

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号

WO 2020/200212 A1

(43) 国际公布日
2020 年 10 月 8 日 (08.10.2020)

(51) 国际专利分类号:

A61K 35/747 (2015.01) A61P 3/06 (2006.01)
A61K 35/745 (2015.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61K 35/744 (2015.01) A61P 9/12 (2006.01)
A61K 35/741 (2015.01) A61P 19/06 (2006.01)
A61K 35/10 (2015.01) A61P 9/00 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ,
NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/082556

(22) 国际申请日: 2020 年 3 月 31 日 (31.03.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(30) 优先权:

201910269966.8 2019年4月4日 (04.04.2019) CN

(71) 申请人: 东南大学 (SOUTHEAST UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁区东南大
学路2号, Jiangsu 211189 (CN)。

(72) 发明人: 周东蕊 (ZHOU, Dongrui); 中国江苏省南京
市江宁区东南大学路2号, Jiangsu 211189 (CN)。

(74) 代理人: 南京经纬专利商标代理有限公司
(NANJING JINGWEI PATENT & TRADEMARK
AGENCY CO., LTD); 中国江苏省南京市鼓楼区中
山路179号12楼B座, Jiangsu 210005 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,
JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: SOIL PREPARATION FOR PREVENTING AND TREATING METABOLIC DISEASES AND PREPARATION
METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 用于预防和治疗代谢类疾病的土壤制剂及其制备方法与应用

(57) Abstract: Provided is a soil preparation for preventing and/or treating metabolic diseases. The soil preparation is prepared from
sterilized soil and probiotics or auxiliary materials that can be taken orally. The method for preparing the soil preparation comprises the
following steps: collecting non-polluted soil, sterilizing same under high pressure, and cooling and then proportionally and uniformly
mixing same with the probiotics or auxiliary materials, so that capsules or powders are obtained. The metabolic diseases include hy-
pertension, hyperlipidemia, diabetes, etc.

(57) 摘要: 一种具有预防和/或治疗代谢性疾病的土壤制剂, 由经灭菌处理后的土壤与可以口服的益生菌
或辅料制备而成。所述土壤制剂的制备方法包括采集无污染土壤, 高压灭菌, 冷却后按照比例与益生菌
或辅料混合均匀, 制备成胶囊或粉剂。所述的代谢性疾病包括高血压、高血脂、糖尿病等。



WO 2020/200212 A1

用于预防和治疗代谢类疾病的土壤制剂及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种土壤制剂,特别是一种用于预防和治疗代谢类疾病的土壤制剂及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 近些年来,随着人们生活水平的提高和生活方式的改变,高血压、2型糖尿病和肥胖等代谢类的疾病发病率,全世界都急剧上升。2008年世界患有肥胖症的病人,男性约为2亿,女性约为3亿。美国成年人肥胖的发病率从1960年-1962年的12.8%增长至1999-2000年的30.5%,糖尿病发病率从1990年的4.9%增加到2001年的7.9%。美国成年中约66%体重超重,约33%患有肥胖症。中国近年肥胖与糖尿病都呈快速增长趋势。

[0003] 肥胖和糖尿病等代谢性疾病的发病机制,虽然全世界进行了大量研究,但依然没有阐明。

[0004] 本发明通过大量实验筛选,制备得到的土壤制剂可以通过调节肠道微生物结构与组成,进一步调节人体代谢活动,进而达到治疗与预防代谢类疾病发生的效果。

发明内容

[0005] 发明目的:本发明目的是提供一种具有预防和治疗代谢类疾病功效的土壤制剂及其制备方法与应用。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明采用的技术方案是:

[0007] 一种具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,它是由经灭菌处理后的土壤与可以口服的益生菌或辅料制备而成。

[0008] 作为优选方案,以上所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,其所述土壤为没有被污染的红土、黄土、黑土或褐土。

[0009] 作为优选方案,所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,所述益生菌包括双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、丙酸杆菌、乳酸乳球菌或肠膜明串珠菌。

[0010] 作为优选方案,所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,所述辅料包括蛋白、脂肪、糖、淀粉或纤维素类食材。

[0011] 本发明所述的具有土壤制剂在制备预防/治疗代谢性疾病的药物或保健品中的应用。

[0012] 作为优选,所述的代谢类疾病,包括高血压、高血脂、糖尿病、肥胖症、心血管病、脑血管病、高尿酸和脂肪肝等。

[0013] 一种用于制备上述土壤制剂的制备方法,包括下述步骤:

[0014] (1) 采集无污染土壤,并做微量元素分析,所述土壤重金属含量须控制在一定范围内,以及常规方法检测中检测不到有毒有机物;

[0015] (2) 高压灭菌,在水蒸汽121℃条件高压灭菌60分钟;

[0016] (3) 冷却后按照预定比例与益生菌或辅料混合均匀;

[0017] (4) 制备成胶囊或冲剂。

[0018] 在本发明一个较佳实施例中,所述土壤包含下列质量百分比的元素:Na 0.5~1%,Mg 1~3%,Al 5~10%,Si 20~35%,K 1~5%,Ca 0.5~10%,Ti 0~5%,Fe 2~10%,O 40~50%。

[0019] 在本发明一个较佳实施例中,所述重金属包括Hg、Pb、As、Cd和Cu;其中 $Hg \leq 0.2mg/kg$, $Pb \leq 5.0mg/kg$, $Cd \leq 0.3mg/kg$, $As \leq 2.0mg/kg$, $Cu \leq 20.0mg/kg$ 。

[0020] 在本发明一个较佳实施例中,所述土壤制剂被制成可以口服的固体或流体形式。

[0021] 在本发明一个较佳实施例中,所述土壤与益生菌或辅料的质量比为:1~5:1。

[0022] 本发明的有益效果是:

[0023] 1) 本发明含有的土壤,具有调节肠道微生态结构与组成作用:研究发现,土壤对肠道微生态结构与类型影响巨大,仅次于饮食,且与饮食相互作用,对肠道微生物的影响无可替代;该项发明,将土壤入药,并食入体内,通过调节肠道微生物的结构与组成,从而达到预防与治疗疾病的作用。

[0024] 2) 本发明土壤制剂通过调节肠道微生态,有进一步调节人体代谢活动功能:多项研究表明,肠道微生物可以帮助宿主发酵食物中宿主自身不能代谢的碳水化合物,将纤维素等转化为短链脂肪酸(SCFA),如n-丁酸,乙酸和丙酸等,通过肠道上皮表达产生的G偶联蛋白GPR41和GPR43传递,为宿主提供能量。比如梭菌(Clostridia)、真细菌(Eubacteria)和Roseburia是产生丁酸的主要肠道细菌。由于饮食与现代的生活方式的改变,常常打破肠道微生态的平衡,导致一些益生菌的丢失,最终引起人体代谢紊乱和多种代谢类疾病的发生。本发明可以调节人体肠道微生物的结构与组成,进而来调节人体代谢活动,进一步达到预防与治疗疾病的效果。

[0025] 3) 该项发明保存运送和生产成本相对较低:由于该制剂中有效成分主要是土壤中的无机物和有机物,干燥条件下,土壤中的成分较为稳定,因此,保存运送及生产成本相对较低。

[0026] 4) 该发明土壤制剂质量控制简单易行:目前土壤元素的检测极为成熟,方法较多,各种土壤成分检测可采用现代如原子吸收分光光度计等设备进行检测;

具体实施方式

[0027] 下面对本发明的较佳实施例进行详细阐述,以使本发明的优点和特征能更易于被本领域技术人员理解,从而对本发明的保护范围做出更为清楚明确的界定。

[0028] 实施例1红土制剂降血压功能实验研究

[0029] (1) 制剂制备:选取红色壤土,按X射线能谱仪抽样样本元素平均含量(质量百分比):Na 0.68%,Mg 1.66%,Al 7.38%,Si 29.58%,K 3.03%,Ca 4.56%,Ti 0.47%,Fe 7.03%,O 45.61%,其中重金属含量 $Hg \leq 0.2mg/kg$, $Pb \leq 5.0mg/kg$, $Cd \leq 0.3mg/kg$, $As \leq 2.0mg/kg$, $Cu \leq 20.0mg/kg$,以及常规方法检测不到有毒的有机物。有机质组分占土壤干重的1.9%,高压灭菌备用,辅料为花生粉与蔗糖,高压灭菌后的土壤与干炒花生粉与蔗糖,混合比例为土壤:花生粉:蔗糖为1:1:1(质量比),得到红土制剂。制好后备用。

[0030] (2) 高血压病人选择:80例符合I级高血压患者,随机分成治疗组和对照组。治疗组40例,男20例,女20例,年龄40~67岁,平均(45.5±8.7)岁。对照组40例,男20例,女20例,年

龄39~65岁,平均(46.6±9.7)岁。两组被试患者性别、年龄、病程无统计学差异。被试未用药物或者停用降压药1周后,签署知情同意书。

[0031] 入选病例均符合中医症候诊断标准(中华人民共和国药品监督局(2002)指定《中药新药临床研究指导原则》阴虚阳亢型主症),并符合1999年WHO/SH四次高血压指南诊断标准:非药物状态下2次或2次以上非同日重复血压测定所得平均值:收缩压140mmHg和/或舒张压90mmHg,一级高血压140~159/90~99,根据高血压指南要求需要药物治疗的。

[0032] 排除标准:①急性冠脉综合征(ACS);②急性脑卒中事件1个月内;③继发性高血压,高血压危象;④继发性血脂异常患者;⑤II级及II级以上高血压患者;⑥I型糖尿病和II型糖尿病合并急性代谢紊乱;⑦外伤或手术3个月内;⑧急性感染性疾病1个月内;⑨患者有明显的原因,不能配合完成者。

[0033] (3) 治疗方法:治疗组每天口服上述步骤(1)的红土制剂3次,每次5克。对照组以质量比例1:1的花生粉:蔗糖制成的安慰剂,服用剂量同治疗组(每天3次,每次5克)。用药12周后进行治疗效果评测。

[0034] (4) 治疗效果评价:治疗时间为12周,停药后4周,评价治疗效果。体征观察:治疗前1d及治疗开始后1、4、7d,以后2次/周,固定时间(上午8:00-10:00;下午15:00-17:00)监测血压,每周测两次取平均值,被测者安静休息10分钟,取坐位右上肢血压。

[0035] 症状观察:观察眩晕、头痛、心悸、失眠、耳鸣。

[0036] 疗效标准显效:治疗后舒张压下降10mmHg并下降到正常或下降20mmHg以上,收缩压降到正常。有效:治疗后舒张压下降未达到10mmHg,但已降到正常范围,或下降10-19mmHg,如为收缩期高血压,收缩压下降30mmHg。无效:治疗后血压下降未达到有效标准。

[0037] 症状疗效判定标准:①显效:临床症状明显改善积分减少 $\geq 70\%$;②有效:临床有所好转,症状积分减少 $\geq 30\%$;③无效:临床症状无明显改善,甚或加重,症状积分减少 $\leq 30\%$ 。

[0038] (5) 结果:结果显示治疗有效率,见表1。根据统计分析,治疗组和对照组的临床疗效有显著差异($P < 0.001$)。无不良反应。

[0039] (6) 肠道微生物变化:采用高通量测序仪测序分析16s rRNA,结果显示治疗组肠道微生物的多样性显著增加($P < 0.01$),随机森林(Random Forests)分析显示(表2),放线菌门细菌种类与数量显著增加($P < 0.01$)。

[0040] 表1两组患者治疗1个月后疗效比较(n, %)

[0041]

组别	N	显效	有效	无效	有效例数	有效率
治疗组	40	25	12	3	37	92.5%
对照组	40	4	4	32	8	20%

[0042] 注:经卡方检验: $df=1$, $\chi^2=42.717$, $P < 0.001$ 。

[0043] 表2随机森林分析治疗组肠道细菌含量显著增加的类型

[0044]

ID	细菌类型	重要分值 (Importance Score)	细菌含量 (mean $\pm$ SD)	
1	p Firmicutes; c Bacilli; o Lactobacillales; f Lactobacillaceae; g Lactobacillus; s Lactobacillus ruminis	0.00223	0.1112 $\pm$ 0.0420	0.0
2	p Firmicutes; c Clostridia; o Clostridiales; f Lachnospiraceae	0.00457	0.3278 $\pm$ 0.1139	0.0
3	p Firmicutes; c Clostridia; o Clostridiales; f Clostridiales Family XIII Incertae Sedis	0.00689	0.5237 $\pm$ 0.1127	0.0
4	p Firmicutes; c Clostridia; o Clostridiales; f Ruminococcaceae; g Oscillospira	0.00452	0.3567 $\pm$ 0.0904	0.0
5	p Firmicutes; c Clostridia; o Clostridiales; f Lachnospiraceae; g Clostridium	0.00632	0.3354 $\pm$ 0.889	0.0789 $\pm$ 0.0231

[0045] 实施例2黄土制剂治疗2型糖尿病伴非酒精性脂肪肝的临床效果分析

[0046] (1) 制剂制备:选取黄色壤土,采用X射线能谱仪抽样样本元素平均含量(质量百分比):Na 0.58%,Mg 1.76%,Al 6.38%,Si 29.03%,K 3.58%,Ca 5.56%,Ti 0.61%,Fe 7.47%,O 45.03%,其中重金属含量Hg $\leq$ 0.2mg/kg,Pb $\leq$ 5.0mg/kg,Cd $\leq$ 0.3mg/kg,As $\leq$ 2.0mg/kg,Cu $\leq$ 20.0mg/kg,以及常规方法检测不到有毒的有机物。有机质组分占土壤干重的2.0%,高压灭菌备用,辅料为优质干炒花生粉与蔗糖,高压灭菌后的土壤与小麦粉与纤维素,混合比例为土壤:小麦粉:纤维素为1:1:1(质量比),得到黄土制剂。制好后备用。

[0047] (2) 被试选择:80例患者随机分成治疗组和对照组。治疗组40例,男20例,女20例,年龄41~69岁,平均(44.7 $\pm$ 11.1)岁。病程1~16年,平均(7.1 $\pm$ 4.2)年;对照组40例,男20例,女20例,年龄40~68岁,平均(45.1 $\pm$ 10.5)岁;病程1~15年,平均(7.3 $\pm$ 5.1)年。两组被试患者性别、年龄、病程无统计学差异。入选病例均符合糖尿病诊断的标准(参照1998年ADA关于糖尿病诊断的标准),以及非酒精性脂肪肝诊断标准(参考2006年2月中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病组修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》),确诊为2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者。

[0048] (3) 治疗方法:80例门诊患者保持原治疗方案和饮食运动方案不变。自观察之日起,治疗组每天口服步骤(1)黄土制剂3次,每次10克。对照组以质量比例1:1的小麦粉:纤维素制成的安慰剂,服用剂量和次数同治疗组(每天3次,每次10克)。用药180天后停用10天,然后进行治疗效果评测。

[0049] (4) 降糖疗效评定:治疗180天后,停药后10天观察治疗效果。疗效标准为显效:治疗后空腹血糖<7.0mmol/L,或餐后2h血糖<7.8mmol/L,或降糖幅度较治疗前下降30%以上;有效:治疗后空腹血糖<8.3mmol/L,或餐后2h血糖<11.0mmol/L,或降糖幅度较治疗前下降10%~30%;无效:治疗后血糖下降未达上述标准者。以显效、有效病例数合计计算有效率。

[0050] (5) 肝功能疗效分析:测量血糖的同时测量肝功能指标,天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)。

[0051] (6) 结果:结果显示治疗有效率,见表3和表4。根据统计分析,治疗组和对照组的临床疗效有显著差异(P<0.001)。无不良反应。

[0052] (7) 肠道微生物变化:采用高通量测序仪测序分析16s rRNA,结果显示治疗组肠道

微生物的多样性显著增加 ($P < 0.01$), 随机森林 (Random Forests) 分析显示 (表5), 放线菌门细菌种类与数量显著增加 ($P < 0.01$)。

[0053] 表3两组患者治疗180天后疗效比较 (n, %)

[0054]

组别	N	显效	有效	无效	有效例数	有效率
治疗组	40	30	7	3	37	92.5%
对照组	40	2	2	36	4	10.0%

[0055] 注: 经卡方检验: $df=1$, $\chi^2=54.48$, $p < 0.001$ 。

[0056] 表4两组肝功能对比 ($\pm s$, U/L)

[0057]

组别	时间	ALT	AST
治疗组 (n=40)	治疗前	36.71 $\pm$ 22.11	59.33 $\pm$ 11.41
	治疗后	19.12 $\pm$ 10.12	17.43 $\pm$ 6.24
治疗组治疗前后比		$p < 0.001$	$p < 0.001$

[0058]

对照组 (n=40)	治疗前	35.96 $\pm$ 21.37	58.93 $\pm$ 11.54
	治疗后	33.18 $\pm$ 20.69	54.39 $\pm$ 12.07
治疗后两组相比		$P = 0.556$	$P = 0.089$

[0059] 表5随机森林分析治疗组肠道细菌含量显著增加的类型

[0060]

ID	细菌类型	重要分值 (Importance Score)	细菌含量 (mean $\pm$ SD)	
1	p Actinobacteria; c Actinobacteriia; o Coriobacteriales; f Coriobacteriaceae; g Adlercreutzia	0.004123	0.2148 $\pm$ 0.0963	0 $\pm$ 0
2	p Bacteroidetes; c Bacteroidia; o Bacteroidales; f Prevotellaceae; g Prevotella	0.003564	0.3215 $\pm$ 0.1245	0 $\pm$ 0
3	p Bacteroidetes; c Bacteroidia; o Bacteroidales; f Prevotellaceae; g Prevotella; s Prevotella copri	0.002579	0.4236 $\pm$ 0.1253	0 $\pm$ 0
4	p Elusimicrobia; c Elusimicrobia; o Elusimicrobiales; f Elusimicrobiaceae	0.003256	0.4567 $\pm$ 0.0996	0 $\pm$ 0
5	p Tenericutes; c Erysipelotrichi; o Erysipelotrichales; f Erysipelotrichaceae; g Bulleidia; s p-1630-c5	0.002955	0.3025 $\pm$ 0.1037	0.0564 $\pm$ 0.0279
6	p Tenericutes; c Erysipelotrichi; o Erysipelotrichales; f Erysipelotrichaceae; g p-75-a5	0.003784	0.3649 $\pm$ 0.0993	0.0367 $\pm$ 0.0217

[0061] 实施例3升高尿酸血症和高甘油三酯症的疗效研究

[0062] (1) 制剂制备: 选取黄色壤土, 采用X射线能谱仪抽样样本元素平均含量 (质量百分比): Na 0.65%, Mg 1.83%, Al 5.39%, Si 29.46%, K 4.57%, Ca 5.13%, Ti 0.31%, Fe 7.37%, 0.45.43%, 其中重金属含量 $Ilg \leq 0.2mg/kg$, $Pb \leq 5.0mg/kg$, $Cd \leq 0.3mg/kg$, $As \leq$

2.0mg/kg, Cu $\leq$ 20.0mg/kg, 以及常规方法检测不到有毒的有机物。有机质组分占土壤干重的2.4%, 高压灭菌备用, 辅料为小麦粉和玉米粉, 高压灭菌后的土壤与小麦粉和玉米粉混合, 混合比例为土壤: 小麦粉: 玉米粉为1:1:1 (质量比), 得到黄土制剂。制好后备用。

[0063] (2) 被试选择: 83例患者参加该项实验, 随机分成治疗组和对照组。治疗组43例, 男20例, 女23例, 年龄37~68岁, 平均(42.3 $\pm$ 7.7)岁。对照组40例, 男20例, 女20例, 年龄36~69岁, 平均(43.2 $\pm$ 8.7)岁。两组被试患者性别、年龄、病程无统计学差异。被试未用药物或者停用降压药1周后, 签署知情同意书。

[0064] (3) 入选和排除标准: 入选标准为, 患者血清甘油三酯(TG) $\geq$ 2.3mmol/L, 血清尿酸, 男性 $>$ 420 μ mol/L, 女性 $>$ 360 μ mol/L。排除继发性高血压、糖尿病、甲状腺疾病、肝肾功能不全, 服用影响血脂和尿酸代谢的其他药物。

[0065] (4) 治疗方法: 83例门诊患者保持原治疗方案和饮食运动方案不变。自观察之日起, 治疗组每天口服步骤(1)黄土制剂3次, 每次5克。对照组以质量比例1:1的小麦粉: 玉米粉制成的安慰剂, 服用剂量和次数同治疗组(每天3次, 每次5克)。用药90天后停用10天, 然后进行治疗效果评测。

[0066] (5) 疗效评定: 高血压患者血压控制到小于140/90mmHg后, 检测血清甘油三酯及尿酸浓度。患者采血时间是清晨7-8点, 采血前受检者禁食12-14小时。

[0067] (6) 结果: 根据统计分析, 治疗组和对照组的临床疗效有显著差异($P < 0.001$), 如表6和表7。无不良反应。

[0068] (7) 肠道微生物变化: 采用高通量测序仪测序分析16s rRNA, 结果显示治疗组肠道微生物的多样性显著增加($P < 0.01$), 随机森林(Random Forests)分析显示(表8), 放线菌门细菌种类与数量显著增加($P < 0.01$)。

[0069] 表6血清甘油三酯治疗前后治疗的变化(mmole/L)

[0070]

项目	对照组 (40例)	治疗组 (43例)	两组相比
治疗前	4.68 $\pm$ 1.33	4.57 $\pm$ 1.21	$P=0.700$
治疗后	4.03 $\pm$ 1.21	2.75 $\pm$ 0.91	$P<0.001$
治疗前后相比	$P=0.025$	$P<0.001$	

[0071] 表7血清尿酸治疗前后的变化(μ mol/L)

[0072]

项目	对照组 (40例)		治疗组 (43例)	
	男 (20例)	女 (20例)	男 (21例)	女 (22例)
治疗前	533.55 $\pm$ 71.24	449.27 $\pm$ 42.37	529.63 $\pm$ 62.85	454.54 $\pm$ 54.47
治疗后	498.96 $\pm$ 75.37	424.37 $\pm$ 44.51	400.56 $\pm$ 49.74	328.69 $\pm$ 45.28
治疗前后相比	$P=0.144$	$P=0.078$	$P<0.001$	$P<0.001$

[0073] 表8随机森林分析治疗组肠道细菌含量显著增加的类型

[0074]

ID	细菌类型	重要分值 (Importance Score)	细菌含量 (mean $\pm$ SD)	
1	p Actinobacteria;c Actinobacteria;o Actinomycetales:f Corynebacteriaceae;g Corynebacterium	0.003679	0.2276 $\pm$ 0.0853	0 $\pm$ 0
2	p Actinobacteria;c Actinobacteria;o Bifidobacteriales:f Bifidobacteriaceae;g Bifidobacterium;s Bifidobacterium gallicum	0.004423	0.2634 $\pm$ 0.0869	0 $\pm$ 0
3	p Firmicutes;c Clostridia;o Clostridiales:f Lachnospiraceae;g Roseburia;s Roseburia faecis	0.003148	0.4132 $\pm$ 0.1154	0 $\pm$ 0
4	p Elusimicrobia;c Elusimicrobia;o Elusimicrobiales:f Elusimicrobiaceae	0.004259	0.3648 $\pm$ 0.0963	0 $\pm$ 0
5	p Tenericutes;c Erysipelotrichi;o Erysipelotrichales:f Erysipelotrichaceae;g Bulleidia;s p-1630-c5	0.003128	0.4128 $\pm$ 0.1786	0 $\pm$ 0

[0075]

6	p Firmicutes;c Clostridia;o Clostridiales:f Ruminococcaceae;g Faecalibacterium;s Faecalibacterium prausnitzii	0.004279	0.3566 $\pm$ 0.0856	0.0764 $\pm$ 0.0516
---	---	----------	---------------------	---------------------

[0076] 以上所述仅为本发明的实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其他相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

权 利 要 求 书

1. 一种具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,其特征在于,它是由经灭菌处理后的土壤与可以口服的益生菌或辅料制备而成。

2. 根据权利要求1所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,其特征在于,所述土壤为没有被污染的红土、黄土、黑土或褐土。

3. 根据权利要求1所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,其特征在于,所述益生菌包括双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、丙酸杆菌、乳酸乳球菌或肠膜明串珠菌。

4. 根据权利要求1所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂,其特征在于,所述辅料包括蛋白、脂肪、糖、淀粉或纤维素类食材。

5. 权利要求1至4任一项所述的具有土壤制剂在制备预防/治疗代谢性疾病的药物或保健品中的应用。

6. 权利要求1至4任一项所述的土壤制剂在制备预防/治疗高血压、高血脂、糖尿病、肥胖症、心血管病、脑血管病、高尿酸或脂肪肝的药物或保健品中的应用。

7. 权利要求1~4任一项所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂的制备方法,其特征在于,包括下述步骤:

(1) 采集无污染土壤,并做微量元素分析,并控制土壤重金属含量合格;

(2) 高压灭菌,在水蒸汽121℃条件高压灭菌60分钟;

(3) 冷却后按照预定比例与益生菌或辅料混合均匀;

(4) 制备成口服制剂。

8. 根据权利要求7所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂的制备方法,其特征在于,所述土壤制剂包含下列质量百分比的元素:Na0.5~1%,Mg1~3%,Al5~10%,Si20~35%,K1~5%,Ca0.5~10%,Ti0~5%,Fe2~10%,O40~50%。

9. 根据权利要求7所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述重金属包括Hg、Pb、As、Cd和Cu;其中 $Hg \leq 0.2\text{mg/kg}$, $Pb \leq 5.0\text{mg/kg}$, $Cd \leq 0.3\text{mg/kg}$, $As \leq 2.0\text{mg/kg}$, $Cu \leq 20.0\text{mg/kg}$ 。

10. 根据权利要求7所述的具有预防/治疗代谢性疾病功效的土壤制剂的制备方法,其特征在于,所述土壤与益生菌或辅料的质量比为:1~5:1。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/082556

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 35/747(2015.01)i; A61K 35/745(2015.01)i; A61K 35/744(2015.01)i; A61K 35/741(2015.01)i; A61K 35/10(2015.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 3/04(2006.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 9/12(2006.01)i; A61P 19/06(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i; A61P 3/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CPRESABS, CNMED, TWABS, MOABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CPEA, JPABS, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, CNKI, MEDNPL, CSCD, SIPONPL, CJFD, CNPAT, CATXT, STN, 百度: 土, 土壤, 益生菌, 代谢, 高血压, 高血脂, 糖尿病, 肥胖, 脂肪肝, 高尿酸, soil, earth, probiotics, metabolic, hypertension, hyperlipaemia, diabetes, fat, fatty liver, hypeluricemia

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 106344618 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 25 January 2017 (2017-01-25) claims 1-10, abstract, description embodiment 2	1-10
X	CN 109157541 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 08 January 2019 (2019-01-08) claims 1-10	1-10
X	CN 107213164 A (ZHOU, Dongrui) 29 September 2017 (2017-09-29) claims 1-7	1-10
X	CN 108888630 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 27 November 2018 (2018-11-27) claims 1-10	1-10
PX	CN 109893544 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 18 June 2019 (2019-06-18) claims 1-10	1-10
PX	CN 110354228 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 22 October 2019 (2019-10-22) claims 1-8	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 June 2020

Date of mailing of the international search report

03 July 2020

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/082556**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110464739 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 19 November 2019 (2019-11-19) claims 1-8	1-10
PX	CN 110420220 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 08 November 2019 (2019-11-08) claims 1-8	1-10
PX	CN 110354227 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 22 October 2019 (2019-10-22) claims 1-9	1-10
PX	CN 110101715 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 09 August 2019 (2019-08-09) claims 1-9	1-10
PX	CN 110063966 A (SOUTHEAST UNIVERSITY) 30 July 2019 (2019-07-30) claims 1-10	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/082556

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106344618	A	25 January 2017	None			
CN	109157541	A	08 January 2019	None			
CN	107213164	A	29 September 2017	None			
CN	108888630	A	27 November 2018	WO	2020051973	A1	19 March 2020
CN	109893544	A	18 June 2019	None			
CN	110354228	A	22 October 2019	None			
CN	110464739	A	19 November 2019	None			
CN	110420220	A	08 November 2019	None			
CN	110354227	A	22 October 2019	None			
CN	110101715	A	09 August 2019	None			
CN	110063966	A	30 July 2019	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/082556

A. 主题的分类

A61K 35/747(2015.01)i; A61K 35/745(2015.01)i; A61K 35/744(2015.01)i; A61K 35/741(2015.01)i; A61K 35/10(2015.01)i; A61P 1/16(2006.01)i; A61P 3/04(2006.01)i; A61P 3/06(2006.01)i; A61P 3/10(2006.01)i; A61P 9/12(2006.01)i; A61P 19/06(2006.01)i; A61P 9/00(2006.01)i; A61P 3/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CPRSABS, CNMED, TWABS, MOABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CPEA, JPABS, EPTXT, WOTXT, USTXT, JPTXT, CNKI, MEDNPL, CSCD, SIPONPL, CJFD, CNPAT, CATXT, STN, 百度: 土, 土壤, 益生菌, 代谢, 高血压, 高血脂, 糖尿病, 肥胖, 脂肪肝, 高尿酸, soil, earth, probiotics, metabolic, hypertension, hyperlipaemia, diabetes, fat, fatty liver, hypeluricemia

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 106344618 A (东南大学) 2017年 1月 25日 (2017 - 01 - 25) 权利要求1-10, 说明书摘要, 说明书实施例2	1-10
X	CN 109157541 A (东南大学) 2019年 1月 8日 (2019 - 01 - 08) 权利要求1-10	1-10
X	CN 107213164 A (周东蕊) 2017年 9月 29日 (2017 - 09 - 29) 权利要求1-7	1-10
X	CN 108888630 A (东南大学) 2018年 11月 27日 (2018 - 11 - 27) 权利要求1-10	1-10
PX	CN 109893544 A (东南大学) 2019年 6月 18日 (2019 - 06 - 18) 权利要求1-10	1-10
PX	CN 110354228 A (东南大学) 2019年 10月 22日 (2019 - 10 - 22) 权利要求1-8	1-10

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2020年 6月 17日

国际检索报告邮寄日期

2020年 7月 3日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

许淼

电话号码 86-010-62411052

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 110464739 A (东南大学) 2019年 11月 19日 (2019 - 11 - 19) 权利要求1-8	1-10
PX	CN 110420220 A (东南大学) 2019年 11月 8日 (2019 - 11 - 08) 权利要求1-8	1-10
PX	CN 110354227 A (东南大学) 2019年 10月 22日 (2019 - 10 - 22) 权利要求1-9	1-10
PX	CN 110101715 A (东南大学) 2019年 8月 9日 (2019 - 08 - 09) 权利要求1-9	1-10
PX	CN 110063966 A (东南大学) 2019年 7月 30日 (2019 - 07 - 30) 权利要求1-10	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/082556

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	106344618	A	2017年 1月 25日	无	
CN	109157541	A	2019年 1月 8日	无	
CN	107213164	A	2017年 9月 29日	无	
CN	108888630	A	2018年 11月 27日	WO 2020051973 A1	2020年 3月 19日
CN	109893544	A	2019年 6月 18日	无	
CN	110354228	A	2019年 10月 22日	无	
CN	110464739	A	2019年 11月 19日	无	
CN	110420220	A	2019年 11月 8日	无	
CN	110354227	A	2019年 10月 22日	无	
CN	110101715	A	2019年 8月 9日	无	
CN	110063966	A	2019年 7月 30日	无	