

毒藜碱对神经肌肉接头传递的阻滞作用

杨钦照 束怀德* 林乐儒 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提要 毒藜碱对离体大白鼠膈神经膈肌标本具有显著神经肌肉接头传递的阻滞作用, 此作用可被新斯的明部分对抗。在去神经膈肌标本, 毒藜碱则可明显抑制膈肌对乙酰胆碱的反应。

毒藜碱有明显去极化效应。0.83 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时可导致膈肌 mepp 高频发放。毒藜碱尚能使 epp 的振幅变小, 降低 epp 的量子含量, 但不明显影响 ntp。因此, 毒藜碱为一种去极化型肌松药, 也带有竞争型肌松药的某些特点。它对神经肌肉接头的突触前和突触后都有作用。

关键词 毒藜碱; 神经肌肉接头; 终板电位; 去极化型肌松剂

毒藜碱(anabasin)是从八角枫科植物华瓜木 (*Alangium chinense*) 的根中提得的生物碱, 化学名为消旋 2-(3-吡啶)-哌啶⁽¹⁾。属于双相型肌松药⁽²⁾。我们以离体神经肌肉标本就毒藜碱对神经肌肉接头突触传递的作用, 进行了电生理学观察。

1980年11月8日收稿 1981年1月7日修回
1980年4月在上海生理学会学术会议上宣读。

* 上海第一医学院药理教研组。

方法和结果

一、对神经肌肉标本收缩反应的影响

用体重 180-250 g 的大鼠, 取左侧膈神经膈肌, 放置在含有 Krebs 液的肌槽内, 通 95% O₂ + 5% CO₂, 37°C。膈神经(或膈肌) 给以超强方波刺激, 波宽 0.2 ms, 频率 6/min。膈肌收缩通过等张杠杆描记在烟鼓上。

结果, 毒藜碱*1-10 μg/ml 可使超强方波刺激膈神经所引起的膈肌收缩反应迅速减小, 直至消失。1-2.5 μg/ml 时, 在出现膈肌收缩反应抑制前, 尚见有短暂的收缩增强。当刺激神经, 膈肌不再反应时, 直接刺激膈肌仍可引起收缩, 但反应较对照小。冲洗后, 膈肌对直接或间接刺激的收缩反应均能恢复。给膈神经强直刺激(100/s, 10 s), 收缩反应不能维持, 有时也能观察到强直后增强现象。毒藜碱的神经肌肉阻滞作用可被新斯的明 1 μg/ml 部分对抗(图 1)。在去神经的膈肌标本, 毒藜碱 1.7 μg/ml 可抑制膈肌对乙酰胆碱 1 μg/ml 的反应。

二、毒藜碱对静息膜电位的影响 用青蛙坐骨神经缝匠肌标本。标本固定在含有任氏液的肌槽中, 肌细胞的静息膜电位以插入细胞内

的微电极直接测定。每个标本在给药前、给药期和冲洗后各测量 20 个点(包括终板区和非终板区)。

结果, 给药前 4 个标本肌细胞静息膜电位为 82 ± (SD) 9 mV; 加入毒藜碱 1.67 μg/ml 后, 膜电位降为 50 ± 13 mV, 与给药前比较 P < 0.01; 冲洗后膜电位可以逐渐恢复, 平均值达 75 ± 2 mV, 与给药时比较 P < 0.05。

加入毒藜碱后 3-4 min, 在膜电位降低的同时, 还可观察到部分肌纤维颤动现象, 有时可记录到自发动作电位。

三、对 mepp 的影响 大鼠膈神经膈肌标本固定在含有 Krebs 液的肌槽内。将灌充 3 M KCl 溶液的玻璃微电极插入终板区, 经由阴极输出器至 SBR-1 示波器, 即可记录到自发的小终板电位(mepp), 连续摄影记录。

结果 mepp 振幅为 0.5 mV 左右, 频率 0.5-1/s。加入毒藜碱 0.83 μg/ml 后, mepp 的发放频率即明显提高, 有时呈爆发式发放, 可高达 175/s。mepp 高频发放的高峰在给药后 1-50 min 出现, 可能与微电极插入部位的深浅有关。以后神经肌肉标本虽仍浸浴在含药的溶液中, 但 mepp 的振幅逐渐变小, 频率也逐渐降低, 终至消失(图 2)。

肌槽内加毒藜碱 1.67 μg/ml, 看不到开始

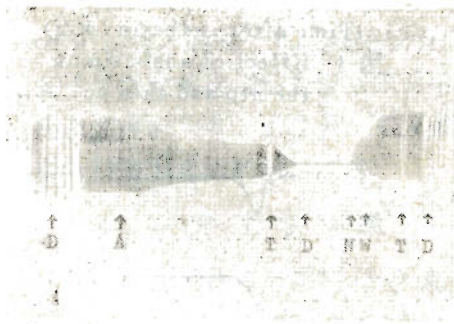


图 1 Blocking action of anabasin on isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparation

A: anabasin 8.3 μg/ml
D: direct stimulation of muscle
N: neostigmine 1 μg/ml
T: tetanic stimulation
W: washout

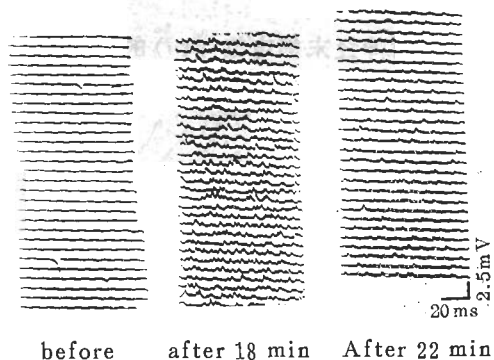


图 2 Effect of anabasin 0.83 μg/ml on the mepp of rat diaphragm

* 毒藜碱为河南中医研究所制备的生理盐水溶液安瓶剂, 含 dl-毒藜碱 2.5 mg/ml。

阶段 mepp 的高频发放；给药后 mepp 振幅迅即变小，频率降低，直到记录不到。

四、对 epp 的影响

1. 大白鼠膈神经膈肌 实验条件同上。先将玻璃微电极插入肌细胞的终板区(以发现上升相时程较短，振幅较大的 mepp 为指标)，然后在肌槽内加毒藜碱 6.7-8.3 $\mu\text{g/ml}$ 。可见 mepp 振幅迅速变小和消失。刺激膈神经所引起的膈肌收缩也很快减弱和消失，此时刺激膈神经可从肌细胞的终板区引出单独的终板电位(epp)。随着接头传递阻滞的不断加深，epp 逐渐变小，终至记录不到，如图 3A 所示 epp 由上至下振幅逐渐减小。

2. 青蛙坐骨神经缝匠肌 标本先以 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 浓度的筒箭毒碱处理使箭毒化，此时刺激坐骨神经，用微电极在终板区细胞内可记录到单独的、相对稳定的 epp。肌槽内加毒藜碱 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 后，epp 迅速变小，直到记录不出。直接加入毒藜碱 4.2-6.7 $\mu\text{g/ml}$ ，也可记录到 epp。给神经重复刺激(波宽 0.2 ms，频率 50/s)，则可记到相应的一串终板电位，其振幅是递增的(图 3B)。

在毒藜碱 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 作用下所记录到的 epp(图 3Ca)，加入新斯的明 5-10 $\mu\text{g/ml}$ 后，尚可见到 epp 有振幅增加和时程延长的情况(图 3Cb)。

五、对神经末梢电位(ntp)的影响 先以

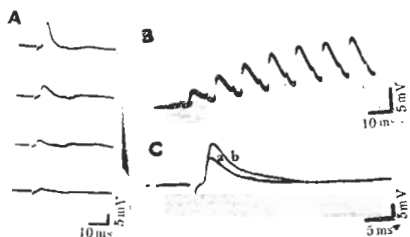


图 3 Effect of anabasin on the epp

- A The fall in the epp size of rat's diaphragm caused by anabasin 6.7 $\mu\text{g/ml}$.
 B High frequency (50 c/s) tetanic stimulation of frog's sciatic nerve produces an increase in the amplitude of the epp.
 C Effect of neostigmine 5 $\mu\text{g/ml}$ on the epp.

筒箭毒碱 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 处理坐骨神经缝匠肌。使肌肉收缩减弱或消失，然后用灌注 4 M NaCl 的玻璃微电极(内阻 $<10\text{M}\Omega$)作细胞外记录⁽³⁾。微电极放置到神经末梢部位时，可以同时从细胞外记录到 ntp 和 epp。每次实验对一个单位的 ntp 和 epp 在给药前后的变化作连续观察。如图 4 所示的 ntp 和 epp 是经 TQ-19 型医用电子计算机迭加 115 次后，摄影记录，在加毒藜碱 4.2-8.3 $\mu\text{g/ml}$ 后，随着神经肌肉接头阻滞的加深，epp 振幅逐渐变小，最后完全消失，而 ntp 则依然存在。

六、对 epp 量子含量的影响 提高溶液中 MgCl_2 含量(16 mM 左右)^(4,5)，可使重复刺激(1/s)神经引起的 epp 振幅变小，甚至部分脱落。在终板区测出 90 次以上连续刺激的 epp 脱落次数，计算量子含量 $M = \log_e(\text{刺激次数}/\text{脱落次数})$

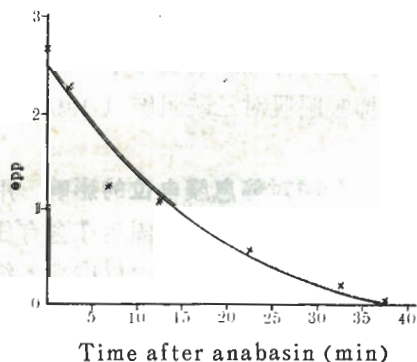


图 4 Effect of anabasin on the ntp and the epp

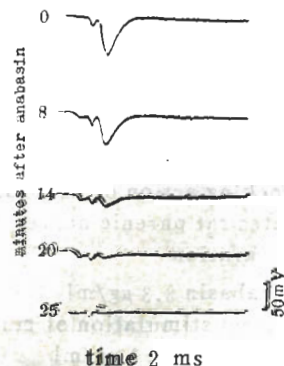


图 5 Effect of anabasin (1.67 $\mu\text{g/ml}$) on the epp quantal content

给药前 epp 的 M 值控制在 3 左右。加毒藜碱 1.67 $\mu\text{g/ml}$ 后, M 值逐渐降低, 给药 37 min 时, 已降至对照值的 1% 以下。量子含量与给药后时间二者用二次曲线拟合, 方程为 $Y = 2.524 - 0.139X + 0.002X^2$ 曲线方程, 与实验值配合良好, 复相关系数 $R = 0.983, P < 0.001$ 。利用上海第一医学院电子计算室 Intecolor 3621 微型电子计算机算得的结果见图 5。

讨 论

mepp 频率的增加, 直接或间接地与神经末梢的去极化有关, 而和突触后膜的机能状态无关⁽⁶⁾。毒藜碱在低浓度时可诱发 mepp 高频发放, 表明它在初期对突触前神经末梢具有兴奋作用。迄今已报道的对神经末梢有选择性兴奋作用的药物不多, 在植物来源的生物碱中, 已知藜芦碱 (veratrine) 和咖啡因也有类似增加 mepp 频率的作用。前者通过增加神经末梢对 Na^+ 的通透性, 而阻碍复极化; 后者则由于使组织结合的 Ca^{++} 游离而发挥作用⁽⁶⁾。毒藜碱和上述药物不同, 它有明显的去极化效应, 故其增加 mepp 频率的作用, 可能主要是使神经末梢去极化的结果。

毒藜碱 0.83 $\mu\text{g/ml}$ 在引起 mepp 高频发放后很快就转而使频率逐渐降低直至消失, 1.67 $\mu\text{g/ml}$ 则仅能见到对 mepp 频率的抑制, 均提示毒藜碱对突触前神经末梢的自发释放初期有兴奋作用, 随后转为抑制作用。epp 量子含量明显下降的事实也说明毒藜碱能抑制突触前神经末梢的量子释放。

较高浓度毒藜碱可使神经肌肉接头的传递迅速阻滞, mepp 和 epp 振幅明显降低, 慢性去神经膈肌标本的乙酰胆碱敏感性下降。毒藜碱在抑制 epp 的同时, 并不明显影响末梢电位。这些结果均说明毒藜碱对突触后膜亦有明显的抑制作用, 与消旋筒箭毒次碱和氯甲左箭毒碱^(7,8)有类似之处。但串刺激引起 epp 递增的实验表明毒藜碱和消旋筒箭毒次碱、氯甲左箭毒碱引起 epp 递减有所不同, 这可能和毒藜碱对

神经末梢有去极化效应有关。高频重复串刺激使 epp 的振幅增加, 可能是由于运动神经末梢传递介质释放的增多所致, 而这种容易化是与 Ca^{2+} 密切相关⁽⁹⁾。毒藜碱有明显的去极化效应, 看来突触前神经末梢的去极化引起钙电导增加, 此增加的电导使 Ca^{2+} 内流, 从而使乙酰胆碱释放增多, 故引起 epp 的振幅增加^(9,10)。

本工作用微电极直接测量肌细胞的静息膜电位, 证明毒藜碱有明显去极化效应, 可使膜电位显著降低, 为毒藜碱的去极化作用提供了直接证据, 说明它与非去极化型的肌松剂^(7,8)亦有明显的差异。

毒藜碱麻痹的青蛙坐骨神经缝匠肌的 epp 振幅增大和时程延长, 表明新斯的明和毒藜碱之间有一定拮抗作用, 从而显示毒藜碱也具有竞争型神经肌肉阻滞剂的某些特点。

总之, 毒藜碱对神经肌肉的作用, 主要是引起膜的去极化, 既影响了突触前神经末梢的释放, 又减低了突触后膜受体对乙酰胆碱的敏感性, 从而导致神经肌肉传递的阻滞。

致谢 本工作部分实验数据统计处理由上海第一医学院药理教研组徐端正同志协助完成。

参 考 文 献

- 1 浙江医科大学、上海药物研究所. 新医药学杂志 1974 年, (9):26
- 2 八角枫临床研究协作组. 中华医学杂志 1978 年 6 月, 58(6):345
- 3 Datyner ME, Gage PW. *Br J Pharmacol* 1973, Oct; 49(2):340
- 4 Del Castillo J, Katz B. *J Physiol (Lond)* 1954 Jun; 124(3):560
- 5 Martin AR. *Physiol Rev* 1966; 46:51
- 6 Riker WF, Okamoto M. *Annu Rev Pharmacol* 1969; 9:173
- 7 杨钦照、徐科. 生理学报. 1979 年 1 月, 31(1):79
- 8 杨钦照、林乐儒. 中国药理学报 1981 年 3 月, 2(1):19
- 9 Eccles JC, Katz B, Kuffler SW. *J Neurophysiol* 1941 Jul; 4(5):362
- 10 Katz B, Miledi R. *J Physiol (Lond)* 1968 Mar; 195(2):481

THE BLOCKING ACTION OF ANABASIN ON THE NEUROMUSCULAR JUNCTION

YANG Qin-zhao, SHU Huai-de*, LIN Le-ru

(Shanghai Institute of Physiology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Anabsin, an alkaloid extracted from the root of *Alangium chinense*, exerted a significant neuromuscular blocking effect on isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparations. This blocking action could be partly antagonized by neostigmine. On rat denervated diaphragms, anabasin inhibited the muscular response to acetylcholine.

Anabasin showed a depolarizing effect on isolated frog sartorius muscles. Anabasin (0.83 $\mu\text{g/ml}$) increased at first, and then decreased, the frequency of the miniature

end-plate potentials (mepp). Anabasin inhibited the end-plate potential (epp) and its quantal content, but did not alter the nerve terminal potential (ntp).

In conclusion, anabasin has both pre-synaptic and postsynaptic effects on neuromuscular junction. It is a depolarizing muscle relaxant with some characteristics of competitive muscle relaxant.

KEY WORDS anabasin; neuromuscular junction; end-plate potential; depolarizing muscle relaxant

* Shanghai First Medical College