

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

陆维华、寿江¹、唐希灿、(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 用大鼠Y迷宫箱进行明暗分辨测试表明, ip Hup-A 0.1, 0.2 mg/kg 或 ig 0.3 mg/kg 均能改善CO₂产生的识别障碍, ig 0.4 mg/kg 对东莨菪碱(0.5 mg/kg, ip)所致的短时记忆障碍也有改善作用。Hup-A 0.1-0.3 mg/kg(ip)对老龄大鼠的学习、记忆保持过程有明显促进作用。

关键词 石杉碱甲; 毒扁豆碱; 东莨菪碱; 分辨学习; 记忆; 识别障碍; 老龄; 大鼠

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.)Trev. 在浙江民间用以除湿解毒、散瘀消肿, 从中分离到的新生物碱石杉碱甲(huperzine A, Hup-A)已为本实验室证实对胆碱酯酶有很强的抑制作用, Hup-A 抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)的

作用强度约为毒扁豆碱(physostigmine, Phys)的3倍、加兰他敏的30倍⁽¹⁾; 而毒性却较低, 有较大的治疗指数⁽²⁾。胆碱酯酶抑制剂Phys能改善学习与记忆功能⁽³⁾, Hup-A 也已被证实对正常大鼠的学习与记忆再现有促进作用⁽⁴⁾。本文报道Hup-A对老龄和实验性识别损害大鼠学习与记忆过程的影响。

材料与方 法

成年杂种大鼠, ♀♂兼用, 4月龄和>18月龄(下称老龄)♂大鼠, 均由中国科学院上海分院实验动物中心站供应, 实验前一天将大鼠移置于实验室以适应环境。

Hup-A 游离碱粉剂由浙江医学研究院药

1986年10月14日收稿 1987年2月24日接受

¹浙江医科大学药理学系86届毕业实习生

物所植化室提供，以稀 HCl 助溶配制，pH = 5；水杨酸毒扁豆碱粉剂，英国产品，上海试剂站分装；氢溴酸东莨菪碱(scopolamine, Scop)粉剂，E Merck 公司生产。上述各药物均用蒸馏水配制，注射容积为 1 ml/kg。

实验用 Y 迷宫箱⁽⁴⁾。CO₂ 致记忆障碍组大鼠的学习成绩以达到连续 10 次中 9 次(9/10)为正确反应前所需测试次数表示，其余组的学习或记忆测试成绩均以达到连续 10 次(10/10)为正确反应前所需测试次数表示。

CO₂ 致大鼠缺氧是在一有机玻璃密闭容器(15×7×7 cm)内进行。从容器一侧充入 CO₂，同时开启容器对侧出气口排出容器内原有空气，5 s 时停止充气并关闭出气口，大鼠留至 12 s 时立即取出，待清醒后，再同法给予第二次 CO₂。

结 果

Hup-A 对大鼠明暗分辨学习的影响

1. 改善老龄大鼠的学习能力 老龄大鼠 12 只，体重为 385±SD 41 g 随机分二组，学习测试前 15 min 分别 ip 生理盐水 1 ml/kg 和 Hup-A 0.1 mg/kg。老龄大鼠除外观活动稍迟钝外，与成年大鼠无明显差异。对照组大鼠在规定的 40 次学习测试中均不能达到 10/10 次正确反应标准，而给 Hup-A 0.1 mg/kg 组大鼠只需 18±4.1 次即可达到此标准，表明 Hup-A 能显著提高老龄大鼠的学习能力。

2. 对 CO₂ 致识别障碍的改善作用 成年大鼠 107 只，体重 238±37 g 分 12 组，学习测试前给药，ip 15 min、ig 25 min 后连续给予两次亚致死量的 CO₂，每次 12 s，第二次给 CO₂ 后 5 min 进行测试。结果见图 1。CO₂ 能降低大鼠的辨别学习能力，使其达到 9/10 次标准前所需的学习次数比对照组明显增多(P<0.05)。Hup-A 0.1, 0.2 mg/kg (ip) 或 0.3 mg/kg (ig) 及 Phys 0.2 mg/kg(ip) 均能使大鼠的学习能力不受 CO₂ 的影响，其达到学习标准前的测试次数均较 CO₂ 对照组明显减少，低于上

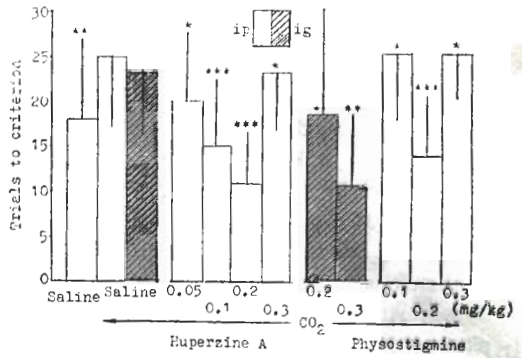


Fig 1. Prevention of CO₂-induced deficit in the acquisition of brightness discrimination in rats, Huperzine A or physostigmine was given ip 15 min before exposure to CO₂ for 12 s twice. The test for acquisition started 5 min after exposure to CO₂. Trials to criterion of 9 correctness out of 10 consecutive choices, ($\bar{x} \pm SD$) *p>0.05; **p<0.05; ***p<0.01 vs saline-CO₂ control.

述剂量则未见对 CO₂ 所致大鼠识别障碍有改善作用。Hup-A 的有效剂量范围较 Phys 为大。

Hup-A 对大鼠记忆保持能力的影响

1. 促进正常大鼠记忆保持能力 成年大鼠 52 只，体重 207±22 g，按训练成绩分 7 组。训练达 9/10 次标准后立即 ip 给药，48 h 后测验，结果见图 2。Hup-A 0.05, 0.2 mg/kg

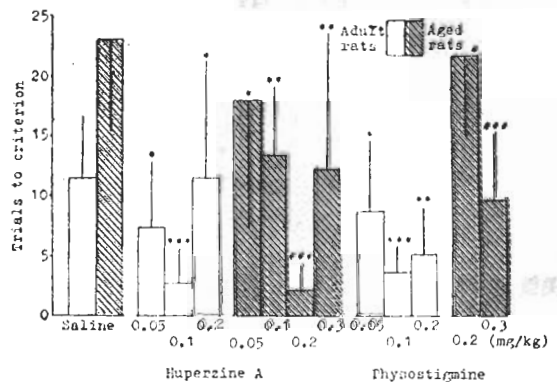


Fig 2. Effects of huperzine A and physostigmine on memory retention of brightness discrimination in adult and aged rats, Huperzine A or physostigmine was given ip immediately after training. Test was performed 48 h after training. Trials to criterion of 10 correctness out of 10 consecutive choices, ($\bar{x} \pm SD$) *p>0.05; **p<0.05; ***p<0.01 vs saline group,

或 Phys 0.05 mg/kg 组大鼠达到标准前的测试次数与对照组比较, 未见有明显减少(均 $p > 0.05$)。Hup-A 0.1 mg/kg 及 Phys 0.1, 0.2 mg/kg 各剂量组大鼠达到标准前所需测试次数 2 ± 3 , 3 ± 2 和 5 ± 4 次, 均比对照组(12 ± 5 次)明显减少。

2. 改善老龄大鼠记忆保持 老龄大鼠 51 只(体重 434 ± 59 g)训练达到连续 10 次中 9 次正确反应标准后, 随即按训练成绩分 7 组, ip 生理盐水 1 ml/kg 和 Hup-A, 48 h 后测试记忆保持能力。Hup-A 0.1-0.3 mg/kg 均能明显改善老龄大鼠的记忆保持能力, 其中以 0.2 mg/kg 剂量的效应最显著。而 Phys 需 ip 0.3 mg/kg 才能观察到大鼠的测试次数明显减少。结果见图 2。

3. 改善 Scop 所致的记忆障碍作用 训练达到连续 5 次中 5 次正确反应标准的成年大鼠 ip 生理盐水, 10 min 后 ip Scop 0.5 mg/kg, 间隔 50 min 后记忆测试(训练后即 ip 至测验间隔为 1 h), 其达到连续 10 次正确反应前的测试次数明显增加, 说明 Scop 损害了大鼠的记

忆保持能力(表 1)。ig Hup-A 0.4 或 Phys 0.7 mg/kg 能改善 Scop 对大鼠记忆能力的损害作用, Phys 的作用比 Hup-A 弱, 它的有效剂量约为 Hup-A 的 2 倍。

讨 论

由于 CO₂ 致识别障碍作用的维持时间较短⁽⁵⁾, 多见用跳栏(jump barrier)等需时较短的方法测试⁽⁶⁾。而大鼠完成一轮 Y 迷宫测试(达 10/10 次标准)一般需 > 60 min, 故给予大鼠 1 次 CO₂ 处理后, 与未处理对照组的测试成绩无明显差异, 经改用连续两次 CO₂ 吸入处理, 并降低学习标准至 9/10 次, 则可使大鼠的测试次数明显较未经 CO₂ 处理的对照组增多($p < 0.05$), 说明连续两次给予 CO₂ 可延长致大鼠识别障碍作用的时间, 因之可适用于 Y 迷宫的测试。有报道钙离子摄取随氧含量降低而减少⁽⁷⁾, 导致依赖钙离子的 ACh 合成和释放也相应受到抑制, 从而使认识功能下降⁽⁸⁾。有效量的 Hup-A 能抑制 AChE 致脑内 ACh 量增多, 从而预防了缺氧产生的大鼠识别能力的损害。

老龄大鼠脑内 ACh 释放降至刚出生时的低水平⁽⁸⁾, 其识别能力亦较成年鼠差⁽⁹⁾。本文结果表明老龄大鼠的学习成绩均 > 40 次, 而 4 月龄成年大鼠 < 25 次即可达到 10/10 次标准; 老龄鼠达 9/10 次标准的训练次数为 23 ± 7 次($n = 44$ 只)较成年鼠(15 ± 8 次, $n = 70$ 只)明显增多($p < 0.01$), 与文献报道相符。ip Hup-A 0.1 mg/kg 对成年大鼠的记忆保持有很显著的促进作用, 剂量增至 0.2 mg/kg 作用反较前者差得多, 类似其他促智药, 即在低剂量有较窄的有效剂量范围, 但该两剂量在老龄鼠的反应却与成年鼠截然相反, 由图 2 可见, 0.2 mg/kg 促进老龄鼠记忆保持的作用远比 0.1 mg/kg 强($p < 0.01$), 结果支持老龄大鼠的识别能力衰退是与其脑内胆碱能系统功能下降有关的说法。早老性痴呆(Alzheimer's disease)患者脑内胆碱乙酰化酶活力下降, AChE 活力

Tab 1. Reversal of scopolamine (Scop)-induced disruption of brightness discrimination by huperzine A (Hup-A) and physostigmine (Phys) in rats. ($\bar{x} \pm SD$)

Scop 0.5 ip + ig (mg/kg)	Rats	Trials to criterion	
		Training†	Testing††
Saline 1 ml	6	$15 \pm 6.1^*$	$14 \pm 12.5^*$
+ Saline 1 ml	11	12 ± 5.3	25 ± 8.0
+ Hup-A 0.3	6	$14 \pm 5.5^*$	$22 \pm 12.5^*$
0.4	6	$12 \pm 4.5^*$	$9 \pm 6.2^{***}$
+ Phys 0.6	9	$14 \pm 5.0^*$	$24 \pm 10.1^*$
0.7	9	$16 \pm 4.5^*$	$7 \pm 3.1^{***}$

† Trials to criterion of 5 correctness out of 5 consecutive choices. †† Testing was performed 1 h after training. Trials to criterion of 10 correctness out of 10 consecutive choices. Drugs were given immediately after training. Scop was injected 10 min after medication. * $p > 0.05$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$ vs Scop + saline group.

增高和 ACh 受体活性减弱^(10,11)。应用胆碱疗法提高脑内 ACh 含量, 对治疗 Alzheimer 氏病患者的记忆障碍取得了一些进展^(12,13), Phys 被认为较有希望用于治疗此类疾病⁽¹⁴⁾, 但仍存在着有一定的副作用和作用时间短等不足之处。鉴于 Hup-A 对老龄大鼠的学习、记忆保持的改善作用优于 Phys, 且口服吸收好, 有效剂量仅为 ip 的 3 倍, Hup-A 的治疗指数大于 Phys⁽²⁾, 提示 Hup-A 有可能用于临床治疗老年人的记忆减退和早、中期早老性痴呆, 初期临床试验已观察到 Hup-A 有改善老年记忆障碍的治疗效果⁽¹⁵⁾。

参 考 文 献

- 1 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 : 109
- 2 严孝方、陆维华、楼伟建、唐希灿。石杉碱甲和乙对骨骼肌及脑电的作用。同上 1987; 8 : 117
- 3 Zornetzer SF. Neurotransmitter modulation and memory: a new neuropharmacological phenomenon? In: Lipton MA, DiMascio A, Killam KF, eds. *Psychopharmacology: a generation of progress*. 1st ed. NY : Raven, 1978 : 637-49
- 4 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
- 5 Cumin R, Bandle EF, Gamzu E, Haefely WE. Effects of the novel compound aniracetam (Ro 13-5057) upon impaired learning and memory in rodents. *Psychopharmacology (Berlin)* 1982; 78 : 104
- 6 Leukel F, Quinton E. Carbon dioxide effects on acquisition and extinction of avoidance behavior. *J Comp Physiol Psychol* 1964; 57 : 267
- 7 Peterson C, Gibson GE. Synaptosomal calcium metabolism during hypoxia and 3,4-diaminopyridine treatment. *J Neurochem* 1984; 42 : 248
- 8 Pedata F, Slavikova J, Kotas A, Pepeu G. Acetylcholine release from rat cortical slices during postnatal development and aging. *Neurobiol Aging* 1983; 4 : 31
- 9 Gage FH, Dunnett SB, Björklund A. Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Ibid* 1984; 5 : 43
- 10 McGeer E, McGeer PL. Neurotransmitter metabolism in the aging brain. In: Terry RD, Gershon S, eds. *Neurobiology of aging*; vol 3. NY: Raven, 1976 : 389-403
- 11 Berger PA, Davis KL, Hollister LE. Cholinomimetics in mania, schizophrenia, and memory disorders. In: Barbeau A, Growdon JH, Wurtman RJ, eds. *Nutrition and the brain*; vol 5. NY: Raven, 1979 : 425-41
- 12 Friedman E, Sherman KA, Ferris SH, Reisberg B, Bartus RT, Schneck MK. Clinical response to choline plus piracetam in senile dementia: relation to red-cell choline levels. *N Engl J Med* 1981; 304 : 1490
- 13 Brinkman SD, Gershon S. Measurement of cholinergic drug effects on memory in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1983; 4 : 139
- 14 Ghoneim MM, Mewaldt SP. Studies on human memory: the interactions of diazepam, scopolamine, and physostigmine. *Psychopharmacology (Berlin)* 1977; 52 : 1
- 15 张慈祿。石杉碱甲治疗老年性记忆功能减退。新药与临床 1986; 5 : 260

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Jan, 9 (1) : 11-15

Improving effect of huperzine A on discrimination performance in aged rats and adult rats with experimental cognitive impairment

LU Wei-Hua, SHOU Jiang, TANG Xi-Can

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Huperzine A (Hup-A), a new alkaloid extracted from *Huperzia serrata*, is a reversible acetylcholinesterase

inhibitor⁽¹⁾. By using Y-maze method, the rats were trained to escape foot shocks by going to the light area (safe area). The

criterion of learning or memory retention was met when the rat chose the light area 10 trials in succession. The effects of Hup-A on learning and memory retention processes of brightness discrimination were studied in this paper. The results were as follows: 1) Hup-A (0.1 mg/kg ip or 0.3 mg/kg ig) given 20 min before hypercapnia prevented the CO₂-induced impairment of learning of brightness discrimination tasks in rats. This improving effect was also seen with physostigmine (Phys) 0.2 mg/kg ip. 2) Hup-A 0.1-0.3 mg/kg ip immediately after training improved memory retention process in aged rats (over 18-month-old), but neither Phys 0.2 nor HupA 0.05 or 0.2 mg/kg did in adult rats.

3) When the adult rats were given Hup-A 0.4 mg/kg ig and scopolamine 0.5 mg/kg ip immediately after training and tested 1 h after medication, the scopolamine-induced amnesia was reversed by Hup-A. Under the same condition, the effective dose of Phys was 0.7 mg/kg ig.

These results show that the improving effects of Hup-A on learning and memory retention processes are superior to those of Phys. Hup-A should be of therapeutic value in improving cognitive function in human.

KEY WORDS huperzine A; physostigmine; scopolamine; discrimination learning; memory; cognition disorders; aged; rats