

补脾养心方改善睡眠的作用机制研究和安全性考察

热依拉·吐尔逊,高鑫,王淳,乐娜,刘冰清,廖艳

(北京中医药大学,北京 102401)

摘要: **目的** 探讨补脾养心方改善睡眠作用及可能机制,并初步考察其安全性。**方法** 采用补脾养心方低(1.5 g/kg)、中(3 g/kg)、高(6 g/kg)剂量和阳性对照人参归脾丸(5 g/kg)每天进行小鼠灌胃,记录小鼠体质量变化,30 d后检测各组小鼠胸腺、脾脏指数和血清中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷草转氨酶(aspartate Transaminase, AST)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)和肌酸激酶(creatine phosphokinase, CK)含量,HE染色法分析肝、脑组织病理变化,并通过四项睡眠实验观察小鼠睡眠改变。**结果** 与空白对照组相比,补脾养心方未引起小鼠直接睡眠,但可延长戊巴比妥钠睡眠时间、缩短巴比妥钠睡眠潜伏期实验、降低戊巴比妥钠阈下剂量($P<0.05$);给药各组小鼠体质量明显增加,胸腺、脾脏指数升高,血清CK、LDH含量下降,脑组织和肝脏组织未发现明显病理改变。**结论** 实验表明补脾养心方具有改善睡眠的功效,其机制可能与调控炎症因子和睡眠-觉醒周期有关,且安全性较好。

关键词: 补脾养心方;改善睡眠;辩证保健

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

DOI: 10.13194/j.issn.1673-842X.2025.04.005

Study on the Mechanism of Action and Safety Investigation of Bupi Yangxin Decoction to (补脾养心方) Improve Sleep

TUERXUN Reyila, GAO Xin, WANG Chun, YUE Na, LIU Bingqing, LIAO Yan
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102401, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect and possible mechanism of Bupi Yangxin Decoction (补脾养心方) to improve sleep, and preliminarily investigate its safety. **Methods** The low (1.5 g/kg), medium (3 g/kg) and high (6 g/kg) doses of Bupi Yangxin Decoction and the positive control Reshen Guipi Pills (人参归脾丸, 5 g/kg) were administered to mice by gavage every day, and the changes in body weight of the mice were recorded. 30 days later, the thymic and splenic indices of mice of each group and the serum levels of alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), aspartate transaminase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine phosphokinase (CK) were measured, dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) content, HE staining method was used to analyze the histopathological changes in liver and brain tissues, and sleep changes in mice were observed by four sleep experiments.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1706800)

作者简介: 热依拉·吐尔逊(1994-),女(维吾尔族),新疆乌鲁木齐人,硕士,研究方向:营养、养生与康复。

通讯作者: 廖艳(1975-),女,北京人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中医营养学。

- [16] 侯政昆,胡文,刘凤斌,等. 罗马IV共识对功能性胃肠病中医临床评价研究的启示[J]. 中国中药杂志,2018,43(10): 2168-2176.
- [17] XIN-HUA Y, SU-QI S, YUN X. Resveratrol ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior: involvement of the HPA axis, inflammatory markers, BDNF, and Wnt/ β -catenin pathway in rats[J]. Neuropsychiatric disease and treatment, 2017, 13(default): 2727-2736.
- [18] MINGMING F, XIANGLONG Z, JIAXIN L, et al. Research progress in functional dyspepsia relevant to traditional Chinese medicine based on the theory of brain-gut axis[J]. Journal of Central South University, 2019, 44(11): 1300-1305.
- [19] BORROTO-ESCUELA D O, AMBROGINI P, CHRUSCICKA B, et al. The role of central serotonin neurons and 5-HT heteroreceptor complexes in the pathophysiology of depression: A historical perspective and future prospects[J]. International journal of molecular sciences, 2021, 22(4): 1927.
- [20] 范梦男,张博,陈苏宁. 胃痛消痞方对肝郁脾虚型功能性消化不良大鼠5-HT及其受体表达影响的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2020,38(11): 229-232,299.
- [21] 李耀洋,尚立芝,毛梦迪,等. 四逆散对抑郁大鼠BDNF/TrkB,5-HT/5-HT1A及HPA轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(24): 40-48.
- [22] 赵慧源,田诗琪,翟春影,等. 柴胡皂苷a对抑郁模型大鼠脑内神经递质及行为学的影响[J]. 中国医学创新,2021, 18(34): 28-32.
- [23] 张继丹. 基于“菌-肠-脑”轴探讨厚朴对功能性消化不良大鼠的作用及其体内代谢表征[D]. 北京:中国中医科学院, 2023.
- [24] 周丽,徐派的,张红星. 肠道菌群与常见功能性胃肠病相关性的研究进展[J]. 华中科技大学学报(医学版),2020,49(6): 756-760.
- [25] LAURIE Z, R E S, ASHOK R, et al. Dyspepsia and the microbiome: time to focus on the small intestine. [J]. Gut, 2017, 66(6): 1168-1169.
- [26] 李娟娟,王风云,唐旭东,等. 肠道菌群失调与功能性消化不良的相关性研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2019,27(1): 77-81.
- [27] 王婷,孙静莹,刘翠,等. 麸炒枳实对功能性消化不良大鼠肠道菌群的影响[J]. 中国药理学杂志,2021,56(13): 1068-1075.
- [28] HATA T, ASANO Y, YOSHIHARA K, et al. Regulation of gut luminal serotonin by commensal microbiota in mice[J]. PLoS one, 2017, 12(7): e0180745.

Results Compared with the blank control group, Bupi Yangxin Decoction did not cause direct sleep in mice, but it could prolong the sleep time of sodium pentobarbital, shorten the sleep latency experiment of sodium barbiturate, and reduce the subthreshold dose of sodium pentobarbital ($P<0.05$); the body weight of the mice in the groups of administration increased significantly, the indexes of the thymus and the spleen were elevated, the contents of serum CK and LDH were decreased, and no obvious pathological changes were detected in the brain tissues and the liver tissues. **Conclusion** This experiment demonstrated that Bupi Yangxin Decoction has the efficacy of improving sleep, and its mechanism may be related to the modulation of inflammatory factors and the sleep-wake cycle, and the safety is good.

Keywords: Bupi Yangxin Decoction (补脾养心方); sleep improvement; dialectical health care

在睡眠障碍国际分类中,失眠症表现为入睡困难、睡眠时间少和入睡时间表浅等问题^[1],这可能导致该人群工作、学习、记忆力及社会功能下降,同时伴随疲劳和焦虑、抑郁等情绪,甚至诱发心律失常等疾病的发生^[2]。

世界卫生组织(WHO)的一项关于失眠的Meta分析显示,目前全球失眠的患病人群约占27%^[3],中国的睡眠障碍率占15%,且发病率逐年升高^[4]。目前对失眠症的西药处理以苯二氮卓类为代表,但长期服用,可能出现认知功能和肝肾功能损伤,以及成瘾性、戒断效应等^[5]。而中医药辨证论治的精髓对于失眠症的治疗有其独特的优势^[6],尤其是针对疾病早期的亚健康状态。中医认为,失眠的主要病机是阴阳平衡失调,心脾两虚证是临床常见的中医证候,治则多以养血安神、补益心脾为主^[7]。故本研究在制备临床经验方补脾养心方(酸枣仁、茯苓、灵芝、刺五加、五味子)的基础上^[8],拟利用四项睡眠行为学实验探讨其对小鼠睡眠的改善作用和机制,并初步探讨其安全性,为后续以辨证保健理论为指导推进健脾养心方针对心脾两虚型失眠的深入研究和推广应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

SPF级健康雄性昆明小鼠50只,体质量18~22 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,许可证编号:SYXK(京)2019-0010。动物饲养于北京中医药大学SPF级动物房,给予普通维持饲料,自由饮水,室温(22 ± 2)℃,相对湿度为60%~70%,灯照周期为12 h。实验动物伦理号:BUCM-4-2020092903-3117。

1.1.2 药物

酸枣仁(批号:19062705)、灵芝(批号:20170101)、刺五加(批号:180605002)、茯苓(批号:20071901)、五味子(批号:18101102)、人参归脾丸(批号:20035001),以上均购自北京同仁堂;戊巴比妥钠(批号:20170611;购自上海伊卡生物技术有限公司);巴比妥钠(批号:570471;购自北京虹湖联合化工产品有限公司)。

1.1.3 仪器

离心机(型号:Eppendorf AG 22331 Hamburg)、全自动生化仪(UZS-300X)、电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司)、电子秤(赛多利斯科学仪器北京有限公司)、制冰机(松下冷链大连有限公司)、冷冻切片机(CryoStar NX50)、超分辨显微组织成像系统(Leica)。

1.1.4 补脾养心方的制备

根据文献^[8],补脾养心方用药组成为酸枣仁、灵芝、刺五加、茯苓、五味子,设定一个实验剂量为人用量的10倍,另设两个剂量分别为5倍和20倍,按照60 kg的体质量换算成小鼠,低、中、高剂量的浓度分别是:0.15 g/mL,0.3 g/mL,0.6 g/mL;给药剂量为0.1 mL/10 g。

取5倍处方量药材,加水(10倍药材量)(V1),浸泡12 h过夜。滤出浸泡液,测定体积(V2),计算吸水倍数。再加水至药材完全浸没,测定体积(V3),计算加水倍数。

$$\text{吸水倍数} = \frac{(V1 - V2)}{\text{药材重}}$$
$$\text{最小加水倍数} = \frac{V3}{\text{药材重}} + \text{吸水倍数}$$

加水10倍量,浸泡1 h,煎煮3次,每次45 min,合并滤液,沸腾浓缩至120 mL,使药液含药量达到0.6 g/mL。将120 mL浓缩药液分成3份,分别为65 mL、35 mL、20 mL。取35 mL药液加水35 mL,使药液含药量变为0.3 g/mL,得到70 mL含药量0.3 g/mL的药液,即中剂量组药液。取20 mL药液加水60 mL,使含药量变为0.15 g/mL,得到80 mL含药量0.15 g/mL的药液,即低剂量组药液。每周煮药1次,共4次。

1.1.5 阳性对照药药液的制备

选择人参归脾丸为阳性对照,每丸重9 g,根据文献数据^[9],小鼠给药浓度为0.5 g/mL,给药剂量为0.1 mL/10 g。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

将雄性昆明小鼠50只适应性喂养7 d后,随机分为5组,分别是:空白对照组、人参归脾丸阳性对照组(以下简称阳性对照组)(5 g/kg,相当于人日用量10倍/d)、补脾养心方低剂量组(以下简称复方低剂量组)(1.5 g/kg,相当于人日用量5倍/d)、补脾养心方中剂量组(以下简称复方中剂量组)(3 g/kg,相当于人日用量10倍/d)、补脾养心方高剂量组(以下简称复方高剂量组)(6 g/kg,相当于人日用量20倍/d),每组10只。

1.2.2 给药方法

每日上午给空白对照组小鼠生理盐水,其余各组给予相应剂量的药物,灌胃剂量为0.1 mL/10 g,每日3次^[9],根据小鼠体质量变化调整灌胃剂量,持续给药30 d。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 体质量

于实验开始第1、7、14、21、28天记录各组小鼠

体质量,观察给药后各组小鼠的体质量变化并进行分析。

1.2.3.2 胸腺、脾脏指数

取材当天,各组小鼠眼球取血后,立即剖腹称取胸腺和脾脏,计算胸腺、脾脏指数。

1.2.3.3 小鼠直接睡眠实验

除空白组外,给各组受试药后,观察各组小鼠是否进入睡眠,入睡以其翻正反射消失为标准,即被动使小鼠背卧位,其能立即翻正,定义为翻正反射存在;超过60 s仍无法翻正,则为翻正反射消失,进入睡眠;记录各组小鼠入睡动物数。

1.2.3.4 延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间实验

正式实验前先进行预实验,确定了能使100%的小鼠入睡,但又不导致其睡眠时间过长的戊巴比妥钠剂量为55 mg/kg (30~60 mg/kg)。于末次给药后,出现峰作用前10 min,各组小鼠腹腔注射55 mg/kg体质量戊巴比妥钠,注射量为0.1 mL/10 g体质量。以小鼠翻正反射消失为标准,观察受试物是否延长戊巴比妥钠诱导的睡眠时间。

1.2.3.5 小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠实验

预实验确定了使90%小鼠翻正反射不消失的戊巴比妥钠最大阈下催眠剂量为30 mg/kg (15~30 mg/kg)。末次给药后,各组小鼠腹腔注射30 mg/kg戊巴比妥钠,注射量0.1 mL/10 g。以小鼠翻正反射消失达1 min以上为标准,记录30 min内入睡小鼠数量,观察受试物能否提高戊巴比妥钠阈下睡眠发生率。

1.2.3.6 小鼠巴比妥钠睡眠潜伏期实验

预实验确定了使小鼠100%入睡,又不引起其睡眠时间过长的戊巴比妥钠剂量为300 mg/kg (200~300 mg/kg)。末次给药后,各组小鼠腹腔注射300 mg/kg巴比妥钠,注射量0.1 mL/10g。以小鼠翻正反射消失为阳性指标,观察受试物对巴比妥钠睡眠潜伏期的影响。

1.2.3.7 小鼠血清ALT、AST、ALP、CK、LDH测定

血液样本静置2 h后,4℃低温离心机30 000 r/min、15 min离心,取上清进行谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)含量检测。

1.2.3.8 小鼠脑、肝脏组织病理组织切片制作

取相同部位脑、肝脏组织,在4%甲醇中室温下固定24 h,常规梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,石蜡3 μm连续切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,蒸馏水浸洗。常规HE染色,400倍光镜下观察组织形态变化。

1.2.3.9 实验标本采集

实验结束后,各组小鼠过夜禁食16 h,称重并处死。迅速采集血液、肝脏、脑组织、胸腺、脾脏样本。

脑组织和肝组织在固定液中固定,用于病理学检查;计算胸腺、脾脏指数。

1.3 统计方法

实验数据使用Excel软件双录入,进行一致性检验。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。使用IBM SPSS statistics 20.0统计软件统计,数据呈正态分布,组间数据比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐采用LSD,方差不齐采用Tamhane。计数资料采用 χ^2 检验。各统计结果以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 对小鼠体质量的影响

各组小鼠在实验的第1天体质量无统计学意义;实验第7天,与空白对照组相比,阳性对照组小鼠体质量上升($P < 0.05$);第14天,与空白对照组相比,阳性对照组和复方高剂量组小鼠体质量均明显增加($P < 0.05$);实验第21天,与空白对照组比较,阳性对照组、复方中剂量组及复方高剂量组小鼠体质量明显增加($P < 0.01$);实验第28天,与空白对照组相比,阳性对照组,复方低、中、高剂量组体质量均增加($P < 0.05$)。见表1。

2.2 对小鼠胸腺、脾脏指数的影响

与空白对照组比较,阳性对照组和复方高剂量组胸腺指数上升($P < 0.05$);阳性对照组,复方中、高剂量组脾脏指数上升($P < 0.05$)。见表2。

2.3 对小鼠睡眠的影响

2.3.1 对小鼠直接睡眠的影响

在直接睡眠行为学实验中,空白对照组,阳性对照组,复方低、中、高剂量组小鼠均无产生直接睡眠($P > 0.05$),见表3。

2.3.2 对小鼠延长戊巴比妥钠睡眠时间、巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

与空白对照组比较,阳性对照组和复方中、高剂量组能明显延长戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠时间($P < 0.01$),缩短巴比妥钠睡眠潜伏期($P < 0.05$)。见表4。

2.3.3 对小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响

与空白对照组相比,阳性对照组和复方高剂量组戊巴比妥钠阈下剂量催眠中小鼠入睡数量和入睡率增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

2.4 对小鼠血清ALT、AST、ALP的影响

与空白对照组比较,阳性对照组,复方低、中、高剂量组小鼠血清ALT、AST、ALP水平无统计学意义($P > 0.05$)。与空白对照组比较,阳性对照组和复方高剂量组小鼠血清中肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表6。

表1 各组小鼠体质量的影响
Table 1 Effects on body weight of mice in each group

(g, $n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	第1天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白对照组	-	38.77 ± 2.13	43.20 ± 1.68	44.88 ± 1.74	45.60 ± 1.62	46.35 ± 1.64
阳性对照组	5.00 g/kg	38.78 ± 0.92	45.19 ± 1.38*	47.22 ± 1.87*	48.54 ± 2.18**	50.19 ± 2.75**
复方低剂量组	1.50 g/kg	38.85 ± 2.45	44.05 ± 2.38	45.34 ± 2.16	45.95 ± 2.05	48.65 ± 0.78*
复方中剂量组	3.00 g/kg	38.75 ± 2.07	44.41 ± 1.91	45.98 ± 3.00	47.80 ± 1.56**	48.90 ± 1.53**
复方高剂量组	6.00 g/kg	38.07 ± 1.49	44.47 ± 1.96	47.17 ± 2.16*	48.04 ± 1.35**	49.89 ± 2.38**

注: *与空白对照组比较, $P < 0.05$, **与空白对照组比较, $P < 0.01$ 。

表2 各组小鼠胸腺指数、脾脏指数的影响

Table 2 Effects on thymus index and spleen index of mice in each group (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g/kg)	胸腺指数	脾脏指数
空白对照组	—	1.27 ± 0.06	2.71 ± 0.68
阳性对照组	5.00	1.56 ± 0.22*	3.75 ± 0.61**
复方低剂量组	1.50	1.32 ± 0.10	2.91 ± 0.48
复方中剂量组	3.00	1.33 ± 0.16	3.27 ± 0.42*
复方高剂量组	6.00	1.53 ± 0.22*	3.45 ± 0.68**

注: *与空白对照组比较, $P < 0.05$, **与空白对照组比较, $P < 0.01$ 。

表3 各组小鼠直接睡眠的影响

Table 3 Effects on direct sleep of mice in each group (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g/kg)	直接睡眠入睡数量 / 只
空白对照组	—	0
阳性对照组	5.00	0
复方低剂量组	1.50	0
复方中剂量组	3.00	0
复方高剂量组	6.00	0

表4 各组小鼠延长戊巴比妥钠睡眠时间和巴比妥钠睡眠潜伏期的影响

Table 4 Effects of prolonging sleep time and sleep latency of sodium pentobarbital on mice in each group (s, n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g/kg)	延长戊巴比妥钠睡眠时间	巴比妥钠睡眠潜伏期
空白对照组	—	3 751.30 ± 897.50	1 079.80 ± 177.36
阳性对照组	5.00	5 297.30 ± 759.21**	813.70 ± 99.88*
复方低剂量组	1.50	3 928.00 ± 1 090.78	947.30 ± 67.91
复方中剂量组	3.00	4 244.30 ± 1 409.07	863.00 ± 64.38*
复方高剂量组	6.00	4 801.50 ± 1 242.98*	848.20 ± 142.83*

注: *与空白对照组比较, $P < 0.05$, **与空白对照组比较, $P < 0.01$ 。

表5 各组小鼠戊巴比妥钠阈下剂量催眠作用的影响

Table 5 The hypnotic effect of subthreshold dose of pentobarbital sodium on mice in each group (n=10)

组别	剂量 / (g/kg)	阈下剂量小鼠入睡数量 / 只	阈下剂量小鼠入睡率 / %
空白对照组	—	1	0.10
阳性对照组	5.00	7**	0.70**
复方低剂量组	1.50	4	0.40
复方中剂量组	3.00	5	0.50
复方高剂量组	6.00	6*	0.60*

注: *与空白对照组比较, $P < 0.05$, **与空白对照组比较, $P < 0.01$ 。

表6 各组小鼠血清ALT、AST、ALP、CK、LDH的影响

Table 6 Effects on serum ALT, AST, ALP, CK and LDH of mice in each group (U/L, n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g/kg)	谷丙转氨酶 ALT	谷草转氨酶 AST	碱性磷酸酶 ALP	肌酸激酶 CK	乳酸脱氢酶 LDH
空白对照组	—	41.50 ± 6.49	130.06 ± 31.47	108.75 ± 24.63	1 093.79 ± 216.22	975.30 ± 153.54
阳性对照组	5.00	38.80 ± 5.51	120.85 ± 16.05	101.18 ± 8.20	891.45 ± 96.21*	826.10 ± 40.68*
复方低剂量组	1.50	41.40 ± 4.12	133.99 ± 36.57	105.90 ± 9.68	1 085.81 ± 263.04	984.90 ± 301.91
复方中剂量组	3.00	41.00 ± 5.56	132.35 ± 26.02	103.37 ± 11.43	1 038.05 ± 136.15	982.60 ± 78.58
复方高剂量组	6.00	40.80 ± 3.01	134.61 ± 26.60	103.27 ± 5.87	926.52 ± 115.57*	833.30 ± 14.69*

注: *与空白对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 对小鼠肝脏、脑组织的影响

2.5.1 对小鼠肝脏组织的影响

与空白对照组相比,阳性对照组,复方低、中、高剂量组肝细胞形态、排列与间隙、肝索结构、细胞核数量及细胞质饱满程度均无明显病理改变。见封三图1。

2.5.2 对小鼠脑组织的影响

与空白对照组比较,阳性对照组,复方低、中、高剂量组小鼠神经细胞排列规则、结构致密,无明显病理改变。见封三图2。

3 讨论

失眠,在中医范畴中往往称作“不寐”“目不瞑”“不得眠”“不得卧”。本研究以在临床上出现频次较高的心脾两虚证作为研究的重点,基于中医辨证论治及辨证保健的思想^[10],根据心脾两虚证的证候特点组方“补脾养心方”,并探索其对小鼠睡眠的改善作用。

补脾养心方其组成包括酸枣仁、茯苓、灵芝、刺五加、五味子。方中酸枣仁是鼠李科植物酸枣的種子,性味甘、平、酸,具有宁心安神、养血补肝的功效^[11]。茯苓^[12]归属心、肺、脾肾经,有利水渗湿、健脾宁心的功效。灵芝^[13],性平味甘,能补心血、益心气、安心神,用于气血不足、心神失养所致的失眠,与茯苓共为臣药,助君药以安神。刺五加^[14],味辛、微苦、性温,具有益气健脾、补肾安神的功效;五味子^[15]酸温,敛心气、安心神;二者共为佐药,助以君、臣健脾、养心、安神之功。诸药相伍,共奏补益心脾、养血安神之效。

据《中成药辞典》^[16]和《卫生部药品标准中药成方制剂》第四册^[17]记载,人参归脾丸处方来源于《济生方》中归脾汤,适用于思虑过度、心脾两虚所致的心悸怔忡、失眠健忘等,故选择具有益气补血、健脾养心功效的人参归脾丸作为阳性对照药进行本次研究。

本研究结果显示,补脾养心方和阳性对照均能有效地延长戊巴比妥钠睡眠时间、缩短戊巴比妥钠睡眠潜伏期实验时间、降低戊巴比妥钠阈下剂量。同时,直接睡眠实验阴性说明补脾养心方没有直接睡眠作用,这与陈旭的研究结果相一致^[18]。此外,补脾养心方和阳性对照还能明显升高小鼠的体质量、胸腺和脾脏指数,这说明其在免疫调节方面具有一定的积极作用,肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的表达降低也验证了这一点。在安全性方面,通过小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)的测定和病理学检验,结

果表明酸枣仁方未出现异常,安全性较好。另外,相较于阳性对照人参归脾丸,补脾养心方药味精简,无明显禁忌人群,且安全性和适用性良好。相较陈旭等^[18]、张哲等^[19]、王婷婷等^[20]对温胆汤、酸枣仁汤或六味安神中药镇静安神作用的研究,补脾养心方更具亚健康辨证保健的特点和优势。

失眠症中入睡困难主要与大脑促进觉醒系统的激活有关^[21],其起源于脑干、丘脑、下丘脑的网状激活系统。下丘脑外侧的Orexin/hypocretin神经元投射到脑干和下丘脑的所有觉醒促进中心^[22],使大脑处于兴奋状态,无法进入睡眠,因此降低大脑兴奋性,是改善入睡困难的途径之一。戊巴比妥钠阈下剂量行为学实验是以此机制为基础,判断药方是否能通过改善大脑兴奋性使处于阈下睡眠的小鼠进入睡眠状态,从而改善入睡困难问题。本研究显示,补脾养心方高剂量组中小鼠入睡数量明显增加,说明其可能通过此途径改善入睡困难症状。

本实验中补脾养心方高剂量组CK含量明显下降,这表明其可能通过下调CK来达到延长睡眠时间的作用,其具体作用机制可能与炎症因子相关。研究表明,调控炎症因子会影响睡眠-觉醒过程^[23],促炎状态可能导致睡眠时间变短,故抑制炎症细胞运动可延长睡眠时间^[24]。另低度炎症生物标志物与血清中CK水平增加有关^[25],轻度肌肉损伤能诱导神经肌肉疲劳,从而影响睡眠质量。LDH作为一种氢转移酶,是与睡眠时间相关的睡眠稳态生物标志物,其活性与睡眠时间呈负相关^[26]。通过抑制LDH活性,可降低乳酸水平达到睡眠稳态。本研究中,补脾养心方高剂量组LDH含量下降,说明补脾养心方可能通过此方式来延长小鼠睡眠时间。

REM睡眠通过脑干中胆碱能和单胺能神经元的相互作用而受到调节,当REM睡眠出现异常则表现为睡眠潜伏期过长,进而会引起抑郁症等一系列精神心理疾病^[27]。有研究认为食欲素神经元可以维持清醒并抑制REM睡眠^[28]。本研究结果表明,高剂量的补脾养心方能缩短小鼠的睡眠潜伏期,延长REM睡眠,从而提高睡眠质量,这与梅麟凤等^[29]的结果相一致。综上,本研究表明,补脾养心方对正常小鼠具有良好的改善睡眠效果,其机制可能与调控炎症因子和睡眠-觉醒周期相关,且安全性良好,为其后续辨证保健的深入研究提供了实验基础。◆

参考文献

- [1] 王蒙蒙,李桦军,李欣坪,等.以酸枣仁、天麻为主的复方口服液改善睡眠作用机制研究[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(2):68-72.
- [2] 郝千莹,戴方圆,李平.李平教授治疗快速性心律失常合并失眠的临床经验[J].云南中医药大学学报,2023,46(1):42-46.
- [3] LI L, WANG SB, RAO W, et al. The prevalence of sleep disturbances and sleep quality in older Chinese adults: a comprehensive Meta-analysis[J]. Behav Sleep Med, 2019, 17(6): 683-697.
- [4] 胡莹,李亮,戴卫波,等.黄连温胆汤对氯苯丙氨酸致失眠小鼠的睡眠改善及 γ -氨基丁酸能系统通路递质含量及受体表达的影响[J].中药新药与临床药理,2022,33(8):1009-1016.
- [5] 王海燕,李思毅,张怡,等.中西医结合治疗失眠的系统评价[J].山东中医杂志,2020,39(2):134-139.
- [6] 施敏,刘富林,夏旭婷,等.龟甲胶治疗围绝经期失眠症的网络药理学研究[J].世界中医药,2022,17(16):2276-2280.
- [7] 李理.安神补脑液治疗老年人失眠症的有效性及其安全性[J].世界睡眠医学杂志,2021,8(9):1560-1562.
- [8] 热依拉·吐尔逊,廖艳,乐娜,等.辅助改善睡眠中药类保健食品组方规律及思考[J].中国中药杂志,2021,46(13):3228-3233.
- [9] 崔健,王瑶.人参归脾汤与人参归脾丸治疗心脾两虚失眠疗效比较[J].实用中医药杂志,2017,33(11):1249-1250.
- [10] 王林元,王淳,张建军,等.辨证保健理论体系的构建[J].中华中医药杂志,2022,37(9):4993-5012.
- [11] 李中国,方兰.酸枣仁汤方药解析及其助眠机制[J].中国民间疗法,2020,28(16):110-111.
- [12] 魏嵘,王振,李怀平,等.酸枣仁茯苓粉、大豆肽粉对失眠模型小鼠的改善睡眠作用[J].食品工业科技,2023,44(7):359-366.
- [13] 刘春芳,林永禄,陈亮,等.灵芝多糖 γ -氨基丁酸片剂研究及其改善睡眠功能验证[J].食品与发酵工业,2023,49(16):119-124,138.
- [14] 周兰云,张叶飞.刺五加总苷对快速眼动睡眠剥夺幼鼠学习记忆的作用研究[J].中国临床药理学杂志,2021,37(6):703-706.
- [15] 何玉瑶,刘晓庆,杨艳平,等.基于网络药理学探讨参芪五味子片治疗失眠作用机制[J].世界中医药,2022,17(18):2541-2547,2555.
- [16] 韩玲,马琳,吴景东,等.潞党参联合人参归脾丸治疗失眠(心脾两虚)临床疗效[J].实用中医内科杂志,2020,34(11):81-84.
- [17] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第四册)[S].北京:中华人民共和国卫生部,1991.
- [18] 陈旭,张星平,梁瑞宁,等.肾不藏志型不寐模型大鼠相关组织IL-10、IL-1 β 的表达差异研究[J].云南中医药大学学报,2023,46(4):81-86.
- [19] 张哲,黄运芳,赵雯雯,等.酸枣仁汤对失眠小鼠血清、肝脏和回肠中胆汁酸分子水平的调控作用[J].中国中药杂志,2022,47(1):159-166.
- [20] 王婷婷,王芮,杨伟丽,等.六味安神中药对小鼠镇静催眠作用影响的研究[J].河北中医学院学报,2021,36(2):1-5.
- [21] MANOR R, KUMARNSIT E, SAMERPHOB N. Characterization of pharmac-EEG fingerprint and sleep-wake profiles of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil inhalation and diazepam administration in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 276: 114193.
- [22] 倪丽艳,唐吉友.睡眠剥夺后大鼠下丘脑Orexin-A神经元的表达及其对学习记忆的影响[J].山东第一医科大学(山东省医学科学院)学报,2021,42(5):380-384.
- [23] 李尧善,申旻,王盼.生地黄水提物对大鼠睡眠的影响及其机制研究[J].天然产物研究与开发,2022,34(11):1911-1918,1977.
- [24] BESEDOVSKY L, LANGE T, HAACK M. The Sleep-Immune Crosstalk in Health and Disease[J]. Physiol Rev, 2019, 99(3): 1325-1380.
- [25] ALOULOU A, DUFOREZ F, BIEUZEN F, et al. The effect of night-time exercise on sleep architecture among well-trained male endurance runners[J]. J Sleep Res, 2020, 29(6): e12964.
- [26] WEI Q, TA G, HE W, et al. Stilbene Glucoside, a Putative Sleep Promoting Constituent from *Polygonum multiflorum* Affects Sleep Homeostasis by Affecting the Activities of Lactate Dehydrogenase and Salivary Alpha Amylase[J]. Chem Pharm Bull(Tokyo), 2017, 65(11): 1011-1019.
- [27] 梁巧玲,徐国洪,刘紫珊,等.阶段式睡眠教育在成人抑郁障碍伴OSAHS患者的护理效果[J].医学理论与实践,2022,35(14):2499-2501.
- [28] 曾雪爱,周春权,郭昕子,等.交泰丸对心肾不交失眠模型大鼠睡眠时相和睡眠质量的影响[J].中医杂志,2022,63(11):1080-1087.
- [29] 梅麟凤,方向东,朱伟芳,等.针灸治疗失眠伴抑郁障碍的临床效果分析[J].中医临床研究,2022,14(36):109-111.