

# 沉香薰香吸入给药镇静促睡眠作用及机制研究

王灿红<sup>1</sup>, 陈细钦<sup>1</sup>, 弓宝<sup>1</sup>, 吴玉兰<sup>1</sup>, 刘洋洋<sup>1\*</sup>, 魏建和<sup>1,2\*</sup> (1. 中国医学科学院北京协和医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实验室, 海口 570311; 2. 中国医学科学院北京协和医院药用植物研究所, 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 100193)

**摘要:**目的 采用沉香挥发油(essential oil, AEO)、香粉(fragrant powder, AFP)加热及线香(line incense, ALI)燃香薰香吸入给药方式, 探究沉香挥发性物质吸入给药镇静促睡眠作用及作用机制。方法 采用对氯苯丙氨酸(PCPA, 300 mg·kg<sup>-1</sup>)诱导的失眠小鼠模型, 通过自主活动检测、协同戊巴比妥钠促睡眠行为学试验, 考察沉香挥发性物质吸入给药镇静促睡眠的情况, 并检测海马神经递质水平及其受体表达情况, 探究沉香促睡眠的作用机制。结果 相比模型组, 沉香线香(每只0.125 g)、香粉(每只0.1 g)及挥发油(每只1 μL)吸入给药显著抑制小鼠自主活动, 延长协同戊巴比妥钠(50 mg·kg<sup>-1</sup>)促睡眠的时间, 有较好镇静促睡眠作用; 机制研究结果显示, 沉香挥发性物质吸入给药后可不同程度升高γ-氨基丁酸(GABA)、GABA/谷氨酸(Glu)比值、5-羟色胺(5-HT)和腺苷(AD)水平, 同时可显著上调Glu合成代谢及转运蛋白的表达水平。结论 沉香挥发性物质吸入给药可较好地镇静促睡眠, 其作用机制与调节Glu-GABA平衡及Glu系统合成代谢和转运有关。

**关键词:** 沉香吸入给药; 失眠; 镇静; 催眠; 神经递质; Glu-GABA平衡

doi: 10.11669/cpj.2022.19.006 中图分类号: R965; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2022)19-1628-08

## Sedative and Hypnotic Effects of Agarwood Inhalation and Its Mechanism

WANG Can-hong<sup>1</sup>, CHEN Xi-qin<sup>1</sup>, GONG Bao<sup>1</sup>, WU Yu-lan<sup>1</sup>, LIU Yang-yang<sup>1\*</sup>, WEI Jian-he<sup>1,2\*</sup> (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 Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Haikou 570311, China; 2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the sedative and hypnotic effects and mechanism of the inhalation of volatile substances from agarwood by heating volatile oil and powder of agarwood and burning line incense of agarwood. **METHODS** Insomnia mouse model was induced using chlorobenzene alanine (PCPA, 300 mg·kg<sup>-1</sup>). Sedation and hypnotic effects were evaluated through autonomic activity detection and collaborative pentobarbital sodium sleep behavior test. The mechanism of agarwood promoting sleep was inspected by detecting the levels of hippocampus neurotransmitters and the expressions of their receptors. **RESULTS** Compared with model group, agarwood incense (0.125 g/mouse), incense powder (0.1 g/mouse) and volatile oil (1 μL/mouse) inhalation significantly inhibited the spontaneous activity of mice, prolonged the time of sleep promotion of pentobarbital sodium (50 mg·kg<sup>-1</sup>), and had better sedative and sleep-promoting effects. The results of mechanism study showed that the ratio of γ-aminobutyric acid (GABA) / glutamic acid (Glu) and the levels of GABA, 5-hydroxytryptamine (5-HT) and adenosine were significantly increased, and the expression levels of anabolism and transporter of Glu were significantly up-regulated after inhalation of volatile substances from agarwood. **CONCLUSION** Inhalation of agarwood volatile substances has sedation and hypnotic effects, and its mechanism is related to the regulation of Glu-GABA balance and the anabolism and transport of Glu system.

**KEY WORDS:** agarwood inhalation administration; insomnia; sedative effect; hypnotic effect; neurotransmitter; Glu-GABA balance

现代社会压力与日俱增,失眠已成为临床常见、多发性精神疾病之一<sup>[1]</sup>。《健康中国行动(2019-2030)》失眠数据调查数据显示,我国已有超3亿人患有失眠症,且有逐年增加趋势。失眠可使机体免

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目资助(82204657); 国家重点研发计划项目资助(2018YFC1706400); 海南省高层次人才项目资助(2019RC345); 海南省重点研发计划项目资助(ZDYF2022SHFZ030)

作者简介: 王灿红,女,硕士,助理研究员,研究方向: 中药药效活性成分评价及作用机制研究; \* 通讯作者: 刘洋洋,男,博士,副研究员,硕士生导师,研究方向: 中药质量控制技术及其应用, Tel: (0898) 31589010; 魏建和,男,研究员,博士生导师,研究方向: 药用植物基因资源、分子育种及次生代谢产物调控研究, Tel: (010) 57833016

疫力低下,长期失眠可诱发多种躯体和精神疾病,如肥胖、高血压、抑郁和焦虑等,严重影响人们的身心健康和生活质量<sup>[2]</sup>。目前,临床主要通过镇静催眠药物(如苯二氮䓬、非苯二氮䓬类等)治疗失眠,虽可改善失眠但不能治愈疾病,且长期用药会产生依赖性、突然停药会引起反跳性失眠<sup>[3]</sup>。失眠的机制复杂多样,至今尚未完全阐释清楚。中枢神经递质[5-羟色胺(5-HT)、腺苷(AD)、 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)及谷氨酸(Glu)等]的水平及其受体功能调控异常为目前公认的致病因素。因此,寻找疗效好、机理明确、副作用小的新型治疗失眠的药物具有非常重要意义。

沉香为瑞香科植物白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg] 含有树脂的木材,作为传统名贵芳香南药,据记载其味辛苦,性温,归脾、胃、肾经,有“行气止痛、温中止呕和纳气平喘”的传统功效<sup>[4]</sup>。历代本草记载:沉香可“清人神、益气和神、治心神不足”<sup>[5-7]</sup>。现代药理研究表明,沉香提取物<sup>[8]</sup>、挥发油<sup>[9-10]</sup>及沉香倍半萜成分及其衍生物<sup>[11-13]</sup>具有镇静催眠、抗抑郁、抗神经炎作用。本组前期研究证实沉香挥发油有较好的镇静催眠,气相色谱-质谱(GC-MS)分析沉香挥发油得到68个化合物,其中51.13%为倍半萜成分<sup>[14]</sup>。倍半萜为小分子脂溶性挥发性物质,具有“引药上行”作用,较易透过血脑屏障用于脑部疾病治疗。沉香以熏香方式使用已有两千余年历史,有较好的镇静安神疗效<sup>[15]</sup>,可见挥发性物质为沉香发挥作用的主要成分。有研究报道,沉香气体吸入能促睡眠、改善失眠和睡眠节律状态等,其作用与调节氨基酸类神经递质有关<sup>[9,16-18]</sup>。但沉香熏香吸入给药镇静促睡眠的作用机制尚未得到阐释。

本研究通过自制的暴露吸入给药装置,以加热沉香挥发油、香粉和燃烧沉香线香吸入给药方式模拟沉香熏香使用,通过行为学实验考察沉香挥发性物质吸入给药的镇静促睡眠作用,并进一步检测其对Glu-GABA能系统神经递质水平及其受体表的影响,探究沉香挥发性物质吸入给药镇静促睡眠的作用机制。

## 1 材料与仪器

### 1.1 受试药物

沉香原料为7年生白木香采用通体结香技术(专利号:ZL201010104119.5)结香18个月所产沉香,结香基地位于广东省化州市平定镇,由中国医学科学院药用植物研究所魏建和研究员鉴定均为白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg] 产沉香。所产

沉香原料已由中国医学科学院药用植物研究所海南分所沉香鉴定中心,根据2020年版《中国药典》标准检测合格并出具报告,凭证标本保存于中国医学科学院药用植物研究所海南分所沉香鉴定中心标本馆。同原料的沉香挥发油、沉香香粉及沉香线香均由本单位自行制备。

### 1.2 动物

SPF级雄性KM小鼠,体重范围为(20±2)g,购自海南省药物研究所,生产许可证号:SCXK(琼)2019-0006。饲养于海南省药物研究所SPF级动物房,温度20~25℃,湿度50%~60%,白昼光照周期12h/12h,自由饮水和摄食,适应性喂养3d后进行实验。

### 1.3 试剂

戊巴比妥钠(批号:20200113,美国默克公司);地西洋(批号:201805,商城北纳创联生物科技有限公司);对氯苯丙氨酸(批号:A841909,麦克林公司);神经递质酶联免疫试剂盒(Glu、5-HT、GABA、DA,均为同批号:202008,北京博胜经纬生物科技有限公司)。

### 1.4 仪器

小鼠自主活动实验计算机在线检测系统(上海欣软信息科技有限公司,型号:RD-1118-CO-M4);自制熏香仪(有机玻璃制成的50cm×50cm×40cm大箱结构,其内部放置1个20cm×20cm×20cm镂空的圆柱体结构,中间可放置电子熏香炉和燃香香插,图1);微孔板分光光度计(赛默飞世尔科技上海有限公司,序列号:1510-04123)。

## 2 实验方法

### 2.1 分组、造模及给药

健康KM小鼠,随机分为6组:正常组、模型组,

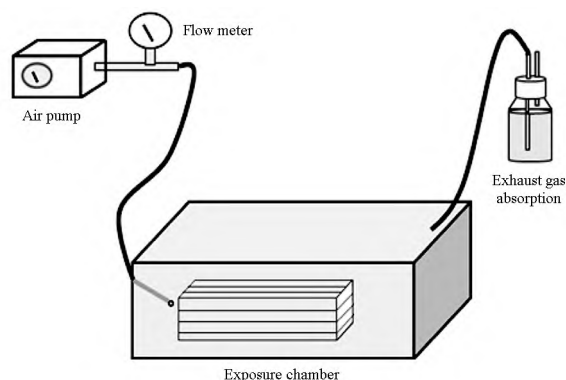


图1 熏香暴露装置模式图

Fig. 1 Model diagram of incense exposure device

阳性对照地西洋组(2.5 mg · kg<sup>-1</sup>)、沉香线香组(每只0.125 g)、沉香香粉组(每只0.1 g)、沉香挥发油组(每只1 μL)。挥发油给药剂量参考课题组前期挥发油腹腔注射给药剂量换算<sup>[14]</sup>(注射用量40 mg · kg<sup>-1</sup>,以小鼠25 g计算,每只1 mg挥发油,通过测量1 μL约等于1 mg)。沉香香粉和线香使用量参考已有文献<sup>[17]</sup>报道,每组8只。除正常组外,其余各组小鼠均灌胃对氯苯丙氨酸(300 mg · kg<sup>-1</sup>),连续2 d,制备失眠模型。动物出现烦躁不安,自主活动增强,表明模型制备成功。正常和模型组给予相应体积生理盐水;阳性组腹腔注射给药;沉香线香采用燃烧(每次1 h)薰香吸入给药,沉香香粉和沉香挥发油分别采用电子薰香炉120 °C(预实验发现香粉加热5 h挥发性香味成分可完全散发,即每次5 h)和80 °C(预实验发现20 μL挥发油30 min内可完全挥发,为了使小鼠充分吸入延长至1 h,即每次1 h)加热薰香吸入给药,连续7 d。

## 2.2 协同阈上戊巴比妥钠促睡眠试验

给药第5天的给药1 h后,腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg · kg<sup>-1</sup>),10 mL · kg<sup>-1</sup>。观察小鼠睡眠情况,翻正反射消失1 min以上即认为进入睡眠状态,睡眠潜伏期是注射至翻正反射消失的时间,翻正反射消失到清醒的时间为睡眠时间,记录睡眠潜伏期和睡眠时间。

## 2.3 自主活动检测

给药第6天的给药1 h后,利用自主活动计算机在线处理系统检测小鼠自主活动。先将小鼠置于自主活动仪中适应3 min后开始测试,测试时间为10 min,测试时保持周围环境安静。记录小鼠的自主活动次数,并计算运动总路程、平均速度及静止时间。

## 2.4 酶联免疫方法(ELISA)检测脑组织中神经递质水平

末次给药1 h后,摘眼球取血后脱臼处死小鼠。迅速于冰上取脑,用生理盐水冲掉血液,剥离脑海马组织并称量,分别加入9倍量体积的4 °C生理盐水,冰浴下充分匀浆,4 °C条件下3 000 r · min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清液分装,置于-20 °C保存备用。参照试剂盒相关操作步骤,先制备标准曲线,然后根据操作说明书要求:分别加样、加酶标试剂、温育37 °C温育30 min、用稀释液洗涤,重复5次、加入显色剂A50 μL,再加入显色剂B50 μL,轻轻震荡混匀,37 °C避光显色10 min,显色、最后加终止液50 μL,终止反应,在450 nm波长依序测量各孔的光密度(OD值)。根据标准曲线,分别计算脑组织匀浆上清中5-HT、Glu、AD

及γ-氨基丁酸A受体(GABA<sub>A</sub>)的水平。

## 2.5 蛋白免疫印迹法检测脑组织中蛋白表达

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,蛋白定量,使用BCA蛋白浓度测定试剂盒,酶标仪测定海马体脑组织中的蛋白浓度。根据待测的蛋白的相对分子质量,选择适合的分离胶浓度配胶,加上样量为20 μL并电泳,再转膜至PVDF膜上,用5%脱脂奶粉封闭1 h后,加入一抗β-actin(1:2 000)、囊泡谷氨酸转运体T1(VGluT1)(1:1 000)、谷氨酸受体1(GluR1)(1:1 000)。4 °C孵育过夜,二抗室温孵育2 h,ECL化学发光,凝胶成像仪成像。采用Gel-pro Analyzer 4.0进行灰度扫描和定量分析,制作直观柱状图。

## 2.6 HS-SPME-GCQTOF-MS检测沉香熏香入血成分

挥发油样品前处理:取1 μL精油放入进样瓶,使用CAR/DVB/PDMS萃取头;孵育温度为80 °C;孵育时间为3 min;萃取15 min后在进样口解吸3 min。

血清收集及样品前处理:末次给药1 h后,摘眼球缺血,4 °C条件下3 000 r · min<sup>-1</sup>离心15 min,取上清液分装,置于-20 °C保存备用。取100 μL血清样品,加入10 μL内标溶液和20 mg NaCl,使用DVB/PDMS萃取头,同精油相同处理方法。

色谱条件:HP-5MS毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m,0.25 μm);进样口温度250 °C;传输线温度250 °C;载气为高纯氦气;流速为1.2 mL · min<sup>-1</sup>;分流进样(20:1)[血清样本分析选择不分流模式];升温程序:80 °C保持5 min,以2 °C · min<sup>-1</sup>升至120 °C,保温10 min,再以1 °C · min<sup>-1</sup>升至150 °C,保温2 min,然后以20 °C · min<sup>-1</sup>升至250 °C,保温1 min。

质谱条件:离子源:EI源;电子能量:70 eV;溶剂延时5 min;扫描模式为Scan全扫描模式,质量扫描范围m/z:20~300;扫描速率1 250 amu · s<sup>-1</sup>;数据采集软件为安捷伦MassHunter工作站(B.07.00)。

## 2.7 统计学数据分析

所得实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间数据运用SPSS7.0统计软件处理。采用one-way ANOVA法进行方差分析。组间比较采用T-test,*P* < 0.05认为结果有统计学意义。

## 3 实验结果

### 3.1 沉香挥发性物质吸入给药对小鼠睡眠的影响与模型组相比,沉香挥发油、香粉及线香均能显

著缩短小鼠的睡眠潜伏期 ( $P < 0.05$ ), 延长小鼠睡眠时间 ( $P < 0.01$ ), 表明沉香挥发性物质吸入给药能够促进小鼠进入睡眠状态, 同时可以延长小鼠睡眠时间, 具有较好促睡眠作用。其中香粉作用略优于挥发油和线香 (图 2)。

### 3.2 沉香挥发性物质吸入给药对小鼠自主活动的影响

与模型组相比, 沉香挥发油、香粉及线香均能显著缩短小鼠运动总路程 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 降低平均运动速度 ( $P < 0.05$ ), 延长静止时间 ( $P < 0.05$ ), 表明沉香挥发性物质吸入给药能够显著抑制小鼠的自主活动, 具有较好镇静作用 (见图 3)。

### 3.3 沉香挥发性物质吸入给药对脑组织神经递质水平的影响

与模型组相比, 沉香挥发油、香粉及线香均能显著升高 Glu, GABA<sub>A</sub>, 5-HT 及 AD 分泌水平, 上调 GABA/Glu 比值 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ), 表明沉香挥发性物质吸入给药可通

过调节中枢兴奋性神经递质和抑制性神经递质分泌水平及调控 GABA/Glu 分泌平衡, 发挥镇静促睡眠作用, 其中香粉作用略优于挥发油和线香, 见图 4。

### 3.4 沉香挥发性物质吸入给药对神经递质蛋白表达的影响

相比模型组, 沉香挥发油、香粉及线香均显著升高 VGluT1 和 GluR1 蛋白表达水平, 蛋白相对表达图可直观显示实验结果, 表明沉香挥发性物质吸入给药能够通过调控 Glu 能的合成及转运, 间接影响 Glu 的含量及 Glu/GABA 能系统稳态发挥镇静促睡眠作用, 见图 5。

### 3.5 沉香挥发性物质吸入给药入血成分的检测结果

通过对比给药血清和空白对照血清的色谱图, 扣除血清中的内源性成分后, 将这些差异峰与沉香精油的色谱图进行对比发现, 在相应的保留时间处, 提取的质谱图均一一对应, 并进行 NIST 库匹配。

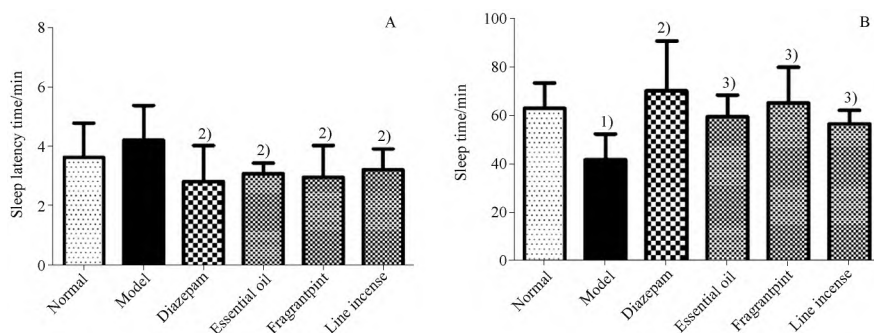


图 2 沉香挥发性物质吸入对小鼠睡眠的影响。  $n = 8$   $\bar{x} \pm s$   
A - 睡眠潜伏期; B - 睡眠时间; 与正常组相比, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$  <sup>3)</sup>  $P < 0.01$

Fig. 2 Effects of inhalation of volatile substances of agarwood on sleep of mice.  $n = 8$   $\bar{x} \pm s$

A - sleep latency; B - sleep duration; <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , vs normal group; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$ , vs model group

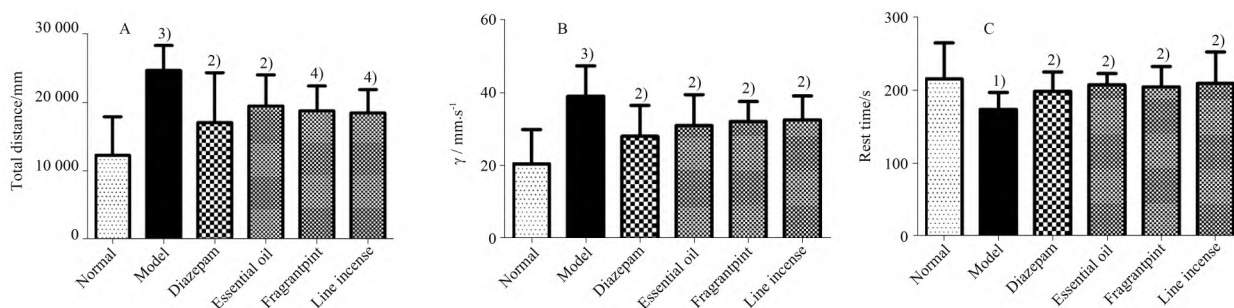


图 3 沉香挥发性物质吸入对小鼠自主活动的影响。  $n = 8$   $\bar{x} \pm s$   
A - 运动总路程; B - 平均运动速度; C - 静止时间; 与正常组相比, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ; 与模型对照相比, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$  <sup>4)</sup>  $P < 0.01$

Fig. 3 Effects of inhalation of volatile substances of agarwood on autonomous activities of mice.  $n = 8$   $\bar{x} \pm s$

A - total distance of exercise; B - average speed of motion; C - rest time; <sup>1)</sup>  $P < 0.05$  <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ , vs normal group; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , vs model group

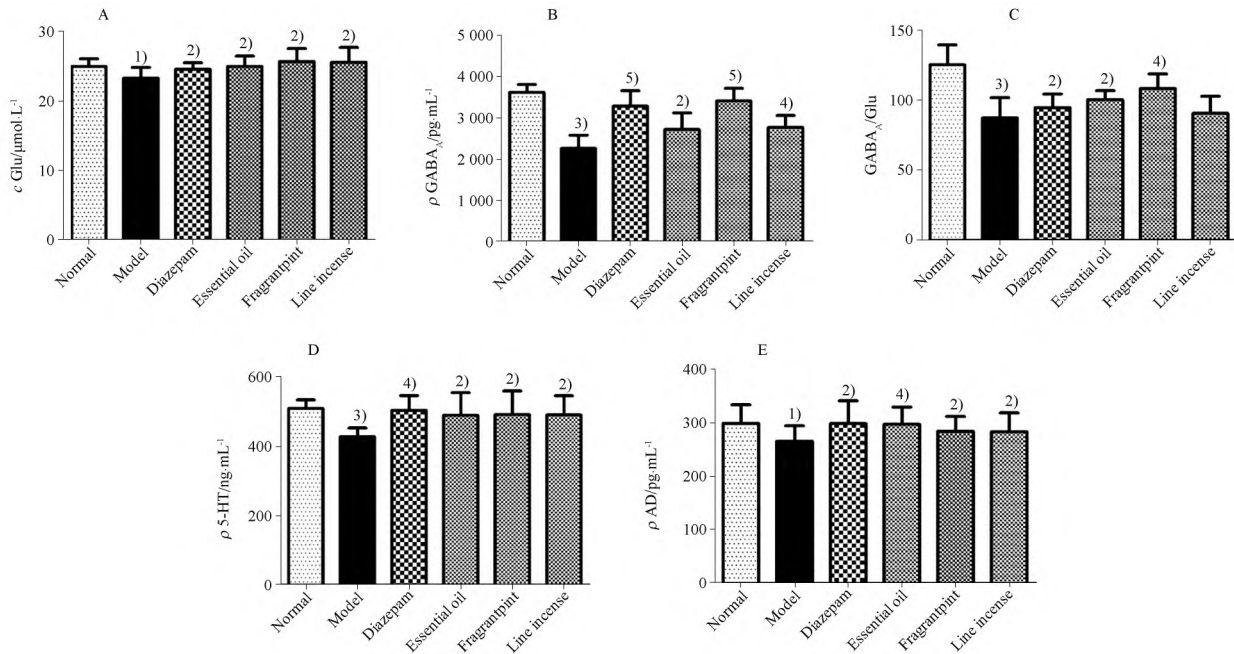


图4 沉香挥发性物质吸入对脑组织神经递质水平的影响。  $n = 8 \bar{x} \pm s$

A - 谷氨酸 (Glu); B -  $\gamma$ -氨基丁酸 A 受体 ( $GABA_A$ ); C -  $\gamma$ -氨基丁酸 A 受体与谷氨酸的比值 ( $GABA_A/Glu$ ); D - 5-羟色胺 (5-HT); E - 腺苷 (AD); 与正常组相比, <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ; 与模型组相比, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$

Fig. 4 Effects of inhalation of volatile substances from agarwood on neurotransmitter levels in brain tissue.  $n = 8 \bar{x} \pm s$

A - Glu; B -  $GABA_A$ ; C -  $GABA_A/Glu$ ; D - 5-HT; E - AD; <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ , vs normal group; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$ , vs model group

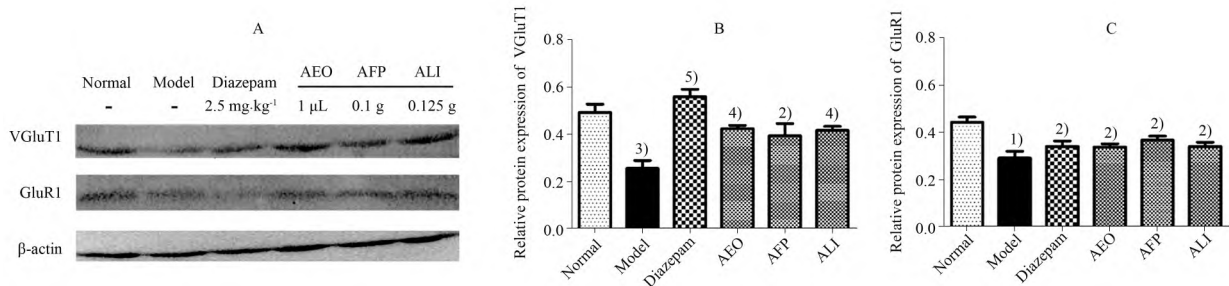


图5 沉香挥发性物质吸入对神经递质蛋白表达的影响。  $n = 3 \bar{x} \pm s$

A - VGluT1 及 GluR1 蛋白表达; B - VGluT1 相关蛋白表达; C - GluR1 相关蛋白表达; 与正常相比, <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ ; 与模型相比, <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$

Fig. 5 Effects of inhalation of volatile substances from agarwood on the expression of neurotransmitter proteins.  $n = 3 \bar{x} \pm s$

A - VGluT1 and GluR1 proteins expression; B - relative protein expression of VGluT1; C - relative protein expression of GluR1; <sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ , vs normal group; <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$ , vs model group

经与精油的总离子流图对比,其中挥发油注射总共鉴定出 25 个主要入血成分为 Z1 ~ Z25(均为倍半萜类化合物),还有一些峰 X1 ~ X6 尚无法鉴定,可能为新化合物。图 6A ~ C 分别为挥发油、香粉及线香吸入的入血成分色谱图。初步鉴定结果显示,挥发油吸入入血检测到 11 个化合物,香粉检测到 13 个,线香检测到 10 个,见表 1。药效结果显示,沉香熏香吸入促睡眠药效,香粉略优于挥发油和线香,这可能是入血成分不同导致药效存在差异的原因。

#### 4 讨论

沉香为传统芳香南药,自古多薰香方式使用,有较好镇静安神疗效。本实验模拟沉香熏香,采用自制薰香设备进行小鼠吸入给药,探究沉香挥发性物质吸入对失眠小鼠睡眠的影响及可能机制。实验结果显示,沉香挥发油、香粉和线香吸入给药均可显著改善睡眠,作用机制与调节中枢兴奋/抑制神经递质分泌平衡及其受体功能有关。研究证明了古代沉香熏香使用的合理性,一定程度上解释了古记载沉香“益气安神”的科学内涵。

药物氯苯丙氨酸(PCPA)诱导小鼠失眠模型,是公认研究药物改善失眠的经典模型<sup>[16,19]</sup>。睡眠试验的评价指标为睡眠潜伏期和睡眠时间,失眠动物的睡眠潜伏期延长、睡眠时间显著缩短<sup>[20]</sup>。小鼠自主活动实验是常见的用于检测药物镇静催眠作用的行为学实验之一。本研究结果显示,相比正常组,连续灌胃PCPA 2 d,小鼠更活跃,睡眠时间减少;模型小鼠的自主活动显著增加,运动总路程和运动平均速度显著增加,出现了失眠症状表明模型制备成功。而相比模型组,沉香挥发油、香粉和线香吸入给药可缩短失眠小鼠的睡眠潜伏期,延长睡眠时间,减少小鼠运动总路程,降低运动的平均速度,增加小鼠静止时间,具有显著的镇静催眠作用。研究结果与文献<sup>[16,21]</sup>报道相一致。

5-HT是脑内主要的单胺类神经递质,已有研究表明5-HT参与调节睡眠、痛觉等生理功能,5-HT含

量的高低对睡眠-觉醒调控起重要的作用。有研究证实,损伤5-HT能神经元或抑制其合成均出现不同程度的失眠<sup>[22]</sup>。药物PCPA可阻碍中枢神经递质5-HT的合成,进而诱导动物失眠<sup>[16,19]</sup>。中枢神经系统兴奋/抑制神经递质分泌平衡在调节睡眠中发挥重要作用。Glu为兴奋性氨基酸类神经递质,其过度释放则为一种神经毒素,严重损伤神经元,诱发失眠等神经系统疾病<sup>[23]</sup>。谷氨酰胺(Gln)可以被磷酸激活的谷氨酰胺酶水解为谷氨酸和氨,

表1 沉香挥发油、香粉及线香吸入的血成分

Tab. 1 The constituents into blood of agarwood volatile oil, fragrantpint and line incense inhalation

Sample name	Constituents into blood
Volatile oil	Z14, Z6, Z11, Z12, Z13, Z16, Z17, Z20, Z21, Z22, Z23
Fragrantpint	Z4, X1, X2, Z6, Z11, Z12, Z16, Z17, Z20, Z21, Z22, Z23, Z24, Z25
line incense	X1, Z6, Z7, Z11, Z12, Z20, Z21, Z22, Z23, Z24

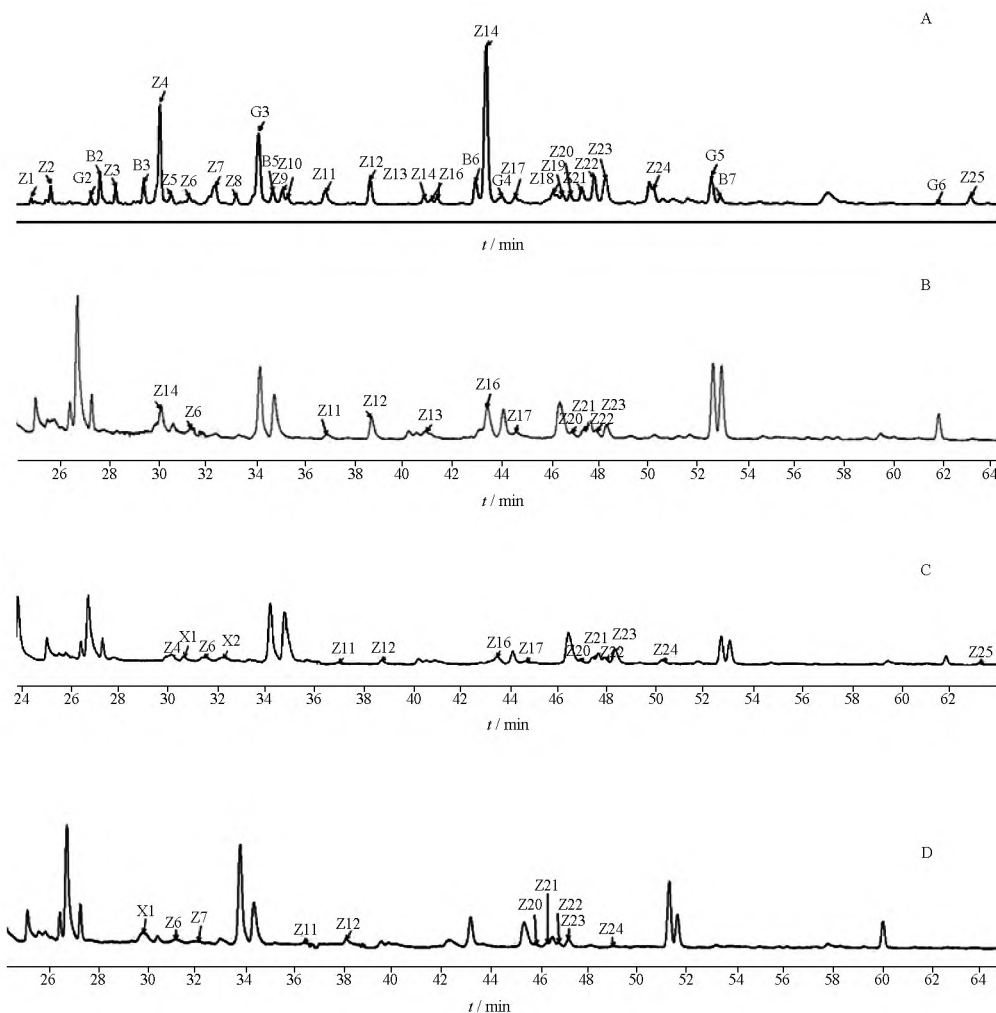


图6 沉香熏香入血成分色谱图

A - 挥发油注射给药; B - 挥发油吸入给药; C - 香粉吸入给药; D - 线香吸入给药

Fig. 6 Blood components of agarwood incense

A - injection of volatile oil; B - inhaled administration of volatile oil; C - inhaled administration of fragrantpint; D - inhaled administration of line incense

是谷氨酸的主要来源<sup>[24-25]</sup>,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<sup>[26]</sup>。GABA 为最主要的抑制性神经递质,其分泌增加可显著促进睡眠<sup>[27]</sup>。GABA 能系统和 GABA<sub>A</sub>受体功能在失眠的发生发展中发挥重要作用,其合成(Glu 脱羧合成 GABA)、代谢、转运等变化会间接影响其含量及生物功能<sup>[28-29]</sup>。有研究证实,临床上高危神经精神障碍患者的 GABA/Glu 比值显著降低<sup>[30]</sup>。在睡眠稳态过程中,腺苷是细胞代谢途径的重要组成部分,是睡眠稳态的重要生理介质<sup>[31]</sup>。且研究发现 Glu 能神经元的激活可促进腺苷分泌,参与调控胞外腺苷积累<sup>[32]</sup>。本研究结果显示,与模型组比较,沉香挥发油、香粉和线香薰香吸入给药可不同程度显著升高失眠模型小鼠的 5-HT、Glu、GABA、Glu/GABA 和腺苷的含量,上调 GABA/Glu 的比值,同时上调 Glu 前体 Gln 和 Glu 转运蛋白 VGLuT1 的表达,表明沉香薰香吸入的挥发性物质可通过调控中枢神经递质分泌稳态及其受体生物功能发挥促睡眠作用。

当前临床防治失眠仍多以药物为主,近来越来越多研究发现认知行为改善、情绪调理、薰香疗法等可较好改善失眠患者睡眠状况。本研究显示,沉香挥发油、香粉及线香薰香气体吸入给药可抑制失眠小鼠的自主活动,缩短睡眠潜伏期、延长睡眠时间具有显著镇静促睡眠作用,其中香粉的作用略优于挥发油和线香,可能原因是它们入血发挥作用的成分及其含量不同所致。课题组前期化学成分研究已证实,GC-MS 检测分析已明确沉香挥发油、香粉和线香薰香的化学成分主要为倍半萜、芳香族化合物和少量色酮衍生物<sup>[14,33]</sup>,共检测到成分 484 个,其中共有成分 61 个,3 者成分及含量均存在一定差异。本研究又对沉香挥发油、香粉及线香吸入成分检测分析发现,香粉吸收入血成分 13 个,挥发油 11 个,线香 10 个,这可能是其药效作用存在差异的原因,具体还需进一步实验验证。作用机制研究发现沉香薰香吸入促睡眠作用可能与调控 GABA-Glu 分泌平衡、升高 GABA/Glu 比值及调节神经递质生物学功能有关,但具体作用机制有待进一步研究阐释。

## REFERENCES

[1] GLIDEWELL R N, MCPHERSON B E, ORR W C. Insomnia and anxiety: diagnostic and management implications of complex interactions [J]. *Sleep Med Clin*, 2015, 10(1): 93-

99.

- [2] ROTH T, DRAKE C. Evolution of insomnia: current status and future direction [J]. *Sleep Med*, 2004, 5(Suppl 1): S23-S30.
- [3] DE ZAMBOTTI M, GOLDSTONE A, COLRAIN I M, et al. Insomnia disorder in adolescence: diagnosis, impact, and treatment [J]. *Sleep Med Rev*, 2018, 39: 12-24.
- [4] *Ch. P* (2015) Vol I (中国药典 2015 年版. 一部) [S]. 2015: 185.
- [5] EDITORIAL BOARD. *Herbal Medicines* (海药本草) [M]. Vol 5. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 396.
- [6] LI S Z. *Compendium of Materia Medica* (本草原始) [M]. Vol 3. Beijing: People's Medical Publishing House, 1979: 1939.
- [7] LI Z L. *Primitive Materia Medica* (本草从原) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 2011.
- [8] BAHRAIN H, MOHAMAD J, PAYDAR M J, et al. Isolation and characterisation of acetylcholinesterase inhibitors from *Aquilaria subintegra* for the treatment of Alzheimer's disease (AD) [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2014, 11(2): 206-214.
- [9] 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]. *J Nat Med*, 2007, 62(1): 41-46.
- [10] WANG S, ZHOU Y, MA F L, et al. Effect of agarwood produced by whole-tree agarwood-inducing technique on hypnotic and spontaneous activity inhibition of mice [J]. *J Int Pharm Res* (国际药学研究杂志), 2016, 43(6): 1082-1087.
- [11] ZHANG Y, WANG W, ZHANG J. Effects of novel anxiolytic 4-butyl-alpha-agarofuran on levels of monoamine neurotransmitters in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 504(1): 39-44.
- [12] HUO H X, ZHU Z X, PANG D R, et al. Anti-neuroinflammatory sesquiterpenes from Chinese eaglewood [J]. *Fitoterapia*, 2015, 106: 115-121.
- [13] GUO S X. Two new sesquiterpene derivatives from Chinese eaglewood [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(11): 1054-1058.
- [14] WANG S, WANG C, PENG D, et al. Agarwood essential oil displays sedative-hypnotic effects through the GABAergic system [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2190-2208.
- [15] LOPEZ S A, PAGE T. History of use and trade of agarwood [J]. *Econ Bot*, 2018, 72(1): 107-129.
- [16] LIANG Y, KONG D W, ZHOU Q M, et al. Effect of agarwood gas on the sleep of mice by regulating neurotransmitters [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2019, 35(6): 71-77.
- [17] TANAKA J, UCHIMURA N, HASHIZUME Y, et al. Effects of aroma on sleep and biological rhythms [J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2010, 56(3): 299-300.
- [18] LEI L, ZHANG T, GAO D, et al. Study on clinical effect of agarwood fumigation therapy on patients with insomnia disorder [J]. *J Apoplexy Nerv Dis* (中风与神经疾病杂志), 2019, 36(7): 609-612.
- [19] SUN Y N, LIANG K, LI Y, et al. Effect of nourishing Yin nourishing blood and anshen prescription on sleep induced by PCPA in mice with insomnia [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中华中医药学刊), 2019, 41(4): 178-181.
- [20] FAN Y L, ZHANG H, GAN Y, et al. A randomized parallel controlled study on the hypnotic effect of pentobarbital sodium in

- KM mice[J]. *Intern Med J Pract Tradit Chin Med Sci*(实用中医内科杂志), 2016, 30(9): 90-94.
- [21] JIAN F Y, LI G X, MA J, *et al.* Effects of Anshen navel paste on autonomic activity, GABA and 5-HT contents in PC-PA-induced insomnia rats [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med*(世界科学技术-中医药现代化), 2017, 19(12): 2012-2016.
- [22] WANG G Y, YANG K L, LI D L. The role of 5-HT in the sleep/wake cycle[J]. *Chin Contin Med Educ*(中国继续医学教育), 2015, 22(1): 1-7.
- [23] MU RI GEN JI YA, A GU LA. Effects of Mongolian medicine on the contents of Glu, GABA and Ach in the hippocampus of rats with insomnia[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*(中国民族医药杂志), 2014, 20(6): 43-43.
- [24] GUO X. Study on the mechanism of NingxinAnshendecoction in regulating the imbalance of Glu/GABA-Gln metabolic circuit in insomnia rats[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2017.
- [25] TAKATA K, KASAHARA T, KASAHARA M, *et al.* Erythrocyte/Hep G2-type glucose transporter is concentrated in cells of blood-tissue barriers [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 173(1): 67-73
- [26] YU X Y, SUN Z L. Research progress of Glut1 [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*(现代中西医结合杂志), 2012, 21(30): 3411-3414.
- [27] LIU K, KIM J, KIM D W, *et al.* Lhx6-positive GABA-releasing neurons of the zona incerta promote sleep [J]. *Nature*, 2017, 548(7669): 582-587.
- [28] TAN L B, YU J H, ZHENG X Y, *et al.* Effect of "Shenning-Zangxiang" on the behavior and GABA pathway of insomnia rats [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med*(世界科学技术-中医药现代化) 2020, 22(11): 4060-4068.
- [29] YAN M Z, CHANG Q, ZHONG Y, *et al.* Lotus leaf alkaloid extract displays sedative-hypnotic and anxiolytic effects through GABA(A) receptor [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(42): 9277-9285.
- [30] QUIONES G M, MAYELI A, YUSHMANOV V E, *et al.* Reduced GABA/glutamate in the thalamus of individuals at clinical high risk for psychosis [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2021, 46(6): 1133-1139.
- [31] REN C Y, CHEN G H, ZHANG M. Progress in regulation of adenosine system on sleep [J]. *Chin J Neurol*(中华神经科杂志), 2018, 51(8): 634-637.
- [32] PENG W L, WU Z F, SONG K, *et al.* Regulation of sleep homeostasis mediator adenosine by basal forebrain glutamatergic neurons [J]. *Science*, 2020, 369(6508): eabb0556. Doi: 10.1126/science.abb0556.
- [33] PENG D Q, YU Z X, WANG C H, *et al.* Chemical constituents and anti-inflammatory effect of incense smoke from agarwood determined by GC-MS [J]. *Int J Anal Chem*, 2020, 2020: 1-19. Doi: 10.1155/2020/4575030

(收稿日期: 2022-05-06)