

四逆散镇静催眠作用研究进展及其新药开发的策略分析

张育贵^{1,2}, 张淑娟^{1,2}, 牛江涛^{1,2}, 辛二旦^{1,2}, 司昕蕾^{1,2}, 边甜甜^{1,2}, 李东辉^{1,2}, 吴红伟^{1,2}, 李越峰^{1,2*}

1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: 四逆散出自《伤寒论》, 用于治疗阳郁厥逆证, 后世医家取其疏肝理脾之功, 治疗肝郁脾虚型失眠有一定疗效。研究表明, 四逆散具有类似地西洋的镇静催眠作用和改善创伤后应激障碍(PTSD)所致睡眠障碍的作用。《中国药典》2015年版中没有收录四逆散相关成方制剂, 故将四逆散开发为适用于临床的新药制剂有一定意义。通过对四逆散镇静催眠和改善 PTSD 所致睡眠障碍作用的文献报道进行整理归纳, 对镇静催眠药理作用、作用机制、药效物质基础、药动学等研究及其改善 PTSD 所致睡眠障碍的作用机制进行系统梳理。基于四逆散镇静催眠作用的现代研究提出符合中医理论“安神”的新功效, 从而完善四逆散适用范围, 为其临床合理使用提供参考。根据我国中医药各类法律法规, 分析四逆散遴选入古代经典名方的可能性, 并以此分析四逆散古代经典名方复方制剂研发的关键性问题; 然后从四逆散院内制剂的开发及其中药新药研发 2 个途径剖析, 对进一步的研究提出展望, 为开发四逆散“透邪解郁、疏肝理脾、安神”的中药新药制剂提供参考。

关键词: 四逆散; 镇静催眠; 创伤后应激障碍; 中药新药; 研发策略

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)13-3575-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.13.028

Research progress on sedative and hypnotic effect of Sini Powder and strategic analysis of its new drug development

ZHANG Yu-gui^{1,2}, ZHANG Shu-juan^{1,2}, NIU Jiang-tao^{1,2}, XIN Er-dan^{1,2}, SI Xin-lei^{1,2}, BIAN Tian-tian^{1,2}, LI Dong-hui^{1,2}, WU Hong-wei^{1,2}, LI Yue-feng^{1,2}

1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Standard and Quality of Chinese Medicine Research of Gansu, Lanzhou 730000, China

Abstract: Sini Powder is the traditional Chinese medicine compound, which comes from *Treatise on Febrile Diseases*. It is used to treat the syndrome of yang depression and reversal cold of limbs. Sini Powder has a certain effect on treating insomnia caused by liver depression and spleen deficiency. Lots of researches have shown that Sini Powder has a sedative and hypnotic effect similar to diazepam and plays an important role in improving sleep disorders caused by post-traumatic stress disorder (PTSD). Sini Powder is not included in *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition). It is probably to develop Sini Powder into a new drug for the clinic. We collated and summarized the literature about the sedative and hypnotic effect and the improvement of sleep disorders caused by PTSD of Sini Powder. Based on the modern research on the sedative and hypnotic effect of Sini Powder, we think the effect of “relieve uneasiness of mind and body tranquilization” adapts the theory of traditional Chinese medicine, so that it can improve the applied range of Sini Powder. Meanwhile, we analyzed the possibility of Sini Powder being selected into the ancient classical prescription and key problem in research and development on drug preparation of Sini Powder according to regulations of traditional Chinese medicine. Then we put forward some suggestions for further research from two aspects which are the development of Sini Powder and new drugs of traditional Chinese medicine, to provide a reference for the development of new Chinese medicine preparation of Sini Powder focus on “expelling pathogen and relieving depression, soothing liver and regulating spleen, tranquilizing mind”.

Key words: Sini Powder; sedation and hypnosis; post-traumatic stress disorder; new traditional Chinese medicine; research and development strategy

收稿日期: 2019-12-14

基金项目: 国家自然科学基金-地区科学基金资助项目(81960731); 国家自然科学基金资助项目(81460611); 甘肃省自然科学基金创新基地和人才计划项目(18JR3RA197); 甘肃省中药质量与标准研究重点实验室开放基金(ZYZL18-008)

作者简介: 张育贵, 硕士研究生, 从事中药及复方加工炮制机制及活性成分研究。Tel: 17793249124 E-mail: 1534048937@qq.com

***通信作者** 李越峰, 博士后, 教授, 博士研究生导师, 从事中药及复方加工炮制机制及活性成分研究。E-mail: lyfyxk@126.com

四逆散记载于《伤寒论·辨少阳病脉证病治》，曰：“少阴病，四逆，其人或咳，或悸，或小便不利，或腹中痛，或泄利下重者，四逆散主之”，其由柴胡、枳实、芍药、炙甘草组成，具有透邪解郁、疏肝理脾的功效^[1]，适用于肝气郁结、横逆犯胃或脾虚不运，影响肝不疏泄的肝脾失和证。此方作为疏肝解郁、调和肝脾的经典名方，传统用于治疗胁肋胀闷、脘腹疼痛等^[2]，现代用其干预治疗焦虑症^[3]和抑郁症^[4]等。四逆散 4 味中药在《中国药典》2015 年版中均有记载，但其相关成方制剂尚未记载。现代研究表明，四逆散除具有抗抑郁^[5]、调节肠胃功能^[6]、抗溃疡^[7]、保肝^[8-9]等作用外，还具有镇静催眠^[10]和改善创伤后应激障碍（PTSD）所致睡眠障碍^[11]的作用。临床常将其用于治疗慢性肝炎、胆囊炎、胆石症、肋间神经痛、胃溃疡、胃炎等属肝胃不和证。也有医家运用四逆散加减及针灸合用治疗肝郁脾虚型失眠^[12-13]，如褚雪菲等^[14]取四逆散合方治疗焦虑型失眠，总有效率为 98.27%；蔡昕宏^[15]通过四逆散结合治疗调任通督针法肝郁脾虚型失眠疗效稳固，为四逆散治疗失眠提供思路；刘梦等^[16]基于网络药理学方法探究四逆散治疗失眠的分子机制，从分子生物学层面探讨四逆散治疗失眠的机制及活性成分，为四逆散治疗失眠的机制研究提供新的思路。从 2002 年至今，黑龙江中医药大学李廷利教授团队和本课题组先后研究四逆散镇静催眠和改善 PTSD 所致睡眠障碍的作用，现已取得长足的进展^[17-19]。本文通过综述四逆散镇静催眠作用的基础实验研究、药效物质基础、作用机制及药动学等研究，发现四逆散镇静催眠有效组分的毒理学和药动学研究尚有不足；从四逆散改善应激大鼠海马区功能和结构的异常来阐释对 PTSD 所致睡眠障碍的正向调节作用；基于前期研究成果，提出四逆散“透邪解郁，疏肝理脾，安神”整体功效，同时对四逆散新药研发的不同策略展开分析，期望为四逆散的后续研究及新药开发应用提供参考。

1 四逆散镇静催眠的作用

失眠是一种独立的疾病，被定义为对睡眠时间或质量不满意，主要表现为入睡困难、睡眠时间减少和睡眠质量下降、注意力不集中及记忆力下降等，若未及时干预则易引起恐惧或抑郁心理，严重影响患者生活质量^[20]。失眠的具体治疗包括睡眠卫生咨询、认知行为治疗和药物干预^[21]，我国传统中医治疗失眠有独特的优势，主要方法有情志调节、药物

干预和针灸治疗，治疗目的是改善睡眠质量、增加有效的睡眠时间、消除影响睡眠的危险因素，提高生活质量^[22]。经典名方四逆散在镇静催眠方面有独特的作用。

1.1 四逆散镇静催眠活性研究

刘立^[23]研究表明，四逆散水煎液能够延长阈剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间；正交拆方后研究发现，四逆散中各成分延长阈剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间主次顺序为白芍>柴胡>甘草>枳实，但四逆散整方效果最佳，表明四逆散整方是镇静催眠的有效方剂。朱维莉^[24]研究发现四逆散水煎液 ig 给药 7 d 后，能够延长正常大鼠总睡眠时间（TST）；睡眠时相研究表明是通过延长慢波睡眠第 2 期（SWS₂）和快速眼球运动睡眠（REMS），缩短觉醒时间（W），改善电刺激诱导失眠大鼠的各睡眠参数，使 SWS₂ 延长至接近正常来达到镇静催眠的作用。Yan 等^[25]采用多导睡眠描记术（PSG）和电刺激诱导大鼠失眠的方法，对失眠大鼠脑电图（EEG）进行分析，发现四逆散冻干粉对大鼠睡眠的影响时相结果与上述一致，但对慢波睡眠第 1 期（SWS₁）没有明显作用。上述实验证明，四逆散主要影响大鼠时相 SWS₂ 和 REMS，而与 SWS₁ 无关。

果蝇疾病模型是模式生物学研究中的一种重要手段和方法^[26]，其携带大量与人类睡眠和神经功能相关基因相同的基因，睡觉与苏醒的周期与人类类似^[27-29]；而且果蝇生命周期短，繁殖能力比较强，易饲养，实验操作简单，能够保证足够的数量与空间进行实验^[30]，因此采用果蝇为模型研究睡眠模式具有很大的优势和价值。李玉萍^[31]通过光照和机械刺激复制雌、雄果蝇睡眠剥夺模型，运用四逆散冻干粉对该模型进行干预，发现雌、雄果蝇睡眠时间随给药时间延长均逐渐延长，雌果蝇连续给药 4 d 药效最强，雄果蝇给药 7 d 药效最强。在量效关系上，对于雌果蝇，基础培养基中含四逆散冻干粉质量浓度达 2% 时的睡眠时间延长，达到 4% 时睡眠时间明显增加；对于雄果蝇，基础培养基中含四逆散冻干粉质量浓度在 2% 以内药效持续增强，超过 2% 后不再增加。四逆散冻干粉对光照和机械刺激引起的雌、雄果蝇睡眠剥夺有显著改善作用。

1.2 四逆散镇静催眠的作用机制研究

5-羟色胺（5-HT）是脑中缝核内与睡眠觉醒有关的神经递质之一^[32]，其代谢与机体的睡眠和疲劳密切相关，机体在长时间睡眠剥夺后，突触前膜

5-HT 受体敏感性下降,减少对 5-HT 的再摄取,此时 5-HT 合成增加,脑内 5-HT 浓度升高,机体出现疲劳感和睡意^[33-34],从而延长睡眠时间。目前,5-HT 受体至少可以分为 7 种,即 5-HT₁~5-HT₇,而受体亚型却至少有 15 种,功能各有不同;由于 5-HT 受体亚型的多样性,使得 5-HT 在睡眠-觉醒中的作用机制尚不完全明确^[35]。

于爽^[36]利用 Wistar 雄性大鼠皮层脑电描记与分析技术、体脑微透析技术和高效液相-电化学检测技术,对大鼠各睡眠时相与中缝核 5-HT 的代谢产物 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量之间的相关性以及四逆散镇静催眠作用的 5-HT 神经递质机制分别进行研究,发现正常大鼠或电刺激所致睡眠剥夺的大鼠处于睡眠状态时,SWS₁与 SWS₂期间的脑部中缝核 5-HIAA 水平均降低,镇静催眠的机制与影响 5-HT 水平有关。刘思源^[37]用四逆散对睡眠剥夺雄性 SD 大鼠模型和正常大鼠进行干预,发现四逆散有改善睡眠剥夺大鼠脾淋巴细胞增殖功能的作用。叶晓楠^[38]发现四逆散有效组分能够改善慢性情绪应激诱导的大鼠睡眠障碍,是通过升高大鼠全脑和下丘脑肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,降低皮质中白细胞介素-4(IL-4)水平来实现。

黄莉莉^[39]发现四逆散冻干粉溶液具有催眠作用,主要表现为延长戊巴比妥钠所致的小鼠睡眠持续时间和缩短其潜伏期,通过多靶点发挥其改善睡眠作用:(1)通过增加脑内 NO 水平和增强一氧化氮合酶(NOS)活力发挥改善睡眠作用;(2)通过兴奋 5-HT_{1A}(与 5-HT₂无关),反馈抑制中缝核内 5-HT 能神经元,减少中缝核 5-HT 释放,发挥促进睡眠作用;(3)通过降低全脑内 P 物质(SP)含量发挥改善睡眠作用;(4)通过降低全脑 IL-1 β 和 TNF- α 水平发挥改善睡眠作用;(5)通过作用于苯二氮卓类受体发挥作用,与地西泮(DZ)具有相似的介导镇静-催眠、肌松作用。张树明^[40]发现四逆散有效组分能明显升高给药后小鼠全脑、丘脑、脑干 NO 水平;升高小鼠全脑、脑干 TNF- α 以及丘脑 IL-6 水平;降低全脑、脑干前列腺素 D₂(PGD₂),全脑 IL-1 β 、IL-6 及丘脑 TNF- α 水平;对 SP、前列腺素 E₂(PGE₂)水平无显著影响。表明 γ -氨基丁酸(GABA)能神经系统、5-HT 能神经系统、NO 信号通路、细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGD₂)介导四逆散有效组分的镇静催眠作用,而 SP、PGE₂未介导四逆散有效组分的镇静催眠作用。

四逆散冻干粉能够促进果蝇脑部 5-HT 含量增加改善果蝇睡眠,使果蝇脑内 5-羟色胺 1A 受体(5-HT_{1A})表达量增高来促进睡眠。5-HT_{1A}是 5-HT 的一个亚型,主要分布于脑内海马、中缝核及脑皮层边缘区,将微量 5-HT_{1A}受体激动剂 8-羟四氢萘(8-OHDPAT)注入背侧中缝核(DRN)能够增加 5-HT_{1A}表达量,减少中缝核神经元的激活及其末梢 5-HT 的释放,延长 REMS,从而达到镇静催眠的作用^[41]。李玉萍^[42]在 12 h 内收集羽化未交配的野生型 CantonS 品系黑腹果蝇,小气流 CO₂麻醉,雌雄分开后随机分为对照组、光照刺激睡眠剥夺模型组和四逆散冻干粉给药组,用酶联免疫法(ELISA)测定果蝇脑部 5-HT 水平,采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)测定果蝇脑部 5-HT_{1A}受体的表达水平,发现四逆散冻干粉可通过增加果蝇脑部 5-HT 水平,并且增高果蝇脑内 5-HT_{1A}受体表达量,从而促进睡眠。

1.3 四逆散镇静催眠的药效物质基础研究

黄玉新^[43]建立了四逆散水煎液 1 次给药 5 h 后的大鼠血清指纹图谱,在 240 nm 波长下检测到空白血清样品中没有的 8 个共有移行成分峰;来源认定研究发现 1 号和 2 号成分来源于枳实,属于枳实及四逆散水煎物中可直接入血成分;3 号成分为白芍的体内代谢转化物;4 号成分为甘草的体内代谢转化物;5 号成分为枳实体内代谢转化物;6 号成分属甘草及四逆散水煎物可直接入血成分;7 号成分来自柴胡;8 号成分是枳实与其他药物配伍后在体内产生的,四逆散中各味药对此成分均有贡献,但枳实的贡献最大。比较连续给药 7 d 后与 1 次给药 5 h 后血清中化学成分,发现前者指纹图比后者多出 6 个成分,经鉴定其中有 2 个成分为芍药苷和甘草次酸。李越峰等^[44-45]建立四逆散冻干粉给药后的大鼠血清指纹图谱,采用拆方分析法对各个血清中移行成分进行来源认定,发现四逆散冻干粉给药血清中主要有辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷 C 和甘草次酸 4 个移行成分,其他的多数是体内代谢转化物。通过四逆散整方给药和 4 种移行成分混合(质量比为辛弗林-芍药苷-柴胡皂苷 C-甘草次酸 8.5:1:1.5:6.5)给药后比较发现,4 种移行成分混合给药脑脊液中内源性物质峰面积约是四逆散整方给药组的 3.2 倍,且辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷 C、甘草次酸均能增高脑脊液中内源性峰面积,但作用不及混合给药和四逆散整方给药,故认为四逆散改善睡眠的

物质基础为辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷 C、甘草次酸；且后续研究证明四逆散及其拆方在延长阈剂量戊巴比妥钠所致小鼠睡眠时间上确实有效，实验重现性较好^[46]。后来又有研究单独证明了芍药苷^[47]、柴胡皂苷 C^[48]、甘草次酸^[49]改善睡眠的作用。张树明^[42]和叶晓楠^[40]的研究也证明四逆散有效组分改善睡眠作用显著优于四逆散，其有效组分能够拮抗空瓶刺激诱导的慢性情绪应激，改善由慢性情绪应激引发的睡眠障碍，主要表现为增加慢性情绪应激大鼠全天睡眠时间，降低夜晚的活动度，睡眠的片段化有整合趋势。

1.4 四逆散镇静催眠有效组分的药动学研究

李胜男^[50]对四逆散改善睡眠各有效成分在体内的代谢进行了研究，运用高效液相色谱（HPLC）技术建立同时测定四逆散改善睡眠的 4 种有效组分（辛弗林、柴胡皂苷 C、芍药苷、甘草次酸）的含量测定方法，并检测 4 种单体成分分别单次 ip 给药和混合给药后各成分在大鼠血清中的含量，计算药动学参数。结果表明，4 种成分混合给药后，辛弗林、芍药苷、甘草次酸的最大血药浓度（ C_{max} ）较单独给药后均有不同程度的降低，其中甘草次酸 C_{max} 降低最为明显；辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷的达峰时间（ t_{max} ）均有所延长；芍药苷、甘草次酸、柴胡皂苷 C 的半衰期（ $t_{1/2}$ ）均延长；药-时曲线说明有效组分混合给药后镇静催眠作用优于各单体分别给药。同时发现辛弗林为快吸收、慢代谢药物，柴胡皂苷 C、芍药苷及甘草次酸均为快速吸收代谢型药物。

2 四逆散改善 PTSD 所致睡眠障碍的研究

PTSD 又称延迟性心因性反应，是指患者在遭受强烈的或灾难性精神创伤事件后，延迟出现的、长期持续的精神心理综合征^[51]，临床表现为注意力难以集中、睡眠障碍、创伤体验的反复重现、回避症状群、认知和心境的消极改变、警觉性增高等^[52]。睡眠障碍属于 PTSD 的二级症状，表现为入睡困难、易醒、眠浅（高警觉）和与创伤事件相关的噩梦等^[53]。PTSD 患者中睡眠障碍者占 70%~91%，梦魇和睡眠相关呼吸障碍（SDB）的发生率分别为 50%~71% 和 50%^[54]。“肝主疏泄之调畅情志”在机体心理应激中起重要作用，PTSD 的发病机制与海马区功能和结构的异常改变有关^[55]；海马对记忆、认知和情绪等具有调节作用，PTSD 的严重程度影响其体积大小。隋竹欣等^[56]通过体视显微镜观察发现，海马神经元蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

（Akt/mTOR）信号通路的激活可调控 PTSD 大鼠海马神经元的凋亡，故海马神经元在 PTSD 机制研究中扮演重要角色。

基于上述理论，本课题组前期从 PTSD 大鼠睡眠时相、海马组织及其神经元、海马区 CA1、CA3 神经元以及分子生物代谢等几个方面对疏肝解郁方四逆散改善 PTSD 及其所致睡眠障碍的作用机制进行了相关研究。采用持续电流刺激加黑暗幽闭禁锢法制备 PTSD 大鼠模型，ig 给予四逆散水煎液（生药量 0.24 g/mL，10 mL/kg），连续给药 7 d。研究表明，四逆散水煎液能够正向调节 PTSD 大鼠的睡眠时相^[57]，明显缩短 PTSD 所致睡眠障碍大鼠非快动眼睡眠（NREMS）潜伏期，加速大鼠入睡^[58]；对大鼠海马区神经元的超微结构^[59]、放电频率^[60]、放电波幅^[61]以及信号强度^[62]均有正向调节作用，同时能够拮抗和逆转海马区神经元放电活动^[61]，调节 PTSD 大鼠海马组织相关分子表达水平^[63]，增强海马区褪黑素及相关应急激素的释放能力^[60]。四逆散水煎液对 PTSD 大鼠海马区 CA1、CA3 神经元形态^[64]、细胞器结构^[65]及时空特性损害^[66]均具有明显的改善作用，并且对于 PTSD 所致睡眠障碍大鼠的海马区 CA1 和 CA3 神经元形态也具改善作用，从而逆转 PTSD 大鼠病理状态^[67]。四逆散水煎液能够不同程度的上调或下调 PTSD 大鼠血清差异代谢分子，调控机体的代谢平衡，实现内环境的稳态^[68]，同时还通过降低机体代谢产物的含量、调节代谢途径治疗应激损伤^[69]。

3 四逆散新药开发的策略分析

3.1 基于四逆散镇静催眠作用对其“安神”新功效的探讨

失眠属于中医学中“不寐”“不得卧”“不得眠”等范畴^[70]，其病机多以阴阳失衡为总纲，以卫气循行为体现，以五脏虚实为基础。五脏之中，以肝脏为枢机，调整全身经气运转。肝主疏泄、主藏血，与机体气机、气血关系及情志等密切相关。因此，气血关系正常、气机畅达、情志调和方能入寐而安睡。若肝失疏泄，气机失常，而生不寐；肝不藏血，则血不化神、血不养神，魂不守舍而致不寐^[71-72]。四逆散具有镇静催眠和改善 PTSD 所致睡眠障碍的作用，后世医家取其疏肝解郁之功治疗失眠，成为“从肝论治失眠”的经典代表方^[73-74]。《伤寒论》第 318 条中将四逆散列入少阴病篇中，也有医家称其为“回逆散”^[75]，主治阳郁厥逆证，阳气内郁，扰

及心神,气滞寒凝,手足不温,即适用于郁滞较重而少阴阳气虚衰者。运用四逆散疏肝理脾、调畅气机以祛邪治郁,达到安神定志、治疗疾病的目的^[76]。基于此,本课题组提出四逆散“安神”的新功效,从而以中医理论的角度解释现代医学“镇静催眠”的作用,根据历史的演变以及科学技术手段发展创新中药及方剂的新功效^[77],建立健全四逆散“透邪解郁,疏肝理脾,安神”的整体功效。

3.2 关于四逆散遴选为古代经典名方及开发其复方制剂的关键问题探讨

四逆散虽出自《伤寒论》,疗效确切且应用历史悠久,但在国家中医药管理局公布的《古代经典名方目录》(第一批)(2018 年 4 月)^[78]中未列入。根据 2017 年 3 月国家中医药管理局发布的“古代经典名方目录制定的遴选范围和遴选原则”征求意见的通知^[79]中所述,古代经典名方要求符合“目前仍广泛应用、疗效确切、具有明显特色及优势;古代中有较多记载及医案证据,现代文献中有较多临床及实验研究报道;得到中医临床进一步凝练、权威专家广泛认可;各类中医药教材中广为收录等”的遴选原则,且要求“处方中不含有《中国药典》2015 年版收载的大毒药材和国家重点保护的野生动物药材品种目录的一级保护品种,不含配伍禁忌,处方适用范围不包括急症、危重症、传染病,不涉及孕妇、婴幼儿等特殊用药人群,且给药途径与古代医籍记载一致”“均来自 1911 年前出版的古代医籍”等。四逆散源自东汉末年医圣张仲景,具有透邪解郁、疏肝理脾等功效,后世很多医家取其疏肝理脾之功,治疗肝郁脾虚型失眠^[80-82],用药途径多为传统的散剂或者煎剂口服以治疗疾病,成为疏肝解郁经典方,被引入中医药教材^[83];并且大量药理实验研究证明四逆散抗抑郁、调节肠胃功能、抗溃疡、保肝、镇静催眠等作用^[5-10,84-85]。基于此,四逆散遴选入古代经典名方有极大可能性。

国家药品监督管理局在 2018 年 5 月发布的《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》(以下简称《规定》)中第五条明确指出:“对符合要求的经典名方制剂申请上市,可仅提供药学及非临床安全性研究资料,免报药效学研究及临床试验资料。申请人应当确保申报资料的数据真实、完整、可追溯”。《规定》第六条中明确要求:“经典名方制剂的研制分‘经典名方物质基准’研制与制剂研制两个阶段”^[86]。由此可见,研发古代经典名方制剂

的前提是形成该方的“经典名方物质基准”(指以古代医籍中记载的经典名方制备方法为依据制备而得的中药药用物质的标准,除成型工艺外,其余制备方法应当与古代医籍记载基本一致),其基本途径为 5 各阶段,即处方考证及历史沿革研究、药味收集和质量评价、饮片炮制方法和质量评价、物质基准的制备和质量研究、物质基准质量标准的起草和制定^[87-88]。因此,为保证四逆散制剂质量的稳定性和疗效的一致性,建立衔接“饮片-中间体-制剂”链的物质基准及质量标准,确保整个过程中中药药效分量值稳定传递,从而保证四逆散作为经典名方制剂的开发。

3.3 四逆散院内制剂的开发及其中药新药开发的剖析

3.3.1 基于“安神”作用开发四逆散院内制剂的分析 《国务院关于扶持和促进中医药事业发展的若干意见》及原卫生部、国家中医药管理局和国家食品药品监督管理局联合发布的《关于加强医疗机构中药制剂管理的意见》和新医改相关政策的出台,促进了医院院内中药制剂的发展^[89]。2005 年 3 月 22 日经国家食品药品监督管理局局务会审议通过的《医疗机构制剂注册管理办法》(试行)中明确指出“医疗机构配制的制剂应当是市场上没有供应的品种”;第七条中指出“申请医疗机构制剂,应当进行相应的临床前研究,包括处方筛选、配制工艺、质量指标、药理、毒理学研究等”。前文所述大量药理学实验证明经典名方四逆散具有“安神”的新功效,该功效的作用机制、药效物质基础以及针对该功效的有效物质在体内的药动学研究有了一定的进展,足以说明四逆散“安神”的有效性,但就其适宜的制剂类型、制备工艺、质量标准以及药理学研究不足之处还需要进行深入研究,为开发四逆散院内制剂提供依据;第二十、二十一、二十二条中指出“临床研究用的医院制剂,应当按照《医疗机构制剂配制质量管理规范》或者《药品生产质量管理规范》的要求配制;医疗机构制剂的临床研究,应当在获得《医疗机构制剂临床研究批件》后,取得受试者知情同意书以及伦理委员会的同意,按照《药物临床试验质量管理规范》的要求实施;且应当在相应医疗机构按照临床研究方案进行,受试例数不得少于 60 例”^[90]。以此,基于“安神”功效开发四逆散院内制剂还需要完善上述实验研究和相应受试患者例数工作。

3.3.2 四逆散中药新药开发的分析 四逆散出自《伤寒论》，具有组方科学、作用明确、疗效确切等优点，前文所述研究成果为四逆散“镇静催眠/安神”功效的中药新药研发提供实验基础。四逆散“镇静催眠/安神”功效的物质基础（辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷 C、甘草次酸）和比例（8.5：1：1.5：6.5）明确，而且四逆散出自经典名著《伤寒论》，将其开发为新药时以原中药配伍还是以各有效物质单体组合需要考虑。四逆散传统的散剂由于服用剂量较大、易吸潮变质、药效成分不明确等缺点，已经不能满足患者的要求。在研制四逆散新药过程中改变传统剂型（不改变给药途径），将其开发为有效成分和作用机制明确的“镇静催眠/安神”中药制剂具有一定可行性。

《药品注册管理办法》（局令第 28 号）附件一的中药、天然药物注册分类及申报资料要求中规定（简称《附件一》）^[91]：“中药是指在我国传统医药理论指导下使用的药用物质及其制剂。天然药物是指在现代医药理论指导下使用的天然药用物质及其制剂”；《中成药新药注册的程序》中指出：“中药的涵盖范围很广，包括我国范围内的民族药及其药材和饮片，传统上中药在中医理论指导下使用。为了界定中药与天然药物和化学药品的管理范围，在《药品注册管理办法》（以下称《办法》）中，不论在临床使用中是否以中医药理论为指导，只要未经化学修饰的天然药物都列入中药管理范围；被纯化后经过化学修饰的则不列入中药管理范围”，故而将四逆散原复方中有效物质单体组合开发的新药，都列入中药新药的范畴。

由中华人民共和国第十二届全国人民代表大会常务委员会第二十五次会议于 2016 年 12 月 25 日通过的《中华人民共和国中医药法》（2017.07.01）第 29 条“国家鼓励和支持中药新药的研制和生产”指出：“国家保护传统中药加工技术和工艺，支持传统剂型中成药的生产，鼓励运用现代科学技术研究开发传统中成药”。提示要以药物的安全有效为核心，充分利用现代科学技术，坚持以中医药理论体系为指导，为阐明中药防治疾病的机制，将中药新药制剂的功效、主治与现代科学知识与技术联系起来，建立相应的客观标准，探索出一套以中医药理论为指导，又能用一定的科学手段检测的新理论，有利于指导临床合理用药及评定制剂质量，推动中医药理论发展，提高新药竞争能力（《中医药法》及其解

义）^[92]。根据本课题组对四逆散的前期研究及四逆散出处，四逆散中药新药的审批符合《附件一》中“注册分类”第 6 条“未在国内上市销售的中药、天然药物复方制剂”，该内容包括：（1）传统中药复方制剂；（2）天然药物复方制剂；（3）中药、天然药物和化学药品组成的复方制剂。其中“中药复方制剂应在传统医药理论指导下组方，主要包括来源于古代经典名方的中药复方制剂、主治为证候的中药复方制剂、主治为病证结合的中药复方制剂等；天然药物复方制剂应在现代医药理论指导下组方，其适应症用现代医学术语表述。四逆散新药的研发可以从原方传统中药复方制剂和有效物质组合天然药物复方制剂 2 个角度出发。根据《附件一》中中药、天然药物新药申报资料的具体要求规定对于“注册分类 6”未在国内上市销售的中药、天然药物复方制剂按照不同类别的要求应提供资料为：①中药复方制剂，根据处方来源和组成、功能主治、制备工艺等可减免部分试验资料，具体要求另行规定；②天然药物复方制剂应当提供多组份药效、毒理相互影响的试验资料及文献资料。再根据《附件一》中“关于临床试验”要求：①临床试验的病例数应当符合统计学要求和最低病例数要求；②临床试验的最低病例数（试验组）要求：I 期为 20~30 例，II 期为 100 例，III 期为 300 例，IV 期为 2 000 例；③属注册分类 1、2、4、5、6 的新药，以及 7 类和工艺路线、溶媒等有明显改变的改剂型品种，应当进行 IV 期临床试验；④生物利用度试验一般为 18~24 例；⑦改剂型品种应根据工艺变化的情况和药品的特点，免除或进行不少于 100 对的临床试验”；因此四逆散新药开发以“传统复方制剂”角度，新增其“安神”的功效，其处方来源和组成均有记载，则无需做药效、毒理实验研究，只需相应符合要求不少于 100 对临床试验即可，审批流程和资料按照《附件一》中各项规定；若以“天然复方制剂”角度，四逆散“镇静催眠”作用的新药开发还需要进行多组份药效、毒理相互影响试验研究，根据《附件一》中“关于临床试验”规定“注册属于天然复方制剂的新药，需进行 IV 期临床试验，其余审批流程和资料按照《附件一》中要求执行；但两者的生物利用度试验均要做 18~24 例。具体的申报资料项目表及说明可参考《药品注册管理办法》。

4 结语与展望

四逆散能够延长戊巴比妥钠所致小鼠的睡眠时

间,具有类似地西洋的镇静催眠作用,其作用机制、药效物质基础、药动学等研究已取得长足进展。四逆散通过增加脑内 NO 水平,兴奋 5-HT_{1A},降低全脑 IL-1 β 和 TNF- α 、SP 水平等达到改善睡眠的作用。基于四逆散镇静催眠作用,已明确的药效物质基础和用药比例为辛弗林、芍药苷、柴胡皂苷 C、甘草次酸 8.5:1:1.5:6.5。在药效学方面,缺乏四逆散镇静催眠有效组分不同剂量给药的毒性试验相关文献报道。在药动学研究方面,以往研究仅停留在四逆散镇静催眠有效组分大鼠单次、ip 给药,对于更加符合临床实际用药的多次给药的研究和其他给药方式(如 ig、iv、im 等)给药后的体内代谢情况有待进一步探讨。四逆散镇静催眠有效成分混合给药后各单体之间的体内代谢相互影响,其相互影响的机制以及代谢后的产物可作为今后研究的重点。在改善 PTSD 所致睡眠障碍方面,四逆散可明显促进 PTSD 所致睡眠障碍大鼠快速入睡,对心理应激海马组织的生物学机制、超微结构、神经元放电频率和信号强度以及神经元动作电位均有正向调节作用,但对 PTSD 所致睡眠障碍后动物靶标蛋白表达的影响情况和相关通路的调节情况研究不足,有待后续研究阐明。

基于四逆散镇静催眠作用的“安神”新功效的提出,符合国家鼓励运用现代科技手段发展创新中医药文化的要求,有助于健全经方四逆散“透邪解郁,疏肝理脾,安神”的功效,从而使整体功效被后代医家所认识。四逆散院内制剂的开发比中药新药开发更具有途径简便的优势,需要选择适宜的制剂类型、完善制备工艺和质量标准、完成毒理学试验并提供 60 例的临床试验,就可以向当地食品药品监督管理局备案申请;而四逆散中药新药则至少需要 II 期(“传统复方制剂”需要 II 期,“天然复方制剂”需要 IV 期),还需要提供急毒和长毒试验的资料,因而后期的研究可将有效单体复方毒性实验和多组份药效、毒理相互影响实验作为重点研究。完善四逆散实验研究和临床试验,开发应用于临床的安全、有效的新药制剂,扩大经方在临床的应用范围。

综上所述,开发四逆散安神或镇静催眠的中药制剂,首先扩大了四逆散传统功效的适用范围,通过大量实验阐明医家运用四逆散“从肝论治失眠”而疏肝解郁安神的有效性;其次改变原有剂型,摒弃以传统散剂或者汤剂为主的服用方式,矫正中药原有异味,方便服用和携带;今后可将四逆散开发

为药效物质基础和剂量明确的中药类安神制剂,相较于镇静催眠类化学药不良反应小,相较于传统安神类中药复方具有物质基础明确、量效关系可考量等优点。因此,开发四逆散中药新药运用于临床,能够更好地体现其药用价值和临床优势。

参考文献

- [1] 孙志明,李小娜. 四逆散复方的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(25): 3244-3246.
- [2] 张婧娴,芮俊乾,陈逸凡,等. 四逆散有效成分对内脏高敏感大鼠 5-HT 信号通路的多靶点协同调控 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(16): 115-123.
- [3] 侯磊,李晓宇,黄娜娜,等. 四逆散干预焦虑症作用机制的网络药理学分析 [J]. 中草药, 2019, 50(21): 5154-5161.
- [4] 宗阳,陈婷,董宏利,等. 基于网络药理学四逆散治疗抑郁症的作用机制探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4995-5002.
- [5] 王慧慧,张百霞,叶小彤,等. 基于“中药作用机理辅助解析系统”的四逆散抗抑郁作用机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(19): 3723-3728.
- [6] Zhu C Y, Zhao L Q, Zhao J Y, et al. Sini San ameliorates duodenal mucosal barrier injury and low-grade inflammation via the CRF pathway in a rat model of functional dyspepsia. [J]. *Inter J Mol Med*, 2019, doi: 10.3892/ijmm.2019.4394.
- [7] 谢慧臣,刘芬,杨强. 加味四逆散对慢性心理性应激胃溃疡模型大鼠胃黏膜的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 252-256.
- [8] 柴智,樊慧杰,王永辉,等. 四逆散对雷公藤多苷所致急性肝损伤的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(2): 120-123.
- [9] 徐卫东,钱元霞,高静,等. 四逆散含药血清对大鼠肝干细胞 WB-F344 增殖分化的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(2): 241-247.
- [10] 李越峰,徐富菊,张泽国,等. 四逆散对大鼠睡眠时相影响的实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(10): 936-938.
- [11] 徐富菊,张泽国,李越峰. 加味四逆散干预 PTSD 睡眠紊乱的海马神经编码机制研究 [J]. 西部中医药, 2015, 28(7): 155-157.
- [12] 王振兴. 四逆散加减方治疗肝郁脾虚型失眠症的临床观察 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [13] 李春雨,贾春华. 贾春华四妙丸合四逆散合方治疗经验举隅 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(2): 387-389.
- [14] 褚雪菲,刘道龙,姜德友. 四逆散百合地黄汤治疗焦虑性失眠 [J]. 长春中医药大学学报, 2019, 35(4): 673-675.

- [15] 蔡昕宏. 针药结合治疗肝郁脾虚型失眠的临床研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013.
- [16] 刘 梦, 吴凤芝, 张 蔚, 等. 基于网络药理学的四逆散与酸枣仁汤治疗失眠分子机制的比较研究 [J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42(1): 44-51.
- [17] 李廷利, 朱维莉, 齐凤琴, 等. 四逆散催眠作用的实验研究 [J]. 中医药信息, 2004(1): 59-60.
- [18] 李越峰, 黄玉新, 李廷利, 等. 四逆散拆方过程中成分变化的分析研究 [J]. 中成药, 2009, 31(8): 1308-1310.
- [19] 李越峰, 张泽国, 徐富菊, 等. 从肝论治创伤后应激障碍及睡眠障碍的研究进展 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(7): 128-131.
- [20] Elena D, Tobias W, Peter A, *et al.* The Swedish version of the insomnia severity index: Factor structure analysis and psychometric properties in chronic pain patients [J]. *Scandinav J Pain*, 2015, doi: 10.1016/j.sjpain.2015.06.001.
- [21] Víctor-Hugo G, Evelyn C, Marta S, *et al.* Pharmacologic treatment of insomnia in children and adolescents with chronic pain conditions [J]. *Curr Anesthesiol Rep*, 2019, 9(2): 85-91.
- [22] Liu M H, McCurry S, Belza B, *et al.* Effects of osteoarthritis pain and concurrent insomnia and depression on health care use in a primary care population of older adults [J]. *Arthr Care Res*, 2019, doi: 10.1002/acr.23695.
- [23] 刘 立. 四逆散对戊巴比妥钠所致小鼠睡眠实验的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2002.
- [24] 朱维莉. 四逆散对正常及失眠大鼠睡眠时相的影响 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2004.
- [25] Yan X K, Zhang Z G, Xu F J, *et al.* Effect of Sini San Freeze-dried San on sleep-waking cycle in in-somnia rats [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34(5): 572-575.
- [26] 孙连杰. 使用四种模式生物研究 miRNA 对人类疾病基因的调控作用 [D]. 南京: 南京师范大学, 2018.
- [27] Adams M D, Celniker S E, Holt R A, *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2000, 287(5461): 2185-2195.
- [28] Giot L, Bader J S, Brouwer C, *et al.* A protein interaction map of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2003, 302(5651): 1727-1736.
- [29] 万永奇, 谢 维. 生命科学与人类疾病研究的重要模型——果蝇 [J]. 生命科学, 2006, 18(5): 425-429.
- [30] 周玉枝, 闫明亮, 高 丽, 等. 衰老动物模型的研究及其在抗衰老药物活性筛选中的应用 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1061-1071.
- [31] 李玉萍. 以果蝇为模式生物的四逆散改善睡眠作用及作用机制研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009.
- [32] 杨 岑, 冉明梓, 欧阳鹏荣, 等. 五羟色胺在睡眠-觉醒中作用 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(11): 2191-2194.
- [33] 郑乐颖, 季红光, 王海明, 等. 睡眠剥夺对大鼠脑 5-羟色胺代谢及行为的影响 [J]. 中国行为医学科学, 1998(4): 256-257.
- [34] 姚秋菊, 韩 旭. 5-羟色胺与失眠的相关性及中医辨证治疗的研究进展 [J]. 中医药导报, 2013, 19(2): 108-110.
- [35] 张美娅, 王 平, 丁 莉, 等. 睡眠及睡眠剥夺与 5-羟色胺及其受体的相关性探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(4): 805-807.
- [36] 于 爽. 大鼠睡眠不同时相与中缝核 5-HIAA 含量的相关性 with 四逆散改善睡眠的机制研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [37] 刘思源. 四逆散对失眠大鼠脾淋巴细胞增殖功能的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.
- [38] 叶晓楠. 空瓶刺激诱导慢性情绪应激所致大鼠睡眠障碍的细胞因子机制与四逆散有效组分的干预作用研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [39] 黄莉莉. 四逆散改善睡眠作用的机制研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009.
- [40] 张树明. 四逆散有效组分改善睡眠作用的机制研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [41] Monti J M, Jantos H, Monti D. Dorsal raphe nucleus administration of 5-HT_{1A} receptor agonist and antagonists: Effect on rapid eye movement sleep in the rat [J]. *SRO*, 2000, 3(1): 29-34.
- [42] 李玉萍, 徐瑞鑫, 李廷利. 四逆散冻干粉对睡眠剥夺果蝇头部 5-HT 含量和 5-HT 1A 受体表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2749-2751.
- [43] 黄玉新. 四逆散水提物体外成分分析与血中移行成分认定 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2006.
- [44] 李越峰. 四逆散改善睡眠作用药效物质基础研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2009.
- [45] 李越峰, 苏云明, 李廷利, 等. 四逆散镇静催眠作用的物质基础初步研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1361-1365.
- [46] 李越峰, 李廷利, 严兴科. 四逆散冻干粉及其拆方镇静催眠作用的等效性研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(8): 719-720.
- [47] 李越峰, 徐富菊, 张泽国, 等. 芍药苷改善睡眠作用机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(1): 56-58.
- [48] 李越峰, 严兴科, 李廷利. 四逆散冻干粉中的柴胡皂苷 C 对小鼠睡眠影响的实验研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(8): 601-603.
- [49] 严兴科, 张泽国, 徐富菊, 等. 甘草改善睡眠作用的药效物质基础研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2014,

- 30(11): 1023-1025.
- [50] 李胜男. 四逆散改善睡眠作用的有效组分体内代谢过程的研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- [51] Khazaie H, Ghadami M R, Masoudi M. Sleep disturbances inveterans with chronic war-induced PTSD [J]. *J Inj Violence Res*, 2016, 8(2): 99-107.
- [52] 尚巍. ICU 患者家属创伤后应激障碍的影响因素研究 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2018.
- [53] Tye S, Van V E, Hu C, et al. Preclinical perspectives on posttraumatic stress disorder criteria in DSM-5 [J]. *Harv Rev Psychiatry*, 2015, 23(1): 51-58.
- [54] 曹瑞, 徐富菊, 张泽国, 等. 四逆散干预创伤性应激障碍所致睡眠障碍研究进展 [J]. 甘肃中医学院学报, 2015, 32(4): 69-72.
- [55] 史亚飞, 张彩霞, 徐志伟, 等. 加味四逆散对慢性轻度不可预计性心理应激模型大鼠神经内分泌免疫网络调控作用的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(2): 362-365.
- [56] 隋竹欣, 刘昊, 王海涛, 等. 创伤后应激障碍大鼠海马神经元凋亡和 Akt/mTOR 信号通路的改变 [J]. 四川大学学报: 医学版, 2014, 45(2): 221-224.
- [57] 曹瑞, 牛江涛, 司昕蕾, 等. 四逆散对创伤后应激障碍睡眠障碍大鼠睡眠时相的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(15): 1886-1889.
- [58] 李越峰, 司昕蕾, 边甜甜, 等. 四逆散对创伤后应激障碍及睡眠障碍大鼠睡眠潜伏期的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(9): 1089-1091.
- [59] 李越峰, 边甜甜, 司昕蕾, 等. 四逆散干预创伤后应激障碍及睡眠障碍大鼠海马的超微结构研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(6): 695-697.
- [60] 张泽国, 曹瑞, 徐富菊, 等. 四逆散对创伤后应激及睡眠障碍大鼠海马区神经元放电频率的作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 32(9): 850-852.
- [61] 李越峰, 司昕蕾, 曹瑞, 等. 四逆散对创伤后应激障碍及睡眠障碍大鼠海马区神经元放电电幅的影响研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(10): 1203-1205.
- [62] 李越峰, 边甜甜, 牛江涛, 等. 四逆散对创伤后应激障碍大鼠海马神经元信号强度的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7): 824-826.
- [63] 曹瑞, 牛江涛, 李越峰. 四逆散对创伤后应激障碍大鼠海马组织分子表达的作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(10): 921-924.
- [64] 徐富菊, 牛江涛, 边甜甜, 等. 四逆散对 PTSD 睡眠障碍大鼠海马超微结构影响的研究 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(7): 1556-1558.
- [65] 李越峰, 牛江涛, 边甜甜, 等. 四逆散对创伤后应激障碍所致睡眠障碍大鼠海马超微结构的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(5): 562-564.
- [66] 牛江涛, 张泽国, 曹瑞, 等. 四逆散对 PTSD 及睡眠障碍大鼠海马 CA1/CA3 区神经元动作电位的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(4): 363-366.
- [67] 李越峰, 曹瑞, 牛江涛, 等. 四逆散对创伤后应激障碍大鼠海马超微结构的调节作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(13): 1561-1564.
- [68] 曹瑞, 牛江涛, 司昕蕾, 等. 基于代谢组学的四逆散干预创伤后应激障碍大鼠模型的作用研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(4): 343-346.
- [69] 李越峰, 曹瑞, 牛江涛, 等. 四逆散对创伤后应激障碍大鼠海马组织特征性分子研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(5): 455-458.
- [70] 李娜, 樊旭. 基于肝“体阴用阳”理论论治失眠 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(5): 136-138.
- [71] 王聪, 陈云飞. 从肝论治失眠的临床应用研究概况 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(5): 702-705.
- [72] 张莉, 张星平, 安艳丽, 等. 失眠症中医不寐五神分型心不藏神型与肝不藏魂型血清 5-羟色胺含量特征研究 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3672-3674.
- [73] 刘晓萌. 从肝论治失眠的文献与实验研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [74] 李廷利. 从改善睡眠作用研究四逆散的疏肝解郁功效 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(7): 1367-1371.
- [75] 刘世鹏. 四逆散证药-方-症-证分析 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2014.
- [76] 穆杰, 王庆国, 王雪茜, 等. 四逆散开阖以运少阴枢机论治抑郁症 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(2): 273-275.
- [77] 梅雨, 陈仁寿, 施铮, 等. 关于经典名方研发中处方制剂要求的困惑与建议 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 373-375.
- [78] 国家中医药管理局. 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录 (第一批)》的通知 [EB/OL]. [2018-04-13]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>.
- [79] 国家中医药管理局. 国家中医药管理局办公室关于对“古代经典名方目录制定的遴选范围和遴选原则”征求意见的通知 [EB/OL]. [2017-03-08]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-03-24/3520.html>.
- [80] 杨军, 张小莉. 经方治疗失眠举隅 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(12): 115-116.
- [81] 李茜, 李晓阳. 刘持年应用四逆散验案举隅 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(5): 706-707.
- [82] 郝宏文. 刘弼臣应用四逆散经验 [J]. 中医杂志, 2008, 49(7): 588.
- [83] 李冀, 连建伟, 左铮云, 等. 方剂学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016.

- [84] 畅洪昇, 梁吉春, 孙建宁, 等. 四逆散有效部位对小鼠行为绝望和药物抑郁模型的作用 [J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(7): 451-453.
- [85] 罗阔丹, 林丽美, 庾勤慧, 等. 四逆散对蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的小鼠非酒精性脂肪肝炎的研究 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(3): 231-234.
- [86] 国家药品监督管理局. 古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定 [EB/OL]. [2018-05-29]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2093/228247.html>.
- [87] 刘 艳, 章 军, 杨林勇, 等. 经典名方物质基准研制策略及关键问题分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(1): 1-9.
- [88] 代云桃, 靳如娜, 吴治丽, 等. 基于标准汤剂 (物质基准) 的经典名方制备工艺和质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 164-174.
- [89] 隋术强. 开发院内中药制剂促进中医药现代化发展 [J]. 求医问药: 下半月, 2012, 10(1): 428.
- [90] 国家中医药管理局, 医疗机构制剂注册管理办法 (试行) [EB/OL]. [2005-08-01]. <http://fjs.satcm.gov.cn/gongzuodongtai/2018-03-24/2293.html>.
- [91] 国家药品监督管理局, 药品注册管理办法 (局令第 28 号) [EB/OL]. [2007-07-01]. http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2077/300629_9.html.
- [92] 国家中医药管理局. 中华人民共和国中医药法 [EB/OL]. [2016-12-26]. <http://fjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-03-24/2249.html>.