

酸枣仁镇静催眠活性部位的筛选^Δ

崔思娇^{1*}, 贾英^{1#}, 罗洁¹, 石绍淮¹, 范旭航¹, 毕开顺²(1.沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016; 2.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R285.5; R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2128-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.06

摘要 目的: 筛选酸枣仁镇静催眠作用的活性部位。方法: 采用注射阈下剂量和阈上剂量戊巴比妥钠, 比较高、低剂量酸枣仁总提取物和不同极性部位(10.5 g/kg)对模型小鼠入睡率、入睡潜伏期与持续睡眠时间的影响。结果: 高剂量酸枣仁乙酸乙酯提取物、高、低剂量酸枣仁正丁醇提取物与高、低剂量酸枣仁总提取物可使模型小鼠入睡率显著增加, 睡眠潜伏期显著延长($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 高、低剂量酸枣仁乙酸乙酯提取物, 高、低剂量酸枣仁正丁醇提取物与高、低剂量酸枣仁总提取物可使模型小鼠睡眠时间显著延长($P < 0.01$)。结论: 酸枣仁乙酸乙酯部位和正丁醇部位是酸枣仁镇静催眠活性部位。

关键词 酸枣仁; 镇静; 催眠; 活性部位

Screening of Sedative-hypnotic Active Fraction of *Ziziphus jujuba*

CUI Si-jiao¹, JIA Ying¹, LUO Jie¹, SHI Shao-huai¹, FAN Xu-hang¹, BI Kai-shun²(1. Institute of TCM, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen the sedation-hypnotic active fraction of *Ziziphus Jujuba*. METHODS: By injecting sub-threshold dose and suprathreshold dose of pentobarbital sodium, comparing effective of *Z. Jujuba* extract and different polar parts on the sleep rates, the sleep latency and duration of sleep in model mice. RESULTS: The high dose of semen *Z. jujuba* ethyl acetate extract, high, low dose of semen *Z. jujuba* n-butanol extract and high, low dose of semen *Z. jujuba* total extract can make sleep model mice was significantly increased, sleep latency was significantly prolonged ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); high, low dose of semen *Z. jujuba* acetic acid ethyl ester extract, high, low dose of *Z. jujuba* n-butanol extract and high, low dose total extract of semen *Z. jujuba* can make the time to sleep in mice model was significantly prolonged ($P < 0.01$). CONCLUSIONS: *Z. jujuba* acetic acid ethyl ester and n-butanol is *Z. jujuba* sedative and hypnotic active site.

KEY WORDS *Ziziphus jujuba*; Sedation; Hypnosis; Active fraction

酸枣仁是鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H.F. Chou 的干燥成熟种子, 分布于我国东北、西北、华北及南方部分地区。酸枣仁性平、味酸, 具有补肝宁心、镇静安神、敛汗、生津的功效, 用于治疗虚烦不眠、惊悸多梦、体虚多汗及津伤口渴等证。临床用药及药理研究均证明酸枣仁具有显著的镇静催眠作用, 为养心安神的首选中药^[1-2]。为系统寻找与其功效相关的有效部位和有效成分, 笔者采用戊巴比妥钠协同作用实验进行筛选, 对酸枣仁不同极性部位进行药理学比较, 为进一步确定酸枣仁的活性成分提供依据。

1 材料

1.1 仪器

RE-52 A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); HH-4 型数显电热恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

1.2 药材

^Δ 基金项目: 辽宁省科学技术计划立项资助课题(No. 2011412004); 辽宁省教育厅高等学校科研资助项目(No. 2009T097)

* 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制。E-mail: sijiao2228@sina.com

通信作者: 副教授, 硕士研究生导师。研究方向: 中药药效物质基础与质量控制。E-mail: jiayingyphu@yahoo.com.cn

酸枣仁购自沈阳市同仁堂药房, 经沈阳药科大学中药学院贾英副教授鉴定为真品。

1.3 药品与试剂

地西洋片(上海信谊药厂有限公司, 批号: 110601); 戊巴比妥钠(山东禹王实业有限公司, 批号: 69020100); 其余试剂均为分析纯。

1.4 动物

ICR 小鼠共 168 只, ♂, 体质量 18~22 g, 由沈阳药科大学实验动物中心提供[动物使用许可证号: SCXK(京)2009-0004]。

2 方法^[3-4]

2.1 酸枣仁提取物的制备

取 1 kg 酸枣仁粗粉, 分别用 10 倍量的 95% 乙醇和 60% 乙醇各回流提取 1 次, 每次 2 h, 合并滤液得酸枣仁总提取物; 回收乙醇至无醇味, 取适量浓缩后的酸枣仁总提取物用蒸馏水稀释至相当于含药材 0.25、0.5 g/ml, 4 °C 贮藏, 备用。将酸枣仁总提取物依次用 2 倍量的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 3 次(其余部分即为酸枣仁水提取物), 浓缩各极性部位后置于水浴上挥干有机溶剂, 用蒸馏水稀释各极性部位至相当于含药材 0.25、0.5 g/ml, 4 °C 贮藏, 备用。

2.2 分组与给药

实验分为 14 组, 即空白对照(等容蒸馏水)组, 地西洋

(0.002 g/kg)组,酸枣仁石油醚提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组,酸枣仁氯仿提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组,酸枣仁乙酸乙酯提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组,酸枣仁正丁醇提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组,酸枣仁水提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组与酸枣仁总提取物高、低剂量(10、5 g/kg)组。ig 给药,每天1次,连续4 d。

2.3 指标的测定

2.3.1 戊巴比妥钠阈下催眠剂量实验 末次给药1 h后,小鼠ip 戊巴比妥钠(25 mg/kg,最大阈下剂量),观察30 min内入睡(翻正反射消失1 min以上者)小鼠数。

2.3.2 戊巴比妥钠睡眠潜伏期与睡眠时间实验 末次给药1 h后,小鼠ip 戊巴比妥钠(50 mg/kg,阈上剂量),以翻正反射消失为指标,观察睡眠潜伏期和睡眠时间。

2.4 统计学方法

采用单因素方差分析方法,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用*t*检验比较组间差别的显著性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈下剂量)入睡率的影响

与空白对照组比较,酸枣仁乙酸乙酯提取物高剂量组和酸枣仁正丁醇提取物高、低剂量组与酸枣仁总提取物高、低剂量组小鼠入睡率显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),并且呈现出明显的量效关系。酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈下剂量)入睡率的影响见表1。

表1 酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈下剂量)入睡率的影响($n = 12$)

Tab 1 Effects of *Z. jujuba* extract on sub-threshold dose of pentobarbital sodium ($n = 12$)

组别	剂量, g/kg	睡眠只数	入睡率, %
空白对照组	0	1	8.33
地西洋组	0.002	8	66.67**
酸枣仁石油醚提取物低剂量组	5	1	8.33
酸枣仁石油醚提取物高剂量组	10	3	25.0
酸枣仁氯仿提取物低剂量组	5	1	8.33
酸枣仁氯仿提取物高剂量组	10	1	8.33
酸枣仁乙酸乙酯提取物低剂量组	5	5	41.67
酸枣仁乙酸乙酯提取物高剂量组	10	6	50.0*
酸枣仁正丁醇提取物低剂量组	5	6	50.0*
酸枣仁正丁醇提取物高剂量组	10	8	66.67**
酸枣仁水提取物低剂量组	5	2	16.67
酸枣仁水提取物高剂量组	10	1	8.33
酸枣仁总提取物低剂量组	5	6	50.0*
酸枣仁总提取物高剂量组	10	8	66.67**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈上剂量)睡眠潜伏期和睡眠时间的影

与空白对照组比较,酸枣仁乙酸乙酯提取物高剂量组和酸枣仁正丁醇提取物高、低剂量组与酸枣仁总提取物高、低剂量组小鼠睡眠潜伏期显著延长($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),并且呈现出明显的量效关系。酸枣仁乙酸乙酯提取物高、低剂量组和酸枣仁正丁醇提取物高、低剂量组与酸枣仁总提取物高、低剂

组小鼠睡眠时间显著延长($P < 0.01$),并且呈现出明显的量效关系。酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈上剂量)睡眠潜伏期和睡眠时间的影响见表2。

表2 酸枣仁提取物对模型小鼠(ip 戊巴比妥钠阈上剂量)睡眠潜伏期和睡眠时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Tab 2 Effects of *Z. jujuba* extract on above threshold dose of sleeping duration and sleep latency ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量, g/kg	睡眠潜伏期, min	睡眠时间, min
空白对照组	0	5.5 ± 1.4	20.3 ± 8.2
地西洋组	0.002	3.8 ± 1.4*	44.0 ± 8.4**
酸枣仁石油醚提取物低剂量组	5	5.1 ± 1.7	18.4 ± 5.7
酸枣仁石油醚提取物高剂量组	10	4.9 ± 1.3	23.1 ± 9.5
酸枣仁氯仿提取物低剂量组	5	5.0 ± 1.3	19.7 ± 9.1
酸枣仁氯仿提取物高剂量组	10	5.0 ± 1.6	23.9 ± 7.3
酸枣仁乙酸乙酯提取物低剂量组	5	4.5 ± 1.7	33.1 ± 8.1**
酸枣仁乙酸乙酯提取物高剂量组	10	4.1 ± 1.4*	47.3 ± 12.9**
酸枣仁正丁醇提取物低剂量组	5	4.0 ± 1.4*	39.4 ± 9.3**
酸枣仁正丁醇提取物高剂量组	10	3.8 ± 1.4*	49.2 ± 13.3**
酸枣仁水提取物低剂量组	5	4.9 ± 2.5	22.6 ± 10.0
酸枣仁水提取物高剂量组	10	5.0 ± 1.8	23.3 ± 8.5
酸枣仁总提取物低剂量组	5	3.9 ± 1.4*	39.3 ± 11.4**
酸枣仁总提取物高剂量组	10	3.7 ± 1.3**	51.0 ± 13.3**

与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

随着现代社会日益加快的生活节奏,失眠症成为影响人们生活质量的疾病之一。而治疗失眠症常用的苯二氮草类药物久用后会产生较多不良反应,其依赖性和成瘾性已经引起临床广泛关注。酸枣仁属于卫生部颁布的第一批药食同源两用品,因其作用温和、毒副作用小、无耐受性等优势而引起医药学界的广泛关注;同时,酸枣仁也是中医养心安神的首选中药。因此,研究酸枣仁的镇静催眠活性有着极其重要的价值。但目前对酸枣仁作用物质基础研究尚不完善,笔者在前期研究基础上对酸枣仁的活性部位进行追踪研究,确定了镇静催眠的活性部位为乙酸乙酯与正丁醇部位。该活性部位的确定有利于今后工业生产中对有效成分进行富集^[5],排除无效成分的干扰,从而减少患者的用药量,进而大大地提高患者的依从性,为临床合理用药提供依据,也为今后进一步研究酸枣仁镇静催眠的物质基础提供理论依据。

参考文献

- [1] 王建忠, 陈小兵, 叶利明. 酸枣仁化学成分研究[J]. 中草药, 2009, 40(10): 1 534.
- [2] 霍艳双, 陈晓辉, 李康, 等. 北五味子的镇静、催眠作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(2): 126.
- [3] 田春雨, 薄海美, 姜大成, 等. 不同产地酸枣仁药材的质量评价[J]. 安徽中医学院学报, 2009, 28(1): 56.
- [4] 吴玉兰, 许惠琴, 陈洗. 酸枣仁不同炮制品及炒酸枣仁中总黄酮与总皂苷的镇静催眠作用比较[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9): 868.
- [5] 李果, 王静, 李祖伦. 大孔吸附树脂纯化酸枣仁总皂苷工艺研究[J]. 中国药房, 2006, 17(15): 1 191.

(收稿日期: 2012-07-19 修回日期: 2012-12-09)