

Las imidazodiazepinas, antagonistas centrales de las benzodiazepinas

J.M. Alvarez Rueda*
E. Barrera Tenorio**
H. Pérez-Rincón***

Summary

This is a revision of the pharmacologic profile of a group of new drugs considered as central antagonists of the benzodiazepines, the imidazodiazepines.

A revision of the studies in animals and human beings is made, though pharmacokinetic studies in humans are still in an early stage. Imidazodiazepines only have a central effect, but they can also be used as an antidote in intoxications caused by an overdose of benzodiazepines. They may also generate an immediate reversion of the effects of BZD with better results than naloxone.

As for its electroencephalographic action, they adopt a similar profile to that of nootropics. It seems that they generate an increase of sleep latency but they do not antagonize the decrease in the number of REM during paradoxical sleep.

Resumen

Se revisa el perfil farmacológico de un grupo de nuevos compuestos que se han postulado como antagonistas centrales de las benzodiazepinas: las *imidazodiazepinas*.

Se pasa revista a los estudios realizados en animales y de aquellos que hasta la fecha se han desarrollado en los seres humanos. En estos últimos los estudios farmacocinéticos se encuentran aún en una fase temprana. Las imidazodiazepinas sólo tienen efecto central, y entre las indicaciones que se les pueden asignar se cuenta la de funcionar como antídoto para las intoxicaciones provocadas por una sobredosis de benzodiazepinas. Pueden generar una inmediata reversión de los efectos de las BZD con mayor constancia que la naloxona.

En cuanto a su acción electroencefalográfica, adoptan un perfil semejante al de los nootrópicos. Parece ser que generan un aumento en la latencia del sueño y no antagonizan la disminución del número de movimientos oculares rápidos durante el sueño paradójico.

Introducción

Las benzodiazepinas (BZD) son sustancias con propiedades farmacológicas que resultan de su acción sobre el sistema nervioso central (SNC). Los efectos más importantes de estos compuestos son: su efecto sedante-hipnótico de relajación muscular, ansiolítico y anticonvulsivante⁽²⁰⁾.

Si bien es cierto que aún se sigue estudiando el mecanismo de acción de los efectos de las BZD, parece

claro, hasta ahora, que se deben al aumento específico de la actividad de la sinapsis química que utiliza al ácido gamma amino-butírico (GABA) como trasmisor⁽³⁹⁾.

Aparentemente las BZD producen un efecto semejante al de ligandos endógenos hipotéticos que ocupan un sitio de unión dentro del SNC, conocido como "el receptor benzodiazepínico"^(6, 30). No se han podido demostrar los ligandos endógenos hipotéticos de estos receptores por medio de la evidencia experimental obtenida hasta ahora. En lo que concierne al receptor, éste no se encuentra aislado, sino que parece formar parte de un complejo supramolecular integrado por el receptor a las BZD, el receptor al GABA y el canal de cloro (Cl⁻)^(18,32).

El mecanismo de acción de las BZD a nivel molecular, parece conocerse mejor desde que se descubrieron los derivados imidazodiazepínicos (IDZ)⁽²²⁾, los que al parecer actúan antagonizando la acción central de las BZD a nivel del receptor⁽²⁹⁾, y cuya única actividad farmacológica es, tal vez, la de prevenir o abolir de manera altamente selectiva todos los efectos característicos mediados centralmente por las BZD activas⁽¹⁹⁾.

El efecto antagonista de las IDZ se debe a la interacción con el receptor BZD. Este efecto se estudió por medio de la inhibición competitiva de la unión de ³H-diazepam (diazepam marcado) y en la identificación de un sitio de unión de alta afinidad para las IDZ en el tejido cerebral (in vitro)⁽²²⁾, que parece tener el mismo ligando específico identificado para el diazepam (DZM)⁽⁷⁾. Todas las BZD estudiadas también muestran la misma potencia relativa para desplazar la unión de DZM y de Ro 15-1788, uno de los primeros compuestos IDZ seleccionados para los estudios clínicos. Además, los ligandos al receptor BZD no se relacionan estructuralmente con sustancias como la zopiclona, un compuesto no BZD, con afinidad moderada para los sitios de unión a BZD⁽³⁾. Los compuestos BZD, incluso algunos convulsivantes, que no inhiben la unión del DZM marcado en el SNC, tampoco inhiben la unión de las IDZ marcadas. La distribución y densidad de los sitios de unión a las IDZ marcadas, observados por autoradiografía en varias regiones del SNC, fueron similares a los encontrados para el flunitrazepam (FNZ)^(39, 41).

A partir de las primeras comunicaciones sobre los estudios de los compuestos IDZ, se informó que éstas carecían de actividad intrínseca, tanto a nivel conductual como electrofisiológico. La única actividad observada

*Departamentos de Farmacología y de Psiquiatría y Salud Mental. Facultad de Medicina, UNAM, México, D.F.

**Departamento de Investigaciones Clínicas. Roche, México, D.F.

***Instituto Mexicano de Psiquiatría y Departamento de Psiquiatría y Salud Mental. Facultad de Medicina, UNAM, México, D.F.

con el Ro 15-1788, fue una ligera disminución de la actividad multiunitaria espontánea registrada en los núcleos del rafe y del hipocampo dorsal, en ratas "*encephale isole*". La actividad neuronal a nivel del rafe fue ligeramente sensible a dosis de 0.03 mg/kg con las que se disminuyó la actividad hasta en un 80% con respecto al control. En la rata también se encontró alguna propiedad anticonvulsivante después de la administración de 50 mg/kg; las dosis más bajas (4 a 10 mg/kg) parecen inducir un efecto ansiogénico ligero, y las dosis entre 4 y 20 mg aumentan la conducta de cabeceo exploratorio^(11,37).

Los estudios en animales

Las IDZ parecen ser menos tóxicas que algunas de las BZD clásicas. La dosis letal (DL) 50, para el Ro 15-1788, es de 4000 mg/kg por vía intraperitoneal (ip) y de 4300 mg/kg por vía oral (po), en el ratón. En la rata, es de 1360 mg/kg ip y de 6000 mg/kg po. En las diferentes especies estudiadas (ratón, rata, gato, perro y mono) los compuestos mostraron dosis sub-tóxicas que no producen ninguno de los efectos característicos de las BZD tales como sedación, efecto anticonvulsivante relajación muscular o efecto anticonflictivo. Asimismo las IDZ no son convulsivantes por sí mismas y no sensibilizan a los animales cuando se les administran convulsivantes químicos, como el leptazol; más bien disminuyen la actividad central de estos estimulantes. La unión específica del DZM marcado en fracciones sinaptosomales del cerebro de la rata, se inhibió en forma competitiva y completa con estos compuestos, los cuales también inhibieron en forma dosis-dependiente la unión cerebral del FNZ marcado, inyectado por vía intravenosa (iv) en el ratón^(5, 27).

Las IDZ se estudiaron por medio de tres procedimientos que permiten el cernimiento del efecto antagonista sobre las BZD: La prueba del antileptazol, la prueba del alambre horizontal en el ratón y el antagonismo de la preanestesia por FNZ, en el mono. En la primera prueba, una dosis supramáxima de leptazol (120 mg/kg) produjo ataques tónicos en todos los animales. El DZM a la dosis de 5 mg/kg ip (dos veces la dosis efectiva (DE 90 calculada), evita la aparición del ataque tónico en el ratón, cuando se administra una hora antes del leptazol. El Ro 15-1788 administrado 15 min antes del leptazol y 45 min después del DZM, antagonizó el efecto anticonvulsivante del DZM con una DE 50 a 2.8 mg/kg, sin modificar la acción anticonvulsivante del fenobarbital en la misma prueba⁽⁵⁾.

En la prueba del alambre horizontal, los fármacos depresores centrales disminuyeron la habilidad del ratón para desempeñar la prueba en forma dosis-dependiente. El DZM a dosis de 3 mg/kg reduce esta habilidad hasta en un 70-100%. Las IDZ administradas antes, simultáneamente o después del DZM, atenúan o bloquean (dependiendo de la dosis) el efecto depresivo del DZM y de algunas otras BZD. Cuando el Ro 15-1788 se administra 15 min. después del DZM y la prueba se realiza 30 min. después del DZM, la DE 50 para la IDZ, es de 0.2 mg/kg po. Estas últimas no afectan, *per se*, la

ejecución del ratón, y a dosis altas son inestables para antagonizar el efecto depresivo del fenobarbital, el meprobramato, el etanol, la L-cicloserina (un compuesto que inhibe la transaminasa del GABA) y el muscimol⁽⁵⁾. Sin embargo, antagonizan el efecto ejecución-depresión logrado por la zopiclona⁽³⁾.

El estado preanestésico (pérdida del reflejo de enderezamiento, ataxia y postura de sueño) es inducido en el mono por 3 mg/kg de FNZ iv. El Ro 15-1788 a las dosis de 10 y 100 mg/kg po. administradas en el pico de acción del FNZ, permite al animal regresar a la conducta vigil entre 2 y 4 horas después⁽⁵⁾.

La conducta de alimentación en la rata puede ser deprimida por un estímulo aversivo. En los experimentos en animales este modelo es un buen indicador de la actividad ansiolítica en el hombre. Para este procedimiento se utilizaron ratas que se entrenaron para que oprimieran una palanca para alimentarse. Cada vez que oprimían la palanca se les daba comida y un choque eléctrico en las patas. Esto hizo que se redujera el número de opresiones a la palanca. El DZM aumenta el número de respuestas, pero la administración de 10 mg/kg de Ro 15-1788 evita que aumenten⁽³⁵⁾.

Los estudios electrofisiológicos de las IDZ en los gatos espinales agudos muestran que los compuestos no alteran, por sí mismos, los potenciales reflejos del segmento de la raíz dorsal, el reflejo polisináptico de la raíz ventral y la frecuencia de descarga espontánea de las gamma-motoneuronas. Los derivados BZD más potentes, a una dosis de 0.1 mg/kg iv aumentan el potencial de la raíz dorsal (índice de la depolarización del aferente primario mediado por GABA), deprimen los reflejos polisinápticos de la raíz ventral y la actividad de las gamma-motoneuronas. Estos efectos dependen de la dosis y se revierten bajo la administración de las IDZ⁽³⁷⁾.

En las ratas "*encephale isole*", las inyecciones iv de los derivados BZD, tales como el midazolam, producen una disminución dosis-dependiente de la actividad multiunitaria espontánea de la *substantia nigra* y del núcleo *rafé dorsalis*. A dosis entre los 326 y 750 mcg, se alcanza una disminución hasta del 50% de esta actividad. El Ro 15-1788 a dosis de 3 mg/kg iv revierte el efecto del midazolam sobre la frecuencia de disparo de estas neuronas supuestamente ricas en dopamina y serotonina. En las mismas ratas, el antagonismo entre el midazolam y el Ro 15-1788 se observa también en las neuronas del hipocampo⁽³⁷⁾.

Otros fenómenos bioquímicos son también antagonizados por las IDZ. Cuando se administran compuestos neurolépticos o se provoca un estado de tensión (estrés) aumentan los niveles del ácido homovanílico (HVA), metabolito intermedio de la dopamina⁽²⁶⁾. Este aumento es considerado como un índice de la aceleración en el recambio de dopamina, el cual es atenuado por las BZD y puede ser utilizado como parámetro de estudio de la acción antagonista de las BZD. En esta situación, las IDZ revierten en forma dosis-dependiente el efecto del DZM sobre los niveles de HVA inducidos por clorpromazina. También se ha encontrado que las BZD y algunos compuestos con acción sedante, pero de grupos químicos diferentes, disminuyen el monofosfato cíclico de 3-5 guanosina (MFG) en el cerebelo de la

rata. Las IDZ *per se* no afectan el nivel cerebeloso de MFG, pero previenen (cuando se administran antes), atenúan o abolen (cuando se dan después) la reducción del MFG inducido por DZM. Estas modificaciones también dependen de la dosis. El contenido de MFG parece ser un buen indicador de la actividad de las células de Purkinje. La disminución de la entrada excitadora a través de las fibras trepadoras o mossi, o el aumento de la entrada de GABA al cerebelo, se acompaña de la disminución del contenido de MFG, mientras que el incremento de la entrada excitadora o la disminución de la estimulación del receptor GABA, genera un aumento del contenido de MFG. Las BZD y algunos otros depresores centrales disminuyen la actividad de las células de Purkinje, en tanto que las IDZ no la modifican, pero antagonizan el efecto del DZM a ese nivel, sin modificar la disminución del MFG producida por el etanol, el fenobarbital, la metacualona, el meprobramato, el haloperidol, el etazolato o el muscimol. Tampoco se modifica el incremento causado por la apomorfina o por las BZD convulsivantes. En los estudios de la interacción con los niveles de MFG *in vivo*, la administración oral del Ro 15-1788 antagoniza, a dosis equipotentes, el efecto agonista observado con el DZM. La actividad antagonista dura menos en la rata (menos de una hora a dosis de 5 mg/kg po). La acción prolongada es más marcada en el mono y en el perro^(23, 31).

Los estudios en el hombre

El estudio de los derivados IDZ en el hombre, han mostrado que hay una buena tolerancia y efectos discretos intrínsecos. La administración oral de 600 mg de Ro 15-1788, no causó cambios en las funciones cognitivas, psicomotoras o subjetivas⁽⁸⁾. Sin embargo, hay evidencia de alguna actividad intrínseca encontrada en los estudios que muestran la influencia del compuesto sobre los parámetros de sueño^(10, 43). Una dosis de 100 mg po provoca una ligera pero significativa disminución de la duración del sueño lento, particularmente del estado IV. Los estudios que se han hecho en un número mayor de sujetos muestran que las IDZ modifican la organización del sueño. El efecto principal es la activación de la vigilia al principio de la noche, lo que quiere decir que aumenta la latencia al sueño, sin que aumente la vigilia intrasueño. El efecto sobre la fase de sueño paradójico (SP) es dudoso y más difícil de interpretar^(4, 13). Sin embargo, la disminución del número de movimientos oculares rápidos (MOR) durante el SP, observada cuando se administran los derivados BZD, como el flunitrazepam, no es antagonizada por el Ro 15-1788, sino que más bien se observa una disminución de los MOR, si bien esta última es débil y diferente a la del flunitrazepam⁽¹⁾.

En un estudio reciente, se investigó el efecto del Ro 15-1788 sobre las modificaciones del electroencefalograma (EEG) espontáneo y de la respuesta auditiva provocada (RAP), inducidas por el diazepam en un grupo de 10 sujetos voluntarios sanos a los cuales se les administró el Ro 15-1788 a la dosis de 5 mg/kg iv, con las que se obtuvo un rápido antagonismo de la sedación diazepínica por la recuperación del ritmo alfa predomi-

nante y la disminución de la actividad lenta. Sin embargo, uno de los componentes de la RAP (el P₂), que disminuye con el DZM, también disminuyó con el Ro 15-1788. Este hallazgo fortalece la evidencia de una actividad intrínseca de estos compuestos⁽⁴⁰⁾.

La actividad intrínseca y el antagonismo de los derivados IDZ en el hombre se han reportado por el grupo de Gaillard⁽¹³⁾. Sus resultados muestran que los compuestos son farmacológicamente activos *per se* y que su efecto parece ser más rápido después de la administración parenteral, lo que sugiere la ausencia de metabolitos activos.

Los cambios inducidos en la actividad EEG por los derivados imidazodiazepínicos son diferentes a los inducidos por las benzodiazepinas pero comparables a los que se observan con algunos fármacos nootrópicos o psicogerátricos. La hidergina, el piracetam y el piritinol producen un aumento de la actividad alfa; el piracetam y el piritinol también reducen la actividad teta y aumenta la función cerebral en los pacientes geriátricos y parecen ser alfa "incrementadores"⁽²¹⁾, lo que no coincide totalmente con los estudios de Gaillard^(13,40) en donde se observa que la actividad alfa se presenta sin cambios en la región occipital, pero disminuye en la región frontal y central.

El perfil farmacológico de las IDZ parece ser comparable con el de los psicoestimulantes del tipo de las anfetaminas o la dietilamida del ácido lisérgico (LSD), en relación con la disminución de la actividad lenta y el incremento de la actividad alfa. Sin embargo, en contraste con el Ro 15-1788, las anfetaminas aumentan la actividad alfa y los parecidos al LSD aumentan la actividad beta⁽²¹⁾.

Las propiedades de activación central de las IDZ, son también previsibles por el aumento de la conducta de cabeceo exploratorio de la rata⁽¹⁶⁾, y probablemente diferente de la estimulación motora más inespecífica provocada por las anfetaminas. Estos resultados son concordantes con los de Gaillard y Blois⁽¹³⁾ que muestran que las IDZ aumentan significativamente la latencia al sueño en los sujetos normales. La ausencia de cambios reportada por Darragh y cols.⁽⁸⁾, parece deberse a que el método de inyecciones iv de dosis pequeñas y la investigación de sus modificaciones electrofisiológicas es una aproximación más sensible para revelar los efectos centrales de las IDZ⁽⁴⁰⁾. La acción de estos compuestos aumenta la sospecha de una posible actividad parecida a la de las BZD. Esta posibilidad se apoya en los hallazgos de que las IDZ y algunas BZD activas disminuyen el disparo espontáneo de las células del núcleo del raquí y del hipocampo. En los estudios de Schöpf⁽⁴⁰⁾ se describe alguna posible evidencia en favor de esta interpretación, con relación a la disminución de la amplitud de la RAP. Sin embargo, este cambio es inespecífico y puede observarse con algunos otros compuestos psicotrópicos. Las modificaciones observadas en los patrones de sueño^(1,4,13,24) pueden sugerir un agonismo parcial. El efecto, sin embargo, solamente se observa en la noche en la que se administra el compuesto, en tanto que el efecto que se observa con las BZD de corta acción, sigue observándose durante las noches posteriores a aquella en la que se administró el

fármaco, por lo que es probable que algún otro mecanismo parecido al que ejercen las BZD⁽¹⁴⁾, o la presencia de receptores diferentes para cada compuesto, pueda ser responsable de la disminución del sueño lento provocado por las IDZ⁽¹⁰⁾.

Una posible explicación del aparente efecto de activación de las IDZ, parece ser el efecto agonista BZD débil e inverso. El término "agonismo inverso" ha sido propuesto^(9, 28, 38) para definir a los agentes que reducen la función del complejo receptor-aceptor del GABA, y que son diferentes al agonista específico. Este efecto se sugiere en los estudios en los animales^(33,34), en donde se observa que aumenta la conducta de cabeceo exploratorio⁽¹⁶⁾ y el efecto "ansiolítico" ligero^(26, 35). Los efectos agonistas inversos de las betacarbolinas generan estados de ansiedad en el hombre, situación que no se observó con las IDZ. Sin embargo, la acción agonista inversa de las IDZ, si es que existe, puede ser muy débil y posiblemente está ligada solamente a una ligera activación central^(35, 36).

El fuerte y completo efecto de antagonismo provocado por las IDZ, puede deberse a un estado de profunda deficiencia del "neurotrasmisor" ansiolítico; sin embargo, esta situación, que se observa con algunas betacarbolinas, genera severos signos de ansiedad⁽⁴²⁾.

Hasta ahora el conocimiento de la acción intrínseca de las IDZ, es limitado. La administración de pequeñas dosis muestra modificaciones electrofisiológicas generales en el hombre⁽⁴⁰⁾, pero también se observan efectos conductuales que deben ser mejor estudiados, ya que la evidencia existente los presenta como débiles.

Conclusiones

De acuerdo con los estudios revisados, las IDZ se caracterizan por ser compuestos que representan una nueva clase de sustancias que actúan como antagonistas específicos de las BZD en el SNC⁽¹⁵⁾. También antagonizan algunas sustancias que no son BZD, y presentan afinidad para los receptores centrales de las BZD⁽²²⁾. No obstante, hasta ahora su actividad intrínseca es dudosa^(5, 12). Los efectos mediados por los receptores centrales son ampliamente antagonizados; pero a nivel periférico las IDZ parecen no tener ningún

efecto. Su efecto antiesquistosómico no es inhibido por compuestos del mismo grupo^(2, 12). La actividad antiesquistosómica de algunas BZD es mediada por sitios de unión de baja afinidad, diferentes al del receptor central^(33, 34). Las IDZ no antagonizan la depresión provocada por las BZD en la respuesta contráctil a la estimulación eléctrica tras mural, en el ileo de cobayo. Este efecto se debe, probablemente, a la acción estabilizante no específica, de la membrana⁽²²⁾.

Las IDZ pueden utilizarse como antídoto para las intoxicaciones provocadas por una sobredosis de BZD. Como agentes no tóxicos pueden abolir o reducir los efectos centrales de las BZD administradas antes de las intervenciones quirúrgicas, o pueden usarse para fines diagnósticos cuando se requiere de una inmediata reversión de los efectos de las BZD, ya que hasta ahora los intentos para impedir estos efectos con inhibidores de la colinesterasa o con antagonistas narcóticos, como la naloxona, han dado resultados inconstantes. Cuando se usan para fines diagnósticos, los antagonistas pueden mostrar fácilmente la presencia de cantidades activas de benzodiazepinas en el SNC; también pueden utilizarse para prevenir los efectos indeseables centrales de los compuestos (3 metil clonazepam) que son efectivos como tratamiento de choque de la esquistosomiasis^(2, 25).

Como herramienta de investigación, las IDZ pueden ser útiles para definir los efectos⁽¹⁷⁾ o las propiedades estructurales de las moléculas que son reconocidas y acopladas por el receptor a BZD, y son capaces de inducir o prevenir cambios configuracionales en el receptor, que aumenten la trasmisión gabaérgica o generen nueva información sobre la posible existencia de ligandos endógenos. El cernimiento de los compuestos puede identificar algunos que posean propiedades antagonistas puras o propiedades antagonistas combinadas con actividad agonista débil y revelen interesantes relaciones estructura-actividad⁽¹⁹⁾.

Es posible que se puedan delinear todavía nuevos tipos de acción con otros estudios farmacológicos y clínicos que caractericen más ampliamente las propiedades farmacológicas de estos compuestos.

BIBLIOGRAFIA

1. ALVAREZ RUEDA J M, BLOIS R, MERICA H, GAILLARD J M: Modifications of rapid eye movements during sleep induced by flunitrazepam, Ro 15-1788 and their combination. (En preparación).
2. BENNETT J L: Characteristics of antischistosomal benzodiazepine binding sites in *Schistosoma Mansoni*. *J Parasitol* 66: 742-747, 1980.
3. BLANCHARD J C, BOIREAU A, GARRET C, JULOU L: In vitro and in vivo inhibition by zopiclone of benzodiazepine binding to rodent Brain receptors. *Life Sci* 24: 2417-2420, 1979.
4. BLOIS R, GAILLARD J M: Effets du Ro 15-1788 sur l'EEG de sommeil chez l'homme. (En preparación).
5. BONETTI E P, PIERI L, CUMIN R, SCHAFFNER R, PIERI M, GAMZU E R, MULLER R K M, HAEFELY W: Benzodiazepine antagonist Ro 15-1788: Neurological and behavioral effects. *Psychopharmacology* 78: 8-18, 1982.
6. BRAESTRUP C, SQUIRES R F: Specific benzodiazepine receptors in rat brain characterized by high-affinity ³H-diazepam binding. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 74: 3805-3809, 1977.
7. BRAESTRUP C, NIELSEN M: Benzodiazepine receptor. *Arzneim Forsch Drug Res* 30(1): 852-857, 1980.
8. DARRAGH A, LAMBE R, O'BOYLE C, KENNY M, BRICK I: Absence of central effects in man of

- the benzodiazepine antagonist Ro 15-1788. *Psychopharmacology* 80: 192-195, 1983.
9. EHLERT F J: "Inverse agonists", cooperativity and drug action at benzodiazepine receptors. *TIPS* 7(1): 28-32, 1986.
 10. EMRICH H M, SONDEREGGER P, MAI N: Actions of the benzodiazepine antagonist Ro 15-1788 in humans after sleep withdrawal. *Neurosci Lett* 47: 369-373, 1984.
 11. FILE S E, LISTER R G, NUTT D J: Intrinsic actions of benzodiazepine antagonists. *Neurosci Lett* 32: 165-168, 1982.
 12. FILE S E, PELLOW S: Ro 5-4864, a ligand for benzodiazepine micromolar and peripheral binding sites: Antagonism and enhancement of behavioural effects. *Psychopharmacology* 80: 166-170, 1983.
 13. GAILLARD J M, BLOIS R: Effects of the benzodiazepine antagonist Ro 15-1788 on flunitrazepam-induced sleep changes. *Brit J Clin Pharmacol* 15: 529-536, 1983.
 14. GAILLARD J M: Sommeil et psychotropes. *J Pharmacol* 15(4): 389-399, 1984
 15. GELLER H M, HOFFER B J, TAYLOR D A: Electrophysiological actions of benzodiazepines. *Fed Proceed* 39(12): 3016-3023, 1980.
 16. GOLDSTEIN J M, SUTTON E B, MALICK J B: Interactions of Ro 15-1788, CGS 8216 and diazepam on head-turning in rats. *Pharmacologist* 26(3): 181, 1984.
 17. GRAM L F, CHRISTENSEN P: Benzodiazepine suppression of cortisol secretion: A measure of anxiolytic activity. *Pharmacopsychiat* 19: 19-22, 1986.
 18. GUIDOTTI A, CORDA M G, WISE B C, VACCARINO F, COSTA E: Gabaergic synapses. Supramolecular organization and biochemical regulation. *Neuropharmacology* 22(12B): 1471-1479, 1983.
 19. HAEFELY W: Role of benzodiazepine antagonists. *Pharmacopsychiat* 19: 7, 1986.
 20. HARVEY S C: Hypnotics and sedatives. En: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Gilman A G, Goodman L S, Rall T W y Murad F. (eds). 7a. edición Macmillan Publishing Company. Nueva York 339-371, 1985.
 21. HERRMANN W M: Development and critical evaluation of an objective procedure for the electroencephalographic classification of psychotropic drugs. En *Electroencephalography in Drug Research*. Herrmann W R (ed). G Fischer. Stuttgart. 249-352, 1982.
 22. HUNKELER W, MOHLER H, PIERI L, POLC P, BONETTI E P, CUMIN R, SCHAFFNER R, HAEFELY W: Selective antagonists of benzodiazepines. *Nature* 290: 514-516, 1981.
 23. KELLER H H, SCHAFFNER R, HAEFELY W: Interaction of benzodiazepine with neuroleptics at central dopamine neurons. Naunyn-Schmiedeberg's. *Arch Pharmacol* 294: 1-7, 1976.
 24. KRIEGER J, MANGIN P, KURTZ D: Effects of midazolam on sleep in normal subjects. *Br J Clin Pharmacol* 16: 795-805, 1983.
 25. LADER M: Introduction. New perspectives in benzodiazepine therapy. *Arzneim Forsch Drug Res* 30(1): 851, 1980.
 26. LAL H EMMETT-OGLESBY M W: Behavioral analogues of anxiety. Animal models. *Neuropharmacology* 22(12B): 1423-1441, 1983.
 27. LEMBIT H A, LEMBIT K R: The action of benzodiazepine antagonist Ro 15-1788 on the effects of gaba-ergic drugs. Naunyn. *Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 324: 235-237, 1983.
 28. LITTLE H J: The effects of benzodiazepine agonists, inverse agonists and Ro 15-1788 on the responses of the superior cervical ganglion to GABA in vitro. *Br J Pharmacol* 83(1): 57-68, 1984.
 29. MINDUS P, EHRIN E, ERICSSON L, FARDE L, HEDSTROM C G, LITTON J, PERSSON A, SEDVALL G: Central benzodiazepine receptor binding studied with 11-C labelled Ro 15-1788 and positron emission tomography. *Pharmacopsychiat* 19: 2-3, 1986.
 30. MOHLER H, OKADA T: Benzodiazepine receptor: Demonstration in the central nervous system. *Science* 198: 849-851, 1977.
 31. MOHLER H, BURKARD W P, KELLER H H, RICHARDS J G, HAEFELY W: Benzodiazepine antagonist Ro 15-1788: Binding characteristics and interaction with drug-induced changes in dopamine turnover and cerebellar cGMP levels. *J Neurochem* 37(3): 714-722, 1981.
 32. OLSEN R W: Drug interactions at the GABA receptor-ionophore complex. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 22: 245-277, 1982.
 33. PELLOW S, FILE S E: Behavioural actions of Ro 5-4864: A peripheral-type benzodiazepine? *Life Sci* 35(3): 229-240 1984.
 34. PELLOW S, FILE S E, HERBERG L J: Intracranial self-stimulation distinguishes between two benzodiazepine antagonists. *Neurosci Lett* 47(2): 173-177 1984.
 35. PETERSEN E N, JENSEN L H: Proconflict effect of benzodiazepine receptor inverse agonists and other inhibitors of GABA function. *Eur J Pharmacol* 103: 91-97, 1984.
 36. PETERSEN E N, JENSEN L H, DREJER J, HONORE T: New perspectives in benzodiazepine receptor pharmacology. *Pharmacopsychiat* 19: 4-6, 1986.
 37. POLC P, LAURENT J P, SCHERSCHLICHT R, HAEFELY W: Electrophysiological studies on the specific benzodiazepine antagonist Ro 15-1788. Naunyn-Schmiedeberg's. *Arch Pharmacol* 316: 317-325, 1981.
 38. POLC P, BONETTI E P, SCHAFFNER H, HAEFELY W: A three-state model of the benzodiazepine receptor explains the interaction between the benzodiazepine tranquilizers, beta-carbolines, and phenobarbitone. Naunyn-Schmiedeberg's. *Arch Pharmacol* 321: 260-264, 1982.
 39. RICHARDS J G, MOHLER H, HAEFELY W: Benzodiazepine binding sites: Receptors or acceptors? *TIPS* 3(6): 233-235, 1982.
 40. SCHOPF J, LAURIAN S, LE P K, GAILLARD J M: Intrinsic activity of the benzodiazepine anta-

- gonist Ro 15-1788 in man: An electrophysiological investigation. *Pharmacopsychiat* 17(3): 79-83, 1984.
41. SPETH R C, WASTEK G J, JOHNSON P C, YAMAMURA H I: Benzodiazepine binding in human brain: Characterization using (³H) flunitrazepam. *Life Sci* 22: 859-866, 1978.
42. VELLUCCI S, WEBSTER R A: Antagonism of the anticonflict effects of chlordiazepoxide by beta-carboline carboxylic acid ethyl ester, Ro 15-1788 and ACTH₍₄₋₁₀₎. *Psychopharmacology* 78: 256-260, 1982.
43. ZIEGLER G, LUDWING L, KLOTZ U: Effect of midazolam on sleep. *Br J Clin Pharmac* 16: 815-865, 1983.
42. VELLUCCI S, WEBSTER R A: Antagonism of