

辣木叶醇提物改善睡眠作用机制研究

高文荣¹ 刘威良¹ 赵冬梅²

(1. 曲靖师范学院云南省高校特色果酒技术创新与应用工程研究中心, 云南 曲靖 655011;

2. 云南中博食品科技集团有限公司, 云南 曲靖 655011)

摘要: [目的] 探究云南特色植物资源辣木叶改善睡眠作用机制。[方法] 通过靶向代谢组学技术检测辣木叶醇提物 (*Moringa oleifera* leaves ethanol extract, MOLEE) 化学组成; 体内采用保健食品规范 (小鼠自主活动、戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠试验)、戊四氮诱导小鼠惊厥试验评价 MOLEE 改善睡眠药效; 体外采网络药理学、分子对接和动力学模拟初步探究 MOLEE 改善睡眠作用机制。[结果] MOLEE 富含表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、芹菜素等活性成分, 其相对含量分别为 11.812, 18.071, 169.948, 20.152 $\mu\text{g/mL}$; 与空白组相比, MOLEE 高剂量组小鼠自主活动次数分别由 50.67 降至 40.75 ($P < 0.05$), 入睡率由 16.67% 提高至 58.33% ($P < 0.05$); 其高、低剂量组小鼠睡眠潜伏期分别缩短 76.14%, 76.39% ($P < 0.01$); 睡眠时长由 24.35 min 延长至 46.77, 46.54 min ($P < 0.01$); MOLEE 高、低剂量组显著降低戊四氮诱导惊厥的死亡率为 41.67%, 33.33% ($P < 0.05$); 网络药理学结果表明, 共检索出表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、芹菜素、山奈酚、槲皮苷、异槲皮苷、槲皮素 8 个核心活性成分, 对应 399 个靶点, 韦恩图得到 95 个共有靶点且经过拓扑分析表明, 8 个核心活性成分与失眠关键靶点 γ -氨基丁酸-A、肿瘤坏死因子、白介素-6、5-羟色胺-A 等受体蛋白密切相关并发挥改善睡眠作用; GO 及 KEGG 分析结果显示, MOLEE 核心成分通过调控 GABA 能神经传递、突触后膜电位调节以及昼夜节律等生物过程, 通过肿瘤坏死因子、丝裂原活化蛋白激酶、5-羟色胺、 γ -氨基丁酸能等信号通路发挥作用; 分子对接和动力学模拟表明, 8 个核心活性成分与 4 个失眠靶点受体蛋白结合紧密、稳定性强且验证了网络药理学预测结果的准确性。[结论] MOLEE 改善睡眠的物质基础为表儿茶素、芦丁等 8 个核心成分, 其通过多靶点、多途径改善睡眠。

关键词: 辣木叶醇提物; 改善睡眠; 动物行为学; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学

Exploration in the mechanism of alcohol extracts of *Moringa oleifolia* leaves in improving sleep

GAO Wenrong¹ LIU Weiliang¹ ZHAO Dongmei²

(1. Yunnan College Characteristics Fruit Wine Technology Innovation and Application Engineering Research Center,

Qujing Normal University, Qujing, Yunnan 655011, China; 2. Yunnan Zhongbo Food Technology Group Co.,

Ltd., Qujing, Yunnan 655011, China)

Abstract: [Objective] To explore the effect of *Moringa oleifera* leaves, a characteristic plant resource in Yunnan Province, on the sleep improvement mechanism. [Methods] The chemical composition of ethanol extract from *M. oleifera* leaves (MOLEE) is determined by targeted metabolomics technology. The efficacy of MOLEE in improving sleep is evaluated *in vivo* through health food standard assays (mouse autonomous activity monitoring, pentobarbital sodium-induced mouse sleep test, and pentylenetetrazole-induced mouse convulsion test). Network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation are employed *in vitro* to preliminarily investigate the mechanism of MOLEE on sleep-improving efficacy. [Results] MOLEE is rich in some active ingredients such as epicatechin, rutin,

基金项目: 云南省地方本科高校基础研究联合专项一面上项目 (编号: 202301BA070001-080, 202301BA070001-076); 曲靖市市校科技创新联合专项资金一重点项目 (编号: KJLH2023ZD04, KJLH2023ZD05)

通信作者: 刘威良 (1987—), 男, 曲靖师范学院讲师, 博士。E-mail: lw12046@126.com

收稿日期: 2025-04-25 **改回日期:** 2025-11-15

引用格式: 高文荣, 刘威良, 赵冬梅. 辣木叶醇提物改善睡眠作用机制研究[J]. 食品与机械, 2026, 42(3): 127-137.

Citation: GAO Wenrong, LIU Weiliang, ZHAO Dongmei. Exploration in the mechanism of alcohol extracts of *Moringa oleifolia* leaves in improving sleep[J]. Food & Machinery, 2026, 42(3): 127-137.

isoquercitrin, and apigenin, with their relative contents being 11.812, 18.071, 169.948, and 20.152 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Compared with the blank group, the high-dose MOLEE group significantly reduces the number of autonomic activities of mice from 50.67 to 40.75 ($P<0.05$), and the sleep onset rate increases from 16.67% to 58.33%. The sleep latency of mice in the high- and low-dose groups of MOLEE are shortened to 76.14%, 76.39%, respectively ($P<0.01$). The sleep duration is prolonged from 24.35 to 46.77 and 46.54 min, respectively ($P<0.01$). Additionally, the high- and low-dose groups of MOLEE significantly reduce the mortality rate of pentylenetetrazole-induced convulsions by 41.67% and 33.33% ($P<0.05$), respectively. The results of network pharmacology indicate that there are 8 core components of MOLEE, namely epicatechin, rutin, isoquercitrin, apigenin, kaempferol, quercitrin, isoquercitrin, quercetin, corresponding to 399 targets. The Venn diagram shows that there are 95 common targets, and topological analysis shows that the 8 core components are closely related to key insomnia targets such as gamma-aminobutyric acid A (GABA-A), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), and 5-hydroxytryptamine-A (5-HT-A) and other receptor proteins, and play a role in improving sleep. The results of GO and KEGG analysis indicate that the core components of MOLEE acted through regulating biological processes such as GABAergic neurotransmission, postsynaptic membrane potential regulation, and circadian rhythm, and through TNF, MAPK, 5-HT, and GABA signaling pathways. The molecular docking and dynamics simulations show that the eight core components are closely bound to the four key insomnia target proteins with strong stability, verifying the accuracy of the network pharmacology prediction results. [Conclusion] The material basis for MOLEE to improve sleep lies in its eight core components, including epicatechin and rutin, which exert their sleep-improving effects through multiple targets and multiple pathways.

Keywords: *Moringa oleifera* leaf ethanol extract; sleep-improving; animal ethology; network pharmacology; molecular docking; molecular dynamics

睡眠是一种复杂的神经生化过程,是人体不可或缺的生命活动之一。Zhang 等^[1]研究指出,快的社会生活节奏、慢性压力等不良因素的暴露会严重影响现代人睡眠质量,深度睡眠有助于提高免疫力、改善记忆及修复大脑受损神经元的 DNA。对于失眠的治疗,临床上常采用一些化学合成药物进行干预,长期服用会产生成瘾性、依赖性副作用^[2]。

辣木(*Moringa oleifera* Lam., MO)为多年生落叶乔木,原产于印度、巴基斯坦等地,于 19 世纪 60 年代初引种至中国云南^[3]。MO 为一种药食同源植物,民间用于治疗类风湿性关节炎、羊癫疯等病症^[4]。辣木叶为辣木树的叶子,2012 年获批为新资源食品^[5]。Bakre 等^[6]研究表明,辣木叶醇提物具有抗惊厥作用,可能与其含黄酮类活性物质有关。Ingale 等^[7]研究发现,辣木叶水提物具有抗癫痫和抗焦虑作用。张久旭等^[8]研究发现,辣木叶复方提取物具有改善睡眠作用,但具体作用机制不明确。

近年来,网络药理学、分子对接及分子动力学模拟技术被逐渐应用于功能食品研发,从分子水平探究某些天然功能成分与酶活作用机理,备受广大科研学者青睐。朱丽云等^[9]采用网络药理学探究了当归挥发油治疗失眠作用机制;李泽飞等^[10]采用分子对接与分子动力学模拟技术探讨了生慧颗粒有效成分对阿尔茨海默症伴随睡眠障碍作用及机制。研究拟以辣木叶为原料,制备其乙醇提取物(*Moringa oleifera* leaf ethanol extract, MOLEE),采用靶向代谢组学技术检测化学成分,戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠模型探究其改善睡眠作用,同时借助网络药理学、分子对接及分子动力学模拟技术探讨改善睡眠作用机制,以期为合理开发和有效利用辣木叶中改善睡眠功

能因子提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

辣木叶粉:过 100 目筛,云南天佑科技发展有限公司;
戊巴比妥钠(SP)、戊四氮(PTZ):美国 Sigma 公司;
舒乐安定:华中药业股份有限公司;
乙醇等化学试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

液相色谱仪:ACQUITY 型,美国 Waters 公司;
质谱仪:AB5000 型,美国 ABSCIEX 公司;
多功能小鼠自主活动仪:ZZ-6 型,四川成都泰盟科技有限公司;
旋转蒸发器:RE-52AA 型,上海亚荣生化仪器厂;
离心机:H1850-R 型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;
冷冻干燥机:FD-1A-50 型,北京博康实验仪器有限公司。

1.3 试验动物

SPF 级雄性 ICR 小鼠:体重 18~22 g,生产许可证 SCXK(湘)2021-0003,湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 MOLEE 制备 精密称取 1 kg 辣木叶粉,以料液比 1:10 (g/mL)加入体积分数为 70% 的乙醇,浸泡 3 d,过滤,滤渣按料液比 1:8 (g/mL)加入体积分数 70% 的乙醇浸泡 3 d,过滤,合并两次滤液,旋转蒸发浓缩,冻干,得 MOLEE 冻干粉,用无菌离心管分装置于低温保存备用。

1.4.2 MOLEE靶向代谢组学分析

(1) 待测样品前处理:参照Lei等^[11]的方法。取适量样品于2 mL离心管中,加入600 μ L甲醇,漩涡震荡60 s,室温超声15 min,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心5 min,上清液用80%甲醇稀释20倍,过0.22 μ m滤膜,滤液备用。

(2) 色谱条件:参照余洪涛^[12]的方法。采用C₁₈色谱柱,柱温40 $^{\circ}$ C,进样量5 μ L,流动相A为0.1%甲酸水,流动相B为甲醇,流速0.25 mL/min,梯度洗脱。

(3) 质谱条件:采用负离子电离模式,电喷雾电离源,多重反应监测。

1.4.3 试验动物分组及给药 参照高文荣等^[13]的方法。小鼠按体重随机分为空白组、安定组(1 mg/kg)、MOLEE高剂量组(500 mg/kg)、MOLEE低剂量组(250 mg/kg),每组12只,连续灌胃14 d。空白组灌胃蒸馏水,安定组仅试验当天给药,其余时间段同空白组。

1.4.4 对小鼠自主活动的影响 参照裴珊珊等^[14]的方法,末次给药30 min后,将小鼠投入自主活动记录仪中,测试5 min内小鼠活动次数。

1.4.5 对阈下剂量SP诱导小鼠睡眠率的影响 参照Wu等^[15]的方法,末次灌胃30 min后,腹腔注射阈下剂量SP溶液(30 mg/kg),小鼠翻正反射消失1 min以上者记为入睡,观察并统计15 min内各组入睡小鼠数量。

1.4.6 对阈剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠作用的影响

参照刘威良等^[16]的方法,末次灌胃30 min后,给予阈剂量SP溶液(50 mg/kg),观察并记录小鼠睡眠潜伏期和睡眠持续时间。

1.4.7 对戊四氮诱导小鼠惊厥的影响 参照González-Trujano等^[17]的方法,末次灌胃30 min后,给予PTZ溶液(100 mg/kg),观察并记录各组小鼠惊厥及死亡情况。分别按式(1)、式(2)计算死亡率和死亡保护率。

$$M = \frac{A}{B} \times 100\%, \quad (1)$$

$$N = \frac{C-D}{C} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

M——小鼠死亡率,%;

A——每组惊厥小鼠死亡数;

B——每组小鼠总数;

N——小鼠死亡保护率,%;

C——空白组死亡小鼠数;

D——给药组死亡小鼠数。

1.4.8 网络药理学分析 参照吴紫千等^[18]的方法。

(1) 中药成分、疾病靶点信息查询以及韦恩图制作:通过数据库swisstarget等进行靶点预测。以“Insomnia(失眠)”为关键词,使用GeneCard等数据库对人类基因检索。此外,将筛选出的药物与疾病靶点输入软件中(Venny

2.1)制作韦恩图。

(2) 构建蛋白互作网络(PPI):设定生物种类为“智人”,将“药物—疾病”共有靶点输入String数据库完成PPI网络构建。

(3) 疾病—靶点—成分网络:将成分、疾病及相应靶点导入cytoscape 3.10.0软件中完成网络图创建。

(4) GO(基因本体)功能和KEGG(京都基因组百科全书)通路富集分析:将疾病与药物共有靶点进行GO的生物过程、分子功能、细胞组分富集;借助String数据库按条件筛选($P < 0.05$)项目进行KEGG通路富集分析并绘制气泡图。

1.4.9 分子对接和分子动力学模拟 分别从PubChem、PDB”数据库中下载小分子的3D、改善睡眠相关受体蛋白晶体结构,并在MMFF94力场下进行能量最小化,采用AutoDock Vina 1.1.2等软件完成分子对接工作^[19-20]。分子动力学模拟则依据分子对接结果并采用AMBER18软件操作。

1.4.10 数据处理 采用SPASS 22软件进行卡方检验分析,采用T检验进行数据分析, $P < 0.05$ 代表有统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 靶向代谢组学分析

由图1和表1可知,MOLEE中共检出22种黄酮、多酚类物质,如表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、芹菜素、山奈酚、木犀草素、槲皮素、槲皮苷等活性成分,相对含量分别为11.812, 18.071, 169.948, 20.152, 1.294, 1.445, 2.106, 0.646 μ g/mL。槲皮素、芦丁和山奈酚具有改善睡眠作用^[6],推测辣木叶改善睡眠作用可能与其所含活性成分有关。

2.2 对小鼠自主活动的影响

小鼠自主活动试验是评价镇静药物的一种公认方法^[16]。有研究^[21]发现,北五味子根叶提取物可显著减少小鼠自主活动次数,表现出良好的镇静作用。由图2可知,与空白组相比,安定组效果最佳($P < 0.001$);MOLEE高、低剂量组均能减少小鼠自主活动次数,且高剂量组具有显著性差异($P < 0.01$)。

2.3 对阈下剂量SP诱导小鼠睡眠作用的影响

由图3可知,与空白组相比,安定组明显协同阈下剂量SP诱导小鼠睡眠($P < 0.001$),入睡小鼠12只;MOLEE高、低剂量组均能不同程度协同阈下剂量SP诱导小鼠睡眠作用,且高剂量组具有显著性差异($P < 0.05$)。SP代谢主要通过肝药酶进行^[16],若所筛药物对肝药酶有抑制作用亦可以延长SP诱导小鼠睡眠时间,因此,采用阈下剂量来排除此类影响。综上,辣木叶协同SP睡眠作用非抑制肝药酶代谢。

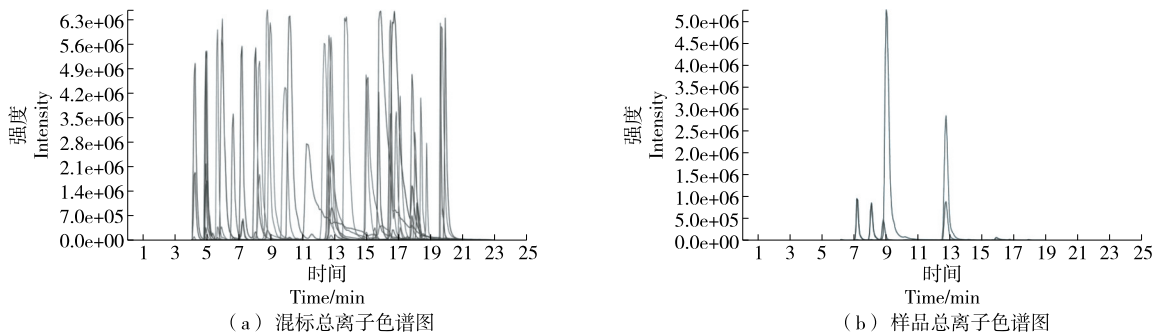


图 1 MOLEE靶向代谢组学总离子图谱

Figure 1 Total ion chromatogram of targeted metabolomics of MOLEE

表 1 MOLEE 中主要黄酮类活性物质组成及含量[†]

Table 1 Composition and content of main flavonoid active substances in MOLEE

名称	保留时间/min	含量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	名称	保留时间/min	含量/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
白杨素	19.70	$0.012\pm0.000\ 3$	二氢杨梅素	4.93	$0.023\pm0.001\ 7$
大豆苷元	15.00	ND	葛根素	4.95	ND
甘草素	13.70	ND	异牡荆素	8.03	$0.007\pm0.000\ 6$
芒柄花黄素	18.80	ND	牡荆素	7.16	$0.036\pm0.001\ 4$
芹菜素	18.00	$20.152\pm0.470\ 2$	染料木苷	10.20	ND
染料木素	17.10	ND	黄芩苷	15.10	$0.261\pm0.003\ 0$
柚皮素	16.50	$0.009\pm0.000\ 0$	黄豆黄苷	5.89	ND
黄豆黄素	5.91	ND	黄芪苷	12.70	$77.477\pm0.083\ 6$
鹰嘴豆芽素 A	19.60	$0.001\pm0.000\ 0$	槲皮苷	12.40	$0.646\pm0.031\ 6$
漆黄素	12.80	$0.023\pm0.006\ 3$	木樨草苷	8.27	$0.096\pm0.001\ 4$
山奈酚	17.90	$1.294\pm0.025\ 7$	大豆苷	5.63	ND
木樨草素	16.70	$1.445\pm0.007\ 4$	异槲皮苷	8.96	$169.948\pm1.627\ 0$
儿茶素	4.21	ND	水飞蓟宾	16.80	ND
表儿茶素	4.90	$11.812\pm0.202\ 0$	淫羊藿苷	18.40	ND
山奈素	19.90	$0.055\pm0.006\ 7$	柚皮苷	9.88	ND
槲皮素	15.80	$2.106\pm0.013\ 8$	地奥司明	12.80	$0.005\pm0.001\ 0$
二氢槲皮素	6.61	$0.089\pm0.001\ 4$	芦丁	8.77	$18.071\pm0.112\ 0$
杨梅素	11.30	$0.281\pm0.003\ 9$			

[†] ND 表示未检测到。

2.4 对阈剂量 SP 诱导小鼠睡眠作用的影响

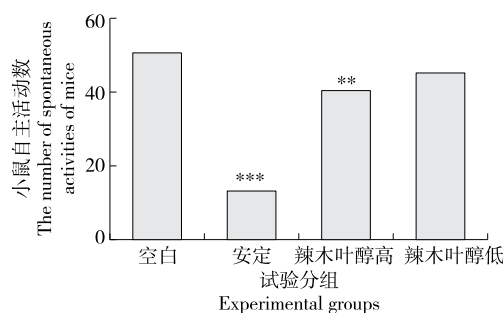
2.4.1 对睡眠潜伏期的影响 由图 4 可知,与空白组相比,安定组可明显缩短小鼠的入睡潜伏期时间($P<0.001$);MOLEE 高、低剂量组均能显著缩短小鼠的入睡潜伏期时间($P<0.01$)。这可能与醇提取物中一些活性成分协同 SP 发挥镇静作用有关。

2.4.2 对睡眠持续时间的影响 由图 5 可知,与空白组相比,安定组可明显延长小鼠睡眠持续时间($P<0.001$);MOLEE 高、低剂量组均能显著延长小鼠睡眠持续时间($P<0.001$)。临床上 SP 作为一种常用的镇静剂,其作用机制与 γ -氨基丁酸能神经系统有关(GABAergic),由此推

测辣木叶活性成分激活 GABAergic 发挥改善睡眠作用。

2.5 对 PTZ 诱导小鼠惊厥的影响

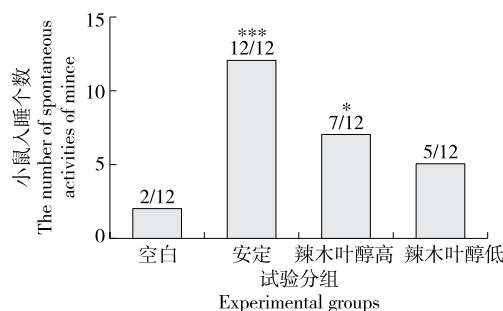
PTZ 常作为惊厥模型的造模剂,用于筛选具有中枢镇静作用的天然产物,González-Trujano 等^[17]研究发现,小鼠给予辣木叶正己烷或醇提取物($1\ 000\ \text{mg/kg}$)可显著拮抗 PTZ($80\ \text{mg/kg}$)诱导小鼠惊厥。由表 2 可知,与空白组相比,安定组可明显降低惊厥小鼠的死亡率($P<0.001$);此外,MOLEE 高、低剂量组能显著降低惊厥小鼠的死亡率($P<0.01,P<0.05$)。综上,MOLEE 对中枢神经系统有一定的抑制作用。



表示与空白组相比 $P < 0.01$, *表示与空白组相比 $P < 0.001$

图2 MOLEE及其主要活性成分对小鼠自主活动的影响

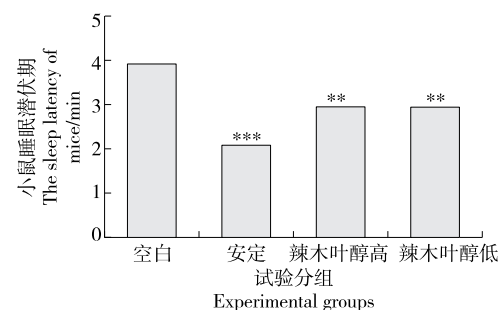
Figure 2 Effects of MOLEE and its main active components on autonomous activities of mice



*表示与空白组相比 $P < 0.05$, ***表示与空白组相比 $P < 0.001$

图3 MOLEE及其主要活性成分对阈下剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠作用的影响

Figure 3 Effects of MOLEE and its main active components on sleep in mice induced by subthreshold dose of pentobarbital sodium



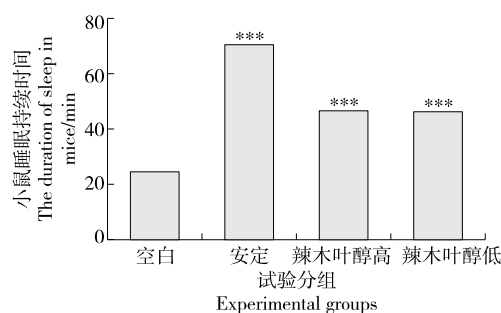
表示与空白组相比 $P < 0.01$, *表示与空白组相比 $P < 0.001$

图4 MOLEE及其主要活性成分对阈剂量戊巴比妥钠诱导小鼠睡眠潜伏期作用的影响

Figure 4 Effects of MOLEE and its main active components on sleep latency in mice induced by threshold dose of pentobarbital sodium

2.6 网络药理学分析

2.6.1 “核心成分—失眠”靶点筛选 如图6所示,将芹菜素、山奈酚、木犀草素、表儿茶素、槲皮素、槲皮苷、异槲皮苷、芦丁8个核心成分通过疾病靶点信息查询、中药成分



***表示与空白组相比 $P < 0.001$

图5 MOLEE及其主要活性成分对阈剂量戊巴比妥钠

诱导小鼠睡眠时间作用的影响

Figure 5 Effects of MOLEE and its main active components on sleep duration in mice induced by threshold dose of pentobarbital sodium

表2 MOLEE及其活性成分对戊四氮诱导小鼠惊厥作用的影响[†]

Table 2 Effects of MOLEE and its main active components on convulsion in mice induced by pentylenetetrazole

组别	数量	死亡数	死亡率/%	死亡保护率/%
空白	12	12	100.00	—
安定	12	0	0.00	100.00***
MOLEE高剂量	12	7	58.33	41.67**
MOLEE低剂量	12	8	66.67	33.33*

[†] *表示与空白组相比 $P < 0.05$, **表示与空白组相比 $P < 0.01$, ***表示与空白组相比 $P < 0.001$ 。

查找获取的靶点去重后共计399个靶点。将3个数据库(GeneCards、OMIM和NCBI)基因合并去重后获取3575个Insomnia疾病相关基因。此外,韦恩图获取95个共有靶点,以便“药物—疾病”靶点预测和通路富集分析。
2.6.2 PPI网络分析 由图7可知,PPI网络中有729条边与88节点。试验共构建了8个核心成分靶向失眠相关蛋白的PPI网络。网络中呈现出高度连接的核心靶点,如白介素6(IL6)、肿瘤坏死因子(TNF)等,显示出其在调控失眠病理过程中的潜在关键作用。值得注意的是, γ -氨基丁

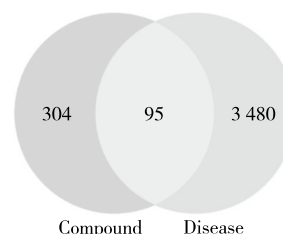


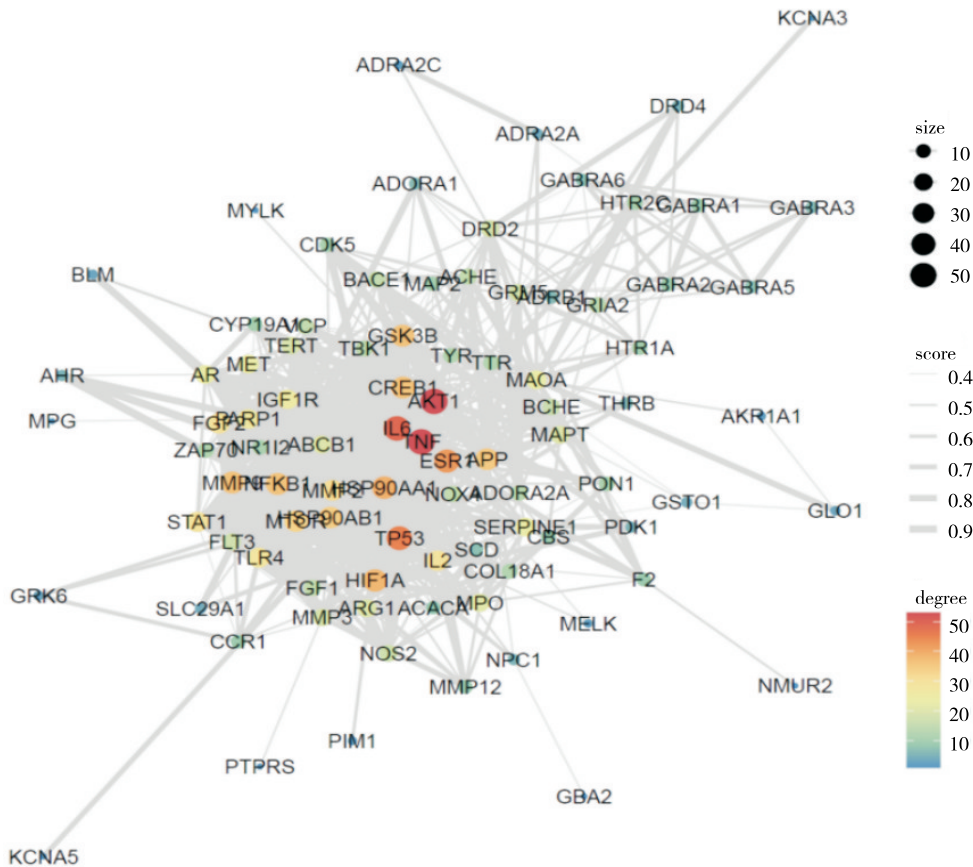
图6 MOLEE核心成分与失眠相关靶点的韦恩图

Figure 6 Venn map of insomnia-related targets and core components in MOLEE

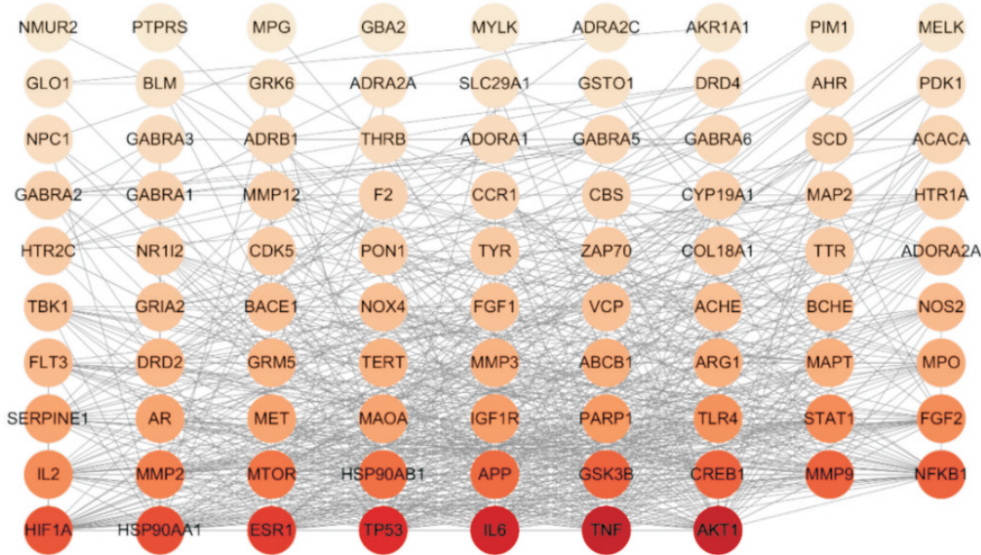
酸 A 受体 (GABAA) 亚型 (GABRA2、GABRA3、GABRA5)、5-羟色胺受体 (HTR1A)、炎症因子 IL6 和 TNF 在网络中表现出显著的连接度和中介性,推测其可能介

导“神经-免疫轴”作用靶标改善睡眠。

2.6.3 “疾病-靶点-成分网络”分析 为了更好地理解“核心成分-改善睡眠作用-靶点”之间复杂的相互关



(a) TCSPS网站导出的PPI网络图



(b) Cytoscape软件绘制的PPI网络图

度值越大,表明节点越大、颜色越红

图 7 蛋白质互作网络与失眠核心靶点

Figure 7 Protein-protein interaction network and insomnia core targets

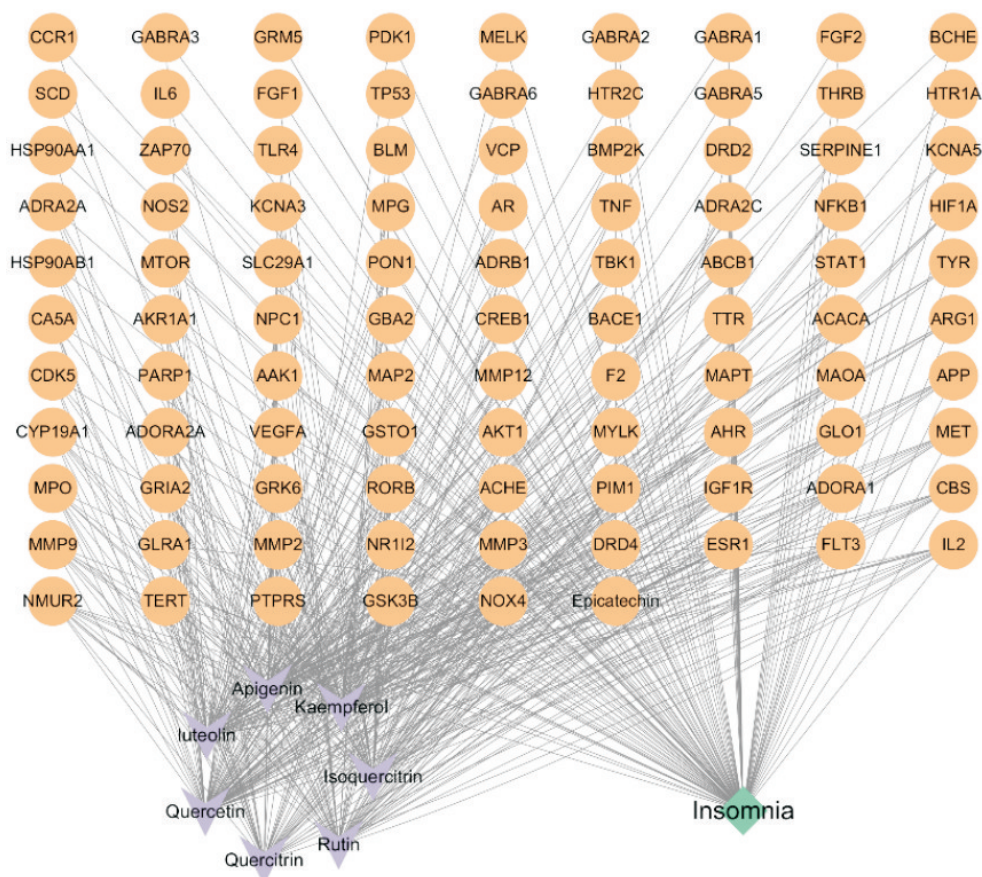
系,8种小分子化合物与失眠相关靶点基因的相互关系如图8所示。

2.6.4 GO功能富集和KEGG信号通路分析 由图9可知,交集靶点共富集到1520条BP、109项MF和54项CC。在BP中,靶点显著富集于突触后膜电位调节、GABA能信号通路以及昼夜节律等过程,提示这些成分可能通过调节GABA能系统和生物节律参与失眠治疗。在CC方面,靶点显著集中于GABA-A受体复合物、突触膜及神经突投膜结构,表明其在中枢神经系统的突触传导中发挥重要作用。在MF维度,靶点显著富集于GABA-A受体活性、神经递质受体活性等方面,表明可能通过调节抑制性神经递质系统(尤其是GABA)发挥改善睡眠作用。

由图10可知,KEGG通路总共富集到97条信号通路,靶点基因显著富集于多条与神经调节和炎症反应密切相关的通路。其中,富集到GABA能突触(GABAergic synapse)与色胺能突触(Serotonergic synapse)通路,表明可能通过调控大脑两个主要神经递质系统来改善睡眠。此外,TNF信号通路的显著富集提示这些成分也可能通

过抑制炎症反应来改善睡眠,支持“神经—免疫交互”在失眠发病机制中的重要作用。He等^[22]研究表明,MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)磷酸化与睡眠持续时间密切相关。在神经系统中,第二信使cGMP-PKG(环磷酸鸟苷—蛋白激酶G)介导的信号传导功能(如失眠、伤害性感觉神经元的疼痛发展和致敏等)发挥着重要作用^[9]。MAPK、cGMP-PKG等信号通路也在分析中显著富集,提示辣木叶可能通过调控细胞信号转导和神经可塑性进一步干预睡眠过程。综上,KEGG分析揭示了辣木叶多靶点、多通路协同作用的特点,为系统阐明其治疗失眠的分子机制提供了有力支持。

2.6.5 分子对接分析 由图11可知,与GABAA受体蛋白结合能力由大到小分别为表儿茶素>山奈酚=木犀草素>芹菜素>芦丁>槲皮素>槲皮苷>异槲皮苷。与HTR1A受体蛋白结合能力由大到小分别为表儿茶素>芹菜素>木犀草素>芦丁>槲皮苷>异槲皮苷>槲皮素>山奈酚。与IL6受体蛋白结合能力由大到小分别为:芹菜素>木犀草素>槲皮素>表儿茶素>山奈酚>芦丁>槲



橘色为靶点,绿色为疾病,紫色为化合物

图8 MOLEE中核心成分—靶点—疾病基因网络

Figure 8 Network of core components in MOLEE - key gene targets-diseases

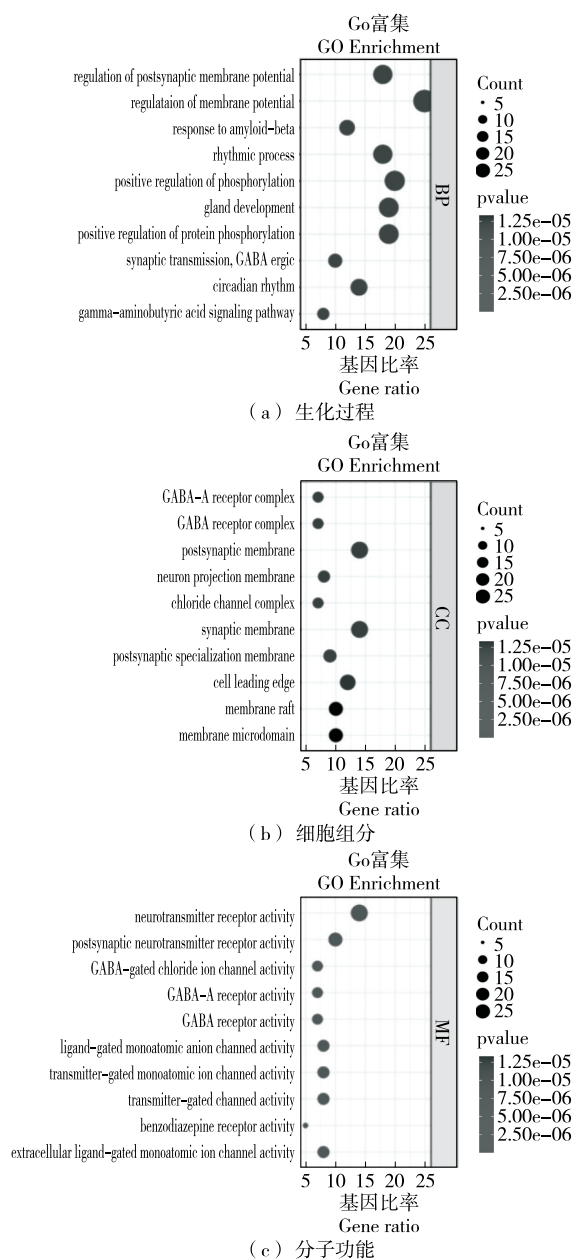


图9 GO功能富集分析

Figure 9 GO functional enrichment analysis

皮苷>异槲皮苷。与TNF受体蛋白结合能力由大到小分别为表儿茶素>芹菜素>木犀草素>槲皮苷>山奈酚>槲皮素>异槲皮苷>芦丁。综上,GABAA_Epicatechin、HTR1A_Epicatechin、IL6_Apigenin、TNF_Epicatechin这些小分子-睡眠靶点蛋白复合物具备强结合潜力。

李镁娟等^[23]研究表明,分子对接的结果以结合能的大小表示受体与配体之间的结合活性,结合能<0.00 kJ/mol即可判定配体与受体具有自发结合能力,结合能<-5.00 kJ/mol表明结合活性较高,结合能<-7.00 kJ/mol表明结合活性较强。图12为核心成分与睡眠关键靶点蛋

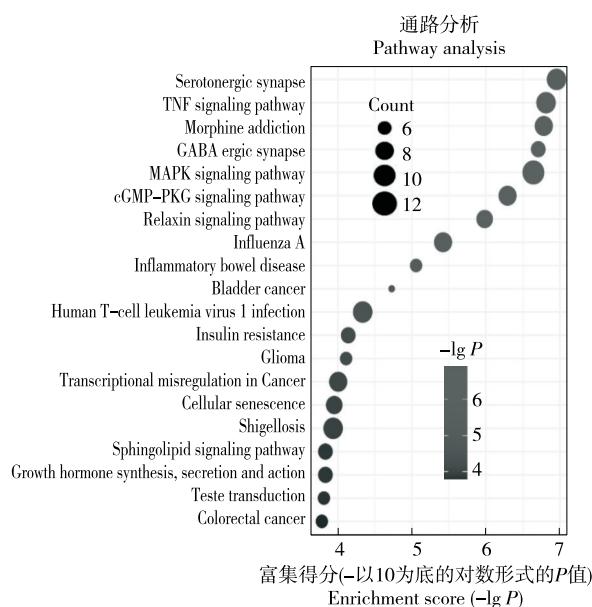


图10 KEGG通路富集分析

Figure 10 KEGG pathway enrichment analysis

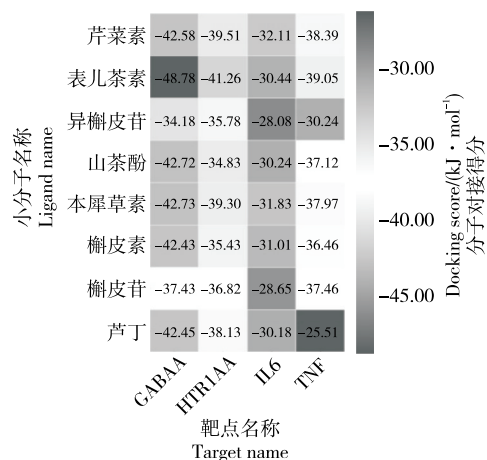


图11 对接打分热图

Figure 11 Heatmap for molecular docking scores

白结合3D模式图,可清晰看出与目标蛋白的结合模式。综上,这些小分子化合物与改善睡眠相关蛋白具备良好的亲合力,表明辣木叶具有潜在的改善睡眠作用。

2.6.6 分子动力学模拟分析 基于分子对接结果,采用分子动力学模拟(MDS)进行验证。聂玉婷等^[19]研究表明,MDS均方根偏差(RMSD)可反映复合物运动过程,偏差越大、波动越剧烈则运动加剧,相反,则平稳。由图13(a)可知,4种复合物在100 ns模拟过程中均达到较为稳定的构象波动水平。整体来看,GABAA-Epicatechin和TNF-Epicatechin复合物的RMSD值在<0.20 nm时波动较小,表现出较好的结构稳定性,表明表儿茶素在这两个靶点中结合较为稳固。IL6-Apigenin复合物在前期波

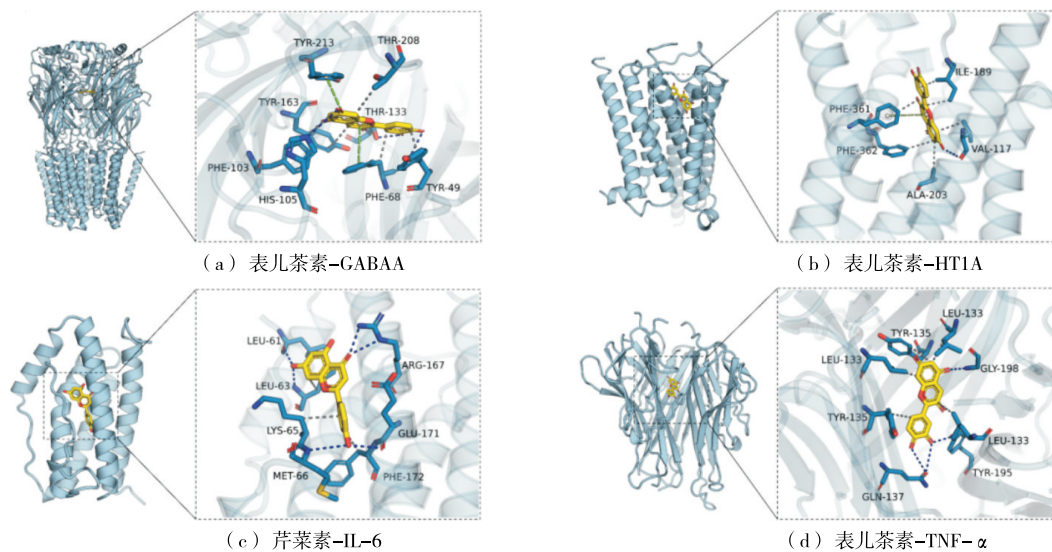


图 12 MOLEE 中核心成分与关键基因结合模式图

Figure 12 Binding patterns of core components in MOLEE and key gene targets for insomnia

动稍大,但在约 30 ns 后趋于稳定,最终稳定在 0.20~0.25 nm,显示出一定的结合可靠性。相比之下,HTR1A-Epicatechin 复合物在整个模拟过程中 RMSD 波动最大,且后期仍有持续上升趋势,提示该复合物在模拟时间内未完全达到稳定状态,其结合稳定性相对较弱。总之,模拟结果支持 GABA 与 TNF 为表儿茶素的高稳定性靶点,同时表明 Apigenin 在 IL6 靶点中具有较好的结合

潜力。

均方根波动(RMSF)可反映 MDS 过程中蛋白柔性,药物结合蛋白后,其柔性下降,进而使蛋白稳定发挥酶活作用。由图 13(b)可知,GABA-Epicatechin、HTR1A-Epicatechin、IL6-Apigenin 和 TNF-Epicatechin 复合物中蛋白的 RMSF 整体偏低,均<0.20 nm,表明蛋白核心结构具备较好的刚性。总之,蛋白的低柔性是小分子和蛋白稳

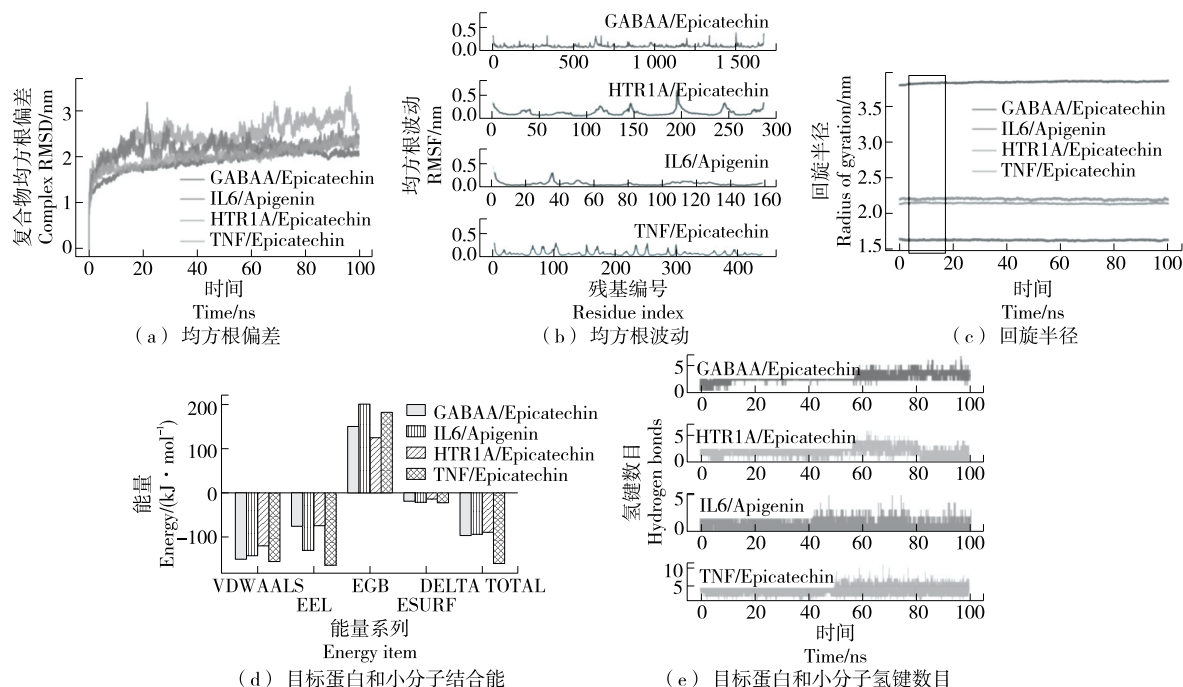


图 13 MOLEE 主要活性成分分子动力学模拟结果

Figure 13 Results of molecular dynamics simulation of main active components in MOLEE

定结合的基础。

回旋半径(R_g)可反映各蛋白—配体复合物在 MDS (100 ns)过程中整体结构的紧致性与稳定性。由图 13(c)可知,由于蛋白本身大小不同,4种复合物的 R_g 数值存在显著差异,但从波动范围来看,各复合物的 R_g 曲线均呈现出良好的稳定性,未出现显著结构扩张或塌缩的趋势。GABAA-Epicatechin 复合物的 R_g 维持在约 3.80 nm,略高但波动极小,说明大型蛋白体系结构稳定性良好;HTR1A-Epicatechin 和 TNF-Epicatechin 的 R_g 分别稳定在约 2.20、2.10 nm,波动幅度较低,表明这两个复合物在模拟过程中保持了稳定的构象紧致性;IL6-Apigenin 的 R_g 值最小,约为 1.60 nm,呈现出非常平稳的趋势,提示其复合物结构较为紧凑且稳定。综合来看,所有复合物体系在 100 ns 内均未出现明显解构现象, R_g 曲线的平稳性进一步验证了配体与靶点之间结合的构象稳定性,也支持了其在生物环境中维持稳定构象的潜力。

基于 MDS 的轨迹,利用 MM-GBSA 方法计算结合能,可更为精确地反映目标蛋白和小分子的结合模式^[24]。由图 13(d)可知, GABAA-Epicatechin、HTR1A-Epicatechin、IL6-Apigenin 和 TNF-Epicatechin 复合物的结合能分别为 (-97.82 ± 10.84) 、 (-95.86 ± 3.51) 、 (-89.87 ± 4.44) 、 (-161.63 ± 11.25) kJ/mol。结果为负数且越小,目标蛋白与该分子亲和力愈强。表明这些小分子和相应的蛋白具备结合潜力且主要由范德华能贡献。

MDS 过程中,小分子与蛋白多以氢键作用结合,氢键数目越多则结合越好^[25-26]。由图 13(e)可知,4种复合物在 MDS(100 ns)过程中均能形成一定数量的氢键,但在数量和稳定性方面存在差异。TNF-Epicatechin 复合物表现最为突出,氢键数量始终维持在较高水平,平均约为 5~7 个,个别时刻可达 8 个以上,说明其配体与靶点之间具有较强且持久的相互作用。GABAA-Epicatechin 和 HTR1A-Epicatechin 复合物的氢键数量处于中等水平,在整个模拟过程中维持在 0~5,尤其在模拟后期趋于稳定,提示结合逐渐稳固。相比之下,IL6-Apigenin 复合物的氢键数量较少,且波动性较大,大多维持在 0~3,可能反映其与靶点之间更多依赖于疏水或非极性作用。

3 结论

采用动物行为学、靶向代谢组学、网络药理学等技术探讨了辣木叶改善睡眠的物质基础及潜在的作用机制。结果发现,表儿茶素、芦丁、异槲皮苷、芹菜素、山奈酚、槲皮苷、异槲皮苷和槲皮素 8 种活性成分为辣木叶改善睡眠的关键物质,其可能参与 5-HT、GABA、TNF 等信号通路调节神经—免疫发挥改善睡眠作用。后期还需通过蛋白免疫印迹试验进一步探讨辣木叶改善睡眠作用机制。

参考文献

- [1] ZHANG S, ZHAO Y N, QIN Z S, et al. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation for chronic insomnia disorder: a randomized clinical trial[J]. JAMA Network Open, 2024, 7(12): e2451217.
- [2] DOKKEDAL-SILVA V, OLIVEIRA M G M, GALDURÓZ J C F, et al. The effect of sleep medications on prospective and retrospective memory: a population-based study[J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2021, 104: 110043.
- [3] ASGHARI G, PALIZBAN A, BAKHSHAEI B. Quantitative analysis of the nutritional components in leaves and seeds of the Persian *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori[J]. Pharmacognosy Research, 2015, 7(3): 242-248.
- [4] RAMIAH N, ARAVINDAKSHAN NAIR G. Amino acids and sugars in the flowers and fruits of *Moringa oleifera* Lam. [J]. Journal and Proceedings of the Institution of Chemists, 1977, 49(3): 163-165.
- [5] 中华人民共和国卫生部公告[J]. 中华人民共和国卫生部公报, 2013(2): 16-20.
Announcement of the Ministry of Health of the People's Republic of China[J]. Gazette of the National Health Commission of the People's Republic of China, 2013(2): 16-20.
- [6] BAKRE A G, ADERIBIGBE A O, ADEMOWO O G. Studies on neuropharmacological profile of ethanol extract of *Moringa oleifera* leaves in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 149(3): 783-789.
- [7] INGALE S P, GANDHI F P. Effect of aqueous extract of *Moringa oleifera* leaves on pharmacological models of epilepsy and anxiety in mice[J]. International Journal of Epilepsy, 2016, 3(1): 12-19.
- [8] 张久旭, 刘洋, 顾文宏, 等. 辣木叶复方改善小鼠睡眠功能的实验研究[J]. 中医药学报, 2018, 46(6): 39-43.
ZHANG J X, LIU Y, GU W H, et al. Experimental study of horseradish tree leaves improving spleen in mice[J]. Acta Chinese Medicine and Pharmacology, 2018, 46(6): 39-43.
- [9] 朱丽云, 钟钰, 柳小莉, 等. 基于网络药理学研究当归挥发油治疗失眠的作用机制[J]. 中成药, 2022, 44(3): 1 000-1 005.
ZHU L Y, ZHONG Y, LIU X L, et al. Research on the mechanism of action of Angelica sinensis essential oil in the treatment of insomnia based on network pharmacology[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(3): 1 000-1 005.
- [10] 李泽飞, 王平. 基于分子对接与分子动力学模拟探讨生慧颗粒有效成分对 γ 氨基丁酸 A 型受体与乙酰胆碱酯酶的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(1): 157-162.
LI Z F, WANG P. Discussion on the mechanism of Shenghui Granule acting on GABA_AR and AChE based on molecular docking and molecular dynamics simulation[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2024, 39(1):

- 157-162.
- [11] LEI Z T, SUMNER B W, BHATIA A, et al. UHPLC-MS analyses of plant flavonoids[J]. Current Protocols in Plant Biology, 2019, 4(1): e20085.
- [12] 余洪涛. 金槐槐米代谢组学、营养成分及质量分级标准研究[D]. 桂林: 桂林医学院, 2023: 32-39.
- YU H T. Study on metabonomics, nutritional components and quality grading standards of *Sophora japonica* Jinhuai[D]. Guilin: Guilin Medical University, 2023: 32-39.
- [13] 高文荣, 蔡建, 赵冬梅, 等. 基于网络药理学及动物实验探究辣木籽油—天麻素复合物改善睡眠作用及机制[J]. 中国油脂, 2025, 50(9): 114-123.
- GAO W R, CAI J, ZHAO D M, et al. Sleep improving effect and its mechanism with *Moringa oleifera* seed oil-gastrodin compound based on network pharmacology and animal experiment[J]. China Oils and Fats, 2025, 50(9): 114-123.
- [14] 裴姗姗, 孙宁, 贾凌风, 等. 复方蛹虫草口服液镇静催眠作用及安全性[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2024, 25(6): 776-779.
- PEI S S, SUN N, JIA L F, et al. On sedative-hypnotic effects and safety of compound *Cordyceps militaris* oral liquid[J]. Journal of Beihua University (Natural Science Edition), 2024, 25(6): 776-779.
- [15] WU C L, HUANG Y H, LAI X F, et al. Study on quality components and sleep-promoting effect of GABA Maoyecha tea[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 7: 180-190.
- [16] 刘威良, 黄艾祥. 贯筋藤水提物对小鼠的镇静催眠作用[J]. 甘肃农业大学学报, 2020, 55(5): 39-46.
- LIU W L, HUANG A Y. Experimental study on sedative, hypnotic and anti-convulsant effect of the water extract of *Dregea sinensis* Hems[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2020, 55(5): 39-46.
- [17] GONZÁLEZ-TRUJANO M E, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ C L, FLORES-CARRILLO M, et al. Behavioral and electroencephalographic evaluation of the anticonvulsive activity of *Moringa oleifera* leaf non-polar extracts and one metabolite in PTZ-induced seizures[J]. Phytomedicine, 2018, 39: 1-9.
- [18] 吴紫千, 钱施艳, 宋城成, 等. 基于网络药理学探讨小续命汤治疗缺血性脑卒中的有效机制[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(1): 49-58.
- WU Z Q, QIAN S Y, SONG C C, et al. Effective mechanism of Xiaoxuming decoction in the treatment of ischemic stroke based on network pharmacology[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2021, 37(1): 49-58.
- [19] 聂玉婷, 温璐璐, 司童, 等. 基于分子对接和网络药理学探讨消栓肠溶胶囊改善血管内皮功能的作用机制[J]. 中国卒中杂志, 2021, 16(10): 1 050-1 058.
- NIE Y T, WEN L L, SI T, et al. Mechanism of Xiaoshuan enteric-coated capsule in improvement of vascular endothelial function based on molecular docking and network pharmacology[J]. Chinese Journal of Stroke, 2021, 16(10): 1 050-1 058.
- [20] 刘晶玥. 人参精氨酸双糖苷改善糖尿病小鼠胰岛素抵抗的机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023: 54-65.
- LIU J Y. Study on the mechanism of arginyl-fructosyl-glucose improving insulin resistance in diabetic mice[D]. Changchun: Jilin University, 2023: 54-65.
- [21] SUHAYB Mahamed Farah, 陈红旭, 苑丽藏, 等. 北五味子根叶多糖对小鼠镇静催眠作用研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2022, 23(3): 315-319.
- SUHAYB M F, CHEN H X, YUAN L W, et al. Sedative and hypnotic effects of polysaccharides from roots and leaves of *Schisandra chinensis* in mice[J]. Journal of Beihua University (Natural Science), 2022, 23(3): 315-319.
- [22] HE X, DU X, CHEN J. Study on the molecular mechanism of Guipi decoction against sleep deprivation based on integrated pharmacology analysis and gene expression profiling[J]. Acta Neurobiologiae Experimentalis, 2022, 82(4): 409-423.
- [23] 李镁娟, 张军, 张云数, 等. 网络药理学结合分子对接技术揭示芹菜籽抑制痛风的潜在分子机制[J]. 食品与机械, 2024, 40(3): 44-51.
- LI M J, ZHANG J, ZHANG Y S, et al. Potential molecular mechanism of celery seed in gout treatment of network pharmacology with molecular docking[J]. Food & Machinery, 2024, 40(3): 44-51.
- [24] CHEN Y, ZHENG Y X, FONG P, et al. The application of the MM/GBSA method in the binding pose prediction of FGFR inhibitors[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2020, 22(17): 9 656-9 663.
- [25] 汤阳, 蒋菲, 张博, 等. 基于分子动力学模拟的牛奶酪蛋白与中性粒细胞表面TLR4受体的相互作用研究[J]. 食品与机械, 2025, 41(4): 8-18.
- TANG Y, JIANG F, ZHANG B, et al. Interaction between casein and TLR4 on neutrophil surface based on molecular dynamics[J]. Food & Machinery, 2025, 41(4): 8-18.
- [26] 毕新健, 文诗雨, 屈婷敏, 等. 分子模拟技术在食品领域中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2024, 40(5): 1-10, 95.
- BI X J, WEN S Y, QU T M, et al. Research and application status of molecular simulation technology in food field[J]. Food & Machinery, 2024, 40(5): 1-10, 95.