

ラットの実験的空間認知障害に対する柏子仁及び柏子仁丸の改善作用

倪 健偉, 太田 浩之, 松本 欣三, 渡辺 裕司*

富山医科薬科大学和漢薬研究所生物試験部門

The beneficial effects of Hakushijin (Biota) and Hakushijin-gan on experimental spatial cognitive deficits in rats

Jing-Wei NI, Hiroyuki OHTA, Kinzo MATSUMOTO, Hiroshi WATANABE*

Section of Pharmacology, Research Institute for Wakan-Yaku, Toyama Medical and Pharmaceutical University

(Received April 28, 1993. Accepted July 22, 1993.)

Abstract

The effects of Hakushijin and Hakushijin-gan on spatial cognitive deficits produced by scopolamine (SCOP) or unilateral lesion of the nucleus basalis magnocellularis (nBM) were studied in the rat using 8-arm radial maze performance. SCOP (0.3 mg/kg, *i.p.*) significantly disrupted the radial maze performance. Hakushijin at a dose of 250 mg/kg (*p.o.*) but not 125 or 500 mg/kg significantly improved the SCOP-induced performance deficits. Hakushijin-gan (250-1000 mg/kg *p.o.*) improved the SCOP-induced deficits in a dose-dependent manner. Injection of ibotenic acid (5 µg/0.5 µl) into the unilateral nBM produced significant deficits in the acquisition of the radial maze performance. Further analysis of the data indicated that this was due primarily to a deficit in reference memory. Hakushijin (125 and 250 mg/kg/day) or THA (0.1 mg/kg/day) administered for 4-weeks in drinking water significantly improved the acquisition of radial maze task, especially of the reference memory. The ibotenate lesion reduced the activity of choline acetyltransferase (CAT) by 40-50 % in the anterior cortex compared to the unlesioned side. This reduction of CAT activity was neither affected by Hakushijin nor THA administration. These results support at least partly the beneficial effects of Hakushijin and Hakushijin-gan in clinical use for senile dementia.

Key words spatial cognition, radial arm maze, nucleus basalis magnocellularis, scopolamine, physostigmine, tetrahydroaminoacridine, Hakushijin, Hakushijin-gan.

Abbreviations SCOP, scopolamine; PHY, physostigmine; THA, 9-amino-1, 2, 3, 4-tetrahydroacridine; nBM, nucleus basalis magnocellularis; ACh, acetylcholine; CAT, choline acetyltransferase; HAKU, hakushijin (*Biota orientalis* (L.) Endl.); GAN, hakushijin-gan (*Biota orientalis* (L.) Endl., *Panax Ginseng* C. A. Mey., *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill.)

緒 言

柏子仁は「本草綱目」¹⁾に「益智寧神」と記載され、古来より抗健忘作用を有することが知られている。また、柏子仁単味または柏子仁を主要生薬とする処方(方剤)は健忘症や、不眠症などの中枢神経系疾患の治療に頻繁に使われてきた。しかしながら、こ

れらの治療は主として経験に基づいて行われ、柏子仁の抗健忘作用を実験的に証明した研究は少ない。

本実験に使った柏子仁エキス及び柏子仁、五味子及び人參よりなる柏子仁丸エキスはマウスの能動的回避課題、及び step-through, step-down などの受動的回避課題において、記憶の獲得障害及び再認障害に改善作用を示すことが報告されているが²⁾、その抗健忘作用を証明するには、より多方面の学習課題

*〒 930-01 富山市杉谷2630
2630 Sugitani, Toyama 930-01, Japan

を用いて解析する必要がある。

放射状迷路課題はこの十数年間啮歯類における学習及び記憶課題としてしばしば用いられ、薬物の記憶に対する作用の検討にきわめて有用な方法であることが報告されている³⁾。特に、アルツハイマー型痴呆症患者の脳では、主としてマイネルト核の変性に由来する脳内アセチルコリン (ACh) 神経系の著しい機能低下が見られることから⁴⁻⁶⁾、本課題は抗コリン薬投与による健忘モデルに対する薬物の作用評価に多用されている⁷⁻¹⁰⁾。

本研究では8方向放射状迷路を用い、抗コリン薬 scopolamine 0.3 mg/kg を投与したラットの作業記憶障害モデル⁷⁾に対する柏子仁エキス及び柏子仁丸エキスの作用を検討した。更に、ibotenic acid により片側の前脳基底核 (nBM) を破壊し、ACh 神経系機能を低下させたラットの空間認知獲得障害に対する柏子仁エキスの作用も検討した。nBM の損傷は主として参照記憶を障害すると報告されていることから^{11, 12)} 8 アーム中の4 アームに餌を置く方法で作業記憶と参照記憶を分けて観察した¹³⁾。

実験方法

(1) 使用動物：scopolamine による空間認知障害に関する実験には体重 210-390 g の Wistar 系雄性ラット (日本エスエルシー) を使用した。nBM 破壊による空間認知獲得障害に関する実験では13週齢の Wistar 系雄性ラットに前脳基底核破壊手術を施し、その2週間後から放射状迷路課題の訓練を開始した。ラットは4~5匹ごとに飼育し、飼育室内を温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、12時間明暗周期 (明期：0730-1930) に維持した。実験期間中は自由摂食時の体重の85%程度に保つように食餌制限を行った。

(2) 実験装置：装置は高架式8方向放射状迷路を用いた。8本のアーム (50×12 cm) は直径30 cm の中央プラットフォームから放射状にのびており、各アームの先端にプラスチック製の餌皿 (直径3 cm、深さ0.5 cm) を設けた。照明は通常の室内光の明るさに保った。

(3) 課題の訓練と scopolamine の投与：上記食餌制限下で、ラットのハンドリングを1日10分間、連続5日間行った。ハンドリング3日目から馴化させる目的で、ラットを迷路上に置き、すべてのギロチンドアを開放し、各餌皿及びアームの床に餌を配置して、1日10分間の自由探索 (慣れ訓練) を連続5日間行わせた。習得訓練は1日1試行を行った。各試

行はアームの先端に配置された餌ペレット (45mg) を全部取るまで、またはラットを迷路に置いてから10分が経過することをもって終了とした。アームの根元から10 cm の位置にあるラインの外側にラットの四肢がすべて出た場合にそのアームを選択したと判定し、末選択のアームに入った場合を正選択、すでに餌を取ったアームに再び入った場合を誤選択とした。8選択すべてが正選択または8回目の選択だけが誤選択の場合を合格とし、合格試行が5試行連続したラットを薬物試験に用いた。また、本実験では初期正反応数 (最初の誤選択が生じるまでの正選択数)、合格率 (合格したラット数/実験に用いたラットの総数) 及び1選択あたりの走行時間 (試行完成に要した時間/総選択数) を行動観察の指標として記録した。

(4) 前脳基底核破壊と迷路課題の訓練：ラットを pentobarbital sodium (50 mg/kg *i.p.*) 麻酔下で脳固定装置に固定し、脳座標¹⁴⁾に従い、ibotenic acid (5 μg /0.5 μl , phosphate-buffered saline, pH 7.4) を片側の nBM (bregma より A-1.3 mm, L 2.4 mm, dura より V 7.4 mm) に3分間で注入した。注入針は ibotenic acid を注入した後、更に3分間放置してから取り出した。

手術の2週間後に前述のようにラットのハンドリングおよび装置に対する慣れ訓練を行った。この段階においてはすべてのアームの餌皿および床に餌を置いた。

10回慣れ訓練の後、放射状迷路課題の獲得訓練を開始した。獲得訓練では8アーム中、4アームをランダムに選んで、餌を2個ずつ置いた。ただし、餌の配置パターンはラットごとに試験期間中固定した。餌のないアームに入ることを「参照記憶のエラー」、餌を既に取りってしまったアームに再び入ることを「作業記憶のエラー」、餌のないアームに繰り返し入った場合は「参照及び作業記憶のエラー」と判定し、記録した。

(5) コリンアセチル転移酵素 (CAT) 活性の測定：獲得訓練終了1週間後、nBM 破壊ラットの大脳皮質における CAT 活性を Fonnum の方法¹⁵⁾に従って測定した。CAT 活性は蛋白質量 (mg) あたり1時間に合成される ACh 量として算出した。

(6) 使用薬物及び投与方法：柏子仁エキス及び柏子仁丸エキスは塩野義製薬より供与された。柏子仁エキスは生薬1 kg あたり1.5 l の50%エタノール液で1週間室温において抽出した第一抽出液と、更にその残渣を同様に処理した第二抽出液を混合し、減圧濃縮/乾燥することにより作製した。また、

柏子仁丸エキスは人参、五味子各々を熱水還流抽出方で90-120分間抽出し、減圧濃縮/乾燥し、更に柏子仁、人参及び五味子の三生薬を原生薬換算量で1:1:3の混合比になるように、再び水/エタノール液の適量に溶解し、混合した後、減圧濃縮/乾燥することにより作製した。柏子仁エキス (125-500 mg/kg) または柏子仁丸エキス (250-1000 mg/kg) を放射状迷路課題試行の90分前に経口投与した。対照薬として physostigmine 0.15 および 0.3 mg/kg (MERCK) を試行の30分前に腹腔内投与した。scopolamine hydrobromide 0.3 mg/kg (ナカライテスク) は試行の30分前に腹腔内投与した。

nBM破壊ラットに対して、9-amino-1,2,3,4-tetrahydroacridine hydrochloride (THA; SIGMA) は0.1及び0.3 mg/kg、柏子仁エキスは125および250 mg/kgとなるように飲料水に混ぜて、獲得訓練開始1週間後より連続4週間投与した。

(7) 統計処理：初期正反応数、1選択あたりの走行時間、及び合格率に対する薬物の効果はそれぞれ Mann-Whitney U-test 及び Fisher の直接確率計算法を用いて有意差検定を行った。総エラー、作業記憶及び参照記憶のエラーに対する薬物の効果を二元配置分散分析により検定した。CAT 活性は paired t-test で検定した。

結 果

1. scopolamine 誘発空間認知障害に対する改善作用

scopolamine (0.3 mg/kg, *i.p.*) は初期正反応数を有意に減少させ、合格率を顕著に下げ、放射状迷路課題の遂行を障害した (Figs. 1 and 2)。また1選択当たりの走行時間は scopolamine の投与により有意に延長した (Table I)。これに対し、physostigmine (0.15 および 0.3 mg/kg) は既に報告したように¹⁶⁾ scopolamine により障害された課題の遂行を用量依存的に回復させ、0.3 mg/kg で有意な改善作用を示した (Fig. 1)。また、scopolamine による1選択当たりの時間の延長も有意に短縮させた (Table I)。

柏子仁エキス 125 および 250 mg/kg は用量依存的に scopolamine による迷路課題の遂行障害を改善し、柏子仁エキス 250 mg/kg は初期正反応数、合格率 (Fig. 2) および1選択あたりの走行時間 (Table I) いずれの指標においても有意な改善作用を示した。しかし、500 mg/kg の用量においては改善効果が見られなかった。

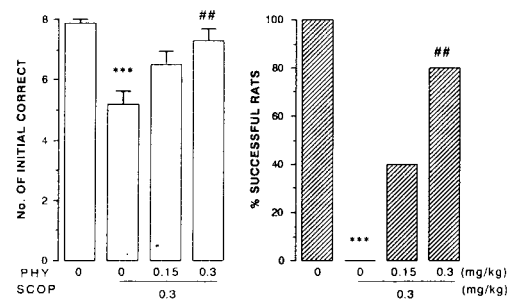


Fig. 1 Effect of physostigmine (PHY) on the scopolamine (SCOP)-induced disruption of radial maze performance. SCOP was intraperitoneally administered 30 min before testing. PHY was intraperitoneally injected immediately after SCOP administration. *** $p < 0.001$ compared to saline control and ## $p < 0.01$ compared to SCOP alone. (These data were cited from reference 16)

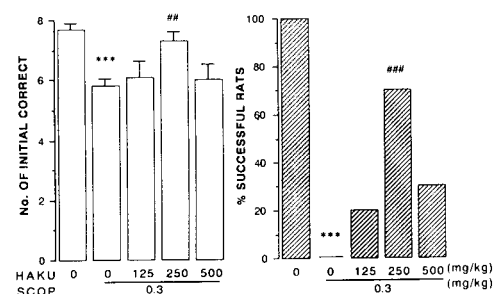


Fig. 2 Effect of HAKUSHIJIN (HAKU) on the scopolamine (SCOP)-induced disruption of radial maze performance. SCOP was intraperitoneally administered 30 min before testing. HAKU was orally administered 60 min prior to SCOP injection. *** $p < 0.001$ compared to saline control. ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared to SCOP alone.

Table I Effects of physostigmine (PHY), HAKUSHIJIN (HAKU) and HAKUSHIJIN - GAN (GAN) on running time extended by scopolamine (SCOP) in rats.

SCOP	PHY HAKU GAN (mg/kg)	Runing time (sec)
-	-	10.8±1.0
0.3	-	20.4±3.4##
0.3	0.15	13.1±1.5*
0.3	0.3	12.5±1.0*
-	-	6.7±0.5
0.3	-	18.5±2.2###
0.3	125	17.5±4.6
0.3	250	12.3±1.7*
0.3	500	22.7±3.2
-	-	11.9±0.9
0.3	-	20.2±1.4##
0.3	250	15.1±2.0
0.3	500	12.6±1.6*
0.3	1000	12.8±1.1**

$p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared to saline control. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to scopolamine alone.

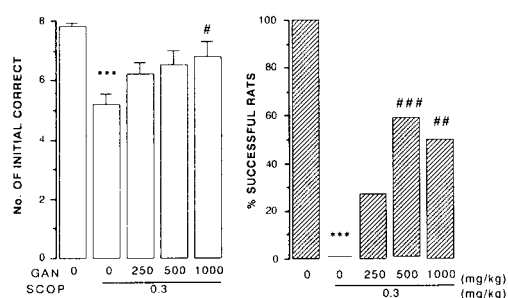


Fig. 3 Effect of HAKUSHIJIN-GAN (GAN) on scopolamine (SCOP)-induced disruption of radial maze performance. SCOP was intraperitoneally administered 30 min before testing. GAN was orally administered 60 min prior to SCOP injection. *** $p < 0.001$ compared to saline control. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared to SCOP alone.

また、柏子仁丸エキスも scopolamine による迷路課題の遂行障害を用量依存的に改善した (Fig. 3)。柏子仁丸エキスの 250 及び 500 mg/kg は初期正反応数を改善する傾向、1000 mg/kg では有意な改善効果を示した (Fig. 3)。また、合格率は 500 mg/kg および 1000 mg/kg で有意に改善された (Fig. 3)。1 選択あたりの走行時間は 250, 500 及び 1000 mg/kg でいずれも有意な改善効果が認められた (Table I)。

2. 前脳基底核破壊による空間認知獲得障害に対する改善作用

nBM 破壊群と対照群の 5 試行における平均エラー値に、群間の有意差が認められた ($F_{(1,75)}=98.6$, $p < 0.001$) (Figs. 4A and 5A)。しかし、エラー数は訓練の経過に従って減少した ($F_{(4,75)}=23.5$, $p < 0.001$)。一方、群×訓練回数の交互作用が有意であり ($F_{(4,75)}=3.0$, $p < 0.05$)、対照群のほうがより早く課題を習得した。さらにエラーを「参照記憶」、「作業記憶」および「参照及び作業記憶」の三種類に分けたところ、nBM 破壊群の参照記憶のエラー数は訓練によりほとんど減少せず (Fig. 4 B)，一方、参照および作業記憶のエラー数には減少が認められた (Fig. 4 D)。

THA 0.1 mg/kg の連続投与は nBM 破壊による空間認知獲得障害を有意に改善した (Fig. 4A $F_{(1,55)}=10.1$, $p < 0.01$)。この改善は主に参照記憶のエラー数の減少に由来した (Fig. 4 B $F_{(1,55)}=26.3$, $p < 0.001$; Fig. 4 C $F_{(1,55)}=0.15$, $p > 0.05$; Fig. 4 D $F_{(1,55)}=3.5$, $p > 0.05$)。THA 0.3 mg/kg ではいずれの指標においても有意な改善作用が認められなかった。

一方、柏子仁エキス 125 および 250 mg/kg の連続投与はともに有意な改善作用を示した。この改善作用は主として参照記憶のエラーの減少 (125 mg/kg, $F_{(1,50)}=38.4$, $p < 0.001$; 250 mg/kg, $F_{(1,50)}=19.5$, $p < 0.001$)、参照および作業記憶のエラーの減少 (125 mg/kg, $F_{(1,50)}=10.1$, $p < 0.01$; 250 mg/kg, $F_{(1,50)}=4.1$, $p < 0.05$) に由来すると考えられた (Fig. 5 B, D)。

大脳皮質の CAT 活性は nBM の破壊により有意に低下した。これに対して、有意ではないが、THA 0.3 mg/kg および柏子仁エキス 125 mg/kg の投与により、その減少が少し改善される傾向が見られた (Table II)。

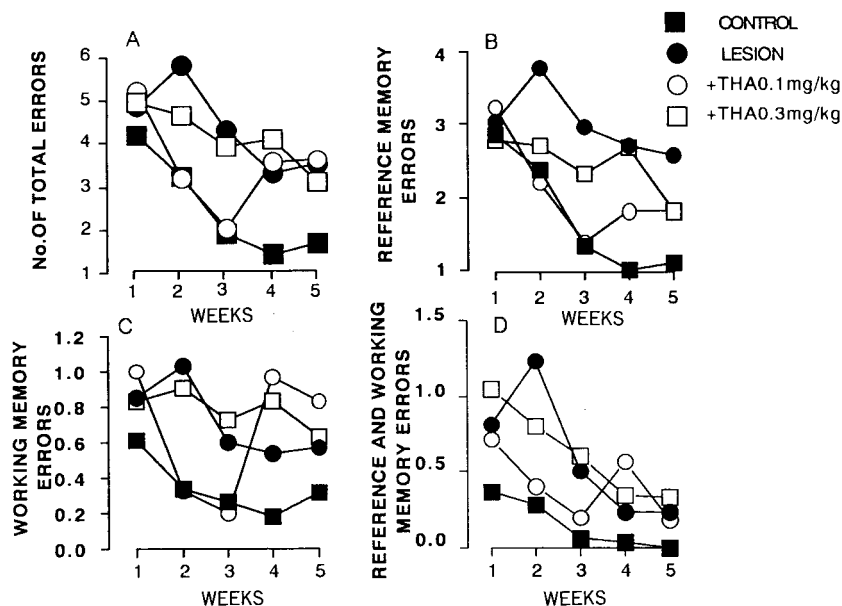


Fig. 4 Effect of subchronic administration of tetrahydroaminoacridine (THA) on acquisition of the 8-arm radial maze performance in the rat with unilateral ibotenic acid-induced lesion of nBM. A: Data are expressed as the mean numbers of total errors. B, C and D are expressed as the mean number of reference, working, and reference and working memory errors. Reference memory error was defined as the first choice to the unbaited arms. Working memory error was the re-entered choice to the baited arms, and the reference and working memory error was the re-entered choice to the unbaited arms.

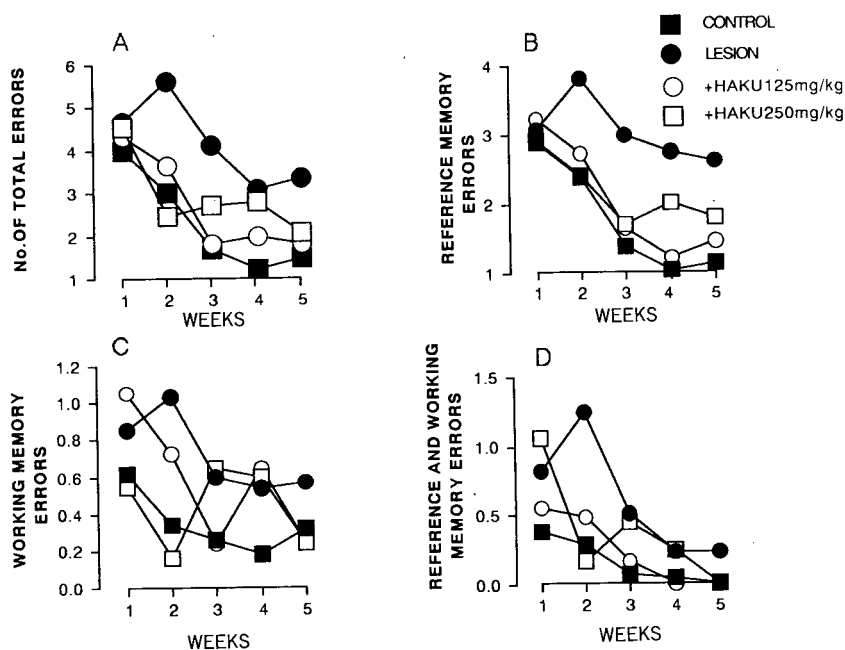


Fig. 5 Effects of subchronic administration of HAKUSHIJIN (HAKU) on acquisition of the 8-arm radial maze performance in the rat with unilateral ibotenic acid-induced lesion of nBM. The explanation was as in Fig. 4.

Tabel II Effect of subchronic administration of tetrahydroaminoacridine (THA) and HAKU-SHIJIN (HAKU) on choline acetyltransferase (CAT) activity decreased by unilateral ibotenic acid-induced lesion of Nucleus Basalis Maynert in the anterior neocortex of the rat.

TREATMENT (mg/kg)	N	CAT ACTIVITY (nmol/mg protein/hr)	
		LESION SIDE	INTACT SIDE
water	5	17.0±2.5*	34.2±6.7
THA 0.1	6	18.8±2.6**	31.4±4.5
0.3	5	21.8±4.8**	30.4±6.0
HAKU 125	5	25.1±4.1**	43.7±5.7
250	5	19.9±3.3*	32.7±5.1

* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ compared to the intact side

考 察

柏子仁は古くから健忘、不眠に使われてきた重要な漢方生薬である。今回 scopolamine で誘発された実験的空間認知障害に対して、柏子仁エキス 250 mg/kg は 1 回経口投与で改善作用を示した。しかし、500 mg/kg に増量すると、この改善作用が消失した。これはマウスの能動及び受動回避課題における柏子仁エキスの効果とはほぼ同様の結果であった。²⁾ 一般的に脳機能改善作用を示す化合物の多くは逆U字型の用量反応曲線を持つことが知られている。¹⁷⁾ 今回の結果も同じ傾向を示した。

柏子仁丸エキスは 250 mg/kg から 1000 mg/kg まで用量依存的な改善効果を示した (Fig. 3)。有意な改善効果がみられた柏子仁丸エキス 500 mg/kg の中には 100 mg/kg 相当の柏子仁エキスしか含まれないことを考えると、その作用に他の構成生薬(五味子、人參)が関与している可能性が推察される。実際、我々は scopolamine による作業記憶障害が人參エキスの投与により改善されることを報告している。¹⁸⁾

scopolamine による走行時間の延長は scopolamine 処置したラットがアームの先端部位で長く滞在し、迷路周囲へ体を出してのぞくような行動を繰り返したためである。ヒトにおいて scopolamine 投与は近視不能状態をもたらす。¹⁹⁾ ラットの場合も走行反応の緩慢は近視不能により、迷路周囲の手がかりの弁別が困難な状態に陥った可能性が考えられる。しかし、血液脳関門を通過できない methylscopola-

mine による走行時間の延長は scopolamine より弱く、アーム先端部での長時間の滞在はあまりない。²⁰⁾ この事実から、少なくとも scopolamine の走行時間延長効果の一部は中枢神経系を介した選択弁別の時間延長によると考えられ、見かけ上運動興奮作用のない柏子仁エキスおよび柏子仁丸エキスによる走行時間の改善は空間認知障害を改善した結果による可能性が考えられる。

physostigmine は scopolamine による空間認知(作業記憶)障害に対し有意な改善作用を示した。作業記憶には中隔・海馬系の機能が重要であると考えられており^{11, 21-23)} また physostigmine による放射状迷路課題の改善作用もこの系を介すると報告されている。²⁴⁾ これらのことから、柏子仁エキスの作用の一部分も中隔・海馬系を介している可能性がある。

前脳基底部の ACh 神経系の機能低下および前脳皮質、扁桃体、海馬への ACh 投射系の障害がアルツハイマー型痴呆症の主要な病理所見である。^{25, 26)} 興奮性アミノ酸によるラット nBM 破壊はアルツハイマー型痴呆症に見られるような ACh 神経系機能低下及び記憶障害の有用なモデルと考えられている。^{27, 28)}

nBM 破壊により著明な空間認知獲得障害がみられたが、これは主に参照記憶の障害であり、その障害は訓練について回復する傾向が認められた。この結果はこれまでの報告と一致している。^{11, 12, 29)}

THA 0.1 mg/kg の連続投与は nBM 破壊による空間認知獲得障害に対し、有意な改善作用を示した。この比較的低用量で改善作用が認められた理由として、本研究においての nBM 破壊は一側のみであり、ACh 神経系の機能がまだ部分的に残っていたためと推測される。実際 THA は、単独で効果のない用量でコリンの脳室内投与と併用すると効果を表すとする報告があり、³⁰⁾ この推測を指示している。今回、両薬物とも大脳皮質の CAT 活性には有意な影響を与えなかったが、脳内の CAT 活性が上昇しなくても、記憶障害の改善が可能であるという報告³¹⁾ と一致している。

柏子仁エキスは scopolamine モデルと同様、nBM 破壊モデルにおける学習障害に対して著明な改善作用を示した。その機序として THA と同様 ACh 神経系の機能改善の関与が考えられる。しかし、ibotenic acid は ACh 神経細胞だけではなく、注入部位に隣接する他の神経細胞も破壊する³²⁾ ので、柏子仁エキスの学習改善に ACh 以外の神経系が関与している可能性は否定できない。

現在のところ作用機序は不明であるが、柏子仁は受動及び能動回避課題に有効性を示し、²⁾ scopola-

mine による作業記憶障害および nBM 破壊による参照記憶の獲得障害の療法に対して改善作用を示した。これらのことから、古来より記載されている¹⁾ 柏子仁の抗健忘様効果が実験的に指示されたものと考ええる。

文 献

- 1) 李 時珍：本草綱目（校点本）人民衛生出版社，北京，P. 1914, 1977.
- 2) Nishiyama, N., Wang, Y.L. and Saito, H.: Effects of Biota (Bai-Zi-Ren), a traditional Chinese medicine, on learning performances in mice. *Shoyakugaku Zasshi* **46**, 62-70, 1992.
- 3) Olton, D.S.: The radial arm maze as a tool in behavioral pharmacology. *Physiol. Behav.* **40**, 793-797, 1987.
- 4) Davis, P. and Maloney, A.J.F.: Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* **2**, 1403, 1976.
- 5) Perry, E.K. and Perry, R.H.: Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *Lancet* **1**, 189, 1977.
- 6) Whitehouse, P.J., Price, D.L., Clark, A.W., Coyle, J.T. and Delong, M.R.: Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurone in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.* **10**, 122-126, 1981.
- 7) Beatty, W.W. and Bierley, R.A.: Scopolamine degrades spatial working memory but spares spatial reference memory: Dissimilarity of anticholinergic effect and restriction of distal visual cues. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **23**, 1-6, 1985.
- 8) Buresova, O. and Bures, J.: Radial maze as a tool for assessing the effect of drugs on the working memory of rats. *Psychopharmacology (Berlin)* **77**, 268-271, 1982.
- 9) Hiraga, Y. and Iwasaki, T.: Effects of cholinergic and monoaminergic antagonists and tranquilizers upon spatial memory in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **20**, 205-207, 1984.
- 10) Higashida, A. and Ogawa, N.: Differences in the acquisition process and the effect of scopolamine on radial maze performance in three strains of rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **27**, 483-489, 1987.
- 11) Walker, J.A. and Olton, D.S.: Fimbria-fornix lesions impairs spatial working memory but not cognitive mapping. *Behav. Neurosci.* **98**, 226-242, 1984.
- 12) Murray, C.L. and Fibiger, H.C.: Learning and memory deficits after lesions of the nucleus basalis magnocellularis: reversal by physostigmine. *Neuroscience*. **14**, 1025-1032, 1985..
- 13) Olton, D.S. and Papas, B.C.: Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*. **17**, 669-682, 1979.
- 14) Paxinos, G. and Watson, C.: The rat brain in stereotaxic coordinates. United States edition published by ACADEMIC PRESS INC. San Diego, California 1986.
- 15) Fonnum, F.: A rapid radiochemical method for the determination of choline acetyltransferase. *J. Neurochem.* **24**, 407-409, 1975.
- 16) Watanabe, H., Ni, J.W., Ohta, H., Ni, X.H. and Matsumoto, K.: A Kampo prescription, shimotsu-to, improves scopolamine-induced spatial cognitive deficits in rats. *Jpn. J. Psychopharmacol.* **11**, 215-222, 1991.
- 17) Cumin, R., Bandle, E.F., Gamzu, E. and Haefely, W.E.: Effects of the novel compound aniracetam (Rol3-5057) upon impaired learning and memory in rodents. *Psychopharmacology* **78**, 104-111, 1982.
- 18) Ni, X.H., Ohta, H., Watanaba, H. and Matsumoto, K.: Panax ginseng extract improves scopolamine-induced deficits in working memory performance in the T-maze delayed alternation task in rats. *Phytotherapy Res.* **7**, 49-52, 1993.
- 19) Curran, H.V., Schifano, F. and Lader, M.: Models of memory dysfunction? A comparison of the effect of scopolamine and lorazepam on memory, psychomotor performance and mood. *Psychopharmacology* **103**, 83-90, 1991.
- 20) Hiraga, H.: Effects of scopolamine upon delayed radial arm maze performance in rats. *Folia pharmacol. japon.* **97**, 351-359, 1991.
- 21) Olton, D.S., Walker, J.A. and Gage, F.H.: Hippocampal connections and spatial discrimination. *Brain Res.* **139**, 295-308, 1978.
- 22) Wenk, H., Bigl, V. and Meyer, U.: Cholinergic projections from magnocellular nuclei of the basal forebrain to cortical in rats. *Brain Res. Rev.* **2**, 295-316, 1980.
- 23) Kitajima, I., Yamamoto, T., Ohno, M. and Ueki, S.: Working and reference memory in rats in the three-panel runway task following dorsal hippocampal lesions. *Japan. J. Pharmacol.* **58**, 175-183, 1992.
- 24) Dunnett, S.B., Low, W., Bunch, S.T. Thomas, S.R., Iversen, S.D., Lewis, P.R., Bjorklund, A. and Stenevi, U.: Septal transplant reinnervation of the hippocampus: cholinergic enhancement of radial maze performance. *Behav. Brain Res.* **81**, 258-259, 1981.
- 25) Coyle, J.T., Price, D.L. and Delong, M.R.: Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* **219**, 1184-1190, 1983.
- 26) Whitehouse, P.J., Price, D.L., Struble, R.G., Clark, A.W., Coyle, J.T. and Delong, M.R.: Alzheimer's disease and senile dementia: loss of neurons in the basal forebrain. *Science* **215**, 1237-1239, 1982.
- 27) Irle, E. and Markowitsch, H.J.: Basal forebrain-lesioned monkeys are severely impaired in tasks of association and recognition memory. *Ann. Neurol.* **22**, 735-743, 1987.
- 28) Kesner, R.P., Adelstein, T. and Crutcher, K.A.: Rats with nucleus basalis magnocellularis lesions mimic mnemonic symptomatology observed in patients with dementia of the Alzheimer's type. *Behav. Neurosci.* **101**,

- effects of different neurotoxic amino acids injected into nucleus basalis magnocellularis of rats. *Neuroscience* **20**, 653-669, 1987.
- 451-456, 1987.
- 29) Salamone, J.D., Beart, P.M., Alpert, J.E. and Iversen, S. D. : Impairment in T-maze reinforced alternation performance following nucleus basalis magnocellularis lesion in rats. *Behav. Brain Res.* **13**, 63-70, 1984.
- 30) Ueki, A. and Miyoshi, K. : Reversal of learning impairment in ventral globus pallidus-lesioned rats by combination of continuous intracerebroventricular choline infusion and oral cholinergic drug administration. *Brain Res.* **547**, 99-109, 1991.
- 31) Hodges, H., Ribeiro, A.M., Gray, J.A. and Marchbanks, R.M. : Low dose tetrahydroaminoacridine (THA) improves cognitive function but does not affect brain acetylcholine in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **36**, 291-298, 1990.
- 32) Dunnett, S.B., Whishaw, I.Q., Jones, G.H., and Bunch, S.T. : Behavioural, biochemical and histochemical