

百合水提物对对氯苯丙氨酸失眠模型大鼠 睡眠改善作用研究

张玉林^{1,2}, 李 阳^{1,2*}

(1. 西北大学化工学院, 西安 710069; 2. 西北大学生物医药研究院, 西安 710069)

摘要: **目的** 研究不同剂量的百合水提取物对对氯苯丙氨酸(*p*-chlorophenylalanine, PCPA)失眠模型大鼠睡眠的改善作用。**方法** 大鼠腹腔注射 PCPA 混悬液制备大鼠失眠模型。造模成功大鼠随机分为模型对照组、百合水提物低剂量组[100 mg/(kg·d)]、百合水提物中剂量组[200 mg/(kg·d)]、百合水提物高剂量组[300 mg/(kg·d)], 另设正常对照组。各给药组大鼠连续 7 d 给予相应浓度药液灌胃, 模型对照组和正常对照组连续 7 d 给予生理盐水灌胃。给药期间, 观察大鼠一般状态; 给药结束后, 观察大鼠体质量变化、睡眠潜伏期、总睡眠时间, 同时评价不同脑组织中 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟基吲哚乙酸(5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA)、多巴胺(dopamine, DA)含量的变化。**结果** 百合水提物各剂量组大鼠的一般状态均优于模型对照组, 体质量增加量与正常对照组无显著差异($P>0.05$); 与模型对照组相比, 百合水提物低、中、高各剂量组的睡眠时间显著延长($P<0.05$), 延长率分别为 50.14%、54.02%、60.19%, 且各组大鼠不同脑组织中的 5-HT 含量显著升高($P<0.05$, $P<0.01$); 百合水提物中、高剂量组的睡眠潜伏期显著缩短($P<0.05$), 缩短率分别 36.51%、38.73%, 两个组大鼠不同脑组织中的 5-HIAA 含量显著升高($P<0.05$, $P<0.01$), 下丘脑、中缝核中的 DA 含量显著降低($P<0.05$); 与模型对照组比较, 海马中仅百合水提物高剂量组的 DA 含量显著降低($P<0.05$)。**结论** 百合水提物具有改善 PCPA 失眠模型大鼠睡眠情况的作用。

关键词: 百合水提物; 对氯苯丙氨酸; 失眠模型; 改善睡眠; 大鼠

Effects of water extract of lily on sleep improvement of *p*-chlorophenylalanine insomnia model rats

ZHANG Yu-Lin^{1,2}, LI Yang^{1,2*}

(1. School of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an 710069, China;
2. Biotech. & Biomed. Research Institute, Northwest University, Xi'an 710069, China)

ABSTRACT: Objective To study the effect of different dosage of lily water extract on sleep improvement of *p*-chlorophenylalanine (PCPA) insomnia model rats. **Methods** The insomnia model was prepared by peritoneal injection of PCPA suspension. The rats were randomly divided into model control group, lily water extract low group [100 mg/(kg·d)], lily water extract medium group [200 mg/(kg·d)], lily water extract high group [300 mg/(kg·d)], and normal control group. The rats in each administration group were given the corresponding concentration of liquid

基金项目: 国家自然科学基金项目(22178287)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (22178287)

*通信作者: 李阳, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: liyang2023@nwu.edu.cn

*Corresponding author: LI YANG, Associate Professor, School of Chemical Engineering, Northwest University, No.229, Taibai North Road, Beilin District, Shaanxi, 710069, China. E-mail: liyang2023@nwu.edu.cn

drug intragastric administration for 7 consecutive days, and the model control group and the normal control group were given normal saline intragastric administration for 7 consecutive days. During administration, the general state of rats was observed. After administration, the changes of body mass, sleep latency and total sleep time of rats were observed, and the content of 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), dopamine (DA) in different brain tissues were evaluated. **Results** The general state of lily water extract groups was better than that of model group, and the increase of body mass was not significantly different from that of normal control group ($P>0.05$). Compared with model group, the sleep times of lily water extract in low, medium and high dose groups were significantly extended ($P<0.05$), and the extension rates were 50.14%, 54.02% and 60.19%, respectively, and the content of 5-HT in different brain tissues of rats in all groups was significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$). The sleep latency in the medium and high dose groups of lily water extract was significantly shortened ($P<0.05$), and the shortened rates were 36.51% and 38.73%, respectively, the 5-HIAA content in different brain tissues of rats in two groups was significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$), and the DA content in hypothalamus and raphe nucleus was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the control group, the DA content of lily water extract high-dose group in hippocampus was significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Lily water extract can improve the sleep condition of PCPA insomnia model rats.

KEY WORDS: water extract of lily; *p*-chlorophenylalanine; insomnia model; sleep improvement; rat

0 引言

目前, 人类在睡眠障碍方面出现最多的病症即为失眠症, 该病症是指机体长期在具备睡眠的外在条件下无法正常入睡或者睡眠质量低下, 进而影响患者的日常生活, 表现为易疲劳、浑身没劲、不能很好的集中注意力等现象^[1]。据统计, 截至 2022 年, 我国已有 80% 的国人受到睡眠问题的困扰^[2]。2023 年, 由中国睡眠大数据中心发布的《中国睡眠大数据报告》显示, 中国成年人失眠发生率高达 38.2%, 约有 5.1 亿中国人存在睡眠障碍, 睡眠问题已成社会问题。在世界范围内, 世界卫生组织调查显示, 全球大约有 75% 的人处于亚健康状态, 其中 45% 的人长期受睡眠障碍困扰^[3-4]。据飞利浦 2020 年发布的《敲响警钟: 全球睡眠满意度趋势》显示全球有 51% 的成年人存在睡眠障碍。目前, 失眠症常使用苯二氮卓类镇静催眠类药物, 但这些药物连续使用会出现多种不良反应^[5]。因此, 天然植物来源具有改善睡眠作用的药食同源食品原料的研究^[6-8]越来越受到人们的关注。

对氯苯丙氨酸(*p*-chlorophenylalanine, PCPA)失眠鼠模型是目前学术范围认可度最高的评价原料睡眠功效的动物模型, 也是用来研究 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及其与其他递质比如多巴胺(dopamine, DA)等之间关系的经典动物模型^[9-10]。PCPA 失眠模型大鼠造模的原理如下: PCPA 作为色氨酸羟化酶(tryptophan hydroxylase, TDH)抑制剂, 可通过阻断 5-HT 合成使大鼠脑内神经递质 5-HT 含量显著下降, 致使大鼠昼夜节律消失^[11-13]。

百合是百合科植物卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb)、百合(*Lilium brownii* F.E. Brown var. *viridulum* Baker)或细叶百合(*Lilium pumilum* DC)的干燥肉质鳞叶^[14]。百合富含多糖

类、黄酮类、皂苷类、氨基酸类等多种功效成分^[15], 有多项研究表明, 百合具有镇静催眠的作用, 能够治疗各种类型的失眠症^[16-18]。也有研究发现百合对大鼠体内的 5-HT 调节睡眠通路发挥作用, 能够延长戊巴比妥钠诱导的大鼠睡眠时间, 对大鼠脑内的 DA 和 5-HT 的紊乱具有改善作用^[19-21]。但目前百合在改善睡眠功效方面的研究主要集中在复方组方的探索, 关于百合单独在睡眠作用方面的研究多直接在未造模动物中进行^[21-23], 对于百合在失眠动物模型中的睡眠情况研究未见相关报道, 而失眠模型更接近于日常生活中失眠症患者的实际状态, 同时由于百合在药食同源产品及人们的食用习惯中多为水提方式, 因此本研究选择 PCPA 失眠鼠模型, 以不同剂量的百合水提取物对 PCPA 失眠大鼠模型的改善睡眠作用进行研究, 旨在为百合在具有改善睡眠功能药食同源食品的开发中提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料与动物

百合购自陕西某中药材公司; SPF 级 SD 雄性大鼠购自中国人民解放军第四军医大学动物实验中心, 体重 180~210 g(许可证号 SCXK(陕)2019-001)。动物饲养于屏障级动物房, 温度 20~25℃, 相对湿度 50%~60%, 12 h 照明, 12 h 黑暗交替, 动物自由摄食和饮水。

1.1.2 试剂与仪器

PCPA(批号 SHBG9245V)、戊巴比妥钠(批号 P11011)(美国 Sigma 公司); 5-HT、5-羟基吲哚乙酸(5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA)、DA(批号 20210504、20210509、20210609)(南京建成生物工程研究所)。

DLX-TJ201 型计时器[德力西集团有限公司]; ME104E/02 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.2 试药制备

百合水提物制备方法: 取适量百合干药材, 经简单粗粉后, 以蒸馏水为提取溶剂, 体积为粗粉质量的 10 倍量 ($V:m=10:1$), 采用传统加热回流提取法, 提取 2 次, 每次 2 h, 过滤后合并两次滤液, 经旋转蒸发仪浓缩后, 喷雾干燥(进风温度 140~190°C, 出风温度 75~85°C), 干燥后粉碎过 80 目筛密封保存, 百合水提物的得率为 25%±5%。

1.3 造模与分组

大鼠适应性喂养 3 d, 称量并记录大鼠的体质量, 将动物随机分为正常对照组、造模组, 给予造模组动物腹腔注射 PCPA 的混悬液, 连续注射 2 d, 注射剂量为 300 mg/kg, 正常对照组腹腔注射与 PCPA 同体积的弱碱性 0.9%氯化钠注射液(生理盐水)^[17]。当造模组大鼠出现昼夜节律消失和白天夜晚持续活动表明失眠模型造模成功。

随机将造模成功的大鼠分为 4 组, 每组 10 只, 设为模型对照组、百合水提物低剂量组、百合水提物中剂量组、百合水提物高剂量组。其中, 模型对照组和正常对照组连续 7 d 给予生理盐水灌胃; 百合水提物低剂量组[100 mg/(kg·d), 折合人体生药用量为 4 g/d]、百合水提物中剂量组[200 mg/(kg·d), 折合人体生药用量为 8 g/d]、百合水提物高剂量组[300 mg/(kg·d), 折合人体生药用量为 12 g/d]的各组大鼠连续 7 d 分别给予相应药液灌胃。

1.4 观察指标

1.4.1 一般状态

动物给药期间, 每天对各组大鼠的一般情况(整体精神状态、皮毛颜色、对外界的反应、摄食量、饮水量、有无死亡等)进行观察并记录。在给药前和试验结束后分别称定并记录各组动物的体质量, 分析各组动物体质量的增加情况。

1.4.2 延长戊巴比妥钠睡眠时间、睡眠潜伏期试验

末次灌胃受试样品 30 min 后, 各组动物均腹腔注射剂量为 50 mg/kg 的戊巴比妥钠(该剂量由预试验引起 100.00%大鼠睡眠的最小阈剂量测得), 以翻正反射消失为依据, 观察并记录各组大鼠的睡眠潜伏期及睡眠持续时间。

1.4.3 脑组织 5-HT、5-HIAA、DA 含量测定

完成 1.4.2 中的试验后, 将各组大鼠禁食 12 h 以上, 处死各组大鼠, 取出脑组织并分离得到下丘脑、海马及脑干, 然后从脑干中切取中缝核, 用生理盐水冲洗下丘脑、海马及中缝核后分别称量质量并记录, 按照质量加入 10%的生理盐水, 用匀浆器制备匀浆, 离心(4°C, 8000 r/min, 10 min)后取上清液, 严格按照各试剂盒的操作步骤进行各脑组织样本的 5-HT、5-HIAA、DA 含量检测。

1.5 统计与分析

用 SPSS 21.0 软件进行数据转化和统计分析, $P<0.05$ 判定具有统计学差异。先对数据进行方差齐性检验, 若方差齐, 采用单因素方差分析进行总体比较, 发现差异再用 Dunnett 法进行多个剂量组与一个对照组均数间的两两比较。若方差不齐, 则对原始数据进行适当的变量转换, 满足方差齐性检验后, 用转换后的数据进行统计; 若变量转换后仍未达到方差齐的目的, 改用秩和检验进行统计, 发现总体比较有差异, 则采用不要求方差齐性的 Tamhane's T2 检验进行两两比较。

2 结果与分析

2.1 各组动物的一般状态统计

在整个试验期间, 正常对照组的大鼠整体精神状态良好, 反应灵敏, 行动自如, 毛发顺滑有光泽, 体质量明显增加; 而模型对照组的大鼠则明显处于精神异常状态, 反应迟缓, 精神不振, 毛发粗糙无光泽且竖毛现象明显, 容易被激怒, 整体饮水量及摄水量均有所减少, 动物整体偏消瘦, 分析原因是 PCPA 造模后大鼠脑内与 TDH 相关的 5-HT 神经递质含量下降, 导致大鼠的昼夜节律消失, 进而出现上述现象; 试验期间各给药组大鼠的整体精神状态、活动及反应情况不如正常对照组大鼠, 但均好于模型对照组大鼠, 推测百合水提物能够改善 PCPA 造模后大鼠的失眠症状, 进而改善造模大鼠的整体不良状态。另外, 在注射戊巴比妥钠试验后, 有个别组的动物出现死亡或者翻正反射未消失, 其中正常对照组 1 只大鼠翻正反射未消失, 模型对照组 1 只大鼠死亡, 百合水提物高剂量组 1 只大鼠翻正反射未消失。以上动物均不计入结果统计。

2.2 各组动物的体质量增加量统计

由表 1 可知, 模型对照组大鼠的体质量增加量低于正常对照组, 具有统计学差异($P<0.05$), 其余各组大鼠的体质量增加量与正常对照组相比无统计学意义。与模型对照组相比, 各给药组的体质量增加量均高于模型对照组, 其

表 1 各组大鼠试验结束时体质量增加情况统计

Table 1 Body mass of each group was increased statistically at the end of the experiment

组别	动物数/只	体质量增加量/g
正常对照组	9	65.25±8.47
模型对照组	9	32.44±6.98 [*]
百合水提物低剂量组	10	52.33±12.55
百合水提物中剂量组	10	54.57±14.31
百合水提物高剂量组	9	58.18±12.89 [#]

注: 与正常对照组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$; 与模型对照组比较, [#] $P<0.05$, ^{###} $P<0.01$, 下同。

中, 百合水提取物高剂量组的体质量增加量高于模型对照组, 具有统计学差异($P < 0.05$)。说明百合水提取物能够在一定程度改善由 PCPA 造模引起的动物体质量消瘦、摄食量减少的问题, 结合 PCPA 造模的机制, 推测与百合水提取物改善了大鼠睡眠质量有关。

2.3 百合水提取物对 PCPA 失眠模型大鼠睡眠潜伏期、总睡眠时间的影响

由表 2 结果可知, 与正常对照组比较, 模型对照组的睡眠潜伏期显著延长($P < 0.01$), 进一步提示 PCPA 失眠模型造模成功。与模型对照组比较, 百合水提取物各剂量组的睡眠潜伏期均缩短, 其中百合水提取物中、高剂量组有显著缩短($P < 0.05$), 缩短率分别 36.51%、38.73%, 百合水提取物低剂量组的睡眠潜伏期与模型对照组比有所缩短(缩短率 26.81%), 但无统计学差异; 而百合水提取物各剂量组的睡眠潜伏期与正常对照组无统计学差异($P > 0.05$)。在睡眠时间方面, 与模型对照组比较, 百合水提取物各剂量组的睡眠时间均显著延长($P < 0.05$); 与正常对照组比较, 模型对照组的睡眠时间显著缩短($P < 0.05$), 而百合水提取物各剂量组的睡眠时间与正常对照组无显著差异($P > 0.05$)。说明百合水提取物能够明显缩短 PCPA 失眠模型大鼠的睡眠潜伏期, 同时延长 PCPA 失眠模型大鼠的睡眠时间, 能够发挥改善睡眠的作用, 这与康心茹等^[23]在百合水提取物(人体每日服用量分别为 3.125 g/d、6.250 g/d)对小鼠睡眠的影响研究的结论一致, 但本研究百合水提取物的用量高剂量组生药量折合人体每日用量达 12 g/d, 提高百合水提取物的剂量后模型动物的睡眠潜伏期缩短率、睡眠时间的延长率均优于文献报道。

2.4 百合水提取物对 PCPA 失眠模型大鼠下丘脑中 5-HT、5-HIAA、DA 含量的影响

由表 3 可知, 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠下丘脑中 5-HT、5-HIAA 含量显著降低($P < 0.01$), DA 含量显著升高($P < 0.05$), 从神经递质的含量方面提示 PCPA 的失眠模型造模成功, 百合水提取物低剂量组大鼠下丘脑中 5-HT、5-HIAA、DA 含量及百合水提取物中剂量组大鼠下丘脑中的 5-HIAA 含量与模型对照组对比有所改善, 但仍无法恢复到正常对照组水平($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其余百合水提取物各剂量组大鼠下丘脑中的 3 种神经递质含量则与正常对照组无统计学差异($P > 0.05$), 说明百合水提取物各剂量组均能调节大鼠下丘脑中的 5-HT、5-HIAA、DA 含量, 且大于百合水提取物中剂量组[200 mg/(kg·d), 折合人体生药用量为 8 g/d]的用量时大鼠下丘脑中上述神经递质含量水平与正常对照组无显著差异。与模型对照组比较, 各给药组大鼠下丘脑中 5-HT 含量显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$), 百合水提取物中、高剂量组的 5-HIAA 含量显著升高($P < 0.05$), 同时上述两个给药组的 DA 含量显著降低($P < 0.05$)。说明百合水提取物能够通过上调 PCPA 失眠模型大鼠下丘脑中的 5-HT 含量进而影响其代谢产物 5-HIAA 的含量, 同时抑制下丘脑中的 DA 含量, 进而发挥改善睡眠的作用, 这与梁曹雯等^[11]在酸枣仁百合睡眠肽复合物改善失眠模型大鼠下丘脑中神经递质变化的研究结果一致, 但 PCPA 模型造模的原理是 PCPA 会对大鼠脑内 5-HT 相关的神经递质产生影响, 本研究中大鼠下丘脑内的 DA 含量也出现了变化, 分析原因可能是 PCPA 对 5-HT 含量产生

表 2 各组大鼠给药结束后戊巴比妥钠翻正试验结果比较

Table 2 Comparison of the results of pentobarbital sodium correction test in each group after administration

组别	动物数/只	睡眠潜伏期	缩短率/%	睡眠时间	延长率/%
正常对照组	9	142.5±28.4	—	6231.2±756.8	—
模型对照组	9	234.2±38.8**	—	4235.8±508.4*	—
百合水提取物低剂量组	10	171.4±30.2	26.81%	6359.8±694.1#	50.14%
百合水提取物中剂量组	10	148.7±33.8#	36.51%	6523.9±651.4#	54.02%
百合水提取物高剂量组	9	143.5±36.7#	38.73%	6785.4±704.3#	60.19%

注: —表述无此项。

表 3 各组大鼠下丘脑中 5-HT、5-HIAA、DA 的含量(μg/L)

Table 3 Content of 5-HT, 5-HIAA and DA in hypothalamus of rats in each group (μg/L)

组别	动物数/只	5-HT	5-HIAA	DA
正常对照组	9	41.32±8.32	19.33±5.22	1.75±0.28
模型对照组	9	15.40±4.23**	9.45±1.47**	2.54±0.41*
百合水提取物低剂量组	10	20.38±4.82***	11.24±2.56*	1.91±0.22*
百合水提取物中剂量组	10	25.81±5.13#	12.52±2.84##	1.83±0.14#
百合水提取物高剂量组	9	32.47±5.89##	15.87±3.01#	1.81±0.19#

影响导致大鼠节律变化进而影响了另一神经递质 DA 的变化,也有可能是 PCPA 进行造模时不但对 5-HT 通路产生抑制,同时也对 DA 通路上的某些物质产生影响,这些有待后续的进一步研究和探索。

2.5 百合水提取物对 PCPA 失眠模型大鼠海马中 5-HT、5-HIAA、DA 含量的影响

由表 4 可知,与正常对照组比较,模型对照组大鼠海马中 5-HT、5-HIAA 含量显著降低($P<0.01$),DA 含量显著升高($P<0.05$),进一步说明 PCPA 的失眠模型造模成功,百合水提取物低剂量组大鼠海马中 5-HT、5-HIAA、DA 含量及百合水提取物中剂量组大鼠海马中的 DA 含量与模型对照组对比有所改善,但仍无法恢复到正常对照组水平($P<0.05$),其余百合水提取物各剂量组大鼠海马中的 3 种神经递质含量则与正常对照组无统计学差异($P>0.05$),说明百合水提取物各剂量组均能调节大鼠海马中的 5-HT、5-HIAA、DA 含量,且大于百合水提取物中剂量组[200 mg/(kg·d),折合人体生药用量为 8 g/d]的用量时大鼠下丘脑中上述神经递质含量水平与正常对照组无显著差异。与模型对照组比较,各给药组大鼠海马中 5-HT 含量显著升高($P<0.05$, $P<0.01$),百合水提取物中、高剂量组的 5-HIAA 含量显著升高($P<0.01$),百合水提取物高剂量组的 DA 含量显著降低($P<0.05$),低、中剂量组的 DA 含量与模型对照组相比虽有所降低,但未出现统计学差异,说明百合水提取物能够通过上调 PCPA 失眠模型大鼠海马中的 5-HT 含量进而影响其代谢产物 5-HIAA 的含量,同时抑制下丘脑中的

DA 含量,进而发挥改善睡眠的作用,这与郑竹宏等^[24]关于百合地黄汤对失眠模型大鼠海马中神经递质的研究结果相一致,结合本研究的结果推测百合地黄汤中改善睡眠主要的功效成分是百合原料,可为后续研究者的研发探索提供方向。

2.6 百合水提取物对 PCPA 失眠模型大鼠中缝核中 5-HT、5-HIAA、DA 含量的影响

由表 5 可知,与正常对照组比较,模型对照组大鼠中缝核中 5-HT、5-HIAA 含量显著降低($P<0.01$),DA 含量显著升高($P<0.05$),进一步说明 PCPA 的失眠模型造模成功,百合水提取物低剂量组大鼠中缝核中 5-HT、5-HIAA、DA 含量与模型对照组对比有所改善,但仍无法恢复到正常对照组水平($P<0.05$, $P<0.01$),其余百合水提取物各剂量组大鼠中缝核中的 3 种神经递质含量则与正常对照组无统计学差异($P>0.05$),说明百合水提取物各剂量组均能调节大鼠中缝核中的 5-HT、5-HIAA、DA 含量,且大于百合水提取物低剂量组[100 mg/(kg·d),折合人体生药用量为 8 g/d]的用量时大鼠中缝核中上述神经递质含量水平与正常对照组无显著差异。与模型对照组比较,各给药组大鼠中缝核中 5-HT 含量显著升高($P<0.05$, $P<0.01$);百合水提取物中、高剂量组的 5-HIAA 含量显著升高($P<0.05$),DA 含量显著降低($P<0.05$)。说明百合水提取物说明能够通过上调 PCPA 失眠模型大鼠中缝核中的 5-HT 含量进而影响其代谢产物 5-HIAA 的含量,同时抑制中缝核中的 DA 含量,进而发挥镇静催眠的作用。

表 4 各组大鼠海马中 5-HT、5-HIAA、DA 的含量(ng/mL)
Table 4 Content of 5-HT, 5-HIAA and DA in hippocampus of rats in each group (ng/mL)

组别	动物数/只	5-HT	5-HIAA	DA
正常对照组	9	521.36±65.22	135.29±28.50	215.33±34.29
模型对照组	9	284.52±37.21**	87.44±18.41**	235.44±40.12*
百合水提取物低剂量组	10	375.31±52.41**	108.69±15.44*	226.54±35.44*
百合水提取物中剂量组	10	450.11±56.36#	148.57±24.52###	224.30±27.51*
百合水提取物高剂量组	9	502.48±72.33###	164.22±31.26###	219.58±25.44#

表 5 各组大鼠中缝核中 5-HT、5-HIAA、DA 的含量(ng/mL)
Table 5 Content of 5-HT, 5-HIAA and DA in raphe nucleus of rats in each group (ng/mL)

组别	动物数/只	5-HT	5-HIAA	DA
正常对照组	9	675.24±99.63	215.44±35.22	84.33±19.51
模型对照组	9	367.54±84.21**	102.20±19.68**	115.39±14.36*
百合水提取物低剂量组	10	408.22±59.63**	125.48±15.43**	108.21±20.54*
百合水提取物中剂量组	10	435.87±67.36#	186.35±26.77#	98.56±14.87#
百合水提取物高剂量组	9	456.52±53.61###	191.26±22.50#	95.33±18.74#

3 讨论与结论

研究发现, 睡眠与中枢神经系统的众多神经网络及神经递质有密切关系, 而单胺类神经递质则经常作为治疗失眠研究的切入方向, 其在睡眠的神经调节中至关重要^[25-26]。在大鼠的下丘脑、海马及中缝核中均含有与睡眠密切相关的单胺类神经递质^[27], 研究显示脑干是调节睡眠觉醒的主要结构, 脑干中 5-HT 能神经元位于中缝核群及其周围, 向皮质、下丘脑、边缘前脑及海马区广泛投射, 能将机体产生的一些疲劳信息在脑内放大并传递使产生疲劳感和睡意, 因此研究大鼠不同大脑组织中的各神经递质的变化能够更全面的反馈大鼠睡眠情况的变化, 有助于后期探索改善睡眠的机制。5-HT 是参与睡眠调节作用重要的单胺类神经递质, 属于吲哚衍生物, 在人体中广泛存在, 脑内 5-HT 含量减少会导致机体失眠^[28-30], 5-HIAA 是 5-HT 的代谢产物, 5-HT 与单胺氧化酶相互作用转化为 5-HIAA, 因此大脑中 5-HIAA 含量的水平反应了单胺类神经递质在大脑中的转换能力, 也有研究表明 5-HIAA 在大脑中的水平与昼夜节律相关^[31-33]。DA 是觉醒类神经递质, 对人体的情绪及睡眠调节有着重要的作用, 当 DA 含量过多过少时都会导致睡眠问题的发生^[34]。

本研究以 PCPA 失眠模型大鼠为研究对象, 给予不同剂量的百合水提物, 观察给药后大鼠的睡眠改善情况。结果表明, 百合水提物低、中、高剂量组均能缩短失眠模型大鼠的睡眠潜伏期, 并延长各剂量组大鼠的睡眠时间, 对 PCPA 失眠模型大鼠不同脑组织中的神经递质 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量具有上调作用, 同时能够减少引发失眠的兴奋递质 DA 的含量, 表明百合水提物能够改善 PCPA 失眠模型大鼠的睡眠状况。本研究选择大鼠腹腔注射 PCPA 构造失眠模型, 在实际应用中更符合睡眠障碍患者的实际状态, 同时明确了不同百合水提物用量及对应人体每日生药用量的剂量, 能够指导实际产品的研究开发, 但本研究仅对百合水提物进行了研究, 后期还可以对百合醇提取物及不同提取方式提取物中不同功效成分在 PCPA 失眠模型上的改善睡眠作用进行探索。同时, 本研究仅探究了百合水提物对 PCPA 失眠模型大鼠不同脑组织中 5-HT 和 DA 两种神经递质的影响, 今后的研究方向可以对其他的神经递质比如 γ -氨基丁酸、去甲肾上腺素等进行更深入研究, 为百合及其制品更好地应用于功能食品中提供理论依据。

参考文献

- [1] 李薇, 柯金菊, 蔡浩斌, 等. 临床状态医学理念指导下中西医结合治疗失眠障碍的临床研究[J]. 广州中医药大学学报, 2021, 38(12): 2559-2565.
- LI W, KE JJ, CAI HB, et al. Clinical study of integrated Chinese and western medicine in the treatment of insomnia disorder under the guidance

- of clinical state medicine philosophy [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med, 2021, 38(12): 2559-2565.
- [2] 2022 年睡眠拯救计划: 国民深睡运动白皮书[Z]. 2022. Sleep save plan 2022: White paper on the national deep sleep campaign [Z]. 2022.
- [3] SALARI N, HASHEMINEZHAD R, HOSSEINI ANFAR A, et al. Global prevalence of sleep disorders during menopause: A meta-analysis [J]. Sleep Breath, 2023, (9): 1-15.
- [4] DOPHEIDE JA. Insomnia overview: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and monitoring, and nonpharmacologic therapy [J]. Am J Manag Care, 2020, 26: S76-S84.
- [5] 陈贵英, 李瑞鹏, 郭秋平. 刺五加酸枣仁天麻胶囊对小鼠睡眠的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(2): 365-368. CHEN GY, LI RP, GUO QP. Effect of *Acanthopanax senticosus*, *Semen ziziphi spinosae* and *Gastrodia elata* capsule on the sleep of mice [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(2): 365-368.
- [6] 王红坤, 颜岳衡, 何金铭, 等. 东北刺人参总皂苷提取工艺的优化及睡眠-觉醒节律调节作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(5): 283-291. WANG HQ, YAN YH, HE JM, et al. Optimization of extraction process of total saponins from *Oplopanax elatus* Nakai. and its sleep-wake rhythm regulation [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(5): 283-291.
- [7] 张光耀, 朱颖, 杨宜婷, 等. 铁皮石斛提取物对小鼠慢性束缚结合睡眠剥夺模型免疫功能的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 3997-4006. ZHANG GY, ZHU Y, YANG YT, et al. Effects of dendrobium officinale extract on immune function of chronic restraint combined with sleep deprivation model in mice [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(12): 3997-4006.
- [8] 张梓萱, 申旻, 朱晨辉. 西洋参水提物改善睡眠功能的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(11): 3494-3498. ZHANG ZX, SHEN Y, ZHU CH. Studying on improving sleep function of water extract of *Panax quinquefolium* [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(11): 3494-3498.
- [9] 肖成荣, 马增春, 李海静, 等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制[J]. 毒理学杂志, 2007, (4): 326. XIAO CR, MA ZC, LI HJ, et al. Production and mechanism of PCPA insomnia rat model [J]. J Toxicol, 2007, (4): 326.
- [10] JAYAKAR SS, ZHOU X, CHIARA DC, et al. Multiple propofol-binding sites in a γ -aminobutyric acid type areceptor (GABAAR) identified using a photoreactive propofol analog [J]. J Biol Chem, 2014, 289: 27456-27468.
- [11] 梁曹雯, 曹庸, 李俊, 等. 酸枣仁百合睡眠肽复合物改善失眠模型大鼠的睡眠[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 1-7. LAING CW, CAO Y, LI J, et al. Milk-derived sleep-inducing peptides with extracts of *Semen ziziphi spinosae* and *Bulbus lili* improve sleep in rat models of insomnia [J]. Mod Food Sci Technol, 2021, 37(9): 1-7.
- [12] 王宏斌, 杨如意, 曹昌霞, 等. 艾灸结合黄连阿胶汤对 PCPA 致失眠大鼠神经递质 5-HT、5-HIAA、NE、IL-6 水平的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(7): 1623-1626. WANG HB, YANG RY, CAO CX, et al. Effects of moxibustion combined with Huanglian Ejiao Decoction on levels of neurotransmitters 5-HT, 5-HIAA, NE and IL-6 in PCPA induced insomnia rats [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2022, 33(7): 1623-1626.
- [13] 李悦, 王慧, 姚欣雨, 等. 酸枣仁汤对 PCPA 失眠大鼠焦虑样行为的影响[J]. 中成药, 2023, 45(6): 1816-1822. LI Y, WANG H, YAO JY, et al. Effects of suanzaoren decoction on

- anxiety-like behavior of rats with PCPA-induced insomnia [J]. *Chin Tradit Patent Med*, 2023, 45(6): 1816–1822.
- [14] 刘鹏, 林志健, 张冰. 百合的化学成分及药理作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, (23): 201–211.
LIU P, LIN ZJ, ZHANG B. Research progress on chemical constituents and pharmacological effect of *Lilii bulbosus* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formul*, 2017, (23): 201–211.
- [15] 林伊莉, 陈丹, 曾华平, 等. 百合化学成分分析[J]. *福建中医药*, 2015, 46(5): 33–35.
LIN YL, CHEN D, ZENG HP, *et al.* Chemical composition analysis of lily [J]. *Fujian Tradit Chin Med*, 2015, 46(5): 33–35.
- [16] 朱巴昊, 谢鸣. 百合地黄汤药理作用研究进展[J]. *广州中医药大学学报*, 2022, 39(3): 719–726.
ZHU SM, XIE M. Progress in pharmacological research of Baihe Dihuang decoction [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2022, 39(3): 719–726.
- [17] 吴红梅, 于白莉. 百合地黄汤治疗围绝经期失眠的经验总结[J]. *内蒙古中医药*, 2021, 40(11): 84–85.
WU HM, YU BL. Experience of Baihe Dihuang decoction in the treatment of perimenopausal insomnia [J]. *Inner Mongolia J Tradit Chin Med*, 2021, 40(11): 84–85.
- [18] 李海龙, 高淑怡, 高英, 等. 百合知母皂苷镇静催眠的药效学研究[J]. *北方药学*, 2012, 9(10): 34–35.
LI HL, GAO SY, GAO Y, *et al.* Pharmacodynamic study on sedative hypnosis of total saponins of lily seed [J]. *Northern Pharm*, 2012, 9(10): 34–35.
- [19] 郭秋平, 高英, 李卫民. 百合有效部位对抑郁症模型大鼠脑内单胺类神经递质的影响[J]. *中成药*, 2009, 31(11): 1669–1672.
GUO QP, GAO Y, LI WM. Effect of effective parts of lily on monoamine neurotransmitters in the brain of rats with depression [J]. *Chin Tradit Patent Med*, 2009, 31(11): 1669–1672.
- [20] 郭秋平, 高英, 李卫民. 百合皂苷对抑郁模型大鼠 HPA 轴的影响[J]. *中国药理学通报*, 2010, 5: 699–670.
GUO QP, GAO Y, LI WM. Influence of the lily saponins on HPA axis of the depression model rats [J]. *Chin Pharm Bull*, 2010, 5: 699–670.
- [21] 胡超群, 徐德平. 百合助眠活性组分的筛选和分析[J]. *食品与生物技术学报*, 2017, 36(10): 1096–1100.
HU CQ, XU DP. Screening and analyzing of the hypnotic active ingredients of *Lilium lancifolium* Thunb [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2017, 36(10): 1096–1100.
- [22] SI Y, WANG L, LAN J, *et al.* *Lilium davidii* extract alleviates pchlorophenylalanine-induced insomnia in rats through modification of the hypothalamic-related neurotransmitters, melatonin and homeostasis of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 915.
- [23] 康心茹, 刘立科, 傅容湛. 百合水提物和乙醇提取物对小鼠睡眠的影响[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(6): 51–56.
KANG XR, LIU LK, FU RZ. Effects of water extract and ethanol extract of lily on sleep in mice [J]. *Food Res Dev*, 2023, 44(6): 51–56.
- [24] 郑竹宏, 赵仁云, 丁玉婷, 等. 百合地黄汤对失眠模型大鼠行为学及不同脑区单胺类神经递质的影响[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(3): 529–534.
ZHENG ZH, ZHAO RY, DING YT, *et al.* Effects of baihe dihuang decoction on ethology and monoamine neurotransmitter in different brain regions of insomnia model rats [J]. *World Sci Technol-Mod Tradit Chin Med*, 2019, 21(3): 529–534.
- [25] 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 HY, CHEN FL, LIN ZM, *et al.* Effect of Huanglian Ejiao Decoction on hypnotic effect and neurotransmitter induced by pentobarbital sodium in mice [J]. *Guangdong Med J*, 2016, 37(21): 3165–3168.
- [26] BORBELY AA, NEUHAUS HU, TOBLER I. Effect of p-chlorophenylalanine and tryptophan on sleep, EEG and motor activity in the rat [J]. *Behav Brain Res*, 1981, 2(1): 1–22.
- [27] 徐福平, 黄鹏, 原嘉民, 等. 舒心安神膏对睡眠剥夺大鼠脑组织中单胺类神经递质含量的影响[J]. *广东医学*, 2015, 36(6): 828–831.
XU FP, HUANG L, YUAN JM, *et al.* Effect of Shuxin Anshen Ointment on the content of monoamine neurotransmitters in brain tissue of sleep deprived rats [J]. *Guangdong Med J*, 2015, 36(6): 828–831.
- [28] OH DR, KIM Y, JO A, *et al.* Sedative and hypnotic effects of *Vaccinium bracteatum* Thunb. through the regulation of serotonergic and GABA_A-ergic systems: Involvement of 5-HT_{1A} receptor agonistic activity [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2218.
- [29] 石皓月, 鲁艺, 李钰昕, 等. 中药治疗对氯苯丙氨酸失眠模型大鼠影响的基础研究进展[J]. *中国医药导报*, 2018, 15(11): 33–36.
SHI HY, LU Y, LI YX, *et al.* Research progress of treatment with Chinese medicine for insomnia rats induced by PCPA [J]. *China Med Herald*, 2018, 15(11): 33–36.
- [30] 吴雪芬, 郑雪娜, 郭鑫, 等. 针刺对失眠大鼠 5-HT 及其受体、HPA 轴相关激素影响的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(1): 127–129.
WU XF, ZHENG XN, GUO X, *et al.* Effects of acupuncture treatment on 5-HT, its receptors and hpa-related hormones in rats with insomnia [J]. *Chin Archiv Tradit Chin Med*, 2018, 36(1): 127–129.
- [31] LENCHNER JR, SANTOS C. *Biochemistry, 5-hydroxyindoleacetic acid M*. In: *Stat pearls* [M]. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing, 2021.
- [32] BARATEAU L, JAUSSENT I, ROESER J, *et al.* Cerebrospinal fluid monoamine levels in central disorders of hypersomnolence [J]. *Sleep*, 2021, 44(7): zsab012.
- [33] MENON JML, NOLTEN C, ACHTERBERG EJM, *et al.* Brain microdialysate monoamines in relation to circadian rhythms, sleep, and sleep deprivation-A systematic review, network meta-analysis, and new primary data [J]. *J Circadian Rhythms*, 2019, 17: 1.
- [34] CHO JR, TREWEEK JB, ROBINSON JE, *et al.* Dorsal raphe dopamine neurons modulate arousal and promote wakefulness by salient stimuli [J]. *Neuron*, 2017, 94(6): 1205–1219.

(责任编辑: 郑丽 韩晓红)

作者简介

张玉林, 硕士研究生, 主要研究方向为食品安全检测。

Email: 1602174052@qq.com

李阳, 副教授, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: liyang2023@nwu.edu.cn