

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷
A61K 39/395
A61K 35/78 A61P 31/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02117483.0

[43]公开日 2002 年 11 月 20 日

[11]公开号 CN 1380098A

[22]申请日 2002.5.20 [21]申请号 02117483.0
[71]申请人 张勇飞
地址 100094 北京市海淀区中国农业大学园艺部
蔬菜系
共同申请人 武洁梅 张安洲
[72]发明人 张勇飞 武洁梅 蒋玉文 杨百亮
花群义 邵文爱 赵冰 姜坤
徐军 任继林 沈泽江 张安文
张安洲 张朝兴

[74]专利代理机构 北京万科园专利事务所有限责任公司
代理人 张亚军 曹诗健

权利要求书 4 页 说明书 16 页 附图 0 页

[54]发明名称 一种抗感染复合制剂及其制备方法
[57]摘要

本发明是一种抗感染药物,其特点在于将免疫球蛋白、复合配方浸出中药有效成份以及辅剂制成复方中药免疫球蛋白特效抗感染制剂,包括粉剂、合剂、气雾剂、胶囊剂、针剂、栓剂、膏剂、微胶囊剂。本发明是在传统中医学和现代免疫学相结合的理论基础上,将免疫球蛋白和中药有效成份有机地结合起来,采用高新生物技术和顶尖理化工艺精制而成的一种高效、安全、稳定、无毒副作用、无耐药性的环保型抗感染药品。该药品具有长久的医疗寿命和巨大的市场价值。

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

1. 一种抗感染的药物, 其特征在于它是由下述重量配比的原料制成的药剂

免疫球蛋白 0.10-120.00 份

复合配方浸出中药粉 0.05-100.00 份

选自焦亚硫酸钠、亚硫酸钠、硫代硫酸钠、亚硫酸氢钠、抗坏血酸、多种维生素、依地酸二钠、-环糊精中的一种、两种或两种以上, 其中:

焦亚硫酸钠 0.01-0.20 份

亚硫酸钠 0.01-0.20 份

硫代硫酸钠 0.01-0.20 份

亚硫酸氢钠 0.01-0.20 份

抗坏血酸 0.01-0.80 份

环糊精 0.01-0.80 份

多种维生素 0.01-0.80 份

依地酸二黄 0.01-0.80 份

2. 按照权利要求 1 所述的药物, 其特征在于所述的药剂包括药剂学上所说的粉剂、合剂、气雾剂、胶囊剂、针剂、栓剂、膏剂、微胶囊在内的任一种剂型。

3. 按照权利要求 1 所述的药物, 其特征在于所述的复合配方浸出的中药粉包括粗制浸出中药粉、精制浸出中药粉或两者混合, 其原料选自中药解毒方、解表方、定喘方、疏理方、止血方、补虚方中的一种、两种或两种以上。

4. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的解毒方, 包括下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:

板兰根 0.01-10.00 份 淡竹叶 0.01-10.00 份 大青叶 0.01-10.00 份

糖贴素 0.01-10.00 份 穿心莲 0.01-10.00 份 金银花 0.01-10.00 份

鱼腥草 0.01-10.00 份 连翘 0.01-10.00 份 茵陈 0.01-10.00 份

大 黄 0.01-10.00 份 青 蒿 0.01-10.00 份 车前子(草) 0.01-10.00 份

苦 瓜 0.01-10.00 份 梔 子 0.01-10.00 份 常 山 0.01-10.00 份

贯 众 0.01-10.00 份 黄 连 0.01-10.00 份 黄 柏 0.01-10.00 份

三颗针 0.01-10.00 份 紫 草 0.01-10.00 份 黄 芩 0.01-10.00 份

蒲公英 0.01-10.00 份 白茅根 0.01-10.00 份 杨树花 0.01-10.00 份

白头翁 0.01-10.00 份 秦 皮 0.01-10.00 份 白花蛇舌草 0.01-10.00 份

半枝莲 0.01-10.00 份 半边莲 0.01-10.00 份 丹 皮 0.01-10.00 份

地骨皮 0.01-10.00 份 知 母 0.01-10.00 份 芦 根 0.01-10.00 份

银柴胡 0.01-10.00 份 夏枯草 0.01-10.00 份 金海沙 0.01-10.00 份

5. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的解表方, 包括下

述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上

麻 黄 0.01-10.00 份	干(生)姜 0.01-10.00 份	升 麻 0.01-10.00 份
柴 胡 0.01-10.00 份	葛根 0.01-10.00 份	香 薷 0.01-10.00 份
牛蒡子 0.01-10.00 份	防风 0.01-10.00 份	桂枝 0.01-10.00 份
山豆根 0.01-10.00 份	桑叶 0.01-10.00 份	菊花 0.01-10.00 份
细 辛 0.01-10.00 份	紫花地丁 0.01-10.00 份	马齿苋 0.01-10.00 份
苦 参 0.01-10.00 份	虎杖 0.01-10.00 份	黄(白)药子 0.01-10.00 份
郁金 0.01-10.00 份	玄参 0.01-10.00 份	白芷 0.01-10.00 份
紫苏(叶、子或梗) 0.01-10.00 份	十大功劳 0.01-10.00 份	
荆芥(穗) 0.01-10.00 份	桑枝(叶、果及白皮) 0.01-10.00 份	
龙胆草 0.01-10.00 份	淡豆豉 0.01-10.00 份	

6. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的定喘方, 包括下述重量配比原中药材中的一味、两味或两味以上:

洋金花 0.01-10.00 份	三分三 0.01-10.00 份	桔梗 0.01-10.00 份
杏仁 0.01-10.00 份	牛黄 0.01-10.00 份	贝母 0.01-10.00 份
银杏叶 0.01-10.00 份	苍术 0.01-10.00 份	藿香 0.01-10.00 份
茯苓 0.01-10.00 份	泽泻 0.01-10.00 份	木通 0.01-10.00 份
灯心草 0.01-10.00 份	通草 0.01-10.00 份	天花粉 0.01-10.00 份
青黛 0.01-10.00 份	天仙子 0.01-10.00 份	金钱草 0.01-10.00 份
肉桂 0.01-10.00 份	半夏 0.01-10.00 份	附子 0.01-10.00 份

7. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的疏理方, 包括下述重量配比原中药材中的一味、两味或两味以上:

香附 0.01-10.00 份	木香 0.01-10.00 份	陈皮 0.01-10.00 份
厚朴 0.01-10.00 份	丹参 0.01-10.00 份	元胡 0.01-10.00 份
红花 0.01-10.00 份	三棱 0.01-10.00 份	莪术 0.01-10.00 份
赤 芍 0.01-10.00 份	薏苡仁 0.01-10.00 份	天 麻 0.01-10.00 份
远 志 0.01-10.00 份	天南星 0.01-10.00 份	芦 荟 0.01-10.00 份
川 芎 0.01-10.00 份	牛 膝 0.01-10.00 份	益母草 0.01-10.00 份
款冬花 0.01-10.00 份	蜂 蜜 0.01-10.00 份	颠茄草 0.01-10.00 份
番泻叶 0.01-10.00 份	泽 兰 0.01-10.00 份	石 韦 0.01-10.00 份
桃 仁 0.01-10.00 份	姜 黄 0.01-10.00 份	环留行 0.01-10.00 份
龙 葵 0.01-10.00 份		

8. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的止血方, 包括下述重量配比原中药材中的一味、两味或两味以上:

拳参 0.01-10.00 份	侧柏叶 0.01-10.00 份	槐花(角) 0.01-10.00 份
仙鹤草 0.01-10.00 份	三七 0.01-10.00 份	白蒿 0.01-10.00 份
茜草 0.01-10.00 份	藕节 0.01-10.00 份	墨旱莲 0.01-10.00 份
地榆 0.01-10.00 份	莲子 0.01-10.00 份	松针 0.01-10.00 份

百部 0.01-10.00 份 乳香 0.01-10.00 份 没药 0.01-10.00 份
血竭 0.01-10.00 份 小(大)蓟 0.01-10.00 份 椿皮 0.01-10.00 份
蒲黄 0.01-10.00 份 景天三七 0.01-10.00 份 紫珠叶 0.01-10.00 份

9. 按照权利要求 3 所述的药物, 其特征在于所述的补虚方, 包括下述重量配比原中药材中的一味、两味或两味以上:

人参 0.01-10.00 份 党参 0.01-10.00 份 黄芪 0.01-10.00 份
白术 0.01-10.00 份 山药 0.01-10.00 份 甘草 0.01-10.00 份
大枣 0.01-10.00 份 苁蓉 0.01-10.00 份 巴戟天 0.01-10.00 份
益智仁 0.01-10.00 份 菟丝子 0.01-10.00 份 仙灵脾 0.01-10.00 份
香菇 0.01-10.00 份 猪苓 0.01-10.00 份 低聚糖 0.01-10.00 份
植物多糖 0.01-10.00 份 枸杞 0.01-10.00 份 刺人参 0.01-10.00 份
麦冬 0.01-10.00 份 天冬 0.01-10.00 份 白芍 0.01-10.00 份
首乌 0.01-10.00 份 沙参 0.01-10.00 份 百合 0.01-10.00 份
玉竹 0.01-10.00 份 石斛 0.01-10.00 份 神曲 0.01-10.00 份
当归 0.01-10.00 份 地黄 0.01-10.00 份 黄精 0.01-10.00 份
杜仲 0.01-10.00 份 刺五加 0.01-10.00 份 锁阳 0.01-10.00 份
红芪 0.01-10.00 份 丁香 0.01-10.00 份 红参 0.01-10.00 份

10. 按照权利要求 1 所述的药物制备方法, 其特征在于包括以下步骤:

1. 制备免疫球蛋白

本发明的免疫球蛋白指抗体, 主要分布于 β -球蛋白和 γ -球蛋白中, 也指人工合成的单抗:

(a) 饲养无特定病原体 (以下简称 SPF) 畜禽,

(b) 将市售的或依照已有方法自制的抗原 (疫苗) 接种于 SPF 畜禽, 此后每隔 5-21 天进行一次强化免疫, 连做 2-8 次, 隔 14-21 天之后, 哺乳动物采血, 禽类可采血也可收集禽蛋, 将所采血液制成高免血清, 所采禽蛋制成高免卵黄,

(c) 取步骤(b)高免血清, 照免疫球蛋白的分离和提纯方法制备免疫球蛋白,

(d) 取步骤(b)高免卵黄, 照水提法、聚乙二醇法或其它方法制备免疫球蛋白;

2. 制备复合配方浸出中药粉

将每味中药单独或全部中药材合并后按已知方法制备粗制浸出中药粉、精制浸出中药粉或两者混合;

3. 复方中药免疫球蛋白特效抗感染制剂的合成

将步骤(1)中制备的免疫球蛋白、步骤(2)制备的复合配方浸出中药粉和选自焦亚硫酸钠、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、抗坏血酸、多种维生素、依地酸二钠、环糊精中的一种、两种或两种以上的辅剂混合均匀, 加无菌去离子水, 使干物质浓度达 10-45%, 在高速乳化机、胶体磨或匀浆

机上匀浆，过滤，然后在离心喷雾干燥机或冷冻干燥机上干燥，制成包括粉剂、合剂、气雾剂、胶囊剂、针剂、栓剂、膏剂、微胶囊在内的任一种制剂，包装，入库。

一种抗感染复合制剂及其制备方法

技术领域

本发明涉及抗感染药物，更具体地说，是一种含复方中药和免疫球蛋白的抗感染制剂及其制备方法。

背景技术

目前应用于抗感染的药品有抗生素、化学合成药品、中药及其制剂和免疫球蛋白制剂。

(1) 抗生素

这类抗感染药物主要是由细菌、真菌、放线菌等微生物所产生的代谢物，以及人工仿制合成或半合成的抗生物质。它们对病原微生物的抑制或杀灭作用强，抗菌谱广，疗效好，广泛地应用于人类和动物疾病防治。但是，它们毒副作用大，如天然青霉素（青霉素 G）、半合成青霉素（氨苄青霉素、阿莫西林）、头孢菌素等极易发生过敏反应，链霉素、丁胺卡那霉素、庆大霉素、小诺霉素、卡那霉素等极易引起肾脏和第八对脑神经损害以及对胎儿和婴幼儿的致残作用，土霉素、四环素、金霉素、多粘菌素 E、杆菌肽等造成肝、肾损害，林可霉素、氯霉素等对造血机能也有不良影响（详见药典）。

(2) 化学合成药品

这类抗感染药物主要包括磺胺类、喹诺酮类、呋喃类等。它们抗菌谱广，性质稳定，疗效确切，使用简便。但是，具有毒副作用大，易残留于体内，造成肝、肾等组织不可逆的损害。

以上两类药物除了上述缺点外，它们共同的弊端还有干扰机体正常菌群，破坏机体微生态平衡，导致微生物菌群失调移位，造成二重感染和其它病变；再者，大剂量反复使用都可以导致耐药性，降低治疗效果，使其抗感染的敏感率下降至 10-15%，并诱生出高致病性菌株，如 1996 年日本大规模爆发大肠杆菌 O157: H7，引起了整个国际社会的关注；1999 年美国科学家在饲料中发现了一种肠球菌对目前所有抗生素都具有耐药性，由此严重妨害人类和动物的疾病治疗。所以，世界各国纷纷制定了一系列政策，禁止在动物生产中使用这两类药物，延长它们对人类疾病的医疗寿命，但这只是个扬汤止沸的办法。

(3) 中药及其制剂

中药属天然药物，具有无害优势的特点，扶正祛邪、整体调整和无耐

药性，是抗菌素和化学合成药品无法比拟的，从而引起了西方发达国家的广泛重视。目前，市场上也有许多抗感染的中药制剂如板兰根冲剂、双黄连口服液、穿心莲注射液等。虽然这些药物抗菌谱广，但由于药效慢、作用弱、用量大、质量标准难以稳定以至使用不方便等因素，因此在临床应用上受到了极大的限制。

(4) 免疫球蛋白制剂

这类抗感染药物来自特制的动物血清和卵黄抗体。它们作用速度快，疗效准确，特异性强，但抗菌面狭窄，对混合感染和继发感染无效，有时不得不用上述三类药物辅助治疗；再者，它们属活性蛋白质，必须低温保存，在贮运和使用过程中很容易变性失活，失去医疗价值。因此，这些抗感染制剂在药品市场上难以操作而失去了商品意义，进而影响到了临床应用。

发明内容

本发明的目的是克服已有抗感染药品的弊端，提供一种疗效确切，性能稳定，没有任何副作用，使用安全方便的特效抗感染复合制剂及其制备方法。

本发明的主要技术方案：采用纯天然原料配制，将中药有效成份与免疫球蛋白有机地结合在一起，严格控制产品质量，确保中药抗菌的广谱性和免疫球蛋白的特异性完美地结合。

本发明的药物组份及其重量份数：

免疫球蛋白 0.10-120.00 份、复合配方浸出中药粉 0.05-100.00 份以及选自下述重量份数的化合物中的一种、两种或两种以上的辅剂：焦亚硫酸钠 0.01-0.20 份，亚硫酸钠 0.01-0.20 份，亚硫酸氢钠 0.01-0.20 份，硫代硫酸钠 0.01-0.20 份，抗坏血酸 0.01-0.80 份，多种维生素 0.01-0.80 份，依地酸二钠 0.01-0.80 份，环糊精 0.01-0.80 份。

本发明所述的复合配方浸出中药粉包括粗制浸出中药粉或精制浸出中药粉，或者两者混合，其原料是依照传统的中医学理论选自中药解毒方、解表方、定喘方、疏理方、止血方、补虚方中的一种两种或两种以上。

所述的解毒方，包括下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上：

板兰根 0.01-10.00 份	淡竹叶 0.01-10.00	大青叶 0.01-10.00 份
糖贴素 0.01-10.00 份	穿心莲 0.01-10.00 份	金银花 0.01-10.00 份
鱼腥草 0.01-10.00 份	连翘 0.01-10.00 份	茵陈 0.01-10.00 份
大 黄 0.01-10.00 份	青 蒿 0.01-10.00 份	车前子(草) 0.01-10.00 份
苦 瓜 0.01-10.00 份	栀 子 0.01-10.00 份	常 山 0.01-10.00 份
贯 众 0.01-10.00 份	黄 连 0.01-10.00 份	黄 柏 0.01-10.00 份
三颗针 0.01-10.00 份	紫 草 0.01-10.00 份	黄 芩 0.01-10.00 份
蒲公英 0.01-10.00 份	白茅根 0.01-10.00 份	杨树花 0.01-10.00 份

白头翁 0.01-10.00 份 秦 皮 0.01-10.00 份 白花蛇舌草 0.01-10.00 份

半枝莲 0.01-10.00 份 半边莲 丹 皮 0.01-10.00 份

地骨皮 0.01-10.00 份 知 母 0.01-10.00 份 芦 根 0.01-10.00 份

银柴胡 0.01-10.00 份 夏枯草 0.01-10.00 份 金海沙 0.01-10.00 份

所述的解表方,选自下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:

麻 黄 0.01-10.00 份 干(生)姜 0.01-10.00 份 升 麻 0.01-10.00 份

柴 胡 0.01-10.00 份 葛根 0.01-10.00 份 香薷 0.01-10.00 份

荆芥(穗) 0.01-10.00 份 牛蒡子 0.01-10.00 份 防风 0.01-10.00 份

桂枝 0.01-10.00 份 山豆根 0.01-10.00 份 桑叶 0.01-10.00 份

菊花 0.01-10.00 份 细 辛 0.01-10.00 份 紫花地丁 0.01-10.00 份

马齿苋 0.01-10.00 份 苦 参 0.01-10.00 份 虎 杖 0.01-10.00 份

黄(白)药子 0.01-10.00 份 郁金 0.01-10.00 份 玄参 0.01-10.00 份

桑枝(叶、果及白皮) 0.01-10.00 份 紫苏(叶、子或梗) 0.01-10.00 份

白芷 0.01-10.00 份 十大功劳 0.01-10.00 份

龙胆草 0.01-10.00 份 淡豆豉 0.01-10.00 份

所述的定喘方,包括下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:

洋金花 0.01-10.00 份 三分三 0.01-10.00 份 桔梗 0.01-10.00 份

杏仁 0.01-10.00 份 牛黄 0.01-10.00 份 贝母 0.01-10.00 份

银杏叶 0.01-10.00 份 苍术 0.01-10.00 份 藿香 0.01-10.00 份

茯苓 0.01-10.00 份 泽泻 0.01-10.00 份 木通 0.01-10.00 份

灯心草 0.01-10.00 份 通草 0.01-10.00 份 天花粉 0.01-10.00 份

青黛 0.01-10.00 份 天仙子 0.01-10.00 份 金钱草 0.01-10.00 份

肉桂 0.01-10.00 份 半夏 0.01-10.00 份 附子 0.01-10.00 份

所述疏理方,包括下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:

香附 0.01-10.00 份 木香 0.01-10.00 份 陈皮 0.01-10.00 份

厚朴 0.01-10.00 份 丹参 0.01-10.00 份 元胡 0.01-10.00 份

红花 0.01-10.00 份 三棱 0.01-10.00 份 莪术 0.01-10.00 份

赤 芍 0.01-10.00 份 薏苡仁 0.01-10.00 份 天 麻 0.01-10.00 份

远 志 0.01-10.00 份 天南星 0.01-10.00 份 芦 荟 0.01-10.00 份

川 芎 0.01-10.00 份 牛 膝 0.01-10.00 份 益母草 0.01-10.00 份

款冬花 0.01-10.00 份 蜂 蜜 0.01-10.00 份 颠茄草 0.01-10.00 份

番泻叶 0.01-10.00 份 泽 兰 0.01-10.00 份 石 韦 0.01-10.00 份

桃 仁 0.01-10.00 份 姜 黄 0.01-10.00 份 环留行 0.01-10.00 份

龙 葵 0.01-10.00 份

所述的止血方,选自包括重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:

拳参 0.01-10.00 份 侧柏叶 0.01-10.00 份 槐花(角) 0.01-10.00 份

仙鹤草 0.01-10.00 份 三七 0.01-10.00 份 白蒿 0.01-10.00 份

茜草 0.01-10.00 份 藕节 0.01-10.00 份 墨旱莲 0.01-10.00 份

地榆 0.01-10.00 份 莲子 0.01-10.00 份 松针 0.01-10.00 份
 百部 0.01-10.00 份 乳香 0.01-10.00 份 没药 0.01-10.00 份
 血竭 0.01-10.00 份 小(大)蓟 0.01-10.00 份 椿皮 0.01-10.00 份
 蒲黄 0.01-10.00 份 景天三七 0.01-10.00 份 紫珠叶 0.01-10.00 份
 所述的补虚方,包括下述重量配比中药材中的一味、两味或两味以上:
 人参 0.01-10.00 份 党参 0.01-10.00 份 黄芪 0.01-10.00 份
 白术 0.01-10.00 份 山药 0.01-10.00 份 甘草 0.01-10.00 份
 大枣 0.01-10.00 份 苁蓉 0.01-10.00 份 巴戟天 0.01-10.00 份
 益智仁 0.01-10.00 份 菟丝子 0.01-10.00 份 仙灵脾 0.01-10.00 份
 香菇 0.01-10.00 份 猪苓 0.01-10.00 份 低聚糖 0.01-10.00 份
 植物多糖 0.01-10.00 份 枸杞 0.01-10.00 份 刺人参 0.01-10.00 份
 麦冬 0.01-10.00 份 天冬 0.01-10.00 份 白芍 0.01-10.00 份
 首乌 0.01-10.00 份 沙参 0.01-10.00 份 百合 0.01-10.00 份
 玉竹 0.01-10.00 份 石斛 0.01-10.00 份 神曲 0.01-10.00 份
 当归 0.01-10.00 份 地黄 0.01-10.00 份 黄精 0.01-10.00 份
 杜仲 0.01-10.00 份 刺五加 0.01-10.00 份 锁阳 0.01-10.00 份
 红芪 0.01-10.00 份 丁香 0.01-10.00 份 红参 0.01-10.00 份

本发明的药物制剂包括药剂学上的粉剂、合剂、气雾剂、胶囊、针剂、栓剂、膏剂、微胶囊在内的任一种剂型。

本发明的制备方法,包括以下步骤:

1.制备免疫球蛋白

本发明的免疫球蛋白指抗体,主要分布于 β -球蛋白和 γ -球蛋白中,也指人工合成的单抗:

(a)饲养无特定病原体(以下简称 SPF)畜禽,照《实验动物和动物实验技术》提供的技术饲养(苗明三主编,中国中医药出版社,1997年06月第1版,第20-115页);

(b)将市售的或依照已有方法自制的抗原(疫苗)接种于 SPF 畜禽,此后每隔 5-21 天进行一次强化免疫,连做 2-8 次,隔 14-21 天之后,哺乳动物采血,禽类可采血也可收集禽蛋,将所采血液制成高免血清,所采禽蛋制成高免卵黄;

(c)取步骤(b)高免血清,照免疫球蛋白的分离和提纯方法制备免疫球蛋白(刘玉斌等,《动物免疫学实验技术》,吉林科学技术出版社,1989年10月,第1版,第9页和中国农业科学院等,《兽医微生物学》,中国农业出版社,1998年12月,第1版,第656页);

(d)取步骤(b)高免卵黄,照水提法、聚乙二醇法或其它方法制备免疫球蛋白;(E.M.Akita and S.Nakai,Tournal of Immunological Metheds, 160<1993> 207-214,and Journal of Food Science,Volume57,No. 3,1992,629-634;杨骅等,《上海免疫学杂志》1992, 12<3>: 189;杨德等《华西医大学报》1991,

22<1>: 17; 侯卫东等,《畜牧兽医杂志》1998, 17<1>: 7, 常维山等,《中国兽医科技》1998, 28<10>10);

2. 制备复合配方浸出中药粉

将每味中药单独或全部中药材合并后按下述方法制备:

①按已知方法制备粗制浸出中药粉(谢秀琼等,《中药新制剂开发与应用》,人民卫生出版社,2002年09月第2版,P83-212);

②按已知方法制备精制浸出中药粉(杨云主编,《中药化学成份提取分离手册》,中国中医药出版社,1998年第1版;肖崇原主编,《中药化学》,上海科学技术出版社,1997年第1版);

3. 复方中药免疫球蛋白特效抗感染制剂的合成

将步骤(1)中制备的免疫球蛋白、步骤(2)制备的复合配方浸出中药粉和选自焦亚硫酸钠、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、硫代硫酸钠、抗坏血酸、多种维生素、依地酸二钠、环糊精中的一种、两种或两种以上的辅剂混合均匀,加无菌去离子水,使干物质浓度达10-45%,在高速乳化机、胶体磨或匀浆机上匀浆,过滤,然后在离心喷雾干燥机或冷冻干燥机上干燥,制成包括粉剂、合剂、气雾剂、胶囊剂、针剂、栓剂、膏剂、微胶囊在内的任何一种制剂,包装,入库。

本发明的优点和效果:

1. 本发明的制剂是中药有效成份和免疫球蛋白在分子间的有机结合,(范德华力及成键等),免疫球蛋白抗感染的特异性和中药有效成分抗感染的广谱性以及调理机体自身抗病整体性完美地配合,相得益彰,既针对原发病原微生物感染,又针对继发和混合病原微生物感染;既杀灭病原微生物,又激发自身免疫力和整体抗病功能;既标本兼治,又快速持久,从而全面体现了中医理论和现代免疫学原理,是一个全新的高效药品;

2. 本发明的制剂是纯天然提取的有机组合制剂,可以制成粉剂、合剂、气雾剂、胶囊剂、针剂、膏剂、栓剂、微胶囊等剂型供临床使用。在体内,它们可以彻底代谢,有的转化成营养被机体吸收,有的通过肝、肾、汗腺、肠、胆等组织器官有效地排泄,不形成药物残留和积蓄,没有毒副作用,是一个安全环保药品。

3. 本发明的制剂中,中药有效成分除了自身具备的医疗功能外,对制剂中的免疫球蛋白具有良好的保护作用,在制剂加工过程中维护了免疫球蛋白的四级立体结构形态,克服免疫球蛋白必须在低温环境中保存、运输和使用的缺点,使免疫球蛋白活性在常温下贮存达12-18个月以上,因此最有效地拓展了免疫球蛋白在临床实际中的应用范围,极大地增强了抗体制剂的市场潜在能力,是一个稳定性优良的药品;

4. 本发明制剂不会诱导病原微生物产生耐药性,具有长久的医疗寿命,可以人、畜共用,从根本上解决了抗生素和化学合成药品的高投入、快耐药、短寿命的缺憾;

5. 本发明制剂的疗效

(1)作用与用途

特效杀灭各种病原体,提高机体自身免疫力,防治各种原因引起的感染及传染病。

(2)用法与用量

a. 每次每公斤体重一般在 5-50mg, 病情严重时, 可以加倍使用; 预防时, 可减半使用。

b. 每日 1-2 次, 3-7 日为一疗程。

c. 本品根据制剂形式不同, 可内服、注射、外用。

3. 治疗效果

使用本品比常规抗感染药品提高疗效 20%左右, 效果极显著 ($P < 0.01$)。

综合上述, 本发明制剂是在传统中医学和现代免疫学相结合的理论基础上, 采用高新生物技术和尖端理化工工艺精制而成的一种高效、安全、稳定、无耐药性的抗感染药品, 具有长久的医疗寿命。

具体实施方式

下面通过具体实例进一步说明本发明的特点。

实例 1

本实例是制备复方中药免疫球蛋白特效抗轮状病毒制剂。

1. 配方成份及其重量份数

免疫球蛋白 0.10 公斤

穿心莲浸出药粉 0.05 公斤

抗坏血酸 0.01 公斤

依地酸二钠 0.01 公斤

穿心莲浸出药粉, 取解毒方中穿心莲一味中药制得。

2. 制备方法

①免疫球蛋白制备

a. 制备多价轮状病毒抗原

取婴幼儿、犊牛、羔羊、仔猪、幼犬等动物的轮状病毒腹泻粪便 (经 ELISA 检测为轮状病毒阳性) 加入等体积的 PH7.2, 0.01M PBS 及适量玻璃珠振摇 (130 转/分, 30 分钟), 3000 转/分离心 20 分钟后取上清, 沉淀物再经重复上述步骤二次, 将所得上清合并, 8000 转/分离心 40 分钟, 取上清, 以 100000g 离心 60 分钟, 弃上清, PH7.2, 0.01M, PBS 悬浮沉淀物, 将悬浮物轻轻加到 40% 和 60% 不连续密度梯度的蔗糖上层, 经 100000g 离心 90 分钟, 取两蔗糖层中间区带用 PH7.2, 0.01M PBS 混合均匀后透析除糖, 即得纯净的多价轮状病毒悬浮液, 并测定蛋白质含量, 再与等体积的福氏完全或不完全佐剂混合制成多价轮状病毒抗原。

b. 将隔离洁净区饲养的 SPF 蛋鸡进行首次免疫, 方法是每只鸡皮下多点

注射福氏完全佐剂多价轮状病毒抗原,用 为每只鸡抗原含量 $100\mu\text{g}$ (轮状病毒蛋白质);以后每隔两周用福氏不完全佐剂多价轮状病毒抗原强化免疫一次,如此重复 2 至 3 次,方法和 同上述。在最后一次强化免疫隔三周后,照 ELESA 阻断法(龙中儿等,“卵黄免疫球蛋白的稳定性研究”,中国生物制品学杂志,1997, 10<4>:218)检查卵黄免疫球蛋白效价,免疫组与非免疫组相比,阻断率不少于 60%,即为合格;若不合格,重复上述强化免疫步骤直至合格为止,然后收集高免 蛋,消毒,破壳,分离,取出高免卵黄。

c.将步骤(b)的高免卵黄采用“从卵黄中快速分离纯化特异性抗体的两步沉淀法”(杨骅等,《上海免疫学杂志》1992, 12<3>:189)和“用离子交换层析法纯化鸡蛋黄 IgY”,(杨德等,华西医科大学报,1991, 22<1>:17),将从高免鸡蛋中提纯免疫球蛋白,在冷冻干燥机上通过降温预冷、低温升华(温度 -40°C)和升温干燥(温度 $40-50^{\circ}\text{C}$)三个阶段(王明俊等,《兽医生物制品学》,中国农业出版社,1997年7月第1版,第333-368页),制得免疫球蛋白纯品;

②穿心莲浸出药粉(精制药粉)制备

a. 将穿心莲原料净选、漂洗、干燥、灭菌;

b.取步骤(a)原料加 8 倍水煎煮两次,第一次 30 分钟,第二次 60 分钟,合并煎液,框板压滤,调 PH 值为 6.5 经 14000 转/分离心 5 分钟除杂质,在 $50-60^{\circ}\text{C}$ 下负压浓缩制成浓缩液;

c.将步骤(b)浓缩液,加入适量乙醇,静止,超滤,滤液回收乙醇,将滤液经离心喷雾干燥机干燥制得穿心莲浸出药粉。

(3)复方中药免疫球蛋白特效抗轮状病毒制剂合成:将配方原料混合,加无菌去离子水,使干物质浓度达 30%左右,在高速乳化机中匀质,过 4 号筛,在高速离心喷雾干燥机上喷雾干燥,制得干粉,既可进一步装于肠溶胶囊制成胶囊剂,又可装于西林瓶制成粉针剂,还可直接包装制成口服粉剂,最终制得成品。高速离心喷雾干燥机的工作条件为进口温度 $135-165^{\circ}\text{C}$,出口温度 $65-75^{\circ}\text{C}$,喷雾头转速 ≥ 22000 转/分,负压 10-80 帕。

3. 质量检验

(1)性状

本品为黄色至黄棕色粉末,味苦。

(2)鉴别

a 取本品 500mg,加蒸馏水 10ml,再加氯仿 10ml,摇匀,静止 1 小时,离心,取氯仿层并水蒸干,残渣加乙醇 5ml 使溶解。取乙醇液 1ml,加碱性三硝基酚试验,溶液缓缓变为橙红色;另取乙醇液 1ml,加二硝苯甲酸试液与乙醇制氢氧化钾试液的等溶混合液 2-4 滴,即显紫红色。

b 取(a)项下的乙醇液作为供试品溶液。另取穿心莲内酯对照品,加乙醇制成 1ml 含 5mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中华人民共和国药典,1990 年版,二部,附录 30 页)试验,吸取供试品溶液 $10\mu\text{l}$,对

照品溶液 5 μ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G254 薄层板上, 以氯仿-无水乙醇 (10: 1) 为展开剂, 饱和半小时, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (254nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(3)检查

a. PH 值: 取本品 500mg, 加生理盐水 10ml, 溶解后 PH 值为 5.5-7.5。

b. 无菌: 照无菌检查法 (中华人民共和国药典, 1990 年版, 二部, 附录 109 页) 检查, 应符合规定。

c. 致热源: 照致热原检查法 (中华人民共和国药典, 1990 年, 二部, 附录 106 页) 检查, 应符合规定。

d. 溶血与凝集试验: 第一步, 制备 2% 红细胞混悬液: 取家兔心脏血, 置有玻璃珠的容器内, 振摇数分钟, 除去蛋白元, 使成脱纤血, 加生理盐水, 摇匀、离心倾去上清, 沉淀的红细胞再用生理盐水稀释成 2% 混悬液, 当天使用, 用时摇匀。第二步, 试验方法: 取试管三支, 分别加入供试品 0.0ml、0.3ml、0.3ml, 然后分别加入生理盐水 2.5ml、2.2ml、2.2ml 和上述红细胞混悬液 2.5ml 摇匀, 迅速置于恒温箱内, 保持 $36 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 温度, 观察 3 小时, 不得有溶血和凝血现象。若有凝聚, 可取其中加有供试品的一支试管振摇, 凝聚物应能均匀分散。

(4)含量测定

a. 脱水穿心莲内酯和穿心莲内酯含量测定

取本品 500mg, 精密称量, 加蒸馏水 10ml, 再加氯仿 10ml 提取, 分取氯仿层, 水浴蒸干, 残渣加无水乙醇溶解, 转移至 5ml 量瓶中, 加无水乙醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。另取脱水穿心莲内酯、穿心莲内酯对照品适量, 精密称量, 加无水乙醇分别制成 1ml 各含 1mg 的溶液, 作为对照溶液。照薄层色谱法 (中华人民共和国药典, 1990 年版, 二部, 附录 30 页) 试验, 精密吸取供试品溶液 2-4 μ l, 上述两种对照品溶液各 1 μ l 与 3 μ l, 分别交叉点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 GF254 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇 (4:3:0.4) 为展开剂, 展开, 取出, 凉干, 照薄层色谱法进行扫描, 脱水穿心莲内酯波长: $\lambda_s=263\text{nm}$, $\lambda_R=370\text{nm}$; 穿心莲内酯波长 $\lambda_s=228\text{nm}$, $\lambda_R=370\text{nm}$; 测量供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值, 计算, 即得。

本品按干燥品计算, 含脱水穿心莲内酯和穿心莲内酯的总量不得少于 4%。

b. 免疫球蛋白含量测定

取本品 500mg, 精密称量, 加蒸馏水 10ml, 再加氯仿 10ml, 混匀, 静置 1 小时, 3000 转/分离心 20 分钟, 取上清作为供试品, 照单向琼脂免疫电泳法 (刘玉斌主编, 《动物免疫实验技术》, 吉林科学技术出版社, 1989 年 10 月第 1 版, 第 37 页) 测定, 计算, 即得。

本品按干燥品计算，免疫球蛋白含量不少于 20%。

c. 免疫球蛋白效价测定

取(b)项中供试品，照 ELISA 阻断法（同本实施例 2 制备方法①步 b 项有关内容）检查，免疫球蛋白效价—阻断率不少于 65%。

4. 作用与用途

特效防治以轮状病毒感染为主的混合感染性腹泻。

5. 用法与用

a. 每次每公斤体重 15-30mg。病情严重时，首次可加倍使用；预防时，可减半使用。

b. 每日 1-2 次，3-5 天为一疗程。

c. 本品有多种用法：第一，肠溶胶囊吞服；第二，直接用适量凉开水稀释内服；第三，直接用生理盐水稀释成透明澄清液体，肌肉注射。

6. 使用效果

a. 疗效评判标准

治愈—用药 4 天内，大便次数 $\leq$ 2 次/日，形状正常；

无效—用药 4 天治疗后，大便次数 $>$ 2 次/日，形状无明显好转。

b. 婴幼儿腹泻治疗效果

成年人几乎 100%的带轮状病毒，婴幼儿有 13-70%的感染率，平均为 47%以上。本试验选年龄在 2 岁以下，病程在 7 天之内，每日腹泻次数 $\geq$ 10 次，经 ELISA 检测为轮状病毒抗原阳性，经细菌学试验有致病性大肠杆菌等混合感染，随机分成本品治疗组和常规药物治疗组（用病毒唑，丁胺卡那霉素等）。本品治疗组按规定用法和用量投服肠溶胶囊，常规药物治疗组按药品使用说明用药。结果本品治愈率比常规药物治愈率提高了 28%以上，详见下表：

组别	病例数	无效数	治愈数	治愈率
本品组	105	11	94	89.52%*
常规药物组	98	38	60	61.22%
*本品组比常规药物组疗效提高率极显著, $P < 0.01$ 。				

c. 保育仔猪腹泻治疗效果

保育仔猪腹泻频繁，脱水，消瘦，经 ELISA 检测为轮状病毒抗原阳性，细菌学试验 K88、K99 致病性大肠杆菌阳性，为混合感染造成的腹泻，然后将它们随机分成两组。A 组 425 头，为本品治疗组，每公斤体重 20mg，肌注一日一次，连用 3 天。B 组 608 头，为西药治疗组，口服金刚烷胺（河北省兽药暂行质量标准，2000 年 10 月，1-11）每公斤体重 20mg；同时肌注硫酸庆大霉素—盐酸消旋山莨菪碱注射液（河北省兽药暂行质量标准，2000 年 10 月，7-3）每公斤体重 0.15ml，一日 2 次，连用 3 天。结果表明，

本品治愈率比西药治愈率提高了 21.4%以上, 详见下表,

组别	病例数	无效数	治愈数	治愈率
A 组	425	9	416	97.88%*
B 组	608	143	466	76.48%
*A 组比 B 组疗效极显著, $P < 0.01$ 。				

d. 治疗总评价

经婴幼儿和仔猪的腹泻治疗试验, 本品疗效比目前的常规药物提高 20%以上, 表明本品有良好的医疗价值和市场前景。

实例 2

本实例是制备复方中药免疫球蛋白特效抗畜禽瘟毒制剂

1. 配方

(1) 总配方成份及其重量份数

免疫球蛋白 50.00 公斤。

复合配方浸出中药粉 10.00 公斤

亚硫酸氢钠 0.02 公斤

多种维生素 0.50 公斤

依地酸三钠 0.50 公斤

(2) 复合配方浸出中药粉(粗制药粉)

取下列 12 味中药制成无菌混合浸出中药粉, 即得复合配方浸出中药粉。

a. 解表方: 防风 1.50 公斤, 牛蒡子 2.50 公斤, 葛根 1.50 公斤, 紫苏叶 1.50 公斤, 荆芥穗 1.00 公斤。

b. 解毒方: 金银花 10.00 公斤, 连翘 2.50 公斤, 黄芩 3.00 公斤, 蒲公英 3.00 公斤,

c. 定喘方: 牛黄 0.01 公斤, 桔梗 1.00 公斤。

d. 疏理方: 元胡 0.5 公斤。

2. 制备方法

① 免疫球蛋白的制备

(1) 购置畜禽瘟毒抗原, 鸡新城疫—鸡传染性支气管炎—鸡痘三联灭活苗 (以下简称鸡三联苗)、猪瘟—猪丹毒—猪肺疫弱毒干苗 (以下简称猪三联苗)、兔瘟—巴氏杆菌—魏氏梭菌三联灭活菌 (以下简称兔三联苗) 和犬瘟热—犬肠炎—狂犬病—犬腺病毒—犬副流感五联苗 (以下简称犬五联苗), 作为制作免疫球蛋白的抗原。

(2) 将隔离洁净区饲养的 SPF 动物 (选自下列动物的任何一种, 马、驴、骡、牛、羊、兔等) 进行免疫, 每种抗原的用量为每次每公斤体重 0.2ml, 多点皮下或肌肉注射, 其过程如下:

SPF 动物,首次免疫鸡 和猪三联苗,7 日后再次免疫兔三联苗和犬五联苗;隔 7 日后,用鸡三联苗和猪三联苗 次强化免疫,再隔 7 日后兔三联苗和犬五联苗强化免疫。之后 14 日或 21 日,进行血清免疫球蛋白效价测定,照 HI 试验(刘玉斌等,《动物免疫学实验技术》,吉林科学技术出版社,1989 年 10 月第 1 版,第 111 页)检测鸡新城和 瘟的 球蛋白的 HI 效价,当两者的效价同时达到 $\geq 1:1280$ 时为合格; $<1:1280$ 时,重复上述免疫程序,直到合格为止,在无菌条件下采血,采血量为每公斤体重 10ml 左右,清晨空腹采之,最后分离制得高免血清。

(3)取步骤(2)高免血清,照免疫球蛋白的分离和提纯方法(中国农业科学院等主编,《兽医微生物学》,中国农业出版社,1998 年 12 月第 1 版,第 656 页)制备免疫球蛋白,按实例 1“免疫球蛋白制备”项下 C 款,在冷冻干燥机上干燥,制备免疫球蛋白纯品。

②复合配方浸出中药粉制备

(1)将防风、牛蒡子、葛根、紫苏叶、荆芥穗、金银花、连翘、黄芩、蒲公英、牛黄、桔梗、元胡 12 味中药各自进行净选,漂洗,干燥,灭菌,制成品。

(2)合并步骤(1)备用品 12 味中药,加水 10 倍,煎煮二次,每次 20 分钟,收取煎液;残渣加水 8 倍,再煎煮二次,每次 1.54 小时,收取煎液。合并四次煎液,板框压滤,调 PH 值至 6.5,14000 转/分离心 5 分钟,取上清进行超滤并浓缩滤液,然后在无菌状态下通过离心喷雾干燥制得复合配方浸出中药粉。

③复方中药免疫球蛋白特效抗畜禽瘟毒制剂合成:

将配方原料混合,加无菌去离子水,使干物质浓度达 12%左右,在匀质机上匀质,过 4 号筛,定量装西林瓶,在冷冻干燥上通过降温预冷,低温升华(-40°C)和升温干燥($40-50^{\circ}\text{C}$)三个阶段,真空封盖,包装,即得成品。

3. 质量检验

(1)性状

本品为黄褐色粉末,味苦。

(2)鉴别

a. 取本品 500mg,加乙醇 10ml,振摇 10 分钟,滤过,取滤液 1ml,加三氯化铁试液 1-2 滴,即显绿色。

b.取本品 500mg,加乙醇 10ml,回流 10 分钟,放冷,滤过,取滤液 1ml 置试管中,加镁粉少许及盐酸 4-5 滴,加热,显棕红色。

c. 取本品 500mg,加甲醇 20ml,超声波处理 10 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为供试品溶液。另取黄芩甙对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照溶液。按薄层色谱法(中华人民共和国药典,1990 年版,二部,附录 30 页)试验,吸取上述两种溶液各

5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯—丁酮—甲酸—水 (10:7:5:3) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 凉干, 喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

(3) 检查

检查项目与方法同实例 1 检查项。

(4) 含量测定

a. 免疫球蛋白含量测定

同实例 1 “免疫球蛋白含量测定”项;

本品按干燥品计算, 免疫球蛋白含量不少于 45%。

b. 免疫球蛋白效价测定

取本品 500mg, 精密称量, 加蒸馏水 10ml, 再加氯仿 10ml, 混匀, 静置 1 小时, 3000 转/分离心 20 分钟, 取上清作为供试品溶液。照 HI 试验 (同上述相关内容) 检测, 鸡新城疫和兔瘟的免疫球蛋白的 HI 效价均应 $\geq 1: 1280$ 。

4. 作用与用途

特效防治猪、狗、鸡、兔和皮毛动物的多种急性热性传染病。

5. 用法与用量

a. 每次每公斤体重 10-20mg。病情严重时, 可加倍使用; 预防时, 可减半使用。

b. 每日 1-2 次, 3-5 日为一疗程。

c. 本品即可用凉开水稀释灌服, 又可用生理盐水稀释为澄清溶液肌肉注射。

6. 使用效果

a. 鸡新城疫和传染性支气管炎混合感染治疗效果

将通过血清学试验确诊为鸡新城疫和传染性支气管炎混合感染的育成鸡 600 只, 随机分成三组, 每组 200 只。A 组为本品治疗组, 按每只鸡肌注 5mg, 一日一次, 连用 5 日; B 组为复方庆大病毒唑注射液 (河北省兽药暂行质量标准, 2000 年 10 月, 3-8) 治疗组, 每只鸡肌注 0.2ml, 一日二次, 连用 5 日; C 组为清瘟败毒散 (2000 版兽药典二部第 418 页) 治疗组, 每只鸡每日 2-3 克, 拌饲料饲喂, 连用 5 日。实验结果表明, 本制剂治疗效果明显高于其它两组, 成活率可提高 20% 以上。详见下表。

组别	总试验鸡数	死亡数	成活数	成活率
A 组	200	26	174	87.00%*
B 组	200	68	132	66.00%
C 组	200	106	94	47.00%
*A 组比 B 组和 C 组成活率提高极显著, $P<0.01$ 。				

b. 猪瘟和猪肺疫并发症的治疗效果

将通过血清学检测和微生物培养试验确诊为猪瘟和猪肺疫并发的 185 头猪, 随机分成三组。A 组为本品治疗组, 按每公斤体重 10mg 肌肉注射, 一日二次, 连用 5 日; B 组为复方庆大病毒唑注射液 (同 A 项) 治疗组, 每公斤体重 0.15ml 肌肉注射, 一日二次, 连用 5 日; C 组为清瘟败毒散 (同 A 项) 治疗组, 每头猪每日 80g, 拌饲料饲喂, 连用 5 日。结果本品治疗的成活率比其它两组提高了 21% 以上。详见下表:

组别	总治疗猪头数	死亡头数	成活头数	成活率
A 组	62	7	55	88.71%*
B 组	61	20	41	67.21%
C 组	62	21	41	66.13%
*A 组比 B 组和 C 组成活率提高极显著, $P<0.01$ 。				

c. 综合效果评价

通过以上两例表明, 本品治疗组的成活率比常规办法提高了 20% 以上, 具有无可比拟的功效。

实例 3:

本实例是制备复方中药免疫球蛋白特效抗胃肠炎制剂。

1、配方

总配方成份及其重量份数

免疫蛋白 120.00 公斤

复合配方浸出中药粉 100.00 公斤

依地酸二钠 0.80 公斤

环糊精 0.80 公斤

②复合配方浸出中药粉 (粗制药粉)

取下列 10 味中药合并制成的无菌混合浸出中药粉, 即得复合配方浸出中药粉。

a.解毒方:白花蛇舌草 3.50 公斤,白头翁 2.00 公斤,半枝莲 3.00 公斤,半边莲 0.01 公斤,黄连 2.00 公斤;

b.疏理方:木香 1.00 公斤,元胡 3.50 公斤;

c.补虚方:白术 2.00 公斤,茯苓 1.00 公斤;

d.止血方:侧柏叶 1.00 公斤。

2. 制备方法

①免疫球蛋白制备

a. 制备抗原

1 号抗原-人轮状病毒抗原,取婴幼儿轮状病毒腹泻粪便(经 ELISA 检测轮状病毒为阳性,按实例 1 “制备方法①项 a 款”的方法制备。

2 号抗原-幽门螺杆菌抗原,取幽门螺杆菌接种在布鲁氏琼脂(Brucella agar)培养基上培养 48 小时(37℃,气体环境:5%O₂、10%CO₂、85%N₂)。菌液先用 0.5%(体积份数)福尔马林溶液中保温过液(37℃),再在 4℃保温 24 小时,使之失活。细菌悬浮液于室温下离心(1500g, 10 分钟),收获菌体加消毒盐水制备成浓度为 2×10⁹ 个/ml 的悬浮液。免疫前,加入等体积福氏完全或不完全佐剂乳化。

3 号抗原-空肠弯曲菌抗原,取空肠弯曲菌接种马血琼脂平板于 43℃培养 48 小时,气体环境:5%O₂、10%CO₂、85%N₂(均为体积份数)。细菌用 0.5%(体积份数)福尔马林溶液,37℃保温 24 小时灭活处理,再用生理盐水洗涤。免疫前,悬浮液用生理盐水调节体浓度至 10⁹ 个/ml,并用等体积福氏完全或不完全佐剂乳化。

4 号抗原—弗氏志贺痢疾菌抗原,取弗氏志贺痢疾菌接种于胰蛋白酶解大豆蛋白汁中,37℃培养 18 小时,以 0.5%福尔马林灭活,收获菌体,洗涤后制成浓度为 2×10⁹ 个/ml 的细胞悬浮液,与一种油性佐剂混合。

5 号抗原—肠毒素性大肠杆菌抗原,购市售含不耐热肠毒素抗原 K88、K99、987P 多价苗。

b.制备高免卵黄

将隔离洁净区饲养的 SPF 蛋鸡进行首次免疫,方法是把 a 步的 1 号、2 号、3 号抗原等量混合为 A 液,4 号、5 号抗原等量混合为 B 液,每只鸡肌肉或皮下多点接种,每种抗原溶液各 1 ml。14 天后同上述方法再强化免疫,以后每隔 7 天以相同方法免疫一次。最后一次隔 21 天后,进行免疫球蛋白效价测定,按 ELISA 阻断法(同实例 1 制备方法①步 b 项有关内容)检测人轮状病毒免疫球蛋白效价,其阻断率不少于 60%为合格;按试管凝集试验(胡子信等,“鸡抗猪大肠杆菌卵黄抗体的研制”,中国畜禽传染病,1994 年第 2 期,第 26-27 页)检测肠毒素性大肠杆菌免疫球蛋白效价,其凝集效价≥1:40 为合格。否则,为不合格,按上述方法再进行免疫,直至合格,收集高免鸡蛋、消毒、破壳,分离,制得高免卵黄。

C. 免疫球蛋白的提纯

同实例 1 “制备方法①项 C 款”。

2. 复合配方中药粉制备

a. 将白花蛇舌草、白头翁、半枝莲、半边莲、黄连、木香、元胡、白术、茯苓、侧柏叶 10 味中药各自进行净选，漂洗，干燥，灭菌，备用。

b. 合并 (a) 步 10 味中药，加水 8-10 倍煎煮三次，第一次 25 分钟，第二次 1.5 小时，第三次 1 小时，合并煎液，经 14000 转/分离心 5 分钟，取上清调 PH 值至 7.0，40-50℃减压浓缩，浓缩液通过喷雾干燥即得复合配方浸出中药粉。

③复方中药免疫球蛋白特效抗胃肠炎制剂合成

同实例 1，“制备方法③款”。

最后，将药粉灌装于胃溶胶囊，或肠溶胶囊，制成微胶囊剂。

3. 质量检验

①性状

本品为深黄色粉末，味香，微苦。

②检别

a. 取本品 500mg，加乙醇 20 ml，振摇提取，滤过，取滤液 2 ml，置小试管中，加醋酐 1 ml，再沿管壁缓缓加入浓硫酸 1 ml，两液界面出现红色或红紫色环。

b. 取本品 500mg，加甲醇 20 ml，振摇提取，滤过，滤液蒸干，残渣加水溶解，加浓氨试液调至碱性，用乙醚提取 3 次，每次 10 ml，合并乙醚，蒸干，残渣加甲醇 1 ml 使溶解，作供试液。再取延胡素对照品，加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液。按薄层色谱法（中华人民共和国药典，一九九 0 年版，二部，附录 30 页）试验，吸取上述两种溶液各 2-3 μ l，分别点于同一用 1%氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上，以正己烷-氯仿-甲醇（7.5:4:1）为展开剂，置以展开剂预饱和的展开缸内，展开，取出，晾干，以碘蒸气熏至斑点显色清晰。日光下检视，供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；在空气中挥尽板上吸附的碘后，置紫外光灯（365nm）下检视，供试品色谱中，在和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点

④检查

应符合胶囊剂项下有关的各项规定（中华人民共和国药典，一九九 0 年版，二部，附录 8 页）。

④含量测定

a. 免疫球蛋白含量测定

同实例 1 “免疫球蛋白含量测定”项。

本品按干燥品计算，免疫球蛋白含量不少于 30%。

b. 免疫球蛋白效价测定

取本品 500mg，精密称量，加蒸馏水 10 ml，再加氯仿 10 ml，混匀，静置 1 小时，3000 转/分离心 20 分钟，取上清作为供试溶液。照 ELISA 阻断法和试管凝

集试验(同本实施例 2、①、b 款有关内容)分别对轮状病毒和肠毒素性大肠杆菌的免疫球蛋白效价检验, 轮状病毒免疫球蛋白的阻断率不低于 80%, 肠毒素性大肠杆菌免疫球蛋白凝集效价 $\geq 1: 640$ 。

4. 作用与用途

特效防治胃肠溃疡、毒痢、菌痢等, 有效预防胃肠癌变。

5. 用法与用量

a. 每次每公斤体重 5-10mg。病情严重时, 加倍使用; 预防时, 可减半量。

b. 每日 1-2 次, 4 周为一疗程。

c. 本品为胶囊剂, 胃病用胃溶胶囊剂, 肠病用肠溶胶囊, 饭前温水或温奶送服。

6. 使用效果

经胃镜检查胃部有溃疡斑, 取样进行微生物学检测幽门螺杆菌阳性, 选具有此症状的自愿者 28 人, 随机分成 2 组, 每组 14 人。A 组用本品按上述方法服用胃溶胶囊剂, 连续五个疗程; B 组用盐酸雷尼替丁胶囊(中华人民共和国药典, 一九九 0 年版, 二部 550 页)和胃舒平片(中华人民共和国药典, 一九九 0 年版, 二部, 357 页)等常规药物按说明书用药治疗, 连续五个疗程。停药后, 对胃部溃疡斑再行进胃镜检查, 结果 A 组比 B 组治愈率提高 21%以上。详见下表:

组别	总病例数	胃溃疡斑愈合例数	治愈率
A 组	14	11	78.57%*
B 组	14	8	57.14%
*A 组比 B 组疗效提高极显著, $P < 0.01$ 。			

全球每年各类腹泻发病例数超过 10 亿, 由此而死亡的人数约 312 万。全球约有 50%以上的人曾感染幽门螺杆菌, 每年有 4 亿多人感染空肠弯曲菌, 4 亿多人感染肠毒素性大肠杆菌, 2.5 亿多人感染痢疾杆菌, 特别值得注意的是幽门螺杆菌是胃癌的重要生物诱因, 必须加以高度警惕, (马大龙主编, 《生物技术药物》, 科学出版社, 2001 年 2 月第 1 版, 170-175), 因此, 本发明具有很大的社会效益和 market 价值。