

基于网络药理学及分子对接技术探究半夏泻心汤治疗失眠的作用机制

谢康丽¹, 郑莉^{1,2*}, 余敏¹, 徐月彤¹, 杨超^{1,2}

¹湖北中医药大学第一临床学院, 湖北 武汉

²湖北中医药大学附属新华医院老年病科, 湖北 武汉

收稿日期: 2023年4月17日; 录用日期: 2023年6月12日; 发布日期: 2023年6月21日

摘要

基于网络药理学及分子对接技术探究半夏泻心汤治疗失眠的作用机制。方法: 通过TCMSP数据库, 获取半夏泻心汤中各药物的活性成分及其作用靶点, 利用UniProt数据库规范靶点名称。在OMIM、TTD、DrugBank、GeneCards数据库中检索失眠的相关靶点。运用在线Venny作图平台, 得到半夏泻心汤治疗失眠的潜在作用靶点。将得到的作用靶点导入String数据库构建PPI网络, 将所得蛋白互作信息导入Cytoscape3.9.1进行图像优化及提取核心基因, 并构建疾病-药物-成分-靶点网络图。利用Metascape平台分别对交集靶点进行GO富集分析及KEGG通路富集分析。将核心成分及靶点运用Autodock软件进行分子对接验证。结果: 得到半夏泻心汤有效成分184个, 靶点249个, 失眠相关靶点1701个, 交集靶点95个, 24核心靶点。富集分析得到GO条目1567条, KEGG通路185条, 主要涉及神经活性配体-受体相互作用通路、TNF信号通路等。分子对接结果显示, 上述活性成分与相关靶点具有较好的结合活性。结论: 本研究初步表明了半夏泻心汤可以通过多成分、多靶点、多通路治疗失眠, 为临床用药和进一步研究提供了一定参考。

关键词

半夏泻心汤, 失眠, 网络药理学, 富集分析, 分子对接, 作用机制

The Mechanism of Action of Banxia Xiexin Decoction in the Treatment of Insomnia Was Explored Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Kangli Xie¹, Li Zheng^{1,2*}, Min Yu¹, Yuetong Xu¹, Chao Yang^{1,2}

*通讯作者。

文章引用: 谢康丽, 郑莉, 余敏, 徐月彤, 杨超. 基于网络药理学及分子对接技术探究半夏泻心汤治疗失眠的作用机制[J]. 中医学, 2023, 12(6): 1298-1308. DOI: 10.12677/tcm.2023.126194

¹The First Clinical College of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan Hubei

²Department of Geriatrics, Xinhua Hospital Affiliated to Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan Hubei

Received: Apr. 17th, 2023; accepted: Jun. 12th, 2023; published: Jun. 21st, 2023

Abstract

To explore the mechanism of Banxia Xiexin Decoction in treating insomnia based on network pharmacology and molecular docking technology. **Methods:** The active ingredients and their targets in Banxia Xiexin Decoction were obtained by TCMSP database, and the target names were standardized by UniProt database. Relevant targets for insomnia were searched in OMIM, TTD, DrugBank, GeneCards databases. Using online Venny mapping platform, the potential targets of Banxia Xiexin Decoction for insomnia were obtained. The obtained targets were imported into String database to construct PPI network, and the protein interaction information was imported into Cytoscape 3.9.1 for image optimization and core gene extraction, and the disease-drug-component-target network map was constructed. GO enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed for intersection targets using Metascape platform. The core components and targets were verified by using Autodock software. **Results:** 184 effective components of Banxia Xiexin Decoction, 249 targets, 1701 insomnia related targets, 95 intersection targets and 24 core targets. Enrichment analysis showed that there were 1567 GO entries and 185 KEGG pathways, which mainly involved the neural active ligand-receptor interaction pathway and TNF signaling pathway. The results of molecular docking showed that the active constituents had good binding activity with related targets. **Conclusion:** This study preliminarily indicates that Banxia Xiexin Decoction can treat insomnia through multi-component, multi-target and multi-pathway, which provides certain reference for clinical medication and further research.

Keywords

Banxia Xiexin Decoction, Insomnia, Network Pharmacology, Enrichment Analysis, Molecular Docking, Mechanism of Action

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

失眠(insomnia)是一种常见的睡眠障碍, 主要以频繁而持续的入睡困难和(或)睡眠维持困难并导致睡眠感不满意为主要表现[1]。我国成人患病率为 10%~15% [2], 近半数严重失眠者症状可持续 10 年以上, 长期失眠可严重影响患者的生活、工作及身心健康, 使机体的免疫力低下, 同时可诱发多种躯体及精神疾病, 给家庭和社会带来沉重的负担[3] [4]。目前, 失眠的治疗主要采用药物治疗和心理疗法等方法, 临床一线药物治疗主要采用苯二氮草受体激动剂(BzRA)或褪黑素受体激动剂、具有镇静作用的抗抑郁药物等, 使用这些药物可以改善睡眠, 但不能治愈疾病, 且长期用药易产生药物不良反应及依赖性[5]。中医药在疾病的治疗上具有多成分、多靶点、多通路等特点, 临床应用安全有效, 在改善失眠方面具有独特的优势。

失眠属于祖国传统医学中“不寐”的范畴，古代文献常称之为“不得眠”“不得睡”“不得卧”“目不瞑”等[6]。早在两千多年前《素问·逆调论篇》就提出了“胃不和则卧不安”的理论[7]，后世医家对于其病机认识主要包含了胃为升降之枢，胃失和降影响营卫运行而致失眠。“胃不和则卧不安”中的“胃”，不是现代解剖学中的胃，而是中医学脏象之“胃”，是指整个胃肠系统及其机能集合。《灵枢·本输》云：“大肠小肠皆属于胃。”[8]现代研究表明，中枢神经系统与胃肠系统存在直接双向沟通的机制，各种精神因素的异常与应激等刺激会引起情绪、痛觉等高级中枢神经系统的变化，而后作用于脑-肠轴，进而影响胃肠运动和分泌等功能，进一步影响其精神状态，从而产生失眠等精神异常[9]。半夏泻心汤出自《伤寒论》，由半夏、黄芩、干姜、人参、黄连、甘草、大枣组成。王德明指出[10]，半夏泻心汤除了可以用于治疗慢性胃炎、胃溃疡等消化系统疾病，还可用于治疗失眠症。半夏泻心汤治疗失眠效果肯定，但仍处于临床研究中，其具体作用机制尚未阐明。

网络药理学[11]作为大数据时代背景下产生新兴学科，可以从系统层次和生物网络的角度出发，通过网络可视化方法展示了药物、疾病、基因、靶点之间的生物网络关系，为中药及其复方系统研究提供了新思路，为中药新药研发、临床合理用药等提供了新的科技支撑。本研究基于网络药理学及分子对接的研究方法，通过筛选半夏泻心汤有效化合物及作用靶点，分析其治疗失眠可能的信号通路及作用机制，为后续研究其治疗失眠提供药理学基础和参考依据。

2. 材料与方法

2.1. 半夏泻心汤中药活性成分及相关靶点的获取与筛选

半夏泻心汤由半夏、黄连、黄芩、干姜、甘草、人参、大枣七味药物组成，本研究通过中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP, <https://tcmsp.com/tcmssp.php>)将上述 7 味中药依次输入，以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和药物相似性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为条件进行筛选得到各药物的有效成分及其作用靶点，通过 UniProt (<https://www.uniprot.org>)数据库以“Reviewed”和“Human”作为筛选条件标准化处理获得与作用靶点相匹配的基因。

2.2. 失眠相关靶点的筛选

运用 OMIM (<https://www.omim.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、GeneCards (<https://genealacart.genecards.org/>)数据库以“insomnia”作为关键词进行搜索获取相关靶点，利用 Uniport 数据库对收集的靶点进行标准化处理，将结果合并后删除其中的重复疾病靶点，最终得到失眠疾病的相关靶点。

2.3. 获取药物与疾病交集基因

分别将“2.1”项所得到的药物活性成分基因与“2.2”项所得到的疾病基因导入在线绘图平台 Venne2.1.0 绘制韦恩图，并得出二者交集基因信息。

2.4. 半夏泻心汤 - 失眠靶点 PPI 网络构建

将“2.3”项所得的潜在作用靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org>)，将生物种类设定为“Homo sapiens”，最小互相作用阈值设为“medium confidence”(>0.4)，得到蛋白间的相互作用信息，保存互作网络图及 TSV 格式的 PPI 数据，将 PPI 数据文件导入 Cytoscape3.9.1 进行图像优化，再利用内置 CytoNCA 插件计算各靶点的 DC、BC、CC、EC、NC 和 LAC 数值，筛选出均大于等于中位数的节点作为核心靶点。

2.5. GO 及 KEGG 富集分析

利用 Metascape 数据库(<https://metascape.org/>)对交集靶点分别进行 KEGG 信号通路富集分析和 GO 通路富集分析。物种选择 H.Sapiens, 进行 Custom Analysis, 设置 $P < 0.01$, 获取 KEGG 数据及 GO 数据。GO 分析包含 3 个方面: 分子功能(molecular function, MF)、细胞成分(cell component, CC)和生物过程(biological process, BP)。KEGG 对基因与生物学通路的关系进行分析, 揭示关键基因可能的生物过程, 并得到与失眠关联及潜在机制中可能性较大的通路。通过微生信在线工具(www.bioinformatics.com.cn)将 KEGG 数据及 GO 数据进行可视化分析, 绘制 KEGG 通路富集气泡图及 GO 细胞组分、分子功能、生物过程三合一图。

2.6. 构建半夏泻心汤的“成分-靶点-通路”调控网络图

将“2.1”项获得的有效成分及“2.3”项获得的交集靶点及 KEGG 富集分析所得到的前 20 条通路, 运用 Cytoscape3.9.1 软件构建“成分-靶点-通路”网络图, 并运用其中 Network Analysis 分析该网络, 筛选出关键活性成分。

2.7. 分子对接

将“2.6”项获得的关键活性成分作为小分子配体, 从 TCMSp 数据库下载小分子的 MOL2 格式文件, 将“2.4”项获得的核心靶点作为受体蛋白, 从 RCSB PDB 数据库(<https://www.rcsb.org>)下载关键靶点蛋白的 PDB 格式文件, 使用 PyMOL 和 AutoDock 软件对蛋白结构进行去水、加氢等操作, 使用 AutoDock Tools 1.5.7 软件处理相关后保存为 pdbqt 格式, 然后进行分子对接, 再利用 PyMol 软件对结合能较小的组合进行可视化。

3. 结果

3.1. 半夏泻心汤有效成分及其靶点筛选结果

通过 TCMSp 数据库, 以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为标准筛选活性成分, 剔除没有靶点的成分, 最终得到 184 个活性成分, 其中半夏 12 个, 黄连 11 个, 黄芩 32 个, 干姜 5 个, 甘草 88 个, 人参 17 个, 大枣 19 个, 部分活性成分见表 1。 β -谷甾醇、黄连素、槲皮素、豆甾醇、黄芩素、山柰酚、富马碱等为多药共有的成分。同时收集活性成分相关作用靶点, 利用 UniProt 数据库将药物靶点规范为相应的基因名称, 去除重复靶点, 最终得到其活性成分可能作用的靶点 249 个。

Table 1. Some of the active ingredients of Banxia Xiexin Decoction

表 1. 半夏泻心汤部分活性成分

| 分子标识 MOL ID | 化合物 Compound | 生物利用度 OB% | 类药性 DL | 来源 Source |
|-------------|-----------------|-----------|--------|----------------|
| MOL000787 | Fumarine | 59.26 | 0.83 | 大枣、人参 |
| MOL000098 | Quercetin | 46.43 | 0.28 | 大枣、甘草、黄连 |
| MOL000449 | Stigmasterol | 43.83 | 0.76 | 大枣、黄芩、人参 |
| MOL000422 | Kaempferol | 41.88 | 0.24 | 甘草、人参 |
| MOL000358 | Beta-sitosterol | 36.91 | 0.75 | 大枣、黄芩、人参、干姜、半夏 |
| MOL000359 | Sitosterol | 36.91 | 0.75 | 黄芩、干姜、甘草 |
| MOL001454 | Berberine | 36.86 | 0.78 | 黄连、大枣 |
| MOL002714 | Baicalein | 33.52 | 0.21 | 黄芩、半夏 |

3.2. 失眠的潜在作用靶点

通过 OMIM、DrugBank、TTD、Gencards 数据库对失眠靶点进行筛选，经过汇总去重后共得到疾病相关靶点 1701 个。

3.3. 半夏泻心汤治疗失眠的潜在作用靶点

将 3.1 中获得的药物潜在靶点与 3.2 中获得的疾病相关靶点利用在线绘图平台 Venne2.1.0 绘制韦恩图得到交集靶点 95 个，见图 1。

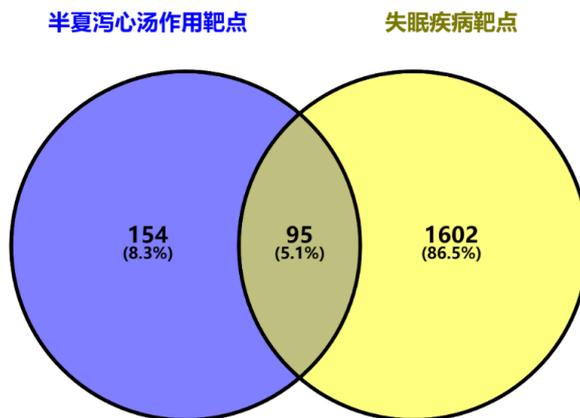


Figure 1. Intersectional targets of Han Xia Diarrhea Heart Soup and insomnia
图 1. 半夏泻心汤和失眠的交集靶点

3.4. 半夏泻心汤治疗失眠潜在靶点 PPI 网络构建

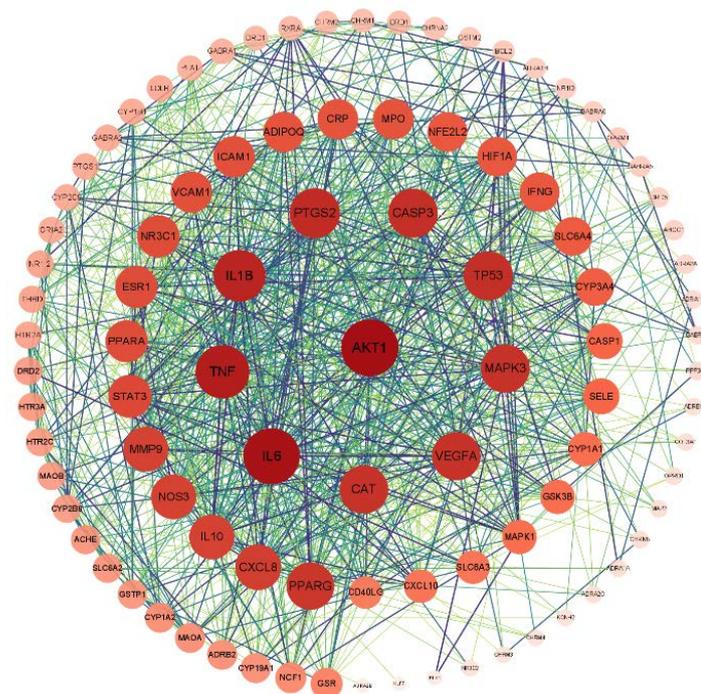


Figure 2. Gene network diagram of the intersection of Banxia Xiexin Decoction and insomnia
图 2. 半夏泻心汤与失眠交集基因网络图

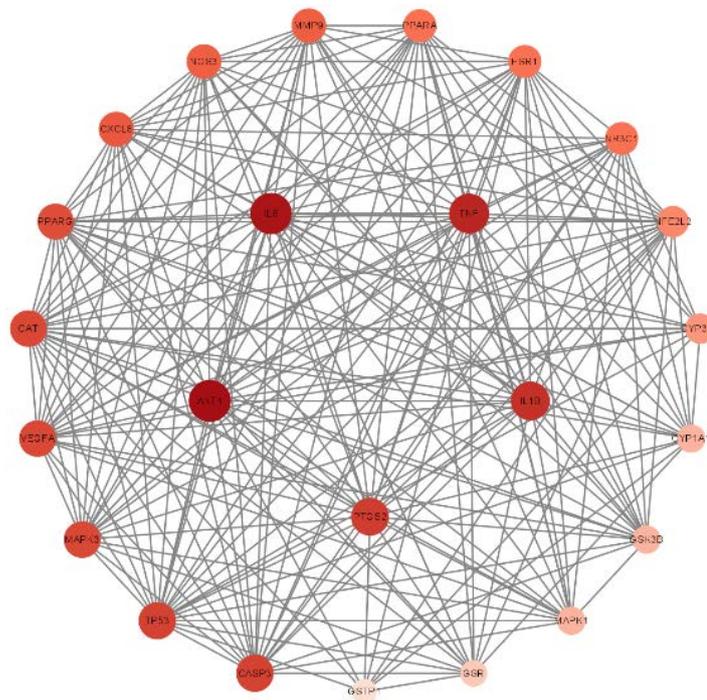


Figure 3. Core target map
图 3. 核心靶点图

将得到的交集靶点上传至 STRING 数据分析平台, 得到 PPI 网络及相关信息, 再运用 Cytoscape3.9.1 进行图像优化, 见图 2。网络图中共含有 95 个节点, 951 条边, 平均 Degree 值为 20.02。其中节点越大、颜色越深表示 degree 值越大, 边越粗、颜色越深代表节点间关联分值越高。通过分析所有节点, 得出 BC、CC、EC、LAC 以及 degree 的中位数分别为 40.58570361、0.487046632、0.047061466、7.6、17, 以此为条件共筛选出 24 个靶点, 提示其可能是半夏泻心汤发挥作用的关键靶点, 见图 3。

3.5. GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析结果

利用 Metascape 平台对半夏泻心汤治疗失眠的潜在作用靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析, 均保留 $P < 0.01$ 的结果, 得到 GO 条目 1567 条, 其中 CC79 条, 主要涉及突触后膜(postsynaptic membrane)、膜筏(membrane raft)、受体复合物(receptor complex)、谷氨酸能突触(glutamatergic synapse)等; BP1340 条, 主要涉及细胞对有机环状化合物的反应(cellular response to organic cyclic compound)、化学突触传递(chemical synaptic transmission)、对异生刺激的反应(response to xenobiotic stimulus)、血液循环(blood circulation)、对氧化应激的反应(response to oxidative stress)等; MF148 条, 主要涉及神经递质受体活性(neurotransmitter receptor activity)、G 蛋白偶联胺受体活性(G protein-coupled amine receptor activity)、儿茶酚胺结合(catecholamine binding)、血红素结合(heme binding)、胺结合(amine binding)、氧化还原酶活性(oxidoreductase activity)等, 对较重要的条目运用微生信在线工具绘制 GO 通路富集分析柱状图, 见图 4。

KEGG 通路富集分析共富集 185 条信号通路, 主要涉及脂质和动脉粥样硬化(Lipid and atherosclerosis)、神经活性配体 - 受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)、化学致癌 - 受体活化(Chemical carcinogenesis-receptor activation)、癌症的通路(Pathways in cancer)、TNF 信号通路(TNF signaling pathway)、CGMP-PKG 信号通路(CGMP-PKG signaling pathway)等, 对较重要的条目运用微生信在线工具绘制 KEGG 通路富集分析气泡, 见图 5。

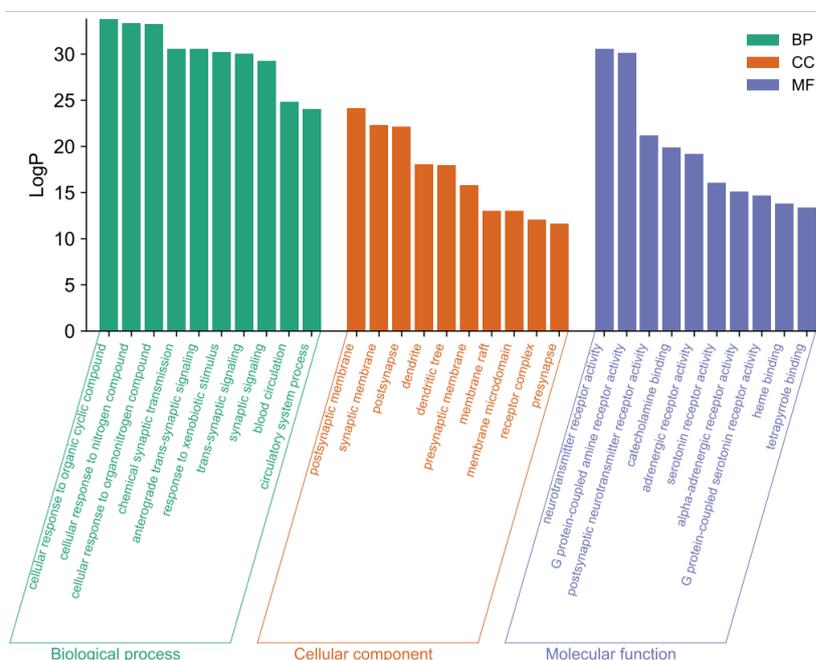


Figure 4. GO function enrichment analysis
图 4. GO 功能富集分析

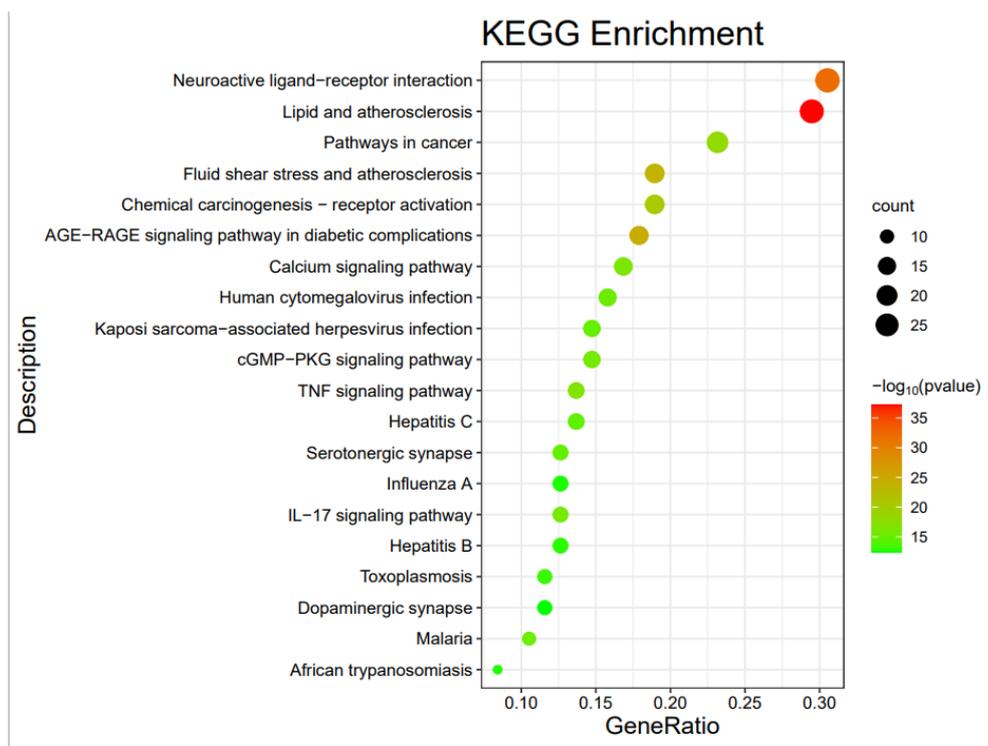


Figure 5. KEGG pathway enrichment analysis bubbles
图 5. KEGG 通路富集分析气泡

3.6. 半夏泻心汤的“成分 - 靶点 - 通路”网络图构建与分析

运用 Cytoscape3.9.1 软件构建“成分 - 靶点 - 通路”网络图，见图 6。其中正方形紫色节点为交集靶

点，圆形蓝色节点为活性成分，倒三角绿色节点为通路，节点的大小代表度值，面积越大说明该节点度值越高越重要。每条边代表活性成分、靶点、通路之间的相互作用关系。由网络图分析可知，作用靶点较多的关键活性成分有槲皮素(Quercetin)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)、山奈酚(kaempferol)、豆甾醇(Stigmasterol)、斯蒂芬琳(stepharine)等，见表2。

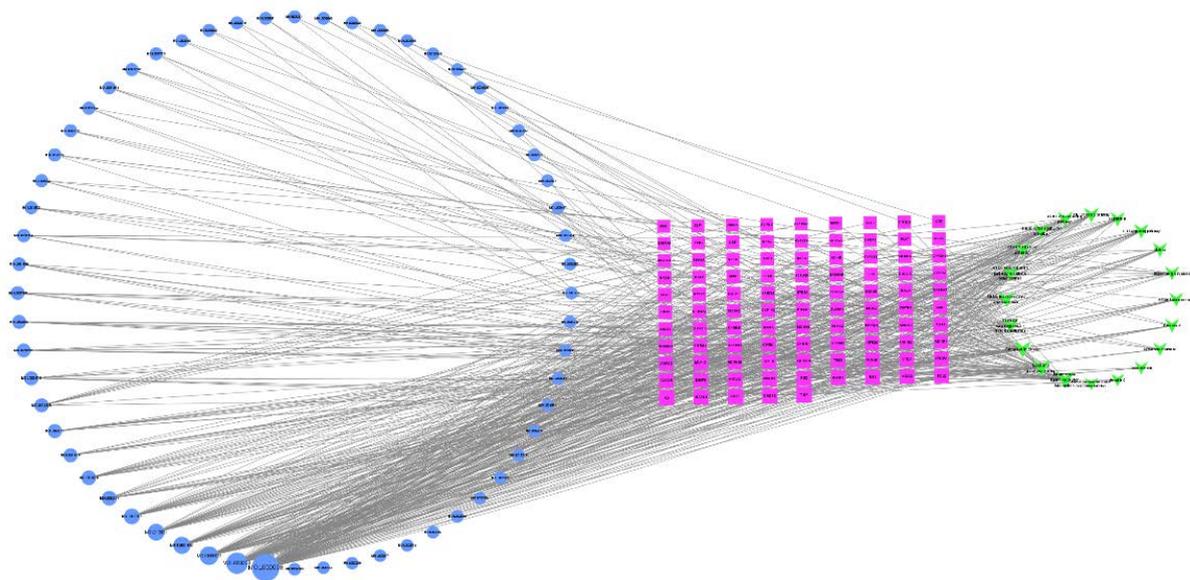


Figure 6. Composition-target-pathway diagram of Banxia Xiexin Decoction

图 6. 半夏泻心汤成分 - 靶点 - 通路图

Table 2. Table of key active ingredients

表 2. 关键活性成分表

| 分子标识 MOL ID | 化合物 Compound | 度值 Degree | 生物利用度 0B% | 类药性 DL |
|-------------|-----------------|-----------|-----------|--------|
| MOL000098 | Quercetin | 89 | 46.43 | 0.28 |
| MOL000358 | Beta-sitosterol | 52 | 36.91 | 0.75 |
| MOL000422 | Kaempferol | 36 | 41.88 | 0.24 |
| MOL000449 | Stigmasterol | 27 | 43.83 | 0.76 |
| MOL012921 | Stepharine | 25 | 31.55 | 0.33 |
| MOL002903 | (R)-Canadine | 19 | 55.37 | 0.77 |
| MOL002714 | Baicalein | 13 | 33.52 | 0.21 |

3.7. 分子对接结果

将筛选出的 degree 值排名前 3 的核心靶点 ATK1、IL6、TNF 与排名前 5 的有效效核心成分槲皮素(MOL000098)、 β -谷甾醇(MOL000358)、山奈酚(MOL000422)、豆甾醇(MOL000449)、斯蒂芬琳(MOL012921)进行分子对接，将对分值得记录下来，并用 Excel 将对接结果绘制成热图，见图 7。一般认为，结合能越小，受体与配体之间的活性越强，稳定性越高。分子对接结果显示，核心靶点与核心成分均有较强的结合能力，其中 β -谷甾醇与 ATK1、 β -谷甾醇与 IL6、豆甾醇与 ATK1 结合能较高，利用 Pymol 将部分对接可视化后见图 8~10。

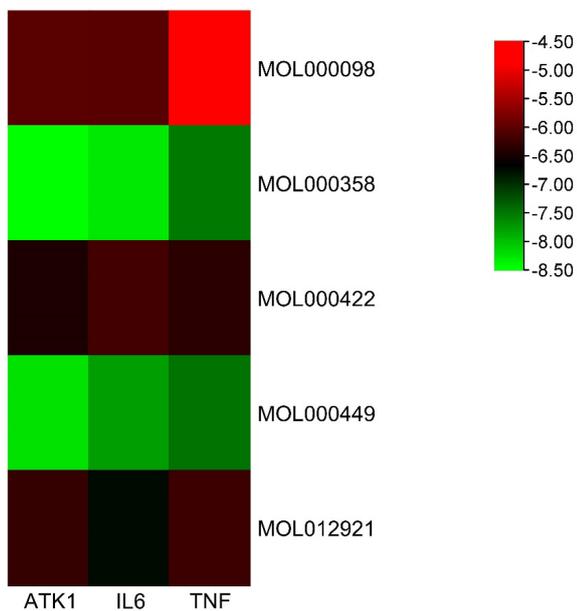


Figure 7. Molecular docking thermogram

图 7. 分子对接热图

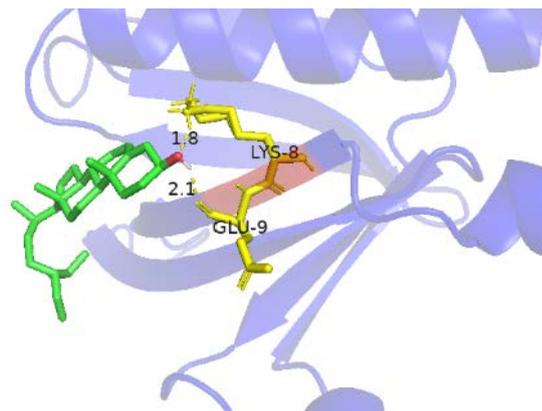


Figure 8. β -sitosterol and ATK1

图 8. β -谷甾醇与 ATK1

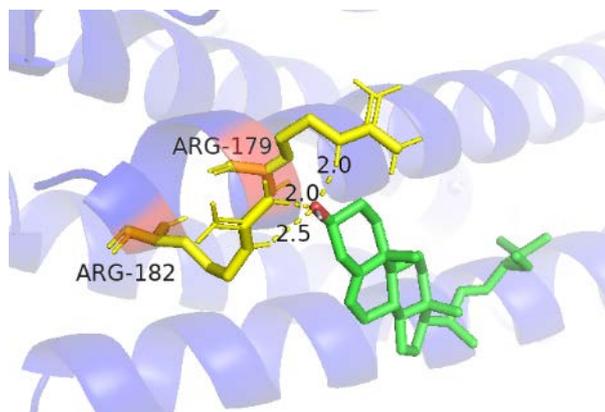


Figure 9. β -sitosterol and IL6

图 9. β -谷甾醇与 IL6

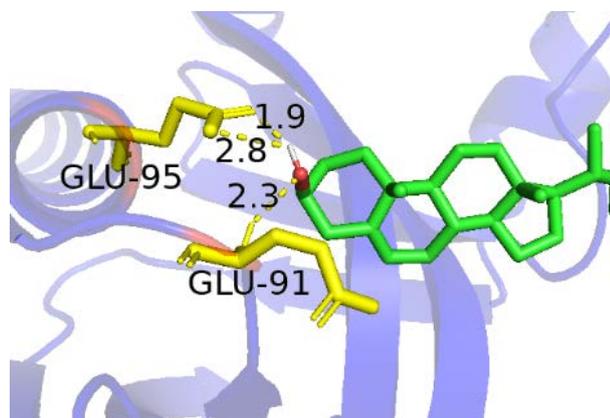


Figure 10. Soysterol and ATK1

图 10. 豆甾醇与 ATK1

4. 讨论

失眠作为一种常见的睡眠障碍，其发生主要与下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴、多巴胺、5-羟色胺、神经肽、乙酰胆碱、 γ 氨基丁酸等中枢神经递质因子和褪黑素、前列腺素 D2 等激素调节因子以及白细胞介素-1、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子等细胞因子调节下睡眠觉醒交替发生等因素有关[12]。现代医学把失眠的发生概括为三大因素：易感因素，诱发因素和持续因素[13]。中医学在《黄帝内经》中就提出了该病的总病机当属“营卫不和，阴阳不交”[14]，认为失眠的发生主要与涉及五脏，以心最多，同时与胃、胆等脏腑相关。病理性质上以实多虚少，亦见两者兼而有之。本研究主要通过网络药理学和分子对接技术，阐述半夏泻心汤治疗失眠的潜在作用机制。

网络药理学结果显示，槲皮素、 β -谷甾醇、山奈酚、豆甾醇等 184 个成分为治疗失眠的潜在活性成分，槲皮素、山奈酚均为黄酮类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗癌和保护神经等多种活性成分，对中枢神经具有抑制作用，具有一定改善睡眠的作用[15] [16]，已有研究表明，山奈酚对多种应激条件引起的神经元损伤具有保护作用。 β -谷甾醇可以通过血脑屏障，影响 GABA 神经突触通路，调节神经营养因子，并进入线粒体，提高线粒体跨膜电位和 ATP 量，从而减少神经元的凋亡，还可以抑制 NF- κ Bp65、p38 和 ERK 的磷酸化，减少小胶质细胞中促炎介质的产生，保护神经元[17]。有动物实验表明，豆甾醇有促进神经调节作用，可能有利于改善神经退行性疾病，可激活谷胱甘肽的神经活性、上调 γ -氨基丁酸(GABA)水平，下调多巴胺(DA)、丙二醛、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、乙酰胆碱酯酶(AChE)水平从而调节精神症状，改善脑功能[18]。

结合 PPI 网络分析可发现 ATK1、IL6、TNF 等为关键靶点。ATK1 基因编码的丝氨酸 - 苏氨酸蛋白激酶，可控制成人神经发生过程中新生神经元整合过程的速度，对神经系统的正常发育和功能至关重要。研究发现，在原发性失眠伴焦虑大鼠中 ATK1 的表达异常升高，而在症状改善后 ATK1 的表达明显下降[19]。有研究表明，失眠与某些炎症基因表达的调节有关，如 IL6、肿瘤坏死因子。大量的实验表明，TNF 参与睡眠调节，可以减少一氧化氮和自由基的产生，改变兴奋性神经介质传递，维持神经元的钙稳态和诱导神经营养因子的合成[20]。

KEGG 通路富集分析显示，半夏泻心汤治疗失眠主要涉及神经活性配体 - 受体相互作用、脂质和动脉粥样硬化、化学致癌 - 受体活化、癌症的通路、TNF 信号通路等。神经活性配体 - 受体相互作用与睡眠的神经化学机制相关，是神经元传导过程中的重要通路，目前认为的调节睡眠觉醒的分子因素都通过该通路发挥作用[21]。动脉粥样硬化会影响大脑动脉供血，如果动脉粥样硬化严重导致脑白质髓鞘病变非常严重，就会出现失眠、黑白颠倒、记忆力减退等这一系列的临床表现。TNF 通路是炎症反应的重要通

路, 免疫反应、免疫因子都会干扰睡眠, 研究表明大多数感染过程会延长慢波睡眠, 减少清醒和快波睡眠[22]。分子对接结果显示, 槲皮素、 β -谷甾醇、山奈酚等活性成分与靶蛋白 ATK1、IL6、TNF 等具有较好的对接活性, 提示半夏泻心汤的活性成分与靶蛋白稳定结合, 以此发挥治疗失眠的作用。

本文以半夏泻心汤为研究对象, 通过网络药理学的方法初步揭示了半夏泻心汤可以通过多个活性成分及作用靶点, 调节多条通路共同作用于失眠, 为半夏泻心汤的临床应用提供了参考。

基金项目

WJ2023M097 湖北省卫生健康委 2023~2024 年度面上项目; ZY2023Q010 湖北省中医药管理局 2023~2024 年度中医药青年人才项目。

参考文献

- [1] 刘帅, 张斌. 《中国失眠障碍诊断和治疗指南》解读[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2017(9): 633-638.
- [2] Sateia, M.J. (2014) International Classification of Sleep Disorders-Third Edition: Highlights and Modifications. *Chest*, **146**, 1387-1394. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0970>
- [3] 葛旭峰, 马长林, 张莉, 等. 失眠症患者多导睡眠图的临床研究[J]. 临床精神医学杂志, 2023, 33(1): 59-61.
- [4] Roth, T. and Drake, C. (2004) Evolution of Insomnia: Current Status and Future Direction. *Sleep Medicine*, **5**, S23-S30. [https://doi.org/10.1016/S1389-9457\(04\)90004-4](https://doi.org/10.1016/S1389-9457(04)90004-4)
- [5] 苏亮, 陆峥. 2017 年中国失眠症诊断和治疗指南解读[J]. 世界临床药物, 2018, 39(4): 217-222.
- [6] 于臻, 边新娜, 韩文文, 等. 失眠的中医证治研究进展[J]. 西部中医药, 2020, 33(1): 151-154.
- [7] 王亮, 王鹏, 侯晓圆, 等. 和胃安神方治疗失眠的网络药理学和分子对接机制研究[J]. 世界中医药, 2022, 17(5): 671-677.
- [8] 于晓艳. 论胃不和则卧不安[J]. 福建中医药大学学报, 2014, 24(3): 57-58.
- [9] 李静, 郑柳怡, 黄惠琼, 等. 补中益气安神汤对脾虚失眠大鼠 CREB/BDNF/TrkB 信号通路的影响[J]. 今日药学, 2021, 31(11): 834-838+843.
- [10] 王德民. 半夏泻心汤的临床应用体会[J]. 中国社区医师, 2018, 34(18): 103+105.
- [11] 《网络药理学评价方法指南》发布[J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40(5): 361.
- [12] 苟永鹏, 张筱微, 孙少卫, 等. 失眠症中西医治疗进展综述[J]. 中国疗养医学, 2022, 31(5): 483-491.
- [13] 许晓伍, 黄妙纯, 刘凤岚, 等. 失眠的病因学研究进展[J]. 世界睡眠医学杂志, 2017, 4(5): 307-312.
- [14] 刘恋, 李梦瑶, 吴清明. 《内经》关于睡眠与失眠理论探析[J]. 中医药通报, 2013, 12(5): 19-22.
- [15] 李智欣, 杨中平, 石宝霞, 等. 夜交藤中改善睡眠成分的研究[J]. 食品科学, 2007(4): 327-331.
- [16] 张胜, 张尧, 李彪, 等. 山奈酚对 CUMS 抑郁模型大鼠海马神经元过度自噬和氧化应激损伤的保护作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(2): 146-150+155.
- [17] 刘梦, 张文静, 吕穆杰, 等. 川芎红花药对“异病同治”缺血性脑卒中和失眠中的机制分析[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(4): 687-696.
- [18] Haque Md, N. and Moon, I.S. (2018) Stigmasterol Upregulates Immediate Early Genes and Promotes Neuronal Cytoarchitecture in Primary Hippocampal Neurons as Revealed by Transcriptome Analysis. *Phytomedicine*, **46**, 164-175. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.012>
- [19] 靳鸽, 冯志海, 赵一冰, 等. 回顾性“真实世界”研究原发性失眠中医证治规律及高频中药的作用机制[J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(5): 549-554.
- [20] Rockstrom, M.D., Chen, L., Taishi, P., et al. (2018) Tumor Necrosis Factor Alpha in Sleep Regulation. *Sleep Medicine Reviews*, **40**, 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2017.10.005>
- [21] Pandhare, A., Pappu, A.S., Wilms, H., et al. (2017) The Antidepressant Bupropion Is a Negative Allosteric Modulator of Serotonin Type 3A Receptors. *Neuropharmacology*, **113**, 89-99. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.09.021>
- [22] Ibarra-Coronado, E.G., Pantaleón-Martínez, A., Velázquez-Moctezuma, J., et al. (2015) The Bidirectional Relationship between Sleep and Immunity against Infections. *Journal of Immunology Research*, **2015**, Article ID: 678164. <https://doi.org/10.1155/2015/678164>