

乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学研究

黄勇旗¹,李引乾¹,杨亚军^{1,2},苗小楼³,谢 沅¹,

白东英¹,陆晨薇¹,孙 黎¹,马宝祯¹

(1 西北农林科技大学 动物医学院,陕西 杨凌 712100;2 石家庄华牧牧业有限责任公司,河北 石家庄 050061;

3 中国农业科学院畜牧与兽药研究所,甘肃 兰州 730050)

【摘 要】 【目的】分析乙酰甲喹(Mequindox)在成年绵羊体内的药物动力学过程,为兽医临床合理用药提供理论依据。【方法】绵羊单剂量快速静脉注射乙酰甲喹 7 mg/kg,7 h 内不同时间 12 次颈静脉采血,用高效液相色谱法测定血药浓度。【结果】乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学配置符合无吸收因素一室开放模型,其药一时曲线最佳方程为: $C=10.833e^{-0.3404t}$;主要药物动力学参数:半衰期($t_{1/2}$)为(2.062 2±0.264 5) h,药一时曲线下面积(AUC)为(32.367 6±2.921 6) $\mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$,表观分布容积(V_d)为(0.642 7±0.042 9) L/kg,体清除率(CL_B)为(0.217 7±0.019 3) L/(kg·h)。【结论】乙酰甲喹在绵羊体内分布广泛,消除较快。

【关键词】 乙酰甲喹;绵羊;药物动力学

【中图分类号】 S858.26

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)02-0077-05

Studies on the pharmacokinetics of Mequindox in sheep

HUANG Yong-qi¹,LI Yin-qian¹,YANG Ya-jun^{1,2},MIAO Xiao-lou³,

XIE Yun¹,BAI Dong-ying¹,LU Chun-wei¹,SUN Li¹,MA Bao-zhen¹

(1 College of Veterinary Medicine, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shijiangzhuang Huamu Poultry Industry Co., Ltd, Shijiangzhuang, Hebei 050061, China; 3 Lanzhou Institute of Animal and Veterinary Pharmaceutics Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Lanzhou, Gansu 730050; China)

Abstract: 【Objective】 Pharmacokinetics parameters of mequindox in 6 sheep were calculated so as to provide proof to veterinary clinica. 【Method】 Six sheep were treated with a single dosage of mequindox (7 mg/kg) intravenously and rapidly, while the blood samples were collected from vein within 7 hours after giving drug. The concentrations of mequindox in serum were determined by high performance liquid chromatography(HPLC). 【Result】 The one-compartment open model with first-order disabsorption factor adequately described concentrations of mequindox in serum disposition and the best concentration-time equation was $C=10.833e^{-0.3404t}$. The primary pharmacokinetics parameters of mequindox were as follows: $t_{1/2}$ was(2.062 2±0.264 5) h, AUC was(32.367 6±2.921 6) $\mu\text{g/mL} \cdot \text{h}$, V_d was(0.642 7±0.042 9) L/kg, CL_B was(0.217 7±0.019 3) L/(kg·h). 【Conclusion】 The distribution of mequindox *in vivo* was broad, and the elimination of mequindox *in vivo* was rapid.

Key words: Mequindox; sheep; pharmacokinetics

乙酰甲喹(Mequindox),又名痢菌净,属于喹噁 啉-N-1,4-二氧化化合物的衍生物,其化学名为 3-甲

* [收稿日期] 2007-01-31

[基金项目] “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD04A05)

[作者简介] 黄勇旗(1981—),男,陕西周至人,在读硕士,主要从事兽医药理学研究。

[通讯作者] 李引乾(1962—),男,陕西岐山人,副教授,博士,主要从事兽医药理学与毒理学研究。

基-2-乙酰基喹噁啉-N-1,4-二氧化合物,是一种广谱、高效、低毒、吸收快、生物利用度高、体内分布广、维持时间长且无耐药性的抗菌药物。对革兰氏阴性菌,如大肠杆菌、巴氏杆菌、猪霍乱沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌、变形杆菌的作用较强;对某些革兰氏阳性菌,如金黄色葡萄球菌、链球菌亦有抑制作用。对猪痢疾密螺旋体的作用尤为突出^[1-3]。对喹噁啉类中的喹乙醇、喹烯酮在猪、鸡和鲤体内的药物代谢动力学研究已有报道^[4-7],但对乙酰甲喹在畜禽上的药物动力学研究鲜见报道。为此,本试验采用高效液相色谱法(HPLC)测定血药浓度,研究了乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学特征,以期兽医临床合理用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验仪器 高效液相色谱仪、125 Solvent Module 泵、C18 柱、166 紫外检测器、Golden System 操作系统,美国 BACKMAN 公司生产;1-15K 低温高速离心机,sigma 产品;80-2 离心机,上海手术器

械厂生产;QL-901 Vortex 漩涡振荡器,其林贝尔仪器制造公司生产;KQ 5200 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司生产;BS210S 型电子分析天平,德国赛多利斯(sartorius)股份公司生产。

1.1.2 试验动物 健康成年绵羊 6 只,公母各半,试验前常规饲养 1 周,临床检查健康者,即为试验用羊。给药前禁食 12 h,自由饮水。

1.1.3 供试药品 乙酰甲喹标准品,中国农业科学院中兽医研究所药厂提供,含量 99.90%,批号:20051228;乙酰甲喹原粉,中国农业科学院中兽医研究所药厂提供,含量 98.90%,批号:20051014,试验前配成注射液备用;甲醇,色谱纯,西安化学试剂厂生产,批号:060402;其他药品试剂均为分析纯或中国药典规格。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件 流动相为 V(甲醇):V(蒸馏水)=65:35,流速为 1.0 mL/min,紫外检测波长 261 nm,C18 柱,每次进样 10 μ L。在上述检测条件下,乙酰甲喹(2 μ g/mL)的保留时间为 3.5 min 左右(图 1 和图 2)。

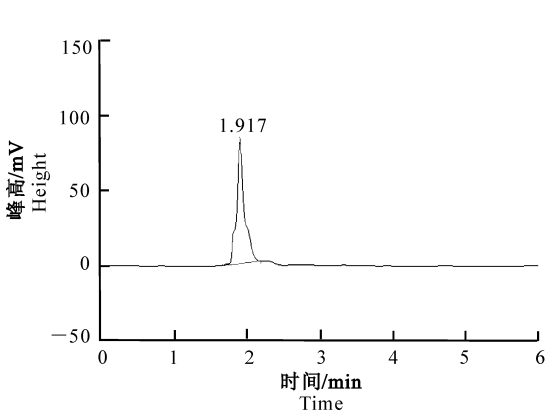


图 1 空白绵羊血清的 HPLC 色谱图

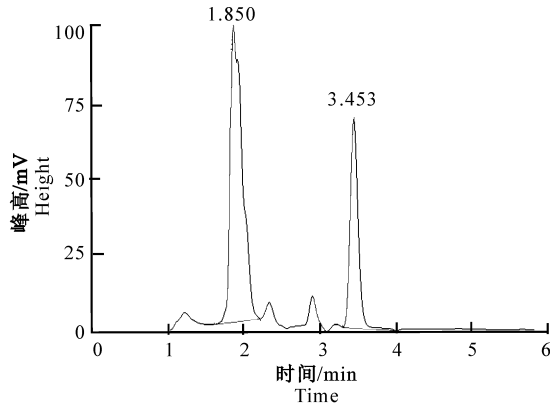


图 2 空白绵羊血样加乙酰甲喹的 HPLC 色谱图

Fig. 1 Blank serum chromatography figure of HPLC

Fig. 2 Blank serum added Mequindox chromatography figure of HPLC

1.2.2 给药方法及采血时间 给绵羊以 7 mg/kg 的剂量快速静脉注射乙酰甲喹注射液,给药前采血 5 mL 作为空白对照。分别于给药后 0.083,0.167,0.25,0.5,0.75,1,2,3,4,5,6 和 7 h 颈静脉采血各 5 mL。常规方法分离血清,置-20 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

1.2.3 血清样品的处理 取待测血清 1 mL,加入甲醇 4 mL,混匀;12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后,取 10 μ L 滤液进样分析。

1.2.4 标准曲线的绘制 分别精密称量乙酰甲喹标准品适量,配制成 25,50,100,200,400 和 800 μ g/mL 的标准液。另取 6 支离心管各加入 0.5 mL 绵羊空白血清,再向其中分别依次加入上述 10 μ L 乙酰甲喹标准液,漩涡混匀,配成如下的血药质量浓度:0.5,1,2,4,8 和 16 μ g/mL,之后按 1.2.3 中的方法处理,取 10 μ L 待测样品进样。以乙酰甲喹峰面积(Y)对标准液浓度(X)进行线性回归,制作标准曲线,确定线性范围。

1.2.5 精密度的测定 取空白血清 3 份,加入适量

乙酰甲喹标准液,配制成质量浓度分别为 0.5,1.0,5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的血清标样,血清样品按 1.2.3 中的方法处理,每个浓度平行制备 5 份。以上 3 个浓度的样品在同一天内测定,每隔 3 h 测定 1 次,计算日内精密度;将上述 3 个浓度的样品在 7 d 内隔日重复测定 4 次,计算日间精密度。

1.2.6 回收率的测定 取空白血清 3 份,加入适量乙酰甲喹标准液,配成质量浓度分别为 0.5,1.0,5.0 $\mu\text{g/mL}$ 血清标样,按 1.2.3 中的方法处理,每个浓度做 5 次重复,以添量法计算相对回收率^[8]。

1.2.7 绵羊血清中乙酰甲喹质量浓度的测定 将血清样品按 1.2.3 中的方法处理,取 10 μL 待测血清进样分析,记录色谱峰面积,代入标准曲线方程计算血清中乙酰甲喹的质量浓度。

1.2.8 药物动力学参数计算 采用残数法逐只绵

羊拟合药一时曲线,方差分析优选模型,计算动力学参数^[8-10]。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

以乙酰甲喹峰面积(Y)对标准液浓度(X)进行线性回归,所得标准曲线方程为: $Y = 0.2466 + 1.3122X$ ($r = 0.9991, n = 6$)。

由此可见,在 261 nm 处、乙酰甲喹质量浓度为 0.5~16 $\mu\text{g/mL}$ 时,有良好的线性关系。

2.2 精密度的测定结果

表 1 显示,试验所得的日间精密度均小于 10%,日内精密度均小于 5%,表明仪器进样与色谱检测的精密度良好。

表 1 血清中乙酰甲喹质量浓度测定方法的日间和日内精密度

添加质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Added	日间 Inter-assay		日内 Intra-assay	
	测定质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	精密度/%	测定质量浓度/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	精密度/%
	Measured	precision	Measured	precision
0.5	0.467 3±0.037 3	7.982 0	0.486 4±0.014 4	2.960 5
1	0.931 3±0.079 3	8.514 9	0.923 8±0.038 5	4.167 6
5	4.639 8±0.426 7	9.196 5	4.400 4±0.212 8	4.835 9

2.3 回收率的测定结果

采用添量法,分别以 0.5,1.0,5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的乙酰甲喹标准液进行回收率试验,测得平均回收率为 97.835 2%,变异系数为 3.37%。表明该方法准确稳定,可用于绵羊血清中乙酰甲喹质量浓度的测定,勿需进行浓度校正(表 2)。

2.4 绵羊血清中乙酰甲喹质量浓度的实测值

绵羊快速静脉注射乙酰甲喹(7 mg/kg)后,测定不同时间所采集的绵羊血清中乙酰甲喹色谱峰面

积值,并将其代入公式(1)中,求出各时间采集血清中乙酰甲喹的质量浓度,即实测值(表 3)。

表 2 血清中乙酰甲喹回收率的测定结果

添加质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Added	测定质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Measured	回收率/% Recovery
0.5	0.502 7±0.004 0	100.546 7±0.008 1
1.0	0.940 6±0.138 4	94.063 3±0.138 4
5.0	4.945 0±0.060 7	98.896 7±0.012 2

表 3 绵羊静脉注射乙酰甲喹(7 mg/kg)后血清中乙酰甲喹质量浓度的实测值与理论值

给药后时间/h Hours post dosing	1 号羊 No. 1 sheep		2 号羊 No. 2 sheep		3 号羊 No. 3 sheep		4 号羊 No. 4 sheep	
	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值	实测值	理论值
	Determined volume	Calculated volume	Determined volume	Calculated volume	Determined volume	Calculated volume	Determined volume	Calculated volume
0.083	11.34	10.43	11.12	10.34	12.44	9.80	11.09	10.30
0.167	10.04	10.13	9.84	10.06	10.35	9.58	9.68	10.01
0.25	9.92	9.841	9.72	9.80	9.21	9.37	9.31	9.72
0.5	8.92	9.01	8.74	9.04	8.93	8.75	8.82	8.91
0.75	8.48	8.26	8.31	8.34	7.39	8.17	8.71	8.17
1	7.42	7.57	7.96	7.69	6.23	7.63	7.63	7.48
2	4.91	5.34	4.67	5.57	5.02	5.80	5.01	5.28
3	3.57	3.77	3.83	4.04	4.41	4.41	3.52	3.73
4	2.54	2.66	3.38	2.92	3.41	3.36	2.48	2.63
5	2.06	1.87	2.35	2.12	2.76	2.55	2.03	1.86
6	1.35	1.32	1.84	1.53	2.30	1.94	1.37	1.31
7	0.92	0.93	0.87	1.11	1.29	1.48	0.89	1.92

续表 3 Continued of table 3

给药后时间/h Hours post dosing	5 号羊 No. 5 sheep		6 号羊 No. 6 sheep		平均值 Means($\bar{X}\pm\text{SD}$)	
	实测值 Determined volume	理论值 Calculated volume	实测值 Determined volume	理论值 Determined volume	实测值 Determined volume	理论值 Calculated volume
0.083	12.14	11.08	12.58	11.78	11.79±0.68	10.62±0.70
0.167	10.76	10.72	11.14	11.47	10.30±0.56	10.34±0.66
0.25	9.42	10.27	11.00	11.14	9.76±0.66	10.02±0.62
0.5	8.25	9.39	9.89	10.19	8.93±0.54	9.22±0.53
0.75	8.13	8.50	9.41	9.34	8.39±0.67	8.46±0.45
1	6.78	7.69	8.23	8.56	7.38±0.75	7.77±0.39
2	5.76	5.18	5.45	6.02	5.14±0.40	5.53±0.33
3	4.49	3.48	3.96	4.24	3.96±0.41	3.94±0.35
4	2.60	2.34	2.82	2.98	2.87±0.42	2.81±0.35
5	1.49	1.57	2.29	2.10	2.16±0.42	2.01±0.33
6	1.18	1.05	1.49	1.48	1.59±0.41	1.44±0.30
7	0.57	0.71	1.02	1.04	0.93±0.23	1.03±0.26

2.5 药物动力学方程的拟合

采用残数法逐只绵羊拟合药一时曲线,结果表明,单剂量静脉快速注射乙酰甲喹后的药时数据均符合无吸收因素一室开放模型,且最佳药一时曲线方程为:

$$C=10.833\text{e}^{-0.3404t}。$$
 (2)

式中: C 为乙酰甲喹质量浓度, t 为给药后时间。

据公式(2)估算出血清中乙酰甲喹质量浓度的理论值,且理论值与实测值相近,经 X^2 检验,二者无统计学差异($P>0.05$)(表 3)。

2.6 药物动力学参数的计算结果

根据公式(2),计算乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学参数,结果见表 4。由表 4 可知,乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学参数半衰期($t_{1/2}$)、药一时曲线下面积、消除速率常数、表观分布容积和体消除率(CL_B)分别为(2.062 2±0.264 5)h,(32.367 6±2.921 6) $\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$,(0.340 4±0.040 7) h^{-1} ,(0.642 7±0.042 9) L/kg 和(0.217 7±0.019 3) $\text{L}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 。

表 4 乙酰甲喹在 6 只健康绵羊体内的药物动力学参数

Table 4 Pharmacokinetic parameters of Mequindox on six healthy sheep

绵羊编号 No.	血药初质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$ C_0	半衰期/h $t_{1/2}$	药一时曲线下面积/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h})$ AUC
1	10.732 8	1.985 7	30.753 0
2	10.620 6	2.148 2	32.921 9
3	10.028 2	2.533 8	36.666 1
4	10.606 8	1.987 4	30.418 1
5	11.451 3	1.745 2	28.837 2
6	12.158 2	1.972 7	34.609 0
平均值/Means($\bar{X}\pm\text{SD}$)	10.932 9±0.752 7	2.062 2±0.264 5	32.367 6±2.921 6

绵羊编号 No.	消除速率常数/ (h^{-1}) k_d	表观分布容积/ $(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1})$ V_d	体清除率/ $(\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$ CL_B
1	0.349 0	0.652 2	0.227 6
2	0.322 6	0.659 1	0.212 6
3	0.273 5	0.698 0	0.190 9
4	0.348 7	0.659 9	0.230 1
5	0.397 1	0.611 2	0.242 7
6	0.351 3	0.575 7	0.202 3
平均值/Means($\bar{X}\pm\text{SD}$)	0.340 4±0.040 7	0.642 7±0.042 9	0.217 7±0.019 3

3 讨 论

3.1 测定方法的建立

本研究在试验过程中曾用 150 g/L 的三氯醋酸、乙腈除去血清蛋白,但两者日间变异系数和日内

变异系数过大,测定结果极不稳定。本试验采用甲醇除去蛋白,相比前两者而言,回收率高((97.835 2±3.37)%)、日间精密度((8.564 5±0.608 8)%) and 日内精密度((3.988±0.950 5)%)均较小,说明该测定方法稳定,且血清制备过程和血

清中内源性物质及代谢产物对测定结果无干扰(图 1 和图 2),表明该方法处理血清简便、易行。

关于流动相中甲醇和蒸馏水的比例,陈红等^[11]、程碧桃等^[12]、莫宗正等^[13]曾采用 $V(\text{甲醇}):V(\text{蒸馏水})$ 分别为 30 : 70, 50 : 50, 60 : 40 等进样分析,分离效果良好。本研究在预试验中分别用 $V(\text{甲醇}):V(\text{蒸馏水})$ 为 25 : 75, 35 : 65, 40 : 60, 50 : 50, 65 : 35, 75 : 25 进行进样,经分析比较, $V(\text{甲醇}):V(\text{蒸馏水})$ 为 65 : 35 时,保留时间稳定 (3.5 min 左右),分离效果较好,无明显拖尾。

3.2 乙酰甲喹在绵羊体内的药物动力学特征

本试验结果显示,绵羊静脉注射乙酰甲喹 (7 mg/kg) 后,其药代动力学参数符合无吸收因素一室模型特征,乙酰甲喹在绵羊体内的表观分布容积 (V_d) 和半衰期 ($t_{1/2}$) 分别为 (0.6427 ± 0.0429) L/kg 和 (2.0622 ± 0.2654) h,提示乙酰甲喹在绵羊体内分布较广泛,消除较快^[9]。有关资料报道,乙酰甲喹在猪体内约 10 min 就分布于全身各组织,体内消除快,半衰期约为 2 h^[1],说明乙酰甲喹在猪和绵羊体内的消除规律相似。

[参考文献]

[1] 陈杖榴. 兽医药理学 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2002.
Chen Z L. Veterinary pharmacology [M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2002. (in Chinese)

[2] 贾希红. 痢菌净的临床应用 [J]. 山东畜牧兽医, 1998, 11(5): 48.
Jia X H. Clinical application of Mequindox [J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 1998, 11(5): 48. (in Chinese)

[3] 瞿庆顺, 高玉华, 刘树田. 乙酰甲喹治疗猪痢疾效力试验 [J]. 天津畜牧兽医, 1995, 12(4): 30-31.
Qu Q S, Gao Y H, Liu S T. Study on effec of Mequindox to swine diarrhea [J]. Tianjing Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 1995, 12(4): 30-31. (in Chinese)

[4] 艾晓辉, 陈正望, 张春光, 等. 喹乙醇在鲤体内的药物代谢动力学及组织浓度 [J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 273-277.
Ai X H, Chen Z W, Zhang C G, et al. Studies on pharmacokinetic and tissue concentration of olaquinox in common carps [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(3): 273-277. (in Chinese)

[5] 朱柱振, 陈杖榴, 冯淇辉. 喹乙醇在鸡体内的药物动力学及组织浓度研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1993, 24(3): 258-264.

Zhu Z Z, Chen Z L, Feng Q H. Studies on pharmacokinetic sandtis sueconcentration of olaquinox in chickens [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 1993, 24(3): 258-264. (in Chinese)

[6] 李剑勇, 李金善, 徐忠赞, 等. 喹烯酮在猪、鸡体内的药代动力学研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2002, 34(1): 94-97.
Li J Y, Li J S, Xu Z Z, et al. Studies on the pharmacokinetics of quinoacetone in pigs and chickens [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2002, 34(1): 94-97. (in chinese)

[7] 李剑勇, 徐忠赞, 李金善, 等. 喹烯酮在猪体内的代谢动力学研究 [J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(3): 1-3.
Li J Y, Xu Z Z, Li J S, et al. The pharmacokinetics of quinoacetone in pigs [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2005, 39(3): 1-3. (in Chinese)

[8] 刘昌孝. 实用药物动力学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003.
Liu C X. Practice pharmacokinetics [M]. Beijing: China Science and Technology Press of Medicine and Drug, 2003. (in Chinese)

[9] 操继跃, 卢从笑. 兽医药物动力学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005.
Cao J Y, Lu C X. Veterinary pharmacokinetics [M]. Beijing: China Agricultural press, 2005. (in Chinese)

[10] 曾衍霖. 药物代谢动力学中的第二个计算问题——原始数据的权重与线性数学模型中房室数的确定 [J]. 药学学报, 1980, 15(9): 574.
Zeng Y L. The second computing matter of pharmacokinetics: the primary data measured and numbers of compartment determined by the lines of model [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1980, 15(9): 574. (in Chinese)

[11] 陈红, 曾振灵, 武力. 饲料中乙酰甲喹的 HPLC 的测定 [J]. 养禽与禽病防治, 2006(8): 12-13.
Cheng H, Zeng Z L, Wu L. The determination of mequindox in feeds by HPLC [J]. Poultry Husbandry and Disease Control, 2006(8): 12-13. (in Chinese)

[12] 程碧桃, 梁锦添, 李俊芳. 高效液相色谱法测定复方痢菌净制剂中组分含量 [J]. 广西大学学报, 1997, 22(4): 343-346.
Cheng B T, Liang J T, Li J F. Determination of components in compound mequindox preparations by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Guangxi University, 1997, 22(4): 343-346. (in Chinese)

[13] 莫宗正, 韦良云, 叶云锋. 高效液相色谱法在乙酰甲喹注射液含量测定中的应用 [J]. 广西畜牧兽医, 1997, 13(1): 11-12.
Mo Z Z, Wei L Y, Ye Y F. The application of HPLC in determination of mequindox injection [J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 1997, 13(1): 11-12. (in Chinese)