

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-M309

指導教授：吳啟瑞 博士

共同指導教授：謝明村 博士

共同指導教授：彭文煌 博士

論文題目

纈草根改善 cycloheximide 誘發記憶障礙
作用及機轉探討

Ameliorating effect of Valerianae Radix on
cycloheximide-induced memory dysfunction in rats

研究生：丁子敬

中國醫藥大學中國藥學研究所

中華民國九十五年六月

目錄

目錄.....	I
略字表.....	IV
圖目錄.....	V
中文摘要.....	XI
英文摘要.....	XIII
第一章 緒論.....	1
第二章 總論.....	2
第一節 纈草之文獻.....	2
一、纈草之植物學文獻.....	2
二、纈草之生藥學文獻.....	10
三、纈草之成分文獻.....	12
四、纈草之藥理作用文獻.....	15
第二節 學習記憶之文獻.....	19
一、學習記憶之形成.....	19
二、大腦與學習記憶的關係.....	21
三、神經傳遞物質與學習記憶的關係.....	23
第三章 實驗材料與方法.....	27

第一節 實驗材料.....	27
一、纈草之抽提製備.....	27
二、實驗試劑.....	28
三、實驗動物.....	30
四、實驗儀器.....	30
第二節 實驗方法.....	32
一、學習記憶動物行為模式.....	32
二、纈草粗提取物與各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發 大鼠記憶鞏固障礙在被动迴避學習試驗的影響.....	33
三、纈草粗提取物與各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發 大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響.....	33
四、能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影 響.....	34
五、腦組織之處理及蛋白質測定.....	35
六、Acetylcholinesterase (AChE) 活性測定.....	36
第三節 數據分析.....	37
第四章 實驗結果.....	38
一、纈草粗提取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在被	

動迴避學習試驗的影響.....	38
二、 纈草粗提取物與各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發大鼠 記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響.....	40
三、 能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響.....	56
四、 纈草正丁醇層萃取物對大腦細胞內 AChE 活性之影響.....	89
第五章 討 論.....	91
謝 辭.....	96
參考文獻.....	97



略字表

- AChE : Acetylcholinesterase
- ACtCh : Acetylthiocholine
- BAC : Baclofen
- BIC : Bicuculine
- CXM : Cycloheximide
- DOI : 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2aminopropane
- DPAT : R(+)-8-hydroxy-DPAT hydrobromide
- MECA : Mecamylamine hydrochloride
- PCA : *p*-chloroamphetamine hydrochloride
- PIN : (±)Pindolol
- SCH-23390 : R(+)-SCH-23390 hydrochloride
- SCOP : Scopolamine hydrobromide
- SUL : Sulpiride
- RIN : Ritanserin
- STL : Step-through latency
- VR : 纈草粗提取物
- VRc : 纈草氣仿層萃取物
- VRe : 纈草乙酸乙酯層萃取物
- VRb : 纈草正丁醇層萃取物
- VRw : 纈草水層萃取物

圖目錄

Fig. 1. 纈草抽提流程.....	27
Fig. 2. 水迷宮電腦劃分圖.....	31
Fig. 3. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced impairment of passive avoidance performance in rats.....	39
Fig. 4. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced impairment of spatial performance in rats.....	41
Fig. 5. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced deficit of reference memory in rats.....	42
Fig. 6. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix on the velocity of water maze performance in rats.....	43
Fig. 7. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM -induced impairment of spatial performance in rats.....	45
Fig. 8. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM -induced deficit of reference memory in rats.....	46
Fig. 9. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix on the velocity of water maze performance in rats.....	47

Fig. 10. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced impairment of spatial performance in rats.....	49
Fig. 11. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced deficit of reference memory in rats.....	50
Fig. 12. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix on the velocity of water maze performance in rats.....	51
Fig. 13. Effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against -induced impairment of spatial performance in rats.....	53
Fig. 14. Effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced deficit of reference memory in rats.....	54
Fig. 15. Effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix on the velocity of water maze performance in rats.....	55
Fig. 16. Effect of scopolamine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	57
Fig. 17. Effect of scopolamine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae	

Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.	58
Fig. 18. Effect of mecamlamine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	60
Fig. 19. Effect of mecamlamine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	61
Fig. 20. Effect of SCH-23390 on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	63
Fig. 21. Effect of SCH-23390 on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	64
Fig. 22. Effect of sulpiride on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	66
Fig. 23. Effect of sulpiride on the benefit effect of <i>n</i> -butanol	

subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	67
Fig. 24. Effect of <i>p</i> -chloroamphetamine hydrochloride on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	69
Fig. 25. Effect of <i>p</i> -chloroamphetamine hydrochloride on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	70
Fig. 26. Effect of 8-OH-DAPT on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	72
Fig. 27. Effect of 8-OH-DAPT on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	73
Fig. 28 Effect of pindolol on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	75
Fig. 29. Effect of pindolol on the benefit effect of <i>n</i> -butanol	

subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	76
Fig. 30. Effect of 1 - (2,5-dimethoxy-4-iodophenyl) - 2 amino propane on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	78
Fig. 31. Effect of 1 - (2,5-dimethoxy-4-iodophenyl) - 2 amino propane on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	79
Fig. 32. Effect of ritanserin on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	81
Fig. 33. Effect of ritanserin on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	82
Fig. 34. Effect of bicuculine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	84
Fig. 35. Effect of bicuculine on the benefit effect of <i>n</i> -butanol	

subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	85
Fig. 36. Effect of baclofen on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced spatial performance impairment in rats.....	87
Fig. 37. Effect of baclofen on the benefit effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix against CXM-induced reference memory deficit in rats.....	88
Fig. 38. Effect of <i>n</i> -butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix on acetylcholinesterase activity in the brain of rats.....	90

纈草根改善 cycloheximide 誘發記憶障礙作用及機轉探討

研究生 丁子敬

中國醫藥大學 中國藥學研究所 藥理學組

摘要

本研究針對纈草 70% 乙醇粗提取物與各分層之萃取物改善 cycloheximide (CXM) 誘發大鼠被動迴避及水迷宮記憶鞏固障礙之影響，並與能影響記憶鞏固的藥物併用來探討其作用機轉。

首先發現纈草粗提取物具改善 CXM 誘發大鼠記憶鞏固障礙及改善 CXM 誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙；而各分層之萃取物改善效果則以正丁醇層較佳。

其次，在能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響去探討其作用機轉。結果發現 nicotinic 接受體拮抗劑 mecamylamine、D₂ 接受體拮抗劑 sulpiride 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作及參考記憶障礙之現象均具拮抗作用。而 D₁ 接受體拮抗劑 SCH-23390、5-HT 促進釋放劑 *p*-chloroamphetamine 及 5-HT_{1A} 接受體致效劑 8-OH-DPAT 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作障礙之現象均具拮抗作用。GABA_A 接受體拮抗劑 bicuculine 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性參考記憶障礙之現象具拮抗作用。最後，探討口服纈草正丁醇層萃取物對大腦細胞內 AChE 活性之影響，結果顯示口服纈草正丁醇層萃取物使大腦紋狀體細胞內 AChE 活性下降。

綜合上述研究結果，纈草具改善 CXM 誘發大鼠被動迴避及水迷宮記憶鞏固障礙之作用，且纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性記憶障礙效果較佳。其改善作用機轉可能與中樞之 cholinergic system 中的 nicotinic 接受器調控有關，另亦與 dopamine receptor system 的 D_1 、 D_2 接受器的調節、或經由 $5-HT_{1A}$ 接受體的調節中樞 serotonergic system 活性、或經由 $GABA_A$ 接受體調節中樞 GABAergic system 活性有關。



Ameliorating effect of Valerianae Radix on cycloheximide-induced memory dysfunction in rats

Tzu-Ching Ting

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences

China Medical University

Abstract

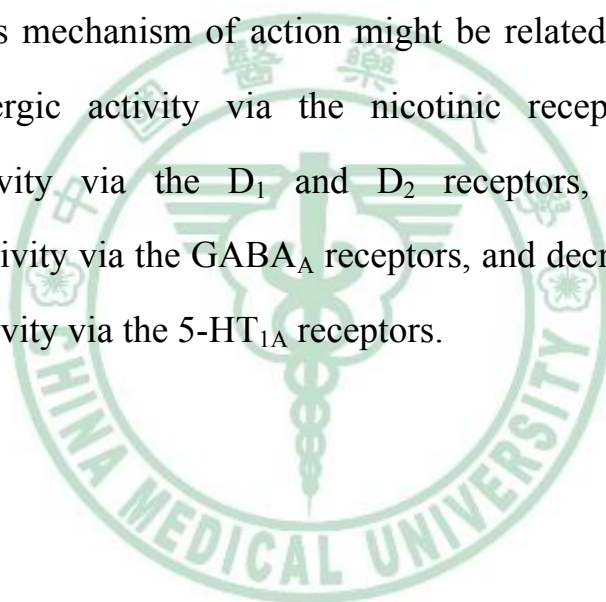
The present study was designed to investigate the ameliorating effect of 70% ethanol crude extract and its subfractions of Valerianae Radix on cycloheximide-induced memory dysfunction in passive avoidance task and Morris water maze in rats. Furthermore, the mechanism of action of these ameliorating effects of *n*-butanol subfraction (VRb) against cycloheximide-induced memory dysfunction was investigated by combining with some CNS drugs in rats.

First, crude extract of Valerianae Radix ameliorated cycloheximide-induced memory dysfunction in passive avoidance task and water maze. Among all subfractions, the VRb had the higher potency.

Second, nicotinic antagonist mecamylamine and D₂ antagonist sulpiride antagonized the ameliorating effect of VRb on CXM-induced spatial performance impairment and reference memory deficit in rats. D₁ antagonist SCH-23390, 5-HT releaser *p*-chloroamphetamine and 5-HT_{1A} agonist DPAT only antagonized the ameliorating effect of VRb against CXM-induced spatial performance impairment in rats. GABA_A antagonist bicuculine only antagonized the ameliorating effects of VRb against

CXM-induced reference memory deficit in rats. Finally, the acetylcholinesterase activities in cortex, hippocampus and striatum of rats treated with VRb were measured. The acetylcholinesterase activity in striatum of VRb treated rats was significantly decreased as compared with that of vehicle treated rats.

According to these results, it is suggested that Valerianae Radix possessed the ameliorating activity against CXM-induced memory impairment. The ameliorating effect of VRb was better than other subfractions. Its mechanism of action might be related to increasing the central cholinergic activity via the nicotinic receptors, the central dopamine activity via the D₁ and D₂ receptors, and the central GABAergic activity via the GABA_A receptors, and decreasing the central serotonergic activity via the 5-HT_{1A} receptors.



第一章 緒論

學習記憶之形成過程可分為學習獲得 (acquisition)、記憶鞏固 (consolidation)、記憶再現 (retrieval) 及再學習獲得 (reacquisition)⁽¹⁾。其中以記憶鞏固對記憶的儲存是不可或缺的。學習獲得若不經過記憶之鞏固，記憶就無法儲存轉化成長期記憶，如記憶鞏固受損就會造成擬似癡呆症之學習記憶障礙。老年癡呆症最常見的就是阿茲海默症，這是一種漸進式腦神經萎縮症。在美國65至85歲老人罹患率約有10%，而85歲以上老人罹患率更高達40%。其主要症狀為記憶的衰退、語言、計算、問題解決、判斷力等障礙，甚至最嚴重至基本作息起居的生活能力皆喪失。所以老年癡呆症已經變成最主要的社會公共衛生及醫療方面的問題。因此，醫藥界尋找中西藥治療老年癡呆症之藥物；藥物開發研究為主要課題。

纈草為敗醬科 (Valerianaceae) 植物纈草 *Valeriana Radix* 之乾燥根，具幫助睡眠、抗焦慮、抗痙攣等功效^(2,3)。在歐美常用於改善睡眠障礙作用。近年來研究指出纈草可對 amyloid beta peptide 誘發海馬回細胞毒性具保護作用⁽⁴⁾；纈草甲醇抽提物對神經成長因子誘發 PC 12 cell 之神經軸生長有促進作用⁽⁵⁾。由於纈草離體試驗中對腦神經細胞有保護及促進作用，然而在有關纈草之改善學習記憶障礙作用並未見有所探討。因此，本研究擬以被動迴避學習反應及水迷宮試驗之學習記憶動物行為模式，來探討纈草粗提取物與各分層之萃取物對於藥物誘發大鼠記憶鞏固障礙之被動迴避學習反應及水迷宮空間操作能力、參考記憶之改善作用，更進一步用能改變記憶鞏固藥物對纈草有效層萃取物改善藥物誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響來探討其作用機轉。

第二章 總論

第一節 纈草之文獻

一、纈草之植物學文獻

纈草之藥材係使用敗醬科 (Valerianaceae) 植物纈草 (*Valeriana officinalis* L.) 之乾燥根莖及根⁽²⁻³⁾。

敗醬科 (Valerianaceae) 全球 13 屬約 400 種，主要分布於北溫帶和南美。中國有 4 屬 40 餘種，大陸各地均有產，大部分種類可供藥用。纈草屬為敗醬科中最大的屬，約有 250 餘種，主要分布於北半球溫帶地區以及非洲南部和北美山地，大多生長在海拔較高的山坡草叢、林下溝邊。本屬中國 20 多種，藥用 11 種，除蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* JONES (藥名馬蹄香) 外，其他均作纈草入藥，其中歐纈草 *Valeriana officinalis* L. 在歐美作鎮靜藥應用已有很長的歷史⁽⁶⁾。

纈草在台灣植物誌記載台灣有 3 種，分別為北纈草 (*Valeriana fauriei* BRIQ.)、嫩莖纈草 (*Valeriana flaccidissima* MAXIM.) 及高山纈草 (*Valeriana kawakamii* HAYATA.)⁽⁷⁾。

(一) 纈草 *Valeriana officinalis* L.^(2,8-9)

又名歐纈草。多年生高大本草，高達 1~1.5 m。根莖粗短呈頭狀，鬚根簇生，有香氣。莖中空，有粗縱稜，被長粗毛。匍枝葉、基生葉叢生，有長柄，基出葉和基部葉在花期常凋萎。莖生

葉對生，卵形至寬卵形，2~9 對羽狀深裂；中央裂片與兩側裂片同形同大，但常與第 1 對側裂片合生成 3 裂狀，裂片披針形或條形，先端漸窄，基部下延，全緣或有疏鋸齒，兩面及柄軸多少被毛。花序頂生，呈傘房狀三出聚傘圓錐花序；苞片羽裂，長 1~2 cm；小苞片條狀，長約 1 cm；花萼內捲；花冠淡紫紅或白色，長約 4~6 mm，上部稍寬，5 裂；雄蕊 3，伸出花冠外；雌雄蕊約與花冠等長；子房下位。瘦果長卵形，長約 4~5 mm，基部近平截，頂端有宿萼多條，羽毛狀。花期 5~7 月，果期 6~10 月。

原產歐洲，分布於中國東北至西南的廣大地區。生於海拔 2500 m 的山坡草地、林下、溝邊及灌叢中。

(二) 蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* JONES (*Valeriana wallichii* DC.) (8,10)

又名馬蹄香、心葉纈草、印度纈草。多年生草本，高 20~70 cm。根莖粗厚，塊莖狀，節結明顯，結間緊密，有濃烈香氣；莖 1 至數株叢生。基生葉發達，葉片心狀圓形至卵狀心形，長 2~9 cm，寬 3~8 cm，邊緣具疏淺波齒狀，被密毛，柄長為葉片的 2~3 倍；莖生葉不發達，每莖 2 對或 3 對，下部的心狀圓形，短柄近無柄，上部的常羽裂，無柄。花序為頂生聚傘花序，苞片和小苞片鉗形；花白色或微紅色，雜性；雌花小，長 1.5 mm，不育花葯著生在極短的花絲上，位於花冠喉部，雌蕊伸出花冠之外，柱頭深 3 裂；兩性花較大，長 3~4 mm，雌雄蕊與花冠等長。瘦果長卵形，兩面被毛，花期 5~7 月，果期 6~9 月。

分布於中國四川、雲南、貴州、西藏、河南、湖北、湖南、陝西；生長於海拔 900~2600 m 的山坡陰濕處、草地、林中或溪邊。

(三) 黑水纈草 *Valeriana amurensis* S_{MIR.}ex K_{OM.}^(2,8-9)

多年生草本，高達 1.5 m。根莖短縮，不明顯；根狀莖細長有香氣，不規則塊狀。莖上部具有柄的腺毛。葉對生，奇數對羽狀分裂，長 15~20 cm；基生葉柄長約 20 cm，莖出葉柄向上漸短至無柄，具糙毛；基部的第 1~2 對小葉較小，中央裂片最大，寬卵形，常與上部第 1 對小葉合生或密接，先端圓鈍，基部楔形或廣楔形；邊緣有粗大牙齒。多歧聚傘花序頂生；花梗被具柄的腺毛和粗毛；苞片羽狀分裂，長 2 cm；小苞片羽狀全裂至條狀，長 1 cm，均具腺毛；花萼內捲；花冠淡紅色，漏斗狀，長 3~5 mm，5 裂；雄蕊 3；子房下位。瘦果狹窄三角卵形，長約 3 mm，被粗毛，先端有毛狀宿萼。花期 6~7 月，果期 7~8 月。

分佈於中國黑龍江、吉林北部和遼寧。生於山坡草地、林緣草地或落葉松和樺木林下。本種東北也作纈草入藥。

(四) 寬葉纈草 *Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* M_{IQ.}^(2,9)

又名：廣州拔地麻。寬葉纈草為纈草的變種，多年生高大本草，高 40~80 cm。根莖縮短；莖直立，光滑無毛，但節部密生白色長毛。莖生葉對生，羽狀全裂，裂片 5~9 片，葉裂片較寬，中

裂片較大，寬卵圓形或寬卵形，長 3~9 cm，寬 1~3 cm，邊緣有鈍鋸齒，裂片和葉柄上有白色毛。聚傘花序呈傘房狀頂生，苞片條形；花冠淡紅色或白色。瘦果披針狀橢圓形，長約 4 mm，頂端具羽狀冠毛。花期 5 月，果期 6 月。

寬葉纈草為纈草的變種，其區分在於葉裂片較寬，中裂片較大，裂片為具鋸齒的寬卵形，裂片數較纈草為少，通常 5~7 枚。花期、果期同正種。

分布於中國四川、浙江、甘肅、寧夏等地。生於向陽山坡、山谷交錯之林下，草叢中，海拔 2000 m 以下。

(五) 北纈草 (吉草) *Valeriana fauriei* BRIQ.^(7-8,11,13)

又名寬葉纈草、吉草。多年生草本，高 30~80 cm。根狀莖短明顯具稜，具細長的匍匐枝，稀無，根稍粗，多數。莖直立，節上密生白色長柔毛。基生葉葉柄有翼，倒卵形，邊緣具疏齒；莖生葉對生，下部葉具長柄，羽狀全裂，裂片卵狀長圓形，頂端裂片大，倒卵狀橢圓形，基部楔形，先端漸尖或銳尖，邊緣具疏齒，上部的葉柄短，裂片廣披針形。頂生聚傘花序呈圓錐狀，多花，寬 5~7 cm，苞片線形，有緣毛，花冠筒狀，長 4~6 mm，寬 3 mm，淡紅色，5 淺裂，裂片較短，先端稍圓；雄蕊 3，比花冠長。瘦果狹卵狀披針形，長 4 mm，無毛。宿存萼具白色羽狀冠毛。花期 5~7 月，果期 7~8 月。

本種學名過去一般鑑定為 *Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* MIQ.，其後者為歐纈草的異名。基於本種之莖具稜、花序苞片具長

芒尖、果實之形狀與大小等差別，在此仍處理為 *Valeriana fauriei* BRIQ.⁽⁸⁾。

分布於庫頁島、南千島群島、韓國、日本、台灣中央山脈中至高海拔森林、中國東北地區（黑龍江、吉林、遼寧）和華東地區（江蘇、安徽、江西、浙江），向西延伸至河南、陝西等地；生於海拔 2000 m 以下的山坡草地、林間濕地、林緣路旁。該種在華東地區當顯草入藥。

（六）土耳其斯坦顯草 *Valeriana turkestanica* SUMN.⁽⁸⁾

根莖形狀常短縮不明顯。高大草本，高常在 50~100 cm 以上。花序開花後向四周疏展。莖生葉裂葉較少，通常不多於 11 片，苞片長 1~2 cm，小苞片長 3~5 mm，莖及花序不具腺毛。花較大，花冠長 4~7 mm。莖生葉大頭羽裂，頂裂片寬橢圓形或卵狀長圓形，寬大，2~4 倍於側裂片，側裂片披針形至線形。

產於新疆，生於海拔 900~3100 m 的山坡草地、高山草地、雲杉林下或林緣。

（七）細花顯草 *Valeriana meonantha* C.Y. CHENG et H.B. CHEN.⁽⁸⁾

根莖形狀常短縮不明顯。高大草本，高常在 50~100 cm 以上。花序開花後向四周疏展。莖生葉裂葉較少，通常不多於 11 片，苞片長 1~2 cm，小苞片長 3~5 mm，莖及花序不具腺毛。花極小，

花冠長約 2 mm。

分布於甘肅西北部和青海東部；海拔 2700 m 左右，生於山坡草叢、林緣路邊。

(八) 毛節纈草 *Valeriana alternifolia* BUNGE.^(8,12)

根莖形狀常短縮不明顯。高大草本，高常在 50~100 cm 以上。花序開花後向四周疏展。莖生葉裂片多，通常 11~21，苞片長在 1 cm 以下，小苞片長不超過 3 mm。植物體中等大小，莖葉毛較顯著，尤其以節處較密，葉裂片狹小，花序密集。

產黑龍江、吉林、遼寧、內蒙古、河北北部；生於山坡草地、溝邊、林下和林緣。該種在東北地區代替纈草入藥。

本種為東北常見種，也常被定名為 *Valeriana stubendorfii* KREYER ex KOMAROV.。

(九) 長序纈草 *Valeriana hardwickii* WALL.⁽⁸⁾

根莖形狀常短縮不明顯。高大草本，高常在 50~100 cm 以上。花序在開花後向上延伸，果序長而疏展。無匍匐枝，花兩性，花冠白色。

產於甘肅南部、江西、湖北、湖南、廣東、廣西、四川、貴州、雲南、西藏；生長於海拔 800~4000 m 的山坡林緣、路邊草叢、溪邊或林下等處。根或全草入藥。

(十) 川滇纈草 *Valeriana rhodoleuca* C.Y. C_{HENG} et H.B.
C_{HEN}.⁽⁸⁾

根莖形狀常短縮不明顯。高大草本，高常在 50~100 cm 以上。花序開花後向上延伸，果序長而疏展。具匍匐枝，花雜性，花冠初時淡紅色。

分布四川西南部和雲南西北部；生於山坡灌叢、林緣路旁、溪邊等處；生長於海拔 2700~3500 m。

(十一) 唐古特纈草 *Valeriana tangutica* B_{AT}.⁽⁸⁾

又名小纈草、香草仔。根莖形狀常短縮不明顯。植株較矮小，通常高 10 cm 左右。

分部於內蒙古、寧夏、甘肅和青海；生長於海拔 1200~4000 m 的山溝、乾山坡、岩石縫、或草地。帶根全草入藥。

(十二) 嫩莖纈草 *Valeriana flaccidissima* M_{AXIM}.⁽⁷⁾

多年生草本，莖短圓不具稜，具走莖，被細毛。葉對生，長 5~7 cm，羽狀複葉膜質，具 1~2 對側生小葉，兩面被細毛，末端小葉卵形。頂生聚傘花序呈圓錐狀，花序苞片 2~7 mm，對生，線形；萼於果上裂成多剛毛；花冠 5 裂，花冠白色，基部細鋸齒緣；雄蕊 3；瘦果呈橢圓形，長 2~2.5 mm。

分布於日本、台灣中央山脈中至高海拔山區森林中。

(十三) 高山纈草 *Valeriana kawakamii* H_{AYATA}^(7,14)

多年生草本，莖直立，莖圓形，具走莖，高 10~40 cm。葉對生，長 1.5~7 cm，羽狀複葉，具 4~5 對側生小葉，兩面被細毛或近光滑。頂生聚傘花序呈圓錐狀，花序苞片 4 mm，對生，線形，近基部具緣毛。花冠 5 裂，花冠白色；雄蕊 4。果呈凸鏡形，橢圓卵形，長 3 mm。

台灣特有種。分布於台灣中央山脈高海拔地區森林中。



二、纈草之生藥學文獻

(一) 性狀鑑定^(2,9)

纈草根莖呈類圓柱形，較粗短，長 2~5 cm，直徑 0.4~1.5 cm，表面黃棕色至褐色，粗糙，有葉柄殘基，上端有殘留莖基，中空，有的根莖有橫生分枝，遠端節部有莖基殘留，節間長 1~2 cm，根莖周圍和下端處生多數細根，末端纖細，表面黃棕色至褐色，具縱皺紋。質稍韌，斷面周圍黃棕色至褐色，中心黃白色。有特異臭氣，乾品更濃。味微辣，後為苦，且有清涼感。以根頭粗狀，根長，表面黃棕色，氣味濃烈者為佳。

(二) 組織構造^(2,9)

纈草根橫切面：表皮細胞 1 層，細胞較大，類方形，栓化。下皮呈細胞 2~4 層，類圓形、橢圓形或不規則形，壁稍厚。皮層較寬，有的可見裂隙和油細胞散在。內皮層細胞 1 層，微木化，細胞切向排列，凱氏點明顯，有油滴散在，外側有單個或 2~3 個後壁細胞斷續排列呈環狀，有的可見網狀壁孔。中柱鞘細胞 1~2 層，切向排列，有的不明顯。維管束外韌型。形成層不明顯。木質部排列呈環狀，導管和木纖維均木化。髓細胞壁稍厚，有的有裂隙。薄壁細胞中含澱粉粒。幼小的根可見初生木質部為四原形。

纈草根莖橫切面：特徵與根類同，區別點在於髓部較根的髓部寬廣，分布具有木栓化細胞包圍的石細胞群。與內皮細胞相鄰

處有石細胞 1 列，斷續圍繞中柱。與內皮細胞相鄰處石細胞形狀不同，排列不整齊；澱粉粒多；皮層中沒有石細胞群。

(三) 粉末特徵^(2,9)

淺黃褐色，具特殊濃烈臭氣，味微辛而苦。澱粉粒眾多，多數單粒，直徑 4~35 μm ，臍點為點狀、星狀等，也有由 2~5 個組成的複粒。石細胞成群或單個散在，胞腔大小不一。纖維呈束或單個散在，淺黃色。表皮細胞長方形或方形，垂周壁波狀彎曲，淡黃棕色或黃棕色。內皮層細胞長方形，有較密的橫紋外側有單個的厚壁細胞，有的可見網狀壁孔，有的呈聯珠狀增厚。導管為具緣紋孔及網紋。

(四) 理化鑑別⁽²⁾

1. 取本品粉末約 2 g，用乙醚 5~10 mL 冷浸半小時，不斷振搖。濾過，取濾液 1 mL，至水浴上蒸乾，加 2 滴 2,4-二硝基苯脒，即產生橘黃色沉澱。

2. 取本品粉末約 2 g，用水飽和正丁醇 5 mL 提取，取濾液約 1 ml，加 2 滴稀鹽酸，分層（勿振搖）加 2 滴碘化汞鉀試液，於兩液界面下，產生白色沉澱。

3. 取本品乙醇浸出液 0.5 mL，加醋酸緩衝液（pH 4.6）5 mL，加甲基橙試液 0.1 mL，氯仿 5 mL，混合振搖，取氯仿層，加入硫酸乙醇液（硫酸 12 mL，無水乙醇 88 mL）3 mL，氯仿層顯紅色。

三、纈草之成分文獻

(一) 揮發油⁽¹⁵⁻¹⁶⁾

纈草根含揮發油 0.5~2.0%。主要成分有單萜類及倍半萜類。

單萜類： α -蒎烯 (α -pinene)、 β -蒎烯 (β -pinene)、1-莰烯 (1-camphene)、 α -葑烯 (α -fenchene)、1-檸檬烯 (1-limonene)、月桂烯 (myrcene)、水芹烯 (phellandrene)、 γ -松油烯 (γ -terpinene)、松油醇 (terpineol)、龍腦 (borneol)、乙酸龍腦酯 (bornyl acetate)、異戊酸龍腦酯 (bornyl isovalerate)、1-桃金娘醇 (1-myrtanol)、1-桃金娘酯 (1-myrtanyl isovalerate)、異松油烯 (terpinolene)、Iridoid glycoside (kanokoside A、kanokoside B、kanokoside C、kanokoside D)、纈草苦甙 (valeroside)。

倍半萜類：纈草萜酮 (valeranone)、纈草萜烯醛 (valerenal)、纈草萜烯醇 (valerenol)、E,Z-纈草萜烯醇乙酸酯 (E,Z-valerenyl acetate)、E,Z-纈草萜烯醇異戊酸酯 (E,Z-valerenyl isovalerate)、E,Z-纈草萜烯醇戊酸酯 (E,Z-valerenyl valerate)、E,Z-纈草萜烯醇己酸酯 (E,Z-valerenyl hexanoate)、羥基纈草萜烯酸 (hydroxy valeronic acid)、乙酸闊葉纈草醇酯 (kessyl acetate)、闊葉纈草甘醇 (kessoglycol)、1-石竹烯 (1-caryophyllene)、隱日纈草酮醇 (cryptofauranol)、雅檻藍烯 (eremophilene)、別香橙烯 (alloaromadendrene)、畢澄茄烯 (cadinene)、纈草萜烯醇 (valerianol)、 β -甜沒藥烯 (β -bisabolene)、薑黃烯 (curcumene)、喇叭醇 (ledol)、芹子烯 (selinene) 等，紫羅蘭酮 (ionone)、廣

藿香醇 (patchouli alcohol)、左旋帕西飛哥醇 (pacifigorgiol)、日
纈草酮 (faurinone)。

(二) 環烯醚萜化合物⁽¹⁷⁾

纈草三酯 (valepotriate)、二氫纈草醚酯 (didrovaltrate)、異戊
酸基二氫纈草素 (isovaleroxy-hydroxy-dihydrovaltrate)、異纈草三
酯 (isovaltrate)、高纈草三酯 I 和 II (homovaltrate I and II)、乙酰
纈草三酯 (acetvaltrate)、高乙酰纈草三酯 (homoacetvaltrate)、二
氫異纈草三酯 (dihydrovaltrate)、高二氫異纈草三酯
(homodihydrovaltrate)、氯化纈草三酯 (valechlorine)、7-表去乙酰
基異纈草三酯 (7-epideacetylisovaltrate)、纈草苦甙
(valerosidatum)。

(三) 生物鹼⁽²⁻³⁾

纈草鹼 (valerine)、纈草根鹼 (valerianine)、獼猴桃鹼
(actinidine)、膽鹼 (choline)、鬃草寧鹼 (chatinine)、吡咯基- α -
甲基酮 (pyrryl- α -methylketone)、異纈草酰胺鹼 (isovaleramide)、
纈草胺 (valeriamine)。

(四) 有機酸^(2,15)

纈草萜烯酸 (valerenic acid)、纈草萜醇酸 (valerenolic acid)、

乙酰基纈草萜烯酸 (acetoxyl valerenic acid)、橙皮酸 (hesperitinic acid)、山萹酸 (behenic acid)、氯原酸 (chlorogenic acid) 和咖啡酸 (caffeic acid)。

(五) 黃酮類⁽¹⁸⁾

槲皮素 (quercetin)、木犀草素 (luteolin)、香葉木素 (diosmetin)、刺槐素 (acacetin)、芹菜素 (apigenin)、橙皮甘 (hesperidin)、6-甲基芹菜素 (6-methylapigenin)⁽¹⁹⁾、蒙花苷 (linarin)⁽²⁰⁾ 等。

(六) 胺基酸⁽²¹⁻²²⁾

纈草根中胺基酸總含量約為 1.73%，主要含有 γ -胺基丁酸 (gamma-aminobutyric acid, GABA)、酪胺酸 (tyrosine)、精胺酸 (arginine)、麩醯胺 (glutamine)、色胺酸 (tryptophan)、絲胺酸 (serine)、亮胺酸 (leucine)、半胱胺酸 (homocysteine)、酥胺酸 (threonine)、纈胺酸 (valine)、脯胺酸 (proline)、甘胺酸 (glycine) 等。

(七) 微量元素⁽²¹⁾

鎂、鈣、鈉含量最多，依次為鐵、鎳、鉛、鋁、鉻、硼、錳、鋅、鋰、鈷、鈺、銅、鉍等。

四、纈草之藥理作用文獻

(一) 對中樞神經系統的作用

纈草有鎮靜作用，能加強大腦皮質的抑制過程，減低反射興奮性⁽¹³⁾。小鼠給予纈草 30% 酒精的抽提物 11.2 g/kg，有效延長因 hexobarbital 引起的睡眠作用而且會減少其自發運動量⁽²³⁾。相同的實驗，纈草萃取物也會使小鼠延長 thiopental 引起的睡眠作用⁽²⁴⁾。纈草萃取物 1.0~3.0 g/kg 有效縮短大鼠入睡時間，且增加睡眠 non-REM 時期中 delta 活性，改善睡眠品質⁽²⁵⁾。

臨床上做過多次人體試驗。纈草 600 mg 酒精萃取物給予 121 位失眠病患服用 4 週，做雙盲臨床試驗。結果顯示纈草不會立刻產生改善作用，在服藥後 2-4 週，失眠得到明顯改善⁽²⁶⁾。由正常受試者腦電圖的紀錄觀察得知，纈草單次給藥，與安慰劑的對照組無統計上的差異⁽²⁷⁾。在另一個 2 週失眠病患給藥的雙盲試驗，觀察腦電圖得到以下之影響：縮短入睡時間、縮短入慢波睡眠時間、增加慢波睡眠時間及減少快速動眼期睡眠時間⁽²⁸⁻²⁹⁾。所以纈草是可以有效改善入睡時間及睡眠品質。

在臨床運用方面，德國 The German Commission E 准許用在睡眠疾病 (restlessness and sleep disorders)⁽³⁰⁾；在 2002 年，纈草是美國十大暢銷的草藥材之一⁽³¹⁾；2004 年美國藥典中亦有收載⁽³²⁾。

纈草有抗焦慮作用。以焦慮為主題的雙盲臨床試驗中，分別給予纈草 (50 mg/kg,tid.) 及 diazepam (2.5 mg/kg,tid.) 4 週的治療；四週後用 Hamilton Anxiety Scale (HAM-A) 評估結果，纈草得到

與 diazepam 相似的改善焦慮結果⁽³³⁾。54 個健康受試者在一個標準化精神壓力測試中，口服顯草一週，會降低血管收縮壓及減少自我感覺壓力，也會抑制壓力所造成之心跳速度變快⁽³⁴⁾。所以顯草有緩解人體面對壓力造成的生理反應之作用。

(二) 對心血管系統的作用

顯草有降低血壓的作用⁽³⁴⁾。張寶恒等在貓和離體家兔實驗中發現顯草乙醇提取物可降低心肌耗氧量，擴張冠狀動脈血管⁽³⁵⁾。任世蘭等發現寬葉顯草 (*Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* M_{1Q}.) 揮發油在改善心絞痛症狀、減少心絞痛發生頻率、縮短心絞痛發作持續時間均優於複方丹蔘；缺血心肌恢復作用也明顯優於複方丹蔘⁽³⁶⁾。賈健寧與張寶恒用顯草抽提物給予小鼠靜脈注射求得 LD₅₀ 為 2950 mg/kg。以其 LD₅₀ 的 1/10~1/20，明顯對抗小鼠由靜脈注射乙醯膽鹼—氯化鈣混合液誘發的房顫；也能明顯對抗大鼠由結紮左冠狀動脈前降支誘發的早期缺血性心律不整。LD₅₀ 的 1/40 能對抗氯仿誘發小鼠的心室纖顫。在 0.2~0.4 mg 時，對由高鉀誘發的犬耳殼及腎臟血管的收縮也有明顯的對抗。抗心律不整作用可能與抑制高鉀誘發鈣離子通道開放，而引起的鈣拮抗有關⁽³⁷⁾。黃崢嶸等利用全細胞模片鉗紀錄技術研究顯草單萜氧化物對兔子心室肌細胞鈉離子電流的影響。30 μg/L 和 60 μg/L 的顯草單萜氧化物使兔心室肌細胞鈉離子電流峰值下降；顯草單萜氧化物使電流—電壓曲線上移，但不改變其激活電位、電位峰值及反轉電位；顯草單萜氧化物還減慢鈉離子通道失去活性後的恢復過

程。纈草單萜氧化物對鈉離子電流有濃度依賴性阻滯作用，這可能是抗心律不整的重要機制之一⁽³⁸⁾。

(三) 對平滑肌的作用

纈草證實有肌肉鬆弛作用⁽³⁹⁾。在組織胺引起天竺鼠迴腸平滑肌痙攣實驗，valerenic acid、valtrate 及 valeranone 具直接解痙作用⁽⁴⁰⁻⁴¹⁾。寬葉纈草抽提物 (500、1000、1500 mg/kg, p.o. tid) 治療 pentylenetetrazol (37.5 mg/kg, i.p.) 誘發的慢性癲癇大鼠，28 天同時給藥。結果治療組大鼠發作次數明顯減少，且發作時間縮短。纈草有效的對抗 pentylenetetrazol 誘發癲癇，其機轉可能是抑制 GABA 轉運體 (GAT-1) mRNA 的表現所造成⁽⁴²⁾。寬葉纈草對 4~6 週大鼠胸主動脈中層平滑肌細胞進行原代及傳代培養的血管平滑肌細胞收縮及生長的影响。結果寬葉纈草抑制血管收縮素 II (angiotension II) 引起的血管平滑肌細胞收縮和成長的作用⁽⁴³⁾。

(四) 抗腫瘤作用

Didrovaltrate、valtrate 及其代謝物 baldrinal 對肝瘤細胞有較強的細胞毒性，valtrate 的毒性是 didrovaltrate 的 2 倍，是 baldrinal 的 8 倍。此外 didrovaltrate 對 Kerb's II 腹水癌細胞有明顯確切的抑制作用⁽⁴⁴⁾。

(五) 神經保護作用

纈草可對 amyloid beta peptide 25-35 (25 μM) 24-48 小時誘發海馬回細胞毒性具保護作用，其作用是抑制過多的 Ca^{2+} 湧入造成之神經損傷；纈草也會抑制用 ascorbate/iron 所誘發的細胞膜脂質過氧化，對神經的凋亡有預防保護作用⁽³⁾。纈草根莖的甲醇抽提物中，分離出四個物質用光學分析法定出分子結構，其中兩個倍半萜類物質對神經成長因子 (nerve growth factor, 2 ng/mL) 誘發 PC 12 cell 神經軸生長有促進作用⁽⁴⁾。



第二節 學習記憶之文獻

一、學習記憶之形成

(一) 學習記憶之形成過程

記憶是經由學習而獲得的經驗或行為的保持，記憶也就是學習的結果；所以知識並非與生俱來，是從經驗中學來且靠記憶保存。記憶有長短，依記憶儲存時間可分為短期記憶 (short-term memory)、中期記憶 (intermittent-term memory)、長期記憶 (long-term memory)⁽⁴⁵⁾。再進一步將訊息刺激後之學習記憶形成階段分成四期：感覺記憶期 (sensory memory)：事件發生後數秒鐘內之記憶；初級記憶期 (primary memory)：事件發生後數分鐘內之記憶，此類記憶能維持數小時；二級記憶期 (secondary memory)：事件發生後數月內之記憶，此類記憶可維持數年之久；三級記憶期 (tertiary memory)：事件發生後數十年內之記憶，此類記憶形態通常終生不忘⁽⁴⁶⁾。

當外界刺激之訊息輸入後以致記憶形成，其過程可分為學習獲得 (acquisition)、記憶鞏固 (consolidation)、及記憶再現 (retrieval) 及再學習獲得 (reacquisition)。外界刺激之訊息經學習獲得、記憶鞏固後，進入中期記憶，若經不斷反覆刺激之再學習獲得或記憶再現，中期記憶則再次鞏固進入長期記憶⁽¹⁾。所以重複刺激使記憶維持較長久，亦就是熟能生巧的特性。

(二) 記憶鞏固與 cycloheximide

1963 年 Flexner L 第一個發現可以用生化來了解長期記憶開關，即長期記憶的形成需要新蛋白質合成，而短期記憶不需要；而後來蛋白質合成經由研究海蝸牛來闡明機制⁽⁴⁷⁾。

記憶鞏固過程，蛋白質合成為必需要素，所以抑制蛋白合成就能造成記憶鞏固損害的現象；蛋白質合成抑制劑 cycloheximide 經由阻斷 mRNA 轉錄，抑制 80% 的蛋白質合成，造成記憶鞏固的障礙⁽⁴⁸⁾。

在 Nabeshima T 研究指出 cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙與神經傳導物質有密切關係，主要是增加中樞 serotonergic system activity 以間接降低 acetylcholinergic system activity⁽⁴⁹⁾，並影響 adrenergic system activity、GABAergic system activity⁽⁵⁰⁻⁵¹⁾。Cycloheximide 會減少 muscarinic receptor 的密度⁽⁵²⁾，且其誘發出大鼠在被動學習的障礙，被 acetylcholinesterase inhibitor 所改善⁽⁵³⁾。蛋白質合成抑制劑 cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙常用來做藥物是否有改善學習記憶或記憶損傷保護的評估模式⁽⁵⁴⁾。

本實驗用 cycloheximide 為誘發記憶鞏固障礙之藥物。並藉其與各神經傳導物質的密切關係做進一步機轉探討。

二、大腦與學習記憶的關係

(一) Neocortex

脊椎動物進化中，大腦 neocortex 的面積和厚度不斷增加，人類的大腦 neocortex 約佔大腦皮質表面積的 95.9%。一般包括了 prefrontal、medial、parietal 及 visual 等四區。

Neocortex 位於 hippocampus 的上方，經過 entorhinal cortex 連接 hippocampal CA1 區，片段記憶的鞏固及記憶再現之訊息在此間傳遞，損傷此路徑，大鼠在水迷宮的長期空間操作記憶就無法鞏固⁽⁵⁵⁾。給予猴子 basal nucleus of Meynert 皮質部 cholinergic 損傷之視覺辨別能力研究，轉換學習障礙證明由 cholinergic 損傷造成的記憶功能障礙與 neocortex 有密切關係⁽⁵⁶⁾。Kesner RP 針對 neocortex 各部位之研究即指出 visual cortex 僅參與 working memory，parietal cortex 僅參與 reference memory，而 medial prefrontal cortex 則參與了 working memory 及 reference memory⁽⁵⁷⁾。Prefrontal dopamine 對 attentional control 和 working memory 有密切的影響，特別是 D₁ receptor。而 6-OHDA 或 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) 投與 neocortex 亦造成不同程度之學習記憶損害，顯示在 neocortex 之 catecholamine、serotonin 均參與學習記憶之過程⁽⁵⁸⁾。

(二) Hippocampus

Milner B 從對病人 H.M. 系列研究中，得知 hippocampus 損傷，立即記憶無礙，但學習後卻無法鞏固轉化成新記憶；但從前記憶還存在，因為長期記憶儲存於 neocortex⁽⁵⁹⁾。所以 hippocampus 對記憶形成有重要的影響。Hippocampus 在水迷宮試驗中，給予 scopolamine、6-OHDA、8-OH-DPAT、baclofen、NMDA antagonist 均會損傷記憶表現，可得知 hippocampus 中各種神經傳遞物質活性與記憶的關係⁽⁶⁰⁾。Neocortex 經過 entorhinal cortex 連接 hippocampal CA1 區，片段記憶的鞏固及記憶再現之訊息在此間傳遞，損傷此路徑，大鼠在水迷宮的長期空間操作記憶就無法鞏固⁽⁵⁵⁾。因此，在學習記憶過程，特別是 spatial memory，需經 basal forebrain 的 medial septum 支配至 hippocampus 之神經路徑及 hippocampus 支配至 nucleus accumbens 之運動神經路徑。最後在長期記憶過程中，可能牽涉 hippocampus 之 CA1 及 CA3 區所形成之 long-term potentiation，在外界刺激下可活化 hippocampus 區之 NMDA 接受器，造成神經傳輸間之迴路衝動，以造成蛋白質合成及接受器之變化⁽⁵⁶⁾。

(三) Striatum

Striatum 在被動迴避學習實驗中，給予 atropine、scopolamine 及 AF64A 均會造成學習記憶障礙⁽⁶⁰⁾，所以 cholinergic activity 在 striatum 中對被動迴避學習有很重要影響。在水迷宮試驗中，

striatum 給予 sulpiride 會使空間學習表現受損⁽⁶²⁾； Wickens J 之研究更指出 striatum 區 dopaminergic system 之活性將影響動物之學習記憶能力，且 D₁ 及 D₂ 接受器兩者扮演相反之角色⁽⁶³⁾。Overexpression D₂ receptor 活性的小鼠在 working memory 受損傷而認知功能沒缺損，這影響有可能是經 dopamine 系統活化 prefrontal cortex 上的 D₁ receptor 而造成⁽⁶⁴⁾。Amygdala 區有神經支配 ventral striatum 的神經迴路機制，稱為邊緣-運動界面 (limbic-motor interface)，負責來自 amygdala 區新訊息獲得後動物之運動行為反應⁽⁶⁵⁾；因此若將 striatum 區神經損傷，可阻斷刺激 amygdala 區誘發之學習記憶能力增加現象⁽⁶⁶⁾。

三、神經傳遞物質與學習記憶之關係

學習是接受外界環境刺激訊息而得到經驗，影響自身行為的過程；記憶是學習獲得的經驗或知識在腦內儲存和提取再現的過程。

當外界之刺激訊息輸入後以致記憶形成，其過程可分為學習獲得 (acquisition)、記憶鞏固 (consolidation)、及記憶再現 (retrieval) 三個階段⁽¹⁾。Squire LR、Kandel ER 闡述了學習記憶與神經傳遞物質之相關性。在記憶形成過程一旦接受外界訊息之刺激，神經元產生動作電位傳達到突觸前末梢，使突觸前神經傳遞物質包括 glutamate、GABA、acetylcholine、epinephrine、norepinephrine、dopamine、serotonin 等之釋出⁽⁵⁹⁾。

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

1971 年 Deutsh JA 研究指出，神經元在新訊息刺激學習後，突觸後細胞膜對 acetylcholine 敏感性增加，而形成記憶；若降低或受阻，記憶就產生障礙⁽⁶⁷⁾。Drachman DA 及 Leavitt J 發現年輕人在服用乙醯膽鹼 muscarine 接受器之拮抗劑 scopolamine 後，會產生類似老人癡呆症之進行性健忘症症狀⁽⁶⁸⁾。在大鼠實驗中給予 scopolamine 後，可使腦中 cholinergic system activity 下降，造成學習獲得操作之障礙⁽⁵³⁾。在給予乙醯膽鹼 muscarine 接受器之拮抗劑 atropine、乙醯膽鹼 M₁ 接受器之拮抗劑 pirenzepine、乙醯膽鹼尼古丁接受器之拮抗劑 mecamylamine 及乙醯膽鹼神經毒素 AF64A，均會造成大鼠學習行為操作之障礙⁽⁶⁰⁾。

Alzheimer's disease 病患對學習記憶嚴重損傷者，在 neocortex 和 hippocampus 中均發現 cholinergic dysfunction 的特殊現象⁽⁵³⁾。所以治療上以 acetylcholinesterase inhibitor 為主，如 donepezil、galantamine and rivastigmine⁽⁶⁹⁾。在 amyloid-beta peptide 誘發 Alzheimer's disease 的小鼠動物模式中，用 antisense therapy 作用在 acetylcholinesterase 的 mRNA 來改善 step-through test 及 water maze 表現，改善認知障礙⁽⁷⁰⁾。綜合上述，在增進學習記憶之能力，acetylcholine 確具重要之參與角色。

(二) Norepinephrine 與學習記憶關係

腦中 catecholamine release 會影響學習記憶，尤其在儲存新訊息之長期記憶⁽⁷¹⁾。而 hippocampus 的 catecholamine 濃度會影響學習記憶，當 adrenergic neurotransmitter system 活化 catecholamine system 時可增強記憶⁽⁷²⁾。Dorsal noradrenergic bundle 所含之 norepinephrine 在空間性記憶表現及注意力有重要的影響⁽⁷³⁾。

Alzheimer's disease 的病人在大腦藍斑區 (locus ceruleus) 所含之 norepinephrine 之合成酵素 dopamine β -hydroxylase 有明顯減少，腦內 norepinephrine 濃度減少及代謝物 MHPG 濃度增加⁽⁷⁴⁾。6-OHDA 破壞 nigro-striatal bundle，可造成主動迴避反應之操作障礙⁽⁷⁵⁾，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⁽⁷⁶⁾，當 amygdala 區給予 β -接受器拮抗劑 propranolol 會造成學習的障礙⁽⁷⁷⁾，因此智能增進劑會被經 amygdala 區給予 propranolol 所阻斷⁽⁷⁸⁾。所以 norepinephrine 在學習記憶也佔有一定的角色。

(三) Serotonin 與學習記憶關係

無脊椎動物海蝸牛迴縮反射反應之條件學習研究中，用 serotonin 重複刺激突觸後感覺神經元，使感覺神經元內 protein kinase 活化，以促進蛋白質合成基因複製，使記憶鞏固，形成長期

記憶⁽⁷⁹⁾。但在脊椎動物大鼠之學習行為模式研究中，認為中樞 serotonin 對學習記憶有負向性之影響，亦是學習記憶重要的一部分⁽⁸⁰⁾。Serotonin 的釋出促進劑 *p*-chloroamphetamine 會使 serotonin 活性增加而誘發學習獲得障礙⁽⁸¹⁾。且蛋白質抑制劑 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⁽⁴⁹⁾。

Matsuno K 研究指出 *p*-chloroamphetamine 作用於 5-HT₂ receptor 而誘發學習記憶障礙，所以其誘發之障礙作用可被 5-HT₂ receptor antagonist (ritanserin、mianserin) 所拮抗⁽⁸²⁾。5-HT_{1A} receptor 致效劑 8-OH-DPAT 會造成水迷宮空間學習記憶之障礙⁽⁸³⁾。Riekkinen JP 在 8-OH-DPAT 與 DOI 誘發被動障礙研究中，發現 5-HT_{1A} 及 5-HT₂ receptor 僅參與學習獲得與記憶鞏固之過程，且 5-HT_{1A} receptor 可能經突觸後 receptor 之作用以間接抑制 cholinergic activity 所致⁽⁸⁴⁾。當以 serotonergic neurotoxin 5,7-DHT 投在 neocortex 亦可造成學習記憶損傷⁽⁵⁸⁾。

第三章 實驗材料與方法

第一節 實驗材料

一、纈草之抽提製備

(一) 纈草之抽提流程

纈草為敗醬科 (Valeriaceae) 植物纈草 *Valerianae Radix* 之乾燥根。纈草 10 kg，購自台中市日盛中西藥局。先用 70% 乙醇抽取後濃縮烘乾，得粗提取物 (簡稱 VR；重1558.65 g；抽取率為15.59%)；粗提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，得氯仿層萃提取物 (簡稱 VRc；重182.7 g；萃取率為1.83%)，乙酸乙酯層萃提取物 (簡稱 VRe；重189.53 g；萃取率為1.9%)，正丁醇層萃提取物 (簡稱 VRb；重371.85 g；萃取率為3.72%)，水層萃提取物 (簡稱 VRw；重754.43 g；萃取率為7.54%)。

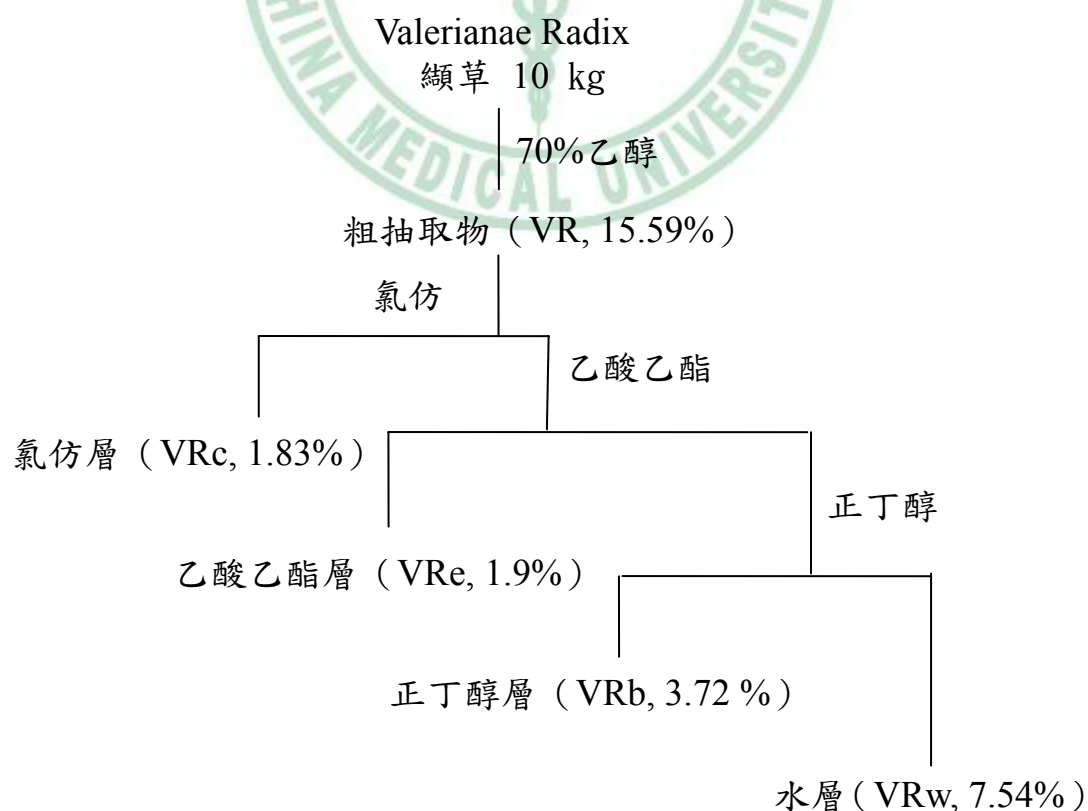


Fig. 1. 纈草抽提流程

(二) 實驗材料之製備

纈草粗提取物及各分層萃取物以RO逆滲透水溶解。溶解後，纈草粗提取物稀釋至 0.1、0.3、1.0 g/kg (p.o.)，各分層萃取物分別稀釋至 0.1、0.3、1.0 g/kg (p.o.)。

二、實驗試劑

(一) 實驗試劑：

Cycloheximide (CXM)、scopolamine hydrobromide (SCOP)、mecamylamine hydrochloride (MECA)、(±)-pindolol (PIN)、baclofen (BAC)、bicuculline (BIC)、以上均購自 Sigma-Aldrich Co.。

1 - (2,5-dimethoxy-4-iodophenyl) - 2 - aminopropane (DOI)、*p*-chloroamphetamine hydrochloride (PCA)、ritanserine (RIN)、R(+)-8-hydroxy-dipropylaminotetralin hydrobromide (DPAT)、sulpiride (SUL)、R(+)-SCH-23390 hydrochloride (SCH-23390) 均購自RBI Co.。

(二) 實驗試劑之製備

CXM、SCOP、BAC、BIC、PIN、MECA、DOI、PCA、SCH-23390 均以 0.9 % normal saline 溶解。

RIN、SUL 以 distilled water 溶解，並添加少量 lactic acid 助溶，最後以 sodium bicarbonate 調 pH 值至 4 左右。

DPAT 以 0.9 % normal saline 溶解，並添加 0.5% ascorbic acid 以防止氧化。

(三) 實驗試劑簡稱及其作用機制

藥物全名	簡稱	作用機制
Cycloheximide	CXM	Protein synthesis inhibitor
Scopolamine hydrobromide	SCOP	Muscarinic antagonist
Mecamylamine hydrochloride	MECA	Nicotinic antagonist
R(+)-SCH-23390 hydrochloride	SCH-23390	Dopamine ₁ antagonist
Sulpiride	SUL	Dopamine ₂ antagonist
<i>p</i> -chloroamphetamine hydrochloride	PCA	5-HT releaser
R(+)-8-hydroxy-DPAT hydrobromide	DPAT	5-HT _{1A} agonist
(±)Pindolol	PIN	5-HT ₁ antagonist
1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane	DOI	5-HT ₂ /5-HT _{1C} agonist
Ritanserin	RIN	5-HT ₂ antagonist
Bicuculline	BIC	GABA _A antagonist
Baclofen	BAC	GABA _B agonist

三、實驗動物

本實驗採用 樂斯科 生物科技股份有限公司提供 Sprague-Dawley (SD) 系雄性大鼠，體重 250~300 g，飼養在空調的飼養室，溫度維持在 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ，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

(一) 被動迴避學習之設備

「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。

(二) 水迷宮之設備使用

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 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。水池由電腦劃分為四個象限 (I、II、III、IV)，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。

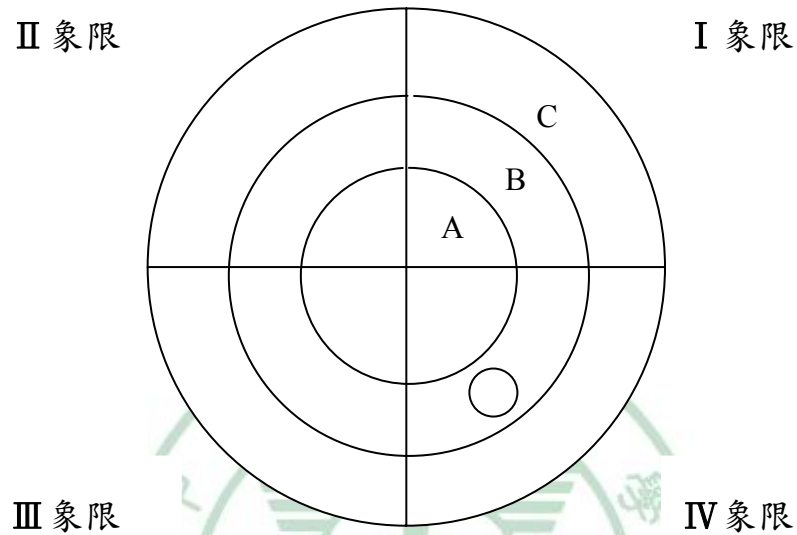


Fig. 2.水迷宮電腦劃分圖

(三) 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、學習記憶動物行為模式

(一) 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⁽⁵³⁾。

(二) 水迷宮實驗 (Morris Water Maze)⁽⁸⁵⁾

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，此階段稱為空間操作期 (spatial performance)⁽⁸⁶⁾。

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，此階段稱為參考記憶期 (reference memory)⁽⁸⁶⁾。

二、纈草粗提取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在被动迴避學習試驗的影響

口服纈草 70%乙醇粗提取物 (VR, 0.1、0.3、1.0 g/kg)，60 分鐘後進行被动迴避學習反應訓練。於訓練後，立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.)，誘發記憶鞏固障礙⁽⁵³⁾。

於 24 小時後進行被动迴避學習反應測定，記錄大鼠在明室之滯留時間 (STL)。空白對照組給予 vehicle。

三、纈草粗提取物與各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

第一天至第三天空間操作期，每天分組口服纈草 70%乙醇粗提取物 (VR, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 及各分層萃取物 (VRc、VRb、VRe, 0.1、0.3、1.0 g/kg)。60 分鐘後，依序進行四個象限，四次水迷宮試驗訓練，於訓練後立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.)，誘發記憶鞏固障礙⁽⁵³⁾。空白對照組給予 vehicle。

第四天參考記憶期，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。

四、能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響

第一天至第三天空間操作期，每天分組口服纈草正丁醇萃取物 (VRb, 0.3 g/kg)。60 分鐘後，依序進行四個象限，四次水迷宮試驗訓練，於訓練後立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.)，誘發記憶鞏固障礙⁽⁵³⁾。並立刻與下述能影響記憶鞏固之藥物併用。空白對照組給予 vehicle。

本實驗所使用於能影響記憶鞏固之藥物的劑量分別為：

SCOP (Muscarinic receptor antagonist, 0.3 mg/kg, i.p.)

MECA (Nicotinic receptor antagonist, 1.0 mg/kg, i.p.)

SCH-23390 (Dopaime₁ antagonist, 0.025 mg/kg, i.p.)

SUL (Dopaime₂ antagonist, 10 mg/kg, i.p.)

PCA (5-HT releaser, 1.0 mg/kg, i.p.)

DPAT (5-HT_{1A} agonist, 0.025 mg/kg, i.p.)

PIN (5-HT₁ antagonist, 10 mg/kg, i.p.)

DOI (5-HT₂/5-HT_{1C} agonist, 0.2 mg/kg, i.p.)

RIN (5-HT₂ antagonist, 0.25 mg/kg, i.p.)

BIC (GABA_A antagonist, 0.025 mg/kg, i.p.)

BAC (GABA_B receptor agonist, 0.01 mg/kg, i.p.)

第四天參考記憶期，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。

五、腦組織之處理及蛋白質測定

(一) 腦組織之處理

於實驗完成後，將老鼠犧牲，斷頭取腦，按 Grosvisky 之方法⁽⁸⁷⁾，分成 cortex、hippocampus、striatum 區域，分別加入 25 mM phosphate buffer solution (pH=7.4) 均質之，並在 4 °C 離心 (14,000 rpm, 30 min)，離心完成後，取上清液。上清液保存於 -80 °C 的冰箱中，待需要時解凍使用。

(二) 蛋白質含量測定

採 Lowery 之方法⁽⁸⁸⁾，以 bovine serum albumin 為標準品，將 protein standard 以 50 mM sodium phosphate buffer 稀釋 3 到 5 個濃度，取 5 μ L sample 和 standard 分別置入 microplate 中，每一小格中先後加入 25 μ L 試劑 A 及 200 μ L 試劑 B (試劑購自 Bio-RAD) 混合均勻，靜置 15 分鐘後，將 microplate 置入酵素分析儀中，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。

六、Acetylcholinesterase (AChE) 活性測定

大腦各部位均質液之 acetylcholinesterase (AChE) 以 Modified Ellmen method 測定⁽⁸⁹⁾，以 acetylthiocholine (ACtCh) 為受質，使用 DTNB 為反應試劑，將 AChE standard 以 0.1 M sodium phosphate buffer (pH=7.4) 稀釋 3 到 5 個濃度，取 0.5 μL sample 和 standard 分別置入 microplate 中，每一小格中加入 4.5 μL DTNB 並混合均勻，控溫於 26 $^{\circ}\text{C}$ 靜置 10 分鐘。爾後每一小格中先後加入 5 μL ACtCh 及 190 μL sodium phosphate buffer (pH=8.0) 並混合均勻。將 microplate 置入酵素分析儀中，以波長 412 nm 測定吸光值的變化。



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 Scheffe test 來作分析；若 p 值小於 0.05 以下時，則認為其差異有統計意義。



第四章 實驗結果

一、纈草粗提取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在被动迴避學習試驗的影響

訓練後立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 造成大鼠被動迴避學習操作障礙 ($p < 0.001$)。

纈草粗提取物 (VR, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠被動迴避學習操作障礙 ($p < 0.05$, $p < 0.001$)；纈草粗提取物 VR 改善學習障礙之作用，高劑量組較優於低劑量組 (如 Fig. 3.)。

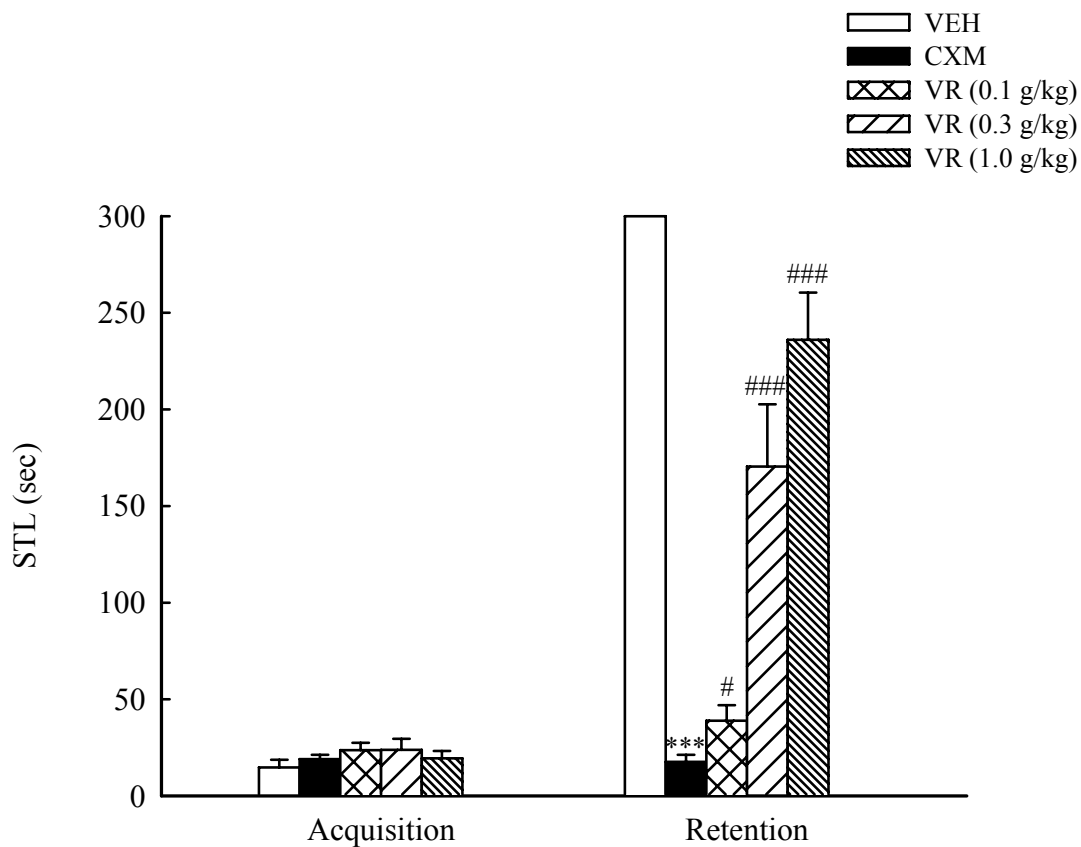


Fig. 3. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VR, 0.1、0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced impairment of passive avoidance performance in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

二、纈草粗抽物與各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

(一) 纈草粗抽物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

第一天至第三天水迷宮訓練後，立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 造成大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。

纈草粗抽物 (VR, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.01$) (如 Fig. 4.)。

水迷宮空間操作訓練後，立即給予 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 造成大鼠第四天水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.001$)。

纈草粗抽物 (VR, 0.1 g/kg) 可改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.001$) (如 Fig. 5.)。

在游泳速度方面，各組之差異無統計意義 (如 Fig. 6.)。

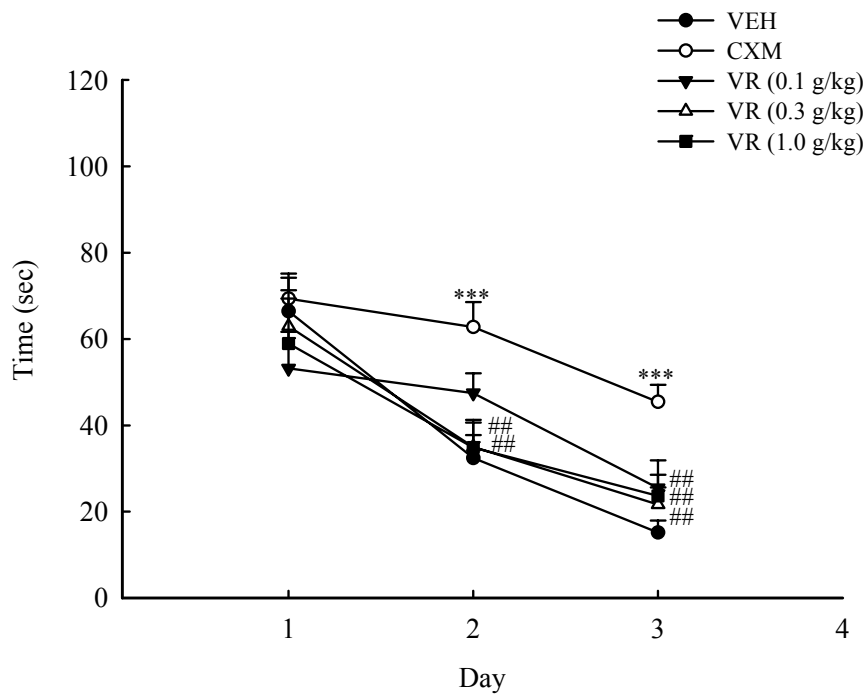


Fig. 4. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VR, 0.1 、 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced impairment of spatial performance in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

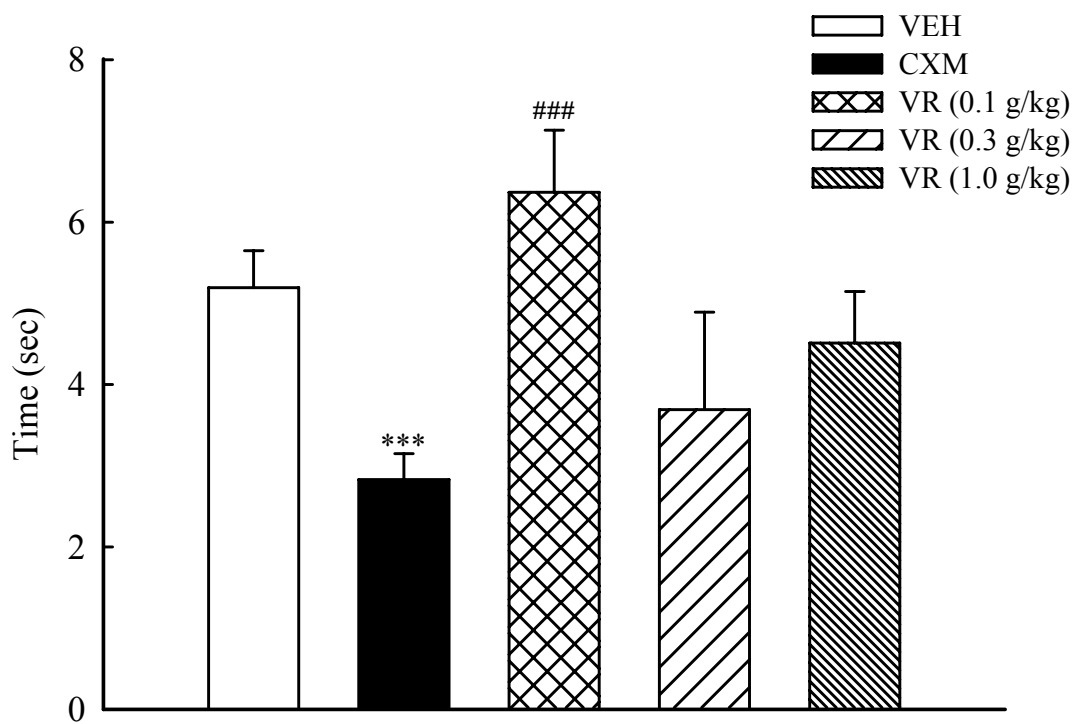


Fig. 5. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VR, 0.1 · 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced deficit of reference memory in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

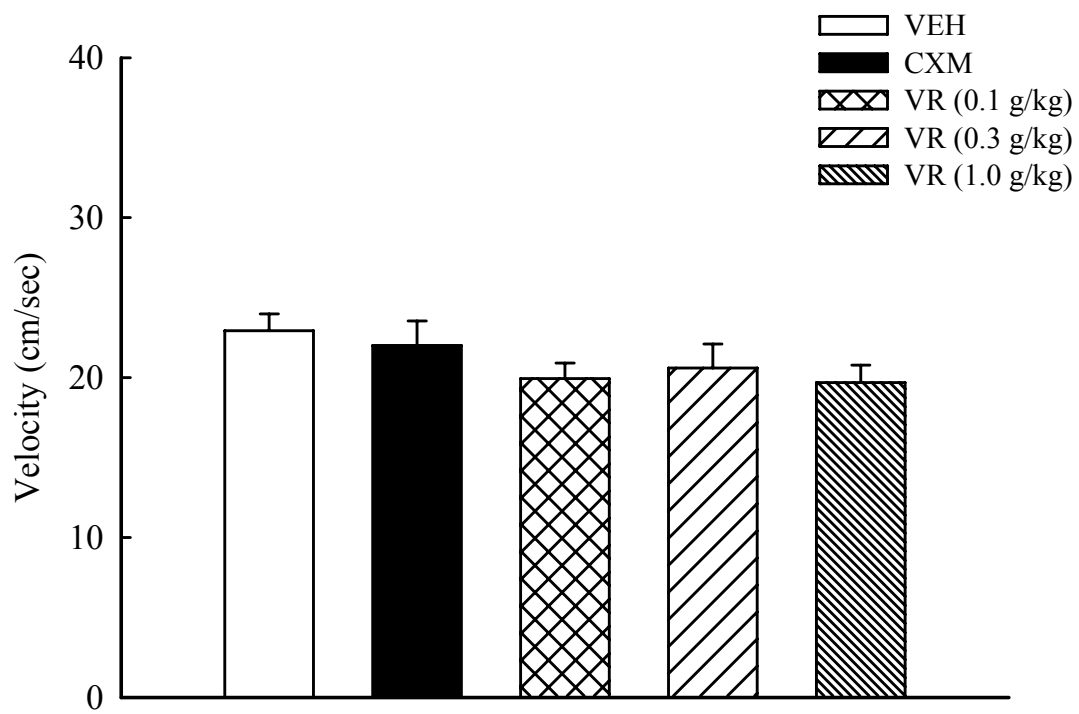


Fig. 6. Effect of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VR, 0.1 - 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) on the velocity of water maze performance in rats. N=8.

(二) 纈草各分層之萃取物對 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

1. 纈草氣仿層萃取物對 cycloheximide 誘發水迷宮空間性學習操作障礙的影響

纈草氣仿層萃取物 (VRc, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，在改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙，其差異無統計意義 (如 Fig. 7.)。

纈草氣仿層萃取物改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙，其差異無統計意義 (如 Fig. 8.)。

在游泳速度方面，各組之差異無統計意義 (如 Fig. 9.)。

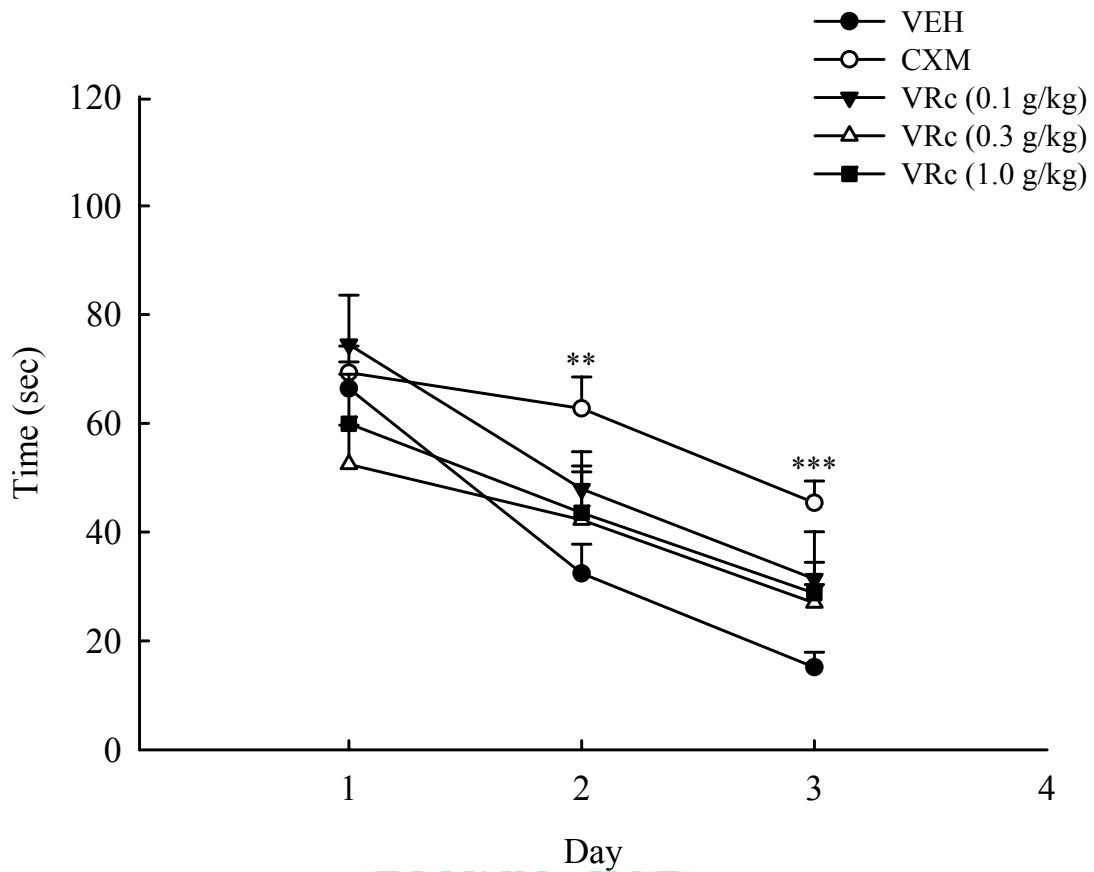


Fig. 7. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRc, 0.1、0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced impairment of spatial performance in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.01$ compared with VEH group. N=8.

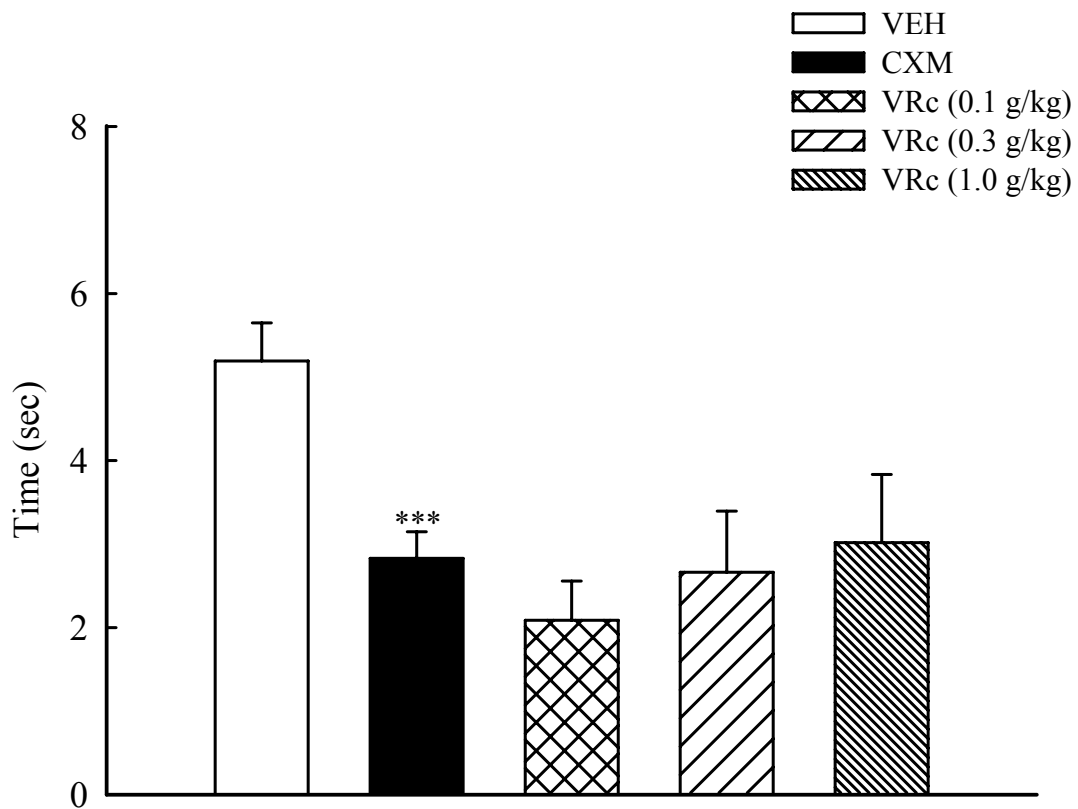


Fig. 8. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valeriana Radix (VRc, 0.1、0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced deficit of reference memory in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. N=8.

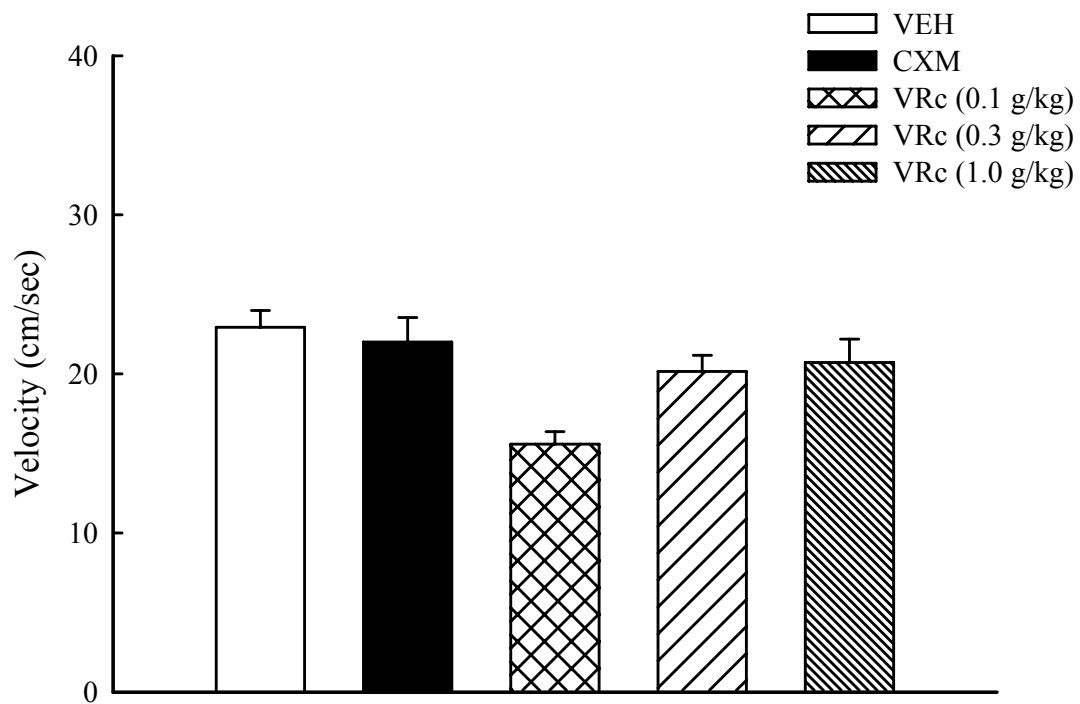


Fig. 9. Effect of chloroform subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRc, 0.1, 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) on the velocity of water maze performance in rats. N=8.

2. 纈草乙酸乙酯層萃取物對 cycloheximide 誘發水迷宮空間性學習操作障礙的影響

纈草乙酸乙酯層萃取物 (VRe, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予, 可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.05$, $p < 0.001$) (如 Fig. 10.)。

纈草乙酸乙酯層萃取物 (VRe, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.05$) (如 Fig. 11.)。

在游泳速度方面, 各組之差異無統計意義 (如 Fig. 12.)。

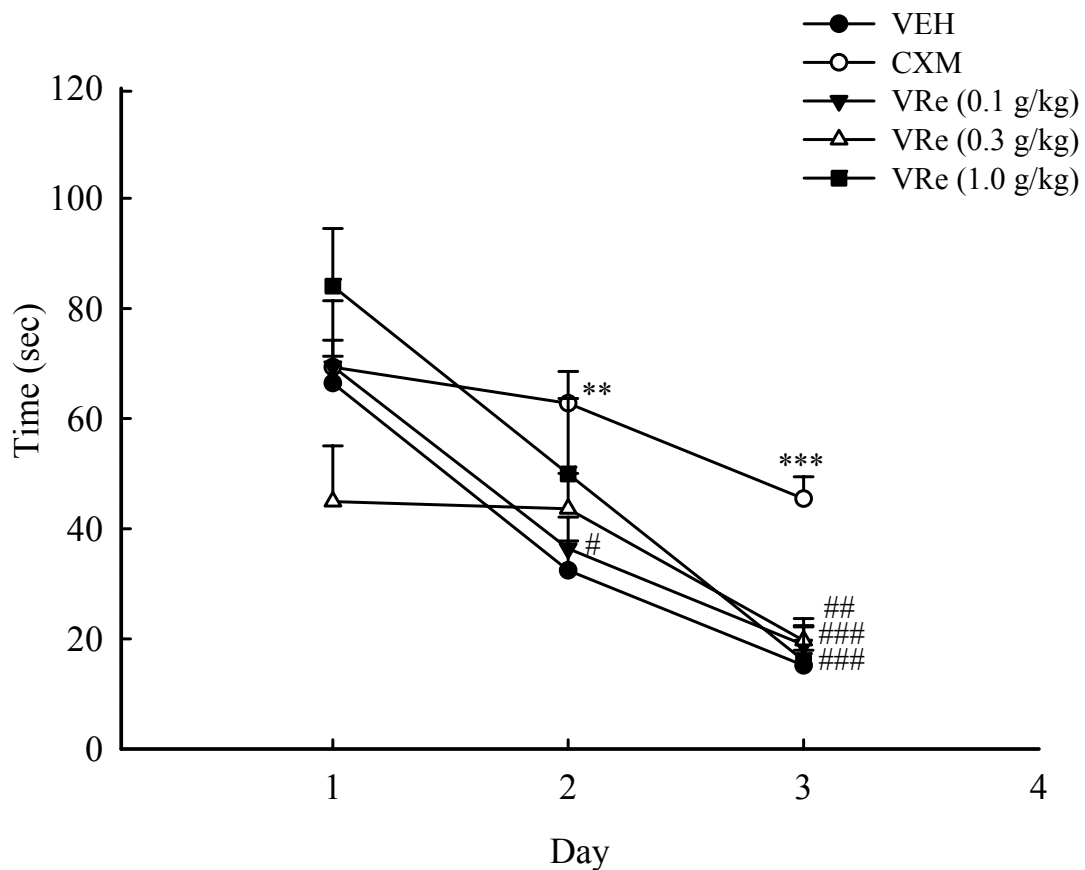


Fig. 10. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valeriana Radix (VRe, 0.1-0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced impairment of spatial performance in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

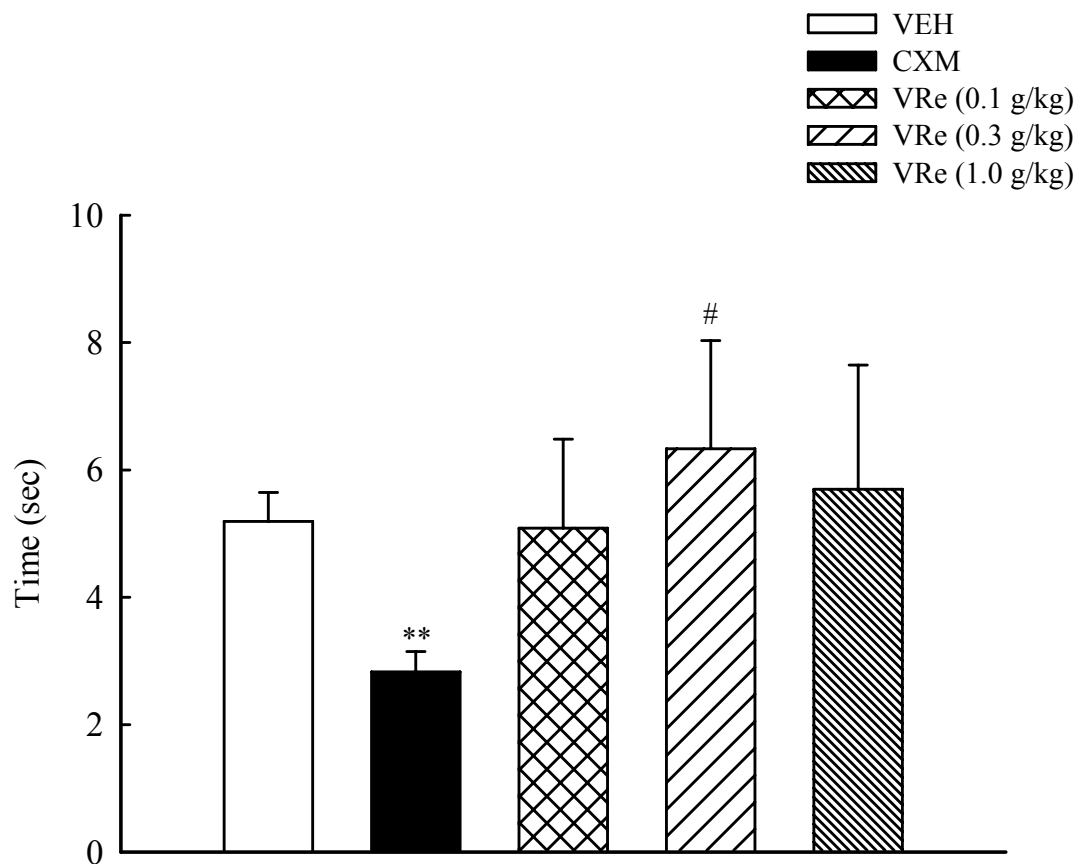


Fig. 11. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRe, 0.1 、 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced deficit of reference memory in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. # $p < 0.05$ compared with CXM group. N=8.

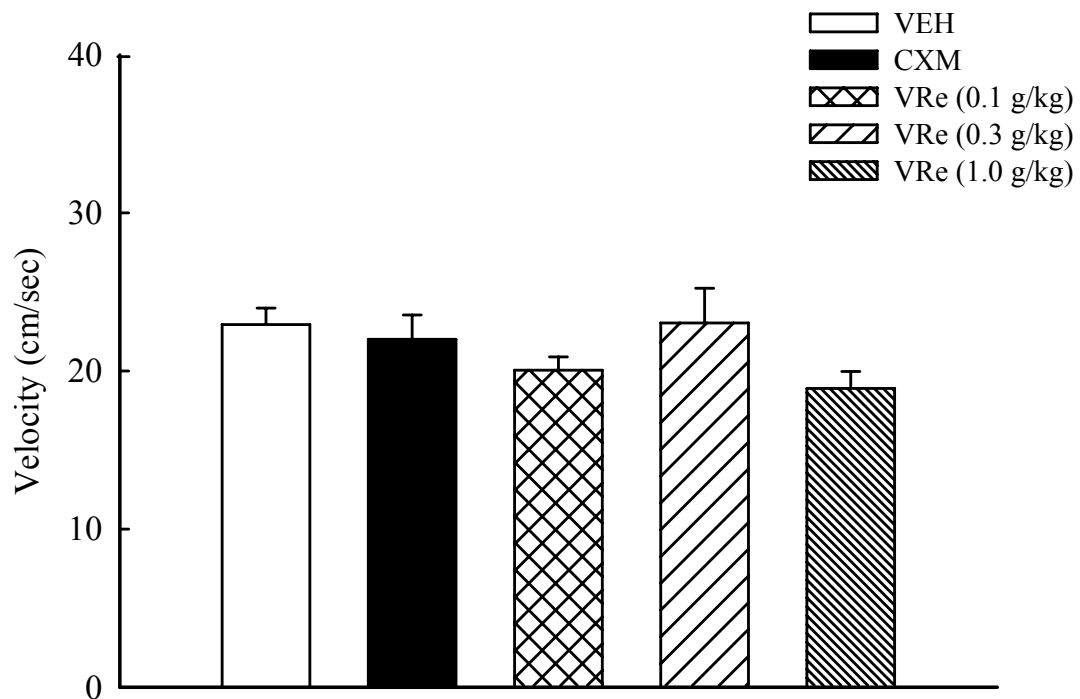


Fig. 12. Effect of ethyl acetate subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRe, 0.1 · 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) on the velocity of water maze performance in rats. N=8.

3. 纈草正丁醇層萃取物對 cycloheximide 誘發水迷宮空間性學習操作障礙的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.1、0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予, 可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) (如 Fig. 13.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$) (如 Fig. 14.)。

在游泳速度方面, 各組之差異無統計意義 (如 Fig. 15.)。

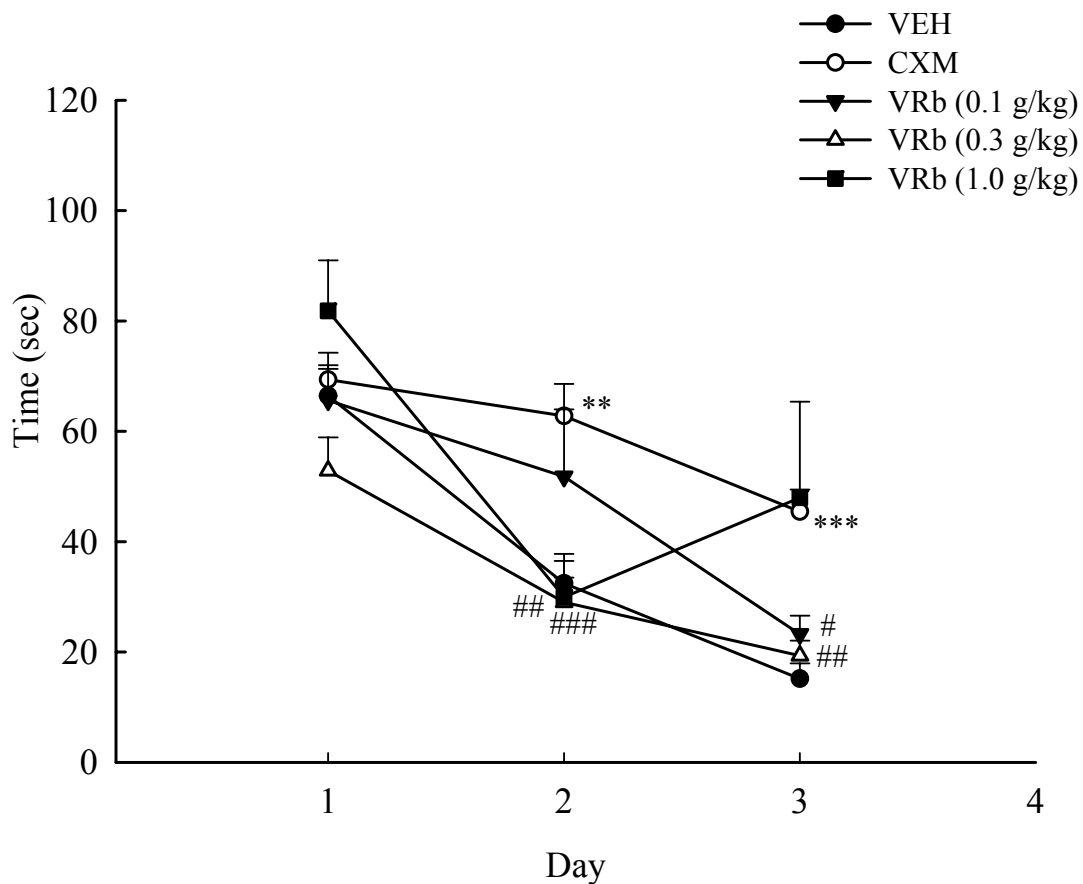


Fig. 13. Effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.1、0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced impairment of spatial performance in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

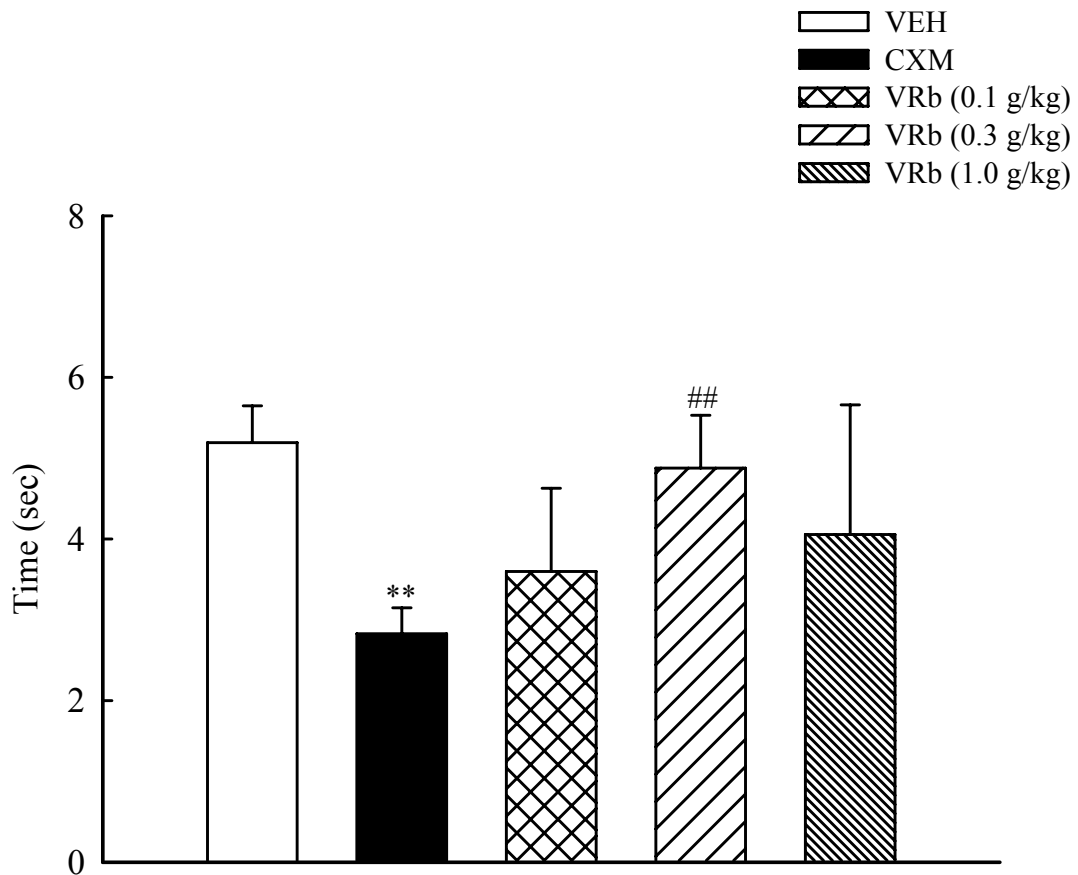


Fig. 14. Effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.1 , 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced deficit of reference memory in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

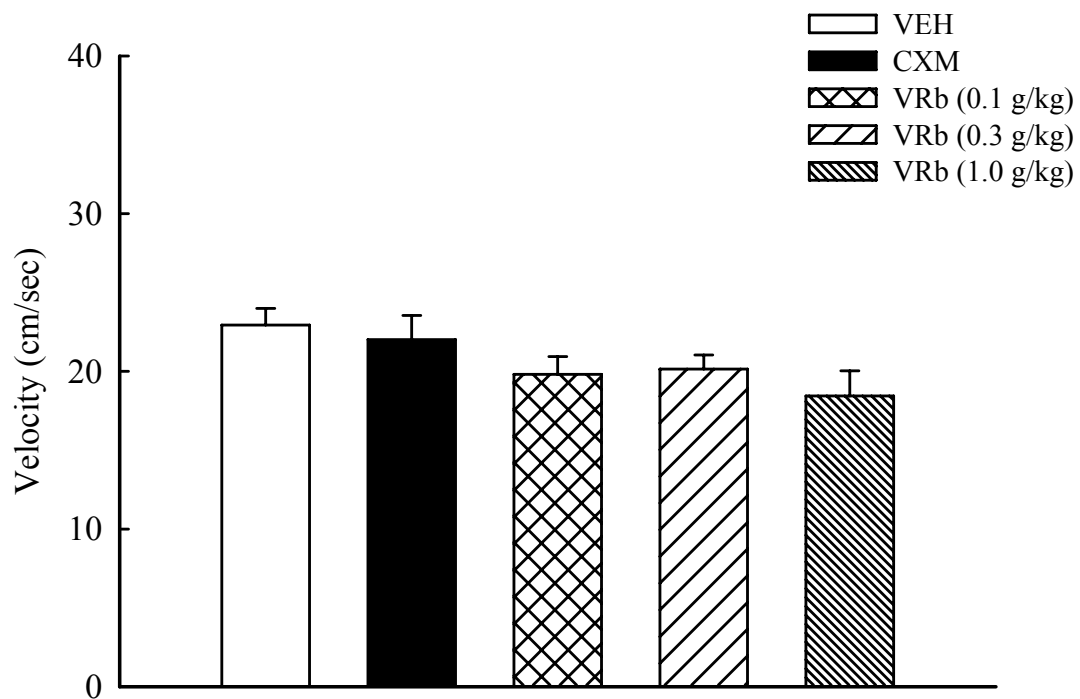


Fig. 15. Effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.1 · 0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) on the velocity of water maze performance in rats. N=8.

三、能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響

(一) 改變 Cholinergic receptor system 藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響

1. Scopolamine 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 SCOP (0.3 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 16.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 SCOP (0.3 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 17.)。

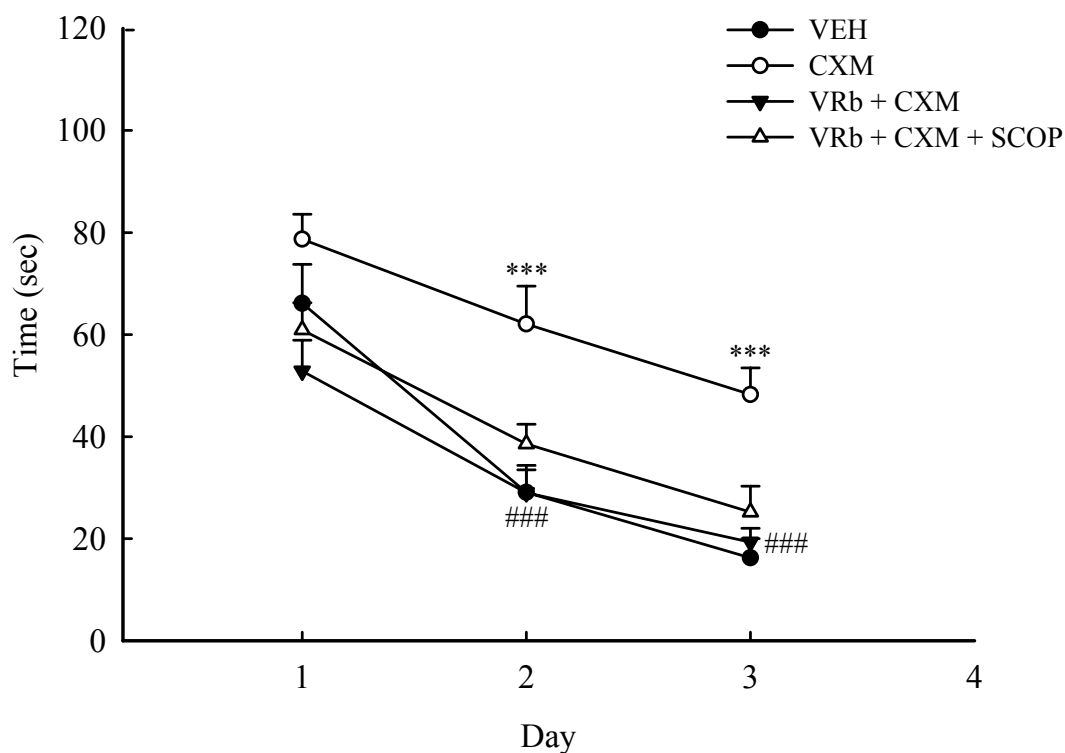


Fig. 16. Effect of scopolamine (SCOP, 0.3 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

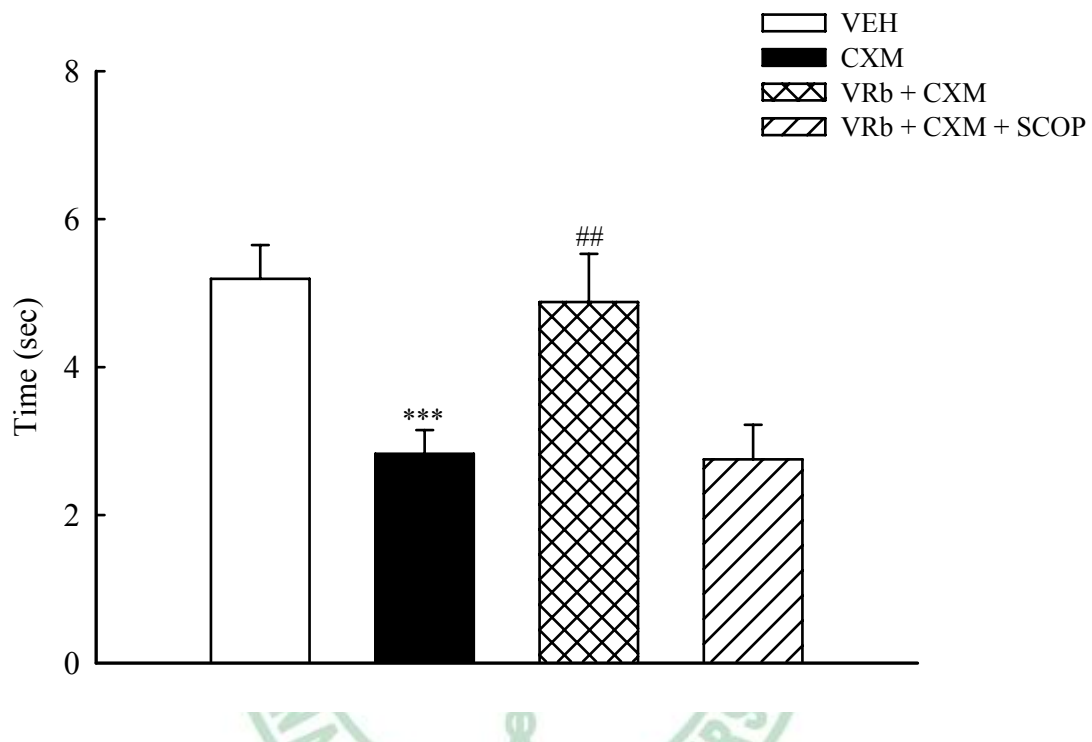


Fig. 17. Effect of scopolamine (SCOP, 0.3 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

2. Mecamylamine 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 MECA (1.0 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的改善現象有拮抗作用 ($p < 0.001$) (如 Fig. 18.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 MECA (1.0 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的改善現象有拮抗作用 ($p < 0.001$) (如 Fig. 19.)。

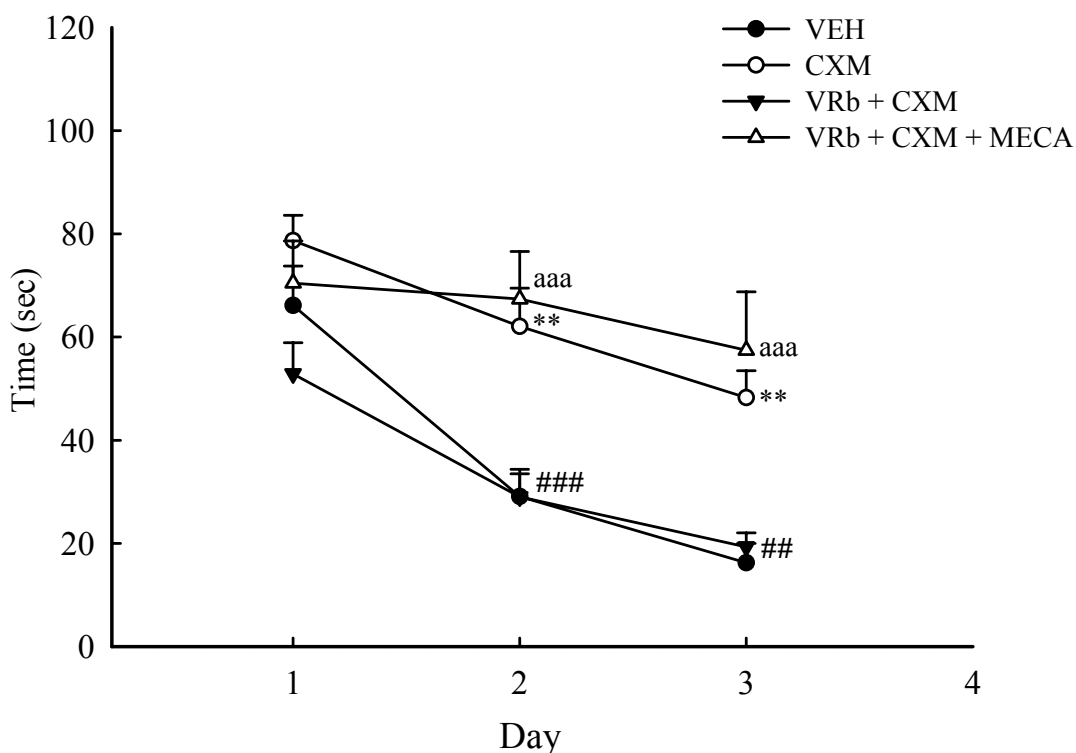


Fig. 18. Effect of mecamlamine (MECA, 1.0 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ compared with CXM group. aaa $p < 0.001$ compared with VRb + CXM group.

NT 0

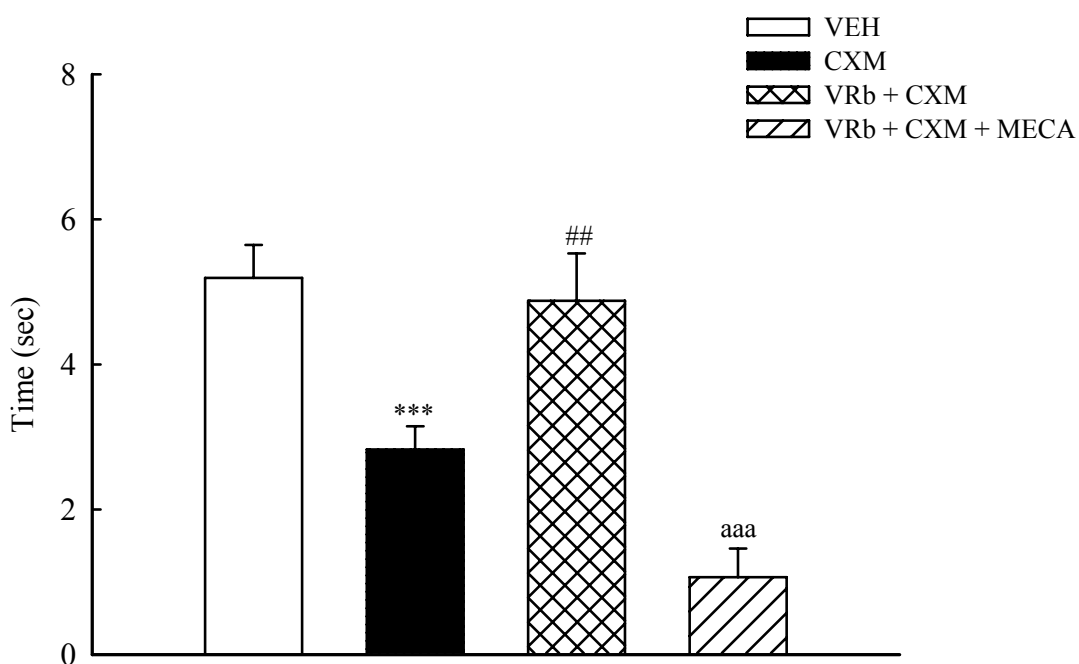


Fig. 19. Effect of mecamylamine (MECA, 1.0 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. aaa $p < 0.001$ compared with VRb + CXM group. N=8.

(二) 改變 Dopamine receptor system 藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響

1. SCH-23390 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 SCH-23390 (0.025 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的改善現象有拮抗作用 ($p < 0.05$) (如 Fig. 20.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 SCH-23390 (0.025 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 21.)。

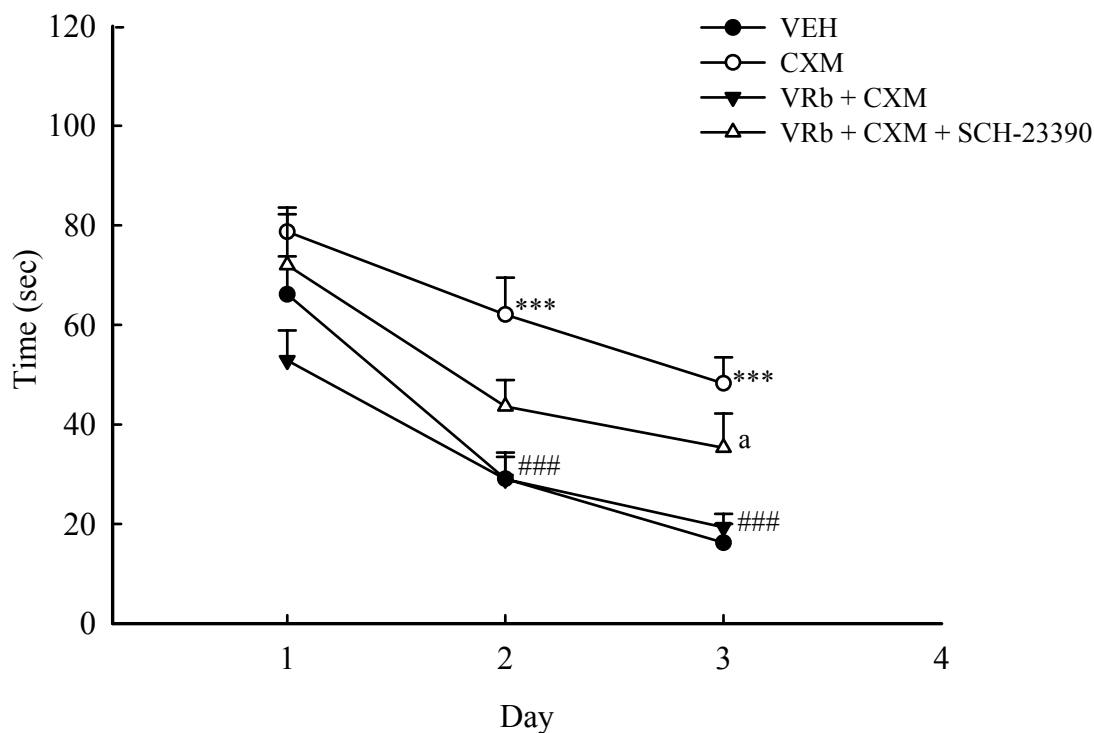


Fig. 20. Effect of SCH-23390 (0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. #### $p < 0.001$ compared with CXM group. ^a $p < 0.05$ compared with VRb + CXM group. N=8.

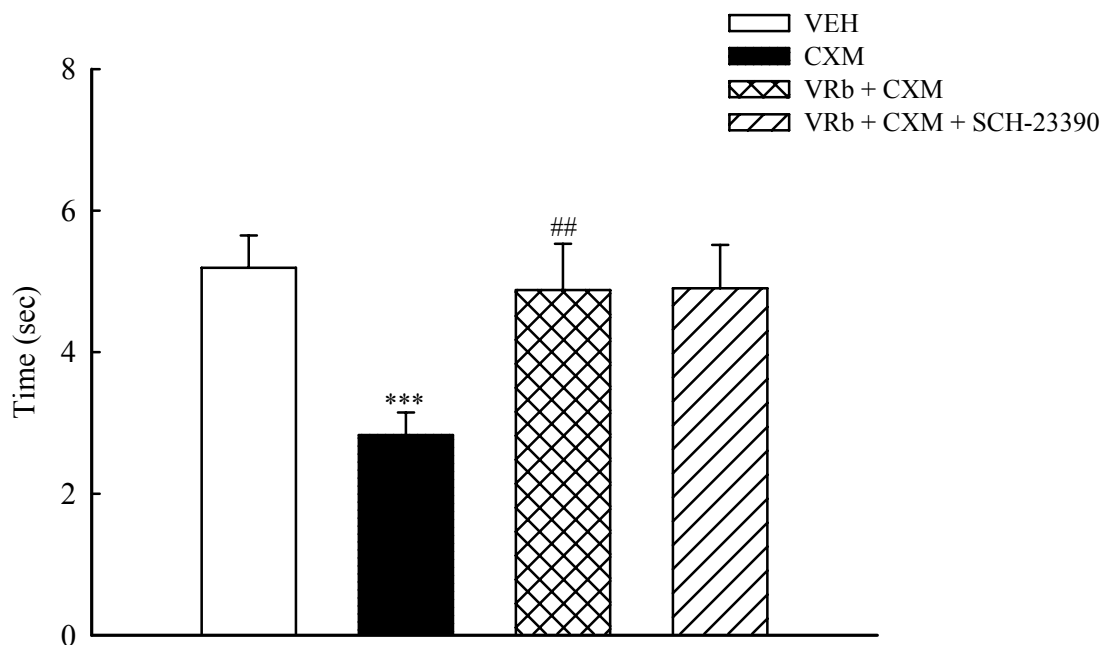


Fig. 21. Effect of SCH-23390 (0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

2. Sulpiride 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發 大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 SUL (10 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的改善現象有拮抗作用 ($p < 0.05$) (如 Fig. 22.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 SUL (10 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 23.)。

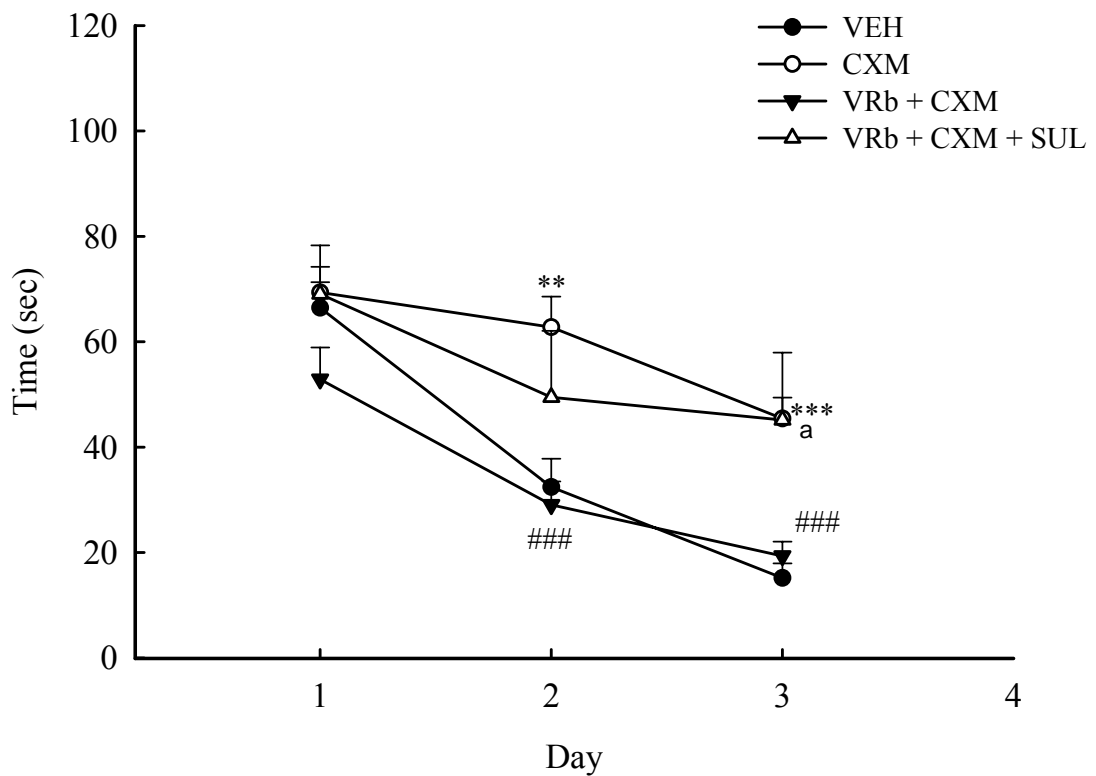


Fig. 22. Effect of sulpiride (SUL, 10 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of *Valerianae Radix* (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. a $p < 0.05$ compared with VRb + CXM group. N=8.

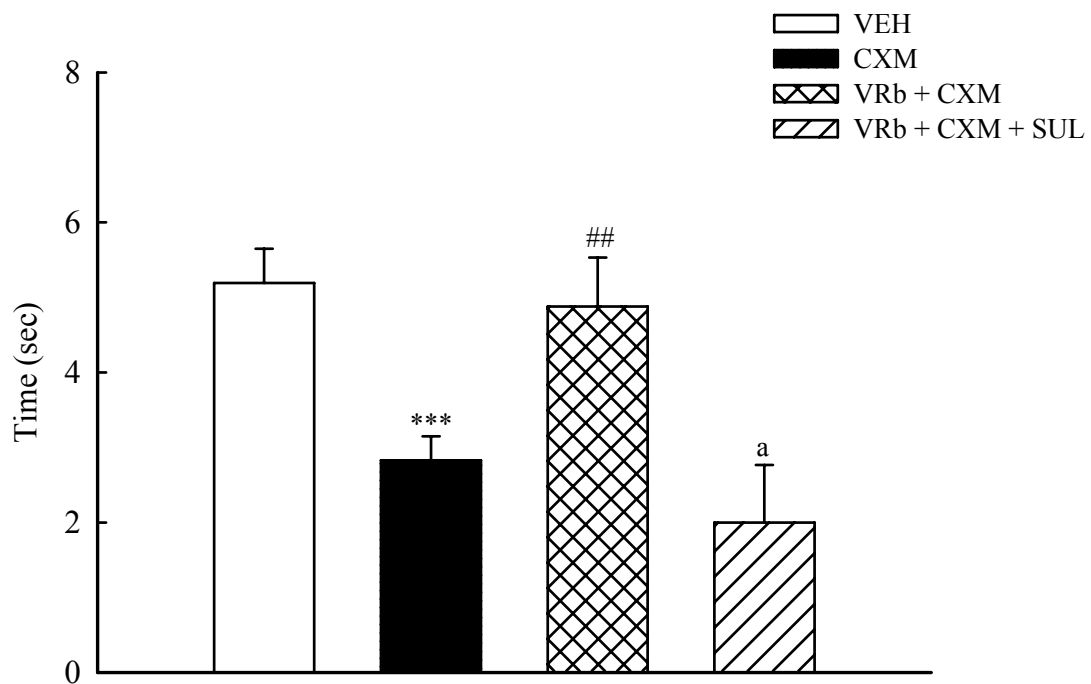


Fig. 23. Effect of sulpiride (SUL, 10 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. a $p < 0.05$ compared with VRb + CXM group. N=8.

(三) 改變 Serotonergic system 藥物對纈草正丁醇層萃
取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障
礙之影響

1. *p*-chloroamphetamine hydrochloride 對纈草正丁醇層萃
取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗
的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘
口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所
誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完
CXM 之後，再併用 PCA (1.0 mg/kg, i.p.)，PCA 對口服纈草正
丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的改
善現象有拮抗作用 ($p < 0.05$) (如 Fig. 24.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5
mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p <$
0.01)。注射完 CXM 之後，再併用 PCA (1.0 mg/kg, i.p.)，結
果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考
記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 25.)。

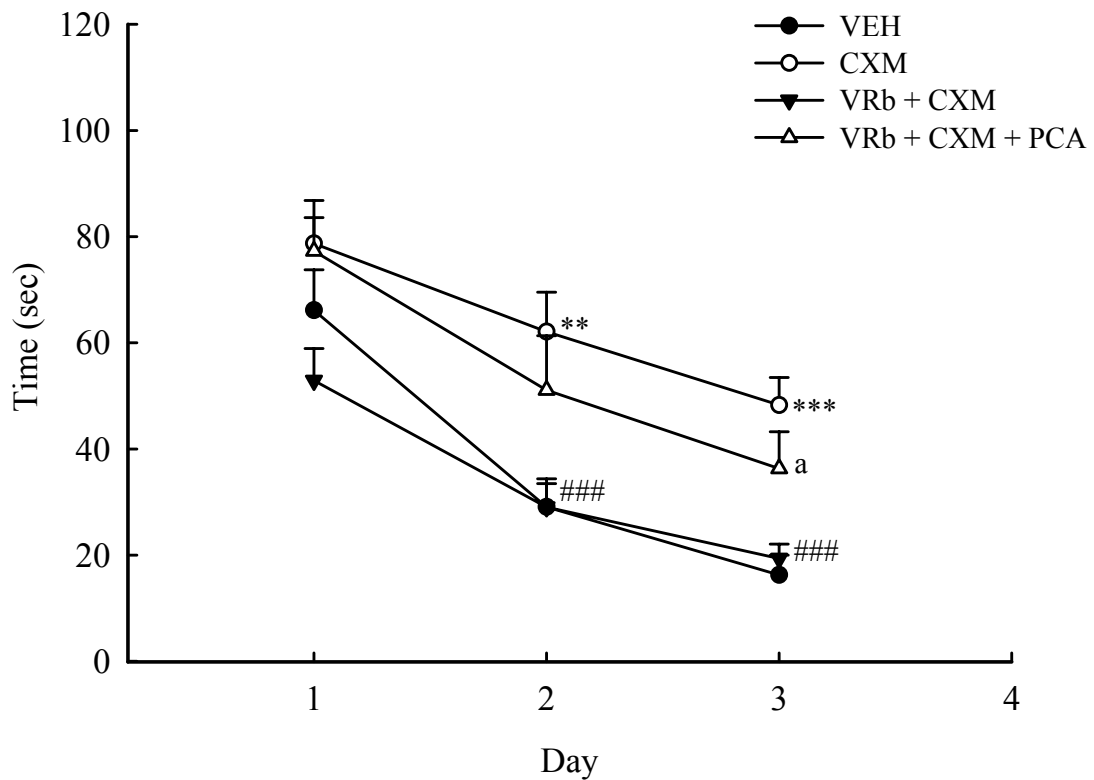


Fig. 24. Effect of *p*-chloroamphetamine hydrochloride (PCA, 1.0 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of *Valerianae Radix* (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. a $p < 0.05$ compared with VRb + CXM group. N=8.

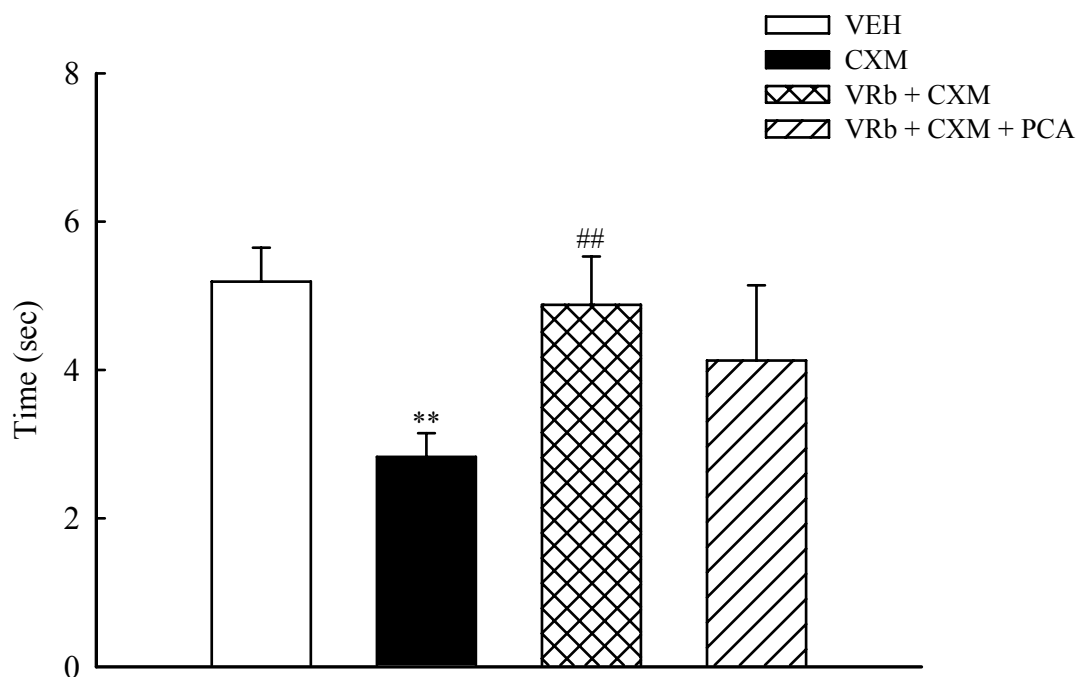


Fig. 25. Effect of *p*-chloroamphetamine hydrochloride (PCA, 1.0 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

2. DAPT 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 8-OH-DPAT (0.025 mg/kg, i.p.) 後，DPAT 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的改善現象有顯著的拮抗作用 ($p < 0.001$) (如 Fig. 26.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 8-OH-DAPT (0.025 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 27.)。

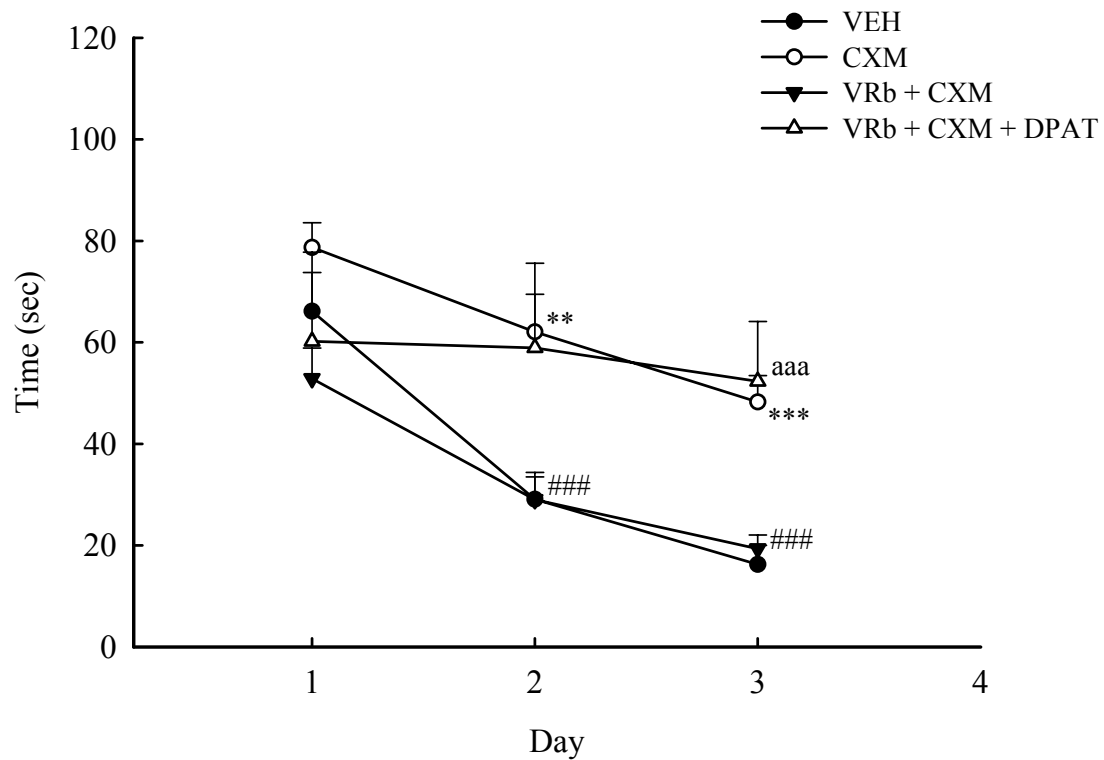


Fig. 26. Effect of 8-OH-DAPT (DAPT, 0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. aaa $p < 0.001$ compared with VRb + CXM group. N=8.

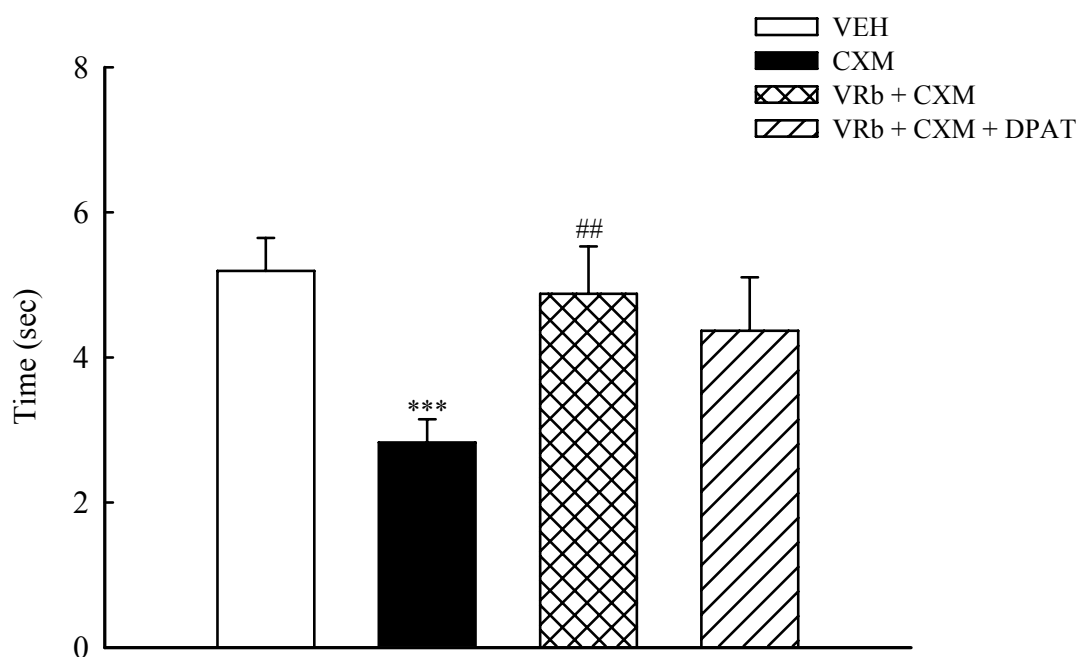


Fig. 27. Effect of 8-OH-DAPT (DAPT, 0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group.## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

3. Pindolol 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.01$, $p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 PIN (10 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 28.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 PIN (10 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 29.)。

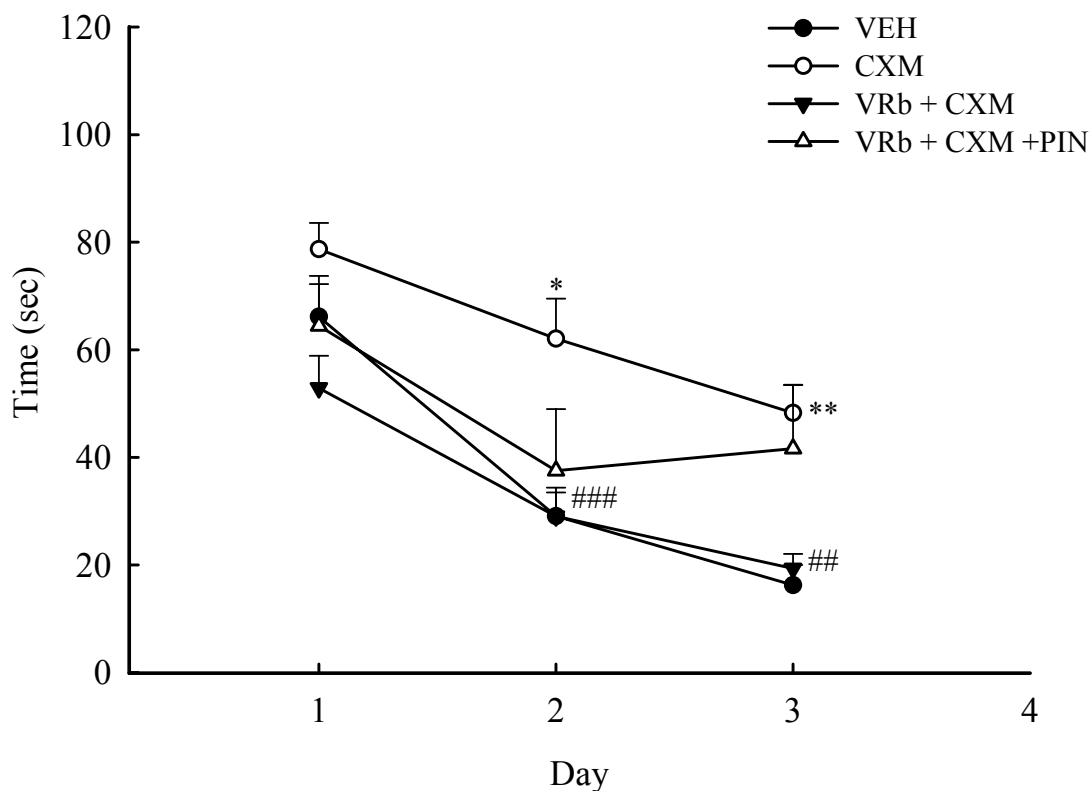


Fig. 28. Effect of pindolol (PIN, 10 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of *Valerianae Radix* (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$, #### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

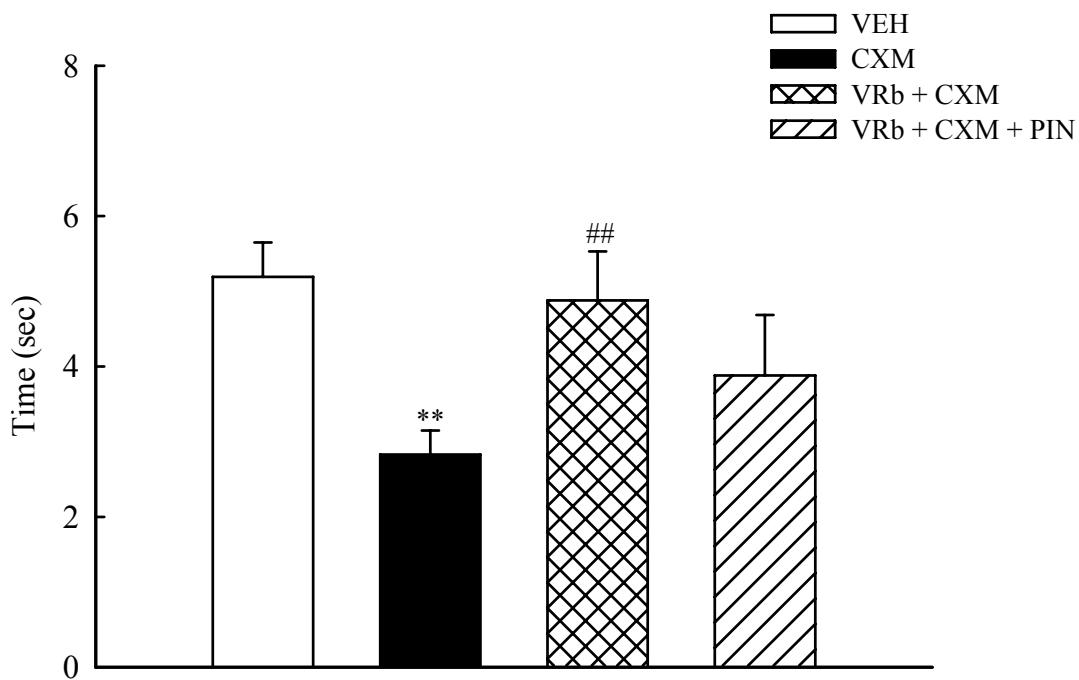


Fig. 29. Effect of pindolol (PIN, 10 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group.## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

4. 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2 aminopropane 對纈草正 丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙 在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 DOI (0.2 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 30.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 DOI (0.2 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 31.)。

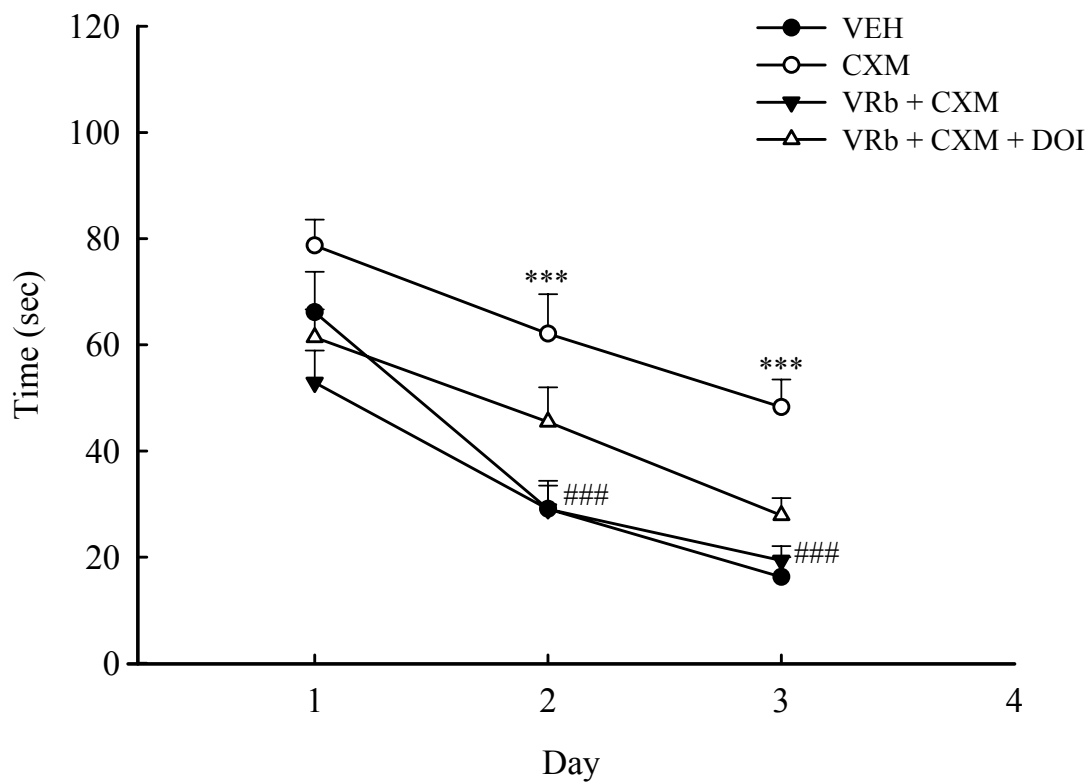


Fig. 30. Effect of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2 aminopropane (DOI, 0.2 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

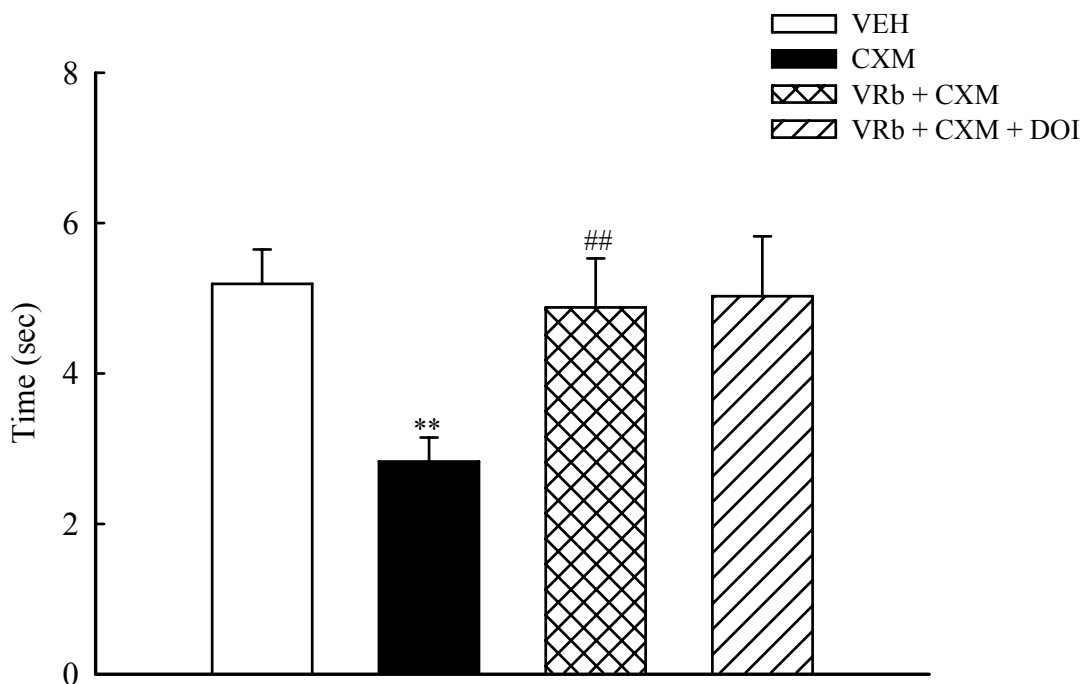


Fig. 31. Effect of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2 aminopropane (DOI, 0.2 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group.## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

5. Ritanserin 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 RIN (0.25 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 32.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 RIN (0.25 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 33.)。

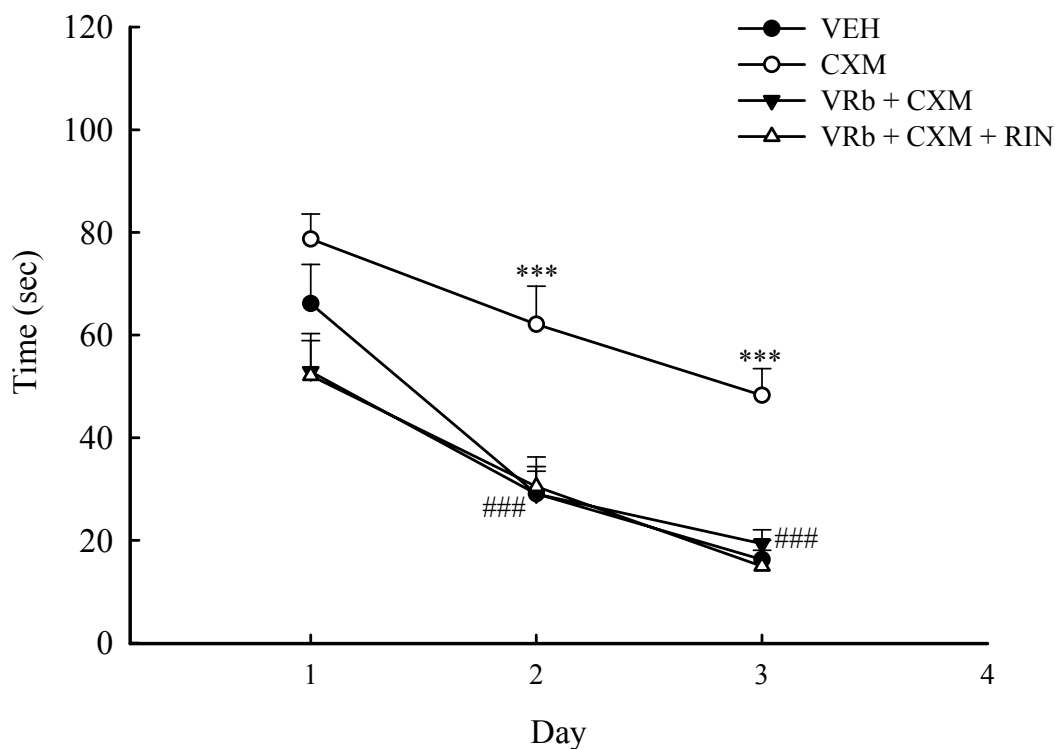


Fig. 32. Effect of ritanserin (RIN, 0.25 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

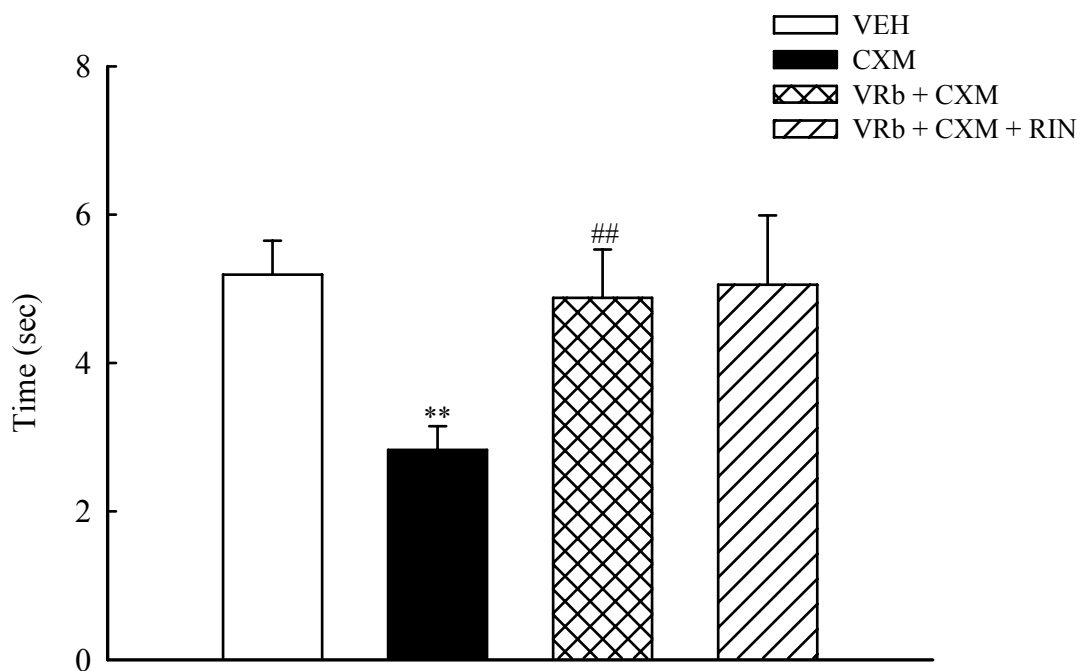


Fig. 33. Effect of ritanserin (RIN, 0.25 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

(四) 改變 GABAergic system 藥物對纈草正丁醇層萃
取物改善 cycloheximide 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障
礙之影響

1. Bicuculine 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發
大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘
口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所
誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完
CXM 之後，再併用 BIC (0.025 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草
正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的
大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 34.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5
mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。
注射完 CXM 之後，再併用 BIC (0.025 mg/kg, i.p.)，結果對口
服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障
礙的改善現象有拮抗作用 ($p < 0.05$) (如 Fig. 35.)。

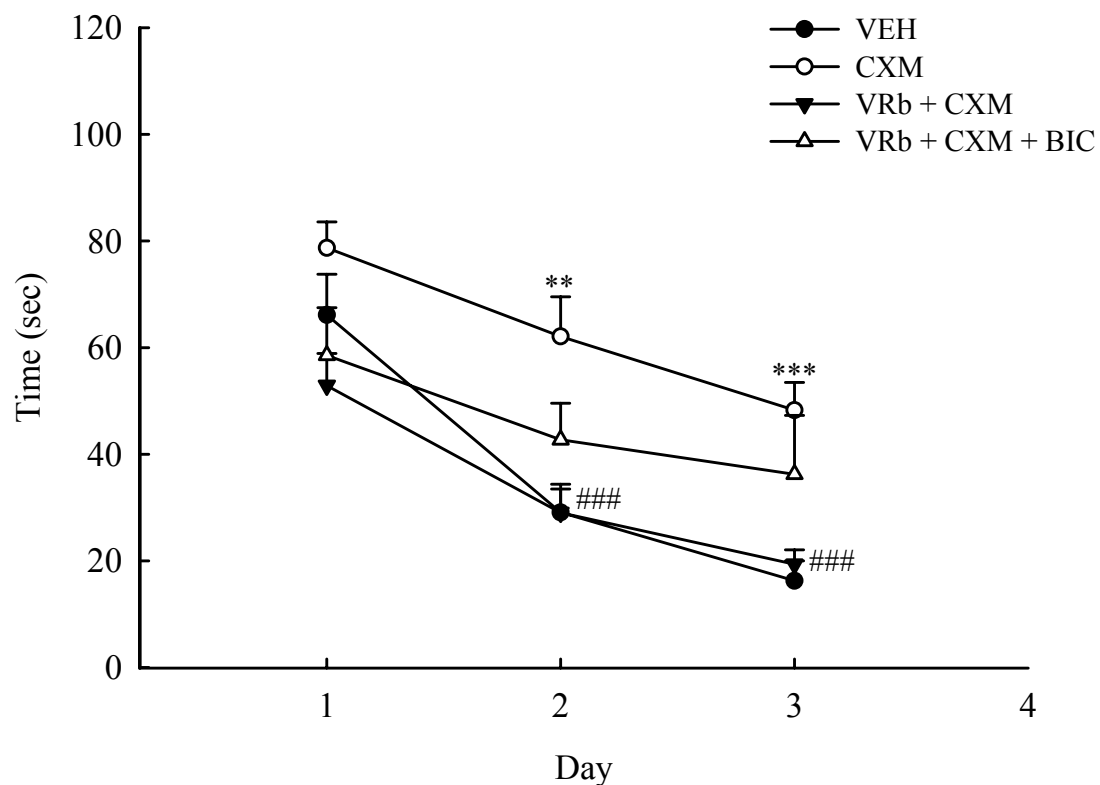


Fig. 34. Effect of bicuculline (BIC, 0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

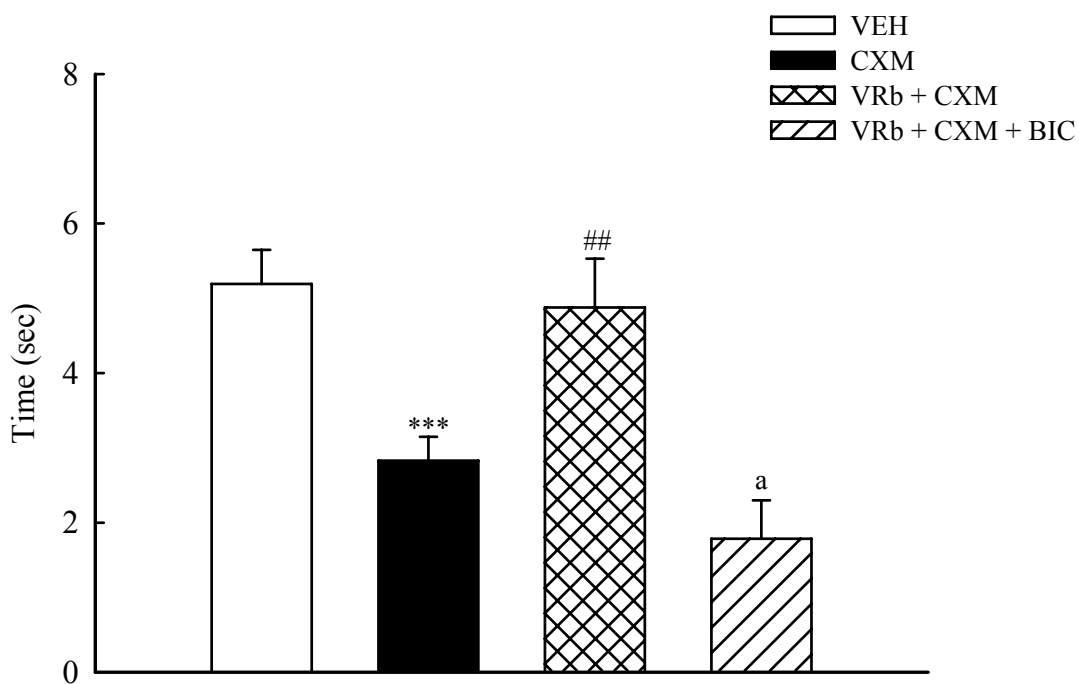


Fig. 35. Effect of bicuculline (BIC, 0.025 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. a $p < 0.05$ compared with VRb + CXM group. N=8.

2. Baclofen 對纈草正丁醇層萃取物改善 cycloheximide 誘發 大鼠記憶鞏固障礙在水迷宮試驗的影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 於訓練前 60 分鐘口服給予，可改善訓練後立即注射 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間性學習操作障礙 ($p < 0.001$)。注射完 CXM 之後，再併用 BAC (0.01 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間性學習操作障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 36.)。

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 改善 CXM (1.5 mg/kg, s.c.) 所誘發之大鼠水迷宮空間參考記憶障礙 ($p < 0.01$)。注射完 CXM 之後，再併用 BAC (0.01 mg/kg, i.p.)，結果對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘導水迷宮空間參考記憶障礙的大鼠，其差異並無統計意義 (如 Fig. 37.)。

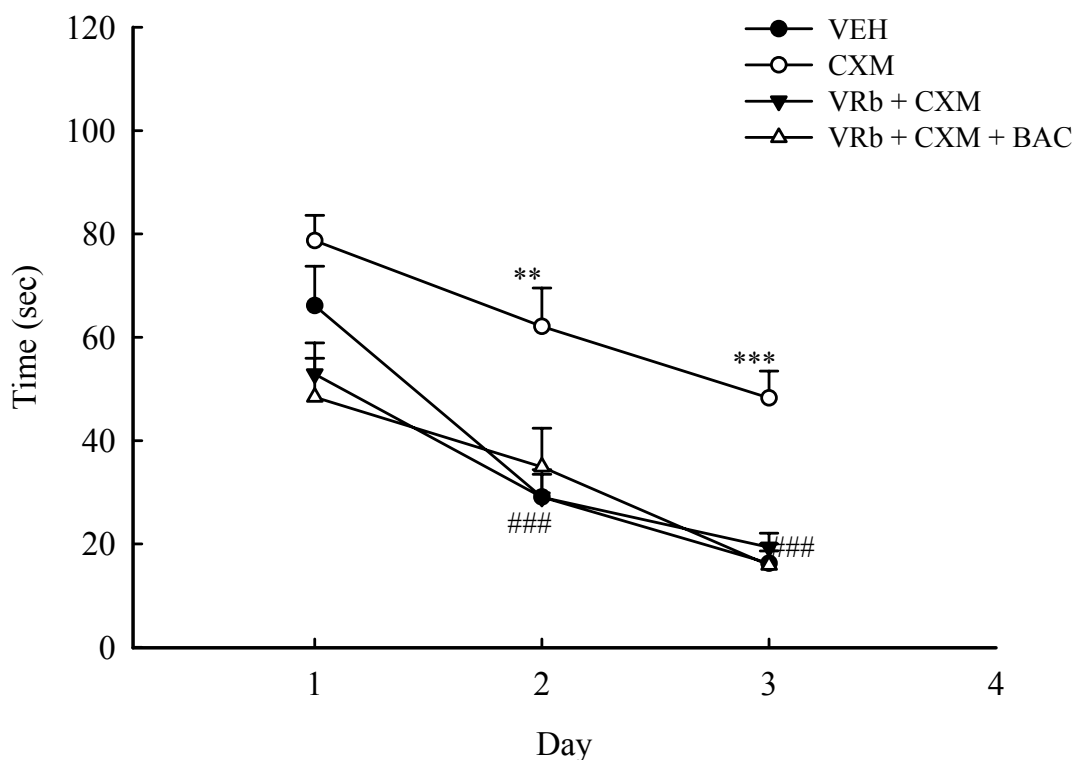


Fig. 36. Effect of baclofen (BAC, 0.01 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced spatial performance impairment in rats. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ compared with VEH group. ### $p < 0.001$ compared with CXM group. N=8.

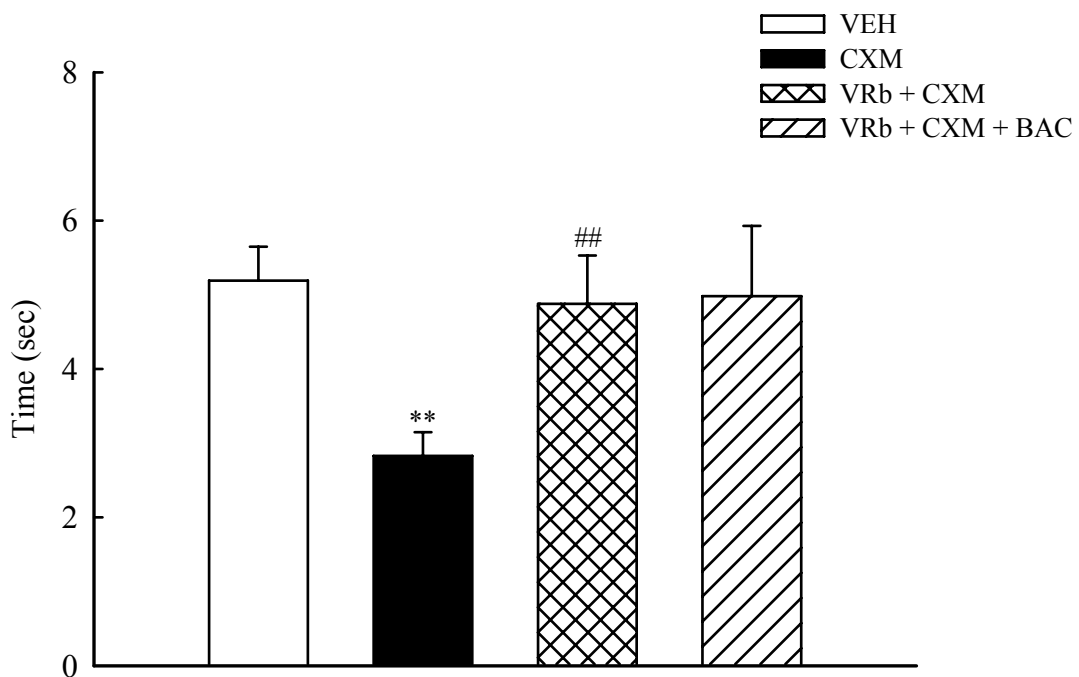


Fig. 37. Effect of baclofen (BAC, 0.01 mg/kg, i.p.) on the benefit effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.3 g/kg, p.o.) against CXM (1.5 mg/kg, s.c.)-induced reference memory deficit in rats. ** $p < 0.01$ compared with VEH group. ## $p < 0.01$ compared with CXM group. N=8.

四、纈草正丁醇層萃取物對大腦細胞內 AChE 活性之影響

纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於口服給藥 60 分鐘後，會降低 stratum 區中 acetylcholinesterase 之活性 ($p < 0.05$, $p < 0.01$); 但對 cortex 及 hippocampus 之 acetylcholinesterase 活性則無任何影響 (如 Fig. 38.)。



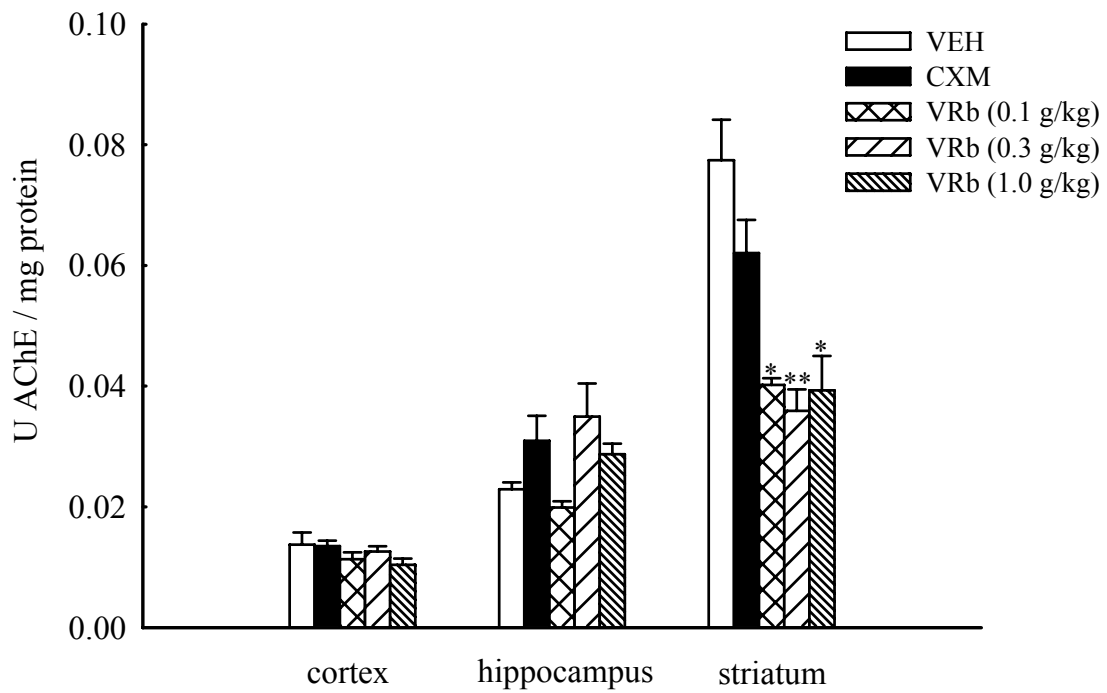


Fig. 38. Effect of *n*-butanol subfraction of 70% ethanol extract of Valerianae Radix (VRb, 0.1、0.3 and 1.0 g/kg, p.o.) on acetylcholinesterase activity in the brain of rats. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with VEH group. N=6.

第五章 討論

外界刺激之訊息輸入後以致記憶形成，其過程可分為學習獲得 (acquisition)、記憶鞏固 (consolidation)、及記憶再現 (retrieval) 及再學習獲得 (reacquisition)。外界刺激之訊息經學習獲得、記憶鞏固後，進入中期記憶，若經不斷反覆刺激之再學習獲得或記憶再現，中期記憶則再次鞏固進入長期記憶⁽¹⁾。所以記憶的鞏固對記憶之儲存是不可或缺之要件。而記憶鞏固過程，蛋白質合成為必需要素⁽⁷⁹⁾，所以抑制蛋白質合成就造成記憶鞏固障礙；蛋白質合成抑制劑 cycloheximide (CXM) 可經由阻斷 mRNA 轉錄，抑制 80% 的蛋白質合成，造成記憶鞏固的障礙⁽⁴⁸⁾。給予大鼠 CXM 1.5 mg/kg 皮下注射會誘發記憶鞏固障礙，因此常用來做為藥物是否有改善學習記憶或記憶損傷作用的評估模式⁽⁵³⁻⁵⁴⁾。本研究評估顯草粗提取物與各分層之萃提取物改善 CXM 誘發大鼠被動迴避及水迷宮記憶鞏固障礙之影響，並與能影響記憶鞏固的藥物併用來探討其作用機轉。

被動迴避試驗是利用老鼠趨暗本能，常用來評估學習獲得及短期記憶。本研究首先探討顯草粗提取物對 CXM 誘發大鼠被動迴避試驗記憶鞏固障礙之影響，結果顯示 CXM 可縮短被動迴避大鼠在明室之滯留時間，誘發大鼠被動迴避試驗記憶鞏固障礙；而口服顯草粗提取物可延長被 CXM 縮短之大鼠在明室之滯留時間，改善 CXM 誘發大鼠被動迴避試驗記憶鞏固障礙；且高劑量組之改善效果優於低劑量組。

空間概念之學習與記憶是相當複雜的一種學習記憶，Morris 水迷宮試驗是評估大鼠之空間性學習記憶中經常被使用，而且可信度較高

的行為模式⁽⁸⁵⁾；其原理是利用老鼠游泳尋找平台的空間操作，用來評估學習獲得、再學習、記憶再現、短期及長期記憶。其次，再以水迷宮試驗評估，探討纈草粗提取物對 CXM 誘發大鼠水迷宮空間性記憶鞏固障礙之影響，結果顯示 CXM 確實誘發大鼠水迷宮空間性學習操作障礙，且老鼠游泳速度不受影響；而口服纈草粗提取物可改善 CXM 誘發大鼠水迷宮空間性學習操作障礙，且老鼠游泳速度不受影響。

進而將纈草氣仿、乙酸乙酯及正丁醇之各分層萃取物依序評估，藉以探討較具改善作用之所在，結果顯示纈草各分層之萃取物改善 CXM 誘發大鼠水迷宮空間性學習操作障礙，以纈草正丁醇層萃取物 (VRb, 0.3 g/kg) 效果較佳，且各分層萃取物均不影響老鼠游泳速度。

在記憶形成過程一旦接受外界訊息之刺激，神經元產生動作電位傳達到突觸前末梢，使突觸前神經傳遞物質包括 glutamate、GABA、acetylcholine、epinephrine、norepinephrine、dopamine、serotonin 等之釋出⁽⁵⁹⁾。故本研究接下來探討能改變記憶鞏固藥物對纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響。

許多研究指出 cholinergic receptor system 在學習記憶中扮演重要角色^(60,90)。SCOP 及 MECA 均會使腦中 cholinergic activity 下降，造成學習獲得操作之障礙⁽⁹⁰⁻⁹²⁾。在探討能改變 cholinergic receptor system 藥物方面，用乙醯膽鹼 muscarinic 接受器的拮抗劑 SCOP 與乙醯膽鹼 nicotinic 接受器的拮抗劑 MECA 來評估對纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響，結果顯示僅 MECA 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作及參考記憶障礙之現象具拮抗作用。Hernandez CM 研究指出活化 nicotinic 接受器可能經由對 nerve growth factor 接受器調節作用，對腦中

cholinergic activity 與記憶障礙都具正向作用⁽⁹³⁾。纈草之改善作用在 cholinergic system 方面，可能與 nicotinic 接受器的調節有關。

Wickens J 之研究指出 striatum 區 dopaminergic system 之活性將影響動物之學習記憶能力，且 D₁ 及 D₂ 接受器兩者扮演不同之角色⁽⁶³⁾。在 hippocampus 之 D₂ 接受器會調節乙醯膽鹼的釋放，進而影響學習記憶之認知表現⁽⁹⁴⁾。Alzheimer's disease 病患在 hippocampus 之 D₂ 接受器有減少的情形與記憶的相關性也被研究過⁽⁹⁵⁾。D₂ 接受器與早期記憶鞏固過程有關，D₂ 接受體拮抗劑 SUL 會造成短期記憶損傷⁽⁹⁶⁾。Ichihara K 在 dopamine 拮抗劑影響記憶之系列研究中，指出 D₁ 接受器 SCH-23390 會損傷老鼠在試驗中記憶之獲得；而 D₂ 接受體拮抗劑 SUL 會拮抗神經節前的 D₂ 接受體，誘發記憶獲得及記憶再現過程的損傷⁽⁹⁷⁾。在能改變 dopamine system 藥物方面，用 D₁ 接受體拮抗劑 SCH-23390 與 D₂ 接受體拮抗劑 SUL 來評估對纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮記憶鞏固障礙之影響，結果顯示 D₁ 接受體拮抗劑 SCH-23390 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作障礙之現象具拮抗作用；D₂ 接受體拮抗劑 SUL 對口服纈草正丁醇層萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作及參考記憶障礙之現象亦具拮抗作用。纈草之改善作用在 dopamine system 方面，可能與 D₁、D₂ 接受器的調節有關，如 Ichihara K 研究結果相同⁽⁹⁷⁾，SCH-23390 影響記憶獲得，SUL 影響記憶獲得及記憶再現過程。

在大鼠之學習行為模式研究中，認為中樞 serotonin 對學習記憶有負向性之影響，亦是學習記憶重要的一部分⁽⁸⁰⁾。Serotonin 的釋出促進劑 *p*-chloroamphetamine 會使 serotonergic 活性增加而誘發學習獲得障礙⁽⁸¹⁾。5-HT 接受體有數類亞型，其中 5-HT₁ 與 5-HT₂ 在學習記憶

中扮演重要的角色。Matsuno K 研究指出 *p*-chloroamphetamine 作用於 5-HT₂ receptor 而誘發學習記憶障礙，所以其誘發之障礙作用可被 5-HT₂ receptor antagonist (ritanserin、mianserin) 所拮抗⁽⁸²⁾。5-HT_{1A} receptor 致效劑 8-OH-DPAT 亦會造成水迷宮空間學習記憶之障礙⁽⁸³⁾。Riekkinen JP 在 8-OH-DPAT 與 DOI 誘發被動障礙研究中，發現 5-HT_{1A} 及 5-HT₂ receptor 僅參與學習獲得與記憶鞏固之過程，且 5-HT_{1A} receptor 可能經突觸後 receptor 之作用以間接抑制 cholinergic activity 所致⁽⁸⁴⁾。而蛋白質抑制劑 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⁽⁴⁹⁾。所以接著探討 serotonergic system 在纈草正丁醇層萃萃取物改善 CXM 誘發記憶鞏固障礙作用所扮演之角色。

在能改變 serotonergic system 藥物方面，用 5-HT 促釋放劑 PCA、5-HT_{1A} 接受體致效劑 DAPT、5-HT₁ 接受體拮抗劑 PIN、5-HT₂/5-HT_{1C} 接受體致效劑 DOI 及 5-HT₂ 接受體拮抗劑 RIN 來評估對纈草正丁醇層萃萃取物改善 CXM 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響，結果顯示 5-HT 促釋放劑 PCA 對口服纈草正丁醇層萃萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作障礙之現象具拮抗作用；5-HT_{1A} 接受體致效劑 DPAT 對口服纈草正丁醇層萃萃取物改善 CXM 誘發水迷宮空間性學習操作障礙之現象亦具拮抗作用。纈草之改善作用在 serotonergic system 方面，可能與減少 serotonergic 神經元活性經由神經節前的 5-HT_{1A} 接受體的調節有關。而在其他亞型 5-HT₃ 與 5-HT₄ 與學習記憶也有關聯性⁽⁹⁸⁻⁹⁹⁾，這方面的研究是未來可以探討之方向。

Nabeshima T 研究指出類似 GABA 的促智藥經由 GABAergic 神經系統作用與促進蛋白質合成，進而改善 CXM 所誘發之學習鞏固障礙

(52)。臨床上 Alzheimer's disease 病患也經常用 GABA_A 致效劑治療其認知損傷⁽¹⁰⁰⁾。McNamara RK 與 Skelton RW 研究指出 GABA_B 接受體致效劑 BAC 有劑量依賴性損傷大鼠在水迷宮的空間性學習記憶⁽¹⁰¹⁾。在能改變 GABAergic system 藥物方面，用 GABA_A 接受體拮抗劑 BIC 及 GABA_B 接受體致效劑 BAC 來評估對纈草正丁醇層萃物改善 CXM 誘發水迷宮試驗記憶鞏固障礙之影響，結果顯示僅 GABA_A 接受體拮抗劑 BIC 對口服纈草正丁醇層萃物改善 CXM 誘發水迷宮空間參考記憶障礙之現象具拮抗作用。Hsieh MT 等研究五味子水層改善 CXM 誘發大鼠被動障礙中，其改善作用亦被 BIC 所拮抗⁽¹⁰²⁾。結果相似，指兩者改善 CXM 誘發大鼠障礙在 GABAergic system 方面，均與 GABA_A 接受體調節有關。

纈草正丁醇層萃物 (VRb, 0.1、0.3、1.0 g/kg) 於口服給藥 60 分鐘後，對大腦細胞內 AChE 活性之影響，在 cortex、hippocampus 區中 AChE 活性並無統計學上的差異影響；在 stratum 區中 AChE 活性有降低之情形。抑制 AChE 活性，就會使 cholinergic 活性上升，改善學習記憶能力⁽⁶⁹⁾。

綜合上述研究結果，纈草具改善 CXM 誘發大鼠被動迴避及水迷宮記憶鞏固障礙之作用，且纈草正丁醇層萃物改善 CXM 誘發水迷宮空間性記憶障礙效果較佳。其改善作用機轉可能與中樞之 cholinergic system 中的 nicotinic 接受器調控有關，且口服纈草正丁醇層萃物使大腦紋狀體細胞內 AChE 活性下降，亦間接影響 cholinergic 活性；另亦與 dopamine receptor system 的 D₁、D₂ 接受器的調節、或經由 5-HT_{1A} 接受體的調節中樞 serotonergic system 活性、或經由 GABA_A 接受體調節中樞 GABAergic system 活性有關。

謝辭

承蒙顏教授焜熒博士及陳所長介甫博士對本論文缺失的指正與期勉，使我獲益良多，在此謹致由衷的謝忱。

本論文能順利完成，首先，感謝共同指導教授謝校長明村博士的指導與關懷，校長不僅是我們的大家長，在學術領域中更是學有專精的碩學鴻儒；感謝張所長永勳博士給我進修的機會。更感謝共同指導教授彭文煌博士，我大學時代動物中心工讀的主任，鼓勵我報考研究所，且於課業學習上不斷地解惑，令我受益匪淺。

我的指導教授吳啟瑞博士，治學的精勤與踏實，是我學習典範。老師的悉心指導與教誨，無論在研究方法、論文的撰寫與做人處世上均給予莫大的啟迪，對與老師的感激，真是不可言喻。

研究求學生涯中，感謝謝教授文全博士，老師於中藥學術界的貢獻，堪稱學術泰斗，對於中藥所的付出、學生的教導，更是有過之而無不及，雖於去年駕鶴西歸，學生對於老師的感念，永誌難忘。在學期間，感謝陳教授忠川博士、劉教授正雄博士、葉教授豐次博士等恩師的指導教誨。

此外，感謝王文信學長、林立偉學長、蔡汎修學長、吳國任學長、美月、姁音及同窗好友淑珍、佳鈴、信維、冠麟、芸禎於課業上、實驗上及精神上的支持與鼓勵，更感謝湧達、哲明、佩君的協助，感謝學妹坪螢、欣好鼓勵，千恩萬謝，謝謝您們每一位。

最後，感謝我的雙親，支持我每一項抉擇，感謝吾妻彩秀，照顧寶貝鉦展，您們無怨無悔的付出與恆久的關懷，賜給我最大的力量。

「書不盡言、言不達意。」總之，感謝所有關懷我的人。

參考文獻

1. Rosenzweig MR, Bennett EL: Basic processes and modulatory influences in the stages of memory formation, In: Lynch G, McGaugh JL, Weinberger NM (Eds.), *Neurobiology of learning and memory*, The Guilford Press, New York, 1984; pp263-88.
2. 國家中醫藥管理局編：中華本草第七冊，上海科學技術出版社，上海 2002；pp576-80。
3. 江蘇新醫學院：中藥大辭典，上海科學技術出版社，上海 1979；pp2631-3。
4. Malva JO, Santo S, Macedo T. Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* extracts. *Neurotox Res* 2004; 6: 131-40.
5. Guo Y, Wu J, Li Y, et al. Iridoids and sesquiterpenoids with NGF-potentiating activity from the Radix and roots of *Valeriana fauriei*. *Chem Pharm Bull* 2006; 54: 123-5.
6. 周榮漢、段金廩主編：植物化學分類學，上海科學技術出版社，上海 2005；pp946-61。
7. 楊遠波、劉和義、彭鏡毅、施炳霖、呂勝由：台灣維管束植物簡誌第肆卷，行政院農業委員會，台北 2001；206。
8. 陳虎彪、誠靜容：國產敗醬科藥用植物種類整理。中國中藥雜誌 1994；19：67-70。
9. 徐國鈞、徐珞珊主編：常用中藥材品種整理與質量研究第二冊，福建科學技術出版社，福州 1997；pp473-503。
10. 張貴君：常用中藥鑑定大全，黑龍江科學技術出版社，哈爾濱

- 1993 ; pp898-9。
11. 難波恒雄著：原色和漢藥圖鑑，株式會社保育社，日本 1980；pp133-5。
 12. 陳虎彪、徐學明、趙玉英：毛節纈草揮發油化學成分的研究。中國中藥雜誌 1998；23：418-9。
 13. 甘偉松：藥用植物學，國立中國醫藥研究所，台北 1991；pp532-3。
 14. 賴國祥：合歡山區之稀有植物與保育。自然保育季刊 2002；39：29-30。
 15. 王永祥：現代中藥藥理學，天津科學技術出版社，天津 1997；pp1092-95。
 16. 薛存寬、蔣鵬、沈凱等：纈草揮發油成分分析及其含量影響因素探討。中草藥 2003；34：779-81。
 17. 張振學、姚新生：藥用植物纈草的化學研究進展。中國藥物化學雜誌 2000；10：226-30。
 18. 邵建坤、屈會化、樂新慧：纈草屬植物化學成分及藥理研究概況。中國藥學雜誌 2002；37：729-33。
 19. Marder M, Viola H, Wasowski C, et al. 6-Methylapigenin and hesperidin : new valeriana flavonoids with activity on the CNS. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75: 537-45.
 20. Fernandez S, Wasowski C, Palaini AC, et al. Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid-isolated from *Valeriana officinalis*. *Pharmacol Biochem Behav* 2004; 77: 399-404.
 21. 鄧芹英、黃維德、李考錚：纈草根化學成分的研究。分析測試學報 1995；14：16-22。

22. Hardley S, Petry JJ. Valerian. *Am Fam Physician* 2003; 67 :1755-8.
23. Sakamoto T, Mitani Y, Nakajima. Psychotropic effects of Japanese valerian root extract. *Chem Pharm Bull* 1992; 40: 758-61.
24. Leuschner J, Muller J, Rudmann M. Characterisation of the central nervous depressant activity of a commercially available valerian root extract. *Arz-forsch* 1993; 43: 638-41.
25. Shinomiya K, Fujimura K, Kim Y, et al. Effects of valerian extract on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats. *Acta Med Okayama* 2005 ; 59: 89-92.
26. Vorbach E U, Gortelmeyer R, Bruning J. Therapy of insomnia. The efficacy and tolerability of valerian. *Psychopharmakotherapie* 1996; 3: 109-15.
27. Leathwood PD, Chaufford F. Quantifying the effects of mild sedative. *J Psychiatr Res* 1983; 17: 115-22.
28. Donath F, Quispe S, Diefenbach K, et al. Polysomnographic and subjective findings in insomniacs under treatment with placebo and valerian extract (LI 156). *Phytomedicine* 1996/1997; 1: 75.
29. Donath F, Quispe S, Diefenbach K, et al. Critical evaluation of the administration of valerian extract on sleep structure and sleep quality. *Pharmacopsychiatry* 2000; 35: 47-53.
30. Houghton P J. The scientific basis for the reputed activity of valerian. *J Pharm Pharmacol* 1999; 51: 505-12.
31. Blumenthal M. The 2002 top-selling herbal supplements in food, drug and mass market retail outlets. *Herbal Gram* 2003; 58: 71.

32. United States Pharmacopeial Convention, Inc. US *Pharmacopeia* 2004: p2041.
33. Andreatini R, Sartori VA, Seabra ML, et al. Effect of valepotriates (valerian extract) in generalized anxiety disorder. *Phytother Res* 2002; 16: 650-4.
34. Cropley M, Cave Z, Ellis J, et al. Effect of kava and valerian on human physiological and psychological responses to mental stress assessed under laboratory conditions. *Phytother Res* 2002; 16: 23-7.
35. 張寶恒、孟和平、王彤等：纈草乙醇提取物（VES）對心血管的作用。藥學學報 1982；17：382。
36. 任世蘭、于龍順、裴寧等：寬葉纈草對平滑肌和心血管的藥理研究。中草藥 1982；13：23。
37. 賈健寧、張寶恒：纈草抽提物 V_{3d} 對心血管系統的作用。廣西中醫學院學報 1999；16：40-2。
38. 黃崢嶸、唐其柱、史錫騰等：纈草單萜氧化物對單個兔心室肌細胞鈉通道的影響。中國心臟起搏與心電生理雜誌 2004；18：212-4。
39. Hendriks H, Bos R, Allersma DP, et al. Pharmacological screening of valeranal and some other components of essential oil of *Valeriana officinalis*. *Planta Med* 1981; 42: 62-8.
40. Wanger H, Jurcic K. On the spasmolytic activity of valeriana extracts. *Planta Med* 1979; 37: 84-6.
41. Hazelhoff B, Malingre TM, Meijer DK. Antispasmodic effects of valeriana compounds: an *in-vivo* and *in-vitro* study on the guinea-pig

- ileum. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1982; 257: 274-87.
42. 羅國君、何國厚、王曉勳等：寬葉纈草提取物抗戊四氮致大鼠癲癇的作用機理研究。上海中醫藥雜誌 2004；38：45-8。
 43. 楊桂元、徐青、王俊峰：寬葉纈草對動脈平滑肌細胞收縮及生長的影響。瀋陽醫學院學報 2002；21：324-6。
 44. Bounthanh C, Bergmann C, Beck JP, et al. Valepotriactes, a new class of cytotoxic and antitumor agent. *Planta Med* 1981; 41: 21-8.
 45. Graham RB: Memory, In: Graham RB (Eds.), *Physiological Psychology*, A Division of Wadsworth Inc., California, 1990; pp611-48.
 46. Izquierdo I: Endogenous state dependency: Memory depends on the relation between the neurohumoral and hormonal states present after training and at the time of testing, In: Lynch G, McGaugh JL, Weinberger NM (Eds.), *Neurobiology of learning and memory*, The Guilford Press, New York, 1984; pp333-50.
 47. Squire LR, Kandel ER: *Memory: from mind to molecules*, W.H. Freeman and Company, New York, 2004; pp245-90.
 48. Davis HP, Squire LR: Protein synthesis and memory: A review. *Psychol Bull* 1984; 96: 518-59.
 49. Nabeshima T, Itoh K, Kawashima K, Kameyama T: Effects of 5-HT₂ receptor antagonist on cycloheximide-induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1989; 32: 787-90.
 50. Schweri MM, Carr LA: The effects of cycloheximide and anisomycin on monoamine synthesis in a brain synaptosome preparation. *J*

- Neural Transm* 1982; 54: 41-50.
51. Nabeshima T, Noda Y, Itoh K, et al. Role of cholinergic and GABAergic neuronal systems in cycloheximide-induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 31: 405-9.
 52. Nabeshima T, Tohyama K, Murase K, et al. Effects of DM-9384, a cyclic derivative of GABA, on amnesia and decreases in GABA_A and muscarinic receptors induced by cycloheximide. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 257: 271-4.
 53. Isomae K, Morimoto S, Hasegawa H, et al. Effects of T-82, a novel acetylcholinesterase inhibitor, on impaired learning and memory in passive avoidance task in rats. *Eur J Pharmacol* 2003; 465: 97-103.
 54. Itoh S, Takashina A, Maeda Y. Protective effect of cerulein on memory impairment induced by protein synthesis inhibitors in rats. *Peptides* 1992; 13: 1007-12.
 55. Remondes M, Schuman FM. Role for a cortical input to hippocampal area CA1 in the consolidation of a long-term memory. *Nature* 2004; 431: 699-703.
 56. Ridley RM, Baker HF, Leow-Dyke A, et al. Further analysis of the effects of immunotoxic lesions of the basal nucleus of Meynert reveals substantial impairment on visual discrimination learning in monkeys. *Brain Res Bull* 2005; 65: 433-42.
 57. Kesner RP, DiMattia BV, Crutcher KA. Evidence for neocortical involvement in reference memory. *Behav Neural Biol* 1987; 47: 40-53.

58. Robbins TW. Chemistry of the mind: neurochemical modulation of prefrontal cortical function. *J Comp Neurol* 2005; 493: 140-6.
59. Squire LR, Kandel ER: Memory: from mind to molecules, W.H. Freeman and Company, New York, 2004; pp27-63.
60. Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 41: 268-87.
- 61 Graham RB: The hippocampus in learning and memory, In: Graham RB (Eds.), *Physiological Psychology*, A Division of Wadsworth, California, 1990; pp587-609.
62. Setlow B, McGaugh JL. Involvement of the posteroventral caudate-putamen in memory consolidation in the Morris water maze. *Neurobiol Learn Mem* 1999; 71: 240-7.
63. Wickens J. Striatal dopamine in motor activation and reward-mediated learning : Steps towards a unifying model. *J Neural Transm* 1990; 80: 9-31.
64. Kellendonk C, Simpson EH, Polan HJ. Transient and selective overexpression of dopamine D₂ receptors in the striatum causes persistent abnormalities in prefrontal cortex functioning. *Neuron* 2006; 49: 603-15.
65. Mogenson GM: Limbic-motor integration, In: Epstein A, Morrison AR (Eds.), *Progress in psychobiology and physiological psychology*, Academic Press, New York, 1987; pp117-70.
66. Liang KC, Chen L. Lesions of striatal terminals attenuate the amnesic

- effect of amygdaloid stimulation on avoidance responses. *Behav Brain Res* 1983; 9: 49-58.
67. Deutsch JA. The cholinergic synapse and the site of mechanism. *Science* 1971; 174: 788-94.
68. Drachman DA, Leavitt J. Human memory and the cholinergic system: A relationship to aging? *Arch Neurol* 1974; 30:113-21.
69. Ellis JM. Cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia. *J Am Osteopath assoc* 2005; 105: 145-58.
70. Fu AL, Zhang XM, Sun MJ. Antisense inhibition of acetylcholinesterase gene expression for treating cognition deficit in Alzheimer's disease model mice. *Brain Res* 2005; 1066: 10-5.
71. Berman DE, Dudai Y. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science* 2001; 291: 2417-9.
72. Stancheva S, Papazova M, Alova L, et al. Impairment of learning and memory in shuttle box-trained rats neonatally injected with 6-hydroxydopamine. Effects of nootropic drugs. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1993; 19: 77-82.
73. Pisa M, Fibiger HC. Evidence against a role of the rat's dorsal noradrenergic bundle in selective attention and place memory. *Brain Res* 1983; 272: 319-29.
74. Herrmann N, Lanctot KL, Khan LR. The role of norepinephrine in the behavioral and psychological symptoms of dementia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2004 ; 16: 261-76.

75. Zis AP, Fibiger HC, Phillips AG. Reversal by L-dopa of impaired learning due to destruction of the dopaminergic nigro-neostriatal projection. *Science* 1974 ; 185: 960-2.
76. Liang KC, McGaugh JL. Lesions of the stria terminalis attenuate the enhancing effect of post-training epinephrine on retention of an inhibitory avoidance response. *Behav Brain Res* 1983; 9: 49-58.
77. Hatfield T, McGaugh JL. Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol Learn Mem* 1999; 71: 232-9.
78. Gallagher M, Kapp BS, Musty RE, et al. Memory formation: evidence for a specific neurochemical system in the amygdala. *Science* 1977; 198: 423-5.
79. Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 2001; 294: 1030-8.
80. Essman WB: Serotonin in learning and memory, In: Essma WB (Eds), *Clinical Pharmacology of Learning and Memory*, Spectrum Public Inc, New York, 1983; pp43-67.
81. Santucci AC, Knott PJ, Haroutunian V. Excessive serotonin release, not depletion, leads to memory impairments in rats. *Eur J Pharmacol* 1996; 295: 7-17.
82. Matsuno K, Senda T, Matsunaga K, et al. Similar ameliorating effects of benzomorphans and 5-HT₂ antagonists on drug-induced impairment of passive avoidance response in mice: comparison with acetylcholinesterase inhibitors. *Psychopharmacology* 1993; 112:

- 134-41.
83. Carli M, Lazarova M, Tatarczynska E, et al. Stimulation of 5-HT_{1A} receptors in the dorsal hippocampus impairs acquisition and performance of a spatial task in a water maze. *Brain Res* 1992; 595: 50-6.
84. Riekkinen JP. 5-HT_{1A} and muscarinic acetylcholine receptors jointly regulate passive avoidance behavior. *Eur J Pharmacol* 1994; 262: 77-90.
85. Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982; 297: 681-3.
86. 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.
87. Grosvisky 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.
88. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 100: 265-75.
89. Dass PD, Offutt DM, Mejia MB, et al. Comparative kinetic analysis of cholinesterase methods in rat and human erythrocytes and plasma. *Veter Human Toxicol* 1997; 39: 11-7.
90. Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem* 2003; 80:

178-93.

91. Hsieh MT, Wu CR, Hsieh CC. Ameliorating effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol on cycloheximide-induced impairment of passive avoidance response in rats: interactions with compounds acting at 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 60: 337-43.
92. Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition* 2006; 22: 321-6.
93. Hernandez CM, Terry AV Jr. Repeated nicotine exposure in rats: effects on memory function, cholinergic markers and nerve growth factor. *Neuroscience* 2005; 130: 997-1012.
94. Fujishiro H, Umegaki H, Suzuki Y, et al. Dopamine D₂ receptor plays a role in memory function: implications of dopamine-acetylcholine interaction in the ventral hippocampus. *Psychopharmacology* 2005; 182: 253-61.
95. Kemppainen N, Laine M, Laakso MP, et al. Hippocampal dopamine D₂ receptors correlate with memory functions in Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 149-54.
96. Hefco V, Yamada K, Hefco A, et al. Role of the mesotelencephalic dopamine system in learning and memory processes in the rat. *Eur J Pharmacol* 2003; 475: 55-60.
97. Ichihara K, Nabeshima T, Kameyama T. Effects of haloperidol, sulpiride and SCH 23390 on passive avoidance learning in mice. *Eur*

- J Pharmacol* 1988; 151: 435-42.
98. Naghdi N, Harooni HE. The effect of intrahippocampal injections of ritanserin (5HT_{2A/2C} antagonist) and granisetron (5HT₃ antagonist) on learning as assessed in the spatial version of the water maze. *Behav Brain Res* 2005; 157: 205-10.
99. Manuel-Apolinar L, Rocha L, Pascoe D, et al. Modifications of 5-HT₄ receptor expression in rat brain during memory consolidation. *Brain Res* 2005; 1042: 73-81.
100. Maubach K. GABA_A receptor subtype selective cognition enhancers. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2003; 2: 233-9.
101. McNamara RK, Skelton RW. Baclofen, a selective GABA_B receptor agonist, dose-dependently impairs spatial learning in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 53: 303-8.
102. Hsieh MT, Wu CR, Wang WH, Lin LW. The ameliorating effect of the water layer of Fructus Schisandrae on cycloheximide-induced amnesia in rats: interaction with drugs acting at neurotransmitter receptors. *Pharmacol Res* 2001; 43: 17-22.