

引用:兰碧娟,李儒婷,施晴寰,陈心怡,肖卓阳,初怡宇,刘燕,李峰.失眠肝郁血虚证病证结合动物模型构建与评价[J].中医导报,2026,32(2):59-66,79.

失眠肝郁血虚证病证结合动物模型 构建与评价*

兰碧娟,李儒婷,施晴寰,陈心怡,肖卓阳,初怡宇,刘燕,李峰
(北京中医药大学中医学院,北京 102488)

[摘要] 目的:应用腹腔注射对氯苯丙氨酸(PCPA)复合慢性夹尾刺激及尾部放血法,构建失眠肝郁血虚证病证结合动物模型及其评价体系。方法:将30只雄性无特定病原体(SPF)级SD大鼠随机分为空白对照组和模型组。空白对照组不干预,模型组采用腹腔注射PCPA复合慢性夹尾刺激及尾部放血法进行造模。21 d后观察大鼠一般情况,评价大鼠证候特点、睡眠节律、行为学,采用戊巴比妥钠翻正实验记录大鼠睡眠潜伏期与睡眠持续时间,检测大鼠动脉血红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、白细胞计数(WBC)和血小板计数(PLT)以及血清中天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、血尿素氮(BUN)的含量,苏木精-伊红(HE)染色和尼氏(Nissl)染色观察大鼠海马组织CA1区组织病理,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测海马组织和血清中5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)的含量。结果:与空白对照组比较,模型组大鼠白天活动增加,夜间慵懒喜卧,精神倦怠,毛发干枯色黄,对外界声、光刺激敏感。造模结束后模型组大鼠睡眠潜伏期显著延长,睡眠持续时间显著缩短;24 h平均睡眠时间百分比下降、光照期的平均睡眠时间百分比减少、黑暗期的平均睡眠时间百分比增加;旷场实验中总运动距离、总穿格次数、中央区穿格次数、中央区停留时间、直立时间、修饰时间均显著减少;高架十字迷宫实验中开放臂进入次数和开放臂停留时间百分比均降低;抓握力降低;Morris水迷宫实验中逃逸潜伏期增加,穿越平台次数、目标象限游泳时间均降低,动脉血中RBC、HGB、PLT降低;血清中ALT、AST、BUN含量升高。模型组大鼠海马CA1区存在一定病理改变或异常表现;海马组织和血清中的5-HT含量降低,DA水平升高。结论:腹腔注射PCPA复合慢性夹尾刺激以及尾部放血的多因素复合造模法构建的动物模型较为符合失眠肝郁血虚证的证候特点与临床实际,可为后续的新药开发及作用机制研究提供实验基础。

[关键词] 失眠;肝郁血虚证;大鼠;病证结合;动物模型

[中图分类号] R2-03 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)02-0059-08

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.02.010

Construction and Evaluation of an Animal Model Combining Insomnia with the Syndrome of Liver Depression and Blood Deficiency

LAN Bijuan, LI Ruting, SHI Qinghuan, CHEN Xinyi, XIAO Zhuoyang, CHU Yiyu, LIU Yan, LI Feng
(School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China)

[Abstract] Objective: To establish and evaluate an animal model combining insomnia with the syndrome of liver depression and blood deficiency using intraperitoneal injection of p-chlorophenylalanine (PCPA) combined with chronic tail-clamping stimulation and tail bleeding. Methods: Totally 30 male specific pathogen-free (SPF) Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into a blank control group and a model group. The blank control group received no intervention, while the model group was subjected to modeling via intraperitoneal injection of PCPA combined with chronic tail-clamping stimulation and tail bleeding. After 21 days, the general condition of the rats was observed, and their syndrome characteristics, sleep rhythm, and behavior were evaluated. Sleep latency and sleep duration were recorded using the sodium pentobarbital righting reflex test. Arterial blood counts of red blood cells (RBC), hemoglobin (HGB), white blood cells (WBC), and platelets (PLT), as well as serum levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and blood urea nitrogen

*基金项目:北京中医药大学揭榜挂帅项目(2023-JYB-JBZD-001)

通信作者:李峰,男,教授,研究方向为中医病证结合规律研究

(BUN) were measured. Hematoxylin-eosin (HE) and Nissl staining were used to observe the histopathology of the CA1 region of the hippocampus. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serotonin (5-HT) and dopamine (DA) in the hippocampal tissue and serum. Results: Compared with the blank control group, rats in the model group showed increased daytime activity, nocturnal lethargy with a preference for lying down, mental fatigue, dry and yellowish fur, and sensitivity to external sound and light stimuli. After modeling, the model group exhibited significantly prolonged sleep latency and shortened sleep duration; the 24-hour average sleep time percentage decreased, while the average sleep time percentage during the light phase decreased and that during the dark phase increased; in the open field test, the total movement distance, total number of grid crossings, number of central zone crossings, time spent in the central zone, rearing time, and grooming time were all significantly reduced; in the elevated plus maze test, both the percentage of entries into the open arms and the percentage of time spent in the open arms were decreased; grip strength was reduced; in the Morris water maze test, escape latency was increased, whereas the number of platform crossings and the time spent swimming in the target quadrant were decreased; arterial RBC, HGB, and PLT levels were decreased; serum ALT, AST, and BUN levels were increased. Rats in the model group showed certain pathological changes in the hippocampal CA1 region; 5-HT levels in the hippocampal tissue and serum were decreased, while DA levels were increased. Conclusion: The animal model constructed using the multifactorial method involving intraperitoneal injection of PCPA combined with chronic tail-clamping stimulation and tail bleeding correlates well with the syndrome characteristics and clinical reality of insomnia with liver depression and blood deficiency syndrome, providing an experimental basis for subsequent new drug development and research on mechanisms of action.

[Keywords] insomnia; syndrome of liver depression and blood deficiency; rats; disease-syndrome combination; animal model

失眠是以频繁入睡困难或睡眠维持困难并导致睡眠满意度不足为特征的睡眠障碍,其主要临床表现包括入睡困难、睡眠维持障碍以及日间功能受损,如疲劳、注意力不集中、记忆力减退和情绪波动等^[1-2]。长期失眠不仅影响个人生活质量,还与多种健康问题相关,如心血管疾病、代谢综合征、免疫系统功能下降以及抑郁和焦虑^[3]。相关研究表明,全球成人失眠患病率为10%~20%,其中我国的失眠患病率约为15%^[4]。在中医学理论中,失眠称为“不寐”“不得眠”等。肝郁血虚证为失眠临床常见中医证型之一。情志不畅、高压状态等多因素导致肝气郁结,影响肝藏血的功能。肝郁血虚,魂不归舍,心神不安,因而出现失眠症状^[5]。

目前尚无规范的失眠肝郁血虚证动物模型的构建方法和评价体系报道。建立科学合理的病证结合动物模型,对于深入研究失眠肝郁血虚证的发病机制、筛选有效治疗药物具有重要意义。本研究探索采用腹腔注射对氯苯丙氨酸(para-Chlorophenylalanine, PCPA)复合慢性夹尾刺激及尾部放血法建立失眠肝郁血虚证病证结合动物模型,并根据大鼠一般情况、证候评价、行为学、实验室相关指标检测、病理学改变进行模型检验,旨在为其评价体系的建立提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康雄性SPF级SD大鼠30只,体质量(200±20)g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司。实验动物生产许可证号:SCXK(京)2024-0001;动物质量合格证号:1103242411 02372528。大鼠分笼饲养于北京中医药大学实验动物中心,

保持光照12 h明/暗交替,饲养温度为(23±2)℃,相对湿度为(35±5)%,自由饮水摄食。实验开始前所有大鼠进行适应性饲养5 d。本实验方案通过北京中医药大学实验动物伦理委员会审查批准,伦理编号:BU CM-2024050806-2107。

1.2 药物与试剂 PCPA(MACKLIN公司,批号:C16519676);戊巴比妥钠(Sigma公司,批号:t0894-5g);氯化钠(北京正程生物科技有限公司,批号:CZ0032);4%多聚甲醛(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号:G1101);无水乙醇(批号:10009218)、二甲苯(批号:10023418)、盐酸(批号:10011018)、氨水(批号:10002108)、中性树胶(批号:10004160)均购自国药集团化学试剂有限公司;苏木素-伊红染液(武汉百仟度生物科技有限公司,批号:B1002);甲苯胺蓝染液(批号:B1007)、冰醋酸(批号:B1131)均购自武汉百仟度生物科技有限公司;5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(批号:MB-1896B)、多巴胺(Dopamine, DA)ELISA检测试剂盒(批号:MB-18903B)均购自北京赛谱锐思科技有限公司。

1.3 主要仪器 Piezo Sleep无创睡眠监测软件(美国Signal Solutions公司,型号:Piezo Sleep);全自动血细胞分析仪(日本Sysmex公司,型号:XS-800i);全自动生化分析仪(美国Beckman Coulter公司,型号:AU480);旷场实验箱、高架十字迷宫、大鼠抓力测试仪、Morris水迷宫均购自北京众实迪科技发展有限公司;大鼠行为学分析系统(荷兰Nodule公司,型号:Ethovision XT);酶标仪(上海美谷分子仪器有限公司,型

号:CMax Plus);多功能台式离心机(德国Eppendorf公司,型号:Centrifuge 5810R);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);冻台(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-L5);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);烤箱(上海慧泰仪器制造有限公司,型号:DHG-9140A);正置光学显微镜(日本NIKON公司,型号:NIKON ECLIPSE CI, NIKON ECLIPSE E100)。

2 方 法

2.1 分组与造模 将30只大鼠按随机数字法分为空白对照组与模型组,每组15只。采用腹腔注射PCPA复合慢性夹尾刺激及尾部放血法建立失眠肝郁血虚证大鼠模型^[6-7]。空白对照组大鼠不进行任何干预,模型组大鼠于造模第1天起进行慢性夹尾刺激,每日用尖端包裹纱布的海绵钳夹大鼠尾部,控制刺激强度,以大鼠有疼痛反应但不破皮流血为度,令其与同笼其他大鼠厮打,刺激30 min/d,连续刺激21 d;同时于造模第1天起尾部放血,用手术刀片在大鼠尾部剖开约3 mm创口,挤压放血,2 mL/只,每5 d进行1次,共5次。造模第20天起腹腔注射PCPA,使用弱碱性生理盐水配制质量浓度为400 mg/kg的PCPA混悬液,空白组大鼠使用弱碱性生理盐水进行腹腔注射,连续注射2 d。连续造模21 d后评价模型情况。

2.2 观察指标

2.2.1 一般情况 每日观察大鼠的活动状态、精神状态、眼睛、耳廓、皮毛色泽、睡眠情况等。记录大鼠体质量、摄食量,分析第1、7、14、21天各组变化情况。

2.2.2 证候评价 分别于实验的第1、7、14、21天从一般状态(4项)、应激反应(5项)、外观表征(9项)、面部表情(5项)、动作行为(6项)5个维度的29项条目评价大鼠的证候特点。(见表1)每个条目由3名研究者按0、1、2级独立进行评级,统计每个条目各级出现次数并取均值。

表1 失眠肝郁血虚证大鼠证候评价条目与评级标准

证候条目	评级标准
活动状态	0级:活泼好动;1级:不太活泼;2级:嗜睡懒动
精神亢奋	0级:不亢奋;1级:不太亢奋;2级:极其亢奋
是否烦躁	0级:无;1级:有;2级:非常烦躁
捕捉前的情况	0级:扎堆;1级:趴卧;2级:站立
警惕性	0级:无;1级:较弱;2级:很强
易激惹情况	0级:无;1级:不太容易被激惹;2级:极易激惹
捕捉时的动作反应	0级:很灵敏;1级:反应不灵敏;2级:无
反抗程度	0级:无明显反抗;1级:一般;2级:强烈
弓背情况	0级:无;1级:一般;2级:强烈
皮毛光泽	0级:光泽明亮;1级:稍暗;2级:晦暗无光
皮毛颜色	0级:色白;1级:小部分稍黄;2级:枯黄
皮毛柔润状况	0级:柔润整洁;1级:稍干;2级:干枯
皮毛是否散乱不洁	0级:整洁;1级:稍有散乱或不洁;2级:蓬乱不洁,毛脏
耳廓色泽	0级:淡粉色;1级:色淡;2级:苍白
鼻子色泽	0级:淡粉色;1级:色淡;2级:苍白
爪部色泽	0级:红润;1级:色淡;2级:苍白
尾部色泽	0级:淡粉色;1级:色淡;2级:苍白
眼球色泽	0级:红色;1级:色淡;2级:苍白

续表1:

证候条目	评级标准
目光	0级:有神;1级:少神;2级:呆滞
动眼	0级:四处张望;1级:凝视;2级:瞪视
耳朵位置	0级:正常;1级:轻微偏离基线;2级:明显向背部方向靠拢
鼻子隆起	0级:无;1级:轻微;2级:明显
胡须位置变化	0级:无;1级:轻微;2级:明显
进食	0级:进食;1级:只是靠近并未进食;2级:不进食
鼓腮	0级:无;1级:轻微;2级:明显
洗脸次数	0级:无;1级:≤3次;2级:较频繁,>3次
直立次数	0级:无;1级:≤3次;2级:较频繁,>3次
挠抓次数	0级:无;1级:≤3次;2级:较频繁,>3次
僵呆时间	0级:无;1级:≤30 s;2级:较长,>3 s

2.2.3 戊巴比妥钠翻正实验 末次注射PCPA后的12 h内,根据大鼠体质量以35 mg/kg戊巴比妥钠进行腹腔注射,立即记录注射时间。将大鼠按背部向下的姿势放置,若仰卧位达1 min以上,则判定其翻正反射消失进入睡眠状态;翻正反射首次恢复时,立即将其翻转成仰卧位,若30 s内再次恢复俯卧位,则判定为觉醒状态。记录翻正反射消失的时间点与翻正反射恢复的时间点,比较睡眠潜伏期(从注射到翻正反射消失的时间)与睡眠持续时间(从翻正反射消失到大鼠觉醒的时间)^[8]。

2.2.4 睡眠节律 应用Piezo Sleep无创睡眠监测系统,设置12D/12L光暗循环,将大鼠放置在该装置中连续24 h,连续记录大鼠24 h睡眠情况,检测24 h平均睡眠时间百分比和光照期/黑暗期平均睡眠百分比。

2.2.5 行为学评估

2.2.5.1 旷场实验 将大鼠从同一方向迅速放入旷场箱(100 cm×100 cm×40 cm)的正中心位置,连续观察大鼠5 min内的自主活动情况,记录大鼠在5 min内的直立时间、修饰时间。分析每只大鼠的活动轨迹、总运动距离、总穿格次数、中央区穿格次数、中央区停留时间。

2.2.5.2 高架十字迷宫实验 将大鼠从同一方向头朝固定一侧开放臂放置于高架十字迷宫(100 cm×100 cm×40 cm)的中央区,连续观察大鼠5 min内的自主活动情况。分析每只大鼠的活动轨迹,并计算得到每只大鼠5 min内的开放臂进入次数百分比、开放臂停留时间百分比。

2.2.5.3 抓握力实验 将大鼠置于抓力测试仪的抓力板上,单手均匀用力向后牵拉大鼠尾部,直至大鼠从抓力板最外侧松爪离开,记录仪器显示的抓握力数值,每只大鼠取3次重复测试结果的平均值。

2.2.5.4 Morris水迷宫实验 将直径150 cm的实验池平均分成4个象限,固定放置可移动平台于第一象限并低于水平面2 cm以下,实验持续5 d。学习阶段持续4 d,每日分别从4个象限的固定入水点将所有大鼠面朝池壁放入中探寻平台,若120 s内未找到平台,则引导其至平台。保证每日大鼠4个象限入水点的顺序不一致。第5天为空间探索阶段,撤出可移动平台,每只大鼠均从第三象限的入水点放入水中,记录120 s内大鼠在池中的游泳过程。分析大鼠空间探索阶段的逃逸潜伏

期、穿越隐藏平台次数、目标象限游泳时间。

2.2.6 血细胞与生化指标 禁食12h后麻醉大鼠,将大鼠采用仰卧位固定于手术台上进行腹主动脉取血,在抗凝管中装入1 mL血液摇晃抗凝,再将剩下的血液装入不含抗凝剂的采血管中置于支架上,静置2h后以3 000 r/min(离心半径为11.5 cm)离心10 min,提取血清。应用全自动血液分析仪检测抗凝血中的红细胞计数(red blood cell,RBC)、血红蛋白(hemoglobin,HGB)、白细胞计数(white blood cell,WBC)和血小板计数(platelet,PLT)。应用全自动生化分析仪检测血清中天冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase,AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase,ALT)、血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)。

2.2.7 组织病理学观察 经心尖灌注后取各组大鼠全脑,采用苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色与尼氏(Nissl staining,Nissl)染色观察各组大鼠海马组织CA1区神经元的形态学变化和尼氏体数量变化。将大鼠脑组织进行石蜡包埋、切片,切片经脱蜡、水化、苏木素、伊红依次染色后脱水封片,于光学显微镜下观察病理学改变。水化前方法同HE染色,用甲苯胺蓝进行染色,洗片,二甲苯透明,使用中性树胶封片后于光学显微镜下观察尼氏体。

2.2.8 海马组织和血清中5-HT、DA含量 提取大鼠的海马组织样本与血清样本,按ELISA试剂盒说明书检测大鼠海马组织和血清中的5-HT、DA的含量。

2.3 统计学方法 采用SPSS 26.0软件进行统计分析,计量资料以“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示。两组间比较,若数据符合正态分布且方差齐采用独立样本 t 检验分析,若数据不符合正态分布或方差不齐则采用非参数检验。重复测量计量资料采用重复测量方差分析评估组间效应、时间效应及交互效应,若交互效应显著,则进行简单效应分析。计数资料采用秩和检验分析,对于重复测量数据,采用广义线性模型进行分析, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 两组大鼠一般情况比较 空白对照组大鼠在实验期间正常活动,精神状态良好,眼睛、耳廓、皮毛有光泽,且体质量随时间变化呈持续增长趋势。模型组大鼠在实验期间出现白天活动增加,夜间慵懒喜卧,昼夜节律紊乱,精神倦怠,毛发干枯色黄,表现出对外界声、光刺激敏感等表现。所有大鼠不同时间点体质量比较,差异有统计学意义($P<0.01$),即存在时间效应,两组均如此。两组大鼠体质量均随时间显著增加。两组大鼠体质量总体比较,差异有统计学意义($P<0.01$),即存在分组效应。模型组大鼠体质量始终低于空白对照组,且第7、14、21天两组大鼠体质量比较,差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。时间因素与分组因素存在交互效应($P<0.01$),即两组大鼠体质量增加幅度不同,模型组增长速率低于空白对照组。(见表2、图1)

所有大鼠不同时间点摄食量比较,差异有统计学意义($P<0.01$),即存在时间效应,两组均如此。两组大鼠摄食量均呈现先增加后减少的趋势,且两组大鼠摄食量均在第14天达到峰值。两组大鼠摄食量总体比较,差异无统计学意义($P>$

0.05),即不存在分组效应。第1、7、14、21天两组大鼠摄食量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。时间因素与分组因素存在交互效应($P=0.050$),即两组大鼠摄食量变化幅度不同。(见表3、图2)

表2 两组大鼠体质量比较 ($\bar{x}\pm s, g$)

组别	n	第1天	第7天	第14天	第21天	F	P
空白对照组	12	236.00±8.32	288.67±14.95 ^a	340.00±23.30 ^b	388.92±30.95 ^c	222.856	0.000
模型组	12	231.67±8.45	272.83±10.57 ^a	321.92±16.68 ^b	329.58±16.10 ^c	119.287	0.000
t		1.266	2.995	2.186	5.892		
P		0.219	0.007	0.040	0.000		

注: $F_{\text{时间主效应}}=305.623, P_{\text{时间主效应}}=0.000; F_{\text{分组主效应}}=14.575, P_{\text{分组主效应}}=0.001; F_{\text{交互主效应}}=36.520, P_{\text{交互主效应}}=0.000$ 。与第1天比较, $aP<0.05$;与第7天比较, $bP<0.05$;与第14天比较, $cP<0.05$ 。



图1 两组大鼠体质量变化交互效应轮廓图

表3 两组大鼠摄食量比较 ($\bar{x}\pm s, g$)

组别	n	第1天	第7天	第14天	第21天	F	P
空白对照组	12	103.33±2.51	220.67±14.84	240.00±13.75	227.00±19.97	366.714	0.003
模型组	12	96.00±11.53	204.00±13.53	220.33±12.66	190.00±20.88	249.538	0.004
t		1.076	1.437	1.823	2.218		
P		0.342	0.224	0.142	0.091		

注: $F_{\text{时间主效应}}=321.262, P_{\text{时间主效应}}=0.000; F_{\text{分组主效应}}=3.666, P_{\text{分组主效应}}=0.128; F_{\text{交互主效应}}=3.492, P_{\text{交互主效应}}=0.050$ 。

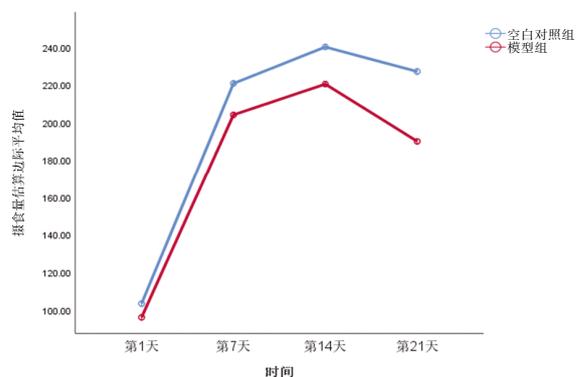


图2 两组大鼠摄食量变化交互效应轮廓图

3.2 两组大鼠证候评价分析 空白对照组大鼠在一般状态、应激反应、外观表征、面部表情和动作行为等方面无明显异常。与空白对照组比较,模型组大鼠第7天出现精神亢奋,烦躁、警惕性增加,皮毛稍干黄、散乱不洁、光泽度下降,耳廓、鼻子、爪部、尾部色泽变淡,目光少神等表现;第14天出现活

动减少,对外界声音刺激敏感,明显烦躁、警惕性增强、反抗强烈,眼球色淡,耳朵位置明显向背部方向靠拢,明显的鼻子隆起和胡须变化等表现;第21天出现捕捉时动作迟缓,极易激惹,弓背强烈,皮毛蓬乱不洁,耳廓色泽苍白,凝视、目光呆滞等行为表现。两组组间、时间、条目评级、交互效应明显。(见表4~5)

表4 两组大鼠各时间点证候差异比较 (n=12)

证候条目	Z				P			
	第1天	第7天	第14天	第21天	第1天	第7天	第14天	第21天
活动状态	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000
精神亢奋	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
是否烦躁	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
捕捉前的情况	-4.796	-4.796	-4.638	-4.412	0.000	0.000	0.000	0.000
警惕性	0.000	-4.796	-4.796	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
易激惹情况	0.000	-4.796	-4.796	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
捕捉时的动作反应	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
反抗程度	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
弓背情况	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000
皮毛光泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
皮毛颜色	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
皮毛柔润状况	0.000	-4.796	-4.638	-4.796	1.000	0.000	0.000	0.000
皮毛是否散乱不洁	0.000	-4.796	-4.638	-4.796	1.000	0.000	0.000	0.000
耳廓色泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
鼻子色泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
爪部色泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
尾部色泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
眼球色泽	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
目光	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
动眼	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000
耳朵位置	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000
鼻子隆起	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000
胡须位置变化	0.000	-4.796	-4.638	-4.707	1.000	0.000	0.000	0.000
进食	0.000	0.000	-1.446	-1.000	1.000	1.000	0.478	1.000
鼓腮	0.000	0.000	-1.446	-1.000	1.000	1.000	0.478	1.000
洗脸次数	0.000	0.000	-1.446	-3.922	1.000	1.000	0.478	0.000
直立次数	0.000	-4.796	-4.638	-1.000	1.000	0.000	0.000	1.000
挠抓次数	0.000	0.000	-1.446	-4.707	1.000	1.000	0.478	0.000
僵呆时间	0.000	0.000	-4.638	-4.707	1.000	1.000	0.000	0.000

表5 两组大鼠各时间点证候广义线性模型分析

参数	自由度	Wald χ^2	P
组别	1	19.334	0.000
时间	3	8.849	0.031
条目评级	44	1 274.003	0.000
组别×时间	3	116.620	0.000
时间×条目评	111	1 167.921	0.000
组别×条目评级	41	534.388	0.000

3.3 两组大鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间比较 模型组大鼠睡眠潜伏期长于空白对照组($P<0.05$),睡眠持续时间短于空白对照组($P<0.01$),提示模型组大鼠难以进入睡眠状态,出

现了睡眠障碍。(见表6)

表6 两组睡眠潜伏期和睡眠持续时间比较 ($\bar{x}\pm s$, min)

组别	n	睡眠潜伏期	睡眠持续时间
空白对照组	6	5.62±0.47	58.39±7.79
模型组	6	11.29±3.61	27.85±3.92
t		-3.818	8.581
P		0.012	0.000

3.4 两组大鼠无创睡眠监测结果比较 模型组大鼠24 h平均睡眠时间、光照期平均睡眠时间百分比低于空白对照组($P<0.01$),黑暗期平均睡眠时间百分比长于空白对照组($P<0.01$),说明模型组大鼠的总体睡眠时间减少,睡眠节律分布异常,出现昼夜节律紊乱现象。(见表7)

表7 两组大鼠 24 h 平均睡眠时间、光照期平均睡眠时间、黑暗期平均睡眠时间百分比比较 ($\bar{x}\pm s$, %)

组别	n	24 h平均睡眠时间百分比	光照期平均睡眠时间百分比	黑暗期平均睡眠时间百分比
空白对照组	6	56.76±2.08	70.71±2.17	38.10±3.77
模型组	6	47.62±5.55	60.55±3.86	47.56±3.47
t		3.780	5.623	-4.524
P		0.008	0.000	0.001

3.5 两组大鼠行为学评估结果比较

3.5.1 旷场实验结果 模型组大鼠总运动距离、总穿格次数、中央区穿格次数、中央区停留时间均低于空白对照组($P<0.01$),直立时间、修饰时间均短于空白对照组($P<0.01$),提示模型组大鼠出现了自主活动能力下降与抑郁样行为。(见表8~9、图3)

表8 两组大鼠旷场实验垂直指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	总运动距离/cm	总穿格次数/次	中央区穿格次数/次	中央区停留时间/s
空白对照组	6	3 764.88±348.09	166.50±17.11	29.33±5.32	27.67±5.56
模型组	6	2 783.40±372.22	107.33±17.39	14.33±8.94	17.69±4.28
t		4.718	5.942	3.533	3.483
P		0.001	0.000	0.007	0.006

表9 两组大鼠旷场实验水平指标比较 ($\bar{x}\pm s$, s)

组别	n	直立时间	修饰时间
空白对照组	6	36.67±4.19	17.47±2.18
模型组	6	23.51±7.05	6.08±1.00
t		4.529	11.940
P		0.001	0.000

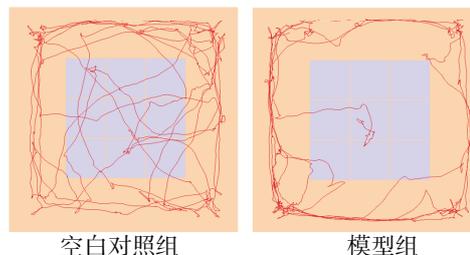


图3 两组大鼠旷场实验 5 min 轨迹图

3.5.2 高架十字迷宫实验结果 模型组大鼠的开放臂进入次数百分比和开放臂停留时间百分比均低于空白对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),提示模型组大鼠出现了焦虑样行为。(见表10、图4)

表 10 两组大鼠高架十字迷宫结果比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	n	开放臂进入次数百分比	开放臂停留时间百分比
空白对照组	6	29.08 ± 6.97	13.20 ± 6.24
模型组	6	18.12 ± 5.06	2.30 ± 0.98
t		3.118	4.227
P		0.011	0.002

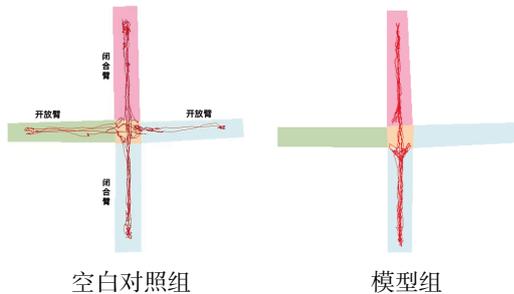


图 4 两组大鼠高架十字迷宫实验 5 min 轨迹图

3.5.3 抓握力实验结果 模型组大鼠抓握力低于空白对照组 ($P<0.001$), 提示模型组大鼠出现了体力下降的疲劳表现。(见表11)

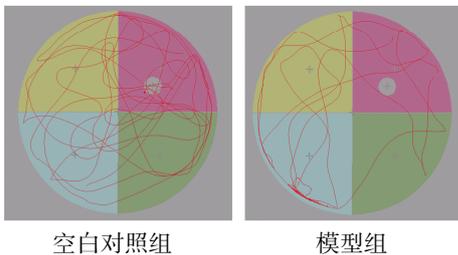
表 11 两组大鼠抓握力比较 ($\bar{x}\pm s, gf$)

组别	n	抓握力
空白对照组	6	993.00±98.32
模型组	6	579.17±28.94
t		9.890
P		0.000

3.5.4 Morris水迷宫实验结果 模型组大鼠逃逸潜伏期长于空白对照组 ($P<0.01$), 穿越隐藏平台次数、目标象限游泳时间均低于空白对照组 ($P<0.01$), 提示模型组大鼠的学习记忆能力减退。(见表12、图5)

表 12 两组大鼠水迷宫结果比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	逃逸潜伏期/s	穿越隐藏平台次数/次	目标象限游泳时间/s
空白对照组	6	11.39 ± 3.63	5.83 ± 1.60	45.14 ± 5.26
模型组	6	28.63 ± 10.17	2.17 ± 0.75	19.88 ± 5.54
t		-3.913	5.074	8.097
P		0.003	0.000	0.000



空白对照组 模型组

注:灰色圆圈表示平台的位置,粉色区域表示第一象限,即目标象限。

图 5 两组大鼠水迷宫实验空间探索阶段 2 min 轨迹图

3.6 两组大鼠血细胞与血生化指标比较 模型组大鼠RBC、HGB、PLT均低于空白对照组 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 两组大鼠WBC比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 模型组大鼠血清ALT、AST、BUN水平均高于空白对照组 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 提示模型组大鼠处于血虚状态, 机体代谢存在紊乱。(见表13~14)

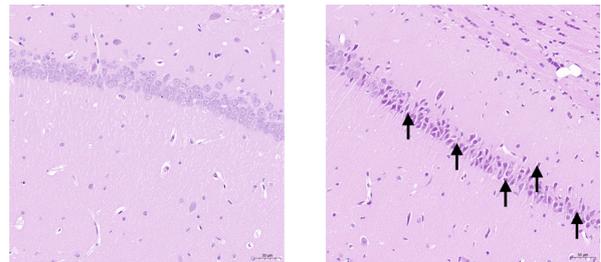
表 13 两组大鼠 RBC、HGB、PLT 比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	RBC/($\times 10^{12}/L$)	HGB/(g/L)	WBC/($\times 10^9/L$)	PLT/($\times 10^9/L$)
空白对照组	6	6.73 ± 0.15	139.33 ± 6.09	1.86 ± 0.49	1012.50 ± 22.28
模型组	6	6.28 ± 0.18	128.33 ± 6.22	1.68 ± 0.46	907.17 ± 87.12
t		4.766	3.096	0.655	2.869
P		0.001	0.011	0.527	0.017

表 14 两组大鼠血清 ALT、AST、BUN 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

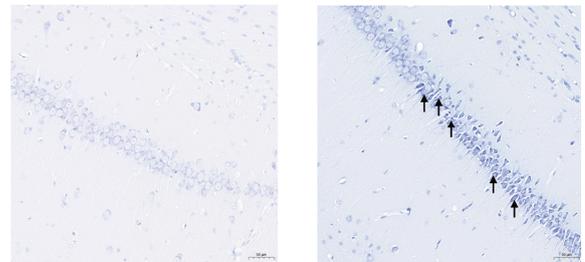
组别	n	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	BUN/(mmol/L)
空白对照组	6	31.67±3.14	137.92±7.44	4.60±0.28
模型组	6	40.83±7.36	166.37±12.32	5.00±0.26
t		-2.806	-4.842	-2.582
P		0.019	0.001	0.027

3.7 两组大鼠组织病理学观察 空白对照组大鼠海马CA1区神经元结构清晰, 排列紧密, 胞质饱满, 尼氏小体数量丰富, 未见神经元明显变性坏死; 组织未见明显炎症细胞浸润。与空白对照组比较, 模型组海马区CA1区可见大量神经元变性, 视野内胞质尼氏小体消失, 胞体固缩深染, 如黑色箭头所示。(见图6~7)



空白对照组 模型组

图 6 两组大鼠海马 CA1 区 HE 染色结果 ($\times 200$)



空白对照组 模型组

图 7 两组大鼠海马 CA1 区 Nissl 染色结果 ($\times 200$)

3.8 两组大鼠海马组织、血清5-HT、DA水平比较 模型组大鼠海马组织与血清5-HT水平均低于空白对照组, DA水平高于空白对照组, 差异均有统计学意义 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 表明模型组大鼠出现了神经递质失衡。(见表15~16)

表 15 两组大鼠海马组织 5-HT、DA 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	5-HT/(ng/mg)	DA/(pg/mg)
空白对照组	6	0.90±0.11	12.99±1.77
模型组	6	0.62±0.19	15.19±0.30
t		3.225	-3.013
P		0.012	0.028

表 16 两组大鼠血清 5-HT、DA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	5-HT(ng/mL)	DA(pg/mL)
空白对照组	6	124.17±12.93	1 549.01±17.94
模型组	6	100.81±16.57	1 789.64±16.02
t		2.721	-24.503
P		0.022	0.000

4 讨 论

失眠作为一种常见的睡眠障碍,表现为入睡困难、睡眠维持困难或早醒。患者可出现注意力下降、情绪异常等问题,严重影响患者的日常生活和工作^[9-10]。失眠在中医学中属于“不寐”范畴,肝郁血虚证是失眠的临床常见证型之一^[5]。情志不畅,肝失疏泄,气机郁结,内扰心神,进而影响肝藏血功能,导致血不能归于肝,心神失养,神不守舍。肝郁血虚,魂不归舍,从而导致失眠^[11]。目前尚无规范且科学明确的失眠肝郁血虚证动物模型构建方法报道。本研究旨在构建一种失眠肝郁血虚证病证结合动物模型,并探索其模型评价体系。

失眠的造模方法主要有平台水环境法、慢性束缚、腹腔注射PCPA、咖啡因诱导等方法。上述方法多以西医的疾病为主,对于中医证型考虑较少。病证结合方面的欠缺难以反映实际的病证特点^[12-13]。大鼠是失眠模型常用的动物。与人类不同,大鼠在光照期以睡眠为主,黑暗期活动为主,但此“觉醒-睡眠”周期与人类昼夜节律模式相似^[14]。腹腔注射PCPA是近年来失眠模型研究中常用的一种方法。PCPA作为色氨酸羟化酶抑制剂,能够有效抑制大脑5-HT的合成,破坏睡眠-觉醒调节机制,进而导致昼夜节律消失,引起失眠^[15-16]。研究表明大鼠注射PCPA的方法造模成功率高,稳定性好,出现的失眠症状与人类相似^[17]。夹尾刺激是肝郁证造模最常用的方法。夹尾刺激产生的应激可使HPA轴兴奋性增加,从而导致焦虑抑郁^[17]。该方法可模拟“肝气郁结、气机不畅”的中医病机。放血法所致慢性失血使“有形之血不能速生”,与中医学血液亏虚致血虚理论一致,并且对造血功能影响小,不易造成动物死亡^[18]。慢性夹尾刺激复合腹腔注射PCPA法综合了物理和化学两种刺激,可引发大鼠的应激反应^[11],符合“怒伤肝,久则郁”的中医学理论。肝气郁结,肝郁化火,扰动心神。心神不安则不寐。两者结合可模拟中医肝郁证失眠的情志失调病理状态^[19]。肝主藏血,肝体阴而用阳。肝气郁结日久会影响肝藏血的功能,暗耗阴血。血虚则肝失濡养,魂不守舍而不寐^[20]。大鼠尾部放血可加重肝血虚的程度。慢性夹尾刺激与尾部放血结合可模拟中医肝血虚证的状态,使模型更加贴合实际。本研究采用的多因素复合造模方法中,长期夹尾刺激诱导的HPA轴亢进促进肝郁,放血所致的慢性失血加剧血虚失养,PCPA可干扰昼夜节律导致失眠发生。三者分别从“情志失调”“气血亏虚”“神不守舍”三个层面模拟失眠肝郁血虚证的病机。三者结合更符合中医整体观念的思想,与临床肝郁血虚型失眠患者“情志诱发、迁延不愈”的复杂病理特点契合^[21]。结果表明,造模后模型组大鼠表现出精神倦怠,毛发干枯色黄,对外界声、光刺激敏感,出现了白天活动增加,夜间慵懶喜卧的昼夜节律紊乱表现。模型组大鼠体质量与摄食量不仅始终处于较低水平,且随时间的推移模型组大鼠体质量与空白对照组的差

异逐渐扩大,与失眠肝郁血虚证常见精神状态和外观变化的动态演变特征相符。

证候评价结果显示,随着造模时间延长,模型组大鼠在活动状态、精神亢奋、易激惹情况、外观色泽等方面与空白对照组产生显著差异,出现精神倦怠、毛发干枯、易激惹、爪甲不荣等症状,与临床患者心烦不寐、心情抑郁的临床表现一致。本动物模型在模拟中医证候方面具有可靠性。而在进食、鼓腮、洗脸次数、挠抓次数等方面无明显差别,可考虑剔除这些条目避免影响判断。中医证候量表中某些评价条目可能存在主观判断因素,影响研究结果的解读^[22],因此本研究结合行为学评估实验和相关血液生化指标,多方面补充体现“肝郁血虚”证候特点。

戊巴比妥钠翻正实验结果显示,模型组大鼠的睡眠潜伏期显著延长,睡眠持续时间显著缩短,符合失眠的临床特征。无创睡眠监测结果显示,模型组大鼠24 h平均睡眠时间百分比下降、光照期平均睡眠时间百分比减少而黑暗期平均睡眠时间百分比增加,说明模型组大鼠出现昼夜节律紊乱现象。

行为学评估实验中旷场实验的中央区穿越次数及停留时间可以反映大鼠的焦虑以及抑郁程度,直立时间和修饰时间可以反映大鼠在陌生环境中的活跃程度及探究度,总活动距离可以反映大鼠的紧张、焦虑程度^[23]。旷场实验结果显示,模型组大鼠的自主活动减少、探索欲望降低、喜静懒动,出现焦虑、抑郁等不良情绪^[24]。高架十字迷宫实验是评价啮齿类动物焦虑行为的经典方法之一^[25]。高架十字迷宫实验实验结果显示,模型组大鼠存在焦虑的不良情绪^[26]。抓握力可用于评价大鼠疲劳情况^[27]。抓握力实验结果显示,模型组大鼠出现了体力下降的躯体疲劳表现。Morris水迷宫实验可用于评估大鼠学习和记忆能力^[28]。Morris水迷宫实验结果显示,模型组大鼠在空间探索阶段的学习记忆功能下降^[29]。失眠患者常见焦虑评分、抑郁评分升高,并伴有日间疲劳、注意力下降、健忘和情绪波动等表现^[30-31]。这些行为学改变与失眠肝郁血虚证患者临床表现类似,也与肝气郁结,心神失养,肝郁血虚的病机相吻合。

血细胞与生化指标检测结果显示,模型组大鼠存在贫血表现,与临床血虚患者面色苍白、爪甲不荣的特征相符^[32]。RBC、HGB、PLT是血虚证候模型评价的重要指标。模型组大鼠WBC未见显著变化,提示慢性失血未引发炎症反应,排除了感染因素对结果的干扰^[33]。ALT和AST是反映肝功能损伤的关键标志物。BUN是蛋白质代谢的产物,其水平的升高可以反映机体代谢紊乱的状态^[34-35]。血清生化指标检测结果显示,模型组大鼠肝功能存在一定的损伤,且机体代谢紊乱,与长期失眠导致的代谢失衡类似^[36]。作为参与睡眠-觉醒机制的经典单胺类神经递质,5-HT能够改善睡眠,而DA则可引起觉醒诱发失眠^[37]。模型组大鼠出现睡眠障碍以及神经递质失衡,符合失眠患者的神经生化改变。这也与PCPA抑制5-HT合成的机制一致。组织病理学观察结果显示,模型组大鼠海马CA1区存在病理改变及异常表现,提示其中枢神经系统出现损伤或退行性病变风险增加^[38]。这与肝郁血虚证“魂不归肝、心神失养”导致的认知功能下降相符。

本研究采用多因素复合造模法构建的失眠肝郁血虚证病证结合动物模型在行为学、生理学及神经递质水平上均表现出与失眠肝郁血虚证一致的特征,能够较全面模拟失眠肝郁血虚证复杂病理过程和临床特点。同时将动物表征、行为学实验评估与实验室检测指标三者相结合形成了客观、标准且切实可行的评价体系。

参考文献

[1] 中华医学会神经病学分会睡眠障碍学组,王玉平,刘江红,等.中国成人失眠诊断与治疗指南(2023版)[J].中华神经科杂志,2024,57(6):560-584.

[2] FERINI-STRAMBI L, AUER R, BJORVATN B, et al. Insomnia disorder: Clinical and research challenges for the 21st century[J]. Eur J Neurol,2021,28(7):2156-2167.

[3] 李双艳,张斌.失眠障碍的研究现状与展望[J].实用医学杂志,2024,40(6):731-737.

[4] MORIN C M, BUYSSE D J. Management of insomnia. reply[J]. N Engl J Med,2024,391(13):1261.

[5] 刘梦,王曦廷,吴凤芝,等.四逆酸枣仁合方治疗失眠肝郁血虚证的临床疗效观察[J].现代中医临床,2020,27(5):3-6.

[6] 朱洁,申国明,汪远金,等.肝郁证失眠大鼠模型的建立与评价[J].中医杂志,2011,52(8):689-692.

[7] 曲晓伟,尤耀东,蒋建春,等.基于“肝藏”理论的疏肝养血法对肝郁血虚ED大鼠血液流变学的影响[J].中国性科学,2017,26(2):82-84.

[8] 王硕,王长振,李志慧,等.和胃安神方对失眠模型大鼠下丘脑生物钟基因CLOCK、BMAL1表达的影响[J].中医杂志,2024,65(20):2145-2151.

[9] RIEMANN D, KRONE L B, WULFF K, et al. Sleep, insomnia, and depression[J]. Neuropsychopharmacology, 2020,45(1):74-89.

[10] WARDLE-PINKSTON S, SLAVISH D C, TAYLOR D J. Insomnia and cognitive performance: A systematic review and meta-analysis[J]. Sleep Med Rev,2019,48:101205.

[11] 邓雪梅,李胜涛,郭丹丹,等.从肝郁血虚浅谈不寐论治[J].中医临床研究,2015,7(5):61-61,63.

[12] 夏天吉,闫明珠,王智,等.大小鼠失眠模型和评价方法研究进展[J].中国实验动物学报,2022,30(3):428-435.

[13] 李磊,刘建勋,任钧国,等.中医药动物模型研究现状及展望[J].中国比较医学杂志,2022,32(1):104-110.

[14] RAYAN A, AGARWAL A, SAMANTA A, et al. Sleep scoring in rodents: Criteria, automatic approaches and outstanding issues[J]. Eur J Neurosci,2024,59(4):526-553.

[15] 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.

[16] 曲子涵,马海钊,张野,等.对氯苯丙氨酸建立失眠模型行为学评价方法的研究[J].实验动物科学,2024,41(3):9-13.

[17] 赖碧玉,洪梦颖,李兴,等.乙酸灌肠联合束缚夹尾应激诱导肝郁脾虚型腹泻型肠易激综合征大鼠模型的制备[J].中国实验动物学报,2024,32(3):317-328.

[18] 史旭芹,唐于平,李伟霞,等.大鼠慢性失血性血虚模型造模方法的研究与评价[J].中国药理学通报,2013,29(3):437-441.

[19] 张认真,叶钰娟,魏玉婷,等.肝郁气滞型失眠实验动物模型复制方法及评价概述[J].中医杂志,2024,65(14):1496-1503.

[20] 阎晶璐,薛晓兴,李君玲,等.肝纤维化大鼠肝气郁结证与肝藏血关系的研究[J].中西医结合肝病杂志,2016,26(6):354-357,360.

[21] 陈应旭,陈莹莹,贾冰亚.养血除烦汤治疗肝郁血虚型失眠的疗效观察及对焦虑、抑郁情绪的影响[J].中国中医药科技,2024,31(6):1135-1137.

[22] 魏萌,戴国华,高武霖.中医临床疗效评价指标数据库构建思路[J].山东中医杂志,2024,43(7):680-685.

[23] 李雪,徐雅,杜庆红,等.自拟安神方对心肾不交证失眠大鼠的作用研究[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(11):1806-1811.

[24] KRAEUTER A K, GUEST P C, SARNYAI Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior[J]. Methods Mol Biol,2019,1916:99-103.

[25] LA-VU M, TOBIAS B C, SCHUETTE P J, et al. To approach or avoid: An introductory overview of the study of anxiety using rodent assays[J]. Front Behav Neurosci,2020,14:145.

[26] DANDUGA R C S R, KOLA P K. Elevated plus maze for assessment of anxiety and memory in rodents[J]. Methods Mol Biol,2024,2761:93-96.

[27] ZHANG Y F, ZHANG Z H, YU Q Q, et al. Dual-factor model of sleep and diet: A new approach to understanding central fatigue[J]. Front Neurosci,2024,18:1465568.

[28] OTHMAN M Z, HASSAN Z, CHE HAS A T. Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory[J]. Exp Anim,2022,71(3):264-280.

[29] LISSNER L J, WARTCHOW K M, TONIAZZO A P, et al. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience[J]. Pharmacol Biochem Behav,2021,210:173273.

[30] 尚立芝,毛梦迪,李耀洋,等.酸枣仁汤联合氟西汀治疗肝郁血虚型抑郁症伴失眠的临床观察[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(24):49-54.

[31] 李学斌.酸枣仁汤联合艾司唑仑治疗肝郁血虚型失眠的效果研究[J].世界睡眠医学杂志,2021,8(5):812-813.

(下转第79页)

参考文献

- [1] 柳琳,周桐宇,刘哲,等.一贯煎创制的社会背景及其理论研究[J].中国中医基础医学杂志,2025,31(4):697-700.
- [2] 曹志娟.张武治疗肝硬化腹水的经验[J].中医药导报,2016,22(17):104-106.
- [3] 胡钰莹,陈丽,李淑萍,等.经典名方一贯煎的历史沿革、现代研究进展和质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2022,53(23):7585-7595.
- [4] 邱晓年,熊丹,蒋翠平,等.承逆缩脾颗粒制备工艺研究[J].中医药导报,2021,27(2):31-35,40.
- [5] 曹珍妮,包莹,张辰露,等.药食同源类药材含片制备技术及其应用[J].江西中医药,2025,56(2):76-80,84.
- [6] 张蜀,林华庆,邓红,等.一步制粒法制备丹清颗粒[J].中药材,2009,32(5):812-814.
- [7] 吕建伟,黄庆,黎丽群,等.正交试验法优选芪石升降归元颗粒一步制粒工艺[J].中国药业,2024,33(16):52-55.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [9] 陈程,东泳杉,闫梦茹,等.多指标综合加权评分法结合正交试验优选参仁安神无糖颗粒的制备工艺[J].食品与药品,2023,25(2):122-126.
- [10] 李素丽,玄敏,杨涛,等.鹿红方颗粒制备工艺优化及其质量评价[J].中成药,2023,45(8):2477-2483.
- [11] 刘本涛,梁旭华,赵艳艳,等.无糖型银花感冒颗粒的成型工艺[J].医药导报,2020,39(2):202-207.
- [12] 王科,叶花,王鹏飞,等.参草宁心颗粒干法制粒处方筛选及工艺参数优化[J].中国中医药信息杂志,2019,26(11):74-78.
- [13] 蔡需,肖作奇,潘涛,等.HPLC法检测不同干燥方式与温度对盆炎灵颗粒主要有效成分的影响[J].中医药导报,2018,24(22):57-61.
- [14] 国家中医药管理局办公室,国家药品监督管理局综合和规划财务司.关于发布《古代经典名方关键信息考证原则》《古代经典名方关键信息表(7首方剂)》的通知[EB/OL].(2020-11-10)[2025-02-13].<http://www.natcm.gov.cn/kejisi/zhengcewenjian/2020-11-10/18132.html>.
- [15] 童培珍,潘礼业,索彩仙,等.HPLC-ELSD指纹图谱结合统计学评价不同产地苦楝皮药材质量[J].中医药导报,2021,27(3):49-53.
- [16] 北京盈科瑞创新药物研究有限公司,盈科瑞(横琴)药物研究院有限公司.一种一贯煎颗粒剂及其制备方法:202210462985.4[P].2023-11-07.
- [17] 谭琳,万鑫浩,王学成,等.新质生产力视角下的中药绿色数字化制造实现路径研究[J].中草药,2025,56(5):1782-1792.
- [18] TAKASAKI H, SAKURAI A, KATAYAMA T, et al. Novel, lean and environment-friendly granulation method: Green fluidized bed granulation (GFBG)[J]. International journal of pharmaceutics,2019,557:18-25.
- [19] 黄益穗,钟文嘉,叶秀群.升清降浊胶囊干法制粒工艺优化及颗粒性状、填充效果分析[J].中医药导报,2022,28(2):57-60,86.
- [20] 国家药品监督管理局.国家药监局关于发布中药标准管理专门规定的公告(2024年第93号)[EB/OL].(2024-07-10)[2025-03-10].<https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypg-gtg/ypbzgg/20240710174754155.html>.
- [21] 《中药标准管理专门规定》政策解读[J].中国医药导刊,2024,26(7):742.
- [22] 单思,谢斌,严小军,等.一贯煎治疗肝癌的分子机制生物信息学分析[J].中华中医药杂志,2018,33(5):1804-1807.
- [23] 李容容,李仁廷.一贯煎加减治疗肝癌的临证经验总结[J].中医肿瘤学杂志,2021,3(1):53-55.
- (收稿日期:2025-04-16 编辑:李海洋)
-
- (上接第66页)
- [32] 范琪,晏钊,陈俊云,等.七味酸枣安神合剂治疗睡眠障碍相关性高血压心肝血虚证的临床观察[J].云南中医中药杂志,2025,46(3):69-72.
- [33] 孙璐,刘海霞,王承灏,等.失眠血虚证小鼠动物模型的模拟和证候评价[J].环球中医药,2021,14(8):1385-1389.
- [34] EVANS C, MACKENZIE F, MARRINGTON R. Variation in liver function testing and the effect of pyridoxal-5-phosphate on ALT, AST and FIB-4 results[J]. Ann Clin Biochem,2024,61(6):459-468.
- [35] CAI H D, WANG J, LUO Y Y, et al. Linderaggregata intervenes adenine-induced chronic kidney disease by mediating metabolism and TGF-β/Smad signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother,2021,134:111098.
- [36] DUAN D, KIM L J, JUN J C, et al. Connecting insufficient sleep and insomnia with metabolic dysfunction[J]. Ann N Y Acad Sci,2023,1519(1):94-117.
- [37] WANG D G, WU T J, JIN J H, et al. Periostracum cicadae extract and N-acetyldopamine regulate the sleep-related neurotransmitters in PCPA-induced insomnia rats[J]. Molecules,2024,29(15):3638.
- [38] 刘佳敏,王雅乐,黄海,等.基于转录组学探讨黑逍遥散调控PI3K/Akt通路改善肝郁型失眠大鼠学习记忆能力的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(16):114-125.
- (收稿日期:2025-03-31 编辑:蒋凯彪)