

# 天麻酵素对失眠小鼠的镇静催眠功效评价

林灵<sup>1</sup>, 王瑜<sup>2,3</sup>, 杨娟<sup>2,3\*</sup>, 李立郎<sup>2,3</sup>, 安正斌<sup>2,3</sup>, 解春芝<sup>4</sup>, 赵敏<sup>5</sup>, 杨小生<sup>2,3</sup>

(1. 贵州医科大学药学院, 贵州贵阳 550025) (2. 贵州医科大学药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州贵阳 550014) (3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州贵阳 550014)

(4. 徐州工程学院食品与生物工程学院, 江苏徐州 221018) (5. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

**摘要:** 为探究天麻酵素镇静催眠功效, 该研究分析了天麻酵素理化指标以及对失眠模型小鼠脑组织内神经递质及氧化应激水平的调节。将 KM 雄性小鼠随机分为空白组、模型组、枣仁安神液组 (阳性对照组 1)、天麻粉组 (阳性对照组 2)、天麻酵素低 (0.10 g/kg)、中 (0.30 g/kg)、高 (0.49 g/kg) 剂量组, 以对氯苯丙氨酸建立失眠模型, 连续灌胃给药 7 d 后通过测定小鼠自主活动的变化、小鼠脑组织神经递质和氧化应激水平的变化, 分析其对失眠小鼠镇静催眠功能的影响。结果显示, 天麻酵素中  $\gamma$ -氨基丁酸含量为 0.48 mg/kg, 是 QB/T 5232-2018 标准中要求的 16 倍; 天麻酵素高、中剂量组与模型组相比, 小鼠活动时间和站立次数显著减少 ( $p < 0.05$ ), 分别减少 13.00 s、14.63 s 和 10.62 次、9.12 次; 小鼠脑组织中 5-HT、GABA、IL-1 $\beta$  含量显著增加 ( $p < 0.01$ ), SOD 活性显著提高 ( $p < 0.05$ ), MDA 含量显著降低 ( $p < 0.05$ ), 其中 5-HT 增加 50.62 pg/mL、49.51 pg/mL, GABA 增加 5.47 ng/mL、5.15 ng/mL。这表明天麻酵可通过调节小鼠脑组织内神经递质及氧化应激水平来达到镇静催眠作用。

**关键词:** 天麻; 酵素; 镇静催眠; 神经递质; 氧化应激水平

文章编号: 1673-9078(2021)10-55-61

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0147

## Evaluation of the Sedative and Hypnotic Effects of *Gastrodia elata* Bl.

### Ferment on Insomnia in Mice

LIN Ling<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>2,3</sup>, YANG Juan<sup>2,3\*</sup>, LI Li-lang<sup>2,3</sup>, AN Zheng-bin<sup>2,3</sup>, XIE Chun-zhi<sup>4</sup>, ZHAO Min<sup>5</sup>,  
YANG Xiao-sheng<sup>2,3</sup>

(1. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China) (2. State Key Laboratory of Medicinal Plant Efficacy and Utilization, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China)

(3. Key Laboratory of Natural Product Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014, China)

(4. School of Food and Bioengineering, Xuzhou Institute of Engineering, Xuzhou 221018, China)

(5. College of Wine Making and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** In order to explore the sedative and hypnotic effects of *Gastrodia elata* Bl ferment, the physical and chemical indexes of *Gastrodia elata* Bl ferment and its regulation of neurotransmitters and oxidative stress in the brain tissue of mice with insomnia were examined in this study. KM male mice were randomly divided into blank group, model group, Zaoren Anshen liquid group (positive control group 1), *Gastrodia* powder group (positive control group 2), and low (0.10 g/kg), medium (0.30 g/kg) and high (0.49 g/kg) dose *Gastrodia elata* Bl ferment groups. The insomnia model was established with p-chlorophenylalanine. After the 7-day administration by gavage, the changes of autonomic activities, and levels of neurotransmitters and oxidative stress in the brain tissues of mice were measured to examine the sedative and

引文格式:

林灵,王瑜,杨娟,等.天麻酵素对失眠小鼠的镇静催眠功效评价[J].现代食品科技,2021,37(10):55-61,+152

LIN Ling, WANG Yu, YANG Juan, et al. Evaluation of the sedative and hypnotic effects of *Gastrodia elata* Bl. ferment on insomnia in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 55-61, +152

收稿日期: 2021-02-08

基金项目: 贵州省科技支撑项目 (黔科合支撑[2020]4Y088 号); 贵州省高层次创新型人才项目 (黔科合人才[2015]4027); 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 2019 年开放课题, 黔科合平台人才[2017]5101; 贵州省科技计划项目 (黔科合服企[2020]4013); 贵州省教育厅项目 (黔教合 KY 字[2020]018)

作者简介: 林灵 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药食用资源, E-mail: 1454383372@qq.com

通讯作者: 杨娟 (1971-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 天然药用植物活性物质, E-mail: 2292365498@qq.com

hypnotic effects of *Gastrodia elata* Bl ferment on mice with insomnia. The results showed that the content of  $\gamma$ -aminobutyric acid in *Gastrodia elata* Bl ferment was 0.48 mg/kg, which was 16 times that required by the QB/T 5232-2018 standard. Compared with the model group, the activity duration and standing times of the mice in the high and medium dose *Gastrodia elata* Bl ferment groups were reduced significantly ( $p < 0.05$ ) (13.00 s and 14.63 s, and 10.62 times and 9.12 times, respectively). The contents of 5-HT, GABA and IL-1 $\beta$  in the brain tissue of these two groups of mice increased significantly ( $p < 0.01$ ), with their SOD activity increasing significantly ( $p < 0.05$ ) and MDA content decreasing significantly ( $p < 0.05$ ) (increase by 50.62 and 49.51 pg/mL for 5-HT, and increase by 5.47 and 5.15 ng/mL for GABA). These results indicate that *Gastrodia elata* Bl. ferment can induce sedative and hypnotic effects by regulating the levels of neurotransmitters and oxidative stress in the brain tissues of mice.

**Key words:** *Gastrodia elata* Bl.; ferment; sedation and hypnosis; neurotransmitters; oxidative stress level

失眠症是指无法得到正常睡眠的一类病症, 它会引起反应迟缓、疲倦不堪、烦躁不适、头晕、注意力难以集中, 严重者还会导致精神失常、焦虑、抑郁等神经功能紊乱以及心脑血管系统、循环系统等疾病<sup>[1]</sup>。西医学治疗失眠多采用巴比妥、苯二氮卓等镇静安眠药, 但这些药物具有易疲乏嗜睡, 头晕反胃等不良反应, 长期服用会有成瘾性、阻抑呼吸系统、损害认知功能等副作用<sup>[2]</sup>, 而安神类中药具有临床疗效确切、副作用小等特点被广泛应用于治疗失眠<sup>[3]</sup>。天麻 (*Gastrodia elata* Bl.) 为兰科多年生异养型植物<sup>[4]</sup>, 天麻常作为药膳原材料, 是保健的优品。贵州省是全国中药资源最丰富的省区之一, 贵州天麻中的水分含量、二氧化硫残留量、浸出物均符合 2015 版《中国药典》, 且浸出物远高于药典标准<sup>[5]</sup>, 品质较佳。天麻的活性极其丰富, 研究发现其具有镇静催眠、抗惊厥<sup>[6]</sup>、保护神经细胞<sup>[7]</sup>、调节肠道菌群<sup>[8]</sup>等功效, 并且对人体免疫系统、心血管系统及中枢神经系统等方面均能发挥较好的药理活性<sup>[9,10]</sup>。天麻酵素是新鲜天麻经益生菌发酵而成, 相较于传统工艺制备的天麻粉, 无需蒸制、烘干、整形回汗 (3~4 次)、粉碎等繁琐工序, 可减少能耗, 降低成本; 其次, 通过微生物发酵会产生一系列风味代谢产物, 能有效改善天麻不愉悦风味, 且更方便食用; 此外, 发酵后, 不仅能将原本物质中较难利用的活性物质进行降解, 还会生成丰富的小分子功能成分, 更利于人体吸收与利用<sup>[11]</sup>。但相较于工艺繁杂的天麻粉, 目前天麻酵素镇静催眠功效尚不明确。因此, 本文分析了天麻酵素的理化指标并研究以失眠小鼠为对象, 通过探究天麻酵素对失眠模型小鼠脑组织内神经递质及氧化应激水平的影响, 为其镇静催眠的作用效果提供理论依据, 同时为进一步探究天麻酵素改善睡眠的作用机理提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SPF 级 KM 雄性小鼠, 体质量 25±2 g, 由辽宁长生生物技术股份有限公司提供, 实验动物质量合格证号: 211002300051011, 实验动物生产许可证号: SCXK(辽)2015-0001, 饲养条件为湿度 60%±5%, 温度 25±1 °C 均给予小鼠标准颗粒饲料, 自由饮水和自然昼夜节律光照, 适应性饲养 1 周, 本文所做实验均获得伦理委员会批准。

### 1.2 药品与试剂

天麻由贵州省德江县绿通天麻发展有限公司提供; 发酵剂: 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室自制, 主要的优势菌株为: 酵母菌, 乳酸菌, 醋酸菌; 枣仁安神液购自北京同仁堂股份有限公司; 对氯苯丙氨酸 (PCPA) 购自美国 Sigma 公司; IL-1 $\beta$  试剂盒 (批号: 2008M-0040M2); 5-HT 试剂盒 (批号: 2008M-0443M2)、GABA 试剂盒 (批号: 2008M-0442M2) 均购自上海瑞番生物科技有限公司; SOD 测试盒 (批号: A001-1)、MDA 测试盒 (批号: A003-1) 均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.3 实验仪器

L-8800 全自动氨基酸分析仪, 日本 HITACHI 公司; Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 美国安捷伦公司; YL288-0-100 酒精计, 贵州慕为美科技有限公司; RM-255 温度计, 贵州慕为美科技有限公司; PHS-3C 型 pH 计, 贵州慕为美科技有限公司; ZZ-6 小鼠自主活动测试仪, 成都泰盟科技有限公司; KG-PB-936 打浆机, 上海达瑞宝公司; BS-210S 型电子天平, 北京赛多利斯仪器有限公司; 离心机, 赛默飞世尔科技有限公司; VICTOR Nivo 酶标仪, 珀金埃尔默企业管理有限公司; SPX-100 生化培养箱, 上海博讯实业有限公司。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 天麻酵素的制备

新鲜天麻清洗干净后打浆, 装入发酵坛内, 按照

其重量 1:2 加入沸水搅拌熟化,按照其总质量的 10% 添加白糖,搅拌使白糖完全溶化,待温度降至 50~60 °C 时,按照其总质量的 0.02% 添加纤维素酶,待温度降至 30~40 °C 时,按其总质量的 0.03% 添加酵素发酵剂,采用保鲜膜密封发酵坛在微需氧条件下发酵 10 d 后,去掉保鲜膜换成纱布进行有氧发酵,发酵到 60 d,结束发酵,完成天麻酵素的制备。

#### 1.4.2 天麻酵素理化指标测定

##### 1.4.2.1 天麻酵素的 pH 和酒精度测定

pH 测定:吸取天麻酵素 20 mL 于烧杯中,将 pH 计探测头放入烧杯测定 pH 值。

酒精度测定:取 100 mL 天麻酵素于蒸馏瓶中并加入 100 mL 蒸馏水,装上冷凝器和接收器,缓缓加热蒸馏,收集约 95 mL 馏出液时取下,加水定容至 100 mL,摇匀备用。用酒精计和温度计进行测量,记录测得的温度和酒精计示值,查 GB 5009.225-2016 中的附录 B,计算其酒精度。

##### 1.4.2.2 天麻酵素中对羟基苯甲醇、对羟基苯甲醛的含量测定

色谱条件与方法: Synchronis C18 色谱柱(4.60 mm×250 mm, 5 μm),柱温 30 °C;流量 1 mL/min;进样体积 10 μL;检测波长 220 nm;流动相 A 为 0.05% (体积分数,下同)磷酸溶液, B 为甲醇。梯度洗脱程序: 0~10 min, B 为 10%; 10~15 min, B 由 10% 升至 20%; 15~20 min, B 由 20% 升至 25%; 20~40 min, B 由 25% 升至 45%。将天麻酵素用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后得样品溶液<sup>[12]</sup>。

##### 1.4.2.3 天麻酵素中 γ-氨基丁酸的含量测定

色谱条件与方法: 色谱柱为标准分析阳离子型交换树脂(LCAK07/Li);进样量 50 μL;检测波长: 570 nm;输液泵压力 0~4.20 MPa;流流速: 洗脱泵 0.45 mL/min; 茛三酮衍生泵 0.25 mL/min;分离柱温度为 37 °C,反应器温度为 130 °C。准确称量 1.02 g 磺基水杨酸至 100 mL 容量瓶中并定容,配制成 1% 的磺基水杨酸溶液;取天麻酵素样品 1 mL 分别加入 9 mL 磺基水杨酸溶液,震荡均匀,10000 r/min 离心 15 min,上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后放入全自动氨基酸分析仪中检测<sup>[13]</sup>。

#### 1.4.3 分组、造模及给药

将 70 只 KM 小鼠按体质量随机分为 7 组,每组 10 只,依次为空白对照组、模型组、枣仁安神液组 2.40 mL/kg (阳性对照组 1,蒸馏水配制)、天麻粉组 0.48 g/kg (阳性对照组 2,蒸馏水溶解配制)、天麻酵素低 (0.10 g/kg)、中 (0.30 g/kg)、高 (0.49 g/kg) 剂量组。除空白组外,其余各组小鼠每天上午 8:00~9:00 腹腔

注射 PCPA 混悬液 (350 mg/kg) (生理盐水溶解, pH 为 7~8), 1 次/d, 连续注射 3 d, 观察小鼠行为。3 d 后, 与空白组比较, 其他组小鼠出现昼夜节律紊乱、白天活动不停、毛发杂乱、兴奋性增强、攻击性增强、大便灰白等显著的行为学改变, 表明失眠模型制备成功<sup>[14]</sup>。造模后进行灌胃, 给药容积为 0.1 mL/10 g, 正常对照组与模型组按比例灌服同体积生理盐水。各组小鼠上午 8:00~9:00 灌胃给药 1 次, 下午 16:00~17:00 灌胃给药 1 次, 2 次/d, 连续 7 d。

##### 1.4.4 天麻酵素对小鼠体重和自主活动的影响

在实验前、灌胃 7 d 时分别称定每只小鼠体重。在第 5 d 给药 60 min 后, 将小鼠放入自主活动记录仪小室内, 适应环境 3 min, 用自主活动仪连续记录 5 min 内小鼠活动时间和站立次数 (前肢向上抬举次数)。

##### 1.4.5 天麻酵素对失眠模型小鼠脑组织内神经递质及氧化应激水平的影响

各组小鼠灌胃给药 7 d 后, 将其断头处死, 迅速取出小鼠脑组织, 经生理盐水冲洗后称质量, 加生理盐水制备 10% 的脑组织匀浆。4 °C 下 3500 r/min 离心 10 min (离心半径 10 cm) 后取上清液, 于 -20 °C 或 -80 °C 低温保存。采用酶联免疫吸附法严格按照相应试剂盒说明书进行操作, 测定各组小鼠脑组织内神经递质 5-HT、GABA、IL-1β 的含量变化, 以 MDA 含量和 SOD 活性评价氧化应激水平。

## 1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行差异显著性分析,  $p < 0.05$  或  $p < 0.01$  为具有统计学意义, 所有数据均以  $\bar{x} \pm SD$  表示, 用 Origin 9.0 软件作图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 天麻酵素理化指标分析

发酵 60 d 天麻酵素基本理化指标包括 pH 和酒精度, 特征理化指标包括 γ-氨基丁酸、对羟基苯甲醇和对羟基苯甲醛。QB/T 5232-2018 标准中要求植物酵素 pH 在 4.50 以内, 酒精度在 0.50 g/100 g 以内, 而天麻酵素的 pH 和酒精度分别为 3.51、0.36 g/100 g, 符合标准中所要求的植物酵素基本指标范围。特征指标中, γ-氨基丁酸是一种抑制性神经递质, 广泛分布于外周神经系统和中枢神经系统, 对哺乳动物中枢神经系统具有普遍的抑制作用<sup>[15]</sup>, 对羟基苯甲醇是一种潜在的抗失眠药物, 其衍生物可逆转对氯苯丙氨酸 (PCPA) 引起的失眠<sup>[16]</sup>, 在天麻酵素中, γ-氨基丁酸含量为 0.48 mg/kg, 是 QB/T 5232-2018 标准中要求 (0.03 mg/kg

以上)的16倍,对羟基苯甲醇的含量为6.59 g/100 g,对羟基苯甲醛的含量为0.13 g/100 g。

表1 发酵60 d天麻酵素理化指标测定结果

Table 1 Results of physical and chemical indexes of *Gastrodia elata* fermentation for 60 days

指标	QB/T 5232-2018 标准	天麻酵素
pH	≤4.50	3.51±0.03
酒精度/(g/100 g)	≤0.50	0.36±0.01
γ-氨基丁酸/(mg/kg)	≥0.03	0.48±0.01
对羟基苯甲醇/(g/100 g)	-	6.59±0.07
对羟基苯甲醛/(g/100 g)	-	0.13±0.01

## 2.2 天麻酵素对小鼠体重的影响

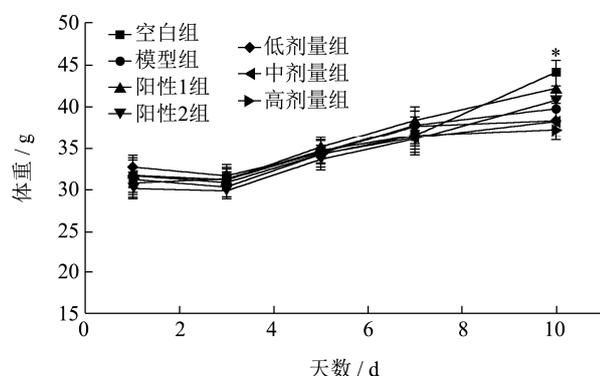


图1 各组小鼠体重变化图

Fig.1 Body weight changes of mice in each group

注: 各组体重与3 d的比较, \* $p < 0.01$ 。

表2 各组小鼠自主活动相关指标测定结果

Table 2 Determination results of autonomic activity related indexes of mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量	活动时间/s	站立次数/次
空白组	-	256.13±5.84	23.50±6.91
模型组	-	270.13±9.98 <sup>##</sup>	34.75±9.65 <sup>#</sup>
枣仁安神液组 (阳性对照组1)	2.40 mL/kg	259.63±8.35*	23.88±3.45*
天麻粉组 (阳性对照组1)	0.48 g/kg	259.13±8.34*	24.25±5.01*
高剂量组	0.49 g/kg	257.13±8.39*	24.13±3.63*
中剂量组	0.30 g/kg	255.50±11.39*	25.63±2.35*
低剂量组	0.10 g/kg	265.63±6.58 <sup>#</sup>	25.40±3.61*

注: 与空白组比较, <sup>#</sup> $p < 0.05$ , <sup>##</sup> $p < 0.01$ ; 与模型组比较, \* $p < 0.05$ 。

## 2.4 天麻酵素对失眠模型小鼠脑组织内神经递质的影响

失眠是一种由众多神经递质参与的神经调节过程<sup>[21]</sup>。失眠患者中枢神经系统兴奋和抑制的平衡被破坏时会引起脑内神经递质含量的改变<sup>[22]</sup>, 其中相关的神经递质有5-羟色胺(5-HT)<sup>[23]</sup>、γ-氨基丁酸(GABA)<sup>[24]</sup>、细胞因子白细胞介素1β(IL-1β)<sup>[25]</sup>等, 而脑组

各组小鼠体重变化如图1所示, 图中所示的3 d为造模结束时间, 10 d为给药7 d的时间, 造模3 d后与造模前(1 d)相比, 各组小鼠体重虽有下降, 但均无统计学意义, 是因造模结束后, 模型组小鼠昼夜节律紊乱、皮毛蓬乱无泽、攻击性增强, 白天不停走动, 小鼠由于失眠体重减少; 给药7 d后与造模结束(3 d)相比, 各组小鼠体重均显著性增加( $p < 0.01$ ), 是因给药后, 小鼠状态逐渐好转, 白天活动减少, 睡眠时间延长, 小鼠体重有所提升。

## 2.3 天麻酵素对小鼠自主活动的影响

睡眠是涉及多系统的复杂生理过程<sup>[17]</sup>。可通过小鼠的自主活动情况来反映中枢神经系统的功能状态, 活动次数减少代表中枢神经系统被抑制, 活动次数增加代表中枢神经系统兴奋<sup>[18]</sup>。由表2可知, 模型组小鼠的活动时间和站立次数与空白组相比差异显著( $p < 0.05$ ), 表明小鼠失眠模型建立成功; 而枣仁安神液组(阳性对照组1)、天麻粉组(阳性对照组2)、天麻酵素高、中、低剂量组与模型组相比, 小鼠的活动时间和站立次数均有所减少, 活动时间分别减少10.50 s、11.00 s、13.00 s、14.63 s、4.50 s, 站立次数分别减少10.87次、10.50次、10.62次、9.12次、9.35次, 与模型组相比均差异显著( $p < 0.05$ ), 说明天麻酵素与天麻粉<sup>[19]</sup>、枣仁颗粒<sup>[20]</sup>一样, 具有一定的镇静效果和明显抑制小鼠自发活动的作用。

织是5-HT、GABA、IL-1β等神经递质的共同主要来源<sup>[26]</sup>, 因此选择脑组织作为本研究的对象。

由表3可知, 模型组与空白组相比, 小鼠脑组织内5-HT、GABA、IL-1β含量存在显著性差异( $p < 0.01$ ), 表明小鼠失眠模型建立成功。而枣仁安神液组(阳性对照组1)、天麻粉组(阳性对照组2)、天麻酵素高、中、低剂量组与模型组相比都能增加小鼠脑组织内5-HT、GABA、IL-1β含量, 小鼠脑组织内5-HT含量分别增加53.06 pg/mL、37.95 pg/mL、

50.62 pg/mL、49.51 pg/mL、46.77 pg/mL, 与模型组相比均差异显著 ( $p<0.05$ ); 小鼠脑组织内 GABA 含量分别增加 4.78 ng/mL、3.66 ng/mL、5.47 ng/mL、5.15 ng/mL、3.63 ng/mL, 与模型组比均差异极显著 ( $p<0.01$ ); 小鼠脑组织内 IL-1 $\beta$  含量分别增加 19.44 ng/L、17.90 ng/L、17.82 ng/L、26.64 ng/L、8.45 ng/L, 其中, 枣仁安神液组、天麻粉组、天麻醇素高剂量组与模型组相比差异显著 ( $p<0.05$ )、天麻醇素中剂量组与模型组相比差异极显著 ( $p<0.01$ )、低剂量组对比 IL-1 $\beta$  含量虽有增加, 但无统计学意义。且天麻醇素高剂量组小鼠脑组织内 GABA 含量比天麻粉组增

加 1.81 ng/mL, 与天麻粉组相比差异显著 ( $p<0.05$ )。卞勇等<sup>[27]</sup>发现乐眠胶囊具有治疗失眠的功效, 且百乐眠胶囊高剂量组使小鼠脑组织内 GABA 含量提升 34.92%、中剂量组使小鼠脑组织内 5-HT 含量提升 11.89%, 而天麻醇素高剂量组 (202.59%) 所提升 GABA 含量的是其 6 倍, 中剂量组 (32.9%) 所提升 5-HT 含量的是其 2 倍。实验结果表明, 天麻醇素能提高小鼠脑组织内神经递质的含量, 和天麻粉<sup>[28]</sup>、苏格木勒-3 汤<sup>[14]</sup>一样具有相同功效, 而且给予天麻醇素治疗后, 各剂量组小鼠昼夜节律有所好转, 白天能较安静入睡, 行为活动趋于正常。

表 3 天麻醇素对失眠模型小鼠脑组织内神经递质含量的影响

Table 3 Effects of *Gastrodia elata* Bl. ferment on the content of neurotransmitters in brain tissue of mice with insomnia model ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量	5-HT/(pg/mL)	GABA/(ng/mL)	IL-1 $\beta$ /(ng/L)
空白组	-	264.65 $\pm$ 29.85	8.60 $\pm$ 1.99	117.40 $\pm$ 17.27
模型组	-	193.04 $\pm$ 26.01 <sup>###</sup>	2.70 $\pm$ 1.81 <sup>###</sup>	80.96 $\pm$ 6.79 <sup>###</sup>
枣仁安神液组 (阳性对照组 1)	2.40 mL/kg	246.10 $\pm$ 38.74*	7.48 $\pm$ 1.78**	100.40 $\pm$ 15.92*
天麻粉组 (阳性对照组 2)	0.48 g/kg	230.99 $\pm$ 18.35*	6.36 $\pm$ 1.28**	98.86 $\pm$ 16.09*
高剂量组	0.49 g/kg	243.66 $\pm$ 28.49**	8.17 $\pm$ 2.02** <sup>^</sup>	98.78 $\pm$ 10.42*
中剂量组	0.30 g/kg	242.55 $\pm$ 30.26**	7.85 $\pm$ 1.29**	107.60 $\pm$ 13.76**
低剂量组	0.10 g/kg	239.81 $\pm$ 38.19*	6.33 $\pm$ 1.88**	89.41 $\pm$ 9.61

注: 与空白组比较, <sup>###</sup> $p<0.01$ ; 与模型组比较, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ ; 与天麻粉组比较, <sup>^</sup> $p<0.05$ 。

表 4 天麻醇素对失眠模型小鼠脑组织氧化应激水平的影响

Table 4 Effects of *Gastrodia elata* Bl. ferment on oxidative stress level of brain tissue in mice with insomnia model ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量	SOD/(nmol/mg prot)	MDA/(U/mg prot)
空白组	-	967.63 $\pm$ 178.84	117.50 $\pm$ 10.81
模型组	-	825.70 $\pm$ 40.51 <sup>#</sup>	133.20 $\pm$ 11.30 <sup>#</sup>
枣仁安神液组 (阳性对照组 1)	2.40 mL/kg	1069 $\pm$ 139.15*	113.20 $\pm$ 10.14*
天麻粉组 (阳性对照组 2)	0.48 g/kg	904.21 $\pm$ 65.83*	128.70 $\pm$ 11.36
高剂量组	0.49 g/kg	936.83 $\pm$ 49.80*	116.70 $\pm$ 12.09*
中剂量组	0.30 g/kg	973 $\pm$ 91.28*	109 $\pm$ 21.12*
低剂量组	0.10 g/kg	742.21 $\pm$ 105.25	112.30 $\pm$ 16.26*

注: 与空白组比较, <sup>#</sup> $p<0.05$ ; 与模型组比较, \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ 。

## 2.5 天麻醇素对失眠模型小鼠脑组织内氧化应激水平的影响

氧化应激反应是指在体内氧化平衡失调的情况下自由基增加导致的各类蛋白酶水平增高、中性粒细胞炎性浸润等一系列负面反应<sup>[29]</sup>, 超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 能较为全面地反映氧化应激反应综合水平。脑部对氧化与抗氧化反应比较敏感, 并且 SOD 和 MDA 也被发现在睡眠-觉醒节律过程中起到一定的作用, 当鼠脑组织内 SOD 活性降低、MDA 含量增加时, 会出现失眠症状<sup>[30]</sup>。

由表 4 可知, 模型组与空白组相比, 小鼠脑组织内 SOD 活性与 MDA 含量存在显著性差异 ( $p<0.05$ ), 表明小鼠失眠模型建立成功。而枣仁安神液组 (阳性对照组 1)、天麻粉组 (阳性对照组 2)、天麻醇素高、中剂量组与模型组相比小鼠脑组织内 SOD 活性均有所提高, 分别提高 29.47%、9.51%、13.46%、17.84%, 与模型组相比均差异显著 ( $p<0.05$ )。而枣仁安神液组 (阳性对照组 1)、天麻粉组 (阳性对照组 2)、天麻醇素高、中、低剂量组与模型组相比小鼠脑组织内 MDA 含量均有所降低, 分别降低 20 U/mg prot、4.50 U/mg prot、16.50 U/mg prot、24.20 U/mg prot、20.90 U/mg prot, 其中枣仁安神液组、天

麻醇素高、中、低剂量组与模型组相比差异显著 ( $p < 0.05$ )、天麻粉组差异不显著。韩金美等<sup>[14]</sup>发现苏格木勒-3 汤具有改善睡眠功效,且苏格木勒-3 汤低剂量组使大鼠脑组织内 MDA 含量降低了 7.09%,而天麻醇素低剂量组降低的小鼠脑组织内 MDA 含量 (15.69%) 是其 2 倍。实验结果表明,天麻醇素可通过调节小鼠脑组织氧化应激水平来调节机体抗氧化能力而达到改善睡眠的效果。

### 3 结论

本文通过分析天麻醇素理化指标并研究天麻醇素对失眠模型小鼠脑组织内神经递质和氧化应激水平的调节作用,发现天麻醇素中  $\gamma$ -氨基丁酸含量为 0.48 mg/kg,是 QB/T 5232-2018 标准中要求的 16 倍,对羟基苯甲醇的含量为 6.59 g/100 g,对羟基苯甲醛的含量为 0.13 g/100 g;动物实验结果表明,天麻醇素能调节小鼠脑组织内神经递质含量以及氧化应激水平,天麻醇素高、中剂量组与模型组相比均能增加小鼠脑组织中 5-HT、GABA、IL-1 $\beta$  含量、提高 SOD 活性、降低 MDA 含量,5-HT 分别增加 50.62 pg/mL、49.51 pg/mL, GABA 分别增加 5.47 ng/mL、5.15 ng/mL, IL-1 $\beta$  分别增加 17.82 ng/L、26.64 ng/L, SOD 活性分别提高 13.46%、17.84%,MDA 含量分别降低 12.39%、18.17%,且与模型组相比均有显著性差异 ( $p < 0.05$ );天麻醇素高剂量组与天麻粉组相比小鼠脑组织内 GABA 含量显著增加 1.81 ng/mL,差异显著 ( $p < 0.05$ )。因此,相较于工艺繁琐的天麻粉,天麻醇素同样具有镇静催眠功效,经益生菌发酵的天麻醇素,产生的次级代谢产物更利于消化吸收,且风味佳、食用方便、能耗低,可为天麻的开发利用提供新途径。同时,该研究可为后期基于代谢组学及肠道菌群探讨天麻醇素镇静催眠作用机制提供有效的理论和有效数据支撑,并为治疗失眠提供新思路。

### 参考文献

[1] 李宝宗. 中医药治疗老年失眠症的临床研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(70): 50  
LI Bao-zong. Clinical study on treating senile insomnia with traditional Chinese medicine [J]. Electronic Journal of Clinical Medicine Literature, 2018, 5(70): 50

[2] 朱尧, 夏伟, 刘激激, 等. 中医论治失眠研究进展[J]. 吉林中医药, 2016, 36(3): 16-17  
ZHU Yao, XIA Wei, LIU Wei-wei, et al. Research progress of insomnia treated by traditional Chinese medicine [J]. Jilin Traditional Chinese Medicine, 2016, 36(3): 16-17

[3] 张飞燕, 李晶晶, 周莹, 等. 安神类中药及其有效成分对神经递质镇静催眠机制的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 64-66  
ZHANG Fei-yan, LI Jing-jing, ZHOU Ying, et al. Research progress on sedative and hypnotic mechanism of sedative and hypnotic neurotransmitters of traditional Chinese medicine and its effective components [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2016, 41(23): 64-66

[4] 田孟华, 袁天军, 周瑞, 等. 不同产地及变型天麻有效成分差异性分析[J]. 中成药, 2020, 42(7): 1824-1829  
TIAN Meng-hua, YUAN Tian-jun, ZHOU Rui, et al. Analysis on the differences of active ingredients in *Gastrodia elata* from different producing areas and varieties [J]. Chinese Patent Medicine, 2020, 42(7): 1824-1829

[5] 张卫, 刘春艳, 谢宇, 等. 贵州天麻的品质评价研究[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(8): 66-69  
ZHANG Wei, LIU Chun-yan, XIE Yu, et al. Quality evaluation of *Gastrodia elata* in Guizhou [J]. Asia Pacific Traditional Medicine, 2019, 15(8): 66-69

[6] 李燕, 谢淼, 邵明莎, 等. 近 10 年来天麻的药理作用及化学成分研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(12): 2987-2993  
LI Yan, XIE Miao, SHAO Ming-sha, et al. Research progress on pharmacological effects and chemical constituents of *Gastrodia elata* in recent 10 years [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 35(12): 2987-2993

[7] Choi K, Koppula S, Suk K. Inhibitors of microglial neurotoxicity: focus on natural products [J]. Molecules, 2011, 16(2): 1021-1043

[8] 华中一, 李洪梅, 孙建辉, 等. 鲜天麻提取物对小鼠肠道菌群结构的影响[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(5): 60-61  
HUA Zhong-yi, LI Hong-mei, SUN Jian-hui, et al. Effect of fresh *Gastrodia elata* extract on intestinal flora of mice [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 44(5): 60-61

[9] 刘梅, 丰玉林. 天麻中天麻素和天麻多糖的理化性质及其药理作用综合研究[J]. 养生保健指南, 2018, 16: 245  
LIU Mei, FENG Yu-lin. Comprehensive study on physicochemical properties and pharmacological effects of gastrodin and polysaccharide from in *Gastrodia elata* [J]. Health Care Guide, 2018, 16: 245

[10] 张志龙, 郜玉钢, 臧埔, 等. 天麻素、对羟基苯甲醇对中枢神经系统作用机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 88-91  
ZHANG Zhi-long, GAO Yu-gang, ZANG Pu, et al. Research progress of action mechanism of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol on central nervous system [J].

- Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 45(2): 88-91
- [11] 许蓬娟,李悠悠,孙梓翔,等. 酵素在生物作用中的研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(1): 83-85, 97  
XU Peng-juan, LI You-you, SUN Zi-xiang, et al. Research progress of enzymes in biological function [J]. Food and Fermentation Technology, 2017, 53(1): 83-85, 97
- [12] 周美,柳小兰,张明,等. 高效液相色谱法测定天麻中 4 种化合物的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2017, 53(10): 1146-1150  
ZHOU Mei, LIU Xiao-lan, ZHANG Ming, et al. Determination of four compounds in *Gastrodia elata* Blume by HPLC [J]. Physical and Chemical Examination - Chemical Volume, 2017, 53(10): 1146-1150
- [13] 周美,王瑜,李青,等. 李子薏苡仁复合酵素中营养成分及香气成分研究[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 309-316  
ZHOU Mei, WANG Yu, LI Qing, et al. Study on nutritional components and aroma components of compound enzyme from plum and coix seed [J]. Food Science and Technology, 2020, 45(7): 309-316
- [14] 韩金美,王树梅,萨础拉. 苏格木勒-3 汤水提物对小鼠镇静、催眠及失眠模型大鼠催眠的作用机制研究[J]. 中国药房, 2018, 29(23): 3232-3235  
HAN Jin-mei, WANG Shu-mei, SA Chu-la. Mechanism of water extract of sugemule-3 decoction on sedation, hypnosis and insomnia in mice [J]. Chinese Pharmacy, 2018, 29(23): 3232-3235
- [15] 王冰梅,于江波,王永彬,等. 安神补脑软胶囊对老年失眠模型大鼠下丘脑 5-羟色胺 1a、5-羟色胺 2a、 $\gamma$ -氨基丁酸表达量的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(17): 4784  
WANG Bing-mei, YU Jiang-bo, WANG Yong-bin, et al. Effect of Anshenbunao soft capsule on hypothalamic 5-hydroxytryptamine 1a, 5-hydroxytryptamine 2a and gamma aminobutyric acid expression in senile insomnia model rats [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2015, 35(17): 4784
- [16] Chen W C, Lai Y S, Lin S H, et al. Anti-depressant effects of *Gastrodia elata* Blume and its compounds gastrodin and 4-hydroxybenzyl alcohol, via the monoaminergic system and neuronal cytoskeletal remodeling [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 182: 190-199
- [17] 刘瑾,刘永伟,李岩,等. 桑椹补脑膏对东莨菪碱所致记忆获得障碍小鼠学习记忆能力影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 1: 22-24  
LIU Jin, LIU Yong-wei, LI Yan, et al. Effect of mulberry Bunao ointment on memory ability of scopolamine induced dysmnesia mice [J]. Journal of Liaoning University of traditional Chinese Medicine, 2015, 1: 22-24
- [18] 涂人顺,张国玺,孙斌辉,等. 关于小鼠自主活动规律的研究[J]. 中国药理学通报, 2002, 18(4): 464-465  
TU Ren-shun, ZHANG Guo-xi, SUN Bin-hui, et al. Study on the spontaneous activity of mice [J]. Chinese Pharmacology Bulletin, 2002, 18(4): 464-465
- [19] 邹宁,吕剑涛,薛仁余,等. 天麻素对小鼠的镇静催眠作用[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(4): 807-809  
ZOU Ning, LYU Jian-tao, XUE Ren-yu, et al. Sedative and hypnotic effects of gastrodin on mice [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2011, 22(4): 807-809
- [20] 崔施展,贾东升,谢晓亮,等. 枣仁颗粒镇静催眠作用及机制研究[J]. 食品研究与发, 2017, 38(3): 173-176  
CUI Shi-zhan, JIA Dong-sheng, XIE Xiao-liang, et al. Study on sedative and hypnotic effect and mechanism of Zaoren granules [J]. Food Research and Development, 2017, 38(3): 173-176
- [21] 陈汉裕,陈凤丽,林赞檬,等. 黄连阿胶汤对戊巴比妥钠致小鼠催眠作用及神经递质的影响[J]. 广东医学, 2016, 37(21): 3165-3168  
CHEN Han-yu, CHEN Feng-li, LIN Zan-meng, et al. Effect of Huanglian Ejiao decoction on hypnosis and neurotransmitter in mice induced by pentobarbital sodium [J]. Guangdong Medical Journal, 2016, 37(21): 3165-3168
- [22] 李春丽,徐洋,姜静,等. 甜梦口服液对睡眠剥夺大鼠学习记忆、炎症因子及神经递质的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 147-148  
LI Chun-li, XU Yang, JIANG Jing, et al. Effects of Tianmeng oral liquid on learning and memory, inflammatory factors and neurotransmitters in sleep deprived rats [J]. Pharmacology and Clinic of Traditional Chinese Medicine, 2015, 31(2): 147-148
- [23] Meneses A, Perez G G 5-HT(1A) Receptors and memory [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2007, 5: 705-727
- [24] Murillo R E, Arias C O, Zavala G A, et al. Basic sleep mechanisms: an integrative review [J]. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 2012, 12(1): 38

(下转第 152 页)