

編號：CCMP95-RD-033

天麻水萃物在動物實驗中的 抗憂鬱效果及其機制之探討

沈立言

台灣大學食品科技研究所

摘要

研究目的

本計畫欲瞭解天麻水萃物在動物實驗中，對於大鼠的抗憂鬱效果，並進一步分析大鼠腦部各區域的單胺類物質，以瞭解其可能的抗憂鬱機制；此外，將以動物實驗模式來瞭解被誘導出憂鬱情緒的大鼠，其衰退之記憶力是否會因天麻水萃物的給予而改善。

研究方法

本實驗以 forced-swimming test 作為抗憂鬱的動物實驗模式，以瞭解大鼠在天麻水萃物給予之後是否能改善其憂鬱情緒；此外，以 inhibitory avoidance task 以及 Morris water maze 分別來測試大鼠在經強迫游泳後，其情緒記憶及空間記憶方面的學習記憶能力是否會因天麻水萃物的給予而有所改善。

結果討論

實驗結果證實，連續給予天麻水萃物 21 天後，不論是高劑量組（1 g/kg bw）或是低劑量組（0.5 g/kg bw）均具有顯著的抗憂鬱效果，腦部 dopamine 及 serotonin 代謝速率降低，可能為抗憂鬱的機制；在 inhibitory avoidance task 中，給予天麻能改善強迫游泳（forced-swimming）引起之學習記憶衰退現象，對於強迫游泳引起的空間記憶衰退，改善效果則較不顯著。

關鍵詞：天麻，憂鬱，記憶

編號：CCMP95-RD-033

Investigation of the effects of water extract from *Gastrodia elata* Blume on the antidepression and their mechanisms in animal models

Lee-Yan Sheen

Graduate Institute of Food Science and Technology,
National Taiwan University

ABSTRACT

Aim

The objectives of this project are to investigate the antidepressive effect of water extract of *Gastrodia elata* Bl. (GE) in animal model, and to analyze the monoamine content in rats' brain regions to understand the mechanism. And two memory animal models will be proceeded to investigate whether the GE does work on the declined learning and memory function induced by forced-swimming or not.

Method

Forced-swimming test (FST) will be used as the antidepressive animal model in this study. And inhibitory avoidance task and Morris water maze will be used to investigate the emotional and spatial memory, respectively.

Result & Discussion

The results showed that administration of GE for 21 days, either low dose (0.5 g/kg bw) or high dose (1 g/kg bw), significantly improved the depressive-like state on rats in the animal model FST. And the dopamine and serotonin turnover were decreased by GE administration, thus modulating monoamine turnover may be one of the antidepressive

mechanisms of GE. The declined learning and memory function induced by forced-swimming was significantly improved by GE administration in inhibitory avoidance task.

Keywords : *Gastrodia elata* Bl., antidepression, memory

壹、前言

一、憂鬱症現況

憂鬱症是精神疾病中盛行率極高的情感性疾病，根據流行病學研究顯示，憂鬱症的盛行率約為 10~20%。

世界衛生組織以 DALY (disability-adjusted life year) 為指標，估算出憂鬱症將在 2020 年成為 DALY 排名第二的高負擔疾病。憂鬱症除了造成患者失能而失去正常生活與工作的能力，也是自殺的主因之一；有 2/3 的憂鬱症患者會企圖自殺，而 10-15% 的憂鬱症患者死於自殺 (Jamison and Goodwin, 1999)。

根據美國精神疾病的診斷與統計手冊第四版 (DSM-IV)，憂鬱症的診斷準則包括有：(1) 憂鬱情緒，(2) 對事物失去興趣，(3) 體重減輕或增加、食慾減少或增加，(4) 失眠或多眠，(5) 行動遲緩，(6) 疲憊或失去活力，(7) 無助感或罪惡感，(8) 注意力不能集中，(9) 自殺意念。因為這些症狀的出現，造成病人嚴重的功能障礙，尤其是因為這些症狀導致的記憶力減退，是困擾憂鬱症病人的症狀之一。

憂鬱症目前的治療方式，除了心理治療，通常會有藥物上的使用，以選擇性血清素再回收抑制劑 (SSRI)、三環類抗憂鬱劑 (TCA) 以及單胺氧化酶抑制劑 (MAOI) 為主。目前的憂鬱症療法效果並不令人滿意，接受精神醫學治療 (例如藥物治療或心理治療) 的患者中，僅不到三分之二的患者能夠在 8 週內得到令人滿意的療效，其他的病患可能需要再花費更多的時間嘗試或合併其他型式的療法。此外，即使患者對藥物治療的反應良好，大約有三分之一的患者沒有能夠完成整個療程，在臨床的醫療中，這種提早中斷治療的情形更為常見 (Anderson and Tomenson, 1995, Pampallona et al., 2002)。到目前為止，精神科醫師每天仍然需要在藥物的療效和副作用之間，為患者處心積慮求得最好的平衡。罹患憂鬱症的患者，接受精神醫學的治療的比例不到 20% (Parikh et al., 1999, Druss et al., 2000)：接受適當藥物治療的也少於十分之一 (Lepine et al., 1997)。憂鬱症很少被診斷及治療的原因很多，如：病患不願意接

受藥物治療、治療時產生副作用、順從性及療效不佳等是臨床上的難題。

因此自中醫食療中尋找具有抗憂鬱潛力且低副作用的材料，可以讓病人自日常飲食中改善憂鬱病患的憂鬱症狀，應是一個很有潛力的方法，非常值得研究。

二、天麻生理活性之相關研究

天麻 (*Gastrodia elata* Blume) 是中國傳統藥材，被用來治療痙攣、抽搐、暈眩、頭痛、肢體麻木等病症。天麻同時也是中醫食療常見的材料之一，常見的食療方有天麻魚頭、天麻燉豬腦等，主治頭痛、肢麻、神經衰弱、高血壓頭昏、調肝益腦、降壓止痛、鎮靜等。

近代關於天麻的生理活性研究整理如下：

(一) 抗癲癇 (anticonvulsive effect)

Vanillin 是天麻的主要成分之一，謝等人以腹腔注射給予 SD 大鼠 100 及 200 mg/kg vanillin，隨後再注射 8 μ l 100 mM FeCl₃ 至腦內，顯示 vanillin 具有顯著的減少癲癇症狀、腦部脂質過氧化及清除自由基的效果(Hsieh et al., 2000)。在 2001 年的研究中，腹腔注射 12 mg/kg kainic acid 誘導癲癇，在 kainic acid 給予前 30 分鐘口服給予 1.0 g/kg 天麻萃出物可顯著的減少癲癇的症狀，並延緩其發生的時間，同時具有抑制腦部脂質過氧化與清除自由基的效果(Hsieh et al., 2001)。

Ha 等人以天麻酒精萃取物之乙醚區分物可以預防造成癲癇的藥物 PTZ (pentylentetrazole) 減少腦中 GABA 的含量；同時發現此區分物中含量極高的 4-hydroxybenzaldehyde 具有顯著的降低 GABA transaminase 活性及抑制脂質過氧化能力；此研究推測天麻可能藉由調節 GABA 濃度與抑制氧化來達到抗癲癇的效果(Ha et al., 2000)。

2003 年 An 等學者進一步以天麻活性成分之一 gastrodin 進行實驗，研究發現 gastrodin 可以減少癲癇指數，同時減少海馬迴 (hippocampus) 的 GABA transaminase (GABA-T)、succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) 及 succinic semialdehyde

reductase (SSAR) 免疫活性，此外腦部切片中發現 gastrodin 可能藉由抑制 GABA shunt 而提升 GABA 的濃度(An et al., 2003)。

腦部的創傷為癲癇的發生原因之一，而腦部創傷帶來的出血及血球破裂釋放出來的鐵質會造成 ROS (reactive oxygen species) 及 RNS (reactive nitrogen species) 的增加，而給予鐵離子使 ROS 與 RNS 增加是創傷後癲癇的動物實驗模式。Mori 等學者以此動物模式進行實驗，實驗證實天麻具有清除老鼠腦部 ROS 與 RNS 的能力，同時可以作為預防老鼠腦部因鐵離子注射所引起的癲癇(Mori et al., 2004)。

(二) 抗氧化 (antioxidant) 及清除自由基 (free radical scavenging effect)

Liu 與 Mori 在 1992 以天麻進行抗氧化實驗，在 *in vivo* 的實驗中，天麻萃出物可以抑制注射 FeCl_3 造成的脂質過氧化，同時可以增加腦細胞粒腺體中 superoxide dimutase 的活性；在 *in vitro* 實驗中 (electron spin resonance spectroscopy)，同樣證實天麻萃出物具有 dose-dependent 的清除自由基活性(Liu and Mori, 1992)。

1993 年，Liu 及 Mori 以天麻的主要成分 p-hydroxybenzyl alcohol (p-HBA) 及 vanillin 進行抗氧化能力的實驗，研究發現 p-HBA 及 vanillin 都有顯著的清除自由基能力，同時可以抑制 $\text{Fe}^{+2}\text{-H}_2\text{O}_2$ 或 $\text{Fe}^{+3}\text{-superoxide}$ 引起的細胞傷害(Liu and Mori, 1993)。

此外，前述研究中亦證實天麻萃出物或其活性成分具有清除自由基或抑制脂質氧化的能力(Ha et al., 2000, Hsieh et al., 2000, Hsieh et al., 2001, Mori et al., 2004)。

(三) 保護神經細胞 (neuroprotective effect)

β -amyloid ($\text{A}\beta$) 是一種胜肽 (peptide)， $\text{A}\beta$ 在腦內的沈積會造成神經斑塊 (senile plaque) 的發生，因 senile plaque 的聚集與認知障礙相關，且 $\text{A}\beta$ 具有

神經毒性，因此 A β 被視為阿茲海默症的主要病理因素，A β 在疾病發生初期就會出現。Kim 等人以 A β 處理神經母細胞瘤 (neuroblastoma) 細胞株，可以發現神經細胞存活率顯著的降低，若同時以天麻區分物處理，則可以顯著的減少細胞的死亡，尤以 diethyl ether 區分物效果最為顯著 (Kim et al., 2003b)。

1999 年，Lee 等人以 IMR32 細胞株進行實驗，發現 glutamate 會增加細胞內 Ca⁺² 濃度因而造成細胞凋亡、造成 DNA 裂解；而天麻中主要成分 vanillin 及 p-hydroxybenzaldehyde 可以抑制 glutamate 造成的 Ca⁺² influx 而保護 IMR-32 細胞凋亡，此結果可能為天麻具有抗癲癇效果的原因之一 (Lee et al., 1999)。

Kim 等人研究發現連續給予 14 天的天麻酒精萃出物的乙醚區分物 (ether fraction of methanol extracts, EFME) 500 mg/kg bw，可延緩注射 kainic acid (45 mg/kg i.p.) 造成的神經細胞改變，並減少癲癇發作的嚴重程度及海馬迴 (hippocampus) CA1 及 CA3 的傷害；研究證實天麻 EFME 具有抗癲癇及保護神經細胞免於 kainic acid 早成的興奮毒性 (Kim et al., 2001)。

Kim 等人在 2003 年研究證實 EFME 具有保護神經細胞因暫時的全局性腦部缺血 (global ischemia) 傷害的效果 (Kim et al., 2003a)。實驗發現，在施行 global ischemia 手術前，連續給予沙鼠 (gerbils) 天麻 EFME 500 mg/kg bw (po) 14 天，可顯著的減少海馬迴 CA1 細胞的傷害。

謝等人在 2005 年的動物實驗中發現，1.0 g/kg 天麻萃出物 (GE) 可以減少注射至 hippocampus 的 kainic acid 引起的 ED-1 染色細胞，0.5 及 1.0 g/kg GE 則可減少細胞凋亡及 n-NOS 染色細胞 (neuronal nitric oxide synthase)。此研究證實 GE 可以減少 n-NOS、microglia 活性及細胞凋亡，顯示 GE 具有保護神經細胞免於 kainic acid 傷害的功能 (Hsieh et al.,

2005)。

(四) 抗血小板凝集 (anti-platelet)

Pyo 等人在 2004 年自天麻甲醇萃出物中分離出九種酚類物質 (1-9) 及兩種 furan 類成分 (10、11)，compound 1 為新發現的化合物 4,4'-dihydroxybenzyl sulfone，compound 10 為 4,4'-dihydroxybenzyl sulfone，是第一次自天麻中分離出來的，這些化合物都具有抑制血小板凝集的能力(Pyo et al., 2004)

(五) 改善心血管疾病

含有天麻的中醫藥方 Nao Li Shen 被用來治療頭部傷害及腦血管疾病，因此 Lu 等人將之進行動物實驗與臨床實驗(Lu et al., 1997)；實驗結果發現口服給予沙鼠 Nao Li Shen 可以增加腦部缺血及缺氧的耐受力；臨床試驗中，以右腦血流量、TCD 及 CT 作為指標，發現對於 96%的病人有顯著的改善效果；此研究證實 Nao Li Shen 可以治療腦部損傷並對腦血管疾病的後遺症有正向的幫助。

Zhenxuanyin 為另外一個含有天麻的中醫藥方，Jungyi 等人以 4-vessel occlusion (4VO) 動物模式，結果發現給予 0.03、0.3、1 及 3 g/kg bw 的 Zhenxuanyin 可以大幅增加 30 分鐘的腦血管完全阻塞後受損皮質的血流量，在 0.3 g/kg bw 劑量下，更可以使血流量恢復至正常(Jingyi et al., 1997)。

缺血性中風是死亡的主因之一，而且會帶來長期的失能；Yu 等人以天麻及其中主要成分 p-hydroxybenzyl alcohol (p-HBA) 進行實驗，證實天麻萃出物及 p-HBA 在暫時性的局部缺血後，可以透過增加抗氧化基因的表現而具有保護神經細胞的效果(Yu et al., 2005)。在施行暫時的全面性腦部缺血 (global ischemia) 手術前，連續給予沙鼠 (gerbils) 天麻甲醇萃出物的乙醚區分物 (EFME) 500 mg/kg bw (po) 14 天，可顯著的減少海馬迴 CA1 細胞的傷害(Kim et al., 2003a)。

(六) 增進學習記憶能力

Wu 等人以 inhibitory avoidance task 進行學習及

記憶能力相關試驗；實驗中，給予天麻甲醇萃出物 1.0 g/kg bw 一週，可以延長 inhibitory avoidance task 中由 scopolamine 縮短的 step-through latency；此外，給予 50.0 mg/kg bw 天麻甲醇萃出物之 ethyl acetate 與 n-butanol 區分物，也具有相同的效果。顯示 gastrodin 與 p-hydroxybenzyl alcohol 可能為天麻中改善記憶與學習能力的活性成分(Wu et al., 1996a)。

進一步，學者探討 p-hydroxybenzyl alcohol (p-HBA) 可能的作用機制；研究發現，在 inhibitory avoidance task 中，p-HBA 可以改善由血清素釋放劑 (serotonin releaser) p-chloroamphetamine 及 apomorphine (dopaminergic receptor agonist) 造成的記憶力缺失，但無法改善由 scopolamine (cholinergic receptor antagonist) 造成的記憶力損害；由此結果推測 p-HBA 藉由抑制 dopaminergic 及 serotonergic 活性來改善學習能力(Wu et al., 1996b)。

Hsieh 等學者在 1997 年在 inhibitory avoidance task 模式中，以 gastrodin 與 p-HBA 為材料進行學習及記憶能力的 acquisition、consolidation 及 retrieval 之實驗；實驗結果發現，gastrodin 及 p-HBA 無法改善 scopolamine 造成之 learning acquisition 障礙，但 50 mg/kg gastrodin 及 5 mg/kg p-HBA 可以改善 cycloheximide 造成的 memory consolidation 障礙，5 mg/kg gastrodin 及 1 mg/kg p-HBA 也可改善 apomorphine 造成的 memory retrieval 障礙。研究證實天麻中主要成分 gastrodin 與 p-HBA 可以改善失憶問題，可以改善學習記憶的 consolidation 及 retrieval (Hsieh et al., 1997)。

Hsieh 等人以不同中藥材進行改善記憶力缺失的研究，研究發現天麻是具有延長因 scopolamine 縮短之 step-through latency 的能力，證實連續服用天麻一週，可以顯著的改善記憶及學習能力(Hsieh et al., 2000)。

貳、材料與方法

本計畫主要之研究內容：A. 以 forced-swimming test 動物實驗模式，瞭解天麻萃出物對大鼠的抗憂鬱效果。B. 檢測大鼠不同腦部區域或血液中單胺類物質及其代謝產物的含量，以瞭解天麻萃出物對單胺類物質濃度及代謝情形之影響。C. 以 Morris water maze 及 inhibitory avoidance task 動物實驗模式，瞭解天麻萃出物改善憂鬱情形引起的記憶力衰退之能力。

一、實驗材料

實驗材料為天麻水萃物。5 公斤天麻經過兩次萃取，分別以 35 公升及 25 公升水煮沸 1 小時及 50 分鐘；經過過濾及冷凍乾燥後，即得天麻水萃物，產率約 18.9%。

二、天麻萃出物抗憂鬱能力之探討

(一) 實驗動物飼養

四周齡雄性 Narl:SD 大鼠購自樂斯科生物科技公司，飼養在台大食品科技研究所動物房中，環境控制在 12 hr/12hr 光週期循環、溫度維持在 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，任期隨意飲水與食用飼料 (PMI Feed, St. Louis, MO, USA)，於五～六週齡時開始進行實驗。

將老鼠隨機分為五組，控制組、天麻低劑量組、天麻高劑量組與正對照組，每組 12 隻，分別以管餵方式給予 10 ml/kg 水、0.5 g/kg 天麻水萃物、1.0 g/kg 天麻水萃物及 18 mg/kg Prozac，每天一次，連續餵食 21 天。

(二) Forced-swimming test (FST) 動物實驗之進行

Forced-swimming test 是由 Porsolt 等人於 1977 年發展出來的實驗方法(Porsolt et al., 1977)，設備為一直徑 21 公分之透明玻璃圓桶，注入約 30 公分高之水柱使老鼠無法踏到底部。實驗第 21 天時，將老鼠置於其中 15 分鐘 (pretest)，以毛巾擦拭並以吹風機吹乾，並管餵給予第 21 天之樣品；經過 24 小時再進行相同實驗 5 分鐘 (test)，並將過程錄影，以觀察老鼠在過程中之行為，紀錄老鼠的活動 (activity) 與不活動 (immobility)

時間；不活動行為的判斷標準為：老鼠完全不活動，或是其四肢僅有輕微的擺動以維持鼻孔在水平面上；而活動行為則為激烈掙扎或游泳。

三、單胺類物質含量之分析

(一) 腦組織之取得

forced-swimming test 實驗完成後，隨即以斷頭方式將老鼠犧牲，在冰上操作，取出鼠腦。腦部依 Glowinski 氏法(Glowinski and Iversen, 1966) 將之分成大腦皮質前區 (frontal cortex)、紋狀體 (striatum)、海馬迴 (hippocampus) 與杏仁核 (amygdala) 等四部分，裝在夾鏈袋中，於-80°C 中保存。

(二) 腦組織中單胺類物質之萃取

萃取方式參考 Cheng 等學者的方法，調整後進行 (Cheng et al., 1993)。以 10^{-7} M ascorbic acid、1.5mg/100ml pargyline、50pg/ μ l isoproterenol 之 0.1N HCl 溶液為抽取液，腦組織加入 5 ml 抽取液後以組織均質機均質，接著在 4°C 下 10000 \times g 離心 20 分鐘，取上清液保存-80°C，以待進一步分析。

(三) 單胺類物質之分析

將上清液過濾，以 HPLC-ECD (electrochemical detector) 分析單胺類物質與其代謝產物之含量。HPLC-ECD 分析條件：電化學檢出器：Amperometric Detector LC-4C，Range 10 nA，Filter 0.1 Hz，AppE cell 0.750V；電極：C-KCl refernce electrode；幫浦：Pump PM-92E；自動進樣器：CMA 200 Refrigerated Microsampler；數據處理軟體：CSW 32；分析管柱：BAS MF-6213，3 μ m，3.2 \times 100 mm；保護管柱：MetaGuard 4.6 mm Polaris 5 μ C₁₈-A；移動相：每一升含 20.5 g NaH₂PO₄，EDTA 185 mg，SOS 130 mg，Methanol 75 mL，TEA 1 mL，pH 值以磷酸調至 3.0；流速：500 μ L/min。

四、強迫游泳 (forced-swimming) 對於老鼠記憶能力之影響

(一) 實驗動物飼養

四周齡雄性 Narl:SD 大鼠，飼養在台大食品科技研究所動物房中，環境控制在 12 hr/12hr 光週期循環、溫度維持在 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，任期隨意飲水與食用飼料(PMI Feed, St. Louis, MO, USA)，於五～六週齡時開始進行實驗。

(二) 強迫游泳之進行

將老鼠隨機分成對照組 (Con)、學習影響組 (A)、固化影響組 (C) 以及提取影響組 (R)，其中，學 A、C、R 三組分別在 Morris water maze 與 inhibitory avoidance task 的訓練期前 5 分鐘、訓練期後 5 分鐘、以及試驗期前 5 分鐘進行強迫游泳。強迫游泳於直徑 21 公分之透明玻璃圓桶進行，注入約 30 公分高之水柱後，將老鼠置於其中 15 分鐘，時間到後，由操作人員將老鼠拿起，在暖氣機旁以毛巾將老鼠擦乾並烘乾。

(三) inhibitory avoidance task 之進行

此實驗設備為一分隔成兩室的箱子，包括光照的明室與有電擊設備的暗室，兩室之間有可滑動的活門控制的小通道。起初，老鼠被放在明室中，背對通道；當老鼠轉身，即開啟通道；當老鼠走入暗室中，再次關上通道，並施予電極 (1.2 mA, 1s)，五秒後將老鼠移出，並放回籠子裡。24 小時後，老鼠再次背對通道被放入明室中，並記錄老鼠自實驗開始到進入暗室的時間，若老鼠在 600 秒內都沒有進入暗室，則記錄為 600 秒。

(四) Morris water maze 之進行

Morris water maze 主要設備為一位在牆上有特殊信號房間中的塑膠池子 (直徑 224 公分、高 46 公分)，實驗時會在池子中裝入高約 36 公分的水，並放上一個透明的塑膠平台 (25x25 公分，高 32 公分)。實驗分為三個階段：(1) 為期兩天的適應期，老鼠被放入沒有平台池子中，任其游泳 2 分鐘後再拿起；(2) 接下來連續六天為訓練期，老鼠被放入此設備中任其游泳，連續四次，每次都隨機自不同象限放入，直到老鼠踏上平台，並記錄老鼠自下水到踏上平台的時間(此時間稱為逃離潛伏期 escape latency)；若老鼠超過 120 秒仍未踏上平台，則由實驗人員將之置於平台上，老鼠必須在平台上要停留 60 秒；每天的訓練結束後，老鼠自水中移開，

以毛巾將之擦乾並以暖氣機烘乾後，再放回原 cage 中；(3) 在訓練期最後一天的隔天進行，老鼠被放入沒有平台的池子中兩分鐘，記錄老鼠在每一個象線游泳的時間，如果老鼠記憶能力佳，會記得過去幾天平台的位置，因而傾向在那個象線活動。

五、天麻萃出物對於減退之情緒記憶力改善效果

(一) 實驗動物飼養

購自樂斯科公司之四週齡雄性 Narl:SD 大鼠，飼養在台大心理系動物房中，環境控制在 12 hr/12hr 光週期循環、溫度維持在 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，任期隨意飲水與食用飼料 (PMI Feed, St. Louis, MO, USA)，於五～六週齡時開始進行實驗。

將老鼠隨機分為四組，控制組、天麻低劑量組、天麻高劑量組與正對照組，每組 12 隻，分別以管餵方式給予 10 ml/kg bw 水、0.5 g/kg bw 天麻水萃物、1.0 g/kg bw 天麻水萃物及 18 mg/kg bw Prozac，每天一次，連續餵食 21 天。

(二) 憂鬱情緒之誘導

實驗第 21 天時，將老鼠置於裝水的玻璃圓柱桶中 15 分鐘，以強迫游泳，誘導出老鼠的憂鬱情緒，隨後以毛巾擦拭並以暖氣機烘乾，五分鐘後進行 inhibitory avoidance task 的訓練階段。

(三) inhibitory avoidance task 之進行

六、天麻萃出物對於減退之空間記憶力改善效果

(一) 實驗動物飼養

購自樂斯科公司之四週齡雄性 Narl:SD 大鼠，飼養在台大心理系動物房中，環境控制在 12 hr/12hr 光週期循環、溫度維持在 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，任期隨意飲水與食用飼料 (PMI Feed, St. Louis, MO, USA)，於五～六週齡時開始進行實驗。

將老鼠隨機分為四組，控制組、天麻低劑量組、天麻高劑量組與正對照組，每組 12 隻，分別以管餵方式給予 10 ml/kg bw 水、0.5 g/kg bw 天麻水萃物、1.0 g/kg

bw 天麻水萃物及 18 mg/kg bw Prozac，每天一次，連續
餵食 21 天。

(二) 憂鬱情緒之誘導

實驗第 20 及 21 天時，將老鼠置於裝水的玻璃圓
柱桶中 15 分鐘，以強迫游泳，誘導出老鼠的憂鬱情緒，
隨後以毛巾擦拭並以暖氣機烘乾，五分鐘後進行 Morris
water maze 的訓練階段。

(三) Morris water maze 之進行

七、統計分析

在 Forced-swimming test 及 Morris water maze 中所得
之實驗數據，以平均值±標準差 (mean±SD) 表示，數據若
大於平均值±2SD 即視為離群值而予以刪除；採用 SAS 電腦
統計套裝軟體中之變異數分析 (analysis of variance，簡稱
ANOVA) 配合 Duncan's test 進行統計分析，以客觀分析實
驗數據間是否達到顯著性差異。而在 inhibitory avoidance
task 所得之數據，則以中位數±四分位差 (medium±
interquartile range) 來表示，以 STATISTICA 統計軟體進行
無母數統計，*p* 值小於 0.05 視為具有顯著性差異。

參、結果

一、天麻萃出物在動物實驗模式中之抗憂鬱能力

連續給予大鼠天麻水萃物 21 天後，以 forced-swimming test (FST) 測試大鼠之憂鬱行為，結果如圖一所示：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物的低劑量組、給予 1 g/kg bw 的高劑量組，以及給予抗憂鬱劑 fluoxetine (18 mg/kg bw) 的組別，在 FST 測試結果中，對不活動時間均具有顯著的影響 ($F_{3,28} = 7.69, p=0.0007$)，與對照組相比，天麻低劑量組 ($F_{1,14}=18.4, p=0.0007$)、高劑量組 ($F_{1,14}=7.2, p=0.0178$) 與 Prozac 組 ($F_{1,14}=20.07, p=0.0005$) 均顯著的減少代表絕望的不活動時間 (immobility duration)。其中，低劑量組的不活動時間又低於高劑量組，但彼此之間/並無顯著性差異。

二、天麻萃出物對於大鼠腦部單胺類物質之影響

經 FST 之大鼠，在斷頭犧牲後，其腦部單胺類物質及其代謝產物的分析結果如表一及表二所示。表一為大鼠皮質 (frontal cortex)、海馬回 (hippocampus) 及杏仁核 (amygdala) 中，血清素 (serotonin, 5-HT) 及其代謝產物 5-HIAA 的含量；結果顯示，給予天麻水萃物及 Prozac 的組別，大鼠腦部 5-HIAA 的含量與控制組相比均顯著性降低，而 5-HT 含量則僅高劑量天麻組在皮質中顯著性較高。

表二為大鼠腦部紋狀體中多巴胺 (dopamine, DA) 及其代謝產物 DOPAC 及 HVA 的含量。結果顯示，給予天麻水萃物的組別，不論是高低劑量，與對照組相比，均顯著的增加 DA 濃度，且能降低 DOPAC 與 HVA 之濃度。

三、不同時期經歷強迫游泳之老鼠在 inhibitory avoidance task 表現之影響

在不同時期給予 15 分鐘的強迫游泳，對於大鼠在情緒記憶方面的學習記憶能力之影響，結果如圖二所示。訓練期後一天的測試結果顯示，三組實驗組中，僅學習影響組 (A)，與對照組 (Con) 相比具有顯著性差異 ($p < 0.01$)：因記錄僅持續至 600 秒，在訓練後第一天的測試結果可見固化影響組 (C) 及提取影響組 (R) 與對照組均具有很強

的情緒記憶力，但彼此之間看不出差異，因此在訓練後 20 天再進行一次測試。

訓練後 20 天的測試結果顯示：對照組老鼠的記憶能力已顯著性下降，與訓練後 1 天的測試結果相比具有顯著性差異 ($p < 0.05$)；A 組記憶力也有降低的趨勢，但與訓練後 1 天的測試結果並無顯著性差異；C 組與 R 組在 20 天後，其 step-through latency 仍維持在最高紀錄時間 600 秒。

經此實驗結果顯示，在訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘，對於大鼠在 inhibitory avoidance task 中的情緒記憶具有較明顯的影響，因此後續實驗將在訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳。

四、不同時期經歷強迫游泳之老鼠在 Morris water maze 表現之影響

在不同時期給予 15 分鐘的強迫游泳，對於大鼠在空間記憶方面的學習記憶能力之影響，結果如圖三及圖四所示。

圖三顯示：訓練期第一天 (session 1)、訓練期第二天 (session 2) 與測試期 (test) 中，學習影響組 (A) 的學習記憶能力均較控制組低，但兩組間僅在訓練期第一天 ($F_{1,16}=8.95, p=0.0086$) 及測試期 ($F_{1,16}=12.64, p=0.0026$) 具有顯著性差異；固化影響組 (C) 在各時期之測試結果均略差或相似於控制組，但均無顯著性差異；提取影響組 (R) 在測試期與控制組有顯著性差異，其 escape latency 顯著性高於控制組 ($p < 0.05$)。

訓練期第一天、訓練期第二天與測試期連續三天的結果顯示 (圖三)，控制組的學習記憶能力隨訓練時期增加而有加強的效果 (訓練期第二天與測試期的 escape latency 顯著低於訓練期第一天)，A 組在訓練期第二天的記憶能力也顯著的優於訓練期第一天 ($F_{1,16}=8.02, p=0.012$)；C 組與 R 組的 escape latency 雖分別有隨時間降低與升高的趨勢，但並無顯著性差異。

圖四為移除平台試驗的結果，其中，C 組與 R 組在目標象限停留與對側象限的停留時間與控制組無顯著性差異，A 組在目標象限的停留時間則顯著性較控制組低 ($F_{1,16}=13.77, p=0.0019$)，此外，A 組在對側象限停留的時間也有較長的趨勢，但與對照組相比無顯著性差異。

經此實驗結果顯示，在訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘，對於大鼠在 Morris water maze 中的空間記憶具有較明顯的影響，因此後續實驗將在訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳。

五、天麻水萃物對於經歷強迫游泳之老鼠在 inhibitory avoidance task 表現之影響

連續給予大鼠 21 天天麻水萃物後，在訓練期前 5 分鐘經歷強迫游泳的大鼠在 inhibitory avoidance task 中之情緒記憶的表現，結果如圖五顯示。

給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物的低劑量組、給予 1 g/kg bw 天麻水萃物的高劑量組，以及給予 18 mg/kg bw fluoxetine 的正對照組，在 inhibitory avoidance task 中的表現均顯著性優於僅給予 10 mg/kg bw 水的控制組，其中，以低劑量組的 step-through latency 最長，正對照組次之，高劑量組再次之。

六、天麻水萃物對於經歷強迫游泳之老鼠在 Morris water maze 表現之影響

連續給予大鼠 21 天天麻水萃物後，在訓練期前 5 分鐘經歷強迫游泳的大鼠在 Morris water maze 中之空間記憶的表現，結果如圖六～八所示。

圖六為大鼠在訓練期第一天 (session 1) 訓練期第二天 (session 2) 及測試期 (test) 三天，分別為四、四、三次抵達平台時間 (escape latency) 的平均值。由圖可見，在 session 1 除了高劑量組之外，低劑量組及正對照組與控制組相比均無顯著性差異，在 session 2 及 test，四個組別之間也無顯著性差異。給予天麻水萃物的組別及控制組，在連續三天的實驗中，其 escape latency 有逐漸下降的趨勢，而正對照組則沒有差異。

若獨立看測試期第一次結果，如圖七所示，不同組別之 escape latency 具有顯著性差異 ($F_{3,28}=5.06$, $p=0.0063$)，其中，給予天麻水萃物低劑量的組別，其 escape latency 顯著性較低。

圖八為移除平台試驗的結果，大鼠在對側象限停留的時間，四個組別之間並無顯著性差異；但在目標象限停留時間，則以天麻低劑量組顯著性較控制組與正對照組高

($F_{3,28}=4.01$, $p<0.05$)，低劑量組與高劑量組之間並無顯著性差異；給予天麻水萃物的組別，在目標象限停留的時間均顯著的高於在對側象限停留的時間。

肆、討論

一、天麻水萃物在動物實驗模式中之抗憂鬱能力

由實驗結果發現，給予天麻水萃物的組別，不論是低劑量組（0.5 g/kg bw）或是高劑量組（1 g/kg bw），在 FST 中均具有顯著的抗憂鬱效果，與正對照組 Prozac 結果相當，但可以看出低劑量組有優於高對照組的趨勢（不活動時間略低於高劑量組），但並無統計上之差異。

二、天麻水萃物對大鼠腦部單胺類物質之影響

天麻水萃物及 Prozac 的給予，都會顯著性的減少 5-HIAA 的含量，而 5-HT 的含量，在海馬回及杏仁核中均檢測不到，在皮質中，高劑量天麻的給予會顯著性增加其含量，Prozac 組雖然有增加的趨勢，但並無顯著性差異。因動物實驗個體差異極大，此為研究上的困難與限制。在多巴胺及其代謝產物方面，給予天麻水萃物及 Prozac 的組別，對於多巴胺的濃度均有顯著性的提升，且可以顯著性減少其代謝產物 DOPAC 及 HVA 的含量。此結果發現大鼠腦部 5-HT 與 dopamine 的代謝速率會因為天麻水萃物的給予而有所改變，推測此可能為其抗憂鬱機制之一。

三、不同時期經歷強迫游泳之老鼠在 inhibitory avoidance task 表現之影響

本實驗目的欲瞭解強迫游泳的過程是否或影響老鼠在 inhibitory avoidance task 的表現，且影響的是記憶形成（學習記憶）、記憶的固化或是記憶的提取階段。

實驗結果發現，在訓練期之前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘的老鼠，其學習記憶能力顯著降低，而訓練期後 20 天再一次的測試結果顯示，對照組老鼠的記憶能力下降，但固化影響組（訓練期後 5 分鐘給予強迫游泳）與提取影響組（試驗期前 5 分鐘給予強迫游泳）的老鼠的 step-through latency 仍然維持在最高紀錄時間，表示在固化或提取的階段給予強迫游泳，會增強老鼠的情緒記憶。此結果證實強迫游泳的過程的確會影響大鼠情緒記憶，但對於學習階段有負面的影響，對於固化與提取階段則有強化的作用。

四、不同時期經歷強迫游泳之老鼠在 Morris water maze 表現之影響

本實驗目的欲瞭解強迫游泳的過程是否或影響老鼠在 Morris water maze 的表現，且影響的是記憶形成（學習記憶）、記憶的固化或是記憶的提取階段。

結果發現，大鼠在空間記憶的學習會因為訓練期前 5 分鐘的強迫游泳而降低，雖然經由多次的訓練會提升老鼠的記憶能力，但是仍然較對照組差；在訓練期後 5 分鐘給予強迫游泳的固化影響組，其空間記憶與對照組則具有相同的趨勢，且結果也大致相似；在測試期前 5 分鐘給予強迫游泳的提取影響組，在訓練期因為沒有經歷強迫游泳的過程，因此表現結果與對照組並無差異，但在測試階段則顯著的較對照組差。此結果表示，強迫游泳會是在大鼠在 water maze 中空間記憶的學習與提取階段表現變差，尤其以對學習階段的影響為最大，移除平台試驗的結果也證實此結果。

五、天麻水萃物對於經歷強迫游泳之老鼠在 inhibitory avoidance task 表現之影響

在先前實驗中，證實強迫游泳引起的憂鬱情緒會影響大鼠在 inhibitory avoidance task 中的學習階段，因此本實驗欲瞭解天麻水萃物的給予是否能改善經由強迫游泳減退的學習記憶能力。

實驗結果證實，天麻水萃物的給予，不論是低劑量（0.5 g/kg bw）或是高劑量（1 g/kg bw）的給予，均會改善因強迫游泳造成的學習記憶減退現象，且低劑量天麻水萃物的效果優於正對照組 Prozac。由此結果推測，天麻水萃物對於憂鬱情緒造成的情緒記憶學習能力降低，具有顯著的改善效果；且天麻水萃物與許多傳統草藥相似：藥品效果與濃度成鐘型（U-shape）關係，即在適當濃度下，有最佳之效果，過高或過低的濃度效果較不明顯。

六、天麻水萃物對於經歷強迫游泳之老鼠在 Morris water maze 表現之影響

在先前實驗中，證實強迫游泳引起的憂鬱情緒會影響大鼠在 Morris water maze 中的學習階段，因此本實驗欲瞭解天麻水萃物的給予是否能改善經由強迫游泳減退的學習記憶能力。

圖六中，大鼠在 session 1、session 2 與 test 時期的 escape

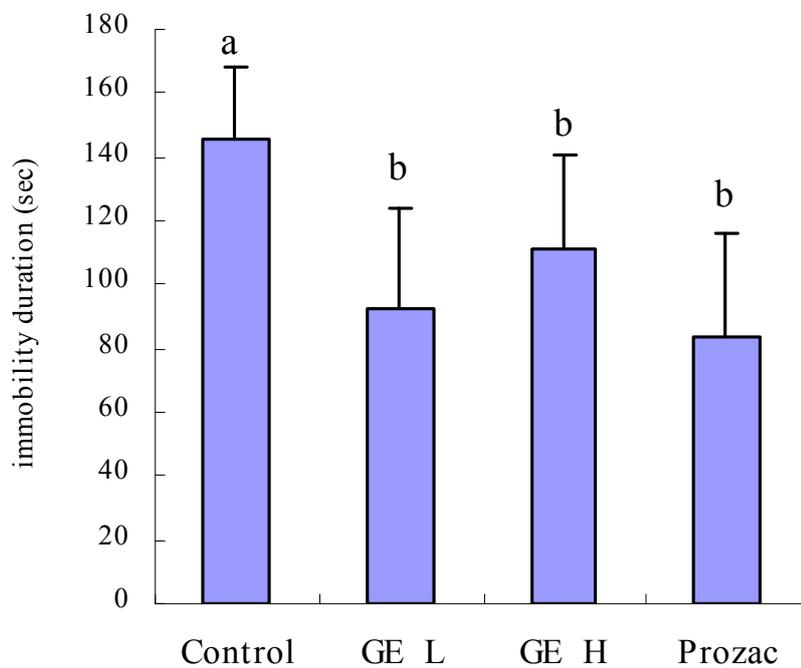
latency，四個組別之間均沒有顯著性差異，顯示給予天麻水萃物或是百憂解，並無法改善強迫游泳造成的學習記憶能力減退，高劑量組在 session 1 反而有抑制大鼠在 water maze 中學習記憶能力的情形。但若單獨觀察大鼠第一次測試期的結果，則發現低劑量組有較好的記憶能力，在移除平台試驗中，低劑量組別也有顯著性的效果。

對照天麻水萃物對於經歷強迫游泳之老鼠在 inhibitory avoidance task 表現之影響，推測此兩個 task 對於天麻水萃物的劑量反應不同，對於 water maze 而言，1.0 g/kg 的天麻水萃物，可能劑量過高而沒有改善強迫游泳引起的學習記憶力衰退之效果，0.5 g/kg 的天麻水萃物，也只有沒有經歷強迫游泳的測試期與平台測試中才有顯著的效果，可能天麻水萃物並無改善強迫游泳造成的記憶損傷的效果，但是在不經強迫游泳的測試期，則具有改善記憶能力的效果，與過去研究相符。

伍、結論與建議

由本年度計畫實驗結果來看，天麻水萃物在動物實驗中，具有顯著的抗憂鬱效果，結果與西藥 Prozac 效果相當，給予天麻或 Prozac 的組別，大鼠腦部單胺類物質 5-HT 與 dopamine 均顯著性較高，而其代謝產物 5-HIAA、DOPAC 與 HVA 則顯著性降低，推測天麻水萃物的給予，會調節單胺類物質的代謝速率，此效果可能為其抗憂鬱的機制。而天麻水萃物的給予，對於憂鬱情緒引起的情緒學習記憶衰退，也具有改善的效果，對於空間記憶則較無明顯的改善效果。

陸、圖、表



圖一 大鼠在 forced-swimming test 中的活動情形 (n=8)

control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水
萃物；GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg
bw fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

^{ab} 不同字母代表不同組別間具有統計上之差異 ($p < 0.05$)

表一 大鼠腦部 5-HT 及 5-HIAA 濃度 (ng/g)

Groups	N	5-HT	5-HIAA	
<i>Frontal cortex</i>				
Control	6	251.12 ± 489.62	247.54 ±	8.39
GE_L	6	249.49 ± 498.98	185.73 ±	5.34**
GE_H	6	1560.41 ± 655.42*	179.73 ±	5.39**
Fluoxetine	6	687.22 ± 469.99	178.20 ±	3.95**
<i>Hippocampus</i>				
Control	6	ND	796.80 ±	34.21
GE_L	6	ND	438.25 ±	38.98**
GE_H	6	ND	615.53 ±	36.17**
Fluoxetine	6	ND	669.71 ±	64.04*
<i>Amygdala</i>				
Control	3	ND	997.07 ±	91.81
GE_L	3	ND	887.13 ±	26.24
GE_H	3	ND	755.26 ±	170.24
Fluoxetine	3	ND	851.31 ±	4.89**

control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物；
GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg bw
fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

* 與對照組相比具有顯著性差異 ($p < 0.05$)

** 與對照組相比具有顯著性差異 ($p < 0.01$)

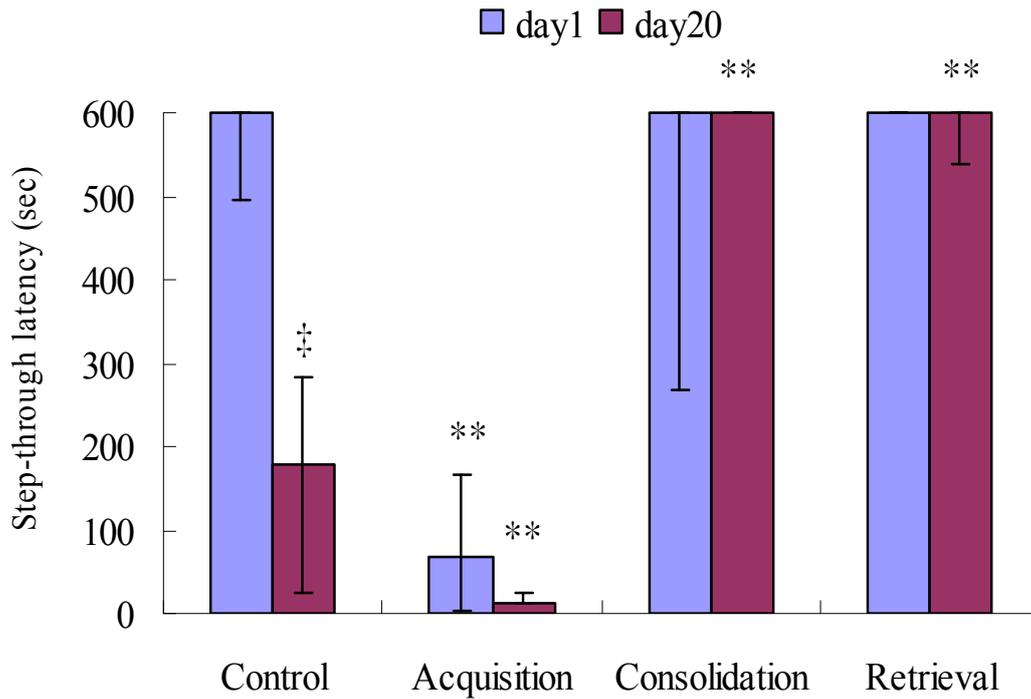
表二 大鼠腦部紋狀體 (striatum) 中 DA 及其代謝產物 DOPAC 與 HVA 之濃度 (ng/g)

Groups	N	DA		DOPAC		HVA	
Control	6	4295.63 ±	8591.26	1446.968 ±	61.78	402.09 ±	8.92
GE_L	6	50078.99 ±	11473.20**	1175.892 ±	22.42**	377.87 ±	47.90
GE_H	6	144673.25 ±	41173.89**	925.8576 ±	145.40**	365.06 ±	19.61*
Fluoxetine	6	440385.79 ±	250717.65**	1040.193 ±	32.50**	383.68 ±	7.22*

control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物；GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg bw fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

* 與對照組相比具有顯著性差異 ($p < 0.05$)

** 與對照組相比具有顯著性差異 ($p < 0.01$)

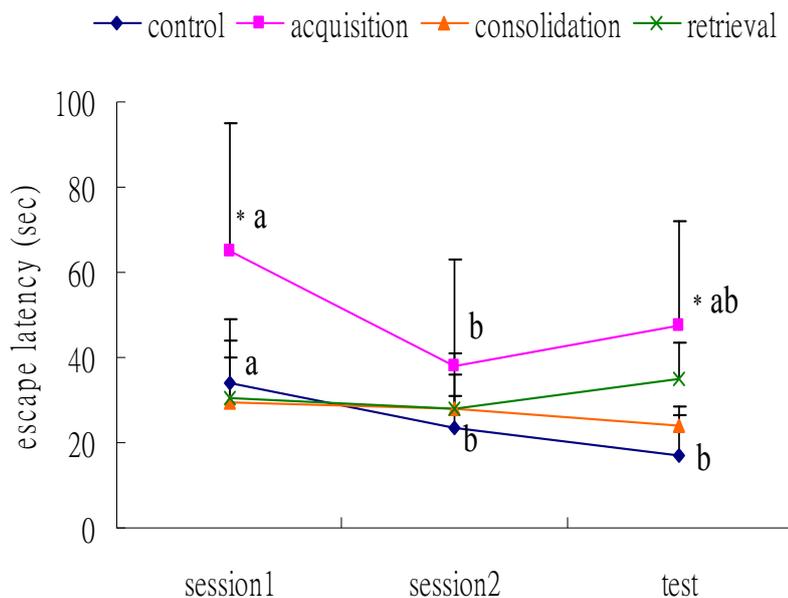


圖二 訓練後 1 天及 20 天的老鼠在 inhibitory avoidance task 中的 step-through latency (n=9)

control：不經強迫游泳；acquisition：訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；consolidation：訓練期後 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；retrieval：試驗期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘

‡ 與訓練後一天(day 1)之結果相比，具有顯著性差異($p < 0.05$)

** 與對照組相比，具有顯著性差異 ($p < 0.01$)

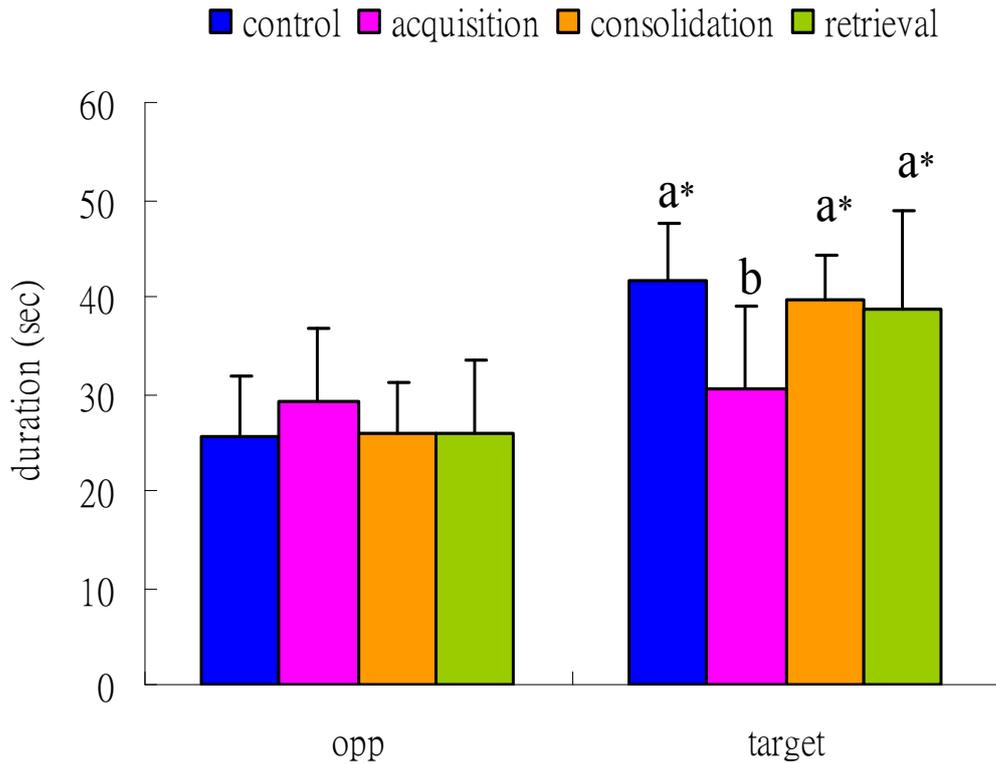


圖三 大鼠在 Morris water maze 中之 escape latency (n=8)

session 1：訓練期第一天；session 2：訓練期第二天；test：測試期
control：不經強迫游泳；acquisition：訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；consolidation：訓練期後 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；retrieval：試驗期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘

^{ab} 不同字母代表同組別在不同時期間具有顯著性差異 ($p < 0.05$)，固化影響組 (consolidation) 與提取影響組 (retrieval) 在各時期間無顯著性差異

* 與對照組相比，具有顯著性差異 ($p < 0.05$)

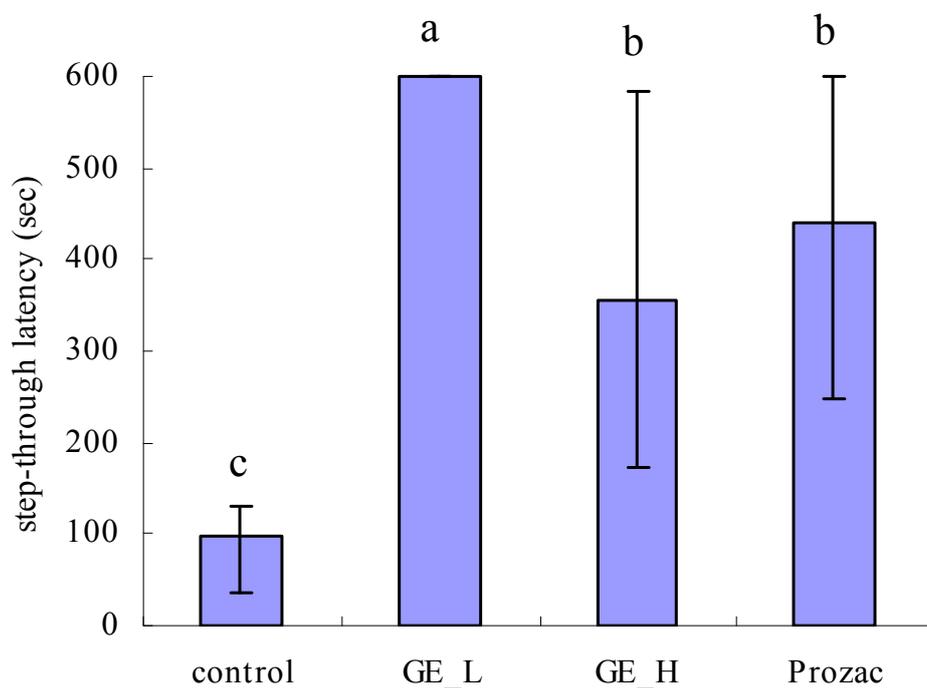


圖四 大鼠在 Moris water maze 移除平台試驗中在目標象限 (target) 與對側象限 (opp) 的停留時間 (n=9)

control：不經強迫游泳；acquisition：訓練期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；consolidation：訓練期後 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘；retrieval：試驗期前 5 分鐘給予強迫游泳 15 分鐘

* 與對照組相比，具有顯著性差異 ($p < 0.05$)

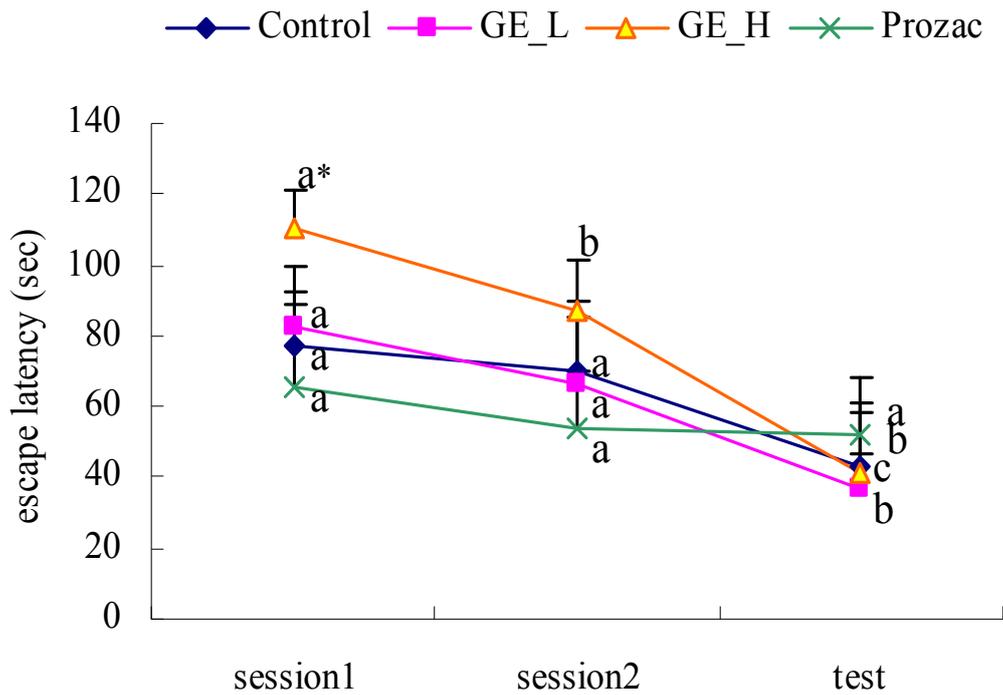
^{ab} 不同字母代表不同組別在目標象限停留時間具有顯著性差異 ($p < 0.05$)



圖五 大鼠在 inhibitory avoidance task 中的 step-through latency(n=12)

control：給予 10 ml/kg 水；GE_L：給予 0.5 g/kg 天麻水萃物；
GE_H：給予 1 g/kg 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg
fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

^{abc} 不同字母代表不同組別間具有統計上之差異 ($p < 0.05$)

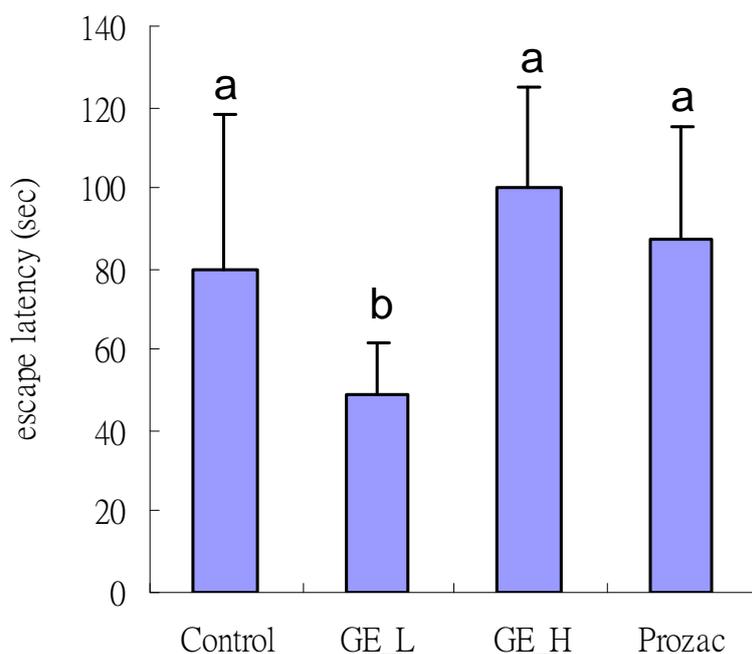


圖六 天麻對經歷強迫游泳之大鼠在 Morris water maze 中 escape latency 的影響 (n=8)

session 1：訓練期第一天；session 2：訓練期第二天；test：測試期
 control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物；GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg bw fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

* 與控制組相比有顯著性差異 ($p < 0.01$)

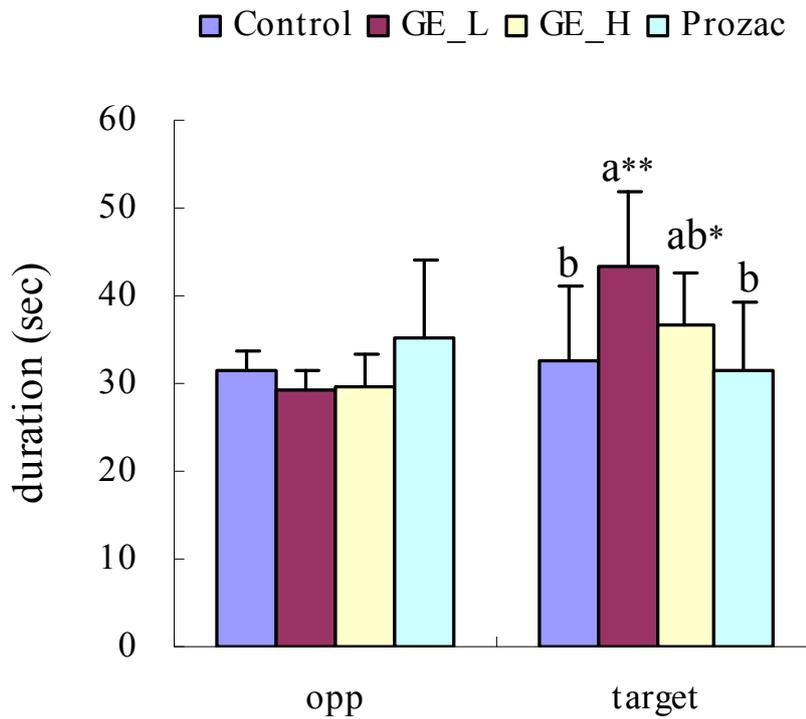
^{abc} 不同字母代表同組別在不同時期具有顯著性差異 ($p < 0.01$)



圖七 天麻對經歷強迫游泳之大鼠在 Morris water maze 中第一次測試之 escape latency 的影響 (n=8)

control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物；GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg bw fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

^{ab} 不同字母代表彼此間具有顯著性差異 ($p < 0.05$)



圖八 天麻對經歷強迫游泳之大鼠在 probe test 中於目標象限及對側象限停留時間之影響 (n=8)

control：給予 10 ml/kg bw 水；GE_L：給予 0.5 g/kg bw 天麻水萃物；GE_H：給予 1 g/kg bw 天麻水萃物；Prozac：給予 18 mg/kg bw fluoxetine，每天一次，連續給予 21 天

^{ab} 不同字母代表不同組別在目標象限停留時間具有顯著性差異 ($p < 0.05$)；不同組別在對側象限停留時間無顯著性差異

* $p < 0.05$ ；** $p < 0.01$ 與對側象限停留時間具有顯著性差異

柒、誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會（計畫編號：CCMP95-RD-033）提供經費贊助，使本計畫得以順利完成，特此誌謝。

捌、參考文獻

1. An, S. J., Park, S. K., Hwang, I. K., Choi, S. Y., Kim, S. K., Kwon, O. S., Jung, S. J., Baek, N. I., Lee, H. Y., Won, M. H. and Kang, T. C., 2003. Gastrodin decreases immunoreactivities of gamma-aminobutyric acid shunt enzymes in the hippocampus of seizure-sensitive gerbils. *J Neurosci Res.* 71, 534-543.
2. Anderson, I. M. and Tomenson, M. B., 1995. Treatment discontinuation with selective serotonin reuptake inhibitors compared with tricyclic antidepressants: a meta-analysis. *BMJ.* 310, 1433-1438.
3. Chang, C. H., Liang, K. C. and Yen, C. T., 2005. Inhibitory avoidance learning altered ensemble activity of amygdaloid neurons in rats. *European Journal Of Neuroscience.* 21, 210-218.
4. Cheng, F. C., Kuo, J. S., Shih, Y., Lai, J. S., Ni, D. R. and Chia, L. G., 1993. Simultaneous Measurement Of Serotonin, Catecholamines And Their Metabolites In Mouse-Brain Homogenates By High-Performance Liquid-Chromatography With A Microbore Column And Dual Electrochemical Detection. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 615, 225-236.
5. Chien, W. L., Liang, K. C., Teng, C. M., Kuo, S. C., Lee, F. Y. and Fu, W. M., 2005. Enhancement of learning behaviour by a potent nitric oxide-guanylate cyclase activator YC-1. *European Journal Of Neuroscience.* 21, 1679-1688.
6. Druss, B., Hoff, R. and Rosenheck, R., 2000. Underuse of antidepressants in major depression: prevalence and correlates in a national sample of young adults. *J Clin Psychiatry.* 61, 234-237.
7. Glowinski, J. and Iversen, L. L., 1966. Regional Studies Of Catecholamines In Rat Brain. I. Disposition Of [3h]Norepinephrine

- [3h]Dopamine And [3h]Dopa In Various Regions Of Brain. *J Neurochem.* 13, 655-669.
8. Ha, J. H., Lee, D. U., Lee, J. T., Kim, J. S., Yong, C. S., Kim, J. A., Ha, J. S. and Huh, K., 2000. 4-Hydroxybenzaldehyde from *Gastrodia elata* Bl. is active in the antioxidation and GABAergic neuromodulation of the rat brain. *J Ethnopharmacol.* 73, 329-333.
9. Hsieh, C. L., Chang, C. H., Chiang, S. Y., Li, T. C., Tang, N. Y., Pon, C. Z., Hsieh, C. T. and Lin, J. G., 2000. Anticonvulsive and free radical scavenging activities of vanillyl alcohol in ferric chloride-induced epileptic seizures in Sprague-Dawley rats. *Life Sci.* 67, 1185-1195.
10. Hsieh, C. L., Chen, C. L., Tang, N. Y., Chuang, C. M., Hsieh, C. T., Chiang, S. Y., Lin, J. G. and Hsu, S. F., 2005. *Gastrodia elata* BL mediates the suppression of nNOS and microglia activation to protect against neuronal damage in kainic acid-treated rats. *Am J Chin Med.* 33, 599-611.
11. Hsieh, C. L., Chiang, S. Y., Cheng, K. S., Lin, Y. H., Tang, N. Y., Lee, C. J., Pon, C. Z. and Hsieh, C. T., 2001. Anticonvulsive and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. in kainic acid-treated rats. *Am J Chin Med.* 29, 331-341.
12. Hsieh, M. T., Peng, W. H., Wu, C. R. and Wang, W. H., 2000. The ameliorating effects of the cognitive-enhancing Chinese herbs on scopolamine-induced amnesia in rats. *Phytother Res.* 14, 375-377.
13. Hsieh, M. T., Wu, C. R. and Chen, C. F., 1997. *Gastrodin* and *p*-hydroxybenzyl alcohol facilitate memory consolidation and retrieval, but not acquisition, on the passive avoidance task in rats. *J Ethnopharmacol.* 56, 45-54.
14. Jamison, K. and Goodwin, F., 1999. Suicide in manic-depressive illness. In: Jamison, K. and Goodwin, F. (Eds.), *Manic-Depressive Illness*, pp. 227-244.
15. Jingyi, W., Yasuhiro, M., Naoya, H., Seok, R. C., Yoshiharu, Y., Nagara, T., Fumiko, T., Shigeru, M. and Junji, K., 1997. Observation on the effects of Chinese medicine *zhenxuan* for improving cerebral blood flow in rats with cerebral ischemia. *J Tradit Chin Med.* 17, 299-303.
16. Kim, H. J., Lee, S. R. and Moon, K. D., 2003a. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia elata*, medicinal herb protects against

- neuronal cell damage after transient global ischemia in gerbils. *Phytother Res.* 17, 909-912.
17. Kim, H. J., Moon, K. D., Lee, D. S. and Lee, S. H., 2003b. Ethyl ether fraction of *Gastrodia elata* Blume protects amyloid beta peptide-induced cell death. *J Ethnopharmacol.* 84, 95-98.
18. Kim, H. J., Moon, K. D., Oh, S. Y., Kim, S. P. and Lee, S. R., 2001. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia elata*, a traditional medicinal herb, protects against kainic acid-induced neuronal damage in the mouse hippocampus. *Neurosci Lett.* 314, 65-68.
19. Lee, Y. S., Ha, J. H., Yong, C. S., Lee, D. U., Huh, K., Kang, Y. S., Lee, S. H., Jung, M. W. and Kim, J. A., 1999. Inhibitory effects of constituents of *Gastrodia elata* Bl. on glutamate-induced apoptosis in IMR-32 human neuroblastoma cells. *Arch Pharm Res.* 22, 404-409.
20. Lepine, J., Gastpar, M., Mendlewicz, J. and Tylee, A., 1997. Depression in the community: the first pan-European study DEPRES (depression Research in European Society). *Int Clin Psychopharmacol.* 12, 19-29.
21. Liu, J. and Mori, A., 1992. Antioxidant and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. *Neuropharmacology.* 31, 1287-1298.
22. Liu, J. and Mori, A., 1993. Antioxidant and pro-oxidant activities of p-hydroxybenzyl alcohol and vanillin: effects on free radicals, brain peroxidation and degradation of benzoate, deoxyribose, amino acids and DNA. *Neuropharmacology.* 32, 659-669.
23. Lu, S. L., Liu, X., Wang, J. L., Ying, Q., Hu, S. G., Hu, P. P., Zhu, G. P., Zhen, H. W., Bai, Y. T. and Wang, Q., 1997. The development of nao li shen and its clinical application. *J Pharm Pharmacol.* 49, 1162-1164.
24. Mori, A., Yokoi, I., Noda, Y. and Willmore, L. J., 2004. Natural antioxidants may prevent posttraumatic epilepsy: a proposal based on experimental animal studies. *Acta Med Okayama.* 58, 111-118.
25. Pampallona, S., Bollini, P., Tibaldi, G., Kupelnick, B. and Munizza, C., 2002. Patient adherence in the treatment of depression. *Br J Psychiatry.* 180, 104-109.

26. Parikh, S., Lesage, A., Kennedy, S. and Goering, P., 1999. Depression in Ontario: under-treatment and factors related to antidepressant use. *J Affect Disord.* 52, 67-76.
27. Porsolt, R. D., Le Pichon, M. and Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 266, 730-732.
28. Pyo, M. K., Jin, J. L., Koo, Y. K. and Yun-Choi, H. S., 2004. Phenolic and furan type compounds isolated from *Gastrodia elata* and their anti-platelet effects. *Arch Pharm Res.* 27, 381-385.
29. Wu, C. R., Hsieh, M. T., Huang, S. C., Peng, W. H., Chang, Y. S. and Chen, C. F., 1996a. Effects of *Gastrodia elata* and its active constituents on scopolamine-induced amnesia in rats. *Planta Med.* 62, 317-321.
30. Wu, C. R., Hsieh, M. T. and Liao, J., 1996b. p-Hydroxybenzyl alcohol attenuates learning deficits in the inhibitory avoidance task: involvement of serotonergic and dopaminergic systems. *Chin J Physiol.* 39, 265-273.
31. Yu, S. J., Kim, J. R., Lee, C. K., Han, J. E., Lee, J. H., Kim, H. S., Hong, J. H. and Kang, S. G., 2005. *Gastrodia elata* blume and an active component, p-hydroxybenzyl alcohol reduce focal ischemic brain injury through antioxidant related gene expressions. *Biol Pharm Bull.* 28, 1016-1020.
32. 吳永昌、林宜信、謝伯舟、陳崇哲、羅淑惠 (2004)。中藥對照用指標成份物理化學資料彙編專書。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。
33. 陳忠川、林宜信、謝伯舟、陳崇哲 (2004)。台灣市售中藥材真偽及代用品圖集。台北：行政院衛生署中醫藥委員會。

