

神经疾病发病机制研究

DOI: 10.11699/cyxb20130602

单胺氧化酶抑制药物体外筛选模型的建立

张万萍, 郭红梅, 李文军, 朱必敏, 鲁振浩, 祁俊生, 余 瑜

(重庆医科大学药学院药物化学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:构建一种能用于治疗神经退行性疾病单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)抑制药物的体外筛选模型。**方法:**采用紫外分光光度法,以苄胺或 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)分别作为 MAO-B 或 MAO-A 的反应底物,测定其活性,并对 MAO 浓度、底物浓度、缓冲液浓度、pH 值、反应时间和温度等进行优化。**结果:**研究确定的模型反应体系条件为:在温度 37 ℃、酶预孵育时间 20 min 和反应时间 60 min 下,测定 MAO-B 活性最佳条件为 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.6),MAO 和底物苄胺的终浓度分别为 0.15 mg/ml 和 2.00 mmol/L;测定 MAO-A 活性最佳条件为 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.4),MAO 和底物 5-HT 的终浓度分别为 0.40 mg/ml 和 5.00 mmol/L。**结论:**建立了一种 MAO 抑制药物体外筛选的模型,该模型具有成本低、操作简便等特点,适合于大规模筛选 MAO-B 和 MAO-A 的抑制药物。

【关键词】单胺氧化酶;单胺氧化酶抑制药物;体外筛选模型;神经退行性变;抑制作用

【中国图书分类法分类号】R394.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-24

Construction of the screening model for monoamine oxidase inhibitors in vitro

ZHANG Wanping, GUO Hongmei, LI Wenjun, ZHU Bimin, LU Zhenhao, QI Junsheng, YU Yu

(Teaching and Research Section of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To construct a screening model for monoamine oxidase (MAO) inhibitors in the treatment of neurodegenerative diseases. **Methods:** Benzylamine and 5-hydroxytryptamine (5-HT) were used as MAO-B and reaction substrates and their activities were measured by UV spectrophotometry, respectively. MAO concentration, substrate concentration, phosphate buffer concentration and pH, reaction time and temperature were optimized. **Results:** The optimized reaction system conditions were obtained as follows: under the conditions of enzyme pre-incubation time of 20 min and reaction time of 60 min at the temperature of 37 ℃, optimum condition for determination of MAO-B activity was 100 mmol/L phosphate buffer (pH 7.6) and 0.15 mg/ml MAO and 2.00 mmol/L benzylamine, optimum condition for determination of MAO-A activity was 100 mmol/L phosphate buffer (pH 7.4) and 0.40 mg/ml MAO and 5.00 mmol/L 5-HT. **Conclusions:** A screening model for monoamine oxidase inhibitors in vitro is constructed successfully. Due to its low cost and simple operation, it is suitable for large-scale screening MAO-B and MAO-A inhibitors.

【Key words】 monoamine oxidase; monoamine oxidase inhibitors; screening model in vitro; neurodegenerative; inhibition effect

单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)是催化单胺氧化脱氢的酶^[1],可分为 MAO-B 和 MAO-A^[2]。MAO-B 可氧化多巴胺(dopamine, DA)、苄胺和 β-苯乙胺等单胺类物质,MAO-A 可氧化 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、肾上腺素和去甲肾上腺素等单胺类物质。MAO-B 主要分布在神经胶质细胞和组胺能神经元中,若抑制 MAO-B 的活性,可提高底部神经中枢中 DA 的浓度,可治疗帕金森病和阿尔茨海默病^[3-4]。MAO-A 主要分布在儿茶酚胺能神经元中,若抑制 MAO-B 的活性,提高神经内 5-HT 的浓度,可治疗焦虑症和抑郁症^[5-6]。因此,研究

MAO 抑制药物已成为治疗与 MAO 有关神经系统疾病的热点。

目前,国内外测定 MAO 活性的方法有很多,如氮苯酚法、醛苯胺法、酶标仪比色法、荧光光谱法、液相检测法和放射性同位素检测法等^[7-9]。这些方法大多数都有样品处理操作繁琐和成本较高等不足,尤其是难以实现高通量的筛选 MAO 抑制药物。为此,本文拟采用紫外分光光度法,建立一种简便、应用范围广的 MAO 抑制药物体外筛选模型,望能对高通量筛选 MAO 抑制药物有实用价值。

1 材料与试剂

1.1 实验动物

SD 雄性大鼠,280 g 左右,由重庆医科大学实验动物中心提供[证号:SCXK(渝)2012-0001;SYXK(渝)2012-0001]。

作者简介:张万萍,Email:490083775@qq.com,

研究方向:新药筛选及活性研究。

通信作者:余 瑜,Email:yuyu3519@163.com。

基金项目:国家科技重大专项课题“重大新药创制”资助项目(编号:2010ZX09401-306-1-1)。

1.2 仪器与试剂

AR2140 电子天平(上海力衡公司);UV-2102 PCS 紫外可见分光光度计(上海仪器公司);KQ2200B 型超声波清洗器(昆山超声仪器公司);YJ-1450 型超净台(苏州净化设备厂);HH-4 数显恒温水浴锅(常州国华公司);H-1750R 高速低温冷冻离心机(湖南湘仪公司);FSH-2A 型可调高速匀浆机(金坛华天仪器厂)。

磷酸二氢钾(批号 20090112,重庆博艺化学试剂有限公司);磷酸氢二钾(批号 20090801,上海强顺化工有限公司);蔗糖(批号 20120913,成都市科龙化工试剂厂);苄胺(批号 20110806,上海强顺化工有限公司);5-HT 肌酐单水合硫酸盐(>98%,批号 P1064561,TCI);高氯酸(批号 20091121,上海强顺化工有限公司);氯化钠(批号 20111008,重庆川东化工有限公司);乙酸丁酯(批号 20100806,重庆川东化工有限公司);环己烷(批号 20120301,重庆川东化工有限公司)。其它试剂均为分析纯。实验用水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 MAO 的制备

选取体质量约为 280 g 的 SD 雄性大鼠,断髓致死,于紫外灭菌的超净台中迅速取出肝脏,用 0.9% 的生理盐水洗涤 3 次,拭干,保存于-80 ℃,备用。

参照文献[10]方法,制备 MAO 的具体方法为:称取肝组织 5 g 于 0.3 mol/L 蔗糖溶液 175 ml 中匀浆,将肝匀浆置于高速低温(0 ℃~4 ℃)冷冻离心机中,以 1 500 r/min 离心 10 min,弃去沉淀,取上清液,以 10 000 r/min 离心 30 min,弃去上清液,取沉淀混悬于 0.3 mol/L 蔗糖溶液 4 ml 中,再加入 1.2 mol/L 蔗糖溶液 40 ml 中,以 10 500 r/min 离心 40 min,弃去上清液,所得沉淀为 MAO。再用 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.6)洗涤 1 次,加入 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液 40 ml 使沉淀混悬,分装成每支 EP 管 1 ml,于-80 ℃储存,备用。

2.2 MAO 抑制药物体外筛选模型的建立

根据文献[11-12]方法,将苄胺和 5-HT 分别作为 MAO-B 和 MAO-A 的底物,用环己烷和乙酸丁酯分别提取它们相应的产物,分别在 242 nm 和 280 nm 波长下测定其产物的吸光度(absorbance, A)值。

2.2.1 MAO-B 抑制药物体外筛选模型的建立 用苄胺作为 MAO-B 的底物,将 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.6)、MAO 抑制药物和 MAO,于 37 ℃孵育 20 min 后,加入底物苄胺 100 μl,使总体积 800 μl 的 MAO 和苄胺终浓度分别为 0.15 mg/ml 和 2.00 mmol/L,反应 60 min,立即加入 10%高氯酸 200 μl,终止反应,再加环己烷 3 ml,涡旋 2 min,提取产物苯甲醛。于 10 000 g 离心 5 min,在 242 nm 波长下测定 A 值。

2.2.2 MAO-A 抑制药物体外筛选模型的建立 同 2.2.1 项操作,用 5-HT 作为 MAO-A 的底物,将磷酸钾缓冲液、MAO 抑制药物与 MAO,加入底物 5-HT 200 μl,使总体积 800 μl 的 MAO 和 5-HT 终浓度分别为 0.40 mg/ml 和 5 mmol/L,加乙酸丁酯 3 ml 提取产物 5-羟基吲哚-3-基乙醛,在 280 nm 波长下测定其 A 值。

空白对照在加入 MAO 后,立即加入 10%高氯酸 200 μl 灭活,其余操作同 2.2.1 项。

通过 A 值的大小,判断 MAO 抑制药物生物活性的强弱。根据 A 值来计算抑制率的公式如下^[13]:

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{\text{无药阳性对照 A 值} - \text{MAO 抑制剂 A 值}}{\text{无药阳性对照 A 值} - \text{空白对照 A 值}} \times 100\%$$

2.3 MAO 抑制药物体外筛选模型的优化

按 2.2.1 项,在温度 37 ℃、MAO 预孵育 20 min 的条件下,考察 MAO 浓度、底物浓度、磷酸钾缓冲液浓度和 pH、反应时间以及温度对酶活性的影响,进一步优化体外筛选模型的条件。

2.3.1 MAO 浓度对活性的影响 按 2.2.1 项,在设置温度 37 ℃、MAO 预孵育 20 min 的条件下,考察 MAO 不同浓度对活性的影响。当底物为 5 mmol/L 苄胺溶液或 5-HT 溶液时,分别加入不同浓度 MAO 考察 MAO-B 或 MAO-A 活性,其结果(图 1 和图 2)显示当底物过量时,酶活性随着 MAO 浓度增大而增大。以 A 对 MAO 浓度进行回归分析,所得 MAO-B 和 MAO-A 的线性回归方程分别为: $A = 4.9173 \times C - 0.0212$ ($R^2 = 0.9988$) 和 $A = 0.6322 \times C + 0.2399$ ($R^2 = 0.9975$),并可确定反应体系中测定 MAO-B 和 MAO-A 活性终浓度分别为 0.15 mg/ml 和 0.40 mg/ml。

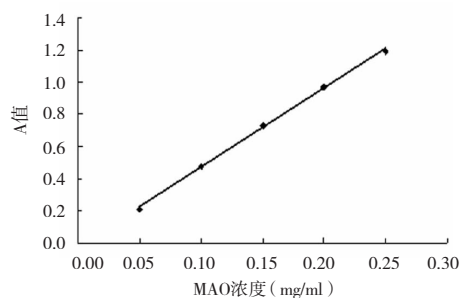


图 1 MAO 浓度对 MAO-B 活性的影响

Fig.1 Effects of MAO concentration on MAO-B activity

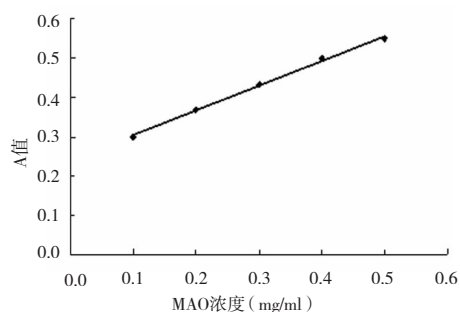


图 2 MAO 浓度对 MAO-A 活性的影响

Fig.2 Effects of MAO concentration on MAO-A activity

2.3.2 底物浓度对活性的影响 在 2.3.1 项确定的条件下,考察底物不同浓度对酶活性的影响。其结果(图 3 和图 4)显示,以 A 对底物苄胺和 5-HT 的浓度进行回归分析,所得线性回归方程分别为: $A = 0.2110 \times C + 0.2749$ ($R^2 = 0.9996$) 和 $A = 0.1155 \times C - 0.0393$ ($R^2 = 0.9978$),并可确定反应体系中底物苄胺和 5-HT 的终浓度分别为 2.00 mmol/L 和 5.00 mmol/L。

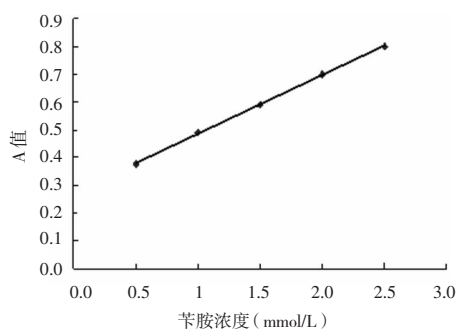


图 3 苄胺浓度对 MAO-B 活性的影响

Fig.3 Effects of benzylamine concentration on MAO-B activity

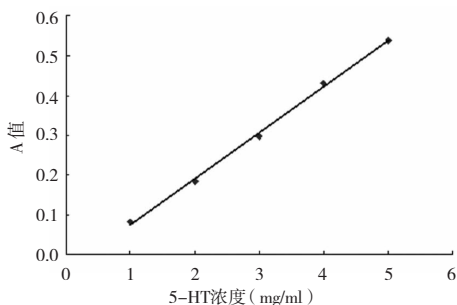


图 4 5-HT 浓度对 MAO-A 活性的影响

Fig.4 Effects of 5-HT concentration on MAO-A activity

2.3.3 磷酸钾缓冲液浓度对活性的影响 在 2.3.2 项确定的条件下,当磷酸钾缓冲液浓度分别为 50、100、150、200、250、300 mmol/L 时,考察 MAO-B 和 MAO-A 的活性。其结果(图 5)显示 MAO-B 和 MAO-A 的活性随磷酸钾缓冲液浓度增大而逐渐降低,而在 50 mmol/L 至 100 mmol/L 浓度范围内酶活性基本上一致。为此,将磷酸钾缓冲液的浓度确定为 100 mmol/L。

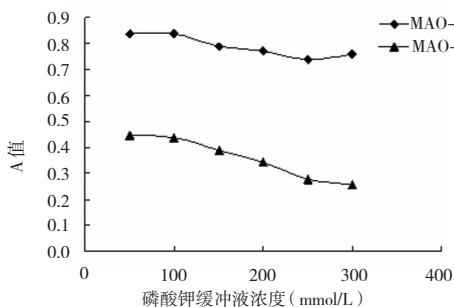


图 5 缓冲液浓度对 MAO 活性的影响

Fig.5 Effects of buffer concentration on MAO activity

2.3.4 磷酸钾缓冲液 pH 值对活性的影响 在 2.3.3 项确定的条件下,考察磷酸钾缓冲液 pH 值(7.0~8.0)对 MAO 的活性影响,其结果(图 6)显示,在磷酸钾缓冲液 pH 值 7.0~8.0 之间,MAO-B 的活性基本上随着 pH 值的增加而增大,在 pH 值为 7.4~7.6 时,酶活性比较稳定;而 MAO-A 的活性则在磷酸钾缓冲液 pH 值为 7.4 时达到最大。为此,可确定测定 MAO-B 和 MAO-A 活性的磷酸钾缓冲液 pH 值分别为 7.6 和 7.4。

2.3.5 反应时间对活性的影响 在 2.3.4 项确定的条件下,当酶与底物反应时间分别为 10、20、30、40、50 min 和 60 min 时,考察其对活性的影响,其结果(图 7)显示,MAO 活性随着

反应时间的增长活性越高。因此,本实验选择 60 min 为酶与底物的反应时间。

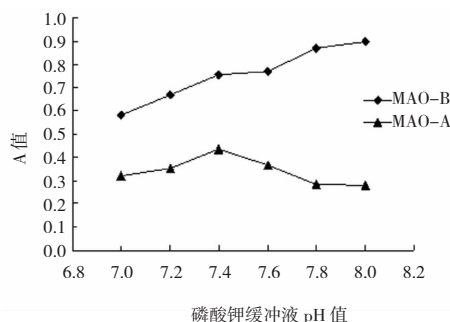


图 6 缓冲液 pH 对 MAO 活性的影响

Fig.6 Effects of buffer pH on MAO activity

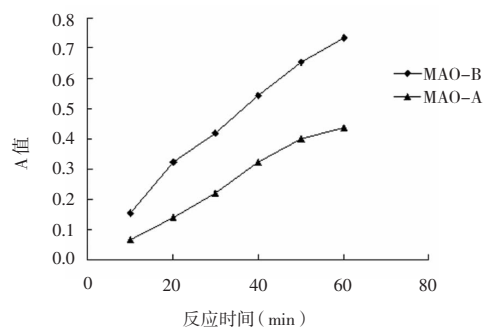


图 7 反应时间对 MAO 活性的影响

Fig.7 Effects of reaction time on MAO activity

2.3.6 温度对活性的影响 在酶促反应中,温度是一个非常重要的影响因素。为此,在 2.3.5 项确定的条件下,考察 4 ℃、16 ℃、37 ℃和 56 ℃时对 MAO-B 和 MAO-A 活性的影响。其结果(图 8)显示,在 37 ℃时,MAO-B 和 MAO-A 的活性都达到最大。为此,本实验确定反应温度为 37 ℃。

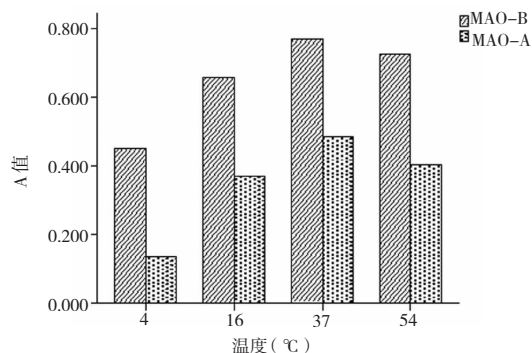


图 8 温度对 MAO 活性的影响

Fig.8 Effect of temperature on the MAO activity

综上所述,经研究确定的模型反应体系条件为:反应温度、酶预孵育时间和反应时间均分别为 37 ℃、20 min 和 60 min,测定 MAO-B 活性最佳条件的 MAO 终浓度为 0.15 mg/ml、底物苄胺终浓度 2.00、100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.6);测定 MAO-A 活性最佳条件的 MAO 终浓度为 0.40 mg/ml、底物 5-HT 终浓度为 5.00、100 mmol/L 磷酸钾缓冲液(pH 7.4)。

2.4 模型的验证

为了验证建立的体外 MAO 抑制药物筛选模型,按 2.3 项确定的模型反应体系条件,以雷沙吉兰为阳性药物,用缓冲液代替雷沙吉兰为空白对照,当反应体系中雷沙吉兰终浓度依次为 0.125、0.250、0.500、0.750、1.000、1.250、1.875、2.500 $\mu\text{mol/L}$ 时,具体操作同 2.2 项方法,测定 A,并计算出抑制率。其结果(表 1、图 9 和图 10)显示,经 SPSS 18.0 软件计算得雷沙吉兰对 MAO-B 和 MAO-A 的 IC_{50} 值分别为 0.566、1.296 $\mu\text{mol/L}$,其浓度与抑制率呈现出良好的线性关系。这与文献报道的雷沙吉兰对 MAO-B 具有较好的选择性抑制作用相似,这表明本文建立体外筛选 MAO 抑制药物的模型是成功的。

表 1 雷沙吉兰对 MAO 的抑制率

Tab.1 Inhibition rate of rasagiline on MAO

浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	MAO-B抑制率 (%)	MAO-A抑制率 (%)
0.125	1.29	4.27
0.250	20.69	9.56
0.500	43.70	24.68
0.750	61.59	30.53
1.000	74.29	43.30
1.250	84.06	52.11
1.875	92.42	58.37
2.500	96.09	73.93

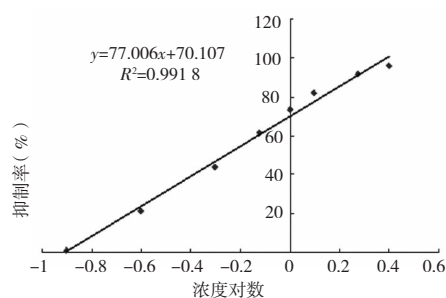


图 9 雷沙吉兰对 MAO-B 抑制率

Fig.9 Inhibition rate of rasagiline on MAO-B

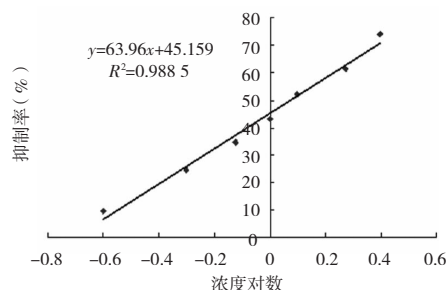


图 10 雷沙吉兰对 MAO-A 抑制率

Fig.10 Inhibition rate of rasagiline on MAO-A

3 讨论

MAO 是结合在线粒体外膜的一种黄素蛋白酶,其抑制剂是一类抑制生物体内 MAO 活性的药物。目前,用于临床治疗的 MAO 抑制药物较多,如苯乙

肼、司来吉兰和吗氯贝胺等,但多数都有严重的毒副作用,如“干酪效应”、体位性低血压、高血压^[4]。因此,为了能找到高效低毒、选择性好且可逆的 MAO 抑制药物,建立一种用于体外筛选 MAO 抑制药物的模型就显得尤其重要且必需。

本文采用紫外分光光度方法,建立了 MAO 抑制药物体外筛选的模型,其原理是通过测定经 MAO 催化胺类物质氧化产物的含量,其化学反应为: $\text{RCH}_2\text{NH}_2 + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{RCHO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ 。在有氧参与的情况下,可生成相应的醛、胺以及过氧化氢。当用苄胺作为 MAO-B 的底物,在 H_2O 和 O_2 的反应条件下,MAO 催化苄胺氧化生成苯甲醛。因苯甲醛在 242 nm 波长处有最大紫外吸收,故在 242 nm 波长下测定苯甲醛 A。同理,用 5-HT 作为 MAO-A 的底物,MAO 催化 5-HT 氧化生成 5-羟基吲哚-3-基乙醛。因 5-羟基吲哚-3-基乙醛在 280 nm 波长处有最大紫外吸收,故在 280 nm 波长下测定其 A 值。

据文献[10]报道,采用同位素标记方法测得雷沙吉兰对 MAO-B 和 MAO-A 的 IC_{50} 值分别为 4.43 nmol/L 和 412 nmol/L,而本文采用紫外分光光度法测得雷沙吉兰对 MAO-B 和 MAO-A 的 IC_{50} 值分别为 0.566 $\mu\text{mol/L}$ 和 1.296 $\mu\text{mol/L}$,由此可见,雷沙吉兰对 MAO-B 具有较好的选择性抑制作用,这表明本文建立体外筛选 MAO 抑制药物的模型是成功的,而 IC_{50} 值的差异可能是由于测定方法的灵敏度所致。为此,本文建立的方法是可行的,并且具有成本低、操作简便和结果稳定等特点,适合于高通量的体外筛选 MAO 抑制药物。

参 考 文 献

- [1] Reniers J, Meinguet C, Moineaux L, et al. Synthesis and inhibition study of monoamine oxidase, indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan 2,3-dioxygenase by 3,8-substituted 5 H-indeno[1,2-c]pyridazin-5-one derivatives[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2011, 46 (12): 6104-6111.
- [2] Shih J C. Molecular basis of human MAO A and B[J]. Neuropsychopharmacology, 1991, 4(1): 1-7.
- [3] Richard T C, Dean E D, Hilary S, et al. Structure-activity relationship and docking studies of thiazolidinedione-type compounds with monoamine oxidase B[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2011, 21(16): 4798-4803.
- [4] Weinreb O, Amit T, Bar-Am O, et al. A novel anti-Alzheimer's disease drug, ladostigil neuroprotective, multimodal brain-selective monoamine oxidase and cholinesterase inhibitor[J]. International Review of Neurobiology, 2011, 100(3): 191-215.
- [5] Hoon K, Sergey O S, Rona R R. Inhibition of monoamine oxidase a by b-carboline derivatives[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1996, 337(1): 137-142.

神经疾病发病机制研究

DOI: 10.11699/cyxb20130603

四氢异喹啉类单胺氧化酶抑制剂的合成及其活性研究

曾庆东, 张万萍, 程 鹏, 李文军, 鲁振浩, 彭 杨, 朱必敏, 余 瑜

(重庆医科大学药学院药物化学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:设计合成含 1,2,3,4-四氢异喹啉结构的单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)抑制剂,并考察其活性。**方法:**以苯乙胺为原料,经酰化、氨基化、环合和肼解还原反应制得中间体 1-氨基-1,2,3,4-四氢异喹啉,再衍生化制得目标化合物,并进行 MAO 的抑制作用研究。**结果:**合成了新型四氢异喹啉类 MAO 抑制剂 5 个,其中新化合物(5,6,7,9)的结构经质谱、红外光谱及氢谱核磁共振分析确证。经体外 MAO 抑制实验结果显示,5 个目标化合物都具有一定的 MAO 抑制作用,其中化合物 5、6、7 对 MAO-A 有较好的选择性抑制作用。**结论:**设计合成的目标化合物 5、6、7 具有进一步深入研究的实用价值。

【关键词】四氢异喹啉;环合;肼解;还原;单胺氧化酶;抑制剂

【中国图书分类法分类号】R914

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-04-24

Study on synthesis of tetrahydroisoquinolines and monoamine oxidase inhibitory activity

ZENG Qingdong, ZHANG Wanping, CHENG Peng, LI Wenjun, LU Zhenhao, PENG Yang, ZHU Bimin, YU Yu
(Teaching and Research Section of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To design and synthesize 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and to determine its inhibition effect on monoamine oxidase (MAO). **Methods:** 1-aminomethyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline was synthesized from phenylethylamine via acylation, amination with phthalimide potassium, Bischler-Napieralski cyclization, hydrazinolysis and reduction reaction. Then the title compounds were synthesized. **Results:** Four compounds with tetrahydroisoquinoline moiety were synthesized and their structures were confirmed by infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry. Pharmacological test in vitro showed that all the five compounds had certain MAO inhibitory activity, and compound (5~7) displayed preferable selective inhibition on MAO-A. **Conclusion:** The obtained compounds (5~7) need further study.

【Key words】 tetrahydroisoquinoline; cyclization; hydrazine; reduction; monoamine oxidase; inhibitor

作者简介: 曾庆东, Email: hb8547119@126.com,

研究方向: 药物合成及活性研究。

通信作者: 余 瑜, Email: yuyu3519@163.com。

基金项目: 国家科技重大专项课题“重大新药创制”资助项目(编号: 2010ZX09401-306-1-1)。

- [6] Edmondson D E, Mattevi A, Bindab C, et al. Structure and mechanism of monoamine oxidase[J]. Current Medicinal Chemistry, 2004, 11(9): 1983-1993.
- [7] Matsumoto T, Suzuki O, Furuta T, et al. A sensitive fluorometric assay for serum monoamine oxidase with kynuramine as substrate[J]. Clinical Biochemistry, 1985, 18(2): 126-129.
- [8] Su R B, Li J, Li X, et al. Down-regulation of MAO-B activity and imidazole receptors in rat brain following chronic treatment of morphine[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2001, 22(7): 639-644.
- [9] Shigeru O, Yutaka K. A radioisotopic assay for monoamine oxidase determinations in human plasma[J]. Biochemical Pharmacology, 1964, 13(13): 995-1006.
- [10] Moussa B H, Youdim, Aviva G, et al. Rasagiline [N-propargyl-1R(+)-aminoindan], a selective and potent inhibitor of mitochondrial monoamine oxidase B[J]. British Journal of Pharmacology, 2001, 132(2):

500-506.

- [11] Christ B W, Rakow D, Fernandes M, et al. A simple and sensitive spectrophotometric determination of monoamine oxidase activity[J]. Z Klin Chem Klin Biochem, 1973, 11(9): 367-370.
- [12] Ivanovic B D. Determination of platelet monoamine oxidase by new continuous spectrophotometric methods[J]. Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry, 1988, 26(7): 447-451.
- [13] Drozak J, Kozłowski M. Monoamine oxidase as a target for drug action[J]. Postępy Hig Med Dosw, 2006, 60(24): 498-515.
- [14] Moussa B H, Youdim, Marta W. Therapeutic applications of selective and non-selective inhibitors of monoamine oxidase A and B that do not cause significant tyramine potentiation[J]. Neuro Toxicology, 2004, 25(2): 243-250.

(责任编辑: 关蕴良)