

一种刺五加复方组合物及其应用

技术领域

本发明涉及一种中药复方组合物，具体涉及一种刺五加复方组合物及其应用。

背景技术

应激是动物机体受到一切不利因素的刺激时所引起的应答性反应，即应激综合征。外界很多因素都能引起应激，例如运输、过热过冷、缺乏营养、气体、精神紧张等，其中运输是最为重要的应激源之一。现如今，畜禽养殖方式多为集约化养殖，集约化养殖在进出养殖场、转群、集中屠宰前都需要运输，从而不可避免的会产生运输应激。运输应激是指在运输途中的环境变化、禁水禁食、运输过程的颠簸及人为造成的压力等多种因素的作用下，机体做出的适应性反应和防御性反应，当机体不能抵抗应激带来的影响时，就会出现亚健康、疾病甚至死亡。目前，因为运输应激而引发的畜禽疾病、致残或死亡所造成的经济损失非常巨大。

镇静剂、电解质和氨基酸被作为缓解运输应激的主要治疗方式，但是，化学合成药物副作用大、药物残留、耐药性等问题极大影响动物健康及畜禽产品的安全性，而传统中药处方制剂具有低残留、低副作用、无污染、不引发药源性疾病的特点，且价格便宜，产品易得。因此，找寻适宜的中药抗应激药物，不但可以保证畜禽健康，而且对于发展中国传统中药具有十分重要的意义。

发明内容

针对现有技术存在的问题，本发明提供一种刺五加复方组合物及其应用。

本发明的技术方案为：

第一方面，本发明提供一种刺五加复方组合物，按照重量份组成包括：刺五加 4~6 份，广藿香油 0.05~0.1 份，茯苓 1~3 份。

优选地，所述组合物还包括维生素 C 0.03~0.07 份，维生素 E 0.03~0.07 份。

第二方面，本发明提供上述组合物在制备动物抗应激药物中的应用。

第三方面，本发明提供一种刺五加复方颗粒，按照有效成分在颗粒中重量含量的组成包括：刺五加 4~6g/kg、广藿香油 0.05~0.1g/kg、茯苓 1~3g/kg、吡啶羧酸铬 0.1~0.3mg/kg、葡萄糖 30~50g/kg、柠檬酸钾 0.1~0.2g/kg。

优选地，所述颗粒还包括：维生素 C 30~70mg/kg、维生素 E 30~70mg/kg。

第四方面，本发明提供上述刺五加复方颗粒的制备方法，包括以下步骤：

- (1) 按照刺五加复方颗粒的有效成分在颗粒中重量含量的组成配料；
- (2) 将刺五加和茯苓用水浸润，加入 40% (v/v) 的乙醇溶液浸提多次，获得的浸提液浓缩后获得浸膏；
- (3) 将浸膏与广藿香油、葡萄糖混匀后加入剩余原料进一步混匀，湿法制粒，然后烘干，即得。

第五方面，本发明提供上述刺五加复方颗粒在缓解动物运输应激中的应用。

进一步地，所述应用方法包括：在运输前按照 300~500mg/kg 的量将复方刺五加颗粒添加到动物饲料中，喂养至少 21 天。

优选地，在运输前按照 500mg/kg 的量将复方刺五加颗粒添加到动物饲料中。

进一步地，所述动物为乌骨鸡。

本发明的有益效果为：

本发明采用刺五加、广藿香油和茯苓配伍制备中药组合物并应用于缓解动物运输应激，其中刺五加富含有机酸、氨基酸和微量元素等多种营养物质和多糖、黄酮等生物活性物质，具有增强免疫、抗氧化、抗炎、抗疲劳、抗肿瘤等多种药理作用；广藿香能化湿、解暑、止呕；茯苓有镇静作用，强心作用。动

物实验表明在日粮中适当添加复方刺五加颗粒可以促进乌骨鸡生长性能，改善代谢水平和抗氧化功能，缓解运输应激对乌骨鸡的影响。因此，该复方制剂为动物临床抗运输应激提供了一些参考。

具体实施方式

本发明实施例中总抗氧化能力（T-AOC）、总蛋白（TP）、总超氧化物歧化酶（T-SOD）、谷胱甘肽（GSH）、丙二醛（MDA）测定试剂盒，均购自南京建成工程生物研究所。

本发明实施中主要仪器设备为：YP202N 电子天平（上海青海仪器有限公司），BC-2800Vet 全自动血细胞分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司）、DNM-9602G 酶标分析仪（北京普朗新技术有限公司）、RM2235 石蜡切片机（徕卡微系统有限公司）、CX22 光学显微镜（日本奥林巴斯）等。

此外，在本发明的描述中，需要说明的是，实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

下面结合具体的实施例对本发明做进一步详细说明，所述是对本发明的解释而不是限定。

实施例 1

本实施例提供一种刺五加复方组合物，按照重量份组成包括：刺五加 4~6 份，广藿香油 0.05~0.1 份，茯苓 1~3 份。现有应用于畜牧饲料的中药配方成分大多非常复杂，导致配制好的中药味道非常怪异，用于畜牧饲料添加剂时存在严重的适口性问题，反倒不能解决实际问题。本发明的组合物只采用三种中药成分进行复配应用于制备动物抗应激药物。此外，所述组合物优选地还包括维生素 C 0.03~0.07 份，维生素 E 0.03~0.07 份。

实施例 2

说明书

本实施例提供一种刺五加复方颗粒的组成，按照有效成分在颗粒中重量含量的组成包括：刺五加（5g/kg）、广藿香油（0.096g/kg）、茯苓（1g/kg）、吡啶羧酸铬（0.2mg/kg）、维生素 C（50 mg/kg）、维生素 E（50mg/kg）、葡萄糖（30~50 g/kg）、柠檬酸钾（0.17 g/kg）。制备方法包括以下步骤：

- （1）按照刺五加复方颗粒的有效成分在颗粒中重量含量的组成配料；
- （2）将刺五加和茯苓用水浸润，加入 40%（v/v）的乙醇溶液浸提多次，获得的浸提液浓缩后获得浸膏；
- （3）将浸膏与广藿香油、葡萄糖混匀后加入剩余原料进一步混匀，湿法制粒，然后烘干，即得。

实施例 2

将实施例 2 的复方刺五加颗粒用于动物运输应激的考察，具体过程如下：

1、试验方法

1.1 试验动物饲养及管理

240 只健康、体重状况相似的 1 日龄乌骨鸡雏鸡（ 46 ± 0.5 g）（由四川丰岩牧野农业发展有限公司提供）。网架常规饲养，饲养温度（ 35 ± 2 ）℃，相对湿度 50-60 %。

1.2 试验分组及运输处理

试验设计采用完全随机设计，单因子对照试验。选用 240 只 1d 天府乌骨鸡，随机分为 4 组，每组 60 只，每组 4 个重复，每个重复 15 只。空白对照组饲喂基础饲料；低剂量组饲喂按照 300 mg/kg 添加的复方刺五加颗粒的饲料；中剂量组饲喂按照 400 mg/kg 添加的复方刺五加颗粒的饲料；高剂量组饲喂按照 500 mg/kg 添加的复方刺五加颗粒的饲料（如表 1 所示），试验共计 21 d，基础日粮组成及营养水平见表 2。

试验第 21 d，各组随机选取 16 只鸡装载在转运笼中（750 mm × 550 mm × 270 mm），每个笼子装 8 只鸡。试验期在秋季，试验当天的室外环境平均温度为

说 明 书

18 ℃，运输过程中车内平均温度为 20 ℃，当天空气质量优。家禽运输车在公路(包括红绿灯路口和颠簸路段)上以 80 km/h 左右的车速进行 2 h 的道路运输，期间包括缓停、急刹、启动、转弯和调头等，与生产实践中道路运输过程尽可能相近。运输结束后即刻解剖采样。

表 1 试验动物分组与给药情况

项目	试验鸡数	给药方法
空白对照组	60 只	饲喂基础日粮
低剂量组	60 只	低剂量组饲喂添加 300 mg/kg 复方刺五加颗粒的饲料
中剂量组	60 只	中剂量组饲喂添加 400 mg/kg 复方刺五加颗粒的饲料
高剂量组	60 只	高剂量组饲喂添加 500 mg/kg 复方刺五加颗粒的饲料

表 2 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

原料组成 (%)	1-21d	营养水平 (计算值) ²	1-21d
玉米	55.97	代谢能 (MJ/kg)	12.60
大豆粕	26.03	粗蛋白质 (%)	21.50
次粉	5.00	钙 (%)	0.95
玉米蛋白粉	3.00	总磷 (%)	0.67
鱼粉	3.00	有效磷 (%)	0.45
大豆油	2.00	赖氨酸 (%)	1.10
复合预混料 ¹	5.00	蛋氨酸 (%)	0.50
合计	100.00		

注：1.预混料为每千克饲料提供 VA 10000 IU、维生素 D₃ 2500 IU、VE 0.025 g、VK₃ 0.005 g、VB₁ 0.0025 g、VB₂0.0075g、VB₆ 0.005 g、VB₁₂ 0.025 mg、烟酸 0.05 g、D-泛酸 0.015 g、叶酸 0.0015 g、生物素 0.1375 mg、Cu 0.0064g、Fe 0.09g、Zn 0.07 g、Mn 0.106 g、I 0.8 mg、Se 0.3 mg；2.营养水平为计算值。

试验第 21 d，各组随机选取 16 只鸡装载在转运笼中(750 mm × 550 mm ×

270 mm), 每个笼子装 8 只鸡。试验期在秋季, 试验当天的室外环境平均温度为 18 ℃, 运输过程中车内平均温度为 20 ℃, 当天空气质量优。家禽运输车在公路(包括红绿灯路口和颠簸路段)上以 80 km/h 左右的车速进行 2 h 的道路运输, 期间包括缓停、急刹、启动、转弯和调头等, 与生产实践中道路运输过程尽可能相近。运输结束后即刻解剖采样。

1.3 生长性能的测定

每天观察鸡的健康状况、生长情况和死亡情况, 及时结算饲粮, 以便将死亡鸡的饲粮消耗剔除。于雏鸡 1、7、14、21d 时, 每次 09:00 之前以重复单位空腹称重, 统计各阶段试验雏鸡的平均体重、平均日采食量、平均日增重及料重比。

平均体重(BW, g)=总体重/试验鸡数;

平均日增重(ADG, g)=增重/(试验天数×试验鸡数);

平均日采食量(ADFI, g)=饲料消耗量/(试验天数×试验鸡数);

料重比(F/G) =饲料消耗量/增重。

1.4 脏器指数及体重变化的测定

于雏鸡 21d 时, 运输前、后, 每个重复各选 2 只鸡, 每组 8 只鸡, 称重后静脉放血致死, 取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏, 滤纸吸干水分后, 剥离脂肪和无关组织, 电子天平称重。根据鸡体重, 计算鸡的器官指数。

脏器指数 (g/kg) =器官鲜重 (g) ×100/活体重 (g)

于运输前、后各个重复所有鸡只称重, 以计算运输前后平均体重变化。

1.5 样本的采集与处理

于雏鸡 21d 时, 运输前、后每个重复各选 2 只鸡, 每组 8 只鸡, 对雏鸡进行静脉采血 2 ml, 将血液收集至真空收集管, 室温静置 1 h 后离心收集血清, 保存于-80℃冰箱备用; 取血后处死动物, 迅速分离取下肝脏组织用液氮速冻, 保存于-80℃冰箱中备用。

1.6 血清生化指标检测

将此前保存于-80℃冰箱中的血清样本取出，采用微板法测定血清中钙（Ca）的含量，采用磷钼酸法测定血清中磷（P）的含量，采用葡萄糖氧化法测定血清中葡萄糖（Glu）的含量。

1.7 肝脏抗氧化指标检测

将此前保存于-80℃冰箱中的肝组织取出，在冰盒上研磨后取样进行肝脏中还原性谷胱甘肽（GSH）、总超氧化物歧化酶（T-SOD）、总抗氧化能力（T-AOC）、丙二醛（MDA）等指标的检测。采用 HE 染色评估肝脏组织病理变化。

1.8 统计学处理

采用 Excel 2010 对数据进行初步处理，SPSS23.0 软件进行多重比较分析，结果用“平均值±标准差”表示，以 $P<0.05$ 作为差异显著性。

2、试验结果

2.1 复方刺五加颗粒对乌骨鸡生长性能的影响

由表 3 可知，空白组与各试验组的平均体重和平均日增重差异不显著（ $P>0.05$ ）。与空白组相比，1~7d 和 1~21d 时，各试验组的平均日采食量均显著下降（ $P<0.05$ ）；8~14d 和 15~21d 时，低剂量组的平均日采食量显著下降（ $P<0.05$ ）。与空白组相比，1~7d 时，各试验组的料重比均显著下降（ $P<0.05$ ）；1~21d 时，各试验组的料重比均下降（ $P>0.05$ ）。

表 3 复方刺五加颗粒对乌骨鸡生长性能的影响

项目	时间	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
平均体重（g）	1d	46.07±0.39	46.33±0.20	46.20±0.10	46.50±0.36
	7d	86.95±0.60	87.85±0.64	86.80±0.61	87.60±0.77
	14d	163.86±0.80	165.74±0.67	162.99±1.21	164.45±1.14
	21d	263.47±7.23	259.32±4.30	263.67±9.93	256.08±0.68
平均日	1~7d	5.84±0.05	5.93±0.12	5.80±0.07	5.87±0.15

说明书

增重(g)	8~14d	10.99±0.05	11.13±0.03	10.88±0.42	10.98±0.32
	15~21d	14.23±0.97	13.37±0.60	14.38±1.56	13.09±0.25
	1~21d	10.35±0.33	10.14±0.20	10.36±0.81	9.98±0.03
平均日	1~7d	14.35±0.08 ^a	12.84±0.07 ^b	11.0±0.09 ^c	10.91±0.02 ^c
采食量	8~14d	22.66±0.13 ^a	20.97±0.25 ^b	22.44±0.07 ^a	21.97±0.40 ^a
(g)	15~21d	37.04±0.06 ^a	34.62±0.20 ^b	37.30±0.08 ^a	36.75±0.47 ^a
	1~21d	345.49±0.91 ^a	319.34±1.54 ^c	330.44±0.62 ^b	324.97±4.01 ^{bc}
	1~7d	2.45±0.02 ^a	2.17±0.02 ^b	1.91±0.04 ^c	1.86±0.05 ^c
料重比	8~14d	2.06±0.01 ^a	1.88±0.04 ^{ab}	2.06±0.04 ^a	2.00±0.07 ^{ab}
	15~21d	2.63±0.19	2.60±0.11	2.66±0.31	2.81±0.31
	1~21d	2.39±0.07	2.25±0.04	2.29±0.11	2.33±0.03

注：同行相同字母差异不显著 $P>0.05$ ，不同字母差异显著 $P<0.05$ ，下同。

2.2 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡脏器指数及体重变化的影响

由表 4 可知，运输后的空白组和低剂量组平均体重比运输前空白组的有显著下降 ($P<0.05$)，而中剂量组和高剂量组的平均体重在运输前后变化不显著 ($P>0.05$)。运输前后，各组的心脏指数变化差异不显著 ($P>0.05$)。运输前后，各组的肝脏指数变化差异不显著 ($P>0.05$)。运输前后，各组的脾脏指数变化差异不显著 ($P>0.05$)。运输前后，各组的肺脏指数变化差异不显著 ($P>0.05$)。试验结果说明复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡脏器指数影响不大。

表 4 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡脏器指数的影响

项目	0h				2h			
	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
平均	261.16±1	262.65±	262.40±	260.80±2	255.60±	257.12±0	260.02±	261.59±2
体重	.25 ^{ab}	1.12 ^a	1.31 ^a	.42 ^{ac}	1.33 ^c	.80 ^{bc}	0.62 ^a	.03 ^{ab}
(g)								
心	8.46±0.3	8.71±0.4	8.96±0.8	9.12±0.1	8.50±0.6	8.53±0.1	8.65±0.2	8.25±0.1

说明书

(g/k g)	6	2	1	5	0	9	6	4
肝	30.13±2.	32.91±1.	29.31±0.	33.96±2.	32.60±1.	29.61±0.	32.00±1.	31.62±1.
(g/k g)	29	82	76	39	88	81	38	14
脾	1.40±0.0	1.54±0.1	1.42±0.0	1.38±0.0	1.41±0.1	1.50±0.0	1.23±0.0	1.44±0.1
(g/k g)	4	3	5	4	7	5	4	6
肺	6.70±0.0	7.40±0.5	7.32±0.5	6.73±0.3	6.73±0.5	6.73±0.5	6.47±0.2	6.28±0.3
(g/k g)	3	4	5	9	5	1	0	5
肾	9.68±0.2	9.95±0.4	9.62±0.5	8.97±0.5	9.81±0.2	9.26±0.6	8.89±0.5	9.28±0.6
(g/k g)	1	7	7	2	3	7	1	2

注：同行相同字母差异不显著 $P>0.05$ ，不同字母差异显著 $P<0.05$ ，下同。

2.3 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡血清生化指标的影响

由表 5 可知，运输应激会造成空白组血清 Ca^{2+} 浓度显著下降 ($P<0.05$)；运输后的低、中、高剂量组比空白组的血清 Ca^{2+} 浓度下降，且低剂量组变化显著 ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒有利于缓解运输应激造成的血清 Ca^{2+} 浓度的变化。运输应激会造成血清 GLU 含量显著下降 ($P<0.05$)；运输后的低剂量组比空白组的血清 GLU 含量显著上升 ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒有利于缓解运输应激造成的血清 GLU 含量的变化。运输前后，各组血清 P 含量变化不大 ($P>0.05$)。运输应激会造成空白组血清 LDH 水平显著上升 ($P<0.05$)，运输后的低、中、高剂量组比空白组的血清 LDH 水平下降不显著 ($P>0.05$)。

说明书

表 5 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡血清生化指标的影响

项目	运输前				运输后			
	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
Ca ²⁺ (mmol/L)	2.36±0.03 ab	2.31±0.05 ^a bc	2.29±0.04 abc	2.29±0.05 abc	2.14±0.04 c	2.43±0.10 a	2.19±0.04 bc	2.22±0.06 ^b c
GLU (mmol/L)	13.06±0.3 0 ^a	13.87±0.09 a	13.64±0.4 4 ^a	13.11±0.3 9 ^a	11.93±0.5 2 ^b	13.09±0.3 0 ^a	11.96±0.3 5 ^b	11.75±0.37 b
P (mmol/L)	2.28±0.04	2.29±0.08	2.21±0.06	2.08±0.09	2.27±0.06	2.25±0.04	2.21±0.11	2.30±0.08
LDH (U/L)	1358.32± 92.62 ^b	1472.10±1 95.70 ^{ab}	1405.50± 83.53 ^b	141018±1 22.84 ^b	1694.08± 75.11 ^a	1688.51± 38.33 ^a	1588.97±9 8.22 ^{ab}	1548.93±1 03.74 ^{ab}

2.4 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡肝脏抗氧化指标的影响

由表 6 可知，运输应激会造成空白组肝脏 GSH 含量显著下降 ($P<0.05$)。与运输后的空白组相比，各试验组的肝脏 GSH 含量均上升，且高剂量组显著上升了 6.40% ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒能缓解运输应激造成的肝脏 GSH 含量下降，且高剂量组效果最佳。运输应激会造成空白组肝脏 MDA 含量显著上升 ($P<0.05$)。与运输后的空白组相比，各试验组肝脏 MDA 含量均下降，且中、高剂量组显著下降 ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒能缓解运输应激造成的肝脏 MDA 含量上升，且高剂量组效果最佳。运输应激会造成空白组肝脏 T-AOC 水平均显著下降 ($P<0.05$)。与运输后的空白组相比，各试验组肝脏 T-AOC 含量均上升，中、高剂量组显著上升 ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒

说 明 书

能缓解运输应激造成的肝脏 T-AOC 水平下降，且高剂量组效果最佳。运输应激会造成空白组肝脏 SOD 含量均显著下降 ($P<0.05$)。与运输后的空白组相比，各试验组肝脏 SOD 含量均上升，高剂量组显著上升 ($P<0.05$)。说明复方刺五加颗粒能缓解运输应激造成的肝脏 SOD 含量下降，且高剂量组效果最佳。

表 6 复方刺五加颗粒对运输前后乌骨鸡肝脏抗氧化指标的影响

项目	运输前				运输后			
	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	空白组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
GSH($\mu\text{mol/mg prot}$)	180.45 \pm 3.38 ^a	180.22 \pm 3.32 ^a	178.60 \pm 1.12 ^a	179.01 \pm 3.95 ^a	166.41 \pm 3.77 ^b	172.41 \pm 2.23 ^{ab}	171.75 \pm 3.16 ^{ab}	177.06 \pm 1.78 ^a
MDA(nmol/mg prot)	4.17 \pm 0.10 ^{cd}	4.22 \pm 0.13 ^{cd}	4.00 \pm 0.07 ^d	4.13 \pm 0.09 ^d	5.26 \pm 0.12 ^a	4.96 \pm 0.09 ^{ab}	4.78 \pm 0.14 ^{bc}	4.47 \pm 0.10 ^c
T-AOC(U/mg prot)	6.80 \pm 0.10 ^a	6.83 \pm 0.21 ^a	6.64 \pm 0.31 ^a	6.73 \pm 0.13 ^a	6.13 \pm 0.08 ^b	6.36 \pm 0.2 ^{ab}	6.69 \pm 0.17 ^a	6.65 \pm 0.12 ^a
SOD(U/mg prot)	2.90 \pm 0.05 ^a	2.82 \pm 0.12 ^a	2.86 \pm 0.04 ^a	2.79 \pm 0.04 ^{ab}	2.36 \pm 0.06 ^c	2.41 \pm 0.03 ^c	2.51 \pm 0.07 ^{bc}	2.61 \pm 0.04 ^b

综上，本发明的刺五加复方颗粒能降低乌骨鸡的料重比，但对平均日增重影响不大，不排除与选用鸡的品种、以及添加的剂量有关，需要进一步研究确定。并且该刺五加复方颗粒对乌骨鸡心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏的脏器指数无明显影响，说明刺五加复方颗粒对乌骨鸡无明显负面作用。本研究还发现，运输应激会造成肝脏T-AOC、SOD、GSH含量下降，MDA含量上升，即运输应激降低了乌骨鸡肝脏的抗氧化能力。而使用本发明的复方刺五加颗粒可以缓解

运输应激造成的氧化应激，使钙离子保持稳态。因此，在日粮中适当添加复方刺五加颗粒可以促进乌骨鸡生长性能，改善代谢水平和抗氧化功能，缓解运输应激对乌骨鸡的影响。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。