

本文引用:王亚茹,于世家.自拟安眠方对小鼠自主活动及协同戊巴比妥钠睡眠实验的影响[J].湖南中医药大学学报,2017,37(9):935-938.

自拟安眠方对小鼠自主活动及协同 戊巴比妥钠睡眠实验的影响

王亚茹,于世家*

(辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110032)

〔摘要〕 **目的** 观察自拟安眠方对小鼠自主活动及协同戊巴比妥钠睡眠实验的影响。**方法** (1)将69只小鼠随机分为六组(空白对照组,西药对照组,中药对照组,安眠方低、中、高剂量组),空白对照组给予生理盐水,西药对照组给予地西洋,中药对照组给予甜梦胶囊,安眠方低、中、高剂量组分别给予12、38.7、120 g/(kg·d),观察10 min内各组小鼠活动次数及站立次数;(2)将90只小鼠,随机分为6组,空白对照组及西药、中药对照组同小鼠自主活动实验,安眠方低、中、高剂量组分别给予30.1、60.2、120 g/(kg·d),观察小鼠戊巴比妥钠睡眠潜伏期及睡眠时间。**结果** 与空白对照组相比,安眠方高剂量组小鼠活动次数与站立次数明显减少($P<0.01$);协同戊巴比妥钠实验中安眠方中、高剂量组小鼠睡眠潜伏期缩短及睡眠时间延长与空白对照组相比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 安眠方具有抑制小鼠自主活动的作用,具有缩短小鼠睡眠潜伏期及延长小鼠睡眠时间的作用。

〔关键词〕 安眠方;睡眠实验;自主活动;戊巴比妥钠;天麻;钩藤

〔中图分类号〕 R285.5;R338.63

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.09.004

Effects of Anmian Decoction on Automatic Activity and Pentobarbital Sleep Test of Mice

WANG Yaru, YU Shijia*

(Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang, Liaoning 110032, China)

〔Abstract〕 **Objective** To investigate effects of Anmian decoction on automatic activity and pentobarbital sleep test of mice. **Methods** (1) 69 mice were divided into six groups (the control group, the Western medicine group, the traditional Chinese medicine group, Anmian Decoction low dosage group, Anmian Decoction medium dosage group and Anmian Decoction high dosage group) for automatic activity test. The control group was given with normal saline, the Western medicine group was treated with diazepam, the traditional Chinese medicine group was treated with Tianmeng capsule, the low dosage, the medium dosage and the high dosage of Anmian decoction groups were separately taken Anmian decoction with 12, 38.7, 120.4 g/(kg·d) daily. Numbers of activity and stand of mice were observed in 10 minutes. (2) Another 90 mice were randomly divided into six groups in order to be tested by pentobarbital sleep test. All methods were same as automatic activity test except the low dosage, the medium dosage and the high dosage Anmian decoction groups which were administered with 30.1, 60.2, 120.4 g/(kg·d) Anmian decoction every day, respectively. **Results** Numbers of activity and stand of mice in blank control group were significantly inhibited compared with the blank group ($P<0.01$). The medium and high dosages of Anmian decoction in pentobarbital sodium experiment could significantly shorten the latency of sleep and prolong the time of sleep in mice comparing with the control group ($P<0.05$). **Conclusion** Anmian decoction could inhibit the automatic activity of mice, decrease latency of sleep and prolong the time of sleep in mice.

〔Keywords〕 Anmian Decoction; sleeping test; automatic activity; pentobarbital sodium; Gastrodiae Rhizoma; Uncariae Ramulus Cum Uncis

〔收稿日期〕 2016-12-27

〔基金项目〕 辽宁省教育厅重点实验室基础研究项目(LZ2014043)。

〔作者简介〕 王亚茹,女,在读博士研究生,研究方向:中医药治疗糖尿病及其慢性并发症。

〔通讯作者〕 *于世家,男,教授,主任医师,博士研究生导师,E-mail:86291222@163.com。

失眠是指经常不能获得正常睡眠的一种病症。中国睡眠研究会于2003年世界睡眠日在全国范围内发放万份睡眠障碍调查问卷,调查结果显示,被调查人群存在睡眠障碍的比率为38.4%^[1]。近年来,随着社会的发展,生活节奏的加快,工作学习的紧张,竞争意识的增强,失眠的发生率不断上升。失眠症是指睡眠的始发和睡眠维持发生障碍,致使睡眠质量不能满足个体需要而明显影响患者白天正常活动的一种睡眠障碍综合征。中医学将该病归属为“不寐”“不得眠”“不得卧”等范畴。目前睡眠的机制尚未完全明了,现代医学治疗失眠仍以镇静催眠为主。某些药物对中枢神经系统有一定的抑制作用,同时还会使患者产生不同程度依赖性。所以,众多医家积极地在中医学领域寻找和探索治疗失眠症的理论和方法。导师于世家教授通过多年来对中医经典的潜心研究及几十年来的临床实践经验,自拟安眠方(天麻、钩藤、黄精、酸枣仁、五味子、首乌藤6味中药),在临床上治疗糖尿病合并失眠收到良好疗效。本文采用小鼠行为学观察的实验方法,通过观察安眠方对小鼠自主活动及协同戊巴比妥钠对小鼠睡眠的影响,包括小鼠睡眠时间、睡眠潜伏期等情况,研究安眠方的镇静催眠作用,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物 安眠方颗粒(天麻、钩藤、黄精、酸枣仁、五味子、首乌藤6味)。本实验受试物为安眠方处方的提取物,不含任何添加剂及辅料等。由辽宁中医药大学附属医院中医药实验中心中药制剂室提供,深褐色粉末。每克粉末相当于4.3 g生药。西药阳性对照药地西洋片,北京益民药业有限公司产品。批号:20121001。中药阳性对照药甜梦胶囊,荣昌制药(淄博)有限公司产品,批号:130201061。受试药物及中药对照药溶于水、地西洋研碎后溶于PMPC。戊巴比妥钠中国医药(集团)上海化学试剂公司进口分装,批号:F20030816。

1.1.2 动物 昆明种小鼠,SPF级,雌雄各半,体重18~20 g。由辽宁长生生物有限公司提供,许可证号:SCXK(辽)2012-0001。

1.1.3 仪器 ZZ-6小鼠自主活动仪,成都泰盟科技

有限公司。

1.2 方法

1.2.1 安眠方对小鼠自主活动实验的影响 69只小鼠随机分为6组,即空白对照组、西药对照组、中药对照组、安眠方低剂量组、安眠方中剂量组、安眠方高剂量组。三组对照组各11只小鼠,三组实验组各12只小鼠,灌胃给药。其中空白对照组给予生理盐水同容量,西药对照组给予地西洋1 mg/(kg·d),中药对照组给予甜梦胶囊2.725 g/(kg·d)生药,安眠方低、中、高剂量组分别给予12、38.7、120 g/(kg·d)生药。各组小鼠禁食(不禁水)12 h后,按上述设计剂量给药,连续2次,间隔1 h。第2次给药后1 h,分别将小鼠置于自主活动仪中,记录10 min内的各组小鼠活动次数及站立次数。

1.2.2 安眠方对小鼠戊巴比妥钠睡眠潜伏期及睡眠时间的影响 将90只小鼠,均匀随机分为6组,即空白对照组、西药对照组、中药对照组、安眠方低剂量组、安眠方中剂量组、安眠方高剂量组。每组15只。灌胃给药。空白对照组给予生理盐水;西药对照组给予地西洋4 mg/(kg·d);中药对照组给予甜梦胶囊10.9 g/(kg·d);安眠方低、中、高剂量组分别给予30.1、60.2、120 g/(kg·d)生药。各组小鼠禁食(不禁水)12 h。按上述实验设计剂量给药。二次给药间隔1 h,第二次给药后1 h,各组小鼠腹腔注射戊巴比妥钠50 mg/kg(0.1 mL/kg)。立即观察小鼠入睡潜伏期及睡眠时间。小鼠入睡标准为翻正反射消失。翻正反射消失是指背部向下保持30 s以上,并且15 s内不再出现翻正反射为止。入睡潜伏期为腹腔注射戊巴比妥钠后至翻正反射消失的时间。睡眠时间即翻正反射消失至觉醒的时间。

1.3 统计学分析

用SPSS 13.0统计软件进行统计分析。计量资料均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,先经正态分布和方差齐性检验,再采用方差分析的组间 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 安眠方对小鼠自主活动的影响

与空白对照组相比,安眠方高剂量组小鼠自主活动显著减少,组间差异有统计学意义($P < 0.01$)。低、中剂量组没有作用($P > 0.05$),而西药对照组地西

泮及中药对照组甜梦胶囊与空白对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),原因可能是本实验中两种药物剂量选择偏低所致。见表1。

表1 各组小鼠10 min内活动及站立次数 ($\bar{x}\pm s$,次)

组别	剂量/ $\text{g}(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$	<i>n</i>	活动次数	站立次数
空白对照	—	11	251±66	87±70
地西洋	0.001	11	206±78	107±101
甜梦胶囊	2.725	11	289±61	142±80
安眠方(低)	12.0	12	300±31	217±85
安眠方(中)	38.7	12	209±68	144±114
安眠方(高)	120.4	12	98±55**	30±35*
<i>F</i>			10 080	6 932
<i>P</i>			0.000	0.02

注:与空白对照组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

2.2 小鼠戊巴比妥钠睡眠潜伏期及睡眠时间的影响

结果显示安眠方中、高剂量组睡眠潜伏期及睡眠时间与空白对照组差异显著($P<0.01$),但低剂量组与空白对照组比较睡眠潜伏期无明显差异($P>0.05$),但睡眠时间存在明显差异($P<0.01$)。见表2。死亡率安眠方中剂量组与地西洋组比较组间差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表2 小鼠戊巴比妥钠睡眠潜伏期及睡眠时间 ($\bar{x}\pm s$,min)

组别	剂量/ $\text{g}(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$	<i>n</i>	睡眠潜伏期	睡眠时间
空白对照	—	15	7.00±1.60	84.87±21.90
地西洋	0.004	10	3.70±0.48**	224.7±55.98**
甜梦胶囊	10.9	15	11.0±2.48	71.86±23.41
安眠方(低)	30.1	15	6.40±1.55	144.5±41.96**
安眠方(中)	60.2	12	4.08±0.29**	223.4±55.04**
安眠方(高)	120.4	6	4.14±0.69**	262.5±24.54**
<i>F</i>			9 762	5 846
<i>P</i>			0.01	0.000

注:与空白对照组比较, ** $P<0.01$ 。

表3 小鼠戊巴比妥钠睡眠实验死亡情况 (*n*,%)

组别	死亡	翻正反射(-)
空白对照	0	0
地西洋	33.3(5/15)	0
甜梦胶囊	0	0
安眠方(低)	0	0
安眠方(中)	6.6(1/15)*	0
安眠方(高)	20(3/15)	0

注:与地西洋组比较 * $P<0.05$ 。

3 讨论

镇静催眠药的实验动物行为学观察,现代药理实验方法一般通过观察受试药对巴比妥类药物诱导

睡眠的影响^[2],观察实验药物是否能延长睡眠时间,是否能缩短睡眠潜伏期。以上实验证明,安眠方高剂量具有显著的抑制小鼠自主活动的作用,提示安眠方有一定的中枢抑制作用。协同戊巴比妥实验中安眠方中、高剂量组小鼠睡眠潜伏期及睡眠时间与对照组相比较均有统计学意义,但安眠方中、高剂量组以及地西洋组均有部分小鼠死亡。究其原因可能是2个中枢抑制药协同作用,高度抑制的结果,这也恰恰证明安眠方的中枢抑制作用,但两者比较安全性存在差异($P<0.05$)。

不寐的病因与饮食、劳倦、情志密切相关,病位以心、肝、肾为主,心主神志,肝主疏泄,肾藏精,肝体阴而用阳,肝藏血,主疏泄从而调畅气机,并且肝气有升发之性,肝以调达为顺,因此肝阳上亢为不寐的常见病机。心主血脉,藏神,心与情志活动,精神,思想,意识等密切相关;肾主水,藏精,肾水上济于心,心肾相交,则阴阳平衡,心肾不交常诱发不寐。不寐的病理因素以阴虚、阳亢最为多见,其次还包括血虚、气滞、痰、热、气虚、湿、阳虚、气陷、食积等。陈少攻等^[3]总结了仲景治疗不寐有七法:阳虚不寐,温阳安神;心肾不交,交通心肾;阴血不足,滋养阴血;郁热扰神,清宣郁热;湿热扰神,化湿和胃;阴虚内热,滋阴清热;水热互结,滋阴利水。寇东升^[4]通过对不寐病治疗的临床观察,认为引起不寐多以痰热内扰神明为常见,运用温胆汤加减治疗不寐病患者100例,总有效率达到96%。郑炎红等^[5]根据种体质学理论(即阳虚、阴虚、气虚、气郁、血瘀体质),以调整病人的体质偏颇,进而达到阴阳平衡;各医家治疗不寐的方法不外虚、热、痰、湿、瘀、郁六宗。于世家教授认为不寐的主要病机为阴虚阳亢,阴阳失衡,阳不入阴,阴不敛阳。病位不外乎心、肝、脑。故而以滋阴潜阳,镇静安神为原则治疗不寐。自拟安眠方治疗失眠临床收到良好疗效。选用黄精、五味子、夜交藤养阴安神。天麻、钩藤平肝镇静。酸枣仁养心除烦安神。方中天麻是一味较为常用的中药,具平肝潜阳之功,《本经》:“天麻久服益气力,长阴,肥健,轻身,增年”。近几年对天麻的药理及成份研究发现,天麻能通过抑制大鼠初级感觉神经元中的酸敏感离子通道的活力从而起到镇痛作用,同时天麻提取物天麻素具有增强免疫力,改善脑血流量及血管顺应性,促进心肌细胞能力代谢的功能^[6]。通过实验推断天麻粉通过

对神经细胞凋亡的抑制作用,起到保护神经细胞,改善睡眠的作用^[7]。钩藤含有钩藤碱,小鼠腹腔注射具有镇静作用,但无明显催眠作用;有研究证明天麻与钩藤配伍应用对戊巴比妥钠催眠剂量具有一定的协同作用,可延长小鼠睡眠时间,延长药物致小鼠惊厥潜伏期^[8];酸枣仁其味酸性平,补肝,宁心,敛汗,生津。主要治疗虚劳虚烦不眠、体虚多汗、津伤口渴等症。赵启铎等^[9]用酸枣仁总黄酮不同剂量给小鼠灌胃,结果都可以使小鼠自主活动次数明显减少,充分证明酸枣仁有很好的镇静催眠作用。五味子养阴敛汗,《得配本草》谓:枣仁得五味子敛自汗,两者配伍适用于心肝阴血不足,心神失养或虚阳上扰所致之不寐。并且有研究证明五味子木脂素及酸枣仁皂苷是两类镇静催眠药效成分^[10];夜交藤又名首乌藤,性平无毒、味甘微苦,具有养心安神之功。夜交藤中主要含有蒽醌类成分、二苯乙烯苷类成分,含量较高的代表性化合物分别为大黄素及葡萄糖苷^[11],而这两种物质经研究证明具有明显的改善小鼠睡眠作用^[12];黄精性味甘、平,入脾、肾、肺经,具有补气健脾、润肺、益肾等功能,《本草正义》称黄精“味甘而厚腻,颇类熟地……补血补阴而养脾胃是其专长”。《神仙芝草经》亦称黄精“宽中益气,使五脏调良,肌肉充盛,骨髓坚强,其力增倍,多年不老,颜色鲜明,发白更黑,齿落更生”。6味经典药物的组合,通过实验证明具有缩短睡眠潜伏期及延长睡眠时间的作用,具有明显的中枢抑制作用,相对于西药的中枢抑制药物具有更高的安全性,安眠方在有效的同时安全性更

高,在临床中更具有应用价值。

参考文献:

- [1] 慈书平,张希龙,杨宇,等.睡眠与睡眠疾病[M].北京:北京军事医学科学出版社,2005:178-179.
- [2] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2010:69-73.
- [3] 陈少玫,韦启志.张仲景论治不寐探略[J].中华中医药杂志.2012,27(2):407-409.
- [4] 寇东升.温胆汤治疗不寐证100例[J].陕西中医,2012,33(6):681-682.
- [5] 郑炎红,许友慧,陈明达.失眠的辨体质论治与辨证[J].内蒙古中医药,2011,30(2):34-35.
- [6] 胡一冰,崔佳,韩笑,等.中药天麻研究进展[J].贵阳中医学院报,2011,23(4):48-51.
- [7] 张苗旋,胡卫.天麻改善小鼠睡眠作用研究[J].生物技术世界,2014,10:149-151.
- [8] 唐庆,马晓芳,赵桂香,等.天麻钩藤降压胶囊降压及镇静作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(17):242-243.
- [9] 赵启铎,舒乐新,王颖,等.酸枣仁总黄酮抗抑郁作用的实验研究[J].天津中医药,2011,28(4):335-337.
- [10] Wei B, Li Q, Fan R, et al. Determination of monoamine and amino acid neurotransmitter and their metabolites in rat brain samples by UFLC-MS/MS for the study of the sedative-hypnotic effects observed during treatment with *S.chinensis*[J]. J Pharm Biomed Anal,2014(88):416-422.
- [11] 薛咏梅,李智敏,孙贇,等.夜交藤的研究与开发进展[J].云南中医学院学报,2008,31(1):64-66.
- [12] 汲广全,杨娟,杨小生.夜交藤改善睡眠活性成分研究[J].中成药,2011,33(3):514.

(本文编辑 杨瑛)