

连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠学习记忆的影响及其机制研究

杨久山¹, 孙秀萍², 王忆杭³, 王立为³, 刘新民^{3*}

(1. 山东中医药大学附属医院, 济南 250014;

2. 北京协和医学院比较医学中心, 中国医学科学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类动物模型三级实验室 北京 100021;

3. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京协和医学院药理毒理中心, 北京 100193)

[摘要] **目的:**研究连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠学习记忆的影响,并探讨其作用机制,为连翘酯苷抗阿尔茨海默病研究提供数据支撑。**方法:**昆明种小鼠,随机分为 4 组,分别为正常组,东莨菪碱模型组,多奈哌齐组(3 mg·kg⁻¹)和连翘酯苷(200 mg·kg⁻¹)组,每组 12 只。各组连续给药 14 d。给药第 14 天,东莨菪碱模型组、多奈哌齐组和连翘酯苷组给予东莨菪碱(3 mg·kg⁻¹),腹腔注射。20 min 后,进行跳台实验。同时,观察连翘酯苷对乙酰胆碱酯酶(AchE)和环磷酸腺苷-细胞外信号调节激酶通路的影响。另设一批实验,昆明种小鼠分为 4 组,分别为正常组,东莨菪碱模型组,维生素 E 组(100 mg·kg⁻¹)和连翘酯苷(200 mg·kg⁻¹)组,给药 14 d 后,断头处死动物,检测连翘酯苷对东莨菪碱模型超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA),单胺氧化酶(MAO)的影响。**结果:**跳台实验获得期和巩固期,东莨菪碱模型组与正常组比较,安全期时间比率显著下降($P < 0.05$),连翘酯苷显著增加安全期时间比率($P < 0.05$)。连翘酯苷显著降低东莨菪碱模型小鼠大脑皮层和海马 AchE 活性($P < 0.05$)。连翘酯苷显著升高东莨菪碱模型小鼠海马 P-ERK 含量,与东莨菪碱组比较,具有显著性差异($P < 0.05$)。同时,东莨菪碱组与正常组比较,显著降低小鼠大脑皮层和海马 SOD 活性、升高 MDA 含量、升高 MAO 活性($P < 0.05$)。连翘酯苷能显著升高小鼠大脑皮层和海马 SOD 活性、降低 MDA 含量和 MAO 活性,与东莨菪碱组比较,具有显著性差异($P < 0.05$)。**结论:**连翘酯苷可提高东莨菪碱模型小鼠的学习记忆能力,其机制可能与抑制模型小鼠大脑皮层 AchE 活性,促进环磷酸腺苷(cAMP)表达,活化细胞外信号调节激酶(ERK)及抗氧化有关。

[关键词] 连翘酯苷; 阿尔茨海默病; 东莨菪碱模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)08-0177-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016080177

Effect of Forsythiaside on Scopolamine-induced Learning and Memory Impairment in Mice

YANG Jiu-shan¹, SUN Xiu-ping², WANG Yi-hang³, WANG Li-wei³, LIU Xin-min^{3*}

(1. *The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China;*

2. *Comparative Medicine Center of Peking Union Medical College (PUMC), Institute of Laboratory Animal Science of Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS), Key Laboratory of Comparative Medicine for Human Diseases Under Ministry of Health, Key Laboratory of Human Disease Animal Models Under State Administration of*

Traditional Chinese Medicine, Beijing 100021, China; 3. *Institute of Medicinal Plant Development, CAMS, PUMC, Center of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100193, China)*

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of forsythiaside on scopolamine-induced learning and

[收稿日期] 20150709(002)

[基金项目] 全军医学科技“十二五”科研项目(BWS11J052);对欧科技合作专项-保健品风险效益评估合作研究项目(1108)

[第一作者] 杨久山, 博士, 副主任医师, 从事创伤及运动医学工作, Tel:0531-68617062, E-mail: yangjiushan@163.com

[通讯作者] *刘新民, 博士, 研究员, 从事神经精神疾病病理及方法学工作, Tel:010-57833245, E-mail: liuxinmin@hotmail.com

memory impairment in mice, and explored the possible mechanism. **Method:** Kunming mice were randomly divided into 4 groups ($n = 12$ per group): normal group, scopolamine model group ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), positive control group (donepezil, $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and forsythiaside group ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). All groups were administered with drugs by gastric gavage for 2 weeks. On the 14th day, scopolamine model group, donepezil group and forsythiaside group were intraperitoneally injected with scopolamine ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). 20 min later, the step-down passive avoidance test was performed to evaluate the effect of forsythiaside on AchE and cAMP-extracellular signal-regulated kinase pathway. For another experiment, Kunming mice were randomly divided into 4 groups ($n = 8$ per group): normal group, scopolamine model group ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), positive control group (Vit E, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), forsythiaside group ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). After 14 days, all mice were beheaded to detect the effect of forsythiaside on superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and monoamine oxidase (MAO). **Result:** Significant effects were observed in the step-down passive avoidance test in the acquisition and consolidation periods. Forsythiaside can increase the reduced safe platform time ratio in the scopolamine group ($P < 0.05$). Forsythiaside can decrease the AchE activity in the cortex and hippocampus, increase the expression of p-ERK in hippocampus ($P < 0.05$), with statistically significant differences compared with model group. Compared with the model group, scopolamine can reduce SOD, MDA and MAO content in cortex and hippocampus ($P < 0.05$). Forsythiaside can significantly increase SOD, MDA and MAO content in cortex and hippocampus, with significant differences compared with scopolamine group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Forsythiaside ameliorated scopolamine-induced learning and memory impairment by modulating AchE activity, cAMP expression and p-ERK and resisting oxidation.

[**Key words**] forsythiaside; Alzheimer's disease; scopolamine

连翘酯苷 (forsythiaside) 是中药连翘的主要活性成分, 具有抗菌、抗氧化及免疫调节等药理作用^[1]。近年的动物实验表明连翘酯苷可明显改善 β 淀粉样蛋白, SAMP8 等阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 动物模型的学习记忆能力^[2,4]。体外实验显示连翘酯苷具有神经细胞保护作用^[5]。本课题组研究结果表明, 连翘酯苷在 $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时均表现出一定程度的益智作用, 其中连翘酯苷 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 作用最明显。

脑内胆碱能系统受损, 是 AD 发生发展的经典假说之一^[6]。东莨菪碱模型通过阻断乙酰胆碱 (ACh) 与 M 受体结合, 抑制大脑信息的传递, 干扰短时记忆的形成, 从而模拟 AD 胆碱能系统受损, 一直被广泛用于 AD 机制研究及药物研发^[7]。本研究建立东莨菪碱模型, 观察连翘酯苷对东莨菪碱模型学习记忆障碍的影响, 并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康雄性昆明种小鼠, 10 月龄, 体重 $35 \sim 40 \text{ g}$ 。由中国医学科学院动物实验中心提供, 合格证号 SCXK (京) 2009-0007, 动物使用许可证号 SYXK (京) 2008-0019。动物自由进食, 饮水。

1.2 药物及试剂 连翘酯苷由中国医学科学院药用植物研究所化学室制备, 纯度达到 95% 以上, 东莨菪碱 (默克公司, 批号 K26208347912), 多奈哌齐

(美国辉瑞公司, 批号 6109803), 维生素 E (北京双鹤药业, 批号 080107), 多克隆 ERK (Santa Cruz, USA, 批号 4695), 单克隆 p-ERK (美国 Santa Cruz 公司, 批号 4370), 脑组织¹²⁵I-CAMP RIA 测定所采用试剂盒 (上海中医药大学核医学实验室, 批号 060627); 超氧化物歧化酶 (SOD), 丙二醛 (MDA) 及单胺氧化酶 (MAO) 试剂盒 (批号 20110928), 均购于购于南京建成公司。

1.3 仪器 TT-1 型小鼠跳台测试仪 (由中国医学科学院药用植物研究所与中国航天员科研训练中心联合研制开发)。

2 方法

2.1 分组及给药 实验分为 2 批进行, 第 1 批实验, 动物随机分为 4 组, 分别为正常组, 东莨菪碱模型组, 多奈哌齐组 ($3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和连翘酯苷 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组 12 只。多奈哌齐组每天 ig 给予 $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。连翘酯苷组每天 ig 给予 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。正常组和模型组给予同体积蒸馏水。各组连续给药 14 d 后, 进行跳台实验。第 2 批实验用于检测连翘酯苷对东莨菪碱模型 SOD, MDA, MAO 水平的影响, 动物分为 4 组, 分别为正常组, 东莨菪碱模型组, 维生素 E 组 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和连翘酯苷 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组。每组 8 只。给药时间同第 1 批实验, 给药结束后, 直接进行生化检测。

2.2 东莨菪碱模型的建立 跳台实验开始前 60 min, 各组分别 *ig* 给予相应药物和蒸馏水。30 min 后, 模型组、多奈哌齐组和连翘酯苷组均 *ip* 东莨菪碱(3 mg·kg⁻¹)造模。正常组 *ip* 同体积生理盐水。

2.3 跳台实验 跳台实验分为获得模式和巩固模式。获得模式: 将小鼠放于不锈钢电网上, 适应 3 min, 开始实验, 电网通电, 时间为 5 min。动物站于台上时间为安全期时间, 安全期时间比率 = (安全期时间/总实验时间) × 100%。巩固模式: 获得模式进行 24 h 后, 将动物放置于绝缘跳台上, 进行巩固模式, 实验时间为 5 min。检测指标同上。

2.4 乙酰胆碱酯酶(AchE)活性的测定 跳台实验结束后, 断头处死小鼠, 置于冰上迅速分离海马和皮层, 于 0.9% 冰冷生理盐水中进行匀浆, 制成 10% 脑组织匀浆液。4 ℃, 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液, 按说明书进行操作。

2.5 环磷酸腺苷(cAMP)含量的测定 跳台实验结束后, 断头处死小鼠, 置于冰上迅速分离海马, 放入 pH 4.75 乙酸缓冲液中冰浴, 匀浆, 加入 2 mL 无水乙醇, 混匀, 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 收集上清液, 再用 75% 乙醇 2 mL 洗沉淀, 匀浆, 混匀, 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 合并上清液, 用乙酸缓冲液 1 mL 溶解, 按试剂盒说明书进行操作。

2.6 p-ERK 蛋白表达水平的测定 跳台实验结束后, 断头处死小鼠, 迅速于冰上取出海马组织, 立即置于预冷的 PBS 缓冲液中漂洗, 称重, 剪碎, 裂解。4 ℃, 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min; 取上清, BCA 法蛋白定量。常规 SDS-PAGE 电泳后, 将蛋白转移至 PVDF 膜, 封闭。加入一抗孵育, 4 ℃ 过夜。用 TBST 洗 3 次。将二抗与膜孵育, 使用增强型化学发光试剂(ECL)化学发光, 并用 Image J 软件对图像进行灰度分析。

2.7 SOD, MDA, MAO 的测定 给药结束后, 断头处死动物, 脑组织匀浆处理同 2.3 项, 其余按照说明书进行操作。

2.8 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析, 计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 组间差异采用 LSD 法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对跳台实验获得期和巩固期安全时间比率的影响 跳台实验获得期和巩固期, 东莨菪碱组与正常组比较, 安全期时间比率显著下降($P < 0.05$), 连翘酯苷显著增加安全期时间比率, 与东莨菪碱组比

较, 具有显著性差异($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 连翘酯苷对跳台实验获得期和巩固期安全时间比率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effects of forsythiaside on step down avoidance test and consolidation phase safety time ratio ($\bar{x} \pm s, n = 12$) %

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	获得期安全期 时间比率	巩固期安全期 时间比率
正常	-	92.82 ± 2.57 ¹⁾	92.52 ± 3.92 ¹⁾
东莨菪碱	3	16.02 ± 6.11	59.19 ± 6.17
多奈哌齐	3	42.01 ± 6.11 ¹⁾	88.03 ± 3.95 ¹⁾
连翘酯苷	200	24.41 ± 6.26 ¹⁾	78.64 ± 5.39 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 1~5, 图 1 同)。

3.2 对东莨菪碱模型海马和皮层 AchE 活性的影响 东莨菪碱组与正常组比较, 显著升高东莨菪碱模型小鼠大脑皮层和海马 AchE 活性($P < 0.05$)。连翘酯苷能显著降低小鼠大脑皮层和海马 AchE 活性, 与东莨菪碱组比较, 具有显著性差异($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠海马和皮层 AchE 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effects of forsythiaside on AchE activity of cortex and hippocampus in scopolamine-induced cognitive impairment of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$) U·mg⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	海马 AchE	皮层 AchE
正常	-	0.61 ± 0.04 ¹⁾	0.51 ± 0.05 ¹⁾
东莨菪碱	3	0.85 ± 0.05	0.65 ± 0.12
多奈哌齐	3	0.67 ± 0.05 ¹⁾	0.43 ± 0.04 ¹⁾
连翘酯苷	200	0.69 ± 0.06 ¹⁾	0.45 ± 0.04 ¹⁾

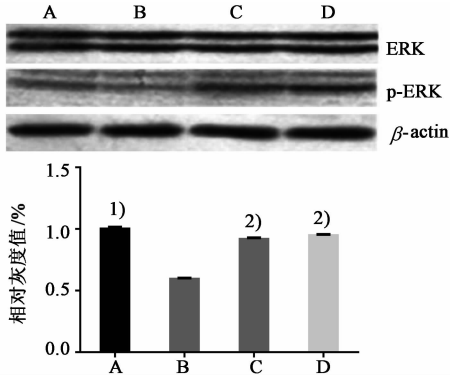
3.3 对东莨菪碱模型海马 cAMP 的影响 东莨菪碱组与正常组比较, 显著降低小鼠海马 cAMP 含量($P < 0.05$)。连翘酯苷显著升高小鼠海马 cAMP 含量, 与东莨菪碱组比较, 具有显著性差异($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠海马 cAMP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effects of forsythiaside on hippocampal cAMP in scopolamine-induced cognitive impairment of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	cAMP/nmol·L ⁻¹
正常	-	41.50 ± 8.21 ¹⁾
东莨菪碱	3	29.94 ± 3.87
多奈哌齐	3	54.95 ± 11.14 ¹⁾
连翘酯苷	200	44.87 ± 8.36 ¹⁾

3.4 对东莨菪碱模型 p-ERK 表达的影响 各组 ERK 表达水平相似,无显著性差异。东莨菪碱组显著降低小鼠海马 p-ERK 含量($P < 0.05$)。连翘酯苷显著升高小鼠海马 p-ERK 含量,与东莨菪碱组比较,具有显著性差异($P < 0.05$)。见图 1。



A. 正常组; B. 东莨菪碱组; C. 多奈哌齐组; D. 连翘酯苷组

图 1 连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠 p-ERK 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effects of forsythiaside on hippocampal p-ERK expression in scopolamine-induced cognitive impairment of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.5 对东莨菪碱模型小鼠皮层和海马 SOD, MDA, MAO 水平的影响 东莨菪碱组与正常组比较,显著降低小鼠大脑皮层和海马 SOD 活性、升高 MDA 含量和 MAO 活性($P < 0.05$)。连翘酯苷能显著升高小鼠大脑皮层和海马 SOD 活性、降低 MDA 含量和 MAO 活性,与东莨菪碱组比较,具有显著性差异($P < 0.05$)。见表 4, 5。

表 4 连翘酯苷对东莨菪碱模型小鼠皮层 SOD, MDA, MAO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effects of forsythiaside on cortex SOD, MDA, MAO expression in scopolamine-induced cognitive impairment of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹	MDA /μmol·g ⁻¹	MAO /U·mg ⁻¹
正常	-	265.25 ± 25.81 ¹⁾	3.26 ± 0.97 ¹⁾	8.53 ± 0.24 ¹⁾
东莨菪碱	3	213.24 ± 29.54	5.26 ± 1.00	12.47 ± 2.82
Vitamin E	100	262.20 ± 18.03 ¹⁾	2.61 ± 0.29 ¹⁾	3.07 ± 0.52 ¹⁾
连翘酯苷	200	255.42 ± 23.31 ¹⁾	2.66 ± 0.40 ¹⁾	6.97 ± 1.47 ¹⁾

4 讨论

跳台实验是一种常见的行为学检测方法,用于测试小型动物对空间位置辨知的学习记忆能力^[8]。本研究表明,东莨菪碱模型小鼠在获得期和巩固期安全期时间比率均明显下降,连翘酯苷能显著增加小鼠获得期和巩固期的安全时间比率,提示连翘酯

表 5 连翘酯苷对东莨菪碱模型海马 SOD, MDA, MAO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effects of forsythiaside on hippocampal SOD, MDA, MAO expression in scopolamine-induced cognitive impairment of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	SOD /U·mg ⁻¹	MDA /μmol·g ⁻¹	MAO /U·mg ⁻¹
正常	-	247.78 ± 28.14	1.50 ± 0.17 ¹⁾	6.91 ± 0.49 ¹⁾
东莨菪碱	3	193.25 ± 13.55	2.37 ± 0.45	8.89 ± 1.70
Vitamin E	100	232.17 ± 16.62 ¹⁾	1.40 ± 0.26 ¹⁾	3.73 ± 0.91 ¹⁾
连翘酯苷	200	240.34 ± 26.25 ¹⁾	1.51 ± 0.35 ¹⁾	6.33 ± 1.41 ¹⁾

苷可以改善东莨菪碱模型小鼠的学习记忆能力。

AD 患者 AchE 活性显著升高,可大量水解 ACh。通过检测 AchE 的活性可以阐明药物对 AD 胆碱能神经功能低下的改善作用^[9]。本实验结果表明,东莨菪碱组与正常组比较,显著升高小鼠皮层和海马 AchE 活性,用连翘酯苷与多奈哌齐预处理后,东莨菪碱模型小鼠皮层及海马 AchE 活性显著降低,提示连翘酯苷可能通过调节 AchE 活性发挥改善学习记忆的作用。

细胞外信号调节激酶(ERK)是丝裂素活化蛋白激酶家族的重要成员,与学习记忆过程密切相关^[10]。cAMP 及其通路在长时程增强的蛋白合成依赖性时相中发挥关键作用,与认知功能密切相关。本研究发现东莨菪碱模型海马 cAMP 含量下降,ERK 表达减少。连翘酯苷增加 cAMP 含量,同时提高 ERK 的表达,提示连翘酯苷可能通过调节 cAMP 表达,活化 ERK 改善学习记忆。

AD 患者体内自由基清除减少或抗氧化能力下降,过量的氧应激因子对神经细胞产生毒性,从而促进 AD 的发生和发展^[11]。SOD 是机体内源性抗氧化酶,其活性降低可导致脑部氧化应激损伤。MDA 是一种重要的脂质过氧化产物,其异常增加与记忆损伤有关。本研究表明,东莨菪碱模型组小鼠皮层和海马 SOD 活性降低,而 MDA 含量显著升高。连翘酯苷和维生素 E 均可显著升高东莨菪碱模型皮层和海马 SOD 活性,降低 MDA 含量,提示连翘酯苷可能通过抗氧化发挥改善学习记忆的作用。MAO 可以代谢多巴胺等多种神经递质,并可导致氧化应激,AD 的发病可能与 MAO 的升高有关^[12]。MAO 活性表达的变化可在一定程度上反应中枢神经系统单胺类神经递质的功能状况。本研究表明,东莨菪碱模型 MAO 活性显著增高,连翘酯苷可降低 MAO 活性,提示连翘酯苷可能通过抑制 MAO 活性,提高

学习记忆能力。

综上所述,连翘酯苷可显著改善东莨菪碱模型小鼠的学习记忆能力,其作用机制可能与抑制 AchE 及促进 cAMP 和 ERK 表达及抗氧化有关。上述研究为连翘酯苷作为抗 AD 药物的开发提供了进一步的实验数据。

[参考文献]

[1] 张立伟,赵春贵,杨频. 连翘酯苷抗氧化活性及构效关系研究[J]. 中国药理学杂志,2003,38(5):334-336.
[2] 王忆杭,肖培根,刘新民. 连翘酯苷对拟 ad 复合动物模型小鼠学习记忆的改善作用及其机制研究[J]. 中国实验动物学报,2011,19(5):423-427.
[3] 王红梅. 连翘酯苷对拟 ad 动物模型学习记忆的改善作用及其机制的研究[D]. 北京:北京协和医学院,2012.
[4] 李长禄,王红梅,王立为. 连翘酯苷对拟 ad 动物模型学习记忆的改善作用[J]. 山东医药,2012,52(44):4-7.
[5] 孙秀萍,王忆杭,王立为,等. 连翘酯苷对 PC12 细胞增殖及其细胞损伤模型的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(24):197-200.
[6] Chen W, Cheng X, Chen J, et al. Lycium barbarum polysaccharides prevent memory and neurogenesis impairments in scopolamine-treated rats[J]. PLoS One, 2014,9(2):e88076.
[7] Heschem S, Temel Y, Casaca-Carreira, et al. A

neuroanatomical analysis of the effects of a memory impairing dose of scopolamine in the rat brain using cytochrome c oxidase as principle marker[J]. J Chem Neuroanat, 2014,59/60:1-7.
[8] Kunisawa K, Nakashima N, Nagao M, et al. Betaine prevents homocysteine-induced memory impairment via matrix metalloproteinase-9 in the frontal cortex [J]. Behav Brain Res,2015,292:36-43.
[9] Chiapinotto Spiazzi C, Bucco Soares M, Pinto Izaguirry A, et al. Selenofuranoside ameliorates memory loss in alzheimer-like sporadic dementia: AChE activity, oxidative stress, and inflammation involvement [J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, doi: 10.1155/2015/976908.
[10] Yang H, Wang S, Yu L, et al. Esculentoside A suppresses Abeta-induced neuroinflammation by down-regulating MAPKs pathways *in vivo* [J]. Neurol Res, 2015,37(10):859-866.
[11] Yang W N, Han H. The effects of perindopril on cognitive impairment induced by d-galactose and aluminum trichloride via inhibition of acetylcholinesterase activity and oxidative stress [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2013,114/115:31-36.
[12] Xie S S, Wang X, Jiang N, et al. Multi-target tacrine-coumarin hybrids:Cholinesterase and monoamine oxidase B inhibition properties against Alzheimer's disease [J]. Eur J Med Chem,2015,95:153-165.

[责任编辑 周冰冰]