(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

(43) 国际公布日
2012 年 7 月 26 日 (26.07.2012)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2012/097578 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 36/8998 (2006.01) *A61K 36/484* (2006.01)
A61K 36/8945 (2006.01) *A61K 36/284* (2006.01)
A61K 36/884 (2006.01) *A61K 36/258* (2006.01)
A61K 36/752 (2006.01) *A61K 36/076* (2006.01)
A61K 36/734 (2006.01) *A61K 36/00* (2006.01)
A61K 36/62 (2006.01) *A61P 1/14* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2011/077176

(22) 国际申请日: 2011 年 7 月 15 日 (15.07.2011)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201110023836.X 2011 年 1 月 21 日 (21.01.2011) CN

(71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): **吉林紫鑫药物研究有限公司 (JILIN ZIXIN PHARMACEUTICAL RESEARCH INSTITUTION LLC.)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。

(72) 发明人; 及

(75) 发明人/申请人 (仅对美国): **孙德军 (SUN, Dejun)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **殷金龙 (YIN, Jinlong)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **孙妙囡 (SUN, Miaonan)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **赵轶卓 (ZHAO, Yizhuo)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **郭春生 (GUO, Chunsheng)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **高艳辉 (GAO, Yanhui)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。 **李雪 (LI, Xue)** [CN/CN]; 中国吉林省长春市南关区东头道街 5 号, Jilin 130041 (CN)。

(74) 代理人: **吉林长春新纪元专利代理有限责任公司 (JILINCHANGCHUN NEW CENTURY PATENT AGENT LTD.)**; 中国吉林省长春市南关区人民大街 132 号魏征骥, Jilin 130021 (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, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, 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, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, 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, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR SPLEEN AND STOMACH CARING AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称 : 一种健脾和胃的药物组合物及其制备方法

(57) Abstract: A pharmaceutical composition for spleen and stomach caring and a preparation method therefor. The method comprises the following steps: mixing four substances listed below, and acquiring a mixture being the pharmaceutical composition for spleen and stomach caring: (A) a ginseng ethanolic extract, (B) volatile oils of atractylodes and of orange peel, (C) aqueous extracts of poria, dioscorea, lotus seed, orange peel, licorice, crataegus, malt, atractylodes, and alisma, and (D) a crop fermentation solution.

(57) 摘要:

一种健脾和胃的药物组合物及其制备方法。该方法包括以下步骤：将如下四种物质混合，得到混合物，即得到健脾和胃的药物组合物：A、人参乙醇提取物；B、白术和橘皮的挥发油；C、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；D、果蔬发酵转化液。

WO 2012/097578 A1

一种健脾和胃的药物组合物及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种健脾和胃的药物组合物及其制备方法。

背景技术

消化不良是一种临床症候群，是由胃动力障碍所引起的疾病，也包括胃蠕动不好的胃轻瘫和食道反流病。消化不良主要分为功能性消化不良和器质性消化不良。症状表现为断断续续地有上腹部不适或疼痛、饱胀、烧心(反酸)、嗳气等。常因胸闷、早饱感、腹胀等不适而不愿进食或尽量少进食，夜里也不易安睡，睡后常有恶梦。到医院检查，除胃镜下能见到轻型胃炎外，其他检查如B超、X光造影及血液生化检查等，都不能检查出不正常的表现。

人参：五加科植物人参Ginseng的根。人参中可分离出30余种人参皂甙和多糖。

白术：菊科植物白术Atractylodes macrocephala Koidz.的干燥根茎。苦、甘，温。归脾、胃经。健脾益气，燥湿利水，止汗，安胎。用于脾虚食少，腹胀泄泻，痰饮眩悸，水肿，自汗，胎动不安。

茯苓：茯苓，为寄生在松树根上的菌类植物。茯苓味甘、淡、性平，归心经、肺经、脾经、肾经。具有利水渗湿、益脾和胃、宁心安神之功用。

山药：为薯蓣的根，味甘、温、平、无毒。归肺、脾、肾经。主治脾胃虚弱、倦怠无力、食欲不振、久泄久痢、肺气虚燥、痰喘咳嗽、肾气亏耗、腰膝酸软、下肢痿弱、消渴尿频、遗精早泄、带下白浊、皮肤赤肿、肥胖等病症。

莲子：睡莲科水生草本植物莲的的干燥成熟种子。味甘，性微凉，无毒。入脾、肾、心经。具有清心醒脾，补脾止泻，养心安神明目、补中养神，健脾补胃，止泻固精，益肾涩精止带。滋补元气。主治心烦失眠，脾虚久泻，大便溏泄，久痢，腰疼，男子遗精，妇人赤白带下。还可预防早产、流产、孕妇腰酸。

山楂：为蔷薇科,苹果亚科植物山里红或山楂的干燥成熟果实。味酸、甘，性微温。归脾、胃、肝经。具有开胃消食、化滞消积、活血散瘀、化痰行气。

麦芽：本品为禾本科植物大麦 *Hordeum vulgare L.* 的成熟果实经发芽干燥而得。味甘，平。归脾、胃经。具有行气消食，健脾开胃，退乳消胀。用于食积不消，脘腹胀痛，脾虚食少，乳汁郁积，乳房胀痛，妇女断乳。

泽泻：为泽泻科植物泽泻的块茎，味 甘；淡；性寒，归肾，膀胱经。具有利水渗湿；泄热通淋。主小便不利；热淋涩痛；水肿胀满；泄泻；痰饮眩晕；遗精作用。

橘皮：橘皮是芸香科植物橘的果皮，味辛、苦温。入脾、肺两经。有理气调中，燥湿化痰功效，可用于治疗脾胃气滞，脘腹胀满，呕吐，或湿浊中阻所致胸闷、纳呆、便溏。

甘草：为双子叶植物豆科甘草的根及根茎。性平，味甘，归十二经。有解毒、祛痰、止痛、解痉以至抗癌等药理作用。用于脾胃虚弱，倦怠乏力，心悸气短，咳嗽痰多，脘腹、四肢挛急疼痛，痈肿疮毒，缓解药物毒性、烈性。

发明内容

本发明的目的是提供一种健脾和胃的药物组合物及其制备方法。

本发明提供的方法，包括如下步骤：

将如下四种物质混合，得到混合物，即得到健脾和胃的药物组合物：

A、人参乙醇提取物；B、白术和橘皮的挥发油；C、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；D、果蔬发酵转化液；

所述 A 按照包括如下步骤的方法制备得到：用乙醇水溶液对人参进行回流提取，得到提取液，即得到人参乙醇提取物；

所述 B 按照包括如下步骤的方法制备得到：将白术、橘皮浸泡在水中，蒸馏提取，得到馏出液和残渣，收集馏出液，即得到白术和橘皮的挥发油；

所述 C 按照包括如下步骤的方法制备得到：将茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、所述 B 制备中得到的残渣和水混合，进行煎煮，过滤，收集滤液，加入无水乙醇，静置、收集上清液，即得到茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；

所述 D 按照包括如下步骤的方法制备得到：将果蔬、嗜乳酸杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium*

longum ）菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液、嗜热链球菌（*Streptococcus thermophilus*）菌液混合，发酵，得到发酵产物，即得到果蔬发酵转化液。

所述人参 、白术、茯苓、甘草、橘皮、山药、莲子、山楂、麦芽和泽泻的质量比为（1.5-2.5） ：(1.5-2.5)：(1.5-2.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)：(1.5-2.5)：(1.5-2.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)；

所述人参 、白术、茯苓、甘草、橘皮、山药、莲子、山楂、麦芽和泽泻的质量比具体为（1.5、2 或 2.5)：(1.5、2 或 2.5)：(1.5、2 或 2.5)：(0.5、1 或 1.5)：(0.5、1 或 1.5)：(1.5、2 或 2.5)：(1.5、2 或 2.5)：(0.5、1 或 1.5)：(0.5、1 或 1.5)：(0.5、1 或 1.5)。

所述 A 的制备方法中：

每次所述回流提取的时间为 2 h -5h，每次所述回流提取的时间具体为 2 h、3 h 或 5h；

所述乙醇水溶液的浓度为 70%（体积百分含量)；

所述 B 的制备方法中：

所述浸泡的时间为(1-60） min，所述浸泡的时间具体为 1 min、30 min 或 60min；

所述蒸馏的温度为 90℃-100℃，所述蒸馏的温度具体为 90℃、95℃或 100℃；

所述 C 的制备方法中：

所述煎煮的温度为 90℃-100℃，所述煎煮的温度具体为 90℃、95℃或 100℃，所述煎煮的时间为 1h-2h，所述煎煮的时间具体为 1h 或 2h；

所述加入无水乙醇的方式为向所述滤液中加入乙醇，使滤液中乙醇的体积百分含量为 70%；

所述 D 的制备方法中:

所述发酵的温度为 18℃-37℃，所述发酵的温度具体为 18℃、23℃或 37℃，所述发酵时间为 10 天-180 天，所述发酵时间具体为 10 天、15 天或 180 天，所述发酵方式为边搅拌边发酵。

所述 A 的制备方法中：还包括如下步骤：

将所述提取液去除乙醇、再进行浓缩和干燥，得到干燥产物，即得到人参乙醇提取物；

所述 C 的制备方法中，在所述收集上清液的步骤后，还包括如下步骤：将上清液去除乙醇、过滤取滤液、滤液浓缩、干燥，得到干燥产物，即为茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；

所述 D 的制备方法中，

在所述发酵之前，还包括将果蔬粉碎成 40-50 目大小的步骤；

在所述发酵之后，还包括如下步骤：将所述发酵产物过滤、收集滤液、超滤、收集超滤后液体，即为果蔬发酵转化液。

超滤为将滤液经 10 万分子量分超滤（进液压力 1.3 kg，出液压力 0.5 kg）。

所述果蔬为如下 54 种果蔬的混合物：

魔芋、茄子、芦笋、菠菜、豆芽、花椰菜、甘蓝、萝卜、黄瓜、豌豆、红椒、芹菜、葱、蒜、葡萄、柚子、西瓜、桃、橘、蓝莓、甜橙、香蕉、荔枝、苦瓜、韭菜、石榴、火龙果、胡萝卜、蕃茄、白菜、西芹、甜椒、莴苣、梨、姜、芋头、菜豆、南瓜、莲藕、樱桃、猕猴桃、酸梅、草莓、无花果、金桔、芦柑、南国梨、香瓜、哈密瓜、木瓜、洋葱、桑椹、甜菜和柠檬。

所述果蔬中每种果蔬的质量相同。

所述方法中，每 1L 混合物按照如下方法制备：将(5-50) g 所述人参乙醇提取物、(5-50)g 所述白术和橘皮的挥发油、(5-200) g 所述茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物和所述果蔬发酵转化液混合，用所述果蔬发酵转化液补足体积；

每 1L 混合物具体按照如下方法制备：将(5、25 或 50) g 所述人参乙醇提取物、(5、30 或 50)g 所述白术和橘皮的挥发油、(5、150 或 200)g 所述茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物和所述果蔬发酵转化液混合，用所述果蔬发酵转化液补足体积；

所述 A 的制备方法中：

所述乙醇水溶液和所述人参的配比为（1-10）ml：1g；

所述乙醇水溶液和所述人参的配比具体为（1、5 或 10）ml：1g；

所述 B 的制备方法中：

所述白术、橘皮和水的配比为(1-10)g：(1-10)g：(5-50)ml；

所述白术、橘皮和水的配比具体为(1、2 或 10)g：(1、5 或 10)g：(5、

15 或 50)ml；

所述 C 的制备方法中：

所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比为(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(5-100)ml；

所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比具体为(1、2 或 10)g：(1、2 或 10)g：(1、2 或 10)g：(1、5 或 10)g ：(1、5 或 10)g：(1、5 或 10)g：(1、5 或 10)g：(50、60 或 100) ml；

所述 D 的制备方法中：

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液、所述果蔬和水的配比为（2000-8000）ml：（2000-8000） ml：（2000-8000）ml：（2000-8000）ml：（1000-1500）kg：（1000-1500）kg；

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液、所述果蔬和水的配比为（2000、5000 或 8000）ml：（2000、5000 或 8000）ml、（2000、5000 或 8000）ml：（2000、5000 或 8000）ml：（1000、1200 或 1500）kg：（1000、1200 或 1500）kg。

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液按照如下方法制备：将嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) 发酵培养，得到发酵产物，即为嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为 15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h；

所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液按照如下方法制备：将长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）发酵培养，得到发酵产物，即为长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为 15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h；

所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液按照如下方法制备：将德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）发酵培养，得到发酵产物，即为德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液；所述发酵温度为20℃-41℃，所述发酵温度具体为20℃、37℃或41℃，所述发酵时间为15 h-36 h，所述发酵时间具体为15 h、16 h或36h；

所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)菌液按照如下方法制备：将嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)发酵培养，得到发酵产物，即为嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)菌液；所述发酵温度为20℃-41℃，所述发酵温度具体为20℃、37℃或41℃，所述发酵时间为15 h-36 h，所述发酵时间具体为15 h、16 h或36h。

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)为嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854，所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）为长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）CGMCC 1.2186，所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）为德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480，所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)为嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471。

所述发酵培养的培养基配方：将10g蛋白胨、10g牛肉膏、5g酵母抽提物、20g葡萄糖、1g吐温-80、2gK_2HPO4、1g吐温-80、5gNaAC、2g柠檬酸三铵、0.2g$MgSO_4$、0.05g$MnSO_4$和水混合，用水补至1L得到的培养基。由所述的方法制备的改善疲劳的药物也是本发明保护的范围；

所述白术为白术（炒），所述莲子为莲子（炒）、所述山楂为山楂（炒）、所述麦芽为麦芽（炒）。

由所述的方法制备健脾和胃的药物也是本发明保护的范围。

本发明的实验证明，本发明方法提取的人参提取物、白术和橘皮挥发油、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物、果蔬酵素（发酵转化液），提取时间短，且可以用以上原料制备健脾和胃的药品，而且针对我国免疫力低下人群亚健康比例较大并同时可能伴

有高血糖症状，本品的调味剂采用百胜糖，降低了口服液中葡萄糖、蔗糖等易引起血糖增高的甜味剂的使用使用量，以使更多的人群受益。

具体实施方式

下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明，均为常规方法。

下述实施例中所用的材料、试剂等，如无特殊说明，均可从商业途径得到。

实施例 1、健脾和胃的人参酵素组合物的获得

方法一：

人参酵素组合物的活性成分的原料如下：200g 人参、200g 白术（炒）、200g 茯苓、100g 甘草、100g 橘皮、200g 山药 、200g 莲子（炒）、100g 山楂（炒）、100g 麦芽（炒）、100g 泽泻。

一、人参提取物的制备

1、原料的准备：人参（吉林紫鑫药业股份有限公司）符合《中华人民共和国药典》的规定。投料前严格按照企业标准要求进行质量的监控。

2、按配方量称取人参，经过水洗、沥干，用 10 倍量（v/w）70%乙醇水溶液回流提取 2 次，每次提取 3 小时；过滤，合并滤液，减压回收乙醇。

3、滤液浓缩至相对密度 1.10-1.15 时（60℃ 0.07MPa），喷雾干燥（入口温度为 170℃，出口温度 70℃），得喷雾干燥细粉，即为人参提取物；

二、白术、橘皮挥发油的制备

1、原料的准备：白术、橘皮（吉林紫鑫药业股份有限公司）符合《中华人民共和国药典》的规定。投料前严格按照企业标准要求进行质量的监控。

2、按配方量称取白术、橘皮，经过水洗、沥干，将药材用水浸渍 30 分钟（白术、橘皮和水的配比为 2 g： 1g：15 ml），加入水量以浸透没进药材为宜，一般加入药材量的 5 倍量水，蒸馏温度 100℃，按 5：1 比例另器收集蒸馏液（收集的是蒸馏液水的 1/5 体积；工艺此时挥发油可以提取干净了。）。收集蒸馏容器中的剩余的药材即为白术渣和橘皮渣。

三、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术、泽泻水提取物的制备

1、原料的准备：茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻（吉林紫鑫药业股份有限公司），符合《中华人民共和国药典》的规定。投料

前严格按照企业标准要求进行质量的监控。

2、按配方量称取茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻，经过水洗、沥干。

3、取橘皮渣、白术渣、茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻合并加水煎煮（温度为 100℃）两次，用水量分别为药材量的 6 倍，5 倍，时间分别为 2，1 小时，合并二次滤液浓缩至相对密度为 1.12-1.20（热测 80℃-90℃，减压浓缩），加乙醇搅拌至含醇量为 70%，静置 24 小时，取上清液回收乙醇至尽过滤，滤液浓缩至相对密度 1.10—1.15 时（60℃ 0.07MPa），喷雾干燥（入口温度为 170℃，出口温度 70℃），得喷雾干燥细粉；即为水提取物；第一次煎煮：茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比具体为 2 g： 2 g： 2 g： 5 g ：5 g： 5 g： 5 g： 60 ml。

四、果蔬发酵转化液的制备

1、选用的果蔬材料

表 1 果蔬材料

素 材	营养成分	素 材	营养成分
魔芋	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	胡萝卜	维生素 A、胡萝卜素、果蔬发酵转化物
茄子	维生素 A、B1、B2、C、果蔬发酵转化物	蕃茄	维生素 A、胡萝卜素、柠檬酸、果蔬发酵转化物
芦笋	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	白菜	维生素、矿物质、果蔬发酵转化物
菠菜	维生素 A、C、铁、钙、果蔬发酵转化物	西芹	维生素、矿物质、纤维素、果蔬发酵转化物
豆芽	维生素、皂香、胺基酸、果蔬发酵转化物	甜椒	维生素 C、矿物质、果蔬发酵转化物
花椰菜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	莴苣	维生素 A、矿物质、果蔬发酵转化物
甘蓝	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	梨	果糖、矿物质、果蔬发酵转化物
萝卜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	姜	维生素、矿物质、果蔬发酵转化物
黄瓜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	芋头	维生素 B1、B2、C、矿物质、果蔬发酵转化物
豌豆	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	菜豆	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物
红椒	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	南瓜	胡萝卜素、矿物质、果蔬发酵转化物
芹菜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	莲藕	铁、单宁、果蔬发酵转化物
葱	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	樱桃	矿物质、果蔬发酵转化物
蒜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	猕猴桃	维生素 C、果蔬发酵转化物
葡萄	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	酸梅	有机酸、维他命、果蔬发酵转化物
柚子	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	草莓	维生素 C 、矿物质、鞣花酸、果蔬发酵转化物

西瓜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	无花果	消化果蔬发酵转化物、维生素、矿物质
桃	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	金桔	维生素 B1、B2、C、果蔬发酵转化物
橘	维生素 B1、B2、C、果蔬发酵转化物	芦柑	维生素 C、柠檬酸、果蔬发酵转化物
蓝莓	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	南国梨	维生素 B1、B2、C、柠檬酸、果蔬发酵转化物
甜橙	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	香瓜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物
香蕉	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	哈密瓜	果糖、钾、维生素 A、果蔬发酵转化物
荔枝	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	木瓜	维生素 B、C、E、柠檬酸、胡萝卜素、果蔬发酵转化物
苦瓜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	洋葱	维生素 B、C、胡萝卜素、果蔬发酵转化物
韭菜	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	桑椹	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物
石榴	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	甜菜	甜菜碱、果蔬发酵转化物
火龙果	维生素 B1、B2、柠檬酸、果蔬发酵转化物	柠檬	柠檬酸、果蔬发酵转化物

2、果蔬发酵转化

1）菌种选择与购买

益生菌种购于中科院微生物所，益生菌分别为嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）CGMCC 1.2186、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471，所有菌种结尾砂土管保存菌种，作为出发菌株；

2）主种子制备

益生菌主种子制备（主种子传代不超过 10 代，本制备传 4 代）

①用无菌不锈钢匙分别取嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）CGMCC 1.2186、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471 砂土管 1/10 量，其余冻存，分别接在 50ml(250 三角瓶)MRS液体培养基（10g/l蛋白胨、10g/l牛肉膏、5g/l酵母抽提物、20g/l葡萄糖、1g/l吐温-80、2g/lK_2HPO4、1g/l吐温-80、5g/lNaAC、2g/l柠檬酸三铵、0.2g/l$MgSO_4$、0.05g/l$MnSO_4$，121℃灭菌 20min）中，37℃、100 转摇床培养 16h；

②各挑取一环，分别划线接种在MRS固体培养基（10g/l蛋白胨、10g/l牛肉膏、5g/l酵母抽提物、20g/l葡萄糖、1g/l吐温-80、2g/lK_2HPO4、1g/l吐温-80、5g/lNaAC、2g/l柠檬酸三铵、0.2g/l$MgSO_4$、0.05g/l$MnSO_4$、1.5%琼脂，121℃灭菌20min）上，37℃培养箱培养16h；

③分别挑取长势最旺的一个菌落，各自接在50ml MRS液体培养基中，30℃、180转摇床培养16h；

④各自接在500ml MRS液体培养基中，37℃、100转摇床培养16h，加入甘油至20%，摇匀，以1ml分装入冻存管，分别作为益生菌嗜乳酸杆菌、长双歧杆菌、短双歧杆菌、嗜热链球菌主种子，-40℃以下温度保藏；

3、工作种子的制备

益生菌工作种子制备（工作种子传代不超过5代，本制备传4代）

①用无菌接种环分别取嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）CGMCC 1.2186、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471主种子，分别划线接种在MRS固体培养基上，37℃培养箱培养16h；

②分别挑取长势最旺的一个菌落，各自接在50mlMRS液体培养基中，37℃、100转摇床培养16h；

③各自接在500mlMRS液体培养基中，37℃、100转摇床培养16h,；

④各自再转接至5000mlMRS液体培养基中，37℃、100转搅拌，培养16h；即得嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）CGMCC 1.2186菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480菌液、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471菌液。以上菌液均为发酵容器中所有发酵产物。

4、果蔬处理

1）取上述材料称重；

2）洗净去杂，控干水分，称重‘

3）粉碎成40-50目，投入发酵罐；

对于3吨的发酵罐（有效使用溶剂=3吨×0.8=2.4吨）实际投料控制

在 2400kg；按果蔬与水 1:1 的比例，果蔬投料 1200kg，水加入量为 1200kg。

5、果蔬快速酶解物发酵转化

再向发酵罐中加入嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854 菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）CGMCC 1.2186 菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480 菌液、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471 菌液各 5000ml，控制发酵罐温度 23℃，搅拌 15d；

3）200 目滤布过滤，弃果蔬渣，取滤液；

4）滤液经 10 万分子量分超滤（进液压力 1.3 kg，出液压力 0.5 kg)、得到 1200-1500 kg 澄清液体，密封、转入 4 ℃贮藏，即得到果蔬发酵转化液。

6、检测

果蔬发酵转化液主要产物是乳酸、乙酸，因此将酸度作为其特征成分进行鉴定，具体如下：

果蔬发酵转化液酸度：指滴定 100ml 果蔬发酵转化液，消耗的 0.1N NaOH 溶液的毫升数，检验时一般采用 10ml 样品。

测定步骤：取 10ml 果蔬发酵转化液 +20ml 水+0.5%酚酞指示剂 0.5ml ，用 0.1N NaOH 标液滴定到微红色 30 秒不褪色。计算：酸度=消耗的 0.1N NaOH 标液体积×10

结果:该产品酸度为 42。

五、组合物的制备

将上述得到的各提取物与果蔬发酵转化液按如下配方混合：

25g 人参提取物、30g 白术、橘皮挥发油、150g 白术、橘皮与其它 7 味水提取物与果蔬发酵转化液混合，用果蔬发酵转化液补充体积至 10000ml， 即得到组合物，制成 1000 瓶，10ml/瓶备用。

方法二、

人参酵素组合物的活性成分的原料如下：150g 人参、150g 白术（炒)、150g 茯苓、50g 甘草、50g 橘皮、150g 山药 、150g 莲子（炒)、50g 山楂（炒)、50g 麦芽（炒)、50g 泽泻。

一、人参提取物的制备：

提取方法与方法一基本相同，不同的是将人参用 1 倍量（v/w）70%乙

醇水溶液回流提取；每次所述回流提取的时间为 2 h;

二、白术、橘皮挥发油的制备

提取方法与方法一基本相同，不同的是将白术、橘皮和水的配比具体为 1g：5g：5ml；浸泡的时间为 1min;所述蒸馏的温度为 90℃;

三、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术、泽泻水提取物的制备：提取方法与方法一基本相同，不同的是所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比具体为 1 g：1 g：1 g：1 g：1 g：1 g：1 g：50 ml；所述煎煮的温度为 90℃。

四、果蔬发酵转化液的制备

提取方法与方法一基本相同，不同的是加入嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854 菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）CGMCC 1.2186 菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480 菌液、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471 菌液各 2000ml，果蔬投料 1000kg，水加入量为 1000kg。

果蔬发酵转化液的发酵的温度为 18℃，发酵时间为 10 天。

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液的制备中的发酵温度均为 20℃，发酵时间均为 15 h。

检测方法与方法一相同，结果与方法一无显著差异。

五、组合物的制备

与方法一基本相同，不同的是 5g 人参提取物、5g 白术、橘皮挥发油、5g 白术、橘皮与其它 7 味水提取物与果蔬发酵转化液混合，用果蔬发酵转化液补充体积至 10000ml， 即得到组合物。

方法三、

人参酵素组合物的活性成分的原料如下：250g 人参、250g 白术（炒）、250g 茯苓、150g 甘草、150g 橘皮、250g 山药 、250g 莲子（炒）、150g 山楂（炒）、150g 麦芽（炒）、150g 泽泻。

一、人参提取物的制备：

提取方法与方法一基本相同，不同的是将人参用 5 倍量（v/w）70%乙醇水溶液回流提取；每次所述回流提取的时间为 5h；

二、白术、橘皮挥发油的制备

提取方法与方法一基本相同，不同的是将白术、橘皮和水的配比具体为 10g：10g：50ml；浸泡的时间为 60min；所述蒸馏的温度为 95℃。

三、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术、泽泻水提取物的制备：提取方法与方法一基本相同，不同的是所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比具体为 10 g：10 g：1 0g：10 g：10 g：10 g：10 g：100 ml；所述煎煮的温度为 95℃。

四、果蔬发酵转化液的制备

提取方法与方法一基本相同，不同的是加入嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854 菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）CGMCC 1.2186 菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480 菌液、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471 菌液各 8000ml，果蔬投料 1500kg，水加入量为 1500kg。

果蔬发酵转化液的发酵的温度为 37℃，发酵时间为 180 天。

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液的制备中的发酵温度均为 41℃，发酵时间均为 36 h。

检测方法与方法一相同，结果与方法一无显著差异。

五、组合物的制备

与方法一基本相同，不同的是 50g 人参提取物、50g 白术、橘皮挥发油、200g 白术、橘皮与其它 7 味水提取物与果蔬发酵转化液混合，用果蔬发酵转化液补充体积至 10000ml， 即得到组合物。

实施例 2、人参术苓口服液的制备

本产品工艺采用常规的口服液生产工艺：混合→过滤→瞬时灭菌→灌装→压盖→检漏→澄明度检查→外包装→检验→入库，其中检漏以前的工艺都在 10 万级洁净区。生产工艺设计和设备条件符合我国GMP要求。

具体生产方法：

将实施例 1 方法一得到的组合物与调味剂（具体为白砂糖，购自长春欧亚百货商都，w/v）混合配料后，投入配液罐内，混合 30 min，确保均匀，瞬时高热灭菌。即得到人参术苓口服液。

2、灌装口服液瓶：用口服液灌装机灌装口服液瓶，每瓶灌装 10ml，填充期间应注意监测产品装量差异，控制在差异范围内。

3、压盖：用口服液压盖机对口服液瓶压盖，筛选去不合格品。

4、检漏：采用真空检漏仪对压盖后的口服液检漏。

5、内包装：采用纸板盒，每盒 10 瓶。

6、外包装：外包装采用瓦楞纸箱。

7、检验：按照企业标准进行检验。

8、入库：产品经检验合格后方可入库。

实施例 3、人参术苓口服液改善消化不良实验研究

1、材料

1.1 实验动物

清洁级昆明种小白鼠 60 只，体重 18- 22g； 清洁级 W ista r 雄性大白鼠 20 只，体重 180- 200g，均由吉林大学动物实验中心提供。

1.2、实验用药

1.2.1、药品:

人参术苓口服液由实施例 2 制备,吗丁啉片：西安扬森制药有限公司生产，规格 10mg ×30 片。

1.2.2 药物配制:

吗丁啉：10mg 吗丁啉片加入蒸馏水 100ml 制成吗丁啉溶液，即每毫升溶液含吗丁啉 0.1mg。

1.3 主要试剂

多聚甲醛（ E. M erk ）； 碘化乙酰硫代胆碱（ Fluka)； 葡聚糖蓝 2000（ pharm ac ia)； 醋酸钠（ 上海化学试剂站)； 枸橼酸钠（ 青岛海洋化工厂)； 硫酸铜(沈阳红旗化工厂)； 铁氰化钾(台州市生化材料厂）； 四异丙基磷酰胺（ 青岛海洋化工厂)。

1.4 主要仪器设备

恒冷箱冰冻切片机；台式平衡记录仪； 全波长分光光度计，离心沉

淀器；光学显微镜；多媒体彩色病理图像分析系统，OlympusPM－30照相系统。

2、方法

计数资料、计量资料全部数据以均数±标准差(x±s) 表示。两组间比较用U/t 检验。多组间比较用方差分析(ANOVA)。用医学SAS统计软件包在计算机上处理。

2.1 小鼠小肠推动功能的检测

取昆明种小白鼠30 只，禁食20-24小时，随机分为3组，即对照组，人参术苓口服液组，吗丁啉组，每组 10 只动物，用苦味酸标记。用药组分别给予人参术苓口服液原液(20.0ml/kg) 及吗丁啉溶液(3.9mg/kg)灌胃，对照组给予等量生理盐水灌胃，90分钟后各组给予0.3ml墨汁液灌胃。20分钟后，颈椎脱臼处死，打开腹腔分离肠膜，上端至幽门、下端至回盲部剪取肠管，置于托盘上。轻轻将小肠拉成直线，测量肠管长度作为小肠总长度 。从幽门至墨汁前沿的距离作为“墨汁在肠内推进距离”。用公式计算墨汁推进百分率。

墨汁推进率(%) = 墨汁在肠内推进距离(cm)

小肠全长(cm) ×100%

各组小鼠小肠推动功能比较结果见表2：

表2 各组小鼠小肠推进功能的比较 (x±s)

实验分组	动物数	肠总长度(cm)	墨汁总推进距离(cm)	推进率(%)
正常对照组	10	41.02±2.7959	26.450±4.0445	64.27±7.0015
人参术苓口服液组	10	37.82±3.3133	31.38±4.2923△*	83.017±8.7961
吗丁啉组	10	37.82±5.2087	27.0±2.7406	71.938±6.8437

与生理盐水组比较，△P < 0.01； 与吗丁啉组比较，* P < 0.05。

2.2 小鼠胃排空功能的检测

将小白鼠30只随机分为人参术苓口服液组、吗丁啉组和对照组，每组10只，人参术苓口服液 组以20.0ml/kg，吗丁啉组以3.9mg/kg，对照组以等容积去离子水，分别灌胃给药，10分钟后灌服2%葡聚糖蓝2000溶液，

每只 0.4ml。再经 30 分钟颈椎脱臼处死动物，开腹取出全部胃肠，自幽门括约肌处取胃，将其内残留色素(葡聚糖蓝 2000)充分溶于 2ml 去离子水中，3500rpm 离心 15 分钟，取上清液，玻璃棉滤器过滤，滤液用 723 型分光光度计入 620nm 测吸光度为胃内色素残留量，并求出各组均值。以对照组均值为 100%，各组均值与其之百分比为相对胃内色素残留率。

表 3　各组小鼠胃内色素残留率比较(x±s)

实验分组	动物数	胃人色素残留量	相对胃内色素残留率(%)
正常对照组	10	186.6±42.6	100
人参术苓口服液组	10	94.7±23.6△*	50.9△ *
吗丁啉组	10	152.3±14.01	81.8

与对照组比较，△P<0.01；　与吗丁啉组比较，* P<0.01。

2.3　动物模型的建立

根据激怒刺激的方法，利用大鼠性情暴躁，易于激怒,适当给予低强度刺激就能引发大鼠间剧烈打斗的特性。将 Wistar 雄性清洁级大白鼠(吉林大学实验动物中心)提供，清洁级。20 只，随机分为 4 组：模型组 3 组，正常对照组 1 组。模型组，采用纱布包裹尖端的止血钳夹鼠尾巴刺激，使大鼠互相打斗、激怒，每次刺激 30 分钟，每隔 3 小时 1 次，每天刺激 4 次，1 周后，动物饮水、进食明显减少,甚至不思饮食，多呈困倦状，毛发变暗、枯黄，体重随之下降。呈现出较典型的肝胃不和 NUD 大鼠模型。

2.4　大鼠胃运动频率、幅度的检测

将肝胃不和大鼠模型，再次随机分为模型组、人参术苓口服液组、吗丁啉组，每组 5 只，人参术苓口服液组按 20.0ml/kg.d，分 2 次灌胃治疗，吗丁啉组按 2.7mg/kg.d，分 3 次灌胃治疗，模型组以等量生理盐水灌胃。疗程全部为 2 周。治疗完毕，用 10%乌拉坦麻醉动物(0.1ml/kg)，然后将其仰卧固定于手术台,沿腹壁中剪开腹腔，在胃大弯靠近胃窦部找到一块纵行肌,近端缝合 1 针，固定。远端缝合 1 针，引线连于张力换能器,用台式平衡记录仪，术后 1 小时开始记录胃运动频率和幅度，初始张力设定为 5mV。实验中也观察到，所有实验动物未出现溃疡等器质性病变。

表 4　各组大鼠收缩幅度比较(x±s)

实验分组	动物数	收缩幅度

正常对照组	5	18.72±0.8818
模型组	5	14.976±0.9465
人参术苓口服液组	5	21.024±1.7972*▲
吗丁啉组	5	17.372±1.6270*

与对照组比较，△P<0.01；与模型组比较，＊ P<0.01；与吗丁啉组比较，▲P< 0.05。

表 5　各组大鼠收缩频率比较(x±s)

实验分组	动物数	收缩频率(次/分钟)
正常对照组	5	3.92±0.1095
模型组	5	2.526±0.4604△
人参术苓口服液组	5	4.364±0.4336*▲
吗丁啉组	5	3.82±0.2864

与正常组比较，△P<0.01;与模型组比较，*P<0.01 与吗丁啉比较，▲P<0.05。

实验结果显示，该模型组动物未引起溃疡等器质性改变，但在胃肠机械收缩频率、收缩幅度方面均明显差于正常组，从而说明了紧张、焦虑、烦燥等不良情绪，是导致非溃疡性消化不良的一个重要因素。

本研究证实，人参术苓口服液能有效地恢复胃正常机械运动，模型动物经本方治疗后，其胃收缩频率、幅度均明显提高，并能明显增强胃排空及小肠推进功能,说明人参术苓口服液能够有效的治疗非溃疡性消化不良。

采用同样的方法检测实施例 1 中方法二、三得到的组合物，结果与方法一得到的组合物无显著差异。

1、一种制备健脾和胃的药物组合物的方法，包括如下步骤：

将如下四种物质混合，得到混合物，即得到健脾和胃的药物组合物：

A、人参乙醇提取物；B、白术和橘皮的挥发油；C、茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；D、果蔬发酵转化液；

所述 A 按照包括如下步骤的方法制备得到：用乙醇水溶液对人参进行回流提取，得到提取液，即得到人参乙醇提取物；

所述 B 按照包括如下步骤的方法制备得到：将白术、橘皮浸泡在水中，蒸馏提取，得到馏出液和残渣，收集馏出液，即得到白术和橘皮的挥发油；

所述C按照包括如下步骤的方法制备得到：将茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、所述B制备中得到的残渣和水混合，进行煎煮，过滤，收集滤液，加入无水乙醇，静置、收集上清液，即得到茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；

所述 D 按照包括如下步骤的方法制备得到：将果蔬、嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）菌液、德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液、嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)菌液混合，发酵，得到发酵产物，即得到果蔬发酵转化液。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于：

所述人参 、白术、茯苓、甘草、橘皮、山药、莲子、山楂、麦芽和泽泻的质量比为（1.5-2.5） ：(1.5-2.5)：(1.5-2.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)：(1.5-2.5)：(1.5-2.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)：(0.5-1.5)；

所述人参 、白术、茯苓、甘草、橘皮、山药、莲子、山楂、麦芽和泽泻的质量比具体为（1.5、2 或 2.5）:（1.5、2 或 2.5）:（1.5、2 或 2.5）:（0.5、1 或 1.5）:（0.5、1 或 1.5）:（1.5、2 或 2.5）:（1.5、2 或 2.5）:（0.5、1 或 1.5）:（0.5、1 或 1.5）:（0.5、1 或 1.5）。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于：

所述 A 的制备方法中：

每次所述回流提取的时间为 2 h -5h，每次所述回流提取的时间具体为 2 h、3 h 或 5h；

所述乙醇水溶液的浓度为 70%（体积百分含量）；

所述 B 的制备方法中：

所述浸泡的时间为（1-60） min，所述浸泡的时间具体为 1 min、30 min 或 60min；

所述蒸馏的温度为 90℃-100℃，所述蒸馏的温度具体为 90℃、95℃或 100℃；

所述 C 的制备方法中：

所述煎煮的温度为 90℃-100℃，所述煎煮的温度具体为 90℃、95℃或 100℃，所述煎煮的时间为 1h-2h，所述煎煮的时间具体为 1h 或 2h；

所述加入无水乙醇的方式为向所述滤液中加入乙醇，使滤液中乙醇的体积百分含量为 70%；

所述 D 的制备方法中：

所述发酵的温度为 18℃-37℃，所述发酵的温度具体为 18℃、23℃或 37℃，所述发酵时间为 10 天-180 天，所述发酵时间具体为 10 天、15 天或 180 天，所述发酵方式为边搅拌边发酵。

4、根据权利要求 1-3 中任一所述的方法，其特征在于：

所述 A 的制备方法中：还包括如下步骤：

将所述提取液去除乙醇、再进行浓缩和干燥，得到干燥产物，即得到人参乙醇提取物；

所述C的制备方法中，在所述收集上清液的步骤后，还包括如下步骤：将上清液去除乙醇、过滤取滤液、滤液浓缩、干燥，得到干燥产物，即为茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物；

所述 D 的制备方法中，

在所述发酵之前，还包括将果蔬粉碎成 40-50 目大小的步骤；

在所述发酵之后，还包括如下步骤：将所述发酵产物过滤、收集滤液、超滤、收集超滤后液体，即为果蔬发酵转化液。

5、根据权利要求 1-4 中任一所述的方法，其特征在于：

所述果蔬为如下 54 种果蔬的混合物：

魔芋、茄子、芦笋、菠菜、豆芽、花椰菜、甘蓝、萝卜、黄瓜、豌豆、红椒、芹菜、葱、蒜、葡萄、柚子、西瓜、桃、橘、蓝莓、甜橙、香蕉、荔枝、苦瓜、韭菜、石榴、火龙果、胡萝卜、蕃茄、白菜、西芹、甜椒、

莴苣、梨、姜、芋头、菜豆、南瓜、莲藕、樱桃、猕猴桃、酸梅、草莓、无花果、金桔、芦柑、南国梨、香瓜、哈密瓜、木瓜、洋葱、桑椹、甜菜和柠檬。

所述果蔬中每种果蔬的质量相同。

6、根据权利要求 1-5 中任一所述的方法，其特征在于：

所述方法中，每 1L混合物按照如下方法制备：将(5-50) g所述人参乙醇提取物、(5-50)g所述白术和橘皮的挥发油、(5-200) g所述茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物和所述果蔬发酵转化液混合，用所述果蔬发酵转化液补足体积；

每 1L混合物具体按照如下方法制备：将(5、25 或 50) g所述人参乙醇提取物、(5、30 或 50)g所述白术和橘皮的挥发油、(5、150 或 200)g所述茯苓、山药、莲子、橘皮、甘草、山楂、麦芽、白术和泽泻的水提取物和所述果蔬发酵转化液混合，用所述果蔬发酵转化液补足体积；

所述 A 的制备方法中：

所述乙醇水溶液和所述人参的配比为（1-10）ml：1g；

所述乙醇水溶液和所述人参的配比具体为（1、5 或 10）ml：1g；

所述 B 的制备方法中：

所述白术、橘皮和水的配比为(1-10) g：(1-10) g：(5-50)ml；

所述白术、橘皮和水的配比具体为(1、2 或 10)g：(1、5 或 10)g：(5、15 或 50)ml；

所述 C 的制备方法中：

所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比为(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(1-10)g：(5-100)ml；

所述茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、泽泻、和水的配比具体为(1、2 或 10)g：(1、2 或 10)g：(1、2 或 10)g：(1、5 或 10)g ：(1、5 或 10)g：(1、5 或 10)g：(1、5 或 10)g：((50、60 或 100) ml；

所述 D 的制备方法中：

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液、所述果蔬和所述水的配比为

（2000-8000）ml：（2000-8000） ml：（2000-8000）ml：（2000-8000）ml：（1000-1500）kg：（1000-1500）kg；

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液、所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液、所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液和所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*) 菌液、所述果蔬和所述水的配比为（2000、5000 或 8000）ml：（2000、5000 或 8000）ml、（2000、5000 或 8000）ml：（2000、5000 或 8000）ml：（1000、1200 或 1500）kg：（1000、1200 或 1500）kg。

7、根据权利要求 1-6 中任一所述方法，其特征在于：

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液按照如下方法制备：将嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*) 发酵培养，得到发酵产物，即为嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为 15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h；

所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液按照如下方法制备：将长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）发酵培养，得到发酵产物，即为长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum* ）菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为 15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h；

所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液按照如下方法制备：将德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）发酵培养，得到发酵产物，即为德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为 15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h；

所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)菌液按照如下方法制备：将嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)发酵培养，得到发酵产物，即为嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)菌液；所述发酵温度为 20℃-41℃，所述发酵温度具体为 20℃、37℃或 41℃，所述发酵时间为

15 h-36 h，所述发酵时间具体为 15 h、16 h 或 36h。

8、根据权利要求 1-7 中任一所述的方法，其特征在于：

所述嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)为嗜乳酸杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)CGMCC 1.1854，所述长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）为长双歧杆菌（*Bifidobactreium longum*）CGMCC 1.2186，所述德氏乳杆菌保加利亚种（*Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus*）为德氏乳杆菌保加利亚种（Lactobacillus delbrueckiisubsp.bulgaricus）CGMCC 1.1480，所述嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)为嗜热链球菌(*Streptococcus thermophilus*)CGMCC 1.2471。

9、由权利要求 1-8 中任一所述的方法制备的健脾和胃的药物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2011/077176

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

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)

IPC: 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)

WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CNKI: Fructus Hordei Germinatus,,Rhizoma Alismatis, Radix Ginseng, Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Pericarpium Citri tangerinae, Pericarpium Citri Reticulatae, Poria, Rhizoma Dioscoreae, Semen Nelumbinis, Radix Glycyrrhizae, Fructus Crataegi, volatile oil, extract+, ethanol, alcohol, extract+, fruit, vegetable, ferment+, bacterium, lactobacillus acidophilus, bifidobactreium longum, lactobacillus delbrueckii, streptococcus thermophilus, spleen, stomach, dyspepsia

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN102078541A (JILIN ZIXIN PHARM IND CO LTD), 01 Jun. 2011 (01.06.2011) , claims 1-9	1-9
A	CN1093915 A (YIMIN PHARMACEUTICS FACTORY SI), 26 Oct.1994 (26.10.1994), the whole text	1-9
A	CN1194638C (ZHANG, Hongmei), 30 Mar.2005 (30.03.2005), the whole text	1-9
A	CN 101091778A (JILIN YIMINTANG PHARM CO LTD), 26 Dec. 2007 (26.12.2007), the whole text	1-9

☒ 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	Date of mailing of the international search report
09 Oct. 2011 (09.10.2011)	20 Oct. 2011 (20.10.2011)
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451	Authorized officer CHEN, Shaojun Telephone No. (86-10)62411166

Form PCT/ISA /210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2011/077176

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GUAN, Xiaoran et al., Effect of Bifidobacterium fermented mixed fruit and vegetable juice on immunological function of mice, Chinese Journal of Microecology, Vol. 22, No. 2, pages 110-113, Feb. 2010	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2011/077171

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN102078541A	01.06.2011	None	
CN1093915A	26.10.1994	None	
CN1194638C	30.03.2005	None	
CN101091778A	26.12.2007	None	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2011/077176

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K36/8998 (2006.01) i

A61K36/8945 (2006.01) i

A61K36/884 (2006.01) i

A61K36/752 (2006.01) i

A61K36/734 (2006.01) i

A61K36/62 (2006.01) i

A61K36/484 (2006.01) i

A61K36/284 (2006.01) i

A61K36/258 (2006.01) i

A61K36/076 (2006.01) i

A61K36/00 (2006.01) i

A61P 1/14 (2006.01) i

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2011/077176

A. 主题的分类

参见附加页

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)

IPC: 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）)

WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CNKI: 人参、白术、陈皮、橘皮、茯苓、山药、莲子、甘草、山楂、麦芽、提取、挥发油、乙醇、水、果、蔬、发酵、菌、嗜乳酸杆菌、嗜酸乳杆菌、嗜酸杆菌、长双歧杆菌、德氏乳杆菌、嗜热链球菌、脾、胃、消化不良,Fructus Hordei Germinatus,泽泻,Rhizoma Alismatis, Radix Ginseng, Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Pericarpium Citri tangerinae, Pericarpium Citri Reticulatae, Poria, Rhizoma Dioscoreae, Semen Nelumbinis, Radix Glycyrrhizae, Fructus Crataegi, volatile oil, extract+, ethanol, alcohol, extract+, fruit, vegetable, ferment+, bacterium, lactobacillus acidophilus, bifidobactreium longum, lactobacillus delbrueckii, streptococcus thermophilus, spleen, stomach, dyspepsia

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	CN102078541A（吉林紫鑫药物研究有限公司），01.6 月 2011（01.06.2011）权利要求 1-9	1-9
A	CN1093915A（四平市益民制药厂），26.10 月 1994（26.10.1994）全文	1-9
A	CN1194638C（张红梅），30.3 月 2005（30.03.2005）全文	1-9
A	CN101091778A（吉林益民堂制药有限公司），26.12 月 2007（26.12.2007）全文	1-9

☒ 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	国际检索报告邮寄日期
09. 10 月 2011（09.10.2011）	**20.10 月 2011 (20.10.2011)**
ISA/CN 的名称和邮寄地址： 中华人民共和国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088 传真号：　(86-10)62019451	受权官员 **陈少君** 电话号码：(86-10) **62411166**

C(续). 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
A	管晓冉等，双歧杆菌发酵果蔬汁对小鼠免疫功能的影响，中国微生态学杂志，第 22 卷第 2 期第 110-113 页，2010 年 2 月	1-9

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2011/077176

检索报告中引用的专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN102078541A	01.06.2011	无	
CN1093915A	26.10.1994	无	
CN1194638C	30.03.2005	无	
CN101091778A	26.12.2007	无	

A. 主题的分类

A61K36/8998 (2006.01) i

A61K36/8945 (2006.01) i

A61K36/884 (2006.01) i

A61K36/752 (2006.01) i

A61K36/734 (2006.01) i

A61K36/62 (2006.01) i

A61K36/484 (2006.01) i

A61K36/284 (2006.01) i

A61K36/258 (2006.01) i

A61K36/076 (2006.01) i

A61K36/00 (2006.01) i

A61P 1/14 (2006.01) i