

3 种常见功能因子改善睡眠效果的比较

黄丕苗, 苏爱华, 崔春*

(华南理工大学食品科学工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 该文通过直接睡眠实验、延长戊巴比妥钠睡眠时间实验、戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验以及巴比妥钠睡眠潜伏期实验比较了酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸的改善睡眠效果。结果显示, 3 种功能因子所有剂量组均对直接睡眠无明显作用, 对小鼠体质量也均无显著性影响, 但是 3 种功能因子中 γ -氨基丁酸高中低剂量 33.3 mg/(kg·d)、16.7 mg/(kg·d) 和 8.3 mg/(kg·d)、酸枣仁提取物高中剂量 110 mg/(kg·d) 和 55 mg/(kg·d) 和龙眼肉低剂量组 66.5 mg/(kg·d) 均可显著延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间, γ -氨基丁酸对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用最大, 12 只小鼠中高中低剂量均有 2 只入睡, 睡眠发生率达到 16.67%, 酸枣仁提取物高中低剂量组均可缩短巴比妥钠催眠的小鼠的入睡潜伏期, 但仅高剂量组和中剂量与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

关键词: 酸枣仁提取物; 龙眼肉提取物; γ -氨基丁酸; 改善睡眠; 功能因子

文章编号: 1673-9078(2023)09-10-14

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.9.1309

Comparison of Sleep Improvement Effects of Three Common Functional Formulations

HUANG Pimiao, SU Aihua, CUI Chun*

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Sleep improvement effect of Semen Ziziphi Spinosae extract, longan aril extract, and γ -aminobutyric acid. were compared through direct sleep, sodium pentobarbital-induced sleep extension, subthreshold dose sodium pentobarbital-induced hypnosis, and sodium barbital-induced sleep latency experiments were carried out. The results showed that all three functional formulations had no significant effect on the direct sleep and body weight of mice. However, the high (33.3 mg/kg·d), medium (16.7 mg/kg·d), and low dose (8.3 mg/kg·d) of γ -aminobutyric acid, the high (110 mg/kg·d) and medium (55 mg/kg·d) dose of Semen Ziziphi Spinosae extract, as well as the low dose (66.5 mg/kg·d) of longan aril extract could significantly prolong the sodium pentobarbital-induced sleep time of mice. Further, γ -aminobutyric acid had the greatest hypnotic effect on mice treated with the subthreshold dose of sodium pentobarbital. Among the 12 mice tested, 2 fell asleep at high, medium, and low doses of γ -aminobutyric acid. Thus, the incidence of sleep reached 16.67%. The high, medium, and low dose of Semen Ziziphi Spinosae extract could shorten the sleep latency of mice hypnotized by sodium barbital, whereas only the high- and medium-dose groups were significantly different from the control group ($P < 0.05$).

Key words: Semen Ziziphi Spinosae extract; longan aril extract; γ -aminobutyric acid; improvement in sleep; functional formulation

引文格式:

黄丕苗, 苏爱华, 崔春. 3 种常见功能因子改善睡眠效果的比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(9): 10-14

HUANG Pimiao, SU Aihua, CUI Chun. Comparison of sleep improvement effects of three common functional formulations [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(9): 10-14

慢性失眠症、短期失眠症及其他类型的失眠症均为典型的睡眠障碍症状^[1]。睡眠是生命的基本需要, 睡眠不仅可以消除疲劳、恢复精力, 而且可以保护大

收稿日期: 2022-10-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31201416; 31972065)

作者简介: 黄丕苗 (1998-), 男, 硕士, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: huangpimiao1998@163.com

通讯作者: 崔春 (1978-), 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: cuichun@scut.edu.cn

脑、增强机体免疫力。长时间睡眠不足会破坏身体多个系统的功能, 而健康丰富的睡眠有助于身心健康。据《2022 中国国民健康睡眠白皮书》显示, 我国老年人自我认知睡眠质量非常差, 42% 的老年人入睡时长超过半小时, 失眠发生率高达 21%, 而成人中患有不同程度失眠症高达 57%, 且睡眠质量差发生率有随年龄增长而上升的趋势, 故我国国民失眠率亦可能逐年升高。因此, 对提高睡眠、改善失眠的研究也就尤为迫切^[2]。

酸枣仁 (*Ziziphus jujuba*) 为鼠李科枣属植物干燥的种子, 主要活性成分包括皂苷、三萜类化合物、黄酮类化合物等, 具有宁心安神、提高免疫力、养肝、镇静催眠的作用^[3,4], 被称为“东方睡果”。酸枣仁提取物是临床上中医药治疗失眠症状的首选药物^[5,6]。龙眼肉提取物 (Longan Aril Extract) 主要提取自龙眼干的部分假种皮, 其主要化学成分包括挥发性成分萜类、甾醇、磷脂、鞣质、多糖等化合物, 具有养血安神、调节失眠、抗应激等功效^[7], 可以作为医药保健品和饮料食品添加剂。 γ -氨基丁酸 (γ -Aminobutyric Acid, GABA) 是以 L-谷氨酸钠为原料, 经短乳杆菌发酵、纯化、过滤浓缩、结晶、分离, 喷雾干燥等工艺而制成。作为一种抑制性神经递质起到分子信号的作用, GABA 可进入下丘脑周围区域等缺乏血脑屏障的大脑外周神经系统, 抑制大脑神经系统的兴奋性, 从而改善失眠症状^[8], 2009 年就被列入新资源食品原料^[9]。

有鉴于此, 本研究根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版) 对酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸改善小鼠睡眠功能的效果进行了评价。

1 材料与方法

1.1 实验动物

清洁级 ICR 健康雄性小鼠 120 只, 体质量 18~22 g。小鼠购于南京君科生物工程有限公司 (许可证号 SCXK (豫) 2020-0005), 饲料购于广东省医学实验动物中心。

1.2 材料

龙眼肉提取物 (水提物): 购于黄山华绿园生物科技有限公司提供, 多糖含量 $\geq 30\%$; 酸枣仁提取物, 自制, 经粉碎、水提、浓缩、喷雾干燥 (加糊精), 黄酮含量 $\geq 20\%$ 、多糖含量 $\geq 35\%$; 3 g 酸枣仁可制得 1 g 提取物; γ -氨基丁酸: 购于南通励成生物工程有限公司 (纯度 $\geq 95\%$)。

1.3 试剂

巴比妥钠和戊巴比妥钠 (分析纯): 北京华美生物科技技术有限公司。

1.4 主要仪器与设备

Coleparmer 秒表购于广州市赛拓仪器科技有限公司; XPR226DR/AC 电子天平梅特勒托利多科技 (中国) 有限公司。

1.5 方法

依据《保健食品检验与评价技术规范》^[10] 对小鼠直接睡眠实验、延长戊巴比妥钠睡眠时间实验、戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验巴比妥钠睡眠潜伏期实验进行检测。

1.5.1 延长戊巴比妥钠睡眠时间预试验

根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版) 进行延长戊巴比妥钠睡眠时间预实验。参考酸枣仁提取物成人日推荐量为 2.4 g^[11], 龙眼肉提取物成人日推荐量为 3 g, γ -氨基丁酸成人日推荐量为小于 500 mg^[9], 成人体质量以 60 kg 计, 即酸枣仁提取物相当于 40 mg/(kg·d), 龙眼肉提取物相当于 50 mg/(kg·d), γ -氨基丁酸相当于 8.33 mg/(kg·d)。取正常饲喂小鼠 40 只, 将动物的体质量均匀分配, 以 8 只为一组分 5 组, 选择一系列剂量 (40、45、50、55 和 60 mg/kg) 进行预试验, 注射剂量为 0.2 mL, 完成动物分组和剂量计算后腹腔注射戊巴比妥钠溶液, 观察出现的症状并记录。使用 55 mg/kg 的注射剂量可以使实验小鼠全部进入睡眠状态, 且其平均睡眠时间控制在 60 min 以内, 是研究供试品延长戊巴比妥钠睡眠时间的最合适剂量。

1.5.2 戊巴比妥钠阈下剂量催眠预试验

根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 版) 进行戊巴比妥钠阈下剂量催眠预实验。取正常饲喂小鼠 40 只, 将动物的体质量均匀分配, 以 12 只为一组分 4 组, 选择一系列剂量 (18、22、26 和 30 mg/kg) 进行预试验, 注射剂量为 0.2 mL, 完成动物分组和剂量计算后腹腔注射戊巴比妥钠溶液, 观察出现的症状并记录。确定使用 30 mg/kg 的注射剂量可以使 16% 的实验小鼠翻正反射消失。

1.5.3 巴比妥钠睡眠潜伏期预试验

取正常饲喂小鼠 36 只, 将动物的体质量均匀分配, 以 6 只为一组分 6 组, 选择一系列剂量 (44、48、52、56 和 60 mg/kg) 进行预试验, 注射剂量为 0.2 mL。确定注射量为 200 mg/kg 可以使 100% 的实验小鼠入睡, 且入睡潜伏期为 5.09 min, 为实验可操作的合适范围。

1.5.4 酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸剂量

酸枣仁提取物高 (H)、中 (M)、低 (L) 剂量分别为 110、55 和 27.5 mg/(kg·d); 龙眼肉提取物 H、M、L 剂量分别为 266、133 和 66.5 mg/(kg·d); γ -氨基丁酸 H、M、L 剂量分别为 33.3、16.7 和 8.3 mg/(kg·d)。

1.5.5 受试物给予方式

每组动物每天进行称质量,并按 2.0 mL/100 g 体质量经口灌胃给予不同浓度的受试物及蒸馏水,连续灌胃 30 d。

1.6 实验数据统计

实验数据用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 3 种功能因子对小鼠直接睡眠作用观察结果

由表 1 可知,酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸在高中低 3 个剂量组对实验小鼠直接睡眠作用均无差异,且与对照组相比差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。此外,3 种功能因子高中低剂量组小鼠体质量差异无显著性;给予受试物后各组小鼠的生活状态正常,毛发光亮,未观察到直接睡眠作用。

2.2 3 种功能因子对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠

时间的影响

由表 2 可知, γ -氨基丁酸高中低剂量、酸枣仁提取物高中剂量和龙眼肉低剂量组均可显著延长戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间,与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),其中酸枣仁提取物高剂量组对延长戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠的作用最好,睡眠时间能达到 3 538.35 s,但酸枣仁低剂量组和龙眼肉提取物高中剂量和对延长戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间,与对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。黄远英等^[12]研究酪蛋白水解物与 γ -氨基丁酸复配制剂对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的影响时发现,复配制剂高剂量和中剂量可显著延长其睡眠时间 10%左右。与之对比,本实验酸枣仁高剂量组和 γ -氨基丁酸高剂量组可将戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间延长 1 倍以上;酸枣仁中剂量组和 γ -氨基丁酸中剂量组可延长睡眠时间 50%左右。两者的差异可能是本实验用量略高于黄远英等。3 种功能因子对小鼠体质量均无显著影响。

表 1 3 种功能因子对小鼠直接睡眠作用观察结果 ($x \pm s$)

Table 1 The effect of three functional factors on the direct sleep of mice

组别	入睡动物数	组别	入睡动物数	组别	入睡动物数
对照组	0				
酸枣仁提取物 L	0	龙眼肉提取物 L	0	γ -氨基丁酸 L	0
酸枣仁提取物 M	0	龙眼肉提取物 M	0	γ -氨基丁酸 M	0
酸枣仁提取物 H	0	龙眼肉提取物 H	0	γ -氨基丁酸 H	0

表 2 3 种功能因子对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的影响 ($x \pm s$)

Table 2 The Effects of three functional factors on sleep time of mice induced by pentobarbital sodium

组别	动物数	初质量/g	末质量/g	睡眠时间/s	P 值
对照组	12	20.56±1.44	35.07±2.15	1 555.80±684.81	/
酸枣仁提取物 L	12	19.91±0.75	35.46±1.96	1 653.33±718.28	0.445
酸枣仁提取物 M	12	20.23±1.28	36.64±1.68	2 137.85±797.90*	0.043
酸枣仁提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.72	3 538.35±1 314.43*	0.006
龙眼肉提取物 L	12	19.91±0.71	35.46±1.98	1 366.80±670.30*	0.007
龙眼肉提取物 M	12	20.53±1.21	36.64±1.69	1 632.50±907.65	0.801
龙眼肉提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.70	1 812.00±801.13	0.318
γ -氨基丁酸 L	12	19.91±0.76	35.46±1.99	2 460.83±725.87*	0.005
γ -氨基丁酸 M	12	20.23±1.25	36.64±1.66	2 785.13±964.21*	0.005
γ -氨基丁酸 H	12	19.77±1.28	35.81±2.77	3 379.00±1 475.56*	0.006

注: *与对照组相比, $P<0.05$ 。表 4 同。

2.3 三种功能因子对戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响

由表 3 可知,3 种功能因子中 γ -氨基丁酸对小鼠

戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用最大,12 只小鼠中高中低剂量均有 2 只入睡,睡眠发生率达到 16.67%;酸枣仁提取物高剂量和低剂量对 12 只小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用时均只有 1 只入睡;龙眼肉提取物高剂量对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用时,12 只小

鼠中有 1 只入睡, 睡眠发生率只有 8.33%。三种功能因子的高中低剂量组动物入睡数与对照组进行比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 但 γ -氨基丁酸提高阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠发生率作用略高于酸枣仁提取物和龙眼肉提取物。袁根良等^[13]研究天麻酸枣仁复合胶囊对阈下剂量戊巴比妥钠诱导睡眠发生率的影响时发现, 对照组相比, 复合胶囊高中低剂量对小鼠的睡眠发生率的差异不显著, 且无统计学意

义 ($P>0.05$), 这与本研究得出的酸枣仁提取物对阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠发生率无明显作用相符。刘春芳等^[14]研究灵芝多糖 γ -氨基丁酸片剂对戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用时发现, 灵芝多糖 γ -氨基丁酸片剂高低剂量作用时 12 只小鼠中有 3 只入睡, 中剂量有 2 只入睡, 证实该片剂对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验与对照组相比无显著性差异, 其结论与本实验的结果一致。

表 3 三种功能因子对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响 ($x \pm s$)

Table 3 The effects of three functional factors on hypnotic subthreshold pentobarbital sodium in mice

组别	动物数	初质量/g	末质量/g	入睡动物数	睡眠发生率/%
对照组	12	20.56±1.44	35.07±2.15	1	8.33
酸枣仁提取物 L	12	19.91±0.75	35.46±1.96	1	8.33
酸枣仁提取物 M	12	20.23±1.28	36.64±1.68	0	0.00
酸枣仁提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.72	1	8.33
龙眼肉提取物 L	12	19.91±0.71	35.46±1.98	0	0.00
龙眼肉提取物 M	12	20.53±1.21	36.64±1.69	0	0.00
龙眼肉提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.70	1	8.33
γ -氨基丁酸 L	12	19.91±0.76	35.46±1.99	2	16.67
γ -氨基丁酸 M	12	20.23±1.25	36.64±1.66	2	16.67
γ -氨基丁酸 H	12	19.77±1.28	35.81±2.77	2	16.67

表 4 三种功能因子对巴比妥钠诱导小鼠入睡潜伏期的影响 ($x \pm s$)

Table 4 The effect of sample on the latency of mice induced by sodium sodium

组别	动物数	初质量/g	末质量/g	睡眠潜伏期/s	P 值
对照组	12	20.56±1.44	35.07±2.15	300.00±155.31	/
酸枣仁提取物 L	12	19.91±0.75	35.46±1.96	221.53±108.01	0.231
酸枣仁提取物 M	12	20.23±1.28	36.64±1.68	177.20±55.81*	0.041
酸枣仁提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.72	145.06±20.56*	0.001
龙眼肉提取物 L	12	19.91±0.71	35.46±1.98	288.13±81.10	0.667
龙眼肉提取物 M	12	20.53±1.21	36.64±1.69	385.32±164.56	0.264
龙眼肉提取物 H	12	19.77±1.23	35.81±2.70	264.20±119.61	0.839
γ -氨基丁酸 L	12	19.91±0.76	35.46±1.99	302.22±102.88	0.521
γ -氨基丁酸 M	12	20.23±1.25	36.64±1.66	355.08±109.18	0.161
γ -氨基丁酸 H	12	19.77±1.28	35.81±2.77	367.44±125.22	0.132

2.4 三种功能因子对巴比妥钠诱导小鼠入睡潜伏期的影响

由表 4 可知, 酸枣仁提取物高中低剂量组均可缩短巴比妥钠催眠的小鼠的入睡潜伏期, 但只有高、中剂量组与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸还延长了巴比妥钠催眠的小鼠的入睡潜伏期, 但与对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。陈希民等^[15]研究酸枣仁提取物、茶氨酸、 γ -氨基丁酸复合配方产品对巴比妥钠睡眠潜伏期

的影响时发现, 复合配方低、中、高剂量组的小鼠入睡潜伏期时间分别缩短 12.48%、24.19%、24.07%, 且与对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与之相比, 本论文中巴比妥钠诱导小鼠睡眠潜伏期实验, 酸枣仁提取物中、高剂量组 (55、110 mg/kg·d) 作用后, 小鼠入睡潜伏期分别为 177.20、145.06 s, 与对照组相比, 中、高剂量组小鼠入睡潜伏期时间分别缩短 44.33%、51.67%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。随着剂量的增加, 小鼠入睡潜伏期也逐渐缩短, 说明酸枣仁提取物缩短小鼠入睡潜伏期功效具有剂量-效应关系。两者结果的差异可能是本实验是单独使用酸枣

仁提取物, 而黄远英等^[12]是将酸枣仁提取物与茶氨酸、 γ -氨基丁酸进行复配, 从而也说明在此剂量下, 酸枣仁提取物单独使用的功效高于与茶氨酸、 γ -氨基丁酸复配使用。

3 结论

采用经口灌胃法给予小鼠不同剂量的酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸 30 d 后, γ -氨基丁酸高中低剂量、酸枣仁提取物高中剂量和龙眼肉低剂量组均可显著延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间, 其中酸枣仁高剂量组和 γ -氨基丁酸高剂量组可将戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间延长 1 倍以上; 酸枣仁中剂量组和 γ -氨基丁酸中剂量组可延长睡眠时间 50%左右。此外, 酸枣仁提取物高中低剂量组均可缩短巴比妥钠催眠的小鼠的入睡潜伏期, 但仅高剂量组和中剂量组与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时, 酸枣仁提取物、龙眼肉提取物和 γ -氨基丁酸的所有剂量组对小鼠体质量无显著性影响, 给予受试物后各组小鼠活动正常, 毛发光亮, 都对直接睡眠无明显作用。

本论文可为酸枣仁提取物、龙眼肉提取物与 γ -氨基丁酸复配生产改善睡眠产品研究奠定基础。

参考文献

- [1] 邢佳,董斐,张迎,等.慢性失眠症诊断与团体心理行为治疗的研究进展[J].中国全科医学,2019,22(5):3762-3767.
- [2] 谢晨,刘臻,赵娜,等. γ -氨基丁酸与睡眠觉醒[J].医药导报,2014,33(5):641-644.
- [3] 耿欣,李延利.酸枣仁主要化学成分及药理作用研究进展[J].中国医学报,2016,44(5):84-86.
- [4] XIAO Hongbo, WANG Yishan, LUO Zhifeng, et al. SZSJ protects against insomnia by a decrease in ADMA level and an improvement in DDAH production in sleep-deprived rats [J]. Life Science, 2018, 209(3): 97-102.
- [5] 王玉,杨雪,夏鹏飞,等.酸枣仁汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及质量标志物的预测分析[J].中国中药杂志,2020,45(12):2765-2771.
- [6] DU Chenhui, YAN Yan, SHEN Chenxi, et al. Comparative pharmacokinetics of six major compounds in normal and insomnia rats after oral administration of ziziphi spinosae semen aqueous extract [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2020, 4: 385-395.
- [7] 骆萍.龙眼肉提取物对东莨菪碱所致拟痴呆大鼠学习记忆的影响及机制研究[D].南宁:广西医科大学,2011.
- [8] HE Yongjian, OUYANG Junyuan, HU Zhuoyan, et al. Intervention mechanism of repeated oral GABA administration on anxiety-like behaviors induced by emotional stress in rats [J]. Psychiatry Research, 2019, 271: 649-657.
- [9] 食品安全标准与检测评估司.关于批准 γ -氨基丁酸、初乳碱性蛋白、共轭亚油酸、共轭亚油酸甘油酯、植物乳杆菌(菌株号 ST-III)、杜仲籽油为新资源食品的公告(2009年第12号)[Z].2009-10-10.
- [10] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[Z].2003:177-223.
- [11] 刘华荣,陈卫英,黄宗锈.酸枣仁提取物改善小鼠睡眠的研究[J].海峡药学,2016,28(12):14-16.
- [12] 黄远英,袁根良.酪蛋白水解物与 γ -氨基丁酸复配制剂改善睡眠功能的研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(1):351-355.
- [13] 袁根良,蒋丽,殷光玲,等.天麻酸枣仁复合胶囊改善睡眠功能的研究[J].食品科技,2014,39(1):62-65.
- [14] 刘春芳,林永禄,陈亮,等.灵芝多糖 γ -氨基丁酸片剂研究及其改善睡眠功能验证[J].食品与发酵工业,2023,49(16):119-124.
- [15] 陈希民,王鑫,魏九龄,等.一种酸枣仁提取物、茶氨酸、 γ -氨基丁酸配方产品改善睡眠作用研究[J].食品工业科技,2020,41(20):303-306.