

茯苓不同溶剂提取物改善小鼠睡眠作用的比较

孙梦娜¹, 叶辉宇¹, 李强明¹, 张玉英², 杨思林², 魏春厅², 罗建平¹

(1. 合肥工业大学食品与生物工程学院, 安徽合肥 230601)

(2. 安徽省华信生物药业股份有限公司, 安徽界首 236500)

摘要: 比较茯苓不同溶剂提取物改善小鼠的睡眠作用。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和巴比妥钠睡眠潜伏期实验研究茯苓不同溶剂提取物改善小鼠的睡眠作用, 通过测定小鼠脑组织中 5-HT、GABA 和 DA 含量变化探讨茯苓不同溶剂提取物改善小鼠睡眠作用机制。结果显示, 与空白对照组相比, 水提取物高剂量组 (112.7 mg/kg) 效果最佳 ($p < 0.05$), 其后是醇提取物高剂量组 (100.8 mg/kg)、多糖高剂量组 (15.6 mg/kg)、水提取物低剂量组 (56.4 mg/kg)、醇提取物低剂量组 (50.4 mg/kg), 而多糖低剂量组 (7.8 mg/kg) 效果不明显 ($p > 0.05$), 其中, 水提取物高剂量组小鼠睡眠时间由 1829.67 s 显著延长至 2979.83 s, 睡眠发生率由 10% 显著提高至 60%, 睡眠潜伏期由 2033.50 s 显著缩短至 1486.25 s; 且茯苓不同溶剂提取物改善小鼠睡眠的效果与其调节小鼠脑组织中 GABA 和 5-HT 含量升高及 DA 含量下降的趋势相一致, 其中, 水提取物高剂量组 5-HT 含量升至 26.96 pg/mg, GABA 含量升至 817.40 pg/mg, DA 含量降至 3.41 pg/mg。本研究结果显示水提取物高剂量组改善睡眠效果最佳, 其作用机制与调节小鼠脑中 GABA、5-HT 和 DA 含量有关。

关键词: 茯苓; 水提取物; 醇提取物; 粗多糖; 改善睡眠

文章编号: 1673-9078(2021)06-43-49

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1084

Improved Sleep in Mice Treated with *Wolfiporia extensa* Extracts

Produced Using Different Solvents

SUN Meng-na¹, YE Hui-yu¹, LI Qiang-ming¹, ZHANG Yu-ying², YANG Si-ling², WEI Chun-ting², LUO Jian-ping¹

(1. School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230031, China)

(2. Anhui Huaxin Biological Pharmaceutical Co. Ltd., Jieshou 236500, China)

Abstract: The extent of the improvements in sleep habits of mice treated with *Wolfiporia extensa* extracts obtained using different solvents were compared using sleep tests, prolonged pentobarbital-induced sleeping time measurements, below-threshold dose pentobarbital-induced hypnosis tests, and pentobarbital-induced sleep latency tests. Changes in the 5-HT, GABA, and DA content in mouse brain tissues were monitored to explore the mechanism by which *Wolfiporia extensa* extracts obtained using different solvents improve sleep in mice. The results reveal that, the group treated with high-dose aqueous extracts (112.7 mg/kg) show the greatest improvement in their sleep ($p < 0.05$) compared to the blank control. This group is followed by the groups treated with high-dose ethanol extracts (100.8 mg/kg), high-dose polysaccharides (15.6 mg/kg), low-dose aqueous extracts (56.4 mg/kg), and low-dose ethanol extracts (50.4 mg/kg). Analysis also revealed that low-dose polysaccharides (7.8 mg/kg) ($p > 0.05$) treatment induced very little change in the sleep habits of these animals. More specifically, the sleeping time of the mice treated with high-dose aqueous extracts increased remarkably from 1829.67 s to 2979.83 s, and the incidence rate rises from 10% to 60%. In addition, sleep latency was markedly reduced, from 2033.50 s to 1486.25 s, and the sleep improvements associated with these *Wolfiporia extensa* extracts were shown to coincide with increases in the GABA and 5-HT content and reductions in the DA content in the brain

引文格式:

孙梦娜, 叶辉宇, 李强明, 等. 茯苓不同溶剂提取物改善小鼠睡眠作用的比较[J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 43-49

SUN Meng-na, YE Hui-yu, LI Qiang-ming, et al. Improved sleep in mice treated with *Wolfiporia extensa* extracts produced using different solvents [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(6): 43-49

收稿日期: 2020-11-23

基金项目: 安徽省科技重大专项 (18030801112)

作者简介: 孙梦娜 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 罗建平 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中草药与功能食品

tissues of treated animals. The 5-HT and GABA content reached up to 26.96 pg/mg and 817.40 pg/mg, respectively, in the animals treated with high-dose aqueous extracts while the DA content dropped to 3.41 pg/mg. This data reveals that high-dose aqueous *Wolfiporia extensa* extracts are the best option for improving sleep in mice, and that this improvement is closely associated with the regulation of GABA, 5-HT, and DA in the brain.

Key words: *Wolfiporia extensa*; aqueous extracts; ethanol extracts; polysaccharide; sleep

失眠症是最常见的心理疾病之一,其特征是难以启动或维持睡眠,并伴有诸如清醒时的烦躁或疲劳等症状^[1]。与其他疾病相比,失眠综合症非常普遍。据报道,一般人群中 6%至 50%的人有失眠症状,10%至 15%的人曾忍受过失眠症引起的疼痛。在中国,失眠的总患病率为 15%,约 20.7 亿人存在睡眠问题^[2,3]。然而,常见的催眠药虽然有较好的治疗失眠症的作用,但是会出现很多明显的副作用,尤其是苯二氮卓类药物,使用它们会引起运动和认知障碍等副作用^[4,5]。面对这些局限,人们倾向于寻求天然药物来治疗或缓解失眠症状,中药是一种天然药物,并且历代医书记载了大量具有改善睡眠功效的中药单味方药,为治疗失眠提供了可借鉴的经验^[6]。

茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poriacocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核^[7],多寄生于松科植物赤松或马尾松等树根上,是药食两用、临床运用最多的大宗和传统中药材,有“十方九苓”之说^[8],具有利水渗湿、健脾宁心等功效^[9]。《神农本草经》将茯苓列为上品药材,认为它“久服安魂养神,不饥延年”^[10];《本草备要》指出茯苓可以“宁心益气,调营理卫,定魄安魂”^[11]。民间常用茯苓调理睡眠^[12],传统助眠中药复方,如归脾汤^[13]、天王补心丸^[14]、安神利眠汤^[15]、疏肝健脾安神汤^[16]等都含有茯苓。

现代研究表明,茯苓具有免疫调节^[17]、抗炎、抗氧化^[18]、镇静与催眠^[19]等生物活性,其主要活性成分为三萜类和多糖类化合物^[6]。药理学实验证明了茯苓不同提取成分都具有镇静、催眠作用^[20,21],但是研究报道的动物模型、提取方法、给药剂量和生药来源各不相同,因此无法对茯苓不同成分在改善睡眠作用的强弱方面进行直接比较,进而制约了茯苓中有助于改善睡眠的功能因子的开发与利用。本研究以同一来源的茯苓为原料,基于相同生药剂量,分别提取茯苓水提物、醇提物和多糖,运用相同动物模型对三种提取物的改善睡眠作用进行比较,以期合理开发和有效利用茯苓中改善睡眠的功能因子提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

茯苓粉末(过 100 目筛)购于江苏滨海宏本堂商贸有限公司;戊巴比妥钠、巴比妥钠($\geq 99\%$)均购于北京华业寰宇化工有限公司;罗通定片购于四川迪菲特药业有限公司;五羟色胺(5-HT)、 γ -氨基丁酸(GABA)和多巴胺(DA)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒均购于上海泽宇生物科技有限公司;羧甲基纤维素钠(纯度为 98%)、乙醇(纯度为 95%)购于上海国药集团化学试剂有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

W-205 数控恒温水浴锅,上海申胜生物技术有限公司;FD-1A-50 冷冻干燥机,北京博康实验仪器有限公司;CT15RT 高速冷冻离心机,上海天美生化仪器设备工程有限公司;XT5118-OV140 恒温干燥箱,杭州雪中炭恒温技术有限公司。

1.3 实验动物

ICR 健康雄性小鼠 320 只,2~3 月龄,体质量 18~22 g,饲养于 SPF 级动物房(温度 24 ± 2 °C,相对湿度 50%~60%,明暗交替 12 h),由山东济南朋越繁育有限公司提供,动物许可证号为 SCXK(鲁)2014-0007。

1.4 实验方法

1.4.1 茯苓不同溶剂提取物的制备

水提物的制备^[22]:称取适量茯苓粉末,按照 1:30 的料液比加入双蒸水,90 °C 水浴浸提 2 h,共 2 次,将所得浸提液抽滤,合并滤液,65 °C 减压浓缩,冷冻干燥得到茯苓水提物(提取率为 $2.82\%\pm 0.25\%$)。

醇提物的制备^[23]:称取适量茯苓粉末,按照 1:30 的料液比加入 95%乙醇,60 °C 水浴浸提 2 h,共 2 次,药渣 60 °C 干燥备用,将所得醇提液抽滤,合并滤液,65 °C 减压浓缩,60 °C 干燥至无醇味,得到茯苓醇提物(得率为 $2.52\%\pm 0.17\%$)。

多糖的制备^[24]:称取适量制备醇提物的干药渣,按照 1:30 的料液比加入双蒸水,90 °C 浸提 2 h,共 2 次,将所得浸提液抽滤,合并滤液,65 °C 减压浓缩,在 4 °C 下用终浓度为 80%的乙醇醇沉 2 次每次 24 h,冷冻干燥得到茯苓多糖(得率为 $0.39\%\pm 0.09\%$)。

1.4.2 实验分组、给药方法和剂量设置

参照文献^[25,26], 本实验包括直接睡眠实验、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和巴比妥钠睡眠潜伏期实验 4 部分, 其中直接睡眠实验和小鼠脑组织中 5-HT、GABA、DA 含量测定实验使用同一批动物。每个实验各 80 只小鼠, 小鼠适应性喂养一周后, 随机分为 8 组 (n=10), 分别为空白对照组 (0.5%羧甲基纤维素钠)、阳性组 (罗通定片, 15 mg/kg)、水提物高剂量和低剂量组、醇提物高剂量和低剂量组以及多糖高剂量和低剂量组。以《中华人民共和国药典 (2020 版) 一部》中茯苓的人体 (60 kg) 推荐摄入量 (9~15 g/d) 中值 (12 g/d) 的 10 倍、20 倍为依据^[1], 结合茯苓不同溶剂提取物的提取率, 确定水提物低剂量和高剂量组给药浓度为 56.4 mg/kg 和 112.7 mg/kg, 醇提物低剂量和高剂量组给药浓度为 50.4 mg/kg 和 100.8 mg/kg, 多糖低剂量和高剂量组给药浓度为 7.8 mg/kg 和 15.6 mg/kg。茯苓不同溶剂提取物和阳性组药物的溶剂均为 0.5%羧甲基纤维素钠溶液, 每组小鼠按照 10 mL/kg 剂量灌胃, 连续灌胃 30 d, 观察各组小鼠体重变化及睡眠情况。

1.4.3 小鼠体重及脏器指数测定

实验前后, 称取小鼠体重, 观察各组小鼠实验前后体重变化。实验结束后, 用二氧化碳处死小鼠, 解剖脏器, 计算小鼠脏器指数。小鼠脏器指数计算公式: 脏器指数=脏器重量 (mg) / 小鼠体重 (g)。

1.4.4 直接睡眠实验

小鼠连续灌胃 30 d, 末次给药 15 min 后观察各组小鼠在 60 min 内入睡只数。睡眠以翻正反射消失为指标, 即当小鼠置于背卧式时, 超过 1 min 不能翻正者即认为进入睡眠。

1.4.5 延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间实验

小鼠连续灌胃 30 d, 末次给药 15 min 后, 各组小鼠腹腔注射经预实验确定剂量为 38 mg/kg 的戊巴比妥钠溶液, 注射量为 0.2 mL/20 g, 以翻正反射消失 1 min 以上为入睡判断标准, 记录各组小鼠延长戊巴比妥钠睡眠时间。

1.4.6 戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

小鼠连续灌胃 30 d, 末次给药 15 min 后, 各组小鼠腹腔注射经预实验确定剂量为 24 mg/kg 的戊巴比妥钠溶液, 注射量为 0.2 mL/20 g, 以翻正反射消失 1 min 以上作为入睡指标, 记录各组小鼠入睡只数及入睡时间。

1.4.7 巴比妥钠睡眠潜伏期实验

小鼠连续灌胃 30 d, 末次给药 15 min 后, 各组小鼠腹腔注射经预实验确定剂量为 230 mg/kg 的巴比妥钠, 注射量为 0.2 mL/20 g。以翻正反射消失 1 min 以上作为入睡指标, 记录各组小鼠的睡眠潜伏期。

1.4.8 小鼠脑组织中 5-HT、GABA、DA 含量的测定

灌胃 30 d 后, 小鼠禁食一天, 用二氧化碳处死小鼠, 迅速取出脑组织, 冰浴匀浆, 4 °C、8000 r/min 离心, 取上清, 采用 ELISA 试剂盒法测定 5-HT、GABA、DA 含量。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 23.0 进行统计分析, $\bar{x} \pm SD$ 表示数据, 以单因素方差分析 (ANOVA) 进行差异显著性检验, $p < 0.05$ 具有统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 不同溶剂提取物对小鼠体重及脏器指数的影响

表 1 不同溶剂提取物对小鼠体重的影响

Table 1 Effects of different extracts on body weight in mice ($\bar{x} \pm sd$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	初始体重/g	最终体重/g	体重增加/g
空白对照组	0.0	22.53 ± 1.94 ^a	30.08 ± 1.60 ^a	7.55 ± 0.34 ^a
阳性组	15.0	22.20 ± 2.02 ^a	29.59 ± 1.68 ^a	7.39 ± 0.34 ^a
茯苓水提物高剂量组	112.7	21.84 ± 1.81 ^a	30.39 ± 1.42 ^a	8.55 ± 0.39 ^a
茯苓水提物低剂量组	56.4	22.45 ± 2.45 ^a	29.61 ± 1.12 ^a	7.16 ± 1.33 ^a
茯苓醇提物高剂量组	100.8	21.93 ± 3.17 ^a	28.83 ± 1.82 ^a	6.90 ± 1.35 ^a
茯苓醇提物低剂量组	50.4	23.63 ± 2.00 ^a	30.03 ± 1.91 ^a	6.40 ± 0.09 ^a
茯苓多糖高剂量组	15.6	23.75 ± 1.74 ^a	29.77 ± 2.17 ^a	6.02 ± 0.43 ^a
茯苓多糖低剂量组	7.8	23.07 ± 2.64 ^a	29.75 ± 1.73 ^a	6.68 ± 0.91 ^a

注: 不同字母标注表示在 $p < 0.05$ 水平差异上显著。下表同。

表2 不同溶剂提取物对小鼠脏器指数的影响

Table 2 Effects of different extracts on viscera index of mice ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	肺指数/g	肝指数/g	脾指数/g	肾指数/g	胸腺指数/g
空白对照组	0.0	9.16±0.69 ^a	52.00±7.48 ^a	4.37±0.45 ^a	17.69±2.11 ^a	1.73±0.45 ^a
阳性组	15.0	8.83±0.77 ^a	46.98±6.93 ^a	4.71±0.77 ^a	18.39±1.70 ^a	1.75±0.36 ^a
茯苓水提物高剂量组	112.7	8.53±1.06 ^a	50.12±6.34 ^a	4.72±0.57 ^a	17.89±2.60 ^a	1.65±0.28 ^a
茯苓水提物低剂量组	56.4	8.33±0.93 ^a	47.63±5.74 ^a	4.67±1.13 ^a	17.56±0.98 ^a	1.61±0.20 ^a
茯苓醇提物高剂量组	100.8	8.60±0.85 ^a	53.24±6.89 ^a	4.77±0.84 ^a	19.69±3.15 ^a	1.79±0.34 ^a
茯苓醇提物低剂量组	50.4	9.12±0.69 ^a	50.38±5.27 ^a	5.06±0.71 ^a	17.82±1.64 ^a	1.82±0.33 ^a
茯苓多糖高剂量组	15.6	8.28±0.78 ^a	51.53±6.00 ^a	4.77±0.64 ^a	17.86±2.46 ^a	1.52±0.42 ^a
茯苓多糖低剂量组	7.8	8.84±1.31 ^a	51.88±5.54 ^a	4.95±0.97 ^a	17.30±3.13 ^a	1.64±0.44 ^a

动物体重和脏器指数分析显示,与空白对照组相比,茯苓水提物、醇提物、多糖等三种提取物不同剂量对小鼠体重无明显影响(表1),各组小鼠体重增长趋势一致,皮毛有光泽,饮食、活动正常,且肺、肝、脾、肾和胸腺的脏器指数均无统计学差异(表2),表明茯苓不同溶剂提取物在本试验设计剂量下对小鼠正常生长无影响($p>0.05$)。

2.2 直接睡眠实验

小鼠连续灌胃不同溶剂提取物30 d,在末次给药60 min内观察小鼠睡眠情况,各组小鼠均未出现翻正反射消失,说明茯苓不同溶剂提取物对小鼠无直接睡眠作用。

2.3 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验

表3 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验

Table 3 Prolong the sleep time of pentobarbital sodium ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	睡眠时间/s
空白对照组	0.0	1829.67±101.03 ^c
阳性组	15.0	3213.83±317.15 ^a
茯苓水提物高剂量组	112.7	2979.83±189.51 ^b
茯苓水提物低剂量组	56.4	2328.83±141.61 ^d
茯苓醇提物高剂量组	100.8	2631.67±170.95 ^c
茯苓醇提物低剂量组	50.4	2192.83±92.36 ^d
茯苓多糖高剂量组	15.6	2372.00±168.74 ^d
茯苓多糖低剂量组	7.8	1972.17±110.02 ^e

小鼠连续灌胃不同溶剂提取物30 d,在末次给药15 min后,腹腔注射戊巴比妥钠(剂量为38 mg/kg,注射量为0.2 mL/20 g),记录各组小鼠睡眠时间。如表3所示,阳性组小鼠睡眠时间最长,其后依次为水提物高剂量组、醇提物高剂量组、多糖高剂量组、水提物低剂量组、醇提物低剂量组和多糖低剂量组。与空白对照组相比,水提物高剂量组、醇提物高剂量组、多

糖高剂量组、水提物低剂量组和醇提物低剂量组均能显著延长小鼠睡眠时间($p<0.05$),小鼠睡眠时间与空白对照组相比分别延长了44.02%、26.83%、23.71%、21.58%和15.91%,以水提物高剂量组效果最佳($p<0.01$),而多糖低剂量组对延长小鼠睡眠时间的的影响不显著($p>0.05$)。徐煜彬等的研究也表明了生药42.8 g/kg茯苓水煎液可显著延长阈上剂量戊巴比妥钠引起小鼠睡眠时间^[19]。Shah等报道茯苓酸在剂量分别为3 mg/kg、5 mg/kg时可以延长戊巴比妥钠诱导的睡眠时间^[27]。赵天国采用协同戊巴比妥实验研究茯苓多糖对小鼠睡眠的改善作用,结果显示茯苓多糖低[1.9 g/(kg·BW·d)]、中[3.61 g/(kg·BW·d)]、高[5.80 g/(kg·BW·d)]剂量均具有显著延长睡眠时间的的作用,睡眠时间分别延长了55.7 min、63.2 min、73.2 min,其作用效果呈剂量依赖性^[28]。

2.4 戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

表4 戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

Table 4 Subthreshold hypnosis of pentobarbital sodium ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	睡眠发生率/%
空白对照组	0.0	10 ^c
阳性组	15.0	80 ^a
茯苓水提物高剂量组	112.7	60 ^{ab}
茯苓水提物低剂量组	56.4	40 ^{abc}
茯苓醇提物高剂量组	100.8	50 ^{abc}
茯苓醇提物低剂量组	50.4	30 ^{bc}
茯苓多糖高剂量组	15.6	40 ^{abc}
茯苓多糖低剂量组	7.8	20 ^c

小鼠连续灌胃不同溶剂提取物30 d,在末次给药15 min后,腹腔注射戊巴比妥钠(剂量为24 mg/kg,注射量为0.2 mL/20 g),记录各组小鼠睡眠发生率。如表4所示,阳性组睡眠发生率最高,其后依次为水提物高剂量组、醇提物高剂量组、多糖高剂量组、水提

物低剂量组、醇提取物低剂量组和多糖低剂量组。与空白对照组相比,水提取物高剂量组能显著提高小鼠的睡眠发生率 ($p<0.05$),其他各组虽然能提高小鼠睡眠发生率,但是作用效果不显著 ($p>0.05$)。游秋云等^[21]、李明月等^[29]采用戊巴比妥钠协同催眠实验也证明了茯苓水提取物能明显增加小鼠睡眠时间、提高小鼠入睡率,表现出良好的镇静催眠作用。

2.5 巴比妥钠睡眠潜伏期实验

表 5 巴比妥钠睡眠潜伏期实验

Table 5 Sodium barbiturate sleep latency test ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	睡眠潜伏期/s
空白对照组	0.0	2033.50±185.49 ^e
阳性组	15.0	1322.00±73.92 ^a
茯苓水提取物高剂量组	112.7	1486.25±158.97 ^b
茯苓水提取物低剂量组	56.4	1857.75±71.11 ^d
茯苓醇提取物高剂量组	100.8	1641.00±38.25 ^c
茯苓醇提取物低剂量组	50.4	1880.75±67.93 ^{de}
茯苓多糖高剂量组	15.6	1800.25±34.42 ^d
茯苓多糖低剂量组	7.8	1914.25±53.31 ^{de}

小鼠连续灌胃不同溶剂提取物 30 d,在末次给药 15 min 后,腹腔注射巴比妥钠溶液(剂量为 230 mg/kg,注射量为 0.2 mL/20 g),记录各组小鼠睡眠潜伏期的变化。如表 5 所示,阳性组小鼠睡眠潜伏期最短,其后依次为水提取物高剂量组、醇提取物高剂量组、多糖高剂量组、水提取物低剂量组、醇提取物低剂量组和多糖低剂量组。与空白对照组相比,水提取物高剂量组、醇提取物高剂量组、多糖高剂量组和水提取物低剂量组均能显著缩短小鼠进入睡眠的时间 ($p<0.05$),小鼠睡眠潜伏期比空白对照组分别缩短了 26.9%、19.3%、11.5%和 8.6%,

表 6 各组小鼠脑组织中 5-HT、GABA、DA 的变化比较

Table 6 Comparison of changes in 5-HT,GABA and DA in each group of mice brain ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	剂量/(mg/kg)	5-HT/(pg/mg)	GABA/(pg/mg)	DA/(pg/mg)
空白对照组	0.0	21.50±0.56 ^e	689.40±3.90 ^f	4.16±0.13 ^f
阳性组	15.0	29.28±0.85 ^a	853.50±17.90 ^a	3.60±0.11 ^{ab}
茯苓水提取物高剂量组	112.7	26.96±0.25 ^b	817.40±15.20 ^b	3.41±0.20 ^b
茯苓水提取物低剂量组	56.4	22.99±1.46 ^d	750.70±21.40 ^{de}	3.64±0.14 ^{bc}
茯苓醇提取物高剂量组	100.8	26.31±0.48 ^{bc}	793.20±12.30 ^c	3.68±0.10 ^{bcd}
茯苓醇提取物低剂量组	50.4	23.07±1.15 ^{de}	730.90±7.50 ^{ef}	3.86±0.15 ^{cde}
茯苓多糖高剂量组	15.6	24.85±0.98 ^c	756.60±7.20 ^d	3.93±0.13 ^{def}
茯苓多糖低剂量组	7.8	22.06±0.54 ^e	710.50±8.60 ^e	4.16±0.09 ^{ef}

3 结论

本研究结果显示,茯苓不同溶剂提取物对小鼠正常生长无影响;且能不同程度地改善小鼠睡眠情况,

以水提取物高剂量组效果最佳,而醇提取物低剂量组和多糖低剂量组对小鼠睡眠潜伏期的影响不明显。本实验结合以上两个实验结果表明,茯苓不同溶剂提取物改善睡眠作用效果的不同与其所含主要成分不同有关。现代化学分析表明,茯苓水提取物中包含茯苓多糖和茯苓酸,茯苓醇提取物主要成分为茯苓三萜,且茯苓酸属于茯苓三萜类物质^[8,30]。上述实验表明,水提取物高剂量组改善小鼠睡眠作用的最佳效果可能与水提取物所含有的茯苓酸和多糖的协同作用有关。

2.6 茯苓不同溶剂提取物对小鼠脑组织中

5-HT、GABA、DA 含量的影响

研究发现,安神类中药起镇静催眠作用机制与睡眠相关的神经递质和睡眠因子有密切关系^[6]。GABA 是一种抑制性神经递质,它的镇静催眠作用主要是通过其与 GABA 受体 ($GABA_A$) 特异性结合而实现的^[31]。5-HT 是参与睡眠调节作用重要的单胺类神经递质,脑内 5-HT 含量减少会导致动物失眠。DA 是一种与睡眠调节相关的代谢产物,研究发现,动物脑内 DA 神经元兴奋会导致警觉性增加、睡眠减少^[32]。因此,脑组织中 GABA、5-HT 与 DA 含量的变化能一定程度上反映小鼠睡眠质量。由表 6 可知,阳性组小鼠脑组织中 5-HT、GABA 含量最高 ($p<0.01$),DA 含量最低 ($p<0.01$);与空白对照组相比,水提取物高剂量和低剂量组、醇提取物高剂量组和多糖高剂量组小鼠脑组织中 5-HT、GABA 含量表现出不同程度增加,DA 含量不同程度降低 ($p<0.05$)。其中水提取物高剂量组对小鼠脑组织的 5-HT、GABA、DA 含量影响最为显著 ($p<0.05$)。

增加小鼠睡眠发生率,延长睡眠时间;升高脑组织中 GABA 与 5-HT 含量、降低 DA 含量。与空白对照组相比,水提取物高剂量组效果最佳,其后是醇提取物高剂量组、多糖高剂量组、水提取物低剂量组、醇提取物低剂

量组 ($p < 0.05$), 而多糖低剂量组效果不明显。茯苓不同溶剂提取物主要成分不同, 因此发挥助睡眠作用效果不同。茯苓水提物助睡眠作用较强, 并且多糖是水提物的主要活性成分, 说明水提物中多糖发挥主要作用, 不过茯苓水提物改善睡眠的作用机理可能与茯苓多糖和茯苓酸的协同作用有关。其作用机制可能是通过调节小鼠脑中的 5-HT、GABA、DA 含量来发挥改善睡眠的作用。但茯苓的使用应统筹考虑醇提物和水提物的合理配比来达到最佳的助睡眠功效, 这需要进一步探索和研究。

参考文献

- [1] Buysse, D J. Insomnia [J]. NIH Public Access, 2013, 309(7): 706-716
- [2] Huafu Wang, Xianjin Qin, Zhihong Gui, et al. The effect of Bailemian on neurotransmitters and gut microbiota in p-chlorophenylalanine induced insomnia mice [J]. Microbial Pathogenesis, 2020, 148: 104474-104479
- [3] Chen Y, Kartsonaki C, Clarke R, et al. Characteristics and correlates of sleep duration, daytime napping, snoring and insomnia symptoms among 0.5 million Chinese men and women [J]. Sleep Medicine, 2017, 44: 67-75
- [4] Vinícius Dokkedal-Silva, Maria Gabriela Menezes Oliveira, José Carlos Fernandes Galduróz, et al. The effect of sleep medications on prospective and retrospective memory: a population-based study [J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2021, 104(10): 110043
- [5] Wright, Angela, Diebold, et al. The effect of melatonin on benzodiazepine discontinuation and sleep quality in adults attempting to discontinue benzodiazepines: a systematic review and meta-analysis [J]. Drugs & Aging, 2015, 32(12): 1009-1018
- [6] SHI Man-man, PIAO Jin-hua, XU Xi-lin, et al. Chinese medicines with sedative-hypnotic effects and their active components [J]. Sleep Medicine Reviews, 2016, 29: 108-118
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 251
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (I) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 251
- [8] 张年, 李兆星, 李娟, 等. 茯苓的化学成分与生物活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(2): 220-233
ZHANG Nian, LI Zhao-xing, LI Juan, et al. Advances in the study of chemical constituents and biological activities of poriacocos [J]. World Science and Technology - Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2019, 21(2): 220-233
- [9] Feng Y L, Lei P, Tian T, et al. Diuretic activity of some fractions of the epidermis of poriacocos [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(3): 1114-1118
- [10] 清·孙星衍. 神农本草经[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2006
Qing· SUN Xing-yan. Shengnong's Herbal Classic [M]. Hohhot: Inner Mongolia People's Press, 2006
- [11] 清·汪昂著. 郑金全整理. 本草备要[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005
Qing· WANG Ang (writed), ZHENG Jin-quan (neatened). Main Points for Materia Medica Usage [M]. Beijing: People's Medical Press, 2005
- [12] José-Luis Ríos. Chemical constituents and pharmacological properties of poriacocos [J]. Planta Medica, 2011, 77(7): 681-691
- [13] 刘飞祥, 林子璇, 张怀亮, 等. 基于网络药理学分析加味归脾汤治疗阴火失眠伴焦虑的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(20): 161-168
LIU Fei-xiang, LIN Zi-xuan, ZHANG Huai-liang, et al. The mechanism of Jiawei Guipi decoction in treating insomnia and anxiety with yin-fire based on network pharmacology [J]. Chinese Journal of Experimental Prescription, 2020, 26(20): 161-168
- [14] 陈锐. 天王补心丸临床应用解析[J]. 中国社区医师, 2011, 27(7): 15
CHEN Rui. Analysis on clinical application of Tianwang Buxin pill [J]. Chinese Community Physicians, 2011, 27(7): 15
- [15] 闫立新. 安神利眠汤治疗失眠症 160 例临床观察[J]. 甘肃中医学院学报, 2004, 21(2): 23
YAN Li-xin. Clinical observation on 160 cases of insomnia treated by Anshen Limian decoction [J]. Journal of Gansu Traditional Chinese Medicine, 2004, 21(2): 23
- [16] 曹智民. 疏肝健脾安神汤治疗不寐 48 例[J]. 陕西中医, 2002, 23(2): 120-121
CAO Zhi-min. Treatment of 48 cases of insomnia with Shugan Jianpi anshen decoction [J]. Shanxi Traditional Chinese Medicine, 2002, 23(2): 120-121
- [17] 田卉. 茯苓多糖通过 TLR4/TRAF6/NF- κ B 信号传导通路发挥免疫调节作用机制的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2019
TIAN Hui. Effects of poriacocos polysaccharide on immune regulation through TLR4/TRAF6/NF- κ B signal transduction

- pathway [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2019
- [18] Zhao J M, Niu X Y, Yu J J, et al. Poria cocos polysaccharides attenuated ox-LDL-induced inflammation and oxidative stress via ERK activated Nrf2/HO-1 signaling pathway and inhibited foam cell formation in VSMCs [J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 80: 106173
- [19] 徐煜彬,徐志立,李明玉,等.茯苓及其化学拆分组分学习记忆及镇静催眠的性味药理学研究[J].*中草药*,2014,45(11): 1577-1584
- XU Yu-bin, XU Zhi-li, LI Ming-yu, et al. Study on the pharmacology of the sexual taste of poriacocos and its chemical split components: learning memory and sedation and hypnosis [J]. *Chinese Herbal Medicine*, 2014, 45(11): 1577-1584
- [20] Shah, Vikash Kumar, Woo Jae Hoon, et al. Poria cocos ethanol extract and its active constituent, pachymic acid, modulate sleep architectures via activation of GABAA-ergic transmission in rats [J]. *Journal of Biomedical and Translational Research*, 2015, 16(3): 84-92
- [21] 游秋云,王平.茯苓、茯神水煎液对小鼠镇静催眠作用的比较研究[J].*湖北中医药大学学报*,2013,15(2):15-17
- YOU Qiu-yun, WANG Ping. A comparative study on the sedative and hypnotic effects of poriacocos and fushen decoction on mice [J]. *Journal of Hubei University of Chinese Medicine*, 2013, 15(2): 15-17
- [22] 王超群.灵芝三萜和灵芝多糖对小鼠急性肺损伤干预作用的比较研究[D].合肥:合肥工业大学,2018
- WANG Chao-qun. A comparative study on the effects of triterpenes of *Ganoderma lucidum* and polysaccharide of *Ganoderma lucidum* on acute lung injury in mice [D]. Hefei: HeFei University of Technology, 2018
- [23] Guo X Y, Han J, Ye M, et al. Identification of major compounds in rat bile after oral administration of total triterpenoids of *Ganoderma lucidum* by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2012, 63(7): 29-39
- [24] Li F, Cui S H, Zha X Q, et al. Structure and bioactivity of a polysaccharide extracted from protocorm-like bodies of *Dendrobium huoshanense* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 664-672
- [25] Wu C, Huang Y H, Lai X F, et al. Study on quality components and sleep-promoting effect of GABA Maoyecha tea [J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 7: 180-190
- [26] 欧慧瑜,吕道俊,李瑞鹏,等.巴戟天和天麻复合物改善睡眠作用的研究[J].*食品安全质量检测学报*,2020,11(10):3199-3202
- OU Hui-yu, LYU Dao-jun, LI Rui-peng, et al. Effects of *Morinda officinalis* and *gastrodiaelata* complex on sleep improvement [J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2020, 11(10): 3199-3202
- [27] Shah Vikash Kumar, Choi Jae Joon, Han J Y, et al. Pachymic acid enhances pentobarbital-Induced sleeping behaviors via GABAA-ergic systems in mice [J]. *Biomolecules & Therapeutics*, 2014, 22(4): 314-20
- [28] 赵天国.茯苓多糖对小鼠镇静、催眠作用的研究[J].*畜牧与饲料科学*,2017,38(4):73-74
- ZHAO Tian-guo. Study on sedative and hypnotic effects of poriacocos polysaccharide on mice [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2017, 38(4): 73-74
- [29] 李明玉,徐煜彬,徐志立,等.茯苓改善学习记忆及镇静催眠作用研究[J].*辽宁中医药大学学报*,2014,16(5):25-26
- LI Ming-yu, XU Yu-bin, XU Zhi-li, et al. Study on the effects of poriacocos on learning memory and sedation and hypnosis [J]. *Journal of Liaoning University of Chinese Medicine*, 2014, 16(5): 25-26
- [30] Huang Y J, Hsu N Y, lu K H, et al. Poria cocos water extract ameliorates the behavioral deficits induced by unpredictable chronic mild stress in rats by down-regulating inflammation [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 258(10): 112566
- [31] A N L, B J L, A M W, et al. Sedative and hypnotic effects of schisandrin B through increasing GABA/Glu ratio and upregulating the expression of GABA A in mice and rats [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 103: 509-516
- [32] 张飞燕.中药新药欣梦颗粒镇静催眠作用及其机制研究[D].重庆:西南大学,2017
- ZHANG Fei-yan. Study on sedative and hypnotic effect of xinmeng granule and its mechanism [D]. ChongQing: Southwest University, 2017