

油酰乙醇胺对东莨菪碱诱导小鼠认知功能损伤的保护作用

曾颖, 李莹*, 杨黎波, 黄舒季, 林楹琦

厦门医学院, 福建 厦门 361023

摘要: 目的 探讨油酰乙醇胺对东莨菪碱诱导小鼠认知功能损伤的保护作用。方法 将小鼠随机分为6组:对照组、模型组、多奈哌奇组(阳性药, $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和油酰乙醇胺低、中、高剂量(50 、 100 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组, 每组6只。在ig给药4周后, 除对照组外, 各组ip $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的东莨菪碱建立阿尔茨海默病(AD)模型。避暗、跳台行为学实验检测小鼠记忆功能; ELISA法检测小鼠海马和大脑皮层中乙酰胆碱(Ach)和乙酰胆碱酯酶(AChE)水平; HE染色观察小鼠大脑皮层及海马损伤。结果 与对照组比较, 模型组的避暗潜伏期显著缩短、避暗错误次数显著增加($P < 0.001$); 大脑皮层、海马的Ach水平显著减少($P < 0.01$ 、 0.001), AChE活性显著升高($P < 0.001$); 模型组的小鼠脑组织形态结构不均匀, 组织细胞呈弥散状, 提示组织存在病变。与模型组比较, 各给药组的避暗潜伏期显著升高、避暗错误次数显著减少($P < 0.01$); 油酰乙醇胺给药组的小鼠大脑皮层、海马组织Ach水平显著升高($P < 0.05$ 、 0.01), AChE活性显著降低($P < 0.01$ 、 0.001); 小鼠脑组织形态结构病理改变减轻。结论 油酰乙醇胺对东莨菪碱诱导学习记忆障碍模型小鼠的认知功能具有改善作用, 其作用机制可能与调节胆碱能系统功能、促进神经细胞存活有关。

关键词: 油酰乙醇胺; 阿尔茨海默病; 东莨菪碱; 学习记忆障碍; 乙酰胆碱

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2023)07-1506-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.07.014

Protective effect of *N*-oleoylethanolamine on scopolamine-induced cognitive impairment in mice

ZENG Ying, LI Ying, YANG Libo, HUANG Shuji, LIN Yunqi

Xiamen Medical College, Xiamen 361023, China

Abstract: Objectives To explore the protective effect of *N*-oleoylethanolamine alleviates scopolamine-induced spatial learning and memory deficits in mice. **Methods** The mice were randomly divided into six groups: control group, model group, donepezil group (positive drug, $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and *N*-oleoylethanolamine low, medium and high dose (50 , 100 , $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) groups, with six mice in each group. Four weeks after ig administration, except for the control group, dementia models were established by ip $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of scopolamine in each group. Test the memory function of mice through behavioral experiments of avoiding darkness and jumping platforms. The levels of acetylcholine (Ach) and acetylcholinesterase (AChE) in hippocampus and cerebral cortex of mice were detected by ELISA. HE staining was used to observe the damage to the cerebral cortex and hippocampus of mice. **Results** Compared with the control group, the model group had a significantly shorter latency and an increased number of avoidance errors ($P < 0.001$), the levels of Ach in the cerebral cortex and hippocampus were significantly reduced ($P < 0.01$, 0.001), while the activity of AChE was significantly increased ($P < 0.001$), the brain tissue morphology and structure of the model group mice were uneven, with diffuse tissue cells, indicating the presence of pathological changes in the tissue. Compared with model group, the latency of dark avoidance significantly increased and the number of dark avoidance errors significantly decreased in each medication group ($P < 0.01$), Ach level in cerebral cortex and hippocampus of mice in *N*-oleoylethanolamine administration group was significantly increased ($P < 0.05$, 0.01), and AChE activity was significantly reduced ($P < 0.01$, 0.001), and the pathological changes in the morphology and structure of mouse brain tissue were alleviated. **Conclusion** *N*-oleoylethanolamine can improve the cognitive function of scopolamine-induced learning and memory impairment model mice. The effect of *N*-oleoylethanolamine may be related

收稿日期: 2023-03-27

基金项目: 福建省科技厅自然科学基金面上项目(2021J01344)

第一作者: 曾颖(1989—), 硕士, 实验师, 研究方向为生物制药。E-mail: zoezy1122@163.com

*通信作者: 李莹(1984—), 博士, 副教授, 研究方向为遗传医学。E-mail: 25195124@qq.com

to regulating the function of the cholinergic system and promoting the survival of nerve cells.

Key words: *N*-oleoylethanolamine; Alzheimer's disease; scopolamine; learning and memory impairment; acetylcholine

阿尔茨海默病(AD)最初是由德国神经病理学家 Alois 在 1906 年提出的,是一种以记忆功能和认知功能进行性退化为特征的不可逆的神经退行性疾病。AD 是全球范围内最常见的痴呆,随着人口老龄化,发病率日益增加。AD 通常最初影响记忆,最终进展到涉及弥漫性皮质功能障碍,导致患者无法独立进行日常生活。目前世界上有许多关于 AD 发病机制的学说,其中胆碱能假说占据众多学说的主流地位,该假说认为胆碱能细胞丢失^[1]及乙酰胆碱(Ach)减少造成胆碱能缺失是早期 AD 的重要诱因^[2-3]。有研究表明,AD 患者症状中一个非常重要的特征是脑内 Ach 含量降低、乙酰胆碱酯酶(AChE)活力升高^[4-5]。目前科学界已证实胆碱能系统和神经营养信号通路的改善可以减轻疾病早期胆碱能缺少的症状,并能减缓疾病的进展^[6]。由于 AD 是多因素共同作用导致的复杂疾病,其发病机制至今尚不明确。

盐酸多奈哌齐是目前临床上用于治疗 AD 的主要药物,是一种 AChE 的抑制剂,对突触间隙的 AChE 活性具有一定的抑制作用^[7-8]。AChE 的活性可以反映脑内胆碱能神经元的活性,AChE 可以调节大脑皮质和海马组织中神经生长因子的合成与释放。患者脑内的 AChE 通常会含量异常,导致被传递到皮质和海马的 Ach 含量减少,生成的神经生长因子就会减少,不能发挥营养作用。因此,降低 AChE 活性对缓解 AD 症状有一定的积极作用。临床使用的许多抗 AD 药物都属于 AChE 抑制剂。但是,这些药物并不能够延缓或是阻断 AD 的病理进程,而仅能够改善轻度或中度 AD 患者的部分症状。

东莨菪碱是一种 M 胆碱受体拮抗药,可以穿透血脑屏障到达神经中枢,竞争性的与中枢神经内 M 受体结合,阻断受体和 Ach 结合,抑制中枢神经系统,引起胆碱能失调,导致学习记忆功能障碍^[9]。使用东莨菪碱造模非常简便,仅需 ip 就可以引起胆碱能系统功能障碍,产生学习记忆障碍等症状^[10]。在世界范围内,在记忆保护药物的研究中,东莨菪碱导致的记忆障碍小鼠模型被广泛应用^[11]。

油酰乙醇胺是一种内源性的过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 高亲和配体,同时具有神经保护、抗炎及调血脂等多方面的药理活性。已有研究证明油酰乙醇胺能降低脑缺血后的神经

元(Neun)和星形胶质细胞的细胞胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的死亡,增强神经发生、突触可塑性和改善脑缺血慢性期认知功能障碍^[12-13],提示油酰乙醇胺作用可能与胆碱能系统活性和学习记忆障碍相关。目前尚未有关于油酰乙醇胺对胆碱能系统影响的研究,本实验探究油酰乙醇胺对东莨菪碱记忆障碍模型的影响,同时通过测定皮质和海马中 Ach 和 AChE 水平来探寻其可能的作用机制,以期 AD 等以记忆障碍为主要临床症状的疾病的新药开发提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

健康雄性清洁级 ICR 小鼠 36 只,6 周龄,体质量 25~32 g,所有小鼠均由福州吴氏实验动物中心提供,实验动物生产许可证号 SYXK(闽)2018-0009,在提供自然照明的标准动物饲养房中,将动物分组放置在独立通气鼠笼中饲养,每笼 6 只,室温控制在 20~23 °C,自由饮水和进食,实验前应适应 1 周。实验经厦门大学医学伦理委员会批准,批件文号为 2021041302。

1.2 主要试剂

油酰乙醇胺(上海麦克林生化科技股份有限公司,货号 E808861-10L);氢溴酸东莨菪碱注射液(上海禾丰制药有限公司,货号 H31021519);多奈哌齐(北京沃凯生物科技有限公司,货号 120014-06-4);小鼠 Ach ELISA 检测试剂盒、小鼠 AChE ELISA 检测试剂盒、HE 染色试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);尼氏染色液(50 mL)(上海翊圣生物科技有限公司)。

1.3 主要仪器

CM1100 冰冻切片机、AM6000 全自动显微操作系统(德国徕卡公司);高速冷冻离心机 TGL16 M(山东博科生物产业有限公司);YLS-3T 跳台记录仪、BA-200 小鼠避暗仪(济南延益科技发展有限公司)。

2 方法

2.1 实验分组与处理

将小鼠随机分为 6 组:对照组、模型组、多奈哌奇组(阳性药,3 mg·kg⁻¹)和油酰乙醇胺低、中、高剂量(50、100、200 mg·kg⁻¹)组,每组 6 只。在造模前,油酰乙醇胺、多奈哌奇组均 ig 给药,对照组和模型

组 ig 等体积 0.9% 氯化钠溶液, 给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药 4 周后, 除对照组外, 各组 ip $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的东莨菪碱建立 AD 模型^[8,11], 对照组 ip 等体积的 0.9% 氯化钠溶液。间隔 1 d 按照开始的给药方式给药 1 次, 维持血药浓度。

2.2 避暗实验

通过小鼠避暗仪对给药 4 周后的小鼠进行避暗实验。适应期: 将小鼠头朝室壁放入明室, 两室连接门敞开, 让小鼠在两室内自由活动 2~3 min 后取出放回饲养笼。训练期: 24 h 后将小鼠放入明室, 促其进入暗室后, 关闭连接门, 同时开启电击, 小鼠足部受电击, 通电 3 s 后关闭, 开门放出小鼠。试验期: 训练后 24 h (第 3 天), 再次将小鼠放入明室测试 5 min, 记录小鼠避暗潜伏期, 即首次由明室移动到暗室的时间, 若超过 90 s 仍未到暗室, 则潜伏期记录为 90 s。同时记录错误次数, 即 300 s 内入暗室的次数。

2.3 跳台实验

通过跳台记录仪对给药 4 周后的小鼠进行跳台实验。适应期: 将小鼠放到跳台反应箱内的绝缘橡胶平台上熟悉环境, 使其在箱内自由上下适应 3 min。训练期: 将小鼠放置于金属地板上, 开启电击 10 s 后关闭, 反复训练 5~10 次。通电后小鼠四肢遭受电击会上下跳跃, 偶尔于无意之中跳上平台方可躲避电击, 随即又跳下平台, 如此反复多次即可形成记忆而不跳下跳台。训练时如果有小鼠始终没有跳上平台则弃去不用。试验期: 将小鼠放入仪器内, 适应 3 min, 随后将小鼠提尾放在跳台上, 操作动作尽量保持同步。通电 5 min, 记录首次跳下平台的时间 (即潜伏期), 限定时间内未跳离平台, 最大潜伏期为 90 s。

2.4 样品制备

2.4.1 匀浆样品 每组随机取出 4 只小鼠, 迅速在冰上分离小鼠左右脑组织, 剥离出海马组织。按比例于 EP 管中加入 PBS 缓冲液 ($6 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$) 和 PMSF ($30 \mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$), 每管中加入 2 颗小钢珠, 利用组织匀浆机进行匀浆 ($15\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清待用。用考马斯亮蓝 G250 测定上清液中蛋白质含量。以最低浓度样品基准, 各管加入适量体积稀释液至所有样品的蛋白质浓度达到同一水平, 每个样品分装成 3 管, 每管 $100 \mu\text{L}$, 冻存于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱用以 ELISA 法检测。

2.4.2 染色样品 取每组剩下的 2 只小鼠, 用 0.9% 氯化钠溶液和 4% 多聚甲醛溶液进行心脏灌注实验后取脑, 在 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 将多聚甲醛固

定液换为 30% 蔗糖溶液进行脱水, 再将 30% 的蔗糖溶液换为 50% 蔗糖溶液进行梯度沉糖脱水, 待脑组织在 50% 蔗糖溶液中沉底后, 将脑取出, 使其平放到加有组织包埋剂的硅胶模具中, 放入 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存, 冷冻切片备用。

2.5 ELISA 法检测皮层和海马组织中 Ach 水平和 AChE 活性

采用 ELISA 法分别检测小鼠海马和大脑皮层组织提取液中的 Ach、AChE 水平, 按照检测试剂盒说明书中的实验步骤进行操作。

2.6 HE 染色实验

用多聚甲醛固定液固定烘烤后的冰冻切片样品 12 min, 蒸馏水清洗 2 min。苏木素染色 5 min, 蒸馏水清洗 10 min 去除多余染色液。使用盐酸乙醇分化液分化约 2 s, 蒸馏水清洗 10 min。伊红染色液染色 10 min。使用 70%、80%、90% 和无水乙醇分别作用 10 s 进行脱水处理。二甲苯透明 2 次, 每次 5 min。用中性树胶或其他封片剂封片, 盖上盖玻片, 显微镜下观察, 细胞核呈蓝色, 而细胞浆呈粉红色或红色。

2.7 统计学方法

数据采用 GraphPad Prism 7.00 软件进行统计学分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组构成比的比较使用 χ^2 检验, 跳台数据采用单因素方差分析。

3 结果

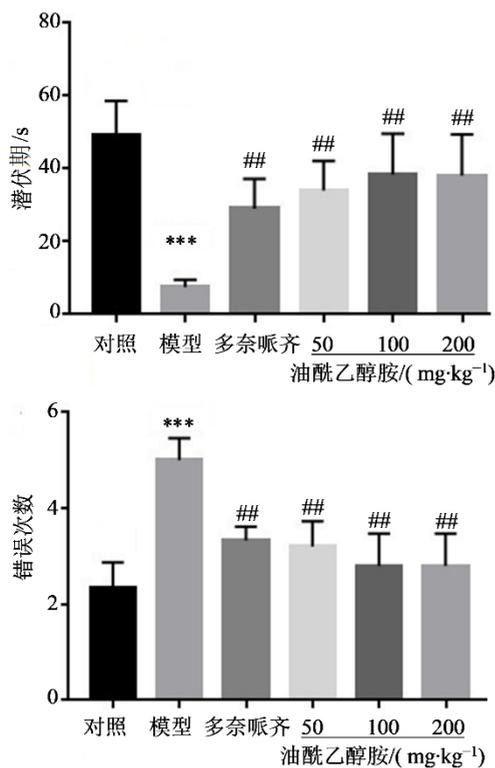
3.1 避暗实验结果

图 1 实验结果显示, 与对照组比较, 模型组的避暗潜伏期显著缩短 ($P < 0.001$), 表明 ip 东莨菪碱可影响小鼠的学习记忆功能, 导致学习记忆功能障碍, 潜伏期缩短。其余 4 组的避暗潜伏期显著长于模型组 ($P < 0.01$), 说明多奈哌齐和不同浓度的油酰乙醇胺均对记忆功能障碍小鼠产生了保护作用, 且油酰乙醇胺作用呈剂量相关性。

模型组的避暗错误次数显著高于对照组 ($P < 0.001$), 说明东莨菪碱显著影响了小鼠的学习记忆能力, 导致错误次数增加; 与模型组比较, 多奈哌齐组和油酰乙醇胺低、中、高剂量组的错误次数显著降低 ($P < 0.01$), 且油酰乙醇胺作用呈剂量相关性, 说明多奈哌齐和油酰乙醇胺的各剂量组均对小鼠的学习记忆功能产生了保护作用。从实验结果可以得出, 油酰乙醇胺显著延长 AD 小鼠避暗实验的潜伏时间, 减少错误次数。

3.2 跳台实验结果

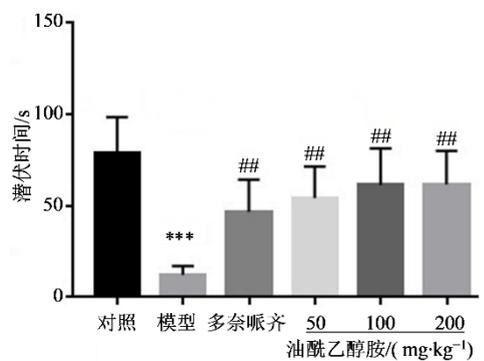
图 2 实验结果显示, 与对照组比较, 模型组的避



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.001$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group

图1 避暗实验潜伏期、错误次数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 1 Dark incubation period and number of dark test errors ($\bar{x} \pm s, n=6$)



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.001$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group

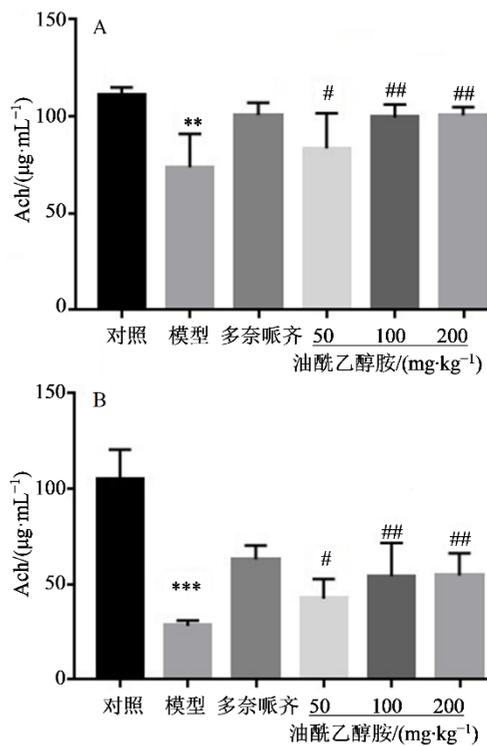
图2 跳台实验潜伏期 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 2 Jump test incubation period ($\bar{x} \pm s, n=6$)

暗潜伏期显著缩短 ($P < 0.001$), 表明 ip 东莨菪碱导致学习记忆功能障碍; 与模型组比较, 各给药组小鼠的避暗潜伏期显著延长 ($P < 0.01$), 且油酞乙醇胺作用呈剂量相关性, 说明不同浓度的油酞乙醇胺均对记忆功能障碍小鼠产生了保护作用。

3.3 皮层和海马组织中 Ach 水平

如图3所示, 与对照组比较, 模型组小鼠大脑皮层、海马的 Ach 水平显著减少 ($P < 0.01, 0.001$), 说



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图3 大脑皮层(A)、海马(B) Ach 水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 3 Ach content in cerebral cortex (A) and hippocampus (B) of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

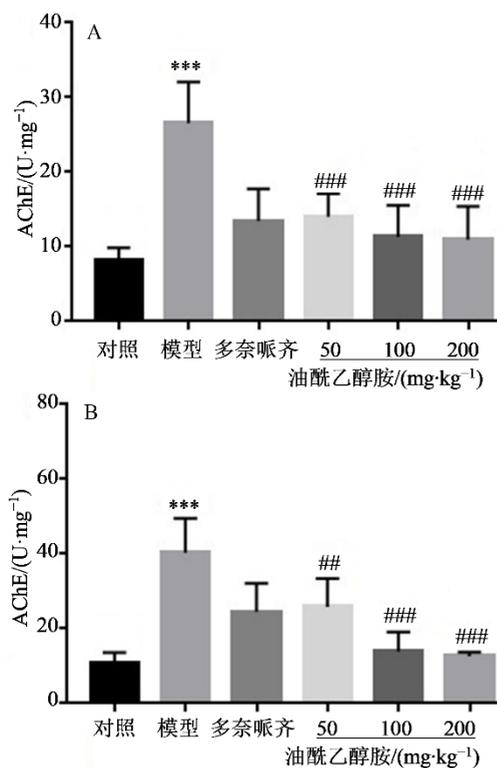
明动物模型造模成功, ip 东莨菪碱可显著降低小鼠脑组织 Ach 水平, 导致小鼠的记忆功能受损; 与模型组比较, 油酞乙醇胺给药组的小鼠大脑皮层、海马组织 Ach 水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 且油酞乙醇胺作用呈剂量相关性。

3.4 皮层和海马组织中 AChE 浓度

AChE 是反映脑内胆碱系统功能的重要指标, 可降解胆碱能突触间 Ach 的含量, 可间接反映体内 Ach 的含量。如图4所示, 与对照组比较, 模型组小鼠大脑皮层、海马组织的 AChE 活性显著升高 ($P < 0.001$), 表明模型组小鼠的胆碱酯酶活性显著升高, 导致胆碱含量降低; 与模型组比较, 油酞乙醇胺给药组的小鼠皮层、海马 AChE 活性显著降低 ($P < 0.01, 0.001$), 且油酞乙醇胺作用呈剂量相关性。

3.5 HE 染色观察组织细胞形态

如图5所示, 模型组的小鼠脑组织形态结构不均匀, 与对照组比较, 组织细胞呈弥散状, 提示组织存在病变; 而油酞乙醇胺组的脑组织切片, 虽显示有不同程度的病理变化, 但仍具有部分完整结构。



与对照组比较:*** $P < 0.001$;与模型组比较:## $P < 0.01$ # $P < 0.01$
 *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图4 大脑皮层(A)、海马(B)AChE含量($\bar{x} \pm s, n=3$)
 Fig. 4 AChE content in cerebral cortex(A) and hippocampus (B) of mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

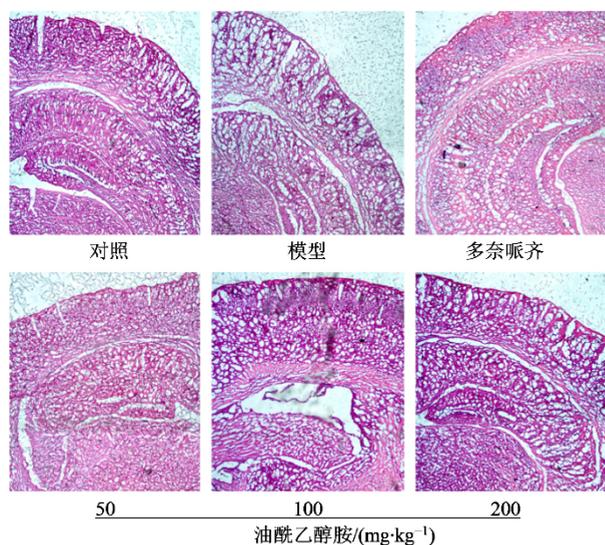


图5 大脑皮层及海马 HE 染色($\times 40$)
 Fig. 5 HE staining in cerebral cortex and hippocampus ($\times 40$)

4 讨论

本研究选择用避暗实验和跳台实验来观察已知能够影响学习记忆能力的药物或者筛选新药,所得结果与采用其他类型试验方法基本相似。这2种

实验方法操作简便,仅需要一次性学习即可结束训练,同时记录的指标比较明确,便于观察记录。不过也存在自动化程度低,需要人工观察、记录等缺陷^[14-15]。从实验结果可以看出,油酰乙醇胺给药后,小鼠在避暗和跳台实验的潜伏期明显延长,与模型组比较,有显著性差异,给药组小鼠在避暗中的错误次数也显著降低。结果提示,油酰乙醇胺能显著提升东莨菪碱造成的记忆获得障碍模型小鼠学习记忆能力。

油酰乙醇胺给药组可有效提高皮层和海马ACh水平,且有效降低皮层和海马中AChE的活性,其中,中、高剂量组效果最明显。油酰乙醇胺的作用机制可能与调节胆碱能系统的功能、促进神经细胞存活有关。本研究结果显示,不同浓度的油酰乙醇胺均对东莨菪碱诱导学习记忆障碍模型小鼠的认知功能具有改善作用,其中100、200 mg·kg⁻¹的油酰乙醇胺的改善作用较为明显,在某些方面表现出比3 mg·kg⁻¹多奈哌齐更强的效果。低、中剂量的作用有明显差异,而中、高剂量的治疗效果之间没有显著性差异,这可能与油酰乙醇胺的结构有关,提示油酰乙醇胺治疗AD的最佳剂量为100 mg·kg⁻¹。

油酰乙醇胺可有效改善记忆障碍小鼠学习记忆能力,其作用机制可能与抑制脑组织中AChE活力、促进ACh的生成、促进神经细胞存活、改善中枢胆碱能神经系统有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hampel H, Mesulam M M, Cuello A C, et al. The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer's disease [J]. Brain, 2018, 141(7): 1917-1933.
- [2] Lee J H, Jeong S K, Kim B C, et al. Donepezil across the spectrum of Alzheimer's disease: Dose optimization and clinical relevance [J]. Acta Neurol Scand, 2015, 131(5): 259-267.
- [3] Francis P T, Palmer A M, Snape M, et al. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: A review of progress [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1999, 66(2): 137-147.
- [4] Chen Q, Prior M, Dargusch R, et al. A novel neurotrophic drug for cognitive enhancement and Alzheimer's disease [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e27865.
- [5] Anand P, Singh B. A review on cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(4): 375-399.

- [6] Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration [J]. Behav Brain Res, 2011, 221(2): 555-563.
- [7] Stemmelin J, Cassel J C, Will B, et al. Sensitivity to cholinergic drug treatments of aged rats with variable degrees of spatial memory impairment [J]. Behav Brain Res, 1999, 98(1): 53-66.
- [8] 吕佩源, 陈玲, 赵宝华, 等. 盐酸多奈哌齐对血管性痴呆小鼠海马神经细胞神经元蛋白激酶C表达变化的影响 [J]. 神经疾病与精神卫生, 2008, 8(1): 17-19.
- LV P Y, Chen L, Zhao B H, et al. Effects of donepezil hydrochloride on the protein kinase C expression changes in hippocampal neuron of mice with vascular dementia [J]. J Neuros Ment Health, 2008, 8(1): 17-19.
- [9] Jain N K, Patil C S, Kulkarni S K, et al. Modulatory role of cyclooxygenase inhibitors in aging- and scopolamine or lipopolysaccharide-induced cognitive dysfunction in mice [J]. Behav Brain Res, 2002, 133(2): 369-376.
- [10] 罗晓莉. 银杏叶提取物对东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的作用 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2013.
- Luo X L. Effect of *Ginkgo biloba* leaves extract on scopolamine-induced learning and memory impairments in mice [D]. Guilin: Guangxi Normal University, 2013.
- [11] 杨春壮, 马彦文, 刘长发. 老年性痴呆动物模型优劣浅析 [J]. 牡丹江医学院学报, 2003, 24(3): 53-55.
- Yang C Z, Ma Y W, Liu C F. Advantages and disadvantages of animal models of alzheimer's disease [J]. J Mudanjiang Med Coll, 2003, 24(3): 53-55.
- [12] Auld D S, Kornecook T J, Bastianetto S, et al. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: Relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies [J]. Prog Neurobiol, 2002, 68(3): 209-245.
- [13] Xu X D, Guo H, Jing Z, et al. N-oleoylethanolamine reduces inflammatory cytokines and adhesion molecules in TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cells by activating CB2 and PPAR- A [J]. J Cardiovas Pharmacol, 2016, 68(4): 280-291.
- [14] 张均田, 斋藤洋. 十二种化学药品破坏小鼠被动回避性行为——跳台试验和避暗试验的作用的比较观察 [J]. 药理学学报, 1986, 21(1): 12-19.
- Zhang J T, 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]. Acat Pharmaceutica sinica, 1986, 21(1): 12-19.
- [15] 王爱梅, 耿若君, 李弋, 等. 旱莲草对老年痴呆模型大鼠学习记忆及海马神经递质的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(3): 332-335.
- Wang A M, Geng R J, Li Y, et al. Effect of *Eclipta* on learning and memory and hippocampal neurotransmitters in the senile dementia model rats [J]. J Basic Chin Med, 2016, 22(3): 332-335.

[责任编辑 兰新新]