

佺药远志醇提取物对斑马鱼的助眠作用

余熙¹, 赵智全¹, 吴海强², 吴序栋^{3*}

(1. 深圳市创华生物医药有限公司, 广东深圳 518000) (2. 深圳大学医学部药学院, 广东深圳 518000)

(3. 深圳大学医学部公共卫生学院, 广东深圳 518000)

摘要: 该研究以佺药远志(娘母良)为试材, 研究其改善睡眠的功效。采用高效液相色谱法(HPLC)检测佺药远志醇提取物的主要活性成分及含量, 以斑马鱼为实验动物, 建立戊四唑(PTZ)斑马鱼失眠模型。实验设置正常对照组、模型组和处理组, 处理组设置5个质量浓度, 分别为125、250、500、1 000、2 000 $\mu\text{g/mL}$, 28 $^{\circ}\text{C}$ 处理1 d后, 观察统计各组斑马鱼死亡数量和死亡率, 测定远志醇提取物对正常斑马鱼的最大耐受浓度(Maximum Tolerated Concentration, MTC); 根据MTC给予PTZ模型斑马鱼不同质量浓度的远志醇提取物, 设置阳性对照组(褪黑素组)和正常对照组, 通过行为分析仪检测斑马鱼的觉醒活动时间和觉醒活动量。结果表明, MTC为1 000 $\mu\text{g/mL}$; 观察时间内, 阳性褪黑素组改善睡眠作用为29.00%, 远志醇提取物4个质量浓度处理组(125、250、500、1 000 $\mu\text{g/mL}$)改善睡眠作用依次为6.97%、22.78%、33.14%、47.26%, 其中质量浓度为500 $\mu\text{g/mL}$ 和1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的远志醇提取物改善睡眠作用明显优于阳性褪黑素组。以上结果显示远志醇提取物对PTZ诱导的斑马鱼失眠症状具有一定的改善作用, 但是在一定浓度范围内, 呈剂量依赖性, 浓度越高, 作用越明显。

关键词: 远志; 斑马鱼; 失眠

文章编号: 1673-9078(2023)12-89-94

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.12.0016

Effect of *Polygala tenuifolia* Alcohol Extracts on Sleep Improvement in Zebrafish

YU Xi¹, ZHAO Zhiqian¹, WU Haiqiang², WU Xuli^{3*}

(1. Shenzhen Chuanghua Biopharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518000, China)

(2. School of Pharmaceutical Sciences, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518000, China)

(3. School of Public Health, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518000, China)

Abstract: The effect of different concentrations of *Polygala tenuifolia* alcohol extracts on sleep improvement in zebrafish was investigated. High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the primary active components and their concentrations in *P. tenuifolia* alcohol extracts. The experimental group was treated with extracts at concentrations of 125, 250, 500, 1 000, and 2 000 $\mu\text{g/mL}$. After treatment for 1 day at 28 $^{\circ}\text{C}$, the number of zebrafish deaths and the mortality rate of zebrafish in each group were observed and counted, and the maximum tolerated concentration (MTC) of samples was determined. According to the MTC, the treatment groups were treated with various concentrations of *P. tenuifolia* alcohol extracts. In addition to other zebrafish insomnia models, a positive control group (melatonin group) and normal control group were also established. The duration and amount of activity of zebrafish in the awake state were established using a behavior analysis system. MTC was set at 1 000 $\mu\text{g/mL}$. During the observation period, the sleep improvement effect of the positive melatonin group was 29.00%, and the sleep improvement effects of the four concentration treatment groups (125, 250, 500, 1 000 $\mu\text{g/mL}$) were 6.97%, 22.78%, 33.14% and 47.26%, respectively. The sleep improvement effect of *P. tenuifolia* alcohol extract at concentrations of 500 $\mu\text{g/mL}$

引文格式:

余熙, 赵智全, 吴海强, 等. 佺药远志醇提取物对斑马鱼的助眠作用[J]. 现代食品科技, 2023, 39(12): 89-94

YU Xi, ZHAO Zhiqian, WU Haiqiang, et al. Effect of *Polygala tenuifolia* alcohol extracts on sleep improvement in zebrafish [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(12): 89-94

收稿日期: 2023-01-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(51973121); 深圳市协同创新专项(GJHZ20210705141800002)

作者简介: 余熙(1991-), 女, 硕士, 中级工程师, 研究方向: 食品营养, E-mail: yx1015412@126.com

通讯作者: 吴序栋(1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养, E-mail: wxl@szu.edu.cn

and 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ were significantly superior than that of the positive melatonin group. The findings of this study show that *P. tenuifolia* alcohol extracts exhibited a dose-dependent improvement effect on PTZ-induced insomnia symptoms in zebrafish, with a more pronounced effect observed at higher concentrations.

Key words: *Polygala tenuifolia*; zebrafish; insomnia

失眠是所有年龄段最常见的睡眠障碍^[1], 通常表现为不易入睡, 睡后易醒, 睡眠深度或频度过短、早醒及睡眠时间不足或质量差等, 长时间的失眠会导致神经衰弱和抑郁症, 对患者生活造成极大影响^[2,3]。现代生活节奏快、作息不规律、心理压力大, 大多数人处于亚健康状态, 几乎都有过失眠经历, 慢性失眠病程长, 可长达 10 年以上, 严重影响人们的生活质量和身心健康^[4-6]。据世界卫生组织 (WHO) 调查结果显示, 全球将近 1/3 的人深受睡眠障碍问题困扰^[5-7]。《中国睡眠研究报告 (2022)》显示, 64.75% 的国人每天实际睡眠时长不足 8 h^[8]。流行病学研究表明, 我国约有 45.4% 的老年人存在睡眠障碍问题^[9], 成年人失眠发生率高达 38.2%, 已超过欧美等发达国家, 并且呈上升趋势^[10,11]。

目前, 治疗失眠的药物主要是指西药安眠药, 如安定、佐匹克隆片、思诺思等, 但需频繁用药和长期服用, 其不良反应如中枢神经紊乱、依赖性、记忆力下降、性格改变、肾脏损害等问题也较多^[12]。相较之下, 中药治疗失眠的优势尤其突出, 药物的副作用小, 对机体的伤害较小, 比较适合长期调理服用, 既不会形成药物依赖, 也不会出现药物的戒断反应, 可以依据病情随时停药^[2]。中药治疗失眠是从病因入手, 从根源上治疗, 同时还可以改善机体的身体素质, 效果显著且具有独特的优势^[13]。

侏族医药作为我国民族医药的重要组成部分, 其药食同源是侏族医药的一大特色, 是沿用至今的保健及治疗方法^[14]。侏药远志 (*Polygala tenuifolia*), 又名娘母良 (*Polygala crotalarioides*, 侏文: Nya Miex Tiang), 属远志科远志属多年生草本植物, 为侏族稀有珍贵药材, 也是一味中医常用的中药, 性善疏泄通达, 是交通心肾、安定神志之佳品, 具有益智安神的功效^[15-17]。临床上常应用于治疗失眠多梦, 健忘惊悸、肾虚阳萎、宫寒带下等症, 并且侏族民间早已验证其强壮、增力、抗疲劳等作用^[15-17]。现代药理学研究表明, 其主要成份细叶远志皂苷能通过抑制去甲肾上腺素, 增强对小鼠的催眠作用, 是远志发挥镇静安神效果的主要物质之一^[18-20]。

当前, 随着我国居民生活水平不断提高, 消费升级, 人们的保健意思不断增强, 健康产业具有广

阔的发展前景^[21]。因此, 开发一款绿色健康、安全性高的睡眠友好型保健食品, 意义非常重大, 市场前景非常广阔。本文选取侏药远志为研究对象, 采用高效液相色谱法 (HPLC) 检测远志的主要活性成分及含量, 以斑马鱼为实验动物模型, 比较其不同剂量对于改善睡眠的作用, 旨在探索侏药远志的助眠功效, 为针对性治疗失眠, 远志深加工及开发保健食品提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

远志, 产于云南, 购自西安天行健天然生物制品有限公司; 野生型 AB 品系斑马鱼 (许可证号为: SYXK(浙)2022-0004); 远志吡酮 III (批号 111850-202006)、3,6'-二芥子酰基蔗糖 (批号 111848-202006) 对照品, 均购自中国食品药品检定研究院; 细叶远志皂苷 (批号 LP12560) 对照品, 购自河南标准物质研发中心; 二甲基亚砷 (Dimethyl Sulfoxide, DMSO; 批号 BCCD8942), 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 褪黑素 (批号 F1804064), 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 戊四唑 (Pentylentetrazole, PTZ; 批号 A2708L46880), 购自上海源叶生物科技有限公司; 3516 六孔板, 购自美国 Corning Incorporated 公司; 甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯, 购自广州彼西格科技有限公司; 色谱分析用水为娃哈哈纯净水, 其它实验用水为去离子水。

1.2 实验仪器

LC-2030C (3D) 高效液相色谱仪, 日本 Shimadzu 公司; CP214 精密电子天平, 美国 OHAUS 公司; 电热恒温干燥箱, 上海昕仪仪器仪表有限公司; 1000Y 高速多功能粉碎机, 欧椽; 98-1-1-B 型电子调温电热套, 天津市泰斯特仪器有限公司; SB25-12DTD 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; JK-VWS 振动筛, 上海精学科学仪器有限公司; SZX7 解剖显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; Zebra Lab 3.22.3.31 行为分析仪, 法国 ViewPoint Life Sciences 公司; VertA1CCD 相机, 上海土森视觉科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 远志醇提物制备

称取 50 g 远志粉碎, 过三号筛后, 置于圆底烧瓶中, 精密加入体积分数 65% 乙醇 200 mL, 煮沸 1 h, 放冷, 摇匀后滤过, 取沉淀物重复提取 2 次, 最后合并 3 次上清液浓缩至 20 mL, 得远志乙醇提取物 (2.5 g/mL)。

1.3.2 远志醇提物活性成分检测

1.3.2.1 对照品溶液制备

参照《中国药典》2020 年版, 分别取细叶远志皂苷对照品 2.0 mg、远志吡酮 III 对照品 1.5 mg、3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品 2.0 mg, 精密称定, 甲醇溶解并超声, 摇匀, 最后加甲醇稀释得细叶远志皂苷 1 mg/mL、远志吡酮 III 0.15 mg/mL、3,6'-二芥子酰基蔗糖 0.2 mg/mL, 用 0.22 μm 微孔滤膜抽滤之后, 再进样。

1.3.2.2 供试品溶液制备

按“1.3.1”项下原材料预处理方法制备远志提取物, 取 1 mL 远志提取物置于 100 mL 量瓶中, 加蒸馏水溶解并摇匀, 稀释至刻度, 得供试品母液。精密吸取供试品母液 1 mL, 加蒸馏水稀释至 1 mg/mL, 过 0.22 μm 微孔滤膜后, 再进样。

1.3.2.3 色谱条件

参照《中国药典》2020 年版测定细叶远志皂苷含量^[22]。色谱条件: 检测波长为 210 nm; 色谱柱为 ShimNex CS C18 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.05% 磷酸溶液 (70:30, V/V); 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1 mL/min; 进样量 10 μL 。

参照《中国药典》2020 年版测定远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖含量^[22]。色谱条件: 检测波长为 320 nm; 色谱柱为 ShimNex CS C18 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液 (18:82, V/V); 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速 1 mL/min; 进样量 10 μL 。

1.3.3 不同质量浓度远志醇提物改善睡眠作用

1.3.3.1 PTZ 诱导的斑马鱼失眠模型的建立

随机选取野生型 AB 品系斑马鱼 (自然成对交配繁殖, 年龄为受精后 5 d) 于六孔板中, 每孔容量 3 mL, 600 $\mu\text{g/mL}$ 戊四唑刺激 1 h, 建立 PTZ 斑马鱼失眠模型。

1.3.3.2 斑马鱼最大耐受浓度测定 (Maximum Tolerated Concentration, MTC)

测定 MTC 参考文献^[23]的方法并略有修改。设置正常对照组、PTZ 模型对照组以及 5 个不同质量浓度远志醇提物处理组 (125、250、500、1 000、2 000 $\mu\text{g/mL}$)。每组随机挑选 30 尾斑马鱼置于六孔板

中, 每孔 30 尾, 每孔容量为 3 mL。28 $^{\circ}\text{C}$ 处理 1 d 后, 观察统计各组斑马鱼死亡数量和死亡率, 测定 MTC。

1.3.3.3 远志醇提物改善斑马鱼失眠功效实验

参考文献^[23]设计远志醇提物改善斑马鱼失眠功效实验, 有修改。将随机选取的斑马鱼置于六孔板中, 每孔 30 尾斑马鱼, 每孔容量为 3 mL。设置正常对照组和 PTZ 模型对照组, 另选取斑马鱼失眠模型, 设置 4 个不同质量浓度远志醇提物处理组 (125、250、500、1 000 $\mu\text{g/mL}$) 以及阳性对照褪黑素质量浓度组 125 $\mu\text{g/mL}$ (见表 2)。28 $^{\circ}\text{C}$ 处理 1 d 后, 每组随机取 10 尾斑马鱼采集数据, 分析斑马鱼觉醒活动量 (D) 和觉醒总时间 (S), 以此来评价远志的助眠作用。助眠作用计算公式如下:

$$ER = \frac{D_0 - D_1}{D_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

ER—远志醇提物改善斑马鱼睡眠作用率, %;

D_0 —模型组斑马鱼觉醒活动量, mm;

D_1 —处理组斑马鱼觉醒活动量, mm。

1.4 数据处理及统计分析

实验数据采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 进行各个实验组间的差异分析, 实验结果以平均数 \pm 标准差 (mean \pm SE) 表示。通过 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析处理, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 远志醇提物活性成分含量测定

按“1.3.2.1”和“1.3.2.2”项下方法, 分别制备对照品及供试品溶液, 按“1.3.2.3”项下色谱条件检测, 面积归一法计算远志样品中细叶远志皂苷、远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰基蔗糖的含量。结果显示细叶远志皂苷质量分数为 7.61%、远志吡酮 III 的质量分数为 15.01%、3,6'-二芥子酰基蔗糖的质量分数为 38.78% (表 1)。2020 年版药典以要求细叶远志皂苷含量不低于 2%, 远志吡酮 III 含量不低于 0.15%、3,6'-二芥子酰基蔗糖含量不低于 0.5%, 本实验方法所提取的远志的主要活性成分远远高于药典要求。本实验结果与张琳等^[22]研究结果相比, 三种主要活性成分均高于其研究的 5 种野生远志。大量研究表明, 远志属植物化学成分类型非常丰富, 主要含有皂苷、糖酯、酮类、生物碱、香豆素类等活性成分。本实验所用药材远志的三种主要活性成分细叶远志皂苷、远志吡酮 III、3,6'-二芥子酰

基蔗糖含量高, 质量合格, 其中 3,6'-二芥子酰基蔗糖的代谢产物主要为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸 (TMCA), 而 TMCA 具有镇静催眠的作用^[24], 细叶远志皂苷能够通过调节 γ 氨基丁酸 (GABA) 能系统增强对小鼠的助眠作用^[18]。因此, 本文将进一步通过建立 PTZ 诱导的斑马鱼模型, 对远志进行改善睡眠功效评价。

2.2 斑马鱼最大检测浓度 (MTC)

当远志质量浓度在 125~1 000 $\mu\text{g/mL}$ 时, 处理组与正常对照组状态相似, 没有出现死亡现象; 当远志质量浓度为 2 000 $\mu\text{g/mL}$ 时, 处理组 5 与正常对照组相比, 状态较差, 且有斑马鱼死亡现象, 死亡率为 3%。因此将改善睡眠功效 MTC 定为 1 000 $\mu\text{g/mL}$, 详见表 2。

2.3 远志醇提物改善 PTZ 模型斑马鱼行为

如图 1 所示, 通过分析 PTZ 模型斑马鱼行为轨迹发现, 与正常对照组相比, PTZ 模型对照组的斑马鱼运动状态明显活跃, 与 PTZ 模型对照组相比, 阳性对照褪黑素组有效减少了 PTZ 模型组斑马鱼活动量, 这表明成功建立了 PTZ 诱导的斑马鱼失眠模型。通过每组 30 尾斑马鱼的对比实验, 发现经过远志醇提物处理之后, 与 PTZ 模型组相比, 各处理组的斑马鱼躁狂症均有不同程度的缓解, 其中 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 远志醇提物相比阳性对照褪黑素组, 改善睡眠效果更加显著。结果表明, 远志醇提物具有一定的改善睡眠的功效。

表 1 远志醇提物主要成分表

Table 1 Analysis of *Polygala tenuifolia* alcohol extract components

序号	保留时间/min	英文名称	中文名称	相对含量/%
1	10.71	Tenuifolin	细叶远志皂苷	7.61±0.34
2	11.79	Polygalaxanthone III	远志吡酮 III	15.01±0.56
3	36.43	3,6'-disinapoyl sucrose	3,6'-二芥子酰基蔗糖	38.78±0.84

表 2 远志醇提物改善睡眠功效质量浓度摸索实验结果 (n=30)

Table 2 *Polygala tenuifolia* alcohol extract improved sleep efficacy concentration and explored the experimental results

组别	质量浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	死亡数/尾	死亡率/%	表型
正常对照组	-	0	0	未见明显异常
PTZ 模型对照组	-	0	0	未见明显异常
处理组 1	125	0	0	与正常对照组状态相似
处理组 2	250	0	0	与正常对照组状态相似
处理组 3	500	0	0	与正常对照组状态相似
处理组 4	1 000	0	0	与正常对照组状态相似
处理组 5	2 000	1	3	剩余较正常对照组状态差

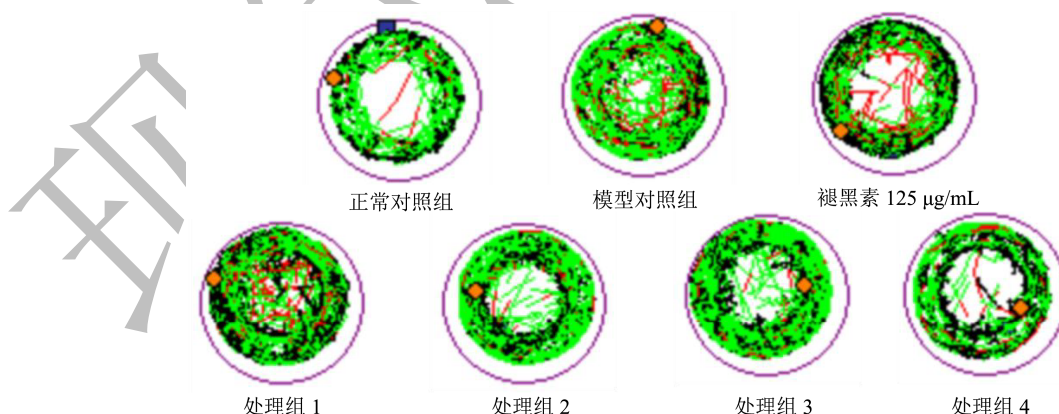


图 1 不同质量浓度远志醇提物处理后斑马鱼运动轨迹典型图

Fig.1 Typical movement trajectories of zebrafish after treatment with different concentrations

注: 黑线表示慢速, 绿线表示中速, 红线表示快速。

表 3 不同质量浓度远志醇提物改善睡眠功效评价实验结果 ($n=10$)Table 3 Experimental results of different concentrations of *Polygala tenuifolia* alcohol extract to improve sleep efficacy

组别	质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)	觉醒活动量(mean \pm SE)/mm	觉醒总时间(mean \pm SE)/s	作用率/%
正常对照组	-	45.7 \pm 6.84***	1.82 \pm 0.251***	-
PTZ 模型对照组	-	531 \pm 66.6	13.7 \pm 1.87	-
阳性对照褪黑素组	125	377 \pm 30.3*	9.30 \pm 0.682*	29.00
处理组 1	125	494 \pm 105	12.1 \pm 2.38	6.97
处理组 2	250	410 \pm 52.4*	9.54 \pm 1.25*	22.78
处理组 3	500	355 \pm 50.7*	9.14 \pm 1.15*	33.14
处理组 4	1 000	280 \pm 39.3*	6.96 \pm 1.02*	47.26

注: 与模型对照组比较, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

2.4 远志醇提物改善 PTZ 模型斑马鱼睡眠功效评价

如表 3 所示, 通过分析斑马鱼觉醒活动时间和活动量发现, PTZ 模型对照组中, 斑马鱼觉醒时间 (13.7 s) 和觉醒活动量 (531 mm), 均远高于正常对照组的觉醒活动时间 (1.82 s, $P<0.001$) 和觉醒活动量 (45.7 mm, $P<0.001$), 与 PTZ 模型对照组比较, 阳性褪黑素组的觉醒活动时间 (9.30 s, $P<0.05$) 和觉醒活动量 (377 mm, $P<0.05$) 明显减少, 这表明成功建立了 PTZ 诱导的斑马鱼失眠模型。阳性褪黑素组改善睡眠作用为 29.00%, 远志醇提物 4 个质量浓度处理组 (125、250、500、1 000 $\mu\text{g/mL}$) 改善睡眠作用依次为 6.97%、22.78%、33.14%、47.26%, 其中质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 和 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的远志改善睡眠作用明显优于阳性褪黑素组。结果表明远志醇提物对 PTZ 诱导的斑马鱼失眠症状具有明显的改善作用, 但是在一定浓度范围内, 呈剂量依赖性, 浓度越高, 作用越明显。本实验结果与陆婷婷^[16]、任小娟等^[25]研究结果相似, 均表明远志具有助眠作用。远志对斑马鱼的助眠作用可能与其主要活性成分细叶远志皂苷和 3,6'-二芥子酰基蔗糖有关, 具体机制还需更深层次探索。

3 结论

综上所述, 本文通过建立斑马鱼失眠模型, 测定 MTC, 将改善睡眠功效 MTC 定为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 。采用 MTC 设置给药浓度, 研究斑马鱼的行为轨迹, 结果表明远志醇提物各质量浓度处理组与 PTZ 模型对照组相比均有不同程度的改善。通过分析斑马鱼觉醒活动量和觉醒总时间, 以此来评价远志镇静安神、改善失眠功效。结果显示阳性褪黑素组改善睡眠作用为 29.00%, 远志醇提物 4 个质量浓度处理组 (125、250、500、1 000 $\mu\text{g/mL}$) 改善睡眠作用依次为 6.97%、

22.78%、33.14%、47.26%, 其中质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 和 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的远志醇提物改善睡眠作用明显优于阳性褪黑素组。研究表明远志醇提物具有镇静安神的功效, 能够改善睡眠障碍, 但在一定质量浓度范围内, 呈剂量依赖性。本文对于远志醇提物改善睡眠作用的机制尚未进行更深入的研究, 后续还需要对远志进行更加细致的探索, 为未来远志的临床应用和食品保健等提供参考依据。

参考文献

- [1] Himelfarb M, Shatkin J P. Pediatric insomnia [J]. Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America, 2021, 30(1): 117-129.
- [2] 何亮亮, 王晓红, 杨丽霞, 等. 中医综合疗法治疗失眠研究进展[J]. 甘肃科技纵横, 2022, 51(5): 87-90.
- [3] 毕红. 中医内外合治不寐体会[J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(9): 1642.
- [4] 本刊讯. 《2021 年高净值人群身心健康调研报告》失眠成为头号困扰[J]. 人人健康, 2021, 17: 7.
- [5] Perez M N, Salas R M E. Insomnia [J]. Continuum (Minneapolis): Lifelong Learning in Neurology, 2020, 26(4): 1003-1015.
- [6] Sutton E L. Insomnia [J]. Annals of Internal Medicine, 2021, 174(3): ITC33-ITC48.
- [7] Morin C M, Jarrin D C. Epidemiology of insomnia: prevalence, course, risk factors, and public health burden [J]. World Journal of Sleep Medicine, 2022, 17(2): 173-191.
- [8] 郭玲. 提升民众睡眠质量应成为“民生工程”[J]. 小康(财智), 2022, 488(5): 28-31.
- [9] 吴晓勇, 毕莲. 吴光炯教授治疗老年失眠临床验案举隅[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(24): 103-105.
- [10] 中国睡眠研究会. 中国失眠症诊断和治疗指南[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(24): 1844-1856.
- [11] Dopheide J A. Insomnia overview: epidemiology,

- pathophysiology, diagnosis and monitoring, and nonpharmacologic therapy [J]. *American Journal of Managed Care*, 2020, 26(4): S76-S84.
- [12] Sateia M J, Buysse D J, Krystal A D, et al. Clinical practice guideline for the pharmacologic treatment of chronic insomnia in adults: An American academy of sleep medicine clinical practice guideline [J]. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 2017, 13(2): 307-349.
- [13] Singh A, Zhao K. Treatment of insomnia with traditional Chinese herbal medicine [J]. *International Review of Neurobiology*, 2017, 135: 97-115.
- [14] 李文琦,张志华,吕旻,等.佉族医药的现状与发展浅述[J].云南中医中药杂志,2019,40(10):75-76.
- [15] 李永明,李素.佉药娘母良的临床应用[J].中国民族医药杂志,2001,7(1):16-17.
- [16] 陆婷婷.佩兰和远志精油的镇静催眠功效研究[D].上海:上海交通大学,2017.
- [17] 孟恬,刘云宽,陈清华,等.娘母良通过抑制焦亡改善阿尔兹海默症小鼠的空间记忆能力[J].中国民族民间医药,2022, 31(6):40-45.
- [18] Cao Q, Jiang Y, Cui S Y, et al. Tenuifolin, a saponin derived from radix polygalae, exhibits sleep-enhancing effects in mice [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(14): 1797-1805.
- [19] Zhou W, Xue W, Chu S F, et al. Polygalasaponin XXXII, a triterpenoid saponin from polygalae radix, attenuates scopolamine-induced cognitive impairments in mice [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2016, 37(8): 1045-1053.
- [20] Ren X J, Wang G Y, Zhang X P, et al. Sedative and hypnotic effects and transcriptome analysis of *Polygala tenuifolia* in aged in somnia rats [J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2020, 6(6): 434-441.
- [21] 王一,陈喜生.大健康产业背景下我国保健食品发展现状思考[J].商业经济,2022,10:51-52.
- [22] 中华人民共和国药典(2020年版)[M].中国医药科技出版社:国家药典委员会,2020.
- [23] 魏芳,李英,李安平,等.一种改善睡眠配方饮品的功效研究[J].现代食品,2022,28(12):173-176.
- [24] Lee C I, Han J Y, Hong J T, et al. 3,4,5-Trimethoxycinnamic acid (TMCA), one of the constituents of polygalae radix enhances pentobarbital-induced sleeping behaviors via GABAergic systems in mice [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2013, 36(10): 1244-1251.
- [25] 任小娟,王晶,陈小兵,等.远志对肾不藏志不寐大鼠睡眠影响的实验研究[J].新疆医科大学学报,2022,45(7):770-775.