

奚照寿,袁华根,丁丽军. 阿苯达唑及其亚砷在鲫鱼体内的药动学及残留消除[J]. 江苏农业科学,2017,45(24):171-173.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.24.045

# 阿苯达唑及其亚砷在鲫鱼体内的药动学及残留消除

奚照寿,袁华根,丁丽军

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

**摘要:**60 尾鲫鱼单剂量(12 mg/kg)口服给予阿苯达唑后采集血样,进行阿苯达唑及其亚砷在鲫鱼体内的药动学研究;40 尾鲫鱼以同等剂量连续口服给药 5 d,之后采集肌肉样品,检测药物浓度,分析残留消除的过程;利用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)检测血浆和肌肉中阿苯达唑以及其代谢产物阿苯达唑亚砷的浓度,药物浓度-时间数据采用 3P97 药动学程序软件处理。结果表明,鱼口服阿苯达唑后,血浆中阿苯达唑亚砷药物浓度-时间数据符合一级吸收一室开放模型, $t_{1/2\alpha}$  为 10.91 h, $t_{1/2\beta}$  为 11.95 h, $t_{peak}$  为 16.46 h, $K_a$  为  $0.06\text{ h}^{-1}$ , $K_e$  为  $0.06\text{ h}^{-1}$ , $C_{max}$  为 0.28 mg/L,AUC 为  $12.56\text{ mg}\cdot\text{h/L}$ ,药动学参数表明阿苯达唑亚砷在 15~18 ℃ 水温下,在鲫鱼体内吸收缓慢,滞留时间和半衰期较长,分布容积较小,血药浓度低。在 20 ℃ 水温下,多剂量口服阿苯达唑残留消除试验表明,停药后 4 d 肌肉中阿苯达唑亚砷的浓度为 0.787 mg/kg,停药后 8 d 为 0.064 mg/kg,停药后 24 d 药物浓度低于检测限。

**关键词:**阿苯达唑;鲫鱼;HPLC;药动学;残留

**中图分类号:**TQ450.2<sup>+</sup>63 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)24-0171-02

阿苯达唑(albendazole,简称 ALB)为苯并咪唑类抗寄生虫药,广泛用于畜禽及水产养殖中体内外寄生虫的防治。因此,有关阿苯达唑在食品动物的药动学研究也较多,但大多集中于家畜体内,国内外对于阿苯达唑在鱼体内的药动学及残留研究尚未见报道。由于缺乏应用阿苯达唑防治鱼类寄生虫病的药动学数据与资料,目前在水产养殖中应用阿苯达唑时,主要是参考该药在畜禽上的应用经验。本研究拟研究口服给药后,阿苯达唑及其亚砷在鲫鱼体内的药动学,并通过多次给药研究阿苯达唑在鲫鱼肌肉中的残留消除规律,以期为指导水产养殖中阿苯达唑的合理用药及残留监控提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

体质量( $150\pm20$ )g/尾鲫鱼,购自某渔场。饲养于大小为  $2.2\text{ m}\times1.9\text{ m}\times0.8\text{ m}$  鱼池中,使用经曝气的自来水,水深 0.3 m,每池 30 尾,每周投食 3 次。所有鲫鱼试验前预养 2 周,试验期间不投食。

### 1.2 药品与试剂

阿苯达唑对照品(含量 99.3%)、阿苯达唑原料药(含量 98.3%),由常州亚邦齐晖医药化工有限公司提供;阿苯达唑亚砷对照品(含量 99.5%),由常州市亚邦兽药有限公司提供。流动相用乙腈、甲醇为 HPLC 级,样品前处理乙腈、甲醇、乙酸乙酯等有机试剂为分析纯。

### 1.3 仪器及其他

SHMADZU 高效液相色谱仪(日本岛津公司);ODS-2HYPERASIL 不锈钢色谱柱(Thermo ELECTRON CORPORATION); $C_{18}$  保护柱[翡纳米(天津)科技发展有限公司]。

司]。

### 1.4 动物给药与采样

1.4.1 口服给药的药动学 水温设定为 15~18 ℃,将 60 尾鲫鱼,随机分为 12 组,每组 5 尾。每尾灌服阿苯达唑 12 mg/kg。口服给药后 12、20、26、34、36、38、44、48、60、72、96 h 采集尾静脉血约 1 mL,分离血浆,-20 ℃ 保存。

1.4.2 口服给药的残留消除 40 尾鲫鱼于水温( $20\pm1$ )℃ 下,随机分为 8 组,根据体质量按 12 mg/kg 的剂量灌服给予阿苯达唑溶液,每天 1 次,连续 5 d。于最后一次给药后 0.5、1、2、4、8、12、24 d 各剖杀 1 组,取肌肉样品,置于 -20 ℃ 保存。

### 1.5 测定血浆阿苯达唑及其亚砷浓度

1.5.1 血浆样品预处理 取血浆样品 0.25 mL 于 EP 管中,加 1 mL 乙酸乙酯沉淀蛋白,涡旋混合 3 min 后,3 500 r/min 离心 15 min,吸取上清液于 50 mL 鸡心瓶中,65 ℃ 旋转蒸干,之后用 0.5 mL 流动相溶解,涡旋混合 2 min,转入 1.5 mL EP 管,高速离心 5 min(16 000 r/min),经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,供 HPLC 分析。

1.5.2 HPLC 测定条件 流动相:体积比 33:67 的乙腈-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(0.05 mol/L);检测器:紫外吸收检测器;检测波长:292 nm;柱温:30 ℃;流速:1 mL/min;紫外检测器灵敏度:0.020 AUFS;进样量:20 μL。在上述检测条件下,在空白血浆样品中添加系列浓度的阿苯达唑或其亚砷的标准工作液,经预处理后分别测定血浆中阿苯达唑及其亚砷浓度,确定标准曲线及线性范围、定量限(LOQ)与检测限(LOD)、回收率、精密度。

### 1.6 测定组织中阿苯达唑及其亚砷的药物浓度

1.6.1 组织样品预处理 肌肉样品剪碎后准确称取 2.5 g 于 50 mL 离心管中,加入 12 mL 乙酸乙酯,涡旋混合 3 min,匀浆 2 min(15 000 r/min),匀浆刀头用 12 mL 乙酸乙酯清洗,且清洗液转入匀浆液中,超声提取 10 min,3 500 r/min 离心 10 min,将上清液转入 50 mL 鸡心瓶中,65 ℃ 蒸干。利用

收稿日期:2017-05-02

作者简介:奚照寿(1966—),男,江苏泰州人,副教授,主要从事动物药物药动学及有机合成研究。E-mail:420136709@qq.com。

2 mL 流动相溶解鸡心瓶中的残渣,涡旋 2 min,转入 10 mL 玻璃离心管中,再用 3 mL 正己烷清洗鸡心瓶,合并清洗液于玻璃离心管,涡旋 3 min,离心 5 min(4 000 r/min),弃去正己烷层,再加入 3 mL 正己烷涡旋混合,离心,弃去正己烷层。将底层液体转入另一离心管中,16 000 r/min 离心 5 min,0.45 μm 滤膜过滤,供 HPLC 分析。

1.6.2 HPLC 测定条件 流动相:体积比 3 : 7 的乙腈 - KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液(0.05 mol/L,pH 值 3.5);其余同“1.5.2”节。

1.7 数据分析处理

利用药代动力学软件 3P97 处理鲫鱼口服给药后的血浆药物浓度 - 时间数据以及肌肉药物浓度 - 时间数据,自动拟合最佳药动学模型,推导药动学参数。

2 结果

2.1 鲫鱼血浆及肌肉组织中阿苯达唑药物浓度的 HPLC 检测方法

所建立的色谱条件下,能较好地阿苯达唑、阿苯达唑亚砒与血浆或肌肉组织中其他基质组分完全分离开。血浆中阿苯达唑及阿苯达唑亚砒出峰时间为 21.10 min 和 4.00 min,峰形良好;肌肉中的保留时间分别为 24.0 min 和 4.4 min,峰形对称,峰宽较窄。

基质加标标准曲线显示,阿苯达唑在 0.1 ~ 1.6 mg/L 范围内,阿苯达唑亚砒在 0.012 5 ~ 1.6 mg/L 范围内,线性良好,相关系数大于 0.999。

血浆中,阿苯达唑及其亚砒平均回收率介于 82.93% ~ 97.45% 之间,变异系数分别为 3.40% ~ 3.70% 和 4.16% ~ 4.53%,LOD 分别为 0.05、0.006 25 mg/L,LOQ 分别为 0.1、0.012 5 mg/L。肌肉组织中,阿苯达唑及其亚砒的回收率在 82.39% ~ 97.25% 之间,变异系数分别为 2.59% ~ 5.26%、2.46% ~ 4.36%,LOD 分别为 0.05、0.006 25 mg/kg,LOQ 分别为 0.1、0.012 5 mg/kg。

2.2 口服给药的药动学特征

鲫鱼口服阿苯达唑(12 mg/kg)后,血药浓度时间数据可用一级吸收 - 一室开放模型拟合,血浆中阿苯达唑亚砒的药动学参数见表 1。

表 1 鲫鱼血浆中阿苯达唑亚砒的药动学参数(单剂量口服阿苯达唑 12 mg/kg)

参数	单位	$\bar{x} \pm s(n=5)$
<i>A</i>	mg/L	11.10 ± 9.34
<i>K<sub>e</sub></i>	h <sup>-1</sup>	0.06 ± 0.01
<i>K<sub>a</sub></i>	h <sup>-1</sup>	0.06 ± 0.01
Lagtime	h	11.42 ± 0.63
<i>t</i> <sub>1/2<i>K<sub>a</sub></i></sub>	h	10.91 ± 1.33
<i>t</i> <sub>1/2<i>K<sub>e</sub></i></sub>	h	11.95 ± 1.24
<i>t</i> <sub>peak</sub>	h	16.46 ± 1.84
<i>C</i> <sub>max</sub>	mg/L	0.28 ± 0.07
<i>AUC</i>	mg · h/L	12.56 ± 4.14
<i>CL/F(s)</i>	(mg/kg)/[h · (mg/L)]	1.08 ± 0.51
<i>V/F(c)</i>	(mg/kg)/(mg/L)	17.97 ± 5.79

2.3 口服给药残留消除结果

在(20 ± 1)℃ 水温下,鲫鱼多剂量口服阿苯达唑(12 mg/kg)后,肌肉浓度 - 时间数据可用一级吸收 - 一室开放模型拟合。肌肉中阿苯达唑亚砒的药动学参数见表 2。

表 2 鲫鱼多剂量口服阿苯达唑(12 mg/kg)后阿苯达唑亚砒的残留参数

参数	单位	$\bar{x} \pm s(n=5)$
<i>A</i>	mg/kg	7.487 ± 6.592
<i>K<sub>e</sub></i>	d <sup>-1</sup>	0.359 ± 0.061
<i>K<sub>a</sub></i>	d <sup>-1</sup>	0.462 ± 0.083
Lagtime	d	0.299 ± 0.073
<i>t</i> <sub>1/2<i>K<sub>a</sub></i></sub>	d	1.535 ± 0.233
<i>t</i> <sub>1/2<i>K<sub>e</sub></i></sub>	d	1.971 ± 0.288
<i>t</i> <sub>peak</sub>	d	2.500 ± 0.347
<i>C</i> <sub>max</sub>	mg/kg	0.498 ± 0.083
<i>AUC</i>	mg · d/kg	3.383 ± 0.617
<i>CL/F(s)</i>	(mg/kg)/[d · (mg/kg)]	3.652 ± 0.718
<i>V/F(c)</i>	(mg/kg)/(mg/kg)	10.338 ± 2.491

3 讨论

3.1 检测条件和样品预处理方法的选择

国内外有关测定畜禽血浆中阿苯达唑及其代谢物的分析方法已有报道<sup>[1-4]</sup>。本试验在已报道方法的基础上优化了血浆及肌肉样品预处理方法。本试验采用乙酸乙酯为提取液不但能够将样品中的蛋白沉淀,对待测组分的提取效果也较好,而且乙酸乙酯对于操作人员安全无毒,样品只需提取 1 次,提取的上清液澄清,易蒸干,提取过程较沙先谊等<sup>[2]</sup>和邱银生等<sup>[3]</sup>的方法简单,灵敏度更高。HPLC 结果显示空白血浆样品中杂峰少,干扰小,血浆中阿苯达唑亚砒保留时间与沙先谊等和邱银生等的研究结果<sup>[2-3]</sup>基本一致,而阿苯达唑的保留时间与之相比则较晚,但药物峰形好,拖尾因子小,可以满足鲫鱼血浆及肌肉组织中阿苯达唑和阿苯达唑亚砒药物动力学及药物残留研究的要求。肌肉样品预处理方法与 Casetta 等<sup>[5]</sup>和林海丹等<sup>[6]</sup>的相比,过程简单,少量的乳化和不过小柱处理对出峰情况基本无影响,肌肉中阿苯达唑及其亚砒的回收率达到 80% 以上。肌肉中阿苯达唑及其亚砒检测方法与邱银生等和 Fletouris 等相比,空白样品杂峰少、干扰小,阿苯达唑的保留时间较长,但峰形较好。在该条件下,肌肉中阿苯达唑及其亚砒的回收率、检测限、定量限及日内、日间变异系数均可满足鲫鱼肌肉中阿苯达唑及其亚砒残留分析的要求。

3.2 鲫鱼口服给药的药动学特征

阿苯达唑在动物体内代谢迅速,极少以原形药物存在,主要代谢为阿苯达唑亚砒和阿苯达唑砒<sup>[7]</sup>。水温条件为 15 ~ 18℃ 时,鲫鱼口服(12 mg/kg 体质量)阿苯达唑后,血浆中阿苯达唑亚砒的药物浓度 - 时间变化规律符合一级吸收 - 一室开放模型,药物吸收缓慢,药物浓度低,代谢物消除亦较慢,表观分布容积较小。与猪或羊单剂量内服阿苯达唑后的药动学参数相比<sup>[1]</sup>,在本试验条件下,阿苯达唑亚砒在鲫鱼的达峰时间比较长,消除半衰期为 11.9 h,长于阿苯达唑亚砒在猪体内的半衰期,但比在羊体内的短。

3.3 残留消除特点与休药期

在(20 ± 1)℃ 水温下,鲫鱼以 12 mg/kg 体质量的给药剂量多剂量口服阿苯达唑,停药后 0.5 ~ 4 d 内阿苯达唑亚砒代谢物的生成速率大于消除速率,肌肉中的药物浓度处于上升趋势,4 d 时达到峰浓度 0.787 mg/kg,之后开始下降,8 d 时下降到 0.064 mg/kg,24 d 时药物浓度低于检测限。阿苯达唑在鲫鱼口服给药的残留消除特征是,消除速率常数 *K<sub>e</sub>* 为

胡俊平, 杨 健, 任 云, 等. 不同产地连翘的电化学指纹图谱[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(24): 173–175.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.24.046

# 不同产地连翘的电化学指纹图谱

胡俊平, 杨 健, 任 云, 刘 妍, 毕慧敏, 游富英

(邯郸学院化学化工与材料学院/邯郸学院化学化工省级本科实验教学示范中心, 河北邯郸 056005)

**摘要:**在  $\text{BrO}_3^- - \text{Mn}^{2+} - \text{H}^+ - \text{CH}_3\text{COCH}_3$  振荡体系中加入连翘为反应底物, 通过电化学工作站测定柴胡的电化学指纹图谱。单因素试验确定柴胡加入量为 1.2 g、温度为 45 ℃、粒度为 80 目时, 可以取得理想的电化学指纹图谱; 在此测定条件下, 研究不同产地柴胡的电化学指纹图谱, 通过分析图谱中的特征物理参数, 达到鉴定柴胡真伪和对不同产地柴胡进行质量评价的目的。

**关键词:**电化学指纹图谱; 连翘; 质量评价; 单因素试验; 特征物理参数

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)24-0173-03

中草药的发展和研究在中国具有悠久的历史 and 深远的文化, 是中华名族不可或缺的瑰宝, 也是世界文化遗产的重要组成部分, 更为全世界人们的健康作出了不菲的贡献。众所周知, 中药是由多种化学成分组成的混合物, 只有多种成分相互作用才能达到治病的效果。因此, 很难通过测定药材某种成分达到评价中药专属性和有效性的目的<sup>[1]</sup>。目前, 中药常用的检测方法有气相色谱指纹图谱法、高效液相指纹图谱法、红

外光谱法等<sup>[2-3]</sup>。以上方法虽然能鉴定中草药的真伪, 但检测过程中必须对中草药进行分离、提纯等操作, 操作周期长、成本高、工作量大, 不适用于绝大多数复杂中草药的鉴别与评价。中药电化学指纹图谱在中药鉴别和质量评价方面具有可靠、快速、成本低的优点, 越来越受到人们的重视, 作为一种分析检测技术已经得到广泛的应用<sup>[4-5]</sup>。

连翘(*Forsythia suspensa*)是落叶灌木, 属木樨科连翘属植物, 主要分布在河北、河南、陕西、辽宁、云南、四川等地。其干燥果实药性平, 味甘、苦, 具有清热解毒、消肿散结之功效, 主治痈疽、瘰癧、丹毒、风热感冒、温热入营、高热烦渴、热淋尿闭等症。连翘的化学成分为挥发油、连翘苷等木质素类, 齐墩果酸和熊果酸等三萜酸类等<sup>[6]</sup>。本研究主要探讨连翘在  $\text{BrO}_3^- - \text{Mn}^{2+} - \text{H}^+ - \text{CH}_3\text{COCH}_3$  体系中作振荡反应的电化学指纹图谱。其特征物理量为: (1) 诱导时间( $t_{\text{诱导}}$ ), 从加入

收稿日期: 2017-05-18

基金项目: 河北省科技计划自筹经费项目(编号: 16272512); 河北省高等学校科学技术研究项目(编号: Z2017148); 邯郸学院项目(编号: 16208)。

作者简介: 胡俊平(1981—), 男, 河北邯郸人, 硕士, 讲师, 主要从事电化学方法对中草药质量评价的研究。Tel: (0310) 6260302; E-mail: 71917640@qq.com。

0.359 h<sup>-1</sup>, 消除半衰期为 1.971 d, 停药后 24 d, 药物浓度低于检测限。

鱼类动物的体温会随着水温的变化而变化, 其采食量、新陈代谢也会随着水温的变化而改变, 鲫鱼最适合的生长温度在 20~28 ℃之间, 在非适性温度条件下, 其代谢强度明显下降, 进而影响消除速率<sup>[8]</sup>。据统计, 在最适生长温度范围内鱼的体温每增加 1 ℃, 药物在鱼体内的代谢速率就增加 10%<sup>[9]</sup>。药物在鱼体内的消除速度随水温的降低而减慢, 即药物的半衰期会随着水温的降低而延长<sup>[10]</sup>。

我国规定阿苯达唑在鱼组织中的休药期为 500 ℃·d, 本研究在 (20±1) ℃水温条件下, 鲫鱼多剂量口服给药阿苯达唑 (12 mg/kg 体质量), 连续用药 5 d, 停药后 24 d 阿苯达唑亚砷低于最低残留限量标准, 结果与我国的休药期相符合。但是对于其他种类的鱼来说, 还需要试验进一步验证。

## 参考文献:

- [1] 蔡 军, 潘保良. 丙硫咪唑的药动力学及其应用[J]. 辽宁畜牧兽医, 2000(4): 29–30.
- [2] 沙先宜, 马 燕, 张学农, 等. 阿苯达唑纳米球大鼠体内药动力学[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(16): 1254–1257.

- [3] 邱银生, 王大菊, 周祖坤, 等. 氧阿苯达唑和阿苯达唑在绵羊体内代谢物的比较药动力学[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(5): 461–464.
- [4] 肖昭彭, 骆学农, 才学鹏, 等. 高效液相色谱法测定羊体内的丙硫咪唑缓释弹代谢产物的血药浓度[J]. 分析测试技术与仪器, 1997, 3(4): 250–253.
- [5] Chiavarino B, Crestoni M E, di Marzio A, et al. Determination of sulfonamide antibiotics by gas chromatography coupled with atomic emission detection[J]. Journal of Chromatography: B – Biomedical Sciences and Applications, 1998, 706(2): 269–277.
- [6] 林海丹, 谢守新, 吴映璇. 固相萃取高效液相色谱法测定乳粉中苯并咪唑类药物残留[J]. 分析实验室, 2005, 24(1): 27–29.
- [7] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2001: 269–271.
- [8] 刘婉莹. 北方养殖鱼类的安全越冬[J]. 黑龙江水产, 2001(4): 33–36.
- [9] Ellis A E, Roberts R J, Tytler P. The anatomy and physiology of teleost[C]//Roberts R J. Fish physiology. London: Balliere Tindall, 1978: 13–54.
- [10] Haug T, Hals P A. Pharmacokinetics of oxytetracycline in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) in fresh water at low temperature[J]. Aquaculture, 2000, 186: 175–191.