



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106619829 A

(43)申请公布日 2017.05.10

(21)申请号 201611210974.8

(22)申请日 2016.12.24

(71)申请人 中国水产科学研究院南海水产研究所

地址 510300 广东省广州市新港西路231号

(72)发明人 刘广锋

(74)专利代理机构 北京精金石专利代理事务所
(普通合伙) 11470

代理人 刘晔

(51) Int. Cl.

A61K 36/634(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

A61K 31/545(2006.01)

A61K 31/5383(2006.01)

A61K 31/7036(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

一种抗金黄色葡萄球菌的药物及制备方法和用途

(57)摘要

本发明属于生物医药领域,具体涉及一种抗金黄色葡萄球菌的药物及制备方法和用途,所述抗金黄色葡萄球菌的药物包含中药组合物和抗生素,所述中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:(0.1~1):(0.5~2)的重量比制备而成,所述抗生素选自头孢拉定、左氧氟沙星和庆大霉素中的一种。通过将中药组合物和抗生素联用,可提高金黄色葡萄球菌对抗生素的敏感性,长期使用不易产生抗药性,同时可有效降低抗生素的用量,降低药物性血尿不良反应的产生,具有良好的应用前景。本发明进一步还提供了所述抗金黄色葡萄球菌的药物在制备药物或抗菌用品中的用途。

1. 一种抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,包含中药组合物和抗生素,所述中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:(0.1~1):(0.5~2)的重量比制备而成。

2. 如权利要求1所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述抗生素选自头孢拉定、左氧氟沙星和庆大霉素中的一种。

3. 如权利要求2所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述抗生素选自头孢拉定,所述药物中头孢拉定的含量为0.15~2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所述中药组合物的含量为0.73~23.4 mg/mL 。

4. 如权利要求3所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述药物中头孢拉定的含量为0.15~0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所述中药组合物的含量为1.47~23.4 mg/mL 。

5. 如权利要求2所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述抗生素选自左氧氟沙星,所述药物中左氧氟沙星的含量为0.12~0.24 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所述中药组合物的含量为0.73~23.4 mg/mL 。

6. 如权利要求5所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述药物中左氧氟沙星的含量为0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所述中药组合物的含量为0.73 mg/mL 。

7. 如权利要求2所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述抗生素选自庆大霉素,所述药物中庆大霉素的含量为0.12~0.49 $\mu\text{g}/\text{mL}$,所述中药组合物的含量为1.47~23.4 mg/mL 。

8. 如权利要求1所述的抗金黄色葡萄球菌的药物,其特征在于,所述药物的剂型为液体、片剂、颗粒剂、口服液、注射剂或胶囊剂。

9. 一种制备如权利要求1~8任一所述的抗金黄色葡萄球菌的药物的方法,其特征在于,包括以下步骤:

A) 中药组合物的制备:取金银花、黄芩和连翘,洗净,晾干,粉碎成粗粉,加入粗粉3~6倍量的纯化水浸泡1~2h,煎煮1~3次,合并煎煮液,过滤,将滤液浓缩,得浓缩液;

B) 往上述浓缩液中加入抗生素,混合均匀,即得。

10. 如权利要求1~7任一所述的抗金黄色葡萄球菌的药物在制备抗菌药物或抗菌用品中的用途。

一种抗金黄色葡萄球菌的药物及制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体涉及一种抗金黄色葡萄球菌的药物及制备方法和用途。

背景技术

[0002] 金黄色葡萄球菌是人体皮肤和鼻腔的常见定植菌,同时也是引起临床感染的常见致病菌,既可引起局部化脓性感染,如疔、疖、毛囊炎、甲沟炎和外科切口等局部脓性感染,也可引起肺炎、骨髓炎、脑膜炎、化脓性关节炎、心内膜炎及脓毒症、败血症等全身性感染。

[0003] 随着抗生素广泛应用于临床,金黄色葡萄球菌耐药菌株不断出现。金黄色葡萄球菌耐药性的获得,一方面可以通过细菌自身表型的改变、代谢通路的调整等,对抗生素产生适应性耐药,如金黄色葡萄球菌生物被膜的产生、形成小菌落、细胞壁增厚以及持留菌的产生都可以对抗生素产生较高的耐药性;另一方面,金黄色葡萄球菌可以通过水平转移等方式获得耐药基因,如金黄色葡萄球菌获得产生 β -内酰胺酶基因后即可呈现对 β -内酰胺酶类抗生素的耐药性。因此,如何保持抗生素的有效性成为近年来被广泛关注的研究热点。

[0004] 针对上述问题,在中国专利申请CN104644755A中,发明人用野菊花提取物10g,五倍子提取物8g,金银花提取物5g,黄芩提取物5g,连翘提取物10g以及0.1-1.0g抗生素制备得到了一种能够有效防治养鸡场的多种葡萄球菌且长期使用不易产生抗药性的药物。但是在该药物中并没有发现中药组合物与抗生素具有协同增效作用,且该药物中抗生素的用量过大,其与中药组合物的总用量的比值高达1:(43~430)。

[0005] 另一方面,抗生素用量过大导致的人体神经、骨髓、肝脏、肾脏等脏器产生较大不良反应的事件越来越多。头孢拉定为第一代头孢菌素,抗菌活性类似头孢氨苄,其对金黄色葡萄球菌及其他多种对广谱抗生素耐药的杆菌等有迅速而可靠的杀菌作用。但是,由摄入头孢拉定引起的人体严重不良反应的事件越来越多,在国家药品不良反应检测中心发布的《药物不良反应信息通报》中因头孢拉定引起的严重不良反应事件为15.0%,其中,有关血尿的不良反应事件占97.63%。

[0006] 因此,有必要提供一种药物,其与抗生素联用具有协同增效的作用,同时能有效降低抗生素的用量和不良反应。

发明内容

[0007] 为了解决现有技术中存在的技术问题,本发明的目的在于提供一种抗金黄色葡萄球菌的药物,以解决以上缺陷。

[0008] 本发明提供了一种抗金黄色葡萄球菌的药物,包含中药组合物和抗生素,所述中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:(0.1~1):(0.5~2)的重量比制备而成。

[0009] 优选地,所述中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:1:2的重量比制备而成。

[0010] 优选地,中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:0.1:0.5的重量比制备而成。

[0011] 优选地,中药组合物由金银花、黄芩和连翘按1:0.5:1的重量比制备而成。

- [0012] 优选地,所述抗生素选自头孢拉定、左氧氟沙星和庆大霉素中的一种。
- [0013] 优选地,所述抗生素选自头孢拉定,所述药物中头孢拉定的含量为0.15~2.4 μ g/mL,所述中药组合物的含量为0.73~23.4mg/mL。
- [0014] 优选地,所述抗生素选自头孢拉定,所述药物中头孢拉定的含量为0.15~0.6 μ g/mL,所述中药组合物的含量为1.47~23.4mg/mL。
- [0015] 优选地,所述药物中头孢拉定的含量为0.15 μ g/mL,所述中药组合物的含量为1.47mg/mL。
- [0016] 优选地,所述抗生素选自左氧氟沙星,所述药物中左氧氟沙星的含量为0.12~0.24 μ g/mL,所述中药组合物的含量为0.73~23.4mg/mL。
- [0017] 优选地,所述抗生素选自左氧氟沙星,所述药物中左氧氟沙星的含量为0.12 μ g/mL,所述中药组合物的含量为0.73mg/mL。
- [0018] 优选地,所述抗生素选自庆大霉素,所述药物中庆大霉素的含量为0.12~0.49 μ g/mL,所述中药组合物的含量为1.47~23.4mg/mL。
- [0019] 优选地,所述药物中庆大霉素的含量为0.245 μ g/mL,所述中药组合物的含量为5.86mg/mL。
- [0020] 优选地,所述药物的剂型为液体、片剂、颗粒剂、口服液、注射剂或胶囊剂。
- [0021] 相应地,本发明还提供了一种制备上述的抗金黄色葡萄球菌的药物的方法,包括以下步骤:
- [0022] A) 中药组合物的制备:取金银花、黄芩和连翘,洗净,晾干,粉碎成粗粉,加入粗粉3~6倍量的纯化水浸泡10~24h,煎煮1~3次,合并煎煮液,过滤,将滤液浓缩,得浓缩液;
- [0023] B) 往上述浓缩液中加入抗生素,混合均匀,即得。
- [0024] 除外,本发明还提供了上述的抗金黄色葡萄球菌的药物在制备抗菌药物或抗菌用品中的用途。
- [0025] 优选地,所述药物的受体为动物或人。
- [0026] 优选地,所述抗菌用品优选为抗菌生活用品,所述生活用品优选为牙膏或漱口水。
- [0027] 本发明中药组合物由连翘、金银花和黄芩按一定的重量组成,其具有清热、解毒的功效。经试验证明,中药组合物与抗生素联用能有效降低抗生素的用量,且两者具有协同增效的作用。其中,尤以中药组合物与头孢拉定联用效果最佳,试验证明,两者联用时,头孢拉定的最小抑菌浓度(MIC)可降至1/2~1/16,FIC为0.125,两者为协同作用。
- [0028] 另外,目前对于服用头孢拉定引起的血尿反应的机理不明,发明人意外地发现,本发明中药组合物一方面不仅能够使头孢拉定的有效用量降低至至原有效用量的1/16,另一方面,通过临床观察,服用本发明药物后的患者均没有出现血尿反应,这一点是发明人意想不到的,取得了预料不到的技术效果。
- [0029] 与现有技术相比,本发明具有以下优势:
- [0030] 本发明通过将中药组合物和抗生素联用,可提高金黄色葡萄球菌对抗生素的敏感性,同时可有效降低抗生素的用量(中药组合物与头孢拉定联用能使头孢拉定的有效用量降低至原有效用量的1/16),降低药物性血尿不良反应的产生,两者具有协同增效的作用,具有良好的应用前景,适于大范围推广应用。

具体实施方式：

[0031] 以下通过具体实施方式的描述对本发明作进一步说明，但这并非是对本发明的限制，本领域技术人员根据本发明的基本思想，可以做出各种修改或改进，但是只要不脱离本发明的基本思想，均在本发明的范围之内。

[0032] 实施例1、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0033]

金银花	7.35mg
黄芩	7.35mg
连翘	14.7mg
头孢拉定	3 μ g

[0034] 制备方法：

[0035] A) 中药组合物的制备：取金银花、黄芩和连翘，洗净，晾干，粉碎成粗粉，加入粗粉5倍量的纯化水浸泡12h，煎煮2次，合并煎煮液，过滤，将滤液浓缩成20ml的浓缩液；

[0036] B) 往上述浓缩液中加入头孢拉定，混合均匀，按10ml/支分装，灭菌，即得。

[0037] 实施例2、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0038]

金银花	7.35mg
黄芩	7.35mg

[0039]

连翘	14.7mg
头孢拉定	6 μ g

[0040] 制备方法如实施例1。

[0041] 实施例3、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0042]

金银花	7.35mg
黄芩	7.35mg
连翘	14.7mg
头孢拉定	12 μ g

[0043] 制备方法如实施例1。

[0044] 实施例4、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0045]

金银花	3.65mg
黄芩	3.65mg
连翘	7.3mg
左氧佛沙星	2.4 μ g

[0046] 制备方法如实施例1。

[0047] 实施例5、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0048]

金银花	7.35mg
黄芩	7.35mg
连翘	14.7mg
左氧氟沙星	2.4 μ g

[0049] 制备方法如实施例1。

[0050] 实施例6、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0051]

金银花	29.3mg
黄芩	29.3mg
连翘	58.6mg

[0052]

庆大霉素	2.4 μ g
------	-------------

[0053] 对比例1、抗金黄色葡萄球菌药物口服液的制备

[0054] 对比例1与实施例1的区别在于：所述中药组合物由金银花7.35mg，黄芩7.35mg、连翘14.7mg、野菊花10mg和五倍子8mg组成，其余参数与操作如实施例1。

[0055] 对比例2、一种抗金黄色葡萄球菌的药物

[0056] 对比例2与实施例1的区别在于：去掉黄芩，金银花的用量增加至15mg。

[0057] 试验例一、不同抗生素与中药组合物联用抗金黄色葡萄球菌的效果试验

[0058] 1.材料

[0059] 1.1药物 中药组合物(金银花7.35mg，黄芩7.35mg和连翘14.7mg)、头孢拉定(广州白云山医药集团股份有限公司，批号：2160005)、左氧氟沙星(第一三共和制药有限公司，产品批号BP009A1)、阿莫西林(广州白云山医药集团股份有限公司，产品批号：4150095)、庆大霉素(广州白云山天心制药股份有限公司，产品批号：1640401)。

[0060] 1.2仪器 SW-CJ-1F超净台(苏州苏洁净化设备有限公司)；SPS-150-Z生化培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)；TG16MW离心机(湖南赫西仪器装备有限公司)；QYC-200全温培养摇床(上海福玛实验设备有限公司)；UV-1800紫外可见分光光度计(日本岛津)；BG-Pwer电泳仪(北京白晶生物科技有限公司)。

[0061] 1.3菌株 金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, S.a, 菌株号:ATCC25923)。

[0062] 2.方法

[0063] 2.1菌液制备 将金黄色葡萄球菌接种于MH肉汤培养基，制备单菌落。扩大培养后，用无菌生理盐水洗脱并稀释至 2×10^7 CFU/ml，备用。

[0064] 2.2抗生素供试药液制备 用无菌水将4种抗生素分别配制成7.16mmol/L的溶液，备用。

[0065] 2.3最小抑菌浓度的测定 采用二倍稀释法测定最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)。96孔板中A、B、C行第1~9孔内先加培养基100 μ

1,然后第1孔中再一次加入中药组合物(浓度为1.5g/ml) 100μl,混匀后取出100μl移至第2孔中,依次进行倍比稀释至第7孔,混匀后弃掉100μl,然后每孔依次加菌液100μl (C1~C9不加菌液,作为自身对照),药物最终浓度为375、187.5、93.40、46.88、23.44、11.72、5.86mg/ml。其中各孔菌液的最终浓度为1×10⁵CFU/ml,以A8、B8孔内菌液和培养基作为阳性对照,A9、B9孔内培养基作为阴性对照;同理,各抗生素采用倍比稀释法,药液最终浓度为1.79、0.895、0.448、0.224、0.111、0.056、0.028、0.014、0.007、0.0035μmol/L,依次每孔加菌100μl,在37℃中培养18h观察结果。

[0066] 2.4 FIC的测定采用棋盘法测定 抑菌浓度指数(fractional inhibitory concentration index,FIC)。依据上述测定的不同药物单用时对供试菌株的MIC,将不同药各自以不同的MIC浓度分别组合,将药物按照对应浓度加入相应的孔内,每孔为50μl。所以,每孔中可得到不同浓度组合的两种抗菌药物混合液。菌液以每孔100μl加入孔内(最终药液的浓度缩小4倍),最终每孔接种量为1×10⁵CFU/ml。置37℃培养18h后观察结果。联合用药效果判定方法:计算抑菌浓度指数

$$FIC = \frac{MIC_{A药联用}}{MIC_{A药单用}} + \frac{MIC_{B药联用}}{MIC_{B药单用}}$$

[0067] 判断标准为FIC≤0.5为协同作用;0.5<FIC≤1时为相加作用;1<FIC≤2时,药物的相互作用结果为无关;FIC>2时,联合用药相互作用结果为拮抗。

[0068] 3. 结果

[0069] 3.1最小抑菌浓度(MIC)确定 试验表明中药组合物对金黄色葡萄球菌ATCC25923的MIC为23.4mg/ml,头孢拉定对金黄色葡萄球菌ATCC25923的MIC为2.4μg/mL,左氧氟沙星对金黄色葡萄球菌ATCC25923的MIC为0.24μg/mL,阿莫西林对金黄色葡萄球菌的MIC为0.12μg/mL,庆大霉素对金黄色葡萄球菌ATCC25923的MIC为0.98μg/mL。

[0070] 3.2 FIC指数的测定 测定结果见表1~4可知,通过计算头孢拉定联用中药组合物的抑菌浓度指数FIC,FIC=1/16+1/16=0.125,该结果表明中药组合物与头孢拉定联用具有良好的协同抗菌作用;中药组合物与左氧氟沙星联用对金黄色葡萄球菌的FIC=0.531,该结果表示中药组合物与左氧氟沙星联用对金黄色葡萄球菌作用表现为相加作用;中药组合物与阿莫西林联用对金黄色葡萄球菌的FIC=1,该结果表示中药组合物与阿莫西林联用对金黄色葡萄球菌表现为无关;中药组合物与庆大霉素联用对金黄色葡萄球菌的FIC=0.5,该结果表示中药组合物与阿莫西林联用对金黄色葡萄球菌表现为相加作用。

[0071] 表1中药组合物对头孢拉定抑制金黄色葡萄球菌的作用

[0072]

A						
	MIC	1/2MIC	1/4MIC	1/8MIC	1/16MIC	1/32MIC
B(mg/ml)						
23.4	-	-	-	-	-	+

[0073]

11.7	-	-	-	-	-	+
5.86	-	-	-	-	-	+
2.93	-	-	-	-	-	+
1.47	-	-	-	-	-	+
0.73	-	-	+	+	+	+

[0074] 注:A为抗生素,B为中药复方;“+”代表浑浊,“-”代表澄清。

[0075] 表2中药组合物对左氧氟沙星抑制金黄色葡萄球菌的作用

[0076]

A B(mg/ml)	A					
	MIC	1/2MIC	1/4MIC	1/8MIC	1/16MIC	1/32MIC
23.4	-	-	+	+	+	+
11.7	-	-	+	+	+	+
5.86	-	-	+	+	+	+
2.93	-	-	+	+	+	+
1.47	-	-	+	+	+	+
0.73	-	-	+	+	+	+

[0077] 注:A为抗生素,B为中药复方;“+”代表浑浊,“-”代表澄清。

[0078] 表3中药组合物对阿莫西林抑制金黄色葡萄球菌的作用

[0079]

A B(mg/ml)	A					
	MIC	1/2MIC	1/4MIC	1/8MIC	1/16MIC	1/32MIC
23.4	-	-	+	+	+	+
11.7	-	-	+	+	+	+
5.86	-	+	+	+	+	+
2.93	-	+	+	+	+	+
1.47	-	+	+	+	+	+
0.73	-	+	+	+	+	+

[0080] 表4中药组合物对庆大霉素抑制金黄色葡萄球菌的作用

[0081]

A B(mg/ml)	B(mg/ml)					
	MIC	1/2MIC	1/4MIC	1/8MIC	1/16MIC	1/32MIC
23.4	-	-	-	-	+	+
11.7	-	-	-	-	+	+
5.86	-	-	-	+	+	+
2.93	-	-	+	+	+	+
1.47	-	-	+	+	+	+
0.73	-	+	+	+	+	+

[0082] 试验例二、临床应用

[0083] 1. 病例选择 选择250例因金黄色葡萄球菌引起的呼吸系感染患者志愿者,男135例,女115例,年龄18~45岁,平均年龄26±2.1岁,随机分成5组,分别是实施例1组、实施例4组、实施例6组和对比例1~2组。

[0084] 1.2 治疗方法

[0085] 实施例1组:给予本发明实施例1所述口服液1支/d,服用3d;

[0086] 实施例4组:给予本发明实施例4所述口服液1支/d,服用3d;

[0087] 实施例6组:给予本发明实施例6所述口服液1支/d,服用3d;

[0088] 对比例1组:给予本发明对比例1所述口服液1支/d,服用3d;

[0089] 对比例2组:给予本发明对比例2所述口服液1支/d,服用3d。

[0090] 1.3 疗效评定标准

[0091] 显效:用药后24~38小时,体温恢复正常,并且不再回升,其他症状好转或消失;

[0092] 有效:用药后48~72小时,体温恢复正常,其他症状好转;

[0093] 无效:用药后72小时以上体温仍未恢复正常,其他症状为减轻或减轻后又很快复发者。

[0094] 2. 结果如表5所示。

[0095] 表5临床疗效结果

[0096]

组别	例数	显效(率)	有效(率)	无效(率)	总有效率
实施例1组	50	36(72.0%)	14(28%)	0	100.0%
实施例4组	50	33(66.0%)	15(30%)	2(4%)	96.0%
实施例6组	50	35(70.0%)	11(22%)	4(8%)	92.0%

[0097]

对比例1组	50	25(50.0%)	13(26%)	12(24%)	76.0%
对比例2组	50	28(56.0%)	12(24%)	10(20%)	80.0%

[0098] 由上表可知,250例呼吸系感染患者中,有92.0~98.0%的患者服用本发明药物后24~38小时,体温恢复正常,并且不再回升,其他症状好转或消失,其中,以头孢拉定和中药组合物联用效果最佳,总有效率达到100.0%,对服用实施例1所述药物的各患者后观察,各患者均无血尿不良反应产生。这说明,本发明中药组合物与头孢拉定联用不仅能明显降低头孢拉定的有效用量,并且能降低血尿不良反应的产生。需要提出的是,对比例1组在原有中药组合物的基础上增加了五倍子和野菊花,其总有效率与实施例1组比下降了22%,这一点是发明人意想不到的;对比例2组去掉了黄芩,其总有效率与实施例1组比下降了28%,且在50例患者中,有5例患者出现了血尿反应。