

# 天麻活性成分對位羥基苯醇改善學習記憶作用與下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之關係

## Relationship between the improving effects of active constituent of Tianma - *p*-hydroxybenzyl alcohol and hypothalamo-pituitary-adrenal axis

謝明村

中國醫藥學院 中國藥學研究所

### 摘要

本研究以被動迴避反應，探討周邊暨中樞神經系統在 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶作用所扮演之角色。最後，並測定血醣濃度及下視丘 serotonin 濃度。

*p*-Hydroxybenzyl alcohol (1 及 5 mg/kg) 可改善經靜脈注射 6-OHDA 前處理之 apomorphine 或 cycloheximide 誘發學習記憶障礙，其作用明顯低於正常動物下之改善作用；另對 *p*-chloroamphetamine 及 apomorphine 誘發學習獲得障礙、cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙及 apomorphine 誘發記憶再現障礙之改善作用，均可因去除腎上腺之前處理而部份阻斷。進一步之生化測定上，*p*-hydroxybenzyl alcohol 可增加正常大白鼠血中 glucose 之濃度。*p*-Hydroxybenzyl alcohol 對腦室給予 6-OHDA 或 5,7-DHT 誘發之學習記憶障礙均具改善作用，但較對 PCA 誘發學習記憶障礙之改善效果為差。最後，*p*-hydroxybenzyl alcohol 對 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用可因下視丘給予 5,7-DHT 而減弱，且若經下視丘給予亦具改善作用；而在生化測定上，下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 可增加正常大白鼠下視丘區

域serotonin之濃度。

綜合上述實驗結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用不僅與週邊神經系統或中樞神經系統均有關連；可能與經腎上腺增加肝醣之再利用及中樞下視丘部位經serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌有關。

關鍵詞：對位羥基苯醇、被動迴避反應、下視丘-腦下垂體-腎上腺軸

## ABSTRACT

In the present study, we investigated the role of the peripheral and central nervous system on the improving effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) in the passive avoidance task. Secondly, we assay the plasma glucose levels measured by YSI model 23A Glucose Analyzer, the concentration of serotonin in the hypothalamus measured by microdialysis-high performance liquid chromatography.

In the role of peripheral sites, the improving effects of HBA on the APO-induced or CXM-induced memory impairment in 6-OHDA (i.v.)-treated rats were smaller than those of HBA in normal rats. Secondly, adrenalectomy partially blocked the improving effects of HBA on PCA-induced, CXM-induced and APO-induced memory impairment. In the role of central sites, HBA improved the impairment of learning and memory induced by 6-OHDA or 5,7-DHT (i.c.v. or intrahypothalamal) in rats. Finally, intrahypothalamal injection of HBA improved CXM-induced impairment. Furthermore, biochemical studies also appeared that HBA increased the plasma glucose level and concentration of hypothalamic serotonin in normal rats.

From above results, we suggested the improving effects of HBA on the various drugs-induced impairment acted through not only the peripheral also central nervous system. These effects might be related to

the increase of plasma glucose levels via the peripheral sites such as sympathetic nervous systems and adrenal gland, and the activities of hypothalamo-pituitary-adrenal axis.

Keywords: *p*-Hydroxybenzyl alcohol、Passive avoidance response、hypothalamo-pituitary-adrenal axis

## 壹、前言

智能障礙之疾病在今日社會裡日漸廣泛，而也帶來社會高潛在的危險性，因而驅使近代醫藥學家的重視及致力於開發智能增強劑 (cognitive enhancer) 或活化劑 (cognition activators)。在現今已開發之智能增強劑或活化劑，大致可分成 Nootropics、Vasodilators 及 Metabolic enhancers、Psychostimulants、Cholinergic agents、Biogenic amines drugs 及 Neuropeptides 等七類，Vasodilators 及 Metabolic enhancers 如 dihydroergotoxine，主要針對腦血管栓塞、缺血等引起之智能障礙，然在其它動物障礙形態及臨床運用則效果不彰；其次，Cholinergic agents、Biogenic amines drugs 及 Neuropeptides 等三類，雖對各類學習記憶之動物模式及藥物誘發學習記憶障礙，均有不同程度之改善，然仍未有適宜之藥物推展至臨床運用<sup>(1)</sup>。至於 Nootropics 類藥物如：piracetam 等，於 1972 年由 Giurgea 提出，其字意即指增強學習記憶、促進腦內資訊聯匯<sup>(2)</sup>，對各類學習記憶之動物模式及藥物誘發學習記憶障礙，均有改善；而其改善學習記憶之機轉，當大鼠經 adrenalectomy 時，可拮抗 piracetam 之作用，因此認為 piracetam 之作用經由周邊神經系統之作用<sup>(3)</sup>。且在今之研究，認為智能增強劑之增強學習記憶作用，可能經由影響腎上腺之機能，使體內之 glucose 使用率增加，腦內血糖濃度增加，因而增加腦內能量之供給，活化腦內神經系統<sup>(4)</sup>；而另一方面，腎上腺分泌之糖皮質固醇及礦物質皮質固醇活性亦參與 piracetam 之作用<sup>(5)</sup>；且在早期之研究即指出，下視丘-腦下垂體-腎上腺軸參與動物之行為，特別是運動、害怕及學習記憶<sup>(6-7)</sup>有關，而

serotonergic system 又與下視丘-腦下垂體-腎上腺軸有明確之關係(8)。

天麻為蘭科 (Orchidaceae) 植物天麻 *Gastrodia elata* BLUME 的乾燥塊莖，始載於本經上品，原名赤箭(9)。本草綱目記載：「治語多恍惚，善驚失志」(10)。本研究室分別自乙酸乙酯層及正丁醇層分離出有效成分 *gastrodin* 及 *p*-hydroxybenzyl alcohol，抽取率分別為 0.024% 及 0.029%，在長期給藥時，可改善膽鹼接受器阻斷劑 *scopolamine* 所誘發大鼠學習記憶障礙，且以 *p*-hydroxybenzyl alcohol 之作用較佳(11)。而在更進一步之研究中，指出 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1-5 mg/kg) 在一次給藥時，可改善藥物誘發之學習記憶障礙，其作用較正對照組 *piracetam* 佳，但其作用機轉與正對照組 *piracetam* 不同，可能與降低 dopaminergic system、serotonergic system 及防止蛋白質、DNA 變性，以促進蛋白質合成有關(12-13)；而於 1979 年鄧士賢等之研究曾指出該成分口服 5 g/kg，並不具急性毒性(14)。顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol 之有效劑量與毒性劑量間之安全指數甚大，係為一安全且值得開發之新藥。但周邊神經系統與中樞神經系統在 *p*-hydroxybenzyl alcohol 作用上所扮演之角色，至今尚未進行探討。因此，本研究擬以被動迴避反應，進行周邊神經系統拮抗劑、神經毒素、去腎上腺對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 作用之影響，探討周邊神經系統在 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶作用所扮演之角色；其次，以 5,7-dihydroxytryptamine 破壞下視丘對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 作用之影響及 *p*-hydroxybenzyl alcohol 經下視丘給藥對 *cycloheximide* 誘發學習記憶障礙之作用，探討下視丘在 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶作用所扮演之角色。最後，以血糖測定儀及微透析-高效液相層析儀進行血糖濃度及下視丘 serotonin 濃度測定，探討血糖及下視丘 serotonin 在 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶作用所扮演之角色。

## 貳、材料與方法

### 一、實驗動物

本實驗動物採用 Sprague-Dawley 雄性大鼠，體重約 200 g ~ 250

g，飼養在空調的房間，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。

## 二、實驗試藥

piracetam、scopolamine hydrobromide (SCOP)、*p*-chloroamphetamine (PCA)、cycloheximide (CXM)、atenolol (ATE)、sodium pentobarbital，以normal saline溶解。

apomorphine (APO)、6-hydroxydopamine (6-OHDA)、5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT)，以normal saline溶解，並添加0.5 % ascorbic acid以防止氧化。

上述所有藥物皆購自Sigma。

## 三、實驗方法

### 1. 被動迴避學習反應

本實驗是使用「被動迴避學習 (passive avoidance) 反應測定裝置」(Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)，此裝置分成兩部份：實驗箱 (Shuttle Box) 係為一經中間閘門分隔為相同大小二室 ( $48 \times 20 \times 30\text{cm}$ ) 的箱子及其控制器 (MCU -101 Controller, Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)；在實驗裝置處置上，於相同大小二室之其中一室上方置一20W之電燈泡，將相同大小二室區分為明暗二室，中以門閘控制；而於實驗步驟上，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。

被動迴避學習訓練期：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 (1.0 mA, 2sec)，待電刺激後5秒，自暗室取出大鼠，歸回飼養籠。

被動迴避學習測定期：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(15)。

### 2. 周邊腎上腺接受器拮抗劑對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

雄性大鼠訓練前30分鐘腹腔注射atenolol (3 mg/kg, i.p.) (16), *p*-hydroxybenzyl alcohol (1.0、5.0 mg/kg, p.o.), 於口服給藥後1小時, 進行訓練; 且與下列誘發學習障礙物質併用, 依前法 (方法1), 記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予誘發學習記憶障礙物質 (cycloheximide), 而空白對照組則給予saline。

### 3. 靜脈注射6-hydroxydopamine對*p*-hydroxybenzyl alcohol改善學習記憶障礙之影響

雄性大鼠靜脈注射6-hydroxydopamine (25 mg/kg, i.v.) (17)後, 歸回飼養籠; 於1天後, 進行訓練。*p*-hydroxybenzyl alcohol (1.0、5.0 mg/kg, p.o.), 於口服給藥後1小時進行訓練, 且與下列誘發學習障礙物質併用, 依前法 (方法1), 記錄大鼠在明室之滯留時間。病理對照組給予誘發學習記憶障礙物質 (apomorphine、cycloheximide), 而空白對照組則給予saline。

### 4. 去除大鼠腎上腺 (Adrenalectomy) 對*p*-hydroxybenzyl alcohol改善學習記憶障礙之影響

雄性大鼠腹腔注射sodium pentobarbital (45 mg/kg) 麻醉後, 去除兩側之腎上腺, 待大鼠清醒後, 歸回飼養籠; 於5天後, 進行訓練 (18)。*p*-hydroxybenzyl alcohol (1.0、5.0 mg/kg, p.o.), 於口服給藥後1小時進行訓練, 且與前法 (方法二) 誘發學習障礙物質併用, 依前法 (方法1), 記錄大鼠在明室之滯留時間 (step-through latency, STL)。另進行假手術組, 病理對照組給予誘發學習記憶障礙物質 (*p*-chloroamphetamine、cycloheximide), 而空白對照組則給予saline。

### 5. *p*-hydroxybenzyl alcohol對大鼠血糖含量之影響

使用體重200-250公克雄性大鼠, *p*-hydroxybenzyl alcohol (1.0、5.0 mg/kg, p.o.) 於口服給藥後1小時, 依前法 (方法1), 將大鼠放入實驗箱中, 待大鼠進入暗室後, 通以電流 (2.0 mA, 2sec), 待電刺激後5秒, 自暗室取出大鼠。於10分鐘後, 大鼠以ethyl ether麻醉後, 經動脈取血2.0 ml後, 將血液置於試管中, 加入0.1 ml之heparin (50 IU/ml), 靜置30min後, 放入離心機中離心 (3000 rpm, 10

min, 4°C), 取 25 µl 之血漿, 以血醣快速分析儀 (YSI Model 23A, Glucose Analyser, USA) 測定血醣含量(19)。另進行去除兩側腎上腺組、假手術組及空白對照組。

#### 6. 下視丘給與 serotonergic neurotoxin 對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

使用體重 200-250 公克雄性大鼠, 腹腔注射 sodium pentobarbital (45 mg/kg, i.p.) 麻醉後, 以電鑽鑽開顱骨後, hypothalamus 區給予 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT, 3 µg/2 µl) 破壞腦內 serotonin 神經(20), 21 天後; 口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1.0、5.0 mg/kg, p.o.), 1 小時後進行訓練, 記錄大鼠在明室之滯留時間 (step-through latency, STL)。另進行假手術組, 病理對照組給予 5,7-DHT。而空白對照組則給予 saline。

#### 7. 下視丘給與 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之影響

雄性大鼠腹腔注射 sodium pentobarbital (45 mg/kg, i.p.) 麻醉後, 以電鑽鑽開顱骨後, 將腦室給藥管植入 hypothalamus 區, 待大鼠清醒後, 歸回飼養籠; 於 3 天後, 進行訓練。*p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 µg/2 µl), 於訓練前給藥, 且與 cycloheximide 併用, 依前法 (方法 1), 記錄大鼠在明室之滯留時間。另進行假手術組, 病理對照組給予 cycloheximide。而空白對照組則給予 saline。

#### 8. *p*-hydroxybenzyl alcohol 對大鼠下視丘 serotonin 含量之影響(21)

本實驗使用之儀器包括 HPLC (Beckman 126 pump, Taiwan Co.)、BAS-4C 電化學安培偵測器 (Amperometric detector, Bioanalytic systems, West Lafayette IN., U.S.A.)、微口徑逆向管柱 (Microbore reversed-phase column, GSK-C 18.5 µM ODS, 1.0×150 mm I.D.)、微量注射幫浦 (Microinjection pump, CMA/100, Carnegie Medicin)、微量收集器 (Microfraction collector, CMA/140, Carnegie Medicin) 及微透析探針 (CMA/12, Carnegie Medicin)。

使用體重 200-250 公克雄性大鼠, 每組 6 隻, 腹腔注射 sodium pentobarbital (45 mg/kg) 麻醉後, 以恆溫板維持大鼠體溫於 37±1

°C，將頭部以立體定位儀（Kopf stereotaxic apparatus）固定，利用定位圖譜定出 hypothalamus 位置（囟門往後0.18 cm，左側或右側0.07 cm，深0.86 cm）以電鑽鑽開顱骨後，將微透析探針插入至0.86 cm處。將CMA/10微量注射和CMA/140微量收集器同時連接至大鼠頭部之微透析探針，給予林格式液流速1  $\mu\text{L}/\text{min}$ ，待穩定開始收集微透析試樣，每20/min接收一管，開始收集一小時後 hypothalamus 區給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1, 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )，收集1小時。對照組給 vehicle。

以上透析所得 hypothalamus 區 5-Hydroxytryptamine (5-HT) 及其代謝物 (5-Hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA)，以外標法測定之。使用高速液相層析儀 (HPLC) 及電化學檢出器 (Electrochemical Detectors) 測定之。分離所用移動相為8% Acetonitrile (ACN)，0.42 g Sodium-1-octanesulfonic acid (C 8, 2.2mM, Sigma, U.S.A.)，2.00 g Monosodium dihydrogen orthophosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 14.7 mM)，8.82 g Sodium citrate (30 mM)，10 mg Ethylene diamine tetracetic acid (EDTA)，1 ml Triethylamine (TEA)，5 ml Tetrahydrofuran (THF)，以二次蒸餾水配成一升溶液，再以 orthophosphoric acid 調整PH值到3.5，始用0.22  $\mu\text{M}$ 的 nylon 濾膜過濾溶液，最後以高純度之氮氣 degase 10-20分鐘，之後靜置一天，測量時 pump 流速為50-60  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。BAS-4C之工作電極電位設定為0.75伏特。

## 9.統計分析

本實驗被動迴避學習反應所得之數據，均以 non-parametric methods (Mann-Whitney U-test)，各組間以 Kruskal-Wallis non-parametric one way analysis，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。腦內單胺濃度所得之數據，均以 one way ANOVA analysis，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。

## 參、結果

### 1. 周邊腎上腺接受器拮抗劑對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

於訓練前1小時口服給予5 mg/kg之 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 cycloheximide 誘發大白鼠記憶鞏固障礙有明顯之改善作用，此作用可被atenolol (3 mg/kg, i.p.) ( $P < 0.01$ ) (Fig 1) 所阻斷。

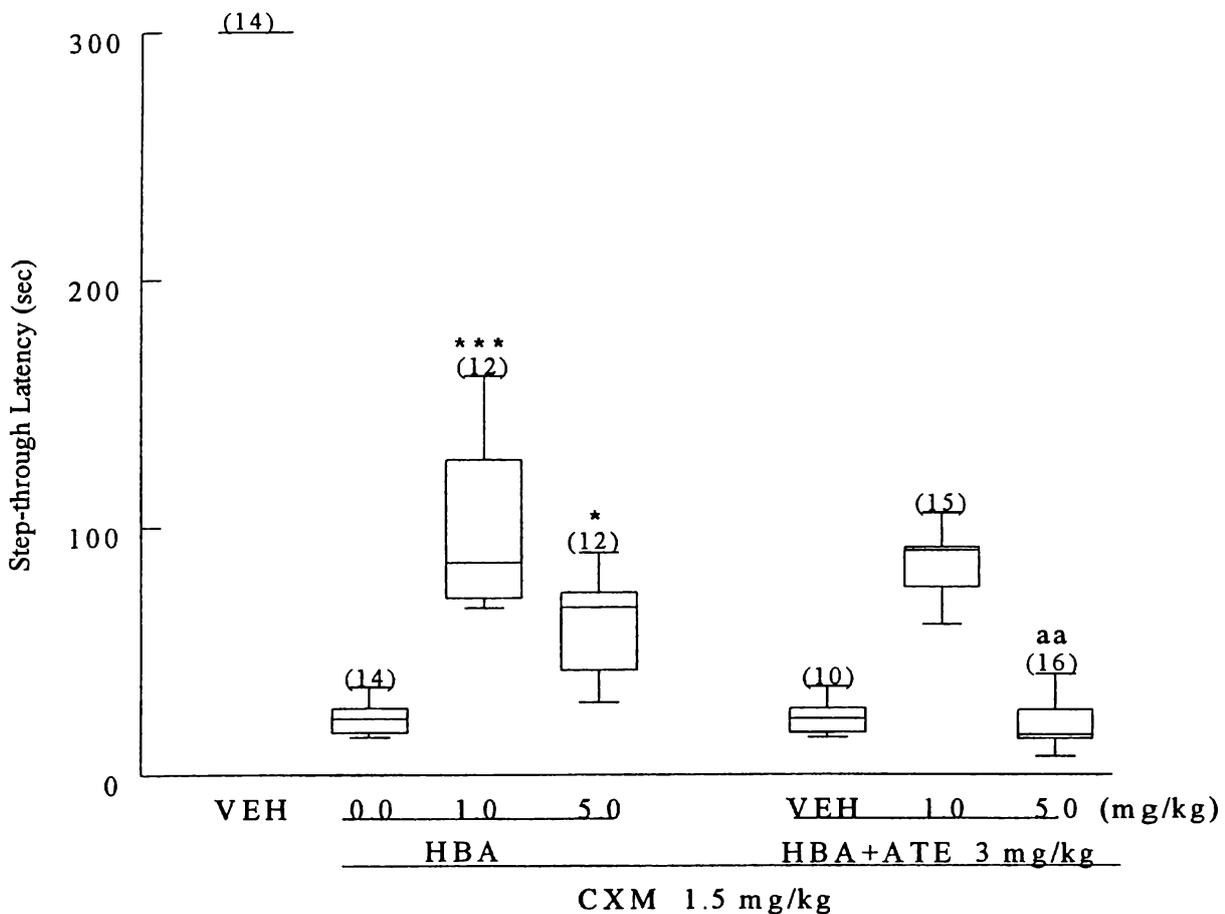


Fig 1. Effect of atenolol (ATE) on *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA)-induced recovery from cycloheximide (CXM) -induced memory consolidation impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\*\*  $P < 0.001$  compared with only CXM group. aa  $P < 0.01$  compared with HBA in combination with CXM group.

## 2. 靜脈注射6-hydroxydopamine對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

靜脈注射6-OHDA (5-25 mg, i.v.) 後，於翌日進行訓練，在5 mg下可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間 ( $P < 0.01$ )，但25 mg則對大白鼠在明室之滯留時間並無影響 ( $P > 0.05$ )。訓練前1小時口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 對經靜脈注射6-OHDA (25 mg, i.v.) 前處理後之apomorphine誘發學習記憶障礙具改善作用 ( $P < 0.01$ ) (Fig 2)。

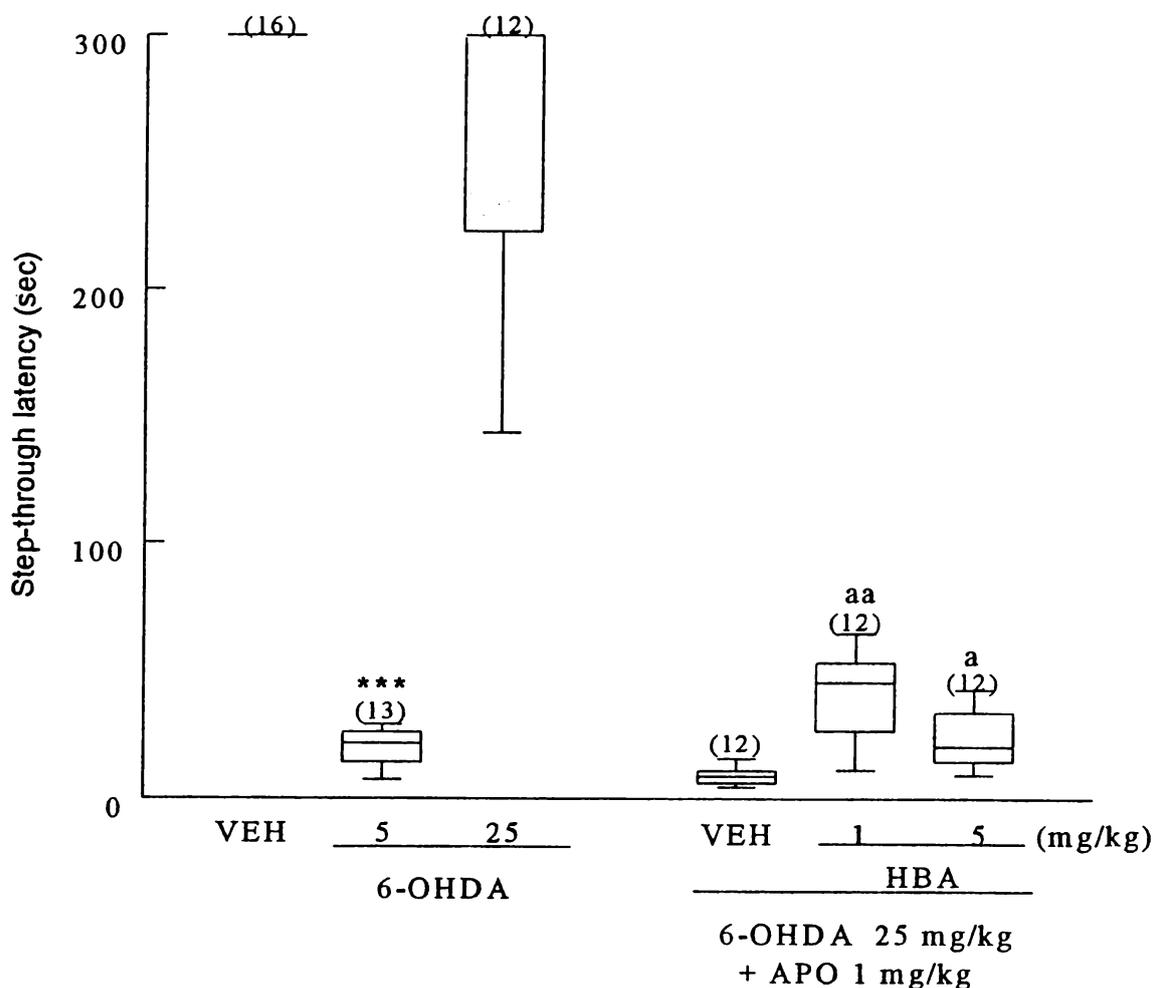


Fig 2. Effect of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) on *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA)-induced recovery from apomorphine (APO) -induced learning acquisition impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\*\*  $P < 0.001$  compared with VEH group. a  $P < 0.05$ , aa  $P < 0.01$  compared with 6-OHDA in combination with APO group.

訓練前1小時口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 對經靜脈注射6-OHDA (25 mg, i.v.) 前處理後之cycloheximide誘發學習記憶障礙具改善作用。(P<0.01) (Fig 3)。

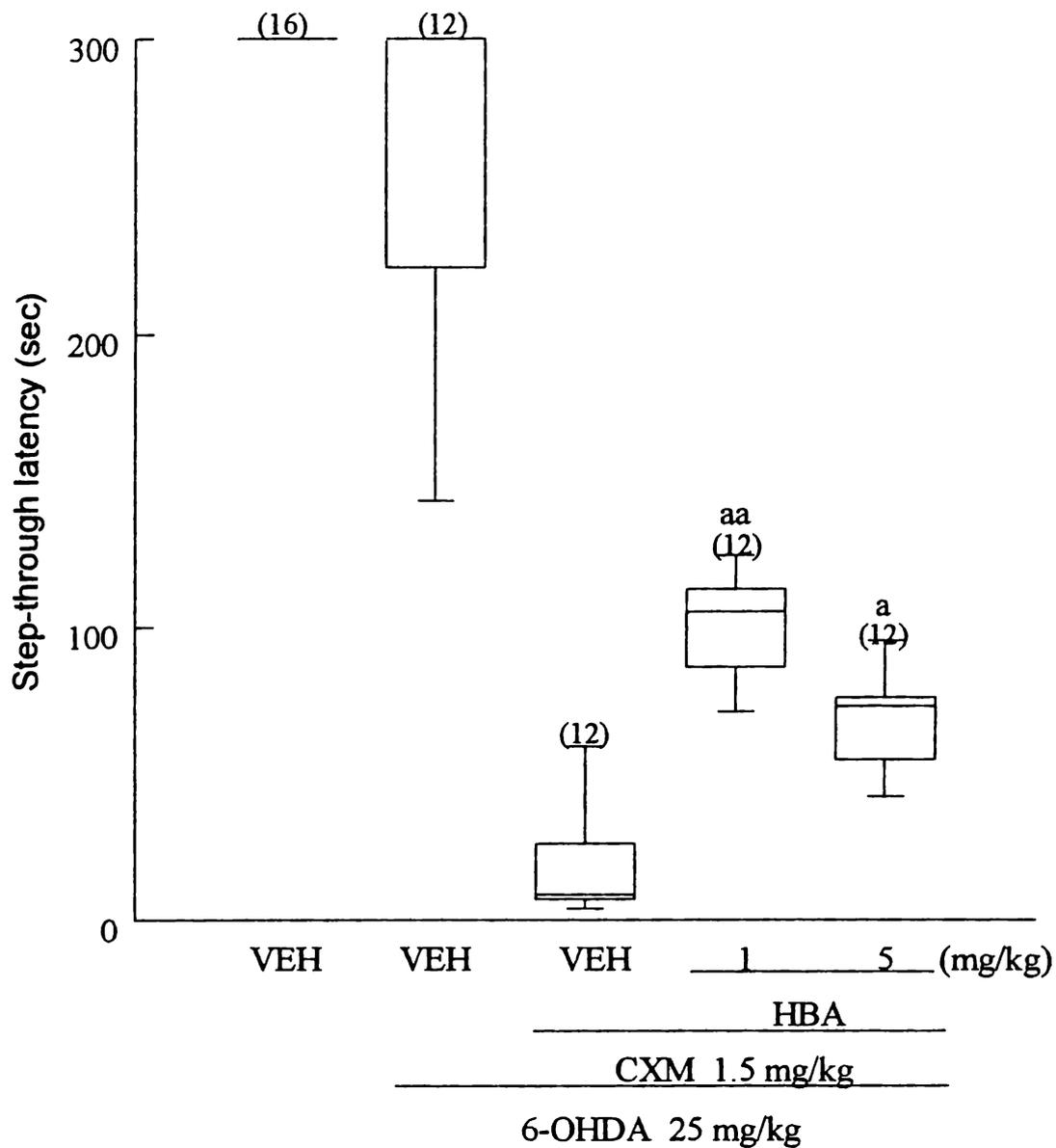


Fig 3. Effect of 6-hydroxydopamine (6-OHDA) on *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA)-induced recovery from cycloheximide (CXM) -induced memory consolidation impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\*\* P<0.001 compared with CXM group. a P<0.05, aa P<0.01 compared with 6-OHDA in combination with CXM group.

### 3. 去除大鼠腎上腺 (Adrenalectomy) 對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

*p*-hydroxybenzyl alcohol 訓練前 1 小時口服給予，對 *p*-chloroamphetamine 誘發大白鼠學習獲得障礙之改善作用，5 mg/kg 下可因去除腎上腺而部份阻斷 ( $P < 0.05$ ) 但 1 mg/kg 下之作用則與假手術組下之作用無明顯差異 ( $P > 0.05$ ) (Fig 4)。

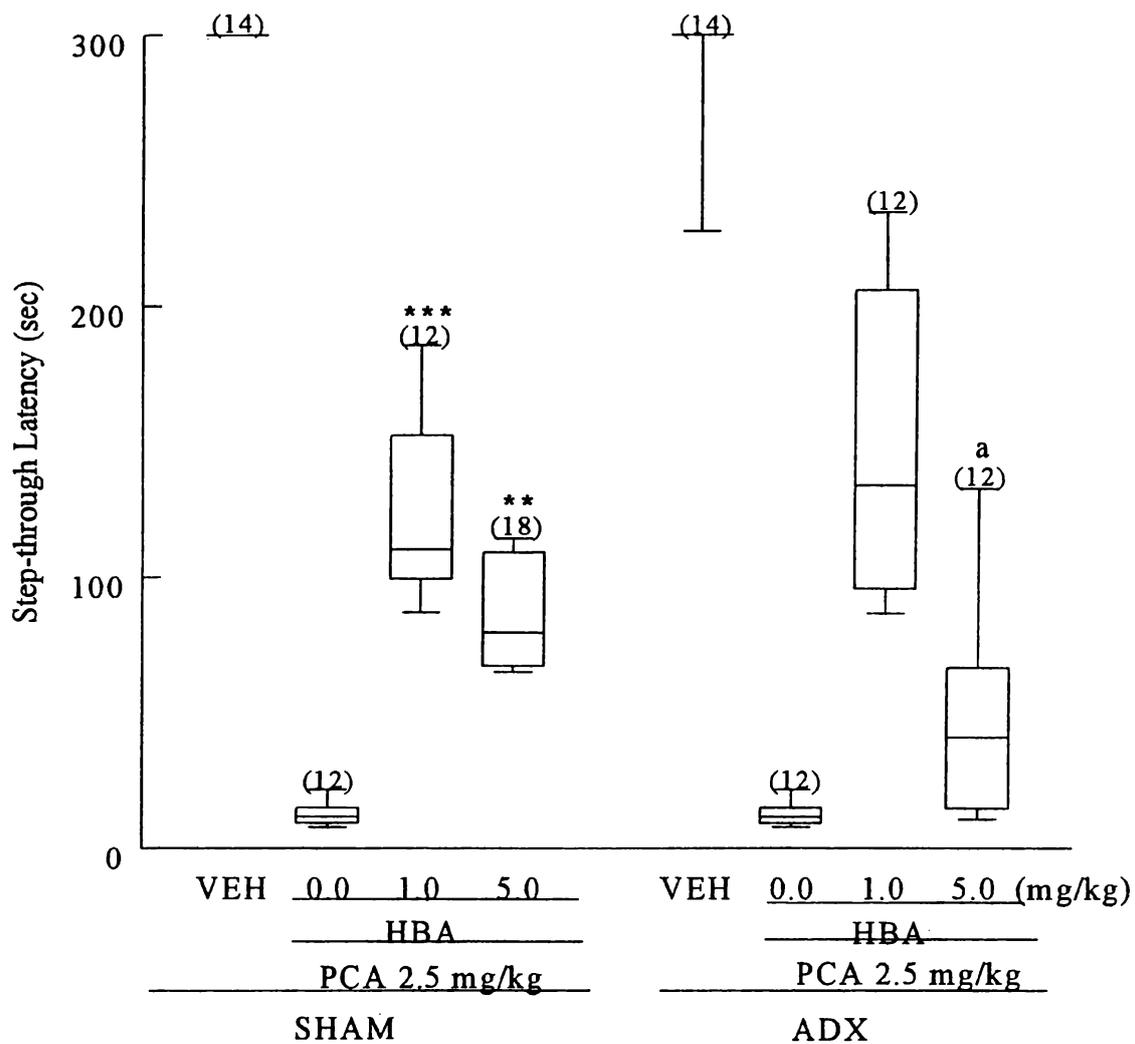


Fig 4. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the PCA-induced learning acquisition impairment of passive avoidance response in intact and adrenalectomized (ADX) rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with vehicle group. a  $P < 0.05$  compared with the sham-operated group.

*p*-hydroxybenzyl alcohol 訓練前1小時口服給予，對apomorphine 誘發大白鼠學習獲得障礙之改善作用，5 mg/kg下可因去除腎上腺而部份阻斷 ( $P < 0.05$ ) 但1 mg/kg下之作用則與假手術組下之作用無明顯差異 ( $P > 0.05$ ) (Fig 5)。

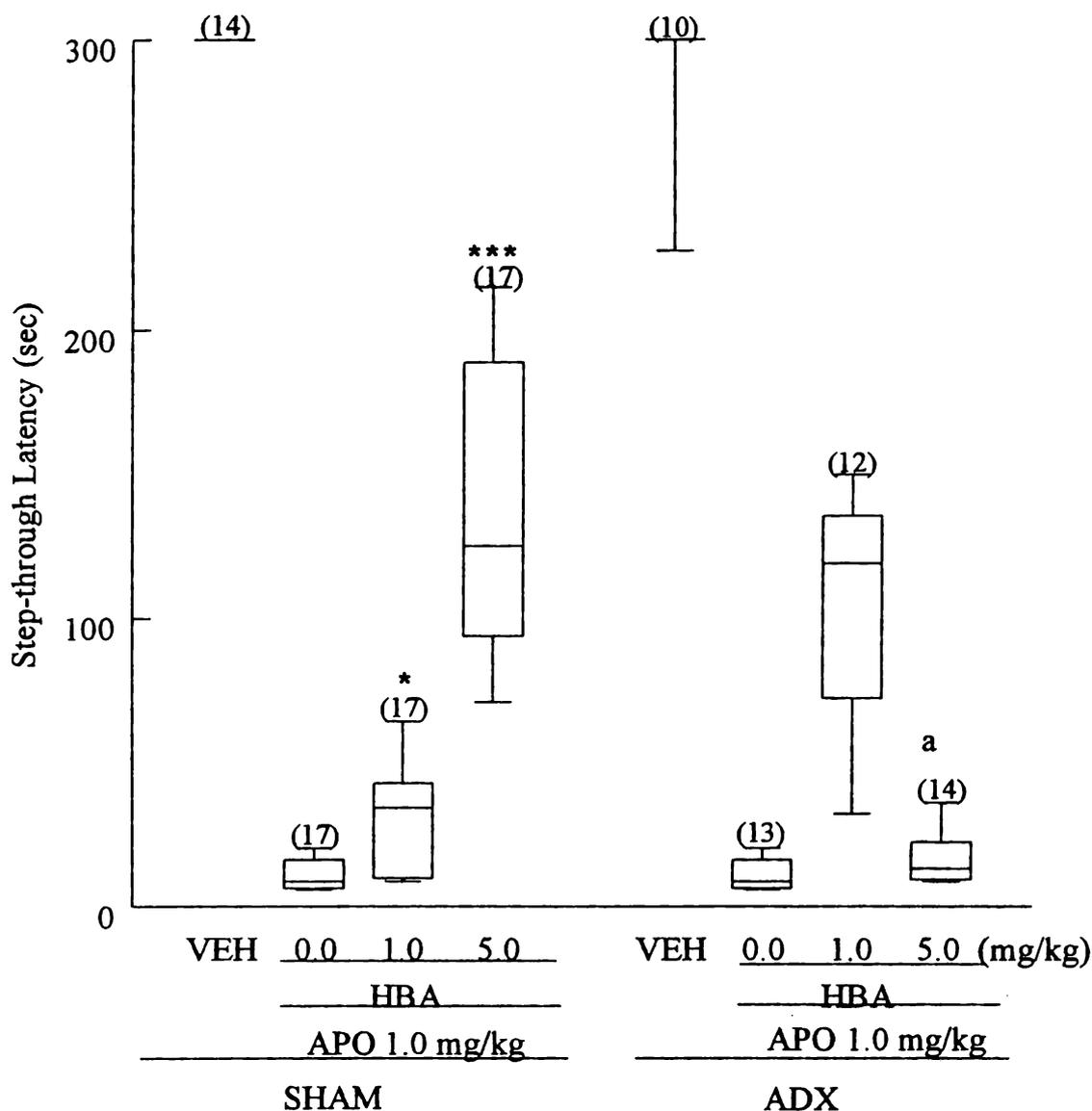


Fig 5. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the APO-induced learning acquisition impairment of passive avoidance response in intact and adrenalectomized (ADX) rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with vehicle group. a  $P < 0.05$  compared with the sham-operated group.

*p*-hydroxybenzyl alcohol 訓練前1小時口服給予，對 cycloheximide 誘發大白鼠記憶鞏固障礙之改善作用，5 mg/kg 下可因去除腎上腺而部份阻斷 ( $P < 0.05$ ) 但 1 mg/kg 下之作用則與假手術組下之作用無明顯差異 ( $P > 0.05$ ) (Fig 6)。

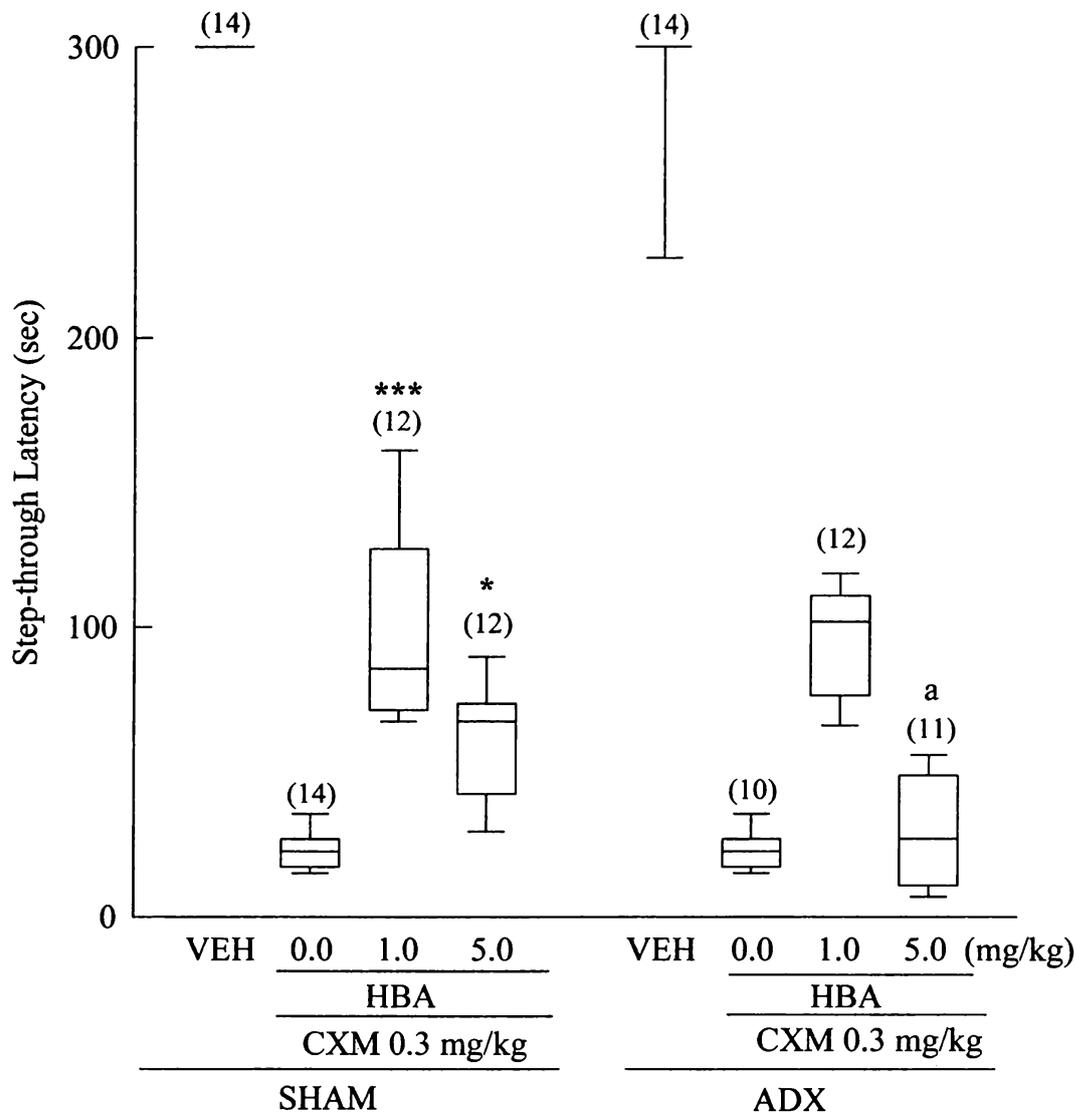


Fig 6. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the CXM-induced memory consolidation impairment of passive avoidance response in intact and adrenalectomized (ADX) rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with vehicle group. a  $P < 0.05$  compared with the sham-operated group.

*p*-hydroxybenzyl alcohol 訓練前1小時口服給予，對apomorphine 誘發大白鼠記憶再現障礙之改善作用，5 mg/kg下可因去除腎上腺而部份阻斷 ( $P < 0.05$ ) 但1 mg/kg下之作用則與假手術組下之作用無明顯差異 ( $P > 0.05$ ) (Fig 7)。

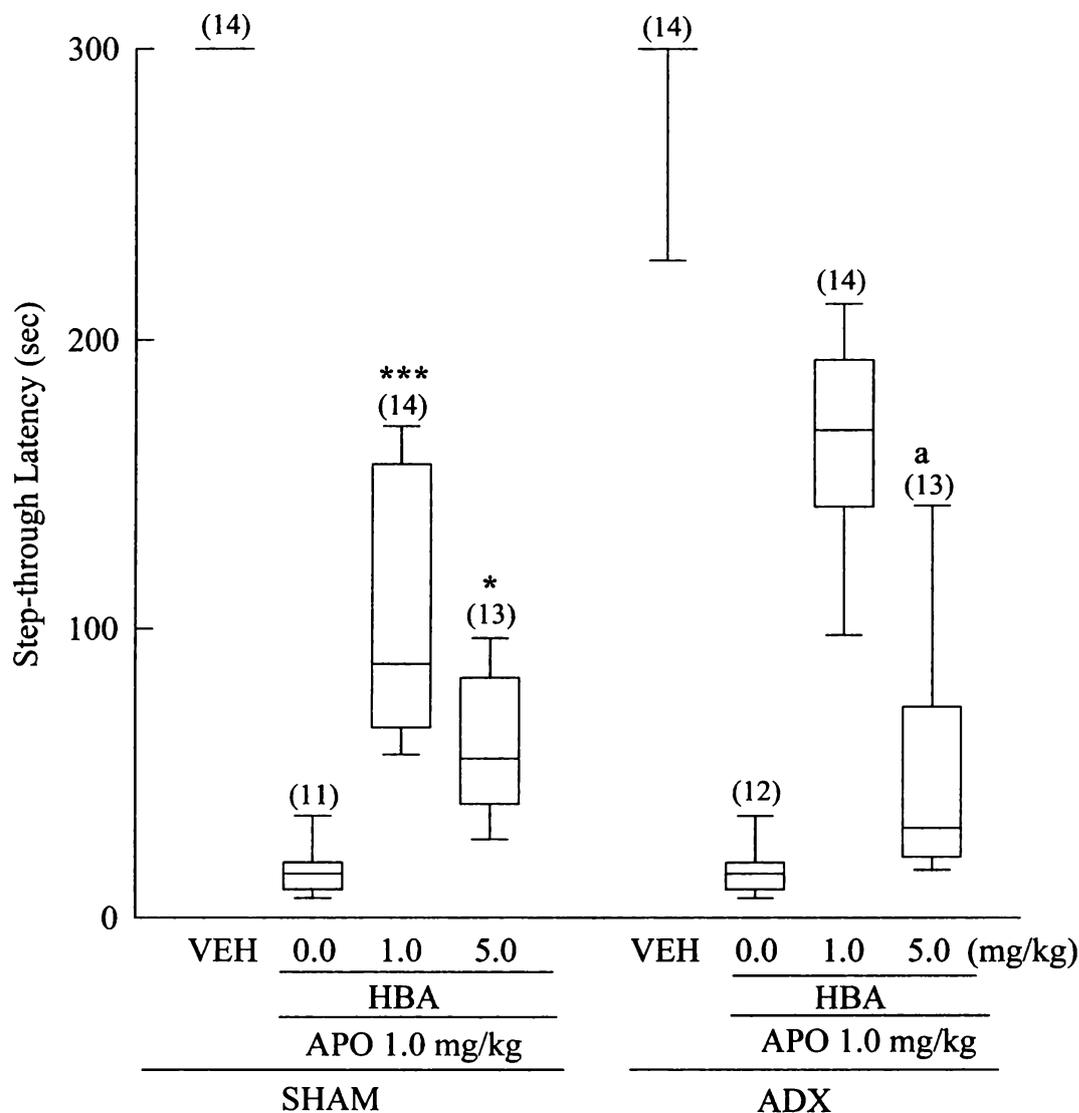


Fig 7. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the APO-induced memory retrieval impairment of passive avoidance response in intact and adrenalectomized (ADX) rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with vehicle group. a  $P < 0.05$  compared with the sham-operated group.

#### 4. *p*-hydroxybenzyl alcohol 對大鼠血醣含量之影響

如 Table 1，大白鼠經腎上腺切除，血中 glucose 濃度顯著減少 ( $P < 0.01$ )。 *p*-hydroxybenzyl alcohol (5 mg/kg) 訓練前口服給予腎上腺切除大白鼠，可增加血中 glucose 之濃度 ( $P < 0.05$ )。

Table 1. Effects of adrenalectomy (ADX) and *p*-hydroxybenzyl alcohol on the plasma glucose levels in intact and adrenalectomized (ADX) rats.

Groups	Dose (mg/kg)	Plasma Glucose levels (mg/dl)
Sham		148±4
Sham-HBA	1	159±4
Sham-HBA	5	161±3*
ADX 5		116±8**
ADX 5+HBA	1	113±3**
ADX 5+HBA	5	112±5**

The data represented as mean±S.E.M. for 6 rats. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with the Sham group (Student's t-test).

5. 腦室給與 neurotoxin 對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

腦室給予 6-OHDA (250  $\mu$ g/20  $\mu$ l, i.c.v.) 後, 可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間 ( $P < 0.01$ )。訓練前 1 小時口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 對腦室給予 6-OHDA 誘發之學習記憶障礙具改善作用 ( $P < 0.05$ ) (Fig 8)。

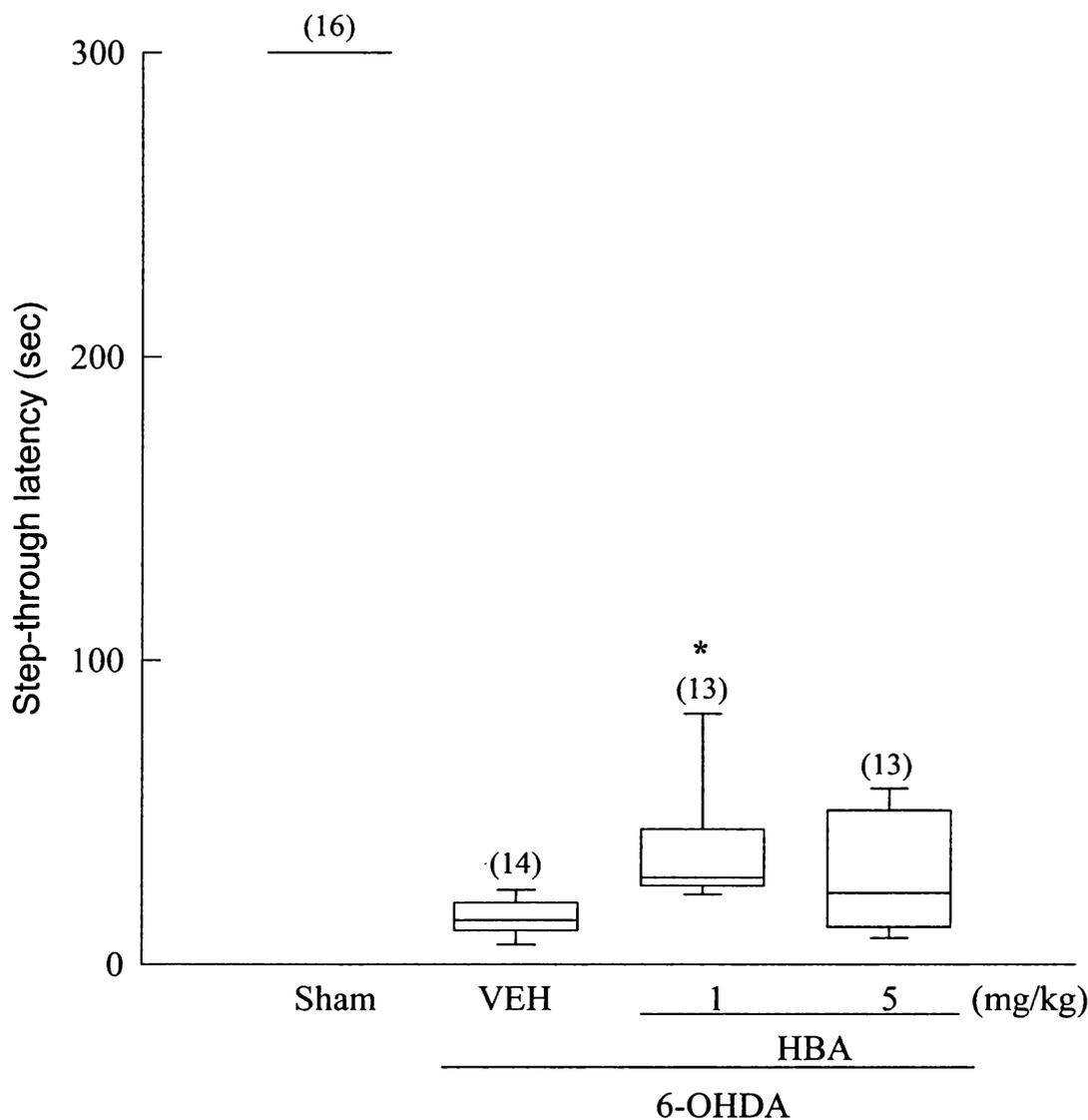


Fig 8. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the 6-hydroxydopamine (6-OHDA) -induced performance impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*  $P < 0.05$  compared with vehicle group.

腦室給予5,7-DHT (200  $\mu\text{g}/5 \mu\text{l}$ , i.c.v.) 後，可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間 ( $P < 0.01$ )。訓練前1小時口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 對腦室給予5,7-DHT誘發之學習記憶障礙具改善作用 ( $P < 0.01$ ) (Fig 9)。

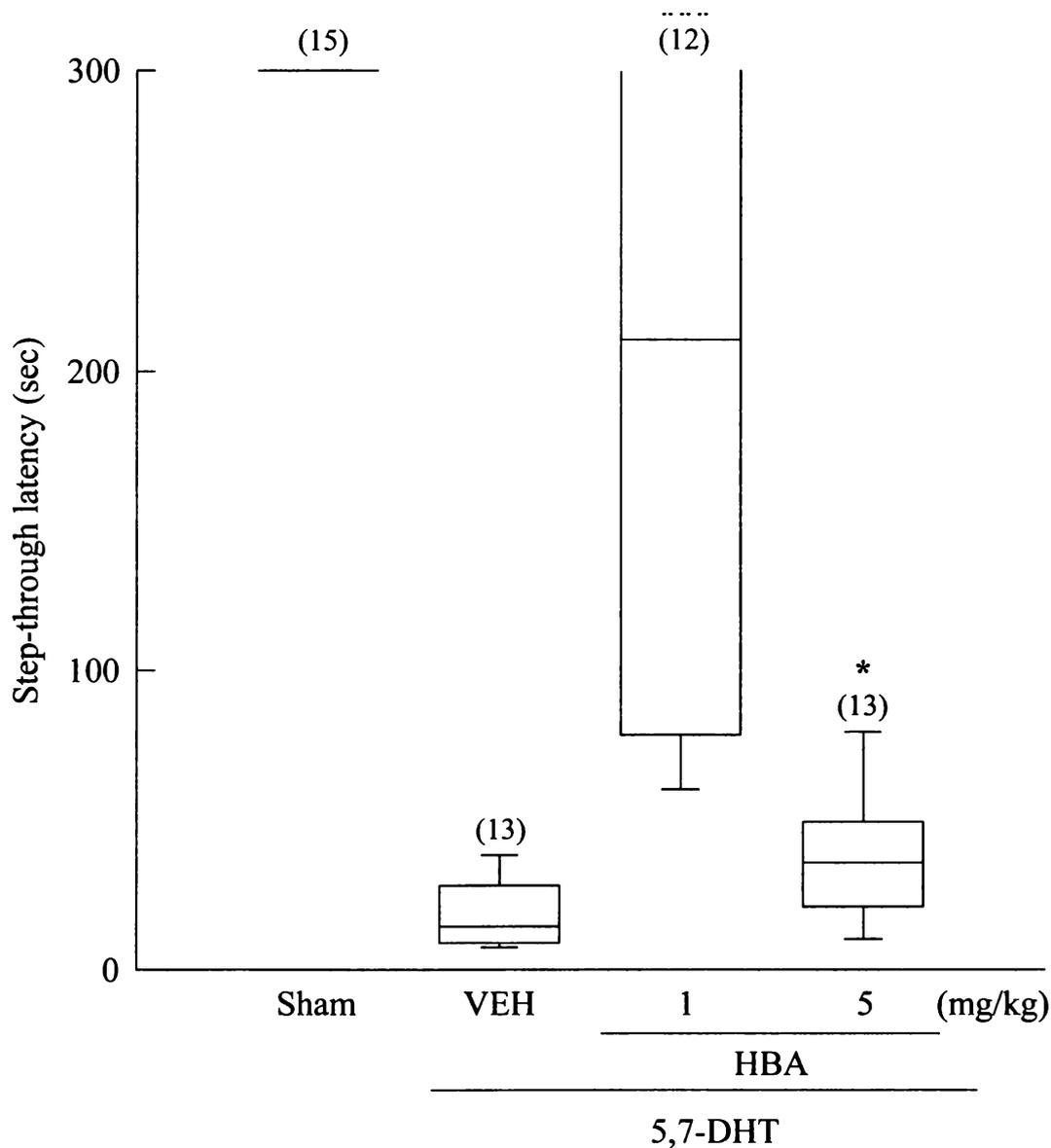


Fig 9. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) -induced performance impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with vehicle group.

6. 下視丘給與 serotonergic neurotoxin 對 *p*-hydroxybenzyl alcohol 改善學習記憶障礙之影響

下視丘給予 5,7-DHT (3  $\mu$ g/2  $\mu$ l, intrahypothalamal injection) 後，並不影響測定期大白鼠在明室之滯留時間，但可減弱訓練前 1 小時口服給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1 mg/kg) 對 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用 (P<0.01) (Fig 10)。

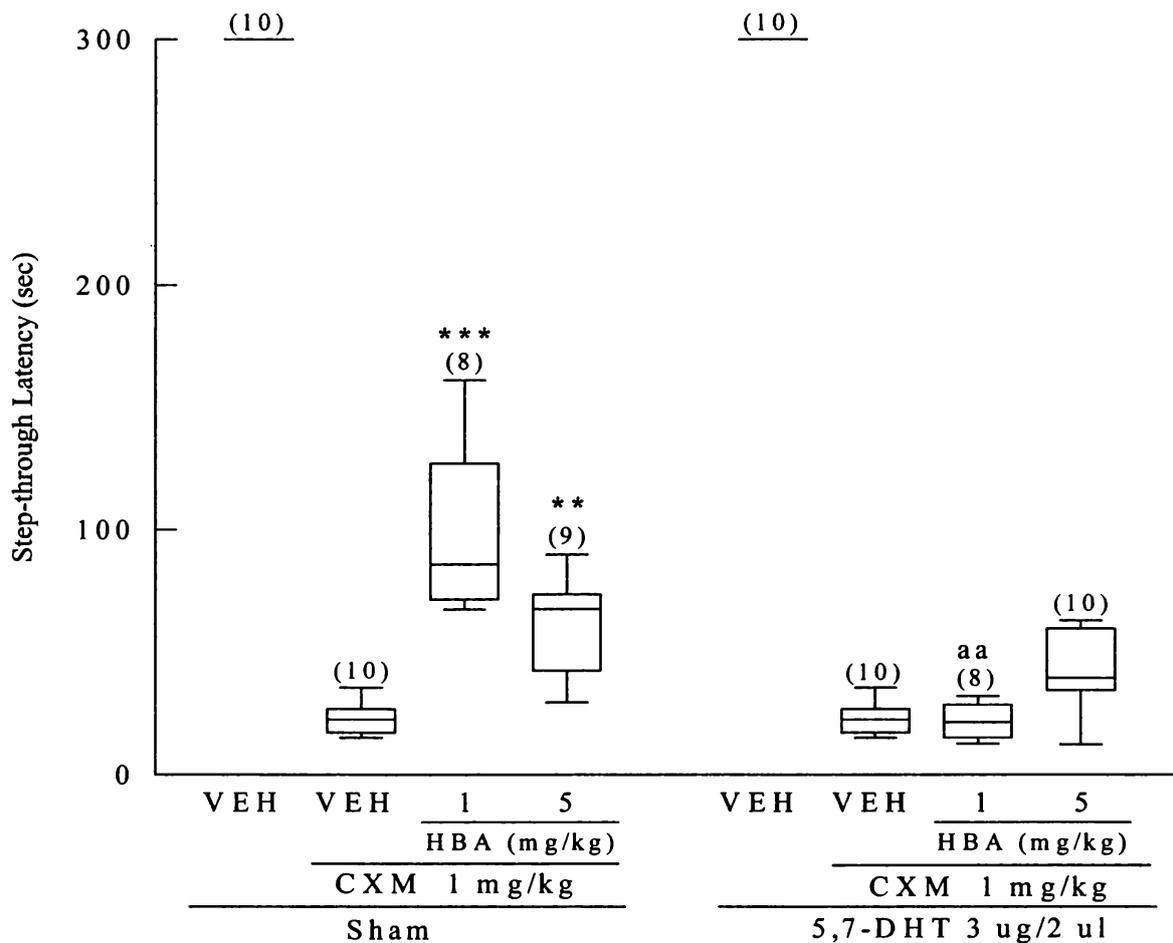


Fig 10. Effect of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) plus intrahypothalamic administration of 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) on cycloheximide (CXM)-induced performance impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\* P<0.01, \*\*\* P<0.001 compared with CXM/VEH group. aa P<0.01 compared with sham-operated group

7. 下視丘給與 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之影響

訓練後立刻於下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol，在 10-100  $\mu\text{g}/2\ \mu\text{l}$  下可改善 cycloheximide 誘發之學習記憶障礙 ( $P < 0.01$ ， $P < 0.001$ ) (Fig 11)。

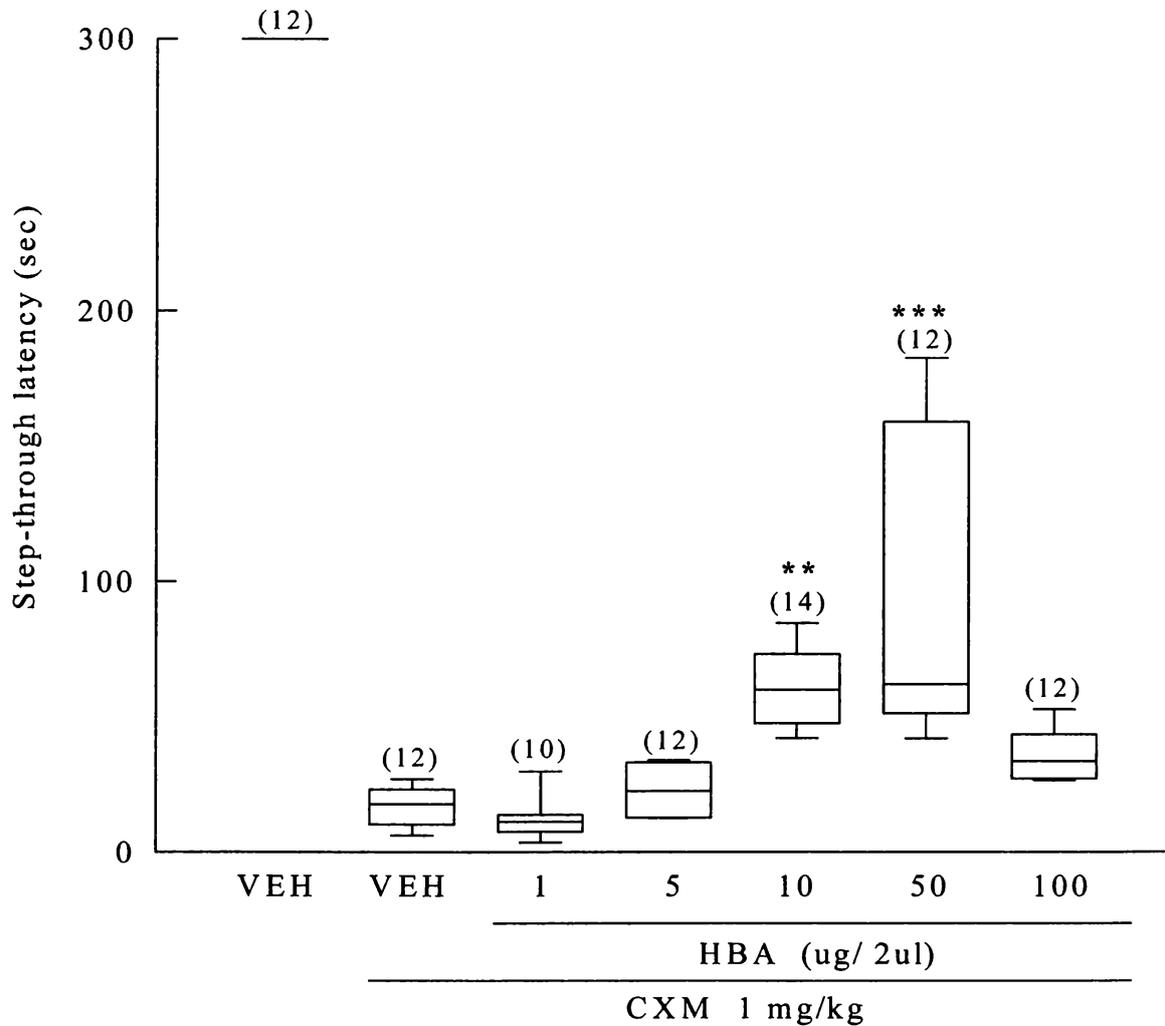


Fig 11. Effect of intrahypothalamic administration of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on cycloheximide (CXM)-induced performance impairment of passive avoidance response in rats. Each column represents the median and the range inside 5th and 95th percentile. \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared with CXM/VEH group.

8. *p*-Hydroxybenzyl alcohol 對大白鼠下視丘 serotonin 含量之影響

如 Table 2，大白鼠於訓練後經下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol，可增加下視丘 5-HT 之濃度並減少 5-HIAA 之濃度（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。

Table 2. Effects of intrahypothalamal injection of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on 5-hydroxytryptamine (5-HT) and 5-HIAA in rat' hypothalamus.

	5-HT (nM)	5-HIAA (nM)
Control	690± 24	707± 44
HBA 10	1207± 80*	530± 10*
HBA 50	1663± 110**	318± 8**

The results are expressed as mean  $\pm$  S.E.M for 6 rats. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  compared with the control group (Student' s t-test).

### 9. *p*-Hydroxybenzyl alcohol 對正常及腎上腺切除大鼠電痛閾值之影響

正常大白鼠之 flinch 反應強度為  $0.75 \pm 0.03$ ，jump/vocalization 之反應強度為  $0.88 \pm 0.01$ 。而去除腎上腺後之大白鼠，不論單獨給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 或再併用誘發學習獲得障礙物質，對大白鼠在電流刺激下之 flinch 反應強度及 jump/vocalization 之反應強度亦與假手術正常組間無差異 ( $P > 0.05$ ) (Table 1)。

Table 3. Effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the electric foot-shock in intact and adrenalectomized rats.

Drug	Dose (mg/kg, PO)	Threshold (mA)	
		Flinch	Jump / Vocalization
Sham-VEH		$0.75 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.01$
Sham-HBA	1.0	$0.74 \pm 0.02$	$0.86 \pm 0.01$
	5.0	$0.78 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.01$
Sham-PCA		$0.79 \pm 0.02$	$0.89 \pm 0.04$
Sham-PCA+HBA	1.0	$0.75 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.03$
	5.0	$0.75 \pm 0.02$	$0.87 \pm 0.03$
Sham-APO		$0.79 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.03$
Sham-APO+HBA	1.0	$0.77 \pm 0.04$	$0.88 \pm 0.03$
	5.0	$0.76 \pm 0.04$	$0.89 \pm 0.04$
ADX		$0.77 \pm 0.04$	$0.87 \pm 0.01$
ADX-HBA	1.0	$0.75 \pm 0.01$	$0.86 \pm 0.02$
	5.0	$0.77 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.01$
ADX-PCA		$0.79 \pm 0.01$	$0.89 \pm 0.04$
ADX-PCA+HBA	1.0	$0.78 \pm 0.03$	$0.88 \pm 0.01$
	5.0	$0.79 \pm 0.02$	$0.87 \pm 0.02$
ADX-APO		$0.79 \pm 0.03$	$0.89 \pm 0.02$
ADX-APO+HBA	1.0	$0.79 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.03$
	5.0	$0.79 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.02$

The results are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. for 6 rats each group.

10. *p*-Hydroxybenzyl alcohol對正常及腎上腺切除大鼠無電刺激下運動量之影響

如 Table 4，經腎上腺切除後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 及 *p*-chloroamphetamine 後，對大白鼠在無電刺激下之訓練期或測定期的明室滯留時間，與假手術後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 及 *p*-chloroamphetamine 並無顯著之差異 ( $P>0.05$ )。

Table 4. Effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the step-through latency of non-shocked intact and adrenalectomized rats given PCA.

Drug	Dose (mg/kg, PO)	Step-through Latency (sec)	
		Training trial	Testing trial
Sham-VEH		5.946± 0.368	8.903± 1.870
Sham-PCA		8.727± 3.216	9.748± 1.341
Sham-PCA+HBA	1.0	10.290± 2.892	9.708± 3.050
	5.0	8.820± 2.108	6.553± 1.390
ADX-VEH		11.334± 1.361	7.964± 1.597
ADX-PCA		11.256± 1.683	8.348± 1.574
ADX-PCA+HBA	1.0	11.586± 1.946	8.429± 2.051
	5.0	9.672± 2.005	7.218± 1.636

The results are expressed as mean ± S.E.M. for 8 rats each group.

經腎上腺切除後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 及 apomorphine 後，對大白鼠在無電刺激下之訓練期或測定期的明室滯留時間，與假手術後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 及 apomorphine 並無顯著之差異 ( $P > 0.05$ ) (Table 5)。

Table 5. Effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the step-through latency of non-shocked intact and adrenalectomized rats after APO pretraining administration.

Drug	Dose (mg/kg, PO)	Step-through Latency (sec)	
		Training trial	Testing trial
Sham-VEH		5.946± 0.368	8.903± 1.870
Sham-APO		8.240± 1.329	7.881± 1.109
Sham-APO+HBA	1.0	9.160± 0.867	5.875± 0.880
	5.0	9.496± 1.163	6.186± 1.306
ADX-VEH		11.334± 1.361	7.964± 1.597
ADX-APO		16.848± 2.837	7.348± 1.526
ADX-APO+HBA	1.0	17.720± 3.034	6.837± 1.247
	5.0	11.323± 2.562	5.794± 0.749

The results are expressed as mean ± S.E.M. for 8 rats each group.

經腎上腺切除後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 及 cycloheximide 後，對大白鼠在無電刺激下之訓練期或測定期的明室滯留時間，與假手術後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 及 cycloheximide 並無顯著之差異 ( $P>0.05$ ) (Table 6)。

Table 6. Effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the step-through latency of non-shocked intact and adrenalectomized rats given CXM.

Drug	Dose (mg/kg, PO)	Step-through Latency (sec)	
		Training trial	Testing trial
Sham-VEH		5.946± 0.368	8.903± 1.870
Sham-CXM		7.192± 1.256	7.403± 0.744
CXM + HBA	1.0	7.442± 0.565	5.179± 0.708
	5.0	9.952± 0.710	7.459± 1.282
ADX-VEH		11.334± 1.361	7.964± 1.597
ADX-CXM		9.976± 1.125	7.913± 0.917
	1.0	9.724± 0.922	6.158± 0.843
	5.0	8.319± 0.801	7.249± 1.461

The results are expressed as mean ± S.E.M. for 8 rats each group.

經腎上腺切除後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol (1、5 mg/kg) 及 apomorphine 後，對大白鼠在無電刺激下之訓練期或測定期的明室滯留時間，與假手術後之大白鼠於訓練前投予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 及 apomorphine 並無顯著之差異 ( $P > 0.05$ ) (Table 18)。

Table 7. Effects of *p*-hydroxybenzyl alcohol (HBA) on the step-through latency of non-shocked intact and adrenalectomized rats APO pretesting administration.

Drug	Dose (mg/kg, PO)	Step-through Latency (sec)	
		Training trial	Testing trial
Sham-VEH		5.946± 0.368	8.903± 1.870
Sham-APO		11.031± 1.410	7.789± 1.054
Sham-APO+HBA	1.0	11.031± 0.814	7.483± 1.663
	5.0	7.914± 0.886	6.409± 1.247
ADX-VEH		11.334± 1.361	7.964± 1.597
ADX-APO		9.618± 2.161	7.217± 1.172
ADX-APO+HBA	1.0	8.316± 0.643	6.824± 1.596
	5.0	8.179± 2.249	6.387± 0.823

The results are expressed as mean ± S.E.M. for 8 rats each group.

## 肆、討論

今之研究，認為智能增強劑之增強學習記憶作用，可能經由影響腎上腺之機能，使體內之glucose使用率增加，腦內血糖濃度增加，因而增加腦內能量之供給，活化腦內神經系統<sup>(4)</sup>；而在早期之研究即指出，下視丘-腦下垂體-腎上腺軸參與動物之行為，特別是運動、害怕及學習記憶<sup>(6-7)</sup>有關，且serotonergic system又與下視丘-腦下垂體-腎上腺軸有明確之關係<sup>(8)</sup>。p-Hydroxybenzyl alcohol為中藥天麻之有效成分，在長期給藥時，可改善膽鹼接受器阻斷劑scopolamine所誘發大鼠學習記憶障礙<sup>(11)</sup>。而在進一步研究中，指出p-hydroxybenzyl alcohol (1.5 mg/kg)在一次給藥時，可改善藥物誘發之學習記憶障礙，其作用較正對照組piracetam佳，但其作用機轉與正對照組piracetam不同，可能與降低dopaminergic system、serotonergic system及防止蛋白質、DNA變性，以促進蛋白質合成有關<sup>(12-13)</sup>。但周邊神經系統與中樞神經系統在p-hydroxybenzyl alcohol作用上所扮演之角色，至今尚未進行探討。因此，本研究以被動迴避反應，探討周邊及中樞神經系統在p-hydroxybenzyl alcohol改善學習記憶作用所扮演之角色；其次探討下視丘在p-hydroxybenzyl alcohol改善學習記憶作用所扮演之角色。最後，探討血糖及下視丘serotonin在p-hydroxybenzyl alcohol改善學習記憶作用所扮演之角色。

Martinez等之研究，發現d-amphetamine之增進智能作用可因靜脈注射神經毒素6-OHDA所造成之交感神經截斷或腎上腺切除而阻斷；而d-amphetamine之衍生物4-OH-amphetamine因無法通過腦血管障壁而僅具周邊作用之性質，亦具增進智能之作用且此作用可被神經毒素6-OHDA所阻斷<sup>(17, 22)</sup>；另如nootropics類藥物之增進智能作用亦可因腎上腺切除而阻斷<sup>(23, 24)</sup>；顯示周邊交感神經及腎上腺應參與學習記憶過程而調節中樞神經系統對外界刺激的反應。研究中發現靜脈注射5 mg 6-OHDA可誘發學習記憶障礙，但25 mg下則無影響，此結果與Martinez等之研究結果相同<sup>(17)</sup>。p-Hydroxybenzyl alcohol在1及5 mg/kg下，均可改善經靜脈注射6-OHDA前處理之apomorphine或

cycloheximide 誘發學習記憶障礙，但其作用明顯低於正常動物下 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 apomorphine 或 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用；另 *p*-hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 之改善學習記憶作用，可受週邊拮抗劑 atenolol 部份阻斷；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙可能與周邊交感神經系統有關。其次，去除腎上腺後血糖濃度明顯下降，此結果與 Hall 及 Gold 之研究相同 (18)。在 Hall 及 Gold 研究中，指出腎上腺切除後所造成記憶能力衰退現象，與基礎血糖濃度有關，且與肝糖之分解及體內 glucose 之再使用有更密切之關係 (18)。*p*-Hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下，對 *p*-chloroamphetamine 及 apomorphine 誘發學習獲得障礙、cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙及 apomorphine 誘發記憶再現障礙之改善作用，均可因去除腎上腺之前處理而部份阻斷，但於 1 mg/kg 下之改善作用則與假手術組下之作用無明顯差異；在進一步之生化測定上，*p*-hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下可增加正常大白鼠血中 glucose 之濃度。Messier 等指出投與 glucose 可增強動物之學習操作能力及改善老年智能障礙現象 (25)；在其通過腦血管障壁後，可使腦內血糖濃度增加，增加腦內能量供給及神經傳遞物質合成如 hippocampus 區之乙醯膽鹼，活化腦內神經系統 (26)；其次，如 neostigmine 及 des-Tyr-D-Pro-casomorphin 等無法通過腦血管障壁之周邊作用劑，均具改善智能之作用且其作用可被周邊拮抗劑或腎上腺切除所阻斷；即此類周邊作用劑可經腎上腺周邊接受器，增加腎上腺素或類固醇類荷爾蒙之分泌而作用 (27, 28)，並進一步增加肝糖之再利用及腦內血糖之含量，使中樞內神經系統活化或基因之合成增加，以達增進智能或活化記憶能力之作用 (4, 29)。綜合上述所述及結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙作用，與周邊交感神經、腎上腺及增加肝糖之再利用有關。

在被動迴避學習反應中，大白鼠之電痛閾值及運動活性均會影響大白鼠在被動迴避學習反應中之操作及實驗結果之評估 (30)，故繼續進行大白鼠電痛閾值及運動活性之實驗。*p*-hydroxybenzyl alcohol 與 *p*-chloroamphetamine、cycloheximide 及 apomorphine 併用，對假手術或去除腎上腺大白鼠之電痛閾值及運動活性均不影響。顯示，*p*-

hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用應與其他非學習記憶過程之行為因素無關。

其次，探討 *p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用與中樞神經系統及突觸前或突觸後接受器之關係。6-OHDA為中樞 dopaminergic system之神經毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙<sup>(31, 32)</sup>；腦室給予6-OHDA後，可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間，造成大白鼠學習記憶之障礙。*p*-hydroxybenzyl alcohol在1及5 mg/kg對腦室給予6-OHDA誘發之學習記憶障礙均具改善作用，且以1 mg/kg較佳，但較對PCA誘發學習記憶障礙之改善效果為差。5,7-DHT為中樞 serotonergic system之神經毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙<sup>(33, 34)</sup>；腦室給予5,7-DHT後，可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間，造成大白鼠學習記憶之障礙。*p*-hydroxybenzyl alcohol在1及5 mg/kg對腦室給予5,7-DHT誘發之學習記憶障礙均具改善作用，且以1 mg/kg較佳，但較對APO誘發學習記憶障礙之改善效果為佳。綜合上述結果顯示，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用，主要可能係作用於中樞突觸後之 serotonergic接受器並突觸前之 serotonergic接受器以降低中樞 serotonergic system之活性有關，並亦可能係作用於中樞突觸前之 dopaminergic接受器以降低中樞 dopaminergic system之活性有關。最後，下視丘給予5,7-DHT後，可減弱 *p*-hydroxybenzyl alcohol對 cycloheximide誘發學習記憶障礙之改善作用；且若於下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol亦具改善 cycloheximide誘發學習記憶障礙之作用。至於，在進一步之生化測定上，下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol可增加正常大白鼠下視丘區域 serotonin之濃度；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用可能係經下視丘 serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌。

綜合上述實驗結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用不僅與週邊神經系統或中樞神經系統均有關連；可能與經腎上腺增加肝醣之再利用及中樞下視丘部位經 serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌有關。

cycloheximide 誘發學習記憶障礙，但其作用明顯低於正常動物下 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 apomorphine 或 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用；另 *p*-hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 之改善學習記憶作用，可受週邊拮抗劑 atenolol 部份阻斷；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙可能與周邊交感神經系統有關。其次，去除腎上腺後血糖濃度明顯下降，此結果與 Hall 及 Gold 之研究相同 (18)。在 Hall 及 Gold 研究中，指出腎上腺切除後所造成記憶能力衰退現象，與基礎血糖濃度有關，且與肝糖之分解及體內 glucose 之再使用有更密切之關係 (18)。*p*-Hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下，對 *p*-chloroamphetamine 及 apomorphine 誘發學習獲得障礙、cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙及 apomorphine 誘發記憶再現障礙之改善作用，均可因去除腎上腺之前處理而部份阻斷，但於 1 mg/kg 下之改善作用則與假手術組下之作用無明顯差異；在進一步之生化測定上，*p*-hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下可增加正常大白鼠血中 glucose 之濃度。Messier 等指出投與 glucose 可增強動物之學習操作能力及改善老年智能障礙現象 (25)；在其通過腦血管障壁後，可使腦內血糖濃度增加，增加腦內能量供給及神經傳遞物質合成如 hippocampus 區之乙醯膽鹼，活化腦內神經系統 (26)；其次，如 neostigmine 及 des-Tyr-D-Pro-casomorphin 等無法通過腦血管障壁之周邊作用劑，均具改善智能之作用且其作用可被周邊拮抗劑或腎上腺切除所阻斷；即此類周邊作用劑可經腎上腺周邊接受器，增加腎上腺素或類固醇類荷爾蒙之分泌而作用 (27, 28)，並進一步增加肝糖之再利用及腦內血糖之含量，使中樞內神經系統活化或基因之合成增加，以達增進智能或活化記憶能力之作用 (4, 29)。綜合上述所述及結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙作用，與周邊交感神經、腎上腺及增加肝糖之再利用有關。

在被動迴避學習反應中，大白鼠之電痛閾值及運動活性均會影響大白鼠在被動迴避學習反應中之操作及實驗結果之評估 (30)，故繼續進行大白鼠電痛閾值及運動活性之實驗。*p*-hydroxybenzyl alcohol 與 *p*-chloroamphetamine、cycloheximide 及 apomorphine 併用，對假手術或去除腎上腺大白鼠之電痛閾值及運動活性均不影響。顯示，*p*-

hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用應與其他非學習記憶過程之行為因素無關。

其次，探討 *p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用與中樞神經系統及突觸前或突觸後接受器之關係。6-OHDA為中樞 dopaminergic system之神經毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙<sup>(31, 32)</sup>；腦室給予6-OHDA後，可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間，造成大白鼠學習記憶之障礙。*p*-hydroxybenzyl alcohol在1及5 mg/kg對腦室給予6-OHDA誘發之學習記憶障礙均具改善作用，且以1 mg/kg較佳，但較對PCA誘發學習記憶障礙之改善效果為差。5,7-DHT為中樞 serotonergic system之神經毒素，可造成突觸前神經節之截斷退化且可造成動物學習記憶操作能力之障礙<sup>(33, 34)</sup>；腦室給予5,7-DHT後，可縮短測定期大白鼠在明室之滯留時間，造成大白鼠學習記憶之障礙。*p*-hydroxybenzyl alcohol在1及5 mg/kg對腦室給予5,7-DHT誘發之學習記憶障礙均具改善作用，且以1 mg/kg較佳，但較對APO誘發學習記憶障礙之改善效果為佳。綜合上述結果顯示，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用，主要可能係作用於中樞突觸後之 serotonergic接受器並突觸前之 serotonergic接受器以降低中樞 serotonergic system之活性有關，並亦可能係作用於中樞突觸前之 dopaminergic接受器以降低中樞 dopaminergic system之活性有關。最後，下視丘給予5,7-DHT後，可減弱 *p*-hydroxybenzyl alcohol對 cycloheximide誘發學習記憶障礙之改善作用；且若於下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol亦具改善 cycloheximide誘發學習記憶障礙之作用。至於，在進一步之生化測定上，下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol可增加正常大白鼠下視丘區域 serotonin之濃度；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用可能係經下視丘 serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌。

綜合上述實驗結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用不僅與週邊神經系統或中樞神經系統均有關連；可能與經腎上腺增加肝醣之再利用及中樞下視丘部位經 serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌有關。

## 伍、結論與建議

- 一、*p*-Hydroxybenzyl alcohol 在 1 及 5 mg/kg 下，均可改善經靜脈注射 6-OHDA 前處理之 apomorphine 或 cycloheximide 誘發學習記憶障礙，但其作用明顯低於正常動物下 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 apomorphine 或 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙可能與周邊交感神經系統有關。
- 二、*p*-Hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下，對 *p*-chloroamphetamine 及 apomorphine 誘發學習獲得障礙、cycloheximide 誘發記憶鞏固障礙及 apomorphine 誘發記憶再現障礙之改善作用，均可因去除腎上腺之前處理而部份阻斷；在進一步之生化測定上，*p*-hydroxybenzyl alcohol 於 5 mg/kg 下可增加正常大白鼠血中 glucose 之濃度。綜合上述所述及結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙作用，與增加肝醣之再利用有關。
- 三、*p*-Hydroxybenzyl alcohol 與 *p*-chloroamphetamine、cycloheximide 及 apomorphine 併用，對假手術或去除腎上腺大白鼠之電痛閾值及運動活性均不影響。顯示，*p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙作用應與其他非學習記憶過程之行為因素無關。
- 四、*p*-Hydroxybenzyl alcohol 在 1 及 5 mg/kg 對腦室給予 6-OHDA 或 5,7-DHT 誘發之學習記憶障礙均具改善作用，但較對 PCA 誘發學習記憶障礙之改善效果為差。綜合上述結果顯示，*p*-hydroxybenzyl alcohol 之改善學習記憶障礙作用，主要可能係作用於中樞突觸後之 serotonergic 接受器並突觸前之 serotonergic 接受器以降低中樞 serotonergic system 之活性有關，並亦可能係作用於中樞突觸前之 dopaminergic 接受器以降低中樞 dopaminergic system 之活性有關。
- 五、下視丘給予 5,7-DHT 後，可減弱 *p*-hydroxybenzyl alcohol 對 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之改善作用；且若於下視丘給予 *p*-hydroxybenzyl alcohol 亦具改善 cycloheximide 誘發學習記憶障礙之作用。至於，在進一步之生化測定上，下視丘給予 *p*-

hydroxybenzyl alcohol可增加正常大白鼠下視丘區域serotonin之濃度；顯示 *p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用可能係經下視丘serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌。

七、綜合上述實驗結果，*p*-hydroxybenzyl alcohol之改善學習記憶障礙作用不僅與週邊神經系統或中樞神經系統均有關連；可能與腎上腺增加肝醣之再利用及中樞下視丘部位經serotonergic接受器以調節下視丘-腦下垂體-腎上腺軸之內分泌有關。

## 陸、參考文獻

1. Moos W.H., Davis R.S., Schwarz R.D., Gamzu E.R. (1988) Cognition activators. *Med. Res. Rev.* 8: 353-391.
2. Giurgea C. (1972) Vers une pharmacologie de l'activité intégrative du cerveau. Tentative ddu concept nootrope en psychopharmacologie. *Actual. Pharmacol.* 25:115-156.
3. Mondadori C., Pestschke F. (1987) Do piracetam-like compounds act centrally via peripheral mechanisms? *Brain Res.* 435:310-314.
4. Wenk G.L. (1989) An hypothesis on the role of glucose in the mechanism of action of cognitive enhancers. *Psychopharmacol.* 99:431-438.
5. Mondadori C., Bhatnagar A., Borkowski J., Hausler A. (1990) Involvement of a steroidal component in the mechanism of action of piracetam-like nootropics. *Brain Res.* 306:101-108.
6. Wield D. (1976) Hormonal influences on motivation, learning and memory processes. *Hospital Practice* 11:123-131.
7. Wield D. (1997) Pituitary adrenal system hormones and behavior. *Acta Endocrinologica-Supplementum* 214:9-18.
8. Dinan T.G. (1996) Serotonin and the regulation of hypothalamic-

pituitary-adrenal axis function. *Life Sci.* 58:1683-1694.

9. 神農本草經，赤箭，pp59-60，自由出版社，台北台灣（1986）。
10. 明·李時珍（1985）本草綱目，赤箭天麻，pp424-425，國立中國醫藥研究所，台北台灣。
11. Wu C.R., Hsieh M.T., Huang S.C., Peng W.H., Chang Y.S., Chen C.F. (1996) Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Planta Medica* 62:317-321.
12. Wu C.R., Hsieh M.T., Liao J. (1996) *p*-Hydroxybenzyl alcohol attenuates learning deficits in the inhibitory avoidance task: involvement of serotonergic and dopaminergic systems. *Chin. J. Physiol.* 39(4):265-273.
13. Hsieh M.T., Wu C.R., and Chieh-Fu Chen (1996) *Gastrodin* and *p*-hydroxybenzyl alcohol facilitates memory consolidation and retrieval, but not acquisition on passive avoidance task in rats. *J. Ethnopharmacol.* (Accepted in November, 26)
14. 鄧士賢，莫雲強（1979）天麻的藥理研究（一）天麻素與天麻元的鎮靜與抗驚厥作用。雲南植物研究 1(2)；66-73。
15. Worms P., Gueudet C., Pério A., Soubrié P. (1989) Systemic injection of pirenzepine induces deficits in passive avoidance learning in rats. *Psychopharmacol.* 98:286-288.
16. Ohta H., Matsumoto K., Watanabe H., Shimizu M. (1993) Involvement of  $\alpha$ -adrenergic systems in the antagonizing effect of paeoniflorin on the scopolamine-induced deficit in radial maze performance in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 62:345-349.
17. Martinez J.L., Jensen Jr. R.A., Messing R.B., Vasquez B.Z. Liang K.C. McGaugh J.L. (1980) Central and peripheral actions of amphetamine on memory storage. *Brain Res.* 182:157-166.
18. Hall J.L., Gold P.E. (1990) Adrenalectomy-induced memory deficits: Role of plasma glucose levels. *Physiol. Behav.* 47:27-33.

19. Hall J.L. Gold P.E. (1986) The effects of training, epinephrine and glucose injections on plasma glucose levels in rats. *Behav. Neural Biol.* 46:156-167.
20. Tsuiki K., Muck-Seler D., Diksic M. (1995) Autoradiographic evaluation of the influence of hypothalamic 5,7-dihydroxytryptamine lesion on brain serotonin synthesis. *Biochem. Pharmacol.* 49:633-642.
21. Mafford I.N. (1981) Application of high performance liquid chromatography with electrochemical detection to neurochemical analysis: measurement of catecholamine, serotonin and metabolites in rat brain. *J. Neurosci. Methods* 207-224.
22. Martinez Jr JL, Vasquez BJ, Rigter H, Messing RB, Jensen RA, Liang KC, McGaugh JL (1980) Attenuation of amphetamine-induced enhancement of learning by adrenal demedullation. *Brain Res.* 195:433-443.
23. Mondadori C, Petschke F (1987) Do piracetam-like compounds act centrally via peripheral mechanisms? *Brain Res.* 435:310-314.
24. Mondadori C, Ducret T, Petschke F (1989) Blockade of the nootropic action of piracetam-like nootropics by adrenalectomy: An effect of dosage? *Behav. Brain Res.* 34:155-158.
25. Messier C, Gagnon M (1996) Glucose regulation and cognitive functions: Relation to Alzheimer's disease and diabetes. *Behav. Brain Res.* 75:1-11.
26. Messier C, Durkin T, Mrabet O, Destrade C (1990) Memory-improving action of glucose: Indirect evidence for a facilitation of hippocampal acetylcholine synthesis. *Behav. Brain Res.* 39:135-143.
27. Rush DK, Streit K (1992) Memory modulation with peripherally acting cholinergic drugs. *Psychopharmacology* 106:375-382.
28. Ruthrich HL, Grecksch G, Matthies H (1993) Adrenalectomy attenuates the improvement of memory in rats by peripheral

application of des-Tyr-D-Pro-casomorphin. *Behav. Neural Biol.* 59:25-28.

29. Gold PE (1995) Role of glucose in regulating the brain and cognition. *Am. J Clin. Nutr.* 61:987S-995S.
30. Mazur JE (1994) Avoidance and punishment. In: Mazur JE (Eds.), *Learning and Behavior*, Prentice Hall, New Jersey, pp151-177.
31. Pan SY (1991) Influence of intraventricular injection of 6-hydroxydopamine on passive-avoidance response, acetylcholine, and muscarinic receptors in mouse brain. *Acta Pharmacologica Sinica* 12:344-347.
32. Narang N, Wamsley JK (1995) Time dependent changes in DA uptake sites, D1 and D2 receptor binding and mRNA after 6-OHDA lesions of the medial forebrain bundle in the rat brain. *J. Chem. Neuroana.* 9:41-53.
33. Ricaurte GA, Markowska AL, Wenk GL, Hatzidimitriou G, Wlos J, Olton DS (1993) 3,4-methylenedioxymethamphetamine, serotonin and memory. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 266:1097-1105.
34. Patel TD, Azmitia EC, Zhou FC (1996) Increased 5-HT<sub>1A</sub> receptor immunoreactivity in the rat hippocampus following 5,7-dihydroxytryptamine lesions in the cingulum bundle and fimbria-fornix. *Behav. Brain Res.* 73:319-323.