**安神甜梦膏主要药效学、毒理学研究方案**

1. **安神甜梦膏的主要药效学试验**

1.安神甜梦膏对慢性应激诱导的抑郁证大鼠的影响

模型制备：采用复合应激法（每日随机束缚2h+睡眠剥夺4h）制备抑郁证大鼠模型。

分组与给药：SD雄性大鼠，适应性饲养5天，除10只大鼠作为空白组外，其余各组大鼠均采用复合应激法制备抑郁证大鼠模型，方法如下：大鼠每日不定时使用特制容器限制大鼠活动，期间不许进食水，每日束缚1次，持续2h；每天晚上将动物至于平台水环境中，连续4小时；以上操作连续14天。将造模成功的抑郁证大鼠随机分为5组：模型组，阳性药组，安神甜梦膏低、中、高剂量组，每组10只。空白组和模型组按10ml/kg体重灌胃给予纯净水，其余各组同时灌胃给予相应受试药物，每天1次，连续14天。末次给药1h后，检测大鼠相关指标。

检测指标：（1）一般状况观察：每日观察记录各组大鼠的精神状态（是否倦怠、活动减少）、舌象情况（舌质、舌苔及舌下络脉的形态、颜色、润燥等）、毛发情况（是否蓬松或有光泽）、二便情况（小便颜色，大便质地、数量）以及进食量和体重等；（2）抑郁样行为：强迫游泳试验不动时间；（3）悬尾试验：挣扎时间与不动时间的比例；（4）糖水偏好试验：糖水偏好率（%）=蔗糖溶液摄入量/(蔗糖溶液摄入量+纯水摄入量)×100%；（5）氧化应激标志物的检测：检测丙二醛、总氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶水平；（6）肝脏组织病理学观察：肝脏组织常规HE染色进行组织病理学形态观察。

2.安神甜梦膏对氯苯丙氨酸（PCPA）诱导失眠模型大鼠学习记忆损伤的影响

模型制备：采用腹腔注射PCPA制备失眠模型大鼠。

分组与给药：SD雄性大鼠，适应性饲养5天，除10只大鼠作为空白组外，

其余大鼠每日ip PCPA 溶液（400 mg/kg），连续注4天。造模第4天每组随机取6只大鼠眼眶取血检测血清中5-羟色胺（5-HT）水平，大鼠血清中5-HT水平显著低于正常大鼠，表明PCPA失眠大鼠模型制备成功。将造模成功的失眠大鼠随机分5组：模型组，地西泮组，安神甜梦膏低、中、高剂量组，每组10只。空白组和模型组按10ml/kg体重灌胃给予纯净水，其余各组同时灌胃给予相应受试药物，每天1次，连续28天。末次给药1h后，检测大鼠相关指标。

检测指标：（1）脑组织 5-羟色胺（5-HT）、5-羟吲哚乙酸（5-HIAA）多巴胺（DA ）含量测定（2）旷场实验：记录5 min内大鼠总路程和静止时间；（3）Y型迷宫实验：总活动量、自发交替率。

3.安神甜梦膏对小鼠睡眠的影响

实验方法：KM小鼠适应性饲养5天，随机分为模型组、阳性药组、安神甜梦膏低、中、高剂量组，每组10只。模型组按20ml/kg体重灌胃给予纯净水，其余各组同时灌胃给予相应受试药物，每天1次，连续7天。末次给药1h后，腹腔注10mL/kg戊巴比妥钠，以小鼠翻正反射消失超过1min认为入睡成功，记录在30min内入睡小鼠数量，按下式计算睡眠率。睡眠率（%）=成功入睡的小鼠总数×100%/小鼠总数。

4.小肠推进实验

实验方法：KM小鼠适应性饲养5天，随机分为空白组、阳性药组、安神甜梦膏低、中、高剂量组，每组10只。空白组和模型组按20ml/kg体重灌胃给予纯净水，其余各组同时灌胃给予相应受试药物，每天1次，连续7天。末次给药1h后，小鼠灌服2%葡聚糖蓝2000水溶液0.4mL，记录灌胃成功时间，20min后脱颈处死小鼠。剖开腹部，测量并记录取幽门括约肌至色素最前端、幽门括约肌至盲肠的距离，计算小肠推进比（小肠推进比＝幽门括约肌至色素最前端距离/幽门括约肌至盲肠的距离×100％）。

二、**安神甜梦膏的毒理学试验**

1.单次给药毒性试验

经预实验后，再决定是用半数致死量（LD50）或者最大耐受量（MTD）测定方法。如采用LD50测定方法则计算LD50值及95%可信限；如采用MTD测定方法则连续观察所有动物给药后14天的一般情况如精神、活动、饮食、排泄、毛发等变化，计算MTD值及体重增长率。

2.重复给药毒性试验

实验方法:选取8周龄大鼠120只，体重90～110g，雌雄各半，随机分为4组，每组30只，雌雄各半。每组大鼠分笼饲养，每笼5只。设对照组，安神甜梦膏高、中、低剂量（成人临床日剂量的60、30、15倍）组，每组30只。各给药组大鼠灌胃给药，空白对照组给予等体积蒸馏水，每日1次，连续30天。记录及检测指标：（1）一般情况观察：每日观察记录大鼠摄食量、体重、外观体征和行为活动、粪便性状等。（2）体重及摄食量监测：每周称体重1次，及时调整用药剂量；每周测定摄食量2次。（3）检测血液学指标：末次给药16h后，每组取20只大鼠，雌雄各半，用戊巴比妥钠麻醉大鼠采集全血测定红细胞计数、白细胞计数及其分类、血红蛋白、红细胞容积、平均红细胞容积、平均红细胞血红蛋白、平均红细胞血红蛋白浓度、网织红细胞计数、血小板计数等指标；（4）采集血浆检测凝血两项；（5）检测血液生化学指标：另取血样分离血清，于全自动生化分析仪上测定血清中的天门冬氨酸转移酶、丙氨酸转移酶、碱性磷酸酶、尿素氮、肌酐、总蛋白、白蛋白、血糖、总胆红素、总胆固醇、甘油三酯、肌酸激酶、钾离子浓度、钠离子浓度、氯离子浓度等生化指标；（6）计算主要脏器系数：解剖大鼠进行肉眼检查各器官情况，取脑、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺素、胸腺、子宫、卵巢、睾丸、附睾称重,并计算各脏器系数；（7）病理学检查：然后将脑、心、肝、脾、肺、肾、肾上腺素、胸腺、子宫、卵巢、睾丸、附睾、胰腺、乳腺、膀胱、大小肠、胃、气管、主动脉、骨髓、垂体、前列腺等器官和组织用10%甲醛固定，HE染色，进行病理学检查。各组余下动物停药30天后同法测定上述指标。