

沉香线香熏香吸入助睡眠作用及机制探究*

弓宝¹, 王灿红¹, 王新腾¹, 吴玉兰¹, 魏建和^{1,2**}

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所海南分所/海南省南药资源保护与开发重点实验室&国家中医药管理局沉香可持续利用重点研究室 海口 570311; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所/中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室&濒危药材繁育国家工程实验室 北京 10019)

摘要:目的 探究沉香线香熏香助睡眠作用及其作用机制。方法 实验动物随机分为空白对照组、氯苯丙氨酸模型组、地西洋对照组(2.5 mg·kg⁻¹)及熏香吸入低剂量组(0.25 g·kg⁻¹)、中剂量组(0.5 g·kg⁻¹)、高剂量组(1.0 g·kg⁻¹);采用自制熏香仪重点吸入的给药方法,1次/天,1 h/次,连续7天。观察沉香线香重点吸入后对睡眠的影响;观察小鼠行为学变化并进行评价;采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定小鼠脑内伽马氨基丁酸(GABA_A)、谷氨酸(Glu)、5-羟色胺(5-HT)、腺苷(AD)等递质及对GABA_A/Glu值的影响;采用免疫印迹法(Western Blot)检测对谷氨酸能系统代谢和转运相关蛋白——谷氨酸受体(GluR1)及囊泡谷氨酸转运蛋白(VGluT1)表达的影响。结果 在一定剂量下,沉香线香熏香吸入可显著提高入睡效率和时长($P < 0.05$),同时减少其自主活动时间($P < 0.05$);熏香组可显著升高5-HT、Glu、GABA_A及腺苷分泌水平($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),同时上调GABA_A/Glu的比值($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);沉香线香熏香还可显著升高海马组织中GluR1及VGluT1相关蛋白的表达。结论 沉香线香熏香吸入可显著抑制失眠小鼠的自主活动,较好改善睡眠状况,作用机制可能与调节脑内5-HT递质含量、调控GABA-Glu分泌平衡及Glu合成代谢和转运有关。

关键词:沉香线香 熏香吸入 助睡眠 GABA_A/Glu平衡

doi: 10.11842/wst.20210414002 中图分类号: R285.5 文献标识码: A

失眠多由内在情志或外在工作压力等因素引起,目前失眠或入睡困难已经成为临床常见疾病之一,越来越多的人在睡眠及睡眠质量方面得不到保障^[1]。临床常用的镇静催眠药品不良反应较多,人们长期服用均会出现不同程度的停药反跳、耐受性,甚至产生药物依赖症等等不良反应^[2-3],因此医药学家们一直在寻找安全有效的替代药物。

沉香在我国香料界及传统医药领域拥有上千年的使用历史^[4],当白木香树的树干或枝条受到外界伤害刺激后会自发产生的一种树脂类物质,那么含有这

种树脂的木材便是沉香^[4]。沉香传统的使用方法以直接熏点吸入的方式居多,具有镇静安神、改善睡眠的功效^[6],但是其吸入助睡眠药效和作用机制尚未阐释清楚。随着通体结香技术的广泛应用和推广,国内外种植沉香的面积逐年扩大,沉香资源问题得到了解决^[7],沉香市场上相关产品也日益增多,沉香线香作为沉香主要的产品形式之一,因其使用和携带方便,备受消费者的重视和欢迎^[6]。已有报道显示,沉香香粉和挥发油熏香吸入具有镇静抑制自主活动及促睡眠作用^[8-11]。但是,有关线香以传统燃烧熏香吸入的镇静

收稿日期:2021-04-14

修回日期:2022-03-22

* 中国生物技术发展中心国家重点研发计划(2018YFC1706400):名贵南药沉香大品种开发关键技术突破与产业化应用,负责人:魏建和;海南省科技厅海南省基础与应用基础研究计划(自然科学领域)高层次人才项目(2019RC345):沉香养生线香镇静安神作用及其安全性评价研究,负责人:弓宝;海南省科学技术厅海南省重点研发计划项目(ZDYF2022SHFZ030):沉香精油香薰“安神/解郁”双向作用研究,负责人:王灿红。

** 通讯作者:魏建和,研究员,博士研究生导师,主要研究方向:药用植物基因资源与分子育种及次生代谢产物调控研究。

催眠作用及作用机理一直未见相关报道。

本研究采用自制熏香仪,应用传统重点沉香线香的方法,观察其对失眠模型小鼠协同戊巴比妥钠睡眠状况以及行为学的影响,此外检测沉香线香熏点吸入后,失眠模型小鼠体内5-HT等神经递质水平变化以及与Glu能系统代谢和转运相关蛋白如GluR1及VGluT1表达的影响,初次探究以传统重点沉香方式吸入给药后,其镇静安神作用及其可能的机制,为沉香线香等熏香类医药产品临床应用及后期沉香大健康产业的优化升级提供重要的参考依据。

1 实验材料

1.1 实验仪器与试剂

自制熏香仪(50 cm×50 cm×40 cm 正方体,其内部放置1个20 cm×20 cm×20 cm 镂空的圆柱体结构,中间可放置熏香香插);自主活动仪(Shanghai Xinsoft Information Technology Co., Ltd., Serial: (RD-1118-CO-M4);沉香线香(沉香加工中心制备);戊巴比妥钠(LOT NO: top2017012301, Merck, USA);地西洋片(LOT NO: 20200921, Taiyuan Zhenxing Pharmaceutical Co., Ltd.);5-HT试剂盒(LOT NO: DRE30136, Beijing Bosheng Jingwei Technology Co., Ltd.)、GABA_A试剂盒(LOT NO: DRE31429, Beijing Bosheng Jingwei Technology Co., Ltd.)、Glu试剂盒(LOT NO: DRE31214, Beijing Bosheng Jingwei Technology Co., Ltd.)、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(LOT NO: HP201501, Wuhan Servicebio Technology Co, Ltd.)、腺苷试剂盒:(LOT NO: DRE31229, Beijing Bosheng Jingwei Technology Co., Ltd.)、BCA蛋白浓度测定试剂盒(LOT NO: BL522A, Beijing Labgic Technology Co, Ltd.)、GluR1一抗(LOT NO: AF2473, BiYuntian Biotechnology Co., Ltd.)、VGluT1一抗(LOT NO: bs-11267R, Beijing Boosen Biotechnology Co., Ltd.)、山羊抗兔二抗(LOT NO: A0208, BiYuntian Biotechnology Co., Ltd.)。

1.2 实验动物

购买雄性昆明小鼠进行实验,体质量区间为18-22 g,由海南省药物研究所有限公司提供(SCXK[琼]2019-0004);SPF级动物饲养室中常规饲养,环境温度维持25±1℃,环境湿度维持50±5%,日夜光照时间为12 h:12 h,3天适应期后开始实验。

2 实验方法

2.1 实验动物分组造模及给药

将动物按照随机法分成:空白对照组,氯苯丙氨酸模型组,地西洋对照组(2.5 mg·kg⁻¹),低、中、高剂量线香熏香组:0.25 g线香(相当于100 mg·kg⁻¹沉香醇提取物),0.5 g线香(相当于200 mg·kg⁻¹沉香醇提取物)、1 g线香(相当于400 mg·kg⁻¹沉香醇提取物),共设6组,每组10只小鼠。空白对照组与氯苯丙氨酸模型组不作相应处理;地西洋对照组采用腹腔注射方法给予地西洋;低、中、高剂量线香熏香组动物置熏香仪中进行熏香,分别称重0.25,0.5,1.0 g沉香线香放置到熏香仪中的香插上点燃,将小鼠放入熏香仪,熏香1 h/次,连续给药7天。第1次和第2次给药后,模型组及给药组均按照300 mg·kg⁻¹剂量注射给予对氯苯丙氨酸,连续2天,制备失眠模型。参照文献^[12-14],如小鼠表现为体重减轻、毛发凌乱、光泽消失且具有一定强攻击性等情况发生,则判断为造模成功。

2.2 沉香线香熏点吸入对失眠模型小鼠的睡眠观察

实验动物按2.1法分组后进行造模并给药,模型组及熏香各组腹腔注射给予戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹),用计时器记录动物入睡时间以及睡眠时长,记录时间精确到秒(S)。

2.3 沉香线香熏点吸入对失眠模型小鼠自主活动的观察

实验动物按2.1法分组后进行造模及给药,放置在动物自主活动仪内进行行为学观察,分析记录各组小鼠10 min内在活动中央区域的停留时间、整个活动区域动物运动的总路程以及动物运动的平均速度,每组观察实验间隔,使用消毒酒精擦拭场箱,并清洁箱底粪便。测试时保持周围环境安静。

2.4 ELISA法对沉香线香熏点吸入各组小鼠脑内神经递质水平测定

选取2.3实验检测后的小鼠,用乙醚麻醉后,将小鼠处死并在冰块上取出脑组织,用医用NaCl溶液洗净,滤纸擦干称取重量。将脑中海马组织剥离出来,冰浴条件下加入温度为4℃的医用NaCl冷冻溶液混合进行匀浆后,低温条件下,在每分钟3000转的转速下离心15 min,离心液保存于-20℃低温冰箱内。依据试剂盒测定的方法要求制作相应的标准曲线,将测定样品中5-HT、Glu、AD、GABA_A的OD值带入,计算各组

小鼠脑组织内5-HT等递质的水平变化。

2.5 Western blot 法对脑内海马体相关蛋白表达的测定

将小鼠海马体脑组织从全脑中分离,加入0.9% NaCl溶液匀浆,离心,弃去上清液,加入RIPA裂解液后进行蛋白定量,采用试剂盒的方法,应用酶标仪对海马体脑组织中的蛋白进行浓度检测,进行配胶后加上样量电泳至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉封闭1h后,加1:2000的一抗 β -actin,1:1000的GluR1以及1:1000的VGluT1。样本置40℃温度下过夜,二抗置于室温条件下孵育后,采用凝胶成像仪成像的方法测定。

2.6 统计学处理及数据分析

应用SPSS18.0统计软件进行数据分析,结果以“均数 \pm 标准差”($\bar{x}\pm s$)的形式呈现,并使用GraphPad Prism软件绘制成柱形图展示。

3 实验结果

3.1 沉香线香熏香吸入对小鼠睡眠的影响

观察沉香线香熏香吸入后,观察戊巴比妥钠协同作用下对小鼠睡眠的影响情况,评价熏香吸入对睡眠作用的影响^[15-22],课题组在小鼠不死亡,而翻正反应消失的前提下,参考前期实验研究使用剂量^[12],统计小鼠入睡时间及睡眠时长(图1)。从结果可以看出,模型组睡眠观察指标与空白组睡眠观察指标比较,模型组小鼠入睡时间相对延长($P < 0.01$)且睡眠时长减少($P < 0.05$),体现造模方法可行;熏香吸入高、中、低剂量组均能显著减少失眠小鼠的入睡时间($P < 0.05$

或 $P < 0.01$),说明沉香线香熏香吸入可以促进小鼠进入睡眠状态;与模型组比较发现,熏香吸入中剂量组能显著增加小鼠睡眠时长($P < 0.05$),说明熏香吸入沉香线香可提高失眠小鼠的睡眠质量;而熏香吸入的低剂量组和高剂量组则影响不显著,可能与初始剂量不足,而加大剂量后出现先扬后抑的抛物线反应;临床上应用镇静安神类药物时也发现,低剂量时有镇静促睡眠作用,随着剂量加大反而出现兴奋样的反转效应。可见随着剂量加大,药效不是一直随之增强,到达一定程度可能会出现反作用,这也提示沉香熏香可能有“双向调节作用”,需进一步研究阐释。

3.2 沉香线香熏香吸入对失眠模型小鼠自主活动的观察

实验动物处于新环境下,其自主活动的表现、探索行为以及紧张程度都会发生变化,而旷场实验是评价这些变化常用的方法之一,一般作为评价动物行为变化、动物是否出现焦虑或抑郁行为等方面被广泛使用^[23]。除空白对照组外,其余各组小鼠熏香吸入沉香线香后,放入旷场中进行自主活动观察实验,应用计算机统计软件考察小鼠总运动路程(mm)、运动平均速度($\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$)及静止时间(s)等指标(图2)。从结果看出,造模后模型小鼠的运动路程和运动速度变化不明显,而小鼠静止的时间减少($P < 0.05$);而熏香吸入沉香线香后,低、中剂量熏香组的自主活动均显著减少($P < 0.05$),而高剂量熏香组的变化反而不显著;低、中、高剂量组的动物在静止时间指标上均显著增加($P < 0.01$),说明沉香线香熏香吸入可以增加动物安静状态;其与地西洋对照组观测指标相比无差

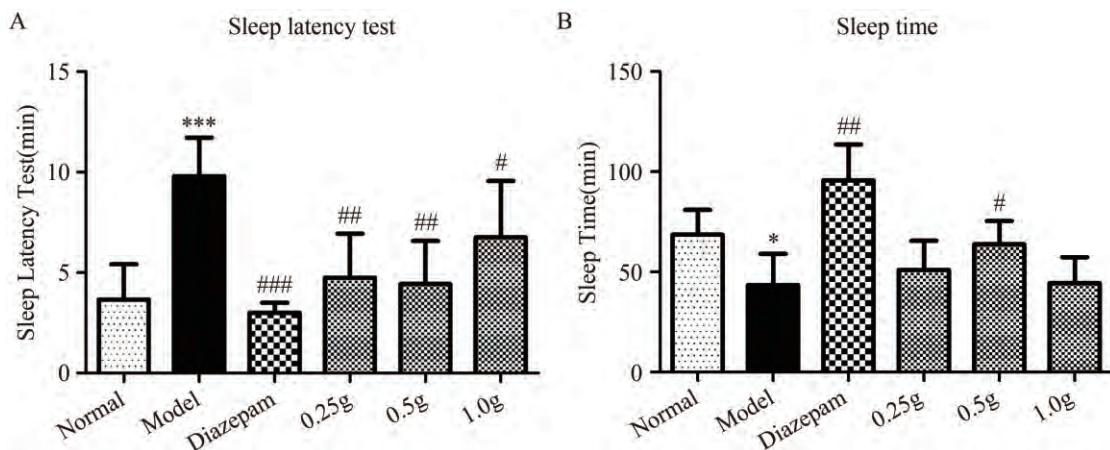


图1 沉香线香熏香吸入对失眠小鼠睡眠状况的观察

注:A:对入睡时间(min)的影响,B:对睡眠时长(min)的影响与空白组相比,*** $P < 0.01$,* $P < 0.05$;与模型对照组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$; $\bar{x}\pm s$, $n=10$ 。

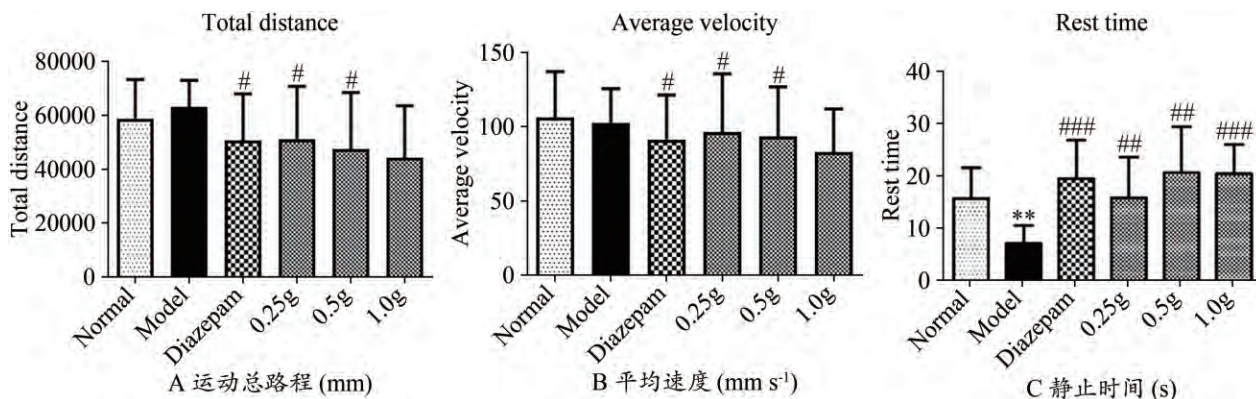


图2 沉香线香熏香吸入对小鼠自主活动的影响

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组相比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$; $\bar{x} \pm s$, $n = 10$ 。

异性($P > 0.05$),说明熏点沉香线香和阳性对照药作用无显著差异。

3.3 沉香线香熏香后小鼠脑组织中Glu、GABA_A、GABA_B、Glu、5-HT、AD的含量变化

现代研究表明Glu、GABA、5-HT、AD等神经递质的水平高低以及GABA/Glu的平衡均在睡眠—觉醒节律中起到重要的作用,观察其含量的高低对睡眠状况起到一定的指导意义^[24](图3)。从结果可以看出,失眠模型小鼠的Glu的水平增加比较明显($P < 0.05$),而5-HT的含量和GABA_A的含量均有所降低和减少($P < 0.05$),与此同时GABA/Glu平衡值与AD含量值则显著降低和减少($P < 0.05$),结果说明通过造模,小鼠脑内神经递质的水平与未造模相比有很大差异;地西洋对照组的小鼠体内Glu的水平明显下降($P < 0.05$),沉香线香熏点吸入后有一定程度的增加($P < 0.05$);另外地西洋对照组与沉香线香熏点吸入各组的GABA水平均有所升高($P < 0.05$),且GABA/Glu的平衡值与AD水平值显著升高($P < 0.01$);熏香吸入低剂量和中剂量组小鼠的5-HT含量水平明显升高($P < 0.01$),反而高剂量组有下降趋势($P < 0.05$),以上总体说明熏点沉香后对影响睡眠的主要神经递质有调控作用。

3.4 沉香线香熏点吸入对脑内海马体GluR1和GluT1蛋白表达的影响

文献研究表明谷氨酸(Glu)为广泛分布于哺乳类动物脑中可引起兴奋作用的一类神经递质^[25],其重要原料谷氨酰胺(Gln)在谷氨酰胺酶(TG酶)的协同作用下生成谷氨酸,所以谷氨酰胺转化为谷氨酸的程度对机体内维持谷氨酸含量的高低十分的重要^[26]。GluR1是谷氨酸的相关受体蛋白且具有传递兴奋性信

息作用;VGluT1广泛分布与谷氨酸囊泡膜上,在囊泡膜离子浓度改变的情况下,协助谷氨酸在囊泡间转运,其对机体谷氨酸含量的维持起到至关重要^[27-28]。结果发现造模组小鼠脑组织中的VGluT1蛋白量下降较为明显($P < 0.05$),而GluR1的蛋白量有下降的趋势,但差异无统计学意义;地西洋对照组与熏点吸入各组的GluR1表达量增加($P < 0.05$),地西洋对照组与熏点吸入中剂量及高剂量组的VGluT1蛋白表达量增加($P < 0.05$)(图4)。

4 讨论

目前药效研究中,针对改善失眠症药物评价的经典模型为戊巴比妥钠诱导的睡眠模型以及使用氯苯丙氨酸注射制作失眠模型^[29,13],睡眠实验的评价指标常考察睡眠潜伏期和睡眠时间两个指标^[30-31],参考文献研究^[32-33]利用PCPA制作动物失眠模型。本研究结果显示,相比正常组,连续注射PCPA 2d,小鼠自主活动显著增加,表明小鼠出现了失眠症状。与模型组相比较,熏点沉香线香可以缩短失眠小鼠模型的睡眠潜伏期,且在一定熏香剂量下可延长其睡眠时间,表明沉香线香熏点吸入具有改善睡眠作用。

给予动物相应的药物后观察其自主活动行为的变化情况,是评价作用于精神方面药物或者神经方面药物常用的方法之一^[23]。本实验参照徐飞^[14]和王帅^[12]报道的自主活动评价方法,选择运动总路程、平均速度和静止时间作为评价指标。结果显示,与模型组相比较,低剂量组和中剂量组沉香线香熏香后能够减少小鼠运动总路程,且运动的平均速度同时下降,而高剂量组这两个指标改变不明显,这与睡眠实验结果

中高剂量组反而不能显著延长睡眠时间相一致,可能与有效物质成分代谢转化或高剂量的反作用有关,均需做进一步研究;低剂量组、中剂量组和高剂量组均可增加小鼠旷场中静止时间,根据文献研究报道^[15],自主活动能力的降低可以说明沉香线香熏香后对氯苯丙氨酸造模的失眠小鼠睡眠有一定的改善作用。之

前已有文献报道采用沉香提取物灌胃,可以降低小鼠自主活动频率以及延长睡眠时间^[12],综上表明无论是采用熏香还是沉香提取物灌胃均能够降低小鼠的自主活动。

5-HT可影响“睡眠-觉醒”的节律过程,是与睡眠功能密切相关的神经递质之一,抑制5-HT的合成或

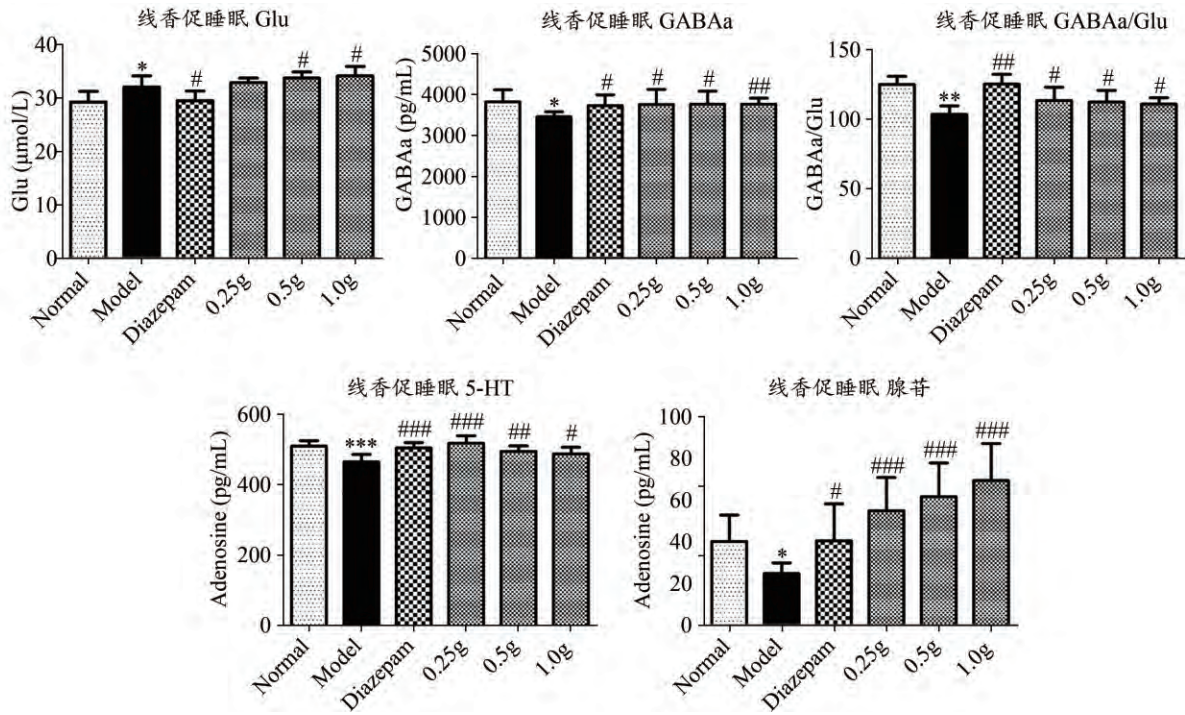


图3 沉香线香熏香后小鼠脑组织中Glu、GABA_A、GABA_A/Glu、5-HT、AD的含量变化

注:与空白组比较,**P<0.01,*P<0.05;与模型对照组相比,#P<0.05,##P<0.01;±s,n=10。

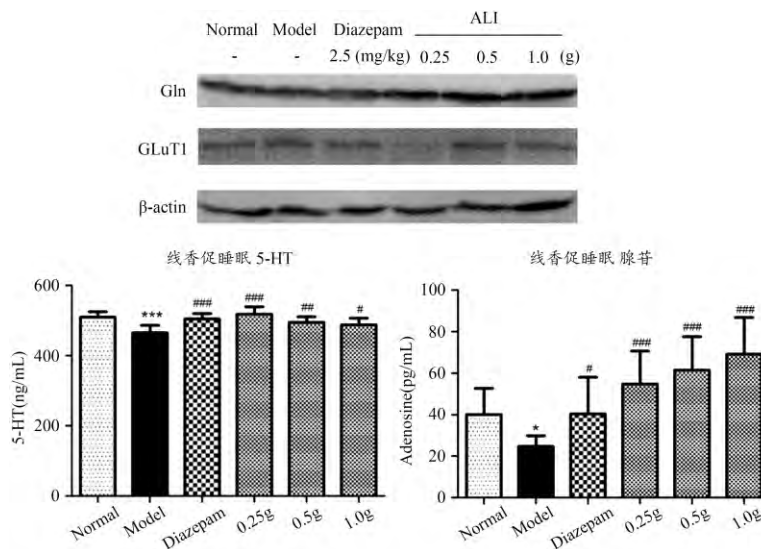


图4 沉香线香熏香后对小鼠脑组织中GluR1及VGlut1蛋白表达的影响

注:ALI为沉香线香。

者破坏5-HT能神经元均能导致机体出现不同程度的失眠行为^[34-35]。通过给予动物腹腔注射PCPA,从而阻碍动物机体内5-HT生成,进而达到睡眠剥夺的目的^[36]。本研究发现与模型组比较,熏点沉香线香后,能够升高失眠模型小鼠5-HT递质含量,表明沉香线香熏点吸入改善小鼠失眠症状的作用机制,可能与其具有调节脑内5-HT递质的作用有关。但是随着熏香剂量的增加,5-HT含量呈现下降趋势,是否说明沉香熏香具有双向调节作用,需要进一步研究。

神经生理学实验研究表明,大脑的兴奋-抑制功能存在着平衡关系,其对睡眠状态有一定的影响^[37-38],谷氨酸脱羧酶可以辅助使得机体内兴奋型的神经递质Glu可以转化为抑制型的神经递质GABA,因此GABA与Glu之间的平衡是否稳定,对失眠质量提升有很大的关系^[39]。熏点沉香线香后可同时提高小鼠脑组织中兴奋型神经递质Glu和抑制型神经递质GABA的量,从而整体上使得GABA/Glu平衡值增加,可以推断出熏点沉香线香助睡眠的机制有可能与调节Glu和GABA有关,这与报道的沉香气体吸入给药后,可以促进小鼠睡眠,改善小鼠失眠状态,作用机理有可能是通过下调Glu的水平,或上调GABA的水平,进而最终使得Glu/GABA比值整体下调有关^[9]的说法相一致。而降低的Glu是否转化为GABA则需要后期深入研究。在睡眠-觉醒的周期调控中,AD递质会跟着神经元活动而快速分泌,文献研究表明^[40]谷氨酸能神经元能引起腺苷的分泌,腺苷水平的高低变化可以起到调控睡眠的作用。本研究表明,与模型组相比较,熏

点沉香线香后可显著提高腺苷的水平,这也可能是沉香熏香助睡眠的作用机制之一。

谷氨酰胺(Gln)在谷氨酰胺酶的作用下转化为Glu,而Glu是影响调节睡眠的重要中枢神经递质之一^[26],而VGluT1是谷氨酸能神经递质转运的主要蛋白之一,其表达水平的高低决定了体内组织中谷氨酸水平的高低,因此课题组选择影响Glu兴奋传递及转运相关的GluR1和VGluT1水平进行测定,发现熏点沉香后能显著提高脑组织中GluR1及VGluT1水平,表明它们可能通过间接调控Glu/GABA的平衡发挥促睡眠作用。

综上所述,在一定剂量下熏点吸入沉香线香,可以改善失眠模型小鼠的睡眠指标,减少失眠模型小鼠自主活动并增加其静止的时间,对其脑内与睡眠相关的如5-HT等神经递质有相应的调节作用,对与Glu相关的GluR1及VGluT1相关蛋白的表达也有一定的影响。基于以上结果可以得出,沉香线香燃烧熏香后具有助睡眠的作用,其作用机制可能与调节脑内5-HT递质含量、调控GABA-Glu分泌平衡以及Glu合成代谢和转运有关,提示沉香熏香吸入后通过“多通路、多靶点、多成分”发挥助睡眠的作用。但是长时间大剂量熏点沉香线香是否会产生反向调节作用需要做进一步研究。沉香熏香改善睡眠的疗法目前在临床上已有小范围的推广应用^[11],本研究结果可为以后沉香熏香在临床上治疗失眠症的推广以及沉香大健康产品的优化升级提供重要的依据和借鉴。

参考文献

- 1 Glidewell R N, Mepheron B E, Orr W C. Insomnia and anxiety: diagnostic and management implications of complex interactions. *Sleep Med*, 2015, 10(1):93-99.
- 2 Magalhaes A C, Holmes K D, Dale L B, et al. CRF receptor 1 regulates anxiety behavior via sensitization of 5-HT₂ receptor signaling. *Nat Neurosci*, 2010, 13(5):622-629.
- 3 Roth T, Drake C. Evolution of insomnia: current status and future direction. *Sleep Med*, 2004, 5(5 Suppl 1):S23-30.
- 4 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一部). 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- 5 Lopez S A, Page T. History of use and trade of agarwood. *Econ Bot*, 2018, 72(1):107-129.
- 6 弓宝, 杨云, 刘洋洋, 等. 常用植物黏合剂物种基原鉴定、制香性能与燃烧性能评价. *中国药学杂志*, 2019, 54(23):1995-2000.
- 7 杨云, 冯剑, 朱杰霄, 等. 中国及东南亚国家沉香树采用通体结香技术产沉香的质量比较. *中国药学杂志*, 2019, 54(23):1988-1994.
- 8 Takemoto H, Ito M, Shiraki T, et al. Sedative effects of vapor inhalation of agarwood oil and spikenard extract and identification of their active components. *J Nat Med*, 2007, 62(1):41-46.
- 9 梁宇, 孔德文, 周启蒙, 等. 沉香气体吸入给药通过影响神经递质调节小鼠睡眠的作用研究. *中药药理与临床*, 2019, 35(6):71-77.
- 10 Tanaka J, Uchimura N, Hashizume Y, et al. Effects of aroma on sleep and biological rhythms. *Psy chin Neuros*, 2010, 56(3):299-300.
- 11 雷莉, 张婷, 高东, 等. 沉香熏香疗法对失眠障碍患者的临床疗效研究. *中风与神经疾病杂志*, 2019, 36(7):609-612.
- 12 王帅, 周岳, 马富超, 等. 通体沉香对小鼠催眠和自主活动抑制作用. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(6):1082-1087.
- 13 Demesquita S. p-Chloroamphetamine: effect on sleep and respiration

- in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 1985, 22(5):889-891.
- 14 徐飞飞, 田雅娟, 李钦青, 等. 酸枣仁-茯苓-党参水提物对小鼠睡眠的改善作用及机制研究. *食品工业科技*, 2021, 42(11):300-308.
 - 15 焦富英, 李国信, 马进, 等. 安神脐贴对 PCPA 致失眠大鼠自主活动及 GABA、5-HT 含量的影响. *世界科学技术-中医药现代化*, 2017, 19(12):2012-2016.
 - 16 莫小叶, 骆鹏飞, 俞兰秀, 等. 富含 γ -氨基丁酸酸奶对小鼠睡眠的促进作用. *现代食品科技*, 2020, 36(11):29-35, 129.
 - 17 芮施, 赵岩, 王晶瑶, 等. 刺五加根皮乙醇提取物和短梗五加根皮乙醇提取物对小鼠的镇静催眠作用及其机制. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(5):917-924.
 - 18 周月, 刘欢. 巴戟天提取物联合 GABA/茶氨酸改善小鼠睡眠作用的研究. *天津医科大学学报*, 2020, 26(2):114-117.
 - 19 贺程蓓, 曲萍, 赵思俊, 等. 梦寐口服液改善雌性小鼠睡眠作用的研究. *中国药物与临床*, 2020, 20(4):515-517.
 - 20 孙延娜, 梁可, 李阳, 等. 滋阴养血安神方对 PCPA 诱导失眠小鼠睡眠的影响. *中华中医药学刊*, 2019, 37(4):944-947.
 - 21 张颖, 吴怡, 齐越, 等. 枣仁安神颗粒改善睡眠作用的机制. *中成药*, 2016, 38(10):2268-2270.
 - 22 李越峰, 牛江涛, 曹瑞, 等. 四逆散镇静催眠作用的药理学实验研究. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32(1):62-64.
 - 23 买文丽, 王琼, 刘新民, 等. 小鼠自主活动实验中的评价指标. *中国实验动物学报*, 2008(3):172-175, 244.
 - 24 张飞燕, 李晶晶, 周莹, 等. 安神类中药及其有效成分对神经递质镇静催眠机制的研究进展. *中国中药杂志*, 2016, 41(23):4320-4327.
 - 25 Hinoi E, Takarada T, Uno K, *et al.* Glutamate suppresses osteoclastogenesis through the cystine/glutamate antiporter. *Am J Pathol*, 2007, 4(170):1277-1290.
 - 26 王秋菊, 许丽, 范明哲. 谷氨酸和谷氨酰胺转运系统的研究进. *动物营养学报*, 2001, 23(6):901-907.
 - 27 Takata K, Kasahara T, Kasahara M, *et al.* Erythrocyte/Hep G2-type glucose transporter is concentrated in cells of blood-tissue barriers. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 173:67-73.
 - 28 俞晓燕, 孙子林. GLUT1 的研究进展. *现代中西医结合杂志*, 2012, 21(30):3411-3414.
 - 29 Stino F K. Divergent selection for pentobarbital-induced sleeping times in mice. *Pharmacology*, 1992, 44(5):257.
 - 30 Demesquita S. p-Chloroamphetamine: effect on sleep and respiration in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 1985, 22(5):889-891. (与 13 相同, 请作者确认)
 - 31 林芳, 陈静文, 张志麒, 等. 睡菜提取物对小鼠急性毒性及镇静催眠活性研究. *食品研究与开发*, 2019, 40(11):31-35.
 - 32 赵仁云, 郑竹宏, 丁玉婷, 等. 栀子厚朴汤对失眠模型小鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响. *国际药学研究杂志*, 2018, 45(6):436-442.
 - 33 Treit D, Fundytus M. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1988, 31:959-962.
 - 34 张乔, 金阳, 徐瑞鑫, 等. 四逆散有效组分改善睡眠作用与 5-羟色胺能神经系统相关性的实验研究. *中国医药导报*, 2012, 9(14):29-30.
 - 35 Jouvet M. Insomnia and decrease of cerebral 5-hydroxytryptamine after destruction of the raphe system in the cat. *Adv Pharmacol*, 1968, 6:265-279.
 - 36 Li F, Li S, Liu Y, *et al.* Effect of heweienshen decoction on orexina and cholecystokin in expression in rat models of insomnia. *Evid-Based Compl Alternat Med*, 2016, 2016:8034263.
 - 37 阮继源. 电针对失眠大鼠脑内谷氨酸、 γ -氨基丁酸含量及 γ -氨基丁酸 A 型受体表达的影响. *中华中医药杂志*, 2013, 28(12):3657-3660.
 - 38 游秋云, 王平, 孔明望, 等. 酸枣仁汤对老年血亏阴虚失眠证候模型大鼠脑组织谷氨酸、 γ -氨基丁酸及 γ -氨基丁酸 A 受体表达的影响. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(14):119-123.
 - 39 Bateson A N. Further potential of the GABA receptor in the treatment of insomnia. *Sleep Med*, 2006, 7:3-9.
 - 40 宋鸥, 彭婉玲, 武照伐, 等. 基底前脑谷氨酸能神经元参与睡眠稳态因子腺苷的动态调控. *中国睡眠研究会第十二届全国学术年会论文集汇编*, 2020:1.

Study on Sleep-enhancing Effect and Its Mechanism of Agarwood Incense Inhalation

Gong Bao¹, Wang Canhong¹, Wang Xinteng¹, Wu Yulan¹, Wei Jianhe^{1,2}

(1. Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine & Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Agarwood Sustainable Utilization, Hainan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Haikou 570311, China; 2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education & National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

{ Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology } 1573

Abstract: Objective To explore the sleep-enhancing effect and its mechanism of agarwood incense inhalation. Methods The experiment included blank group, Chlorophenylalanine group, Diazepam group, agarwood incense low group ($0.25 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), agarwood incense middle group ($0.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and agarwood incense high group ($1.0 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), positive group was injected diazepam (10 ml/kg). Agarwood incense group was inhaled in the incense cable once an hour. Respective drugs were given except the blank and model group. Then sleep aid experiment was employed to assess the sleep quality, and the autonomic activities of rats in each group was tested; We probed the index as 5-HT, Glu, GABA_A, AD and GABA_A/Glu of rats, and explored the protein expressions of Gln and GluT1 in the hippocampus. Results The agarwood incense could significantly get the rats to sleep ($P<0.05$) and the same time extend the time ($P<0.05$); It decreased the rat autonomic activities, including reduced total distance and average velocity ($P<0.05$), and increased rest time ($P<0.001$); Inhaling the agarwood incense could increase the level of 5-HT, Glu, GABA and AD ($P<0.01$ or $P<0.05$); Meanwhile, GABA_A/Glu ($P<0.01$ or $P<0.05$), and the protein expression of GluR1 and VGluT1 was increased. Conclusion Inhaling the agarwood incense can decrease the general activity of rats and significantly improving-sleep, and the mechanism of action may be related to adjusting the balance of GABA_A/Glu and synthetic metabolism in Glu system pathway.

Keywords: Agarwood incense, Incense inhalation, Sleep-improving, GABA-Glu balance

(责任编辑: 周阿剑、刘玥辰, 责任译审: 周阿剑, 审稿人: 王瑀、张志华)