

五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的 量效与时效关系研究

李 飞, 李廷利*

(黑龙江中医药大学中药药理教研室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

【摘要】 目的:探讨五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的量效与时效关系。方法:在恒温、恒湿、自动光控条件下,以7日龄果蝇作为观察对象,分别给以含药浓度为0.25%,0.5%,1%,2%,4%,8%的培养基(每只培养指管分别含冻干粉30,60,120,240,480,960 mg),利用果蝇活动监测仪(DAMS),以静止时间持续5 min以上作为睡眠标准,观察并分析24 h内睡眠总时间的变化,探讨量效关系;在此基础上以不同时长给药,观察其24 h内睡眠总时间变化,探讨时效关系。结果:雌果蝇在8%药物培养基、给药6 d情况下睡眠延长最明显;而雄果蝇在8%药物培养基、给药4 d情况下睡眠延长最明显。结论:五味子冻干粉可以改善果蝇睡眠,并在一定范围内呈现量效和时效关系。

【关键词】 五味子;果蝇;睡眠;量效与时效

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1005-9903(2010)01-0102-03

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实,习称“北五味子”。具有滋阴和阳,敛阳入阴,协调脏腑,以达安神定志之功效,临床上常用其配以其它药物治疗心阴不足、心失所养之心悸怔忡、失眠健忘等病症,取得了较好疗效。五味子水煎液能延长正常大鼠的总睡眠时间^[1]。

果蝇(*Drosophila melanogaster*)个体小,繁殖周期短,繁殖力强,且雌、雄果蝇容易分辨;与人类具有相似的睡眠周期及多种同源基因^[2];胚胎易于遗传修饰,便于构建研究需要的转基因果蝇^[3]。众多优点使其已经成为睡眠研究的新型模式生物。本文采用果蝇活动监测方法,以7日龄成年果蝇为研究对象,研究五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的量效与时效关系。

1 材料

1.1 实验动物 野生型黑腹果蝇, Canton S 品系(北京大学生命科学院提供)。

1.2 实验药物 五味子(*Fructus Schisandrae Chinensis*)冻干粉 外观:冻型饱满,复水性好,呈深褐色,网状疏松,冻干粉生药含量为4 g·g⁻¹。

1.3 实验试剂 玉米粉(食品级);蔗糖(分析纯,天津市化学试剂一厂,批号:20070410);琼脂粉(细菌学分析级,产地日本);高活性酵母粉(食品级,安琪酵母股份有限公司,批号:20071221);丙酸(天津市光复精细化工研究所,批号:20061008);乙醇(分析级,天津市永大化学试剂开发中心,批号:20081016)。

1.4 实验仪器 果蝇活动监测系统(DAMS, Trikinetics Inc. USA);果蝇二氧化碳麻醉装置(自制);果蝇雌雄分离装置(自制)。

1.5 环境 温度:(24±1)℃;相对湿度:50%~60%;光照:12 h 自动亮-暗循环(7:00 开灯,19:00 关灯)。

2 方法

2.1 果蝇培养基制备

2.1.1 基础培养基配制 培养果蝇的器皿要严格消毒。玉米粉14 g+蔗糖10.3 g+琼脂1 g+蒸馏水153 mL 加热并搅拌,煮沸2 min;稍凉后加入1 g 酵母粉混匀,再加入丙酸1 mL,混匀,倒入果蝇培养管,每管培养基厚度约为2 cm。冷却1 h后倒置,24 h后方可使用。

2.1.2 药物培养基配制方法 在基础培养基原料中分别按质量比加入五味子冻干粉0.45,0.9,0.8,3.6,7.2,14.4 g,加热并搅拌,其后方法同上,分别制得0.25%,0.5%,1%,2%,4%,8%药物培养基。

【收稿日期】 2009-07-10

【通讯作者】 *李廷利, Tel: (0451) 82193038; E-mail: litingli8888@sohu.com

再分入多个培养管中,每只培养管分别含五味子冻干粉 30,60,120,240,480,960 mg。

2.2 果蝇活动监测及数据收集 上午 7:00 收集 12 h 内羽化未交配的处女蝇,CO₂ 气体麻醉后雌雄分组,分别移入新鲜的培养基玻璃指管,标明雌雄及日龄。第 6 日晚将实验所需的雌雄果蝇分别经一个开口仅供 1 只果蝇通过的漏斗,逐个装入果蝇监测管(5 mm×65 mm,一端内装入果蝇培养基的食物后用黑色小帽或石蜡密封,另一端用棉球封住),并将果蝇监测管嵌入到果蝇活动监测器上,每台监测器可同时监测 32 只果蝇的活动情况。此监测器直接连接到计算机,通过 DAMS 数据采集软件自动记录果蝇即时活动次数。监测器发出的红外光束横穿果蝇监测管中部,果蝇每次从玻璃管中部经过时阻断红外光束,计算机自动记录 1 次。DAMS 数据采集软件以 5 min 为单位自动记录 1 次果蝇活动次数。若 5 min 以内活动次数记录为零,即果蝇静止时间持续 5 min 时,此休息状态符合睡眠行为标准,认为果蝇处于睡眠状态,记为果蝇睡眠时间^[4]。适应 12 h 后,记录第 7 日^[5]上午 7:00~第 8 日上午 7:00 果蝇的自主活动情况,计算 24 h 平均每只果蝇睡眠总时间。

2.3 五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的量效关系研究 新生果蝇分为 6 组,每组雌雄各 32 只。空白对照组正常饲养,各给药组在基础培养基中培养 4 d 后,于第 5 d 分别置入 0.25%,0.5%,1%,2%,4% 的药物培养基中,连续给药 3 d。按照 2.2 中方法监测并计算第 7 日平均每只果蝇睡眠总时间。

2.4 五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的时效关系研究 新生果蝇分为 8 组,每组雌雄各 32 只。空白对照组正常饲养,其余各组以量效关系实验中得到的最佳剂量分别以 1~7 d 给药,按照 2.2 方法监测并计算第 7 日平均每只果蝇睡眠总时间。

2.5 数据统计分析 采用 SPSS13.0 统计软件,用单因素方差分析进行数据处理。

3 结果

3.1 五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的量效关系研究 结果见表 1。

由表 1 可知,五味子冻干粉改善果蝇睡眠的作用呈现一定的量效关系。药物浓度与药效呈正相关性,药物浓度为 8% 时果蝇平均睡眠时间最长。

综合以上结果,雌、雄果蝇均选择 8% 作为最佳

给药浓度。

表 1 不同给药浓度对果蝇睡眠时间的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	(n)		睡眠时间(min)	
	♀	♂	♀	♂
空白对照组	32	31	707.3±155.1	1001.8±152.9
0.25%组	32	32	695.5±159.4	972.2±120.8
0.5%组	32	32	700.2±189.0	936.6±177.1
1%组	32	32	797.0±132.2 ^{1,4)}	937.5±155.0
2%组	32	32	851.0±163.5 ^{2,4)}	1007.0±133.3
4%组	32	29	871.1±155.8 ^{2,3)}	1035.7±149.7
8%组	31	26	969.5±145.1 ²⁾	1063.5±102.6 ¹⁾

注:与同性别空白对照组比较¹⁾ $P<0.05$; ²⁾ $P<0.01$,与 8% 组比较³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$

3.2 五味子冻干粉改善果蝇睡眠作用的时效关系研究 实验结果见表 2。

表 2 不同给药时间对果蝇睡眠时间的影响($\bar{x} \pm s$)

分组	n		睡眠时间(min)	
	♀	♂	♀	♂
空白对照组	32	31	707.3±155.1	1001.8±152.9
给药 1 天组	31	32	736.3±131.3	989.5±113.4
给药 2 天组	31	32	749.0±145.4	995.8±118.8
给药 3 天组	32	31	831.9±186.0 ²⁾	1030.2±89.1
给药 4 天组	31	31	884.7±174.3 ²⁾	1096.7±119.9 ²⁾
给药 5 天组	32	32	853.4±182.4 ²⁾	1088.3±118.0 ²⁾
给药 6 天组	31	31	961.3±110.4 ^{2,3,4,6)}	1085.8±151.0 ²⁾
给药 7 天组	32	32	986.9±118.6 ^{2,3,5,6)}	1094.1±134.8 ²⁾

注:与同性别空白对照组比较²⁾ $P<0.01$;与同性别给药 3 d 组比较³⁾ $P<0.01$;与给药 4 d 组比较⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$;与给药 5 d 组比较⁶⁾ $P<0.01$

从表 2 可知,五味子冻干粉改善雌果蝇睡眠的作用呈现一定的时效关系,给药时间与药效呈正相关性,给药 6 d,7 d 平均睡眠时间最长且二者无显著差异;改善雄果蝇睡眠的作用也呈现一定的时效关系,给药时间与药效呈正相关性,给药 4,5,6,7 d 平均睡眠时间无显著差异。

综合以上结果,雌、雄果蝇的最佳给药时间分别为给药 6 d 和给药 4 d。

4 讨论

本实验从量效、时效方面考察了中药五味子冻干粉对果蝇睡眠的改善作用,结果表明其改善果蝇睡眠的作用在考察范围内呈现一定的量效和时效关系。雌果蝇在 8% 药物培养基、给药 6 d 情况下睡眠