

苍术挥发油对失眠小鼠的作用机制研究及其微乳制备

赵淑月, 邱智东, 刘 锐, 胡新星, 肖春萍*

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

摘 要: **目的** 基于气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 技术结合动物实验探究苍术 *Atractylodes chinensis* 挥发油对失眠的药效和作用机制, 并制备苍术挥发油微乳。 **方法** 采用 GC-MS 对苍术挥发油的化学成分进行分析。采用对氯苯丙氨酸 (300 mg/kg) 诱导失眠模型, 设置对照组、模型组、地西泮 (1.3 mg/kg) 组和苍术低、中、高剂量 (23.4、46.8、93.6 mg/kg) 组, 评价给药前后小鼠体质量、睡眠和自主活动变化; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察小鼠脑组织形态; 采用 ELISA 测定脑组织中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、谷氨酸 (glutamic acid, Glu)、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、IL-6 水平; 采用 qRT-PCR 检测脑组织中 5-羟色胺 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB)、脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 和酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase B, TrkB) mRNA 表达; 采用 Western blotting 检测脑组织中 cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB 蛋白表达。通过滴定法制备苍术挥发油微乳, 单因素实验考察不同的表面活性剂、助表面活性剂、表面活性剂与助表面活性剂的质量比 (K_m) 对苍术挥发油微乳形成的影响, 并对微乳外观形态、类型、温度稳定性、离心稳定性、物理性质进行质量评价; 通过小动物活体荧光成像实验对苍术挥发油微乳在小鼠体内的分布特性进行研究。 **结果** GC-MS 共鉴别出苍术挥发油中 50 种化学成分, 主要包括醇类、芳香烃类、烯烃类、酯类和酮类等。苍术挥发油可显著增加失眠小鼠体质量 ($P < 0.05$), 缩短小鼠睡眠潜伏期 ($P < 0.01$), 延长小鼠睡眠时间 ($P < 0.05, 0.01$), 改善脑组织炎性细胞浸润情况, 减少自主活动次数 ($P < 0.01$), 显著升高脑组织 5-HT 和 GABA 水平 ($P < 0.01$), 降低脑组织 Glu、IL-1、IL-6 和 TNF- α 水平 ($P < 0.05, 0.01$), 上调脑组织 cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB 表达 ($P < 0.05, 0.01$)。微乳最佳处方工艺为聚山梨酯 80 为表面活性剂、无水乙醇为助表面活性剂、 $K_m = 2$; 质量评价发现苍术挥发油微乳呈黄色, 外观均一、透明、澄清, 具有良好的流动性, 亚甲基蓝在微乳中的扩散速度明显快于苏丹红, 在 1 000~4 000 r/min 的转速下进行离心和 5~45 $^{\circ}\text{C}$ 温度下静置, 微乳外观无变化, 可证明其离心稳定性、温度稳定性较好, 微乳的平均粒径、多分散系数 (polymer dispersity index, PDI) 和 pH 值分别为 (159.00 ± 4.53) nm、 0.451 ± 0.012 、 6.74 ± 0.02 。小动物活体成像实验结果表明苍术挥发油微乳可以通过血脑屏障到达脑组织, 且具有很好的缓释作用。 **结论** 北苍术挥发油有安神的药效作用, 为苍术挥发油微乳改善失眠症提供理论依据。

关键词: 北苍术; 挥发油; 失眠; 微乳; 苍术素; 苍术酮; β -桉叶醇

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)09-3175-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.09.015

Mechanism of volatile oil from *Atractylodes chinensis* on insomnia mice and its microemulsion preparation

ZHAO Shuyue, QIU Zhidong, LIU Rui, HU Xinxing, XIAO Chunping

College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To explore the pharmacological effects and mechanism of volatile oil from *Atractylodes chinensis* on insomnia based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technology combined with animal experiments, and prepare volatile oil from *A. chinensis* microemulsion. **Methods** GC-MS was used to analyze the chemical composition of volatile oil from *A. chinensis*. Insomnia model was induced by chlorpheniramine (300 mg/kg), control group, model group, diazepam (1.3 mg/kg) group, and volatile

收稿日期: 2024-12-11

基金项目: 吉林省科技发展规划项目 (TDZJ202401086ZYTS); 吉林省教育厅科学技术研究项目 (JJKH20241092KJ); 全国中药特色技术传承人才培养项目 (国中医药人教函[2023]96 号)

作者简介: 赵淑月, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药基础研究与新药研发。E-mail: 3063735559@qq.com

*通信作者: 肖春萍, 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药资源与栽培理论和技术及中药材质量评价。E-mail: btwnw@163.com

oil from *A. chinensis* low-, medium-, high-dose (23.4, 46.8, 93.6 mg/kg) groups were set up, changes in body weight, sleep and spontaneous activity of mice before and after administration were evaluated; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphology of brain tissue in mice; ELISA was used to measure the levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), glutamic acid (Glu), γ -aminobutyric acid (GABA), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and IL-6 in brain tissue; qRT-PCR was used to detect the mRNA expressions of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), protein kinase A (PKA), cAMP-response element binding protein (CREB), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase receptor B (TrkB) in brain tissue; Western blotting was used to detect the protein expressions of cAMP, PKA, CREB, BDNF and TrkB in brain tissue. The volatile oil from *A. chinensis* microemulsion was prepared by titration method, single factor experiment was used to investigate the effects of different surfactants, co-surfactants, and the mass ratio of surfactants to co surfactants (K_m) on the formation of microemulsion of *A. chinensis* volatile oil, the quality of microemulsion appearance, type, temperature stability, centrifugal stability and physical properties were evaluated; The distribution characteristics of microemulsion of *A. chinensis* volatile oil in mice was studied through live animal fluorescence imaging experiments.

Results GC-MS identified 50 chemical components in volatile oil from *A. chinensis*, mainly including alcohols, aromatic hydrocarbons, olefins, esters and ketones. The volatile oil from *A. chinensis* could significantly increase the body weight of insomnia mice ($P < 0.05$), shorten the sleep latency of mice ($P < 0.01$), prolong the sleep time of mice ($P < 0.05, 0.01$), improve the infiltration of inflammatory cells in brain tissue, reduce the number of independent activities ($P < 0.01$), significantly increase the levels of 5-HT and GABA in brain tissue ($P < 0.01$), reduce the levels of Glu, IL-1, IL-6 and TNF- α in brain tissue ($P < 0.05, 0.01$), and up-regulate the expressions of cAMP, PKA, CREB, BDNF and TrkB in brain tissue ($P < 0.05, 0.01$). The optimal formulation process for microemulsion was to use polysorbate 80 as the surfactant, anhydrous ethanol as the co-surfactant, $K_m = 2$; The quality evaluation found that microemulsion of *A. chinensis* volatile oil was yellow in color, uniform, transparent, and clear in appearance, with good fluidity. The diffusion rate of methylene blue in the microemulsion was significantly faster than that of Sudan red. After centrifugation at a speed of 1 000—4 000 r/min and standing at a temperature of 5—45 °C, the appearance of the microemulsion remained unchanged, which proves its good centrifugal stability and temperature stability. The average particle size, polymer dispersion index (PDI), and pH value of the microemulsion were (159.00 ± 4.53) nm, 0.451 ± 0.012 , and 6.74 ± 0.02 , respectively. The results of live animal imaging experiments showed that microemulsion of *A. chinensis* volatile oil could reach brain tissue through the blood-brain barrier and has good sustained release effect. **Conclusion** The volatile oil from *A. chinensis* has a sedative effect, providing a theoretical basis for the improvement of insomnia by microemulsion of *A. chinensis* volatile oil.

Key words: *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz.; volatile oil; insomnia; microemulsion; atractylodin; atractylon; β -eudesmol

失眠在中医古籍中有“不寐”“不得眠”“不得卧”“目不瞑”等论述，临床以睡眠时间不足、睡眠较浅为特征，轻者难以入眠，易被惊醒，醒后不能继续入睡，重则整夜不眠^[1]。流行病学研究显示，全球范围内患有失眠相关症状的人群约占12.1%^[2]。失眠治疗多以口服药物为主，但长期服用易引起药物残留、成瘾性等不良反应，研发不良反应小的安神类中药辅助治疗势在必行。

芳香中药是一类具有芳香气味且带有挥发性的中药^[3]，其气味芳香，辛散升浮，顺应肝木条达升发之性，可助肝气之升发与疏泄；善行脾胃，可除郁滞，散结聚，使脾气健运；可入心经，开心气，而宁心安神，改善因情志不遂所致的心神不安。因此，芳香中药治疗抑郁症具有极大的优势。近年来，中医芳香疗法方兴未艾，因操作简便、效用明显成为对传统医疗手段有力的补充。芳香类中药特有的挥发油小分子成分经鼻吸入后可直接入脑，调节自主神经系统或内分泌系统，发挥稳定情绪的功效，

对调节情志活动具有独特优势。沉香、川芎和佩兰等药材的精油吸入给药均具有镇静催眠作用，苍艾挥发油还可增强正常小鼠情绪相关的脑区活动，改善失眠抑郁动物的运动能力，有明确的安神抗抑郁作用^[4]。苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.或北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz.的干燥根茎，为临床常用化湿药，有燥湿健脾、祛风散寒、明目等功效^[5]。在现代临床应用中，平胃散等经典名方的广泛应用，苍术“燥湿之功”大著于世，而其“行气解郁安神之效”即被疏忽。历代医家早已认识到苍术有良好的行气安神解郁作用^[6]，《素问·至真要大论》言“辛甘发散为阳”，辛属阳，阳主动主升，故苍术味辛以升散^[7]。《本草纲目》称其为“仙术”，苍术气味芳香，善行而不守，故有行气安神解郁之功^[8]。现代药理学研究表明，苍术相关复方制剂具有较好的安神作用，但有关苍术挥发油安神作用及具体机制暂无相关报道，且其发挥作用的药效物质基础尚不明确。

苍术挥发油为苍术的关键活性部位群, 气味芳香、药性稳定、刺激小, 对人体无不良反应, 但挥发油稳定性较差, 常温状态下容易氧化变色, 影响疗效, 只能避光冷藏, 且难溶于水, 临床应用受到一定限制, 因此有必要构建一种提高其水溶性和稳定性的制剂。目前将苍术挥发油微胶囊化和微乳化是提高其生物利用度最常用的 2 种方法^[9]。但微胶囊技术存在操作繁琐、成本较高、产品粒径较大等问题, 而微乳是由油相、水相、表面活性剂和助表面活性剂按照一定比例自发形成的透明或半透明的低黏度且热力学稳定的分散体系, 具有粒径小且均匀、外观澄清透明、制备简单以及各项性能稳定等特点。因此将苍术挥发油制成水包油 (O/W) 型微乳, 不仅可以提高苍术挥发油的水溶性、降低其挥发性, 而且能够降低成本, 提高其深加工利用率和经济价值。而关于苍术挥发油微乳方面的研究还鲜有报道。

本研究建立苍术挥发油的气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 指纹图谱, 分析苍术挥发油的化学组成, 明确其药效物质基础; 建立对氯苯丙氨酸 (*DL*-4-chlorophenylalanine, PCPA) 诱导的小鼠失眠模型, 采用芳香疗法, 通过动物行为学和神经化学实验探究苍术挥发油的安神药效作用, 并以苍术挥发油微乳的粒径、pH、外观和稳定性为指标, 运用拟三元相图筛选出最佳的辅料和适宜的比例探讨微乳的制备工艺, 以期提高其生物利用度、增强稳定性, 旨在为利用苍术挥发油通过芳香疗法治疗和改善失眠症提供理论依据, 为苍术挥发油新剂型的开发研究提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 C57BL 雄性小鼠 60 只, 体质量 (20±2) g, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司, 许可证号 SCXK (辽) 2020-0001, 质量合格证号 210726231101118835。动物饲养于长春中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房, 室温 (24±2) °C, 相对湿度 (45±5) %, 12 h 光暗循环, 自由进食饮水, 适应性喂养 7 d 后进行实验。动物实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会批准 (批准号 2023167)。

1.2 药材

北苍术 (批号 20231908) 购自吉林省北药药材加工有限公司, 经长春中医药大学翁丽丽教授鉴定

为菊科植物北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎。

1.3 药品与试剂

戊巴比妥钠 (批号 061206) 购自北京化学试剂公司; 地西洋 (批号 H37023039) 购自山东信谊制药有限公司; PCPA (批号 C14763466)、阿拉伯胶 (批号 C15109301) 购自上海麦克林生化科技有限公司; 多聚甲醛溶液 (批号 22172503) 购自 Biosharp 公司; 谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 试剂盒、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 试剂盒、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 试剂盒、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 试剂盒、IL-6 试剂盒、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒 (批号均为 MM-0132R1) 购自江苏酶免实业有限公司; 兔源环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 多克隆抗体、兔源蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 多克隆抗体、兔源脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 多克隆抗体、兔源酪氨酸激酶受体 B (tyrosine kinase B, TrkB) 多克隆抗体、兔源环磷酸腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 多克隆抗体均购自美国 Proteintech 公司; β -actin 抗体购自美国 CST 公司; 聚山梨酯 80 (批号 090115)、聚山梨酯 60 (批号 9005-67-8) 购自上海申宇医药化工有限公司; 聚氧乙烯蓖麻油-35 (EL-35, 批号 61791-11-8) 购自德国巴斯夫公司; 聚氧乙烯蓖麻油-30 (EL-30, 批号 61791-12-6) 购自江苏省海安石油化工厂; 无水乙醇 (分析纯) 购自上海中试化工总公司; 聚乙二醇-400 (PEG400, 分析纯) 购自天津市光复精细化工研究所; 丙二醇 (分析纯)、丙三醇 (分析纯) 购自上海苏懿化学试剂有限公司; 苏丹红 (批号 85-86-9) 购自天津市新精细化工开发中心; 亚甲基蓝 (批号 7220-79-3) 购自上海中秦化学试剂有限公司; 细胞膜深红色荧光探针 (DiR, 批号 100068-60-8) 购自艾美捷科技有限公司。

1.4 仪器

动物自制气体熏香仪 (亚克力板制成的 30 cm×30 cm×20 cm 大箱结构, 其内部放置 1 个底面直径为镂空的圆柱体结构, 中间可放置香薰器); JY-YLS-1B 型自主活动仪 (北京金洋万达有限公司); FA1004B 型电子天平 (上海佑科仪器仪表有限公司); ELx-800 型酶标仪 (美国 BIOTEK 公司);

CTR16-2 型低温高速离心机(北京时代北利离心机有限公司); ZetasizerNano 激光散射粒度分析仪(英国 Malven 公司); RH-DS25 型磁力搅拌器(德国 IKA 公司); 7890-5977B 型气相色谱质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司); FX PRO 多模式活体小动物成像系统(美国锐珂医疗)。

2 方法

2.1 基于 GC-MS 分析苍术挥发油成分

采用 GC-MS 方法得到挥发油总离子流图, 对苍术成分进行分析, 同时对化学成分进行鉴定, 所得数据结果通过 NIST11 谱库匹配检索, 在结合相关文献进行人工质谱图解析确定化合物, 应用峰面积归一化法确定其相对含量。

2.1.1 北苍术挥发油的制备 将北苍术粉末按固液比 1:8 加入蒸馏水, 浸泡 1 h, 于电热套中恒温加热, 按照《中国药典》2020 年版四部 2204 通则附录(甲法)进行水蒸气蒸馏 5 h, 提取至无挥发油滴出, 静止冷却 1 h, 氯化钠脱水后即得苍术挥发油。

2.1.2 气相色谱条件 Agilent HP-5MS 型色谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm), 升温程序: 初温为 45 °C, 运行 2 min; 以 5 °C/min 升温至 280 °C, 运行 10 min; 总运行 59 min。淬灭气 He 体积流量 2.2 mL/min; 碰撞气 N₂ 体积流量 1.5 mL/min; 进样模式: 不分流; 进样口温度 250 °C; 进样量 1 μL。

2.1.3 质谱条件 离子源 EI, 电子轰击能量 70 eV; 离子源温度 230 °C; 扫描质量范围 *m/z* 40~500; 溶剂延迟时间 3 min; 溶剂切除时间 5 min; NIST-20 标准质谱图库。

2.1.4 供试品溶液的制备 取供试品 100 μL, 加醋酸乙酯 900 μL, 涡旋混匀, 即得供试品溶液。

2.2 苍术挥发油安神药效和作用机制

2.2.1 分组、造模与给药 C57BL 小鼠随机分为对照组、模型组、地西洋(1.3 mg/kg)组和苍术挥发油低、中、高剂量(23.4、46.8、93.6 mg/kg)组, 每组各 10 只。除对照组外, 其余小鼠连续 3 d ig

PCPA(300 mg/kg)诱导失眠模型。造模期间同时给药, 地西洋组 ip 地西洋 0.2 mL, 对照组和模型组 ip 等体积的 0.9%氯化钠溶液, 苍术挥发油低、中、高剂量组采用熏香吸入给药, 1 次/d, 连续给药 10 d。

2.2.2 行为学观察 实验期间观察并记录各组小鼠的精神状态、毛发光泽、睡眠以及活动情况。

2.2.3 翻正反射实验 各组小鼠 ip 戊巴比妥钠(4.5 mg/mL), 平放仰卧于平板上, 小鼠进入睡眠状态后, 观察小鼠睡眠潜伏期(ip 戊巴比妥钠后至翻正反射消失的时间)及睡眠时间(翻正反射消失至觉醒的时间)。

2.2.4 小鼠自主活动测试 末次给药 30 min 后, 对小鼠进行自主活动测试。小鼠适应环境 5 min, 计数 5 min 内小鼠活动次数, 比较各组小鼠间的差异。

2.2.5 ELISA 检测小鼠脑组织中 5-HT、Glu、GABA、TNF-α、IL-1 和 IL-6 水平 末次给药 1 h 后, 小鼠摘眼球取血, 脱颈椎处死。称取脑组织样品, 加入裂解液, 冰上静置 30 min 使其充分裂解, 于 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 按照 ELISA 说明书检测小鼠脑组织匀浆上清中 5-HT、Glu、GABA、TNF-α、IL-1、IL-6 水平。

2.2.6 小鼠脑组织苏木素-伊红(HE)染色 取各组小鼠部分脑组织, 剖开后用预冷的生理盐水冲洗, 洗去内容物, 用 4%多聚甲醛溶液固定, 石蜡包埋进行 HE 染色, 观察并选取目标区域进行拍照分析。

2.2.7 qRT-PCR 检测小鼠脑组织中 cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB mRNA 表达 取各组小鼠部分脑组织, 按照试剂盒说明书提取总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1。

2.2.8 Western blotting 检测小鼠脑组织中 cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB 蛋白的表达 取各组小鼠脑组织, 加入含磷酸酶抑制剂和 PMSF 的 RIPA 裂解液, 提取总蛋白, 按照 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品经 12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5%脱脂牛奶, 于室温封闭 2 h 后, 加入抗体, 4 °C 孵育过夜; PBST 洗

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	上游引物序列 (5'-3')	下游引物序列 (5'-3')
<i>cAMP</i>	AGGTCCTCAGCTACAAGGAAG	TCTTGAAGTCACAATCCTCTGGT
<i>PKA</i>	GGTGACAGACTTCGGTTTTGC	CAGCTTTGTTGTAGCCTTTGC
<i>BDNF</i>	TGGGGTTAGGAGAAGTCAAGC	GTCAGGTAACCACTAACACATTCCG
<i>TrkB</i>	CAACTGACATCGGGGATACTACA	CACAGAGGCAATCACCACCA
<i>CREB</i>	GCAGCAAGAGAATGTCGTAGAAA	CCAATCCAGTCCATTTTCCA
<i>β-actin</i>	TTCGTTGCCGGTCCACACCC	GCTTTGCACATGCCGGAGCC

涤 3 次,加入二抗,室温孵育 2 h。PBST 洗涤 3 次,加入 ECL 发光试剂显影,采用凝胶成像系统成像,并使用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.2.9 统计学分析 采用 SPSS 21.0 和 Graph Pad Prism 6 软件进行统计学分析和 Pearson 相关性分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验和单因素方差分析。

2.3 苍术挥发油微乳的制备及质量评价

2.3.1 微乳拟三元相图的绘制 采用滴定法制备微乳,先将表面活性剂与助表面活性剂按一定比例搅拌均匀,再将两者混合物与苍术精油分别按照 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 的质量比进行混合。在恒温磁力搅拌器搅拌下用蒸馏水滴定 3 种成分的混合物,通过观察体系的外观形态变化,直至澄清透明的微乳形成,即整个体系由浑浊变为澄清透明再到浑浊的变化点,并记录加水量,确定微乳形成的临界点。根据确定的临界点,以苍术挥发油油相(O)、去离子水水相(W)和混合表面活性剂为拟三元相图的 3 个顶点,利用 Origin 2021 软件绘制拟三元相图。

2.3.2 微乳处方的筛选

(1) 表面活性剂的选择:室温下,选择聚山梨酯 80、聚山梨酯 60、EL-35 和 EL-30 这 4 种无毒的非离子表面活性剂制备苍术挥发油微乳,分别将 4 种表面活性剂与无水乙醇按质量比 2:1 的比例混合均匀作为混合表面活性剂,在磁力搅拌下均匀缓慢地加水滴定,微乳溶液呈均一澄清透明状。绘制拟三元相图,确定最佳表面活性剂。

(2) 助表面活性剂的选择:室温下,助表面活性剂分别选取无水乙醇、PEG-400、丙二醇、丙三醇,将优选的表面活性剂分别与 4 种助表面活性剂以质量比 2:1 的比例均匀混合,绘制拟三元相图,确定最佳助表面活性剂。

(3) K_m 值的筛选:室温下,选取优选后的表面活性剂、助表面活性剂用于制备微乳。 K_m 值选取 0.5、1、2 和 3,绘制拟三元相图,确定最佳 K_m 值。

2.3.3 O/W 型苍术挥发油微乳质量评价

(1) 微乳类型测定:对制备好的苍术挥发油微乳进行染色法实验。取苍术挥发油微乳少量,分别加入等体积苏丹红、亚甲基蓝,观察染料在微乳中的扩散速度。苏丹红扩散速度快,为油包水型,反之则为水包油型。

(2) 温度稳定性测试:取苍术挥发油微乳少量,分别放入 15、25、35、45 °C 的恒温水浴锅里静置 20 min,观察其外观形态,如果外观形态无分层或浑浊现象,表示微乳稳定,反之则不稳定。

(3) 离心稳定性测试:室温下,取等量的苍术挥发油微乳分别在 1 000、2 000、3 000 和 4 000 r/min 的转速下离心 20 min,观察其外观形态。如果外观形态无分层或浑浊现象,表示微乳稳定,反之则不稳定。

(4) 微乳物理性质:室温下,分别采用多角度粒度及高灵敏度 Zeta 电位仪、PHS-3CW 酸度计测试微乳的粒径、多分散系数(polymer dispersity index, PDI)和 pH 值,均循环测定 3 次。

2.4 小动物活体成像实验研究示踪微乳的体内分布情况

按照最佳制备方法制备载 DiR 的示踪苍术微乳,以 2 mg/kg 的剂量小鼠鼻腔吸嗅给药,同时 DiR 纯精油为对照组,每组 3 只小鼠,并分别于给药后 5 min、30 min、1 h、2 h 采用小动物活体荧光成像仪对实验动物进行观察并拍照,采集图像信息,研究示踪苍术微乳在小鼠体内不同组织的分布情况。

3 结果

3.1 GC-MS 结果

GC-MS 分析苍术挥发油总离子流图见图 1。经

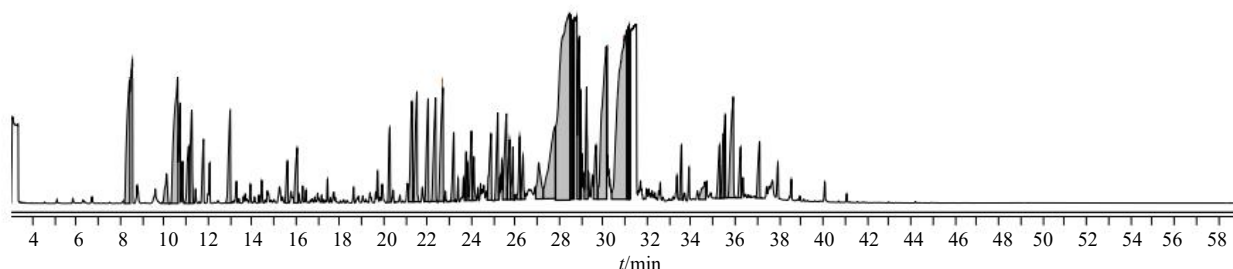


图 1 苍术挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile oil from *A. chinensis*

过 NIST11 标准数据库检索、匹配和人工解析后共鉴别出 50 个化学成分, 主要成分见表 2, 主要包括醇类、芳香烃类、烯烃类、酯类和酮类等。

3.2 动物实验结果

3.2.1 各组小鼠一般状态观察 各组小鼠造模前活动正常、毛发光泽、精神状态良好, 体质量升高。

持续造模 7 d 后, 小鼠出现昼夜不分、饮水量减少、毛发干枯稍有凌乱且晦暗无光泽、竖毛、形体消瘦、性情烦躁、易激怒、好斗等, 表明失眠模型制备成功。给予地西洋或苍术挥发油治疗 20 d 后, 小鼠体质量显著升高 ($P<0.05$, 表 3), 饮水量逐渐恢复正常, 毛发恢复光泽。

表 2 苍术挥发油中的主要成分
Table 2 Main constituents of volatile oil from *A. chinensis*

序号	tr/min	化合物	分子式	相对质量分数/%
1	8.42	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	4.28
2	10.62	α -水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	4.47
3	13.01	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	2.64
4	20.28	modephene	C ₁₅ H ₂₄	2.92
5	22.69	berkheyaradulene	C ₁₅ H ₂₄	3.77
6	23.40	β -石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	2.68
7	24.11	cyperene	C ₁₅ H ₂₄	2.19
8	25.19	4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	C ₁₅ H ₂₅	2.99
9	28.45	β -桉叶醇	C ₁₅ H ₂₄ O	27.84
10	28.50	β -桉叶烯	C ₁₅ H ₂₄	2.44
11	28.61	β -倍半萜烯	C ₁₅ H ₂₄	2.08
12	28.66	(4aR,8aS)-4a-甲基-1-亚甲基-7-(丙烷-2-亚烷基)十氢萘	C ₁₅ H ₂₄	3.67
13	28.95	大根香叶烯	C ₁₅ H ₂₅	3.29
14	28.97	epi- γ -桉叶油醇	C ₁₅ H ₂₆ O	2.18
15	29.24	茅术醇	C ₁₅ H ₂₆ O	19.82
16	30.13	2,3-二氢-1H-苯丙氨酸-1-酮	C ₁₃ H ₁₀ O	11.58
17	30.58	苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	2.24
18	33.59	4-苯乙烯基吡嗪	C ₁₂ H ₁₀ N ₂	2.65
19	34.29	2(3H)-萘酮,4,4a,5,6,7,8-六氢-4a,5-二甲基-3-(1-甲基亚乙基)-(4aR-顺式)	C ₁₅ H ₂₂ O	2.80
20	35.91	3,5,8a-三甲基-4,4a,8a,9-四氢萘并[2,3-b]呋喃	C ₁₅ H ₁₈ O	2.58

表 3 苍术挥发油对失眠模型小鼠体质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 3 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on body weight of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g			
		第0天	第7天	第10天	第20天
对照	—	20.16±0.23	20.75±0.57	22.13±0.54	24.10±0.81
模型	—	20.57±0.13	20.49±0.40	19.55±1.21 [#]	20.77±0.67 [#]
地西洋	1.3	19.12±0.09	20.72±0.47	21.61±0.71	23.01±1.35 [*]
苍术挥发油	23.4	20.01±0.31	20.61±0.57	20.60±0.64	23.25±1.50 [*]
	46.8	19.57±0.11	20.67±0.68	21.01±0.51	22.94±1.21 [*]
	93.6	20.84±0.12	21.25±1.00	20.38±0.61	23.23±0.81 [*]

与对照组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$, 下表同。
[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group, same as below tables.

3.2.2 苍术挥发油对失眠模型小鼠睡眠的影响 如表 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠睡眠时间显著缩短 ($P<0.05$), 睡眠潜伏期显著延长 ($P<0.01$), 表明小鼠出现失眠症状, 失眠模型制备成功; 与模型组比较, 地西洋组和苍术挥发油中、高剂量组小鼠睡眠潜伏期均显著缩短 ($P<0.01$), 睡眠时间显著延长 ($P<0.05, 0.01$)。

3.2.3 苍术挥发油对失眠模型小鼠自主活动的影

响 如表 5 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠自主活动次数显著增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 地西洋组和苍术挥发油中、高剂量组小鼠自主活动次数显著减少 ($P<0.01$)。

3.2.4 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织病理变化的影响 如图 2 所示, 对照组小鼠脑组织结构基本正常, 细胞排列整齐, 染色清晰均匀, 无明显凋亡及坏死。模型组小鼠脑组织损伤较为明显, 细胞

表 4 苍术挥发油对失眠模型小鼠睡眠潜伏期和睡眠时间的影 响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on sleep latency and sleep duration of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	睡眠潜伏期/min	睡眠时间/min
对照	—	3.74±0.17	36.07±5.33
模型	—	6.07±0.23 ^{##}	14.37±4.27 [#]
地西洋	1.3	4.00±0.49 ^{**}	50.14±12.20 ^{**}
苍术挥发油	23.4	5.54±0.20	24.39±5.74
	46.8	5.01±0.41 ^{**}	33.66±7.39 [*]
	93.6	4.17±0.18 ^{**}	46.69±10.13 ^{**}

表 5 苍术挥发油对失眠模型小鼠自主活动次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on number of independent activities of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	自主活动次数
对照	—	144.55±8.35
模型	—	200.85±19.62 ^{##}
地西洋	1.3	150.20±18.06 ^{**}
苍术挥发油	23.4	192.50±13.24
	46.8	182.55±16.28 ^{**}
	93.6	161.65±16.26 ^{**}

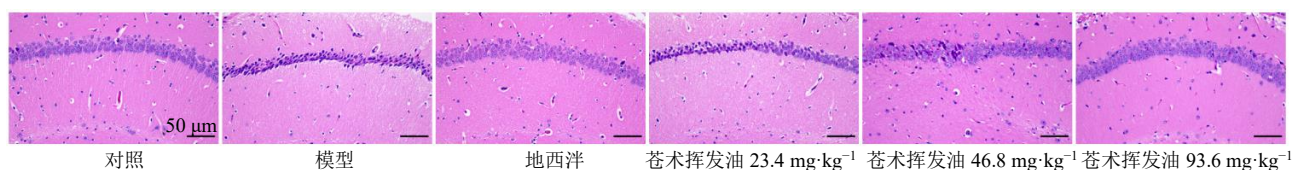


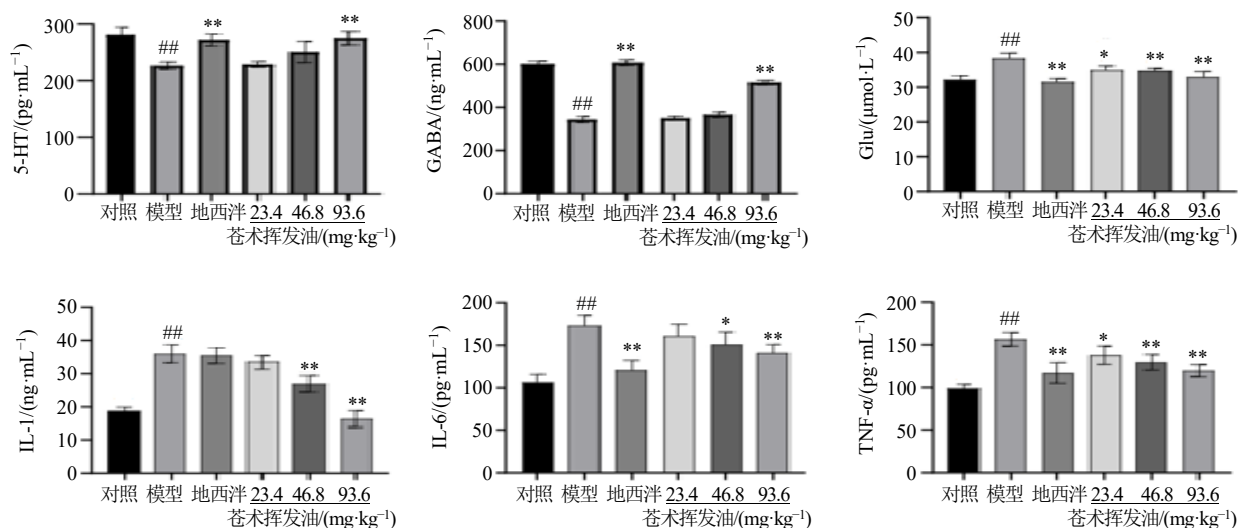
图 2 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织病理变化的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on pathological changes in brain tissue of insomnia model mice (HE, × 200)

排列松散、紊乱，染色模糊不均，细胞间隙增大。与模型组比较，苍术挥发油各剂量组脑组织损伤均有所减轻，细胞排列较整齐；地西洋组小鼠脑组织有轻度损伤，细胞排列较苍术挥发油组略显紊乱。

3.2.5 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 5-HT、Glu、GABA、TNF-α、IL-1 和 IL-6 水平的影响 如图 3 所示，与对照组比较，模型组小鼠脑组织中 5-HT 和 GABA 水平显著降低 ($P < 0.01$)，Glu、IL-

1、IL-6 和 TNF-α 水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，地西洋组和苍术挥发油高剂量组 5-HT 和 GABA 水平显著升高 ($P < 0.01$)，各给药组 Glu 和 TNF-α 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，苍术挥发油中、高剂量组 IL-1 水平显著降低 ($P < 0.01$)，地西洋组和苍术挥发油中、高剂量组 IL-6 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，表明苍术挥发油对影响睡眠的主要神经递质具有调控作用。



与对照组比较：[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ，下图同。

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below figures.

图 3 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 5-HT、Glu、GABA、TNF-α、IL-1 和 IL-6 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 3 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on levels of 5-HT, Glu, GABA, TNF-α, IL-1 and IL-6 in brain tissue of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2.6 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 *cAMP*、*PKA*、*CREB*、*BDNF* 和 *TrkB* mRNA 表达的影响 如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠脑组织中 *cAMP*、*PKA*、*CREB*、*BDNF* 和 *TrkB* mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 各

给药组 *cAMP* mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 地西洋组和苍术挥发油中、高剂量组 *PKA* 和 *TrkB* mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 地西洋组和苍术挥发油高剂量组 *CREB* 和 *BDNF* mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。

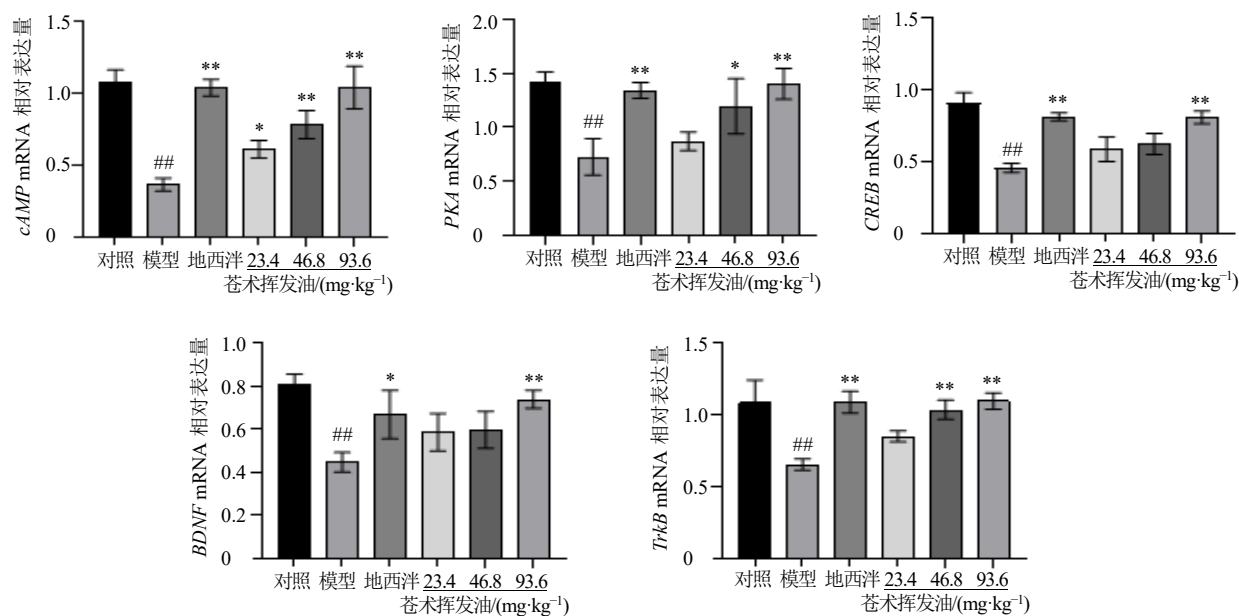


图 4 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 *cAMP*、*PKA*、*CREB*、*BDNF* 和 *TrkB* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 4 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on mRNA expressions of *cAMP*, *PKA*, *CREB*, *BDNF* and *TrkB* in brain tissue of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.2.7 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 *cAMP*、*PKA*、*CREB*、*BDNF* 和 *TrkB* 蛋白表达的影响 如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠脑组织中 *cAMP*、*PKA*、*CREB*、*BDNF* 和 *TrkB* 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 各给药组 *cAMP* 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$), 地西洋组和苍术挥发油高剂量组 *PKA* 和 *BDNF* 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$), 地西洋组和苍术挥发油中、高剂量组 *CREB* 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 苍术挥发油中、高剂量组 *TrkB* 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.01$)。

3.3 苍术挥发油微乳的制备

3.3.1 苍术挥发油微乳的制备条件

(1) 表面活性剂的影响: 以苍术挥发油为油相, 去离子水为水相, 无水乙醇为助表面活性剂, K_m 值为 2, 分别考察了 4 种不同的表面活性剂对微乳体系形成的影响, 绘制的拟三元相图见图 6。结果表明, 在这 4 种表面活性剂中, 当以聚山梨酯 80 为表面活性剂时所形成的微乳区域面积最大, 所以选

择聚山梨酯 80 为最佳表面活性剂。

(2) 助表面活性剂的影响: 以苍术挥发油为油相, 去离子水为水相, 聚山梨酯 80 为表面活性剂, K_m 值为 2, 比较 4 种不同助表面活性剂制备微乳的情况, 拟三元相图见图 7, 4 种助表面活性剂形成的微乳面积由大到小的排序为无水乙醇>丙二醇>丙三醇>聚乙二醇, 因此, 无水乙醇是制备苍术挥发油微乳最优的助表面活性剂。

(3) K_m 值的影响: 以苍术挥发油为油相, 去离子水为水相, 聚山梨酯 80 为表面活性剂, 无水乙醇为助表面活性剂, 绘制 4 种不同 K_m 值的拟三元相图见图 8。 K_m 值为 0.5~3.0 时, 形成微乳的面积随着 K_m 值的增大而增大。此外, 虽然 $K_m=3$ 比 $K_m=2$ 形成的微乳区面积略大, 但当 K_m 值为 3 时, 在形成微乳过程中会产生较多的凝胶相, 黏度过高, 而且表面活性剂越多, 对人体产生的刺激越大, 也更加容易产生泡沫, 不利于后期产品的运输。因此, 选取 K_m 值为 2 作为制备苍术挥发油微乳最优的 K_m 值。

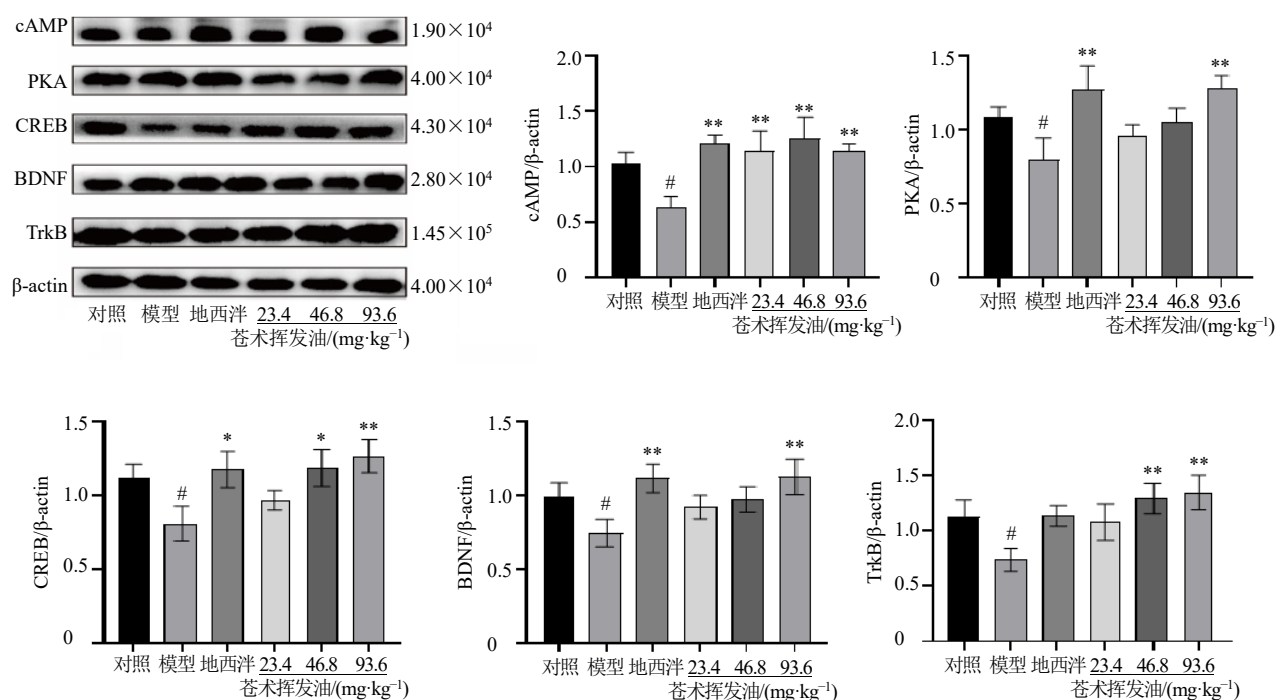


图 5 苍术挥发油对失眠模型小鼠脑组织中 cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 5 Effect of volatile oil from *A. chinensis* on protein expressions of cAMP, PKA, CREB, BDNF and TrkB in brain tissue of insomnia model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

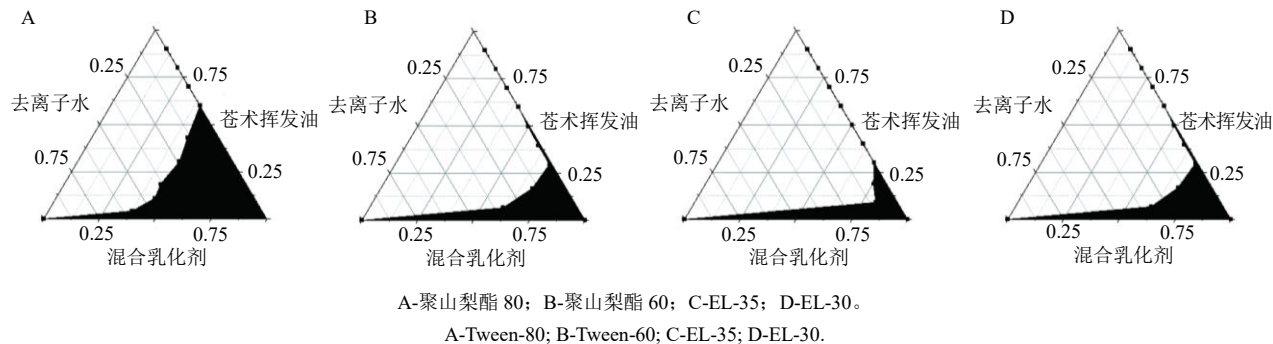


图 6 不同表面活性剂形成的拟三元相图
Fig. 6 Quasi-ternary phase diagram formed with different surfactants

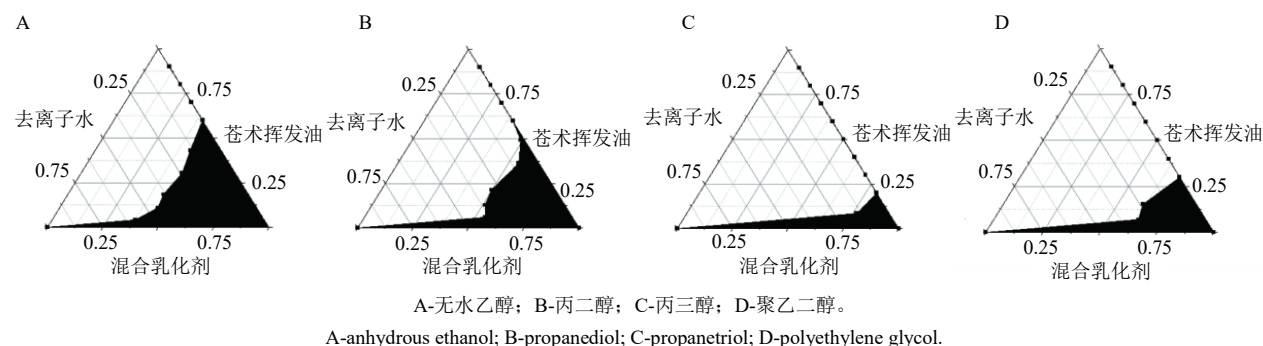
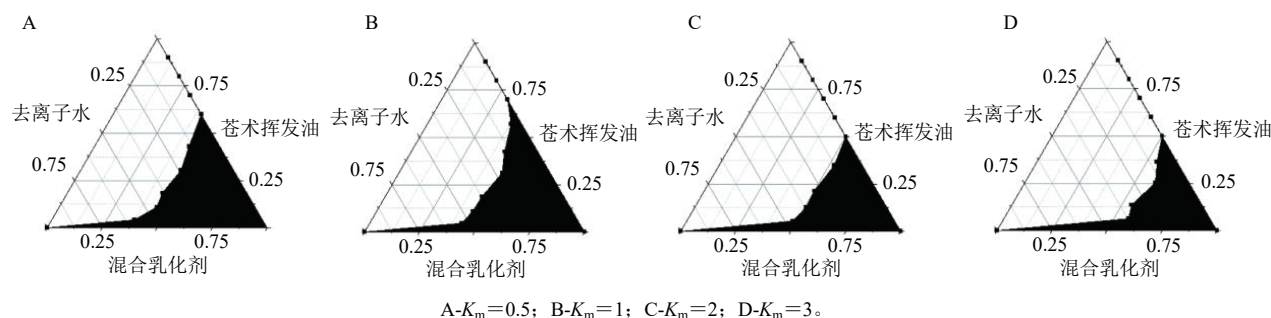


图 7 不同助表面活性剂形成的拟三元相图
Fig. 7 Quasi-ternary phase diagram formed with different cosurfactants

图 8 不同 K_m 值形成的拟三元相图Fig. 8 Quasi-ternary phase diagram formed with different K_m value

3.3.2 微乳质量评价

(1) 外观性状：对苍术挥发油微乳进行外观观察，根据处方制得的苍术挥发油微乳呈黄色，外观均一、透明、澄清，具有良好的流动性。

(2) 微乳类型鉴别：通过用苏丹红和亚甲蓝染色观察，蓝色在体系中的扩散速度明显快于红色，说明该方法制备的微乳为 O/W 型。

(3) 温度稳定性测试：结果显示，在 5、15、25、35、45 °C 静置 20 min，微乳体系仍然澄清透明无分层或浑浊现象，表明微乳具有良好的温度稳定性。

(4) 离心稳定性测试：结果显示，在 1 000、2 000、3 000 和 4 000 r/min 离心 20 min，微乳体系仍然澄清透明、不分层、无沉淀，未出现分层、破乳现象，表明微乳具有良好的离心稳定性。

(5) 物理性质：结果显示，苍术挥发油微乳的粒径为 (159.00 ± 4.53) nm (图 9)，PDI 值为 0.451 ± 0.012 ，pH 值为 6.74 ± 0.02 。

3.4 示踪苍术挥发油微乳在小鼠体内的分布情况

小鼠体内的荧光分布如图 10 所示，鼻腔给药 5 min，荧光由鼻腔快速向脑扩散；给药 30 min，脑部荧光强度增加；给药 1 h 后，脑内荧光强度及面

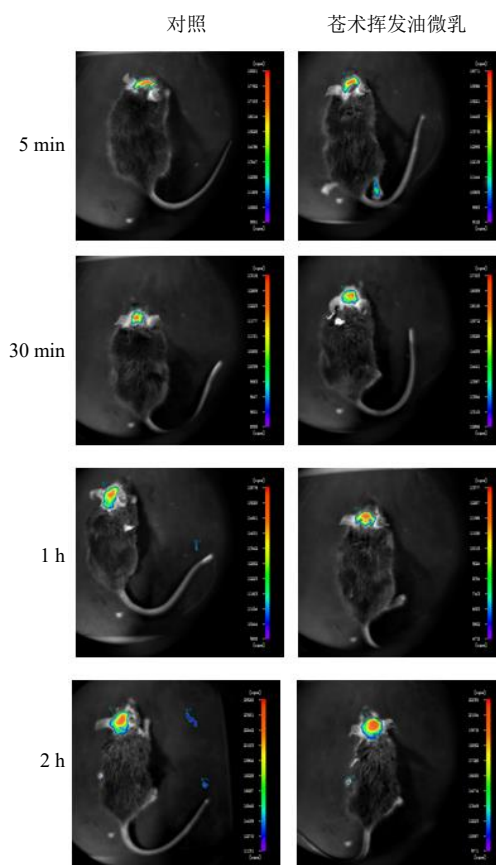


图 10 示踪苍术微乳在小鼠体内的动态分布

Fig. 10 Dynamic distribution of microemulsion of *A. chinensis* volatile oil in mice

积进一步增加，随时间延长，脑内荧光强度逐渐增加，且苍术挥发油微乳组荧光强度高于对照组，表明苍术挥发油可以透过血脑屏障到达脑部，具有脑靶向性，且具有缓释作用，增加药物在脑组织中的分布。

4 讨论

失眠是当今社会常见的一种由于中枢神经兴奋/抑制功能失衡导致的疾病，长期失眠会对大脑神经造成损伤，破坏血脑屏障，损伤大脑功能，导致

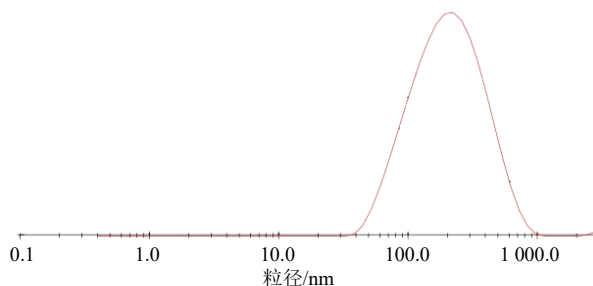


图 9 苍术挥发油微乳的粒径分布

Fig. 9 Particle size distribution of microemulsion of *A. chinensis* volatile oil

患者注意力不集中,记忆力减退,生活质量下降,且增加患阿尔茨海默病和冠心病的风险^[10-11]。中医认为不寐的病机是枢机不利,阴阳失调。现代研究发现,睡眠-觉醒机制依赖于中枢神经系统特殊结构和相关神经递质的调节,神经递质在睡眠-觉醒机制中起着重要的作用。神经递质微量的变化都可能对睡眠产生重大的影响^[12]。失眠与神经递质稳态失衡有紧密的联系,现有的镇静药物大多依靠调节神经递质的释放来治疗失眠^[13],但是长期服用化学药会给患者带来一定的不良反应^[14]。中药是一种不良反应小、毒性低的合理治疗选择。研究显示,中药提取物可以通过调节神经递质稳态来改善失眠^[15]。天然的植物用药成为大家关注的焦点。

苍术为临床常用大宗药材,在历代本草中使用广泛,是祛湿药之佳品,具有燥湿健脾、祛风散寒、明目的功效,也具有镇静催眠作用。本研究对苍术挥发油中化学成分进行分析,明确了苍术的主要活性成分为苍术素、苍术酮和 β -桉叶醇等挥发油成分^[16]。苍术及其活性成分 β -桉叶醇具有镇静、镇痛、抗电休克癫痫样惊厥和抗抑郁等中枢神经药理作用^[17]。李育浩等^[18]研究发现,ig 茅苍术或北苍术的苯提取物(200 mg/kg)能明显抑制小鼠的自发活动。

近年来,将传统中药与现代药物新剂型、新技术相结合已成为中医药发展的热点问题。微乳是目前与传统中药结合较为广泛的一种新型制剂,可以增加人体对药物有效成分的吸收作用,是传统中药发展的一条新路径。根据苍术挥发油成分易挥发的理化性质,开发成微乳制剂,改善苍术挥发油的生物利用度。本研究结合拟三元相图,筛选苍术挥发油微乳最佳处方工艺为表面活性剂为聚山梨酯 80,助表面活性剂为无水乙醇, $K_m=2$ 。

脑内神经递质分为生物原胺类、氨基酸类、肽类和其他类^[19]。肾上腺素、5-HT 属于生物原胺类,肾上腺素由脑中蓝斑产生,中蓝斑-肾上腺素系统在不同层次的睡眠-觉醒机制中起着重要的作用,且肾上腺素水平在清醒时较高,在安静时最低^[20],是一种重要的促清醒物质。5-HT 是引发非快速眼动睡眠的重要神经递质,两者之间起着相反的作用,肾上腺素升高、5-HT 降低均可引起失眠。此外,肾上腺素、5-HT 可以作用于细胞膜上的受体蛋白,是信号传导的第一信使,根据其含量变化情况可以进一步激活 cAMP, cAMP 可以通过激活 PKA 蛋白从而

介导下游的众多条信号通路^[21]。在中枢神经系统中, cAMP/PKA 介导的信号通路参与学习记忆、昼夜节律和睡眠调控等多种生理功能,其机制可能与调控突触可塑性、细胞动力学、转录调节有关^[22],而研究表明, CREB/BDNF 通路激活后,可以对皮质醇诱导的海马神经元损伤发挥一定的保护作用,改善失眠情况^[23], BDNF 与 TrkB 的结合又可以激活 CREB 促使神经元生长以及分化,减轻失眠症状^[24]。研究证实,失眠后脑内 PKA、CREB、BDNE 的表达被抑制,而安神治疗可以激活 cAMP、PKA、CREB、BDNF 的活性^[25],表明 cAMP/PKA/CREB/BDNF 信号通路与失眠症关系密切。

本研究采用 PCPA 小鼠失眠模型来探究苍术挥发油的安神作用和机制。结果显示,苍术挥发油能增加模型小鼠体质量,减少小鼠的自主活动次数,表明其对模型的运动能力降低有改善作用;苍术挥发油可缩短小鼠睡眠潜伏期、延长小鼠睡眠时间,表明苍术挥发油能改善模型小鼠的睡眠时间。同时苍术挥发油可通过 cAMP/PKA/CREB 信号通路显著降低脑组织中 Glu、IL-1、IL-6 和 TNF- α 的水平,增加 5-HT、GABA、cAMP、PKA、CREB、BDNF 和 TrkB 的表达,改善相关细胞因子的分泌,增强对脑组织的保护作用,改善小鼠的失眠状况。

综上,本研究探究了苍术挥发油治疗失眠的作用及其可能机制并制备成一种新型制剂,为苍术挥发油用于失眠的症状提供理论依据,也为苍术挥发油新剂型的开发提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Soldatos C R, Allaert F A, Ohta T, *et al.* How do individuals sleep around the world? Results from a single-day survey in ten countries [J]. *Sleep Med*, 2005, 6(1): 5-13.
- [2] 吴佳豪. 基于古代文献不寐的研究 [D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2021.
- [3] 郑景元, 隋华, 马梦雨, 等. 中医芳香疗法治疗失眠的研究进展 [J]. *中国民间疗法*, 2023, 31(2): 121-125.
- [4] 周露露, 胡静, 王金陵, 等. 精油香薰法的助眠作用及机制研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2025, 37(3): 566-575.
- [5] 严世豪, 黎红, 赵蓓蓓, 等. 苍术中有效成分抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(11): 3916-3926.
- [6] 余宜平. 苍术方药的研究及苍术在慢性胃炎伴抑郁焦虑状态的应用 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2017.

- [7] 清·张志聪著,王宏利,吕凌校注.黄帝内经素问集注[M].北京:中国医药科技出版社,2014:307.
- [8] 张帅.基于引经报使理论的《本草纲目》中24味引经药特点研究[D].保定:河北大学,2024.
- [9] Choi K O, Choi S J, Lee S Y. Characterization of phase and diffusion behaviors of oil, surfactant, and co-surfactant ternary systems for lipid-based delivery carriers [J]. *Food Chem*, 2021, 359: 129875.
- [10] 刘俊昌,张雪枫,张星平,等.穴位埋线对失眠大鼠认知功能及5-HT、DA、GABA水平的影响[J].新疆医科大学学报,2024,47(9):1301-1306.
- [11] 王红光,栗彩红,李真.归脾丸联合唑吡坦治疗心脾两虚型失眠症的临床研究[J].现代药物与临床,2025,40(2):364-368.
- [12] 包宇辰,付琴文,王超,等.基于UPLC-Q-Orbitrap HRMS和网络药理学及分子对接分析助眠汤治疗失眠的潜在机制[J].中药与临床,2024,15(4):49-61.
- [13] 范宜仙.耳针联合中药穴位贴敷治疗失眠症临床观察[J].实用中医药杂志,2024,40(9):1860-1862.
- [14] 王志丹,陈少玫.失眠症中西医治疗的研究进展[J].中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(3):355-356.
- [15] 李莹,刘子嘉,汤梦珍,等.中医药调节失眠伴焦虑神经递质分泌的研究进展[J].天津中医药大学学报,2023,42(4):515-520.
- [16] 姜宇珺.四种苍术和白术差异性研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2020.
- [17] 张明发,沈雅琴.苍术及其活性成分 β -桉叶醇的神经药理作用的研究进展[J].抗感染药学,2017,14(1):6-11.
- [18] 李育浩,山原修二.苍术的胃肠促进作用及其活性成分[J].中药新药与临床药理,1991,2(1):27-29.
- [19] 梁薇,陈忠.家禽卵巢主要神经递质分布及其功能的研究进展[J].中国家禽,2016,38(20):41-46.
- [20] 赵佳丽,汤永红,夏凤娟.神经递质对原发性失眠的作用研究进展[J].中国临床神经科学,2024,32(2):194-198.
- [21] 吴成挺,张青萍,吴鹏,等.基于信号通路探讨中医药治疗失眠的研究进展[J].中医药临床杂志,2023,35(7):1424-1429.
- [22] 徐方宁,刘清珍,张利东.脑源性神经营养因子与抑郁治疗相关性的研究进展[J].医学研究与战创伤救治,2024,37(2):219-224.
- [23] 许晓丽.半夏秫米汤通过调节GLU/GABA递质失衡及5-HT/cAMP/PKA信号通路改善失眠的机制研究[D].福州:福建中医药大学,2022.
- [24] 肖敏,李芃菲,马雪娇,等.针刺调控ERK信号通路治疗抑郁症的研究进展[J].针刺研究,2024,49(5):519-525.
- [25] 乔明亮,梁硕,孟毅,等.柴胡皂苷A调节cAMP/PKA/CREB信号通路对失眠大鼠的改善作用及机制研究[J].中药新药与临床药理,2024,35(5):633-638.

[责任编辑 李亚楠]