

# 抗帕金森氏病新药 BY-701 对记忆的影响

## ——记忆行为、神经介质及脑皮层电活动的研究

中国人民解放军总医院神经介质实验室

匡培根 戴富林 张凤英

中国科学院心理研究所生理心理专业组

匡培梓 陈双双

BY-701 为 Piperidine 衍生物,系一种新型抗帕金森氏病药物,有抗胆碱能作用,并可增强中脑多巴胺能系统的功能<sup>(1,2)</sup>,在服用该药后,对改善帕金森氏病的主要症状,诸如震颤、肌僵直及少动等均有较好疗效,但部分患者在长期服用该药后,出现记忆减退,此系疾病本身发展所致,抑或服用 BY-701 引起,很难从临床观察研究中获得确切的回答,由于在该病早期,一般不系统服药,在中、晚期为了获得较满意的疗效常合并用药,致使在临床上不易设立对照组。我们用动物实验的方法,观察了不同剂量的 BY-701 对新近形成尚未巩固的记忆的影响,和同一剂量的 BY-701 对不同巩固程度的记忆的影响,同时我们还对注射 BY-701 后不同时间大鼠大脑皮层、海马和尾核乙酰胆碱(Ach)含量进行了测定,还观察了 BY-701 对家兔脑皮层及海马电活动(ECOG)的影响。

### 一、BY-701 对大鼠记忆的影响

#### 材料和方法

我们使用的记忆行为实验装置和实验方法与本室以前所报道的相似<sup>(3)</sup>。以灯光回避条件反射作为学习内容,将三天预备性训练合格的大鼠 61 只,随机分成六组,其中第 1、2 及 3 组在第三天训练合格后,即刻腹腔内注射 BY-701,剂量分别为每公斤体重 5mg、10

mg 和 20mg,用以观察不同剂量 BY-701 对新近形成的尚未得到巩固的记忆的影响;第 4 组为上述三组的对照组,以同样方法注射等容积生理盐水;第 5 及第 6 组在三天训练结束后,继续追加训练三天,使初步形成的回避条件反射得到巩固,待第六天训练结束后,第 5 组即刻腹腔内注射 BY-701,剂量为 10 mg/公斤,第 6 组为巩固记忆对照组,注射等容积生理盐水,用以观察 BY-701 对较为巩固记忆的影响。

以上各组大鼠均在注射后 1 小时及第 1、2、3、4、5、6 及 7 日进行记忆检查,方法与训练时相同。记忆检查的成绩用下列四项观察指标:条件性回避反应(CAR)出现率、平均反应时,CAR 出现率达到 90% 所需训练次数和连续出现 CAR 的能力(用连续出现 CAR 的次数表示)。

#### 结 果

(一)不同剂量 BY-701 对新近形成尚未得到巩固的记忆的影响

BY-701 对 CAR 出现率和平均反应时的影响:(见表 1 和表 2)注射不同剂量 BY-701 后 1 小时检查各药物组(第 1、2、3 组)的平均反应时均开始延长,其中第三组与对照组之间的差异具有显著性;同时 CAR 出现率下降,除第一组外,第 2 组及第 3 组与对照组

表1 不同剂量的BY-701对平均反应时的影响

注射后时间 (天)	平均反应时[平均值±标准误(秒)]			
	第1组(5mg/公斤)	第2组(10mg/公斤)	第3组(20mg/公斤)	第4组(对照组)
1小时	3.28±0.25	3.69±0.37	4.72±0.22***	2.83±0.33
1	3.71±0.28*	4.17±0.35*	5.00±0.27**	2.88±0.26
2	3.43±0.25	4.67±0.16***	5.10±0.27***	3.12±0.09
3	3.01±0.17	5.27±0.37***	5.12±0.31**	3.23±0.19
4	3.03±0.13	4.80±0.43**	4.19±0.18**	2.95±0.29
5	2.85±0.15	3.83±0.25*	4.38±0.19***	2.95±0.29
6	2.85±0.18	3.17±0.28	3.48±0.17*	2.89±0.17
7	3.09±0.13	3.09±0.30	3.00±0.13	3.13±0.29

注: 与对照组比较\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

表2 不同剂量的BY-701对CAR出现率的影响

注射后时间 (天)	CAR出现率[平均值±标准误(%)]			
	第一组(5mg/公斤)	第2组(10mg/公斤)	第3组(20mg/公斤)	第4组(对照组)
1小时	83.00±4.48	72.00±6.46*	49.09±6.53***	87.78±3.24
1	71.00±7.06	61.00±5.26***	43.64±7.78***	85.56±1.76
2	81.00±5.26	50.00±5.16***	53.64±6.91***	85.56±2.42
3	86.00±1.63	35.00±6.19***	50.91±5.13***	84.44±2.42
4	90.00±2.11	52.00±6.46***	64.55±5.11**	88.89±3.51
5	87.00±1.53	70.00±2.98***	67.27±4.86***	91.11±2.61
6	92.00±1.33	86.00±4.00	81.82±4.64	91.11±2.00
7	92.00±1.33	87.00±3.00	92.73±2.73	86.67±2.36

注: 与对照组比较\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001

间的差异均具有显著性。以后各记忆检查日的结果表明, 各组CAR出现率降低, 平均反应时延长, 第1组在注射后第2日起, 第2组在注射后第6日起, 而第3组直至注射后第7日起才恢复到对照组的水平。若将第2组和第3组各记忆检查日的成绩各自做F检验, 差异均具有显著或极显著意义。

CAR出现率达到90%所需训练次数: 注射不同剂量BY-701后, 第2组和第3组的CAR出现率达到90%所需要训练次数(分别需50次和70次)均较对照组(13次)显著或极显著增加, 而第1组(26次)与对照组间的差异无显著意义。

CAR连续出现的能力: 注射BY-701后,

动物连续出现CAR的能力受到损害, 尤以注射后第3日为明显, 该测试日, 第2组和第3组的21只大鼠, 仅有1只能连续出现CAR 5次以上, 而对照组的动物全部能连续出现CAR 5次以上, 若将第2组、第3组分别与对照组相比,  $\chi^2$ 值分别为15.202和12.926, P值均<0.001。第1组与对照组之间无显著性差异。

(二)BY-701对较为巩固的记忆的影响

第5组在注射BY-701后, 其各记忆检查日的平均反应时与第6组比较, 仅在注射后第1日两组间的差异显著( $t=2.609$ ,  $P<0.05$ ); CAR出现率两组间在各记忆检查日差异均不显著。第5组各阶段间的平均反应

时及CAR出现率各自做F测验, F值分别为0.670及0.495, P均>0.05, 差异均无显著性。

CAR出现率达到90%所需训练次数: 第5组平均需训练18次, 第6组14次, 两组差异不显著( $t=0.949$ ,  $P>0.05$ )。

CAR连续出现的能力: 第5组仅在注射药物后第1日, 11只大鼠中有4只, CAR不能连续出现5次以上, 与第6组比较, 其差异极显著( $\chi^2=10.818$ ,  $P<0.01$ ), 其余各阶段两组间差异均不显著。

二、BY-701对家兔脑皮层及海马电活动的影响

### 材料和方法

选用家兔13只, 雄性, 体重2~3公斤, 随机分为两组: 药物组7只, 对照组6只。实验组静注BY-701, 剂量为2.5mg/kg, 对照组给予等容积生理盐水。实验前6日, 将四枚电极分别植入动物的双侧海马背部、电极参照布瑞希氏家兔脑图谱定点<sup>[4]</sup>: AP4, P(L)3.5, H5.5, AP4, R(L)4.5, H5.0。另四枚分别植入皮层体感区和枕区。

脑电图描记系采用日本4113型脑电图仪, 进行脑皮层电图(ECoG)描记, 同时, 用MAF-7型自动频率分析仪, 对左海马和左体感区电活动作频率区段积分谱描记。

实验程序: 给予药物前描记自发电位和

诱发反应五分钟以上, 描记后立即静注BY-701或生理盐水。给药后1、48小时, 3、5及7天按上述程序重复ECoG描记。并在给药1、24小时后, 分别观察家兔对纯音(250Hz, 85.5db)和触压(250g)刺激的皮层惊觉反应, 并分别测试其ECoG的惊觉反应率, 每回实验测试20次, 刺激呈现4秒。

### 结 果

BY-701对家兔皮层、海马自发电位的影响, 根据ECoG以及自动频率分析仪分析, 家兔在正常状态下, 其皮层电位之 $\delta/\theta$ 比值以接近1, 海马电图之 $\delta/\theta$ 比值以<1.0为其特点, 静注BY-701 1小时后, 不论皮层或海马, 均表现为 $\delta$ 波增加及 $\theta$ 波减少, 以及皮层节律同化减弱。皮层 $\delta/\theta$ 比值由0.94, 上升为1.45, 即 $\delta$ 波之百分率大大超过 $\theta$ 波, 而呈 $\delta$ 波占优势。这种皮层电活动的 $\delta/\theta$ 比值, 由给药前接近1, 变为大于1, 不仅在给药后1小时可以见到; 而且在给药后第7日, 仍然可以看到, 虽仅给药后1小时与给药前比较, 差异达显著性(见表3)。对照组在注射生理盐水前后,  $\delta/\theta$ 比值无显著性改变。

家兔对新异刺激的ECoG惊觉反应: 海马电活动呈现为有规则的 $\theta$ 波; 在皮层体感区和枕区或表现为低振幅快波, 或表现为有规则的低振幅 $\theta$ 波。给药后, 家兔对新异刺

表3 BY-701对家兔皮层、海马自发电位 $\delta/\theta$ 比值的影响

	药 物 组		对 照 组	
	皮 层	海 马	皮 层	海 马
注 射 前	0.94±0.10	0.71±0.08	1.19±0.34	0.85±0.20
注 射 后				
1 小 时	1.45±0.12*	0.94±0.07	1.08±0.49	0.89±0.15
24 小 时	1.08±0.08	0.94±0.13	1.35±0.28	0.82±0.26
3 天	1.22±0.11	1.00±0.05	1.08±0.31	0.83±0.28
5 天	1.18±0.10	0.81±0.05		
7 天	1.22±0.16	0.91±0.05		

与注射前比较\* $P<0.05$

激的 ECoG 惊觉反应出现率明显下降, 尤其在给药 1 小时后, 对纯音 ECoG 惊觉反应出现率仅 22.1% ( $\pm 4.3\%$ ), 对照组为 74.2% ( $\pm 10.6\%$ ), 两组间之差异极显著 ( $P < 0.01$ ); 在给药后 24 小时, 对触压刺激的惊觉反应出现率为 45% ( $\pm 5.5\%$ ), 与对照组 83.3% ( $\pm 6.0\%$ ) 比较, 差异也极显著 ( $P < 0.01$ )。

三、BY-701 对大鼠大脑皮层、海马和尾核 Ach 含量的影响

### 材料和方法

选用雄性大白鼠 30 只, 体重 200~300 克, 随机分为实验组 20 只及对照组 10 只, 实验组均腹腔注射 BY-701, 剂量为 10mg/公斤, 对照组注射等容积生理盐水。实验组分为 A 组及 B 组, 分别在注射药物后 1 小时及 72 小时, 对照组在注射生理盐水后 1 小时快速断头取脑, 并分别取出大白鼠的大脑皮层、海马和尾核, 称重, 加入毒扁豆碱洛氏液, 匀浆, 离心后取上清液待测。脑组织中 Ach 含量, 用生物测定法在水蛭背腹肌上进行<sup>[5]</sup>。

### 结 果

注射 BY-701 后各脑区 Ach 含量的变化: 在注射 BY-701 后 1 小时, 海马、大脑皮层及尾核的 Ach 含量分别为  $2.44 \pm 0.29$ 、 $2.67 \pm 0.35$  和  $1.40 \pm 0.31$  (平均值  $\pm$  标准误  $\mu\text{g/g}$ , 下同), 而对照组分别为  $11.95 \pm 0.74$ 、 $10.41 \pm 0.63$  和  $3.56 \pm 0.44$ , 两组比较, 实验 A 组各区脑组织 Ach 含量均显著或极显著下降。实验 B 组 (注射后 72 小时处死者) 上述各区脑组织 Ach 含量分别为  $6.58 \pm 0.52$ 、 $7.21 \pm 0.84$  和  $2.23 \pm 0.35$ , 仍然显著或极显著低于对照组。

### 讨 论

(一) 不同剂量 BY-701 对大鼠新近形成尚未巩固的记忆的影响

从实验结果来看, 不同剂量的 BY-701 对大鼠新近形成尚未巩固的记忆影响是不同的。5mg/公斤组仅在注射后第 1 日平均反应时延长, 且与对照组间有显著性差异, 其他各记忆检查日各项观察指标与对照组间的差异均不显著, 这说明该剂量 BY-701 对大鼠的这种记忆无明显影响, 当剂量增加到 10mg/公斤或 20mg/公斤时, 在注射后 1 小时和第 1~5 日, 用以检查记忆成绩的四项指标比对照组差, 两个剂量组分别在用药后第 6 日或第 7 日各项指标才恢复到对照组的水平, 这提示, BY-701 损害大鼠的记忆是与剂量有关的, 即在一定的剂量范围内 (5mg/公斤以下), BY-701 对记忆没有明显的损害, 但若超越了这个范围, BY-701 就会对新近形成尚未得到巩固的记忆发生损害作用。所以我们认为, 临床上用 BY-701 治疗帕金森氏病时, 应适当掌握剂量, 避免不必要的增大剂量可能带来的记忆障碍副作用。

#### (二) BY-701 对较为巩固记忆的影响

从第 5 组和第 6 组的实验结果分析, 检查记忆成绩的四项指标中, 药物组仅在注射后第 1 日平均反应时及 CAR 连续出现的能力比对照组差, 其他各记忆检查日的各项观察指标与对照组间无显著性差异。这说明, 对大鼠新近形成尚未巩固的记忆有显著损害作用的剂量 (10mg/公斤) 对较为巩固的记忆之影响并不明显, 提示 BY-701 影响记忆, 主要是干扰了记忆的巩固阶段, 使动物新近获得的条件性回避反应不能正常地保持。

#### (三) BY-701 对各脑区 Ach 含量的影响

Ach 生物测定的结果表明, BY-701 使大鼠大脑皮层、海马和尾核的 Ach 含量明显下降, 即使在注射后 72 小时, 上述各区的 Ach 含量仍然显著低于对照组, 提示在注射 BY-701 后, 脑内胆碱能系统的活性是降低的。

据有关资料介绍, BY-701 有抗胆碱能作用, 中枢胆碱能系统与记忆的关系是众所周知的, 本实验结果说明, 抗胆碱能药物影响

记忆可能是通过降低脑内尤其是海马的 Ach 含量, 致使胆碱能系统活性下降而引起的。根据 Deutsch 的“记忆突触”学说<sup>[6]</sup>, 胆碱能突触在学习和记忆过程中, 突触间隙的 Ach 量必须达到一定的临界水平, 才能引起突触后神经元兴奋, BY-701 使 Ach 含量下降, 使突触间隙的 Ach 含量低于兴奋阈值阻断了正常的突触传递功能, 妨碍了学习和记忆。又从本实验来看, 一定剂量的 BY-701 对新近形成尚未得到巩固的记忆的影响可达 5 日之久, 因之在应用 BY-701 治疗帕金森氏病时, 若患者出现记忆障碍, 除考虑疾病本身的发展之外, 药物的副作用也是不能忽视的。另外实验结果提示我们, 药物的这种副作用与剂量有关, 因之在治疗过程中应该力求用最小的剂量达到治疗的目的。

#### 四、BY-701 对脑皮层及海马电活动的影响

本实验经 ECoG 及自动频率分析所得的结果表明, 给予 BY-701 后, 无论在皮层或海马均表现  $\delta$  波增加,  $\theta$  波减少及皮层节律同化减弱, 这结果与以往我们应用抗胆碱能药物樟柳碱所得的结果相一致, 提示给予 BY-701 后皮层兴奋性和灵活性降低<sup>[7,8]</sup>。我们曾观察到, 电刺激海马背部, 有抑制主动性行为及空间辨别的作用, 使尝试错误增多<sup>[9]</sup>, 电损毁双侧海马可削弱 ECoG 探究反应<sup>[10]</sup>, 提示保持海马结构的完整性, 对维持皮层一定水平的机能状态, 以实现探究反应是必要的。在本工作中, 给予药物 BY-701 后, 同样可观察到皮层对新异刺激的惊觉反应减弱。由于探究反应是人和动物对周围环境中, 所发生的新异刺激的整体性反应, 它作为初级认识活动之一, 积极参与了机体认识活动之发展以及适应行为模式之建立。因之, BY-701 降低皮层兴奋性和灵活性以及削弱探究反应, 可能为其影响动物记忆功能之机制之一。

从本文 BY-701 对动物记忆行为、神经介

质以及电生理、诸方面的影响综合来观察, 尤其一定剂量的 BY-701 对新近形成尚未得到巩固的记忆的影响, 可长达 5 日之久。因之, 在应用 BY-701 治疗帕金森氏病时, 若患者出现记忆障碍, 除考虑疾病本身的发展之外, 亦不能忽视药物的副作用。此外, BY-701 的剂量不宜过大, 应该力求以最小的剂量达到治疗的目的。

#### 参 考 文 献

- [1] Menpe HG: Basic information on the pharmacology of a new antiparkinsonian drug Budipin 1978(内部资料)。
- [2] 匡培根、戴富林、周新富、徐波、李永昌: BY-701 对脑组织单胺类介质含量的影响, 生理心理学第二届学术讨论会论文集。44~46 页, 中国心理学生理心理专业委员会, 1982。
- [3] 匡培根等: 抗帕金森氏病新药 BY-701 和樟柳碱对大鼠学习和记忆影响的初步观察。第一届全军神经内科学术会议资料选编, 37~41 页, 全军神经内科专业学术会议, 1981。
- [4] 布瑞希·丁等: 电生理学方法, 355~356 页, 上海科学技术出版社, 1963。
- [5] 匡培根等: 电针对穴位(肌肉)灌流液乙酰胆碱含量的影响, 中华神经精神科杂志 11:101, 1978。
- [6] Deutsch JA: The cholinergic synapse and the site of memory, Science 174: 788, 1971。
- [7] 匡培梓、陈双双: 樟柳碱对家兔脑皮层及海马电活动的影响, 心理学报, (待发表)
- [8] Kuang Peigen, Kuang Peizi, et al: Effect of anisodine on memory, J Trad Chinese Med 2:277~284, 1982。
- [9] 邵道生、匡培梓: 电刺激海马背部对建立空间辨别回避条件反射的影响, 心理学报 13(3):353~357, 1981。
- [10] 刘善循、匡培梓: 电损毁海马对大白鼠短时记忆的影响, 生理心理学术会议论文集 34~36 页, 中国心理学生理心理专业委员会, 1981。

## EFFECTS OF BY-701 ON MEMORY

Kuang Peigen, Dai Fulin, et al

(Abstract)

BY-701 is an undescribed piperidine derivative, substituted by two phenyl groups in position 4. Its chemical name is L-tertiary butyl-4,4-diphenylpiperidine-hydrochloride. BY-701 has anticholinergic property. The influences of BY-701 on memory behavior hippocampal electrical activity and acetylcholine content in animals were studied. The evaluation of memory deficits was based on the following: (1)percentage of conditioned passive avoidance reaction(CAR), (2)mean response time, (3)mean ability to perform correctly 5 successive times in 10 trials, (4)mean number of trials to correctly to perform trials. It was found that BY-701 influences unconsolidated memory(a three day training period) more than consolidated memory (a 6 day training period). It was also observed that the mnemoria effect of BY-701 was associated with ECoG changes and cholinergic reduced in hippocampus. These findings suggested that the chronic administration of BY-701 raises the possibility of impairing the ability of patients with Parkinson's disease, particularly elderly ones, to learn new materials and to store or acquire new information into long-term memory.