

氯氰碘柳胺缓释剂在家兔体内的药动学研究

郭莉莉, 欧阳五庆, 张文娟, 李向辉

(西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**制备氯氰碘柳胺缓释剂, 比较其与氯氰碘柳胺注射液的药动学过程, 为氯氰碘柳胺缓释剂的研制奠定基础。**【方法】**以蓖麻油、单硬脂酸铝和 N-甲基-吡咯烷酮为溶剂, 制备出氯氰碘柳胺缓释剂, 将其与氯氰碘柳胺注射液分别以 5 mg/kg 的剂量皮下注射家兔, 于注射后不同时间(0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59, 66, 73, 80 d)采血, 测定血药浓度, 分析药动学参数。**【结果】**氯氰碘柳胺注射液与氯氰碘柳胺缓释剂的药-时曲线均符合一级吸收一室模型, 缓释剂达到最大血药浓度的时间比注射液延长了 2.513 d, 吸收半衰期比注射液有明显的延长, 消除半衰期比注射液延长了 9.918 d。**【结论】**与氯氰碘柳胺注射液相比, 氯氰碘柳胺缓释剂皮下注射后吸收缓慢, 消除半衰期延长。

[关键词] 氯氰碘柳胺; 高效液相色谱法; 家兔; 药动学

[中图分类号] S859.79⁺5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)05-0034-05

Pharmacokinetics of closantel sustain-released injection in rabbits

GUO Li-li, OUYANG Wu-qing, ZHANG Wen-juan, LI Xiang-hui

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

Abstract: **【Objective】** The research prepared preparative Closantel sustain-released injection and compared Pharmacokinetics procedure with Closantel injection to lay a foundation for trituration Closantel sustain-released injection. **【Methed】** Castor oil, N-methyl-ketopyrrolidine and aluminum monostearate were used for preparative Closantel sustain-released injection. The rabbits were injected Closantel injection and Closantel sustain-released injection subcutaneously at a dose of 5 mg/kg. After 0.5, 1, 3, 5, 7, 10, 17, 24, 31, 38, 45, 52, 59, 66, 73, 80 d, blood concentrations were tested and Pharmacokinetics parameters analysed. **【Result】** The pharmacokinetics of Closantel injection and Closantel sustain-released injection fitted one compartment model with an equation. Sustain-released injection's blood concentration time extended 2.513 d than Closantel injection. Absorption half life extended obviously and elimination half life extended 9.918 d than Closantel injection. **【Conclusion】** Results suggested that the Closantel sustain-released injection is absorbed slowly and half life period prolonged.

Key words: Closantel; HPLC; rabbit; pharmacokinetics

氯氰碘柳胺(Closantel)是用于治疗 and 预防牛、羊寄生虫感染的广谱驱虫药, 对肝片吸虫、大片吸虫、巨片吸虫、血矛线虫、仰口线虫、食道口线虫、盖

格属线虫、夏伯特线虫等均有高效驱杀作用^[1-2]。但目前氯氰碘柳胺常见的剂型多为普通注射液^[3-4]。一般而言, 普通注射液血药浓度起伏很大, 有“峰谷”

* [收稿日期] 2008-07-14

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAD04A11)

[作者简介] 郭莉莉(1983—), 女, 陕西宝鸡人, 在读硕士, 主要从事新兽药开发研究。

[通信作者] 欧阳五庆(1960—), 男, 陕西凤翔人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物工程制药与细胞工程研究。

现象,血药浓度高达峰值时,可能产生毒性作用,处于低谷时,在治疗浓度以下,没有治疗效果^[5]。而缓释剂型具有提供平稳的血药浓度,降低血药浓度的峰谷现象,延长药物有效浓度的作用时间等优点^[6-7]。可见,研制氯氰碘柳胺缓释剂型,对提高氯氰碘柳胺的缓释性、靶向性以及降低毒副作用具有重要意义。为此,本试验研制了氯氰碘柳胺缓释剂,并比较了氯氰碘柳胺注射液与缓释剂的药动学参数,以期为氯氰碘柳胺缓释剂的研制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 药品与试剂 氯氰碘柳胺对照品(含氯氰碘柳胺 99.8%),由江都市吴桥树脂厂提供,批号:00703-2;5%的氯氰碘柳胺注射液,河北威远动物药业有限公司提供,批号:070428;乙腈,色谱级,天津市科密欧化学试剂有限公司生产,批号:20070301;其他药品试剂均为分析纯或中国药典规格。

1.1.2 仪器 日本日立高效液相色谱系统:HIAICH pump L-2130,UV-VIS Detector L-2420,D-2000Elite 色谱工作站;AS-3120 超声仪(昆山超声仪器有限公司)。

1.1.3 试验动物 健康家兔 12 只,体质量 1.9~2.2 kg,购自西北农林科技大学实验动物中心。试验前禁食 12 h,自由饮水。

1.2 氯氰碘柳胺缓释剂的制备

首先将单硬脂酸铝与蓖麻油按质量比 1:40 的比例混合,制得蓖麻油油胶,然后将 1 g 氯氰碘柳胺溶于 4 mL N-甲基-吡咯烷酮中,再加入 6 mL 蓖麻油油胶充分搅拌均匀,形成淡黄色透明液体,即制得氯氰碘柳胺缓释注射剂。

1.3 试验方法

1.3.1 动物给药及采血 将氯氰碘柳胺注射液与氯氰碘柳胺缓释剂按 5 mg/kg 的剂量,分别于颈部皮下注射家兔,在给药后的 0.5,1,3,5,7,10,17,24,31,38,45,52,59,66,73,80 d 采血,离心分离出血清,-20℃冰箱保存。

1.3.2 色谱条件 色谱柱:Alltima C18 柱 4.6 nm×200 nm,5 μm;紫外分光光度计检测波长;对氯氰碘柳胺的色谱峰进行全波长扫描确定其激发和吸收波长为 250 nm;流动相:乙腈-水-三乙胺混合液(V(乙腈):V(水):V(三乙胺)=75:25:0.05),用磷酸调至 pH=2.5;流速 1.000 mL/min;柱温 25

℃;进样量 20 μL。

1.3.3 血清样品的处理与测定 于干净的 5 mL 离心试管中精确加入血浆样品 0.3 mL,涡旋振荡 15 s,再加入乙腈 2 mL,涡旋振荡 5 min,3 000 r/min 离心 10 min,将上层液体全部转移至另一试管中,另在下层沉淀中加入 1 mL 提取液重复上述操作,合并上层液体,于 37℃下氮气吹干,残渣加 300 μL 流动相溶解,取 20 μL 进样分析。

1.3.4 标准曲线的制备 精确称取干燥恒质量的氯氰碘柳胺对照品 1 mg,置于 10 mL 容量瓶中,以双蒸水溶解定容,配制成浓度为 100 μg/mL 的氯氰碘柳胺储备液。分别取氯氰碘柳胺储备液 0.02,0.05,0.1,0.5,1,2 和 5 mL,用双蒸水定容至 10 mL,配制成质量浓度分别为 0.2,0.5,1,5,10,20 和 50 μg/mL 氯氰碘柳胺溶液。分别取空白血清 0.5 mL,依次精密加入 0.5 mL 上述质量浓度的氯氰碘柳胺溶液,配制成 0.1,0.25,0.5,2.5,5,10 和 25 μg/mL 的氯氰碘柳胺标准溶液,涡旋振荡 15 s,按 1.3.3 的方法处理,记录色谱峰面积。以氯氰碘柳胺峰面积为纵坐标(Y),氯氰碘柳胺在样品中的质量浓度为横坐标(X)进行线性回归,求回归方程和相关系数。

1.3.5 回收率和精密度试验 取空白血清 3 份,加入适量氯氰碘柳胺标准品液,配制成质量浓度分别为 1.0,10.0 和 20.0 μg/mL 的氯氰碘柳胺血浆溶液。每个浓度 3 管,按 1.3.3 的方法处理,根据标准曲线计算各溶液中氯氰碘柳胺质量浓度,进一步计算回收率。在相同色谱条件下,测定日内和日间精密度。

1.3.6 数据处理及统计分析 用中国药理学学会数学专业委员会编制的 3p87 药代动力学程序软件处理药时曲线,对数据进行曲线拟合,判断最佳药代动力学模型。

2 结果与分析

2.1 氯氰碘柳胺标准曲线的绘制

由图 1 可见,氯氰碘柳胺与血浆杂质分离完全,峰形尖锐且对称,保留时间为 7.51 min,色谱峰面积与其质量浓度线性关系良好,回归方程为 $Y = 62\,787X + 4\,226.8$ ($r = 0.999\,8$)。由此可见,在 0.1~25 μg/mL,氯氰碘柳胺色谱峰面积(Y)与氯氰碘柳胺在样品中的质量浓度(X)有良好的线性关系。

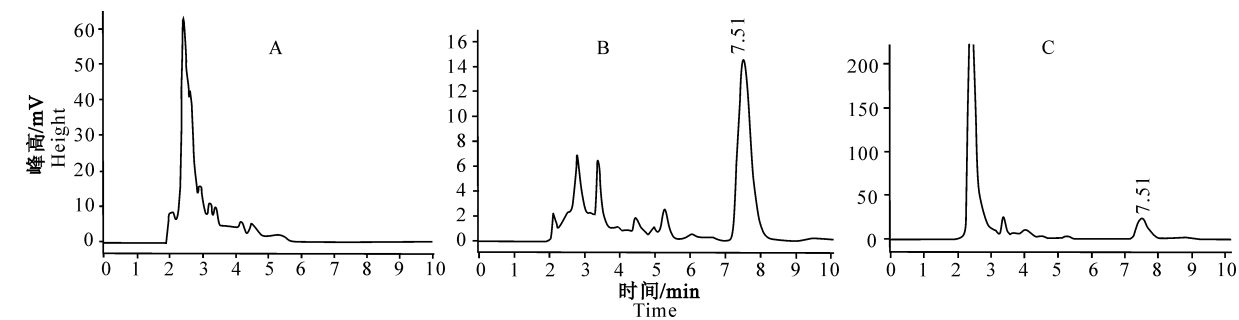


图 1 家兔血浆中氯氰碘柳胺的高效液相色谱图
A. 空白血浆;B. 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 氯氰碘柳胺对照品;C. 家兔皮下注射氯氰碘柳胺注射液 3 d 血浆样品

Fig. 1 Closantel chromatography figure of HPLC in rabbits

A. Blank serum;B. 2.5 $\mu\text{g/mL}$ Closantel;C. Rabbits injected with Closantel injection after 3 d

2.2 氯氰碘柳胺标准品回收率的测定结果 95.67%, 94.17%, 98.23%, 变异系数 RSD 为
分别以 1.0, 10.0, 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的氯氰碘柳胺 2.22%(表 1)。表明该方法准确稳定, 可用于家兔
标准品液进行回收率试验, 测得的回收率分别为 血清中氯氰碘柳胺质量浓度的测定。

表 1 家兔血浆中氯氰碘柳胺回收率的测定结果

Table 1 Determination of recovery of Closantel in serum

添加质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Added concentration	测定质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Measured	回收率/% Recovery	RSD/%
1.0	0.95±3.65	95.67±4.04	2.22
10.0	9.41±0.98	94.17±1.55	
20.0	19.65±0.34	98.23±0.35	

2.3 氯氰碘柳胺标准品精密度的测定结果 精密度均小于 1%, 表明仪器进样与色谱检测的精
表 2 显示, 试验所得的氯氰碘柳胺的日内、日间 密度均良好。

表 2 家兔血清中氯氰碘柳胺质量浓度测定方法的日内、日间精密度

Table 2 Determination of Closantel in serum of Inter2assay and Intra 2 assay precision

添加质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Added concentration	日内 Intra-assay		日间 Inter-assay	
	测定质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Measured	精密度/% Precision	测定质量浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Measured	精密度/% Precision
1.0	0.92±0.008	0.87	0.91±0.007	0.77
10.0	9.47±0.064	0.68	9.35±0.085	0.91
20.0	19.827±0.067	0.34	19.816±0.103	0.51

2.4 家兔体内氯氰碘柳胺血药浓度的测定 碘柳胺缓释剂(B 组)后, 不同时间血药浓度实测平
家兔皮下注射氯氰碘柳胺注射液(A 组)和氯氰 均值见表 3。

表 3 健康家兔皮下注射氯氰碘柳胺注射液(A 组)和缓释剂(B 组)后不同时间的血药浓度($n=6$)

Table 3 Plasma of rabbits at different times of injected with Closantel injection(Group A)and
Closantel sustain-released injection(Group B) subcutaneously ($n=6$)

给药后时间/d Hour post dosing	A 组/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Group A	B 组/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Group B	给药后时间/d Hour post dosing	A 组/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Group A	B 组/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Group B
0.5	1.800±0.591	0.535±0.177	31	1.448±0.367	4.889±0.228
1	6.517±0.350	3.379±0.068	38	0.624±0.319	3.550±0.279
3	10.516±0.317	6.563±0.230	45	0.228±0.203	2.933±0.179
5	9.412±0.299	7.489±0.311	52	ND	2.262±0.274
7	8.725±0.471	8.633±0.108	59	ND	1.695±0.178
10	7.129±0.336	7.880±0.385	66	ND	1.239±0.258
17	5.340±0.429	6.681±0.511	73	ND	0.874±0.309
24	3.295±0.240	5.890±0.283	80	ND	0.445±0.309

注:“ND”表示未检测到。
Note:“ND”means not detected.

表 3 表明,氯氰碘柳胺注射液在给药后 3 d,达到最高血药浓度,52 d 检测不到血药浓度;氯氰碘柳胺缓释剂在给药后 7 d 达到最高血药浓度,80 d 依然可以检测到血药浓度,说明氯氰碘柳胺缓释剂在家兔体内的释药速率减缓,药物在体内的作用时间延长。

2.5 氯氰碘柳胺药动力学方程的拟合

采用残数法逐只家兔拟合药-时曲线,结果表明,氯氰碘柳胺注射液在家兔体内的代谢过程符合一级吸收一室模型,药动力学方程为: $C = 23.643(e^{-0.094t} - e^{-2.387t})$;氯氰碘柳胺缓释剂在家兔体内的代谢过程也符合一级吸收一室模型,药动力学方程为: $C = 18.777(e^{-0.041t} - e^{-0.992t})$ 。式中: C 为氯氰碘柳胺质量浓度, t 为给药后时间。

表 4 家兔皮下注射氯氰碘柳胺注射液(A 组)和缓释剂(B 组)的药动力学参数
Table 4 Pharmacokinetic parameters of Closantel injection(Group A) and Closantel sustain-released injection(Group B) on rabbits

参数 Parameter	A 组 Group A	B 组 Group B	参数 Parameters	A 组 Group A	B 组 Group B
K_a/d^{-1}	2.387±0.298	0.992±0.388	T_{max}/d	1.678±0.591	4.191±1.216**
K/d^{-1}	0.094±0.0132	0.041±0.006	$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	19.012±2.492	15.229±3.169*
$T_{1/2\alpha}/d$	0.294±0.0343	0.812±0.356**	$AUC/(\mu g \cdot mL^{-1} \cdot d^{-1})$	246.162±3.816	426.739±4.663**
$T_{1/2\beta}/d$	7.474±0.925	17.392±2.702**			

注:*表示差异显著($P<0.05$);**表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:* means difference significant ($P<0.05$); ** means polari- difference significant ($P<0.01$).

3 讨 论

本试验参照 Mohammed-Ali^[8] 及赵英等^[9]测定氯氰碘柳胺的方法,在试验中对采用的高效液相色谱条件进行了评定,结果表明,利用此方法测定血液中的氯氰碘柳胺最显著的特点是准确度高,药物与杂质分离良好,氯氰碘柳胺的色谱峰均匀对称,保留时间为 7.51 min,能有效地测定氯氰碘柳胺质量浓度;氯氰碘柳胺回收率及精密度在 0.1~25 $\mu g/mL$ 范围内,线性关系良好,可满足试验中氯氰碘柳胺质量浓度测定的要求,适用于药代动力学的研究。

本试验中,氯氰碘柳胺缓释剂和注射液在家兔体内均呈一级吸收一室模型,这与何宏轩等^[10]报道的碘醚柳胺脂质体定向剂在绵羊体内的药动学研究结果相一致。本研究结果表明,氯氰碘柳胺缓释剂与注射液相比,药物吸收减缓,消除速率减慢,在体内维持血药浓度的时间延长,确实达到了缓释长效的目的。

本研究主要利用延缓释放和延缓吸收的方法,以高分子物质蓖麻油为缓释剂,以 N-甲基-吡咯烷酮为溶剂,制成的氯氰碘柳胺缓释剂黏稠度加大,肌

2.6 氯氰碘柳胺药动力学参数的计算

采用 3p87 软件对血药浓度数据进行处理,得到的药物动力学参数见表 4。由表 4 可知,氯氰碘柳胺缓释剂与注射液在吸收半衰期($T_{1/2\alpha}$)、消除半衰期($T_{1/2\beta}$)、最大血药浓度(C_{max})、达到最大血药浓度的时间(T_{max})及曲线下面积(AUC)等参数间均有显著或极显著差异。氯氰碘柳胺缓释剂达到最大血药浓度的时间 T_{max} (4.191 d)比注射液(1.678 d)延长 2.513 d,吸收半衰期 $T_{1/2\alpha}$ (0.812 d)比注射液(0.294 d)也有明显延长,这说明缓释剂的吸收较慢。氯氰碘柳胺缓释剂的消除半衰期 $T_{1/2\beta}$ (17.392 d)比注射液(7.474 d)延长 9.918 d,这说明缓释剂比普通注射液消除慢,在体内维持血药浓度的时间长,确实具有长效的效果。

内注射后在注射部位形成贮药库,延缓了药物的溶出,延长了药物扩散进入局部间质液的时间。本试验结果表明,氯氰碘柳胺缓释剂与注射液药动学在家兔体内吸收、消除等方面均有明显差异。氯氰碘柳胺缓释剂的长效作用可能与油质溶剂的延缓吸收作用有关。制剂的特点会影响药物从注射部位吸收进入血液的速度和程度,从而影响药物血药浓度和生物利用度^[11-13],而药物在体内吸收、分布和血液/组织之间的分配变化,均可能导致药物在寄生虫寄生部位浓度和维持时间有较大改变,进而改变药物的抗虫活力与持效时间^[14-15]。本试验结果表明,通过改变制剂因素,如改变溶剂及剂型,可实现药物的长效作用。因此,本研究制备的氯氰碘柳胺缓释剂,在抗寄生虫药物市场上具有良好的应用前景。

[参考文献]

[1] 田忠厚.广谱驱虫药——三特(closantelum sodium) [J]. 中国兽医寄生虫病,1995,3(3):63-64.
Tian Z H. Broad-spectrum insecticide — closantelum sodium [J]. Chinese Journal of Veterinary,1995,3(3):63-64. (in Chinese)
[2] 曲家华,孟宪舜,刘文韬,等.佳灵三特注射液治疗绵羊疥螨病

- 的试验观察 [J]. 黑龙江畜牧科技, 1998(3): 2.
- Qu J H, Meng X S, Liu W T, et al. Closantelum sodium injection in the treatment of the disease in sheep itch mite Observation [J]. Heilongjiang Animal Husbandry Science and Technology, 1998(3): 2. (in Chinese)
- [3] 张启瑞. 氯氰碘柳胺钠驱治羊肝片吸虫的效果 [J]. 畜牧与饲料科学, 2005(3): 46.
- Zhang Q R. The effects of closantel treatment *Fasciola hepatica* [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2005(3): 46. (in Chinese)
- [4] 史生彦. 氯氰碘柳胺钠对绵羊鼻蝇蚴的驱杀效果观察 [J]. 动物医学进展, 2007, 28(10): 114-115.
- Shi S Y. The effects of closantel treatment Nasal fly larva [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2007, 28(10): 114 -115. (in Chinese)
- [5] 薛飞群. 抗寄生虫药物研究进展 [J]. 兽医导刊, 2007(9): 36-39.
- Xue F Q. Research progress of antiparasite drugs for animals [J]. Veterinary Orientation, 2007(9): 36-39. (in Chinese)
- [6] 符华林. 兽用抗寄生虫药物新剂型及其新技术的研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2004, 38(3): 38-42.
- Fu H L. Research progress of new techniques and new preparation of antiparasite drugs for animals [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2004, 38(3): 38-42. (in Chinese)
- [7] 沈 杰. 抗动物寄生虫药的特殊剂型 [J]. 当代畜禽养殖业, 2007(3): 21-23.
- Shen J. Special preparation of antiparasite drugs [J]. Modern Animal Husbandry, 2007(3): 21-23. (in Chinese)
- [8] Mohammed-Ali. Pharmacokinetics of triclabendazole alone or in combination with fenbendazole in sheep [J]. J Vet Phar Therap, 1986, 9: 442-445.
- [9] 赵 英, 苏 亚, 韩 琪, 等. 高效液相色谱法测定制剂中氯氰碘柳胺钠含量 [J]. 中国兽药杂志, 2002, 36(12): 33-34.
- Zhao Y, Su Y, Han Q, et al. Closantel injection were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2002, 36(12): 33-34. (in Chinese)
- [10] 何宏轩, 张西臣, 程远国, 等. 碘醚柳胺脂质体定向剂在绵羊体内的药代动力学及组织残留量 [J]. 中国兽医学报, 2000, 1(1): 62-65.
- He H X, Zhang X C, Cheng Y G, et al. Pharmacokinetics and tissue residues of rafoxanide liposomes in the sheep [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2000, 1(1): 62-65. (in Chinese)
- [11] Hennesy D R, Sangster N C, Steel J W, et al. Comparative pharmacokinetic disposition of closantelin sheep and goats [J]. Jevt Pharmacol Therap, 1993, 16: 1254-1260.
- [12] 陈关平, 操继跃. 兽药控/缓释剂的研究进展 [J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(8): 40-42.
- Chen G P, Cao J Y. An updated development in controlled/sustained release veterinary drugs [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2003, 37(8): 40-42. (in Chinese)
- [13] Kate, David A, Murray B, et al. Defining drug disposition determinants: a pharmacogenetic-Pharmacokinetic strategy [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2008, 400: 293-305.
- [14] Alvinerie M, Sutra J F, Galtier P, et al. Pharmacokinetics of eprinomectin in plasma and milk following topical administration to lactating airy cattle [J]. Research in Veterinary Science, 1999, 67: 229-232.
- [15] Lo P A, Fink D W, James B. Williams. Pharmacokinetics studies of ivermectin: effect of formulation [J]. Vet Res Commun, 1985, 9: 251-268.