

槐花對 Ibotenic acid 誘發大白鼠學習 記憶障礙效用之研究

唐娜櫻¹ 錢添發² 李采娟² 江素瑛² 李珮端³ 林昭庚^{2,4} 謝慶良^{4,5,6}

中國醫藥大學¹ 中醫學系² 中國醫學研究所³ 藥學系

⁴針灸研究中心⁶ 中西醫結合研究所

⁵中國醫藥大學附設醫院中醫部

台中，台灣

(2004年3月10日受理，2004年4月28日接受刊載)

一些研究發現槐花和銀杏相似，含有蘆丁 (rutin) 和槲皮素 (quercetin)，銀杏葉的萃取物被認為有抗氧化傷害和抗血小板凝集的作用，已被廣泛的用來治療痴呆症或腦血管意外 (cerebrovascular accident)。痴呆主要的臨床表現是認知功能的障礙，也就是學習記憶的減退，或喪失，因此本研究的目的是探討槐花對學習記憶障礙的效用。我們建立一個學習記憶障礙的動物模型，將 ibotenic acid (IBO, 0.06 M, 0.5 μ l) 於 Sprague-Dawley (SD) 大白鼠兩側的基底前腦核 (nucleus basalis magnocellularis, NBM) 注射，製造一個類似人類痴呆學習記憶障礙的動物模型，每日早晚分別餵食槐花 (0.3 g/kg)，連續 6 天或連續 14 天，以被動迴避試驗的明室滯留時間 (retention time) 為指標，來觀察槐花對學習記憶障礙大白鼠的效用。結果發現 IBO 於 SD 大白鼠的兩側 NBM 注射後，它們的被動迴避試驗的明室滯留時間比沒有注射 IBO 之 Sham 組為短，連續餵食槐花 6 天或 14 天，兩者都能延長 IBO 所造成的明室滯留時間的縮短。

結論是槐花能延長 IBO 所造成的被動迴避試驗的明室滯留時間的縮短，說明槐花有改善學習記憶障礙的作用，但它的作用機轉不明，至於槐花是否可用來治療人類的痴呆症，須做進一步的研究。

關鍵詞：槐花，Ibotenic acid，學習記憶障礙，被動迴避試驗，明室滯留時間。

前 言

老年痴呆症又稱為老人阿茲海默氏症 (Alzheimer's disease)，是一種慢性進行性腦神經元退化性疾病，

它的主要臨床表現是認知功能的減退，甚至喪失，如學習、記憶力的障礙，判斷力、計算及語言能力的減退，人格的改變如妄想、幻覺、焦慮、憂鬱、睡眠障礙，及行為異常等。老年痴呆症有年齡愈大，而發病率愈高的趨勢，由於老年痴呆症患者極易出現原始化或脫抑制（disinhibition）的現象¹³，因此常會出現攻擊行為，造成社會、家庭很大的負擔，所以對於老人痴呆症的研究，是身為一位醫師不能推卸的職責。

老年痴呆症的病理特徵是大腦皮質空洞化、皮質和皮質下海馬迴中有大量不正常的 A β 蛋白（ β -amyloid protein, β A4）沉積，造成早期的老人斑（senile plaque），或神經炎斑（neuritic plaques）及晚期的神經纖維糾結（neuron-fibrillary tangles），同時伴隨大量腦細胞凋亡（apoptosis）等現象。老人斑的主要成分為 β 型類澱粉樣蛋白質（ β -amyloid protein），其來自類澱粉前驅蛋白質（amyloid precursor protein, APP）的蛋白質水解切割而成，而 APP 的異常成分分解導致 β 型類澱粉樣蛋白質的聚集，若不被清除將對腦細胞造成毒性傷害。APP 的角色在正常生物細胞並未清楚，但目前有證據顯示它參與記憶鞏固（memory consolidation）或是記憶復得（memory retrieval）的工作⁴⁵。一些研究報告指出人類的記憶和膽鹼素神經元系統有關。有學者發現痴呆患者的臨床嚴重程度和大腦皮質膽鹼素活性的低下成正比關係。大腦皮質的膽鹼素神經元起源於人類的大腦內部，啮齒類動物則起源於巨大基底核（nucleus basalis magnocellularis, NBM），而靈長類動物則起源於邁樂氏基底核（nucleus basalis of Meynert）。有學者發現老年痴呆症與膽鹼素神經元的喪失有關，而這些膽鹼素神經元的異常與前腦基底核細胞的萎縮，以及細胞凋亡有密切的關係⁶⁻¹²。傳統中醫認為老年痴呆症的發生因腎精不足，髓海空虛，而痰濁，瘀血蒙蔽腦竅所引起¹³。

Ibotenic acid (IBO) 是一種具有神經毒性的氨基酸藥物，有研究發現將 IBO 注射於大白鼠基底前腦的 NBM 核，可以導致大白鼠的學習記憶障礙，藉此建立癡呆的動物模型，由於 NBM 核的破壞會使傳導到皮質的膽鹼素神經元系統（cortical cholinergic system）約有 70 % 的神經元被阻斷，而造成動物在學習和記憶行為的障礙¹⁴⁻¹⁹。

銀杏葉的主要成分黃酮苷類（flavone glycosides）的物質有 rutin、quercetin，有研究發現銀杏葉的萃取物具有抗氧化傷害和抗血小板凝集的作用，對心臟和神經細胞具有保護作用，已被廣泛使用於腦癡呆和腦中風的預防和治療²⁰⁻²⁵。中醫典籍和一些研究認為槐花（槐米，Flos Sophorae japonicae）有涼血作用，能被用來治療痔瘡出血^{26,27}，最近研究發現槐花和銀杏葉一樣含有 rutin（盧丁）和 quercetin 成分²⁸⁻³³，因此本研究的目的是探討槐花是否與銀杏葉的萃取物相似具有保護腦中神經細胞的功能，我們使用 IBO 於雄性 Sprague-Dawley (SD) 大白鼠大腦兩側的 NBM 核施行注射，造成大白鼠學習障礙，類似人類痴呆的動物模型，藉被動迴避試驗（passive avoidance test）的明室停留時間（retention time）的變化為指標，來觀察槐花的學習障礙大白鼠的效用。

材料與方法

槐花的萃取物的製作：

經中藥專家基原鑑定後，取槐米 600 公克加逆滲透水 4 公升，煮沸騰後轉為小火煮四小時，將水煮出

液，經紗布過濾，取過濾液，置於冷凍乾燥機中，經 96 小時的冷凍乾燥濃縮，製成褐黃色粉末。取少許褐黃色粉末，經中國醫藥大學藥學院藥學系用 HPLC 測定，確定含有 20 % rutin。每 3 公克的槐米粗藥材，最後製成一公克的乾燥粉末。將這些乾燥粉末以密封低溫保存，並防其受潮備用。

IBO 製劑的製作：

IBO 成分為 α -amino-3-hydroxy-5-isoxazole acetic acid synthetic (Sigma Chemical St. Louis, MO, USA)。將 IBO 溶於 0.1 M phosphate buffered saline (PBS) pH 7.4 中，配成濃度為 0.06 M 的 IBO 溶液。將配製完成的 IBO 以小量瓶分裝，並保存在 -80 °C 的冷凍冰箱中，用時取出解凍，並保持於冰中備用。

實驗動物：

本實驗之動物購自國科會動物中心，鼠齡約 60 天的雄性 SD 大白鼠，體重 200 到 300 公克。將購得的實驗動物飼養於中國醫藥大學動物中心，每一個鐵籠飼養 6 隻，利用空調，控制溫度在攝氏 24 °C \pm 1 °C，燈光採 12 小時亮，12 小時暗（7：00 燈亮，19：00 燈暗），充分供應動物飲水和食物，並保持環境安靜舒適，整個實驗過程合乎實驗動物倫理原則。

學習記憶障礙動物模型的建立：

SD 大白鼠用 chloral hydrate (320 mg/kg) 腹腔注射麻醉後，將這些大白鼠置於立體定位儀 (Stereotaxic instrument, David Kopf) 上，調整兩耳及前牙的位置加以固定，用手術刀剃除頭皮上的毛髮，經 75 % 酒精消毒後，從頭皮中線切開，露出頭骨。從頭骨的 bregma 後面 2.3 mm 和離開中線 3.7 mm 處鑽一個小孔直徑 1 mm，用 26 號空針於距離 dura 表面深度 7.6 mm 處（即 NBM 核的位置），注入 IBO (0.06 M, 0.5 μ l) 或 PBS 溶液 (0.5 μ l)。注射時，將針頭先靜置 5 分鐘，讓腦內部壓力與外界壓力達到平衡時，再將 IBO 於 5 分鐘內慢慢注射完畢。經 5 分鐘後，讓 IBO 緩緩滲入 NBM 核，避免因急速抽出針頭，而使 IBO 逆流出來。

被動迴避實驗 (Step-through passive avoidance memory test)^{7,10,12}：

動物模式建立前，先將 SD 大白鼠進行被動記憶實驗 (one-trial step-through passive avoidance memory test)，以此做為學習記憶障礙的基準值，然後再大白鼠進行立體定位手術，建立學習記憶障礙的動物模式。被動迴避試驗儀器的構成，是由不透明的丙烯樹脂做成的盒子，大小為長 50 cm，寬 22.8 cm，高 28 cm，此長方立體盒子被格板分為兩個相等的空間，分別為暗箱 (dark-compartment) 和明箱 (light compartment)，隔板之中間留有一個長 7.8 cm，寬 6.5 cm 的閘門 (guillotine door)，閘門可自動開關。兩箱的天花板上裝有 1.5 w 的燈泡，能提供燈光。天花板為可活動且透明的丙烯樹脂蓋子 (perspex lid)，地板由銅條組成，每根銅條之間的距離 1.2 公分，並連接電極。當大白鼠進入暗箱時，電腦會給予沒有聲、光，唯有電擊的指令，傳導到銅條上電擊大鼠的足部，促使其學習逃避行為。

動物訓練 (Animal Training) :

將大白鼠放入明箱中，前 2 天的時間讓大白鼠自由通過開門，出入明、暗箱探索箱子，並熟悉環境。第三天當大白鼠進入暗箱時，開門會自動向下關閉，並給大白鼠強度 1 mA，連續 3 秒的足部電擊 (3 sec, 1 mA scrambled foot shock)，使其學習到逃避行為，同時讓大白鼠停留在暗箱內 15 秒，然後取出大白鼠放回原來的飼養箱。每隻大白鼠隔天重複訓練，只要頭及前肢一走進入暗箱時，開門就自動關下，並給予足部的電擊，一直到大白鼠學習會不進入暗箱，且停留在明箱的時間超過 300 秒。挑選停留在明箱的時間超過 300 秒的大白鼠，再訓練 2 天，使其在明箱停留時間均超過 300 秒，鞏固記憶。24 小時後，將這些大白鼠進行記憶測驗，挑選能留在明箱的時間超過 300 秒的大白鼠，並記下這些數值作為基準值 (學習記憶障礙動物模型建立前數值)，然後將這些大鼠隨機分組，並進行學習記憶障礙動物模型的建立。

實驗流程 :

本研究分為兩個實驗，實驗 (1) 以被動迴避試驗評估槐花對正常大白鼠學習記憶的影響；(2) 以被動迴避試驗評估槐花對 IBO 誘發學習記憶障礙大白鼠的影響。實驗 1 分為實驗 1A 和 1B，分別研究槐花對正常大白鼠學習記憶和記憶鞏固的影響。

實驗 1A：槐花對正常大白鼠學習記憶的影響

取正常大白鼠 30 隻，連續 2 天，每天 5 分鐘熟悉並習慣環境後，開始進行被動迴避試驗訓練，每天一個 trial，連續 4 天停留於明箱的時間都大於 300 秒，並以第 4 天作為基準值，選取 18 隻隨機分成 3 組，每組 6 隻，每天早晚各餵食槐花 1 次如下：NS 組餵食 normal saline (1.0 ml/kg)；PBS 組餵食 PBS 溶液 (1.0 ml/kg)；實驗組餵食槐花 (0.3 g/kg)，連續餵藥 7 天，餵藥期間繼續訓練 6 天，而於第七天餵食藥物一小時後，施行被動迴避試驗，記錄其停留於明室的時間。

實驗 1B：槐花對正常大白鼠鞏固記憶的影響

取正常大白鼠 30 隻，每天 5 分鐘熟悉，並習慣環境後，連續 2 天後，並經被動學習訓練，每天一個 trial，連續 4 天停留於明箱的時間都大於 300 秒，並以第 4 天的值做為基準值，選取 21 隻隨機分成 3 組，每組 7 隻，每天早晚各餵食槐花 1 次如下：NS 組餵食 normal saline (1.0 ml/kg)；PBS 組餵食 PBS 溶液 (1.0 ml/kg)；實驗組餵食的槐花 (0.3 g/kg)，連續餵藥 6 天，餵藥期間停止訓練，但於第七天經餵食藥物一小時後，施行被動迴避試驗，記錄其停留於明室的時間。

實驗 2 研究槐花對 IBO 誘發學習記憶障礙大白鼠的影響

動物被動迴避試驗方法如同實驗 1。實驗 (2A) 動物於 IBO 注射後的隔日，開始早晚各餵食槐花 0.3 g/kg 或 normal saline (1.0 mL) 一次，連續 6 天，於第 6 天餵食後 1 小時，施行被動迴避試驗，而實驗 (2B) 動

物於 IBO 注射後的隔日開始早晚各餵食槐花 0.3 g/kg 或 normal saline (1.0 mL) 一次，連續 14 天，於第 14 天餵食後 1 小時，施行被動迴避試驗。動物分組如下：

- (1) Sham 組：正常大白鼠，每日早晚各餵食 normal saline (1 ml/kg) 一次。
- (2) PBS 組：於大白鼠兩側的 NBM 位置注射 PBS 溶液 (0.5 μ l)，隔日開始，每天早晚各餵食 normal saline (1.0 ml/kg) 一次。
- (3) PBS — 槐花組：方法同 2)，但隔日開始，每日早晚各餵食 0.3 g/kg 的槐花一次。
- (4) IBO 組：於大白鼠兩側的 NBM 位置注射 ibotenic acid (0.5 μ l)，但不餵食槐花。
- (5) IBO — 槐花組：方法同 4)，但每日早晚各餵食 0.3 g/kg 的槐花一次。

槐花對 IBO 誘發大白鼠學習記憶障礙療效的評估：

槐花對 IBO 誘發大白鼠學習記憶障礙療效的評估，是根據餵食槐花或 normal saline 6 天和 14 天後，被動迴避記憶實驗，大白鼠於明箱的停留時間和動物模式建立前明箱停留時間基準值，兩者之間的比較。

統計分析：

利用 SAS 套裝統計軟體，對動物迴避學習反應，學習獲得 6、14 天的記憶時間之數據，以有母數分析其變異數差異，再以 Scheff's test 分析組間差異之顯著性。本實驗統計上檢定之第一誤差設定在 0.05。若 p 值小於 0.05 時則認為有統計意義。

結 果

一、槐花對正常大白鼠學習記憶的效應

正常大白鼠每日早晚各餵食槐花 (0.3 g/kg) 一次，連續 7 天，對於學習記憶的效應和餵食 normal saline 或 PBS 溶液相似，三組都是停留於明室時間 300 ± 0 秒。

二、槐花對正常大白鼠記憶鞏固能力的效應

正常大白鼠每日早晚各餵食槐花 (0.3 g/kg) 一次，連續 7 天，對於記憶鞏固能力的效應和餵食 normal saline 或 PBS 溶液相似，三組都是停留於明室時間 300 ± 0 秒。

三、槐花對 IBO 誘發被動迴避學習記憶障礙大白鼠的效應

於大白鼠兩側 NBM 核分別注射 IBO (0.5 μ l 之 0.06 M) 後 6 天，它們被動迴避試驗明箱的滯留時間比正常大白鼠短 ($p < 0.001$ ，表 1)，但早晚各餵食槐花 (0.3 g/kg) 1 次，連續 6 天後，這些動物被動迴避試驗明箱的停留時間延長 ($p < 0.001$ ，表 1)。

表 1 連續餵食槐花 6 天對 Ibotenic acid 誘發被動迴避學習記憶障礙大白鼠的效應

組別	n	Mean ± SD (sec)	F 值	P > F
IBO	6	94.0 ± 94.5	10.97	0.0001
IBO-槐花	9	278.1 ± 65.7***		
PBS	7	284.6 ± 37.4***		
PBS-槐花	9	269.4 ± 91.7***		
Sham	10	300.0 ± 0.0***		

IBO = IBO 組於大鼠兩側的 NBM 分別注射 ibotenic acid (5 µl 之 0.06 M)，不餵食槐花。

IBO-槐花 = 方法同 IBO 組，但每日早晚各餵食槐花 (0.3 g/kg) 1 次，連續 6 天。

PBS = PBS 組方法同 IBO 組，但注射 Phosphate buffered saline 溶液。

PBS-槐花 = 方法同 PBS 組，但餵食槐花 (0.3 g/kg)，連續 6 天。

Sham = 正常大白鼠，不餵食槐花。

*** $p < 0.001$ ，與 IBO 組相比較；n = 大白鼠的數目。

表 2 連續餵食槐花 14 天對 Ibotenic acid 誘發被動迴避學習記憶障礙大白鼠的效應

組別	n	Mean ± SD (sec)	F 值	P > F
IBO	9	142.8 ± 124.6	7.90	0.0001
IBO-槐花	8	253.3 ± 86.8***		
PBS	6	300.0 ± 0.0***		
PBS-槐花	8	300.0 ± 0.0***		
Sham	9	300.0 ± 0.0***		

IBO = IBO 組於大鼠兩側的 NBM 分別注射 ibotenic acid (5 µl 之 0.06 M)，不餵食槐花。

IBO-槐花 = 方法同 IBO 組，但每日早晚各餵食槐花 (0.3 g/kg) 1 次，連續 14 天。

PBS = PBS 組方法同 IBO 組，但注射 Phosphate buffered saline 溶液。

PBS-槐花 = 方法同 PBS 組，但餵食槐花 (0.3 g/kg)，連續 14 天。

Sham = 正常大白鼠，不餵食槐花。

*** $p < 0.001$ ，與 IBO 組相比較；n = 大白鼠的數目。

IBO 誘發被動迴避學習記憶障礙大白鼠，早晚各明箱槐花 (0.3 g/kg) 一次，連續 14 天後，這些動物被動迴避試驗明箱的停留時間延長 ($p < 0.001$ ，表 2)。

討 論

由於我們的研究設計為大白鼠停留於明箱超過 300 秒，即視為正常，因此無證據來說明正常大白鼠餵食槐花能增加它們的被動迴避學習能力。IBO 於 SD 大白鼠兩側的 NBM 注射，能縮短 SD 大白鼠被動迴避試驗明箱的停留時間，說明 IBO 能使 SD 大白鼠原先獲得的學習記憶能力減退，這個結果說明我們的學習記憶障礙動物模型建立成功。由於本研究發現用 IBO 注射於大白鼠兩側的 NBM，不會影響大白鼠的運動能力。另外，本研究所使用的被動學習測量儀器也只能說明學習記憶能力，無法說明大白鼠進入暗箱的意願，而槐花連續餵食 6 天或 14 天能增加 IBO 誘發被動迴避學習記憶障礙大白鼠的被動迴避試驗的明箱停留時間，說明槐花對學習記憶障礙大白鼠有改善學習記憶的效果。

記憶的形成過程牽涉神經活性的改變，其中 acetylcholine (乙醯膽鹼)、serotonin 及 GABA 等神經傳導物質扮演一個重要的角色，同時也牽涉到蛋白質的合成過程^{9,34}。一些研究已證實中樞乙醯膽鹼神經系統，在學習記憶過程中扮演一關鍵的角色，如阿茲海默氏症的記憶損傷，主要是因 nucleus basalis of Meynert 區域的膽鹼神經元減少所引起。學習能增加細胞對乙醯膽鹼的敏感性，因而導致記憶的形成，但當敏感性降低或受到障礙時，則會出現健忘現象。Nucleus basalis of Meynert 與認知有密切的關係，如阿茲海默氏症主要是由於該核的實質性損傷。又臨床症狀的嚴重度和 nucleus basalis of Meyert 核病理學變化的損傷程度有密切相關^{3,5,11,12}。一些研究已知將興奮性神經毒性物質如 IBO 於大白鼠 NBM 注射，可以導致大白鼠的學習記憶障礙，而這個動物模型能被應用作為研究痴呆，這個結果是由於 IBO 注射於 NBM，會破壞膽鹼神經元之投射到大腦皮質的緣故⁶⁻¹²。

槐花是傳統中藥的一種，它被認為有涼血藥作用，因此臨床上使用它治療各種出血性疾病，特別是痔瘡出血²⁶。許多的研究已知槐花含有 rutin 和 quercetin²⁸⁻³³。一些研究報告指出 rutin 具有降低膽固醇和抗發炎、腫脹的作用^{28,29}，而 quercetin 有抗氧化自由基和抗血小板凝集的作用^{28,29}。另外，有研究認為 rutin 或 quercetin 能用來治療腦功能不全的症狀如注意力不易集中、記憶力不佳、憂慮，情緒低落和活動力減退等³⁵，但槐花能改善 IBO 誘發被動學習記憶障礙大白鼠的作用機轉不明，有待做更進一步的研究。

結 論

槐花對 IBO 誘發大白鼠學習記憶障礙有改善的作用，但它的作用機轉不明，有待做更進一步的研究，至於槐花是否可以用來治療人類老年痴呆，值得進一步探討。

誌 謝

本研究得到中國醫藥大學研究經費 (CMC91-CM-03) 的支持才能完成，在此致最大的謝意。

參考文獻

1. Binetti G, Mega MS, Magni E, Padovani A, Rozzini L, Bianchetti A, Cummings JL, Trabucchi M. Behavioral Disorders in Alzheimer Disease: A Transcultural Perspective. *Arch. Neurol.* 55: 539-544, 1998.
2. Lyketos CG, Steele C, Galik E, Rosenblatt A, Steinberg M, Warren A, Sheppard JM. Physical Aggression in Dementia Patients and Its Relationship to Depression. *Am. J. Psychiatry* 156: 66-71, 1999.
3. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219: 1184-1190, 1983.
4. 李權益、高藪嫻，分子醫學 愛滋病 癌症 老人痴呆，合記出版社，台北市，pp. 135-180，1997。
5. Lewis P. Rowland. *Merritt's Neurology* Lippincott Williams & Wilkins Philadelphia Tenth Edition. pp. 633-641, 2000.

6. Pearson RCA, Sofroniew MV, Cuello AC, Powell TPS, Eckenstein F, Esiri MM, Wilcock GK. Persistence of cholinergic neurons in the basal nucleus in a brain with senile dementia of the Alzheimer's type demonstrated by immunohistochemical staining for choline acetyltransferase. *Brain Res.* 289: 375-379, 1983.
7. Miyamoto M, Shintani M, Nagaoka A, Nagawa Y. Lesioning of the rat basal forebrain leads to memory impairments in passive and active avoidance tasks. *Brain Res.* 328: 97-104, 1985.
8. Berman RF, Crosland RD, Jenden DJ, Altman HJ. Persisting behavioral and neurochemical deficits in rats following lesions of the basal forebrain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 29: 581-586, 1988.
9. Wenk G, Hughey D, Boundy V, Kim A. Neurotransmitters and memory: role of cholinergic, serotonergic and noradrenergic systems. *Behav. Neurosci.* 101: 325-332, 1987.
10. Thal LJ, Dokla CPJ, Armstrong DM. Nucleus basalis magnocellularis lesions: lack of biochemical and immunocytochemical recovery and effect of cholinesterase inhibitors on passive avoidance. *Behav. Neurosci.* 102: 852-860, 1988.
11. Wenk GL, Markowska AL, Olton DS. Basal forebrain lesions and memory: alterations in neurotensin, not acetylcholine, may cause amnesia. *Behav. Neurosci.* 103: 765-769, 1989.
12. Friedman E, Lerer B, Kuster J. Loss of Cholinergic neurons in the rat neocortex produces deficits in passive avoidance learning. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 19: 309-312, 1983.
13. 孫維濱, 神經病中醫新療法, 軍事醫學科學出版社, 北京, pp. 128-131, 2001。
14. Nakamura Y, Takeda M, Niigawa H, Hariguchi S, Nishimura T. Amyloid β -protein precursor deposition in rat hippocampus lesioned by ibotenic acid injection. *Neurosci. Lett.* 136: 95-98, 1992.
15. Flicker C, Dean RL, Watkins DL, Fisher SK, Bartus RT. Behavioral and neurochemical effects following neurotoxic lesions of a major cholinergic input to the cerebral cortex in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 18: 973-981, 1983.
16. Coffey PJ, Perry VH, Rawlins JNP. An Investigation Into The Early Stages Of The Inflammatory Response Following Ibotenic Acid- Induced Neuronal Degeneration. *Neuroscience* 35: 121-132, 1990.
17. Connor DJ, Langlais PJ, Thal LJ. Behavioral impairments after lesions of the nucleus basalis by ibotenic acid and quisqualic acid. *Brain Res.* 555: 84-90, 1991.
18. Dunnett SB, Whishaw IQ, Jones GH, Bunch ST. Behavioural, biochemical and histochemical effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rat. *Neuroscience* 20: 653-669, 1987.
19. Morimoto K, Yoshimi K, Tonohiro T, Yamada N, Oda T, Kaneko I. CO-injection of β -amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons. *Neuroscience* 84: 479-487, 1998.
20. Boveris AD, Puntarulo S. Free-radical scavenging actions of natural antioxidants. *Nutr. Res.* 18: 1545-1557, 1998.
21. Mantle D, Eddeb F, Pickering AT. Comparison of relative antioxidant activities of British medicinal plant species in vitro. *J. Ethnopharmacol.* 72: 47-51, 2000.
22. Goh LM, Barlow PJ. Antioxidant capacity in *Ginkgo biloba*. *Food Res.* 35: 815-820, 2002.
23. Ellnain-Wojtaszek M, Kruczyński Z, Kasprzak J. Investigation of the free radical scavenging activity of *Ginkgo biloba* L. leaves. *Fitoterapia* 74: 1-6, 2003.
24. Goh LM, Barlow PJ, Yong CS. Examination of antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf infusions. *Food*

- Chemistry 82: 275-282, 2003.
25. Ikeda K, Negishi H, Yamori Y. Antioxidant nutrients and hypoxia/ischemia brain injury in rodents. *Toxicology* 189: 55-61, 2003.
 26. 汪詡菴，增批本草備要，大中國圖書印行，台北市，p. 118, 1997。
 27. 董艷芬、李堅，槐花的現代研究與臨床應用，中醫藥信息，18：21-23，2001。
 28. 季宇彬、張翠，中藥抗衰老有效成分藥理與應用，黑龍江科學技術出版社，哈爾濱，pp. 297-299，2001。
 29. 季宇彬、張翠，中藥抗衰老有效成分藥理與應用，黑龍江科學技術出版社，哈爾濱，pp. 283-286，2001。
 30. 陳庶來、陳浩，用超臨界 CO₂ 從槐花米中提取蘆丁試驗研究，江蘇理工大學學報 17：7-9，1996。
 31. 李鵬、成玉懷、洪成林、王魯石，新疆產兩種槐花中蘆丁和槲皮素的含量測定，農墾醫學 23：1-2，2001。
 32. 陳勇川、穆海川、劉松青，高效毛細管電泳法測定槐花和槐角中蘆丁的含量，華西藥學雜誌 17：284-285，2000。
 33. 錢彥叢、劉景東、張書鋒、鄒晨艷，龍爪槐花中有效成分蘆丁的含量測定，現代中藥研究與實踐 17：17-18，2003。
 34. Shashoua VE. The role of brain extracellular proteins in neuro- plasticity and learning. *Cell. Mol. Neurobiol.* 5: 183-207, 1985.
 35. Kleijnen J, Knipschild P. Ginkgo biloba. *Lancet* 340: 1136-1139, 1992.

THE STUDY IN EFFECT OF FLOS SOPHORAE ON IBOTENIC ACID-INDUCED LEARNING-MEMORY DISTURBANCE RATS

Nou-Ying Tang¹, Tien-Fa Chien², Tsai-Chung Li², Su-Yin Chiang²,
Pei-Dawn Lee Chao³, Jaung-Geng Lin^{2,4} and Ching-Liang Hsieh^{4,5,6}

¹*School of Chinese Medicine, ²Graduate Institute of Chinese Medical Science,*

³*Department of Pharmacy, ⁴Acupuncture Research Center*

⁵*Department of Chinese Medicine, China Medical University Hospital*

⁶*Integration Chinese and Western Medicine, China Medical University*

Taichung, Taiwan

(Received 10th March 2004, accepted 28th April 2004)

Several studies found that Flos Sophorae (FS) has abundant rutin and quercetin similar to the extracts of Ginkgo biloba. The extract of Ginkgo biloba has anti-oxygen free radicals and is considered to have anti-platelet aggregation action, which widely used to treat cerebrovascular accident and dementia. The main clinical manifestation of dementia is cognition disturbance that is characterized by degeneration or loss of learning-memory ability. Therefore, the aim of the present study is to investigate the effect of FS. We established an animal model of human dementia by injecting ibotenic acid (IBO, 0.06 M 0.5 μ l) into the nucleus basalis magnus (NBM) of Sprague-Dawley (SD) rats. Rats were fed with FS (0.3 g/kg) in the morning and in the evening respectively for six days and 14 days. The retention time in the light-room of passive avoidance test was used as an index to evaluate FS influence on rats with learning-memory disturbance. Results showed that retention time in the light room of passive avoidance test was shortened in the IBO-treated rats than that in sham group without IBO injection, but FS feeding for 6 days or 14 days lessen the disturbance induced by IBO.

In conclusion, FS may prolong the retention time in the IBO-treated rats, suggesting that FS has decreasing effect to IBO-induced learning-memory disturbance. However, the actual pharmacological mechanism still remains unclear. As to applying FS on treating human dementia, more studies will need to be performed.

Key words: Flos sophorae, Ibotenic acid, Learning-memory, Passive avoidance test, Retention time.