

用活体微循环方法测定三丙酮胺的降压及舒血管效应

顾克仁¹、许实波²、林永成³、龙康侯³ (香港中文大学医学院生理学系¹, 香港; 中山大学生物学系生理学教研室²和化学系天然有机化学研究室³, 广州 510082)

提要 用电视监测系统连接微血管管径自动测量仪, 记录血管直径变化, 观察三丙酮胺(triacetonamine)对大鼠脊椎斜方肌的微循环效应。结果局部给三丙酮胺, 微血管管径无明显变化, 而iv则血压下降, 血管管径舒张, 提示三丙酮胺可能通过对机体的整体效应而出现明显的降压作用。

关键词 微循环, 三丙酮胺, 脊椎斜方肌, 低血压, 血管舒张

从中国海南岛陵水县附近海域, 采集到南海鳞丁心柳珊瑚(*Juncella squamata*), 提纯到

1985年11月28日收稿 1986年4月25日修回
本文参加 International Symposium on Organic Chemistry of Medicinal Natural Products, Shanghai, China, 1985 Nov 10-14.

与文献报道一致的三丙酮胺(triacetonamine)血管活性物质, 并具明显的心血管效应⁽¹⁻²⁾。在预初试验中发现三丙酮胺具明显的降低血压及抗心律失常作用。本实验采用特制的微血管管径自动测量仪, 用三丙酮胺进行活体微循环的试验, 观察其对麻醉大鼠血压及脊椎斜方肌的微循环效应。

材 料

将南海鳞丁心柳珊瑚 *Juncella squamata* 样品凉干, 用甲醇和丙酮抽提, 抽提液浓缩至干, 残余物再用水抽提, 将水溶液反复硅胶柱层析。用甲醇乙酸乙酯混合洗提, 40%甲醇乙酯溶剂

冲出提取物, 得针状晶体物, 吸潮, 与 AgNO_3 成白色沉淀物, 熔点 $188-190^\circ\text{C}$ (分解)。其质谱阴离子峰是 $155-1308$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}-\text{HCl}$, ^1H NMR 谱有 3 重峰, 9.73 (brs, 2H, 重水交换消失), $\delta 2.63$ (S, 4 H) $\delta 1.47$ (S, 12 H), ^{13}C NMR 谱有 4 信号, $\delta 61.26$ (S), 50.99 (t), 204.44 (S), 28.25 (q)。从这些数据加上红外光谱数据, 证明该化合物是三丙酮胺盐酸盐, 其分子结构如下。



方 法

活体微循环的显微镜组合及显示装置如

图 1 本装置^(3,4)包括 1、光源: 由一幻灯聚光灯泡发出光源, 经过隔热镜片及绿色滤光镜片,

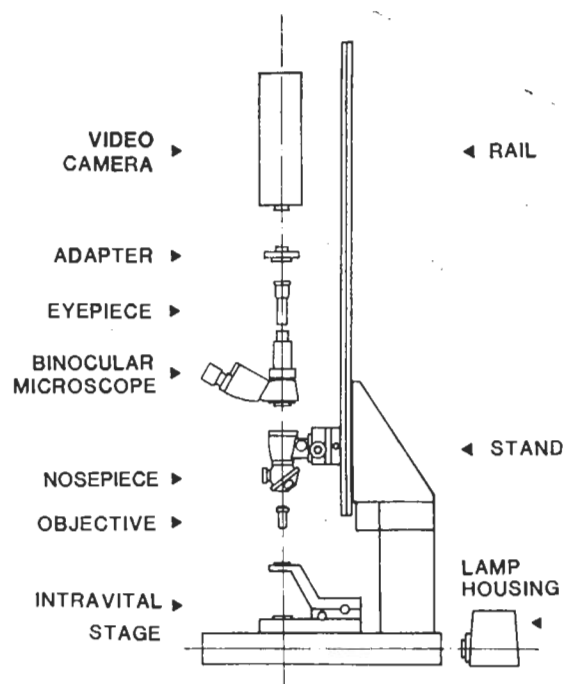


Fig 1. Schematic diagram of the microscope and video combination set up.

将强光照射于反射镜上, 然后折射进透镜系统; 2. 透镜组合, 由特长工作距离的物镜-低倍物镜 LEITZ $20\times/0.33$ N.A. (工作距离 15 mm) 或高倍物镜 LEITZ UM $33\times/0.30$ N.A. (工作距离 14 mm), 光线透过镜筒的一组透镜经过放大。双筒显微镜采用 American Optical 3015 T 型, 用零部件组合而成; 3. 闭路电视摄影机: 将光线通过闭路电视摄影机接收系统, 把光讯号转变为电讯号, 输入到电视机中; 4. 电视机: 采用 9 吋黑白电视机, 将显微镜所观察到的微血管形状, 显示于荧光屏上。将闭路电视摄影机、微血管管径自动测量仪的输入线路接入, 同时将输出讯号接到生理记录仪上。如果需要, 亦可将影象由电视录像机预先录下, 然后再播放到微血管自动测量仪上(图 2)。

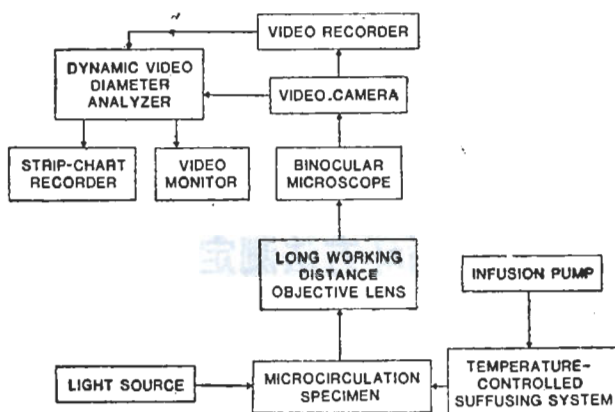


Fig 2. Block diagram of the video recording and signal analysis system.

灌流装置 由恒流泵、自动控温仪、恒速注射器、输液管道及抽液机等组成。输液管道为自制的器件⁽⁵⁾, 可通过安装在输液管道出口处的热敏电阻器, 感知流出液体温度的变化, 并在输液管道外层玻璃管中, 装置电热丝, 管的玻璃内管通过液体, 其前端连接电线到自动控温仪上, 根据自动控温仪调节的温度数字, 可自动调节流出液体所需的温度(图 3)。本装置还可调节溶液的流速, 如恒速注射器来的药液为 0.2 ml/min , 从恒流泵来的生理溶液为 1.8 ml/min , 这样在输液管道前端会合口的混合液体流速便为 2 ml/min , 即药液被稀释为 10

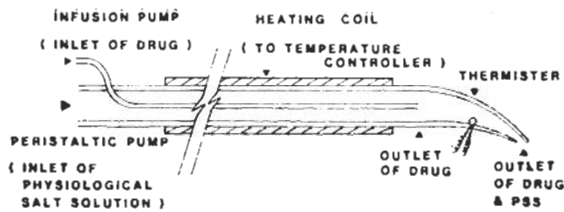


Fig 3. Schematic diagram of the fluid suffusing system and its temperature controlling unit.

倍。因此计算药液浓度时，要按实验要求的具体稀释倍数，加以计算和调节。

微血管管径自动测量仪装置 本仪器 (Dynamic Video Diameter Analyzer, BioMed Co) 根据电视机的图象形成原理，用电子集成电路设计而成⁽⁵⁾。设计有白色光带的测量窗及辅助窗，预先可用显微测微尺作标准，校准数字读数的标准。这样，在电视机荧光屏上辅助窗所显示微血管直径大小变化，便可直接测量，并直接记录于生理记录仪上(图4)。

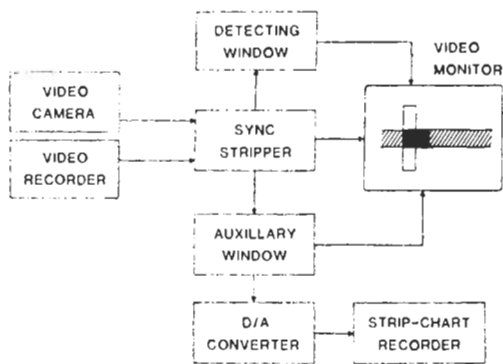


Fig 4. Block diagram of the working principles of the dynamic video diameter analyser.

大鼠脊椎斜方肌的制备 实验动物为香港中文大学动物房饲养的 Sprague-Dawley 种♂大鼠，体重 $139 \pm SD 55$ g, $n = 17$ 。脊椎斜方肌 (spino trapezius) 位于鼠背部肩胛骨下缘，靠近胸椎，自肩胛骨下缘约在第 2—3 胸椎至 1—2 腰椎处，在皮下结缔组织下的微动静脉，在活体标本中，可看到二条平行排列的小动静脉，分布在脊椎斜方肌的外缘及正中，血管走向由大到小。制备方法：将大鼠用 ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉。作气管套管术及颈静脉、股动

脉插管术，以备静脉给药及测量动脉血压用。将大鼠作俯卧位，在背部沿头颈部枕骨下直至第 1—2 腰椎处，作正中 6—7 cm 皮肤切口，分离皮下结缔组织，从左侧近前肢腋正中中线处，在肩胛骨前缘下，可见一白色浅表的肌膜分界线，从内侧分离至背部正中中线处，上至肩胛骨下缘，下至 1—2 腰椎，形成一个较宽大的薄肌层。将分离好脊椎斜方肌的大鼠，移置到微循环实验架上，在已开启电源的显微镜下观察，找出适合的活体微血管进行实验^(6,7)。剥离大鼠颈动、静脉，分别作给药及描记血压用。将颈动脉连压力换能器，并接于二导生理仪作动脉血压的直接记录。

实验程序 大鼠保温板调节恒温 37°C ，记录正常状态的变化，然后按实验编排组合，进行对三丙酮胺溶液的局部给药及颈静脉恒速注射给药。局部给药速度 0.2 ml/min ，(混合液为 2 ml/min)，iv 速度 0.5 ml/min 。输液管道流出的生理溶液及药液均调节在 37°C 。观察动脉血压及微动脉血管直径大小变化。

结果和讨论

局部给药作用 三丙酮胺水溶液按 $0.0005, 0.005, 0.05, 0.5 \text{ mg/ml}$ ，通过输液管道恒温、恒速局部给大鼠脊椎斜方肌微循环给药，无论低或高剂量组，均未见微小动脉血管管径大小的变化，提示三丙酮胺对血管平滑肌没有直接的舒缩效应，结果如图 5 所示。

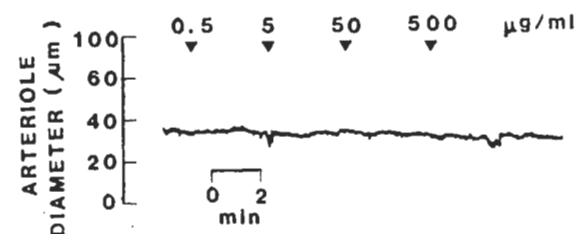


Fig 5. Representative example (Rat No. 18, 110 g bd wt, 16/1/85) showing the effect on the arteriole diameter of the spino trapezius muscle by topically applied triacetanamine (at 2 ml/min) in 11 ♂ Sprague-Dawley rats.

Tab 1. Hypotensive and vasodilator effects of triacetoneamine in 6 ♂ Sprague-Dawley rats. Values are expressed as the median (50th percentile) with 95% confidence interval in parentheses.

Dose (mg/kg, iv)	0.1	0.3	1	3
Number of observations	6	5	6	4
Decrease in blood pressure(kPa)	0	0.27(0—1.07)	1.47(0.40—2.10)	1.87(1.60—2.40)
Increase in arteriole diameter(μm)	0	0 (0—0.67)	0.87(0.53—1.74)	1.33(0.93—1.87)

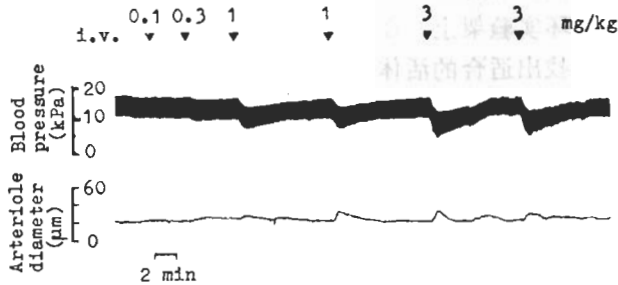


Fig 6. Representative example(Rat No. 159, 190 g bd wt, 11/2/85)showing the effect on systemic blood pressure and arteriole diameter of the spinotrapezius muscle by intravenously applied triacetoneamine in 6 ♂ Sprague-Dawley rats.

iv 的降压与微血管舒张作用 按 0.1, 0.3, 1, 3 mg/kg, 恒速 iv 三丙酮胺, 结果如表 1, 图 6 所示。iv 后, 大鼠在血压下降的同时, 微小动脉管管径舒张。结果提示, 三丙酮胺是通过 iv 的全身作用, 使外周血管舒张, 阻力降低, 同时使血压下降。这一效应是否通过中枢神经系统的作用, 尚待进一步的试验证明。

致谢 香港中文大学医学院生理学系陈荣锡和 陈伟雄参加实验工作, 杨美玲参加文书工作。

参 考 文 献

- 1 Rojas Martinez RL, Perez-Saad H. Triacetoneamine. I. Mechanism of hypotensive action. *Rev Cubana Farm* 1979; 13 : 37. (CA 1979; 91 : 151366 d)
- 2 Rojas Martinez R, Azcuy Quesada M. Triacetoneamine. II. *In vivo* cardiovascular effects. *Ibid* 1979; 13 : 163. (CA 1980; 92 : 209114j)
- 3 Koo A, Liang IYS. Blood flow in the hepatic sinusoids in experimental hemorrhagic shock in the rat. *Microvasc Res* 1977; 13 : 315
- 4 Koo A. Current methods and concepts on the visceral microcirculation. *Prog Appl Microcirc* 1984; 6 : 54
- 5 Koo A, Chan WS, Ng WH, Greenberg MJ. Microvascular vasodilator effect of FMRFamide and Met-enkephalin-Arg⁶-Phe⁷-amide in the rat. *Microcirculation* 1982-83; 2 : 393
- 6 Koo A, Liang IYS. Microvascular responses to norepinephrine in skeletal muscle of cold acclimated rats. *J Appl Physiol* 1978; 44 : 190
- 7 Koo A. Microvascular techniques for *in vivo* assay of vasoactive agents from Chinese medicinal herbs. In: Chang HM, Yeung HW, Tso WW, Koo A, eds. *Advances in Chinese medicinal materials research*. Singapore: World Scientific, 1985 : 559-80

Hypotensive and vasodilator effects of triacetonamine as demonstrated by intravital microcirculation method

Anthony KOO¹, XU Shi-Bo², LIN Yong-Cheng³, LONG Kang-Hou³

(Dept Physiology¹, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, Dept Biology² and Natural Products Chemistry Research Laboratory³, Zhongshan University, Guangzhou 510082)

ABSTRACT Triacetonamine was isolated from the South China Sea gorgonian *Jun-cella squmata*. The hypotensive and micro-vascular vasodilator effects of triacetonamine were tested in ♂ Sprague-Dawley rats anaesthetized with Na pentobarbital (40 mg/kg, ip). Systemic arterial pressure was continuously monitored by a catheter in the carotid artery. The spinotrapezius muscle was exteriorized and its microcirculation was observed by an intravital video microscope system. The diameter of an arteriole (25-40 μm) in the spinotrapezius microcirculation was continuously and automatically measured by a dynamic video diameter analyzer. Triacetonamine was given either systemically

(0.1-3 mg/kg, iv) or topically (0.5 μg-0.5 mg/ml, suffused at 2 ml/min). Results showed that triacetonamine administered iv lowered arterial pressure and dilated arteriole in a dose-dependent manner, but it did not dilate the arterioles for direct topical application. The observed vasodilatation may result from inhibition of the vasomotor tone of the peripheral circulation by triacetonamine, thus leading to the concomitant decrease of peripheral resistance and hypotensive effect.

KEY WORDS microcirculation; triacetonamine; spinotrapezius muscles; hypotension; vasodilation