

黑牛碱乙对神经肌肉标本的作用

施玉梁 颜寿琪* 王文萍 徐科 (中国科学院上海生理研究所, 上海 200031)

提要 黑牛碱乙 $1.5 \mu\text{g/ml}$ 阻遏神经肌肉传递, 而不影响神经干的兴奋、传导及肌肉的收缩功能; 明显影响 epp 的量子含量和 mepp 的发放频率而不改变肌细胞膜的静息电位和对 ACh 的敏感性, 无明显突触后作用; 所产生的神经肌肉阻遏不能用冲洗解除, 但高 Ca^{++} 溶液 (8mM) 能有效地使传递恢复。

关键词 黑牛碱乙; 滇乌碱; 神经肌肉阻滞; 肌肉的 ACh 敏感性; 终板电位量子含量; 小终板电位

黑牛碱乙 (dielsin B) 是从毛茛科乌头属植物小黑牛 (*Aconitum nigrum* var. *heterotrichum* f. *dielsinum* W. T. Wang) 中提取出来的二萜生物碱, 其基本结构与滇乌碱 (yunaconitine) 相似, 但具有较之更强的生理活性⁽¹⁾。本工作用大鼠膈神经膈肌标本和小鸡颈二腹肌观察了它对神经肌肉系统的作用, 并与滇乌碱进行了比较。

材料与方 法

用大鼠膈神经膈肌标本观察黑牛碱乙或滇乌碱对神经肌肉接头电活动的影响。标本的制作、保养, 收缩描记以及电生理记录方法同前^(2,3)。描记小鸡颈二腹肌的收缩和测定它对乙酰胆碱 (ACh) 的敏感性按文献⁽⁴⁾方法, 标本取自出壳 3—5 d 的小鸡, 生理溶液为 Krebs 溶液⁽⁵⁾。实验时肌槽温度: 收缩描记和测 ACh 敏感性为 37°C , 电生理记录为 $32-34^\circ\text{C}$ 。

终板电位 (epp) 量子含量 (m) 的测定是将大鼠膈神经膈肌标本置于高 Mg^{++} (约 12mM) 环境中, 记录 epp 和小终板电位 (mepp), 测量它们的振幅, 并统计 epp 的失败率, 按以下方法计算⁽⁶⁾。

$$m_1 = \text{epp 平均振幅} / \text{mepp 平均振幅}$$

$$m_2 = \ln (\text{刺激次数} / \text{epp 失败数})$$

黑牛碱乙与滇乌碱均系昆明云南植物所陈泗英同志惠赠。实验前先将它们分别用少量 0.1N 稀 HCl 溶解, 再用蒸馏水配成 1mg/ml 浓度的溶液备用。实验时用生理溶液进一步稀释至适当浓度。

结 果

神经肌肉传递的阻遏 离体大鼠膈神经膈肌标本 ($n=11$) 在黑牛碱乙 ($1-1.5 \mu\text{g/ml}$) 作用下, 平均在 $44 \pm (\text{SD}) 11 \text{min}$ 内肌肉丧失对间接刺激的收缩反应 (间接刺激频率 6c/min)。在同样浓度和实验条件下, 滇乌碱引起的肌肉对间接刺激的收缩反应的消失时间为 $63 \pm 6 \text{min}$ ($n=4$)。黑牛碱乙对大鼠膈神经膈肌标本的阻遏作用较滇乌碱强。

黑牛碱乙或滇乌碱所产生的神经肌肉传递阻遏, 其可逆性都很差, 但前者较后者更差。在我们的实验条件下, 浓度为 $1 \mu\text{g/ml}$ 的黑牛碱乙所引起的神经肌肉阻遏, 即使将标本用正常生理溶液反复冲洗后亦未见到肌肉对间接刺激的收缩反应的恢复; 但在同样浓度和实验条

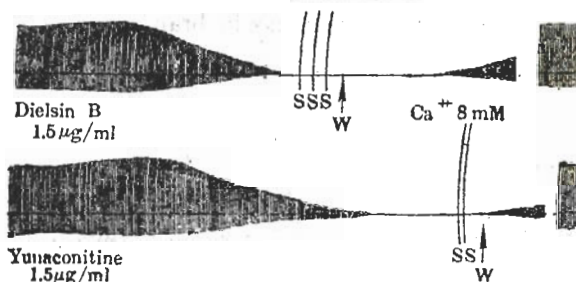


Fig 1. Blocking action of dielsin B and yunaconitine on the rat phrenic nerve diaphragm preparations, frequency of stimuli 6c/min , 37°C . S: direct stimulation, W: washing

件下, 滇乌碱所产生的神经肌肉阻遏, 却常可被以正常生理溶液冲洗而部份解除, 当浓度进一步升高时, 滇乌碱引起的阻遏也不再能被反复冲洗所解除⁽³⁾。顺便指出, 新斯的明或4-氨基吡啶对这两种生物碱所产生的神经肌肉阻遏均无解除作用。

同大鼠的膈神经膈肌标本相比, 小鸡颈二腹肌标本对这两种生物碱都更为敏感, 通常在 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 约经 0.5 h 即阻遏神经肌肉传递, 这种阻遏的可逆性也很差。同在大鼠标本上观察到的稍有不同, 在这个标本上, 两种生物碱引起神经肌肉阻遏的时间, 并无明显差异。

以下的简单观察说明, 在黑牛碱乙作用下, 肌肉对刺激神经不再产生收缩, 其原因既不是由于神经纤维丧失兴奋和传导冲动的能力, 也不是肌肉丧失了兴奋和收缩能力, 而是神经肌肉接头传递过程被阻断的结果: 当膈肌丧失对间接刺激的收缩反应后, 直接刺激肌肉仍能引起肌肉收缩反应, 于神经干上仍能记出复合动作电位。在另外的实验里, 将膈神经浸于含 $1.5 \mu\text{g/ml}$ 的黑牛碱乙的生理溶液中, 每隔 0.5 h 记录一次神经干的复合动作电位。结果表明, 在神经肌肉传递阻遏至少 2 h 后, 神经干仍具有兴奋和传导冲动的能力。在此过程中, 只是复合电位的振幅有所降低 (2 h 后的约为对照的 70%), 时程有所延长 (最多延长 1.5 倍)。

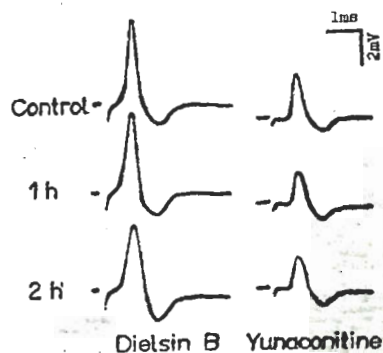


Fig 2. Effect of dielsin B and yunaconitine on compound action potential of phrenic nerve in rats.

在黑牛碱乙作用下, 强直刺激 ($50 \text{ c/s}, 1 \text{ min}$) 膈神经能引起膈肌的强直收缩, 并于强直刺激后可以看到对单个间接刺激的收缩反应的暂时增强, 即强直后加强效应 (图 3)。

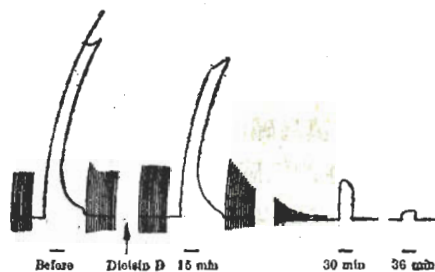


Fig 3. Effect of tetanic stimulation ($50 \text{ c/s}, 1 \text{ min}$). The rat phrenic diaphragm preparation.

高 Ca^{++} 溶液对传递阻遏的解除 同在滇乌碱观察到的一样, 经黑牛碱乙阻遏传递的标本, 提高标本溶液中的 Ca^{++} 浓度也能有效地解除神经肌肉阻遏。如在我们的实验条件下, 经 $1-1.5 \mu\text{g/ml}$ 黑牛碱乙所阻遏的标本, 当将标本溶液中的 Ca^{++} 浓度提高到 8 mM 后, $1-5 \text{ min}$ 内肌肉即出现对间接刺激的收缩反应, 反应幅度逐渐增大, 一般都可恢复到对照高度, 恢复的收缩反应能在正常生理溶液 (含 2 mM Ca^{++}) 中维持下去 (图 1)。

高 Ca^{++} 溶液的这种解除阻遏效应在小鸡颈二腹肌也同样能观察到, 但它不如在大鼠神经肌肉标本那样明显和有效。如在浓度为 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 黑牛碱乙阻遏传递的标本, 升高溶液中 Ca^{++} 浓度 (至 8 mM), 只能使肌肉对间接刺激的收缩反应部份恢复, 而对由这种浓度滇乌碱阻遏的小鸡颈二腹肌标本, 则高 Ca^{++} 溶液通常无解除阻遏作用。

肌肉的 ACh 敏感性 先描记小鸡颈二腹肌标本由间接刺激所诱起的收缩反应, 待稳定后, 停止刺激并将 ACh 加到标本溶液 ($1 \mu\text{g/ml}$, 接触 1 min), 描记产生的肌肉收缩, 随即用正常生理溶液冲洗数次, 然后换以含黑牛碱乙 $0.5 \mu\text{g/ml}$ 的生理溶液, 同时施予间接刺激 (6 c/min), 待神经肌肉阻遏后, 再在同样条件

下描记一次 ACh 产生的收缩反应. 结果在黑牛碱乙的作用下, 神经肌肉阻遏后, 同样浓度的 ACh 仍能引起振幅与对照相当的肌肉收缩. 若加黑牛碱乙之前的反应幅度为 100, 则阻遏后的反应为 91 ± 6 , 图 4 为结果的一例. 这个结果说明, 经黑牛碱乙阻遏传递的标本, 其肌纤维对 ACh 的敏感性无明显降低. 顺便指出, 经这个浓度的滇乌碱阻遏传递的小鸡颈神经肌肉本, 对 ACh 的敏感性也无显著变化, 反应幅度为对照的 92 ± 9 .

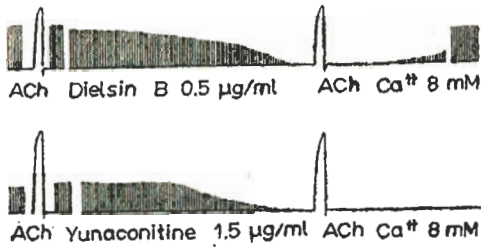


Fig 4. ACh sensitivity of chick biventer cervicis nerve-muscle preparation, Frequency of stimuli 6 c/min, 37°C. ACh: acetylcholine (1 μg/ml, 1 min)

肌细胞膜的静息电位

在阻遏神经肌肉传递的浓度, 黑牛碱乙对肌细胞膜的静息电位无明显影响. 如大鼠膈神经膈肌标本在加入黑牛碱乙之前肌细胞膜的平均静息电位为 80 ± 5 mV ($n = 50$), 在经黑牛碱乙 $1.5 \mu\text{g/ml}$ 作用 1 h 神经肌肉传递阻遏后, 膜电位为 80 ± 4 mV. 与之同时, 我们也在同样实验条件下观察了滇乌碱 ($1.5 \mu\text{g/ml}$) 作用前和阻遏神经肌肉传递后膈肌纤维的静息膜电位, 它们分别为 78 ± 5 mV 和 78 ± 8 mV ($n = 50$).

epp 和 epp 量子含量

离体的大鼠膈神经膈肌标本先用筒箭毒碱 ($\mu\text{g/ml}$) 处理, 记出稳定 epp 后加入黑牛碱乙 ($1 \mu\text{g/ml}$), 连续记录和观察 epp 的变化. 结果表明, 同滇乌碱相似⁽³⁾, 在作用之初 epp 的振幅和时程的变化不明显, 通常于加入黑牛碱乙 20 min 后, epp 振幅开始下降, 并迅速消失. 以后重复刺激神经也不能诱起终板电位.

联系到前面得到的, 在黑牛碱乙作用下肌

纤维膜的静息膜电位和 ACh 敏感性不受影响的实验结果, 自然会想到, 上述观察到的终板电位的降低和消失不会是由于突触后的原因造成的. 因而, 在黑牛碱乙作用下 epp 的量子含量应有与之 (cpp) 相应的变化. 对 epp 量子含量的测定结果证明是确是如此, 图 5 为实验结果一例. 用两种测定方法得到的结果是一致的.

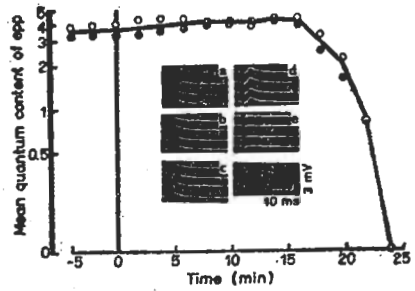


Fig 5. Effect of dielsin B ($1.5 \mu\text{g/ml}$) on mean quantum content of epp(m). ●: Average amplitude of epp/average amplitude of mepp. ○: ln (total number of stimuli/epp number of failures). a, b, c, d and e were the epp at 5, 10, 15, 20 and 25 min, respectively, after dielsin B. The rat phrenic diaphragm preparation.

mepp

黑牛碱乙或滇乌碱都明显改变 mepp 的发放频率. 在向标本溶液中加入黑牛碱乙 ($1 \mu\text{g/ml}$) 后, mepp 发放频率不断增加, 通常于接头传递阻遏出现时, 发放频率达到峰值. 但它与在滇乌碱所观察到的不同, 这种 mepp 的高频发放一直可持续 1 至数 h (在滇乌碱, 频率达到峰值后, 通常在 30 min 即很快停止发放), 我们还看到, 一个标本上的不同接头的 mepp 发放频率的变化往往很不同步, 当所

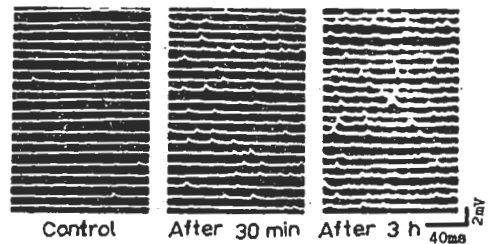


Fig 6. Effect of dielsin B on the frequency of mepp

记录的一个接头的 mepp 完全停止发放后, 尚可在另外的接头记录到高频发放的 mepp。

讨 论

从本文结果来看, 黑牛碱乙对神经肌肉标本的作用首先是阻遏兴奋通过神经肌肉接头的传递, 至少在浓度 $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ 对神经冲动在神经干的传导和肌肉收缩无明显作用。在神经肌肉阻遏后, 肌细胞膜的静息电位, 对 ACh 的敏感性无明显改变的结果还进一步表明传递阻遏不是发生在接头后。而黑牛碱乙对 mepp 发生频率的明显影响, 以及 epp 量子含量的变化则说明阻遏发生在接头前神经末梢, 即或者它影响了神经冲动在末梢的传播, 或者影响了兴奋-分泌耦合过程。

同溴乌碱相比, 黑牛碱乙对神经肌肉标本

作用的基本特点与之相似, 它们在 $1.5 \mu\text{g/ml}$ 都阻断神经冲动通过接头的传递, 并且无明显突触后作用。此外它们尚有些不同: 如黑牛碱乙的有效浓度低, 可逆性更差, 使 mepp 高频发放的时间持续久等。这些不同可能反映它们作用方式上的某些差异。

参 考 文 献

1. 陈泗英. 待发表
2. 施玉梁, 沈克飞. 科学通报 1975 年 2 月 30 日; 20 (2): 97
3. 施玉梁, 魏仁榆, 周念辉, 王文萍. 生理学报 1980 年 6 月; 32 (2): 135
4. Ginsborg BL, Warriner J. *Br J Pharmacol* 1960 Sep; 15 (3): 410
5. Liley AW. *J Physiol (Lond)* 1956 Sep; 133 (3): 571
6. Martin AR. *Physiol Rev* 1966 Jan; 46 (1): 51

Acta Pharmacologica Sinica 1983 Sep; 4 (3) : 166-169

EFFECTS OF DIELSIN B ON NERVE-MUSCLE PREPARATIONS

SHI Yü-liang, YAN Shou-qi, WANG Wen-ping, XU Ke

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

ABSTRACT Experiments were carried out on rat phrenic nerve-diaphragm preparations and chick biventer cervicis nerve-muscle preparations. Dielsin B $1.5 \mu\text{g/ml}$ blocked the neuromuscular transmission without affecting the conductivity of nerve and muscle contractile response to direct stimulus. It altered the quantal content of the end-plate potential and the frequency of miniature end-plate potential, but did not affect the resting potential and the acetylcholine sensitivity of muscle.

Washing did not restore the neuromuscular transmission blocked by dielsin B, but high Ca^{++} did so effectively. The effects of dielsin B were compared with those of yunaconitine on the neuromuscular transmission.

KEY WORDS dielsin B; yunaconitine; neuromuscular blocking agents; acetylcholine sensitivity of muscle; quantum content of epp; mepp