

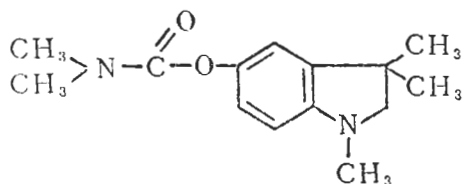
# *N,N*-二甲氨基甲酸 5-(1,3,3-三甲基吲哚满)酯在小鼠体内的药 效学

金捷夫<sup>1</sup>、黄如衡 (军事医学科学院药理毒理研究所, 北京 100800)

**提要** *N,N*-二甲氨基甲酸 5-(1,3,3-三甲基吲哚满)酯对胆碱酯酶具有强的抑制作用。血药浓度与血酶、脑酶抑制程度相关。由血药浓度用式:  $\ln[E/(100-E)] = 3.58 + 0.9941 \ln C$  和  $\ln[E/(100-E)] = 1.91 + \ln C$  分别计算血酶和脑酶抑制率。由血酶抑制率用式  $\ln E_{\text{brain}} = 3.67 E_{\text{blood}} + 3.69$ , 计算脑酶抑制率。从测量缩瞳率, 用式  $\ln[M/(100-M)] = 3.65 + 1.006 \ln C$  计算血药浓度。

**关键词** 血液胆碱酯酶; 脑胆碱酯酶; 胆碱酯酶抑制剂; 药效动力学; *N,N*-二甲氨基甲酸 5-(1,3,3-三甲基吲哚满)酯; 缩瞳药

*N,N*-二甲氨基甲酸 5-(1,3,3-三甲基吲哚满)酯 (5-(1,3,3-trimethylindoliny) *N,N*-dimethyl carbamate), 又称催醒宁, TMDMC), 是纪庆娥等设计合成的中麻催醒药<sup>(1)</sup>, 结构为:



TMDMC 的作用与毒扁豆碱相似, 是强的叔胺型胆碱酯酶抑制剂 ( $pI_{50}$  为 6.9), 其药理作用与其抑制胆碱酯酶有关, 抑制强度反映药物作用效果。TMDMC 也具有缩瞳效应, 缩瞳率与血药浓度有关。本文报道 TMDMC 血药浓度与抑酶关系, 从血酶抑制率来预测脑酶抑制情况, 为分析药理机制与临床用药提供监测手段。

## 材 料 和 方 法

**药品** TMDMC 由本所合成室合成, 白色粉末, 薄板层析为单点, 配成水液,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存; 氯化乙酰胆碱  $0.14 \text{ mM}$  水液,  $-20^{\circ}\text{C}$  保

存, 用前加磷酸缓冲液稀释至  $14 \text{ mM}$ ; 2 与  $0.1 \text{ N HCl}$  液;  $0.1 \text{ mM pH } 7.2$  磷酸缓冲液; 石油醚 ( $30-50^{\circ}\text{C}$ ); 饱和  $\text{NaHCO}_3$  液。以上试剂均 AR 级。

**仪器** 荧光分光光度计, 日立 MPF-4 A 型; 台式高速离心机 TGL-16; 多道比色计 Titer Tekmultiskan (Flow Laboratorie Inc)。

**小鼠** 雌雄不限, 本院动物房繁殖。每组 3 鼠 im 或 ip TMDMC  $1.5 \text{ mg/kg}$ , 不同时间断头, 取血(用肝素抗凝)及脑。脑加磷酸缓冲液制成 20% 匀浆。

**TMDMC 测定** 取  $0.5 \text{ ml}$  血或脑匀浆, 加饱和  $\text{NaHCO}_3$  液  $0.2 \text{ ml}$ , 用石油醚抽提 TMDMC 后, 用荧光法<sup>(2)</sup>测定。同时作空白与标准(正常血或脑匀浆为空白, 标准另加  $0.2 \mu\text{g}$  TMDMC)结果用下式计算:

$$\text{血药}(\mu\text{g/ml}) = 0.4 \times (F_u - F_B) / (F_S - F_B) \quad [1]$$

$$\text{脑药}(\mu\text{g/g}) = 2 \times (F_u - F_B) / (F_S - F_B) \quad [2]$$

式中  $F_u$ ,  $F_S$ ,  $F_B$  分别为样品, 标准及空白荧光强度。

**胆碱酯酶抑制率测定** 用羟胺比色法<sup>(3)</sup>经改良为: 取  $10 \mu\text{l}$  血或脑匀浆于塑料离心管中, 分别加入  $40 \mu\text{l}$  磷酸缓冲液,  $50 \mu\text{l}$  乙酰胆碱液, 在  $37^{\circ}\text{C}$  作用  $30 \text{ min}$  后各加  $200 \mu\text{l}$  碱羟胺液,  $300 \mu\text{l}$  三氯化铁液,  $12000 \times g$  离心  $3 \text{ min}$ 。取上清液在  $496 \text{ nm}$  测光密度。以无乙酰胆碱的空白为零; 在加三氯化铁液后加血或脑匀浆的为非酶水解乙酰胆碱,

$$\text{抑酶率}(\%) = 100 \times (E_u - E_A) / (E_N - E_A) \quad [3]$$

式中  $E_N$ ,  $E_u$ ,  $E_A$  分别为非酶水解, 样品与正常酶光密度。

## 结 果

**血药浓度** 小鼠 ip TMDMC 1.5 mg/kg 后血药浓度变化如图 1 血药曲线上各点, 每点

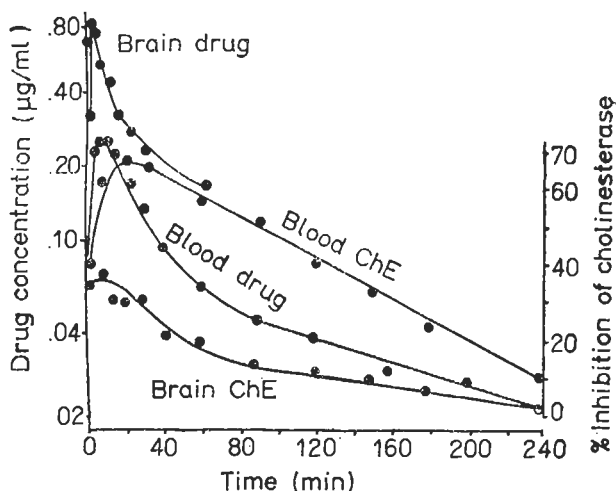


Fig 1. Concentrations and % inhibitions of ChE in blood and brain after ip TMDMC 1.5 mg/kg (6 mice/point).

为 6 鼠平均值。血药浓度经 YEE-8100 微机用 BASIC 程序计算为二室型一级吸收:

$$c_{(\mu\text{g/ml})} = 0.341 \exp(-0.114 t) + 0.0753 \exp(-0.0112 t) - 0.429 \exp(-0.696 t) \quad [4]$$

拟合结果如图 1 中血药曲线。

TMDMC 在小鼠吸收、分布快, 半吸收期为 1 min, 5 min 内有 97% 吸收入体内。半分布期为 6 min, 30 min 内有 90% 以上分布完毕, 以后血药变化成单室型下降。

**脑药浓度** 在上实验中同时测脑药浓度, 结果见图 1 脑药曲线上各点。药后脑药很快出现, 且 1 min 达高峰, 3 min 后血药与脑药达平衡。3-30 min 脑药与血药之比, 7 点的平均值为  $2.1 \pm \text{SD } 0.3$ 。将 3-30 min 的血药与脑药浓度作回归为直线。相关系数  $r = 0.97$ 。由于脑中荧光干扰物质多, 脑药在药后 30 min 比较低, 可根据血药、脑药的关系, 用血药来估算脑药情况。

**血酶与脑酶抑制率** 小鼠 ip TMDMC 1.5 mg/kg 后不同时间测血、脑胆碱酯酶抑制程度, 结果如图 1 血酶曲线与脑酶曲线上各点(每点为 6 只鼠平均值)。血酶在药后 2 min 被抑制 45%, 5 min 后抑制率为 62%, 20 min 抑制率最大, 为 67%, 以后酶活力缓慢恢复。脑酶在药后 2 min 被抑制 36.7%, 5 min 抑制率最大为 37.5%, 一直到 30 min, 仍维持在 31% 以上的抑制率。30 min 后抑制率下降, 酶活力逐渐恢复。

**血药与血酶关系** 血药浓度与血酶密切相关, 以血酶抑制率为药效指标, 可用 Hill 式表示:

$$E = E_{\max} \cdot C^s / (C_{50} + C^s) \quad [5]$$

式中 E 为抑酶效应%;  $C_{\max}$  为最大抑酶效应, 最大抑酶率为 100%;  $C_{E50}$  为使胆碱酯酶抑制率达 50% 时的血药浓度; C 为血药浓度; s 为效应系数。将上式直线化, 可改写成:

$$\ln[E/(E_{\max} - E)] = s \ln C + \ln(1/C_{E50}) \quad [6]$$

$E_{\max} = 100$ , 以  $\ln[E/(100 - E)]$  对  $\ln C$  作图如图 2 上。

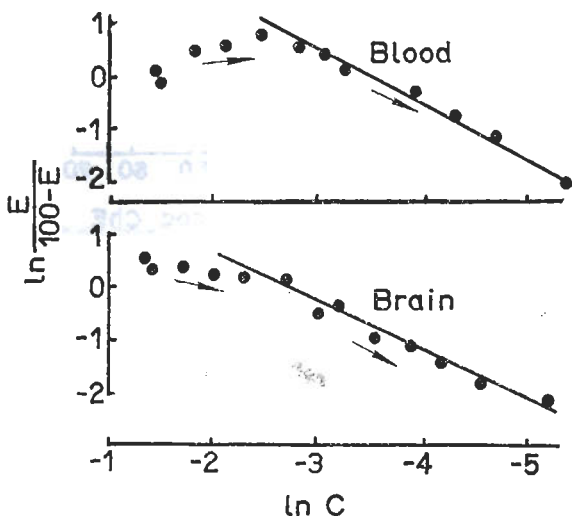


Fig 2. Relationship between blood drug concentrations and % inhibition of ChE in blood and brain (6 mice/point). Arrows denote the directions of experiment sequence.

30 min 后血药浓度的对数与血液胆碱酯酶抑制率对数成线性关系, 回归后得:

$$\ln[E/(100 - E)] = 3.58 + 0.9941 \ln C \quad [7]$$

$$r = 0.998 \quad (n = 7)$$

利用这一关系式,由血药浓度计算血酶抑制率,结果与实验值相符。

**血药与脑酶的关系** 根据上述血药与脑药的相关性,以血药浓度代替脑药来观察与脑酶的关系。以血药对数对脑酶抑制率对数  $\ln[E/(100 - E)]$  作图如图 2 下。可见在药后 30 min 血药浓度与脑酶抑制率成双对数线性关系为:

$$\ln[E/(100 - E)] = 1.91 + \ln C \quad [8]$$

$$r = 0.998 \quad (n = 7)$$

由血药浓度,用上式计算脑酶抑制率,结果与实验值相符。

**血酶抑制率与脑酶抑制率关系** 以血酶抑制率(%)对脑酶抑制率对数作图为一一直线(图 3)。

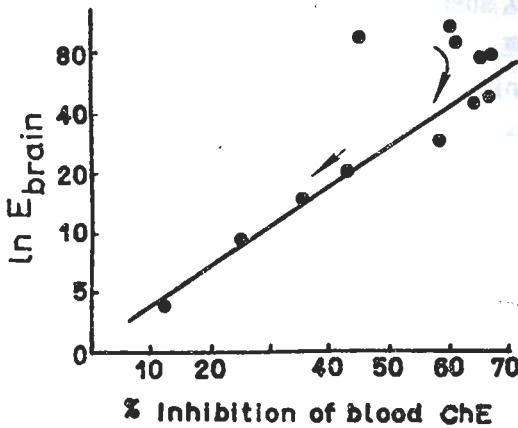


Fig 3. Relationship between inhibitions of ChE in blood and brain. Arrows denote the directions of experiment sequence.

直线回归得

$$\ln E_{\text{brain}} = 3.67 E_{\text{blood}} - 3.69 \quad [9]$$

$$r = 0.988 \quad (n = 5)$$

用上式由血酶抑制率计算脑酶抑制率的结果如表 1 实验值与计算值相符。

**缩瞳效应** 小鼠 im TMDMC 1.0, 0.5, 0.25 mg/kg 后不同时间观察瞳孔变化,以药前为 100%,计算缩瞳率(M),结果如图 4 所示。可见给 TMDMC 后,小鼠瞳孔迅速缩小,

Tab 1. Brain ChE activity of mice calculated from blood ChE activity (6 mice/group)

Dose (mg/kg)	Time (min)	Inhibition of ChE (%)		
		Blood found	Brain found	Brain calcd
3	30	80	47	52
	60	75	39	40
	90	68	30	38
	120	57	20	20
	180	43	12	13
	240	27	7	3
2	30	72	35	40
	60	65	27	27
	90	55	19	17
	120	38	10	11
	180	30	8	6
	240	17	5	7

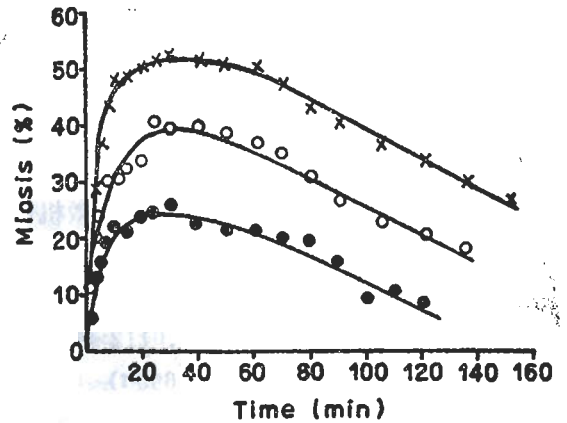


Fig 4. Miosis of mice following im TMDMC 0.25 (●), 0.5 (○) and 1.0 (×)mg/kg (6 mice/point).

15-30 min 达最小值,以后逐渐恢复。以 30 min 后的缩瞳率对数对血药浓度作图为线性关系,其回归为:

$$\ln[M/(100 - M)] = 3.65 + 1.006 \ln C \quad [10]$$

$$r = 0.977 \quad (n = 15)$$

利用此式计算血药浓度,与理论值一致。

### 讨 论

脑药浓度比血药高一倍,但高峰时脑酶抑制率比血酶抑制率低一半左右,这种差异的原

因,可能由于血酶是均相的,且小鼠血酶主要是假性胆碱酯酶,而脑酶是真性胆碱酯酶。另外 TMDMC 是叔胺型胆碱酯酶抑制剂,其脂溶性大,极易穿过血脑屏障,进入脑中,并储存于脂质中不易与酶作用造成。

胆碱酯酶活力测定时,血酶测定条件较易控制,脑酶测定条件不易控制,主要由于操作复杂。过程长,实验误差较大。在整个操作过程中严格控制条件与在低温处理,可相对减少误差。

血液胆碱酯酶活性高,只要微量血(10 $\mu$ l)就可分析,且分析方法简便,因此有可能测血酶后利用上述关系推算出人脑胆碱酯酶活力,作为药理作用机制分析与临床用药监测,是有帮助的。上述血酶与脑酶的线性关系是在药后

30 min 才合适。对早期脑酶抑制率可由血酶抑制率的一半来估测。

### 参 考 文 献

- 1 纪庆娥、李德有、邢广汉、甄润芬。中枢可逆性胆碱酯酶抑制剂 *N,N*-二甲氨基甲酸与吡啶满酯类的合成。军事医学科学院院刊 1982; 3 : 353
- 2 黄如衡、袁淑兰。催醒宁代谢 I。荧光测定法。同上 1980; 3 : 375
- 3 Hestrin S. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with hydroxylamine and its analytical application. *J Biol Chem* 1949; 180 : 249
- 4 Gibaldi M, Perrier D. Kinetics of pharmacologic response *Pharmacokinetics*. 2nd ed. NY: Marcel Dekker, 1983 : 221-45

*Acta Pharmacologica Sinica* 1986 Jul, 7 (4) : 296-299

## Pharmacodynamics of 5-(1,3,3-trimethylindolinyl)*N,N*-dimethyl carbamate in mice

JIN Jie-fu, HUANG Ru-heng

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)

**ABSTRACT** 5-(1,3,3-Trimethylindolinyl) *N,N*-dimethyl carbamate (TMDMC) is a strong cholinesterase inhibitor. The concentration (C) in blood of mice was measured after ip TMDMC 1.5 mg/kg and the % inhibition of blood and brain cholinesterases were calculated by following equations:

$$\ln[E_{\text{blood}}/(100 - E_{\text{blood}})]$$

$$= 3.58 + 0.9941 \ln C_{\text{blood}}$$

$$\ln[E_{\text{brain}}/(100 - E_{\text{brain}})]$$

$$= 1.91 + \ln C_{\text{blood}}$$

The inhibition of brain cholinesterase was estimated by the following equation from the degree of blood cholinesterase

inhibited.

$$\ln E_{\text{brain}} = 3.67 E_{\text{blood}} + 3.69$$

Measuring the extent of miosis (M) of mice following in TMDMC 1.0, 0.5, 0.25 mg/kg the blood concentration (C) was calculated by the equation:

$$\ln (M/(100 - M)) = 3.65 + 1.006 \ln C$$

**KEY WORDS** blood cholinesterases; brain cholinesterases; cholinesterase inhibitors; pharmacodynamics; 5-(1,3,3-trimethylindolinyl) *N,N*-dimethyl carbamate; miotics