

# 蜂眠宁胶囊对老年小鼠神经递质的影响<sup>Δ</sup>

周从辉<sup>\*</sup> 熊义涛<sup>1</sup> 易爱玲<sup>2#</sup> (1. 湖北省中医院药事部 湖北 武汉 430074; 2. 武汉市黄陂区人民医院药剂科, 湖北 武汉 430300)

中图分类号 R961.1 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2016)06-0731-03

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2016.06.003

**摘要** 目的: 探讨蜂眠宁胶囊对老年小鼠神经递质的影响。方法: 选择 10 只青年小鼠设为青年小鼠对照组, 50 只老年小鼠按随机数字表法分为老年小鼠对照组、六味地黄浓缩丸组、蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中)、蜂眠宁胶囊组(低), 每组各 10 只。采用灌胃给药, 1 日 1 次, 连续 10 d。末次给药后 1 h, 各组小鼠立即颈椎脱臼处死, 测定乙酰胆碱(Ach)、胆碱酯酶(CHE)、多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)的活性。结果: 与老年小鼠对照组比较, 六味地黄浓缩丸组、蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中)的 ACH、DA、NE 的活性明显升高, CHE 的活性明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 蜂眠宁胶囊组(高)的作用优于六味地黄浓缩丸组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: 蜂眠宁胶囊能通过调节 Ach、CHE、NE、DA、5-HT 等神经递质来影响中枢神经系统功能, 起到促进学习、改善记忆能力、抗老年痴呆的作用。

**关键词** 蜂眠宁胶囊; 神经递质; 老年痴呆

## Effects of Fengmianning Capsules on Neurotransmitter of Aged Mice<sup>Δ</sup>

ZHOU Conghui<sup>1</sup>, XIONG Yitao<sup>1</sup>, YI Ailing<sup>2</sup> (1. Dept. of pharmaceutical affairs, Hubei Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Hubei 430074, China; 2. Dept. of pharmacy, Wuhan Huangpi District People's Hospital, Hubei 430300, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To probe into the effects of Fengmianning capsules on neurotransmitter of aged mice. METHODS: 10 young mice were set as the control group, 50 aged mice were selected to be divided into aged mice control group, Liuweidihuang pills group, Fengmianning capsules group (high), Fengmianning capsules group (median) and Fengmianning capsules group (low) via the random number table, with 10 cases in each; administered with intragastric

而且具有方法准确、精密度高、样品用量少等特点, 是艾粉  $\beta$ -CD 包合物中左旋龙脑含量测定的可行方法。

显微成像法与薄层色谱法是环糊精包合物常用的验证方法<sup>[12]</sup>。在显微镜下含药的包合物由于晶格的排列发生变化造成形状不同, 根据对比分析包合物的相态变化及晶格变化可判断包合物是否形成。而通过薄层色谱法可以看到, 在同样的条件下, 空白的环糊精不会有展开斑点, 而包合物与原料药以及对照品在同一位置有对应的斑点, 也说明了包合物未影响艾粉的化学性质。

### 参考文献

- [1] 江兴龙, 潘俊锋, 司健, 等. 贵州艾纳香产地采收提取艾粉技术研究[J]. 生物质化学工程 2006, 40(1): 17-20.
- [2] 王中洋, 庞玉新, 杨全, 等. 中药冰片资源及生产加工现状[J]. 中国现代中药 2014, 16(9): 780-784.
- [3] 吴丽芬, 杨全, 庞玉新, 等. GC 同时测定艾粉中樟脑、异龙脑、L-龙脑、 $\beta$ -石竹烯和花椒油素的含量及其聚类分析[J]. 中国药

学杂志 2015, 50(9): 10-14.

- [4] 王远辉. 艾纳香叶中左旋龙脑与精油的制备及其抗氧化与抗菌活性研究[D]. 无锡: 江南大学 2013.
- [5] 宋凤兰, 金海杰, 潘育方, 等. 白芷扇感冒颗粒中挥发油  $\beta$ -环糊精包合物的制备[J]. 中国实验方剂学 2012, 18(23): 9-12.
- [6] 郑晓霞, 张丹参, 黄红娜, 等. 大黄酚-羟丙基  $\beta$ -环糊精包合物的工艺优选及鉴定[J]. 中成药 2010, 32(9): 1518-1521.
- [7] 王静, 邢煜军, 张保国, 等. 甘松挥发油  $\beta$ -环糊精包合工艺研究[J]. 中成药 2011, 33(9): 1607-1610.
- [8] 郭丽蓉, 周莉玲. 冰片  $\beta$ -环糊精包合物制备方法的比较研究[J]. 时珍国医国药 2011, 22(6): 1462-1464.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社 2010: 附录 73.
- [10] 邓红, 李欣蔚, 林华庆, 等. 薄荷、白术混合挥发油  $\beta$ -环糊精包合物的制备和鉴别[J]. 广东药学院学报 2011, 27(4): 341-344.
- [11] 金邻豫, 蔡源源, 王博, 等. 银杏叶提取物包合物的制备及其显微验证[J]. 河南大学学报: 医学版 2007, 26(4): 26-28.
- [12] 常美玲, 薛彦朝, 粘立军, 等.  $\beta$ -环糊精包合物质量检测研究进展[J]. 中国中医药 2012, 10(16): 164-165.

(收稿日期: 2016-01-05)

<sup>Δ</sup> 基金项目: 湖北省卫生计生委员会计划项目(No: 2012Z-Y41)

\* 主管药师。研究方向: 中药药理学。E-mail: jovea@126.com

# 通信作者: 副主任药师。研究方向: 临床药理学和药理学。E-mail: 1052543089@qq.com

administration, once every day for 10 days. After the last administration of 1h, the mice were killed by cervical dislocation immediately, and the activity of Ach, CHE, DA, NE, 5-HT were determined. RESULTS: Compared with aged mice control group, the activity of Ach, DA, NE in Liuweidihuang pills group, Fengmianning capsules group (high), Fengmianning capsules group (median) significantly increased, yet the activity of CHE decreased, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The effects of Fengmianning capsules group (high) were better than that of Liuweidihuang pills, with statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). CONCLUSIONS: Fengmianning capsules can affect the function of the central nervous system by regulating Ach, CHE, NE, DA, 5-HT and other neurotransmitters, so as to promote and improve the ability of learning and memory, and achieve the effects of anti senile dementia.

**KEYWORDS** Fengmianning capsules; Neurotransmitter; Senile dementia

蜂眠宁胶囊是由蜂胎冻干粉、黄芪、缬草、酸枣仁制备而成。其中蜂胎冻干粉的含量达 70%, 由蜜蜂幼虫通过均浆经冷冻干燥制备而成。向明等<sup>[1]</sup> 研究结果显示, 其可使老龄大鼠记忆功能保持明显增强, 大脑边缘系统海马内胆碱能神经纤维积分光密度明显增加。国家食品药品监督管理局批准其保健功能为延缓衰老、改善睡眠。六味地黄丸是传统中医滋阴补肾的经典方, 研究结果表明, 其有明显的延缓衰老作用。本研究旨在观察蜂眠宁胶囊对老年小鼠神经递质的影响<sup>[2-4]</sup>, 为其改善老年痴呆患者的记忆提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ALCYON300 型全自动生化分析仪(美国雅培); BS110S 型 sartorius 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

六味地黄浓缩丸(北京同仁堂, 批准文号: 国药准字 Z19993068, 批号 120712); 蜂眠宁胶囊(武汉惠尔生物科技有限公司, 批号: 20120501); 乙酰胆碱(ACh) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20120819); 胆碱酯酶(CHE) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20120627); 多巴胺(DA) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20120622); 去甲肾上腺素(NE) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20120817); 5-羟色胺(5-HT) 测试盒(南京建成生物工程研究所, 批号: 20120620)。

### 1.3 动物

60 只健康昆明小鼠, 雌雄各半, 其中 4 周龄青年小鼠 10 只, 12 月龄老年小鼠 50 只, 购自湖北省实验动物中心, 合格证号: SCXK(鄂) 2012-0007。

## 2 方法

### 2.1 动物分组、给药与取材

昆明种小鼠 60 只, 雌雄各半, 其中 10 只 4 周龄青年小鼠, 体质量 18~22 g, 作为青年小鼠对照组; 50 只 12 月龄老年小鼠, 体质量 30~35 g, 按随机数字表法分为老年小鼠对照组、六味地黄浓缩丸组、蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中)、蜂眠宁胶囊组(低), 每组 10 只。青年及老年小鼠对照组均给予等量 0.9% 氯化钠注射液; 六味地黄浓缩丸组给予六味地黄浓缩丸 6 g/kg(相当于临床人用量的 10 倍); 蜂眠宁胶囊组(高) 给予蜂眠宁胶囊 3 g/kg(相当于临床人用量的 30 倍); 蜂眠宁胶囊组(中) 给予蜂眠宁胶囊 1.5 g/kg(相当于临床人用量的 20 倍); 蜂眠宁胶囊组(低) 给予蜂眠宁胶囊 0.75 g/kg

(相当于临床人用量的 10 倍)。灌胃给药, 1 日 1 次, 连续 10 d。

### 2.2 指标检测

末次给药后 1 h, 各组小鼠立即颈椎脱臼处死, 冰上取出脑组织, 在冰冷的 0.9% 氯化钠注射液中漂洗, 除去血迹, 滤纸拭干, 称质量。然后置玻璃匀浆器中, 加入 5 倍量的 0.9% 氯化钠注射液制备脑匀浆, 转速 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液置冰浴中。按试剂盒说明书的方法测定脑组织中 ACh、CHE、DA、NE、5-HT 的活性<sup>[5-7]</sup>。其中蛋白含量的测定用 BCA 法: 准确称取脑组织重量, 按质量(g): 体积(ml) = 1:9 的比例, 加入 9 倍体积的 0.9% 氯化钠注射液, 冰水浴下机械匀浆, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液再用 0.9% 氯化钠注射液按 1:9 稀释成 1% 的组织匀浆, 按试剂盒说明书的方法测定脑组织中总蛋白量。

### 2.3 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计学软件对数据进行分析, 计量资料采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 *t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义,  $P < 0.01$  为差异有极显著统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 蜂眠宁胶囊对老年小鼠脑组织中 ACh 和 CHE 影响

与青年小鼠对照组比较, 老年小鼠对照组小鼠脑内中枢神经递质 ACh 的含量明显下降 ( $P < 0.01$ ), CHE 的含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 六味地黄浓缩丸组、蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中) 的 ACh 含量、CHE 含量与老年小鼠对照组比较, 差异有极显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 说明高剂量和中剂量的蜂眠宁胶囊具有升高 ACh 含量, 降低 CHE 含量, 从而促进学习记忆能力的作用, 见表 1。

表 1 蜂眠宁胶囊对老年小鼠脑组织中 ACh 和 CHE 影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/(g/kg)	ACh/[ $\mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{pro})$ ]	CHE/[U/( $\text{mg} \cdot \text{pro}$ )]
青年小鼠对照组 ( $n=10$ )	—	108.13 ± 31.18	5.21 ± 1.04
老年小鼠对照组 ( $n=10$ )	—	36.57 ± 11.26**	10.39 ± 1.91**
六味地黄浓缩丸组 ( $n=10$ )	6	76.68 ± 24.43##	6.53 ± 1.22##
蜂眠宁胶囊组(高) ( $n=10$ )	3	94.48 ± 16.51### $\Delta$	5.27 ± 1.59## $\Delta$
蜂眠宁胶囊组(中) ( $n=10$ )	1.5	68.15 ± 15.47##	7.42 ± 1.75##
蜂眠宁胶囊组(低) ( $n=10$ )	0.75	47.56 ± 11.12	8.66 ± 1.68

注: “—”表示未用药; 与青年小鼠组比较, \*\* $P < 0.01$ ; 与老年小鼠对照组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ; 与六味地黄浓缩丸组比较,  $\Delta P < 0.05$

Note: “—” stands for non-medication, vs. young mice control group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. aged mice control group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ; vs. Liuweidihuang pills group,  $\Delta P < 0.05$

### 3.2 蜂眠宁胶囊对老年小鼠脑内单胺类递质 DA、5-HT 和 NE 的影响

与青年小鼠对照组比较,老年小鼠对照组脑内单胺类递质 DA 和 NE 的含量明显下降 ( $P < 0.01$ ); 六味地黄浓缩丸组、蜂眠宁胶囊组(高)的 DA 含量与老年小鼠对照组比较,差异有极显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ),蜂眠宁胶囊组(中)的 DA 含量与老年对照组比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 六味地黄浓缩丸组小鼠 NE 与老年对照组比较,差异有极显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ),蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中)与老年小鼠对照组比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 5 组 5-HT 的含量差异无统计学差异 ( $P > 0.05$ ); 说明蜂眠宁胶囊高、中剂量能通过升高脑内单胺类递质 DA 和 NE 含量,从而起到促进学习记忆能力,见表 2。

表 2 蜂眠宁胶囊对老年小鼠脑组织中 DA、NE 和 5-HT 影响 ( $\bar{x} \pm s$   $n = 6$ )

组别	剂量/ (g/kg)	DA/ (ng/L)	NE/ (ng/L)	5-HT/ (ng/L)
青年对照组 ( $n = 10$ )	—	487.19 ± 78.21	158.46 ± 48.52	617.32 ± 154.31
老年对照组 ( $n = 10$ )	—	255.81 ± 70.13 <sup>***</sup>	60.22 ± 28.47 <sup>***</sup>	663.56 ± 106.76
六味地黄浓缩丸组 ( $n = 10$ )	6	388.51 ± 80.26 <sup>###</sup>	90.25 ± 25.23 <sup>###</sup>	680.11 ± 131.69
蜂眠宁胶囊组(高) ( $n = 10$ )	3	427.31 ± 98.79 <sup>###Δ</sup>	117.37 ± 25.49 <sup>###Δ</sup>	591.79 ± 171.06
蜂眠宁胶囊组(中) ( $n = 10$ )	1.5	377.24 ± 81.85 <sup>#</sup>	86.87 ± 24.58 <sup>#</sup>	610.31 ± 112.43
蜂眠宁胶囊组(低) ( $n = 10$ )	0.75	340.14 ± 91.24	78.86 ± 25.78	562.23 ± 161.32

注: “—”表示未用药;与青年小鼠组比较,<sup>\*\*\*</sup> $P < 0.01$ ;与老年小鼠对照组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>###</sup> $P < 0.01$ ;与六味地黄浓缩丸组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

Note: “—” stands for non-medication; vs. young mice control group, <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.01$ ; vs. aged mice control group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>###</sup> $P < 0.01$ ; vs. Liuweidihuang pills group, <sup>Δ</sup> $P < 0.05$

### 4 讨论

老年性痴呆是一种病理及病因改变都比较复杂的综合性大脑损害疾病,患者的大脑出现了退行性的病变。老年痴呆患者都出现不同程度的神经递质缺少,进而脑萎缩。ACH 是中枢胆碱能系统中重要的神经递质之一,其主要作用是维持意识的清醒,促进学习和记忆的功能。有研究结果发现,当机体需要对新刺激进行学习记忆等认知活动时,基底前脑胆碱能神经元被激活,脑内 ACH 的释放也随之变化。人脑中乙酰胆碱的含量会随着年龄增加而出现下降,导致脑神经传递功能的异常,从而出现大脑记忆功能的障碍。CHE 是一类糖蛋白,一般可以分为真性胆碱酯酶和假性胆碱酯酶。真性胆碱酯酶也称乙酰胆碱酯酶,主要存在于胆碱能神经末梢突触间隙,用于水解 ACH,常简称为胆碱酯酶;假性胆碱酯酶可分解其他胆碱酯类,主要存在于神经胶质细胞、血浆中。乙酰胆碱酯酶是 ACH 的水解酶,其活性变化可间接反映出脑内 ACH 含量和代谢的情况。

学习记忆的形成和保持不仅与中枢胆碱能神经系统相关,并且与单胺类神经递质密切相关<sup>[8-10]</sup>。单胺类神经递质主要包括 NE、DA、5-HT。研究结果表明,NE 和 DA 的含量与学习记忆的功能有关<sup>[11-14]</sup>,而 5-HT 则参与调节情绪。在正常情况下,中枢内神经递质的分泌保持在一定水平,并且相互协调,从而维持功能的稳定<sup>[15-16]</sup>;随着机体的老化,会出现脑内单胺类神经递质的代谢紊乱,且 NE 和 DA 含量的下降,表明衰老过程中脑内单胺类神经递质的平衡遭到破坏,从而出现

学习记忆能力的下降。周坤福等<sup>[17]</sup>研究结果表明,六味地黄丸有明显的延缓衰老作用。故本研究选用六味地黄丸作为阳性对照。结果发现,与青年小鼠对照组比较,老年小鼠对照组脑组织内 ACH、DA、NE 的含量明显下降,CHE 的含量显著升高,说明老年小鼠对照组小鼠出现了明显的学习记忆障碍。与老年小鼠对照组比较,蜂眠宁胶囊组(高)、蜂眠宁胶囊组(中)、蜂眠宁胶囊组(低)的小鼠脑内 ACH、DA、NE 含量升高,CHE 含量下降;与六味地黄丸对照组比较,蜂眠宁胶囊组(高)的小鼠脑内 ACH、DA、NE 含量升高,CHE 含量下降,差异有显著性。说明蜂眠宁胶囊能通过调节中枢神经系统功能,起到促进学习、改善记忆能力,从而达到健脑益智、延缓衰老、抗痴呆的作用。

### 参考文献

- [1] 向明,高振江,范玉华,等.蜜蜂幼虫增强老龄大鼠记忆力实验研究[J].时珍国医国药,2000,11(8):683-684.
- [2] 邱雷,郝璐,张瑶,等.清开灵对快速老化痴呆小鼠学习记忆能力的影响及作用机制研究[J].中国中西医结合杂志,2010,30(7):738-742.
- [3] 苏溪漫,董志,桂利喙对兴奋毒致痴呆大鼠模型海马单胺类神经递质的影响[J].中国老年学杂志,2010,30(22):3320-3322.
- [4] 丁向东,冯月英,张健新,等.升黄益智方对氯化铝所致痴呆模型小鼠行为学及脑组织神经递质的影响[J].中国老年学杂志,2004,24(12):1183-1185.
- [5] 郭长杰,伍杰雄,李若馨.三七总皂苷对痴呆模型大鼠大脑皮质内神经递质含量的影响[J].中国临床药理学杂志,2004,13(3):150-152.
- [6] 周建英,徐斌,姜海英.益气复智颗粒对多梗塞性痴呆模型大鼠脑内单胺类神经递质的影响[J].南京中医药大学学报:自然科学版,2003,19(2):89-91.
- [7] 郝宪恩,李楠,王鑫国.益气活血复方对多发性梗塞性痴呆大鼠大脑皮质神经递质的影响[J].海南医学院学报,2007,13(3):208-210.
- [8] 李生菊.老年性痴呆患者单胺类神经递质水平及与记忆力的关系[J].中国老年医学杂志,2014,34(5):1374-1375.
- [9] 孙晓芳,王平,张永,等.肾虚髓衰、络脉痹阻是老年性痴呆的基本病机[J].中华中医药杂志,2012,21(9):63-64.
- [10] 彭丹涛,袁欣瑞,张筱.常见几种老年期痴呆的神经递质变化及意义[J].中华老年医学杂志,2013,32(8):810-812.
- [11] 任淑萍.老年性痴呆症治疗药物进展[J].中国医院用药评价与分析,2003,3(5):315-317.
- [12] 黄忠仕,林兴,张士军,等.龙眼参多糖对 SAMP8 学习记忆及脑组织单胺类神经递质含量影响的研究[J].中国药房,2008,19(9):647-649.
- [13] 张振生.通络救脑口服液模型大鼠海马区生长抑制、胆碱乙酰化酶表达的影响[J].中华中医药杂志,2012,32(11):34-35.
- [14] 刘慧兰,张俊英,卫东锋.红芪水提浓缩液对快速老化小鼠学习记忆和单胺类神经递质的影响[J].中国中医药信息杂志,2013,20(8):36-39.
- [15] Li G,Zhang X,Cheng H,et al. Acupuncture improves cognitive deficits and increases neuron density of the hippocampus in middle-aged SAMP8 mice[J]. Acupunct Med,2012,30(4):339-345.
- [16] 高琳娜,贺晓丽,唐千淇.淫羊藿苷对快速老化小鼠 SAMP10 脑组织单胺类及氨基酸类神经递质的影响[J].中国临床药理学与治疗学,2012,17(10):1081-1085.
- [17] 周坤福,王明艳,赵凤鸣,等.六味地黄丸延缓衰老作用机制的实验研究[J].江苏中医,1999,20(1):44-45.

(收稿日期:2016-02-19)