

뇌조직내 Benzodiazepine 유사물질과 스트레스 - 불안 반응

영남대학교 의과대학 약리학교실
하 정 희

Brain Benzodiazepine-like Molecules and Stress-anxiety Response

Jeoung Hee Ha

*Department of Pharmacology
College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea*

- Abstract -

Benzodiazepines(BZDs) are among the most widely prescribed drugs in the world. They are potent anxiolytic, antiepileptic, hypnotic, and muscle relaxing agents. There is an emerging model of the role of several neural systems in anxiety and their relation to the mechanism of action of BZDs. It has been postulated that BZD drugs exert their anxiolytic action by regulating GABAergic transmission in limbic areas such as the amygdala, in the posterior hypothalamus, and in the raphe nuclei. The involvement of the amygdala in the behaviors triggered by fear and stress has been suggested by many previous studies. In this review, reports about regulatory effects of endogenous BZD receptor ligands on the perception of anxiety and memory consolidation were summarized. These findings further support the contention that BZD receptor ligands modulate memory consolidation of aversive learning tasks by influencing the level of stress and/or anxiety that accompanies a learning experience. The findings suggest that the decrease in the limbic levels of BZD-like molecules seen after the various behavioral procedures represent a general response to stress and/or anxiety, since it occurs in proportion to the level of stress and/or anxiety that accompany these tasks. In addition, these findings further support the hypothesis that the GABA_A/BZD receptor complex in limbic structures plays a pivotal role in the stress and anxiety.

Key Words: Anxiety, Endogenous, Benzodiazepine receptor, Agonist, Limbic area

서 론

세계적으로 그 처방률이 높은 약물들중 하나인 benzodiazepine계 약물(Valium혹은 Diazepam, Librium)은, 강력한 불안해소작용, 항경련작용, 최면작용 및 근이완작용을 가지고 있다. 첫 번째 화학적 합성은 1955년 Hoffmann Ra-Loche사에서 이루어졌으며, 최초의 benzodiazepine인 Librium(chlordiazepoxide)이 시판되기 시작한 것은 1960년이었다(Sternbach, 1983). 아직도 benzodiazepine 수용체 관련 연구자들에게 여전히 해결해야 할 과제로 남아있는 것은 뇌조직에 존재하면서 γ -aminobutyric acid(GABA) 성 신경전달을 조절하는 내인성 benzo-diazepine 수용체 배위자의 정체를 밝히는 것이다.

불안(anxiety)과 관련된 benzodiazepine계 약물의 약리작용의 기전에 대한 여러 신경계의 역할은 밝혀지고 있다. Benzodiazepine 약물은 편도체(amygdala)와 같은 변연계(limbic area), 후측 시상하부(hypothalamus) 및 raphe nuclei에서 GABA성 신경전달을 조절함으로써 불안해소작용을 나타내는 것으로 알려져 있다(Soubrie, 1986; Sullivan 등, 1989; Shekhar 등, 1990). 공포(fear)와 스트레스로 인해 유발되는 행동에 있어서 편도체의 역할은 이미 보고된 바 있으며, 편도체의 병변은 전기 충격(shock)이나 계속적인 수동적 회피(passive avoidanc) 반응 검사등에 의해 유발된 freezing과 같은 선천적 혹은 조건공포(conditioned fear) 반응을 약화시키나(Le Doux 등, 1990; Davis, 1992), 편도체에 가한 전기충격은 자연적인 혹은 조건공포반응과 유사한 행동양상을 유발시킨다(Davis, 1992). 특히, benzodiazepine계 약물에 의한 불안해소작용은 적어도 부분적이라도 편도체(amygdala nuclei)의 매개작용에 의한 것처럼 보인다(Hodges 등, 1987; Yadin 등, 1991).

최근 생화학적 및 행동학적 검사 결과, 행동 훈련(behavioral training)의 스트레스성 혹은 불안조장성 정도와 뇌조직의 부위별 benzodiazepine 유사 물질의 농도 변화사이의 상관성이 관찰되었다(Wolfman 등, 1991; Izquierdo와 Medina, 1991). 이러한 실험 결과는 급성 수영(swim) 스트

레스나 낮선 환경에의 노출에 의해서 내인성 benzodiazepine 수용체 표현제가 유리되었다는 이전의 보고(Trullar 등, 1987; Primus와 Kollogg, 1991)와 일치성을 보여주었으며, benzodiazepine 수용체 길항제인 flumazenil이 경한 스트레스성 혹은 불안조장성 행동훈련의 기억은 증강시키나 비스트레스성 훈련은 증강시키지 못했다는 보고(Izquierdo 등, 1990; Lal 등, 1988)와도 상응성을 나타내었다.

본 중설에서는 GABA성 신경전달 조절작용이 있다고 보고된 내인성 benzodiazepine 수용체 배위자의 불안 및 스트레스 반응의 인지 조절작용 및 기억 형성과정 조절작용등에 관한 연구결과들을 종합하여 보았다.

자연발생적인 benzodiazepine

De Blas 등(1986)은 1940년대 이후부터 paraffin에 포매된 상태로 보관되어 온 인체 뇌조직 표본으로부터 benzodiazepine의 monoclonal antibody인 MAb 21-7F9에 반응하는 면역활성도를 관찰, 보고하였다. Benzodiazepine계 약물은 1950년대말 합성되었으며, chlordiazepoxide는 1960년대 초부터 시판되기 시작한 점을 고려해 볼 때 시기적인 중요성을 주목하여야 한다. 그후 다수의 연구팀에 의해 이에 대한 연구가 진행되었으며, 저분자 물질을 위한 통상적인 추출, 분리 및 정제 방법을 사용하여 소 및 흰쥐의 뇌에서 3가지의 다른 benzodiazepine 유사 물질들을 찾아내었으며, diazepam이 이들 물질 중 그 하나임을 보고하였다.(Widmann 등, 1989; Medina 등, 1990; Basile 등, 1991). 흰쥐 대뇌 피질조직의 분획화(subcellular fractionation) 결과 benzodiazepine 유사물질들은 주로 synaptic vesicle과 synaptosomal cytosol에 고농도로 존재하고 있음이 밝혀졌다(Medina 등, 1988).

뇌조직에서의 이 diazepam의 농도는 부위별로 차이가 있으며, 실지 농도는 0.15-0.34ng/g wet tissue로 관찰되었는데(Unseld 등, 1989b). 이 농도는 diazepam의 약리학적 유효 농도인 3-30ng/g wet tissue보다 아주 낮은 농도이다. 그러나 그 분포에 있어 중격(septum), 편도체 및 해마에서 최

고농도를 나타내었는데 (De Blas 등, 1987; Medina 등, 1988; Medina 등, 1990), 특정 유효 부위에서는 그 농도가 수배 증가될 가능성이 있다.

이러한 물질들이 benzodiazepine에 노출된 적이 없는 여성의 milk에서 단일 종이 아니라 수종의 다른 benzodiazepine이 발견되었다는 보고들(Medina 등, 1990; Pena 등, 1991)은 이러한 자연발생적인 benzodiazepines에 대한 연구 보고가 합성 benzodiazepine계 약물의 환경적 오염(environmental pollution)에 의한 것이 아닌가 하는 생각들은 반박할 수 있는 좋은 근거가 된다.

지금까지 benzodiazepine계 약물에 노출된 적이 없는 인체나 실험동물의 뇌, 말초장기, 혈장 및 뇌척수액에서 수종의 benzodiazepine계 약물 및 아직도 그 정체가 규명되지 않은 benzodiazepine 유사 물질들이 발견되었다. 생체 조직이나 체액에서 발견되는 benzodiazepine들의 양은 종(species)에 따라 차이가 많으며, 최저 0.01ng/g wet tissue (frog brain)에서 최고 600ng/g wet tissue (bovine brain)으로서 평균 1-10ng/g wet tissue이다(Medina 등, 1988; Unseld 등, 1989a; Wildmann 등, 1989; Basile 등, 1990b). 이 물질은 potato tuber, rice, wheat 등 보통의 식이(diet)나 일부 약물 식물에서 발견되는 자연 산물로서 식이를 통한 물질 자체 혹은 그 전구체의 섭취가 가능하며 그 후 장내 미생물에 의해 변환될 수 있으며, 신경세포 및 신경교세포에서의 내인성 합성의 가능성도 제외시킬 수 없다.

GABA는 포유 동물의 중추 신경계의 중요한 억제성 신경 전달체이다. GABA의 작용은 fast-acting, ligand gated ion 통로를 통해 나타나는데, benzodiazepine계 약물, barbiturate계 약물 및 ethanol의 중추신경 억제 작용은 이 GABA_A 수용체 복합체를 통하여 나타난다고 한다. Benzodiazepine 수용체는 GABA_A 수용체 복합체의 중요한 요소로서 benzodiazepine의 생체내 반응을 매개하는 것으로 알려졌다.(Squires 등, 1982; Skolnick 등, 1983; Takagi 등, 1988). 이 수용체에 작용하는 화합물로는 diazepam, DMCM (methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl- β -caboline-3-carboxylate) 및 flumazenil과 같은 합성 배위자들이 있으며, 그외에도 내인성(endogenous) benzodiazepine 수용체 배위자

가 보고되었다(File 등, 1986).

내인성 benzodiazepine 수용체 배위자는 체내에서 합성되거나 혹은 외부에서 섭취되어 저장되어 있다가 생리적 신호에 의해 유리되어 호르몬이나 신경 전달체처럼 작용할 것으로 생각되는 물질이다. 이미 1,4 benzodiazepine, ethyl- β -caboline-3-carboxylate, inosine 및 diazepam binding inhibitor (DBI)등이 그 후보 물질로 보고되었고(Da Cunha 등, 1982; De Blas 등, 1987), GABA성 신경전달 조절, 간성혼수 및 기타 혼수상태의 중요한 병인, 불안 및 스트레스 반응의 인지 조절작용 및 기억 형성과정 조절 작용등이 있다고 보고되었다(Drugan 등, 1984; Basile 등, 1991b; Yurdaydin 등, 1995).

Flumazenil의 편도체내 투여가 흰쥐의 불안도에 미치는 영향

Flumazenil의 편도체내 투여에 의한 기억 형성 과정 촉진효과가 흰쥐에서 관찰되는 불안도의 변화와 연관성이 있는지를 검색하기 위하여 다음과 같은 실험이 실시되었다.

(1) 설치류(rodent)에서 확립된 불안도 검색법(Pellow 등, 1985; File과 Pellow, 1986)인 elevated plus maze에서의 탐색활동(exploratory activity)에 대해 편도체내 flumazenil의 투여가 미치는 영향을 검색하였다.

(2) 이러한 검사법의 실행과 뇌의 부위별 benzodiazepine 유사물질의 농도와의 상관관계를 검색하였다.

각 편도체에 10nmol의 flumazenil을 투여하였을 때, elevated plus maze에서 개방통로에서의 체류 시간(time spent in the open arms)이 현저히 감소하였으며, 총진입수(total number of entries) 및 개방통로로의 진입수(number of entries into the open arms)에는 영향을 미치지 않았으므로, flumazenil의 투여가 탐색활동에는 별다른 영향을 미치지 않음을 보여주었다(표 1). 개방통로에서의 체류시간은 개방통로로의 진입수에 비하여 불안도를 반영하는 좀 더 예민한 기준이다(Pellow 등, 1985).

Table 1. Effect of bilateral injection of flumazenil into the art amygdala(10 nmol on each side) on activity in the elevated plus maze

	Saline (11)	Vehicle (10)	Flumazenil (12)
Total number of entries	10 ± 2	14 ± 1	11 ± 2
% time spent in the open arms	24 ± 3	23 ± 2	11 ± 2*
% entries in the open arms	48 ± 2	48 ± 4	42 ± 3
Rearings	18 ± 2	17 ± 5	10 ± 3**

Results are expressed as mean ± SEM. the animals were injected 2 min before a 5 min test. The number of animals in each group are indicated in parentheses (*) p<0.02; (**) p<0.002 with respect to saline or vehicle group. Duncan's test after one-way ANOVA. From Da Cunha, et al. (1993).

그렇다면, 이러한 실험 결과는 flumazenil의 편도체내 투여가 실험동물의 불안도를 증가시킨다는 가정과 상응성을 보여주고 있다.

또한 operant conflict 검사에서 benzodiazepine계 약물의 편도체내 투여는 불안해소작용을 나타내었으며, 이러한 효과는 flumazenil의 전신적인 투여로 반전되었다. 역으로, 전신투여된 chlordiazepoxide의 anticonflict effect는 flumazenil의 편도체내 투여로 약화되었으며, 편도체에 병변이 있는 실험동물의 경우 chlordiazepoxide의 anticonflict 효과가 더욱 강력하게 관찰되었다. Naive 원쥐의 elevated plus maze에의 노출은 편도체내 benzodiazepine 유사물질의 함량을 감소시키나, 해마나 선조체(striatum)에서는 변화가 없었다.

편도체내 benzodiazepine 유사물질의 급격하고 현저한 감소는 합성 및 이화작용(catabolism)에 의한 변화로는 설명될 수가 없다. 이들은 주로 연접막(synaptic membrane)의 소포체(vesicle) 분획에서 관찰되었으므로, 행동검사(behavioral task)동안 유리되었다고 하는 설명이 가장 합당하다고 생각된다. 그러므로, flumazenil에 의한 불안조장 효과는 행동 검사동안 유리된 benzodiazepine 유사물질에 의한 길항 효과 때문인 것으로 생각해 볼 수 있다. 내인성 benzodiazepine 수용체 배위자는 스트레스동안 중추신경계에서 유리되었다는 보고는 많다. 예를 들면, 수영스트레스는 DMCM과 picrotoxin에 의해 유발되는 경련으로부터 생쥐를 보호하였으며, flumazenil은 이러한 효과를 부분적으로

길항하였다(Trulla 등, 1988). 또한 수영스트레스는 생쥐에서 pentobarbital의 치사률(lethality)을 증강시켰다(Trulla 등, 1988). 이러한 두가지 보고로부터, 스트레스는 benzodiazepine 수용체에 대한 내인성 효현제를 유리시킴을 짐작할 수 있으나, 반면에, 예기치 못한 footshock에 의해 유발되는 스트레스는 benzodiazepine 수용체에 대한 내인성 역효현제(inverse agonist)를 유리시킴이 시사된 보고들(Baldwin과 File, 1988; Trulla 등, 1988)도 있었다. 결론적으로, 이러한 연구결과들은 benzodiazepine 수용체 배위자들이 불쾌한 학습 과정에 동반되는 스트레스와 불안의 정도에 영향을 미침으로써 기억 형성과정을 조절한다는 가정을 한층 뒷받침해주고 있다.

Benzodiazepine 유사물질의 뇌 부위별 농도와 불안도간의 상관관계

전술한 실험결과를 기반으로, 변연계가 경험에 수반되는 스트레스/불안의 정도와 관련하여 뇌조직내의 benzodiazepine 유사물질의 농도를 변화시킴으로써, 불안 조장적인 경험들에 반응함이 시사되고 있다(Da Cunha 등, 1992). 이러한 의문점을 풀기 위하여 다음과 같은 실험이 실시되었다. (1) 이전의 정신약물학 실험에서 사용되었던 각종 학습 검사법(learning paradigm)이 실험동물의 elevated plus maze 수행에 미치는 영향이 검색되었으며,

Table 2. Effect of previous training in various behavioral tasks on activity in the elevated plus maze activity. Animals were submitted to 1, 2, or 7 daily 1-min sessions of free exploration of an inhibition avoidance box, or to inhibitory avoidance training with a 0.35 mA footshock. Results expressed as mean±SEM of the total number of entries in the open or closed arms of the maze, percentage of time or number of entries in the open arms or number of rearings made by the rats during a 5-min test

	Control (21)	Free exploration			Footshock (12)
		1 day (18)	2 days (20)	7 days (18)	
Total entries	14±1	11±1	11±1**	1±1***	6±1***
% time (open)	16±2	10±1*	8±1**	1±1***	4±1
% entries(open)	45±2	45±3	39±3**	9±5***	45±6***
Rearings	15±1	12±1	15±1**	6±1***	10±1***

The number of animals in each group are indicated in parenthesis. * p<0.05; **p<0.01; *** p<0.005 with respect to control group. Duncan's test after one-way ANOVA. From Da Cunha, et al. (1993).

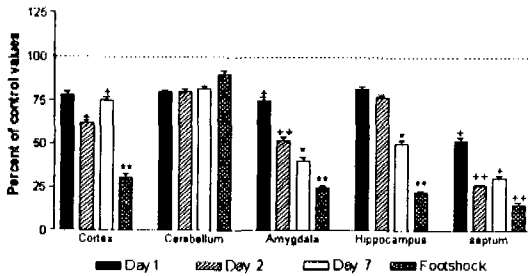


Fig. 1. Effect of 1, 2, or 7 daily sessions of free exploration of an inhibitory avoidance box, 1 min each, or of the training in inhibitory avoidance with 0.35 mA footshock in the levels of immunoreactivity against BZD in selected regions in the rat brain compared to naive rats. The results are expressed as percentage of control values(broken line). Each bar represents mean±SEM of 4-17 pools from tissues of 2-6 animals each. (') p<0.05, (') p<0.01 with respect to control group; (*) p<0.05, (**) p<0.01 with respect to 1-day exploration group, Duncan's test after one way ANOVA. From Da Cunha, et al. (1993).

(2) 이러한 측정법과 행동검사후의 뇌의 각부위에서 관찰되는 benzodiazepine 유사물질의 농도와의 상관성에 대한 실험이 실시되었다.

개방 통로에서의 체류 시간은 탐색과정의 수에

비례적으로 감소하였으며, 억압성 회피성 훈련 과정에 의해 체류 시간은 감소하였다. 개방통로의 진입률(percentage entries into the open arm)은 탐색과정에 7번 노출된 실험 동물군에서만 감소하였으며, rearing 수는 탐색 노출군과 footshock 노출군에서 감소하였다(표 2).

행동훈련 과정이 뇌조직의 benzodiazepine 유사물질의 부위별 농도에 미치는 영향은 그림 1에 나타난 바와 같다. 편도체, 해마 및 중격의 benzodiazepine 유사 면역반응성의 감소는 각 실험군의 개방통로에서의 체류시간의 백분율과 상관관계가 있었다. Benzodiazepine 유사 물질의 대뇌피질과 소뇌의 농도는 억압성 회피검사 실시군에서의 대뇌피질 농도의 약한 감소를 제외하면 유의한 변화가 없었다. 전체적으로 볼 때, 각종 행동검사후 나타나는 뇌조직의 benzodiazepine 유사물질의 부위별 농도 감소는 행동검사에 수반되는 스트레스 및 불안정도에 비례하므로, 스트레스 및 불안에 대한 변연계의 일반적인 반응으로 생각된다. 부가적으로 이러한 결과는 변연계의 GABA_A/benzodiazepine 수용체 복합체는 생체의 스트레스 및 불안반응의 생리, 생화학적 면에서 중추적인 역할을 한다는 생각(Trulla 등, 1987; Drugan과 Holmes, 1991)을 한층 뒷받침해주는 결과라 할 수 있다.

앞으로의 연구 방향

자연발생적인 benzodiazepine은 뇌조직, 다수의 식물 및 미생물에서 발견되었다. 부가적으로 말하자면, 뇌조직에서 발견된 다수의 benzodiazepine 수용체 배위자 중 다수는 효현제였다. 이들 중 가장 흥미로운 것은 뇌조직에서 발견된, endozepine이라 불리는 비 benzodiazepine계 배위자이며, 이들의 구조는 아직 연구중이다. 뇌조직의 benzodiazepine 수용체에서 내인성 benzodiazepine 혹은 다른 효현제들의 역할은 명백한데, 이들은 훈련후 기억형성과정을 하향조절한다. 아마도 이러한 작용은 GABA_A수용체 복합체에 작용함으로써 glutamate 수용체의 long-term potentiation에 연관된 편도체, 내측 중격, 해마에서 기억 형성 기전을 억압하는 것으로 알려졌다. 내인성 benzodiazepine 혹은 benzodiazepine 유사 물질들은 다수의 행동 검사에 대한 불안이나 스트레스 정도와 관련하여 뇌조직에서 유리된다. 그래서 불안의 정도를 조절하고 그 결과 기억에 영향을 미치는 것으로 보고 있다. 간질환의 뇌기능장애가 benzodiazepine 수용체 길항제의 처치로 호전될 수 있으며, 이러한 질환의 병인에 중심적인 역할을 한다는 많은 근거들이 있다. Endozepine과 함께 다른 benzodiazepine계 물질들은 간성혼수나 다른 형태의 혼수에 중요한 역할을 할지도 모른다는 생각은 가능한 것이다. 현시점에서 앞으로의 연구 방향은 무엇인가? β -Carboline, benzodiazepine, hypoxanthine, peptide, flavonoid, terpinic, quinoline 및 endozepine들은 GABA_A 수용체 복합체상의 benzodiazepine 결합 부위에 결합하는 효현제 및 길항제들이며, 이들은 유사한 친화도(낮은 Kd)를 가지고 있으나 화학적 성상은 매우 다양하다. 이러한 물질들 중 구조적 유사성과 공통성을 발견하기 위한 molecular modelling은 가능한 일이다. 또 다른 한 방향으로 식물들에서 발견된 다양한 물질들을 대상으로 이러한 작업을 실시해도 좋을 것이다. 이러한 작업들을 통해서 우리는 불안 해소작용만 가지면서 기억상실(amnestic), 진정, 의존성이 없는 약물을 개발할 수 있을 뿐 아니라, benzodiazepine 수용체의 특이한 아형(subtype)에 선택적인 약물을 개발할 수 있다. 예를 들면, 진정작용, 불안해소 및 기억 상실작

용 등의 약리작용의 강도(potency)와 대뇌피질, 소뇌, 편도체 혹은 해마 등의 뇌부위별 결합 특이성이 상관관계가 있는지, 또 수용체의 아형(subunit)과의 상관관계는 어떠한지 연구해볼 필요가 있다.

지금까지 의문으로 남은 문제중 가장 중요한 부분은 뇌조직내에 존재하는 benzodiazepine의 근원에 관한 것인데, 이들 물질 중 식이(diet)에서 유래되는 것과 내인성으로 생합성되는 것은 무엇인지, 특히 endozepine의 근원과 관련하여 benzodiazepine계 약물과의 공통점에 관한 면은 아직도 많은 연구를 요구하고 있다. 불안자체의 인지나 불안상태의 시작신호를 전달하는 다양한 신경내분비학적 및 내분비학적 변화에 대해 반응하여 뇌조직 자체에서 benzodiazepine 혹은 benzodiazepine 유사물질이 유리되는지, benzodiazepine보다 항우울제에 더 잘 반응하는 불안장애의 성체는 무엇이며, 우울증과 뇌조직의 benzodiazepine 유사물질간의 관계는 어떠한지, 혹시 자연발생적인 benzodiazepine, β -carboline 혹은 endozepine들이 중심적 역할을 하는가는 확인해 볼 필요가 있다. Benzodiazepine 수용체 효현제들은 환자의 뇌조직이나 뇌척수액에서 보고된 수배 이상의 용량을 주지 않으면 혼수상태를 유발하지 않는다. 그렇다면, 이들은 정말 간성혼수나 다른 형태의 혼수와 밀접한 관계가 있는 것인지 궁금하다.

요 약

세계적으로 그 처방률이 높은 약물들 중 하나인 benzodiazepine계 약물은, 강력한 불안해소작용, 항경련작용, 최면작용 및 근이완작용을 가지고 있다. Benzodiazepine계 약물의 약리작용기전과 관련하여 불안장애의 병인에서 각종 신경전달계의 역할은 밝혀지고 있다. Benzodiazepine 약물은 편도체와 같은 변연계, 후측 시상하부 및 raphe nuclei에서 GABA성 신경전달을 조절함으로써 불안해소작용을 나타내는 것으로 보고되었으며, 공포와 스트레스로 인해 유발되는 행동에 있어서 편도체의 역할은 이미 여러 보고를 통해 시사된 바 있다. 본 종설에서는 GABA성 신경전달 조절작용이 있다고 보고

된 내인성 benzodiazepine 수용체 배위자의 불안 및 스트레스 반응의 인지 조절작용 및 기억 형성과정 조절작용 등에 관한 연구결과들을 종합하여 본 결과 내인성 benzodiazepine 수용체 배위자들이 불쾌한 학습과정에 동반되는 스트레스와 불안의 정도에 영향을 미침으로써 기억 형성과정을 조절한다는 생각을 뒷받침해 주었다. 또한 각종 행동 검사후 나타나는 뇌조직의 benzodiazepine 유사 물질의 부위별(편도체, 해마, 중격) 농도 감소는 행동 검사에 수반되는 스트레스 및 불안 정도에 비례하므로, 이러한 물질의 감소는 스트레스 및 불안에 대한 변연계의 일반적인 반응으로 생각된다. 부가적으로 이러한 결과는 변연계의 GABA_A/benzodiazepine 수용체 복합체는 생체의 스트레스 및 불안반응의 생리, 생화학적 면에서 중추적인 역할을 한다는 생각을 할 수 있게 하는 결과라 할 수 있다.

참 고 문 헌

- Basile AS, Ostrowski NL, Gammal SH, Jones EA, Skolnick P: The GABA_A receptor complex in hepatic encephalopathy: autoradiographic evidence for the presence of elevated levels of a benzodiazepine receptor ligand *Neuropsychopharmacology* 3: 61-71, 1990.
- Basile AS, Pannell L, Jaouni T, Gammal SH, Fales HM, Jones EA, Skolnick P: Brain concentration of benzodiazepine are elevated in an animal model of hepatic encephalopathy. *Proc Natl Acad Sci* 87: 563-567, 1990.
- Basile AS: The contribution of endogenous benzodiazepine receptor ligands to the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Synapse* 7: 141-150, 1991.
- Basile AS, Jones EA, Skolnick P: The pathogenesis and treatment of hepatic encephalopathy: evidence for the involvement of benzodiazepine receptorligands. *Pharmacol Rev* 43: 28-71, 1991.
- Baldwin H, File S: Reversal of increased anxiety during benzodiazepine withdrawal: evidence for an anxiogenic endogenous ligand for the benzodiazepine receptor. *Brain Res Bull.* 20: 603-606, 1988.
- Da Cunha C, De Stein ML, Wolfman C, Koya R: Effect of various training procedures on performance in an elevated plus-maze: possible relation with brain regional levels of benzodiazepine like molecules. *Pharmacol Biochem Behav* 43(3): 677-681, 1992.
- Da Cunha C, Wolfman C, Izquierdo I, Medina JH: Anxiety and brain benzodiazepine-like molecules. In Izquierdo I and Medina J: Naturally occurring benzodiazepines. Ellis Horwood limited, Chichester, West Sussex, England, 1993, pp. 81-88.
- Davis M: The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci* 15: 353-375, 1992.
- De Blas AL, Park D, Friedrich P: Endogenous benzodiazepine-like molecules in the human, rat and bovine brains studied with a monoclonal antibody to benzodiazepines *Brain Res* 413: 275-264, 1987.
- De Robertis E, Pena C, Paladini AC, Medina JH: The protective effects of stress control may be mediated by increased brain levels of benzodiazepine receptor agonists. *Brain Res* 661: 127-136, 1988.
- Drugan RC, Holmes PV: Central and peripheral benzodiazepine receptors: involvement in the organism's response to physician and psychological stress. *Neurosci Biobehav Rev.* 15: 277-298, 1991.
- File S, Pellow S: Intrinsic actions of the benzodiazepine receptor antagonist Ro 15-1788. *Psychopharmacology(Berl)* 88: 1-11, 1986.
- Hodges H, Green S, Glenn B: Evidence that the amygdala is involved in benzodiazepine and serotonergic effects on punished responding but not on discrimination. *Psychopharmacology* 92: 491-504, 1987.
- Izquierdo I, Pereira ME, Medina JH: Benzodiazepine receptor ligand influences on acquisition: suggestion of an endogenous modulatory mechanism mediated by benzodiazepine receptors. *Behav Neural Biol.* 54: 27-41, 1990.

- Izquierdo I, Medina JH: GABA_A receptor modulation of memory: the role of endogenous benzodiazepine. *TIPS* 12: 260-265, 1991.
- Izquierdo I, Medina JH, Bianchin M, Walz R: Memory processing by the limbic system. role of specific neurotransmitter systems. *Behav Brain Res* 58(1-2): 91-98, 1993.
- Izquierdo I, Medina JH: Role of the amygdala, hippocampus and entorhinal cortex in memory consolidation and expression. *Braz J Med Biol Res* 26(60): 573-589, 1993.
- Lal H, Lumar B, Foster MJ: Enhancement of learning in mice by a benzodiazepine antagonist. *Faseb J*. 2: 2707-2711, 1988.
- Le Doux JE, Cicchetti P, Xagoraris A, Romanski LM: The lateral amygdaloid nucleus: Sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *J Neurosci*. 10: 1062-1069, 1990.
- Leimgruber W, Batcho AD, Schenker F: The structure of anthramycin. *J Am Chem Soc* 87: 5793-5795, 1965.
- Luckner M: Secondary metabolism in microorganisms, plants and animals. Berlin, Springer, 1984, pp. 272-276.
- Medina HK, Pena C, Piva M, Wolfamn C, de Stein ML, Wasoski C, Da Cunha C, et al.: Benzodiazepines in the brain. Their origin and possible biological roles. *Mol Neurobiol* 6(4): 377-386, 1992.
- Medina JH, Paladini AC, Izquierdo I: Naturally occurring benzodiazepines and benzodiazepine-like molecules in brain. *Brain Res*: 1-8, 1993.
- Medina JH, Levi de Stein M, Wolfman C, Wasoski C: In vivo formation of benzodiazepine-like molecules in mammalian brain. *Biochem Biophys Res Commun* 195(2): 1111-1118, 1993.
- Pellow S, Chopin P, File S, Briley M: Validation of open: closed arms entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth* 14: 149-167, 1985.
- Piva M, Medina JH, De Blas AL, Pena C: Formation of benzodiazepine-like molecules in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 180: 972-961, 1991.
- Primus RJ, Kellogg CK: Experience influences environmental modulation of function at the benzodiazepine/GABA receptor chloride channel complex. *Brain Res*. 545: 257-264, 1991.
- Shekhar A, Hingsten JN, Di Micco: GABA receptors in the posterior hypothalamus regulate experimental anxiety in rats. *Brain Res* 512: 81-88, 1990.
- Skolnick P, Paul S: New concept in the neurobiology of anxiety. *J Clin Psychiatry* 44: 12-19, 1983.
- Soubrie P: Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior. *Behav Brain Sci*. 9: 319-364, 1986.
- Squires RF, Saedrup E: γ -Aminobutyric acid receptor modulate cation binding sites coupled to independent benzodiazepine, picrotoxin, and anion binding sites. *Mol Pharmacol* 22: 327-334, 1982.
- Sternbach LH: The discovery of CNS active 1,4-benzodiazepines. In Costa E: The benzodiazepines: from molecular biology to clinical practice. Raven New York, 1983, pp.1-6.
- Sullivan RM, Henke PG, Ray A, Hebert MA, Trimper JM: The GABA/benzodiazepine receptor complex in the central amygdala nucleus and stress ulcers in rats. *Behav Neural Biol*. 51: 262-265, 1989.
- Takagi H, Oomura Y, Ito M, Otsuka M: Biowarning system in the brain. Tokyo, University of Tokyo Press, 1988, pp.227-241.
- Trulla R, Havoundjian H, Skolnick P: Stress-induced changes in *t*-(3H)butylbicyclophosphorothionate binding to γ aminobutyric acid-gated chloride channel are mimicked by an vitro occupation of benzodiazepine receptors. *J Neurochem*. 49: 968-974, 1987.
- Trullas R, McIntyre T, Skolnick P: The benzodiazepine/GABA receptor chloride ionophore complex as a biowarning system. In Oomura Y, Ito M and Otsuka M: Biowarning systems in the brain, University of Tokyo Press, 1988, pp. 227-241.
- Unsold E, Fisher C, Rothmund E, Klotz U: Occurance of natural diazepam in human

- brain *Biochem Pharmacol* 39: 210-212, 1989a.
- Unselde E, Krishna DR, Fischer C, Klotz U: Detection of desmethyldiazepam and diazepam in brain of different species and plants. *Biochem Pharmacol* 38: 2473-2478, 1989b.
- Viola H, Wolfman C, de Stein ML, Wasoski C, Pena C, Medina JH, Paladini AC: Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligands from *Tilia tomentosa* (Tiliaceae). *J Ethnopharmacology* 44: 47-53, 1994.
- Wolfman C, Da Cunha C, Jerusalinsky D, Levi de Stein M, Viola H, Izquierdo I, Medina JH: Habituation and inhibitory avoidance training alter brain regional levels of benzodiazepine-like molecules and are affected by intracerebral flumazenil microinjection. *Brain Res* 546: 74-60, 1991.
- Yadin E, Thomas E, Strickland CE, Grishkat HL: Anxiolytic effects of benzodiazepines in amygdala-lesioned rats. *Psychopharmacology* 103: 473-479, 1991.
- Yurdaydin C, Walsh TJ, Engler DE, Ha J-H, Li Y, Jones EA, Basile AS: The role of gut bacteria in the accumulation of benzodiazepine receptor ligands in a rat model of hepatic encephalopathy. *Brain Res* 679: 42-48, 1995