

地黃改善急性腦缺血大鼠之學習障礙

林穎志 吳啓瑞 彭文煌 林君茹 謝明村

中國醫藥大學 中國藥學研究所

目的 地黃為六味地黃丸之主藥，然地黃對記憶改善過程並沒有研究報告。而血管性癱瘓是臨床上常見之症狀，常會引起智能下降，其藉由腦的缺血、組織缺氧或出血所造成，故雙側頸動脈結紮之大鼠造成腦缺血擬似血管性癱瘓症之動物模式，常用來研究神經病學、神經學、行為反應等。

方法 故擬以雙側頸動脈結紮研究探討地黃對急性腦缺血大鼠被動學習反應及水迷宮記憶障礙之影響。

結果 地黃甲醇粗抽物於 0.3 g/kg 及其粗抽物之正丁醇萃取層於 0.01 至 0.03 g/kg 可延長急性腦缺血大鼠於被動迴避反應之明室滯留時間。而水萃取層於 0.3 g/kg 亦可延長急性腦缺血大鼠於被動迴避反應之明室滯留時間。地黃甲醇粗抽物可明顯縮短急性腦缺血大鼠於水迷路尋找逃逸平台之時間，並可增加參考記憶期急性腦缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間，縮短工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間；正丁醇萃取層亦可使急性腦缺血大鼠於水迷路尋找逃逸平台之時間明顯縮短，增加參考記憶期急性腦缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間，並縮短工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間，但對非空間性游泳操作能力障礙地黃甲醇粗抽物、地黃甲醇粗抽物之水、正丁醇層皆無改善與增強游泳運動能力之作用，另水萃取層對急性腦缺血大鼠於水迷路尋找逃逸平台之時間則亦不影響。

結論 地黃甲醇粗抽物對急性缺血性記憶障礙大鼠具有改善作用，而又以其正丁醇層效果最顯著。

(中台灣醫誌 2003;8 Supplement:S14-21)

關鍵詞

急性腦缺血大鼠，被動迴避，地黃，水迷宮

前言

痴呆症是一種廣泛性腦機能障礙疾病，對人的記憶、人格、行為和情緒均有影響，其臨床主要徵候為學習記憶之能力逐漸減退，特別是近期記憶喪失及剛學習之事物無法記得之進行性健忘 (anterograde amnesia)；而在病情日趨惡化，使近、遠期之記憶會逐次喪失導致退行性健忘 (retrograde amnesia)。然而痴呆症之病因甚多，諸如阿爾滋海默氏症、巴金森氏症、腦損傷、多發性腦梗塞、糖尿病或停經後婦女等均可造成痴呆症之形成。

臨床上，痴呆症以阿爾滋海默氏症和血管性痴呆症最多 [1]。腦部缺血、缺氧或出血容易引起

中樞神經系統之神經元損害，產生神經功能喪失，嚴重者會導致神經元死亡，此神經功能失常反應於行為及記憶功能失常 [2]。目前大多採對症療法，主要以修復受損傷之腦組織及提高腦代謝活性為目的，臨床上多使用腦循環改善劑及腦代謝賦活劑。然其治療劑 (如 calcium hopantenate) 使用高劑量或長期服用時，會有失眠、不安及譫語惡化等不良副作用產生 [3]，因此尋找對學習記憶有所助益且副作用少之理想藥物，以改善患者的記憶力減退，實為目前刻不容緩的工作。

依 Pulsinelli 及 Brierley 等研究報告以大鼠腦雙側頸動脈永久結紮法可在未麻醉大鼠產生腦部缺血 [4]，且 Nabeshima 研究證實阻塞雙側頸動脈可產生腦部缺血，於阻塞後第十天，會產生被動迴避學習反應障礙 [5]，因此本研究乃採用此一學習與記憶障礙的動物模式 [6-8]。

我們先前之研究証實補養類方劑六味地黃丸具改善大鼠學習記憶能力障礙之作用 [9]，方中以地黃為君，地黃為玄參科植物地黃 *Rehmannia*

聯絡作者：謝明村

地址：404 台中市北區學士路 91 號

中國醫藥大學 中國藥學研究所

收文日期：2003 年 3 月 25 日 修改日期：2003 年 4 月 25 日

接受日期：2003 年 7 月 3 日

glutinosa 的塊莖，本藥屬溫腎壯陽藥；在我們初步研究亦發現地黃具增強大鼠學習記憶能力障礙之作用[10]。因此本研究再進一步以急性腦缺血大鼠學習記憶障礙模式對被動迴避儀及水迷宮之作用來探討地黃是否對急性腦缺血引起之學習記憶障礙有改善作用，提供缺血性癡呆症患者其他可改善學習記憶障礙的新藥物。

材料與方法

實驗藥材之製備

本實驗所用之地黃，經生藥學鑑定，確定其基原為地黃：玄參科植物地黃 *Rehmannia glutinosa* 的塊莖。

本研究將地黃以甲醇浸潤後，在 50°C 下迴流抽取四至五次，每次約四小時，合併抽取液，經減壓濃縮乾燥後，即得地黃甲醇粗抽物(簡稱 RG_M)。另以正丁醇分離地黃甲醇粗抽物，即得正丁醇層(簡稱 RG_B)與水層(簡稱 RG_W)。

實驗動物

本研究所使用之動物為：Sprague-Dawley 系雄性大鼠，體重 300 至 350 公克。

實驗動物分三組：假手術組(Sham)、缺血病理組(ischemia)及中藥治療組；而中藥治療組又分成地黃甲醇粗抽物治療組(RG_M)、地黃甲醇粗抽正丁醇層治療組(RG_B)及地黃甲醇粗抽水層治療組(RG_W)。每組均採六隻大鼠完成所有實驗。

實驗方法

腦缺血大鼠之處理

實驗大鼠以 pentobarbital 麻醉，將麻醉大鼠仰臥，由腹頸部中線切開，並避開迷走神經游離出頸動脈，以縫合線將兩側頸動脈作永久結紮，實驗期間以恆溫板及 40W 檯燈光照控制實驗動物肛溫在攝氏 36 至 37 度，手術後動物置於飼養籠，並給予光照至其翻正反射產生為止[4]，動物於頸動脈阻塞後 10 天開始進行學習行為評估，其中於手術後 11 至 12 天，進行被動迴避學習反應；手術後 12 至 14 天進行水迷宮空間學習操作；手術後 15 天進行非空間操作；於手術後 16 天進行水迷宮之記憶能力評估。

對腦缺血大鼠被動迴避反應障礙之影響

本實驗是使用「條件反應測定裝置」(Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)，此裝置分成兩部份：實驗箱係為一經中間閘門分隔為相同大小明、暗二室(48 × 20 × 30 cm³)的箱子及其控制器(MCU-101 Controller, Muromachi Kikai Co.

Ltd. Japan)；二室地板由不銹鋼條組成，上方置一 15W 之電燈泡。

訓練期：將缺血性大鼠置入實驗箱之暗室地板上並打開閘門，當動物進入明室後，關上閘門，同時於明室底板通以電流(1 mA, 2 sec)，5 秒後才自室內取出，歸回飼養籠。

測定期：於訓練後 24 小時，再將實驗大鼠置於明室，記錄大鼠由明室至暗室之滯留時間。當動物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[11]。

依前法，將實驗動物分別放入實驗箱進行訓練，訓練後，將實驗動物歸回飼養籠；待 24 小時後，再將動物置於明室，進行測定，記錄動物由明室至暗室之滯留時間。

水迷宮

本實驗以 Morris Water Maze 來進行學習記憶的測試，共進行五日，其於每日測試前 30 分鐘採皮下注射投予不同劑量之地黃藥材粗萃取物。三組動物測試於手術完後第 12 日開始進行，泳池由電腦分成四個象限，逃逸平台沉入水中 1 cm 固定置於第四象限上，大鼠頭向外依序分別置入四個象限，每天訓練 4 次，每次 2 分鐘；若大鼠於 2 分鐘內即找到逃逸平台，讓大鼠於逃逸平台休息 30 秒鐘後，抓出泳池休息 1 分鐘，然後進行下一次之訓練；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，移出泳池休息 1 分鐘，再進行下一次之訓練；共訓練 3 天，此三天(手術後第 12 至 14 天)稱之為學習操作[12]。

水迷宮第三天(手術後第 14 天)於訓練完 4 小時後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及游泳距離，此稱之為參考記憶[13]。

水迷宮第四天(手術後第 15 天)再將逃逸平台置入第四象限並使其露出於水面 1 cm，訓練 4 次，此稱之為非空間性記憶[12]。

水迷宮第五天(手術後第 16 天)將逃逸平台置於第二象限，加水使其沈入水面下 1 cm，大鼠先置入第一象限，連續測定 120 秒鐘或至大鼠找到逃逸平台，此謂之再學習[14]。

水迷宮第五天(手術後第 16 天)於第一次實驗完成後休息 4 小時，再將大鼠先置入第三象限，亦連續測定 120 秒鐘或至大鼠找到逃逸平台。所有大鼠游泳之軌跡及實驗資料均由電腦自動記錄。第 5 天稱為工作記憶[14]。

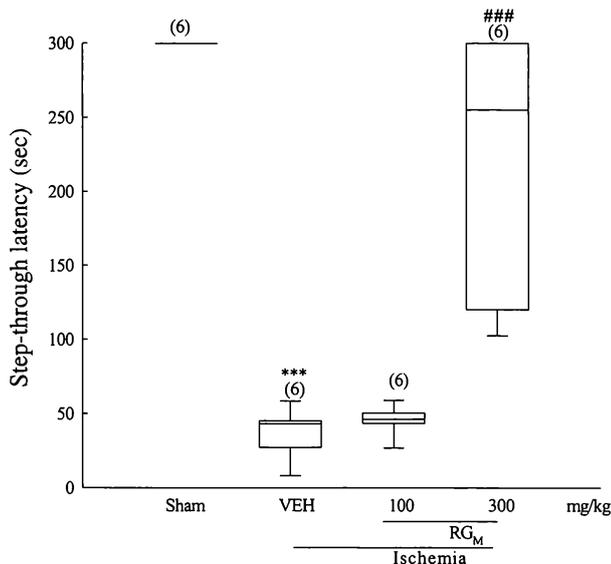


圖1 地黃甲醇粗抽物(RG_M)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠被動迴避試驗滯留明室時間。*** $p < 0.001$ ，與假手術組比較。### $p < 0.001$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

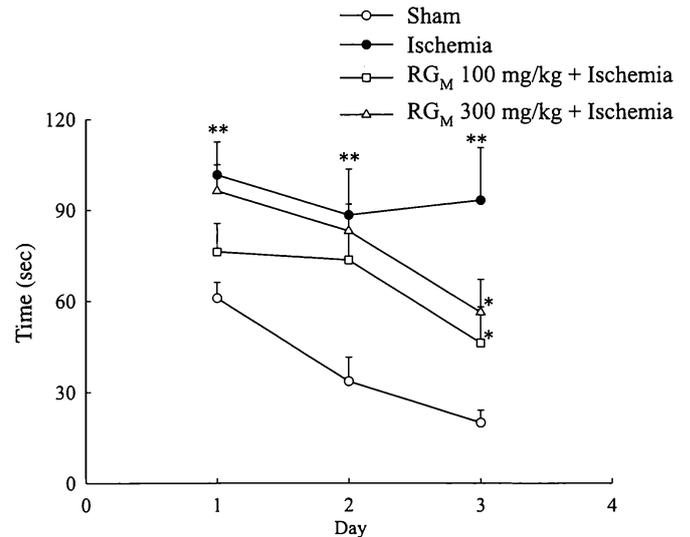


圖2 地黃甲醇粗抽物(RG_M)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠水迷宮空間性學習操作障礙之影響。** $p < 0.01$ 與假手術組比較。* $p < 0.05$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

結果

地黃甲醇粗抽物對急性腦缺血大鼠學習障礙之影響

經手術10天之急性腦缺血大鼠會縮短於被動迴避反應明室滯留時間，而皮下注射投予地黃甲醇粗抽物於300 mg/kg下則可延長急性腦缺血大鼠於被動迴避反應之明室滯留時間($p < 0.001$)，如圖1所示。

經手術12天之急性腦缺血大鼠可延長水迷宮尋找逃逸平台之時間($p < 0.01$)，而皮下注射投予100 mg/kg，300 mg/kg地黃甲醇粗抽物則可明顯縮短急性腦缺血大鼠於水迷路尋找逃逸平台之時間($p < 0.05$)，如圖2所示。

經手術14天可減少參考記憶期急性腦缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間($p < 0.01$)，而皮下注射投予300 mg/kg地黃甲醇粗抽物可增加參考記憶期急性腦缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間($p < 0.01$)，如圖3所示。

經手術15天可造成急性腦缺血大鼠於水迷宮中找尋可見逃逸平台所花的時間明顯增加($p < 0.05$)，而皮下注射地黃甲醇粗抽物並不會改善急性腦缺血大鼠非空間性游泳操作能力障礙，對游泳運動速度亦無影響，如圖4所示。

經手術16天可延長工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間($p < 0.01$)，而皮下注射投予300 mg/kg地黃甲醇粗抽物，可縮短工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間

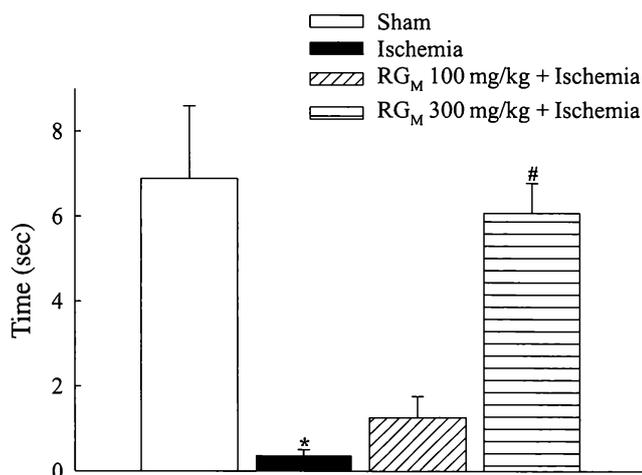


圖3 地黃甲醇粗抽物(RG_M)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠水迷宮參考記憶障礙之影響。* $p < 0.05$ 與假手術組比較。# $p < 0.05$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

統計學分析

本實驗所得之數據，均以 one-way ANOVA 分析其變異數，再以 Duncan's multiple range test 檢定，統計並分析其間差異之顯著性，凡 p 值小於0.05以下時，則認為有統計意義。而於單向被動迴避學習反應實驗，則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。

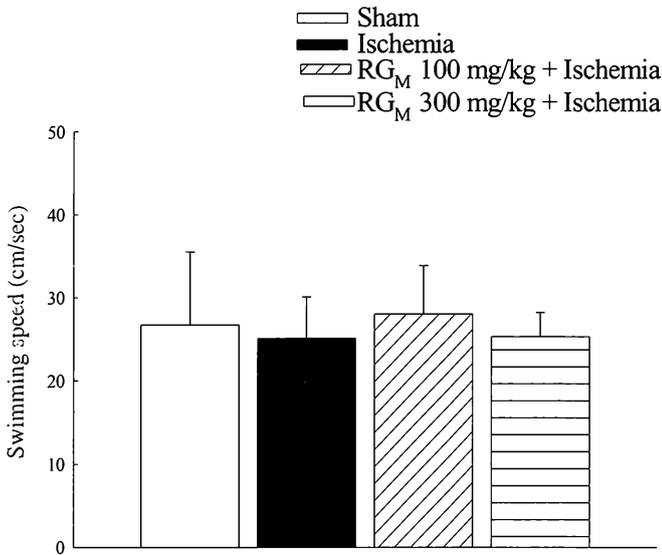


圖4 地黃甲醇粗抽物(RG_M)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠非空間性游泳操作能力之影響。

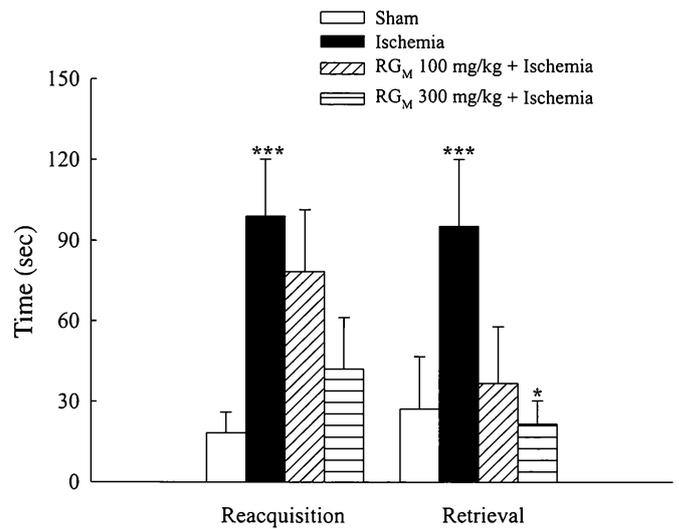


圖5 地黃甲醇粗抽物(RG_M)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠工作記憶障礙暨再現之影響。*** $p < 0.001$ 與假手術組比較。* $p < 0.05$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

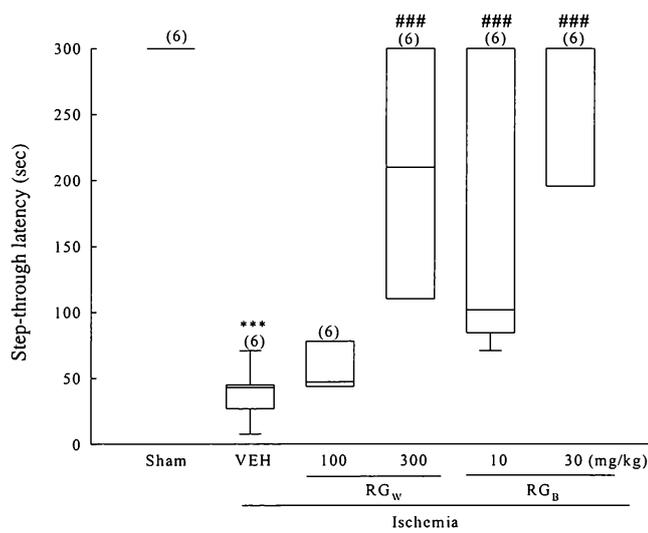


圖6 地黃甲醇粗抽物之水層(RG_w)、正丁醇層粗抽物(RG_B)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠被動迴避試驗滯留明室時間。*** $p < 0.001$ ，與假手術組比較。=== $p < 0.001$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

($p < 0.05$)，如圖5所示。
地黃甲醇粗抽物之水、正丁醇層對急性腦缺血大鼠學習障礙之影響

經手術10天之急性腦缺血大鼠會縮短於被動迴避反應明室滯留時間，而皮下注射投予地黃甲醇粗抽物之正丁醇萃取層於10至30 mg/kg下可延長急性腦缺血大鼠於動迴避反應之明室滯留時間($p < 0.001$)。而水萃取層於300 mg/kg下亦可延長大鼠於被動迴避反應之明室滯留時間 ($p < 0.001$)，如圖6所示。

經手術12天之急性腦缺血大鼠可延長水迷宮尋找逃逸平台之時間($p < 0.01$)，皮下注射投予地黃甲醇粗抽物之正丁醇萃取層於10至30 mg/kg則可明顯縮短急性腦缺血大鼠於水迷路尋找逃逸平台之時間($p < 0.01$)，而水萃取層則無顯著之作用，如圖7所示。

經手術14天可減少參考記憶期腦急性缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間($p < 0.01$)而皮下注射投予10至30 mg/kg 地黃甲醇粗抽物之正丁醇萃取層可增加參考記憶期急性腦缺血大鼠於放置逃逸平台區域之游泳時間($p < 0.05$)，而水萃取層則無顯著之作用，如圖8所示。

經手術15天可造成急性腦缺血大鼠於水迷宮中找尋可見逃逸平台所花的時間增加但不明顯，而皮下注射地黃甲醇粗抽物之水層、正丁醇萃取層並不會改善急性腦缺血大鼠非空間性游泳操作能力障礙，對游泳運動速度亦無影響，如圖9所示。

經手術16天可延長工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間($p < 0.001$)而經皮下注射投予地黃甲醇粗抽物之正丁醇萃取層於30 mg/kg可縮短工作記憶期急性腦缺血大鼠於再學習暨記憶再現過程中尋找逃逸平台之時間($p < 0.05$)，而水萃取層則無顯著之作用，如圖10所示。

討論

腦血管疾病促使早老性痴呆症患者的認知能

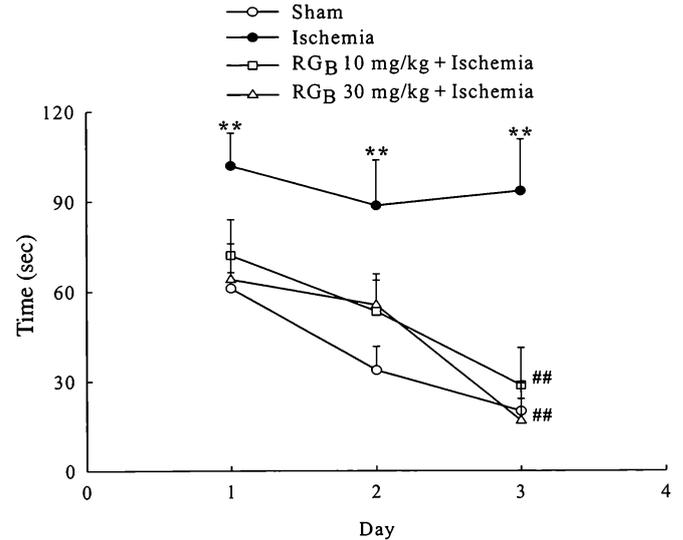
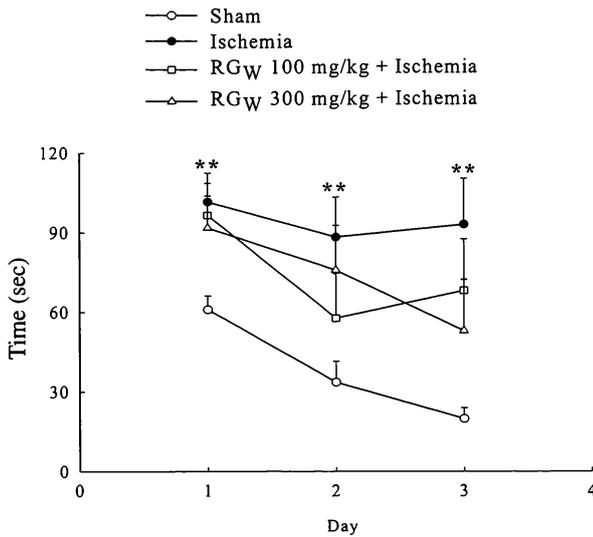


圖7 地黃甲醇粗抽物之水層(RG_w)、正丁醇層粗抽物(RG_b)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠水迷宮空間性學習操作障礙之影響。^{**} $p < 0.01$ 與假手術組比較。^{##} $p < 0.01$ 與雙側頸動脈結紮大鼠相比較。

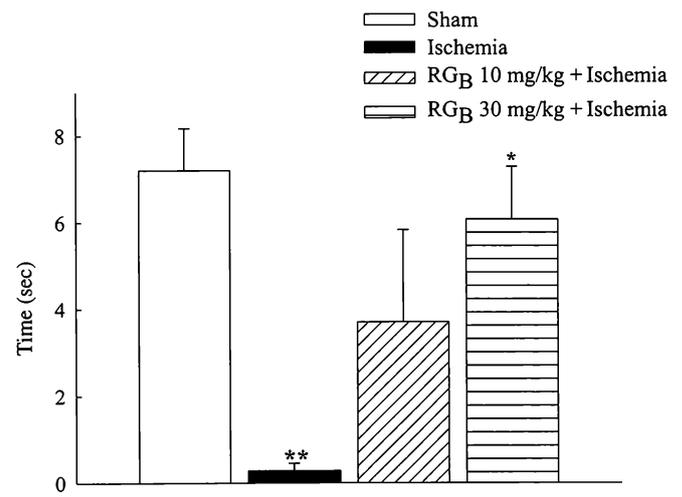
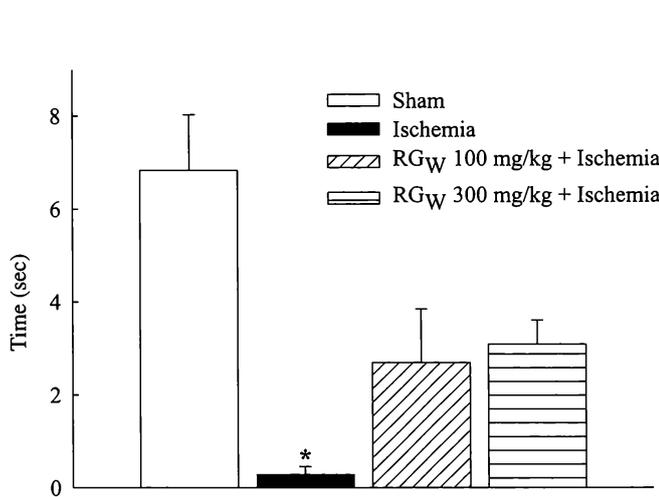


圖8 地黃甲醇粗抽物之水層(RG_w)、正丁醇層粗抽物(RG_b)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠水迷宮參考記憶障礙之影響。^{**} $p < 0.01$ 與假手術組比較。^{*} $p < 0.05$ 與雙側頸動脈結紮大鼠相比較。

力下降，尤其在早老性癡呆症患者的早期。早老性癡呆症的發展一般比較緩慢，在早期多無臨床症狀，這時腦血管疾病對認知能力的影響超過該病本身對病情的影響，所以預防腦血管疾病就成為延緩減輕早老性癡呆症的一個治療手段[15]。故本研究以阻塞雙側頸動脈產生腦部缺血之動物模式評估中藥地黃對腦缺血動物學習記憶障礙之改善作用。

作者等之近期研究指出地黃甲醇粗抽物可改善大鼠被 scopolamine 及 MK-801 等誘發之學習記憶障礙[10]，故繼續以動物學習行為模式(被動迴避學習反應、水迷宮)評估中藥地黃對急性腦缺血大鼠學習記憶障礙之改善作用。

首先，在水迷宮試驗中，主要是偵測動物對其所處環境標示物體空間位置的學習記憶能力進行比較，觀察動物入水至找到並安全爬上平台之時間稱空間性學習操作[16]，接著在水迷宮試驗中沒有外加空間訊息，平台位置與大鼠自身所處位置和狀態無關稱參考記憶此記憶之儲存機制主要涉及腦部之邊緣系統(如海馬迴)以及大腦皮質區[17]，水迷宮試驗中平台位置改為不固定，此需要對時間以及空間上分離之訊息加以整合判斷，評估大鼠工作記憶(再學習與再現等)學習操作能力[18]，本研究結果發現阻塞雙側頸動脈產生急性腦部缺血之動物會造成被動迴避及在水迷宮試驗中空間性學習操作、參考記憶、工作記憶

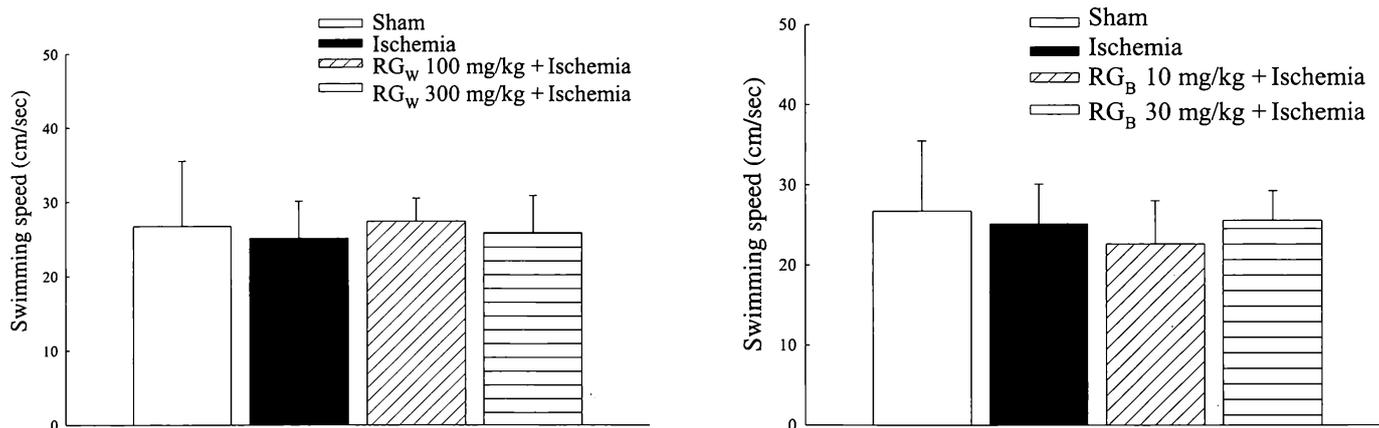


圖9 地黃甲醇粗抽物之水層(RG_w)、正丁醇層(RG_b)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠非空間性游泳操作能力之影響。

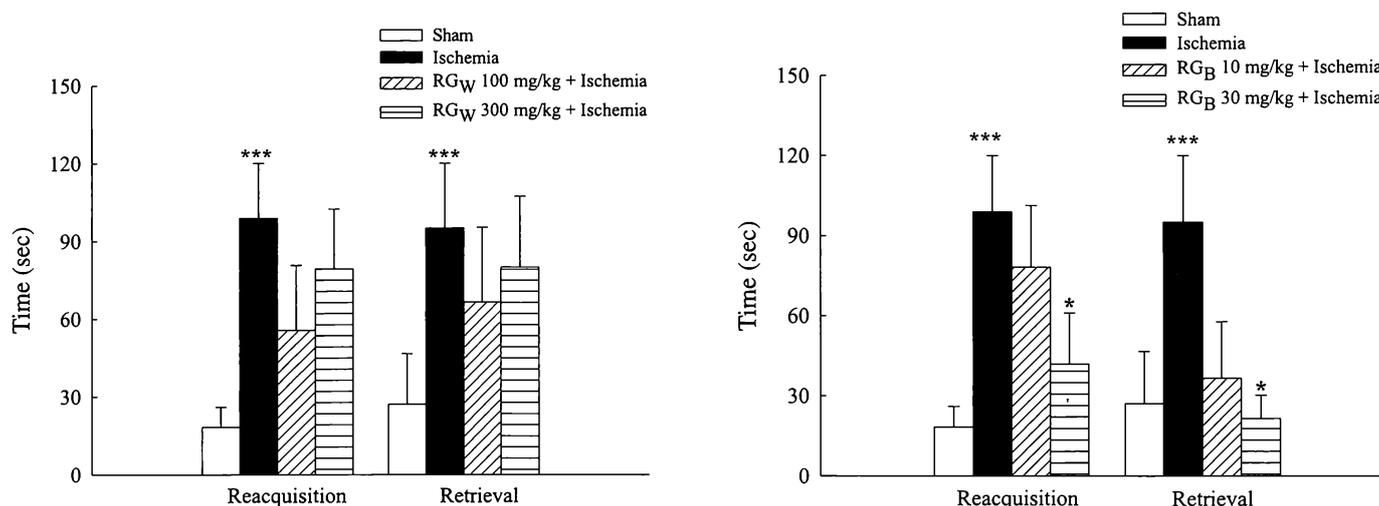


圖10 地黃甲醇粗抽物之水層(RG_w)、正丁醇層粗抽物(RG_b)對大鼠雙側頸動脈結紮誘發大鼠工作記憶障礙暨再現之影響。*** $p < 0.001$ 與假手術組比較。* $p < 0.05$ 與雙側頸動脈結紮大鼠比較。

之再學習與再現等學習操作能力之障礙，故腦缺血大鼠可誘導擬似腦血管性癡呆；此結果與其他研究學者針對腦缺血大鼠所造成之神經損害及認知能力障礙相符[4]，顯示急性腦缺血後確可造成各類學習模式之學習操作能力障礙。

本研究結果顯示地黃甲醇粗抽物在 100 至 300 mg/kg 與地黃甲醇粗抽物之正丁醇層在 10 至 30 mg/kg 皮下注射投予腦缺血大鼠，可明顯縮短急性腦缺血大鼠尋找平台時間，故可改善急性腦缺血大鼠水迷宮學習操作障礙之作用，接著在皮下注射投予地黃甲醇粗抽物在 300 mg/kg 與地黃甲醇粗抽物之正丁醇層在 10 至 30 mg/kg，可明顯延長移除平台後急性腦缺血大鼠於原平台處搜尋時間，與縮短平台位置不固定尋找平台時間，

故可改善急性腦缺血大鼠參考記憶與工作記憶障礙之作用。但對非空間性游泳操作能力障礙地黃甲醇粗抽物、地黃甲醇粗抽物之與水、正丁醇層皆無改善與增強游泳運動能力之作用，另地黃甲醇粗抽物之水層亦不具改善急性腦缺血性大鼠水迷宮學習操作障礙與之作用，但於皮下注射投予 300 mg/kg 下可改善急性腦缺血大鼠被動迴避反應障礙；而地黃甲醇粗抽物之正丁醇層在 10 至 30 mg/kg 可改善急性腦缺血大鼠會造成被動迴避學習操作障礙之作用，依 Busto 等研究指出腦缺血會引起大鼠腦中單胺 norepinephrine 含量下降 [19]，故地黃甲醇粗抽物暨其正丁醇層改善急性腦缺血大鼠學習操作能力可能與腦中 norepinephrine 有關。

腦缺血缺氧後，依 Takenaka 等人之研究報告指出會導致神經細胞變性死亡，是因神經細胞粒線體 ATP 能量不足，使神經細胞 Ca^{2+} -ATPase 活性下降，細胞膜 Na^{+} - K^{+} ATPase 主動運輸機制損害，使依賴 ATP 的 Ca^{2+} 外流之機制失效，且 ATP 不足會造成細胞內 Ca^{2+} 急劇增加造成神經細胞中毒、水腫[20]。另據邵文杰等之研究指出，地黃口服可抑制因腦缺血造成 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、ATPase 活性升高而將大量 ATP 水解，故地黃可保護腦組織避免 ATP 耗竭引起缺血損傷[21]， Ca^{2+} 是體液中重要之成份亦是神經細胞信息傳遞之重要因子，涉及維持神經細胞正常代謝功能[22]，故本研究發現地黃改善學習記憶其機轉是否與其保護腦組織避免 ATP 耗盡引起缺血損傷有關，則有待研究。

由地黃甲醇粗抽物可改善急性腦缺血大鼠被動迴避學習反應障礙，且地黃甲醇粗抽物之正丁醇層更可改善急性腦缺血大鼠水迷宮學習操作障礙、參考記憶障礙、工作記憶障礙之作用，而水層並無明顯作用。由此我們得知地黃之有效成分係存於正丁醇層[23]。

參考文獻

- Andersen MB, Zimmer J, Sams-Dodd F. Specific behavioral effects related to age and cerebral ischemia in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;62:673-82.
- Wang LM, Han YF, Tang XC. Huperzine A improves cognitive deficits caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Eur J Pharmacol* 2000;398:65-72.
- Johnson J, Preston JD. Clinical Psychopharmacology Made Ridiculously Simple. Miami: Medmaster, 1992:28-41.
- Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke* 1979;10:267-72.
- Amano M, Hasegawa M, Hasegawa T, et al. Characteristics of transient cerebral ischemia-induced deficits on various learning and memory tasks in male Mongolian gerbils. *Jpn J Pharmacol* 1993;63:469-77.
- Davis HP, Baranowski JR, Pulsinelli WA, et al. Retention of reference memory following ischemic hippocampal damage. *Physiol Behav* 1987;39:783-6.
- Davis HP, Tribuna J, Pulsinelli WA, et al. Reference and working memory of rats following hippocampal damage induced by transient forebrain ischemia. *Physiol Behav* 1986;37:387-92.
- Ohno M, Yamamoto T, Ueki S. Effect of the kappa-receptor agonist, U-50, 488H, on cerebral ischemia-induced impairment of working memory assessed in rats by a three-panel runway task. *Eur J Pharmacol* 1991;193:357-61.
- 謝明村, 吳啓瑞, 鄭頌仁等。長期餵食六味地黃丸對大鼠被動迴避學習反應之影響。 *台灣中醫醫學雜誌* 2001;1:5-17。
- Lin YC, Hsieh MT, Hsieh CL, et al. Effects of *Rehmanniae Radix* on learning deficits in rats. *J Ethnopharmacol* (submitted).
- 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-HT1A and 5-HT2 receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1998;60:337-43.
- 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.
- Galani R, Weiss I, Cassel JC, et al. Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res* 1998;96:1-12.
- Rashidy-Pour A, Motamedi F, Motahed-Larijani Z. Effects of reversible inactivations of the medial septal area on reference and working memory versions of the Morris water maze. *Brain Res* 1996;709:131-40.
- Esiri MM, Nagy Z, Smith MZ, et al. Cerebrovascular disease and threshold for dementia in the early stages of Alzheimer's disease. *Lancet* 1999;354:919-20.
- 周麗華, 袁群芳。青、老年大鼠在 Morris 水迷宮中的學習記憶行為。 *廣東解剖學通報* 1995;17:25-9.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982;297:681-3.
- Frick KM, Baxter MG, Markowska AL, et al. Age-related spatial reference and working memory deficits assessed in the water maze. *Neurobiol Aging* 1995;16:149-60.
- Busto R, Harik SI, Yoshida S, et al. Cerebral norepinephrine depletion enhances recovery after brain ischemia. *Ann Neurol* 1985;18:329-36.
- Takenaka K, Yamada H, Sakai N, et al. Induction of cytosolic free calcium elevation in rat vascular smooth-muscle cells by cerebrospinal fluid from patients after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1991;75:452-7.
- 邵文杰, 李順發, 邵巍。地黃的保健作用。 *河南中醫藥學刊* 1994;9:8-10.
- Chen ST, Hsu CY, Hogan EL, et al. A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extensive cortical infarction. *Stroke* 1986;17:738-43.
- 劉長河, 李更生, 黃迎新等。不同產地地黃梓醇含量比較。 *中醫研究* 2001;14:10-2.

The Attenuating Effects of *Rehmannia glutinosa* on Learning Deficit in Rats with Acute Cerebral Ischemia

Ying-Chih Lin, Chi-Rei Wu, Wen-Huang Peng, Chun-Ju Lin, Ming-Tsuen Hsieh

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical University, Taiching, Taiwan, R.O.C.

Objectives. *Rehmannia glutinosa* (RG) is a major component of Liu-Wei-Di-Huang-Wan. However, the effects of RG on memory processes have not been investigated. Vascular dementia (VD) is a common clinical syndrome of intellectual decline caused by ischemia, hypoxia, and haemorrhagic brain lesions. Most animal models used in ischemia research are based on the neuropathological, neurological, or behavioral outcome of experimental rats with cerebral ischemia.

Methods. The present study measured the effects of RG on memory function in acute cerebral ischemic rats by the passive avoidance learning and the water maze tests.

Results. Methanolic extract of RG at 0.3 g/kg, water layer of methanolic extract of RG at 0.3 g/kg, and butanolic layer of methanolic extract of RG at 0.01 to 0.03 g/kg facilitated a passive avoidance response in acute cerebral ischemic rats. Methanolic extract of RG at 0.1 to 0.3 g/kg shortened the swimming time to reach the hidden platform on the Morris water maze, and enhanced the swimming time spent in the target ring in acute cerebral ischemic rats. The butanolic but not the water layer at 0.01 to 0.03 g/kg also shortened the swimming time to reach the hidden platform on the Morris water maze, and enhanced the swimming time spent in the target ring in acute cerebral ischemic rats. The butanolic and water layers did not alter the swimming speed.

Conclusions. The butanolic layer of methanolic extract of RG improved the memory function of ischemic rats according to the results of the passive avoidance learning and water maze tests. (*Mid Taiwan J Med* 2003;8 Supplement:S14-21)

Key words

acute cerebral ischemia, passive avoidance, *Rehmannia glutinosa*, water maze