

不同剂型五苓散对磺胺氯丙嗪钠解毒功效的研究

王改玲,王明成,姜肖军,宋阿北,郭欣娅

(黄淮学院生物工程系,河南驻马店 463000)

[收稿日期] 2015-11-18 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2016)1-0047-05 [中图分类号] S853.74

[摘要] 为探究不同剂型的五苓散对磺胺氯丙嗪钠引起肾中毒的解毒功效,分别用五苓散的散剂、煎剂和可溶性粉对磺胺氯丙嗪钠中毒的小鼠进行治疗。通过观察其泌尿系统器官的组织学形态变化,以及测定治疗前后的小白鼠血清中尿素氮和肌酐的含量。结果表明:三种剂型的五苓散饲喂肾中毒小鼠3 d后,组织形态观察小鼠的肾小管上皮、输尿管、膀胱黏膜、尿道肌层等泌尿系统的组织病变均消失;血清中尿素氮和肌酐含量显著下降($P < 0.05$),并且各剂型间无显著差异,结果提示在生产中五苓散剂型的选择可依不同动物的用药习惯而定。

[关键词] 五苓散;磺胺氯丙嗪钠;剂型;解毒

Research of Different Formulations of Wuling Powder on the Detoxification Effects of Sulfachloropyrazine Sodium

WANG Gai-ling, WANG Ming-cheng, JIANG Xiao-jun, SONG A-bei, GUO Xin-ya

(Department of Bioengineering, Huanghuai University, Zhumadian, Henan 463000, China)

Abstract: To explore different formulations of Wuling powder on detoxification effects of nephrotoxicity induced by sulfachloropyrazine sodium. The mice were injected with sulfachloropyrazine sodium for establishing the renal poisoning model. Then they were treated with different formulations of Wuling powder: pulvis, extracts and soluble powder. After treatment, the histological characteristics of the urinary system were observed, urea nitrogen and creatinine levels in the serum of mice were determined. The results showed that three formulations of Wuling powder fed renal poisoning mice after 3 d, the pathological changes of renal tubular epithelial, ureter, bladder mucosa and urethra muscular tissue were disappearing. The urea nitrogen and creatinine levels in serum decreased significantly ($P < 0.05$), and no significant difference among different formulations. Therefore Wuling powder can restore the urinary tract tissue pathological changes caused by sulfanilamide chlorpromazine sodium. In practice, the choice of appropriate formulation of Wuling powder depends on different prescribing habits of animals.

Key words: Wuling powder; sulfachloropyrazine sodium; formulation; detoxification

现代医学研究证明,五苓散主要通过改善肾脏的生理状况,提高肾脏机能治疗水肿^[1],对肾中毒的解毒效果明显,受到养殖人员的青睐。然而,市场上的五苓散存在多种剂型,不同剂型是否存在疗效差异尚不明确。磺胺氯丙嗪钠(Sulfachloropyrazine Sodium)属于磺胺类抗菌药,它具有抗菌谱较广、性质稳定、使用简便、生产时不耗用粮食等优点,广泛应用于禽类球虫病的治疗。但是磺胺类药物属于弱毒类物质,一次性大剂量用药或者长期用药会损害动物的泌尿系统和造血系统,导致中毒^[2]。在实验中,可以利用磺胺氯丙嗪钠制作动物肾中毒的模型,为研究药物的解毒效果提供病例。为了解五苓散剂型变化是否会影响疗效,试验用不同剂型的五苓散对磺胺氯丙嗪钠引起的小白鼠肾中毒进行了治疗,并对疗效进行了比较研究。

1 材料

1.1 仪器设备 RE-52CS 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;130611E 酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;Leica RM2016 石蜡切片机,莱卡显微系统(上海)有限公司;5431R 高速低温离心机,艾本德(中国)有限公司;RT-25 超细粉碎机,北京燕山正德机械设备有限公司;FD-1A-50 真空冷冻干燥机,北京博奕康实验仪器有限公司;80i 双目生物显微镜,日本尼康(中国)有限公司。

1.2 试剂和药品 肌酐(Cr)试剂盒(20150815)、尿素氮(BUN)试剂盒(201500813),南京建成生物工程研究所;猪苓、泽泻、(炒)白术、茯苓、桂枝等中药原料由驻马店市启元医药有限公司提供。

1.3 试验动物与日粮配方 健康的普通级小白鼠 100 只,雌雄各半,日龄相近,体重 30~35 g。由黄淮学院生物工程实验中心动物房提供。

小白鼠日粮配方为:白面 23%,玉米面 42%,麸皮 26%,酵母粉 1%,骨粉 2%,鱼粉 3%,食盐 1%,鸡蛋 1%,鱼肝油 1%。

1.4 供试药物

1.4.1 五苓散组方 由猪苓 18.75%,泽泻 31.25%,(炒)白术 18.75%,茯苓 18.75%和桂枝 12.5%组成^[3]。

1.4.2 五苓散散剂的制备 利用超细粉碎机将五苓散的中药粉碎成 100 目的散剂。

1.4.3 五苓散煎剂的制备 将按比例配制的五苓散药方,在中药粉碎机中粉碎 4 min(细度 100 目),把五苓散煎煮 2 次。第一次煎煮:中药 1 份,水 8 份,浸泡 30 min,武火煮沸,改为文火煎煮 60 min;第二次煎煮:中药 1 份,水 6 份,武火煮沸,改为文火煎煮 45 min;合并煎液,用真空抽滤机过滤,取滤液,放到 4 ℃的冰箱中保存^[4-5]。五苓散煎剂实为五苓散粉剂的无机成分和水。

1.4.4 五苓散可溶性粉的制备 将制备好的五苓散煎剂在 -20 ℃环境中固化,放入 -55 ℃的真空冷冻干燥机中 24 h,制成可溶性粉,制成的可溶性粉移入干燥的棕色试剂瓶中,密封后放到 4 ℃的冰箱中保存^[6]。五苓散可溶性粉实为五苓散散剂的无机成分。

1.5 药物使用量计算方法 结合畜牧业生产实际,中药的治疗使用量一般为蛋鸡饲料中添加 0.4%,通过蛋鸡(1500 g)和小白鼠(35 g)间体重转换,计算出每天治疗小白鼠的五苓散散剂的使用量为 0.045 g/只,五苓散煎剂 0.34 mL/只,五苓散可溶性粉 0.0073 g/只。

2 方法

2.1 肾中毒模型的复制 为了复制出小白鼠肾中毒病理模型,每天灌服 2 mg/mL 磺胺氯丙嗪钠 0.2 mL,连续灌服 5 d。小白鼠表现出精神沉郁,被毛稀松的临床症状,剖检出现肝脏色淡,肾脏肿大的病理变化。

2.2 实验分组及给药方法 取 100 只健康、体重相近的小白鼠,随机分为五组,每组 20 只,分别为对照组、模型组、实验组 I、实验组 II、实验组 III。各组的处理方法详见表 1。

表1 各组小白鼠的处理方法

组别	是否进行肾中毒模型的复制	是否治疗	治疗所用药物	药物剂量	疗程/d
对照组	否	否			
模型组	是	否			
实验组 I	是	是	五苓散散剂	0.045 g/只	3
实验组 II	是	是	五苓散煎剂	0.34 mL/只	3
实验组 III	是	是	五苓散可溶性粉	0.0073 g/只	3

治疗药物使用后第二天 8:00~10:00, 各组小白鼠采用去眼球放血处死, 采血量 1.0~1.5 mL, 分离血清; 采集泌尿系统的组织器官, 放入福尔马林中固定。

2.3 石蜡切片的制作与染色 采集的组织样品经福尔马林固定, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 5 μm 切片, 二甲苯脱蜡、水化、苏木精染细胞核, 盐酸酒精分色, 伊红染细胞质, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜观察并拍照^[7]。

2.4 血清指标检测及数据分析 采集对照组、模型组、实验组 I、实验组 II、实验组 III 小鼠的血液, 分离血清, 利用尿素氮试剂盒和肌酐试剂盒测定各组小鼠的血清中尿素氮和肌酐含量。各组数据以平均数 \pm 标准差表示, 采用 SPSS 13.0 统计分析数据, $P < 0.05$ 为差异显著, 有统计学意义。

3 结果

3.1 临床症状 实验小鼠磺胺氯丙噁钠中毒在临床上表现为: 精神不振, 食欲减退, 饮水量减少, 嗜睡, 尿量减少, 毛发稀松等。使用五苓散散剂、五苓散煎剂和五苓散可溶性粉治疗后, 磺胺氯丙噁钠中毒症状明显减轻, 三者的治疗效果无明显差异。

3.2 病理剖检 模型组小鼠出现明显的中毒症状后, 进行剖检。中毒小鼠腹腔有积液且气味酸臭; 肾脏有出血点, 甚至出血斑; 输尿管萎缩等病理变化。在使用五苓散三种不同的剂型治疗后, 中毒小鼠的病理变化得到明显的改善, 三者的治疗效果无肉眼可见差异。

3.4 血清中尿素氮和肌酐的含量测定结果

表1 小白鼠血清中尿素氮和肌酐含量

	对照组	模型组	实验组 I	实验组 II	实验组 III
尿素氮/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	24.3 \pm 0.12 ^a	37.2 \pm 0.14 ^b	23.6 \pm 0.31 ^a	24.5 \pm 0.03 ^a	25.5 \pm 0.22 ^a
肌酐($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	0.24 \pm 0.21 ^a	1.37 \pm 0.03 ^b	0.25 \pm 0.01 ^a	0.25 \pm 0.17 ^a	0.24 \pm 0.01 ^a

标有不同字母者表示组间差异显著($P < 0.05$), 标有相同字母者表示组间差异不显著($P > 0.05$)。

3.3 病理学变化

3.3.1 肾脏的病理学变化 由图 1 可见, 模型组小鼠的肾脏出血, 肾小球病变萎缩, 肾小管管腔增大, 管腔结构不完整, 肾小管上皮细胞颗粒脱落、变性和坏死。经过不同剂型五苓散治疗的实验组病理变化不明显。

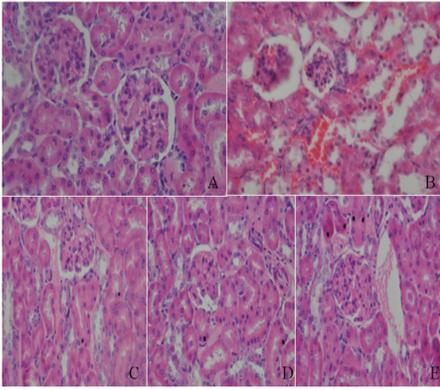
3.3.2 输尿管的病理学变化 由图 2 可见, 模型组小鼠的输尿管发生萎缩, 输尿管固有层变窄, 固有层单管腺消失。经过治疗的实验组无明显病理变化。

3.3.3 膀胱的病理学变化 由图 3、4 可见, 模型组小鼠的膀胱黏膜上皮细胞脱落, 黏膜上皮的细胞层数减少, 固有层淋巴细胞浸润。经过治疗的实验组小鼠的膀胱无明显病理变化。

3.3.4 尿道的病理学变化 由图 5、6 可见, 模型组小鼠的尿道黏膜的变移上皮细胞由扁平细胞代替, 固有层结缔组织变少, 出血; 尿道肌层出血, 核溶解。而经过治疗的实验组无明显病理变化。

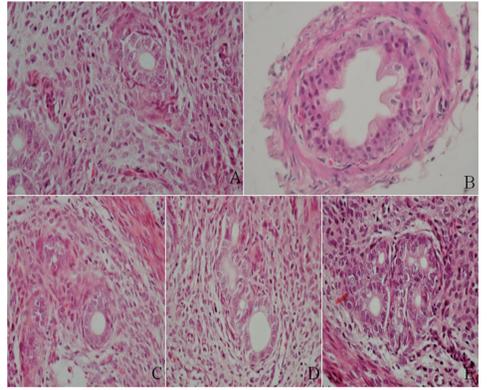
由表 1 可知, 模型组的血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)含量显著高于实验组的血清尿素氮含量($P < 0.05$), 对照组与模型组的血清尿素氮含量之间差异显著($P < 0.05$), 而实验组及对照组之间的尿素氮含量无显著差异($P > 0.05$)。

模型组的血清肌酐(creatinine, Cr)含量显著高于实验组的血清尿素氮含量($P < 0.05$), 对照组与模型组的血清肌酐含量之间差异显著($P < 0.05$), 而实验组及对照组之间的肌酐含量无显著差异($P > 0.05$)。



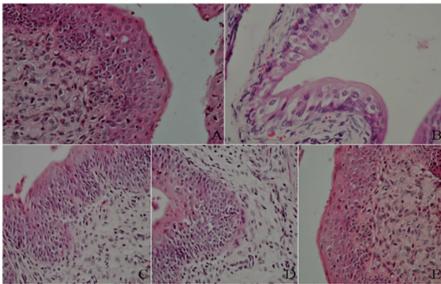
A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 1 肾脏 H·E 染色(40×)



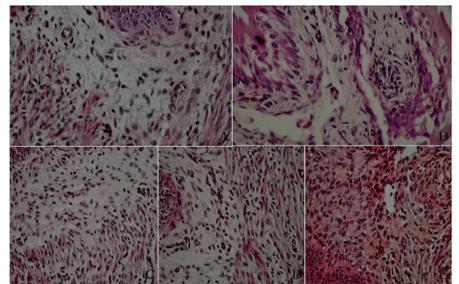
A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 2 输尿管固有层 H·E 染色(40×)



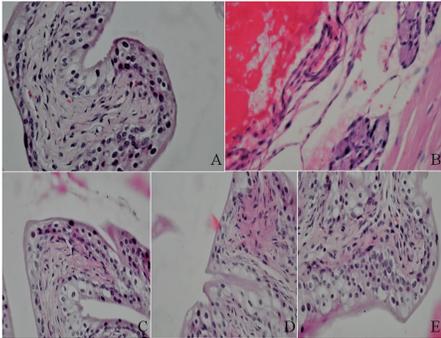
A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 3 膀胱粘膜层 H·E 染色(40×)



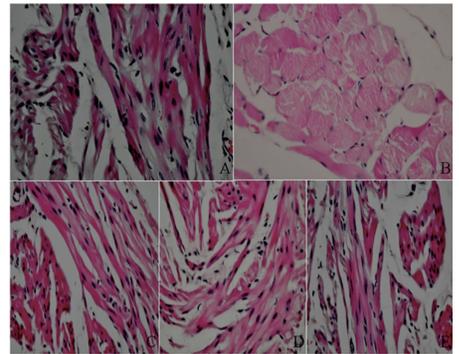
A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 4 膀胱固有层 H·E 染色(40×)



A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 5 尿道粘膜层 H·E 染色(40×)



A. 对照组;B. 模型组;C. 实验 I ;D. 实验 II ;E. 实验 III

图 6 尿道肌层 H·E 染色(40×)

4 讨论与小结

五苓散来源于《伤寒论》，是治疗化气行水的代表方剂，在临床上多用来利水溶石，解肾中毒^[3]。市场上可见散剂、煎剂和可溶性粉等剂型，因不明确剂型不同是否影响五苓散的功效，养殖人员选用五苓散时造成一定的困难。现将五苓散制成散剂、煎剂和可溶性粉，然后用不同剂型的五苓散对磺胺氯丙嗪钠引起的小白鼠肾中毒进行了治疗，通过对临床症状、泌尿系统组织学结构和血清中尿素氮、肌酐的含量进行了比较研究。临床症状和泌尿系

统组织学结构的观察结果表明，三种剂型使用 3 d 后，小白鼠肾中毒症状消失，但各剂型之间无显著差异。血清中尿素氮、肌酐的含量测定结果表明，三种剂型的五苓散饲喂肾中毒小鼠 3 d 后，血清中尿素氮和肌酐含量显著下降($P < 0.05$)，并且各剂型间无显著差异($P > 0.05$)。以上表明，五苓散散剂、煎剂和可溶性粉在治疗磺胺氯丙嗪钠引起的小白鼠肾中毒方面均有较好的疗效。

不同剂型取得了相近的疗效，可能原因：五苓散煎剂为五苓散散剂的无机成分和水，而五苓散煎

剂为五苓散散剂的无机成分,二者的有效成分没有具体的差异,必然取得相近的疗效。五苓散散剂由五苓散粉碎而成,有研究表明使用五苓散散剂可以将五苓散全部有效成分投入到小白鼠体内,发挥利水解肾中毒的作用,但因植物细胞壁的作用,使很多成分不能充分发挥作用^[9]。另外三种剂型中煎剂的吸收最快,而散剂的吸收最慢。散剂虽然将药物的所有成分都投服到了动物体内,但因吸收速度慢和成分不能完全发挥作用,出现了与煎剂、可溶性粉相近疗效。

五苓散散剂、五苓散煎剂和五苓散可溶性粉三种剂型治疗磺胺氯丙嗪钠肾中毒,有相近的疗效,故可以根据不同动物的用药习惯,选择适宜的剂型。

参考文献:

[1] 张法仁,周茂华,鲁清贵.五苓散口服液对肉鸡肾肿的防治效

果[J].中国动物保健,2012,10(14):59-60.

[2] 范理,杨文军.高效液相色谱法测定饲料中磺胺喹恶啉方法的研究[J].饲料广角,2003,(3):11-12.

[3] 汤德元,陶玉顺.实用中兽医学[M].北京:中国农业出版社,316-317.

[4] 张利.两种不同提取方法对复方中药有效成分提取效果的比较[J].黑龙江畜牧兽医.2013,(05):132-133.

[5] 李翠萍.中药汤剂煎煮的全方位药学服务[J].中国药学.2011,20(6):70-71.

[6] 宋涛.六味地黄生物制剂冻干粉制备工艺及质量标准研究[D].广州:广东药学院,2010.

[7] 杨倩.动物组织胚胎学实验教程[M].北京:中国农业大学出版社,2006.01:4-8.

[8] 余中华,赵超,贾德峰,等.仙人掌不同提取物的抑菌效果[J].热带作物学报,2008,29(2):237-242.

[9] 邓雪,叶如梅,陈桂东.中药不同剂型灌肠治疗小儿外感发热疗效观察[J].四川中医,2014,32(5):127-129.

(编辑:陈希)