



夜宁胶囊对小鼠镇静催眠作用及其机制的研究

李清, 郭宜银, 陈颖, 瞿发林, 董文燊, 戈煜

Sedative and hypnotic effects and mechanism of Yening Capsules on mice

LI Qing, GUO Yiyin, CHEN Ying, QU Falin, DONG Wenshen, GE Yu

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/cn/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202211047>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

黄芪甲苷衍生物治疗慢性心力衰竭小鼠的药效评价及作用机制研究

Efficacy and mechanism of astragaloside IV derivatives on chronic heart failure in mice
药学实践与服务. 2024, 42(5): 190-197 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202310004](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202310004)

消风止痒颗粒通过降低白三烯水平对小鼠特应性皮炎急性瘙痒的治疗作用研究

Therapeutic effect of Xiaofeng Zhiyang granules on acute itching in mice with atopic dermatitis by decreasing leukotriene
药学实践与服务. 2024, 42(5): 211-216 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202306031](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202306031)

山楂酸药理作用的研究进展

Research progress on the pharmacological effects of maslinic acid
药学实践与服务. 2024, 42(5): 185-189 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202307052](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202307052)

正极性驻极体联合5-氟尿嘧啶对瘢痕成纤维细胞生长抑制的协同作用

Synergistic effect of positive electret combined with 5-fluorouracil on growth inhibition of scar fibroblasts
药学实践与服务. 2024, 42(6): 244-247 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202310027](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202310027)

肠道菌群参与糖尿病肾病的机制研究进展

Research progress on the mechanism of gut microbiota participating in diabetes nephropathy
药学实践与服务. 2024, 42(5): 181-184, 197 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202312023](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202312023)

全身过表达人METRNL基因小鼠模型的构建与验证

Construction and validation of a mouse model with systemic overexpression of human METRNL gene
药学实践与服务. 2024, 42(5): 198-202, 222 DOI: [10.12206/j.issn.2097-2024.202311014](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202311014)



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 研究报告 ·

夜宁胶囊对小鼠镇静催眠作用及其机制的研究

李 清¹, 郭宜银², 陈 颖¹, 瞿发林¹, 董文燊¹, 戈 煜¹ (1. 联勤保障部队第904医院, 江苏常州 213003; 2. 南京中医药大学, 江苏南京 210028)

[摘要] 目的 研究夜宁胶囊对小鼠的镇静催眠作用, 并初步探究其作用机制。方法 将小鼠随机分成空白对照组, 艾司唑仑组(0.8 mg/kg), 夜宁胶囊低、中和高剂量组(400、600和800 mg/kg), 通过开野实验, 协同阈上和阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠影响的实验, 观察并记录夜宁胶囊对小鼠自主活动、入睡潜伏期、睡眠时长和入睡率的影响。用酶联免疫法检测小鼠脑组织中GABA、5-HT、DA、NE的水平。结果 与空白对照组相比, 夜宁胶囊中、高剂量组($P<0.05$ 、 $P<0.01$)能显著降低小鼠自主活动次数; 夜宁胶囊中、高剂量组能显著缩短小鼠入睡潜伏期($P<0.05$ 、 $P<0.05$), 并延长睡眠时间($P<0.05$ 、 $P<0.01$); 夜宁胶囊中、高剂量组($P<0.05$ 、 $P<0.01$)能显著增加小鼠的入睡率。与空白对照组相比, 高剂量的夜宁胶囊可明显增加小鼠脑组织中GABA($P<0.05$)、5-HT($P<0.05$)、DA($P<0.05$)、NE($P<0.01$)含量。结论 夜宁胶囊具有良好的镇静催眠作用, 其作用机制与提高脑内GABA、5-HT、DA和NE水平有关。

[关键词] 夜宁胶囊; 镇静催眠; 失眠症; 戊巴比妥钠; 神经递质

[文章编号] 2097-2024(2024)00-0001-04 **[DOI]** 10.12206/j.issn.2097-2024.202211047

Sedative and hypnotic effects and mechanism of Yening Capsules on mice

LI Qing¹, GUO Yiyin², CHEN Ying¹, QU Falin¹, DONG Wenshen¹, GE Yu¹ (1. The 904th Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Changzhou 213003, China; 2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective** To study the sedative and hypnotic effects of Yening Capsules and investigate its bioactive mechanism in mice. **Methods** The mice were randomly divided into control group, estazolam group (0.8 mg/kg), low, medium and high-dose Yening Capsules groups (400, 600 and 800 mg/kg). The locomotor activity, latency to persistent sleep, sleep duration and sleep rate were determined respectively in mice via the open field test and injection of pentobarbital sodium in subthreshold and suprathreshold doses. The content of GABA, 5-HT, DA and NE in brain tissue of mice were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the control group, Yening Capsules medium and high dose group ($P<0.05$, $P<0.01$) significantly decreased the locomotor activity of mice; The sleep latency in Yening Capsules medium and high dose group were significantly shorten ($P<0.05$, $P<0.05$) and the sleep duration ($P<0.05$, $P<0.01$) were extended; the sleep rate of Yening Capsules medium and high dose groups ($P<0.05$, $P<0.01$) was significantly increased. **Conclusions** Yening Capsules had obvious sedative and hypnotic effects, and its mechanism may be related to the increasement of GABA, 5-HT, DA and NE level in brain tissue of mice.

[Key words] Yening Capsules; sedative hypnosis; insomnia; pentobarbital sodium; neurotransmitter

失眠是现代社会的临床症状之一, 对人们的身心健康和睡眠质量造成严重影响, 同时还会并发多种躯体和精神疾病。随着社会的高速发展, 工作压力大, 生活不规律, 导致失眠的发病率逐年上升且呈现低龄化趋势, 引起社会各界的高度重视^[1]。有研究表明, 我国大约有45.5%的人群有不同程度的睡眠障碍^[2]。夜宁胶囊为我院自制制剂, 该制剂

是《中国药典》(2020版)一部收录的夜宁糖浆^[3]的改剂型, 主要由合欢皮、灵芝、首乌藤等7味药材组成。具有镇静、养心、安神的功效, 用于改善心血不足所致的失眠、多梦、头晕、乏力。本文通过研究夜宁胶囊对小鼠自主活动、协同阈上/阈下戊巴比妥钠催眠作用以及小鼠脑组织中 γ -氨基丁酸(GABA)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)含量变化的影响, 验证夜宁胶囊的镇静催眠作用, 并初步对其作用机制进行探讨。

1 材料

1.1 实验动物

体质量为(20±2)g的SPF级雄性ICR小鼠

[基金项目] 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(13ZJ16-3)

[作者简介] 李 清, 硕士, 主管药师, 研究方向: 天然药物研究, Tel: 0519-83064797; Email: pear.flowers@163.com

[通信作者] 瞿发林, 硕士, 主任药师, 研究方向: 天然药物研究, Tel: 0519-83064780; Email: qufalin@163.com

[常州卡文斯实验动物有限公司, 动物合格证号: SCXK(苏)2016-0010]。动物在温度为(25±2)℃, 湿度为(55±10)%的环境中适应性饲养7 d, 自由摄取饮用水和标准饲料, 保持昼夜节律和环境干净整洁。

1.2 实验试剂

夜宁胶囊(中国人民解放军联勤保障部队第904医院院内制剂, 批号: 20200811); 艾司唑仑片(常州四药, 批号: 20200111); 戊巴比妥钠(Sigma分装, 批号: 191201); 生理盐水(四川科伦药业股份有限公司, 批号: 020100201); γ -氨基丁酸(GABA) ELISA试剂盒(信裕生物, 货号: xy-E12157); 去甲肾上腺素(NE) ELISA试剂盒(Mybiosource, 货号: MBS2600834); 多巴胺(DA) ELISA试剂盒(Mybiosource, 货号: MBS269234); 5-羟色胺(5-HT) ELISA试剂盒(Mybiosource, 货号: MBS266457)。

1.3 仪器与设备

电子分析天平(XS105型, 梅特勒托利多仪器有限公司); 超声波清洗机(FQ-1006HTD型, 杭州法兰特超声波科技有限公司); 旋转蒸发器(RE-5C式, 上海青浦沪西仪器厂); 电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂); CT-C-O型烘箱(常州市范氏干燥设备有限公司); 自制开野实验敞箱(50 cm×50 cm×30 cm), 箱内为黑色, 箱底画出25个同等面积的方格; 酶标仪(ELX 800型, Bio-Tex); 离心机(80-2型, 上海手术器械厂); 可调高速匀浆机(FSH-2A型, 常州翔天实验仪器厂)。

2 方法

2.1 分组及给药

夜宁胶囊的制法为: 浮小麦加水浸泡2 h, 煮沸, 于80~90℃温浸2次, 每次2 h, 滤过合并温浸液; 灵芝粉碎成粗粉, 用95%乙醇浸泡7 d, 压榨滤过, 滤液减压浓缩干燥, 粉碎成细粉, 过80目筛, 备用; 上述灵芝粗粉药渣与合欢皮、首乌藤、大枣、女贞子、甘草加水煎煮滤过, 滤液和上述温浸液合并, 减压浓缩干燥, 碎成细粉, 过80目筛, 加入灵芝细粉, 混匀装胶囊, 即得夜宁胶囊, 规格400 mg/粒, 推荐服用量约10粒/日。按照一个成年人体重60 kg, 服用剂量约为60 mg/kg, 换算得到小鼠的中剂量约为600 mg/kg。将ICR小鼠随机分成5组(每组10只): ①空白对照组(相应体积的溶剂灌胃); ②艾司唑仑组(0.8 mg/kg); ③夜宁胶囊低剂量组(YNL, 400 mg/kg); ④夜宁胶囊中剂量组(YNM, 600 mg/kg); ⑤夜宁胶囊高剂量组(YNH, 800 mg/kg)。

每天下午5点灌胃给药, 连续灌胃8 d。

2.2 小鼠自主活动的测定

在第6 d给药30 min后, 将小鼠放置在开野实验敞箱中先适应1 min, 待适应时间结束后观察小鼠5 min内自主活动, 记录其活动次数, 实验过程中保持环境安静。自主活动包括: 舔爪、清洗整理身体、擦脸均可记为清洗身体1次; 四肢全部进入一格记为水平走格1次; 前肢攀附箱壁或离箱底站立记为站立1次。每只小鼠录像结束后需清理敞箱, 以免对下一只小鼠造成干扰。

2.3 夜宁胶囊与阈下剂量戊巴比妥钠协同作用的研究^[4]

基于前期研究戊巴比妥钠剂量的预实验, 选定腹腔注射戊巴比妥钠溶液的阈下剂量为35 mg/kg。在第7 d给药30 min后腹腔注射戊巴比妥钠溶液(35 mg/kg), 观察15 min内小鼠睡眠情况, 若小鼠翻正反射消失且持续1 min以上认为进入睡眠状态, 根据睡眠小鼠只数, 计算入睡率。入睡率(%)=进入睡眠动物只数/总动物只数×100%。

2.4 夜宁胶囊与阈上剂量戊巴比妥钠协同作用的研究

基于前期研究戊巴比妥钠剂量的预实验, 选定腹腔注射戊巴比妥钠溶液的阈上剂量为41 mg/kg。在第8 d给药30 min后腹腔注射戊巴比妥钠溶液(41 mg/kg), 注射后立刻计时并观察, 记录小鼠入睡潜伏期和睡眠时长。评判标准: 入睡潜伏期指的是小鼠从注射阈上剂量戊巴比妥钠至翻正反射消失的时间; 睡眠时长指的是小鼠从翻正反射消失至翻正反射恢复的时间。

2.5 ELISA法检测小鼠脑组织中GABA、5-HT、DA、NE水平

行为学实验结束后, 在末次给药24 h后脱臼处死小鼠, 取出小鼠大脑, 用冰冷生理盐水进行冲洗, 滤纸吸干后称重。随后匀浆机匀浆(4℃), 离心10 min(4000 r/min), 收集上清液。按照试剂盒说明书操作, 采用ELISA法测定小鼠脑组织中GABA、5-HT、DA、NE的水平。

2.6 数据统计

采用SPSS 19.0软件对实验数据进行分析处理。实验数据组间比较采用单因素方差分析法, 组间两两比较采用LSD-*t*检验; 阈下剂量戊巴比妥钠实验数据采用Fisher精确检验分析。实验结果均用($\bar{x} \pm \text{SEM}$)表示, 当 $P < 0.05$ 时即认为其有统计学意义。

3 结果

3.1 夜宁胶囊对小鼠自主活动的影响

试验结果如表1所示,与空白对照组相比,艾司唑仑组($P<0.05$)、YNM组($P<0.05$)、YNH组($P<0.01$)均显著降低了小鼠自主活动的次数。由此表明,YNM(600 mg/kg)和 YNH(800 mg/kg)具有明显的镇静作用。

表1 夜宁胶囊对小鼠自主活动的影响($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	小鼠自主活动次数
空白对照组	-	188.90±7.78
艾司唑仑组	0.8	160.50±7.10*
YNL	400	169.60±13.15
YNM	600	156.80±8.34*
YNH	800	151.70±7.28**

* $P<0.05$; ** $P<0.01$,与空白对照组相比。

3.2 夜宁胶囊对阈下剂量戊巴比妥钠镇静催眠作用的影响

试验结果如表2所示,与空白对照组相比,艾司唑仑组($P<0.001$)、YNM组($P<0.05$)、YNH组($P<0.01$)的小鼠入睡率显著增加,结果表明 YNM(600 mg/kg)、YNH(800 mg/kg)具有明显的镇静催眠作用。

表2 夜宁胶囊对阈下剂量戊巴比妥钠镇静催眠作用的影响($n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	入睡只数	入睡比率(%)
空白对照组	-	0	0
艾司唑仑组	0.8	9	90%***
YNL	400	1	10%
YNM	600	5	50%*
YNH	800	7	70%**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$,与空白对照组相比。

3.3 夜宁胶囊对阈上剂量戊巴比妥钠镇静催眠作用的影响

实验结果如表3所示,与空白对照组相比,艾

司唑仑组($P<0.01$)、YNM组($P<0.05$)、YNH组($P<0.01$)均显著增加了小鼠的睡眠时长;艾司唑仑组($P<0.05$)、YNM组($P<0.05$)、YNH组($P<0.05$)显著缩短了小鼠的入睡潜伏期。结果表明 YNM(600 mg/kg)、YNH(800 mg/kg)具有明显的镇静催眠作用。

表3 夜宁胶囊协同阈上剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠时长和入睡潜伏期的影响($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	睡眠潜伏期(t/min)	睡眠时长(t/min)
空白对照组	-	5.69±0.69	8.20±3.23
艾司唑仑组	0.8	3.86±0.45*	34.20±5.89**
YNL	400	4.73±0.18	17.86±3.63
YNM	600	4.05±0.17*	22.15±4.66*
YNH	800	3.83±0.21*	28.26±4.38**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$,与空白对照组相比。

3.4 夜宁胶囊对小鼠脑组织中 GABA、5-HT、DA 和 NE 水平的影响

各组小鼠脑组织中各神经递质的检测结果如表4所示,与空白对照组相比:艾司唑仑组($P<0.01$)和 YNH组($P<0.05$)小鼠脑组织中 GABA 含量显著增加;艾司唑仑组($P<0.05$)和 YNH组($P<0.05$)小鼠脑组织中 5-HT 含量显著增加;艾司唑仑组($P<0.001$)和 YNH组($P<0.05$)小鼠脑组织中 DA 含量显著增加;艾司唑仑组($P<0.01$)和 YNH组($P<0.01$)小鼠脑组织中 NE 含量显著增加。结果表明,YNH组(800 mg/kg)能显著性升高小鼠脑组织中的 GABA、5-HT、DA 和 NE 水平。

4 讨论

目前临床上治疗失眠的镇静催眠药物主要是以苯二萘氮类为主的西药,长期服用此类药物不但带来严重的不良反应,还会产生明显的耐受性、依赖性^[5]。而中医药在治疗失眠方面具有疗效好、安全性高和无成瘾性等特点,相较于西药有着独特优势,是目前研究镇静催眠药物的新方向^[6]。夜宁胶

表4 夜宁胶囊对小鼠脑组织中 GABA、5-HT、DA 和 NE 水平的影响($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	GABA含量($\mu\text{mol/g}$)	5-HT含量($\mu\text{g/g}$)	DA含量(ng/g)	NE含量(ng/g)
空白对照组	-	1.08±0.11	0.52±0.11	153.61±16.88	66.74±6.14
艾司唑仑组	0.8	2.33±0.28**	1.16±0.18*	327.14±22.77***	155.14±19.12**
YNL	400	1.02±0.12	0.52±0.09	152.72±26.68	80.50±7.25
YNM	600	1.17±0.20	0.75±0.13	168.17±14.90	91.76±12.66
YNH	800	1.80±0.21*	1.02±0.14*	235.99±27.31*	116.31±13.02**

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$,与空白对照组相比。

囊的主要成分为合欢皮、首乌藤、灵芝、大枣、浮小麦、女贞子、甘草,有安神、养心之功效,用于治疗头昏失眠、神经衰弱、血虚多梦^[7]。其中合欢皮舒肝解郁、悦心安神,用于治疗烦躁不宁、失眠多梦之症;首乌藤养心安神、祛风通络,可治疗阴虚血少而致的虚烦不眠、多梦易惊等症;灵芝利益气血,安神健脾,用于治疗心悸、失眠、虚劳、头晕等症;甘草、大枣补中益气,养血安神,缓和药性;女贞子补肝肾阴;浮小麦敛汗、益气、除热。七味药相互促进、相互依赖,协同发挥了养血安神的作用^[8]。

本文通过建立小鼠开野实验、阈上、阈下戊巴比妥钠协同作用实验等用于考察镇静催眠药物的经典的药理实验模型对夜宁胶囊的镇静催眠作用进行了研究,并进一步考察了夜宁胶囊对小鼠脑内 GABA、5-HT、DA 和 NE 等神经递质含量的影响。在研究镇静催眠药物时,开野实验、阈上、阈下戊巴比妥钠协同作用实验均为经典的、可靠的、简单易行的动物模型,而氨基酸类神经递质 GABA 以及单胺类神经递质 5-HT、NE 和 DA 均为公认的参与睡眠-觉醒机制的经典神经递质,当其水平提高时,睡眠质量随之提升^[9-11]。本文研究结果显示,在开野实验中,夜宁胶囊(600、800 mg/kg)能显著降低小鼠自主活动的次数;在阈上戊巴比妥钠协同作用实验中,夜宁胶囊(600、800 mg/kg)能明显缩短小鼠的入睡潜伏期、延长小鼠的睡眠时间;在阈下戊巴比妥钠协同作用实验中,夜宁胶囊(600、800 mg/kg)能显著增加小鼠的入睡率,这表明夜宁胶囊具有显著的镇静催眠作用。进一步研究发现,夜宁胶囊(800 mg/kg)可显著性增加小鼠脑组织中

的 GABA、5-HT、DA 和 NE 含量。综上所述,夜宁胶囊具有良好的镇静催眠作用,并初步推测其镇静催眠作用机制与 GABA、5-HT、DA 和 NE 等神经递质水平改变有关。本研究为夜宁胶囊的开发利用提供了更多的科学依据,在此基础上,其具体的作用机制有待进一步探索研究。

【参考文献】

- [1] 陈贵海. 失眠的研究进展 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(8): 1-6,125.
- [2] 叶增杰, 梁木子, 胡隼, 等. 失眠障碍的国内外研究进展 [J]. 医学与哲学(B), 2017, 38(5): 60-63.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部: 2020 年版 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1193.
- [4] 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.
- [5] 朱尧, 夏伟, 刘激激, 等. 中医论治失眠研究进展 [J]. 吉林中医药, 2016, 36(3): 320-324.
- [6] 李丽娜. 近 10 年中医药治疗失眠症的研究进展 [J]. 中医药信息, 2018, 35(3): 119-123.
- [7] 陈云, 时维武, 齐建新. 夜宁胶囊治疗失眠的临床观察 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4731-4733.
- [8] 王争平, 丁青龙, 李莹. 夜宁胶囊治疗神经衰弱及神经衰弱症候群的临床研究 [J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(6): 106-107.
- [9] 胡文卓, 贾力莉, 马澜, 等. 佛手柑内酯对 PCPA 失眠大鼠神经递质及学习记忆的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(4): 821-823.
- [10] 胡晓炜, 罗广彬, 范琼尹, 等. 柴牡安神颗粒抗焦虑作用及其活性机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 41-48.
- [11] 向熙, 周龙甫, 马超英, 等. 水芹不同提取物的镇静催眠作用 [J]. 中医学报, 2019, 34(6): 1244-1247.

[收稿日期] 2022-11-16 [修回日期] 2024-01-30

[本文编辑] 费永和