养心安神药与重镇安神药对失眠大鼠睡眠时相影响的比较研究*

□姜珊珊** 闫立地 李廷利** 杜娟

(黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040)

摘要:目的:比较养心安神药和重镇安神药改善睡眠时相作用的异同。方法:在恒温、恒湿、自动光控和电磁屏蔽实验条件下,采用多导睡眠描记方法,观察养心安神药与重镇安神药对大鼠睡眠时相的影响。结果:柏子仁(*Semen Platycladi*)、远志(*Radix Polygalae*)可延长失眠大鼠睡眠时相中的 SWS1 期,但不缩短 SWS2 期和 REMS 期;酸枣仁(*Semen Ziziphi Spinosae*)延长失眠大鼠的 SWS1 期和 SWS2 期;磁石(*Magnetitum*)、朱砂(*Cinnabari*)同时延长 SWS1 期、SWS2 期和 REMS 期。结论:养心安神药对 REMS 期无影响,而重镇安神药对 REMS 期有影响;与养心安神药相比,重镇安神药的磁石、朱砂对失眠大鼠的慢波睡眠延长作用更明显,可显著提高失眠大鼠的睡眠质量。

关键词:脑电图 安神药 睡眠时相

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.03.019

安神药是中医临床治疗失眠的常用药物,根据其治症候不同,将安神药分为重镇安神和养心安神两类。在现代药理学中,关于养心安神药和重镇安神药对睡眠时相的影响是否存在差别尚未报道^[1-4]。为中医临床辨证施治提供理论依据,促进中药安神药在治疗失眠方面的应用,本实验采用多导睡眠描记技术(PSG)和电刺激诱导大鼠失眠相结合的方法,研究养心安神药中柏子仁、远志、酸枣仁和重镇安神药中磁石、朱砂对失眠模型大鼠睡眠时相的影响。通过对比分析,初步确定养心安神药和重镇安神药对失眠模型大鼠睡眠时相影响的差异。

一、材料与方法

1. 试剂与用药

戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司,批号:Lot.No.WS20060401,临用时以蒸馏水配制成1%溶液),自凝牙托水(哈尔滨齿科器材厂,批号:06-01-07),自凝牙托粉(哈尔滨齿科器材厂,批号:06-02-02),注射用青霉素钠(哈药集团制药总厂,批号:A070308613)。酸枣仁(*Semen Ziziphi Spinosae*)、柏子仁(*Semen Platycladi*)、远志(*Radix Polygalae*)、朱砂(*Cinnabaris*)、磁石(*Magnetitum*)(以上中药材经生药学教研室都晓伟教授鉴定)。

2. 仪器

收稿日期:2009-10-29

修回日期:2009-12-08

* 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(04-05JP20):养心安神与重镇安神治法改善睡眠机制的比较研究,负责人:李廷利。

** 联系人:姜珊珊,硕士研究生,主要研究方向:中药药理,Tel:0451-82196294,E-mail:hanpiaoxue@sohu.com;李廷利,黑龙江中医药大学科技处处长,主要研究方向:中药及复方的药理作用、作用机制及安全性评价(睡眠方向),Tel:0451-82193038,E-mail:litingli8888@sohu.com。

ND-97 数字化脑电图仪(上海医疗器械高技术公司),恒温恒湿自动光控电子屏蔽室,大鼠脑立体定位仪(美国 Stoelting 公司),有机玻璃笼(自制),大鼠失眠刺激器(哈尔滨电工仪表研究所)。

3. 动物

Wistar 大鼠,雄性,体重 $220 \pm 5g$ (黑龙江中医药大学实验动物中心提供,许可证号:黑动字第 P00101006)。

4. 药材的制备

(1) 柏子仁、远志、酸枣仁的制备。

称取柏子仁、远志、酸枣仁适量,分别加 5 倍量蒸馏水,浸泡 1h,煎煮 2 次,第 1 次 30min,第 2 次 20min,滤过,合并滤液,滤液分别浓缩至 $1g \cdot mL^{-1}$ 、 $1g \cdot mL^{-1}$ 、 $2g \cdot mL^{-1}$,备用。

(2) 磁石的制备。

称取磁石适量,加 5 倍量蒸馏水,浸泡 1h,煎煮 2 次,第 1 次 60min,第 2 次 50min,滤过,合并滤液,滤液浓缩至 $3.5g \cdot mL^{-1}$,备用。

(3) 朱砂的制备。

称取淀粉适量,加入热水搅拌,制成淀粉糊(2.5%),晾凉。将朱砂放入研钵中,逐渐加入淀粉糊,制成 $0.12g \cdot mL^{-1}$ 混悬液,于每次实验前制备。

5. 大鼠睡眠时相划分标准和定量分析指标

根据大鼠脑电图,并参考有关文献^[5-8],将大鼠觉醒-睡眠周期分为觉醒(Wake)、慢波睡眠 I 期(SWS1)、慢波睡眠 II 期(SWS2)和快动眼睡眠(REMS) 4 个时相。规定任何一个独立的睡眠时相持续时间至少在 20s 以上,并以每 20s 作为一个分析单元。

6. 实验方法及步骤

(1) 电极埋置。

大鼠采用戊巴比妥钠腹腔注射麻醉($40mg \cdot kg^{-1}$)后,用脑立体定位仪固定,头部剪毛,消毒后,剪去头部皮肤,充分暴露颅骨,剥离骨膜。分别于颅骨上(AP-2, R2; AP+2, R2)钻孔,将两个直径 1mm 的不锈钢螺丝钉植入颅骨内,使之与硬脑膜接触,但不穿透硬脑膜,作为皮层电极;在额骨正中(AP+5, R0)钻孔,安置接地电极,并将电极螺丝钉制成微型插座,以牙科水泥固定^[9]。术后将实验动物置于特制的有机玻璃笼内单笼饲养,连续 3d 腹腔注射 4 万单位青霉素,恢复 7d 待测。在正式进行脑电描记前将附有导线的插头与大鼠头部电极插座相连,进行大鼠对电极插座连接的适应性训练,训练 4.5h。

(2) 正常大鼠脑电的描记。

将手术恢复后的 40 只大鼠,随机分为柏子仁组、远志组、酸枣仁组、磁石组、朱砂组,每组 8 只,每天保证明暗交替 12h。术后第 8 天,经灌胃途径给予实验动物 $10mL \cdot kg^{-1}$ 的蒸馏水,记录正常大鼠的脑电(EEG)信号。描记时间为 9:00~17:00,共计 8h。

(3) 大鼠失眠模型的复制。

术后第 9 天,经灌胃途径给予实验动物 $10mL \cdot kg^{-1}$ 的蒸馏水。上午 9:00 将大鼠笼中放置电栅,打开失眠刺激器。失眠刺激器被调制为每刺激 30s 间隔 30min,以造成大鼠失眠。同时进行皮层脑电的描记,描记时间为 9:00~17:00,共计 8h。

(4) 养心安神药与重镇安神药对失眠大鼠睡眠时相的影响。

术后第 10 天,早 8:30 经灌胃途径分别给予实验动物 10g 生药/kg 柏子仁、10g 生药/kg 远志、17.5g 生药/kg 酸枣仁、35g 生药/kg 磁石、0.6g 生药/kg 朱砂,连续给药 7 天。于末次给药 30min 后,对大鼠再次进行 8h 的电刺激并进行脑电描记。分别计算此描记时间段内给药后各组失眠大鼠 Wake、SWS1、SWS2、REMS、TST 内各自的总时间。

二、统计学方法

数据均以 $\bar{x} \pm SD$ 表示,应用自身配对 t 检验法进行统计分析, $P < 0.05$ 即表示差异有统计学意义。

三、结果

电刺激后大鼠的 W、SWS1、TST 与电刺激前相比,均有显著性差异(见表 1),表明失眠模型复制成功。

由表 2 可以看出,给予供试药物后,各药物均能明显减少失眠大鼠的 W 期,延长失眠大鼠的 TST,说明上述药物均能改善由电刺激所造成的大鼠失眠状况。养心安神药中的不同药物对失眠模型大鼠睡眠时相的影响有差异,但对 REMS 期均没有影响;重镇安神药中的磁石、朱砂均可延长失眠模型大鼠睡眠时相的 SWS1、SWS2、REMS 期。

四、结论及讨论

睡眠是一种最基本的生理行为,根据大鼠脑电图,将大鼠觉醒-睡眠周期分为觉醒(Wake)、慢波睡眠 I 期(SWS1)、慢波睡眠 II 期(SWS2)和快动眼睡眠

表 1 刺激前与刺激后五个实验组大鼠各期睡眠时间的比较($\bar{x}\pm SD, n=8$)

组别		各期睡眠时间(min)				
		Wake	SWS1	SWS2	REMS	TST
柏子仁	刺激前	233.3±15.6	186.8±15.9	57.1±9.9	2.8±0.7	246.7±15.6
	刺激后	264.3±15.0**	166.1±11.1**	47.5±12.2	2.1±1.0	215.8±15.0**
远志	刺激前	243.0±18.4	174.9±13.8	58.6±9.9	3.5±0.8	237.0±18.4
	刺激后	272.5±16.8***	154.5±17.0***	50.8±9.1	2.1±0.7*	207.5±16.8***
酸枣仁	刺激前	242.5±12.4	177.6±12.1	55.6±6.0	4.3±0.9	237.5±12.4
	刺激后	269.8±19.4**	158.8±13.4**	48.6±11.2	2.9±0.6**	210.3±19.4**
磁石	刺激前	230.6±16.0	180.6±13.3	63.2±10.6	5.6±0.9	249.4±16.0
	刺激后	265.6±11.1**	161.1±14.0**	51.1±14.3	2.1±0.7***	214.4±11.1**
朱砂	刺激前	235.6±15.4	178.6±15.4	61.5±5.9	4.3±1.0	244.4±15.4
	刺激后	271.8±17.9***	152.4±17.6***	52.5±7.2*	3.3±1.2	208.2±17.9***

注:与刺激前相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.005$ 。

表 2 养心安神药与重镇安神药对失眠大鼠睡眠时相的影响($\bar{x}\pm SD, n=8$)

组别		各期睡眠时间(min)				
		Wake	SWS1	SWS2	REMS	TST
柏子仁	给药前	264.3±15.0	166.1±11.1	47.5±12.2	2.1±1.0	215.8±15.0
	给药后	234.4±17.3 Δ	188.1±17.0	54.7±7.9	2.8±0.7	245.6±17.3 Δ
远志	给药前	272.5±16.8	154.5±17.0	50.8±9.1	2.1±0.7	207.5±16.8
	给药后	249.6±13.4 $\Delta\Delta$	174.2±11.9	52.9±11.7	3.3±1.5	230.4±13.4 Δ
酸枣仁	给药前	269.8±19.4	158.8±13.4	48.6±11.2	2.9±0.6	210.3±19.4
	给药后	240.3±20.3 $\Delta\Delta$	182.1±16.0 $\Delta\Delta$	53.7±10.3 Δ	3.9±1.2	239.7±20.3 $\Delta\Delta$
磁石	给药前	265.6±11.1	161.1±14.0	51.1±14.3	2.1±0.7	214.4±11.1
	给药后	206.5±14.4 $\Delta\Delta\Delta$	197.4±12.3 $\Delta\Delta\Delta$	72.3±9.7 $\Delta\Delta$	3.8±1.6 Δ	273.5±14.4 $\Delta\Delta\Delta$
朱砂	给药前	271.8±17.9	152.4±17.6	52.5±7.2	3.3±1.2	208.2±17.9
	给药后	212.3±22.2 $\Delta\Delta\Delta$	193.9±15.7 $\Delta\Delta\Delta$	69.6±12.0 $\Delta\Delta$	4.3±1.3 Δ	267.8±22.2 $\Delta\Delta\Delta$

注:与给药前相比 $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$, $\Delta\Delta\Delta P<0.005$ 。

(REMS)4个时相。在睡眠各期中SWS和REMS最为重要,前者对机体的发育和疲劳的恢复起着重要的作用。此期间生长激素分泌达高峰,而且脑的葡萄糖代谢明显降低,脑部的血流量有所下降,提示此期睡眠有保存脑部能量,使整个躯体功能获得恢复的作用;后者则对脑的发育和智力的发达起重要的作用^[10]。因此,本实验通过失眠模型大鼠睡眠时相的变化来探讨部分安神药对睡眠的改善作用。此次实验采用自身对照来减少因个体差异所引入的数据偏差。实验结果表明,养心安神药与重镇安神药对失眠模型大鼠睡眠时相的影响有差异:养心安神药对REMS无影响,而重镇安神药对REMS有影响;养心安神药中的柏子仁、远志、酸枣仁和重镇安神药中的磁石、朱砂对失眠大鼠睡眠时相的影响,不同于化学合成类镇静催眠药物;柏子仁、远志、酸枣仁、磁石和朱砂均

能够延长TST,这点与化学合成类镇静催眠药物相同,但5味药主要延长的是SWS,这点与化学合成类镇静催眠药物不同;磁石和朱砂延长SWS的作用强度与柏子仁、远志、酸枣仁相比更强。

综上所述,此实验为进一步研发可选择性延长SWS,以及保证REMS的正常比例的药物奠定了理论基础。同时,为更好的指导临床用药提供参考依据。

参考文献

- 江开达,杨晓云.失眠的治疗.中国新药与临床杂志,2008,(1):39-41.
- 张延武,刘敏.安神药在组方配伍中的应用.中医研究,2009,22(1):50-51.
- 李尔逊,孙春宇,李廷利,等.磁朱丸对失眠大鼠睡眠时相的影响.中国医药导报,2008,5(2):20-21.
- 王旭峰,何计国,陈阳,等.酸枣仁皂苷的提取及改善睡眠功效的研究.食品科学,2006,27(4):226-229.
- Pierre Gauthier, Christian Arnaud, Gabriel Gandolfo, et al. Influence of GABA2 receptor antagonist on the sleep-waking cycle in the rat. Brain Research, 1997, 773:8-14.
- 张杰,王明时.睡眠脑电的研究.国外医学·生物医学工程分册,1997,20(2):65-68.
- M. Yoshimoto, H. Higuchi, M. Kamata, et al. The effects of benzodiazepine (triazolam), cyclopyrrolone (zopiclone) and imidazopyridine (zolpidem) hypnotics on the frequency of hippocampal theta activity and sleep structure in rats. European Neuropsychopharmacology, 1999, 9:29-35.
- Youssef Slisli, Renaud de Beaufort. Interleukin-1b and calcitonin, but not corticotropin-releasing factor, alter sleep cycles when injected into the rat hypothalamic lateral paraventricular area. Neuroscience Letters, 1999, 265:29-32.
- 包新民,书思云.大鼠脑立体定位图谱.北京:人民卫生出版社,1991.
- 霍荣,王宝珍,李廷利.百麦安神冲剂对失眠大鼠睡眠时相的影响.中国医药导报,2008,5(25):16-18.

Comparative Study on the Effect of the Tranquilizer of Zhongzhen Anshen and
Yangxin Anshen on Insomnia Rats in the Sleeping Phase

Jiang Shanshan, Yan Lidi, Li Tingli, Du Juan

(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: This work aimed to compare and analyze the effect of the tranquilizer of Zhongzhen Anshen and Yangxin Anshen. Polysomnography was used to record the changes of EEG and EMG in rats at different sleeping phases. The influences of Yangxin Anshen and Zhongzhen Anshen on EEG and EMG were observed. Baiziren and Yuanzhi of Yangxin Anshen increased SWS1. Suanzaoren of Yangxin Anshen increased SWS1 and SWS2. Cishi and Zhusha of Zhongzhen Anshen both prolonged SWS1, SWS2 and REMS. Taken together, Yangxin Anshen and Zhongzhen Anshen have distinct effects on insomnia rats at the sleeping phase. Zhongzhen Anshen could prolong REMS, but Yangxin Anshen could not. Cishi and Zhusha of Zhongzhen Anshen could markedly prolong SWS of insomnia rats, thus better improving the sleep quality of insomnia rats.

Keywords: Electroencephalogram, EEG mind-easing Chinese medicine, Sleeping phase

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立崑)