

远志皂苷对 β -淀粉样肽和鹅膏蕈氨酸引起胆碱能系统功能降低的影响

陈 勤*, 曹炎贵, 张传惠

(安徽大学生命科学学院天然药物研究所, 安徽 合肥 230039)

摘要: 目的 观察远志皂苷对拟痴呆模型大鼠胆碱能系统功能的作用。方法 在大鼠脑内右侧基底核内联合注射 β -淀粉样肽 1~40 片段(β -AP₁₋₄₀)和鹅膏蕈氨酸建立大鼠拟痴呆模型,用避暗法测定模型动物的学习记忆能力,用放射配体结合分析法测定胆碱乙酰转移酶活性和 M 受体密度,用改良 Ellman 法测定脑组织乙酰胆碱酯酶活性。结果 给模型大鼠连续 ig 远志皂苷 60 d 后,远志皂苷能明显提高拟痴呆大鼠的学习记忆能力,显著升高脑内 M 受体密度和增强胆碱乙酰转移酶活性,能有效地抑制脑胆碱酯酶活性。结论 远志皂苷对老年性痴呆的胆碱能系统功能减退有一定的改善和治疗作用。

关键词: 远志皂苷; β -淀粉样肽; 拟痴呆模型; 学习记忆; 胆碱乙酰转移酶; 乙酰胆碱酯酶; M 受体密度

中图分类号: R282.71; R965 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2002)12-0913-05

远志(*Radices polygalae*)系远志科远志属植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 或宽叶远志 *P. sibirica* L. 的干燥根。从远志中分离出的远志皂苷(tenuigenin, TEN)被认为是远志的主要有效成分之一。药理研究表明,远志皂苷在抗衰老、益智、抗氧化、降压等方面有广泛的生物活性^[1,2]。但有关远志皂苷能否改善或延缓老年性痴呆(Alzheimer's disease, AD)胆碱能系统功能,至今尚未见到这方面的研究报告。为此本文建立了基底核内定位联合注射淀粉样肽 1~40 片段(β -amyloid peptide 1~40, β -AP₁₋₄₀)和鹅膏蕈氨酸(ibotenic acid, IBO)拟痴呆大鼠模型,观察了 TEN 对痴呆大鼠的学习记忆力、胆碱乙酰转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)和乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性以及胆碱能受体(muscarinic receptor, MR)密度的影响,以此评价远志皂苷对拟痴呆大鼠胆碱能系统功能的作用。

材 料 与 方 法

动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,3 月龄,体重 230~280 g,♀ ♂各半,安徽医科大学实验动物中心提供。

药品与试剂 远志皂苷(批号:010326),由本所中药制剂室自制,含远志皂苷甲素、远志皂苷乙素等

成分,经高效液相色谱法测定,其中远志皂苷甲素含量为 72%。实验前用生理盐水(normal saline, NS)配制,4℃保存。他克林(tacrine)、碘化胆碱-3-庚烷酮、毒扁豆碱和乙酰辅酶 A 均为 Sigma 公司产品;³H-乙酰辅酶 A, 185 GBq(5 Ci)·mmol⁻¹, Amersham 产品;四苯硼钠, Aldrich 公司产品。 β -AP₁₋₄₀, Sigma 公司产品,临用前以无菌生理盐水将 β -AP₁₋₄₀ 稀释成 8 g·L⁻¹, 37℃ 孵育 1 周,使其变为聚集状态 β -AP。鹅膏蕈氨酸, Sigma 公司产品,以无菌生理盐水配制成 2 g·L⁻¹。³H-二苯羟乙酸奎宁酯([³H] quinuclidinyl benzilate, ³H-QNB), 英国 Amersham 公司产品,比活度为 1.5 Bq(42 Ci)·mmol⁻¹;非标记二苯羟乙酸奎宁酯(QNB), Sigma 公司产品,用时以磷酸盐缓冲液 PBS₁ (50 mmol·L⁻¹, pH 7.7) 稀释至 0.4 μ mol·L⁻¹, 终浓度为 0.1 μ mol·L⁻¹; PBS₂ 即 PBS₁ 中加入蔗糖 25 mmol·L⁻¹ 配制而成;牛血清白蛋白, Sigma 公司产品,其他试剂均为市售分析纯。

仪器 20PR-52 型高速冷冻离心机、HIMAC CP70 型超速冷冻离心机、U-2000 型紫外分光光度计,均为日本 Hitachi 公司产品;LS-6500 型液体闪烁测量仪,美国 Beckman 公司产品。

动物模型制作与实验分组 取 SD 大鼠 60 只,随机分为 ①假手术对照组,②模型组,③tacrine 组,④~⑥组为 TEN 大、中、小 3 个剂量组,每组 10 只。按前文报道^[3]的方法行脑定位基底核右侧单侧注射。②~⑥组大鼠 1 次注射 β -AP₁₋₄₀ 和 IBO 的混合液(每鼠 1 μ L,含 β -AP₁₋₄₀ 4 μ g 和 IBO 1 μ g,溶于生理

收稿日期: 2001-12-14.

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(2002KJ028).

* 通讯作者 Tel: (0551)5107354, 5115287, Fax: (0551)5107354,

E-mail: chenqin123@yahoo.com

盐水), ①组大鼠同侧注射等量无菌生理盐水。术后 d 4, 第 ③组大鼠 ig tacrine 27 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ④~ ⑥组大鼠 ig TEN 18.5, 37.0 及 74.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹, ①和 ②组大鼠 ig 等体积生理盐水。连续用药 60 d。

学习记忆能力测试 末次给药后 1 h, 按避暗试验法^[4]进行训练和测试成绩, 记录 5 min 内进入暗室的错误次数及潜伏期。

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性的测定^[5] 处死大鼠, 于冰浴中迅速取出脑组织, 然后精确称取脑组织 150 mg 左右, 加冰冷的 0.9% 生理盐水 10 mL, 于冰浴中匀浆, 制成 20% 脑组织匀浆液。取脑匀浆 50 μL, 按改良 Ellman 法测定组织 AChE 活性, 以 0.1 mmol·L⁻¹ 谷胱甘肽显色效应相当于 0.1 mmol·L⁻¹ 乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 被水解, 在 37℃ 反应, 15 min 内能水解 1 μmol·L⁻¹ ACh 的量为 1 个活性单位, 然后计算每毫克脑组织中所含 AChE 的活性单位。

胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 活性的测定^[6] 大鼠处死后于冰浴中速取脑组织, 称重, 加 19 倍磷酸盐缓冲液 (PBS, 75 mmol·L⁻¹, pH 7.4), 于冰浴中匀浆, 取匀浆 10 μL, 加底物缓冲液 (PBS 加 NaCl 600 mmol·L⁻¹, MgCl₂ 40 mmol·L⁻¹, 毒扁豆碱 2.0 mmol·L⁻¹, 牛血清白蛋白 0.05%, 碘化胆碱 10 mmol·L⁻¹, ³H 乙酰辅酶 A 0.87 mmol·L⁻¹), 37℃ 温育 30 min 后, 加庚烷酮 (含四苯硼钠 75 mg·mL⁻¹) 150 μL, 振摇, 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min, 此时出现水相和有机相两层, 取上层有机相 100 μL, 于液闪仪中测定其放射性强度。同时取匀浆适量, 用 Lowry 法测定蛋白质。ChAT 活性以生成的 ACh (nmol·h⁻¹·mg⁻¹ protein) 表示。

M 受体密度测定

脑膜受体蛋白的制备 在学习记忆测试结果后 d 2 将大鼠断头, 置冰浴中取出完整大脑 (剔除小脑), 然后将大脑迅速转移到预冷的 PBS₂ 10 mL 中, 冰浴中用内切式匀浆机匀浆 (5 000 r·min⁻¹, 30 s), 再用 Teflon 匀浆器匀浆 6~8 次。匀浆先以 2 000 × g 离心 10 min, 弃沉淀, 上清液再以 27 000 × g 离心 15 min, 弃上清液, 沉淀用 PBS₁ 10 mL 稀释, 再用 Teflon 玻璃匀浆器低速匀浆制成膜蛋白悬液。以上操作均在 0~4℃ 进行。

放射配体结合反应 根据 ³H QNB 与膜受体蛋白结合得到的饱和曲线, 在饱和区选取一配体浓度 (1.5 nmol·L⁻¹) 作单点法的工作浓度, 根据配体与膜蛋白复合物的放射性强度求得受体结合位点数。每

一样品作 3 复管的总结合 (TB) 测定, 每管加 ³H QNB 100 μL 和膜蛋白悬液 200 μL, 同时平行作 3 复管的非特异结合 (NSB) 测定, 每管另加 0.4 μmol·L⁻¹ 非标记 QNB 100 μL, 全部试管均以反应缓冲液补足至 400 μL, 以上操作均在 0~4℃ 进行。全部反应管在 37℃ 水浴中振荡温育 30 min, 立即用多头细胞收集器以冰冷缓冲液终止反应, 迅速抽滤至 3 层玻璃纤维膜上, 并以冰冷缓冲液约 10 mL 淋洗, 将结合部分收集于玻璃纤维滤膜上, 滤膜于 80℃ 烘干。将含结合物的干滤膜投入含闪烁液的小测量杯内, 液体闪烁计数器测量放射性强度。脑膜蛋白定量采用 Lowry 法。实验数据以上海第二医科大学研制的放射配基结合分析法 (RBA) 软件进行分析, 受体密度以 RT 值 (fmol·mg⁻¹ protein) 表示。

统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用方差分析和 t 检验。

结 果

1 TEN 对拟痴呆模型大鼠学习记忆的影响

避暗试验结果表明, 一次性脑内注入 β-AP 可造成大鼠学习记忆功能障碍, 与假手术组相比, 其学习记忆能力显著下降, 即错误次数增多 (P < 0.01), 而潜伏期缩短 (P < 0.01)。模型动物在用药 60 d 后显示, 远志皂苷 18.5, 37.0 和 74.0 mg·kg⁻¹ 均可不同程度地改善模型大鼠学习记忆障碍, 见表 1。

Table 1 Effect of tenuigenin (TEN) on learning and memory in the dementia like model rats in 5 minutes

Group	Dose/ mg·kg ⁻¹	Step-through test	
		Error number/time	Latency/min
Sham operation	NS	0.5 ± 0.4**	4.3 ± 1.0**
Model	NS	2.6 ± 1.0	1.4 ± 0.8
Tacrine	27.0	1.4 ± 0.7**	3.0 ± 0.7**
Tenuigenin	18.5	2.2 ± 0.4	2.5 ± 0.6**
	37.0	1.5 ± 0.4**	3.1 ± 0.8**
	74.0	1.2 ± 0.8**	3.8 ± 1.1**

Sham operation group: intra-NBM injection 0.9% normal saline (2 μL/rat, once per rat) and ig 0.9% normal saline (0.5 mL/rat) once a day; model group, tacrine group and three tenuigenin groups: all intra-NBM injection β-AP₁₋₄₀ + IBO (ibotenic acid, 2 μL/rat, once per rat); among these group, model group: ig 0.9% normal saline (0.5 mL/rat) once a day; tacrine group: ig tacrine 27.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹; three tenuigenin (TEN) groups: ig 18.5, 37.0 and 74.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹, respectively, continued administration for 60 d. The ability of learning and memory of the rats were observed at the next day after the last treatment. The error number and latency as the index of learning and memory were detected by the step through test. n = 10, $\bar{x} \pm s$. ** P < 0.01 vs model group

2 TEN 对拟痴呆模型大鼠脑中乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性的影响

结果表明,基底核内一次性注入 β -AP 后,可引起大脑 AChE 活性的异常升高,与假手术组相比,差异十分显著 ($P < 0.01$);而模型动物在服用远志皂苷 60 d 后,可显著抑制模型大鼠脑组织中的 AChE 活性,其中 18.5 和 74 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组抑制率分别为 21.35% ($P < 0.01$) 和 31.58% ($P < 0.01$),而 tacrine 27.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组抑制率为 36.55% ($P < 0.01$),见表 2。

3 TEN 对拟痴呆模型大鼠脑中胆碱乙酰转移酶 (ChAT) 活性的影响

结果显示,经口服药物 60 d 后,远志皂苷 18.5, 37.0, 74.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 tacrine 27.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 均有明显激活 ChAT 活性的作用。以 ChAT 活性上升率 (%) 计,依次为远志皂苷 74.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组上升率为 95.23% ($P < 0.01$), 37.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组为 86.51% ($P < 0.01$), 18.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组为 66.40% ($P < 0.01$), tacrine 27.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 上升率为 59.79% ($P < 0.01$)。提示远志皂苷能有效地激活模型大鼠脑内 ChAT 活性,见表 2。

Table 2 Effect of tenuigenin (TEN) on activity of acetylcholinesterase (AChE) and choline acetyltransferase (ChAT) within the dementia-like model rats brain

Group	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	AChE/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{brain})$	ChAT/ ACh $\text{nmol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{protein})$
Sham operation	NS	$2.0 \pm 0.4^{**}$	$13 \pm 3^{**}$
Model	NS	3.4 ± 1.0	3.8 ± 0.4
Tacrine	27.0	$2.17 \pm 0.28^{**}$	$6.0 \pm 1.1^{**}$
Tenuigenin	18.5	3.2 ± 0.4	$6.3 \pm 1.6^{**}$
	37.0	$2.69 \pm 0.12^{**}$	$7.0 \pm 0.6^{**}$
	74.0	$2.3 \pm 0.6^{**}$	$7.4 \pm 1.2^{**}$

The grouping, administration time and path of rats are presented in Table 1. The rats were sacrificed after the testing of learning and memory behavior. Then six groups of rats brains were extracted to make the homogenate use for the quantitative analysis of AChE and ChAT. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. $^{**} P < 0.01$ vs model group

4 脑受体与 ^3H QNB 结合饱和和曲线分析

一定浓度的脑 M 受体用 ^3H QNB 作多点饱和分析实验,可得到一条典型的饱和曲线(图 1), M 受体的 B_{max} 为 $(1781 \pm 367) \text{fmol} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{protein})$ 。kD 值为 $(0.597 \pm 0.025) \text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Hill 系数 0.9988, γ 值 0.995 接近 1。

5 TEN 对拟痴呆模型大鼠脑内总 M 受体密度的影

响

从表 3 可见,脑内一次性注入 β -AP 后,模型大鼠脑内 M 受体密度显著低于假手术对照组 ($P < 0.01$)。而模型动物连续用药 60 d 后,远志皂苷 18.5, 37.0 和 74.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 均可不同程度地升高模型动物脑内低下的 M 受体密度 ($P < 0.01$),而 tacrine 27.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 则作用不明显 ($P > 0.05$)。

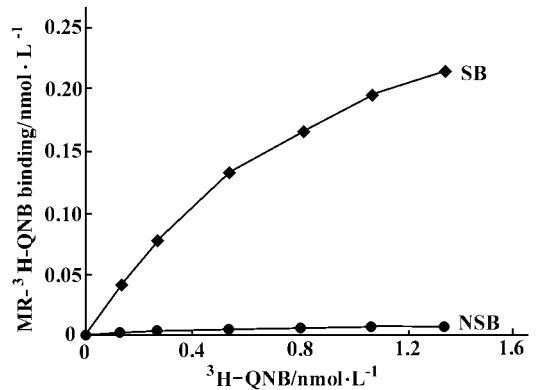


Figure 1 Saturation curve of [^3H] quinuclidinyl benzilate (^3H QNB) binding in the rats brain. Y-axis indicates concentration of receptor and ^3H QNB binding ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$), X-axis indicates concentration of ^3H QNB. SB: Specific binding; NSB: Non-specific binding. $B_{\text{max}} = (1781 \pm 367) \text{fmol} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{protein})$; $kD = (0.597 \pm 0.025) \text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; Hill coefficient = 0.9988

Table 3 Effect of tenuigenin (TEN) on total M receptor density of the dementia-like model rats brain

Group	Dose/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Total M receptor density/ $\text{fmol} \cdot \text{mg}^{-1} (\text{protein})$
Sham operation	NS	$1471 \pm 316^{**}$
Model	NS	635 ± 172
Tacrine	27.0	681 ± 143
Tenuigenin	18.5	$1013 \pm 108^{**}$
	37.0	$1107 \pm 224^{**}$
	74.0	$1363 \pm 349^{**}$

The grouping, administration time and path of rats are presented in Table 1. The rats were sacrificed after the testing of learning and memory behavior. Then six groups of rats brains were extracted to make the homogenate use for the quantitative analysis of total M receptor density. $n = 10$, $\bar{x} \pm s$. $^{**} P < 0.01$ vs model group

讨 论

临床观察表明,AD 患者胆碱能系统有明显的功能减退,主要表现为记忆下降,认知功能障碍和性格改变。现已知,AD 患者胆碱能系统功能异常与其脑内 β -AP 沉积(即老年斑)及其所产生的毒性作用密切相关。 β -AP 在脑内的沉积不仅能引起胆碱能神

经元凋亡,胆碱能标志酶(ChAT)活性下降,AChE活性升高,神经递质含量和M受体密度减少,同时还会使神经元对氧化应激、炎症、兴奋性毒素、增龄等有害因子的敏感性增加,从而导致AD的发生或病情加重^[7-9]。有鉴于此,许多学者企图通过脑内定位注射 β AP片段(主要为 β AP₂₅₋₃₅, β AP₁₋₄₀或 β AP₁₋₄₂)来制作拟痴呆动物模型^[10-14]。然而,实验资料表明,在啮齿类动物脑内注入 β AP后, β AP在脑内易被代谢而产生快速清除。为了防止这种现象的发生,目前人们采取两种方法,即预先将 β AP在体外通过孵育等物理或化学方法改变构象形成聚集状 β AP然后注入脑内,或者联合注射 β AP和兴奋性氨基酸如IBO。由于IBO不仅能增强 β AP对神经元的毒性,同时IBO本身可导致前脑基底-NBM胆碱能系统细胞体或海马结构破坏,引起认知过程障碍^[15,16]。我们的实验也证明,在大鼠基底核大细胞内联合注射 β AP₁₋₄₀和Ibotenic acid可引起大鼠明显的胆碱能系统功能障碍。学习记忆能力测试表明,模型大鼠进入暗室的错误次数明显增多,而潜伏期缩短,同时伴有胆碱能标志酶ChAT活性和M受体密度下降,AChE活性增高等现象。提示脑内注入 β AP₁₋₄₀和兴奋性氨基酸可能对胆碱能神经元有一定的毒性作用,从而直接或间接地引起了胆碱能系统功能障碍或减退。本试验还发现,中药远志有效成分远志皂苷连续给模型动物ig 60 d,能够明显地提高模型大鼠学习记忆能力,升高脑内被降低的M受体密度和ChAT活性,降低脑AChE活性,表明远志皂苷对AD胆碱能系统功能减退可能有较好的改善和治疗作用,其作用机理尚待进一步研究。

REFERENCES:

- [1] Wu P, Du Qy, Hu RZ, *et al.* The chemical, pharmacological and clinical research for *Polygala tenuifolia* Willd. [J]. *J Strait Pharm* (海峡药学), 1999, **11**(2): 108 - 109.
- [2] Li WK, Liang XY. The component and pharmacological activity of saponins in the officinal plant of *Polygala L.* [J]. *World Phytomed* (国外医药:植物药分册), 1998, **13**(2): 60 - 62.
- [3] Chen Q, Hu YE, Xia ZQ. Effect of ZMS on demented model by injection of beta-amyloid to right nucleus basalis [J]. *Acta Univ Med Second Shanghai* (上海第二医科大学学报), 2001, **21**(5): 401 - 403.
- [4] Zhang JT, Saito H. Studies on susceptibilities to the amnesic effects of 12 chemicals on passive avoidance responses in mice: comparison between step down and step through tests [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1986, **21**(1): 12 - 16.
- [5] Chen Q. *The Experimental Methods for Antiaging Research* (抗衰老研究实验方法) [M]. Beijing: China Medicopharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1996. 108 - 110.
- [6] Leventer S, Mckeag D, Clancy M, *et al.* Intracerebroventricular administration of ethyl-choline mustard aziridinium ion (AF64A) reduces release of acetylcholine from rat hippocampal slices [J]. *Neuropharmacology*, 1985, **24**(5): 453 - 459.
- [7] Irizarry MC, Hyman BT. Alzheimer disease therapeutics [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2001, **60**(10): 923 - 928.
- [8] Lemiere J, Van Gool D, Dom R. Treatment of Alzheimer's disease: an evaluation of the cholinergic approach [J]. *Acta Neurol Belg*, 1999, **99**(2): 96 - 106.
- [9] Yamada K, Ren X, Nabeshima T. Perspectives of pharmacotherapy in Alzheimer's disease [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1999, **80**(1): 9 - 14.
- [10] Nitta A, Fukuta T, Hasegawa T, *et al.* Continuous infusion of beta-amyloid protein into the rat cerebral ventricle induces learning impairment and neuronal and morphological degeneration [J]. *Jpn J Pharmacol*, 1997, **73**(1): 51 - 57.
- [11] Pavia J, Alberch J, Alvarez I, *et al.* Repeated intracerebroventricular administration of beta-amyloid (25 ~ 35) to rats decreases muscarinic receptors in cerebral cortex [J]. *Neurosci Lett*, 2000, **278**(1 - 2): 69 - 72.
- [12] Harkany T, O' Mahony S, Kelly JP, *et al.* Beta-amyloid (Phe(SO₃H)₂₄) 25 ~ 35 in rat nucleus basalis induces behavioral dysfunctions, impairs learning and memory and disrupts cortical cholinergic innervation [J]. *Behav Brain Res*, 1998, **90**(2): 133 - 145.
- [13] Morimoto K, Yoshimi K, Tonohiro T, *et al.* Co-injection of beta-amyloid with ibotenic acid induces synergistic loss of rat hippocampal neurons [J]. *Neurosci*, 1998, **84**(2): 479 - 487.
- [14] Giovanelli L, Scali C, Fausson-Pellegrini MS, *et al.* Long-term changes in the aggregation state and toxic effects of beta-amyloid injected into the rat brain [J]. *Neurosci*, 1998, **87**(2): 349 - 357.
- [15] Page KJ, Everitt BJ, Robbins TW. Dissociable effects on spatial maze and passive avoidance acquisition and retention following AMPA- and ibotenic acid-induced excitotoxic lesion of basal forebrain in rats: differential dependence on cholinergic neuronal loss [J]. *Neurosci*, 1991, **43**(3): 457 - 472.
- [16] Dornan WA, Kang DE, McCampbell A, *et al.* Bilateral injections of beta A(25 ~ 35) + IBO into the hippocampus disrupts acquisition of spatial learning in the rat [J]. *Neuroreport*, 1993, **5**(2): 165 - 168.

EFFECT OF TENUIGENIN ON CHOLINERGIC DECLINE INDUCED BY β -AMYLOID PEPTIDE AND IBOTENIC ACID IN RATS

CHEN Qin, CAO Yarr gui, ZHANG Chuarr hui

(*Institute of Natural Drug, School of Life Science, Anhui University, Hefei 230039, China*)

ABSTRACT: **AIM** To observe the effect of tenuigenin (TEN), an active component isolated from Yuanzhi, on cholinergic function in rats with β -amyloid peptide and ibotenic acid injection into right nucleus basalis magnocellularis (NBM). **METHODS** A combined injection of β -AP₁₋₄₀ and ibotenic acid into the right NBM was used as a dementia-like rat model. The ability of learning and memory was detected by the step-through test. The activity of choline acetyltransferase (ChAT) and the muscarinic receptor density were determined by ³H-acetylcoenzyme and [³H]-quinuclidinyl benzilate (³H-QNB) binding tests, respectively. The activity of acetylcholinesterase (AChE) was determined by improved Ellman's method. **RESULTS** The model animals were treated with daily oral administration of TEN for 60 d. The learning and memory ability were obviously improved. i.e., in the step-through test, the number of error was obviously decreased and the latency was obviously prolonged. The muscarinic receptor density and the activity of ChAT within rats brain were markedly enhanced, whereas the activity of AChE in rat brain was significantly inhibited. **CONCLUSION** These results suggest that TEN probably have certain improving and treating action for the reductions in cholinergic function in Alzheimer's disease.

KEY WORDS: tenuigenin; β -amyloid peptide; dementia-like model; learning and memory; ChAT; AChE; muscarinic receptor density