

## 索曼结合部位的反应特异性

周建群 周廷冲 (军事医学科学院基础医学研究所, 北京100800)

**提要** 有机磷(磷)酸酯类的 Sarin, E600, VX, FPT 和吡啶类的百草枯才有 Soman 样肌肉收缩作用, 而且与 soman 作用一样可经 1% Triton X-100 处理而取消, 说明 soman 结合部位具有一定的反应特异性。Soman 的作用也可经 lubrol 和脱氧胆酸钠处理而取消。同时再次证实了 soman 结合部位与 ACh 受体和 AChE 是不同的。

**关键词** 索曼; 结合部位; 蚯蚓背纵肌肉; 配体特异性; 乙酰胆碱酯酶

我们发现蚯蚓 (*Eisenia foetida*) 背纵肌上可能有 soman 引起肌肉收缩的特定结合部位,

曾称之为“soman 受体”<sup>(1)</sup>。这种部位的特异性怎样? 它对配基的结构有何要求? 本文将有机磷类、吡啶类、氨基甲酸酯类、季铵类和磺酰氟类化合物在 AChE 失活的蚯蚓背纵肌上的作用与 soman 的作用相比较, 初步观察了 soman 结合部位的反应特异性。另外, 还观察了用去垢剂 lubrol 和脱氧胆酸钠(DOC)作为膜修饰剂处理蚯蚓背纵肌对 soman 反应的影响。这将有助于了解 soman 结合部位的性质。

### 材 料 和 方 法

**化合物** 特己基甲氟磷酸酯(soman)、异丙

基甲氟磷酸酯 (sarin)、O-乙基-S-(2-二异丙胺乙基)甲基磷酸酯(VX)、对氧磷(E600)、特己基甲磷酸酯(PMP)和异丙基甲磷酸酯(IMP),均由本院药理毒理研究所提供;溴化四乙铵(TEA)自上海试剂厂;溴化吡啶斯的明(PC)自华东制药总厂;百草枯(PQ)、敌百虫(CHP)、乐果(DMOP)、杀螟松(DMNT)、西维因(CV),均来自世界卫生组织;环磷酰胺(CP)自上海第十二制药厂;O-2-硝基-4-三氟甲基苯基-O, O'-二乙基硫逐磷酸酯(NPT)、O-乙基-O'-苯基-异丙胺基硫逐磷酸酯(IPT)、自天津南开大学元素所;对甲苯磺酰氟(PMSF);S-三氟甲基-O, O'-二甲基硫赶磷酸酯(FPT);1,1'-[三甲撑双(氧基)]-2-三甲胺基-5-(N,N-二甲基)-氨基甲酰氧基-4'-三甲胺基二苯草酸盐(MCMB)分别为赠品。

**实验方法** 实验中所用仪器和方法基本与前文<sup>(2)</sup>相同。在特异性实验中,换能系统采用机械-电应变片式换能器(四机部三所产品),在膜处理实验中,采用微浴池磁感换能器<sup>(3)</sup>。药液配制同前文<sup>(2)</sup>。

**特异性实验的标本处理** 标本在 soman 1  $\mu\text{g/ml}$ , 20 $^{\circ}\text{C}$ , pH 7.2 的修正任氏液<sup>(2)</sup>中浸泡 20 min, 取出洗净, 置于 pH 7.2 修正任氏液中, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, 即成为 AChE 失活的蚯蚓背纵肌标本。再经 1% Triton X-100, 20 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min, pH 7.2 处理后备用。只经 soman 处理的标本作为自身对照。

**肌膜修饰实验的标本处理** 将正常标本浸入 0.7% lubrol 或 0.7% DOC 的修正任氏液中, pH 8.3 于 20 $^{\circ}\text{C}$ 保温 30 min, 取出洗去去垢剂, 再放入 soman 10  $\mu\text{g/ml}$ , pH 8.3 的修正任氏液中于 30 $^{\circ}\text{C}$ 保温 30 min 取出洗净备用。只经 soman 处理的标本作为自身对照。所有实验标本, 用前均在 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

## 结果和讨论

**Soman 结合部位有一定的反应特异性** 利用 soman 在 AChE 失活的蚯蚓背纵肌标本上

引起肌收缩反应<sup>(4)</sup>, 以及标本 1% Triton X-100 经处理后, 在 ACh 反应保留的情况下, soman 的这种反应可以消失的特性<sup>(1)</sup>, 在 AChE 失活标本和失活后又经 Triton X-100 处理的自身标本上比较各种结构类型化合物的作用, 寻找 soman 结合部位对反应物结构要求的规律。

在本文所涉及的各类化合物中, 只有有机磷(磷)酸酯类中的 sarin, VX, E600, FPT 和吡啶类的百草枯在 AChE 失活的标本上能引起与 soman 相类似的肌肉收缩反应, 而且在标本经 Triton X-100 处理后, 这些化合物的反应也与 soman 的作用一样被取消。以 E600 的实验结果为例, 与 soman 的作用比较于图 1。其他有机磷类化合物, 如敌百虫、乐果、环磷酰胺等以及氨基甲酸酯类、磺酰氟类和季铵类都没有 soman 的这种作用。现取敌百虫的实验结果为例也放在图 1 中比较。表 1 中列出了本实验所用化合物的名称与结构。

由以上结果可以看出: 并非一切有机磷(磷)酸酯化合物都有 soman 样作用。只是烈性的目前能作为神经性毒剂的几种才有 soman 样作用。这些化合物的通式如下:  $R_1R_2P(O)X$

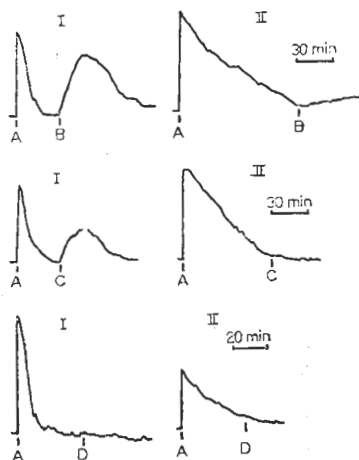
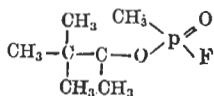
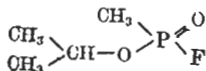
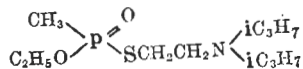
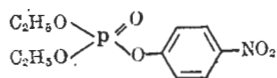
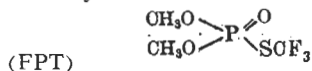
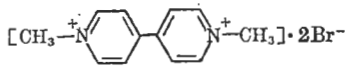


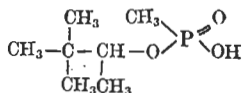
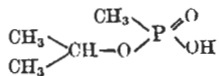
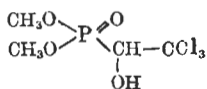
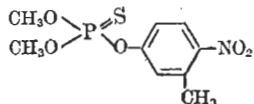
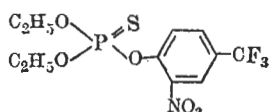
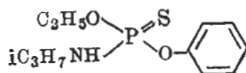
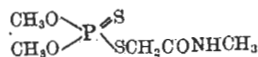
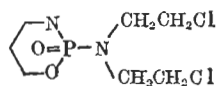
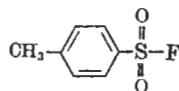
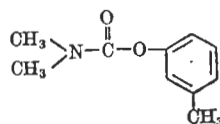
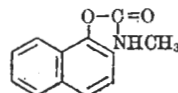
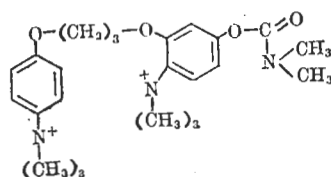
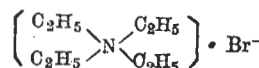
Fig 1. Effects of soman, E 600 and CHP on the AChE inactivated earthworm muscle with and without Triton X-100 Treatment. I) Preparations poisoned with soman 1  $\mu\text{g/ml}$ , 20 $^{\circ}\text{C}$ , 20 min; II) Preparations treated with 1% Triton X-100, 20 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min after soman poisoning. A) ACh 100  $\mu\text{M}$ ; B) soman 10  $\mu\text{M}$ ; C) E 600 100  $\mu\text{M}$ ; D) CHP 100  $\mu\text{M}$ .

Tab 1. Chemical structures of compounds.

## Compounds with soman-like activities

Pinacolyl methylphosphono-  
fluoridate (soman)Isopropyl methylphosphono-  
fluoridate (sarin)O-ethyl-S-(2-diisopropylaminoethyl)-  
methylphosphono-  
thiolate (VX)Diethyl-4-nitrophenyl-  
phosphate (E600)S-trifluoromethyl-O,O'-dimethyl  
phosphorothiolate1,1'-dimethyl-  
4,4'-bipyridilium  
(Paraquat, PQ)

## Compounds without soman-like activities

Pinacolyl methyl-  
phosphonate (PMP)Isopropyl methylphosphonate  
(IMP)Dimethyl(2,2,2-trichloro-1-  
hydroxyethyl)phosphonate  
(CHP)O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl)thio-  
phosphate (DMNT)O-2-nitro-4-trifluoromethylphenyl-O,O'-diethyl-  
phosphorothionate (NPT)O-ethyl-O'-phenylisopro-  
pylamidophosphorothio-  
nate (IPT)O,O-dimethyl-S-[2-(me-  
thylamino)-2-oxoethyl]  
phosphorodithiolate  
(DMOP)Cyclophosphamide  
(CP)Phenylmethylsulfonyl-  
fluoride (PMSF)3-hydroxy-1-methylpyr-  
ridiniumbromide dimethyl-  
carbamate (PC)1-naphthalenyl methyl-  
carbamate (CV)1,1'-[trimethylene-  
bis(oxy)]-2-trime-  
thylammonium-5-  
(N,N-dimethyl)-  
carbamyloxy-4'-tri-  
methylammonium  
dibenzeneoxalate  
(MCMB)Tetraethylammonium  
bromide (TEA)

(R<sub>3</sub>). R<sub>1</sub> 是烷基或烷氧基; R<sub>2</sub> 是烷氧基; X 是 F, O 或 S 原子, 后二者需再接其它基团. 根据以往的实验, 这些化合物的作用强度似乎与 X 原子有关, 按其作用强度的顺序是 F > O > S. 当上通式中的 P=O 键置换成 P=S 键时, 这类化合物就不再具有 soman 样作用. 另外, 具有 soman 样作用的化合物不一定是有机磷(膦)酸酯类化合物. 如百草枯有 soman 样作用, 但它却是联吡啶类的一种除莠剂, 它的化学结构中并没有 P 原子, 它的分子构型也与 soman 极不相似, 这引起了我们的注意.

敌百虫、乐果和杀螟松等都属于有机磷(膦)酸酯类的强烈杀虫剂, 也和 soman 一样具有强烈抑制 AChE 的作用. 西维因、四乙铵和吡啶斯的明也都是 AChE 的抑制剂. 它们中有

的如敌百虫和西维因等在正常标本(未经任何处理)上可引起肌肉的收缩反应,但在 AChE 失活的标本上,它们的肌肉收缩作用都消失了,这可能是由于它们的作用与 AChE 有关.与此相反,具有 soman 样作用的化合物的作用则可在 AChE 失活的标本上保留下来.这就形成了一个明显的对照.因此,我们认为 soman 结合部位对作用物有一定的结构特异性要求.具有  $R_1R_2P(O)X(R_3)$  结构的有机磷(膦)酸酯类化合物才能作用于这一 soman 结合部位.为什么与 soman 结构极不相同的百草枯也有 soman 样作用?有待研究.

#### 去垢剂处理取消 soman 的肌肉收缩作用

为以后分离提取 soman 的结合部位或进一步研究 soman 结合部位的性质,我们试用大分子去垢剂 lubrol 和小分子去垢剂 DOC 处理标本,再用 soman 中毒观察了这些处理对 soman 作用的影响,结果示于图 2.

由图 2 可见, lubrol 和 DOC 处理都可保留 ACh 反应,但同时能除去 soman 的作用. Lubrol 还可使 ACh 反应明显增强,而 DOC 则没有这种作用.这可能是由于 lubrol 可使蚯蚓背纵肌处于更为松弛而有利于收缩的状态或者其他原因.应注意的是 Lubrol 或 Triton X-100

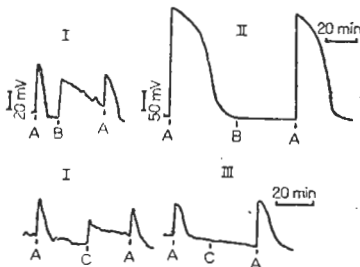


Fig 2. Effect of soman on the AChE-inactivated earthworm muscle with and without pre-treatment of lubrol or DOC. I) Control preparations treated with soman 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 30 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min; II) Preparations treated with 0.7% lubrol, 20 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min before soman poisoning, III) Preparations treated with 0.7% DOC, 20 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min before soman poisoning. A) ACh 100  $\mu\text{M}$ ; B) Soman 5.5  $\mu\text{M}$ ; C) Soman 10  $\mu\text{M}$ .

是非离子型去垢剂,而 DOC 则是离子型去垢剂.

本文的所有实验都采用 AChE 失活的蚯蚓背纵肌标本.每个实验中作为对照的标本和经去垢剂处理的标本都取自同一条蚯蚓,所以实验都有自身对照. AChE 失活标本已排除 AChE 这个因素,这时标本仍保留对 soman 的反应性,说明 soman 的作用部位不是 AChE.用几种去垢剂处理的标本都保留对 ACh 的反应性,而对 soman 的反应却都消失,说明 soman 的作用部位也是与 AChR 有区别的. Soman 的作用可以经去垢剂(不管是大分子的还是小分子的)处理而取消,这与以前的结果<sup>(1)</sup>完全一致.至于去垢剂怎样影响 soman 的作用部位,是除去还是使其失活尚不清楚.

综上所述, soman 的作用部位对作用物有一定的结构特异性要求,它确与 AChR 和 AChE 无关. Lubrol 和 DOC 也像 Triton X-100 一样能取消 soman 的作用.这些都为 soman 特异结合部位的存在进一步提供了证据.

应当指出:蚯蚓背纵肌标本的自发活动是会经常遇到的.自发活动严重的标本不能用于实验.处于生长繁殖期(4—11月份)的蚯蚓制成的标本,自发活动要比其他时期严重得多,约有一半以上不能用于实验.因此,用蚯蚓背纵肌进行实验最好避开生长繁殖期.

谢致 张兆耕同志曾提出很好的建议,并协助修改此文;邹承鲁教授赠 PMSF;王崇铨同志赠 FPT;戴敦华同志赠 MCMB.本文得到中国科学院科学基金委员会科基金生准字第 152 号的资助.

#### 参 考 文 献

- 1 周廷冲、周建群.中国药理学报 1981 年 12 月 2(4):217
- 2 周廷冲、周建群、同上 1981 年 9 月, 2(3):145
- 3 周建群.生物化学与生物物理进展 1983 年 4 月;总 50:67
- 4 周建群、周廷冲、中国药理学报 1981 年 12 月, 2(4):221

**REACTIVE SPECIFICITY OF SOMAN BINDING SITE**

ZHOU Jian-qun, ZHOU Ting-chong (T C Chou)

*(Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100800)*

**ABSTRACT** When organic phosphorus compounds, pyridines, methylcarbamates, alkylammoniums and sulfonylfluorides were compared with pinacolyl methyl phosphonofluoridate (soman) on the AChE-inactivated earthworm dorsal longitudinal muscles, we found that only isopropylmethyl phosphonofluoridate, diethyl-4-nitrophenyl phosphate, O-ethyl-S-(2-diisopropylaminoethyl)methylphosphonothiolate and S-trifluoromethyl-O, O'-dimethylphosphorothiolate of the organic phosphates (or phosphonates) and 1,1'-dimethyl 4,4'-bipyridylum of the pyridines had the soman-like muscular contractive effects which were abolished by

treating with 1% Triton X-100, 0.7% lubrol or 0.7% sodium desoxycholate, 20°C, 30 min, pH 8.3, but in contrast, ACh effect remained unchanged. It appears that the ligand-specificity of soman binding site differs from that of ACh receptor and AChE.

**KEY WORDS** soman; binding sites; earthworm dorsal longitudinal muscles; ligand-specificity; acetylcholinesterase

**ACKNOWLEDGMENT** This work was supported by a grant (Biological Section No. 152) from Chinese Academy of Sciences