

## Hcy 对动脉粥样硬化小鼠肝脏脂质代谢的影响\*

卢冠军<sup>1</sup>, 杨安宁<sup>2</sup>, 蔡欣<sup>3</sup>, 哈丽娜<sup>3</sup>, 杨晓玲<sup>2</sup>, 姜怡邓<sup>2△</sup>

(1. 宁夏医科大学总医院, 银川 750004; 2. 宁夏医科大学基础医学院, 银川 750004;

3. 宁夏医科大学检验学院, 银川 750004)

**摘要:**目的 探讨同型半胱氨酸(Hcy)促进 ApoE 基因敲除(ApoE<sup>-/-</sup>)鼠动脉粥样硬化(AS)形成同时是否对肝脏脂质代谢产生影响。**方法** 取健康 5 周龄雄鼠(SPF 级 C57BL/6J)12 只作为正常对照组, 饲以普通饮食; 另选 5 周龄雄性纯合子 ApoE<sup>-/-</sup>鼠(SPF 级近交系 C57BL/6J)36 只, 分为模型对照组、高同型半胱氨酸血症(HHcy)组、叶酸和 VB<sub>12</sub> 干预的干预组, 每组 12 只, 饲养 18 周后, 生化分析仪测定血清 Hcy 及血脂总胆固醇(CHOL)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)水平, 主动脉冰冻切片苏木素-伊红(HE)染色后观察并测量斑块面积; 肝脏组织冰冻切片油红 O 染色观察肝脏细胞脂质变化, 酶法测定肝脏脂质代谢改变。**结果** 与正常对照组比较, HHcy 组血清 Hcy、LDL、TG、CHOL 水平明显增高( $P<0.01$ ), 分别升高约 2.3、2.8、5.0、10.7 倍, HDL 下降约 64%( $P<0.01$ ); 干预组 Hcy、LDL、CHOL 水平较 HHcy 组分别下降 43%、34%、21%, HDL 水平增高 36%( $P<0.05$ ), TG 无明显变化; HE 染色可见 3 组 ApoE<sup>-/-</sup>鼠主动脉均有 AS 形成, 其中 HHcy 组主动脉斑块面积  $28.2 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , 明显大于模型对照组的  $17.0 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  ( $P<0.05$ ), 干预组斑块面积  $17.1 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , 较 HHcy 组减轻( $P<0.05$ )。肝脏油红 O 染色 HHcy 组脂质积累明显; 干预组肝细胞内有少量脂质沉积; 氧化酶法检测发现 HHcy 组肝脏组织中 CHOL 和 TG 分别是正常对照组的 2.2、2.8 倍( $P<0.01$ ); 干预组肝脏 CHOL、TG 水平与 HHcy 组比较下降 30%、33%( $P<0.01$ )。**结论** Hcy 促进 ApoE<sup>-/-</sup>鼠 AS 形成的同时加速肝脏脂代谢紊乱。

**关键词:** 同型半胱氨酸; 脂类代谢; 动脉粥样硬化; ApoE<sup>-/-</sup>鼠

中图分类号: R363

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)30-4030-04

Hcy promotes the formation of atherosclerotic and effect of liver lipid metabolism disorder in ApoE<sup>-/-</sup> mice\*Lu Guanjin<sup>1</sup>, Yang Anning<sup>2</sup>, Cai Xin<sup>3</sup>, Ha Lina<sup>1</sup>, Yang Xiaoling<sup>2</sup>, Jiang Yideng<sup>2△</sup>

(1. Department of Urological, the Affiliated Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China;

2. School of Preclinical Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China;

3. School of Clinic Laboratory, Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750004, China)

**Abstract:** **Objective** To study the effect of homocysteine(Hcy) on the formation of atherosclerotic and acceleration of ApoE<sup>-/-</sup> mice liver lipid metabolism disorder. **Methods** 12 normal 5 weeks old C57BL/6J mice served as control group, and 36 5 weeks old C57BL/6J ApoE<sup>-/-</sup> mice were randomly divided into 3 groups( $n=12$  for each group), the model control group, the hyperhomocysteinemia(HHcy) group and the intervention group(intervened by folate and vitamin B<sub>12</sub>). 18 weeks later, the blood of the mice was gotten using a Unilateral enucleation method, and the Serum Hcy and lipid changes were detected by Biochemical analyzer. And the changes of plaque size were measured by HE staining. The liver tissues of the 4 groups mice were taken and the changes in hepatocyte lipid were detected by oil red O staining, and the hepatic lipid levels were measured by enzymatic determination(by Semi-quantitative image analysis). **Results** The results showed that, when compared with the control group, the serum Hcy, LDL, TG and CHOL levels of the HHcy group significantly increased by 2.3, 2.8, 5.0, 10.7 fold( $P<0.01$ ) and the content of HDL decreased by 64%( $P<0.01$ ), and the result showed that, compared with the HHcy group, the serum Hcy, LDL and CHOL levels of the intervention group were significantly decreased by 43%, 34%, 21%( $P<0.05$ ). Atherosclerotic fatty plaque could be seen in the hyperlipidemic, model and intervention group. Meanwhile, there was a large number of scattered fat in ApoE<sup>-/-</sup> mice liver by oil red O staining in the HHcy group, and the CHOL and TG levels were 2.2 fold and 2.8 fold higher in the HHcy than that in the normal control group respectively( $P<0.01$ ). And compared with the HHcy group, the serum CHOL and TG levels of the intervention group significantly decreased by 34%, 33%( $P<0.01$ ). **Conclusion** It is found that Hcy can induce the formation of As and accelerate liver lipid metabolism disorder.

**Key words:** homocysteine; lipid metabolism; atherosclerosis; ApoE<sup>-/-</sup> mice

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的重要基础性病变。高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia, HHcy)是 AS 发病的独立危险因素<sup>[1]</sup>。据文献报道, HHcy 导致 AS 可能的机制有损伤内皮细胞、促进脂质过氧化和脂质代谢紊乱等<sup>[2-3]</sup>。肝脏作为脂质代谢的重要靶器官, 在脂质代谢

平衡中发挥着不可替代的作用<sup>[4]</sup>。Hcy 在导致 AS 形成同时对肝脏脂质代谢是否产生影响尚缺乏有力证据。小鼠在 ApoE(apolipoprotein E, ApoE)基因敲除(ApoE<sup>-/-</sup>)后会造成自发的脂质代谢功能紊乱, 所造模型与人类相似。而饲喂高甲硫基丁氨酸饲料, 不但能引起 HHcy, 还会加速 ApoE<sup>-/-</sup>鼠 AS 形

成的进程,进而缩短造模时间<sup>[5-6]</sup>。本实验复制 *ApoE*<sup>-/-</sup>鼠 AS 动物模型,旨在阐明在 Hcy 引起 AS 的基础上,Hcy 在肝脏脂质代谢异常中的作用,为 AS 过程中肝脏的损伤提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与材料 SPF 级 C57BL/6J 雄性纯合子健康小鼠 12 只及近交系 C57BL/6J 背景的 *ApoE*<sup>-/-</sup>小鼠 36 只购自北京大学实验动物中心(合格证号:SCXK(学)2002-001);西门子 AD-VIA-2400 型全自动生化分析仪;生化检测试剂(批号 01218LH,北京利德曼公司);苏木素-伊红(HE)染液购自湖北泰康医疗设备有限公司;油红 O 染液、三酰甘油(TG)、血脂总胆固醇(CHOL)测定试剂盒为 Sigma 公司产品;OCT 包埋剂购自上海金穗生物科技有限公司;CM1850 切片机为德国 Leica 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 分组 将实验动物分为 4 组:(1)正常对照组(*n*=12):5 周龄 SPF 级 C57BL/6J 雄性纯合子健康小鼠饲以普通饮食;(2)模型对照组(*n*=12):*ApoE*<sup>-/-</sup>小鼠饲以普通饮食;(3)HHcy 组(*n*=12):*ApoE*<sup>-/-</sup>小鼠饲以高甲硫基丁氨酸饮食(普通饮食中加入 1.7%甲硫基丁氨酸);(4)干预组(*n*=12):*ApoE*<sup>-/-</sup>小鼠饲以高甲硫基丁氨酸饮食加 0.06%叶酸和 0.004%VB<sub>12</sub>。小鼠均饲养于 SPF 级环境内,分笼饲养,室内温度控制 20~25℃,相对湿度 60%左右,明暗交替各 12 h,动物饲养笼具饮水瓶定期消毒,所用垫料高压灭菌,饲养房内定期紫外灯消毒。在自由摄食和饮水的条件下饲养 18 周后,单侧眼球取血并处死,进行后续试验。

1.2.2 小鼠血清 Hcy 与血脂水平检测 全自动生化分析仪检测各组小鼠血清 Hcy 水平及 CHOL、TG、LDL、高密度脂蛋白(high density lipoprotein,HDL)水平变化。

1.2.3 主动脉病理切片 HE 染色 动物采血后,麻醉状态下处死小鼠,分离主动脉,进行冰冻切片,切片采取 HE 染色,普通光学显微镜观察血管及斑块的形态结构并进行病理形态学描述;用 ImageJ 图像处理软件测量斑块面积(plaque areas,PA)并取其平均值作为该标本的最终结果、采集图像。

1.2.4 肝组织油红 O 染色观察 取小鼠肝脏,放入液氮中速冻后经包埋剂包埋,放入冰冻切片机固定制备肝脏 7 μm 冰冻切片,油红 O 染色,光学显微镜观察、拍照。

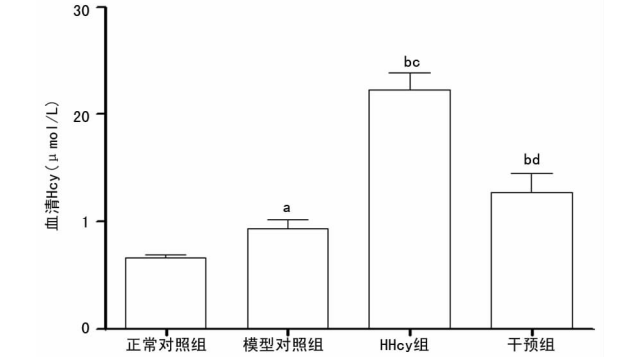
1.2.5 肝脏 CHOL、TG 水平测定 取新鲜的肝脏去掉其中非肝细胞部分(如大血管、胆等),用刀切成小块,研磨成糊状制成肝脏研磨液,氧化酶法测定肝脏 CHOL、TG 水平,操作步骤按试剂盒说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学数据处理,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,前后对比采用配对 *t* 检

验,组间对比采用单因素方差分析,计数资料用  $\chi^2$  检验,采用 Pearson 相关系数进行相关性分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

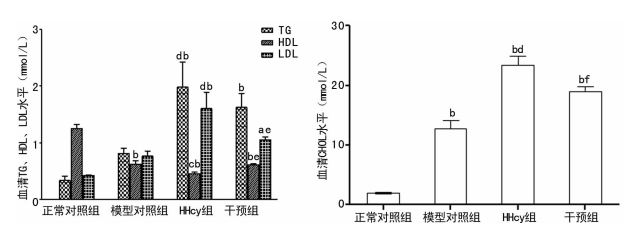
2 结果

2.1 小鼠血清 Hcy 和血脂水平的变化 4 组小鼠使用不同饲料喂养后,Hcy 水平明显改变,HHcy 组变化最为明显,与正常对照组比较,血清 Hcy 水平升高约 2.3 倍,差异有统计学意义(*P*<0.01);与模型对照组比较,血清 Hcy 水平升高约 1.4 倍(*P*<0.01),提示 Hcy 代谢异常可引起 HHcy;与 HHcy 组比较,干预组 Hcy 浓度下降约 43%(*P*<0.01),提示叶酸和 VB<sub>12</sub> 干预可有效改善高甲硫基丁氨酸饮食诱发的 HHcy,见图 1。与正常对照组比较,HHcy 组血清 LDL、TG、CHOL 水平变化最为明显,分别升高约 2.8、5.0、10.7 倍,HDL 下降约 64%,差异均有统计学意义(*P*<0.01);与模型对照组比较,HHcy 组血清 LDL、TG、CHOL 水平分别升高约 1.1、1.3、0.9 倍,HDL 下降约 27%(均 *P*<0.05),提示 HHcy 可加速脂质代谢紊乱;干预组血清 LDL、CHOL 水平较 HHcy 组下降 34%、21%(*P*<0.05),HDL 水平增高 36%(*P*<0.05),TG 水平虽下降但差异无统计学意义(*P*>0.05),见图 2。



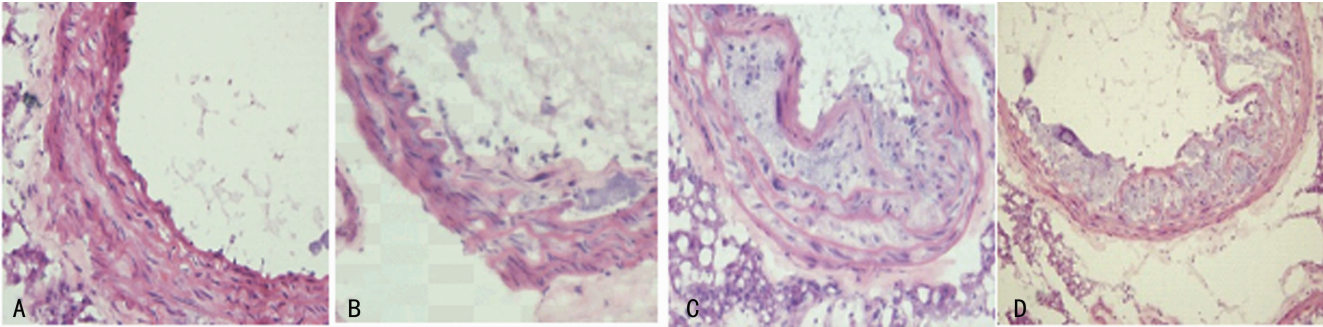
<sup>a</sup>:*P*<0.05,<sup>b</sup>:*P*<0.01,与正常对照组比较;<sup>c</sup>:*P*<0.01,与模型对照组比较;<sup>d</sup>:*P*<0.01,与 HHcy 组比较。

图 1 各组小鼠血清 Hcy 水平



<sup>a</sup>:*P*<0.05,<sup>b</sup>:*P*<0.01,与对照组比较;<sup>c</sup>:*P*<0.05,<sup>d</sup>:*P*<0.01,与模型对照组比较;<sup>e</sup>:*P*<0.05,<sup>f</sup>:*P*<0.01,与 HHcy 组比较。

图 2 各组小鼠血清 TG、HDL、LDL、CHOL 水平测定



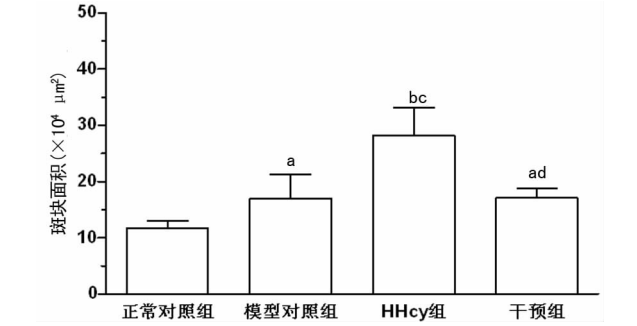
A. 正常对照组;B. 模型对照组;C. HHcy 组;D. 干预组。

图 3 各组小鼠主动脉粥样硬化病理改变 HE 染色(100×)

**2.2 主动脉组织形态观察及斑块面积情况** 光学显微镜下观察,正常对照组小鼠血管壁结构清晰,血管中未见 AS 斑块,内膜表面光滑、完整(图 3A);而其他 3 组 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠均出现了不同程度的 AS 斑块,其中 HHcy 组在 AS 斑块中出现大量泡沫细胞堆积,斑块面积较大,突向管腔面,内膜明显增厚,内有脂质沉积,形成大小不等形态不规则的泡沫细胞,变化最为明显(图 3C);模型对照组斑块面积较小,有少量的易损斑块出现(图 3B);干预组主脉斑块程度较 HHcy 组明显减轻,内、中膜增厚程度较 HHcy 组稍轻,显示叶酸与 VB<sub>12</sub> 干预对 HHcy 诱发的血管损伤具有拮抗作用(图 3D)。与正常对照组比较,其他 3 组 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠有明显的 AS 斑块形成( $P<0.05$ );其中,HHcy 组的变化最为明显,主动脉斑块面积为  $28.2\times10^4\ \mu\text{m}^2$ ,高于模型对照组的  $17.0\times10^4\ \mu\text{m}^2$ ,差异有统计学意义( $P<0.05$ );干预组斑块面积  $17.1\times10^4\ \mu\text{m}^2$ ,较 HHcy 组减小( $P<0.05$ ),提示叶酸和 VB<sub>12</sub> 对 Hcy 诱发的血管损伤具有拮抗作用,见图 4。

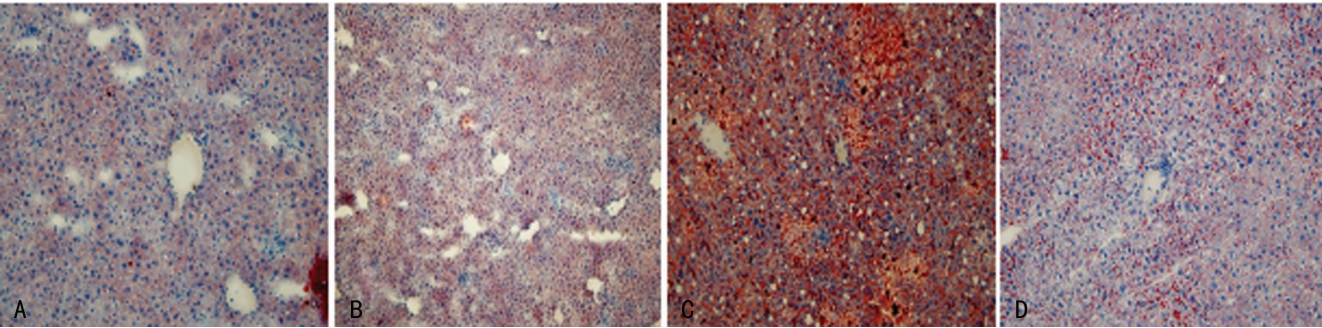
**2.3 肝脏组织油红 O 染色观察** 光镜下可见,正常对照组、模型对照组肝脏组织未见明显脂质积累(图 5A、B);HHcy 组汇管区周围肝脏细胞内的大量脂肪呈橙红色,并有大量散在的大小不等的脂肪空泡存在,脂质积累明显且含量较多(图 5C);干预组肝脏细胞质内有散在脂肪小滴,见少量脂质沉积,肝脏

细胞内的少量脂肪滴呈橙红色(图 5D)。  
**2.4 肝脏脂质代谢水平** 检测各组小鼠肝脏中 CHOL、TG 水平,结果显示;与对照组比较,HHcy 组肝脏组织中 CHOL 和 TG 分别是正常对照组的 2.2、2.8 倍( $P<0.01$ ),提示 HHcy 可进一步促进肝脏脂质代谢紊乱;干预组肝脏 CHOL、TG 水平与 HHcy 组相比分别下降 30%、33%( $P<0.01$ ),提示叶酸和 VB<sub>12</sub> 干预对 HHcy 上调肝脏脂质代谢紊乱具有拮抗作用。见图 6。



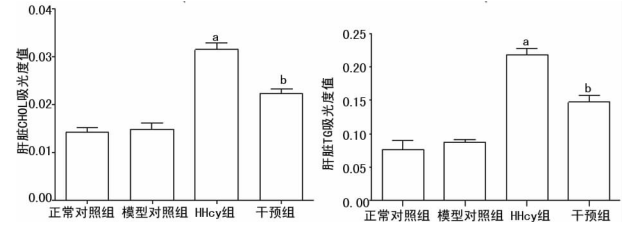
a:  $P<0.05$ , b:  $P<0.01$ , 与对照组比较; c:  $P<0.05$ , 与模型对照组比较; d:  $P<0.05$ , 与 HHcy 组比较。

图 4 各组小鼠主动脉粥样硬化斑块面积



A. 正常对照组; B. 模型对照组; C. HHcy 组; D. 干预组。

图 5 各组小鼠肝脏组织油红 O 染色 ( $\times 100$ )



a:  $P<0.01$ , 与正常对照组比较; b:  $P<0.01$ , 与 HHcy 组比较。

图 6 肝脏 CHOL、TG 吸光度值

3 讨 论

AS 所致的心脑血管疾病是严重危害人类健康的主要疾病之一,研究表明,HHcy 是 AS 独立危险因素<sup>[7-8]</sup>。已有研究证实,HHcy 可以导致内皮功能紊乱从而加速动脉斑块的形成,对血栓形成具有促进作用<sup>[9-10]</sup>。但是关于 HHcy 对肝脏脂质代谢影响研究甚少。*ApoE* 参与受体介导的载脂蛋白清除过程,在脂质代谢中发挥重要作用<sup>[11-12]</sup>。因此,小鼠在 *ApoE* 基因敲除后会造自发的脂质代谢功能紊乱,Namjoshi 等<sup>[13]</sup>发现,在 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠饲饲高甲硫基丁氨酸可诱导 HHcy,加速 AS 形成。本研究结果显示,与正常对照组及模型对照组比

较,HHcy 组血清 Hcy 水平明显升高,表明喂饲高甲硫基丁氨酸饮食能引起 HHcy,与文献报道一致<sup>[14]</sup>。病理组织切片观察可见 3 组 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠均有 AS 斑块形成,HHcy 组主动脉斑块程度最为明显,证明本实验 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠 AS 动物模型复制成功。  
肝脏作为物质运输和代谢的重要器官,是机体进行脂肪代谢、脂质降解的关键部位<sup>[15]</sup>。当肝脏内脂蛋白合成不足或合成障碍时,肝脏细胞内脂肪不能被及时转运出肝脏,从而导致脂肪在肝脏实质细胞内大量蓄积,形成大小不等的脂肪小滴。本实验中,油红 O 染色观察肝脏组织形态结构时,3 组 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠均存在不同程度的肝脏细胞脂质代谢改变,提示 Hcy 可以加速肝脏脂质代谢紊乱。血清及肝脏脂质代谢 CHOL、TG 检测显示:与正常对照组比较,HHcy 组血清中 LDL、TG、CHOL 明显升高,HDL 明显降低,同时肝脏组织中 CHOL 和 TG 较正常对照组也明显增高,说明 HHcy 可进一步加重脂质代谢紊乱,提示在 Hcy 引起 AS 的同时,Hcy 可能扰乱了肝脏脂质代谢,加速肝脏脂质代谢紊乱,从而导致血脂升高。  
维生素 B 族的叶酸和 VB<sub>12</sub> 可以减少 Hcy 的生成,降低 AS 发生的危险<sup>[16-17]</sup>。本研究发现,干预组的 Hcy 水平,以及肝脏 CHOL、TG 水平较 HHcy 组均明显下降,提示叶酸和 VB<sub>12</sub> 可

以降低血清 Hcy 的水平,有效改善高甲硫基丁氨酸饮食诱发的 HHcy,并对 Hcy 加速肝脏脂质代谢紊乱具有拮抗作用。

综上所述,本研究在 *ApoE*<sup>-/-</sup> 鼠 AS 模型的基础上,对肝脏细胞中脂质代谢指标 CHOL、TG 水平进行测定,证实 Hcy 促进 *ApoE*<sup>-/-</sup>鼠 AS 形成的同时能够加速肝脏脂质代谢紊乱。通过对肝脏中脂质代谢进行检测、分析,将有助于了解 AS 与肝脏病变的关系,为进一步研究 Hcy 引起肝脏脂质代谢紊乱的作用机制奠定基础。

参考文献:

[1] Zhang D, Chen Y, Xie X, et al. Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(4): 487-496.

[2] Shastri S, Ingram AJ, Scholey JW, et al. Homocysteine induces mesangial cell apoptosis via activation of p38-mitogen-activated protein kinase[J]. Kidney Int, 2007, 71(4): 304-311.

[3] 张敬各,王丽珍,韩晓群,等. 同型半胱氨酸对内皮细胞一氧化氮合酶系统的损伤机制及叶酸的拮抗效应[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(1): 17-23.

[4] 叶红燕,尹苗,商允菊,等. 脂代谢相关基因在 apoE 基因缺失幼龄小鼠肝脏中的表达[J]. 生理学报, 2008, 60(1): 51-58.

[5] Xie JJ, Yu X, Liao YH, et al. Poly(ADP-Ribose)polymerase inhibition attenuates atherosclerotic plaque development in *ApoE*<sup>-/-</sup> mice with hyperhomocysteinemia[J]. J Atheroscler Thromb, 2009, 16(5): 641-653.

[6] Liu JG, GJ D, Shi DZ, et al. Pathological progress of apolipoprotein E-Knockout mice and the influence of different diets on atherosclerosis progress[J]. Chin J Arterioscler, 2005, 13(6): 689-692.

[7] Muller C, Salvayre R, Nègre-Salvayre A, et al. HDLs inhibit endoplasmic reticulum stress and autophagic response induced by oxidized LDLs[J]. Cell Death Differ, 2011, 18(5): 817-828.

(上接第 4029 页)

[6] Yanovsky I, Finkin-Groner E, Zaikin A, et al. Carbamate derivatives of indolines as cholinesterase inhibitors and antioxidants for the treatment of Alzheimer's disease[J]. J Med Chem, 2012, 55(23): 10700-10715.

[7] 宁宗,余雷,莫康林,等. 急性有机磷农药中毒对胆碱酯酶和多巴胺水平的影响[J]. 广西医学, 2012, 34(10): 1318-1320.

[8] 朱海英,肖淑萍,孙红玉. 血管性痴呆患者丁酰胆碱酯酶活性及与脑白质病变的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(19): 2257-2259.

[9] 陈伟,褚沛. 外源性胆碱酯酶辅助治疗急性重度有机磷农药中毒对照观察[J]. 临床急诊杂志, 2011, 12(2): 80-81.

[10] Sultana N, Saify ZS. Enzymatic biotransformation of ter-

[8] Isiklar OO, Barutcuoglu B, Kabaroglu C, et al. Do cardiac risk factors affect the homocysteine and asymmetric dimethylarginine relationship in patients with coronary artery diseases? [J]. Clin Biochem, 2012, 45 (16/17): 1325-1330.

[9] Wilson KM, Mccaw RB, Leo L, et al. Prothrombotic effects of hyperhomocysteinemia and hypercholesterolemia in ApoE-deficient mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(1): 233-240.

[10] 任晓丽,杨波,黄陈平,等. 高甲硫基丁氨酸饮食对大鼠血管内皮细胞分泌功能的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(4): 50-54.

[11] Zhang CN, Wang JJ, Zhuang YY, et al. The effect of lipoprotein on the macrophages [J]. Chin J Arterioscler, 2005, 13(2): 225-227.

[12] Zhang SH, Reddick RL, Piedrahita JA, et al. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E[J]. Science, 1992, 258(581): 468-471.

[13] Namjoshi DR, Martin G, Donkin J, et al. The liver X receptor agonist GW3965 improves recovery from mild repetitive traumatic brain injury in mice partly through apolipoprotein E[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53529.

[14] 苏娟,王生兰,黄玉珊,等. 同型半胱氨酸、半胱氨酸在动脉粥样硬化发病机制中作用的对照研究[J]. 卫生研究, 2009, 38(1): 43-46.

[15] 刘树业,段樱,李娟. 代谢组学的进展及肝脏代谢组织[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, 1(3): 197-202.

[16] Taban-Shomal O, Kilter H, Wagner A, et al. The cardiac effects of prolonged vitamin B12 and folate deficiency in rats[J]. Cardiovasc Toxicol, 2009, 9(2): 95-102.

[17] 庄爱霞,姜建东,刘娟,等. 叶酸、维生素 B<sub>12</sub> 治疗高同型半胱氨酸血症对颈动脉粥样硬化的影响[J]. 脑与神经疾病杂志, 2011, 19(3): 209-212.

(收稿日期:2014-06-08 修回日期:2014-07-26)

penes as bioactive agents[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2013, 28(6): 1113-1128.

[11] Changwong N, Sabphon C, Ingkaninan K, et al. Acetyl- and butyryl-cholinesterase inhibitory activities of mansorins and mansonones[J]. Phytother Res, 2012, 26(3): 392-396.

[12] Moralev SN, Tikhonov DB. Investigation of structure-activity relationships in organophosphates-cholinesterase interaction using docking analysis[J]. Chem Biol Interact, 2010, 187(1/3): 153-156.

(收稿日期:2014-06-09 修回日期:2014-07-17)