



癸氧喹酯溶液在鸡体内的药动学研究

栾明娜¹, 周玉武¹, 王慧珍¹, 徐福亮¹, 孙永学², 沈祥广², 何燕²
 (1. 青岛康地恩药业有限公司, 山东 青岛 266111; 2. 华南农业大学兽医药理研究室, 广东 广州 510642)

摘要:建立了鸡血浆中癸氧喹酯的高效液相-荧光检测法。结果表明,在 0.02~10.0 μg/mL 范围内,癸氧喹酯血药浓度呈线性关系,最低检测限为 0.01 μg/mL,回收率在 84%以上,日内 RSD 小于 6.87%。试验鸡按 3 mg/kg 体重分别经口单次灌服癸氧喹酯溶液剂和癸氧喹酯原料粉,给药后 0.25~48 h 内血药浓度均低于定量限(0.02 μg/mL),无明显浓度变化曲线,无法进行药动学血药浓度-时间分析。

关键词:癸氧喹酯溶液;鸡;药动学;高效液相色谱法

中图分类号:S859.79*5 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-9157(2009)04-0003-03

在各种鸡病中,球虫病发生率最高,主要威胁 3 月龄以内的小鸡,发病率为 50%~70%,死亡率为 20%~30%,严重时高达 80%,对养禽业危害巨大^[1]。癸氧喹酯是一种喹啉类化学抗球虫药,化学名称为 6-癸氧基-7-乙氧基-4-羟基喹琳-3-羧酸乙酯,分子式为 C₂₄H₃₅NO₅,在球虫无性繁殖阶段发挥作用,癸氧喹酯进入孢子细胞后,通过干扰 DNA 合成阻止其发育^[2]。试验证明,癸氧喹酯属高效药物且没有耐药突变菌株^[3]。癸氧喹酯溶液为青岛六和药业研制而成的新兽药制剂,目前尚无药动学研究报道,本试验分析了试验鸡经口灌服癸氧喹酯溶液剂和癸氧喹酯原料粉药动学特征,为临床制定合理给药方案提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验药品与试剂

癸氧喹酯溶液剂,100 mL 规格含 3.0 g,批号 S2006001;癸氧喹酯原料粉,含量 99.6%,均由青

六和药业有限公司提供。癸氧喹酯标准品,含量 99.90%,购自美国对照品标准委员会。

乙腈、甲醇、三氯甲烷、乙酸乙酯、无水乙醇等为色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司产品;偏磷酸、硝酸钙、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾,分析纯,广州化学试剂厂;纯净水,符合 GB/T6682 规定的一级水。

1.2 试验动物与给药

40~45 日龄三黄鸡 30 只,公母各半,由广东省农科院畜牧研究所提供。饲养观察 7 d 后随机分为 2 组,每组 15 只,分别进行癸氧喹酯溶液剂和癸氧喹酯原料粉经口灌服给药的药动学试验。

根据癸氧喹酯溶液剂使用浓度(鸡,每 200 kg 饮水加 100 mL),按每只鸡每天饮水量为体重 20% 计算,灌服剂量为每天 3.0 mg 癸氧喹酯/kg·bw。使用前癸氧喹酯溶液用纯净水作 30 倍稀释,鸡称重后按剂量单次灌服。癸氧喹酯原料粉则配成混悬液后单次灌服。

[2] 杨错,刘玉兰,张红梅.肝细胞损伤机制及防治药物研究进展[J].实用药物与临床,2005,8(6):44-46.
 [3] Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation; eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients [J]. Toxicology, 2003, 89(1-2): 113-127.
 [4] Guengerich F P, Kim D H, Lwasaiki M. Role of human cytochrome P450E1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects [J]. Chemistry Research Toxicology, 1991, 4(2): 91-100.
 [5] 于洪波,戴林,彭海英,等.复方中药对大鼠高脂饮食所致脂肪性肝炎肝组织氧化和抗氧化系统的影响[J].世界华人消化杂志,2005,13(24): 2 842-2 847.
 [6] 余名泽,刘以农,葛宇杰,等.四氯化碳对大鼠肝损伤时效关系

的探讨[J].现代预防医学,2005,32(11): 1 456-1 457.
 [7] Salvemini D, Riley D P, Cuzzocrea S. SOD mimetics are coming of age. Nat Rev Drug Discov, 2002(1): 367-374.
 [8] Koruk M, Taysi S, Savas M C, et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. Acta Clinical Laboratory Science, 2004(34): 57-62.

作者简介:徐伟(1987—),男,山东临沂人,本科,动物医学专业。电话:15169884690。

通讯作者:王振勇(1966—),男,山东郓城人,副教授,硕士生导师,主要从事动物营养代谢性疾病研究。电话:0538-8242673。

[收稿日期:2009-03-05]

1.3 采样

于给药前、给药后 5 min、15 min、30min、1、2、4、6、8、10、12、24、36 和 48 h 分别经前翅静脉采取分离血管和设置留置针方式定点采血,每次 2 mL(肝素钠抗凝)。分离血浆,置-20 ℃冰箱保存,待测。

1.4 血药浓度测定

1.4.1 癸氧喹酯标准液及流动相配制

癸氧喹酯标准贮备液:称取癸氧喹酯标准品 50.05 mg,置于 50 mL 棕色容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,配制成 1 mg/mL 的癸氧喹酯标准贮备液,用前用流动相配成所需的系列浓度。

提取液:将乙醇和乙酸乙酯按体积比 5:3 混合。

硝酸钙溶液(0.20 mol/L):称取 10.0 g 硝酸钙用水溶解后,定容至 200 mL。

流动相配制:每次测定时按硝酸钙溶液:乙腈:甲醇按体积比 20:3:77 混合。

1.4.2 血浆样品预处理

预处理与色谱条件参考畜禽肉中癸氧喹酯残留量的测定-液相色谱荧光检测法(GB/T 20745-2006)^[4]并作改进。血浆样品自然解冻后摇匀,准确吸取 1 mL 血浆于 12 mL 塑料离心管中,加入提取液 4 mL,混匀后静置 30 min,旋涡混匀 30 s,6 000 r/min 离心 5 min 后,将上清液转移至 10 mL 试管中,45 ℃水浴,氮气吹干,加入 0.5 mL 流动相溶解,再以 18 000 r/min 离心 3 min 后取上清液 50 μL 至管进样瓶中,进行 HPLC 分析。

1.4.3 色谱条件及工作指标

荧光检测器:激发波长为 326 nm,发射波长为 384 nm;流动相为硝酸钙溶液:乙腈:甲醇(20:3:77);柱温 25 ℃;流速 1 mL/min;进样量为 50 μL。在上述检测条件下,测得癸氧喹酯保留时间为(10.0±

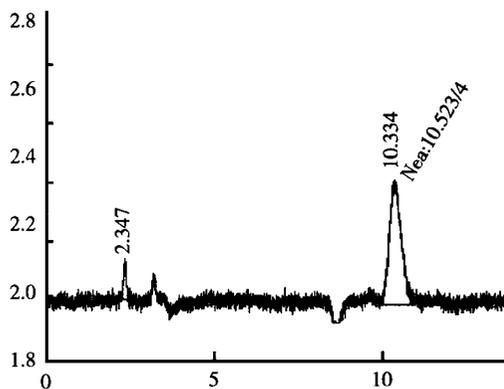


图1 癸氧喹酯标准品 HPLC 色谱图(0.1 μg/mL)

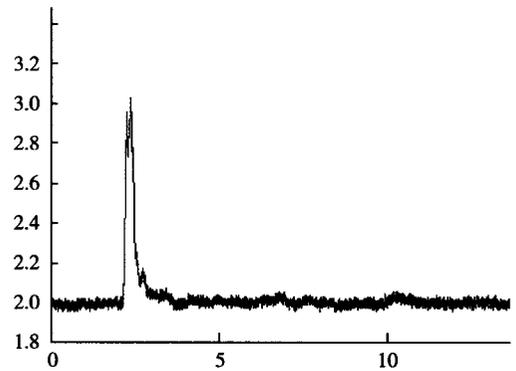


图2 鸡空白血浆色谱图

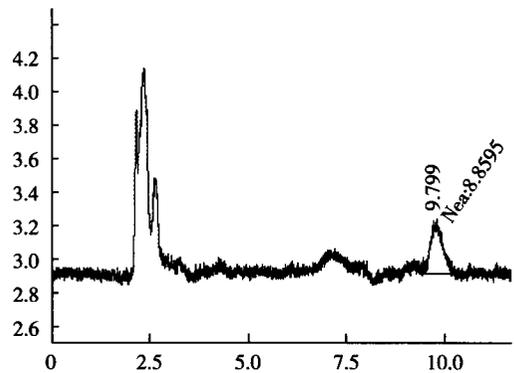


图3 鸡空白血浆添加药物(0.05 μg/mL)色谱图

0.2)min, 空白组织提取液在上述保留时间无色谱峰,结果见图1、图2和图3。

1.4.4 标准曲线和线性范围

在 7 支 12 mL 离心管中各加入 1 mL 空白血浆,除第 1 管(空白对照)外,其余各管依次加入 20 μL 系列浓度的癸氧喹酯标准液(1.0~500 μg/mL),漩涡混匀,使样品中制得的癸氧喹酯浓度为 0.02~10 μg/mL。按“血浆样品预处理”检测。分别将癸氧喹酯色谱面积(A)与相应药物浓度(C)作直线回归,

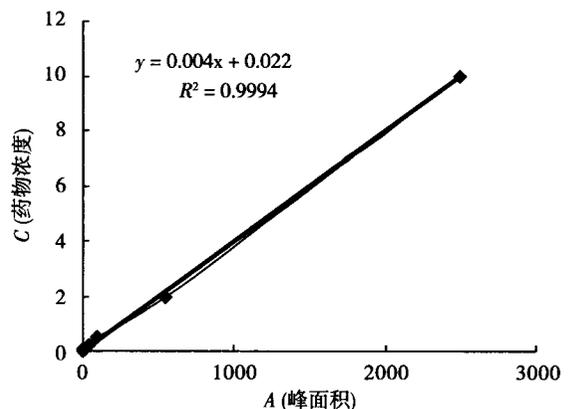


图4 癸氧喹酯标准曲线

求得癸氧喹酯标准曲线的回归方程和相关系数,重复4次。

1.4.5 回收率及变异系数的测定

取鸡空白血浆在标准曲线浓度范围内,添加癸氧喹酯标准溶液,分别制成0.02、0.5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3个浓度,按1.4.2方法预处理后进行HPLC分析。同时将0.02、0.5、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3个浓度的标准溶液直接进样,进行HPLC分析。将经过前处理的血浆样品的药物峰面积除以直接进样的药物峰面积,计算出癸氧喹酯绝对回收率。每批每个浓度平行5个重复,共做4个批次,求得各批内与批间变异系数。

1.4.6 给药后血浆药物浓度的测定

给药后各时间点血浆,按1.4.2方法处理后作HPLC分析,记录癸氧喹酯峰面积,由标准曲线回归方程换算出血浆中癸氧喹酯浓度。

1.5 数据分析处理

采用MCPKP药物动力学参数计算程序进行数据处理。由该程序自动拟合最佳药理学模型,分别算出每只鸡经口内服2种制剂的药理学参数。

2 结果

2.1 标准曲线的测定结果

癸氧喹酯标准曲线在0.02~10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内,线性关系良好, $C=0.0040A+0.022$, $r=0.9997$ 。

2.2 回收率及变异系数的测定结果

由表1可以看出,添加浓度为0.02、0.5、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的血浆样品回收率均大于84%,批内变异系数均低于6.87%,批间变异系数均低于10.27%。结果表明,该检测方法可靠,重复性好。

表1 血浆中癸氧喹酯的回收率与变异系数 %

血浆样品浓度 $/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	绝对回收率	变异系数	
		批内	批间
0.02	94.69±0.14	6.87	10.27
0.5	87.30±0.98	5.39	9.02
10.0	84.71±1.21	3.33	7.22

2.3 灵敏度

应用本试验建立的检测方法,测得癸氧喹酯在血浆中的最低检测限为0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$,定量限0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$,表明该法灵敏度高,完全能满足血浆中癸氧喹酯检测需要。

2.4 给药后血浆药物浓度测定结果

结果表明,无论是癸氧喹酯溶液剂还是癸氧喹酯原料粉经口单次内服给药后,在鸡体内的血药浓

度均很低,2种制剂在给药后5 min时均未检测到癸氧喹酯,在给药后0.25~48 h内癸氧喹酯血药浓度均低于定量限(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$),无明显浓度变化曲线,无法进行药理学血药浓度-时间分析。

3 讨论与结论

(1) 据文献^[2]报道:1967~1968年先后进行了13项试验以测定癸氧喹酯在肉鸡体内的代谢情况。所有试验以¹⁴C标记的癸氧喹酯,口服饲喂,每日2次,以4.40 mg/d的2倍和20倍剂量投喂,结果表明:用药24 h和48 h后用药剂量的90%和100%被排泄。

(2) 靶动物药代动力学研究表明,癸氧喹酯在鸡体内部分被吸收,主要通过粪便形式迅速排出,3 d后达到组织代谢高峰。在鸡血液中放射性消除半衰期为144.7 h,放射性消除的时间为7~14 d。3 d后就已检测不到^[2]。以上研究均对癸氧喹酯进行了¹⁴C标记,仍能长时间测到鸡体内血液中的放射性,这可能是存在癸氧喹酯的代谢物而非其原形药物。

(3) 本次试验血浆中癸氧喹酯的定量限为0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$,结果表明:癸氧喹酯溶液剂按3.0 mg/kg体重经口内服给药时在胃肠道中吸收很少,在给药后0.25~48 h内癸氧喹酯只有少量吸收入血,但血药浓度均在定量限(0.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$)以下,无法进行药理学分析和获得药理学参数。这为癸氧喹酯溶液在鸡体内的低残留奠定了药理学基础。

参 考 文 献

- [1] 张祝明,曾明华.鸡球虫耐药性研究进展[J].中国兽医寄生虫病,2005,14(6):25-28.
 - [2] Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the coccidiostat DECCOX in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC[J].The EFSA Journal,2003(17):1-40.
 - [3] 索勋,崔凤山,沈建忠,等.癸氧喹酯预防人工感染肉仔鸡球虫病的药效试验[J].中国兽医杂志,2002,38(10):11-13.
 - [4] GB/T 20745-2006.畜禽肉中癸氧喹酯残留量的测定-液相色谱荧光检测法[S].
 - [5] 中华人民共和国农业部.兽药药理学试验规范(试行)[Z].1992-08-25.
 - [6] 陈杖榴.兽医药理学[M].北京:中国农业出版社,2002.
- 作者简介:栾明娜(1981-),女,山东烟台人,初级药师,从事药物制剂和新兽药的质量标准研究工作。Tel:15964232566,E-mail:luanmingna88@163.com.

[收稿日期:2009-03-11]