

# 双夏汤不同洗脱液镇静催眠作用研究\*

裴文慧, 孙毅坤, 张俊义, 王 冉, 段娟娟, 何爱先, 邹桂林, 方 芳\*\*

(北京中医药大学中药学院/中药基础与新药研究北京市重点实验室 北京 100102)

**摘 要:**目的:研究双夏汤不同洗脱液的镇静催眠作用。方法:通过测定小鼠自主活动和对戊巴比妥钠阈下剂量诱导睡眠的作用,观察双夏汤水煎液、水洗液、20%、70%和 95%醇洗液的镇静催眠作用。结果:双夏汤水煎液、20%和 95%醇洗液显著降低小鼠的站立次数,分别为 78.5%, 78.3%和 62.5%;双夏汤水洗液和 70%醇洗液能显著降低小鼠自主活动次数( $P<0.01$ )、站立次数( $P<0.01$ )和修饰时间( $P<0.05$ )。双夏汤水煎液能明显缩短小鼠睡眠的潜伏期( $P<0.05$ ),延长小鼠睡眠时间( $P<0.05$ ),增加小鼠的入睡率。双夏汤水洗液能显著缩短小鼠睡眠潜伏期( $P<0.05$ ),增加小鼠的入睡率。结论:双夏汤水煎液和水洗液的镇静催眠作用优于醇洗液。

**关键词:**双夏汤 洗脱液 自主活动 镇静催眠

doi: 10.11842/wst.2013.08.007 中图分类号:R285.5 文献标识码:A

失眠是一种常见病,主要表现为入睡困难、易醒、早醒和睡眠质量低下,严重影响患者的生活质量和身体健康。其在中医属于不寐范畴,张景岳在《景岳全书·不寐》中将不寐分为有邪和无邪,均为“寐本乎阴,神其主也,神安则寐,神不安则不寐。其所以不安者,一由邪气之扰,一由营气之不足耳”,即病机主要由外感和情志不舒所致内伤引发<sup>[1]</sup>。双夏汤是中医治疗失眠的有效方剂,由半夏、夏枯草等量煎煮而成,二者配伍能够顺应天时,调整阴阳,使营卫循行有序,切中失眠症的病机<sup>[2]</sup>。本实验对双夏汤不同洗脱液的镇静催眠作用进行研究,以便进一步深入研究其有效物质基础及机理,同时为临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试药和仪器

半夏、夏枯草 1:1 水煎煮提取,第一次 10 倍量

体积,第二次 8 倍量体积提取,每次 2 h,过滤,滤液浓缩,得水煎液,过大孔树脂柱,分别用水、20%、70%、95%乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩即得双夏汤水洗液、20%、70%、95%醇洗液,由北京中医药大学孙毅坤老师提供;安定(地西洋),北京益民药业有限公司,批准文号[国药准字 H110208980];戊巴比妥钠,购自北京化学试剂公司,批号:020402,规格 25 g/瓶。MK-ANIMEX 小鼠自主活动仪, Muromachi 公司生产。

#### 1.1.2 实验动物

昆明种小鼠,体质量 18~22 g,雌雄各半,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2012-0001。

## 1.2 方法

### 1.2.1 分组与给药

取 84 只小鼠,随机分 7 组,每组 12 只。空白组:等量的蒸馏水,对照组:6 mg·kg<sup>-1</sup> 安定,双夏汤水煎液组,水洗液组,20%、70%、95%醇洗脱液组。各组动物每天灌胃给药 1 次,连续给药 5 天,给药容积为 0.2 mL/10 g。各组给药剂量为临床等效量。

收稿日期:2013-10-28

修回日期:2013-11-18

\* 国家自然科学基金面上项目(81173521)基于受体学说双夏汤治疗失眠的物质基础及作用机制研究,负责人:孙毅坤。

\*\* 通讯作者:方芳,副教授,硕士生导师,主要研究方向:中药药理研究。

1.2.2 小鼠自主活动的测定

各组小鼠于第4天给药后30 min,将小鼠放入自主活动仪的箱中,适应2 min,记录5 min内小鼠的自主活动次数、站立次数和修饰时间。

1.2.3 戊巴比妥钠阈下剂量诱导睡眠的测定

各组小鼠于末次给药后30 min,腹腔注射30 mg·kg<sup>-1</sup>戊巴比妥钠。观察小鼠在30 min内翻正反射消失达1 min以上,表明已经发生睡眠。记录30 min内每组小鼠的睡眠只数、入睡时间和清醒时间,计算每组入睡率、睡眠潜伏期和睡眠时间。

1.2.4 统计方法

采用SPSS 17.0统计软件包对数据进行单因素方差分析和卡方检验,数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 双夏汤不同洗脱液对小鼠自主活动的影响

通过与空白组比较,安定能显著减少小鼠的自主活动次数( $P<0.05$ )、站立次数( $P<0.01$ )和修饰时间,分别减少23.8%,91.7%和33.1%;双夏汤各组均能不同程度的减少小鼠自主活动、站立次数和修饰时间,其中双夏汤水煎液、20%和95%醇洗液显著降低小鼠的站立次数( $P<0.01$ ),分别为78.5%,78.3%和62.5%;双夏汤水洗液和70%醇洗液能显著降低小鼠自主活动次数( $P<0.01$ ),站立次数( $P<0.01$ )和修饰时间( $P<0.05$ )。结果见表1。

2.2 阈下剂量戊巴比妥钠诱导睡眠的作用

通过与空白组比较,安定能显著增加小鼠入睡率( $P<0.01$ )、缩短睡眠潜伏期( $P<0.01$ )和延长睡眠时间( $P<0.01$ ),双夏汤水煎液能明显缩短小鼠睡眠的潜伏期( $P<0.05$ ),延长小鼠睡眠时间( $P<0.05$ ),增加小鼠的入睡率。双夏汤水洗液能显著缩短小鼠睡眠潜伏期( $P<0.05$ ),增加小鼠的入睡率,水煎液和水洗液协同戊巴比妥钠诱导睡眠的作用优于醇洗液。结果见表2。

3 讨论

双夏汤是由半夏、夏枯草组方,水煎煮服用,主要用于治疗失眠症。古今医家对其治疗失眠进行了大量的临床研究,并得到满意的疗效,《重订灵兰要览》曰“不寐之证,椿田每用制半夏、夏枯草各五钱,取阴阳相配之义,浓煎长流水,竟覆杯而卧。”近期研究人员将国医大师周仲瑛教授辨治失眠的192例389诊次的病案与现代信息技术手段相结合,采用数据挖掘方法分析得到的治疗失眠的核心处方也包含半夏、夏枯草<sup>[3]</sup>。二者的配伍顺应天地间阴阳盛衰的自然规律,也暗合人体营卫循行的节律,正如《医学秘旨》曰“盖半夏得阴而生,夏枯草得阳而长,是阴阳配合之妙也”,夏枯草察纯阳之气,能使浮散的卫气收于阳分,半夏得阴而生,又可把卫气从阳分引入阴分,二药配合,共同恢复营卫如环无端的正常循行,促使人体睡眠昼夜节律的重建<sup>[4]</sup>。

表1 双夏汤不同洗脱液对小鼠自主活动的影响( $n=12$ )

| 组别       | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | 自主活动次数          | 站立次数/次      | 修饰时间/s      |
|----------|-----------------------|-----------------|-------------|-------------|
| 空白组      | —                     | 436.55±63.63    | 8.45±7.29   | 16.99±9.34  |
| 安定组      | 6×10 <sup>-3</sup>    | 332.55±127.59*  | 0.73±1.01** | 11.37±5.18  |
| 双夏汤水煎液组  | 5                     | 376.45±84.74    | 1.82±1.89** | 15.35±10.20 |
| 双夏汤水洗液组  | 5                     | 296.50±168.42** | 3.20±3.99** | 9.52±5.45*  |
| 双夏汤20%醇组 | 5                     | 381.42±69.51    | 1.83±1.90** | 12.78±7.07  |
| 双夏汤70%醇组 | 5                     | 289.08±82.78**  | 1.17±1.75** | 10.08±5.20* |
| 双夏汤95%醇组 | 5                     | 373.08±85.46    | 3.17±3.69** | 12.18±9.78  |

注 与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

表 2 双夏汤不同洗脱液对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量诱导睡眠的作用 ( $n=12$ )

| 组别        | 入睡百分率/% | 潜伏期/min      | 睡眠时间/min      |
|-----------|---------|--------------|---------------|
| 空白组       | 18.2    | 28.73±2.87   | 2.91±7.19     |
| 安定组       | 100.0** | 5.27±2.00**  | 54.27±20.33** |
| 双夏汤水煎液组   | 54.5    | 20.82±9.92*  | 14.91±15.11*  |
| 双夏汤水洗液组   | 54.5    | 20.10±10.99* | 13.20±14.30   |
| 双夏汤 20%醇组 | 41.7    | 21.83±10.46  | 10.42±16.57   |
| 双夏汤 70%醇组 | 25.0    | 25.17±9.01   | 7.50±13.58    |
| 双夏汤 95%醇组 | 25.0    | 24.67±9.80   | 6.33±14.34    |

注 与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

现代医学研究表明,半夏能抑制中枢神经系统,具有一定程度的镇痛、镇静和催眠作用。通过半夏单味药及其同科植物提取物的镇静催眠作用,表明半夏及掌叶半夏具有显著的镇静催眠作用<sup>[5]</sup>。研究表明夏枯草中的熊果酸能抑制细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的释放和细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  的内流,从而抑制兴奋性神经递质谷氨酸释放保护神经元免受兴奋性毒性作用,为夏枯草保护中枢神经提供理论依据<sup>[6]</sup>。但目前对半夏和夏枯草组方双夏汤药理作用研究较少。

本实验结果表明,双夏汤水煎液能减少小鼠站立次数,特别是能明显增加小鼠入睡率,缩短小鼠睡眠潜伏期,延长小鼠睡眠时间,具有镇静催眠作用。双夏汤水洗液和 70%醇洗液能显著减少小鼠自主活动,但水洗液协同阈下剂量戊巴比妥钠诱导睡眠的作用优于 70%醇洗液。可能与双夏汤水煎液经过不同的溶剂洗脱后,洗脱液中成分的不同决定了作用的差异。研究显示,对小鼠灌胃半夏不同溶剂提取物,其 60%和 95%乙醇提取物能显著抑制小鼠的自主活动,对戊巴比妥诱导的睡眠表现出明显协同作用,认为半夏醇提物是其镇静、催眠活性部位<sup>[7]</sup>。观察夏枯草不同提取物的镇静催眠作用,夏枯草醇提物、氯仿萃取部位和醋酸乙酯萃取部位均能明显减少小鼠自主活动次数,增加阈下剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠次数,延长阈上剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间,具有明显镇静催眠作用<sup>[8]</sup>;前期实验研究表明,不同剂量的

双夏汤,70%醇洗液对戊巴比妥钠阈下剂量诱导睡眠的协同作用有明显的剂量依赖性,高剂量的效果最为显著,因本研究中采用临床等效量,70%醇洗液的作用弱于水洗液,提示如用醇洗液治疗失眠,可能需要增加剂量才能达到好的疗效。

实验表明双夏汤的水煎液和水洗液的镇静催眠作用优于醇洗液,醇洗液各组中 70%醇洗液的镇静催眠作用较为突出,实验初步确定双夏汤镇静催眠作用的有效部位集中于水洗液和 70%醇洗液,为研究双夏汤治疗失眠的有效物质基础及双夏汤制剂研发提供数据资料。

### 参考文献

- 1 张颖颖,刘兰英,马骋.中医对失眠的病机认识.光明中医,2008,23(12):2068~2069.
- 2 张俊义,秦超,张晓静,等.双夏汤治疗失眠的研究进展.中华中医药学会中药分析分会第五届学术交流会论文集,2012:235.
- 3 卓家晖.基于数据挖掘的周仲瑛教授论治失眠病机证治规律研究.南京中医药大学硕士学位论文,2012.
- 4 王康锋,张洪斌,张立娟.半夏夏枯草合用治疗失眠的理论探讨及临床应用.中医药学刊,2006,24(3):484~485.
- 5 詹爱萍,王平,陈科力.半夏、掌叶半夏和水半夏对小鼠镇静催眠作用的比较研究.中药材,2006,29(9):964~965.
- 6 韩喻美.Fura-2 荧光测定中药有效成分对神经细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化.江西医学院学报,1996,36(4):1~3.
- 7 赵江丽,赵婷,张敏,等.半夏不同溶剂提取物镇静催眠活性比较.安徽农业科学,2011,39(35):21627~21628.
- 8 赵江丽,吴向阳,仰榴青,等.夏枯草镇静与催眠作用的初步研究.时珍国医国药,2009,20(2):443~444.

### Study on Sedative and Hypnotic Effects of Different Eluents of *Shuangxiatang*

Pei Wenhui, Sun Yikun, Zhang Junyi, Wang Ran, Duan Juanjuan, He Aixian, Zou Guilin, Fang Fang

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine; Laboratory for Basic Chinese Materia Medica and New Drug Research, Beijing 100102, China)

**Abstract:** This article was aimed to study the sedative and hypnotic effects of different eluents of *Shuangxiatang* (SXT). The effects of SXT water decoction, water eluent, 20%, 70% and 95% alcohol eluent on spontaneous activity and the sleeping induced by subthreshold dose of pentobarbital sodium were measured. The results showed that the SXT decoction, 20% and 95% alcohol eluent can significantly decrease the number of rearing in mice with the percentage of 78.5%, 78.3% and 62.5%, respectively. SXT water eluent and 70% alcohol eluent can significantly decrease the spontaneous activity of mice ( $P < 0.01$ ), the number of rearing ( $P < 0.01$ ) and grooming time ( $P < 0.05$ ). SXT water decoction can significantly shorten sleep latency ( $P < 0.05$ ), prolong sleep time ( $P < 0.05$ ), and increase rates of sleeping in mice. SXT water eluent can significantly shorten sleep latency in mice ( $P < 0.05$ ), increase rates of sleeping in mice. SXT water decoction and water eluent have the sedative and hypnotic effects. And the effects are more than alcohol eluents.

**Keywords:** *Shuangxiatang*, eluent, spontaneous activity, sedative and hypnotic effects

(责任编辑 叶丽萍 张志华, 责任译审 王 晶)