

钩藤碱阻滞钙离子通道的药理作用研究进展

李娜¹, 丁伯平^{1*}, 黄华¹, 汪江涛², 程凯³

1. 皖南医学院 药理学教研室, 安徽 芜湖 241002

2. 芜湖中医医院 药剂科 临床药学室, 安徽 芜湖 241002

3. 首都医科大学 化学生物学与药学院, 北京 10069

摘要: 钩藤碱在传统中药中占有重要的地位, 在中枢神经和心血管等系统中有较显著的药理作用, 临床上可用于治疗高血压、癫痫、心律失常等疾病。多项实验研究钩藤碱的作用机制, 发现钩藤碱大多是通过拮抗钙来发挥作用的。为更好地利用钩藤碱, 综述了钩藤碱阻滞钙离子通道的药理作用, 为推进钩藤碱深入研究提供参考。

关键词: 钩藤碱; 钙离子通道; 药理作用

中图分类号: R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)09-1073-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.09.027

Research progress on pharmacological activities of rhynchophylline by blocking calcium channels

LI Na¹, DING Bo-ping¹, HUANG Hua¹, WANG Jiang-tao², CHENG Kai³

1. Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

2. Department of Clinical Pharmaceutics, Department of Pharmacy, Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241002, China

3. College of Pharmaceutical Sciences, Capital Medical University, Beijing 10069, China

Abstract: Rhynchophylline plays an important role in traditional Chinese medicine, and has significant pharmacological activities in the central nervous and cardiovascular system. It can be used to treat high blood pressure, epilepsy, arrhythmia, and other diseases clinically. There are a number of experimental studies on the mechanism of rhynchophylline, which show that rhynchophylline mostly works by blocking calcium. In order to make better use of rhynchophylline, this paper reviews the pharmacological activities of rhynchophylline by blocking calcium channels, and also provides reference for promoting the in-depth study of rhynchophylline.

Key words: rhynchophylline; calcium channels; pharmacological activities

钩藤为茜草科植物钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Miq. ex Havil. 及其同属多种植物的带钩枝条, 含有生物碱类、三萜、皂苷类及黄酮类等化学成分, 具有息风定惊、清热平肝之功效^[1], 用于降压、抗焦虑^[2]、解痉、改善莨菪碱造成的记忆损伤^[3]。其中吲哚类生物碱钩藤碱和异钩藤碱量较高^[4], 并对中枢神经^[5]和心血管具有广泛的药理作用。钙是重要的离子组成之一, 在中枢神经、心血管系统中起着重要作用, 因此维持钙稳态是机体生理活动不可或缺的部分。本文对钩藤碱阻滞钙离子通道的药理作用加以综述, 为推进钩藤碱深入研究提供参考。

1 中枢神经系统

1.1 抗癫痫作用

钙广泛存在于机体中, 起着维持机体稳态的重要作用, 钙失调是引起癫痫发作的机制之一。徐淑梅等^[6]对毛果芸香碱致痫大鼠采用脑片旁滴注钩藤碱, 滴注给药 20 μL (分 4 次滴注, 5 μL /次) 后, 发现离体海马脑片 CA1 区锥体细胞诱发群峰电位 (PS) 幅度明显下降, 平均降低 27.64%, 表明钩藤碱能降低致痫大鼠海马脑片 CA1 区顺向诱发 PS 幅度。海马神经元有着 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 离子, 对神经元进行体外培养, 发现培养初期的神经元存活和发

收稿日期: 2014-06-14

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目 (KJ2011A265)

作者简介: 李娜 (1990—), 女, 硕士研究生, 从事临床药理学研究。E-mail: lina_66@126.com

*通信作者 丁伯平 (1963—), 男, 教授, 硕士生导师。Tel: (0553)3932464 E-mail: dingbp588@sina.com

育依赖经电压依赖性钙通道流入的中低水平的 Ca^{2+} ；培养后期，电压依赖性钙通道和谷氨酸离子型受体 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (NMDA) 受体电流仍然增加，而细胞存活率明显降低，此时大量 Ca^{2+} 内流，产生兴奋性细胞毒性，被认为是继发于癫痫、创伤性损伤神经系统的主要原因^[7]。海马 CA1、CA3 区以谷氨酸 (Glu) 为递质进行兴奋性突触传递，在突触后致密体中，谷氨酸受体中 NMDA 受体和 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑丙酸 (AMPA) 受体一般共同存在，钩藤碱对 NMDA 受体位点的非选择性占据，竞争性的拮抗氯胺酮刺激 AMPA 位点，抑制氯胺酮引起的 AMPA 受体亚单位 GluR2/3 蛋白上调，下调 NMDA 受体亚单位 GluNR1 蛋白表达，有抗氯胺酮成瘾作用^[8-9]。谷氨酸与其离子型谷氨酸受体 (iGluR) 亚型海人藻酸受体结合，使胞内 Ca^{2+} 增加，引起痫性发作，而钩藤碱通过降低白细胞介素 1β (IL- 1β) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 表达^[10]，从而抑制中枢神经系统的突触传递和 Ca^{2+} 内流，发挥显著的抗癫痫活性。

1.2 对中枢去甲肾上腺素的抑制作用

随着静脉滴注钩藤碱剂量的增加，脊髓和脑干的去甲肾上腺素显著下降。离体培养时，发现钩藤碱不仅使下丘脑、杏仁核去甲肾上腺素自发性释放减少，同时也抑制高 K^+ 所致下丘脑、皮质及脑干去甲肾上腺素的释放^[11]。高 K^+ 去极化使 Ca^{2+} 回流从而增加单胺类递质释放，钩藤碱作为 Ca^{2+} 通道阻滞剂抑制该种释放。

1.3 脑缺血缺氧神经元保护作用

以钩藤碱培养缺血再灌注的大鼠星形胶质细胞，用 MTT 法检测细胞存活率、流式细胞仪检测细胞凋亡及坏死率，可以发现细胞存活率显著提高，凋亡率与坏死率显著降低，同时细胞乳酸脱氢酶 (LDH) 漏出率与一氧化氮 (NO) 量也显著降低，提示钩藤碱通过阻滞钙通道，进而抑制 NO 的产生，预防 NMDA、毒蕈碱 M_1 和 5-HT_2 受体介导的神经毒性^[12]，抑制神经递质释放，并降低脂质过氧化，提高超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性，对脑缺血损伤产生保护作用^[13-14]。

缺氧会使细胞膜对离子的通透性改变，导致细胞膜电位降低先于细胞内三磷酸腺苷 (ATP) 量的减少，出现 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流， K^+ 外流等一系列变化。经钩藤总碱预处理的急性缺氧大鼠海马神经元，细胞 Na^+ 电流降低幅度明显减轻，神经元缺氧耐受力

提高。低氧情况时，机体反射性的激活钾通道，引起细胞膜超极化和降低兴奋性，进而减少 Ca^{2+} 内流来防止细胞损伤。大鼠侧脑室注射钩藤碱后，观察到脑干多部位心血管中枢出现大量 Fos 样免疫反应 (FLI) 神经元，而 L 型钙通道开放剂可明显减弱钩藤碱的效应，同时钩藤碱随浓度增加，能更显著抑制低氧状态下皮层神经元 L 型钙通道的激活，缩短通道开放时间，延长关闭时间并降低开放频率，这些表明钩藤碱通过阻断神经元上钙通道，降低细胞内 Ca^{2+} 超载，产生神经元保护作用^[15-16]。

2 心血管系统

2.1 舒张血管、降低血压作用

钩藤碱阻滞 Ca^{2+} 通过细胞膜上的通道进入细胞，减少胞内 Ca^{2+} 浓度，松弛血管平滑肌，改变心肌或平滑肌兴奋-收缩偶联过程。钩藤碱的降压作用具有鲜明的特点：先降压，继而快速升压，然后持续下降。其降压机制一是抑制血管运动中枢，阻滞交感神经及神经节，降低内 Ca^{2+} 释放，抑制血管收缩，扩张血管，降低阻力；另一方面是调节大电导钙相关的钾通道 (BK_{Ca})。张丽心等^[17]用动脉插管法测得静脉注射钩藤碱 20 mg/kg 能降低大鼠血压 13%~24%，并且随着给药时间延长效果更加明显，张力测量系统记录到收缩的离体动脉血管环也变松弛，同时显著抑制了动脉环中的 Ca^{2+} 增加。对比去膜和不去膜的动脉条，并研究用无钙液和复钙液对去甲肾上腺素诱发的收缩动脉条，结果显示钩藤碱抑制细胞内贮存的 Ca^{2+} 释放，产生松弛血管作用^[18]。以膜片钳分离的人体肠系膜动脉的大电导钙相关的钾通道活性，高血压组显著高于非高血压组；而给予钩藤碱后，非高血压组活性明显升高，且均具有 Ca^{2+} 浓度相关性^[19]。钩藤碱对高钾去极化造成的猪冠状动脉收缩血管有舒张作用，降低大电导钙依赖的钾通道介导的自发性瞬时外向电流的频率和幅度，明显抑制大电导钙相关的钾通道，而钾通道阻滞剂却不能抑制钩藤碱的舒张血管作用^[20]。利用内面朝外式膜片记录大电导钙依赖的钾通道的变化，随着浓度的升高，通道开放频率显著增加，呈剂量相关性，造成 K^+ 外流增加，细胞兴奋性降低，同时也使 Ca^{2+} 内流，抑制细胞收缩^[21]。

2.2 抗心律失常作用

心律失常是心血管疾病中重要的一类疾病，因此掌握其发生机制和防治措施尤为关键。钩藤碱能提高豚鼠心肌兴奋性，延长功能性不应期，抑制心

肌细胞外 Ca^{2+} 经钙通道内流, 与维拉帕米治疗机制一致, 说明钩藤碱具有抗心律失常作用^[18]。

2.3 抗血小板聚集作用

多项实验表明异钩藤碱有抗血栓、抑制血小板聚集的作用, 而钩藤碱作为异钩藤碱同属科生物碱成分, 深一步研究也发现钩藤碱也具有此功能。谢笑龙等^[22]采用家兔血样, 加药后测定血小板聚集率和胞浆游离 Ca^{2+} 浓度, 观察到胞外有 Ca^{2+} 时, 钩藤碱呈浓度相关性地抑制腺苷二磷酸 (ADP) 与凝血酶引起的血小板 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高, 抑制外 Ca^{2+} 内流, 而在胞外无 Ca^{2+} 时, 对静息 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 无作用, 不影响内 Ca^{2+} 释放。

2.4 抑制血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大

血管紧张素 II (AngII) 可引起心肌细胞肥大, 导致心肌肥大。采用血管紧张素 II 为诱导剂, 分别加入钩藤碱 0、1、3、10 $\mu\text{mol/L}$, 可以测出钩藤碱能浓度相关性地降低细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加, 减少细胞表面积, 增加一氧化氮合酶 (NOS) 活性和内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) mRNA 表达, 促进 NO 释放, 降低蛋白质质量和心肌细胞钙调神经磷酸酶 (CaN) mRNA、细胞外信号调节激酶 2 (ERK2) mRNA 表达^[23]。研究显示, 心肌细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加是导致心肌肥大的最基本信号^[24], $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 增加可激活 CaN, 活化心肌肥大相关基因, 钩藤碱可能通过阻滞钙通道来发挥抗心肌肥大作用。

2.5 抑制 AngII 诱导的血管平滑肌细胞增殖与凋亡

钙作为细胞第二信使, 钙稳态失调不仅影响细胞增殖也影响细胞凋亡。采用 AngII 诱导血管平滑肌建立钙模型, 形成 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 超载模型, 增强 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 相关性蛋白酶活性, 造成细胞损伤和功能代谢障碍, 引起细胞过度增殖。经钩藤碱干预后, 血管平滑肌细胞的 NOS 活性增加, NO 的合成和释放被促进, 同时下调 c-myc、上调 NOS 和高血压相关基因-1 (rHRG-1) mRNA 的表达, 明显抑制细胞增殖^[25]。细胞凋亡基因中, 通常由 Bax 与 Bcl-2 的比例来调节, Bax 诱导凋亡, 而 Bcl-2 抑制凋亡。在凋亡模型中, 钩藤碱能上调 Bax 蛋白表达及其 mRNA 转录、下调 Bcl-2 蛋白表达及其 mRNA 转录, 降低细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 浓度, 诱导细胞凋亡^[26]。钩藤碱对血管平滑肌细胞的保护作用可能均与减少细胞 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 有关。

2.6 抑制颈动脉窦压力感受性反射作用

颈动脉窦一般称为压力感受器, 管壁外膜下存在丰富的感觉神经末梢, 在血压调节中起着重要的作用。刘宜先等^[27]对麻醉大鼠颈动脉窦采用隔离灌

流技术, 观察到钩藤碱呈浓度相关性抑制颈动脉窦压力感受性反射, 阈压、饱和压增大, 以窦内压为横坐标、平均动脉压为纵坐标得出的曲线的最大斜率和平均动脉压反射性下降幅度均减小。当牵拉血管壁时, 会激活压力感受器神经元上的牵张敏感性离子通道, 产生非选择性阳离子流^[28], 牵拉窦区时会增加 Ca^{2+} 内流^[29], 所以钩藤碱可以发挥钙拮抗作用抑制 Ca^{2+} 内流, 来调节压力感受反射。

3 其他

以甲基苯丙胺为主体的苯丙氨酸类兴奋剂滥用和依赖正在迅速蔓延, 严重危害人们的躯体和精神。实验发现, 当与钩藤碱合用时, 能降低甲基苯丙胺依赖大鼠的磷酸化环磷酸腺苷反应蛋白结合元件 (p-CREB) 和 p-Fos 基因表达^[30]; 改善苯丙胺引起的条件性位置偏爱大鼠的脑内神经递质异常变化^[31], 调整氨基酸类递质的量^[32], 降低大鼠脑内伏核和杏仁核 NMDA 受体 2B 亚单位 (NR2B) 蛋白的表达^[33], 显著抑制苯丙胺类的依赖作用。给予内毒素血症小鼠腹腔注射钩藤碱, 发现钩藤碱能降低心脏 I- κ B α 磷酸化, 抑制心脏功能障碍, 提高存活率^[34]。此外, 钩藤碱也可以拮抗非洲爪蟾卵母细胞的 NMDA 受体, 导致神经的抗惊厥活动^[35]。钩藤碱的抑制苯丙胺依赖、提高存活率、抗惊厥作用分别与其在上述中枢神经、心血管系统的作用有相关联系, 但其机制并未明了, 有可能是直接或间接影响 Ca^{2+} 。

4 结语

钩藤碱在心血管和中枢神经系统中表现出很好的生物活性, 可以发挥镇静、解痉、利尿等作用; 但目前对于钩藤碱的作用机制还有待于进一步深入研究。生物膜离子通道存在于所有细胞上, 生物膜对离子通透性与生命活动息息相关, Ca^{2+} 广泛存于机体中, 钩藤碱作用于钙离子通道, 同时也间接影响其他离子通道, 可以着重从钙拮抗和离子通道交叉影响方面研究, 尽力将钩藤碱的作用机制阐述清楚, 进而开发出高效低毒的新药, 推动中药的发展。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 240.
- [2] Jung J W, Ahn N Y, Oha H R, *et al*. Anxiolytic effects of the aqueous extract of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108(2): 193-197.
- [3] Shin S C, Lee D U. Ameliorating effect of new constituents from the hooks of *Uncaria rhynchophylla* on scopolamine-induced memory impairment [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(4): 391-395.
- [4] 叶 齐, 齐荔红. 钩藤的主要成分及生物活性研究进

- 展 [J]. 西北药学杂志, 2012, 27(5): 508-510.
- [5] 黄 华, 丁伯平. 钩藤生物碱对中枢神经系统的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(5): 806-810.
- [6] 徐淑梅, 何津岩, 林来祥, 等. 钩藤对致痫大鼠海马脑片诱发场电位的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2001, 17(3): 259-261.
- [7] 杨 胜, 刘振伟, 万 勤, 等. 大鼠海马神经元膜离子通道随培养时间变化的特点 [J]. 中国应用生理学杂志, 2004, 20(2): 151-155.
- [8] 陈 晋. 氯胺酮成瘾机制及钩藤碱的干预作用 [D]. 广州: 南方医科大学, 2009.
- [9] Zhou J Y, Chen J, Zhou S W, *et al.* Individual and combined effects of rhynchophylline and ketamine on proliferation, NMDAR1 and GluA2/3 protein expression in PC12 cells [J]. *Fitoterapia*, 2013, 85: 125-129.
- [10] Ho T Y, Tang N Y, Hsiang C Y, *et al.* Uncaria rhynchophylla and rhynchophylline improved kainic acid-induced epileptic seizures via 1L-1 β and brain-derived neurotrophic factor [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(6): 893-900.
- [11] 石京山, 谢笑龙, 黄 彬, 等. 钩藤碱对大鼠脑内去甲肾上腺素含量及释放的影响 [J]. 遵义医学院学报, 1994, 17(2): 99-101.
- [12] Kang T H, Murakami Y, Takayama H, *et al.* Protective effect of rhynchophylline and isorhynchophylline on invitro ischemia-induced neuronal damage in the hippocampus: putative neurotransmitter receptors involved in their action [J]. *Life Sci*, 2004, 76(3): 331-343.
- [13] 高丽娜, 宋 宇, 徐 薇, 等. 钩藤碱对缺血再灌注诱导大鼠星形胶质细胞损伤的作用 [J]. 药学与临床研究, 2009, 17(1): 1-4.
- [14] 吴二兵, 孙安盛, 吴 芹, 等. 钩藤碱对脑缺血/再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(11): 833-835.
- [15] 刘宜先, 马慧娟, 马会杰, 等. 侧脑室注射钩藤碱增加大鼠心血管相关核团中 c-fos 的表达 [J]. 河北医药, 2009, 31(11): 1283-1284.
- [16] 开 丽, 王中峰, 肖家思, 等. 钩藤碱对大鼠大脑皮层神经元 L-型钙通道的阻滞作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1997, 11(3): 186-189.
- [17] 张丽心, 孙 涛, 曹永孝. 钩藤碱的降压及舒张血管作用 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26(5): 39-41.
- [18] 王 群, 李江疆. 钩藤碱对心血管系统部分药理作用研究 [J]. 宁夏医学杂志, 1998, 20(5): 289-291.
- [19] 刘书宏, 曾晓荣, 尹 雷. 钩藤碱对人体肠系膜动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道的影响 [J]. 四川生理科学杂志, 2007, 29(3): 97-99.
- [20] 李鹏云, 杨 艳, 程 俊, 等. 钩藤碱对猪冠状动脉平滑肌舒缩作用的影响及其机制 [J]. 重庆医学, 2012, 41(16): 1561-1566.
- [21] 开 丽, 王中峰. 钩藤碱对大鼠肺动脉平滑肌细胞钙激活钾通道的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1999, 13(1): 33-36.
- [22] 谢笑龙, 龚其海, 陆远富, 等. 钩藤碱对家兔血小板聚集及胞浆游离钙离子浓度的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2011, 25(1): 68-71.
- [23] 何 娜, 孙安盛, 吴 芹, 等. 钩藤碱对血管紧张素 II 诱导的心肌细胞肥大的抑制作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(4): 255-260.
- [24] Jeong D, Kim J M, Cha H, *et al.* PICOT attenuates cardiac hypertrophy by disrupting calcineurin-NFAT signaling [J]. *Circ Res*, 2008, 102(6): 711-719.
- [25] 李艳菊, 孙安盛, 余丽梅, 等. 钩藤碱对 AngII 诱导大鼠血管平滑肌细胞增殖的抑制作用 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(21): 1621-1624.
- [26] 李运伦. 钩藤碱和异钩藤碱对血管紧张素 II 致血管平滑肌细胞凋亡的影响及其机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(9): 681-684.
- [27] 刘宜先, 马慧娟, 高 璐, 等. 钩藤碱抑制麻醉大鼠颈动脉窦压力感受性反射的研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(11): 763-767.
- [28] Cunningham J T, Wachtel R E, Abboud F M. Mechanical stimulation of neurons generates an inward current in putative aortic baroreceptor neurons *in vitro* [J]. *Brain Res*, 1997, 757(1): 149-154.
- [29] Chapleau M W, Hajduczuk G, Sharma R V, *et al.* Mechanisms of baroreceptor activation [J]. *Clin Exp Hypertens*, 1995; 17(1): 1-13.
- [30] Liu W, Peng Q X, Lin X L, *et al.* Effect of rhynchophylline on the expression of p-CREB and sc-Fos in triatum and hippocampal CA₁ area of methamphetamine-induced conditioned place preference rats [J]. *Fitoterapia*, 2014, 92: 16-22.
- [31] Zhou J Y, Mo Z X, Zhou S W. Effect of rhynchophylline on central neurotransmitter levels in amphetamine-induced conditioned place preference rat brain [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 844-848.
- [32] 周吉银, 莫志贤. 钩藤碱对苯丙胺依赖大鼠脑内氨基酸类神经递质含量的影响 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2007, 16(2): 95-98.
- [33] 周吉银, 莫志贤. 钩藤碱对苯丙胺依赖大鼠神经核团中 NR2B mRNA 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(9): 1141-1145.
- [34] Cao W, Wang Y, Lv X, *et al.* Rhynchophylline prevents cardiac dysfunction and improves survival in lipopolysaccharide-challenged mice via suppressing macrophage I- κ B α phosphorylation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2012, 14(3): 243-251.
- [35] Kang T H, Murakami Y, Matsumoto K, *et al.* Rhynchophylline and isorhynchophylline inhibit NMDA receptors expressed in *Xenopus* oocytes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 455(1): 27-34.