

小酸枣汤对小鼠自主活动及睡眠时间影响的拆方研究[△]

张立峰*, 刘灿仿(邢台医学高等专科学校药剂教研室, 河北 邢台 054000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)04-0487-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.04.15

摘要 目的:考察小酸枣汤对小鼠自主活动及睡眠时间的影响,并进行拆方研究。方法:将小酸枣汤组方中7味药材(酸枣仁、茯苓、川芎、知母、甘草、生姜、桂心)作为实验因素,每个因素选取有或无2个水平,按 $L_8(2^7)$ 正交表安排试验。采用直观分析法和方差分析法比较小酸枣汤组方和方中各单味药对小鼠2 min内自主活动及阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠时间的的影响。结果:小酸枣汤组方中对小鼠自主活动具有明显影响作用的是酸枣仁和知母;对阈上剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的有明显影响的是酸枣仁。结论:小酸枣汤具有抑制小鼠自主活动及延长阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠时间的的作用,方中酸枣仁作用最强。

关键词 小酸枣汤;拆方研究;正交试验;自主活动;睡眠时间;小鼠

Study on the Effects of Disassembled Formulation of Xiaosuanzao Decoction on Spontaneous Motion and Sleep Time in Mice

ZHANG Lifeng, LIU Canfang (Pharmacy Teaching and Research Section, Xingtai Medical College, Hebei Xingtai 054000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effects of Xiaosuanzao decoction on spontaneous motion and sleep time in mice, and to study its disassembled formulation. METHODS: Seven ingredients of Xiaosuanzao decoction were selected as the influential factors, including *Ziziphus jujuba*, *Poria cocos*, *Ligusticum chuanxiong*, *Anemarrhena asphodeloides*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Zingiber officinale* and *Cortex cinnamoni*. Two levels of with or without were designed for each factor, and the experiment was arranged according to $L_8(2^7)$ orthogonal test table. The effects of Xiaosuanzao decoction and each ingredient on spontaneous motion within 2 min and sleep time induced by superthreshold dosage of pentobarbital sodium were compared by visual analysis method and analysis of variance. RESULTS: *Z. jujube* and *A. asphodeloides* were the main active ingredients of Xiaosuanzao decoction on spontaneous motion; *Z. jujube* was the main active ingredient of Xiaosuanzao decoction on sleep time induced by superthreshold dosage of pentobarbital sodium. CONCLUSIONS: Xiaosuanzao decoction can inhibit spontaneous motion and prolong sleep time induced by superthreshold dosage of pentobarbital sodium, and *Z. jujube* is the main ingredient of Xiaosuanzao decoction.

KEYWORDS Xiaosuanzao decoction; Disassembled formulation; Orthogonal test; Spontaneous motion; Sleep time; Mice

小酸枣汤出自唐代王焘根据历代文献辑录而成的综合性医书《外台秘要》第十七卷《深师方》,主治虚劳不得眠、烦不可宁^[1]。该方组成来源于张仲景《金匱要略》中的治疗失眠之名方——酸枣仁汤。小酸枣汤是在酸枣仁汤处方基础上加入了生姜和桂心2味中药而成,此2味中药可补肝肾不足,用于治疗心血之虚^[2-3]。相关学者研究了酸枣仁汤对小鼠自主活动及阈上剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的的影响^[4-5],结果提示酸枣仁汤可明显抑制小鼠自主活动及延长阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠时间。但针对小酸枣汤还无此方面的研究。故本研究采用正交试验分析小酸枣汤和方中各单味药对小鼠自主活动以及对阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠时间的的影响,从而探讨该方的药理作用,为该方在失

[△] 基金项目:河北省教育厅河北省高等学校科学技术研究项目(No.ZC2016121)

* 副教授,硕士。研究方向:中药新药开发及药效物质。电话:0319-2233365。E-mail:816601@163.com

眠疾病的临床应用和处方优化提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

ZH-YLS-1A 多功能小鼠自主活动记录仪(安徽省濉溪正华教学实验器械厂)。

1.2 药材与试剂

方中所有药材饮片均购自河北合庆堂大药房,经邢台医学高等专科学校生药学副教授刘灿仿鉴定均为正品;戊巴比妥钠原料药(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20141117,纯度:≥99%)。

1.3 动物

昆明种清洁级小鼠160只,♂,体质量(25±30)g,由河北医科大学动物实验中心提供[合格证号:140305,许可证号:SCXK(冀)2008-1-003]。

2 方法与结果

2.1 小鼠自主活动的正交试验设计

将药材粉碎,过60目筛,按《资师方》原方所载的药

味和配方比例[酸枣仁18 g、知母10 g、甘草(炙)3 g、茯苓10 g、川芎10 g、桂心10 g、生姜10 g],以小酸枣汤组方中7种单味药即酸枣仁(A)、知母(B)、甘草(C)、茯苓(D)、川芎(E)、桂心(F)、生姜(G)为因素,每个因素设有或无2个水平,参考相关研究方法^[6-10]制备小酸枣汤8种不同配方的提取液(3.6 g/mL,以生药计,pH 7.0)。因素与水平见表1。

表1 因素与水平(g)
Tab 1 Factors and levels(g)

水平	因素						
	A(酸枣仁)	B(知母)	C(甘草)	D(茯苓)	E(川芎)	F(桂心)	G(生姜)
1	18	10	3	10	10	10	10
2	0	0	0	0	0	0	0

取小鼠80只,随机分为8组,每组10只。分别ig上述8种配方的提取液,每天1次,连续6 d。末次给药1 h后,在安静、通风、室温为26℃、湿度为45%的环境下进行旷野实验^[11]。依次将小鼠投入自主活动箱中,先适应2 min,然后观察小鼠2 min内的自主活动次数(即小鼠2 min内经过的格子数)。以小鼠自主活动次数为指标,按 $L_8(2^7)$ 正交表安排试验。正交试验设计与结果见表2,方差分析结果见表3。

表2 小鼠自主活动的正交试验设计与结果

Tab 2 Design and results of orthogonal test of spontaneous motion in mice

编号	A	B	C	D	E	F	G	自主活动次数
1	1	1	1	1	1	1	1	39.8
2	1	1	1	2	2	2	2	40.6
3	1	2	2	1	1	2	2	49.3
4	1	2	2	2	2	1	1	50.1
5	2	1	2	1	2	1	2	52.5
6	2	1	2	2	1	2	1	56.4
7	2	2	1	1	2	2	1	62.2
8	2	2	1	2	1	1	2	68.8
I	179.8	189.3	211.4	203.8	214.3	211.2	208.5	
II	239.9	230.4	208.3	215.9	205.4	208.5	211.2	
R	60.1	41.1	3.1	12.1	8.9	2.7	2.7	

表3 小鼠自主活动的方差分析结果

Tab 3 Results of variance analysis of spontaneous motion in mice

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	1 806.005	1	1 806.005	28.463 0	<0.05
B	844.605	1	844.605	13.311 0	<0.05
C	4.805	1	4.805	0.075 7	>0.05
D	73.205	1	73.205	1.153 7	>0.05
E	39.605	1	39.605	0.624 0	>0.05
F	3.645	1	3.645	0.057 0	>0.05
G	3.645	1	3.645	0.057 0	>0.05

注: $F_{0.05}(1,2)=4.24$

Note: $F_{0.05}(1,2)=4.24$

根据表2中直观分析可知,各因素作用主次顺序为A>B>D>E>C>F=G,提示配方中对小鼠自主活动

抑制作用较强的是酸枣仁。根据表3结果可知,A、B因素均对小鼠自主活动具有明显的抑制作用($P<0.05$),而其余因素的作用均不明显($P>0.05$)。结果提示,对小鼠自主活动抑制作用最强的为酸枣仁,其次是知母。

2.2 小鼠睡眠时间的正交试验

另取80只小鼠,分组及给药方法均同“2.1”项下,每天给药1次,连续给药5 d。末次给药30 min后,各组小鼠均按35 mg/kg的剂量ip 0.25%戊巴比妥钠溶液,记录各组小鼠的睡眠时间(以翻正反射消失为睡眠开始,至翻正反射恢复作为小鼠的睡眠时间)。以小鼠睡眠时间为指标,按 $L_8(2^7)$ 正交表安排实验。正交试验设计与结果见表4,方差分析结果见表5。

表4 小鼠睡眠时间的正交试验设计与结果

Tab 4 Design and results of orthogonal test of sleep time in mice

编号	A	B	C	D	E	F	G	睡眠时间,min
1	1	1	1	1	1	1	1	61.40
2	1	1	1	2	2	2	2	59.50
3	1	2	2	1	1	2	2	58.43
4	1	2	2	2	2	1	1	59.23
5	2	1	2	1	2	1	2	46.68
6	2	1	2	2	1	2	1	49.32
7	2	2	1	1	2	2	1	43.67
8	2	2	1	2	1	1	2	48.23
I	238.56	216.90	212.80	210.18	217.38	215.54	213.62	
II	187.90	209.56	213.66	216.28	209.08	210.92	212.84	
R	50.66	7.34	0.86	6.10	8.30	4.62	0.78	

表5 小鼠睡眠时间的方差分析结果

Tab 5 Results of variance analysis of sleep time in mice

误差来源	离均差平方和	自由度	均方	F	P
A	1 283.218 0	1	1 283.218 0	20.910 5	<0.05
B	26.937 8	1	26.937 8	0.439 0	>0.05
C	0.369 8	1	0.369 8	0.006 0	>0.05
D	18.605 0	1	18.605 0	0.303 2	>0.05
E	34.445 0	1	34.445 0	0.561 3	>0.05
F	10.672 2	1	10.672 2	0.173 9	>0.05
G	0.304 2	1	0.304 2	0.005 0	>0.05

注: $F_{0.05}(1,2)=4.24$

Note: $F_{0.05}(1,2)=4.24$

由表4中直观分析可知,各因素对小鼠睡眠时间具有一定延长作用,作用主次顺序为A>E>B>D>F>C>G,其中酸枣仁作用最为明显。由表5结果可知,A因素对小鼠睡眠时间的有明显的影响($P<0.05$),而其余因素的作用均不明显($P>0.05$)。这提示在小酸枣汤组方各单味药中,发挥延长小鼠睡眠时间作用的主要是酸枣仁。

3 讨论

中医对方剂配伍的认识主要集中在对方中君、臣、佐、使组成分析的论述上。方剂的配伍研究试验设

计方法很多,很多学者为研究《金匱要略》中酸枣仁汤中君、臣、佐、使的作用和地位进行了大量的实验^[12-13]。但对处方增添2味药材后的小酸枣汤药效研究基本没有。增加的桂心、生姜2味药材味辛入肝,与其余5味药材组合则心烦之病可除。本研究采用逆向思维,从小酸枣汤处方整体出发,分别去掉相应的各味中药,采用旷野实验法和阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠法^[11,14]研究各味中药在原处方中发挥的镇静、安神的作用和地位。本研究发现,原处方中如果去掉酸枣仁,其对小鼠自主活动及睡眠时间的影响较小,而有酸枣仁药材的处方对小鼠自主活动及睡眠时间的影响较大,这说明作为君药的酸枣仁在处方中对小鼠镇静安神的功效为最大。酸枣仁性平,味酸甘,养肝血、安心神,为治疗失眠之主药。酸枣仁药材的药理实验也证实其含有的酸枣仁皂苷为镇静安神的有效成分^[15-17]。同时本研究还表明,原处方在去掉知母药材后其镇静、安神的药效也有所下降,说明知母作为臣药在全方中起镇静安神的作用仅次于酸枣仁,其可滋阴清热,起到了辅助君药酸枣仁加强镇静安神的作用。处方中川芎具有调畅气机、疏达肝气功效,与君药酸枣仁配伍,一辛散一酸收,相反相成,以达养血调肝之妙。使药甘草起到了调和诸药的作用。另外,阈上剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间实验表明,酸枣仁汤的催眠作用是君、臣、佐、使各味药材搭配共同起作用的结果,从中医理论上讲,酸枣仁味酸入肝,桂心、生姜、川芎味辛也入肝,4味药辛酸相合入肝以平木;知母味苦入肾,甘草茯苓味甘也入肾,3味药苦甘相合入肾以补水;7味药组合共达水生木而木生火之效。去掉原方中任何一味药,其催眠的作用都有明显的减弱。虽然这种具体机制有待通过药理研究进一步阐明,但本实验研究体现了中医方剂严谨配伍的原则,只有在君、臣、佐、使搭配得当的条件下,处方才能达到原方的功效。同时,该处方比酸枣仁汤多加了2味药材,具体药效比较有待于后续实验的进一步研究。

中药复方制剂讲究的是在病因病机基础上,采用辨证论治的原则,结合中药药性理论,以处方所含多种活性成分通过多途径、多靶点以及整体调节而发挥综合其治疗作用的,因此考察配方本质不但要考虑其单味药的作用,还需考察组方各药物的交互作用以及各药性之间的调节作用,这样才能从整体上阐明中药复方的配伍本质,所以小酸枣汤各药味之间的交互作用对小鼠睡眠时间的影响有待进一步探讨。

综上所述,本实验证明了小酸枣汤具有抑制小鼠自

主活动及延长阈上剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠时间的的作用,其中酸枣仁作用最强,但是与酸枣仁汤作用大小之间的比较还有待进一步考察。

参考文献

- [1] 王焘.外台秘要[M].北京:人民卫生出版社,1955:92.
- [2] 丹波康赖.医心方[M].上海:上海科学技术出版社,1998:546-547.
- [3] 吴巧敏,赵艺初,韩艺凡,等.基于古今医家论著对酸枣仁汤中“酸枣仁”实质的思考[J].辽宁中医杂志,2016,43(2):262-264.
- [4] 陈莺,陈少玫.酸枣仁汤临床应用及药理实验研究进展[J].山西中医,2014,30(12):41-43.
- [5] 李玉娟,刘雯,杨静玉,等.酸枣仁汤的镇静催眠作用[J].沈阳药科大学学报,2002,19(2):115-117.
- [6] 刘莹,陈晓伟,李健,等.茵陈蒿汤拆方对非酒精性脂肪性肝炎的正交实验研究[C]//第二十五届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集.北京:中国中西医结合学会,2013:182-188.
- [7] 汪海鸿,狄留庆,陆茵,等.通塞脉片治疗急性脑缺血的拆方研究[J].南京中医药大学学报,2011,27(1):55-57.
- [8] 张继平,刘俊娥,姚晖,等.正交试验法研究补阳还五汤中保护OGD损伤PC12细胞的主要药味[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(11):134-138.
- [9] 龙旭阳,郑攀.方剂拆方研究现状[J].浙江中医药大学学报,2010,34(1):120-121.
- [10] 徐智,薛梅苓,单升高,等.中药及其成分配伍组方的研究方法探析[J].中国卫生产业,2013,10(20):86-87.
- [11] 陈奇,邓文龙,张世玮,等.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1994:67.
- [12] 封硕.酸枣仁汤君臣佐使配伍的药效学研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2007.
- [13] 沈鸿,黄芳,窦昌贵,等.酸枣仁汤处方的配比研究[J].中国药科大学学报,2002,33(1):21-23.
- [14] 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[J].中药材,2006,29(9):964-965.
- [15] 谭云龙,孙晖,孙文军,等.酸枣仁化学成分及其药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2014,25(1):186-188.
- [16] 张妍,解军波,张彦青,等.镇静催眠药物的主要作用机制研究进展[J].中国药房,2011,22(41):3906-3908.
- [17] 崔思娇,贾英,罗洁,等.酸枣仁镇静催眠活性部位的筛选[J].中国药房,2013,24(23):2128-2129.

(收稿日期:2016-06-07 修回日期:2016-11-07)

(编辑:林 静)