

# 非去极化肌松剂和氨基甙类抗生素对抗索曼引起的大鼠膈肌接头阻滞

于山平 刘传绩 (军事医学科学院药理毒理研究所, 北京 100800)

**提要** 在对大鼠膈肌接头正常传递功能无影响的浓度(剂量)内, *dTC*, gallamine triethiodide, pancuronium, streptomycin, neomycin, kanamycin 对抗索曼在离体膈神经膈肌上引起的强直收缩阻断, 也能对抗索曼对在体膈肌诱发电位的阻滞作用。这两类药物对索曼抑制的胆碱酯酶(*ChE*)没有重活化作用, 对抗作用机理各不相同。

**关键词** 神经肌肉接头; 索曼; 筒箭毒碱; 三碘季铵酚; 巴夫龙; 链霉素; 新霉素; 卡那霉素

索曼(soman)是作用强而持久的有机磷 *ChE* 抑制剂, 目前缺少有效对抗药。筒箭毒碱(*d-tubocurarine*, *dTC*)等一些非去极化肌松剂有对抗 *ChE* 抑制剂的作用<sup>(1,2)</sup>, 但尚未报道过它们对抗索曼的作用。氨基甙类抗生素具有肌松作用, 此作用可被 *ChE* 抑制剂对抗<sup>(3)</sup>, 但迄今还无人用这类药物对抗 *ChE* 抑制剂。本实验同时对这两类药物对抗索曼的作用机理进行了探讨。

## 实验方法

**离体膈神经膈肌实验** 207±(SD)32 g Wistar 大白鼠, ♀♂不限。按文献方法制备标本<sup>(4)</sup>。台氏液保温 29℃, 通纯氧。对膈神经的方波刺激脉宽 0.01-0.02 ms, 电压 6-8 V(超强刺激), 单刺激频率 0.2 Hz, 强直刺激频率 50 Hz, 持续 2 s。记纹鼓记录膈肌收缩。药物以终浓度表示。索曼作用 20 min 后, 新鲜台氏液洗 3 次, 于给索曼后 30 min 给药观察对抗作用, 或

给索曼前 10 min 给药观察其预防作用。

**在体膈神经膈肌实验** 194±(SD)26 g Wistar 大白鼠, ♀♂不限, 乌拉坦麻醉后, 于颈部剪断右侧膈神经总干, 外周端放置刺激电极。方波刺激脉宽 0.01 ms, 电压 6-8 V(超强刺激), 频率 50 Hz, 持续 0.3 s, 即每串刺激含 15 个脉冲, 基本类似于膈神经单纤维的一次正常吸气冲动<sup>(5)</sup>。同侧膈肌腹侧面放置记录电极, 示波器显示膈肌诱发复合动作电位, 照相记录。

将浸有 2 μg/10 μl 索曼的薄棉纸(1.5×0.75 cm<sup>2</sup>) 贴附于右侧膈肌腹侧面终板区部位, 作用 30 min 后取去, 以阻滞接头传递<sup>(6)</sup>。索曼局部给药后对侧膈肌仍有正常功能, 因此毋需人工呼吸。其它药物肌肉注射。

**离体去神经膈肌实验** 175±(SD)17 g Wistar ♀大白鼠。灭菌条件下于颈部剪断右侧膈神经总干。20 d 后活杀取右侧膈肌标本。记纹鼓记录 56 μM 乙酰胆碱(*ACh*)引起的膈肌收缩。其它条件与离体膈神经膈肌实验同。

## 结果与讨论

**索曼对离体膈肌 NMJ 的阻滞作用** 11 μM 索曼使膈肌强直收缩完全阻断, 单收缩抑制到正常的 70%左右, 强直后单收缩增强转为强直后抑制(图 1)。给药初期还有肌肉束颤。与文献报道<sup>(7,8)</sup>一致。给索曼后 3 h 标本无自动恢复。本实验以强直收缩维持高度作主要指标。

### 药物对抗索曼引起的高体膈肌接头阻滞

1. 非去极化肌松剂的对抗作用 在对正常强直收缩和单收缩都无影响的浓度范围内, *dTC*(0.05-0.25 μM), gallamine triethiodide (5.6-44.8 μM), pancuronium (0.21-0.65 μM) 都可预防或对抗索曼对强直收缩的阻断, 尤以

1983年3月31日收稿 1984年4月9日修回  
1981年10月在中国生理科学药理学学会第二届药理学学术会议上报告,收入会议论文摘要汇编 64-65页和1982年中国药学会全国药理学术会议论文摘要集 51-52页。

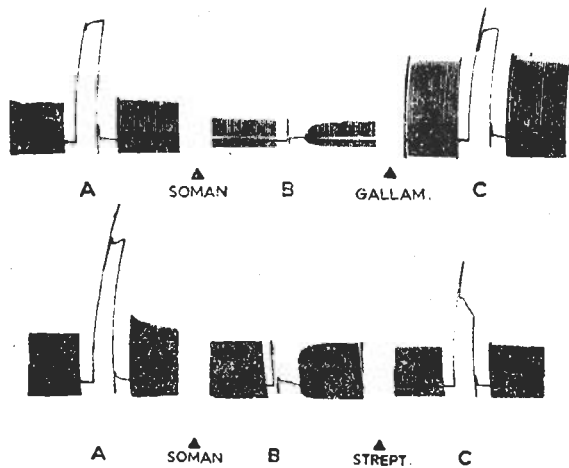


Fig 1. Effect of antidotes on soman-induced neuromuscular block in isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of rat. Soman;  $11 \mu\text{M}$ ; Antidote was administered 30 min after soman. Gallamine  $33.6 \mu\text{M}$ ; Streptomycin  $500 \mu\text{M}$ . A. Normal; B. 30 min after soman poisoning showing the tetanus block, twitch inhibition and post-tetanic depression; C. 30 min after antidote, the tetanus and post-tetanic potentiation were restored obviously and, in the case of gallamine, the twitch was greatly enhanced.

gallamine 作用最为突出, 当其浓度为  $33.6 \mu\text{M}$  时, 对抗后 30 min 强直收缩平均恢复到正常的 80% 以上 ( $n=4$ ) (图 1)。上述各药还可对抗索曼引起的单收缩抑制和强直后抑制, 且使对抗后单收缩高达正常的 2-3 倍 (图 1)。预防给药还可防止肌肉束颤。

这些药物对抗作用随浓度提高而增强, 但达到阻断正常强直收缩的浓度 ( $dTC$   $2 \mu\text{M}$ , gallamine  $178 \mu\text{M}$ , pancuronium  $3 \mu\text{M}$ ) 以后, 对抗作用减弱并消失 (图 2)。

此类药物对抗索曼的作用强度与其本身的肌松作用强度并不一致。在可使正常强直收缩抑制 10% 左右的等效肌松浓度时, gallamine ( $89.7 \mu\text{M}$ ) 预先给药可使索曼中毒后的强直收缩基本正常 ( $n=5$ ), 而  $dTC$  ( $1 \mu\text{M}$ ) 和 pancuronium ( $0.68 \mu\text{M}$ ) 只能使其达到正常的 56% ( $n=4$ ) 和 70% ( $n=3$ )。主要为非去极化作用的汉肌松无论高或低于肌松浓度 ( $0.001-0.1 \mu\text{M}$ ) 都基本没有对抗作用。提示此类药物的肌松作

用机理与其对抗索曼作用机理有所不同。

2. 氨基甙类抗生素的对抗作用 在不影响正常强直收缩和单收缩的浓度范围内, streptomycin ( $100-500 \mu\text{M}$ ), neomycin ( $80-320 \mu\text{M}$ ) 能使索曼中毒后强直收缩达到正常的 60% 左右 (图 1, 2), 同时也能对抗强直后抑制 (图 1)、防止肌肉束颤。Kanamycin 也有一定对抗作用, 但作用较弱。浓度达  $1 \text{mM}$  时, 强直收缩尚达不到正常的 50% ( $n=3$ )。

与非去极化肌松剂不同, 在正常标本上,  $1 \text{mM}$  streptomycin、 $660 \mu\text{M}$  neomycin 已经使单收缩基本阻断, 但强直收缩只有部分抑制, 此浓度仍有对抗索曼的作用 (图 2)。氨基甙类抗生素对抗后单收缩接近正常, 没有过度增强现象 (图 1)。

3. 联合用药的对抗作用 由于上述两类药物对抗索曼作用特点不同、各有所长, 因此又观察了联合用药的作用。将 gallamine  $22.4 \mu\text{M}$  neomycin  $200 \mu\text{M}$  合用后, 仍是肌松作用以下浓度, 除可以有效对抗肌肉束颤和强直后抑制, 强直收缩和单收缩都接近正常 (图 3)。

**索曼对在体膈肌诱发电位的阻滞作用** 在正常大鼠上, 对膈神经 15 个  $50 \text{Hz}$  方波刺激可诱发 15 个  $10-15 \text{mV}$  的膈肌动作电位, 电位幅度没有明显变化。索曼局部给药后, 除第 1 个方波脉冲还可诱发 1 个  $7 \text{mV}$  左右的电位, 后面 14 个电位全部消失 (图 4)。24 h 后没有明显恢复。组织化学染色证实, 膈肌终板区 ChE 已丧失活性<sup>(6)</sup>。

**药物对抗索曼引起的在体膈肌接头阻滞** Gallamine  $10 \text{mg/kg im}$  对大鼠自主呼吸及正常膈肌诱发电位没有影响, 预防给药可使索曼中毒后 15 个膈肌电位保持在  $8-11 \text{mV}$  左右 ( $n=5$ ), 索曼中毒后 30 min 给药可使已被阻滞的膈肌电位恢复到  $5-8 \text{mV}$  左右 ( $n=6$ )。15 个电位的幅度呈前后高、中间低的马鞍形变化。前几个电位之间还可见自发性肌电重复放射 (图 4)。

Streptomycin  $300 \text{mg/kg im}$  不影响大鼠自

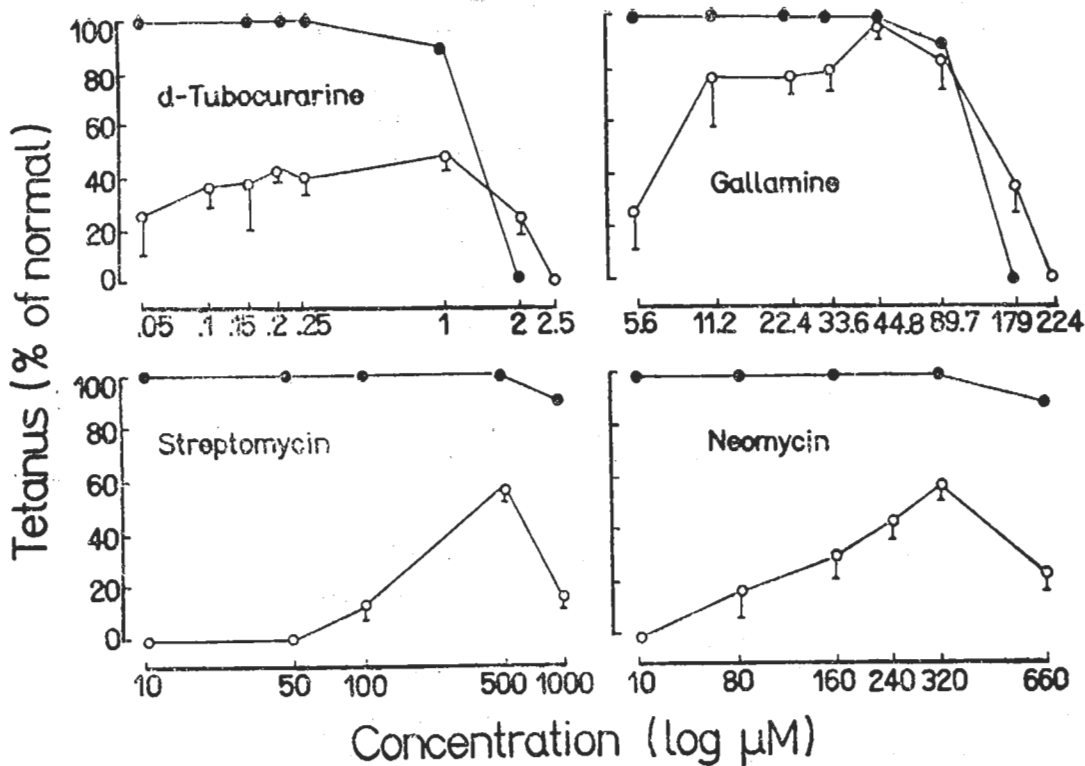


Fig 2. Effects of antidotes on the soman-blocked tetanus in the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of rat. Antidote was added into the bath 30 min after soman ( $11 \mu\text{M}$ ). Each point was the average height of the tetanus 30 min after antagonism in at least 3 experiments.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . Effect of antidote on normal (●) or soman-blocked (○) tetanus.

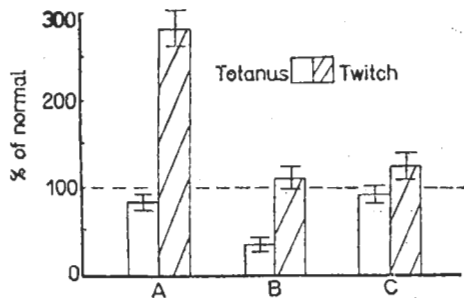


Fig 3. Effects of antidotes on soman-inhibited tetanus and twitch. Antidotes were given 10 min before soman poison and effects were calculated 20 min after soman.  $\bar{x} \pm \text{SD}$ . A. Gallamine  $22.4 \mu\text{M}$ ,  $n = 12$ ; B. Neomycin  $200 \mu\text{M}$ ,  $n = 4$ ; C. Gallamine  $22.4 \mu\text{M}$  + Neomycin  $200 \mu\text{M}$ ,  $n = 4$ .

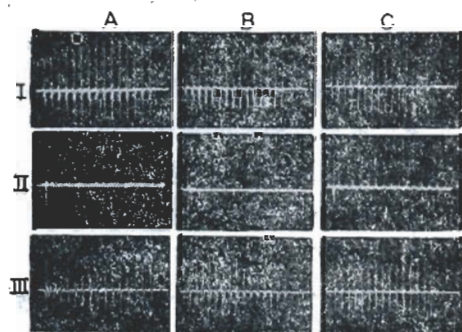


Fig 4. Effect of antidotes on soman-abolished action potentials of rat's diaphragm *in vivo*. Tetanic stimulation (50 Hz, 0.5 s) was given to the peripheral portion of the cut right phrenic nerve. Soman ( $2 \mu\text{g}$ ) was administered locally onto the endplate regions of the ipsilateral diaphragm. Antidote was given (im) 30 min after soman. I. Normal; II. 30 min after soman; III. 30 min after antidote. A. Gallamine 10 mg/kg; B. Streptomycin 300 mg/kg; C. Gallamine 5 mg/kg + Streptomycin 100 mg/kg.

Tab 1. Effect of the 2nd soman poisoning on the antidote-restored tetanus. 1st soman = 2nd soman = 11  $\mu$ M. Antidote was added 30 min after the 1st soman, and the 2nd soman was added 60 min after the antidote.  $\bar{x} \pm SD$ , \* $p > 0.05$

Antidote	( $\mu$ M)	n	Tetanus height (mm)	
			Before 2nd soman	After 2nd soman
dTC	0.15	5	22.2 $\pm$ 3.2	20.6 $\pm$ 3.5*
Gallamine	22.4	7	33.2 $\pm$ 6.0	33.0 $\pm$ 4.2*
Pancuronium	0.43	3	29.0 $\pm$ 4.5	28.3 $\pm$ 3.8*
Streptomycin	500	5	28.5 $\pm$ 4.7	26.7 $\pm$ 5.1*

主呼吸和正常膈肌诱发电位, 亦可预防和对抗索曼对膈肌电位的阻滞作用, 但 15 个膈肌电位幅度呈现纺锤形变化(图 4)。其中第 5 个电位幅度较高, 预防给药平均可达 11 mV 左右 ( $n = 3$ ), 索曼中毒后给药恢复到 5 mV 左右 ( $n = 6$ ), 而最前面和最后几个电位一般为 2.5–3 mV。各电位之间未见肌电重复放射(图 4)。

将 gallamine 5 mg/kg 和 streptomycin 100 mg/kg 联合应用, 对动物的正常接头传递仍无明显影响。预防给药使索曼中毒后 15 个膈肌诱发电位平均达 12 mV 左右 ( $n = 3$ ), 索曼中毒后给药恢复到 10 mV 左右 ( $n = 12$ ), 各个电位幅度较整齐, 没有重复放射, 接近正常膈肌诱发电位(图 4)。

### 药物对抗索曼作用机理的探讨

#### 1. 第二次索曼对药物对抗作用的影响

对抗 ChE 抑制剂的途径主要是使被抑制的 ChE 重活化或通过药物的直接对抗作用。ChE 抑制剂两次给药是区分这两种作用的一种方法<sup>(9)</sup>。如药物的对抗作用受到 ChE 抑制剂的再次抑制, 说明其作用是使 ChE 重活化。反之, 应是药物的直接对抗作用。在离体膈神经膈肌实验中, 第二次索曼(1.1 或 11  $\mu$ M)对 dTC, gallamine, streptomycin 所恢复的强直收缩和单收缩都没有明显影响(表 1)。

#### 2. ACh 阻断单收缩速率的变化

在离体膈神经膈肌实验中, ChE 抑制后, 56  $\mu$ M ACh 可使单收缩在 40 s 左右阻断, 而 ChE 正常的标本对这种浓度的 ACh 没有反应。因此, 这一实验可反映 NMJ 部位 ChE 活性的改变<sup>(10)</sup>。

dTC, gallamine, streptomycin 对抗后 30 min, 56  $\mu$ M ACh 仍可使单收缩迅速阻断, 阻断速率与对照标本没有明显区别(表 2)。

3. 药物消除过程对药物对抗作用的影响 有效的酶重活化剂一旦使 ChE 恢复活性, 其对抗作用不受药物消除过程的影响, 否则应属于直接对抗作用。在体实验中, gallamine 和 streptomycin 的对抗作用在给药 60 min 以后逐渐减弱, 3 h 后对抗作用基本消失(图 5)。

以上结果表明, 两类受试药物对索曼所抑制的 ChE 没有重活化作用, 它们具有对索曼的直接对抗作用。膈肌终板区 ChE 组织化学测定也证实, 药物对抗后 20 h 未见 ChE 活性的恢复。

4. 药物直接对抗作用的机理 直接对抗作用应与药物对 NMJ 的作用有关。慢性去神经膈肌标本可研究药物对 NMJ 突触后 N-AChR 的作用<sup>(11)</sup>。如前所述, 0.2  $\mu$ M dTC 和 22.4  $\mu$ M gallamine 对接头传递没有明显影响。但在这种标本上, 它们明显抑制了 56  $\mu$ M ACh

Tab 2. Effect of antidote on time of twitch block caused by ACh after soman poisoning. ACh (56  $\mu$ M) was added 30 min after soman poisoning (control) or 30 min after antidote which had been given 30 min after soman.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$

Antidote	( $\mu$ M)	n	Twitch block time (s)
Control		15	37.6 $\pm$ 5.3 *
dTC	0.1	5	38.6 $\pm$ 7.0 *
Gallamine	44.8	7	44.3 $\pm$ 5.6 *
Streptomycin	500	5	43.7 $\pm$ 5.9 *

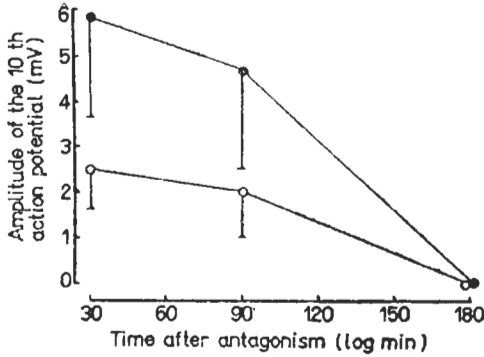


Fig 5. Antagonistic effects of streptomycin 300 mg/kg (○) and gallamine 10 mg/kg (●), injected 30 min after soman intoxication, on the indirectly elicited action potential of diaphragm.  $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ .

引起的去神经膈肌的收缩(表3)。说明它们在这种浓度已占据了一部分突触后受体。这种对受体的部分占据可能对索曼造成的ACh蓄积有一定拮抗作用、降低突触后膜持续去极化倾向,从而可能改善NMJ的传递功能。

不同的是, 500  $\mu M$  streptomycin亦是有效抗索曼浓度,但对ACh引起的去神经膈肌收缩没有影响(表3)。这说明此浓度 streptomycin

Tab 3. Effect of antidote on ACh-induced contraction of denervated diaphragm of rat. ACh\* (56  $\mu M$ ) was added 5 min after antidote.  $n=4$ ,  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p>0.05$ , \*\* $p<0.05$

Antidote ( $\mu M$ )	Ht of contraction (mm)	
	ACh	antidote + ACh*
dTC	0.2 19.2 $\pm$ 2.6	13.6 $\pm$ 4.7**
Gallamine	22.4 19.8 $\pm$ 2.8	15.1 $\pm$ 1.3**
Streptomycin 500	21.6 $\pm$ 2.0	20.8 $\pm$ 1.7^

*Acta Pharmacologica Sinica* 1985 Mar; 6 (1) : 11-16

## ANTAGONISM OF NON-DEPOLARIZATION MUSCLE RELAXANTS AND AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS TO THE BLOCK OF NEUROMUSCULAR JUNCTION OF RAT'S DIAPHRAGM CAUSED BY SOMAN

YU Shan-ping, LIU Chuan-gui

(Inst Pharmacology & Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)

ABSTRACT Subparalytic concentrations of dTC (0.05-0.25  $\mu M$ ), gallamine triethiodide

对突触后 N-AChR 及膈肌兴奋-收缩 偶联都无明显作用。streptomycin 对抗索曼的作用与 NMJ 的突触后结构关系不大。文献报道认为, 氨基甙类 抗生素主要作用于 NMJ 突触前膜<sup>(12,13)</sup>。这与本实验结果是一致的。它们可能是通过其突触前作用对抗了索曼。当然, 本实验还不能确定这种突触前对抗作用的性质, 同时也不能排除非去极化肌松剂对抗索曼的作用中也可能有突触前作用的成份。

### 参 考 文 献

- 1 Kunkel AM, Wills JH, Monier JS. *Proc Soc Exp Biol Med* 1956; 92 : 529
- 2 Rump S, Kaliszan A, Edelwejn Z. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1968; 173 : 173
- 3 Corrado AP, Ramos AO. *ibid* 1959; 121 : 380
- 4 Bülbring E. *Br J Pharmacol* 1946; 1 : 36
- 5 Sakai Y, Dal Ri H, Schmidt G. *Arch Toxikol* 1973; 30 : 147
- 6 许小珊、沈菊英. 军事医学科学院院刊 1981; (4) : 483
- 7 Barnes JM, Duff JI. *Br J Pharmacol* 1953; 8 : 334
- 8 Johnson DD, Loomis TA. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1967; 167 : 227
- 9 Wolhuis OL, Kepner LA. *Eur J Pharmacol* 1978; 49 : 415
- 10 Danilov AF, Ivanov YJ, Michelson MJ. *Br J Pharmacol* 1976; 56 : 115
- 11 Elmqvist D, Thesleff S. *Acta Pharmacol (Kbh)* 1960; 17 : 84
- 12 Wright JM, Collier B. *J Pharmacol Exp Ther* 1977; 200 : 576
- 13 Pittinger C, Adamson R. *Annu Rev Pharmacol* 1972; 12 : 169

(5.6–44.8  $\mu\text{M}$ ), pancuronium (0.21–0.65  $\mu\text{M}$ ), streptomycin (100–500  $\mu\text{M}$ ), neomycin (80–320  $\mu\text{M}$ ) and kanamycin (1 mM) partially or completely antagonized tetanus block and other variations caused by 11  $\mu\text{M}$  soman in isolated rat's phrenic nerve–diaphragm preparations. *In vivo*, 10 mg/kg gallamine or 300 mg/kg streptomycin im protected or restored the indirect elicited (50 Hz, 0.3 s) rat's diaphragm action potentials which could be abolished by 2  $\mu\text{g}$  soman given onto the endplate regions of the ipsilateral diaphragm. Non-depolarization agents and aminoglycoside antibiotics manifested different antagonistic feature. The combination of 22.4  $\mu\text{M}$  gallamine and 200  $\mu\text{M}$  streptomycin

(*in vitro*), 5 mg/kg gallamine and 100 mg/kg streptomycin (*in vivo*) antagonized the effects of soman completely. In the isolated and chronically denervated rat's diaphragm muscle, 0.2  $\mu\text{M}$  dTC or 22.4  $\mu\text{M}$  gallamine inhibited the contraction induced by 56  $\mu\text{M}$  ACh, but 500  $\mu\text{M}$  streptomycin did not. It is proposed that the effects of dTC and gallamine against soman are mainly due to their postsynaptic receptor action, but that of streptomycin may be substantially owing to its presynaptic action.

**KEY WORDS** neuromuscular junction; soman; tubocurarine; gallamine triethiodide; pancuronium; streptomycin; neomycin; kanamycin