

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

黄远英^{1,2*}, 袁根良¹

(1. 汤臣倍健股份有限公司, 广州 510663; 2. 广州奈梵斯健康产品有限公司, 广州 510663)

摘要: **目的** 研究酪蛋白水解物与 γ -氨基丁酸的复配制剂对小鼠改善睡眠功能的作用研究。**方法** 18~22 g 健康雄性小鼠, 按体重随机分组。按照人体推荐剂量的 5 倍、10 倍、30 倍为低、中、高 3 个剂量, 即 0.1、0.2 和 0.6 g/kg bw, 另设对照组。观察睡眠指标。**结果** 3 个剂量组入睡动物数及睡眠时间均为 0, 各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($P>0.05$)。该制剂与对照组比较可延长中、高剂量组小鼠戊巴比妥钠催眠的时间($P<0.05$), 可缩短巴比妥钠催眠的中、高剂量组小鼠的入睡潜伏期, 与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 根据《保健食品检验与评价技术规范》对改善睡眠保健食品的判定依据, 酪蛋白水解物与 γ -氨基丁酸的复配制剂具有一定的改善睡眠作用。

关键词: 酪蛋白水解物; γ -氨基丁酸; 改善睡眠

Study on improvement of sleep function by the compound of casein hydrolysate and γ -aminobutyric acid

HUANG Yuan-Ying^{1,2*}, YUAN Gen-Liang¹

(1. By-Health Co., Ltd., Guangzhou 510663, China; 2. Guangzhou Eleven Fence Co., Ltd., Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: Objective To study the improvement of the sleep function by the compound of casein hydrolysate and γ -aminobutyric acid on mice. **Methods** Healthy male mice with the body weight of 18~22g were divided into different groups randomly. According to the recommended dosage of 5 times, 10 times, 30 times, the mice were divided into low(0.1 g/kg bw), medium (0.2 g/kg bw) and high(0.6 g/kg bw) dose groups, and another control group was set, to observe the sleeping indexes of mice. **Results** The number of sleeping animals and sleep time of the 3 groups were 0, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$) compared with the control group. Compared with the control group, the compound preparation of casein hydrolysate and γ -aminobutyric acid could prolonged the time of the sodium mice with middle and high dose group($P<0.05$) and shorten the latency of sleep in the middle and high dose group of mice ($P<0.05$). **Conclusion** According to the judgment basis on improving the sleep health from "Technical specification for inspection and evaluation of health food", the compound preparation of casein hydrolysate and γ -aminobutyric acid can improve the sleep quality of mice.

KEY WORDS: casein hydrolysate; γ -aminobutyric acid; sleeping quality improvement

*通讯作者: 黄远英, 公共营养师, 主要研究方向为功能食品、药物制剂。E-mail: huangyy@by-health.com

*Corresponding author: HUANG Yuan-Ying, By-Health Co., Ltd., Guangzhou 510663, China. E-mail: huangyy@by-health.com

1 引言

睡眠是人类不可缺少的基本生活方式。睡眠对脑细胞功能具有保护和修复的作用。长期睡眠不足会使脑功能衰退,健康的睡眠有助于抗衰老,充足的睡眠可加强人体的抵抗力和免疫力。调查结果表明,我国约有45.4%的人存在不同程度的失眠。睡眠质量差发生率有随年龄增长而上升的趋势,15%~38%大学生存在睡眠障碍,39.5%中年人睡眠质量差或较差。睡眠不足和睡眠质量不好人群占50%。因此,对睡眠的研究也就显得越加迫切^[1]。

酪蛋白(casein)是一种富含生物活性序列的蛋白质,酪蛋白水解后可释放相关活性肽物质:抑制血管紧张素转换酶 I (angiotensin I -convertin enzyme, ACE)活性的酪蛋白肽,免疫调节活性肽,促进钙吸收的酪蛋白磷酸肽(casein peptide, CPP)等。此外,水解物中还含有丰富的游离氨基酸^[2]。日本一项试验证明,酪蛋白水解物明显提高了接受治疗的受试者睡眠质量指数总分。特别是治疗两周后提高睡眠质量,治疗四周后减少睡眠潜伏期和日间功能障碍^[3]。酪蛋白水解物可以维持慢波睡眠(slow-wave sleep, SWS)的持续时间,甚至治疗大鼠的异相睡眠(paradoxical sleep, PS)持续时间^[4]。

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种非蛋白质组成的天然氨基酸,分布非常广泛,在动物、植物和微生物中均存在。GABA是一种天然存在的功能性氨基酸,具有降低血压、改善脑功能、镇静、增强长期记忆及提高肝、肾机能等生理活性^[5,6]。GABA是一种主要的抑制性神经递质,一直被认为与睡眠有关,促进睡眠作用主要机制:(1)增加GABA受体的亲和力从而加强GABA与识别位点结合;(2)抑制GABA的分解,提高其脑内的含量,增加慢波睡眠时间^[7-9]。日本一项研究证明,摄入GABA可延长入睡后60 min的熟睡时间,改善睡眠质量^[10]。

本研究将酪蛋白水解物、 γ -氨基丁酸按比例进行复配,制得酪蛋白水解物制剂,对小鼠进行改善睡眠功能实验,为开发改善睡眠的功能保健食品提供理论支持。

2 材料与方法

2.1 实验动物

清洁级ICR健康雄性小鼠120只,体重18~22g。

饲料购于上海斯莱克实验动物有限责任公司。

2.2 样品

酪蛋白水解物制剂,由广州奈梵斯健康产品有限公司提供,600mg/片,人体推荐日服用量为2片/d。

2.3 仪器与试剂

秒表(504,北京华运安特科技有限责任公司);电子天平(BS4202S,北京赛多利斯仪器系统有限公司);巴比妥钠(分析纯,德国默克公司(北京华美生物科技技术有限公司分装))。

戊巴比妥钠(分析纯,德国默克公司(北京华美生物科技技术有限公司分装))。

2.4 剂量选择和受试物给予方式

2.4.1 剂量选择

该样品成人日推荐量为1.2 g,即相当于0.02 g/kg bw(成人体重以60 kg计),按照人体推荐剂量的5倍、10倍、30倍为低、中、高3个剂量,即0.1、0.2和0.6 g/kg bw,另设对照组。

2.4.2 受试物给予方式

各组动物每日称重,并按2.0 mL/100 g体重经口灌胃给予不同浓度的受试物及蒸馏水,连续30 d。

2.4.3 受试物配制

每次称取粉碎后的样品2.4 g,加蒸馏水至80 mL搅拌均匀,配成高剂量受试物;量取20 mL高剂量受试物加蒸馏水至60 mL搅拌均匀,配成中剂量组受试物;量取20 mL中剂量组受试物加蒸馏水至40 mL搅拌均匀,配成低剂量组受试物。

2.5 实验方法

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,参考《保健食品检验与评价技术规范》^[11]进行测定。

2.6 实验数据统计

实验数据用SPSS软件进行统计。计量资料用单因素方差分析,经方差齐性检验,方差齐的实验数据采用LSD法进行统计分析,对方差不齐或非正态的实验数据先进行变量转换再进行统计;计数资料用 χ^2 检验。

3 结果与分析

3.1 该样品对小鼠直接睡眠作用观察结果

由表1可知,3个剂量组入睡动物数及睡眠时

间均为 0, 与对照组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。各剂量组小鼠体重差异无显著性; 给予受试物后各组小鼠活动正常, 未观察到直接睡眠作用。

3.2 该产品对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的的影响

由表 2 可知, 该制剂可延长戊巴比妥钠催眠的中、高剂量组小鼠的睡眠时间, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。这与袁根良等^[11]和齐丽娟等^[12]研究天麻对睡眠研究结果类似。

3.3 该产品对戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响

由表 3 可知, 该制剂的各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 ($P>0.05$)。说明给予受试物后各组小鼠无提高阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠发生率作用。

3.4 该产品对巴比妥钠诱导小鼠入睡潜伏期的影响

由表 4 可知, 该制剂可缩短巴比妥钠催眠的中、高剂量组小鼠的入睡潜伏期, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。此研究可说明: 给予受试物后中、高剂量组有缩短巴比妥钠睡眠潜伏期的作用。

表 1 样品对小鼠直接睡眠作用观察结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The effect of the sample on the direct sleep of mice

组别	动物数	初重(g)	末重(g)	入睡动物数	P 值	入睡时间(s)	P 值
对照组	10	19.0±1.1	36.4±1.7	0	/	0	/
低剂量组	10	19.2±1.1	36.6±1.8	0	>0.05	0	>0.05
中剂量组	10	19.1±1.2	37.3±2.4	0	>0.05	0	>0.05
高剂量组	10	19.3±1.2	36.1±1.9	0	>0.05	0	>0.05

表 2 样品对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The Effect of sample on the sleep time of mice induced by sodium

组别	动物数	初重(g)	末重(g)	睡眠时间(s)	P 值
对照组	10	19.0±1.1	36.4±1.7	2044±204	/
低剂量组	10	19.2±1.1	36.6±1.8	2074±183	0.764
中剂量组	10	19.1±1.2	37.3±2.4	2294±213*	0.015
高剂量组	10	19.3±1.2	36.1±1.9	2250±266*	0.043

注: *与对照组相比, $P<0.05$

表 3 样品对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The effect of the sample on the dose of sodium in mice

组别	动物数	初重(g)	末重(g)	入睡动物数	睡眠发生率(%)	P 值
对照组	10	19.5±1.3	36.9±1.9	1	10	/
低剂量组	10	19.4±1.2	36.2±1.8	2	20	0.531
中剂量组	10	19.5±1.3	37.6±2.9	3	30	0.264
高剂量组	10	19.5±1.4	36.5±1.8	1	10	1

表 4 样品对巴比妥钠诱导小鼠入睡潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$)

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

组别	动物数	初重(g)	末重(g)	睡眠潜伏期(s)	P 值
对照组	10	19.4±1.1	36.8±1.9	2222±109	/
低剂量组	10	19.3±1.1	37.4±2.9	2119±112	0.111
中剂量组	10	19.3±1.1	36.5±2.3	2067±168*	0.019
高剂量组	10	19.3±1.3	37.3±2.4	2090±166*	0.045

注: *与对照组相比, $P<0.05$

3.5 该产品对小鼠体重的影响

该制剂各组小鼠的初始体重经方差分析, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 即小鼠的初始体重在各组间较为均衡; 实验结束时, 各剂量组小鼠的末重经统计, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 即该样品对小鼠的体重无影响。具体见表 1~4。

4 小结

经口灌胃给予小鼠不同剂量的酪蛋白水解物制剂 30 d 后, 中剂量组和高剂量组能显著延长戊巴比妥钠催眠小鼠的睡眠时间($P<0.05$), 显著缩短巴比妥钠催眠小鼠的入睡潜伏期($P<0.05$), 所有剂量组都对直接睡眠无明显作用, 且对小鼠体重无不良影响。根据《保健食品检验与评价技术规范》对改善睡眠保健食品的判定依据^[13], 说明该产品具有改善睡眠作用。本研究不仅为酪蛋白水解物与 γ -氨基丁酸复配制剂的研发提供科学依据, 也将为酪蛋白水解物制剂与 γ -氨基丁酸复配制剂改善睡眠机制的进一步研究奠定基础。这将有助于减少镇静催眠类食品及药物的使用, 促进我国居民的生理、精神健康, 在一定程度上减少与睡眠障碍相关的医疗负担^[14]。未来的研究不仅需要现有动物模型进行更详尽的完善, 更多细致的人体临床观察和对失眠机制的探索也会带来更新颖的思路及方向^[15]。

参考文献

- [1] 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.
Xie C, Liu Z, Zhao N, *et al.* γ -aminobutyric acid and sleep wake [J]. Herald Med, 2014, 33(5): 641-644.
- [2] 郑华, 傅伟龙. 酪蛋白水解物对小鼠生长及免疫功能的影响[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(3): 71-74.
Zheng H, Fu WL. Effects of casein hydrolysate on the growth and immune function of mice [J]. J South China Agric Univ, 2000, 21(3): 71-74.
- [3] De Saint-Hilaire Z, Messaoudi M, Desor D, *et al.* Effects of a bovine as1-casein tryptic hydrolysate (CTH) on sleep disorder in Japanese general population [J]. Open Sleep J, 2009, (12)2: 26-32.
- [4] Guesdon B, Messaoudi M, Lefranc-Millot C, *et al.* A tryptic hydrolysate from bovine milk as1-casein improves sleep in rats subjected to chronic mild stress [J]. Peptides, 2006, 27(6): 1476-1482.
- [5] 周小理, 赵琳. γ -氨基丁酸的生理功能及在食品中应用的研究进展[J]. 食品工业, 2011, 12(10): 58-61.
Zhou XL, Zhao L. Physiological function of GABA and its application in food [J]. Food Ind, 2011, 12(10): 58-61.
- [6] 崔晓俊, 江波, 冯翥. 乳酸菌 SK005 发酵产 GABA(γ -氨基丁酸)的条件优化[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(6): 64-69.
Cui XJ, Jiang B, Feng B. Optimization of fermentation conditions for GABA(γ -aminobutyric acid) production by *Lactobacillus* SK005 [J]. Food Res Devel, 2005, 26(6): 64-69.
- [7] 梁恒宇, 邓立康, 林海龙, 等. 新资源食品- γ -氨基丁酸(GABA)的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(15): 119-123.
Liang HY, Deng LK, Lin HL, *et al.* Research progress of new resource food- γ -aminobutyric acid (GABA) [J]. Food Res Devel, 2013, 34(15): 119-123.
- [8] 杨胜远, 陆兆新, 吕凤霞, 等. γ -氨基丁酸的生理功能和研究开发进展[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 546-551.
Yang SY, Lu ZX, Lu FX, *et al.* Research progress on physiological function of γ -aminobutyric acid [J]. Food Sci, 2005, 26(9): 546-551.
- [9] 黄莉莉, 于爽, 李廷利. γ -氨基丁酸受体介导的四逆散改善睡眠作用[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 11-14.
Huang LL, Yu S, Li TL. Roles of γ -aminobutyric acid receptor in the sleep promotion of Sinisan [J]. Pharmacol Clin Chin Materia Med, 2012, 28(6): 11-14.
- [10] 堀江典子, 菅美奈子, 金武祚. GABA(γ -氨基丁酸)的功能性[J]. 中国食品添加剂, 2010, 103(06): 169-173.
Horie N, Suga M, Kim M. Functionality of GABA (γ -aminobutyric acid) [J]. Chin Food Addit, 2010, 103(06): 169-173.
- [11] 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(01): 62-65.
Yuan GL, Jiang L, Yin GL, *et al.* Sleep improvement by *Gastrodiae* rhizome-ziziphi spinosae semen compound capsule [J]. Food Sci Technol, 2014, 39(01): 62-65.
- [12] 齐丽娟, 高珊, 马玲, 等. 天麻改善睡眠功能的实验研究[J]. 首都公共卫生, 2012, 6(2): 66-68.
Qi LJ, Gao S, Ma L, *et al.* An experimental study of the effect of *Gastrodiae* on sleeping [J]. Capit J Public Health, 2012, 6(2): 66-68.
- [13] 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.
Ministry of Health, PRC. Technical specification for inspection and evaluation of health food [Z]. 2003: 177-223.
- [14] 应剑, 孟庆佳, 衣喆, 等. 我国一些影响睡眠的营养素、食品及药食两用植物研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(11): 261-266.
Ying J, Meng QJ, Yi Z, *et al.* Advances in research of sedative

and hypnotic effects of nutrients, foods and medical plants in China [J]. Food Sci, 2015, 36(11): 261–266.

- [15] 肖科金, 周德生. 中药提取物促进睡眠作用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(12): 103–105.

Xiao KJ, Zhou DS. Research on the promoting sleep of the effect of Chinese herb extract [J]. Inform Chin Tradit Med, 2013, 20(12): 103–105.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



黄远英, 公共营养师, 主要研究方向为功能食品、药物制剂。

E-mail: huangyy@by-health.com