

复方安神精油吸入给药的镇静催眠作用 及化学成分的 GC-MS 分析

钟 钰¹, 郑 琴^{1*}, 胡鹏翼¹, 黄小英¹, 杨 明^{1*}, 任桂林², 张科楠¹, 李 菁¹

¹江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室 创新药物与高效节能降耗制药设备国家重点实验室, 南昌 330004;
²西南医科大学附属中医医院, 泸州 646000

摘要: 为研究复方安神精油吸入给药的镇静催眠作用, 本实验采用动物自主活动测试和戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期与睡眠时间实验; GC-MS 分析复方安神精油的挥发性化学成分与入脑的主要化学成分; 基于网络药理学预测和筛选出治疗失眠症相关靶蛋白与活性成分, 旨在为复方安神精油治疗与改善失眠症提供理论依据。研究发现, 复方安神精油具有镇静催眠作用, 可显著减少动物自主活动, 缩短睡眠潜伏期, 延长睡眠时间; 复方安神精油主要化学成分与入脑主要化学成分中含有多种具有神经中枢镇静催眠作用以及抗焦虑、抗抑郁作用的化学成分; 基于网络药理学预测和筛选出 25 个治疗失眠症相关活性成分作用于 39 个治疗失眠症相关作用靶点, 体现复方安神精油多成分、多靶点发挥镇静催眠作用的特点。

关键词: 复方安神精油; 芳香疗法; 吸入给药; 镇静催眠; 吸嗅入脑; 网络药理学

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)9-1528-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.9.007

Sedative and hypnotic effects of inhalation of compound anshen essential oil and GC-MS analysis of chemical constituents

ZHONG Yu¹, ZHENG Qin^{1*}, HU Peng-yi¹, HUANG Xiao-ying¹,
YANG Ming^{1*}, REN Gui-lin², ZHANG Ke-nan¹, LI Jing¹

¹Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine under Ministry of Education,
State Key Lab. of Innovation Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical Equipment, Jiangxi
University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

²Traditional Chinese Medicine hospital Affiliated to Southwest Medical University, Luzhou 646000, China

Abstract: In order to study the sedative and hypnotic effects of inhalation administration of compound anshen essential oil, this experiment used animal autonomic activity test and pentobarbital sodium-induced sleep latency and sleep time experiments. GC-MS analysis of the volatile chemical constituents of the compound anshen essential oil and the main chemical components into the brain, based on network pharmacology prediction and screening for the treatment of insomnia-related target proteins and active ingredients. It aims to provide a theoretical basis for the treatment of compound anshen oil and improve insomnia. The study found that the compound anshen essential oil has sedative and hypnotic effect, which can significantly reduce animal autonomic activity, shorten sleep latency and prolong sleep time. The main chemical components of compound anshen essential oil and the main chemical components into the brain contain many kinds of chemical components which have the sedative and hypnotic effect on the nerve center, anti-anxiety effect and anti-depression effect. Based on network pharmacology prediction and screening, 25 insomnia-related active ingredients acted on 39 therapeutic insomnia-related targets, reflecting the characteristics of multiple components and multiple targets of compound anshen essential oils to exert sedative and hypnotic effects.

收稿日期: 2019-01-31 接受日期: 2019-08-21

基金项目: 江西省科技创新人才重点项目(“5511”工程专项)(2017BCB18001); 人才团队计划-“5511”科技创新人才项目(赣科发计字[2017]63号); 江西省一流学科项目(JXSYLXK-ZHYA0091); 江西省一流学科项目(JXSYLXK-ZHYA0092)

* 通信作者 Tel: 86-791-87118658; E-mail: zhengqin912006@163.com, yangming16@126.com

Key words: compound anshen essential oil; aromatherapy; inhalation administration; sedative and hypnotic; inhaled into the brain; network pharmacology

失眠是睡眠中断或睡眠时间减少所引起的一种睡眠障碍,主要表现为睡眠时间和睡眠深度的不足。据专家估计,到 2020 年全球大约有 7 亿多失眠者。大量的失眠症患者伴有不同程度抑郁、焦虑症状,导致患者精神活动效率下降,造成病人免疫功能下降、植物神经功能紊乱,增加糖尿病、冠心病、老年痴呆症等的患病风险^[1]。治疗失眠比较常见的药物主要包含苯二氮卓类、非苯二氮卓类、具有镇静作用的抗抑郁药等几种类型^[2],长时间使用易产生依赖性、耐受性、戒断症状、反跳作用等各种不良反应。长期以来人们寄希望于通过天然植物来达到更安全、不良反应更小的治疗目的,越来越多的学者热衷于探求新的、安全的辅助或替代疗法以治疗失眠。研究发现,芳香植物精油通过吸嗅疗法具有良好的镇静催眠作用,相比口服药物安全性强,可避免日间宿醉、首过消除和对胃肠道刺激。沉香精油^[3]、川芎精油^[4]、佩兰精油^[5]吸入给药均具有镇静催眠作用,可显著减少动物自主活动,缩短睡眠潜伏期,延长睡眠时间。在复方精油的相关研究方面,一种用甜牛至精油、德国甘菊精油和薰衣草精油调配而成的复方精油^[6]和以左旋芳樟醇为主要原料配制的复方精油^[7]均具有安眠功效。

本实验基于芳香疗法理论为指导,研究一种以薰衣草精油、甜橙精油、檀香精油等多种具有镇静催眠、抗焦虑、抗抑郁的芳香植物精油配伍的复方安神精油吸入给药的镇静催眠作用,采用 GC-MS 分析复方安神精油挥发性化学成分以及入脑的主要化学成分,基于网络药理学探讨复方安神精油治疗失眠症的作用机制,旨在为复方安神精油通过芳香疗法治疗与改善失眠症提供理论依据。

1 材料

1.1 试验动物

6~8 周龄 ICR 小鼠,雌雄各半,体重 25~35 g,江苏集萃药康生物科技有限公司提供,许可证号:SCXK(苏)2018-0008。

1.2 主要药品与试剂

复方安神精油,江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室提供,批号 20180715,主要成分为薰衣草精油、甜橙精油、檀香精油等;地西洋片(北京益民药业有限公司,批号 H11020898);戊巴

比妥钠(德国 Merck 公司,批号 20171230);生理盐水注射液(江西科伦药业有限公司,批号 C18081701);吐温-80(上海三浦试剂公司,批号:20180323);乙醇消毒液(南昌利康药械实业有限公司,批号 18041601);氢氧化钠(西陇化工股份有限公司,批号 20180227);三氯甲烷(西陇科学股份有限公司,批号 20170705);乙醚(国药集团化学试剂有限公司,批号 20180601)。

1.3 主要设备及仪器

超声雾化香薰机(深圳市康美太实业有限公司);动物香薰室(有机玻璃制成的 50×50×40 cm 大箱结构,其内部放置 4 个 20×20×20 cm 可通气体的小箱结构,中间可放置超声雾化香薰机);SMART 行为记录视频分析系统(Panlab 公司);Agilent 7890A 气相色谱-5975 质谱联用仪(美国安捷伦公司)。

1.4 网络药理学软件与数据库

TCMSP 数据库(<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcm-sp.php>)、Pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、OMIM 数据库(<http://www.omim.org/>)、TTD 数据库(<https://db.idrblab.org/ttd/>)、Drugbank 数据库(<https://www.drugbank.ca/>)、Cytoscape 7.0 软件。

2 方法

2.1 动物分组及给药

选用 ICR 小鼠,雌雄各半。实验期间,动物可得到足够的食物和水。实验间饲养环境的温度为 21±1℃,湿度 55%±5%,明暗交替 12 h,自由饮水和进食,适应性喂养 1 周后开始实验。实验设空白组(正常喂养),3 个复方安神精油组(吸入给药 1 天组、吸入给药 7 天组及吸入给药 14 天组),3 个阳性药组(阳性药给药 1 天组,阳性药给药 7 天组及阳性药给药 14 天组)。复方安神精油各组小鼠每天吸入浓度为 2×10⁻³的复方安神精油(预实验测得的有效吸嗅浓度,复方安神精油用浓度为 1%的吐温-80 溶液稀释),将超声雾化香薰机置于动物香薰室中,使药物充分挥发弥漫整个香薰室内,再将复方安神精油各组小鼠依次置入香薰室中,盖上箱盖,连续吸入给药 60 min,吸嗅时间段为每日 8:00~16:00。地西洋用蒸馏水配制成 0.1 mg/mL 的溶液,阳性药

各组灌胃地西洋溶液,给药剂量为 1 mg/kg(根据成人临床剂量采用体表面积等效剂量比值换算成小鼠等效剂量),空白组和复方安神精油各组灌胃等体积的蒸馏水。

2.2 小鼠自主活动测试

各组小鼠于末次给药 30 min 后,对每组小鼠分别进行自主活动测试。小鼠适应环境 5 min,计数 3 min 内小鼠移动的距离和站立次数等行为学参数,比较各组小鼠间的差异。自主活动测试指标:移动距离,单位:cm;最大速度,单位:cm/s;平均速度,单位:cm/s;静止时间,单位:s;站立次数。

2.3 戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期与睡眠时间

自主活动测试完毕后,各组小鼠分别腹腔注射阈剂量 45 mg/kg(预实验测得引起 100% 小鼠睡眠的最小剂量)的戊巴比妥钠,于给药前用生理盐水配制戊巴比妥钠溶液。以给药后小鼠翻正反射消失达 1 min 为入睡指标,注射药物至翻正反射消失的时间为睡眠潜伏期,翻正反射消失至恢复所经历的时间为睡眠时间,记录小鼠睡眠潜伏期与睡眠时间。

2.4 统计学处理

上述试验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,采用单因素 ANOVA 法分析,方差齐用 LSD 法,方差不齐用 Games-Howell 法,取 $P < 0.05$ 为检验水平。

2.5 复方安神精油的化学成分与入脑的化学成分分析

2.5.1 脑组织样品的制备

选取 10 只 SD 大鼠,雌雄各半。大鼠每天鼻腔给药 20 μ L 的复方安神精油,连续鼻腔给药 7 天,于第 7 天鼻腔给药完毕 30 min 后处死,取出全脑,生理盐水洗净,再加入生理盐水 2 mL 匀浆,离心,取上清液 1 mL,加入 2 mol/L NaOH 50 μ L,三氯甲烷 2 mL 振摇,离心,取出三氯甲烷层,10 只合并,挥干,加入乙醚 2 mL,微孔滤膜过滤,即得^[8]。

2.5.2 GC-MS 色谱条件

气相色谱条件:采用 Agilent DB-624(30 m \times 320 μ m \times 1.8 μ m) 毛细管色谱柱,载气为高纯 He(99.999%),进样量为 1 μ L,分流比 40:1,流速 1 mL/min。升温程序:初始温度 40 $^{\circ}$ C(保持 1 min),以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 220 $^{\circ}$ C,再以 25 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C(保持 9 min)。质谱条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 $^{\circ}$ C,MS 四极杆温度 150 $^{\circ}$ C;接口温度 250 $^{\circ}$ C,溶剂延迟 3.0 min,质量扫描模

式全扫描,扫描范围 30 ~ 650 amu。标准谱库 NIST11 检索,峰面积归一法计算各组分相对百分含量。

2.6 基于网络药理学构建对复方安神精油活性成分-作用靶点网络图

利用 TC MSP 数据库、Pubchem 数据库、OMIM 数据库筛选出治疗失眠症的活性成分,将治疗失眠症的活性成分与复方安神精油主要化学成分取交集,得到复方安神精油治疗失眠症相关活性成分。利用 TTD 数据库、Drugbank 数据筛选出治疗失眠症靶点以及复方安神精油活性成分靶点,将治疗失眠症靶点与复方安神精油活性成分靶点取交集,得到复方安神精油治疗失眠症相关作用靶点。将复方安神精油治疗失眠症相关活性成分和治疗失眠症相关作用靶点导入 Cytoscape7.0 软件,构建复方安神精油活性成分-作用靶点网络,预测和筛选出复方安神精油治疗失眠症关键性的作用靶点与活性成分。

3 结果与分析

3.1 小鼠自主活动测试实验结果

小鼠自主活动测试实验结果见表 1。结果表明,与空白组比较,吸入给药 1 天组显示出镇静催眠作用,吸入给药 7 天和吸入给药 14 天组的镇静催眠作用极显著,小鼠的自主活动量极显著减少,表现为移动距离和站立次数极显著减少($P < 0.01$)、平均速度与最大速度极显著减小($P < 0.01$)、静止时间极显著增加($P < 0.01$),阳性药给药 1 天组的镇静催眠作用极显著($P < 0.01$),随着给药时间的延长,阳性药给药 7 天、阳性药给药 14 天组的小鼠自主活动量增加。

3.2 戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期与睡眠时间的实验结果

戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期与睡眠时间实验结果见表 2。结果表明,在睡眠潜伏期方面,与空白组相比,阳性药给药 1 天组的睡眠潜伏期极显著减少($P < 0.01$),其次是吸入给药 7 天($P < 0.01$)、吸入给药 14 天组($P < 0.01$),随着给药时间的延长,阳性药给药 14 天组的睡眠潜伏期有增加的趋势;在睡眠时间方面,与空白组相比,阳性药给药 1 天组的睡眠时间极显著增加($P < 0.01$),其次是吸入给药 7 天组($P < 0.01$)、吸入给药 14 天组($P < 0.01$),随着给药时间的延长,阳性药给药 14 天组的睡眠时有减少的趋势。

表 1 复方安神精油对小鼠移动距离、平均速度、最大速度、静止时间、站立次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)Table 1 Effects of compound anshen essential oil on displacement distance, average speed, maximum speed, rest time and standing times of mice($\bar{x} \pm s, n = 16$)

分组 Group	移动距离 Displacement distance (cm)	平均速度 Average speed (cm/s)	最大速度 Maximum speed (cm/s)	静止时间 Rest time (s)	站立次数 Standing times
空白组 Control group	2 776.62 ± 820.2	15.48 ± 4.54	73.04 ± 15.4	37.9 ± 11.69	35 ± 3.54
阳性药给药 1 天组 Diazepam administered for 1 day group	1 251.82 ± 426.24**	7.24 ± 2.95**	45.46 ± 12.88**	81.39 ± 23**	21.07 ± 7.2**
阳性药给药 7 天组 Diazepam administered for 7 days group	2 623.32 ± 382.46	14.57 ± 2.12	63.97 ± 8.21	49.51 ± 10.66	29.54 ± 4.98*
阳性药给药 14 天组 Diazepam administered for 14 days group	2 803.29 ± 634.48	15.58 ± 3.52	69.84 ± 13.95	41.39 ± 10.82	31.57 ± 3.67
吸入给药 1 天组 Inhalation for 1 day	2 343.83 ± 447.14	13.09 ± 2.47*	58.43 ± 9.98**	48.69 ± 7.94	29.5 ± 5.03*
吸入给药 7 天组 Inhalation for 7 days	1 732.05 ± 458.17**	9.66 ± 2.55**	59.82 ± 13.31**	74.23 ± 14.72**	22.87 ± 5.93**
吸入给药 14 天组 Inhalation for 14 days	1 678.1 ± 326.15**	9.41 ± 1.87**	58.33 ± 10.15**	71.58 ± 18.53**	22.69 ± 5.12**

注: 其他各组与空白组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with control group,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.表 2 复方安神精油对戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠潜伏期和睡眠时间的影晌($\bar{x} \pm s, n = 16$)Table 2 Effects of compound anshen essential oil on sleep latency and sleep duration induced by pentobarbital sodium in mice($\bar{x} \pm s, n = 16$)

分组 Group	睡眠潜伏期 Sleep latency (s)	睡眠时间 Sleep duration (s)
空白组 Control group	489.68 ± 40.52	910.97 ± 122.4
阳性药给药 1 天组 Diazepam administered for 1 day group	250.47 ± 34.88**	2288.68 ± 344.92**
阳性药给药 7 天组 Diazepam administered for 7 days group	370.51 ± 109.34*	1755.03 ± 344.12**
阳性药给药 14 天组 Diazepam administered for 14 days group	481.63 ± 84.55	1066.5 ± 378.92
吸入给药 1 天组 Inhalation for 1 day	434.25 ± 37.77*	1173.62 ± 110.17*
吸入给药 7 天组 Inhalation for 7 days	259.29 ± 50.16**	2162.77 ± 459.31**
吸入给药 14 天组 Inhalation for 14 days	312.43 ± 76.47**	1792.22 ± 485.57**

注: 其他各组与空白组比较,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with control group,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.3 复方安神精油的化学成分与入脑化学成分分析结果

复方安神精油的主要化学成分见表 3, GC-MS 分析复方安神精油成分 TIC 图见图 1。鉴定出 30 个复方安神精油的化学成分, 占挥发油总量的 93.39%。复方安神精油主要成分为酯类、醇类、烯炔类、烷烃类等化合物, 其中含量最高的是 D-柠檬烯 (24.07%), 其次是芳樟醇 (21.98%)、乙酸芳樟酯 (15.37%), α -蒎烯 (5.39%), α -檀香醇 (4.8%) 等。复方安神精油入脑主要化学成分见表 4, GC-MS 分析复方安神精油入脑成分 TIC 图见图 2。通过计算机自动检索标准谱库 NIST11, 并与复方安神

精油成分 TIC 图以及复方安神精油的主要化学成分进行比较, 分析与鉴定出 6 个复方安神精油入脑的化学成分, 分别是 D-柠檬烯 (D-Limonene), 芳樟醇 (Linalool), 乙酸芳樟酯 (Linalyl acetate), α -檀香醇 (α -Santalol), 十九烷 (Nonadecane)、二十烷 (Eicosane)。

3.4 复方安神精油活性成分-作用靶点网络图构建与分析

基于复方安神精油化学成分的 GC-MS 分析结果, 由数据库筛选得到复方安神精油治疗失眠症相关作用靶点见表 5, 复方安神精油治疗失眠症相关活性成分见表 6, 构建复方安神精油活性成分-作用靶点网络图见图 3, 图中共有 64 个节点, 每条边代

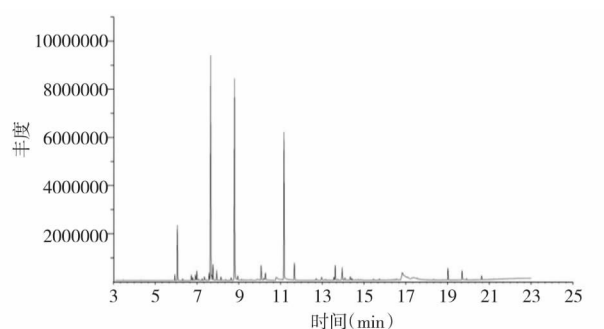


图1 GC-MS分析复方安神精油成分TIC图

Fig. 1 GC-MS analysis of composite compound anshen essential oil TIC diagram

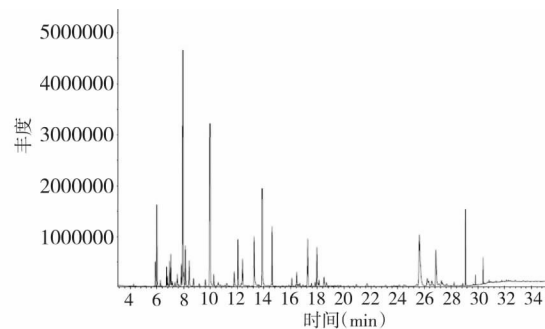


图2 GC-MS分析复方安神精油入脑成分TIC图

Fig. 2 GC-MS analysis of compound anshen essential oil into brain component TIC diagram

表3 复方安神精油主要化学成分

Table 3 Main chemical composition and content of compound anshen essential oil

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	化学式 Chemical formula	相对分子质量 Relative molecular mass	相对百分含量 Relative percentage (%)
1	5.943	α -崖柏烯 α -Thujene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.63
2	6.064	α -蒎烯 α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	5.39
3	6.482	桉烯 Sabinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.28
4	6.733	β -水芹烯 β -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.58
5	6.796	β -蒎烯 β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.4
6	6.927	3-辛酮 3-Octanone	C ₈ H ₁₆ O	128	0.66
7	6.998	β -月桂烯 β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.04
8	7.079	N-甲基氨基乙酸 Sarcosine	C ₃ H ₇ NO ₂	89	0.25
9	7.358	乙酸己酯 Hexyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	144	0.51
10	7.585	伞花烃 Cymene	C ₁₀ H ₁₄	134	0.79
11	7.657	D-柠檬烯 D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	24.07
12	7.771	反式- β -罗勒烯 trans- β -Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.81
13	7.948	罗勒烯 Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	136	1.17
14	8.148	γ -松油烯 γ -Terpinene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.41
15	8.803	芳樟醇 Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	21.98
16	8.953	1-辛烯-3-醇乙酸酯 1-Octen-3-ol acetate	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.63
17	10.076	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.73
18	10.206	环丁醇 Cyclobutanol	C ₄ H ₈ O	72	0.26
19	10.28	α -松油醇 α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.95
20	10.812	香茅醇 Citronellol	C ₁₀ H ₂₀ O	156	1.42
21	11.171	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	15.37
22	11.666	乙酸薰衣草酯 lavandulyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	1.8
23	12.971	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.51
24	13.624	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.71
25	13.958	β -金合欢烯 β -Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	204	1.57
26	14.094	β -檀香烯 β -Santalene	C ₁₅ H ₂₄	204	0.38
27	16.839	α -檀香醇 α -Santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	4.8
28	19.023	十九烷 Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268	1.21
29	19.702	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	1.21
30	20.636	二十烷 Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282	0.4

表 4 复方安神精油入脑化学成分

Table 4 The chemical constituents of the compound anshen oil into the brain

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	中文名 Chinese name	英文名 English name	化学式 Chemical formula	相对分子质量 Relative molecular mass
1	7.951	D-柠檬烯	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	136
2	9.986	芳樟醇	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154
3	13.877	乙酸芳樟酯	Linalyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196
4	25.625	α-檀香醇	α-Santalol	C ₁₅ H ₂₄ O	220
5	29.078	十九烷	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268
6	30.390	二十烷	Eicosane	C ₂₀ H ₄₂	282

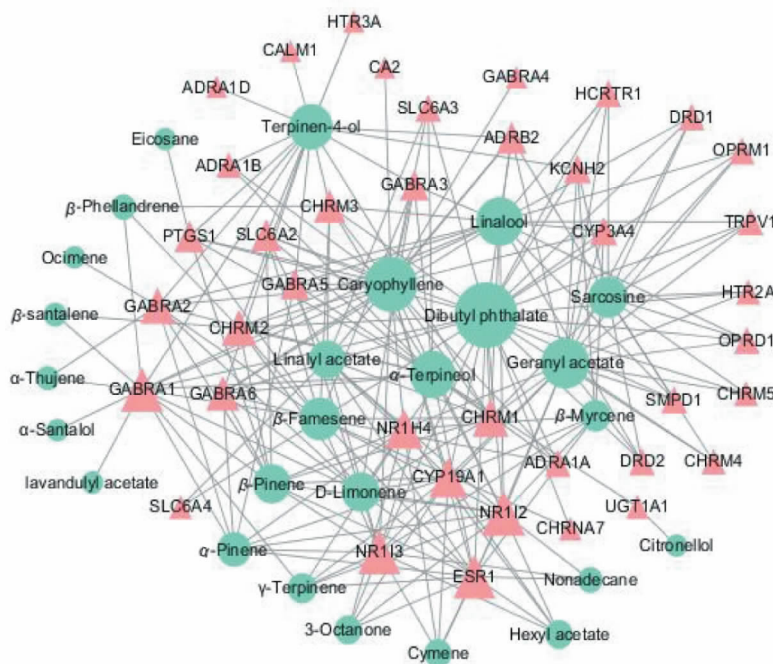


图 3 复方安神精油活性成分-作用靶点网络图

Fig. 3 Component-target network of compound anshen essential oil

表活性成分与靶点间的相互作用。其中红色节点代表复方安神精油治疗失眠症相关的 39 个作用靶点,形状越大代表其关联的活性成分越多;绿色节点代表复方安神精油中 25 个治疗失眠症相关的活性成分;形状越大代表其关联的作用靶点越多。具有很高的 Degree 的节点为“中枢节点”,在整个复方安神精油活性成分-作用靶点网络中占据重要地位^[9]。因此在复方安神精油活性成分-作用靶点网络图中预测 NR112(孕烷 X 受体)、ESR1(雌激素受体)、NR113(组成性雄甾烷受体)、GABRA1(γ-氨基丁酸受体 α1)、CYP19A1(细胞色素 P450)、NR1H4(胆汁酸受体)靶蛋白与复方安神精油发挥镇静催眠作用

密切相关。此外,预测和筛选 Dibutyl phthalate、Caryophyllene、Geranyl acetate、Linalool、α-Terpeneol、Terpinen-4-ol 在复方安神精油治疗失眠症过程中发挥关键性作用。

4 结论

芳香吸入疗法中精油的芳香物质经鼻腔吸入后作用于嗅脑,促进神经物质的释放进而调控植物神经系统,调动体内积极因素并释放各种情感信息,从而达到治疗、防治疾病的目的^[10]。由于鼻腔与脑组织之间存在着直接的解剖学通道,药物可通过鼻粘膜吸收,绕过血脑屏障直接转运入嗅球或脑脊液进而直接进入脑组织^[11]。“吸嗅入脑”是一种无损性

表5 复方安神精油治疗失眠症相关作用靶点

Table 5 Related targets of compound anshen essential oil for the treatment of insomnia

编号 No.	靶点 Target	相关度 Degree	编号 No.	靶点 Target	相关度 Degree
1	NR1I2	16	21	OPRD1	4
2	ESR1	15	22	OPRM1	4
3	NR1I3	15	23	HCRTR1	4
4	GABRA1	15	24	SMPD1	4
5	CYP19A1	12	25	TRPV1	4
6	NR1H4	12	26	SLC6A3	4
7	CHRM1	11	27	ADRA1A	4
8	GABRA2	10	28	HTR2A	3
9	CHRM2	10	29	CHRM4	3
10	GABRA6	9	30	CHRM5	3
11	CHRM3	8	31	ADRA1B	3
12	ADRB2	7	32	UGT1A1	2
13	PTGS1	7	33	SLC6A4	2
14	SLC6A2	7	34	CHRNA7	2
15	GABRA5	6	35	HTR3A	1
16	GABRA3	6	36	ADRA1D	1
17	KCNH2	5	37	CALM1	1
18	CYP3A4	5	38	CA2	1
19	DRD1	4	39	GABRA4	1
20	DRD2	4			

表6 复方安神精油治疗失眠症相关活性成分

Table 6 Related active ingredients of compound Anshen essential oil for the treatment of insomnia

编号 No.	成分 Ingredient	相关度 Degree	编号 No.	成分 Ingredient	相关度 Degree
1	Dibutyl phthalate	29	14	γ -Terpinene	6
2	Caryophyllene	22	15	Hexyl acetate	5
3	Geranyl acetate	19	16	Cymene	5
4	Linalool	18	17	3-Octanone	5
5	α -Terpineol	17	18	β -Phellandrene	3
6	Terpinen-4-ol	16	19	Nonadecane	3
7	β -Farnesene	14	20	α -Thujene	2
8	Sarcosine	13	21	β -santalene	2
9	β -Pinene	12	22	Ocimene	1
10	D-Limonene	12	23	Citronellol	1
11	Linalyl acetate	11	24	lavandulyl acetate	1
12	α -Pinene	9	25	α -Santalol	1
13	β -Myrcene	7			

给药方式,最大限度地减少毒副作用,因此可能成为有效控制和治疗失眠等精神类疾病的给药途径。动物自主活动测试实验和阈剂量戊巴比妥钠诱导的睡眠潜伏期与睡眠实验是治疗失眠症药物药效的常见评价方法。研究表明,复方安神精油具有镇静催眠作用,可显著减少动物自主活动,缩短睡眠潜伏期、延长睡眠时间,随着吸入给药时间的增加未表现出显著的耐受性。

通过 GC-MS 追踪复方安神精油的挥发性化学成分,其中 D-柠檬烯^[12]、芳樟醇^[13]、乙酸芳樟酯^[14]、 α -檀香醇^[15] 均已报道证明具有中枢神经镇静作用;此外,D-柠檬烯具有抗焦虑、舒缓情绪的作用^[16],芳樟醇具有缓解抑郁样作用^[17], α -蒎烯具有抑制焦虑情绪^[18]、缓解压力^[19]等作用,推测复方安神精油的镇静催眠功效与其主要化学成分及活性相关。GC-MS 分析复方安神精油入脑主要化学成分为 D-柠檬烯,芳樟醇,乙酸芳樟酯, α -檀香醇,十九烷,二十烷。

基于网络药理学构建的复方安神精油活性成分-作用靶点网络图可以看出,在 GC-MS 追踪的 30 个复方安神精油的挥发性化学成分中,筛选出 25 个治疗失眠症相关活性成分作用于 39 个治疗失眠症相关作用靶点,其中作用靶点包括 5-羟色胺受体、 γ -氨基丁酸受体、肾上腺素受体、去甲肾上腺素受体、多巴胺受体、乙酰胆碱受体、食欲素受体以及胆汁酸受体等。因此复方安神精油治疗失眠症是通过多个成分作用于多个靶点产生效应,体现了复方安神精油多成分、多靶点的作用特点。预测复方安神精油主要通过 NR1I2、ESR1、NR1I3、GABRA1、CYP19A1、NR1H4 相关靶蛋白发挥药效作用,筛选出 Dibutyl phthalate、Caryophyllene、Geranyl acetate、Linalool、 α -Terpineol、Terpinen-4-ol 在复方安神精油治疗失眠症过程中发挥关键性的作用。GC-MS 追踪的 30 个复方安神精油的主要挥发性化学成分中含量最高的化学成分以及入脑的主要化学成分 D-limonene、linalool、linalyl acetate、 α -pinene、 α -santalol、nonadecane 具有治疗失眠症相关性并在复方安神精油活性成分-作用靶点网络图同样占据重要的地位。对网络药理学预测的关键靶点进行相关研究文献验证,孕烷 X 受体作为关键的转录调控因子参与多种药物代谢酶和转运蛋白的诱导表达,在机体异源性和内源性物质的代谢及排泄过程中起重要的调控作用,参与机体脂质、胆固醇和糖代谢从而维持机体内环

境的稳态^[20]。雌激素受体存在于脑的许多部位,广泛表达于与情感刺激加工有关的脑区域,如海马、杏仁核、下丘脑、额皮质和脊核,能影响人类各种认知、情感及行为,调节 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)和单胺氧化酶,对中枢神经系统发挥重要的调控作用^[21]。组成性雄甾烷受体经配体激活后可调控药物代谢酶及转运体的表达和活性,调节毒性物质的清除、解毒及代谢过程,保护机体免受外源性化学物质和内源性毒性脂质损伤,并参与糖、脂代谢和炎症等信号通路的调控^[22]。 γ -氨基丁酸(GABA)是哺乳动物中枢神经系统的抑制性神经递质, γ -氨基丁酸(GABA)与失眠机制的发生及进展联系密切,其主要作用的受体为 γ -氨基丁酸 α 型受体^[23]。细胞色素 P450 主要分布在内质网和线粒体内膜上,参与生物体内的甾醇类激素合成等过程^[24],参与药物代谢并对细胞因子和体温调节具有重要作用。胆汁酸受体作为一种胆汁酸激活的核受体,参与机体多种生理活动的调节,包括胆汁酸代谢、脂代谢、糖代谢、肝脏保护等过程^[25],与抗胆碱能、镇静催眠等作用密切相关。基于网络药理学方法预测和筛选的复方安神精油活性成分均具有一定的镇静催眠作用相关性,其活性成分与作用靶点之间的关联性,在一定程度上证实复方安神精油镇静催眠作用研究以及复方安神精油主要化学成分与入脑的主要化学成分的 GC-MS 分析结果的可靠性。

研究表明,复方安神精油具有镇静催眠功效;复方安神精油的主要化学成分与入脑的主要化学成分中含有多种具有神经中枢镇静催眠作用以及抗焦虑、抗抑郁作用的挥发性化学成分;基于网络药理学预测和筛选出 25 个治疗失眠症相关活性成分作用于 39 个治疗失眠症相关作用靶点,体现复方安神精油多成分、多靶点的镇静催眠作用特点,上述结果与文献报道基本一致。本研究为基于芳香疗法理论指导下的复方安神精油发挥其镇静催眠功效与进一步深入阐明复方安神精油治疗失眠症的作用机制提供科学依据,并为探索治疗失眠症安全的辅助与替代疗法提供新途径。

参考文献

- 1 Yi SH. The clinical and experimental research on the treatment of insomnia with anmianfang [D]. Guangzhou: Southern Medical University(南方医科大学), 2008.
- 2 Lin BQ. Based on GABA energy conduction system to explore

- the relevant mechanism of insomnia liver qi stagnation syndrome and chinese medicine intervention [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine(北京中医药大学), 2018.
- 3 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*, 2008, 62(1): 41-46.
 - 4 Guo J, Duan J A, Tang Y, et al. Fast onset of action and the analgesic and sedative efficacy of essential oil from rhizoma chuanxiong after nasal administration [J]. *Pharmazie*, 2010, 65: 296.
 - 5 Lu TT, Hu GS, Ma XH, Yao L, et al. Hypnotic effects of eupatorium fortunei turcz. essential oil [J]. *J Shanghai Jiaotong Univ: Agric Sci(上海交通大学学报: 农业科学版)*, 2018, 36(1): 30-35.
 - 6 Wang SY. Sedative-hypnotic efficacy of the blended essential oil and its application research [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University(上海交通大学), 2010.
 - 7 Li YH, Li ZH, Fu XJ, et al. Hypnotic and sedative effect of L-linalool and two kinds of blended essential oil [J]. *J Fujian Agric and Forest Univ: Nat Sci(福建农林大学学报: 自科版)*, 2016, 45(1): 65-69.
 - 8 Li H, Xu Wen, Xu Wei, et al. Analysis of gualou guizhi decoction and its volatile components entering the brain by GC-MS [J]. *Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2014, 39: 1509-1515.
 - 9 Zhang LH, Chui MC, Chen SJ. Anti-tumor mechanisms of radix puerariae based on network pharmacology [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2018, 30: 547-553.
 - 10 Xu W. Advances in brain-targeted nasal administration [J]. *J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报)*, 2012, 29: 575-580.
 - 11 Xiang Y, Long Y, Feng LL, et al. Advances in anti-fatigue mechanism and volatile oil of aromatherapy [J]. *J Chin Med Mat(中药材)*, 2018, 41: 2953-2957.
 - 12 Faturi CB, Leite JR, Alves PB, et al. Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in wistar rats. [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2010, 34: 605-609.
 - 13 Umezu T, Nagano K, Ito H, et al. Anticonflict effects of lavender oil and identification of its active constituents [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006, 85: 713-721.
 - 14 Buchbauer G, Jirovetz L, Jäger W, et al. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation [J]. *J Pharmac Sci*, 1991, 46: 1067-1072.
 - 15 Shen LN. Effects of α -santalol and β -santalol on the central nervous system of mice in sandalwood [J]. *Foreign Med: Plant Med(国外医药: 植物药分册)*, 1996, 5: 230.
 - 16 Lima NGPB, Sousa DPD, Pimenta FCF, et al. Anxiolytic-like activity and GC-MS analysis of (R) -(+) -limonene fragrance, a natural compound found in foods and plants [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2013, 103: 450-454.
 - 17 Takahashi M, Satou T, Ohashi M, et al. Interspecies comparison of chemical composition and anxiolytic-like effects of lavender oils upon inhalation [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6: 1769-1774.
 - 18 Zhu FH, Zhang C, Wei FX. Overview of research on pharmacology and application of alpha pinene [J]. *J Med Chem(药物化学)*, 2015, 3(3): 23-28.
 - 19 Ochiai H, Ikei H, Song C, et al. Physiological and psychological effects of forest therapy on middle-aged males with high-normal blood pressure [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015, 12: 2532-2542.
 - 20 Zhai Y, Pai HV, Zhou J, et al. Activation of pregnane x receptor disrupts glucocorticoid and mineralocorticoid homeostasis [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21: 138-147.
 - 21 Tsai SJ, Wang YC, Hong CJ, et al. Association study of oestrogen receptor alpha gene polymorphism and suicidal behaviours in major depressive disorder [J]. *Psychiatr Genet*, 2003, 13(1): 19-22.
 - 22 Dong B, Saha PK, Huang W, et al. Activation of nuclear receptor CAR ameliorates diabetes and fatty liver disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 18831-18836.
 - 23 Zhao ZX, Zhang HJ, Huang LQ. Drug selection and clinical application of insomnia [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志)*, 2007, 11: 851-856.
 - 24 Tang JC, Zhang JN, Li YW. Evaluation of enzyme induction effect of schisandra chinensis and glycyrrhiza uralensis on pharmacokinetics of lidocaine in rats [J]. *J Capit Med Univ(首都医科大学学报)*, 2005, 1: 43.
 - 25 Parks, DJ. Bile acids: natural ligands for an orphan nuclear receptor [J]. *Science*, 1999, 284: 1365-1368.