

中國醫藥學院 中國藥學研究所 藥學碩士論文

組別：藥理學組

編號：ICPS-212

指 導 教 授：謝明村 教 授
共同指導教授：彭文煌 副教授
共同指導教授：關甫 副教授

論文題目

葛根素改善大鼠學習障礙之研究



The facilitating effects of puerarin on the learning deficit in rats

研究生：郭儷萱

中國醫藥學院 中國藥學研究所
中華民國八十九年六月五日

目 錄

中文摘要.....	6
第一章 緒言.....	8
第二章 總論.....	10
第一節 葛根之成分	10
第二節 葛根之藥理作用	13
第三節 葛根素之藥理作用	17
第四節 學習記憶之文獻考察.....	21
第五節 阿耳滋海默氏病與腦神經傳遞物質之關係	28
第三章 實驗材料與方法	31
第一節 實驗材料	31
一、 實驗試劑.....	31
二、 實驗動物.....	32
第二節 實驗方法及步驟	33
一、 被動學習反應	33
二、 葛根素之腦血流測定	33
三、 葛根素對誘發被動迴避學習反應障礙物質之影響	33
四、 葛根素對改善 cycloheximide 誘發被動迴避學習反應障 礙之機轉	34
五、 腦部 dorsal raph 區投與 serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 對葛根素改善學習記憶之影響	35
六、 腦部 locus coeruleu 區投與 catecholaminergic neurotoxin 6-ODDA 對葛根素改善學習記憶之影響	35
七、 側腦室投與 cholinergic neurotoxin AF64A 對葛根素改善學 習記憶之影響	35
八、 數據統計	36

第四章 實驗結果	37
第五章 討論	55
第六章 結論	62
參考文獻	63

圖 目 錄

Fig.1. 葛根化學成分結構	12
-----------------------	----

Fig.2.學習記憶之形成圖	22
Fig.3.記憶的腦內解剖結構定位圖	22
Fig.4. Effects of puerarin on change cerebral blood flow rate of middle cerebral artery measured by laser Doppler flowmetry in rats.	37
Fig.5. Effects of puerarin on scopolamine-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats.....	38
Fig.6. Effects of puerarin on scopolamine at subdose(0.5 mg/kg)-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats.	39
Fig.7. Effects of puerarin on <i>p</i> -chloroamphetamine-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats.	40
Fig.8. Effects of puerarin on MK-801-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats	41
Fig.9. Effects of puerarin on mecamylamine-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats	42
Fig.10. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus <i>p</i> -chloroamphetamine (1 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	43
Fig.11. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus scopolamine (0.3 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	44
Fig.12. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus mecamylamine(3 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	45
Fig.13. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus <i>p</i> -chloroamphetamine (1 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.	46
Fig.14. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus 8- OH-DPAT(0.025mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the	

passive avoidance response in rats.....	47
Fig.15. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus DOI(0.002 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	48
Fig.16. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus propranolol (3 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	49
Fig.17. Effects of puerarin (50 mg/kg) plus phenoxybenzamine (0.01 mg/kg) on cycloheximide (1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	50
Fig.18. Effects of puerarin (1, 5, 10 and 25 µg/20 µl) on cycloheximide-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.	51
Fig.19. Effects of puerarin (5 and 10 µg/20 µl) on cycloheximide-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in sham operated or dorsal raphe lesioned rats induced by 5,7-DHT (4 µg /2 µl /side).	52
Fig.20. Effects of puerarin (5 and 10 µg/20 µl) on cycloheximide-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in sham operated or locus coeruleus(LC) lesioned rats induced by 6-OHDA (4 µg /2 µl /side).....	53
Fig.21. Effects of puerarin (5 and 10 µg/20 µl) on AF64A (3 nmol/3 µl)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats.....	54

表 目 錄

Table 1、葛根異黃酮類成分	12
------------------------	----

Table 2、實驗試劑之簡稱、作用機制暨購買公司一覽表	31
------------------------------------	----

葛根素改善大鼠學習障礙之研究

研究生 郭儷萱

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

葛根素為中藥葛根活性成分之一，研究證實可增加腦血流量⁽⁷⁾及保護腦缺血造成大鼠腦部之損壞與運動之障礙⁽⁸⁾。因此，本研究以被動迴避學習反應探討葛根素 (puerarin) 對學習獲得障礙誘發劑 scopolamine、necamylamine、*p*-chloroamphetamine、MK-801 及記憶鞏固障礙誘發劑 cycloheximide 之影響。

葛根素對學習獲得障礙誘發劑之作用，對於乙醯膽鹼毒蕈鹼接受器拮抗劑 scopolamine 無改善作用，但對乙醯膽鹼尼古丁接受器拮抗劑 mecamlamine、serotonin 釋放促進劑 *p*-chloroamphetamine 及非 NMDA 接受器拮抗劑 MK-801 等具明顯改善作用。

葛根素對記憶鞏固障礙誘發劑 CXM 之改善作用，此改善作用均可被毒蕈鹼接受器拮抗劑 SCOP、尼古丁接受器拮抗劑 MECA 及 serotonin 釋放促進劑 PCA 拮抗；進一步，其改善作用可被突觸後 5-HT₂ 接受器致效劑 DOI、非選擇性突觸後 α 接受器拮抗劑 phenoxybenzamine 及非選擇性突觸後 β 接受器拮抗劑 propranolol 拮抗，但無法被 5-HT_{1A} 接受器致效劑 8-OH-DPAT 所拮抗。

葛根素經腦室給藥後，對 CXM 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可完全被腦部 locus coeruleus 區給與 noradrenergic neurotoxin 6-OHDA 所拮抗，但其改善作用無法被腦部 dorsal raphe 區給與 serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 所拮抗。另外，葛根素經腦室給藥後，經側腦室給與 cholinergic neurotoxin AF64A 誘發大鼠學習記憶障礙亦具拮抗作用。

綜合上述結果，顯示葛根素可增強記憶形成過程中的學習獲得及記憶獲得，其作用機轉可能直接作用於中樞 cholinergic system 或間接經由中樞 noradrenergic system、serotonergic system 及 excitatory amino acid system 之調節而影響中樞 cholinergic system 改變 Ach 之活性所致；亦與蛋白質之合成有關。

第一章 緒 言

葛根首載於神農本草經，歷代多用於解表退熱、生津止渴及透疹⁽¹⁾；現臨床則用於治療高血壓、冠心病、心絞痛、視網膜病變、偏頭痛，藥理研究亦證實其具有降溫、降血壓、擴張冠狀動脈及降低心肌耗氧量，並可降低腦血管阻力及增加腦血流量⁽²⁾。今更證實葛根具改善藥物誘發學習記憶障礙之作用⁽³⁾，葛根素為中藥葛根之主要活性成分之一，在現代藥理學研究中已證實具清除自由基作用⁽⁴⁾、可保護再貫流對心肌所造成之損壞⁽⁵⁻⁶⁾，並可經擴張腦內小動脈以增加腦血流量⁽⁷⁾及保護腦缺血造成大鼠腦部之損壞與運動之障礙⁽⁸⁾。因此，葛根素之改善學習記憶作用及其中樞作用機轉，有待開發與探討。

記憶係經過學習而獲得的經驗或行為的保持，就生理學觀點大致分成三類⁽⁹⁾：短期記憶(short-term memory)、中期記憶(inter-mediate-term memory)與長期記憶(long-term memory)。而被動迴避學習之動物實驗模式中，記憶形成過程大致分成三階段⁽¹⁰⁾：學習獲得(acquisition)、記憶鞏固(consolidation)和記憶再現(retrieval)。而在學習過程中，一旦接受外界訊息刺激，人體第一個反應便是神經活性改變，促使腦內神經突觸神經傳遞物質之釋出，經作用於突觸後接受器以致細胞內酵素之變化及其聯結基因訊息的轉變；因此在早期之研究即發現在學習記憶過程中，腦內神經傳遞物質參與並扮演重要之角色⁽¹¹⁾。1987 年 Olton 等之研究認為 memory 主要係因hippocampus之參與而完成，而非amygdala⁽¹²⁾；Decker 及 McGaugh 更指出大鼠之學習記憶過程可能係由腦內神經迴路 raphe-septo-hippocampal 神經路徑所操縱⁽¹³⁾。

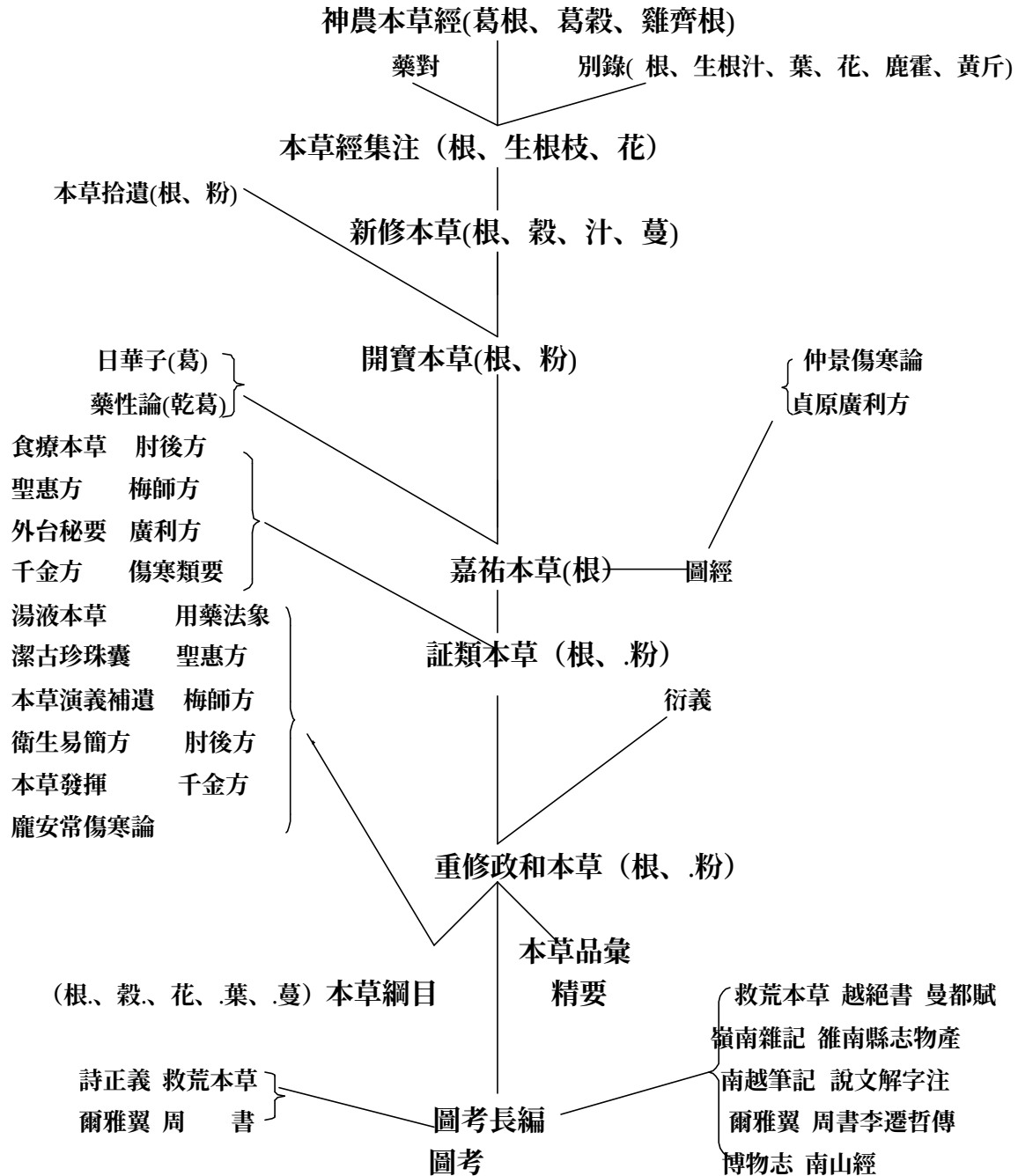
因此，本研究首先擬經由腹腔注射葛根素後，對藥物(scopolamine、*p*-chloroamphetamine、MK-801 及 cycloheximide)誘發學習記憶障礙作用

之影響及改善 cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙之作用機轉；其次擬於腦室給予葛根素後，觀察給予 neurotoxin：5,7-DHT 損壞 dorsal raphe 之 serotonin 神經元或 6-OHDA 損壞 locus coeruleus 之 noradrenaline 神經元或 AF64A 給與側腦室損壞 acetylcholine 神經元後之大鼠學習記憶能力之變化，以評估 septo-hippocampal 路徑在葛根素改善學習記憶作用中所扮演之角色。

第二章 總 論

第一節 葛根

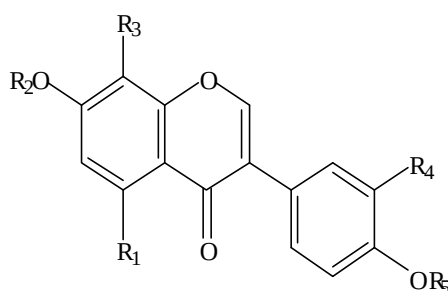
一、葛根之本草系統圖^{(14)~(23)}



二、葛根之成分

1、葛根中的異黃酮類化合物

50 年代末至 60 年代初，柴田承二等對野葛和甘葛藤進行了系統的化學成分研究，其中分離出一些成分，除大量澱粉外，主要為異黃酮類化合物。它們是大豆 元(daidzein, 1)、大豆 (daidzin, 2)、葛根素(puerarin, 3)和未定位的木糖-葛根素(puerarin-0-xyloside)⁽²⁴⁾。而另文獻報導葛根同屬植物中，都存在比較豐富的主要成分為異黃酮類化合物，而葛根素在目前看來是葛根屬特有的成分，其含量是異黃酮類化合物中最高的⁽²⁵⁾。



1~15
Fig 1、葛根化學成分結構⁽²⁴⁾

Table 1、葛根異黃酮類成分⁽²⁴⁾

序號	化合物	R1	R2	R3	R4	R5
1	大豆 元(daidzein)	H	H	H	H	H
2	大豆 (daidzin)	H	glc	H	H	H
3	葛根素(puerarin)	H	H	glc	H	H
4	葛根素木糖 (puerarin-0-xyloside)	H	OH	glc	H	H
5	3'-輕基葛根素(3'-hydroxy-purarin)	H	H	glc		H
6	3'-甲氧基葛根素(3'-meyhoxy-puerarin)	H	H	glc		H
7	大豆 元 8-C-芹菜糖基-(1-6)葡萄糖 (daidzein 8-C-apiosyl-(1-6)glucoside)	H	H	glc→ 6api	H	H
8	染料木素 8-C-芹菜糖基-(1-6)葡萄糖 (genistein 8-C-apiosyl-(1-6)glucoside)	OH	H	glc→ 6api	H	H
9	染料木素(genistein)	OH	H	H	H	H

10 芒柄花素(formononetin)	H	H	H	H	Me
11 大豆 元 4',7-二葡萄糖 (daidzin4',7-diglucoside)	H	glc	H	H	glc
12 葛根素-木糖 (puerarin-xyloside)	H	H	glc→ 6xyl	H	H
13 染料木 (genistin)	OH	glc	H	H	H
14 染料木素 8-C-葡萄糖 (genistein 8-C-glucoside)	OH	H	glc	H	H
15 葛根素 4'-O-葡萄糖 (puerarin 4'-O-glucoside)	H	H	glc	H	glc

2、葛根中的新型芳香 類化合物

野原稔弘等近年以日本產葛根中分得三個新骨架的芳香 類化合物，命名為葛 A(pueroside A)、葛 B(pueroside B)、葛 C(pueroside C)。⁽²⁴⁾

3、葛根中的三 類皂

野原稔弘等近年以日本產葛根的甲醇提取物中，分得了 7 種三 類皂元，即槐二醇(sophoradiol)、21β-氫基槐二醇(cantoniensistriol)、大豆皂 元 B(soyasapogenol B)和大豆皂 元 A(soyasapogenol A)，3 個新的三 類皂 元為葛根皂 元 C、A、B(kudzusapogenol C,A,B)。另外葛根新近提出一種新的三 類 元部分為葛根皂 元 B(kudzusapogenol B)，C-3 位上連有鼠李糖-半乳糖-葡萄糖醛酸基的三糖 ⁽²⁴⁾。

第二節 葛根之藥理作用

一、對心臟血管的作用

1、對冠狀動脈、心肌功能、心肌代謝的影響

葛根能改善缺血心肌的代謝，進而降低心肌的耗氧，同時又使冠脈血管擴張、冠脈血流增加，而增加氧的結合，並使缺血區含氧量增加乳酸量減少。另葛根黃酮及葛根酒浸膏注射狗的冠狀動脈及靜脈，均能增加腦及冠狀血管之血流量，並使血管阻力下降。而葛根水煎劑、酒浸膏、總黃酮，均能對抗垂體後葉素引起的大鼠心肌缺血，可能是擴張冠狀血管的結果⁽²⁴⁾。

2、對血壓的影響

灌胃葛根浸膏或注射葛根總黃酮，能使正常麻醉狗或清醒高血壓狗的血壓，短暫而明顯的降低；而靜脈注射葛根丙酮、乙醇和水連續提取後之水溶部分 PM₂ 引起正常血壓升高，說明葛根除含有降壓物質外，還含有升壓物質⁽²⁵⁾。

3、抗心律失常作用

葛根酒浸膏、大豆 元，有明顯預防烏頭鹼和氯化鋇誘發的心律失常的作用⁽²⁵⁾。葛根主要成分可能影響細胞膜對鉀、鈉、鈣離子的通透性，進而降低心肌興奮性，預防心律失常的發生⁽³⁾。

4、腦循環

麻醉狗注射葛根總黃酮後，部分動物的腦血流量增加，但所有動物的腦血管阻力均降低；頸內注射葛根總黃酮後，血流量增加和阻力降低更明顯⁽²⁵⁾。

二、對平滑肌的作用

葛根含收縮和舒張平滑肌的成分，有實驗證明葛根酒浸膏和總黃酮可抑制 acetylcholine 及 PGF₂ α 引起的大鼠離體回腸的收縮；葛根舒張平滑肌的成分(即解痙成分)可能是大豆 元，而其收縮平滑肌成分可能是膽鹼、乙醯膽鹼和生物鹼“卡塞因 R”等⁽²⁵⁾。

三、抗促癌及誘導癌細胞的分化作用

實驗證明大豆 元對 HL-60 細胞周期移行 G1 期具阻斷作用，是 HL-60 細胞分化誘導劑；但單獨對細胞的誘導作用較弱，當大豆 元與乳香的有效成分 Bc-4 聯合應用時、對 HL-60 細胞生長有明顯抑制和分化誘導作用。另外，大豆 元能明顯改變黑色素瘤 B16 細胞的形成，誘導小黑鼠黑色素瘤 B16 細胞的分化⁽²⁶⁾。

四、抗氧化作用

葛根中分離精製的 GP(8-C- β -D 吡喃葡萄糖-7-輕基-3-(3',4'-二輕苯乙基)-4H 苯吡喃-4-酮)及 MF(2-C- β -D 吡喃葡萄糖-1,3,6,7-四氫輕基-9H-黃花素-9 酮)，可顯著抑制氧化損傷引起的紅血球細胞溶血對微粒體的活性氧類($\cdot$ OH、 O_2^-)造成的過氧化脂質的生成，也有抑制作用；因此 GP 及 MF 均具有捕捉自由基及抗氧化的作用⁽³⁾。

五、降血糖作用

葛根水抽物，能使家兔血糖先升後降；對於饑餓家兔之升血糖作用，則更為顯著；乙醚抽出物對糖代謝則無明顯影響⁽²⁸⁾。

六、對學習記憶功能

小鼠跳臺法和大鼠操作式條件反射法，觀察葛根醇提取物及總黃酮對學習記憶功能的影響；結果兩者均能對抗東莨菪鹼所致的小鼠記憶障礙和 40% 乙醇所致的記憶再現障礙；葛根醇提取物尚能對抗東莨菪鹼所致的大鼠操作式條件反射的抑制⁽²⁾。

七、對體溫的影響

孫世錫給人工發熱兔(耳緣靜脈注射過期傷寒菌)，灌胃 20% 葛根煎劑或 20% 乙醇浸膏後，體溫降低，浸劑比煎劑明顯，給藥後半小時升高的體溫降

至正常水平；一小時作用最強，一直維持在正常體溫以下達 4~5 小時，7 小時漸趨平常⁽²⁵⁾。

八、解酒毒

千金方有“葛根主解酒毒”之說，通過動物實驗觀察發現，葛根能有效地拮抗酒精引起的肝和睪丸組織，脂質的過氧化的損害⁽²⁹⁾。

九、毒性作用

1. 急性毒性：葛根酒浸膏、總黃酮對小鼠靜脈注射的 LD_{50} ，分別為 2.1 ± 0.1 g/kg、 $1.6 \sim 2.1$ g/kg⁽²⁵⁾。
2. 慢性毒性：小鼠每天灌胃酒浸膏 1 g/kg 或灌胃大豆 元 25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg 連續兩個月，血液肝腎功能及心、肝、脾、肺、腎等實質器官，無明確改變，可見葛根的毒性很小⁽²⁵⁾。

十、臨床作用

1. 對高血壓的作用

葛根煎劑酒浸膏、總黃酮、大豆 元對高血壓病人的血壓，無明顯的降低作用；但對高血壓引起的頭痛、頭暈、項強和耳鳴等症狀，有明顯的療效⁽²⁵⁾。

2. 對心絞痛的作用

用葛根酒浸膏片，每日 6~12 片，分 2~3 次服，總療程 4~22 週；心電圖有效率為 41.3%，血清膽固醇及 β -脂蛋白在服藥期間無明顯變化⁽²⁸⁾。

3. 對突發性耳聾的影響

口服酒浸膏治療早期突發性耳聾 141 例，20.6%痊癒，有效率 79.4%。

暴震性耳聾 24 例，總有效率 70.8%；這可能與葛根改善內耳或椎基底動脈系統的血液循環有關⁽²⁵⁾。

4. 對偏頭痛的作用

高秀賢用葛根浸膏治療 53 例偏頭痛，獲得較好的近期療效有效率 94.1%；葛根治療偏頭痛的作用可能與改善腦循環，調節腦血管對升壓和降壓物質的反應性有關，而減少血小板釋放 5-HT，也可能起了重要作用⁽²⁵⁾。

5. 對眼睛疾病的作用

用葛根黃酮注射劑(每毫升含黃酮 40 毫克)局部注射，對視網膜中央動脈栓塞、視神經萎縮均有療效，特別是因視網膜血管痙攣引起的中央視網膜炎療效更明顯⁽²⁸⁾。

綜合以上所述，葛根含有 20 多種異黃酮、葛根素類、三萜類及生物鹼等活性成分；有降低心肌耗氧量、使冠脈腦血管流量增加、明顯緩解心絞痛、抗心律失常、抗氧化、增強免疫力、降血糖等藥理作用；具有非常廣大的應用價值，能將大量的動物實驗轉移到臨床應用，是葛根研發工作的當務之急。

第三節 葛根素之藥理作用

一、心腦血管系統

1、降低血壓、減慢心率、降低心肌耗氧量

葛根素能完全抑制腎上腺素對腺苷酸酶的活性，因此認為葛根素是 β -受體拮抗劑，其降壓作用是 β -受體阻斷的結果；另外給高血壓患者注射葛根素後，在血壓降低和心率減慢的同時，可使血漿兒茶酚氨減少⁽²⁹⁾。

2、擴張冠狀血管、改善正常和缺血心肌的代謝

葛根素能明顯減少缺血引起的心肌乳酸的產生，降低缺血與再灌流時，心肌的氧消耗量與心肌水含量⁽²⁹⁾。亦可使心臟搏動的速率減慢，心肌收縮力增強，主動脈壓(MAP)降低，但並不會使缺血區側支冠狀動脈的血流量減少⁽³⁾。

3、抑制動脈硬化、促血管軟化

葛根素作用於牛動脈內皮細胞，可使牛動脈內皮細胞中糖氨代謝明顯減慢，動脈內壁糖氨多糖相對減少，這對防治動脈硬化和促使血管軟化是有益的⁽²⁹⁾。

4、改善腦循環

葛根素可促進正常黃金鼠腦循環和改善造模引起的局部微循環障礙，主要表現為增加微血管運動的振幅，提高血流量；此外，葛根素還具有改善紅血球變形能力的作用⁽²⁹⁾；另葛根素對於易中風型自發性高血壓大鼠(SHRSP)，可明顯延長腦缺血性痙攣發作的時間，延長死亡出現的時間，此種保護作用顯然與其增強腦血流及腦代謝的作用有關⁽²⁷⁾。

5、抗心律失常

葛根素能明顯預防烏頭鹼和氯化鋇誘發的心律失常，靜脈注射還能延長離體貓心的動作電位時程和有效不反應期，反映有降低心肌興奮性的作用⁽²⁵⁾。

二、 β -受體作用

葛根素放射性配體結合分析顯示能明顯降低大鼠心肌膜制劑中， β -受體的最大結合容量，另外葛根素能完全抑制腎上腺素對腺酸酶的激活作用，說明其為一種 β -受體拮抗劑，對心臟 β_1 -受體有選擇作用⁽³⁾。

三、對血糖的影響

葛根素與阿斯匹林組成的複方能降低血糖, 對某些糖尿病及某些心血管併發症, 可能有改善作用⁽²⁹⁾。

四、降低血脂

大劑量(500 mg/kg)能明顯降低血清總膽固醇, 但對血清游離脂肪酸和甘油三脂則無明顯影響⁽²⁹⁾。

五、毒性作用

- 1、急性毒性：葛根素注射液(溶於 30 %丙二醇 25 mg/ml)小鼠靜脈注射，LD₅₀ 為 735±28 mg/kg；將葛根素溶於生理食鹽水，50 mg/ml 靜脈注射 1 及 2 g/kg，觀察 1 周動物死亡⁽²⁴⁾。
- 2、慢性毒性：狗在每天靜脈注射葛根素 10 或 30 mg/kg，連續 4 周對血液學血液生化和主要器官病理檢查，均未發現異常；大鼠每天肌肉注射葛根素 10 或 50 mg/kg 連續 3 個月，亦未出現毒性反應，但局部注射區有一定刺激反應⁽²⁴⁾。

六、臨床應用

1、對於冠心病心絞痛的作用

葛根素注射液治療冠心病，有硝酸酯類和β-接受器拮抗劑的優點，而無硝酸酯類擴張血管的同時反射性心率增快、增加心肌耗氧量的缺點，也無β-受體拮抗劑的負性肌力作用和增加血管外周阻力的缺點；臨床觀察，它可改善心肌缺血，有效減少心絞痛發作及持續總時間⁽²⁹⁾。

2、對於高血壓的作用

葛根素制劑能降低血壓，除擴張血管、降低心率和通過類似β接受器拮抗的作用外，還有抑制動脈硬化、降低血脂和改善微循環，預防繼發症的

發生⁽²⁹⁾。

3、於腦供血不足與腦梗塞的作用

葛根素制劑治療腦供血不足，主要是通過擴張血管，解除腦血管痙攣來改善腦部血液循環；而腦梗塞患者使用葛根素後，其紅血球細胞變形指數明顯升高⁽²⁹⁾。

4、對於視網膜動脈阻塞的作用

葛根素注射液治療視網膜動脈阻塞，可見視網膜感光區擴大，視力提高，總有效率為 75 %⁽²⁹⁾。

5、對於青光眼的的作用

康氏等用 1%葛根素滴眼溶液治療 80 例，143 隻青光眼，發現對未手術的原發性廣角型、閉角型青光眼及繼發性青光眼均有降低眼內壓的作用，對殘餘性青光眼及各型用其它降眼壓藥物效果不滿意者，加用 1 %葛根素滴眼亦有一定降眼壓效果，總有效率為 70.6 %⁽³⁰⁾。

6、對於突發性耳聾的作用

葛根素注射液治療突發性耳聾 30 例，70%的患者在用藥兩周內，聽力有不同程度的提高⁽²⁹⁾。

綜合葛根素對心血管系統、血糖、血脂的影響及改善腦血循環，為臨床上治療多種循環障礙疾病，提供了一個有價值的藥物，而改善腦血循環是否會影響學習記憶，值得進一步深入探討。

第四節 學習記憶之文獻考察

一、學習記憶之形成過程

學習指經驗的獲得與發展，記憶則為經驗的保存與再現。一般記憶之保存時間大致可分為三類，即短期記憶(short-term memory)、中期記憶(intermittent-term memory)、及長期記憶(long-term memory)⁽³¹⁾；再進一步就訊息刺激後之學習記憶形成階段，則可分為四期⁽³²⁾：感覺記憶期(sensory memory)-在事件發生後數秒鐘內的記憶；初級記憶期(primary memory)-在事件發生後數分鐘內的記憶，此類記憶僅能維繫數小時；二級記憶期(secondary memory)-在事件發生後數月內的記憶，此類記憶可維繫數年之久；三級記憶期(tertiary memory)-在事件發生後數十年內的記

憶，此類的記憶形態可長達終生不忘。

事實上，不論任何的記憶階段，當外界之刺激訊息輸入後以至記憶之形成，通常都需要經歷下述之階段，即學習獲得(acquisition)、記憶鞏固(consolidation)、記憶再現(retrieval)及再學習獲得(reacquisition)之過程；一旦新訊息經學習獲得記憶鞏固後，便進入中期記憶形態，若再經不斷之再學習獲得或記憶之再現，而使記憶形態再次鞏固便可進入長期記憶⁽³³⁾。另外，1995 年 5 月在日本京都國際會議中心召開的國際性生命科學專題研討會-學習記憶專題，Gasic 對此會議進行了綜合報導並對不同記憶類型的腦內解剖結構定位進行總結(Fig.3)⁽³⁴⁾使大腦結構與記憶的相關性有了更進一步的了解。

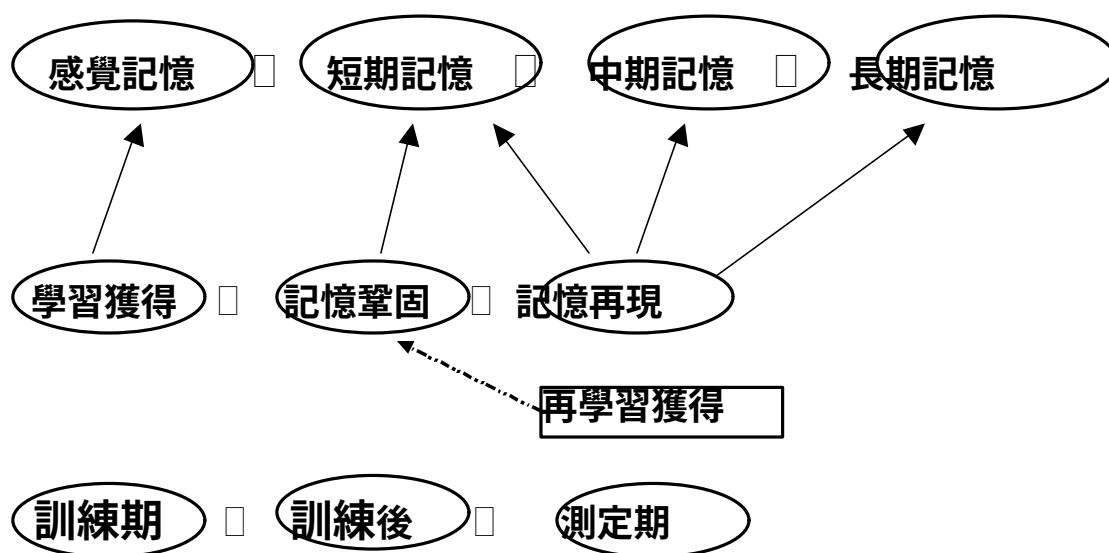


Fig.2、學習記憶之形成圖⁽³³⁾

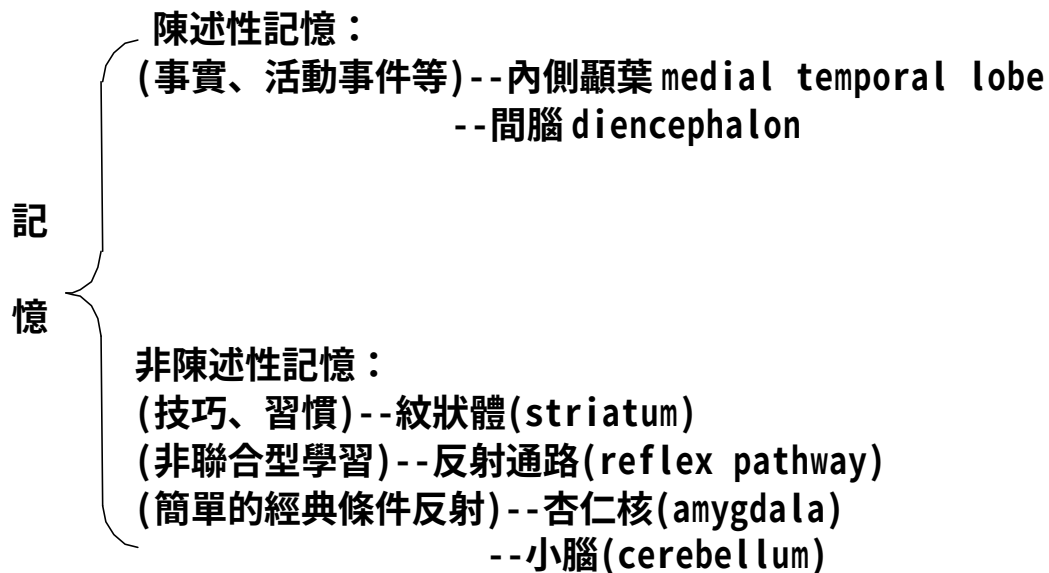


Fig. 3 記憶的腦內解剖結構定位⁽³⁴⁾

二、腦內神經傳遞物質對記憶成形之影響

(一)、Cholinergic system 對記憶成形之影響

1971 年 Deutsh 指出，在新信習之儲存和再現過程，乙醯膽鹼神經元突觸有明顯增加及改變之現象⁽³⁵⁾。而在近期之行為藥理學之研究中，Drachman 及 Leavitt 發現年輕人在服用乙醯膽鹼蕈菌類接受器拮抗劑 SCOP 後，會產生類似老年癡呆症之進行性健忘症狀⁽³⁶⁾；同時 Quartermain 及 Leo 亦發現給予大鼠 SCOP 後，可使腦內 cholinergic neuron 之 loss 而誘發學習行為操作之障礙^(37~40)；之後在各種動物學習行為模式之研究，亦發現 SCOP 初期的影響過程是在學習獲得的成形過程⁽⁴¹⁾；實驗結果亦顯示，SCOP 會加強滯留行為的障礙，同時提供了 SCOP 的障礙和學習成形相互關聯⁽⁴²⁾。

另在乙醯膽鹼尼古丁接受器之拮抗劑 MECA，發現不僅可使腦內乙醯膽

鹼神經系統之活性降低，亦可造成大鼠行為操作之障礙，但對學習行為模式較具選擇性⁽⁴³⁾。Oliverio 亦報告，MECA 會延遲小鼠主動迴避的學習獲得和障礙迷宮的學習；同樣在小鼠的被動迴避的學習獲得造成障礙⁽⁴⁴⁾。

近來在 basal forebrain 的 cholinergic neurons，特別是 nucleus basalis magnocellularis (NBM) 與記憶過程的支配相關聯。在大鼠腦室給予乙醯膽鹼神經毒素 AF64A，會降低 hippocampal 和 frontal cortex 之間 acetylcholine 的水平，且造成被動迴避學習記憶的障礙⁽⁴⁵⁾；另在乙醯膽鹼神經毒素 AF64A 所造成之腦內乙醯膽鹼神經元之萎縮及大鼠學習行為操作障礙，發現若植入富含乙醯膽鹼之神經元便可使記憶減退之現象得到恢復⁽⁴⁶⁾。

此外在 1990 年 Goto 指出，乙醯膽鹼之周邊接受器拮抗劑 meth-SCOP，可造成痛覺、感受及運動量之改變，但不會造成學習記憶之障礙⁽⁴⁷⁾。因此，在學習記憶之能力上，中樞乙醯膽鹼神經系統，確具重要參與之角色；而在接受器之參與上，蕁蕁類與尼古丁類接受器，均具正面之角色；但兩者參與之學習記憶形態上則有不同之性質；其次，蕁蕁類接受器之 M₁ 或 M₂ 接受器則具相似之作用⁽⁴⁸⁾。

(二)、Catecholaminergic system 對記憶成形之影響

根據 Oei 之報告指出，周邊及中樞 noradrenergic system 在學習記憶中扮演一定的角色⁽⁴⁸⁾。在大鼠迴避學習記憶行為操作模式觀察，發現老化引起的大腦 NE 含量缺乏，會促成老化相關的迴避行為抑制不足；若給予大腦 NE 取代治療則可改善老化動物的迴避行為抑制不足⁽⁴⁹⁾。

1991 年 Harley 提出，在成年哺乳類大腦，作用於 perforant path-dentate gyrus synapse 可提供一個神經可塑性的模式。當內生性或外生性 NE 被輸入，從 dentate gyrus 作用到 perforant path，可促發短期和長時期的加強，促發這個加強作用依賴 β -接受器的活化。另外增加

locus coeruleus(LC)的活性，可進入 perforant path 短期和長時期加強的作用，降低 LC 的活性則不影響 baseline perforant path 的作用⁽⁵⁰⁾。

Oei 及 King 以 6-OHDA 造成腦部區域損壞之研究中，Pisa 及 Fibiger 指出 dorsal noradrenergic bundle(DNB)之 noradrenaline 在空間性記憶能力及注意力，扮演一定之角色⁽⁵¹⁾。另 Mason 和 Fibiger 在大鼠 food reinforced spatial delayed alternation task 中，注射 6-OHDA 於 dorsal noradrenergic bundle，發現 cortex-hippocampus 的 NE 有 95% 的下降。更有報告指出注射 6-OHDA 於 A10 catecholamine 神經，對於大鼠的 delayed alternation task、T-maze(food reinforcement)等，造成行為障礙⁽⁵²⁾。

報告指出，週邊 epinephrine 的釋放，可調節新訊息成形的貯存和促進記憶的調節。訓練前給予 propranolol 及 phenoxyben-zamine，為 α -及 β -接受器拮抗劑，會減弱 epinephrine 的記憶增強作用⁽⁵³⁾；另給予大鼠 β -接受器拮抗劑 propranolol，會阻礙行為的改善；當 propranolol(10 mg/kg)併用 intrahippocampal SCOP (0.32 μ g/side)，明顯增加 working memory 的錯誤，顯示 working memory 的行為，是經由 muscarinic 和 β -adrenergic 共同調節神經傳遞的作用機轉⁽⁵⁴⁾。

(三)、Serotonergic system 對記憶成形之影響

1953 年在哺乳類的中樞神經系統內首次發現 serotonin⁽⁵⁵⁾。經過證實，locus coeruleus(LC)接受一密集的 serotonin 神經的分佈，而 serotonin 的細胞體是在 raphe nuclei⁽⁵⁶⁾。在無脊椎動物如海蝸牛所進行之條件學習反應研究中，認為記憶鞏固係 5-HT 釋出後，作用於突觸後接受器導致突觸後神經內 protein kinase 之活化，以促進蛋白質合成及基因之複製⁽⁵⁷⁾。Serotonin 包含多種 5-hydroxytryptamine 受體次單位，如：5-HT₁、5-HT₂、5-HT₃、5-HT₄、5-HT₅、5-HT₆、5-HT₇⁽⁵⁷⁾。研究數據指出，個

別刺激或阻斷 5-HT_{1B} 和(或)5-HT_{2A/2C} 接受器，會障礙或加強學習⁽⁵⁸⁾；另外文獻指出 serotonin 在辨識過程，是經由過度釋放而非耗盡來產生滯留行為的障礙⁽⁵⁹⁾。

PCA 為 serotonin 釋出促進劑，可增加中樞 serotonin 之活性而誘發學習獲得障礙。在大鼠 one-way 主動迴避模式的學習和滯留及被動迴避模式的滯留，PCA 會造成一個劑量和時間相關的障礙；一聯串的研究亦指出，PCA 會導致迴避學習的缺乏，是藉由刺激突觸後的 serotonin 接受器而產生 serotonin 的釋放所致。由 PCA 導致的主動迴避模式的學習獲得不足，被認為是經由刺激 5-HT₂ 接受器而促成；被動迴避模式的滯留則被認為是經由 5-HT₁ 接受器而促成⁽⁶⁰⁾；另外 PCA 所引起的健忘，可被小鼠訓練後給藥 5-HT₂ 接受器拮抗劑：ritanserin-(RIT)、mianserin(MIA)逆轉，但 SCOP 引起的健忘則不行⁽⁶¹⁾。

腹腔注射給予大鼠 5-HT_{1A} 接受器作用劑：8-OH-DPAT，明顯增加 three-panel task 的錯誤次數，但在參考記憶(reference memory)測試，則沒有作用；這提供當活化 hippocampus 的 5-HT_{1A} 受體會障礙 working memory 但不影響 reference memory 的保留⁽⁶²⁾。另在大鼠的 working memory task(delay non-matching to position, DNMT)障礙實驗中，結果顯示併用 5-HT_{1A} 接受器作用劑 8-OH-DPAT 及 5-HT₂ 接受器作用劑 DOI，可干擾大鼠在 DNMT 中的非辨識行為⁽⁶³⁾。

(四)、Excitatory amino acid(EAA) 對記憶成形之影響

興奮性氨基酸一般可分為 kainate、quisqualate(或 AMPA)、N-methyl-D-aspartate(NMDA)等三類。Flood 等之研究認為，NMDA 或非 NMDA 接受器拮抗劑，均可造成學習獲得障礙，但對記憶再現則不受影響⁽⁶⁴⁾。實驗結果顯示，在老年小鼠的學習和記憶缺乏和中樞 EAA 神經傳遞系統的減少相互關聯。另外長時期加強(LTP, long-term potentiation)在

hippocampus 的神經突觸傳遞，亦是藉由 NMDA 受體促成⁽⁶⁵⁾。

1973 Bliss 和 Lomo 提出，誘導 hippocampus 的 LTP：一種神經可塑性的細胞模式，顯示 LTP 需要 NMDA 受體的活化。給予非競爭 NMDA 接受器拮抗劑 dizoclipine(MK-801)和 phencyclidine(PCP)顯示，可阻斷體外實驗的 hippocampus LTP，並且障礙 hippocampus 相關依賴的行為，例如：位置和空間的學習⁽⁶⁶⁾。另外給予大鼠 MK-801，在電刺激幾分鐘前 i.c.v. 灌入 hippocampus 區域，會障礙大鼠迴避電刺激區域的技能。此外，臨床研究指出，阿耳海默氏症的癡呆和神經變質退化，和 EAA 傳遞功能低下相關聯，特別是 hippocampal NMDA 接受器通道的功能異常⁽⁶⁷⁾。

(五)、蛋白質合成對記憶成形之影響

在記憶成形的過程，當細胞的過極化可能聯合 sodium pump 活性，而傳送顯著的片面記憶的追溯，再經由蛋白質的合成使更永久記憶的追溯能夠成形⁽⁶⁸⁾，所以在記憶鞏固過程蛋白質合成為必需因素，因此蛋白質合成抑制劑如 cycloheximide、anisomycin、puromycin 等，均能造成記憶鞏固損害之現象。CYM 主要經由阻斷 mRNA 之轉錄，約可抑制 80%蛋白質合成，以造成記憶鞏固之障礙⁽⁶⁹⁾。另一方面在 Nabeshima 等之研究中指出，CYM 誘發記憶鞏固障礙與神經傳遞物質間有密切關係；主要經增加中樞 serotonergic system 之活性以間接降低 cholinergic system 之活性⁽⁷⁰⁾，並影響中樞 adrenergic system、GABAergic system 之活性⁽⁷¹⁻⁷²⁾。故本研究使用 CYM 為誘發記憶鞏固障礙之藥物，並藉其與各神經傳遞物質之密切關係做更進一步的機轉探討。

第五節 阿耳滋海默氏症與腦內神經傳遞物質之關係

在工業化的社會，阿耳滋海默氏症(Alzheimer's disease, AD)是一種神經退化的疾病，癡呆是其最共通的病兆。而隨年齡的增長，發生阿耳滋海默氏症的危險，當超過 40 歲每增加 5.1 年便加倍發生，85 歲以上更增加到 50% 以上的發生率⁽⁷³⁾。阿耳滋海默氏症的症狀，平均潛伏 8~10 年才開始發作，或經過診斷後的 4~5 年之間才開始發作⁽⁷⁴⁾。

阿耳滋海默氏症是一種大腦退化和導致癡呆的疾病，其病理過程可能是下列因素引起：在神經病理(neuropathology factor)方面，在大腦 nucleus basalis of Meynert(NBM)區發現神經退化斑塊(senile plaques)、神經纖維纏繞(NFT)及膽鹼能神經的喪失等現象。在基因(genetic factor)方面，神經退化斑塊的形成是因為 β -amyloid protein 的沉澱增長或促進，而神經纖維纏繞則是 Tau protein 的異常磷酸化反應造成。在生化(biochemical factor)方面，如發炎、氧化、壓力、荷爾蒙缺乏(如 estrogen)和其它未確切的危險因子(如老化)。但導致阿耳滋海默氏症最危險的二個因子，一個是老化和陽性家族史，另一個危險因子則是頭部外傷⁽⁷³⁾。另在早發性、遲發性的 AD，已確定老化、家族史、apolipoprotein E gene-e4 的遺傳突變基因是危險因子⁽⁷⁴⁾。

於神經病理更進一步的研究，在大腦 basal forebrain 區阿耳滋海默氏症病人在該區之 cholinergic neurons 有顯著之神經纖維病變及神經末梢退化現象，且在其支配區 hippocampus 之 CA1 區及 neocortex 之 temporal cortex、frontal cortex 區均有斑塊形成及顯著之神經纖維病變。另在 brain stem 區，阿耳滋海默氏症病人在中樞 noradrenergic system 之前 locus coeruleus 區的神經細胞數目明顯減少並出現神經纖維病變而中樞 serotonergic system 之 raphe nuclei 區亦出現神經纖維病變；顯示 noradrenergic system 及 serotonergic system 與阿耳滋海默氏症病人之記憶能力減退，有密切之關係。由此顯示 hippocampus 區神經之損害，在阿耳滋海默氏病人之記憶能力減退現象中，扮演極重要之角色；而 neocortex 區神經之損害，則與阿耳滋海默氏病人之運動機能及視力有較密切之關係⁽⁷⁶⁻⁷⁷⁾。茲將阿耳滋海默氏症與中樞神經傳遞物質間之關係敘述如下：

1、在 cholinergic system 方面

阿耳滋海默氏病人腦內 basal forebrain 之 NBM 區及其支配之 frontal cortex、parietal cortex、basolateral amygdala 區等有極廣泛之細胞損減現象，而膽鹼乙醯轉移酶(CHAT)、乙醯膽鹼酯解酶(AchE)之密度及乙醯膽鹼之濃度亦有明顯降低現象^(75、77)。由此可知在阿耳滋海默氏病人其中樞 cholinergic system 之功能明顯下降⁽⁷⁶⁻⁷⁸⁾，特別是 NBM 區及其支配之 frontal cortex、parietal cortex、basolateral amygdala 區之軸突及神經末梢。

2、在 catecholaminergic system 方面

阿耳滋海默氏病人腦內 frontal cortex 及 hypothalamus 區之前 norepinephrine 濃度有明顯降低而其代謝物 MHPG 之濃度則有增加現象⁽⁷⁶⁾；另根據 Tomlinson 氏等研究指出在阿耳滋海默氏病人，其腦內

noradrenergic system 主要分佈區域 locus coeruleus(LC)有明顯之細胞減損現象⁽⁷⁹⁾；而在 AAMI(aged-associated memory impairment)亦發現中樞 noradrenergic system 之功能有顯著之下降⁽⁸⁰⁾。由此可知在阿耳滋海默氏病人中樞 noradrenergic system 之活性明顯下降。

3、在 serotonergic system 方面

阿耳滋海默氏病人腦內 temporal cortex 及 frontal cortex 區之 5-HT 及 5-HIAA 濃度有明顯降低⁽⁷⁶⁾，而在中樞 serotonergic system 接受器鍵結能力及受體密度之研究上亦指出腦內 ascending serotonergic system 包括 hippocampus、neocortex、amygdala 之接受器密度有明顯之降低，且在 temporal cortex 及 frontal cortex 區突觸前之 5-HT₂ receptors 亦有明顯之減損^(81、82)。另外在阿耳滋海默氏患者中的 dorsal raphe nucleus(DRN)及 hippocampus 的 CA2 子域及 entorhinal 皮質，都可發現 serotonin transporter(5-HTT)部位亦明顯減少⁽⁷²⁾。由此可知在阿耳滋海默氏病人中樞 serotonergic system 之活性明顯下降⁽⁸³⁾。

4、在 excitatory amino acid(EAA) 方面

阿耳滋海默氏病人顯示“excitotoxic environment”會降低能量的可用活性，增加氧化和 amyloid、 β -peptide 的堆積⁽⁸⁴⁾。近來發現一種新型的興奮性毒性(excitotoxicity)，當 glutamate 傳遞功能低下時會產生一種新型興奮性毒性，而引起一網路式的混亂，進而促發廣泛的神經損傷及較慢的漸行性退化，導致細胞死亡。此神經毒性過程會因阻斷 GABA 神經上的 NMDA 接受器而解除；當 glutamate 正常的情況下會抑制 GABA，若阻斷 NMDA 即會阻斷 GABA 的抑制；因此會引起分佈在大腦皮質及 limbic brain 區域的 cholinergic 及 glutamatergic 的接受器異常過度的活化，而大腦皮質及 limbic brain 區域為可看到阿爾滋海默氏症特徵的區域。

第三章 實驗材料與方法

第一節 實驗材料

一、實驗試劑

- 1、Phenoxybenzamine、propranolol、cycloheximide、scopolamine、mecamylamine、*p*-chloroamphetamine(以上均購自 Sigma 公司)。
- 2、5,7-dihydroxytryptamine、6-hydroxydopamine、acetylcholine mustard hydrochloride、tacrine 、8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)tetraline hydrobromide 、1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2 aminopropane (以上均購自 RBI 公司)。
- 3、Ringer solution、normal saline(以上均購自天立公司)。
- 4、葛根素(puerarin, 購自 Sigma 企業股份有限公司)

Table 2. 實驗試劑之簡稱、作用機制、購買公司一覽表

試劑全名	簡稱	作用機制	公司
scopolamine hydrobromide	SCOP	毒蕈鹼接受器拮抗劑	Sigma
mecamylamine hydrochloride	MECA	尼古丁接受器拮抗劑	Sigma
dizocilpine maleate	MK-801	非競爭 NMDA 接受器拮抗劑	RBI
<i>p</i> -chloroamphetamine	PCA	5-HT 釋出促進劑	Sigma
cycloheximide	CXM	蛋白質合成抑制劑	Sigma
propranolol	PRO	β -接受器拮抗劑	Sigma
phenoxybenzamine hydrochloride	PHE	選擇性 α -接受器拮抗劑	Sigma

1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2 aminopropane	DOI	5-HT ₂ 接受器致效劑	RBI
8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetraline hydrobromide	8-OH-DPAT	5-HT _{1A} 接受器致效劑	RBI
tacrine	TAC	膽鹼酯酶抑制劑	RBI
Acetylcholine mustard hydrochloride	AF64A	cholinergic neurotoxin	RBI
6-hydroxydopamine	6-OHDA	noradrenergic neurotoxin	RBI
5,7-dihydroxytryptamine	5,7-DHT	serotonergic neurotoxin	RBI

二、實驗動物

本實驗採用中國醫藥學院動物中心所提供之 Sprague-Dawley 系雄性大鼠，體重 250-300 公克，6 隻一籠，飼養室溫維持 $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照與黑暗各為小時(8:00 開燈，20:00 關燈)，飲水及飼料均不加以限制，全部實驗皆在白天進行。

三、實驗儀器

本實驗係使用[被動迴避(passive avoidance)學習反應裝置](Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)，此裝置分成兩部分，實驗箱(shuttle box)係為一經中間閘門分隔為相同大小二室($48 \times 20 \times 30\text{cm}$)的箱子及其控制器(MCU-101 Controller, Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)；在實驗裝置處置上，於相同大小二室之其中一室，上方 30cm 處置一 20W 之燈泡，相同大小二室區隔為明暗二室，中以門閘控制。

第二節 實驗方法與步驟

一、被動學習反應

適應期：於訓練 24 小時，先將大鼠置於實驗室中適應 2 小時後，置入實驗室之明室中，同時閘門開啟，待 10 分鐘後，取出大鼠，歸回飼養籠。

訓練期：將篩選過之大鼠，置入明室，同時開啟閘門，待大鼠進入暗室後，關閉閘門，同時於底板通以電流(1 mA, 2 sec)，待電刺激後 5 秒，自暗室取出大鼠，歸回飼養籠。

測定期：於訓練後 24 小時，再置入明室，同時並開啟閘門，記錄大鼠在明室之滯留時間(step-through latency, STL)。當於明室之滯留時間大於 5 分鐘(300 秒)時，則稱大鼠之學習記憶能力正常。(方法一)

二、葛根素之腦血流測定

以動物血液循環測定儀，依杜普樂原理測定其腦血管之血循速度。在腦殼中線旁開 2.5~3 mm，中耳線往前 4.2~4.5 mm 處，鑽一 1~2 mm 直徑的洞，硬腦膜保持完整，將雷射杜普樂探針(針尖直徑 0.8 mm)置於距硬腦膜表面上 0.5 mm 處測腦血流。於鑽洞後持續監測腦血流，直至腦血流穩定後記錄腦血流並腹腔注射給與葛根素 (25、50 mg/kg)，每隔 10 分鐘觀測其腦血流並記錄之。

三、葛根素對誘發被動迴避學習反應障礙物質之影響

三種不同劑量之葛根素(10、25、50 mg/kg,)於腹腔注射後 30 分鐘進行訓練，且與下述之誘發學習障礙物質併用，依前法(方法一)，記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予下述之誘發學習記憶障礙物質。而空白對照組則給予 vehicle。正對照組則給予 tacrine(1 mg/kg, i.p.)，給藥後 90 分鐘進行訓練。

1、學習獲得障礙誘發物質：

SCOP(1 mg/kg, i.p.)於訓練前 30 分鐘給藥。

MECA(10 mg/kg, i.p.) 於訓練前 30 分鐘給藥。

PCA(5 mg/kg, i.p.) 於訓練前 30 分鐘給藥。

MK-801(0.1 mg/kg, i.p.) 於訓練前 30 分鐘給藥。

2、記憶鞏固障礙誘發物質：

CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 於訓練後立刻給藥。

四、葛根素對 cycloheximide 誘發被動迴避學習反應障礙物質之機轉

葛根素(50 mg/kg)，於腹腔注射後 30 分鐘進行訓練，並於訓練後與 CXM(1.5 mg/kg, s.c.)併用。依前法(方法一)，記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予下述之誘發學習記憶障礙物質。而空白對照組則給予 vehicle。

1、本實驗所併用物質之劑量及時間分別為：

SCOP(0.3 mg/kg, i.p.)於訓練後給藥。

MECA(3 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

PCA(1.0 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

8-OH-DPAT(0.025 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

DOI(0.02 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

PRO(3 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

PHE(0.01 mg/kg, i.p.) 於訓練後給藥。

五、雙側腦部 dorsal raphe 區投與 serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 對葛根素改善學習記憶之影響

腦部 dorsal raphe 區(座標：bregma 往後 7.8 mm，往兩側 0.3 mm，深度 6.4 mm)給予 5,7-DHT (10 μ g/5 μ l)破壞兩側 dorsal raphe 區 serotonin 神經元，7 天後；於訓練後，於腦室立刻給予二種不同劑量之葛根素(5、10 μ g/20 μ l)，記錄大鼠在 24 小時後之測定期在明室之滯留時間。病理對照組給予 5,7-DHT。而空白對照組則給予 vehicle，並進行假手術組以比對之。

六、雙側腦部 locus coeruleus 區投與 noradrenergic neurotoxin 6-OHDA 對葛根素改善學習記憶之影響

腦部 locus coeruleus 區(座標：bregma 往後 9.8 mm，往兩側 1.3 mm，深度 7.2 mm)給予 6-OHDA(4 μ g/2 μ l)破壞兩側 locus coeruleus 區 noradrenaline 神經元，7 天後；於訓練後於腦室立刻給予二種不同劑量之葛根素(5、10 μ g/20 μ l)記錄大鼠在 24 小時後之測定期在明室之滯留時間。病理對照組給予 6-OHDA。而空白對照組則給予 vehicle，並進行假手術組以比對之。

七、側腦室投與 cholinergic neurotoxin AF64A 對葛根素改善學習記憶之影響

側腦室(座標：bregma 往後 0.9 mm，往兩側 1.4 mm，深度 3.6 mm)給

予 AF64A(3 nmol/side)破壞 hippocampus 區 acetylcholine 神經, 7 天後; 於訓練後於腦室立刻給予二種不同劑量之葛根素養(5、10 μ g/20 μ l), 記錄大鼠於 24 小時後之測定期在明室之滯留時間。病理對照組給予 AF64A。而空白對照組則給予 vehicle, 並進行假手術組以比對之。

八、數據統計

本實驗大鼠在被動迴避學習反應所得之數據, 以 Kruskal-Wallis non-parametric one- way analysis, 分析其變異數再以 Mann-Whitney *U*-test 統計並分析其間之顯著性。凡 P 值小於 0.05 以下時, 則認為有統計意義。

第四章 實驗結果

一、葛根素之腦血流測定

如圖四所示，葛根素經腹腔注射給與，僅在 50 mg/kg 劑量下達到最高腦血流，時間為 30 分鐘。

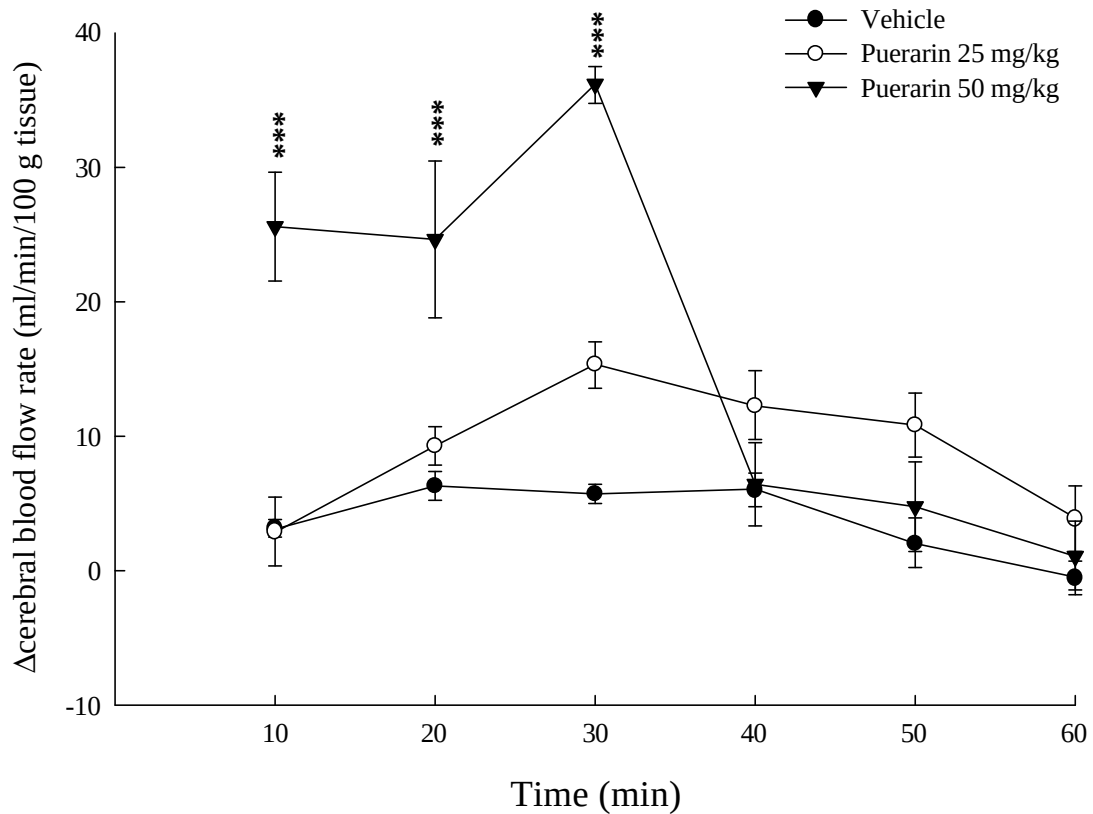


Fig 4. Effects of puerarin (25 and 50 mg/kg, i.p.) on the changed cerebral blood flow rate of middle cerebral artery measured by laser Doppler flowmetry in rats. *** $p < 0.001$, compared with the vehicle group.

二、葛根素對誘發被動迴避學習反應障礙物質之影響

1、PUR 對 SCOP 誘發被動迴避學習反應障礙之影響

如圖五所示，訓練前 30 分鐘給予 SCOP(1 mg/kg, i.p.)，可縮短大鼠在明室之滯留時間，誘發大鼠學習獲得障礙。PUR(10、25、50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 SCOP(1 mg/kg, i.p.) 誘發之大鼠學習獲得障礙，不具改善作用。

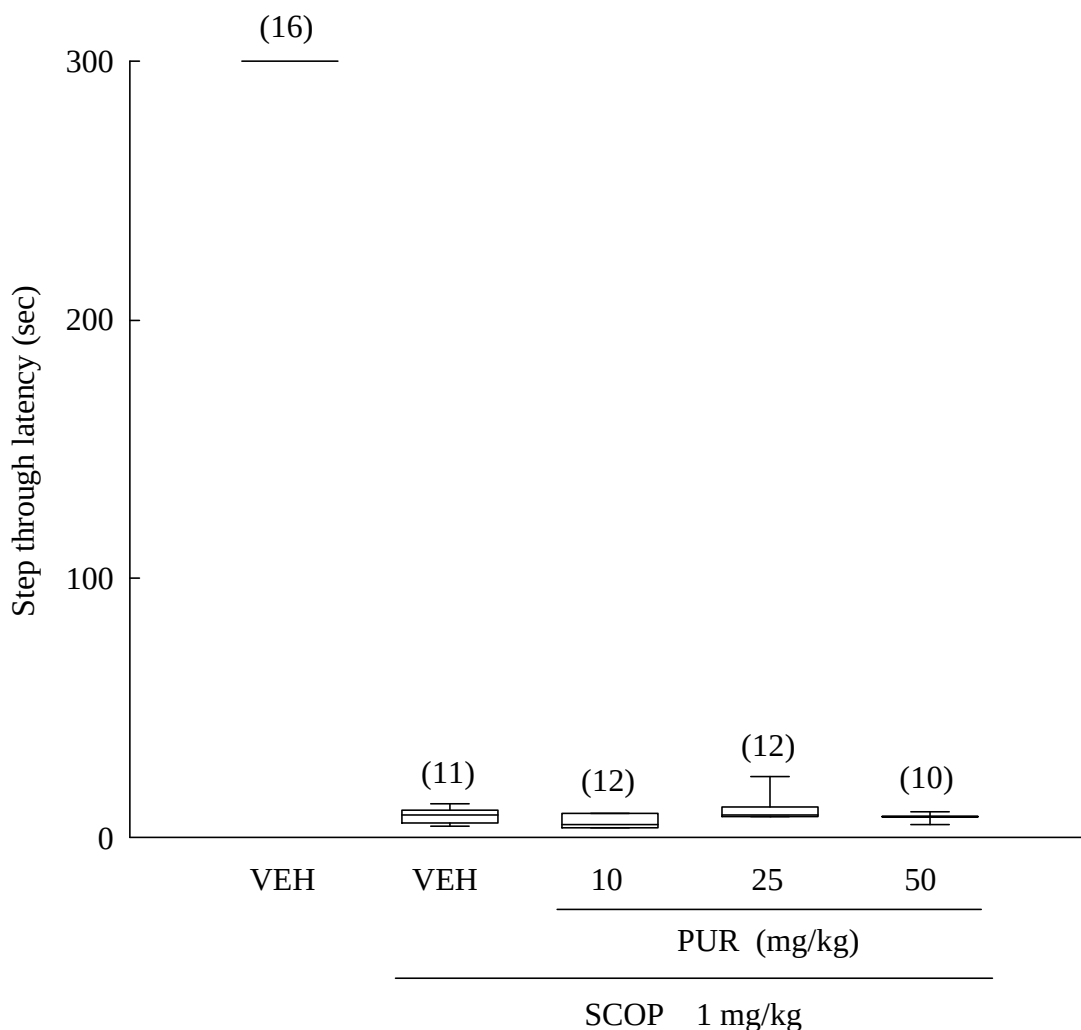


Fig 5. Effects of puerarin (PUR, 10, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on scopolamine (SCOP, 1 mg/kg)-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats. Each

column represents the median, and the range inside 5th and 95th percentile.

如圖六所示，PUR(10、25、50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 SCOP(0.5 mg/kg，i.p.) 誘發之大鼠學習獲得障礙，不具改善作用。

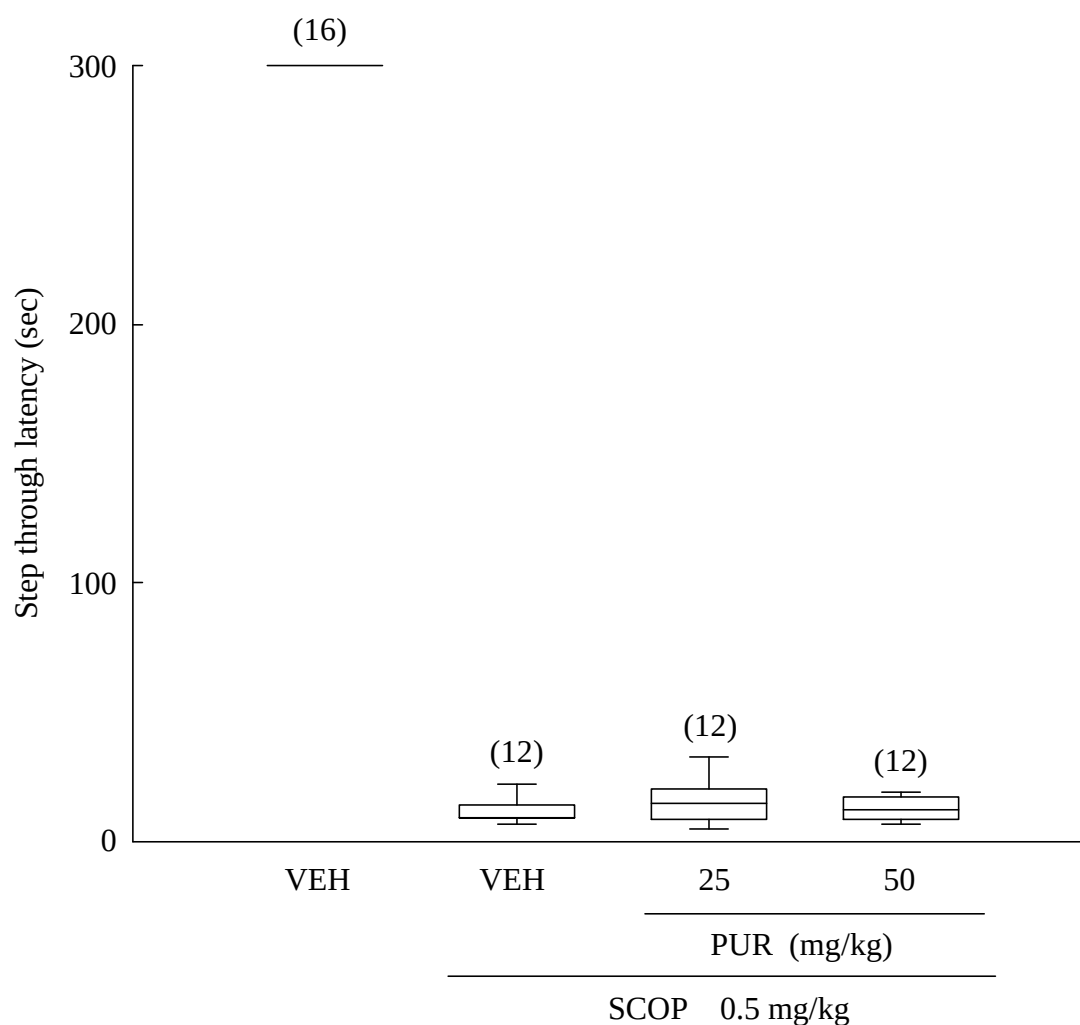


Fig 6. Effects of puerarin (PUR, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on scopolamine (SCOP) at subdose (0.5 mg/kg)-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside 5th

and 95th percentile.

2、PUR 對 PCA 誘發被動迴避學習反應障礙之影響

如圖七所示，訓練前 30 分鐘給予 PCA(5 mg/kg, i.p.)，可縮短大鼠在明室之滯留時間，誘發大鼠學習獲得障礙。PUR(10、25、50 mg/kg,) 經腹腔注射給藥後，僅於 25、50 mg/kg 劑量下，對 PCA(5 mg/kg, i.p.) 誘發之大鼠學習獲得障礙，具改善作用($p<0.001$)。

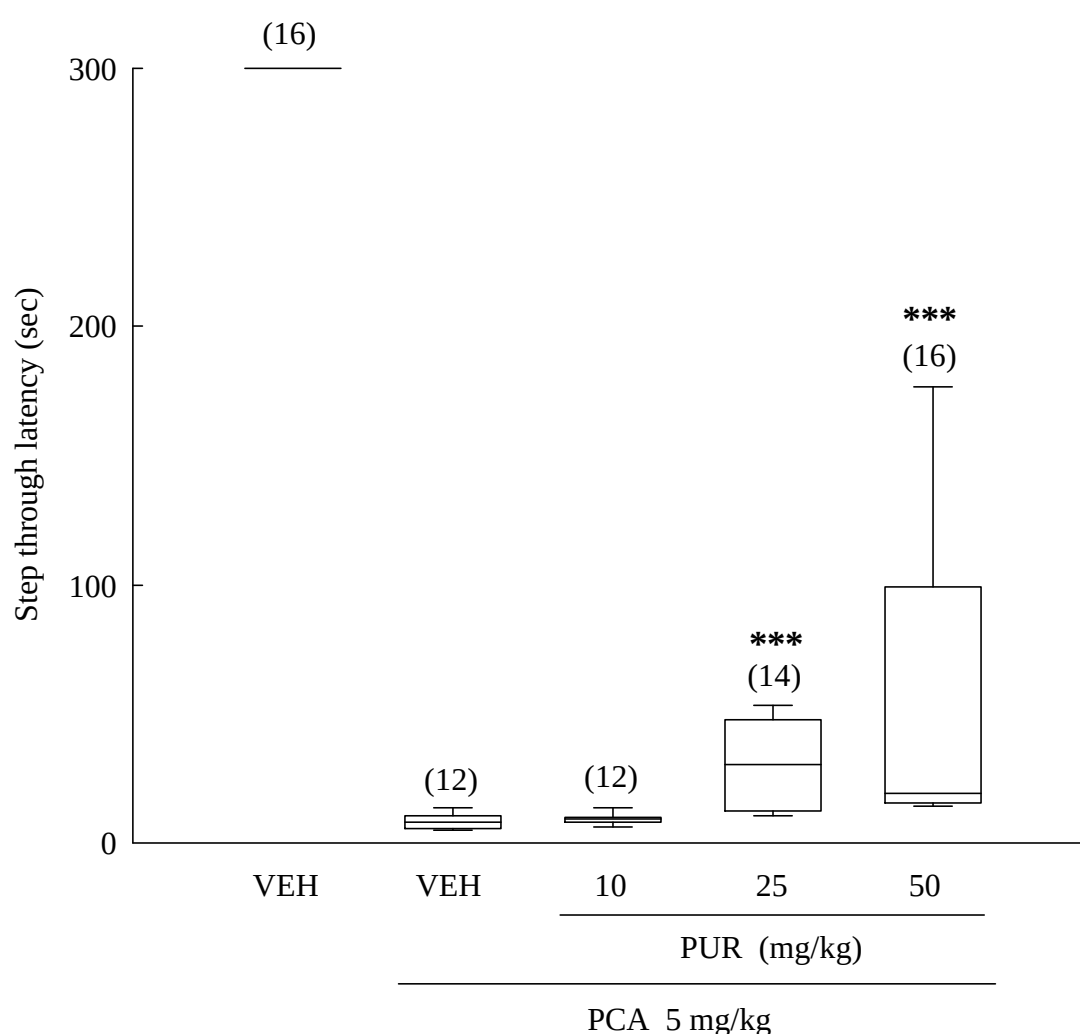


Fig 7. Effects of puerarin (PUR, 10, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on *p*-chloroamphetamine (PCA, 5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. ***

$p < 0.001$, compared with PCA/VEH group.

3、PUR 對 MK-801 誘發被動迴避學習反應障礙之影響

如圖八所示，訓練前 30 分鐘給予 MK-801(0.1 mg/kg, i.p.)，可縮短大鼠在明室之滯留時間，誘發大鼠學習獲得障礙。PUR(10、25、50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，僅於 25、50mg/kg 劑量下，對 MK-801(0.1 mg/kg, i.p.) 誘發之大鼠學習獲得障礙，具改善作用($p < 0.05$)，且於 50mg/kg 之劑量下作用較佳($p < 0.01$)。

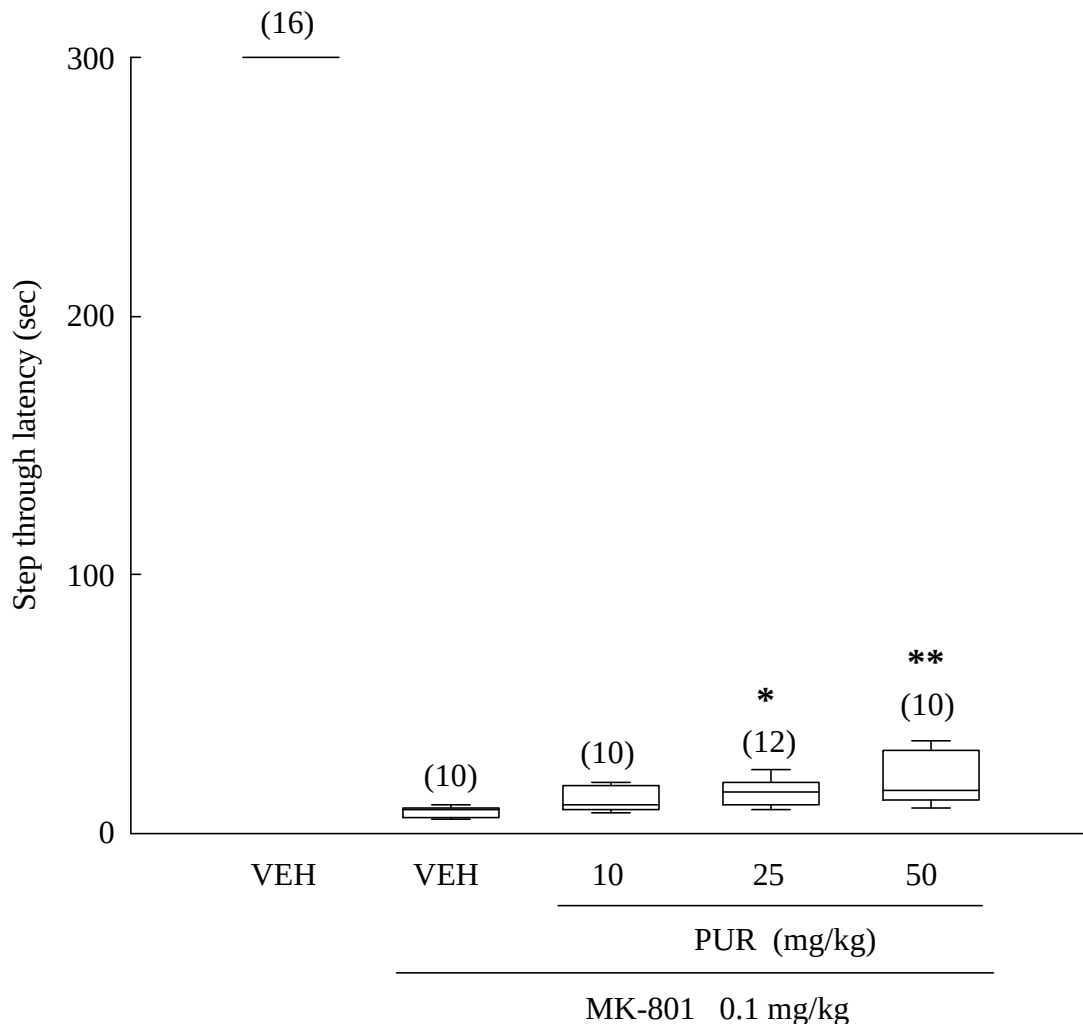


Fig 8. Effects of puerarin (PUR, 10, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on MK-801 (0.1 mg/kg)-induced

acquisition impairment of the passive avoidance in rats. Each column represents the median, and the range inside 5th and 95th percentile. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, compared with MK-801/VEH group.

4、PUR 對 MECA 誘發被動迴避學習反應障礙之影響

如圖九所示，訓練前 30 分鐘給予 MECA(10 mg/kg, i.p.)，可縮短大鼠在明室內之滯留時間，誘發大鼠學習獲得障礙。PUR(10、25、50 mg/kg,) 經腹腔注射給藥後，對 MECA(5 mg/kg, i.p.) 誘發之大鼠學習獲得障礙，具改善作用($p < 0.001$)。

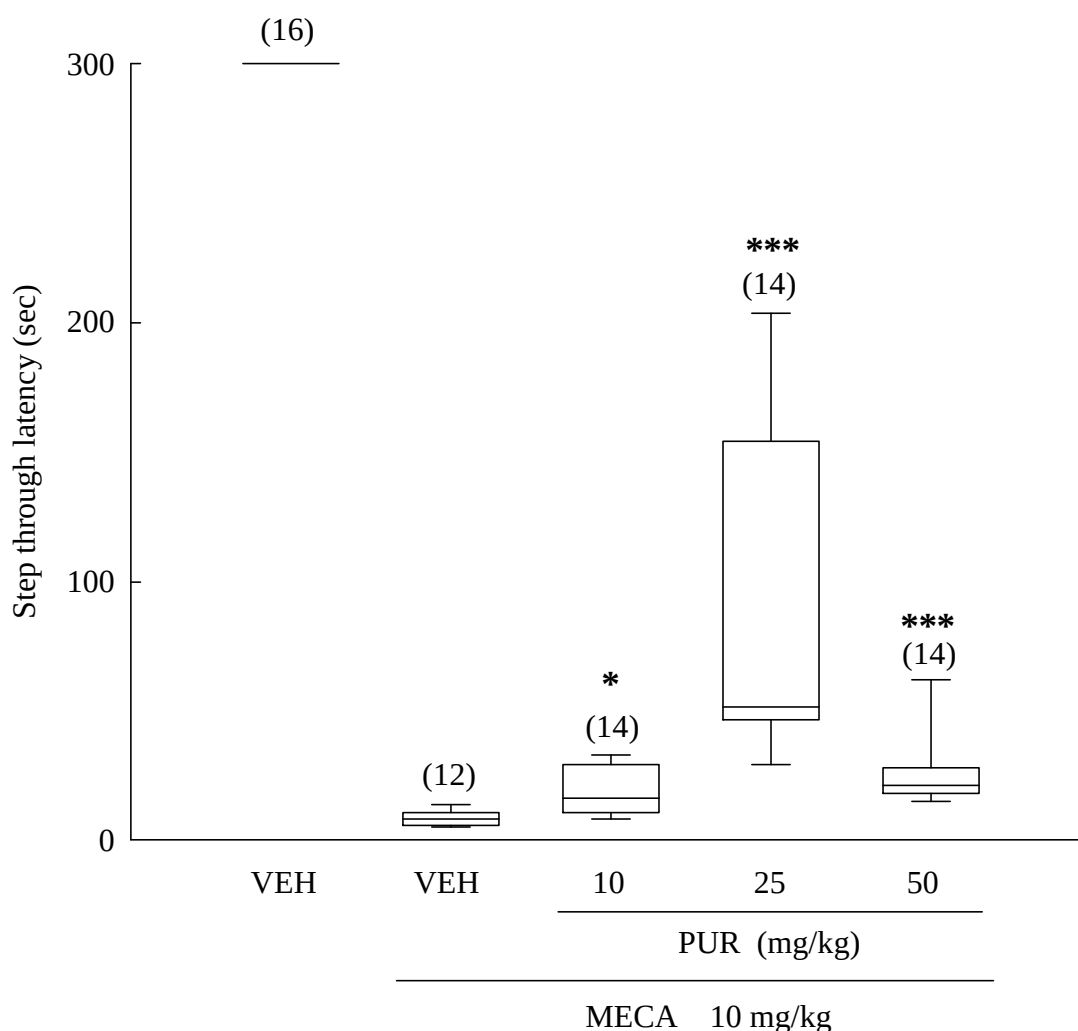


Fig 9. Effects of puerarin (PUR, 10, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on mecamylamine (MECA, 10

mg/kg)-induced acquisition impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p < 0.001$, compared with CXM/VEH group.

5、PUR 對 CXM 誘發被動迴避學習反應障礙之影響

如圖十所示，訓練後立即給予 CXM(1.5 mg/kg, s.c.)，可縮短大鼠在明室之滯留時間，誘發大鼠記憶鞏固障礙。PUR(10、25、50 mg/kg,) 經腹腔注射給藥後，僅於 25、50 mg/kg 劑量下，對 CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發之大鼠記憶鞏固障礙，具改善作用($p < 0.001$)。

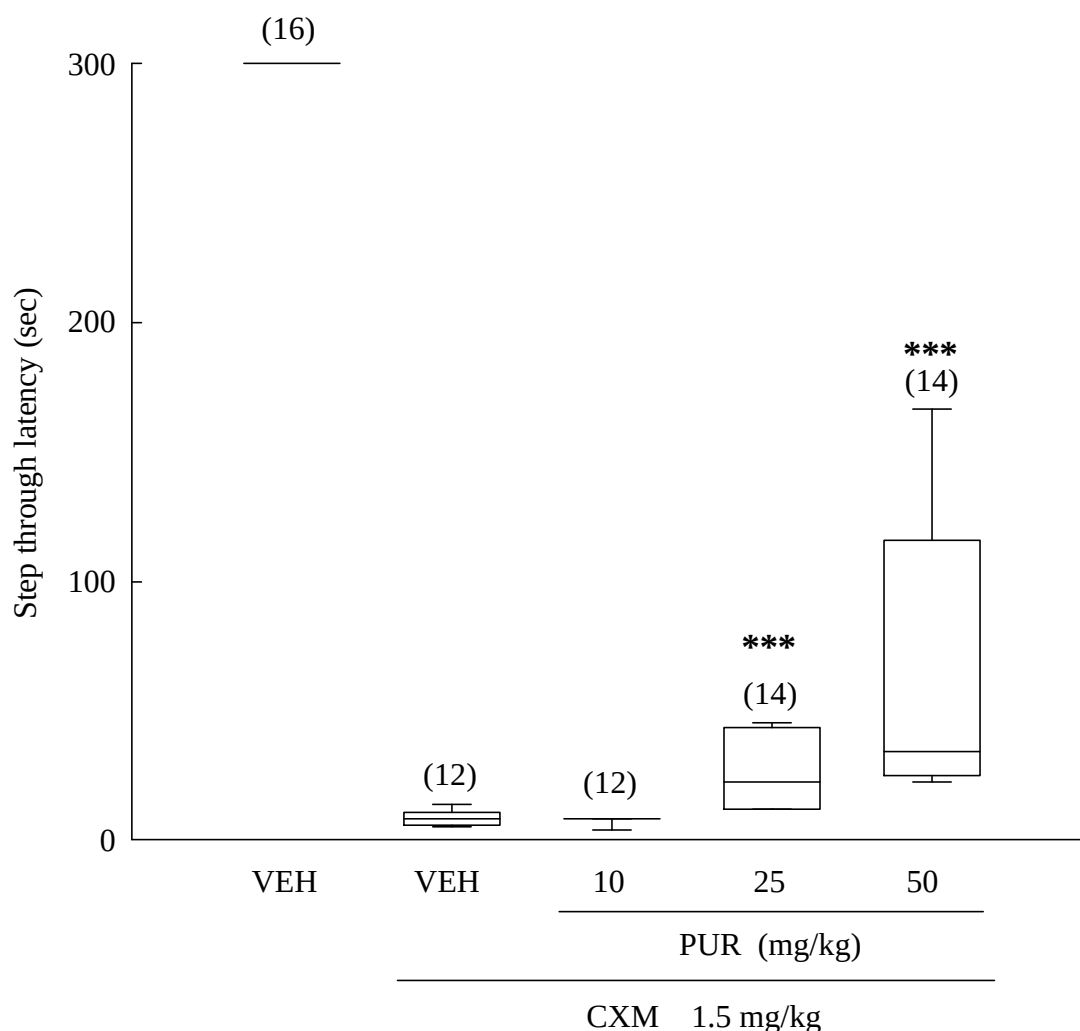


Fig 10. Effects of puerarin (PUR, 10, 25 and 50 mg/kg, i.p.) on cycloheximide (CXM,

1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p < 0.001$, compared with CXM/VEH group.

三、葛根素對 cycloheximide 誘發被動迴避學習反應障礙

物質之機轉

- 1、如圖十一所示，PUR(25 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 SCOP(0.3 mg/kg, i.p.)部分拮抗($p < 0.05$)。

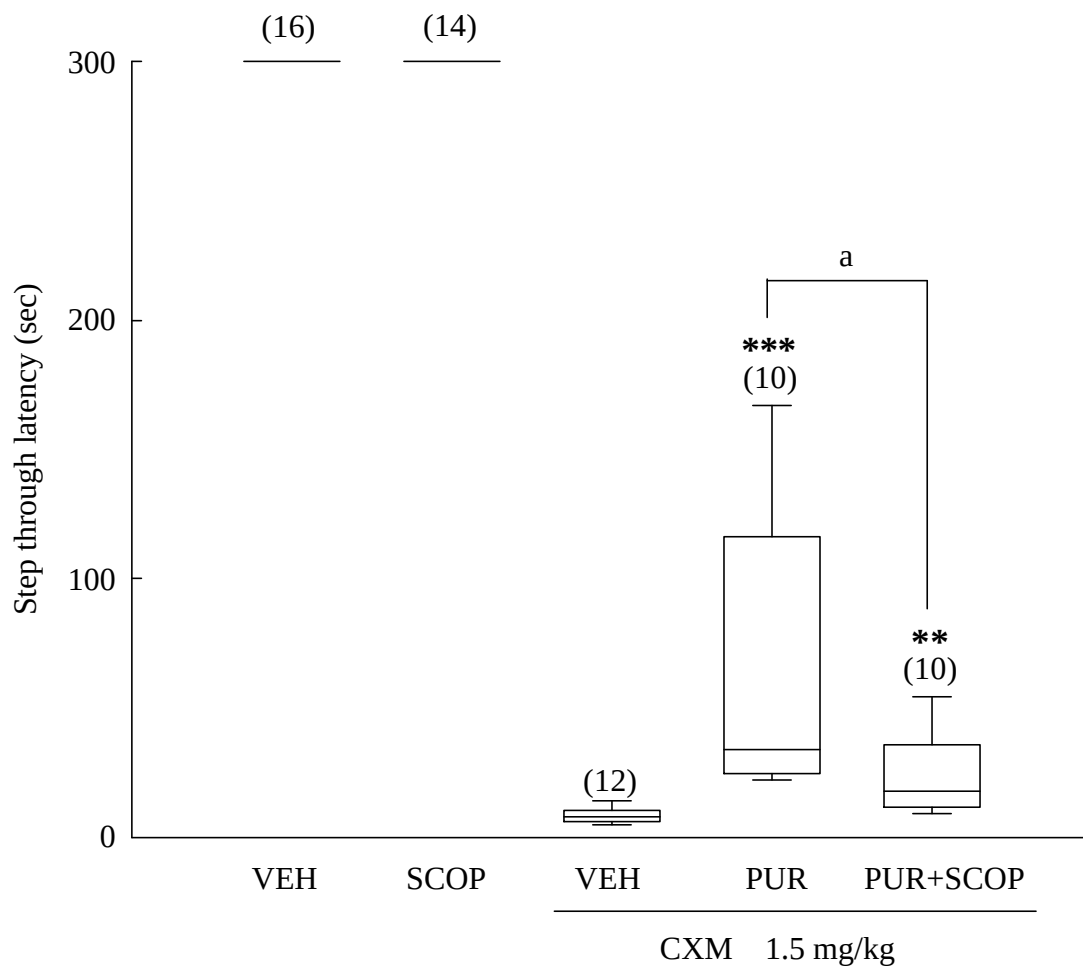


Fig 11. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus scopolamine (SCOP, 0.3 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance

reponse in rats. Each column represents the median, and the range inside 5th and 95th percentile.
 ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, compared with CXM/VEH group. a $p < 0.05$, compared with PUR/CXM group.

2、如圖十二所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 MECA(3 mg/kg, i.p.)部分拮抗($p < 0.01$)。

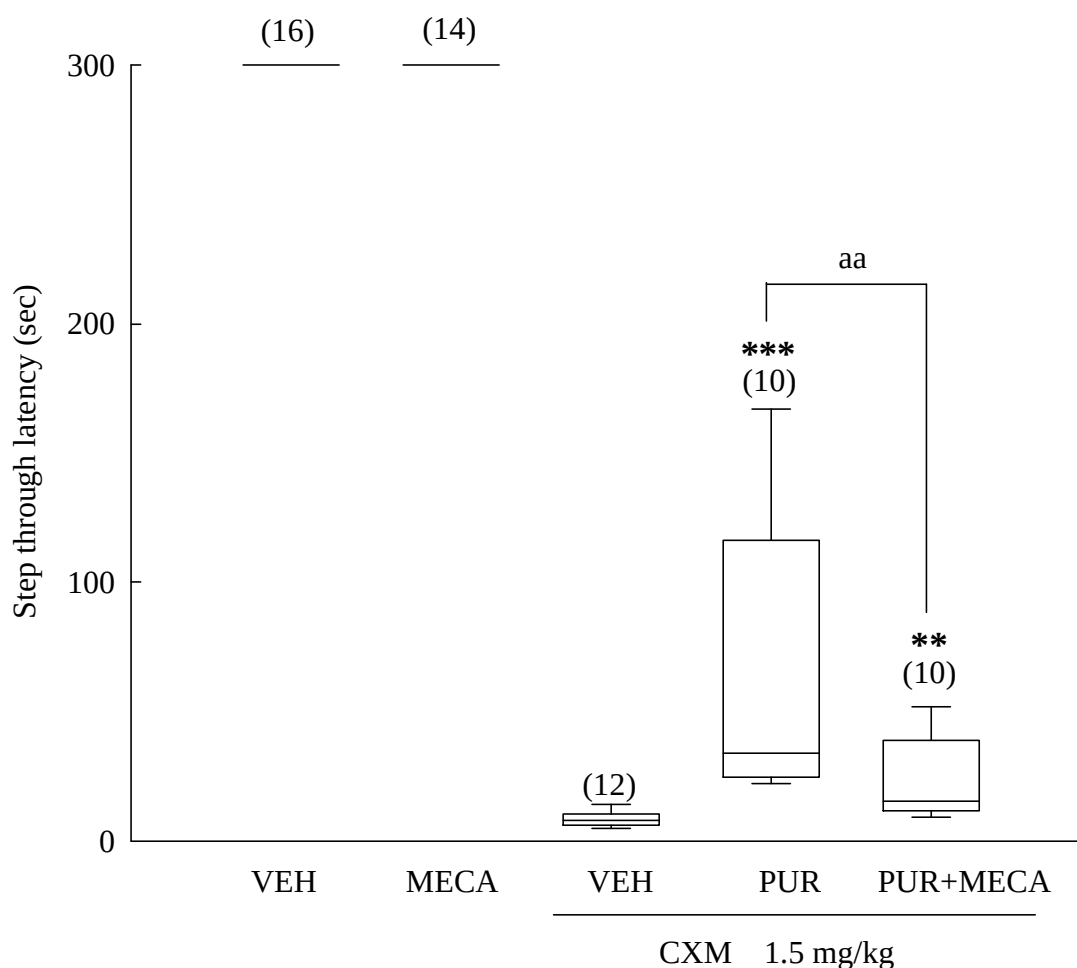


Fig 12. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus mecamlamine (MECA, 3 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and

95th percentile. ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, compared with CXM/ VEH group. aa $p<0.01$, compared with PUR/CXM group.

3、如圖十三所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 PCA(1 mg/kg, i.p.)所拮抗($p<0.001$)。

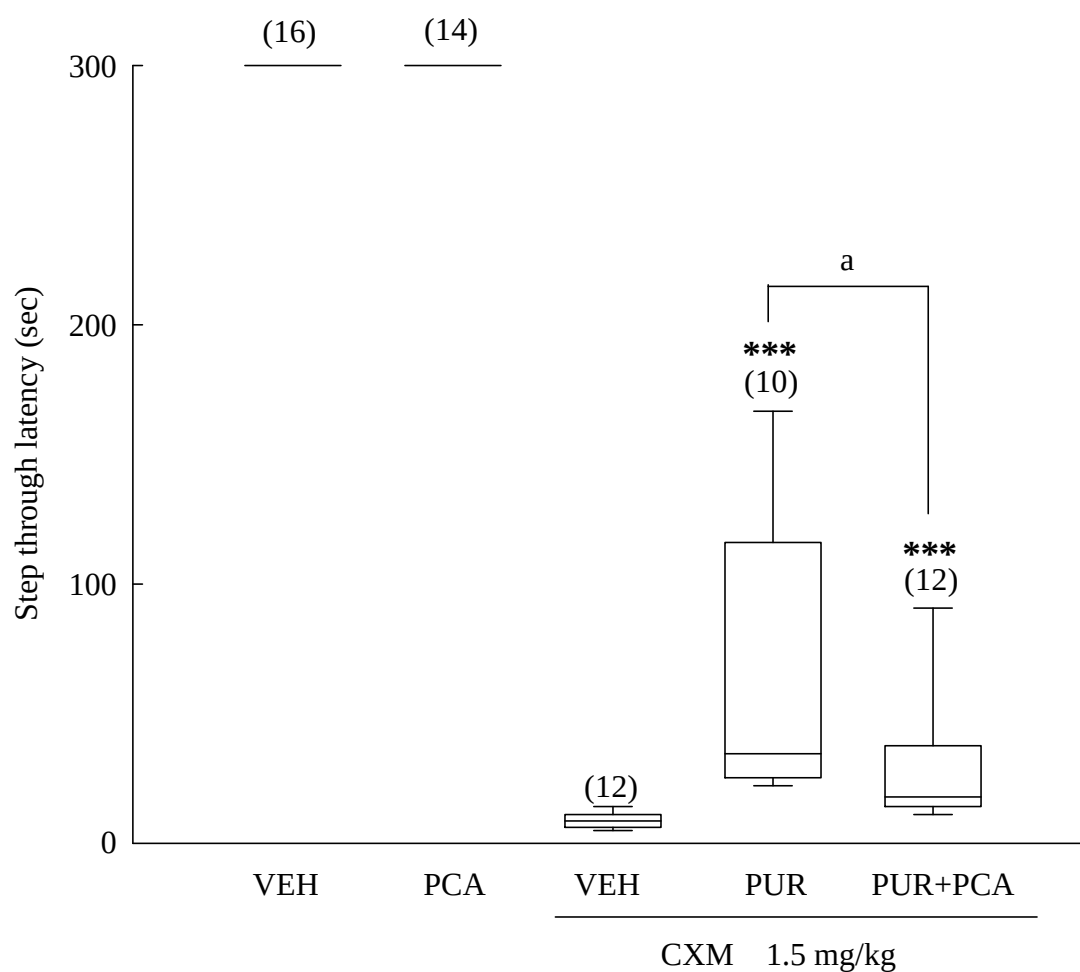


Fig 13. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus *p*-chloroamphetamine (PCA, 1 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group. a $p<0.005$, compared with PUR/CXM group.

4、如圖十四所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，無法被 8-OH-DPAT(0.025 mg/kg, i.p.)所拮抗($p<0.01$)。

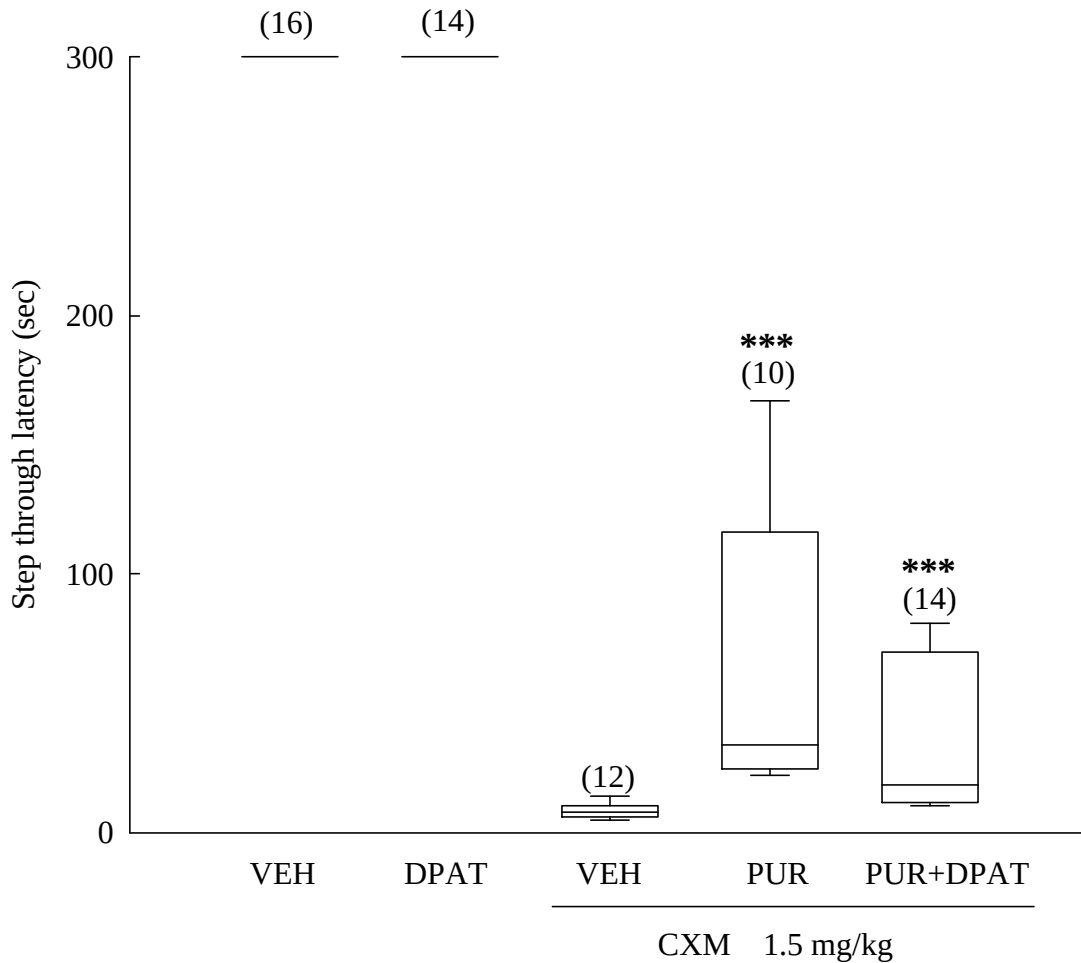
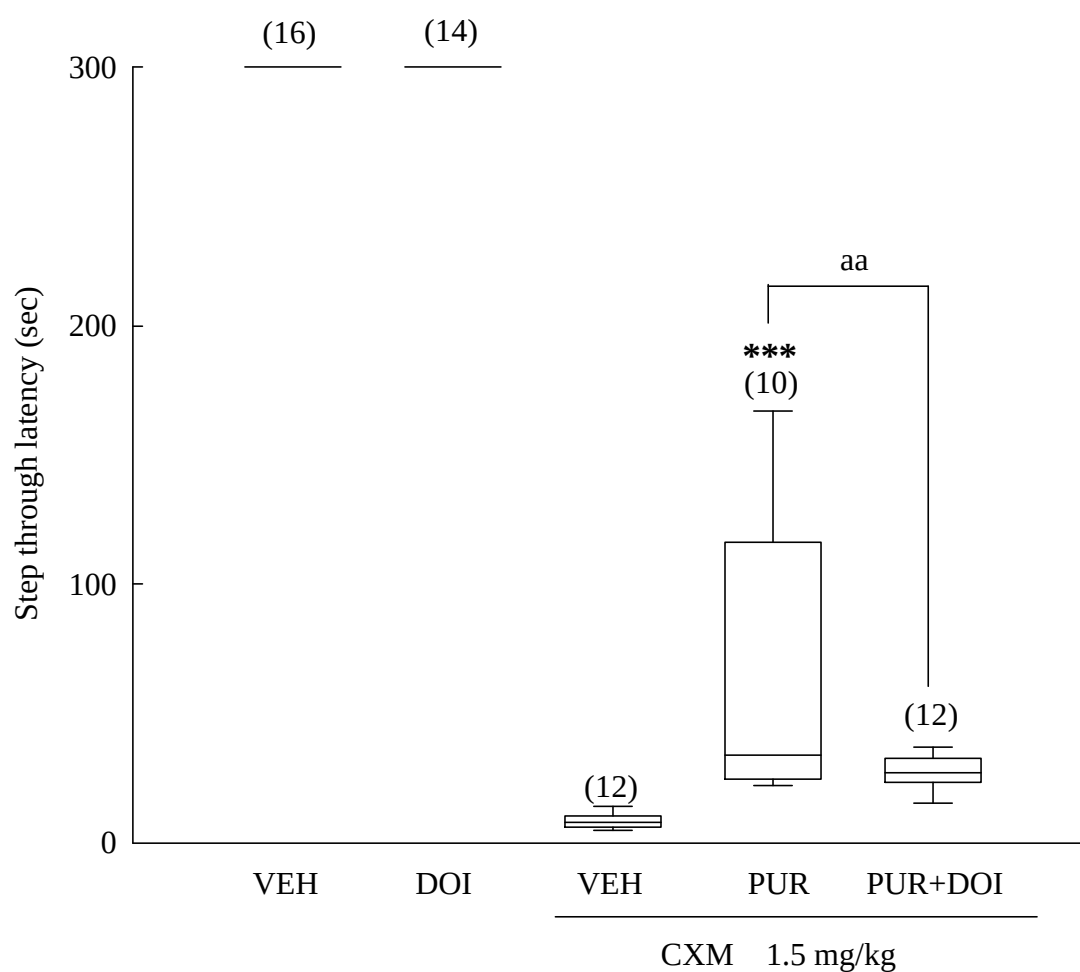


Fig 14. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus 8-OH-DPAT (DPAT, 0.025 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group.

5、如圖十五所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 DOI(0.02 mg/kg, i.p.)所拮抗($p<0.01$)。

Fig 15. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus DOI (0.02 mg/kg) on cycloheximide



(CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group. aa $p<0.01$, compared with PUR/CXM group.

6、如圖十六所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 PRO(3 mg/kg, i.p.)所拮抗($p<0.01$)。

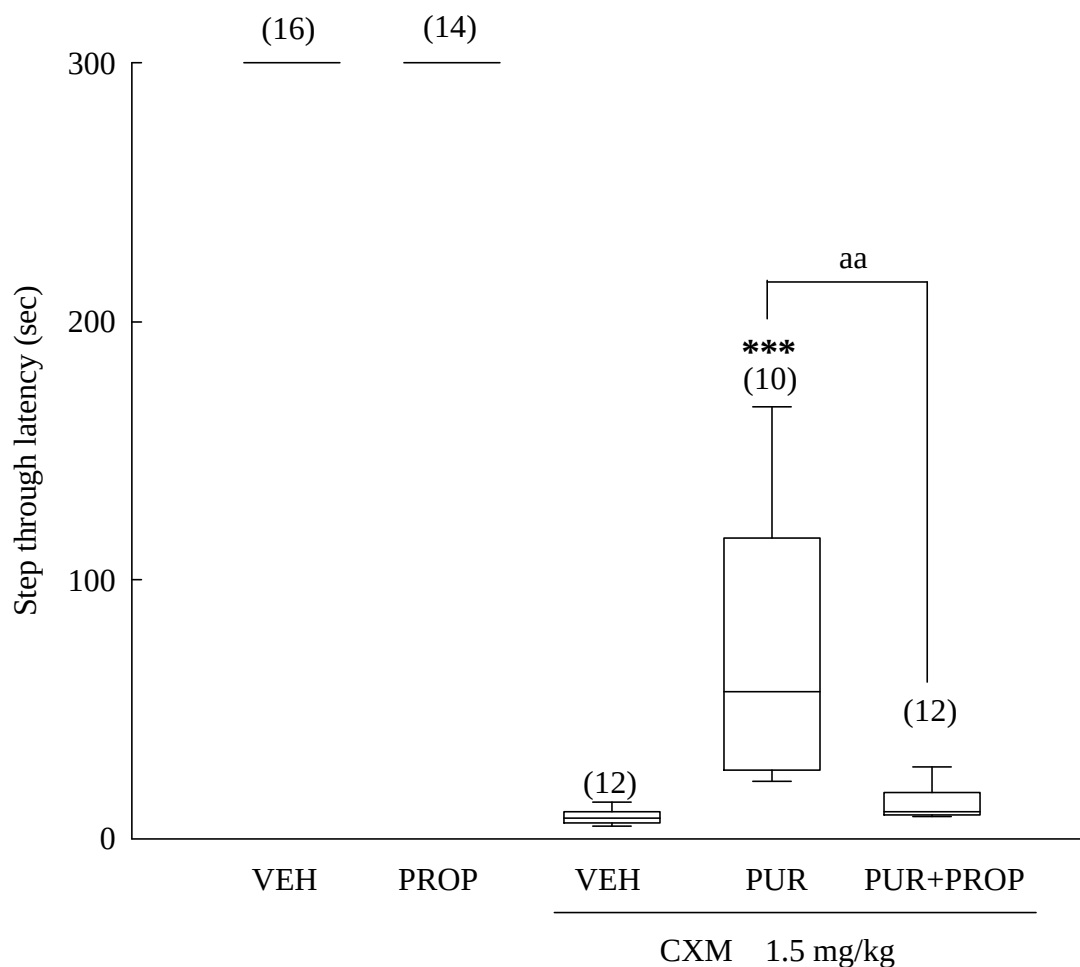


Fig 16. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus propranolol (PROP, 3 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group. aa $p<0.01$, compared with PUR/CXM group.

7、如圖十七所示，PUR(50 mg/kg)經腹腔注射給藥後，對 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，可被 PHE(0.01 mg/kg, i.p.)所拮抗。

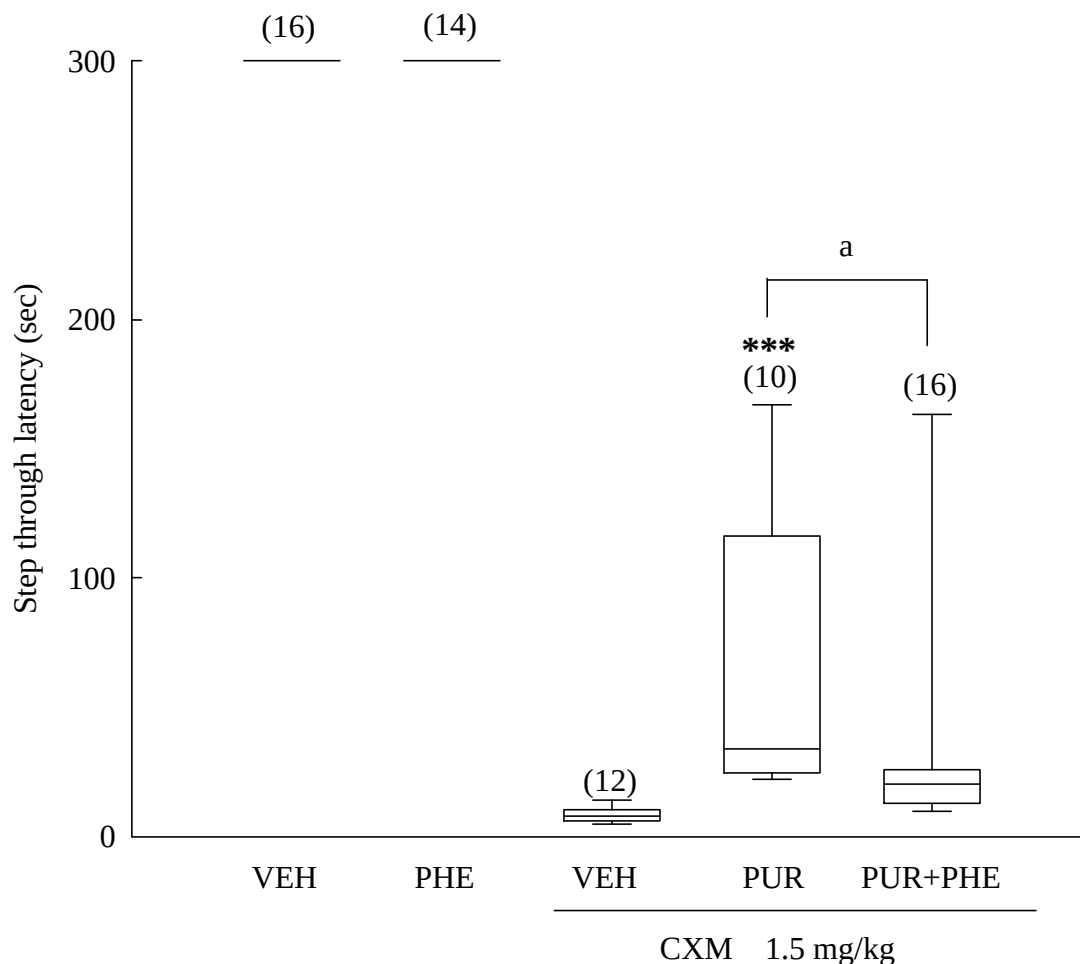


Fig 17. Effects of puerarin (PUR, 50 mg/kg, i.p.) plus phenoxybenzamine (PHE, 0.3 mg/kg) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p < 0.001$, compared with CXM/VEH group.
a $p < 0.05$, compared with PUR/CXM group.

五、雙側腦部 Dorsal raph 區投與 serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 對葛根素改善學習記憶之影響

如圖十八所示，於腦部給與 PUR(1、5、10、25 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$)，對 CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發之大鼠記憶鞏固障礙，於 5、10、25 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ 劑量下，均具改善作用($p<0.01$)，且於 10、25 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$ 劑量下作用較佳($p<0.001$)。

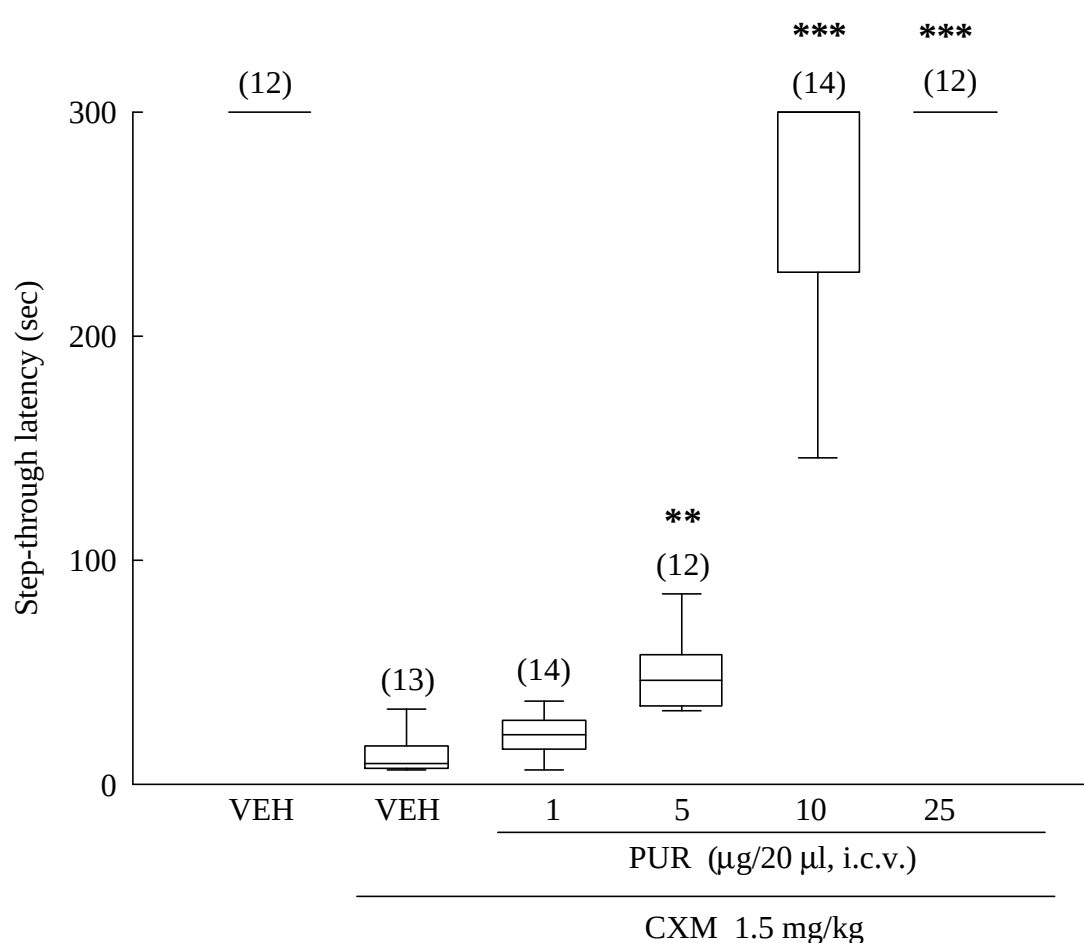


Fig 18. Effects of puerarin (PUR, 1, 5, 10 and 25 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$, i.c.v.) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group.

如圖十九所示，PUR(5、10 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$)於腦室給藥，在 5,7-DHT(4 $\mu\text{g}/2$

μl/side)破壞 dorsal raphe 後，對 CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固之障礙仍具改善作用。

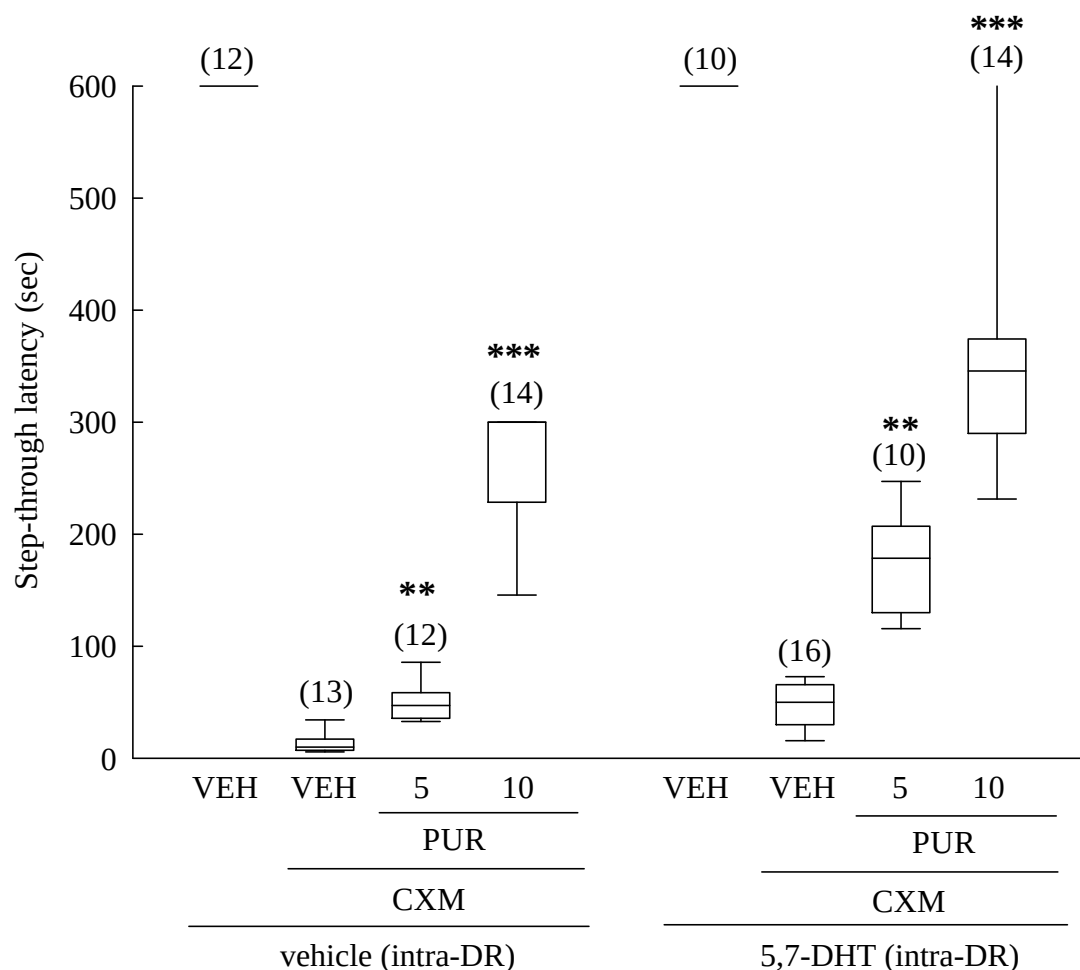


Fig 19. Effects of puerarin (PUR, 5 and 10 µg/20 µl, i.c.v.) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in sham operated or dorsal raphe lesioned rats induced by 5,7-DHT (4 µg/2 µl/side). Each column represents the median, and the range of the 5th and 95th percentile. *** $p < 0.001$, compared with CXM/VEH group.

五、雙側腦部 locus coeruleus 區投與 noradrenergic neurotoxin 6-OHDA 對葛根素改善學習記憶之影響

如圖二十所示，PUR(5、10 $\mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$)於腦室給藥，在 6-OHDA(4 $\mu\text{g}/2\ \mu\text{l}/\text{side}$)破壞 locus coeruleus 後，對 CXM(1.5 mg/kg, s.c.) 誘發大鼠記憶鞏固之障礙，只在 10 μg 劑量下具改善作用($p<0.01$)，但仍比假手術組的改善作用明顯下降。

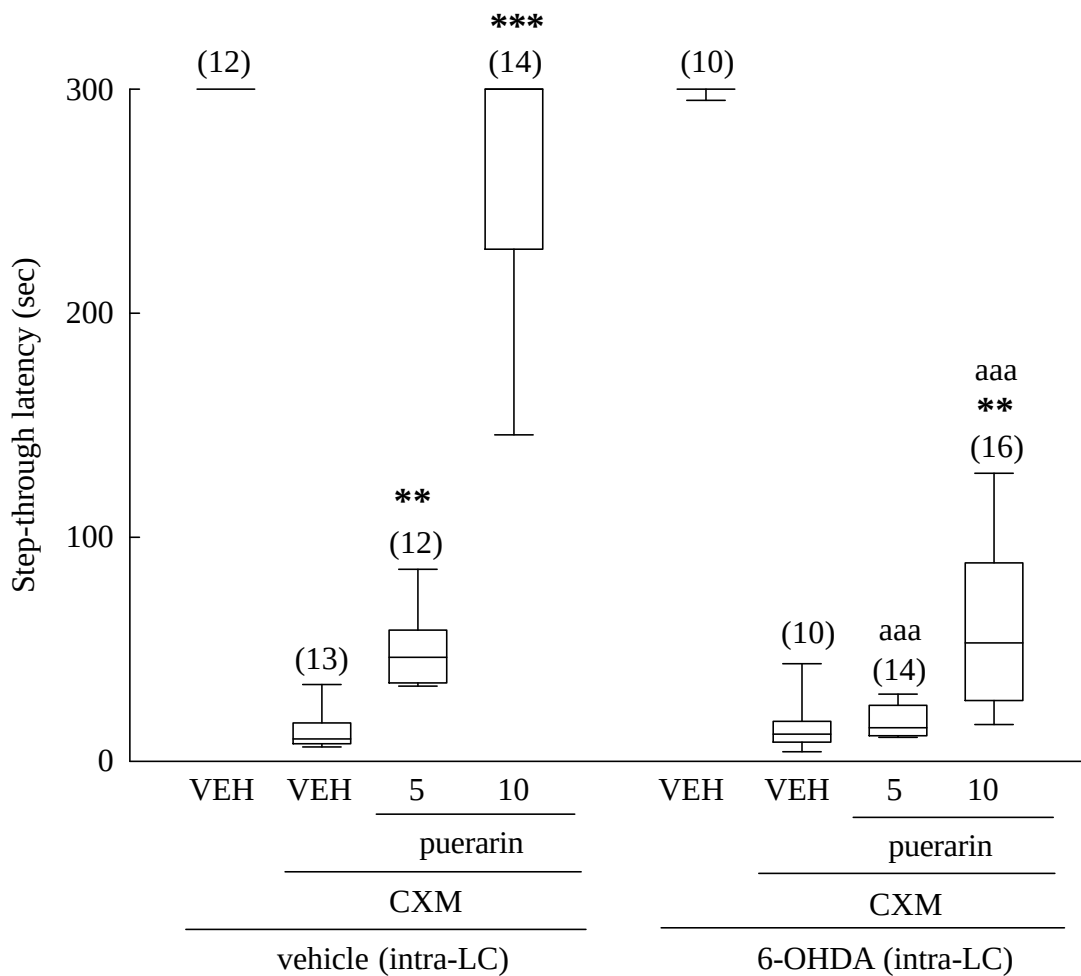


Fig 20. Effects of puerarin (PUR, 5 and 10 $\mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$, i.c.v.) on cycloheximide (CXM, 1.5 mg/kg)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in sham operated or locus coeruleus (LC) lesioned rats induced by 6-OHDA (4 $\mu\text{g}/2\ \mu\text{l}/\text{side}$). Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. *** $p<0.001$, compared with CXM/VEH group. aaa $p<0.001$, compared with PUR/CXM group.

六、側腦室投與 cholinergic neurotoxin AF64A 對葛根素改善學習記憶之影響

如圖二十一所示，於側腦室給予 AF64A(3 nmole/ml per brain)後可誘發大鼠學習記憶障礙。PUR(5、10 $\mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$)於腦室給藥後，對 AF64A(3 nmole/ml per brain)誘發之大鼠學習記憶障礙，僅於 10 $\mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$ 劑量下具改善作用($p<0.01$)。

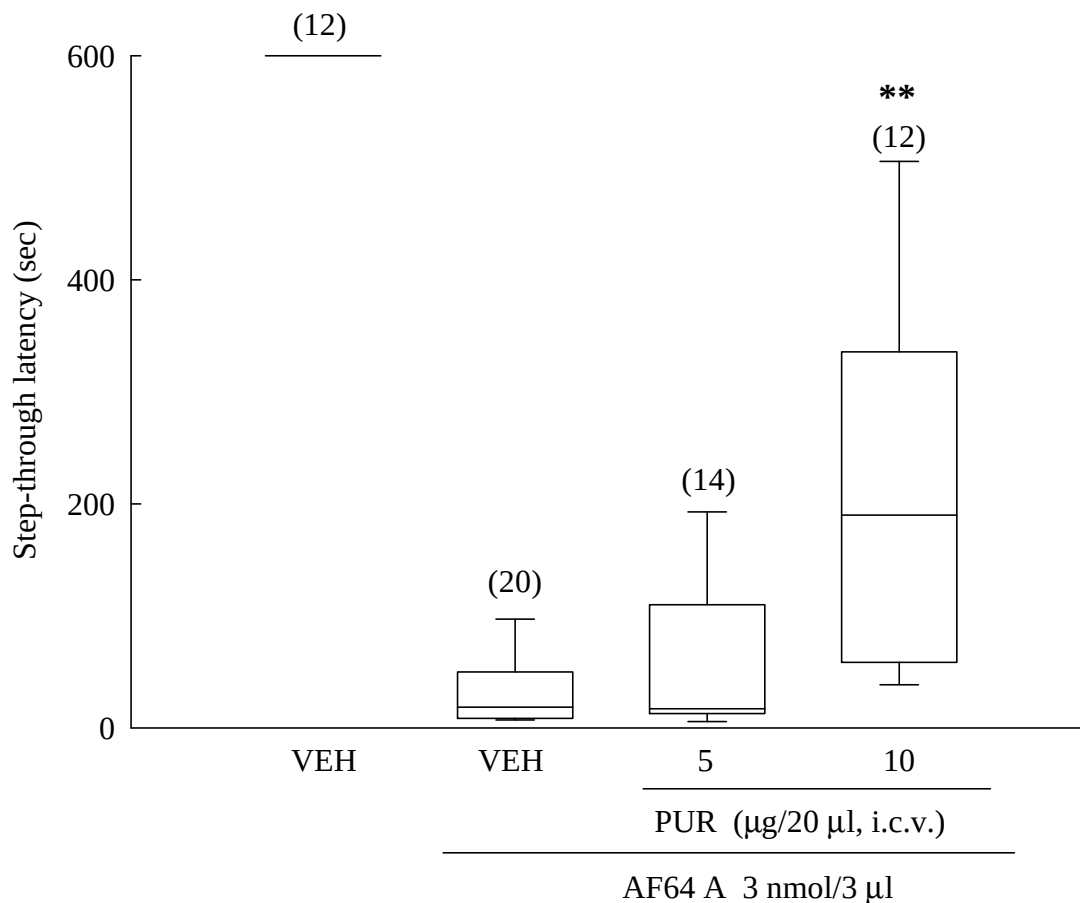


Fig 21. Effects of puerarin (PUR, 5 and 10 $\mu\text{g}/20\ \mu\text{l}$, i.c.v.) on AF64A (3 nmol/3 μl)-induced consolidation impairment of the passive avoidance response in rats. Each column represents the median, and the range inside the 5th and 95th percentile. ** $p<0.01$, compared with AF64A/VEH group.

第五章 討 論

近期研究，引起阿耳滋海默氏症之病理因素，是大腦的神經和神經密度的喪失；特別是在 frontal 和 parietal 的 neocortex，包含許多神經系統，最重要的是 cholinergic system，緊接著是 noradrenergic system 和 serotonergic system⁽⁷⁴⁾。

另在記憶形成過程，人體首要反應便是神經活性之改變，而這亦包含 acetylcholine、dopamine 及 serotonin 等神經系統之改變。更進一步，則牽涉蛋白質之合成及基因轉錄之過程。⁽⁸⁶⁾ 首先，中樞乙醯膽鹼神經系統，已經確認在學習過程扮演重要角色，而乙醯膽鹼拮抗劑 scopolamine 誘發之智能障礙型態，亦已廣被使用於篩選各類智能增進劑開發之動物模式⁽⁸⁷⁾。本研究於訓練前投與 SCOP，可縮短大鼠在明室之滯留時間，造成學習獲得障礙，證實學習獲得過程需乙醯膽鹼神經系統之參與。葛根素在三種劑量下(10、25、50 mg/kg 經腹腔注射給藥對 SCOP(1 mg/kg, i.p.)誘發大鼠學習獲得障礙，均無改善作用；且當 SCOP 以較低劑量(0.5mg/kg, i.p.)誘發大鼠學習獲得障礙時，葛根素亦無改善作用。但正對照組 tacrine，在 1mg/kg 下即有改善作用。其次研究指出，不論在臨床阿耳滋海默氏症之病理研究或動物學習行為模式報告，均證實乙醯膽鹼尼古丁接受器，在病變過程及學習記憶形成過程中亦扮演重要的角色⁽⁸⁷⁾。若將尼古丁投與阿耳滋海默氏症或智能缺陷大鼠，均可改善或增強其學習操作能力。而乙醯膽鹼尼古丁接受器拮抗劑 MECA，不僅可使腦內乙醯膽鹼神經系統之活性降低，亦可造成大鼠學習行為操作之障礙。本研究於訓練前投與 MECA，可縮短大鼠在明室之滯留時間，造成學習獲得障礙，證實學習獲得過程，需乙醯膽鹼尼古丁接受器之參與。葛根素在 10、25、50 mg/kg 劑量下，對 MECA 誘發大鼠學習獲得障礙具有改善作用。另在中樞 serotonin 系統，在脊椎動物之學習行為模式中，咸認為扮演負向角色⁽⁸⁸⁾。PCA 為 serotonin 釋出促

進劑，可使中樞 cortex、spinal cord、hippocampus 區之突觸前神經元 serotonin 儲存區內的 serotonin 大量釋出，致使 cortex-hippocampus 區之 5-HT₂ 接受器活化，造成學習記憶障礙之作用^(89、90)；而在上述區域之 5-HT₂ 接受器對 Ach 之釋出具極強之抑制作用⁽⁹¹⁾。於訓練前投與 PCA，經腹腔注射可誘發大鼠學習獲得障礙。本研究於訓練前投與 PCA 亦可縮短大鼠在明室之滯留時間，造成學習獲得障礙，證實學習獲得過程需要 serotonin 神經系統之參與。葛根素在 25、50 mg/kg 劑量下，對 PCA 誘發大鼠學習獲得障礙，有明顯改善作用。而正對照組 tacrine，於此 1 mg/kg 始有改善作用。

此外，在近期研究大鼠的神經退化現象中發現，當 glutamate 功能低下受到抑制時，會產生一種興奮性毒素(excitotoxicity)；興奮性毒素的釋放，主要是通過 glutamatergic 和 cholinergic 的興奮路徑，阻斷 NMDA 接受器產生，而導致網狀組織混亂，促發神經的損傷、退化、變質，以致細胞慢慢的死亡⁽⁸⁴⁾。另 Flood 等之研究，認為 NMDA 接受器或非 NMDA 接受器拮抗劑，均可造成學習獲得障礙，但對記憶再現則不受影響⁽⁶⁴⁾。亦有報告指出 NMDA 消耗所造成的障礙是藉由 muscarnic 接受器的阻斷而產生，當注射給與 SCOP 和 NMDA 接受器拮抗劑會造成工作記憶的障礙，但對參考記憶則不受影響⁽⁹²⁾。本研究於訓練前投與非競爭性 NMDA 接受器拮抗劑 MK-801，可縮短大鼠在明室之滯留時間，造成學習獲得障礙，證實學習獲得過程需要 excitatory amino acid 神經系統之參與。葛根素在 25、50 mg/kg 劑量下，對 MK-801 誘發大鼠學習獲得障礙，有明顯改善作用其作用。而正對照組 tacrine 於 1 mg/kg 始有改善作用。

再者記憶鞏固過程，蛋白質合成為必需因素。因此，蛋白質合成抑制劑如 cycloheximide、anisomycin、puromycin 等，均能造成記憶鞏固損害。Cycloheximide 主要阻斷 mRNA 之轉錄，抑制約 80%之蛋白質合成，而造成記憶鞏固障礙，並縮短大鼠在明室滯留之時間⁽⁶⁹⁾。本研究於訓練後投與

cycloheximide, 亦可造成記憶鞏固障礙, 證實記憶鞏固過程需蛋白質、DNA 之參與。葛根素在 10、25、50 mg/kg 三種劑量下, 對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙有明顯之改善作用。

由以上之結果顯示, 葛根素在被動學習反應對 MECA、PCA、MK-801、CXM 等所誘發之學習記憶障礙現象的改善作用, 可能直接作用於中樞 cholinergic system 的尼古丁接受器或間接經由抑制 serotonin system 的 5-HT₂ 接受器以增加 cholinergic system Ach 的釋出; 亦可能經由 NMDA 接受器調節 EAA 的活性。另葛根素對記憶鞏固亦具改善作用, 因此我們進一步探討葛根素對 CXM 誘發被動迴避學習反應之作用機轉。

Nabeshima 等之研究指出, cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙之作用可能係經由 5-HT₂ 接受器增加 serotonergic system 之活性, 並因而降低 cholinergic system 活性所致⁽⁷⁰⁾。在神經生化之研究曾指出, 腦部 septum 區之 serotonergic neurons 支配 hippocampus 區 cholinergic neurons 之作用, 當 serotonergic neurons 活化時, hippocampus 區 cholinergic neuron 之 Ach 釋出明顯減少⁽⁹³⁾。而在大鼠學習行為之研究亦指出, cholinergic 拮抗劑可阻斷 serotonergic 拮抗劑之作用及增強 serotonergic 致效劑之作用⁽⁹⁴⁾。葛根素於訓練前給予, 對 CXM 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用可被低於誘發障礙劑量之毒蕈鹼接受器拮抗劑 SCOP 或尼古丁接受器拮抗劑 MECA 所拮抗, 此作用亦可被低於誘發障礙劑量之 serotonin 釋放促進劑 PCA 所拮抗, 另此作用亦可被低於誘發障礙劑量之突觸後 5-HT₂ 接受器致效劑 DOI 所拮抗。雖然 Nabeshima 等之研究指出, CXM 誘發之記憶鞏固障礙與 5-HT_{1A} 接受器無關⁽⁷⁰⁾, 但在近期之研究中亦明確指出 5-HT_{1A} 接受器在記憶鞏固過程上亦扮演重要之角色。5-HT_{1A} 接受器致效劑 8-OH-DPAT 可誘發學習記憶障礙⁽⁹⁵⁾, 葛根素於訓練前給予對 CXM 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用, 無法被低於誘發障礙劑量之突觸後 5-HT_{1A} 接受器致效劑 8-OH-DPAT 所阻斷。由以上之結果顯示, 葛根素改善 CXM 誘發記

憶鞏固障礙之作用機轉可能係經由 5-HT₂ 接受器而降低中樞 serotonergic system 之活性，而間接增加中樞 cholinergic system 之活性所致。另一方面，CXM 誘發記憶鞏固障礙與神經傳遞物質間有密切關係，主要經增加中樞 serotonergic system 之活性以間接降低中樞 cholinergic system⁽⁷⁰⁾；並影響中樞 adrenergic system、GABAergic system 之活性^(71~72)。亦有報告指出在大腦皮質中，serotonergic 和 noradrenergic 短期或長時間聯合調節 GABA-ergic 的傳遞⁽⁹⁶⁾；另亦有研究指出，腹腔注射給與 noradrenergic neurotoxin DSP4 引起大鼠 NBM 的障礙所造成的學習記憶缺乏，是因為同時發生 NE 的消耗，NBM 障礙導致 frontal cortex 的膽鹼乙醯轉移酶活性明顯降低，而 DSP4 則造成 occipital cortex 和 hippocampus 的 NE 濃度明顯下降，因此提供了在學習記憶過程中樞 noradrenergic 和 cholinergic system 之間有相互作用存在⁽⁹⁷⁾；所以更深入探討其中之關聯性。

葛根素於訓練前給予對 CXM 誘發大鼠記憶鞏固障礙之改善作用，發現其作用可被低於誘發障礙劑量之非選擇性突觸後β接受器拮抗劑 propranolol 所拮抗，亦可被低於誘發障礙劑量之非選擇性突觸後α接受器拮抗劑 phenoxybenzamine 所拮抗。另本研究室在葛根素對室溫下正常清醒大鼠體溫之影響進行探討時發現，葛根素之降溫作用可能藉由降低下視丘 serotonin 之濃度，並作用於 postsynaptic serotonin receptor 致活 5-HT_{1A} 接受器及阻斷 5-HT₂ 接受器而達到降低體溫之作用。因此為了更確定葛根素改善 CXM 誘發被動迴避反應與中樞 cholinergic system、serotonergic system、noradrenergic system 之間的關係；最後探討葛根素改善學習記憶障礙作用與中樞神經系統及突觸前或突觸後接受器之關係。

6-OHDA 為中樞 catecholaminergic system 之神經毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙^(98、99)。腦部給

予 6-OHDA(4 $\mu\text{g}/2 \mu\text{l}/\text{side}$)破壞兩側 locus coeruleus 區 noradrenaline 神經元，不影響大鼠在明室之滯留時間，亦未造成大鼠學習記憶之障礙。葛根素 5、10 $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}$ 經腦室給藥後對 CXM 誘發大鼠學習鞏固障礙之改善作用，可被 locus coeruleus 區給予 6-OHDA(4 $\mu\text{g}/2 \mu\text{l}/\text{side}$)所阻斷。5,7-DHT 為中樞 serotonergic system 之神經類毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙^(100、101)。腦部 dorsal raphe 區給予 5,7-DHT (10 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$)破壞兩側 dorsal raphe 區 serotonin 神經元，不縮短測定期大鼠在明室之滯留時間，亦未造成大鼠學習記憶之障礙。葛根素 5、10 $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}$ 經腦室給藥後對 CXM 誘發大鼠學習鞏固障礙之改善作用，並不被 dorsal raphe 區投予 5,7-DHT (10 $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$)所阻斷。其次，側腦室給予乙醯膽鹼類神經毒素 AF64A，可造成腦內乙醯膽鹼神經元萎縮及大鼠學習行為操作障礙，但若植入富含乙醯膽鹼之神經元，便可使神經記憶能力減退之現象得到回復⁽⁴⁵⁾。本研究於訓練前 7 天，側腦室投與乙醯膽鹼類神經毒素 AF64A，可縮短測定期大鼠在明室之滯留時間造成大鼠學習記憶之障礙，證實學習獲得過程需中樞乙醯膽鹼神經系統之參與。葛根素 2.5、5、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 經腦室給藥後，對側腦室給予 AF64A(3 nmol/side)誘發大鼠學習記憶障礙亦具改善作用。

在生化和電生理的研究指出，cholinergic 和 noradrenergic 之間有相互作用的存在。NE 會調節 hippocampal 和 cortical 神經包含 Ach 在內，亦會降低大腦皮質內 cholinergic 終端的 Ach 釋放；而這個作用可能直接作用於 cholinergic 終端的 α 接受器或間接經由 NE 作用調節 GABA 的釋放。另外，作用在 medial septum nuclei 的水平在 hippocampus 呈現 Ach 的轉換增加。亦有報告指出，經由 medial septum 的障礙會降低 cholinergic 傳輸到 hippocampus，給與 β 接受器拮抗劑 propranolol 可阻斷 radial maze performance，若單獨給與 propranolol 則無此作用⁽¹³⁾。所以葛根素改善 CXM 誘發大鼠記憶鞏固之改善作用，可被非選擇性突觸後 α 和 β 接受器拮抗劑

phenoxybenzamine、propranolol 所拮抗，亦可被 locus coeruleus 區給與 6-OHDA 所阻斷之結果顯示，葛根素的改善作用，可能是經由 locus coeruleus noradrenergic system 之突觸前 α 、 β 接受器或突觸後 α 、 β 接受器而調節 septum、hippocampus 之 cholinergic system 的活性。

另外，serotonergic 接受器是相關於 cholinergic 終端和細胞本體，可能有不同的次單位，serotonin 會抑制 Ach 的釋放，相反的刺激 nicotinic 會改變 5-HT 的翻轉。而 5-HT 消耗和 muscarinic 阻斷則會比其單獨作用，產生更大的行為滯留障礙。亦有報告指出當 5-HT 消耗和 NBM 阻斷會產生更大的障礙作用；而 5-HT 消耗和 NBM 障礙在迴避反應中，會比其各自作用產生更明顯的障礙。另合併 5-HT 消耗和 NBM 的障礙作用，可被共同植入 raphe/septum 而得到改善⁽¹³⁾。所以葛根素對 PCA、CXM 所造成的學習記憶障礙具改善作用，而對 CXM 的改善作用並不被低於誘發劑量的 8-OH-DPAT 及腦室給與 5,7-DHT 所拮抗；顯示葛根素的改善作用，可能是經由 raphe serotonergic system 的突觸後 5-HT₂ 接受器而調節作用於 septum、hippocampus 之 cholinergic system 的活性。

綜合上述結果，葛根素改善學習記憶鞏固等記憶形成過程之作用，其作用機轉可能直接作用於中樞 cholinergic system 之尼古丁接受器或可能是經由 locus coeruleus noradrenergic system 之突觸前 α 、 β 接受器或突觸後 α 、 β 接受器而調節 septum、hippocampus 之 cholinergic system 之活性；亦可能經由 raphe serotonergic system 之突觸後 5-HT₂ 接受器，而調節 septum、hippocampus 之 cholinergic system 之活性所致；或作用於 NMDA 接受器而調節 EAA 之活性所致。

第六章 結 論

- 一、葛根素對學習記憶過程之影響：葛根素對學習獲得障礙誘發劑之作用，對於乙醯膽鹼毒蕈鹼接受器拮抗劑 scopolamine 無改善作用，但對乙醯膽鹼尼古丁接受器拮抗劑 mecamlamine、serotonin 釋放促進劑 *p*-chloroamphetamine 及非 NMDA 接受器拮抗劑 MK-801 等具明顯改善作用。
- 二、葛根素對改善 CXM 誘發記憶鞏固障礙之作用機轉：此改善作用均可被

毒蕈鹼接受器拮抗劑 SCOP、尼古丁接受器拮抗劑 MECA 及 serotonin 釋放促進劑 PCA 拮抗；進一步，其改善作用亦可被突觸後 5-HT₂ 接受器致效劑 DOI、非選擇性突觸後 α 接受器拮抗劑 phenoxybenzamine 及非選擇性突觸後 β 接受器拮抗劑 propranolol 拮抗，但無法被 5-HT_{1A} 接受器致效劑 8-OH-DPAT 所拮抗。

三、葛根素改善學習記憶障礙作用與中樞神經系統及突觸前或突觸後接受器之關係：葛根素經腦室給藥後，在 5,7-DHT 破壞 dorsal raphe 後，對 CXM 誘發大鼠記憶鞏固之障礙仍具改善作用，但在 6-OHDA 破壞 locus coeruleus 後，只在 10 μ g 劑量下具改善作用($p<0.01$)，但仍比假手術組的改善作用明顯下降。另外，葛根素經腦室給藥後，於側腦室給與 cholinergic neurotoxin AF64A 誘發大鼠學習記憶障礙亦具拮抗作用。

綜合上述結果，顯示葛根素可增強記憶形成過程中的學習獲得及記憶獲得，其作用機轉可能直接作用於中樞 cholinergic system 或間接經由中樞 noradrenergic system、serotonergic system 及 excitatory amino acid system 之調節而影響中樞 cholinergic system 改變 Ach 之活性所致；亦與蛋白質之合成有關。

參考文獻

1. 孫馮翼、孫星衍：神農本草經，卷(二)，葛根。五洲出版社，北臺灣 1985；pp7。
2. 中國醫學科學院藥物研究所：中草藥現代研究(一)，葛根。北京醫科大學暨中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1995；12:pp285-90。
3. 郭建全、孫其榮、周全：葛根藥理作用研究進展。中草藥 1995；26(3)：163-65。
4. 辛洪波：葛根對氧自由基的消除作用。中國病理生理雜誌 1991；7(2)：199。

5. Fan LL, Sun LH, Li J, Yue XH, Wang SY, Dong SQ. Protective effect of puerarin against myocardial reperfusion injury: Myocardial metabolism and ultrastructure. Chinese Medical J 1992; 105(6):451-56.
6. Fan LL, Sun LH, Li J, Yue XH, Wang SY. Protective effect of puerarin against myocardial reperfusion injury: Study on cardiac function. Chinese Medical J 1992; 105(1): 11-7.
7. 陳連壁、柴強、趙愛平、柴象樞：葛根素對犬腦血流量的影響。中國中藥雜誌 1995；20(9)：560-2。
8. 王磊一、趙愛平、王福文、柴強、柴象樞：葛根素對大鼠急性腦缺血的保護作用。中國中藥雜誌 1997；22(12)：752-4。
9. Rosenzweig MR, Bennett EL. Basic processes and modulatory influences in the stages of memory formation. IN: Neurobiology of Learning and Memory. Lynch G, McGaugh JL, Weinberger, NM (eds.) 1984; 263-88.
10. Changeux JP. A critical view of neuroal model of learning and memory. In: Memory Concepts. Andersen P, Hvalby, Paulsen O, Hokfelt B (eds.). Elsevier Science Publisher BV, Netherlands 1993; 413-33.
11. Jodar L, Kaneto H. Synaptic plasticity: Stairway to memory. Jpn J Pharmacol 1995; 68: 359-87.
12. Olton DS, Meck WH, Church RM. Separation of hippocampal and amygdaloid involvement in temporal memory dysfunctions. Brain Res 1987; 404: 180-8.
13. Decker MW, McGaugh JL. The role of interactions between the cholinergic and other neuro modulatory systems in learning and memory. Synapse 1991; 7:151-68.
14. 那琦、謝文全：重輯名醫別錄。中國藥學研究所，台中 1977；71-2。
15. 謝文全等：神農本草經(古今功能輯注本)。中國藥學研究所，台中 1995；7。

16. 森立之：本草經集注。南大阪印刷株式會社，日本 1972；64。
17. 岡西為人：重輯新修本草。國立中國醫藥研究所，台北 1964；200-1。
18. 宋、唐慎微，艾晟：經史證類大觀本草。正言出版社，台北 1977；224-5。
19. 謝文全等：重輯開寶重定本草。中國藥學研究所，台中 1998；106。
20. 那琦等：重輯嘉祐補注神農本草。中國藥學研究所，台中 1989；83。
21. 明、李時珍：圖解本草綱目。文光圖書公司，台北 1970；740-2。
22. 清、吳其濬：植物名實圖考長編。世界書局，台北 1962；568-71。
23. 清、吳其濬：植物名實圖考。世界書局，台北 1974；540-3。
24. 中國醫學科學院藥物研究所：中草藥現代研究(一)，葛根。醫科大學暨中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1995；(12)：pp258-84。
25. 樓之岑、秦波主編：常用中藥材品種整理和質量研究，9. 葛根類的研究。醫科大學暨中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1995；pp380-419。
26. 石昌順：中藥葛根的研究進展。中草藥 1994；25(9)，496。
27. 王磊一、趙愛平、王福文、柴強、柴象樞：葛根素延緩易中風型高血壓大鼠缺血性痙攣的發作和死亡。中國中藥雜誌 1997；23(7)：431。
28. 那琦等：臺灣產藥材之生藥學研究(10)，臺灣產葛根之生藥學研究。私立中國醫藥學院研究年報 1982；251-99。
29. 宋紅普、貫釗：葛根的藥學研究及其臨床應用概況。上海中醫藥雜誌 1999；4：47-9。
30. 康秀汝、張普云、王榮：葛根素降低眼內壓的研究。中華眼科雜誌 1993；296：336-9。
31. Graham RB. Memory. In: Graham RB (ed), Physiological Psychology, A Division of Waddsworth Inc, California, 1990; 611-48.
32. Izquierdo I. Enogenous state dependency: Memory depends on the relation between the neurohumoral and hormonal states present after training and at the time of testing. In: Lynch G, McGaugh JL, Weinberger NM (eds.), Neurobiology of learning and memory, The Guilford Press, New York, 1984;

- 333-50.
33. Rosenzweig M.R. and Bennet E.L. Basic process and modulatory influences in the stages of memory formation, In: Lynch G, McGaugh JL, Weinberger NM (eds.), *Neurobiology of learning and memory*, The Guilford Press, New York, 1984; 263-88.
 34. **韓太真、吳馥梅主編：學習與記憶的神經生物學。北京醫科大學暨中國協和醫科大學聯合出版社，北京 1998；1(1)：pp2-10。**
 35. Deutsch JA: The cholinergic synapse and the side of mechanism. *Science* 1971; 174: 788-94.
 36. Drachman DA and Leavitt J. Human memory and the cholinergic system: A relationship to aging? *Arch Neuro* 1974; 30: 113-21.
 37. Suits E, Isaacson RL. The effects of scopolamine hydrobromide on one-way and two-way avoidance learning in rats. *Int J Neuropharmacol* 1968; 7:441-6.
 38. Stevens R. Scopolamine impairs spatial maze performance in rats. *Physiol Behav* 1981; 27:385-6.
 39. Van HA, Sroet J, Harren F, Feenstra M. Scopolamine differentially disrupts the behavior of male and female wistar rats in a delayed nonmatching to position procedure. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 35:903-9.
 40. Paylor R, Rudy JW. Cholinergic receptor blockade can impair the rat's performance on both the place learning and cued versions of the Morris water task: The role of age and pool wall brightness. *Behav Brain Res* 1990; 36: 79-90.
 41. Evan S, Robert L. The effects of scopolamine hydrobromide on one-way and two-way avoidance learning in rats. *Int J Neuropharmacol* 1968; 7: 441-6.
 42. Rush DK. Scopolamine amnesia of passive avoidance: a deficit of information acquisition. *Behav Neural Biol* 1988; 50: 255-74.
 43. Glick SD, Greenstein S. Differential effects of scopolamine and

- mecamylamine on passive avoidance behavior. *Life Sci* 1972; 11: 169-79.
44. Paul BS Clark, Hans C. Fibiger. Reinforced alternation performance is impaired by muscarinic but not by nicotinic receptor blockade in rats. *Behav Brain Res* 1990; 36: 203-7.
45. Beninger RJ, Wirsching BA, Jhamandas RJ. Effects of altered cholinergic function on Working and reference memory in the rat. *Physiol Pharmacol* 1985; 64: 376-82.
- 46. Dunnett SB. Neural transplantation in animal model of dementia. *Eur J Neurosci* 1990; 2: 567-87.**
47. Goto T, Kuzuya F, Endo H, Tajima T., Ikari H. Some effects of CNS cholinergic neurons on memory. *J Neural Transm* 1990; 30: 1-11.
- 48. Oei TPS. Catecholamines and aversive learning: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 1980; 4: 161-73.**
49. Collier TJ, Gash DM, Sladek JR. Transplantation of norepinephrine neurons into aged rats improves performance of a learned task. *Brain Res* 1998; 448(1): 77-87.
50. Sara SJ, Dyon-Laurent C, Herve A. Novelty seeking behavior in the rat is dependent upon the integrity of the noradrenergic system. *Brain Res, Cognitive Brain Res* 1995; 2(3): 181-7.
51. Pisa M, Fibiger HC. Evidence against a role of the rat's dorsal noradrenergic bundle in selective attention and place memory. *Brain Res* 1983; 272: 319-29.
52. Mair RG, Anderson CD, Langlas PJ, McEntee. Thiamine deficiency depletes cortical norepinephrine and impairs learning processes in the rat. *Brain Research* 1985; 360: 273-84.
53. Sternberg DB, Isaacs KR, Gold PE, McGaugh JL. Epinephrine facilitation of appetitive learning: attenuation with adrenergic receptor antagonists. *Behav & Neural Biol* 1985; 44(3): 447-53.
54. Ohno M, Kobayashi M, Kishi A, Watanabe S. Working memory failure by

- combined blockade of muscarinic and beta-adrenergic transmission in the rat hippocampus. *Neuroreport* 1997; 8(7): 1571-75.
55. Nicoll RA, Malenka RC, Kauer JA. Functional comparison of neurotransmitter receptor subtypes in mammalian central neurons system. *Physiol Rev* 1990; 70(2): 513-65.
 56. Chiu TH, Yang YR, Yang JJ, Chen CL. Inhibition of locus coeruleus neurons by serotonin at high doses. *Chinese Journal of Physiology* 1995; 38(3): 153-57.
 57. Kandel ER. Biological memory models: the switch from short- to long-term facilitation at the connections between sensory and motor neurons of the gillwithdrawal reflex in *Aplysia*. In: Anderson P, Hvalby O, Hokfelt (Eds.), *Memory concepts: Basic and clinical aspects*, Elsevier Science Publishers 1993; 93-8.
 58. Meneses A, Hong E. Role of 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in learning. *Behav Brain Res* 1997; 87: 105-10.
 59. Santucci AC, Knott PJ, Haroutunian V. Excessive serotonin release, not deoletion, leads to memory impairments in rats. *European Journal of Pharmacology* 1996; 295(1): 7-17.
 60. Ogren SO. Evidence for a role of brain serotonergic neurotransmission in aviodance learning. *Acta Physiol Scand* 1985; 544: 1-71.
 61. Petkov VD, Belcheva S, Konstantinova E, Kehayov R. Participation of different 5-HT receptors in the memory process in rats and its modulation by the serotonin depletor p-chlorophenylamine. *Acta Neurobiol Exp* 1995; 55(4): 243-52.
 62. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S. Working memory deficits induced by interahippocampal administration of 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} receptor agonist, in the rat. *Eropean Journal of Pharmacology* 1993; 243: 29-34.
 63. Ruotsalainen S, MacDonald E, Kovisto E, Stefanski R. 5-HT_{1A} receptor

- agonist (8-OH-DPAT) and 5-HT₂ receptor agonist (DOI) disrupt the non-cognitive performance of rats in a working memory task. *Journal of Psychopharmacology* 1998; 12(2): 177-85.
64. Flood JF, Baker ML, Davis JL. Modulation of memory processing by glutamic acid receptor agonists and antagonists. *Brain Res* 1990; 521: 197-202.
 65. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 1999; 66(2): 137-47.
 66. Ahlandeer M, Misane I, Schott PA. A behavioral analysis of the spatial learning deficit induced by the NMDA receptor antagonist MK-801 (Dizocilpine) in the rat. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21: 414-26.
 67. Rison RA, Stanton PK. Long-term potentiation and N-methyl-D-aspartate receptors: Foundation of memory and neurologic disease? *Neurosci Biobehav Rev* 1995; 19(4): 533-52.
 68. Gibbs ME, Ng KT. Diphenylhydantoin facilitation of labile, protein-independent memory. *Brain Res Bulletin* 1976; 1(2): 203-8.
 69. Davis HP, Squire LR. Protein synthesis and memory. *Psychol Bull* 1984; 96: 518-59.
 70. Nabeshima T, Itoh K, Kawashima K, Kameyama T. Effects of 5-HT₂ receptor antagonist on cycloheximide-induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1989; 32: 787-90.
 71. Schweri MM, Carr LA. The effects of cycloheximide and anisomycin on monamine synthesis in a brain synaptosome preparation. *J Neural Transm* 1982; 54: 41-50.
 72. Nabeshima T, Noda Y, Itoh K, Kameyama T. Role of cholinergic and GABAergic neuronal system in cycloheximide-induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 31:405-9.

73. Martin R Farlow. Etiology and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Heal-Syst Pharm* 1998; 55(1): S5-10.
74. Larson EB, KuKull WA, Katzman RL. Cognitive impairment: dementia and Alzheimer's disease. *Annual Review of Public Health* 1992; 13: 431-49.
75. Fratiglioni L. Epidemiology of Alzheimer's and current possibilities for prevention. *Acta Neurologica Scandinavica* 1996; 165: 33-40.
76. Gottfries CG. Alzheimer's disease and senile dementia: biochemical characteristics and aspects of treatment . *Psychopharmacology* 1985; 86: 245-52.
77. Price DL. New perspectives on Alzheimer's disease. *Ann Rev Neuroosci* 1986; 9: 489-512.
78. Smith G. Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. *Brain Res* 1988; 13: 103-18.
79. Tomlison BE, Irving D, Blessed G. Cell loss in the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 1981; 49: 419-28.
80. McEntee WJ, Crook TH. Age-associated memory impairment: a role for catecholamines. *Neurology* 1990; 40: 526-30.
81. Cross AJ, Crow TJ, Ferrier IN, Johnson JA, Bloom SR, Corsellis JAN. Serotonin receptor changes in dementia of the Alzheimer type. *J Neurochem* 1984; 43: 1574-81.
82. Palmer AM, Francis PT, Benton JS, Sims NR, Mann DMA, Neary D, Snowden JS, Bowen DM. Presynaptic serotonergic dysfunction in patient with Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1987; 48: 8-15.
83. Tejani-Butt SM, Yang J, Pawlyk AC. Altered serotonin transporter sites in Alzheimer's disease raphe and hippocampus. *Neuroreport* 1995; 6(8): 1207-10.
84. Mattson MP. Author's response to commentaries. *Neurobiology of Aging* 1995; 16: 461-3.

85. Ohno M, Yamamoto T, Watanabe S. Amygdaloid NMDA and muscarinic receptors involved in working memory performance of rats. *Physiology & Behavior* 1993; 54(5): 993-7.
86. Olney JW. NMDA receptor hypofunction, excitotoxicity, and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 1995; 16(3): 459-61.
87. Jodar L, Kaneto H. Synaptic plasticity: stairway to memory. *Jpn J Pharmacol* 1995; 68: 359-87.
88. Blokland A. Acetylcholine: A neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res REV* 1996; 21: 285-300.
89. Essman WB. Serotonin in learning and memory. In: Essman WB (Ed.), *Clinical Pharmacology of Learning and Memory*, Spectrum Public Inc., New York 1983; 43-67.
90. Ogren SO. Central serotonin neurons in avoidance learning: Interaction with noradrenaline and dopamine neurons. *Pharmacol Biochem Behav* 1985, 23: 107-23.
91. Ogren SE. Serotonin receptor involvement in the avoidance learning deficit caused by p-chloroamphetamine-induced serotonin release. *Acta Physiol Scand* 1986; 126: 449-62.
92. Robinson SE. Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus, cortex and striatum. *Life Sci* 1983; 32: 345-53.
93. Maura G, Fedele E, Raiteri M. Acetylcholine release from the hippocampal slices is modulated by 5-hydroxytryptamine. *Eur J Pharmacol* 1989; 165: 173-79.
94. Matsuno K, Senda T, Matsunaga K, Mita S, Kaneto H. Similar ameliorating effects of benzomorphans and 5-HT₂ antagonists on drug-induced impairment of passive avoidance response in mice: comparison with acetylcholinesterase inhibitors. *Psychopharmacology* 1993; 32: 787-90.
95. Cheng CHK, Costall B, Kelly ME, Naylor RJ. Actions of

- 5-hydroxytryptophan to inhibit and disinhibit mouse behaviour in the light/dark test. *Eur J Pharmacol* 1994; 255: 39-49.
96. Mitoma H, Konishi S. Monoaminergic long-term facilitation of GABA-mediated inhibitory transmission at cerebellar synapses. *Neuroscience* 1999; 88(3): 871-83.
 97. Moran PM, LeMaitre MH, Philouze V, Reymann JM, Allain H, Leonard BE: Reversal of learning and memory impairments following lesion of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) by concurrent noradrenergic depletion using DSP4 in the rat. *Brain Research* 1992; 595(2): 327-33.
 98. Pan SY. Influence of intraventricular injection of 6-hydroxydopamine on passive-avoidance response, acetylcholine, and muscarinic receptors in mouse brain. *Acta Pharmacologica Sinica* 1991; 12: 344-7.
 99. Narang N, Wamsley JK. Time dependent changes in DA uptake sites, D₁ and D₂ receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *J Chem Neuroana* 1995; 9: 41-53.
 100. Ricaurte GA, Markowska AL, Wenk GL, Hatzidimitriou G, Wlos J, Olton DS. 3,4-methylenedioxymethamphetamine, serotonin and memory. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266: 1097-105.
 101. Patel TD, Azmitia EC, Zhou FC. Increased 5-HT_{1A} receptor immunoreactivity in the rat hippocampus following 5,7-dihydroxytryptamine lesions in the cingulum bundle and fimbria-fornix. *Behav Brain Res* 1996; 73: 319-23.