

# 黑水缬草石油醚部位改善小鼠睡眠作用及相关机制研究

陈佳帅, 吴军凯, 刘玲, 张瑜, 王凤娇, 都晓伟\*

(黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** **目的:**研究黑水缬草石油醚部位对小鼠睡眠的改善作用,考察其对小鼠脑内神经递质  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)及 5-羟色胺(5-HT)含量的影响,初步探讨其改善睡眠的作用机制。**方法:**采用戊巴比妥钠协同作用实验,考察黑水缬草石油醚部位不同剂量对小鼠睡眠潜伏期和睡眠时间的影响以及联合氟马西尼注射液、5-羟色胺酸(5-HTP)和对氯苯丙氨酸(PCPA)对小鼠睡眠潜伏期和睡眠时间的影响;采用 ELISA 法测定小鼠脑组织 GABA,5-HT 含量,以确定黑水缬草石油醚部位改善睡眠的作用机制。**结果:**黑水缬草石油醚部位 3 个剂量(30,15,7.5 g·kg<sup>-1</sup>)均具有改善小鼠睡眠的作用,主要表现为缩短睡眠潜伏期和延长睡眠时间。联合氟马西尼注射液,5-HTP 和 PCPA 后,对小鼠的睡眠时间均产生了明显的影响:与空白组比较,联合氟马西尼注射液可阻断黑水缬草石油醚部位和地西洋与戊巴比妥钠的协同作用。联合 5-HTP 可增强黑水缬草石油醚部位与戊巴比妥钠的协同作用;联合 PCPA 可阻断黑水缬草石油醚部位与戊巴比妥钠的协同作用。黑水缬草石油醚部位不同剂量均能使小鼠脑组织的神经递质 GABA,5-HT 含量显著升高。**结论:**黑水缬草石油醚部位高、中、低 3 个剂量均能明显延长小鼠睡眠时间。黑水缬草石油醚部位改善睡眠作用的机制与脑内神经递质 GABA,5-HT 的含量有关。

**[关键词]** 黑水缬草;石油醚部位;睡眠;睡眠机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0245-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013240245

## Studies on Improving Sleep Function and Relative Mechanism of Mice by Petroleum Extract of *Valeriana amurensis*

CHEN Jia-shuai, WU Jun-kai, LIU Ling, ZHANG Yu, WANG Feng-jiao, DU Xiao-wei\*

(Pharmaceutical College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the sleep improvement of petroleum extract of *Valeriana amurensis*, observe it's effect on the contents of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the brain of mice, and preliminarily investigate the activity mechanism. **Method:** The effects of three doses of petroleum extract of *V. Amurensis*, combined with Flumazenil, 5-hydroxytryptophane (5-HTP) and parachlorophenylalanine (PCPA), respectively on sleep latency duration and sleep period of mice were examined with the synergy of sodium pento-barbital. The improved-sleeping mechanism of petroleum extract was determined by detecting the contents of GABA and 5-HT in the brains of mice with ELISA method. **Result:** Three doses (30, 15, 7.5 g·kg<sup>-1</sup>) of *V. amurensis* petroleum extract showed the effect of improving sleep by shortening the sleep latency and prolonging the sleep duration of mice. Compared with the control. The synergy effect of diazepam or *V. amurensis* petroleum extract with sodium pentobarbital was blocked by Flumazenil injection. The synergy effect of *V. amurensis* petroleum extract with sodium pentobarbital was intensified by 5-HTP. The synergy effect of *V. amurensis* petroleum extract with sodium pentobarbital was blocked by PCPA. The contents of GABA and 5-HT in the brain of mice were increased by the three doses of *V. amurensis* petroleum extract. **Conclusion:** *V. amurensis* petroleum part (30,

**[收稿日期]** 20130415(018)

**[基金项目]** 黑龙江省杰出青年科学基金项目(JC200612)

**[第一作者]** 陈佳帅,硕士,从事药用植物的生物学研究,Tel:0451-87266824, E-mail: typhoonhero@qq.com

**[通讯作者]** \* 都晓伟,教授,博士生导师,从事植物药的研究与开发,Tel:0451-87267031, E-mail: duxiaowei@hljucm.net

15, 7.5 g·kg<sup>-1</sup>) could significantly prolong the sleep duration of mice. The improved-sleeping mechanism of *V. amurensis* petroleum extract was verified to exist the relationship with the content of GABA and 5-HT in mouse brain.

[Key words] *Valeriana amurensis*; petroleum extract; sleep; mechanism of sleep

黑水缬草为败酱科缬草属植物黑水缬草的干燥根及根茎,主要分布于我国黑龙江和吉林等省,生于山坡草甸或落叶松和桦木林下<sup>[1]</sup>。欧洲国家应用欧缬草等缬草属其他植物改善睡眠已有上百年的历史,研究证实,缬草属植物的镇静催眠活性成分主要为倍半萜和环烯醚萜类化合物<sup>[2]</sup>,两类化合物的极性较低,可由石油醚提取获得。近年对黑水缬草的研究发现,其 95% 乙醇提取物对小鼠具有显著的镇静催眠作用<sup>[3]</sup>;黑水缬草挥发油也显示出较强的中枢神经抑制作用<sup>[4]</sup>,但对其化学成分有效部位及其镇静催眠作用机制的研究未见报道。本文在前期通过筛选初步确定黑水缬草石油醚组分具有镇静催眠活性的基础上,拟进一步研究该部位对小鼠睡眠的改善作用,并对其改善睡眠的相关机制进行初步探讨。

## 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠,雄性,体重 18~22 g,由黑龙江中医药大学 GLP 中心提供,许可证号 SCXK(黑)2008004。实验室环境:温度(24±2℃,湿度(55±15)%,12·12 h 明暗交替,动物自由摄取水和食物)。

**1.2 药物和试剂** 实验药材于 2011 年 10 月采自黑龙江中医药大学清河种子繁育基地,经黑龙江中医药大学药理学教研室都晓伟教授鉴定为黑水缬草(*Valeriana amurensis* Smir. ex Kom.)。取根部,洗净、阴干,得药材 700 g(干重)。将药材碾碎成粗粉末,用石油醚(沸程 60~90℃)渗漉,减压回收石油醚,得石油醚干膏。提取后的药渣再用 95% 乙醇渗漉提取,减压回收,得乙醇提取物。将乙醇提取物悬浮于蒸馏水中,用石油醚萃取,减压回收,其中石油醚萃取物与前部分石油醚浸膏合并后,减压回收蒸干,得石油醚部位干膏。根据剂量不同分别以 1% Tween-80 助溶于蒸馏水中用于动物灌胃。地西洋,山东省平原制药厂,临用时以蒸馏水配制成 0.25 g·L<sup>-1</sup> 的溶液。戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司,批号 WS20060401,临用时以蒸馏水配制),Tween-80(化学纯,北京益利精细化学品有限公司),氟马西尼(Flumazenil,江苏恩华药业集团有限公司,批号 20100528),5-羟色氨酸(5-HTP,上海

Aladdin 公司,批号 30817),对氯苯丙氨酸(PCPA,美国 Sigma 公司,批号 C0506),γ-氨基丁酸(GABA)ELISA 检测试剂盒(美国 R&D 公司,批号 20121021),5-羟色胺(5-HT)ELISA 检测试剂盒(美国 R&D 公司,批号 20121013)。

**1.3 仪器** AB 204-N 型-电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),DJ-500A-电子秤(亚太电子天平有限公司),N-1100-旋转蒸发仪(上海爱朗仪器有限公司),Synergy MX-酶标仪(美国 Bio Tek 公司),TOMOS 3-18R-低温离心机(日本日立公司)。

## 2 方法

**2.1 联合阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠发生率的影响** 75 只小鼠适应实验室环境 24 h 后,随机分为 5 组,每组 15 只。给药组分别 ig 给予 7.5,15,30 g·kg<sup>-1</sup> 的黑水缬草石油醚部位水溶液,空白对照组与地西洋组(阳性对照)ig 同体积的 1% Tween-80 蒸馏水溶液。地西洋组在 ig 20 min 后 ip 地西洋 2.5 mg·kg<sup>-1</sup>。30 min 后,各组戊巴比妥钠 35 mg·kg<sup>-1</sup> ip,以翻正反射消失 1 min 以上为入睡标准,记录 30 min 内各组入睡动物数。

**2.2 对阈剂量戊巴比妥钠改善小鼠睡眠作用的影响** 40 只实验动物于实验室适应环境(同 2.1),随机分为 4 组,每组 10 只,分别为空白对照组、黑水缬草石油醚部位 7.5,15,30 g·kg<sup>-1</sup> 组。给药组分别 ig 给予上述不同剂量的黑水缬草石油醚部位水溶液,空白对照组给予同体积的 1% Tween-80 水溶液。给药 30 min 后,各组戊巴比妥钠 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip,立即将小鼠腹部向上放在温暖(37℃)的垫块上。记录各组小鼠睡眠的潜伏期和睡眠的持续时间。

**2.3 联合马西尼对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响** 100 只实验动物于实验室适应环境(同 2.1),随机分为 10 组,每组 10 只,分别为空白对照组,氟马西尼组,地西洋组,黑水缬草石油醚部位 7.5,15,30 g·kg<sup>-1</sup> 组、地西洋 + 氟马西尼组、7.5 g·kg<sup>-1</sup> + 氟马西尼组、15 g·kg<sup>-1</sup> + 氟马西尼组、30 g·kg<sup>-1</sup> + 氟马西尼组。空白对照组、氟马西尼组、地西洋组和地西洋 + 氟马西尼组以 1% Tween-80 水溶液 ig,其他各组以黑水缬草石油醚部位相应剂量 ig。空白对照

组、黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组在 ig 30 min 后, 以戊巴比妥钠 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip; 地西洋组在 ig 20 min 后先以地西洋 2.5 mg·kg<sup>-1</sup> ip, 30 min 后再 ip 戊巴比妥钠; 氟马西尼 (3.5 mg·kg<sup>-1</sup>) 在戊巴比妥钠注射前 20 min ip。记录各组小鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间 (同 2.2)。

#### 2.4 联合 5-HTP 致戊巴比妥钠致小鼠睡眠的影响

80 只实验动物于实验室适应环境 (同 2.1), 随机分为 8 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组、5-HTP 组、黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组、7.5 g·kg<sup>-1</sup> + 5-HTP 组、15 g·kg<sup>-1</sup> + 5-HTP 组和 30 g·kg<sup>-1</sup> + 5-HTP 组。空白对照组、5-HTP 组以 1% Tween-80 水溶液 ig, 其他各组 ig 黑水缬草石油醚部位相应剂量。30 min 后, 空白对照组、黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组以戊巴比妥钠 50 mg·kg<sup>-1</sup> ip; 5-HTP (25 mg·kg<sup>-1</sup>) 相应各组于戊巴比妥钠注射前 15 min ip。记录各组小鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间 (同 2.2)。

#### 2.5 联合 PCPA 对戊巴比妥钠致小鼠睡眠的影响

80 只实验动物于实验室适应环境 (同 2.1), 随机分为 8 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组、PCPA 组、黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组、7.5 g·kg<sup>-1</sup> + PCPA 组、15 g·kg<sup>-1</sup> + PCPA 组和 30 g·kg<sup>-1</sup> + PCPA 组。空白对照组、PCPA 组 ig 给予 1% Tween-80 水溶液, 其他各组黑水缬草石油醚部位相应剂量 ig。PCPA (300 mg·kg<sup>-1</sup>) 相应各组于 ip 戊巴比妥钠前 24 h sc。各组 ig 30 min 后, 以戊巴比妥钠 50 mg·kg<sup>-1</sup>, ip。按记录各组小鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间 (同 2.2)。

**2.6 对小鼠脑内 GABA, 5-HT 含量的影响** 40 只实验动物于实验室适应环境 (同 2.1), 随机分为空白对照组、黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组, 每组 10 只。给药组分别以上述不同质量浓度的黑水缬草石油醚部位水溶液 ig, 空白对照组 ig 1% Tween-80 水溶液。30 min 后, 将小鼠直接断头取脑, 冰生理盐水冲洗, 滤纸拭干。将分离好的脑组织分别加 9 倍量冰生理盐水手动匀浆后在 4 ℃, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min。取上清, 按试剂盒操作步骤处理后用酶标仪测定相应的吸光度 (A), 再将 A 代入线性回归方程, 计算各样品中 GABA, 5-HT 浓度。

**2.7 统计学处理** 采用 SPSS 18.0 统计软件, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较用方差分析,  $P < 0.05$  为有差异显著性。

### 3 结果

**3.1 对阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠发生率的影响** 与空白组比, 地西洋组能显著增高小鼠睡眠发生率 ( $P < 0.05$ ), 表明实验方法可行。与空白对照组比, 黑水缬草石油醚部位 (简称黑水缬草, 以下表均同) 各剂量组的睡眠发生率逐渐增高, 其中 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组与空白组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 黑水缬草石油醚部位联合阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠发生率的影响 ( $n = 15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	睡眠发生率/%
空白对照	-	7
黑水缬草	7.5	33
	15	47 <sup>1)</sup>
	30	67 <sup>1)</sup>
地西洋	2.5 × 10 <sup>-3</sup>	80 <sup>1)</sup>

注: 与空白对照组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.2 对阈剂量戊巴比妥钠改善小鼠睡眠作用的影响** 与空白组比, 黑水缬草石油醚部位各剂量组均能显著延长阈剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 黑水缬草石油醚部位各剂量组的睡眠潜伏期呈现缩短趋势, 其中 30 g·kg<sup>-1</sup> 组与空白组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 2 黑水缬草石油醚部位联合阈剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) min

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	潜伏期	睡眠时间
空白对照	-	4.07 ± 1.01	34.29 ± 4.81
黑水缬草	7.5	3.95 ± 1.26	60.41 ± 7.18 <sup>1)</sup>
	15	3.43 ± 1.57	78.16 ± 12.27 <sup>2)</sup>
	30	3.08 ± 0.98 <sup>1)</sup>	95.38 ± 13.16 <sup>2)</sup>

注: 与空白对照组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 4, 6 同)。

**3.3 对氟马西尼对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响** 与空白组比较, 单独给予黑水缬草石油醚部位 7.5, 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 和地西洋均显著延长戊巴比妥钠所致小鼠的睡眠持续时间并缩短睡眠潜伏期 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 氟马西尼可明显阻断黑水缬草石油醚部位各剂量组和地西洋与戊巴比妥钠的协同作用, 使睡眠潜伏期延长, 睡眠持续时间缩短。见表 3。

**3.4 联合 5-HTP 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响** 5-HTP 组和黑水缬草石油醚部位各剂量组与空白对照组相比, 睡眠潜伏期呈缩短趋势, 其中 30 g·kg<sup>-1</sup> 组具显著性差异。联合 5-HTP 给药后, 睡眠潜

**表 3 黑水缬草石油醚部位联合氟马西尼对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的影响** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) min

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	潜伏期	睡眠时间
空白对照	-	4.18 ± 0.68	35.71 ± 5.26
氟马西尼 <sup>1)</sup>	3.5	4.74 ± 1.62	29.13 ± 8.23
黑水缬草	7.5	3.99 ± 0.78	61.67 ± 9.32 <sup>1,4)</sup>
	15	3.47 ± 1.64	79.23 ± 11.46 <sup>2,4)</sup>
	30	3.02 ± 0.57 <sup>1,4)</sup>	98.65 ± 13.57 <sup>2,4)</sup>
黑水缬草 + 氟马西尼	7.5	4.11 ± 0.80	39.12 ± 10.24
	15	4.02 ± 1.24	42.79 ± 15.62
	30	3.89 ± 1.16	67.66 ± 14.28
地西洋 <sup>5)</sup>	2.5	2.57 ± 0.87 <sup>1,3)</sup>	110.46 ± 19.12 <sup>2,3)</sup>
地西洋 + 氟马西尼	2.5 + 3.5	3.89 ± 1.16	74.16 ± 14.27

注:与空白对照组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与地西洋 + 氟马西尼组比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ;与黑水缬草 + 氟马西尼相应剂量组比<sup>4)</sup>  $P < 0.05$ ;<sup>5)</sup> 剂量单位 mg·kg<sup>-1</sup>。

伏期继续缩短,在 30 g·kg<sup>-1</sup> + 5-HTP 组呈极显著性差异。黑水缬草石油醚部位各剂量组均可延长睡眠时间 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。且黑水缬草石油醚部位联合 5-HTP 各组均比相应单用黑水缬草石油醚部位睡眠持续时间延长,呈协同作用。见表 4。

**表 4 黑水缬草石油醚部位联合 5-HTP 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的影响** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) min

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	潜伏期	睡眠时间
空白对照	-	4.16 ± 0.97	34.58 ± 6.87
5-HTP	0.025	4.03 ± 0.76	39.26 ± 7.28
黑水缬草	7.5	4.05 ± 1.01	62.24 ± 10.31 <sup>1)</sup>
	15	3.52 ± 0.89	76.19 ± 13.15 <sup>2)</sup>
	30	2.99 ± 0.77 <sup>1)</sup>	94.41 ± 13.44 <sup>2)</sup>
黑水缬草 + 5-HTP	7.5 + 0.025	3.66 ± 1.12	70.26 ± 14.57 <sup>1)</sup>
	15 + 0.025	3.11 ± 0.91 <sup>1)</sup>	85.22 ± 14.49 <sup>2)</sup>
	30 + 0.025	2.32 ± 0.84 <sup>2)</sup>	107.46 ± 18.13 <sup>2)</sup>

**3.5 联合 PCPA 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响** 单独给予黑水缬草石油醚部位各剂量组对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠持续时间有显著延长作用;其中 30 g·kg<sup>-1</sup> 组能显著缩短小鼠睡眠潜伏期;单独给予 PCPA 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠持续时间有显著缩短作用,与空白组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ );PCPA 可以明显阻断黑水缬草石油醚部位各剂量组与戊巴比妥钠的协同作用,表现为延长睡眠潜伏期和缩短睡眠持续时间。见表 5。

**3.6 对小鼠脑内 GABA 和 5-HT 含量的影响**

**表 5 黑水缬草石油醚部位联合 PCPA 对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间的影响** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) min

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	潜伏期	睡眠时间
空白对照	-	4.33 ± 0.87	35.51 ± 5.91
PCPA	0.3	4.57 ± 1.02	18.20 ± 7.11 <sup>1)</sup>
黑水缬草	7.5	4.12 ± 1.18	62.11 ± 9.17 <sup>1,3)</sup>
	15	3.68 ± 1.52	78.41 ± 14.92 <sup>2,3)</sup>
	30	3.01 ± 0.74 <sup>1,3)</sup>	97.13 ± 18.66 <sup>2,3)</sup>
黑水缬草 + PCPA	7.5 + 0.3	4.24 ± 0.69	38.18 ± 11.26
	15 + 0.3	4.15 ± 0.98	47.69 ± 12.24
	30 + 0.3	3.92 ± 0.87	61.76 ± 15.26

注:与空白对照组比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;黑水缬草与黑水缬草 + PCPA 相应剂量组比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.6.1 GABA 标准曲线的绘制** 将浓度分别为 25, 50, 100, 200, 400 nmol·L<sup>-1</sup> 的对照品按试剂盒说明书操作步骤处理后,使用酶标仪测定相应的吸光度 (A)。以对照品浓度作横坐标,对应 A 作纵坐标,绘制标准品线性回归曲线图,得出标准曲线方程为  $Y = 0.0066X - 0.0979$  ( $R^2 = 0.9932$ )。

**3.6.2 5-HT 标准曲线的绘制** 将浓度分别为 0, 15, 30, 60, 120, 240 nmol·L<sup>-1</sup> 的对照品,以下操作同 **3.6.1**,得出标准曲线方程为  $Y = 0.008X - 0.1143$  ( $R^2 = 0.9978$ )。

**3.6.3 对小鼠脑内 GABA 和 5-HT 含量的影响** 与空白组比较,黑水缬草石油醚部位各剂量组均能显著增高小鼠脑内 GABA 的含量 ( $P < 0.05, P < 0.01$ );黑水缬草石油醚部位各剂量组均能使小鼠脑内 5-HT 的含量增高,其中 15, 30 g·kg<sup>-1</sup> 组与空白对照组比较有显著性 ( $P < 0.05$ ),见表 6。

**表 6 黑水缬草石油醚部位对小鼠脑内 GABA 和 5-HT 含量的影响** ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) nmol·L<sup>-1</sup>

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	GABA	5-HT
空白对照	-	37.41 ± 2.67	5.83 ± 1.41
黑水缬草	7.5	51.95 ± 5.14 <sup>1)</sup>	7.16 ± 1.66
	15	64.89 ± 6.65 <sup>1)</sup>	9.64 ± 1.78 <sup>1)</sup>
	30	81.22 ± 8.21 <sup>2)</sup>	10.26 ± 2.11 <sup>1)</sup>

**4 讨论**

缬草属植物的根及根茎作为催眠剂用来改善睡眠已有悠久历史,近年来,随着失眠患者数量的增多,国内外学者对缬草属植物的研究逐渐深入。目

前,关于缬草属植物改善睡眠作用的机制研究主要集中在 GABA 受体<sup>[5-6]</sup>和 5-HT 受体机制<sup>[7]</sup>2 个方面。

GABA 是哺乳动物中枢神经系统的氨基酸类神经递质,在睡眠调节中发挥重要作用<sup>[8-9]</sup>。苯二氮卓类药物(如地西洋)是通过增强 GABA<sub>A</sub> 受体的功能实现治疗目的<sup>[10]</sup>。本研究结果表明,氟马西尼作为苯二氮卓类药物的受体拮抗剂,能分别拮抗地西洋和黑水缬草石油醚部位协同戊巴比妥钠所致小鼠睡眠作用。地西洋作为苯二氮卓类药物中最常用的镇静催眠剂,通过 GABA<sub>A</sub> 受体的 BZD(苯二氮卓类)位点与受体相结合<sup>[11-12]</sup>。由此,可推测黑水缬草石油醚部位中的某些化学成分也可能通过对 BZD 位点的作用,进而增强 GABA 与 GABA<sub>A</sub> 受体的结合,发挥改善睡眠作用。此外,在采用 ELISA 法对小鼠头部 GABA 含量测定实验中,给药组小鼠头部 GABA 含量的升高也同时证明黑水缬草石油醚部位改善睡眠作用与 GABA 受体有关。

5-HT 是调节睡眠和觉醒周期的重要神经递质<sup>[12]</sup>。5-HT 的前体物质色氨酸经色氨酸羟化酶的作用生成 5-HTP,后者经 5-HTP 脱羧酶的作用产生 5-HT。因此,抑制色氨酸羟化酶将会影响 5-HT 在脑内的合成,从而表现出失眠。本实验黑水缬草石油醚部位在与 5-HTP 联合应用时,明显延长小鼠睡眠时间,说明黑水缬草石油醚部位可能与 5-HTP 产生协同作用并使小鼠脑内 5-HT 含量增加。另一方面,PCPA 作为色氨酸羟化酶抑制剂,可以阻断 5-HT 的合成,致使戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间缩短。当黑水缬草石油醚部位联合 PCPA 使用后,小鼠的睡眠持续时间与空白组相近,证明小鼠脑内的 5-HT 抑制剂 PCPA 对黑水缬草石油醚部位的药效产生拮抗作用。在测定小鼠头部 5-HT 的实验中,黑水缬草石油醚部位可使小鼠头部 5-HT 含量升高,说明其改善睡眠作用与 5-HT 具有相关性。

根据上述实验结果可以认为,黑水缬草石油醚部位具有改善小鼠睡眠的作用,其作用机制与小鼠脑内 GABA 和 5-HT 含量升高有关,但深入的关联

性有待进一步研究探讨。

#### [参考文献]

- [1] 黄宝康,郑汉臣,秦路平,等. 国产缬草属药用植物资源调查[J]. 中药材, 2004, 27(9):632.
- [2] 黄宝康,郑汉臣,秦路平. 缬草属植物的镇静催眠作用及机制[J]. 药学实践杂志, 2007, 25(3):134.
- [3] 黄宝康,黄流清,赵忠新,等. 国产缬草属 4 种药用植物镇静催眠作用的比较研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(11):2710.
- [4] 吴军凯,霍金海,都晓伟. 黑水缬草挥发油对中枢神经系统药理作用的研究[J]. 中药材, 2007, 30(8):977.
- [5] Kazuaki Shinomiya, Katsuyuki Fujimura, Yonsu Kim, et al. Effects of valerian extract on the sleep-wake cycle in sleep-disturbed rats[J]. Acta Med Okayama, 2005, 59(3):89.
- [6] Wasowski C, Marder M, Viola H, et al. Isolation and identification of 6-methylapigenin, a competitive ligand for the brain GABA<sub>A</sub> receptors, from *Valeriana wallichii* [J]. Planta Med, 2002, 68:934.
- [7] Lee R S, Steffensen S C, Henriksen S J. Discharge profiles of ventral tegmental area GABA neurons during movement, anesthesia, and the sleep-wake cycle[J]. J Neurosci, 2001, 21(5):1757.
- [8] Manfredi A, Brambilla D, Mancina M. Sleep is differently modulated by basal forebrain GABA(A) and GABA(B) receptors [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001, 281(1):170.
- [9] 勾英. 苯二氮卓类药理机制的研究[J]. 四川生理科学杂志, 1995, 17(2/3):85.
- [10] Mohler H, Okada T. Benzodiazepine receptor: demonstration in the central nervous system [J]. Science, 1977, 198(4319):849.
- [11] Braestrup C, Nielsen M, Squires R F, et al. Benzodiazepine receptor in brain [J]. Acta Psychiatr Scand Suppl, 1978(274):7.
- [12] 钟静瑜,黄俊山. 5-羟色胺与睡眠的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(10):1471.

[责任编辑 李玉洁]