

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

當歸芍藥散對於秋水仙鹼誘發大鼠記憶獲得障礙之影響

(The facilitating effect of Dang-Quein-Sao-Yao-San on colchicine-induced learning acquisition deficit in rats

計畫編號：

執行期限：89年08月01日至90年07月31日

主持人：呂明進 執行機構及單位名稱：中國醫藥學院學士後中醫學系

一、中文摘要

本研究探討當歸芍藥散水萃取物(以下簡稱為DQSYS)對colchicine誘導之被動迴避學習操作障礙之影響及腦中SOD之含量變化，以電痛刺激實驗及大鼠自發運動量儀測定大鼠之痛閾值及運動量改變，結果顯示DQSYS 0.1-1 g/kg可明顯改善colchicine誘導大鼠之被動迴避學習操作障礙，並增加colchicine誘發大鼠腦中SOD之含量，但對於痛閾值與運動量並無影響。

綜上結果得知歸芍藥散水萃取物對colchicine誘導之被動迴避學習操作障礙有改善作用，其作用可能與改善colchicine造成之細胞損傷或增加腦中SOD含量有關。

關鍵詞：當歸芍藥散、學習記憶、被動迴避學習

Abstract

In this study, we used the passive avoidance task to investigate the effects of the water extracts of Dang-Quei-Sao-Yao-San

(abbrev as DQSYS) on the impairment of passive avoidance learning induced by colchicines in rats and detect the level of superoxide dimutase (SOD) in the brain. We also detected the effects of DQSYS on the locomotor activity and pain threshold induced by colchicines in rats.

The results shown that DQSYS attenuated the impairment of learning acquisition induced by colchicines and increased the level of SOD in the brain. However, it did not affect the motor activity and pain threshold in the rats treated with colchicines.

In conclusion, DQSYS possessed the facilitating effects of learning acquisition deficit induced by colchicines in rats. The action mechanism of DQSYS may be involved in the increase in the level of SOD.

Keywords: Dang-Quei-Sao-Yao-San, Learning and memory, Passive avoidance

learning,

二、緣由與目的

近年來由於社會人口結構高齡化，老年癡呆症的患者日益增多，在老化的社會中，以老年期的智力衰退及老年性癡呆最為多見，其症狀表現為注意力降低、學習能力下降、感覺遲鈍、及記憶力低下等。目前改善記憶及治療老年癡呆症的藥物相當缺乏，臨床上常用腦代謝改善劑 dihydroergotoxine 及抗血小板製劑 pentoxifylline 治療，但其療效不明顯且長期使用會有噁心嘔吐等副作用⁽¹⁾⁽²⁾。

老年性癡呆 (Alzheimer's disease, AD) 是一種進行性的神經退行性疾病，其罹患率 65 歲以上佔 10%，85 歲以上佔 45%，主因大腦內部神經纖維病變及斑點形成所致，臨床上之主要症狀為記憶能力減退，特別是近期記憶，其次如判斷能力、運動機能、視力及環境適應能力均有明顯的降低⁽³⁾，此病能選擇性地造成腦內特定區域神經系統的損害，其中包括 basal ganglia (substantia nigra, raphe nuclei)、basal forbrain、limbic system 等。此病患者在腦中樞產生纖維病變區域為含 dopaminergic system 之 substantia nigra 區、serotonergic system 之 raphe nuclei 區及 cholinergic system 之 basal forbrain 區皆出現神經纖維病變，顯示 dopaminergic system，

serotonergic system 及 cholinergic system 與 Alzheimer's 病人之記憶能力減退現象有密切的關係⁽⁴⁾⁽⁵⁾。學習記憶障礙是 AD 普遍而嚴重的表現⁽⁶⁾⁽⁷⁾，因此研究 AD 多用學習記憶障礙模型。

微管 (microtubules) 是神經細胞支架 (cytoskeleton) 的重要組成，在細胞的發生 (包括生長及分化，神經軸突及樹突的傳送) 上扮演重要的角色⁽⁸⁾，秋水仙鹼 (colchicine) 已知可與小管 (tubulin) 結合並阻斷其微管的多聚合，阻斷神經軸突的傳送⁽⁹⁾及誘發神經纖維退化⁽¹⁰⁾。海馬回注射 colchicine 會導致海馬回細胞損害，注射後 12 天會使大鼠產生學習記憶障礙、choline acetyltransferase (ChAT) 活性減弱，擬似 AD 的某些表現，是一種較新的學習記憶障礙模型，可用於研究 AD⁽¹¹⁾。又在老化的過程中。中樞神經系統退化部分原因是受到腦部產生的自由基攻擊，與其他器官相比，腦部由於抗氧化系統較弱。易受含氧自由基的攻擊⁽¹²⁾。因此自由基參與老化的過程在中樞神經系統極被重視，老年出現的 Alzheimer 癡呆病及巴金森氏病確與自由基的傷害有密切關係⁽¹³⁾。腦部不同的區域對氧化應力 (oxidative stress) 的敏感度不同，老化產生的神經退化疾病最相關的部位如大腦皮質、海馬迴 (hipocampus)、紋狀體 (striatum)，這三部位也是最易受缺血再灌流攻擊的部位⁽¹⁴⁾ 對

氧化應力敏感度最高，也有證據指出在大鼠這三部位累積的 LPO 隨著年齡增加而增加⁽¹⁵⁾。

當歸芍藥散最早出自于金匱要略，全方由當歸芍藥茯苓白朮澤瀉川芎等六味藥組成，原為治療婦人妊娠病而設⁽¹⁶⁾，現代臨床已用於 40 餘種疾病的治療⁽¹⁷⁾，近年來又發現其對老年性癡呆，尤其是早期阿爾茲海默氏癡呆（Alzheimer）有顯著療效⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾。現代藥理作用顯示，當歸芍藥散具有調整垂體-卵巢軸功能⁽²⁰⁾、調節子宮平滑肌活動⁽²¹⁾⁽²²⁾、改變血液流變性⁽²³⁾、抑制血小板聚集、縮短大鼠凝血酶原時間等作用⁽²⁴⁾、改善微循環⁽²⁵⁾、抗炎、鎮痛、鎮靜⁽²⁶⁾及利尿⁽²⁷⁾，並可改善大鼠的空間辨識記憶障礙及大腦皮層及海馬回內膽鹼能與腎上腺素能神經功能的低下⁽²¹⁾。然對於與老年癡呆有關的短期記憶獲得障礙的研究並未見有報告。

因此，本研究擬以被動迴避學習反應儀來探討當歸芍藥散對 colchicine 誘發大鼠短期記憶獲得障礙的影響，並測定當歸芍藥散對 colchicine 處理過大鼠之大腦中 SOD 的含量，以探討其可能作用機轉。

三、結果與討論

首先，我們探討當歸芍藥散水粗抽物之口服急性毒性，結果發現其口服之急性毒性劑量大於 10 g/kg（數據未顯示），顯示其口服急性毒性甚低。

其次我們進行當歸芍藥散水粗抽物對 colchicine 誘發大鼠被動迴避學習障礙反應之影響。在定位儀下定位於 Bregma 往後 4.2mm，左右旁開 2.5mm，硬腦膜下 2.1mm 之 hippocampus 處，以 microsyringe 投于 15 μ g 的秋水仙鹼，手術後當日起每隻大鼠每天腹腔注射 ampicillin 3.2 萬單位共七天及口服給于不同劑量的當歸芍藥散水提取物或生理食鹽水 10 ml/kg 共 14 天；當歸芍藥散水粗抽物於訓練前 60 分鐘口服給予，結果發現當歸芍藥散水粗抽物在 0.1 - 1 g/kg 劑量下可明顯改善 colchicine 誘導之被動迴避學習障礙(如圖 1)，並增加大鼠腦中 SOD 含量（如表一），且當歸芍藥散水粗抽物與誘導藥物併用後並不影響大鼠之運動活性(如圖二)及其電痛閾值(如表二)，顯示其改善 colchicine 誘發之學習獲得障礙主要係因直接作用於學習記憶過程，而非與影響其他非記憶過程之鎮靜或鎮痛作用有關。

Fig 2. Effects of water extracts of DQSYS for two week administration on the locomotor activity produced by colchicine in rats.

Table 1. Effects of DQSYS on the level of SOD induced by colchicines in rats' brain

Drug	Level of SOD (U)
Control	144.96 \pm 3.12
Colchicine	89.65 \pm 1.68
Colchicine +DQSYS (0.5 g/kg)	141.17 \pm 3.47**
Colchicine +DQSYS (1.0 g/kg)	135.36 \pm 2.01**

Table 2. Threshold of vocalization of DQSYS and colchicines combined with DQSYS in rats.

Drug	Threshold (m A) of Vocalization
Control	0.84 ± 0.02
Colchicine	0.82 ± 0.04
Colchicine +DQSYS (0.1 g/kg)	0.80 ± 0.01
Colchicine +DQSYS (0.5 g/kg)	0.87 ± 0.03
Colchicine +DQSYS (1.0 g/kg)	0.84 ± 0.01

微管 (microtubules) 是神經細胞支架 (cytoskeleton) 的重要組成, 在細胞的發生 (包括生長及分化, 神經軸突及樹突的傳送) 上扮演重要的角色⁽⁸⁾, 秋水仙鹼 (colchicine) 已知可與小管 (tubulin) 結合並阻斷其微管的多聚合, 阻斷神經軸突的傳送⁽⁹⁾及誘發神經纖維退化⁽¹⁰⁾。海馬回注射 colchicine 會導致海馬回細胞損害, 注射後 12 天會使大鼠產生學習記憶障礙、choline acetyltransferase (ChAT) 活性減弱, 擬似 AD 的某些表現, 是一種較新的學習記憶障礙模型, colchicine 作用於突觸前末梢還是突觸後膜上的受體不論是由 GABA_A 受體還是 GABA_B 受體介導的都是抑制性效應, 微管 (microtubules) 是神經細胞支架 (cytoskeleton) 的重要組成, 在細胞的發生 (包括生長及分化, 神經軸突及樹突的傳送) 上扮演重要的角色⁽⁸⁾, 秋水仙鹼臨床上常用在急性痛風, 實驗上 colchicine 除了用來抑制微管生成外亦可阻斷 GABA_A 接受器之作用, 以致 GABA_A 接受器之抗焦慮、抗驚作用喪失, 更可影響學習記憶之能力。

綜合上述得知歸芍藥散水萃取物對 colchicine 誘導之被動迴避學習操作障礙有

改善作用, 其作用可能與改善 colchicine 造成之細胞損傷或增加腦中 SOD 含量有關。有可能屬於 GABA_A 接受器之作用劑與增加腦中 SOD 含量, 抑制 colchicine 對微管之傷害, 其明確之作用機轉有待進一步探討。

四、計畫成果自評

本研究探討當歸芍藥散水粗抽物對 colchicine 誘發大鼠學習獲得障礙之影響、腦中 SOD 含量、電痛閾值及運動量之影響, 結果發現當歸芍藥散水粗抽物可改善 colchicine 誘發大鼠學習獲得之障礙、增加其腦中 SOD 含量、不影響其電痛閾值及運動量, 可知當歸芍藥散水粗抽物可改善 colchicine 誘發大鼠學習獲得之障礙可能係因其增加腦中 SOD 含量, 因而清除 colchicine 產生的自由基, 減弱 colchicine 對海馬回細胞的損壞所致。所得結果尚可。

五、參考文獻

1. 陳長安: 常用藥物治療手冊. 1987, P503.
2. Kaplan HI, Sadock BJ: Synopsis of Psychiatry; Behavioral Sciences, Clinical Psychiatry 6th. 1991; P245-254.
3. Wenk G, Hughey D, Boundy V, Kim A, Walker L and Olton D: Neurotransmitters and memory : Role of cholinergic , serotonergic and noradrenergic systems Behav. Neurosci. 1987; 101(3) : 325-332.

4. Kesner RP: Reevaluation of the contribution of basal forebrain cholinergic system to memory *Neurobiol. Aging* 1988; 9: 609-616.
5. Deutsh J.A: The cholinergic synapse and the site of memory *Science* 1971; 174: 788-794.
6. Terry RD and Davies P: Dementia of the Alzheimer type. *Annu Rev Neurosci* 1980; 3: 77-95.
7. Wisniewski HM and Iqbal K: Aging of the brain and dementia. *Trends Neurosci* 1980; 3: 226-228.
8. Wilson L and Bryan J: Biochemical and pharmacological properties of microtubules. *Adv Cell Molec Biol* 1974; 3:22-72.
9. McClure WO: Effects of drugs upon axoplasmic transport. *Adv Pharmacol Chemother* 1972; 10: 185-220.
10. Wisniewski H, Terry RD: Experimental colchicine encephalopathy. I. Induction of neurofibrillary degeneration. *Lab Invest* 1967; 17(6):577-87.
11. 俞在芳、胡木榮、程冠軍：海馬微注射秋水仙鹼對小鼠學習記憶的影響及CGP36742的保護作用。 *中國藥理及毒理學雜誌* 1997； 11(4)： 246-249。
12. Harman D. **Free radical** theory of aging: effect of **free radical** reaction inhibitors on the mortality rate of male LAF mice. *Journal of Gerontology*. 23(4):476-82, 1968.
13. Benzi G. **Moretti** A. Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease? [see comments]. [Review] [201 refs] *Neurobiology of Aging*. 16(4):661-74, 1995.
14. **Bromont** C. Marie C. Bralet J. Increased lipid peroxidation in vulnerable brain regions after transient forebrain ischemia in rats. *Stroke*. 20(7):918-24, 1989.
15. Melzacka M. Weiner N. Heim C. Schmidt-Kastner R. Sieklucka M. Sontag KH. Wesemann W. Effect of transient reduction of cerebral blood flow on membrane anisotropy and **lipid peroxidation** in different rat **brain areas**. *Neurochemistry International*. 25(2):161-8, 1994.
16. Divish MM, Sheftel G, Boyle A, Kalasapudi VD, Papolos DF, Lachman H: Differential effect of lithium on fos protooncogene expression mediated by receptor and postreceptor activators of protein kinase C and cyclic adenosine monophosphate: model for its antimanic action. *J Neurosci Res* 1991; 28(1):40-8.
17. 彭懷仁主編：中醫方劑大辭典四分冊，第一版。人民衛生出版社，北京，1995； p391.

- 18.周件貴，席文勝：當歸芍藥散的組方和藥效研究。中成藥 1996; 18(10): 42-43.
- 19.張士雲，吳凡：當歸芍藥散治療老年性癡呆 21 例。安徽中醫學院學報 1996; 15(6):20-21.
- 20.山本孝之：現代醫療 1989; 5:96.
- 21.劉平：當歸芍藥散對中樞-下丘腦-卵巢內分泌系統的作用。中成藥 1993; 15(11): 30-31.
- 22.劉平：當歸芍藥散對功能性子宮出血病人血清 FSH、LH、E₂、P 含量的影響。浙江中醫雜誌 1983; 18(10): 472-473.
- 23.戴克敏等主編：常用中藥的藥理和應用。江蘇科技出版社，江蘇，1981；p109。
- 24.謝春光，藍肇熙，王雪華：當歸芍藥散對痛經患者血液流變性及PGF_{2a}水平的影響。中西醫結合雜誌 1990; 10(7): 410-412.
- 25.寺澤捷年，木村昌行，湊川信男，內山祐子，鳥居塚和生，上野雅晴，堀越 勇：驅瘀血劑對血液凝固及纖維溶解的影響。藥學雜誌 1983; 103(3): 313-318.
- 26.劉平：當歸芍藥散治療功能性子宮出血 83 例報告:附治療前後血液流變性和甲襞微循環觀察。中醫雜誌 1983; 24(6): 25-29.
- 27.周永錄，周世清，王曉東，吳廷楷：當歸芍藥散的藥理研究。中成藥 1991; 13(12): 28-29.