

五味子醋镇静催眠抗焦虑作用及其作用机制

于泽鹏¹, 高佳琪¹, 刘聪¹, 朱阔¹, 刘佳乐², 蒋维海³, 王春梅¹,
孙靖辉¹, 李贺¹, 陈建光^{1*}

(1. 北华大学药学院, 吉林 吉林 132013;

2. 吉林市中心医院, 吉林 吉林 132011; 3. 北华大学附属医院, 吉林 吉林 132011)

[摘要] **目的:**观察五味子醋(*Schisandrae Chinensis Fructus Vinegar*, SV)的镇静催眠抗焦虑作用并初步探讨其作用机制。**方法:**将50只ICR雄性小鼠随机分为正常组、地西洋组(镇静实验剂量为 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,催眠及抗焦虑实验剂量为 $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和SV低、中、高剂量组(灌胃给予相应剂量SV)。各组连续灌胃给药7 d后,采用自主活动记录仪观察SV对小鼠自主活动的影响;通过阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠实验观察SV对小鼠睡眠只数、潜伏期及睡眠时间的影响。采用高架十字迷宫(elevated plus maze, EPM)检测SV的抗焦虑作用;采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测SV对小鼠脑组织中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)及谷氨酸(glutamate, Glu)含量的影响;应用蛋白免疫印迹法(Western blot)检测SV对小鼠脑组织中GABA_{A α 1}及GABA_{A γ 2}表达的影响。**结果:**与正常组比较,SV中、高剂量组小鼠自主活动次数明显减少($P < 0.05$, $P < 0.01$),协同阈下剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠只数增加;协同阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠潜伏期明显缩短、睡眠时间显著延长($P < 0.05$, $P < 0.01$),EPM模型小鼠开臂/在臂滞留时间率(OT)和开臂/在臂进入次数比率(OE%)明显增加($P < 0.05$);SV高剂量组小鼠脑组织中GABA含量显著增加($P < 0.01$),Glu含量显著减少($P < 0.01$);SV中、高剂量组小鼠脑组织中GABA_{A α 1}和GABA_{A γ 2}蛋白表达明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**SV具有镇静、催眠及抗焦虑作用,该作用与其调节小鼠脑组织中GABA、Glu含量及GABA_{A α 1}、GABA_{A γ 2}蛋白表达有关。

[关键词] 五味子醋; 镇静; 催眠; 抗焦虑

[中图分类号] R22;R24;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)11-0139-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181133

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180315.0910.003.html>

[网络出版时间] 2018-03-15 10:32

Sedative, Hypnotic and Anxiolytic Effect and Mechanism of *Schisandrae Chinensis Fructus Vinegar*

YU Ze-peng¹, GAO Jia-qi¹, LIU Cong¹, ZHU Kuo¹, LIU Jia-le², JIANG Wei-hai³,
WANG Chun-mei¹, SUN Jing-hui¹, LI He¹, CHEN Jian-guang^{1*}

(1. College of Pharmacy, Beihua University, Jilin 132013, China;

2. Central Hospital of Jilin City, Jilin 132011, China;

3. Affiliated Hospital of Beihua University, Jilin 132011, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the sedative, hypnotic and anxiolytic effects of *Schisandrae Chinensis Fructus vinegar* (SV) and explore its underlying mechanisms. **Method:** Fifty ICR male mice were randomly divided into blank control group (gavage distilled water, at a dose of $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$), diazepam group (sedative experimental dose of $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, hypnosis and anti-anxiety experiment dose of $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), low-dose SV group,

[收稿日期] 20171218(007)

[基金项目] 吉林省科技厅重点科技攻关计划项目(20170309006YY, 20150311047YY);吉林省科学发展基金项目(20150312041ZG);吉林市科技局项目基金项目(20162004,20163024)

[第一作者] 于泽鹏,在读硕士,从事神经药理学研究,E-mail:yuzepeng22@163.com

[通信作者] *陈建光,博士,教授,硕士生导师,从事心血管药理学研究,Tel: 0432-64608281,E-mail:chenjg@beihua.edu.cn

medium-dose SV group and high-dose SV group (corresponding doses by intragastric administration), for consecutive 7 days. The effect of SV on the locomotor activity of mice was observed with locomotor activity recorder. By using the synergistic sleeping experiment with SV and threshold-dose pentobarbital sodium, the effect of SV on the number of sleeping mice, the sleeping latency and sleeping time were observed. The anxiolytic effect of SV was observed by using elevated plus maze (EPM). The effects of SV on the contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and glutamate (Glu) were observed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and Western blot was used to observe the effect of SV on the expression levels of GABA_{A α 1} and GABA_{A γ 2} in the brain tissues. **Result:** As compared with those in the blank control group, the number of locomotor activities ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the number of sleeping mice was increased significantly ($P < 0.05$); the sleeping latency was significantly shortened and the sleeping time was significantly prolonged in the medium-dose and high-dose SV groups ($P < 0.05$). The open-arms time percentage (OT) and open-arms entries percentage (OE) in EPM model mice were increased significantly in the medium-dose and high-dose SV groups ($P < 0.05$); the content of GABA was increased significantly ($P < 0.05$) and the content of Glu was decreased significantly in the brain tissues in the high-dose SV group only ($P < 0.05$); the protein expression levels of GABA_{A α 1} and GABA_{A γ 2} were increased significantly in the medium-dose and high-dose SV groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** SV has sedative, hypnotic and anxiolytic effects, and its mechanism may be related to the regulation of GABA and Glu contents as well as the protein expression of GABA_{A α 1} and GABA_{A γ 2} in brain tissues.

[Key words] Schisandrae Chinensis Fructus vinegar (SV); sedative; hypnotic; anxiolytic

随着人们的工作学习压力日益加大,失眠人群的比例不断升高。调查显示,我国已有 38.4% 的人存在睡眠障碍;30% ~ 50% 的意外事故由睡眠障碍引起^[1]。因此,研发具有改善睡眠功能的保健食品意义重大。五味子为木兰科植物五味子的成熟干燥果实,是最早列于神农本草经的上品中药,其药用价值极高。具有收敛固涩,益气生津,补肾宁心之功。常用于梦遗滑精、心悸失眠等证^[2]。故以五味子为原料经现代发酵工艺酿造的果醋不仅具有五味子特有的果香和功效,而且兼具普通食醋的保健价值,同时也能提高五味子的利用率和附加价值。现代药理学研究表明,五味子水提物及醇提物均具有镇静催眠作用^[3-6]。有研究表明,五味子醋(Schisandrae Chinensis Fructus vinegar, SV)对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的保护作用,减肥降血脂作用,对动脉粥样硬化有一定的预防效果^[7],但目前尚无 SV 镇静催眠抗焦虑作用的相关报道。本研究通过自主活动仪观察 SV 的镇静作用;通过阈/阈下剂量戊巴比妥钠协同睡眠实验观察 SV 的催眠作用;通过高架十字迷宫观察 SV 的抗焦虑作用,并通过检测小鼠外周血和脑组织中谷氨酸(Glu), γ -氨基丁酸(GABA)水平以及脑组织中 GABA_A受体 α 1 亚单位(GABA_{A α 1})与 GABA_A受体 γ 2 亚单位(GABA_{A γ 2})蛋白的表达水平探讨其相关机制,以期为开发镇静催眠、抗焦虑药物及保健食品提供依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 ICR 小鼠,体质量(20 ± 2)g,由长春亿斯实验动物研究中心提供,合格证号为 SCXK(吉)2017-0003。分笼饲养小鼠,饲料供给充足、不限饮水,室温 20 ~ 25 °C,适应环境 7 d 后使用。本实验经过北华大学动物伦理委员会(IACUC)批准,符合动物实验伦理委员会指导原则。

1.2 药物及试剂 SV 由北华大学五味子开发及产业化工程研究中心提供(料液比为 1:10),实验前将 SV 稀释为 3 个剂量,分别为低、中、高剂量(体积分数为 25%, 50%, 100%)供实验试用;戊巴比妥钠(北京化学试剂公司,批号 090919);小鼠 GABA, Glu 酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒(美国 GBD 公司,批号分别为 170601, 170601);ECL 显色液(碧云天生物制品有限公司,批号 P0018-1, P0018-2); β -肌动蛋白(β -actin), GABA_{A α 1}, GABA_{A γ 2}单克隆抗体(美国 Abcam 科技公司,批号分别为 12661002, 12661032, 12661038)。

1.3 仪器 YLS-1A 型多功能小鼠自主活动记录仪和小动物行为学系统(成都泰盟科技有限公司);PowerPac Basic 型蛋白电泳仪、电转仪(美国 Bio-Rad 公司);ChampChemi Professional 型全自动多色荧光及化学发光凝胶成像系统(北京赛智创业科技有限公司);infiniteM200 型全自动酶标仪(瑞士

Tecan 集团)。

2 方法

2.1 动物分组及处理 将 ICR 雄性小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,正常组(灌胃蒸馏水,给药体积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$);地西洋组先以自主活动实验给予小鼠地西洋($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$);再以协同戊巴比妥钠阈/阈下剂量促睡眠实验及 EMP 焦虑小鼠行为学实验给予小鼠地西洋($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),仅于行为学实验前给药 1 次;SV 低剂量组(灌胃给予 25% SV),SV 中剂量组(灌胃给予 50% SV);SV 高剂量组(灌胃给予 100% SV)。除地西洋组外,其他各组每天灌胃 1 次,连续 7 d。于末次给药后 30 min 分别进行行为学实验,ELISA 和蛋白免疫印迹法(Western blot)检测。

2.2 SV 对小鼠自主活动的影响 各组小鼠于给药 30 min 后,分别置于自主活动记录仪中,适应 5 min 后开启自主活动仪,测定 5 min 内各小鼠的自活动次数和站立次数。

2.3 SV 协同阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠的影响 各组小鼠于给药 30 min 后,腹腔注射戊巴比妥钠 $37.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,记录 30 min 内翻正反射消失 1 min 以上的实验小鼠只数。

2.4 SV 协同阈剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠的影响 各组小鼠于给药 30 min 后,腹腔注射戊巴比妥钠 $49.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,记录小鼠的入睡和睡醒时间,计算小鼠的睡眠持续时间。

2.5 SV 对高架十字迷宫(elevated plus maze, EPM)焦虑小鼠行为学的影响 各组小鼠于给药 30 min 后,将小鼠从中央格面向闭合臂放入迷宫。记录并计算 5 min 内小鼠的进入开臂的次数率(OE),开放臂停留时间率(OT)。实验完成后将小鼠取出,将两臂清理干净,喷洒酒精除去气味,最后用 Xeye 动物行为学软件进行数据分析。

2.6 SV 对小鼠脑组织中神经递质含量的影响 行为学实验结束后,处死小鼠,于冰浴皿上快速取出大脑,剥去脑膜,用预冷的生理盐水洗净,滤纸吸干,称质量后置于试管中,加入脑质量 9 倍的生理盐水,高速匀浆制成质量分数 10% 的脑组织匀浆,进行 Glu, GABA 含量的检测,具体方法参照 ELISA 试剂盒说明书。

2.7 Western blot 检测 SV 对小鼠脑组织中 GABA_{Aα1} 及 GABA_{Aγ2} 蛋白的影响 取 2.6 项中 3 只小鼠大脑,加入裂解液,冰上裂解 1 h,高速离心取上清。以 BCA 法测定组织蛋白浓度,以 10% SDS-

PAGE 凝胶电泳分离 GABA_{Aα1} 及 GABA_{Aγ2} 蛋白。2 h 电转移至 PVDF 膜,取出膜在 Tris 缓冲液(TBS-T)中漂洗 5 min,然后用封闭液封闭 1 h(含 5% 脱脂奶粉的 TBS-T 缓冲液)。室温孵育后弃去封闭液,分别加入一抗 GABA_{Aα1} (1: 1 000), GABA_{Aγ2} (1: 1 000) 4 °C 孵育过夜后, TBS-T 洗 5 × 5 min。加入二抗(1: 2 000)温育 2 h, TBS-T 洗 5 × 5 min,最后加入 ECL 显色液显色。

2.8 统计学分析 使用 SPSS 22.0 软件对结果进行统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析(one way ANOVA)方法,两组间比较采用最小显著差异法 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠自主活动的影响 与正常组比较,地西洋组小鼠活动、站立次数均显著减少($P < 0.01$),SV 中、高剂量组小鼠活动、站立次数均明显减少($P < 0.05, P < 0.01$);SV 低剂量组小鼠未见明显差异。见表 1。

表 1 SV 对小鼠活动次数和站立次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of SV on number of times and standing times of mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体积分数/%	活动次数	站立次数
正常	-	13.80 ± 1.93	74.20 ± 4.52
地西洋	2 ³⁾	$6.90 \pm 1.09^{2)}$	$46.40 \pm 8.15^{2)}$
SV	25	11.33 ± 1.56	68.89 ± 4.92
	50	$8.33 \pm 1.39^{1)}$	$56.89 \pm 4.22^{1)}$
	100	$8.11 \pm 0.61^{1)}$	$51.78 \pm 5.14^{2)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; ³⁾ 表示单位为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (表 2~6 同)。

3.2 对协同阈下剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠只数的影响 与正常组比较,地西洋组小鼠睡眠只数明显增加,SV 各剂量组小鼠睡眠只数均有所增加。见表 2。

表 2 SV 对协同戊巴比妥钠阈下剂量诱导小鼠睡眠只数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of SV combined with pentobarbital sodium subcutaneous dose on sleep volume in mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体积分数/%	睡眠数/只
正常	-	1
地西洋	2 ³⁾	9
SV	25	2
	50	5
	100	6

3.3 对协同阈剂量戊巴比妥钠致小鼠睡眠的影响
与正常组比较,地西洋组小鼠睡眠潜伏期明显缩短、睡眠时间显著延长 ($P < 0.01$),SV 中、高剂量组小鼠睡眠潜伏期明显缩短、睡眠时间明显延长 ($P < 0.05, P < 0.01$);SV 低剂量组小鼠未见明显差异。见表 3。

表 3 SV 对协同阈剂量戊巴比妥钠对小鼠睡眠潜伏期和睡眠时间的影 响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of SV combined with pentobarbital sodium dose on sleep latency and sleep time in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体积分数/%	睡眠潜伏期	睡眠时间
正常	-	6.56 ± 0.36	33.78 ± 4.62
地西洋	2 ³⁾	4.33 ± 0.53 ²⁾	76.67 ± 5.67 ²⁾
SV	25	5.56 ± 0.36	31.44 ± 5.71
	50	5.00 ± 0.36 ²⁾	50.00 ± 5.19 ¹⁾
	100	4.67 ± 0.36 ²⁾	60.11 ± 7.12 ²⁾

3.4 对 EPM 焦虑小鼠行为学的影响 与正常组比较,地西洋组小鼠 OE 和 OT 明显升高 ($P < 0.01$);SV 中、高剂量组小鼠 OE, OT 明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$);SV 低剂量组小鼠未见明显差异。见表 4。

表 4 SV 对 EPM 焦虑小鼠 OE 和 OT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of SV on OE and OT of EPM anxiety mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体积分数/%	OE	OT
正常	-	44.86 ± 1.23	39.32 ± 2.97
地西洋	4 ³⁾	54.53 ± 2.92 ²⁾	50.85 ± 2.54 ²⁾
SV	25	48.90 ± 1.76	47.00 ± 2.58
	50	51.96 ± 1.40 ²⁾	51.00 ± 2.63 ¹⁾
	100	52.37 ± 2.10 ²⁾	51.03 ± 7.12 ²⁾

3.5 对小鼠脑组织中 GABA 和 Glu 含量的影响
与正常组比较,SV 高剂量组小鼠脑组织中 GABA 含量明显增加, Glu 含量明显降低,SV 低、中剂量组未见明显差异;SV 中、高剂量组小鼠 GABA 与 Glu 的比值明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$),SV 低剂量组未见明显差异。见表 5。

表 5 SV 对小鼠脑组织 GABA 和 Glu 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of SV on GABA and Glu contents in brain tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体积分数/%	GABA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	Glu 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	GABA/Glu
正常	-	43.59 ± 3.78	57.77 ± 2.60	0.78 ± 0.09
SV	25	48.89 ± 4.86	50.63 ± 4.71	1.01 ± 0.10
	50	50.26 ± 3.86	49.40 ± 3.65	1.04 ± 0.06 ¹⁾
	100	66.97 ± 5.70 ²⁾	42.52 ± 3.51 ²⁾	1.76 ± 0.28 ²⁾

3.6 对小鼠脑组织 GABA_{Aα1} 和 GABA_{Aγ2} 蛋白表达的影响
与正常组比较,SV 中、高剂量组小鼠脑组织 GABA_{Aα1} 和 GABA_{Aγ2} 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05, P < 0.01$),SV 低剂量组未见差异,见图 1 及表 6。

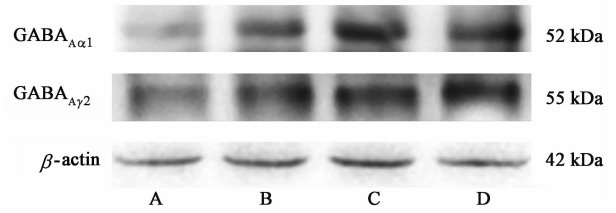


图 1 各组小鼠脑组织中 GABA_{Aα1} 和 GABA_{Aγ2} 蛋白表达电泳

Fig. 1 Protein expression electrophoresis diagram

表 6 SV 对小鼠脑组织 GABA_{Aα1} 和 GABA_{Aγ2} 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Effect of SV on protein expression of GABA_{Aα1} and GABA_{Aγ2} in brain tissue of mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	体积分数/%	GABA _{Aα1} / β -actin	GABA _{Aγ2} / β -actin
正常	-	2.80 ± 0.28	3.14 ± 0.23
SV	25	5.18 ± 1.51	5.57 ± 1.51
	50	7.07 ± 1.75 ¹⁾	6.78 ± 1.86 ¹⁾
	100	10.57 ± 2.51 ²⁾	11.05 ± 2.71 ²⁾

4 讨论

醋制品作为保健食品,已广泛被人们接受^[8-9]。本研究所用 SV 由吉林省五味子开发及产业化工程研究中心将优质五味子干果经筛选、破碎、酶解、发酵、调味等先进工艺制成^[10-11]。本研究通过对其镇静、催眠、抗焦虑作用进行观察,以期开发具有镇静催眠抗焦虑作用的醋制品提供依据。

小鼠自主活动实验是一项评价中枢系统兴奋性的经典实验,小鼠大脑中枢的兴奋性与自主活动次数成正相关^[12-13]。本实验观察了 SV 对小鼠自主活动的影响,结果显示 SV 可明显减少小鼠的自主活动次数,提示 SV 具有镇静作用。

戊巴比妥钠是精神类药物,对中枢神经系统有抑制作用,因剂量不同而表现为镇静、催眠、抗惊厥等不同作用^[14]。本实验采用阈下/阈剂量戊巴比妥钠协同睡眠实验观察小鼠睡眠只数、睡眠潜伏期和睡眠时间。结果显示 SV 可增加阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠潜伏期并延长其睡眠时间,提示 SV 具有催眠作用。

高架十字迷宫是评价啮齿类动物焦虑反应的实验方法^[15]。一般认为进入开臂次数比例和进入开

臂时间比例与焦虑的程度直接相关^[16-17]。结果显示 SV 能增加小鼠进入开臂次数比例和开臂停留时间,提示 SV 具有一定的抗焦虑作用。提示 SV 的镇静催眠及抗焦虑作用一定的剂量效应关系。

GABA 是中枢神经系统中重要的抑制性神经递质,约 30% 的中枢神经突触部位以 GABA 为递质^[18-19]。相关研究证实,当机体内 GABA 缺乏时,会产生焦虑、不安等情绪^[20]。Glu 是神经系统中最重要的兴奋性神经递质之一,具有神经毒性。研究证明,脑组织 Glu 和 GABA 含量及其受体功能的改变参与睡眠-觉醒过程,在睡眠的调节中发挥重要作用^[21-22]。结果显示 SV 能够提高小鼠脑组织 GABA 含量、降低 Glu 的含量,提示 SV 的镇静催眠及抗焦虑作用与增加 GABA 含量,降低 Glu 含量有关。

GABA 受体亚型中 GABA_A 受体激活 Cl⁻ 通道开放,突触后膜超级化后产生抑制性突触后电位,抑制神经元放电,可直接抑制大脑组织促觉醒类神经元及神经递质的兴奋性作用,达到镇静、催眠作用^[23-24]。GABA_{Aα1}, GABA_{Aγ2} 是 GABA_A 受体的重要亚型,结果显示 SV 可使小鼠脑组织中上述两种受体亚型的表达量增加,提示 SV 的镇静催眠及抗焦虑作用与上调 GABA_{Aα1}, GABA_{Aγ2} 表达有关。

在血清试剂盒与蛋白质印迹实验结果中,因为阳性药物地西洋仅于行为学实验前给药 1 次,只作为明确的镇静催眠对照,且其对 GABA_{Aα1} 和 GABA_{Aγ2} 蛋白尚并不明确,故无阳性药物结果。

综上所述,SV 具有镇静、催眠及抗焦虑作用。该作用与其调节小鼠脑组织中 GABA, Glu 含量及 GABA_{Aα1}, GABA_{Aγ2} 受体表达有关。

[参考文献]

[1] 刘敬霞,李建生. 苦参及其有效成分治疗失眠症研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 284-288.

[2] 王楠,全吉淑,吕士杰. 五味子有效成分及药理作用研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2016, 37(3): 213-216.

[3] 陈金锋,高家荣,季文博,等. 酸枣仁-五味子药对镇静催眠作用及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(4): 128-131.

[4] 常翠,宋玲玲,杨宏图,等. 不同比例五味子宁神口服液镇静催眠作用研究[J]. 中国药师, 2008, 11(8): 884-886.

[5] 王雯雯,仰榴青,李永金,等. 南、北五味子提取物对小鼠镇静、催眠作用的影响[J]. 江苏大学学报: 医学版, 2008, 18(2): 122-123, 12.

[6] 霍艳双,陈晓辉,李康,等. 北五味子的镇静、催眠作

用[J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22(2): 126-128.

[7] 殷路萍. 五味子酒、醋功能特性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[8] 席青,张德纯. 醋的保健功能及其制品的研究现状[J]. 中国微生态学杂志, 2010, 22(10): 954-957.

[9] 林耀良. 食醋与保健[J]. 上海调味品, 1998, 3: 35-36.

[10] 章国洪,谭福华,章丽霞,等. 论食醋功能及产品多样化现状[J]. 中国调味品, 2013, 38(3): 21-24.

[11] 汪晓琳. 双菌株混合发酵生产桑葚果醋工艺的研究[J]. 中国调味品, 2017, 42(7): 100-105.

[12] 杜楠,王黎恩,师晓荣,等. 5-HT_{1A}和 5-HT_{2A/2C}受体在粉防己碱增强戊巴比妥钠睡眠中的介导作用(英文)[J]. 中国药理学, 2008, 17(3): 192-196.

[13] 王春梅,李贺,孙靖辉,等. 北五味子多糖抗焦虑和镇静催眠作用[J]. 食品科学, 2015, 36(13): 239-242.

[14] Levitt R, Webb W B. Effect of pentobarbital Sodium on sleep latency and length of sleep in the rat[J]. Nature, 1964, 204(4958): 605-606.

[15] 王维刚,吴文婷,周嘉斌,等. 小鼠动物实验方法系列专题(五)应用高架十字迷宫分析小鼠焦虑行为[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(5): 466-472.

[16] Ambrogio L C, Bucherelli C, Giachetti A. Passive and active avoidance behavior in the light-dark box test[J]. Physiol Behav, 1984, 32(4): 685-687.

[17] 张燕,郑伟,丁莹,等. BALB/c 和 C57BL/6J 小鼠高架十字迷宫焦虑表现行为比较[J]. 疾病预防控制通报, 2012, 27(3): 18-20.

[18] Fritschy J, Mohler H. GABA_A-receptor heterogeneity in the adult rat brain: differential regional and cellular distribution of seven major subunits [J]. J Comp Neurol, 1995, 359(1): 154-156.

[19] ZHANG F Y, JING-JING L I, ZHOU Y, et al. Review for sedative and hypnotic mechanism of sedative traditional Chinese medicine and relative active components on neurotransmitters[J]. Chin J Chin Mate Med, 2016, 41(23): 4320-4327.

[20] Sorra K, CHEN C S, CHANG C F, et al. Synthesis, anticonvulsant, sedative and anxiolytic activities of novel annulated pyrrolo[1,4]benzodiazepines[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(9): 16500-16510.

[21] Gottesmann C. GABA mechanisms and sleep [J]. Neuroscience, 2002, 111(2): 231-232.

[22] 祝玲,刘诗翔. 失眠症的神经递质研究[J]. 神经病学与神经康复学杂志, 2011, 8(1): 51-53.

[23] Modirrousta M, Mainville L, Jones B E. Gabaergic neurons with α2-adrenergic receptors in basal forebrain and preoptic area Express c-Fos during sleep [J]. Neuroscience, 2004, 129(3): 803-805.

[24] Watson C J, Lydic R, Baghdoyan H A. Sleep and GABA levels in the oral part of rat pontine reticular formation are decreased by local and systemic administration of morphine [J]. Neuroscience, 2007, 144(1): 375-386.

[责任编辑 周冰冰]