

二甲基筒箭毒次碱二氯甲烷盐对神经肌肉传递的作用

杨钦照 林乐儒

(中国科学院上海生理研究所, 上海)

提要 氯甲左箭毒碱对神经的冲动传导和肌肉的收缩无直接作用, 其肌松作用是由于可逆地阻滞了神经肌肉接头间的传递。新斯的明有拮抗作用。高于麻痹剂量(5×10^{-4} mg/ml)时, 它会降低小终板电位和终板电位的振幅和肌肉的乙酰胆碱敏感性, 肌肉的静息膜电位无明显变化。氯甲左箭毒碱与筒箭毒碱的效价和作用程度有差异, 但作用方式相同, 主要是作用于突触后, 封闭了终板区的乙酰胆碱受体, 导致传递阻滞。

关键词 二甲基筒箭毒次碱二氯甲烷盐; 膈神经膈肌; 突触后; 乙酰胆碱受体; 冲动传递; 终板电位; 小终板电位

二甲基左旋筒箭毒次碱二氯甲烷盐是从防己科植物毛叶轮环藤 (*Cyclea barbata* Miers) 中分离提取到的左旋筒箭毒次碱 (*l*-curine) 经化学半合成制备的衍生物, 动物试验和临床应用均有较好的肌肉松弛作用^(1,2)。今将此碱和筒箭毒碱对神经肌肉接头传递作用的比较结果报道如下。

材料和方法

二甲基左旋筒箭毒次碱二氯甲烷盐 (简称氯甲左箭毒碱) 为淡黄色粉末, 由上海药物研究所提供。水针剂为 5 mg/ml, 批号 781022, 由上海中药制药一厂提供。氯化筒箭毒碱系德国 Carl Roth-Karlsruhe 厂生产的结晶。实验前用蒸馏水稀释后使用。

大鼠膈神经膈肌标本 大鼠 (200—300 g) 断头, 分离左侧膈神经连同膈肌一起取出, 肌槽内盛 30 ml Krebs's 溶液, 通以 95% O₂-5% CO₂, 37°C, 用超强方形脉冲 (波宽 0.2 ms) 刺激膈神经, 记录其收缩反应于记纹鼓上。

小鸡颈二腹肌标本 用出壳后 3—10 天的小鸡, 从颈部背侧表层肌肉中分离一侧的颈二腹肌⁽³⁾, 两端用线结扎后剪下, 实验同膈肌膈

神经方法。

玻璃微电极细胞内记录 微电极内用 3M 的 KCl 溶液灌充, 内阻约 6—20 MΩ。用微操纵器将电极插入表层肌纤维的终板区, 引导出小终板电位和终板电位。细胞内的电变化经阴极输出器, 联于示波器进行观察和照相记录。

结果

一、作用强度

1. 剂量——反应曲线与半数有效浓度

氯甲左箭毒碱浓度小于 0.2 μg/ml 时, 对间接刺激所引起的膈肌的收缩高度没有明显的影响。当浓度增加至 0.5—1.7 μg/ml 时, 肌肉收缩波幅开始下降, 然后停留维持在一定水平上。实验观察了 4 种浓度的氯甲左箭毒碱的阻滞效应。每种浓度用 10 个膈肌标本, 由对数剂量—反应的回归曲线 (图 1 右侧) 算出半数有效浓度 (EC₅₀) 为 1.1 μg/ml。筒箭毒碱的 EC₅₀ 则为 0.42 μg/ml, 氯甲左箭毒碱的作用强度仅为筒箭毒碱的 0.4。

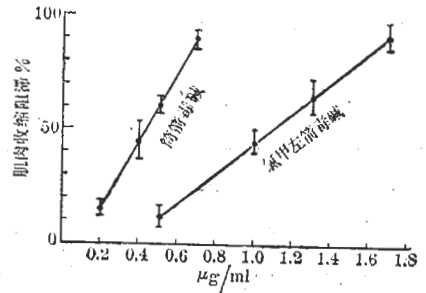


图 1 氯甲左箭毒碱和筒箭毒碱效价的比较

2. 与氯化筒箭毒碱的比较 氯甲左箭毒碱对离体膈肌标本的阻滞作用的一些特点, 如强直收缩不能维持, 有强直后增强现象, 能被

表1 氯甲左箭毒碱和筒箭毒碱(iv)对家兔垂头和呼吸麻痹作用比较。表内数字为 $\bar{x} \pm SD$

药 物	浓 度 (mg/ml)	兔 数	垂 头		呼 吸 麻 痹	
			开始时间 (min)	剂 量 (mg/kg)	开始时间 (min)	剂 量 (mg/kg)
氯甲左箭毒碱	0.1	5	6.9±1.3	0.08±0.02	11.3±1.9	0.14±0.03
氯化筒箭毒碱	0.2	5	15.3±2.4	0.28±0.03	24.5±4.9	0.43±0.07

新斯的明所对抗, 冲洗后能恢复等, 则和非去极化型肌松药的代表氯化筒箭毒碱相似, 但二者的作用程度有所差异。

从给药到肌肉收缩反应下降至原收缩高度的10%所需时间为产生90%的麻痹速率, 氯甲左箭毒碱起效比筒箭毒碱快, 前者麻痹速率为 $4.1 \pm 0.4 \text{ min}$ 后者为 $5.3 \pm 0.5 \text{ min}$ ($P < 0.05$)。以后开始用正常溶液冲洗, 以恢复到用药前的收缩水平的作为恢复速率, 则氯甲左箭毒碱麻痹的标本也比筒箭毒碱的恢复快些。

在整体实验中, 将氯甲左箭毒碱 (0.1 mg/ml) 以 0.3 ml/min 的速度推注于清醒家兔 ($2-4 \text{ kg}$) 的耳静脉内, 记录垂头剂量和呼吸停止剂量。表1的结果表明, 以垂头剂量计算, 氯甲左箭毒碱为筒箭毒碱的3.5倍, 以呼吸停止量计算, 则为3.1倍。

二、作用特点

1. 对离体膈神经膈肌标本的作用 在氯甲左箭毒碱 $5.3 \mu\text{g/ml}$ 的作用下, 电刺激膈神经引起的膈肌收缩反应迅速下降; 强直收缩不能维持; 有强直后增强现象。收缩反应消失后, 在膈神经上仍可记录到与对照相似的复合动作电位; 直接刺激肌肉所得到的收缩亦与对照相同。当神经肌肉标本完全麻痹, 记录不到肌肉收缩之后, 在溶液中加入新斯的明 ($1 \mu\text{g/ml}$) 仅能部分恢复由间接电刺激所引起的肌肉收缩反应(图2)。但用较低浓度的氯甲左箭毒碱使标本产生90%阻滞时, 加入新斯的明则可以有90%的恢复。但筒箭毒碱麻痹的标本仅能恢复80%。

2. 乙酰胆碱敏感性试验 为探明氯甲左



图2 氯甲左箭毒碱对膈肌收缩的阻滞作用。间接电刺激($6/\text{min}$), 圆点处为强直刺激 $100/\text{s}$, 10 s , 左起第1箭头处加氯甲左箭毒碱 $5.3 \mu\text{g/ml}$; 第2箭头处加新斯的明 ($1 \mu\text{g/ml}$); 第3箭头是用Kreb's液冲洗

箭毒碱究竟是作用于神经肌肉接头传递的什么环节, 进行了小鸡颈二腹肌实验。用间接电刺激($6/\text{min}$)引起肌肉收缩稳定之后, 停止刺激, 在肌槽内加入 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ 乙酰胆碱, 记录肌肉收缩作用, 1 min 后洗去, 若向肌槽内加氯甲左箭毒碱 $1.25 \mu\text{g/ml}$, 则间接电刺激收缩反应逐步减小, 在 4 min 内完全消失。此时如停止刺激, 加入同样浓度的乙酰胆碱, 也不引起收缩。把氯甲左箭毒碱冲洗后, 又可以出现乙酰胆碱反应, 筒箭毒碱处理的标本也相类似。说明在此浓度时, 氯甲左箭毒碱主要是作用于接头后。

三、电生理分析

1. 对膜电位的作用 用玻璃微电极测定了氯甲左箭毒碱 $5 \times 10^{-4} - 5 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}$ 作用前和作用期间直至膈肌对间接刺激已不能起反应之后, 肌细胞终板区和非终板区的膜电位, 结果均未观察到有明显改变。作用前的膜电位为 $67.8 \pm 3.1 \text{ mV}$, 作用后为 $67.4 \pm 2.8 \text{ mV}$, 差异不显著(标本10, 肌纤维数为200)。筒箭毒碱处理的标本也没有观察到膜电位的变化。

2. 终板电位和小终板电位 氯甲左箭毒碱在 10^{-8} — 10^{-6} mg/ml 时, 小终板电位的频率无明显变化。当浓度增加至 1.7×10^{-5} mg/ml 时, 小终板电位的频率为对照的 200%; 浓度在 10^{-4} mg/ml 时, 它的频率为对照的 150%; 而浓度为 2.5×10^{-4} mg/ml 时, 它的频率又恢复到对照水平。在浓度为 10^{-8} — 10^{-5} mg/ml 时, 小终板电位的振幅相对不变, 从 5×10^{-4} mg/ml 开始, 振幅随浓度的增加而下降, 直至记录不到。刺激膈神经所引起的终板电位的振幅也逐步变小, 直至记录不到。当终板电位振幅逐步变小时, 向肌槽内加入新斯的明 ($1 \mu\text{g}/\text{ml}$), 则终板电位的振幅增大, 时程延长(图 3), 有时还会导致单刺激能重新诱发肌肉的动作电位, 从而出现肌肉收缩。用频率为 50/s 的一串刺激脉冲刺激膈神经也可以记录到如筒箭毒碱作用下出现的一串逐步递减的终板电位, 图 4 A 和 B 便是分别在氯甲左箭毒碱和筒箭毒碱处理的标本上一串递减的终板电位的记录。C 为高 Mg^{2+} 作用时的记录。



图 3 新斯的明对氯甲左箭毒碱的拮抗作用 大鼠膈神经膈肌标本经氯甲左箭毒碱 ($5.3 \mu\text{g}/\text{ml}$) 处理后, 所记录到的终板电位(较小者), 在加入新斯的明 ($1 \mu\text{g}/\text{ml}$; 8 min) 后, 振幅增大和时程延长(较大者)。校正; 10 ms; 1 mV。

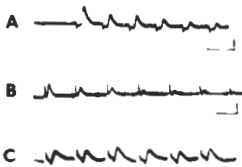


图 4 一串递减的终板电位。A, B, C 分别为大鼠膈神经膈肌标本经氯甲左箭毒碱、筒箭毒碱(均为 $5.3 \mu\text{g}/\text{ml}$) 和高 Mg^{2+} (12mM) 处理后, 频率 50/s 的 6 或 7 个刺激所引起的一串递减的终板电位, 校正; 20 ms, 1 mV

讨 论

在整体实验中, 氯甲左箭毒碱对小鼠、猫、狗和兔的肌松作用为筒箭毒碱的 1.5—5 倍⁽²⁾。但氯甲左箭毒碱对大鼠离体膈神经膈肌标本阻滞的效价, 仅为筒箭毒碱的 0.4, 这种差异可能是由于不同种类的动物对肌松药反应不同, 例如: 三甲基筒箭毒碱的效价比筒箭毒碱高 9 倍, 但仅在家兔和狗的实验中得到证实, 而在猴则高 6 倍, 在人体则为 2 倍, 在小白鼠则二者效价相等⁽¹⁰⁾这些都说明肌松药对不同种类的动物差异性是很大的, 另外, 整体实验和离体实验所得结果造成的差异可能和药物在体内的代谢、吸收和分布有关。小终板电位(mepp)频率的变化, 主要和作用于突触前的药物有关, 而 mepp 振幅的变化是表明药物的突触后作用^(8,9)。我们的结果证明, 虽然氯甲左箭毒碱在低于麻痹剂量 (1.7×10^{-5} — 10^{-4} mg/ml) 时, 会引起 mepp 频率增加, 表明它刺激了神经末梢, 引起自发的乙酰胆碱释放增加, 具有一些突触前作用, 但是, 在引起麻痹的较高浓度 (5.0×10^{-4} mg/ml) 时, 则会引起 mepp 的振幅的逐步减小, 直至低于记录系统的噪声水平而观察不到, 以及乙酰胆碱敏感性降低, 说明氯甲左箭毒碱引起神经肌肉传递阻滞, 主要还是作用于突触后, 封闭了乙酰胆碱受体而造成的。

氯化筒箭毒碱是非去极化型肌松剂的代表, 广泛应用于临床, 而氯甲左箭毒碱则是从同科不同属的植物中分离出来的左旋筒箭毒次碱的衍生物。本文结果表明这二种肌松剂对神经肌肉接头的作用特点, 如: 强直刺激不能维持, 强直后有增强现象; 新斯的明能拮抗其作用; 使小鸡颈二腹肌的乙酰胆碱敏感性下降; 低于麻痹剂量会引起 mepp 频率增加, 但在麻痹剂量时, 则引起 mepp 和 epp 振幅下降等相类似的作用特点。但在效力上二者却存在一定的差异, 例如: 麻痹速率, 效价, 恢复速率和新斯的明拮抗程度等。左旋筒箭毒次碱氯甲烷

盐的效价通常是低于右旋筒箭毒碱, 但左旋筒箭毒次碱经二甲基化后(*O, O'*-dimethyl-*N, N'*-dimethyl-*l*-curine) 可以超过它, 其效价是右旋筒箭毒碱的 3.3 倍⁽¹⁰⁾。而本文也证实了左旋筒箭毒次碱经二甲基化后制成的氯甲左箭毒碱的效力也大于筒箭毒碱。

参 考 文 献

- 1 唐宗俭、劳爱娜、陈 熾、张羨星、王长根、钟福蒂. 药学报 1980 年 8 月; 15 (8): 506
- 2 唐希灿. 金国章、冯 洁、张振德、韩怡凡. 同上 1980 年 9 月; 15 (9): 513
- 3 Ginsborg BL, Warriner J. *Br J Pharmacol* 1960 Sep; 15 (3): 410
- 4 中国人民解放军第 88 医院, 上海医药工业研究院, 上海中药制药一厂, 上海药材公司中药研究室.

- 中华医学杂志 1974 年 9 月; 54 (9): 539
- 5 杨钦照、徐 科. 生理学报 1979 年 1 月; 31 (1): 79
- 6 中国人民解放军昆明军区总医院, 云南省药物研究所, 昆明制药厂. 中华医学杂志 1974 年 10 月; 54 (10): 633
- 7 八角枫临床研究协作组. 同上 1978 年 6 月; 58 (6): 345
- 8 Katz B. Quantal release of acetylcholine from motor nerve endings. In: Katz B, ed. *The release of neural transmitter substances*. 1st ed. Springfield: Thomas, 1969: 9-16
- 9 Katz B, Thesleff S. *J Physiol (Lond)* 1957 Jul; 137 (2): 267
- 10 Waser PG. Chemistry and pharmacology of natural curare compounds. In: Cheymol J, ed. *Neuromuscular blocking and stimulating agents*, vol 1. 1st ed. Oxford: Pergamon Press, 1972: 211-3

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Mar; 2 (1): 19-23

MODE OF ACTION OF DIMETHYL *l*-CURINE DIMETHOCHLORIDE ON NEUROMUSCULAR TRANSMISSION

YANG Qin-zhao, LIN Le-ru (*Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai*)

ABSTRACT The roots of *Cyclea barbata* from Hainan Island yield an alkaloid, *l*-curine. Its derivative, dimethyl *l*-curine dimethochloride (DCD), has been found to possess powerful neuromuscular blocking property comparable to that of *d*-tubocurarine chloride.

The blocking effect of DCD on neuromuscular transmission in the isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparation was studied. DCD rapidly blocked indirectly the elicited muscle twitch without affecting the compound action potential in the phrenic nerve or twitch elicited by direct stimulation.

DCD was compared with *d*-tubocurarine both *in vivo* and *in vitro*. DCD was 3.5 times as potent as *d*-tubocurarine in the

rabbit head-drop test, but was only 0.4 times as potent as *d*-tubocurarine on rat phrenic nerve-diaphragm *in vitro*. DCD 0.5-1.7 μg/ml produced progressive decreases in strength of contraction. This inhibitory effect disappeared soon after the preparation of diaphragm washed with normal solutions. The time to recover from 90% blockade was shorter for DCD than for *d*-tubocurarine. Neostigmine reversed the blockade induced by DCD to 100% of the control while it reversed comparable blockade induced by *d*-tubocurarine to only 80% of the control. On the other hand, neostigmine enhanced the amplitude and duration of the end-plate potential (epp).

Using the rat phrenic nerve-diaphragm preparation, DCD 10^{-8} - 10^{-6} mg/ml produ-

ced no significant change of miniature end-plate potential (mepp). In low concentrations (1.7×10^{-5} mg/ml– 1×10^{-4} mg/ml) it increased mepp frequency with no effect on mepp amplitude. At higher doses (above 5×10^{-4} mg/ml), mepp and epp amplitudes and end-plate sensitivity to ACh were reduced. There was no effect on resting membrane potential of muscle fibers at the

drug concentrations studied. These results indicate that DCI produces muscle relaxation by blocking post-synaptic cholinergic receptors.

KEY WORDS dimethyl *l*-curine dimethochloride; phrenic diaphragm; post-synaptic; cholinergic receptor; end-plate potential (epp); miniature end-plate potential (mepp)