

网络出版时间:2019-09-09 17:25 DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2020.03.007
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190909.1723.014.html

三氮脒在羊体内的消除规律研究

江 迪¹, 吴志明², 吴宁鹏², 彭 丽², 张春杰¹, 李 孟²

(1 河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471023; 2 河南省兽药饲料监察所, 河南 郑州 450008)

【摘 要】 【目的】研究三氮脒在羊体内的消除规律, 为保障动物源食品安全提供理论依据。【方法】分别配制质量浓度为 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 和 5 $\mu\text{g/mL}$ 的三氮脒标准液, 进行高效液相色谱分析, 建立三氮脒标准曲线。采集空白羊肌肉、肝脏、肾脏的组织样品, 进行三氮脒加标试验, 测定批内平均回收率和批内、批间相对标准偏差, 建立羊组织中三氮脒残留的高效液相色谱检测方法。选取 35 只健康湖羊, 逐只按 5 mg/kg 的剂量颈部肌内注射三氮脒 3 次, 每次间隔 24 h, 在最后一次给药后 0.25(6 h), 1, 3, 7, 14, 21, 28 d, 分别采集肌肉、肝脏、肾脏和注射部位等组织, 采用高效液相色谱法测定各组织中三氮脒的残留量, 并用 WinNonlin5.2.1 软件计算药物消除动力学参数。【结果】在质量浓度为 0.05~5 $\mu\text{g/mL}$ 时, 三氮脒质量浓度与峰面积线性关系良好, 相关系数(r)为 0.999 5; 三氮脒高效液相色谱法对羊肌肉的检测限为 50 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 100 $\mu\text{g/kg}$; 对羊肝脏、肾脏的检测限为 200 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 500 $\mu\text{g/kg}$; 批内平均回收率为 83.1%~94.8%, 批内相对标准偏差为 2.6%~6.2%, 批间相对标准偏差为 3.0%~4.9%。在给药后 6 h, 供试湖羊肌肉、肝脏、肾脏和注射部位三氮脒残留量达到最高值, 随后在各个检测时点各组织残留量均呈下降趋势; 在给药后 21 d, 肌肉组织中未检出三氮脒残留, 肾脏组织和注射部位(定量限同肌肉)中三氮脒的平均残留量降至定量限以下, 肝脏中三氮脒的平均残留量也明显降低; 给药后 28 d, 羊各组织均未检出三氮脒残留。三氮脒在羊肌肉、注射部位、肾脏和肝脏组织中的消除半衰期($T_{1/2\beta}$)分别为 104.21, 99.55, 102.66 和 149.42 h, 药时曲线下面积(AUC)分别为 113.20, 349.33, 3 658.62 和 3 370.83 ($\text{h} \cdot \mu\text{g}$)/g, 消除速率(β)分别为 0.006 6, 0.007 0, 0.006 7 和 0.004 6 h^{-1} , 平均滞留时间(MRT)分别为 125.11, 140.62, 71.20 和 154.71 h。【结论】三氮脒经肌内注射给药后, 在羊体内分布广泛、消除缓慢, 在肝脏和肾脏组织中残留量较高。

【关键词】 三氮脒; 羊组织; 药物残留; 药物消除

【中图分类号】 S859.7

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)03-0047-07

Elimination of diminazene residue in sheep

JIANG Di¹, WU Zhiming², WU Ningpeng², PENG Li², ZHANG Chunjie¹, LI Meng²

(1 College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China;

2 Henan Institute of Veterinary Drug and Feeds Control, Zhengzhou, Henan 450008, China)

Abstract: 【Objective】The elimination of diminazene residue in sheep was investigated to provide basis for safety of animal-derived food. 【Method】The diminazene standard solution with mass concentrations of 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 and 5 $\mu\text{g/mL}$ was prepared separately to establish a standard curve of diminazene. Then muscle, liver and kidney samples of blank sheep were collected for performing spiked test and determining average recovery in the batch as well as intra-day RSD and inter-day RSD. Then, the high-performance liquid chromatography was established for the diminazene residue in sheep tissues. A total of 35 healthy Hu sheep were selected and intramuscularly injected with diminazene at the dosage of 5 mg/kg ev-

【收稿日期】 2019-01-22

【基金项目】 国家畜禽产品质量安全风险评价专项(GJFP2018007)

【作者简介】 江 迪(1993—), 女, 河南开封人, 在读硕士, 主要从事兽药残留检测研究。E-mail: 13213560160@163.com

【通信作者】 张春杰(1964—), 女, 河南洛阳人, 教授, 博士生导师, 主要从事动物疫病防控与分子免疫学研究。

E-mail: cjzhang@sina.com

ery 24 h for 3 times. Muscle, liver, kidney and inject site samples were collected 0. 25(6 h), 1, 3, 7, 14, 21 and 28 d after the last injection. Diminazene residue in these samples were analyzed by HPLC-UV and pharmacokinetic parameters were estimated using WinNonlin 5. 2. 1 software. 【Result】 In the range of 0. 05—5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, diminazene residue and peak area had good linearity with r of 0. 999 5. The detection limit for muscle was 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the quantitation limit was 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The detection limit for liver and kidney was 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the quantitation limit was 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The recoveries ranged from 83. 1%—94. 8%. The intra-day relative standard deviation was 2. 6%—6. 2% and the inter-day relative standard deviation was 3. 0%—4. 9%. The concentration of diminazene residue in muscle, liver, kidney and inject site at 6 h was the highest, and the concentration of dimimzaene in all tissues decreased at other time points. The concentration of diminazene in muscle was lower than the LOQ at 21 d, and the average residue of dimimzaene in kidney and injection site (the quantification limit at injection site was same as that of muscle) fell below the quantitation limit. The average residue of dimimzaene in liver was also significantly reduced, and the residue in all tissues was not detected at 28 d. The elimination half-life ($T_{1/2\beta}$) values of diminazene in muscle, inject site, kidney and liver were 104. 21, 99. 55, 102. 66 and 149. 42 h, respectively. The areas under concentration-time curve (AUC) were 113. 20, 349. 33, 3 658. 62 and 3 370. 83 ($\text{h} \cdot \mu\text{g}$)/g, respectively. The elimination rates (β) were 0. 006 6, 0. 007 0, 0. 006 7 and 0. 004 6 h^{-1} and the mean residence times (MRT) were 125. 11, 140. 62, 71. 20 and 154. 71 h, respectively. 【Conclusion】 The results demonstrated that diminazene distributed widely and metabolized slowly in sheep. The concentration of diminazene residue was high in liver and kidney tissue.

Key words: diminazene; sheep tissues; drug residue; drug depletion

三氮脒(Diminazene)又名贝尼尔、血虫净,其化学名称为 4,4’-(重氮氨基)双(苯甲醚)醋甘酸盐,属于芳香双脒类化合物,是兽医临床上常用的一种抗血液原虫药^[1],主要用于治疗牛、羊、犬的伊氏锥虫病和疥癬锥虫、巴贝斯梨形虫病及泰勒梨形虫病^[2-3],同时还可用于治疗猪的附红细胞体感染^[4]。三氮脒作为高效抗血液原虫病药,已广泛应用于畜禽及反刍动物养殖中。该药物的广泛、超剂量使用,一方面可导致耐药虫株的产生^[5-6],给兽医临床治疗带来压力,影响畜牧业的生产;另一方面则造成了药物在动物性食品中的残留,危害消费者身体健康^[1,7-8]。目前,国内外对于三氮脒的研究主要集中在残留检测方法^[9-15]及药代动力学方面^[16-19],尚未见有该药物在反刍动物体内残留消除规律的研究报道。

羊肉因蛋白含量高、脂肪和胆固醇含量低而深受消费者青睐。我国、欧盟国家及美国等尚未制定三氮脒在羊组织中的最高残留限量标准。我国是肉羊养殖大国,羊肉已成为我国居民消费的重要肉品之一,因此制定三氮脒在羊组织中的最高残留限量标准具有重要意义。本试验以湖羊为研究对象,研究了三氮脒在羊体内的消除规律,旨在为制定三氮脒在羊组织中的最高残留限量标准提供科学数据和参考依据,为保障动物源食品安全提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 试验动物 健康湖羊 36 只,购于河南新郑市某羊场,体质量(30 ± 5) kg/头。饲喂不添加任何抗菌药物的全价饲料,给药前适应性饲养 1 周。

1.1.2 主要仪器 Waters e2695 高效液相色谱仪(配备紫外检测器)、固相萃取装置、固相萃取柱(Oasis WCX, 60 mg/3 mL),美国 Waters 公司产品。台式冷冻高速离心机(Sigma 公司),pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司),组织匀浆机(天津四方公司),电子分析天平(Xp205,梅特勒-托利多仪器有限公司), C_{18} 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm ,美国菲罗门公司),实验用水为经 Milli-Q 净化系统制备的去离子水。

1.1.3 试剂与药品 二乙酰胺三氮脒标准品(分子式 $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_7 \cdot 2\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_3$,含量为 91%,CATO Research Chemicals Ins 公司),注射用三氮脒(0.25 g/支,批号:20161123,南阳市理邦制药有限公司),甲醇、乙腈(色谱纯,美国默克公司),甲酸铵、乙酸(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 给药及样品采集

根据《中国兽药典》中规定的注射用三氮脒最大

用药剂量,35只供试湖羊按5 mg/kg的剂量颈部左侧肌肉注射给药,共给药3次,每次间隔24 h。分别在最后一次给药后0.25(6 h),1,3,7,14,21和28 d随机挑取5只羊(编号I~V)颈部放血处死,分别采集左后肢肌肉(股四头肌)、肝脏、肾脏和注射部位组织,于-20℃保存备用。另外1只作为空白对照,采集对应各组织样品作为空白样品。

1.3 三氮脒在羊组织中残留检测方法的建立

1.3.1 标准溶液的配制 精密称取二乙酰胺三氮脒标准品20.137 mg,置于10 mL棕色容量瓶中,用超纯水溶解并定容后,稀释成1 000 μg/mL的三氮脒标准储备液,4℃避光保存。精密移取1 000 μg/mL的三氮脒标准储备液1.0 mL于100 mL棕色容量瓶中,用水稀释至刻度,配制成10 μg/mL的三氮脒标准中间工作溶液。分别精密移取10 μg/mL三氮脒标准中间工作溶液50,100,200,500 μL,用体积分数6%的乙酸甲醇(pH 7.0)稀释至1 000 μL,配制成0.5,1,2,5 μg/mL的三氮脒标准工作溶液。再分别精密移取1 μg/mL的三氮脒标准工作溶液50,100,200 μL,用体积分数6%的乙酸甲醇(pH 7.0)稀释至1 000 μL,配制成0.05,0.1,0.2 μg/mL的三氮脒标准工作溶液,备用。

1.3.2 标准曲线的制备 将0.05,0.1,0.2,0.5,1,2和5 μg/mL的三氮脒系列标准工作溶液,从低质量浓度到高质量浓度依次进行高效液相色谱分析,以三氮脒色谱峰面积为纵坐标(Y),对应标准溶液质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,求其回归方程和相关系数。高效液相色谱分析条件为:色谱柱Phenomenex C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:溶液A为甲醇,溶液B为0.02 mol/L甲酸铵溶液(pH 4.0),采用梯度的方式,溶液比例随时间变化如下:0~1 min,10% A;1~5 min,10%~20% A;5~10 min,20%~90% A;10~12 min,90% A;12~15 min,10% A;流速:1 mL/min。进样体积:20 μL;柱温:25℃;紫外线波长:370 nm。

1.3.3 给药样品的前处理 将样品自然解冻后切成小块,以10 000 r/min匀浆1 min,制成肉糜。准确称取(2±0.02) g样品于50 mL离心管内,加入体积分数60%的乙腈溶液20 mL,涡旋30 s,用乙酸调节pH值至5.5,振荡10 min,以10 000 r/min离心10 min,收集上清液。吸取2 mL上清液(肌肉组织样品吸取10 mL上清液)于另一离心管中,作为备用液。Oasis WCX固相萃取小柱依次用3 mL甲醇、3 mL超纯水活化,取备用液过柱,自然流出,依

次用体积分数5%的氨水、甲醇各3 mL进行淋洗,挤干,用体积分数6%的乙酸甲醇溶液1 mL洗脱,挤干,收集洗脱液,经0.22 μm滤膜过滤后,备用。

1.3.4 方法检测限、定量限、回收率与精密度的测定 取未注射三氮脒的供试羊,处死后采集其肌肉、肝脏、肾脏等样品(空白组织样品),备用。取各空白组织样品,向其中添加三氮脒标准溶液,按1.3.3节方法进行处理后测定,测得基线的噪音值,将信噪比S/N≥3对应的添加质量浓度确定为检测限(LOD),将信噪比S/N≥10对应的添加质量浓度确定为定量限(LOQ),其中S为信号,N为噪声。

在羊肉空白组织样品中添加100 μL质量浓度分别为2,5,10和20 μg/mL的三氮脒标准工作液,使得肌肉中的三氮脒含量分别为100,250,500,1 000 μg/kg;在肝脏空白组织样品中添加100 μL质量浓度分别为10,120,240和480 μg/mL的三氮脒标准工作液,使得肝脏中的三氮脒含量分别为500,6 000,12 000,24 000 μg/kg;在肾脏空白组织样品中添加100 μL质量浓度分别为10,60,120和240 μg/mL的三氮脒标准工作液,使得肾脏中的三氮脒含量分别为500,3 000,6 000,12 000 μg/kg。加标样品按1.3.3节方法处理后测定,每个浓度5个平行,重复3批次。分别计算各组织样品中三氮脒的批内平均回收率和批内、批间相对标准偏差。

1.4 注射三氮脒羊组织样品的检测

取经过前处理的给药羊组织样品,按照1.3.2节的方法进行高效液相色谱分析,计算三氮脒在羊组织中的残留量。

1.5 数据处理

采用药代动力学软件WinNonlin5.2.1的非房室模型,计算三氮脒在不同羊组织中的消除速率(β)、消除半衰期($T_{1/2\beta}$)、平均滞留时间(MRT)和药时曲线下面积(AUC)等药物代谢动力学参数。

2 结果与分析

2.1 三氮脒的标准曲线

在三氮脒质量浓度为0.05~5 μg/mL,其高效液相色谱分析的峰面积(Y)与药物质量浓度(X)的线性方程为 $Y=139.5859X-2250.687$,其相关系数r为0.9995,标准曲线见图1,表明峰面积与药物质量浓度的线性关系良好。

2.2 三氮脒在羊组织中的检测限、定量限、回收率和精密度

在三氮脒质量浓度为本试验条件下,其高效液

相色谱法对羊肌肉的检测限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$;对羊肝脏、肾脏的检测限为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。如表 1 所示,本方法肌肉组织中三氮唑添加量为 100~1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,其批内平均回收率在 83.1%~94.8%,批内相对标准偏差在 2.8%~4.5%,批间相对标准偏差在 3.2%~4.1%。肝脏组织中三氮唑添加量为 500~24 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,其批内平均回收率在 88.9%~91.6%,批内相对标准偏差在 2.6%~4.6%,批间相对标准偏差在 3.0%~4.9%。肾脏组织中三氮唑添加量为 500~12 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,其批内平均回收率在 88.5%~91.9%,批内相对标准偏差在 3.8%~6.2%,批间相对标准偏差在 3.1%~4.7%。上述结果表明,三

氮唑高效液相色谱检测方法灵敏度高,重复性好,可满足羊组织中三氮唑残留检测的要求。

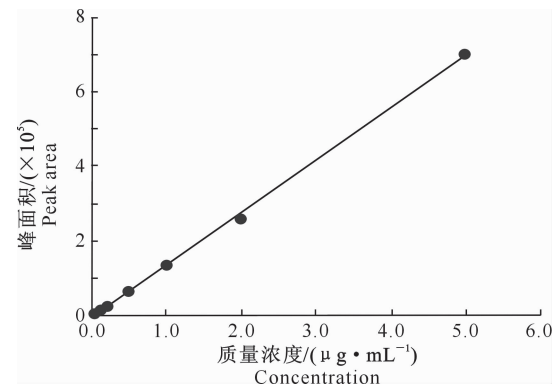


图 1 三氮唑的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of diminazene

表 1 三氮唑在羊各组织中的回收率和精密度($n=5$)

Table 1 Recovery and precision of diminazene in sheep tissues ($n=5$)

组织 Tissue	加药量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Dosage	批内平均回收率/% Average	批内相对标准偏差/% Intra-day RSD	批间相对标准偏差/% Inter-day RSD
肌肉 Muscle	100	94.8 $\pm$ 4.1	2.8	4.1
	250	83.1 $\pm$ 3.7	3.8	3.7
	500	83.5 $\pm$ 3.2	4.2	3.2
	1 000	89.3 $\pm$ 3.8	4.5	3.8
肝脏 Liver	500	89.5 $\pm$ 3.6	4.6	3.6
	6 000	91.6 $\pm$ 3.1	2.8	3.1
	12 000	88.9 $\pm$ 3.0	2.6	3.0
	24 000	90.4 $\pm$ 4.9	3.7	4.9
肾脏 Kidney	500	91.9 $\pm$ 3.1	3.8	3.1
	3 000	88.6 $\pm$ 4.6	6.2	4.6
	6 000	89.8 $\pm$ 4.3	5.2	4.3
	12 000	88.5 $\pm$ 4.7	5.4	4.7

2.3 三氮唑在羊各组织中的残留消除规律

从表 2 可知,在最后一次给药后 6 h,三氮唑在羊肌肉、肝脏、肾脏组织和注射部位的残留量均达到最高值,平均残留量分别为(690.48 $\pm$ 67.19), (28 102.35 $\pm$ 2 223.70), (66 190.49 $\pm$ 7 048.93)和 (3 094.10 $\pm$ 533.61) $\mu\text{g}/\text{kg}$,其中肝脏和肾脏组织中平均残留量明显高于肌肉组织。给药后 1 d,肌肉、肝脏、肾脏和注射部位组织中三氮唑的平均残留量分别降至(536.32 $\pm$ 85.74), (15 697.27 $\pm$

2 081.85), (38 203.47 $\pm$ 5 714.48)和(2 101.52 $\pm$ 422.77) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在给药后 21 d,羊各组织中三氮唑的残留量急剧降低,且肌肉组织中未检出三氮唑,肾脏组织和注射部位(定量限同肌肉)中三氮唑的平均残留量降至定量限以下,肝脏中三氮唑的平均残留量也明显降低,但仍高达(1 675.14 $\pm$ 369.01) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。给药后 28 d,羊各组织中均未检出三氮唑残留。

表 2 三氮唑在羊各组织中的残留量($n=5$)

Table 2 Concentrations of diminazene in sheep tissues ($n=5$)

组织 Tissue	停药时间/d Withdrawal time	三氮唑残留量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Concentration of diminazene					平均 Average
		I	II	III	IV	V	
肌肉 Muscle	0.25(6 h)	694.36	793.25	697.28	611.41	656.12	690.48 $\pm$ 67.19
	1	536.13	671.63	530.43	508.54	434.87	536.32 $\pm$ 85.74
	3	494.61	485.41	485.12	489.34	395.34	469.96 $\pm$ 41.89
	7	389.36	353.15	321.65	352.12	314.97	346.25 $\pm$ 29.68
	14	112.86	114.15	103.23	123.71	109.42	112.67 $\pm$ 7.48
	21	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28	ND	ND	ND	ND	ND	ND

表 2(续) Continued Table 2

组织 Tissue	停药时间/d Withdrawal time	三氮脒残留量/($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Concentration of diminazene					
		I	II	III	IV	V	平均 Average
肝脏 Liver	0.25(6 h)	30 590.36	25 650.85	28 925.06	25 865.34	29 480.15	28 102.35±2 223.70
	1	14 060.03	15 405.31	18 460.12	13 465.26	17 095.65	15 697.27±2 081.85
	3	13 415.20	13 745.41	16 550.16	10 525.32	15 485.14	13 944.25±2 300.74
	7	10 595.34	8 135.18	7 795.43	6 835.22	6 380.25	7 948.28±1 640.34
	14	7 300.36	5 315.16	3 225.54	2 610.23	2 925.64	4 275.39±1 995.52
	21	2 196.02	1 837.61	1 634.18	1 493.54	1 214.36	1 675.14±369.01
	28	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肾脏 Kidney	0.25(6 h)	69 790.61	57 165.21	74 495.64	60 800.15	68 700.84	66 190.49±7 048.93
	1	30 775.34	33 630.26	44 110.81	40 520.81	41 980.12	38 203.47±5 714.48
	3	6 395.36	7 880.15	7 120.24	7 960.81	7 305.13	7 332.34±636.15
	7	3 085.21	3 255.06	2 810.81	2 910.16	2 325.15	2 877.28±352.24
	14	1 025.96	1 255.31	1 250.09	1 110.85	1 105.34	1 149.51±100.03
	21	324.33	338.82	321.16	323.67	246.26	310.85±36.76(<LOQ)
	28	ND	ND	ND	ND	ND	ND
注射部位 Inject site	0.25(6 h)	2 307.61	3 599.74	3 031.42	2 948.23	3 583.51	3 094.10±533.61
	1	1 645.92	2 388.83	2 083.54	1 743.46	2 645.85	2 101.52±422.77
	3	986.34	1 188.68	917.32	1 054.94	1 413.26	1 112.11±195.95
	7	768.93	880.16	879.34	814.21	855.62	839.65±47.75
	14	346.44	404.71	359.82	365.37	316.43	358.55±32.01
	21	73.15	92.35	68.15	86.55	84.24	80.89±9.96(<LOQ)
	28	ND	ND	ND	ND	ND	ND

注:ND. 未检出。
Note:ND. Not detected.

2.4 三氮脒在羊组织中的消除动力学特征

利用非房室模型的统计矩原理,采用 WinNon-
lin5.2.1 药代动力学软件计算出羊各组织中的消除
动力学参数。由表 3 可知,三氮脒在羊各组织中的
残留消除半衰期($T_{1/2\beta}$)由大到小依次为肝脏>肌

肉>肾脏>注射部位,消除速率(β)由大到小依次为
注射部位>肾脏>肌肉>肝脏,药时曲线下面积
(AUC)由高到低依次为肾脏>肝脏>注射部位>
肌肉,平均滞留时间(MRT)由大到小依次为肝脏>
注射部位>肌肉>肾脏。

表 3 三氮脒在羊组织中的消除动力学参数

Table 3 Pharmacokinetic parameters in sheep tissues after diminazene injection				
参数 Parameters	β/h^{-1}	$T_{1/2\beta}/\text{h}$	$\text{AUC}/(\text{h} \cdot \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$	MRT/h
肌肉 Muscle	0.006 6	104.21	113.20	125.11
肝脏 Liver	0.004 6	149.42	3 370.83	154.71
肾脏 Kidney	0.006 7	102.66	3 658.62	71.20
注射部位 Inject site	0.007 0	99.55	349.33	140.62

3 讨 论

从羊肝脏、肾脏、肌肉和注射部位中的三氮脒平
均残留量来看,肝脏和肾脏组织中的平均残留量明
显高于肌肉组织和注射部位,这与对狗^[20]和牛^[21-22]
组织中三氮脒残留量的检测结果一致。肝脏是三氮
脒的代谢器官,肾脏是该药物的主要排泄器官,这可
能是导致三氮脒在肝脏和肾脏中蓄积的原因。值得
注意的是,在给药后 6 h 和 1 d,三氮脒在肾脏中的
平均残留量高于肝脏,但在给药后 3 d,肾脏组织中
三氮脒的平均残留量迅速下降,明显低于肝脏组织。

这可能是由于在消除的前期阶段,大量三氮脒以原
型通过肾脏排泄而造成急剧蓄积的结果,但随着
时间的推移,肾脏组织中的残留量明显低于肝脏组
织。从羊各组织中三氮脒残留量随时间的变化可以
看出,在给药后 3 d,羊各组织中的三氮脒残留量明
显降低,在给药后 21 d,羊肌肉组织中未检出三氮
脒,肾脏组织和注射部位中三氮脒的残留量低于定
量限,而肝脏组织中三氮脒的平均残留量仍维持在
较高水平((1 675.14±369.01) $\mu\text{g}/\text{kg}$),直至给药
后 28 d 羊各组织中三氮脒的残留量才低于检测限,
表明三氮脒在羊体内消除缓慢,易在肝脏中蓄积残

留。从羊各组织的消除动力学参数来看,肝脏和肾脏组织的药时曲线下面积(AUC)明显大于肌肉组织,说明三氮脒进入肝脏和肾脏组织的药物量相对较高,但肾脏的消除半衰期($T_{1/2\beta}$)为 102.66 h,平均滞留时间(MRT)最短为 71.2 h,表明药物在肾脏中消除较快;而肝脏的 $T_{1/2\beta}$ 最长,MRT 也最长,表明该药物在肝脏中消除最慢。因此,本试验结果表明肝脏是三氮脒在羊体内的靶器官。

4 结 论

三氮脒经肌肉注射给药后,在羊体内吸收分布迅速且广泛,但消除缓慢,在最后一次给药后 6 h,肌肉、肝脏、肾脏组织和注射部位中的残留量达到最高,随后均呈下降趋势,在给药后 21 d,肌肉组织中未检出三氮脒,肾脏组织和注射部位中的三氮脒残留量降至定量限以下,肝脏组织中仍有较高三氮脒残留。肝脏是三氮脒在羊体内作用的靶器官。

[参考文献]

[1] Peregrine A S,Mamman M. Pharmacology of diminazane;a review [J]. Acta Tropica,1993,54(3/4):185-203.

[2] Roybal J E,Pfenning A P,Storey J M,et al. Liquid chromatographic determination of diminazene diaceturate (Berenil) in raw bovine milk [J]. Journal of Aoac International,2003,86(5):930-931.

[3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 [M]. 北京:中国农业出版社,2015:16-17.

Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: Chemical Industry Press,2015:16-17.

[4] 韩子强. 猪附红细胞体病诊治的研究 [D]. 山东泰安:山东农业大学,2003.

Han Z Q. Study on the diagnosis and therapy of eperythrozoonosis in pigs [D]. Tai'an,Shandong:Shandong Agricultural University,2003.

[5] Delespaux V,Dinka H,Masumu J,et al. Five-fold increase in Trypanosoma congolense isolates resistant to diminazene aceturate over a seven-year period in Eastern Zambia [J]. Drug Resistance Updates Reviews & Commentaries in Antimicrobial & Anticancer Chemotherapy,2008,11(6):205-209.

[6] Delespaux V,Geysen D,Bossche P V D,et al. Molecular tools for the rapid detection of drug resistance in animal trypanosomes [J]. Trends in Parasitology,2008,24(5):236-242.

[7] Aliu Y O,Odegaard S,Søgnen E. Diminazene/Berenil: bioavailability and disposition in dairy goats [J]. Acta Veterinaria Scandinavica,1984,25(4):593-596.

[8] Murilla G A,Mdachi R E,Karanja W M. Pharmacokinetics, bioavailability and tissue residues of [14C]. isometamidium in non-infected and Trypanosoma congolense-infected Boran cattle

[J]. Acta Tropica,1996,61(4):277-292.

[9] 刘 瑾,曾振灵,余静贤,等. 牛乳中三氮脒残留高效液相色谱检测方法的建立 [J]. 中国兽医科学,2012,42(5):533-536.

Liu J,Zeng Z L,Yu J X,et al. Development of high performance liquid chromatography method for the detection of diminazene-diaceturate residue in milk [J]. Chinese Veterinary Science,2012,42(5):533-536.

[10] 周雨卉,曾振灵,余静贤,等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定牛组织中三氮脒和氯化氮氮菲啉残留 [J]. 色谱,2017,35(9):995-1002.

Zhou Y H,Zeng Z L,Yu J X,et al. Simultaneous determination of diminazeneaceturate and isometamidium chloride residues in cattle tissues by high performance liquid chromatography with solid-phase extraction [J]. Chinese Journal of Chromatograph,2017,35(9):995-1002.

[11] 刘 瑾. 牛组织中三氮脒分析方法的研究 [D]. 广州:华南农业大学,2012.

Liu J. Studies on analysis method of diminazenediaceturate in cattle tissue [D]. Guangzhou:South China Agricultural University,2012.

[12] 赵吉祥,李 博,路文华,等. 猪血浆样品中三氮脒质量浓度的高效液相色谱测定方法的建立 [J]. 中国兽医科学,2014,44(1):93-97.

Zhao J X,Li B,Lu W H,et al. Development of high performance liquid chromatography for determination of the level of diminazene diaceturate in swine plasma samples [J]. Chinese Veterinary Science,2014,44(1):93-97.

[13] 金录胜,陈莎莎,李树纲,等. 反相高效液相色谱法测定三氮脒有关物质的方法学研究 [J]. 中兽医医药杂志,2010,29(6):41-43.

Jin L S,Chen S S,Li S G,et al. Determination on related substances in diminazene aceturate by RP-HPLC [J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine,2010,29(6):41-43.

[14] Abualhasan M N,Batravi N,Zaid A N,et al. A validated and stability indicating HPLC method for analysis of diminazene-aceturate and antipyrine combination in a ready injectable solution [J]. Drug Research,2013,63(6):300-304.

[15] Turnipseed S B,Clark S B,Andersen W C,et al. Confirmation of diminazene diaceturate in bovine plasma using electrospray liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography B,2006,844(1):127-133.

[16] 姚龙泉,张西臣,陈国庆,等. 三氮脒、三氮脒脂质体和复方三氮脒注射液在兔体内的药代动力学和组织残留 [J]. 中国病原生物学杂志,2002,15(6):367-369.

Yao L Q,Zhang X C,Chen G Q,et al. The pharmacokinetics and tissue residues of diminazene aceturate, diminazene liposomes and diminazene aceturate for injection in rabbits [J]. Journal of Pathogen Biology,2002,15(6):367-369.

[17] Aliu Y O,Mamman M,Peregrine A S. Pharmacokinetics of diminazene in female Boran(Bosindicus) cattle [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,1993,16(3):291-300.

[18]

ElBanna H A, Abo El Sound K, Soliman G A. Comparative pharmacokinetics of diminazene in lactating goats and sheep [J]. Transboundary &. Emerging Diseases, 2010, 46 (1): 49-58.

[19]

Miller D M, Swan G E, Lobetti R G, et al. The pharmacokinetics of diminazene aceturate after intramuscular administration in healthy dogs [J]. Journal of the South African Veterinary Association, 2012, 76 (3): 146-150.

[20]

Onyeyili P A, Anika S M. Diminazene aceturate residues in the tissues of healthy, Trypanosoma congolense, and Trypanosoma abruceibrucei, infected dogs [J]. British Veterinary Journal, 1991, 147 (2): 155-162.

[21]

Mdachi R E, Murilla G A, Omukuba J N, et al. Disposition of diminazene aceturate (Berenil) in trypanosome-infected pregnant and lactating cows [J]. Veterinary Parasitology, 1995, 58 (3): 215-225.

[22]

Kellner H M, Eckert H G, Volz M H. Studies in cattle on the disposition of the anti-trypanosomal drug diminazene diaceturate (Berenil) [J]. Trop Med Parasitol, 1985, 36 (4): 199-204.

(上接第 46 页)

[22]

胡 松, 李宁求, 付小哲, 等. 鳊传染性脾肾坏死病毒研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36 (3): 976-984.
Hu S, Li N Q, Fu X Z, et al. Research progress of infectious spleen and kidney necrosis virus in *Siniperca chuatsi* [J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36 (3): 976-984.

[23]

吴志强, 陈 晨, 陈正兴, 等. 高邮地区鳊传染性脾肾坏死病及其综合防控措施 [J]. 水产养殖, 2018, 39 (11): 47-48.
Wu Z Q, Chen C, Chen Z X, et al. Infectious spleen and kidney necrosis of *Siniperca chuatsi* in Gaoyou and its comprehensive prevention and control measures [J]. Aquaculture, 2018, 39 (11): 47-48.

[24]

周伟东, 周 勇, 刘 奕, 等. DNA 疫苗浸泡免疫预防鳊鱼传染性脾肾坏死病毒 [J]. 湖北农业科学, 2017, 56 (14): 2731-2735.
Zhou W D, Zhou Y, Liu Y, et al. DNA vaccine soaking immunity to prevent infectious spleen and kidney necrosis virus of *Siniperca chuatsi* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2017, 56 (14): 2731-2735.

[25]

戚瑞荣, 雷 燕, 崔龙波, 等. 传染性脾肾坏死病毒感染鳊的组织病理学观察 [J]. 水产学杂志, 2015, 28 (3): 35-38.
Qi R R, Lei Y, Cui L B, et al. Histopathological observation of *Siniperca chuatsi* infected by infectious spleen and kidney necrosis virus [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2015, 28 (3): 35-38.