

N-乙酰神经氨酸及其复方制剂改善小鼠学习记忆功能障碍的研究

黄虔菲, 徐一贝, 郑维睿, 吴庆其, 李青青*

杭州医学院药学院、食品科学与工程学院, 浙江 杭州

收稿日期: 2025年11月10日; 录用日期: 2025年12月29日; 发布日期: 2026年1月6日

摘要

N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)是一种重要的功能性单糖,作为一种内源性唾液酸, N-乙酰神经氨酸在人体内参与多种生理活动,尤其对于神经系统的发育和功能发挥着至关重要的功能。N-乙酰神经氨酸存在于多种植物、动物和微生物中。本研究旨在探讨N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠学习记忆功能障碍的改善作用。目的:探讨N-乙酰神经氨酸及其复方制剂(含N-乙酰神经氨酸及DHA藻油和锌)在改善学习记忆功能障碍方面的功能。方法:通过东莨菪碱构建小鼠记忆障碍模型,采用Morris水迷宫、避暗实验等行为学测试,观察并记录表现,结合大脑组织的超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、乙酰胆碱(ACh)及乙酰胆碱酯酶(AChE)水平检测,评估干预效果,以探究N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠脑内抗氧化能力和乙酰胆碱功能的影响。结果:低剂量(50 mg/kg·bw)和高剂量(83.3 mg/kg·bw)的N-乙酰神经氨酸及高剂量的N-乙酰神经氨酸复合制剂(Neu5Ac 26.7 mg/kg·bw、DHA 60 mg/kg·bw、锌1.67 mg/kg·bw)在实验中被证实能够缓解由东莨菪碱引起的认知功能障碍,表现为显著提升小鼠在Morris水迷宫测试中的空间导航能力,路径缩短和进入次数增加。复方制剂组(Neu5Ac 26.7 mg/kg·bw)与单方低剂量组(50 mg/kg·bw)相比,Neu5Ac含量较低,但效果更优,表明该复合制剂通过通过协同调控胆碱能系统、减轻氧化应激等机制,抑制脑内超氧化物歧化酶(SOD)活性的下降,并降低乙酰胆碱酯酶(AChE)活性,从而维持乙酰胆碱(ACh)的水平,展现出其潜在的神经保护作用。

关键词

N-乙酰神经氨酸, 改善记忆, 东莨菪碱, 唾液酸, 二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic Acid, DHA)

Research on the Improvement of Learning and Memory Dysfunction in Mice by N-Acetylneuraminic Acid (Neu5Ac) and Its Compound Preparation

*通讯作者。

文章引用: 黄虔菲, 徐一贝, 郑维睿, 吴庆其, 李青青. N-乙酰神经氨酸及其复方制剂改善小鼠学习记忆功能障碍的研究[J]. 食品与营养科学, 2026, 15(1): 52-62. DOI: 10.12677/hjfn.2026.151007

Qianfei Huan, Yibei Xu, Weirui Zheng, Qingqi Wu, Qingqing Li*

College of Pharmacy, College of Food Science and Technology, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

Received: November 10, 2025; accepted: December 29, 2025; published: January 6, 2026

Abstract

N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) is an important functional monosaccharide. As an endogenous sialic acid, N-acetylneuraminic acid participates in various physiological activities within the human body, playing a crucial role in the development and function of the nervous system. N-acetylneuraminic acid is found in a variety of plants, animals, and microorganisms. This study aims to explore the improvement effects of N-acetylneuraminic acid and its compound preparations on learning and memory dysfunction in mice. Objective: To investigate the functions of N-acetylneuraminic acid and its compound preparations (containing N-acetylneuraminic acid, DHA algal oil, and zinc) in improving learning and memory dysfunction. Methods: A mouse memory impairment model was constructed using scopolamine. Behavioral tests such as the Morris water maze and the step-through test were used to observe and record performances. Combined with the detection of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), acetylcholine (ACh), and acetylcholinesterase (AChE) levels in brain tissue, the intervention effects were evaluated to explore the impact of N-acetylneuraminic acid and its compound preparations on the brain's antioxidant capacity and acetylcholine function. Results: Low-dose (50 mg/kg·bw) and high-dose (83.3 mg/kg·bw) N-acetylneuraminic acid and the high-dose N-acetylneuraminic acid compound preparation (Neu5Ac 26.7 mg/kg·bw, DHA 60 mg/kg·bw, zinc 1.67 mg/kg·bw) were confirmed to alleviate cognitive dysfunction caused by scopolamine in the experiment. This was demonstrated by significantly improving the spatial navigation ability of mice in the Morris water maze test, with shorter paths and increased entries. Compared to the single low-dose group (50 mg/kg·bw), the compound preparation group (Neu5Ac 26.7 mg/kg·bw) had lower Neu5Ac content but better effects. This indicates that the compound preparation, through synergistic regulation of the cholinergic system and alleviation of oxidative stress mechanisms, inhibits the decline in superoxide dismutase (SOD) activity and reduces acetylcholinesterase (AChE) activity in the brain, thereby maintaining the level of acetylcholine (ACh) and demonstrating its potential neuroprotective effects.

Keywords

N-Acetylneuraminic Acid, Memory Improvement, Scopolamine, Sialic Acid, Docosahexaenoic Acid (DHA)

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

唾液酸(Sialic acid, SA)是九碳糖神经氨酸酰化物的总称,至今自然界中已发现超过 50 种,且数量还在不断增加。唾液酸在哺乳动物大脑和智力的发展中发挥重要作用。唾液酸诱导的神经节苷脂可以加强海马区的长期增强作用[1],与大脑中的神经营养因子(NGF)协同作用[2]。N-乙酰神经氨酸(N-Acetylneuraminic acid, Neu5Ac)是酸性糖神经氨酸的乙酰化衍生物(结构图见图 1),它和 N-羟乙酰神经氨

酸(Neu5Gc)是唾液酸家族中含量最为丰富和重要的两种化合物。

Neu5Ac 作为一种特殊的糖类分子,是黏蛋白、糖蛋白和糖脂的低聚糖链的组成部分,占据复杂碳水化合物低聚糖链的末端非还原位置,并以各种方式连接在细胞膜内外表面,存在于多种自然资源(植物、动物和微生物)中,在许多生命活动中发挥着重要作用[3]。在人体内,中枢神经系统以及母乳中富含 Neu5Ac,其中母乳中的 Neu5Ac 含量介于 0.25~1.50 g/L [4],以与低聚糖结合的形式为主,是富含 Neu5Ac 的天然食品。除了母乳,Neu5Ac 也存在于燕窝、酪蛋白、牛奶和鸡蛋中。其中,燕窝含有最高量的 Neu5Ac,其含量在 7%至 12%之间,大约是蛋黄中 Neu5Ac 含量(0.19%)的 50 倍[5],牛奶中的 Neu5Ac 含量非常低(8~25 mg/L),远低于母乳中的 Neu5Ac 含量[6]。

Neu5Ac 作为内源性唾液酸,广泛参与多种生理过程。同时,其作为神经糖蛋白的核心单体前体,对神经系统的结构与功能完整性具有不可替代的作用,不仅在大脑的神经细胞间传递信息中起着关键作用,还参与调控突触生成、神经发生、细胞增殖与迁移、细胞粘附以及轴突导向,并对先天免疫功能进行调节[7],特别是在学习和记忆的过程中,Neu5Ac 的水平与认知能力的提高密切相关,它能够影响学习速度和记忆保持的效率[8]。通过膳食补充 Neu5Ac 可以提高大脑中的 Neu5Ac 含量,以改善学习和记忆。研究表明,在饮食中补充 Neu5Ac 有利于婴儿骨骼生长、大脑发育和老年人大脑功能的维持[9],在老年痴呆和精神分裂症患者大脑中的 Neu5Ac 含量减少,经 Neu5Ac 药物治疗后,Neu5Ac 含量恢复正常,表明 Neu5Ac 参与了神经组织活动[10]。

2017 年,国家卫生健康委员会颁布了第 7 号公告,正式认定 Neu5Ac 为新食品原料。与此同时,在国际舞台上,Neu5Ac 二水合物已于 2016 年获得美国食品药品监督管理局(FDA)的批准,允许其应用于普通食品及婴儿食品中。有研究显示 Neu5Ac 在母乳和婴幼儿配方奶粉中作为重要成分,对促进婴幼儿神经系统发育,增强免疫功能有重要意义,其可能通过支持神经细胞增殖和分化促进早期大脑发育途径为记忆能力奠定基础[11],通过摄入外源性 N-乙酰神经氨酸对子代的学习记忆能力有促进作用[12]。此外,欧盟委员会亦在 2017 年核准了 Neu5Ac 及其二水合物作为新食品成分的使用[13]。Neu5Ac 作为新食品原料的官方认定,象征着其在食品安全及营养健康领域的科学认可。探究 Neu5Ac 在增强记忆方面的作用机制,有望为新型认知增强的产品提供新的学术视角。二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic Acid, DHA)是人体必需的一种多不饱和脂肪酸,属于 ω -3 多不饱和脂肪酸(poly-unsaturated fatty acid, PUFA)类,是神经元细胞膜磷脂的重要组成,对婴儿大脑的生长和功能发育至关重要,而成人脑正常功能的维持也需要 DHA。饮食中富含充足的 DHA 可以提高学习能力,而 DHA 缺乏则与学习和记忆缺陷相关[14] [15]。DHA 可通过调节膜流动性、促进突触可塑性及神经生长因子分泌增强认知功能[14]。DHA 主要存在于特定食物中,如鱼类、动物内脏和蛋黄。将 DHA 作为功能性成分添加到食品中,已成为流行趋势,消费市场对于含 ω -3 PUFA 食品和保健品的需求也日益增长[16]。另一方面,作为一种必需微量元素,锌元素广泛分布于中枢神经系统中的神经元内,其释放的锌离子能够与多种膜蛋白发生相互作用,这些膜蛋白包括神经递质受体、离子通道以及神经递质转运体,锌离子作为中枢神经系统内源性调节剂参与多种生理活动。神经递质合成及细胞信号传导,在神经系统中,锌对神经元功能、突触传递和神经发生至关重要,其缺乏与学习记忆损伤密切相关[17]-[20]。锌对约 300 种酶的激活或稳定性是必需的,超 2000 种转录因子参与锌依赖蛋白基因表达。锌是几种抗氧化酶的辅助因子,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),还有助于稳定细胞膜,防止脂质过氧化,减轻氧化损伤[21] [22]。基于锌的金属酶调控功能及抗氧化作用,其可能间接影响乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活性或乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)代谢平衡,作为 AChE 活性抑制剂延缓 ACh 降解。补充外源性 DHA 和锌与 Neu5Ac 的复合制剂可能通过“抗氧化 - 胆碱能调控 - 突触重塑”多维通路,实现协同增效。

因此,本研究材料选用 Neu5Ac 与 DHA、锌复配制剂,旨在探究改复合制剂是否能通过多靶点协同作用,探索其对记忆障碍的联合干预效果。采用灌胃途径给予小鼠 Neu5AC 单方及其复合制剂 30 d 后,通过小鼠获得记忆障碍模型,经过行为学实验的观察,和脑抗氧化活性物质及胆碱相关关键物质水平的检测,探讨 Neu5AC 单方及其复合制剂对小鼠改善记忆功能的影响,为其在适宜人群中服用提供试验依据。

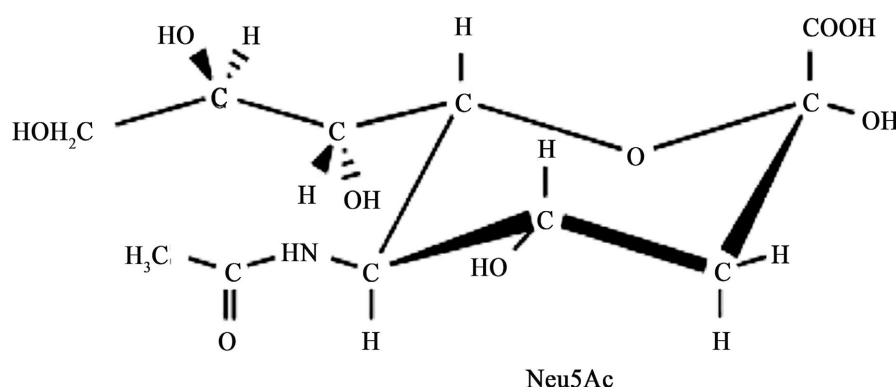


Figure 1. N-Acetylneuraminic acid structure diagram
图 1. N-乙酰神经氨酸结构图

2. 材料与方法

2.1. 材料

N-乙酰神经氨酸复方制剂:实验室自配物,组成为 N-乙酰神经氨酸、DHA 藻油、葡萄糖酸锌,人体推荐剂量为 830 mg/d (Neu5Ac 80 mg/d、DHA 180 mg/d、锌 5 mg/d); N-乙酰神经氨酸嘉必优生物技术(武汉)股份有限公司; DHA 藻油帝斯曼-芬美意; 葡萄糖酸锌蓬莱海洋(山东)股份有限公司; 东莨菪碱上海阿拉丁生化科技股份有限公司; SOD 测试试剂盒(Elabscience, E-BC-K019-S); MDA 测试试剂盒(Elabscience, E-BC-K025-S); AChE (Elabscience, E-BC-K174-M); Ach (南京建成, A105-1-1)。

2.2. 实验动物

4 周龄雄性 ICR 小鼠,购自于浙江省实验动物中心,实验动物生产许可证号:SYXK(浙)2024-0002。动物饲养于浙江省医学科学院实验动物中心 SPF 级动物房,使用许可证号为:SYXK(浙)2024-0008,温度 20℃~26℃,湿度 40%~70%,明暗交替时间 12 h/12 h。

2.3. 实验方法

本实验依据《保健食品功能检验与评价方法(2023 年版)》第二部分功能学检验方法 附件三 辅助改善记忆检验方法的要求进行设计。

Neu5Ac 设低、高两个剂量组,以人体推荐量 100 mg/d 的 30 倍为低剂量组,即 50 mg/kg·bw;以人体推荐剂量 500 mg/d 的 10 倍为高剂量组,即 83.3 mg/kg·bw;复方制剂的人体推荐剂量 830 mg/d (其中 Neu5Ac 80 mg/d、DHA 180 mg/d、锌 5 mg/d),健康成年人平均体重按 60 kg 进行计算,则其临床剂量为 13.8 mg/kg (Neu5Ac1.3 mg/kg、DHA3.0 mg/kg、锌 0.083 mg/kg),以人体推荐剂量的 20 倍设本品复方高剂量组,即 276.6 mg/kg·bw (Neu5Ac 26.7 mg/kg·bw、DHA 60 mg/kg·bw、锌 1.67 mg/kg·bw)。

2.3.1. 分组与处理

记忆障碍模型根据《保健食品功能检验与评价方法(2023 年版)》，末次给药后，除空白对照组外，每批动物于行为学实验训练前 10 min 腹腔注射东莨菪碱 5 mg/kg·bw，注射体积为 10 mL/kg·bw。

150 只小鼠分 3 批，每批取实验动物 50 只，按体质量随机分为 5 组，即单方低剂量组(N-乙酰神经氨酸，50 mg/kg)、单方高剂量组(N-乙酰神经氨酸，83.3 mg/kg)、复方高剂量组(DHA 藻油神经氨酸，276.6 mg/kg)、空白对照组、模型对照组(分别给予 0.5% CMC-Na)，每组 10 只。从试验第一天开始灌胃给予受试物，每天 1 次，共 30 d，灌胃容量 10 ml/kg。

2.3.2. 体重与内脏质量

分别于首次及试验后每周，测定并记录动物体质量(文中称为初始体重、第一周体重、第二周体重、第三周体重、第四周体重)，计算小鼠体质量增长。行为学实验结束后，颈椎脱臼处死小鼠，取其胸腺、脾脏，去尽筋膜，用滤纸吸干脏器表面血污并称重，计算胸腺体重比值与脾脏体重比值，各组实验动物取内脏计算胸腺/体重比、脾脏/体重比。

2.3.2. 行为学实验

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。腹腔注射东莨菪碱 10 min 后进行行为学测试，包括避暗法、水迷宫的训练和测验，并记录训练和测验成绩。

2.3.3. MDA、SOD 水平检测

收集不同组别的小鼠全脑后，按照 SOD 以及 MDA 试剂盒说明书进行组织裂解、检测体系构建及后续反应，最后分别在酶标仪 450、532 nm 处记录并计算 SOD 及 MDA 的活性或水平变化。

2.3.4. ACh、AChE 水平检测

收集不同组别的小鼠全脑后，按照 ACh、AChE 试剂盒说明书进行组织裂解、检测体系构建及后续反应，最后分别在酶标仪 550、412 nm 处记录并计算 ACh、AChE 的活性或水平变化。

2.4. 数据处理

参照《保健食品功能检验与评价方法(2023 年版)》推荐方法。计量终点。
使用方差检测；计数终点，使用卡方检验。

3. 结果与分析

3.1. 样品对小鼠体重的影响

经过连续 4 周对各剂量组进行样品给予后，所有实验动物的体重均呈现正常增长趋势。尽管各组间存在轻微差异，但与空白组和模型组相比，各剂量组的小鼠体重无显著统计学差异($p > 0.05$) (表 1)表明 N-乙酰神经氨酸和复方制剂对动物体重无明显的影响。

Table 1. Effect of Neu5Ac and compound on antibody production and the level of hemolysin in mice (mean \pm s)
表 1. N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠体重的影响(mean \pm s)

组别	计量(mg/kg)	初始体重(g)	第一周体重(g)	第二周体重(g)	第三周体重(g)	第四周体重(g)
空白对照组	0	23.6 \pm 1.1	30.1 \pm 1.0	32.6 \pm 2.4	35.5 \pm 2.0	38.0 \pm 1.5
模型对照组	0	23.9 \pm 0.6	30.8 \pm 1.4	32.5 \pm 3.2	36.7 \pm 1.9	39.1 \pm 2.0
单方低剂量	50	23.7 \pm 0.9	30.0 \pm 1.6	31.8 \pm 3.0	35.3 \pm 3.1	37.2 \pm 2.5
单方高剂量	83.3	23.2 \pm 0.7	30.1 \pm 0.8	32.6 \pm 3.3	35.9 \pm 1.1	38.4 \pm 1.1
复方高剂量	276.6	23.4 \pm 1.2	29.3 \pm 2.5	32.3 \pm 3.0	34.9 \pm 2.7	37.3 \pm 2.4

3.2. 样品对小鼠脏器的影响

取实验动物胸腺、脾脏称重并计算胸腺体重比值与脾脏体重比值，可得脏体比。脏体比是实验动物某脏器的重量与其体重之比值。正常时各脏器与体重的比值比较恒定，动物染毒后，受损脏器重量改变会使脏器系数也改变，脏器系数增大，可能表示脏器充血、水肿或增生肥大等；减小则可能表示脏器萎缩及其他退行性改变。由表 2 可见，为连续给药 4 周后，与空白组和模型组相比较，各组实验动物大体观察未发现异常，各组脏器绝对重量及脏/体比均无统计学差异($p > 0.05$)。

Table 2. The effect of Neu5Ac and compound on organs in mice (mean \pm s)
表 2. N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠脏器的影响(mean \pm s)

组别	脾脏重量(g)	胸腺重量(g)	末期体重(g)
空白	0.17 \pm 0.09	0.09 \pm 0.03	38.0 \pm 1.5
模型	0.15 \pm 0.03	0.09 \pm 0.03	39.1 \pm 2.0
单方低剂量	0.17 \pm 0.06	0.11 \pm 0.04	37.2 \pm 2.5
单方高剂量	0.12 \pm 0.01	0.10 \pm 0.03	38.4 \pm 1.1
复方高剂量	0.15 \pm 0.08	0.08 \pm 0.04	37.3 \pm 2.4

3.3. 行为学实验

3.3.1. Morris 水迷宫

记忆的形成涉及信息的传递与储存，以及突触、神经元动作电位和化学介质的转移。通过重复的学习活动，可以反复激发神经电刺激并加强突触连接，进而构建起稳定而复杂的神经网络，提升记忆能力。外源性 Neu5Ac 影响学习和记忆的分子机制尚不明确。

Morris 水迷宫实验是一种经典的评估动物空间学习记忆能力的行为学实验，实验装置由一个圆形水池、一个隐藏在水面下的平台以及一套视频追踪系统组成。实验开始时，将小鼠面向池壁放入水中，记录其找到隐藏平台所需的时间(逃避潜伏期)以及游泳路径。经过多次训练后，小鼠会逐渐学会寻找并记住平台的位置，到达终点所用的时间或路程会变短，找到平台的次数增加。

从图 2 可以看出，模型对照组(记忆获得障碍小鼠)在平台所在象限游泳的路程(1787.19 \pm 96.05 cm)显著大于空白对照组(1286.91 \pm 196.67 cm) ($p < 0.01$)，且进入平台所在象限的次数(1.38 \pm 0.50)显著小于空白对照组进入的次数(2.60 \pm 0.52) ($p < 0.01$)，说明给予东莨菪碱干预后的小鼠探索能力受损。

各剂量组与模型对照组相比，游泳路程均减少，单方呈线性量效关系，且复方制剂具有显著差异($p < 0.05$)，进入平台所在象限的次数均显著高于模型对照组($p < 0.05, p < 0.01$)。

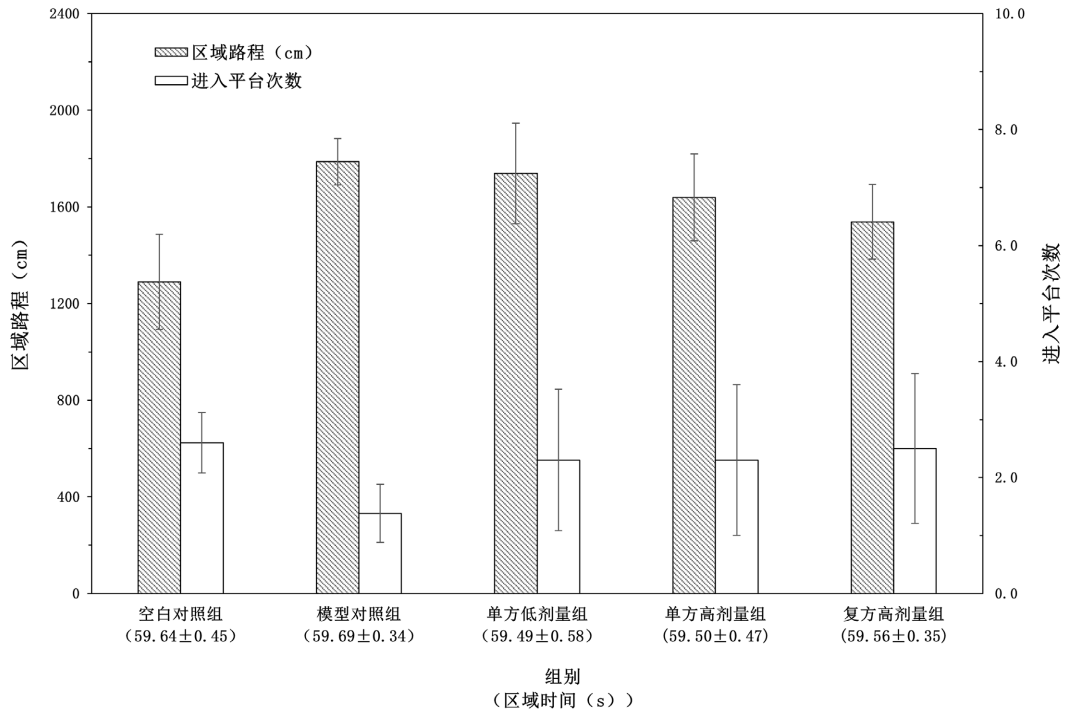
就区域时间而言，各组均未见差异。

3.3.2. 避暗实验

避暗实验(Passive Avoidance Test)是一种广泛应用于神经科学和心理学研究的行为学实验，主要用于评估啮齿类动物的学习和记忆能力，尤其是对负面刺激的关联性记忆。避暗实验利用啮齿类动物天生倾向于选择黑暗环境这一特性设计，通过将暗室与负面刺激(如电击)关联，动物学会抑制进入暗室的行为，形成“避暗记忆”。记录其进入暗室的潜伏期和进入暗室的次数。潜伏期越长，次数越少表明记忆保持能力越强。

从表 3 可以看出，与空白对照组相比，模型对照组的潜伏期显著缩短($p < 0.05$)，错误次数显著增加

($p < 0.01$)。与模型对照组相比, 单方样品呈线性量效关系, 单方高剂量组实验动物避暗实验的潜伏期显著延长($p < 0.01$), 错误次数显著降低($p < 0.01$), 单方低剂量组的错误次数显著降低($p < 0.01$); 复方高剂量组动物潜伏期明显延长($p < 0.05$), 错误次数较模型对照组减少, 但并未见显著差异。



注: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, 与空白对照组比较; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与模型对照组比。

Figure 2. Results of the Morris water maze experiment
图 2. Morris 水迷宫实验结果

Table 3. Results of the dark avoidance experiment
表 3. 避暗实验结果

组别	潜伏期(s)	错误次数
空白	21.00 ± 6.14	0.67 ± 0.78
模型	14.00 ± 1.89 [#]	2.25 ± 1.98 ^{##}
单方低剂量	18.00 ± 4.62	0.67 ± 0.84 ^{**}
单方高剂量	32.33 ± 12.14 ^{**}	0.29 ± 0.47 ^{**}
复方高剂量	20.08 ± 5.33 [*]	1.88 ± 1.41

注: # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, 与空白对照组比较; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, 与模型对照组比。

3.4. 对记忆获得障碍(东莨菪碱模型)小鼠抗氧化能力的影响

氧自由基学说指出, 脑内氧自由基的过量积累可诱导脂质过氧化反应, 损伤蛋白质及细胞功能, 最终导致神经元退化、变性甚至凋亡, 进而引发学习记忆能力减退。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是生物体内重要的抗氧化酶, 能清除超氧阴离子自由基保护细胞免受损伤。丙二醛(malondialdehyde,

MDA)是脂质过氧化物的分解产物,其含量的高低可反映机体脂质过氧化程度,间接反映出细胞损伤的程度。从表4可以看出,与空白对照组相比,模型对照组小鼠海马组织 SOD 活性显著降低($p < 0.01$)。与模型对照组相比,单方低剂量组小鼠脑组织 SOD 活性有所升高,但差异未达统计学显著水平($p > 0.05$),单方高剂量组和复方高剂量组小鼠脑组织 SOD 活性显著升高($p < 0.05$)。而在 MDA 水平方面,模型组与空白组之间没有显著差异($p > 0.05$),同时,与模型对照组相比,虽然各组小鼠脑组织中 MDA 水平有所降低,显示出一定的抗氧化效果,并未显示出显著差异。

Table 4. The effect of Neu5Ac and its compound on the activity of SOD and the content of MDA in mice brain ($\bar{x} \pm s$)

表 4. N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠脑 SOD 活性和 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)
空白	39.82 ± 7.11	7.05 ± 1.23
模型	26.24 ± 5.61 ^{##}	7.77 ± 0.99
单方低剂量	31.08 ± 2.09	6.4 ± 1.16
单方高剂量	36.49 ± 1.98 [*]	6.25 ± 1.37
复方高剂量	34.62 ± 2.56 [*]	6.69 ± 1.19

注: [#] $p < 0.05$, ^{##} $p < 0.01$, 与空白对照组比较; ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, 与模型对照组比。

3.5. 对记忆获得障碍(东莨菪碱模型)小鼠乙酰胆碱功能的影响

胆碱能假说认为,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)患者合成 ACh 的胆碱乙酰转移酶(Choline Acetyltransferase, ChAT)的活性下降,脑内 ACh 水平显著降低(可达 70%~80%),导致突触传递障碍和记忆衰退。现行药物主要是通过抑制 AD 患者脑内乙酰胆碱酯酶(Acetylcholinesterase, AChE)活性,提高中枢 ACh 水平改善患者的认知和记忆功能。乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)是脑内重要的神经递质,在学习、记忆方面发挥着重要作用。中枢胆碱能神经末梢释放 ACh,作用于烟碱受体或毒蕈碱受体而发挥生理作用。ACh 作用的终止依靠突触间隙中乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的作用。研究表明,记忆功能的强弱主要取决于脑内 ACh 的含量,当脑中 ACh 含量高时,学习记忆能力增强,而当胆碱能系统受到损伤或异常导致 ACh 含量低时,学习记忆能力减弱或丧失。系统受损时, AChE 活性升高,加速 ACh 分解,导致学习记忆障碍。从表5可以看出,与空白对照组相比,模型对照组小鼠 ACh 含量显著降低($p < 0.05$),而 AChE 含量显著升高($p < 0.05$)。单方高剂量组和复方高剂量组小鼠脑内 ACh 含量显著高于模型对照组小鼠,单方低剂量组虽有一定改善,但未达显著水平。各组 AChE 含量均显著降低($p < 0.01$)。高剂量药物在提升 ACh 含量、抑制 AChE 活性方面效果更佳,复方高剂量组在 ACh 水平提升及 AChE 抑制方面优于单方低剂量组,表明在复方制剂中 DHA 与锌可能与 Neu5AC 协同增效预防记忆障碍,为改善记忆障碍提供了有力依据。

4. 讨论

本实验应用东莨菪碱诱发小鼠学习记忆障碍模型结合行为学实验评价 NeuA5c 的治疗效果, Morris 水迷宫实验结果显示 NeuA5c 在 50 mg/kg 和 83.3 mg/kg 剂量下,复方制剂在 276.6 mg/kg 剂量下均能改善东莨菪碱引起的记忆损伤,表现进入平台次数显著增加。避暗实验结果显示单方高剂量组的潜伏期显著延长($p < 0.01$),错误次数显著降低($p < 0.01$),单方低剂量组的错误次数显著降低($p < 0.01$);复方高剂量组动物潜伏期明显延长($p < 0.05$)。另根据实验判定标准,跳台实验、避暗实验、穿梭箱实验、水迷宫

Table 5. The effect of N-acetylneuraminic acid and its compound on the levels of acetylcholine (ACh), acetylcholinesterase (AChE) activity activity in mice brain. (x ± s)

表 5. N-乙酰神经氨酸及其复方制剂对小鼠脑乙酰胆碱(ACh)水平、乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的影响(x ± s)

组别	乙酰胆碱 ACh (μg/g)	乙酰胆碱酯酶 AChE (U/mg prot)
空白	1386.28 ± 173.28	52.99 ± 7.43
模型	1027.68 ± 103.25 [#]	76.94 ± 3.04 [#]
单方低剂量	1146.57 ± 274.83	52.39 ± 10.77 ^{**}
单方高剂量	1505.17 ± 391.27 [*]	40.14 ± 10.63 ^{**}
复方高剂量	1429 ± 314.87 [*]	41.34 ± 5.86 ^{**}

注：[#]*p* < 0.05, ^{##}*p* < 0.01, 与空白对照组比较；^{*}*p* < 0.05, ^{**}*p* < 0.01, 与模型对照组比。

实验四项实验中任二项实验结果阳性，可以判定该受试样品辅助改善记忆动物实验结果阳性。脑内乙酰胆碱(ACh)水平升高，可使记忆功能区的神经传导能力增强，加速信号的传递过程，从而使学习、记忆能力增强；反之，由于病变导致胆碱能系统损害时，可引起脑内 ACh 水平降低，从而使学习、记忆能力下降。在正常生理状态下，AChE 能够维持脑内 ACh 含量的稳定，如脑内 AChE 活性异常增高，将会导致 ACh 水平降低，记忆受损现象。目前，胆碱酯酶抑制剂(AChEI)是应用最广泛的改善记忆障碍药物，可通过抑制 AChE 活性来增加脑内 ACh 水平；ChAT 为胆碱能神经元的标志酶，在神经细胞内合成，可将乙酰辅酶 A 转移到胆碱上，最终合成 ACh [23]。据本研究结果，NeuA5c 在 50 mg/kg 和 83.3 mg/kg 剂量下，复方制剂在 276.6 mg/kg 剂量下均能够预防东莨菪碱诱发的小鼠学习记忆障碍，能抑制东莨菪碱诱发的小鼠脑内 AChE 活性增强，增加脑内 ACh 的水平，具有辅助改善记忆功能，这一发现为开发新型记忆增强药物提供了相应的实验依据。

研究表明，氧化应激状态与脑内过量的自由基与学习记忆有关，神经系统由于其结构的特殊性，更易受到自由基的攻击。自由基会直接作用于生物膜磷脂引发脂质过氧化作用，导致膜功能障碍和膜酶损伤，加速 DNA 等生物大分子损伤，诱导神经细胞凋亡，使脑组织受损，进而影响脑内神经递质的释放和摄取，最终引发记忆障碍[24] [25]。SOD 是重要的金属酶，能在体内直接清除自由基，是机体防御新陈代谢及其他生命活动中氧自由基损伤和破坏的抗氧化酶。通过阻止由 O₂ 启动的自由基链锁反应，从而达到清除自由基的目的，通过清除脑内的超氧阴离子自由基阻断自由基损伤，从而保护神经元结构和功能的完整性。MDA 为体内各类氧化反应的终产物，其水平高低可以反应脂质过氧化损伤程度[26]。本实验采用东莨菪碱诱发小鼠学习记忆障碍，实验结果表明，注射东莨菪碱后实验动物出现明显记忆障碍，小鼠脑组织 SOD 活性下降，而 NeuA5c 及其复方制剂可以预防东莨菪碱对脑内 SOD 活性的抑制，恢复脑内 SOD 水平(*p* < 0.05)，从而减轻神经元氧化损伤，保护脑组织，改善模型小鼠记忆学习功能，对阻止自由基对脑组织的进一步损害有积极意义。NeuA5c 能有效预防东莨菪碱引起的记忆功能障碍，其对记忆获得障碍小鼠记忆能力的改善作用可能涉及多种机制，与调节神经递质平衡、抗氧化应激及保护神经元结构有关，揭示了其在神经保护领域的潜在应用价值，但其具体分子机制尚需深入探究。

本实验以 NeuA5c 与 DHA、锌制成 N-乙酰神经氨酸复方制剂，结果显示其在预防记忆损伤方面表现出良好效果。复方高剂量组在 Morris 水迷宫中的区域路程(1538.04 ± 154.49 cm)显著短于单方高剂量组(1638.91 ± 180.25 cm, *p* < 0.05)，且 ACh 水平(1429 ± 314.87 μg/g)与空白对照组(1386.28 ± 173.28 μg/g)无显著差异(*p* > 0.05)，表明复方制剂能以更低剂量的 Neu5Ac 实现与单方高剂量组相当的胆碱能调控效果。这一结果显示 DHA 与锌能协同放大 Neu5Ac 的神经保护作用，可能通过多种途径达到这一效果。复方制

剂的优势可能源于 DHA、锌与 Neu5Ac 的多通路协同。研究发现 DHA 能够改善由 Al^{3+} 诱导的斑马鱼 AD 模型的记忆和认知障碍,其作用机制可能涉及抑制脑内细胞凋亡,从而改善记忆和认知功能[27]。DHA 增强神经元膜稳定性,促进 ACh 受体表达,通过增加脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达[28],促进海马区突触可塑性[29]。锌可通过调节金属硫蛋白-3(MT-3)抑制 AChE 活性,并增强 SOD 酶稳定性[30]。三者的联合干预可能通过“抗氧化-胆碱能调控-突触重塑”多维通路,实现比单一成分更显著的认知改善效果,该结果为临床前研究提供了有力支持,有望推动相关功能食品的研发进程,其复配机制也有待进一步研究和验证。

参考文献

- [1] Schnaar, R.L. (2016) Gangliosides of the Vertebrate Nervous System. *Journal of Molecular Biology*, **428**, 3325-3336. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.05.020>
- [2] Duchemin, A., Neff, N.H. and Hadjiconstantinou, M. (1997) GM1 Increases the Content and mRNA of NGF in the Brain of Aged Rats. *NeuroReport*, **8**, 3823-3827. <https://doi.org/10.1097/00001756-199712010-00032>
- [3] 赵红宇, 李学琳, 周盛华, 等. N-乙酰神经氨酸的研究现状[J]. 食品工业, 2022, 43(6): 254-258.
- [4] Spichtig, V., Michaud, J. and Austin, S. (2010) Determination of Sialic Acids in Milks and Milk-Based Products. *Analytical Biochemistry*, **405**, 28-40. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.06.010>
- [5] Yang, P., Wang, J., Pang, Q., Zhang, F., Wang, J., Wang, Q., et al. (2017) Pathway Optimization and Key Enzyme Evolution of N-Acetylneuraminic Acid Biosynthesis Using an *in Vivo* Aptazyme-Based Biosensor. *Metabolic Engineering*, **43**, 21-28. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.08.001>
- [6] Salcedo, J., Gormaz, M., López-Mendoza, M.C., Nogarotto, E. and Silvestre, D. (2015) Human Milk Bactericidal Properties. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **60**, 527-532. <https://doi.org/10.1097/mpg.0000000000000641>
- [7] Klaus, C.A.-O., Liao, H.A.-O., Allendorf, D.A.-O., et al. (2021) Sialylation Acts as a Checkpoint for Innate Immune Responses in the Central Nervous System. *GLIA*, **69**, 1619-1636. <https://doi.org/10.1002/glia.23945>
- [8] Schnaar, R.L., Gerardy-Schahn, R. and Hildebrandt, H. (2014) Sialic Acids in the Brain: Gangliosides and Polysialic Acid in Nervous System Development, Stability, Disease, and Regeneration. *Physiological Reviews*, **94**, 461-518. <https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2013>
- [9] Wang, B. (2009) Sialic Acid Is an Essential Nutrient for Brain Development and Cognition. *Annual Review of Nutrition*, **29**, 177-222. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155515>
- [10] Yang, H., Lu, L. and Chen, X. (2021) An Overview and Future Prospects of Sialic Acids. *Biotechnology Advances*, **46**, Article 107678. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107678>
- [11] 卢晓婷, 刘钊燕, 罗赞, 等. N-乙酰神经氨酸对婴幼儿的营养功能及其在婴幼儿配方产品中的应用现状[J]. 现代预防医学, 2020, 47(16): 2953-2957.
- [12] 卞冬生. 外源性 N-乙酰神经氨酸添加对大鼠及子代鼠学习记忆能力的影响[D]: [硕士学位论文]. 厦门: 厦门大学, 2016.
- [13] 欧盟授权将 N-乙酰神经氨酸列入新食品成分[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(1): 111.
- [14] Horrocks, L.A. and Yeo, Y.K. (1999) Health Benefits of Docosahexaenoic Acid (DHA). *Pharmacological Research*, **40**, 211-225. <https://doi.org/10.1006/phrs.1999.0495>
- [15] Leikin-Frenkel, A., Liraz-Zaltsman, S., Hollander, K.S., Atrakchi, D., Ravid, O., Rand, D., et al. (2021) Dietary Alpha Linolenic Acid in Pregnant Mice and during Weaning Increases Brain Docosahexaenoic Acid and Improves Recognition Memory in the Offspring. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **91**, Article 108597. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108597>
- [16] 黄淑婷, 李宏新, 于越, 等. DHA 藻油的生理功能及在食品中复配协同应用的研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 468-476.
- [17] Portbury, S. and Adlard, P. (2017) Zinc Signal in Brain Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, Article 2506. <https://doi.org/10.3390/ijms18122506>
- [18] Takada, S., Takeda, A., Nakamura, M., Ando, M. and Oku, N. (2011) Impairment of Learning and Memory by Transient Reduction of Synaptic Zinc in the Hippocampus. *Neuroscience Research*, **71**, e277. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2011.07.1209>

- [19] Vázquez-Gómez, E. and García-Colunga, J. (2009) Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors Are Modulated by Zinc. *Neuropharmacology*, **56**, 1035-1040. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.02.008>
- [20] Takeda, A. (2001) Zinc Homeostasis and Functions of Zinc in the Brain. *Biometals*, **14**, 343-351. <https://doi.org/10.1023/a:1012982123386>
- [21] Vali, R., Shirvanian, K., Farkhondeh, T., Aschner, M., Samini, F. and Samarghandian, S. (2025) A Review Study on the Effect of Zinc on Oxidative Stress-Related Neurological Disorders. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **88**, Article 127618. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2025.127618>
- [22] Prasad, A.S. (2014) Zinc: An Antioxidant and Anti-Inflammatory Agent: Role of Zinc in Degenerative Disorders of Aging. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **28**, 364-371. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.07.019>
- [23] Calabria, M., Geroldi, C., Lussignoli, G., Sabbatini, F. and Zanetti, O. (2009) Efficacy of Acetyl-Cholinesterase-Inhibitor (ACHEI) Treatment in Alzheimer's Disease: A 21-Month Follow-Up "Real World" Study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, **49**, e6-e11. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2008.07.006>
- [24] 孙彦辉, 梁玉磊, 张闯, 等. 不同时间电针对血管性痴呆小鼠学习记忆能力与海马氧自由基的影响[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(7): 1549-1551.
- [25] 谢云亮, 张博, 李世英, 等. 五味子木脂素对记忆障碍模型小鼠自由基及胆碱能、单胺类神经递质的影响[J]. 中成药, 2018, 40(7): 1589-1591.
- [26] 张晓菲, 路畅, 贺晓丽, 等. 淫羊藿苷预防给药对快速老化小鼠 SAMP8 学习记忆能力及脑组织线粒体氧化应激的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(7): 925-930.
- [27] 黄城益, 邓淑怡, 宋采. 二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸及其组合对斑马鱼阿尔茨海默病模型认知障碍的改善作用和机制[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(4): 701-709.
- [28] Sugasini, D., Thomas, R., Yalagala, P.C.R., Tai, L.M. and Subbaiah, P.V. (2017) Dietary Docosahexaenoic Acid (DHA) as Lysophosphatidylcholine, but Not as Free Acid, Enriches Brain DHA and Improves Memory in Adult Mice. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 11263. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11766-0>
- [29] Wu, A., Ying, Z. and Gomez-Pinilla, F. (2008) Docosahexaenoic Acid Dietary Supplementation Enhances the Effects of Exercise on Synaptic Plasticity and Cognition. *Neuroscience*, **155**, 751-759. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.061>
- [30] Młyniec, K., Davies, C.L., de Agüero Sánchez, I.G., Pytko, K., Budziszewska, B. and Nowak, G. (2014) Essential Elements in Depression and Anxiety. Part I. *Pharmacological Reports*, **66**, 534-544. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.03.001>