

刺人参改善睡眠的有效部位筛选

辛静, 许雷, 李廷利*

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**筛选刺人参改善睡眠作用的有效部位。**方法:**选用 ICR 小鼠随机分为空白对照组、地西洋组及 7 个给药组:刺人参水提液组、刺人参醇提液组、上清液组、沉淀物组、10% 乙醇洗脱组、30% 乙醇洗脱组、60% 乙醇洗脱组。空白对照组和地西洋组给予生理盐水, 给药组给予相应药液, 各给药组剂量(生药)均为 $64 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每天 ig 1 次, ig 体积为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续 7 d, 采用戊巴比妥钠协同小鼠睡眠实验方法, 记录各组小鼠的睡眠潜伏期和睡眠时间。**结果:**①刺人参水提液协同戊巴比妥钠所致小鼠睡眠潜伏期为 $(2.82 \pm 0.47) \text{ min}$, 睡眠时间为 $(44.5 \pm 4.23) \text{ min}$; 醇提液协同戊巴比妥钠所致小鼠睡眠潜伏期为 $(2.87 \pm 0.51) \text{ min}$, 睡眠时间为 $(45.24 \pm 4.74) \text{ min}$, 且与空白对照组睡眠潜伏期 $(4.63 \pm 0.62) \text{ min}$, 睡眠时间 $(21.47 \pm 3.79) \text{ min}$ 相比均有显著性差异 ($P < 0.05$)。②刺人参水提液经过醇沉后, 其上清液与空白组比较明显缩短了睡眠潜伏期 $(2.85 \pm 0.43) \text{ min}$ 和延长睡眠时间 $(46.25 \pm 5.4) \text{ min}$, 差异具有显著性意义 ($P < 0.05$)。沉淀物与空白组比较没有明显的差异。③60% 乙醇洗脱部位对戊巴比妥钠诱导的小鼠明显的缩短睡眠潜伏期 $(3.14 \pm 0.46) \text{ min}$ 和延长睡眠时间 $(45.37 \pm 5.22) \text{ min}$, 与空白对照组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。**结论:**刺人参改善睡眠作用的有效部位是刺人参水提液经醇沉后的上清液 60% 乙醇洗脱部位。

[关键词] 刺人参; 改善睡眠; 有效部位

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0233-03

东北刺人参为五加科植物东北刺人参干燥根、根茎和茎, 是我国长白山区特有珍贵药材。据报道, 东北刺人参有类似于人参的功效, 可治疗神经衰弱、低血压、阳痿、精神分裂症、心血管病、糖尿病和风湿病等^[1-2], 是一种很有开发前途的药用植物。但近些年, 其野生资源日益减少, 已处于濒危状态, 被列为国家二级保护植物^[3]。多年来, 国内外学者对此人参做了大量研究工作, 为更好的开发利用刺人参奠定了基础。

1 材料

1.1 动物 健康 ICR 小鼠, 雄性, 体重 18 ~ 22 g (黑龙江中医药大学实验动物中心提供, 许可证号黑动字第 P00101006)。

1.2 仪器与试剂 3102 型电子天平(辽宁龙腾电子有限公司), FA1004 型分析天平(盐城市迪宝电子有限公司), N-1100D 型旋转蒸发仪(北京卓信伟业科技有限公司), D101 大孔树脂(上海丽晨

生物科技有限公司), 95% 乙醇, 戊巴比妥钠(Merck 公司, 批号 2013010), 地西洋片(江苏济川制药有限公司, 批号 090720)。

1.3 样品的制备

1.3.1 刺人参水提液的制备 刺人参(刺人参根茎 *Oplopanax elatus* Nakai, 由黑龙江中医药大学鉴定教研室鉴定)粉碎, 用 10 倍量的蒸馏水浸泡 2 h, 加热回流提取 3 次, 第 1 次提取 2 h, 第 2, 3 次各加 8 倍量的蒸馏水提取 1.5 h, 合并提取液, 滤过, 滤液浓缩至折合生药 $3.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.3.2 刺人参醇提液的制备 刺人参粉碎, 用 10 倍量的 70% 乙醇浸泡 2 h, 加热回流提取 3 次, 第 1 次提取 2 h, 第 2, 3 次各加 8 倍量的 70% 乙醇提取 1.5 h, 合并提取液, 滤过, 回收乙醇, 用蒸馏水浓缩至折合生药 $3.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.3.3 刺人参水提醇沉后上清液与沉淀物的制备 将水提物加 95% 乙醇, 使含醇量达 80%, 沉淀 48 h, 过滤分得上清液与沉淀物 2 部分, 沉淀物用蒸馏水溶解后与上清液分别浓缩至折合生药 $3.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.3.4 刺人参水提液的分离纯化 取 D-101 型大孔树脂 1 kg, 用 95% 乙醇浸泡 24 h, 使之充分溶胀后赶尽气泡, 湿法装柱, 用 95% 乙醇洗脱, 除去有机和无机杂质, 至洗脱液与蒸馏水(1:5)混合不显浑

[收稿日期] 20111108(001)

[基金项目] 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(2008RFXXS041)

[第一作者] 辛静, 硕士, 从事中药药理研究, Tel: 13946074464, E-mail: xulei010207@126.com

[通讯作者] *李廷利, 博士生导师, 从事中药药理研究, Tel: 0451-82193430, E-mail: litingli8888@sohu.com

浊为止,然后用蒸馏水洗至无醇味,再将大孔树脂用 5% 盐酸浸泡 3 h,用蒸馏水洗涤至中性,再用 3% 氢氧化钠浸泡 3 h,用蒸馏水洗至中性^[4-5],将刺人參水提醇沉后所得上清液稀释至 1 g·mL⁻¹,上大孔树脂柱,静态吸附 3 h 后用蒸馏水冲至无糖(用 molish 试剂检测法),再分别用 10%、30%、60% 的乙醇洗脱,每个梯度用大约冲 7 倍柱体积,收集洗脱液,回收乙醇,用蒸馏水溶解药物,稀释至折合生药量 3.2 g·mL⁻¹,备用。

2 方法

2.1 刺人參水提液、醇提液与戊巴比妥钠协同小鼠睡眠实验 取 56 只小鼠放置于实验室 1 周,使之适应环境。将小鼠随机分为 4 组,分别为空白对照组、刺人參水提液组(64 g·kg⁻¹)、醇提液组(64 g·kg⁻¹)、地西洋组。空白对照组和地西洋组给予生理盐水,给药组给予相应药液,每天 ig 1 次,ig 体积为 20 mL·kg⁻¹,连续 7 d,水食不限。末次 ig 30 min 后,各组 ip 戊巴比妥钠 45 mg·kg⁻¹,注射体积为 10 mL·kg⁻¹(其中地西洋组于末次 ig 后 15 min ip 地西洋 2.5 mg·kg⁻¹,注射体积为 10 mL·kg⁻¹,30 min 后再注射戊巴比妥钠,剂量同上)。室内温度保持在 20 ℃,湿度 40%。用翻正反射测定仪测定,翻正反射消失达 1 min 以上者即为入睡,观察并记录睡眠潜伏期(注射戊巴比妥钠至翻正反射消失的时间)及睡眠时间(翻正反射消失至恢复的时间)。

2.2 刺人參上清液、沉淀物与戊巴比妥钠协同小鼠睡眠实验 取 56 只小鼠放置于实验室 1 周,使之适应环境。将小鼠随机分为 4 组,分别为空白对照组、上清液组(64 g·kg⁻¹)、沉淀物组(64 g·kg⁻¹)、地西洋组。余处理同 2.1。

2.3 刺人參水提液不同浓度乙醇洗脱液与戊巴比妥钠协同小鼠睡眠实验 取 70 只小鼠放置于实验室 1 周,使之适应环境。将小鼠随机分为 5 组,分别为空白对照组、10% 乙醇洗脱组(64 g·kg⁻¹)、30% 乙醇洗脱组(64 g·kg⁻¹)、60% 乙醇洗脱组(64 g·kg⁻¹)及地西洋组。余处理同 2.1。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件处理实验数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用组间 *t* 检验进行统计比较,*P* < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 刺人參水提液、醇提液对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响 与空白对照组比较,刺人參水提液和醇提液都能明显缩短睡眠潜伏期并延长睡眠时间,差异具有显著性意义(*P* < 0.05)。水提液和醇提液

比较,对改善睡眠无太大差别。见表 1。

表 1 刺人參水提液、醇提液对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	潜伏期 /min	睡眠时间 /min
空白对照	-	4.63 ± 0.62	21.47 ± 3.79
刺人參水提液	64	2.82 ± 0.47 ¹⁾	44.5 ± 4.23 ¹⁾
刺人參醇提液	64	2.87 ± 0.51 ¹⁾	45.24 ± 4.74 ¹⁾
地西洋	2.5 × 10 ⁻³	2.34 ± 0.38 ¹⁾	54.63 ± 5.52 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾*P* < 0.05 (表 2~3 同)。

3.2 刺人參上清液、沉淀物对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响 刺人參水提液经过醇沉后,其上清液与空白对照组比较明显缩短了睡眠潜伏期和延长睡眠时间,差异具有显著性意义(*P* < 0.05)。沉淀物与空白对照组比较没有明显的差异。见表 2。

表 2 刺人參水提醇沉后上清液、沉淀物对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	潜伏期 /min	睡眠时间 /min
空白对照	-	4.67 ± 0.52	23.17 ± 4.63
刺人參上清液	64	2.85 ± 0.43 ¹⁾	46.25 ± 5.4 ¹⁾
刺人參沉淀物	64	4.48 ± 0.67	24.52 ± 4.57
地西洋	2.5 × 10 ⁻³	2.29 ± 0.38 ¹⁾	56.28 ± 6.34 ¹⁾

3.3 刺人參水提液不同浓度乙醇洗脱液对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响 与空白对照组比较,60% 乙醇洗脱部分与空白对照组和其他各洗脱组比较明显缩短了睡眠潜伏期和延长睡眠时间,差异具有显著性意义(*P* < 0.05),其他各洗脱组与空白对照组比较没有明显的差异。见表 3。

表 3 刺人參水提液不同浓度乙醇洗脱液对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠的影响($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	潜伏期 /min	睡眠时间 /min
空白对照	-	5.38 ± 0.51	22.47 ± 4.54
10% 乙醇洗脱	64	5.20 ± 0.62	19.58 ± 4.27
30% 乙醇洗脱	64	4.96 ± 0.71	23.49 ± 5.04
60% 乙醇洗脱	64	3.14 ± 0.46 ¹⁾	45.37 ± 5.22 ¹⁾
地西洋	2.5 × 10 ⁻³	2.69 ± 0.48 ¹⁾	60.47 ± 7.12 ¹⁾

4 结论

刺人參改善睡眠作用的有效部位是刺人參水提液经醇沉后的上清液 60% 乙醇洗脱部位。

5 讨论

刺人参为五加科植物,具有降血压、兴奋呼吸、抗炎、抗菌、解热镇痛、抗衰老等作用^[6],与人参相似^[7]。临床主要用于治疗神经衰弱,神经衰弱性抑郁症,神经衰弱性多疑症,精神分裂症,长期病后体力衰弱,体虚咳嗽,脑力疲劳,体力减退,阳痿,轻度的糖尿病,低血压病等。民间常用来治疗关节痛。

有关刺人参挥发油对中枢神经系统影响的报道较多,刺人参挥发油对小鼠中枢神经系统有明显抑制作用,与戊巴比妥钠有协同作用,能增强其催眠能力^[8]。而其水煎液的报道较少,本实验通过戊巴比妥钠协同小鼠睡眠实验,此实验方法可靠^[9-10],确定了刺人参水提液和醇提液都具有改善睡眠的作用,但从经济上考虑,选择水提液继续研究。通过醇沉,比较上清液与沉淀物,结果上清液具有改善睡眠的作用,据此推算刺人参水提液改善睡眠作用的物质可能是水溶性物质。进一步采用大孔树脂富集法,利用药理指标为标准对改善睡眠的有效部位进行纯化。

研究发现,刺人参改善睡眠的有效部位里主要含有刺人参皂苷,刺人参皂苷非常复杂,包括胡萝卜苷、丁香苷、齐墩果酸、刺五加苷 A, B, B₁, C, D, E, F, G 等^[11],与同属药用植物刺五加所含的皂苷相似,本实验室曾做过刺五加水煎液改善睡眠的研究,并确定刺五加水煎液具有改善睡眠的作用^[12],对此初步推算,刺人参与刺五加改善睡眠的物质基础比较接近,都是水提部分;进一步推测机制也可能相

同,有待进一步验证。

[参考文献]

- [1] 宋宇,孙立伟,胡艳玲. 刺人参中皂苷提取方法的研究[J]. 中国中医药现代远程教育,2009,7(12):264.
- [2] 胡颜武. 东北刺人参茎叶提取物对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):156.
- [3] 甄莲花,金丹. 东北刺人参化学成分研究进展[J]. 延边大学医学学报,2002,25(4):331.
- [4] 李春美,钟朝辉,窦宏亮,等. 大孔树脂分离纯化柚皮黄酮的研究[J]. 农业工程学报,2006,22(3):153.
- [5] 李文,李丽,是元艳,等. 防风有效部位的药理作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(6):29.
- [6] 张鹏,张羽,沈海龙,等. 东北刺人参的研究进展[J]. 东北林业大学学报,2004,32(1):78.
- [7] 张继有,严仲恺,李海日,等. 长白山植物药志[M]. 长春:吉林人民出版社,1982:785.
- [8] 曲淑岩,毋英杰,王一华,等. 刺人参油对中枢神经系统的抑制作用[J]. 中草药,1984,15(6):19.
- [9] 汪五三,栾家杰. 芝麻素对乙醇代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):173.
- [10] 许惠琴,沈存思,吴诚,等. 养元饮的解酒作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):213.
- [11] 许颂,梁华清. 刺人参的化学成分研究(II)[J]. 中草药,1998,29(9):586.
- [12] 韩春霞,李廷利,郭冷秋,等. 刺五加水煎液改善睡眠作用研究[J]. 中华中医药学刊,2007,25(10):2084.

[责任编辑 聂淑琴]

欢迎订阅 2012 年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。本刊立足于行业报道的前沿,关注相关的政策动态,跟踪报道中医药重大课题,及时分析报道中医药的新政策、新技术、新发明、新成果、新疗法,努力使信息的选择与表达方式能够充分体现中医药发展水平,为广大读者提供一流的信息服务。

《中国中医药信息杂志》1994 年创刊,2002 年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已被波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等国际检索系统收录。

《中国中医药信息杂志》为月刊,大 16 开国际开本,112 页,国内外公开发行,每册定价 10 元,全年 120 元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街 16 号《中国中医药信息杂志》编辑部 邮编:100700 电话:010-64014411-3278 E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn