节作用 [J]. 中国药理学通报, 2003, 19(1):77-79.
- [45] Kreiskott H, Hofmann HP. Stimulation of a specific drive (predatory behaviour) by p-chlorophenylalanine (pCPA) in the rat [J]. Pharmakopsychiatr Neuropsychopharmakol, 1975, 8(3):136-140.
- [46] Wapnir RA, Hawkins RL, Stevenson JH, et al. Effects of oral administration of p-chlorophenylalanine to experimental animals [J]. Biochem Med, 1970, 3(5):397-403.
- [47] Herges S, Taylor DA. Modulatory effect of p-chlorophenylalanine microinjected into the dorsal and median raphe nuclei on cocaine-induced behaviour in the rat.[J]. Eur J Pharmacol, 1999, 374(3):329-340.
- [48] Holman RB, Hoyland V, Shillito EE. The failure of p-chlorophenylalanine to affect voluntary alcohol consumption in rats [J]. Br J Pharmacol, 1975, 53(2):299-304.
- [49] Ferguson J, Henriksen S, Cohen H, et al. "Hypersexuality" and behavioral changes in cats caused by administration of p-chlorophenylalanine [J]. Science, 1970, 168(3930):499-501.
- [50] Miller FP, Cox RH, Snodgrass WR, et al. Comparative effects of p-chloroamphetamine and p-chloro-N-methylamphetamine on rat brain norepinephrine, serotonin and 5-hydroxyindole-3-acetic acid [J]. Biochem Pharmacol, 1970, 19(2):435-442.
- [51] Gross B, Ronen N, Honigman S, et al. Tryptophan toxicity-time and dose response in rats [J]. Adv Exp Med Biol, 1999, 467:507-516.
- [52] Steigrad P, Tobler I, Waser PG, et al. Effect of p-chlorophenylalanine on cerebral serotonin binding, serotonin concentration and motor activity in the rat [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1978, 305(2):143-148.
- [53] Gralla EJ, Rubin L, et al. Ocular studies with parachlorophenylalanine in rats and monkeys [J]. Arch Ophthalmol, 1970, 83(6):734-740.
- [54] Szeinberg A, Shani M, Crispin M, et al. Inhibition of phenylalanine hydroxylation during treatment of carcinoid syndrome with p-chlorophenylalanine [J]. Isr J Med Sci, 1970, 6(4):475-478.
- [55] 李国彰. 神经生理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007:330-335.
- [56] Romaniuk A, Strzelczuk M, Wiczorek M. Serotonin depletion with p-chlorophenylalanine in the cat: effects on carbachol-induced defensive behavior and regional brain amine content [J]. Acta Neurobiol Exp(Wars), 1989, 49(4):130-140.
- [57] Stokes AH, Xu Y, Daunais JA, et al. p-ethynylphenylalanine: a potent inhibitor of tryptophan hydroxylase [J]. J Neurochem, 2000, 74(5):2067-2073.
- [58] Jéquier E, Lovenberg W, Sjoerdsma A. Tryptophan hydroxylase inhibition: the mechanism by which p-chlorophenylalanine depletes rat brain serotonin [J]. Mol Pharmacol, 1967, 3(3):274-278.
- [59] Zimmer L, Luxen A, Giacomelli F, et al. Short- and long-term effects of p-ethynylphenylalanine on brain serotonin levels [J]. Neurochem Res, 2002, 27(4):269-275.