

中國醫藥大學 中國藥學研究所 藥學碩士論文

組別：藥理學組

編號：ICPS-M278

指 導 教 授：謝明村博士

共同指導教授：彭文煌博士

共同指導教授：吳啟瑞博士

論文題目

茶葉改善腦缺血誘發大鼠  
記憶障礙作用之研究

The ameliorating effects of Theae Folium  
on the cerebral ischemia-induced memory  
impairment in rats

研究生：吳國任

中國醫藥大學 中國藥學研究所

中華民國九十三年六月

# 目錄

目錄 . . . . .	I
略字表 . . . . .	V
圖目錄 . . . . .	VI
中文摘要 . . . . .	IX
英文摘要 . . . . .	XI
第一章 緒論 . . . . .	1
第二章 總論 . . . . .	3
第一節 茶葉之文獻考察 . . . . .	3
一、茶葉之本草學文獻考察 . . . . .	3
二、茶葉之藥用植物學文獻考察 . . . . .	10
三、茶葉之生藥學文獻考察 . . . . .	13
四、茶葉之成分文獻考察 . . . . .	14
五、茶葉之藥理作用文獻考察 . . . . .	15
第二節 茶之商品種類及其製造 . . . . .	17
一、茶之商品種類 . . . . .	17
二、茶葉之製造 . . . . .	21
第三節 茶葉成分(-)-Epigallocatechin gallate 之文獻考察 . . . . .	25
一、(-)-Epigallocatechin gallate 之結構與理化性質 . . . . .	25

二、 (-)-Epigallocatechin gallate 之藥理作用文獻考察 . . . . .	26
第四節 腦缺血、氧化損傷與學習記憶之關係 . . . . .	27
一、 腦缺血之病因與治療藥物 . . . . .	27
二、 腦缺血與氧化損傷之關係 . . . . .	28
三、 腦缺血與學習記憶之關係 . . . . .	30
第三章 材料與方法 . . . . .	32
第一節 實驗材料 . . . . .	32
一、 茶葉之抽提製備 . . . . .	32
二、 實驗試劑 . . . . .	32
三、 實驗動物 . . . . .	33
四、 實驗儀器 . . . . .	33
第二節 實驗方法 . . . . .	35
一、 腦缺血動物模式 . . . . .	35
二、 自發性運動量實驗 . . . . .	36
三、 水迷宮實驗 . . . . .	36
四、 腦組織之處理及蛋白質之測定 . . . . .	37
五、 腦組織氧化損傷標的物之測定 . . . . .	38
1. Malonyldialdehyde 濃度之測定 . . . . .	38
2. Superoxide dismutase 活性之測定 . . . . .	38

3. Glutathione 濃度之測定 . . . . .	38
第三節 數據分析 . . . . .	39
第四章 實驗結果 . . . . .	40
一、茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發自發性運動量之影響 . . . . .	40
二、茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發水迷宮學習記憶障礙 之影響 . . . . .	42
三、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發自發 性運動量之影響 . . . . .	46
四、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發水迷 宮學習記憶障礙之影響 . . . . .	48
五、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦組織抗氧化能力 之影響 . . . . .	52
1. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Malonyldialdehyde 含量變化之影響 . . . . .	52
2. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Superoxide dismutase 活性變化之影響 . . . . .	53
3. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Glutathione 含量變化之影響 . . . . .	54
第五章 討論 . . . . .	55

第六章 結 論 . . . . .	61
謝 辭 . . . . .	63
參考文獻 . . . . .	64

## 略字表

1. 4-HNE : 4-hydroxynonenal
2. EGCG : (-)-Epigallocatechin gallate
3. GSH : Glutathione
4. MDA : Malonyldialdehyde
5. PTX : Pentoxifylline
6. SOD : Superoxide dismutase
7. TF : Theae Folium

# 圖目錄

Fig.1	茶葉之本草系統圖 . . . . .	3
Fig.2	水迷宮電腦劃分圖 . . . . .	34
Fig.3	實驗流程圖 . . . . .	35
Fig.4	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on locomotor activity in ischemic rats . . . . .	40
Fig.5	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on entries in holes in ischemic rats . . . . .	41
Fig.6	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on total swimming time on the hidden platform of water maze in ischemic rats . . . . .	42
Fig.7	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on total swimming time swum through the target ring of water maze in ischemic rats . . . . .	43
Fig.8	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on total swimming time swum to hidden platform during reacquisition and retrieval of water maze in ischemic rats . . . . .	44
Fig.9	Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on total swimming time and speed on the visible platform of water maze in ischemic rats . . . . .	45
Fig.10	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on locomotor activity in ischemic rats . . . . .	46

Fig.11	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on entries in holes in ischemic rats . . . . .	47
Fig.12	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time on the hidden platform of water maze in ischemic rats . . . . .	48
Fig.13	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time swum through the target ring of water maze in ischemic rats . . . . .	49
Fig.14	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time swum to hidden platform during reacquisition and retrieval of water maze in ischemic rats . . . . .	50
Fig.15	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time and speed on the visible platform of water maze in ischemic rats . . . . .	51
Fig.16	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on malonyldialdehyde level in ischemic rats . . . . .	52
Fig.17	Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total-superoxide dismutase activities in ischemic rats . . . . .	53



Fig.18 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg)  
and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total glutathione  
level in ischemic rats . . . . . 54

# 茶葉改善腦缺血誘發大鼠記憶障礙作用之研究

研究生 吳國任

中國醫藥大學 中國藥學研究所 藥理學組

## 摘要

茶葉為山茶科 (Theaceae) 植物 *Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE 之葉。本研究以大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮為腦缺血動物模式，以水迷宮實驗評估茶葉水粗抽物及其活性成分 (-)-epigallocatechin gallate 對腦缺血大鼠學習操作障礙之改善作用，再輔以自發性運動量實驗評估其對自發性運動量之影響；並進一步測定其皮質區、海馬回及紋狀體之 malonyldialdehyde 含量、superoxide dismutase 活性及 total-glutathione 含量，以探討其抗氧化損傷；同時以 pentoxifylline 為正對照藥物。

本研究首先探討茶葉水粗抽物及其活性成分 (-)-epigallocatechin gallate 對改善腦缺血大鼠學習操作障礙之影響，由實驗結果顯示：大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮所造成之腦缺血模式，可誘發大鼠於水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力之障礙，茶葉水粗抽物及 (-)-epigallocatechin gallate 可改善因腦缺血所誘發之學習操作障礙。而正對照藥物 pentoxifylline 雖亦有改善腦缺血所誘發之學習記憶障礙，但效果則不彰。

其次，本研究再探討茶葉活性成分 (-)-epigallocatechin gallate 對學習記憶與抗氧化損傷之機制，由實驗結果顯示：腦缺血後大鼠海馬回及紋狀體區 malonyldialdehyde 含量增加，而皮質區及海馬回中 total-glutathione 的含量減少。(-)-epigallocatechin gallate 可使腦缺血後

大鼠海馬回及紋狀體 malonyldialdehyde 含量降低及 total-glutathione 含量增加，但正對照藥物 pentoxifylline 對腦缺血後大鼠之 malonyldialdehyde 含量增加及 total-glutathione 的含量減少之現象，並無任何影響。

綜上所述，腦缺血誘發大鼠神經細胞損傷，會造成皮質區及海馬回中 total-glutathione 的含量減少，進而造成腦部神經細胞氧化損傷而促使海馬回及紋狀體脂質過氧化的產物 malonyldialdehyde 大量產生，而促使神經細胞損傷，進一步造成水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力之障礙。茶葉水粗抽物可改善水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再現等學習操作能力之障礙。茶葉主要活性成分(-)-epigallocatechin gallate 亦可改善水迷宮學習操作及記憶能力障礙，其作用機轉可能與減少海馬回及紋狀體之 superoxide dismutase 活性，及增加 total-glutathione 的含量，進而增加自由基之清除，減少 malonyldialdehyde 的含量，降低腦缺血誘發神經細胞損傷。總之茶葉及其主要活性成分(-)-epigallocatechin gallate 改善腦缺血所誘發學習記憶障礙之作用機制與 pentoxifylline 異。

# The ameliorating effects of Theae Folium on the cerebral ischemia-induced memory impairment in rats

Kou-Jen Wu

Institute of Chinese Pharmaceutical Science

China Medical University

## Abstract

The present study was designed to investigate the effects of Theae Folium (*Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE) and its principle constituent (-)-epigallocatechin gallate on performance impairment of water maze and locomotor activity in cerebral ischemic rats caused by middle cerebral artery and two common carotid arteries occlusion. Then we further clarified the action mechanism of the ameliorating effects of (-)-epigallocatechin gallate by measuring malonyldialdehyde and glutathione levels, and superoxide dismutase activity in rat cortex, hippocampus and striatum. Pentoxifylline was used as a positive control.

Firstly, cerebral ischemic rats had the impairment of water maze spatial performance, and the deficits in reference and working memory. Theae Folium and its principle constituent (-)-epigallocatechin gallate ameliorated the performance impairment and memory deficit in cerebral ischemic rats. Pentoxifylline also ameliorated the performance impairment induced by cerebral ischemia. Secondly, cerebral ischemic rats had higher malonyldialdehyde levels in hippocampus and striatum, and lower glutathione levels in cortex and hippocampus. (-)-Epigallocatechin gallate reversed the deterioration of the malonyldialdehyde and glutathione levels in hippocampus and striatum. Pentoxifylline did not affect the deterioration of antioxidant defense and lipid peroxidation in cerebral ischemic rats.

From these above results, cerebral ischemia caused oxidative damage of hippocampal and striatal nerve cells including glutathione depletion and malonyldialdehyde production, and then impaired spatial performance and memory processes in rats. Theae Folium ameliorated the memory impairment induced by cerebral ischemia. Its active constituent

(-)-Epigallocatechin gallate also ameliorated the memory impairment induced by cerebral ischemia, and the action mechanism might be due to decrease higher malonyldialdehyde levels via reversing the deterioration of total-SOD activity and glutathione levels in hippocampus and striatum. In summary, the action mechanism of the ameliorating effects of *Theae Folium* and its principle constituent (-)-epigallocatechin gallate on the memory impairment induced by cerebral ischemia might be distinct from pentoxifylline.

# 第一章 緒論

腦血管病變中以腦中風為最常見疾病，其發病原因，有缺血性和出血性兩大類，前者發病率遠高於後者。缺血性腦血管病變其病因係由於腦血管動脈粥樣硬化而使腦血管漸漸狹窄；或因腦血管血栓，而造成腦血管阻塞，進而使阻塞血管所支配之區域缺血，造成缺血區域腦細胞死亡。近年來許多研究證實在腦缺血的病理過程中自由基損害扮演著重要的角色，腦缺血時自由基大量產生，損傷神經細胞膜引發脂質過氧化反應。因此治療缺血性腦血管疾病的藥物有：血栓溶解藥物 rt-PA、抗凝血劑 aspirin、鈣離子阻斷劑 nifedipine、抗氧化劑 Vitamin C、Vitamin E、腦血流改善劑 Pentoxifylline 等，但皆有其副作用。

依中醫理論，中風主因於氣血虧虛，心、肝、腎三臟陰陽失調，加之憂思惱怒，以致氣血運行受阻所導致<sup>(1)</sup>。因此，中醫多以補氣活血、祛瘀通絡中藥為主，一般以補陽還五湯等用於治療腦中風。然茶葉為山茶科 (Theaceae) 植物 *Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE 之葉，始著錄於唐·新修本草，有降火、破熱氣、中風昏憤之功，又茶葉方劑川芎茶調散主治疏風散邪、清熱止痛之效。且茶葉具抗氧化及抗動脈粥樣硬化作用<sup>(2, 3)</sup>，更有研究報告指出對大鼠腦缺血後神經細胞死亡現象具保護作用<sup>(4)</sup>。茶葉的主要活性成分之一 (-)-epigallocatechin gallate (EGCG)<sup>(5)</sup>，據研究指出其對沙鼠腦缺血之海馬回細胞損傷具保護作用<sup>(6)</sup>。茶葉是否對腦缺血後學習記憶損傷，未見有現代藥理完整研究。復據研究報告指出大鼠之前中腦動脈及兩側頸總動脈經結紮，會造成大鼠腦部細胞死亡及學習記憶障礙<sup>(7, 8)</sup>。

因此，本研究擬以大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮為腦缺血動物模式，以水迷宮實驗，評估茶葉粗抽物及其活性成分 EGCG 對腦缺血大鼠自發性運動量及學習操作障礙之改善作用；並進一步測定其皮質區、海馬回及紋狀體之 malonyldialdehyde (MDA) 含量、superoxide dismutase (SOD) 活性及 glutathione (GSH) 含量，以探討其抗氧化損傷；同時以 pentoxifylline (PTX) 為正對照藥物。

# 第二章 總論

## 第一節 茶葉之文獻考察

### 一、茶葉之本草學文獻考察

#### 1. 茶葉之本草系統圖

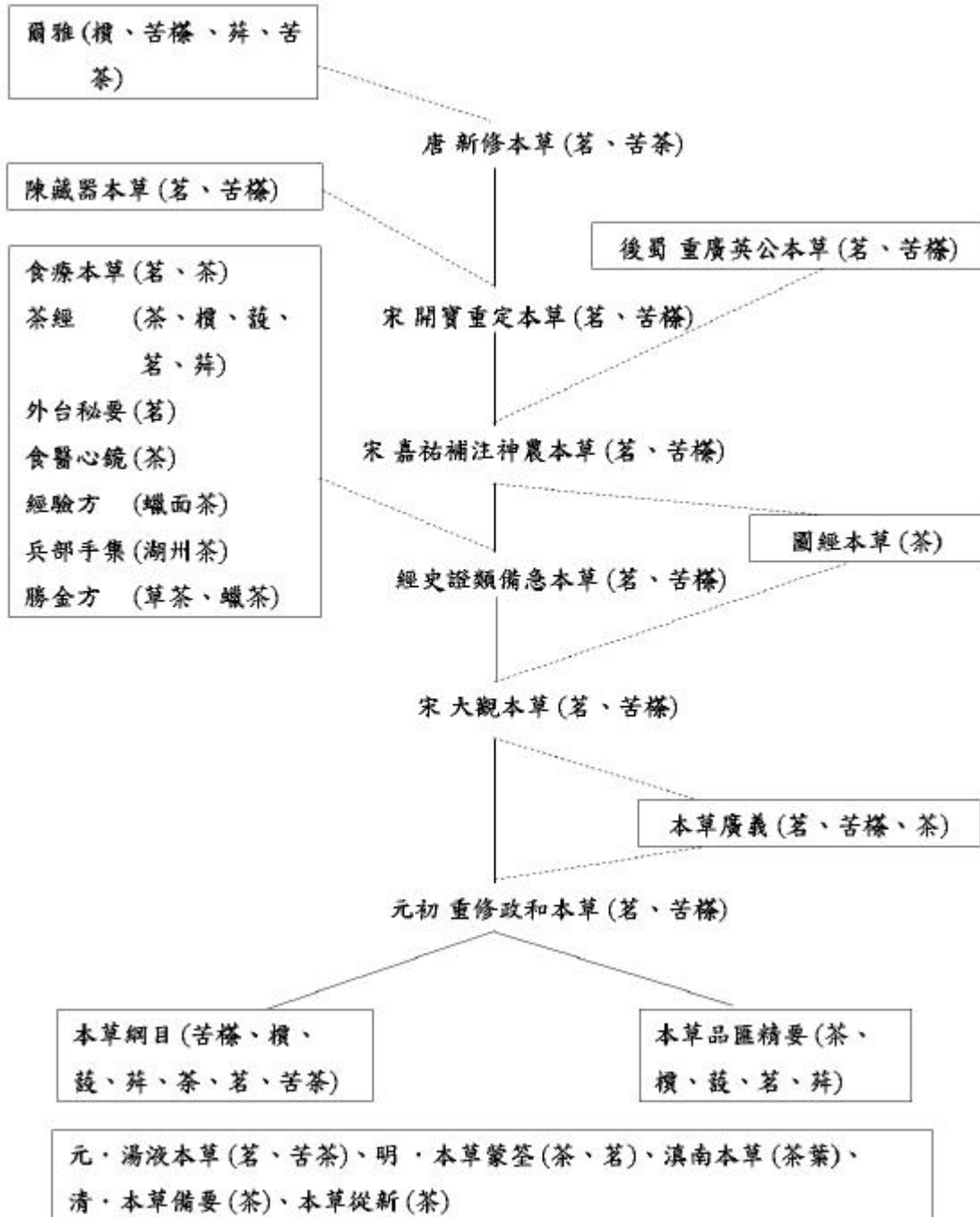


Fig. 1 茶葉之本草系統圖



## 2. 藥名之考訂

茗之名，始著錄於唐·新修本草<sup>(9)</sup>，以降諸家本草如開寶<sup>(10)</sup>、嘉祐<sup>(11)</sup>、圖經<sup>(12)</sup>、證類<sup>(13)</sup>、重修政和<sup>(14)</sup>、本草品匯精要<sup>(15)</sup>及本草綱目<sup>(16)</sup>等皆因襲之。更早之古籍爾雅除以茗為名外，復以茶、苦茶、荈為別名。

茶、苦茶、茶之名義，於宋·本草廣義云：「茗、苦，今茶也。」於明·本草品匯精要云：「苦茶，釋木云：『今呼早采者為茶，晚取者為茗，一名荈，蜀人名之苦茶。』今通謂之茶，蓋茶茶字相似而誤也。」又云：「謹按古無茶、茗之文，在禹則無貢，周禮亦不載；爾雅雖有檟、苦茶之名，而秦漢史傳亦無所稽。至唐·陸羽輩，著茶經等說，而茶品始備。」於明·李時珍本草綱目釋名云：「楊慎丹鉛錄云：『茶，即古茶字（音途）。』詩經云“誰謂荼苦，其甘如薺”是也。顏師古云：『漢時荼陵，始轉途音為宅加切，或言六經無茶字，未深考耳。』」

至於茗之別名，明·李時珍本草綱目釋名云：「苦（搽、途二音，唐本）、檟（爾雅）、設（音設）、荈（音舛）。頌曰：『郭璞云：“早采為茶，晚采為茗，一名荈，蜀人謂之苦茶。”』陸羽云：『其名有五：一茶，二檟，三設，四茗，五荈。』」詳茶葉之本草系統圖可知其藥名之記述情形。

綜如上述，茗之名稱出自於爾雅·釋木，而最早記載之本草書為唐·新修本草，歷代諸家本草皆以此為名，其別名尚有茶、苦茶、苦、荈、檟、設；至於茶之名稱，始於唐代陸羽茶經，而於宋·本草廣義、明·本草品匯精要、本草綱目之解釋“茶，即古茶字”，近代諸家本草，如：明·本草蒙筌、滇南本草、清·本草備要及本草

從新皆以茶為名，至今皆以茗、茶為其名稱。

### 3. 形態、產地、藥用部位之考訂

茶的形態，爾雅云：「苦茶注：樹小如梔子，冬生葉，可煮作羹飲。今呼早采者為茶，晚取者為茗，一名蔎，蜀人名之苦茶，生山南漢中山谷。」而宋·圖經本草云：「今閩、浙、蜀、荊、江、湖、淮南山中皆有之，然則性類各異。近世蔡襄蜜學所述極備。閩中唯建州、北苑數處產此，性味獨與諸方；略不同。今亦獨名臘茶，研治作餅，日得火愈良。其他者或為芽、葉，或為未收貯，微若見火便更，不可以收，其色味皆敗。唯鼎州一種芽茶，其性味略類建州，今京師及河北、京西等處磨為末，亦冒臘茶名者是也。近人以建茶治傷暑，合醋治泄瀉，甚效。則余者皆可比用信之。其不同者多矣。今建州上供品第，備見茶經。」至於本草廣義云：「然古人謂其芽為雀舌、麥顆，言其至嫩也。又有新牙一發，便長寸余，微粗如針。唯牙長為上品，其根干、水土力皆有余故也。如雀舌、麥顆又下品，前人未盡識，誤為品題。唐人有言曰：釋滯消壅，一日之利暫佳，斯言甚當，飲茶者宜原其始終。又晉·溫嶠上表，貢茶千斤，茗三百斤。郭璞曰：早采為茶，晚采為茗。茗或曰（尺充切），葉老者也。」

明·本草品匯精要分項敘述云：「苗：〔圖經曰〕茶，乃南方佳木，高二、三尺經冬不凋，臘月已結蓓蕾，春中抽芽。地：〔圖經曰〕出閩、浙、蜀、荊、江、湖、淮南山中皆有之〔道地〕雅州、蒙山、建州。用：葉。」迄本草綱目集解云：「神農食經曰：茶茗生益州及山陵道旁。凌冬不死，三月三日采干。」唐·陸羽茶經<sup>(17)</sup>云：「茶之源：茶者，南方之嘉木也。一尺、二尺，乃至數十尺，其巴山峽川有兩人合抱者，伐而掇之。其樹如瓜蘆，葉如梔子，花如白薔薇，

實如耕欄，蒂如丁香，根如胡桃。其地，上者生爛石，中者生礫壤，下者生黃土。凡藝而不實，植而罕茂，法如種瓜，三歲可采，野者上，園者次。陽崖陰林，紫者上，綠者次；筍者上，芽者次；葉卷上，葉舒次。陰山坡谷者，不甚採掇，性凝滯，結痼疾。茶之造：凡採茶在二月、三月、四月之間。茶之筍者，生爛石沃土，長四五寸，若薇蕨始抽，凌露採焉。茶之芽者，發于叢薄之上，有三枝、四枝、五枝者，選其中枝顛拔者採焉。其日有雨不採，晴有雲不採；晴，採之、蒸之、搗之、拍之、焙之、穿之、封之，茶之干矣。」

綜觀茗之形態、產地、藥用部位，並參考圖經、大觀、重修政和、品匯精要及綱目等之各種藥圖，可知其樹小如梔子，木如瓜蘆，葉如梔子，花如白薔薇，實如欄，蒂如丁香，根如胡桃；主要用其芽及葉。而其產地古以山南、金州、梁州、漢中、湖州、建中，即今四川省、陝西省、江蘇省、福建省、浙江省、湖南省、湖北省，廣佈中國大部分地區。

#### 4. 性味、藥能之考訂

唐·新修本草云：「茗，味甘、苦，微寒，無毒。主？瘡，利小便，去痰、熱渴，令人少睡。」其後宋·開寶本草引陳藏器本草云：「茗，苦，寒破熱氣，除瘴氣，利大小腸 久食令人瘦，去人脂，使不睡。」可知茶葉無毒，有殺菌、利尿、去痰、去脂及中樞興奮之作用；至宋·證類本草除引新修本草原文外，並引食療本草云：「茗葉，利大腸，去熱解痰。煮取汁，用煮粥良。又，茶主下氣，除好睡，消宿食，當日成者良。蒸、搗經宿。」復引食醫心鏡云：「主赤白痢及熱毒痢。好茶一斤，炙搗末，濃煎一、二盞吃，瘥。如久患痢，亦宜服。又主氣壅暨腰痛轉動不得。煎茶五合，投醋二合，頓服。」

又引經驗方云：「治陰囊上瘡。用蠟面茶為末，先以甘草煎水，洗后用貼，妙。」以強調其殺菌、去脂作用。至明·本草綱目云：「茶苦而寒，陰中之陰，沉也，降也，最能降火。火為百病，火降則上清矣。然火有五，火有虛實。若少壯胃健之人，心肺脾胃之火多盛，故與茶相宜。溫飲則火因寒氣而下降，熱飲則茶借火氣而升散，又兼解酒食之毒，使人神思爽，不昏不睡，此茶之功也。若虛寒及血弱之人，飲之既久，則脾胃惡寒，元氣暗損，土不製水，精血潛虛；成痰飲，成痞脹，成痿痺，成黃瘦，成嘔逆，成洞瀉，成腹痛，成疝瘕，種種內傷，此茶之害也。民生日用，蹈其弊者，往往皆是，而婦嫗受害更多，習俗移人，自不覺爾。況真茶既少，雜茶更多，其為患也，又可勝言哉？人有嗜茶成癖者，時時咀嚼不止，久而傷營傷精，血不華色，黃瘁痿弱，抱病不悔，尤可嘆惋。」

綜如上述，茶葉自唐·新修本草至明清近代諸本草，味甘、苦，微寒，無毒。主：？瘡，利小便，去痰、熱渴，令人少睡。治：破熱氣、除瘴氣、利大小腸、清頭目、消熱渴、中風昏憤、多睡不醒、？瘡、除痰、下氣消宿食、頭痛、赤白痢、熱毒痢。

##### 5. 修治、方用之考訂

關於茶葉之採收，唐·新修本草云：「秋采之。」新修引爾雅云：「苦茶注：樹小如梔子，冬生葉，可煮作羹飲。今呼早采者為茶，晚取者為茗。」而知早期新修本草以葉類藥用部位以夏末秋初為採收期，但宋·證類本草云：「春采之。」明·品匯精要云：「時：〔生〕春初發萌，〔采〕春分先后取芽。收：晒干。」及本草綱目集解云：「神農食經曰：茶茗生益州及山陵道旁。凌冬不死，三月三日采干。」後代始以茶葉為春季採收，符合今日春季品茗。

關於茶葉之方用，唐·新修本草云：「作飲加茱萸、蔥、姜等，良。」宋·證類本草引外台秘要云：「單煮茗，作飲二、三升，適冷暖，飲一、二升。」復引兵部手集云：「治心痛不可忍，十年、五年者。煎湖州茶，以頭醋和，服之良。」至明·本草綱目發明云：「好古曰：『茗茶氣寒味苦，入手、足厥陰經。治陰證湯藥內入此，去格拒之寒，及治伏陽，大意相似。』經云：『苦以泄之。其體下行，所以能清頭目。機曰：頭目不清，熱熏上也。以苦泄其熱，則上清矣。且茶體輕浮，采摘之時，芽初萌，正得春升之氣，味雖苦而氣則薄，乃陰中之陽，可升可降。利頭目，蓋本諸此。』汪穎曰：『一人好燒鵝炙爆，日常不缺。人咸防其生癰疽，后卒不病。訪知其人每夜必啜涼茶一碗，乃知茶能解炙爆之毒也。』楊士瀛曰：『姜茶治痢。姜助陽，茶助陰，並能消暑、解酒食毒。且一寒一熱，調平陰陽，不問赤、白、冷、熱，用之皆良。生姜細切，與真茶等分，新水濃煎服之。蘇東坡以此治文潞公有效。』」

本草綱目附方：醫方大成云：「氣虛頭痛：用上春茶末調成膏，置瓦盞內覆轉，以巴豆四十粒，作二次燒煙熏之，晒干乳細。每服一字，別入好茶末，食后煎服，立效。」

食醫心鏡云：「熱毒下痢：赤白下痢。以好茶一斤，炙搗末，濃煎一、二盞服。久患痢者，亦宜服之。」

直指云：「用蠟茶，赤痢以蜜水煎服，白痢以連皮自然姜汁同水煎服。二、三服即愈。」

經驗良方云：「用蠟茶二錢，湯點七分，入麻油一蜆殼和服，須臾腹痛大下即止。一少年用之有效。一方：蠟茶末，以白梅肉和丸。赤痢甘草湯下白痢烏梅湯下，各百丸。一方：建茶合醋煎，熱服，即

止。」

普濟方云：「大便下血：營衛氣虛，或受風邪，或食生冷，或啖炙爆，或飲食過度，積熱腸間，始脾胃受傷，糟粕不聚，大便下利清血，臍腹作痛，裡急后重，及酒毒一切下血，並皆治之。用細茶半斤(碾末)，川百藥煎五個(燒存性)。每服二錢，米飲下，日二服。」

郭稽中婦人方云：「產后秘塞：以蔥涎調蠟茶末，丸百丸，茶服自通。不可用大黃利藥，利者百無一生。」

簡便方云：「解諸中毒：芽茶、白礬等分，碾末，冷水調下。」

攝生方云：「痘瘡作痒：房中宜燒茶煙恆熏之。腳丫濕爛：茶葉嚼爛敷之，有效。」

勝金方云：「蠅？尿瘡：初如糝粟，漸大如豆，更大如火烙漿，疼痛至甚者。速以草茶，並蠟茶俱可，以生油調敷。藥至，痛立止。」

摘玄方云：「風痰顛疾：茶芽、梔子各一兩。煎濃汁一碗服。良久探吐。」

聖濟總錄云：「霍亂煩悶：茶末一錢煎水，調干薑末一錢，服之即安。」

瑞竹堂方云：「痰喘咳嗽，不能睡臥：好末茶一兩，白僵蠶一兩，為末，放碗內蓋定，傾沸湯一小盞。臨臥，再添湯點服。」

綜如上述，茶葉自唐。新修本草以前，以秋季採收。至宋。證類本草後則為春季採收，單煮或加薑合飲。加薑者薑助陽，茶助陰，並能消暑、解酒食毒。且一寒一熱，調平陰陽，不問赤、白、冷、熱，用之皆良。

## 二、茶葉之藥用植物學文獻考察

茶樹為山茶科 (Theaceae) 之植物 *Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE, 長年生常綠喬木或灌木。主要分佈於亞洲的台灣、中國、日本、印度、斯里蘭卡、伊朗；非洲的烏干達、肯亞、莫三比克；美洲的美國南卡來羅納州、墨西哥、瓜地馬拉、波多黎各、瓜地馬拉、牙買加、祕魯、阿根廷。中國大陸主要茶區分佈於福建、安徽、江西、浙江、湖南、廣東及廣西、江蘇、四川、雲南、貴州，稱為十大茶區。台灣之茶區分佈於本島各地。

### 1. 茶樹植物學<sup>(18)</sup>

茶樹植物學形態為常綠灌木或喬木，高 1~6 米。多分枝，嫩枝有細毛，老則脫落。單葉互生，長橢圓形或長橢圓狀披針形，或卵狀披針形，先端漸尖，有時稍鈍，基部楔形，邊緣有鋸齒，質厚，老則帶鞣質，上面深綠色，有光澤，平滑無毛，下面淡綠色，羽狀網脈，幼葉下面具短柔毛，葉柄短，略扁。花腋生，1~3 朵，具有花柄，微垂；總苞 2；萼片 5，宿存，深綠色；花瓣 5，白色，稍有香氣，近圓形或廣倒卵形；雄蕊多數，排列成多輪，雌蕊居於中央，子房上位。蒴果，木質化，扁圓三角形，暗褐色。花期 10~11 月。果實隔年成熟。

### 2. 台灣種植茶樹<sup>(19-21)</sup>

台灣種植茶樹之主要品種為青心烏龍、青心大冇、台茶十二號、台茶十三號、黃柑、鐵觀音、大葉烏龍、四季春、阿薩姆等。下列依序介紹：

#### (1) 青心烏龍

別名青心烏龍、種仔、種茶、軟枝烏龍。樹形稍小屬於開張形，枝葉較密生，葉片狹長橢圓形，葉肉稍厚，柔軟富彈性，

葉色濃綠富光澤，幼芽成紫色，本品種是一個極有歷史並且被廣泛種植的品種。

#### (2) 青心大冇

別名有青心、大冇。樹型中等屬於稍橫張型，葉片為狹長略成披針型到長橢圓形，葉基鈍，以正中央部位最闊，葉緣鋸齒較銳利，葉肉稍厚帶硬，葉色呈暗綠色，幼芽肥大而密生茸毛，呈紫紅色，本品種樹勢強，產量高。主要分布於桃園、新竹、苗栗三縣。適製性廣，屬中生種茶樹。

#### (3) 台茶十二號

別名金萱，經過 43 年的選育後，於民國七十年命名的新品種，屬於稍具直立性的橫張型，葉片大型呈橢圓型，葉緣鋸齒較疏，葉肉稍厚，濃綠且富光澤，芽密度高，幼芽大，綠中帶紫，茸毛密度略少於青心烏龍，樹勢強健，環境適應力強，高產，樹勢強健，環境適應力強，高產，品質佳，全省各茶區均有種植，屬中生種茶樹。

#### (4) 台茶十三號

別名翠玉，與台茶十二號同一時期選育所得。樹型較大，芽色較紫，茸毛密度略低，葉片則較狹長，略大且厚，葉片兩側較上捲，葉緣鋸齒較大且粗鈍，葉色較綠且更具光澤。具強烈花香，全省各茶區均有種植，屬中生種茶樹。

#### (5) 黃柑

別名白心或白葉，樹型中等，枝葉密生，芽色偏黃，葉片呈橢圓型至倒卵型，花較多。早期大量種植於桃園、新竹、苗栗三縣，適製紅茶，但紅茶市場喪失後，已極速減少，屬晚生種。

#### (6) 鐵觀音



樹型大枝條粗，但枝葉及芽密度很疏，幼芽稍帶紅色，葉型長橢圓至狹長型，平鋪，葉緣起伏大，呈波浪狀，鋸齒大但不銳利，葉肉極厚且富有光澤，收成量少。原產地福建省泉州府安溪縣，目前僅栽培於台北市文山區的木柵地區，屬晚生種。

(7) 大葉烏龍

樹型高大，直立枝葉較疏，芽肥大茸毛多呈淡紅色，葉片大型且呈橢圓形，葉色暗綠，葉肉厚樹勢強，收成量中等。本品種以台北縣汐止、深坑、石門等地區為主產地，屬於早生種。

(8) 四季春

樹型中大型且開張，枝葉及芽密生，幼芽呈淡紅色，葉型較近紡錘型，兩端較尖銳，葉色淡綠，具細且銳之鋸齒，葉肉厚且具光澤，樹勢強，採摘期極長，收成量高。本品種是由木柵地區茶農選出之茶種，屬小葉型，極早生之包種茶品種。

(9) 阿薩姆

樹型高大，枝葉較密，幼芽肥大，產量高。原產地印度阿薩姆省，目前栽種與台東縣、南投縣魚池鄉與日月潭等地。主要專供製造紅茶使用，所製造紅茶芳香味醇。

### 三、茶葉之生藥學文獻考察<sup>(22)</sup>

#### 1. 藥材性狀

本品葉片完整者呈橢圓形或長橢圓狀披針形，或卵狀披針形，先端漸尖，有時稍鈍，基部楔形，邊緣有鋸齒，質厚，老則帶鞣質，上面深綠色，有光澤，平滑無毛，下面淡綠色，羽狀網脈，幼葉下面具短柔毛。

#### 2. 組織鑑別

以顯微鏡檢視其葉之橫切面，非腺毛為單細胞，徑 10~20  $\mu\text{m}$ 。表皮細胞呈橢圓形或長方形，角質厚。薄壁組織中有異形石細胞散在，呈長條形，做不規則分枝，分枝長短不一。纖維單個或 2~3 個成束，徑 10~25  $\mu\text{m}$ ，1~3 列斷續排列。韌皮部細胞呈不規則形，排列緊密。木質部導管多單個散生或 2~3 連生，類圓形或多角形，徑 10~25  $\mu\text{m}$ ，主為網紋導管。草酸鈣簇晶較多，單個散在或存在於薄壁細胞中，偶見方晶，較細小，散布於柵狀組織中。下表皮細胞 1 列，細胞呈不規則形，氣孔較多。

#### 3. 粉末鑑別

本品粉末呈黃綠色，氣香，味苦澀。上表皮斷面觀細胞扁平角質厚，表面斷呈多角形。下表皮細胞呈不規則形，氣孔較多，扁圓形或類圓形，徑 25~30  $\mu\text{m}$ 。纖維單個或 2~3 個成束，先端鈍，紋孔較疏，徑 10~25  $\mu\text{m}$ 。石細胞，呈長條形，做不規則分枝，長 65~300  $\mu\text{m}$ 。非腺毛單細胞，徑 10~20  $\mu\text{m}$ 。草酸鈣簇晶較多，單個散在或存在於薄壁細胞中；方晶細小，散布於柵狀細胞中。導管類圓形或多角形，徑 5~20  $\mu\text{m}$ ，主為網紋導管。

#### 四、茶葉之成分文獻考察<sup>(5、18、23)</sup>

##### 1. 生物鹼類

茶葉中含生物鹼 3%~5% , 其中主要成分為咖啡因 ( caffeine )、茶鹼 ( theophylline )、可可鹼 ( theobromine ) 等。

##### 2. 多酚類

茶葉中含多酚類 20%~35% , (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)、(-)-Epigallocatechin (EGC)、(-)-Epicatechin gallate (ECG)、(-)-Epicatechin (EC)、(+)-Catechin、Theaflavin(TF-1)、Thearubigins(TRs)、Theaflavin-3-gallate(TF-2a)、Theaflavin-3'-gallate(TF-2b)、Theaflavin-3,3'-digallate(TF-3)、Galloyl-1-epigallocatechol、1-epigallocatechin、Galloylepicatechin。

##### 3. 揮發油

揮發油為茶葉香氣成分 , 含量 0.6% ,  $\beta$ , $\gamma$ -Heptenol、 $\alpha$ , $\beta$ -heptenal、 $\alpha$ -Ionone、 $\beta$ - Ionone、Theasapirone、Jasmone、Furfuryl alcohol、 $\alpha$ -Muurolene、Geranial、Pyrrole-2-aldehyde、Methylphenyl carbinol。

##### 4. 其他

Theasapogenol E、Theafolisaponin、多糖類(為茶葉複合雜鏈多糖)、胡蘿蔔素及氟、鈣、鐵等元素。

## 五、茶葉之藥理作用文獻考察

### 1. 抗凝血和抗血栓作用<sup>(24)</sup>

茶葉成分茶多糖 50 mg/kg 口服給藥，可延長小鼠凝血時間達 319 %；家兔口服 37 mg/kg，可延長凝血時間達 40 %。體外混合血漿試驗指出，0.1 mg 茶多糖能可延長凝血時間，0.4 mg 可完全抑制凝固。口服給藥 40 mg/kg，豚鼠纖維蛋白溶解活力增加 77%。37 mg/kg 口服給藥，可縮短家兔實驗性血栓長度，延長纖維蛋白血栓形成時間。

### 2. 降血脂及抗動脈粥樣硬化作用

每天給予大鼠混合 2 % 綠茶粉末飼料，可降低大鼠血清膽固醇，中性脂肪<sup>(2)</sup>。茶葉成分茶多糖類化合物可防止小鼠實驗性膽固醇血症的形成，降低高脂血症大鼠血清膽固醇、中性脂肪及低密度脂蛋白，並提高高密度脂蛋白及高密度脂蛋白/中性脂肪比值<sup>(25)</sup>。在體外試驗中，茶葉 5 mg/ml 及 10 mg/ml 可抑制 endothelial cell 誘發 LDL 氧化作用<sup>(3)</sup>。

### 3. 降血糖作用

茶葉成分茶多酚類化合物，每天口服給予 400 mg/kg 於口服葡萄糖耐受性測試中，可降低 streptozotocin 誘發大鼠高血糖<sup>(26)</sup>。口服 400 mg/kg 茶多糖類化合物，亦可降低 streptozotocin 誘發大鼠高血糖<sup>(27)</sup>。

### 4. 保肝作用

綠茶提取物成分兒茶素可抑制四氯化碳致大鼠肝損傷。每天口服兒茶素 150 mg/kg 持續 21 天。可降低大鼠 SGP 48 %<sup>(28)</sup>。

## 5. 神經保護作用

體外實驗證明茶提取物 60  $\mu\text{M}$  時，對 6-OHDA 引起 SH-SY5Y 細胞凋亡具保護作用<sup>(29)</sup>。且茶葉多酚類 200  $\mu\text{M}$  及 500  $\mu\text{M}$  時，對 sodium nitroprusside 引起 SH-SY5Y 細胞凋亡亦具保護作用<sup>(30)</sup>。

## 第二節 茶之商品種類及其製造<sup>(19-21)</sup>

### 一、茶之商品種類

市售茶葉之商品種類、名稱繁多，如烏龍茶、鐵觀音茶、龍井茶、生茶、熟茶等，使的一般大眾常常混亂，而且不知道他喝的是甚麼茶，下面就依茶葉不同分類方式加以敘述。

#### 1. 以發酵程度分類

發酵為茶葉製造過程中一項重要步驟，係指空氣滲入葉肉細胞，引起酵素氧化作用，使細胞中各化學成分發生複雜變化，進而產生茶葉特有的風味。依發酵程度不同，可分為不發酵茶、部分發酵茶、全發酵茶及後發酵茶等四類。

(1) 不發酵茶即製造過程中並無發酵作用，其製造出來的茶葉保有天然的葉綠素，泡出來的茶湯顏色亦含有天然的葉綠素而呈現黃綠色。屬不發酵茶類有綠茶、龍井、碧螺春、眉茶、煎茶、玉露茶，總稱為綠茶。

(2) 部分發酵茶即為眾所皆知的烏龍茶，此類茶葉在製造過程中將部份成分改變，而產生烏龍茶特有的香味及口感，茶湯顏色為金黃色至琥珀色。屬部分發酵茶類有烏龍茶、包種茶、鐵觀音、凍頂茶、松柏長青茶、白毫烏龍茶(東方美人茶)、高山茶，總稱為烏龍茶。

(3) 全發酵茶即為紅茶，紅茶在製造過程中，經發酵後，使所含的茶多酚氧化，變成紅色的化合物。這種化合物一部分溶於水，一部分不溶於水，而積累在葉片中，從而形成紅湯、紅葉。南投縣魚池鄉的日月潭紅茶享譽國際，即為此類代表。

(4) 後發酵茶是在茶葉製造完成後，堆積發酵，使葉色呈暗褐色。此類代表有普洱茶及沱茶，台灣並不產此類茶，而市售普洱茶及沱茶多為中國大陸進口。

## 2. 以焙火不同分類

在台灣，烏龍茶又加工再精緻，使茶葉的品質增加，其香味及口感又有不同。因此依焙火程度不同又分為輕火、中火、重火三類。輕火俗稱生茶，在焙火過程以低溫快速乾燥，主要是去除多於水分，保持茶葉新鮮的香味。中火俗稱半熟茶，其焙火過程介於輕火及重火，保有輕火的香味，也保有重火的口感。重火俗稱熟茶，也稱為老人茶，香味改變，含有特別的炭火香味。

## 3. 以產地不同及茶樹品種不同分類

(1) 文山包種茶：產於台北縣之文山，為最有規模之一大茶區。以名貴包種見稱，啜時有天然韻味，幽雅芳芬，清純甘潤。

(2) 坪林包種茶：產於台北縣之坪林(俗呼坪林尾)，植茶五百二十五公頃，盛產粗茶，年產三十萬公斤，品種與文山同。此外，附近的金瓜寮，也以大量產包種茶著稱。

(3) 木柵鐵觀音：產於台北市木柵指南里山區。茶種原引自安溪，遍植於獅腳、草湳、內外樟湖、貓空、待坑坑、阿泉坑一帶，有一百五十餘公頃。

(4) 東方美人茶：產於新竹縣、苗栗縣，因其茶芽白毫顯著，又稱「白毫烏龍茶」；在夏茶期間茶芽受浮塵侵蝕後所採收製成一種含有特殊風味的茶。

(5) 松柏長青茶：原名「埔中茶」或稱「松柏坑茶」，生產於南投縣名間鄉的松柏嶺(舊稱埔中)，地屬八卦山山脈的最南端，

氣候涼爽，十分適合種茶，茶園多分佈在 200 至 400 公尺之間的台地，目前茶園面積達 2500 公頃。松柏坑茶在本省的茶業發展史上，開發極早，初期本區所產茶葉在內銷市場上知名度較低，銷路不易打開，以致茶農生活清苦，1975 年蔣故總統經國先生於行政院長任內蒞臨巡視，對此地茶葉香郁芬芳稱讚不已，特命名為「松柏長青茶」。後來又由農林廳及南投縣政府督導推動「松柏長青茶」復興計畫，逐年編列經費補助農機及改進茶葉生產技術，如今該茶區已進入省工機械化栽培製造，而且此地所產的茶菁葉質柔軟，加上機械化的製造，品質均一，使「松柏長青茶」在國內茶葉市場佔有極重要的地位。

(6) 凍頂茶：產於南投縣鹿谷鄉。它的鮮葉，採自青心烏龍品種的茶樹上，凍頂為山名，烏龍為品種名，故又名「凍頂烏龍茶」。

(7) 高山茶：在台灣的飲茶人士所慣稱的「高山茶」是指海拔 1000 公尺以上茶園所產製的半球型包種茶(市面上俗稱烏龍茶)。台灣各產茶區內，海拔高度在 1000 公尺以上的地區，包括有阿里山山脈、玉山山脈、雪山山脈、中央山脈和台東山脈等。主要產地為嘉義縣、南投縣內海拔 1000 2000 公尺新興茶區，因為高山氣候冷涼，早晚雲霧籠罩，平均日照短，致茶樹芽葉所含兒茶素類等苦澀成分降低，而茶胺酸及可溶氮等對甘味有貢獻之成分含量提高，且芽葉柔軟，葉肉厚，果膠質含量高，因此高山茶具有色澤翠綠鮮活，滋味甘醇，滑軟，厚重帶活性，香氣淡雅，水色蜜綠顯黃及耐沖泡等特色。

(8) 日月潭紅茶：日據時期為改善台灣紅茶品質，1925 年自印度引進大葉種阿薩姆茶來台種植，並先選擇在南投縣魚池、埔里、水里地區開發推廣種植。



(9) 金萱茶：民國 70 年台灣省茶業改良場育成推廣的新品種「台茶十二號」，最大的特徵為具天然的奶香，這種天然的奶香很少茶類可以做得出來，只有金萱茶有此特徵。

(10) 翠玉茶：民國 70 年台灣省茶業改良場育成推廣的新品種「台茶十三號」，具強烈的野香，所謂清香撲鼻就是翠玉茶的典型特徵，有時候翠玉茶可以做出類如野薑花香的香氣特徵。

(11) 四季春：是由地區茶農選出之茶種，具有清揚濃烈的香氣。

## 二、茶葉之製造

茶葉中所含的成分，有些利於茶的品質，有些則不利於茶的品質，茶葉之製造即是要除去不利的成分，發揮有利的成分，使其在製造過程中經由複雜的物理及化學變化而製成品質優良的成品。

茶葉依製造過程可分為綠茶、烏龍茶、紅茶，下面就依製茶過程中各種操作的目的加以敘述。

### 1. 綠茶之製造

綠茶是屬於不發酵茶，其成品種類有龍井、碧螺春、眉茶、煎茶、玉露茶，總稱為綠茶。在台灣適合製程綠茶之茶樹品種為青心大冇，其製造過程敘述如下：

#### (1) 炒菁

茶菁原料由茶樹採下後即炒菁，炒菁的目的是利用高溫約 300 破壞酵素活性，抑制茶葉發酵，保持鮮綠色，同時減少部分水分。

#### (2) 揉捻

揉捻是利用機械的力量使茶葉轉動互相摩擦，破壞芽葉的細胞組織，使茶葉中果膠質的汁液流出附著於茶葉表面，便於日後製成產品後可加速可溶物的流出。

#### (3) 乾燥

乾燥是利用溫度除去茶葉中的水分，並固定茶的品質，並使茶湯水色澄清豔麗。

### 2. 烏龍茶之製造

烏龍茶是屬於部分發酵茶，其成品種類有包種茶、鐵觀音、凍頂茶、松柏長青茶、烏龍茶，為外銷用語方便，總稱部分發酵茶為烏龍

茶。在台灣適合製程烏龍茶之茶樹品種為青心烏龍、青心大冇、台茶十二號、台茶十三號、鐵觀音、大葉烏龍、四季春，就其製造以下敘述之。

#### (1) 日光萎凋

茶菁原料由茶樹採下後，將茶菁置於日光下行萎凋，目的在減少細胞水分含量，減低其活性致使細胞膜半透性消失，使細胞中各化學成分得以藉酵素氧化作用引起發酵之進行。而萎凋葉面溫度 30 ~40 為宜。

#### (2) 室內萎凋及攪拌

將茶菁移入室內萎凋主要的目的是要繼續日光萎凋所引發的酵素作用，使生葉繼續進行部份發酵，再利用攪拌的方式，使鮮葉相互摩擦引起葉緣細胞破損，使空氣易於進入葉肉細胞促進發酵作用，同時藉翻動使茶葉水分散失平均。

#### (3) 炒菁

炒菁的目的是利用高溫約 300 破壞酵素活性，抑制茶葉繼續發酵，以保有包種茶特有的香氣。

#### (4) 初乾

揉捻後的茶葉，仍然含有濕潤的水分，必須經過初乾的程序，使茶葉中的水分再降低，以便團揉整型。

#### (5) 揉捻

揉捻是利用機械的力量使茶葉轉動互相摩擦，破壞芽葉的細胞組織，使茶葉中果膠質的汁液流出附著於茶葉表面，便於日後製成產品後可加速可溶物的流出。

### (6) 團揉整型

團揉是將初乾的茶葉以圓筒式的炒菁機加熱回軟，在裝入特製的布巾或球袋中以布球揉捻機或手工進行團揉。團揉整型的目的在使茶葉捲曲成球型或半球型，以增加外型的美觀，更可減少茶葉成品的體積，便之於包裝、運輸及儲存。

### (7) 乾燥及焙火

乾燥及焙火是利用高溫停止炒菁時殘留的酵素活性，使茶葉不繼續發酵，並固定茶的品質。也藉其火候改善茶葉的香氣和滋味，去除菁臭味及減輕澀味，並使茶湯水色澄清豔麗。

## 3. 紅茶之製造

紅茶是屬於全發酵茶。在台灣適合製程紅茶之茶樹品種為黃柑(小葉種紅茶)、阿薩姆(大葉種紅茶)，其製造過程敘述如下：

### (1) 日光萎凋

茶菁原料由茶樹採下後，將茶菁置於日光下行萎凋，目的在減少細胞水分含量，減低其活性致使細胞膜半透性消失，使細胞中各化學成分得以藉酵素氧化作用引起發酵之進行。而萎凋葉面溫度 30 ~40 為宜。

### (2) 室內萎凋及攪拌

將茶菁移入室內萎凋主要的目的是要繼續日光萎凋所引發的酵素作用，使生葉繼續進行部份發酵，再利用攪拌的方式，使鮮葉相互摩擦引起葉緣細胞破損，使空氣易於進入葉肉細胞促進發酵作用，同時藉翻動使茶葉走水平均。

### (3) 揉捻

揉捻是利用機械的力量使茶葉轉動互相摩擦，破壞芽葉

的細胞組織，使茶葉中果膠質的汁液流出附著於茶葉表面，便於日後製成產品後可加速可溶物的流出。

#### (4) 發酵

發酵是紅茶品質形程的重要關鍵，在揉捻過程中發酵已開始，但發酵尚未完成，故經由發酵步驟，形成紅茶特有的色、香、味及品質。

#### (5) 乾燥

乾燥是紅茶製造的最後一道步驟，主要利用高溫迅速停止酵素活性，使茶葉不繼續發酵，並蒸發剩餘的水分，固定茶的品質。

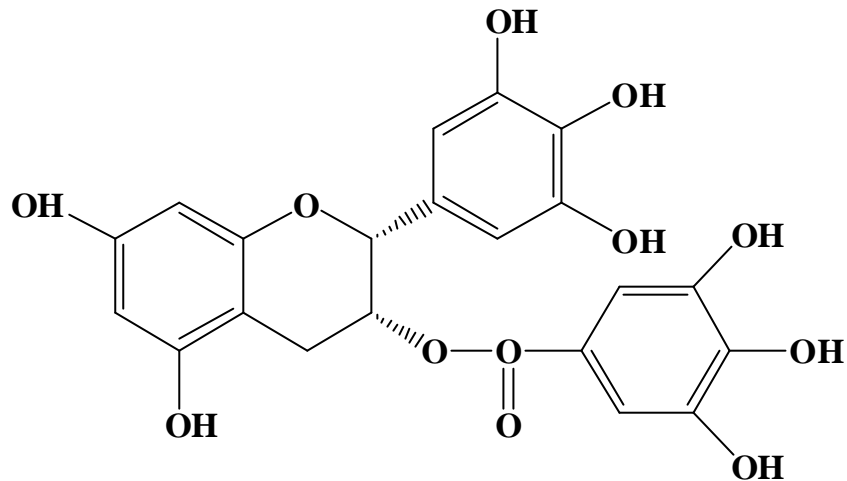
### 第三節 茶葉成分(-)-Epigallocatechin gallate 之文獻考察

#### 一、(-)-Epigallocatechin gallate 之結構與理化性質<sup>(31)</sup>

##### 1. 化學名

(2R,3R)-2-(3,4,5-Trihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,5,7-triol 3-(3,4,5-trihydroxybenzoate)

##### 2. 結構式



##### 3. 分子式、分子量及理化性質

分子式： $C_{22}H_{18}O_{11}$

分子量：458.4

易溶於水、甲醇、乙醇。

## 二、(-)-Epigallocatechin gallate 之藥理作用文獻考察

### 1. 抗腫瘤作用

小鼠口服給予 EGCG (1 g/kg) , 可抑制荷瘤小鼠 S180 腫瘤的生長, 抑制率為 34.5 % ; 且可增加接種 EAC 腫瘤小鼠的生存時間<sup>(32)</sup>。在體外實驗 EGCG (50、100  $\mu$  M) 可以抑制人類肺癌細胞 PC-9 的生長<sup>(33)</sup>。

### 2. 調節免疫作用

小鼠口服給予 EGCG (1 g/kg) , 可提高小鼠 NK 細胞活性及巨噬細胞的吞噬能力, 亦可增加小鼠免疫能力<sup>(32)</sup>。

### 3. 抗氧化能力

小鼠口服給予 EGCG (1 g/kg) , 可減少小鼠 MDA 的含量及增加 SOD 活性<sup>(32)</sup>。大鼠口服給予 EGCG (100、500 mg/kg) , 可減少 Methylguanidine 引起之腎臟氧化損傷<sup>(34)</sup>。

### 4. 降血脂作用

大鼠腹腔注射 EGCG (70、100 mg/kg) , 可降低大鼠血清膽固醇及三酸甘油, 亦可減少大鼠體重<sup>(35)</sup>。

### 5. 神經保護作用

沙鼠腹腔注射 EGCG (25、50 mg/kg) , 可降低腦缺血所致沙鼠海馬回細胞傷害<sup>(6)</sup>。且在體外實驗證明 EGCG (10  $\mu$  M) , 可以對 AB 引起大鼠海馬回細胞凋亡有抑制作用<sup>(36)</sup>; 及 EGCG (100、200  $\mu$  M) , 可以對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起 OSC-2 細胞凋亡具保護作用<sup>(37)</sup>; 又 EGCG (200  $\mu$  M) , 可以對 6-hydroxydopamine 引起 PC12 細胞凋亡具保護作用<sup>(38)</sup>。

## 第四節 腦缺血、氧化損傷與學習記憶之關係

## 一、腦缺血之病因與治療藥物

腦中風為腦血管病變中最常見疾病之一，腦血管病變是一種常見疾病，根據發病原因的不同，可分為缺血性和出血性兩大類；前者發病率遠高於後者，為 70~80 %，後者發病率為 20~30 %。臨床上，缺血性腦血管病變分為腦血管阻塞與腦血管栓塞。腦血管阻塞為腦血管因動脈硬化而漸漸狹窄，甚至阻塞，因而使阻塞血管所支配之區域缺血，造成缺血區域腦細胞死亡。腦血管栓塞則指腦血管被外來之栓子堵塞而造成前述腦缺血症狀<sup>(39)</sup>。

治療腦缺血之藥物種類：

1. Blockage of glutamine toxicity : dizocilpine (MK-801)<sup>(40)</sup>、memantine<sup>(41)</sup>
2. Calcium channel block : nicardipine、nifedipine<sup>(42)</sup>
3. Free radical scavenger : ascorbic acid (Vitamine C)<sup>(43)</sup>
4. Antioxidant : tocopherol (Vitamine E)<sup>(44)</sup>、pyrrolopyrimidine (21-aminosteroid antioxidant compound)<sup>(45)</sup>
5. Nitric oxide synthase inhibitor : aminoguanidine (iNOS inhibitor)<sup>(46)</sup>、7-NI (nNOS inhibitor)<sup>(47)</sup>、L-NAME (nNOS inhibitor)<sup>(48)</sup>
6. Anti-inflammatory drug : IL-10<sup>(49)</sup>、aspirin<sup>(50)</sup>、quinacrine<sup>(51)</sup>
7. Neuropeptides : somatostatin-14<sup>(52)</sup>

中醫認為中風的發生，主要因素在於平常氣血虧虛，心、肝、



腎三臟陰陽失調，加之憂思惱怒，或飲酒暴食，或外邪侵襲等誘因，以致氣血運行受阻所導致<sup>(1)</sup>。因此，中醫多以補氣活血、祛瘀通絡中藥為主。

治療腦缺血之中藥：黃連解毒湯<sup>(53)</sup>、大秦芩湯<sup>(54)</sup>、補陽還五湯<sup>(55)</sup>、黃芩<sup>(53)</sup>、川芎<sup>(56)</sup>、葛根素<sup>(57)</sup>、銀杏葉(EGb 761)<sup>(58)</sup>、

## 二、腦缺血與氧化損傷之關係<sup>(59)</sup>

1956年 Harman 提出自由基學說，近年來不少研究證實自由基損害在腦缺血的病理過程中起著極為重要的作用。

### 1. 自由基

自由基是含有一個或多個不配對電子的原子、分子、離子或原子團的總稱。目前對引發、加重腦缺血損傷的自由基研究較多的是氧自由基和一氧化氮(NO)。氧自由基是指由氧誘發的自由基，這些自由基主要包括：超氧陰離子( $O_2^-$ )、過氧化氫( $H_2O_2$ )、氫氧自由基(OH)、脂質過氧化物( $LO\cdot$ 、 $LOO\cdot$ )、NO的氧化代謝產物( $NO_2$ 、 $ONOO^-$ )等<sup>(60)</sup>。

### 2. 自由基增多的原因

缺血後的組織損傷與自由基的過量產生有關。一般腦缺血再灌流過程中自由基產生的原因主要有：a. 線粒體能量代謝障礙；b. 黃嘌呤氧化酶的形成增多；c. 中性顆粒細胞活化；d. 花生四烯酸代謝的相關酶活性增強；e. NO合成酶活化；f. 各種化合物(血紅蛋白、兒茶酚胺、各種硫基、細胞色素P-450還原酶)的自發氧化。

### 3. 自由基與腦缺血

### (1) 氧自由基和腦缺血

自由基種類很多，它參與一個系統反應後又能生成新的自由基，在眾多自由基中，氧自由基佔據重要一部分，氧自由基損傷的主要病理機制是引發脂質過氧化反應。腦缺血時，氧自由基產生大量增加，作用於細胞膜，改變其通透性，打開電壓依賴性鈣通道，促使興奮性神經遞質谷氨酸和天門冬氨酸釋放，打開受體依賴性通道，使細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  內流。同時腦缺血期間，氧和葡萄糖供應大大降低，線粒體內氧化磷酸化停止，細胞 ATP 水平下降， $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  失活，可使細胞內  $\text{Na}^+$  升高， $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  交換增強，使得細胞內  $\text{Ca}^{2+}$  過量<sup>(61)</sup>，大量  $\text{Ca}^{2+}$  活化膜蛋白和磷脂，兩種能破壞細胞膜，產生游離脂肪酸和溶解磷脂，並導致花生四烯酸的釋放，從而產生更多氧自由基，形成惡性循環，最終促使腦組織腫脹、壞死。

氧自由基引發的脂質過氧化造成細胞成分的結合，導致整個神經元功能喪失。此外，氧自由基產生過多，再灌流時，由於內皮細胞產生大量  $\text{O}_2^-$ 、 $\text{OH}^-$  及  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，引起膜損傷比腦缺血時更甚，更加重了缺血腦損傷。

### (2) NO 與腦缺血

實驗證明 NO 在腦缺血時對神經元有一定的保護作用。大腦中動脈阻塞 10~60 min 內立即注射 L-精氨酸<sup>(62)</sup>，SNP 或 3-嗎琳-斯德酮雅安 (SIN-1)<sup>(63)</sup>，可觀察到持續的神經保護作用。這三種藥均能增加內源性 NO 合成，舒張腦血管，減少腦損傷。但若在動脈阻塞一小時後給藥，L-精氨酸將不起保護作用。這說明腦缺血初期，內皮細胞產生的 NO 超過神經元產生的具毒性 NO，通過促進 cGMP 的產生來增加側支循環，阻止血小板聚集和白細胞對微循環的堵塞，改善微循

環，抵消其毒性作用。然而，隨著腦缺血時間的延長，nNOS 和 iNOS 產生大量的 NO 對神經細胞具有細胞毒性作用，加重腦組織缺血缺氧，其作用的機制有以下幾點：a. NO 增加谷氨酸的毒性作用；b. NO 使各種含鐵-硫的？去活性，抑制線粒體呼吸，阻斷細胞內能量合成及 DNA 的複製，產生細胞毒性作用；c. NO 導致 DNA 的損傷；d. NO 引起多巴胺大量釋放而產生神經毒性；e. NO 結合超氧自由基 ( $O_2^-$ ) 起細胞毒性作用。

總之，NO 在缺血性腦損傷中發揮著複雜而重要的作用。NO 參與腦缺血時神經元的損傷過程，然而，在腦缺血的不同時相及腦內不同區域，NO 所起的作用不同甚至可能相反。

綜上所述，自由基在腦缺血病理過程中起著不可忽視的作用，目前對自由基在腦缺血中的作用機制尚在進一步深入研究中。

### 三、腦缺血與學習記憶之關係

腦缺血病人通常併發智能及記憶障礙，稱為血管性痴呆。依據前述，腦缺血造成腦部損傷主要是由於腦血流不足與腦部缺氧所引起自由基大量產生，因而造成腦細胞死亡，據 Larry 於 1996 年與 Jocelyne 於 1996 年研究指出，腦缺血造成腦部海馬回 CA1 區的細胞死亡<sup>(64、65)</sup>。

再者海馬回於中樞腦部區域對於學習記憶扮演非常重要的角色，據 Mishkin 於 1978 年研究指出海馬回在學習過程扮演重要角色<sup>(66)</sup>，且 O'Keefe 等認為海馬回區主要負責儲存空間性記憶<sup>(67)</sup>，又 Teyler 於 1986 年更明確指出海馬回區負責一切學習型態之刺激與反應間之聯絡區<sup>(68)</sup>。故中樞海馬回區域負責了學習記憶之統合。

且據 Ohno 於 1996 年研究指出大鼠腦缺血造成海馬回區域神經細胞死亡及學習記憶障礙<sup>(8)</sup>，Sakai 等人於 1996 年研究明確指出大鼠腦缺血後第六天、第十一天、第十五天造成記憶障礙最為明顯<sup>(69)</sup>。依據上述，腦缺血造成海馬回細胞損傷，而海馬回區域為學習記憶之中樞，故腦缺血會造成學習記憶障礙。

# 第三章 材料與方法

## 第一節 實驗材料

### 一、茶葉之抽提製備

茶為山茶科 (Theaceae) 植物 *Camellia sinensis* (L.) O. KUNTZE 之葉，於民國九十一年十月由南投縣名間鄉 國銘茶園 吳聰智 先生所提供。

新鮮茶葉 3 kg 使用 85 二次水浸泡 12 小時後，瀘取瀘液，重複此步驟，收集瀘液後再經過減壓濃縮機濃縮，並經過烘箱乾燥後即可得粗抽物 217g (抽取率為 7.23%)，在實驗前以二次水溶解，每日新鮮配置。

### 二、實驗試劑

1. Pentobarbital Sodium，購自 Chriskev。
2. Sodium dihydrogen phosphate monohydrate、Disodium hydrogen phosphate、(Ethylenedinitrilo) tetraacetic acid (EDTA)，以上購自 J.T. Baker。
3. Tris (hydroxymethyl) aminomethane，購自 Bio-RAD。
4. Riboflavin、L-Methionine、Nitroblue tetrazolium (NBT)、5,5'-Dithio-bis (2-nitrobenzoic) acid (DTNB)、(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)、Pentoxifylline，購自 Sigma-Aldrich。
5. MDA - 586 assay Kit、Glutathione (GSH) assay kit，購自 Cayman。
6. Protein Assay Kit 購自，Bio-RAD。

### 三、實驗動物

本實驗所採用之動物為中國醫藥大學 動物中心所提供 Sprague-Dawley 系雄性大鼠，體重 300 350 公克，飼養在空調的飼養室，溫度維持在  $23\pm 1$  ，燈光控制採 12 小時亮 12 小時暗（08:00 燈亮、20:00 燈暗），食物與水不予限制。實驗期間，實驗動物之照顧皆遵從行政院農業委員會訂定之實驗動物管理及使用指南。

本實驗將老鼠隨機分為七組：(一) 茶葉粗抽物 30 mg/kg 治療組(N=8) (二) 茶葉粗抽物 100 mg/kg 治療組(N=9) (三) 茶葉粗抽物 300 mg/kg 治療組(N=10) (四) EGCG 治療組(N=8) (五) PTX 治療組(N=8) (六) 腦缺血組(N=11) (七) 空白對照組(N=12)。

### 四、實驗儀器

#### 1. 自發性運動量之設備

由一長、寬、高均 40 cm 及一個不銹鋼底板所組成，底板上有 16 個直徑 3 cm 的洞，距兩側 7 cm，各洞之間距 4 cm。運動量實驗所使用之紀錄儀器：Tru Scan Line E63-01HS、Tru ScanSensor E63-22 (Colbourn Instruments International Corporation)。實驗所使用之軟體為 Colbourn Instruments' The Habitest System。

#### 2. 水迷宮之設備

由一直徑 160 cm、高 50 cm、壁厚 15 mm 之不銹鋼水池及一個逃逸平台（直徑 11 cm、高 22 cm，當泳池充滿水時，置於水面下 1 cm 處）所組成，而且水溫需保持在  $23 \pm 1$  <sup>(70)</sup>。水池由電腦劃分為四個象限（ 、 、 、 ），A、B、C 三個環（自圓心往壁緣依序為 A、B、C 環）如圖所示。水迷宮實驗所使用之紀錄儀器：

Columbus Instruments' VIDEOMEX-V video tracking , Video Camera , Video monitor ( Columbus Instruments International Corporation )。實驗所使用之軟體為 Columbus Instruments' Water Maze Program.

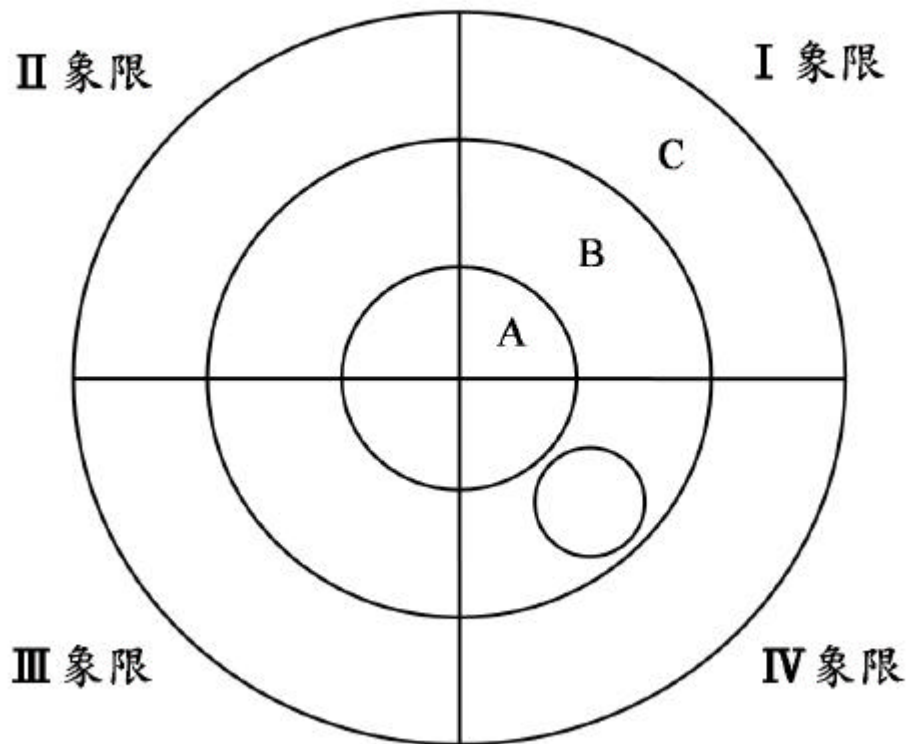


Fig.2 水迷宮電腦劃分圖

### 3. 酵素免疫分析儀

使用 Microplate Spectrophotometer ( Powerwave X 340 , Bio-Tek instruments INC. )。

## 第二節 實驗方法

### 一、腦缺血動物模式

以 Nagasawa (1989) 方式改良<sup>(7)</sup>，做為腦缺血模式。將大鼠以 sodium pentobarbital (45 mg/kg, I.P.) 麻醉，將左右兩側之頸總動脈分離出，之後將大鼠固定於立體定位儀上，在眼框及外耳道中間作皮膚切開，拉開顱肌，在顱骨以電動鑽頭打一個小洞，找出前中腦動脈以 10-0 的縫合線將前中腦動脈結紮，同時以顯微動脈夾夾閉兩側頸總動脈，以「雷射度普勒」監測前中腦動脈血流，以確定血管結紮完全，同時計時，在 90 分鐘後移除前中腦動脈結紮及兩側頸總動脈之顯微動脈夾，讓血管重新再灌流血液，全部過程將大鼠置於熱墊 (37 ± 0.5) 上保溫；假手術組，將血管分離但不結紮。治療藥物在手術前 30 分鐘給予一次，之後每天給予，直到實驗結束

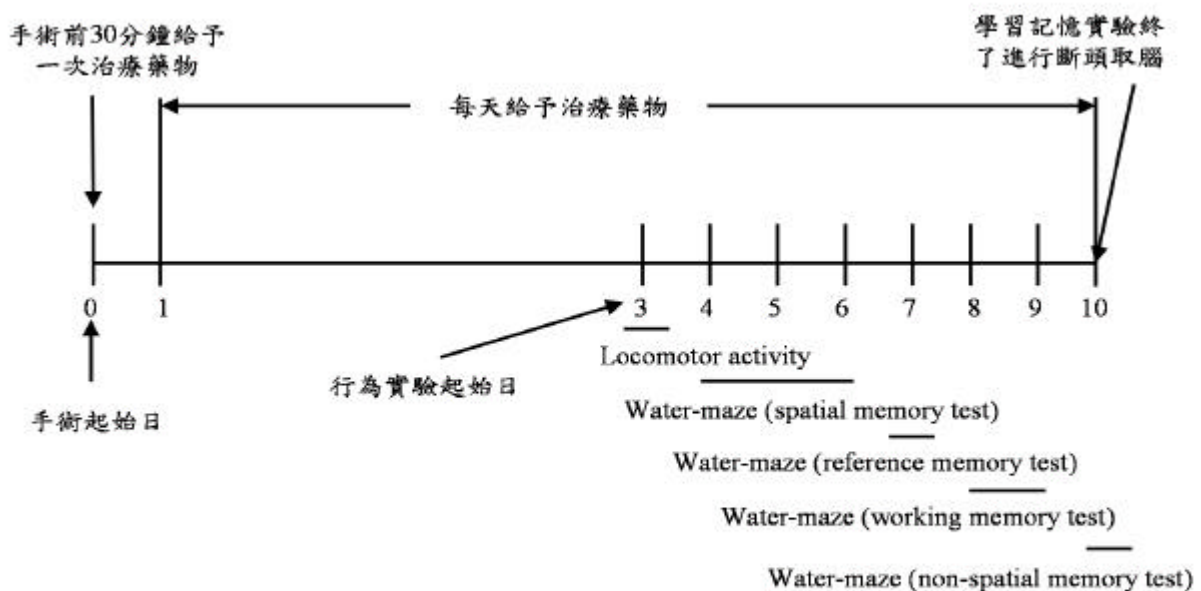


Fig.3 實驗流程圖



## 二、自發性運動量實驗

本實驗利用自發性運動量測定儀來進行自發性運動量測試，記錄大鼠 30 分鐘運動量及 0~5 分鐘探索能力，所有大鼠移動時間及探索次數均由電腦自動記錄。

## 三、水迷宮實驗

本實驗利用 Morris Water Maze 來進行學習記憶測試<sup>(71)</sup>，其訓練過程如下：

第一天至第三天：將泳池分成四個象限，逃逸平台固定置於第四象限的 B 區，而大鼠依序分別置入四個象限，每天訓練 4 次，每次 2 分鐘；若大鼠於 2 分鐘內即找到逃逸平台，讓大鼠於逃逸平台休息 30 秒鐘後，抓出泳池休息 30 秒鐘，再進行下一次之訓練；但若大鼠於 2 分鐘尚未找到逃逸平台，則將大鼠抓到逃逸平台，休息 30 秒鐘後，抓出泳池休息 30 秒鐘，再進行下一次之訓練；共訓練 3 天，此三天稱之為「空間操作 (spatial performance)」<sup>(72)</sup>。

第四天：第四天將逃逸平台自水面下取走，再將大鼠置於第三象限，連續測定 60 秒鐘，記錄大鼠於泳池內游泳之軌跡及於原逃逸平台所花之時間及游泳距離，此階段稱之為「參考記憶 (reference memory)」<sup>(73)</sup>。

第五天及第六天前段：於第五天及第六天前段將逃逸平台置於第二象限，加水使其沈入水面 1 cm，大鼠先置入第一象限，連續測定 120 秒鐘或至大鼠找到逃逸平台，稱之為「再學習 (reacquisition)」<sup>(74)</sup>。

第五天及第六天後段：前段結束後休息 5 分鐘，再將大鼠先

置入第三象限，亦連續測定 120 秒鐘或至大鼠找到逃逸平台，此稱之為「記憶再現 (retrieval)」<sup>(74)</sup>。第五天及第六天前段與後段總稱為「工作記憶 (working memory)」。

第七天：於第七天再將逃逸平台置入第四象限並使其露出於水面 1 cm，訓練 4 次，稱之為「非空間性操作 (non-spatial performance)」<sup>(72)</sup>。所有大鼠游泳之軌跡及實驗資料均由電腦自動記錄。

#### 四、腦組織之處理及蛋白質之測定

##### 1. 腦組織之處理

實驗完成後，將老鼠斷頭取腦，按 Glowinski 方法<sup>(75)</sup>分成 cortex、hippocampus、striatum 區域，分別加入 10 倍量 4 50 mM Tris buffer solution (pH = 7.4) 均質之，並在 4 中離心 (14,000 rpm, 30 min)。保存於 -80 的冰箱中，待需要時解凍離心 (10,000 rpm, 5 min, 4 )，取上清液使用。

##### 2. 蛋白質之測定

採 Lowery 之方法<sup>(76)</sup>，以 bovine serum albumin 為標準品，將 protein standard 以 50 mM phosphate buffer 稀釋 3 到 5 個濃度，取 5  $\mu$ l sample 和 standard 分別置入 microplate 中，每一小格中先後加入 25  $\mu$ l 試劑 A 及 200  $\mu$ l 試劑 B (試劑購自 Bio-RAD) 混合均勻，靜置 15 分鐘後，於波長 750 nm 下測其吸光值。爾後以吸光度求出標準檢量線及公式，再將 sample 的 slope 帶入反推 protein 含量。

## 五、腦組織氧化損傷標的物之測定

### 1. Malonyldialdehyde 濃度之測定<sup>(77)</sup>

將 50  $\mu$ l standard (MDA) 或 sample 各別加入 plate 的 well 中。加入 160  $\mu$ l 新鮮配製的 10 mM N-methyl-2-phenylindole 後，再加入 40  $\mu$ l 的 37 % HCl 後，以 586nm 波長來測其吸光值。

### 2. Superoxide dismutase 活性之測定

採 NBT 之方法<sup>(78)</sup>，每小格加入 200  $\mu$ l 反應液( 內含 5 mM riboflavin 20  $\mu$ l、14.9 mg methionine 及 1.22 mM NBT 820  $\mu$ l，以 50 mM，pH=7.8 的 phosphate buffer 補到 8 ml )，及 50  $\mu$ l 稀釋成不同濃度的樣品液 ( 每樣品至少稀釋 3~5 個濃度 )，並以 50 mM phosphate buffer 當對照組，將此微量分析盤置於波長 570 nm 測其吸光值。光照 10 秒後，測定吸光值，同樣測定第 45 秒、90 秒、135 秒、180 秒、225 秒、270 秒的吸光值。算出對照組與各稀釋濃度七次分析時間內吸光值變化的斜率，並計算樣品的抑制程度，以能抑制 50%NBT 還原的酵素量定義為 1U。帶入回歸公式，算出抑制 50%NBT 還原需多少樣品溶液，再換算成每  $\mu$ l 樣品相當多少 Total-SOD 活性，爾後將求得的值除以蛋白質的量。

### 3. Glutathione 濃度之測定

將 50  $\mu$ l standard (GSH) 或 sample 各別加入 plate 的 well 中。再加入 150  $\mu$ l 新鮮配製的 assay cocktail ( 內含 MES buffer 11.25 ml、reconstituted cofactor mixture 0.45 ml、reconstituted enzyme mixture 2.1 ml、water 2.3 ml、reconstituted DTNB 0.45 ml) 後，以 405 nm 波長來測其吸光值，5 分鐘測定一次，測定 30 分鐘<sup>(79)</sup>。

### 第三節 數據分析

水迷宮空間操作所獲得之 data , 以 one -way ANOVA repeated measures analysis of variance, 各組之間以 Dunnet's test 來作分析;若 P 值小於 0.05 以下時, 則認為有統計意義。自發性運動量、水迷宮參考記憶暨工作記憶與 MDA、SOD、GSH 等檢測所獲得的 data , 以 one-way ANOVA analysis 各組間以 Dunnet ' s test 及 Scheffe test 來作統計並分析其間差異之顯著性;若 P 小於 0.05 以下時, 則認為有統計意義。

## 第四章 實驗結果

### 一、茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發自發性運動量之影響

如 Fig.4 所示，茶葉粗抽物 100 mg/kg 可增加因腦缺血鼠之自發性運動量 (  $P < 0.05$  )。

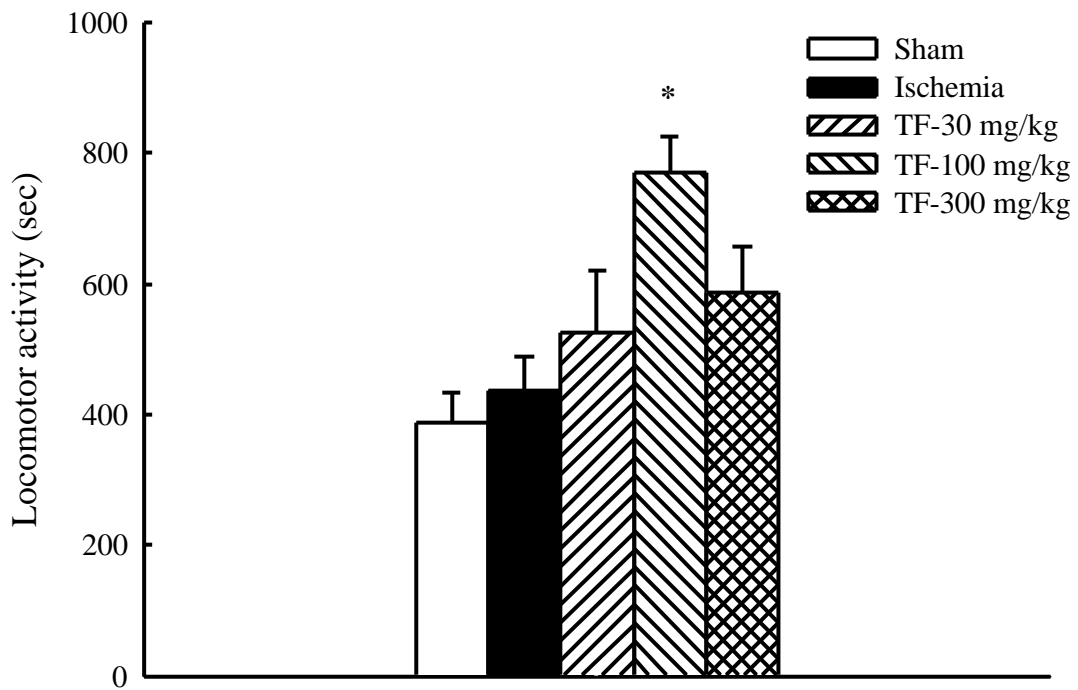


Fig.4 Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on locomotor activity in ischemic rats.

\*  $P < 0.05$  compared with ischemia group.

如 Fig.5 所示，茶葉粗抽物 100 mg/kg 可增加因腦缺血鼠之探索能力 (  $P < 0.05$  )。

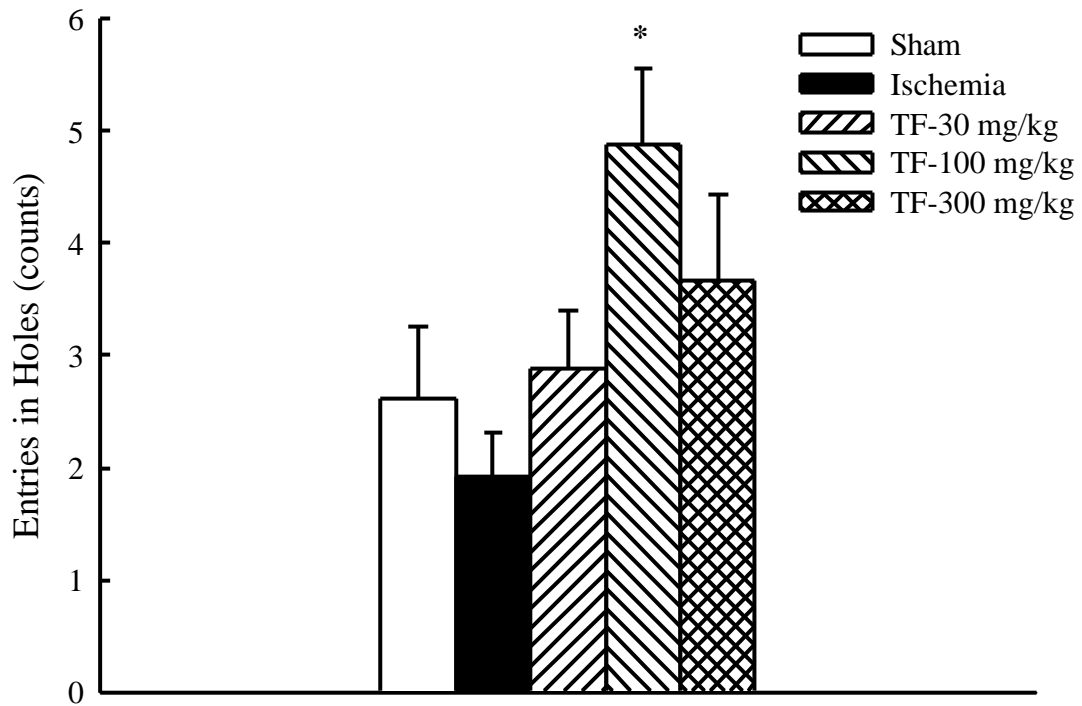


Fig.5 Effects of Theae Folium (TF, 30、 100、 300 mg/kg) on entries in holes in ischemic rats.

\*  $P < 0.05$  compared with ischemia group.

## 二、茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發水迷宮學習記憶障礙之影響

### 1. 茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發水迷宮空間操作障礙之影響

如 Fig.6 所示，腦缺血四天後，造成大鼠於水迷宮空間性學習操作之障礙 ( $P < 0.001$ )。茶葉粗抽物 100、300 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮學習操作障礙 ( $P < 0.001$ )。

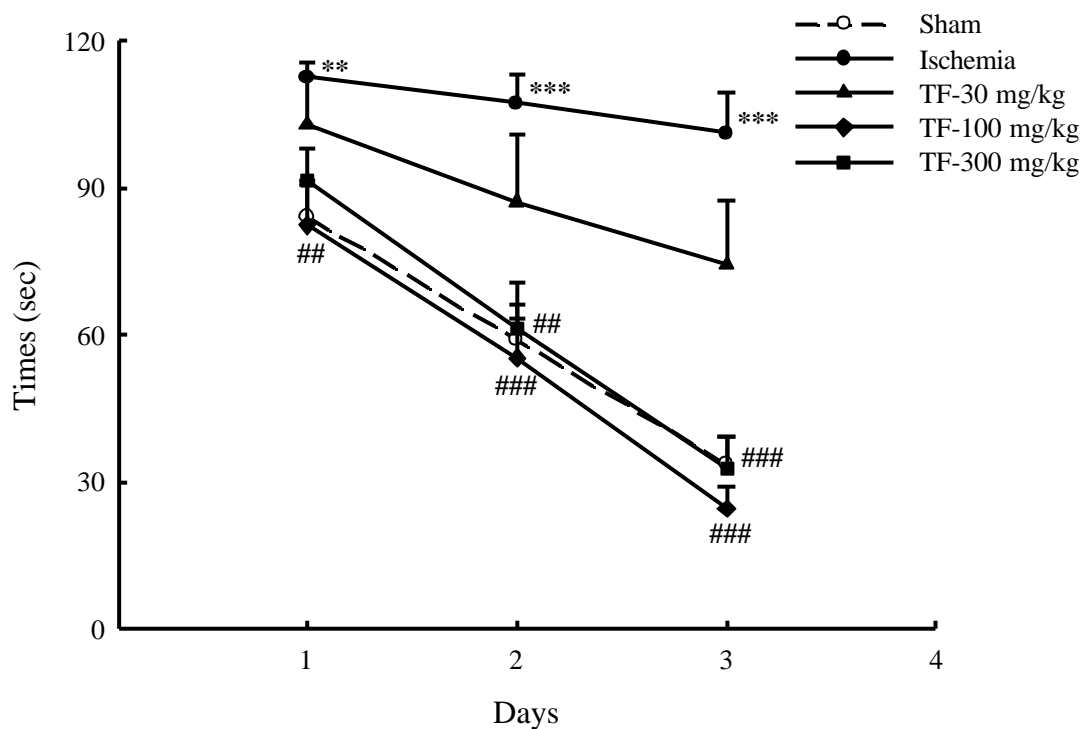


Fig.6 Effects of Theae Folium (TF, 30、100、300 mg/kg) on total swimming time on the hidden platform of water maze in ischemic rats.

\*\*  $P < 0.01$  compared with sham group.

\*\*\*  $P < 0.001$  compared with sham group.

##  $P < 0.01$  compared with ischemia group.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.

## 2. 茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發水迷宮參考記憶障礙之影響

如 Fig.7 所示，腦缺血七天後，造成大鼠於水迷宮參考記憶障礙 ( $P < 0.05$ )，茶葉粗抽物 100、300 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮參考記憶障礙 ( $P < 0.05$ )。

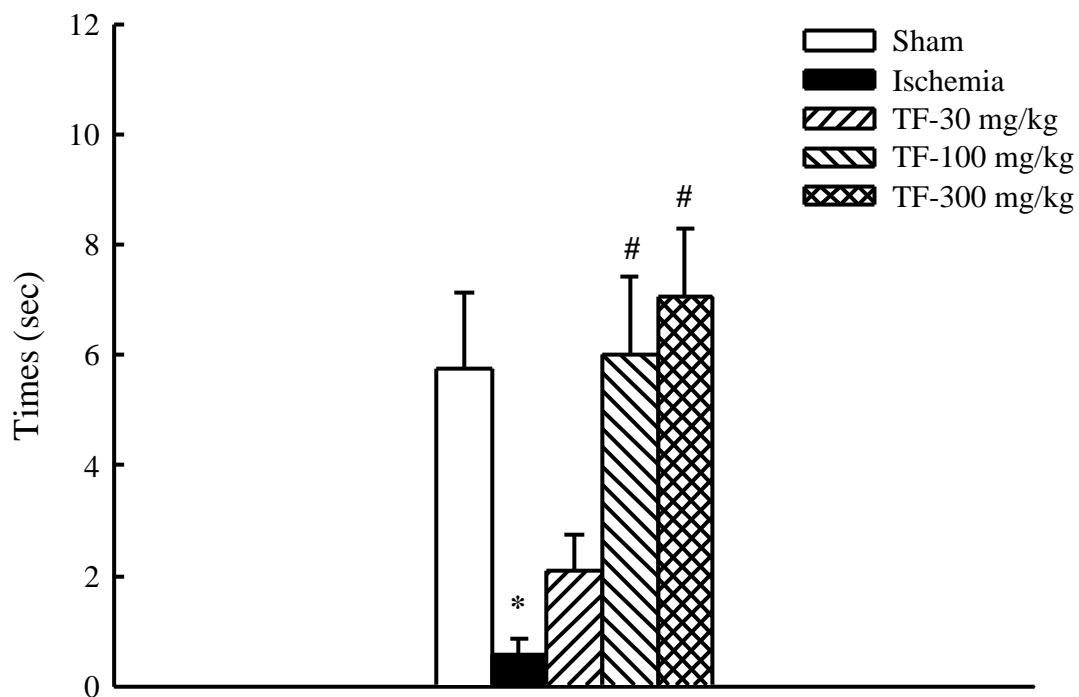


Fig.7 Effects of Theae Folium (TF, 30、100、300 mg/kg) on total swimming time swum through the target ring of water maze in ischemic rats.

\* $P < 0.05$  compared with sham group.

#  $P < 0.05$  compared with ischemia group.



### 3. 茶葉粗抽物對腦缺血鼠誘發水迷宮工作記憶障礙之影響

如 Fig.8 所示，腦缺血八天後，造成大鼠於水迷宮工作記憶障礙 ( $P < 0.05$ )，茶葉粗抽物 100、300 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮工作記憶障礙 ( $P < 0.05$ )。

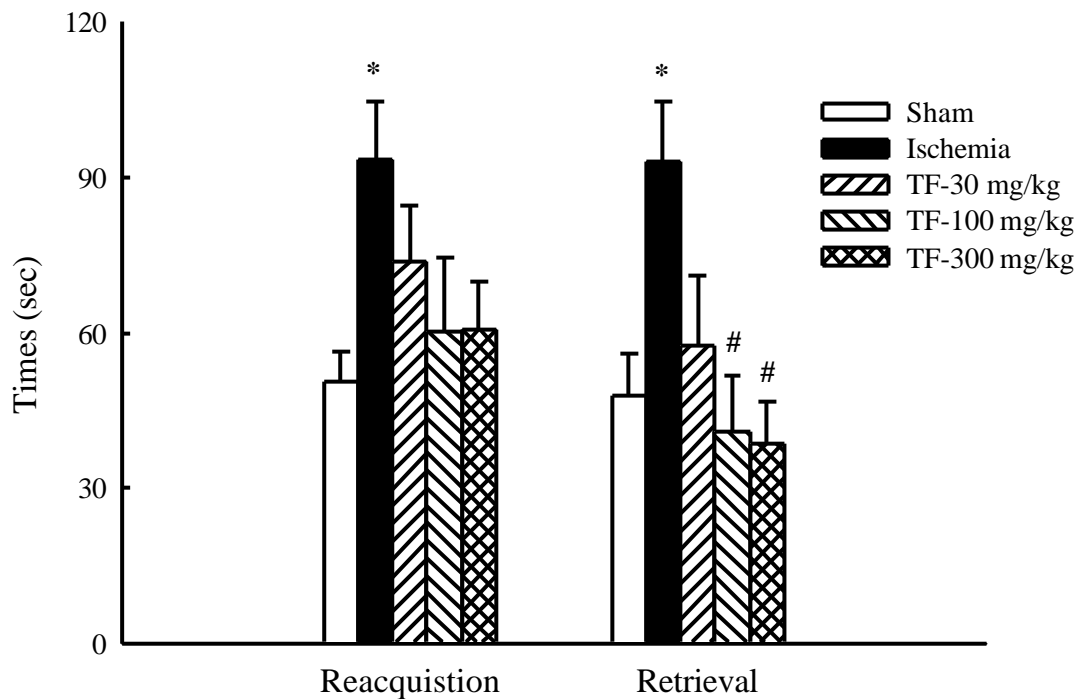


Fig.8 Effects of Theae Folium (TF, 30、100、300 mg/kg) on total swimming time swum to hidden platform during reacquisition and retrieval of water maze in ischemic rats.

\*  $P < 0.05$  compared with sham group.

#  $P < 0.05$  compared with ischemia group.

#### 4. 茶葉粗抽物對腦缺血鼠在水迷宮非空間性游泳能力之影響

如 Fig.9 所示，腦缺血九天後，可造成大鼠於水迷宮尋找可見逃逸平台時間增加 ( $P < 0.05$ )。茶葉粗抽物 30、100、300 mg/kg 可使游泳時間減少 ( $P < 0.05$ )，但在游泳速度無任何影響。

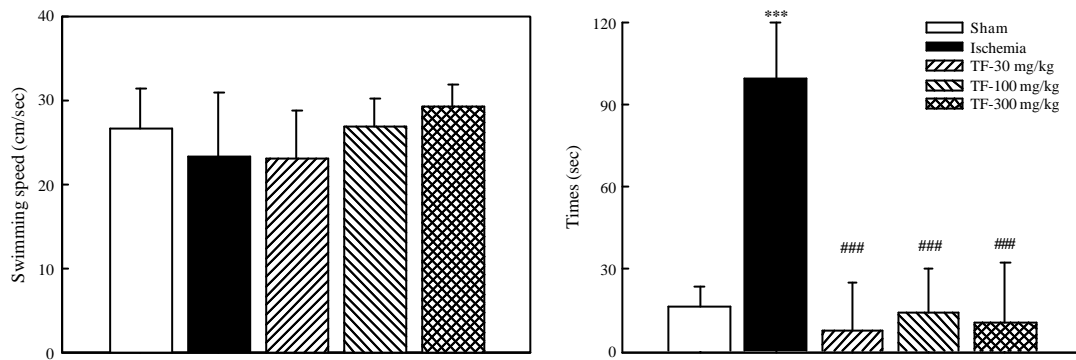


Fig.9 Effects of Theae Folium (TF, 30、100、300 mg/kg) on total swimming time and speed on the visible platform of water maze in ischemic rats.

\*\*\*  $P < 0.001$  compared with sham group.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.

### 三、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發自發性運動量之影響

如 Fig.10 所示，EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 對腦缺血鼠自發性運動量並無影響。

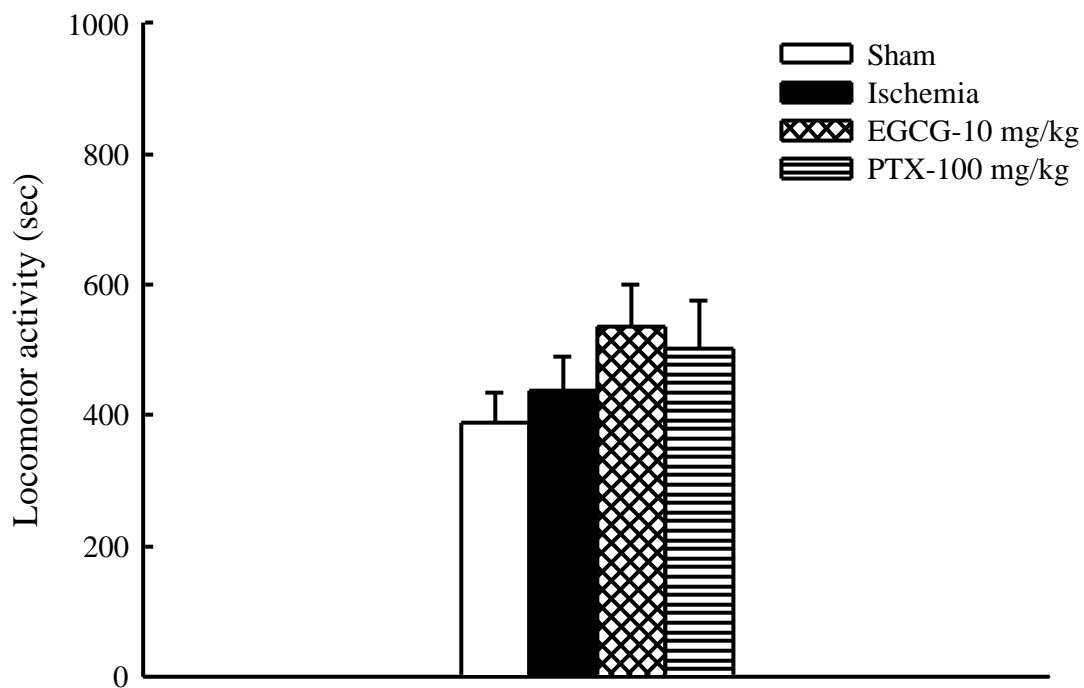


Fig.10 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on locomotor activity in ischemic rats.

如 Fig.11 所示，EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 對腦缺血鼠探索能力並無影響。

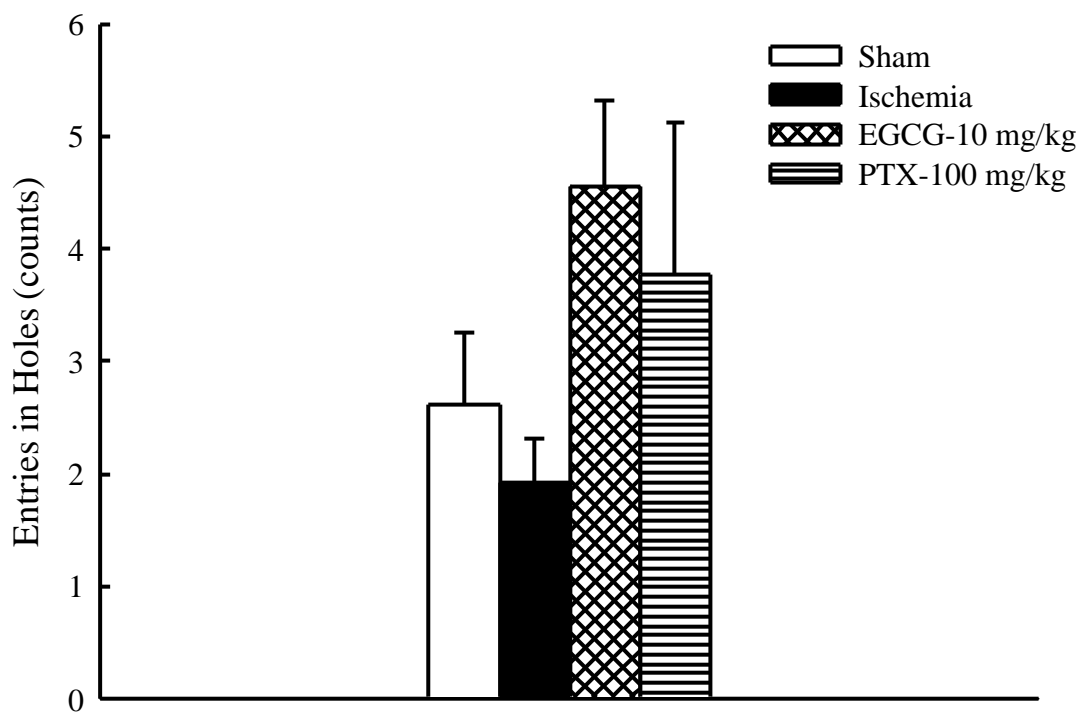


Fig.11 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on entries in holes in ischemic rats.

#### 四、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發水迷宮學習 記憶障礙之影響

##### 1. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發水迷宮空間操作障 礙之影響

如 Fig.12 所示，腦缺血四天後，造成大鼠於水迷宮空間性學習操作之障礙 ( $P < 0.001$ )，EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮學習操作障礙 ( $P < 0.001$ )。

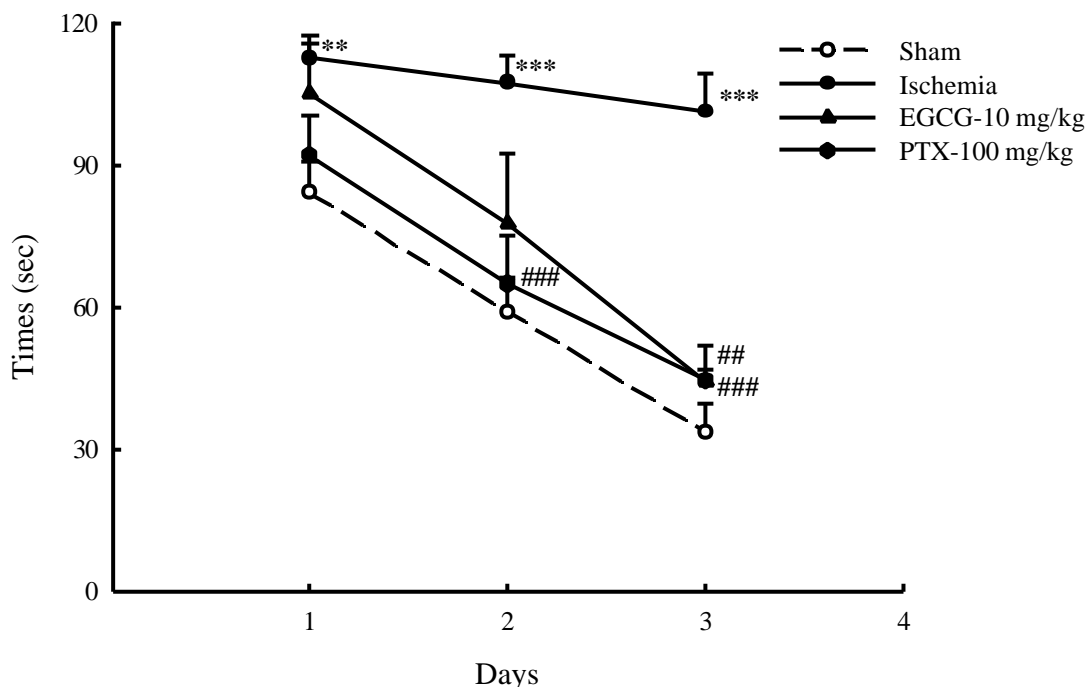


Fig.12 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time on the hidden platform of water maze in ischemic rats.

\*\*  $P < 0.01$  compared with sham group.

\*\*\*  $P < 0.001$  compared with sham group.

##  $P < 0.01$  compared with ischemia group.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.

2. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發水迷宮參考記憶障礙之影響

如 Fig.13 所示，腦缺血七天後，造成大鼠於水迷宮參考記憶障礙 ( $P < 0.05$ )，EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮參考記憶障礙，但統計上並無顯著差異。

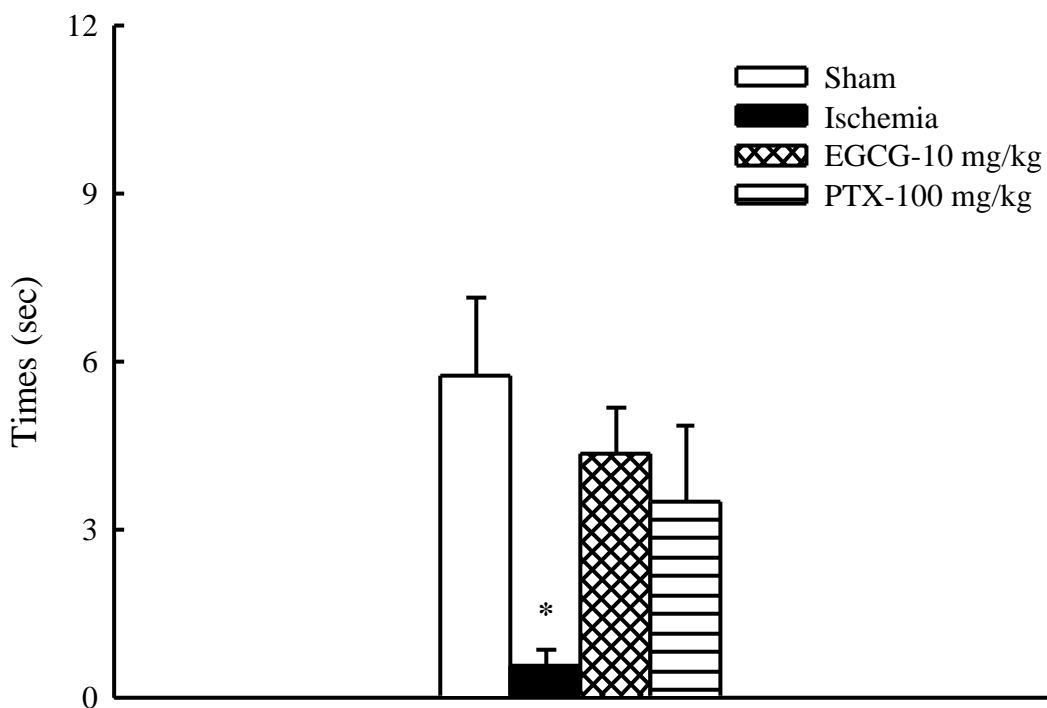


Fig.13 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time swum through the target ring of water maze in ischemic rats.

\* $P < 0.05$  compared with sham group.

### 3. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠誘發水迷宮工作記憶障礙之影響

如 Fig.14 所示，腦缺血八天後，造成大鼠於水迷宮工作記憶障礙 ( $P < 0.05$ )，EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 可改善因腦缺血鼠誘發水迷宮工作記憶障礙，但統計上並無顯著差異。

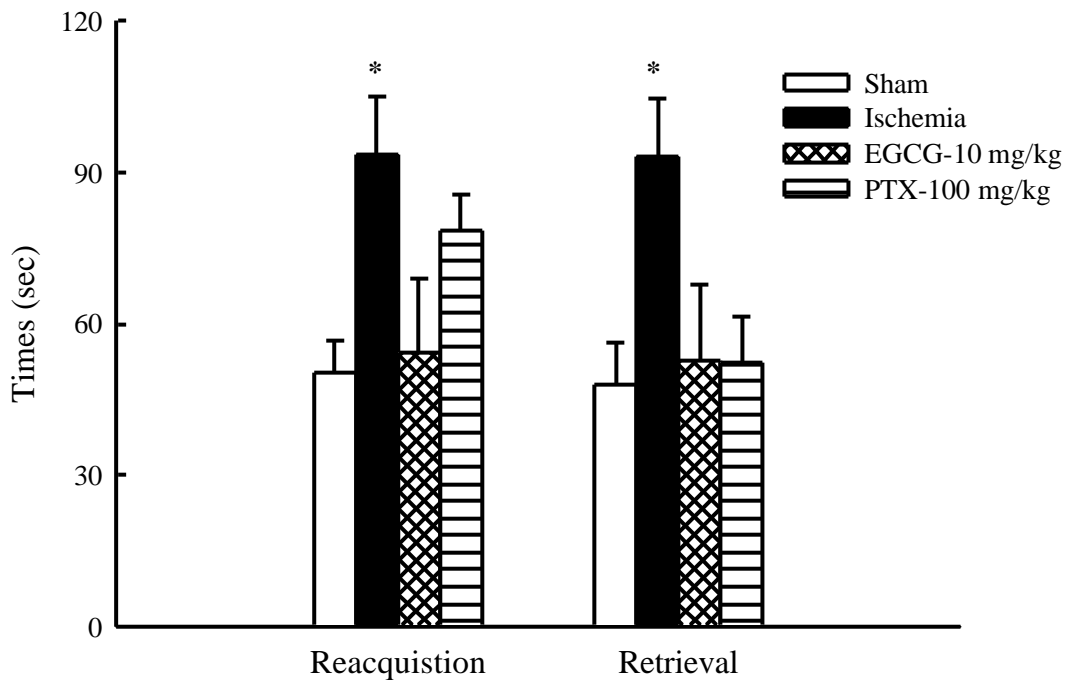


Fig.14 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time swum to hidden platform during reacquisition and retrieval of water maze in ischemic rats.

\*  $P < 0.05$  compared with sham group.

#### 4. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠在水迷宮非空間性游泳能力之影響

如 Fig.15 所示，腦缺血九天後，可造成大鼠於水迷宮尋找可見逃逸平台時間增加 ( $P < 0.05$ )。EGCG 10 mg/kg 及正對照藥 PTX 100 mg/kg 可使游泳時間減少 ( $P < 0.05$ )。但在游泳速度並無任何影響。

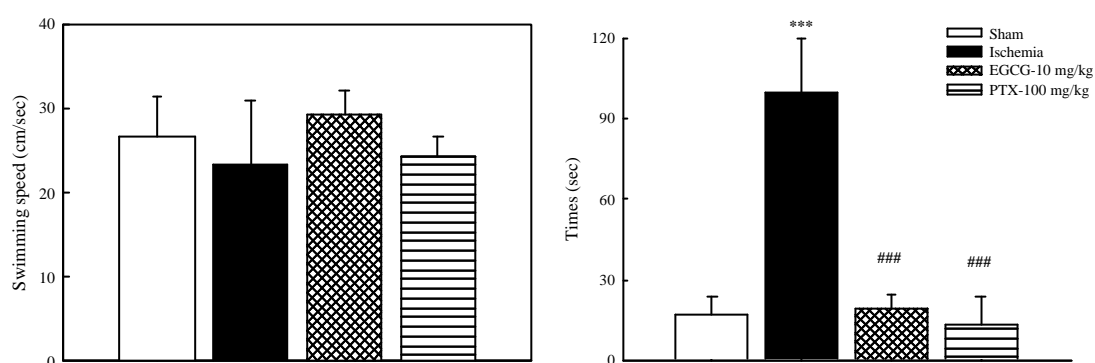


Fig.15 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total swimming time and speed on the visible platform of water maze in ischemic rats.

\*\*\*  $P < 0.001$  compared with sham group.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.



## 五、(-)-Epigallocatechin gallate 對腦組織抗氧化能力之影響

### 1. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Malonyldialdehyde 含量變化之影響

如 Fig.16 所示，腦缺血可造成大鼠海馬回及紋狀體 MDA 含量的升高 ( $P < 0.01$ )，EGCG 10 mg/kg 可降低腦缺血所造成海馬回及紋狀體 MDA 含量升高之現象 ( $P < 0.05$ )，但 PTX 100 mg/kg 則無任何影響。

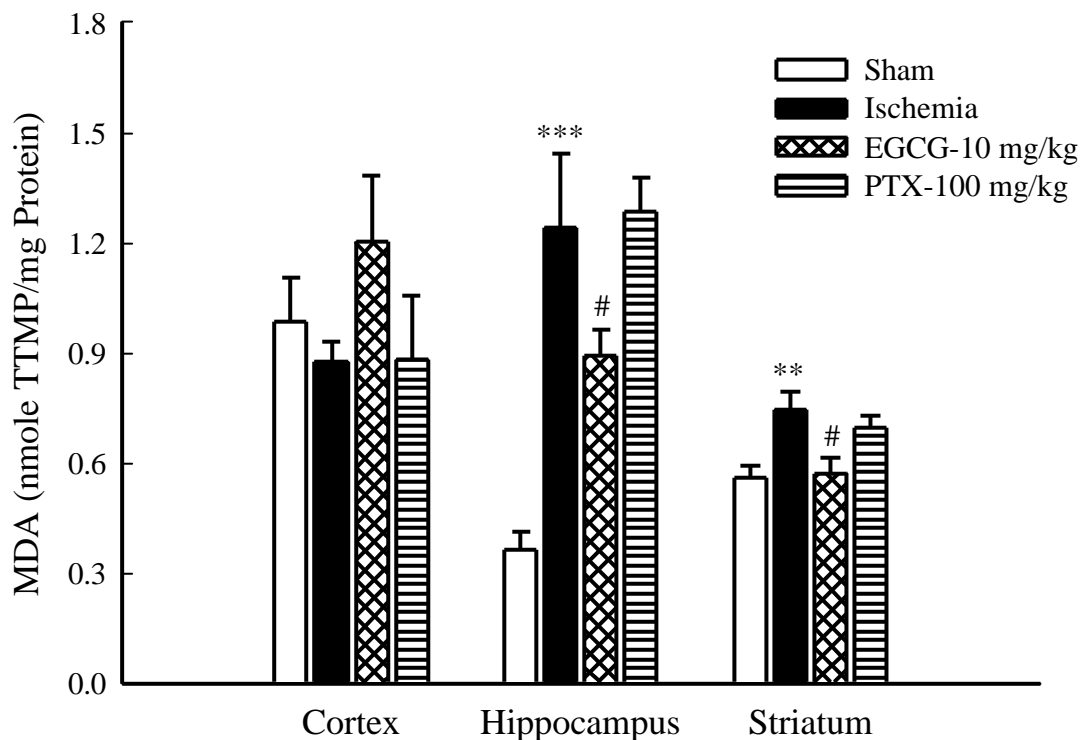


Fig.16 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on malonyldialdehyde level in ischemic rats.

\*\*  $P < 0.01$  compared with sham group.

\*\*\*  $P < 0.001$  compared with sham group.

#  $P < 0.05$  compared with ischemia group.

2. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Superoxide dismutase 活性變化之影響

如 Fig.17 所示，EGCG 10 mg/kg 可降低腦缺血鼠海馬回及紋狀體 total-SOD 之活性 ( $P < 0.05$ )。但 PTX 100 mg/kg 則無任何影響。

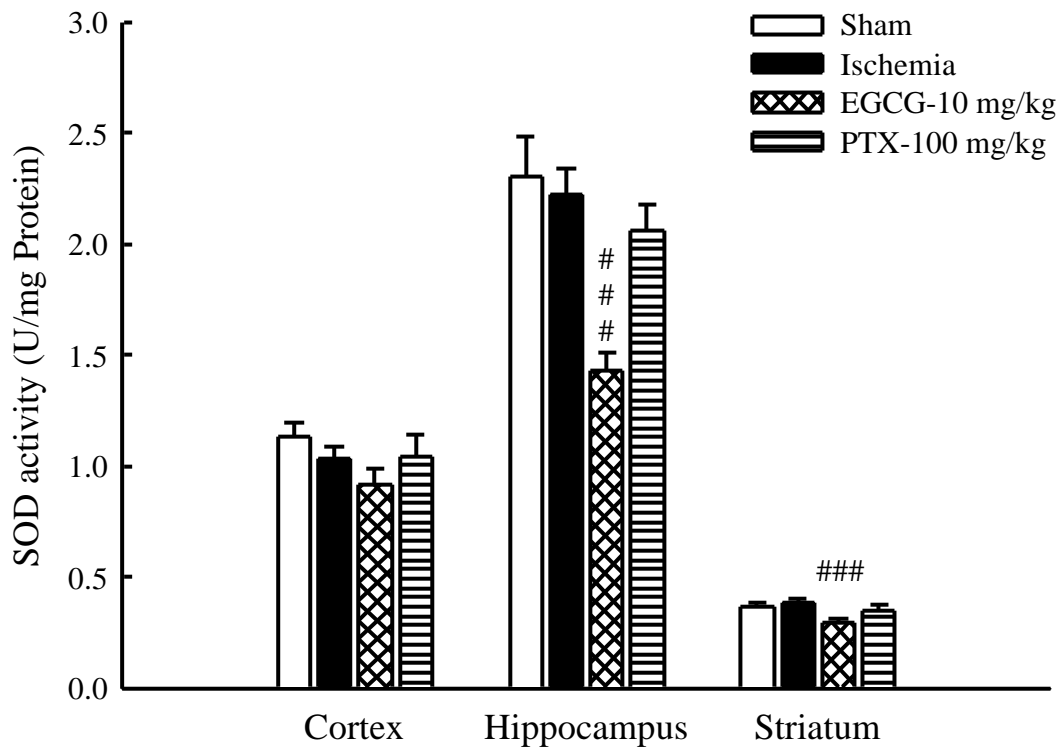


Fig.17 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total-superoxide dismutase activities in ischemic rats.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.

### 3. (-)-Epigallocatechin gallate 對腦缺血鼠 Glutathione 含量變化之影響

如 Fig.18 所示,腦缺血可造成大鼠皮質區及海馬回 total-GSH 含量的減少 ( $P < 0.05$ ), EGCG 10 mg/kg 可改善腦缺血所造成大鼠海馬回 total-GSH 含量減少之現象 ( $P < 0.001$ ) 及增加紋狀體中 total-GSH 含量 ( $P < 0.001$ ); 正對照藥 PTX 100 mg/kg 可改善腦缺血造成大鼠皮質區 total-GSH 含量升高之現象 ( $P < 0.01$ )。

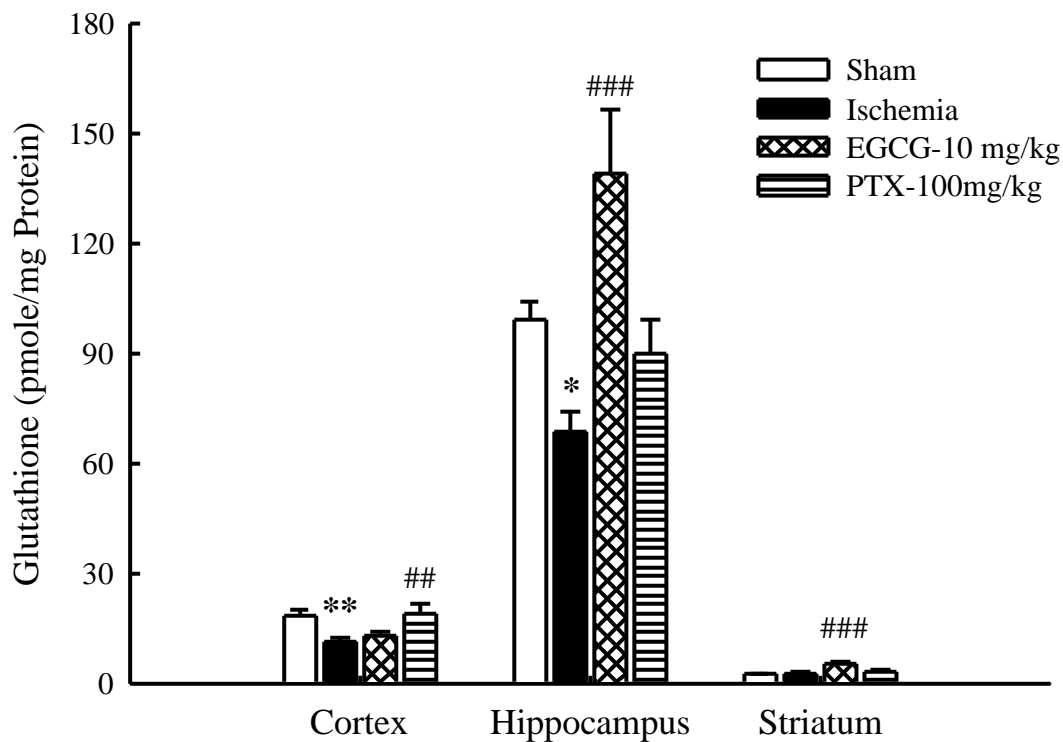


Fig.18 Effects of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG, 10 mg/kg) and pentoxifylline (PTX, 100 mg/kg) on total glutathione level in ischemic rats.

\*  $P < 0.05$  compared with sham group.

\*\*  $P < 0.01$  compared with sham group.

##  $P < 0.01$  compared with ischemia group.

###  $P < 0.001$  compared with ischemia group.

## 第五章 討論

腦血管疾病是一種常見疾病，且為台灣地區十大死亡原因之一，而以缺血性腦血管病變為主，發病率為 70 % 以上。腦缺血造成腦部損傷主要由於腦血流不足與腦部缺氧所引起自由基大量產生，因而造成腦細胞死亡。

Nagasawa 與 Kogure 於 1989 年提出大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮，會造成大鼠腦部細胞死亡<sup>(7)</sup>，其中以海馬回 CA1 區細胞損傷較為嚴重<sup>(64, 65)</sup>，而海馬回區在腦部主要扮演學習記憶之調控中樞<sup>(66-68)</sup>。因 Davis 及 Kiyota 等人指出，腦缺血後造成大鼠於八臂迷宮參考記憶及工作記憶障礙<sup>(80, 81)</sup>；另 Hong 等人指出，大鼠腦缺血後會出現水迷宮空間操作障礙<sup>(82)</sup>，而上述之學習記憶障礙現象均與海馬回 CA1 區損傷有關，且可因投入胚胎鼠之海馬細胞而修復<sup>(83)</sup>。因此，本研究即以大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮形成之腦缺血模式來進行研究，再經由水迷宮實驗評估其學習記憶之能力。研究結果顯示，腦缺血鼠於前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮後第 4 天，即出現水迷宮空間操作障礙，且可造成參考記憶及工作記憶等缺陷，此結果與其他研究學者相符<sup>(80-82)</sup>。因此，本研究繼續以此腦缺血之動物模式來評估茶葉粗抽物改善學習記憶障礙之作用，結果顯示，茶葉粗抽物 100 ~ 300 mg/kg 可改善腦缺血造成空間操作、參考記憶及再學習與記憶再現之障礙。

另因大鼠於水迷宮之空間操作受運動活性、探索能力及視覺能力等多種因素所影響；且 Aspey 及 Hong 等人研究指出，大鼠及沙鼠腦缺血後初期（1 ~ 2 天），其自發性運動量有增加現象，而於稍晚

(3~4 天), 其自發性運動量即可恢復與假手術組一樣<sup>(84, 85)</sup>。因此, 本研究依此模式, 即於腦缺血後第 3 天以自發性運動量測定儀測定, 結果顯示, 腦缺血後第 3 天並不影響大鼠自發性運動量, 且對其探索能力亦不影響, 此與上述報告相符<sup>(84, 85)</sup>。但在口服茶葉粗抽物後於 100 mg/kg 可增加腦缺血鼠之自發性運動量及探索能力; 與 Michna 等人發現茶葉給予 SKH-1 小鼠, 可增加自發性運動量之研究結果相符<sup>(86)</sup>。另我們進一步以可視安全平台做標的物, 來評估茶葉粗抽物對大鼠非空間操作能力之影響, 以進一步釐清茶葉改善空間操作障礙之作用。結果顯示, 腦缺血鼠會造成水迷宮非空間操作能力 (僅延遲找到安全平台之時間而不影響游泳速度) 障礙; 腦缺血鼠之非空間操作障礙部分係因影響大鼠對泳池環境之注意及探索所致。而茶葉粗抽物 30 ~ 300 mg/kg 均可改善腦缺血鼠非空間操作能力障礙之現象, 此作用可能因改善腦缺血鼠對泳池環境之注意及探索所致。

由上述結果得知, 大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮所造成之腦缺血模式, 會造成水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙, 但並不影響自發運動量、探索能力及游泳速度, 此與其他研究相符<sup>(87, 88)</sup>; 說明腦缺血造成學習記憶障礙不僅與記憶形成有關, 亦與影響其對泳池之環境探索有關。而本研究發現茶葉粗抽物 100 ~ 300 mg/kg 對腦缺血鼠於水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙均有改善作用; 且茶葉粗抽物於 100 mg/kg 時會增加腦缺血鼠之自發性運動量及探索能力, 但不影響游泳速度。因此, 茶葉改善腦缺血所致學習記憶障礙之作用, 不僅與記憶形成過程之改善有關, 且部分係因改善腦缺血鼠之環境注意力及探索能力有關。

EGCG 是茶葉的主要活性成分<sup>(5)</sup>，據 Lee 等人研究指出，EGCG 可降低腦缺血所致沙鼠海馬回細胞傷害<sup>(6)</sup>。因此本研究進一步探討 EGCG 對腦缺血鼠學習記憶障礙之改善作用，並選擇 PTX 作為正對照藥物。

結果顯示，EGCG 可改善腦缺血造成大鼠空間操作障礙之現象，但對腦缺血造成參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙並無改善作用，此結果與 Matsuoka 研究相符<sup>(89)</sup>。而正對照藥物 PTX 亦可改善腦缺血造成空間操作障礙，且對腦缺血造成參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙亦無改善作用，此結果與 Black 研究相符<sup>(90)</sup>。而於運動量活性及探索能力之影響上，EGCG 及正對照藥物 PTX 對腦缺血鼠之自發性運動量及探索能力並無任何影響，但均可改善腦缺血鼠之非空間操作能力障礙現象，此作用可能因改善大鼠對泳池之注意及探索所致。綜合以上結果得知，茶葉粗抽物改善腦缺血鼠學習操作能力障礙之作用，其活性成分為 EGCG；且 EGCG 之效果亦優於現在臨床所使用之 PTX。因此綜合本研究與前人之研究<sup>(89, 90)</sup>，我們建議 EGCG 應可用於作為腦缺血所造成學習能力障礙之治療選擇藥物。

近年來不少研究證實自由基損害在腦缺血的病理過程中扮演極為重要的作用，腦缺血期間，氧和葡萄糖供應大大降低，線粒體內氧化磷酸化停止，細胞 ATP 水平下降， $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  失活，可使細胞內  $\text{Na}^+$  升高，改變細胞膜通透性，促使興奮性神經遞質谷氨酸和天門冬氨酸釋放，打開受體依賴性通道，使細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  內流，使細胞內  $\text{Ca}^{2+}$  過量，大量  $\text{Ca}^{2+}$  活化膜蛋白和磷脂，兩種能破壞細胞膜；產生游離脂肪酸和溶解磷脂，並導致花生四烯酸的釋放，從而產

生更多自由基，形成惡性循環，最終促使腦組織腫脹、壞死<sup>(21)</sup>；而自由基造成細胞膜脂質過氧化的產物為 MDA 及 4-hydroxynonenal (4-HNE)。因此，本研究進一步測定 EGCG 及 PTX 對腦缺血大鼠皮質區、海馬回及紋狀體 MDA 含量之影響。

根據 Siu 等人研究指出，腦缺血會造成大鼠腦部 MDA 的含量增加<sup>(91)</sup>。本研究結果發現腦缺血鼠於腦缺血後第 10 天，海馬回及紋狀體 MDA 的含量增加，與上述結果相符。但皮質區 MDA 的含量並無變化，此結果與 Candelario-Jalil 等人發現沙鼠於腦缺血第 12 小時後，皮質區 MDA 的含量增加，但於第 48 小時後恢復之研究結果相符<sup>(92)</sup>。而 EGCG 對大鼠腦缺血造成海馬回及紋狀體 MDA 含量增加之現象具阻斷作用。而正對照藥物 PTX 對大鼠腦缺血造成海馬回及紋狀體 MDA 含量增加之現象，並無任何影響。

另生物體對於過氧化物及自由基可經由超氧化物歧化？（SOD）過氧化氫？（catalase）穀胱甘？氧化？（GSH-PX）穀胱甘？（GSH）等加以清除<sup>(93)</sup>。因此，本研究進一步測定腦缺血鼠皮質區、海馬回及紋狀體中 total-SOD 的活性。

研究報告指出，沙鼠腦缺血後海馬回於第 2 ~ 4 天 SOD 活性會增加，但於第 5 天後即恢復正常，且皮質區及紋狀體之 SOD 活性並無變化<sup>(92)</sup>。結果發現腦缺血鼠於腦缺血後第 10 天 total-SOD 活性並無改變，此與 Candelario-Jalil 之研究相符<sup>(92)</sup>。EGCG 可降低腦缺血鼠海馬回及紋狀體之 total-SOD 活性。而正對照藥物 PTX 對腦缺血鼠之 total-SOD 活性並無影響。

另體內抗氧化及清除自由基之另一機制為 GSH，因此本研究進一步測定腦缺血鼠皮質區、海馬回及紋狀體 total-GSH 含量。研究報

告指出，大鼠腦缺血後 24 小時，皮質區及紋狀體 GSH 含量減少<sup>(94)</sup>。本研究結果發現腦缺血鼠於腦缺血後第 10 天 total-GSH 的含量減少，此與 Khan 之研究相符<sup>(94)</sup>。EGCG 可增加大鼠腦缺血造成海馬回及紋狀體 total-GSH 的含量減少之現象。但正對照藥物 PTX 僅增加腦缺血鼠皮質區 total-GSH 的含量。

綜合上述研究結果，腦缺血後腦內抗氧化機制紊亂，使皮質區及海馬回 total-GSH 的含量減少，進而造成腦部神經細胞氧化損傷而促使海馬回及紋狀體脂質過氧化的產物大量產生。EGCG 可降低海馬回及紋狀體 total-SOD 活性及增加 total-GSH 的含量，且減少 MDA 的含量；研究報告指出，EGCG 具強抗氧化活性<sup>(95、96)</sup>，且於體外實驗中，EGCG 可改善 4-HNE 誘發大鼠星狀細胞 GSH 含量減少現象<sup>(97)</sup>。因此，EGCG 對缺血誘發腦部神經細胞氧化損傷及氧化機制紊亂現象，具保護作用，此結果與其他學者之研究報告相符<sup>(98)</sup>。但正對照藥物 PTX 僅增加腦缺血鼠皮質區 total-GSH 的含量但對 total-SOD 活性及 MDA 的含量並無影響。

綜合本研所得結果，我們可知腦缺血誘發大鼠神經細胞損傷，主要係因使皮質區及海馬回中 total-GSH 的含量減少，進而造成腦部神經細胞氧化損傷而促使海馬回及紋狀體脂質過氧化的產物大量產生，而促使神經細胞損傷，進一步造成水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力之障礙。茶葉粗抽物可改善水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再現等學習操作能力之障礙，其主要活性成分 EGCG 亦可改善水迷宮學習操作及記憶能力障礙，其作用機轉可能與減少海馬回及紋狀體 total-SOD 活性及增加



total-GSH 的含量，進而增加自由基清除，降低 MDA 的含量，減少腦缺血誘發神經細胞損傷。研究報告指出，PTX 可降低天竺鼠視網膜缺血後 MDA 的含量<sup>(99)</sup>；且亦可降低兔子脊椎神經缺血後 MDA 的含量及減少 SOD 活性<sup>(100)</sup>。依本研究結果，PTX 改善腦缺血所致水迷宮學習操作及記憶能力障礙，其機轉應與氧化壓力無關，此與 Demir 及 Savas 等人研究並不相符<sup>(99, 100)</sup>，此應與藥投與時間點、劑量及缺血後測定氧化產物之時間不同所致。

## 第六章 結 論

本論文研究結果顯示，大鼠前中腦動脈及兩側頸總動脈結紮所造成之腦缺血模式，可誘發大鼠於水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力之障礙，且不影響自發性運動量、探索能力及游泳速度。

其次，本研究發現茶葉粗抽物 100 及 300 mg/kg 對腦缺血誘發大鼠於水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶再現等學習操作能力之障礙均有改善作用，且茶葉粗抽物在 100 mg/kg 時自發性運動量及探索能力增加，游泳速度並不影響。因此，茶葉改善腦缺血所致學習記憶障礙之作用，不僅與記憶形成過程之改善有關，且部分係因改善腦缺血鼠之環境注意力及探索能力有關。茶葉的主要活性成分 EGCG 可改善腦缺血造成大鼠空間操作障礙，但對腦缺血造成參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙並無改善作用。而正對照藥物 PTX 亦可改善腦缺血造成空間操作障礙，但對腦缺血造成之參考記憶、工作記憶再學習與再現等學習操作能力障礙無改善作用。

本研究更進一步發現腦缺血後大鼠海馬回及紋狀體區 MDA 含量增加，而皮質區及海馬回中 Total-GSH 的含量減少。EGCG 可使腦缺血後大鼠海馬回及紋狀體 MDA 含量降低及 Total-GSH 含量增加，但正對照藥物 PTX 對腦缺血後大鼠之 MDA 含量增加及 Total-GSH 的含量減少之現象，並無任何影響。

綜合上述結果，我們可知腦缺血誘發大鼠神經細胞損傷，主要係因使皮質區及海馬回中 Total-GSH 的含量減少，進而造成腦部神經細胞氧化損傷而促使海馬回及紋狀體脂質過氧化的產物大量產生，而促

使神經細胞損傷，進一步造成水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶之再學習與再現等學習操作能力之障礙。茶葉粗抽物可改善水迷宮空間操作、參考記憶、工作記憶之再現等學習操作能力之障礙，其主要活性成分 EGCG 亦可改善水迷宮學習操作及記憶能力障礙，其作用機轉可能與減少海馬回及紋狀體之 Total-SOD 活性及增加 Total-GSH 的含量，進而增加自由基之清除，減少 MDA 的含量，減少腦缺血誘發神經細胞損傷。PTX 與茶葉及其主要活性成分 EGCG 改善腦缺血所誘發學習記憶障礙作用機制不同。

# 謝 辭

本論文承蒙恩師謝校長明村博士、彭文煌博士及吳啟瑞博士指導教誨與支持鼓勵，方得以順利完成，衷心感謝，永誌難忘。

感謝陳所長介甫博士及顏教授焜熒博士在論文審查時所賜惠寶貴意見獻上由衷的敬意；二年研究過程中承蒙張永勳所長給予良好的研究環境及動物中心技士兼同學王文信給予實驗動物上之協助，林立偉學長、蔡汎修學長所給予實驗技術上的指導、課業的協助，及財團法人生物技術開發中心錢瑤珍博士及蔡瑩霏小姐給予實驗技術上的提供，謹此致上由衷之謝忱。

此外，感謝廖隆德學長、鄭皓元學長、賴尚志學長，同窗好友呂宗俊、許榮麒、蔡宗翰、羅福源、陳銘琛、何? 菁等好友及學弟林湧達、葛宗諭，學妹朱姮音、黃美月於實驗或課業上的切磋與協助，在此一併至上無限的謝意。

最後，僅將此論文獻給父親吳聰智先生、母親陳寶珠女士及長兄吳國維、大嫂張嘉芳、弟弟吳國銘、可愛的小姪女明儒、小侄子展皓，及從小關心我、陪我一路走過來的每一位親友，由於他們的支持與鼓勵，得以專心完成此論文。

## 參考文獻

1. 黃泰康等：腦血管疾病的中西醫診斷與治療，中國醫藥科技出版社發行，北京，1988；p83。
2. Zhang G, Miura Y, Yagasaki K. Effects of dietary powdered green tea and theanine on tumor growth and endogenous hyperlipidemia in hepatoma-bearing rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002; 66:711-6.
3. Yang TT, Koo MW. Inhibitory effect of Chinese green tea on endothelial cell-induced LDL oxidation. *Atherosclerosis* 2000; 148:67-73.
4. Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, et al. Neuroprotective effect of green tea extract in experimental ischemia-reperfusion brain injury. *Brain Res Bull* 2000; 53:743-9.
5. 蔣順蓮、董培培：茶葉萃取物之探討 水產食品 1994；22：60-74。
6. Lee S, Suh S, Kim S. Protective effects of the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate against hippocampal neuronal damage after transient global ischemia in gerbils. *Neurosci Lett* 2000; 287:191-4.
7. Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke* 1989; 20:1037-43.
8. Ohno M, Watanabe S. Ischemic tolerance to memory impairment associated with hippocampal neuronal damage after transient cerebral ischemia in rats. *Brain Res Bull* 1996; 40:229-36.

9. 蘇敬? 撰，岡西為人重輯：重輯新修本草，國立中國醫藥研究所刊行，臺北，1972；p305。
10. 劉翰、馬誌? 撰，那琦、謝文全、林豐定重輯：重輯開寶本草，中國藥學研究所，台中，1998；p169。
11. 掌禹錫? 撰，那琦、謝文全、李一宏重輯：重輯嘉祐補注神農本草，中國藥學研究所，台中，1989；p124。
12. 蘇頌? 撰，那琦，謝文全重輯：重輯圖經本草，中國藥學研究所，台中，1993；pp341-2。
13. 唐慎微撰，艾晟校定，吳家鏡譯述：經史證類大觀本草，正言出版社，臺北，1977；pp369-70。
14. 唐慎微撰，張存惠重刊，那琦解題並序，魏德文索引刊行：重修政和經史證類備用本草，南天書局有限公司，臺北，1965；p325。
15. 明劉文泰? 撰，謝文全重輯：本草品匯精要，中國藥學研究所，台中，1983；pp669-71。
16. 李時珍：圖解本草綱目，上冊，文光圖書有限公司，台北，1970；pp382-92。
17. 陸羽著，王建勛編：茶經，中國工人出版社，北京，2003。
18. 江蘇新醫學院：中藥大辭典，下冊，上海科學技術出版社，上海，1977；pp1601-3。
19. 賴正南：茶業技術推廣手冊—製茶技術，行政院農業委員會茶業改良場發行，2001。
20. 黃墩岩編：中國茶道，暢文出版社，1983；pp86-119。
21. 賴正南編：茶業技術推廣手冊—茶作篇，行政院農業委員會茶業改良場發行，1995。

22. 行政院衛生署中醫藥委員會編：中藥材品質管制-組織型態學鑑定，1999；p77。
23. 顏焜熒：常用中藥之藥理，國立中國醫藥學研究所，台北，1974。
24. 王淑如等：茶葉多糖的抗凝血及抗血栓作用。中草藥 1992；23：254。
25. 王丁剛等：茶葉多糖的分離、純化、分析及降血脂作用。中國藥科大學學報 1991；22：225-7。
26. 李清釗等：茶多酚對糖尿病大鼠的保護作用。環境與職業醫學 2003；20：233-5。
27. 陳海霞、謝筆鈞：茶多糖對小鼠實驗性糖尿病的防治作用。營養學報 2002；24：85-6。
28. 諸亞軍等：兒茶素對四氯化碳引起肝損傷某些生化指標影響。中國醫學科學院學報 1990；12：37-8。
29. Levites Y, Youdim MB, Maor G, et al. Attenuation of 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) activation and cell death by tea extracts in neuronal cultures. *Biochem Pharmacol* 2002; 63:21-9.
30. Zhang Y, Zhao B. Green tea polyphenols enhance sodium nitroprusside-induced neurotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Neurochem* 2003; 86:1189-200.
31. Mazza G. Herbs, Botanicals & Teas Lancaster :Technomic Publishing Co.,Inc., 2000; pp265-81
32. 潘喜華等：茶多酚調節免疫、抑制腫瘤及抗衰老作用的研究。上海預防醫學雜誌 2000；12：58-60。

33. Okabe S, Suganuma M, Hayashi M, et al. Mechanisms of growth inhibition of human lung cancer cell line, PC-9, by tea polyphenols. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88:639-43.
34. Nakagawa T, Yokozawa T, Sano M, et al. Activity of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate against oxidative stress in rats with adenine-induced renal failure. *J Agric Food Chem.* 2004; 52:2103-7.
35. Kao YH, Hiipakka RA, Liao S. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology* 2000; 141:980-7.
36. Choi YT, Jung CH, Lee SR, et al. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate attenuates beta-amyloid-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *Life Sci* 2001; 70:603-14.
37. Yamamoto T, Lewis J, Wataha J, et al. Roles of catalase and hydrogen peroxide in green tea polyphenol-induced chemopreventive effects. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 308:317-23.
38. Nie G, Cao Y, Zhao B. Protective effects of green tea polyphenols and their major component, (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), on 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells. *Redox Rep.* 2002; 7:171-7.
39. 張光雄等:神經醫學, 華榮圖書有限公司發行, 臺北, 1988; pp93-4
40. Stieg PE, Sathi S, Warach S, et al. Neuroprotection by the NMDA receptor-associated open-channel blocker memantine in a photothrombotic model of cerebral focal ischemia in neonatal rat.



*Eur J Pharmacol* 1999; 375:115-20.

41. Chen HS, Wang YF, Rayudu PV, et al. Neuroprotective concentrations of the N-methyl-D-aspartate open-channel blocker memantine are effective without cytoplasmic vacuolation following post-ischemic administration and do not block maze learning or long-term potentiation. *Neuroscience* 1998; 86:1121-32.
42. Miyazaki H, Tanaka S, Fujii Y, et al. Neuroprotective effects of a dihydropyridine derivative, 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-3,5-pyridinedicarboxylic acid methyl 6-(5-phenyl-3-pyrazolyloxy)hexyl ester (CV-159), on rat ischemic brain injury. *Life Sci* 1999; 64:869-78.
43. Henry PT, Chandy MJ. Effect of ascorbic acid on infarct size in experimental focal cerebral ischaemia and reperfusion in a primate model. *Acta Neurochir Wien* 1998; 140:977-80.
44. van der Worp HB, Thomas CE, Kappelle LJ, et al. Inhibition of iron-dependent and ischemia-induced brain damage by the alpha-tocopherol analogue MDL 74,722. *Exp Neurol* 1999; 155:103-8.
45. Hall ED, Andrus PK, Smith SL, et al. Pyrrolopyrimidines: novel brain-penetrating antioxidants with neuroprotective activity in brain injury and ischemia models. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281:895-904.
46. Tsuji M, Higuchi Y, Shiraishi K, et al. Protective effect of aminoguanidine on hypoxic-ischemic brain damage and temporal

- profile of brain nitric oxide in neonatal rat. *Pediatr Res* 2000; 47:79-83.
47. Yoshida T, Limmroth V, Irikura K, et al. The NOS inhibitor, 7-nitroindazole, decreases focal infarct volume but not the response to topical acetylcholine in pial vessels. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14:924-9.
  48. Ashwal S, Cole DJ, Osborne S, et al. L-NAME reduces infarct volume in a filament model of transient middle cerebral artery occlusion in the rat pup. *Pediatr Res* 1995; 38:652-6.
  49. Spera PA, Ellison JA, Feuerstein GZ, et al. IL-10 reduces rat brain injury following focal stroke. *Neurosci Lett* 1998; 251:189-92.
  50. Khayyam N, Thavendiranathan P, Carmichael FJ, et al. Neuroprotective effects of acetylsalicylic acid in an animal model of focal brain ischemia. *Neuroreport* 1999; 10:371-4.
  51. Estevez AY, Phillis JW. The phospholipase A2 inhibitor, quinacrine, reduces infarct size in rats after transient middle cerebral artery occlusion. *Brain Res* 1997; 752:203-8.
  52. Arabadzisz D, Freund TF. Changes in excitatory and inhibitory circuits of the rat hippocampus 12-14 months after complete forebrain ischemia. *Neuroscience* 1999; 92:27-45.
  53. Hwang YS, Shin CY, Huh Y, et al. Hwangryun-Hae-Dok-tang (Huanglian-Jie-Du-Tang) extract and its constituents reduce ischemia-reperfusion brain injury and neutrophil infiltration in rats. *Life Sci* 2002; 71:2105-7.

54. 郭世嶽：大秦芄湯加減治療中風 30 例臨床觀察。河南中醫藥學刊 1999；14：35-6。
55. 宋桂葉：補陽還五湯合針刺法治療中風後遺症。河南中醫 2003；23：62。
56. Leung AW, Mo ZX, Zheng YS. Reduction of cellular damage induced by cerebral ischemia in rats. *Neurochem Res* 1991; 16:687-92.
57. 王磊一等：葛根素對大鼠急性腦缺血的保護作用。中國中藥雜誌 1997；22：752-65。
58. Lee EJ, Chen HY, Wu TS, et al. Acute administration of Ginkgo biloba extract (EGb 761) affords neuroprotection against permanent and transient focal cerebral ischemia in Sprague-Dawley rats. *J Neurosci Res* 2002; 68:636-45.
59. 張均田等：神經藥理學研究進展，人民衛生出版社發行，北京，2002；pp76-7。
60. 龐戰軍、陳瑗、周玫：自由基醫學研究方法，人民衛生出版社發行，北京，2000；pp1-5。
61. Sweeney MI, Yager JY, Walz W, et al. Cellular mechanisms involved in brain ischemia. *Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73:1525-35.
62. Masuda H, Tsujii T, Okuno T, et al. Accumulated endogenous NOS inhibitors, decreased NOS activity, and impaired cavernosal relaxation with ischemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 282:1730-8.
63. 張敬軍等：外源性 NO 與內源性 NO 對海馬區 cGMP 合成的影響

中國臨床神經科學 1998 ; 6 : 1140-2。

64. Larry, RS, Stuart MZ. Ischemic brain damage and memory impairment: a commentary. *Hippocampus* 1996; 6:546-52.
65. Jocelyne, B, Martine, M. Cerebral ischemia: are the memory deficits associated with hippocampal cell loss? *Hippocampus* 1996; 6:553-60.
66. Mishkin M. Memory in monkeys severely impaired by combined but not by separate removal of amygdala and hippocampus. *Nature* 1978; 273:297-8.
67. O'Keefe J, Conway DH. Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Exp Brain Res* 1978; 31:573-90.
68. Teyler TJ, DiScenna P. The hippocampal memory indexing theory. *Behav Neurosci* 1986; 100:147-54.
69. Sakai N, Yanai K, Ryu JH, et al. Behavioral studies on rats with transient cerebral ischemia induced by occlusion of the middle cerebral artery. *Behav Brain Res* 1996; 77:181-8.
70. Yi SM, Harson RE, Zabner J, et al. Lectin binding and endocytosis at the apical surface of human airway epithelia. *Gene Therapy* 2001; 8: 1826-32.
71. Morris RGM, Anderson E, Lynch GS, et al. Selective impairment of learning and blockade of LTP by a NMDA receptor antagonist, AP5. *Nature* 1986; 319: 774-6.
72. Biessels GJ, Kamal A, Urban IJ, et al. Water maze learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats:

- effects of insulin treatment. *Brain Res* 1998; 800: 125-35.
73. Galani R, Weiss I, Cassel JC, et al. Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res* 1998; 96: 1-12.
74. Rashidy-Pour A, Motamedi F, Motahed-Larijani Z. Effects of eversible inactivations of the medial septal area on reference and working memory versions of the Morris water maze. *Brain Res* 1996; 709: 131-40.
75. Glowinski J, Iversen L. Regional studies of catecholamines in the rat brain. 3. Subcellular distribution of endogenous and exogenous catecholamines in various brain regions. *Biochem Pharmacol* 1966; 15: 977-87.
76. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 100: 265-75.
77. Bergman M, Perelman A, Dubinsky Z, et al. Scavenging of reactive oxygen species by a novel glucurinated flavonoid antioxidant isolated and purified from spinach. *Phytochemistry* 2003; 62:753-62.
78. Kasemsri T, Armstead WM. Endothelin production links superoxide generation to altered opioid-induced pial artery vasodilation after brain injury in pigs. *Stroke* 1997; 28: 190-6.
79. Mourad T, Min KL, Steghens JP. Measurement of oxidized glutathione by enzymatic recycling coupled to bioluminescent detection. *Anal Biochem* 2000; 283: 146-52.

80. Davis HP, Tribuna J, Pulsinelli WA, et al. Reference and working memory of rats following hippocampal damage induced by transient forebrain ischemia. *Physiol Behav* 1986; 37:387-92.
81. Kiyota Y, Miyamoto M, Nagaoka A. Relationship between brain damage and memory impairment in rats exposed to transient forebrain ischemia. *Brain Res* 1991; 538:295-302.
82. Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, et al. Involvement of cortical damage in the ischemia/reperfusion-induced memory impairment of Wistar rats. *Arch Pharm Res* 2000; 23:413-7.
83. Masada T, Itano T, Fujisawa M, et al. Embryonic transplantation and ischemic memory deficit. *Neurosci Res* 1997; 27:249-55.
84. Aspey BS, Taylor FL, Terruli M, et al. Temporary middle cerebral artery occlusion in the rat: consistent protocol for a model of stroke and reperfusion. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2000; 26:232-42.
85. Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, et al. Protective effect of green tea extract on ischemia/reperfusion-induced brain injury in Mongolian gerbils. *Brain Res.* 2001; 888:11-8.
86. Michna L, Lu YP, Lou YR, et al. Stimulatory effect of oral administration of green tea and caffeine on locomotor activity in SKH-1 mice. *Life Sci.* 2003; 73:1383-92.
87. Shinoda M, Matsuo A, Toide K. Pharmacological studies of a novel prolyl endopeptidase inhibitor, JTP-4819, in rats with middle cerebral artery occlusion. *Eur J Pharmacol* 1996; 305:31-8.
88. Winter B, Bert B, Fink H, et al. Dysexecutive syndrome after mild

- cerebral ischemia? Mice learn normally but have deficits in strategy switching. *Stroke* 2004; 35:191-5.
89. Matsuoka Y, Hasegawa H, Okuda S, et al. Ameliorative effects of tea catechins on active oxygen-related nerve cell injuries. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 274:602-8.
90. Black RS, Barclay LL, Nolan KA, et al. Pentoxifylline in cerebrovascular dementia. *J Am Geriatr Soc* 1992; 40:237-44.
91. Siu FK, Lo SC, Leung MC. Electroacupuncture reduces the extent of lipid peroxidation by increasing superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in ischemic-reperfused rat brains. *Neurosci Lett*. 2004; 354:158-62.
92. Candelario-Jalil E, Mhadu NH, Al-Dalain SM, et al. Time course of oxidative damage in different brain regions following transient cerebral ischemia in gerbils. *Neurosci Res* 2001; 41:233-41.
93. Lannert H, Wirtz P, Schuhmann V, et al. Effects of Estradiol (-17beta) on learning, memory and cerebral energy metabolism in male rats after intracerebroventricular administration of streptozotocin. *J Neural Transm* 1998; 105: 1045-63.
94. Khan M, Sekhon B, Jatana M, et al. Administration of N-acetylcysteine after focal cerebral ischemia protects brain and reduces inflammation in a rat model of experimental stroke. *J Neurosci Res* 2004; 76:519-27.
95. Tanaka R. Protective effects of (-)-epigallocatechin gallate and (+)-catechin on paraquat-induced genotoxicity in cultured cells. *J*

*Toxicol Sci* 2000; 25:199-204.

96. Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43:89-143.
97. Ahmed I, John A, Vijayasarathy C, et al. Differential modulation of growth and glutathione metabolism in cultured rat astrocytes by 4-hydroxynonenal and green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate. *Neurotoxicology*. 2002; 23:289-300.
98. Nagai K, Jiang MH, Hada J, et al. (-)-Epigallocatechin gallate protects against NO stress-induced neuronal damage after ischemia by acting as an anti-oxidant. *Brain Res*. 2002; 956:319-22.
99. Demir T, Ulas F, Ozercan I, et al. Protective effects of pentoxifylline in retinal ischemia/reperfusion injury. *Ophthalmologica*. 2003; 217:337-41.
100. Savas S, Delibas N, Savas C, et al. Pentoxifylline reduces biochemical markers of ischemia-reperfusion induced spinal cord injury in rabbits. *Spinal Cord*. 2002; 40:224-9.