

黑柄炭角菌(乌灵菌)粉改善睡眠作用以及对小鼠大脑神经递质及其受体的影响

范恩宇, 魏振华, 范秋领*, 郝淑娟

杭州娃哈哈集团有限公司 浙江省食品生物工程重点实验室, 浙江 杭州 310018

摘要: 本研究探讨了黑柄炭角菌菌核乌灵菌粉的改善睡眠作用以及对小鼠大脑神经递质及其受体的影响。144 例小鼠随机分为低、中、高 3 个剂量(0.25、0.5 和 1.0 g/kg bw)的乌灵菌粉实验组和 1 个空白对照组, 进行了 30 d 的灌胃干预, 从小鼠睡眠行为和其大脑组织中神经递质及其受体两个方面进行分析。结果显示, 乌灵菌粉无直接催眠作用, 对小鼠正常生长和体重增长无显著影响。相比于对照组, 乌灵菌粉 3 个剂量实验组巴比妥钠诱导的入睡潜伏期均显著缩短($P<0.05$), 戊巴比妥钠阈下剂量下入睡动物数均有增加, 戊巴比妥钠诱导的睡眠时间仅有中、高两个剂量组显著增加($P<0.05$), 低剂量组睡眠时间增加不显著($P>0.05$)。低、中、高 3 个剂量组小鼠大脑组织中 γ -氨基丁酸 A 型受体(GABA_AR)表达量均显著上升($P<0.05$), γ -氨基丁酸 B 型受体(GABA_BR)表达量却显著下降($P<0.05$), 5-羟色胺(5-HT)和 γ -氨基丁酸含量均显著上升($P<0.01$)。综上所述, 乌灵菌粉具有明显的改善睡眠功效, 其作用机制可能是通过提高脑中 5-HT 和 GABA 含量, 促进小鼠大脑组织中 GABA_AR 受体表达来实现。

关键词: 失眠; 睡眠行为; γ -氨基丁酸 A 型受体; γ -氨基丁酸 B 型受体; 5-羟色胺

[引用本文] 范恩宇, 魏振华, 范秋领, 郝淑娟, 2022. 黑柄炭角菌(乌灵菌)粉改善睡眠作用以及对小鼠大脑神经递质及其受体的影响. 菌物学报, 41(9): 1498-1505

Fan EY, Wei ZH, Fan QL, Hao SJ, 2022. *Xylaria nigripes* (wuling) sclerotium powder improving sleep and influencing the expression of brain neurotransmitters and their receptor of mice. Mycosystema, 41(9): 1498-1505

*Corresponding author. E-mail: qiuling.fan@wahaha.com.cn

ORCID: FAN Enyu (0000-0003-3463-3028)

Received: 2021-12-20, accepted: 2022-02-10

Xylaria nigripes (wuling) sclerotium powder improving sleep and influencing the expression of brain neurotransmitters and their receptor of mice

FAN Enyu, WEI Zhenhua, FAN Qiuling*, HAO Shujuan

Hangzhou Wahaha Group CO. LTD., Key Laboratory of Food and Biological Engineering of Zhejiang Province, Hangzhou 310018, Zhejiang, China

Abstract: Sleeping improvement effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on mice and the effect of the power on neurotransmitters and their receptor in brain of mice were investigated. A total of 144 mice was divided randomly into three experimental groups (treated with the dosages of 0.25, 0.5, 1.0 g/kg bw) and one control group, and the gavage lasted 30 d. Sleep behavior and the expression of neurotransmitter receptors in brain of mice were analyzed. The results showed that, the experimental samples had no direct hypnotic effect and might not affect the growth of body weight. Compared with control group, the sleep latency time induced by barbital sodium decreased ($P < 0.05$) and the sleeping rate increased under the threshold hypnogenesis dosage of pentobarbital sodium in three treatment groups. Sleep time in 0.25 g/kg bw treatment group has no significant increase ($P > 0.05$) while 0.5 and 1.0 g/kg bw treatment group significantly extended sleep time under sodium pentobarbital induction ($P < 0.05$). After administration of *Xylaria nigripes* sclerotium powder, the content of GABA_A receptor (GABA_AR) ($P < 0.05$), 5-hydroxytryptamine (5-HT) ($P < 0.01$) and GABA ($P < 0.01$) in the brain of mice was found to be augmented while that of GABA_B receptor (GABA_BR) was decrease ($P < 0.05$). In conclusion, *Xylaria nigripes* sclerotium powder could increase the content of GABA_AR, 5-HT and GABA in the brain and thus achieve sleeping improvement effect.

Keywords: insomnia; sleep behavior; GABA_A receptor; GABA_B receptor; 5-hydroxytryptamine

黑柄炭角菌 *Xylaria nigripes* (Klotzsch) Cooke 隶属于子囊菌门、盘菌纲、炭角菌目、炭角菌科,其菌核称为乌灵菌,俗称乌灵参,生长在地下 0.5–2 m 黑翅土白蚁废弃蚁巢上(罗威等 2019; 闻绍锋等 2019)。因其具有突出的药用价值(戴玉成和杨祝良 2008),经现代生物技术深层发酵培养得到乌灵菌菌丝体,并进一步干燥粉碎得到乌灵菌粉,目前为国家中药一类新药(李凤蕾等 2016; 张丽等 2020)。乌灵菌粉内含腺苷、甾醇、多糖,和谷氨酸、 γ -氨基丁酸等 19 种氨基酸,以及多种维生素和矿物质成分。具有显著的镇静安神、调节中枢神经机能和改善记忆障碍功能,临床常用于改善失眠、

焦虑、抑郁和社交障碍等(裘涛等 2007; 尹东辉等 2011; 刘晓萌等 2016; Wu *et al.* 2019)。尤其是在改善失眠方面,乌灵菌具有较为广泛的临床应用。一项乌灵胶囊治疗睡眠临床试验的 Meta 分析研究,共纳入了 22 个随机对照试验,1 854 位患者,研究结果显示,乌灵胶囊治疗睡眠障碍,实验组较对照组效率提高、匹兹堡睡眠质量指数降低、睡眠障碍评定量表降低、不良反应发生率降低,具有较好的疗效和安全性(马素亚等 2022)。

尽管如此,作为一种药用真菌,近年来除乌灵胶囊这一单一中药制剂以外,几乎再无其他形式的实际应用,其作用机制也有待深入研

究。乌灵菌粉改善睡眠机制现有研究较少,马志章等(1999)通过对小鼠进行 7 d 的灌胃干预发现,乌灵菌粉在戊巴比妥钠协同下有明显的促睡眠作用,并且认为乌灵菌粉可能是通过促使谷氨酸、 γ -氨基丁酸进入脑内,提高谷氨酸脱羧酶活性及激活 γ -氨基丁酸受体而实现其镇静作用。戴一等(2018)采用不同浓度乙醇对乌灵菌进行超声提取,提取物给予小鼠灌胃,确认其 100%乙醇提取物为其镇静催眠有效部位。乌灵菌粉对于大脑神经递质或其受体的影响主要来自于抗抑郁相关研究。一项通过慢性轻度应激(CMS)小鼠模型结合基因芯片技术研究乌灵菌粉抗抑郁的研究显示,乌灵菌粉具有 5-HT 再摄取抑制作用,同时可以显著下调 5-HT_{2C} 受体表达,并以此发挥抗抑郁作用(杨楠等 2010)。研究显示,乌灵菌粉可改善脑组织对 Glu 和 GABA 的通透性,使 GABA 合成增加,从而治疗轻度抑郁(廖名龙和郁杰 2000)。乌灵菌粉对以上神经递质的影响,与其发挥改善睡眠作用也有一定相关性。本研究通过对小鼠多个行为学指标比较分析,结合大脑组织中神经递质及其受体变化,进一步探讨乌灵菌粉对睡眠的作用、安全性及其可能的机制,为其将来在中药、保健食品甚至普通食品中进一步扩大应用提供更多理论支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料

受试物乌灵菌粉(批号与日期:20210305):浙江佐力药业股份有限公司。实验动物 CD-1 (ICR)小鼠:浙江维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 20210310Abzz0619999515。

1.1.2 试剂和仪器

巴比妥钠(批号与日期:20201211)、戊巴比妥钠(批号与日期:20210106):河南普天同创生物科技有限公司;小鼠 γ -氨基丁酸 A 型受体(GABA_AR)酶联免疫分析试剂盒、小鼠 γ -氨基丁

酸 B 型受体(GABA_BR)酶联免疫分析试剂盒和小鼠 5-羟色胺(5-HT)酶联免疫检测试剂盒:江苏苏酶科生物科技有限公司;酶标仪:赛默飞世尔科技公司;独立通风笼具(IVC):苏州市冯氏实验动物设备有限公司;氨基酸自动分析仪:日立。

1.2 动物分组和剂量设置

CD-1 (ICR)健康雄性小鼠 144 只,8 周龄,18~22 g,采用独立通风笼具饲养(IVC),温度(25±2)℃,相对湿度 55%±2%,每天光照、黑暗各 12 h 交替饲养,自由摄食和饮水。称重,按体重随机分为 3 大组,每大组 48 只,各组间体重无统计学差异,分别用于巴比妥钠或戊巴比妥钠诱导条件下小鼠睡眠时间变化、睡眠发生率变化和睡眠潜伏期变化 3 个睡眠行为实验,以上实验动物也同时用于直接睡眠作用观察和机理研究。

适应性喂养 3 d 后,称重,各大组按体重随机分为 4 小组,分别为低剂量组、中剂量组和高剂量组 3 个实验组和 1 个空白对照组,每组 12 只,各组间体重无统计学差异。剂量设置分别为低剂量组 0.25 mg/g bw、中剂量组 0.5 mg/g bw 和高剂量 1.0 mg/g bw,分别相当于 60 kg 体重人体单位体积换算剂量(3 g/d)的 5 倍、10 倍和 20 倍,即相当于以比表面积换算的人体等效剂量的 0.5 倍、1 倍和 2 倍。受试物每天按 10 μ L/g bw 的灌胃体积,配置成相应的浓度。空白对照组给予纯净水 10 μ L/g bw。各组每天灌胃 1 次,持续灌胃干预 30 d。每周测量小鼠体重 1 次,调整灌胃剂量。

1.3 方法

本研究中动物实验、数据处理和结果判定方法主要参考《保健食品功能评价方法(2020 年版)(征求意见稿)》中有助于改善睡眠功能评价方法进行。

1.3.1 直接睡眠实验

各组动物分别灌胃给予不同浓度受试物乌灵

菌粉或等量纯净水后，观察是否发生睡眠。以翻正反射消失作为睡眠发生的判定依据，将小鼠背部向下放置，若计时 60 s 不能翻成背部向上，即判定为睡眠发生。记录各组动物是否发生睡眠。

1.3.2 戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间实验

小鼠末次灌胃干预 20 min 后，依据各自体重，按 60 mg/kg bw 剂量腹腔注射戊巴比妥钠。以翻正反射消失作为睡眠发生的判定依据，翻正反射恢复作为复苏的判定依据，记录各组动物睡眠发生至复苏的时间间隔，即为睡眠时间。

1.3.3 戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用实验

小鼠末次灌胃干预 20 min 后，依据各自体重，按 38 mg/kg bw 剂量腹腔注射戊巴比妥钠，观察 30 min，记录该时间段内翻正反射消失发生睡眠的小鼠数量。

1.3.4 巴比妥钠睡眠潜伏期实验

小鼠末次灌胃干预 20 min 后，依据各自体重，按 380 mg/kg bw 剂量腹腔注射巴比妥钠，记录注射药物至小鼠发生睡眠的时间间隔，即为睡眠潜伏期。

1.3.5 小鼠大脑组织中 GABA_AR、GABA_BR、5-羟色胺(5-HT)和 γ-氨基丁酸(GABA)浓度的测定

睡眠行为实验结束后，继续灌胃纯净水或对应受试样品干预 3 d，动物末次灌胃 30 min 后，颈椎脱臼处死，迅速于冰上取出大脑组织，液氮速冻，称取约 0.1 g 大脑组织，加入 10 倍质量 pH 7.4 PBS 缓冲液，充分匀浆后，3 000 r/min 离心 20 min，取上清液待测。按试剂盒标准操作方法分别测定小鼠大脑组织抽提液样本中 GABA_AR、GABA_BR 和 5-HT 浓度，采

用氨基酸自动分析仪测定小鼠大脑组织抽提液样本中 GABA 浓度。

1.3.6 数据处理

用方差分析处理数据，先进行数据的方差齐性检验，满足方差齐性要求时，若 F 值 <0.05 ，则判定各组数据间差异不显著；若 F 值 ≥ 0.05 ， $P \leq 0.05$ ，则用每个实验组数据分别与空白组数据进行两两比较统计。方差齐性不满足的情况下，则先进行适当的变量转换，用转换后的满足方差齐性要求的数据进行统计。

2 结果与分析

2.1 乌灵菌粉对小鼠体重的影响

实验期间，各组小鼠饮食和活动正常，皮毛光泽正常，未见异常体征。实验开始前各组小鼠体重无显著差异($P>0.05$)，灌胃不同剂量受试物乌灵菌粉 7、14、21 和 30 d 时，各组小鼠体重无显著差异($P>0.05$) (表 1)，表明实验所用剂量的乌灵菌粉对小鼠的体重增长和正常生长无显著影响。

2.2 乌灵菌粉的直接睡眠作用

实验期间，各组动物灌胃给予纯净水或不同浓度受试样品后，空白对照组及各剂量实验组均未发生睡眠现象，说明受试样品乌灵菌粉无直接引发睡眠的作用。

2.3 乌灵菌粉对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时长的作用

本研究观察受试物是否能延长小鼠在戊巴比妥钠诱导下的睡眠时长。在不同剂量乌灵菌粉灌胃干预 30 d 后，相比于空白对照组，高剂

表 1 乌灵菌粉对小鼠体重的影响

Table 1 Effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on body weight of mice

组别 Group	0 d (g)	7 d (g)	14 d (g)	21 d (g)	30 d (g)
对照组 Control group	25.1±1.2	32.4±2.7	35.0±2.8	36.2±2.8	38.1±3.0
低剂量组 Low-dose group (0.25 g/kg bw)	25.4±1.6	32.4±2.5	35.5±3.0	36.7±3.2	39.0±3.0
中剂量组 Medium-dose group (0.5 g/kg bw)	25.3±1.9	31.6±2.7	34.6±2.8	35.7±2.9	37.9±3.0
高剂量组 High-dose group (1.0 g/kg bw)	25.3±1.5	32.8±2.6	35.7±3.0	36.8±3.0	38.8±3.4

量组和中剂量组睡眠时间显著延长($P<0.05$),但低剂量组睡眠时间延长不显著($P>0.05$) (表 2)。说明实验剂量下,受试物乌灵菌粉能够延长戊巴比妥钠诱导的睡眠时间。

表 2 乌灵菌粉对戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠时间的影响

Table 2 Effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on prolonged sleep time induced by pentobarbital sodium

组别	睡眠时间
Group	Sleep time (min)
对照组	35.3±12.9
Control group	
低剂量组	39.7±12.3
Low-dose group	
中剂量组	47.1±9.7*
Medium-dose group	
高剂量组	48.1±11.9*
High-dose group	

注:与对照组比较, * $P<0.05$

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.4 乌灵菌粉对戊巴比妥钠阈下剂量小鼠睡眠发生率的影响

本研究观察受试物是否能提高戊巴比妥钠阈下剂量条件下小鼠的睡眠发生率。肝酶能够代谢戊巴比妥钠,因此具有肝酶抑制作用的受试物,实验 2.3 也能取得阳性结果,本研究主要为了排除受试物对肝酶的影响作用。在不同剂量乌灵菌粉灌胃干预 30 d 后,相比于空白对照组,低、中和高 3 个剂量组入睡动物数均有增加,入睡率明显提高(表 3)。说明实验剂量下,受试物乌灵菌粉能够增加戊巴比妥钠阈下剂量下小鼠睡眠发生率。

2.5 乌灵菌粉对巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

本研究在巴比妥钠催眠的基础上,观察受试物是否能缩短入睡潜伏期。在不同剂量乌灵菌粉灌胃干预 30 d 后,相比于空白对照组,低、中和高 3 个剂量组睡眠潜伏期均显著缩短($P<0.05$) (表 4)。说明实验剂量下,受试物乌灵菌粉能够缩短巴比妥钠诱导的入睡潜伏期。

表 3 乌灵菌粉对戊巴比妥钠阈下剂量睡眠发生率的影响

Table 3 Effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on asleep rate of mice induced by pentobarbital sodium

组别	睡眠只数	睡眠发生率
Group	Amount of asleep mice	Asleep rate (%)
对照组	1	8.3
Control group		
低剂量组	3	25.0
Low-dose group		
中剂量组	4	33.3
Medium-dose group		
高剂量组	3	25.0
High-dose group		

表 4 乌灵菌粉对巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

Table 4 Effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on sleep latency induced by barbital sodium

组别	睡眠潜伏期
Group	Sleep latency (min)
对照组	32.2±3.4
Control group	
低剂量组	27.3±7.5*
Low-dose group	
中剂量组	26.7±6.5*
Medium-dose group	
高剂量组	26.8±5.4*
High-dose group	

注:与对照组比较, * $P<0.05$

Note: Compared with the control group, * $P<0.05$.

2.6 乌灵菌粉对小鼠大脑组织中 GABA_AR、GABA_BR、5-HT 和 GABA 浓度的影响

酶联免疫分析结果显示,在不同剂量乌灵菌粉灌胃干预 30 d 后,相比于空白对照组,低、中和高 3 个剂量组小鼠大脑组织抽提液中 GABA_AR 含量均显著上升($P<0.05$), GABA_BR 含量显著下降(表 5)。说明乌灵菌粉能够促进小鼠大脑组织中 GABA_AR 蛋白的表达,但对 GABA_BR 蛋白的表达却有抑制作用。与此同时,相比于空白对照组,低、中和高 3 个剂量组小鼠大脑组织抽提液中 5-HT 和 GABA 含量均显著上升($P<0.01$)。

表 5 乌灵菌粉对小鼠大脑组织中神经递质及其受体的影响

Table 5 Effects of *Xylaria nigripes* sclerotium powder on neurotransmitter and its receptor in the brain of mice

组别	γ-氨基丁酸 A 型受体	γ-氨基丁酸 B 型受体	5-羟色胺	γ-氨基丁酸
Group	GABA _A receptor (μmol/L)	GABA _B receptor (μmol/L)	5-HT (ng/mL)	GABA (mg/L)
对照组	19.55±1.01	33.34±2.43	26.7±5.9	117.7±10.9
Control group				
低剂量组	21.48±1.29*	24.62±1.80**	53.8±6.2**	139.0±15.6**
Low-dose group				
中剂量组	21.87±2.56*	29.73±3.49*	43.6±11.1**	146.1±13.8**
Medium-dose group				
高剂量组	22.04±1.95*	28.81±2.81**	50.6±7.9**	145.2±9.8**
High-dose group				

注：与对照组比较，**P*<0.05，***P*<0.01

Note: Compared with the control group, **P*<0.05, ***P*<0.01.

3 讨论

失眠是一种常见的生理心理交互疾病。据报道，18–64 岁人群失眠率为 31%–38%，64–79 岁人群失眠率为 45% (Alessi & Vitiello 2011)。目前失眠的临床治疗主要依靠化学合成药物，如苯二氮卓类受体激动剂等(Tang *et al.* 2017)。但是这类药物不但疗效不尽如人意，而且还有较强的副作用和依赖性(Yan *et al.* 2019)。因此，乌灵菌作为改善睡眠疗效明确、副作用小的食药两用真菌，具有很大的研究价值。

以往的乌灵菌粉改善睡眠作用的研究主要集中在乌灵胶囊或与其他安眠作用药物联合的临床应用方面。通过对 98 例心肾不交型失眠患者的临床治疗观察发现，乌灵胶囊治疗心肾不交型失眠疗效确切，疗效显著优于对照组艾司唑仑片(王静和胡艳丽 2021)。通过乌灵胶囊治疗失眠临床评估发现，乌灵胶囊组匹兹堡睡眠质量指数(PSQI)评分的减分率显著高于艾司唑仑组，即疗效更优，且不良反应发生率显著降低(刘晓燕 2018)。陈永华等(2021)观察乌灵胶囊联合右佐匹克隆治疗心肾不交型失眠的临床疗效发现，联合用药组疗效显著优于单一右佐匹克隆对照组。李鹰(2018)采用交泰丸加减联合治疗心肾不交失眠患者，发现联合用药有

效率为 91.3%，显著高于单一交泰丸的 59.0%。

相比于临床应用，对乌灵菌改善睡眠作用药效机制的研究却相对较少。本研究在以往研究工作的基础上，选用相对较低的 3 个剂量乌灵菌粉对小鼠进行了为期 30 d 的灌胃干预，观察乌灵菌粉对小鼠正常生长发育的影响，从睡眠行为角度研究其与巴比妥钠、戊巴比妥钠的协同促睡眠作用，以及其对小鼠大脑组织中部分神经递质受体表达量的影响，进一步揭示了乌灵菌粉促进睡眠作用的起效剂量以及可能的作用机制。

行为学结果显示，3 个剂量组均未观察到直接催眠作用，且小鼠外观、饮食和活动正常，体重增长与对照组无显著差异，说明实验剂量对小鼠无明显副作用，具有较好的安全性。相比于对照组，3 个剂量实验组巴比妥钠催眠的入睡潜伏期均显著缩短，戊巴比妥钠阈下剂量入睡动物数均有增加，但戊巴比妥钠诱导的睡眠时间仅高、中两个剂量组显著增加，低剂量组睡眠时间增加不显著。结果表明，乌灵菌粉对睡眠过程的影响，主要通过缩短入睡时间和提高睡眠发生率来实现，相比较之下，延长睡眠时间则需要相对更高的剂量。

失眠症的病因包括遗传因素、职业因素、环境因素、年龄性别、药物因素和精神因素等

(Nowicki *et al.* 2016; Wang *et al.* 2016)。乌灵菌粉可能通过多种神经调节机制来改善睡眠,包括基于谷氨酸-GABA 物质基础的机制、基于5-羟色胺(5-HT)等单胺类神经递质的机制和基于神经营养因子(BDNF)的机制等(尤伟静等 2021)。其中GABA_AR介导镇静催眠、抗焦虑和肌肉松弛等作用,GABA_BR 则与药物成瘾、癫痫和疼痛密切相关(孙利净等 2016)。5-HT 是睡眠调节最为重要的神经递质之一,5-HT 含量的增加可激动脑中5-HT受体,诱导入睡,维持慢波睡眠(吴雪芬等 2018)。本研究检测了乌灵菌粉灌胃干预对小鼠大脑组织中GABA_AR、GABA_BR、5-HT和GABA浓度的影响,结果表明,乌灵菌粉灌胃干预能够显著提高小鼠大脑组织中GABA_AR的表达水平,但对GABA_BR的表达却有显著的抑制作用。与此同时,乌灵菌粉还能显著提高小鼠大脑组织中5-HT和GABA浓度,该结果是由于乌灵菌粉具有5-HT再摄取抑制作用,同时可以改善脑组织GABA通透性。本研究进一步证实了乌灵菌粉改善睡眠作用是GABA途径、5-HT途径多通路共同作用的结果,其中GABA途径中乌灵菌粉的改善睡眠作用与GABA_AR的表达水平提高有关。与大多数中药一致,乌灵菌粉的药效机制是复杂和多通路协同起效的,其确切的作用机制还有待进一步的研究证实。

[REFERENCES]

- Alessi C, Vitiello MV, 2011. Insomnia (primary) in older people. *Clinical Evidence*, 10: 2302
- Chen YH, Zhang B, Huang W, Liu N, Cao SJ, Yang WM, 2021. Clinical efficacy of wuling capsule combined with eszopiclone in treatment of insomnia with disharmony between heart and kidney. *Journal of Anhui Traditional Chinese Medical College*, 40(1): 18-21 (in Chinese)
- Dai Y, Zhu XQ, Wu LG, 2018. Study on sedative and hypnotic effective part of wuling mycelia. *Journal of Chende Medical College*, 35(4): 342-344 (in Chinese)
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27: 801-824 (in Chinese)
- Li FL, Du F, Wu D, Peng ZW, 2016. Effects of early usage with wulingjun powder on the behavior of rats with post-traumatic stress disorder and the level of IL-1 β and IL-6 in their hippocampi. *China Pharmacy*, 27(25): 3478-3480 (in Chinese)
- Li Y, 2018. Clinical observation on jiaotai pill and wuling capsule in the treatment of insomnia due to heart-kidney dissymmetry. *Cardiovascular Disease Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 6(35): 151-152 (in Chinese)
- Liao ML, Yu J, 2000. Wuling capsule. *Chinese New Drugs Journal*, 9(11): 797 (in Chinese)
- Liu XM, Zhang R, Dong SF, Cheng GN, Chang HS, Sun JN, 2016. Effects of mixture of wuling powder and *Hypericum perforatum* L. on depressed model rats induced by chronic unpredictable stress. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 26(5): 81-86 (in Chinese)
- Liu XY, 2018. Study on the clinical efficacy safety of wuling capsule in the treatment of insomnia. Master Thesis, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan. 1-33 (in Chinese)
- Luo W, Peng XG, Ye XD, Fang MC, Cheng M, Miao YP, Chen AY, Dong WB, Zheng GL, 2019. Research on radioprotective activity of wuling bacteria fermentation bulk. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 36(6): 675-681 (in Chinese)
- Ma SY, Li T, Wei MQ, Ni JN, Xu XQ, Wang X, Yao X, Zhou YY, Shi J, 2022. The efficacy and safety of wuling capsule in treatment of sleep disorder: a meta analysis. *World Chinese Medicine*, 17(5): 715-722 (in Chinese)
- Ma ZZ, Zuo PP, Chen WR, Tang LJ, Shen Q, Sun XH, Shen Y, 1999. Studies on the sedative and sleeping effects of wuling mycelia and its pharmacological mechanism. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 34(6): 374-377 (in Chinese)
- Nowicki Z, Grabowski K, Cubała JW, Nowicka-Sauer K, Zdrojewski T, Rutkowski M, Bandoz P, 2016. Prevalence of self-reported insomnia in general population of Poland. *Psychiatria Polska*, 50(1): 165-173
- Qiu T, Chen M, Tao SL, Dai JF, Wu LC, Zhang BH, 2007. Effect of wuling powder on the changes of hippocampal monoamine neurotransmitter and behaviors in post-stroke depression rats. *Chinese Journal of New Drugs*, 16(11): 857-860 (in Chinese)
- Sun LJ, Han QY, Hu M, 2016. Research progress on γ -aminobutyric acid (GABA) receptors. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 4: 80-83 (in Chinese)
- Tang NN, Wu CW, Chen MQ, Zeng XA, Wang XF, Zhang Y, Huang JS, 2017. Therapeutic effects of jiaotai pill on rat

- insomnia via regulation of GABA signal pathway. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 16(9): 2135-2140
- Wang J, Hu YL, 2021. Clinical study on wuling capsules for insomnia of heart-kidney non-interaction type. Journal of New Chinese Medicine, 53(12): 71-74 (in Chinese)
- Wang YM, Chen HG, Song M, Xu SJ, Yu LL, Wang L, Wang R, Shi L, He J, Huang YQ, Sun HQ, Pan CY, Wang XY, Lu L, 2016. Prevalence of insomnia and its risk factors in older individuals: a community-based study in four cities of Hebei Province, China. Sleep Medicine, 19: 116-122
- Wen SF, Cao Y, Yang LL, Zhou ZF, Li RC, 2019. Research progress on medicinal *Xylaria*. Edible and Medicinal Mushrooms, 27(2): 106-111 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. Fungal Diversity, 98: 1-76
- Wu XF, Zheng XN, Guo X, Xie ZQ, Xie LN, Yue ZH, 2018. Effects of acupuncture treatment on 5-HT, its receptors and HPA-related hormones in rats with insomnia. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 36(1): 127-129 (in Chinese)
- Yan Y, Li Q, Du HZ, Shen CX, Li AP, Pei XP, Du CH, Qin XM, 2019. Determination of five neurotransmitters in the rat brain for the study of the hypnotic effects of ziziphi spinosae semen aqueous extract on insomnia rat model by UPLC-MS/MS. Chinese Journal of Natural Medicines, 17(7): 551-560
- Yang N, Liu YY, Hao WY, Ji C, Mou L, Zuo PP, 2010. Anti-depressant mechanisms of wulingjun powder by gene microarray analysis. Chinese Journal of Rehabilitation Theory and Practice, 16(4): 328-331 (in Chinese)
- Yin DH, Zhang J, Liu CL, 2011. Advance in clinical application of wuling capsule. Chinese Journal of New Drugs, 20(16): 1530-1533 (in Chinese)
- You WJ, He WD, Ma SH, Ling QZ, 2021. Research progress on neuromodulation of wuling powder. Science and Technology & Innovation, 7(4): 14-17 (in Chinese)
- Zhang L, Yang YF, Zhu JP, Hu JQ, 2020. Advance in pharmacology, clinical application of wuling preparation. Chinese Traditional Patent Medicine, 42(12): 3241-3245 (in Chinese)
- [附中文参考文献]**
- 陈永华, 张波, 黄为, 刘妮, 曹仕健, 杨文明, 2021. 乌灵胶囊联合右佐匹克隆治疗心肾不交型失眠临床观察. 安徽中医药大学学报, 40(1): 18-21
- 戴一, 朱向群, 吴灵刚, 2018. 乌灵参镇静催眠有效部位研究. 承德医学院学报, 35(4): 342-344
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. 菌物学报, 27: 801-824
- 李凤蕾, 杜菲, 吴迪, 彭正午, 2016. 乌灵菌粉早期应用对创伤后应激障碍模型大鼠行为及海马组织中 IL-1 β 、IL-6 水平的影响. 中国药房, 27(25): 3478-3480
- 李鹰, 2018. 交泰丸加减联合乌灵胶囊治疗心肾不交失眠的疗效观察. 中西医结合心血管病杂志, 6(35): 151-152
- 廖名龙, 郁杰, 2000. 乌灵胶囊. 中国新药杂志, 9(11): 797
- 刘晓萌, 张荣, 董世芬, 程工倪, 畅洪昇, 孙建宁, 2016. 乌灵菌粉贯叶连翘复方制剂干预对慢性不可预知应激大鼠模型抗抑郁作用及机制的研究. 中国比较医学杂志, 26(5): 81-86
- 刘晓燕, 2018. 乌灵胶囊治疗失眠的临床疗效及安全性研究. 湖北中医药大学硕士论文, 武汉. 1-33
- 罗威, 彭晓国, 叶小弟, 方明春, 程敏, 缪云萍, 陈爱瑛, 董文彬, 郑高利, 2019. 乌灵菌发酵液抗辐射功能研究. 中国现代应用药学, 36(6): 675-681
- 马素亚, 李婷, 魏明清, 倪敬年, 徐筱青, 王旭, 姚璇, 周英奕, 时晶, 2022. 乌灵胶囊治疗睡眠障碍有效性及安全性 Meta 分析. 世界中医药, 17(5): 715-722
- 马志章, 左萍萍, 陈宛如, 唐利军, 沈琦, 孙晓华, 沈云, 1999. 乌灵菌粉的镇静作用及其机理研究. 中国药理学杂志, 34(6): 374-377
- 裘涛, 陈眉, 陶水良, 代建峰, 吴乐程, 张宾辉, 2007. 乌灵菌粉对脑卒中后抑郁大鼠海马区单胺类神经递质及行为学改变的影响. 中国新药杂志, 16(11): 857-860
- 孙利净, 韩秋月, 胡满, 2016. γ -氨基丁酸(GABA)受体的研究进展. 黑龙江畜牧兽医, 4: 80-83
- 王静, 胡艳丽, 2021. 乌灵胶囊治疗心肾不交型失眠临床研究. 新中医, 53(12): 71-74
- 闻绍锋, 曹瑶, 杨林雷, 周忠发, 李荣春, 2019. 药用炭角菌的研究进展. 食药用菌, 27(2): 106-111
- 吴雪芬, 郑雪娜, 郭鑫, 谢志强, 谢莉娜, 岳增辉, 2018. 针刺对失眠大鼠 5-HT 及其受体、HPA 轴相关激素影响的研究进展. 中华中医药学刊, 36(1): 127-129
- 杨楠, 刘雁勇, 郝文宇, 纪超, 牟亮, 左萍萍, 2010. 应用基因芯片技术探讨乌灵菌粉的抗抑郁机制. 中国康复理论与实践, 16(4): 328-331
- 尹东辉, 张晶, 刘纯莉, 2011. 乌灵胶囊的临床应用进展. 中国新药杂志, 20(16): 1530-1533
- 尤伟静, 何文迪, 马少华, 凌庆枝, 2021. 乌灵菌粉神经调节作用机制研究进展. 科技与创新, 7(4): 14-17
- 张丽, 杨耀芳, 朱建萍, 胡坚强, 2020. 乌灵菌制剂药理作用、临床应用的研究进展. 中成药, 42(12): 3241-3245