

抗氧化药物在心肌缺血再灌注损伤中的研究进展

谢静文^{1,2}, 苏天德², 魏雨亭¹, 李 歌², 吴建章^{2*}, 黄丽丽^{3*}

(1. 重庆市万州区第一人民医院药学部, 重庆 404040; 2. 温州医科大学药学院, 浙江 温州 325035;
3. 宁波大学附属李惠利医院药剂科, 浙江 宁波 315040)

摘要: 心肌缺血再灌注损伤是心血管疾病研究中的难点之一, 细胞中过多活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的积累是其主要致病原因。通过抗氧化药物降低 ROS 水平并保护心肌细胞是目前研究的热点。本文对近年来抗氧化药物在心肌缺血再灌注损伤中的相关研究进行了综述。

关键词: 心肌缺血再灌注损伤; 抗氧化剂; 自由基; 氧化应激; 作用机制

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)07-1845-11

Research progress of antioxidant drugs in myocardial ischemia-reperfusion injury

XIE Jing-wen^{1,2}, SU Tian-de², WEI Yu-ting¹, LI Ge², WU Jian-zhang^{2*}, HUANG Li-li^{3*}

(1. Department of Pharmacy, the First People's Hospital of Wanzhou District, Chongqing 404040, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; 3. Department of Pharmacy, Lihuli Hospital Affiliated to Ningbo University, Ningbo 315040, China)

Abstract: Myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) is one of the most difficulties in the studies of cardiovascular diseases, and excessive reactive oxygen species (ROS) accumulation in cells is the main cause of it. Reducing ROS level by antioxidant drugs to protect cardiomyocytes is being the spotlight on MIRI treatment. In this review, the research progress of antioxidant drugs in myocardial ischemia-reperfusion injury in recent years was summarized.

Key words: myocardial ischemia-reperfusion injury; antioxidant; free radical; oxidative stress; mechanism

心肌缺血是造成当今人类疾病死亡的主要原因之一, 及时再灌注能够减少心肌缺血带来的损伤, 但在恢复血流的同时也会带来严重的再灌注损伤, 有可能导致病情的进一步恶化^[1]。这种因心肌缺血而恢复血流后造成的组织损伤称为心肌缺血再灌注损伤 (myocardial ischemia-reperfusion injury, MIRI)^[2], 其对心肌的结构和功能可能产生不可逆的伤害。近年来研究表明, MIRI 的发生涉及到细胞内多种物质以及多条信号转导通路

的参与, 例如氧化自由基的生成、钙超载以及多条细胞信号通路等, 其中过量的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 积聚是导致 MIRI 的主要因素之一^[3]。

ROS 是一类含氧化学物质^[4], 该类物质在细胞中易于扩散且性质活泼, 例如存在短暂的羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$)、烷氧基自由基 ($\text{RO}\cdot$)、硝基自由基 ($\text{NO}\cdot$) 以及非自由基的过氧化氢 (H_2O_2)、有机过氧化物 (ROOH) 和次氯酸 (HOCl) 等^[5]。由于机体长期保持与氧气接触的状态, 导致体内能够不断产生 ROS^[6], 但其氧化作用又能被抗氧化防御机制所抵御, 阻断了 ROS 的积聚并能修复其造成的损伤。然而, 当 ROS 的产生和抗氧化防御机制之间的平衡被打破, 将出现氧化应激 (oxidative stress, OS)^[7,8], 促进大量 ROS 的产生。目前, 广泛认为

收稿日期: 2020-12-30; 修回日期: 2021-01-28.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82003755); 宁波市医学科技计划项目 (2019Y07).

*通讯作者 Tel: 86-574-87018762,

E-mail: lhlyyyjk@163.com; wjzwmzmu@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1988

OS主要参与年龄相关的疾病,如神经退行性疾病^[9,10]、癌症^[11]、多个组织的缺血再灌注损伤^[12]、脑卒中^[13]、高血压^[14]、糖尿病^[15]和风湿性疾病^[15]等。但当心脏缺血再灌注后,心肌组织也会引起OS,产生大量的ROS,在过敏性^[16]和非过敏性^[17]刺激部位积累,并对DNA和蛋白质的结构都会产生一定的破坏作用;持续的OS状态还会导致各种细胞信号转导的紊乱,进而导致细胞的凋亡,对心肌的结构和功能产生较大影响。因此,通过外来的抗氧化药物清除细胞内过量的ROS能对MIRI起到较好的保护作用。

目前的抗氧化药物主要通过以下两种作用机制来发挥作用:①清除氧化自由基,抗氧化药物直接与ROS反应或靶向细胞内抗氧化信号通路诱导抗氧化蛋白的表达,清除ROS;②抑制氧化自由基的产生,抗氧化药物靶向相关信号通路抑制ROS的产生,如图1所示。因此,根据药物抗氧化作用机制的不同可将其分为两类抗氧化药物:清除ROS的抗氧化药物和抑制ROS产生的抗氧化药物^[18]。此外,随着生物技术的发展,部分生物制品也具有激活抗氧化信号通路的能力,表现出较好的抗氧化作用,如siRNA (small interfering RNA)、miRNA (micro RNA)等。本文从抗氧化机制方面对MIRI的抗氧化药物的研究进展进行了综述,提出了MIRI药物的设计策略,试图用更合理的方式来发现更高效的抗氧化药物。

1 清除ROS的抗氧化药物

抗氧化药物清除细胞内ROS主要通过以下两种途径:①抗氧化药物直接与ROS反应,生成一系列稳定的无毒化合物;②抗氧化药物激活细胞内的抗氧

化信号通路,诱导抗氧化蛋白如血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等的产生,再通过抗氧化蛋白间接清除ROS。

1.1 直接抗氧化药物

直接抗氧化药物能够以适当的浓度到达病变部位,并与机体产生的ROS迅速反应,起到直接抗氧化作用^[19]。然而,由于直接与ROS反应的物质较多,所以根据其来源、结构等的不同分为维生素类、微量元素类、天然产物和化学合成药物,其结构如图2所示。

1.1.1 维生素类 维生素对人和动物正常生理功能的维持至关重要,特别是在人体的生长、发育和代谢过程中起着不可替代的作用。然而,尽管人们发现缺乏维生素会带来一系列疾病,但通过外部给予维生素来治疗某种疾病的研究却少有报道。

维生素E (vitamin E, 化合物1) 作为一种脂溶性的化合物,其水解产物为生育酚。维生素E主要分布于细胞膜和细胞器膜,通过直接清除氧自由基来保护脂质膜免遭ROS的攻击,是细胞内最重要的抗氧化剂之一。研究发现,对MIRI造模小鼠给予化合物1进行预保护后其心肌缺血面积明显减小,且中性粒细胞的活性也受到了显著抑制,其有成为MIRI预防药物的潜力^[20]。

维生素C (vitamin C, 化合物2) 的结构与葡萄糖类似(图2),都是含有多个羟基的化合物。此外,化合物2分子中两个相邻的烯醇式羟基极易解离出H⁺,故又称为抗坏血酸。化合物2还具有较好的还原性,能够与O₂•⁻、HOO•及OH•迅速反应,是血浆中最有效的

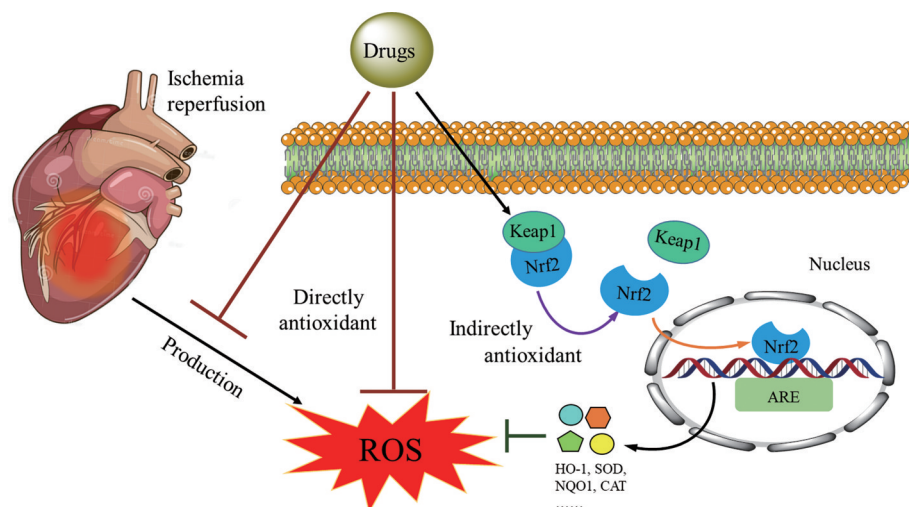


Figure 1 Mechanism diagram of antioxidant drugs. ① Inhibition of ROS production; ② Removal of existing ROS, direct reaction with ROS or indirect activation of antioxidant pathways (Nrf2 pathway as the example). ROS: Reactive oxygen species; Keap1: Kelch-like ECH-associated protein 1; Nrf2: NF-E2-related factor 2; ARE: Antioxidant response element; HO-1: Heme oxygenase-1; SOD: Superoxide dismutase; NQO1: NADPH quinone dehydrogenase 1; CAT: Catalase

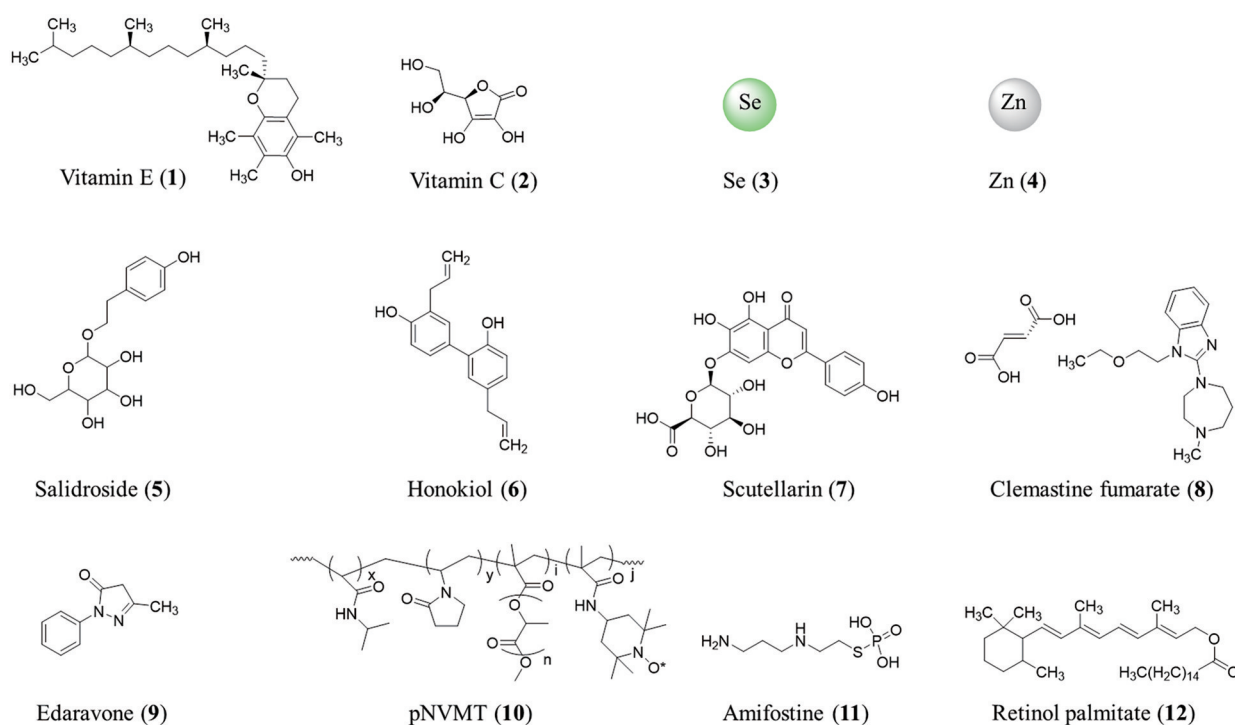


Figure 2 Structures of direct antioxidant drugs 1–12

抗氧化剂。Hao等^[21]对化合物2在MIRI疾病中的抗氧化活性进行了研究。结果发现,化合物2能够有效减少细胞中的ROS含量,且体外实验显示化合物2能够减少心肌再灌注后的梗死面积,对于MIRI具有较好的成药前景。

1.1.2 微量元素 硒 (selenium, 化合物3) 是人体的必要元素之一,能够直接清除人体中过量的ROS。此外,人体内的硒还能促进谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 的合成,同时也是GSH-Px的重要组成成分。GSH-Px能催化GSH变为GSSG (glutathione disulfide),使有毒的过氧化物被其还原成无毒的羟基化合物。有研究表明,适当的提高体内硒的含量能够促进GSH-Px的合成,合成后的GSH-Px又能保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的干扰及损害^[22]。研究发现,对MIRI造模大鼠灌胃富硒食物能够增加心肌细胞中硒含量,并提高GSH-Px的表达水平和活性,降低ROS对心肌细胞的氧化损伤^[23]。

锌 (zinc, 化合物4) 是一种重要的微量元素,在生殖系统、味觉、视觉、嗅觉、凝血和细胞操作等方面都起着重要作用^[24]。化合物4分布在身体组织、分泌物、液体和多种酶类中,有助于新陈代谢、排毒、信号转导和基因调控。此外,化合物4在调节信号通路、第二信使转导、蛋白激酶和磷酸酶活性方面也有着重要作用。Akbari等^[25]的研究显示,锌的缺乏会增加氧化应激因素并加剧ROS诱导的MIRI。

1.1.3 天然药物 自天然植物中提取活性药物是当今药物研究与开发的热点。许多天然产物可以直接与机体产生的自由基反应,达到预防或治疗的目的^[26]。大量研究表明,自天然植物红景天中提取得到的红景天苷 (salidroside, 化合物5) 能够有效抑制ROS的生成,同时增强SOD的活性^[27,28]。现代药理学研究发现,通过Langendorff离体心脏灌流法,将40只结扎左前降支45 min的SD (Sprague-Dawley) 大鼠造模取心后取其心肌细胞以红景天苷营养液和单纯营养液灌流进行培养,发现化合物5能够有效降低心肌细胞中的丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量,并增强SOD和谷胱甘肽转移酶的活性,对MIRI具有较好的保护作用^[29]。

和厚朴酚 (honokiol, 化合物6) 是从厚朴树皮中提取得到的一种天然小分子酚类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、镇痛和神经保护活性。Tan等^[30]研究了和厚朴酚对心脏的保护作用,并以MIRI小鼠为研究对象,证实和厚朴酚在心肌组织中能够减少ROS和降低线粒体的损伤,对MIRI小鼠具有心肌保护作用。

从半枝莲和灯盏花中提取得到的黄酮类化合物黄芩素 (scutellarin, 化合物7) 具有抗凋亡的作用。进一步研究发现,黄芩素还能增加心肌细胞中的SOD浓度,并能增强JAK2 (janus kinase 2)/STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) 信号通路和降低促凋亡因子Bax、caspase-3的表达,进而提高心肌细胞的存活率和增殖率,对MIRI有一定的保护作用^[31]。

1.1.4 合成药物 富马酸氯马斯汀 (clemastine fumarate, 化合物 **8**) 是瑞士 Sandoz 公司于 20 世纪 60 年代成功开发的一种抗组胺药, 具有典型的 H-1 受体拮抗作用。研究显示, 富马酸氯马斯汀能够有效降低肺组织细胞的凋亡率, 显著减轻肺组织缺血再灌注损伤^[10]。为进一步探究化合物 **8** 对 MIRI 的保护作用, 检测了不同浓度下化合物 **8** 对缺血再灌注损伤心肌细胞活性的影响, 发现其能降低 H9c2 心肌内 MDA 和乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 的含量, 显著减轻缺血再灌注引起的 H9c2 心肌细胞的损伤^[32]。

依达拉奉 (edaravone, 化合物 **9**) 是日本三菱制药于 2004 年上市的一种治疗脑缺血再灌注损伤的新药, 其具有较好的自由基清除作用并能抑制脂质的过氧化, 可以在较短的时间内改善细胞在缺血缺氧过程中的氧化损伤。此外, 随着对该药的不断研究发现, 其在肾、肝、肺以及心脏等器官的缺血再灌注损伤上都有较好的治疗效果。例如 Zhang 等^[33]发现给予心肌缺血再灌注损伤小鼠一定剂量的依达拉奉后, 能够减小其心肌梗死面积, 体现出较好的心肌保护作用。此外, 在依达拉奉对 MIRI 的 IV 期临床试验显示, 其能较好地减少氧化应激对 MIRI 的损伤, 并具有一定的治疗效果^[34]。因此, 依达拉奉作为一款抗氧化药物, 对 MIRI 不失为一种有效的治疗药物。

除了小分子化合物外, Yang 等^[35]在凝胶聚合物中引入了具有抗氧化活性的四甲基哌啶氮氧化物 TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy) 结构, 设计合成

了一种具有 ROS 清除能力的聚合物水凝胶化合物 TEMPO 胶 (pNVMT, 化合物 **10**)。在心肌缺血再灌注损伤的模型小鼠中, 化合物能减少小鼠心肌损伤和保持其心室形状, 并能保留其 ROS 清除能力一周以上, 大大区别于小分子化合物的短时作用。针对过量 ROS 导致的相关疾病, 化合物 **10** 具有较好的应用潜力^[35]。

氨磷汀 (amifostine, 化合物 **11**) 在临床治疗中主要作为一种自由基清除剂用于各类癌症的辅助治疗。Shao 等^[36]研究发现, 用氨磷汀预处理 MIRI 小鼠能够有效增加 SOD 的表达, 降低 MDA 和心肌梗死面积, 具有明显的心肌细胞保护作用。

维生素 A 棕榈酸酯 (retinol palmitate, 化合物 **12**) 是维生素 A 的类似物, 目前临床上主要作为滴眼液用于角膜保护的辅助治疗。考虑到维生素 A 棕榈酸酯具有一定的抗氧化活性, 有学者将其作为抗氧化剂用于 MIRI 的研究, 并发现其具有较好的心肌保护作用^[37]。在研究中还发现, 维生素 A 棕榈酸酯能增强 SOD 相关蛋白的活性并降低 MDA 的水平, 进而降低氧化应激程度。

1.2 间接抗氧化药物

间接抗氧化药物通过激活细胞内抗氧化信号通路, 诱导抗氧化蛋白的表达清除 ROS。研究表明, 相比于直接抗氧化剂, 间接抗氧化药物具有更广阔的前景, 是目前研究的热点^[38], 其结构如图 3 所示。

1.2.1 PI3K/Akt 信号通路 磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphoinositide-3 kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein

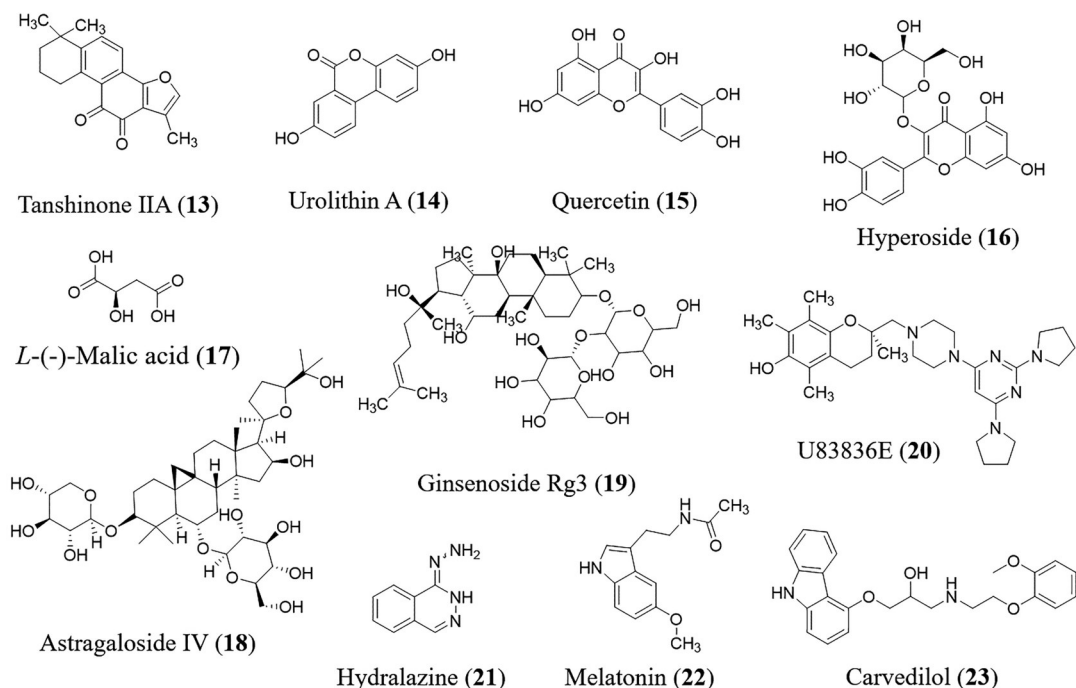


Figure 3 Antioxidant drugs 13–23

kinase B, Akt) 信号通路参与多种细胞功能的调节, 如细胞的增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运等。在 PI3K/Akt 信号通路中, PI3K 能够特异性磷酸化磷脂酰肌醇的 3-位羟基, 进而促使 Akt 从胞质转移至胞膜, 并在胞膜中活化 Akt。活化后的 Akt 能够激活或抑制下游靶蛋白, 并通过靶蛋白调节细胞的凋亡、增殖、分化和迁移等过程。研究表明, 活化后的 Akt 能够诱导 NADPH (reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 氧化酶的表达, 促进 ROS 的产生^[39]。然而, 活化后的 PI3K/Akt 也能诱导核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2) 信号通路的激活, 促进 HO-1、硫氧还蛋白还原酶 (thioredoxin reductase, TrxR)、过氧化物还原酶 1 (peroxiredoxin1, PRDX1) 等抗氧化蛋白的产生^[40]。因此, 抑制或激活 PI3K/Akt 通路都有可能产生一定的抗氧化作用。

丹参酮IIA (tanshinone IIA, 化合物 13) 是从中药丹参中提取的脂溶性有效成分, 具有清除自由基和抗氧化的作用, 能够明显改善冠状动脉的血液循环。然而, 丹参酮IIA 的抗氧化机制还有待进一步的研究。随着医疗技术进一步的发展, 研究发现丹参酮IIA 能够激活 PI3K/Akt 信号通路降低细胞内的 ROS 水平进而减轻大鼠的 MIRI, 具有一定的成药潜力^[41]。

尿石素 A (urolithin A, 化合物 14) 是石榴和其他一些水果中的鞣花单宁 (ellagitannins) 被肠道菌群代谢后生成的一种天然代谢产物。研究表明, 化合物 14 可以改善线粒体和肌肉功能, 提高衰老过程中的肌肉力量和耐力^[42]。此外, 通过动物实验发现, 化合物 14 能够减轻缺血再灌注后心肌细胞的 MIRI 并减少心肌梗死面积和降低心肌细胞死亡率, 也可增强缺血再灌注后心肌细胞的抗氧化能力并减轻缺血再灌注后心肌细胞的凋亡。进一步药理机制研究发现, 化合物 14 的心肌细胞保护作用可被 PI3K/Akt 抑制剂逆转, 其可能是通过 PI3K/Akt 信号通路来展现其抗氧化能力^[43]。

槲皮素 (quercetin, 化合物 15) 是一种易溶于酸难溶于水的黄酮类化合物, 具有较好的祛痰、止咳作用, 还能降低血压、增强毛细血管抵抗力、减少毛细血管脆性、降血脂、扩张冠状动脉以及增加冠脉血流量等作用。鉴于其对血管具有较好的保护作用, 利用体外细胞实验初步研究了槲皮素对 MIRI 治疗的潜在可能性和作用机制^[44]。结果显示, 槲皮素能够降低 OS, 抑制炎症级联反应, 同时抑制体内细胞的凋亡并参与抗氧化作用的 PI3K/Akt 途径来保护心肌免受缺血再灌注损伤。

1.2.2 Nrf2 信号通路 Nrf2 信号通路, 即抑制蛋白 kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)/Nrf2 介导的信号通路, 该信号通路是

细胞内抗氧化应激和维持氧化还原平衡的重要通路之一^[45]。当细胞受到亲电试剂或抗氧化剂等外界刺激时, 改变了 Keap1 蛋白半胱氨酸的巯基残基结构, 这种半胱氨酸残基结构改变导致 Nrf2 从 Keap1 解离, 从而增加 Nrf2 稳定性并进一步促进 Nrf2 易位到细胞核, 继而 Nrf2 结合到 DNA 上的抗氧化反应元件 (antioxidant response elements, ARE), 启动细胞保护基因的转录, 生成相关抗氧化蛋白, 如 HO-1、NADPH 醌氧化还原酶 1 (NADPH quinone dehydrogenase 1, NQO1) 和 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -glutamylcysteine synthetase, γ -GCS) 等^[38]。

从杜鹃花中提取的黄酮类化合物金丝桃苷 (hyperoside, 化合物 16) 是传统中药之一, 其具有较好的抗炎^[46]和抗氧化^[47]等活性。为研究金丝桃苷的抗氧化活性及其对 MIRI 的治疗作用, Hou 等^[48]将大鼠分为给药组和对照组, 并对其进行造模和分离。结果显示, 给予金丝桃苷预保护的大鼠心脏具有更好的功能参数且其 Nrf2 信号通路也被诱导激活, 说明金丝桃苷通过诱导 Nrf2 信号通路的活化, 降低了细胞内的 ROS 水平, 进而减轻了心肌的氧化损伤并减少细胞凋亡, 具有显著的 MIRI 治疗作用。

目前临床所用的 MIRI 治疗药物大多具有针对性强和毒副作用大等缺点。因此, 为寻找低毒、高效的抗 MIRI 药物, 对代谢中间产物 L-苹果酸 [L(-)-malic acid, 化合物 17] 的抗氧化活性进行了研究。结果发现, 通过抑制乳酸脱氢酶, L-苹果酸能够减少心肌梗死面积和抑制炎症因子的表达。同时通过免疫印迹实验证实, L-苹果酸可使 Nrf2 表达上调并促进 Nrf2 的核转位^[49]。

黄芪是中国传统中药材之一, 具有补气、利尿、消肿和活血等作用, 临床上常用于治疗恶性肿瘤、脑缺血、糖尿病和心肌缺血等疾病。黄芪甲苷 (astragaloside IV, 化合物 18) 是黄芪主要有效成分之一, 其具有较多的生物活性, 如抗炎、抗癌和抗氧化等。研究表明, 化合物 18 预处理后可明显减小 MIRI 模型大鼠的心肌梗死面积, 增强其心脏收缩和舒张功能。进一步机制研究发现, 黄芪甲苷能够抑制肌酸激酶和乳酸脱氢酶的产生并能激活 Nrf2 信号通路, 促进 HO-1 等抗氧化蛋白的产生^[50]。此外, Liu 等^[51]发现化合物 18 还能有效调节线粒体形态动态稳定, 维持线粒体的正常功能, 并能显著降低线粒体内 ROS 含量, 表现出较好的抗 MIRI 作用。

1.2.3 FoxO3a 信号通路 人参皂苷 Rg-3 (ginsenoside Rg3, 化合物 19) 是一种具有较强抗氧化活性的天然产物, 但由于自身的疏水性限制了该药在临床上

的应用。Li等^[52]设计了一种对ROS敏感的纳米材料(PEG-b-PPS)用于Rg-3的保护和运输。在心肌缺血再灌注损伤的模型小鼠中,通过注射搭载Rg-3的纳米材料能够较好地改善心脏功能并减小梗死面积。进一步的机制研究发现,Rg-3能够靶向FoxO3a蛋白,促进SOD酶的表达,进而降低细胞内ROS水平。该研究进一步促进了Rg-3的临床应用,并对其他天然产物的应用提供了新的方法和启示。

1.3 “双机制”抗氧化剂

“双机制”抗氧化剂既能直接与ROS反应又能激活细胞内的抗氧化通路诱导相关蛋白的产生,可能比单机制抗氧化具有更好的发展潜力^[18]。

Lazaroid是一类新型的抗氧化药物,具有强效的ROS清除作用。而其衍生物U83836E(化合物20)通过引入维生素E的抗氧化官能团,体现出了更好的抗氧化活性。研究发现,化合物20有以下几种能力:降低心肌细胞中丙二醛含量和肌酐激酶活性,并增加超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性,其对缺血再灌注后的大鼠心脏具有较好的保护作用^[53]。此外,蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)抑制剂能够降低化合物20的心脏保护作用。因此,化合物20能够通过直接抗氧化机制和PKC信号通路对MIRI起到一定的保护作用^[53]。

盐酸胍屈嗪(hydralazine, 化合物21)是一种非核苷类似物,被广泛用于高血压的辅助治疗^[54]。此外,盐酸胍屈嗪也是美国食品药品监督管理局批准的有效动脉血管扩张剂,可用于严重高血压、慢性心力衰竭以及妊娠高血压等疾病^[55]。当其直接作用于小动脉时,将导致全身血管阻力和血压的降低。有研究报道,化合物21能减轻大鼠MIRI,其通过激活PI3K/Akt信号通路,抑制内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)磷酸化,并能直接与ROS反应,起到保护心脏的作用^[56]。

在高等动物体内,褪黑素(melatonin, 化合物22)是松果体所分泌的一种激素类物质,具有调节生物钟、情绪、免疫力、性行为 and 生殖系统的功能。近年来人们对其的研究不断深入,逐渐发现褪黑素还具有较强的自由基清除能力,能够表现出优秀的抗衰老和抗癌作用。研究发现,褪黑素还能通过加成反应与高活性自由基($\cdot\text{OH}$ 、过氧化自由基和 OONO^- 等)反应,生成结构稳定的终产物,进而降低细胞内自由基水平,维持细胞内环境的稳定^[57]。此外,褪黑素也能诱导PGC-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1 α)/Nrf2信号通路的表达,抑制缺血再灌注后心肌细胞内氧化应激和炎症的产生,在治疗缺血性心

肌疾病中拥有较高的潜力^[57]。

卡维地洛(carvedilol, 化合物23)是第三代 β 受体抑制剂,具有抗氧化、抗炎和抗凋亡等作用,临床上主要用于治疗原发性高血压。在MIRI疾病的研究中,多项研究表明卡维地洛具有较强的抗氧化活性,不仅能够直接清除氧自由基,还能抑制细胞膜脂质过氧化和延缓维生素E的消耗,起到保护内源性抗氧化系统的作用。此外,卡维地洛的代谢产物SB209995、SB211475和BM910228同样具有较好的抗氧化活性,能够抑制氧自由基介导的脂质过氧化和细胞毒性,对细胞产生一定的保护作用^[58]。

2 抑制ROS产生的抗氧化药物

ROS的产生涉及细胞内外多种机制,根据其来源的不同可分为外源性ROS和内源性ROS。外源性ROS主要受到外界因素的影响,如吸烟、环境污染和高压氧吸入等;内源性ROS主要通过各种生命活动产生,如线粒体的有氧呼吸和代谢、炎症的发生发展、高能电子的传递等。MIRI发生时,激活多个信号通路产生大量的内源性ROS,部分抗氧化药物能够通过阻断其信号的传导进而抑制ROS的产生,该类化合物如图4所示。

2.1 AMPK信号通路

AMPK(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase)即AMP依赖的蛋白激酶,在生物能量代谢调节中具有不可替代的作用。AMPK能被机体各种刺激所激活,包括细胞压力、运动和多种激素等。线粒体的功能障碍主要是由于氧化应激后线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, mPTP)的长期开放,而AMPK的激活可阻止再灌注过程中线粒体产生过多的ROS并阻止mPTP的持续开放,进而对线粒体具有一定的保护作用^[59]。因此,AMPK在心肌缺血再灌注过程中,通过维护线粒体功能的正常运行进而调节心肌细胞的代谢,保护心肌细胞免受缺血再灌注损伤^[60]。

普拉克索(pramipexole, 化合物24)别名米拉帕,其为抗组胺药,临床上主要用于治疗帕金森病及其综合征。然而,普拉克索的抗氧化作用和对MIRI的治疗作用却少有报道。利用MIRI小鼠模型和缺氧损伤的H9c2细胞模型发现,普拉克索能够通过AMPK信号通路对心肌的MIRI起到预防和治疗作用^[61]。

异甘草素(isoliquiritigenin, 化合物25)是一种简单的查尔酮类化合物,主要存在于食品、饮料和烟草中。Zhang等^[62]研究了异甘草素的抗氧化作用及其调节信号通路保护心脏的作用机制。通过ROS荧光探针测定了MIRI中ROS的水平,通过IonOptix系统测量了离体心肌细胞的收缩功能。结果表明,异甘草素作

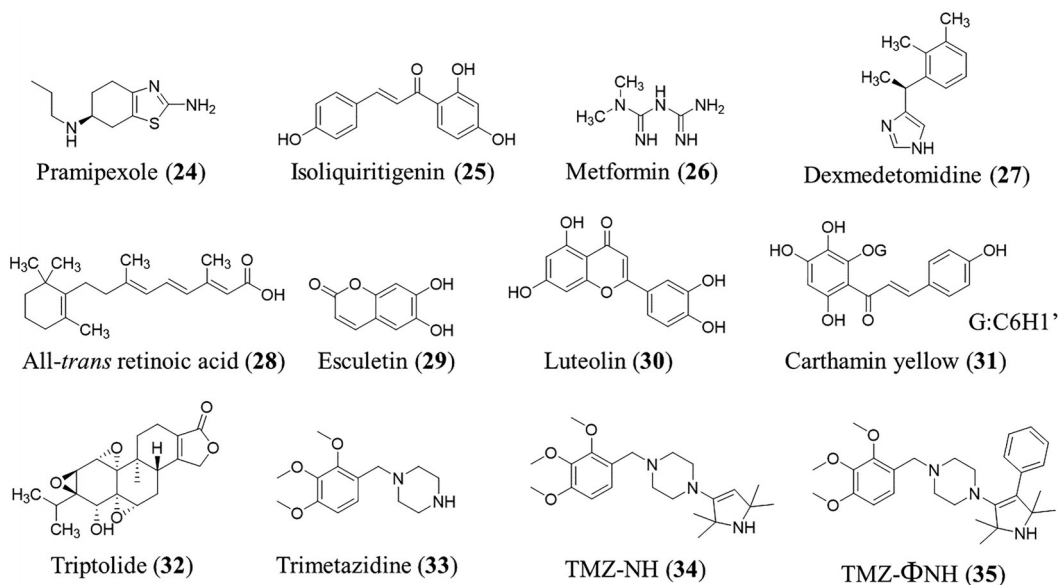


Figure 4 Antioxidant drugs 24-35

为一种天然抗氧化剂对缺血性损伤的心脏具有一定的保护作用,其作用机制可能归因于 AMPK 信号通路的激活。

二甲双胍 (metformin, 化合物 26) 是国内外临床治疗指南一致推荐的一线降糖药,其对 2 型糖尿病有较好的治疗效果,近年来更发现二甲双胍具有抗衰老、抗炎、心血管保护和改善肠道菌群等作用^[63]。此外,有研究表明二甲双胍能够有效减少再灌注后的心肌梗塞面积且有助于左心室功能的恢复;机制研究发现,二甲双胍能够促进 LKB1 (liver kinase B1)/AMPK/ACC (acetyl-CoA carboxylase) 信号通路的表达,且能上调抗氧化酶 (含锰超氧歧化酶和过氧化物酶) 的表达,对再灌注损伤的心肌细胞具有保护作用^[64]。

右美托咪定 (dexmedetomidine, 化合物 27) 是一种高选择性的 α -2 肾上腺素能受体激动剂,具有中枢抗交感、镇痛、利尿和抗焦虑等作用,临床上主要用于全麻诱导、全麻维持、有创检查镇静和重症机械通气患者镇静等方面。近年有研究发现,右美托咪定对心肌细胞还具有保护作用^[65]。实验结果表明,右美托咪定能提高 SOD 活性并能激活 AMPK/PI3K/Akt/eNOS 信号通路,显著降低 MIRI 模型大鼠的氧化应激水平。此外,该研究结果还发现在 H_2O_2 诱导的 H9c2 心肌细胞模型中,右美托咪定通过作用于细胞膜上的 α -2 受体,增强了心肌细胞中抗氧化蛋白 HO-1 的表达,强化抗氧化防御系统^[65]。

2.2 MAPK 信号通路

在细胞的信号网络中丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 家族起着极为重要的

作用,是细胞间信号的重要传递者,对细胞生长、发育、分裂和死亡方面都有着不可取代的作用。MAPK 信号通路主要包括胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase, ERK)、p38 蛋白和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 3 个信号转导途径。ROS 可作为第二信使激活 MAPK 信号通路,同时也被 MAPK 信号通路所影响,是哺乳动物细胞中诱发细胞死亡的重要途径之一,与多种信号通路之间存在大量的交叉联系^[66]。

全反式维甲酸 (all-trans retinoic acid, 化合物 28) 是维生素 A 代谢的中间产物,对机体的骨骼生长、角质溶解和上皮细胞的分化等都有所影响,临床上常用于毛囊角化病、鳞状细胞癌及黑色素瘤等疾病。Zhu 等^[67]研究发现,化合物 28 对 MIRI 还具有较好的保护作用。化合物 28 能够通过 JNK、ERK 等激酶抑制 MAPK 信号通路,减少 ROS 的产生起到抗凋亡的作用。在 MIRI 的小鼠模型中,化合物 28 可有效防止心肌损伤起到了一定的治疗作用^[67]。

尽管已有研究表明^[68],香豆素的类似物七叶内酯 (6,7-二羟基香豆素, esculetin, 化合物 29) 具有多种生物活性,但其在 MIRI 中的作用及其分子机制却鲜有报道。Yang 等^[69]研究发现,七叶内酯在心肌细胞中能够显著下调 p38、ERK 和 JNK 等的表达,对 MAPK 通路起到抑制作用,进而抑制 OS。因此,七叶内酯对 MIRI 具有一定的预防和治疗作用。

木犀草素 (luteolin, 化合物 30) 是一类黄酮类化合物,在多种植物中都有分布,其活性广泛,具有抗菌^[70]、抗氧化^[71]和抗癌^[72]等作用。研究发现,木犀草素能抑

制 ROS 激活的 MAPK 信号通路, 具有较好的抗氧化作用^[73]。通过将大鼠的左冠状动脉前降支 (left anterior descending coronary artery, LAD) 结扎 30 min 后再灌注 1 h 制作了 MIRI 大鼠模型, 并证明木犀草素在动物体内也具有极好的 MIRI 治疗作用^[73]。

2.3 其他 红花注射液是一种普遍应用于临床的中药制剂, 主要用于冠心病、脑缺血和血管炎症等疾病。红花黄素 (carthamin yellow, 化合物 31) 是提取自红花中的活性成分之一, 具有较好的细胞保护作用。Lu 等^[74]通过体内和体外实验发现, 红花黄素能够降低细胞内 ROS 的释放、抑制炎症反应的发生, 并减少 MIRI 小鼠心脏的缺血面积, 但红花黄素抗氧化的作用机制还有待进一步的研究。

雷公藤甲素 (triptolide, 化合物 32) 又称为雷公藤内酯或雷公藤内酯醇, 是植物雷公藤中的一种环氧二萜内酯类化合物, 目前普遍认为其具有抗炎和免疫抑制作用。研究发现, 雷公藤甲素能够抑制 ROS 的产生进而减少 ROS 介导的脂质过氧化, 起到心肌细胞保护作用。雷公藤甲素还能增强 CAT 和 SOD 的活性, 能够进一步减少细胞内 ROS 水平^[75]。

曲美他嗪 (trimetazidine, 化合物 33) 是临床上治疗心绞痛的一线用药, 且对 MIRI 也有所作用。研究表明, 曲美他嗪能够抑制心肌细胞内氧化自由基的生成, 且能剂量依赖性地抑制 MDA 的生成。用 $0.1 \sim 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的曲美他嗪预孵育大鼠心脏线粒体, 结果显示其并不能影响 NADH 氧化酶、NADH 脱氢酶、NADH-细胞色素 c 还原酶等抗氧化酶的活性^[76]。因此, 其抗氧化活性可能是通过保护心脏线粒体进而抑制 ROS 的产生。Kutala 等^[77]还对曲美他嗪作了进一步改造, 设计合成了 TMZ-NH (化合物 34) 和 TMZ- Φ NH (化合物 35) 两个类似物 (结构如图 4 所示), 并发现其能显著增强心脏功能的恢复并减少心肌梗塞面积。进一步机制研究发现, 该类化合物对心脏的保护作用可能是由于其能抑制 ROS 的产生和促进 Akt 的表达共同作用产生。

3 miRNA

随着人们对疾病作用机制的深入研究以及生物科学技术的发展, 针对疾病的治疗已不仅仅局限于化疗药物及其作用靶点的研究, 而进一步扩展到了更微观的分子水平, 其中针对表观遗传学的调控已成为新的研究热点^[78]。表观遗传学调控是指在基因序列即 DNA 不发生改变的情况下, 改变基因表达的可遗传的 mRNA 变换^[79]。而在表观遗传调控中, miRNA 对 MIRI 的作用也引起了极大的关注, 有研究表明其有可能是最重要的心血管调控分子^[80]。miRNA 是一类 22 个左右碱基的内源性、非编码的单链 RNA 小分子, 通

过与靶 mRNA 的 3' 端结合, 对 mRNA 的降解或翻译产生影响^[81]。有大量研究表明, miRNA 在心血管系统中丰富表达, 参与了心脏细胞的发育、重塑和凋亡等过程^[82-84]。此外, miRNA 也是心血管疾病的标记分子与新药的分子靶标^[85]。例如 Zhang 等^[86]研究发现丹参酮 IIA 可以抑制缺血条件下 MAPK 介导的 miR-1 的上调, 抑制下游通路的激活, 从而保护心肌细胞。Yin 等^[87]也发现向缺血再灌注的小鼠心脏中注射 miRNA-21 能减少心肌缺血面积, 且能诱导部分抗氧化蛋白的上调。因此, 随着表观遗传学的发展, 寻找抗氧化药物, 靶向相应的 miRNA 或直接注射无不良反应的 miRNA, 进而激活抗氧化通路, 可能成为新的 MIRI 治疗手段。

4 总结与展望

近年来, 心血管疾病已成为世界性的难题, MIRI 也逐渐成为了治疗过程中亟待解决的问题。通过抗氧化途径治疗 MIRI 是最有效的手段之一, 但由于抗氧化药物种类繁多, 其作用机制还有待进一步研究。因此, 设计合成低毒、高效且机制明确的抗氧化药物仍是人们为之努力的目标。

通过对抗氧化药物的结构分析可知, 大部分化合物都具有给电子基团如酚羟基和不饱和键等, 其中含酚羟基结构的抗氧化剂最多。单酚类或多酚类化合物的抗氧化活性可能来自于结构中的酚类化合物和氧化自由基反应, 生成相应的醌类化合物, 进而降低细胞内 ROS 水平。抗氧化药物结构中的多烯键也能与氧化自由基反应, 达到降低细胞内氧化自由基的目的。因此, 在抗氧化药物中引入一定量的酚羟基和多烯键可能会提高化合物直接消除 ROS 的能力, 增强其抗氧化活性。此外, 通过细胞内信号通路间接降低 ROS 水平的抗氧化药物大部分都具有羟基, 通过该结构能与靶蛋白间形成氢键, 加强药物与蛋白间的结合力。

目前, 已有多个抗氧化药物运用于 MIRI 的临床治疗, 且还有多个临床试验正在进行中, 如依达拉奉 (NCT00265239)、褪黑色素 (NCT01172171) 等, 都取得了阶段性成果, 说明该类药物对于 MIRI 的保护与治疗拥有较大的发展空间, 能够为 MIRI 的研究提供新的思路。本文中涉及的药物只能抑制 ROS 的产生或清除 ROS, 但既能抑制 ROS 的产生又能清除 ROS 的抗氧化药物在 MIRI 中还未有报道, 因此寻找或设计合成一种具有双重作用的抗氧化物可能为 MIRI 的治疗和保护提供新的策略和帮助。

作者贡献: 谢静文负责论文写作; 苏天德负责文献查找; 魏雨亭负责论文插图和文献格式修改; 李歌负责论文框架; 吴建章负责论文整体的指导和修改; 黄丽丽负责论文关键结

构的整改和指导。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Smits A, Smits J. Ischemic heart disease: models of myocardial hypertrophy and infarction [J]. *Drug Discov Today Dis Models*, 2004, 1: 273-278.
- [2] Kulek A, Anzell A, Wider J, et al. Mitochondrial quality control: role in cardiac models of lethal ischemia-reperfusion injury [J]. *Cells*, 2020, 9: 214.
- [3] Branislav K, Szeiffova B, Kalocayova B, et al. Oxidative stress-responsive microRNAs in heart injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 358.
- [4] Hu Y, Li J, Lou B, et al. The role of reactive oxygen species in arsenic toxicity [J]. *Biomolecules*, 2020, 10: 240.
- [5] Hensley K, Floyd R. Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: a look back, a look ahead [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 397: 377-383.
- [6] Murphy M. How mitochondria produce reactive oxygen species [J]. *Biochem J*, 2009, 417: 1-13.
- [7] Valko M, Rhodes C, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer [J]. *Chem Biol Interact*, 2006, 160: 1-40.
- [8] Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants [J]. *Exp Physiol*, 1997, 82: 291-295.
- [9] Aliev G, Obrenovich ME, Reddy P, et al. Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2008, 8: 1395-1406.
- [10] Trend S, Fonceca A, Ditcham W, et al. The potential of phage therapy in cystic fibrosis: essential human-bacterial-phage interactions and delivery considerations for use in *Pseudomonas aeruginosa*-infected airways [J]. *J Cyst Fibros*, 2017, 16: 663-670.
- [11] Valko M, Izakovic M, Mazur M, et al. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence [J]. *Mol Cell Biochem*, 2004, 226: 37-56.
- [12] Venardos K, Perkins A, Headrick J, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14: 1539-1549.
- [13] Heo J, Han S, Lee S. Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke [J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 39: 51-70.
- [14] Hill M. Emerging role for antioxidant therapy in protection against diabetic cardiac complications: experimental and clinical evidence for utilization of classic and new antioxidants [J]. *Curr Cardiol Rev*, 2008, 4: 259-268.
- [15] Riccieri V, Spadaro A, Fuksa L, et al. Specific oxidative stress parameters differently correlate with nailfold capillaroscopy changes and organ involvement in systemic sclerosis [J]. *Clin Rheumatol*, 2008, 27: 225-230.
- [16] Simon H, Yousefi S, Schranz C, et al. Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia [J]. *J Immunol*, 1997, 158: 3902-3908.
- [17] Birgit D, Martina W, Wilfried H, et al. Cytokine-mediated bax deficiency and consequent delayed neutrophil apoptosis: a general mechanism to accumulate effector cells in inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 96: 13330-13335.
- [18] Wang J, Huang L, Cheng C, et al. Design, synthesis and biological evaluation of chalcone analogues with novel dual antioxidant mechanisms as potential anti-ischemic stroke agents [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9: 335-350.
- [19] Wang W, Kang PM. Oxidative stress and antioxidant treatments in cardiovascular diseases [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9: 1292.
- [20] Chen Y, Davis G, Watson R, et al. Vitamin E attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in murine AIDS [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2002, 2: 119-127.
- [21] Hao J, Li W, Du H, et al. Role of vitamin C in cardioprotection of ischemia/reperfusion injury by activation of mitochondrial KATP channel [J]. *Chem Pharm Bull*, 2016, 64: 548-557.
- [22] Diyabalanage S, Dangolla A, Mallawa C, et al. Bioavailability of selenium (Se) in cattle population in Sri Lanka based on qualitative determination of glutathione peroxidase (GSH-Px) activities [J]. *Environ Geochem Health*, 2020, 42: 617-624.
- [23] Huang Y, Hua B, Zhang Z, et al. Mechanism of selenium protecting against free radical damages during myocardial ischemia/reperfusion in rats [J]. *Natl Med J China (中华医学杂志)*, 1999, 79: 852-856.
- [24] Zhang S, Zhang Y, Peng N, et al. Pharmacokinetics and biodistribution of zinc-enriched yeast in rats [J]. *ScientificWorldJournal*, 2014, 2014: 217142.
- [25] Akbari G. Role of zinc supplementation on ischemia/reperfusion injury in various organs [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2019, 196: 1-9.
- [26] Jin C, Zhang X. Research progress of natural medicines and bioactive compounds against heart failure [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1147-1156.
- [27] Lin Z, Ya S, Yan J, et al. The protective effect of salidroside on cerebral ischemia-reperfusion injury and oxidative stress in rats [J]. *Chin J Neur (神经解剖学杂志)*, 2018, 34: 41-46.
- [28] Li H, Le S. Recent research progress on the pharmacological mechanisms of anti-aging and anti-oxidation by salidroside [J]. *China Med Herald (中国医药导报)*, 2018, 15: 61-64.
- [29] Lei S, Guo L, Bao S, et al. Effect of salidroside on cardiac function of isolated hearts in rats with acute myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Pract Pharm Clin Remed (实用药物与临床)*, 2015, 18: 1289-1292.
- [30] Tan Z, Liu H, Song X, et al. Honokiol post-treatment ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury by enhancing autophagic flux and reducing intracellular ROS production [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 307: 82-90.

- [31] Wang Z, Yu J, Wu J, et al. Scutellarin protects cardiomyocyte ischemia-reperfusion injury by reducing apoptosis and oxidative stress [J]. *Life Sci*, 2016, 157: 200-207.
- [32] Yue F, Yuan X, Sun M. Protective effect of clemastine fumarate on ischemia-reperfusion injury of H9C2 cardiomyocytes [J]. *Chin J Anat (解剖学杂志)*, 2019, 42: 358-362.
- [33] Zhang G, Sun Y, Wang Y, et al. Local administration of lactic acid and a low dose of the free radical scavenger, edaravone, alleviates myocardial reperfusion injury in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 62: 369-378.
- [34] Tsujita K, Shimomura H, Kaikita K, et al. Long-term efficacy of edaravone in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circ J*, 2006, 70: 832-837.
- [35] Yang Z, Yasumoto M, Murugesan V, et al. Reactive oxygen species scavenging with a biodegradable, thermally responsive hydrogel compatible with soft tissue injection [J]. *Biomaterials*, 2018, 177: 98-112.
- [36] Shao W, Lu T, Jiao W, et al. Amifostine pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis and oxidative stress [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 4130824.
- [37] Tao L, Huang K, Wang J, et al. Retinol palmitate protects against myocardial ischemia/reperfusion injury *via* reducing oxidative stress and inhibiting apoptosis [J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11: 1510-1520.
- [38] Peng S, Zhang B, Meng X, et al. Synthesis of piperlongumine analogues and discovery of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) activators as potential neuroprotective agents [J]. *J Med Chem*, 2015, 58: 5242-5255.
- [39] Edderkaoui M, Nitsche C, Zheng L, et al. NADPH oxidase activation in pancreatic cancer cells is mediated through Akt-dependent up-regulation of p22phox [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 7779-7787.
- [40] Fu S, Luo X, Wu X, et al. Activation of the melanocortin-1 receptor by NDP-MSH attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis through PI3K/Akt/Nrf2 pathway after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8864100.
- [41] Lia Q, Shen L, Wang Z, et al. Tanshinone IIA protects against myocardial ischemia reperfusion injury by activating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 106-114.
- [42] Zhou B, Qiu Z, Yi H. Research progress of ellagitannin intestinal metabolite urolithins [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2016, 41: 2968-2974.
- [43] Tang L, Mo Y, Li Y, et al. Urolithin A alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury *via* PI3K/Akt pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486: 774-780.
- [44] Liu H, Guo X, Chu Y, et al. Heart protective effects and mechanism of quercetin preconditioning on anti-myocardial ischemia reperfusion (IR) injuries in rats [J]. *Gene*, 2014, 545: 149-155.
- [45] Stepkowski T, Kruszewski M. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50: 1186-1195.
- [46] Pradeep P, Manisha S, Monica J, et al. Hypericum hookerianum potential antioxidant and anti-inflammatory action of extracts in a liposome system evaluated with zebrafish embryos [J]. *J Microencapsul*, 2019, 36: 513-522.
- [47] Theodossiou T, Olsen C, Jonsson M, et al. The diverse roles of glutathione-associated cell resistance against hypericin photodynamic therapy [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 191-197.
- [48] Hou J, Liu Y, Liu L, et al. Protective effect of hyperoside on cardiac ischemia reperfusion injury through inhibition of ER stress and activation of Nrf2 signaling [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9: 76-80.
- [49] Ding S, Yang Y, Mei J. Protective effects of *L*-malate against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 3803657.
- [50] Jiang M, Ni J, Cao Y, et al. Astragaloside IV attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury from oxidative stress by regulating succinate, lysophospholipid metabolism, and ROS scavenging system [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 9137654.
- [51] Liu A, Mou Y, Xu Z, et al. Astragaloside IV ameliorates hypoxia/reoxygenation injury *via* regulating mitochondrial homeostasis in rat cardiomyocytes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 2398-2404.
- [52] Li L, Wang Y, Guo R, et al. Ginsenoside Rg3-loaded, reactive oxygen species-responsive polymeric nanoparticles for alleviating myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *J Control Release*, 2020, 317: 259-272.
- [53] Lai L, Zhang X, Zhang X, et al. Lazaroid U83836E protects the heart against ischemia reperfusion injury *via* inhibition of oxidative stress and activation of PKC [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13: 3993-4000.
- [54] Morrow J, Schroeder H, Perry H. Studies on the control of hypertension by hypox. II. toxic reactions and side effects [J]. *Circulation*, 1953, 8: 829-839.
- [55] Cornacchia E, Golbus J, Maybaum J, et al. Hydralazine and procainamide inhibit T cell DNA methylation and induce auto-reactivity [J]. *J Immunol*, 1988, 140: 2197-2200.
- [56] Li C, Su Z, Ge L, et al. Cardioprotection of hydralazine against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 869: 172850.
- [57] Zhi W, Li K, Wang H, et al. Melatonin elicits protective effects on OGD/R-insulted H9c2 cells by activating PGC-1 α /Nrf2 signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45: 1294-1304.
- [58] Fariás J, Molina V, Carrasco R, et al. Antioxidant therapeutic strategies for cardiovascular conditions associated with oxidative stress [J]. *Nutrients*, 2017, 9: 966.

- [59] Perrelli M, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: role of mitochondria and reactive oxygen species [J]. *World J Cardiol*, 2011, 3: 186-200.
- [60] Zaha V, Qi D, Su K, et al. AMPK is critical for mitochondrial function during reperfusion after myocardial ischemia [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 91: 104-113.
- [61] Mo Y, Tang L, Ma Y, et al. Pramipexole pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through upregulation of autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473: 1119-1124.
- [62] Zhang X, Zhu P, Zhang X, et al. Natural antioxidant-isoliquiritigenin ameliorates contractile dysfunction of hypoxic cardiomyocytes *via* AMPK signaling pathway [J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 390890.
- [63] Flory J, Lipska K. Metformin in 2019 [J]. *JAMA*, 2019, 321: 1926-1927.
- [64] Wang X, Yang L, Kang L, et al. Metformin attenuates myocardial ischemia reperfusion injury *via* up-regulation of antioxidant enzymes [J]. *PLoS One*, 2017, 17: e0182777.
- [65] Sun Y, Jiang C, Jiang J, et al. Dexmedetomidine protects mice against myocardium ischaemic/reperfusion injury by activating an AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2017, 44: 946-953.
- [66] Takata T, Araki S, Tsuchiya Y, et al. Oxidative stress orchestrates MAPK and nitric-oxide synthase signal [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 8750.
- [67] Zhu Z, Jin Z, Xiao Z, et al. All-*trans* retinoic acid ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury by reducing cardiomyocyte apoptosis [J]. *PLoS One*, 2015, 10: e0133414.
- [68] Liang C, Ju W, Pei S, et al. Pharmacological activities and synthesis of esculetin and its derivatives: a mini-review [J]. *Molecules*, 2017, 22: 387.
- [69] Yang J, Han J, Li Y, et al. Esculetin inhibits the apoptosis in H9c2 cardiomyocytes *via* the MAPK signaling pathway following hypoxia/reoxygenation injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 1206-1210.
- [70] Qian W, Liu M, Fu Y, et al. Antimicrobial mechanism of luteolin against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* and its antibiofilm properties [J]. *Microb Pathog*, 2020, 142: 104056.
- [71] Boeing T, Souza P, Specia S, et al. Luteolin prevents irinotecan-induced intestinal mucositis in mice through antioxidant and anti-inflammatory properties [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177: 2393-2408.
- [72] Lee J, Park S, Chun H, et al. Differential effects of luteolin and its glycosides on invasion and apoptosis in MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells [J]. *EXCLI J*, 2019, 18: 750-763.
- [73] Yu D, Li M, Tian Y, et al. Luteolin inhibits ROS-activated MAPK pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Life Sci*, 2015, 122: 15-25.
- [74] Lu Q, Ma J, Duan Y, et al. Carthamin yellow protects heart against ischemia/reperfusion injury with reduced ROS release and inflammatory response [J]. *J Cardiovasc Pharm*, 2019, 74: 228-234.
- [75] Yang B, Yan P, Yang G, et al. Triptolide reduces ischemia/reperfusion injury in rats and H9C2 cells *via* inhibition of NF- κ B, ROS and the ERK1/2 pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41: 3127-3136.
- [76] Guarnieri C, Muscari C. Effect of trimetazidine on mitochondrial function and oxidative damage during reperfusion of ischemic hypertrophied rat myocardium [J]. *Pharmacology*, 1993, 46: 324-331.
- [77] Kutala V, Khan M, Mandal R, et al. Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by trimetazidine derivatives functionalized with antioxidant properties [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 317: 921-928.
- [78] Li G, Xing X, Zhang M, et al. Research progress in epigenetic regulation of myocardial ischemia/ reperfusion injury by traditional Chinese medicine [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 1047-1053.
- [79] Sun Y, Hao C, Chen F, et al. Research progress on epigenetic regulation in mechanism of myocardial ischemia [J]. *Drugs Clinic (现代药物与临床)*, 2019, 34: 3807-3812.
- [80] Cordes K, Sheehy N, White M, et al. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity [J]. *Nature*, 2009, 460: 705-710.
- [81] Rooij E, Olson E. MicroRNAs: powerful new regulators of heart disease and provocative therapeutic targets [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117: 2369-2376.
- [82] Anna W, Agata B, Katarzyna KK. MicroRNA in cardiovascular biology and disease [J]. *Adv Clin Exp Med*, 2017, 26: 865-874.
- [83] David M, Andrea C. MicroRNA-based therapeutics in cardiovascular disease: screening and delivery to the target [J]. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46: 11-21.
- [84] Wang JX, Gao J, Ding SL, et al. Oxidative modification of miR-184 enables it to target Bcl-xL and Bcl-w [J]. *Mol Cell*, 2015, 59: 50-61.
- [85] Bonci D, Coppola V, Patrizii M, et al. A microRNA code for prostate cancer metastasis [J]. *Oncogene*, 2016, 35: 1180-1192.
- [86] Zhang Y, Zhang L, Chu W, et al. Tanshinone IIA inhibits miR-1 expression through p38 MAPK signal pathway in post-infarction rat cardiomyocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26: 991-998.
- [87] Yin C, Wang X, Kukreja R. Endogenous microRNAs induced by heat-shock reduce myocardial infarction following ischemia-reperfusion in mice [J]. *FEBS Lett*, 2008, 582: 4137-4142.