

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.11.015

# 交泰丸对心肾不交失眠模型大鼠睡眠时相和睡眠质量的影响

曾雪爱<sup>1</sup>, 周春权<sup>1</sup>, 郭昕子<sup>2</sup>, 张敏<sup>1</sup>, 张一帆<sup>1</sup>, 黄俊山<sup>1</sup>✉

1. 福建省中医药科学院, 福建省福州市五四路282号, 350003; 2. 福建中医药大学

**[摘要]** **目的** 观察交泰丸对心肾不交失眠模型大鼠睡眠质量的影响。**方法** 21只SD大鼠随机分为空白组、模型组、交泰丸组, 每组7只。除空白组外, 其余各组大鼠采用复合刺激+腹腔注射对氯苯丙氨酸(PCPA)建立心肾不交失眠大鼠模型, 造模后交泰丸组给予交泰丸1.1 g/(kg·d)灌胃, 空白组和模型组给予蒸馏水10 ml/(kg·d)灌胃, 各组均灌胃7天。通过动物睡眠生物解析系统记录脑电(EEG)和肌电(EMG)信号24 h, 分析大鼠夜晚(19:00~次日7:00)和白天(次日7:00~19:00)觉醒(Wake)量、非快速眼动(NREM)睡眠总量和快速眼动(REM)睡眠总量, 各睡眠时相的转换次数, 不同时程NREM睡眠、REM睡眠和Wake出现次数, 脑电频谱密度; 记录结束后测定大鼠肾上腺指数, ELISA法检测大鼠血清促肾上腺皮质激素(ACTH)、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)含量。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠肾上腺指数升高、血清ACTH含量升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 但CRH含量差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 夜晚和白天NREM睡眠总量均减少, REM睡眠总量减少, Wake总量增多( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 主要表现为10~20 s和30~50 s NREM睡眠次数显著增多, 120~230 s和240~470 s NREM睡眠次数显著减少( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), NREM睡眠转换为Wake的次数增加, NREM睡眠转换为REM睡眠的次数减少, REM睡眠转换为Wake的次数减少( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。与模型组比较, 交泰丸组肾上腺指数下降、血清ACTH含量下降( $P<0.05$ ), 但CRH差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 夜晚和白天NREM睡眠总量均显著增加, Wake总量均显著减少( $P<0.01$ ), 主要表现为10~20 s和30~50 s NREM睡眠次数显著减少, 120~230 s和240~470 s NREM睡眠次数显著增加( $P<0.01$ ), NREM睡眠与Wake之间的转换次数减少( $P<0.01$ )。与空白组比较, 交泰丸组大鼠NREM睡眠的Delta波密度和REM睡眠的Theta波密度差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 交泰丸主要通过增加较长时程(120~230 s、240~470 s) NREM睡眠, 减少NREM睡眠与Wake之间的转换次数, 提高睡眠时间和睡眠质量, 且诱导的睡眠类似于生理性睡眠。

**[关键词]** 失眠; 心肾不交; 交泰丸; 睡眠时相; 睡眠质量

睡眠是维持健康不可缺少的生理过程, 人的睡眠和觉醒反复交替出现。随着生活节奏的加快, 人们精神压力的增加, 睡眠与觉醒的平衡常常被破坏, 出现睡眠起始障碍或睡眠维持障碍。睡眠维持障碍包括早醒、睡眠质量差、醒后难以复睡等, 并导致日间功能损害<sup>[1]</sup>。交泰丸是中医治疗心肾不交失眠的经典名方, 学者们从神经递质、细胞因子及

信号通路等方面对其治疗失眠的作用机制进行了诸多研究<sup>[2-5]</sup>, 但仍缺乏评价改善睡眠质量的客观指标。本研究通过高度自动化的动物睡眠生物解析系统, 24 h连续记录大鼠脑电(EEG)和肌电(EMG), 从大鼠各睡眠时相的时间、不同长度睡眠时程、睡眠时相转换及脑电图频谱分析等多角度评价交泰丸对心肾不交失眠模型大鼠睡眠质量的影响, 分析其调节睡眠的特点, 为评价交泰丸改善睡眠的作用提供客观依据。本研究经福建省中医药科学院实验动物伦理委员会批准, 批准号FJATCM-IAEC2020022。

**基金项目:**国家自然科学基金(81774285);福建省科技厅公益类科研院所专项(2021R1003009);福建省中医药科研项目(2021zyjc07);福建省中医睡眠医学重点实验室

✉ 通讯作者:hjsh0825@163.com, (0591)83570705

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 21 只, 2 月龄, 体质量 (230±10) g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005, 合格证编号 20170005004461。动物置于室温 (25±1) °C、相对湿度 50%~60%、12 h/12 h 明暗光照的安静环境中饲养, 可自由饮水和进食。

### 1.2 药物、试剂及仪器

交泰丸组成: 黄连 10 g, 肉桂 1 g, 饮片由福州鹭燕药业股份有限公司生产, 药物经煎煮及过滤浓缩至含生药 0.11 g/ml。注射用青霉素钠 (山东鲁抗医药股份有限公司, 批号 181220); 对氯苯丙氨酸 (PCPA, Sigma 公司, 批号 SHBH7873); 促肾上腺皮质激素 (ACTH, 批号 Apr 2021)、促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH, 批号 Apr 2021) 酶联免疫检测试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司; 2.5% 戊巴比妥钠 (德国默克公司, 批号 20140820); 自凝牙托水 (上海齿科材料厂, 批号 01-09-15); 自凝牙托粉 (上海珊瑚化工厂, 批号 01-11-15)。SleepSign 动物睡眠生物解析系统 (日本 Kissei Comtec 有限公司); 68003 型脑立体定位仪 (深圳市瑞沃德生命科技有限公司); Elx800TS 型酶标仪 (美国 Bio Tek 公司); XY5000BF 型电子天平 (常州市幸运电子设备有限公司); BSA124S 型电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.3 头部电极埋植

分组前所有大鼠参照文献 [6] 报道的方法, 在麻醉状态下, 分别于前囟前 1.0 mm, 旁开 1.5 mm 和后囟前 1.0 mm, 旁开 1.5 mm 钻孔 (钻通颅骨, 但未穿破硬脑膜), 将两个与采集 EEG 电极相连的不锈钢螺丝固定于颅骨的钻孔中, 在后囟另一侧钻孔 (未钻通颅骨), 将一个与参比电极相连的不锈钢螺丝固定于颅骨的钻孔中, 并用牙托粉封固于颅骨上。另外将两根采集 EMG 的电极分别插入两侧颈部斜方肌中。所有的电极都连接到一个微型连接器上, 用牙托粉固定于动物头骨上, 缝合创口。术后腹腔注射青霉素钠 96 mg/kg 预防感染, 每天 1 次, 共 3 天, 手术 5 天后进行试验。

### 1.4 分组、造模及给药

21 只大鼠按照随机数字表法分成空白组、模型组、交泰丸组, 每组 7 只。空白组正常饲养, 模型组和交泰丸组大鼠参照文献 [7] 方法, 在传统

PCPA 致失眠模型的基础上, 采用多因素共同作用制备心肾不交失眠模型。随机给予以下刺激 2 周: 四肢束缚 2 h、4 °C 冰水游泳 5 min、禁食禁水 24 h、夹尾 1 min、明暗颠倒 24 h、鼠笼倾斜 45° 24 h、潮湿垫料 24 h。7 种不同刺激采用 Excel 2019 产生 7 个随机数, 每周随机生成。每天随机接受一种刺激且相邻两天的刺激不重复, 以确保不可预测性。刺激结束后, 模型组和交泰丸组大鼠每天按 10 ml/kg 腹腔注射 PCPA 混悬液 (300 mg/kg, 生理盐水配制, 用 1 mol/L NaOH 调节至弱碱性), 空白组注射等体积弱碱性生理盐水, 每天 1 次, 连续 2 天。若模型大鼠出现精神亢奋, 易激惹, 昼夜节律消失, 与正常大鼠比较, 体质量显著下降, 肾上腺指数和血清下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 激素 (包括 ACTH、CRH) 水平显著升高, 提示造模成功 [7-8]。

造模后交泰丸组给予交泰丸 1.1 g/(kg·d) 灌胃, 给药剂量按大鼠与成人给药剂量换算 [9]。空白组和模型组给予 10 ml/kg 蒸馏水灌胃, 每天 1 次, 共 7 天。

### 1.5 观察指标及方法

1.5.1 大鼠一般状态 给药期间观察大鼠活动程度、昼夜节律、皮肤毛发、精神状态, 末次给药后称量体质量。

1.5.2 大鼠 EEG 和 EMG 的记录和分析 末次灌胃给药后 2 h, 将大鼠置于记录笼中, 连接动物睡眠生物解析系统进行记录。记录时 EEG 和 EMG 信号通过大鼠头部电极, 途经多通道万向轮, 经初步放大后将信号接入到放大器。信号经滤波后进一步放大, 输入电脑, 经模数转换最终获得数字信号。记录从第 1 天 19:00 开始, 到次日 19:00 结束, 连续 24 h 记录自由活动大鼠的 EEG 和 EMG。记录结束后, 用 SleepSign 3.8 分析软件, 以 10 s 为分析单元, 根据统一设定的标准扫描记录的 EEG/EMG 信号, 自动判别出非快速眼动 (NREM) 睡眠期、快速眼动 (REM) 睡眠期和觉醒 (Wake) 期。NREM 睡眠以 0.5~4 Hz Delta 波为主, EMG 信号不明显; REM 睡眠以 4~8 Hz Theta 波为主, EMG 信号基本没有; Wake 以 8 Hz 以上 Alpha 和 Beta 波为主, 伴有明显的 EMG 信号。根据判定结果, 统计大鼠夜晚 (19:00~次日 7:00) 和白天 (次日 7:00~19:00) NREM、REM 睡眠和 Wake 总量, 各睡眠时相的转换次数; 根据系统判定结果, 将各睡眠时相持续时间分为不同时段 (10~20 s、30~50 s、60~110 s、120~230 s、240~470 s、480~950 s、960~1910 s、

1920 s 以上), 统计不同时程 NREM 睡眠、REM 睡眠和 Wake 出现次数; 同时测定对照组和交泰丸组大鼠 NREM 和 REM 睡眠的脑电频谱密度, 分析交泰丸诱导的睡眠与生理性睡眠的差异。

1.5.3 HPA 轴激素 记录结束后, 大鼠腹腔注射 2.5% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉, 腹主动脉取血, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 ACTH、CRH 含量。

1.5.4 肾上腺指数 取血后, 迅速剥离肾上腺, 称重。计算肾上腺指数, 肾上腺指数=肾上腺质量 (mg)/体质量 (g)。

## 1.6 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料均满足正态分布, 以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 符合正态分布和方差齐性的多组间的比较采用单因素方差分析并继之 LSD 检验, 方差不齐采用 Tamhane's  $T^p$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠一般状态比较

空白组大鼠毛发有光泽, 精神状态良好, 反应敏捷, 白天活动较少, 昼夜节律明显, 体质量增加。与空白组比较, 模型组大鼠毛发竖起且无光泽, 精神亢奋, 易激惹, 白天活动增多, 昼夜节律消失, 体质量显著下降 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 交泰丸组大鼠活动程度、精神状态等一般状态明显改善, 体质量显著增加 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 各组大鼠体质量、肾上腺指数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | 体质量/g                     | 肾上腺指数/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|------|----|---------------------------|----------------------------------------|
| 空白组  | 7  | 358.87±6.39               | 0.13±0.01                              |
| 模型组  | 7  | 308.04±4.70 <sup>a)</sup> | 0.17±0.01 <sup>b)</sup>                |
| 交泰丸组 | 7  | 324.33±4.47 <sup>c)</sup> | 0.14±0.01 <sup>c)</sup>                |

注: a) 与空白组比较,  $P < 0.01$ ; b) 与空白组比较,  $P < 0.05$ ; c) 与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组大鼠肾上腺指数比较

表 1 示, 与空白组比较, 模型组大鼠肾上腺指数显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 交泰丸组大鼠肾上腺指数下降 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 各组大鼠血清 ACTH、CRH 含量比较

表 2 示, 与空白组比较, 模型组大鼠血清 ACTH 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 交泰丸组大鼠血清 ACTH 含量显著下降 ( $P < 0.05$ )。各组间 CRH 含量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 2 各组大鼠血清 ACTH、CRH 含量比较 (ng/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | ACTH                    | CRH       |
|------|----|-------------------------|-----------|
| 空白组  | 7  | 6.94±0.20               | 8.21±0.28 |
| 模型组  | 7  | 8.10±0.35 <sup>a)</sup> | 8.06±0.33 |
| 交泰丸组 | 7  | 7.29±0.21 <sup>b)</sup> | 8.08±0.35 |

注: ACTH, 促肾上腺皮质激素; CRH, 促肾上腺皮质激素释放激素。

a) 与空白组比较,  $P < 0.01$ ; b) 与模型组比较,  $P < 0.05$ 。

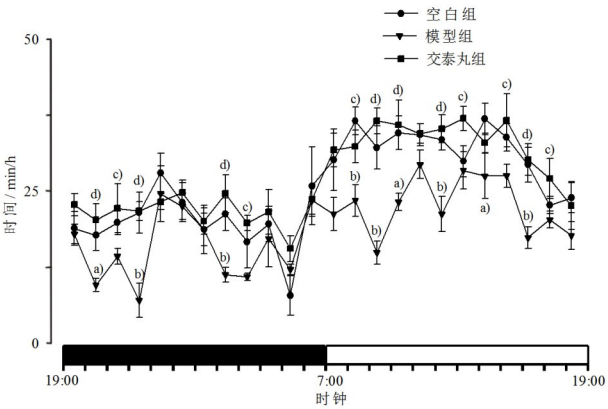
### 2.4 各组大鼠睡眠时间比较

对大鼠 24 h (19:00 ~ 次日 19:00) 中每小时 NREM、REM 睡眠量和 Wake 量变化情况进行分析, 图 1~3 示, 与空白组比较, 模型组大鼠 NREM 睡眠时间在 20:00-21:00、22:00-23:00、2:00-3:00、8:00-11:00、12:00-13:00、14:00-15:00、16:00-17:00 显著减少 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), REM 睡眠时间在 19:00-1:00、7:00-11:00、12:00-13:00 显著减少 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), Wake 时间在 20:00-23:00、7:00-13:00、14:00-17:00 显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。与模型组比较, 交泰丸组 NREM 睡眠时间在 20:00-23:00、2:00-4:00、8:00-11:00、12:00-14:00、15:00-18:00 显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), REM 睡眠时间在 2:00-4:00、5:00-6:00 显著增加 ( $P < 0.01$ ), Wake 时间在 20:00-21:00、22:00-23:00、2:00-4:00、7:00-11:00、12:00-18:00 均显著减少 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

对夜晚和白天各睡眠时相睡眠总量及觉醒总量进行分析, 表 3 示, 在夜晚, 与空白组比较, 模型组 NREM 和 REM 睡眠总量均显著减少, Wake 总量显著增加 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 交泰丸组 NREM 和 REM 睡眠总量显著增加, Wake 总量显著减少 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。在白天, 与空白组比较, 模型组 NREM 和 REM 睡眠总量较显著减少, 而 Wake 总量显著增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 交泰丸组 NREM 睡眠总量显著增加, Wake 总量显著减少 ( $P < 0.01$ )。

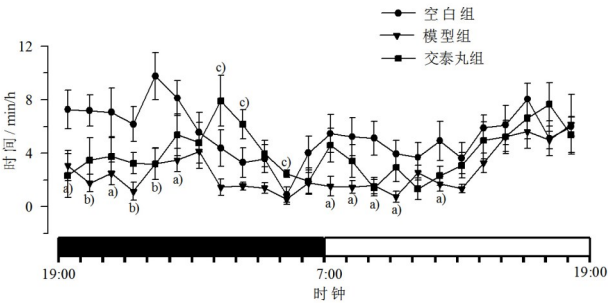
### 2.5 各组大鼠夜晚和白天各睡眠时相不同时程出现次数比较

表 4~6 示, 在夜晚, 与空白组比较, 模型组 10~20 s NREM 睡眠次数增多, 240~470 s NREM 睡眠次数减少 ( $P < 0.01$ ), 60~110 s 和 120~230 s REM 睡眠次数显著减少 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 10~20 s 觉醒次数显著减少, 60~110 s、120~230 s、



注：a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与空白组同时间比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组同时间比较， $P<0.05$ ；d) 与模型组同时间比较， $P<0.01$ 。

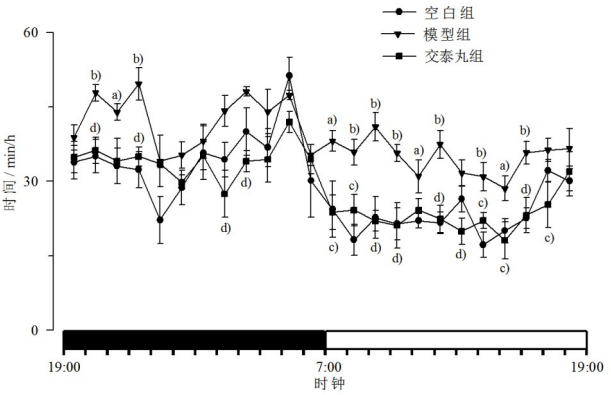
图1 各组大鼠每小时非快速眼动睡眠时间比较



注：a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与空白组同时间比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组同时间比较， $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠每小时快速眼动睡眠时间比较

240~470 s、480~950 s 觉醒次数显著增加 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；与模型组比较，交泰丸组 10~20 s NREM 睡眠次数显著减少，240~470 s NREM 睡眠次数显著增加，120~230 s REM 睡眠次数显著增加 ( $P<0.01$ )，各持续时程觉醒次数差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。在白天，与空白组比较，模型组 10~20 s 和 30~50 s NREM 睡眠次数显著增加，120~230 s 和 240~470 s NREM 睡眠次数显著减少 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )，10~20 s、30~50 s、60~110 s REM 睡眠次数显著减少 ( $P<0.05$ )，60~110 s、120~230 s 和 480~950 s 觉醒次数显著增加



注：a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与空白组同时间比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组同时间比较， $P<0.05$ ；d) 与模型组同时间比较， $P<0.01$ 。

图3 各组大鼠每小时觉醒时间比较

( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；与模型组比较，交泰丸组 10~20 s、30~50 s、60~110 s NREM 睡眠次数显著减少，120~230 s、240~470 s NREM 睡眠次数显著增加 ( $P<0.01$ )，不同时程 REM 睡眠次数差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，10~20 s、60~110 s、120~230 s 觉醒次数显著减少 ( $P<0.05$ )。

2.6 各组大鼠夜晚和白天睡眠时相转换次数比较

表7示，与空白组比较，夜晚模型组 NREM→Wake 转换次数增加 ( $P<0.05$ )，NREM→REM、REM→Wake 转换次数均减少 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )，白天模型组 NREM→Wake 转换次数增加 ( $P<0.01$ )，NREM→REM、REM→Wake 转换次数均减少 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；与模型组比较，交泰丸组白天 Wake→NREM、NREM→Wake 转换次数显著减少 ( $P<0.01$ )，全天 NREM→REM、REM→Wake 转换次数差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

2.7 交泰丸组与空白组大鼠睡眠脑电频谱密度比较

图4示，交泰丸组大鼠 NREM 睡眠的 Delta 波密度和 REM 睡眠的 Theta 波密度与空白组差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，提示交泰丸诱导 NREM 和 REM 睡眠类似于生理性睡眠。

表3 各组大鼠夜晚和白天各睡眠时相睡眠总量及觉醒总量比较 (min/12 h,  $\bar{x}\pm s$ )

| 组别   | 鼠数 | NREM                       |                            | REM                      |                          | Wake                       |                            |
|------|----|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
|      |    | 夜晚                         | 白天                         | 夜晚                       | 白天                       | 夜晚                         | 白天                         |
| 空白组  | 7  | 239.19±5.84                | 378.06±10.16               | 67.31±5.33               | 63.15±8.10               | 413.43±4.33                | 278.85±9.28                |
| 模型组  | 7  | 189.99±15.35 <sup>a)</sup> | 272.67±15.35 <sup>b)</sup> | 26.03±5.18 <sup>b)</sup> | 36.14±2.75 <sup>b)</sup> | 506.45±18.40 <sup>b)</sup> | 418.86±12.73 <sup>b)</sup> |
| 交泰丸组 | 7  | 260.54±16.02 <sup>c)</sup> | 393.07±8.81 <sup>c)</sup>  | 48.58±8.01 <sup>d)</sup> | 45.34±4.28               | 410.82±16.63 <sup>c)</sup> | 278.22±12.44 <sup>c)</sup> |

注：NREM，非快速眼动；REM，快速眼动；Wake，觉醒。  
a) 与空白组同时间比较， $P<0.05$ ；b) 与空白组同时间比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组同时间比较， $P<0.01$ ；d) 与模型组同时间比较， $P<0.05$ 。

表 4 各组大鼠夜晚和白天不同时程非快速眼动睡眠出现次数比较 (次,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 时间 | 鼠数 | 10 ~ 20 s                | 30 ~ 50 s                | 60 ~ 110 s               | 120 ~ 230s               | 240 ~ 470 s              |
|------|----|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白组  | 夜晚 | 7  | 14.14±2.44               | 31.43±3.81               | 43.433±4.05              | 34.43±2.13               | 11.29±1.66               |
|      | 白天 | 7  | 16.71±2.46               | 49.86±7.41               | 69.29±5.48               | 48.29±3.25               | 17.71±2.06               |
| 模型组  | 夜晚 | 7  | 34.67±3.71 <sup>a)</sup> | 46.00±4.80               | 47.00±4.09               | 26.67±4.87               | 1.33±0.61 <sup>a)</sup>  |
|      | 白天 | 7  | 50.17±2.23 <sup>a)</sup> | 76.17±3.26 <sup>b)</sup> | 80.00±4.13               | 30.83±3.18 <sup>a)</sup> | 3.00±1.00 <sup>a)</sup>  |
| 交泰丸组 | 夜晚 | 7  | 15.17±2.46 <sup>c)</sup> | 33.50±7.351              | 53.33±5.74               | 35.83±4.06               | 11.17±2.06 <sup>c)</sup> |
|      | 白天 | 7  | 22.00±1.77 <sup>c)</sup> | 30.67±2.95 <sup>c)</sup> | 41.67±2.14 <sup>c)</sup> | 48.17±4.85 <sup>c)</sup> | 23.67±2.09 <sup>c)</sup> |

注: a) 与空白组同时间比较,  $P < 0.01$ ; b) 与空白组同时间比较,  $P < 0.05$ ; c) 与模型组同时间比较,  $P < 0.01$ 。

表 5 各组大鼠夜晚和白天不同时程快速眼动睡眠出现次数比较 (次,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 时间 | 鼠数 | 10 ~ 20 s               | 30 ~ 50 s               | 60 ~ 110 s              | 120 ~ 230 s             |
|------|----|----|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 空白组  | 夜晚 | 7  | 6.86±1.12               | 9.29±2.31               | 21.71±2.64              | 11.43±1.25              |
|      | 白天 | 7  | 11.14±2.33              | 13.43±2.10              | 17.00±3.04              | 8.86±1.64               |
| 模型组  | 夜晚 | 7  | 6.50±1.87               | 4.83±1.14               | 8.83±3.10 <sup>a)</sup> | 3.67±1.50 <sup>b)</sup> |
|      | 白天 | 7  | 5.00±0.93 <sup>a)</sup> | 6.17±0.83 <sup>a)</sup> | 8.50±1.46 <sup>a)</sup> | 6.83±1.30               |
| 交泰丸组 | 夜晚 | 7  | 2.67±0.42               | 6.33±2.04               | 13.00±3.70              | 9.67±1.09 <sup>c)</sup> |
|      | 白天 | 7  | 5.50±1.31               | 7.00±1.29               | 9.83±0.60               | 9.83±0.79               |

注: a) 与空白组同时间比较,  $P < 0.05$ ; b) 与空白组同时间比较,  $P < 0.01$ ; c) 与模型组同时间比较,  $P < 0.01$ 。

表 6 各组大鼠夜晚和白天不同时程觉醒期出现次数比较 (次,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 时间 | 鼠数 | 10 ~ 20 s                | 30 ~ 50 s                | 60 ~ 110 s               | 120 ~ 230 s              |
|------|----|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白组  | 夜晚 | 7  | 66.71±7.06               | 32.71±2.94               | 12.00±2.35               | 5.14±0.99                |
|      | 白天 | 7  | 89.57±8.05               | 57.86±7.23               | 29.71±3.13               | 13.43±1.85               |
| 模型组  | 夜晚 | 7  | 44.33±8.34 <sup>a)</sup> | 34.50±5.25               | 26.33±2.72 <sup>b)</sup> | 18.67±2.03 <sup>b)</sup> |
|      | 白天 | 7  | 95.50±10.26              | 55.83±3.34               | 37.50±1.80 <sup>a)</sup> | 28.33±2.28 <sup>b)</sup> |
| 交泰丸组 | 夜晚 | 7  | 49.50±6.78               | 30.67±2.09               | 25.33±3.43               | 17.83±3.32               |
|      | 白天 | 7  | 68.33±7.50 <sup>c)</sup> | 45.83±4.77               | 27.17±1.49 <sup>c)</sup> | 16.83±3.81 <sup>c)</sup> |
| 组别   | 时间 | 鼠数 | 240 ~ 470 s              | 480 ~ 950 s              | 960 ~ 1910 s             | 1920 s 以上                |
| 空白组  | 夜晚 | 7  | 3.29±0.42                | 4.14±0.74                | 5.57±0.97                | 3.29±0.57                |
|      | 白天 | 7  | 7.14±1.14                | 2.43±0.57                | 2.57±0.61                | 0.57±0.30                |
| 模型组  | 夜晚 | 7  | 13.17±3.47 <sup>b)</sup> | 11.83±3.86 <sup>a)</sup> | 5.00±0.89                | 1.50±0.81                |
|      | 白天 | 7  | 12.33±1.73               | 7.33±1.69 <sup>b)</sup>  | 3.33±0.61                | 0.17±0.17                |
| 交泰丸组 | 夜晚 | 7  | 10.67±2.35               | 7.33±2.09                | 4.00±0.86                | 0.67±0.49                |
|      | 白天 | 7  | 12.17±3.03               | 4.17±0.65                | 1.50±0.50                | 0.33±0.21                |

注: a) 与空白组同时间比较,  $P < 0.05$ ; b) 与空白组同时间比较,  $P < 0.01$ ; c) 与模型组同时间比较,  $P < 0.05$ 。

表 7 各组大鼠夜晚和白天睡眠时相转换次数比较 (次,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 时间 | 鼠数 | Wake→NREM                 | NREM→Wake                  | NREM→REM                 | REM→Wake                 |
|------|----|----|---------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白组  | 夜晚 | 7  | 130.00±9.25               | 87.86±9.97                 | 47.29±3.93               | 44.43±4.83               |
|      | 白天 | 7  | 201.43±14.53              | 154.43±13.57               | 49.00±6.24               | 48.29±7.12               |
| 模型组  | 夜晚 | 7  | 154.33±5.49               | 132.00±4.50 <sup>a)</sup>  | 23.33±4.26 <sup>b)</sup> | 23.33±4.58 <sup>a)</sup> |
|      | 白天 | 7  | 238.83±7.23               | 213.33±10.06 <sup>b)</sup> | 27.17±3.32 <sup>a)</sup> | 26.67±3.29 <sup>b)</sup> |
| 交泰丸组 | 夜晚 | 7  | 149.17±10.33              | 119.33±13.94               | 30.83±5.32               | 31.00±5.98               |
|      | 白天 | 7  | 166.50±7.39 <sup>c)</sup> | 135.67±8.41 <sup>c)</sup>  | 32.17±3.08               | 30.83±2.83               |

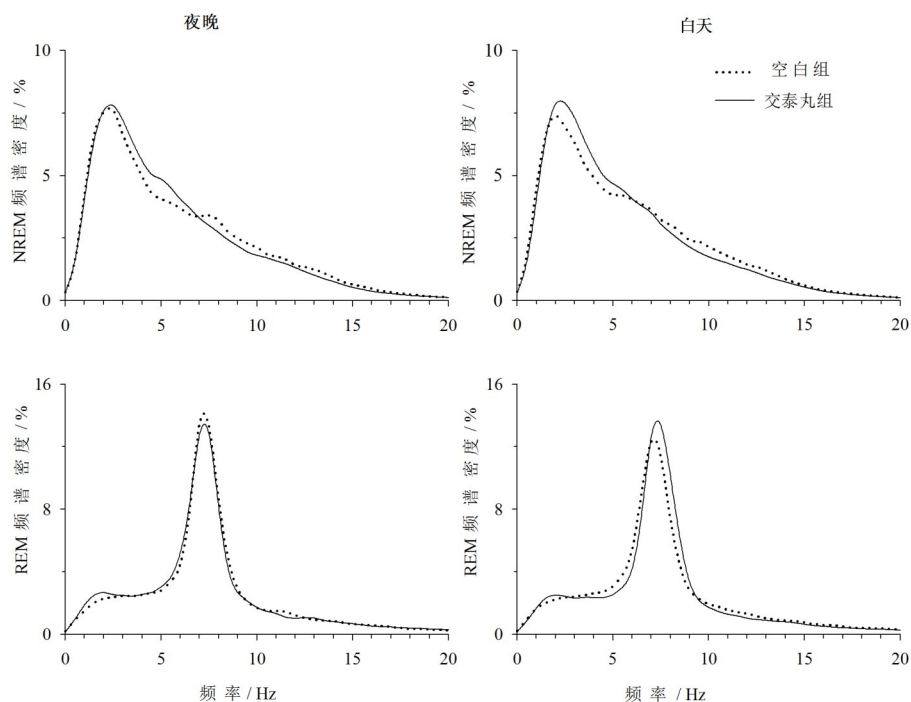
注: NREM, 非快速眼动; REM, 快速眼动; Wake, 觉醒; →, 转换为。

a) 与空白组同时间比较,  $P < 0.05$ ; b) 与空白组同时间比较,  $P < 0.01$ ; c) 与模型组同时间比较,  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

失眠发病因素很多, 中医认为心肾不交是导致失眠的重要原因之一<sup>[10]</sup>。心火亢盛或心阴不足,

阴不敛阳, 心火上亢, 不降于肾, 或是肾水不能上济于心, 以致心肾不交, 导致失眠。交泰丸由黄连和肉桂 10 : 1 配伍而成, 是治疗失眠心肾不交证的



注：NREM，非快速眼动；REM，快速眼动。

图4 交泰丸组与空白组大鼠脑电频谱密度比较

著名方剂，出自明代韩懋编著的《韩氏医通》，曰：“黄连生用为君，佐官桂少许，煮百沸，入蜜，空心服，能使心肾交于顷刻”。黄连苦寒，主入心经，功效为清热泻火，能泻过亢之心火，使心阳下降交于肾阴；肉桂辛温，主入肾经，能补火助阳，使肾阴上升济于心阳。两药相伍，使心肾相交，水火相济，阴阳交感互藏，促进睡眠。临床上运用交泰丸治疗心肾不交失眠疗效确切，且不良反应小<sup>[11]</sup>。

目前，腹腔注射PCPA是国内外较为常用的失眠造模方法。PCPA是一种5-羟色胺（5-HT）合成酶抑制剂，能阻滞脑内5-HT的合成，造成睡眠昼夜节律消失，引发失眠<sup>[12]</sup>。近年，学者们在腹腔注射PCPA的基础上，采用多因素共同作用制备心肾不交失眠模型，即在2周内给予大鼠焦虑刺激并注射PCPA，导致HPA轴激活<sup>[6,8]</sup>。HPA轴的过度活跃被认为是失眠产生的重要生理学基础，HPA轴激活会使ACTH、CRH合成和分泌增多，对于应激和觉醒状态维持具有重要意义<sup>[13]</sup>。该造模方法通过多种长期不可预见的焦虑刺激使大鼠产生睡眠不安、急躁易怒、心悸心烦等表现，与心阳偏亢、肾阴不足、心肾不交的表现类似，是目前较为公认的心肾不交失眠模型<sup>[8]</sup>。本实验观察到模型组大鼠精神亢奋，易激惹，昼夜节律消失，体质量下降，肾上腺指数升高。肾上腺指数升高，组织损伤代偿

增生，脾脏萎缩，致能量代谢紊乱，从而加重失眠<sup>[8]</sup>。ELISA结果检测发现血清ACTH水平升高，提示HPA轴激活，体现了心肾不交所致HPA轴内分泌紊乱的失眠发生特点<sup>[8]</sup>。给予失眠大鼠交泰丸治疗能够显著控制肾上腺指数和血清ACTH水平的升高，使其恢复到正常水平，表明交泰丸可明显改善心肾不交失眠大鼠HPA轴ACTH分泌紊乱。本研究未观察到各组间CRH水平有显著差异。杨钰涵等<sup>[8]</sup>报道，心肾不交失眠模型大鼠血清ACTH和CRH水平均显著升高，而本实验观察到模型组大鼠CRH水平有升高趋势，但差异无统计学意义，这可能与取材的时间不同有关，推测造模后CRH水平可能随着时间延长逐渐恢复至正常水平。

NREM和REM睡眠是睡眠时相中的两个重要阶段，这两种类型睡眠的数量决定了睡眠的质量<sup>[14]</sup>。目前脑电图仍是评价睡眠效率的金指标，对脑电波量化分析是一种非常敏感和准确的检查睡眠行为的方法<sup>[15]</sup>。动物睡眠生物解析系统可屏蔽外界信号干扰，实时、高效、稳定、自动记录与分析动物睡眠进程和睡眠结构<sup>[7]</sup>。本研究通过该系统采集大鼠EEG/EMG信号，发现模型组大鼠NREM和REM睡眠总量显著减少，觉醒总量显著增加，给予交泰丸治疗后，NREM和REM睡眠总量均显著增加，表明交泰丸可通过增加NREM和REM睡

眠延长睡眠时间。本研究通过对睡眠时程和睡眠时相转换次数进行分析,发现交泰丸能显著增加 120 s 以上长时程 NREM 睡眠,减少 NREM 睡眠与觉醒之间的转换次数,表明交泰丸可促进 NREM 睡眠的维持,提高睡眠的质量。进一步对大鼠 NREM 和 REM 睡眠期脑电频谱进行分析,发现交泰丸诱导 NREM 和 REM 睡眠类似于生理性睡眠。脑电 Delta 波密度是 NREM 睡眠深度或质量的一个重要指标<sup>[16]</sup>。既往研究<sup>[17-18]</sup>报道,目前临床常用的苯二氮草类药物(如地西泮)明显减少了觉醒的总时间,增加了 NREM 睡眠的总时间,但通常会减少 NREM 睡眠中的 Delta 波密度。与苯二氮草类药物不同的是,交泰丸诱导的 NREM 睡眠 Delta 波密度与生理性睡眠非常相似,表明交泰丸增加了睡眠总量而不降低睡眠质量,具有明显改善睡眠的作用。

综上所述,交泰丸可明显提高心肾不交失眠大鼠睡眠的质量,主要表现为 NREM 和 REM 睡眠增加,长时程 NREM 睡眠增加,NREM 睡眠与觉醒之间的转换次数减少,且诱导的睡眠类似生理性睡眠。本研究仍有不足之处,如实验中未设定不同浓度梯度交泰丸进行研究,将在后续研究中进行完善。

## 参考文献

- [1]张斌. 中国失眠障碍诊断和治疗指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2016:8.
- [2]黄运芳,毕欣宁,郑伟,等. 交泰丸对心肾不交型失眠大鼠中枢及外周神经递质的调控作用[J]. 中国中药杂志,2020,45(9):2172-2179.
- [3]LI ZH, MA PK, HUANG YF, et al. Jiaotai pill(交泰丸) alleviates insomnia through regulating monoamine and organic cation transporters in rats[J]. Chin J Integr Med, 2021, 27(3):183-191.
- [4]龚梦鹃,岳贺,周祥羽,等. 交泰丸干预对氯苯丙氨酸致大鼠失眠的作用机制研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(9):1230-1234.
- [5]洪曹栋,尹嘉,张萌,等. 基于网络药理学探讨交泰丸治疗失眠的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,

2020, 18(10):1522-1530.

- [6]邱梅红,岳小芳,徐昕红,等. 小鼠睡眠生物解析系统与应用[J]. 中国药理学通报,2008,24(1):20-23.
- [7]郜红利,涂星,卢映,等. 心肾不交所致失眠大鼠模型[J]. 中成药,2014,36(6):1138-1141.
- [8]杨钰涵,孙雨,王珺,等. 中医病证相符的大鼠心肾不交失眠模型的建立及其血清代谢组学研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(2):383-390.
- [9]陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2011:1261-1263.
- [10]王硕,钱晶,齐文升. 心肾不交之不寐证辨证治疗体会[J]. 北京中医药,2013,32(2):111-112.
- [11]陆伟珍,张雯静,王余民,等. 交泰丸治疗失眠症的疗效研究[J]. 世界睡眠医学杂志,2018,5(9):1018-1021.
- [12]肖成荣,马增春,李海静,等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制[J]. 毒理学杂志,2007,21(4):326.
- [13]赵俊云,杨晓敏,胡秀华,等. 失眠动物模型 HPA 轴和表观遗传修饰的变化及交泰丸的干预作用[J]. 中医药学报,2018,46(4):19-21.
- [14]MEERLO P, DE BRUIN EA, STRIJKSTRA AM, et al. A social conflict increases EEG slow-wave activity during subsequent sleep [J]. Physiol Behav, 2001, 73 (3): 331-335.
- [15]LIU Z, XU XH, LIU TY, et al. Safranal enhances non-rapid eye movement sleep in pentobarbital-treated mice [J]. CNS Neurosci Ther, 2012, 18(8):623-630.
- [16]YOON M, CHO S. Triphlorethol A, a dietary polyphenol from seaweed, decreases sleep latency and increases non-rapid eye movement sleep in mice [J]. Mar Drugs, 2018, 16(5):139.
- [17]QU WM, YUE XF, SUN Y, et al. Honokiol promotes non-rapid eye movement sleep via the benzodiazepine site of the GABA(A) receptor in mice [J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(3):587-598.
- [18]TOBLER I, KOPP C, DEBOER T, et al. Diazepam-induced changes in sleep: role of the alpha 1 GABA(A) receptor subtype [J]. PNAS, 2001, 98(11):6464-6469.

## Effect of *Jiaotai Pills* (交泰丸) on Sleep Stage and Sleep Quality in Insomnia Rats with Syndrome of Non-interaction between the Heart and the Kidney

ZENG Xueai<sup>1</sup>, ZHOU Chunquan<sup>1</sup>, GUO Xinzi<sup>2</sup>, ZHANG Min<sup>1</sup>, ZHANG Yifan<sup>1</sup>, HUANG Junshan<sup>1</sup>

1. Fujian Academy of Chinese Medical Sciences, Fuzhou, 350003; 2. Fujian University of Traditional Chinese Medicine

**ABSTRACT Objective** To evaluate the effect of *Jiaotai Pills* (交泰丸) on the sleep stage and sleep quality in insomnia model rats with syndrome of non-interaction between the heart and the kidney. **Methods** Twenty-one SD rats were randomly divided into control group, model group and *Jiaotai Pills* group, with 7 rats in each group. Except for the control group, the rat model of insomnia with non-interaction between the heart and the kidney was established

through compound stimulation and intraperitoneal injection of para-chlorophenylalanine (PCPA). After modeling, the *Jiaotai Pills* group was administrated with 1.1 g/kg of *Jiaotai Pills* by gavage, while the control group and model group were given 10 mL/kg of distilled water by gavage, once a day for 7 consecutive days. Electroencephalogram (EEG) and electromyogram (EMG) were recorded through animal sleep bioanalytical system. The total amount of night [(19:00–07:00 (+1))] and day [(07:00(+1)–19:00(+1))] wake, non-rapid eye movement (NREM) sleep and rapid eye movement (REM) sleep, the number of sleep stage transitions, the episode number of NREM sleep, REM sleep and wake, and EEG power density were analyzed. After recording, the adrenal index was determined, and the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticotropin-releasing hormone (CRH) levels in serum were detected through ELSA. **Results** Compared to those in the control group, the adrenal index and serum ACTH level in the model group significantly increased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while there was no difference between groups in CRH level ( $P>0.05$ ); the total amount of night and day NREM sleep and REM sleep were reduced, while the wake amount increased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), with increased episode number of 10–20 s and 30–50 s NREM sleep and decreased 120–230 s and 240–470 s NREM sleep ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), as well as increased number of NREM sleep transiting into wake and decreased number of NREM sleep transiting into REM sleep and that of REM sleep transiting into wake ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Compared to those in the model group, the adrenal index and ACTH level in serum in the *Jiaotai Pills* group were reduced ( $P<0.05$ ), but there was no difference in CRH ( $P>0.05$ ); the total amount of night and day NREM sleep increased while the wake amount was reduced significantly ( $P<0.01$ ), with decreased episode number of 10–20 s and 30–50 s NREM sleep and increased episode number of 120–230 s and 240–470 s NREM sleep ( $P<0.01$ ), as well as reduced number of NREM sleep transiting into wake ( $P<0.01$ ). There were no significant differences in the Delta wave density of NREM sleep and the Theta wave density of REM sleep between the *Jiaotai Pills* group and control group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** *Jiaotai Pills* can improve sleep stage and sleep quality mainly by increasing long duration NREM sleep (120–230 s and 240–470 s) and reducing the transition number between NREM sleep and wake, and the induced sleep is similar to physiological sleep.

**Keywords** insomnia; syndrome of non-interaction between the heart and the kidney; *Jiaotai Pills* (交泰丸); sleep stage; sleep quality

(收稿日期: 2021-10-19; 修回日期: 2022-03-22)

[编辑: 王利芬]

广告

## 《中医杂志(英文版)》欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine [《中医杂志(英文版)》] (ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志(英文版)》自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中的中国传统医学综合性学术期刊之一。

《中医杂志(英文版)》主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究、思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltcm.com> 投稿。

联系邮箱: [jtcmen@126.com](mailto:jtcmen@126.com)。电话: 010-64089190。

本社地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。