

从表 2 可见, 10% 乙醇为溶剂, 一次经口摄入 MLT 组与 H₂O 为溶剂, 14 天摄入组测定对阈下剂量 PB 诱导小鼠睡眠率结果相似, 与溶剂对照组相比在 3.0、6.0、18.0 mg/kg BW MLT 剂量, 经 χ^2 检验, 差异具有显著性($P < 0.05$) 或高度显著性($P < 0.01$); 水为溶剂一次经口摄入 MLT, 各剂量组与对照组相比差异均无显著性($P > 0.05$)。

表 1 MLT 不同给药方式对 PB 诱导小鼠睡眠时间的影响($\bar{x} \pm s$) min

溶剂及 给药方式	动物数 只	MLT 剂 量 mg/kg BW					
		溶剂对照(0)	0.1	0.5	3.0	6.0	18.0
10% 乙醇 一次摄入	10	58.5 ± 10.2	未检测	106.5 ± 40.9 ⁽²⁾	73.7 ± 10.9 ⁽²⁾	73.5 ± 7.5 ⁽²⁾	353.6 ± 90.7 ⁽³⁾
H ₂ O 一次 摄入	10	52.6 ± 21.2	43.9 ± 17.2	48.5 ± 22.7	41.7 ± 16.9	未检测	51.2 ± 28.5
H ₂ O 14 天 摄入	10	81.1 ± 25.2	102.1 ± 18.4 ⁽¹⁾	121.3 ± 35.7 ⁽¹⁾	112.6 ± 22.5 ⁽¹⁾	未检测	305.2 ± 80.9 ⁽³⁾

(1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$; (3) $P < 0.001$

表 2 MLT 不同给药方式对阈下剂量 PB 诱导小鼠睡眠发生率的影响 %

溶剂及给药方式	动物 只	MLT 剂 量 mg/kg BW					
		溶剂对照(0)	0.1	0.5	3.0	6.0	18.0
10% 乙醇一次摄入	15	20.0	/	20.0	40.0	73.3 ⁽¹⁾	80.0 ⁽²⁾
H ₂ O 一 次 摄 入	10	20.0	30.0	20.0	10.0	/	50.0
H ₂ O 14 天 摄 入	15	6.6	40.0 ⁽¹⁾	33.3	40.0 ⁽¹⁾	/	60.0 ⁽²⁾

(1) $P < 0.05$; (2) $P < 0.01$

3 讨论

3.1 本研究采用两种不同溶剂和两种不同的给药时间组成三种方式测定了 MLT 对改善睡眠的影响。结果表明, 以 10% 乙醇为溶剂一次经口摄入方式与以 H₂O 为溶剂 14 d 经口摄入方式所得结果类似, 而以 H₂O 为溶剂一次经口摄入方式未检出 MLT 的助眠效果, 其原因可能是 MLT 为一种脂溶性物质, 当其以 H₂O 为载体时吸收率较低, 需连续较长时间摄入后方可奏效。此外, MLT 有别于其它镇静催眠类药物之处在于它并非直接抑制中枢神经系统引起催眠效果, 而是通过补充体内 MLT 调节机体生物钟, 从而起到改善睡眠作用的。因此连续摄入两周后再进行其功能测定较为合理。

3.2 乙醇是一种中枢神经系统的麻醉剂, 与许多镇静安眠类药物有协同作用。^[6] 试验过程中, 使用 10% 乙醇为溶剂一次经口摄入后即可检测出 MLT 的助眠效应, 较高剂量(18.0 mg/kg BW) 在延长 PB 诱导小

鼠睡眠时间试验中, 个别动物(2 只) 出现入睡后心跳减缓、潮式呼吸、四肢发凉、紫绀, 甚至导致死亡。说明以 10% 乙醇为溶剂, 尤其是测定高剂量 MLT 时, 对动物具有一定的危险性。我们认为在测定保健食品改善睡眠功能时, 最好不用乙醇为溶剂, 因为 MLT 本身为脂溶性物质, 乙醇载体加大其溶解性, 使其更易进入血脑屏障, 从而加大 MLT 对受试动物的中毒危险性。^[3] 采用 H₂O 为溶剂, 14 d 摄入后测定的方法, 既可避免上述缺陷, 又可有效测定其功效, 而且更符合人体摄食用水送服这一习惯。

4 参考文献

1 镇静催眠药. 见: 新药(西药) 临床前实验研究指导原则汇编(药理、药毒、毒理). 47

2 药物联合作用篇. 见: 维德临床用药年鉴. 北京: 中信出版社, 1998, 715

3 《医用药理学》编写组: 医用药理学. 第二版. 北京: 人民卫生出版社

编者按 北京市卫生防疫站毒理室的同志们在工作中及时发现问题, 不断探讨, 深入研究, 学术气氛活跃。我们收集该室的几篇保健食品方面的研究文章集中刊登在本期, 希望能为其他食品卫生工作同仁所借鉴。

MLT 改善睡眠试验研究

赵超英 吴绪敏 姚小曼 北京市卫生防疫站 (100013)

褪黑激素 [N-乙酰-5-甲氧色氨, Melatonin (MLT)] 是大脑松果体分泌的一种吲哚胺神经激素, 其分泌具有昼低夜高的节律, 主要功能之一是调控生物体生理时钟, 诱导睡眠。近年来, 多种以 MLT 为功能因子的保健产品相继问世, 目前国内对其助眠生物活性功能检测方法尚未完善, 多仍沿用“镇静催眠”类药物检测方法。^[1] 本文对该方法略加改良, 并就其溶剂和给予受试物不同时间后的测定结果进行了比较, 旨在使这一药理学检测方法更适用于保健食品的功能检测。

1 材料和方法

1.1 试验材料

实验动物 昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌性。由军事医学科学院实验动物中心提供。

受试物 褪黑素制剂, 由北京某公司提供。白色粉末。其成品为胶囊。每粒含褪黑素 3 mg。推荐成人保健日用量为 1 粒。

戊巴比妥钠 (PB) 由上海新华制药厂分装 (进口), 批号: 921019。

无水乙醇 北京化工厂生产, 批号: 900404。

1.2 试验方法

给予受试物方式

以 10% 乙醇为溶剂, 一次经口灌胃给予受试物。

以 H₂O 为溶剂, 一次经口灌胃给予受试物。

以 H₂O 为溶剂, 连续 14 d 经口灌胃给予受试物。

统计 采用 EPI INFO 软件, 用方差分析和 χ^2 检验进行统计。

测定 MLT 的助眠效应

延长 PB 睡眠时间试验

每种给药方式各取 60 只小鼠, 随机各分为 6 组

其中 5 个剂量组, 1 个溶剂对照组, 每组 10 只动物。剂量设计为 0.1, 0.5, 3.0, 6.0, 18.0 mg/kg BW (以褪黑素计)。按 0.1 mL/10g BW 经口灌胃, 溶剂对照组给予等量溶剂灌胃。各试验组及溶剂对照组分别于给予受试物 (或末次给予受试物) 后 30 min, 腹腔注射 48 mg/kg BW PB, 以小鼠“翻正反射”消失为睡眠指标, 观察受试物对 PB 诱导睡眠时间的延长作用。结果用方差分析进行统计。

PB 阈下催眠剂量试验

剂量设计及分组方法同“延长戊巴比妥钠睡眠时间”试验。各试验组及对对照组均于给予受试物 (或末次给予受试物) 后 30 min, 腹腔注射 27.5 mg/kg BW PB, 以小鼠 30 min 内“翻正反射”消失 1 min 以上为“入睡”的标准, 观察各组发生睡眠的动物数, 计算睡眠率, 结果用 *t* 检验进行统计。

2 结果

2.1 延长 PB 诱导小鼠睡眠时间试验

给予 PB 后 3~5 min 内, 动物出现兴奋、躁动、步态蹒跚等症状, 7~15 min 开始“入睡”。结果见表 1。

从表 1 可见, MLT 一次经口灌胃摄入 10% 乙醇溶剂组与连续 14 d 摄入 H₂O 溶剂组, 在不同剂量下动物睡眠时间均比溶剂对照组有不同程度的延长, 其差异经方差分析, 分别具有显著性 ($P < 0.05$)、高度显著性 ($P < 0.01$)、极高度显著性 ($P < 0.001$), 而一次以 H₂O 为溶剂经口摄入 MLT 时, 在受试剂量范围内动物入睡时间与溶剂对照组相似, 经方差分析其差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.2 PB 阈下催眠剂量试验结果

给予戊巴比妥钠后 3~5 min 内, 动物出现躁动、兴奋、步态蹒跚等症状, 30 min 内, 部分动物开始“入睡”, 30 min 后, 多数动物恢复。试验结果见表 2。