

防治母畜子宫内膜炎新药宫炎清的研制

夏安庆¹ 董漓波¹ 曾振灵¹ 林绍荣¹
叶启薇¹ 冯淇辉¹ 李江中² 王奎堂² 邓慧敏²
(1 华南农业大学兽医系, 2 华南农业大学基础部)

摘要 宫炎清为甲酚磺酸与甲醛的缩合产物。本品采用混合甲酚为原料,经硫酸磺化,然后再与甲醛缩合而成。抗菌试验证明,宫炎清对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、溶血性链球菌、变形杆菌等有较好的抗菌作用。对奶牛急慢性子宫内膜炎有较满意的治疗效果。经分析测定,本品质量稳定;毒副作用较小,小白鼠1次经口内服 LD₅₀为 698.2 mg/kg,以 4%宫炎清溶液冲洗母兔子宫,对母兔受孕、活产、仔兔出生成活率及子宫组织无不良影响。

关键词 宫炎清;甲酚磺酸与甲醛缩合物;合成;子宫内膜炎;

中图分类号 S799.1

子宫内膜炎是引起奶牛不孕及母猪泌乳减少、受胎率降低的重要原因之一,对奶牛和养猪业影响颇大。瞿自明等^[7]对我国 16 个城市 41 个奶牛场调查,发现子宫内膜炎病牛占不孕牛的 68.34%,可见此病带来的损失是很严重的。

防治子宫内膜炎药物虽多,但防治效果尚不满意。70 年代末, Cilianu Bibian Stefan Paul, et al. 介绍了间位甲酚磺酸及混合甲酚磺酸和甲醛的缩合产物等二种消毒防腐药(CA, 1979.90:109805a; CA, 1980,92:41572f), 80 年代初,联邦德国 BYK Gulden 药厂向我国介绍了消炎新药露它净(即间位甲酚磺酸和甲醛缩合物),经广东、浙江等地试验,认为对奶牛子宫内膜炎有较好的防治效果^[6,8]。该药已于 1987 年在我国登记注册。

鉴于奶牛及母猪子宫内膜炎在我国造成的经济损失比较严重,根据国内化工原料实际情况,我们选用价廉易得的混合甲酚为原料,硫酸为磺化剂,研制出质量稳定的宫炎清(甲酚磺酸与甲醛的缩合物)浓缩液。产品经药理^[4]、毒理^[5]及分析测定后,从 1986 年 7 月至 1992 年 6 月。先后在广东、江苏、浙江、陕西、河南、云南、河北等省对奶牛、母猪子宫内膜炎进行了防治试验,取得较满意的防治效果^[1~3]。它的推广应用,将为奶牛业和养猪业的发展作出贡献。

1 材料与方法

1.1 合成材料与方法

1.1.1 合成材料 混合甲酚、硫酸、甲醛、苯、氢氧化钡(均为化学纯试剂)。

1.1.2 合成方法 取混合甲酚适量,置三口圆底烧瓶中,装上搅拌器、温度计及盛有适量硫

• 本文为高等学校博士学科点基金资助项目

1993-03-08 收稿

酸的分液漏斗,在搅拌下滴加硫酸,反应结束后将反应液倾至盛有适量去离子水的烧杯中,搅拌均匀,放冷后转移至分液漏斗中,以适量苯萃取数次,苯萃取后的水溶液加适量甲醛,在适宜温度下反应一定时间,将已反应的溶液在搅拌下加入氢氧化钡,至全部除去溶液中过量硫酸为止。离心、过滤,即得红棕色宫炎清溶液。

1.2 分析测定材料与方法

1.2.1 测试仪器 DDS-11A型电导率仪,电磁搅拌器,Beckman DU-7型紫外分光光度计,超级恒温水浴箱,标准温度计(精确度 $1/10^{\circ}\text{C}$)

1.2.2 甲酚磺酸测定 将甲酚磺酸水溶液稀释成4种不同浓度(取0.9 mL,1 mL,1.1 mL,1.2 mL稀释成200 mL),分别进行如下测定:取25 mL稀释液于100 mL烧杯中,在电磁搅拌下滴入0.1004 mol/L氢氧化钠标准液,用电导率仪测定电导率值,作电导率值对氢氧化钠体积图,根据滴定甲酚磺酸分子中酚羟基所耗氢氧化钠的体积,计算甲酚磺酸的含量。

1.2.3 宫炎清含量测定 取约0.6 g样品,精密称定,置1000 mL容量瓶中定容,摇匀,精密量取10 mL,置100 mL容量瓶中定容,摇匀,以水为空白,在 $283\text{ nm}\pm 1$ 波长处测定吸光度,按 $E_{1\%}^{1\text{cm}}$ 为95计算。

1.2.4 宫炎清蒸发残留物测定 取约2 g样品,精密称定。置以五氧化二磷为干燥剂的真空干燥箱中,在 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$,负压98.642 Kpa条件下干燥至恒重。

1.2.5 宫炎清稳定性测定 取宫炎清100 mL置250 mL圆底烧瓶中,精密称取约0.6 g,按上述宫炎清含量测定方法进行含量测定,然后将烧瓶装上冷凝管后置超级恒温水浴中,从水浴温度 24°C 开始升温,开始时每分钟升 $0.2\sim 0.25^{\circ}\text{C}$,测定近结束时,平均每分钟升 0.05°C ,每隔30 min吸取样品约0.6 g,精密称定后立即按上法进行含量测定,一直升温至 70°C 为止,试验共进行7 h。

1.2.6 宫炎清含量测定的标准曲线、线性范围及回收率测定 取宫炎清样品10个,重量在0.4~0.9 g之间。精密称定,按含量测定方法测定其不同浓度A值,将A值与浓度以非线性最小二乘法作直线回归,制成标准曲线。

1.3 抗菌试验材料与方法

用试管两倍稀释法测定宫炎清和露它净对大肠杆菌 $O_{157}B_7$ 、金黄色葡萄球菌、变形杆菌、绿脓杆菌等常见病原菌的最小抑菌浓度^[4]。

1.4 临床试验材料与方法

1.4.1 奶牛子宫内膜炎治疗试验 制订统一的治疗方案后,分别由江苏农学院、西北农业大学、河南农业大学、浙江农业大学、华南农业大学等单位在当地选择患急慢性子宫内膜炎病牛共130头,进行防治试验^[1~3]。

1.4.2 母猪产后子宫内膜炎治疗试验

1.4.2.1 病例选择及其诊断要点 对本省6个猪场选择产后子宫内膜炎病例61头,其诊断要点为:母猪分娩时有难产、流产、死胎等,产后1周内阴门排出脓性分泌物,部分患猪体温 40°C 左右,食欲及泌乳下降。

1.4.2.2 药品及其使用方法 取宫炎清4 mL,加96 mL蒸馏水,搅匀,输入母猪子宫内,灌注后适当按摩,每天1次,2次为1疗程,间隔5天,必要时再进行下1疗程。

1.4.2.3 临床治愈判定标准 灌注1~2个疗程后,精神、食欲好转至发情期或下一个情期

阴门未见有脓性分泌物排出,受胎率正常。

1.5 毒性试验材料与方法

用寇氏法测定了小白鼠口服宫炎清的 LD_{50} 。并测定其对母兔子宫刺激性、生殖功能的影响及对兔眼结膜和皮肤的刺激性^[5]。

2 结果

2.1 甲酚磺酸测定结果见表1

表1 不同浓度甲酚磺酸溶液电导滴定结果

样品浓度 (mL)	酚羟基耗 NaOH(mL)	酚羟基含量 (摩尔数/mL)	平均值 ±标准差	甲酚磺酸 (mg/mL)	平均值 ±标准差
0.9:200	2.95	2.63	2.61±0.02	494	489±3.5
1:200	3.24	2.60		488	
1.1:200	3.55	2.59		486	
1.2:200	3.88	2.60		488	

2.2 合成收率、蒸发残留物及含量测定结果见表2

表2 合成收率、蒸发残留物及含量测定结果

批号	甲酚(mL)	宫炎清(mL)	蒸发残留物(w/w%)	含量(%)
909014	1000	2700	39.41	37.69
909018	1000	2900	40.09	38.21
911016	1000	2650	39.21	39.50
911227	1000	2850	38.40	39.41
911230	1000	2800	39.08	37.48
平均标准差			39.24±0.41	38.46±0.95

2.3 宫炎清稳定性测定结果

经过7h,15次测定,含量基本不变,开始为38.70%,实验结束时为38.71%,说明宫炎清的降解直线是一平行于X轴方程,即斜率一样。为0,故速率常数 $K_0(24^{\circ}\text{C})$ 为0,即在室温条件下基本不降解。

2.4 宫炎清含量测定的标准曲线、线性范围及回收率测定结果见表3

将A值与浓度进行直线回归,得标准曲线方程:

$$\text{浓度}(\mu\text{g/mL}) = 108.31 \times A - 0.02 \quad (r = 0.9999)$$

表明取样量在0.3960g~0.8835g之间测定的标准曲线方程是线性的,回收率为99.27%~100.70%。

表3 标准曲线、线性范围及回收率测定结果

样品号	重量(g)	浓度($\mu\text{g/mL}$)	A 值	由标准曲线 算得浓度($\mu\text{g/mL}$)	回收率(%)
1	0.3960	15.47	0.142	15.36	99.29
2	0.4556	17.80	0.164	17.74	99.66
3	0.4950	19.33	0.179	19.37	100.21
4	0.5743	22.43	0.208	22.51	100.36
5	0.6203	24.23	0.225	24.35	100.50
6	0.6550	25.58	0.238	25.76	100.70
7	0.7072	27.62	0.254	27.49	99.53
8	0.7736	30.22	0.279	30.20	99.93
9	0.8226	32.13	0.297	32.15	100.06
10	0.8835	34.51	0.318	34.42	99.74
平均值±标准差					100.0±0.45

2.5 胃炎清与露它净抗菌试验结果见表4

表4 胃炎清与露它净最小抑菌浓度比较

	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	变形杆菌	绿脓杆菌	溶血性链球菌
胃炎清	1/80	1/160	1/80	1/160	1/160
露它净	1/80	1/80	1/80	1/160	1/160

2.6 毒性试验结果

2.6.1 胃炎清给小白鼠1次经口内服 LD_{50} 为 698.2 mg/kg。

2.6.2 4%胃炎清给母兔冲洗子宫,每天1次,连用6天,对母兔的受孕、活产、仔兔出生成活、哺乳成活等均无影响。

2.6.3 4%胃炎清对兔的皮肤、粘膜均有轻度的刺激性,能引起兔眼结膜出现轻度和中度充血,用药后4h开始出现,48h后恢复正常,对兔正常皮肤无不良影响。对损伤皮肤能引起充血、肿胀,12h出现,72h后恢复正常,与露它净相似。

2.6.4 通过光学显微镜观察,胃炎清对于子宫组织及肝、肾组织无不良影响。通过电子显微镜观察,子宫粘膜组织的细胞核皱褶及增厚程度,胃炎清与对照组相似。

2.7 临床试验结果

2.7.1 对奶牛急性子宫内膜炎治疗效果 本试验共选择病牛130头,其中治疗组113头,对照组17头。治疗组中急性子宫内膜炎28头,临床治愈23头,有效4头,无效1头,治愈率82.14%,有效率96.43%。慢性子宫内膜炎85头,临床治愈70头,有效7头,无效9头,治愈率82.35%,有效率89.14%。对照组中用生理盐水冲洗的7头(2头急性,5头慢性),仅有1头好转,未作任何处理的10头(均为慢性)无一好转。

2.7.2 对母猪产后子宫内膜炎治疗效果 治疗61头,治愈57头,治愈率93.44%。用药期

间,患猪未见异常反应。大多用药2次治愈。

3 讨论

3.1 Cilianu Bibian Stefan Paul, et al. 介绍,甲酚磺酸合成可将混合甲酚用氯磺酸在25~105℃进行磺化,但经我们反复试验,发现生成副产物较多,产物质量难以稳定,对环境污染也较大。我们改用硫酸为磺化剂,克服了以上缺点。

3.2 甲酚磺酸溶液和甲醛缩合产物的理化特性和原料比例、缩合温度、缩合时间等因素有关,生产时需要严格控制。

3.3 在抗菌试验中,当宫炎清和露它净浓度较大时,很容易凝固稀释菌液中的蛋白质而迅速沉淀,但浓度过小时,又给试验的测定带来困难,为此,我们摸索出合适浓度是25%。另外,第1管加入药液时,边滴边摇匀,并迅速吸出加到第2管,这样就可以避免由于凝固所造成的误差。

3.4 通过5个单位对113头患子宫内膜炎奶牛治疗,可以看出宫炎清有较好的治疗效果。其中10头治疗无效,多属于老龄、多胎、子宫大量蓄脓、体质较差或用宫炎清前已经用其它药物治疗无效的病例。

3.5 由于本药酸性较强,有一定刺激性,因而用药后病牛大多出现拱背、努责等症状,经3~4h后,上述现象可自行消失。此外,未发现其它副作用。

3.6 在扩大宫炎清临床试用过程中,有些单位发现它可提高奶牛受胎率,如某单位将宫炎清分别给20头产后奶牛冲洗子宫1~2次,奶牛全部发情正常,受胎率90%。未用宫炎清作冲洗的10头对照牛,发情7头,配种后受胎率仅50%。这方面的作用值得进一步扩大试验加以验证。

致谢 刘建新、李丛芬、黄波、李辉庭、黄新雄、邓锡华等参加部分合成、药理毒理试验工作,梁裕利教授协助制订治疗方案,陈玉汉教授指导电镜检查分析;西北农业大学、江苏农学院、河南农业大学、浙江农业大学、广州燕塘奶牛场、广州新洲奶牛场等单位协助进行临床治疗试验,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 吴民耀,贾文孝,张彦明,等. 宫炎清对奶牛子宫内膜炎的疗效观察. 中国兽医科技, 1990, (3): 31~32
- 2 夏安庆. 宫炎清对奶牛子宫内膜炎的疗效观察. 中国兽医科技, 1990, (2): 32~33
- 3 张朝昆,陈建华. 宫炎清对奶牛子宫内膜炎的疗效观察. 中国兽医科技, 1989, (8): 34~36
- 4 董漓波,叶启微,曾振灵,等. 宫炎清对奶牛子宫内膜炎病原菌的敏感试验. 中国兽医科技, 1992, 22(12): 31~32
- 5 董漓波,夏安庆. 宫炎清的急性毒性及对组织影响的试验. 中国兽医科技, 1992, 22(7): 33~35
- 6 舒鑫标. 用“露它净”预防和治疗奶牛子宫内膜炎. 上海畜牧兽医通讯, 1988, (4): 40
- 7 瞿自明. 奶牛子宫疾病研究概况. 中国兽医科技, 1986, (7): 23~26
- 8 露它净试验协作组. 消炎新药露它净在乳牛产科疾患中的疗效试验. 广东农业科学, 1985, (6): 34~35

STUDIES ON THE NEW VETERINARY DRUG, "GONG-YAN-QING"
FOR THE PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF ENDOMETRITIS

Xia Anqing Dong Libo Zeng Zhenling Lin Shaorong Ye Qiwei Fung Ki-Fai

(Dept. of Veterinary Medicine, South China Agr. Univ.)

Li Jiangzhou Wang Kuitang Deng Huimin

(Dept. of Basic Courses, South China Agr. Univ.)

Abstract "Gong-yan-qing" is the condensation product of cresolsulfonic acid with formaldehyde. The raw material used for the synthesis was mixed (o-, m- and p-) cresols. The mixed cresols were sulphonated by sulphuric acid, condensed with formaldehyde, and formed "Gong-yan-qing". According to qualitative and quantitative analyses, the quality of "Gong-yan-qing" was stable. "Gong-yan-qing" had relatively strong antibacterial effects on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus haemolyticus* and *Proteus* sp. Its efficacy for the treatment of acute and chronic endometritis of cows and puerperal endometritis of pigs was satisfactory. Its toxic and side effects were very low. LD₅₀ (median lethal dose) values were 698.2 mg/kg body weight in mice by oral administration. There were no adverse effects on the pregnancy, parturition, uterus tissue and also the survival rate of newborn rabbits after the uterus of the female animal was rinsed with 4% aqueous solution of "Gong-yan-qing".

Key words "Gong-yan-qing"; Condensation product of cresolsulfonic acid with formaldehyde; Endometritis