

石杉碱甲对动物行为和脑 皮层电图的影响^{*1)}

管林初 陈双双 崔秋耕

中国科学院心理研究所

陆维华 唐希灿

中国科学院上海药物研究所

摘 要

石杉碱甲是我国首先从石杉科植物中提取出的一种新生物碱。它是胆碱酯酶抑制剂,它的作用和毒扁豆碱相似,但其毒性较小。本文观察了石杉碱甲对大鼠暗回避反应和家兔脑皮层电图的影响。其主要结果如下:

1 石杉碱甲可对抗东莨菪碱所致的记忆障碍,主要表现为石杉碱甲可使动物进入暗箱的潜伏期延长,并使暗回避反应的错误次数明显减少。

2. 石杉碱甲能使家兔皮层区的脑电波均持续出现低振幅快波,并使海马区出现持续的且有规则的 θ 节律。脑皮层电图的结果表明,石杉碱甲和东莨菪碱相互不但有颞颥作用,而且,进一步证实了石杉碱甲对东莨菪碱的颞颥主要是通过中枢作用来调制的。

近 20 多年来,有关胆碱能药物以及中枢胆碱能神经和递质系统对学习和记忆的影响已引起国内外神经科学界的广泛关注。现在,人们已知胆碱能药物参与调节动物和人的学习与记忆过程。一般认为,乙酰胆碱(ACh)和乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂,如毒扁豆碱可以促进或改善动物和人的学习和记忆能力。临床研究表明,老年性痴呆病人的记忆功能失调,其中部分原因是由于胆碱能神经元退行性变化的结果^[1,2]。

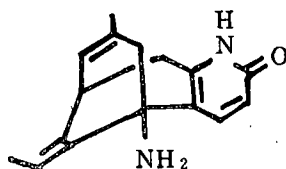
石杉碱甲(Huperzine A, Hup-A)是由我国植物化学家近年来首先从石杉科石杉属植物千层塔[Huperzia Serrata(Thunb)Trev]中分离得到的新生物碱^[3]。在浙江民间常用千层塔除湿解毒,散瘀消肿。实验证明,石杉碱甲是一种高效的胆碱酯酶抑制剂,它能选择性地抑制乙酰胆碱酯酶。并且,它的抑制作用强于毒扁豆碱,而毒性则低于毒扁豆碱^[4]。为此,它一问世,就立即受到国际神经药理学家和心理药物学家的青睐。其化学结构式如下。

最近的一些研究表明,石杉碱甲对动物的明暗和方位辨别学习、记忆的保持与再现过程有明显的促进作用,并能使伴有记忆障碍的实验动物的学习和记忆能力得以改善^[5-7]。

* 中国科学院中青年择优基金资助项目。

本文的部分内容曾在第 24 届国际心理学会议(悉尼, 1988 年 8 月)上宣读。

1) 本文于 1990 年 6 月 20 日收到。



石杉碱甲

此外,临床观察还表明,石杉碱甲对老年人的生理性记忆功能减退也有明显的增强记忆作用^[8]。但是,以往的实验研究,只偏重于研究石杉碱甲对动物行为的影响,而没有进一步探讨石杉碱甲促进学习和记忆的神经生物学机制。本文观察石杉碱甲及其和有关药物的颞颥作用,综合评价石杉碱甲对动物行为和皮层电活动的影响,并且,对石杉碱甲之所以能促进学习和记忆的神经生物学机制进行探讨和分析。

实验方法

本实验分两部分进行:

1. 选用 Wistar 大鼠,雄性,体重为 200 ± 20 克,由中国医学科学院实验动物中心提供。待动物在实验室饲养数天后,将动物随机分为东莨菪碱(Scopolamine)组、石杉碱甲 + 东莨菪碱组和对照组。本实验的给药方案如下:

(1) 东莨菪碱组: 训练前半小时注射等容积生理盐水,训练前 10 分钟注射东莨菪碱(3 毫克/公斤);

(2) 石杉碱甲 + 东莨菪碱组: 训练前半小时注射石杉碱甲(0.5 毫克/公斤),训练前 10 分钟注射东莨菪碱(3 毫克/公斤);

(3) 对照组: 训练前半小时注射等容积生理盐水,训练前 10 分钟再次注射等容积生理盐水。

实验是在步入(Step-through)实验装置中进行。该装置由两部分组成。一为训练箱,它有深灰色有机玻璃板组成,长宽高分别为 $30 \times 30 \times 30$ 厘米。在箱体的底部铺以间隔 1.3 厘米的铜栅。在箱体的正前方底部有一个 6×6 厘米的门洞,沿此洞的下方向箱体外延伸出一条长 20 厘米宽 6 厘米的长板。实验时,在这条板的上方设置一白炽灯(60 瓦)形成亮区,箱体的内部则为暗区。步入实验装置的另一部分为 SMI—1 型动物试验仪,可自动调节并控制箱体内刺激动物的电流强度和作用时间。

实验时将动物背向门洞放置于箱体外的长板上,记录自将动物放上到动物步入暗箱的时间作为潜伏期。如动物的潜伏期大于 30 秒,将该动物弃用。动物一旦进入暗箱立即给以电击(0.3—0.4 毫安),电击 3 分钟。此时,动物可以自由出入门洞。动物如能逃离暗箱回到长板上就能回避电击。记录每只动物进出暗箱的次数作结果分析的参考。电击结束,将动物放回饲养笼。24 小时后,再次将动物背向门洞放置于长板上,观察并记录动物步入暗箱的潜伏期和进箱的错误次数。将动物坚持不进暗箱并在长板上停留的时间大于 300 秒钟作为记忆保持良好的指标。

2. 选用优良的新西兰家兔, 雄性, 体重为 2.0—2.5 公斤, 由中国医学科学院实验动物中心供应。实验前在麻醉条件下进行埋藏电极手术。手术时, 用脑定位仪固定动物的头部, 按 Sawyer 等人的脑图谱定位。将 2 枚电极分别植入左右两侧海马背部 (AP4, R(L) 3.5, H5.0—5.5), 而另外 4 枚电极分别安置在大脑皮层的额区和枕区。电极插入后用牙托粉固定。术后一周进行脑皮层电图描记。

将家兔随机分成 5 个实验组, 每组 4—5 只, 对照观察石杉碱甲、毒扁豆碱和东莨菪碱对脑皮层电图的作用。

本实验所应用的药品和制剂均由中国科学院上海药物所和中国医学科学院药物研究所提供。

实验时, 由 13 导程 4113 型脑电仪进行描记, 用单极法导出, 参考电极设置在头颈部, 由双耳接地。以 RMG-5204 型磁带记录仪同时记录给药前后的脑电信号变化, 以便对脑电信号进行自功率谱分析。并用 MAF-7 型自动频率分析仪对脑皮层区和海马区给药前后的电活动变化进行频率区段积分描记, 以此作为分析脑皮层电频率变化的参考。

脑皮层电图的描记程序如下: 先描记清醒和安静状态下动物的正常脑皮层电图 5—10 分钟, 再分别描记给药后 10 分钟、15 分钟、30 分钟和 1 小时的脑皮层电图变化。

实验结束后, 将海马电极通以直流电 (1—3 毫安, 10—20 秒钟), 并立即取脑, 将脑标本浸入含有 1% 亚铁氰化钾的 10% 甲醛溶液中固定。数天后对电极的位置作组织学鉴定。

磁带记录的六个导程脑电活动信号经 AD 模数转换器, 将信号输入 IBM-PC 型微机, 用本实验室自编的脑生物电信号处理系统分别计算六个导程的功率谱。其结果已另文总结^[9]。

实 验 结 果

1. 东莨菪碱、石杉碱甲—东莨菪碱的颞颥作用对大鼠避暗反应的影响。

东莨菪碱 (3 毫克/公斤) 可使动物进入暗箱的潜伏期明显缩短, 而动物的错误反应次数则明显增加。但是, 石杉碱甲 (0.5 毫克/公斤) 对东莨菪碱 (3 毫克/公斤) 有明显的颞颥作用。在石杉碱甲的作用下, 可使动物步入暗箱的潜伏期明显地延长, 并使动物的错误反应次数明显地减少 (表 1)。不过, 各组正确反应动物 (在实验箱长板上站立超过 300 秒

表 1 东莨菪碱、石杉碱甲—东莨菪碱的颞颥作用对大鼠避暗行为的影响

组 别	动 物 数 (只)	训练后 24 小时动物的行为反应 (M±SD)	
		潜 伏 期 (秒)	错 误 次 数 (次)
东莨菪碱组 (3毫克/公斤)	12	△7.33±3.12*	△3.00±2.10*
石杉碱甲+东莨菪碱组 (0.5毫克/公斤)(3毫克/公斤)	11	△△16.09±11.20*	△△1.67±0.49*
对 照 组	10	12.65±6.19	1.20±0.42

△: 与对照组比较, *P<0.05

△△: 与东莨菪碱比较, *P<0.05

者)所占的百分数,未见有明显的差异。

2. 毒扁豆碱和石杉碱甲对家兔脑皮层电图的影响

在安静状态下 22 只家兔脑皮层区的电活动很类似,通常是在 4—7 次/秒的 θ 节律的背景上出现其它较慢或较快的波;而海马区的电活动是以不规则的 θ 节律为主(图 1-A)。当静脉注射毒扁豆碱以后,皮层区的脑电波全部持续出现低振幅快波;而在海马区则持续出现有规则的 θ 节律(图 1-B)。

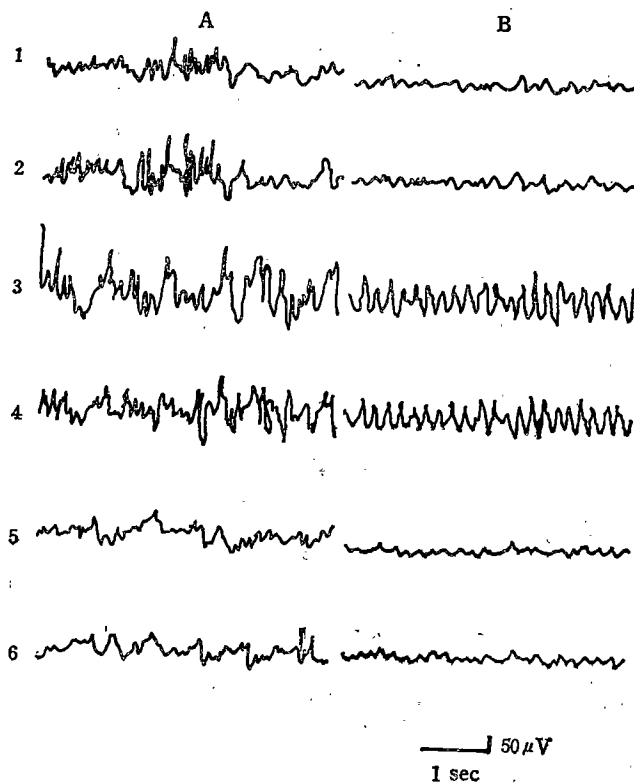


图 1 静脉注射毒扁豆碱(0.1毫克/公斤)对家兔(No.8)脑皮层电图的影响
A.给药前; B.给药后 5 分钟
1.左额区; 2.右额区; 3.左海马区; 4.右海马区; 5.左枕区; 6.右枕区

石杉碱甲所引起的家兔脑皮层电图的变化和毒扁豆碱对家兔脑皮层电图的影响是很相似的(图 2)。

3. 毒扁豆碱和石杉碱甲对东莨菪碱的颞颥作用对家兔脑皮层电图的影响。

东莨菪碱(0.3毫克/公斤)能使家兔脑全皮层引起高振幅慢波。一般来说,振幅可从给药前的 50—100 微伏增加到 100—400 微伏。毒扁豆碱和石杉碱甲均能颞颥东莨菪碱的药理作用。其结果可使高振幅慢波逆转。此时,在皮层区便出现低振幅快波,而在海马区则出现有规则的 θ 波(图 3、4)。

同样,东莨菪碱也能颞颥或逆转毒扁豆碱和石杉碱甲所引起的脑皮层电图变化。为

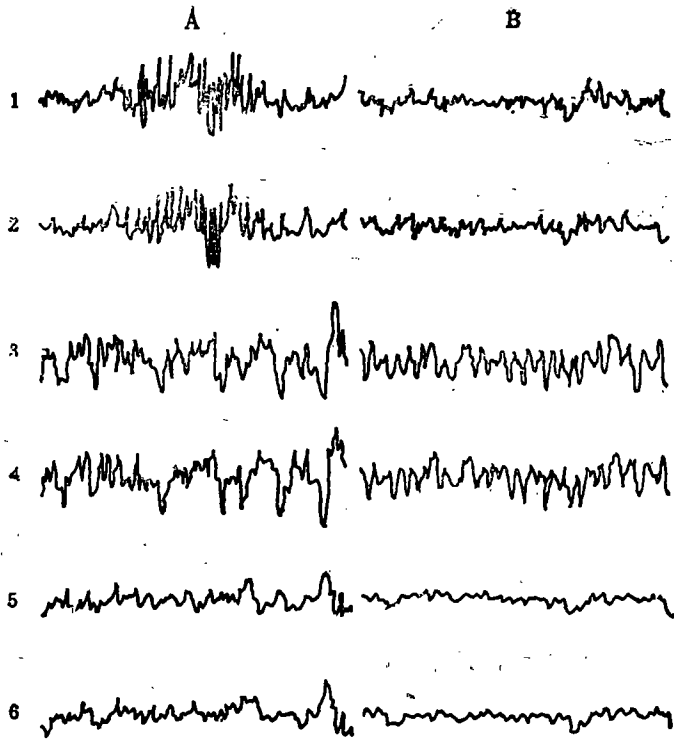


图2 静脉注射石杉碱甲(0.1毫克/公斤)对家兔(No.2)脑皮层电图的影响
A.给药前; B.给药后5分钟

1.左额区; 2.右额区; 3.左海马区; 4.右海马区; 5.左枕区; 6.右枕区

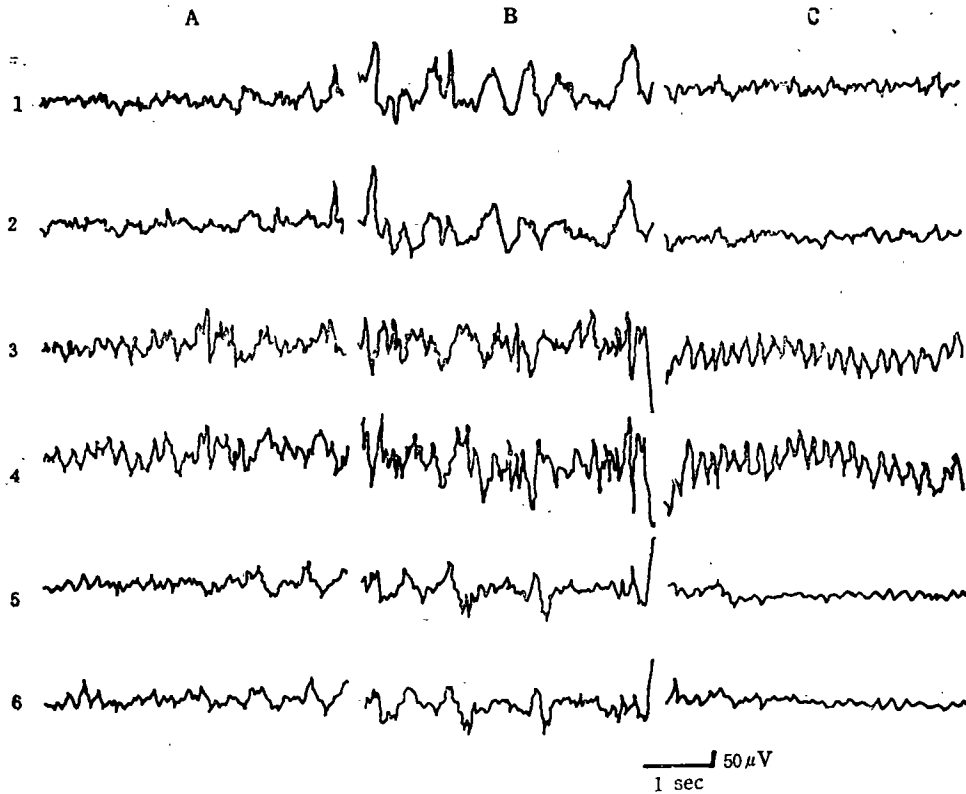


图3 毒扁豆碱对东莨菪碱的颞颥作用对家兔(No.14)脑皮层电图的影响

A.给药前; B.静脉注射东莨菪碱(0.3毫克/公斤)5分钟后;

C.静脉注射毒扁豆碱(0.3毫克/公斤)11分钟后。

1.左额区; 2.右额区; 3.左海马区; 4.右海马区; 5.左枕区; 6.右枕区。

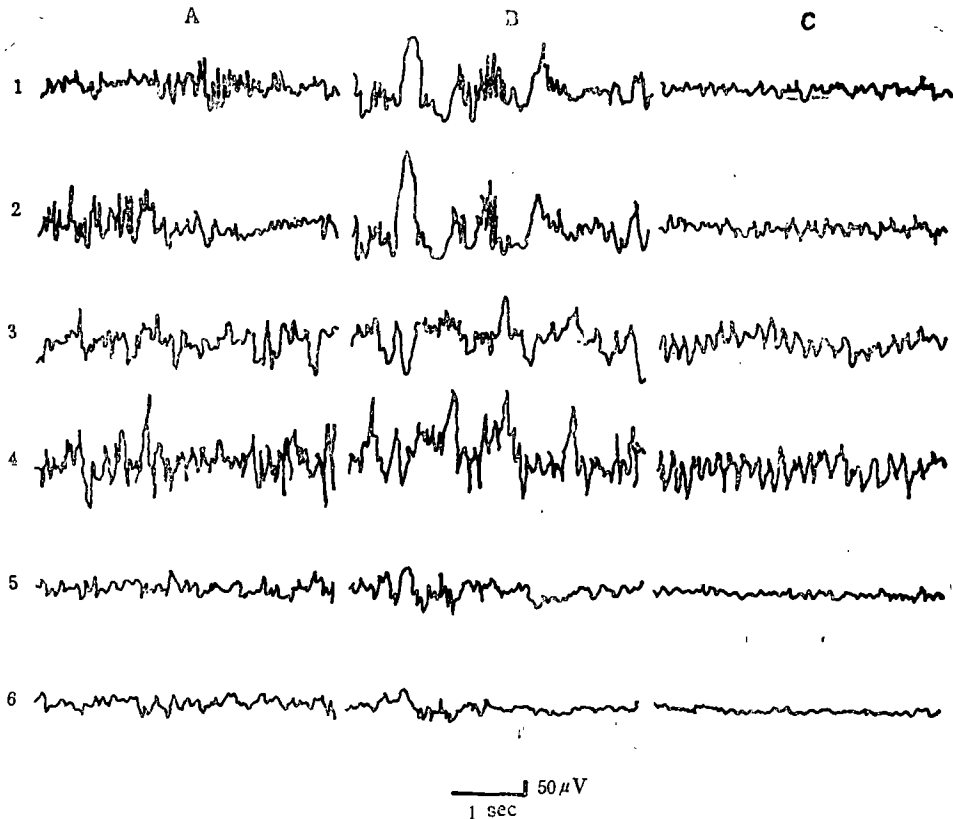


图4 石杉碱甲对东莨菪碱的颞颥作用对家兔(No.11)脑皮层电图的影响
 A.给药前; B.静脉注射东莨菪碱(0.3毫克/公斤)5分钟后;
 C.静脉注射石杉碱甲(0.2毫克/公斤)5分钟后。
 1.左额区; 2.右额区; 3.左海马区; 4.右海马区; 5.左枕区; 6.右枕区。

了进一步证明石杉碱甲的中枢作用,本实验先给家兔脑室注射石杉碱甲(10微克/每只)。给药后5分钟,就显示石杉碱甲对脑皮层电图有明显的的作用,即右皮层区出现低振幅快波,而在海马则出现很有规则的 θ 节律。此时,静脉注射丁溴东莨菪碱(0.4毫克/公斤),给药后观察10分钟,未见有明显的脑皮层电图变化。然后,静脉注射氢溴酸东莨菪碱(0.2毫克/公斤),给药后半分钟在脑皮层电图上立即出现对石杉碱甲的逆转作用,此时,全皮层均显示高振幅慢波。

讨 论

抗胆碱药又称胆碱受体阻断剂,主要以阿托品为代表,其中还包括东莨菪碱和樟柳碱等。它们能和乙酰胆碱争夺受体,对抗乙酰胆碱的作用,因而表现为胆碱能神经功能被阻滞的种种效应。如过量服用抗胆碱药会引起定向障碍、幻觉和记忆障碍以及某些高级心理功能的失调。

王月娥等(1986)^[4]通过生化测定,证实石杉碱甲和毒扁豆碱一样为胆碱酯酶抑制剂,它们的作用机制很一致。本实验通过电生理学研究表明,石杉碱甲和毒扁豆碱对家兔

的脑皮层电图的作用也很相似。它们均可使皮层区脑电波持续出现低振幅快波,并使海马区出现有规则的 θ 节律。并且,在脑皮层电图上它们均能与东莨菪碱起颞颥作用。

本实验采用外周静脉注射较大剂量的不能通过血脑屏障的丁溴东莨菪碱,注射后较长时间内在脑皮层电图上它对石杉碱甲未见有明显的颞颥作用。而当注射能通过血脑屏障的氢溴酸东莨菪碱以后,在脑皮层电图上就立即观察到它对石杉碱甲起逆转作用。由此可见,石杉碱甲的中枢作用机制乃是十分明显的。

关于海马区呈现 θ 节律的意义,目前尚有不同的看法。Ardnini(1954)认为,如在海马区有5次/秒的慢波且在皮层区伴有失同步的话,那是一种觉醒(arousal)反应。邬勤娥和匡培梓(1979)^[10]也认为,海马区5—6次/秒有规则的 θ 波的呈现与觉醒水平有关。本实验的结果表明,当注射石杉碱甲和毒扁豆碱以后,在海马区立即出现持续的有规则的 θ 节律,同时在皮层区持续出现低振幅快波。这和上述作者分析的结果很相似。这就使我们联想到,石杉碱甲之所以能促进动物的学习和记忆能力,其生理机制是否也就是由于在石杉碱甲的作用下提高了动物的觉醒水平,从而提高了动物对外界刺激的反应能力。

10年前,Kent(1979)就认为,胆碱能系统在人类的记忆和其它认知功能中起着关键作用,而在这个过程中乙酰胆碱的作用可能是关键的因素^[1]。本实验的结果表明,石杉碱甲不但能改善由于东莨菪碱所致的记忆障碍,而且,在脑皮层电图上它也显示对东莨菪碱有颞颥作用。那么,它们彼此究竟是如何起作用的呢?有人认为,胆碱酯酶抑制剂除抑制乙酰胆碱酯酶从而使脑内乙酰胆碱的水平升高以外,它们还可以竞争性地抑制M—受体阻断剂和M—受体的结合,从而使脑内乙酰胆碱的功能增强^[11]。已有许多实验业已证明,东莨菪碱是M—受体的阻断剂,石杉碱甲是胆碱酯酶折制剂,它们之间颞颥作用的神经生化机制是否也是按上述推测进行的呢?最近,Overstreet(1988)^[12]曾明确地指出,石杉碱甲促进学习和记忆的作用主要是通过通过对脑内乙酰胆碱酯酶的抑制,使脑内乙酰胆碱的含量升高,从而激活脑内胆碱能递质系统的功能。

有关石杉碱甲对动物的学习、记忆和电活动的影响,特别是关于石杉碱甲在临床心理学中的应用,以及石杉碱甲对学习和记忆的促进作用,究竟是由于药物直接提高了动物和人的智力水平,还是由于药物的作用增强了机体的内驱力的结果。所有这些问题均有待于今后进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 管林初, 邬勤娥, 邵道生, 樟柳碱对动物分辨学习、记忆行为和电活动的影响, 心理学报, 1982, 第2期, 239—245。
- [2] 管林初, 胆碱能制剂对学习和记忆的影响, 海军医学学报, 1989, 第3期, 182—185。
- [3] Liu, JS, YU, CM, Zhou, YZ, et al., The structure of Huperzine A and B, Two New Alkaloids Exhibiting Marked Anticholinesterase Activity, Can. J. Chem., 1986, 64, 837—839。
- [4] 王月娥, 岳冬贤, 唐希灿, 石杉碱甲的抗胆碱酯酶作用, 中国药理学报, 1986, 7, 110—113。
- [5] 唐希灿, 韩怡凡, 陈小萍, 朱晓东, 石杉碱甲对大鼠辨别学习和再现过程的影响, 中国药理学报, 1986, 7, 507—511。
- [6] 陆维华, 寿江, 唐希灿, 石杉碱甲改善老龄大鼠及实验性识别损害大鼠的明暗分辨行为, 中国药理学报, 1988, 9, 11—15。
- [7] 朱晓东, 唐希灿, 石杉碱甲和乙对小鼠的空间辨别学习和记忆的促进效应, 中国药理学报, 1987, 22, 812—815。
- [8] 张慈禄, 石杉碱甲治疗老年性记忆功能减退, 新药与临床, 1986, 5(5), 260—262。
- [9] 管林初, 陈双双, 陆维华, 唐希灿, 石杉碱甲对兔脑电图及其功率谱的影响, 中国药理学报, 1989, 10, 496—500。

- [10] 郭勤娥, 匡培梓, 动物在学习时海马与皮层的电活动变化, 心理学报, 1979, 第 8 期, 326—330。
[11] 叶雨文, 卞如濂主编, 基础药理学, 第 7 章, 抗胆碱药, 1981, 37—43 页, 浙江科学技术出版社。
[12] Overstreet, D. H. Memory Enhancement in Animals and Humans Following Administration of Cholinergic Agents, Read at the 24th International Congress of Psychology (Sydney, 1988, Aug.)。

THE EFFECTS OF HUPERZINE A ON BEHAVIOR AND ECoG IN ANIMALS

Guan Linchu Chen Shuangshuang Cui Qiugeng

Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences

Lu Weihua Tang Xican

Shanghai Institute of Material Medicin, Chinese

Academy of Sciences

Abstract

Huperzine A is a new type of alkaloid, it was first extracted from *Huperzia Serrata* in China. The pharmacological actions of huperzine A are similar to those of physostigmine, but its toxicity is weaker than physostigmine. The purpose of this paper is to observe the effects of huperzine A on the response of dark avoidance in rats, and inquire into the effects of huperzine A on ECoG in rabbits. The results are as follows:

Huperzine A could antagonize memory dysfunction which was produced by scopolamine. Mainly showing prolonged latency and decreased error response in the group of huperzine A and scopolamine than the group of scopolamine.

Huperzine A could continuously produce lower voltages and fast waves in the whole cortex and regular theta rhythm in the hippocampus. The results of ECoG indicated that there was an antagonistic action between huperzine A and scopolamine, and that the effects of huperzine A are closely related to the actions on the central cholinergic system.