

新型双配基 AChEI 美普色胺 改善东莨菪碱致小鼠学习记忆功能障碍的研究

董文哲¹, 郑伟², 李娟³

摘要 目的 探究左旋美普他酚与 5-羟色胺的杂合物美普色胺 [(-)-Mep-S] 对东莨菪碱诱发小鼠学习记忆功能障碍的改善作用。方法 应用分子对接技术分析 (-)-Mep-S 与 hAChE 之间的结合;利用体内实验观察 (-)-Mep-S 对 AChE 活性的影响;通过 Morris 水迷宫行为学实验分析小鼠学习记忆能力;应用旷场试验检测 (-)-Mep-S 对小鼠运动能力影响。结果 分子对接分析显示, (-)-Mep-S 与 hAChE 的催化位点和外周阴离子位点存在较强结合。(-)-Mep-S 明显抑制小鼠前脑来源和人 SH-SY5Y 细胞来源的 AChE 活性,其 IC₅₀ 值均低于阳性对照药利斯的明。在水迷宫实验中, (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 治疗的小鼠在第 4 天的上台潜伏期显著缩短 ($P < 0.05$), 且在第 5 天的空间探索试验中,小鼠在靶象限的游泳距离百分比和时间百分比显著升高 ($P < 0.05$);而 0.5 mg/kg 剂量下 (-)-Mep-S 未能表现出明显作用; (-)-Mep-S 能显著抑制东莨菪碱所致的小鼠前脑 AChE 活性增强 ($P < 0.05$)。另外,旷场试验提示 (-)-Mep-S 改善东莨菪碱所致小鼠学习记忆功能障碍的作用并不是由于运动能力的差异所造成的。结论 (-)-Mep-S 能有效抑制 AChE 活性,从而改善东莨菪碱诱发小鼠学习记忆功能障碍。

关键词 阿尔茨海默病;双配基乙酰胆碱酯酶抑制剂;分子对接;学习记忆障碍

中图分类号 R 749.16;R 96

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)01-0022-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.005

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 以进行性记忆丧失和认知障碍为特征,是老年人痴呆的最

主要原因^[1]。针对 AD 的发病机制,胆碱能假说认为通过抑制 AD 患者脑内乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 活性,可改善患者的认知和记忆功能^[2]。目前, FDA 批准用于治疗 AD 的乙酰胆碱酯酶抑制剂 (acetylcholinesterase inhibitors, AChEIs) 包括利斯的明、加兰他敏和多奈哌齐等。这些药物虽然对 AD 患者的认知功能缺损有改善作用,但不能预防或逆转其病理过程,以至于它们的临床有效性仍受到质疑^[3]。

课题组合成的左旋美普他酚与 5-羟色胺的杂合物美普色胺 [(-)-meptazinol-serotonin hybrid, (-)-Mep-S; 化学结构见图 1], 具有较强的抑制人乙酰胆碱酯酶 (human acetylcholinesterase, hAChE) 活性和 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid peptide, A β) 聚集的能力^[4]。该研究拟通过体内实验和 Morris 水迷宫等行为学实验进一步探究 (-)-Mep-S 对 AChE 的抑制活性以及改善学习记忆障碍效应,旨在为评估 (-)-Mep-S 作为新型双配基 AChEI 治疗 AD 的潜在价值提供依据。

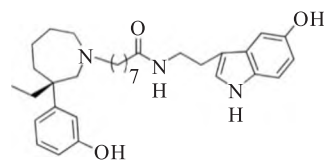


图 1 美普色胺化学结构式

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 (-)-Mep-S 依据本实验室先前实验方法合成^[4]。东莨菪碱、依色林、5,5'-二硫代双-(2-硝基苯甲酸) [5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid, DTNB)、胎牛血清、二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 和利斯的明购自美国西格玛奥德里奇公司。DMEM 培养基/F-12 (1:1)、L-谷氨酰胺和青霉素/链霉素混合液购自美国 Gibco 公司。其他试剂均为商业来源分析纯。

2022-10-10 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 82073854、81373417、30973538); 上海市生物医药技术研究院 NHC 重点实验室创新能力专项 (编号: CX2022-05)

作者单位: ¹ 上海健康医学院基础医学院, 上海 201318

² 上海市生物医药技术研究院国家卫生健康委员会计划生育药具重点实验室, 上海 200032

³ 上海交通大学医学院药理学与化学生物学系, 上海 200025

作者简介: 董文哲, 女, 讲师;

李娟, 女, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: lijuan-pharm@163.com

1.1.2 实验动物与分组 92 只健康雄性昆明小鼠 (18 ~ 22 g) 购自中国科学院上海实验动物中心。小鼠在标准条件 (12 h 的光暗循环, 温度和湿度控制) 下饲养 12 h, 食物和水可随意获得。所有实验方案均符合美国 NIH《实验动物护理与使用指南》, 并获得上海交通大学医学院批准。其中 45 只小鼠用于水迷宫实验, 随机分为对照组、东莨菪碱组、东莨菪碱 + (-)-Mep-S (0.5 mg/kg) 组、东莨菪碱 + (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 组、东莨菪碱 + 利斯的明 (3.25 mg/kg) 组; 20 只小鼠用于乙酰胆碱酯酶活性测定, 随机分为: 对照组、东莨菪碱组、东莨菪碱 + (-)-Mep-S (0.5 mg/kg) 组、东莨菪碱 + (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 组、东莨菪碱 + 利斯的明 (3.25 mg/kg) 组; 27 只小鼠用于旷场试验, 随机分为: 对照组、东莨菪碱组、东莨菪碱 + (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 组。

1.1.3 实验细胞 人神经母细胞瘤细胞系 SH-SY5Y (购自美国 ATCC) 在 DMEM/F-12 (1 : 1) 培养基中生长, 培养基中添加 2 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素和 10% 胎牛血清, 于 37 $^{\circ}$ C 在含 5% CO_2 的细胞培养箱中进行培养。药物处理前更换为无血清培养基。

1.1.4 实验仪器 二级生物安全柜 (美国 Thermo 公司)、二氧化碳细胞培养箱 (美国 Thermo 公司)、实验用超纯水系统 (美国 Millipore 公司)、Centrifuge 离心机 (5810 R) (德国 Eppendorf 公司)、双量程电子天平 (瑞士 METTLER TOLEDO 仪器公司)、冰冻干燥机 (Alpha 1-4/LD plus; Marin Christ, Osterode, 德国)、多功能酶标仪 (Thermo, Waltham, MA, USA)。

1.2 方法

1.2.1 分子对接 从 RCSB 蛋白数据库 (PDB code 4MOE) 中下载 hAChE 的结构, 然后应用 SYBYL 6.9 (Tripos Inc., St. Louis, MO, USA) 软件包去除异质原子和水分子, 并添加氢原子。应用 GOLD 5.0.1 (CCDC, Cambridge, UK) 软件进行分子对接^[5]。

1.2.2 AChE 制备 冰上取小鼠前脑, 按质量 (g) : 生理盐水 (ml) = 1 : 9 的比例加生理盐水后, 超声匀浆, 4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min, 离心 10 min 后取上清液, 冻于 -80 $^{\circ}$ C。收集培养至第 3 天的 SH-SY5Y 细胞培养上清液, 于 4 $^{\circ}$ C, 2 000 r/min 离心 5 min, 将上清液冰冻干燥后, -80 $^{\circ}$ C 保存。临用时将冻干粉重溶于 0.5 ml 生理盐水后用于 AChE 活性测定。

1.2.3 AChE 活性测定 AChE 活性测定采用改良的 Ellman 法^[6]。应用多功能酶标仪在 412 nm 处用

检测样品的吸光度。通过与对照组比较确定在测试药物存在下对 AChE 的抑制百分比。

1.2.4 Morris 水迷宫实验 应用 Morris 水迷宫对小鼠的学习和记忆功能进行评估^[7-8]。为确定 (-)-Mep-S 改善小鼠学习记忆功能障碍的作用, 每天实验前 30 min 腹腔注射 (-)-Mep-S (0.5、2.5 mg/kg) 或阳性对照药利斯的明 (3.25 mg/kg)^[9]。东莨菪碱可通过阻断 ACh 对中枢 M 受体的激动作用, 导致学习记忆功能障碍。每天实验前 15 min 腹腔注射东莨菪碱 (2 mg/kg)。在连续 4 d 的定位航行试验中, 每只小鼠每天进行 4 次试验, 两次试验之间间隔 30 s。每天的入水位置覆盖所有 4 个象限, 且对于所有的小鼠入水象限保持相同的顺序。在每次试验中, 小鼠都被允许游泳 90 s, 以找到平台。90 s 内未找到平台的小鼠会被引导到平台并允许在平台上停留 30 s。第 5 天将平台撤除, 进行探索试验, 每只小鼠允许搜索 60 s, 以考察空间参考记忆的保留。应用自动追踪软件 (吉量软件技术有限公司, 上海) 对小鼠的游泳轨迹进行记录和分析。

1.2.5 旷场试验 应用旷场试验对小鼠运动能力进行评估^[10]。实验中应用一个 40 cm $\times$ 40 cm $\times$ 40 cm 大小的实验箱, 正上方 2 m 处放置摄像头, 其视野可覆盖整个旷场内部。将每只小鼠单独放置在试验区的中心区域中, 观察其运动 5 min。对每只小鼠进行测试后, 用消毒酒精清洁实验仪器, 以防止前一只小鼠留下的嗅觉线索。记录并分析小鼠的运动轨迹 (中国上海吉量软件技术有限公司)。

1.3 统计学处理 所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 8.0 进行单因素或双因素方差分析 (ANOVA) 并进行统计学分析及绘图。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 (-)-Mep-S 与 hAChE 的 CAS 和 PAS 结合的分子对接研究 (-)-Mep-S 与 hAChE 的分子对接分析结果如图 2 所示。(-)-Mep-S 结构中的羟基与 hAChE 的催化位点 (catalytic anionic site, CAS) 的重要残基 Trp86, 以及与外周阴离子位点 (peripheral anionic site, PAS) 的残基 Asp74 和 Tyr124 分别存在相互作用, 形成 3 个氢键。此外, (-)-Mep-S 结构中的 5-羟色胺基团和中间亲脂链与 PAS 中芳香族残基 (如 Trp 286) 存在疏水作用。

2.2 (-)-Mep-S 抑制 AChE 活性 检测 (-)-Mep-S 对来源于小鼠前脑的 AChE 活性的影响。

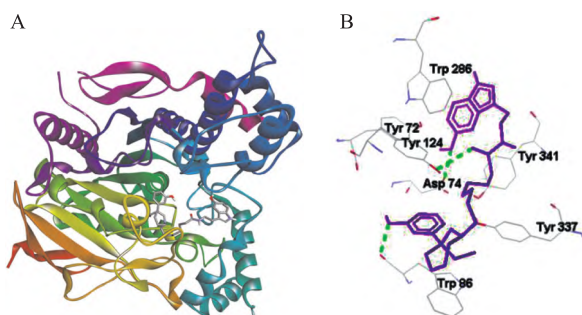


图2 (-)-Mep-S与hAChE(PDB Code: 4M0E)的分子对接图

A:结合模式图,(-)-Mep-S为灰色棒状模型(结构中氮原子显示蓝色,氧原子显示红色,除羟基上氢原子,其它氢原子不显示),hAChE为彩色条带;B:活性口袋中(-)-Mep-S(紫色棒状)与酶关键残基(浅灰细线)作用示意图;强氢键作用以绿色虚线突出显示

(-)-Mep-S 剂量依赖性抑制小鼠前脑 AChE 活性,其 IC_{50} 值为 $(1.70 \pm 0.04) \mu\text{mol/L}$, 低于利斯的明的 IC_{50} 值 $[(14.73 \pm 0.17) \mu\text{mol/L}]$; 图 3A、B]。随后测定了人 SH-SY5Y 神经元细胞来源的 AChE 的活性。结果表明 (-)-Mep-S 明显抑制神经元型 AChE 活性,且具有剂量依赖性,其 IC_{50} 值为 $(2.48 \pm 0.19) \mu\text{mol/L}$, 低于利斯的明的 IC_{50} 值 $[(24.71 \pm 1.70) \mu\text{mol/L}]$; 图 3C、D]。

2.3 (-)-Mep-S 改善东莨菪碱诱发的小鼠学习

记忆功能障碍 应用东莨菪碱诱发的小鼠学习记忆障碍模型,观察(-)-Mep-S 改善学习记忆功能的作用。Morris 水迷宫实验结果显示,上台潜伏期在实验组 $[F = 11.49, P < 0.000 1]$ 和训练天数 $[F = 1.892, P = 0.004 8]$ 之间存在显著差异。与对照组比较,东莨菪碱组小鼠在第 3 天和第 4 天,上台潜伏期明显延长 $(P < 0.05, P < 0.01)$, 图 4A), 提示东莨菪碱诱发了小鼠学习记忆功能障碍。与东莨菪碱组比较,东莨菪碱 + (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 组小鼠在第 4 天的上台潜伏期显著缩短 $(P < 0.05)$, 图 4A)。在第 5 天的空间探索试验中,不同实验组在靶象限的游泳距离百分比 $[F = 7.406, P = 0.000 1]$ 和时间百分比 $[F = 7.231, P = 0.000 2]$ 均存在显著差异。与对照组比较,东莨菪碱组小鼠在靶象限的游泳距离百分比和时间百分比明显降低 $(P < 0.01)$, 图 4B、C)。东莨菪碱 + (-)-Mep-S (2.5 mg/kg) 组小鼠在靶象限的游泳距离百分比和时间百分比显著高于东莨菪碱组小鼠 $(P < 0.05)$, 图 4B、C)。0.5 mg/kg 剂量下 (-)-Mep-S 未能表现出明显作用。利斯的明 (3.25 mg/kg) , 作为阳性对照药)也显著改善了东莨菪碱诱发的学习记忆功能障碍,表现为第 4 天上台潜伏期明显缩短 $(P < 0.05)$, 图 4 A)。第 5 天在靶象限中的游泳距离百分比和时间百分比均显

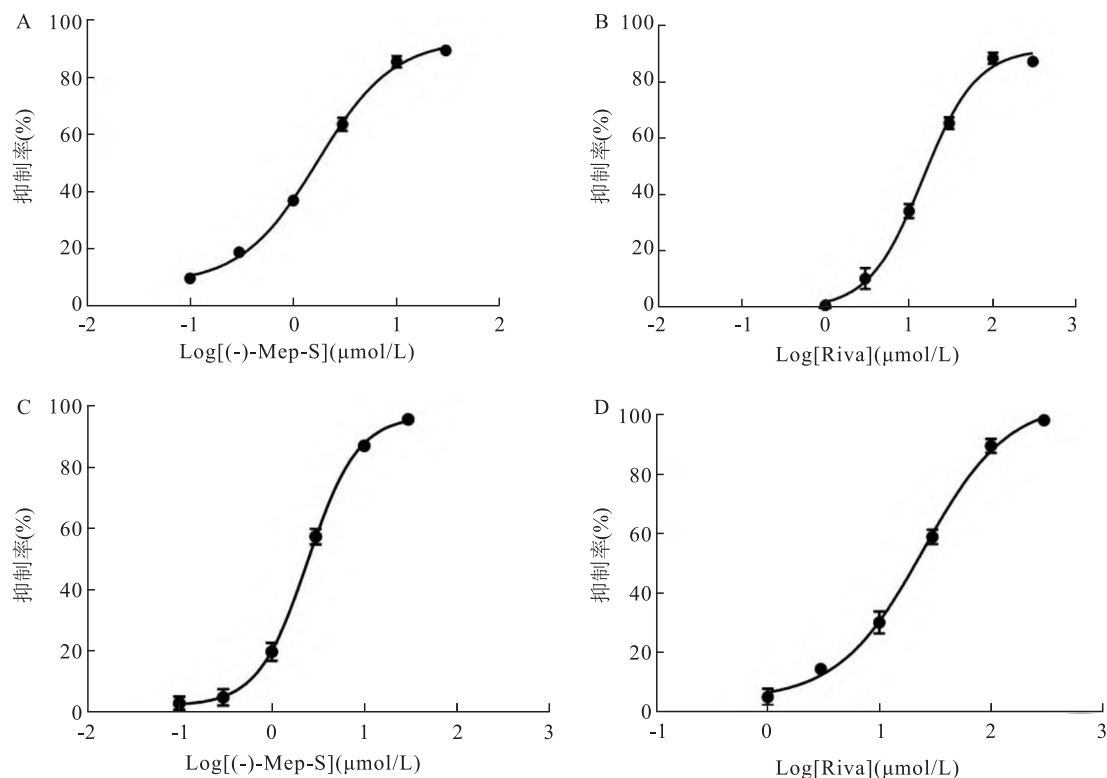


图3 (-)-Mep-S 和利斯的明对小鼠前脑(A、B)和人 SH-SY5Y 神经元细胞(C、D)来源的乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的抑制浓度曲线

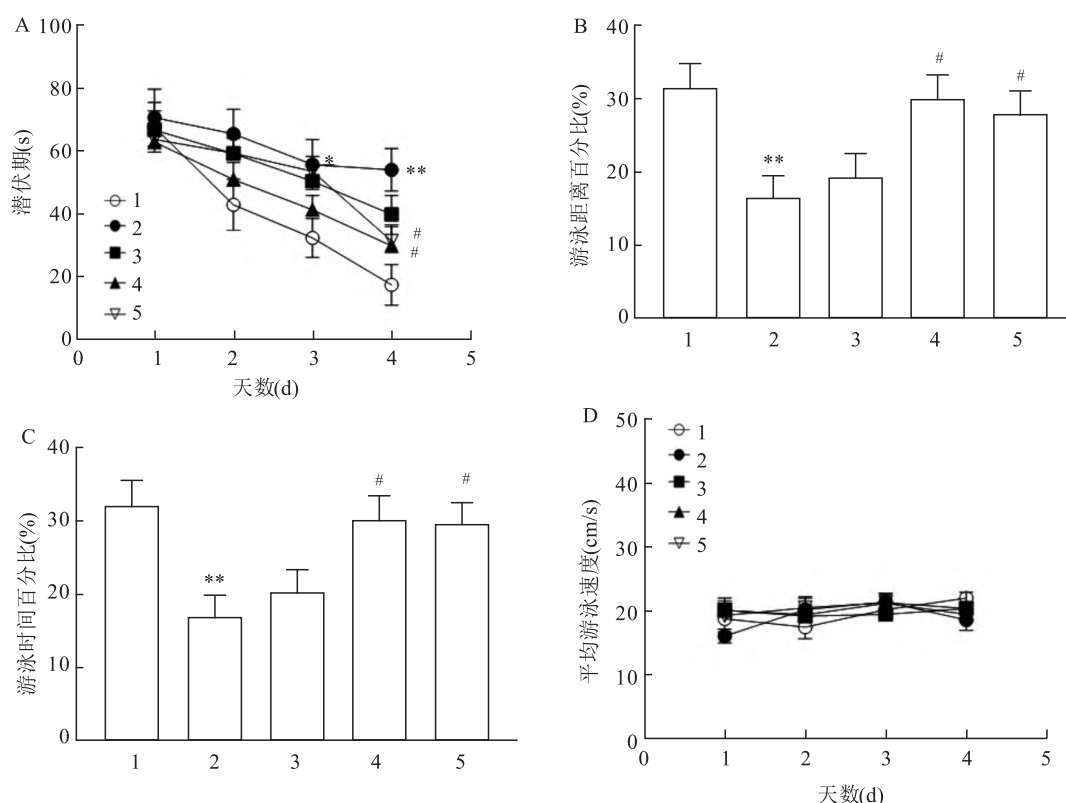


图4 (-)-Mep-S改善东莨菪碱诱导的小鼠学习和记忆功能障碍

A:第1天到第4天定位航行试验中的上台潜伏期;B、C:在第5天的空间探索试验期间,在靶象限中的游泳距离和时间的百分比;D:第1天到第4天定位航行试验中的平均游泳速度;1:对照组;2:东莨菪碱组;3:东莨菪碱+(-)-Mep-S(0.5 mg/kg)组;4:东莨菪碱+(-)-Mep-S(2.5 mg/kg)组;5:东莨菪碱+利斯的明(3.25 mg/kg)组;与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与东莨菪碱组比较: # $P < 0.05$

著升高($P < 0.05$,图4 B、C)。在4天的定位航行试验中,小鼠平均游泳速度在各实验组间差异无统计学意义(图4 D)。

2.4 (-)-Mep-S抑制东莨菪碱诱发的脑内AChE活性升高 实验结果表明,脑内AChE活性在各实验组之间有显著差异($F = 12.17, P = 0.0001$)。与对照组比较,东莨菪碱组小鼠脑内AChE活性明显升高($P < 0.01$,图5)。与东莨菪碱组比较,东莨菪碱+(-)-Mep-S(2.5 mg/kg)组能显著抑制脑内AChE活性($P < 0.05$,图5)。3.25 mg/kg利斯的明作为阳性对照药可显著抑制脑内AChE活性($P < 0.05$,图5)。

2.5 (-)-Mep-S对旷场试验小鼠运动能力的影响 旷场试验结果表明,小鼠在旷场中的行为包括总覆盖距离、中心区活动的距离与时间百分比,在各实验组间差异无统计学意义(图6)。

3 讨论

ACh是脑内重要的神经递质,在学习、记忆方

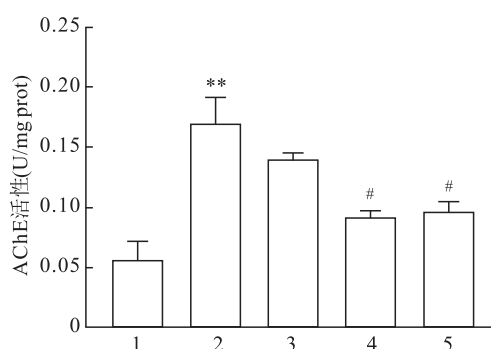


图5 (-)-Mep-S抑制东莨菪碱诱发的脑内AChE活性升高

1:对照组;2:东莨菪碱组;3:东莨菪碱+(-)-Mep-S(0.5 mg/kg)组;4:东莨菪碱+(-)-Mep-S(2.5 mg/kg)组;5:东莨菪碱+利斯的明(3.25 mg/kg)组;与对照组比较: ** $P < 0.01$;与东莨菪碱组比较: # $P < 0.05$

面发挥着重要作用。AChE因其对ACh的催化作用,导致脑内胆碱能神经递质的减少,最终诱发AD患者学习障碍和记忆减退。因此,AChE是抗AD药物的经典靶点^[11]。AChE的活性位点含有两个重要

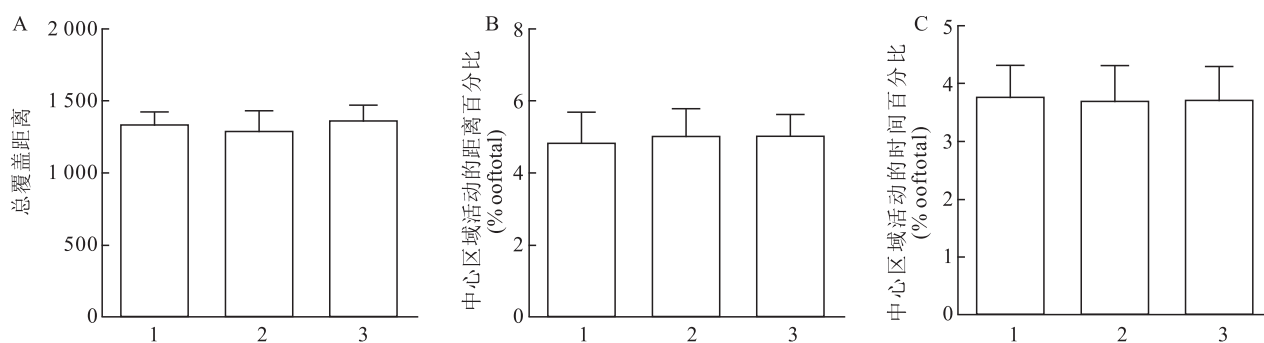


图6 旷场试验结果

A:总覆盖距离;B:中心区域活动的距离百分比;C:中心区域活动的时间百分比;1:对照组;2:东莨菪碱组;3:东莨菪碱+(-)-Mep-S(2.5 mg/kg)组

的结构域,一个是CAS,该位点与ACh水解有关;另一个是PAS,该位点在诱发A β 聚集,促进脑内老年斑块形成中发挥重要作用^[12-13]。有文献^[14]报道,AChEI双位点作用分子常常会显示很强的AChE抑制活性,同时能有效地抑制AChE诱导的A β 的聚集,发挥双重治疗AD作用。因此,寻找新型双配基的AChEIs对AD治疗可能有重要意义。

为了探索(-)-Mep-S对AChE的双位点合模式,课题组进行了分子对接研究。实验结果表明(-)-Mep-S通过与hAChE的CAS和PAS的氨基酸残基形成氢键,与PAS的芳香族残基产生疏水作用,这些相互作用可能有助于(-)-Mep-S与hAChE的相互结合。体外AChE活性检测结果表明(-)-Mep-S能明显抑制小鼠前脑来源和人SH-SY5Y细胞来源的AChE活性,该作用与利斯的明相似。上述结果提示(-)-Mep-S是一种有效的AChE抑制剂。

在正常生理状态下,AChE能够维持脑内ACh含量的稳定,但是在AD患者脑内AChE活性会异常增高,从而导致脑内ACh水平降低,诱发AD患者的痴呆症状^[15]。应用东莨菪碱诱发小鼠学习记忆障碍模型结合Morris水迷宫实验评价(-)-Mep-S的治疗效果。结果显示(-)-Mep-S在2.5 mg/kg剂量下能够显著改善东莨菪碱诱发的小鼠学习记忆障碍,表现为上台潜伏期缩短,在平台所在象限的游泳距离和时间延长。另外,(-)-Mep-S能显著抑制东莨菪碱诱发的小鼠脑内AChE活性增强。以上结果表明(-)-Mep-S有效改善东莨菪碱诱发的小鼠学习记忆功能障碍。旷场试验提示(-)-Mep-S对东莨菪碱诱发小鼠学习记忆功能障碍的改善作用不是由于运动能力的差异所致。因此推测(-)-

Mep-S改善学习记忆障碍可能与其抑制脑内AChE活性,导致突触间隙内ACh水平增高有关。

综上所述,(-)-Mep-S能显著改善东莨菪碱诱发的学习记忆功能障碍。提示在AD治疗中,(-)-Mep-S有望成为一种有潜在价值的双配基AChEI。

参考文献

- [1] Soria Lopez J A, González H M, Léger G C. Alzheimer's disease [J]. Handb Clin Neurol, 2019, 167: 231-55.
- [2] Hung S Y, Fu W M. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease [J]. J Biomed Sci, 2017, 24(1): 47.
- [3] Birks J S, Harvey R J. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2018, 6(6): CD001190.
- [4] Cheng S, Zheng W, Gong P, et al. (-)-Meptazinol-melatonin hybrids as novel dual inhibitors of cholinesterases and amyloid- β aggregation with high antioxidant potency for Alzheimer's therapy [J]. Bioorg Med Chem, 2015, 23(13): 3110-8.
- [5] Paz A, Xie Q, Greenblatt H M, et al. The crystal structure of a complex of acetylcholinesterase with a bis-(-)-nor-meptazinol derivative reveals disruption of the catalytic triad [J]. J Med Chem, 2009, 52(8): 2543-9.
- [6] Worek F, Eyer P, Thiermann H. Determination of acetylcholinesterase activity by the Ellman assay: a versatile tool for *in vitro* research on medical countermeasures against organophosphate poisoning [J]. Drug Test Anal, 2012, 4(3-4): 282-91.
- [7] Tan X, Zhou Y, Gong P, et al. A multifunctional bis-(-)-nor-meptazinol-oxalamide hybrid with metal-chelating property ameliorates Cu(II)-induced spatial learning and memory deficits *via* preventing neuroinflammation and oxido-nitrosative stress in mice [J]. J Trace Elem Med Biol, 2019, 52: 199-208.
- [8] 李磊, 邓磊, 王烈成. 花生茎叶提取物异甘草素对C57小鼠睡眠和学习记忆能力的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(1): 116-20.

- [9] 管惠峰, 谭小芳, 官平, 等. 多靶点抗 AD bis-MEP-乙二酰胺杂合物 ZLA 抑制神经元型 AChE 活性及促智作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(7): 1206–10.
- [10] Wei T, Yi M, Gu W, et al. The potassium channel KCa3.1 represents a valid Pharmacological target for astroglial-induced neuronal impairment in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Front Pharmacol, 2017, 7: 528.
- [11] González J F, Alcántara A R, Doadrio A L, et al. Developments with multi-target drugs for Alzheimer's disease; an overview of the current discovery approaches[J]. Expert Opin Drug Discov, 2019, 14(9): 879–91.
- [12] McHardy S F, Wang H L, McCowen S V, et al. Recent advances in acetylcholinesterase inhibitors and reactivators: an update on the patent literature (2012–2015)[J]. Expert Opin Ther Pat, 2017, 27(4): 455–76.
- [13] Abdshahzadeh H, Golshani M, Nadri H, et al. 3-Aryl coumarin derivatives bearing aminoalkoxy moiety as multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease[J]. Chem Biodivers, 2019, 16(5): e1800436.
- [14] 郑伟, 谢琼, 陈良康, 等. 双位点作用的乙酰胆碱酯酶抑制剂[J]. 化学进展, 2013, 25(11): 1973–80.
- [15] 王双, 王婷婷, 田俊娜, 等. 益智方改善东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的药理作用研究[J]. 中医药导报, 2021, 27(8): 6–9, 19.

(–)-Mep-S as a novel dual-binding AChEI to ameliorate scopolamine-induced learning and memory impairment in mice

Dong Wenzhe¹, Zheng Wei², Li Juan³

(¹Basic Medical College of Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318;

²NPFPC Key Laboratory of Contraceptives and Devices, Shanghai Institute of Planned Parenthood

Research, Shanghai 200032; ³Dept of Pharmacology and Chemical Biology,

Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025)

Abstract Objective To explore the effect of (–)-meptazinol-serotonin hybrid, [(–)-Mep-S] on scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. **Methods** The binding of (–)-Mep-S and hAChE was analyzed by molecular docking. The effect of (–)-Mep-S on AChE activity was observed *in vivo* and *in vitro*. The effect of (–)-Mep-S on learning and memory impairment induced by scopolamine was examined in Morris water maze test in mice. The effect of (–)-Mep-S on the motor behaviors of mice was detected by open field test. **Results** Molecular docking analysis revealed that (–)-Mep-S binded to human AChE. In parallel, (–)-Mep-S overtly inhibited the activity of AChE derived from mouse forebrain and SH-SY5Y neuronal cells, and IC₅₀ values were lower than those of the positive control drug rivastigmine. In the Morris water maze test, mice treated with (–)-Mep-S (2.5 mg/kg) showed significantly reduced latency on day 4 ($P < 0.05$). Moreover, they exhibited significantly greater percentage of distance travelled and percentage of time spent in the target quadrant in the probe trial on day 5 ($P < 0.05$). (–)-Mep-S at 0.5 mg/kg did not show any significant effects. In addition, (–)-Mep-S inhibited the enhancement of forebrain AChE activity induced by scopolamine ($P < 0.05$). The open field test showed that the effect of (–)-Mep-S on scopolamine-induced learning and memory impairment was not due to the difference on the motor behaviors of mice. **Conclusion** (–)-Mep-S can effectively inhibit AChE activity and ameliorate scopolamine-induced learning and memory impairment in mice.

Key words Alzheimer's disease; dual-binding AChE inhibitor; molecular docking; learning and memory impairment