

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 期中進度報告

## 探討中藥智能增強之行為藥理及其分子訊息傳導與基因表現之研究(1/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2320-B-039-033-

執行期間：92年08月01日至93年07月31日

執行單位：中國醫藥大學藥學研究所

計畫主持人：謝明村

共同主持人：吳啟瑞，黃國華

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 6 月 9 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 探討中藥智能增強之行為藥理及其分子訊息傳導與基因表現之研究(1/3)

### Studies on behavior pharmacology, molecular signal transduction and gene expression of the chinese cognitive enchaning herbs(1/3)

計畫編號：NSC92-2320-B039-033

執行期限：92年8月1日至93年7月31日

主持人：謝明村 執行機構及單位名稱：中國醫藥大學中國藥學研究所

#### 一、中文摘要

本研究針對金銀花粗抽物及各分層萃取物改善藥物誘發大鼠記憶障礙作用及其機轉進行研究，首先以 scopolamine 誘發大鼠被動迴避學習操作障礙作為評估模式，來探討金銀花改善學習記憶障礙之作用。結果發現金銀花粗提取物具改善大鼠 scopolamine 誘發被動迴避學習操作障礙之作用，而各分層則以乙酸乙酯層之作用較佳。其次，探討金銀花改善學習記憶障礙與中樞神經系統及週邊神經系統間之關係，金銀花乙酸乙酯層改善學習記憶障礙之作用不被週邊神經拮抗劑 scopolamine methylbromide 所阻斷；更發現乙酸乙酯層對中樞神經毒素 AF64A 誘發大鼠被動迴避學習操作、水迷宮空間操作能力、中長期參考記憶及記憶再現等障礙具改善作用。

綜合上述結果，金銀花具改善學習記憶障礙之作用，其活性成分存在於乙酸乙酯層，而其改善學習記憶障礙之作用機轉可能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。

**關鍵詞：**金銀花、學習記憶、被動迴避學習操作、水迷宮

#### Abstract

This present study was aimed to investigate the ameliorating effects and its mechanism of Flos Lonicerae on drug-induced memory impairment in rats. First, we evaluate the ameliorating effects of Flos Lonicerae on scopolamine-induced impairment of passive avoidance response in rats. Flos Lonicerae crude extracts ameliorated scopolamine-induced impairment of passive avoidance response. Then ethyl acetate layer among four layers of Flos Lonicerae has better potency.

Secondly, we clarified the relationship of central and peripheral nervous system on the ameliorating effect of ethyl acetate layer of Flors Lonicerae in rats. The data found peripheral cholinergic antagonist-scopolamine methylbromide did not blocked the reversal from scop-induced impairment, but ethyl acetate layer of Flos Lonicerae reversed the impairment of passive avoidance response, spatial performance and intermediate reference memory induced by central cholinergic neurotoxin Ethylcholine aziridinium (AF64A) in rats.

From these above verdicts, we suggested Flos Lonicerae possesses ameliorating activity for memory deficit, and its main constituents exist in ethyl acetate layer.

**Keywords:** Flos Lonicerae, Learning and memory, passive avoidance, water maze

## 二、緣由與目的

痴呆症是一種老年化疾病，也是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減之作用，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>，而金銀花現代藥理亦證實具抗氧化活性<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，來探討金銀花粗抽物及各分層萃取物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。

## 三、結果與討論

### (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SCOP 0.5 mg/kg所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ( $p < 0.01$ ) (如 Fig. 1)。

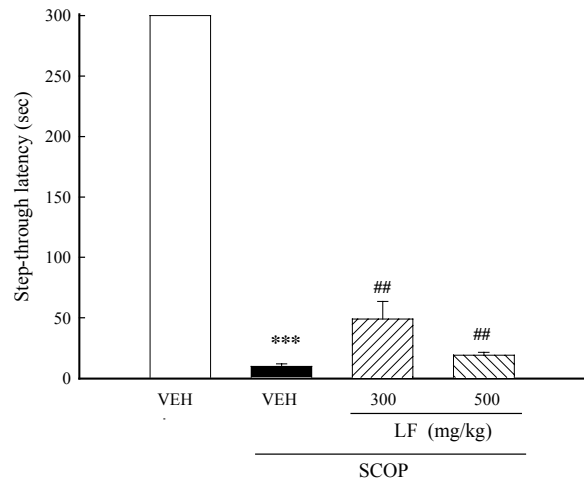


Fig. 1 Effect of Lonicerae Flos (LF, 300 and 500 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with VEH group. ##  $p < 0.01$  compared with VEH/SCOP group.

#### 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，氣仿層 (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. 2)。

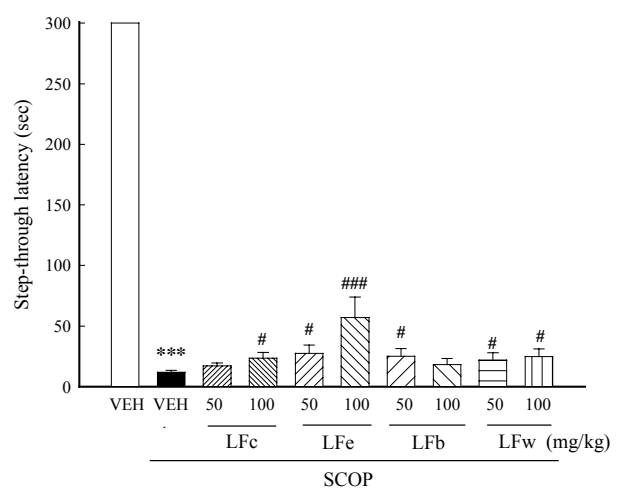


Fig. 2 Effect of fractions of Lonicerae Flos (Lfc, LFe, LFb, LFw)(50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) in rats. \*\*\*  $p < 0.001$  compared with VEH group. #  $p < 0.05$ , ###  $p < 0.001$  compared with VEH/SCOP group.

(二) 金銀花乙酸乙酯層萃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. 3)。

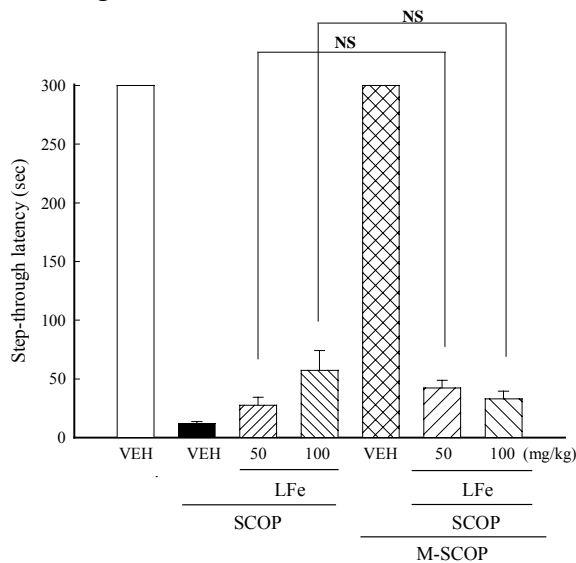


Fig. 3 Effect of M-SCOP (0.5 mg/kg, i.p.) on the reversal from SCOP (0.5 mg/kg, i.p.)-induced impairment of passive avoidance performance treated with LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) in rats. NS:Non significant.

(三) 金銀花乙酸乙酯層萃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 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 ( $p < 0.01$ ) (如 Fig. 9)。金銀花乙酸乙酯層萃物 (100 mg/kg), 具改善大鼠腦室輸注 AF64A (3 µg/20 µl/brain, i.c.v.) 所誘發大鼠被動迴避學習操作障礙(如 Fig. 4)。

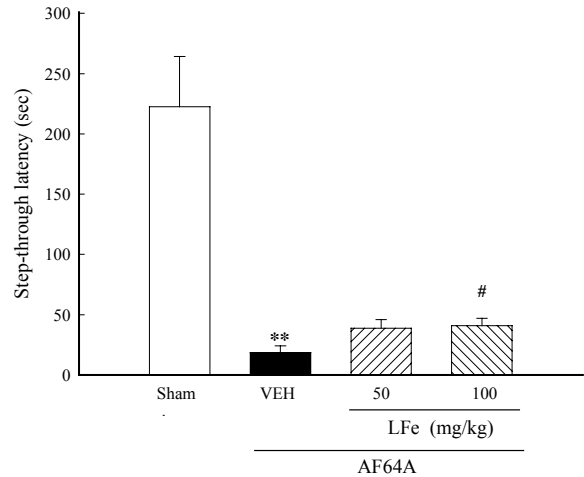


Fig. 4 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of passive avoidance performance induced by AF64A (3 µg/20 µl/brain, i.c.v.) in rats. N=8 \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. #  $p < 0.05$  compared with VEH/AF64A group.

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. 5、6), 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. 7)。

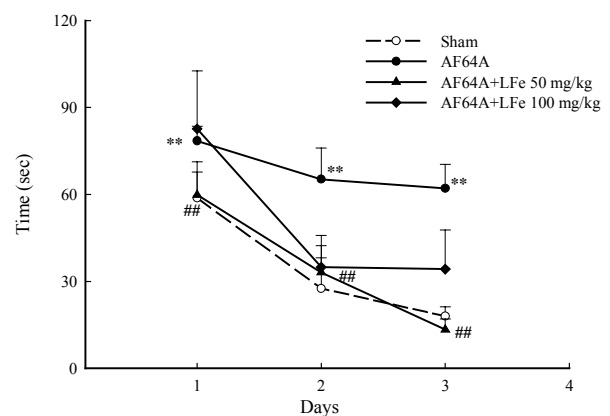


Fig. 5 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the impairment of spatial performance induced by AF64A (3 µg/20 µl/brain, i.c.v.) in rats. \*\*  $p < 0.01$  compared with Sham group. ##  $p < 0.01$  compared with AF64A group.

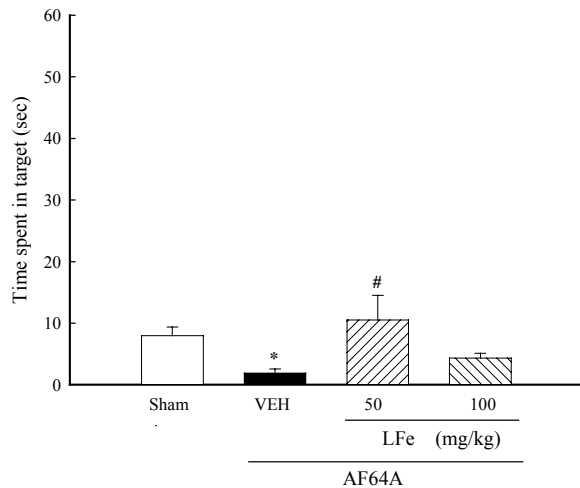


Fig. 6 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the deficit of reference memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group. #  $p < 0.05$ , compared with AF64A group.

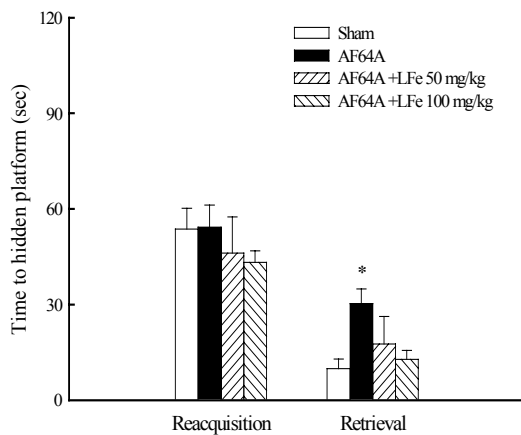


Fig. 7 Effect of LFe (50 and 100 mg/kg, p.o.) on the deficit of working memory induced by AF64A (3  $\mu$ g/20  $\mu$ l/brain, i.c.v.) in rats. \*  $p < 0.05$  compared with Sham group.

由以上研究結果顯示，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。

#### 四、計畫成果自評

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減之作用，期能開拓金銀花在傳統運用上之另一方向。至於金銀花之有效成分木犀草素仍待研究

#### 五、參考文獻

1. Chen S, Fredrickson PCA, Brunden KR. Neuroglial-mediated immunoinflammatory responses in Alzheimer's disease: Complement activation and therapeutic approaches. *Neurobiol Aging* 1996; 17: 781-7.
2. Butterfield DA, Hensley K, Harris M, et al.  $\beta$ -Amyloid peptide free radical fragments initiate synaptosomal lipoperoxidation in a sequence-specific fashion: implications to Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 710-5.
3. Butterfield DA, Drake J, Pocernich C, et al. Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role for amyloid beta-peptide. *Trends Mol Med* 2001; 7: 548-54.
4. Lim GP, Chu T, Yang F, et al. Frautschy SA., Cole GM. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci* 2001; 21: 8370-7.
5. 喻國雄、陳漢平：中西醫抗衰老學說的回顧與展望。遼寧中醫雜誌 1990；4：44-8。
6. 李玉琴：中醫藥治療老年期痴呆的進展。天津中醫雜誌 1995；12：45-8。
7. 李元：老年性癡呆的辨症分型。中醫函授通訊 1998；17：44-5。
8. 周文全、張昱：關於老年期痴呆中醫藥治療的思考。暨南大學學報 1999；20：14-7。
9. 蘇軾、沈括撰，王雲五編：蘇沈良方，商務出版社，上海，1939；

pp58-9。

10. 陳士鐸：本草新編，明清中醫臨證小叢書，中國中醫藥出版社，北京，1996；pp110-2。
11. 黃宮繡：本草求真，宏業書局印行，台北，1981；pp260-1。
12. Milic BL, Djilas SM, Čanadanaovič-Brunet JM. Antioxidative activity of phenolic compounds on the metal-ion breakdown of lipid peroxidation system. *Food Chem* 1998; 61: 443-7.
13. Castelluccio C, Paganga G, Melikian N, et al. Antioxidant potential of intermediates in phenylpropanoid metabolism in higher plants. *FEBS letts* 1995; 368: 188-92.