

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.21.007
文章编号: 1005-8982 (2022) 21-0039-07

实验研究·论著

蛇麻草精油香薰法对氯苯丙氨酸诱导失眠大鼠的助眠作用研究*

田英姿¹, 胡飞雪¹, 王文博¹, 庄文会¹, 杜思鸿¹, 刘思瑶¹, 陈朋杰¹, 赵培源²

(1. 河南中医药大学第一临床医学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学医学院, 河南 郑州 450046)

摘要: 目的 探究蛇麻草精油香薰法对氯苯丙氨酸(PCPA)诱导失眠大鼠的行为学、部分神经递质含量及松果体的影响。**方法** 腹腔注射PCPA复制失眠大鼠模型, 随机分为模型组、薰衣草精油组(0.2%)、蛇麻草精油低浓度组(0.05%)、蛇麻草精油中浓度组(0.10%)及蛇麻草精油高浓度组(0.20%), 每组12只, 另设空白组12只。模型复制后, 各治疗组分别以相应浓度精油香薰治疗, 空白组和模型组熏蒸馏水。每天8 h, 连续5 d。观察并记录各组大鼠一般状况; 戊巴比妥钠协同睡眠实验观察大鼠睡眠潜伏期和睡眠持续期; 旷场实验检测大鼠自发活动; 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组大鼠血清褪黑素(MT)、 γ -氨基丁酸(GABA)、谷氨酸(Glu)含量; 高效液相色谱仪测定各组大鼠下丘脑中去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)含量; HE染色观察大鼠松果体病理学改变。**结果** 与空白组比较, 模型组睡眠潜伏期延长、睡眠持续期缩短($P < 0.05$); 水平运动和垂直运动均减少($P < 0.05$)。与模型组比较, 蛇麻草精油高浓度组睡眠潜伏期缩短、睡眠持续期延长($P < 0.05$); 水平运动和垂直运动增加($P < 0.05$); 血清MT、GABA含量上升, Glu含量下降, Glu/GABA下降($P < 0.05$); 下丘脑中5-HT含量上升, NE和DA含量下降($P < 0.05$)。松果体细胞和神经胶质细胞形态结构正常、排列均匀、数目明显恢复。**结论** 蛇麻草精油香薰法对失眠大鼠具有一定助眠作用, 可能与改善松果体结构, 促进MT、抑制性递质GABA及5-HT的分泌, 以及抑制兴奋性递质Glu、NE、DA的分泌有关。

关键词: 失眠; 蛇麻草精油; 香薰; 褪黑素

中图分类号: R965

文献标识码: A

Effects of Hops essential oil aromatherapy on insomnia rats induced by PCPA*

Ying-zi Tian¹, Fei-xue Hu¹, Wen-bo Wang¹, Wen-hui Zhuang¹, Si-hong Du¹,
Si-yao Liu¹, Peng-jie Chen¹, Pei-yuan Zhao²

(1. First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450046, China; 2. Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450046, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of the aromatherapy method of hops essential oil on the behavior, content of some neurotransmitters and pineal glands on rats with insomnia caused by chlorophenylalanine (PCPA). **Methods** Insomnia rats were established by intraperitoneal injection of PCPA, and randomly divided into model group, lavender essential oil (0.2%) group, hops essential oil low concentration (0.05%) group, hops essential oil medium concentration (0.1%) group, and hops essential oil high concentration (0.2%) group, with 12 rats in each group and 12 rats in control group. After modeling, each treatment group was aromatherapy with corresponding

收稿日期: 2022-05-07

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 82104579); 河南中医药大学科研苗圃工程项目(No: MP2020-69)

[通信作者] 赵培源, E-mail: prayertcm@163.com; Tel: 15510283720

concentration of essential oil, control group, and model group were aromatherapy with distilled water. Mice were fumigated for 8 hours per day for 5 days. The general condition of rats was observed. The sleep latency and sleep duration of rats were observed in pentobarbital sodium coordinated sleep experiment. Spontaneous activity was detected by open field experiment; The concentration of Melatonin (MT), γ -Aminobutyric acid (GABA), and Glutamic acid (Glu) in serum were determined by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The concentration of norepinephrine (NE), dopamine (DA), serotonin (5-HT) in the hypothalamus of rats were determined with high performance liquid phase; The pathological changes of the pineal gland was observed by H&E staining. **Results** Compared with control group, model group sleep latency period extended, and sleep duration of model group were decreased ($P < 0.05$); horizontal and vertical motion were decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, sleep latency was decreased, and sleep duration was prolonged in hops essential oil concentration group ($P < 0.05$). Both horizontal and vertical movement were increased ($P < 0.05$). The concentrations of MT and GABA in serum were increased, and Glu and Glu/GABA in serum were decreased ($P < 0.05$). The concentrations of 5-HT in the hypothalamus increased, and NE and DA in the hypothalamus decreased ($P < 0.05$) The morphology and structure of pineal cells and glial cells were normal, and the number of pineal cells and glial cells recovered obviously. **Conclusion** Hops essential oil aromatherapy has sleep-aid effect on insomnia rats, which may be related to improve pineal structure, promote the secretion of MT, GABA, and 5-HT, and inhibit the secretion of Glu, NE, and DA.

Keywords: insomnia; hops essential oil; fragrance; melatonin

失眠主要表现为入睡困难和/或睡眠维持障碍,对日间功能有显著影响,可导致情绪异常、注意力分散和认知功能障碍,影响人们的日常生活^[1],有失眠症状者占中国成年人群的 57% 左右^[2]。目前治疗失眠的药物以镇静催眠类药物为主^[3],但长期服用会出现后遗效应和药物依赖甚至成瘾^[4]。近年来研究发现,一些天然植物提取物具有镇静和催眠作用,如薰衣草精油中的芳樟醇能通过抑制大脑皮层中的谷氨酸(glutamic acid, Glu)受体介导的突触后兴奋而产生镇静和潜在的神经保护作用^[5],提示芳香植物挥发性化合物在改善睡眠方面具有潜在优势。蛇麻草是一种多年生草本植物,又称啤酒花。据《新疆中草药手册》记载,蛇麻草有镇静安神、清烦助眠的功效。蛇麻草精油中成分丰富,含有多种单萜和倍半萜烯化合物,如 β -月桂烯、 α -葎草烯、 β -石竹烯等,具有镇静、助眠、抗炎、抗氧化等生物学活性^[6],但具体机制有待探索。本研究拟采用香薰法观察蛇麻草精油对失眠模型大鼠的助眠作用,并探讨其潜在的作用机制,为未来开发助眠的补充和辅助疗法提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠共 72 只,6~8 周龄,体重 260~290 g,雌雄各半,由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供[生产许可证号:SCXK(鲁)20190003;使

用许可证号:SYXK(豫)2021-0015]。实验大鼠饲养于河南中医药大学动物实验中心,12 h 昼夜交替,室温 22~26℃,湿度 40%~60%,大鼠自由摄食、饮水。所有动物实验经动物福利国际合作委员会批准。

1.2 主要试剂及仪器

对氯苯丙氨酸(PCPA)[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:A190846],戊巴比妥钠[国药集团化学试剂(北京)有限公司,批号:TP20160910],蛇麻草精油(广州慧怡生物科技有限公司),薰衣草精油[芙辉(天津)电子商务有限公司],大鼠褪黑素(Melatonin, MT)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒、大鼠 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)ELISA 试剂盒、大鼠 Glu ELISA 试剂盒(江苏酶免实业有限公司,货号:MM-0657R1、MM-0441R1、MM-0601R1),磷酸二氢钠[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:C2027088],EDTA(北京索莱宝科技有限公司,批号:108J063),氯化钾(美国 AMRESCO 公司,批号:1206B06),1-辛烷磺酸钠 98%[阿拉丁试剂(上海)有限公司,批号:20190103024],柠檬酸钠(天津市风船化学试剂科技有限公司,批号:16493-1996),磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20190107),甲醇(天津市四友精细化学药品有限公司,批号:632352-64487),pH 校准液(上海研衡仪器有限公司,批号:9027-2007),高氯酸(西陇化工股份有限公司)。低温离心机(大龙兴创

实验仪器公司,型号:D1524R),旷场装置(江苏赛昂斯生物科技有限公司,型号:SA215.1),香薰灯(温州超派电子商务有限公司,货号:GX1168),自制香薰箱、多功能酶标仪[伯乐生命医学产品(上海)有限公司,型号:iMark],高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,型号:Vanquish Flex]。

1.3 实验方法

本实验流程如图 1 所示。

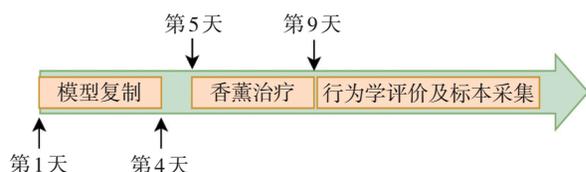


图 1 实验流程图

1.3.1 失眠模型的复制及分组 大鼠腹腔注射 PCPA 悬浊液(300 mg/kg)复制失眠模型,连续 4 d 诱导失眠模型^[7]。将 PCPA 溶于含少量聚山梨酯的弱碱性溶液中,超声 5 h,使 PCPA 悬浊液更易注射。观察到大鼠失去正常昼夜节律,明显暴躁,毛色枯燥、黯淡无光泽,提示模型复制成功。共复制失眠模型大鼠 63 只,死亡 3 只,成功 60 只,随机分为模型组、薰衣草精油组、蛇麻草精油低浓度组、蛇麻草精油中浓度组及蛇麻草精油高浓度组,每组 12 只,雌雄各半,分别进行 1~12 编号。另取 12 只大鼠作为空白组,注射等量含少量聚山梨酯的弱碱性溶液。

1.3.2 治疗方法 各组大鼠在自制香薰箱中进行香薰。自制香薰箱为 1 个长 60 cm×宽 60 cm×高 40 cm 的 2 层箱体,每层 9 格,格与外界、格与格之间通风,如图 2 所示。薰衣草精油组与蛇麻草精油组进行香薰处理,香薰时精油香薰灯置于中间格子里,每个大鼠放在 1 个格子中,薰衣草精油组以 0.20% 浓度香薰,蛇麻草精油组分别以 0.05%、0.10%、0.20% 浓度香薰;模型组和空白组熏蒸馏水。每天 8 h,连续 5 d。实验每天 8:00~16:00 进行,周围安静,光线暗,温度(22±1)℃。观察动物模型复制和给药前后毛色光泽、睡眠与精神状态及饮食等变化并进行记录。

1.3.3 大鼠行为学评价 戊巴比妥钠协同睡眠实验的睡眠潜伏期和睡眠持续期:实验第 9 天香薰结束后 1 h,大鼠以 40 mg/kg 给药浓度腹腔注射戊巴

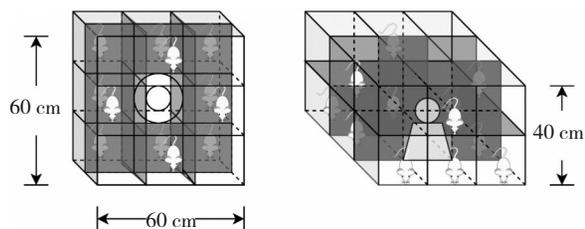


图 2 自制香薰箱示意图

比妥钠溶液,根据翻正反射消失 30 s 以上与否记录睡眠潜伏期和睡眠持续期的时间,以观察到的蛇麻草精油最佳有效浓度(高浓度 0.20%)进行后续实验。旷场实验评价大鼠精神状态:实验第 10 天,在长 100 cm×宽 100 cm×高 40 cm 的旷场中进行实验,开始时将大鼠放至中间位置,使用 ANY-maze 软件自动追踪大鼠在旷场中的表现,记录其 3 min 内的行为,参数包括活动距离、穿格次数、理毛次数及站立次数,评价其精神状态。每只动物实验结束后用 75% 的酒精消毒。

1.3.4 标本采集 实验第 10 天,大鼠称重后注射相应剂量的戊巴比妥钠麻醉。血清收集:腹主动脉取血,静置 2 h 后于低温离心机中以 3 000 r/min 离心 15 min,将血清分离出置于 4℃ 冰箱内保存。下丘脑采集:取脑,冰上分离大鼠下丘脑,以液氮迅速冷却后,-80℃ 保存。松果体采集:开胸暴露心脏将灌注针头插入心尖,剪开右心耳以开放静脉血,夹闭腹主动脉后先灌注约 100 mL 生理盐水,在大鼠前肢及肺变白时停止灌注生理盐水开始灌注多聚甲醛,脑组织白而硬时即表示灌注成功。取出脑组织的松果体用 4% 多聚甲醛溶液固定。

1.3.5 ELISA 检测血清 MT、GABA、Glu 含量 取大鼠血清,采用 ELISA 法检测各组大鼠血清中 MT、GABA、Glu 含量,实验步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.3.6 高效液相色谱仪测定下丘脑中多巴胺(DA)、去肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)含量 取大鼠下丘脑,按照 1 g:10 mL 的比例向组织中加入预冷 4℃ 的 0.4 mol/L 高氯酸,匀浆后低温离心(14 000 r/min, 15 min, 4℃),取上清液,用 0.22 μm 滤膜过滤样品后,高效液相色谱法检测 DA、NE、5-HT 含量。色谱条件:色谱柱为 C18(2.1 mm×100 mm, 3 μm),流动相 A 为磷酸二氢钠 100 mmol/L,柠檬酸钠 50 mmol/L,EDTA 50 μmol/L,辛烷磺酸钠 1.7 mmol/L,

氯化钾 2 mmol/L, 流动相 B 为甲醇, A : B = 95 : 5, 设定流动相流速 0.3 mL/min, 柱温 25℃, 电化学检测器应用玻碳工作电极, 工作电压 520 mV, 增益为 100 nV, 进样温度 4℃, 进样量 20 μL。

1.3.7 松果体 HE 染色 取大鼠松果体, 常规脱水、包埋、切片、HE 染色, 光学显微镜下观察各组大鼠松果体组织病理学变化。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状态

PCPA 注射第 2 天, 与空白组比较, 模型组大鼠表现出亢奋, 活动增加, 暴躁, 饮食减少, 饮水量明显增加。注射第 4 天, 大鼠失去正常昼夜节律, 明显暴躁, 毛色枯燥、黯淡无光泽, 提示模型复制成功。连续 5 d 每天 8 h 香薰处理后, 与模型组比较, 薰衣草精油组和蛇麻草精油高浓度组大鼠精神状态平和, 暴躁情况改善, 饮食饮水趋于正常。

2.2 各组大鼠行为学比较

2.2.1 戊巴比妥钠协同睡眠效果 香薰后 6 组大鼠睡眠潜伏期、睡眠持续期比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较, 模型组大鼠睡眠潜伏期较空白组延长 (P < 0.05), 睡眠持续期较空白组缩短 (P < 0.05); 薰衣草精油组大鼠与蛇麻草精油高浓度组大鼠睡眠潜伏期较模型组缩短 (P < 0.05), 睡眠持续期较模型组延长 (P <

0.05); 蛇麻草精油低浓度组睡眠潜伏期与睡眠持续期与模型组比较差异无统计学意义 (P > 0.05); 蛇麻草精油中浓度组睡眠潜伏期与模型组比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 而睡眠持续时间与模型组比较差异有统计学意义 (P < 0.05); 蛇麻草精油高浓度组睡眠潜伏期与薰衣草精油组比较差异无统计学意义 (P > 0.05), 而睡眠持续期延长 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 各组大鼠睡眠潜伏时间和持续时间比较

(n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	睡眠潜伏时间/min	睡眠持续时间/h
空白组	4.89 ± 0.42	5.24 ± 1.21
模型组	6.13 ± 0.37 ^①	1.97 ± 1.34 ^①
薰衣草精油组	4.91 ± 0.93 ^②	4.97 ± 0.31 ^②
蛇麻草精油低浓度组	6.14 ± 1.31	2.04 ± 0.66
蛇麻草精油中浓度组	5.97 ± 1.19	4.21 ± 0.47 ^②
蛇麻草精油高浓度组	4.94 ± 0.27 ^②	5.18 ± 1.07 ^{②③}
F 值	8.295	41.935
P 值	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, P < 0.05; ②与模型组比较, P < 0.05; ③与薰衣草精油组比较, P < 0.05。

2.2.2 旷场实验结果 空白组、模型组、薰衣草精油组及蛇麻草高浓度组大鼠活动距离、穿格次数、理毛次数、站立次数比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。进一步两两比较, 模型组大鼠活动距离、穿格次数、理毛次数及站立次数较空白组缩短或减少 (P < 0.05); 薰衣草精油组和蛇麻草精油高浓度组大鼠活动距离、穿格次数、理毛次数及站立次数较模型组增加 (P < 0.05); 蛇麻草精油高浓度组与薰衣草精油组比较, 差异无统计学意义 (P > 0.05)。见表 2。

表 2 各组大鼠自发性活动行为和探索行为比较 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	活动距离/cm	穿格次数	理毛次数	站立次数
空白组	17.70 ± 3.05	131.00 ± 18.36	26.50 ± 7.26	28.53 ± 9.16
模型组	8.18 ± 5.31 ^①	66.17 ± 36.46 ^①	8.00 ± 6.60 ^①	7.68 ± 7.44 ^①
薰衣草精油组	12.23 ± 2.64 ^②	97.33 ± 16.62 ^②	17.56 ± 5.88 ^②	21.46 ± 10.05 ^②
蛇麻草精油高浓度组	13.40 ± 2.44 ^②	103.50 ± 21.89 ^②	14.62 ± 2.83 ^②	17.98 ± 5.36 ^②
F 值	11.967	11.347	9.936	14.244
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: ①与空白组比较, P < 0.05; ②与模型组比较, P < 0.05。

2.3 各组大鼠血清 MT、GABA、Glu 含量及 Glu/GABA 的比较

空白组、模型组、薰衣草精油组及蛇麻草精油高浓度组大鼠血清 MT、GABA、Glu 含量及 Glu/GABA 的比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较, 模型组大鼠血清 MT、

GABA 含量较空白组减少 ($P < 0.05$), Glu 含量较空白组增多 ($P < 0.05$), Glu/GABA 较空白组升高 ($P < 0.05$); 薰衣草精油组和蛇麻草精油高浓度组大鼠血清 MT、GABA 含量较模型组均增多 ($P < 0.05$), Glu 含量较模型组均减少 ($P < 0.05$), Glu/GABA 较模型组降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠血清 MT、GABA、Glu 含量及 Glu/GABA 的比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	MT/($\mu\text{mol/L}$)	GABA/($\mu\text{mol/L}$)	Glu/($\mu\text{mol/L}$)	Glu/GABA
空白组	56.72 \pm 5.06	5.09 \pm 0.60	35.30 \pm 6.28	6.94 \pm 0.90
模型组	44.07 \pm 3.33 ^①	3.37 \pm 0.51 ^①	48.18 \pm 6.28 ^①	14.59 \pm 2.69 ^①
薰衣草精油组	67.29 \pm 5.62 ^②	4.32 \pm 0.56 ^②	39.07 \pm 3.46 ^②	9.13 \pm 1.08 ^②
蛇麻草精油高浓度组	67.88 \pm 4.16 ^②	3.97 \pm 0.59 ^②	42.42 \pm 6.82 ^②	8.62 \pm 2.41 ^②
F 值	35.254	5.388	7.236	11.689
P 值	0.000	0.014	0.005	0.001

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠下丘脑中 DA、NE、5-HT 含量比较

空白组、模型组、薰衣草精油组及蛇麻草精油高浓度组大鼠下丘脑中 DA、NE、5-HT 含量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较, 模型组大鼠下丘脑中 5-HT 含量较空白组减少 ($P < 0.05$), NE 和 DA 含量较空白组增多 ($P < 0.05$); 薰衣草精油组和蛇麻草精油高浓度组大鼠下丘脑中 5-HT 含量较模型组均增多 ($P < 0.05$), NE 和 DA 含量较模型组减少 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 各组大鼠下丘脑中 DA、5-HT、NE 含量的比较

($n=8, \mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	DA	5-HT	NE
空白组	2.46 \pm 0.27	4.39 \pm 0.12	55.51 \pm 5.67
模型组	3.91 \pm 0.23 ^①	3.25 \pm 0.13 ^①	61.23 \pm 5.14 ^①
薰衣草精油组	2.53 \pm 0.14 ^②	4.26 \pm 0.11 ^②	57.24 \pm 8.43 ^②
蛇麻草精油高浓度组	2.50 \pm 0.12 ^②	4.34 \pm 0.12 ^②	55.95 \pm 6.79 ^②
F 值	64.426	108.862	6.001
P 值	0.000	0.000	0.010

注: ①与空白组比较, $P < 0.05$; ②与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 各组大鼠松果体细胞和神经胶质细胞形态的比较

光学显微镜下, 空白组松果体细胞和神经胶质细胞清晰均匀、排列规则紧密; 模型组松果体细胞和神经胶质细胞排列分散杂乱、边界模糊,

数目减少且有大量空泡样变性存在, 细胞核缩小且位置异常; 与模型组比较, 薰衣草精油组与蛇麻草精油高浓度组细胞数目明显恢复, 空泡样变性减少。见图 3。

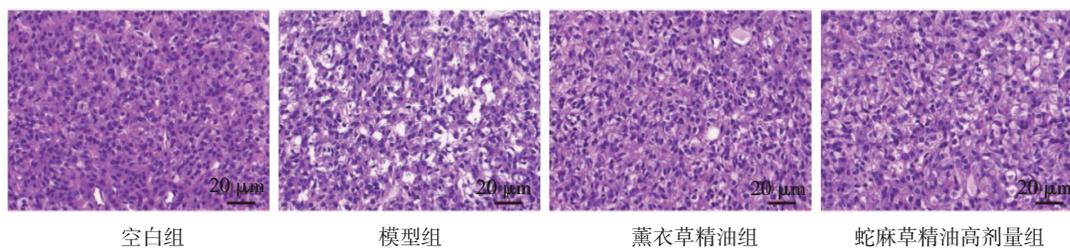


图 3 各组大鼠松果体细胞和神经胶质细胞形态 (HE 染色 $\times 400$)

3 讨论

芳香植物精油通过香薰法进入鼻腔后,一方面可通过鼻黏膜进入嗅觉传导通路,形成神经冲动,沿嗅神经传导至相应的脑区产生活化作用,另一方面可进入肺部参与血液循环发挥作用^[8-9]。传统医学认为芳香之品“能顺气,安神定志,合五脏”,调畅气机,入心经,可镇静安神、助眠除烦。本研究采用蛇麻草精油香薰法干预失眠大鼠,发现能改善其睡眠状态,提高自主活动能力,显示出蛇麻草精油潜在的治疗优势。

PCPA 是一种色氨酸羟化酶抑制剂,通过抑制 5-HT 诱导失眠。腹腔注射 PCPA 后,大鼠睡眠潜伏期延长,睡眠持续期缩短,睡眠、觉醒周期紊乱,与前期文献报道^[10]一致,表明模型复制成功;0.2% 蛇麻草精油香薰干预后,大鼠一般状态明显改善,毛色润泽,睡眠潜伏期缩短,睡眠持续期延长,表明蛇麻草精油香薰可改善失眠大鼠的睡眠状况。旷场实验常用于观察大鼠在新环境中的自主行为、活跃度和紧张度以评价大鼠焦虑抑郁心理以及精神状态,其中水平运动和垂直运动可以分别反映大鼠的探究能力及兴奋性、空间认知能力及警觉性^[11]。本研究发现,模型组大鼠的运动距离、穿格次数、理毛次数和站立次数均降低,即水平运动与垂直运动均减少,由此可知,模型组大鼠情绪紧张,自主活动受限、警觉性较高,而经 0.2% 蛇麻草精油香薰后大鼠精神状态好转、自主行为活动恢复,水平运动与垂直运动增加,警觉性降低。

MT 是松果体分泌的由交感神经支配的胺类激素。MT 分泌量常随昼夜节律波动,直接影响睡眠质量和节律,分泌水平下降可导致睡眠质量下降、节律紊乱、内分泌紊乱和神经功能障碍^[12]。PCPA 能造成松果体细胞损伤^[13],影响 MT 的水平^[14],导致昼夜节律失调。本研究发现,模型组大鼠血清 MT 水平下调,松果体细胞排列紊乱、数目减少,而 0.2% 蛇麻草精油香薰后 MT 水平上调,松果体内细胞数目增多,细胞边界相对清晰,推测蛇麻草精油可以改善松果体结构损伤,调节 MT 的分泌,改善大鼠的睡眠。

研究表明,MT 调节睡眠的作用与 Glu 和 GABA 水平密切相关^[15]。Glu 和 GABA 广泛参与睡眠机制调节,在兴奋、抑制调节过程中起重要作用。Glu 是大脑神经元突触体内的兴奋性递质,GABA 为抑制

性递质;Glu 含量增加则神经元激活进而促使机体觉醒^[16];GABA 含量增加则抑制神经元兴奋从而促进睡眠^[17]。MT 与其受体结合后能识别 GABA 受体,通过增加氯离子内流激活 GABA 受体,从而上调 GABA 表达水平。Glu/GABA 比值常用来评价中枢神经系统功能兴奋和抑制状态^[18]。ELISA 法检测血清 GABA、Glu 的含量发现,模型组大鼠血清 GABA 含量下降,Glu 含量和 Glu/GABA 比值升高,经蛇麻草精油香薰后,以上指标的变化均有不同程度逆转。推测蛇麻草精油香薰法可能通过调节 GABA、Glu 含量及两者比值来调节中枢神经兴奋性,改善睡眠。

5-HT 是具有抑制作用的单胺类神经递质^[19],MT 与位于视交叉上核细胞膜上的高亲和性 G 蛋白偶联受体特异性结合可促使机体内 5-HT 含量增加^[20],导致觉醒时间缩短,影响睡眠、觉醒周期。NE 和 DA 是具有兴奋作用的单胺类神经递质^[21-22]。其中 DA 能通过一系列催化反应生成 NE^[23]。高水平的 NE 对中枢系统具有兴奋作用,使大脑处于异常兴奋状态,进而延长觉醒时间、缩短睡眠时间^[24]。5-HT 和 NE 维持了一种此消彼长的对立统一关系,共同调节机体的睡眠、觉醒周期。机体脑内 5-HT 浓度升高时,NE 浓度相对降低,机体进入睡眠状态,而 NE 浓度升高时抑制 5-HT 的释放,机体进入觉醒状态^[25]。高效液相色谱仪测定各组大鼠下丘脑中 NE、DA、5-HT 的含量发现,经蛇麻草精油香薰后,5-HT 含量增加,NE 和 DA 含量减少,推测蛇麻草精油香薰法改善睡眠的作用可能与下调兴奋性神经递质、上调抑制性神经递质有关。

综上所述,蛇麻草精油香薰法能改善失眠大鼠的入睡潜伏期和睡眠持续时间,其机制可能与改善松果体结构,促进 MT、抑制性递质 GABA 及 5-HT 的分泌,以及抑制兴奋性递质 Glu、NE、DA 的分泌有关。本实验结果为蛇麻草精油香薰作为镇静助眠的辅助治疗提供了理论依据。

参 考 文 献 :

- [1] 于小刚,辛二旦,杨文媛,等.原发性失眠的机制研究进展及临床用药[J].中华中医药学刊,2022,40(5):138-141.
- [2] 唐启盛,孙文军,曲森.中国民族医药治疗成人失眠的专家共识[J].北京中医药大学学报,2022,45(1):21-28.
- [3] 张娟,辛效毅,全福英.失眠的中西医研究进展[J].新疆中医药,2020,38(5):68-70.

- [4] TOYOSHIMA M, NOGUCHI Y, OTSUBO M, et al. Differences in detected safety signals between benzodiazepines and non-benzodiazepine hypnotics: pharmacovigilance study using a spontaneous reporting system[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(5): 1130-1136.
- [5] 宋旺弟, 申静, 江敏, 等. 薰衣草精油的纯化及安眠功效的研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(18): 1911-1917.
- [6] 林柳悦, 蒋益萍, 张巧艳, 等. 啤酒花化学成分和药理活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(10): 1830-1836.
- [7] 魏歆然, 郑雪娜, 裴芸, 等. 大鼠失眠模型造模中对氯苯丙氨酸混悬液改良法的探讨[J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(9): 986-989.
- [8] 李玉坤, 刘大胜, 任聪, 等. 中医芳香疗法的研究进展[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(1): 178-181.
- [9] 梁祺, 左安娜, 刁建新. 中药香薰疗法抗抑郁现状及进展[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2019, 17(3): 130-133.
- [10] 郭海波, 王慧. 对氯苯丙氨酸在动物失眠模型中的应用概述[J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(6): 135-140.
- [11] 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.
- [12] 张如意, 王平, 张舜波, 等. 褪黑素治疗睡眠障碍的作用机制探讨[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(2): 308-310.
- [13] 王丹妮, 宋美卿, 杨铃, 等. 松果体损伤大鼠模型3种制备方法的比较研究[J]. *实验动物与比较医学*, 2021, 41(3): 215-219.
- [14] 潘晓蓉, 余莹, 杨琳. 苗药健脑安神胶囊对睡眠剥夺大鼠行为及其白细胞介素-1和褪黑素及5-羟色胺含量的影响[J]. *医药导报*, 2017, 36(4): 375-378.
- [15] BENSON K L, BOTTARY R, SCHOERNING L, et al. ¹H MRS measurement of cortical GABA and glutamate in primary insomnia and major depressive disorder: relationship to sleep quality and depression severity[J]. *J Affect Disord*, 2020, 274: 624-631.
- [16] 方欢乐, 韩宁娟, 李晓明, 等. 百合地黄汤抗焦虑作用的研究[J]. *海南医学院学报*, 2019, 25(5): 326-329.
- [17] 于佳慧, 郑骁洋, 谭丽博, 等. 复方宁神精油对失眠大鼠行为学及下丘脑GABA、GLU含量的影响[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(4): 1308-1316.
- [18] 欧喜燕, 李驰坤, 李晓兵, 等. 基于单味药-配伍的合欢花与酸枣仁水提取物对抑郁性失眠动物模型的影响[J]. *吉林中医药*, 2019, 39(5): 649-653.
- [19] 刘帅, 彭良玉, 刘甜甜, 等. 中枢5-HT系统和阿尔茨海默病的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(6): 1517-1524.
- [20] 董罕阳, 张星平, 陈俊逾, 等. 失眠症中医不寐五神分型脾型与肝型血清MT及5-HT含量特征研究[J]. *中医药学报*, 2021, 49(2): 48-51.
- [21] 曾龙平, 陈昊然, 葛成璞, 等. 褪黑素对抑郁大鼠行为学及单胺类神经递质影响[J]. *中国医学创新*, 2021, 18(34): 38-43.
- [22] 张丽娟, 郭文成, 王艳艳, 等. 生与炒酸枣仁配伍对状态性焦虑模型大鼠行为学及单胺类和氨基酸类神经递质表达的影响[J]. *中医药学报*, 2022, 50(2): 14-22.
- [23] 程英龙, 马晓荣, 胡喜姣, 等. 膈下逐瘀汤加减方对气滞血瘀型输卵管炎性不孕模型大鼠DA、NE表达的影响[J]. *中医药学报*, 2021, 49(4): 20-24.
- [24] 王婷婷, 郝蕾, 王芮, 等. 酸枣仁-延胡索配伍对肝郁型失眠小鼠的作用及机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(5): 619-626.
- [25] 金阳, 宋丹彤, 葛金环, 等. 夜仁合有效部位改善睡眠的量效关系及成分分析和脑内神经递质变化研究[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2022, 31(1): 34-38.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 田英姿, 胡飞雪, 王文博, 等. 蛇麻草精油香薰法对氯苯丙氨酸诱导失眠大鼠的助眠作用研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(21): 39-45.

Cite this article as: TIAN Y Z, HU F X, WANG W B, et al. Effects of Hops essential oil aromatherapy on insomnia rats induced by PCPA[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(21): 39-45.