

说明书

用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液及其制备方法

5 技术领域

本发明属于兽药开发技术领域，具体地说，涉及一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液及其制备方法。

背景技术

10 家禽肠道健康与肠道的消化吸收能力有着密不可分的关系，决定着健康养殖过程中的疾病控制。由于外界环境卫生、温度和滥用抗生素，导致家禽肠道菌群失去平衡，引发各类肠炎性疾病，可通过中药方剂进行预防和治疗，调节家禽胃肠消化吸收能力，解除养殖户的心头难题。

15 三味拳参口服液就是在错用、滥用抗菌药物治疗家禽腹泻时导致重大经济损失的背景下产生的。三味拳参口服液在禽畜临床广泛应用，但其抑菌效果差强人意。

20 目前的三味拳参口服液对细菌性腹泻有一定的缓解作用，但是针对消化不良、积食无很好的治疗效果。而在制备环节存在工艺陈旧，没有采取有效的醇沉措施，导致口服液中杂质多，有很多沉淀物质，容易堵住家禽的饮水线；同时，现有的处方组成的口服液，抑菌效果较差，对常规有害细菌杀灭效果较弱；组方仅有一定的清热燥湿作用，而涩肠止泻功能和理气效果差。

发明内容

25 有鉴于此，本发明提供了一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液及其制备方法。

为了解决上述技术问题，本发明公开了一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液，主要按照以下质量份组分构成：拳参 65-75 份，穿心莲 45-55

份，苦参 75 份-85 份，乌梅 0-50 份，诃子 0 份-40 份，陈皮 0-35 份。

进一步地，该中草药口服液主要按照以下质量份构成：拳参 65-75 份，穿心莲 45-55 份，苦参 75 份-85 份，乌梅 40-50 份，诃子 30 份-40 份，陈皮 25-35 份。

- 5 进一步地，该中草药口服液主要按照以下质量份构成：拳参 70 份，穿心莲 50 份，苦参 80 份，乌梅 45 份，诃子 35 份，陈皮 30 份。

本发明还公开了一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液的制备方法，包括以下步骤：

- 10 步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛，制备得到原药材粉末；

步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 65-75 份，穿心莲 45-55 份，苦参 75 份-85 份，乌梅 0-50 份，诃子 0 份-40 份，陈皮 0-35 份；

- 15 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡，文火煎煮 2 次，合并滤液，减压浓缩，得到水煎液；

步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和超纯水调节药液的 pH，搅拌均匀；制备得到口服液。

进一步地，步骤 1 中筛目数为 20 目。

- 20 进一步地，步骤 3 中的浸泡时间为 20-40min。

进一步地，步骤 3 中煎煮的料液比为 1:8-1:14，每次煎煮时间为 30-150min，得到的水煎液的生药含量为 1g/mL。

进一步地，步骤 4 中的醇沉时间为 24h，乙醇体积浓度为 40%-70%。

- 25 进一步地，步骤 4 中的干燥温度为 60℃，口服液的 pH 为 3.0-7.0，口服液中生药浓度为 1g/m。

进一步地，步骤 4 中的增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 0.5: 100-2.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

与现有技术相比，本发明可以获得包括以下技术效果：

1) 本发明制备得到的用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液提高了浸膏的得率，解决了中药口服液常存在澄明度差、久置后药效降低、出现絮凝、滋长微生物等问题。

2) 本发明制备得到的用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径依次为 $12.12 \pm 0.35\text{mm}$ 、 $15.04 \pm 0.31\text{mm}$ 、 $15.8 \pm 0.40\text{mm}$ ；最小抑菌浓度(MIC)依次为 0.0625、0.125、0.0625g/mL；最小杀菌浓度(MBC)依次为 0.125、0.250、0.125g/mL。显著地增加了口服液的体外抑菌疗效。

当然，实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有技术效果。

附图说明

此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本发明的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 是本发明拳参 TCL；其中，1 代表供试品，2 代表对照品，3 代表对照药材；

图 2 是本发明诃子 TCL；其中，1 代表供试品，2 代表对照品，3 代表对照药材。

具体实施方式

以下将配合实施例来详细说明本发明的实施方式，藉此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题并达成技术功效的实现过程能充分理解并据以实施。

本发明公开了一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液，主要按照以下质量份构成：拳参 65-75 份，穿心莲 45-55 份，苦参 75 份-85 份，乌梅 40-50 份，诃子 30 份-40 份，陈皮 25-35 份。

本发明还公开了一种用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液的制备

方法，包括以下步骤：

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

5 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 65-75 份，穿心莲 45-55 份，苦参 75 份-85 份，乌梅 40-50 份，诃子 30 份-40 份，陈皮 25-35 份；

步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 20-40min，按照料液比为 1:8-1:14 文火煎煮 2 次，每次 30-150min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

10 本发明 6 味中药的主要有效部分溶于水，药物与溶剂之间的接触面积随着溶剂量的增大而增大，提高了药物有效成分的溶出度。当溶出度达到饱和状态，溶剂太多反而增加了无关杂质的溶出，影响浸膏得率，且浪费，因此，加水倍数选择 8~14 倍，不在该范围内，浸膏得率太低。

15 其中，当煎煮时间太短，药物与溶剂接触时间、接触面积不足，即水提过程未达到最佳提取条件，有效成分没能充分的溶出；当煎煮时间在 60min 时，浸膏得率最高，为 13.1%，有效成分提取相对充分；而当煎煮时间超过 60min，浸膏得率开始缓慢下降，因为随着提取时间的延长导致水溶性杂质的大量溶出而将有效成分包埋。

20 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇的体积浓度为 40%-70%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 3.0-7.0，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；

25 其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 0.5:100-2.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

当乙醇浓度小于 40%，不利于部分有效物质的溶出，且杂质多、溶液浑浊，不符合口服液的质量标准；当乙醇浓度大于 70%，由于随着乙醇浓度的增加，杂质可吸附、包埋部分有效成分，形成沉淀而一并除去，导致有效成分的流失，浸膏得率逐渐下降，因此，乙醇浓度为 40%-70%。

药中多含有酸或碱性成分，制剂的 pH 值增加或减少，都可发生酸碱反应，说明环境 pH 的改变会影响药物的析出和未除尽的杂质因久置而析出，导致口服液变质。

实施例 1

5 步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，穿心莲 2.5g，苦参 4g，乌梅 2.25g；

 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行
10 浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，
15 并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 2

 步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮
20 进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，穿心莲 2.5g，苦参 4g，陈皮 1.5g；

 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行
25 浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐

温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 3

5 步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，穿心莲 2.5g，苦参 4g，诃子 1.75g；

10 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

15 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 4

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

20 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，穿心莲 2.5g，苦参 4g，乌梅 2.25g，诃子 1.75g；

步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

25 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其

用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 5

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

5 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，苦参 4g，穿心莲 2.5g，乌梅 2.25g，陈皮 1.5g；

步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

10 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其
15 用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 6

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

20 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，苦参 4g，穿心莲 2.5g，陈皮 1.5，诃子 1.75g；

步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

25 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 7

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

5 步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，苦参 4g，穿心莲 2.5g，乌梅 2.25g，陈皮 1.5，诃子 1.75g；

步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

10 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

15 实施例 8

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.25g，穿心莲 2.75g，苦参 3.75g，乌梅 2.5g，诃子 1.5g，陈皮 1.75g；

20 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 20min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 30min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

25 步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 70%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 3.0，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 2.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 9

步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.75g，穿心莲 2.25g，苦参 4.25g，乌梅 2.0g，诃子 2.0g，陈皮 1.25g；

5 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 40min，按照料液比为 1:8 文火煎煮 2 次，每次 150min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 40%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，
10 向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 7.0，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 0.5: 100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

对比例 1

15 步骤 1、药材清洗、干燥：将拳参、穿心莲、苦参、乌梅、诃子和陈皮进行清洗和干燥处理，然后进行粉碎过筛 20 目筛，制备得到原药材粉末；

步骤 2、称量：按照质量份称量步骤 1 制备得到原药材粉末：拳参 3.5g，穿心莲 2.5g，苦参 4g；

20 步骤 3、制备得到水煎液：将称量好的各组分进行混合，并加入水进行浸泡 30min，按照料液比为 1:14 文火煎煮 2 次，每次 60min，合并滤液，减压浓缩，得到生药含量为 1g/mL 的水煎液；

步骤 4、在水煎液中加入乙醇进行醇沉 24h，乙醇浓度为 55%，离心，取上清液回收乙醇后，水浴锅蒸去大部分液体，60℃干燥至恒重，制成浸膏，
25 向浸膏中依次加入增溶剂、防腐剂和溶剂（超纯水）调节药液的 pH 为 4.08，并调整生药浓度为 1g/mL，搅拌均匀；制备得到口服液；其中，增溶剂为吐温-80，其用量与浸膏的体积比（mL/mL）为 1.5:100。防腐剂为苯甲酸，其用量占浸膏质量总量的 0.1%。

实施例 10 辅料对用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液的影响

1、增溶剂：非离子型表面活性剂吐温-80 作为增溶剂，可明显提高浸膏

的溶解度,随着吐温-80 的增加,增溶作用越明显,但为了避免试剂滥用,且试验发现当吐温-80 用量超过 2.5% 时,其成团游离于药液中,故选择吐温-80 用量为 1.5% 即可。结果如表 1 所示。

表 1 吐温-80 对口服液的澄清度影响

吐温 -80(mL/100mL)	澄明度			色泽
	1d	7d	14d	
无	++	+++	+++	***
0.5	+	+	++	**
1.0	-	-	+	**
1.5	-	-	-	*
2.0	-	-	-	*
2.5	-	-	-	*

5 注:- 表示药液澄清; + 表示药液混浊; *多少表示颜色深浅程度

2、防腐剂：根据中国药典规定，口服制剂被检细菌数（cfu）不得超过100，由表7可知，三种防腐剂皆合格，并且均未检出肠道菌。其中加入0.1%苯甲酸效果最佳，原液偏酸，药液的澄明度较清澈，自然溶解，出自安全的角度考虑，选用0.1%的用量即可。结果如表2所示。

表 2 防腐剂对口服液的染菌数影响

药液环境	防腐剂种类	苯甲酸		苯甲酸钠		山梨酸		空白组
	用量（%）	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2	
常温 1d		-	-	-	-	-	-	+
37℃ 1d	细菌数	-	-	16	8	1		++
37℃ 2d	（cfu）	-	-	23	18	7	4	+++
37℃ 2d	肠道菌	-	-	-	-	-	-	-

注:- 表示无, + 多少表示细菌数

针对中药口服液常存在澄明度差、久置后药效降低、出现絮凝、滋长微生物等问题,需加入合适的附加剂加以控制口服液的质量。为了浸膏充分溶解于溶剂中,本发明先加入吐温-80 与浸膏初步研磨,后加水充分溶解,使其在水中形成胶束,不仅增加了药物在水中的溶解度,还增加了药物的稳定性,显著提高了口服液的澄清度。通过细菌计数法筛选出苯甲酸作为防腐剂,苯甲酸为常用酸性口服液防腐剂,显著减少口服液的染菌数,保证了口服液微生物长期合格。经辅料的筛选科学地保证了口服液的药效、均匀度、澄清度与安全性。此外,在调试口服液 pH 值时,由于口服液中化学成分不单一,酸碱过多过少都显著影响口服液的稳定性,析出大量沉淀,而本口服液 pH 值为 4.08 时,呈澄明的自然性状,符合药典规定。

实施例 11 口服液的定性鉴别

1、拳参的定性鉴别

取本口服液 10ml,加乙酸乙酯 20ml,分两次萃取(每次用 10ml 萃取),合并萃取液,浓缩至 0.5ml,作为供试品溶液。取没食子酸对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。另取拳参对照药材 0.5g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(通则 0502)试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁溶液,在日光下观察。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。

拳参作为本中药复方口服液的君药,对其主要有效成分没食子酸的鉴别具有重要的制剂指导意义。鉴别结果:供试品与没食子酸对照品的比移值约相等,呈椭圆状,显清晰的紫黑色分离点。供试品点样在展开距离 1cm 内出现拖尾现象,说明供试品中存在干扰杂质,初步判断为主要干扰成分为口服液中的总有机酸。拳参 TCL 图 1。

2、诃子的定性鉴别

取口服液 10mL,加无水乙醇 30mL,超声处理 20min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。取没食子酸对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。另取诃子对照药材(去核)0.5g,

同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（通则 0502）试验，吸取上述 3 种溶液各 4 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以氯仿-乙酸乙酯-甲酸（6:4:1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液，在 105℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应的位置上，
5 显相同颜色的斑点。

诃子 TLC 如图 2 所示，从图中可看出，三者相同位置都出现斑点，无拖尾现象。

$$R_f(\text{没食子酸对照品}) = \frac{2.0}{8.0} = 0.25$$

$$R_f(\text{样品}) = \frac{2.1}{8.0} = 0.263$$

本发明检出拳参和诃子分别在同一 TLC 图谱中与其对照品显相同颜色的斑点、 R_f 一致。

10 实施例 12 本发明用于治疗家禽消化道疾病的中草药口服液的体外抑菌试验

1、材料及方法：

1.1、菌种：

大肠埃希菌（*Escherichia coli*）ATCC3922、金黄色葡萄球菌
15 （*Staphylococcus aureus*）CVCC533。为四川农业大学动物医学院药学实验室提供。禽源沙门氏菌，来源于四川农业大学农场家禽育种场分离。

1.2、供试菌液的制备

分别将大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌接种于普通肉汤培养基中，放于恒温水浴摇床上以 100r/min、37℃ 震荡培养 8h。取出，用生理盐水
20 稀释，用 0.5 麦氏比浊管比浊，使其含菌量为 1.5×10^8 CFU/mL，用生理盐水稀释至含菌量为 108 CFU/mL 的菌液备用。

1.3、体外抑菌试验

抑菌试验采用管碟法（李思聪,曾富强,聂健等.七种中药提取物对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的体外抑菌试验[J].四川畜牧兽

医,2013,40(2):29-31.DOI:10.3969/j.issn.1001-8964.2013.02.010.), 取制备好的普通营养琼脂培养基,用移液枪移取 100 μ L 的上述供试菌液滴加于培养基表面,涂布均匀,用镊子夹取牛津杯于已涂布菌液的培养基表面,分别移取黄连水煎液、生理盐水、对比例 1 口服液及实施例的 200 μ L 于牛津杯中,其中黄连水煎液作为阳性对照,生理盐水作为阴性对照。将培养皿放置与 37℃ 恒温培养箱中培养 8~10h,观察实验结果,并用游标卡尺测量抑菌圈直径。每组 3 次平行,取平均值。判断标准:抑菌圈直径大于 14 mm 为高度敏感,12~14 mm 为中度敏感,小于 12 mm 为低度敏感。

1.4、测定最小抑菌浓度和最小杀菌浓度

10 MIC 的测定:利用 96 孔板二倍稀释法,用营养肉汤培养基将样品稀释成不同浓度后,再接种待测菌,定量测定抗菌的最低抑菌浓度。以大肠杆菌为例,在 96 孔板的 11 个孔中依次加入 100 μ L 无菌营养肉汤培养基,第 1 孔加供试药液 (1g/mL) 100 μ L,混匀后取 100 μ L 于第 2 孔,混匀后吸取 100 μ L 于第 3 孔,依次类推到第 9 孔,弃去 100 μ L,第 10 孔不加供试药液作为阳性对照。第 11 孔中加灭菌供试药液 100 μ L,混匀,然后取出弃掉,不加菌液,作为阴性对照。1 到 10 孔中均加入 100 μ L 的菌液,使得每孔菌液药液浓度为 0.5×10^8 CFU/mL,试验重复 3 次, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 24 h。沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 测定操作过程同大肠杆菌 MIC 的测定操作过程一样。结果判定:由于中药煎液的色泽对观察结果的影响,本实验对 MIC 检测方法进行了改进。即通过划线法和琼脂平板抑菌法观察上述不同抗菌中药的 MIC 结果。

25 MBC 的测定:将选取不同浓度中药与受试细菌作用后,分别取不同浓度药液的肉汤接种于普通琼脂平板培养基。然后将各平皿放入恒温培养箱内培养 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 24 h,观察是否有菌生长,进一步确认 MIC 和测定 MBC。结果判定:以菌落大于 5 个的样品最高稀释度作为其最小抑菌浓度;以无菌生长的最高稀释倍度为最小杀菌浓度。

2、结果

2.1 抑菌活性

从恒温培养箱中取出培养皿观察可见,牛津杯中药液液面下降,牛津杯

周围清晰可见药液呈圆形扩散,且在药液扩散圈内形成了一个略小于药液扩散圈的、光滑无菌的抑菌圈,培养基其他地方则可见分布均匀的菌落。结果大肠杆菌对对比例 1 不敏感,实施例 2、实施例 3、实施例 6 低度敏感,实施例 1、实施例 7 中度敏感,对实施例 4、实施例 5 高度敏感,经显著性检验实施例 4、实施例 5 与除了实施例 1 以外其他组合表现为显著性差异 ($P < 0.05$); 沙门氏菌对对比例 1、实施例 6 不敏感,对实施例 2、实施例 3 低度敏感,对实施例 1、实施例 4、实施例 5、实施例 7 高度敏感,且实施例 1、实施例 4、实施例 5 与其他组合均表现为显著性差异 ($P < 0.05$); 金黄色葡萄球菌对对比例 1、实施例 2 不敏感,对实施例 3、实施例 6 低度敏感,对实施例 4、实施例 5 中度敏感,对实施例 1、实施例 7 高度敏感,且实施例 1、实施例 7 与其他组合有显著性差异 ($P < 0.05$)。具体见表 3。

表 3 实施例 1-7 及对比例 1 的口服液对大肠、沙门及金葡三种菌的抑菌圈直径

实施例	药物浓度 (g/mL)	平均抑菌圈直径 (mm)		
		大肠杆菌	沙门氏菌	金黄色葡萄球菌
对比例 1	1	—	—	—
实施例 1	1	14.63±0.49 ^{ab}	17.97±0.49 ^a	16.4±0.29 ^a
实施例 2	1	9.21±0.36 ^c	9.08±0.30 ^b	—
实施例 3	1	9.06±0.06 ^{cd}	9.38±0.40 ^b	11.98±0.02 ^b
实施例 4	1	15.78±0.45 ^b	17.61±0.20 ^a	14.54±1.09 ^c
实施例 5	1	17.16±0.35 ^b	18.06±0.30 ^a	14.23±1.08 ^c
实施例 6	1	10.58±0.15 ^d	—	9.85±0.14 ^d
实施例 7	1	12.12±0.35 ^{bd}	15.04±0.31 ^c	15.8±0.40 ^a

注: —表示为无抑菌圈; 同列标准差后面肩注不同者为差异显著 ($P < 0.05$), 字母相同者表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 MIC 和 MBC 的测定结果

采用二倍稀释法,测定加味三味拳参水提液的 MIC 和 MBC,结果加味

三味拳参口服液对大肠杆菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌最小抑菌浓度（MIC）依次为 0.0625、0.125、0.0625g/mL；最小杀菌浓度（MBC）依次为 0.125、0.250、0.125g/mL。具体见表 4。

表 4 实施例 1-7 的口服液对大肠、沙门、金葡的 MIC 和 MBC 测定结果

实施例	药物浓度 (g/mL)	大肠杆菌		沙门氏菌		金黄色葡萄球菌	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
对比例 1	1	-	-	-	-	-	-
实施例 1	1	0.0625	0.125	0.125	0.250	0.0625	0.125
实施例 2	1	-	-	-	-	-	-
实施例 3	1	-	-	-	-	0.250	0.500
实施例 4	1	0.0625	0.125	0.125	0.250	0.0625	0.125
实施例 5	1	0.0625	0.125	0.125	0.250	0.0625	0.125
实施例 6	1	-	-	-	-	-	-
实施例 7	1	0.0625	0.125	0.125	0.250	0.0625	0.125

5 综上所述，各加味组方（生药浓度为 1g/mL）的抑菌活性均对比例 1 的口服液的强，对比例 1 对 3 种病原菌均无抑菌效果，可证加味达到了增强原味的抑菌活性效果。其中实施例 5 对大肠杆菌的效果最强（抑菌圈直径 $17.16 \pm 0.35\text{mm}$ ），对沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的效果次之。本发明含乌梅组对金葡菌效果最强（抑菌圈 $16.4 \pm 0.29\text{mm}$ ），原因或是本配方效果更好，或是不同化学成分的相互作用等其它不明因素；而实施例 1、4、5 对沙

10 门氏菌的抑菌活性总体呈高度敏感，与其他学者的报道基本一致。同时，各组合同对同一菌株的抑菌活性差异显著（ $P < 0.05$ ），说明了乌梅作为佐药对加味口服液的抑菌效果具有的重要意义、与诃子的联用起协同作用；有陈皮的组合方剂则只增强了原方对试验中革兰氏阴性菌的抑菌效果，而乌梅与

15 陈皮联用抑菌效果减弱。

根据 MIC 及 MBC 测定的结果显示，各组方总体 MIC 差异不大，且重复试验可证其稳定。较突出的是组合 4 对金黄色葡萄球菌的 MIC 为 0.250

g/mL，而其它 2 种菌株未检测出 MIC，可看出组合 4 对革兰氏阳性菌的抑菌效果较革兰氏阴性菌强；而其它组别间对三种菌株的 MIC 值基本一致，同时得出对比例 1、实施例 2、实施例 6 这三组在 1g/mL 的生药浓度下检测不出三种菌株 MIC 的结论。本发明实施例 1-7 中口服液呈小于 0.1 g/mL，可见加味减小了单味和原三味拳参口服液的 MIC 浓度，反映出拆方试验的必要性或重大意义。总之，MIC 的结果与各组的抑菌试验的结果相呼应，一般抑菌圈直径大的其 MIC 也较大，反之亦然。

上述说明示出并描述了发明的若干优选实施例，但如前所述，应当理解发明并非局限于本文所披露的形式，不应看作是对其他实施例的排除，而可用于各种其他组合、修改和环境，并能够在本文所述发明构想范围内，通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离发明的精神和范围，则都应在发明所附权利要求的保护范围内。