

益智仁挥发油对大鼠快动眼睡眠剥夺恢复后脑组织 氨基酸类神经递质含量及其受体表达的影响

崔开宇, 王平, 游秋云*

(湖北中医药大学药学院, 武汉 430065)

[摘要] 目的:观察益智仁挥发油对大鼠快动眼(REM)睡眠剥夺恢复后脑组织氨基酸类神经递质 L-谷氨酸(Glu)及 γ -氨基丁酸(GABA)含量及其受体表达的影响。方法:将 Wistar 大鼠随机分为空白对照组(等容生理盐水),REM 睡眠剥夺恢复组(等容生理盐水),阳性对照组(安定 $0.18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),益智仁挥发油低、高剂量组($9, 27 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。各组灌胃给药 2 周后,除空白对照组外其余各组用自制改良多平台法剥夺大鼠睡眠 48 h 制作 REM 睡眠剥夺模型,睡眠恢复 6 h 后采用高效液相色谱法检测各组大鼠大脑皮质及下丘脑氨基酸类神经递质 Glu 及 GABA 含量变化,采用免疫组化染色和 mRNA 半定量 RT-PCR 法检测大脑皮质及海马部位 γ -氨基丁酸 A 受体(GABA_AR) α_1 和 γ_2 亚单位的表达变化,并观察益智仁挥发油对这些指标的影响。结果:与空白对照组比较,REM 睡眠剥夺恢复组大鼠大脑皮质及下丘脑 Glu 含量显著升高,而 GABA 含量显著降低($P < 0.01$),大脑皮质及海马部位的 GABA_AR α_1 和 γ_2 亚单位免疫化学累积吸光度明显较低($P < 0.01$),皮质部位 GABA_AR α_1 和 γ_2 mRNA 的表达均显著下调($P < 0.01$),经益智仁挥发油干预后各指标明显趋于正常状态改变($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论:REM 睡眠剥夺恢复可改变皮质及下丘脑部位氨基酸类神经递质 Glu, GABA 的释放,并使皮质及海马部位 GABA_AR α_1 和 γ_2 亚单位表达明显下调,益智仁的益智健脑作用机制与其调节神经递质含量及上调大脑皮质及海马部位 GABA_AR α_1 和 γ_2 亚单位的表达有关。

[关键词] REM 睡眠剥夺; 益智仁挥发油; 氨基酸类神经递质

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0223-05

[收稿日期] 20121107(022)

[基金项目] 湖北省科技厅 2010 年研究与开发计划项目(2010BCB004)

[第一作者] 崔开宇, 本科生, 从事中药药理学研究

[通讯作者] * 游秋云, Tel: 15337237059, E-mail: youqiuyun@126.com

- [2] 金其贯. 运动与内皮细胞内皮素和一氧化氮分泌的研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2002, 21(3): 292.
- [3] 杨小英, 梁蓓蓓, 黄志平, 等. 不同运动负荷大鼠主要器官各型 NOS 表达水平的研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(13): 2550.
- [4] 朱全, 浦宗, 张敏. 游泳方法建立大鼠模拟过度训练模型[J]. 中国运动医学杂志, 1998, 17(2): 137.
- [5] 赵彩霞, 付静波. 亚极量、极量负荷运动状态下人体血中一氧化氮的变化[J]. 现代康复, 2000, 4(9): 1354.
- [6] 熊正英, 刘海斌, 曲洪刚. α -硫辛酸对大强度耐力运动大鼠不同组织 NO 含量、NOS 活性的影响[J]. 天津体育学院学报, 2008, 23(1): 31.
- [7] 徐建方, 张漓, 冯连世, 等. 耐力训练与补充不同剂量 L-Arg 对大鼠股外肌 NOS 基因表达的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2004, 23(3): 142.
- [8] 毛雁, 韩晓燕, 熊正英, 等. 黄精提取物对耐力训练大鼠骨骼肌组织 NO-NOS 体系影响的实验研究[J]. 北京体育大学学报, 2008, 31(9): 1225.
- [9] 金玉祥, 陈嘉峰, 胡波, 等. 应激性防御反应过程中脑内 NO 合酶阳性神经元分布的变化[J]. 神经解剖学杂志, 2000, 16(1): 29.
- [10] 李倩虹. NO 合成酶 mRNA 在中枢和外周组织中的表达和分布[J]. 北京医科大学学报, 1994, 26: 1.

[责任编辑 聂淑琴]

Effects of Volatile Oil Extracted from *Alpinia oxyphylla* Fructus on Amino Acid Neurotransmitters and its Receptor Expression in Brain of the Model Rats with Sleep Deprivation Recovery

CUI Kai-yu, WANG Ping, YOU Qiu-yun*

(Pharmacy Institute of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of volatile oil extracted from *Alpinia oxyphylla* fructus (VOA) on amino acid neurotransmitters glutamic acid (Glu), gamma-aminobutyric acid (GABA) and its receptor expression in the brain of the model rats with the rapid eye movement (REM) sleep deprivation recovery. **Method:** Wistar rats were randomly divided into 5 groups: blank control, sleep deprivation recovery, positive control group, sleep deprivation recovery + high and low-dose VOA treatment. After two weeks of administration, model were established with REM sleep deprivation (SD) induced by mated-self multiple platform method (MMPM). Six hours later, the levels of amino acid neurotransmitters Glu and GABA were detected in cortex and hypothalamus of the model rats by HPLC. Using immunohistochemical staining and semi-quantitative analysis of a retrovirus-polymerase chain reaction (RT-PCR), γ -aminobutyric acid A receptor (GABA_AR) α_1 and γ_2 subunit expression were detected in cortical and hippocampal parts of the model rats. What's more, after intervention of VOA, those indicators were studied too. **Result:** Compared to blank control group, model group rat's content of Glu showed a considerable upper, while GABA showed a considerable down, GABA_AR α_1 and γ_2 subunit immunochemistry absorbance accumulated were lower significantly ($P < 0.01$) in cortex and hippocampus, and GABAAR α_1 , γ_2 mRNA expression showed lower significantly ($P < 0.01$) in cortex. While those indicators tended to the normal range after the treatment of VOA ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion:** REM sleep deprivation recovery could regulate amino acid neurotransmitters and make expression of GABAAR α_1 and γ_2 subunit markedly down in cerebral cortex and hippocampus. VOA can regulate amino acid neurotransmitters to normal state trend, and upward adjusting GABAAR α_1 and γ_2 subunit expression in the rat brain. This may be one of the mechanisms for VOA's affect of nourishing the brain and improving intelligence.

[Key words] sleep deprivation; volatile oil extracted from *Alpinia oxyphylla* fructus; amino acid neurotransmitters

中药益智仁是姜科多年生植物益智的干燥成熟果实,为中国四大南药之一,主产于海南、广东等地。益智仁具有暖肾固精、缩尿、温脾止泻之功效,临床多用于脾肾虚寒不固所致诸症^[1]。药理研究表明,益智仁具有抗应激、镇静催眠及对学习记忆改善的作用,具有延缓衰老等益智健脑功效^[2-4],但少见深入研究机制报道。为了进一步探索益智仁的安神益智健脑作用机制,本课题拟采用自制改良多平台睡眠剥夺法建立快动眼睡眠(REM)剥夺大鼠模型,待睡眠恢复后然后利用现代科学技术对大鼠脑部失眠相关特定代谢组分 L-谷氨酸(Glu)及 γ -氨基丁酸(GABA)含量及两者比值的变化、脑部 γ -氨基丁酸 A 受体(GABA_AR) α_1 和 γ_2 亚单位的表达加以检测分析,进一步探讨睡眠剥夺后恢复睡眠对脑神经递

质的调控作用及益智仁的作用及其机制,为临床合理用药提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 健康雌雄各半 Wistar 大鼠 80 只,体重(200 ± 20)g,由湖北省预防医学研究所提供,许可证号 SCXK(鄂)2003-0005。

1.2 药物与试剂 以 750 g 益智仁为原料,用水蒸气蒸馏法提取益智仁挥发油,得到益智仁挥发油 5 mL。分别将 0.6, 1.8 mL 挥发油加等量聚甲基山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80)乳化后,加生理盐水稀释定溶成 100 mL,折合成生药质量浓度分别为 0.9, 2.7 g · mL⁻¹。Glu, GABA 对照品(美国 Sigma 公司,批号 20071004),TRIzolTM 试剂(GIBCOBRI 公司,批号 20080104),逆转录试剂盒[宝生物工程(大

连)有限公司,批号 20080204]。

1.3 仪器与设备 睡眠剥夺箱(自制),为长宽高尺寸 72 cm × 48 cm × 30 cm 的鼠箱,内置 6 个直径 8 cm,高 8 cm 的平台,平台间间隔 16 cm,平台与鼠箱箱体壁间隔 8 cm,在平台周边注满水,水面距平台面约 1.0 cm,大鼠在平台上可自行饮食饮水,并可在不同平台上自由活动,于箱体上放平行的不锈钢丝笼罩,上面放水和食物;环境对照箱(自制),与睡眠剥夺箱相似,但在距其底部 8.0 cm 处不放置平台,而是放置一面细密铁丝网,大鼠在网上可自由活动,其他条件均与 REM 睡眠剥夺组相同,以形成与 REM 睡眠剥夺组相似的环境。Waters 高效液相色谱仪(美国);2487UV 检测器及 M32 色谱数据处理系统(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);电泳槽及 PCR 扩增仪(联想生物技术有限公司);凝胶成像系统(上海培清科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 将大鼠 80 只随机分为 5 组,分别为空白对照组,REM 睡眠剥夺恢复组,阳性对照(安定)组,益智仁挥发油高、低剂量组。每组 16 只。阳性对照组安定给药剂量为 $0.18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,益智仁挥发油高、低剂量组折合为生药剂量分别为 $27.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,给药容积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2 REM 睡眠剥夺模型的制作及给药^[5] 各组大鼠灌胃给药 14 d 后,除空白对照组外,将其余各组大鼠放入自制睡眠剥夺箱进行 REM 睡眠剥夺 2 d,当大鼠进入快动眼睡眠时相时,由于此期伴随全身肌肉张力降低、肌肉松弛和节律性垂头,大鼠会落入平台下面的水中而惊醒,再重新爬上站台,并继续保持原有姿势,维持清醒状态下站立。空白对照组大鼠给等容量的生理盐水,放入环境对照箱,以形成与模型大鼠 REM 睡眠剥夺时相似的水环境。睡眠剥夺后恢复睡眠 6 h,然后检测指标。

2.3 检测指标

2.3.1 检测氨基酸类神经递质 Glu 及 GABA 的含量 最后 1 次给药结束 40 min 后,^[6]用甲醇制备各组实验大鼠皮质、下丘脑部位脑组织匀浆,离心,沉淀,所得上清液即用来测定 2 种氨基酸的含量。^[7]然后配制氨基酸标准品储备液,配制衍生化试剂并使样品衍生化。色谱条件:色谱柱 Waters Nova-Pak C18(3.9 mm × 150 mm, 4 μm);流动相 A 为 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的醋酸钠缓冲液(pH 6.5),B 为乙腈-水(1:1,V/V),梯度洗脱程序 B 由初始时的 16% 经 10 min 增至 45%,25 min 至 85%;流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;

检测波长为 360 nm;柱温为 30 °C。取 100 μL 进样分析。采用外标法定量。在该色谱条件下,2 种氨基酸得到有效分离,保留时间为:Glu (5.80 min),GABA(14.00 min)。

2.3.2 GABA_ARα₁ 和 γ₂ 亚单位免疫组织化学染色和半定量检测分析^[8] 将实验大鼠麻醉,用多聚甲醛经心脏灌流固定。取双侧大脑半球制作石蜡切片。用 3% (质量分数)过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,正常山羊血清封闭 1 h,滴加兔抗大鼠 GABA_ARα₁ 和 γ₂ 亚单位的多克隆抗体(CHEMICON 公司,α₁ 亚单位抗体稀释体积比例为 1:400,γ₂ 亚单位抗体稀释体积比例为 1:200),4 °C 孵育过夜,应用 ABC 法免疫组织化学试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)进行免疫组织化学染色,具体过程见说明书。每个切片的相关区域以 ×400 倍随机分别留取 2 个视野,应用 Imagine-Pro 5.0 图像处理软件,计算累积吸光度(A),代表相关亚单位蛋白表达水平。

2.3.3 GABA_ARα₁ 和 γ₂ 亚单位 mRNA 半定量 RT-PCR 检测^[8] 将余下实验大鼠处死,取脑,提取 mRNA 用于 RT-PCR 实验。RNA 提取及 cDNA 合成参照试剂盒说明书进行[TRIzol™ 试剂购自 Gibcobi 公司;逆转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司],合成 cDNA 进行 PCR 扩增。采用 Primer 3 软件设计 RT-PCR 引物,GABA_ARα₁ 亚单位引物(上游引物 5'-TTGACTGTGAGAGCCGAATG-3',下游引物 5'-CAGAGCCGAGAACACGAAG-3',扩增片段长度 507 bp),GABA_ARγ₂ 亚单位引物(上游引物 5'-ACTATGTGGTTATGTCCGTGTA-3',下游引物 5'-TGTGTATCCTCCCGTGC-3',扩增片段长度 534 bp),内参照 β-actin 引物(上游引物 5'-CGAGAAGATGACCCAGATCA-3',下游引物 3'-AGGGCCGGACTCGTCATAC-5',扩增片段长度 234 bp)均由北京奥科生物有限公司设计合成。取 5 μL PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳分析,并用 Bio-Rad 影像系统对条带扫描,测定各个条带的吸光度(A),将各组的 GABA_AR 条带(A)与相应 β-actin A,得出 GABA_AR mRNA 的相对含量。

2.4 统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件包统计分析,显著性检验均采用组间 *t* 检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后脑组织氨基酸类神经递质含量的影响 与空白对照组比较,REM 睡眠

剥夺恢复组大鼠大脑皮质及下丘脑 Glu 含量显著升高 ($P < 0.01$), 而 GABA 含量显著降低 ($P < 0.01$); 与 REM 睡眠剥夺恢复组比较, 益智仁挥发油高、低剂量

组大鼠大脑皮质及下丘脑部位 Glu 含量明显下调 ($P < 0.01, P < 0.05$), 而 GABA 含量显著上调 ($P < 0.01, P < 0.05$), 并呈现一定量效关系。见表 1。

表 1 益智仁挥发油对大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后脑组织氨基酸类神经递质含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Glu		GABA	
		皮质	下丘脑	皮质	下丘脑
空白对照	-	519 \pm 13 ²⁾	507 \pm 15 ²⁾	228 \pm 11 ²⁾	235 \pm 10 ²⁾
REM 睡眠剥夺恢复	-	889 \pm 16	879 \pm 11	179 \pm 16	181 \pm 11
安定	0.18	586 \pm 15 ²⁾	543 \pm 14 ²⁾	234 \pm 11 ²⁾	257 \pm 11 ²⁾
益智仁挥发油	9	617 \pm 17 ¹⁾	578 \pm 14 ²⁾	205 \pm 17 ¹⁾	247 \pm 13 ²⁾
	27	601 \pm 11 ²⁾	493 \pm 10 ²⁾	253 \pm 14 ²⁾	251 \pm 10 ²⁾

注: 与 REM 睡眠剥夺恢复组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 对大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后脑组织 GABA_A R α_1, γ_2 亚单位的免疫组化染色 空白对照组 GABA_A R α_1, γ_2 亚单位表达主要分布在大脑皮质及海马部位。与空白对照组比较, REM 睡眠剥夺恢复组 α_1 亚单位免疫化学累积 A 在大脑皮质额叶明显下降 ($P < 0.01$), γ_2 亚单位的免疫化学累积 A 在海马 CA₄ 区明显下降 ($P < 0.01$); 与 REM 睡眠剥夺恢复组比较, 益智仁挥发油高、低剂量组在大脑皮质额叶区、海马 CA₄ 区免疫化学累积 A 明显增高 ($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 2。

表 2 益智仁挥发油对大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后脑组织 GABA_A R α_1, γ_2 亚单位免疫化学积分 A 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	额叶	海马 CA ₄
		GABA _A R α_1	GABA _A R γ_2
空白对照	-	33.15 \pm 8.65 ²⁾	99.37 \pm 15.32 ²⁾
REM 睡眠剥夺恢复	-	20.16 \pm 7.37	75.70 \pm 14.26
安定	0.18	32.78 \pm 6.98 ²⁾	95.35 \pm 15.38 ²⁾
益智仁挥发油	9	25.48 \pm 11.25 ¹⁾	89.39 \pm 17.29 ²⁾
	27	32.15 \pm 7.24 ²⁾	98.31 \pm 15.49 ²⁾

3.3 对大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后大脑皮质 GABA_A R α_1 和 γ_2 mRNA 表达的影响 与空白对照组比较, REM 睡眠剥夺恢复组大鼠大脑皮质部位 GABA_A R α_1 和 γ_2 亚单位 mRNA 的表达明显下降 ($P < 0.01$); 与 REM 睡眠剥夺恢复组比较, 益智仁挥发油大、低剂量组大鼠大脑皮质部位 GABA_A R α_1 和 γ_2 亚单位 mRNA 的表达明显增高 ($P < 0.01, P < 0.05$)。见表 3。

4 讨论

Glu 是中枢神经系统 (CNS) 中主要的兴奋性递质, 其释放的增加导致兴奋性神经毒性, 而 GABA

表 3 益智仁挥发油对大鼠 REM 睡眠剥夺恢复后大脑皮质 GABA_A R α_1 和 γ_2 亚单位 mRNA 相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	GABA _A R	
		α_1 mRNA	γ_2 mRNA
空白对照	-	1.34 \pm 0.14 ²⁾	1.31 \pm 0.14 ²⁾
REM 睡眠剥夺恢复	-	0.80 \pm 0.09	0.87 \pm 0.28
安定	0.18	1.22 \pm 0.13 ²⁾	1.17 \pm 0.20 ²⁾
益智仁挥发油	9	1.01 \pm 0.18 ¹⁾	1.22 \pm 0.14 ²⁾
	27	1.32 \pm 0.14 ²⁾	1.30 \pm 0.22 ²⁾

是 CNS 中重要的抑制性递质, 发挥突触后抑制作用, 同时参与了迟发性神经元损害过程。GABA/Glu 的比值对于维持神经细胞抑制与兴奋功能平衡的稳定具有极为重要的作用^[9]。前期实验研究已经证实, 失眠与中枢神经系统兴奋性氨基酸与抑制性氨基酸神经递质的平衡失调密切相关^[10]。失眠还可造成神经递质紊乱及脑神经元突触结构可塑性改变^[11-12], 另有实验证实益智仁挥发油具有脑保护作用^[13]。

由于大脑皮层是各种感觉信号输入的整合中枢, 下丘脑则通过对神经内分泌网络的调控而维持内环境稳定, 并参与睡眠、摄食、情绪反应等多项生理功能的调节, 因此本课题采用高效液相法检测了实验大鼠皮层和下丘脑部位的氨基酸类神经递质 Glu 和 GABA 的含量变化, 研究结果表明, 在经过 REM 睡眠剥夺 48h 后恢复睡眠 6 h, 与空白对照组相比, REM 睡眠剥夺恢复组大鼠大脑皮质及下丘脑的 2 个脑区部位 Glu 含量均明显增高, 而 GABA 含量明显下降, 神经功能的兴奋状态占优势。发生这种变化的原因可能是由于大鼠经过 REM 睡眠剥夺 48 h 后, 使大鼠持续处于被动睡眠障碍而出现极度

疲劳及中枢抑制症状,而之后的睡眠恢复使得神经递质发生反弹性调节,故本实验结果出现了兴奋性神经递质 Glu 含量增加而抑制性神经递质 GABA 含量下降甚为明显的现象。但该研究结果与相关报道不完全一致^[14],还有待于进一步研究。同时,实验研究结果还显示,益智仁挥发油大小剂量组均能使 REM 睡眠剥夺恢复组大鼠大脑皮质及下丘脑的两个脑区部位 Glu 含量明显下降,而 GABA 含量明显增加。发生这种变化的原因是益智仁挥发油的安神健脑作用与抑制中枢神经系统有关。

另外,介导 GABA 中枢效应的受体主要有 GABA-A 受体(GABA_AR)和 GABA-B 受体(GABA_B)两大类。其中 GABA_A 受体是很多临床常用的镇静、抗焦虑及抗惊厥药的靶受体。目前已发现的 GABA_A 受体亚单位共有 6 类 19 种,包括 α_{1-6} , β_{1-4} , γ_{1-4} , δ , ρ_{1-3} , ϵ 。在成熟脑中,GABA_AR α_1 与 γ_2 亚单位的组合在脑内广泛表达,是数量最多的 GABA_AR 亚型之一,它们同时又是 GABA_AR 的重要功能基团。GABA_AR 作为脑内最重要的抑制性受体,它诱导产生的抑制性突触后电位可强烈抑制神经元兴奋性,快速中断兴奋性传入。GABA 作用于 GABA_A 受体上 GABA 位点,使神经细胞膜的 Cl⁻ 通透性增加,在大多数情况下因细胞内离子浓度低于细胞外,故 Cl⁻ 顺浓度差进入细胞内,细胞膜内的负电位进一步增加,细胞由极化变为超极化,更难以去极化,兴奋性也相应下降^[15],从而表现为镇静、抗焦虑、遗忘和精神运动性损害。本实验通过检测发现 REM 睡眠剥夺模型大鼠在大脑额叶 α_1 亚单位表达明显减弱,同时还发现在海马 CA₂ 区的 γ_2 也明显减弱,而益智仁挥发油可明显上调大鼠脑内 GABA_AR α_1 和 γ_2 亚单位的表达。

综上所述,REM 睡眠剥夺恢复可重塑实验大鼠脑兴奋性和抑制性两种系统的平衡,造成皮质及下丘脑区 Glu/GABA 增大,而这些能减弱相应受体 GABA_AR 介导的基因转录通路。益智仁挥发油能够通过下调模型大鼠 Glu, GABA 两种氨基酸类神经递质的含量比值,来提高学习记忆能力作用,其机制可能与上调脑内 GABA_AR 介导的基因转录通路中的 GABA_AR α_1 和 γ_2 亚单位的表达有关。

[参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第

八册第二十四卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:605.

- [2] 孙莉,解霞,刘超,等. 益智仁对束缚应激致大鼠海马神经元 NMDA 受体亚基 NR2B 表达的调节作用[J]. 大连大学学报,2012,33(3):61.
- [3] 林耕,郭屹,斯建勇,等. 益智仁水提物的镇静催眠作用及对大鼠学习记忆影响的实验研究[J]. 中国中医药咨讯,2011,3(10):34.
- [4] 冯淑香,刘耀明,董俊兴. 中药益智仁化学成分与药理研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2003,17(5):58.
- [5] 张舜波,游秋云,吴丽丽. 酸枣仁总皂苷对老年阴血亏虚型失眠证候模型大鼠脑组织 Glu 及 GABA 含量的影响[J]. 湖北中医学院学报,2009,11(2):19.
- [6] 周卿,代广会,左巨波,等. RP-HPLC 法测定大鼠脑组织及脑脊液中四种氨基酸类神经递质的含量[J]. 遵义医学院学报,2006,29(4):395.
- [7] 王晓菲,罗晓星,周四元,等. RP-HPLC 法检测海马脑片潜流液中氨基酸类神经递质[J]. 第四军医大学学报,2002,23(5):426.
- [8] 薄涛,陈勇. 新生大鼠反复惊厥对脑内 γ -氨基丁酸 A 受体 α_1 和 γ_2 亚单位表达的长期影响[J]. 北京大学学报:医学版,2006,38(6):628.
- [9] 余东来,高妍,申刚义,等. 氨基酸类神经递质对中枢神经系统疾病作用的探讨[J]. 中央民族大学学报,2010,19(2):78.
- [10] 游秋云,王平,吴丽丽,等. 舒郁安神方对老年肝郁失眠证候模型大鼠学习记忆及脑组织 Glu、GABA 含量的影响[J]. 中国老年学杂志,2011,31(6):1006.
- [11] 朱蕾,张茹,李廷利. 刺五加对睡眠剥夺大鼠学习记忆及海马单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):219.
- [12] 范新六,李峰,宋月晗,等. 加味四逆散对异相睡眠剥夺大鼠前额叶皮质突触可塑性改变的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):150.
- [13] 黄凌,朱毅,常艳波. 益智仁挥发油对帕金森病模型小鼠脑内纹状体和黑质损伤的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2009,23(3):176.
- [14] 彭华,贺斌,赵忠新,等. 大鼠 REM 期睡眠剥夺及恢复后氨基酸类神经递质对空间记忆的影响及莫达非尼的干预[C]. 第十一届全国神经病学学术会议论文汇编. 上海:中华医学会神经病学分会,2008:667.
- [15] 喻东山. 睡眠的神经递质与精神药理[J]. 中国全科医学,2010,13(8):915.

[责任编辑 聂淑琴]