

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241104008

引用格式: 郑海云, 王斌, 翟永松, 等. 余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠功能研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(3): 208–213.

ZHENG HY, WANG B, ZHAI YS, *et al.* Study on the sleep improvement function of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound in mice [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(3): 208–213. (in Chinese with English abstract).

# 余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠功能研究

郑海云<sup>1\*</sup>, 王斌<sup>1</sup>, 翟永松<sup>2</sup>, 梁爱卿<sup>3</sup>

(1. 中国中医科学院中医药科技合作中心, 北京 100700; 2. 北京医药职工大学中药系, 北京 100079;  
3. 上海华原锦实业有限公司, 上海 201600)

**摘要: 目的** 评估余甘子枸杞复方对小鼠改善睡眠的影响。**方法** 采用 Balb-c 小鼠作为研究对象, 随机将其分为 5 组: 空白组、阳性药组、余甘子枸杞复方低剂量组(3.75 g/kg)、中剂量组(7.50 g/kg)和高剂量组(15.00 g/kg)。每组小鼠每日接受一次给药, 持续 30 d。通过实施直接睡眠实验、戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验、戊巴比妥钠睡眠时间延长实验以及巴比妥钠睡眠潜伏期实验, 对余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠的功效进行了评估。此外, 采用酶联免疫分析试剂盒比色法检测小鼠脑组织中血清素 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)、色氨酸羟化酶(tryptophan hydroxylase, TPH)以及  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)的水平。**结果** 与空白组相比, 余甘子枸杞复方的 3 个剂量组分别使小鼠睡眠率提高了 50%、70%和 90%。同时, 3 个剂量组均显著延长了小鼠戊巴比妥钠诱导的睡眠时间( $P<0.01$ ), 且高剂量组的小鼠睡眠时间延长显著高于阳性药组( $P<0.01$ )。此外, 中、高剂量组余甘子枸杞复方能显著缩短小鼠的睡眠潜伏期( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。神经递质指标测定结果显示, 与空白对照组相比, 余甘子枸杞复方能显著提高小鼠脑组织中 5-HT 和 GABA 的含量( $P<0.01$  或  $P<0.05$ ), 并显著降低 DA 的含量( $P<0.01$ ); 但对小鼠脑组织中 TPH 含量无显著影响( $P>0.05$ )。**结论** 余甘子枸杞复方对小鼠睡眠具有显著的改善作用。

**关键词:** 余甘子枸杞复方; 改善睡眠; 小鼠睡眠模型

## Study on the sleep improvement function of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound in mice

ZHENG Hai-Yun<sup>1\*</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>, ZHAI Yong-Song<sup>2</sup>, LIANG Ai-Qing<sup>3</sup>

(1. Science and Technology Collaborating Center for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing Medical Staff College, Beijing 100079, China; 3. Shanghai Huayuanjin Industrial Co., Ltd., Shanghai 201600, China)

**ABSTRACT: Objective** To evaluate the effect of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on sleep improvement in mice. **Methods** Balb-c mice were used as the research subjects and randomly divided into 5 groups: Control group, positive drug group, low-dose group of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L.

收稿日期: 2024-11-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(82274685)

第一作者/\*通信作者: 郑海云(1980—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为中药及相关健康产品研究。E-mail: 64322766@qq.com

compound (3.75 g/kg), medium-dose group (7.50 g/kg), and high-dose group (15.00 g/kg). Each mice received a single dose daily for 30 consecutive days. The efficacy in improving sleep in mice was assessed through direct sleep experiments, pentobarbital sodium subthreshold dose hypnosis experiments, pentobarbital sodium sleep time extension experiments, and barbiturate sodium sleep latency experiments. Additionally, the levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine (DA), tryptophan hydroxylase (TPH), and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the brain tissue of mice were measured using enzyme-linked immunosorbent assay colorimetric kits. **Results** The results showed that compared with the control group, the 3 dose groups of the combination of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound increased the sleep rate of mice by 50%, 70%, and 90%, respectively. Additionally, all 3 dose groups significantly prolonged the pentobarbital sodium-induced sleep time in mice ( $P<0.01$ ), and the high-dose group had a significantly longer sleep time than the positive drug group ( $P<0.01$ ). Furthermore, the medium and high-dose groups of *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound significantly shortened the sleep latency of mice ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The measurement of neurotransmitter indicators showed that compared with the control group, the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound, significantly increased the levels of 5-HT and GABA in the brain tissue of mice ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ) and significantly reduced the content of DA ( $P<0.01$ ). However, it had no significant effect on the TPH content in the brain tissue of mice ( $P>0.05$ ). **Conclusion** The *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound has a significant effect on improving sleep in mice.

**KEY WORDS:** *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound; sleep improvement; mice sleep model

## 0 引言

睡眠作为生命的基本需求,对个人健康至关重要。它不仅能缓解疲劳、恢复活力,更能维护大脑功能、提升免疫力,是身心健康的重要基石。然而,失眠却成为现代人的普遍困扰。它不仅削弱免疫系统,导致多种疾病,更严重影响生活质量<sup>[1-4]</sup>。失眠已成为神经科门诊的第二大疾病,并普遍存在于人们的日常生活中,成为影响身体和心理健康的重要且独立的危险因素<sup>[5]</sup>。《2023年中国睡眠指数报告》显示,中国居民睡眠指数仅为62.61,近40%的成年人面临睡眠障碍<sup>[6]</sup>,且这一比例随年龄增长而增加,睡眠问题愈发凸显,研究改善睡眠质量的需求愈发迫切。

余甘子枸杞复方由余甘子、枸杞、酸枣仁、人参、沙棘、砂仁、肉豆蔻、龙眼肉、薏苡仁等9味药食同源中药组成。这些药材中,枸杞<sup>[7]</sup>、酸枣仁<sup>[8-11]</sup>、人参<sup>[12-15]</sup>和薏苡仁<sup>[16]</sup>已被证实具有改善睡眠的功效。余甘子虽然目前尚未有直接改善睡眠的研究报道,但有研究证实它可以改善因睡眠剥夺导致的认知和记忆功能受损<sup>[17-19]</sup>。余甘子枸杞复方,经科学配伍,具备养阴清热、补益气血、安神定志、理气和中之效。它能够有效缓解失眠多梦、心悸健忘、神疲乏力等不适,显著提升睡眠质量。

本研究将通过直接睡眠实验、戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验、戊巴比妥钠小鼠睡眠时间延长实验和巴比妥钠小鼠睡眠潜伏期实验,研究余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠的功效,并进一步评估其对小鼠脑组织中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)、色氨

酸羟化酶(tryptophan hydroxylase, TPH)和 $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)水平的影响。该研究可为具有助睡眠保健功能药食同源中药和余甘子枸杞复方产品开发提供研究基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级Balb-c健康雄性小鼠(8周龄,18~20g)购于北京唯尚立德生物科技有限公司,实验动物生产许可合格证号SYXK(京)2023-0011,已通过中国中医科学院中药研究所实验动物伦理委员会批准伦理审批(批准号2023B180)。小鼠饲养于昼夜节律光照条件下(温度25~27℃,相对湿度50%~70%),实验前适应性饲养7d,自由进食进水。

### 1.2 材料、试剂与仪器

余甘子枸杞复方(由余甘子、枸杞、酸枣仁、人参、沙棘、砂仁、肉豆蔻、龙眼肉、薏苡仁组成)由上海华原锦实业有限公司提供(批号:20240918)。

戊巴比妥钠(分析纯,批号:20170611,上海伊卡生物技术有限公司);艾司唑仑片(规格:1mg,批号:240508,山东信谊制药有限公司);巴比妥钠(分析纯,批号:570471,北京虹湖联合化工产品有限公司);羧甲基纤维素钠(批号:20130905,天津市福晨化学试剂厂);小鼠5-HT酶联免疫分析试剂盒(批号:02409693,北京迈瑞达科技有限公司);小鼠DA酶联免疫分析试剂盒(批号:202410)、小鼠GABA酶联免疫分析检测试剂盒(批号:202410)、小鼠TPH酶联

免疫分析检测试剂盒(批号: 202410)(北京倍特仁康生物医药科技有限公司)。

BSA124S 电子天平(精度 0.1 mg, 德国赛多利斯公司); Epoch 型全波长酶标仪(美国 BioTek 公司); 1-15PK 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司)。

### 1.3 动物分组与灌胃给药

#### 1.3.1 分组与灌胃

将 Balb-c 小鼠进行随机分为 5 组, 分别为空白组(给予蒸馏水)、阳性药组(艾司唑仑 0.3 mg/kg)和余甘子枸杞复方组。余甘子枸杞复方按生药重量计, 设置 3 个剂量组, 分别为低剂量组(3.75 g/kg)、中剂量组(7.50 g/kg)、高剂量组(15.00 g/kg)。每次灌胃体积为 10 mL/kg, 连续灌胃 30 d, 每天 1 次。再分别对给药组小鼠进行睡眠实验, 包括直接睡眠实验、巴比妥钠阈下剂量催眠实验、巴比妥钠睡眠时间延长实验和巴比妥钠睡眠潜伏期实验。以小鼠翻正反射消失 60 s 以上作为入睡判断标准, 以翻正反射再现为睡眠结束。每天对每组小鼠的一般情况(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、给药 30 d 和实验结束后分别称定并记录各组动物的体重。

#### 1.3.2 灌胃溶液制备

艾司唑仑灌胃溶液: 取一片艾司唑仑片, 研磨粉碎, 溶于 33.33 mL 0.5%羧甲基纤维素钠溶液中, 制成质量浓度为 0.03 mg/mL 的混悬液。余甘子枸杞复方灌胃溶液: 称取余甘子枸杞复方 150 g, 加入 100 mL 去离子水, 超声 30 min 使其完全溶解, 得到高剂量组灌胃液(1.5 g/mL), 取适量的高剂量组灌胃液用羧甲基纤维素钠溶液稀释, 得到 0.750 g/mL 和 0.375 g/mL 的混悬液, 分别作为中、低剂量组灌胃液, 于 4 °C 储存备用。

### 1.4 Balb-c 小鼠睡眠实验

基于参考文献中方法<sup>[3,5,20]</sup>, 本研究采用如下实验评价余甘子枸杞复方对小鼠睡眠的改善作用。

#### 1.4.1 直接睡眠实验

各组动物每天分别给予相应的受试物, 观察灌胃后 60 min 内, 小鼠是否出现睡眠现象, 以动物的翻正反射消失超过 60 s 判为进入睡眠, 翻正反射恢复即为动物觉醒。记录各组入睡动物数及各自的睡眠时间, 以评估余甘子枸杞复方是否对小鼠产生了直接的促眠效果。

#### 1.4.2 戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

小鼠末次给药 30 min, 以 30 mg/kg 剂量(以小鼠体重计, 小鼠 80%~90%未入睡剂量)腹腔注射巴比妥钠, 以翻正反射消失 60 s 作为入睡判断标准, 以翻正反射再现为睡眠结束。观察记录腹腔注射开始 30 min 内模型对照组和实验组小鼠睡眠时间的影响。

#### 1.4.3 戊巴比妥钠睡眠时间延长实验

小鼠末次给药 30 min, 以 50 mg/kg 剂量(以小鼠体重计, 小鼠 100%入睡但睡眠时间不长)腹腔注射巴比妥钠,

观察记录各组小鼠的睡眠持续时间(翻正反射消失至翻正反射再现的时间), 并进行各组间睡眠时间比较。

#### 1.4.4 巴比妥钠睡眠潜伏期实验

小鼠末次给药 30 min, 以 230 mg/kg 剂量(以小鼠体重计, 小鼠 100%入睡)腹腔注射巴比妥钠, 以翻正反射消失 60 s 为指标, 记录腹腔注射至小鼠翻正反射消失之间的时间作为睡眠潜伏期, 比较模型对照组和实验组睡眠潜伏期的差别。

### 1.5 小鼠脑组织相关指标检测

#### 1.5.1 收集脑组织上清液

将小鼠脑组织加入 3 倍量( $m/V$ )的 4 °C 生理盐水匀浆器捣碎。离心 10 min 左右(3000~4000 r/min), 仔细收集上清液。分装后一份待检测, 其余 -20 °C 冷冻备用。

#### 1.5.2 5-HT、TPH、GABA、DA 含量的测定

将待测样品(脑组织匀浆液上清液)及小鼠 5-HT 标准品(0、100、200、400、800、1600 ng/mL)、TPH 标准品(0、6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 pg/mL)、GABA 标准品(0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0  $\mu\text{mol/L}$ )、DA 标准品(0、100、200、400、800、1600 pg/mL)分别按照酶联免疫吸附测定操作步骤测定其 5-HT、TPH、GABA、DA 含量。测定的具体操作步骤如下: 从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出所需板条, 剩余板条用自封袋密封放回 4 °C。设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50  $\mu\text{L}$ ; 待测样本孔先加待测样本 10  $\mu\text{L}$ , 再加样本稀释液 40  $\mu\text{L}$ ; 随后标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 100  $\mu\text{L}$ , 用封板膜封住反应孔, 37 °C 水浴锅温育 60 min。弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1 min, 甩去洗涤液, 吸水纸上拍干, 如此重复洗板 5 次(也可用洗板机洗板)。每孔加入底物 A、B 各 50  $\mu\text{L}$ , 37 °C 避光孵育 15 min。每孔加入终止液 50  $\mu\text{L}$ , 15 min 内, 在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

以各标准品的浓度设为横坐标, OD 值为纵坐标, 绘得标准曲线的回归方程式。5-HT 标准曲线、DA 标准曲线、TPH 标准曲线和 GABA 标准曲线分别为:  $Y=0.0026X-0.0973$  ( $r^2=0.9891$ )、 $Y=0.002X+0.0452$  ( $r^2=0.9958$ )、 $Y=0.023X+0.0597$  ( $r^2=0.9925$ )和  $Y=0.366X+0.0527$  ( $r^2=0.9923$ )。

### 1.6 数据处理

数据统计分析采用 JMP 平台实现(SAS Institute Inc., 版本 16.0.0), 计量资料以平均值 $\pm$ 标准偏差表示, 多组间比较采用方差分析比较均值, 以  $P<0.05$  (\*或 $\#$ )和  $P<0.01$  (\*\*或 $\#\#$ )为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 余甘子枸杞复方改善小鼠睡眠功效实验

#### 2.1.1 对小鼠体重的影响

如表 1 所示, 在给药前以及灌胃给药 30 d 后, 各组小

表1 给药对小鼠体重和脏器指数的影响( $n=10$ )  
Table 1 Effects of administration on the body weight and organ index of mice ( $n=10$ )

组别	0 d 体重/g	30 d 体重/g	心脏指数	肝脏指数	肾脏指数	肺脏指数	脑指数
空白组	22.59±1.53	29.11±1.08	4.92±0.23	40.02±2.24	14.69±0.74	5.28±0.36	15.07±0.77
阳性药组	23.99±1.08	30.34±0.90	4.85±0.31	38.50±2.42	14.40±1.03	5.31±0.44	15.39±1.11
低剂量组	23.18±1.21	29.45±1.06	5.00±0.34	38.16±3.43	13.80±0.83	5.20±0.39	15.02±0.76
中剂量组	23.24±1.23	29.52±1.84	4.79±0.48	39.64±4.43	14.84±1.83	5.12±0.64	15.09±1.21
高剂量组	23.14±1.20	30.83±0.88	4.93±0.56	38.57±3.21	14.23±0.65	5.06±0.41	14.90±1.10

注:脏器指数=(小鼠器官重量/小鼠体重)×100。

鼠精神状态良好,毛发光泽,对外界的反应、摄食量与饮水量均正常,且无死亡小鼠。取各组小鼠的心、肝、肾、肺、脑进行称重,对脏器指数进行评价。实验结果显示,与空白组相比,阳性药组和3个剂量组的余甘子枸杞复方对小鼠体重和脏器指数均无显著性影响( $P>0.05$ )。

### 2.1.2 对小鼠直接睡眠的影响

如表2所示,小鼠接受了余甘子枸杞复方的灌胃处理,并在给药后60 min观察其睡眠状态。观察结果显示,所有组别的小鼠均表现出正常活动,未出现翻正反射消失的情况,各组小鼠入睡率保持为0%。实验结果表明,余甘子枸杞复方并不能直接诱导小鼠进入催眠状态,从而改善睡眠。

表2 余甘子枸杞复方对小鼠直接睡眠的影响  
Table 2 Effects of the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on the direct sleep of mice

组别	小鼠数量/只	睡眠小鼠数量/只	睡眠率/%
空白组	10	0	0
阳性药组	10	0	0
低剂量组	10	0	0
中剂量组	10	0	0
高剂量组	10	0	0

### 2.1.3 对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠影响

实验结果如表3所示,空白组小鼠的睡眠率为10%,这验证了使用30 mg/kg戊巴比妥钠剂量来研究阈下剂量对小鼠催眠影响的合理性。阳性药组小鼠的睡眠率达到了90%,而余甘子枸杞复方低、中和高剂量组的小鼠睡眠率分别为60%、80%和100%。与空白组相比,余甘子枸杞复方低、中、高3个剂量组的小鼠睡眠率分别提高了50%、70%和90%。实验结果表明,余甘子枸杞复方在3个剂量水平上均能显著提高小鼠的睡眠率,且这种功效随着剂量的增加而增强,显示出明显的剂量依赖性。

### 2.1.4 对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间延长的影响

如表4所示,与空白组相比,阳性药组以及不同剂量的余甘子枸杞复方给药组(低、中、高剂量)均极显著延长

了小鼠的睡眠时间( $P<0.01$ )。并且高剂量组的余甘子枸杞复方对小鼠睡眠时间的延长效果极显著优于阳性药组( $P<0.01$ )。此外,实验结果显示,小鼠睡眠时间的延长与余甘子枸杞复方的剂量之间存在显著的正向相关性。

表3 余甘子枸杞复方对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠的影响  
Table 3 Effects of the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on subthreshold hypnosis of pentobarbital sodium induced sleep of mice

组别	小鼠数量/只	睡眠小鼠数量/只	睡眠率/%
空白组	10	1	10
阳性药组	10	9	90
低剂量组	10	6	60
中剂量组	10	8	80
高剂量组	10	10	100

表4 余甘子枸杞复方对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间延长的影响

Table 4 Effects of the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on the prolongation of sleep induced by pentobarbital sodium in mice

组别	小鼠数量/只	睡眠小鼠数量/只	睡眠率/%	睡眠时间/min
空白组	10	9	90	26.07±8.55
阳性药组	10	10	100	65.26±15.45**
低剂量组	10	10	100	47.72±10.61***
中剂量组	10	10	100	71.06±12.86**
高剂量组	10	10	100	87.63±12.63***

注:和空白组相比,\*\*表示 $P<0.01$ ;与阳性药组相比,\*\*\*表示 $P<0.01$ ,下同。

### 2.1.5 对小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

如表5所示,与空白组相比,阳性药组以及中、高剂量的余甘子枸杞复方给药组均显著缩短了小鼠的睡眠潜伏期( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );但是低剂量余甘子枸杞复方组对小鼠睡眠潜伏期的缩短作用并不显著( $P>0.05$ )。阳性药组以及中、高剂量余甘子枸杞复方组分别将睡眠潜伏期缩短了

表 5 余甘子枸杞复方小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期的影响  
Table 5 Effects of the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on the sleep latency of mice induced by sodium pentobarbital

组别	小鼠数量 /只	睡眠小鼠 数量/只	睡眠率 /%	睡眠潜伏期 时间/min
空白组	10	9	90	5.23±1.15
阳性药组	10	10	100	3.19±0.39**
低剂量组	10	10	100	4.69±1.22
中剂量组	10	9	90	2.61±0.82*
高剂量组	10	10	100	2.82±0.78**

注: 和空白组相比, \*表示  $P<0.05$ , 下同。

表 6 余甘子枸杞复方小鼠小鼠脑组织指标的影响( $n=10$ )  
Table 6 Effects of the *Phyllanthus emblica* L. and *Lyciumbarbarum* L. compound on brain tissue indices in mice ( $n=10$ )

组别	5-HT/(ng/mL)	DA/(ng/mL)	TPH/(pg/mL)	GABA/( $\mu$ mol/L)
空白组	2102.88±266.83	3.92±0.22	234.72±38.32	1.12±0.16
阳性药组	2717.31±370.17**	3.06±0.25*	287.20±45.23**	1.31±0.14**
低剂量组	2488.85±212.70**	3.56±0.90**	223.30±40.31##	1.36±0.16*
中剂量组	2601.35±372.87**	3.31±0.62**	247.04±38.24#	1.42±0.13**
高剂量组	2645.19±382.24**	3.35±0.23**	238.50±49.88	1.40±0.14**

注: 与阳性药组相比, #表示  $P<0.05$ 。

### 3 讨论与结论

本研究证实余甘子枸杞复方对小鼠睡眠功能具有显著的改善作用, 并且具有剂量依赖性, 同时其不影响小鼠体重和脏器指数, 表明该复方具有良好的安全性。本研究发现余甘子枸杞复方并非通过直接诱导催眠来改善睡眠, 而是通过改善正常睡眠过程来提升睡眠质量。在改善睡眠研究的文献中, 戊巴比妥钠的使用剂量存在较大差异<sup>[21-22]</sup>。本研究参考相关文献, 并通过预实验确定了戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验中采用 30 mg/kg(小鼠睡眠率为 10%~20%)和戊巴比妥钠延长睡眠时间实验剂量为 50 mg/kg(小鼠睡眠率为 100%)是合适的剂量。此外, 余甘子枸杞复方的剂量设计主要参考了文献报道的酸枣仁改善睡眠的剂量<sup>[10]</sup>, 并根据本复方中酸枣仁的比例进行了初步设计。随后, 通过预实验确定了低、中和高 3 个剂量进行正式实验。

研究表明, 如果实验药物能显著缩短巴比妥钠所致小鼠睡眠潜伏期或延长戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间, 则说明受试药物与戊巴比妥钠可能存在协同作用, 且这种协同作用可能通过抑制肝药酶来提高戊巴比妥钠的血药浓度来实现协同作用<sup>[12]</sup>。在本研究中, 给予余甘子枸杞复方的小鼠对阈下剂量戊巴比妥钠的睡眠潜伏期明显缩短, 睡眠时间也延长。其中, 只有高剂量组余甘子枸杞复方在延长小鼠睡眠时间方面显著高于阳性药组。因此, 高剂量组余甘子枸杞复方可能具有更显著的改善睡眠作用, 或与戊巴比妥钠存在一定的协同作用。这值得后续更深入的研究, 以进一步探究其二者是否有协同作用。

神经递质作为化学信使, 在神经元与突触之间传递

39.0%、50.0%和 46.0%, 但余甘子枸杞复方与阳性药组在缩短小鼠睡眠潜伏期方面无显著性差异( $P>0.05$ )。

### 2.2 余甘子枸杞复方对小鼠脑组织指标的影响

如表 6 所示, 相比于空白组, 3 个剂量组的余甘子枸杞复方组小鼠脑组织中 5-HT 和 GABA 水平均显著提高( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), DA 含量水平显著降低( $P<0.01$ )。但是余甘子枸杞复方对小鼠脑组织中 TPH 水平没有显著的影响( $P>0.05$ )。此外, 低和中剂量组的余甘子枸杞复方组小鼠脑组织中 TPH 水平显著低于阳性药组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。

信号。睡眠相关的关键神经递质包括 5-HT、DA 和 GABA, 它们通过调节大脑功能来改善睡眠<sup>[22-25]</sup>。研究表明, 5-HT 和 GABA 含量较高时对睡眠有益<sup>[22-25]</sup>。相反, 白天 DA 含量高, 夜晚降低则更有利于睡眠<sup>[26]</sup>。TPH 是 5-HT 生物合成的关键酶, 脑组织中 TPH 含量越高, 5-HT 水平也越高<sup>[27-29]</sup>。本研究结果显示, 该复方显著增加 5-HT 和 GABA 含量, 降低 DA 水平, 表明其可能通过影响这些神经递质的含量来改善睡眠。研究还发现, 该复方对 TPH 水平无显著影响。有研究显示, 降低血清皮质酮水平并增加雌激素受体  $\beta$  的转录和表达能上调 TPH 水平<sup>[30]</sup>。因此, 余甘子枸杞复方可能不通过增加雌激素受体  $\beta$  表达而增加 TPH 水平来提高 5-HT 含量。酸枣仁<sup>[31]</sup>、人参<sup>[32]</sup>、枸杞<sup>[33]</sup>等复方中药味均含有色氨酸, 它是 5-HT 的前体, 因此该复方可能通过提高脑中色氨酸水平来促进 5-HT 合成, 从而改善睡眠。此外, 研究也显示色氨酸还促进褪黑激素的合成, 进一步改善睡眠<sup>[34]</sup>。

综上所述, 本研究证实了余甘子枸杞复方具有明确的改善睡眠的功效, 且对失眠模型小鼠脑组织中 5-HT、GABA、DA 含量有显著的影响。

### 参考文献

- [1] GE L, GUYATT G, TIAN J, *et al.* Insomnia and risk of mortality from all-cause, cardiovascular disease, and cancer: Systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies [J]. *Sleep Medicine Reviews*, 2019, 48: 101215.
- [2] JAHRAMI HA, ALHAJ OA, HUMOOD AM, *et al.* Sleep disturbances during the COVID-19 pandemic: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression [J]. *Sleep Medicine Reviews*, 2022, 62: 101591.
- [3] 姚玉静, 张书敏, 任艳艳, 等. 酸枣仁提取物、龙眼肉提取物、 $\gamma$ -氨基丁酸和酪蛋白水解物复配制剂改善睡眠功能[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(7): 406-410.

- YAO YJ, ZHANG SM, REN YY, *et al.* The study of improvement in sleep function with compounded formulations of *Ziziphus jujuba* extract, longan lous extract,  $\gamma$ -amino butyric acid, and casein hydrolysate [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(7): 406–410.
- [4] MARTÍNEZ-ALBERT E, LUTZ ND, HÜBENER R, *et al.* Sleep promotes T-cell migration towards CCL19 via growth hormone and prolactin signaling in humans [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2024, 118: 69–77.
- [5] 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 M, ZHU CH. Study on improving sleep function of water extract of *Panax quinquefolium* [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(11): 3494–3498.
- [6] 秦梦歌, 张金培. 酸枣仁及其复合制剂治疗失眠的研究进展[J/OL]. *辽宁中医药大学学报*, 1-15. [2024-10-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20240827.1255.008.html>
- QIN MG, ZHANG JP. Research progress on *Semen Ziziphi Spinosae* monomer and its compound formulation in the treatment of Insomnia [J/OL]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 1-15. [2024-10-24]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20240827.1255.008.html>
- [7] 袁芮, 蒋维海, 陈建光, 等. 枸杞醋镇静催眠作用的实验研究[J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2018, 19(5): 604–607.
- YUAN R, JIANG WH, CHEN JG, *et al.* Experimental study on sedative and hypnotic effects of whortleberry vinegar [J]. *Journal of Beihua University*, 2018, 19(5): 604–607.
- [8] REN A, WU T, WANG Y, *et al.* Integrating animal experiments, mass spectrometry and network-based approach to reveal the sleep-improving effects of *Ziziphi Spinosa Semen* and  $\gamma$ -aminobutyric acid mixture [J]. *Chinese Medicine*, 2023, 18(1): 99.
- [9] SUN M, LI M, CUI X, *et al.* Terpenoids derived from *Semen Ziziphi Spinosa* oil enhance sleep by modulating neurotransmitter signaling in mice [J]. *Heliyon*, 2024, 10(5): 1.
- [10] 李泽亮, 雷桓. 酸枣仁和生地黄酒水提物改善小鼠睡眠作用的比较研究[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(7): 9–14.
- LI ZL, LEI H. Comparison of the effects of aqueous extracts from sour jujube kernel and raw *Rehmannia* on sleep improvement in mice [J]. *China Food Additives*, 2024, 35(7): 9–14.
- [11] 张晨阳, 李柏林, 郭长江. 酸枣仁改善睡眠障碍的作用及其有效成分[J]. *营养学报*, 2024, 46(2): 196–202.
- ZHANG CY, LI BL, GUO CJ. Effects of ziziphispinosa semen on dyssomnia and its active components [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2024, 46(2): 196–202.
- [12] 于爽, 闫金铭, 黄莉莉, 等. 东北刺人参总皂苷改善睡眠的作用及机制研究[J]. *食品与药品*, 2021, 23(1): 1–5.
- YU S, YAN JM, HUANG LL, *et al.* Improving effect and mechanism of total saponins from *Oplopanax elatus nakai* on sleep [J]. *Food and Drug*, 2021, 23(1): 1–5.
- [13] 杨铭, 于德伟, 赫慧, 等. 人参白术枣仁颗粒对心脾两虚证失眠小鼠睡眠的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(10): 6128–6131.
- YANG M, YU DW, HE H, *et al.* Effects of *Renshen Baizhu Zaoren* granules on insomnia mice with syndrome of deficiency of heart and spleen [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2021, 36(10): 6128–6131.
- [14] BAEK HI, HA KC, PARK YK, *et al.* Efficacy and safety of panax ginseng sprout extract in subjective memory impairment: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *Nutrients*, 2024, 16(12): 1952.
- [15] LIN H, XU Y, XIONG HZ, *et al.* Mechanism of action of *Panax ginseng* alcohol extract based on orexin-mediated autophagy in the treatment of sleep and cognition in aged sleep-deprived rats [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 337: 118907.
- [16] 王承灏, 廖雪晶, 孙资金, 等. 双夏秫米汤对大鼠睡眠改善作用的研究[J]. *环球中医药*, 2023, 16(6): 1074–1083.
- WANG CH, LIAO XJ, SUN ZJ, *et al.* Study on the effect of Shuangxia decoction on sleep improvement in rats [J]. *Global Traditional Chinese Medicine*, 2023, 16(6): 1074–1083.
- [17] AHMAD B, HAFEEZ N, RAUF A, *et al.* *Phyllanthus emblica*: A comprehensive review of its therapeutic benefits [J]. *South African Journal of Botany*, 2021, 138: 278–310.
- [18] MA RH, ZHANG XX, THAKUR K, *et al.* Research progress of *Lyciumbarbarum* L. as functional food: Phytochemical composition and health benefits [J]. *Current Opinion in Food Science*, 2022, 47: 100871.
- [19] WANG W, YANG L, LIU T, *et al.* Corilagin ameliorates sleep deprivation-induced memory impairments by inhibiting NOX2 and activating Nrf2 [J]. *Brain Research Bulletin*, 2020, 160: 141–149.
- [20] 冯艳钰, 范群艳, 王德华, 等. 红参-燕窝-酸枣仁复合助眠饮料的研制及功效评估[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(9): 275–284.
- FENG YY, FAN QY, WANG DH, *et al.* Development and efficacy evaluation of a red ginseng-bird's nest-jujube seed compound sleep aid drink [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(9): 275–284.
- [21] 叶辉宇, 李强明, 张玉英, 等. 灵芝子实体不同提取物对小鼠睡眠改善作用的比较[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(17): 350–356.
- YE HY, LI QM, ZHANG YY, *et al.* Compared with the effect of sleep improvement by different extracts from *Ganoderma lucidum* fruit bodies in mice [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(17): 350–356.
- [22] LI R, PAN YK, JING N, *et al.* Flavonoids from mulberry leaves exhibit sleep-improving effects via regulating GABA and 5-HT receptors [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, 337: 118734.
- [23] HAORAN W, YANQIU GU, KHALID R, *et al.* Herbal medicines for insomnia through regulating 5-hydroxytryptamine receptors: A systematic review [J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2023, 21(7): 483–498.
- [24] KONG X, ZHOU X, LI R, *et al.* Sleep-improving effect and the potential mechanism of *Morus alba* L. on mice [J]. *Fitoterapia*, 2024, 179: 106205.
- [25] LI R, PAN Y, JING N, *et al.* Flavonoids from mulberry leaves exhibit sleep-improving effects via regulating GABA and 5-HT receptors [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2025, 337: 118734.
- [26] THANGALEELA S, SIVAMARUTHI BS, KESIKA P, *et al.* Neurological insights into sleep disorders in Parkinson's disease [J]. *Brain Sciences*, 2023, 13(8): 1202.
- [27] MORDHORST A, DHANDAPANI P, MATTHES S, *et al.* Phenylalanine-hydroxylase contributes to serotonin synthesis in mice [J]. *FASEB Journal*, 2021, 35(6): e21648.
- [28] MAFFEI ME. 5-Hydroxytryptophan (5-HTP): Natural occurrence, analysis, biosynthesis, biotechnology, physiology and toxicology [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 22(1): 181.
- [29] LIU N, SUN S, WANG P, *et al.* The mechanism of secretion and metabolism of gut-derived 5-hydroxytryptamine [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(15): 7931.
- [30] XIA TJ, JIN SW, LIU YG, *et al.* Shen Yuan extract exerts a hypnotic effect via the tryptophan/5-hydroxytryptamine/melatonin pathway in mice [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2024, 326: 117992.
- [31] 毛叶勤, 姚鑫, 陈琳. HILIC-HPLC-MS/MS 测定酸枣仁内氨基酸类成分的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(21): 67–72.
- MAO YQ, YAO X, CHEN L. Determination of underivatized amino acids from ziziphispinosa semen by HILIC-HPLC-MS/MS [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2016, 22(21): 67–72.
- [32] 王力彬, 冯甜, 王芳, 等. 基于 UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS 对白虎加人参汤的全成分分析及化学成分鉴定[J]. *药物流行病学杂志*, 2023, 32(2): 198–206.
- WANG LB, FENG T, WANG F, *et al.* Analysis and identification of chemical constituents of Baihu-plus-Renshendecocotion based on UPLC-Q/Orbitrap/MS/MS [J]. *Chinese Journal of Pharmacoeconomics*, 2023, 32(2): 198–206.
- [33] 李梦杰, 崔波, 张政. 不同产地枸杞子主要成分及体外抗氧化活性比较分析[J]. *食品研究与开发*, 2024, 45(12): 7–12.
- LI MJ, CUI B, ZHANG Z. Comparative analysis of main components and *in vitro* antioxidant activities of lycium barbarum fruits from different producing areas [J]. *Food Research and Development*, 2024, 45(12): 7–12.
- [34] YEOM JW, CHO CH. Herbal and natural supplements for improving sleep: A literature review [J]. *Psychiatry Investigation*, 2024, 21(8): 810–821.

(责任编辑:蔡世佳 安香玉)