

三七花-酸枣仁-百合中药复方提取液 改善睡眠及安全性研究*

王恒禹 詹易 马岩 李桦军 余汪平 周铭涛 游燕**

(云南省药物研究所,云南白药集团创新研发中心,云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室,云南昆明 650111)

摘要:为了研究三七花-酸枣仁-百合中药复方提取液(以下简称复方提取液)对睡眠的改善效果及其口服安全性.本研究以无特定病原体(SPF)级昆明(KM)小鼠为研究对象,通过观察戊巴比妥钠催眠入睡时间和睡眠持续时间的变化,分析复方提取液对小鼠睡眠的影响,并通过观察灌胃给药后小鼠是否出现惊厥、腹泻、竖毛和俯卧等急性不良反应,是否存在组织和器官损伤来分析该复方提取液的安全性.延长戊巴比妥钠睡眠时间实验设健康空白组、对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,对应分别连续给予蒸馏水、1.3 mg/kg 地西洋药物、2.5 mL/kg 复方提取液、5.0 mL/kg 复方提取液和 15.0 mL/kg 复方提取液;末次给药 1 h 后,各组小鼠腹腔注射戊巴比妥钠,观察记录各实验组催眠入睡时间及睡眠持续时间情况.急性不良反应实验设雄性健康空白组、雌性健康空白组、雄性实验组和雌性实验组,采用 24 h 内 2 次最大剂量给药的方式,观察 2 周内小鼠体质量变化、不良反应情况及器官损伤情况.实验结果表明:与健康空白组相比,中、高剂量组能够显著缩短小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间($t=0.007\ 6, 0.004\ 1, P<0.01$),并显著延长睡眠时间($t=0.001\ 3, 0.003\ 7, P<0.01$);与健康空白组相比,低剂量组能够一定程度的缩短小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间并延长睡眠持续时间,但二者差异无统计学意义($P>0.05$).小鼠最大灌胃给药量为 80.0 mL/(kg·d),约为人体推荐剂量的 160 倍;给药 3、7 和 14 d 后,与雄、雌性健康空白组相比,雄、雌性实验组小鼠体质量差异均无统计学意义($P>0.05$);小鼠灌胃给予供试品后连续观察 4 h,并未出现腹泻、惊厥、竖毛和俯卧等不良反应,至实验结束时也无小鼠死亡情况,对小鼠进行解剖,各脏器未见异常.

关键词: 中药;三七花;酸枣仁;百合;改善睡眠;急性不良反应

中图分类号: TS205

DOI: 10.19789/j.1004-9398.2020.04.008

0 引言

我国古代医学家称睡眠是“养生之要务”,莎士比亚把睡眠比做是“生命筵席上的滋补品”^[1].2001年,国际精神卫生和神经科学基金会发起了一项全球睡眠和健康计划,将每年的3月21日定为“世界睡眠日”.睡眠质量的好坏直接影响着个人的生理和心理健康,并影响生活品质,睡眠障碍会导致全社会医疗资源消耗增加,事故发生率上升和社会生产率下降.

据世界卫生组织调查资料显示,全球至少有27.0%以上的人有睡眠问题,33.0%以上有不同程度的失眠症状.短期失眠可使人显得憔悴、精神疲

乏、头昏和头痛;严重的会出现记忆力减退^[2]、心慌、出汗、易激动、情绪低落、感情脆弱和性格孤僻导致神经衰弱;长期失眠则会引起提早衰老.目前我国失眠患者人数约有1.5亿,睡眠不良者人数高达3.0亿.成年人中,约50.0%的人有睡眠不良的经历;职业女性中更有高达80.0%的人受睡眠不良困扰;中老年人中受此困扰的也为数不少.改善睡眠市场容量大,因此开发一款具有改善睡眠质量的功能饮料具有较好的市场前景^[3].

现代药理研究表明,睡眠质量与人体免疫功能以及中枢神经递质系统有着密切的联系,与睡眠有关的细胞因子包括多种白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和转化生长因子- β (TGF- β)等^[4].睡眠的发生机制与中枢神经递质也有着复杂的联系,如慢波睡眠可能与脑干内5-羟色胺递质系统有关^[5],快波睡眠可能与脑干内5-羟色胺和去甲肾上腺素递质系统有关^[6].

收稿日期:2019-11-01

* 云南省重大科技专项计划(2018ZF013)

** 通信作者:youwanyan@sohu.com

三七花中的三七总皂苷能够提高痴呆模型大鼠大脑皮质内去甲肾上腺素、多巴胺和5-羟色胺的含量水平^[7]。王万里^[8]的研究认为人参皂苷Rb1能够调节大鼠海马、下丘脑组织中IL-1 β 和TNF- α 的表达,改变受试动物的脑电功率谱及睡眠结构;周家明等^[9]的研究表明三七皂苷R₁/R₂具有一定的镇静安神作用,实际上发挥改善睡眠作用的应该是三七总皂苷(包括Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd、Rg1、Rg2、Rg3、Rh1和Rh2等)通过复杂的途径协同实现的;罗家刚^[10]的研究表明三七中几乎不含可能导致人体精神恍惚的人参皂苷Ro。

酸枣仁是中医首选的安神药,其主要活性成分为酸枣仁皂苷和黄酮类化合物,还含脂肪、蛋白质、甾醇和多量维生素等,尚含微量强烈刺激性的挥发油。酸枣仁皂苷和黄酮类化合物均能明显降低小鼠的运动协调能力^[11];酸枣仁皂苷能明显减少正常小鼠的活动频率和次数,抑制苯丙胺的中枢兴奋作用,降低动物的运动协调能力,延长戊巴比妥钠阈剂量的动物睡眠时长,增加戊巴比妥钠阈下催眠剂量引起的入睡动物只数和缩短巴比妥钠诱导的小鼠的入睡潜伏期^[12-13]。黄维等^[14]研究了酸枣仁粉对小鼠睡眠的影响,并用荧光法测定小鼠脑中5-羟色胺含量,推测酸枣仁改善睡眠与小鼠脑中5-羟色胺含量具有相关性。

百合含皂苷和生物碱等活性成分^[15],百合皂苷通过提高动物脑内5-羟色胺和多巴胺的水平进而发挥镇静安神的功能^[16]。百合知母总皂苷能减少小鼠自主活动次数,增加戊巴比妥钠阈下催眠剂量引起的小鼠入睡只数,延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时长,其镇静催眠的作用呈现有正向的量效关系,即剂量增加,镇静催眠作用增强^[17-18]。

为了开发一款安全无不良反应且具有改善睡眠作用的服用功能食品,本文以三七花-酸枣仁-百合组成中药复方,通过多种工艺获得中药复方提取液供试样品(以下简称复方提取液),参照改善睡眠保健食品功能评价^[19]及急性不良反应安全性评价方法^[20],开展了延长戊巴比妥钠睡眠时间实验和灌胃给药急性不良反应研究,为改善睡眠的保健食品开发应用提供理论支持。

1 实验部分

1.1 实验材料与仪器

三七花、炒酸枣仁和百合中药饮片均采购自云

南白药集团中药资源有限公司。三七花符合云南省《食品安全地方标准 干制三七花:DBS 53/023—2017》^[21]的规定;炒酸枣仁和百合符合《中华人民共和国药典 2015年版》^[22]的品质要求。

95.0%食用酒精购自云南圣康科技有限公司;戊巴比妥钠(科研级,≥98.0%)购自美国西格玛(Sigma-Aldrich)公司;0.9%氯化钠注射液购自昆明南疆制药有限公司;地西洋片购自上海信谊药厂有限公司;清洁级小鼠生长繁殖饲料购自北京科澳协力饲料有限公司。

JJ-2000型电子天平购自江苏常熟市双杰测试仪器厂;CR22G离心机购自日本日立(Hitachi)公司;数显恒温水浴锅购自国华电器有限公司;Sartorius BS110S电子天平购自北京赛多利斯天平有限公司。

1.2 动物饲养条件及环境控制

实验所用小鼠均为无特定病原体(SPF)级昆明(KM)小鼠,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,体质量均为(20.0±2.0)g,鼠龄4~5周,共90只,其中雌性70只,雄性20只。所有小鼠采用聚碳酸酯盒群养的方式雌、雄分笼饲养,每日喂饲鼠用配合饲料,自由饮水,隔日更换垫料;动物房控制温度为(20.0±2.0)℃,相对湿度45.0%~50.0%,换气次数为每小时10~20次,气流速度0.1~0.2 m/s,噪音≤60 dB,工作光照强度150~300 lx,明、暗照明交替时间为12 h;动物房每周消毒2次,消毒剂以0.1%新洁尔灭和0.5%过氧乙酸交替使用。

1.3 复方提取液制备

采用传统水提法进行三七花-酸枣仁-百合中药复方液的提取。按照复方人体设计配方剂量(三七花0.8 g/d、炒酸枣仁11.2 g/d、百合8.0 g/d)100份,称取三七花80.0 g、炒酸枣仁1120.0 g、百合800.0 g,加入20.0 L蒸馏水,煎煮至体系温度达90.0℃开始计时,单次提取时间为1.5 h,共提取2次,200目滤布过滤后收集2次过滤液,合并溶液浓缩至2.0 L,待溶液冷却至(25.0±2.0)℃;边搅拌边缓慢加入95.0%食用乙醇至体系中乙醇的终体积分数为40.0%,室温静置4 h后离心,5 000 r/min离心10 min、离心半径15.0 cm,除去沉淀物,将上清液减压浓缩除去乙醇,再以蒸馏水定容至终体积3.0 L[设计人体服用剂量为30.0 mL/d,按成年人体质量为60.0 kg计算即

0.5 mL/(kg·d)],分装灭菌后备用.

1.4 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验

将 50 只小鼠以简单随机化法分为 5 组,分别是健康空白组、对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组 10 只小鼠.健康空白组每天以蒸馏水灌胃;对照组按 1.3 mg/kg 给予地西洋;低剂量组按人体用量的 5 倍,即给予 2.5 mL/kg 复方提取液;中剂量组按人体用量的 10 倍,即给予 5.0 mL/kg 复方提取液;高剂量组按人体用量的 30 倍,即给予 15.0 mL/kg 复方提取液.地西洋片为镇静催眠药物,故以对照组实验数据为依据,判断实验动物延长入睡时间及睡眠持续时间是否正常.各组小鼠连续灌胃给药 30 d,每天 1 次;末次给药 1 h 后,各组小鼠均腹腔注射戊巴比妥钠(以 0.9% 氯化钠注射液调配为 6.0 mg/mL,注射量为 0.2 mL),以小鼠背向下姿势保持 30 s 以上,且在 15 min 内不出现翻正反射为判断翻正反射消失的标准,记录注射戊巴比妥钠后至各组小鼠翻正反射消失的时间作为催眠入睡时间,翻正反射消失至觉醒的时间为睡眠持续时间,比较各组之间的差异,观察复方提取液是否具有延长戊巴比妥钠睡眠时间的功能^[19].

1.5 小鼠灌胃给药急性不良反应实验

选取 40 只小鼠,按性别以简单随机化法分为 4 组,分别是雄性健康空白组、雌性健康空白组、雄性实验组和雌性实验组,每组 10 只小鼠,在实验开始前小鼠禁食不禁水 12 h.

复方提取液的食用方式为口服,为准确评价供试品的安全性,实验按 40.0 mL/kg 剂量单次最大给药,在 24 h 内灌胃给予 2 次复方提取液,间隔 12 h.

于实验前及给药后第 3、7 和 14 天,称量小鼠体质量,观察给药前后小鼠体质量的变化情况.于小鼠灌胃给药后连续观察 4 h,主要观察小鼠的饮食情况、异常行为活动和排泄分泌物是否正常及是否出现中毒或死亡等情况,之后每天至少观察 1 次,连续观察 14 d.在观察期结束后对存活的小鼠进行解剖,观察小鼠心、肝、脾、肺、肾、胸腺、卵巢、子宫、精囊、前列腺、睾丸、胃和肠等器官的组织、颜色和质地有无异常变化^[20].

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示.运用 SPSS 11.0 统计分析软件,采用 t 检验进行组间实验数据比较. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 实验结果

2.1 延长戊巴比妥钠睡眠时间

对照组给予地西洋后,小鼠入睡时间明显缩短,睡眠持续时间显著延长说明所选动物符合实验要求,对催眠类药物能够产生正常的反应.不同组小鼠注射戊巴比妥钠后催眠入睡时间及睡眠持续时间结果如表 1 所示.结果显示:3 个剂量组均能缩短小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间,且入睡时间的缩短与供试品剂量之间存在一定的量效关系,随着剂量提高,小鼠入睡时间缩短,睡眠持续时间延长,但高剂量组与中剂量组之间的差异程度小于中剂量组与低剂量组之间的差异程度.与健康空白组对比,中、高剂量组小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间显著缩短($t = 0.007\ 6, 0.004\ 1, P < 0.01$),且睡眠时间显著延长($t = 0.001\ 3, 0.003\ 7, P < 0.01$),说明复方提取液在设计的剂量下具有延长戊巴比妥钠睡眠时间的功能.

表 1 各组小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间及睡眠持续时间 ($\bar{x} \pm s, s$)

组名	只数	入睡时间	睡眠持续时间
健康空白组	10	297 ± 108	3 858 ± 853
对照组	10	119 ± 57	10 060 ± 2 895
低剂量组	10	234 ± 119	5 070 ± 1 827
中剂量组	10	208 ± 27 ^a	5 744 ± 1 262 ^b
高剂量组	10	199 ± 33 ^a	5 797 ± 1 545 ^b

注:与健康空白组相比,^a $t = 0.007\ 6, 0.004\ 1, P < 0.01$; ^b $t = 0.001\ 3, 0.003\ 7, P < 0.01$.

2.2 小鼠灌胃给药急性不良反应

根据计算可知,24 h 内小鼠累积灌胃最大给药量为 80.0 mL/kg.所有小鼠给药后连续观察 4 h 及后续连续观察 14 d,均未出现惊厥、腹泻、竖毛和俯卧等急性不良反应,也未出现小鼠死亡的情况,灌胃给药急性不良反应实验前后,各组小鼠体质量情况列于表 2.与雄、雌性健康空白组相比,给药前及给药后第 3、7 和 14 天雄、雌性实验组小鼠体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$).

实验结束后,处死小鼠并解剖观察小鼠各脏器,雄、雌性实验组小鼠的组织、脏器均未出现肉眼可见的异常情况.

3 讨论

酸枣仁和百合是经过民间食用证实相对安全

表2 小鼠灌胃给药急性不良反应实验前后各组小鼠体质量情况 ($\bar{x} \pm s, g$)

组名	只数	给药前	第3天	第7天	第14天
雄性健康空白组	10	21.0 ± 0.7	28.3 ± 1.1	33.7 ± 1.9	39.0 ± 2.5
雌性健康空白组	10	20.6 ± 1.0	26.9 ± 1.5	29.9 ± 1.5	31.3 ± 2.4
雄性实验组	10	21.1 ± 0.8	28.2 ± 1.1	33.6 ± 1.3	40.0 ± 1.5
雌性实验组	10	20.4 ± 1.2	25.8 ± 0.8	28.8 ± 1.2	31.8 ± 1.4

并具有一定保健功能的药食同源物品,三七花为云南省地方特色资源食品,也具有悠久的食用历史,传统中医理论和现代医学研究均表明这3种物质具有一定的改善睡眠功能。本实验以三七花、酸枣仁和百合为原料,分别参照云南省地方标准《食品安全地方标准 干制三七花:DBS 53/023—2017》^[21]和《中华人民共和国药典2015年版》^[22]合理设计配方用量,复方经水提、过滤、浓缩和除杂等工艺获得三七花-酸枣仁-百合中药复方提取液,成人推荐剂量为30.0 mL/d。因为不同性别的实验动物其体内的激素水平、生活习性和对受试物的代谢水平有一定的差异,而延长戊巴比妥钠睡眠时间实验周期相对较短,不同性别的小鼠的药理反应时间不同,在一定程度上会干扰实验结果的判断,为了最大程度地排除干扰因素,本文参照改善睡眠保健食品功能评价的方法^[19],选择了雌性单一性别的小鼠作为研究对象,分为5个组进行实验。喂食1个月后,分别腹腔注射戊巴比妥钠并观察各组催眠入睡时间和睡眠持续时间,结果表明,中、高剂量组能够显著缩短小鼠戊巴比妥钠催眠入睡时间并延长睡眠持续时间。

三七花-酸枣仁-百合中药复方提取液最终的目的是开发成为一款具有改善睡眠功能的产品,并不存在性别选择性,为了研究其食用安全性以及是否存在急性不良反应,本文参照保健食品急性不良反应实验的方法^[20],24 h内按最大剂量2次灌喂小鼠,并持续观察2周,实验结果表明,最大给药剂量为人体设计剂量的160倍,所有小鼠给药后连续观察4 h及后续连续观察14 d,均未出现惊厥、腹泻、竖毛和俯卧等急性不良反应,也未出现小鼠死亡的情况,体质量未发生明显的变化,实验结束后解剖观察也并未发现实验对小鼠造成肉眼可见的组织器官损伤。

改善睡眠功能的论证还需结合直接睡眠实验,戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验以及人体试验进一步论证。人体试食试验应根据睡眠状况自评量表

(SRSS)选择睡眠质量不高的成年人作为受试者,并依照受试者排除标准进行排除不合适的受试人选,试食1个月后再运用SRSS量表进行自评,以分析受试者试验前后的变化,如果试食后自身SRSS总分值比试食前有降低,且差异有统计学意义时,可判定试样对人体具有改善睡眠功能的作用。

本文通过肉眼观察初步证实复方提取液对受试动物不产生急性不良反应或未造成脏器损伤,其是否对受试动物的器官和组织有不良影响还需要通过对器官和组织的病理切片进行更为科学和严谨的分析。

通过研究,本文可初步判断该供试品是一款相对安全并有一定改善睡眠作用的产品,可在此复方提取液的基础上,结合食品营养学的理论进一步优化,开发出具有改善睡眠功能的健康食品。

4 总结与展望

当前,消费者寻求改善睡眠的主要治疗手段是使用镇静催眠类药物,此类药物对人体中枢神经系统有一定的抑制作用,长期服用会产生依赖性、戒断症状和宿醉现象,并有可能存在其他不良反应。改善睡眠功能食品市场的畅销品主要是褪黑素类产品,褪黑素是人体大脑松果体根据生物钟的调节自然分泌的一种激素,在夜晚来临分泌增加,而在白天时分泌就会逐渐减少。因人体内确实缺少褪黑素而导致失眠的人可适当补充,若体内根本不缺乏却加服褪黑素就可能产生不良反应,导致较严重的后果。

为满足人民群众全方位、全生命周期健康服务需求,国家中医药管理局、科技部于2018年8月13日印发《关于加强中医药健康服务科技创新的指导意见》^[23],明确创新发展中医药健康养生产品,以满足睡眠促进等人民群众健康需求为重点,开展保健品、食疗产品和功能性化妆品等中医药健康养生产品开发,可见从国家层面已然非常重视睡眠问题。

酸枣仁和百合是我国传统药食同源的药材,在中国具有悠久的应用历史,三七花是云南省特色资源,并于 2017 年被批准成为地方特色食品原料,在云南省也有着多年的食用历史,以此 3 种原料组成中药复方并经传统工艺提取获得的提取液经实验证实对小鼠的睡眠质量有一定的改善效果,并初步证实了该复方提取液对受试动物不会产生急性不

良反应且不会造成脏器损伤,为改善睡眠保健食品的开发提供了物质和理论基础。

结合地方特色资源和中国传统药食同源原料或开发具有改善睡眠功能的保健食品,符合国家的政策方针,同时也有利于促进地方资源的深度开发,促进地方经济的增长,同时也能为饱受睡眠障碍困扰的人群提供新的解决方案。

参 考 文 献

- [1] 孙玉兰,陈祥明. 睡眠质量的衡量标准[J]. 中国社区医师, 2002, 18(14): 15-16.
- [2] 盛兆福,张永鹤. 睡眠质量的衡量标准[J]. 睡眠影响记忆巩固的研究进展, 2013, 3(1): 37-47.
- [3] 纪清,徐旭,赵国红. 重视脊柱疾病对睡眠的影响[J]. 上海预防医学, 2008, 20(3): 158-159.
- [4] 张妍,解军波,张彦青,等. 镇静催眠药物的主要作用机制研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(41): 3906-3908.
- [5] 周家明,张瑾,赵乐章,等. 海马中 5-羟色胺对慢波睡眠的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2006, 12(11): 844-845.
- [6] 沈瑞,徐迪. 中医中药治疗失眠的研究进展[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(34): 11-12.
- [7] 郭长杰,伍杰雄,李若馨. 三七总皂苷对痴呆模型大鼠大脑皮质内神经递质含量的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2004, 13(3): 150-152.
- [8] 王万里. 人参皂苷 Rb1 对大鼠 IL-1 β 和 TNF- α 表达及睡眠脑电影响的研究[D]. 成都:电子科技大学, 2008.
- [9] 周家明,叶祖光,崔秀明,等. 三七皂苷 R₁、R₂ 和人参皂苷 Rb1 药效学研究[J]. 中成药, 2010, 32(9): 1494-1497.
- [10] 罗家刚. 天麻、人参、三七的活性成分对比分析[J]. 昭通师范高等专科学校学报, 2002, 24(2): 43-44.
- [11] 张婷,郭怀满,胡丹东,等. 滇枣仁与酸枣仁的药理作用研究进展对比[J]. 首都食品与医药, 2016, 23(10): 23-24.
- [12] 陈百泉,杜钢军,许启泰. 酸枣仁皂苷的镇静催眠作用[J]. 中药材, 2002, 25(6): 429-430.
- [13] 刘华荣,陈卫英,黄宗锈. 酸枣仁提取物改善小鼠睡眠的研究[J]. 海峡药学, 2016, 28(12): 14-16.
- [14] 黄维,金邦荃,程光宇,等. 酸枣仁功效成分测定及改善睡眠保健功能的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1173-1175.
- [15] 刘淑梅. 百合化学成分提取方法研究综述[J]. 中国食品工业, 2015, 32(9): 54-57.
- [16] 张颖,陈宇霞,陈朝,等. 百合抗抑郁的应用和研究现状[J]. 医学综述, 2016, 22(17): 3438-3440.
- [17] 李海龙,高淑怡,高英,等. 百合知母总皂苷镇静催眠的药效学研究[J]. 北方药学, 2012, 9(10): 34-35.
- [18] 冯涛. 百合的医药功效与药膳食疗[C]//中华中医药学会. 第八届国际营养药膳高层论坛论文集. 北京:中华中医药学术委员会, 2009: 6.
- [19] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)[S]. 北京:中国标准出版社, 2003: 81-83.
- [20] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2010: 639-640.
- [21] 云南省卫生健康委员会. 食品安全地方标准 干制三七花: DBS 53/023-2017 [S/OL]. (2017-04-11) [2019-04-26]. <http://www.pbh.yn.gov.cn/wjwWebsite/web/doc/UU149205166001252769>.
- [22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015.
- [23] 国家中医药管理局,科技部. 关于加强中医药健康服务科技创新的指导意见[EB/OL]. (2018-08-13) [2019-11-26]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-08-13/7633.html>.

Study on the Improvement Sleep Function and Safety of Panax Tseng-Jujube-Lilii Bulbus Chinese Herbal Compound Extraction Solution

WANG Hengyu ZHAN Yi MA Yan LI Huajun YU Wangping ZHOU Mingtao YOU Yan

(Yunnan Institute of Materia Medic/Yunnan Baiyao Group Innovation and R&D Center, Yunnan Province Company

Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming Yunnan 650111)

Abstract: To study the sleep improvement effect and oral safety of Panax Tseng-Jujube-Lilii Bulbus compound extracts. This study was conducted to extend the sleep time of pentobarbital sodium and study the synergies of sodium pentobarbital sleeping time from the compound solution in specific pathogen free (SPF) KM mice. To make sure the safety, toxic reactions such as diarrhea, convulsions, vertical hair, prostrate and weight change, and organ injury in mice were observed after the drug given. The mice were divided into 5 groups in the experiment of prolonging pentobarbital sodium sleep-time, including healthy group, control group, low dosage group, middle dosage group and high dosage group. Distilled water, 1.3 mg/kg of diazepam, 2.5 mL/kg of compound extracts, 5.0 mL/kg of compound extracts, 15.0 mL/kg of compound extracts were given to the mice respectively. 1 h after the last administration, animals were injected sodium pentobarbital, and hypnotic sleep time and sleep lasting time was recorded. The mice were divided into 4 groups for acute toxicity test, including male healthy group, female healthy group, male experimental group, female experimental group. The mice were given maximal dose twice in 24 h. Then body weight change, adverse reaction and organ injury were observed for 2 weeks. Compared with healthy group, the middle and high dosage group could significantly shorten the latency of sleep ($t = 0.007\ 6$, $0.004\ 1$, $P < 0.01$) and prolong the time of sleep in mice ($t = 0.001\ 3$, $0.003\ 7$, $P < 0.01$); the low dosage group also could shorten the latency of sleep and prolong the time of sleep, but there was no significant difference ($P > 0.05$). The maximum gastric administration of the test solution in mice was 80 mL/(kg · d), that was 160 times as much as the recommended dose in human. There was no significant difference in body weight between the female, male healthy and experimental group after 3, 7 and 14 d of administration ($P > 0.05$). The mice were continuously observed for 4 h after administration and there was no significant toxic reactions such as diarrhea, convulsions, vertical hair and prostrate. Also, no mice died at the end of the experiment. The mice were dissected after the experiment, and there was no abnormality in heart, liver, spleen and other organs of mice.

Keywords: traditional Chinese medicine; panax tseng; jujube; lilii bulbus; sleep improvement; acute toxicity