DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.07.049

蒙药苏格木勒-4汤及其拆方与单药对失眠模型大鼠肠道菌群的影响

都丽娜[1],杨德志[2],乌兰[1],美丽[1],吴萨如拉[1],巴雅苏拉[1],包永昌[1],苏日古格其其格[1],松林[1]
(1.内蒙古医科大学蒙医药学院,内蒙古 呼和浩特 010010;2.内蒙古自治区国际蒙医医院,内蒙古 呼和浩特 010013)

摘要:目的 基于肠道菌群,探讨苏格木勒-4汤的配伍规律。方法 72只SPF级雄性SD大鼠,随机分为空白组(C)、模型组(M)、苏格木勒-4汤组(S-4)、缺酸枣仁方组(QSZR)、缺白豆蔻方组(QBDK)、缺香旱芹方组(QXHQ)、缺荜茇方组(QBB)、酸枣仁组(SZR)、白豆蔻组(BDK)、香旱芹组(XHQ)、荜茇组(BB)、安神补脑液组(Y)。使用慢性不可预知温和应激刺激(chronic unpredictable mild stimulation,CUMS)+对氯苯丙氨酸(parachlorophenylalanine,PCPA)法建立失眠大鼠模型。造模后分别给予相应药物治疗7 d,剂量为1.215 g/kg,C组和M组均给予等量蒸馏水,Y组剂量为1.8 mL/kg。比较治疗后各组大鼠一般状态与结肠组织形态,血清中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)、γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid,GABA)、乙酰胆碱(acetylcholine,AChE)、前列腺素D2(prostaglandin D2,PGD2)、P物质(substance P,SP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide,VIP)、胃泌素(gastrin,GAS)含量,结肠组织与下丘脑组织中诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)含量,以及肠道菌群16S核糖体DNA(16S ribosomal DNA identification,16SrDNA)。结果 治疗结束后M组大鼠昼夜节律紊乱甚至消失,精神状态变差,其余各组精神状态较治疗前有不同程度好转。结肠组织HE染色显示治疗各组均可不同程度改善模型大鼠病理变化。M组大鼠血清中5-HT、GABA、AChE、GAS、VIP水平显著改变($P<0.05$),结肠与下丘脑INOS水平显著升高($P<0.05$)。S-4组能显著改善这些变化($P<0.05$)。方中白豆蔻对失眠相关神经递质水平调控能力最强,香旱芹对脑肠肽水平调控能力最强,荜茇对结肠与下丘脑组织中INOS水平调控能力最强。从肠道菌群属水平对各组肠道微生物群落进行分析,多个分组间比较采用线性判别效应量分析(LEfSe),筛选出关键差异菌属7种,并通过分析发现方中各个组分可不同程度调节肠道菌群的紊乱,进一步探讨肠道菌属与所检测ELISA指标之间的关系,得知红蝽菌*UCG*_002与下丘脑组织INOS呈显著正相关,丁酸弧菌与结肠组织INOS、血清VIP呈显著正相关,双歧杆菌与血清GAS呈显著负相关。结论 苏格木勒-4汤及其拆方与单药可不同程度的改善失眠模型大鼠体内失眠相关神经递质、脑肠肽含量及肠道菌群的变化。

关键词:拆方;配伍规律;肠道菌群;失眠;苏格木勒-4汤
中图分类号:R289.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-7717(2025)07-0239-10

Effects of Mongolian Medicine Sugemule-4 Decoction and Its Decomposed Formula and Single Drug on Gut-microbiota in Insomnia Model Rats

DU Lina[1],YANG Dezhi[2],WU Lan[1],MEI Li[1],WU Sarula[1],BA Yasula[1],BAO Yongchang[1],SU Rigugaqiqige[1],SONG Lin[1]
(1. Inner Mongolia Medical University,Hohhot 010110,Inner Mongolia,China;
2. Inner Mongolia International Mongolian Hospital,Hohhot 010065,Inner Mongolia,China)

Abstract: *Objective* Based on gut microbiota, to explore the compatibility rules of Sugemule-4 Decoction. *Method* Seventy-two SPF grade male SD rats were randomly divided into control group(C),model group(M),Sugemule-4 Decoction group(S-4),lack of Suanzaoren(Ziziphi Spinosae Semen) formula group(QSZR),lack of Baidoukou(Amomum kravanh Pierre ex Gagnep) formula group(QBDK),lack of Xianghanqin(*Cuminum cyminum* L.) formula group(QXHQ),lack of Biba(Piperis Longi Fructus) formula group(QBB),Suanzaoren(Ziziphi Spinosae Semen) group(SZR),Baidoukou(Amomum kravanh Pierre ex Gagnep) group(BDK),Xianghanqin(*Cuminum cyminum* L.) group(XHQ),Biba(Piperis Longi Fructus) group(BB),Anshen Bunao Liquid(安神补脑液) group(Y). An insomnia rat model was established by using chronic unpredictable mild stress stimulation(CUMS)+parachlorophenylalanine(PCPA) method. After modeling,the corresponding drugs were administered for 7 days at a dose of 1.215 g/kg. Both group C and group M were given the equal amounts of distilled water,while Group Y received a dose of 1.8 mL/kg. The general state and colon tissue morphology of rats in each group were compared after treatment,as well

基金项目:内蒙古自治区草原英才领军个人(乌兰)项目(DC2100002252);内蒙古自治区中医药(蒙医药)中青年领军人才项目(2022—〔RC015〕)
作者简介:都丽娜(1996-),女(蒙古族),内蒙古赤峰人,博士在读,研究方向:蒙医方剂配伍规律。
通讯作者:松林(1972-),男(蒙古族),内蒙古通辽人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:蒙医药研究。E-mail:songlinwps@163.com。

as the levels of 5 - hydroxytryptamine (5 - HT), γ - aminobutyric acid (GABA), acetylcholine (AChE), prostaglandin D2 (PGD2), substance P (SP), vasoactive intestinal peptide (VIP) and gastrin (GAS) in serum, inducible nitric oxide synthase (INOS) content in colon and hypothalamic tissues, and 16SrDNA analysis of gut microbiota. *Results* After treatment, the circadian rhythm of the M group rats was disrupted or even disappeared, and their mental state deteriorated. The mental state of the other groups improved to varying degrees compared to those before treatment. Colon tissue HE staining showed that each treatment group could improve the pathological changes of the model rats to varying degrees. The serum levels of 5 - HT, GABA, AChE, GAS and VIP in group M rats were significantly altered ($P < 0.05$), while the levels of INOS in the colon and hypothalamus were significantly increased ($P < 0.05$). The S - 4 group was able to significantly improve these changes ($P < 0.05$). Baidoukou (Amomum kravanh Pierre ex Gagnep) had the strongest regulatory ability on insomnia related neurotransmitter levels, Xianghanqin (*Cuminum cyminum* L.) had the strongest regulatory ability on brain gut peptide levels, and Biba (Piperis Longi Fructus) had the strongest regulatory ability on INOS levels in colon and hypothalamic tissues. The gut microbiota of each group at the level of gut microbiota genera was analyzed, linear discriminant effect analysis (LEfSe) was used to compare multiple groups, and 7 key differential bacterial genera were selected. Through analysis, it was found that each component in the formula can regulate the disorder of gut microbiota to varying degrees. Further exploring the relationship between the gut microbiota genus and the ELISA indicators detected in this article, it was found that the *Coriobacteriaceae_UCG_*002 showed a significant positive correlation with INOS in hypothalamic tissue, *Anaerostipes* showed a significant positive correlation with INOS in colon tissue and serum VIP, and *Bifidobacterium* showed a significant negative correlation with serum GAS. *Conclusion* Sugemule - 4 Decoction and its split formula can improve the changes of insomnia related neurotransmitters, brain - gut peptide content and intestinal microbiota in the body of insomnia model rats to varying degrees.

Keywords: decomposed formula; compatibility rules; gut microbiota; insomnia; Sugemule - 4 Decoction

失眠症是最常见的睡眠障碍，伴随着生活压力越来越大，失眠的发生率正在逐年上升[1]，约三分之一的人受到失眠症状困扰[2]，是对人体身心健康造成严重损害的病症[3]。越来越多的证据表明，菌群 - 肠 - 脑轴直接或间接地调节睡眠行为，并可能在睡眠障碍的病因和发病机制中发挥关键作用[4]。睡眠不足导致肠道菌群功能障碍，睡眠障碍常伴有肠道菌群组成的改变[5]。在脑肠互动过程中，脑肠肽既分布于神经系统，又分布于消化系统，而肠道菌群可间接参与中枢神经系统的调控，与大脑有双向通信功能[6]，尤其在昼夜节律和睡眠中发挥着重要作用[7]。5 - 羟色胺（5 - hydroxytryptamine，5 - HT）、P 物质（substance P，SP）、血管活性肠肽（vasoactive intestinal peptide，VIP）、胃泌素（gastrin，GAS）等脑肠肽与睡眠障碍直接有关[8]。5 - HT、γ - 氨基丁酸（γ - aminobutyric acid，GABA）、乙酰胆碱（acetylcholine，AChE）、前列腺素 D2（prostaglandin D2，PGD2）等神经递质均是调节睡眠不可或缺神经递质[9-10]，其中 5 - HT、GABA 属于抑制性神经递质，可通过抑制神经元活动或神经传导而发挥镇静的作用[9]。诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）是负责产生一氧化氮（nitric oxide，NO）的酶，在正常条件下不存在于大多数细胞中[11]。iNOS 合成的 NO 与包括炎症在内的各种病理生理过程有关[12]，而炎症可以促进睡眠障碍的发生发展[13]。

苏格木勒 - 4 汤是国医大师苏荣扎布教授的常用验方，由酸枣仁、白豆蔻、香旱芹和荜茇组成，主治赫依偏盛引起的失眠[14]。杨蕊、果佳霖等基于 GC - MS 技术鉴定了其挥发油成分并通过实验证实，苏格木勒 - 4 汤可升高小鼠大脑皮层组织中 5 - HT、GABA、甘氨酸、去甲肾上腺素，降低多巴胺、谷氨酸含量，从而减缓失眠症状[15-16]。但他们所述的苏格木勒 - 4 汤与本方有所差异（未使用香旱芹而是选择使用其替代药物白芷胜）。课题组前期研究表明苏格木勒 - 4 汤能改善失眠模型大鼠的一般状态及行为学改变，升高血清与脑组织中 AChE、5 - HT 及 GABA 含量，改善失眠[17]。蒙医学认为，失眠可能与赫依偏盛与血交搏，侵入心、主脉、神经、白脉等有关[18]，此方中以镇赫依药为先导，治疗失眠的内因为主，且单味药材酸枣仁、白豆蔻、荜茇等都有治失眠、保护脑神经的作用[8,19-20]。而组方中单味药物在全方中的贡献作用尚不明确。因此，为进一步探讨组方药物的调控作用及其之间可能存在的协同作用，探讨这 4 种药物对神经递质、脑肠肽、结肠组织与下丘脑组织中 INOS 含量，以及肠道菌群的不同影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

72 只雄性 SPF 级 SD 大鼠，体质量为（200 ± 20）g，3 ~ 8 周龄，实验动物购自北京斯贝福动物有限责任公司，生产许可证号 SCXK（京）2019 - 0010。饲养于温度（22 ± 2）℃，相对湿度 45% ~ 65% 的动物房中，光照条件设置为 12 h 的明/暗循环，大鼠可随意饮水和摄食。伦理审查编号：YKD202302055。

1.2 实验试剂

对氯苯丙氨酸（parachlorophenylalanine，PCPA）从 SIGMA 公司购得。无水乙醇（货号：100092683）、二甲苯（货号：10023418）、中性树胶（货号：10004160）从国药集团化学试剂有限公司购得，HE 染液套装（货号：G1003）从 Servicebio 公司购得。AChE（货号：RX302125R）、5 - HT（货号：RX303050R）、GABA（货号：RX303082R）、SP（货号：RX302949R）、VIP（货号：RX302215R）、GAS（货号：RX302271R）、PGD2（货号：RXJ302409R）及 INOS（货号：RX301689R）ELISA 试剂盒从睿信生物购得。

1.3 中药制备

炒酸枣仁（批号：2109001）、白豆蔻（批号：C357210602）、香旱芹（批号：20220401）、荜茇（批号：2104001）药材饮片购于内蒙古天盛蒙中医药有限责任公司，由内蒙古医科大学蒙医药

学院松林教授鉴定为真。安神补脑液从吉林敖东延边药业股份有限公司(批号:2111281)购得。取 15 倍处方量药材饮片(炒酸枣仁 15 g,白豆蔻 15 g,香旱芹 10 g,荜茇 5 g),粉碎过 80 目筛,加水 450 mL,浸泡 1 h,加盖煮沸 30 min,煎煮后将药液于 150 目药典筛中过滤,冷却,置于 -30 ℃速冻,再进行减压冷冻干燥。各缺方(缺炒酸枣仁、缺白豆蔻、缺香旱芹或缺荜茇)和各单味药材(炒酸枣仁,白豆蔻,香旱芹,荜茇)按上述煎煮方法,投料量与处方一致。

1.4 实验方法

1.4.1 失眠模型大鼠的建立 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为空白组(C)($n=6$)和造模组($n=66$),连续 14 d 对造模组大鼠给予慢性不可预知温和应激刺激(chronic unpredictable mild stimulation,CUMS),即实验第 1 天禁食禁水 24 h、第 2 天铺垫湿垫料 24 h、第 3 天强制在 5 ℃冰水中游泳 10 min、第 4 天强制在 40 ℃热水中游泳 10 min、第 5 天夹尾 1 min、第 6 天使鼠笼倾斜 45°角 24 h、第 7 天持续光照 24 h,循环两个周期,于最后 2 d 将 PCPA 制成 45 mg/mL 的浓度以每 100 g 给予 1 mL 的量连续腹腔注射。正常对照组大鼠前 12 d 不进行任何处理,最后 2 d 给予相同剂量的生理盐水腹腔注射。造模结束后进行一般状态观察,评估造模是否成功,体征观察包括于实验结束后观察各组大鼠皮毛、精神、活动、睡眠、饮食饮水、排泄等状态。当大鼠出现昼夜节律紊乱、白天活动不停、毛发杂乱、兴奋性增强、攻击性增强等显著的行为学改变表明大鼠失眠模型制备成功。

1.4.2 分组及给药 将造模组随机分为模型组(M)、苏格木勒 -4 汤组(S -4 1.215 g/kg)、缺酸枣仁方组(QSZR 1.215 g/kg)、缺白豆蔻方组(QBDK 1.215 g/kg)、缺香旱芹方组(QXHQ 1.215 g/kg)、缺荜茇方组(QBB 1.215 g/kg)、酸枣仁组(SZR 1.215 g/kg)、白豆蔻组(BDK 1.215 g/kg)、香旱芹组(XHQ 1.215 g/kg)、荜茇组(BB 1.215 g/kg)、安神补脑液组(Y 1.8 mL/kg)。C 组和 M 组均给予等量蒸馏水。每日定时给药相应药物 1 次,连续给药 7 d。

1.4.3 血、结肠组织标本留取和指标检测 于最后一次给药前观察一般状态并收集新鲜粪便,用于检测肠道菌群,禁食不禁水 12 h。最后一次给药 2 h 后,异氟烷麻醉,取血,置于低速离心机中 20 min,分离血清,存放于 -80 ℃冰箱,直至进行分析。解剖取一段结肠组织,于 10% 的多聚甲醛中固定,用于 HE 染色。

1.4.4 结肠组织 HE 检测 石蜡切片脱蜡至水:依次将切片放入二甲苯Ⅰ 20 min→二甲苯Ⅱ 20 min→无水乙醇Ⅰ 5 min→无水乙醇Ⅱ 5 min→75% 酒精 5 min,自来水洗;苏木素染色:切片入苏木素染液染 3 ~ 5 min,自来水洗,分化液分化,自来水洗,返蓝液返蓝,流水冲洗;伊红染色:切片依次入 85%、95% 的梯度酒精脱水各 5 min,入伊红染液中染色 5 min;脱水封片:切片依次放入无水乙醇Ⅰ 5 min→无水乙醇Ⅱ 5 min→无水乙醇Ⅲ5 min→二甲Ⅰ5 min→二甲苯Ⅱ5 min 透明,中性树胶封片;显微镜镜检,图像采集分析。

1.4.5 ELISA 检测 取出 ELISA 试剂盒,室温平衡 30 min,从 -80 ℃冰箱中取出待检测大鼠血清与脑组织样本,室温解冻。分别进行标准品的稀释、各孔加样、温育、配制洗涤液、洗涤、加酶、显色、终止,测定。详细步骤均按照说明书严谨进行。

1.4.6 肠道菌群 16S 核糖体 DNA(16S ribosomal DNA identification,16SrDNA)分析 采用 16SrDNA 基因测序技术进行检测。取样本,采用 DNA 提取试剂盒对样本总 DNA 进行抽提,采用超微量分光光度计对 DNA 进行定量,再通过琼脂糖凝胶电泳分析其质量。以 341F(5′- CCTACGGGNGGCWGCAG -3′)和 805R(5′- GACTACHVGGGTATCTAATCC -3′)为引物对 V3 - V4 可变区进行 PCR 扩增,每个样品用特异性条形码标记引物的 5′端,并对通用引物进行测序。PCR 产物通过 AMPure XT 珠纯化,并通过 Qubit 定量。制备扩增子池用于测序,并分别在生物分析仪和 Illumina 文库定量试剂盒上评估扩增子文库的大小和数量。在 NovaSeq PE250 平台上对文库进行测序。对原始数据进行序列质控、去噪、拼接、去嵌合等处理后,得到有效数据。通过随机归一化到相同的序列,使用 QIIME 软件对 α 和 β 多样性、物种注释、菌群结构组成及差异进行分析。

1.5 统计学方法

实验数据均采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两独立样本比较采用 t 检验,多样本均数比较用单因素方差分析(OnewayANOVA)。如果实验数据为非正态性分布,则采用秩和检验(Kruskal - WallisH 检验)。对 4 种缺方和单药进行加权排名赋分,例如 4 种单药组中对某一观测指标的排名为 SZR > BDK > XHQ > BB,那就对酸枣仁、白豆蔻、香旱芹、荜茇依次赋分 4、3、2、1;4 种拆方组中对某一观测指标的排名为 QSZR > QBDK > QXHQ > QBB,那就对酸枣仁、白豆蔻、香旱芹、荜茇依次赋分 1、2、3、4,再将两组的相应分数相加,假设检测的一类指标有 4 个,而每个指标的权重都分别为 25%(一类检测指标中,每个指标的权重相同,C 组与 M 组无显著差异的指标不计入其内),酸枣仁在这 4 个指标中得分分别为 8、6、4 和 4 分。那么,酸枣仁的加权总分可以通过以下计算得出:总分 = (8 ×0.25) + (6 ×0.25) + (4 ×0.25) + (4 ×0.25) = 2 + 1.5 + 1 + 1 = 5.5 分,并通过得分排名评价这味单药对整方的贡献。相关性采用 Spearman 相关系数分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态及结肠组织 HE 染色

造模前各组大鼠精神状态良好,活泼好动,情绪平和,皮毛顺滑有光泽。造模后与 C 组对比,M 组大鼠昼夜节律紊乱甚至消失,饮食、饮水量减少,皮毛晦暗易脱落,兴奋性增强,攻击性增强。给予药物治疗后精神状态较治疗前有不同程度好转,活动增多,反应迅速,饮食饮水量恢复,皮毛逐渐恢复光泽。

HE 染色可见:C 与 QXHQ 组未见明显病理变化,M 组大鼠肠组织表面绒毛变少,肠组织可见少量黏膜上皮细胞脱落,固有层肠腺排列疏松,可见固有层有少量肠腺消失,伴有少量淋巴细胞浸润。QBB 组肠组织可见少量黏膜上皮细胞脱落,其他各组均伴有少量淋巴细胞浸润。详见插页Ⅲ图 1。

2.2 对失眠相关神经递质水平的影响

ELISA 检测分析各组大鼠血清失眠相关神经递质水平,发现造模后,5 - HT、GABA、AChE 水平显著降低($P<0.05$),PGD2 水平无显著改变,显示失眠模型大鼠神经递质水平失衡。给药干预后,S -4 组 5 - HT、GABA 明显升高($P<0.05$),AChE 有升高趋势,但差异无统计学意义($P>0.05$),Y 组 5 - HT、GABA、AChE 明显升高($P<0.05$),表明安神补脑液与苏

格木勒－4 汤能同时调节 5－HT、GABA 和 AChE 水平，具有改善神经递质失衡的作用；拆方及单药干预研究显示 4 种拆方及 4 种单药均能显著改善血清 5－HT、GABA 水平（$P<0.05$），4 种拆方、BDK 和 XHQ 组均能改善血清 AChE 水平（$P<0.05$），SZR 组与 BB 组有升高 AChE 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）。从表 1 可见，对 5－HT 的改善能力 BDK > XHQ > BB > SZR 及 QBB > QXHQ > QBDK > QSZR，综合可知白豆蔻对 5－HT 改善能力最强，其次是酸枣仁与香旱芹，荜茇最弱；对 GABA 的改善能力 BDK > XHQ > BB > SZR 及 QXHQ > QBB > QBDK > QSZR，综合可知白豆蔻对 GABA 改善能力最强，其次是酸枣仁、香旱芹与荜茇最弱；对 AChE 的改善能力 BDK > XHQ > BB > SZR 及 QXHQ > QBB > QSZR > QBDK，综合可知白豆蔻对 AChE 改善能力最强，酸枣仁，香旱芹与荜茇改善能力相同。由此可见白豆蔻对失眠相关神经递质水平调控能力最强。

表 1 各组大鼠血清 5－HT、GABA、AChE、PGD2 水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	5－HT/（ng/mL）	GABA/（μmol/L）	AChE/（nmol/L）	PGD2/（pg/mL）
QSZR 组	6	2.68±0.13^{ab}	0.99±0.11^{ab}	37.42±4.67^{abc}	288.31±36.25
QBDK 组	6	2.81±0.21^{ab}	1.00±0.10^{ab}	35.94±4.77^{abc}	307.27±29.75
QXHQ 组	6	2.99±0.29^{ab}	1.19±0.11^{abc}	38.60±1.89^{abc}	265.79±16.92
QBB 组	6	3.10±0.32^{ab}	1.17±0.13^{ab}	37.74±2.86^{abc}	283.53±21.21
C 组	6	3.91±0.22	1.59±0.06	46.00±2.73	277.91±40.74
M 组	6	1.89±0.06^{a}	0.62±0.03^{a}	28.46±1.78^{b}	293.43±24.86
S－4 组	6	2.91±0.21^{ab}	1.06±0.10^{ab}	31.75±3.97^{a}	299.85±27.84
SZR 组	6	2.45±0.15^{abc}	0.87±0.11^{abc}	29.37±3.09^{a}	303.22±21.62
BDK 组	6	3.13±0.19^{ab}	1.18±0.12^{abc}	37.95±2.12^{abc}	264.80±29.81
XHQ 组	6	2.93±0.22^{ab}	1.01±0.03^{ab}	35.20±2.79^{ab}	296.48±30.90
BB 组	6	2.51±0.16^{abc}	0.89±0.10^{abc}	30.84±3.77^{a}	287.15±35.77
Y 组	6	3.66±0.23^{bc}	1.40±0.09^{abc}	39.06±1.79^{abc}	287.95±45.09
F 值		37.34	39.56	14.22	1.15
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.343

注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）；a 与空白组相比，$P<0.05$；b 与模型组相比，$P<0.05$；c 与 S－4 组相比，$P<0.05$。

2.3 对脑肠肽水平的影响

ELISA 检测分析各组大鼠血清脑肠肽水平，发现造模后，VIP 水平显著升高（$P<0.05$），GAS 水平显著降低（$P<0.05$），SP 水平有升高趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$），显示失眠模型大鼠脑肠肽水平失衡。给药干预后，S－4 组 VIP 显著降低（$P<0.05$），GAS 明显升高（$P<0.05$），SP 有降低趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$），Y 组 VIP 明显降低（$P<0.05$），GAS 有升高趋势，SP 有降低趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$），表明安神补脑液与苏格木勒－4 汤能不同程度地调节 SP、VIP、GAS 水平，具有改善脑肠肽失衡的作用；拆方及单药干预研究显示 XHQ、QSZR、QBDK 组能改善血清 VIP 水平（$P<0.05$），BB 组外其他各组有降低 VIP 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）；QXHQ 组外其他各组均能明显改善血清 GAS 水平（$P<0.05$），QXHQ 组有升高 GAS 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）；4 种拆方与 4 种单药组均有降低 SP 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）。从表 2 可见，对 VIP 的改善能力 XHQ > SZR > BDK > BB 及 QBDK > QSZR > QBB > QXHQ，综合可知香旱芹对 VIP 的改善能力最强，其次是酸枣仁与荜茇，白豆蔻最弱；对 GAS 的改善能力 BB > XHQ > BDK > SZR 及 QBB > QSZR > QBDK > QXHQ，综合可知香旱芹对 GAS 改善能力最强，其次是白豆蔻和荜茇，酸枣仁最弱。由此可见香旱芹对脑肠肽水平调控能力最强。

表 2 各组大鼠血清 SP、VIP、GAS 水平比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	SP/（ng/mL）	VIP/（pg/mL）	GAS/（pg/mL）
QSZR 组	6	7.44±0.62	150.42±29.09^{b}	218.81±36.89^{b}
QBDK 组	6	6.84±0.89	139.85±20.26^{b}	216.57±21.08^{b}
QXHQ 组	6	6.86±1.23	157.17±17.79	201.95±38.91^{a}
QBB 组	6	7.36±0.97	156.90±31.52	232.90±16.02^{b}
C 组	6	7.44±0.69	152.51±17.35	228.46±13.48
M 组	6	7.65±0.71	186.32±21.66^{a}	185.53±18.04^{a}
S－4 组	6	7.08±0.74	154.57±15.44^{b}	214.28±28.03^{b}
SZR 组	6	6.88±0.60	179.23±38.87	219.39±18.33^{b}
BDK 组	6	7.30±0.95	180.37±31.38	220.45±17.55^{b}
XHQ 组	6	7.17±1.10	150.79±36.49^{b}	231.05±9.71^{b}
BB 组	6	6.86±0.98	188.85±31.85^{ac}	243.09±16.14^{bc}
Y 组	6	7.19±0.66	150.79±24.15^{b}	202.59±18.14
F 值		0.59	2.17	218.14
P 值		0.826	0.029	0.005

注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）；a 与空白组相比，$P<0.05$；b 与模型组相比，$P<0.05$；c 与 S－4 组相比，$P<0.05$。

2.4 对 INOS 水平的影响

ELISA 检测分析各组大鼠 INOS 水平，发现造模后，结肠组织与下丘脑组织中 INOS 水平显著升高（$P<0.05$），给药干预后，S－4 组结肠组织与下丘脑组织中 INOS 水平显著降低（$P<0.05$），Y 组下丘脑组织和结肠组织中 INOS 水平有降低趋势，但差异无统计学意义（$P>0.05$），表明安神补脑液与苏格木勒－4 汤能不同程度地调节结肠组织与下丘脑组织中 INOS 水平，具有调节 INOS 的作用，但苏格木勒－4 汤调节能力更强；拆方及单药干预研究显示 4 种拆方及 4 种单药均有改善结肠组织中 INOS 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）；BDK 组与 QBDK 组能明显改善下丘脑 INOS 水平（$P<0.05$），其他各组有改善下丘脑 INOS 水平的趋势，但无统计学意义（$P>0.05$）。从表 3 可见，对结肠组织和下丘脑组织 INOS 水平改善能力 BDK > BB > SZR > XHQ 及 QBDK > QSZR > QBB > QXHQ，综合可知荜茇对结肠组织 INOS 的改善能力最强，其次是白豆蔻与香旱芹，酸枣仁最弱。由此可见荜茇对 INOS 水平调控能力最强。

2.5 对肠道菌群的影响

2.5.1 肠道菌群 alpha 多样性分析 为了探讨 MMS－4D 对失眠大鼠肠道微生物群组成的调节中的潜在作用，我们对大鼠粪便进行了 16SrDNA 基因测序。经过质量控制后，从 72 个检测样本中生成了 14 011 个 ASV 特征序列，并用于以下分析。随后，通过 Chao1 和 Shannon 稀释曲线（插页Ⅸ图 2A、插页Ⅸ图 2B）和 4 个 alpha 多样性指数，即基于 Chao1、Shannon 和来评估细菌群落的丰度和多样性。当序列数增加到 5000 时，多样本

稀疏曲线趋于平坦，说明所有样本群落丰富度、多样性、覆盖度、均匀度良好，测序数据量足够大，可充分反映各组大鼠粪便样本中绝大部分的肠道微生物多样性信息，能用于后续微生物组学分析。Chao1、observed species 指数反映菌群丰富度，Shannon、Simpson 反映菌群多样性，Goods coverage 可以评估测序结果是否代表样本中微生物的真实情况，由表 4、表 5 可知，均 goods coverage > 0.999，说明样本真实可信。与正常组比较，模型组大鼠粪便菌群 Chao1、observed species、Shannon、Simpson 呈上升趋势，差异无统计学意义；与模型组比较，SZR、BDK 组大鼠粪便菌群 observed species、Chao1 指数呈下调趋势，剩余各组呈上升趋势。除 QSZR 组外剩余各组的 Shannon 指数呈下调趋势，所有治疗组 Simpson 指数呈下调趋势。

表 3 各组大鼠结肠与下丘脑组织中 INOS 水平比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	结肠 INOS/（ng/g）	下丘脑 INOS/（ng/g）
QSZR 组	6	115.46 ± 34.79	108.15 ± 41.91
QBDK 组	6	117.60 ± 33.57	103.59 ± 36.45[b]
QXHQ 组	6	128.95 ± 39.97	125.56 ± 27.23[a]
QBB 组	6	137.30 ± 27.52	117.76 ± 35.61[a]
C 组	6	109.74 ± 25.53	81.15 ± 26.48
M 组	6	147.67 ± 22.53[a]	141.64 ± 21.77[a]
S－4 组	6	109.77 ± 23.13[b]	99.23 ± 33.34[b]
SZR 组	6	145.99 ± 36.11[ac]	128.91 ± 18.98[a]
BDK 组	6	133.28 ± 24.42	94.35 ± 25.28[b]
XHQ 组	6	139.03 ± 34.39	132.46 ± 25.19[a]
BB 组	6	135.55 ± 22.51	110.93 ± 38.36
Y 组	6	130.79 ± 41.63	124.49 ± 33.01[a]
F 值		1.09	1.93
P 值		0.385	0.054

注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）；a 与空白组相比，$P < 0.05$；b 与模型组相比，$P < 0.05$；c 与 S－4 组相比，$P < 0.05$。

表 4 各组大鼠粪便菌群丰富度比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	Chao1 指数	observed species 指数	Goods coverage 指数
QSZR 组	6	967.19 ± 71.65[b]	963.17 ± 71.34[b]	0.999 518 ± 0.000 282[b]
QBDK 组	6	854.50 ± 142.89	850.33 ± 141.14	0.999 478 ± 0.000 206[b]
QXHQ 组	6	867.59 ± 167.16	863.83 ± 169.13	0.999 547 ± 0.000 236[b]
QBB 组	6	834.83 ± 113.64	832.67 ± 113.24	0.999 645 ± 0.000 116
C 组	6	718.82 ± 95.31	717.00 ± 95.00	0.999 743 ± 0.000 164
M 组	6	775.33 ± 98.15	774.17 ± 97.57	0.999 768 ± 0.000 124
S－4 组	6	798.63 ± 139.46	794.67 ± 138.24	0.999 561 ± 0.000 179
SZR 组	6	775.05 ± 95.01	772.50 ± 94.49	0.999 630 ± 0.000 149
BDK 组	6	753.27 ± 77.25	750.50 ± 77.36	0.999 623 ± 0.000 161
XHQ 组	6	895.75 ± 116.03	889.67 ± 115.99	0.999 333 ± 0.000 164[b]
BB 组	6	834.28 ± 152.14	830.17 ± 151.85	0.999 460 ± 0.000 084[b]
Y 组	6	797.08 ± 87.46	793.17 ± 85.63	0.999 561 ± 0.000 248
F 值		2.033	1.994	2.582
P 值		0.041	0.045	0.009

注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）；b 与模型组相比，$P < 0.05$。

表 5 各组大鼠粪便菌群多样性指数比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	Shannon 指数	Simpson 指数
QSZR 组	6	7.74 ± 0.38	0.98 ± 0.02
QBDK 组	6	7.03 ± 0.98	0.96 ± 0.03
QXHQ 组	6	6.95 ± 0.94	0.95 ± 0.06[b]
QBB 组	6	7.36 ± 0.60	0.97 ± 0.03
C 组	6	7.07 ± 0.52	0.97 ± 0.01
M 组	6	7.61 ± 0.47	0.99 ± 0.01
S－4 组	6	6.94 ± 0.99	0.95 ± 0.06
SZR 组	6	7.00 ± 0.66	0.96 ± 0.05
BDK 组	6	7.21 ± 0.46	0.97 ± 0.03
XHQ 组	6	7.72 ± 0.44	0.98 ± 0.01
BB 组	6	7.33 ± 0.50	0.98 ± 0.01
Y 组	6	7.25 ± 0.45	0.97 ± 0.03
F 值		1.199	0.990
P 值		0.307	0.466

注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）；b 与模型组相比，$P < 0.05$。

2.5.2 肠道 beta 多样性分析 接下来，我们使用主成分分析（principal component analysis，PCA）、主坐标分析（principal coordinates analysis，PCoA）等方法来评估不同群体间肠道微生物群的 beta 多样性。PCA 分析显示，各组大鼠的微生物群组成有明显的聚类（插页Ⅸ图 2C）。同时，PCoA 分析显示，各组大鼠肠道微生物群组成有显著差异（插页Ⅸ图 2D），Anosim（Analysis of similarities）相似性分析结果显示 $-1 < R = 0.404\,569 < 1$，$P = 0.001 < 0.05$，表明检验 12 组间的差异显著大于组内差异，说明 12 组大鼠的整体肠道微生物组成存在差异。

2.5.3 属水平物种组成分析 从肠道菌群属水平对各组肠道微生物群落进行分析，共获得 648 个细菌属分类物种，Romboutsia 和 UCG－005 在所有 12 个组中均占优势，丰度排名前 30 的堆叠图见插页Ⅸ图 3A。相较于 C 组，M 组大鼠肠道菌群构成中 28 种菌属发生了显著变化。与模型组比较，药物处理后可不同程度地逆转这种改变。

2.5.4 关键差异菌属分析 多个分组间比较采用线性判别效应量分析（LEfSe），结果见插页Ⅸ图 3B。各组中富集的差异菌属用不同颜色表示，根据线性判别分析值（LDAscore）大于 3、组间非参数因子秩和检验筛选差异菌属，见插页Ⅸ图 3C。如表 6 所示，与 C 组比较，M 组异杆菌（*Allobaculum*）、梭状芽孢杆菌（*Clostridium_sensu_stricto_*1）、杜氏杆菌（*Dubosiella*）、双歧杆菌（*Bifidobacterium*）、红蝽菌 *UCG*_002（*Coriobacteriaceae_UCG_*002）、丁酸弧菌（*Anaerostipes*）、副沙门氏菌（*Parasutterella*）丰度升高（$P < 0.05$）。与 M 组相比苏格木勒－4 汤与安神补脑液均具有减少失眠模型大鼠肠道内有害菌的作用（$P < 0.05$）；拆方及单药干预研究显示 4 种拆方及 4 种单药均能改善肠道内异杆菌、梭状芽孢杆、杜氏杆菌、双歧杆菌、红蝽菌 *UCG*_002 的丰度（$P < 0.05$）；除 SZR 外其他各组均能改善丁酸弧菌丰度（$P < 0.05$）；QBDK、QXHQ、QBB 组能显著改善副沙门氏菌丰度。从表 6 可见，对异杆菌的改善能力荜茇最强，酸枣仁最弱；对梭状芽孢杆菌的改善能力香旱芹最强，酸枣仁最弱；对杜氏

杆菌的改善能力白豆蔻最强,酸枣仁最弱;对双歧杆菌的改善能力白豆蔻、香旱芹、荜茇相同,酸枣仁最弱;对红蝽菌 *UCG*_002 的改善能力白豆蔻最强,酸枣仁最弱;对丁酸弧菌的改善能力香旱芹与荜茇较强,白豆蔻与酸枣仁较弱;对副沙门氏菌的改善能力酸枣仁最强,白豆蔻最弱。

表 6 各组大鼠粪便中关键差异菌属丰度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	异杆菌	梭状芽孢杆菌	杜氏杆菌	双歧杆菌
QSZR 组	6	2.024 ± 1.084^{ab}	0.565 ± 0.287^{b}	0.034 ± 0.009^{b}	0.068 ± 0.033^{b}
QBDK 组	6	3.209 ± 3.561^{b}	0.959 ± 1.120^{b}	0.119 ± 0.061^{b}	0.194 ± 0.123^{b}
QXHQ 组	6	3.091 ± 1.510^{b}	0.980 ± 1.038^{b}	0.162 ± 0.139^{b}	0.355 ± 0.226^{b}
QBB 组	6	4.428 ± 4.072^{b}	0.780 ± 0.355^{b}	0.097 ± 0.086^{b}	0.167 ± 0.123^{b}
C 组	6	5.853 ± 3.920	1.375 ± 0.847	0.149 ± 0.116	0.200 ± 0.104
M 组	6	10.232 ± 3.970^{a}	2.622 ± 1.340^{a}	1.448 ± 0.494^{a}	1.055 ± 0.348^{a}
S-4 组	6	1.352 ± 0.972^{ab}	0.920 ± 0.768^{b}	0.074 ± 0.062^{b}	0.200 ± 0.360^{b}
SZR 组	6	2.660 ± 1.736^{ab}	0.953 ± 0.566^{b}	0.071 ± 0.046^{b}	0.073 ± 0.045^{b}
BDK 组	6	1.660 ± 1.338^{ab}	0.859 ± 0.534^{b}	0.017 ± 0.010^{b}	0.057 ± 0.053^{b}
XHQ 组	6	1.759 ± 1.402^{ab}	0.608 ± 0.578^{b}	0.066 ± 0.046^{b}	0.058 ± 0.041^{b}
BB 组	6	0.787 ± 0.552^{ab}	1.331 ± 0.623^{b}	0.024 ± 0.015^{b}	0.027 ± 0.032^{b}
Y 组	6	5.252 ± 3.847^{bc}	1.135 ± 0.584^{b}	0.077 ± 0.067^{b}	0.189 ± 0.168^{b}
F 值		5.758	2.886	37.734	14.716
P 值		<0.001	0.004	<0.001	<0.001

组别	n	红蝽菌 UCG_002	丁酸弧菌	副沙门氏菌
QSZR 组	6	0.005 ± 0.005^{b}	0.127 ± 0.183^{b}	0.285 ± 0.142
QBDK 组	6	0.013 ± 0.009^{b}	0.061 ± 0.077^{b}	0.167 ± 0.100^{b}
QXHQ 组	6	0.064 ± 0.055^{b}	0.207 ± 0.323^{b}	0.247 ± 0.301^{b}
QBB 组	6	0.010 ± 0.013^{b}	0.194 ± 0.299^{b}	0.183 ± 0.075^{b}
C 组	6	0.005 ± 0.006	0.036 ± 0.025	0.142 ± 0.090
M 组	6	0.357 ± 0.166^{a}	1.385 ± 1.324^{a}	0.591 ± 0.492^{a}
S-4 组	6	0.005 ± 0.004^{b}	0.078 ± 0.036^{b}	0.192 ± 0.126^{b}
SZR 组	6	0.022 ± 0.026^{b}	1.623 ± 1.549^{ac}	0.373 ± 0.242
BDK 组	6	0.008 ± 0.010^{b}	0.318 ± 0.175^{b}	0.848 ± 0.392^{ac}
XHQ 组	6	0.026 ± 0.025^{b}	0.119 ± 0.244^{b}	0.767 ± 0.438^{ac}
BB 组	6	0.001 ± 0.003^{b}	0.140 ± 0.236^{b}	0.439 ± 0.193
Y 组	6	0.023 ± 0.021^{b}	0.228 ± 0.505^{b}	0.759 ± 0.416^{ac}
F 值		21.759	4.303	4.872
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:C 组(空白组)、M 组(模型组)、S-4 组(苏格木勒-4 汤组)、QSZR 组(缺酸枣仁方组)、QBDK 组(缺白豆蔻方组)、QXHQ 组(缺香旱芹方组)、QBB 组(缺荜茇方组)、SZR 组(酸枣仁组)、BDK 组(白豆蔻组)、XHQ 组(香旱芹组)、BB 组(荜茇组)、Y 组(安神补脑液组);a 与空白组相比,$P<0.05$;b 与模型组相比,$P<0.05$;c 与 S-4 组相比,$P<0.05$。

2.5.5 关键差异肠道菌属与 ELISA 指标相关性分析 为进一步探讨肠道菌属与本文所检测 ELISA 指标之间的关系,采用 spearman 相关性分析考察了两者间的相关性。从插页Ⅻ图 3D 可见红蝽菌 *UCG*_002 与下丘脑组织 INOS 呈显著正相关,丁酸弧菌与结肠组织 INOS 与血清 VIP 呈显著正相关。双歧杆菌与血清 GAS 呈显著负相关。上述菌属可能在苏格木勒-4 汤改善失眠作用中具有较重要的介导作用,其作用有待进一步深入研究和验证。

3 讨论

肠道菌群作为神经递质的主要生产力,在肠道内能调节肠神经元细胞合成 GABA、5-HT 等神经递质,并影响中枢神经系统功能[21]。GABA 作为一种主要的抑制性神经递质,有助于维持中枢神经系统神经元兴奋和抑制的整体平衡,在大脑发育和功能中起着核心作用之一[22]。研究证实大多数镇静催眠的草药共有的主要药理作用机制是通过神经递质 GABA 或通过刺激 γ-氨基丁酸受体 A 起作用[23]。5-HT 是一种血管收缩剂,在中枢神经系统中具有关键且明确的作用,包括调节情绪稳定性、疼痛耐受性或睡眠模式等[24]。也有研究表明失眠的发生常常伴随 AChE 含量的改变[25]。PGD2 可诱导睡眠,并可能在睡眠和神经系统疾病中发挥作用[26]。所以本研究通过拆解苏格木勒-4 汤,从血清神经递质 GABA、5-HT、AChE、PGD2 含量切入,探讨了苏格木勒-4 汤中调节中枢神经递质的组分。发现苏格木勒-4 汤能同时调节 5-HT、GABA 和 AChE 水平,具有改善神经递质失衡的作用,4 种组分中白豆蔻对失眠相关神经递质水平调控能力最强。

肠道菌群-肠道肽相互作用在调节肠-脑信号传导中具有重要意义[27]。SP 是中枢神经系统中分布最广泛的神经肽,它参与许多生理和病理生理过程,包括压力和焦虑相关行为[28]。VIP 是一种 28 个氨基酸的神经肽,对神经元、上皮和内分泌细胞功能的发育、生长和控制具有多种生理和病理作用,进而调节离子分泌、营养吸收、肠道蠕动、血糖控制、致癌、免疫反应和昼夜节律[29-30]。胃泌素由黏膜 G 细胞合成和释放,作为经典的肠道激素和强效神经递质,存在于胃肠道、中枢神经系统和周围神经元中[31]。本研究通过拆解苏格木勒-4 汤,发现苏格木勒-4 汤能不同程度地调节血清脑肠肽 SP、VIP、GAS 含量,进一步探讨了苏格木勒-4 汤中调节脑肠肽的组分。发现 4 种组分中香旱芹对脑肠肽调控能力最强。另外通过观察结肠组织 HE 染色发现,全方、4 种拆方及 4 种单药均能改善失眠模型大鼠结肠组织的病理改变。

INOS 和 NO 也是肠道中非常重要的递质,INOS 含量升高会使 NO 含量增加,导致平滑肌松弛[32]。而大脑中 INOS 与 NO 的表达与睡眠与觉醒紧密相关[33]。我们的研究证实 CUMS+PCPA 造模后,模型大鼠结肠组织及下丘脑组织中 INOS 的含量的确会产生显著改变。苏格木勒-4 汤能显著改善结肠组织与下丘脑组织中 INOS 水平。4 种组分中香荜茇对 INOS 水平调控能力最强。

肠道菌群不仅可以影响肠道生理,还可以影响中枢神经系统。研究发现,肠道菌群可能是睡眠机制的关键调节者[34]。研究表明异杆菌,梭状芽孢杆菌,杜氏杆菌,红蝽菌 *UCG*_002,副沙门氏菌与人类肠道炎症有关[35-38],丁酸弧菌与副沙门氏菌与重度抑郁症[39]有关。本研究中苏格木勒-4 汤能有效减少失眠模型大鼠肠道内有害菌的丰度。这从侧面证实肠道菌群以及肠道功能的改变与失眠症的发生有关联,我们的相关性研究更加印证了这一点。4 个组分对这些有害菌群都可发挥一定的抑制作用。

综上所述,苏格木勒-4 汤及其拆方与单药可不同程度地改善失眠模型大鼠体内失眠相关神经递质、脑肠肽含量及肠道菌群的变化,从而改善肠道状态,缓解失眠。4 个组分之间比较,白豆蔻对神经递质、香旱芹对脑肠肽、荜茇对 INOS 水平改善最强,4 个组分对有害菌群都可发挥一定的抑制作用,各有各的优势。一起组成了对失眠有显著疗效的苏格木勒-4 汤。

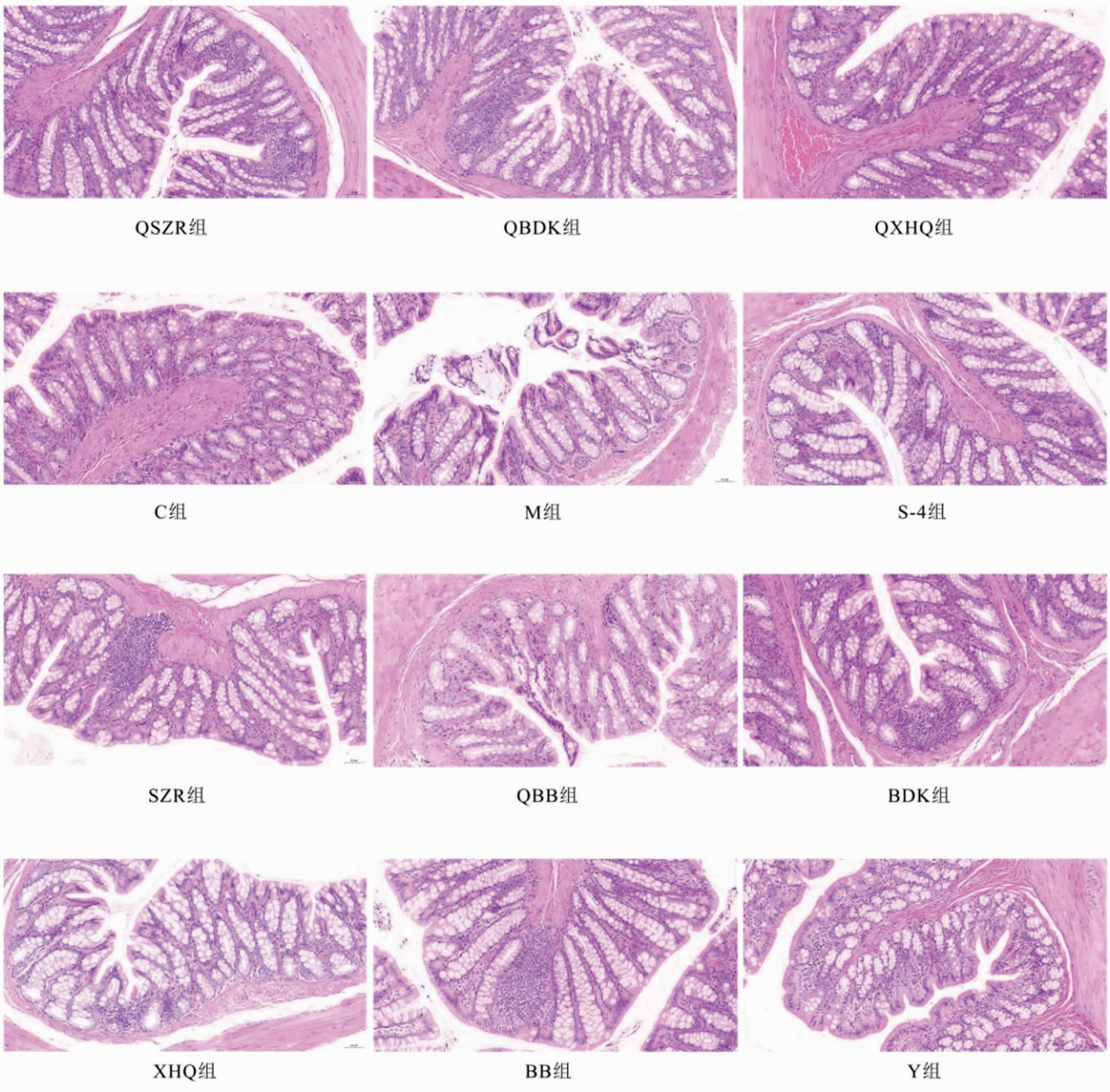
参考文献

[1] 杨若荻, 刘军彤, 周莹, 等. 从胆论治失眠研究概况[J]. 辽宁

中医药大学学报, 2024, 26(3): 151 - 155.
[2] 中国睡眠研究会,张斌,艾思志,等. 失眠数字疗法中国专家共识[J]. 中国全科医学,2024,27 (4): 381 - 390.
[3] 彭彬, 王国为, 谷勍楠, 等. 基于"阳气升降圆运动"探讨失眠的四时病机及治法[J]. 中医杂志, 2023, 64(21): 2192 - 2196.
[4] WANG Z, WANG Z, LU T S, et al. The microbiota - gut - brain axis in sleep disorders[J]. Sleep Med Rev, 2022, 65: 101691.
[5] SEN P, MOLINERO - PEREZ A, O'RIORDAN K J, et al. Microbiota and sleep: awakening the gut feeling[J]. Trends Mol Med, 2021, 27(10): 935 - 945.
[6] 苏萍, 祝美珍, 孙诗杰, 等. 基于"脑肠轴"理论探讨脑肠肽、肠道菌群与缺血性中风的联络机制[J]. 西部中医药, 2023, 36(9): 110 - 114.
[7] WU J R, CAO M X, HU M, et al. Intervention effects of okra extract on brain - gut peptides and intestinal microorganisms in sleep deprivation rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9855411.
[8] 景秀玲, 马国庆. 从脑 - 肠 - 菌轴讨论酸枣仁汤治疗原发性失眠的研究进展[J]. 中国疗养医学, 2023, 32(7): 699 - 701.
[9] 全春梅, 闫秋丽. 甘麦大枣汤联合原络针刺治疗更年期失眠症女性患者的疗效及对血清神经递质水平的影响[J]. 中医临床研究, 2022, 14(25): 63 - 66.
[10] 宋俊华, 高彦博, 张杰, 等. 通督调神针法治疗失眠临床研究[J]. 新中医, 2023, 55(15): 162 - 165.
[11] KIELBIK M, SZULC - KIELBIK I, KLINK M. The potential role of iNOS in ovarian cancer progression and chemoresistance[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1751.
[12] MINHAS R, BANSAL Y. Inhibition of iNOS by benzimidazole derivatives: synthesis, docking, and biological evaluations[J]. Med Chem, 2022, 18(5): 602 - 615.
[13] 刘引, 汤永红, 翟锦霞, 等. 慢性低度炎症与睡眠障碍研究进展[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2023, 23(8): 674 - 677.
[14] 旭日. 浅谈苏荣扎布教授治疗失眠的蒙医学术思想体会[J]. 中国蒙医药(蒙),2016,11(8):8 - 12.
[15] 果佳霖, 孙利东, 孟根花, 等. 蒙药苏格木勒 - 4 汤低极性化学成分的 GC - MS 分析[J]. 西部中医药, 2020, 33(9): 65 - 69.
[16] 杨蕊, 果佳霖, 孙利东, 等. 苏格木勒 - 4 精油多成分 - 多靶点 - 多途径抗失眠作用机制研究[J]. 中医药导报, 2022, 28(2): 17 - 23.
[17] 都丽娜, 杨德志, 乌兰, 等. 液质联用技术联合网络药理学探讨苏格木勒 - 4 汤治疗失眠的作用机制[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2023, 25(12): 3866 - 3889.
[18] 乌日罕, 苏乙拉巴特尔, 乌兰其其格, 等. 蒙成药阿敏·额尔敦治疗心源性失眠症的概述[J]. 中国民族医药杂志, 2023, 29(6): 66 - 69.
[19] 马钤, 郭川川, 李般程. 白豆蔻精油研究进展[J]. 食品工业, 2022, 43(4): 269 - 273.
[20] 廖翠平, 葛莎莎, 阿拉坦朝鲁门, 等. 茸菱的研究进展及质量标志物的预测[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(19): 5182 - 5192.
[21] 李莹, 刘子嘉, 汤梦珍, 等. 中医药调节失眠伴焦虑神经递质分泌的研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42(4): 515 - 520.
[22] BRUNI O, FERINI - STRAMBI L, GIACOMONI E, et al. Herbal remedies and their possible effect on the GABAergic system and sleep[J]. Nutrients, 2021, 13(2): 530.
[23] SINGH A, ZHAO K C. Treatment of insomnia with traditional Chinese herbal medicine[J]. Int Rev Neurobiol, 2017, 135: 97 - 115.
[24] QUINTERO - VILLEGAS A, VALDÉS - FERRER S I. Role of 5 - HT_7 receptors in the immune system in health and disease[J]. Mol Med, 2019, 26(1): 2.
[25] SHARMA B, ROY A, SENGUPTA T, et al. Acute sleep deprivation induces synaptic remodeling at the soleus muscle neuromuscular junction in rats[J]. Sleep, 2023, 46(8): 229.
[26] SUZUKI K, SUZUKI S, ISHII Y, et al. Plasma prostaglandin D2 synthase levels in sleep and neurological diseases[J]. J Neurol Sci, 2020, 411: 116692.
[27] DENG G X, JIN L. The effects of vasoactive intestinal peptide in neurodegenerative disorders[J]. Neurol Res, 2017, 39(1): 65 - 72.
[28] IWASAKI M, AKIBA Y, KAUNITZ J D. Recent advances in vasoactive intestinal peptide physiology and pathophysiology: focus on the gastrointestinal system[J]. Other, 2019, 8: 1629.
[29] LACH G, SCHELLEKENS H, DINAN T G, et al. Anxiety, depression, and the microbiome: a role for gut peptides[J]. Neurotherapeutics, 2018, 15(1): 36 - 59.
[30] IFTIKHAR K, SIDDIQ A, BAIG S G, et al. Substance P: a neuropeptide involved in the psychopathology of anxiety disorders[J]. Neuropeptides, 2020, 79: 101993.
[31] ZENG Q, OU L, WANG W, et al. Gastrin, cholecystokinin, signaling, and biological activities in cellular processes[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11: 112.
[32] ZHANG W, WU M, CHEN P, et al. Effect of local ozone treatment on rats with anterior rectal resection and the possible mechanisms[J]. Biomed Eng Online, 2021, 20(1): 79.
[33] CLÉMENT P, SARDA N, CESPUGLIO R, et al. Potential role of inducible nitric oxide synthase in the sleep - wake states occurrence in old rats[J]. Neuroscience, 2005, 135(2): 347 - 355.
[34] 朱晓松, 彭善鑫, 左志文, 等. 失眠患者乌梅丸加减方口服后睡眠质量及肠道菌群变化[J]. 山东医药, 2022, 62(11): 47 - 49.
[35] RICE T A, BIELECKA A A, NGUYEN M T, et al. Interspecies commensal interactions have nonlinear impacts on host immunity[J]. Cell Host Microbe, 2022, 30(7): 988 - 1002.
[36] WEN X, WANG H G, ZHANG M N, et al. Fecal microbiota transplantation ameliorates experimental colitis *via* gut microbiota and T - cell modulation[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(21): 2834 - 2849.
[37] FENG P S, LI Q Q, LIU L, et al. Crocetin prolongs recovery period of DSS - induced colitis *via* altering intestinal microbiome and increasing intestinal permeability[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(7): 3832.
[38] CHEN Y J, WU H, WU S D, et al. *Parasutterella*, in association with irritable bowel syndrome and intestinal chronic inflammation[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2018, 33(11): 1844 - 1852.
[39] CHEUNG S G, GOLDENTHAL A R, UHLEMANN A C, et al. Systematic review of gut microbiota and major depression[J]. Front Psychiatry, 2019, 10: 34.

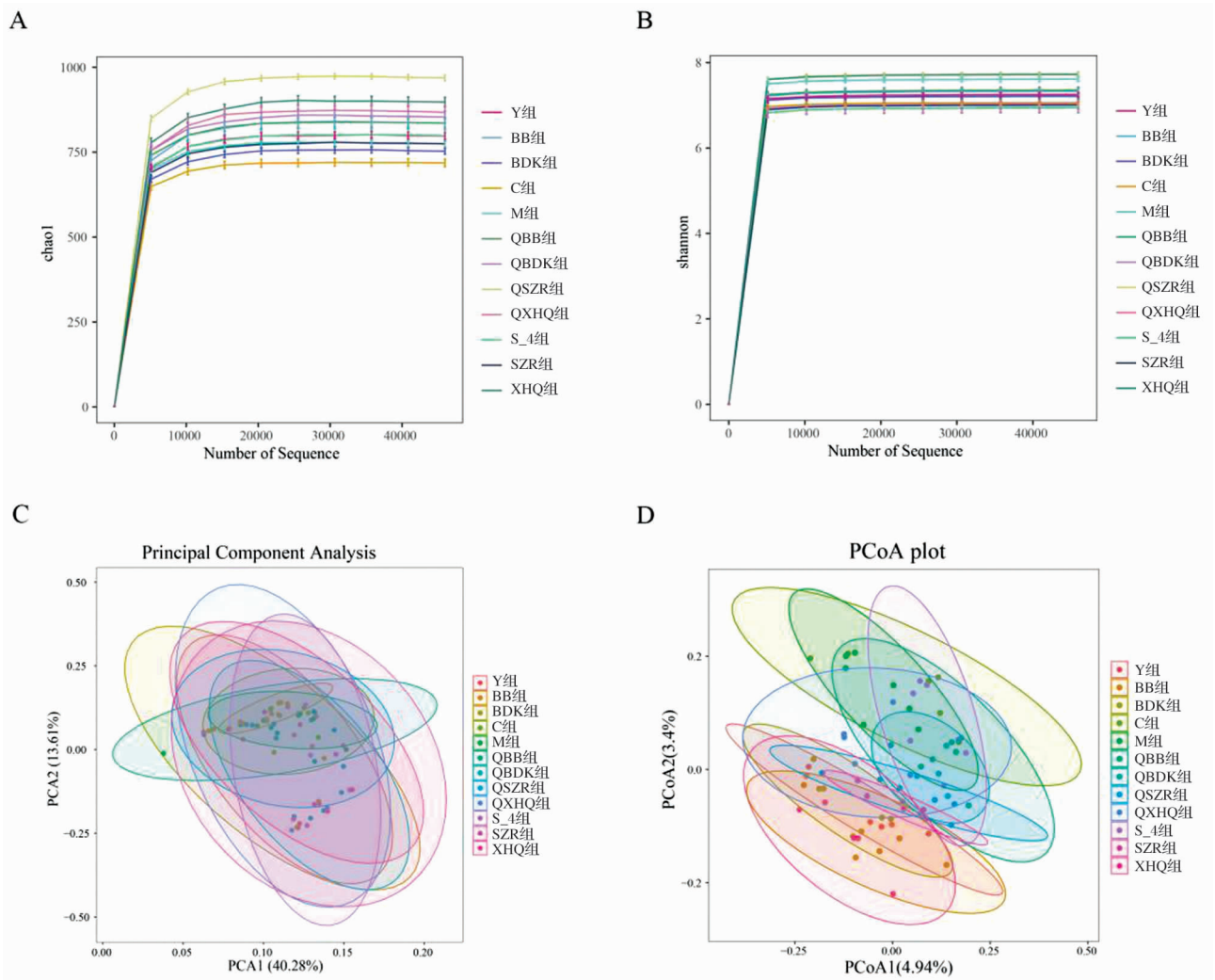
蒙药苏格木勒－4 汤及其拆方与单药对失眠模型大鼠肠道菌群的影响

（正文见 239－245 页）



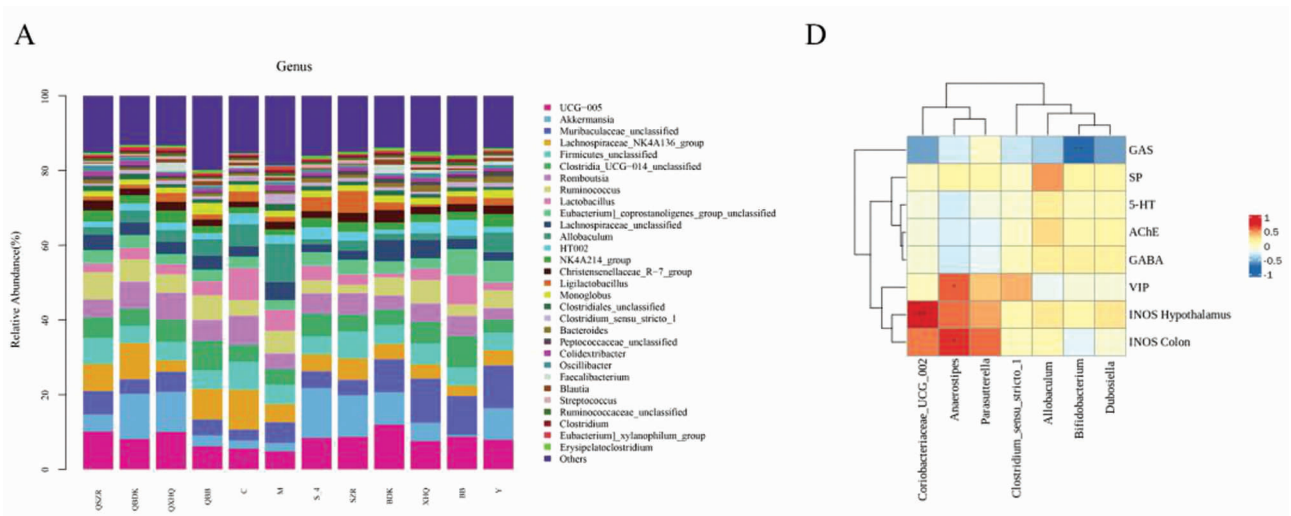
注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）。

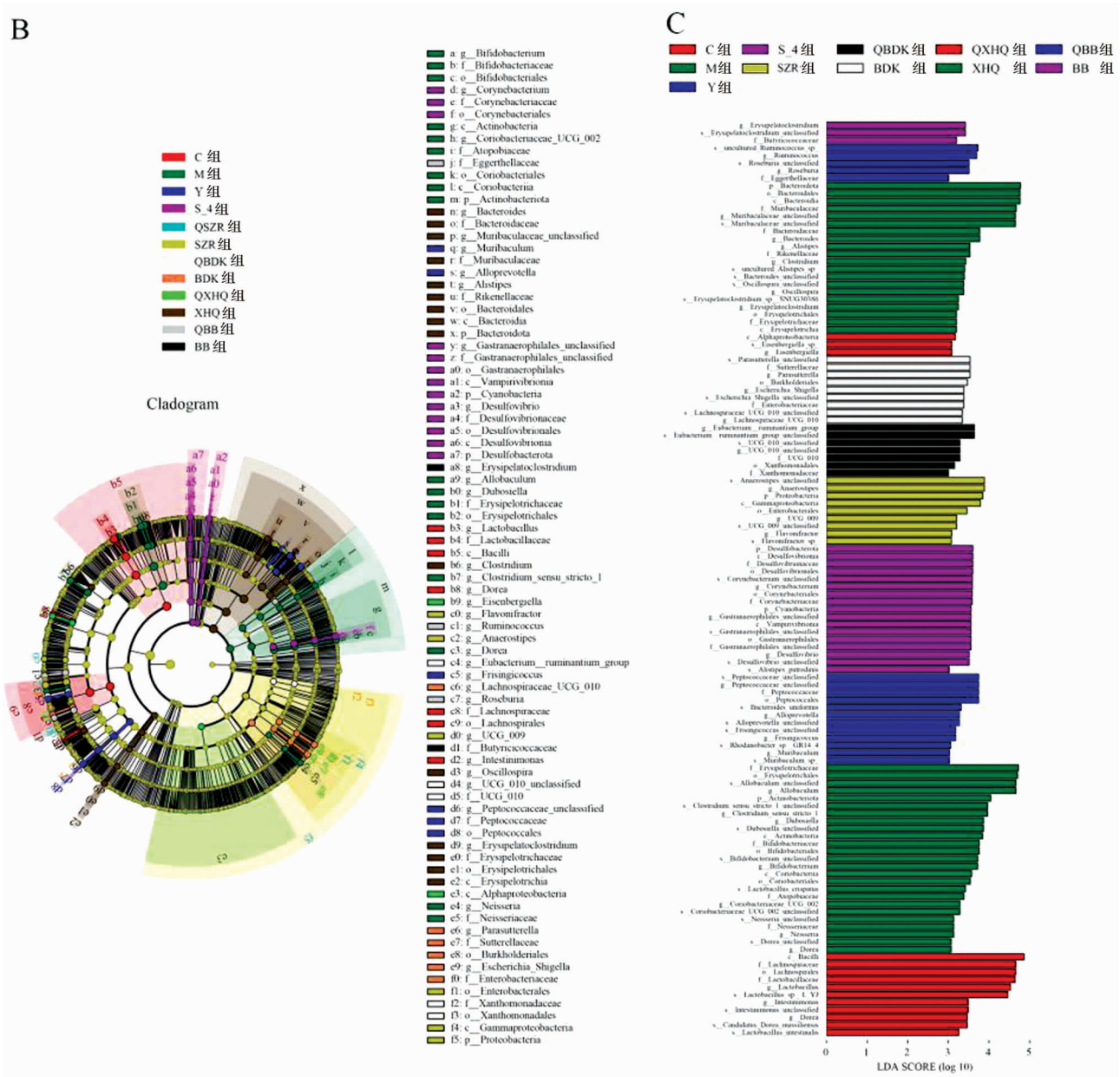
图 1　各组大鼠结肠组织 HE 染色（×20）



注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）。

图 2 各组大鼠肠道菌群 Chao1 指数稀释曲线（A），Shannon 指数稀释曲线（B），PCA 分析图（C）及 PCoA 分析图（D）





注：C 组（空白组）、M 组（模型组）、S－4 组（苏格木勒－4 汤组）、QSZR 组（缺酸枣仁方组）、QBDK 组（缺白豆蔻方组）、QXHQ 组（缺香旱芹方组）、QBB 组（缺荜茇方组）、SZR 组（酸枣仁组）、BDK 组（白豆蔻组）、XHQ 组（香旱芹组）、BB 组（荜茇组）、Y 组（安神补脑液组）。

图 3　各组大鼠肠道菌群属水平丰度排名前 30 的堆叠图（A），LEfSe 分析图（B），
组间非参数因子秩和检验筛选差异菌属图（C）及关键差异肠道菌属与 Elisa 指标相关性分析图（D）