

夜交藤中改善睡眠成分的研究

李智欣¹, 杨中平¹, 石宝霞², 车会莲², 陈阳², 肖桦², 朱学加², 何计国^{2,*}
(1. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 夜交藤具有改善人体睡眠等功效, 通过对其有效成分的提取、分离及纯化分别得到夜交藤甙、夜交藤蒽醌以及夜交藤黄酮三种成分。按照国标(改善睡眠功能检验标准)方法, 采用高、中、低三个剂量组分别进行改善睡眠功能实验, 研究结果表明三种成分均有改善动物睡眠的功效(与正常对照组相比, $p < 0.05$)。

关键词: 失眠; 夜交藤; 夜交藤甙

Study on Slumber Improving with *Caulis polygoni Multiflori* in Mice

LI Zhi-xin¹, YANG Zhong-ping¹, SHI Bao-xia², CHE Hui-lian², CHEN Yang², XIAO Wei²,
ZHU Xue-jia², HE Ji-guo^{2,*}

(1. Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China
2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The *Caulis polygoni multiflori* holds significant therapeutic effects on improving the mice sleep quality. This paper studied the three active components of *Caulis polygoni multiflori* through its extraction, separation and edulcoration. They are found to be glycoside, anthraquinone and flavone. Based on the method of GB (Method for the Assessment of Sleep Improvement Function), three mice groups doses were adopted: high, middle and low, to processing the sleep improvement function. The results showed that the sleeping of mice can be improved by the three components extracted from *Caulis polygoni multiflori* ($p < 0.05$).

Key words insomnia; *Caulis polygoni multiflori*; glycoside

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0327-05

天然植物是目前国内外研究的热点之一, 许多中草药^[1]具有良好镇静催眠作用, 没有不良反应。《中药大辞典》^[1]记载, 夜交藤具有养心安神, 通络, 祛风等作用。治失眠, 劳伤, 多汗, 血虚身痛, 痈疽, 目前国内外文献对其改善睡眠研究的报道^[2-3], 主要是对药物总成分药效分析, 没有对其各组分进行单一分析与比较, 故本研究选取夜交藤为试材, 提取试样中的夜交藤甙、夜交藤蒽醌以及夜交藤黄酮。遵照国标实验方法, 研究了夜交藤中三种成分对实验动物睡眠的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试材

夜交藤 北京同仁堂药店。

1.1.2 试剂

乙醇、正丁醇、石油醚、苯、硫酸、乙酸乙酯均为分析纯; 巴比妥钠、戊巴比妥钠为生化试剂。

1.2 仪器设备

JBT/C-YCL400/3P超声波药品处理机 济宁金百特电子有限公司; LD-02型粉碎机 温岭市大海药材机械厂; ZF-C三用紫外分析仪 上海强运科技有限公司; 旋转蒸发器RE-52 上海亚荣生化仪器厂。

1.3 实验动物

实验选用132只雄性清洁级昆明小鼠, 体重为 35.96 ± 5 g, 由北京大学医学部试验动物中心提供, 许可证编号: SCXK(京)2002-000。

2 夜交藤的提取、分离与纯化

2.1 夜交藤中各成分提取^[4-5]

夜交藤为干燥的藤茎呈细长圆柱状, 通常扭曲, 有时分枝, 直径3~7 mm。表面紫褐色, 粗糙, 有扭曲的纵皱纹和节, 并散生红色小斑点, 栓皮菲薄, 呈鳞片状剥落。质硬而脆, 易折断, 断面皮部棕红色, 木部淡黄色, 本质部呈放射状, 中央为白色疏松的髓部。气无, 味微苦涩。以粗壮均匀、外表紫褐色为佳。其组分可分为蒽醌类、黄酮类及其相应的甙, 主

收稿日期: 2007-02-05

*通讯作者

作者简介: 李智欣(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能性食品。

要成分有: 大黄素(emodin)、大黄素-8-O-5-O-木糖甙(luteolin-5-O-xyloside)、大黄酚(chrysophanic acid, chrysophanol)、大黄素甲醚(emodinmono methyl ether)、槲皮素、木犀草素、木犀草素-5-O-木糖甙(lutiolin-5-O-xyloside)、 β -谷甾醇及少量的芪类。

2.1.1 夜交藤甙的提取

将夜交藤生药粉碎, 用75%乙醇浸提(料液比为1:20), 在频率为27.0kHz, 温度为70℃条件进行超声波提取30min, 重复提取3次, 合并提取液, 浓缩滤液。浓缩液用石油醚脱脂, 正丁醇水饱和溶液等体积萃取3次, 取上层正丁醇相, 减压回收溶剂, 剩余物即为夜交藤甙粗提物。

2.1.2 夜交藤蒽醌的提取

夜交藤生药粉末用苯-20%硫酸(5:1)提取3次。提取液合并, 浓缩并放置过夜, 有粗结晶析出。即为蒽醌粗结晶。

2.1.3 夜交藤黄酮的提取

夜交藤生药粉末, 75%乙醇溶解, 频率27.0kHz, 60℃超声30min, 提取3次, 提取液合并, 滤液真空旋转蒸发浓缩至无醇, 用乙酸乙酯等体积萃取3次, 合并萃取液, 减压回收溶剂, 残渣即为总黄酮。

2.2 提取结果

依照前述提取方法, 各成份的粗提率如表1所示。

表1 夜交藤中三种主要功效成分的粗提率(%)

Table 1 Crude extraction rate of 3 active components of *Caulis polygoni multiflori*(%)

成分	夜交藤甙	夜交藤蒽醌	夜交藤黄酮
粗提率	9.85	3.98	4.43

注

$$\text{粗提率}(\%) = \frac{\text{提取物净重}}{\text{原生药总量}} \times 100。$$

3 动物实验

3.1 动物饲养条件及给药剂量

实验动物饲养于s 中国农业大学食品安全技术中心(SPF级), 动物实验室许可证编号: SYXK(京)2005-0006。饲养温度: 20~25℃, 湿度: 40%~70%。实验动物饲喂常规饲料(购于北京大学医学部试验动物研究中心, 符合GB14924.3-2001)。

根据《中药大辞典》^[1], 夜交藤生药的临床用量为2~4钱(10~20g)。以此剂量的1、10、30倍分别设低、中、高3个剂量。按照0.1ml/10g bw连续灌胃小鼠14d, 生药含量分别为: 低剂量0.03g/ml, 中剂量0.3g/ml, 高剂量1g/ml。各受试物浓度如表2所示。

3.2 分组

将以上三种粗提物按照国标方法进行改善睡眠实

表2 各受试成分溶液浓度(g/ml)
Table 2 Concentration of subjects(g/ml)

受试成分	夜交藤甙	夜交藤蒽醌	夜交藤黄酮
低剂量	0.0030	0.0012	0.0013
中剂量	0.0300	0.0120	0.0130
高剂量	0.0990	0.0400	0.0443

验, 将132只实验动物按体重随机分为11组, 分别为: 夜交藤甙低剂量组; 夜交藤中剂量组; 夜交藤甙高剂量组; 夜交藤蒽醌低剂量组; 夜交藤蒽醌中剂量组; 夜交藤蒽醌高剂量组; 夜交藤黄酮低剂量组; 夜交藤黄酮中剂量组; 夜交藤黄酮高剂量组; 蒸馏水对照组(夜交藤甙和夜交藤蒽醌的溶剂); 吐温对照组(夜交藤黄酮的溶剂)。

3.3 改善睡眠功能实验^[6]

国标方法改善睡眠功能检验包括: 直接睡眠实验、巴比妥钠阈下剂量催眠实验、巴比妥钠睡眠潜伏期实验和延长戊巴比妥钠睡眠时间实验。

3.4 统计与分析

对戊巴比妥钠阈下剂量睡眠率的影响, 观察给药后30min内小鼠翻正反射消失的只数, 即睡眠数, 计算睡眠率, 将结果进行卡方检验(见表4)。对戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期及睡眠持续时间的影响: 观察记录从注射戊巴比妥钠到翻正反射消失的时间, 即睡眠潜伏期; 从翻正反射开始消失到恢复的时间, 即睡眠持续时间。将结果进行t检验(见表5、6)。

4 改善睡眠功能实验结果

国标方法改善睡眠功能检验方法, 结果如下。

表3 直接睡眠实验中睡眠动物数(只)

Table 3 Amount of directly sleeping mice

成分	夜交藤甙	夜交藤蒽醌	夜交藤黄酮
低剂量	0	0	0
中剂量	0	0	0
高剂量	0	0	0

直接睡眠实验中11组动物中睡眠动物数均为0只(见表3)。可见, 夜交藤中三种主要功效成分对小鼠均没有直接催眠作用, 符合《保健食品检验与评价技术规范实施手册》中对改善睡眠保健食品的要求, 可进行其它三项实验, 结果见表4、5、6。

由表4可见, 低、高剂量夜交藤甙和低、中剂量夜交藤黄酮与对照组相比, 小鼠入睡率呈显著性差异(与正常对照组相比, $p < 0.05$), 表明其对增加注射阈下剂量巴比妥钠小鼠的入睡率具有促进作用。将以上数据作图如下:

由图1可知, 夜交藤甙低、高剂量的动物入睡率明显高于空白水。然而剂量组之间却没有相关关系, 是

表4 巴比妥钠阈下剂量催眠实验结果

Table 4 Sleeping rate of injected sub-threshold dose barbital sodium mice

功效成分	实验动物数(只)	睡眠动物数(只)	睡眠率(%)
夜交藤甙低	12	10*	83.33*
夜交藤甙中	12	7	58.33
夜交藤甙高	12	10*	83.33*
夜交藤醌低	12	4	33.33
夜交藤醌中	12	4	33.33
夜交藤醌高	12	7	58.33
夜交藤酮低	12	9*	75.00*
夜交藤酮中	12	10*	83.33*
夜交藤酮高	12	6	50.00
空白(水)	12	2	16.67
空白(吐温)	12	8	66.67

注：与各自空白组比较 * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ 。

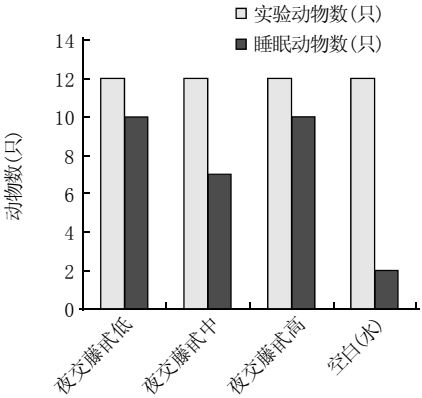


图1 夜交藤甙巴比妥钠阈下剂量实验结果

Fig.1 Amount of directly sleeping mice by feeding glycoside of *Caulis polygoni multiflori*

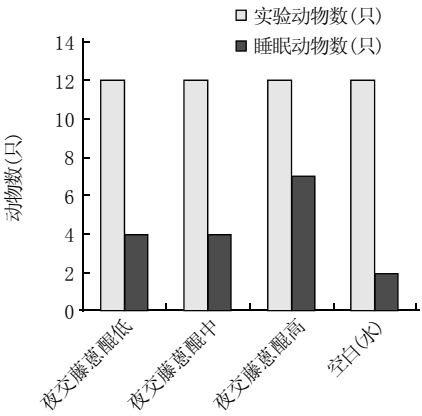


图2 夜交藤醌巴比妥钠阈下剂量实验结果

Fig.2 Amount of directly sleeping mice by feeding an-thraquinone of *Caulis polygoni multiflori*

动物实验中活体的差异所造成的。

由图2可知，夜交藤醌低、中、高剂量的动物入睡动物只数均高于空白水，且随剂量的升高入睡动物数呈上升趋势。各剂量组与空白水差异不显著(经卡方检验)，若适当提高剂量，应该可以显著增加动物入睡率。

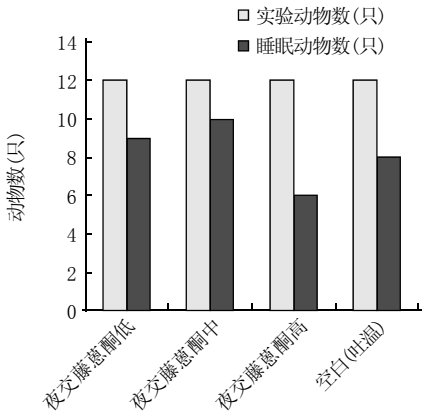


图3 夜交藤黄酮巴比妥钠阈下剂量实验结果

Fig.3 Amount of directly sleeping mice by feeding flavone of *Caulis polygoni multiflori*

由图3可知，夜交藤黄酮低、中剂量睡眠动物数高于空白吐温组，但并不明显。高剂量组甚至低于空白吐温组。中剂量的睡眠动物数最多，可知低剂量反应不灵敏，而高剂量过高造成抑制作用。

表5 巴比妥钠睡眠潜伏期实验结果($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Sleeping delitescence of injected barbital sodium mice ($\bar{x} \pm s$)

功效成分	实验动物数(只)	潜伏期(min)
夜交藤甙低	12	25.91 $\pm$ 6.55
夜交藤甙中	12	27.92 $\pm$ 6.29
夜交藤甙高	12	33.73 $\pm$ 5.87
夜交藤醌低	12	29.00 $\pm$ 3.55
夜交藤醌中	12	18.64 $\pm$ 3.83**
夜交藤醌高	12	28.25 $\pm$ 8.80
夜交藤酮低	12	24.91 $\pm$ 3.30
夜交藤酮中	12	22.33 $\pm$ 6.68
夜交藤酮高	12	24.09 $\pm$ 4.57
空白(水)	12	24.17 $\pm$ 3.43
空白(吐温)	12	30.78 $\pm$ 8.39

注：与各自空白组比较 * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ 。

由表5可见，中剂量夜交藤醌与对照组相比，小鼠睡眠潜伏期呈显著性差异(与正常对照组相比， $p < 0.01$)，表明其对缩短巴比妥钠小鼠睡眠潜伏期具有促进作用。将实验结果作直方图如图4。

如图4可知，夜交藤甙、夜交藤醌与空白水的潜伏期进行比较，大部分均高于空白水，其中以夜交藤甙高剂量最为明显，只有夜交藤醌中剂量低于空白水。夜交藤黄酮和空白吐温进行比较，发现夜交藤黄酮组均低于空白吐温组，但幅度并不明显。

由表6可见，高剂量夜交藤甙与对照组相比，小鼠睡眠时间呈显著性差异(与正常对照组相比， $p < 0.05$)，表明其对延长注射戊巴比妥钠小鼠的睡眠时间具有促进作用。将以上数据作图，得图5。

如图5所示，夜交藤甙和夜交藤醌与空白水比较，

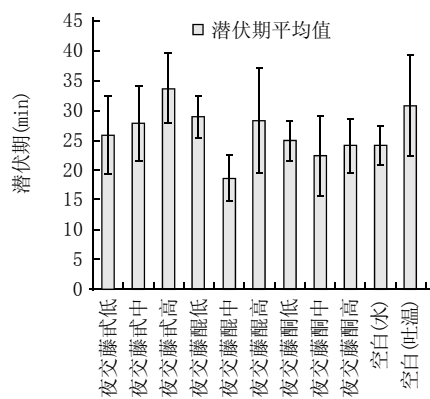


图4 巴比妥钠睡眠潜伏期实验结果

Fig.4 Sleeping rate of injected sub- threshold dose barbital sodium mice

表6 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验结果($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Sleeping time of injected Pelltobarbitalum Natricum sodium mice ($\bar{x} \pm s$)

功效成分	实验动物数(只)	睡眠时间(min)
夜交藤低	12	33.08±12.26
夜交藤中	12	26.36±6.10
夜交藤高	12	43.08±11.53*
夜交藤醒低	12	21.18±8.28
夜交藤醒中	12	27.00±9.86
夜交藤醒高	12	27.55±9.41
夜交藤酮低	12	33.25±14.11
夜交藤酮中	12	40.00±11.05
夜交藤酮高	12	32.82±11.19
空白(水)	12	32.80±5.87
空白(吐温)	12	26.25±7.69

注:与各自空白组比较 * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ 。

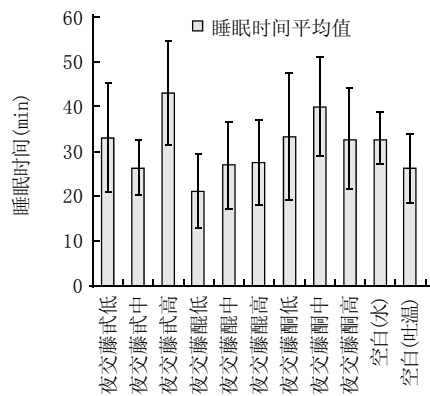


图5 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验结果

Fig.5 Sleeping time of injected Pelltobarbitalum Natricum sodium mice

只有夜交藤低剂量和高剂量高于空白水,以夜交藤高剂量最为明显。夜交藤黄酮与空白吐温比较,睡眠时间均高于空白吐温组,以夜交藤黄酮中剂量最为明显。

综上,高剂量夜交藤对提高实验动物入睡率,缩短实验动物入睡时间等两项实验中均具有促进作用。

5 讨论

5.1 甙类

本研究中夜交藤甙显示出一定的改善睡眠的功效,在巴比妥钠阈下剂量催眠实验中,与对照组相比,小鼠入睡率呈显著性差异(与正常对照组相比, $p < 0.05$);在巴比妥钠睡眠潜伏期实验中,小鼠睡眠潜伏期随夜交藤甙浓度的升高而增加,说明其浓度升高使小鼠入睡困难,可考虑适当降低浓度来促进小鼠睡眠潜伏期缩短;在延长戊巴比妥钠睡眠时间实验中,夜交藤甙高剂量与对照组相比,小鼠睡眠时间呈显著性差异(与正常对照组相比, $p < 0.05$),说明其对于延长小鼠睡眠时间具有促进作用。

本研究结果表明夜交藤甙可与巴比妥钠、戊巴比妥钠协同作用提高实验动物入睡率,延长实验动物睡眠时间。这与前人^[7-15]关于甙类改善睡眠的研究结果相一致,猜测可能是夜交藤甙中甙类的致眠作用,这为甙类改善睡眠的研究提供了新的参考。

5.2 蒽醌类

夜交藤中的蒽醌类^[1]主要为大黄素等,均以结合型存在,具有较强的活性。本次研究中,由巴比妥钠睡眠潜伏期实验结果,中剂量夜交藤蒽醌与对照组相比,小鼠睡眠潜伏期呈显著性差异(与正常对照组相比, $p < 0.01$),表明其对缩短巴比妥钠小鼠睡眠潜伏期具有促进作用。这与前人报道^[16]大黄的促睡眠作用相互印证。而且夜交藤蒽醌组在巴比妥钠阈下剂量催眠实验和延长戊巴比妥钠睡眠时间实验结果中,小鼠入睡率和延长睡眠时间与蒽醌浓度的增加成正相关。

5.3 黄酮类

很多文献报道^[17-19]黄酮对CNS(中枢神经)具有抑制作用。另有报道^[20-21]表明黄酮类可能对中枢神经系统具有抑制或兴奋两种相反的作用,但其作用机制还有待研究,探讨其构效关系有助于发现具有中枢神经活性的黄酮。本次研究中,巴比妥钠阈下剂量催眠实验。中剂量夜交藤黄酮与对照组相比,小鼠入睡率呈显著性差异(与正常对照组相比, $p < 0.05$),表明其对增加注射阈下剂量巴比妥钠小鼠的入睡率具有促进作用。这说明夜交藤黄酮显示出一定的改善睡眠功效,这与前人报道的黄酮对中枢神经的抑制作用相一致。

6 结论

根据我国改善睡眠功能检验标准,巴比妥钠阈下剂量催眠实验、巴比妥钠睡眠潜伏期、延长戊巴比妥钠睡眠时间实验中三项实验中有两项阳性,且无明显直接催眠作用,即可判定受试物具有改善睡眠功能的作用^[6]。

本研究结果表明,夜交藤甙既可缩短实验动物入睡

时间,又能提高实验动物入睡率,即三项实验中有两项阳性,具有改善睡眠障碍人群的入睡困难,缩短睡眠潜伏期的作用。符合国标,得出结论:夜交藤具有改善睡眠的功效。本研究结果为我国传统医学中阐述的夜交藤改善睡眠的功效作用提供了佐证,为我国中草药功效的研究和开发提供了参考。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999: 1984.
- [2] 陈道远,陈华圣. 夜交藤袋泡剂与水煎剂的镇静催眠作用的比较研究[J]. 南京中医药大学学报, 1999, 15(4): 240.
- [3] LI X, MATSUMOTO K, MURAKAMI Y, et al. Neuroprotective effects of *Polygonum multiflorum* on nigrostriatal dopaminergic degeneration induced by paraquat and maneb in mice[J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2005, 82: 345-352.
- [4] 中国科学院上海药物研究所. 中草药有效成分提取与分离[M]. 2版. 上海:上海科学技术出版社, 1983: 334-335.
- [5] 宋小妹,唐起书. 中药化学成分提取分离与制备[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004: 11-12.
- [6] 黄雨三. 保健食品检验与评价技术规范实施手册[M]. 北京:清华同方电子出版社, 2003.
- [7] 高世勇,倪小虎,于蕾,等. 人参茎叶皂甙、人参根皂甙抗抑郁作用研究[J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版, 2002, 18(2): 135.
- [8] 杨国愉,皇甫恩,苗丹民,等. 人参皂甙对睡眠剥夺大鼠行为的影响[J]. 中国行为医学科学, 2001, 10(2): 84-86.
- [9] MA Tian-cai, YU Qing-hai, CHEN Ming-hua. Effect of ginseng stem leaves saponins on one-way avoidance behavior in rats[J]. Acta Pharmacologica, 1991, 12(5): 403-406.
- [10] 曹颖林, PETCOV V D, TODOROV I, et al. 中国GSLs 对大鼠行为的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(3): 185-188.
- [11] BHATTACHARYA S K, REDDY P K, GHOSAL S, et al. Chemical constituents of gen-tianaceae XIX: CNS-depressant effect of Swertiamarin [J]. J Pharm Sci, 1976, 65(10): 1547.
- [12] 梁钜忠,雷伟业. 云南民族药斜茎獐牙菜的实验研究[J]. 云南医药, 1984, 5(2): 107-108.
- [13] 许士凯,王晓东,赵军宁,等. 天然药物抗衰老有效成分研究进展(之三)[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(21): 2773-2774.
- [14] 李求实,王升旭. 刺五加皂甙穴位贴敷抗睡眠剥夺作用的实验研究[J]. 华南国防医学杂志, 2002, 16(2): 11.
- [15] 黄胜英,谢世荣,黄彩云,等. 酸枣仁皂甙的镇静作用研究[J]. 大连大学学报, 2002, 23(4): 90-92.
- [16] 丁玉玲. 大黄蒽醌类的研究概况[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(11): 1162.
- [17] MARDER M, VIOLA H, WASOWSKI C, et al. 6-Met hyl-apigenin and hesperidin: new valeriana flavonoids with hactivity on the CNS[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2003, 75(3): 537-545.
- [18] FERNANDEZ S, WASOWSKI C, PALADINI A C, et al. Sedative and sleep-enhancing properties of linarin, a flavonoid isolated from *Valeriana officinalis*[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2004, 77(2): 399-404.
- [19] 郭胜民,范晓雯,何建伟,等. 酸枣仁总黄酮的中枢抑制作用[J]. 中药材, 1998, 21(11): 578.
- [20] 崔志清,王国祥,王立斌,等. 雪莲黄酮甙A1 对小鼠中枢神经系统的作用[J]. 中草药, 1995, 26(5): 247.
- [21] 王庆端,江金花,孙文欣,等. 葛根总黄酮的抗啤酒中枢抑制作用[J]. 河南医科大学学报, 1998, 33(3): 117.



研究发现瓢虫分泌物会影响葡萄酒品质

最新研究发现,尽管瓢虫看起来很漂亮,但是它们会产生一种难闻的液体,这会影响葡萄以及由此生产的葡萄酒的气味和品质。

来自 Iowa 州立大学的化学家们表示,他们已经确认了几种形成瓢虫的难闻气味的化合物,这一发现能帮助监测和去除这些物质。他们的研究结果在3月25日的第233届美国化学学会年会上公布。

越来越多的制酒商表示他们的酒中有一种奇怪的气味,这是由瓢虫产生的。在葡萄成熟季节,有很多瓢虫存在于葡萄园内,专家认为这些瓢虫在发酵过程中和葡萄汁混合在一起,导致了葡萄酒品质下降。Jacek Koziel 利用多种技术分析了约300种瓢虫发出的气味,结果分析出了28种不同味道,而其中有4种化学物质是主要的成分。

这些物质都属于甲氧基吡嗪类,它对于人类无害,但是只要一丁点都会被人的鼻子发现。这种物质的气味就像青椒或者烤花生,瓢虫用它来抵御捕食者。由于这些原因,微量的甲氧基吡嗪也会影响酒的质量,最近的其它研究表明,瓢虫分泌物的增加会显著降低葡萄酒中的天然的水果和花香强度。

瓢虫一般被认为是一种益虫,因为它们是控制蚜虫的最主要武器,蚜虫会破坏多种主要作物。其中一种大豆蚜虫最近从美国中西部开始向外扩展转播。正是这一原因导致这些地区的瓢虫数量也开始出现显著增加。