

歸脾湯對於大鼠被動迴避學習反應之影響

謝明村 吳啓瑞 蔡輝彥 彭文煌 謝佳璋

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

歸脾湯首載於宋·嚴用和之濟生方，主「思慮過制，勞傷心脾，健忘怔忡」，方由白朮、茯苓、黃耆、酸棗仁、龍眼肉、人參、木香、甘草、生薑及大棗等十味藥所組成。但今中醫臨床使用之歸脾湯製劑，則採用明·薛立齋校註之校註婦人良方，其方劑組成除上述之十味藥外，另加入當歸及遠志二味藥，且主治則更為廣泛，治「脾經失血少寐，發熱盜汗，健忘怔忡，驚悸不寐，嗜臥少食，血虛發熱，肢體作痛」等。至於加入當歸及遠志之目的，依方劑釋義，旨在治血虛及心脾不能攝血而致之吐血、衄血或下血等症；因此在後代醫藥學家將其歸類為補血、理血劑。且於近代臨床運用及研究報告上，對於歸脾湯多偏重在心血管及血液系統，如心律不整、血小板減少性紫斑及再生不良貧血等研究；而在嚴用和創方之本意，因心脾勞傷而致神智受損、健忘怔忡方面之治療上，則漸被忽略。因此本研究之目的，擬以自發運動量及被動迴避反應（one-trial inhibitory step-through passive avoidance）來探討歸脾湯二週長期給藥時，在改善學習記憶障礙之作用，並闡述其作用機轉。獲致之結論如下：

- (1) 歸脾湯每天一次連續給藥二週具興奮作用，可能與提升腦內 dopaminergic system 之活性及降低腦內 serotonergic system 之活性有關。
- (2) 歸脾湯改善學習記憶障礙之作用機轉，可能與中樞 dopaminergic system、cholinergic system、serotonergic system 三系統間之調節有關，而其中可能又以增強 dopaminergic system 及 cholinergic system 之活性較為重要。

綜合以上結果，顯示宋·嚴用和濟生方之歸脾湯，於明·薛立齋之校註婦人良方中加入當歸及遠志二藥，在改善學習記憶障礙之作用上，可能具協同之作用；因此校註婦人良方收載之歸脾湯，確具改善學習記憶障礙之作用，而非僅對心血管及血液系統之作用。

關鍵詞：歸脾湯，被動迴避學習

前言

現今之社會由於競爭激烈，工作繁忙，造成人們情緒緊張、精神狀態不穩，更導致了心神不寧及失眠焦慮等患者之激增；而失眠焦慮

等常直接或間接影響人體的健康，進而降低工作效率，這些問題不僅是當代醫學之難題，亦是現今社會問題之一環。因此在臨床之治療處置上，常用藥物如 Barbiturates、Benzodiazepines 等，於治療上頗具效果，但仍具嚴重之副作用，如思睡、疲倦、反應遲鈍及依賴性、耐

藥性和蓄積作用等，甚者造成進行性之健忘症（anterograde amnesia），如常用之鎮靜安眠藥 Diazepam（Valium），不論於實驗動物上⁽¹⁾或臨床上⁽²⁾，均有記憶學習阻礙之報告；因此尋找治療失眠症對學習記憶有所助益之理想藥物實為目前刻不容緩的工作，著者因此進行本研究，藉以找出可治療失眠症且具促進學習記憶之中藥方劑。

歸脾湯首載於宋·嚴用和之濟生方，該方由白朮、茯苓、酸棗仁、龍眼肉、人參、木香、甘草、生薑及大棗等十味藥所組成，主「思慮過制，勞傷心脾，健忘怔忡」⁽³⁾；而於近代之研究報告中，首由王克勤等人，於1987年指出歸脾湯有延緩衰老和防治老年性記憶障礙之作用⁽⁴⁾；而後吳春福等人，按自由基衰老學說進行研究，亦指出歸脾湯具抗氧化作用，可抑制過氧化脂質之生成，降低自由基於腦內造成損傷而引起之老化及記憶能力減退之現象⁽⁵⁾。因此本研究目的之一，擬以被動迴避反應（one-trial inhibitory step-through passive avoidance）來探討歸脾湯防治老年性記憶障礙之作用機轉。

現今歸脾湯之製劑，其組成均沿自明·薛立齋校註之校註婦人良方，除上述之十味藥外，另加入當歸及遠志二味藥；而主治則更為廣泛「脾經失血少寐，發熱盜汗，健忘怔忡，驚悸不寐，嗜臥少食，血虛發熱，肢體作痛，…」等⁽⁶⁾；依方劑釋義，加入當歸及遠志，旨在治血虛⁽⁷⁾及心脾不能攝血而致之吐血、衄血或下血等症⁽⁸⁾；因此在後代醫藥學家將其歸類為益氣補血、理血劑，而於近代臨床運用及研究報告上，亦多偏重心血管及血液系統，如心律不整、血小板減少紫斑及再生不良性貧血等⁽⁹⁾。因此本研究目的之二，將探討歸脾湯方劑組成與主治間之關連性。

材料及方法

一、實驗藥材

本實驗所用之藥材均購自台中市中藥商全壽堂蔘藥行，所購之藥材並經生藥學鑑定，其基原為：

- 白朮 *Artactylodes macrocephala* Koidz. (Compositae)
- 茯苓 *Pachyma helen* Romphius (Polyporaceae)
- 黃耆 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. (Leguminosae)
- 人參 *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae)
- 木香 *Saussurea lappa* Clarke (Compositae)
- 生薑 *Zingiber officinale* Rosc (Zingiberaceae)
- 大棗 *Zizyphus jujuba* Mill. (Rhamnaceae)
- 當歸 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels (Umbelliferae)
- 遠志 *Polygala tenuifolia* Willdenow (Polygalaceae)
- 炙甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fischer et Dc. (Leguminosae)
- 酸棗仁 *Zizyphus jujuba* Mill. var. *Spinosus* Hu (Rhamnaceae)
- 龍眼肉 *Euphoria longan* (Lour.) Steud. (Sapindaceae)

二、實驗藥材之製備

本實驗所用之藥材係按醫方類聚所錄濟生方內之歸脾湯組成⁽³⁾及校註婦人良方所載之歸脾湯組成⁽⁶⁾，將實驗藥材分成三組（A、B及C）；其各組之組成方味及劑量比例如下：

1. A組（濟生方組）：白朮一兩：茯苓一兩：黃耆一兩：酸棗仁一兩：龍眼肉一兩：人參半兩：木香半兩：生薑五片：大棗一枚：炙甘草二錢半 = 4 : 4 : 4 : 4 : 4 : 2 : 2 : 2 : 1 : 1。

2. B組(校註婦人良方組)：白朮一錢：茯神一錢：黃耆一錢：酸棗仁一錢：龍眼肉一錢：人參一錢：木香五分：生薑五片：大棗一枚：炙甘草五分：當歸一錢：遠志一錢=4：4：4：4：4：2：2：1：1：4：4。

3. C組(當歸加遠志組)：按校註婦人良方中所加之當歸及遠志之比例(1：1)

將各組之組成藥材按上述之組成比例稱量混合，先以50%乙醇浸潤之後，在50°C下迴流抽取四~五次，每次約四小時，合併抽取液，於50°C下進行減壓濃縮，並於烘箱中乾燥之。

三、實驗試劑

1. α -Methyl-p-tyrosine methyl esterhydrochloride, Reserpine, Apomorphine, Haloperidol, Scopolamine hydrobromide, 5-hydroxy-tryptophan, dl-p-Chlorophenylalanine, p-Chloroamphetamine hydrochloride, Cycloheximide, (Sigma)。

2. Hexobarbital sodium (日本東京化成工業株式會社), Levo-dopa (日本協和發酵), Benserazide (Hoffman-La Roche)。

四、實驗動物

本研究所使用之動物有兩種：

1. ICR系雄性鼯鼠，體重18~25公克。
2. Sprague-Dawley系雄性大鼠，體重180~240公克(自發運動量實驗用)及300~400公克(被動迴避反應實驗用)。

五、對大鼠自發運動量之影響

運動量之測定是使用「動物運動量測定裝置」(ANIMEX Autoactivity Meter Model MK-110, Muromachi Kikai Co. Ltd. Japan)，敏感度設定為Sensitivity 1=450、Sensitivity 2=350，記錄大鼠經口服給予不同劑量之A組、B組及C組的粗抽取物後之各種活動行為的變化(包括走動、站立、整飾及嗤鼻等)。使用體重180~240gm之雄性大鼠，每組6隻。實驗分一次給藥組及二週長期給藥組，均經口服分別給予各組之粗抽物(A組、B組及C組

，0.1、1.0g/kg)；一次給藥組，於口服55分鐘後放入此裝置內適應5分鐘，再開始記錄，觀察並連續記錄2小時。連續給藥組，分別於連續給藥一週及二週之最後後一次口服給藥後55分鐘，放入此裝置內適應5分鐘，再觀察並連續記錄2小時⁽¹⁰⁾。對照組均給予vehicle。

六、對改變腦內之Catecholaminergic system物質所引起自發運動量之影響

實驗分一次給藥組及二週長期給藥組，均取1.0g/kg之B組進行之。依前法(方法五)，於連續給藥二週之最後一次口服給藥時，與下述物質分別併用，再于測定前5分鐘將大鼠移入裝置適應，待5分鐘後開始觀察並連續記錄2小時。對照組均給予vehicle。

本實驗所使用於改變腦內catecholaminergic system物質之劑量及時間分別為：L-dopa (200mg/kg, i.p., 50分鐘前給藥)加上Benserazide (50mg/kg, i.p., 80分鐘前給藥)，兩者均需於使用前新鮮配製⁽¹¹⁾，Haloperidol (0.01mg/kg, i.p.) 30分鐘前給藥⁽¹²⁾，Apomorphine (0.5mg/kg, s.c.) 20分鐘前給藥⁽¹³⁾。

七、對改變腦內Serotonergic system之物質所引起自發運動量之影響

以口服給予B組粗抽物(0.1、1.0g/kg)，每天給藥一次，連續給藥二週，於連續給藥二週之最後一次口服給藥時，與下述物質分別併用，再于測定前5分鐘將大鼠移入裝置適應，待5分鐘後開始觀察並連續記錄2小時。對照組均給予vehicle。

本實驗所使用於改變腦內serotonergic system物質之劑量及時間分別為：5-hydroxytryptophan (5-HTP, 50mg/kg, i.p.) 5分鐘前給藥⁽¹⁴⁾；dl-p-chlorophenylalanine (PCPA, 200mg/kg, i.p.) 21小時前給藥⁽¹⁵⁾。

八、對大鼠被動迴避反應之影響

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(Shuttle Box)係為一經中間閘

門分隔為相同大小二室 (48×20×30cm) 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, 同時開啓閘門, 以大鼠在 90 秒內進入暗室者, 供做本實驗。

訓練期: 將篩選過之大鼠, 置入明室, 同時開啓閘門, 待大鼠進入暗室後, 關閉閘門, 同時於底板通以電流 (1mA, 2sec), 待電刺激後 5 秒, 自暗室取出大鼠, 歸回飼養籠。

測定期: 於訓練後 24 小時, 再將大鼠置入明室, 同時並開啓閘門, 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⁽¹⁶⁾。

九、對誘發被動迴避反應障礙物質之影響

以口服分別給予各組之粗抽物 (A 組、B 組及 C 組, 0.1、1.0g/kg), 每天給藥一次, 連續給藥二週, 於連續給藥二週之最後一次口服給藥後 1 小時進行訓練, 且與下述之誘發學習障礙物質併用, 依前法 (方法七), 將大鼠放入明室, 於進行訓練後, 歸回飼養籠; 待 24 小時後, 將大鼠再次置入明室, 進行測定, 記錄大鼠於明室之滯留時間。病理對照組給予下述之誘發學習記憶障礙物質。而空白對照組則給予 vehicle。

本實驗所使用於誘發大鼠學習記憶障礙物質之劑量及時間分別為: Scopolamine HBr (1mg/kg, i.p.) 於訓練前 30 分鐘給藥⁽¹⁷⁾, p-Chloroamphetamine HCl (2.5mg/kg, i.p.) 於訓練前 30 分鐘給藥⁽¹⁸⁾, Cycloheximide (2.5mg/kg, s.c.) 於訓練後立刻給藥⁽¹⁸⁾。

十、統計學分析

本實驗所得之數據, 均以 one-way ANOV

A 法, 統計並分析其間差異之顯著性, 凡 P 值小於 0.5 以下時, 則認為有統計意義。

結 果

一、對大鼠自發運動量之影響

如圖 1 所示, 於 1.0g/kg 劑量一次給藥下之濟生方及校註婦人良方歸脾湯, 對大鼠之自發運動量具有抑制作用, 當歸加遠志組則具有興奮作用, 校註婦人良方歸脾湯當給藥二週後對大鼠之自發運動量具有顯著興奮作用。

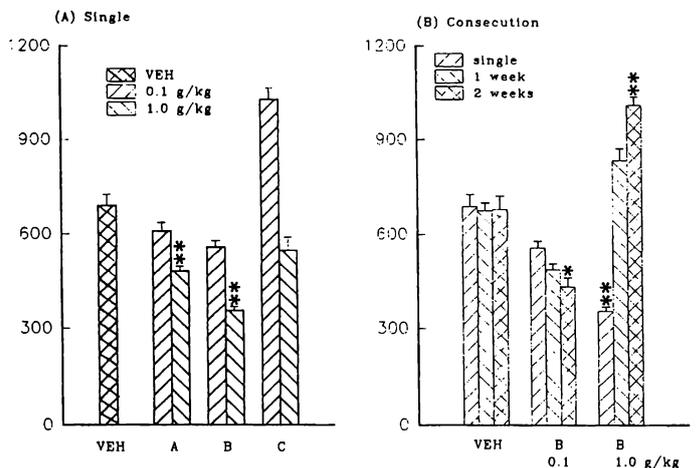


Fig 1. Effect of extracts of GPT on locomotor activity in rats.

(A) The activity was measured 1 hr after single administration.

(B) The activity was measured 1 hr after the last dosage of repetitive-treatment of 0.1 or 1.0 g/kg B.

VEH: vehicle control

A: Gui-Pi-Tang was described in Ji-Sheng-Fang.

B: Gui-Pi-Tang was described in Annotated Women's Formulary.

C: compositions of Radix Angelicas Sinesis and Radix Polygala.

n=6, *P<0.05, **P<0.01, as compared with VEH group.

二、對改變腦內 Catecholaminergic system 之物質所引起自發運動量之影響

(1) 如圖 2 所示, L-dopa (200mg/kg, i.p.) 50 分鐘前處置, 加上 Benserazide (50mg/kg, i.p.) 80 分鐘前處置或 Apomorphine (0.5mg/kg, i.p.) 20 分鐘前單獨給藥, 可使運動量顯著增加。但當與二週長期給藥之 1.0g/kg 的 B 組併用後, 能增強上述運動量興奮現象 (p<0.01)。

三、改變腦內 Serotonergic system 之物質所引自發運動量之影響

如圖 4 所示，5-Hydroxytryptophan (5-HTP, 50mg/kg, i.p.) 5 分鐘前單獨給藥，可使自發運動量減少。但當與二週長期給藥之 1.0 g/kg 的 B 組併用後，稍能拮抗上述之運動量抑制現象 ($p < 0.05$)。dl-p-Chlorophenylalanine (PCPA, 2000mg/kg, i.p.) 21 小時前單獨給藥，可使運動量顯著增加。但當與二週長期給藥之 1.0g/kg 的 B 組併用後，能增強上述運動量興奮現象 ($p < 0.01$)。

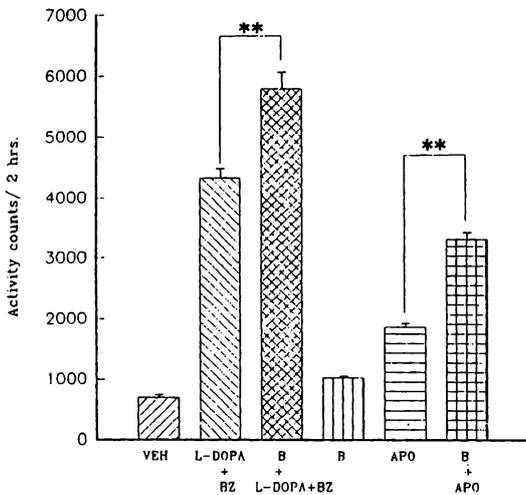


Fig 2. Effect of extract of B on changes in locomotor activity produced by L-dopa+benserazide (BZ, apomorphine (APO) in rats. The activity was measured 1 hour after the last dosage of 2-week consecutive administration of 1.0 g/kg B. VEH: vehicle control. B: Gui-Pi-Tang was described in Annotated Women's Formulary. n=6, **P<0.01

(2) 如圖 3 所示，Haloperidol (0.01mg/kg, i.p.) 30 分鐘前單獨給藥，可使自發運動量減少。但當與二週長期給藥之 1.0g/kg 的 B 組併用後，能拮抗上述之運動量抑制現象 ($p < 0.01$)。

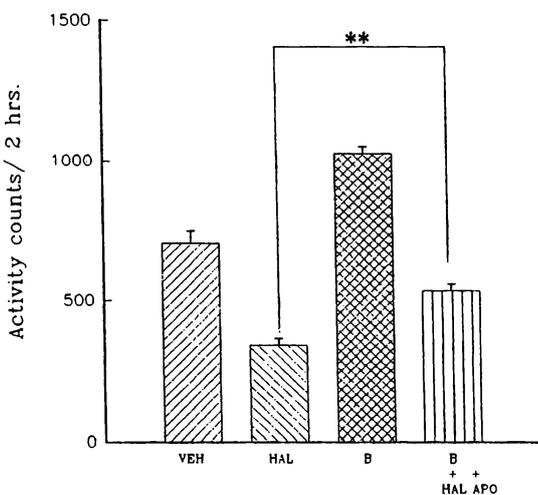


Fig 3. Effect of extract of B on changes in locomotor activity produced by haloperidol (HAL) in rats. The activity was measured 1 hour after the last dosage of 2-week consecutive administration of 1.0 g/kg B. VEH: vehicle control. B: Gui-Pi-Tang was described in Annotated Women's Formulary. n=6, **P>0.01

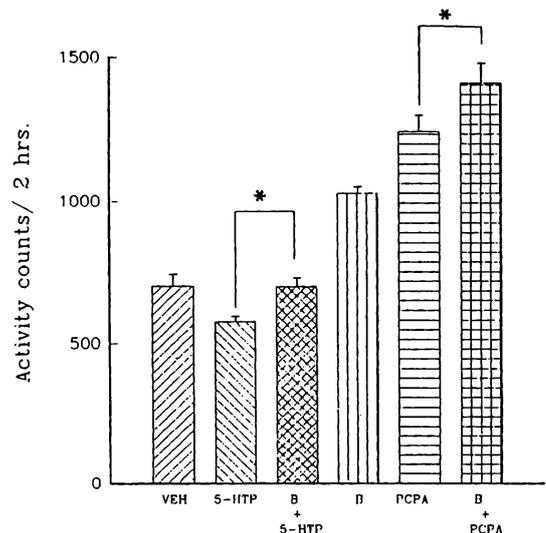


Fig 4. Effect of extract of B on changes in locomotor activity produced by 5-hydroxytryptophan (5-HTP) and p-chlorophenylalanine (PCPA) in rats. The activity was measured 1 hour after the last dosage of 2-week consecutive administration of 1.0 g/kg B. VEH: vehicle control. B: Gui-Pi-Tang was described in Annotated Women's Formulary. n=6, **P>0.01

四、對誘發被動迴避反應障礙物質之影響

如圖 5 所示，Scopolamine HBr (1mg/kg, i.p.) 訓練前 30 分鐘給藥，p-Chloroamphetamine HCl (2.5mg/kg, i.p.) 訓練前 30 分鐘給藥，Cycloheximide (2.5mg/kg, i.p.) 訓練後立刻給藥，均可使大鼠滯留於明室之時間 (STL) 明顯縮短。而於二週長期給藥中，各組於 1.0g/kg 劑量下，對 scopolamine 誘發之明室滯留時間縮短現象有極顯著之改善作用

($p < 0.01$)，且以 B 組之改善作用更為顯著；A 組及 B 組於 1.0g/kg 劑量下，對 p-Chloroamphetamine 誘發之明室滯留時間縮短現象有極顯著之改善作用 ($p < 0.01$)，且以 B 組之改善作用更為顯著；各組對 cycloheximide 誘發之明室滯留時間縮短現象均有極顯著之改善作用 ($p > 0.01$)，且以 B 組之改善作用更為顯著。

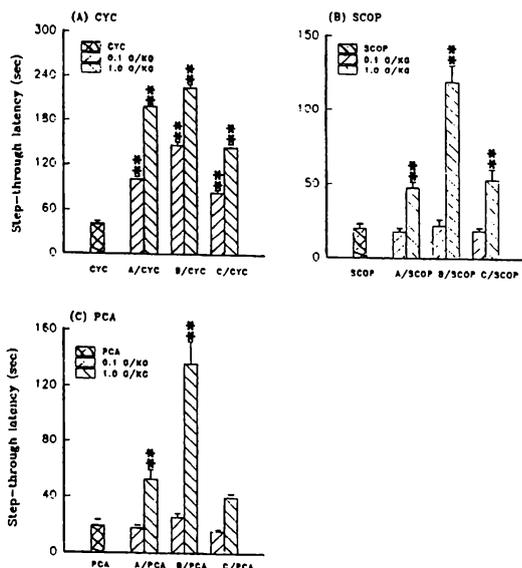


Fig 5. Effect of extracts of GPT on cycloheximide (CYC), scopolamine (SCOP) and p-chloroamphetamine (PCA)-induced impairment of inhibitory passive avoidance in rats. The rats were trained 1 hour after the last dosage of 2-week consecutive administration.

A: Gui-Pi-Tang was described in Ji-Sheng-Fang

B: Gui-Pi-Tang was described in Annotated Women's Formulary.

C: compositions of Radix Angelicae Sinesis and Radix Polygala. $n=6$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, as compared with CYC, SCOP and PCA group, respectively.

討 論

歸脾湯組成及主治之考察，自原典濟生方之記載迄今，大致可分成兩類：(一)濟生方組：由白朮、茯苓、黃耆、人參、木香、酸棗仁、龍眼肉、甘草、生薑及大棗等十味藥組成，主「思慮過制，勞傷心脾，怔忡健忘」⁽³⁾，屬鎮靜安神類方劑；(二)校註婦人良方組：由上述十味藥及當歸、遠志等十二味藥所組成，主「脾經失血少寐，發熱盜汗，健忘怔忡，驚悸不寐，嗜臥少食，血虛發熱，肢體作痛，...」等⁽⁶⁾

，屬補血理血類方劑。在現代藥理上，歸脾湯各組成藥材如人參、黃耆具鎮靜及改善學習記憶之作用，而茯苓、酸棗仁、當歸、遠志、生薑及大棗等亦具鎮靜作用；且歸脾湯之校註婦人良方組，根據王克勤等之研究報告顯示，具防治衰老、延緩老年記憶障礙及抗氧化之作用。但其防治老年記憶障礙之作用機轉，及兩類歸脾湯組成主治上之關係，至今尚未見有報告，故進行本研究。

本研究發現歸脾湯對大鼠自發運動量的影響，研究顯示校註婦人良方組以給藥二週之興奮作用最為顯著。近幾十年來，動物行為與中樞神經傳遞物質如 norepinephrine、dopamine、serotonin 等之關係，已被廣泛地研究及討論；因此併用一些能改變中樞神經傳遞物質而引起自發運動量變化之物質，藉以闡述歸脾湯之校註婦人良方組的作用機轉。

首先探討歸脾湯校註婦人良方組是否與腦中樞 catecholaminergic system 有關，故併用 catecholaminergic system 之活性增強劑—L-dopa 加 benserazide、apomorphine，或活性抑制劑—haloperidol，藉以闡述歸脾湯校註婦人良方組對大鼠自發運動量之影響。L-dopa 為 dopamine 之前驅物，極易通過腦血管障壁 (Blood-Brain-Barrier)，而 dopamine 則不易通過腦血管障壁，故使用 L-dopa；但因 L-dopa 又易受周邊 dopa decarboxylase 之作用脫去 carboxyl group，使 L-dopa 進入腦中之量降低，而 benserazide 為 catecholamine 合成途徑中 dopa decarboxylase 之抑制劑，故於 L-dopa 併用 benserazide 時，可增加 L-dopa 進入腦內之濃度，而增強 catecholaminergic system 之活性，使自發運動量明顯地增加並誘發攻擊性行為 (aggressive behaviors)⁽¹¹⁾；當歸脾湯校註婦人良方組與 L-dopa 加 benserazide 併用，於一次給藥後，對 L-dopa 所誘發之自發運動量興奮作用有顯著之抑制現象；但當二週長期給藥後，對 L-dopa 所誘發之自發運動量

興奮作用則有顯著之增強現象。Apomorphine 為 DA 之致效劑，可使自發運動量明顯地增加⁽¹³⁾；但當歸脾湯校註婦人良方組與 Apomorphine 併用，於一次給藥後，對 Apomorphine 所誘發之自發運動興奮作用有顯著之抑制現象；但當二週長期給藥後，對 Apomorphine 所誘發之自發運動量興奮作用則有顯著之增強現象。其次，Haloperidol 為 DA 之抑制劑，可使自發運動量明顯地降低⁽¹²⁾；但當歸脾湯校註婦人良方組與 Haloperidol 併用，於一次給藥後，對 Haloperidol 所誘發之自發運動量抑制作用有顯著之增強現象；但當二週長期給藥後，對 Haloperidol 所誘發之自發運動量抑制作用則有顯著之拮抗現象。

其次再探討歸脾湯校註婦人良方組是否與腦中樞 serotonergic system 有關，故併用 serotonin 排空劑—dl-p-chlorophenylalanine (PCPA)，或 serotonin 前驅物—5-hydroxytryptophan (5-HTP)，藉以闡述歸脾湯校註婦人良方組對大鼠自發運動量之影響。PCPA 為 serotonin 合成途徑中 tryptophan hydroxylase 之抑制劑，當投與 PCPA 後，不僅使腦內 serotonin 濃度降低⁽¹⁵⁾，且會引起 catecholamine 增加而使自發運動量明顯地增加⁽¹⁹⁾，而此作用可為 serotonin 之前驅物 5-hydroxytryptophan (5-HTP) 所反轉；5-HTP 為 serotonin 之前驅物，能提高中樞 serotonin 的含量，使自發運動量減少⁽¹⁴⁾。但當歸脾湯校註婦人良方組與 PCPA 併用，於二週長期給藥後，對 PCPA 所誘發之自發運動量興奮作用則略有增強現象。其次，當歸脾湯校註婦人良方組與 5-HTP 併用，當二週長期給藥後，對 5-HTP 所誘發之自發運動量抑制作用則略有拮抗之現象。

由以上之結果顯示，歸脾湯校註婦人良方組與中樞神經傳遞物質的關係，於二週長期給藥時，具提昇 catecholaminergic system 之活性及降低 serotonergic system 之活性。

其次，於探討歸脾湯防治老年記憶障礙上

，由於近幾十年來在病理、病理生理及生化藥理之研究，指出中樞神經傳遞物質如 dopamine、acetylcholine、serotonin 等與記憶損害性疾病如 Alzheimer's disease (AD)、Senile dementia (SD) 等均有密切之關係，故併用與中樞神經傳遞物相關之誘發記憶障礙物質如 p-chloroamphetamine、scopolamine 等，藉以闡述歸脾湯對防治記憶障礙之作用及其可能之機轉。Scopolamine 為 cholinergic muscarinic receptor 之抑制劑，當投與 scopolamine 後，可使腦內 cortex、hippocampus、striatum 等區域之 acetylcholine 的濃度減少，降低 cholinergic system 之活性，造成學習記憶障礙⁽²⁰⁾；但當歸脾湯與 scopolamine 併用，於二週長期給藥後，對 scopolamine 誘發之學習記憶障礙現象，其改善情形則更為顯著，且以校註婦人良方組為最佳。其次，p-chloroamphetamine (PCA) 為 serotonin 釋出之促進劑，於給藥後 10~30 分鐘，使中樞 cortex、spinal cord、hippocampus 區之突觸前神經元 serotonin 儲存區內的 serotonin 大量地釋出，使 cortex、hippocampus 區之 5-HT₂ receptors 活化，造成學習記憶障礙之作用⁽²¹⁾⁽¹⁶⁾，而在上述區域之 5-HT₂ receptors 對 acetylcholine 之釋出具極強之抑制作用⁽²²⁾，另根據研究報告亦指出 serotonergic system 對學習記憶之影響次於 cholinergic system⁽²³⁾，因此 PCA 之學習記憶損害作用，可能間接經由 cholinergic system；當歸脾湯與 PCA 併用，於二週長期給藥後，對 PCA 誘發之學習記憶障礙現象，其改善情形則更為顯著，且以校註婦人良方組為最佳。另在記憶之鞏固及長期記憶之形成上，蛋白質合成為一必需之因素，因此蛋白質合成抑制劑如 cycloheximide、anisomycin、puromycin 等均能造成記憶損害現象⁽²⁴⁾，故併用蛋白質合成抑制劑 cycloheximide (CYC)，而根據研究報告指出，CYC 對記憶鞏固之阻礙作用，可能為 cholinergic neurons

與 5-HT₂ receptors 之聯結作用⁽¹⁸⁾；當歸脾湯與 CYC 併用，於二週長期給藥後，對 CYC 誘發之記憶損害現象，其改善情形則更為顯著，且以校註婦人良方組為最佳。

由以上之結果顯示，在被動迴避反應，對 scopolamine、PCA、CYC 等所誘發之學習記憶障礙現象的改善情形，均以二週長期給藥之各組的改善作用較為顯著，且以歸脾湯校註婦人良方組最佳；其作用機轉於二週長期給藥，校註婦人良方組防治學習記憶障礙之作用，可能因直接作用於中樞 cholinergic system，及間接經由抑制中樞 serotonergic system 活性，增加 acetylcholine 釋出，而造成 cortex、hippocampus 等區之 cholinergic system 的活性增強所致；另根據 Memo M. 等之研究報告，scopolamine 誘發學習記憶障礙作用，可能與抑制中樞 hippocampus、frontal cortex 區之回轉率有關 (turnover)⁽²⁵⁾，及本研究於自發運動量測定中發現，在二週長期給藥時，其運動量興奮作用與增強中樞 dopaminergic system 之活性有關，因此校註婦人良方組防治學習記憶障礙之作用，亦可能因增強中樞 dopaminergic system 之活性的關係。

綜合以上結果，顯示宋•嚴用和濟生方內之歸脾湯，於明•薛立齋之校註婦人良方中加入當歸及遠志二藥，在防治老年記憶障礙之作用上，較濟生方記載之歸脾湯為佳；而其作用機轉，於二週長期口服給藥之防治學習記憶障礙的作用上，則可能與中樞 frontal cortex、hippocampus 區 dopaminergic system、cholinergic system、serotonergic system 三系統間之調節有關，而其中又以增強 dopaminergic system 及 cholinergic system 之活性較為重要。因此歸脾湯對於阿耳滋海默氏症 (Alzheimer's disease) 之記憶減退情形，確實有其防治之作用；而其改善學習記憶之作用機轉，則有待更進一步之探討。

謝 辭

本研究承行政院衛生署研究計畫 (DOH81-CM-038) 及本院專題研究計畫 (81-005) 之經費補助，謹此致謝。

參考文獻

1. Arolfo MP, Brioni JD: Diazepam impairs place learning in the Morris water maze. *Behav Neural Biol* 1991; 55: 131-6.
2. Ghoneim MM, Hinrichs JV, Mewaldt SP: Dose-response analysis of the behavioral effects of diazepam: I. Learning and memory. *Psychopharmacology* 1984; 82: 219-5.
3. 金禮蒙等編：醫方類聚，中華世界資料供應出版社，臺北1987；59，5702。
4. 王克勤等：國外醫學中醫中藥分冊1987；9：13。
5. 吳春福、于慶海、莊麗萍、郭月英等：歸脾湯的抗氧化作用，中國中藥雜誌1991；16：752-3。
6. 宋•陳自明撰，明•薛立齋註：校註婦人良方，瘡瘍門，婦人結核方論第四，旋風出版社印行，臺北1977；42：28-9。
7. 清•吳儀洛：成方切用，理血門，旋風出版社印行，臺北1976；45-6。
8. 民國•蔡陸仙：中國醫藥匯海（二十一），方劑部（三），新文豐出版公司印行，臺北1978；934-5。
9. 謝遠明、馬興民、孫平川：中藥方劑近代研究及臨床應用，陝西科學技術出版社，大陸1989；422-9。
10. Hsieh MT: The involvement of monoaminergic and GABAergic system in locomotor inhibitor produced by clobazam and diazepam in rats. *Int Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1982; 7: 227-34.
11. Shibuya T. and Takhashi N.: Pharmacological studies of L-dopa and dopa decarboxylase inhibitor especially effect on central nervous system combination of L-dopa and benserazide HCl. *Tokyo Ika Daigaku Zasshi* 1977; 35: 715-30.
12. Wadenberg ML, Ablenius S.: Effects of raclopride and haloperidol on spontaneous motor activity and on conditioned avoidance behavior in rats: A comparison of potency, efficacy and time-course of action. *Arzneimi-*

- ttel-Forschung 1991 ; 41 : 692-5.
13. Montanaro N , Vaccheri A , Dall'Olio R , Gandolfi O : Time course of rat motility response to apomorphine : A simple model for studying preferential blockade of brain dopamine receptors mediating sedation. *Psychopharmacology* 1983 ; 81 : 214-9.
 14. Everett GM : Effect of 5-hydroxytryptophan on brain levels of dopamine, norepinephrine and serotonin in mice. *Advances in Biochem Psychopharmacology* 1974 ; 10 : 261-2.
 15. Fibiger H , Campbell BA : The effect of para-chlorophenylalanine on spontaneous locomotor activity in the rat. *Neuropharmacology* 1971 ; 10 : 25-32.
 16. Ogren SO : Central serotonin neurons in avoidance learning : Interaction with norepinephrine and dopamine neurons. *Pharmacol Biochem Behav* 1985 ; 23 : 107-23.
 17. Flood JF , Cherkin A : scopolamine effects on memory retention in mice : A model of dementia ? *Behav Neural Biol* 1986 ; 45 : 169-84.
 18. Nabeshima T , Itoh K , Kawashima K , Kamayama T : Effects of 5-HT₂ receptor antagonist on cycloheximide-induced amnesia in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1989 ; 32 : 787-90.
 19. Koe BK , Weissman A : p-Chlorophenylalanine : A specific depletor of brain serotonin. *Pharmacol Exp Ther* 1966 ; 154 : 499-516.
 20. Toide K : Effects of aniracetam on one-trial passive avoidance tests and cholinergic neurons in discrete brain regions of rats. *Arch Int Pharmacodyn* 1989 ; 298 : 25-37.
 21. Ogren SO , Johansson C : Separation of the associative and non-associative effects of brain serotonin released by p-chloroamphetamine : Dissociable serotonergic involvement in avoidance learning, pain and motor function. *Psychopharmacology* 1985 ; 86 : 12-26.
 22. Robinson SE : Effect of specific serotonergic lesions on cholinergic neurons in the hippocampus , cortex and striatum. *Life Sci* 1983 ; 32 : 345-53.
 23. Altman HJ , Stone WS , Ogren SO : Evidence for a possible function interaction between serotonergic and cholinergic mechanisms in memory retrieval. *Behav Neural Biol* 1987 ; 48 : 49-62.
 24. Beninger RJ : Dissociating the effects of altered dopaminergic function on performance and learning. *Brain Res Bull* 1989 ; 23 : 365-71.
 25. Memo M , Missale C , Trivelli L , Spano PF : Acute scopolamine treatment decreases dopamine metabolism in rat hippocampus and frontal cortex. *Eur Pharmacol* 1988 ; 149 : 367-70.

EFFECTS OF GUI-PI-TANG (歸脾湯) ON PASSIVE AVOIDANCE LEARNING IN RATS

Ming-Tusen Hsien Chi-Rei Wu Huei-Yann Tsai
Wen-Huang Peng Chia-Chang Hsieh

*Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences
China Medical College*

Gui-Pi-Tang was originally described in Ji-Sheng-Fang. It was mainly used for palpitation, amnesia and insomnia. Until Annotated Women's formulary, its compositions in addition the compositions in Ji-Sheng-Fang were supplemented Radix Angelicae Sinesis and Radix Polygala; but used for aplastic anemia and arrhythmia. So, we separated materials into three portions. Group A is a formula described in Ji-Sheng-Fang. Group B is a formula described in Annotated Women's formulary. Group C consisted of Radix Angelicae Sinesis and Radix Polygala. The purpose of our present study is to compare effects of Group A with effects of Group B on locomotor activity and passive avoidance in rats, and to investigate the mechanism of its action on the central nervous system.

Both of Group A and Group B produced a significant decrease in locomotr activity. Therefore, both of Group A and Group B had sedative effect. Group B had stronger effect than Group A 1.0g/kg Group B administered consecutively for 2 weeks, it increased significantly locomotor activity in rats.

In 2-week consecutive administration of all of the three groups, they improved the impairment of learning and memory induced by scopolamine, PCA and cycloheximide on passive avoidance. Group B had stronger effect than Group A. According to these results, the sedative mechanism of Group B might be due to the decrease in central catecholaminergic activity and the increase in central serotonergic activity. However, the stimulation and the improvement of learning and memory of Group B might be due to the increase in central cholinergic, dopaminergic activity, and the decrease in central serotonergic activity.

Key Words : Gui-Pi-Tang, passive avoidance