

丙硫咪唑在猪体内的药物动力学研究*

陈杖榴 曾振灵 袁宗辉 冯淇辉

(兽医药理研究室)

提 要

本文报道广谱抗寄生虫药丙硫咪唑在猪体内的药物动力学研究。选用6头健康杂种猪,体重为 $38.0 \pm 4.6\text{kg}$,按 10mg/kg 的剂量胃管灌服丙硫咪唑混悬液,服药前后按计划定时从前腔静脉采集血样。用乙醚萃取法提取血浆中的药物,反相高效液相色谱法同时测定血浆丙硫咪唑及其代谢产物丙硫咪唑亚砜及砜的浓度。测定时以甲苯咪唑为内标,色谱条件:Zorbax® ODS柱($25\text{cm} \times 4.6\text{mm}$),流动相为甲醇:水(80:20, V/V),流速 1.0ml/min ,UV检测波长 292nm 。测定结果表明,在给药后3分钟采的血样已不能测到丙硫咪唑的原形药物,而其两种主要代谢产物亚砜及砜在给药后36小时仍可测到(最低检测限:亚砜及砜均为 $0.02\mu\text{g/ml}$)。亚砜及砜的主要动力学参数分别是:峰浓度 3.22 ± 0.39 、 $1.91 \pm 0.80\mu\text{g/ml}$,达峰时间 10.00 ± 5.93 、 20.67 ± 4.46 小时,消除半衰期 5.90 ± 2.31 、 9.17 ± 2.30 小时,药时曲线下面积 52.38 ± 10.73 、 $32.23 \pm 9.10\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ 。丙硫咪唑在猪体内的抗蠕虫活性目前认为是由于在肝脏代谢生成的产物亚砜的作用。

关键词 丙硫咪唑;亚砜及砜代谢物;反相高效液相色谱法;药物动力学;猪

引 言

丙硫咪唑(Albendazole)是人工合成的一种较新的苯并咪唑类衍生物,1976年由美国Smith Kline 药厂首先合成生产,1979年中国兽药监察所仿制成功,先后由几间药厂投产。丙硫咪唑抗虫谱广、作用强、毒性小,对马、牛、羊、猪、狗、鸡等畜禽的胃肠道线虫、肺线虫、吸虫和绦虫有很好的疗效^[2],此外,对人、畜的囊尾蚴病也有较好的作用^[4,5]。丙硫咪唑进入动物机体后,先后氧化代谢为亚砜和砜,最终生成2-氨基丙硫咪唑砜(图1)^[12,14]。这种氧化代谢除了在肝脏进行外,亦可能发生在其他器官和组织^[13],同时,各种动物代谢的速率和产物的多少并不一致,如丙硫咪唑亚砜在绵羊的血中浓度就比牛高,两种代谢产物(亚砜及砜)在牛体内的消除比绵羊要快^[15],而且禽类存在较大的差别,因此,临床应用时不能从一种动物推到另一种动物^[17]。目前认为代谢产物亚砜是丙硫咪唑发挥作用的活性物质^[7,9,16],它从肝脏生成后还可通过被动扩散进入

*本试验的HPLC测定承蒙实验中心齐军同志帮助,药理室蒋佩莲同志协助部分实验,在此一并致谢。

1989年6月6日收稿。

胃肠道^[9]。本药的抗虫作用机制可能是由于破坏寄生虫肠上皮的微管结构,从而抑制了糖原从肠道的吸收^[17]。关于丙硫咪唑在马、牛、猪、绵羊、狗、兔、大鼠等动物和人体内的药物代谢动力学研究已有报道^[1,3,15,16]。本研究的目的是给猪内服治疗量(10mg/kg)的丙硫咪唑后,探讨本药及其代谢产物亚砒、砒在健康猪体内的代谢动力学,为临床合理用药提供理论依据。

材料与方法

(一) 试验动物

本地杂种猪6头,公、母各半,均阉割,体重为 38.0 ± 4.6 kg(平均值 $\pm$ 标准差)。

(二) 供试药物、试剂

丙硫咪唑粉,杭州药厂生产,批号860613,含量为99.81%。丙硫咪唑、亚砒及砒标准品由美国Smith Kline & French实验室提供。甲苯咪唑粉,陕西汉江制药厂生产,批号8704017,含量99.52%。所用甲醇、乙醚、磷酸二氢钾、氢氧化钠等均为分析纯试剂。

(三) 血浆丙硫咪唑、亚砒及砒浓度的测定

1. 血浆药物的萃取:参考Bogan等的方法^[8],作适当修改。取血浆1ml,加入内标物甲苯咪唑 $0.4 \mu\text{g}$ (体积 $10 \mu\text{l}$)、pH7.4的磷酸盐缓冲液1ml,振摇,再加乙醚5ml,台式振荡器上振荡20分钟,分离乙醚层。共提取二次。提取乙醚液在 $40 \sim 60^\circ\text{C}$ 氮气吹干,于残渣中加入 $100 \mu\text{l}$ 甲醇溶解,旋涡混合器上混合2分钟,进样 $10 \mu\text{l}$ 作HPLC分析。

2. 色谱条件与标准曲线的制备:日本Waters LC-244型高效液相色谱仪,Zorbax[®] ODS柱($25\text{cm} \times 4.6\text{mm}$)。流动相为甲醇:水(80:20, V/V),流速 $1.0\text{ml}/\text{分}$,柱温 37°C ,UV检测器292nm。在上述色谱条件下,以健康猪血浆稀释丙硫咪唑、亚砒及砒为 $0.02 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n=7$)的浓度,乙醚萃取后作HPLC分析,测得砒、亚砒、甲苯咪唑及丙硫咪唑的保留时间分别是3.3、3.7、4.4及7.6分钟〔图2(A)〕。计算药物与内标的峰高比,与浓度作直线回归,制作标准曲线。丙硫咪唑、亚砒及砒的标准曲线方程分别是: $C_1 = 1.0564 \times h_1 - 0.0036$ ($r_1 = 0.9985$), $C_2 = 0.6072 \times h_2 - 0.0020$ ($r_2 = 0.9958$), $C_3 = 0.4539 \times h_3 - 0.0096$ ($r_3 = 0.9957$),检测限分别为 $0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ 及 $0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

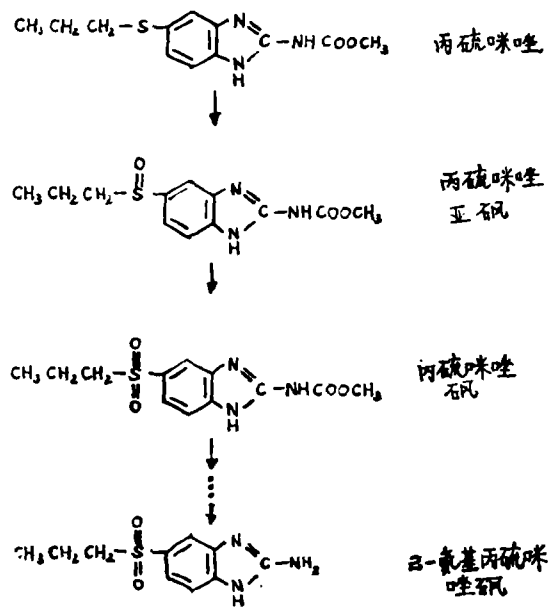


图1. 丙硫咪唑及其代谢产物的化学结构

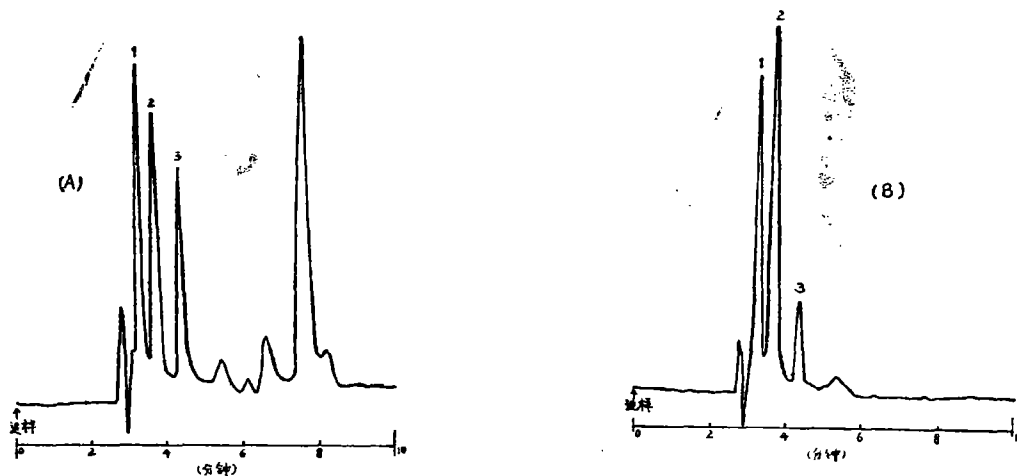


图2 丙硫咪唑(4), 亚砷(2)、砷(1)及甲苯咪唑(3)的色谱图
(A) 四种药物溶解在血浆的提取液
(B) 5号猪给药后22小时的血浆提取液

3. 回收率测定

将一定量的丙硫咪唑、亚砷及砷一并加进空白血浆, 浓度范围为 $0.05 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 7$), 用乙醚萃取后作HPLC测定。同时还将上述三种药物直接溶于甲醇成 $0.5 \sim 100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ($n = 7$) 的浓度, 作HPLC分析, 用下式计算它们的回收率:

$$\text{回收率}\% = \frac{\text{提取的血浆药物峰高}}{\text{溶于甲醇的药物峰高}} \times 100\%$$

丙硫咪唑、亚砷及砷的平均回收率分别是88.9%、88.5%及95.9%。

(四) 给药与血样收集

动物禁食18小时后, 用胃管灌服丙硫咪唑的乙醇混悬液, 剂量为 $10\text{mg}/\text{kg}$ 。给药前采空白血样, 投药后分别在3、6、9、12、18、30、45分钟及1、1.5、2、3、4、6、8、12、15、22、24、26、28、32、36小时分别从前腔静脉采血3~5ml, 置于含肝素钠的离心管内, 离心分离血浆, 冰箱保存, 次日测定。将不同时间血浆样品乙醚萃取后作HPLC分析, 计算药物与内标的峰高比, 从标准曲线方程算得不同时间的血药浓度。

(五) 数据分析处理

用非线性最小二乘法计算机程序, 在苹果—II电子计算机上拟合消除相血浆亚砷及砷浓度—时间数据, 计算消除率常数(K_e)及消除半衰期($t_{1/2ke}$)。达峰时间(T_{max})及峰浓度(C_{max})由每一动物的药时曲线中求得。亚砷及砷的药时曲线下面积(AUC)按梯形法计算^[11]。

试验结果

6头猪按 $10\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量内服丙硫咪唑后, 测定给药后不同时间血浆中丙硫咪唑及其

代谢产物亚砷、砷的浓度,发现血浆中任何时间丙硫咪唑的浓度均低于检测水平($0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$),而仅能检测到它的两个代谢产物亚砷和砷。5号猪内服丙硫咪唑后22小时的血浆提取液的色谱图见图2(B)。6头猪内服丙硫咪唑后的血浆丙硫咪唑代谢产物亚砷及砷浓度数据见表1,主要药物动力学参数见表2。

表1 6头猪内服丙硫咪唑($10\text{mg}/\text{kg}$)后的血浆亚砷及砷浓度

采血时间(h)	亚 砷	砷	采血时间(h)	亚 砷	砷
0.5	$0.13 \pm 0.16^*$	0.003 ± 0.008	12	2.21 ± 0.57	0.90 ± 0.29
1	0.37 ± 0.24	0.08 ± 0.07	15	1.96 ± 0.59	1.25 ± 0.42
1.5	0.58 ± 0.50	0.13 ± 0.10	22	1.76 ± 0.89	1.69 ± 0.68
2	0.80 ± 0.56	0.19 ± 0.09	24	1.24 ± 0.78	1.87 ± 0.92
3	1.27 ± 0.68	0.24 ± 0.10	26	1.14 ± 0.72	1.06 ± 0.30
4	1.62 ± 0.72	0.31 ± 0.10	28	0.36 ± 0.19	0.48 ± 0.30
6	2.22 ± 1.09	0.51 ± 0.19	32	0.15 ± 0.18	0.29 ± 0.30
8	2.84 ± 1.01	0.73 ± 0.25	36	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.30

* 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示

表2 6头猪内服丙硫咪唑($10\text{mg}/\text{kg}$)后两种代谢产物(亚砷及砷)的主要动力学参数

参 数	单 位	亚 砷 (n=6)		砷 (n=6)	
		平均值 $\pm$ 标准差	范 围 (最小~最大)	平均值 $\pm$ 标准差	范 围 (最小~最大)
峰浓度(C_{max})	$\mu\text{g}/\text{ml}$	3.22 ± 0.33	2.85~3.87	1.91 ± 0.80	0.97~2.74
达峰时间(T_{max})	h	10.00 ± 5.93	6~22	20.67 ± 4.46	15~24
消除速率常数(K_e)	h^{-1}	0.1349 ± 0.0424	0.0692~0.1726	0.0828 ± 0.0168	0.0638~0.1008
消除半衰期($t_{1/2K_e}$)	h	5.90 ± 2.31	4.02~10.01	9.17 ± 2.50	6.88~12.22
药时曲线下面积(AUC) $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$		52.38 ± 10.73	34.10~73.91	32.23 ± 9.10	21.29~47.69

讨 论

Averki^[1]等(1975)比较了硫苯咪唑及硫苯咪唑亚砷、砷代谢产物的驱蠕虫活性,发现在鼠体内亚砷比硫苯咪唑的驱虫活性要强,而砷几乎无驱虫作用^[7]。Bogan等(1983)报道,在所有研究的动物体内,苯并咪唑类药物的主要代谢途径是氧化为亚砷和砷,其驱虫活性与原形药和代谢产物亚砷有关,而其另一代谢产物砷的驱虫活性很小或缺乏^[10]。本实验结果表明,内服给药后,丙硫咪唑在猪血浆中不存在或仅以痕量存在,它在猪体内迅速、广泛地被代谢为亚砷及砷。从驱虫作用考虑,丙硫咪唑在体内以原形药起的作用是很小的,仅是一种“前体性药物”(Prodrug)。这一结果与内服丙硫咪唑后,在马、牛、绵、羊、狗、兔等动物和人体内的血药浓度研究是一致的^[15,16]。丙硫咪唑对猪姜片吸虫、猪肾虫、猪肉囊尾蚴等有较好的疗效可能是因为丙硫咪唑在肝脏氧化代谢为亚砷及在血液中浓度较高,而对胃肠道线虫的疗效是由于丙硫咪唑亚砷通过被动扩散进入胃肠道^[9],而发

挥驱虫作用。

Marriner 等(1980)将丙硫咪唑与瘤胃液及皱胃液在有二氧化碳存在的条件下37℃孵育24小时,证实胃液不能将丙硫咪唑代谢为亚砒及砒^[14]。Short等(1988)以牛、绵羊、山羊、鸡、鸭、火鸡、鼠、兔及鲑鱼的肝脏研究硫苯咪唑的氧化代谢,发现九种动物的肝匀浆上清液均能氧化硫苯咪唑为亚砒代谢物^[17]。Galtier等(1986)报道,羊肝微粒体能将丙硫咪唑氧化代谢为丙硫咪唑亚砒,但羊肝微粒体或细胞液的上清液均不能将丙硫咪唑亚砒进一步氧化为砒,认为这两种生物氧化发生在动物机体的两个不同部位^[10]。由于亚砒及砒氧化部位的不同,可解释为什么猪内服丙硫咪唑后,血浆亚砒及砒的峰浓度、达峰时间和消除半衰期存在差异。作者推断,丙硫咪唑被猪吸收后,可能被肝微粒体氧化酶迅速氧化为亚砒,而亚砒进一步氧化为砒的部位可能在机体的其他器官和组织。

按10mg/kg的剂量内服丙硫咪唑后,丙硫咪唑亚砒、砒在猪血浆的峰浓度分别是3.22、1.91 $\mu\text{g}/\text{ml}$,达峰时间分别是10.00、20.67小时,可测药物时间均是36小时。而丙硫咪唑亚砒、砒在绵羊血浆的峰浓度分别是3.2、0.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$,达峰时间分别是20、32~48小时,可测药物浓度时间分别为72、96小时^[14]。可见,单胃动物和反刍动物在丙硫咪唑的吸收、分布、代谢、消除等方面存在很大的差异。丙硫咪唑在马、绵羊、狗、兔等动物和人体内代谢动力学研究亦表明,反刍兽血浆亚砒的浓度显著高于其他种属动物^[10]。其原因可能是丙硫咪唑在瘤胃液中溶解度小,内服的药物很大程度存留在瘤胃,要到酸度较大的皱胃液才能溶解。因此,认为瘤胃仅是丙硫咪唑的贮库,但能使药物溶解吸收时间延长,增加血浆的生物利用度^[10]。但是,同是反刍动物内服丙硫咪唑后,牛血浆亚砒及砒浓度显著低于绵羊,两种代谢产物在牛体内的消除比绵羊快,其原因是牛比绵羊具有更快的氧化代谢^[15]。这些种属或品种间的差异除了上述原因外,肝微粒体氧化酶强弱的不同亦是重要原因,这在用九种动物的肝脏研究硫苯咪唑的氧化代谢中得到证实^[17]。因此,丙硫咪唑在临床应用时不能用一种实验动物的结果推到其他动物,应以特定动物的动力学参数为制定给药方案的根据。

丙硫咪唑先在肝脏氧化代谢为亚砒,随后代谢为砒,其最终代谢产物是2-氨基砒,失去驱虫活性,仅在动物的尿中可发现^[12]。虽然本研究未进行2-氨基丙硫咪唑砒的检测,但已有许多资料证明它不干扰其他代谢产物的HPLC分析^[6,12,14]。

血浆中在给药后的任何时间测不到丙硫咪唑的原形药物,仅能测到代谢产物亚砒及砒。在许多苯咪唑类药物的动物体内研究中均已发现同样情况,有人认为是肝首过代谢的反映^[13]。

引用文献

- [1] 才学鹏. 中国兽医科技, 1935; (7): 8—13
- [2] 冯淇辉等. 兽医临床药理学. 北京: 科学出版社, 1933: 228
- [3] 关天祯等. 中国兽医科技, 1988; (3): 8—11
- [4] 陈新谦等. 新编药理学(第十二版). 北京: 人民卫生出版社, 1985: 175
- [5] 韩宇等. 丙硫苯咪唑治疗猪囊虫病研究报告. 南宁: 全国家畜寄生虫学研究会论文, 1986
- [6] Alvinci, M. et al. J. Pharm Biomed Anal, 1984; 2(1): 73—79

- [7] Averkin, E. A. et al. *J Med Chem*, 1975; 11:1164—1166
- [8] Bogan, J. A. et al. *J Pharm Sci*, 1980; 69(4):422—423
- [9] Fraser, C. M. et al. *The Merck Veterinary Manual* (6th edn.) USA: Merck & Co., Inc. Rahway, New Jersey, 1986:1571—1574
- [10] Galter, P. et al. *Am J Vet Res*, 1986; 47(2):447—450
- [11] Gibaldi, M. et al. *Pharmacokinetics, Second Edition, Revised and Expanded*. USA: Marcel Dekker Inc. New York and Basel, 1982:445—449
- [12] Gyurik, R. J. et al. *Drug Metab Dispos*, 1981; 9:675—679
- [13] Kinabo, L. D. B. et al. *J Vet Pharmacol Therap*, 1988; 11(3):254—259
- [14] Marriner, S. E. et al. *Am J Vet Res*, 1980; 41(7):1126—1129
- [15] Prichard, P. K. et al. *Res Vet Sci*, 1985; 39:173—178
- [16] Ruckebusch, Y. et al. *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. UK: The AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 1983:235—240
- [17] Short, C. R. et al. *J Vet Pharmacol Therap*, 1988; 11(1):50—55
- [18] Short, C. R. et al. *J Vet pharmacol Therap*, 1988; 11(2):204—209

PHARMACOKINETICS OF ALBENDAZOLE IN PIGS

Chen Zhangliu Zeng Zhenling Yuan Zonghui Fung Kifai

(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

ABSTRACT

The concentrations of albendazole and its two major metabolites, the sulphoxide and sulphone, in the plasma of six pigs (body weight, 38.0 ± 4.6 kg) orally given albendazole as a suspension at a dose rate of 10 mg/kg were determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography (HPLC). For analysis, the drug in the plasma was extracted with ether. The conditions of HPLC were as follows: internal standard—mebendazole, mobile phase—methanol: water (80:20; v/v), flow rate—1.0 ml/min, UV detector 292 nm. Albendazole was not detectable in plasma at any time in all pigs (detection limit, $0.05 \mu\text{g/ml}$). Albendazole sulphoxide and sulphone peaked in plasma at 10.00 ± 5.93 h and 20.67 ± 4.46 h after administration, respectively. The peak concentrations of sulphoxide and sulphone were $3.22 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ and $1.91 \pm 0.80 \mu\text{g/ml}$, respectively. The elimination half-lives of the two metabolites were 5.90 ± 2.31 h for the sulphoxide and 9.17 ± 2.20 h for the sulphone. It is probable that much of the anthelmintic activity of albendazole in pigs is due to the metabolically formed sulphoxide.

Keywords: Albendazole; Sulphoxide and sulphone metabolites; Reversed-phase high-performance liquid chromatography; Pharmacokinetics; Pigs