

# 三丙酮胺对心肌细胞膜电位的影响\*

## II. 抗心肌缺血缺氧的电生理学研究

许实波 王志国 冯建林\*\*

(生物学系)

### 摘 要

本文用电生理学实验证明,三丙酮胺(TAA)有效地改善缺氧台氏(Tyrode)液灌流所致的心肌电活动异常,明显减轻关闭呼吸机致整体动物心肌缺氧时动作电位变态的程度;显著抵抗静脉注射垂体后叶素诱发在位心脏急性心肌梗塞的电生理异常反应。

**关键词** 三丙酮胺, 抗心肌缺血缺氧, 动作电位, 心电图

三丙酮胺(Triacetoneamine-HCl, TAA)是根据中国南海鳞丁心柳珊瑚 *Juncella squamata* 中提取的天然产物的分子结构,采用一步无污染人工合成的活性物质。已有实验表明:TAA具有降血压<sup>[1]</sup>、抗心律失常<sup>[2]</sup>和抗心肌缺血<sup>[3]</sup>作用。TAA延长小鼠常压及负压缺氧的耐受时间,缓解脑垂体后叶素或结扎冠脉造成的大鼠心肌缺血,增加离体兔心冠脉流量和小鼠心肌营养性血流量;抑制大鼠体外血栓的形成。表明TAA可通过增加心肌供血氧和减少心肌氧耗而起抗心肌缺血缺氧作用。本文采用电生理学方法,进一步从细胞水平研究TAA的抗心肌缺血缺氧作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 离体实验

三丙酮胺(TAA),由中山大学化学系天然有机化学研究室提供,为水溶性盐酸盐结晶,用前配制;垂体后叶素,为上海第十制药厂产品;其它用于配制Tyrode液的试剂和麻醉药皆为市售分析纯制品。记录装置、灌流装置、标本制备、灌流液及结果处理如文[4]。

### 1.2 在体实验

健康豚鼠50只,雌雄兼有,体重 $255.0 \pm 5.0$ g,腹腔注射乌拉坦 $1\text{g}/\text{kg}$ 麻醉,气管插管;用微型人工呼吸器(江湾I型)维持动物呼吸;用心电图示波器(XSD-3型)监视动物心电活动,并在心电图机(XDH-3型)上记录标准II导联。动物开胸后将心包膜纵向剪开,缝于剪开的胸壁上形成一兜状而将心脏托起,隔开肺脏,从而避免肺呼

本文1987年11月21日收到

● 国家教委博士点基金资助项目

\*\* 现在国家医药总局天津药物研究院药理室工作

吸运动影响动作电位(AP)记录。采用心肌多次穿刺法<sup>[5]</sup>,每次穿刺心尖部不同细胞,记录AP 2-3 min,避免AP参数自然衰减造成的误差,更有效地反映心脏各部AP变化情况。为了排除心率变化影响AP参数,用频率300Hz,波宽1 ms的强刺激驱动心脏跳动。浮置电极垂直插入心肌细胞,生物电信号由微电极放大器,输入二线示波器观察,并用示波器照相机或二道生理记录仪记录。观察指标为动作电位幅度(APA),50%动作电位时程(APD<sub>50</sub>),90%的动作电位时程(APD<sub>90</sub>),同步记录心电图(ECG)Ⅱ导联。同时用电子微分器对动作电位(AP)进行微分,记录膜电位最大上升率(V<sub>max</sub>)的变化。

## 2 结果

### 2.1 TAA对缺氧Tyrode液灌流下乳头肌AP的影响

右心室乳头肌标本10例,正常Tyrode液灌流稳定1 h后,记录10min内正常AP,然后用N<sub>2</sub>代替O<sub>2</sub>,模拟心肌缺氧状态,60min后,动作电位时程(APD)、有效不应期(ERP)及有效不应期/90%动作电位时程(ERP/APD<sub>90</sub>)显著缩短,坪台消失,但APA, V<sub>max</sub>降低不明显,呈现典型心肌缺氧的AP<sup>[6]</sup>。若在此时加入1 mM TAA则缺氧型AP有所改善,作用20min后AP各参数向正常恢复。若先用含1 mM TAA的缺氧Tyrode液灌流标本,则同样程度的心肌缺氧型AP延迟到100min后才出现,延迟率为60.0±0.1%, P<0.01。结果见表1及图1。此外,在上述缺氧的10例标本中有6例

表1 5 mM TAA对缺氧豚鼠乳头肌动作电位的影响

Tab. 1 Effects of TAA 5 mM on the action potentials in hypoxic papillary muscles of guinea pigs n=10,  $\bar{x} \pm SD$

	Control 10min	Myocardial 30min	hypoxia 60min	TAA 20min
APA (mv)	112.0±11.4	107.0±8.7	98.5±10.0	112.0±9.8° 13.7%
Vmax(v/s)	392.0±36.4	340.0±75.1	294.0±66.7	382.0±52.7°° 29.7%
RP (mv)	83.2±10.3	79.4±9.7	70.5±11.5	82.8±97°° 17.0%
APD <sub>50</sub> (ms)	133.0±12.1	88.3±14.6**	63.0±15.5**	109.5±22.3°° 73.8%
APD <sub>90</sub> (ms)	182.5±15.0	129.4±24.2**	102.0±26.5**	157.0±23.9°° 53.9%
ERP (ms)	146.6±17.0	97.8±17.1**	68.5±14.3**	124.0±20.8°° 81.0%
ERP/APD <sub>90</sub>	0.80±0.05	0.76±0.07	0.68±0.07**	0.79±0.03°° 16.2%

与正常比较 \*P<0.05 \*\*P<0.01; 与缺氧比较 °P<0.05 °°P<0.01

出现自发节律性活动, 频率不甚规则, 在加入TAA 5~10min后, 自律性被抑制而消失. 提示TAA具有明显抗心肌缺氧的作用.

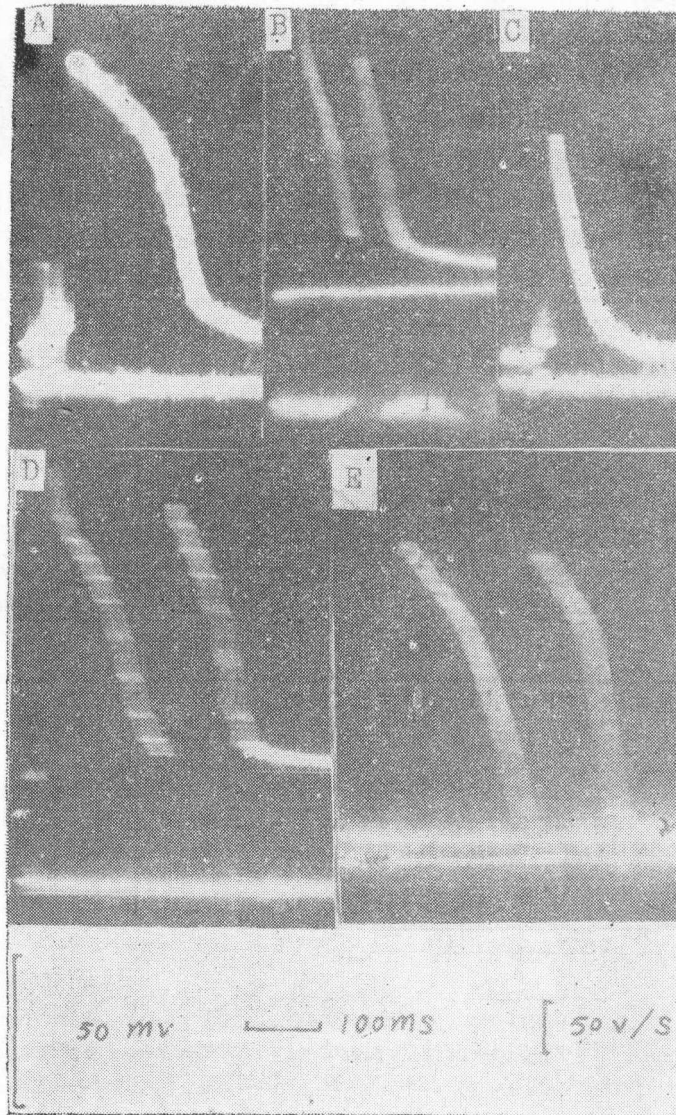


图1 TAA(5mM)对缺血离体豚鼠乳头肌动作电位的影响  
 Fig.1 Effects of TAA 5mM on the action potentials in hypoxic papillary muscles of guinea pigs

A. 正常动作电位  
 B-C. 缺氧30和60分钟,APA, Vmax下降, APD, ERP 缩短, 坪台相消失  
 D-E. TAA作用10和20分钟, 所有AP参数向正常恢复  
 上线: AP; 下线: Vmax

## 2.2 TAA对在位心肌缺氧AP的影响

豚鼠10只,按上述方法,在靠近心尖部左心室壁上进行微电极多点穿刺纪录,每次穿刺记录AP 2-3 min,所得AP各参数与文献<sup>[4,7]</sup>报道相近,APA  $86.5 \pm 4.7$  mv, APD<sub>60</sub>  $86.0 \pm 6.6$  ms, APD<sub>90</sub>  $106.2 \pm 7.1$  ms.

豚鼠8只,记录正常AP静注(iv)生理盐水(NS) 1 ml/kg, 5 min后,关闭人工呼吸机造成缺氧状态,结果在2 min内,动物均出现不同程度的缺氧症状,ECG I导联显示T波抬高,继而倒置或双相, S-T段上移, AP记录表明平台缩短, APA, V<sub>max</sub>下降,并可见心脏膨大.结果见表2及图2.

表2 TAA (5 mg/kg)对在体豚鼠缺氧心肌动作电位的影响  
Tab. 2 Effects of TAA 5mg/kg on the action potentials of hypoxic myocardia of guinea pigs in vivo n=16,  $\bar{x} \pm SD$

	APA (mv)	V <sub>max</sub> (%)	APD <sub>50</sub> (ms)	APD <sub>90</sub> (ms)	HR (beats/min)
Control	$86.3 \pm 4.4$	100	$85.6 \pm 6.8$	$107.1 \pm 7.7$	$236.3 \pm 33.8$
Hypoxia(2min)	$75.6 \pm 5.6^{**}$ -12.3% $\pm 4.0$	88.4 -11.6	$69.4 \pm 5.0^*$	$111.9 \pm 8.8$	$202.5 \pm 50.1$
Control	$87.4 \pm 6.8$	100	$92.1 \pm 5.7$	$109.3 \pm 7.3$	$227.1 \pm 19.8$
TAA(5min)	$87.1 \pm 6.4$	100	$123.3 \pm 7.2^{**}$	$150.7 \pm 8.8^{**}$	$171.4 \pm 28.5^{**}$
Hypoxia(2min)	$80.6 \pm 6.5$ -7.8 $\pm 2.7$	95.5 -4.5	$140.0 \pm 31.6^{**}$	$172.0 \pm 32.8^{**}$	$74.3 \pm 15.1^{**}$

与正常比较 \*P<0.05 \*\*P<0.01

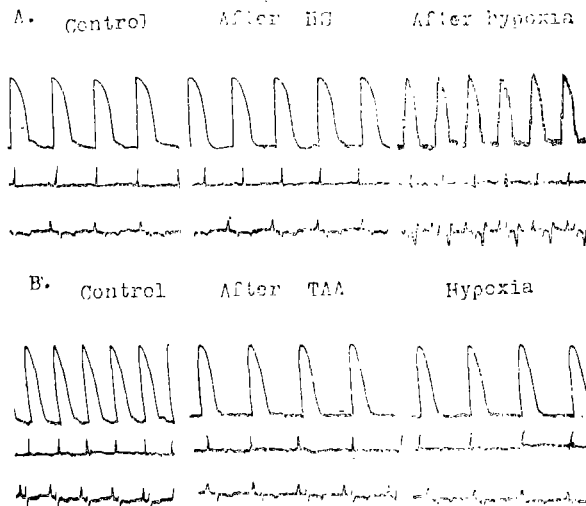


图2 TAA(静注5 mg/kg)对在体豚鼠心脏缺氧时动作电位的影响  
上线: AP; 中线: V<sub>max</sub>; 下线: ECG

Fig.2 Effects of TAA 5mg/kg on the action potentials in hypoxic myocardial of guinea pigs in vivo(Rat No.6 cell No 1, 240g bd wt, 5/3/87)

另取豚鼠 7 只, 在记录正常 AP 后, iv TAA 5 mg/kg, 5 min 后,  $APD_{50}$ ,  $APD_{90}$  显著延长, APA,  $V_{max}$  则无明显变化, 在此时关闭人工呼吸机。结果在 2 min 内, ECG 无明显改变, 也不出现缺氧型 AP。APA,  $V_{max}$  仅轻度下降, APD 不仅不缩短, 反而与正常值比较有显著延长, 见表 2、图 2。提示 TAA 可有效地改善在位心肌缺氧的电生理异常。

### 2.3 TAA 对 iv 垂体后叶素 (Pit) 致在位心肌缺血 AP 的影响

豚鼠 11 只, 同步记录正常 AP 及 ECG, iv NS 1 ml/kg, 5 min 后, 于 10s 内快速 iv 垂体后叶素 (Pituitrin, Pit) 0.3  $\mu$ g/kg 造成动物心脏冠脉痉挛, 连续记录 1 min ECG 及 AP 之后, 每隔 30s 记录一次, 共观察 5 min。结果, 所有动物均在 1 min 内记录到典型的心肌缺血型 ECG 及 AP, S-T 段上移, T 波严重高耸, 甚至倒置, APA,  $V_{max}$  显著减小,  $APD_{50}$  及  $APD_{90}$  明显缩短, 坪台消失, 心脏极度膨胀, 心尖部呈暗红色。若预先 iv TAA 5 mg/kg, 5 min 后, 同样于 10s 内快速 iv Pit, 5 min 内, 8 只豚鼠中未见一例出现典型的心肌缺血型 ECG 及 AP。在 6 只豚鼠中用阳性对照药戊脉胺 (Verapamil, Ver) 亦得到同样的结果, 如表 3 及图 3 所示。

表 3 TAA (5 mg/kg) 对静注垂体后叶加压素 (0.3  $\mu$ g/kg) 致豚鼠心肌缺血时动作电位的影响

Tab. 3 Effects of TAA 5mg/kg and vero 0.5mg/kg on the action potentials of myocardial ischemia induced by iv pit 0.3  $\mu$ g/kg in guinea pigs in vivo n = 25,  $\bar{x} \pm SD$

	APA (mv)	$V_{max}$ (%)	$APD_{50}$ (ms)	$APD_{90}$ (ms)	HR (beats/min)
Control	87.5 $\pm$ 5.1	100	87.3 $\pm$ 7.5	111.3 $\pm$ 12.2	250.9 $\pm$ 40.9
Pit(30sec)	62.7 $\pm$ 9.6** -23.3%	36.3** -63.7	72.3 $\pm$ 3.1** -17.1%	97.7 $\pm$ 14.0** -12.2	241.4 $\pm$ 31.0
Control	89.6 $\pm$ 5.0	100	93.4 $\pm$ 6.9	115.7 $\pm$ 9.8	227.1 $\pm$ 17.0
TAA(5min)	89.4 $\pm$ 6.0	99.5	120.0 $\pm$ 12.9**	139.3 $\pm$ 10.6**	175.7 $\pm$ 19.0**
Pit(30sec)	86.1 $\pm$ 7.1 -4.0%	95.6 -4.3	114.3 $\pm$ 11.7 22.4%	135.4 $\pm$ 13.6 17.0%	175.7 $\pm$ 19.0**
Control	88.1 $\pm$ 5.6	100	95.0 $\pm$ 5.8	112.9 $\pm$ 4.9	237.1 $\pm$ 21.4
Vor(5min)	87.4 $\pm$ 6.3	98.9	104.3 $\pm$ 14.3	127.1 $\pm$ 16.3	168.6 $\pm$ 22.7**
Pit(30sec)	82.9 $\pm$ 7.0 -6.1%	93.2 -6.8	100.7 $\pm$ 15.7 6.0%	120.7 $\pm$ 9.6 6.9%	179.0 $\pm$ 20.8**

与正常比较 \*\*P<0.01

## 3 讨 论

### 3.1 TAA 抗心肌缺氧作用

用缺氧 Tyrode 液灌流右心室乳头肌标本和关闭人工呼吸机造成在位心肌缺氧均使 AP 发生变化, APD 缩短, ERP 减小, 坪台消失。这是因为氧供应不足使心肌细胞代谢发生障碍, 膜对  $K^+$  的通透性提高,  $K^+$  外流增加, 促进坪台期截止, APD 缩短<sup>[6]</sup>。由于 TAA 能抑制坪台钾外向电流快成分 ( $I_{K1}$ ) 和外向背景电流 ( $I_{K1}$ )<sup>[4]</sup>, 抵抗  $K^+$  外流,

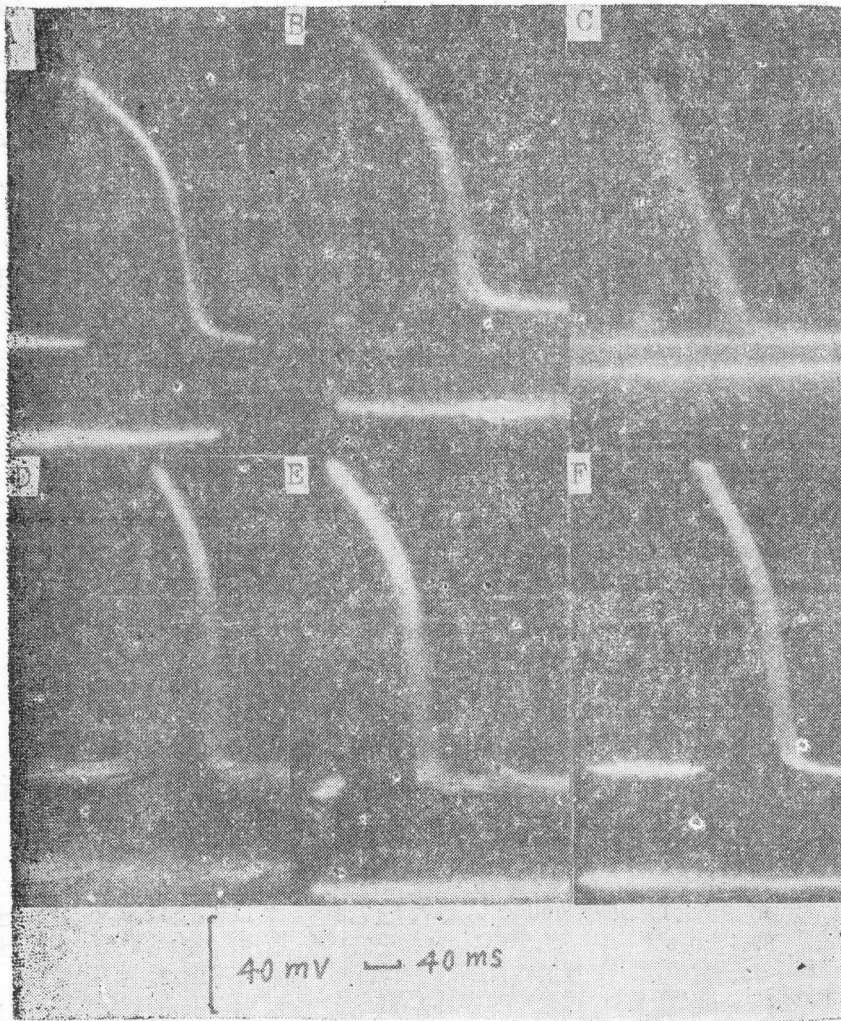


图3 TAA(静注5 mg/kg)对静注垂体后叶加压素(pit)0.3u/ $\mu$ g致豚鼠心肌缺血时动作电位的影响

A.正常AP; B.静注生理盐水; C.静注Pit,呈缺血型AP; D-F.静注TAA, AP逐渐恢复上线: AP, 下线:  $V_{max}$

Fig.3 Effects of TAA 5mg/kg on the action potentials in ischemic myocardial of guinea pigs in vivo

使APD延长,从而对缺氧心肌起到有效的保护作用。一般单纯心肌缺氧时,由于无氧酵解产生的ATP足以维持生电性钠泵的活动,将 $K^+$ 泵入膜内,而将更多的 $Na^+$ 泵出膜外,产生一外向电流,部分抵消了细胞外高 $K^+$ 使休止电位(RP)降低的效应。因此,心肌缺氧时RP、APA、 $V_{max}$ 仅轻度降低。但在我们的在体实验中,缺氧却导致APA及 $V_{max}$ 明显下降,这可能是因为缺氧时间较长时,心脏功能受损,泵血减弱,冠脉血流减少,出现部分心肌缺血现象。而TAA则能有效地抑制所有这些异常变化。

离体心肌标本缺氧时,60%的标本出现阵发性自律活动,这种自律性升高不是依赖于前一冲动的早期自动除极速率的增快,而是 $Ca^{2+}$ 内流的慢反应电位造成,可被 $Ca^{2+}$ 阻

滞剂抑制<sup>[8]</sup>, TAA抑制缺氧造成的异常自律性,可能是阻滞慢 $Ca^{2+}$ 内流的结果<sup>[4]</sup>。

### 3.2 TAA抗心肌缺血作用

本实验采用Pit来制造动物在位心肌缺血模型,由于Pit能使冠状动脉痉挛而引起急性心肌缺血,缺血的指标是ECG上S-T段及T波的改变。在这种动物模型上观察到,当ECG出现变化时,即S-T段上抬,T波高耸继而下压或出现双相的同时,记录到AP也出现了规律性变化,表现为APA, $V_{max}$ 显著降低,APD明显缩短。这些结果与结扎冠脉造成心肌缺血时的AP改变相似<sup>[9]</sup>,可见利用此模型研究抗心肌缺血药是可靠的。如果预先iv TAA,5 min后才iv Pit则APA、 $V_{max}$ 仅轻微下降,APD则反而显著延长。用阳性对照药Ver得到一致的结果。显然,TAA对iv Pit造成的急性心肌缺血具有明显的保护作用。

心肌缺血与缺氧有所不同,缺血时除了氧供应不足外,还兼具代谢底物供应不足及代谢产物不能及时排除的危害,导致细胞代谢紊乱,胞外 $K^+$ 浓度升高,pH值下降,血中游离脂肪酸浓度增加。反应在心肌细胞膜电位上就是APA、 $V_{max}$ 及APD的显著减小,坪台消失<sup>[10]</sup>。TAA对这种急性心肌缺血造成的AP畸形有明显的改善作用,一方面是由于TAA抑制了 $I_{K1}$ 及 $kI_1$ ,使 $K^+$ 外流减少,从而扭转了由于细胞内 $K^+$ 缺失所导致的参数变化;另一方面,我们过去的实验证明,TAA能够大大地增加豚鼠对哇巴因的耐受量,因此,推测它可能在调整细胞能量代谢方面起一定的作用<sup>[2]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Rojas Martinz R et al., *Rev. Cubana Farm*, 13(1979), 1, 37
- [2] 许实波等, 广东生理学通报, 3(1986), 2, 38
- [3] 冯建林等, 热带海洋, 1988, 3, 69~74
- [4] 许实波等, 中山大学学报(自然科学版), 1988, 4, 89~96
- [5] 赵志清等, 药学学报, 1985, 7, 491
- [6] Coraboeuf E et al., *Circ. Res.*, 38(1976), 1~92
- [7] Woodbury J W et al., *Science*, 123(1956), 100
- [8] Janse M J et al., *Circ Res.*, 1980, 2, 151
- [9] Downar E et al., *Am. J. Cardiol.*, 1976, 2, 132
- [10] Jennings R B et al., *Am. J. Pathol.*, 102(1981), 241

## Effects of Triacetoneamine-HCL(TAA) on Myocardial Transmembrane Potentials

### I. The Electrophysiological Study of Anti-myocardial Hypoxia and Ischemia of Triacetoneamine

Xu Shibo\*    Wang Zhiguo    Feng Jianlin

#### Abstract

Triacetoneamine-HCl(TAA) is synthesized artificially based on the molecular structure of the substance isolated from South China sea *Juncella squamata*. The electrophysiological study of anti-myocardial hypoxia and ischemia of TAA was carried out. 60 min after superfusion with O<sub>2</sub>-free Tyrode solution, APA, V<sub>max</sub>, RP, APD and ERP were all reduced and the plateau disappeared. If TAA(5mM) was added at this time, all of the parameters of action potential returned to normal. If TAA was added before O<sub>2</sub>-free, the appearance of abnormal action potentials was greatly delayed. By pretreatment with TAA(5mg/kg, iv), the hypoxia-like action potentials were significantly alleviated in guinea pigs in vivo. The results show that TAA has an anti-myocardial hypoxia effect. The ischemia-like action potentials were observed by iv pituitrin 0.3ug/kg on guinea pigs in vivo, but were not after pretreatment with iv TAA 5mg/kg. The result shows that TAA has an anti-myocardial ischemia effect. All of the effects of TAA were reversible.

**Keywords** Triacetoneamine-HCl(TAA), anti-myocardial ischemia, action potential, electrocardiogram

\* Department of Biology