

# 第一章 緒論

隨著醫藥及公共衛生的進步，人類壽命的延長，依行政院主計處國情統計通報專題分析，92 年底臺灣地區 65 歲以上老年人口已達 208.8 萬人(占總人口 9.1%)，老年人口的增加，使老化所導致的生理功能低下及引發之各種老年疾病：如糖尿病、癌症、中風、心血管病變、帕金森氏症、老年癡呆症等，以成為當今研究關注的要點。癡呆症依統計罹患率為 65 歲以上人口的 6%，更為近幾年大家所矚目的研究焦點之一，它屬於一種隨年齡的增長而引起腦神經系統退化的疾病，病人的記憶、行為、情緒、人格等均受到嚴重影響<sup>(1-4)</sup>，因而，此類型疾病亦成為社會醫療及病人家屬等的一大負擔。

中醫對於「衰老」理論主要在於「腎虛」、「氣虛」、「血虛」及「氣滯血瘀」等<sup>(5)</sup>，在防治「衰老」方面多以滋陰補腎、養血補氣、祛痰開竅<sup>(6、7)</sup>、活血化瘀類之藥物<sup>(8)</sup>為主。

金銀花為忍冬科 (Caprifoliaceae) 植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 之乾燥花蕊，具清熱、解毒、補虛、養血、滋陰等功效<sup>(9)</sup>，但今均著重於清熱解毒之用，而在補虛、滋陰、養血<sup>(10-11)</sup>等功效上則漸被忽略。針對於此，本研究即擬從中醫藥在防治衰老之法則上，重新探討金銀花在防治老化特別是記憶能力衰? 之作用，期能開拓金銀花在傳統運用上之另一方向。另於衰老方面，今多認為與自由基所造成之氧化損傷有關<sup>(1-4)</sup>，而現代藥理學研究亦證實金銀花具抗氧化活性<sup>(12-13)</sup>。因此擬以學習記憶動物行為模式：被動迴避學習反應及水迷宮實驗，來探討金銀花及其成分木犀草素對於藥物誘導大鼠記憶障礙之被動迴避學習反應及水迷宮空間操作能力、中長期記憶及工作記憶能力之改善作用及其機轉。

# 第二章總論

## 一、金銀花之本草文獻考察

### 1. 本草系統圖 (原名忍冬, 宋始有金銀花之名)

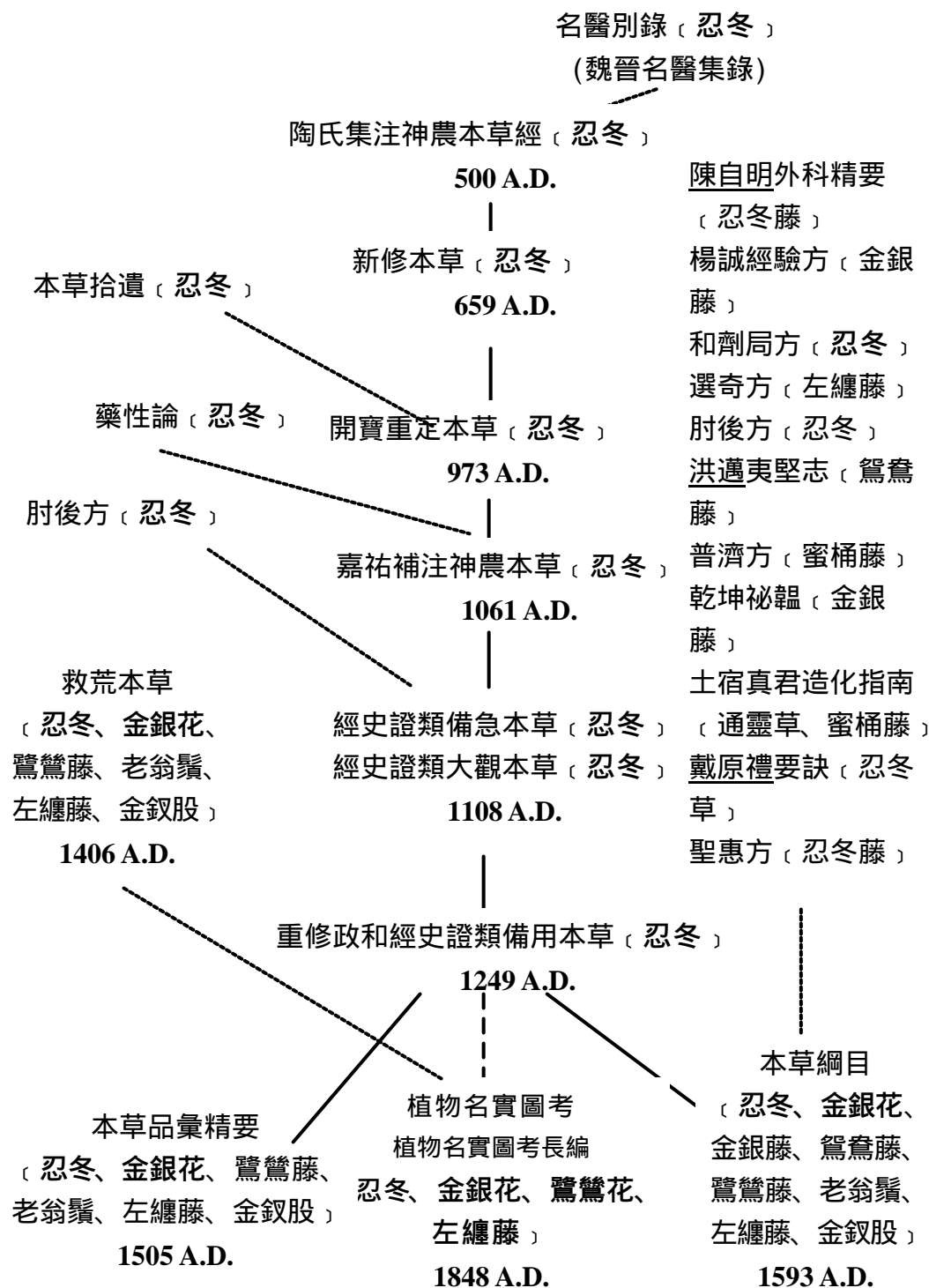


Fig. 1 忍冬本草系統圖

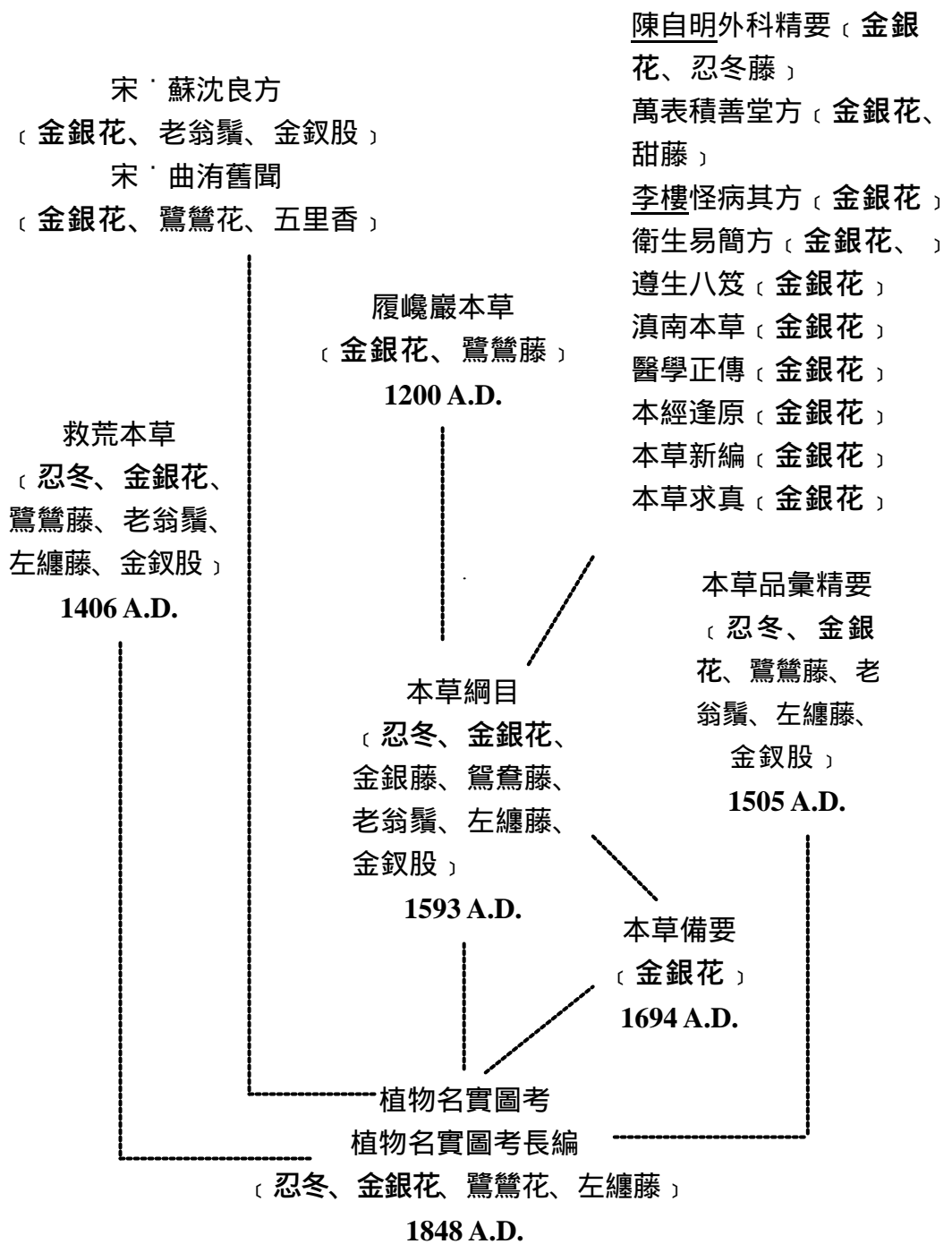


Fig. 2 金銀花本草系統圖



## 2. 藥名之考訂

金銀花或忍冬一辭於神農本草經中尚未見有記載。忍冬的記載直至梁·陶弘景神農本草經集注引名醫別錄云：「今處處皆有，似藤生，凌冬不凋，故名忍冬。」。而後於唐·蘇敬新修本草始對忍冬花之形狀有進一步之記載云：「忍冬，藤生，纏覆草本上，莖苗紫赤色，宿蔓有薄膜，其嫩蔓有毛，葉似胡豆，亦上下有毛，花白蕊紫。」，但此時仍未見金銀花一名。

金銀花一辭首見於宋·蘇軾、沈括蘇沈良方<sup>(9)</sup>云：「金銀花一名老翁鬚，一名金釵股。」，又云「四月開花，極芬芳可愛，初開白色，數日則變黃，每黃白相間，故一名金銀花。」。

至南宋·王玠履巉巖本草下卷云：「鷺鷥藤，性溫無毒，治筋骨疼痛，名金銀花，金銀花本草名忍冬。」。

南宋·曲洧舊聞云：「金銀花，鄭、許田野間，二三月有，一種花蔓生，其香清遠，馬上聞之，頗似木樨，花色白，土人呼為鷺鷥花，取其形似也，亦謂五里香，鷺鷥花，象其形，五里香，狀其香也。」。

自明·朱橚救荒本草<sup>(14)</sup>以金銀花為正名，云：「本名忍冬，一名鷺鷥藤，一名左纏藤，一名金釵股，又名老翁鬚，亦名忍冬藤。」。至明·李時珍本草綱目始於忍冬外另舉金銀花<sup>(15)</sup>。

綜合上述得知金銀花一辭首見於蘇沈良方<sup>(9)</sup>，直至救荒本草<sup>(17)</sup>以金銀花為正名直至本草綱目<sup>(16)</sup>始於忍冬外另舉金銀花。而其別名眾多如老翁鬚、金釵股（蘇沈良方<sup>(9)</sup>），鷺鷥藤（履巉巖本草），忍冬花（新修本草），鷺鷥花、五里香（曲洧舊聞），鷺鷥藤、左纏藤、金釵股、老翁鬚、忍冬藤（救荒本草<sup>(14)</sup>）。

### 3. 型態、產地、藥用部位之考訂

就型態而言，南宋·朱弁曲洧舊聞云：「金銀花，鄭、許田野間，二三月有，一種花蔓生，其香清遠，馬上聞之，頗似木樨，花色白，土人呼為鷺鷥花，取其形似也，亦謂五里香，鷺鷥花，象其形，五里香，狀其香也。」。

明·朱橚救荒本草<sup>(14)</sup>云：「開花五出，微香，蒂帶紅色，花初開白色，經一二日則色黃。」。

明·李時珍本草綱目<sup>(16)</sup>云：「忍冬處處有之，附樹延蔓，莖為紫色，對節生葉，葉似薜荔而青，有?毛，三四月開花，長寸許，一蒂二花，二瓣一大一小，如半邊狀，長蕊，蕊瓣俱色白，經二、三日，則色變黃，新舊相參，黃白相映，故呼金銀花。」。又云：「其花長瓣垂鬚，黃白相半。」。

清·吳其濬圖考長編<sup>(17)</sup>引救荒本草云：「舊不載所出洲土，今輝縣山野中有之。」，「草附樹延蔓而生，莖微紫色，對節生葉，葉似薜荔葉而青，……又似黑豆葉而大，……故名金銀花。」。薜荔即今所謂之 *Ficus pumila* LINNAEUS (木蓮)<sup>(18)</sup>。

就產地而言，明·朱橚救荒本草之前之本草均以「處處有之」述之，並未有實際產地。清·吳其濬圖考長編<sup>(17)</sup>引救荒本草云：「舊不載所出洲土，今輝縣山野中有之。」，輝縣即今之河南河北道，明·輝州改為輝縣，清·屬河南衛輝府。可推知即為黃河流域一帶。圖考亦云：「皆中州產也」，中州即今河南省，謂其居天下之中也<sup>(19)</sup>。

就藥用部位而言，梁·陶弘景神農本草經集注引名醫別錄云：「忍冬，十二月採，陰?」，忍冬花期於四~六月，可推知其所用為帶葉之藤。

宋·聖惠方云：「熱血毒痢，忍冬藤，濃煎飲」，即便南宋·王玠履巉巖本草出現了金銀花之名，但內容仍是忍冬藤：「剉碎，同木瓜，白芍藥，煎至八分去渣。」。

宋·陳自明外科精要<sup>(20)</sup>首次將花單獨藥用云：「無花用苗葉、嫩莖代之」。即可推知宋朝以前多用忍冬的藤、葉入藥。宋朝開始莖、葉、花皆可入藥<sup>(21-22)</sup>。

元·危亦林世醫得效方中云：「根、莖、花朵（蜜啜花）皆可用。」至於明·朱梓普濟方、明·董宿、方賢其效良方等醫學典籍也均稱根、莖、葉、花皆可用。導致忍冬及金銀花混用的情形<sup>(21-22)</sup>。

明·張介賓景岳全書云：「金銀花，一名忍冬」。明·高濂遵生八笈、清·張璐本經逢原等均稱：「忍冬即金銀花」。可推知此時仍是忍冬及金銀花混用的情形。

明·李時珍本草綱目<sup>(16)</sup>云：「忍冬在處有之，……花初開者，蕊瓣俱色白，經二、三日，則色變黃，新舊相參，黃白相映，故呼金銀花。」，其所引附方也是莖、葉、花同時入藥<sup>(22)</sup>。「忍冬莖葉及花功用皆同，昔日稱其治風、除脹、解痢為要藥……，後世，稱其消腫、散毒、治瘡為要藥。」。

明·蘭茂滇南本草<sup>(23)</sup>記載云：「金銀花，味苦，性寒。清熱，解諸瘡，癰疽發背、無名腫毒、丹瘤、癩。藤，能寬中下氣、消痰、祛風熱、清咽喉熱痛。」。

由於溫病學的發展及對金銀花的藥效研究更加全面，尤其強調金銀花的作用，忍冬藤的作用已漸漸減少，如清·汪昂本草備要云：「散熱、補虛、療風、養血止渴，……花葉同效，花香為佳。」。

清·張璐本經逢原<sup>(24)</sup>云：「忍冬，金銀花芳香而甘，入脾通肺，主下

痢膿血，為內外痛腫之要藥，解毒去膿，瀉中有補，癰疽潰後之聖藥。」。由此即可推知明清之後忍冬藤已漸漸減少藥用，相反的金銀花反而被強調其功用。

綜合上述，金銀花，附樹延蔓，莖為紫色，葉對生，三、四月開花，長寸許，一蒂二花，二瓣一大一小，如半邊狀，長蕊，蕊瓣俱色白，經二、三日，則色變黃，處處有之，以黃河流域一帶最多。元朝及宋朝以前仍是忍冬及金銀花混用的情形。明、清由於溫病學的發展及對金銀花的藥效研究更加全面，而其強調金銀花的清熱、解毒去膿、解諸瘡、無名腫毒、消痰、祛風熱、清咽喉熱痛作用，進而與忍冬藤作一區別，而今多用其乾燥花蕾。

#### 4. 性味、藥能之考訂

宋·王懷隱等所編太平聖惠方載：「熱血毒痢，忍冬藤，濃煎飲」，清·汪昂本草備要云：「散熱、補虛、療風、養血止渴，……花葉同效，花香為佳。」。

明·朱橚救荒本草<sup>(14)</sup>云：「味甘，性溫，無毒。」。

明·張介賓景岳全書云：「性味：味甘，氣平，其性微寒。善於化毒，故治癰疽腫毒瘡癬，楊梅風濕諸毒，誠為要藥。毒未成者能散，毒已成者能潰。但其性緩，用須倍加，或用酒煮服，或搗汁摻酒頓飲，或研爛拌酒厚敷。若治療，上部氣分諸毒，用一兩許，時常煎服，極效。」。

明·蘭茂滇南本草<sup>(23)</sup>記載云：「金銀花，味苦，性寒。清熱，解諸瘡，癰疽發背、無名腫毒、丹瘤、瘰。藤，能寬中下氣、消痰、祛風熱、清咽喉熱痛。」。

本草征要云：「金銀花，味甘，性平，無毒。入脾經。清熱



除瘟，消癰解毒。淨咽喉，治齩舌。風溫溫毒，火丹瘡癩。可寬膨脹，能療痢血。」。

明·李時珍本草綱目<sup>(16)</sup>云：「忍冬莖葉及花功用皆同，昔日稱其治風、除脹、解痢為要藥……，後世，稱其消腫、散毒、治瘡為要藥。」。

清·張璐本經逢原<sup>(24)</sup>云：「忍冬，金銀花芳香而甘，入脾通肺，主下痢膿血，……，解毒去膿，瀉中有補，癰疽潰後之聖藥。」。

清·黃宮繡本草求真<sup>(11)</sup>云：「金銀花（蔓草）清肺熱解癰毒。金銀花（專入肺）。經冬不凋。故又名忍冬。味甘性寒。無毒。諸書皆言補虛養血，又言入肺散熱，能治惡瘡……為外利治毒通行要劑 久服輕身，延年益壽。」。

清·汪昂本草備要云：「金銀花瀉熱，解毒甘寒入肺。散熱解毒（清熱即是解毒），補虛（凡物甘者皆補）療風，養血止渴。治癰疽疥癬，楊梅惡瘡，腸血痢。經冬不凋，名忍冬（又名左纏藤）。花葉同功，花香尤佳，釀酒代茶。」。

清·陳士鐸本草新編<sup>(10)</sup>云：「金銀花，一名忍冬藤。味甘，溫，無毒。入心、脾、肺、肝、腎五臟，無經不入。消毒之神品也。未成毒則散，已成毒則消，將死者可生，已壞者可轉。故癰疽發背，必以此藥為奪命之丹。但其味純良，性又補陰，雖善消毒，而功用甚緩，必須大用之。」，可推知金銀花與忍冬藤之藥能相同。

綜合上述金銀花如救荒本草<sup>(14)</sup>、本草備要、本草求真<sup>(11)</sup>、本草新編<sup>(10)</sup>、本經逢原<sup>(24)</sup>、本草征要等所載：金銀花味甘，溫，無毒。入心、脾、肺、肝、腎五臟，無經不入。散熱解毒（清熱即是解毒），補虛（凡物甘者皆補）療風，養血止渴。治癰疽疥癬，楊梅惡

瘡，腸血痢。非惟不散氣，且能補氣，更善補陰。但少用則補多于攻，多用則攻勝于補。故攻毒之藥，未有善于金銀花者也。久服輕身，延齡益壽。

## 5. 修治之考訂

明·李時珍本草綱目<sup>(16)</sup>云：「四月採花，陰？」首次要求要淨制的是在瘡瘍經驗全書，云：「洗淨」。之後，此法被元、明、清各代醫家所採用。如世醫得效方云：「忍冬草，以洗淨用之」。

奇效良方 明·王肯堂証治準繩云：「忍冬草，水洗淨用之」。明·高濂遵生八笈云：「金銀花……溫水洗淨。」宋·聖濟總錄云：「揀無蟲污新肥者。」。

早期忍冬的應用不僅根莖葉花不區分，且採用鮮品，進行切制時經常採用「銼」、「搗」、「研」、「槌」等方法<sup>(25)</sup>。如葛洪肘後備急方云：要「銼」，唐·孫思邈千金翼方云：要「搗」，洪氏集驗方云：要「研為渣」，類編朱氏集驗方云：「用木槌微微槌損，不可犯鐵。」，當採用？品時切製方法也有所改變，如「為末」、「切」等，例如元·齊德之外科精義云：「為粗末」，壽世保元云：「要細切」。

金銀花早期並不炮製，炮製方法始見於宋朝，此後逐漸完善。

燒製如楊城經驗方云：「金銀藤大者燒存性」，清·陳其瑞本草撮要云：「以花燒存性研末」。

燒製主要目的是使金銀花增加吸附作用，達到止血止瀉的作用。

炒製，最早見於清·吳鞠通醫案，接著壽世編云：「微炒」；溫病條辨云：「炒黑」。

清·吳其濬圖考長編引救荒本草云：「採花煤熟，油鹽調

食。」惠直堂經驗方云：「入銅鍋內，焙乾存性。」明·高濂遵生八笈云：「焙乾」。

焙製及炒製主要目的都是在使金銀花令其質地酥脆，易於粉脆，便於應用。

蒸製，首見於明·沈之問解圖原藪云：「金銀花藤蒸曬為末。」

釀製，清·凌煥本草害利云：「釀酒，代茶熬膏並炒」。

製露，溫病條辨曾以金銀花露直接處方。

製汁熬膏，醫方集解云：「四月採鮮花，搗汁熬膏」。

蒸製、釀製、製露、製汁熬膏，主要目的是因為金銀花質地蓬鬆，而且往往用量較大，當多味中藥同時煎煮時相當不便，這時可先取金銀花汁再煎其他藥。

酒製，首見於宋·朱佐校正集驗背疽方云：「以酒於瓶內浸，……入甘草為末，以所浸酒為糊丸……」，明·虞搏醫學正傳云：「金銀花需酒洗」。 明·李時珍本草綱目<sup>(16)</sup>引外科精要云：「忍冬圓：先宜服此用忍冬草根、莖、花、葉皆可，不拘多少。入瓶內，以無灰好酒浸，以糠火煨一宿，取出晒干，。」清·云川道人絳囊撮要云：「金銀花需酒炒」。 清·蕭曉亭瘋門全書云：「金銀花需酒蒸」。古人酒制是因為酒甘辛大熱、氣味芬香、能升能散、活血通絡。金銀花酒制的目的可能利用酒的升散作用來達到藥物的宣行作用。

蜜製，明·寧源食鑑本草云：「忍冬花摘取陰？，照稀簽草法，九制曬乾」，而稀簽草制法為長流水洗淨曬乾，蜂蜜同無灰酒和勻，拌潮一宿，次早蒸三柱香，如是九次。

綜合上述金銀花三四月採花，陰？，或揀無蟲污新肥者，以

水洗淨。早期並不炮製，炮製方法始見於宋朝<sup>(25)</sup>，早期炮製方法眾多，如燒製，首見於楊城經驗方，主要目的是使金銀花增加吸附作用，達到止血止瀉的作用；炒製，首見於清·吳鞠通醫案，主要目的是在令金銀花質地酥脆，易於粉脆，便於應用；蒸製，首見於明·沈之問解圖原藪，主要目的是因為金銀花質地蓬鬆，而且往往用量較大所以先取其汁再煎其他藥；酒製，首見於宋·朱佐校正集驗背疽方，目的是利用酒的升散作用來達到藥物的宣行作用；蜜製，首見於明·寧源食鑑本草，主要目的是矯味、補中益氣。目前眾多炮炙方法皆不再使用，而臨床上皆直接使用金銀花乾燥花蕾。

## 二、金銀花之藥用植物學文獻考察

台灣產忍冬屬植物，依台灣植物誌所記載，全世界有 200 種，而台灣計有 7 種，分述如下（含植物型態<sup>(15,26)</sup>）：

1. 忍冬：*Lonicera japonica* Thunb. (毛忍冬)，攀緣性灌木，幼枝密生絨毛及腺毛。葉對生，長 3~8 公分，寬 2~3 公分，卵狀橢圓形，先端尖銳，基部圓形近心型，幼時兩面有毛成熟後則無毛；總花梗單生於上部葉腋；萼筒無毛；花冠長 3~4 公分，先白紫後變黃，唇形，上唇具 4 裂片且直立，下唇反捲；雄蕊 5 枚；漿果球形，熟時黑色。

產於北起遼寧，西至陝西，南達湖南，西南至雲南、貴州等省。韓國、日本亦生產。台灣產於北、中部海拔 300 公尺以下各地。本種係由張基祥先生於 1971 年引進栽種<sup>(27)</sup>。

2. 紅腺忍冬：*Lonicera hypoglauca* Miq. (裡白忍冬)，常綠藤本，全株被柔毛。葉對生，長卵形，先端尖銳，基部圓形近心型，全緣，長 3~10 公分，寬 2~3.5 公分；葉柄長 0.5~1.0 公分；花成對腋生，白而帶紅，雄蕊 5 枚；花冠長 3.5~4.5 公分；花筒長 2 公分，先端裂為 2 唇，上唇先端再作 4 淺裂，下唇反捲；萼 5 裂，成狹三角形；漿果近球形，熟時黑色。

產於台灣、福建、江西、浙江、湖南、湖北、廣東、貴州等省。台灣產於海拔 300~1500 公尺之灌木叢或疏林中。

3. 阿里山忍冬：*Lonicera acuminata* Wall (銳葉忍冬)，常綠藤本，全株嫩部有柔毛。葉對生，長卵形，先端尖銳，基部鈍形，長 5~7 公分，寬 2~3 公分；葉柄長 0.8~1.2 公分；花具長梗 1~2.5 公分，腋生，雙立，白而帶紅，雄蕊 5 枚，雌蕊 1 枚；萼，壺狀鐘型 5 裂片三角卵形；冠筒長 1.6 公分，2 唇，上唇 4 淺裂，兩側較大，中間兩片略小；花絲花柱及柱頭均具長毛；漿果卵形，熟時呈碧黑色。

產於台灣、福建等省及日本。台灣產於海拔 2000~3000 公尺

之高山。

4. 無梗忍冬：*Lonicera apodantha* Ohwi(短梗忍冬)，常綠藤本，葉對生，狀似柔皮，長卵形，先端尖銳，基部鈍形，長 2~4 公分，寬 1~1.5 公分；葉柄甚短 0.38~0.6 公分密生絨毛；花無柄，腋生，2 朵，花梗約 0.18 公分，成聚繖花序；雄蕊 4 枚；花冠長 2 公分，外側表面反捲；花絲具白色柔毛；花柱花藥平滑；漿果草莓狀，熟時呈黑色。

產於台灣海拔 2800~3000 公尺之高山。

5. 川上氏忍冬：*Lonicera kawakamii* Masam.，常綠直立小灌木，高 1~2 公尺，小枝略成方形，暗褐色，平滑；葉有柄，對生，質厚，倒卵形，先端鈍形甚為圓形，全緣，略為反捲，長 0.6~1.2 公分，寬 0.3~0.5 公分；花具長梗，腋生，成雙著生；花梗單一而狹，長 0.4~0.5 公分；萼盃形，有稀疏緣毛；花冠長鐘型，先端 5 裂；雄蕊 5 枚，子房 2 室，每室單一胚珠；果實漿果紅色，熟時黑色。

台灣固有種，產於台灣大雪山、中部海拔 3500~3900 公尺之高山中，非常稀少難尋。

6. 大花忍冬：*Lonicera macrantha* Spreng.，常綠藤本灌木，幼枝被硬毛。葉長 4~11 公分，長卵狀矩圓形，先端尖銳，基部圓形近心型，全緣，具緣毛，葉背具絨毛及剛毛，具橘紅色腺毛但較裡白忍冬為少；總花梗多個集生成傘房狀；萼筒無毛，具小剛毛，花冠，先白後變黃，花冠長 4.5~7 公分，裂為 2 唇，上唇 4 裂片，下唇反轉；雄蕊 5 枚；漿果球形，熟時黑色。

產於台灣、福建、廣西、廣東等省。

7. 追分忍冬：*Lonicera oiwakensis* Hayata. (翠峰忍冬)，常綠直立小灌木，高 1~2 公尺；葉對生，橢圓形，長 2.5 公分，寬 1.5 公分，先端鈍形甚為圓形，全緣具有少數絨毛；葉柄長 0.2~0.3 公分，具絨毛；花成對，花梗單一，腋生，花冠長 3 公分，不具絨毛腺毛，裂為

2 唇；萼裂呈盃鐘形，平滑，邊緣呈不規則 5 裂；雄蕊與花柱生於花筒內；花絲平滑，長 0.6 公分；花藥白色，長 0.25 公分；花柱白色平滑、長 1 公分；柱頭綠色，頂部稍寬，長 0.1 公分；子房下位，每室 4~5 個胚珠。

產於台灣中部海拔 1500~3000 公尺高山，數量稀少。

### 三、金銀花之生藥學考察

中華中藥典 (2004) 收載的有：金銀花為忍冬科 *Caprifoliaceae* 植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.、紅腺忍冬 *Lonicera hypoglauca* Miq.、山銀花 *Lonicera confusa* DC.或毛花柱忍冬 *Lonicera dasystyla* Rehd. 之乾燥花蕾。

#### 1. 一般性狀及組織：

(1) 忍冬：花蕾長 1.3—5.5 cm，直徑 2—3 mm，有兩種腺毛，糙毛和長腺毛：一種頭部倒圓錐形，側面觀 10—33 個細胞，排成 2—4 層，另一種頭部類圓形或略扁圓形，4—20 個細胞。表面淡黃色或黃棕色，久儲色較深。花萼細小，萼筒類球形，長約 1 mm，無毛，先端 5 裂，萼齒卵狀三角形；花冠筒狀，則上部開裂呈二唇形；雄蕊 5 枚；雌蕊 1 枚，有 1 細長花柱。氣清香，味甘微苦。草酸鈣簇晶直徑 6—45  $\mu\text{m}$ ，稜角細尖。

(2) 紅腺忍冬：花蕾長 1—5 cm，直徑 0.8—2 mm，腺毛頭部盾形而大，8—40 個細胞，直徑 60—176  $\mu\text{m}$ ，側面觀 7—10 個細胞，排列 1—2 層，頂端一層細胞略凹陷，黃棕色或棕色；萼筒無毛，萼齒長三角形；花冠外近無毛或冠筒披疏毛及短柄腺毛。氣清香，味甘微苦。

(3) 山銀花：花蕾長 1.3—5 cm，直徑 0.5—2 mm，紅棕色或灰棕色，被倒生短糙毛，腺毛較多，腺毛頭部倒圓錐形，20—100 個細胞，排成 3—5 層，直徑 32—150  $\mu\text{m}$ ；萼齒通常長三角形，長超過寬，與萼筒均密被灰白色或淡黃色小硬毛。氣清香，味甘微苦。

(4) 毛花柱忍冬：花蕾長 2.5—4 cm，直徑 1—2.5 mm，腺毛少數，頭部帽形，側面觀 10—18 個細胞，排成 2 層，頂面觀 20—50



個細胞，直徑 65—160  $\mu\text{m}$ ，柄部甚短，4—9 個細胞併列；表面淡黃色微帶紫色，無毛。花萼裂片短三角形。開放者花冠上唇常不整齊，花柱下部多密被長柔毛。

## 2. 粉末

忍冬粉末淺黃色。黃色花粉粒眾多，球形，直徑 60—70  $\mu\text{m}$ ，外壁具細刺狀突起，萌發孔 3 個。柱頭頂端表皮細胞呈絨毛狀。薄壁細胞中含細小草酸鈣簇晶，直徑 6—45  $\mu\text{m}$ 。腺毛有兩種，一種頭部呈倒圓錐形，頂部略平坦，由 10—30 個細胞，排成 2—4 層，直徑 52—130  $\mu\text{m}$ ，腺柄部 2—6 個細胞，長 80—700  $\mu\text{m}$ ；另一種頭部呈倒三角形，較小，由 4—20 個細胞組成，直徑 30—80  $\mu\text{m}$ ，腺柄 2—4 個細胞，長 25—64  $\mu\text{m}$ 。

## 3. 金銀花之鑑別

本品粉末 0.5 g，加甲醇 5 mL，振搖提取二十分鐘，過濾，濾液濃縮至約 1 mL，做為檢品溶液。另取綠原酸 (chlorogenic acid) 對照標準品，溶於甲醇製成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作為標準品溶液。取檢品溶液與標準品溶液各 5  $\mu\text{L}$ ，按薄層層析法，分別點注於含有羧甲基纖維素鈉為黏合劑的矽膠薄層上，以乙酸丁酯：甲酸：水 (7:2.5:2.5) 混液之上層溶液為展開溶媒，層析之。取出層析板風乾後，於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視之，檢品溶液所呈現諸斑點之一與標準品溶液所呈現斑點之色調及  $R_f$  值均一致。

## 4. 金銀花之含量測定

### (1) 綠原酸 (chlorogenic acid)

移動相溶媒：甲醇：水：甲酸 (40:60:1)。必要時其配製比例可予調整。

標準品溶液：精確稱取經真空（50℃）乾燥至恆重的綠原酸（chlorogenic acid）標準品 10 mg，置 50 mL 定容瓶中，加甲醇溶解並稀釋至刻度，即得。

檢品溶液：取本品約 2.0 g，在 50℃ 恆溫下乾燥三十分鐘，研碎，過 40 目篩，在 50℃ 恆溫下烘烤九十分鐘，精確稱取 1.0 g 加甲醇 10 mL，浸泡十小時，置超音波振盪抽提三十分鐘，濾去殘渣，取此抽提液定容，作為檢品溶液。

層析裝置：液相層析裝置，具波長 330 nm 檢測器 4.6 mm × 150 mm 十八矽烷鍵結矽膠層析管。層析管溫度保持室溫，移動相溶媒流速：1 mL/min。

測定法：取檢品溶液與標準品溶液 10 μL，分別注入高效液相層析儀。測得檢品溶液與標準品溶液中綠原酸之波峰面積  $r_u$  及  $r_s$ 。則綠原酸之量 = 綠原酸（mg）

$$\frac{r_u}{r_s}$$

## 5. 金銀花之偽品<sup>(28)</sup>

(1) 八角楓花：為八角楓科八角楓 *Alangium chinenses* Harms 的花，性狀特徵為短柱狀，兩端近等徑，長 0.8~1.5 公分，離瓣花 6~8，花絲 6~8 枚，顯微特徵為無腺毛。有毒。

(2) 夜香樹花：為茄科夜香樹 *Cestrum noturnum* L. 的花蕾，性狀特徵為短條狀，溫水泡製後花萼呈淡黃綠色，雄蕊 5 枚，雌蕊 4 枚，花柱細長，柱頭頭狀，顯微特徵無腺毛。

(3) 湖北羊蹄甲花蕾：為豆科湖北羊蹄甲 *Bauhinia hupehana* Craud. 的花蕾，性狀為花蕾上部肥大，下部纖細，密生短柔毛，花冠 5 裂，顯微特徵無腺毛。

(4) 北清香藤花蕾：為木犀科北清香藤 *Jasminum lanceolarium*

Roxb. 的花蕾，性狀特徵為粗細較均勻，無毛，花冠 4 裂，顯微特徵為無腺毛。

(5) 其他：偽品還有華素馨花（木犀科華清香藤 *Jasminum sinense* Hemsl）雞骨香花（木犀科青藤仔 *Jasminum nervosum* Lour）大黃花（玄參科 *Cymbaria dahuria* L.）等。

## 四、金銀花之成分文獻考察

### 1. 揮發油類<sup>(29)</sup>

金銀花揮發油主要成分有芳樟醇 (linalool)、香葉醇 (geraniol) 香茅醇 (citronellol)、雙花醇、 $\alpha$ -松油醇、檸檬醛、丁香油酚、癸醛 (decanal)、茉莉酮 (jasmone)、橙花叔醇 (nerolidol)、喇叭茶醇 (ledol)、 $\beta$ -紫羅酮 ( $\beta$ -ionone)、 $\delta$ -杜松醇 (d-cadinene)、薄荷醇等。

### 2. 有機酸類

金銀花之有機酸類成分包括綠原酸 (chlorogenic acid)、異綠原酸 (isochlorogenic acid)、咖啡酸、肉荳蔻酸 (myristic acid)、棕櫚酸 (palmitic acid)、月桂酸、馬錢酸 (loganic acid)、齊墩果酸等。

### 3. 黃酮類<sup>(30)</sup>

木犀草素 (luteolin)、忍冬皂?、木犀草素 7-O- $\beta$ -D 半乳糖? (luteolin-7-O- $\beta$ -D-galactoside)、胡蘿蔔?、槲皮素 (quercetin)、槲皮素-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖? (quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside)、金絲桃? (hyperoside)、常春藤皂?、無患子皂?、續斷皂? 等。

### 4. 微量元素類<sup>(31)</sup>

金銀花目前被鑑定出合 14 種微量元素，包括鎂 (0.25 ppm)、鐵 (175.8 ppm)、銅 (9.21 ppm)、鈣、錳、鋅、鎳、鋇、鋰、鈷等。

## 五、金銀花之藥理作用文獻考察

### 1. 抗菌、抑菌及抗病毒作用

金銀花對多種病菌有一定的抑制效果<sup>(32)</sup>，包括金黃色葡萄球菌、溶血性鏈球菌、大腸桿菌、痢疾桿菌、霍亂弧菌、傷寒桿菌、副傷寒桿菌及白色念珠菌等致病菌有較強的抑制作用<sup>(33)</sup>。對肺炎球菌、腦膜炎雙球菌、綠膿桿菌、結核桿菌等亦有效，且水浸劑比水煎劑有效<sup>(34)</sup>。另外對致齲病的變形鏈球菌及引起牙周病、牙齦等的類桿菌顯示了較強的抗菌活性<sup>(35)</sup>。金銀花於體外對β-端螺旋體及皮膚黴菌亦有一定的抑制作用<sup>(36)</sup>。水煎劑（1:20）在人胚腎原代單層上皮細胞培養液對流感病毒、麻疹病毒、孤兒病毒（orphan virus）、水痘帶狀疱疹病毒增多有抑制作用<sup>(37)</sup>。

### 2. 抗炎、解熱作用

金銀花有明顯的抗發炎作用，實驗證明可明顯抑制新鮮蛋清、鹿角菜膠所引起的腳浮腫<sup>(38)</sup>。於體外亦能抑制人的γ-球蛋白<sup>(39)</sup>。日本 Kwak 等人指出金銀花具抗炎止痛作用<sup>(40)</sup>。另外還可提高小鼠腹腔巨噬細胞吞噬巨紅細胞的吞噬百分率及吞噬指數，並可提高血清凝集毒素的抗體積數，從而證明可作為清熱解毒劑，用以治療感染性疾病；而其作用主要是通過調節機體免疫力功能<sup>(41)</sup>及增加 IL-2 的產生，使受損淋巴細胞抗體能力增強<sup>(42)</sup>。

### 3. 利膽保肝作用

金銀花所含的綠原酸類化合物有利膽的作用，可促進大鼠膽汁的分泌。金銀花總皂苷中的常春藤皂苷、無患子皂苷具保肝作用<sup>(43)</sup>。實驗證明金銀花中的三萜皂苷對四氯化碳（CCl<sub>4</sub>）所引起的小鼠肝損傷具保護作用<sup>(44)</sup>，並可降低肝損傷小鼠血清 GPT 的升高及肝

臟三酸甘油酯含量，減輕肝臟損傷程度，使肝臟壞死面積降低<sup>(43,45)</sup>。

#### 4. 降血脂作用

金銀花在體外可與膽固醇結合，灌服金銀花煎劑 2.5 g/kg可減少腸內膽固醇的吸收，降低血中膽固醇<sup>(46)</sup>。金銀花等補虛養血、益氣養陰、活血化瘀藥可達到降血脂效果<sup>(47)</sup>。黃褐毛忍冬總皂？可非常顯著地降低正常小鼠肝臟三酸甘油酯的含量，並可降低四氯化碳、D-半乳糖胺中毒小鼠之肝臟三酸甘油酯含量<sup>(44)</sup>。

#### 5. 抗氧化作用

金銀花提取物能捕捉自由基<sup>(12-13)</sup>，抑制金屬離子誘導之脂質過氧化；又可減少氫氧自由基的形成，減少脂質過氧化<sup>(48-50)</sup>。

#### 6. 抗生育作用

金銀花乙醇提取煎液注射給藥時具抗生育作用，腹腔注射時對小鼠有效，靜脈點滴或宮腔給藥時對家犬也有效。三月懷孕猴於羊膜腔給藥也有抗孕效果。金銀花可降低早孕大鼠血漿孕酮濃度，金銀花的抗早孕作用可被外源性的孕酮、hCG所拮抗。金銀花還能抑制假懷孕小鼠蛻膜瘤的形成，此作用也可被黃體素所拮抗。消炎止痛藥能干擾金銀花的抗生育作用，顯示金銀花抗生育作用的機制既與前列腺素有關，又與其對性激素的影響關係密切有關<sup>(51)</sup>。

#### 7. 對免疫系統的作用

體外和體內實驗中均見金銀花能促進白血球和腹腔炎性細胞的吞噬功能<sup>(52)</sup>。木犀草素對免疫功能具複雜的影響，能抑制過敏反應，拮抗過敏介質的作用，抑制巨噬細胞的活性，又具有免疫增強效果<sup>(53)</sup>。在體外，木犀草素0.001~ 10  $\mu$  mol/L濃度可直接誘發淋巴細胞增殖，顯示木犀草素具有絲分裂原樣免疫增強作用<sup>(53)</sup>。灌服木

犀草素 180 mg/kg 可增強細胞免疫和胸腺免疫作用<sup>(52,54)</sup>。

## 8. 其他作用

在體外試驗金銀花的水及酒精浸製液對腹水癌有細胞毒作用，並具抗實驗性胃潰瘍作用；此外，綠原酸灌服可引起大鼠、小鼠等實驗動物中樞神經系統興奮，其強度為咖啡因的 1/6；大劑量氯原酸可促進胃腸運動，促進胃液、膽汁分泌；木犀草素對兔離體小腸有解痙作用，弱於罌粟鹼，並有輕度利尿作用，可增加氯化鈉的排出，且可縮短苯巴比妥鈉所致大鼠睡眠時間<sup>(55)</sup>。

## 第二節 金銀花成分木犀草素之文獻考察

### 一、木犀草素之理化性質

1. 化學名：luteolin

2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one

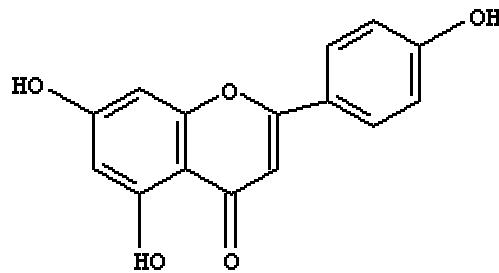
2. 分子式及分子量：

$C_{15}H_{10}O_6$  ; 286.24

3. 物理性質：

為黃色針狀化合物，稍溶於水，溶於鹼中呈黃色溶液。熔點 333-335 。

4. 結構式：



5. 來源植物：

龍膽科植物濕生蔞薺 (*Gentianopsis paludosa*)、敗醬科黑水纈草 (*Valeriana amurensis*) 地上部分、忍冬科忍冬 (*Lonicera japonica*)、豆科落花生 (*Arachis hypogaea*) 果實外殼、鷹爪豆 (*Spartium junceum*) 花中、玄參科金魚草 (*Antirrhinum majus*) 花瓣中、十字花科植物薺菜 (*Capsel Jobursa*)。此外，其糖配基也廣泛存在於多種植物中。



## 二、木犀草素之藥理作用文獻考察

### 1. 抗炎作用

Kim 及 Xagorari 等人發現木犀草素對於 LPS 誘發大鼠纖維母細胞的發炎反應具抑制作用；Ueda 等人發現木犀草素可抑制致發炎分子 TNF- $\alpha$  之活性的作用；

### 2. 心血管作用

木犀草素於  $5 \times 10^{-4}$  M 可抑制離體蛙心，使舒張期幅度降低，收縮期幅度也輕度降低，心率變慢，輸出量減少而在  $2 \times 10^{-4}$  M 濃度則可增加豚鼠心臟收縮幅度<sup>(55)</sup>。木犀草素對交感神經節無阻滯作用，切斷迷走神經、注射阿托品均不影響其降壓效果，對於腎上腺素及去甲腎上腺素的升壓反應也無明顯影響<sup>(57)</sup>。

### 3. 解痙作用

木犀草素對兔離體小腸有解痙作用，弱於罌粟鹼，並有輕度利尿作用，可增加氯化鈉的排出。並對豚鼠氣管平滑肌及迴腸有解痙作用<sup>(55)</sup>。

### 4. 祛痰作用

木犀草素對大鼠毛細管法實驗，有較好的祛痰作用，可抑制咳嗽中樞，鎮咳作用。其祛痰作用機制為促進呼吸道腺體分泌，並使痰中酸性多醣溶解<sup>(57)</sup>。

### 5. 抗癌作用

木犀草素對 NKLY 腹水癌細胞體外培養有抑制生長的作用<sup>(57)</sup>。木犀草素對皮膚癌促癌物的細胞受體蛋白激酶 C 有相當強的抑制作用<sup>(58)</sup>。

## 6. 抗氧化作用

木犀草素可抑制昆明種小鼠脂質過氧化<sup>(59)</sup>。木犀草素 200、250  $\mu\text{mol/L}$  具清除超氧陰離子和羥自由基作用及脂質過氧化作用<sup>(60)</sup>。

## 7. 其他作用

可抑制碘化甲狀腺氨酸脫碘?、蛋白激?、還原性輔?、眼睛水晶體醛醣還原? 的活性<sup>(61)</sup>。

### 第三節 神經傳遞物質與學習記憶之關係

韓太真和沈建新曾報導學習記憶與神經傳遞物質之相關性<sup>(62)</sup>。學習是通過神經系統接受外界環境刺激訊息而影響自身行為的過程。記憶是獲得的訊息或經驗在腦內儲存和提取(再現)的神經活動過程。學習記憶是動物改變自身行為或產生新行為以便適應生活環境的必要過程。

當外界之刺激訊息輸入後以致記憶形成，可分為學習獲得(acquisition)、記憶鞏固(consolidation)、及記憶再現(retrieval)三個階段<sup>(63)</sup>，而在形成過程一旦接受外界訊息之刺激，人體第一步反應使神經活性改變，使突觸前神經傳遞物質釋出。至於神經傳遞物質與學習記憶之關係，略述如下：

#### 一、Acetylcholine 與學習記憶關係

據 Drachman 及 Leavitt 於 1974 年發現年輕人在服用 acetylcholine (Ach) 接受器拮抗劑 scopolamine 後，會產生類似老人癡呆症之進行性健忘症症狀<sup>(64)</sup>，又 Quartermain 及 Leo 發現大鼠給 scopolamine 後，可使腦內 Ach 神經消失，並會造成學習行為操作之障礙<sup>(65)</sup>，另 Worms 等發現乙醯膽鹼 M<sub>1</sub> 接受器之拮抗劑 pirenzepine<sup>(66)</sup>，Glücks 等發現乙醯膽鹼尼古丁接受器之拮抗劑 mecamlamine (MECA)<sup>(67)</sup>，及 Walsh 等發現乙醯膽鹼神經毒素 AF64A<sup>(68)</sup>，均會造成大鼠學習行為操作之障礙。因此，在增進學習記憶之能力，Ach 確具重要之參與

角色。故本研究使用 SCOP 等作為誘發學習獲得障礙之動物模式。

## 二、Norepinephrine 與學習記憶關係

據 Pisa 及 Fibiger 指出 norepinephrine 在空間性記憶能力及注意力扮演重要之角色<sup>(69)</sup>，在老年智能障礙患者，單胺類神經物質系統失衡為第二項較重要之因素，阿耳滋海默氏病人在藍斑區 (locus ceruleus) 之正腎上腺素 (norepinephrine) 之合成酵素 dopamine  $\beta$ -hydroxylase 有明顯減少，腦內正腎上腺素濃度及其代謝物濃度亦有減少<sup>(70)</sup>。據 Zis 等以 6-OHDA 破壞 nigro-striatal bundle，可造成主動迴避反應之操作障礙<sup>(71)</sup>，若將 striatum 區之神經損壞，可阻斷刺激 amygdala 區誘發之學習記憶能力增加現象<sup>(72)</sup>，當 amygdala 區給予  $\beta$ -接受器拮抗劑 propranolol 會造成學習的障礙，因此智能增進劑會被經 amygdala 區給予 propranolol 所阻斷<sup>(73)</sup>。

## 三、Serotonin 與學習記憶關係

據 Arai 等人研究指出阿耳滋海默氏病人在腦部背側大縫核 (dorsal raphe nucleus) 之血清素 (serotonin) 及其接受器密度有明顯減少<sup>(74)</sup>，但據 Essman 認為在脊椎動物之學習行為模式研究中，serotonin 扮演著負向性之角色<sup>(74)</sup>，因此 serotonin 之釋出促進劑 p-chloroamphetamine 可增加中樞 serotonin 之活性而造成學習獲得障礙<sup>(75)</sup>。且蛋白質合成抑制劑 cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙，主要是經由中樞 serotonergic system 之活性以間接降低中樞 cholinergic system 之活性<sup>(76)</sup>。

5-HT 接受器在學習記憶亦扮演重要之角色，5-HT<sub>1A</sub> 接受器致效劑 8-OH-DPAT 會造成學習記憶及工作記憶之障礙<sup>(77)</sup>，另當以

serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 投在 neocortex 亦可造成學習記憶損傷<sup>(78)</sup>。

神經傳遞物質除 acetylcholine, norepinephrine 與 serotonin 與學習記憶有關外，尚有興奮性胺基酸 (excitatory amino acid) 在參與神經可塑性之初期過程、腦部發展及學習記憶之過程扮演重要之角色；enkephalin 在學習記憶亦扮演重要角色；神經荷爾蒙在學習記憶過程之作用與單胺神經系統有密切關連；另外蛋白質合成亦為記憶鞏固過程之必要因素。

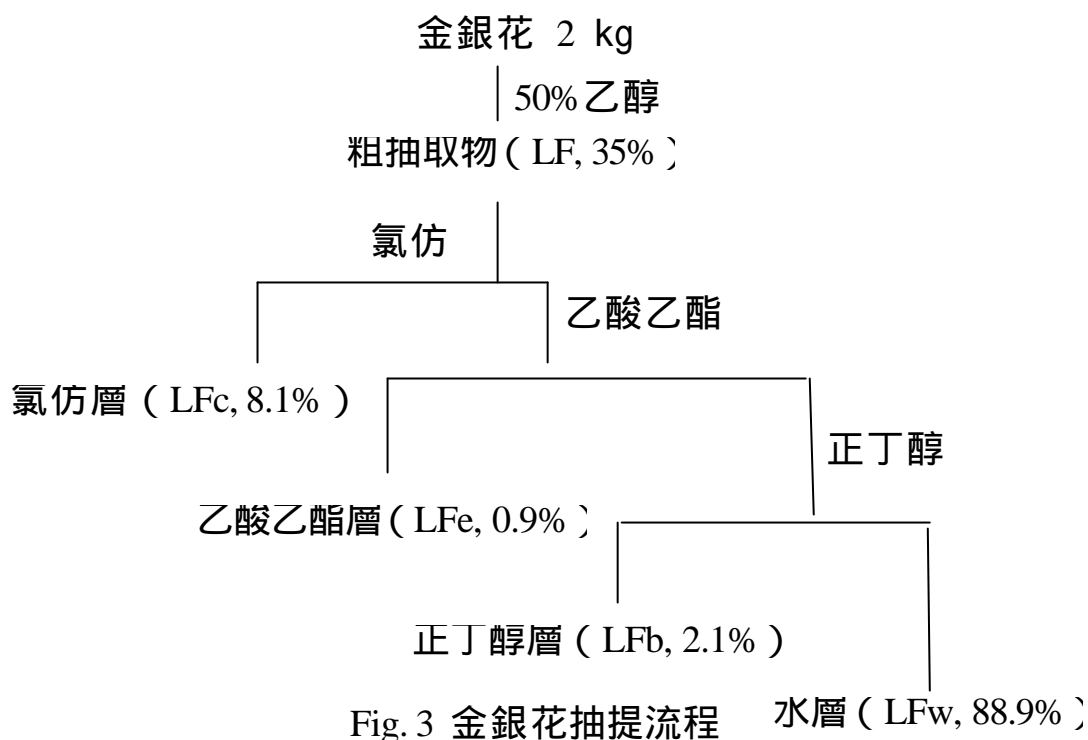
# 第三章 材料與方法

## 第一節 實驗材料

### 一、金銀花之抽提製備<sup>(79)</sup>

#### 1. 金銀花之抽提流程

金銀花 2 kg，購自欣隆藥行，經謝文全教授及邱年永老師鑑定為忍冬科 (Caprifoliaceae) 植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb.) 之乾燥花蕾；先用 50% 乙醇抽取後濃縮烘乾，得粗抽取物 (簡稱 LF；重 700 g；抽取率為35%)；粗抽取物再依序利用氯仿、乙酸乙酯、正丁醇進行萃取，經減壓濃縮乾燥後，得氯仿層萃取物 (簡稱 LFc；重56.8 g；萃取率為8.1%)，乙酸乙酯層萃取物 (簡稱 LFe；重6.4 g；萃取率為0.9%)，正丁醇層萃取物 (簡稱 LFb；重14.8 g；萃取率為2.1%)，水層萃取物 (簡稱 LFw；重622 g；萃取率為88.9%)。



## 2. 實驗材料之製備

(1) 金銀花粗提取物及各分層萃取物以RO逆滲透水溶解，溶解後金銀花粗提取物稀釋至300、500 mg/kg，p.o.，各分層萃取物分別稀釋至50、100 mg/kg，p.o.。

(2) 木犀草素 (luteolin) 購自米山藥品工業株式會社，以RO逆滲透水溶解，並稀釋至5、10 mg/kg，p.o.。

## 二、實驗試劑

1. 實驗試劑：本實驗所使用試劑scopolamine hydrobromide (SCOP)、scopolamine methylbromide (M-SCOP)，Mecamylamine (MECA)、5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT)、6-hydroxydopamine (6-OHDA)、ethylcholine aziridinium (AF64A) 均購自Sigma公司。

### 2. 實驗試劑之製備

SCOP 溶于 saline, 0.5 mg/kg, i.p.; 0.01 mg/20 µl/brain, i.c.v.。

M-SCOP 溶于 saline, 0.5 mg/kg, i.p.。

6-OHDA 5,7-DHT 溶于 saline (含 0.5% vit C, 防止氧化), 250 µg/20 µl/brain, i.c.v.。

AF64A 溶于 NaNO<sub>2</sub>再以 1 N HCl 調整 pH 值至 7.4, 3 µg/20 µl/brain, i.c.v.。

MECA 溶于 saline。0.03 mg/20 µl/brain, i.c.v.。

### 3. 實驗試劑簡稱及其作用機制

藥物全名	簡稱	作用機制
Scopolamine hydrobromide	SCOP	muscarinic receptor antagonist
Mecamylamine	MECA	nicotinic receptor antagonist
Scopolamine methylbromide	M-SCOP	Peripheral cholinergic antagonist
6-hydroxydopamine	6-OHDA	catecholaminergic neurotoxin
Ethylcholine aziridinium	AF64A	cholinergic neurotoxin
5,7-dihydroxytryptamine	5,7-DHT	serotoninerbic neurotoxin

### 三、實驗動物

本實驗採用中國醫藥大學動物中心所提供 Sprague-Dawley (SD) 系雄性大鼠，體重 300 350 公克，飼養在空調溫度維持在  $23\pm 1$  的飼養室，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，每組實驗動物為 8 隻。

實驗期間，實驗動物之照顧及實驗後動物之安樂死方式皆遵從行政院農業委員會編定之實驗動物管理與使用指南飼養及管理。

### 四、實驗儀器

#### 1. 被動迴避之設備

使用「被動迴避學習反應測定裝置」(Coulbourn Instruments U.S.A)，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 (26×26×30 cm) 的箱子及其控制器在實驗裝置處置上，於相同大小二室之其中一室上方置一 20 W 之電燈泡，將相同大小二室區分為明、暗二室，中以閘門控制，箱底設有間隔 2 cm



平行排列的金屬桿（直徑 1.5 mm），並接上電流器。

## 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<sup>(80)</sup>（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  $23 \pm 1$ 。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），如下圖所示。水迷宮實驗所使用之記錄儀器：Columbus Instruments VIDEOMEX-V video tracking，Video Camera，Video monitor（Columbus Instruments International Co.）實驗所使用之軟體為 Columbus Instruments Water Maze Program。

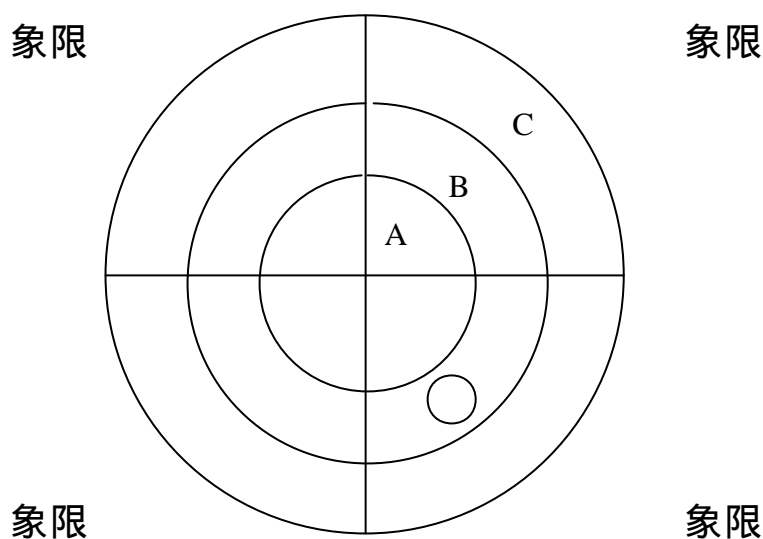


Fig. 4 水迷宮電腦劃分圖

## 第二節 實驗方法

### 一、學習記憶動物行為模式

#### 1. 被動迴避學習反應 (Passive avoidance response)

(1) 適應期：於實驗步驟上，先將大鼠置入明室，同時開啟閘門，以大鼠在90秒內進入暗室者，供做本實驗。

(2) 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。

(3) 測定期：於訓練後24小時，再將大鼠置入明室，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<sup>(81)</sup>。

#### 2. 水迷宮實驗

利用 Morris Water Maze 來進行學習記憶測試<sup>(82,83)</sup>，其訓練過程如下：

(1) 空間操作期：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，此階段稱之為空間操作期 (spatial performance) <sup>(84)</sup>。

(2) 參考記憶期：將逃逸平台自水面下取走，再將大鼠置於第一象限，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，此階段稱之為參考記憶期（reference memory）<sup>(85)</sup>。

### （3）工作記憶期

A. 再學習：將逃逸平台置於第二象限，加水使其沉入水面 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，此階段稱之為再學習（reacquisition）<sup>(86)</sup>。

B. 記憶再現：再學習結束後 5 分鐘，再將大鼠先置入第三象限，將逃逸平台置於第二象限，亦連續測定 120 秒鐘或至大鼠找到逃逸平台，此階段稱之為記憶再現（retrieval）<sup>(86)</sup>。所有大鼠游泳之軌跡及實驗資料均由電腦自動記錄。再學習與記憶再現兩階段統稱為工作記憶期（working memory）。

## 二、動物學習實驗設計流程

第一天至第二天：進行被動迴避學習反應測定。第一天為訓練期，第二天為測定期。

於被動迴避學習反應測定期之次日開始進行水迷宮實驗流程。

第三天至第十四天：進行水迷宮實驗。

1. 第三天至第五天：進行水迷宮空間操作期，評估空間操作能力。

2. 第十二天：於空間操作期結束後休息七天，進行水迷宮參考記憶期，評估其中長期記憶之能力。

3. 第十三天至第十四天：進行水迷宮工作記憶期，評估其再學習與記憶再現之能力。

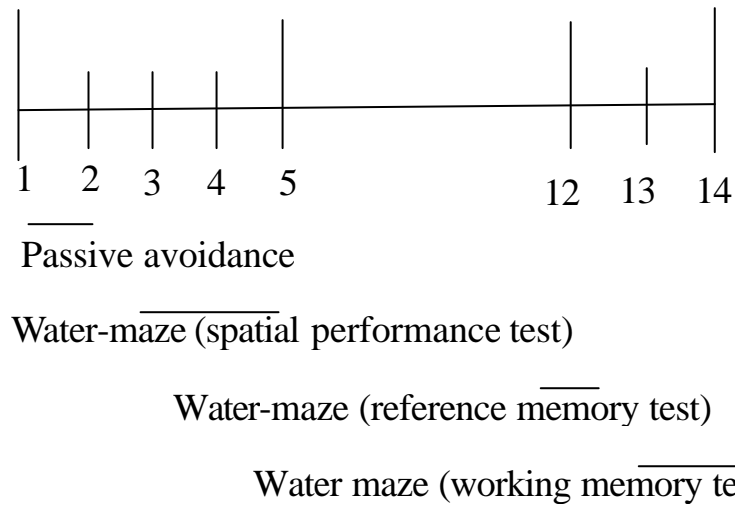


Fig. 5 動物學習記憶實驗流程圖

### 三、金銀花粗提取物及各分層萃取物對 scopolamine 誘發大鼠被動迴避學習障礙之影響

口服金銀花粗提取物 300、500 mg/kg 及各分層萃取物 50、100 mg/kg，60 分鐘後進行被動迴避學習反應訓練，於 24 小時後進行被動迴避學習反應測定。病理對照組於訓練前 30 分鐘給予 SCOP 0.5 mg/kg，空白對照組 i.p. 給予 vehicle。

### 四、金銀花乙酸乙酯層萃取物改善學習記憶障礙與週邊神經乙醯膽鹼拮抗劑 scopolamine methylbromide 之關係

口服金銀花 50% 乙醇粗提取物乙酸乙酯層萃取物 50、100 mg/kg，60 分鐘後進行被動迴避學習反應訓練，於 24 小時後進行被動迴避學習反應測定。病理對照組於訓練前 30 分鐘腹腔注射 SCOP 0.5 mg/kg 併用 M-SCOP 0.5 mg/kg，空白對照組腹腔注射給予

M-SCOP 0.5 mg/kg。

## 五、金銀花乙酸乙酯層萃取物對中樞膽鹼神經毒素

ethylcholine aziridinium 誘發大鼠學習記憶障礙之影響

大鼠先以 pentobarbital ( 45 mg/kg , i.p. ) 進行麻醉，麻醉後固定於立體定位儀上，進行側腦室定位 ( 座標：bregma 往後 0.9 mm , 往左側 1.5 mm , 深度 3.6 mm ) , 輸注中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 後，進行縫合，歸回飼養籠中保溫照顧，於 10 天後進行實驗方法二所述之動物學習記憶實驗流程。病理對照組側腦室輸注給予 AF64A ，而空白對照組側腦室輸注給予 vehicle。於學習行為操作前 60 分鐘口服金銀花乙酸乙酯層萃取物 50、100 mg/kg。

## 六、木犀草素改善學習記憶障礙與中樞神經系統之關係

### 1. 木犀草素對中樞神經毒素誘發學習記憶障礙之影響

大鼠先以 pentobarbital ( 45 mg/kg , i.p. ) 進行麻醉，麻醉後固定於立體定位儀上，進行側腦室定位 ( 座標：bregma 往後 0.9 mm , 往左側 1.5 mm , 深度 3.6 mm ) , 輸注中樞神經毒素 AF64A ( 3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 5,7-DHT ( 250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 6-OHDA ( 250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 後，進行縫合，歸回飼養籠中保溫照顧，AF64A 於側腦室輸注 10 天後，5,7-DHT、6-OHDA 則於側腦室輸注 14 天後進行實驗方法二所述之動物學習記憶實驗流程。病理對照組側腦室輸注給予 AF64A、5,7-DHT、6-OHDA ，而空白對照組側腦室輸注給予 vehicle。於學習行為操作前 60 分鐘口服木犀草素 5、10mg/kg。

2. 木犀草素對中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 scopolamine 及 nicotinic 接受體拮抗劑 mecamylamine 誘發學習記憶障礙之影響

大鼠先以 pentobarbital ( 45 mg/kg , i.p. ) 進行麻醉，麻醉後固定於立體定位儀上，進行側腦室定位 ( 座標：bregma 往後 0.9 mm，往旁 1.5 mm，深度 3.6 mm )，定位鑽孔後，將埋管以牙粉固定於頭殼上，並進行縫合，歸回飼養籠中保溫照顧。於 3 天後進行實驗方法二所述之動物學習記憶實驗流程。病理對照組側腦室輸注分別給予 SCOP ( 0.01 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. )、MECA ( 0.03 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. )，而空白對照組側腦室輸注給予 vehicle。於學習行為操作前 60 分鐘口服木犀草素 5、10 mg/kg。

### 第三節 數據分析

被動迴避實驗，以無母數分析法統計，先以 Kruskal-Wallis 單因子變異數分析各組間之變異數差異，再以 Mann-Whitney U-test 檢定其間差異之顯著性，凡 P 值小於 0.05 以下時，則認為有統計意義。

水迷宮空間性學習操作所獲得之 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；其餘之水迷宮參考記憶暨工作記憶，所獲得之結果均以 Independent-Sample T Test，統計並分析其間差異之顯著性，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、金銀花粗抽物及各分層萃取物對 scopolamine 誘發被動迴避學習障礙之影響

#### 1. 金銀花粗抽物對 scopolamine 誘發大鼠被動迴避學習障礙之影響

金銀花粗抽取物 (LF, 300、500 mg/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予, 可改善訓練前 30 分鐘腹腔注射 SCOP0.5 mg/kg 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( $p < 0.01$ ) (如 Fig. 6)。



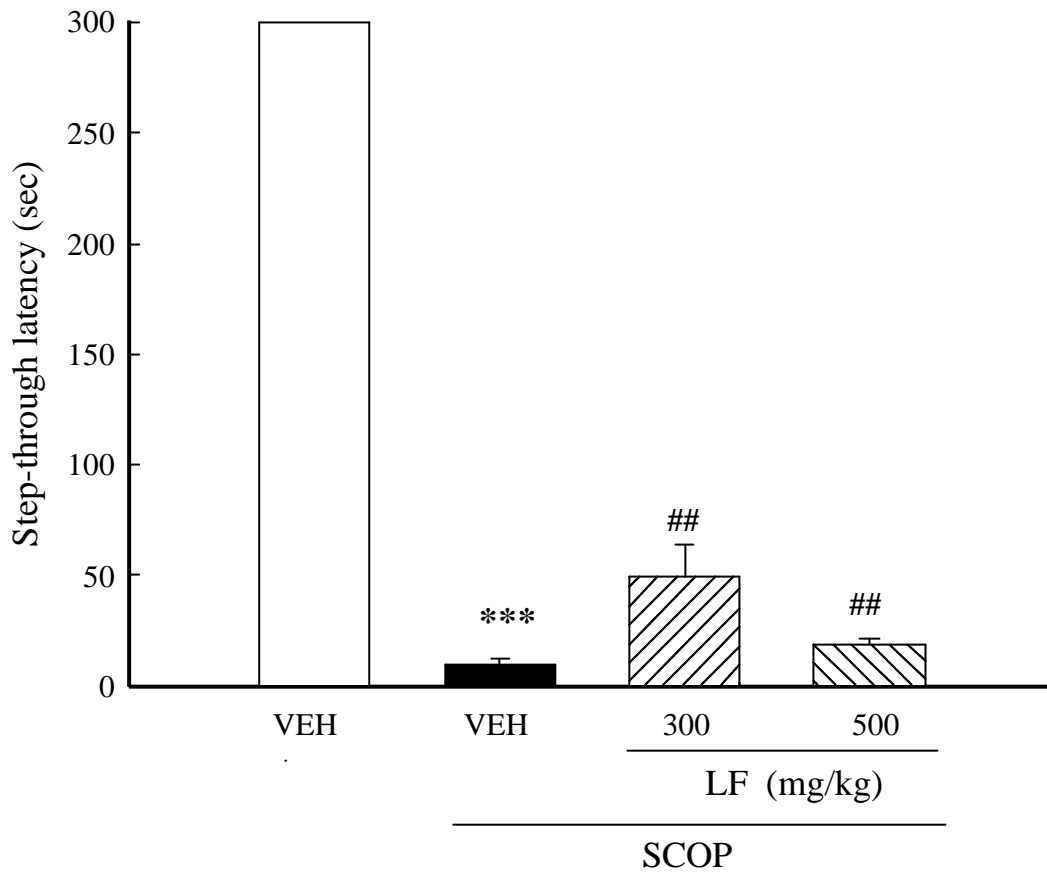


Fig. 6 Effect of 50% ethanol extract of Lonicerae Flos (LF, 300 and 500 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with VEH group. ##  $p < 0.01$  compared with VEH/SCOP group. N=8.

## 2. 金銀花各分層萃取物對 scopolamine 誘發大鼠被動迴避學習障礙之影響

金銀花各分層萃取物於訓練前 60 分鐘口服給予，氯仿層 ( LFc , 100 mg/kg )、乙酸乙酯層 ( LFe , 50、100 mg/kg )、正丁醇層 ( LFb , 50 mg/kg )、水層 ( LFw , 50、100 mg/kg )，均可改善訓練前 30 分鐘腹腔注射 SCOP 0.5 mg/kg 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( $p < 0.05$  ,  $p < 0.001$ )；其中以乙酸乙酯層萃取物 100 mg/kg 效果最佳 ( $p < 0.001$ ) ( 如 Fig. 7 )。

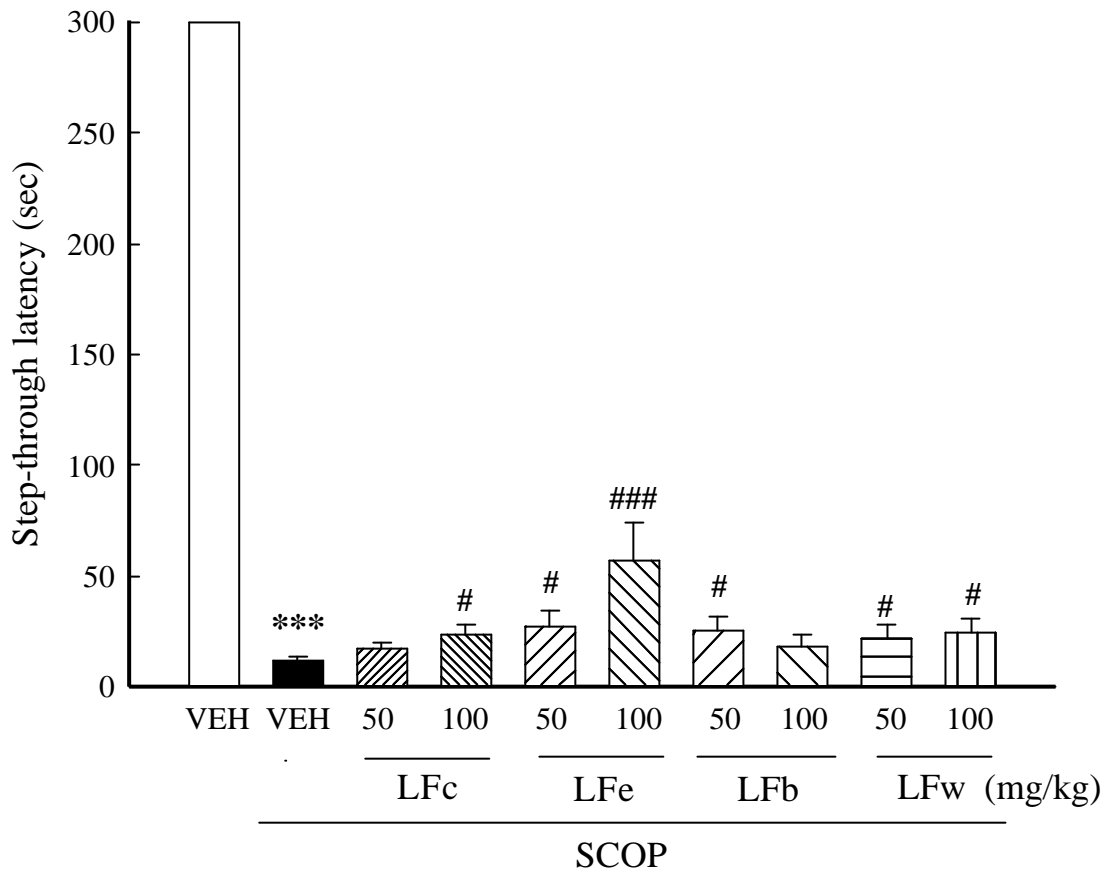


Fig. 7 Effect of fractions of Lonicerae Flos (LFc, LFe, LFb, LFw)(50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with VEH group. #  $p < 0.05$ , ###  $p < 0.001$  compared with VEH/SCOP group. N=8.

## 二、金銀花乙酸乙酯層萃取物改善學習記憶障礙與乙醯膽鹼週邊神經拮抗劑 scopolamine methylbromide 之關係

於訓練前 30 分鐘腹腔注射給予大鼠乙醯膽鹼週邊拮抗劑 M-SCOP ( 0.5 mg/kg ) 並不會造成大鼠被動迴避學習操作障礙；同時對訓練前 60 分鐘口服給予金銀花乙酸乙酯層萃取物( 50 100 mg/kg ) 改善 SCOP 誘發被動迴避學習障礙之作用亦不具阻斷作用 ( 如 Fig. 8 )。

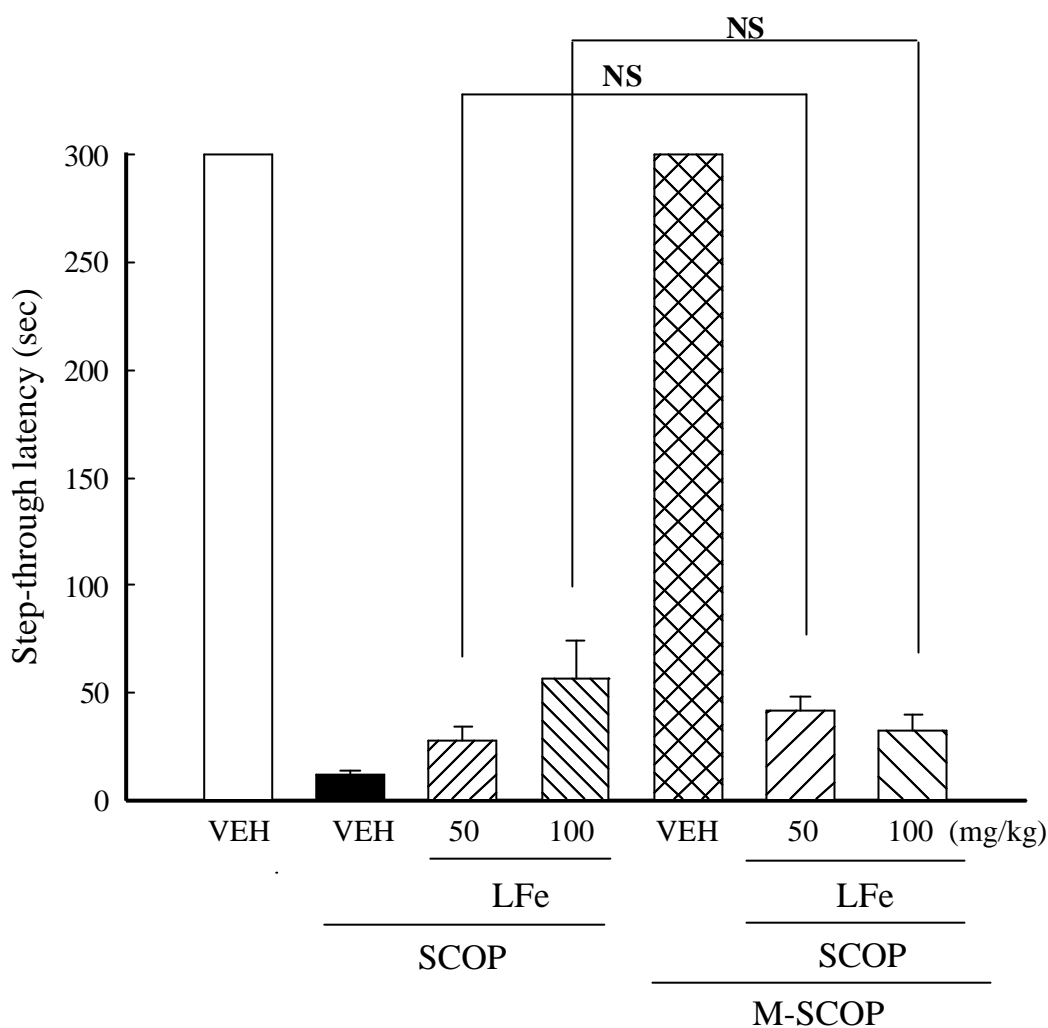


Fig. 8 Effect of M-SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) on the reversal from SCOP (0.5 mg/kg, i.p.)-induced impairment of passive avoidance performance treated with LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) in rats. NS:Non significant. N=8.

### 三、金銀花乙酸乙酯層萃取物對中樞膽鹼神經毒素 ethylcholine aziridinium 誘發學習記憶障礙之影響

中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 10 天 , 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.01$  ) ( 如 Fig. 9 )。金銀花乙酸乙酯層萃取物 ( 100 mg/kg ) , 具改善大鼠腦室輸注 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 所誘發大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 9 )。

中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 12 天 , 可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙 ( 如 Fig. 10、11、12 )。口服金銀花乙酸乙酯層萃取物 ( 50、100 mg/kg ) , 僅 50 mg/kg 可改善腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力及中長期參考記憶障礙之作用 ( 如 Fig. 10、11 ) , 但對腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠水迷宮工作記憶障礙並無改善作用 ( 如 Fig. 12 )。

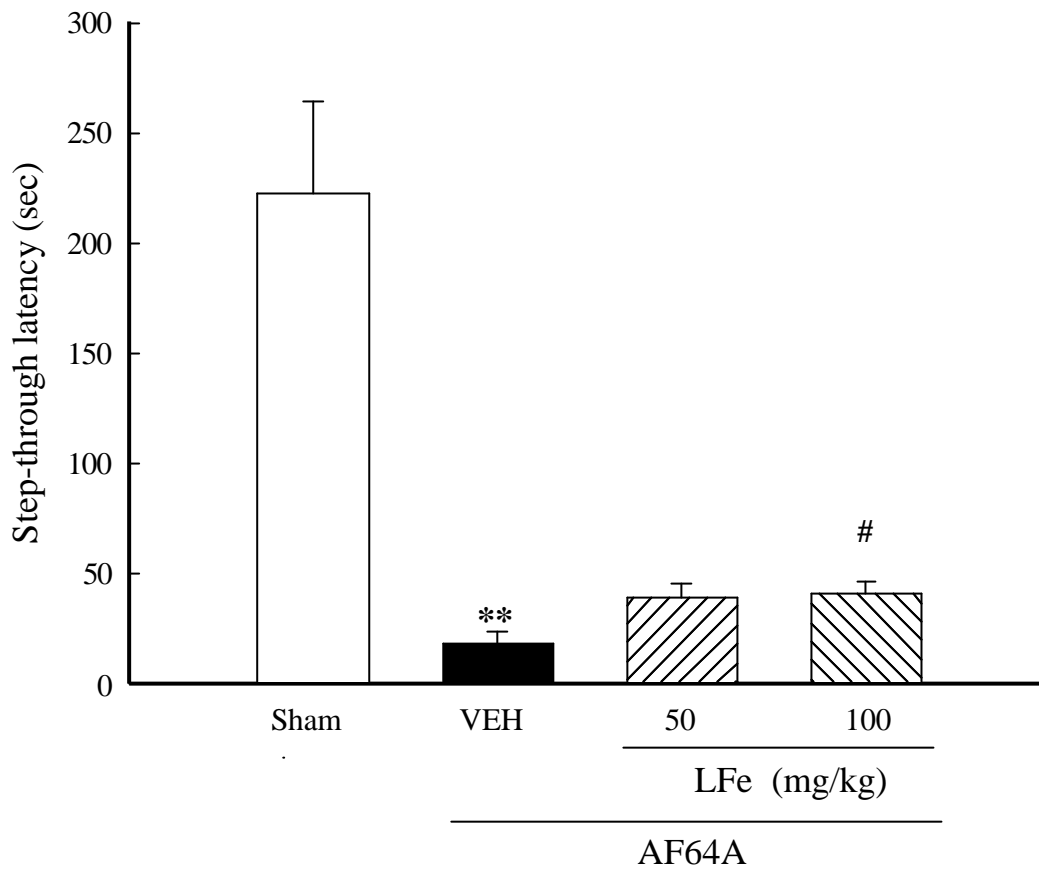


Fig. 9 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. N=8 \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. #  $p < 0.05$  compared with VEH/AF64A group. N=8.

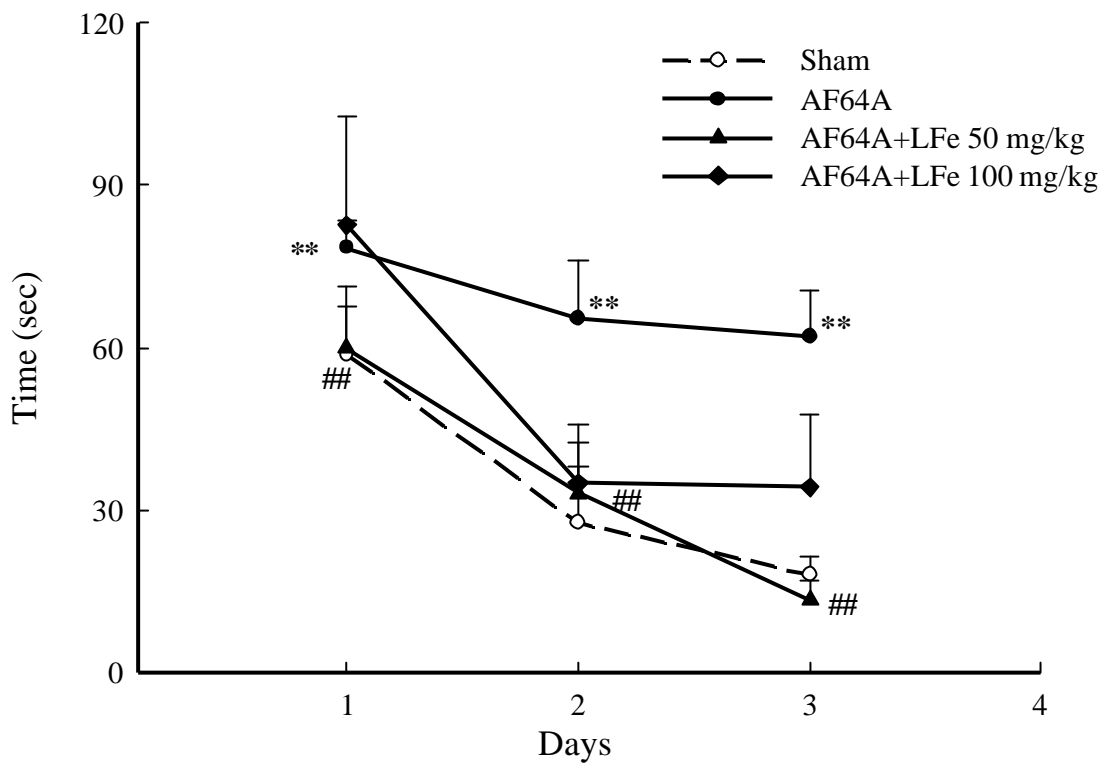


Fig. 10 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by AF64A (3 µg/20 µl/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. ##  $p < 0.01$  compared with AF64A group. N=8.



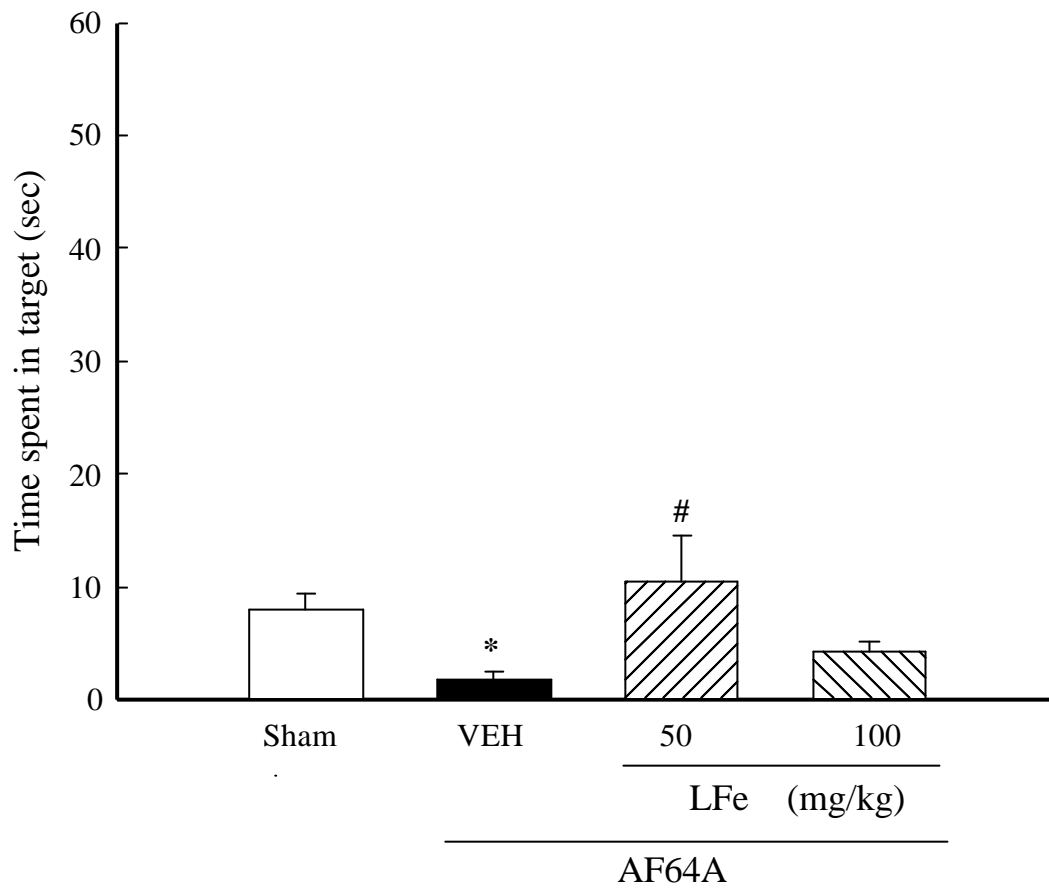


Fig. 11 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the deficit of reference memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group . #  $p < 0.05$ , compared with AF64A group. N=8.

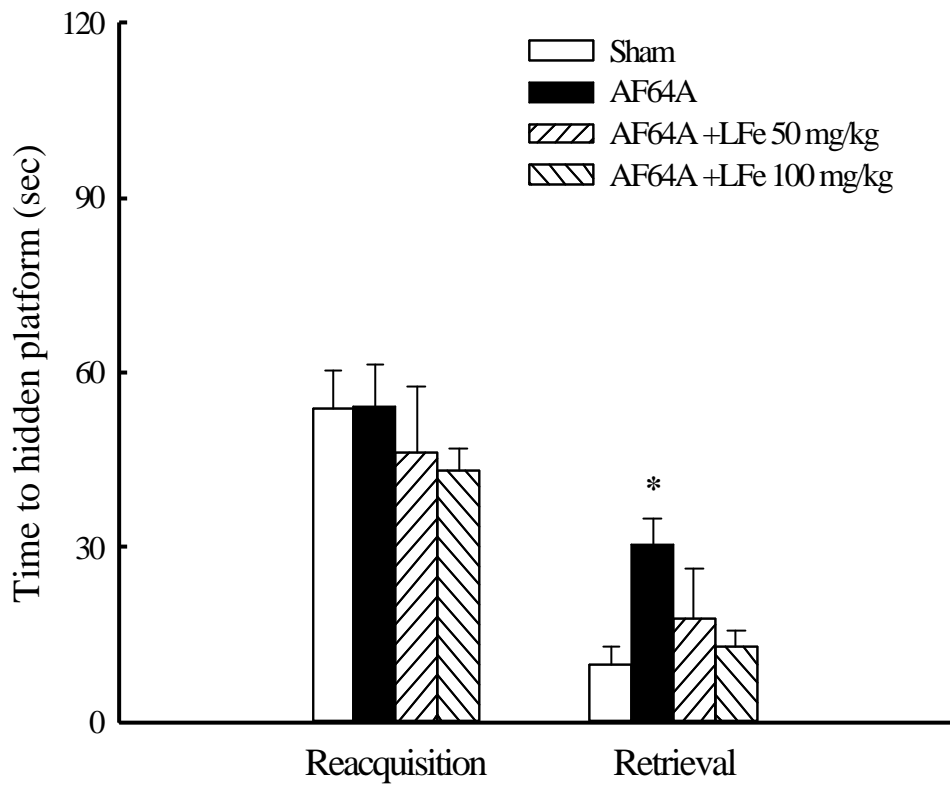


Fig. 12 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the deficit of working memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

#### 四、木犀草素改善學習記憶障礙與中樞神經系統之關係

##### 1. 木犀草素對中樞 catecholamine 神經毒素 6-hydroxydopamine 誘發學習記憶障礙之影響

中樞 catecholamine 神經毒素 6-OHDA( 250 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 14 天 , 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.001$  ) ( 如 Fig. 13 )。木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 不具改善大鼠腦室輸注 6-OHDA ( 250 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 所誘發大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 13 )。

中樞 catecholamine 神經毒素 6-OHDA( 250 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 16 天 , 可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶之障礙 ( 如 Fig. 14、15 ) , 但並不會造成工作記憶之障礙 ( 如 Fig. 16 )。口服木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 僅 10 mg/kg 可改善大鼠腦室輸注 6-OHDA 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力之障礙 ( 如 Fig. 14 )。但對大鼠腦室輸注 6-OHDA 所誘發大鼠水迷宮中長期參考記憶之障礙及工作記憶並無改善作用 ( 如 Fig. 15、16 )。

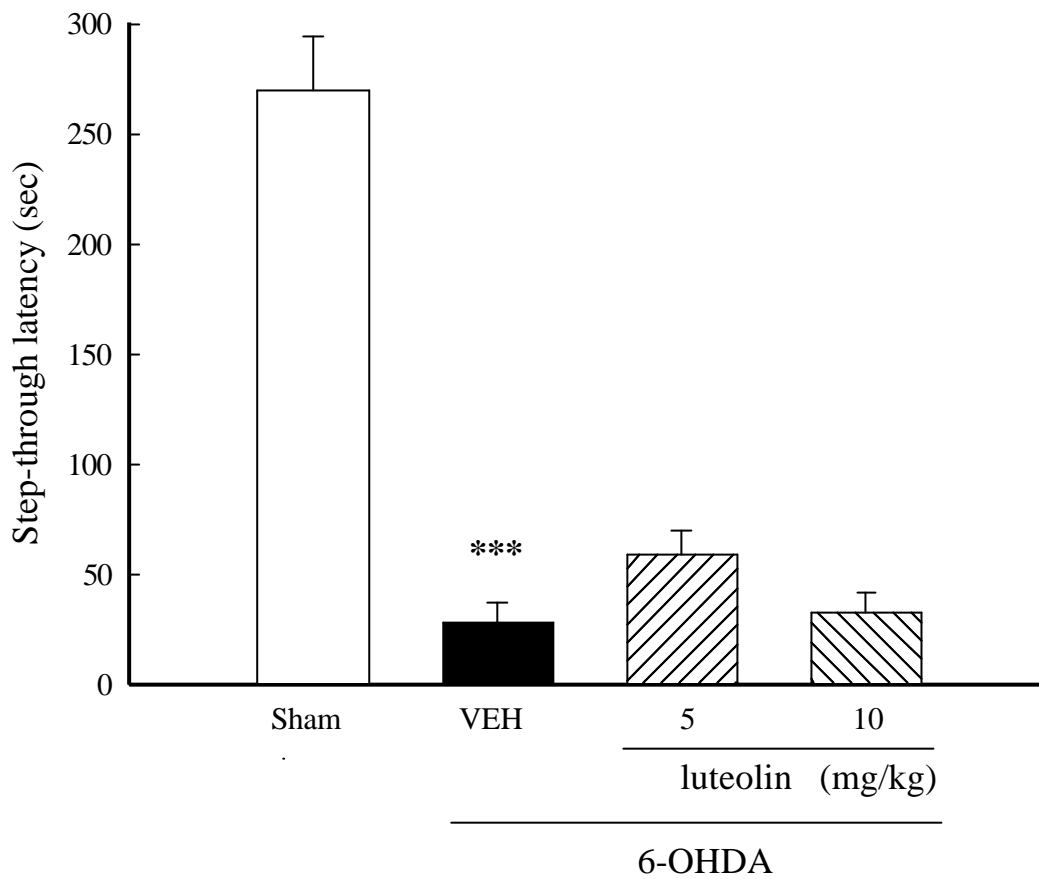


Fig. 13 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by 6-OHDA (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Sham group. N=8.

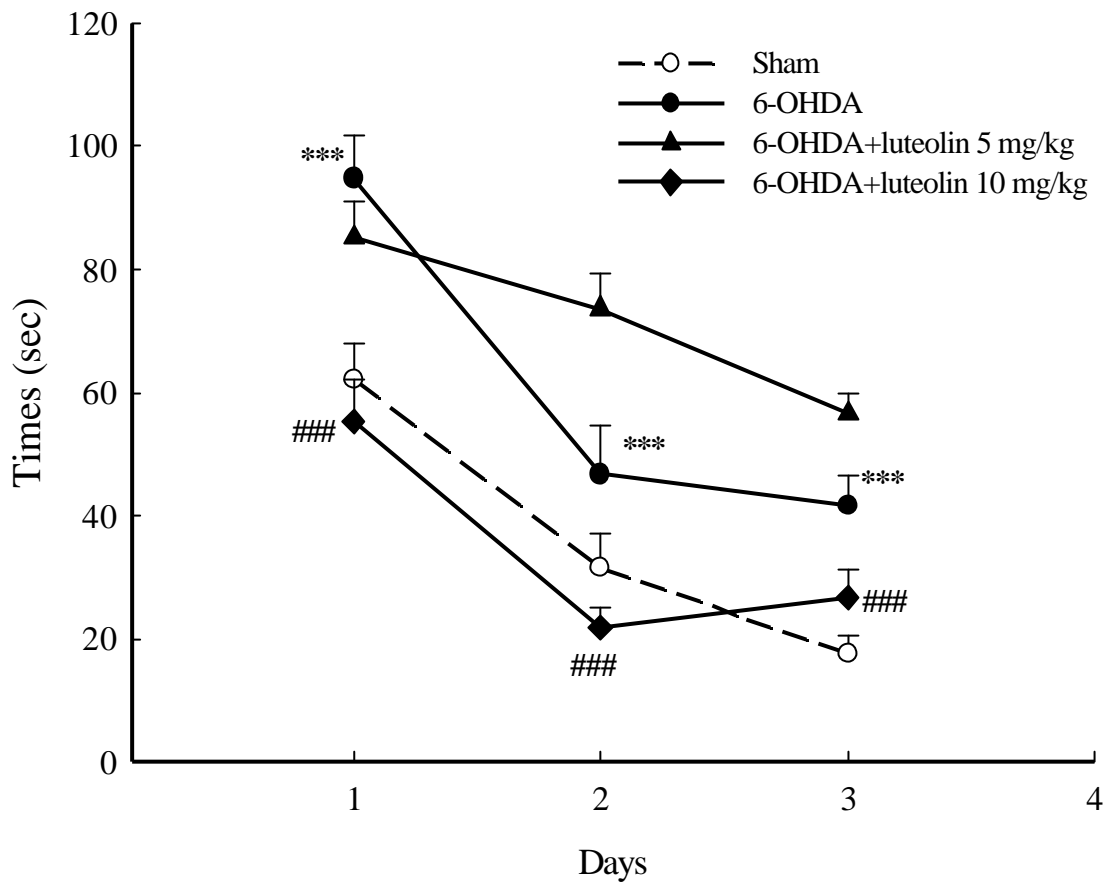


Fig. 14 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by 6-OHDA (250  $\mu$ g /20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Sham group, ###  $p < 0.001$  compared with 6-OHDA group. N=8.

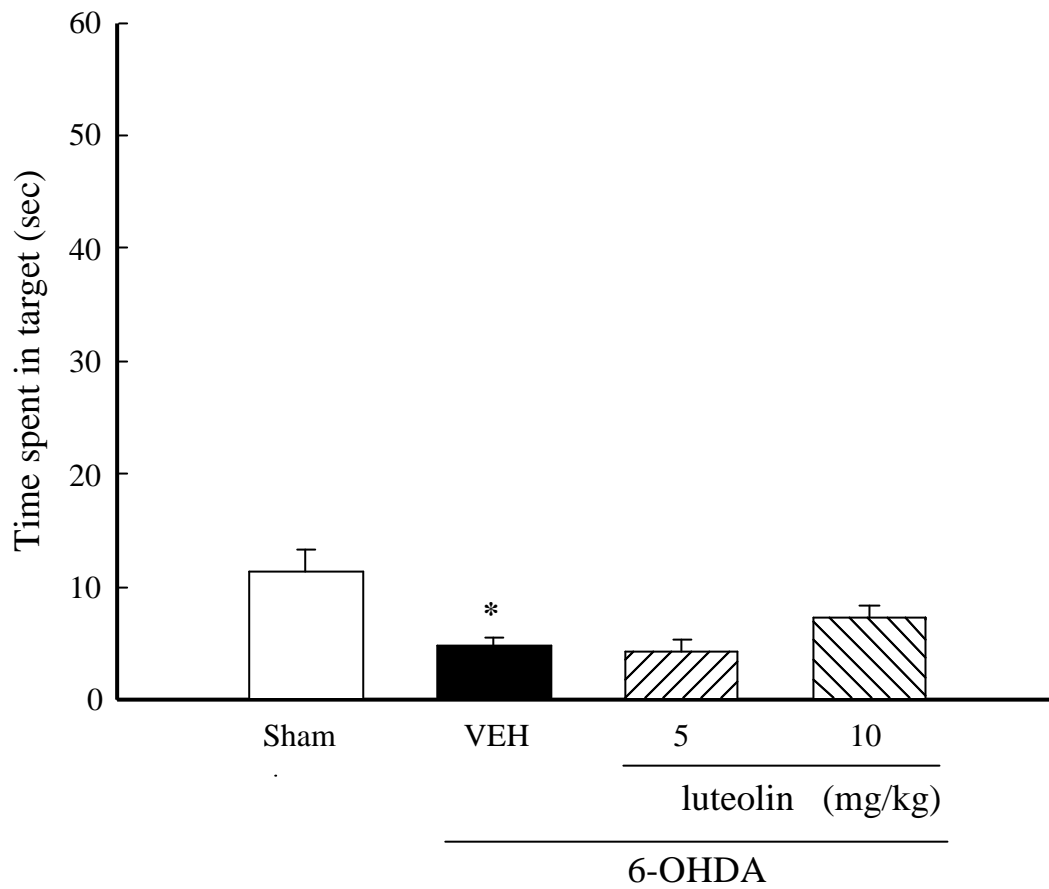


Fig. 15 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of reference memory induced by 6-OHDA (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

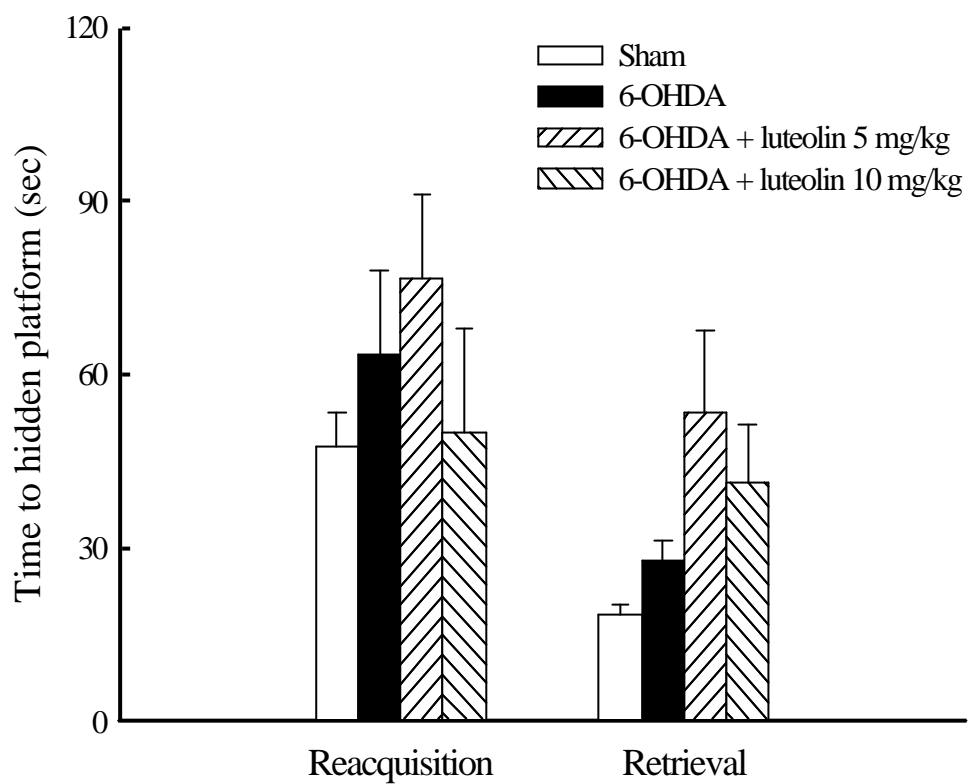


Fig. 16 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of working memory induced by 6-OHDA (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. N=8.

## 2. 木犀草素對中樞血清素神經毒素 5,7-dihydroxytryptamine 誘發學習記憶障礙之影響

中樞血清素神經毒素 5,7-DHT ( 250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 14 天 , 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.001$  ) ( 如 Fig. 17 )。木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 不具改善大鼠腦室輸注 5,7-DHT ( 250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 所誘發大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 17 )。

中樞血清素神經毒素 5,7-DHT ( 250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 16 天 , 可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙 ( 如 Fig. 18、19、20 )。口服木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 無法改善大鼠腦室輸注 5,7-DHT 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙 ( 如 Fig. 18、19、20 )。



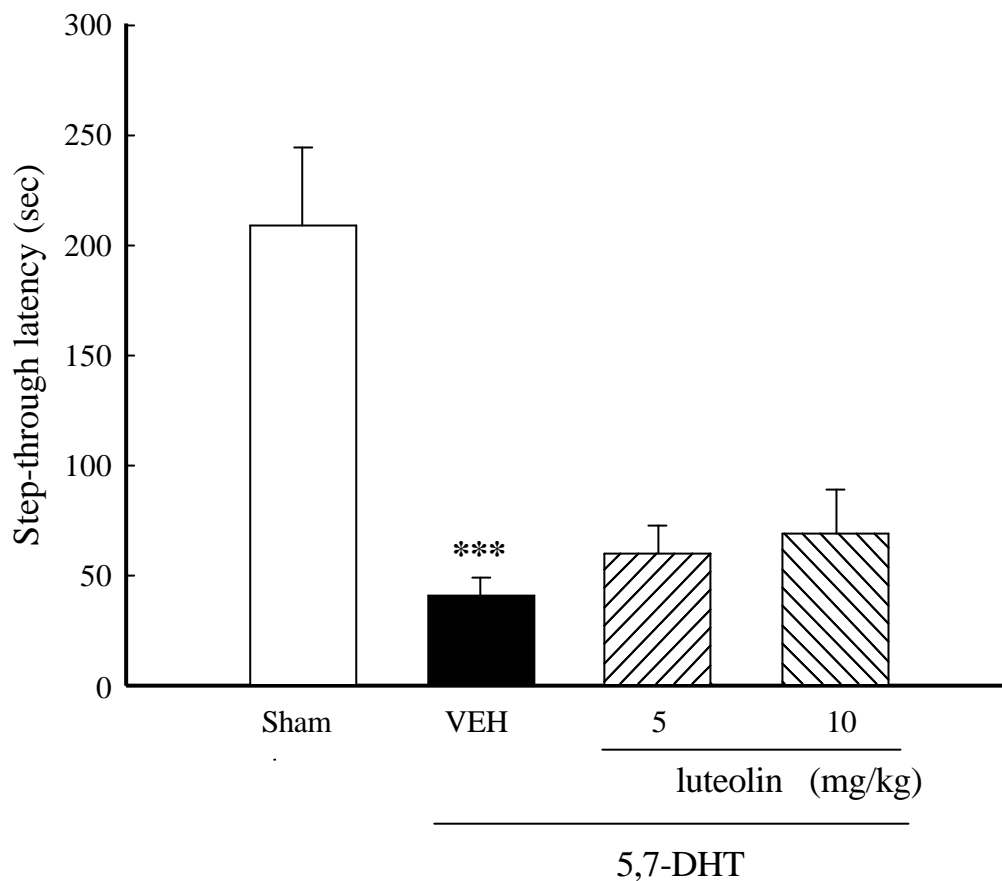


Fig. 17 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by 5,7-DHT (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Sham group. N=8.



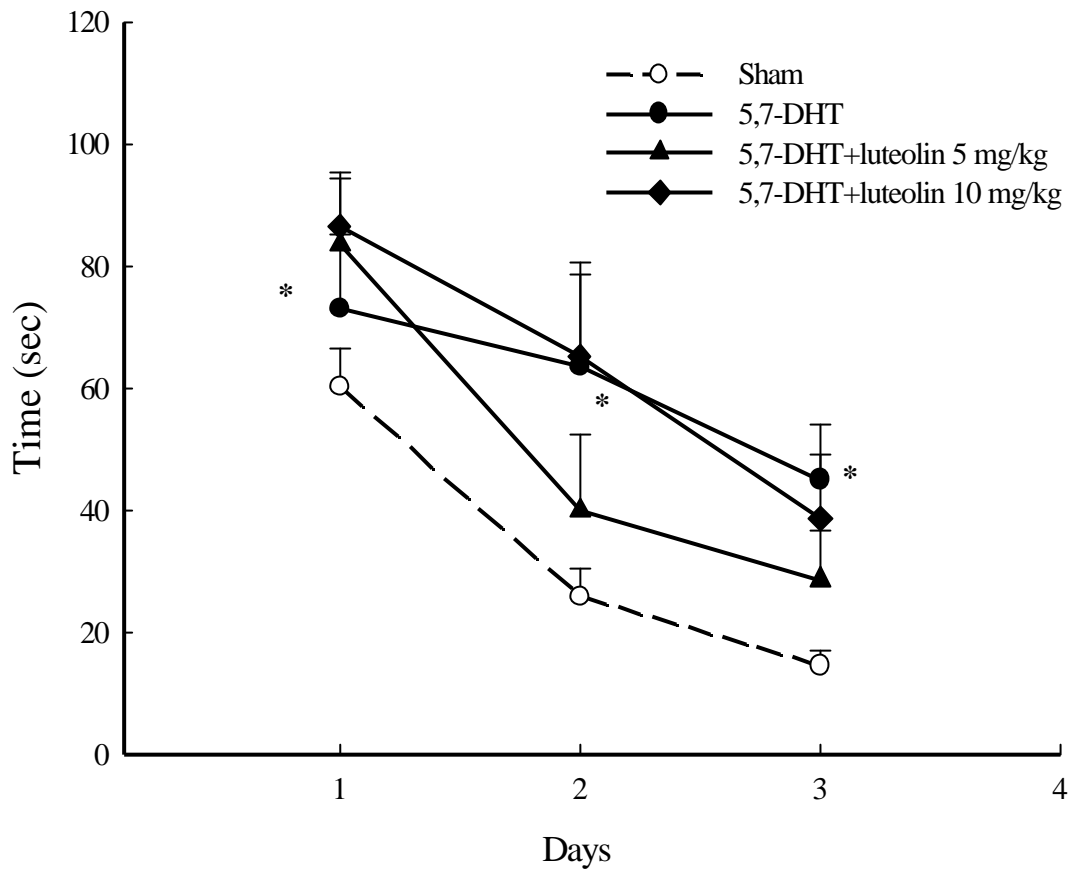


Fig. 18 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by 5,7-DHT (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

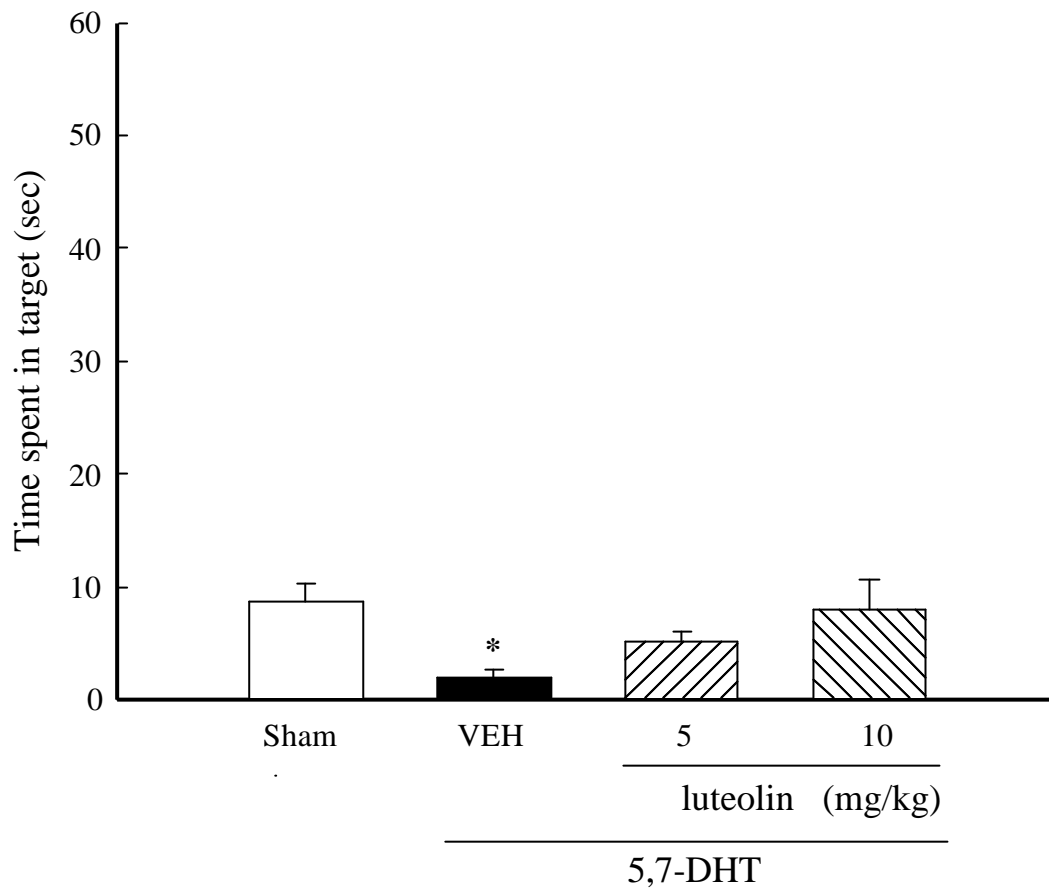


Fig. 19 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of reference memory induced by 5,7-DHT (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

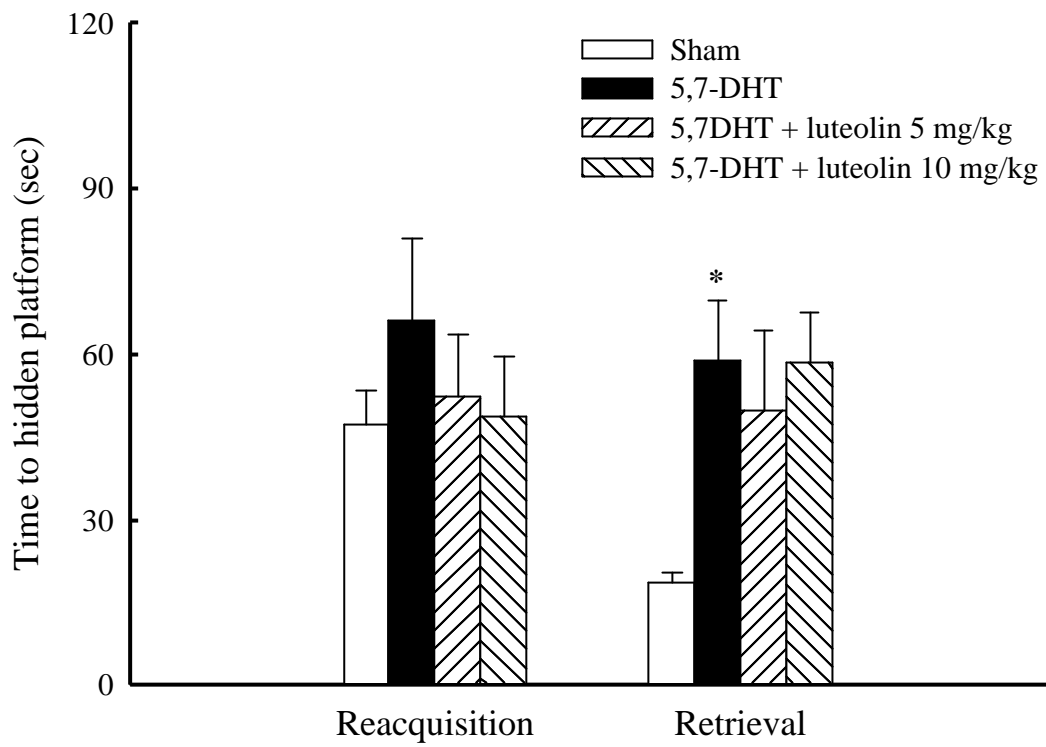


Fig. 20 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of working memory induced by 5,7-DHT (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

### 3. 木犀草素對中樞膽鹼神經毒 ethylcholine aziridinium 誘發學習記憶障礙之影響

中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 10 天, 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.01$  ) ( 如 Fig. 21 )。木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 具改善大鼠腦室輸注 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 21 )。

中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3  $\mu\text{g}/20 \mu\text{l}/\text{brain}$  , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 12 天, 可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶之障礙 ( 如 Fig. 22、23 ), 但並不會造成工作記憶之障礙 ( 如 Fig. 24 )。口服木犀草素 ( 5、10 mg/kg ) 可改善大鼠腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力及中長期參考記憶之障礙 ( 如 Fig. 22、23 ), 但對大鼠腦室輸注 AF64A 所誘發之大鼠水迷宮工作記憶障礙並無改善作用 ( 如 Fig. 24 )。

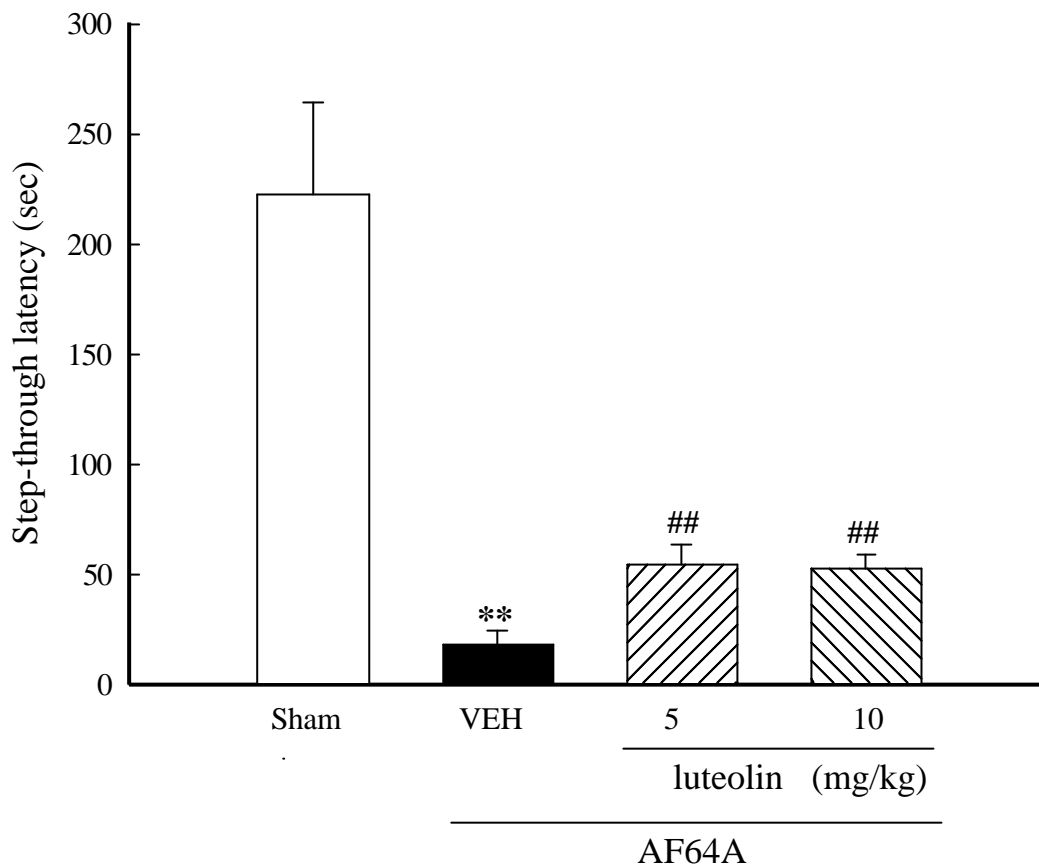


Fig. 21 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. ##  $p < 0.01$  compared with VEH/AF64A group. N=8.

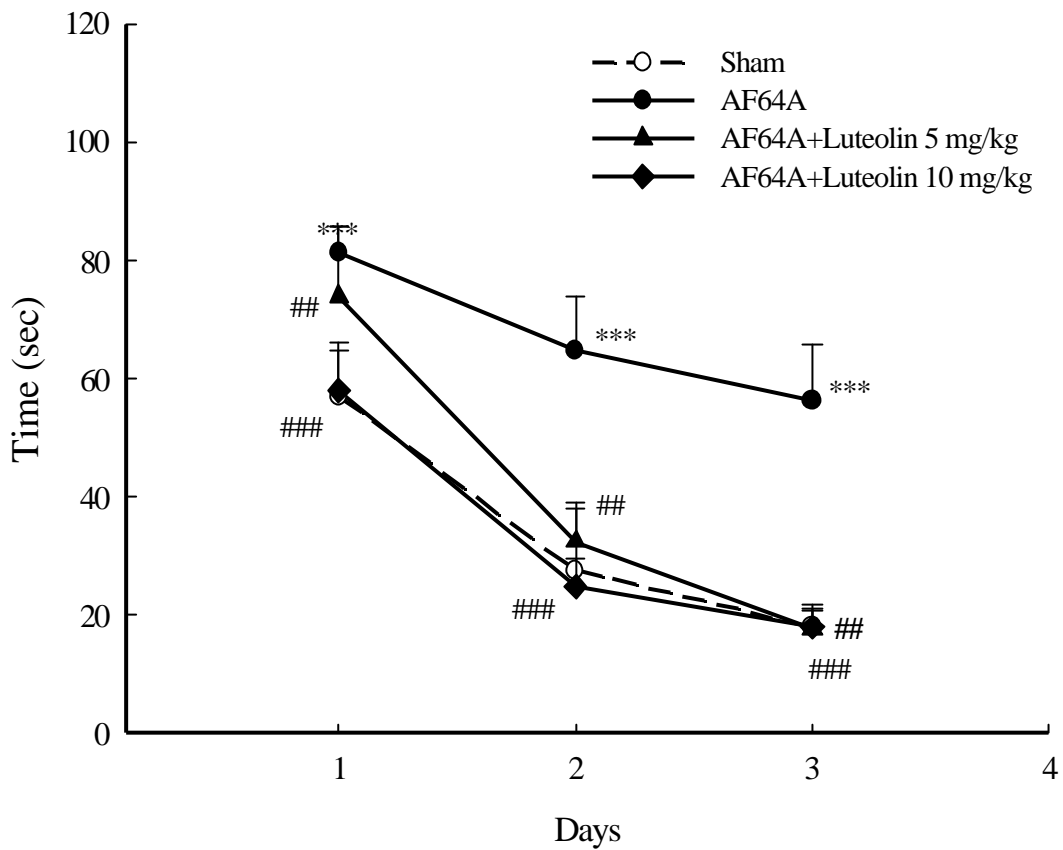


Fig. 22 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Sham group. ##  $p < 0.01$ , ###  $p < 0.001$  compared with AF64A group. N=8.

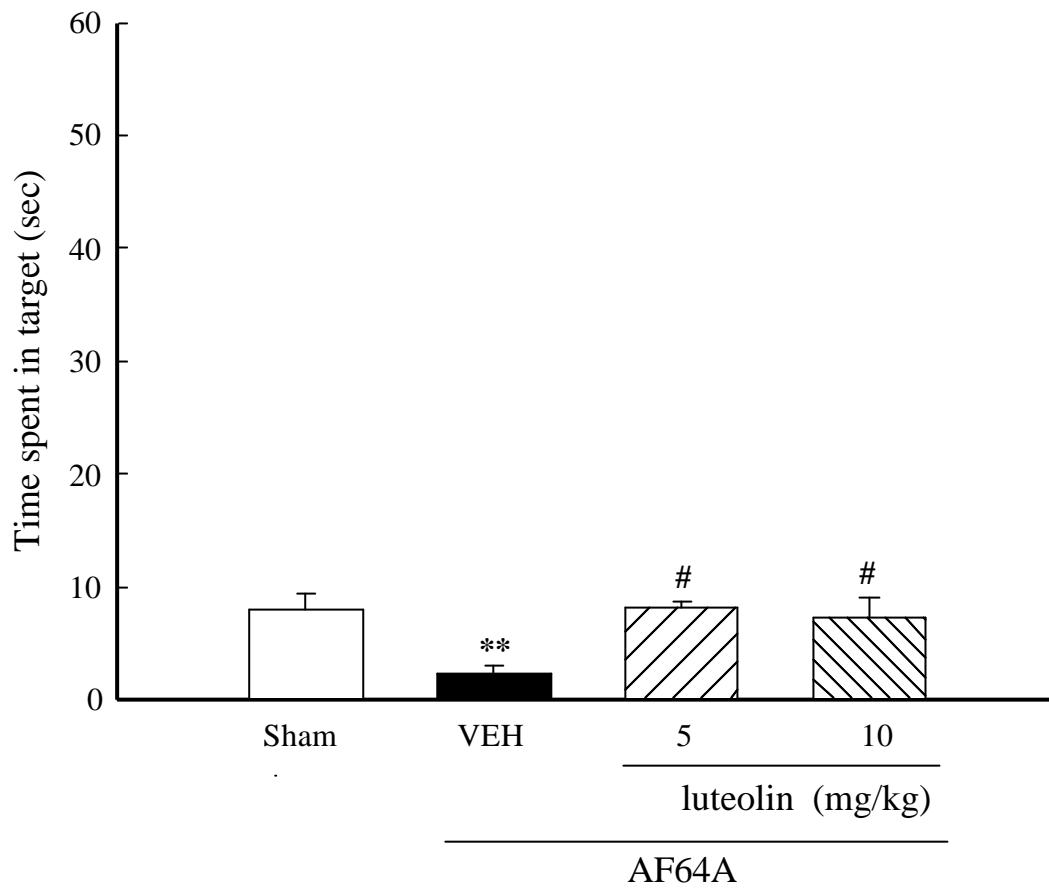


Fig. 23 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of reference memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. #  $p < 0.05$ , compared with AF64A group. N=8.



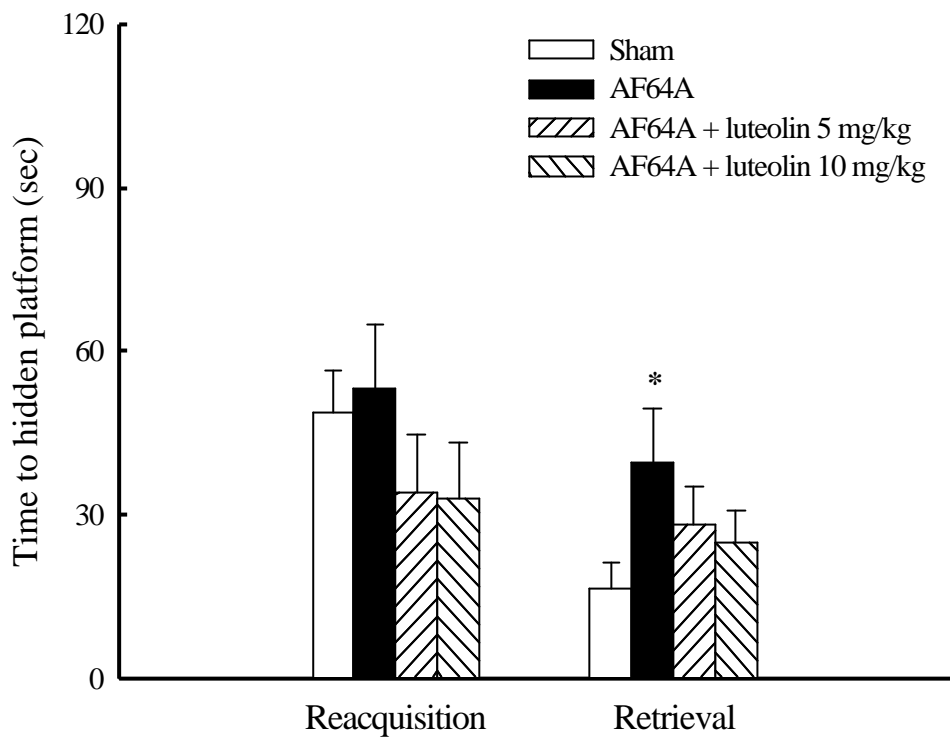


Fig. 24 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the deficit of working memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. N=8.

#### 4 . 木犀草素對中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 scopolamine 誘發學習障礙之影響

中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 SCOP ( 0.01 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 , 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.01$  ) ( 如 Fig. 25 ) 。 木犀草素 ( 10 mg/kg ) 具改善大鼠腦室輸注中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 SCOP ( 0.01 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 25 ) 。

中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 SCOP ( 0.01 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 , 亦可造成大鼠水迷宮空間操作能力之障礙 (  $p < 0.001$  ) ( 如 Fig. 26 ) 。 木犀草素 ( 10 mg/kg ) , 具改善大鼠腦室輸注中樞膽鹼神經 muscarinic 接受體拮抗劑 SCOP ( 0.01 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力之障礙 ( 如 Fig. 26 ) 。

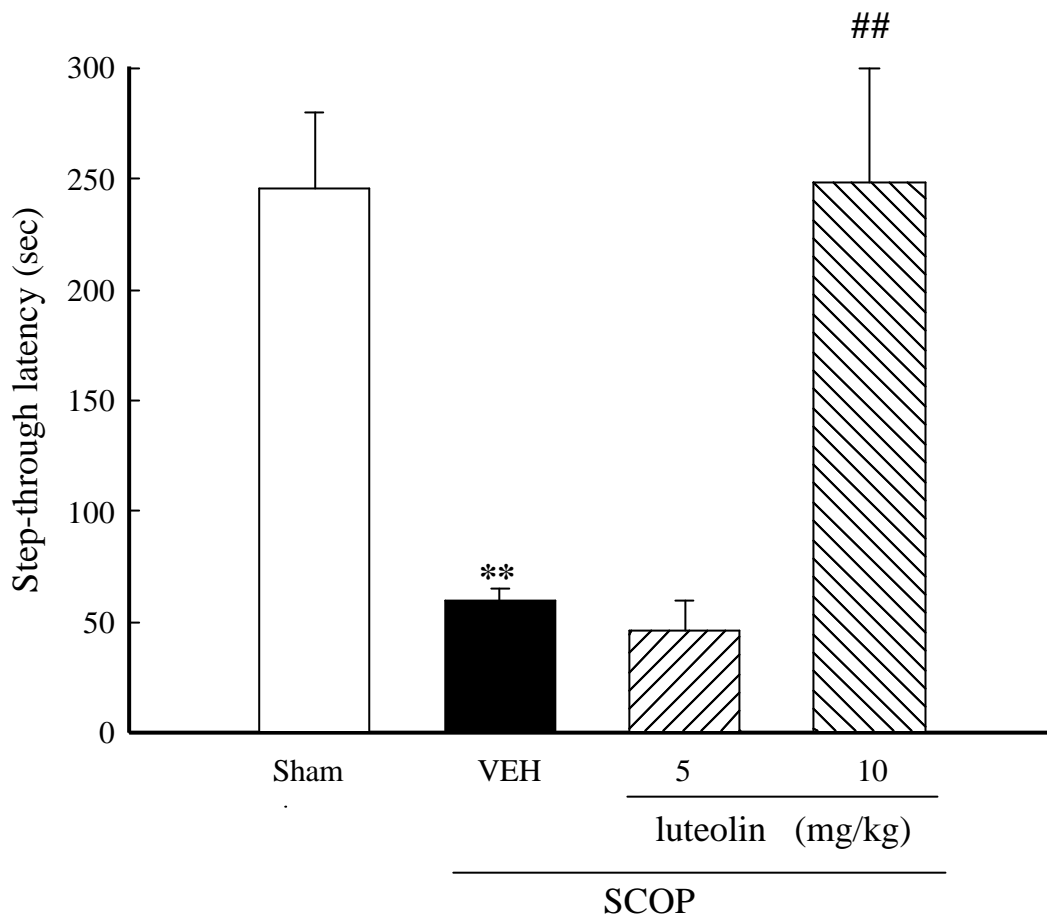


Fig. 25 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by SCOP (0.01 mg/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group, ##  $p < 0.01$  compared with VEH/SCOP group. N=8.

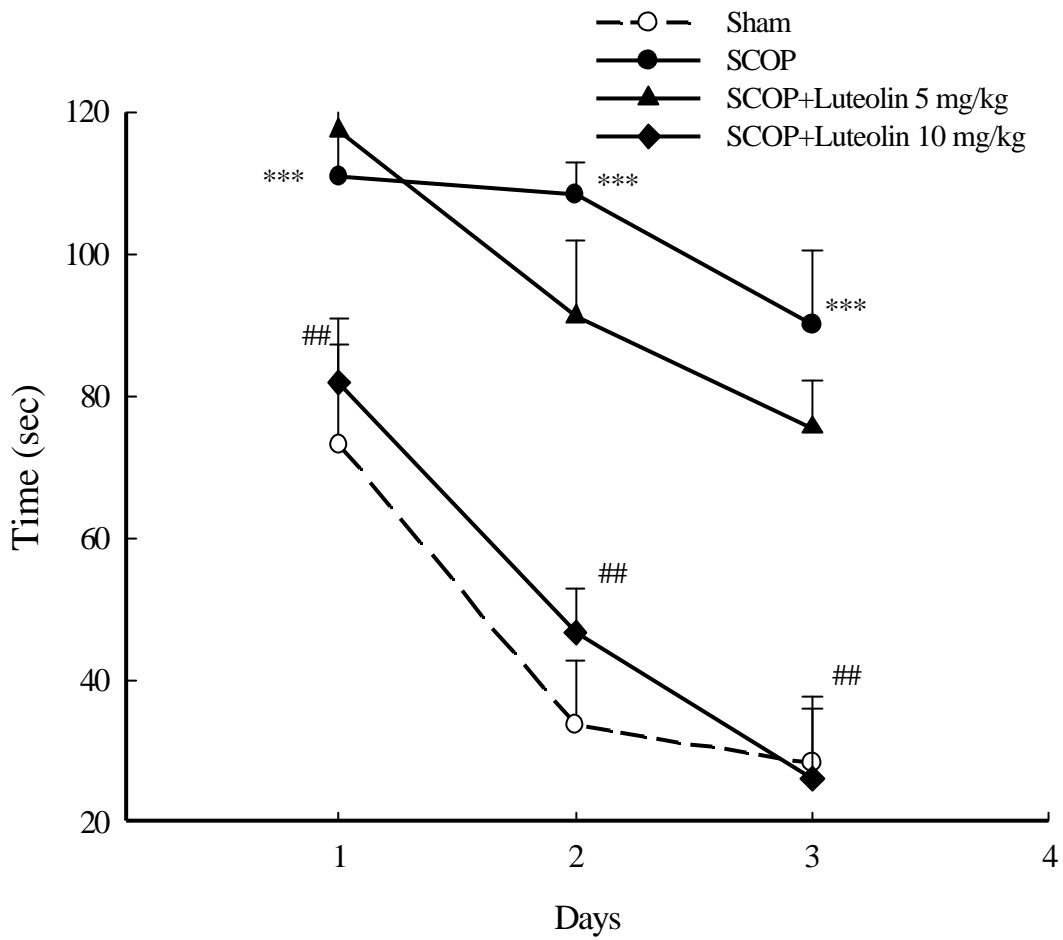


Fig. 26 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by SCOP (0.01 mg /20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Sham group, ##  $p < 0.01$  compared with SCOP group. N=8.

5. 木犀草素對中樞膽鹼神經 nicotinic 接受體拮抗劑  
mecamylamine 誘發學習障礙之影響

中樞膽鹼神經 nicotinic 接受體拮抗劑 MECA ( 0.03 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後, 可造成大鼠被動迴避學習操作障礙 (  $p < 0.01$  ) ( 如 Fig. 27 )。木犀草素 ( 5、 10 mg/kg ), 具改善大鼠腦室輸注中樞膽鹼神經 nicotinic 接受體拮抗劑 MECA ( 0.03 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( 如 Fig. 27 )。

中樞膽鹼神經 nicotinic 接受體拮抗劑 MECA ( 0.03 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後, 亦可造成大鼠水迷宮空間操作能力之障礙 (  $p < 0.01$  ) ( 如 Fig. 28 )。木犀草素 ( 5、 10 mg/kg ), 具改善大鼠腦室輸注中樞膽鹼神經 nicotinic 接受體拮抗劑 MECA ( 0.03 mg/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力之障礙 ( 如 Fig. 28 )。

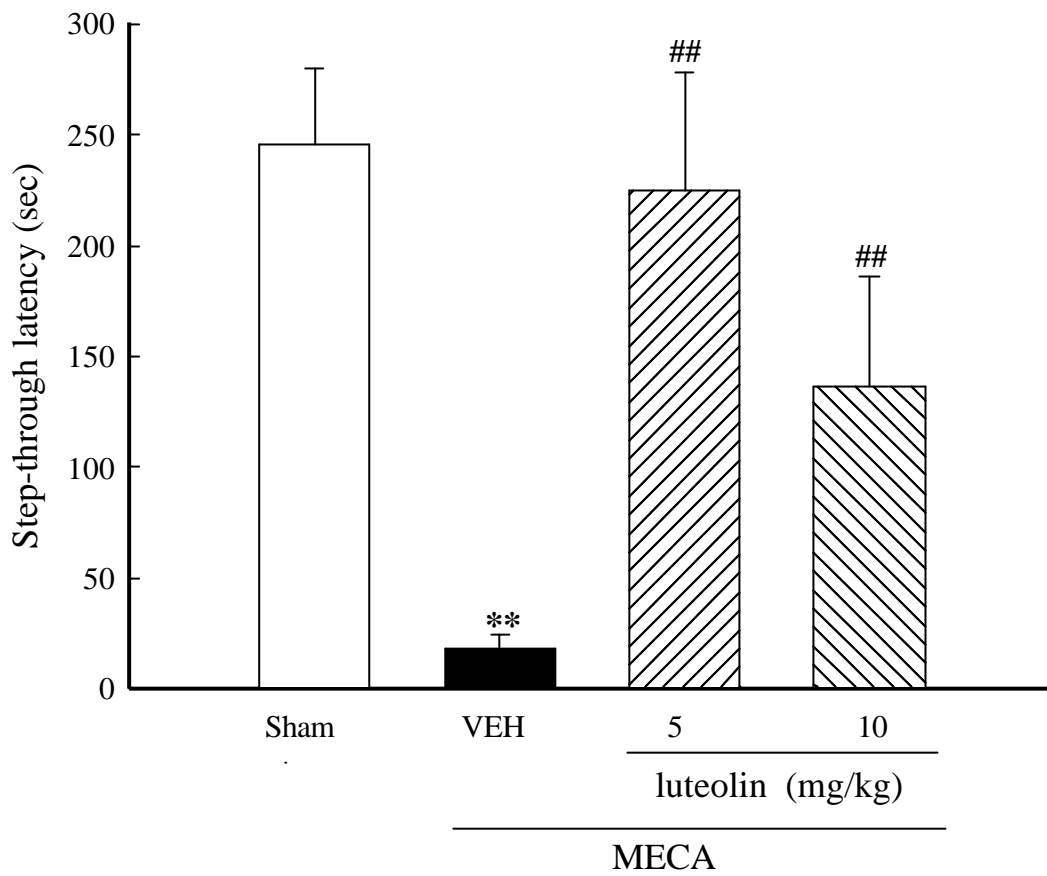


Fig. 27 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by MECA (0.03 mg/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group, ##  $p < 0.01$  compared with VEH/MECA group. N=8.

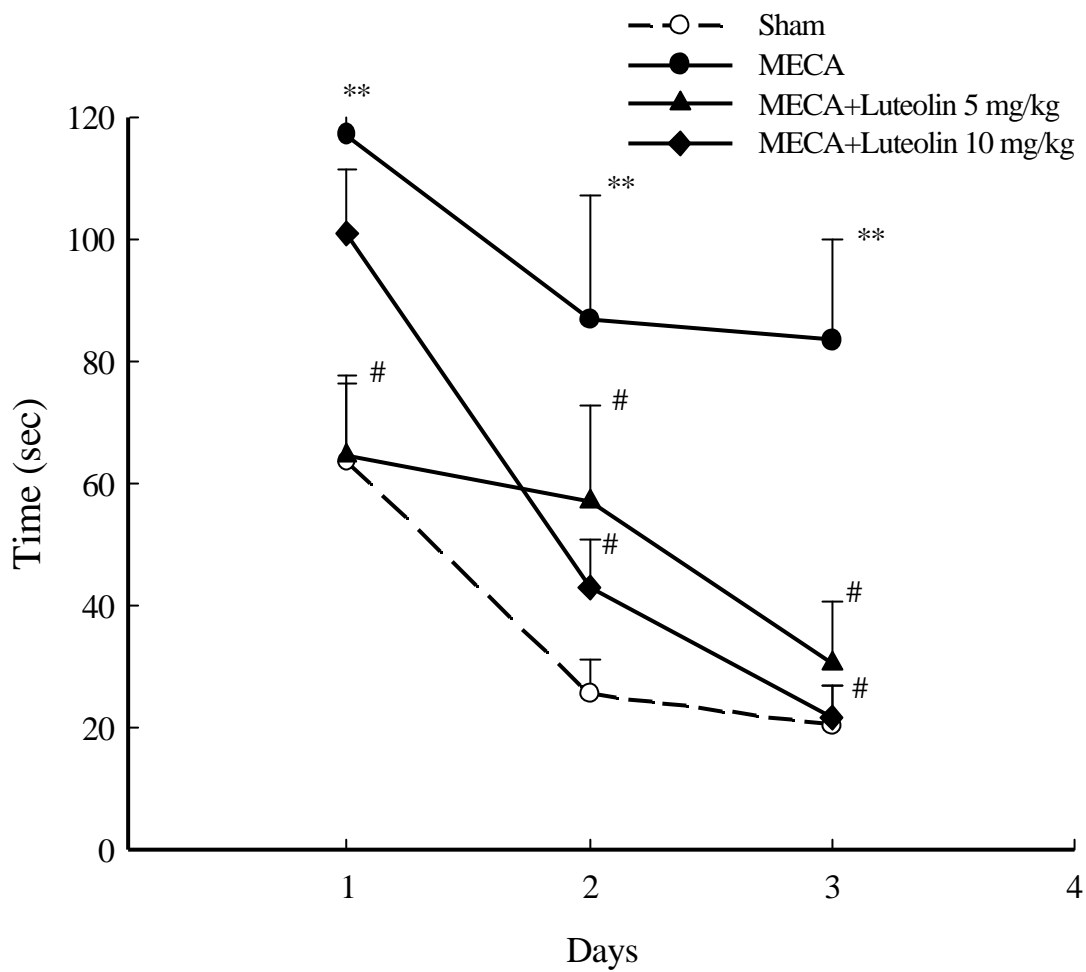


Fig. 28 Effect of luteolin (5 and 10 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by MECA (0.03 mg /20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group, #  $p < 0.05$  compared with MECA group. N=8.

## 第五章 討 論

傳統中醫藥有關痴呆理論，認為記憶歸屬於腦的功能，且云：「腎藏精，精生髓，腦為髓之海。<sup>(87)</sup>」，故歷代醫家常將善忘、痴呆之病因歸於腎精虧虛、髓海失養<sup>(87)</sup>；現代中醫辨症分型，將痴呆更細分為 6 大類：髓海不足型、脾腎兩虛型、肝腎歸損型、心肝火盛行、痰淤阻竅型、氣郁血淤型<sup>(6-7)</sup>。故本實驗期以金銀花補虛、養血、滋陰等功效，進而以學習記憶動物行為模式：被動迴避學習反應及水迷宮實驗，來探討金銀花及其成分木犀草素對於藥物誘導大鼠記憶障礙之被動迴避學習反應及水迷宮空間操作能力、中長期記憶及工作記憶能力之改善作用及其機轉。

然要探討中藥與學習記憶之相關性，應以神經傳遞物質為主軸，因學習過程中，突觸後細胞膜對乙醯膽鹼之敏感性增加，將促成記憶之形成；但當敏感性降低或受阻礙時，便導致健忘現象的發生。因此當乙醯膽鹼神經系統活性增加時，將促使學習記憶之形成，反之，活性降低時便會造成學習獲得障礙<sup>(88)</sup>。據 Drachman 及 Leavitt 發現年輕人在服用乙醯膽鹼接受器拮抗劑 SCOP 後，會產生類似老人癡呆症進行性健忘之症狀<sup>(64)</sup>，又 Quartermain 及 Leo 發現大鼠給予 SCOP 後，可使腦內 cortex、hippocampus、striatum 等區域之乙醯膽鹼減少，造成學習行為操作之障礙<sup>(65)</sup>。因此，抗健忘藥物大多以 SCOP 誘發大鼠學習獲得障礙，作為篩選及藥效評估模式，本研究亦依循此模式進行評估。本研究首先探討金銀花粗抽物對 SCOP 誘發大鼠被動迴避學習操作障礙之影響，結果顯示腹腔注射 SCOP 後確可誘發被動迴避學習操作障礙，而金銀花粗抽物口服後可改善 SCOP 誘發大鼠被動迴避學



習操作之障礙。進而將金銀花以氯仿、乙酸乙酯、正丁醇等溶媒萃取得氯仿、乙酸乙酯、正丁醇及水等各分層之萃取物藉以探討金銀花改善大鼠學習記憶障礙之有效成分，結果顯示各分層萃取物口服 50、100 mg/kg，僅乙酸乙酯層及水層之萃取物均可改善 SCOP 誘發大鼠被動迴避學習操作之障礙，其中尤以乙酸乙酯層萃取物之效果最佳。綜合上述研究結果顯示，金銀花具改善 SCOP 誘發大鼠被動迴避學習操作障礙之作用，其有效成分主要存在於乙酸乙酯層。

Wenk 於 1989 年指出智能增進劑之作用機轉，與活化週邊神經系統、腎上腺及中樞神經系統有關<sup>(89)</sup>，故本研究接著針對金銀花乙酸乙酯層萃取物改善學習記憶作用是否與活化週邊神經系統有關進行探討。已有許多學者報告指出智能增進劑之作用可被週邊乙醯膽鹼拮抗劑 M-SCOP 所抑制，因 M-SCOP 以 methyl group 取代 hydrogen，不能通過 blood-brain-barrier，故藉以說明其作用與活化週邊乙醯膽鹼神經系統有關<sup>(90)</sup>。本研究結果發現金銀花乙酸乙酯層萃取物改善 SCOP 誘發大鼠被動迴避學習操作障礙之作用並不會被 M-SCOP 所阻斷，顯示金銀花乙酸乙酯層萃取物改善學習障礙之作用與週邊乙醯膽鹼神經系統無關。因而，本研究接著探討金銀花乙酸乙酯層萃取物改善大鼠學習記憶障礙之作用是否與中樞膽鹼神經系統有關。據 Beninger 等人於 1985 年研究報告指出，於大鼠側腦室給予乙醯膽鹼神經毒素 AF64A 會造成腦內乙醯膽鹼神經元的退化萎縮，降低 hippocampus 和 frontal cortex 間乙醯膽鹼含量，且會造成大鼠被動迴避學習操作障礙及水迷宮空間操作能力、參考記憶及工作記憶之障礙<sup>(91)</sup>。本研究以中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 10 天，可造成大鼠被動迴避學習操作障礙；12

天後，可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙，此與 Beninger 等人於研究報告相符<sup>(91)</sup>。口服金銀花乙酸乙酯層萃取物後，具改善大鼠腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠被動迴避學習操作障礙、水迷宮空間操作能力及中長期參考記憶障礙之作用，但對腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠水迷宮工作記憶障礙並無改善作用。綜合上述，金銀花乙酸乙酯層萃取物改善大鼠學習記憶障礙之作用可能經由中樞膽鹼神經系統，而與週邊乙醯膽鹼神經系統無關。

木犀草素為金銀花乙酸乙酯層活性成分之一<sup>(92)</sup>，且按上述研究結果金銀花乙酸乙酯層改善大鼠學習記憶障礙可能經活化中樞膽鹼神經系統；因此，本研究先以側腦室輸注各類中樞神經系統神經毒素誘發大鼠學習記憶障礙來探討金銀花乙酸乙酯層成分木犀草素與中樞神經系統之關係。

首先，以側腦室輸注中樞 catecholaminergic system 神經毒素 6-OHDA 誘發大鼠學習記憶障礙來探討金銀花乙酸乙酯層成分木犀草素與中樞 catecholaminergic system 之關係。據 Pan 和 Narang 研究報告指出中樞 catecholaminergic system 神經毒素 6-OHDA 可造成突觸前神經節截斷退化，誘發動物學習記憶操作能力之障礙<sup>(93-94)</sup>。本研究結果發現中樞 catecholamine 神經毒素 6-OHDA ( 250 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 14 天，可造成大鼠被動迴避學習操作障礙； 16 天後，則可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶障礙，此與 Pan 和 Narang 等人之研究報告相符<sup>(93-94)</sup>。但口服木犀草素，僅 10 mg/kg 具改善大鼠腦室輸注 6-OHDA 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力障礙之作用。其次，以側腦室輸注中樞 serotonergic system 神經毒素 5,7-DHT 誘發大鼠學習記憶障礙來探討

金銀花乙酸乙酯層成分木犀草素與中樞 serotonergic system 之關係。據 Patel 和 Ricaurte 等人研究報告指出中樞 serotonergic system 神經毒素 5,7-DHT 可造成突觸前神經節截斷退化，誘發動物學習記憶操作能力障礙<sup>(95-96)</sup>。本研究結果發現中樞 serotonergic system 神經毒素 5,7-DHT ( 250 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 14 天，可造成大鼠被動迴避學習操作障礙；16 天後，可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現障礙，此與 Patel 和 Ricaurte 等人之研究報告相符<sup>(95-96)</sup>。但口服木犀草素，不論於何種實驗劑量下均無法改善大鼠腦室輸注 5,7-DHT 所誘發大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙。最後，以側腦室輸注中樞膽鹼神經毒素 AF64A 誘發大鼠學習記憶障礙來探討金銀花乙酸乙酯層成分木犀草素與中樞膽鹼神經系統之關係。據 Beninger 等人研究報告指出，大鼠側腦室給予乙醯膽鹼神經毒素 AF64A 會造成腦內乙醯膽鹼神經元的退化萎縮，降低 hippocampal 和 frontal cortex 間乙醯膽鹼含量，且造成大鼠被動迴避學習操作障礙及水迷宮空間操作能力、參考記憶及工作記憶之障礙<sup>(91)</sup>。本研究結果發現中樞膽鹼神經毒素 AF64A ( 3 µg/20 µl/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後 10 天，可造成大鼠被動迴避學習操作障礙；12 天後，可造成大鼠水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現之障礙，此與 Beninger 等人之研究報告相符<sup>(91)</sup>。而口服木犀草素後，具改善大鼠腦室輸注 AF64A 所誘發大鼠被動迴避學習操作、大鼠水迷宮空間操作能力及中長期參考記憶障礙之作用。

綜合上述研究結果，顯示木犀草素具改善學習記憶障礙之作用，其主要機轉可能與活化中樞膽鹼神經系統有關；而於較大劑量 ( 10

mg/kg) 下亦可能與活化中樞 catecholaminergic system 有關。

因此，本研究更進一步以側腦室輸注 muscarinic 接受器拮抗劑 SCOP 及 nicotinic 接受器拮抗劑 MECA 誘發學習記憶障礙來探討金銀花乙酸乙酯層成分木犀草素改善學習記憶障礙作用與中樞膽鹼神經接受器之關係。據 Eric 等人研究報告指出大鼠給予 SCOP 後，可造成學習行為操作之障礙<sup>(97)</sup>。本研究結果發現中樞 muscarinic 接受器拮抗劑 SCOP ( 10  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後，可造成大鼠被動迴避學習操作障礙、水迷宮空間操作能力之障礙，此與 Eric 等人研究報告相符<sup>(97)</sup>。而口服木犀草素後，僅 10 mg/kg 具改善大鼠腦室輸注 muscarinic 接受器拮抗劑 SCOP 所誘發大鼠被動迴避學習操作及水迷宮空間操作能力障礙之作用。又據 Decker 等人研究指出 nicotinic 接受器拮抗劑 MECA 可使腦內乙醯膽鹼神經系統活性降低，而造成大鼠學習記憶障礙<sup>(98)</sup>。本研究結果發現中樞 nicotinic 接受器拮抗劑 MECA ( 30  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain , i.c.v. ) 經側腦室輸注予大鼠後，可造成大鼠被動迴避學習操作及水迷宮空間操作能力之障礙，此與 Decker 等人之研究報告相符<sup>(98)</sup>。而口服木犀草素後，不論何種實驗劑量下均具改善大鼠腦室輸注 nicotinic 接受器拮抗劑 MECA 所誘發大鼠被動迴避學習操作及水迷宮空間操作能力障礙之作用。綜合上述研究結果，顯示木犀草素改善學習記憶障礙之主要作用機轉可能係經作用於中樞 muscarinic 接受體及 nicotinic 接受體以活化中樞膽鹼神經系統之活性。

綜合以上研究結果，顯示金銀花改善學習記憶障礙之成分可能存在於乙酸乙酯層中，而木犀草素即為其活性成分之一；至於木犀草素改善學習記憶障礙之作用機轉與週邊神經系統無關，而與中樞膽鹼神

經系統及 catecholaminergic system 有關，且可能係經作用於中樞 muscarinic 接受體及 nicotinic 接受體以活化中樞膽鹼神經系統之活性所致。

## 第六章 結 論

本論文之研究結果顯示，金銀花粗提取物具改善大鼠 SCOP 誘發被動迴避學習操作障礙之作用，而各分層中以乙酸乙酯層萃取物對大鼠 SCOP 誘發被動迴避學習操作障礙有較佳之改善作用，且此作用不被週邊乙醯膽鹼拮抗劑 M-SCOP 所阻斷。其次，乙酸乙酯層萃取物具改善中樞膽鹼神經毒素 AF64A 經側腦室輸注後誘發大鼠被動迴避學習操作、水迷宮空間操作、中長期參考記憶及記憶再現等障礙之作用。綜合上述結果顯示金銀花改善學習記憶障礙之成分應在乙酸乙酯層，且其作用機轉主要與中樞膽鹼神經系統有關，而與週邊乙醯膽鹼神經系統無關。

本研究進一步探討乙酸乙酯層成分-木犀草素改善學習記憶障礙作用與中樞神經系統之關係。木犀草素亦具改善中樞膽鹼神經毒素 AF64A、兒茶胺神經毒素 6-OHDA 經腦室輸注誘發大鼠被動迴避學習操作、水迷宮空間操作、中長期參考記憶等障礙之作用，但對腦室輸注中樞血清素神經毒素 5,7-DHT 引起之障礙則不具改善作用。進一步發現木犀草素對腦室輸注 muscarinic 接受器拮抗劑 SCOP 及 nicotinic 接受器拮抗劑 MECA 誘發大鼠被動迴避學習操作及水迷宮空間操作障礙均具改善作用。綜合上述結果可知木犀草素具改善學習記憶障礙作用，其作用機轉可能與活化中樞膽鹼神經及兒茶胺神經系統有關，且主要是經由 muscarinic 及 nicotinic 接受器來活化中樞膽鹼神經系統。

總而言之，金銀花具改善學習記憶障礙之作用，而其活性成分存在於乙酸乙酯層，木犀草素即為該層活性成分之一，而木犀草素改善

學習記憶障礙之作用機轉可能與活化中樞膽鹼神經及兒茶胺神經系統有關，且主要是經由 muscarinic 及 nicotinic 接受器來活化中樞膽鹼神經系統所致。

## 謝辭

本論文承蒙陳所長介甫博士及顏教授焜熒博士指導與教誨，方能順利完成，由衷感謝，永誌難忘。

「食果子拜樹頭，食米飯敬鋤頭」，首先感謝我的共同指導教授，也是我的前任直屬長官謝校長明村博士，教導我做人處世的道理，且一直鼓勵我繼續進修，讓我有動力報考中藥所及完成這份論文；更感謝張所長永勳博士給我這個在職進修的機會。二、三年的進修期間感謝我的主任，也是我的共同指導教授彭教授文煌博士，於課業上的指導及工作上的體諒，永銘腑內，由衷感激。

我的指導教授吳教授啟瑞博士，是位學富五車的老師，在五分師徒、五分朋友的情形下，勞心勞力的教誨我這位學生，他所下的苦心作為學生的我更是不知何以為報。本論文的完成更要感謝陳主任忠川博士、葉教授豐次博士、謝教授文全博士、邱技正年永等恩師的指導教誨與支持鼓勵。

此外，感謝林立偉學長、蔡汎修學長、鄭皓元學長及同窗好友呂宗俊、吳國任於課業上、實驗上及精神上的協助與鼓勵，更感謝動物中心同事林湧達、葛宗諭、鄭承瑋在工作上的幫忙，感謝學妹黃美月、朱姮音及林君茹小姐的鼓勵，感謝 感謝支持我、鼓勵我的每一位，謝謝您們。

最後，我要親手獻上此篇論文給我最敬愛的父親，感謝有您，才有今天的我，希望您能為我高興。