

长春西汀药理作用机制研究进展

任 骞¹, 张 杰^{2*}

1. 石家庄市第一医院, 河北 石家庄 050011

2. 上海爱的发制药有限公司, 上海 200003

摘 要: 长春胺是从小蔓长春花中分离得到的一种生物碱, 长春胺衍生物长春西汀在中风后遗症、老年痴呆、神经性耳鸣及耳聋、美尼尔氏综合症、缺血性眼底疾病等复杂性疾病方面有一定的疗效。从近年来长春西汀药理作用研究进展着手, 进一步探讨其发挥临床疗效的机制。

关键词: 长春西汀; 长春胺; 细胞增殖; 心脑血管系统; 神经系统

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)11-1517-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.11.030

Research progress in pharmacological mechanisms of vinpocetine

REN Qian¹, ZHANG Jie²

1. Shijiazhuang Municipal First Hospital, Shijiazhuang 050011, China

2. Shanghai Ethypharm Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 200003, China

Key words: vinpocetine; vincamine; cell proliferation; cardiovascular system; nervous system

长春胺是由 Latnaya 等于 1950 年首次从小蔓长春花中分离得到的一种生物碱。从化学结构上看, 长春胺属于象牙胺-长春胺类生物碱 (eburnamine vincamine alkaloids), 在自然界中普遍存在于夹竹桃科植物中。该类生物碱中的大多数化合物对细胞增殖及心脑血管和神经系统功能具有药理活性, 引起了药物化学家的广泛兴趣, 近几十年来, 相继有许多具有比长春胺更高生物活性和更小毒副作用的衍生物被合成出来, 其中最为著名的就是阿朴长春胺酸乙酯, 也称为长春西汀 (vinpocetine)。该化合物由匈牙利的 Gedeon Richter 药物公司研发并于 1978 年上市, 目前在临床上用于治疗缺血性中风和其他由脑血管病变引起的疾病。同时, 长春西汀也是此类生物碱家族中被研究得最为深入和广泛的化合物^[1]。本文对近年来长春胺及其类似物的药理作用机制研究进展进行综述。

1 阻断 IKK 信号通路, 发挥独特抗炎作用

炎症是诸多疾病 (如动脉粥样硬化、慢性阻塞性肺病、关节炎、感染性疾病和癌症等) 的重要指征。尽管甾体 (corticosteroids) 和环氧合酶 (cyclo-

oxigenase, COX) 抑制剂都能有效发挥抗炎作用, 但都可能引起严重不良反应, 而临床迫切需要无显著不良反应的独特抗炎药物。

长春西汀长时间用于脑血管疾病和认知损害疾病的治疗, 有研究认为其具有独特的抗炎作用。Jeon 等^[2-3]研究发现, 无论在体内和体外研究中, 长春西汀均具有抗炎作用; 在多种类型细胞 (血管平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞和上皮细胞) 中, 长春西汀能够抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导的核因子- κ B (NF- κ B) 活化以及随后激发的炎症促进因子活化等; 长春西汀还能够抑制单核细胞黏附和趋化, 而这些都是炎症中的关键过程; 在 TNF- α 或脂多糖 (LPS) 诱导的小鼠肺部炎症模型中, 长春西汀可强烈地抑制 TNF- α 或 LPS 诱导的炎症促进因子 (TNF- α 、IL-1 β 和巨噬细胞炎症蛋白-2) 水平上调, 减轻多核白细胞的间质性渗出。研究发现, 长春西汀对于 NF- κ B 通路炎症的抑制是通过直接作用于 NF- κ B 抑制剂激活酶 (inhibitor of nuclear factor κ B kinase, IKK) 信号通路实现的, 独立于磷酸二酯酶 (phosphodiesterase, PDE) 和 Ca²⁺ 两条信号通路之

收稿日期: 2012-10-29

作者简介: 任 骞, 男, 医学硕士, 副主任医师, 眼底病科主任。

*通信作者 张 杰, 男, 医学博士, 研究生导师。E-mail: guide.zhang@163.com

外。因此，长春西汀作为机制独特的抗炎药物，可能需在多种炎症疾病治疗中重新定位。

2 阻断 $\text{Na}_v1.8$ 钠离子通道，调节神经生理活动

长春胺和长春西汀能够作用于多个离子通道，尤其是产生河豚毒素（tetrodotoxin）敏感性传导作用的钠离子通道，但其分子基础至今尚未明了。

Zhou 等^[4]研究了长春西汀对表达于背部神经节衍生细胞系 ND7/23 上的克隆大鼠 $\text{Na}_v1.8$ 通道的影响。长春西汀呈剂量依赖性地抑制 $\text{Na}_v1.8$ 钠离子通道活性。电压钳实验显示，与超极化电位相比（-90 mV, $\text{IC}_{50}=10.4 \mu\text{mol/L}$ ），当全细胞 $\text{Na}_v1.8$ 传导从相对除极的电位启动（-35 mV, $\text{IC}_{50}=3.5 \mu\text{mol/L}$ ），长春西汀的效能增加了 3 倍；在非活化的 $\text{Na}_v1.8$ 离子通道，长春西汀也产生了 -22 mV 的左向偏转，但不影响通道活化的电压范围；3 $\mu\text{mol/L}$ 长春西汀对 $\text{Na}_v1.8$ 离子通道显示出渐进性地、成比例地阻断，伴随有频率 0.1~1.0 Hz 逐步的除极；进一步研究表明长春西汀能够阻断 $\text{Na}_v1.8$ 离子通道活性，从而在多种由外周神经活动异常引起的感官障碍疾病中，发挥其药理作用^[5-6]。

3 与外周型 BZO 结合，发挥神经保护作用

为验证长春西汀是否与外周型苯二氮草（benzodiazepine, BZO）连接位点（peripheral benzodiazepine binding sites, PBBS）结合，从而作为潜在的配体，Gulyas 等^[7]对 2 只猕猴进行正电子发射 X 线断层摄影术（positron emission tomography, PET）检测，结果显示，经长春西汀预处理后，^[11C]PK11195（已知的 PBBS 放射性配体）的脑摄取明显减少；另一方面，^[11C]PK11195 阻断了外周型 PBBS，增加了脑部 ^[11C]长春西汀的摄取；明显降低了结合电位水平，包括 ^[11C]长春西汀在整个脑部及单个脑部结构的电位。提示长春西汀作为一个高效的 PBBS 配体，其神经保护作用可能与其对神经胶质细胞功能的调节有关。

在另一研究中，Tarnok 等^[8]观察到长春西汀的神经保护作用至少部分与苯二氮草受体（PBR）相关。PK11195 和 Ro5-4864 是 PBR 的选择性和高亲和性的配体。利用原代培养皮层神经元细胞，分析 PK11195、Ro5-4864 与长春西汀对谷氨酸兴奋毒性的影响。在 1~50 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度内，长春西汀具有神经保护作用，而 PK11195 和 Ro5-4864 的作用微乎其微，特别是在高剂量（>25 $\mu\text{mol/L}$ ）。长春西汀和 PK11195（或 Ro5-4864）联合处理神经元细胞，

神经元保护作用呈剂量依赖性地增强，提示它们具有不同的作用靶点。为验证这一观点，Tarnok 等^[8]采用流式细胞仪检测神经元的线粒体膜电位（mitochondrial membrane potential, MMP），显示 25 $\mu\text{mol/L}$ 长春西汀减少了谷氨酸释放，从而抑制了谷氨酸诱导的线粒体内膜电位的降低，但 Ro5-4864 自身能够强烈地阻断谷氨酸触发的变化。Ro5-4864 和长春西汀联合应用则阻断作用更强。提示神经元 PBR 是长春西汀的神经保护作用机制之一，还应还有其他的作用靶点参与。

Vas 等^[9-12]对 4 名多发硬化疾病青年患者连续进行了 2 次检测，指标包括整体和局部大脑的 ^[11C]长春西汀、^[11C]PK11195 的摄入量，以及上述两种配体在大脑局部的分布和结合电位（binding potential, BP）水平。研究发现局部脑损伤部位的两种配体摄入量增加，BP 值升高。然而，局部大脑 ^[11C]长春西汀的 BP 水平显著高于 ^[11C]PK11195，这可能与 ^[11C]长春西汀在大脑的摄取量高，并与 PBBS 的亲合力高有关。局部大脑损伤会引起损伤部位内部以及周围神经胶质细胞的聚集，目前的研究提示 ^[11C]长春西汀通过结合神经胶质细胞的 PBBS，因其积聚在损伤部位，从而标记局部大脑损伤的位置或边缘。因此，研究证明由于局部或整体大脑损伤导致神经胶质细胞的聚集，^[11C]长春西汀是一个潜在的、有用的 PET 标志物；对比分析证实，相对于 ^[11C]PK11195，^[11C]长春西汀有着众多的比较性优势。

4 阻断 Na^+ 和 Ca^{2+} 通道，改善认知功能

Lendvai 等^[13]用双光子激光扫描显微镜观察大鼠大脑皮层切片 2/3 的锥体细胞，探讨电压依赖性 Na^+ 和 Ca^{2+} 通道阻断剂长春西汀对树突棘运动的影响，临床研究已表明长春西汀具有认知改善作用。同时也对藜芦碱（可增加 Na^+ 内流）对树突棘运动的影响进行了研究，通过对新的、收缩的树突棘长度或数量变化的观察，发现长春西汀可引起树突棘结构发生实质性地变化；与此相反，藜芦碱并不能改变树突棘运动。研究结果提示，长春西汀通过减少 Ca^+ 和 Na^+ 的内流，诱导树突棘形态和数量发生快速改变。长春西汀诱导的树突棘运动的改变可能与微管的变化有关，其他的小蔓长春花生物碱也证实有此作用。另一方面，长春西汀改善认知的潜在作用提示树突棘运动的改变可能与认知功能有关。

5 抑制氧化还原反应，延缓神经退行性病变

Pereira 等^[14]通过观察 β 淀粉样蛋白（ $\text{A}\beta$ ）孵育

24 h 的 PC12 细胞来研究长春西汀的细胞保护作用,发现长春西汀的细胞保护作用是通过抑制 $A\beta_{25-35}$ 和 $A\beta_{-40}$ 的氧化还原作用实现的;浓度为 40 mmol/L 的长春西汀保护作用最强,在此浓度下,长春西汀阻断了线粒体呼吸链复合物 II、III 和 IV 的抑制作用,完全抑制了 $A\beta$ 蛋白诱导的丙酮酸的耗竭作用;此外通过荧光探针 (2',7'-dichlorofluorescein, DCF) 的观测,浓度为 40 mmol/L 的长春西汀可减少 $A\beta_{25-35}$ 和 $A\beta_{-40}$ 孵育细胞后活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的积聚。研究表明,长春西汀细胞保护作用与其减轻 $A\beta$ 的毒性作用,防止 ROS 过量蓄积引起氧化应激有关。提示长春西汀在治疗与氧化应激相关的阿尔茨海默病或其他神经退行性疾病有着重要意义。

ROS 在神经损伤和死亡的过程中起到重要作用,这些过程发生于多种神经退行性疾病(如阿尔茨海默病)。清除 ROS 可能延缓或减少与病理过程相关的神经退化。长春西汀可有效保护细胞免受 ROS 的攻击,其细胞保护作用在氧化应激的体外模型中得以证实,该模型是由氧化剂抗坏血酸盐/ Fe^{2+} 和与阿尔茨海默病相关的 $A\beta$ 合成肽诱导的^[15]。

6 对大脑血流量和葡萄糖代谢率的影响

Vas 等^[16]在对猴子的研究中已经阐释了静脉注射 [^{11}C] 长春西汀迅速进入大脑,最大摄入量约为总放射量的 5%;长春西汀在大脑内的分布是不均衡的,最高的摄入位点是下丘脑、基底神经节和视觉皮层。 [^{11}C] 长春西汀在正常人中也有类似的分布规律,大脑的最高摄入达到了总放射量的 3.71%;健康志愿者口服 [^{11}C] 长春西汀也会快速进入大脑,最高摄入量达到总放射量的 0.71%。研究发现,长春西汀可增加慢性缺血性脑卒中患者局部大脑葡萄糖摄取;在脑卒中周围区域和相对完整的大脑组织,某种程度上葡萄糖代谢也会增加。长春西汀临床治疗 2 周增加了局部大脑血流量 (cerebral blood flow, CBF),特别在下丘脑、基底神经节和视觉皮层等非症状大脑半球。此外,通过近红外光谱 (near infrared spectroscopy, NIRS) 和经颅多普勒方法观察长春西汀对亚急性缺血性脑卒中患者的影响,结果表明可增加大脑灌注和大脑实质对氧的摄取。

采用双盲试验设计,以 PET 观察 iv 长春西汀 14 d,对 13 名慢性缺血性脑卒中患者大脑血流量和葡萄糖代谢的影响,测定局部和整体大脑葡萄糖代谢率 (CMR_{gic})、 CBF ^[17]。在长春西汀治疗组和对照

组 (7 人) 中,整体大脑 CMR_{gic} 并未出现显著变化;两组患者的一些脑部结构,尤其在注射长春西汀后, CBF 明显增加,局部 CMR_{gic} 和 CBF 数值出现较大变化。PET 研究结果提示,长春西汀治疗组 CBF 的最大变化出现在长春西汀摄取最多的结构 (丘脑和尾状核,分别增加了 36% 和 37%)。结果提示长春西汀有效地促进了慢性缺血性脑卒中患者 CBF 的再分布,这种作用在长春西汀高度摄取的大脑区域最为明显^[18]。

7 拮抗 N-甲基-D-天冬氨酸,减轻神经毒性

Dezsi 等^[19]建立永久性大脑中动脉梗死 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 大鼠模型,研究长春西汀对梗死面积的影响。长春西汀显著减少了梗死面积 (42%, $P < 0.05$), 优于尼莫地平 (17%) 和 MK-801 (18%)。原代皮层细胞培养以乳酸脱氢酶 (LDH) 释放率为指标观察长春西汀对神经毒性的影响。长春西汀呈剂量依赖性地抑制瞬时的 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 或藜芦碱 (0.1~1 mmol/L) 诱导的兴奋毒性 ($IC_{50} = 2 \sim 7 \mu mol/L$)。长春西汀的神经保护作用弱于 MK-801, 但与氟桂嗪或尼莫地平类似。

长春西汀及其代谢物 *cis*-apovincaminic (cAVA) 具有神经保护功能。体内研究中,采用双侧 NMDA 诱导内嗅皮质神经退化大鼠模型探讨长春西汀及其衍生物的神经保护作用。结果显示,长春西汀和 cAVA 能有效降低 NMDA 导致的行为缺陷,可明显减少损伤面积和小胶质细胞活动区域;同时显著改善了 NMDA 导致的注意力缺陷和学习障碍。长春西汀和 cAVA 治疗后损伤面积和小胶质细胞的形态学改变验证了行为测试的结果,证明了长春西汀的体内神经保护作用,而 cAVA 的神经保护作用相对较弱^[20]。

8 对神经生长因子的影响

Knyihar-Csillik 等^[21]研究发现,长春西汀可抑制周围神经内神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 的逆向轴浆输送,对于 NGF 逆向输送的阻断导致同侧表面脊髓背角节段相关的跨神经节退化性萎缩 (transganglionic degenerative atrophy, TDA), 以酶标志物抗氟化物酸性磷酸酶 (fluoride-resistant acid phosphatase, FRAP) 和 thiamine monophosphate (TMP) 的减少为特征,同时降低疼痛相关的神经肽如 P 物质 (substance P, SP) 和降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 的量,

这些神经肽源于脊髓胶状质同侧投射于椎板 I~III。认为长春西汀可以局部有限地减轻伤害感受, 这可能对于难治性疼痛的临床治疗是有益的。

9 结语

长春西汀的药理作用机制研究近 10 年来取得了较大的进展, 主要包括: 1) 与 PBBS 高效结合; 2) 对线粒体转移孔复合物有一定的作用; 3) 阻断 $\text{Na}_v1.8$ 离子通道; 4) 抑制 $\text{A}\beta_{25-35}$ 和 $\text{A}\beta-40$ 的氧化还原作用; 5) 抑制内嗅区 NMDA 的损伤; 6) 阻断 IKK 通路和 NGF 逆向胞浆输送。这些机制为长春西汀对脑卒中、老年痴呆、耳鸣、眩晕、眼底疾病等的治疗提供了依据。同时, 尽管上述基础研究很有意义, 长春西汀在诸多疾病的临床应用中的循证依据仍显得有所不足, 有待随机、双盲、多中心临床试验进一步探讨其临床疗效和不良反应^[22]。

参考文献

- [1] Vas A, Gulyas B. Eburnamine derivatives and the brain [J]. *Med Res Rev*, 2005, 25(6): 737-757.
- [2] Jeon K I, Xu X, Aizawa T, *et al.* Vinpocetine inhibits NF- κ B-dependent inflammation via an IKK-dependent but PDE-independent mechanism [J]. *PNAS*, 2010, 107(21): 9795-9800.
- [3] Medina A E. Vinpocetine as a potent anti-inflammatory agent [J]. *PNAS*, 2010, 107(22): 9921-9922.
- [4] Zhou X, Dong X, Crona J, *et al.* Vinpocetine is a potent blocker of rat $\text{Na}_v1.8$ Tetrodotoxin-resistant Sodium channels [J]. *J Pharmacol Exp Therap*, 2003, 306: 498-504.
- [5] Erdo S L, Molnar P, Lakics V, *et al.* Vincamine and vincanol are potent blockers of voltage-gated Na^+ channels [J]. *Eur J Pharmacol*, 1996, 314: 69-73.
- [6] Bonoczk P, Gulyas B, Adam-Vizi V, *et al.* Role of sodium channel inhibition in neuroprotection: effect of vinpocetine [J]. *Brain Res Bull*, 2000, 53(3): 245-254.
- [7] Gulyas B, Halldin C, Vas A, *et al.* [^{11}C] Vinpocetine: A prospective peripheral benzodiazepine receptor ligand for primate PET studies [J]. *J Neurol Sci*, 2005, 229/230: 219-223.
- [8] Tarnok E, Kiss E, Luiten P G M, *et al.* Effects of vinpocetine on mitochondrial function and neuroprotection in primary cortical neurons [J]. *Neurochem Int*, 2008, 53: 289-295.
- [9] Vas A, Shchukin Y, Karrenbauer V D, *et al.* Functional neuroimaging in multiple sclerosis with radiolabelled glia markers: Preliminary comparative PET studies with [^{11}C] Vinpocetine and [^{11}C]PK11195 in patients [J]. *J Neurol Sci*, 2008, 264: 9-17.
- [10] Stephenson D T, Schober D A, Smalstig E B, *et al.* Peripheral benzodiazepine receptors are colocalized with activated microglia following transient global forebrain ischemia in the rat [J]. *J Neurol Sci*, 1995, 15(7): 5263-5274.
- [11] Gulyas B, Toth M, Vas A, *et al.* Visualising neuroinflammation in post-stroke patients: A comparative PET study with the TSPO molecular imaging biomarkers [^{11}C] PK11195 and [^{11}C] vinpocetine [J]. *Curr Radiopharm*, 2012, 5: 19-28.
- [12] Zhao Y, Yu J, Li Q, *et al.* TSPO-specific ligand vinpocetine exerts a neuroprotective effect by suppressing microglial inflammation [J]. *Neuron Glia Biol*, 2011, 7(2/4): 187-197.
- [13] Lendvai B, Zelles T, Rozsa B, *et al.* A vinca alkaloid enhances morphological dynamics of dendritic spines of neocortical layer 2/3 pyramidal cells [J]. *Brain Res Bull*, 2003, 59(4): 257-260.
- [14] Pereira C, Agostinho P, Oliveira C R. Vinpocetine attenuates the metabolic dysfunction induced by amyloid beta-peptides in PC12 cells [J]. *Free Radic Res*, 2000, 33(5): 497-506.
- [15] Pereira C, Agostinho P, Moreira P I, *et al.* Neuroprotection strategies: Effect of vinpocetine *in vitro* oxidative stress models [J]. *Acta Med Port*, 2003, 16(6): 401-406.
- [16] Vas A, Gulyas B, Szabo Z, *et al.* Clinical and non-clinical investigations using positron emission tomography, near infrared spectroscopy and transcranial Doppler methods on the neuroprotective drug vinpocetine: a summary of evidences [J]. *J Neurol Sci*, 2002, 15(203/204): 259-262.
- [17] Szilagyi G, Nagy Z, Balkay L, *et al.* Effects of vinpocetine on the redistribution of cerebral blood flow and glucose metabolism in chronic ischemic stroke patients: a PET study [J]. *J Neurol Sci*, 2005, 19(229/230): 275-284.
- [18] Bonoczk P, Gulyas B, Adam-Vizi V, *et al.* Role of sodium channel inhibition in neuroprotection: effect of vinpocetine [J]. *Brain Res Bull*, 2000, 53(3): 245-254.
- [19] Dezsi L, Kis-Varga I, Nagy J, *et al.* Neuroprotective effects of vinpocetine *in vivo* and *in vitro*. Apovincamine acid derivatives as potential therapeutic tools in ischemic stroke [J]. *Acta Pharm Hung*, 2002, 72(2): 84-91.
- [20] Nyakas C, Felszeghy K, Szabo R, *et al.* Neuroprotective effect of vinpocetine and its major metabolite *cis*-apovincaminic acid on NMDA-induced neurotoxicity in a rat entorhinal cortex lesion model [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2009, 15(2): 89-99.
- [21] Knyihar-Csillik E, Vecsei L, Mihaly A, *et al.* Effect of vinpocetine on retrograde axoplasmic transport [J]. *Ann Anat*, 2007, 189(1): 39-45.
- [22] Szatmari S, Whitehouse P. Vinpocetine for cognitive impairment and dementia [J]. *Cochrane Library*, DOI: 10.1002/14651858.CD003119, 2007-01-23.