



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102240318 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 16

(21) 申请号 201110182751. 6

(22) 申请日 2011. 07. 01

(71) 申请人 沈庆利

地址 100124 北京市朝阳区百子湾后现代城
11 号楼 1910

(72) 发明人 沈庆利

(51) Int. Cl.

A61K 36/481 (2006. 01)

A61K 9/48 (2006. 01)

G01N 30/90 (2006. 01)

A61P 15/14 (2006. 01)

权利要求书 3 页 说明书 28 页

(54) 发明名称

一种益气增乳的中药

(57) 摘要

本发明涉及一种适用于哺乳期缺乳产妇的中药及其制备方法和检测方法,本发明用当归、黄芪为君药,以柴胡、川芎为臣药,以王不留行、通草、路路通共为佐药,本发明的中药能益气养血,舒肝解郁,通络下乳,能治疗产后无乳或少乳;或乳汁清稀,面色无华,神疲食少;或胸胁胀痛,情志抑郁的症状。

1. 一种益气增乳的中药,其特征在于:由如下重量比的药材制成:

黄芪	1600 — 6500	克	王不留行	820 — 3300	克
当归	1600 — 6500	克	漏芦	820 — 3300	克
川芎	1600 — 6500	克	路路通	820 — 3300	克
柴胡	500 — 1950	克	通草	500 — 1950	克。

2. 一种益气增乳的中药,其特征在于:由如下重量比的药材制成:

黄芪	3260	克	王不留行	1630	克
当归	3260	克	漏芦	1630	克
川芎	1630	克	路路通	1630	克
柴胡	978	克	通草	978	克。

3. 一种益气增乳的中药,其特征在于:由如下重量比的药材制成:

黄芪	1600	克	王不留行	820	克
当归	1600	克	漏芦	820	克
川芎	1600	克	路路通	820	克
柴胡	500	克	通草	500	克。

4. 一种益气增乳的中药,其特征在于:由如下重量比的药材制成:

黄芪	6500	克	王不留行	3300	克
当归	6500	克	漏芦	3300	克
川芎	6500	克	路路通	3300	克
柴胡	1950	克	通草	1950	克。

5. 一种益气增乳的中药的制备方法,其特征在于:

取权利要求 1-4 任意一项中的八味药材,加水 10-30 倍煎煮 1-3 小时,滤过,药渣再加水 5-30 倍煎煮 1-4 小时,滤过,合并煎液,通过大孔吸附树脂柱,树脂与药材的重量比为 1 : 0.2-1 : 1,用水洗脱至近无色后,再用乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,即得。

6. 一种益气增乳的中药的制备方法,其特征在于:

取权利要求 1-4 任意一项中的八味药材,加水 18 倍煎煮 1.5 小时,滤过,药渣再加水 15 倍煎煮 1.5 小时,滤过,合并煎液,通过 WLD 型大孔吸附树脂柱,树脂与药材的重量比为 1 : 1,用水洗脱至近无色后,再用 70%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过筛,即得。

7. 一种益气增乳的中药的制备方法,其特征在于:

取权利要求 1-4 任意一项中的八味药材,加水 30 倍煎煮 3 小时,滤过,药渣再加水 30 倍煎煮 4 小时,滤过,合并煎液,通过 D101 型大孔吸附树脂柱,树脂与药材的重量比为 1 : 0.2,用水洗脱至近无色后,再用 50%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过筛,即得。

8. 一种益气增乳的中药胶囊的制备方法,其特征在于:

将权利要求 5-7 任意一项中的方法制备得到的活性成分粉碎,过筛,填装胶囊,即得。

9. 根据权利要求 8 所述的一种益气增乳的中药胶囊的制备方法,其特征在于,胶囊囊壳的制备方法为:原料按每千克水计,称取明胶 5-20 克,羟丙基甲基纤维素 60-240 克,甘油 5-20 毫升;将称取的明胶和羟丙基甲基纤维素加入 1 千克 80-90℃的热水中搅拌溶解,再加入甘油搅拌均匀,降温,于 35℃恒温养胶,然后将胶液放入浸槽,待胶液温度降至 30℃时,经胶囊模板自动沾胶、烘干、拔壳、切割和扣合即可制成胶囊囊壳。

10. 一种益气增乳的中药,其特征在于:将通过权利要求 5-7 任意一项中的方法制备得到的活性成分作为主药,采用本领域公知的常规辅料和制剂技术将其制备成硬胶囊,片剂,缓释剂,控释剂,滴丸,颗粒,崩解剂,泡腾剂。

11. 一种权利要求 1-4 任意一项所述的益气增乳的中药的鉴别方法,其特征在于采用以下方法:

(1) 取本品内容物 0.6 克,加水 50 毫升溶解,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱,先用水 100 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 100 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用 15 毫升水溶解,转入分液漏斗中,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 毫升,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣用甲醇 5 毫升溶解,通过 5 克的中性氧化铝柱,并用 15 毫升甲醇洗脱,收集洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为供试品溶液,另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每 1 毫升含 1 毫克的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法试验,吸取供试品与对照品溶液各 5 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:6:2)放置过夜的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%浓硫酸乙醇溶液,在 105℃烘 5 分钟,供试品的色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,再置紫外光灯下于 365nm 检视,显相同颜色的荧光斑点;

(2) 取(1)项下的供试品溶液作为供试品溶液,另取王不留行对照药材 3 克,加水煎煮两次,每次 1 小时,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱,先用水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 50 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为对照药材溶液,照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液 5 μ l,对照药材溶液 3 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲酸-水(10:1:1)展开 10cm,取出晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

(3) 取(1)项下的供试品溶液作为供试品溶液,另取漏芦对照药材 3 克,加水煎煮两次,每次 1 小时,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱,先用水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 50 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品 5 μ l,对照药材溶液 3 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(15:5:2)的下层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

(4) 取本品内容物 1.5 克,研细,加醋酸乙酯 30 毫升,超声提取 15 分钟,滤过,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为供试品溶液,另分别取当归、川芎对照药材 0.3 克,研细,加醋酸乙酯 10 毫升,同法制成对照药材溶液,照薄层色谱法试验,吸取上述三种溶液各 5 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以体积比为 85:35 的 60-90℃沸程的石油醚-醋酸乙酯为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下于 365nm 检视,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的兰色荧光斑点。

12. 一种权利要求 1-4 任意一项所述的益气增乳的中药的含量测定方法,其特征在于采用以下方法:

精密称取本品内容物 0.3 克,过 120 目筛,置 25 毫升容量瓶中,精密加入甲醇 25 毫升,摇匀,超声提取 15 分钟,静置,取上清液 10 毫升,蒸干,残渣加水饱和正丁醇 20 毫升溶解后,残留物再加水 2 毫升溶解,加氯化钠饱和水溶液 10 毫升充分摇匀提取,分取正丁醇层后,水层分别用水饱和正丁醇 20 毫升、20 毫升振摇提取 2 次,合并正丁醇液,再分别用氨试液 20 毫升、20 毫升提取 2 次,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用 70%乙醇 2 毫升溶解,加水 20 毫升,摇匀,通过 D101 型大孔吸附树脂柱,以水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用 30%乙醇 30 毫升洗脱,弃去 30%乙醇洗脱液,继续用 70%乙醇 50 毫升洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 2 毫升量瓶内,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液;

另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每 1 毫升含 1 毫克的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法试验,吸取对照品溶液 1.0 μ l 与 3.0 μ l,供试品溶液 4.0 μ l,间隔点于同一块以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:6:2)放置过夜的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,于 100℃烘 5-7 分钟,至斑点显色清晰,取出,在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶皮固定,照薄层色谱法进行扫描,波长: $\lambda_s = 510\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$,测定对照品和供试品的吸收度积分值,计算,即得。

13. 权利要求 1-4 任意一项所述的益气增乳的中药在制备益气养血,舒肝解郁,通络下乳的药物中应用。

一种益气增乳的中药

技术领域

[0001] 本发明涉及一种适用于哺乳期缺乳产妇的中药及其制备方法和检测方法,本发明的中药能益气养血,舒肝解郁,通络下乳。

背景技术

[0002] 母乳热量高,所含蛋白质、脂肪、糖、矿物质丰富,其比例适合小儿营养需要,母乳富含 IgA、巨噬细胞及乳铁蛋白、溶菌酶、补体、双歧因子等多种非特异免疫物质,具有保护婴儿抵抗微生物感染的能力,母乳喂养对小儿身心发育亦有重要的积极意义。母乳喂养是人类哺育下一代最合理、最优良的方式,已成为世界范围内儿童保健工作中的重要内容之一,WHO 已将提高母乳喂养率达 85% 作为全球性战略目标,1992 年我国也颁布了《九十年代中国儿童发展规划纲要》,提出“2000 年使母乳喂养率以省为单位达到 80% 以上”。

[0003] 但据近几年全国母乳喂养情况调查,我国城市母乳喂养率仅为 32.5-62.6% (个别城市下降到 13%,农村为 46.6-78.5%),造成母乳喂养率低的一个重要原因就是产后缺乳,故致力于开发安全高效的催乳药物已经成为当务之急,这对于弥补现时缺乳治疗药物之不足,提高母乳喂养率,实现我国及全球母乳喂养战略目标具有重要意义。本发明不仅具有显著的经济价值,同时更具有重要的社会价值。

[0004] 从产后缺乳的治疗来看,国外文献中只有少数用舒必利或灭吐灵催乳的临床报道。祖国医学在治疗产后缺乳方面积累了丰富的临床经验,产后缺乳是指产后哺乳期乳汁量少或全无,不能满足哺乳婴儿的需要。祖国医学认为乳汁源于脏腑、气血、冲任。脏腑健旺、气血充沛、冲任通盛,则乳汁分泌正常。

[0005] 《胎产心法》云:“产妇冲任血旺,脾胃气壮则乳足”。薛立斋云:“血者,水谷之精气也,和调五脏,洒陈六腑,在男子则化为精,在妇人上为乳汁,下为血海”。至于产后缺乳的原因,《妇人大全良方》云:“妇人乳汁,乃气血所化,若元气虚弱,则乳汁短少;初产妇乳房火欣胀,此乳未通;若怒气乳出,此肝经风热;若屡产无乳,此乃亡津”。《儒门事亲》说:“妇人本生无乳者不治。或因啼哭悲怒郁结,气溢闭塞,以至乳脉不行”。

[0006] 产后缺乳的原因有如下几种:(1)先天体质生理关系;(2)气血虚弱;(3)七情过度;(4)初产乳脉未通;(5)产乳过多耗损津血。但临床上,以气血两虚和肝郁气滞为多。前者如身体素虚,脾胃功能差,影响营养物质吸收,或分娩时失血过多,气随血耗,均可致气血不足,乳汁生化乏源。后者因产后情志抑郁,或紧张不安,肝失调达,气机不畅,经脉壅滞,影响乳汁生化。目前存在的主要问题是,现有的大多数催乳中成药制剂都形成于 80 年代以前。由于受到时代限制,这些品种大多缺乏严格的临床对照研究和系统的药效学、毒理学试验,其疗效和安全性难以得到充分肯定和说明。

[0007] 现代医学认为泌乳过程是有多种内分泌激素参与的复杂生理过程,包括泌乳准备和泌乳(分为泌乳始动、射乳、泌乳维持三期)两个阶段。妇女乳腺小叶和腺泡的发育是从妊娠期开始的。妊娠末期引起泌乳的主要是催乳素(PRL)和糖皮质激素。PRL 的功能是与乳腺细胞上的受体结合,促进乳腺发育,并使已经发育完善的具备泌乳条件的乳腺开始泌

乳和维持泌乳。

发明内容

[0008] 本发明的方解：重用归、芪为君药。黄芪甘而微温，功能补气升阳，为补益脾胃之气要药，且有升举清阳的作用，《本草备要》言其：“补中，益元气，温三焦，壮脾胃，生血，生肌。”现代药理研究证明，黄芪具有抗炎、增强免疫、强心、降压、利尿、抗衰老、抗应激、解毒、增强红细胞变形能力等广泛作用。当归甘辛温，《本草纲目》称其“补血和血”，药理研究发现当归有显著扩张冠脉、降低心肌耗氧量、对抗心肌缺血、提高免疫、抗炎、保肝、镇痛、刺激造血系统等活性，对子宫有兴奋和抑制“双向性”作用。归芪相须为用，气血双补，令脾胃气血充足，则乳汁生化有源。

[0009] 柴胡苦辛微寒，功能疏肝解郁，具有抗炎、解热降温、镇静、镇痛、抗肝损害、抗溃疡、刺激肾上腺皮质功能、增加蛋白质合成等药理作用。川芎辛温，功能行气活血，研究证实有强心、增加心输出量和冠脉流量、抗血栓、抗心肌缺血、改善微循环、加强子宫平滑肌收缩等药理作用。两药合用，使气血调和，乳脉得以通畅，是为臣药。

[0010] 王不留行味苦性平，功能活血、通经、下乳，《本草纲目》云：“王不留行能走血分，乃阳明冲任之药，俗有‘穿山甲，王不留，妇人服了乳长流’之语，可见其性行而不住也。”药理研究证实，王不留行具有显著的收缩子宫和抗早孕作用。漏芦苦寒，功能清热解毒，下乳汁，研究证实有中枢兴奋、强心等作用。通草甘淡微寒，功能清热利水，通乳，药理研究证实有显著的利尿作用并增加尿中钾离子的排除量。路路通性味苦平，功能祛风通络，行水下乳。以上诸药，皆为通乳常用之有效药物，共为佐药。

[0011] 本发明的药材为：

[0012] 黄芪，豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 和膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge. 的干燥根。主产内蒙古、山西及黑龙江。本品应符合中国药典 95 年版一部 271 页黄芪项下的有关规定。

[0013] 当归，伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。主产甘肃、云南等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 109 页当归项下的有关规定。

[0014] 川芎，伞形科植物川芎 *Ligusticum sinense* Hort. 的干燥根茎。主产四川、江西等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 30 页川芎项下的有关规定。

[0015] 柴胡，伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonoides* Willd. 的干燥根。主产河北、河南等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 251 页柴胡项下的有关规定。

[0016] 王不留行，石竹科植物麦蓝菜 *Vaccaria segetalis* (Neck.) Garcke 的干燥成熟种子。主产河北、山东等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 50 页王不留行项下的有关规定。

[0017] 漏芦，菊科植物祁州漏芦 *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. 的干燥根。主产河北、辽宁等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 327 页漏芦项下的有关规定。

[0018] 路路通，金缕梅科植物枫香树 *Liquidambar formosana* Hance 的干燥成熟果序。主产江苏、浙江等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 318 页路路通项下的有关规定。

[0019] 通草,五茄科植物通脱木 *Tetrapanax papyriferus* (Hook.) K. Koch 的干燥茎髓。主产贵州、广西等地。本品应符合中国药典 95 年版一部 268 页通草项下的有关规定。

[0020] 处方:本发明的益气增乳的中药,其药材原料由如下重量比的药材组成:

[0021]

黄芪	1600 — 6500	克	王不留行	820 — 3300	克
当归	1600 — 6500	克	漏芦	820 — 3300	克
川芎	1600 — 6500	克	路路通	820 — 3300	克
柴胡	500 — 1950	克	通草	500 — 1950	克。

[0022] 优选的益气增乳的中药,其药材原料由如下重量比的药材组成:

[0023]

黄芪	3260 克	王不留行	1630 克
当归	3260 克	漏芦	1630 克
川芎	1630 克	路路通	1630 克
柴胡	978 克	通草	978 克。

[0024] 更优选的益气增乳的中药,其药材原料由如下重量比的药材组成:

[0025]

黄芪	1600 克	王不留行	820 克
当归	1600 克	漏芦	820 克
川芎	1600 克	路路通	820 克
柴胡	500 克	通草	500 克。

[0026] 更优选的益气增乳的中药,其药材原料由如下重量比的药材组成:

[0027]

黄芪	6500 克	王不留行	3300 克
当归	6500 克	漏芦	3300 克

[0028]

川芎	6500 克	路路通	3300 克
柴胡	1950 克	通草	1950 克。

[0029] 本发明的中药的制备方法:

[0030] 活性成分的制备方法 1

[0031] 以上八味,加水 10-30 倍煎煮 1-3 小时,滤过,药渣再加水 5-30 倍煎煮 1-4 小时,滤过,合并煎液,通过大孔吸附树脂柱,树脂与药材的重量比为 1 : 0.2-1 : 1,用水洗脱至近无色后,再用乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃ 测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过筛,即得。

[0032] 活性成分的制备方法 2

[0033] 以上八味,加水 18 倍煎煮 1.5 小时,滤过,药渣再加水 15 倍煎煮 1.5 小时,滤过,合并煎液,通过 WLD 型大孔吸附树脂柱,树脂与药材的重量比为 1 : 1,用水洗脱至近无色后,再用 70% 乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液 (树脂体积的 2.5 倍),减压回收乙醇,浓缩至在 80℃

测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过筛,即得。

[0034] 活性成分的制备方法 3

[0035] 以上八味,加水 30 倍煎煮 3 小时,滤过,药渣再加水 30 倍煎煮 4 小时,滤过,合并煎液,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(树脂体积的 3 倍),树脂与材料的重量比为 1 : 0.2,用水洗脱至近无色后,再用 50%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃ 测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过筛,即得。

[0036] 胶囊囊壳的制备方法:原料按每千克水计,称取明胶 5-20 克,羟丙基甲基纤维素 60-240 克,甘油 5-20 毫升;可按如下过程制备:将称取的明胶和羟丙基甲基纤维素加入 1 千克 80-90℃ 的热水中搅拌溶解,再加入甘油搅拌均匀,降温,于 35℃ 恒温养胶,然后将胶液放入浸槽,待胶液温度降至 30℃ 时,经胶囊模板自动沾胶、烘干、拔壳、切割和扣合即可制成胶囊囊壳。将本发明的活性成分粉碎,过筛,填装胶囊 1000 粒,每粒装量为 0.3 克,即得。

[0037] 其他剂型:将本发明的中药作为主药,采用本领域公知的常规辅料和制剂技术将其制成硬胶囊,片剂,缓释剂,控释剂,滴丸,颗粒,崩解剂,泡腾剂。

[0038] 本发明的中药的检测方法

[0039] 性状本品为胶囊剂,内容物为浅褐色粉末;气微香,味苦。

[0040] 鉴别 (1) 取本品内容物 0.6 克,加水 50 毫升溶解,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),先用水 100 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 100 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用 15 毫升水溶解,转入分液漏斗中,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 毫升,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣用甲醇 5 毫升溶解,通过 5 克的中性氧化铝柱(内径 1.5cm),并用 15 毫升甲醇洗脱,收集洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每 1 毫升含 1 毫克的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB) 试验,吸取供试品与对照品溶液各 5 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13 : 6 : 2) 放置过夜的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%浓硫酸乙醇溶液,在 105℃ 烘 5 分钟,供试品的色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,再置紫外光灯(365nm) 下检视,显相同颜色的荧光斑点。

[0041] (2) 取[鉴别](1) 项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取王不留行对照药材 3 克,加水煎煮两次,每次 1 小时,滤过,滤液通过 D101 型大孔树吸附树脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),先用水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 50 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为对照药材溶液,照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB) 试验,吸取供试品溶液 5 μ l,对照药材溶液 3 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲酸-水(10 : 1 : 1) 展开 10cm,取出晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0042] (3) 取[鉴别](1) 项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取漏芦对照药材 3 克,加水煎煮两次,每次 1 小时,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),先用水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 50 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB) 试验,吸取供试品 5 μ l,对照药材溶液 3 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(15 : 5 : 2) 的下层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,供试品的色

谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0043] (4) 取本品内容物 1.5 克,研细,加醋酸乙酯 30 毫升,超声提取 15 分钟,滤过,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为供试品溶液,另分别取当归、川芎对照药材 0.3 克,研细,加醋酸乙酯 10 毫升,同法制成对照药材溶液,照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB) 试验,吸取上述三种溶液各 5 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60-90℃)-醋酸乙酯(85 : 35) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm) 下检视,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的兰色荧光斑点。

[0044] 检查应符合胶囊剂项下有关的各项规定(中国药典 95 年版一部附录 IL)。

[0045] 含量测定精密称取本品内容物 0.3 克(过 120 目筛),置 25 毫升量瓶中,精密加入甲醇 25 毫升,摇匀,超声提取 15 分钟后,静置。取上清液 10 毫升,蒸干,残渣加水饱和和正丁醇 20 毫升溶解后,残留物再加水 2 毫升溶解,加氯化钠饱和水溶液 10 毫升充分摇匀提取,分取正丁醇层后,水层用水饱和和正丁醇振摇提取 2 次(20、20 毫升),合并正丁醇液。用氨试液提取 2 次(20、20 毫升),弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用 70%乙醇 2 毫升溶解,加水 20 毫升,摇匀,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),以水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用 30%乙醇 30 毫升洗脱,弃去 30%乙醇洗脱液,继续用 70%乙醇 50 毫升洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 2 毫升量瓶内,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每 1 毫升含 1 毫克的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 VIB) 试验,吸取对照品溶液 1.0 μ l 与 3.0 μ l,供试品溶液 4.0 μ l,间隔点于同一块以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13 : 6 : 2) 的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,于 100℃ 烘约 5-7 分钟,至斑点显色清晰,取出,在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶皮固定,照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 IVB 薄层扫描法) 进行扫描,波长: $\lambda_s = 510\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$,测定对照品和供试品的吸收度积分值,计算,即得。

[0046] 本品内容物含黄芪甲甙(C₄₁H₆₈O₁₄) 应不少于 1.2 毫克/粒。

[0047] 本发明的胶囊的功能与主治为益气养血,舒肝解郁,通络下乳。适用于在哺乳期缺乳的产妇。证见:产后无乳或少乳;或乳汁清稀,面色无华,神疲食少;或胸胁胀痛,情志抑郁等。

[0048] [用法用量] 口服,一次 2 粒,一日 3 次。

[0049] [规格] 每粒重 0.3 克

[0050] [贮藏] 密封。

[0051] 动物急性毒性试验

[0052] 摘要:本发明的益气增乳胶囊给小鼠一次灌胃的 LD₅₀ 为 431.1 克(原生药)/公斤(相当于临床每日推荐剂量的 287.4 倍),毒性反应可见倦伏少动、耸毛、拱背,死亡多数发生在给药后 1.5h-24h 内,病理解剖仅见肠壁轻度充血,其余未见明显病变,故认为动物死亡系灌胃药液浓度及体积过大导致急性消化道扩张,与药物本身的毒性无关。根据专家建议,补做一次灌胃给药的最大耐受量测定,结果 MTD = 368 克(原生药)/公斤(相当于临床每日推荐剂量的 245.3 倍)。

[0053] 试验目的

[0054] 观察本发明的益气增乳胶囊一次灌胃给予动物后所产生的毒性反应和死亡情况。

[0055] 受试药物

[0056] 益气增乳胶囊浸膏 (YQZR): 棕褐色浓缩浸膏, 浓度 2055% (每毫升含原生药量 20.55 克), 由四川省中药研究所药化室易进海博士制备, 批号 960610, 用于一次灌胃的半数致死量测定。另将益气增乳胶囊浸膏以蒸馏水稀释至 920% (每毫升含原生药量 9.2 克), 用作一次灌胃的最大耐受量测定。

[0057] 动物

[0058] 昆明种小鼠, 封闭群 (> 30 代), 一级合格 (医动字第 24301035 号), 体重 18-22 克, 雌雄各半, 由四川省中药研究所动物室提供。

[0059] 实验环境

[0060] 本实验在四川省中药研究所药理室动物室内进行 (使用一级合格, 医动字 2430313 号)。雌雄小鼠分笼饲养, 每笼 5 只。本室常规条状固体饲料喂养, 自由饮水。

[0061] 试验方法: 一次性灌胃给药的半数致死量测定

[0062] 给药前动物一律禁食 12h, 自由饮水。分别观察受试动物一次灌胃后 7 天内所产生的毒性反应和死亡情况。

[0063] 在预试试验测得的小鼠一次灌胃给药的 D_n (0% 死亡剂量) 和 D_m (100% 死亡剂量) 的剂量范围内设置 4 个剂量组 (593.8、504.8、429.0、364.7 克 / 公斤, 组间剂量比值 $k = 0.85$), 配制 4 种不同浓度的药液供实验使用。配制方法: 取 YQZR 浓缩浸膏 (每毫升含原生药量 20.55 克) 48.2 毫升, 加蒸馏水至 50 毫升, 即成每毫升含原生药量 19.8 克的溶液, 供 593.8 克 / 公斤组用。取 YQZR 浓缩浸膏 40.9 毫升加水至 50 毫升, 即成每毫升含原生药量 16.8 克的溶液, 供 504.8 克 / 公斤组用。取 YQZR 浓缩浸膏 34.8 毫升加水至 50 毫升, 即成每毫升含原生药量 14.3 克的溶液, 供 429.0 克 / 公斤组用。取 YQZR 浓缩浸膏 29.6 毫升加水至 50 毫升, 即成每毫升含原生药量 12 克的溶液, 供 364.7 克 / 公斤组用。各组灌胃体积均为 0.3 毫升 / 10 克体重。

[0064] 取小鼠 40 只, 雌雄各半, 禁食 12h, 不禁水, 随机分成 4 组, 分别按剂量用受试药物灌胃, 灌胃体积 0.3 毫升 / 10 克体重, 观察受试动物在一次灌胃给药后 7 天内 (168h) 所产生的毒性反应和死亡情况, 作病理解剖观察, 记录动物毒性反应情况及死亡分布, 用半数效量概率单位法 (加权直线回归法) 求出加权直线回归方程、半数致死量 (LD50) 及 LD50 的 95% 平均可信限。

[0065] 计算采用华西医科大学统计教研室编制的 PEMS2.1 (中国医学百科全书医学统计学软件包第二版) 在微机上进行, 用半数效量概率单位法 (加权直线回归法) 求出加权直线回归方程、半数致死量 (LD50) 及 LD50 的 95% 平均可信限。

[0066] 一次性灌胃给药的最大耐受量测定

[0067] 取小鼠 20 只, 雌雄各半, 禁食 12h, 不禁水, 以动物能够接受的最大浓度 (每毫升含原生药量 9.29) 和最大容积 (0.4 毫升 / 10 克体重) 的剂量一次灌胃动物, 连续观察 7 天, 记录动物的毒性反应, 7 天后复测体重, 以不产生死亡的最大剂量为最大耐受量 (MTD)。

[0068] 试验结果

[0069] 益气增乳胶囊灌胃给药的 LD50

[0070] 益气增乳胶囊灌胃给药 30min 后, 小鼠出现倦伏少动, 耸毛、拱背, 死亡多数发生在给药后 1.5h-24h 内。死亡动物病理解剖见胃及十二指肠扩张、胀气, 胃肠腔内可见残留

药液,肠壁轻度充血,其余未见明显病变(表1)。

[0071] 表1 益气增乳胶囊向小鼠灌胃的急性毒性

[0072]

剂量× (g/kg)	动物数	死亡数	死亡率 P	估计概率单位		
				Y0	Y1	Y2
593.8	10	10	0.99	7.6	7.9	7.9
504.8	10	9	0.9	6.1	6.4	6.5
429	10	6	0.6	4.6	5	5
364.7	10	0	0.01	3.1	3.5	3.5

[0073] 加权直线回归方程 $\text{Probit}(Y) = 50.7420 + 21.1578 \ln(X)$

[0074] $\text{LD}_{50} = 431.10$ 克(原生药)/公斤

[0075] LD_{50} 的 95%可信区间:422.87-439.49 克(原生药)/公斤

[0076] YQZR 一次灌胃给药的半数致死量(LD_{50})为 431.1 克(生药量)/公斤,相当于临床成人每日剂量 1.5 克(生药量)/公斤的 287.4 倍。

[0077] 益气增乳胶囊一次给药的最大耐受量

[0078] 益气增乳胶囊一次给药后,小白鼠的外观、行为活动、精神状态、饲料消耗量、大小便、皮肤、呼吸均无异常。鼻、眼、口腔未见异常分泌物,体重呈正常增长状态。病理解剖未见异常(表2)

[0079] 表2 益气增乳胶囊一次灌胃给药的 MTD 测定结果

[0080]

动物数	剂量	体重(克)	
		实验前	实验后
20	368	20.2±1.0	26.0±2.4

[0081] 益气增乳胶囊一次给药的最大耐受量 $\text{MTD} = 368$ 克(生药量)/公斤,相当于临床成人每日剂量的 245.3 倍。

[0082] 试验结论

[0083] 益气增乳胶囊给小鼠一次灌胃的 LD_{50} 为 431.1 克(原生药)/公斤(相当于临床每日推荐剂量的 287.4 倍),毒性反应可见倦伏少动、耸毛、拱背,死亡多数发生在给药后 1.5h-24h 内,病理解剖仅见肠壁轻度充血,其余未见明显病变,因此认为,动物的死亡系灌胃药液的浓度及体积过大导致急性消化道扩张,与药物本身毒性无关。益气增乳胶囊一次灌胃给药的最大耐受量测定显示 $\text{MTD} = 368$ 克(原生药)/公斤(相当于临床每日推荐剂量的 245.3 倍)。

[0084] 从本品的急性毒性试验所采用的剂量与毒性表现判断,本品属无明显毒性药物。

[0085] 参考文献

[0086] [1] 中华人民共和国卫生部药政管理局:中药新药研究指南(药学、药理学、毒理

学), 1994 :203-204

[0087] [2] 陈奇主编:中药药理研究方法学第一版,人民卫生出版社,1994 :118-119

[0088] [3] 杨树勤主编中国医学百科全书(医学统计学,第一版)人民卫生出版社,1985 ; 92-140

[0089] 长期毒性试验

[0090] 将益气增乳胶囊浸膏分别以 20、40、80 克(原生药)/公斤的剂量(分别相当于临床日剂量的 13.4、26.7、53.3 倍)给大鼠每日灌胃 1 次,连续 4 周。结果各组动物的一般体征、行为、进食量、粪便性状、体重增长均未见异常。血液细胞学检查红细胞数、血红蛋白、白细胞计数及分类,血液生化学检查血清丙氨酸氨基转移酶(赖氏法)、天门冬氨酸氨基转移酶(赖氏法)、总蛋白(双缩月尿法)、白蛋白(溴甲酚绿法)、尿素氮(二乙酰一月亏比色法)、肌酐(苦味酸比色法)、血糖(葡萄糖氧化酶-过氧化酶法)7 项血液生化学指标,对脏器进行全面肉眼系统尸体解剖,对心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、子宫、卵巢 9 个实质脏器称重、计算脏器系数,对心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、前胃、腺胃、十二指肠、子宫、卵巢 12 个脏器做组织病理学检查,均未见异常变化。停药 2 周做恢复性和延迟毒性观察,亦未见益气增乳胶囊引起上述指标的异常改变。本次实验结果表明益气增乳胶囊浸膏无明显毒副作用。

[0091] 生殖毒性试验

[0092] 摘要:将益气增乳胶囊浸膏分别以 20、40、80 克(原生药)/公斤的剂量(分别相当于临床日剂量的 13.4、26.7、53.3 倍)给围产期小鼠连续灌胃 26 天。结果各组动物的一般体征、行为均未见异常,体重正常生长,母鼠均正常分娩,顺产活胎。受哺乳的子鼠发育正常,外观未见畸形,体重持续增长。断乳后每窝随机抽取子鼠剖检,外观脏器均未见异常,主要脏器系数与对照组比较无显著性差异,组织病理学检查亦未发现心、肝、脾、肺、肾组织有明显病变。备组子鼠成年后继续配对饲养,生长发育均正常,未见病态及死亡,各组子鼠的行为及生殖功能均无异常发现,母鼠均正常分娩,顺产活胎,其子代外观未见畸形,发育正常。本次试验结果表明,益气增乳胶囊于围产期给药,对母鼠及其子代无明显的毒性作用。

[0093] 试验目的

[0094] 于妊娠后期和哺乳期给药,观察受试药物对晚期胚胎、分娩、泌乳及子代的毒副作用,评价受试药物对胎仔出生后发育有无不良影响。

[0095] 受试药物

[0096] 益气增乳胶囊浸膏(YQZR):棕褐色浓缩浸膏,每毫升含原生药量 20.55 克, pH = 5.6,由四川省中药研究所药化室易进海博士制备,批号 9606100。

[0097] 动物

[0098] 昆明种小鼠,壹级合格(医动字第 24301035 号),封闭群 > 30 代,体重 28-32 克,由四川省中药研究所实验动物研究室提供。将未经孕、产的成年小鼠雌、雄按 3 : 1 比例同笼饲养,自然交配受孕,受孕鼠单笼饲养用作试验。

[0099] 试验方法

[0100] 试验环境:本实验在四川省中药研究所药理研究室试验动物室内(使用壹级合格,医动字第 24303013 号)进行。温度 20-25℃,相对湿度 40-60%,荧光灯照明,12h(明):12h(暗)环境,高效过滤通风,每小时换气次数 8-11 次。孕鼠单笼单窝饲养。本室常规条

状固体饲料喂养,自由饮水。

[0101] 分组和剂量

[0102] 将经正常交配的受孕鼠随机分为对照组、YQZR 低剂量组 20 克(原生药)/公斤(相当于临床日剂量的 13.3 倍)、YQZR 中剂量组 40 克(原生药)/公斤(相当于临床日剂量的 26.7 倍)、YQZR 高剂量组 80 克(原生药)/公斤(相当于临床日剂量的 53.3 倍)共四组,每组 20 只。

[0103] 给药期和每日给药时间

[0104] 于分娩前 5 日开始,每天按剂量给予等体积不等浓度的 YQZR 灌胃一次,灌胃体积为 0.1 毫升/10 克体重,对照组予以相应体积的蒸馏水,连续给药直到分娩后 21 天断乳为止。每日给药时间均在上午 9:00-10:00。

[0105] YQZR 药液的配制方法:取 YQZR 浓缩浸膏(每毫升含原生药量 20.55 克)38.9 毫升加蒸馏水至 100 毫升,混匀后即成 800%药液(每 100 毫升含原生药 800 克)供高剂量组用,并按比例稀释成 400%、200%的药液分别供中剂量组和低剂量组用。

[0106] 统计学处理

[0107] 计量资料用 $\bar{x} \pm SD$ 表示,并用 t 或 t' 检验进行组间两两对比。计数资料用 X^2 检验或确切概率法进行组间两两对比。所有统计学处理均用华西医科大学编制的 PEMS2.0(中国医学百科全书医学统计学软件第二版)在微机上进行,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

[0108] 观察指标

[0109] 孕鼠自然分娩,观察母鼠的一般情况、体重增长、有无中毒症状,观察分娩及产程情况、活胎仔数,并检查活胎的一般发育和外观有无畸形,继续观察幼鼠的生长发育一直到成年。定期称重和记录子鼠成长情况。断乳后,每窝随机取 1 只子鼠剖检,并测定其主要脏器(心、肝、脾、肺、肾)之脏器系数(脏器重量/每 10 克小鼠体重)和作组织病理学检查。各组子鼠成年后继续配对饲养,观察其存活、生长发育,包括行为、生殖功能以及有无其它异常。

[0110] 试验结果

[0111] 用 YQZR 向围产期母鼠给药,母鼠一般情况良好,外观、行为、进食量、粪便等均未见异常,无一动物死亡,体重正常生长,母鼠体重与对照组相比无显著性差异(见表 3)。

[0112] 母鼠均正常分娩,顺产活胎。各组平均产胎仔数(只)分别为:对照组 9.3 ± 2.8 ,低剂量组 9.8 ± 2.0 ,中剂量组 9.3 ± 2.6 ,高剂量组 10.5 ± 1.9 ,组间统计无显著性差异。

[0113] 用 YQZR 向围产期母鼠给药,受哺乳的子鼠外观未见畸形,各组子鼠发育正常,体重持续增长,其中,中、高剂量组子鼠体重在 19 天时与对照组比较增加($P < 0.05$),其余与对照组无统计差异(见表 4)。

[0114] 用 YQZR 向围产期母鼠给药,断乳后取每窝的部分子鼠剖检,外观脏器均未见异常,称量其主要脏器(心、肝、脾、肺、肾)的重量,计算脏器系数,各组间脏器系数比较无统计差异(见表 5)。取心、肝、脾、肺、肾组织经 10%甲醛固定一周,常规石蜡包埋切片,HE 染色,光镜观察,给药组及对照组心、肝、脾、肺、肾组织均未见明显病理改变。各组子鼠成年后继续配对饲养,生长发育均正常,未见病态及死亡,各组子鼠的行为及生殖功能均无异常发现,母鼠均正常分娩,顺产活胎,其子代外观未见畸形,发育正常。

[0115]

表 3 YQZR 围产期给药对哺乳期母鼠体重的影响(克)

组别	动物数(只)	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天	第 15 天	第 17 天	第 19 天	第 21 天
对照组	20	45.27±3.90	46.32±5.18	47.68±3.24	48.49±3.76	48.25±3.88	49.04±2.92	48.63±2.87	47.82±2.76	46.60±4.05	45.18±3.42	45.24±3.37
低剂量组 20g/kg	20	44.31±5.12	45.87±3.56	47.48±3.56	47.53±2.80	47.79±3.34	48.51±2.94	48.12±3.62	46.13±3.64	44.51±3.59	44.10±4.03	42.51±4.75
中剂量组 40g/kg	20	48.01±5.55	49.29±4.84	49.18±4.70	49.20±4.77	49.32±5.03	48.84±5.08	48.08±5.83	46.23±6.11	45.47±5.40	44.47±4.73	43.71±4.15
高剂量组 80g/kg	20	48.03±5.04	49.36±5.31	49.37±3.83	50.05±3.05	49.43±2.96	49.46±2.63	48.86±5.63	47.40±3.90	46.44±3.75	44.55±4.36	43.05±4.36

[0116]

表 4 YQZR 围产期给药对哺乳期子鼠体重的影响 (克)

组别	动物数 (只)	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 13 天	第 15 天	第 17 天	第 19 天	第 21 天
对照组	20	15.68±2.15	21.51±6.24	28.16±3.43	36.29±4.01	43.85±4.21	51.43±5.08	57.78±5.42	65.70±6.10	71.95±5.92	83.02±9.03	98.66±10.66
低剂量组 20g /kg	20	15.16±1.57	20.97±3.87	27.68±4.72	36.28±5.92	44.73±5.33	53.66±5.02	58.50±3.62	64.35±5.90	70.34±8.79	85.21±12.99	100.23±12.13
中剂量组 40g /kg	20	15.84±1.69	21.36±2.36	29.60±3.91	37.18±4.93	45.91±5.49	52.96±7.18	58.72±7.83	65.04±8.34	75.70±10.26	91.29±12.46*	105.73±13.34
高剂量组 80g /kg	20	15.57±1.23	21.61±3.28	30.28±3.65	38.21±3.68	46.18±4.41	53.08±5.03	59.13±5.52	64.12±5.02	73.63±8.82	89.42±9.00*	103. ±11.08

表 5 YQZR 围产期给药对子鼠内脏的影响 (克/10 克)

组别	动物数(只)	心	肝	脾	肺	肾
对照组	20	0.09±0.03	0.47±0.06	0.08±0.03	0.12±0.03	0.16±0.03
低剂量组	20	0.10±0.03	0.46±0.04	0.09±0.02	0.13±0.02	0.16±0.03
中剂量组	20	0.09±0.02	0.49±0.09	0.07±0.02	0.13±0.03	0.15±0.02
高剂量组	20	0.08±0.02	0.48±0.10	0.07±0.01	0.11±0.02	0.15±0.02

[0117] 试验结论

[0118] 本试验将 YQZR 以 20、40、80 克 (原生药) / 公斤的剂量 (分别相当于临床日剂量的

13.3, 26.7, 53.3 倍) 给围产期小鼠连续灌胃 26 天, 各组动物的一般体征、行为均未见异常, 体重正常生长, 母鼠均正常分娩, 顺产活胎。受哺乳的子鼠发育正常, 外观未见畸形, 体重持续增长。断乳后每窝随机抽取子鼠剖检, 外观脏器均未见异常, 主要脏器系数与对照组比较无显著性差异, 组织病理学检查亦未发现心、肝、脾、肺、肾组织有明显病变。各组子鼠成年后继续配对饲养, 生长发育均正常, 未见病态及死亡, 各组子鼠的行为及生殖功能均无异常发现, 母鼠均正常分娩, 顺产活胎, 其子代外观未见畸形, 发育正常。本次试验结果表明, 益气增乳胶囊于围产期给药, 对母鼠及其子代未见明显的毒性作用。

[0119] 与功能主治有关的主要药效学试验资料

[0120] 益气增乳胶囊浸膏(实施例 1 和 5) 4、8、16 克(生药量)/公斤灌胃(分别相当于临床推荐日剂量的 2.7、5.3、10.7 倍) 给药对 NaF 致大鼠缺乳、移窝致小鼠缺乳、L-Dopa 致小鼠缺乳等模型均有显著增加乳量的作用, 可明显增加缺乳动物血清泌乳素含量, 使乳腺组织呈高度泌乳状态。对正常小鼠母鼠乳汁量及仔鼠体重均有增加作用, 给药后小鼠乳汁营养成分及免疫球蛋白含量有增高趋势, 乳汁成分中乳脂的含量升高, 可见对乳汁主要营养成分并无降低作用。对小鼠失血致“血虚”、饥饿致“气虚”模型均有明显改善作用。大鼠体外实验与在体试验均表明益气增乳胶囊具有增加子宫平滑肌收缩力的作用。

[0121] 受试药物: 益气增乳胶囊浸膏(YQZR), 棕褐色, 每毫升相当于原生药 20.55 克, 由四川省中药研究所药化室制备, 批号 960610。配制: 取 YQZR 浸膏 7.78 毫升, 加蒸馏水至 100 毫升, 混匀后即成 160% 药液(每 100 毫升含原生药 160 克), 供 YQZR 16 克(生药)/公斤组用, 并按比例稀释成 80%、40% 药液分别供 YQZR 8 克(生药)/公斤组、YQZR 4 克(生药)/公斤组用。

[0122] 阳性对照药: 乳泉冲剂(RQ, 川卫药准字(94)-10150 号), 棕色颗粒, 主要成分王不留行、天花粉等。能通经、活血、下乳, 用于产后乳汁少或乳汁不畅。规格: 10 袋/盒, 49/袋。用量: 一次 4 克, 每日 2 次。四川志远广和制药有限公司生产, 批号 961203。该冲剂按每人体重 60 公斤计算, 其每日相当于 4 克*2 次/60 公斤=0.13 克(冲剂重量)/公斤体重, 配制: 取 RQ 颗粒剂 14 克加蒸馏水至 100 毫升, 混匀后即成 14% 药液(每 100 毫升相当于冲剂 14 克), 即得实验用药。

[0123] 动物: Wistar 种大鼠(一级合格, 医动字第 24301038 号), 封闭群>30 代, 未经孕、产, 体重 250-350 克, 由四川省中药研究所实验动物研究室提供。大鼠雌、雄按 4:1 比例同笼饲养, 自然交配受孕, 受孕鼠单笼饲养用作实验。

[0124] 昆明种小鼠(一级合格, 医动字第 24301035 号), 封闭群>30 代, 未经孕、产, 体重 27-35 克, 由四川省中药研究所实验动物研究室提供。小鼠雌、雄按 3:1 比例同笼饲养, 自然交配受孕, 受孕鼠单笼饲养用作试验。

[0125] 试验环境与统计学处理方法

[0126] 试验环境

[0127] 本实验在四川省中药研究所药理研究室动物试验室内(一级合格, 医动字第 24303013 号)进行。孕鼠单笼单窝饲养。本室常规条状固体饲料喂养, 自由饮水。

[0128] 统计学处理

[0129] 计量资料用 $\bar{x} \pm D$ 表示, 并用 t 或 t' 检验进行组间两两对比。计数资料用 $\chi^2(2 \times 2)$ 检验或确切概率法进行组间两两对比。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

[0130] 所有统计学处理均用华西医科大学编制的 PEMS2.0 (中国医学百科全书医学统计学软件第二版) 在微机上进行。

[0131] 对缺乳动物模型的影响

[0132] NaF 致大鼠缺乳模型试验

[0133] 试验目的:用 NaF 腹腔注射造成大鼠产后缺乳模型,观察受试药物益气增乳胶囊对缺乳大鼠的催乳作用。

[0134] 受试药物、阳性对照药、造型药物;受试药物、阳性对照药:同前。

[0135] 造型药物:NaF,分析纯,重庆化学试剂总厂出品,批号:950426。

[0136] 配制:取 NaF1.5 克,加生理盐水至 100 毫升,溶解制成 1.5% 药液供试验用。

[0137] 试验方法

[0138] 试验用 Wistar 大鼠,将受孕大鼠随机分成 (1) 正常对照组、(2)NaF 模型组、(3)NaF+YQZR 4 克 (生药量)/公斤组 (相当于临床日剂量的 2.7 倍)、(4)NaF+YQZR 8 克 (生药量)/公斤组 (相当于临床日剂量的 5.3 倍)、(5)NaF+YQZR 16 克 (生药量)/公斤组 (相当于临床日剂量的 10.7 倍)、(6)NaF+RQ 1.4 克 (冲剂量)/公斤 (相当于临床日剂量的 10.7 倍)。受孕鼠分娩当天起将每窝子鼠一律调整为 8 只,母鼠每天腹腔注射 NaF 15 毫克/公斤,注射体积 0.1 毫升/100 克体重,连续 7d,正常对照组 ip 相应体积生理盐水,同时 (3) 组、(4) 组、(5) 组、(6) 组每天分别按剂量 ig YQZR 和 RQ,灌胃体积为 1 毫升/100 克体重,(1) 组和 (2) 组 ig 相应体积蒸馏水,连续 7 天。

[0139] 采用累计 60min 吮吸乳量的 7 天总量作为泌乳量指标:每天定时将子鼠和母鼠隔离 5h 后,用手指轻压子鼠腹部排出尿液,用日本岛津 EB-3200D 型精密电子天平 (精度 0.01 克) 称全窝子鼠体重,然后将子鼠送回母鼠身边哺乳,吮吸 60min 后再次称子鼠体重,以比吮乳前增加的体重定为全窝子鼠 60min 吮吸乳量 (克),每天测量 1 次,连续 7d,将 7 天测得的 60min 吮吸乳量相加即得。

[0140] 试验结果见表 6 和表 7。

[0141]

表 6 益气增乳胶囊对 NaF 致大鼠缺乳模型母鼠每日泌乳量的影响

组别	动物数(只)	子鼠累计 60min 吮吸每日泌乳量(克)						
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
正常对照	10	1.03±1.27	1.95±1.25	2.90±1.59	3.37±1.73	3.87±1.74	2.96±1.46	4.38±1.92
NaF 模型	10	0.85±0.72	0.97±0.65#	1.34±0.85##	0.90±0.94##	1.51±1.28##	1.42±1.01##	1.59±2.32##
NaF+YQZR 4g/kg	10	1.59±1.29	1.75±1.27	1.91±1.02	2.38±1.20**	2.19±0.92	2.88±1.56*	3.21±2.13
NaF+YQZR 8g/kg	10	1.40±1.69	1.36±0.25	1.72±1.58	2.11±1.17**	2.92±1.51*	3.10±2.03*	3.90±1.47**
NaF+YQZR 16g/kg	10	1.02±0.52	1.74±1.10*	2.54±1.93	2.81±0.90**	2.89±1.45*	3.59±1.59**	4.31±1.42**
NaF+RQ	10	0.68±0.50	1.44±0.76	2.05±1.06	2.48±1.38**	2.60±1.14*	3.15±0.84**	4.07±1.12**

与正常对照组比较; #表示 $P<0.05$, ##表示 $p<0.01$; 与模型对照组比较; *表示 $P<0.05$, **表示 $p<0.01$

表 7 益气增乳胶囊对 NaF 致大鼠缺乳模型母鼠泌乳量的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (生药 g/kg*d)	子鼠累计 7d 的 60min 吮吸乳量 (g)
正常对照	10	/	20.47±7.24
NaF 模型	11	/	8.50±4.83##
NaF+YQZR 4g/kg	10	4 × 7	15.90±5.77##
NaF+YQZR 8g/kg	10	8 × 7	16.50±5.16##
NaF+YQZR 16g/kg	10	16 × 7	18.93±4.69##
NaF+RQ	10	1.4(冲剂) × 7	1.44±0.76

与正常对照组比较；#表示 P<0.05，##表示 p<0.01；与模型对照组比较；*表示 P<0.05，**表示 p<0.01

[0143] 试验结论

[0144] 试验结果表明，益气增乳胶囊所试 3 个剂量对 NaF 致大鼠缺乳模型均有明显催乳作用，YQZR 给药组子鼠累计 60min 吮吸乳量的 7d 总量与模型组比较，P 值均< 0.01。由每

日泌乳量可见,受试药物对该模型的起效时间从给药第 1 天开始,第 4 天后达到高峰,并维持到第 7 天以后。

[0145] 小鼠移窝缺乳模型试验

[0146] 试验目的

[0147] 用移窝方法造成母鼠离乳后缺乳模型,观察受试药物益气增乳胶囊对缺乳小鼠的催乳作用。

[0148] 受试药物(益气增乳胶囊)、阳性对照药(乳泉冲剂):同前。

[0149] 试剂、仪器

[0150] 试剂:PRL 免疫测定试剂盒(双抗体法),由天津九鼎医学生物有限公司提供,批号:9611060。

[0151] 仪器:美国 Beckman 同位素不计数仪;日本岛津 EB-3200D 型精密电子天平(精度 0.01 克);英国 Cambridge Sandon 转轮式切片机;重庆光学显微镜。

[0152] 试验方法 [5,6]

[0153] 设(1)正常对照组(正常分娩 km 小鼠),另将离乳 4 天的母鼠随机分成(2)模型对照组、(3)YQZR 4 克(生药量)/公斤组、(4)YQZR 8 克(生药量)/公斤组、(5)YQZR 16 克(生药量)/公斤组、(6)RQ 1.4 克/公斤组。其中,(3)、(4)、(5)、(6)组每天分别按剂量 ig YQZR 和 RQ,灌胃体积为 0.1 毫升/10 克体重,(1)、(2)组 ig 相应体积蒸馏水,给药同时每只母鼠移入产后 7d 的子鼠 2 只,给药 7d 后统计对照组与给药组子鼠的存活率,并观察母鼠的泌乳能力,母鼠眼眶取血,分离血清用放免法测泌乳素(PRL),解剖剥离乳腺,称重并计算乳腺系数(克/10 克),将乳腺固定于 10%甲醛液中作组织病理学观察。

[0154] 试验结果

[0155] 见表 8、表 9 和表 10。

[0156] 表 8YQZR 对小鼠移窝缺乳模型试验子鼠存活率的影响

[0157]

组别	子鼠数(只)	剂量(g/kg*d)	子鼠存活率(存活数/移窝子鼠总数)
正常组	20	/	20/20
模型组	20	/	1/20**
YQZR	20	4×7	20/20**
YQZR	20	8×7	20/20**
YQZR	20	16×7	20/20**
RQ	20	1.4(冲剂)×7	17/20**

[0158] 与正常对照组比较;#表示 $P < 0.05$,##表示 $p < 0.01$

[0159] 与模型对照组比较;*表示 $P < 0.05$,**表示 $p < 0.01$

[0160] 表 9YQZR 对移窝缺乳母鼠血清 PRL 及乳腺重量的影响

[0161]

组别	母鼠数(只)	剂量(g/kg*d)	血清 PRL(ng/ml)	乳腺系数(g/10g)
正常组	10	/	15.47±7.24	0.78±0.21
模型组	10	/	2.88±0.55##	0.25±0.10##
YQZR	10	4×7	9.97±3.72**	0.57±0.15**
YQZR	10	8×7	11.26±4.41**	0.56±0.15**
YQZR	10	16×7	13.12±5.79**	0.61±0.15**
RQ	10	1.4×7	10.24±3.23**	0.49±0.14**

[0162] 与正常对照组比较;#表示 $P < 0.05$,##表示 $p < 0.01$

[0163] 与模型对照组比较 ;* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$

[0164] 表 10YQZR 对移窝缺乳母鼠乳腺组织病理学观察

[0165]

组别	动物数 (只)	剂 量 (g/kg*d)	乳腺组织 HE 染色光镜观察结果
正常组	10	/	乳腺组织呈泌乳期分泌状态, 乳腺组织丰富, 乳腺小叶分叶明显, 腺泡细胞高度充盈, 腺管扩张, 腺上皮呈高柱状, 腺腔增大, 充满嗜酸性分泌物, 容易见到初乳小体。
模型组	10	/	模型组乳腺主要由脂肪组织组成, 乳腺小叶分叶不明显, 腺泡组织稀少、分散, 腺腔狭窄, 仅个别可见少量分泌物。
YQZR	10	4 × 7	YQZR3 个剂量组均表现为乳腺腺泡组织丰富, 脂肪组织量少, 小叶分叶明显, 腺泡细胞高度充盈, 腺管扩张腺上皮增生呈高柱状, 腺腔增大, 充满嗜酸性分泌物, 并可见较多初乳小体, 3 个剂量组间无明显差异。
YQZR	10	8 × 7	
YQZR	10	16 × 7	
RQ	10	1.4 × 7	RQ 组表现为乳腺腺泡组织丰富, 腺腔有较多分泌物, 但腺泡和腺管增生程度不及 YQZR。

[0166] 试验结论

[0167] 试验结果表明, 益气增乳胶囊所试 3 个剂量对移窝致小鼠缺乳模型均有明显催乳作用, 给药组的子鼠存活率、乳腺系数、血清 PRL 与模型对照组比较, P 值均 < 0.01 , 乳腺组织病理学观察亦证实给药组的乳腺组织呈高度泌乳状态, 而模型对照组的乳腺则呈萎缩状态。

[0168] L-dopa 致小鼠缺乳模型试验

[0169] 试验目的

[0170] 用 L-dopa 腹腔注射造成母鼠产后缺乳模型, 观察受试药物益气增乳胶囊对缺乳小鼠的催乳作用。

[0171] 受试药物、阳性对照药、造型药物

[0172] 受试药物 (益气增乳胶囊)、阳性对照药 (乳泉冲剂) 同前。

[0173] 造型药物: 左旋多巴 (L-dopa), 上海奉贤制药厂生产, 规格: 20 毫升 / 支, 浓度: 0.25%, 沪卫药准字 (1989) 第 2334 号 (奉药), 批号: 900113。

[0174] 试验方法 [4]

[0175] 试验用 km 小鼠, 将受孕小鼠随机分成 (1) 正常对照组、(2) L-dopa 模型组、(3) L-dopa+YQZR 4g (生药量) / 公斤组、(4) dopa+YQZR 8 克 (生药量) / 公斤组、(5) L-dopa+YQZR 16 克 (生药量) / 公斤组、(6) L-dopa+RQ 1.4 克 (冲剂量) / 公斤组, 受孕鼠分娩当天起将每窝子鼠一律调整为 8 只, 母鼠每天腹腔注射 L-dopa 2 毫克 / 公斤, 注射体积 0.008 毫升 / 10 克体重, 连续 7d, 正常对照组母鼠 ip 相应体积生理盐水, 同时每天 (3) 组、

(4) 组、(5) 组、(6) 组分别按剂量 ig YQZR 和 RQ, 灌胃体积 0.1 毫升 / 公斤, (1) 组和 (2) 组 ig 相应体积蒸馏水, 连续 7d。

[0176] 采用累计 60min 吮吸乳量的 7d 总量作为泌乳量指标: 每天定时将子鼠和母鼠隔离 5h 后, 用手指轻压子鼠腹部排出尿液, 用日本岛津 EB-3200D 型精密电子天平 (精度 0.01 克) 称全窝子鼠体重, 然后将子鼠送回母鼠身边哺乳, 吮吸 60min 后再次称子鼠体重, 以比吮乳前增加的体重定为全窝子鼠 60min 吮吸乳量 (克), 每天测量 1 次, 连续 7d, 将 7d 测得的 60min 吮吸乳量相加即得。

[0177] 试验结果见表 11 和表 12。

[0178]

表 11 益气增乳胶囊对 L-dopa 致大鼠缺乳模型母鼠每日泌乳量的影响

组别	动物数 (只)	子鼠累计 60min 吮吸每日泌乳量(克)						
		1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
正常对照	10	0.60±0.31	0.93±0.35	1.12±0.46	1.22±0.58	1.39±0.49	1.49±0.47	1.36±0.39
L-dopa 模型	11	0.40±0.36	0.49±0.28##	0.42±0.21##	0.79±0.57	0.84±0.20##	0.92±0.59#	0.92±0.29#
L-dopa + YQZR 4g/kg	10	0.31±0.20	0.59±0.20	0.65±0.18*	0.63±0.21	0.74±0.50	1.11±0.48	1.28±0.58
L-dopa + YQZR 8g/kg	10	0.58±0.36	0.99±0.96	0.76±0.36*	0.88±0.31	0.75±0.48	0.93±0.43	1.04±0.59
L-dopa + YQZR 16g/kg	10	0.52±0.25	0.79±0.65	0.63±0.46	0.76±0.47	1.48±0.77*	1.62±1.20	1.57±0.97
L-dopa+RQ	10	0.35±0.16	0.67±0.27	0.685±0.29**	0.94±0.16	0.94±0.55	1.32±0.40	1.20±0.40

与正常对照组比较； #表示 P<0.05, ##表示 p<0.01； 与模型对照组比较； *表示 P<0.05, **表示 p<0.01

[0179] 表 12 益气增乳胶囊对 L-dopa 致小鼠缺乳模型母鼠泌乳量的影响

[0180]

组别	母鼠数 (只)	剂量 (g/kg*d)	子鼠累计 7d 吮吸每日泌乳量 (g)
正常对照	8	/	8.01±2.56
L-dopa 模型	8	/	4.79±1.23##
L-dopa+YQZR 4g/kg	8	4×7	5.31±0.97
L-dopa+YQZR 8g/kg	8	8×7	6.02±1.88
L-dopa+YQZR 16g/kg	8	16×7	7.36±2.95*
L-dopa+RQ	8	1.4(冲剂)×7	6.27±1.54*

[0181] 与正常对照组比较 ;# 表示 $P < 0.05$, ## 表示 $p < 0.01$

[0182] 与模型对照组比较 ;* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$

[0183] 试验结论

[0184] 试验结果表明, 益气增乳胶囊 4 克 / 公斤和 8 克 / 公斤组子鼠累计 60min 吮吸乳量的 7d 总量与模型组比较有增加趋势, 益气增乳胶囊 16 克 / 公斤组子鼠累计 60min 吮吸乳量的 7d 总量与模型组比较有显著增加, 这种作用有一定效关系, 表明 YQZR 对 L-dopa 致缺乳小鼠具有一定催乳作用。由每日泌乳量可见, 受试药物对该模型起效时间从给药第 2 天开始, 第 3—5 天后达到高峰, 并维持到第 7 天以后。

[0185] 对正常产褥期母鼠乳汁的影响

[0186] 对正常小鼠乳汁量的影响

[0187] 试验目的

[0188] 通过母鼠哺乳期连续给药, 了解受试药物对小鼠正常哺乳状态下乳汁分泌的影响。

[0189] 受试药物 (益气增乳胶囊 ; 实施例 1 和 4)、阳性对照药 (乳泉冲剂) 同前。

[0190] 动物 (昆明种小鼠) 同前。

[0191] 试验方法 [6]

[0192] 采用随机分组, 将受孕母鼠分 (1) 对照组、(2) YQZR 4 克 (生药量) / 公斤组、(3) YQZR 8 克 (生药量) / 公斤组、(4) YQZR 16 克 (生药量) / 公斤组、(5) RQ 1.4 克 (冲剂量) / 公斤组。受孕鼠分娩当天起将每窝子鼠一律调整为 8 只, 给药组于产后当天开始, 母鼠每天分别按剂量 ig YQZR 和 RQ, 给药体积为 0.1 毫升 / 10 克, 对照组 ig 等体积蒸馏水, 连续 13d。从产后第 3 日起, 每天定时将全窝子鼠移出饥饿 5h, 然后将子鼠放回母鼠身边哺乳 19h, 于哺乳前后分别用日本岛津 EB, 3200D 型精密电子天平 (精度 0.01 克) 称全窝子鼠体重, 以其重量差表示母鼠的泌乳量, 将每天的泌乳量求总和即得每只母鼠的总泌乳量。

[0193] 试验结果见表 13。

[0194] 表 13 益气增乳囊对正常小鼠乳汁分泌量的响

[0195]

组别	母鼠数 (只)	剂量 (g/kg*d)	子鼠累计 7d 吮吸每日泌乳量 (g)
正常对照	10	/	46.98±2.62
YQZR	10	4 × 13	46.71±3.72
YQZR	10	8 × 13	47.15±7.62
YQZR	10	16 × 13	48.88±3.39**
RQ	10	1.4(冲剂) × 13	47.17±5.38

[0196] 与正常对照组比较 ;# 表示 $P < 0.05$, ## 表示 $p < 0.01$

[0197] 与模型对照组比较 ;* 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $p < 0.01$

[0198] 试验结论

[0199] 试验结果表明,益气增乳胶囊所试大剂量组对小鼠正常哺乳状态下乳汁分泌量与对照组比较有显著增加作用。

[0200] 对小鼠乳汁成份的影响

[0201] 试验目的

[0202] 通过对给予受试药物后,母鼠乳汁中乳蛋白、乳脂、乳糖、乳钙、免疫球蛋白 IgG、IgM、IgA 的测定,了解受试药物对小鼠正常哺乳状态下乳汁成份的影响。

[0203] 受试药物(益气增乳胶囊)、阳性对照药(乳泉冲剂)同前。

[0204] 动物(昆明种小鼠)同前。

[0205] 试剂、仪器

[0206] 试验方法

[0207] 将受孕小鼠随机分成(1)对照组、(2)YQZR 4克(生药量)/公斤组、(3)YQZR 8克(生药量)/公斤组、(4)YQZR 16克(生药量)/公斤组、(5)RQ 1.4克/公斤组。给药组于产后当天开始,每天分别按剂量 ig YQZR 和 RQ,给药体积为 0.1 毫升/10 克体重,对照组 ig 相应体积蒸馏水,连续 6d。第 6 天给药后 1h 将母鼠断头放血,剥离出乳腺,挤出乳汁,测定乳汁成份,包括乳蛋白质、乳脂、乳糖、乳 Ca、免疫球蛋白 IG、IgM、IgA,将给药组与对照组的乳汁成份相比较,观察受试药物对乳汁成份有无影响。

[0208] 试验结论

[0209] 试验结果表明,给药后,YQZR 16 克/公斤组乳脂与对照组比较有较显著增加 ($P < 0.05$)。其余受试药物组的乳汁中各种营养成分及免疫球蛋白含量与对照组比较有一定升高趋势,但统计差异不显著。表明益气增乳胶囊在增加乳汁量的同时,并不降低乳汁的质量,对乳汁的主要营养成分及免疫球蛋白含量有一定增高趋势。

[0210] 临床试验

[0211] 本发明的益气增乳胶囊(实施例 1 和 4)由黄茂、当归、川芎等组成,具有益气养血,通经下乳之功效,主治气血虚弱型产后缺乳。

[0212] 根据卫生部(1998)7T-119 号临床研究批件对益气增乳胶囊治疗气血虚弱型产后缺乳进行 II 期临床验证。于 2000 年 2 月开始在湖北中医学院附属医院、北京大学人民医院、北京大学第三医院、天津医科大学总医院、首都医科大学附属北京朝阳医院等五家医院

以 3 : 1 随机双盲对照,共观察 450 例,其中治疗组 310 例、对照组 140 例。试验结果治疗组总有效率 96.42%,对照组总有效率 92.86%,本发明的药物的效果比对照药物的效果更好。临床验证中未发现该药有不良反应,安全、有效。现将临床验证结果报告如下:

[0213] 一般资料

[0214] 病例来源:观察病人均为住院分娩后产妇,诊断为产后缺乳(气血虚弱型),严格控制可变因素。

[0215] 病例选择

[0216] 诊断标准

[0217] 产妇在哺乳期乳汁甚少或全无,产妇体质虚弱,检查乳房柔软,无胀感,挤压乳汁甚少,质清稀或全无。

[0218] 中医辨证

[0219] 气血虚弱型

[0220] 1. 产后乳少,甚或全无;2. 乳房柔软,无胀感;3. 面色无华;4. 神疲乏力;

[0221] 5. 食欲不振;6. 胸胁胀痛 7. 脉细弦,舌淡少苔(或苔薄白)

[0222] 具有以上 1、2 项加 3、4、5、6 中任意一项及舌、脉即可诊断。

[0223] 缺乳轻重分级

[0224] 轻度:满足婴儿需要量的 2/32 分

[0225] 中度:满足婴儿需要量的 1/34 分

[0226] 重度:几乎没有乳汁,不能喂养婴儿 6 分

[0227] 试验病例标准

[0228] 符合中医诊断标准及中医辨证者,可纳入实验病例。

[0229] 纳入病例标准

[0230] 符合中医诊断标准及中医辨证者,可纳入实验病例。

[0231] 药物选择及服药方法

[0232] 治疗组:益气增乳胶囊,北京广大制药厂。

[0233] 对照组:乳泉冲剂,中外合资志远广和制药公司。

[0234] 服药方法:治疗组与对照组均于分娩后两天经诊断缺乳后(气血虚弱型)开始服用,连续三天。

[0235] 治疗组益气增乳胶囊,0.3 克/粒,每日 3 次,每次 5 粒。

[0236] 对照组乳泉冲剂,4 克/袋,每日 3 次,每次 1 袋。

[0237] 观察指标

[0238] 安全性观测

[0239] 一般体检项目

[0240] 血、尿、便常规化验

[0241] 心、肝;肾功能检验

[0242] 婴幼儿发育、智力情况

[0243] 对产妇子宫复旧及恶露的影响

[0244] 如出现副反应,要详细记载

[0245] 疗效性观察

[0246] (1) 泌乳量测定

[0247] A、授乳前后测量婴儿体重差,计算出泌乳量(1克=1毫升)

[0248] B、补充乳量:除授乳量外的人工补充乳量。

[0249] C、增加乳汁的%值:用药前后乳汁质、量、所增加的%值。

[0250] (2) 缺乳程度比较:根据乳房充盈、缺乳程度、乳汁质量三项综合评价分级。

[0251]

症状	轻(+)	中(++)	重(+++)
乳房充盈程度 (0-6分)	乳房中度充盈 (2分)	乳房轻度充盈 (4分)	乳房空虚,充盈不明显 (6分)
缺乳程度(0-6分)	乳汁能满足婴儿 2/3,需补奶1/3 (2分)	乳汁能满足1/3,需补奶 1/2-2/3 (4分)	仅有少数乳汁分泌或需补 奶>2/3 (6分)
乳汁质量(0-2)	质稠或清稠	质清稠或清稀(1分)	质清稀(2分)
分值	0-4分	5-9分	10分以上

[0252] (3) 中医症状:面色无华、神疲乏力、食欲不振、胸胁胀痛按中医症状评分以-、+、++、+++分别计0、1、2、3分,舌、脉象正常计0分(-),异常计1分(+).

[0253]

症状	轻(+)1分	中(++)2分	重(+++)3分
面色	淡白	淡白无华	苍白
神疲乏力	精神不振,可坚持体力活动	精神疲乏,勉强坚持活动	精神极度疲乏,不能坚持活动
胸胁胀痛	偶有	时有胀感	坚持胀痛
食少食欲不振	饮食无味,食量未减	食欲差,饮食减少1/3	无食欲差,饮食减少2/3以上

[0254] 中医症状轻重分级

[0255] 病情分度标准重度:16-23分中度:9-15分轻度:8分以下

[0256] (4) 血清雌激素(E)及泌乳素(PRL)测定,分别于服药前和疗程结束后的次日清晨空腹抽取静脉血。

[0257] 疗效评定标准

[0258] 1. 乳量疗效评定标准(根据《实用儿科学》对乳量评定标准:新生儿乳汁需要量为100毫升/公斤/天)

[0259] 痊愈:乳汁分泌完全满足婴儿需要,新生儿体重增加,无需添加任何代乳品。

[0260] 显效:乳汁分泌明显增多,补授奶量<婴儿需要的1/3,新生儿体重增加或无明显下降。

[0261] 有效:乳汁分泌增多,补授奶量≤婴儿需要量的1/2

- [0262] 无效:缺乳无改善。
- [0263] 2. 中医症候疗效判断
- [0264] 疗效指数, (治疗前积分 - 治疗后积分) / 治疗前积分 $\times 100\%$
- [0265] 痊愈:治疗后临床症状基本消失, 疗效指数 $\geq 95\%$
- [0266] 显效:治疗后临床症状明显减轻, $75 \leq$ 疗效指数 $< 95\%$
- [0267] 有效:治疗后临床症状减轻, $35 \leq$ 疗效指数 $< 75\%$
- [0268] 无效:治疗后临床症状无变化, 疗效指数 $< 35\%$
- [0269] 3. 综合疗效判断
- [0270] 疗效指数二 (治疗前积分 - 治疗后积分) / 治疗前积分 $\times 100\%$
- [0271] 痊愈:中医症状、缺乳症状明显消失, 疗效指数 $\geq 95\%$
- [0272] 显效:中医症状、缺乳症状明显改善, $75 \leq$ 疗效指数 $< 95\%$
- [0273] 有效:中医症状、缺乳症状好转, $35 \leq$ 疗效指数 $< 75\%$
- [0274] 无效:中医症状、缺乳症状未改善, 疗效指数 $< 35\%$
- [0275] 随访
- [0276] 产后 42 天 -3 个月对母体及婴儿发育、智力进行随访, 并作出记录。
- [0277] 副反应详细记录
- [0278] 实验中须密切观察和记录各种不良反应, 如发生要及时报告组长单位及时处理。
- [0279] 观察及纪录要求
- [0280] 凡纳入研究的病例, 均需按下述要求做好纪录:
- [0281] 1. 所记录的病例资料必须真实可靠。
- [0282] 2. 所有观察项目均应按要求进行观察。
- [0283] 3. 对有不良反应的病例必须用文字描述。
- [0284] 4. 严格控制可变因素, 记录产妇饮食情况。
- [0285] 5. 对每一病例观察完成后须写小结。
- [0286] 6. 观察结束后各单位对观察情况进行小结, 并做出疗效评定。
- [0287] 数据及统计
- [0288] 研究按统一方案进行, 统一表格设计, 统一数据处理, 数据存入计算机, 软件进行分析, 由各参加单位写出小结, 由临床负责单位写出总结, 对益气增乳胶囊临床疗效及安全性作出客观评价。
- [0289] 统计方法
- [0290] 计量资料采用电检验, 等级资料采用 Ridit 分析, 计数资料采用 X^2 检验进行组间比较。
- [0291] 疗效分析 (试验结果), 见下表。
- [0292]

		痊愈		显效		有效		无效		总有效率	
组别	例数	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
治疗组	307	121	39.41	106	34.53	69	22.48	11	3.58	296	96.42
对照组	140	43	30.71	51	36.43	36	25.71	10	7.15	130	92.86

[0293] 本发明的药物的效果比对照药物效果更好,尤其是痊愈效果优于对照药物。

[0294] 临床观察结果

[0295] 产后 42 天 -3 月对产妇及其婴儿进行随访,两组共随访 318 例。治疗组 206 例、对照组 112 例,母乳喂养,婴儿光感明显,能寻找声源,逗之能笑,发育及智力与同龄儿相比均未发现异常。

[0296] 1. 可比性检测结果表明,两组年龄产后出血、分娩方式、孕次、病情程度、中医症状、缺乳程度等均无显著性差异,具有可比性。

[0297] 2. 本研究采用随机双盲法,共观察 447 例合格受试者,经 447 例中医辨证为气血虚弱型的产后缺乳患者的临床试验结果表明,益气增乳胶囊对治疗产后 2 天经诊断为气血虚弱型产后缺乳产妇的总有效率达 96.42%,愈显率 73.94%;对照组乳泉冲剂总有效率达 92.86%,愈显率达 67.14%。两组临床疗效经统计学处理, $P > 0.05$,无显著性差异。

[0298] 3. 试验结果表明:两组均明显改善中医症状(面色无华、神疲乏力、食欲不振、胸胁胀痛)。治疗前后评分比较, $p < 0.01$,有非常显著性差异。经对乳房充盈、泌乳量、乳质的观察,两组治疗前后缺乳改善明显,经统计学处理, $p < 0.01$,有非常显著性差异。治疗后新生儿无明显生理性体重下降。治疗组与对照组间无差异。

[0299] 4. 两组药物对产妇产后子宫收缩、恶露、血压均无影响。

[0300] 5. 安全性指标检测,治疗后对血、尿常规、心、肝、肾功能等监测均未发现异常。

[0301] 6. 产后 42 天 -3 月对产妇、婴儿进行随访,母乳喂养婴儿智力等均未发现异常。

[0302] 7. 两组治疗前后 E 的比较显示, E 明显下降, $P < 0.01$,有显著性差异,治疗前后 PRL 比较, $P > 0.05$,无显著性差异。

[0303] 8. 临床试验中未发现不良反应,深受产妇欢迎,易于接受。

[0304] 结论:

[0305] 益气增乳胶囊对产后气血虚弱型缺乳具有补气养血、益精增乳的功效。对产后 2 天经诊断为气血虚弱型缺乳的临床验证结果显示其总有效率为 96.42%,无不良反应,表明本品安全、有效。

[0306] 典型病例:

[0307] 张 XX,女,28 岁,44038,G4P1G41 周,剖宫产,因胎儿宫内窘迫行剖宫产助娩一活男婴,出生体重 3700 克,APGAR 评分立即为 9 分、1 分钟为 9 分、5 分钟为 10 分,产后出血量 500 毫升,产后第二天患者乳房无充盈,挤压乳汁量极少,患者面色苍白、神疲乏力、食欲不振、胸胁胀痛、舌质淡、苔薄白、脉细弱。缺乳程度评分 16 分、中医症状评分 7 分,总分 23 分,产

后第二天 HB99g/l。给予益气增乳胶囊,每次 5 粒,每日三次,共服三天,服药后第四天乳房胀满,乳汁分泌量多,质稠,中医症状评分 0 分,缺乳程度 0 分,乳量 400 毫升能满足婴儿需要,舌象、脉象均恢复正常,临床疗效评价为痊愈。

[0308] 患者治疗前后实验室检查结果均正常,治疗期间无不良反应,产后 42 天随访,乳房充盈良好,乳量多,子宫复旧良好,恶露已净,婴儿身长增加 3cm。体重增加 800 克,婴儿对外界刺激反应良好。

[0309] 综观全方,既重用益气养血之品以治其本,又集中大队通乳药物以治其标,如此则标本兼顾,补通并用,肝脾同治,共奏益气养血,通络下乳之功。我们在国家中医药管理局重点课题基金及四川省中药研究所科研基金的资助下,按《新药审批办法》三类中药制剂的要求,采用目前国内最先进的解决中药“黑、大、粗”的中药复方新工艺将该方制成胶囊,现已完成该制剂申报 II 期临床所需要的全部资料。其制剂先进、工艺稳定、质量可控,对 NaF 大鼠缺乳模型、L-dopa 小鼠缺乳模型、小鼠移窝试验、小鼠泌乳试验均有显著催乳作用,急性毒性试验、长期毒性试验、围产期毒性试验均无明显毒性。以上结果表明益气增乳胶囊值得进一步进行多中心的 II 期临床研究。

[0310] 综观全方,既重用益气养血之品以治其本,又集中大队通乳药物以治其标,如此则标本兼顾,补通并用,肝脾同治,共奏益气养血,舒肝解郁,通络下乳之功。经药理作用和化学成分研究,并在北京经国内一些著名中医药专家对该方进行充分论证,比较一致地认为本方确为补益气血、通络下乳之良方,本发明进而展开新药开发研究,开发出制剂稳定、用药安全、剂量准确、质量可控、疗效可靠的益气增乳中药。

[0311] 实施例

[0312] 实施例 1

[0313] 本发明的药物的药材原料由如下重量比的药材组成：

[0314]

黄芪	3260	克	王不留行	1630	克
当归	3260	克	漏芦	1630	克
川芎	1630	克	路路通	1630	克
柴胡	978	克	通草	978	克。

[0315] 实施例 2

[0316] 本发明的药物的药材原料由如下重量比的药材组成：

[0317]

黄芪	1600	克	王不留行	820	克
当归	1600	克	漏芦	820	克
川芎	1600	克	路路通	820	克
柴胡	500	克	通草	500	克。

[0318] 实施例 3

[0319] 本发明的药物的药材原料由如下重量比的药材组成：

[0320]

黄芪	6500	克	王不留行	3300	克
当归	6500	克	漏芦	3300	克
川芎	6500	克	路路通	3300	克
柴胡	1950	克	通草	1950	克。

[0321] 实施例 4:活性成分的制备方法 1

[0322] 以上八味,加水 18 倍煎煮 1.5 小时,滤过,药渣再加水 15 倍煎煮 1.5 小时,滤过,合并煎液,通过 WLD 型大孔吸附树脂柱,树脂与材料的重量比为 1 : 1,用水洗脱至近无色后,再用 70%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过 80 目筛,填装胶囊 1000 粒,每粒装量为 0.3 克,即得。

[0323] 实施例 5:活性成分的制备方法 2

[0324] 以上八味,加水 30 倍煎煮 3 小时,滤过,药渣再加水 30 倍煎煮 4 小时,滤过,合并煎液,通过 D101 型大孔吸附树脂柱,树脂与材料的重量比为 1 : 0.2,用水洗脱至近无色后,再用 50%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液,减压回收乙醇,浓缩至在 80℃测量时相对密度为 1.36-1.38 的稠膏,减压干燥,粉碎,过 80 目筛,填装胶囊 1000 粒,每粒装量为 0.3 克,即得。

[0325] 实施例 6:胶囊囊壳的制备方法

[0326] 原料按每千克水计,称取明胶 10 克,羟丙基甲基纤维素 120 克,甘油 10 毫升;

[0327] 可按如下过程制备:将称取的明胶和羟丙基甲基纤维素加入 1 千克 80-90℃的热水中搅拌溶解,再加入甘油搅拌均匀,降温,于 35℃恒温养胶,然后将胶液放入浸槽,待胶液温度降至 30℃时,经胶囊模板自动沾胶、烘干、拔壳、切割和扣合即可制成胶囊囊壳。

[0328] 将本发明的颗粒灌注到胶囊囊壳中,即得到硬胶囊。

[0329] 实施例 7:检测方法

[0330] 性状本品为胶囊剂,内容物为浅褐色粉末;气微香,味苦。

[0331] 鉴别 (1) 取本品内容物 0.6 克,加水 50 毫升溶解,滤过,滤液通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),先用水 100 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 100 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用 15 毫升水溶解。转入分液漏斗中,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 毫升,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣用甲醇 5 毫升溶解,通过 5 克的中性氧化铝柱(内径 1.5cm),并用 15 毫升甲醇洗脱,收集洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每 1 毫升含 1 毫克的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品与对照品溶液各 5 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13 : 6 : 2)(10℃放置过夜)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%浓硫酸乙醇溶液,在 105℃烘 5 分钟。供试品的色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,再置紫外光灯(365nm)下检视,显相同颜色的荧光斑点。

[0332] (2) 取[鉴别](1)项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取王不留行对照药材 3 克,加水煎煮两次,每次 1 小时,滤过,滤液通过 D101 型大孔树吸附脂柱(内径 1.5cm,长 12cm),先用水 50 毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇 50 毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇 2 毫升溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 95 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液 5 μ l,对照药材溶液 3 μ l,分别点样于同一硅胶 G 薄层板上,以

醋酸乙酯-甲酸-水(10 : 1 : 1)展开10cm,取出晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0333] (3) 取[鉴别](1)项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取漏芦对照药材3克,加水煎煮两次,每次1小时,滤过,滤液通过D101型大孔吸附树脂柱(内径1.5cm,长12cm),先用水50毫升洗脱,弃去水液,再用乙醇50毫升洗脱,收集乙醇洗脱液,水浴蒸干,残渣用甲醇2毫升溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典95年版一部附录VIB)试验,吸取供试品5 μ l,对照药材溶液3 μ l,分别点样于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-水(15 : 5 : 2)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

[0334] (4) 取本品内容物1.5克,研细,加醋酸乙酯30毫升,超声提取15分钟,滤过,水浴蒸干,残渣用甲醇2毫升溶解,作为供试品溶液。另分别取当归、川芎对照药材0.3克,研细,加醋酸乙酯10毫升,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典95年版一部附录VIB)试验,吸取上述三种溶液各5 μ l,分别点样于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60-90℃)-醋酸乙酯(85 : 35)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视,供试品的色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的兰色荧光斑点。

[0335] 检查应符合胶囊剂项下有关的各项规定(中国药典95年版一部附录IL)。

[0336] 含量测定精密称取本品内容物0.3克(过120目筛),置25毫升容量瓶中,精密加入甲醇25毫升,摇匀,超声提取15分钟,静置。取上清液10毫升,蒸干,残渣加水饱和正丁醇20毫升溶解后,残留物再加水2毫升溶解,加氯化钠饱和水溶液10毫升充分摇匀提取,分取正丁醇层后,水层用水饱和正丁醇振摇提取2次(20,20毫升),合并正丁醇液。用氨试液提取2次(20,20毫升),弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣用70%乙醇2毫升溶解,加水20毫升,摇匀,通过D101型大孔吸附树脂柱(内径1.5cm,长12cm),以水50毫升洗脱,弃去水液。再用30%乙醇30毫升洗脱,弃去30%乙醇洗脱液,继续用70%乙醇50毫升洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至2毫升量瓶内,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。另取黄芪甲甙对照品,加甲醇制成每1毫升含1毫克的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典1995年版一部附录VIB)试验,吸取对照品溶液1.0 μ l与3.0 μ l,供试品溶液4.0 μ l,间隔点于同一块以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13 : 6 : 2)(在100℃以下放置过夜)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于100℃烘约5-7分钟,至斑点显色清晰,取出,在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶皮固定,照薄层色谱法(中国药典1995年版一部附录IVB薄层扫描法)进行扫描,波长: $\lambda_s = 510\text{nm}$, $\lambda_R = 700\text{nm}$,测定对照品和供试品的吸收度积分值,计算,即得。

[0337] 本品内容物含黄芪甲甙(C41H68O14)应不少于1.2毫克/粒。

[0338] 本品能益气养血,舒肝解郁,通络下乳。适用于哺乳期缺乳产妇。证见:产后无乳或少乳;或乳汁清稀,面色无华,神疲食少;或胸胁胀痛,情志抑郁等。

[0339] [用法用量] 口服,一次2粒,一日3次。

[0340] [规格] 每粒重0.3克

[0341] [贮藏] 密封。