

# 酸枣仁汤对氯苯丙氨酸诱导失眠大鼠模型 治疗机制的研究

刘昊, 韩昌胜, 迟显苏, 杨振霄, 王祥宇, 王新, 马柯\*

(山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250355)

**摘要:**为探究经典名方酸枣仁汤对氯苯丙氨酸(PCPA)诱导失眠大鼠的作用机制,采用8周龄的雄雌性SD大鼠各20只,每10只大鼠(雌雄各半)为一组,将40只大鼠随机分成酸枣仁汤组、地西洋组、模型组和空白组,利用腹腔注射PCPA混悬液的方法构建失眠大鼠模型,通过旷场实验和高架十字迷宫实验评价造模后大鼠睡眠行为、情绪的改变。给药两周后,通过血清学检测单胺类神经递质、氨基酸类神经递质、炎性细胞的变化。高架十字迷宫实验结果显示,与空白组相比,PCPA诱导的失眠大鼠开臂停留时间百分比( $t_{oc}$ )和进入开臂次数百分比( $N_{oc}$ )均下降,其中 $t_{oc}$ 显著下降,表明模型构建成功。与模型组相比,酸枣仁汤组5-羟色胺(5-HT)、 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)含量显著升高,而去甲肾上腺素(NE)含量升高不明显,多巴胺(DA)、谷氨酸(Glu)含量显著降低;酸枣仁汤组促炎性细胞因子白介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )含量显著降低,抗炎性细胞因子白介素10(IL-10)含量显著升高。与地西洋组相比,酸枣仁汤组DA含量降低更加显著,地西洋组肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )的含量比酸枣仁组降低更加显著,而5-HT、GABA、NE、Glu、IL- $1\beta$ 、IL-10含量变化趋势相同,且无显著差异。研究认为酸枣仁汤通过增加抑制性神经递质,降低兴奋性神经递质,恢复促炎性和抗炎性细胞因子水平,从而缓解失眠症状,为酸枣仁汤治疗失眠的功效机制及遣药组方提供了科学依据。

**关键词:**酸枣仁汤;失眠;大鼠模型;旷场实验;高架十字迷宫实验;神经递质;炎性细胞因子

中图分类号:R285.5

文献标志码:A

文章编号:1002-4026(2021)06-0032-09

开放科学(资源服务)标志码(OSID):



## Therapeutic effects and mechanism of action of Suanzaoren decoction, a classical prescription, on p-chlorophenylalanine-induced insomnia in rats

LIU Hao, HAN Chang-sheng, CHI Xian-su, YANG Zhen-xiao, WANG Xiang-yu, WANG Xin, MA Ke\*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

**Abstract:** The therapeutic effects and mechanism of action of Suanzaoren decoction on p-chlorophenylalanine (PCPA)-induced insomnia in rats were investigated. We randomly divided 20 male and 20 female 8-week-old Sprague-Dawley rats

收稿日期:2021-01-01

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2019BH027, ZR2019ZD23);山东省高校青创引才育才计划(鲁教人字〔2019〕9号-202, 201, 2019KJK013);国家自然科学基金(81903948)

作者简介:刘昊(1998—),女,研究方向为中医学。E-mail: 1447903122@qq.com

\*通信作者,马柯(1988—),男,博士,副教授,研究方向为经典名方现代化开发。Tel: 0531-89628077, E-mail: make19880710@163.com

into four groups of ten rats (five male and five female rats) each as follows: Suanzaoren decoction group, diazepam group, model group, and blank group. We established a rat model of insomnia by the intraperitoneal injection of PCPA suspension and evaluated the changes in the sleep behavior and mood of rats after an open-field experiment and an elevated plus-maze experiment. After two weeks of treatment, rat serum samples were collected to analyze the changes in the levels of monoamine neurotransmitters, amino acid neurotransmitters, and inflammatory factors. According to the results of the elevated plus-maze experiment, compared with the blank group, rats with PCPA-induced insomnia had a significant decrease in the percentage of open arm residence time ( $t_{oc}$ ) and a decrease in the percentage of open arm entry time ( $N_{oc}$ ), which indicated that the model was constructed successfully. Compared to the model group, the levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in the Suanzaoren decoction group increased significantly, whereas the increase in norepinephrine (NE) level was not significant. In contrast, dopamine (DA) and glutamic acid (Glu) levels decreased significantly. Compared to the model group, pro-inflammatory cytokine interleukin (IL)-1 $\beta$  level was significantly decreased, and anti-inflammatory cytokine IL-10 level was significantly increased in Suanzaoren decoction group. Compared to the diazepam group, the decrease in DA level in Suanzaoren decoction group was more significant, whereas the level of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in diazepam group reduced more significantly than that in Suanzaoren group. However, the levels of 5-HT, GABA, NE, Glu, IL-1 $\beta$ , and IL-10 in these two groups showed similar trends with no statistically significant differences. The study suggested that Suanzaoren decoction relieved insomnia by increasing the levels of inhibitory neurotransmitters, reducing those of excitatory neurotransmitters, and restoring those of pro- and anti-inflammatory cytokines. This study will serve as a scientific basis for demonstrating the efficacy and validating the prescription of Suanzaoren decoction in treating insomnia.

**Key words** : Suanzaoren decoction; insomnia; rat model; open field experiment; elevated plus-maze experiment; neurotransmitter; inflammatory cytokines

失眠作为困扰现代人的常见疾病,在中医中属于“不寐”的范畴,其主要病机为阴阳失于交合,即阳偏于亢盛,导致无法入于阴;或阴偏虚衰,导致不能摄纳阳。中医治疗不寐的总治则为补虚泻实,调整阴阳。酸枣仁汤出自东汉张仲景的《金匱要略·血痹虚劳病》,原文所载“虚劳虚烦不得眠,酸枣仁汤主之”,表明酸枣仁汤原方主要用于虚证的不眠。在现代临床上酸枣仁汤可以用来治疗肝血不足、虚热扰神所致的不寐。长期失眠的患者在临床表现上的情感波动导致大脑处于持续的情绪激发状态,使得失眠患者更加难以入睡,这与酸枣仁汤主治“虚烦”颇有相同之处。酸枣仁汤原方及用量最早见于《金匱要略》,原方由酸枣仁、茯苓、知母、川芎、甘草组成。酸枣仁汤对氯苯丙氨酸(PCPA)诱导失眠大鼠的干预机制可能为影响脑内ATP水平<sup>[1]</sup>、调节脑干NG2细胞和N-甲基-D-天冬氨酸受体的表达<sup>[2]</sup>、调节脑内神经递质(如增高5-羟色胺(5-HT)含量,增加谷氨酸(Glu)/ $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)的值)<sup>[3]</sup>、基于GABA-A受体系统通路通过调节脑组织中下丘脑的GABA及Glu含量<sup>[4]</sup>、影响PCPA所致失眠动物大脑皮质PKA mRNA和cAMP mRNA表达量<sup>[5]</sup>、提高PCPA失眠大鼠脑内钠-钾三磷酸腺苷酶和钙-镁三磷酸腺苷酶活性<sup>[6]</sup>、改善能量代谢<sup>[7]</sup>等。邝梓君等<sup>[8]</sup>通过系统药理学预测前列腺素G/H合成酶2是酸枣仁汤中的关键靶标,主要的靶点通路可能为肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )信号转导通路与类固醇激素合成相关通路。目前临床上常用的治疗失眠的药物为苯二氮草类受体激动剂、褪黑素受体激动剂与具有催眠作用的抗抑郁药物等<sup>[9]</sup>,这些药物治疗失眠大多是通过调节神经递质和某些细胞因子来实现的,因此,本实验通过研究酸枣仁汤对PCPA诱导失眠大鼠单胺类神经递质、氨基酸类神经递质、炎性细胞的影响,并与地西洋作对比,探讨其治疗失眠可能存在的机制,为临床用药提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

健康8周龄清洁级SD雌雄大鼠各20只,体重(180 $\pm$ 20)g,购自北京维通利华实验动物有限公司,并在实验前7d开始适应实验室环境。实验室昼夜时间分配比1:1(昼夜各12h处理);照明时间07:30—19:30,黑

暗时间 19:30—翌日 07:30;保持安静稳定,温度维持在 20~25 ℃、湿度控制在(60±5)%。

### 1.1.2 实验药物

地西洋、PCPA、吐温 80、生理盐水(山东中医药大学实验室),酸枣仁汤(山东中医药大学国医堂医院)。

### 1.1.3 实验仪器

BAS224S 电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司),5 mL、10 mL 注射器(江西洪达医疗器械集团有限公司),灌胃针头(北京创博环球生物科技有限公司),旷场实验系统(上海欣软 XR-XZ301),高架十字迷宫系统(上海欣软 XR-XG201),SMART 3.0 动物行为学视频采集与分析系统、SuperMaze 动物行为学视频分析系统、大鼠雌二醇(E2)酶联免疫分析(ELISA)试剂盒(上海宸功生物公司),离心机(力辰科技 LC-LX-HL210D)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 药物制备

酸枣仁汤根据仲景原方换算,为计算方便,按照古代的 1 两相当于 16 g 来换算,酸枣仁汤配方剂量为:酸枣仁 110 g<sup>[10]</sup>、茯苓 32 g、川芎 32 g、知母 32 g 和甘草 16 g,煎取 600 mL,放入 4 ℃ 冰箱保存备用。

因 PCPA 较难溶于水,故先用吐温 80 助溶,再加入生理盐水配制成溶液,现用现配。地西洋粉末经生理盐水溶解后配置成溶液,现用现配。

### 1.2.2 动物分组

实验动物按照随机数字法分为 4 组,分别为酸枣仁汤组、地西洋组、模型组和空白组。每 10 只大鼠(雌雄各半)为一组,雌雄两性分别置于两个 RVC 笼子内,大鼠的饲料和饮水采用任食任饮方式。

### 1.2.3 造模方法

实验采用腹腔注射 PCPA 的方法构建大鼠失眠模型,将需要配制使用的 PCPA 混合摇匀,模型组、地西洋组、酸枣仁汤组于每日 7:30—8:30 按 350 mg/kg 以 10 mL/kg 腹腔注射给药,1 次/d,持续 3 d。对照组在相同时间腹腔注射等量生理盐水。

注射完成后,大鼠造模成功的标志为其出现昼夜节律消失,白昼不停活动,出现不安、躁动等表现<sup>[11]</sup>。

### 1.2.4 治疗给药

造模成功后,于造模结束后第 2 d 开始每日 8:00 给药,连续给药 14 d,给药的浓度、剂量根据人与大鼠体表面积换算公式计算。酸枣仁汤组按体表面积法换算成大鼠的等效剂量 50 g/kg,按照每只大鼠 10 mL/kg 每日行灌胃给药;地西洋组按体表面积法换算为 1 mg/kg,按照每只大鼠 10 mL/kg 每日例行灌胃;模型组和空白组根据换算方法给予等体积生理盐水每日例行灌胃。

## 1.3 大鼠行为、情绪评价

### 1.3.1 旷场实验

所有大鼠于造模结束后一天,先让其适应实验室内安静照明环境 1 h 后,将其放置于旷场实验箱正中央,实验箱正上方摄像头及相关视频跟踪系统会记录大鼠 5 min 内的运动总距离、中心区停留时间以及进入次数<sup>[12]</sup>,追踪系统与电脑相连,有相关数据采集及分析系统。每只大鼠于实验结束后取出,并清理实验箱一次,用 75% 的酒精擦拭实验箱防止气味等因素干扰。

### 1.3.2 高架十字迷宫实验

所有大鼠于造模结束后一天,提前 5 min 将其放置到实验室内,让其适应实验照明环境后置于高架十字迷宫的中央位置,头朝开臂,观察 5 min 内的活动情况,每只大鼠于实验结束后取出并用 75% 的酒精擦拭迷宫,以免对下一只大鼠产生干扰。迷宫有专门与电脑相连的系统来收集和分析相关数据。观察指标:进入开放臂次数(open arm entry,  $N_{OE}$ )、进入开放臂时间(open arm time,  $t_o$ );进入封闭臂次数(close arm entry,  $N_{CE}$ )、进入封闭臂时间(close arm time,  $t_c$ )。并计算开臂停留时间百分比: $t_{oc} = \frac{t_o}{t_o + t_c} \times 100\%$  以及进入

开臂次数百分比:  $N_{oc} = \frac{N_{OE}}{N_{OE} + N_{CE}} \times 100\%$  [13]。

## 1.4 检测指标

### 1.4.1 单胺类神经递质含量测定

脑内单胺类神经递质主要包括去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-HT及其代谢产物。首先按照1.0 mL/kg体质量注射剂量给各组大鼠腹腔注射质量分数为3%的戊巴比妥钠溶液进行麻醉,麻醉成功的指标为注射后仰卧位翻正反射且无疼痛反应。麻醉成功后用提前经过消毒处理的手术器械剖开大鼠腹腔,分离前面的脏器及脂肪,找到腹主动脉,用一次性真空采血管取动脉血。取血后室温静置1 h,然后用离心机3000 r/min离心10 min,离心完成后分离上层纯净透明的血清<sup>[14]</sup>,制成样本液。用大鼠雌二醇(E2)酶联免疫分析(ELISA)试剂盒依次经过标准品的稀释、温育、配液、洗涤、温育、洗涤、显色、终止、测定等步骤测出各孔的吸光度,再根据试剂盒中的说明书计算出NE、DA、5-HT的含量。

### 1.4.2 氨基酸类神经递质检测

氨基酸类神经递质包括Glu、GABA等。最后一次给药处理后30 min内处死并参照1.4.1节单胺类神经递质检测中腹主动脉取血、离心的步骤用ELISA法测定吸光度,根据试剂盒使用说明计算出Glu、GABA的含量。

### 1.4.3 血清中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10含量检测

最后一次给药处理后30 min抽取大鼠腹主动脉的血液,静置,离心机3000 r/min离心10 min,分离出上层纯净的血清,制成样本液,采用ELISA法吸附测定检测血清中炎症相关因子TNF- $\alpha$ 、白介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素10(IL-10)含量。

## 1.5 统计学方法

上述所有数据均经过SPSS 23.0统计软件处理,计量资料均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, $P<0.05$ 表明具有统计学意义,参数比较采用两独立样本 $t$ 检验、单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 大鼠行为、情绪评价结果

#### 2.1.1 旷场实验结果

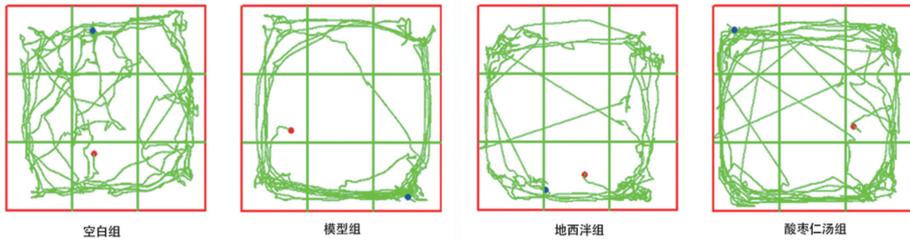
与空白组相比,PCPA诱导的失眠大鼠在旷场实验中总距离显著降低( $P<0.05$ ),中央区域的进入次数与持续时间降低不明显( $P>0.05$ ),见表1。各组的旷场实验轨迹图对比见图1,图中结果显示,与空白组相比,模型组大鼠在旷场实验中的总距离明显减少,酸枣仁汤治疗后大鼠在旷场实验的总距离和中央区域进入次数较模型组增加。

表1 空白组与模型组大鼠的旷场实验结果( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Results of open-field experiment in model or control group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	总距离/cm	中央区进入次数/次	中央区时间/s
空白组	1 923.36 $\pm$ 266.16	3.00 $\pm$ 1.41	527.37 $\pm$ 256.42
模型组	1 260.30 $\pm$ 136.15*	1.67 $\pm$ 0.35***	381.61 $\pm$ 83.01***

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P>0.05$ 。



注:为方便计算大鼠进入中央区域的次数和停留时间,将旷场平均划分为九个区,其中最中间的区域为中央区域。

图1 各组大鼠的旷场实验活动轨迹图

Fig.1 Activity-tracking graph of open field experiment in each group

### 2.1.2 高架十字迷宫实验结果

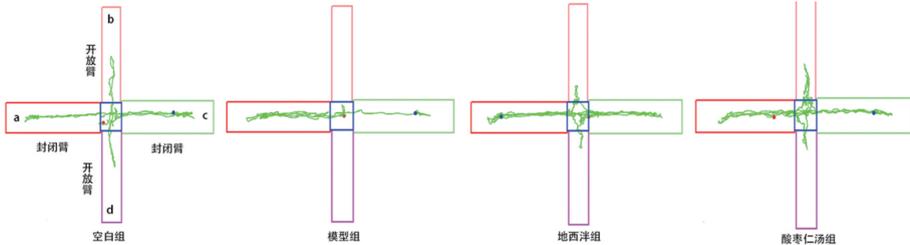
与空白组相比,PCPA 诱导的失眠大鼠在高架十字迷宫实验中其开臂停留时间百分比  $t_{oc}$  和进入开臂次数百分比  $N_{oc}$  均有所降低,其中  $t_{oc}$  降低比较显著 ( $P < 0.05$ ),而  $N_{oc}$  降低不明显 ( $P > 0.05$ ),见表 2。各组的高架十字迷宫活动轨迹图对比见图 2。图中结果显示,与空白组相比,模型组大鼠进入开臂的次数明显减少,酸枣仁汤治疗后大鼠进入高架十字迷宫开臂的次数较模型组增加。

表 2 空白组与模型组大鼠的高架十字迷宫实验结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Results of elevated plus-maze experiment in model or control group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	开臂停留时间百分比 ( $t_{oc}$ )	进入开臂次数百分比 ( $N_{oc}$ )
空白组	0.076±0.038	0.119±0.018
模型组	0.056±0.012***	0.106±0.024*

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P > 0.05$ 。



注:在上述高架十字迷宫图中,a,c 两臂(横臂)为封闭臂,b,d 两臂(纵臂)为开放臂。

图2 各组大鼠的高架十字迷宫实验活动轨迹图

Fig.2 Activity-tracking graph of elevated plus-maze experiment in each group

## 2.2 检测指标结果

### 2.2.1 单胺类神经递质含量测定结果

与空白组相比,模型组 5-HT 含量显著降低 ( $P < 0.05$ ),DA 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ),NE 含量显著升高 ( $P < 0.05$ );与模型组相比,酸枣仁汤组 5-HT 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ),DA 含量显著降低 ( $P < 0.01$ );而 NE 含量升高不明显 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 各组单胺类神经递质含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Monoamine neurotransmitter levels in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$\rho(5\text{-HT})/(\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{DA})/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$	$\rho(\text{NE})/(\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$
空白组	325.02±58.42	65.77±6.76	101.47±11.54
模型组	243.85±52.72*	74.34±8.55*	145.79±20.19*
地西洋组	270.74±11.79**	81.88±3.90**	157.71±22.18**
酸枣仁汤组	330.68±44.60**	61.31±3.82***	153.81±22.77***

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P > 0.05$ ;与模型组相比,\*\* $P < 0.05$ ,\*\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\*\* $P > 0.05$ 。

### 2.2.2 氨基酸类神经递质检测结果

与空白组相比,模型组 Glu 含量显著升高( $P<0.05$ ),GABA 含量显著降低( $P<0.01$ );与模型组相比,地西洋组和酸枣仁汤组 Glu 含量显著降低( $P<0.01$ ),GABA 含量均显著升高( $P<0.01$ ),见表4。

表4 各组 Glu、GABA 含量( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Glutamate and  $\gamma$ -aminobutyric acid levels in each group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	c(Glu)/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	c(GABA)/( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )
空白组	10.13 $\pm$ 1.55	1 879.46 $\pm$ 215.85
模型组	12.55 $\pm$ 1.05 *	1 302.80 $\pm$ 318.80 **
地西洋组	7.63 $\pm$ 1.17***	1 932.75 $\pm$ 170.51***
酸枣仁汤组	9.31 $\pm$ 1.81***	1 721.13 $\pm$ 181.81***

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P>0.05$ ;与模型组相比,\*\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.01$ ,\*\*\*\* $P>0.05$ 。

### 2.2.3 血清中炎症相关因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10 含量检测结果

与空白组相比,模型组 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量显著升高( $P<0.01$ ),IL-10 含量显著降低( $P<0.01$ );与模型组相比,地西洋组 TNF- $\alpha$  显著降低( $P<0.01$ ),酸枣仁汤组升高不明显;地西洋组、酸枣仁汤组 IL-1 $\beta$  含量显著降低( $P<0.01$ ),IL-10 含量显著升高( $P<0.01$ ),见表5。

表5 各组血清中炎症相关因子含量( $\bar{x}\pm s$ )

Table 5 Levels of inflammation-related factors in the serum in each group ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	$\rho$ (TNF- $\alpha$ )/(ng $\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\rho$ (IL-1 $\beta$ )/(ng $\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\rho$ (IL-10)/(ng $\cdot\text{L}^{-1}$ )
空白组	224.65 $\pm$ 27.72	26.83 $\pm$ 2.89	101.60 $\pm$ 11.99
模型组	302.32 $\pm$ 67.31 **	33.04 $\pm$ 3.31 **	59.62 $\pm$ 10.28 **
地西洋组	230.00 $\pm$ 32.07***	26.15 $\pm$ 5.59***	99.35 $\pm$ 15.16***
酸枣仁汤组	316.72 $\pm$ 30.41****	24.67 $\pm$ 2.32***	90.13 $\pm$ 16.13***

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P>0.05$ ;与模型组相比,\*\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.01$ ,\*\*\*\* $P>0.05$ 。

## 3 讨论

本实验采用了国内外大多数学者比较认同的 PCPA 失眠模型<sup>[15]</sup>,并采用了旷场实验、高架十字迷宫实验进行模型的行为学评估。欧阳俊彦等<sup>[16]</sup>根据旷场实验结果认为,焦虑大鼠中央区域停留时间明显减少,而且其总的运动距离无显著性;张鹏横等<sup>[17]</sup>则认为焦虑水平高的动物会更倾向于停留在四周的区域,而焦虑水平低的大鼠对中央区域的探究次数和时间会比较多。高架十字迷宫实验是用来考察大鼠焦虑状态的常用考量工具,主要是利用了大鼠对新鲜环境的好奇、探究的天性和对高悬的开放臂的恐惧心理形成的矛盾冲突。李宁等<sup>[18]</sup>指出在该项目中,对于有焦虑的动物来说,其  $N_{oc}$  和  $t_{oc}$  会明显降低,而经典抗焦虑药物则使两者升高。失眠大鼠在失眠的同时通常会伴有焦虑等症状,后期随着失眠程度加重可能会出现抑郁等其他症状。实验结果显示,造模后的大鼠相比于空白组,其旷场实验运动总距离明显降低,中央区域的进入次数与持续时间降低,但是降低不明显;而高架十字迷宫的结果则显示其  $t_{oc}$  和  $N_{oc}$  均下降,其中  $t_{oc}$  下降比较显著。旷场实验中大鼠对中央区域的探索情况一定程度上表现了大鼠的焦虑水平,高架十字迷宫中大鼠对开臂的探索在一定程度上表现了大鼠好奇心及对未知外界环境的兴趣,本实验得出的结果说明造模后的大鼠相比于空白组的大鼠来说,其对中央区域的探索度降低,在旷场中运动度明显减少,有一定的焦虑症状出现,导致其对环境的兴趣和探索降低,这与临床中多数失眠患者出现焦虑,对事物好奇心、探索度降低有相似之处。

黎发根等<sup>[19]</sup>认为中药治疗失眠的作用机制可能有以下几种:一是中药中蕴含的某些有效成分通过调节抑制性神经递质(5-HT、GABA)等及兴奋性神经递质(如 Glu、NE、DA 等)的含量来治疗失眠;二是通过影响某些炎性细胞因子如 IL-1、TNF- $\alpha$  等和某些睡眠相关因子来影响失眠;三是通过改善大脑皮层或者中脑中缝

背核中的某些中枢神经超微结构来改善失眠。林腊梅<sup>[20]</sup>根据实验结果得出酸枣仁汤治疗失眠可能是通过调节脑内的单胺类神经递质与Glu神经递质的含量来实现的。王慧等<sup>[11]</sup>在实验探究PCPA失眠模型作用机制中5-HT与Glu递质系统的关系时,认为酸枣仁汤可能是通过干预脑内代谢型Glu受体的mRNA及其受体后信号分子cAMP和PKA mRNA的表达来改善5-HT合成障碍,进而干预改善失眠。李家豪等<sup>[21]</sup>经过实验认为酸枣仁汤能够有效调节老年睡眠剥夺大鼠的昼夜节律,并提出酸枣仁汤改善睡眠的作用机制可能与其能调节大鼠5-HT及其受体的表达有关。现代研究已经证明某些细胞因子与调控睡眠的觉醒周期有关,如助眠因子白介素1(IL-1)、TNF- $\alpha$ 、IL-6;而另一些炎症因子可能会通过影响慢波睡眠进而导致失眠,如IL-1 $\beta$ 、白介素4(IL-4)、IL-10;石皓月等<sup>[22]</sup>在分析整理中药对PCPA失眠模型的作用时、提出由中药调节的睡眠作用机制可能与机体内炎症因子浓度改变或者炎症相关。

本实验研究了单胺类神经递质、氨基酸类神经递质、炎症相关因子与失眠治疗的关系,以此来推测酸枣仁汤治疗失眠可能存在的机制。所研究的单胺类神经递质主要包括NE、DA、5-HT,氨基酸类神经递质主要包括Glu、GABA。实验结果表明,与模型组相比,酸枣仁汤组5-HT、GABA含量显著升高,而NE含量升高但不明显;DA、Glu含量显著降低。说明酸枣仁汤可能是通过增加抑制性神经递质(如5-HT、GABA),减小兴奋性神经递质(如DA、Glu)的含量来治疗失眠的,本实验中NE含量升高,但不具有统计学意义,可能受多种因素影响,后期有待于进一步研究。通过分析炎症细胞因子含量的变化,酸枣仁汤组对比模型组促炎症细胞因子IL-1 $\beta$ 含量显著降低,抗炎性细胞因子IL-10含量显著升高,说明酸枣仁汤可能通过调节促炎症细胞因子和抗炎性细胞因子的水平来进一步缓解失眠。与地西洋组相比,DA和TNF- $\alpha$ 有差异,且差异具有统计学意义,其中酸枣仁汤组DA含量降低更加显著,地西洋组TNF- $\alpha$ 显著降低;而5-HT、GABA、NE、Glu、IL-1 $\beta$ 、IL-10含量变化趋势相同,且无显著差异。说明酸枣仁汤与地西洋治疗失眠的作用机制可能存在相似性,均可以通过调节抑制性神经递质和兴奋性神经递质的含量、调节炎症细胞因子的含量来治疗失眠。而西药地西洋的主要作用机制可能是通过影响参与Glu转化为GABA的主要代谢酶GAD的表达来促进GABA与GABA- $\alpha$ 受体的结合,从而产生抑制效应,进而起到镇静催眠的作用<sup>[23]</sup>。本实验结果则表明了酸枣仁汤组与地西洋组对某些指标的含量的改变略有不同,说明其作用机制可能也存在差异。

本实验研究发现,通过腹腔注射PCPA造模成功的失眠大鼠在造模后一定程度上出现焦虑现象,这与临床上某些失眠人群出现焦躁不安的现象比较相似。酸枣仁汤在治疗失眠方面的作用机制可能与其能增加抑制性神经递质和降低兴奋性神经递质的含量、调节炎症细胞因子的水平有关,酸枣仁汤与地西洋的作用有一定的相似之处。本实验着重研究了单胺类神经递质、氨基酸类神经递质、炎症相关因子与失眠治疗的关系,实验结果表明酸枣仁汤可以通过增加5-HT、GABA,减小DA、Glu含量,调节炎症细胞因子如TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-10来治疗失眠。

## 参考文献:

- [1]武静,王慧,史琴,等.PCPA失眠大鼠不同时间皮质前额叶ATP水平变化及酸枣仁汤的干预作用[J].重庆医学,2017,46(4):439-441. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.003.  
WU J, WANG H, SHI Q, et al. Changes in prefrontal cortex ATP concentration over time after PCPA induced insomnia and the intervention effect of Suanzaoren Decoction[J]. Chongqing Medical Journal, 2017, 46(4): 439-441. DOI:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.04.003.
- [2]郭海波,全睿,滕柳,等.PCPA失眠大鼠脑干NG2细胞和NMDA受体的表达及酸枣仁汤的干预作用[J].亚太传统医药,2020,16(3):15-18. DOI:10.11954/ytctyy.202003004.  
GUO H B, QUAN R, TENG L, et al. Effect of Suanzaoren Decoction on the expression of NG2 and NMDAR in brainstem of PCPA insomnia rats[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2020, 16(3): 15-18. DOI:10.11954/ytctyy.202003004.
- [3]张军武,田凡,邹文信,等.酸枣仁汤对DL-4-氯苯基丙氨酸所致失眠的药效学研究[J].河南中医,2016,36(6):985-987.

DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2016.06.0412.

ZHANG J W, TIAN F, ZOU W X, et al. The research into efficacy of decoction of semen ziziphi spinosae in treating insomnia due to DL-4-chlorobenzene alanine of rats[J]. Henan Traditional Chinese Medicine, 2016, 36(6):985-987. DOI:10.16367/j.issn.1003-5028.2016.06.0412.

- [4]肖凤琴. 酸枣仁改善睡眠活性部位研究[D]. 长春中医药大学, 2020. DOI:10.26980/d.cnki.gcczc.2020.000216.
- XIAO F Q. Study on the improvement of sleep active sites in Suanzaoren[D]. Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2020. DOI:10.26980/d.cnki.gcczc.2020.000216.
- [5]左文彪, 臧印竹, 王慧. 酸枣仁汤对 PCPA 致失眠大鼠大脑皮质代谢型谷氨酸受体 mGluR1、mGluR2 的影响[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(3): 4-7. DOI: 10.11954/ytctty201803003.
- ZUO W B, ZANG Y Z, WANG H. Effect of Suanzaoren Decoction on insomnia rats cerebral cortex in metabotropic glutamate receptor mGluR1, mGluR2[J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2018, 14(3): 4-7. DOI:10.11954/ytctty.201803003.
- [6]史琴, 王慧, 武静, 等. PCPA 失眠后大鼠不同时间大脑皮质钠-钾 ATP 酶和钙-镁 ATP 酶活性变化及酸枣仁汤的干预作用[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(5): 1050-1052. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2016.05.010.
- SHI Q, WANG H, WU J, et al. Changes in the activities of sodium-potassium ATP ase and calcium-magnesium ATP ase in the cerebral cortex of rats after PCPA insomnia and the interventional effect of Suanzaoren Decoction[J]. Time Zhen Chinese Medicine and Materia Medica, 2016, 27(5): 1050-1052. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2016.05.010.
- [7]曹敏玲, 左文彪, 王慧. 酸枣仁汤对对氯苯丙氨酸失眠大鼠大脑皮质组织微透析液中生化物质含量的影响[J]. 江苏医药, 2018, 44(10): 1101-1104. DOI:10.19460/j.cnki.0253-3685.2018.10.001.
- CAO M L, ZUO W B, WANG H. Effect of Suanzaoren Decoction on biochemical contents in microdialysis samples from cerebral cortex of PCPA-induced insomnia rats[J]. Jiangsu Medical Journal, 2018, 44(10): 1101-1104. DOI:10.19460/j.cnki.0253-3685.2018.10.001.
- [8]邝梓君, 汤顺莉, 黄雁, 等. 酸枣仁汤治疗失眠的有效成分预测与靶点通路分析[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(8): 3585-3590.
- KUANG Z J, TANG S L, HUANG Y, et al. Active ingredient prediction and target pathway analysis of Suanzaoren Decoction in treating insomnia[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2018, 33(8): 3585-3590.
- [9]张鹏, 李雁鹏, 吴惠涓, 等. 中国成人失眠诊断与治疗指南(2017版)[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(5): 324-335. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.05.002.
- ZHANG P, LI Y, WU H J, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of insomnia in Chinese adults (2017 edition)[J]. Chinese Journal of Neurology, 2018, 51(5): 324-335. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-7876.2018.05.002.
- [10]徐凤凯, 吴汇天, 曹灵勇. 《伤寒杂病论》特殊计量药物换算考证[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(9): 4159-4162.
- XU F K, WU H T, CAO L Y. Conversion of the especial calculating drugs in *Shanghan Zabing Lun*[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 32(9): 4159-4162.
- [11]王慧, 臧印竹, 武静, 等. 酸枣仁汤对 PCPA 失眠大鼠大脑皮质代谢型谷氨酸受体和受体后 cAMP、PKA 的干预作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(1): 34-37.
- WANG H, ZANG Y Z, WU J, et al. Effect of Suanzaoren decoction on cAMP and PKA after metabolic glutamate receptor and receptor in the cerebral cortex of pcpa insomnia rats[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2018, 24(1): 34-37.
- [12]沈非儿, 王欣君, 何提珍, 等. 电针对慢性应激抑郁大鼠海马区突触可塑性和神经源性一氧化氮合酶的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2018, 24(11): 1592-1596.
- SHEN F E, WANG X J, HE T Z, et al. Effects of electroacupuncture on synaptic plasticity in hippocampal CA1 area of rats with chronic stress depression mediated by nnos[J]. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2018, 24(11): 1592-1596.
- [13]雷健, 陶光利. 脑功肽组方对高架十字迷宫大鼠海马单胺类递质及其代谢物的影响[J]. 中国药师, 2018, 21(5): 772-775.
- LEI J, TAO G L. Influence of Naogongtai formula on Hippocampus monoamine neurotransmitters and their metabolites in Rats in elevated plus-maze test[J]. China Pharmacist, 2018, 21(5): 772-775.
- [14]曹丽歌, 蒋雪云, 田蜜, 等. 不同取血方法和动静脉血对 Wistar 大鼠生化指标的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 2016,

28(1): 44-47. DOI:10.13590/j.cjfh.2016.01.010.

CAO L G, JIANG X Y, TIAN M, et al. Influence of different blood sampling methods and the difference of arterial blood and venous blood samples on biochemical indicators in Wistar rat[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2016, 28(1): 44-47. DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.01.010 .

- [15] 顾思臻, 窦丹波. 中医中药对 PCPA 失眠大鼠模型 HPA 轴相关单胺类神经递质及激素影响的研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2015, 29(1): 83-86. DOI:10.16306/j.1008-861x.2015.01.022.
- GU S Z, DOU D B. Research progress of Chinese medicine on monoamine neurotransmitter and hormone in PCPA rats with insomnia[J]. Acta Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai, 2015, 29(1): 83-86. DOI:10.16306/j.1008-861x.2015.01.022.
- [16] 欧阳俊彦, 胡卓炎, 褚玥, 等.  $\gamma$ -氨基丁酸对情绪应激大鼠额叶皮质一氧化氮合酶和一氧化氮水平的影响[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(5): 385-389. DOI:10.16016/j.1000-5404.2013.05.024.
- OUYANG J Y, HU Z Y, CHU Y, et al. Modulation of emotional stress-induced NOS and NO changes in rat frontal cortex by  $\gamma$ -aminobutyric acid[J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2013, 35(5): 385-389. DOI:10.16016/j.1000-5404.2013.05.024.
- [17] 张鹏横, 阮璐薇, 卓泽伟, 等. 情绪异常大鼠模型的旷场行为实验在中医药领域的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(9): 100-103. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2018.09.018.
- ZHANG P H, RUAN L W, ZHUO Z W, et al. A review of experimental studies on the behavior of rat models with abnormal emotion in Traditional Chinese Medicine[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2018, 28(9): 100-103 DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2018.09.018.
- [18] 李宁, 唐启盛, 赵瑞珍, 等. 慢性焦虑应激大鼠行为学的变化及高架十字迷宫的测评[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(4): 711-713. DOI:10.13193/j.archtcm.2010.04.41.lin.070.
- LI N, TANG Q S, ZHAO R Z, et al. The changes in behaviour of rats with chronic stress -induced anxiety and behavioural evaluation of the elevated plus -maze test system[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2010, 28(4): 711-713. DOI:10.13193/j.archtcm.2010.04.41.lin.070.
- [19] 黎发根, 李绍旦, 杨明会. 中医药治疗失眠症作用机理研究进展[J]. 环球中医药, 2012, 5(7): 543-546. DOI:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.07.021.
- LI F G, LI S D, YANG M H. Research progress on the mechanism of traditional Chinese medicine treatment to insomnia[J]. Global Chinese Medicine, 2012, 5(7): 543-546. DOI:10.3969/j.issn.1674-1749.2012.07.021.
- [20] 林腊梅. 酸枣仁汤对肝血虚失眠模型大鼠神经递质的影响[D]. 武汉; 湖北中医药大学, 2014.
- LIN L M. Effect of Suanzaorentang on neurotransmitters expression in the Liver blood deficiency insomnia model rats[D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2014.
- [21] 李家豪, 郭晓玲, 张如意, 等. 酸枣仁汤对慢性睡眠剥夺老年失眠大鼠下丘脑 5-HT 及其受体表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 530-532. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2017.03.007.
- LI J H, GUO X L, ZHANG R Y, et al. Effect of Suanzaoren Decoction on the expression of 5-HT and its receptor in hypothalamus of aged insomnia rats with chronic sleep deprivation[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2017, 28(3): 530-532. DOI:10.3969/j.issn.1008-0805.2017.03.007.
- [22] 石皓月, 鲁艺, 李钰昕, 等. 中药治疗对氯苯丙氨酸失眠模型大鼠影响的基础研究进展[J]. 中国医药导报, 2018, 15(11): 33-36.
- SHI H Y, LU Y, LI Y X, et al. Research progress of treatment with Chinese medicine for insomnia rats induced by PCPA[J]. China Medical Herald, 2018, 15(11): 33-36.
- [23] 郭晓, 郭蓉娟, 邢佳, 等. 宁心安神方调控失眠大鼠 Glu/GABA-Gln 代谢环路失衡的机制研究[J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(5): 413-419. DOI:10.3969/j.issn.1006-2157.2017.05.010.
- GUO X, GUO R J, XING J, et al. Mechanism of Ningxin Anshen Fang in regulation of unbalanced Glu/GABA-Gln metabolic loop in insomnia rats[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2017, 40(5): 413-419. DOI:10.3969/j.issn.1006-2157.2017.05.010.