

安神补脑液去除维生素 B₁ 前后对小鼠镇静、催眠作用及脑内 RNA, DNA, 蛋白质合成影响的比较

刘影¹, 孙桂波², 徐惠波³, 王鑫³, 刘博³, 李永吉¹,
王永宽⁴, 张秀云⁴, 于江波^{4*}, 孙晓波^{2*}

- (1. 黑龙江中医药大学 研究生院, 哈尔滨 150040;
2. 中国医学科学院北京协和医科大学 药用植物研究所, 北京 100193;
3. 吉林省中医药科学院, 长春 130021;
4. 吉林敖东延边药业股份有限公司, 吉林 延吉 133700)

[摘要] 目的:探讨维生素 B₁(VB₁)对安神补脑液功效的影响。方法:实验小鼠按体重随机分为 7 组,分别为正常组(蒸馏水),安神补脑液高、低剂量组(0.1, 0.05 g·kg⁻¹),不含 VB₁ 的安神补脑液高、低剂量组(0.1, 0.05 g·kg⁻¹),VB₁ 口服液高、低剂量组(0.1, 0.05 g·kg⁻¹),每组 10 只。每日按体重 *ig* 给药 1 次,连续 *ig* 10 d。通过小鼠自主活动实验观察各样品的镇静作用;戊巴比妥钠所致小鼠睡眠实验观察各样品的催眠作用;地衣酚(Orcinol)法测定脑组织中 RNA 含量、二苯胺显色法测定脑组织中 DNA 含量、福林酚(Lowry)法测定脑组织中蛋白质的含量。结果:与正常组比较,安神补脑液高、低剂量组、不含 VB₁ 的安神补脑液高、低剂量组自主活动次数明显减少,且具有显著性差异($P < 0.05$),而 VB₁ 口服液高、低剂量组自主活动次数与正常组相比无显著性差异;安神补脑液高剂量组可明显增加小鼠戊巴比妥钠阈上剂量睡眠时间($P < 0.05$),不含 VB₁ 的安神补脑液组对小鼠戊巴比妥钠阈上剂量睡眠时有增加趋势,其他各组无明显差异;除安神补脑液低剂量组外,各组脑内 DNA 含量均明显增加($P < 0.01$);不含 VB₁ 的安神补脑液高剂量组、VB₁ 口服液高、低剂量组蛋白质含量明显增加($P < 0.01$),其余各组无显著性差异;同时,各组对脑内 RNA 含量无明显影响。结论:不含 VB₁ 的安神补脑液和安神补脑液的镇静、催眠作用效果相当;同时,实验证明了不同工艺制备样品对小鼠脑组织中 DNA,蛋白质合成有促进作用,对 RNA 的含量无影响。

[关键词] 安神补脑液; 不含维生素 B₁ 的安神补脑液; 维生素 B₁ 口服液; 镇静; 催眠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0086-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120086

Comparison of Sedative Hypnotic Effects and Influence on RNA, DNA, Protein Synthesis in Mice Brain Tissues of Anshen Bunao Syrup with or Without Vitamin B₁

LIU Ying¹, SUN Gui-bo², XU Hui-bo³, WANG Xin³, LIU Bo³, LI Yong-ji¹, WANG Yong-kuan⁴, ZHANG Xiu-yun⁴, YU Jiang-bo^{4*}, SUN Xiao-bo^{2*}

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 3. Academy of Chinese Medical Sciences of Jilin Province, Changchun 130021, China; 4. Jilin Aodong Medicine Industry Group Co., Ltd., Yanji 133700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the influence of vitamin B₁ (VB₁) on the effect of Anshen Bunao syrup. **Method:** The experimental mice were randomly divided into 7 groups: the control group (distilled water), the high and low-dose Anshen Bunao syrup groups (10, 5 mL·kg⁻¹), the high and low-dose Anshen Bunao syrup without containing VB₁ groups (10, 5 mL·kg⁻¹), the high and low-dose VB₁ oral liquid groups (10, 5 mL·kg⁻¹)

[收稿日期] 20141029 (006)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09501001-004)

[第一作者] 刘影, 硕士, 从事心血管药理研究工作, Tel:13699255364, E-mail:354382220@qq.com

[通讯作者] * 于江波, 研究员, 从事新药开发研究工作, Tel:0433-6255549, E-mail:miaoyinrulai@163.com;

* 孙晓波, 博士生导师, 研究员, 从事心血管药理研究工作, Tel:010-57833013, E-mail:xbsun@imPlad.ac.cn

of 10 mice each. The corresponding medicines were intragastrically administered to the mice according to body weight once daily for 10 days. The sedative effects of different groups were observed by the locomotor activity in mice; the hypnotic effects were observed by the sleeping time in mice with pentobarbital sodium; the RNA content of brain tissue was measured by orcinol method; the DNA content of brain tissue was determined through diphenylamine colorimetric method, and protein content of brain tissue was determined by lowry method. **Result:** Compared with the control group, the times of spontaneous motion (the indication of sedation) in mice significantly decreased in the high- and low-dose groups of Anshen Bunao syrup and Anshen Bunao syrup without containing VB_1 ($P < 0.05$). There were no significant differences for the times of spontaneous motion between VB_1 oral liquid groups and the control group. The sleep time by pentobarbital sodium significantly increased in the high-dose Anshen Bunao syrup group ($P < 0.05$). There was an increasing tendency for the sleep time by pentobarbital sodium in Anshen Bunao syrup without containing VB_1 groups. There were no significant differences among other groups. The DNA content of brain increased significantly in all groups except the low-dose Anshen Bunao syrup group. The protein content increased significantly in the high-dose Anshen Bunao syrup without containing VB_1 and high-, low-dose VB_1 oral liquid groups ($P < 0.01$). The RNA content in the brain had no significant difference between any two groups. **Conclusion:** The sedative-hypnotic effect of Anshen Bunao syrup without containing VB_1 is similar to that of Anshen Bunao syrup. Simultaneously, our results prove that the different processes samples could promote DNA and protein synthesis of brain tissues, but they have no influence on RNA content in mice.

[**Key words**] Anshen Bunao syrup; Anshen Bunao syrup without containing VB_1 ; VB_1 oral liquid; sedative; hypnotic

从国外大多数流行病学调查结果来看,大约每年有 33% 的人出现不同程度的睡眠障碍,并且有 17% 的人出现严重失眠^[1]。中国卫生部一项统计资料显示,目前,国内失眠者人数已经达到 120 ~ 140 万,据专家估计,到 2020 年,全球约有 7 亿多失眠者^[2]。安神补脑液是由干姜、制何首乌、淫羊藿、大枣、鹿茸、甘草、维生素 B_1 (VB_1) 组成的复方制剂^[3],具有健脑安神,生精补髓,益气养血的功效,用于神经衰弱、失眠、健忘、头晕等疗效显著^[4,6]。为进一步探讨 VB_1 对安神补脑液镇静、催眠作用的影响,笔者对安神补脑液、不含 VB_1 的安神补脑液以及 VB_1 口服液在镇静、催眠方面的作用效果进行了比较,同时观察了不同工艺制备样品对小鼠脑内 RNA, DNA, 蛋白质合成的影响,为优化安神补脑液的制剂工艺提供理论依据,同时,促进其在临床上的合理应用。

1 材料

1.1 动物 ICR 小鼠,雄性,19 ~ 22 g,由北京市维通利华实验动物有限公司提供,动物合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.2 药物及试剂 安神补脑液(吉林敖东延边药业股份有限公司,批号 1107059),不含 VB_1 的安神补脑液(吉林敖东延边药业股份有限公司,批号 1107002), VB_1 口服液(吉林敖东延边药业股份有

限公司,批号 1107001),戊巴比妥钠(上海化学试剂公司,批号 84-06-12),二苯胺(国药集团化学试剂有限公司,批号 XW01223941),氢氧化钠(北京鼎国生物技术有限责任公司,批号 79H10205),三氯化铁(天津市光复科技发展有限公司,批号 2013.06.24)浓盐酸(北京化工厂,批号 20121005)。

1.3 仪器 YLS-1A 型多功能小鼠自主活动记录仪(济南益延科技发展有限公司),DY89-II 型电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司),M1000 型多功能连续波长酶标仪(美国 Biotek Instruments 公司),HH-2 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),MP21001 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 对小鼠自主活动的影响 ICR 小鼠经适应性饲养 1 d 后,利用自主活动仪进行实验动物的筛选,筛选时先将小鼠置于自主活动仪内适应 5 min,之后测试 10 min 内小鼠自主活动次数,选择活动次数相近的 70 只小鼠,按体重随机分为 7 组:正常组(蒸馏水),安神补脑液高、低剂量组($0.1, 0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),不含 VB_1 的安神补脑液高、低剂量组($0.1, 0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), VB_1 口服液高、低剂量组($0.1, 0.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 10 只。每日按体重 ig 给药 1 次,连续 ig 10 d。第 10 天称重,给药 1 h 后,将小鼠置于自主

活动仪内,再次检测小鼠自主活动次数^[7-8]。

2.2 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的影 响 ICR小鼠70只经适应性饲养1d后,按体重随机分为7组,分别为正常组(蒸馏水),安神补脑液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),不含VB₁的安神补脑液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),VB₁口服液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),每组10只。每日按体重*ig*给药1次,连续*ig*10d。第10天给药后1h,动物*ip*戊巴比妥钠溶液(65 mg·kg⁻¹),记录小鼠发生睡眠潜伏期和睡眠时间^[7-8]。

2.3 对小鼠脑组织 RNA, DNA, 蛋白质含量的影响 ICR小鼠70只经适应性饲养1d后,按体重随机分为7组,分别为正常组(蒸馏水),安神补脑液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),不含VB₁的安神补脑液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),VB₁口服液高、低剂量组(0.1,0.05 g·kg⁻¹),每组10只。每天动物按体重灌胃给药1次,连续*ig*10d。末次给药后1h,迅速将小鼠断头处死,取脑,匀浆,提取脑内RNA, DNA, 蛋白质,按Orcinol法测定脑组织中RNA含量、二苯胺显色法测定脑组织中DNA含量,Lowry法测定脑组织中蛋白质的含量^[9]。

2.4 统计学分析 采用SPSS 13.0软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用*t*检验,以*P* < 0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠自主活动的影响 安神补脑液高、低剂量组、不含VB₁的安神补脑液高、低剂量组小鼠自主活动次数明显少于正常组,且具有统计学差异(*P* < 0.05);其他各组动物活动次数与对照组比较无显著性差异;不含VB₁的安神补脑液组与VB₁口服液组比较无明显差异。见表1。

表1 不同工艺制备安神补脑液对小鼠自主活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of different processes Anshen Bunao syrup on locomotor activity in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	自主活动数/次
正常	-	242.8 ± 27.08
安神补脑液	0.1	164.3 ± 92.25 ¹⁾
	0.05	181.0 ± 62.08 ¹⁾
不含VB ₁ 安神补脑液	0.1	188.5 ± 37.08 ²⁾
	0.05	161.5 ± 75.63 ¹⁾
VB ₁ 口服液	0.1	224.1 ± 53.41
	0.05	195.4 ± 103.95

注:与正常组比较¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01(表2,图1同)。

3.2 对小鼠睡眠时间的影响 与正常组比较,安神补脑液高剂量组使小鼠戊巴比妥钠阈上剂量睡眠时间明显增加(*P* < 0.05),不含VB₁的安神补脑液高剂量组小鼠戊巴比妥钠阈上剂量睡眠时间与增加趋势,其他各组无明显差异;不含VB₁组与VB₁组比较无明显差异。见表2。

表2 不同工艺制备安神补脑液对小鼠睡眠时间的影 响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of different processes Anshen Bunao syrup on sleep time in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

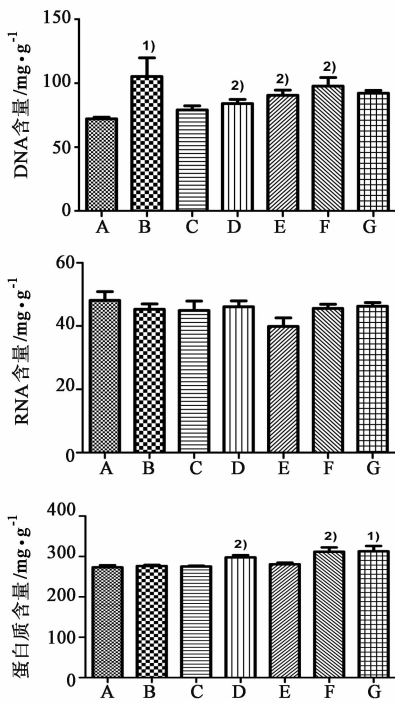
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	睡眠潜伏时间 /min	睡眠时间 /min
正常	-	2.53 ± 1.01	32.11 ± 5.86
安神补脑液	0.1	2.79 ± 0.77	46.51 ± 13.38 ¹⁾
	0.05	2.55 ± 0.55	36.78 ± 9.52
不含VB ₁ 安神补脑液	0.1	2.85 ± 0.41	44.00 ± 25.85
	0.05	3.24 ± 0.53	32.28 ± 6.91
VB ₁ 口服液	0.1	2.72 ± 0.79	34.83 ± 8.53
	0.05	2.70 ± 0.64	38.70 ± 12.00

3.3 对小鼠脑组织中 DNA, RNA, 蛋白质含量的影响 除安神补脑液低剂量组外,其他各组脑内DNA含量明显增加,与正常组比较均具有显著性差异(*P* < 0.05);各组脑内RNA含量水平波动频率较小,无明显差异;不含VB₁的安神补脑液高剂量组,VB₁口服液高、低剂量组蛋白质含量明显增加,与正常组比较具有显著性差异(*P* < 0.05)。见图1。

4 讨论

失眠的治疗方法分为药物治疗和非药物治疗^[10],在非药物治疗中可以采用心理治疗、物理治疗等,药物治疗可采用传统的中药和镇静催眠类药物。据文献报道,目前使用最多的安眠药是苯二氮卓类药物,它具有起效快,耐受性良好等特点,但是有成瘾性^[11],而且,这类药物在延长总的睡眠时间的同时会损害睡眠的慢波睡眠和快眼动睡眠两个阶段^[12],并不能真正改善睡眠质量。而中药在失眠治疗上具有相当大的优势,它是通过调节人体的脏腑阴阳功能,使机体恢复到正常的状态,从根本上改善睡眠质量,而且中药治疗失眠不良反应小,疗效持久,停药不反跳,无依赖性,因此,备受科研工作者的广泛关注。

动物的自主活动情况反映了中枢神经系统的功能状态,兴奋时活动次数增加,抑制时活动次数减少。因此小鼠自主活动实验是评价中枢神经系统兴奋状态的一项重要指标^[13]。本研究结果显示,安神



A. 正常组; B. 安神补脑液 0.1 g·kg⁻¹ 组; C. 安神补脑液 0.05 g·kg⁻¹ 组; D. 不含 VB₁ 安神补脑液 0.1 g·kg⁻¹ 组; E. 不含 VB₁ 安神补脑液 0.05 g·kg⁻¹ 组; F. VB₁ 口服液 0.1 g·kg⁻¹ 组; G. VB₁ 口服液 0.05 g·kg⁻¹ 组

图 1 不同工艺制备安神补脑液对小鼠脑组织中 DNA, RNA, 蛋白质含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of different processes Anshen Bunao syrup on DNA, RNA, protein content in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

补脑液、不含 VB₁ 的安神补脑液均可使小鼠自主活动次数减少, 与正常组比较均有明显差异, 而 VB₁ 口服液组小鼠活动次数与正常组比较无明显差异, 且各组高、低剂量之间无显著性差异。即不含 VB₁ 的安神补脑液保留了安神补脑液具有的镇静作用。

戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠, 观察各样品对其所致小鼠睡眠时间的影响, 实验结果显示, 安神补脑液可明显增加戊巴比妥钠所致小鼠的睡眠时间, 而不含 VB₁ 的安神补脑液对戊巴比妥钠所致的小鼠睡眠时间也有增加趋势, 其他各组与正常组比较无明显差异。说明不含 VB₁ 的安神补脑液保留了安神补脑液具有的催眠作用。

笔者分别采用 Orcinol 法、二苯胺显色法和 Lowry 法测定脑组织中 RNA, DNA 以及蛋白质的含量, 利用的均是特定的显色反应以及吸光度与 RNA, DNA, 蛋白质浓度呈比例的原理。本研究的结果显示, 除安神补脑液低剂量组外, 各组脑内 DNA 含量均明显增加; 不含 VB₁ 的安神补脑液高剂量组, VB₁ 口服液高、低剂量组蛋白质含量明显增加,

其余各组无显著性差异; 同时, 各组对脑内 RNA 含量影响没有显著性的差异。说明上述各样品对脑组织中 DNA、蛋白质的合成有一定的促进作用。

综上所述, 不含 VB₁ 的安神补脑液也具有镇静、催眠作用, 疗效与安神补脑液相当, 并且实验证明了不同工艺制备样品对小鼠脑组织中 DNA, 蛋白质合成有促进作用, 对 RNA 的含量无影响。在不含 VB₁ 的安神补脑液与安神补脑液疗效相当的情况下减少了制剂成分, 不仅降低了原始工艺的复杂程度, 同时也大大减少了生产成本, 所以本研究为安神补脑液工艺的优化奠定了基础, 可促进其进一步的开发及应用。

[参考文献]

[1] Rosekind M R. The epidemiology occurrence of insomnia [J]. Clinical Psychiatry, 1992, 53:4-6.

[2] 刘世熠. 睡眠研究和展望 [C]. 北京: 中国第二届睡眠学术会议, 1996.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:715.

[4] 于玲玲, 王安翠. 安神补脑液的药理研究 [J]. 黑龙江科技信息, 2012, 15(7):50-54.

[5] 谢家驹. 磁疗加安神补脑液治疗神经衰弱 266 例疗效观察 [J]. 湖北省卫生职工医学院学报, 2004, 17(2):34-35.

[6] 王改仙, 李志茹. 安神补脑液治疗失眠 28 例 [J]. 现代中西医结合杂志, 2000, 6(3):543-544.

[7] 许招懂, 吴清和, 蒋莉娟, 等. 膜滤工艺对安神补脑液药效的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(5):495-497.

[8] 程秀娟, 邸琳, 吴岩, 等. 强力安神补脑胶囊药理作用的研究 [J]. 中成药, 1994, 16(8):32-34.

[9] 温富春, 许家洁, 王玉红, 等. 安神补脑液对小鼠学习记忆能力及脑内蛋白质合成的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 8(14):30-31.

[10] Zhdanova I V. Advances in the management of insomnia [J]. Expert Opin Pharmacother, 2004, 5(7):1573-1579.

[11] 陆维君. 抗失眠药物的临床应用 [J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(6):235-236.

[12] 何惠芳. 安神补脑液与舒乐安定治疗失眠症的疗效比较 [J]. 世界中医药, 2013, 8(8):909-911.

[13] 孙永嘉, 严铭铭, 万志强, 等. 五味子软胶囊镇静安神的药效学研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(6):1432-1433.

[责任编辑 周冰冰]