

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 35/78

A61P 13/12



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410051716.0

[43] 公开日 2005 年 7 月 6 日

[11] 公开号 CN 1634297A

[22] 申请日 2004.9.27

[21] 申请号 200410051716.0

[71] 申请人 广东医学院

地址 524023 广东省湛江市霞山区文明东路 2 号

[72] 发明人 李延平 吴科锋

[74] 专利代理机构 湛江市三强专利事务所

代理人 庞爱英

权利要求书 2 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 复合植物药生物发酵工艺及治疗肾炎的植物发酵药物

[57] 摘要

本发明涉及一种复合植物药生物发酵工艺及治疗肾炎的植物发酵药物。本发明的复合植物药生物发酵工艺，采用复方药与无菌水相混，以复合植物为培养基，在特定的时间、温度和湿度下进行发酵处理，发酵过程中产生真菌类微生物，因此可提高药效，改变药性，扩大临床适应，降低毒副作用。其生产工艺简单，技术先进，操作方便。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1、一种复合植物药生物发酵工艺，其工艺步骤如下：

(1) 预处理：按配方选取植物药，除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗，沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(2) 粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；

(3) 灭菌：常规紫外灭菌；

(4) 按原料配方，以无菌水在不锈钢配料桶内加入经步骤(2)、(3)处理的植物药粉中，拌匀；

(5) 发酵培养：将步骤(4)所得混合物，在无菌条件下移至发酵罐内，以80r/min边加边搅拌，在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ 的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

(6) 干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(7) 粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

(8) 按常规的方法制成任何一种药剂学上所说的剂型。

2、一种治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：它是由下述重量配比的原料制成的药剂：

掌叶大黄 8—12 甘草 3—7 梔子 2—6

胆 汁 4—6 无菌水 8—12 ；

制备该药物的工艺为：

(1) 预处理：按上述原料的重量配比选取植物药，除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗，沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(2) 粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；

(3) 灭菌：常规紫外灭菌；

(4) 在无菌条件下取出胆汁，与无菌水倍在不锈钢配料桶内混合，再加入经步骤(2)、(3)处理的植物药粉，拌匀；

(5) 发酵培养：将步骤(4)所得混合物，在无菌条件下移至发酵罐内，

以80r/min边加边搅拌，在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ 的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

(6) 干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(7) 粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

(8) 按常规的方法制成任何一种药剂学上所说的剂型。

3、据权利要求2所述的治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：所述各原料的重量配比是：

掌叶大黄 9—11 甘草 4—6 梔子 3—5

胆 汁 3—5 无菌水 9—11 。

4、据权利要求2所述的治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：所述各原料的重量配比是

掌叶大黄 10 甘草 5 梔子 4 胆汁 4 无菌水 10 。

5、据权利要求2、3或4所述的治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：所胆汁是牛胆汁、猪胆汁或鸡胆汁。

6、据权利要求2、3或4所述的治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：所述药剂是任何一种药剂学上所说的剂型。

7、据权利要求6所述的治疗肾炎的植物发酵药物，其特征在于：所述药剂是胶囊剂。

复合植物药生物发酵工艺及治疗肾炎的植物发酵药物

技术领域

本发明涉及一种复合植物药生物发酵工艺及治疗肾炎的植物发酵药物。

背景技术

我国人民早在4000多年前就会利用微生物发酵技术来酿酒，以后生产酱、醋、豆豉、酱油、臭豆腐等食品。在中药炮制领域中，未见有将复方药与辅料相混，控制在一定的温度、湿度下进行发酵，再制成药剂的技术。利用复合植物药生物发酵生产工艺制备药剂是我国中药现代化的一个分支，其深入研究将为中药现代化与国际接轨作出贡献。

发明内容

本发明的目的是提供一种复合植物药生物发酵工艺，采用该工艺制成的药物可提高药效，改变药性，扩大临床适应症，降低毒副作用。

本发明的另一个目的是制备一种治疗肾炎的植物发酵药物，该药物选择复合植物为培养基，在特定的时间，湿度，温度下培养，发酵过程中产生真菌类微生物，而提高疗效。

为实现本发明的第一个目的，其技术方案是复合植物药生物发酵工艺的步骤如下：

- (1) 预处理：按配方选取植物药，除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗，沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；
- (2) 粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；
- (3) 灭菌：常规紫外灭菌；
- (4) 按原料配方，与无菌水在不锈钢配料桶内加入经步骤(2)、(3)处理的植物药粉中，拌匀；
- (5) 发酵培养：将步骤(4)所得混合物，在无菌条件下移至发酵罐内，

以80r/min边加边搅拌，在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ ，的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

(6) 干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(7) 粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

(8) 按常规的方法制成任何一种药剂学上所说的剂型。

为实现本发明的另一个目的，其技术方案是该治疗肾炎的植物发酵药物是由下述重量配比的原料制成的药剂：

掌叶大黄 8—12 甘草 3—7 栀子 2—6

胆 汁 4—6 无菌水 8—12 。

制备该药物的工艺为：

(1) 预处理：按上述原料的重量配比选取植物药，除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗，沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(2) 粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；

(3) 灭菌：常规紫外灭菌；

(4) 无菌条件下取出胆汁，与无菌水在不锈钢配料桶内混合，再加入经步骤(2)、(3)处理的植物药粉，拌匀；

(5) 发酵培养：将步骤(4)所得混合物，在无菌条件下移至发酵罐内，以80r/min边加边搅拌，在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ ，的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

(6) 干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

(7) 粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

(8) 按常规的方法制成任何一种药剂学上所说的剂型。

所述各原料的重量配比是：

掌叶大黄 9—11 甘草 4—6 栀子 3—5

胆 汁 3—5 无菌水 9—11 。

所述各原料的重量配比是

掌叶大黄 10 甘草 5 栀子 4 胆汁 4 无菌水 10 。

所胆汁是牛胆汁、猪胆汁或鸡胆汁。

所述药剂是任何一种药剂学上所说的剂型。

所述药剂是胶囊剂。

本发明的复合植物药生物发酵工艺，采用复方药与无菌水相混，控制在一定的温度、湿度下进行发酵处理。因此可提高药效，改变药性，扩大临床适应症，降低毒副作用。其生产工艺简单，技术先进，操作简单。

复合植物药生物发酵过程中，微生物的生长会产生各种活性物质，如多种酶、抗生素等，使植物药发生化学反应，分解原有成分，产生新的有效成分；发酵过程中的微生物有着强大分解转化能力，能产生丰富的次级代谢产物，此代谢产物又是功能良好的药物，能与植物药中某些有效成分发生协同作用，以增加药效；微生物在复合植物药生物发酵的特殊环境中，产生新的代谢反应，使复合植物药某些成分对微生物生长或代谢有促进或抑制作用，改变微生物的代谢途径，形成新的有效成分或改变其中各成分比例；发酵过程中微生物的分解可将植物药中的有毒物质分解而降低毒性。由于发酵过程中微生物的生长需要动、植物蛋白、糖等其它营养物质而起到对植物药浓缩的作用。

微生物的生物多样性为我们发现不同种植物药组合，产生不同的药理、药效作用，在人体内产生不同种生理活性物质而发挥抗病毒、抗肿瘤、抗氧化、降血脂、增加免疫力等作用。

治疗SD大鼠肾炎动物模型实验结果

1、本实验采用被动型Heymann肾炎大鼠模型，发病迅速，实用性强。主要特征为：肾小球基底膜上皮侧免疫复合物沉积、尿蛋白为主，其病理改变类似人类膜性肾病，是目前国内外公认的肾炎模型。

2、用本发明药物对SD大鼠被动型Heymann肾炎模型治疗作用

被动型Heymann肾炎模型（采用SD大鼠肾刷状缘糖蛋白免疫兔血清1.5ml/只）组，48只SD大鼠分为6组，阴性对照（正常SD大鼠）、阳性对照（地塞米松 $3 \times 10^{-4} \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ）、本发明药物高、中、低（0.1、0.2、0.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ）剂量、模型组。

以上各组大鼠除阴性对照和模型对照外，全部灌胃给药，每日两次。连续给药28天。每周秤量体重，置于代谢笼中，收集24小时尿液。实验结束后，按30 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射2%戊比妥钠麻醉，暴露胸腔，心脏采血，分离血清；取左

肾置3%戊二醛中固定，4℃保存；

观察指标及统计学方法

体重、尿量：每周一次；血清：检测血清肌酐（Cr）、尿素氮（BUN）、甘油三脂（TG）、总胆固醇（T-CHO）含量。尿液：检测蛋白含量、尿量体积。肾脏：扫描电镜观察肾脏透视电镜检查。统计学方法：采用SPSS11.0 进行方差分析。

实验结果

（1）、本发明药物对被动型Heymann肾炎大鼠尿蛋白含量的影响

Heymann肾炎大鼠经受试药物及阳性对照组灌胃14d，与模型对照组比较，尿蛋白含量降低，有显著性差异，高剂量具有高度显著性差异。阴性对照与模型对照比较，造模后，给药7、14d有高度显著性差异，21d、28d有显著性差异。高、中、低剂量组给药21d、28d与阴性对照组比较无明显差异。结果见表1。

表1 本药对被动型 Heymann 肾炎大鼠尿蛋白含量的影响（ $n=9$ ， $\bar{x} \pm S$ ）

组别	剂量 (g.Kg ⁻¹)	造模后 mg.24h ⁻¹	给药 7d mg.24h ⁻¹	14 d mg.24h ⁻¹	21 d mg.24h ⁻¹	28d mg.24h ⁻¹
阴性对照		3.853±1.749	3.656±1.292	3.557±1.991*	3.595±2.327*	5.454±2.926*
模型对照		15.392±3.535##	17.805±1.882##	14.402±4.369##	9.618±4.941#	9.554±2.133#
高剂量 0.40		15.111±2.473	18.394±3.836	6.414±2.635**	4.758±1.668	4.560±1.820
中剂量 0.20		13.367±4.020	17.104±2.979	7.468±2.818*	5.742±3.026	5.234±0.954
低剂量 0.10		13.757±1.100	16.069±5.230	8.908±1.986*	3.933±2.247*	5.085±2.209
阳性对照 3×10 ⁻³		14.683±3.432	15.628±3.395	12.722±2.709*	9.323±3.863	7.768±2.536

注：与模型对照比较，*P< 0.05、** P< 0.01

与阴性对照比较，#P< 0.05、##P< 0.01

（2）、本发明药物对被动型Heymann肾炎大鼠尿量的影响

Heymann肾炎大鼠经受试药物高、中、低剂量及阳性对照药给药14d，与阴性对照比较，高、中、低剂量组24h尿量减少，有显著性差异，中剂量与模型对照比较有显著性差异。阴性对照与模型对照比较，14d有显著性差异，高剂量给药21d、28d与阴性对照组比较无明显差异，说明高剂量有利尿作用，结果见表2。

表 2. 复方甘黄胶囊对被动型 Heymann 肾炎大鼠尿量的影响 (n=9, $\bar{x} \pm S$)

组别	剂量 (g.Kg ⁻¹)	造模后 ml	给药 7d ml	14 d ml	21 d ml	28d ml
阴性对照		25.111±7.785	31.113±9.252	36.778±9.361*	19.713±4.619	30.367±8.097
模型对照		15.910±3.764	25.300±1.889	15.400±3.380#	25.540±8.598	12.20±4.461#
高剂量	0.40	14.375±4.749	25.083±3.541	17.083±5.766#	22.167±3.532	30.017±9.673
中剂量	0.20	14.313±6.524	17.125±3.613	30.083±9.140*	20.333±5.716	11.083±4.737#
低剂量	0.10	13.563±3.977	12.625±2.200*	18.333±3.077#	12.500±6.052*	13.700±1.342##
阳性对照	3×10 ⁻⁴	11.125±4.650	26.938±7.048	15.967±3.262#	15.341±5.432#	14.912±6.135#

注: 与模型对照比较, *P< 0.05 ** P< 0.01; 与阴性对照比较#P< 0.05 ## P< 0.01

(3)、本发明药物对被动型Heymann肾炎大鼠体重的影响

Heymann肾炎大鼠低剂量组给药7d和阳性对照组与阴性对照比较, 体重降低, 有显著性差异, 其它各组均无显著性差异。结果见表 3。

表 3. 本药对被动型 Heymann 肾炎大鼠体重的影响 (n=9 ± S)

组别	剂量 (g.Kg ⁻¹)	造模后 g	给药 7d g	14 d g	21 d g	28d g
阴性对照	—	248.44±12.69	311.13±20.57	334.22±26.75	326.44±33.34	342.33±34.35
模型对照	—	231.40± 9.73	314.20±16.75	336.80±24.47	351.80±34.11	345.83±20.92
高剂量	0.40	235.00±15.33	272.00±30.98	309.00±18.94	274.33±119.92	343.67±29.12
中剂量	0.20	226.38± 7.64	285.85±38.26	314.67±33.88	321.17±27.30	351.67±27.43
低剂量	0.10	227.69± 4.70	267.71±28.03#	284.83±29.61	294.80±13.37	300.00±20.92
阳性对照	3×10 ⁻³	232.56±11.67	232.50±11.81#	207.83±27.97#	190.91±31.21#	185.94±47.14#

注# P< 0.05(与阴性对照比较)

(4)、本发明药物对被动型Heymann肾炎大鼠血清肌酐、尿素氮、甘油三脂、总胆固醇的影响

Heymann肾炎大鼠血清肌酐: 高、中、低剂量与模型对照比较, 明显降低, 有显著性差异, 低剂量与模型对照比较, 有高度显著性差异; 血清尿素氮: 低剂量与模型对照比较, 明显降低, 有显著性差异; 血清甘油三脂: 高、中剂量与模型对照比较, 有显著性差异, 低剂量与模型对照比较, 有高度显著性差异; 结果见表 4。

表 4. 本药对被动型 Heymann 肾炎大鼠血清肌酐、尿素氮、甘油三脂、总胆固醇含量的影响 (n=9, $\bar{x} \pm S$)

组别	剂量 (g.Kg ⁻¹)	肌酐 μmol/L	尿素氮 mmol/L	总胆固醇 mmol/L	甘油三脂 mmol/L
阴性对照		42.903±7.894*	3.654±0.796*	1.939±0.951	0.303±0.109
模型对照		57.528±6.826	7.935±1.064	4.552±0.442	0.650±0.281
高剂量	0.40	39.353±6.146*	6.458±1.437	1.714±0.487	0.418±0.164*
中剂量	0.20	40.635±4.578*	5.761±1.489	1.913±0.467	0.341±0.095*
低剂量	0.10	35.229±9.357**	4.950±1.064*	2.786±0.390	0.496±0.279**

注: 与模型对照比较, *P< 0.05, ** P< 0.01; 与阴性对照比较, #P< 0.05

具体实施方式

实施例一: 治疗肾炎的植物发酵药物的工艺:

原料配方按重量比为: 掌叶大黄10、甘草5、栀子4、胆汁4、无菌水10 ;

(1) 预处理: 按原料配方选取植物药, 除去植物药所粘附的泥污、虫卵、杂物等, 清洗, 沥水, 65℃±5℃干燥;

(2) 粉碎: 将全部干燥的植物药粉碎至40目;

(3) 灭菌: 常规紫外灭菌;

(4) 无菌条件下取牛胆汁, 与无菌水在不锈钢配料桶内混合, 再加入经步骤(2)、(3)处理的植物药粉中, 拌匀;

(5) 发酵培养: 将步骤(4)所得混合物, 在无菌条件下移至发酵罐内, 以80r/min边加边搅拌, 在温度36.5℃±0.5℃, 相对湿度75%—85%, 通气1m³/m³, 的条件下进行发酵, 发酵时间34—36小时;

(6) 干燥: 将发酵药于60℃±5℃干燥;

(7) 粉碎: 干燥后的发酵药粉碎至100目;

(8) 胶囊机分装: 1号胶囊, 每瓶60粒, 贴签、包装, 每盒10瓶。

用法用量; 根据病人病情不同确定用法用量, 每日口服2—3次, 每次4—6粒。该药剂疗效显著, 服用方便, 安全有效, 适于长期服用。

实施例二: 用于治疗大叶性肺炎、肺感染。使金黄色葡萄球菌、白色葡萄

球菌、肺炎双球菌转阴。

本发明药物是由下列组分制成：（用量为得量份）

金银花 10 野菊花 10 无菌水 10 蒲公英 5 紫花地丁 4

1、预处理：将上述各种植物药除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗、沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

2、粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；

3、灭菌：常规紫外灭菌；

4、按原料配方，在不锈钢配料桶内加入上述药粉，用无菌水拌匀；

5、发酵培养：将步骤4所得混合物在无菌条下移至发酵罐内，边加边搅拌（80r/min），在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ ，的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

6、干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

7、粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

8、包装：发酵药粉分装于胶囊中。

实施例三：用于治疗冠心病，心律不齐，心力衰竭。

本发明药物是由下列组分制成：（用量为重量份）

陈皮 6 茯苓 4.5 熟地 3 五味子 1.5 甘草 1.5 无菌水 6

1、预处理：将上述各种植物药除去所粘附的泥污、虫卵、杂物等，清洗、沥水， $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

2、粉碎：将全部干燥后的植物药粉碎至40目；

3、灭菌：常规紫外灭菌；

4、按原料配方，在不锈钢配料桶内加入上述药粉，用无菌水拌匀；

5、发酵培养：将步骤4所得混合物在无菌条下移至发酵罐内，边加边搅拌（80r/min），在温度 $36.5^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度75%—85%，通气 $1\text{m}^3/\text{m}^3$ ，的条件下进行发酵，发酵时间34—36小时；

6、干燥：将发酵药于 $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥；

7、粉碎：干燥后的发酵药粉碎至100目；

8、包装：发酵药粉分装于胶囊中。