

## 安神定志丸制备工艺优化及药效学研究

詹婷<sup>1,2,3,4</sup>, 张晓倩<sup>1,2,3,4</sup>, 邢承洁<sup>1,2,3,4</sup>, 高裕<sup>1,2,3,4</sup>, 谢鹏飞<sup>1,2,3,4</sup>, 张金薛<sup>1,2,3,4</sup>, 曾韩睿<sup>1,2,3,4</sup>,  
滕帆<sup>1,2,3,4\*</sup>, 张彩云<sup>1,2,3,4\*</sup>

1. 安徽中医药大学药学院, 新安医学与中医药现代化研究所, 安徽 合肥 230012
2. 药物制剂技术与应用安徽省重点实验室, 安徽省教育厅现代药物制剂工程技术研究中心, 安徽 合肥 230012
3. 安徽省道地中药材品质提升创新协同中心, 安徽省中医药科学院药物制剂研究所, 安徽 合肥 230012
4. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012

**摘要:** 目的 优化安神定志丸 (Anshen Dingzhi Pills, ADP) 的制备工艺参数, 并探究其对睡眠剥夺模型大鼠认知障碍的药效作用。方法 以蜂蜜与药粉比例、干燥时间、干燥温度进行单因素考察, 以外观性状、溶散时限及 6 个指标性成分 (远志呋喃 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、 $\beta$ -细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸) 作为综合评价指标, 运用 AHP-熵权法 (entropy weight method) 结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优选 ADP 最佳制备工艺参数。同时, 采用改良多平台水环境法诱导睡眠剥夺大鼠模型, 系统评价 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠运动与学习记忆能力、海马组织病理、血清中炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 和 IL-6 及脑组织中氧化应激指标超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 和丙二醛水平的影响。结果 ADP 最佳制备工艺参数为蜂蜜与药粉比例 0.316:1, 干燥时间 14.0 h, 干燥温度 50 °C。药效研究表明, 制备的 ADP 显著缩短了睡眠剥夺大鼠的逃避潜伏期, 增加了穿越平台的次数、目标象限活动时间和新物体识别指数; 显著减轻了模型大鼠脑组织海马 CA1 区神经元细胞结构损伤; 降低了血清中炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6) 水平, 有效调节了脑组织中氧化应激 (SOD、GSH 和丙二醛) 表达水平。结论 优化所得的 ADP 制备工艺稳定且质量均一, 能够显著改善睡眠剥夺大鼠的认知功能和海马神经细胞形态, 降低炎症因子水平, 减轻氧化应激损伤, 也可为 ADP 的制剂开发和临床应用提供了科学参考依据。

**关键词:** 安神定志丸; AHP-熵权法; Box-Behnken 设计-响应面法; 睡眠剥夺; 认知障碍; 神经保护; 远志呋喃 III; 3,6'-二芥子酰基蔗糖; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>;  $\beta$ -细辛醚; 去氢土莫酸; 茯苓酸; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-1 $\beta$ ; 白细胞介素-6; 超氧化物歧化酶; 还原型谷胱甘肽; 丙二醛

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)03-0871-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.03.008

## Optimization of preparation process and pharmacodynamics research of Anshen Dingzhi Pills

ZHAN Ting<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Xiaolian<sup>1,2,3,4</sup>, XING Chengjie<sup>1,2,3,4</sup>, GAO Yu<sup>1,2,3,4</sup>, XIE Pengfei<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Jinxue<sup>1,2,3,4</sup>, ZENG Hanrui<sup>1,2,3,4</sup>, TENG Fan<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Caiyun<sup>1,2,3,4</sup>

1. Center for Xin'an Medicine and Modernization of Traditional Chinese Medicine, School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China
2. Anhui Province Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation Technology and Application, Engineering Technology Research Center of Modernized Pharmaceutics, Anhui Education Department (AUCM), Hefei 230012, China
3. Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials Quality Improvement Innovation Collaborative Center, Institute of Pharmaceutics, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China
4. Anhui Key Laboratory of Compound Chinese Materia Medica, Hefei 230012, China

收稿日期: 2025-09-24

基金项目: 合肥综合性国家科学中心大健康研究院新安医学与中医药现代化研究所“揭榜挂帅”项目 (2023CXMMTCM014); 安徽省自然科学基金项目 (2408085MH229); 安徽省科技重大专项项目 (202203a07020031)

作者简介: 詹婷, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂。E-mail: zhanjing0812@163.com

\*通信作者: 张彩云, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药制剂及药代动力学研究。E-mail: cyzhang6@ustc.edu.cn

滕帆, 博士, 研究员, 硕士生导师, 从事药物化学研究。E-mail: teng\_fan@ahcm.edu.cn

**Abstract: Objective** To optimize the preparation process parameters of Anshen Dingzhi Pills (ADP, 安神定志丸) and explore its efficacy in alleviating cognitive impairment in sleep deprived model rats. **Methods** Single factor experiments were conducted on the ratio of powder to honey, drying time and drying temperature. The appearance characteristics, disintegration time limit and six index components (polygalaxanthone III, 3,6'-disinapoylsucrose, ginsenoside Rb<sub>1</sub>,  $\beta$ -asarone, dehydrotumulosic acid and pachymic acid) were used as comprehensive evaluation indexes. The AHP-entropy weight method combined with the Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM) were used to optimize the best process parameters for the preparation of ADP. The improved multi-platform water environment method was used to induce a rat model of sleep deprivation. The efficacy of ADP on sleep deprivation rats with cognitive impairment was evaluated by motor function, learning and memory performance, hippocampal histopathological changes, serum levels of inflammatory cytokines, including tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and IL-6 and oxidative stress markers in brain tissue, such as superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA). **Results** The optimal preparation process parameters for ADP was determined as follows, the ratio of honey to medicinal powder of 0.316:1, drying time of 14.0 h and drying temperature of 50 °C. Pharmacological evaluation demonstrated that the prepared ADP significantly reduced escape latency in sleep deprived rats, increased the number of platform crossings, time spent in the target quadrant, and novel object recognition index. Additionally, it markedly alleviated neuronal structural damage in the hippocampal CA1 region, decreased serum levels of inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6) and effectively regulated the expression levels of oxidative stress (SOD, GSH and MDA) in brain tissue. **Conclusion** The optimized ADP preparation process is stable and has consistent quality, which can significantly improve the cognitive function and hippocampal nerve cell morphology of sleep-deprived rats, reduce the levels of inflammatory factors, alleviate oxidative stress damage, and also provide a scientific reference basis for the development of ADP preparations and clinical applications.

**Key words:** Anshen Dingzhi Pills; AHP-entropy weight method; Box-Behnken design-response surface methodology; sleep deprivation; cognitive impairment; neuroprotection; polygalaxanthone III; 3,6'-disinapoylsucrose; ginsenoside Rb<sub>1</sub>;  $\beta$ -asarone; dehydrotumulosic acid; pachymic acid; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-6; superoxide dismutase; reduced glutathione; malondialdehyde

失眠症是一种常见的睡眠障碍疾病,其典型的临床表现为入睡困难、持续睡眠时间过短以及早醒等<sup>[1]</sup>。流行病学调查显示,随着社会快速发展,全球失眠症的患病率逐渐呈上升趋势,对患者的工作效率和生活质量造成了严重的负面影响,并且逐渐成为社会沉重的健康负担<sup>[2]</sup>。长期失眠可诱发海马神经元损伤、前额叶皮层代谢异常等中枢神经系统改变,临床表现为认知功能受损、注意力下降及记忆减退等症状,持续失眠还可能增加情绪调节障碍和抑郁症等疾病风险<sup>[3-5]</sup>。目前,西医治疗以苯二氮草类(如艾司唑仑)、咪唑吡啶类(如吡唑坦)等镇静催眠药物为主,但连续使用易产生日间残留效应、记忆损害等不良反应,且停药后复发率较高<sup>[6]</sup>,其依赖性和戒断反应是制约其长期应用的主要瓶颈。与之形成对比的是,中医药通过多成分、多靶点、多通路的整体调节机制治疗失眠,具有不良反应小、依赖性低等优势,展现出安全有效、标本兼治的有效方案<sup>[7]</sup>。

安神定志丸(Anshen Dingzhi Pills, ADP)是中医临床治疗失眠的经典方剂,该方出自清代程国彭所载《医学心悟》(卷四·不得卧),由茯苓、茯神、人参、远志、石菖蒲、龙齿、朱砂组成,具有安神

定志、益气镇惊等功效<sup>[8]</sup>。临床研究证实 ADP 治疗失眠疗效确切,安全性高,不良反应少<sup>[9-13]</sup>,同时对焦虑、抑郁等也具有良好的临床疗效<sup>[14-15]</sup>。

中药丸剂作为一种传统的制剂形式,具有服用方便、药效稳定且持久的优点,同时便于携带和储存,具有较高的实用和研究价值<sup>[16]</sup>。故本研究在单因素考察基础上,以外观性状、溶散时限和 6 个指标性成分(远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、 $\beta$ -细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸)为综合评分指标,采用层次分析法(analytic hierarchy process, AHP)-熵权法结合 Box-Behnken 设计-响应面法(Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM)对 ADP 制备工艺进行优化。通过行为学测试、海马 CA1 区神经元病理学变化及酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测炎症因子水平和氧化应激表达,验证优化工艺制备的 ADP 对睡眠剥夺大鼠所致认知障碍的改善作用。

本研究旨在优化 ADP 的制备工艺,为临床失眠治疗提供一种质量稳定、疗效确切的 ADP 丸剂,并结合初步药效学研究,为 ADP 该制剂的后续开发与临床应用提供科学实验依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

MS105DU/A 型十万分之一天平, 美国梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; Ultimate 3000 型高效液相色谱仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; Milli-Q-advantage A10 型超纯水仪, 美国密理博公司; KS-250TDE 型高频液晶超声波清洗器, 昆山洁力美超声仪器有限公司; HH-8 型水浴锅, 上海叶拓科技有限公司; Spectra Max i3X 型多功能酶标仪, 美谷分子仪器(上海)有限公司; 9030MBE 型数显鼓风干燥箱, 上海叶拓科技有限公司; ZW-20C 型制丸抛光一体机, 湖北永安鑫科技有限公司。

### 1.2 试药、药材与试剂

对照品远志呋酮 III (批号 111850-202207, 质量分数 95.8%)、3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号 111848-202307, 质量分数 96.7%)、 $\beta$ -细辛醚(批号 112018-201802, 质量分数 99.3%)、人参皂苷  $Rb_1$  (批号 110704-202331, 质量分数 93.8%) 均购于中国食品药品检定研究院; 对照品茯苓酸(批号 PS011922, 质量分数 99.7%)、去氢土莫酸(批号 PS011917, 质量分数 99.7%) 均购自曼斯特(成都)生物科技有限公司; 正丁醇, 分析纯, 无锡市展望化工试剂有限公司; 乙腈和甲醇均为色谱纯, 瑞典 Oceanpak 公司; 水为自制超纯水。

ADP 配方中茯苓(批号 FLYP202401, 产地安徽省六安市金寨县)为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核、茯神(批号 FSYP202402, 产地安徽省安庆市岳西县)为多孔菌科茯苓属真菌茯苓菌核中间天然抱有松根的白色部分、人参(批号 RSYP202401, 产地吉林省白山市抚松县)为五加科人参属植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎、远志(批号 YZYP202403, 产地山西省运城市新绛县)为远志科远志属植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根、石菖蒲(批号 SCPYP202404, 产地江西省吉安市永丰县)为天南星科菖蒲属植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott. 的干燥根茎、龙齿(批号 LCYP202404, 产地宁夏回族自治区银川市)为古代哺乳动物如象类、犀类、鹿类、三趾马等牙齿的化石、蜂蜜(批号 FM2024001, 产地安徽省滁州市凤阳县)为蜜蜂科蜜蜂属昆虫东方蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 所酿的蜜、朱砂(*Cinnabaris*, 批号 ZS202401, 产地湖南省怀化市辰溪县)为硫化物类

矿物辰砂族辰砂, 主含硫化汞( $HgS$ ), 均购自安徽敬道药业有限公司, 经安徽中医药大学药学院俞年军教授鉴定, 以上茯苓、人参、远志、石菖蒲、朱砂、蜂蜜药材及饮片按照《中国药典》2025 年版(一部)、茯神饮片按照《湖北省中药材质量标准》2018 版和龙齿饮片按照《天津市中药饮片炮制规范》2018 版的要求项检测, 均符合规定。

褪黑素, 批号 S20287, 购自上海源叶生物科技有限公司; 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 试剂盒(批号 202407)、白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) 试剂盒(批号 202403)、IL-6 试剂盒(批号 202403) 购自上海纪宁实业有限公司; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测定试剂盒(批号 20240724)、丙二醛检测试剂盒(批号 20240718)、还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)测定试剂盒(批号 20240718) 购自南京建成生物工程研究所有限公司。

### 1.3 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只, 8~9 周龄, 体质量 180~220 g, 购自江苏华创信诺医药科技有限公司, 许可证号 SCXK(苏)2020-0009。动物饲养于安徽中医药大学动物房, 温度( $25 \pm 2$ ) $^{\circ}C$ , 相对湿度 40%~70%, 自由进食饮水。动物实验经安徽中医药大学伦理委员会批准, 伦理编号 AHUCM-rats-2024140。

## 2 方法与结果

### 2.1 ADP 的制备方法

结合课题组前期考证结果<sup>[17]</sup>, 分别称取粉碎过筛后的茯神、茯苓、人参和远志各 37.30 g, 石菖蒲和龙齿各 18.65 g, 混匀, 过五号筛, 得到 ADP 细粉。然后, 将蜂蜜加热, 在温度达到 116~118  $^{\circ}C$  炼制成出现“鱼泡眼”特征的中蜜。接着, 称取 100 g ADP 药粉与 30 g 炼蜜和适量的水制成“握之成团, 轻压即散”的软材。

采用挤出滚圆法制丸, 其中制丸送料速度为 0.5 m/min, 挤出滚圆速率为 80 r/min。最后, 用朱砂细粉包衣并抛光, 制成直径 6~8 mm, 每丸质量约为 0.3 g 的 ADP 小丸。按上述同法操作, 制备固定处方比例的缺茯苓茯神、人参、远志、石菖蒲的阴性 ADP 小丸。

依照《中国药典》2025 年版丸剂项下要求, 水分控制在 9% 以下, 考虑到 ADP 中石菖蒲含有挥发油成分, 本研究采用甲苯法测定丸中水分。

## 2.2 6 种指标成分 HPLC 分析方法建立

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱为 Phenomenex Luna C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.1% 磷酸水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~3 min, 15% 乙腈; 3~5 min, 15%~16% 乙腈; 5~18 min, 16%~22% 乙腈; 18~23 min, 22%~25% 乙腈; 23~27 min, 25%~27% 乙腈; 27~40 min, 27%~33% 乙腈; 40~54 min, 33%~40% 乙腈; 54~65 min, 40%~48% 乙腈; 65~90 min, 48%~80% 乙腈; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温 35 °C; 检测波长 203 nm; 理论塔板数按目标化合物计算不低于 5 000。

**2.2.2 单一对照品溶液的制备** 分别精密称取对照品远志呔酮 III 10.25 mg、3,6'-二芥子酰基蔗糖 10.08 mg、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 10.01 mg、β-细辛醚 10.14 mg、去氢土莫酸 10.06 mg 和茯苓酸 10.15 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇使其溶解, 分别稀释成质量浓度分别为远志呔酮 III 1.025 mg/mL、3,6'-二芥子酰基蔗糖 1.008 mg/mL、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 1.001 mg/mL、β-细辛醚 1.014 mg/mL、去氢土莫酸 1.006 mg/mL、茯苓酸 1.015 mg/mL 的单一对照品溶液, 备用。

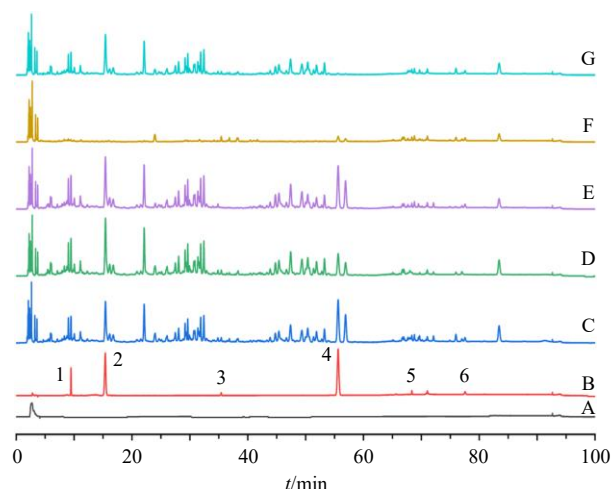
**2.2.3 混合对照品溶液的制备** 精密吸取“2.2.2”项下单一对照品溶液: 远志呔酮 III 1.8 mL、3,6'-二芥子酰基蔗糖 3.1 mL、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 0.5 mL、β-细辛醚 3.4 mL、去氢土莫酸 0.3 mL 和茯苓酸 0.5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 即得混合对照品溶液。

**2.2.4 供试品溶液的制备** 取 ADP 样品, 研磨成细粉 (过五号筛), 取约 5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入水饱和正丁醇 100 mL, 密塞, 放置 30 min, 超声处理 (功率 250 W、频率 50 kHz) 30 min, 放冷。再称定质量, 用水饱和正丁醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 置于蒸发皿中, 蒸干。残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

**2.2.5 各阴性供试品溶液的制备** 分别取缺茯苓茯神、缺人参、缺远志及缺石菖蒲的阴性 ADP 样品, 按“2.2.4”项下供试品溶液的制备方法同法操作, 即得各阴性供试品溶液。

**2.2.6 专属性考察** 分别精密吸取混合对照品溶液、ADP 供试品溶液和各阴性供试品溶液。按照“2.2.1”项下色谱条件进行检测, 记录 HPLC 色谱图, 结果

见图 1。可见, ADP 供试品溶液的目标色谱峰分离效果好, 且各成分无阴性干扰, 表明该方法专属性良好。



1-远志呔酮 III; 2-3,6'-二芥子酰基蔗糖; 3-人参皂苷 Rb<sub>1</sub>; 4-β-细辛醚; 5-去氢土莫酸; 6-茯苓酸。  
1-polygalaxanthone III; 2-3,6'-disinapoylsucrose; 3-ginsenoside Rb<sub>1</sub>; 4-β-asarone; 5-dehydrotumulosic acid; 6-pachymic acid.

图 1 溶剂甲醇 (A), 混合对照品溶液 (B), ADP 供试品溶液 (C), 缺茯苓、茯神药材阴性供试品溶液 (D), 缺人参药材阴性供试品溶液 (E), 缺远志药材阴性供试品溶液 (F) 及缺石菖蒲药材阴性供试品溶液 (G) 的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC of solvent methanol (A), mixed reference substances solution (B), ADP test samples (C), negative test sample lacking *Poria* and *Poria cum Pini Radix* (D), negative test sample lacking *Ginseng Radix et Rhizoma* (E), negative test sample lacking *Polygalae Radix* (F) and negative test sample lacking *Acori Tatarinowii Rhizoma* (G)

**2.2.7 线性关系考察** 取“2.2.3”项下混合对照品溶液, 分别稀释 0、2、4、8、10、12 倍, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀。分别精密吸取稀释后的对照品溶液适量, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样检测。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得线性回归方程分别为远志呔酮 III  $Y=264.290\ 0\ X+1.201\ 7$ ,  $R^2=0.999\ 3$ , 线性范围 0.01~0.32 mg/mL; 3,6'-二芥子酰基蔗糖  $Y=228.060\ 0\ X+3.580\ 5$ ,  $R^2=0.999\ 2$ , 线性范围 0.031~1.000 mg/mL; 人参皂苷 Rb<sub>1</sub>  $Y=24.709\ 0\ X+0.167\ 9$ ,  $R^2=0.999\ 7$ , 线性范围 0.02~0.60 mg/mL; β-细辛醚  $Y=778.890\ 0\ X+7.827\ 6$ ,  $R^2=0.999\ 6$ , 线性范围 0.02~0.76 mg/mL; 去氢土莫酸  $Y=74.964\ 0\ X+0.132\ 8$ ,  $R^2=0.999\ 7$ , 线性范围 0.005~0.160 mg/mL; 茯苓酸  $Y=106.700\ X+0.224\ 4$ ,  $R^2=0.999\ 8$ , 线性范围 0.006~0.200

mg/mL; 结果表明 6 种成分线性关系良好。

**2.2.8 精密度试验** 精密吸取按照“2.2.3”项下方法制备的混合对照品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件连续进样测试 6 次, 结果显示, 远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸峰面积的 RSD 分别为 1.03%、0.93%、1.04%、0.74%、0.58%、0.71%, 结果表明该仪器精密度良好。

**2.2.9 稳定性试验** 取按照“2.2.4”项下方法制备的 ADP 供试品溶液, 分别于制备后放置 0、2、4、8、12、24 h, 依照“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 结果发现, 远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸峰面积的 RSD 分别为 0.69%、0.40%、0.57%、1.82%、1.74%、1.27%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.10 重复性试验** 取 ADP 样品, 按照“2.2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 再按照“2.2.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积并计算含量。结果发现, 远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸和茯苓酸质量分数的 RSD 分别为 1.07%、0.71%、1.03%、0.47%、1.46%、1.25%, 结果表明该方法重复性良好。

**2.2.11 加样回收率试验** 取已测定 6 种指标成分含量的同一批 ADP 粉末 2.5 g, 精密称定, 平行 6 份, 按照原有含量与已知含量的混合对照品溶液 1:1 的比例, 按照“2.2.4”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 计算加样回收率。结果显示, 远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸的平均加样回收率分别为 97.50%、96.41%、98.16%、95.57%、95.64%、96.99%, RSD 分别为 1.55%、1.63%、1.39%、1.01%、1.44%、1.56%, 结果表明该方法加样回收率良好。

## 2.3 ADP 的外观评价

参考《中国药典》2025 年版对丸剂的性状规定和描述, 分别从圆整、色泽、大小 3 个方面进行外观性状评价, 具体评分标准见表 1。

## 2.4 丸剂溶散时限测定

取 ADP 样品, 选择适当孔径筛网的吊篮, 参照《中国药典》2025 年版四部(通则 0108)丸剂项下的溶散时限检查要求, 依照崩解时限检查法(通则 0921)片剂项下方法(加挡板)进行溶散时限检查测定。

表 1 ADP 外观性状评分标准

Table 1 Scoring criteria for appearance and characteristics of ADP

评分	圆整	色泽	大小
1	形状不规则, 边缘粗糙	色泽不均, 颜色暗淡	大小差异大, 无法满足规格
2	形状稍不规则, 边缘略粗糙	色泽较不均, 颜色暗	大小差异较大
3	形状基本规则, 边缘不均	色泽均匀, 稍暗	大小差异小, 符合规格要求
4	形状规则, 边缘均匀	色泽均匀, 颜色清晰	大小均匀, 差异极小
5	完全规则, 圆整度完美	色泽均匀, 颜色鲜亮	大小完全均匀

## 2.5 ADP 制备工艺评价指标权重的建立

丸剂的外观性状和溶散时限, 是评价其质量的关键物理指标, 同时也是《中国药典》2025 年版(通则 0108)丸剂项下规定的检查项。外观性状直接反映制剂工艺的规范性和产品稳定性, 是质量控制的直观依据。溶散时限则表征丸剂在模拟胃肠环境中的崩解性能, 直接影响活性成分的释放动力学和生物利用度。同时, 选用远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸和茯苓酸 6 个关键指标性活性成分, 旨在确保制剂的药效稳定性和质量可控性。远志呋酮 III 和 3,6'-二芥子酰基蔗糖具有神经保护、抗氧化和抗炎作用<sup>[18-20]</sup>, 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 具有增强免疫力和抗炎作用<sup>[21]</sup>, β-细辛醚是石菖蒲药材挥发油中主要活性成分, 具有抑制炎症反应、镇静作用<sup>[22]</sup>, 去氢土莫酸和茯苓酸则代表茯苓和茯神的利水渗湿与免疫调节作用<sup>[23-26]</sup>。本研究通过物理指标与化学成分指标的双重控制, 实现 ADP 制剂质量的稳定性、安全性与有效性。

**2.5.1 AHP 法主观权重系数( $w_j$ )计算** ADP 的制备工艺以外观性状、溶散时限和 6 个指标性成分远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸作为综合评价指标, 并构建两两比较的判断优先矩阵, 进行 AHP 权重系数计算, 结果见表 2。ADP 制备工艺各指标中外观性状、溶散时限、远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸的权重系数分别为 0.063 1、0.099 6、0.080 0、0.199 2、0.161 5、0.148 0、0.113 4、0.135 3。最大特征根( $\lambda_{\max}$ )=8.287, 之后对判断优先矩阵进行一致性检验, 得出 CI=0.041, 本实验考察指标有 8 个, 随机一致性指标(random index, RI)为 1.410, 最终得出一致性比率(consistency ratio, CR)=0.002 (<0.1), 通过一致性检验, 表明该权重系数分配合理有效。

表 2 ADP 制备工艺评价指标判断矩阵

Table 2 Judgment matrix of evaluation index of for ADP preparation process

考察指标	判断矩阵							
	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	茯苓酸	去氢土莫酸	溶散时限	远志吡酮 III	外观性状
3,6'-二芥子酰基蔗糖	1	1	1	1	2	2	3	5
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	1/2	1	1	1	1	2	3	4
β-细辛醚	1/2	1	1	1	1	2	2	3
茯苓酸	1/2	1/2	1	1	1	2	2	3
去氢土莫酸	1/3	1/2	1/2	1	1	2	2	2
溶散时限	1/3	1/3	1/2	1	1	1	2	2
远志吡酮 III	1/4	1/3	1/2	1/2	1	1	1	2
外观性状	1/5	1/4	1/2	1/2	1/2	1	1	1

**2.5.2 熵权法客观权重系数 ( $w_i$ ) 计算** 本研究基于信息熵理论, 选择熵权法进行多指标分析: 某个指标的熵值越小, 说明该指标数据的变异程度越大, 提供的信息量越多, 在综合评价中应赋予其更高的权重<sup>[27-29]</sup>。根据各指标值=(指标值-最小值)/(最大值-最小值)对数据进行标准化, 以消除量纲差异。最后, 将标准化数据输入 SPSSAU 在线软件 (<https://spssau.com/>) 选择熵权法相关性分析, 计算各成分的权重系数, 得到其外观性状、溶散时限、远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸权重系数分别为 0.114 4、0.080 3、0.124 4、0.108 7、0.142 7、0.131 9、0.179 3、0.118 3。

**2.5.3 AHP-熵权法综合权重系数 ( $W$ ) 计算** 计算 AHP-熵权法综合权重系数, 其中  $w_j$ 、 $w_i$  分别为 AHP 和熵权法所得的权重系数<sup>[30-31]</sup>。ADP 制备工艺中外观性状、溶散时限、远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸的 AHP-熵权法的  $W$  分别为 0.057 4、0.063 6、0.079 1、0.172 2、0.183 3、0.155 3、0.161 7、0.127 3。

**2.5.4 综合评分计算** 计算公式为综合评分 =  $(W_1Y_1/Y_{1\max} + W_2Y_2/Y_{2\max} + W_3Y_3/Y_{3\max} + \dots + W_8Y_8/Y_{8\max}) \times 100$ ,  $W_i$  为各指标权重系数,  $Y_i$  为各指标测

定结果,  $Y_{i\max}$  为各测定结果中的最大值。

## 2.6 单因素考察 ADP 制备工艺的影响因素

查阅相关文献报道<sup>[32-35]</sup>, 选择对 ADP 制备工艺影响较大 3 个因素 (蜂蜜与药粉比例、干燥时间和干燥温度) 进行单因素考察, 并以外观性状、溶散时限和 6 个指标性成分 (远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、β-细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸) 为综合评价指标, 计算综合评分考察实验结果。

**2.6.1 蜂蜜与药粉比例** 按处方比例称取各饮片制成 ADP 药粉 100 g, 分别考察蜂蜜与药粉比例为 0.1 : 1、0.2 : 1、0.3 : 1、0.4 : 1、0.5 : 1, 干燥时间 14 h, 干燥温度 50 °C。测定相应评价指标, 并计算综合评分。结果发现, 随着蜂蜜与药粉比例的增加, 在蜂蜜与药物的比例为 0.3 : 1 时综合评分达最大值, 随后蜂蜜与药粉比例减少综合评分下降, 具体结果见表 3, 故选用蜂蜜与药粉比例为 0.2 : 1、0.3 : 1、0.4 : 1 用于后续响应面实验。

**2.6.2 干燥时间** 按处方比例称取各饮片制成 ADP 药粉 100 g, 固定蜂蜜与药粉比例 0.3 : 1, 干燥温度 50 °C, 分别考察干燥时间为 10、12、14、16、18 h。测定相应评价指标, 并计算综合评分。由表 4 可知, 随着干燥时间的增加, 综合评分逐渐增加, 在干燥

表 3 蜂蜜与药粉比例对 ADP 制备工艺的影响

Table 3 Effects of ratio of honey to medicinal powder on preparation process of ADP

蜂蜜与药粉 比例	外观性状 评分	溶散时限/ min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							综合
			远志吡酮 III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	去氢土莫酸	茯苓酸	评分	
0.1 : 1	3	48	0.29	1.05	0.60	0.28	0.10	0.12	65.42	
0.2 : 1	4	35	0.32	1.11	0.74	0.40	0.16	0.21	86.17	
0.3 : 1	5	30	0.37	1.13	0.77	0.43	0.17	0.23	92.50	
0.4 : 1	4	36	0.36	1.12	0.75	0.38	0.16	0.16	84.04	
0.5 : 1	4	45	0.28	1.03	0.66	0.35	0.14	0.19	77.46	

时间 14 h 时的综合评分达到最大值,随后干燥时间增加综合评分降低,故选用干燥时间 12、14、16 h 进一步后续响应面优化实验。

**2.6.3 干燥温度** 按处方比例称取各饮片制成 ADP 药粉 100 g,蜂蜜与药粉比例 0.3 : 1,分别考察干燥时间为 40、45、50、55、60 °C,干燥时间 14 h。测定相应评价指标,并计算综合评分。结果如表 5

所示,随着干燥温度的增加,在温度为 50 °C 时综合评分基本达最大值,随后干燥温度增加综合评分降低,故选用干燥温度 45、50、55 °C 进行后续响应面试验。

## 2.7 BBD-RSM 优化 ADP 的制备工艺

**2.7.1 BBD-RSM 试验设计与结果** 基于 ADP 制备单因素考察实验结果,采用 BBD-RSMS 设计方法,

表 4 干燥时间对 ADP 制备工艺的影响

Table 4 Effects of drying time on ADP preparation process

干燥时间/	外观性状	溶散时限/	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							综合
h	评分	min	远志吡酮 III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	去氢土莫酸	茯苓酸	评分	
10	2	48	0.28	1.05	0.68	0.36	0.09	0.16	69.93	
12	4	35	0.30	1.07	0.76	0.43	0.16	0.23	87.73	
14	4	32	0.37	1.13	0.79	0.40	0.17	0.23	90.73	
16	4	36	0.34	1.10	0.77	0.39	0.16	0.22	87.31	
18	3	45	0.33	1.09	0.71	0.35	0.14	0.12	75.74	

表 5 干燥温度对 ADP 制备工艺的影响

Table 5 Effects of drying temperature on ADP preparation process

干燥温度/	外观性状	溶散时限/	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							综合
℃	评分	min	远志吡酮 III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	去氢土莫酸	茯苓酸	评分	
40	3	42	0.25	1.07	0.64	0.34	0.11	0.17	71.55	
45	4	28	0.37	1.09	0.70	0.43	0.13	0.22	84.80	
50	5	29	0.36	1.14	0.79	0.39	0.17	0.23	91.48	
55	4	36	0.35	1.12	0.75	0.37	0.16	0.20	85.59	
60	4	39	0.23	1.10	0.50	0.30	0.10	0.13	64.99	

对 ADP 制剂工艺过程中的蜂蜜与药粉比例(以比值表示,  $X_1$ )、干燥时间( $X_2$ )、干燥温度( $X_3$ )为因素,以外观性状评分( $Y_1$ )、溶散时限( $Y_2$ )和 6 个指标性成分远志吡酮 III( $Y_3$ )、3,6'-二芥子酰基蔗糖( $Y_4$ )、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>( $Y_5$ )、β-细辛醚( $Y_6$ )、去氢土莫酸( $Y_7$ )、茯苓酸( $Y_8$ )为综合评分作为评价指标,运用 Design-Expert 13.0 软件,建立 3 因素 3 水平实验方案,3 水平分别以+1、0、-1 进行编码,具体试验设计与结果见表 6。

**2.7.2 模型拟合与方差分析** 通过 Design-Expert 13.0 软件对表 6 中数据进行多元回归拟合,以  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$  为自变量,以综合评分为响应值,得 2 元回归方程:综合评分=93.170+2.350  $X_1$ -2.560  $X_2$ +1.570  $X_3$ -2.550  $X_1X_2$ -2.090  $X_1X_3$ +0.068 9  $X_2X_3$ -8.420  $X_1^2$ -7.830  $X_2^2$ -14.250  $X_3^2$ 。对模型方程进行方差分析,结果见表 7。由此可知,模型  $F=174.96$ ,  $P<0.000 1$ ,具有高度显著性。而失拟项  $P=0.116 0$  ( $>0.05$ ),表明模型的失拟项差异不显著,说明未

知因素对本试验的结果影响较小。相关系数  $R^2=0.995 6$ ,可解释 99.56%响应值的变化,表明该模型的拟合程度比较好,试验误差小,用此模型方程能很好地反映真实的试验值。

由表 7 可知,  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$  对综合得分有极显著的影响 ( $P<0.01$ ),交互项  $X_1X_2$ 、 $X_1X_3$  差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ),交互项  $X_2X_3$  无统计学意义。各影响因素对 ADP 制备工艺综合评分的影响大小顺序为干燥时间( $X_2$ )>蜂蜜与药粉的比例( $X_1$ )>干燥温度( $X_3$ )。

为进一步研究相关变量的交互作用和确定最佳工艺提供可视化分析,利用 Design-Expert 13.0 软件对回归模型进行响应面分析,得到各因素交互作用对综合评分影响的等高线图和响应面图,结果见图 2。预测 ADP 的最佳制备工艺参数为蜂蜜与药粉的比例 0.316 : 1、干燥时间 13.620 h,干燥温度 50.214 °C,综合评分为 93.637。考虑到实际操作的可性,将优选 ADP 制备工艺参数微调为蜂蜜与



表 6 BBD-RSM 因素水平、试验设计与结果  
Table 6 Levels of BBD-RSM factors, experimental design and results

试验号	因素			外观性 状评分	溶散时 限/min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							综合 评分	
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub> /h	X <sub>3</sub> /℃			远志	吡酮	III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	去氢土莫酸		茯苓酸
1	0.3 (0)	14 (0)	50 (0)	5	27	0.36		1.14		0.79	0.43	0.17	0.22	93.10
2	0.2 (-1)	14	55 (+1)	3	39	0.31		1.06		0.66	0.30	0.13	0.14	72.51
3	0.4 (+1)	14	45 (-1)	3	42	0.23		1.07		0.63	0.33	0.15	0.13	72.67
4	0.3	14	50	5	24	0.37		1.13		0.79	0.43	0.17	0.23	93.74
5	0.2	16 (+1)	50	3	31	0.28		1.09		0.73	0.32	0.11	0.18	75.02
6	0.4	12 (-1)	50	4	29	0.35		1.12		0.74	0.41	0.14	0.17	83.91
7	0.4	14	55	3	43	0.30		1.09		0.66	0.32	0.12	0.15	73.06
8	0.3	14	50	5	27	0.36		1.13		0.79	0.43	0.17	0.23	93.50
9	0.2	12	50	3	38	0.35		1.08		0.75	0.24	0.13	0.15	74.14
10	0.3	14	50	5	25	0.36		1.13		0.78	0.42	0.16	0.23	91.98
11	0.3	16	45	3	39	0.20		1.02		0.62	0.27	0.12	0.15	67.14
12	0.3	12	55	3	46	0.32		1.10		0.71	0.27	0.14	0.15	74.88
13	0.3	12	45	3	42	0.21		1.09		0.68	0.31	0.13	0.17	73.30
14	0.3	14	55	3	45	0.27		1.08		0.61	0.24	0.14	0.13	69.00
15	0.4	14	50	3	43	0.31		1.11		0.65	0.26	0.15	0.16	74.58
16	0.3	14	50	5	23	0.37		1.13		0.78	0.43	0.17	0.23	93.52
17	0.2	14	45	2	49	0.22		1.06		0.61	0.27	0.10	0.13	63.75

表 7 回归模型方差分析  
Table 7 Analysis of variance of regression model

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1 720.47	9	191.16	174.96	<0.000 1
X <sub>1</sub>	44.18	1	44.18	40.44	0.000 4
X <sub>2</sub>	52.48	1	52.48	48.04	0.000 2
X <sub>3</sub>	19.80	1	19.80	18.12	0.003 8
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	26.06	1	26.06	23.85	0.001 8
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	17.52	1	17.52	16.04	0.005 2
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.02	1	0.02	0.02	0.898 8
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	298.41	1	298.41	273.11	<0.000 1
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	258.44	1	258.44	236.53	<0.000 1
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	855.21	1	855.21	782.72	<0.000 1
差值	7.65	7	1.09		
失拟项	5.65	3	1.88	3.77	0.116 0
纯误差	2.00	4	0.50		
合计	1 728.12	16			

药粉的比例 0.316 : 1、干燥时间 14.0 h、干燥温度 50 ℃。

**2.7.3 最佳制备工艺验证** 按照优化的最佳制备工艺进行验证试验,按照处方比例制备了 3 批 ADP 样品,结果见图 3 和表 8。3 批平行工艺验证 ADP 样品的综合评分平均值为 92.44, RSD 为 0.30%,表明本研究优化的制备工艺的稳定性 and 一致性良好。同

时,工艺验证所得的综合评分结果与响应面法预测的值(93.637)偏差较小,证明了所建立的模型具有良好的预测性。

**2.8 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠认知障碍的药效学研究**

**2.8.1 动物分组、造模与给药** 36 只雄性大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为 6 组:对照组、模型组及 ADP 低、中、高剂量组(ADP-L、ADP-M、ADP-H, 0.75、1.50、3.00 g/kg,相当于临床成人等效剂量的 0.5、1.0、2.0 倍)和阳性药褪黑素组(0.10 g/kg),每组 6 只。除对照组外,其余各组采用改良多平台水环境法构建睡眠剥夺模型大鼠:将大鼠置于 86 cm×66 cm×30 cm 的睡眠箱中,底部固定 12 个圆柱形平台(直径 6.5 cm,高 8 cm,间隔 15 cm),水面保持低于平台 1 cm。大鼠适应性饲养 7 d 后,放置在平台上进行站立训练,利用肌张力下降会掉入水中实现睡眠剥夺,每日从 12:00 时持续至次日 8:00 时,其余时间放回鼠笼,持续造模 7 d。期间各组按设定剂量每日 ig 给药 1 次,对照组和模型组给予等体积生理盐水。末次造模给药结束后,进行行为学测试,期间停止睡眠剥夺和给药。行为学测试结束第 2 天,采集血液样本,处死动物并收集各组脑组织样本。



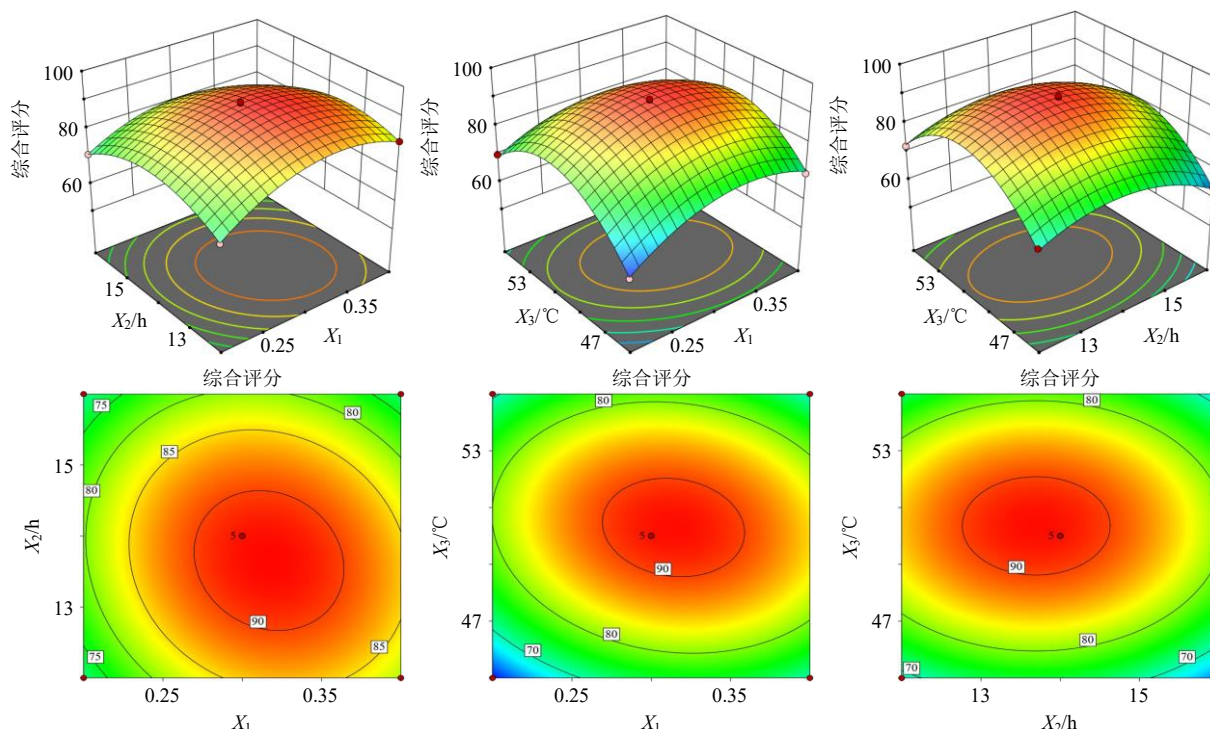


图 2 ADP 制备工艺各因素响应面分析图

Fig. 2 Response surface analysis of each factor of ADP preparation process

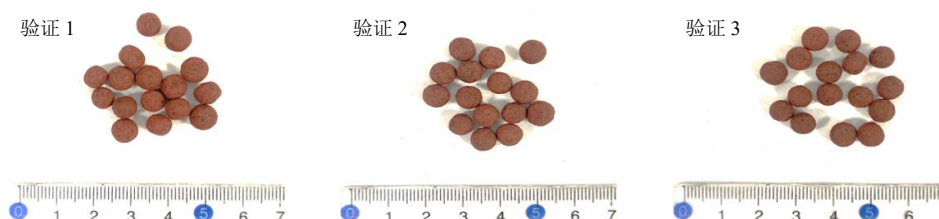


图 3 ADP 工艺验证样品的外观性状图

Fig. 3 Appearance characteristic diagrams of ADP process validation samples

表 8 最佳制备工艺验证试验结果

Table 8 Results of optimal preparation process verification test

序号	外观性 状评分	溶散时 限/min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )							综合 评分	平均值	RSD %
			远志吡啶 III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	β-细辛醚	去氢土莫酸	茯苓酸				
1	5	30	0.36	1.12	0.76	0.42	0.17	0.23	92.27	92.44	0.30	
2	4	28	0.35	1.14	0.77	0.43	0.18	0.23	92.77			
3	5	30	0.36	1.13	0.78	0.43	0.16	0.23	92.29			

**2.8.2 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠行为学的影响**  
Morris 水迷宫实验包括定位航行和空间探索实验, 持续 7 d。Morris 水池平分为 I、II、III、IV 象限, 在第 III 象限正中放置 1 个平台, 第 1 天大鼠适应水中环境, 第 2 天开始定位航行训练, 持续 5 d。将大鼠依次从第 I~IV 象限面朝池壁的标记放入水中, 记录找到水下平台的时间即逃避潜伏期和运动轨迹。第 7 天进行空间探索实验, 将大鼠放入水中, 记录大鼠在目标象限停留时间和穿越平台次数<sup>[36]</sup>。

Morris 水迷宫实验的定位航行结果见表 9 和图 4, 训练第 1~5 天各组大鼠逃避潜伏期都有不同程度的缩短, 表明所有组大鼠均有一定的空间学习能力。从第 2 天开始模型组的逃避潜伏期比对照组显著增加 ( $P<0.01$ )。在第 2~5 天, 与模型组相比, ADP 低、中、高剂量组和褪黑素组的逃避潜伏期显著缩短 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )。

空间探索实验结果如表 9 和图 5 所示, 与对照组相比, 模型组大鼠穿越平台次数和在目标象限活

表 9 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠逃避潜伏期、空间探索能力和新物体 RI 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )Table 9 Effects of ADP on escape latency, spatial exploration ability and new object RI of sleep deprived model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	逃避潜伏期/s					目标象限 停留时间/s	穿越平台 次数	RI/%
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天			
对照	—	48.42±6.80	29.60±4.37	26.40±4.22	18.80±4.09	14.67±1.66	31.83±3.12	8.17±0.69	0.64±0.02
模型	—	53.32±6.61	47.90±2.84 <sup>##</sup>	44.80±1.36 <sup>##</sup>	42.33±2.88 <sup>##</sup>	40.42±5.01 <sup>##</sup>	16.83±2.11 <sup>##</sup>	4.33±1.37 <sup>##</sup>	0.35±0.09 <sup>##</sup>
ADP-L	0.75	50.25±6.32	43.75±1.18*	38.90±3.29*	33.97±3.07**	27.45±6.45**	22.50±3.77*	5.83±0.75*	0.46±0.02*
ADP-M	1.50	50.70±5.99	31.60±3.93**	28.08±4.47**	20.93±2.72**	17.55±2.81**	30.33±3.20**	7.83±1.07**	0.50±0.04**
ADP-H	3.00	38.65±3.72**	22.45±3.64**	19.10±3.22**	14.80±1.74**	11.62±3.06**	36.50±1.70**	8.50±0.50**	0.75±0.08**
褪黑素	0.10	45.63±4.95	38.55±4.40**	34.82±4.99**	31.85±6.38**	24.28±3.58**	22.50±1.89**	8.33±0.75**	0.58±0.04**

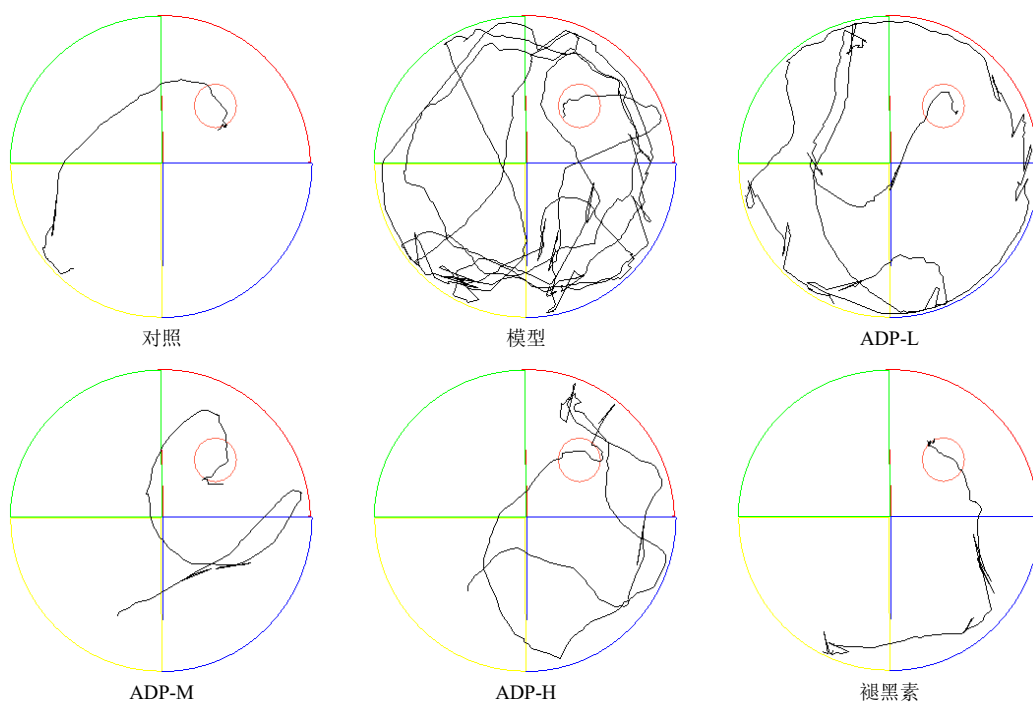
与对照组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 表 10 同。<sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs model group; same as table 10.

图 4 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠 Morris 水迷宫定位航行能力的影响

Fig. 4 Effects of ADP on spatial navigation ability of sleep deprived model rats in Morris water maze

动时间显著减少 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, ADP 低、中、高剂量组和褪黑素组大鼠穿越平台次数和在目标象限活动时间显著增加 ( $P < 0.05, 0.01$ )。以上结果表明, ADP 能显著改善睡眠剥夺大鼠的认知功能损害。

**2.8.3 大鼠新物体识别实验** 实验在 1 个 50 cm×50 cm×40 cm 的黑色无盖箱实验场地中进行: 第 1 天适应期, 将大鼠单独放入无物体的实验箱中, 自由探索 5 min 以适应环境。第 2 天训练期, 在实验箱内放置 2 个相同的圆柱体 (A1、A2), 记录其探索轨迹和时间。第 3 天测试期, 将圆柱体 A2 替换为正方体 B, 其余操作与训练期相同。

识别指数 (recognition index, RI) 用于评价大鼠记忆能力, 具体计算公式为  $RI = \text{探索新物体时间 (正方体 B 时间)} / \text{探索总时间 (圆柱体 A1 时间 + 正方体 B 时间)}$ 。结果如表 9 所示, 与对照组相比, 模型组的 RI 显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, ADP 低剂量组的 RI 显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而 ADP 中、高剂量组和褪黑素组的 RI 升高更显著 ( $P < 0.01$ ), 证实 ADP 可显著改善睡眠剥夺模型大鼠的认知功能。

**2.8.4 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠海马 CA1 区病理损伤的影响** 将各组大鼠脑组织置 4%多聚甲醛固定液中固定, 取出后用乙醇进行梯度脱水, 二甲苯

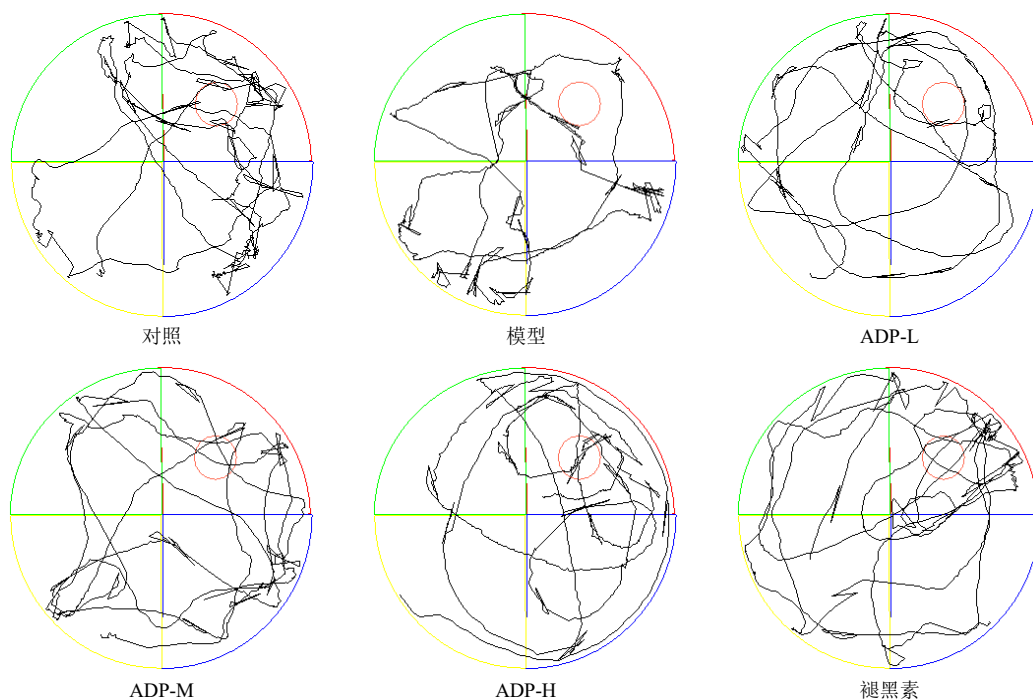


图 5 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠 Morris 水迷宫空间探索能力的影响

Fig. 5 Effect of ADP on spatial exploration ability of sleep deprived model rats in Morris water maze

透明，石蜡包埋后制备 3~5  $\mu\text{m}$  组织切片。然后二甲苯脱蜡，乙醇梯度水化，苏木素溶液染色，水洗，1%盐酸乙醇分化数秒，水洗，0.5%伊红液染色；水洗，二甲苯透明；中性树胶封片，于光学显微镜下观察脑组织病理形态并采集图像。结果如图 6 所示，对照组大鼠海马 CA1 区神经元形态饱满、排列紧密，结构清晰，细胞核均匀染色，细胞间隙适中，神经元丰富，无明显病变。与对照组相比，模型组大鼠海马 CA1 区神经元排列紊乱、稀疏，形态不规

则，数量减少，胞核深染及固缩现象明显。与模型组相比，ADP 低、中、高剂量组和褪黑素组大鼠脑组织海马 CA1 区细胞排列较为整齐，神经元数量显著增加，说明 ADP 能够有效减轻睡眠剥夺大鼠的海马神经元损伤。

**2.8.5 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠血清中炎症因子水平的影响** 分别取各组动物腹主动脉血，在 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，按照 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  试剂盒说明进行检测，结果见表

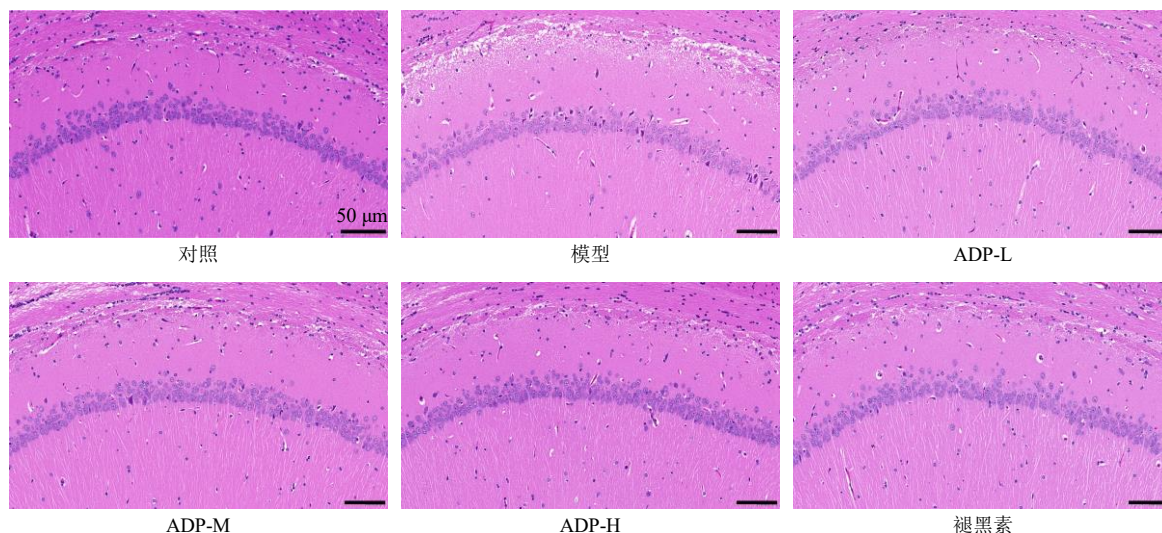


图 6 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠海马 CA1 区病理损伤的影响 ( $\times 20$ )

Fig. 6 Effects of ADP on pathological damage in CA1 region of hippocampus of sleep deprived model rats ( $\times 20$ )

10。与对照组相比,模型组大鼠血清中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  浓度显著上升 ( $P<0.01$ )。与模型组相比,ADP 低、中、高剂量组和褪黑素组大鼠的 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ); ADP 的抗炎作用呈现剂量相关性,即随给药剂量增加,对促炎症因子的抑制作用进一步增强。

表 10 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠血清中炎症因子 1L-1 $\beta$ 、1L-6、TNF- $\alpha$  水平和脑组织中氧化应激 SOD、丙二醛、GSH 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ (g·kg <sup>-1</sup> )	IL-1 $\beta$ / (pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-6/ (pg·mL <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ / (pg·mL <sup>-1</sup> )	SOD/ (U·mL <sup>-1</sup> )	丙二醛/ (nmol·mL <sup>-1</sup> )	GSH/ ( $\mu$ mol·L <sup>-1</sup> )
对照	—	158.24 $\pm$ 14.69	20.66 $\pm$ 1.45	42.88 $\pm$ 6.70	233.78 $\pm$ 12.97	8.11 $\pm$ 0.78	1.81 $\pm$ 0.09
模型	—	279.01 $\pm$ 9.00 <sup>###</sup>	37.68 $\pm$ 2.25 <sup>##</sup>	107.76 $\pm$ 5.92 <sup>##</sup>	98.91 $\pm$ 5.54 <sup>##</sup>	15.31 $\pm$ 0.71 <sup>##</sup>	1.09 $\pm$ 0.04 <sup>##</sup>
ADP-L	0.75	221.44 $\pm$ 24.08 <sup>**</sup>	33.09 $\pm$ 1.76 <sup>*</sup>	90.60 $\pm$ 5.84 <sup>**</sup>	129.83 $\pm$ 3.85 <sup>**</sup>	12.46 $\pm$ 0.96 <sup>**</sup>	1.27 $\pm$ 0.03 <sup>**</sup>
ADP-M	1.50	164.46 $\pm$ 12.65 <sup>**</sup>	27.25 $\pm$ 1.85 <sup>**</sup>	50.97 $\pm$ 5.71 <sup>**</sup>	169.28 $\pm$ 12.14 <sup>**</sup>	8.20 $\pm$ 1.27 <sup>**</sup>	1.64 $\pm$ 0.05 <sup>**</sup>
ADP-H	3.00	146.86 $\pm$ 16.81 <sup>**</sup>	19.23 $\pm$ 1.84 <sup>**</sup>	38.30 $\pm$ 2.86 <sup>**</sup>	256.83 $\pm$ 6.58 <sup>**</sup>	7.65 $\pm$ 0.53 <sup>**</sup>	1.82 $\pm$ 0.08 <sup>**</sup>
褪黑素	0.10	168.74 $\pm$ 27.30 <sup>**</sup>	22.67 $\pm$ 2.21 <sup>**</sup>	48.10 $\pm$ 4.67 <sup>**</sup>	224.80 $\pm$ 10.27 <sup>**</sup>	8.12 $\pm$ 0.54 <sup>**</sup>	1.54 $\pm$ 0.04 <sup>**</sup>

**2.8.6 ADP 对睡眠剥夺模型大鼠脑组织中氧化应激水平的影响** 根据 ELISA 试剂盒的操作指南,收集各组大鼠的脑组织,并测定其中 SOD、丙二醛和 GSH 的含量,结果见表 10。与对照组相比,模型组大鼠脑组织中 SOD 和 GSH 的水平显著降低 ( $P<0.01$ ),丙二醛水平显著升高 ( $P<0.01$ ),说明睡眠剥夺导致大鼠脑组织中存在明显的氧化应激损伤。与模型组相比,ADP 低、中、高剂量组和褪黑素组大鼠脑组织中 SOD 和 GSH 水平显著升高 ( $P<0.01$ ),丙二醛水平显著下降 ( $P<0.01$ )。结果表明,ADP 能显著改善睡眠剥夺模型大鼠脑组织中氧化应激水平,同时这种改善作用存在明显的剂量相关性,随着药物剂量的增加,SOD 和 GSH 的水平越高,丙二醛水平越低。

### 3 讨论

ADP 是中医临床宁心安神、益气解郁的经典方剂,方中茯苓、茯神健脾宁心,人参大补元气,补益脾、肺、心、肾四脏之气,安神益智;远志安神定志;石菖蒲开窍豁痰、宁神益智;龙齿镇静安神;朱砂清心安神;蜂蜜作为赋形剂,调和诸药,增强全方协同药效。为了开发质量稳定均一的 ADP,本研究采用 AHP-熵权法结合 BBD-RSM 优化 ADP 现代制丸工艺参数。AHP-熵权法相结合的方法将主观经验判断与客观数据分析的严谨性相结合,避免了单一赋权方式的主观随意性或客观片面性,确保了权重分配的科学性和实验结果的可信度。

本研究采用 HPLC 法实现 ADP 中 6 个代表性成分同步测定,为后续 ADP 质量控制标准提供了

可靠参考依据。最终,本研究以外观性状、溶散时限及 6 个指标性成分(远志呋酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、 $\beta$ -细辛醚、去氢土莫酸、茯苓酸)作为综合评价指标,经三批工艺验证确定了 ADP 的最佳制备工艺参数为蜂蜜与药粉的比例 0.316:1、干燥时间 14 h、干燥温度 50  $^{\circ}$ C。所得结果与该模型预测值基本一致,且 3 次重复验证的 RSD 值均小于 2%,表明该研究优化的 ADP 制剂工艺稳定、可靠,重现性好。

值得注意的是,在 ADP 制备过程中朱砂包衣的用量需严格把控。朱砂性微寒,味甘,归心经,具有清心镇惊、安神、明目、解毒的功效,但过量或长期使用可能导致中毒<sup>[37]</sup>。《中国药典》2025 年版规定其用量为 0.1~0.5 g,多入丸散服,不宜入煎剂。ADP 日服总粒数约 75 粒,本研究中每 100 g 的 ADP 药粉加入 1.33 g 朱砂粉末包衣,根据 ADP 中朱砂的加入量折算 ADP 的朱砂日服总量为 0.3 g,符合《中国药典》2025 年版剂量范围要求。本研究制备的 ADP 能控制朱砂毒性风险,但使用时仍需严格遵循医嘱,注意剂量和使用周期。

本研究在 ADP 的药效学研究中,采用改良多平台水环境睡眠剥夺法建立睡眠剥夺大鼠模型,以模拟失眠状态并初步评价 ADP 的初步药效。结果显示 ADP 能够显著改善睡眠剥夺大鼠的认知障碍,增强大鼠的学习记忆能力,减轻海马 CA1 区神经元损伤,有效抑制血清中炎症因子的释放及调节脑组织中抗氧化应激相关指标的表达水平。这些研究结果表明,ADP 的神经保护作用可能与其抑制神经炎



症和缓解氧化应激损伤密切相关。已有研究发现,长期睡眠剥夺可激活小胶质细胞,促进炎症因子水平升高,进而触发神经炎症反应,损害海马神经元结构与功能<sup>[38-39]</sup>。海马作为学习与记忆的关键脑区,对炎症介导的损伤尤为敏感<sup>[40]</sup>。本研究中模型组大鼠炎症因子水平显著升高,海马 CA1 区出现神经元排列紊乱、数量减少及核固缩现象。经 ADP 干预后,炎症因子水平显著下降,睡眠剥夺模型大鼠的神经元丢失和损伤情况都得到了明显改善,ADP 可有效保护海马神经元的完整性。同时,睡眠剥夺还会导致大鼠脑内氧化应激水平失衡,SOD 和 GSH 活性下降,丙二醛含量上升<sup>[41]</sup>。

不同剂量 ADP 干预则可剂量相关性地调节上述氧化应激水平,表明 ADP 可能通过重建氧化还原稳态,提高抗氧化酶活性、降低脂质过氧化水平,进而减轻海马神经元氧化损伤改善认知功能障碍。此外,本研究选择褪黑素作为阳性对照药,主要是基于褪黑素能够有效调节睡眠节律,改善睡眠质量,且具有显著的抗氧化和抗炎作用,可改善睡眠剥夺所引起的认知障碍和神经损伤<sup>[42-45]</sup>。因此,通过比较 ADP 与褪黑素的疗效,进一步验证 ADP 在治疗失眠所致认知障碍方面的有效性。

综上所述,本研究通过系统优化 ADP 的制备工艺和对所制备 ADP 的初步药效学研究,为 ADP 的新药研发、质量标准建立和临床安全用药提供了可靠的研究参考。尽管本研究证实了 ADP 治疗失眠的整体药效作用,但其具体的作用靶点和通路尚未阐明。此外,朱砂在 ADP 复方中的角色是协同增效还是不可或缺,尚需进一步研究。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Riemann D, Benz F, Dressle R J, et al. Insomnia disorder: State of the science and challenges for the future [J]. *J Sleep Res*, 2022, 31(4): e13604.
- [2] 胡金, 韦姗姗, 姜海洲, 等. 失眠的药物治疗研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(19): 5122-5130.
- [3] Gerhardsson A, Åkerstedt T, Axelsson J, et al. Effect of sleep deprivation on emotional working memory [J]. *J Sleep Res*, 2019, 28(1): e12744.
- [4] Hyndych A, El-Abassi R, Mader E C Jr. The role of sleep and the effects of sleep loss on cognitive, affective, and behavioral processes [J]. *Cureus*, 2025, 17(5): e84232.
- [5] Krause A J, Ben Simon E, Mander B A, et al. The sleep-deprived human brain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(7): 404-418.
- [6] Fu X Y, Yan S Y, Hu Z R, et al. Guhan Yangsheng Jing mitigates hippocampal neuronal pyroptotic injury and manifests learning and memory capabilities in sleep deprived mice via the NLRP3/Caspase1/GSDMD signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 326: 117972.
- [7] Li L Y, Liu S Z, Yu X C, et al. Liuwei Anshen Capsule alleviates cognitive impairment induced by sleep deprivation by reducing neuroapoptosis and inflammation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 341: 119311.
- [8] 谢小路, 罗云. 安神定志丸治疗神经官能症的临床研究进展 [J]. *保健医学研究与实践*, 2022, 19(5): 156-160.
- [9] 侯杰军, 路亚娥, 吕予, 等. 中医药治疗失眠临床研究进展 [J]. *陕西中医*, 2019, 40(2): 270-272.
- [10] 高旭阳, 闫文翠. 安神定志丸合酸枣仁汤加减治疗不寐症患者临床观察 [J]. *黑龙江中医药*, 2013, 42(3): 16-17.
- [11] 王同付, 韦薇. 安神定志丸加减方治疗顽固性失眠 30 例临床观察 [J]. *中国现代医生*, 2020, 58(15): 155-157.
- [12] 董宏利. 安神定志丸加减治疗心胆气虚型失眠临床观察 [J]. *山西中医*, 2020, 36(5): 48.
- [13] 陈慧敏, 孙玉香, 梁有才, 等. 安神定志丸配合子午流注择时五行音乐疗法对阿尔茨海默病伴睡眠障碍患者炎症因子的影响 [J]. *亚太传统医药*, 2023, 19(10): 80-83.
- [14] 张超, 张润东, 张润华. 安神定志丸联合针刺治疗焦虑症的临床观察 [J]. *中国民间疗法*, 2025, 33(5): 62-64.
- [15] 张芳. 安神定志丸治疗心胆气虚型抑郁症的临床分析 [J]. *中国医药指南*, 2019, 17(4): 164-165.
- [16] 刘立伟, 崔鑫, 路宁宁, 等. 中药丸剂研究进展 [J]. *世界中医药*, 2023, 18(1): 127-131.
- [17] 詹婷, 单晓晓, 秦绍刚, 等. 经典名方安神定志丸历史沿革与关键信息考证 [J]. *中国现代中药*, 2025, 27(12): 2352-2360.
- [18] 王小雨, 刘传鑫, 周佳丽, 等. 中药远志的化学成分和药理作用研究进展及其潜在质量标志物预测分析 [J]. *国际药学研究杂志*, 2020, 47(7): 483-495.
- [19] 张陶珍, 荣巍巍, 李清, 等. 远志的研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(13): 2381-2389.
- [20] 郑晓春, 唐晓丽, 刘雅楠, 等. 3,6'-二芥子酰基蔗糖神经保护作用研究 [J]. *中国现代中药*, 2024, 26(5): 807-814.
- [21] 杨秋娅, 李晓宇, 刘皋林. 人参皂苷 Rb<sub>1</sub> 的药理作用研究进展 [J]. *中国药学杂志*, 2013, 48(15): 1233-1237.
- [22] 乐颖娜, 张金莲, 钟凌云, 等. 石菖蒲炮制的历史沿革、化学成分及神经药理作用研究进展 [J]. *中草药*,

- 2025, 56(11): 4115-4127.
- [23] 何鹏飞, 高敏, 文继红, 等. 茯苓药理作用研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2024, 45(8): 83-87.
- [24] 刘明, 郑丽, 张卫娜, 等. 茯苓酸生物活性与作用机制研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2025, 22(7): 826-830.
- [25] 陈妍. 茯神化学成分分析及对失眠模型小鼠的治疗作用研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2025.
- [26] 杨财子, 邓子怡, 孙云鹏, 等. 茯神木中三萜类化学成分研究 [J]. 中南药学, 2025, 23(1): 66-72.
- [27] 李莉, 杨先启, 陈军, 等. 基于响应面法结合熵权法优化浙贝母(灰贝)加工工艺 [J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(14): 1965-1971.
- [28] 刘梦桐, 王亚楠, 宋永兴, 等. 沙苑子盐炙工艺优选及其炮制前后抗炎作用研究 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3121-3130.
- [29] 张泽宇, 陶振, 王佳, 等. D-最优混料设计法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优化五味益心颗粒成型工艺 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(3): 698-707.
- [30] 石双慧, 王梦琳, 魏晓彤, 等. AHP-熵权法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选黄精酒制工艺及其炮制前后药效对比研究 [J]. 中草药, 2023, 54(14): 4467-4480.
- [31] 朱月, 陈燕, 钟芙蓉, 等. 基于层次分析-熵权法的经典名方黄连解毒汤提取工艺优化及其抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2291-2300.
- [32] 张颖, 张梦娇, 宋兆普, 等. 补心通络丸制备工艺的优化 [J]. 中成药, 2021, 43(7): 1863-1865.
- [33] 王宝才, 闫治攀, 李喜香, 等. 益肾健骨丸制备工艺的优化 [J]. 中成药, 2022, 44(8): 2449-2454.
- [34] 汪盈盈, 冯学花, 许婉君. 桃红四物丸制备工艺的优化及抗氧化作用 [J]. 安徽科技学院学报, 2023, 37(6): 77-83.
- [35] 肖绍玲, 马燎原. 浓缩六味地黄丸制备工艺的优化 [J]. 中成药, 2009, 31(2): 299-300.
- [36] 孙瑞芳, 温红梅, 曾妍, 等. 跑笼训练与技巧性取食训练对脑梗死恢复期大鼠认知功能的影响 [J]. 中国康复医学杂志, 2018, 33(4): 392-396.
- [37] 魏梦佳, 辛雪颖, 段雯雯, 等. 合成朱砂与天然朱砂的鉴别特征研究 [J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(4): 334-348.
- [38] Irwin M R. Sleep and inflammation: Partners in sickness and in health [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(11): 702-715.
- [39] Hudson A N, Van Dongen H P A, Honn K A. Sleep deprivation, vigilant attention, and brain function: A review [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2020, 45(1): 21-30.
- [40] 谢光璟, 徐波, 夏婧, 等. 安寐丹对睡眠剥夺大鼠海马CA1 区细胞结构及神经元损伤的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(7): 26-32.
- [41] 李莉, 刘茹, 何晶, 等. 温胆汤方剂对睡眠剥夺小鼠氧化应激及炎症反应的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(3): 308-312.
- [42] Jia M, Luo A B, Wei M H, *et al.* Melatonin: Beyond circadian regulation - exploring its diverse physiological roles and therapeutic potential [J]. *Sleep Med Rev*, 2025, 82: 102123.
- [43] Zisapel N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation [J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(16): 3190-3199.
- [44] Hu Y J, Lv Y F, Long X Y, *et al.* Melatonin attenuates chronic sleep deprivation-induced cognitive deficits and HDAC3-Bmal1/clock interruption [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(3): e14474.
- [45] Yin C, Zhang M Y, Jin S N, *et al.* Mechanism of *Salvia miltiorrhiza* Bunge extract to alleviate chronic sleep deprivation-induced cognitive dysfunction in rats [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155725.

[责任编辑 郑礼胜]