

3 结果

3.1 直接催眠作用

以 200、400、800 mg/kg BW 剂量褪黑素灌胃小鼠,约 7 min (5~8 min)后,各剂量组动物自主活动与溶剂对照组比较明显减少,表现为闭目、静卧、低头、趴伏等,触动反应迟钝,剂量越高上述表现越明显,睡眠发生率依次为 0、30%、70%,经统计学检验,800

mg/kg BW 剂量组与溶剂对照组比较差异有极显著性 ($P < 0.01$),因此 800 mg/kg BW 褪黑素有直接诱导小鼠睡眠作用,平均睡眠时间为 70.8 min,潜伏期为 35.7 min。另外发现随着褪黑素剂量的增大,睡眠潜伏期缩短,睡眠时间延长 ($P < 0.05$),存在明显剂量反应关系。

表 1 褪黑素直接睡眠作用

性别	剂量 mg/kg BW	动物数 只	入睡数 (只)	睡眠发生率 %	睡眠潜伏期 $\bar{x} \pm SD$ min	睡眠时间 $\bar{x} \pm SD$ min
	0	10	0	0	—	0
雄	200	10	0	0	—	0
	400	10	3	30	53.33 ± 0.58	16.67 ± 10.41
	800	10	7 ¹	70 ¹	35.70 ± 10.10 ²	70.80 ± 40.00 ²

1 与溶剂对照组(1.5%羧甲基纤维素)比较 $P < 0.01$

2 与 400 mg/kg BW 剂量组比较 $P < 0.05$

3.2 与阈剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用

表 2 可见,以 0.083、0.5、3.0 mg/kg BW 剂量的褪黑素灌胃小鼠,能明显延长小鼠睡眠时间,与溶剂对照组比较,差异有极显著性 ($P < 0.01$),说明小剂量褪黑素与阈剂量戊巴比妥钠有协同睡眠作用。

表 2 褪黑素与阈剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用

性别	褪黑素 剂量 mg/kg BW	戊巴比妥钠 剂 量 mg/kg BW	动物数 只	睡眠时间 $\bar{x} \pm SD$ min
	0.000	40	15	86.64 ± 15.45
雄	0.083	40	15	130.27 ± 32.27 ¹
	0.500	40	15	111.91 ± 16.48 ¹
	3.000	40	15	135.36 ± 27.50 ¹

1 与溶剂对照组(5%乙醇)比较 $P < 0.01$

3.3 与阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用

表 3 显示,褪黑素各剂量组与溶剂对照组比较,小鼠睡眠发生率明显增加,经统计学检验,0.083 mg/kg BW 剂量组差异有显著性 ($P < 0.05$),0.5、3.0 mg/kg BW 剂量组差异有极显著性 ($P < 0.01$),说明小剂量褪黑素与阈下剂量戊巴比妥钠有协同睡眠作用。

表 3 褪黑素与阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠作用

性别	褪黑素 剂 量 mg/kg BW	戊巴比妥钠 剂 量 mg/kg BW	动物数 只	入 睡 睡 眠 动物数 只	睡 眠 发生率 %
	0.000	16	14	5	36
雄	0.083	16	14	11	79 ¹
	0.500	16	14	12	86 ²
	3.000	16	14	14	100 ²

1 $P < 0.05$

2 与溶剂对照组(5%乙醇)比较 $P < 0.01$

4 讨论

褪黑素是一种身体内自然存在的内源性物质,近年来被科学界证实具有多种重要生理功能,因而在西方不少国家掀起食用褪黑素的热潮,随着这股热潮,褪黑素作为保健食品于 1996 年底大量进入我国市场。由于国内外市场上销售的褪黑素均为化学合成品,不同的合成路线,生物学功效有无差别?国内外对此研究甚少,为保护消费者的利益,同时为对这类产品行政管理提供科学依据,对褪黑素进行功效学评价是必要的。在褪黑素众多生理功能中,调整时差,诱导睡眠作用较为突出,因此我们首选睡眠作用作为褪黑素的功效学评价指标。

[下接第 34 页]

褪黑素改善小鼠睡眠作用的研究

周宇红 严卫星 冯晓莲
刘红蕾 刘海波

卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

摘要 为研究褪黑素的改善睡眠作用,通过直接睡眠试验、与戊巴比妥钠协同睡眠试验,观察褪黑素诱导小鼠的睡眠作用。结果显示:褪黑素 800 mg/kg BW 剂量灌胃小鼠,有直接诱导小鼠睡眠作用($P < 0.01$),睡眠时间为 70.8 min,潜伏期为 35.7 min;0.083、0.5、3.0 mg/kg BW 剂量,能显著延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间($P < 0.01$),显著增加戊巴比妥钠阈下剂量诱导的小鼠睡眠发生率($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。由此可见,褪黑素具有改善小鼠睡眠作用。

关键词 褪黑素 小鼠 戊巴比妥 药物协同作用 睡眠

Melatonin (N-乙酰基-5-甲氧基色胺)是一种主要由松果体细胞合成和分泌的吲哚类神经激素,译名褪黑素。它以 24 h 为周期分泌,呈明显的夜峰昼谷节律特点,青春期过后,分泌量随年龄增长而逐渐下降。1958 年 Lerner 首次从牛松果体分离纯化得到褪黑素,随着人工合成技术的开展,人们对它的研究越来越广泛深入。研究表明:褪黑素具有调整生物钟、诱导睡眠、调节内分泌系统、维持内环境稳定、增强免疫力、抗氧化、抗应激、延缓衰老等多种生理功能。^[1]1993 年在意大利 Stromboli 举行的第三届国际老龄与癌症大会上,认可褪黑素能防治多种疾病、具有延缓衰老作用。于是褪黑素作为食品补充剂,迅速兴起,风靡不少西方国家。

目前褪黑素作为一种保健食品正逐渐进入我国市场,该类产品功能究竟如何?国内未见系统评价报道,在其众多的生理功能中,诱导睡眠、调整生物钟作用较为突出。为此我们建立了一套保健食品改善睡眠作用的评价方法,对褪黑素进行评价。为今后卫生行政部门对褪黑素的管理提供科学依据。

1 材料

1.1 试样处理 褪黑素纯品(99.8%),用时以无水乙醇溶解,蒸馏水稀释,最终含乙醇量为 5%,或者用 1.5% 羧甲基纤维素钠助悬。

1.2 动物 选用 5~6 周龄(18~22 g)昆明种雄性小鼠,自由饮食,适应 3 d 后用于实验。

1.3 试剂 戊巴比妥钠(98.5%)、无水乙醇、羧甲基纤维素钠。

2 方法^[2-4]

2.1 直接睡眠试验

选 40 只小鼠,随机分为 1 个溶剂对照组和 3 个剂量组,每组 10 只,3 个剂量组分别灌胃褪黑素 200、400、800 mg/kg BW,溶剂对照组灌胃 1.5% 羧甲基纤维素钠,观察小鼠是否出现睡眠现象。睡眠以翻正反射消失为判断指标,当小鼠置于背卧位时,能立即翻正身位,如超过 60 s 不能翻正者,即认为翻正反射消失,进入睡眠,从翻正反射消失至翻正反射恢复的时间为小鼠睡眠时间,观察各组小鼠的睡眠发生率、睡眠时间及潜伏期。

2.2 与阈剂量戊巴比妥钠协同睡眠试验

选用小鼠 60 只,随机分为 1 个溶剂对照和 3 个剂量组,每组 15 只,3 个剂量组分别给予褪黑素 0.083、0.5、3.0 mg/kg BW,溶剂对照组给予 5% 乙醇。灌胃量为 0.4 mL/20g BW,灌胃 15 min 后,各组动物按 40 mg/kg BW 剂量腹腔注射戊巴比妥钠,注射量为 0.2 mL/20 g BW,以小鼠翻正反射消失为睡眠判断指标,观察褪黑素对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的延长作用。

2.3 与阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠试验

选用小鼠 56 只,随机分为 1 个对照组和 3 个剂量组,每组 14 只,除戊巴比妥钠腹腔注射量为 16 mg/kg BW 外,其余步骤同 2.2。以小鼠翻正反射消失达 1 min 以上为入睡判断标准,观察注射戊巴比妥钠后 25 min 内各组动物的睡眠发生率。

2.4 实验数据用 DBASE III 软件建立数据库,用 SYSTAT 软件进行统计分析。