

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200410073855.3

[51] Int. Cl.

A61K 36/815 (2006.01)
A61K 36/804 (2006.01)
A61K 36/714 (2006.01)
A61K 36/68 (2006.01)
A61K 36/64 (2006.01)
A61K 36/61 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007年7月4日

[11] 授权公告号 CN 1323692C

[51] Int. Cl. (续)

A61K 36/57 (2006.01)
A61K 36/487 (2006.01)
A61K 36/46 (2006.01)
A61K 36/39 (2006.01)
A61K 36/328 (2006.01)
A61K 36/324 (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01)
A61P 13/00 (2006.01)
A61P 15/10 (2006.01)

[22] 申请日 2004.9.6

[21] 申请号 200410073855.3

[73] 专利权人 佛山德众药业有限公司

地址 528000 广东省佛山市佛平路 89 号

[72] 发明人 卢继宗 王常权 黄李康

[56] 参考文献

CN1488743 A 2004.4.14

审查员 岳雪莲

[74] 专利代理机构 北京科龙寰宇知识产权代理有限公司

代理人 孙皓晨

权利要求书 4 页 说明书 47 页

[54] 发明名称

治疗肾虚腰痛的药物组合物及其制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种新的用于治疗肾虚腰痛的药物组合物，该药物组合物主要由下述组分组成：肉苁蓉、八角茴香、熟地黄、补骨脂、淫羊藿、蛇床子、牛膝、续断、甘草、杜仲、菟丝子、枸杞子、车前子、小茴香、附子、五味子、乳香、没药、丁香、锁阳、樟脑、冰片、薄荷油、肉桂油、水杨酸甲酯和枫香脂稠膏。本发明药物组合物可按本领域常规方法制成任何一种临床上可接受的适宜制剂，优选为贴膏剂(包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂)。本发明药物组合物经临床疗效观察证实对于肾虚腰痛有显著的疗效，本发明还可用于治疗因肾虚导致的尿急、尿频及遗精、早泄、阳痿等疾病。

1、一种用于治疗肾虚腰痛的药物组合物，其特征在于：其主要由下述重量份的原料药制成：

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份
水杨酸甲酯 11~99 份	枫香脂稠膏 11~103 份。	

2、按照权利要求 1 所述的药物组合物，其特征在于：所述各原料重量份配比范围是：

肉苁蓉 14~58 份	八角茴香 14~58 份	熟地黄 14~58 份
补骨脂 14~58 份	淫羊藿 14~58 份	蛇床子 14~58 份
牛膝 14~58 份	续断 14~58 份	甘草 14~58 份
杜仲 14~58 份	菟丝子 14~58 份	枸杞子 14~58 份
车前子 14~58 份	小茴香 14~58 份	附子 9~38 份
五味子 9~38 份	乳香 5~20 份	没药 5~20 份
丁香 5~20 份	锁阳 2~9 份	樟脑 10~40 份
冰片 6~20 份	薄荷油 8~33 份	肉桂油 1~7 份
水杨酸甲酯 16~66 份	枫香脂稠膏 17~69 份。	

3、按照权利要求 2 所述的药物组合物，其特征在于：所述各原料重量份数为：

肉苁蓉 30 份	八角茴香 30 份	熟地黄 30 份
补骨脂 30 份	淫羊藿 30 份	蛇床子 30 份
牛膝 30 份	续断 30 份	甘草 30 份

杜仲 30 份	菟丝子 30 份	枸杞子 30 份
车前子 30 份	小茴香 30 份	附子 20 份
五味子 20 份	乳香 10 份	没药 10 份
丁香 10 份	锁阳 5 份	樟脑 21 份
冰片 14 份	薄荷油 18 份	肉桂油 4 份
水杨酸甲酯 34 份	枫香脂稠膏 36 份。	

4、一种制备权利要求 1~3 任一权利要求所述药物组合物的方法，包括下列步骤：

(1) 按下述重量份称取各原料：

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份
水杨酸甲酯 11~99 份	枫香脂稠膏 11~103 份；	

(2) 将丁香、八角茴香分别提取挥发油，所得的挥发油备用；将提取挥发油后的八角茴香及丁香残渣与肉苁蓉、熟地黄、补骨脂、淫羊藿、蛇床子、牛膝、续断、甘草、杜仲、菟丝子、枸杞子、车前子、小茴香、附子、五味子、乳香、没药、锁阳混合，加入乙醇回流提取 2 小时，将提取液浓缩成稠膏；

(3) 将樟脑、冰片、薄荷油、肉桂油、水杨酸甲酯与步骤 (2) 所得的挥发油一起混合后，再与枫香脂稠膏及步骤 (2) 所制备的稠膏混合，制成制剂用中间体，再经制剂成型工艺制成制剂，即得。

5、按照权利要求 1 所述的药物组合物，其特征在于：其中原料药还含有 2~23 重量份的盐酸苯海拉明。

6、按照权利要求 5 所述的药物组合物，其中各原料药的用量是：

肉苁蓉 14~58 份	八角茴香 14~58 份	熟地黄 14~58 份
补骨脂 14~58 份	淫羊藿 14~58 份	蛇床子 14~58 份
牛膝 14~58 份	续断 14~58 份	甘草 14~58 份
杜仲 14~58 份	菟丝子 14~58 份	枸杞子 14~58 份
车前子 14~58 份	小茴香 14~58 份	附子 9~38 份
五味子 9~38 份	乳香 5~20 份	没药 5~20 份
丁香 5~20 份	锁阳 2~9 份	樟脑 10~40 份
冰片 6~20 份	薄荷油 8~33 份	肉桂油 1~7 份

水杨酸甲酯 16~66 份 枫香脂稠膏 17~69 份 盐酸苯海拉明 3~15 份。

7、按照权利要求 6 所述的药物组合物，其中各原料药的用量是：

肉苁蓉 30 份	八角茴香 30 份	熟地黄 30 份
补骨脂 30 份	淫羊藿 30 份	蛇床子 30 份
牛膝 30 份	续断 30 份	甘草 30 份
杜仲 30 份	菟丝子 30 份	枸杞子 30 份
车前子 30 份	小茴香 30 份	附子 20 份
五味子 20 份	乳香 10 份	没药 10 份
丁香 10 份	锁阳 5 份	樟脑 21 份
冰片 14 份	薄荷油 18 份	肉桂油 4 份

水杨酸甲酯 34 份 枫香脂稠膏 36 份 盐酸苯海拉明 8 份。

8、权利要求 5~7 任意一项所述药物组合物的制备方法，包括下列步骤：

(1) 按下述重量份称取各原料：

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份

水杨酸甲酯 11~99 份 枫香脂稠膏 11~103 份 盐酸苯海拉明 2~23 份；

(2) 将丁香、八角茴香分别提取挥发油，所得的挥发油备用；将提取挥发油后的八角茴香及丁香残渣与肉苁蓉、熟地黄、补骨脂、淫羊藿、蛇床子、牛膝、续断、甘草、杜仲、菟丝子、枸杞子、车前子、小茴香、附子、五味子、乳香、没药、锁阳混合，加入乙醇回流提取 2 小时，将提取液浓缩成稠膏；

(3) 将樟脑、冰片、薄荷油、肉桂油、水杨酸甲酯与步骤 (2) 所提取得的挥发油一起混合后，再与枫香脂稠膏、盐酸苯海拉明及步骤 (2) 所制备的稠膏混合，制成制剂用中间体，再经制剂成型工艺制成制剂，即得。

9、按照权利要求 1、2、3、5、6 或 7 所述的任意一项药物组合物，其特征在于：所述的药物制剂为片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、丸剂、口服液、糖浆、滴丸、软膏剂、鼻用制剂、气雾剂或喷雾剂、膏药、贴膏剂。

10、按照权利要求 9 所述的药物组合物，其特征在于：所述的药物制剂为贴膏剂。

11、权利要求 1、2、3、5、6 或 7 所述的任意一项药物组合物在制备治疗肾虚腰痛药物中的用途。

12、权利要求 1、2、3、5、6 或 7 所述的任意一项药物组合物在制备治疗肾虚引起的尿急、尿频药物中的用途。

治疗肾虚腰痛的药物组合物及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种新的用于治疗肾虚腰痛的药物组合物，尤其涉及一种主要以中草药为原料制成的用于治疗肾虚腰痛的药物组合物及其制备方法。

背景技术

腰痛是一种常见病，多发病。中医理论认为，腰痛的诱因颇多，有风、湿、寒、热、闷挫、淤血、气滞、瘀积，但皆是标，而肾虚是其本。腰为肾之腑，而肾主骨髓。肾精亏虚，骨髓不充，故腰酸软腿膝无力。阳虚不能温养四肢，故有手足不温，面色淡白，等症。《素问·脉要精微论》说：“腰者，肾之腑，转摇不能，肾将惫矣。”说明腰痛与肾的关系很密切。

迄今为止已上市的治疗腰痛的药品主要有复方南星止痛膏、伤湿止痛膏、伤湿祛痛膏、壮骨麝香止痛膏、痛贴灵、天和追风膏、关节止痛膏、骨通贴膏、麝香祛风湿膏等类似品种约 178 种，这些药物所含的主要成分有：生草乌、生川乌、乳香、没药、生马钱子、肉桂、水杨酸甲酯、薄荷脑、冰片、樟脑、芸香、颠茄流浸膏，豹骨、麝香、麻黄、细辛、羌活、独活、威灵仙、红花、广西血竭、肉桂油、辣椒流浸膏、碘、碘化钾、盐酸苯海拉明，生天南星、丁香、白芷、川芎、徐长卿，雪上一枝蒿、苍术、干姜、当归、山柰、八角茴香，金不换，丁公藤等，这些药物主要用于治疗跌打，风湿，风寒引起的腰痛，几乎无涉及肾虚型腰痛的，此外它们均不同程度的存在着治标不能治本的缺陷。

发明内容

本发明目的是提供一种以体内外用药而补肾，通过补肾达到根治腰痛的药物组合物。

本发明的另外一个目的是提供一种该药物组合物的制备方法。

本发明目的是通过以下技术途径来实现的：

一种治疗腰痛的药物组合物，其特征在于主要由下述重量份的原料药制

成:

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份
水杨酸甲酯 11~99 份	枫香脂稠膏 11~103 份。	

本发明药物组合物各原料的重量份配比范围是:

肉苁蓉 14~58 份	八角茴香 14~58 份	熟地黄 14~58 份
补骨脂 14~58 份	淫羊藿 14~58 份	蛇床子 14~58 份
牛膝 14~58 份	续断 14~58 份	甘草 14~58 份
杜仲 14~58 份	菟丝子 14~58 份	枸杞子 14~58 份
车前子 14~58 份	小茴香 14~58 份	附子 9~38 份
五味子 9~38 份	乳香 5~20 份	没药 5~20 份
丁香 5~20 份	锁阳 2~9 份	樟脑 10~40 份
冰片 6~20 份	薄荷油 8~33 份	肉桂油 1~7 份
水杨酸甲酯 16~66 份	枫香脂稠膏 17~69 份。	

本发明药物组合物各原料的重量份数是:

肉苁蓉 30 份	八角茴香 30 份	熟地黄 30 份
补骨脂 30 份	淫羊藿 30 份	蛇床子 30 份
牛膝 30 份	续断 30 份	甘草 30 份
杜仲 30 份	菟丝子 30 份	枸杞子 30 份
车前子 30 份	小茴香 30 份	附子 20 份
五味子 20 份	乳香 10 份	没药 10 份
丁香 10 份	锁阳 5 份	樟脑 21 份
冰片 14 份	薄荷油 18 份	肉桂油 4 份
水杨酸甲酯 34 份	枫香脂稠膏 36 份。	

本发明药物组合物还可加入 2~23 重量份的盐酸苯海拉明。

本发明药物组合物可以由以下重量份的原料药制成：

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份
水杨酸甲酯 11~99 份	枫香脂稠膏 11~103 份	盐酸苯海拉明 2~23 份。

优选为：

肉苁蓉 14~58 份	八角茴香 14~58 份	熟地黄 14~58 份
补骨脂 14~58 份	淫羊藿 14~58 份	蛇床子 14~58 份
牛膝 14~58 份	续断 14~58 份	甘草 14~58 份
杜仲 14~58 份	菟丝子 14~58 份	枸杞子 14~58 份
车前子 14~58 份	小茴香 14~58 份	附子 9~38 份
五味子 9~38 份	乳香 5~20 份	没药 5~20 份
丁香 5~20 份	锁阳 2~9 份	樟脑 10~40 份
冰片 6~20 份	薄荷油 8~33 份	肉桂油 1~7 份
水杨酸甲酯 16~66 份	枫香脂稠膏 17~69 份	盐酸苯海拉明 3~15 份。

更优选为：

肉苁蓉 30 份	八角茴香 30 份	熟地黄 30 份
补骨脂 30 份	淫羊藿 30 份	蛇床子 30 份
牛膝 30 份	续断 30 份	甘草 30 份
杜仲 30 份	菟丝子 30 份	枸杞子 30 份
车前子 30 份	小茴香 30 份	附子 20 份
五味子 20 份	乳香 10 份	没药 10 份
丁香 10 份	锁阳 5 份	樟脑 21 份
冰片 14 份	薄荷油 18 份	肉桂油 4 份
水杨酸甲酯 34 份	枫香脂稠膏 36 份	盐酸苯海拉明 8 份。

本发明治疗肾虚腰痛的药物组合物的一种制备方法，包括以下步骤：

(1) 按下述重量份称取各原料：

肉苁蓉 9~87 份	八角茴香 9~87 份	熟地黄 9~87 份
补骨脂 9~87 份	淫羊藿 9~87 份	蛇床子 9~87 份
牛膝 9~87 份	续断 9~87 份	甘草 9~87 份
杜仲 9~87 份	菟丝子 9~87 份	枸杞子 9~87 份
车前子 9~87 份	小茴香 9~87 份	附子 6~57 份
五味子 6~57 份	乳香 3~30 份	没药 6~57 份
丁香 6~57 份	锁阳 1~13 份	樟脑 6~60 份
冰片 4~39 份	薄荷油 5~50 份	肉桂油 1~11 份
水杨酸甲酯 11~99 份	枫香脂稠膏 11~103 份；	

(2) 提取丁香和八角茴香的挥发油备用；将提取挥发油后的八角茴香及丁香药渣与肉苁蓉、熟地黄、补骨脂、淫羊藿、蛇床子、牛膝、续断、甘草、杜仲、菟丝子、枸杞子、车前子、小茴香、附子、五味子、乳香、没药、锁阳混合，加入乙醇回流提取 2 小时，提取液滤过，回收乙醇，浓缩成稠膏；

(3) 将樟脑、冰片、薄荷油、肉桂油、水杨酸甲酯与步骤 (2) 所提取的挥发油一起混合后，再与枫香脂稠膏及步骤 (2) 所制备的稠膏混合，制成制剂用中间体，再经制剂成型工艺制成制剂，即得。

如果加入 2~23 重量份的盐酸苯海拉明，只需将上述制备方法的第 (3) 步改为下述方法即可制得本发明药物组合物：

将樟脑、冰片、薄荷油、肉桂油、水杨酸甲酯与步骤 (2) 所提取的挥发油一起混合后，再与枫香脂稠膏、盐酸苯海拉明及步骤 (2) 所制备的稠膏混合，制成制剂用中间体，再经制剂成型工艺制成制剂，即得。

本发明组合物基于中医学对腰痛深层发病机理的研究及其治疗原则，同时依据药理学研究成果，筛选出补肾壮阳、活血散瘀、祛风活络的原料药，根据中医理论组方，按照一定的重量配比制备而成。

本发明药物组合物的配伍依据是：

采用肉苁蓉、锁阳、淫羊藿、菟丝子、熟地、枸杞子、蛇床子、补骨脂等补肾、壮阳、益精；复加以杜仲、牛膝、续断，强筋壮骨，祛风活络，以治腰膝酸痛，夜尿频数。肾阳虚，则手足不温，四肢痹痛，治宜大辛大热，附子、肉桂油、小茴香、八角茴香辛温壮阳；乳香、没药活血散瘀；丁香温

中止痛，配伍使用，则阳气足，驱寒湿，温手足，息诸痛。水杨酸甲酯、薄荷油、冰片、樟脑等清凉、消炎，和上述药物相配合，对肌肉酸痛、风湿关节疼痛疗效更相得益彰。

本发明药物组合物可按本领域常规方法制备成任何一种临床上可接受的适宜制剂，例如可以是片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、丸剂、口服液、糖浆、滴丸、软膏剂、鼻用制剂（包括滴鼻剂）、气雾剂或喷雾剂、膏药、贴膏剂（包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂），优选为贴膏剂（包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂）。

本发明药物组合物的有效剂量为每天用 2.4g~3.6g 生药。

本发明药物组合物除能有效治疗因肾虚而导致的腰痛外，尚能显著改善因肾虚导致的尿急、尿频及遗精、早泄、阳痿等症状。

以下通过实施例来进一步描述本发明，应该理解的是，这些实施例仅用于例证的目的，决不限制本发明的范围。

具体实施方式

[实施例 1] 贴膏剂的制备

(1) 药材的整理

肉苁蓉：拣去杂质。

八角茴香、熟地、附子、枸杞子、车前子、小茴香、丁香等各药：拣去杂质。

补骨脂、蛇床子、五味子：拣去杂质。

淫羊藿、甘草：拣去杂质，切段。

续断、锁阳：拣去杂质，切段、片状。

牛膝：拣去杂质。

杜仲：拣去杂质。

乳香、没药：拣去杂质。

菟丝子：拣去杂质。

(2) 八角茴香、丁香挥发油的提取

将 100g 丁香、300g 八角茴香分别用水蒸汽蒸馏方法提取挥发油备用。

(3) 腰肾稠膏的提取

将肉苁蓉 300g、熟地黄 300g、补骨脂 300g、淫羊藿 300g、蛇床子 300g、

牛膝 300g、续断 300g、甘草 300g、杜仲 300g、菟丝子 300g、枸杞子 300g、车前子 300g、小茴香 300g、附子 200g、五味子 200g、乳香 100g、没药 100g、锁阳 50g 与步骤（2）所得的丁香、八角茴香药渣一起，加入乙醇，回流提取，提取液浓缩成腰肾稠膏。

（4）枫香脂稠膏的制备

将枫香脂加热熔融制成 360g 稠膏。

（5）涂布膏团的制备

a 将步骤（2）所提取的八角茴香挥发油、丁香挥发油与 200g 樟脑、130g 冰片、180g 薄荷油、40g 肉桂油、330g 水杨酸甲酯、30g 液状石蜡混合，再加入橡胶或改性橡胶，使其软化后再加入松香或改性松香中，备用。

b 将立德粉 420g(立德粉为贴膏剂常用的制剂填充剂，用以增大膏团硬度)、80g 盐酸苯海拉明、步骤（3）所制得的腰肾稠膏与 360g 枫香脂稠膏及 a 步骤所得备用橡胶混匀，用适宜设备使炼成均匀细滑，具有弹性的涂布膏团。

c 在涂布机中将 b 步骤所得涂布膏团均匀涂在符合要求的布上，再切成膏片，即得。每片膏片含生药 1.2g。

〔实施例 2〕丸剂的制备

（1）药材的整理

肉苁蓉：拣去杂质。

八角茴香、熟地、附子、枸杞子、车前子、小茴香、丁香等各药：拣去杂质。

补骨脂、蛇床子、五味子：拣去杂质。

淫羊藿、甘草：拣去杂质。

续断、锁阳：拣去杂质。

牛膝：拣去杂质。

杜仲：拣去杂质。

乳香、没药：拣去杂质。

菟丝子：拣去杂质。

（2）细粉的制备

取整理后的 180g 蛇床子、180g 车前子、180g 小茴香、110g 五味子、180g 淫羊藿、180g 甘草、20g 锁阳、180g 菟丝子用粉碎机粉碎成细粉，过 100 目

筛，得腰肾细粉。

(3) 挥发油的制备

取 500g 丁香、870g 八角茴香分别提取挥发油，然后将挥发油与樟脑 180g、冰片 120g、薄荷油 150g、肉桂油 30g、水杨酸甲酯 330g 混合，搅拌均匀。

(4) 腰肾稠膏的制备

将肉苁蓉 870g、熟地黄 870g、补骨脂 870g、牛膝 870g、续断 870g、杜仲 870g、枸杞子 870g、附子 870g、乳香 300g、没药 600g、枫香脂 1030g 与丁香、八角茴香药渣混合在一起，加入乙醇，回流，提取液浓缩成腰肾稠膏。

(5) 腰肾团块粉的制备

将 1000g 腰肾稠膏与腰肾细粉混合，搅拌 1~2 分钟，制成软材，摊盆，厚度不超过 3cm，用热风循环烘箱 $95^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 条件下干燥 40 小时，得腰肾团块。腰肾团块用粉碎机粉碎，过 100 目筛。细粉在混合机中混合 18 分钟，得腰肾团块粉。

(6) 炼蜜的制备

取蜂蜜用夹层锅加热煮沸至 110°C ，趁热用 80 目筛滤过，即得。

(7) 泛丸

取炼蜜加乙醇以 1:3 的比例混合均匀，将少量腰肾团块粉放入缸中，开动制丸缸，开始喷加少量炼蜜-乙醇混合液，不断搅拌至使细粉呈湿润的颗粒状，再加适量腰肾团块粉，继续搅拌使细粉均匀覆在颗粒上，再依次喷加炼蜜-乙醇混合液和撒加细粉，以此方法使粉颗粒慢慢加大成细小丸粒，过 1mm 孔径的筛，取 1mm 孔径筛的小丸置制丸缸中，继续喷加炼蜜-乙醇混合液并撒加细粉，过 2mm~2.5mm 孔径的筛，取过筛的小丸作丸种。

在制丸缸中加入丸种，开动制丸缸，喷加适量炼蜜-乙醇（1:3）的混合液，搅拌使小丸润湿后再加适量细粉，以此方法泛丸至直径为 3.0mm~3.5mm 大小的小丸，过筛；取过筛的小丸投入制丸缸中，开动制丸机，再依次不断喷加适量的炼蜜-乙醇（1:2）混合液及撒加细粉，使丸粒逐渐加大，至小丸直径为 4.5mm~5.0mm 大小为止。取出，过筛，取丸径 4.5~5.0mm 范围大小的湿丸进行干燥。

(8) 干燥

将湿丸摊盘，每盘厚度约为 3cm， 60°C 干燥 2 小时， 70°C 干燥 2 小时，然后升至 75°C 进行干燥，至水分 < 9.0%，得丸胚。

(9) 包衣

将每缸丸胚置于制丸缸中滚动，并用喷雾形式喷入挥发油，搅匀，在缸中滚动约 10 分钟，取出，得包衣丸。

[实施例 3] 片剂的制备

(1) 药材的整理

肉苁蓉：拣去杂质。

八角茴香、熟地、附子、枸杞子、车前子、小茴香、丁香等各药，拣去杂质。

补骨脂、蛇床子、五味子：拣去杂质。

淫羊藿、甘草：拣去杂质。

续断、锁阳：拣去杂质。

牛膝：拣去杂质。

杜仲：拣去杂质。

乳香、没药：拣去杂质。

菟丝子：拣去杂质。

(2) 八角茴香、丁香挥发油的提取

取 60g 丁香、100g 八角茴香用水蒸汽蒸馏法分别提取挥发油。

(3) 腰肾稠膏的提取

将肉苁蓉 120g、熟地黄 120g、补骨脂 120g、淫羊藿 120g、蛇床子 120g、牛膝 120g、续断 120g、甘草 120g、杜仲 120g、菟丝子 120g、枸杞子 120g、车前子 120g、小茴香 120g、附子 60g、五味子 60g、乳香 30g、没药 60g、锁阳 15g 与丁香、八角茴香药渣混合在一起，加入乙醇，回流，提取液浓缩成腰肾稠膏。

(4) 枫香脂稠膏的制备

将枫香脂加热熔融成稠膏。

(5) 腰肾喷雾粉

将腰肾稠膏和 130g 枫香脂稠膏混匀在喷雾干燥机中喷雾干燥，制得腰肾喷雾粉。

(6) 将步骤 2) 所提取的挥发油、60g 樟脑、60g 冰片、55g 薄荷油、12g 肉桂油、120g 水杨酸甲酯加入腰肾喷雾粉中制成颗粒，压片，包薄膜衣即得。

[实施例 4] 颗粒剂的制备

(1) 药材的整理

肉苁蓉：拣去杂质。

八角茴香、熟地、附子、枸杞子、车前子、小茴香、丁香等各药，拣去杂质。

补骨脂、蛇床子、五味子：拣去杂质。

淫羊藿、甘草：拣去杂质。

续断、锁阳：拣去杂质。

牛膝：拣去杂质。

杜仲：拣去杂质。

乳香、没药：拣去杂质。

菟丝子：拣去杂质。

(2) 八角茴香、丁香挥发油的提取

取 100g 丁香、300g 八角茴香分别收挥发油。

(3) 腰肾稠膏的提取

将肉苁蓉 300g、熟地黄 300g、补骨脂 300g、淫羊藿 300g、蛇床子 300g、牛膝 300g、续断 300g、甘草 300g、杜仲 300g、菟丝子 300g、枸杞子 300g、车前子 300g、小茴香 300g、附子 200g、五味子 200g、乳香 100g、没药 100g、锁阳 50g 与丁香、八角茴香药渣一起，加入乙醇，回流，提取液浓缩成腰肾稠膏。

(4) 枫香脂稠膏的制备

将枫香脂加热熔融成 360g 稠膏。

(5) 腰肾喷雾粉

将腰肾稠膏和 360g 枫香脂稠膏混匀在喷雾干燥机中喷雾干燥，制得腰肾喷雾粉。

(6) 将步骤 (2) 所提取的挥发油、210g 樟脑、140g 冰片、180g 薄荷油、40g 肉桂油、340g 水杨酸甲酯加入腰肾喷雾粉制成颗粒，即得。

[实施例 5] 胶囊剂的制备

(1) 药材的整理

肉苁蓉：拣去杂质。

八角茴香、熟地、附子、枸杞子、车前子、小茴香、丁香等各药，拣去杂质。

补骨脂、蛇床子、五味子：拣去杂质。

淫羊藿、甘草：拣去杂质。

续断、锁阳：拣去杂质。

牛膝：拣去杂质。

杜仲：拣去杂质。

乳香、没药：拣去杂质。

菟丝子：拣去杂质。

(2) 八角茴香、丁香挥发油的提取

取丁香 100g、八角茴香 300g 分别提取挥发油。

(3) 腰肾稠膏的提取

将肉苁蓉 300g、熟地黄 300g、补骨脂 300g、淫羊藿 300g、蛇床子 300g、牛膝 300g、续断 300g、甘草 300g、杜仲 300g、菟丝子 300g、枸杞子 300g、车前子 300g、小茴香 300g、附子 200g、五味子 200g、乳香 100g、没药 100g、锁阳 50g 与丁香、八角茴香药渣混合在一起，加入乙醇，回流，提取液浓缩成腰肾稠膏。

(4) 枫香脂稠膏的制备

将枫香脂加热熔融成 360g 稠膏。

(5) 腰肾喷雾粉

将腰肾稠膏和枫香脂稠膏混匀在喷雾干燥机中喷雾干燥，制得腰肾喷雾粉。

(6) 将步骤(2)所提取的挥发油、210g 樟脑、140g 冰片、180g 薄荷油、40g 肉桂油、340g 水杨酸甲酯加入到腰肾喷雾粉中，制成颗粒装胶囊，即得。

[试验例 1] 本发明药物组合物对肾虚模型的作用

一、试验材料

1、供试药物：本发明实施例所制备的外用贴膏片；剂量设置：70Kg 的成年人本发明药物组合物外用贴膏片的使用量为 2 贴/天(面积为 $2 \times 6.2 \times 9.0\text{cm}^2$)，按体表面积换算成体重为 20g 的小鼠皮肤给药面积为低剂量

0.4×0.7cm²，中剂量 1.2×0.7cm²，高剂量 1.2×2.1cm²，其剂量分别为成人的 1、3、9 倍。按体表面积换算成体重为 200g 的大鼠皮肤给药面积为低剂量 2.0×1.0cm²，中剂量 3.0×2.0cm²，高剂量 3.0×6.0cm²，其剂量分别为成人的 1、3、9 倍。

2、空白赋形剂，为不含药物的贴膏片，小鼠皮肤给药面积为 0.6×0.7cm²，大鼠皮肤给予空白赋形剂面积为 3.0×6.0cm²。

3、阳性对照药：金匱肾气丸，按成人每天口服 24 粒(4.5g)计算，按体表面积换算成体重为 200g 大鼠灌胃给药剂量为 0.08g/200g 体重。按成人每天口服 24 粒(4.5g)计算，按体表面积换算成体重为 20g 小鼠灌胃给药剂量为 0.001g/20g 体重。

4、实验动物：健康 SD 大鼠，由广东省医学实验动物中心提供，实验动物合格证号：99A032。NIH 系小鼠，体重 20±2g，由广东省医学实验动物中心提供，实验动物合格证号：99A030。

5、实验仪器及药品：JL-C 生理实验多用仪，上海嘉龙仪器厂生产；腺嘌呤(Adenine)，由 Fluka BioChemika 生产。

二、试验方法及结果

1、对去势大鼠肾虚模型实验

选择 SD 系大鼠，雄性，体重 200±20g，用弯头剪刀将各组豚鼠背部毛发剪去，用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠 8g，淀粉 7g，糖 4g，甘油 5g，硼砂 1g，加水 75ml)，在豚鼠背部轻轻涂布，3 分钟后用温水清洗脱毛局部，以纱布擦干，约 7×7 平方厘米，其脱毛面积占体表面积的 25%左右。静养一天，用乙醚浅麻醉，常规消毒，切除两侧睾丸，随机分成为供试药物低剂量组、中剂量组、高剂量组，空白对照组和阳性对照组，共 5 个组，每组 10 只大鼠。另选择 SD 系雄性未去势大鼠，10 只，作为正常对照组。各组大鼠按相应给药途径给药，试验组、空白对照组的给药途径是皮肤给药，阳性对照组是口服给药，连续给药 45 天。每隔 15 天脱毛一次。第 46 天，采用生理实验多用仪的刺激电极放置于大鼠阴茎部位，给予局部电刺激，电流强度为 4mA，电压为 40mV 记录从刺激开始至阴茎勃起时间。处死大鼠，解剖大鼠包皮腺、精液囊、前列腺及提肛肌称量重量，实验结果见表 1。

表1 本发明药物组合物对去势大鼠肾虚模型实验 ($\bar{x} \pm SD$, n=10)

组别	体重 (g)	勃起时间(s)	包皮腺指数 (mg/100g)	(精囊腺+前列腺) 指数(mg/100g)	提肛肌指数 (mg/100g)
正常对照组	324.5±29.5	9.4±4.8*	47.9±12.5***	508.0±77.7***	34.2±5.6***
空白对照组	298.5±32.1	14.2±4.2	26.9±9.1	33.7±12.0	13.1±3.7
低剂量组	294.7±32.5	6.3±5.0***	28.2±6.0**	32.8±6.7 [∇]	15.9±3.1***
中剂量组	295.8±19.6	5.9±3.0***	34.2±12.9***	41.5±10.3 [∇]	15.1±2.7 [∇]
高剂量组	304.4±20.4	8.0±5.2***	32.7±10.7***	49.4±19.1*	17.6±4.6 [∇]
阳性对照组	306.3±15.1	3.7±2.3***	37.3±5.8***	100.4±12.6***	23.4±3.9*

与空白对照组相比, [∇]P>0.05, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

2、对腺嘌呤所致小鼠肾功能阳虚模型的作用

选取成年健康小鼠50只, 体重20±2g, 全为雄性。设置5个剂量组, 分别为供试药物低剂量组、中剂量组、高剂量组, 空白对照组和阳性对照组, 每组10只小鼠。给药途径: 用弯头剪刀将各组小鼠背部毛发剪去, 用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠8g, 淀粉7g, 糖4g, 甘油5g, 硼砂1g, 加水75ml), 在小鼠背部轻轻涂布, 3分钟后用温水清洗脱毛局部, 以纱布擦干, 静养一天, 按给药剂量皮肤给药。空白组贴以空白赋形剂。各组小鼠每天喂以腺嘌呤(adenine)化饲料喂饲(含量约0.6%左右)。摄取量每日200mg/kg体重。同时各组小鼠分别给药。每隔10天脱毛一次。另选10只小鼠不喂以含腺嘌呤化饲料作为正常对照组。30天后, 小鼠摘眼取血, 测定尿素氮(BUN)及肌肝(Cr)含量, 处死小鼠, 称量其胸腺及脾脏重量, 试验结果见表2。

表2 本发明药物组合物对腺嘌呤所致小鼠肾功能阳虚模型的作用 ($\bar{x} \pm SD$, n=10)

项目	给药前 体重(g)	给药后 体重(g)	BUN (mMol/L)	Cr (mg/dl)	胸腺系数 ($\times 10^{-3}$)	脾脏系数 ($\times 10^{-3}$)
正常对照组	20.67±1.17 [∇]	30.51±2.75***	5.86±1.09***	1.13±0.33***	25.7±3.4***	38.3±4.0***
空白对照组	20.44±1.24	24.2±1.67	10.52±2.10	1.82±0.37	11.5±2.0	30.4±5.3
低剂量组	20.86±0.96 [∇]	25.82±1.30*	8.64±1.73*	1.62±0.33 [∇]	12.3±2.1 [∇]	33.6±6.7 [∇]
中剂量组	21.21±1.56 [∇]	27.14±2.23**	7.03±1.64***	1.31±0.44*	12.6±2.0 [∇]	33.9±5.2 [∇]
高剂量组	20.30±1.39 [∇]	28.62±1.60***	6.61±1.67***	1.06±0.29***	13.1±4.0 [∇]	37.8±5.8**
阳性对照组	21.63±1.18 [∇]	30.42±2.76***	7.37±1.04***	1.19±0.31***	13.3±2.3 [∇]	37.1±5.6**

与空白对照组相比, [∇]P>0.05, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

试验结果: 1) 由去势大鼠肾虚模型实验结果可知, 供试药物低、中、高

剂量能够有效缩短去势大鼠受电刺激阴茎勃起的潜伏期,提高包皮腺、(精囊腺+前列腺)及提肛肌指数,与空白对照组相比,具有非常显著性。

2)由腺膘呤所致小鼠肾功能阳虚模型实验结果可知,与正常对照组相比,空白对照组小鼠体重下降,血清BUN、Cr含量出现进行性增高,胸腺及脾脏萎缩,供试药物能够减缓腺膘呤所致小鼠体重降低,降低BUN、Cr含量,提示供试药物具有补肾壮阳的功效。

[试验例2] 本发明药物组合物的皮肤急性毒性试验

一、试验材料

1、供试样品:本发明实施例所制备的外用贴膏片,实验时剪成所需面积备用。

2、实验动物:封闭群豚鼠,由第一军医大学实验动物中心提供,合格证书号:粤检证字第99A047号。

二、试验方法及结果

选择健康豚鼠8只,体重 $260\pm 20\text{g}$,雌雄各半,用弯头剪刀将豚鼠背部毛发剪去,用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠8g,淀粉7g,糖4g,甘油5g,硼砂1g,加水75ml),在豚鼠背部轻轻涂布,3分钟后用温水清洗脱毛局部,以纱布擦干,约 7×7 平方厘米,其脱毛面积占体表面积的30%左右,静养一天,每4只一组,分为2组,即皮肤破损豚鼠组和完整皮肤豚鼠组。皮肤破损豚鼠为用无菌针头均匀地轻度划破皮肤表面。

供试药物剂量超过有效浓度20倍以上,仍未出现异常反应,则只设一个剂量组。将本发明实施例所制备的贴膏片剪成所需的面积($7\times 7\text{ cm}^2$),分别贴在对应豚鼠的背部皮肤表面,24小时后,受药区撕去所贴胶布。连续7天观察皮肤反应,记录死亡情况及全身中毒表现。

三、剂量设计

70Kg的成年人本发明药物组合物的使用量为2贴/天(每贴面积为 $6.2\times 9.0\text{ cm}^2$),换算成平均体重为260g的豚鼠应贴的面积为 $2\times 6.2\times 9.0\times 260\div (31.5\times 400)=2.3\text{ cm}^2$ 。21倍的使用剂量为 $2.3\times 21=48.3\text{ cm}^2$,相当于 $7\times 7\text{ cm}^2$ 。

表3 本发明药物组合物对豚鼠皮肤急性毒性的研究

	雌性豚鼠				雄性豚鼠			
	完整皮肤		破损皮肤		完整皮肤		破损皮肤	
第1天	0	0	0	0	0	0	0	0
第2天	0	0	0	0	0	0	0	0
第3天	0	0	0	0	0	0	0	0
第4天	0	0	0	0	0	0	0	0
第5天	0	0	0	0	0	0	0	0
第6天	0	0	0	0	0	0	0	0
第7天	0	0	0	0	0	0	0	0

注：有中毒症状为1，无中毒症状为0。

试验结果：供试药物在相当于成人每天使用剂量的21倍(给药面积已达最大)的情况下，破损皮肤豚鼠和完整皮肤豚鼠均无中毒及死亡现象出现，说明本发明药物组合物为无毒、安全性药物。

[试验例3] 本发明药物组合物长期毒理学研究

一、试验材料

1、供试药物：本发明实施例所制备的外用贴膏片

2、实验动物：健康SD大鼠，80只，雌雄各40只，雌性体重为 $100\pm 20\text{g}$ ，雄性体重为 $110\pm 20\text{g}$ ，由广东省医学实验动物中心提供，实验动物合格证：99A032；饲养于不锈钢大鼠笼内，雌雄大鼠分笼饲养，每笼5只，动物实验室为清洁级，中央空调集中通风8—15次/小时，温度 $20\text{—}24\text{°C}$ ，相对湿度55—65%，自然采光。喂饲全价营养颗粒饲料，饮水为城市自来水用净水器过滤后装入饮水瓶中自由饮用。

3、试验试剂

总蛋白试剂盒(双缩脲法)：由北京中生生物工程高技术公司出品，批号：991229；

白蛋白试剂盒(溴甲酚绿法)：由北京中生生物工程高技术公司出品，批号991221；

天门冬氨酸氨基转移酶试剂盒(IFCC推荐法)：由北京中生生物工程高技术公司出品，批号000601；

丙氨酸氨基转移酶试剂盒(IFCC推荐法)：由北京中生生物工程高技术公司出

品, 批号: 000601;

肌酐液体试剂盒, 由北京中生生物工程高技术公司出品, 批号: 000501;

尿素氮测定试剂盒: 由北京中生生物工程高技术公司出品, 批号: 000501;

血糖液体试剂盒(GOD-PAP 法): 由北京中生生物工程高技术公司出品, 批号: 000601;

胆固醇试剂盒(CHOD-PAP 法): 由北京中生生物工程高技术公司出品, 批号: 000502;

碱性磷酸酶试剂盒(AMP buffer): 由北京中生生物工程高技术公司出品, 批号: 000601;

二、试验方法

1、剂量分组

1) 供试药物: 本发明实施例所制备的贴膏片

高剂量组: $13 \times 10 \text{cm}^2 / 200 \text{g}$ 体重(相当于拟推荐人临床剂量的 65.0 倍)

中剂量组: $6.5 \times 10 \text{cm}^2 / 200 \text{g}$ 体重(相当于拟推荐人临床剂量的 32.5 倍)

低剂量组: $6.5 \times 3 \text{cm}^2 / 200 \text{g}$ 体重(相当于拟推荐人临床剂量的 10.0 倍)

2) 空白对照组: 空白赋形剂 $13 \times 10 \text{cm}^2 / 200 \text{g}$ 体重

以上剂量剪成贴片贴于大鼠背部。

剂量设置依据: 本发明实施例所制备的贴膏片按 70kg 成年人每天粘贴面积为 $2 \times 6.2 \text{cm} \times 9.0 \text{cm}$ 用量等效换算, 本发明实施例所制备的贴膏片低、中、高剂量组大鼠给药剂量分别等效于成年人用量的 65 倍、32.5 倍、10.0 倍。

给药途径: 用弯头剪刀将各组大鼠背部毛发剪去, 用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠 8g, 淀粉 7g, 糖 4g, 甘油 5g, 硼砂 1g, 加水 75ml), 在大鼠背部轻轻涂布, 3 分钟后用温水清洗脱毛局部, 以纱布擦干, 按给药剂量每天皮肤给药。每隔 20 天, 重新用脱毛剂脱毛一次。

2、试验方法

根据中华人民共和国卫生部药政局《新药(西药)临床前研究指导原则汇编》P.199, “大鼠长期毒性试验”方法进行。取符合试验要求的健康 SD 大鼠 80 只, 雌雄各 40 只, 按《大鼠的鉴别与编号 SOP / GT Z / 084》进行编号, 雄性为奇数、雌性为偶数。按体重随机分为四个试验组, 即供试药物高、中、低三个剂量组和一个空白对照组, 每组 20 只, 雌雄各半。试验前观察一周, 并记录体重及摄食饮水量等基础数据, 各组间应无显著性差异。60d 内连续每

天皮肤给药一次，每天上午观察记录大鼠的一般体征(包括行为活动、呼吸、毛色、口、眼、耳、鼻、粪、尿等)，摄食量、饮水量和死亡情况。发现有中毒反应的动物取出单笼饲养，重点观察。发现有死亡和濒死动物及时尸检，作大体观察和病理组织学检查。每隔 7d 称量一次体重。分别连续给受药 60d 后，各组随机抽取大鼠 10 只，雌雄各半，检查前禁食不禁水 12 小时以上。经摘眼采血，以血细胞分析仪测定红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)、血红蛋白(HGB)和血液涂片镜检白细胞分类。血清以 752 型紫外分光光度计及配对试剂盒测定天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(AKP)、尿素氮(BUN)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、血糖(GLU)、肌酐(Crea)和总胆固醇(T-CHO)。同时称取动物重要脏器——心、脑、肝、脾、肺、肾、肾上腺(单侧)、子宫、前列腺、卵巢(单侧)、睾丸(单侧)，进行解剖检验，计算内脏占体重的百分率(内脏指数)，剩下各组大鼠在停药 15d 后，进行血象和生化指标的测定，同时称取动物重要脏器——心、脑、肝、脾、肺、肾、肾上腺(单侧)、子宫、前列腺、卵巢(单侧)、睾丸(单侧)，进行组织学镜检观察，计算内脏指数。

内脏指数=内脏重量÷动物体重

以上各项观察指标用 NDST 统计软件处理，综合评价试验结果。

说明：

英文简称	全称	中文
PLT	Platelet	血小板
ALB	Albumin	白蛋白
ALT	alanine aminotransferase	丙氨酸氨基转移酶
AST	aspartate aminotransferase	天门冬氨酸转氨酶
BUN	blood urea nitrogen	血液尿素氮
Crea	Creatinine	肌酐
TP	total-protein	总蛋白质
HGB	Hemoglobin	血红蛋白
RBC	red blood cell	红细胞
T-CHO	Cholesterol	胆固醇
WBC	white blood cell	白细胞
GLU	Glucose	血糖

三、试验结果

1、一般症状：

供试药物组三个剂量，大鼠在整个试验过程中，均未出现任何异常反应和死亡。

2、体重变化：

给予供试药物组的各个剂量组及空白对照组于第 0, 8, 16, 24, 32, 40, 48,56,64 天称量体重，结果表明大鼠的体重随着时间的增加而增加，但供试药物组大鼠的平均体重与空白组相比无显著性差异(即 $P>0.05$)。实验动物的摄食与饮水量均正常。详情见下表 4 所示

表 4 大鼠皮肤连续 60 天给予本发明药物的试验组 在停药 15 天时测定 S.D. 系大鼠体重的变化 ($\bar{x}\pm SD$, $n=10$)

	供试药物低剂量组		供试药物中剂量组		供试药物高剂量组		空白对照组	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
0d	103.1±9.8	97.2±7.8	103.9±9.5	96.7±6.0	111.4±7.5	103.2±6.7	101.7±6.7	106.7±6.0
8d	132.2±13.4	130.5±14.3	140.9±7.7	131.2±9.9	143.4±9.4	137.7±15.3	135.1±13.1	131.3±10.8
16d	159.6±10.8	158.6±12.7	166.3±7.4	160.6±14.4	162.0±11.2	167.8±20.5	161.1±15.5	159.3±14.6
24d	177.8±11.2	172.6±29.7	177.5±6.3	176.0±21.3	176.6±13.5	177.4±28.5	182.1±14.2	188.0±13.9
32d	189.9±12.4	181.0±19.2	190.8±10.0	184.7±14.4	196.0±12.0	198.1±22.9	188.9±17.4	197.5±16.4
40d	190.9±11.3	190.6±20.1	194.2±17.3	199.1±17.4	191.3±16.1	208.5±21.1	190.2±16.2	206.2±17.5
48d	193.9±12.6	203.9±22.5	195.0±10.9	207.9±14.8	190.2±13.4	208.5±20.7	193.3±23.0	210.0±9.5
56d	208.0±10.4	205±18.6	201.6±18.1	217±24.0	211.9±14.4	214.0±22.98	201.4±18.0	218.4±14.5
64d	212.2±15.1	208.8±17.8	216.4±21.9	216.2±24.8	210.0±22.4	209.6±10.14	196.8±19.5	216.2±17.8

与同期空白同性对照组相比较， $P>0.05$ (标志略)；

3、血液学检查：

供试药物低、中、高三个剂量给药 60 天，低剂量组大鼠大单核细胞占百分比值略高于空白对照组($P<0.05$)，停药 15 天后恢复正常，给药 60 天及停药 15 天高剂量组的淋巴细胞占百分比值略低于空白对照组($P<0.05$)；其余各值与空白对照组相比无差异($P>0.05$)，属于大鼠正常值的范围，详见表 5。

表5 大鼠连续给药60天及停药15天对血液学参数的影响 ($\bar{x} \pm SD$, n=10)

项 目	空白对照组	供试药物低剂量组	供试药物中剂量组	供试药物高剂量组
	给药 60d	给药 60d	给药 60d	给药 60d
	停药 15d	停药 15d	停药 15d	停药 15d
WBC $\times 10^9/L$	13.37 \pm 2.88	11.18 \pm 4.14	12.21 \pm 2.78	12.46 \pm 3.13
	12.24 \pm 3.19	13.48 \pm 2.84	10.88 \pm 4.24	12.99 \pm 3.57
RBC $\times 10^{12}/L$	8.94 \pm 0.84	8.3 \pm 0.39	8.14 \pm 0.42	8.20 \pm 0.36
	8.16 \pm 1.28	8.35 \pm 0.83	8.61 \pm 0.91	8.98 \pm 0.74
HGB g/L	162.2 \pm 8.05	153.4 \pm 7.46	151.2 \pm 8.78	152.4 \pm 7.95
	148.5 \pm 20.67	154.1 \pm 14.09	158.3 \pm 8.11	162.6 \pm 1.77
PLT $\times 10^9/L$	766.3 \pm 135.48	655.9 \pm 219.81	634.5 \pm 178.58	713.8 \pm 155.97
	627.5 \pm 279.02	583.6 \pm 182.58	581.1 \pm 113.05	552.2 \pm 139.95
中性粒细胞 %	20.53 \pm 6.41	23.05 \pm 8.61	18.85 \pm 4.63	33.81 \pm 11.50
	23.56 \pm 6.01	24.98 \pm 9.16	27.86 \pm 16.29	33.92 \pm 13.09
嗜酸性白细胞 %	1.013 \pm 0.489	0.848 \pm 0.238	0.928 \pm 0.568	0.892 \pm 0.374
	1.413 \pm 1.651	1.834 \pm 1.059	1.678 \pm 1.160	1.479 \pm 0.744
嗜碱性白细胞 %	0.055 \pm 0.042	0.048 \pm 0.042	0.050 \pm 0.046	0.042 \pm 0.035
	0.090 \pm 0.065	0.096 \pm 0.137	0.104 \pm 0.164	0.085 \pm 0.097
淋巴细胞 %	70.57 \pm 7.98	65.93 \pm 8.89	71.86 \pm 6.15	56.33 \pm 12.21*
	64.69 \pm 9.14	61.98 \pm 10.77	58.95 \pm 17.00	53.31 \pm 11.51*
大单核细胞 %	7.88 \pm 2.21	10.12 \pm 2.27*	8.32 \pm 1.60	8.93 \pm 1.77
	10.24 \pm 2.82	11.09 \pm 3.55	11.52 \pm 4.17	11.25 \pm 4.85

与空白对照组相比较, $^{\Delta} P > 0.05$ (标志略), $*P < 0.05$;

4、血液生化检查:

供试药物低、中、高剂量, 给药二个月和停药 15d 的各项血液生化指标值, 与空白对照组相比, P 值均无显著性差异, ($P < 0.05$ =, 均属正常值范围。详见表 6、7。

表6 大鼠连续给药60天对大鼠血象及生化指标的影响 ($\bar{x} \pm SD$, n=10)

项 目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
ALB g/L	35.17 \pm 1.55	34.52 \pm 5.88	33.04 \pm 4.54	35.48 \pm 5.82
ALT U/L	25.49 \pm 11.02	28.63 \pm 14.96	29.51 \pm 8.41	27.41 \pm 8.27
AST U/L	70.01 \pm 11.39	77.00 \pm 8.13	73.33 \pm 14.61	71.24 \pm 9.19
GLU mMol/L	6.222 \pm 1.232	5.807 \pm 1.438	5.107 \pm 1.058	6.051 \pm 1.080
TP g/L	82.3 \pm 9.78	74.5 \pm 8.05	76.9 \pm 9.60	80.9 \pm 6.72
T-CHOL mMol/L	1.334 \pm 0.354	1.312 \pm 0.370	1.396 \pm 0.327	1.361 \pm 0.282
Crea mg/dl	0.675 \pm 0.282	0.666 \pm 0.259	0.844 \pm 0.272	0.628 \pm 0.140
ALP U/L	31.20 \pm 11.67	33.91 \pm 22.78	39.07 \pm 19.86	38.25 \pm 26.41
BUN mmol/L	6.839 \pm 1.225	7.553 \pm 1.084	6.915 \pm 1.495	6.614 \pm 1.673

与空白对照组相比较, $^{\Delta} P > 0.05$ (标志略);

表 7 大鼠连续给药 60 天及停药 15 天对大鼠血象及生化指标的影响
($\bar{x} \pm SD, n=10$)

项 目	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
ALB g/L	27.18±3.48	29.60±2.93	28.86±2.15	27.29±1.54
ALT U/L	30.56±8.64	26.54±9.38	28.98±11.05	29.68±12.51
AST U/L	81.71±14.63	84.33±39.51	86.43±46.27	91.94±39.11
GLU mMol/L	6.580±1.782	5.761±1.062	6.362±1.641	5.947±1.133
TP g/L	81.94±13.54	78.55±28.64	76.72±30.13	81.72±22.66
T-CHOL mMol/L	1.331±0.494	1.653±0.380	1.610±0.151	1.780±0.202
Crea mg/dl	0.730±0.359	0.670±0.106	0.750±0.190	0.770±0.082
ALP U/L	34.18±19.23	30.39±15.12	32.01±18.03	35.27±10.39
BUN mMol/L	6.880±1.743	6.458±1.741	7.010±2.932	7.075±2.314

与空白对照组相比较, P>0.05(标志略);

5、脏器重量与脏器系数:

供试药物低、中、高剂量组的大鼠各项内脏及内脏系数, 与空白对照组相比, 均无显著性差异(P>0.05), 各项指标均在正常范围。

表 8 大鼠连续给药 60 天大鼠内脏指数的影响 ($\bar{x} \pm SD, n=5$)

组别	体重	大脑	心脏	肝	脾	肺	肾	肾上腺	前列腺/卵巢	睾丸/子宫
		重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)	重量(g) 系数(10 ⁻³)
空白组	♂ 208.02±11.14	1.669±0.116	0.791±0.061	6.833±0.656	0.438±0.082	1.405±0.585	0.635±0.070	0.020±0.005	0.167±0.025	1.296±0.216
		♀ 161.06±33.10	8.245±1.438	3.952±1.015	3.365±0.546	2.117±0.665	6.761±2.163	3.127±0.513	0.985±0.228	0.819±0.147
低剂量组	♂ 190.96±8.90	1.705±0.095	0.693±0.082	6.44±0.742	0.480±0.162	1.257±0.093	0.598±0.085	0.018±0.006	0.156±0.027	1.16±0.051
		♀ 186.1±13.18	8.916±0.707	3.628±0.408	3.378±0.424	2.525±0.881	6.602±0.655	3.149±0.58	0.96±0.317	0.814±0.124
中剂量组	♂ 198.84±16.11	1.737±0.059	0.709±0.078	6.140±0.623	0.644±0.222	1.063±0.069	0.601±0.030	0.018±0.004	0.171±0.080	1.333±0.218
		♀ 157.82±26.86	8.791±0.926	3.571±0.348	3.085±0.965	3.185±0.917	5.364±0.413	3.033±0.235	0.923±0.16	0.841±0.346
高剂量组	♂ 196.68±32.27	1.630±0.111	0.653±0.126	6.001±1.345	0.403±0.163	1.267±0.223	0.632±0.071	0.016±0.004	0.176±0.096	1.261±0.389
		♀ 203.24±16.83	8.433±1.177	3.307±0.2	3.031±0.209	2.008±0.56	6.616±1.822	3.243±0.293	0.835±0.335	0.864±0.418

与空白同性对照组相比较, P>0.05(标记略)。

表9 大鼠连续给药 60 天及停药 15 天对大鼠内脏指数的影响 ($\bar{x} \pm SD, n=5$)

组别	体重	大脑 重量(g) 系数(10 ⁻³)	心脏 重量(g) 系数(10 ⁻³)	肝 重量(g) 系数(10 ⁻³)	脾 重量(g) 系数(10 ⁻³)	肺 重量(g) 系数(10 ⁻³)	肾 重量(g) 系数(10 ⁻³)	肾上腺 重量(g) 系数(10 ⁻³)	前列腺/卵巢 重量(g) 系数 (10 ⁻³)	睾丸/子宫 重量(g) 系数(10 ⁻³)
空白组	♂ 185.52±19.62	1.697±0.106 9.538±2.352	0.724±0.129 3.957±0.47	6.504±0.467 3.661±0.957	0.489±0.103 2.894±1.553	1.253±0.093 7.198±2.631	0.655±0.109 3.592±0.488	0.016±0.004 0.878±0.183	0.152±0.035 0.829±0.135	1.049±0.193 5.935±1.951
	♀ 161.32±21.81	1.516±0.206 9.59±2.23	0.660±0.068 4.126±0.473	6.176±0.863 3.834±0.269	0.407±0.114 2.503±0.418	1.018±0.387 6.325±2.196	0.591±0.075 3.675±0.25	0.015±0.003 0.98±0.308	0.033±0.010 0.202±0.066	0.167±0.035 1.035±0.145
低剂量	♂ 152.72±11.68	1.365±0.222 8.925±1.205	0.586±0.148 3.803±0.712	5.739±0.0678 3.749±0.190	0.429±0.259 2.749±1.51	1.046±0.143 6.816±0.706	0.507±0.055 3.318±0.202	0.013±0.003 0.838±0.153	0.126±0.025 0.817±0.108	1.04±0.291 6.869±2.102
	♀ 184.52±10.99	1.682±0.171 9.106±0.641	0.688±0.102 3.723±0.42	0.990±0.493 3.245±0.146	0.441±0.141 2.367±0.669	1.26±0.337 6.811±1.825	0.629±0.035 3.426±0.383	0.017±0.004 0.917±0.158	0.041±0.014 0.223±0.077	0.196±0.065 1.066±0.373
中剂量	♂ 184.18±23.27	1.654±0.086 9.098±1.191	0.699±0.065 3.825±0.421	6.549±0.822 3.597±0.576	0.573±0.262 3.182±1.602	1.227±0.222 6.741±1.329	0.624±0.120 3.407±0.627	0.015±0.003 0.825±0.172	0.155±0.055 0.847±0.284	1.211±0.265 6.51±0.707
	♀ 197.93±8.94	1.544±0.019 7.817±0.438	0.746±0.056 3.776±0.378	6.583±0.412 3.331±0.241	0.502±0.061 2.541±0.336	1.312±0.143 6.632±0.703	0.659±0.037 3.329±0.16	0.020±0.005 0.993±0.215	0.048±0.025 0.241±0.117	0.308±0.082 1.544±0.354
高剂量	♂ 204.40±48.76	1.709±0.066 8.824±2.595	0.726±0.145 3.586±0.246	6.978±1.670 3.413±0.145	0.524±0.100 2.712±1.005	1.381±0.150 7.04±1.775	0.654±0.103 3.266±0.398	0.017±0.002 0.862±0.262	0.191±0.058 0.95±0.24	1.255±0.182 6.386±1.603
	♀ 182.93±4.46	1.582±0.096 8.647±0.485	0.719±0.053 3.936±0.35	6.431±0.492 3.518±0.289	0.472±0.074 2.582±0.42	1.242±0.165 6.788±0.889	0.657±0.040 3.59±0.203	0.017±0.007 0.916±0.377	0.046±0.008 0.249±0.045	0.213±0.090 1.323±0.477

与空白同性对照组相比较, P>0.05 (标记略)。

6、对 S.D 大鼠重要脏器的病理剖检及组织学镜检查:

供试样品低、中、高剂量和空白对照组连续皮肤给药 60d 及停药 15d 后,分 2 次断椎处死大鼠,作病理学剖检内脏并进行观察,结果描述如下:

头颅: 颅骨无畸形, 软硬脑膜均无异常, 脑沟和脑回的深浅正常, 脑室结构清楚, 脑垂体未见异常。

心: 心外膜光滑, 无出血点, 心肌厚薄及色泽未见异常, 未见心肌细胞结构坏死或疤痕, 心瓣厚薄正常, 腱索未见粘连, 心内膜光滑, 冠脉未见狭窄或硬化。

肝: 给药 60 天后剖解大鼠, 中剂量组有一鼠(雄)肝脏有一空泡, 其余各组大鼠色泽暗红, 表面光滑润泽, 肝小叶结构清楚, 门静脉区无变化, 未见主要静脉扩张, 胆道内无结石, 胆管腔形态, 可见中剂量组肝脏异常的那只大鼠属于个体差异, 非受试样品所致。

脾: 硬度、色泽均正常, 切面轮廓整齐明确, 未见异常变化。

肺: 给药 60 天后剖解大鼠, 各组大鼠左右二侧肺大小、硬度、色泽均正常, 切面轮廓整齐明确, 未见肺褐色硬变, 未见支气管、血管异常变化。

肾: 给药 60 天后剖解大鼠, 大鼠左右肾大小及硬度色泽均正常, 表面光滑, 未见色膜粘连, 切面皮、髓质交界明确, 皮层条纹清楚, 输尿管内未见

结石，肾动脉壁未见异常。

睾丸：大小、重量及硬度均正常，睾丸精曲小管具弹性（可用镊子拉引出来），附睾、精束和尿道口未见异常。

子宫及卵巢：子宫位置、大小、形状等均未见异常；未见输卵管与邻近脏器粘连，腔内未见阻塞，卵巢大小正常，两侧对称，色泽正常。

供试样品低、中、高剂量组大鼠皮肤连续给药 60d 及停止给药 15d 后，连同空白对照组，分二次断椎处死大鼠，剖检心、肝、脾、肺、肾、睾丸、卵巢等组织块作常规固定、切片、染色后，镜检观察，结果描述如下：

心：肌纤维结构清楚，未见心肌变性、坏死、水肿或炎变，未见疤痕；未见粘液样或纤维素样变性，未见风湿小结；瓣膜亦未见粘液水肿，未见灶性细胞坏死或炎性细胞浸润，未见肉芽等组织形成或胶原纤维增生等现象。

肝：肝细胞轮廓及内部结构清晰，未见细胞膨胀及炎性细胞浸润。

肺：未见肺泡膨胀，间隔变窄，间孔变大等现象，未见小支气管炎性病变或炎性细胞浸润；未见肺泡壁毛细管扩张充血水肿或肺泡内充满渗出物。

肾：包膜正常无粘连，肾皮质与髓质分界清楚，肾盏肾盂大小正常，未见肾小球上皮细胞增生或脂变、肿胀；未见肾组织破坏、充血、水肿或炎性细胞浸润。

睾丸：细胞排列正常；结构未见异常；未见器质性病变或炎症。

子宫：未见腺上皮过度增殖，未见绒毛间质高度水肿或绒毛间质内血管消失，未见滋养层上皮细胞高度增生。

卵巢：皮质髓质结构清楚，未见组织变性或炎变，未见卵巢囊肿或实质瘤。

以上剖检观察及病理学镜检表明，供试样品低、中、高剂量组和空白对照组大鼠的主要脏器没有发现有毒性反应及病理性损害的改变。

四、试验结论

从以上试验结果表明；将 SD 大鼠连续二个月用供试药物分高、中、低三个剂量对皮肤给药，给药 60 天及停药 15 天供试样品除高剂量组大鼠的淋巴细胞占百分比值略低于空白对照组($P < 0.05$)，其余各组动物未出现任何异常反应，无死亡或体重下降，血液学、血液生化检查也未见明显影响，对摄食、饮水无影响。说明供试样品中剂量(65cm^2)为安全剂量，按体表面积计算相当于人临床用量的 32.5 倍。

[试验例 4] 本发明药物组合物对小鼠镇痛试验的作用

一、试验材料

- 1、供试药物：本发明实施例所制备的外用贴膏片；
- 2、空白赋形剂，为不含药物的贴膏片，实验时剪成所需面积备用。
- 3、阳性对照药：阿司匹林肠溶片。70Kg 的成人每天用量为 1.8g，经换算成小鼠用量为 $1.8g \div 387.9 \times 50 = 0.23g/Kg$ 体重，每只灌胃 0.4 ml。
- 4、实验动物：NIH 系小鼠，体重 $20 \pm 2g$ ，由广东省医学实验动物中心提供，实验动物合格证号：99A030。

二、试验方法及结果

1、对小鼠镇痛试验(热板法)

选取成年健康小鼠 70 只，体重为 $20 \pm 2g$ ，全为雌性，将小鼠放于热板镇痛仪 $55^{\circ}C$ 的恒温金属板上(室温为 $20 \pm 2^{\circ}C$)，以踢脚、舔后足、跳跃等作为痛反应指标。选用反应潜伏期不超过 30s 的小鼠。先测定每只小鼠的痛阈(共测二次，以平均值不超过 30s 者为合格)。设置 5 个剂量组，分别为空白赋形剂组、供试药，低剂量组、中剂量组、高剂量组和阳性对照组，每组 10 只小鼠。用弯头剪刀将供试药物组各组小鼠背部毛发剪去，用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠 8g，淀粉 7g，糖 4g，甘油 5g，硼砂 1g，加水 75ml)，在豚鼠背部轻轻涂布，3 分钟后用温水清洗脱毛局部，以纱布擦干，约 7×7 平方厘米，其脱毛面积占体表面积 的 25% 左右。阳性对照组小鼠灌以阿司匹林 $0.0116g/ml$ 溶液，每只灌胃 0.4 ml。给药 1.0h 后测量。空白组贴以空白赋形剂，其他各组贴以供试药物于小鼠的背部。其剂量分别为成人的 1、3、9 倍。70Kg 的成年人供试药物的使用量为 2 贴/天(每贴面积为 $2 \times 6.2 \times 9.0 cm^2$)，换算成平均体重为 20g 的小鼠应贴的面积为低剂量组 $0.4 \times 0.7 cm^2$ ，中剂量组 $1.2 \times 0.7 cm^2$ ，高剂量组 $1.4 \times 2.1 cm^2$ 。

将小鼠放于热板镇痛仪 $55^{\circ}C$ 的金属板上，以踢脚、舔后足、跳跃等作为痛反应指标。用药后潜伏期超过 60 秒即表示有镇痛作用，应立即取出小鼠，防止烫伤尾巴而影响实验结果。给药后开始测量，用秒表记录小鼠自投入热板至出现舔后足的时间(s)作为该鼠的痛阈值。每隔 0.5h 测定一次，连续四次，如痛阈值超过 60s，即停止测试而按 60s 计。实验结束时，按所测之痛阈平均值计算痛阈提高百分率。

痛阈提高百分率 = (用药后平均痛阈值 - 用药前平均痛阈值) / 用药前平均痛

阈值

表 10 供试药物对小鼠热板镇痛试验的作用 ($\bar{x} \pm SD, n=10$)

项目	给药前(S)	给药后(S)			
		0.5h	1.0h	1.5h	2.0h
空白组	8.3±2.4	8.2±4.4	8.1±5.5	7.9±2.7	8.6±2.2
低剂量组	8.4±3.0 ^v	10.8±3.9 ^v	12.4±3.6 ^v	14.8±3.2***	13.7±4.6**
中剂量组	8.2±2.3 ^v	10.5±2.7 ^v	16.2±4.4***	27.8±12.5***	22.8±9.7***
高剂量组	9.8±2.3 ^v	29.9±16.6***	36.9±11.3***	45.0±11.7***	34.7±10.0***
阳性对照组	8.8±1.8 ^v	36.1±12.0***	44.3±9.4***	51.2±7.5***	42.2±8.7***

与空白对照组相比, ^vP>0.05, *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

2、对小鼠镇痛试验(化学法)

选取成年健康小鼠 50 只, 体重为 22±2g, 雌雄各半. 设置 5 个剂量组, 分别为空白赋形剂组, 供试药物低剂量组, 中剂量组, 高剂量组和阳性对照组, 按实验 1 进行脱毛及给药, 给药 1.0h 后开始实验, 每鼠腹腔注射化学刺激物 1% 醋酸约 0.2ml/只, 可引起深部的、大面积而较持久的疼痛刺激, 致使小鼠产生”扭体”反应, 如腹部内凹(呈蜂腰状), 躯干与后腿伸张, 臀部高起等. 镇痛药对此有抑制作用, 可明显减少发生”扭体”反应的小鼠数. 记录注射致痛剂 20min 内各鼠扭体次数, 比较组间差异.

药物的镇痛百分率=(给药组次数-空白对照组次数)/空白对照组次数

表 11 供试药物对小鼠镇痛试验(化学法) ($\bar{x} \pm SD, n=10$)

	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	阳性对照组
扭体数(n)	98.1±10.2	58.5±	51.0±	40.9±	33.7±
		5.9***	5.0***	9.6***	3.7***
镇痛百分率	----	40.4%	48.0%	58.3%	65.6%

与空白对照组相比, ***P<0.001.

结论:

1) 由热板镇痛实验结果可知, 供试药物低、中、高剂量组能够有效提高小鼠的痛阈值, 与空白对照组相比, 具有非常显著性差异, 提示供试药物具有明显的镇痛作用;

2) 由化学法镇痛实验结果可知, 供试药物能够有效抑制醋酸引起的痛疼, 供试药物低、中、高剂量对小鼠分别为 40.4%, 48.0%, 58.3%, 提示供试药物具有明显的镇痛作用。

[试验例 5] 本发明药物抗炎药理作用研究

一、试验材料

1、供试药物：本发明实施例所制备的贴膏片；70Kg 的成年人供试药物的使用量为 2 贴/天(面积为 $2 \times 6.2 \times 9.0 \text{cm}^2$)，按体表面积换算成体重为 20g 的小鼠应贴的面积为低剂量组 $0.4 \times 0.7 \text{cm}^2$ ，中剂量组 $1.2 \times 0.7 \text{cm}^2$ ，高剂量组 $1.2 \times 2.1 \text{cm}^2$ ，其剂量分别为成人的 1、3、9 倍。按体表面积换算成体重为 200g 的大鼠应贴的面积为低剂量组 $2.0 \times 1.0 \text{cm}^2$ ，中剂量组 $3.0 \times 2.0 \text{cm}^2$ ，高剂量组 $3.0 \times 6.0 \text{cm}^2$ ，其剂量分别为成人的 1、3、9 倍。

2、空白赋形剂：由佛山德众药业有限公司提供

3、阳性对照药：阿司匹林肠溶片，湖南制药厂生产，湘卫药准字(1989) 第 001157 号。70Kg 的成人每天用量为 1.8g，经换算成小鼠用量为 $1.8 \text{g} \div 387.9 \times 50 = 0.23 \text{g/Kg}$ 体重，每只灌胃 0.4 ml。经换算成大鼠用量为 $1.8 \text{g} \div 56 \times 20 = 0.64 \text{g/Kg}$ 体重，每只灌胃 1.0 ml。

4、致炎剂：二甲苯，分析纯，广州化学试剂厂生产。

5、实验动物：NIH 系小鼠，体重 $20 \pm 2 \text{g}$ ，由广东省医学实验动物中心提供，实验动物合格证号：99A030。实验动物，SD 大鼠， $200 \pm 20 \text{g}$ ，雄性，由第一军医大学实验动物中心提供，合格号 99A046。

二、试验方法及结果

1、对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的作用

选取成年健康小鼠 50 只，体重 26~30g，全为雄性。设置 5 个剂量组，分别为空白赋形剂组、供试药物低剂量组、中剂量组、高剂量组和阳性对照组，每组 10 只小鼠。

给药途径：用弯头剪刀将供试药物组各组小鼠背部毛发剪去，用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠 8g，淀粉 7g，糖 4g，甘油 5g，硼砂 1g，加水 75ml)，在小鼠背部轻轻涂布，3 分钟后用温水清洗脱毛局部，以纱布擦干，静养一天，按给药剂量皮肤给药。空白组贴以空白赋形剂。

实验开始时，进行致炎作用。将二甲苯 0.05ml 滴于小鼠的右耳，以左耳作为对照。各组小鼠给予致炎剂前 1.5 小时分别给药，致炎剂后 0.5 小时后将小鼠脱颈椎处死，沿耳廓基线剪下两耳，用直径 9mm 的打孔器分别在左右两耳同一部位打下圆耳片，称重，求左、右耳片重量之差作为肿胀度，比较组间差异显著性。肿胀率=(右耳重-左耳重)/左耳重。试验结果见表 12。

表 12 供试药物对小鼠二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的作用 ($\bar{x} \pm SD$, $n=10$)

项目	空白对照组	高剂量组	中剂量组	低剂量组	阳性对照组
重量 (右耳-左耳)(g)	0.0153±0.00 5	0.0081±0.00 4	0.085±0.003	0.0104±0.00 5	0.0101±0.00 5
左耳重量 (g)	0.0133±0.00 2	0.0155±0.00 2	0.0162±0.00 2	0.0148±0.00 2	0.0130±0.00 2
肿胀率(%)	120.8±51.7	52.4±25.9** *	55.5±26.6**	71.9±37.0*	81.2±42.6*

与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

2、对大鼠棉球肉芽肿的影响

选择健康 SD 系大鼠, 雄性, 用弯头剪刀将大鼠背部毛发剪去, 用棉球蘸上脱毛剂(含硫化钠 8g, 淀粉 7g, 糖 4g, 甘油 5g, 硼砂 1g, 加水 75ml), 在豚鼠背部轻轻涂布, 3 分钟后用温水清洗脱毛局部, 以纱布擦干, 约 5×5 平方厘米, 其脱毛面积占体表面积的 25% 左右, 用 30mg/kg 戊巴比妥钠麻醉后, 将已称重 25mg 大小一致的棉球, 经高压灭菌, 每个棉球再加普鲁卡因青霉素 1mg/0.1ml, 50°C 烘箱烤干后, 于大鼠胸部正中齐上肢处竖向剪开皮肤约 1~1.5cm, 向两侧腋窝皮下植入棉球。缝合伤口后, 随机分别为空白赋形剂组、供试药物低剂量组、中剂量组、高剂量组和阳性对照组, 每组 10 只大鼠。手术当天起, 肌肉注射普鲁卡因青霉素 4000U/只, 连续注射 4 天, 同时开始给药 12 天后, 处死动物, 取出棉球, 剥离脂肪组织, 放烘箱 60°C 烘干后称重, 将所得重量减去棉球重量, 即为肉芽肿重量。试验结果见表 13。

表 13 供试药物对大鼠棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm SD$)

组别	动物数(n)	肉芽肿重量(mg)	抑制率(%)
空白对照组	10	295.5±32.8	---
阳性对照组	10	202.7±35.5***	31.5
低剂量组	10	278.4±15.6 [^]	5.8
中剂量组	10	270.2±15.6**	15.6
高剂量组	10	242.4±44.6**	18.0

与空白对照组比较, [^] $P > 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

结论:

1) 由二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型实验结果可知, 与空白对照组相比, 供试药物低、中、高剂量组能够明显抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀, 具有显著性差异。

2) 由大鼠棉球肉芽肿实验结果可知, 供试药物中、高剂量能够有效抑制大鼠棉肉芽肿的形成, 与空白对照组相比, 其抑制率分别为 15.6%及 18.0%, 具有非常显著性差异。上述结果均表明供试药物具有抗炎作用。

[试验例7] 本发明药物组合物治疗肾虚腰痛的临床疗效及其安全性试验

临床试验方案参照《新药审批办法》、《中药新药临床研究指导原则》制订。由广东省药政管理部门指定, 临床试验由广州中医药大学第二附属医院药品临床研究基地负责, 广州中医药大学第一附属医院、中山医科大学附属孙逸仙纪念医院、广州市中医医院三间医院共同参加。临床试验于 2000 年 2 月至 2000 年 9 月进行并完成。现将 411 例临床试验结果总结如下:

一、合格受试对象的选择

(一) 诊断标准

1、 中医病名诊断:

(1) 腰痛诊断标准

- ①典型的一侧或两侧腰部疼痛症状
- ②可有反复发作病史
- ③排除淋症、水肿、肿瘤及月经不调、妊娠等伴有的腰痛症状

2、 中医辨证标准:

(1) 肾虚证:

主症: 腰部酸软, 或绵绵作痛, 喜揉按, 遇劳则甚, 卧则痛减。

次症: ① 膝部酸软无力, ② 肌肉酸痛, ③ 手足不温, ④ 小便频数, 或夜尿多(2 次以上), ⑤ 尿后余沥不尽, ⑥ 遗精, ⑦ 早泄, ⑧ 性欲减退

舌象: 舌质淡或淡胖、苔薄白。

脉象: 细弱或沉弱。

主症及相应的舌脉象具备, 次症 2 项即可诊断。

(2) 肾虚兼寒湿证:

- ① 腰部酸软，冷痛重着，得热则减，转侧不利
- ② 遇阴雨天疼痛发作或加重，静卧时腰痛不减甚或加重
- ③ 关节屈伸不利
- ④ 脉缓或弦
- ⑤ 舌质淡、苔白或白厚或白腻

符合肾虚证标准并具有上述①②③项中任二项且舌脉象相符者为肾虚兼寒湿证。

3、西医诊断标准:

(1) 慢性腰肌劳损(包括腰部肌肉、筋膜、韧带等慢性劳累性损伤)。

① 有或无急性劳损史，可反复多次发作。

② 经常腰部不适或轻度疼痛，久坐及持久弯腰或腰部活动时疼痛加重。一侧或两侧腰段骶棘肌有压痛，腰部活动度稍受限。

③ X线摄片排除骨性病变。

(2) 腰椎骨质增生症

① 腰部酸痛可反复发作。

② 腰痛在休息后疼痛增加，稍活动后可以减轻，但活动后疼痛加重。

③ X线摄片：有腰椎体前沿或后沿骨质增生征象。

(二) 纳入标准:

符合上述中医和西医诊断标准的肾虚腰痛患者

(三) 排除标准:

1、不符合上述中医辨证、西医诊断标准者

2、由脊髓或有神经损伤者(如盆骨骨折者)或类风湿性关节炎、强直性脊椎炎、泌尿道结石、感染、肿瘤等病所引起的腰痛患者，

3、孕妇或哺乳期妇女

4、合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病、精神病患者

5、经检查证实由盆腔炎、子宫内膜异位症、子宫肿瘤所致的痛经患者

6、治疗不合作者

7、研究者认为不宜进行临床试验者

二、临床实施方案

(一) 试验分组：采用随机单盲对照试验研究方法。

按治疗组与对照组病例数之比不大于 3:1 进行病例分配。治疗组 300 例以上，对照组 100 例以上。临床试验在四间医院同时进行观察，病人可为住院和门诊病人。

病例分组采用简单随机的方法。具体的随机化分配方法由广州中医药大学第二附属医院药品临床研究基地临床研究人员通过操作 Casio(fx-3600p) 计算器的随机键(INV, RAN)得出随机数字，并制成随机分配卡片，加信封密封，信封序号与卡片序号相同，送各参加试验单位。合格病例进入试验时，按其进入的先后次序，拆开号码相同的信封，按信封内卡片规定的分组进行治疗。

(二) 对照药的选择

特制狗皮膏，市售，由沈阳东陵药业股份有限公司生产。

(三) 用法、剂量

治疗组：本发明实施例所制备的贴膏剂（包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂），外用，贴于腰部两侧腰眼穴或加贴于关元穴 12 小时，痛症，贴患处。

对照组：特制狗皮膏，外用，贴患处 12 小时。

(四) 疗程：四周

(五)、盲法实施（单盲）：

将本发明实施例所制备的贴膏剂（包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂）（包括橡胶膏剂、巴布膏剂、贴剂）与特制狗皮膏换用相同的外包装，重新贴标签，将其命名为补肾膏 I 号或补肾膏 II 号。

(六)、观测指标

1、一般项目：性别、年龄、病程、西医诊断、中医辨证等。

2、安全性观测项目

(1) 临床上应密切观察可能出现的不良反应症状，如腹泻、头晕、头痛、皮疹等。

(2) 尿常规、血常规、大便常规（1/3 受试者治疗前后检测）

(3) 心电图、肝功能(GPT)、肾功能(BUN)（1/3 受试者治疗前后检测）

3、疗效性观测项目

(1) 腰痛的部位、性质、程度、活动情况

(2) 肾虚、肾虚兼寒湿证的症状、舌象、脉象等

(3) 症状、体征程度分级

① 腰痛程度分级

0级： 无疼痛

I级（轻度）：腰痛偶有发作，隐隐作痛，不影响日常工作

II级（中度）：腰痛较重，转侧不利，活动不便或腰痛隐隐，频频发作，影响日常工作

III级（重度）：腰部剧痛，不能转侧，起坐活动则痛剧，不能坚持工作，或腰痛持续在一个月以上者

② 肌肉酸痛程度分级

0级：无肌肉酸痛

I级：肌肉酸痛轻微，偶有发作，不影响日常工作

II级：肌肉酸痛明显，经常发作，尚可忍受，影响日常工作

III级：肌肉酸痛剧烈，难以忍受，有痛苦表情，严重影响工作休息

③ 屈伸不利程度分级：

0级：无屈伸不利

I级：活动功能轻度受限，尚能屈至功能位

II级：活动功能明显受限，功能障碍在 10° 以内

III级：活动功能严重受限，功能障碍在 10° 以上

④ 腰部活动功能：

前屈：

0级： $\geq 90^{\circ}$ （正常）

I级： $70^{\circ} \sim 90^{\circ}$

II级： $\leq 70^{\circ}$

后仰：

0级： $\geq 30^{\circ}$ （正常）

I 级： $10^{\circ} \sim 30^{\circ}$

II 级： $\leq 10^{\circ}$

左侧屈：

0 级： $\geq 20^{\circ}$ （正常）

I 级： $< 20^{\circ}$

右侧屈：

0 级： $\geq 20^{\circ}$ （正常）

I 级： $< 20^{\circ}$

(4) 舌象：

舌质：淡、淡红、红

舌苔：白、薄白、白腻、薄黄

(5) 脉象：平脉、细、弱、弦、缓、沉

(6) 腰部 X 线摄片（治疗前检查）

(七)、观察方法

临床症状、体征应于治疗前、治疗后每周观察、记录 1 次。

尿常规、血常规、大便常规、心电图、肝功能(GPT)、肾功能(BUN)进行治疗前后检测。

腰部 X 线摄片进行治疗前检查。

(八)、随访

疗程结束时，疗效判定为临床治愈的病人都需进行停药两周随访，观察远期效果。

三、疗效判定标准：

1、临床治愈：

腰痛及其体征全部消失，不影响活动和工作，随访二周无复发。

2、显效：

腰痛及其体征明显减轻，不影响工作和休息，或病情由重度转为轻度。

3、有效：

腰痛及其体征减轻或改善，病情不稳定，停药后有复发。

4、无效：

临床症状和体征无明显变化或加重

四、临床总结及统计学处理

临床观察结束后所有资料汇总，输入计算机，建立数据库，进行数据统计处理，最后由临床研究负责单位进行总结，对腰肾膏治疗肾虚腰痛的临床疗效及其安全性进行客观评价。

统计方法：分类资料用 X^2 检验，等级资料用两样本比较Wilcoxon秩和检验(校正)，两样本均数比较用t检验，自身前后比较用配对t检验或Wilcoxon配对秩和检验。

一、一般资料

共有合格受试者 411 例，治疗组 311 例，对照组 100 例；西医诊断为慢性腰肌劳损 172 例，腰椎骨质增生症 239 例（X 线检查提示：腰椎骨质增生 239 例，未见骨质性病变 172 例）；中医辨证为肾虚证 315 例，肾虚兼寒湿证 96 例。治疗组住院病人 41 例，对照组住院病人 9 例，其余均为门诊病人。

二、两组可比性检查

1、两组年龄（岁）比较

表 14 两组年龄（岁）比较

组 别	例数	18-30	31-50	51-65	>65	$\bar{x} \pm s$
治疗组	311	35	148	111	17	47.53±12.15
对照组	100	13	41	43	3	47.74±11.88
$X^2=0.106$						t=0.15
P=0.745						P=0.88

两组年龄比较，差异无显著性意义。

2、两组性别比较

表 15 两组性别比较

组 别	例数	男	女
治疗组	311	137	174
对照组	100	46	54
$X^2=0.12$		P=0.73	

两组性别比较，差异无显著性意义。

3、两组中医证候比较

表 16 两组中医证候比较

组 别	例数	肾虚证	肾虚兼寒湿证
治疗组	311	237	74
对照组	100	78	22
		$\chi^2=0.14$	$P=0.71$

两组中医证候比较，差异无显著性意义。

4、两组西医病种比较

表 17 两组西医病种比较

组 别	例数	慢性腰肌劳损	腰椎骨质增生
治疗组	311	132	179
对照组	100	40	60
		$\chi^2=0.19$	$P=0.67$

两组西医病种比较，差异无显著性意义。

5、两组病程(最近发作时间)比较

表 18 两组病程(最近发作时间)比较(月) *

组 别	例数	≤1	2-12	13-24	>24
治疗组	297	40	51	24	182
对照组	97	19	36	8	34
		$\chi^2=24.17$	$P<0.001$		

* 治疗组 14 例，对照组 3 例记录缺失

两组腰痛最近发作时间比较，差异有显著性意义。

6、两组治疗前腰痛病情程度比较

表 19 两组治疗前腰痛病情程度比较 *

组 别	例数	轻度	中度	重度
治疗组	311	44	191	76
对照组	100	21	67	12
秩和检验		$u=2.78$	$P=0.0056$	

* 腰痛程度分级:

0级: 无疼痛

I级(轻度): 腰痛偶有发作, 隐隐作痛, 不影响日常工作

II级(中度): 腰痛较重, 转侧不利, 活动不便或腰痛隐隐, 频频发作, 影响日常工作

III级(重度): 腰部剧痛,不能转侧, 起坐活动则痛剧, 不能坚持工作, 或腰痛持续在一个月以上者

两组治疗前腰痛病情程度比较, 差异有显著性意义。

7、两组治疗前腰痛性质比较

表 20 两组治疗前腰痛性质比较

组别	酸痛	冷痛	得热则减	绵绵作痛	喜按揉	遇劳则甚	卧则痛减	卧时痛不减
治疗组	272	99	153	209	226	260	180	45
对照组	89	26	46	71	79	86	53	9
X ²	0.17	1.22	0.31	0.50	1.58	0.33	0.73	1.98
P	0.68	0.27	0.58	0.48	0.21	0.57	0.39	0.16

两组治疗前腰痛性质比较, 差异无显著性意义。

8、两组治疗前肌肉酸痛比较

表 21 两组治疗前肌肉酸痛比较 *

组别	例数	0级	I级	II级	III级
治疗组	311	11	100	167	33
对照组	100	3	45	42	10
秩和检验		u=1.786	P=0.074		

* 肌肉酸痛程度分级:

0级: 无肌肉酸痛

I级: 肌肉酸痛轻微, 偶有发作, 不影响日常工作

II级: 肌肉酸痛明显, 经常发作, 尚可忍受, 影响日常工作

III级: 肌肉酸痛剧烈, 难以忍受, 有痛苦表情, 严重影响工作休息

两组治疗前肌肉酸痛比较，差异无显著性意义。

9、两组治疗前屈伸不利比较

表 22 两组治疗前屈伸不利比较 *

组 别	例数	0 级	I 级	II 级	III 级
治疗组	311	22	138	111	40
对照组	100	7	46	40	7
秩和检验		u=0.658	P=0.511		

* 屈伸不利程度分级:

0 级: 无屈伸不利

I 级: 活动功能轻度受限, 尚能屈至功能位

II 级: 活动功能明显受限, 功能障碍在 10° 以内

III 级: 活动功能严重受限, 功能障碍在 10° 以上

两组治疗前屈伸不利比较, 差异无显著性意义。

10、两组治疗前腰部活动功能比较

表 23 两组治疗前前屈功能比较 *

组 别	例数	0 级	I 级	II 级
治疗组	311	45	194	72
对照组	100	15	69	16
秩和检验		u=1.153	P=0.249	

* 前屈功能分级:

0 级: $\geq 90^{\circ}$ (正常)

I 级: $70^{\circ} \sim 90^{\circ}$

II 级: $\leq 70^{\circ}$

表 24 两组治疗前后仰功能比较 *

组 别	例数	0 级	I 级	II 级
治疗组	311	57	199	55
对照组	100	25	63	12
秩和检验		u=1.79	P=0.074	

* 后仰功能分级:

0 级: $\geq 30^\circ$ (正常)

I 级: $10^\circ \sim 30^\circ$

II 级: $\leq 10^\circ$

表 25 两组治疗前左侧屈功能比较 *

组 别	例数	0 级	I 级
治疗组	311	156	155
对照组	100	52	48
		$X^2=0.10$	$P=0.749$

* 左侧屈功能:

0 级: $\geq 20^\circ$ (正常)

I 级: $< 20^\circ$

表 26 两组治疗前右侧屈功能比较 *

组 别	例数	0 级	I 级
治疗组	311	178	133
对照组	100	52	48
		$X^2=0.84$	$P=0.36$

* 右侧屈功能:

0 级: $\geq 20^\circ$ (正常)

I 级: $< 20^\circ$

两组治疗前前屈、后仰、左侧屈、右侧屈功能比较, 差异无显著性意义。

11、两组治疗前其它临床症状比较

表 27 两组治疗前其它临床症状比较

组 别	膝部酸软 无力	手足不温	尿频、夜 尿多	尿后余沥 不尽	遗精	早泄	性欲减退
治疗组	255	95	180	43	15	17	62
对照组	79	27	57	8	3	3	20
X^2 (或校正)	0.45	0.46	0.02	2.36	0.24	0.53	0.00
P	0.50	0.499	0.88	0.124	0.62	0.47	0.99

两组治疗前其它临床症状比较, 差异无显著性意义。

12、两组治疗前舌象、脉象比较

表 28 两组治疗前舌质比较

组 别	例数	淡	淡红
治疗组	311	180	131
对照组	100	62	38

$X^2=0.53$

$P=0.466$

两组治疗前舌质比较，差异无显著性意义。

表 29 两组治疗前舌苔比较

组 别	例数	白	薄白	白腻
治疗组	311	70	195	46
对照组	100	21	66	13

$X^2=0.38$

$P=0.828$

两组治疗前舌苔比较，差异无显著性意义。

表 30 两组治疗前脉象比较

组 别	例数	平	细弱	沉弱	数缓	弦
治疗组	311	13	168	53	5	72
对照组	100	7	46	17	3	27

X^2 (校正) =3.39

$P=0.49$

两组治疗前脉象比较，差异无显著性意义。

上述治疗前可比性检测表明，除治疗组腰痛程度重于对照组、治疗组病程长于对照组（将在疗效分析中进行组间疗效的比较）外，两组治疗前年龄、性别、中医证候、西医病种、腰痛性质、肌肉酸痛、屈伸不利、腰部活动功能、其它临床症状以及舌象、脉象等比较，差异均无显著性意义。提示影响两组预后的主要因素具有均衡性。

三、疗效比较

1、总疗效比较

表 31 总疗效比较

组 别	例数	临床治愈 (%)	显效 (%)	有效 (%)	无效 (%)
治疗组	311	51 (16.4)	150 (48.2)	88 (28.3)	22 (7.1)
对照组	100	7 (7.0)	37 (37.0)	48 (48.0)	8 (8.0)
秩和检验		u=3.587	P=0.00033		

治疗组临床治愈率为 16.4%，显效率为 48.2%，有效率为 28.3%，临床治愈及显效率为 64.6%，总有效率为 92.9%；对照组临床治愈率为 7.0%，显效率为 37.0%，有效率为 48.0%，临床治愈及显效率为 44.0%，总有效率为 92.0%。两组比较，差异有显著性意义。

2、两组不同病种疗效比较

表 32 两组不同病种疗效比较 (秩和检验)

组 别	例数	临床治愈 (%)	显效 (%)	有效 (%)	无效 (%)	u	P	
慢性腰肌 劳损	治疗组	132	28 (21.2)	60 (45.5)	37 (28.0)	7 (5.3)	1.36	0.17
	对照组	40	4 (10.0)	19 (47.5)	16 (40.0)	1 (2.5)		
腰椎骨质 增生症	治疗组	179	23 (12.8)	90 (50.3)	51 (28.5)	15 (8.4)	3.53	0.0004
	对照组	60	3 (5.0)	18 (30.0)	32 (53.3)	7 (11.7)		

慢性腰肌劳损：治疗组临床治愈率为 21.2%，显效率为 45.5%，有效率为 28.0%，临床治愈及显效率为 66.7%，总有效率为 94.7%；对照组临床治愈率为 10.0%，显效率为 47.5%，有效率为 40.0%，临床治愈及显效率为 57.5%，总有效率为 97.5%。两组比较，差异无显著性意义。

腰椎骨质增生症：治疗组临床治愈率为 12.8%，显效率为 50.3%，有效率为 28.5%，临床治愈及显效率为 63.1%，总有效率为 91.6%；对照组临床治愈率为 5.0%，显效率为 30.0%，有效率为 53.3%，临床治愈及显效率为 35.0%，总有效率为 88.3%。两组比较，差异有显著性意义。

3、两组不同中医证候疗效比较

表 33 两组不同中医证候疗效比较 (秩和检验)

组别	例数	临床治愈(%)	显效(%)	有效(%)	无效(%)	u	P
肾虚证	治疗组	237 41 (17.3)	114 (48.1)	67 (28.3)	15 (6.3)	3.27	0.0011
	对照组	78 5 (6.4)	29 (37.2)	41 (52.6)	3 (3.8)		
肾虚兼寒湿证	治疗组	74 10 (13.5)	36 (48.6)	21 (28.4)	7 (9.5)	1.57	0.117
	对照组	22 2 (9.1)	8 (36.4)	7 (31.8)	5 (22.7)		

肾虚证：治疗组临床治愈率为 17.3%，显效率为 48.1%，有效率为 28.3%，临床治愈及显效率为 65.4%，总有效率为 93.7%；对照组临床治愈率为 6.4%，显效率为 37.2%，有效率为 52.6%，临床治愈及显效率为 43.6%，总有效率为 96.2%。两组比较，差异有显著性意义。

肾虚兼寒湿证：治疗组临床治愈率为 13.5%，显效率为 48.6%，有效率为 28.4%，临床治愈及显效率为 62.1%，总有效率为 90.5%；对照组临床治愈率为 9.1%，显效率为 36.4%，有效率为 31.8%，临床治愈及显效率为 45.5%，总有效率为 77.3%。两组比较，差异无显著性意义。

4、两组不同腰痛病情程度疗效比较

表 34 两组不同腰痛病情程度疗效比较 (秩和检验)

组别	例数	痊愈(%)	显效(%)	有效(%)	无效(%)	u	P	
轻度	治疗组	44	17 (38.6)	8 (18.2)	10 (22.7)	9 (20.5)	0.68	0.41
	对照组	21	4 (19)	6 (28.6)	8 (38.1)	3 (14.3)		
中度	治疗组	191	25 (13.1)	93 (48.7)	66 (34.6)	7 (3.7)	3.26	0.0011
	对照组	67	3 (4.5)	24 (35.8)	35 (52.2)	5 (7.5)		
重度	治疗组	76	9 (11.8)	49 (64.5)	12 (15.8)	6 (7.9)	1.41	0.162
	对照组	12	0 (0.0)	7 (58.3)	5 (41.7)	0 (0.0)		

病情程度中度的治疗组与对照组患者疗效比较，差异有显著性意义。
病情程度轻度的治疗组与对照组患者疗效比较，差异无显著性意义。
病情程度重度的治疗组与对照组患者疗效比较，差异无显著性意义。

5、治疗后肌肉酸痛改善程度比较

表 35 治疗后肌肉酸痛改善程度比较 *

组别	例数	加重	无改善	改善1级	改善2级	改善3级
治疗组	300	0	27	164	91	18
对照组	97	0	16	56	23	2

秩和检验 u=2.51 P=0.0122

* 加重表示：治疗后较治疗前加重

改善1级表示：治疗后较治疗前降低1级

改善2级表示：治疗后较治疗前降低2级

改善3级表示：治疗后较治疗前降低3级

两组治疗后肌肉酸痛改善程度比较，差异有显著性意义。

6、治疗后屈伸不利改善程度比较

表 36 治疗后屈伸不利改善程度比较 *

组 别	例数	加重	无改善	改善 1 级	改善 2 级	改善 3 级
治疗组	289	0	34	165	73	17
对照组	93	0	19	57	16	1
秩和检验		u=2.95	P=0.0032			

* 加重表示：治疗后较治疗前加重

改善 1 级表示：治疗后较治疗前降低 1 级

改善 2 级表示：治疗后较治疗前降低 2 级

改善 3 级表示：治疗后较治疗前降低 3 级

两组治疗后屈伸不利改善程度比较，差异有显著性意义。

7、治疗后腰部活动功能疗效比较

表 37 治疗后腰部前屈功能疗效比较 *

组 别	例数	加重	无改善	改善 1 级	改善 2 级
治疗组	266	0	52	180	34
对照组	85	0	31	49	5
秩和检验		u=3.35	P=0.0008		

* 加重：指治疗后腰部前屈功能较治疗前差；

无变化：指治疗前腰部前屈功能 $<90^{\circ}$ ；治疗后仍未改善；

改善 1 级：指治疗后腰部前屈功能由 $\leq 70^{\circ}$ 改善为 $70^{\circ}-90^{\circ}$ ，或由 $70^{\circ}-90^{\circ}$ 改善为 $\geq 90^{\circ}$ ，即恢复正常；

改善 2 级：指治疗后腰部前屈功能由 $\leq 70^{\circ}$ 改善为 $\geq 90^{\circ}$ ，即恢复正常。

两组治疗后腰部前屈功能疗效比较，差异有显著性意义。

表 38 治疗后腰部后仰功能疗效比较 *

组 别	例数	加重	无改善	改善 1 级	改善 2 级
治疗组	254	0	65	166	23
对照组	75	0	28	45	2
秩和检验		u=2.405	P=0.016		

* 加重: 指治疗后腰部后仰功能较治疗前差;
 无变化: 指治疗前腰部后仰功能 $<30^{\circ}$; 治疗后仍未改善;
 改善 1 级: 指治疗后腰部后仰功能由 $\leq 10^{\circ}$ 改善为 $10^{\circ} - 30^{\circ}$, 或由 $10^{\circ} - 30^{\circ}$ 改善为 $\geq 30^{\circ}$, 即恢复正常;
 改善 2 级: 指治疗后腰部后仰功能由 $\leq 10^{\circ}$ 改善为 $\geq 30^{\circ}$, 即恢复正常。
 两组治疗后腰部后仰功能疗效比较, 差异有显著性意义。

表 39 治疗后腰部左侧屈功能疗效比较 *

组 别	例数	加重	无改善	改善 1 级
治疗组	155	0	44	111
对照组	48	0	22	26
秩和检验		$u=2.25$	$P=0.024$	

* 加重: 指治疗后腰部左侧屈功能较治疗前差;
 无变化: 指治疗前腰部左侧屈功能 $<20^{\circ}$; 治疗后仍未改善;
 改善 1 级: 指治疗后腰部左侧屈功能由 $<20^{\circ}$ 改善为 $\geq 20^{\circ}$, 即恢复正常;
 两组治疗后腰部左侧屈功能疗效比较, 差异有显著性意义。

表 40 治疗后腰部右侧屈功能疗效比较 *

组 别	例数	加重	无改善	改善 1 级
治疗组	133	0	36	97
对照组	48	0	21	27
秩和检验		$u=2.13$	$P=0.033$	

* 加重: 指治疗后腰部右侧屈功能较治疗前差;
 无变化: 指治疗前腰部右侧屈功能 $<20^{\circ}$; 治疗后仍未改善;
 改善 1 级: 指治疗后腰部右侧屈功能由 $<20^{\circ}$ 改善为 $\geq 20^{\circ}$, 即恢复正常;
 两组治疗后腰部右侧屈功能疗效比较, 差异有显著性意义。

8、治疗后主要症状消失率比较

表 41 治疗后主要症状消失率比较 (-)

组 别		腰痛	肌肉酸痛	屈伸不利	膝部酸软无力	手足不温
治 疗 组	原有例数	311	300	289	255	95
	消失例数	124	180	185	181	66
	消失率%	39.87	60.0	64.01	70.98	69.47
对 照 组	原有例数	100	97	93	79	27
	消失例数	39	48	46	57	14
	消失率%	39.0	49.48	49.46	72.15	51.85
X^2		0.02	3.32	6.23	0.04	2.89
P		0.88	0.07	0.013	0.84	0.09

表 42 治疗后主要症状消失率比较 (二)

组 别		尿频、夜尿多	尿后余沥不尽	遗精	早泄	性欲减退
治 疗 组	原有例数	180	43	15	17	62
	消失例数	111	23	10	11	21
	消失率%	61.67	53.49	66.67	64.71	33.87
对 照 组	原有例数	57	8	3	3	20
	消失例数	31	3	3	3	7
	消失率%	54.39	37.5	100	100	35.0
X^2		0.96	精确概率法	精确概率法	精确概率法	0.01
P		0.33	0.47	0.52	0.52	0.93

两组治疗后主要症状消失率比较：除屈伸不利，两组比较差异有显著性意义外，两组治疗后其它症状的消失率比较，差异均无显著性意义。

9、随访情况比较

对临床治愈的病例停药 2 周后进行随访，治疗组临床治愈 51 例，随访了 43 例，结果疗效判定为临床痊愈 39 例，显效 4 例，痊愈率 90.7%，显效率 9.3%；治疗组临床治愈 7 例，随访了 6 例，疗效判定均仍为临床痊愈。

五、安全性检测

治疗组治疗前检测了 185 例血常规，其中 176 例白细胞数在正常范围，2 例白细胞数低于 $4.0 \times 10^9/L$ ，7 例白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ 。

176 例治疗前白细胞数正常者，治疗后复查了 154 例，有 4 例白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ (分别为 $13.3 \times 10^9/L$ 、 $16.9 \times 10^9/L$ 、 $10.1 \times 10^9/L$ 和 $11.2 \times 10^9/L$)，其余均在正常范围；

2 例治疗前白细胞数低于 $4.0 \times 10^9/L$ 者，治疗后复查，均恢复正常；

7 例治疗前白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ 者，治疗后复查，其中有 5 例白细胞数恢复正常，有 2 例未复查。

治疗组治疗前检测了 162 例尿常规，其中 145 例为正常，17 例异常 (主要是白细胞、红细胞、蛋白+~+++)。145 例治疗前正常者，治疗后复查了 124 例，其中 123 例仍正常，1 例异常 (Ery25/ul)。17 例治疗前异常者，治疗后复查了 16 例，12 例恢复正常，4 例仍异常，1 例未复查。

1 例治疗前未检查，治疗后检查为正常。

治疗组治疗前检测了 152 例大便常规，151 例正常，1 例异常。151 例治疗前正常者，治疗后复查了 126 例，均仍为正常。1 例治疗前异常者，治疗后未复查。

治疗组治疗前检测了 155 例肝功能(GPT)，其中 147 例在正常范围，8 例高于正常值。147 例治疗前正常者，治疗后复查了 128 例，其中 125 例仍在正常范围，3 例高于正常值 (GPT 为 57u/L、45u/L、51u/L)。8 例治疗前高于正常值者，治疗后复查，2 恢复正常，3 例仍异常 (44u/L、46u/L、42u/L)，3 例未复查。

治疗组治疗前检测了 171 例肾功能(BUN)，其中 167 例在正常范围，4 例高于正常值。167 例治疗前正常者，治疗后复查了 143 例，138 例在正常范围，5 例异常 (7.2mmol/L、7.6mmol/L、7.3mmol/L、7.3mmol/L、7.2mmol/L)。4 例治疗前高于正常值者，治疗后复查，恢复正常。

治疗组治疗前检测了 137 例心电图，其中 106 例为正常心电图，31 例为异常心电图；106 例治疗前正常心电图者，治疗后复查了 84 例，82 例仍为正常心电图，2 例异常(1 例为窦性心动过缓，心率 58 次/分；1 例为偶发室性期前收缩)。31 例治疗前为异常心电图者，治疗后复查了 14 例恢复正常，12 例仍为异常，5 例未复查。

对照组治疗前检测了 50 例血常规，其中 46 例白细胞数在正常范围，4 例白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ 。

46 例治疗前白细胞数正常者，治疗后复查了 43 例，有 40 例仍在正常范围，3 例白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ (为 $10.1 \times 10^9/L$ 、 $13.3 \times 10^9/L$ 、 $16.1 \times 10^9/L$)。

4 例治疗前白细胞数超过 $10.0 \times 10^9/L$ 者，治疗后复查均恢复正常。

对照组治疗前检测了 42 例尿常规，其中 35 例为正常，7 例异常 (主要是白细胞、红细胞+~+++)。35 例治疗前正常者，治疗后复查了 32 例，其中 31 例仍正常，1 例异常 (Ery150/ul)。7 例治疗前异常者，治疗后复查，3 例恢复正常，4 例仍异常。

对照组治疗前检测了 40 例大便常规，均为正常。治疗后复查了 33 例，均仍正常。

1 例治疗前未检查，治疗后检查为正常。

对照组治疗前检测了 40 例肝功能(GPT)，39 例在正常范围，1 例异常。治疗后复查了 34 例，均仍在正常范围。1 例治疗前异常，治疗后复查仍异常 (GPT 为 57u/L)。

对照组治疗前检测了 47 例肾功能(BUN)，其中 46 例在正常范围，1 例高于正常值。46 例治疗前正常者，治疗后复查了 41 例，均仍在正常范围。1 例治疗前高于正常值者，治疗后未复查。

对照组治疗前检测了 39 例心电图，25 例为正常心电图，14 例为异常心电图。25 例治疗前为正常心电图者，治疗后复查了 21 例，仍为正常心电图。14 例治疗前为异常心电图者，治疗后复查，6 例恢复正常，6 例仍为异常，2 例未复查。

六、不良反应观察

治疗组用药后有 10 例病人不良反应症状，占 3.0% (10/338，包括剔除病例)：

1 例用药后出现轻度皮疹 (出现时间未记录)，持续 2 天，用息斯敏 6mg 口服处理后皮疹消失，试验中未停试验药；

1 例用药后第 1 天出现轻度皮疹，持续 2 天，未记录皮疹的严重程度，未采取处理措施，停用试验药 2 天后皮疹消失；

1 例用药后第 1 天出现轻度皮疹，持续 3 天，采取处理措施不详，试验中

未停试验药；

1 例用药后第 2 天出现轻度皮疹，持续 1 天，皮疹的严重程度一般，用皮炎平霜外搽处理，试验中未停试验药；

1 例用药后第 3 天出现轻度皮疹，持续 2 天，未采取处理措施，试验中未停试验药；

1 例用药后第 3 天出现轻度皮疹，持续 3 天，未采取处理措施，试验中未停试验药。

1 例用药后第 4 天出现轻度皮疹，持续 2 天，用皮炎平霜外搽处理，试验中停药 2 天后皮疹消失；

1 例用药后第 5 天出现轻度皮疹，持续 3 天，未采取处理措施，试验中未停试验药；

1 例用药后第 6 天出现轻度皮疹，持续 3 天，未采取处理措施，试验中未停试验药；

1 例用药后第 18 天出现轻度皮疹，持续 6 天。用皮炎平霜外搽处理后皮疹消失，试验中未停药；

对照组用药后 2 例病人出现局部皮疹，占 1.90%(2/105，包括剔除病例)：

1 例用药后第 15 天后出现局部皮疹，持续 2 天，未记录皮疹的严重程度，未采取处理措施，试验过程中未停药。

1 例用药后第 6 天出现轻度皮疹，持续 3 天，皮炎平霜外搽处理，停药 3 天后皮疹消失。

七、试验结果：

本试验共有合格受试者 411 例，治疗组 311 例（慢性腰肌劳损 132 例，腰椎骨质增生症 179 例），对照组 100 例（慢性腰肌劳损 40 例，腰椎骨质增生症 60 例）。治疗组中医辨证为肾虚证 237 例，肾虚兼寒湿证 74 例；对照组中医辨证为肾虚证 78 例，肾虚兼寒湿证 22 例。治疗组住院病人 41 例，对照组住院病人 9 例，其余均为门诊病人。共有剔除病例 32 例，治疗组 27 例，对照组 5 例。

治疗前可比性检测表明，除治疗组腰痛程度重于对照组、治疗组病程长于对照组外，两组治疗前年龄、性别、中医证候、西医病种、腰痛性质、肌肉酸痛、屈伸不利、腰部活动功能、其它临床症状以及舌象、脉象等比较，

差异均无显著性意义。提示影响两组预后的主要因素具有均衡性。

总疗效结果表明,治疗组临床治愈率为16.4%,显效率为48.2%,有效率为28.3%,临床治愈及显效率为64.6%,总有效率为92.9%;对照组临床治愈率为7.0%,显效率为37.0%,有效率为48.0%,临床治愈及显效率为44.0%,总有效率为92.0%。两组比较,差异有显著性意义。提示腰肾膏治疗肾虚腰痛有较好的临床疗效,优于对照药。

不同病种疗效结果表明,治疗组治疗慢性腰肌劳损患者临床治愈率为21.2%,显效率为45.5%,有效率为28.0%,临床治愈及显效率为66.7%,总有效率为94.7%;对照组临床治愈率为10.0%,显效率为47.5%,有效率为40.0%,临床治愈及显效率为57.5%,总有效率为97.5%。两组比较,差异无显著性意义;治疗组治疗腰椎骨质增生症患者临床治愈率为12.8%,显效率为50.3%,有效率为28.5%,临床治愈及显效率为63.1%,总有效率为91.6%;对照组临床治愈率为5.0%,显效率为30.0%,有效率为53.3%,临床治愈及显效率为35.0%,总有效率为88.3%。两组比较,差异有显著性意义。提示本发明药物组合物治疗慢性腰肌劳损临床疗效优于对照组,治疗腰椎骨质增生症疗效与对照组相似。

中医证候疗效表明,肾虚证治疗组临床治愈率为17.3%,显效率为48.1%,有效率为28.3%,临床治愈及显效率为65.4%,总有效率为93.7%;对照组临床治愈率为6.4%,显效率为37.2%,有效率为52.6%,临床治愈及显效率为43.6%,总有效率为96.2%。两组比较,差异有显著性意义。肾虚兼寒湿证治疗组临床治愈率为13.5%,显效率为48.6%,有效率为28.4%,临床治愈及显效率为62.1%,总有效率为90.5%;对照组临床治愈率为9.1%,显效率为36.4%,有效率为31.8%,临床治愈及显效率为45.5%,总有效率为77.3%。两组比较,差异无显著性意义。提示本发明药物组合物治疗肾虚证腰痛临床疗效优于对照组,治疗肾虚兼寒湿证腰痛疗效与对照组相似。

不同病情程度患者疗效结果表明,本发明药物组合物对于中度病情程度的患者疗效优于对照药($P<0.05$),而两组轻度、重度患者的临床疗效比较,差异无显著性意义。这可能与两组轻度、重度患者病例数较少有关。

临床症状、体征疗效结果表明,两组治疗后患者的腰痛、肌肉酸痛、屈伸不利、腰部活动功能等临床症状、体征均有明显改善,两组比较差异有显著性意义,治疗组优于对照组。提示本发明药物组合物治疗肾虚证腰痛有较

好的临床疗效，能明显改善患者的临床症状、体征，疗效优于对照组。

安全性检测结果表明，治疗组有3例肝功能治疗前正常，治疗后复查高于正常（GPT分别为45、51、57u/L）；治疗组有5例肾功能治疗前正常，治疗后复查高于正常（BUN分别为7.2、7.2、7.3、7.3、7.6mmol/L）。均稍高于正常值范围，在其正常值的临界范围，由于未能进一步对上述患者进行追踪检查，以明确与试验药物用药的关系，尚难以确切判断为试验药物所致。

治疗组有4例、对照组有3例白细胞治疗前正常，治疗后复查高于正常（治疗组4例白细胞数分别为10.1、11.2、13.3、16.9 $\times 10^9$ /L，对照组3例分别为10.1、13.3、16.1 $\times 10^9$ /L）；治疗组1例、对照组1例尿常规治疗前正常，治疗后复查异常[治疗组1例(Ery25/ul)，对照组1例(Ery150/ul)]。由于未能进一步对上述患者进行追踪检查，以明确与试验药物用药的关系，尚难以确切判断为试验药物所致。

治疗组2例心电图治疗前正常，治疗后复查1例为窦性心动过缓，心率58次/分；1例为偶发室性期前收缩。这种异常改变也常见于中老年人，尚难以确切判断为试验药物所致。

不良反应观察表明，两组用药后均有部分病人出现局部皮疹等症状。治疗组有10例（占3.0%），3例经使用皮炎平霜处理后症状消失；2例停药2天后症状消失，继续用药，均未停药，未采取任何处理措施。对照组有2例（占1.90%），1例经使用皮炎平霜处理，停药3天后症状消失；1例未停药，未采取任何措施。

临床疗效观察结论：本试验411例随机单盲对照试验结果表明，本发明药物组合物治疗肾虚腰痛有较好的临床疗效，能明显改善患者的临床症状且疗效优于对照药，可用于肾虚腰痛患者的临床治疗，临床用药安全。