

综 述

抗心肌缺血药研究的新思路与方法

陈 修

(湖南医学院药理教研室, 长沙)

抗心肌缺血药包括抗心绞痛药、抗心肌梗塞药与抗心肌缺血再灌注损伤药, 近年进展迅速, 已有介绍^(1~3)。本文旨在评价导致这些进展的思路与方法, 以期对发展新药有所启发。

目前广泛应用的以硝酸酯类和 β 受体阻滞剂为代表的抗心肌缺血药物的作用原理是节约心肌耗氧或/和增加心肌供血, 以缓解心肌缺血时心肌氧的供需矛盾。从硝酸酯类作用机理的反复认识过程中形成的从扩血管与节约心肌耗氧寻找新药的途径和思路^(1,3), 已在钙拮抗剂抗心肌缺血的成功经验中得到肯定。但近年来研制抗心肌缺血药的新思路已突破了这一概念。虽然还在探索阶段, 但其潜在的实际意义是不容忽视的。现简述于下。

抗心肌缺血药研究新思路

一. 保护心肌代谢紊乱途径^(2,4)

六十年代应用心得安治疗心绞痛成功以及极化液(GIK)治疗心肌缺血作用的肯定, 使得人们考虑从纠正心肌代谢紊乱的途径, 来寻找新的抗心肌缺血药。由于心肌梗塞时游离脂肪酸(FFA)增加, 加剧心肌缺血缺氧, 增加ATP消耗和使ATP生成减少, 故研制纠正FFA升高的药物, 具有重要意义, 已发现肉毒碱(carnitine), D-3-羟丁酸和人参皂甙⁽⁵⁾能抑制FFA增高。兼能促进糖代谢的有对羟苯甘氨酸(oxfenicine)、钙拮抗剂如硫氮革酮等通过阻止钙内流能减慢缺血心肌分解ATP, 从而节约能源, 保护心肌。5-氨基-1-(核糖咪唑啉糖甙)咪唑-4-羧胺和核糖均能加速腺苷合成ATP, 有利于恢复心肌缺血时能源供应, 促进心肌缺血恢复。

最近苏联学者⁽⁶⁾证实谷氨酸能改善缺氧心肌及再供氧损伤的心肌功能, 并指出这一保护作用是增加线粒体无糖代谢的ATP生成的结果, 而不是促进糖酵解。并成功地应用谷氨酸作为心脏停搏液中保护心肌代谢的成分。

二. 抗氧自由基途径^(7~9)

近年来, 人们对心肌缺血缺氧后再灌注(reperfusion)损伤进行了较多的研究。在冠脉关闭一段时间后再供血, 结果心脏功能并不如人们所期望的那样开始好转, 相反却继续恶化, 即再灌注损伤。这与用无钙液灌注心脏一定时间后再灌正常钙溶液后反而加重心肌损伤的“钙反常”(calcium paradox)现象; 以及用无氧溶液灌注心脏一定时间后再灌含氧溶液加重心肌损伤的“氧反常”或“氧矛盾”相似, 认为都与氧自由基(oxygen free radical)形成有关⁽⁷⁾, 后者与细胞膜形成过氧化脂质, 导致细胞损伤, Ca^{2+} 大量顺浓度差进入细胞内形成钙超负荷, 而致氧化磷酸化解偶联反应和细胞损伤⁽¹⁰⁾。同时, 氧自由基能损伤细胞内线粒体膜和内质网膜以及溶酶体膜, 导致代谢功能障碍和溶酶体内蛋白酶的释放, 加重组织

损伤和心肌功能紊乱。实验表明，心肌缺血与再灌注损伤时氧自由基形成与缺氧时 ATP 降解有关^(8,9)，ATP 在缺氧时分解为 AMP，进而分解为腺苷、肌苷和次黄嘌呤。次黄嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下生成黄嘌呤和尿酸的过程中产生超氧离子，后者在体内氧自由基清除剂 (scavenger) 如超氧化物歧化酶 (SOD) 和触酶或谷胱甘肽过氧化物酶的作用下生成水而消除。超氧离子在细胞呼吸链中可生成羟自由基 (OH·)，后者与生物膜脂质结合生成过氧化脂质而损伤生物膜 (见图 1)。氧自由基学说对研究新的抗心肌缺血药物有很大启发。针对氧自由基产生和消除的各个环节，正研制新的氧自由基清除剂。除上述 SOD、触酶等酶类以外，还有亲水性的维生素 C、还原型谷胱甘肽、蛋氨酸、辅酶 Q₁₀、硒等；以及亲脂性的维生素 E、巴比妥酸衍生物等。国内报道亚硒酸钠有抗动物心肌梗塞和改善心功能作用⁽¹¹⁾，维生素 C 治疗病毒性心肌炎有效并能增高红细胞的 SOD⁽¹²⁾。此外，甘露醇和二甲亚砜 (DMSO) 被认为是特异性羟自由基清除剂，脱水剂甘露醇这一作用的发现，赋予了它新的价值。最近证明它有抗缺血再灌注损伤作用。钙拮抗剂硫氮草酮、戊脉安等则能抑制 ATP 分解，间接减少氧自由基产生。

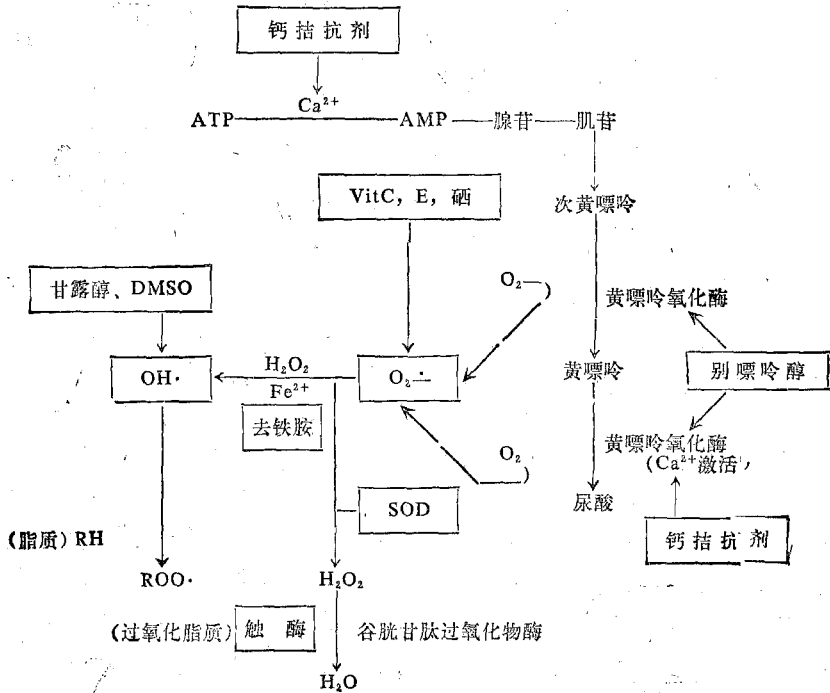


图 1. 心肌缺血时氧自由基形成及抗氧自由基的环节 (综合 9, 10, 13)

最近 Chambers 等⁽⁸⁾从上述黄嘌呤氧化酶与产生氧自由基有关的学说出发，在犬结扎冠脉前降支再灌注损伤的模型证明黄嘌呤氧化酶抑制剂别嘌呤醇 (allopurinol) 有显著缩小再灌注损伤范围的作用，佐证黄嘌呤氧化酶在氧自由基产生和再灌注损伤过程中发挥一定作用。考虑到“游离”铁是产生氧自由基必需的触媒，和心肌缺血时 NADH 增加与铁蛋白作用释放出 Fe²⁺，Babbs⁽¹³⁾用去铁胺 (deferoxamine) 络合 Fe²⁺，有保护心肌再灌注损伤的作用。有兴趣的是粒细胞在缺血和缺血再灌注时能产生大量氧自由基，并可转移到心肌等组织，造成组织损伤。用抑制骨髓生成粒细胞的抗癌药羟基脲 (Hydroxyurea)⁽⁹⁾或用粒细胞抗体减少粒细胞后，能减轻心肌缺血再灌注损伤。这在实用上虽无价值，但在理论上和对设计创

制新药思路有一定启发性。

三. 拮抗钙作用的途径^(14~17)

钙拮抗剂除通过扩血管减少心肌耗氧并增加心肌供氧产生抗心绞痛作用外, 还有更深刻的作用基础。Ca²⁺与 cAMP, cGMP 等第二信使都有关系, 被称为“信使之王”。如前所述, Ca²⁺参与心肌缺血再灌注时对心肌细胞功能和代谢的损伤。因此阻止过多 Ca²⁺进入心肌, 对防治心肌梗塞和缺血有重要意义。但不同的钙拮抗剂化学结构不同, 作用也异, 即使同属于二氢吡啶类结构的硝苯吡啶与尼索地平 (nisoldipine), 作用也不同; 前者虽有抗心绞痛作用, 但有资料认为无抗心肌梗塞作用^(14~16), 而后者在犬实验性心肌梗塞表现能缩小梗塞范围⁽¹⁵⁾, 其他的有抗心肌梗塞或抗梗塞后再灌注损伤的钙拮抗剂有: 硫氮萘酮、戊脉安、利多氟嗪^(9,17)。钙拮抗剂抗心肌梗塞和梗塞后再灌注损伤的机理尚未阐明。由于它们都能降低心脏负荷, 而疗效不同, 故认为通过血流动力学变化减少心肌耗氧, 不是主要的机理⁽¹⁷⁾如图 1 所示, Ca²⁺参与 ATP 降解, 并激活黄嘌呤氧化酶, 与其后继氧自由基产生有关。此外 Ca²⁺也能促使磷脂酶活化产生花生四烯酸及前列腺素、白三烯等心血管活性物质。钙拮抗剂通过拮抗这些心肌缺血时的过度反应, 也认为是保护再灌注损伤的部分机理。近年新型钙拮抗剂苄丙咯 (bepridil) 受到重视, 该药除有肯定的抗心绞痛作用外, 兼有阻滞钠通道 (奎尼丁样)、延长 APD (溴苄胺样) 和抗钙 (戊脉安样) 抗心律失常作用。近年研究发现我国许多中草药成分如粉防己碱⁽¹⁸⁾、丹参酮 IIA⁽¹⁹⁾、小檗胺⁽²⁰⁾、三七总甙⁽²¹⁾、四氢巴马汀⁽²²⁾等有抗钙作用或钙拮抗剂类似作用, 对寻找新的抗心肌缺血药或理解某些中草药的抗心肌缺血作用有启示, 值得进一步深入研究。烟浪丁 (nicoranil) 为日本研制的抗心绞痛新药, 作用复杂, 据称也有钙拮抗作用。

四. 影响前列腺素系统的途径⁽²⁾

血小板聚集和血管收缩会加重冠心病心肌缺血。前列环素 (PGI₂) 是现有自然界存在的最强的抗血小板聚集物, 又能舒张血管, 抑制白细胞产生氧自由基⁽²³⁾。它在心肌缺血早期释放增加; 但在缺血晚期, 可能因血管内皮细胞受损伤而生成 PGI₂减少, 对心肌缺血不利。但它很不稳定, 生理条件下半衰期仅 2~3 min, 且不能口服。现正研制其稳定的同类物。西德研制的 ZK 36,374 (iloprost) 有抗实验性心肌梗塞作用和抗再灌注损伤作用及心律失常发生率⁽²⁴⁾。且可口服, 被认为是希望的 PGI₂ 代替物。此外, 已发现萘氧吡唑酮 (nafazatrom) 有促进 PGI₂ 释放和抑制 PGI₂ 降解作用, 也能抗心肌梗塞。最近实验表明它的抗心肌梗塞作用与抑制白细胞功能有关⁽²⁵⁾。苯酸咪唑 (dazoxiben) 和 dazmegrel 能抑制 TXA₂ 合成, 抗血小板聚集, 有利于心肌梗塞损伤⁽²⁴⁾。蒎血栓素 A (pinane TXA₂) 和 AH 23848 能阻滞 TXA₂ 受体, 高浓度也抑制 TXA₂ 合成。人参皂甙有增加 PGI₂ 和减少 TXA₂ 作用从而改善 PGI₂/TXA₂ 比值, 有利于保护心肌梗塞和再灌注损伤⁽²⁶⁾。布洛芬 (ibuprofen) 为环氧酶抑制剂, 其保护大鼠心肌梗塞作用比戊脉安强⁽²⁷⁾。唑噻胺 (trapidil) 为东德研制的抗心绞痛药, 兼有抗血小板作用和抗动脉粥样硬化作用, 据报告能促进动脉壁的前列环素生成⁽²⁸⁾。消炎痛能阻止硝酸甘油的某些作用, 故认为硝酸甘油是通过释放前列腺素改善冠脉循环的, 并有实验支持, 但也有实验否定此说⁽²⁹⁾, 尚无定论。

五. 抑制肾素—血管紧张素系统 (RAS) 的途径^(30~32)

近年研究表明 RAS 在心血管功能调节和高血压、心衰与心肌缺血发病学中起重要作用。血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 不但有抗高血压和治疗心衰作用, 也能保护心肌, 缩小心肌梗塞范围⁽³⁰⁾, 并有治疗心绞痛的少量临床报告。我们的实验表明其抗心肌缺血与再灌

注损伤作用与抑制心肌局部血管紧张素 II 生成和促进前列环素生成或释放有关⁽³¹⁾。苯丁酯脯酸 (enalapril) 对犬有抗心肌缺血再灌注室颤致死的作用, 同时保护心肌缺血局部的节段收缩力⁽³²⁾。ACEI 潜在的抗心肌缺血用途有待研究验证。

抗心肌缺血药实验方法评价

抗心肌缺血常规实验方法已有评述^(33,34), 以下仅就新近方法学进展和评价加以介绍。

一. 狭窄冠脉法^(33~35)

通过狭窄或完全阻塞冠状动脉 (前降支或左旋支), 使其所支配区域的血流减少或缺如, 造成心肌缺血, 这是目前应用最广的模型。常用动物可有大鼠、兔、狗、猫、猪、狒狒。缩小冠脉可用结扎法、Ameroid 缩窄环、定量拉紧环、气囊法、冠脉注入微球或血栓形成等方法。

药物疗效的观察, 可用心电图 ST 段标测, 但单用定量不够准确, 应配合用硝基四氮唑兰 (NBT) 或三苯四氮唑 (TTC) 大体标本染色, 血浆或心肌中磷酸肌酸激酶 (CPK) 或乳酸脱氢酶 (LDH) 测定, 有助于对梗塞范围进行定量分析⁽³⁶⁾。近年 Rosen 等利用心肌缺血区 NADH 荧光增强的原理以心外膜荧光为指标定量梗塞范围⁽³⁷⁾。最近并采用电子计算机图象分析技术, 能区别梗塞程度并定量。提高了效率和准确性。近年有人用心腔内单相动作电位判定心内膜下缺血, 观察药物疗效, 值得注意⁽³⁸⁾。

结扎冠脉形成梗塞方法可靠, 是目前国内外应用最广的标准方法, 本实验法的影响因素: (一) 不同种动物和个体冠脉侧支循环有差异: 豚鼠左右冠脉侧支循环多, 难形成梗塞。大鼠、兔、狗, 变异较大, 猪、狒狒较小, 且接近人。对侧支变异大的动物, 应按一定标准选用, 不合标准的不用。(二) 随着时间延长, 心肌梗塞会有自发缓解趋势, 家兔结扎前降支 3 天以后渐恢复。观察药效应在结扎后三天内进行⁽³⁵⁾。

二. 离体心脏缺氧法

在离体情况下, 供给适当的灌流液, 心肌标本 (心脏、心房、乳头肌、梳状肌等) 及心肺装置仍能表现出部分心肌的电学及机械特性。用冠脉结扎或无氧营养液 (在心肺标本为关闭人工呼吸机) 灌注, 观察心肌标本耐缺氧时间, 血流动力学变化 (在心肺制备), 心肌代谢变化及心肌梗塞范围等指标。不但可分析抗心肌缺血药的作用, 而且还可分析心脏电、机械特性与心肌耐缺氧能力的关系。

本实验由于在离体进行, 无整体条件下的因素参与, 与在体实验结果比较, 可分析抗心肌缺血药的心脏局部作用与全身血流动力学影响。也可用 CPK, ECG, NBT, TTC 等指标判断心肌梗塞范围, 是目前应用日益广泛的方法^(32,39)。

三. 离体心肌细胞培养缺氧及再供氧损伤实验法^(39~41)

通常用乳鼠原代心肌细胞进行离体培养, 观察药物对缺氧 (通常纯氮形成) 条件下, 心肌细胞活动功能、形态 (电镜) 和生化 (培养液中 CPK 或 LDH) 的变化, 借以判断药物抗心肌缺血缺氧作用。也可在缺氧后再供氧, 形成再供氧损伤, 观察药物对再供氧 (reoxygenation) 损伤的影响。

此法优点: (一) 观察药物对心肌细胞的直接作用, 可排除药物通过血流动力学影响心肌缺血缺氧的作用; (二) 节省药物, 适用于分离或合成得到的极少量药物进行实验。

此法局限性: (一) 技术设备条件要求高, (二) 不溶于水或含有杂质的药物不适于观察非直接作用心肌细胞药物作用。

四. 心肌缺血再灌注损伤实验法^(17,24,26)

在心肌缺血后一定时间(例如1~3h)造成心肌损伤后,再供血一定时间可加重缺血性损伤。可用CPK, NBT染色等指标观测。为了解药物对再灌注损伤的影响与氧自由基产生的关系,可用电子自旋共振仪(ESR)测定氧自由基,但不易进行,现多用超氧化物歧化酶(SOD)作为氧自由基的间接指标⁽⁴²⁾。因氧自由基产生脂质过氧化反应,也可用反应产物丙二醛(MDA)为指标测定⁽⁴³⁾。如要了解药物作用与前列腺素关系,可用放免法测定冠状窦血中PGI₂与TXA₂,以观察药物对PGI₂/TXA₂比值的影响⁽²⁶⁾。

再灌注损伤法是近年研究较多的一种方法,有其理论与实用价值。但要掌握好不同动物缺血不同时间造成损伤的程度;缺血损伤不严重时再灌常可消除损伤,损伤过重又不易观测再灌加重损伤。

结 语

随着近年对心绞痛和心肌梗塞的病因发病学和生化变化的认识深化,开发研制新药的思路已更牢固地建立在理论指导的基础上,这样作减少了盲目性,增加了成功率。用合成药方法研制新的抗心肌缺血药的思路应建立在药效学和构效关系的基础上,从中草药中发掘新的有效成分还应注意植物的化学亲缘关系。例如人参皂甙能抗心肌缺血^(5,26),三七中含有人参皂甙也应有效。粉防己碱为钙拮抗作用,以此可解释其降压、抗心绞痛甚至抗心律失常作用。在研究心肌缺血方法方面虽然尚无与临床相同的动物模型,但从慢性心肌缺血到离体结扎引起心梗模型和离体心肌细胞培养缺氧缺糖模型已形成一整套系统方法,根据药物的作用特点选用适当模型,在创造性思路指引下,应用先进技术方法,必能加快我国抗心肌缺血药创制步伐。

参 考 文 献

1. 徐叔云,等主编. 临床药理学上册. 上海:上海科技出版社, 1983:254~270.
2. 陈修. 药理学进展(1983~1985). 北京:人民卫生出版社, 1985:92~105.
3. 饶曼人. 药学报 1985;20:881.
4. 陈修. 药理学进展 心血管药理分册(1980). 北京:人民卫生出版社, 1980:90~103.
5. Chen X(陈修), et al. *J Mol Cell Cardiol* 1983;15(Suppl 1):121.
6. Pisarenko OI, et al. *Basic Res Cardiol* 1985;80:263.
7. Hess ML, Manaon NH. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16:969.
8. Chambers DE, et al. *Ibid* 1985;17:145.
9. van der Vusse GJ, Reneman RS. *Trends Pharmacol Sci* 1985;6:76.
10. Nayler WG. *European Heart J* 1983;4 (Suppl C):33.
11. 谭筱林,等. 西安医学院学报 1985;6:226.
12. 曹容珍,等. 同上 1985;6:349.
13. Bobbs CF. *Ann Emerg Med* 1985;14:777.
14. Pearle DL. *Am J Cardiol* 1984;54:21E.
15. Tumas J, et al. *J Cardiovas Pharmacol* 1985;7:361.
16. Majid PA, et al. *Ibid* 1986;8:262.
17. Chappell SP, et al. *Cardiovas Res* 1985;19:299.
18. 方达超、江明性. 中华医学杂志 1983;63:772.
19. 陈维洲. 药学报 1984;19:876.
20. 李凤林. 同上 1985;20:859.
21. 关永源,等. 中国药理学报 1985;6:267.
22. 赵东科,等. 药学报 1986;21:407.
23. Fanton JC, Kinnes DA. *Biochem Biophys Res Comm* 1983;113:506.
24. Paratt JR, Coker SJ. *J Cardiovas Pharmacol* 1985;7(Suppl 5):S65.
25. Bednar M, et al. *Circ Res* 1985;57:131.

26. Fang YX(方云祥), 等. 中国药理学报 1986;7:226.
27. Evans RG, et al. *Cardiovas Res* 1985;19:132.
28. 邵政一. 新药与临床 1985;4:211.
29. Caterina R, et al. *Circulation* 1985;71:176.
30. Hock CE, et al. *Am Heart J* 1985;109:222.
31. Liu LY (刘立英), et al. 中国药理学报 待发表.
32. Li K (李凯), Chen X (陈修). *J Mol Cell Cardiol* to be published.
33. 徐叔云, 等主编. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 711~715.
34. 周远鹏, 药理学进展心血管药理分册. 1980. 北京: 人民卫生出版社, 1981:104~114.
35. 方云祥, 等. 湖南医学院学报 1980;5:229.
36. Yusuf S, Sleight P. *Drugs* 1983;25:441.
37. Rosen R, et al. *Basic Res Cardiology* 1984;79:59.
38. Donaldson RM, et al. *Cardiovasc Res* 1984;18:7.
39. 李元建, 等. 药理学报 1987;22:1.
40. 李连达, 等. 中医杂志 1980;21:468.
41. 温淑荣, 等. 药学通报 1982;17:450.
42. Misra HP, Fridovich I. *Arch Biochem Biophys* 1977;181:308
43. 翁玉椿, 等. 细胞生物学杂志 1935;7:142.