

左旋千金藤啶碱抑制 Tau 蛋白过度磷酸化改善帕金森病认知症状的相关机制研究

黄秀清^a, 赵晓华^b, 许健^b, 周纯^a(衢州市人民医院, a.神经内科, b.康复医学科, 浙江 衢州 324000)

摘要: 目的 探讨左旋千金藤啶碱改善帕金森病(Parkinson disease, PD)认知症状的功能与 Tau 蛋白磷酸化程度之间的关系。方法 将 150 只大鼠随机分为空白对照组、1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride, MPTP)组及给药组, 每组 50 只。用 MPTP 建立 PD 大鼠模型。先测定各组大鼠的体质量, 然后通过水迷宫对大鼠的逃避潜伏期、游泳时间百分比以及海马锥体细胞顶树突分支数目和直径进行比较。对大鼠海马神经元进行采集, 通过酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)法对 Tau 蛋白的磷酸化程度进行计算。最后对大鼠的海马组织进行采集, 利用流式细胞仪对大鼠海马神经元的凋亡率进行测定。**结果** 与对照组相比, MPTP 组的体质量、游泳时间百分比、锥体细胞顶树突分支数目、海马 P-Tau 蛋白表达明显降低($P<0.05$), 逃避潜伏期明显延长($P<0.05$), 脑外伤海马神经元的凋亡率明显升高($P<0.05$); 与 MPTP 组相比, 给药组体质量、游泳时间百分比、锥体细胞顶树突分支数目、海马 P-Tau 蛋白表达明显升高($P<0.05$), 逃避潜伏期、脑外伤海马神经元的凋亡率明显降低($P<0.05$)。**结论** 左旋千金藤啶碱对 PD 模型大鼠具有保护作用, 抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化是左旋千金藤啶碱保护神经元的可能机制。

关键词: 左旋千金藤啶碱; 帕金森病; 认知症状; Tau 蛋白

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)05-0648-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.006

引用本文: 黄秀清, 赵晓华, 许健, 等. 左旋千金藤啶碱抑制 Tau 蛋白过度磷酸化改善帕金森病认知症状的相关机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 648-652.

Study on the Related Mechanism of *l*-stepholidine Inhibited Phosphorylation of Tau Protein to Improve Cognitive Symptoms in Parkinson Disease

HUANG Xiuqing^a, ZHAO Xiaohua^b, XU Jian^b, ZHOU Chun^a(*Quzhou People's Hospital, a.Department of Neurology, b.Department of Rehabilitation Medicine, Quzhou 324000, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the relationship between the improvement of cognitive symptoms correlation function and the degree of Tau protein phosphorylation in Parkinson disease (PD) treated by *l*-stepholidine. **METHODS** One hundred and fifty rats were randomly divided into 3 groups, including blank control, MPTP group, drug group, 50 rats in each group. The PD rats model were established with MPTP. The body weight of rats were determined, than the latency time and the percentage of the swimming time through the Water Maze, the number and diameter of the apical dendritic branches in the hippocampal pyramidal cells were compared. The hippocampal neurons of rats were collected and the phosphorylation of P-Tau protein was calculated by enzyme linked immune sorbent assay (ELISA) method. Finally, the hippocampal tissues of rats were collected, and the apoptosis rate of hippocampal neurons was measured by flow cytometry. **RESULTS** Compared with the control group, the body mass, percentage of swimming time, the number the apical dendritic branches and the expression of P-Tau protein in MPTP group were significantly decreased in drug group ($P<0.05$), while the latency time was significantly prolonged($P<0.05$), and the apoptosis rate of hippocampal neurons was increased significantly($P<0.05$). Compared with MPTP group, the body mass, percentage of swimming time, the number of the apical dendritic branches in the hippocampal pyramidal cells and the expression of P-Tau protein in hippocampus were increased significantly in drug group ($P<0.05$), while the the latency time and cell apoptosis rate decreased significantly ($P<0.05$). **CONCLUSION** *l*-stepholidine has protective effects on rats model of PD, hyperphosphorylation of Tau protein is the possible mechanism of inhibition of *l*-stepholidine protects dopaminergic neurons.

KEY WORDS: *l*-stepholidine; Parkinson disease; cognitive symptoms; Tau protein

帕金森病(Parkinson disease, PD)的发病诱因仍是临床和科学研究的焦点^[1-4]。认知功能障碍是

PD 病人十分明显的非运动症状^[5-6], 降低患者的生活质量^[7-8]。左旋千金藤啶碱是属于金藤属植物中

作者简介: 黄秀清, 男, 副主任医师 Tel: 13059779571 E-mail: 3465701599@qq.com

一类活性物质,属于多巴胺(dopamine, DA)受体的高亲和力配体,存在 D1 激动-D2 阻滞的双重药理作用^[9-10]。左旋千金藤啶碱能够有效缓解晚期 PD 患者的临床症状,与左旋多巴联合使用,能有效减轻左旋多巴长期治疗 PD 导致的运动障碍^[11-12]。左旋千金藤啶碱已知的药理作用并不能完全解释它的临床效果,推测左旋千金藤啶碱对一些非 DA 受体,特别是 5-羟色胺 1A 受体存在着潜在效果,并且通过这些受体对 PD 产生疗效^[13]。Tau 蛋白是关键的记忆相关蛋白^[14-15],在轴突以及树突的生长点较集中。本研究探究左旋千金藤啶碱治疗 PD 的分子机制,为 PD 的认知障碍的防治研究提供最新的靶点和突破口。

1 材料

1.1 试剂

左旋千金藤啶碱溶液(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号:Z-059);1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine hydrochloride, MPTP, 西亚试剂有限公司,批号:30187);DMSO(碧云天生物技术有限公司,批号:ST038);胰蛋白酶(碧云天生物技术有限公司,批号:C0201);血清(碧云天生物技术有限公司,批号:C0225);培养基(Gibico 公司,批号:11039054);多聚赖氨酸(普诺赛生物有限公司,批号:PB180523);阿糖胞苷(上海源叶生物有限公司,批号:B28038);ELISA 试剂盒(江苏科晶生物技术有限公司,批号:KJ-2262);PBS(碧云天生物技术有限公司,批号:C0221A)。

1.2 动物

150 只健康的 18 月龄 SD 大鼠,SPF 级,♂,购于北京维通利华实验动物有限公司,合格证号:2008001661342,体质量为(350±50)g。在室温以及安静的环境下进行喂养,日照时间在早上 7:00 到晚上 19:00。由专业动物饲养人员每日给大鼠提供足够的食物和水。

1.3 仪器

Morris 水迷宫视频分析系统(美国 CleverSys Inc 公司);35 mm 平皿(中国百千生物公司);Thermo 赛默飞世尔细胞培养箱(美国赛默飞世尔科技公司);OLYMPUS BX41 型光学显微镜(日本奥林巴斯公司);Corning 细胞培养瓶(美国 Corning 公司);CytoFLEX 流式细胞仪(美国贝克曼库尔特

公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

将大鼠随机分成 3 组,分别为空白对照组、MPTP 组以及给药组(4 mg·kg⁻¹ 左旋千金藤啶碱+MPTP),每组 50 只,对其进行称量并进行记录。实验的第 1 天,给药组大鼠按体质量 5 mL·kg⁻¹ 的体积对腹腔分别注射 0.8 mg·mL⁻¹ 的左旋千金藤啶碱溶液,使左旋千金藤啶碱的作用浓度为 4 mg·kg⁻¹。实验的第 2~6 天,处理组大鼠先腹腔注射相应剂量左旋千金藤啶碱溶液,其余组大鼠按照体质量腹腔注射等容量含 3% DMSO 的生理盐水。30 min 后,给药组和 MPTP 组大鼠都进行腹腔注射 30 mg·kg⁻¹ MPTP,空白对照组对大鼠腹腔注射相同体积的生理盐水。

2.2 行为学评价

采用 Morris 水迷宫先进行定位航行试验,记录逃避潜伏期,最大逃避潜伏期为 60 s。然后将平台撤去,进行空间探索试验,记录 120 s 内大鼠在原平台所处象限的游泳时间。

2.3 大鼠海马神经元细胞原代培养

在无菌条件下,将 SD 大鼠取出脑部,将海马组织进行剥离,采用无菌生理盐水进行漂洗 3 次,对脑膜以及血管进行剥离,将其切成直径约 0.5 mm 的碎块,采用含有 0.25%胰蛋白酶的没有血清的细胞培养液进行消化 15 min,然后加入血清细胞培养基使消化终止,对细胞组织进行反复吹打,即为单细胞悬液。将该悬液 1 000 r·min⁻¹ 离心处理 5 min,丢弃上清液,用完全细胞培养液对细胞进行重新悬浮,过滤选择 200 目的滤网,将细胞密度调整为 1×10⁶ 个·mL⁻¹,接种于放有预先准备好的使用 0.1%多聚赖氨酸盖好的 35 mm 平皿中,置于细胞培养箱中培养 1 d 后,换成维持细胞培养液。1 d 以后放入阿糖胞苷,使其终浓度达到 4 μg·mL⁻¹,从而阻滞神经胶质细胞的发展,1 d 后第 2 次换成维持细胞培养液,以对阿糖胞苷进行去除。每 2 d 进行 1 次换液,培养到 7~10 d 左右,用显微镜进行观测,能够看到饱满的神经元胞体,能够用于相关指标的测定。

2.4 ELISA 法检测大鼠海马 Tau 蛋白活性

每组随机取 25 只大鼠海马组织在冰上研磨,充分裂解、匀浆、离心取上清,按试剂盒操作,

测出样品吸光度值,再计算出 Tau 蛋白的活性量。

2.5 流式细胞仪检测大鼠海马神经元的凋亡率

采用 PBS(pH 7.4)对海马神经元细胞进行 3 次漂洗,消化 5 min,采取含血清培养液终止消化,对细胞反复吹打,制成单细胞悬液,将其一起放到 15 mL 的离心管中,离心后丢掉上清,用 PBS 漂洗 3 次,丢弃上清液,对细胞进行悬浮,将细胞浓度调整为 $1 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。取 100 μL 的细胞悬液于 5 mL 流式管中,添加 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的碘化丙锭溶液。混匀后于室温避光静置 15 min。在反应管中添加 400 μL PBS,于 1 h 内用流式细胞仪对各组细胞凋亡率进行分析。所有数据均经 System IITM 软件收集处理。每组分别重复 3 次。

2.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计分析软件(美国 IBM 公司)进行处理;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析或者重复测量的方差分析,两两比较用 LSD-*t* 检验;计数资料用百分率表示,组间比较用 χ^2 分析; $P < 0.05$ 代表差异存在统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠体质量和行为学比较

采用左旋千金藤啶碱治疗后给药组与 MPTP 组的体质量均明显低于空白对照组,给药组体质量明显高于 MPTP 组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。与空白对照组比较,大鼠给药组与 MPTP 组逃避潜伏期均明显增加($P < 0.05$);与 MATP 组相比,给药组逃避潜伏期明显变短($P < 0.05$),差异具有统计学意义。大鼠 MATP 组与空白对照组比较,游泳时间百分比明显变短($P < 0.05$);给药组与 MATP 组相比,游泳时间百分比出现明显延长($P < 0.05$),差异具有统计学意义。结果见表 1。

表 1 大鼠体质量和行为学比较($n=50$)

Tab. 1 Comparison of body weight and behavior in rats ($n=50$)

组别	逃避潜伏期/s	游泳时间/s	体质量/kg
空白对照组	28.41±4.03 ²⁾	75.23±4.62 ²⁾	278.82±18.09 ²⁾
MATP 组	48.89±5.49 ¹⁾	53.39±7.27 ¹⁾	220.93±16.46 ¹⁾
给药组	37.24±5.20 ¹⁾²⁾	65.99±2.12 ¹⁾²⁾	241.64±17.59 ¹⁾²⁾

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 MATP 组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with MATP group, ²⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 海马锥体细胞顶树突分支数目和直径的比较

与空白对照组比较, MATP 组大鼠海马锥体细胞顶树突分支数目明显减少($P < 0.05$),一级树突直径变细,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与 MATP 组相比,给药组大鼠海马锥体细胞顶树突分支数目逐渐变多,差异具有统计学意义($P < 0.05$),一级树突直径明显变粗,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 2 各组大鼠海马区锥体细胞顶树突分支数目和直径的比较

Tab. 2 Comparison of the number and diameter of the apical dendritic branches in the hippocampal pyramidal cells of the rat

组别	顶树突分支数目/支	一级树突直径/ μm
空白对照组	17.31±1.82 ²⁾	5.99±0.95 ²⁾
MATP 组	8.59±0.78 ¹⁾	5.41±0.83 ¹⁾
给药组	11.29±0.80 ¹⁾²⁾	5.57±0.91 ¹⁾²⁾

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 MATP 组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with MATP group, ²⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 大鼠海马组织 P-Tau 的表达和海马神经元的凋亡率

与空白对照组比较, MATP 组海马组织 P-tau 的表达明显减少($P < 0.05$);与 MATP 相比,给药组海马组织 P-tau 的表达出现明显增多($P < 0.05$),差异具有统计学意义。MATP 组与空白对照组相比细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$);与 MATP 组比较,给药组脑外伤海马神经元细胞的凋亡率均明显降低($P < 0.05$),差异具有统计学意义。结果见表 3。

表 3 各组大鼠海马组织 P-tau 的表达和海马神经元的凋亡率

Tab. 3 Expression of P-tau in hippocampal tissue and apoptosis rate of hippocampal neurons in rats

组别	P-Tau 积分光密度	凋亡率/%
空白对照组	30.31±0.72 ²⁾	8.45±0.21 ²⁾
MATP 组	4.35±0.41 ¹⁾	31.31±0.53 ¹⁾
给药组	19.79±0.49 ¹⁾²⁾	13.57±1.02 ¹⁾²⁾

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 MATP 组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$; compared with MATP group, ²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

PD 是一种常见的神经系统变性疾病,老年人多见,平均发病年龄为 60 岁左右^[16-17]。Tau 蛋白是

一类微管组装早期的中心，能够促进轴突微管的平衡，维持物质运输神经细胞轴突之间的距离，促进神经元的生长和发育，阻滞脂质过氧化反应，阻滞微管蛋白发生聚集的蛋白^[18]。Tau 蛋白的微管的结合能力主要由丝氨酸/苏氨酸指导调节，调控神经元能力的关键方法是由于 Tau 蛋白的磷酸化^[19-20]，异常磷酸化会导致错误折叠和分子聚集，也可能损害微管的稳定功能，引发神经递质运输、储存以及释放的紊乱，引发轴突运输出现阻碍，从而引发机体产生认知障碍。磷酸化水平的增加与神经纤维的缠结形成存在一定的关系，并可能对其认知功能产生严重影响，表明 Tau 蛋白磷酸化程度越高，其认知能力越低。

本实验通过 Morris 水迷宫实验研究 PD 与认知障碍的关系以及导致认知障碍的变化规律。认知功能是指大脑的能力，对外界刺激的关注以及内在动机的分辨，并计划做出有意义的反应，包括学习以及记忆在内的广义认知。Morris 水迷宫是一种国际通用的空间辨别学习模型，而且此模型对海马和皮质的损伤反应较为灵敏。本实验通过空白对照组、MATP 组和给药组在模型建立后 7 d 的 Morris 水迷宫水下平台实验发现，与空白对照组相比，MATP 组逃避潜伏期明显延长，表明造模大鼠存在学习记忆力障碍；与 MATP 组相比，给药组大鼠的逃避潜伏期明显变短。与空白对照组相比，MATP 组大鼠游泳时间百分比明显变短；与 MATP 组相比，给药组大鼠的游泳时间百分比明显延长。此外，为了观察 PD 认知功能障碍与突触的关系，采用形态学方法对受伤前后树突棘数目和形态的变化进行比较。实验结果表明，MATP 组大鼠海马区锥体细胞顶树突分支与空白对照组进行对比，数目明显变少，结果证明 PD 会引发大鼠海马区树突棘数量的变少。有研究表明 PD 病人脑内树突棘数量也是变少的，因此可以推测 PD 导致树突棘数目的降低可能是导致其认知障碍的主要原因。

Tau 蛋白是一种分布在中枢神经系统内的低分子量含磷糖蛋白，它能够与神经轴突内的微管产生结合，并具有促进微管蛋白聚合成微管、抑制微管解聚和保持微管功能发生稳定的作用。当 Tau 蛋白发生高度磷酸化后，使 Tau 蛋白失去和微

管的结合能力，损害了细胞骨架系统的平衡，同时导致自身发生聚集，进而形成双股螺旋纤维。临床研究结果表明，PD 患者的症状越严重，其脑组织中神经纤维缠结数量越大，说明 Tau 蛋白过度磷酸化与 PD 的发生发展存在直接关系。从我国云南河谷地不容中提取的生物碱——左旋千金藤啶碱，经动物实验研究结果表明，其对正常敏感的 DA 受体表现为阻滞作用，因此左旋千金藤啶碱的 D1 激动作用可能存在对 PD 有效的作用。本实验研究结果表明，与空白对照组比较，MATP 组海马组织 P-tau 的表达明显减少；与 MATP 相比，给药组海马组织 P-tau 的表达出现明显增多，差异具有统计学意义。MATP 组与空白对照组相比细胞凋亡率明显升高；与 MATP 组比较，给药组脑外伤海马神经元细胞的凋亡率均明显降低。说明左旋千金藤啶碱具有降低海马 P-Tau 表达的作用。研究发现 PD 产生的认知障碍与细胞凋亡具有直接关系，研究人员推测细胞凋亡是脑外伤神经元退行性死亡的主要因素。本研究采用 Annexin V-FITC/PI 荧光双染检测给药组对大鼠海马神经元早期凋亡率的影响，给药组可有效降低海马神经元早期凋亡率，表明采用左旋千金藤啶碱治疗组能够抵抗海马神经元早期凋亡，具有神经保护作用。

本研究存在以下不足之处：①由于目前尚无有效方式或药物可明显改善 PD 认知功能，因而本研究未设置阳性对照组；②在借鉴前期已发表文献的基础上^[19-20]，本研究实验组只设置了一个药物浓度，后期研究可同时设置多个药物浓度组，以寻找最佳的给药剂量。

综上所述，本研究推测 PD 引发的认知障碍主要是由于海马 Tau 蛋白磷酸化调控蛋白升高，导致 Tau 蛋白过度磷酸化，进而导致海马神经元凋亡加剧，最终引发受试对象学习以及记忆功能降低。而左旋千金藤啶碱能够防治 PD 神经元损害，可为 PD 引发的神经元损害的防治研究提供新的靶点和突破口。

REFERENCES

- [1] 黄良海, 钱进军, 巩企霞, 等. 帕金森病伴轻度认知障碍与表皮生长因子水平的相关性分析[J]. 江苏大学学报(医学版), 2016, 26(3): 258-260.
- [2] XU L Y, ZHANG Y, ZHANG B, et al. DTI tract-based

- analysis in patients with Alzheimer's disease [J]. *J Southeast Univ(Med Sci Ed)*(东南大学学报: 医学版), 2016, 35(4): 544-549.
- [3] ZHENG Y P, BAO X Q, SUN H, et al. Roles of NADPH oxidase in the pathogenesis of Parkinson's disease [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2016, 25(8): 872-877, 887.
- [4] 廖玲玲, 谢峥. 1 例帕金森病患者后期症状波动的药学监护 [J]. *医药导报*, 2016, 35(9): 972-974.
- [5] YANG L H, CHEN J N, ZHANG J F. Novel fluorescent probe for the nitric oxide detection of Parkinson disease *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Southeast Univ(Med Sci Ed)*(东南大学学报: 医学版), 2014, 33(5): 555-560.
- [6] MAO Q G. Preparation of rotenone PLGA nanoparticles and Parkinson's disease model induced in rats [J]. *J Jiangsu Univ(Med Ed)*(江苏大学学报: 医学版), 2016, 26(1): 82-87.
- [7] 安冉, 李国忠. 嗅鞘细胞移植治疗帕金森病的研究进展 [J]. *东南大学学报(医学版)*, 2016, 35(2): 284-286.
- [8] 陆晓生, 彭昊, 凌尚准. 高龄髋部骨折外科治疗现状与进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(3): 562-565.
- [9] DIRNBERGER G, JAHANSHAHI M. Executive dysfunction in Parkinson's disease: a review [J]. *Neurops Ychol*, 2013, 7(2): 193-224.
- [10] KUDLICKA A, CLARE L, HINDLE J V. Executive functions in Parkinson's disease: systematic review and meta-analysis [J]. *Mov Disord*, 2011, 26(13): 2305-2315.
- [11] BOHNEN N I, KOEPPE R A, MINOSHIMA S, et al. Cerebral glucose metabolic features of Parkinson disease and incident dementia: longitudinal study [J]. *Nucl Med*, 2011, 52(6): 848-855.
- [12] RUZAFÁ-VALIENTE E, FERNÁNDEZ-BOBADILLA R, GARCÍA-SÁNCHEZ C, et al. Parkinson's Disease-Cognitive Functional Rating Scale across different conditions and degrees of cognitive impairment [J]. *Neurol Sci*, 2016, 361(2): 66-71.
- [13] LI C S, WEI W H, SHEN Z R. Role of metal ions in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(3): 470-474.
- [14] ZHOU J, WANG W H, LIU S P. Toxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles in Central Nervous System and the Molecular Mechanisms Involved [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(5): 771-776.
- [15] BAJAJ S, KRISMER F, PALMA J A, et al. Diffusion-weighted MRI distinguishes Parkinson disease from the parkinsonian variant of multiple system atrophy: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0189897.
- [16] MAVROMMATI F, COLLETT J, FRANSSSEN M, et al. Exercise response in Parkinson's disease: insights from a cross-sectional comparison with sedentary controls and a per-protocol analysis of a randomised controlled trial [J]. *BMJ Open*, 2017, 7(12): e017194.
- [17] OSIECKA K M, NIEZNANSKA H, SKOWRONEK K J, et al. Tau inhibits tubulin oligomerization induced by prion protein [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1813(10): 1845-1853.
- [18] DE CALIGNON A, FOX LM, PITSTICK R, et al. Caspase activation precedes and leads to tangles [J]. *Nature*, 2010, 464(16): 1201-1204.
- [19] COMBS B, VOSS K, GAMBLIN T C. Pseudohyperphosphorylation has differential effects on polymerization and function of Tau isoforms [J]. *Biochemistry*, 2011, 50(44): 9446-9456.
- [20] MENG H Y, DI X Z, BI G H, et al. Effect of l-tetrahydropalmitine and l-stepholidine on the glial fibrillary acidic protein in the chronic morphine-treated cerebral focal regions of rats [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2007, 16(2): 122-125.

收稿日期: 2017-11-01
(本文责编: 李艳芳)