

洛克沙肿在鸡体内的药物动力学和生物利用度研究

邹梦佳, 李 轲, 陈 超, 孙永学

(华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 50日龄健康岭南三黄肉鸡24只随机分为2组, 雌雄各半. 分别进行单剂量($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)静注和口服洛克沙肿的药物动力学(简称药动学)研究. 以反相高效液相色谱法测定血浆中洛克沙肿质量浓度, 采用WinNonlin 5.2药动学软件的非房室模型统计矩原理分析药物质量浓度-时间数据. 鸡静注给药后主要药动学参数为: $t_{1/2\beta} = (2.37 \pm 0.11)\text{ h}$, $V_z = (5.29 \pm 0.37)\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty} = (6.55 \pm 0.28)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = (1.56 \pm 0.07)\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$. 口服给药的主要药动学参数为: $t_{1/2\beta} = (3.02 \pm 0.08)\text{ h}$, $t_{\max} = (1.00 \pm 0.07)\text{ h}$, $C_{\max} = (1.09 \pm 0.08)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty} = (2.30 \pm 0.10)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{MRT} = (2.44 \pm 0.13)\text{ h}$, $F = (35.28 \pm 1.0)\%$. 洛克沙肿在鸡体内的药动学特征表现: 静注分布较为广泛, 消除迅速; 口服给药后, 吸收较快但不完全, 生物利用度较低.

关键词: 鸡; 洛克沙肿; 药动学; HPLC

中图分类号: S853.74

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2012)03-0403-04

Pharmacokinetics and Bioavailability of Roxarsone in Chickens

ZOU Meng-jia, LI Ke, CHEN Chao, SUN Yong-xue

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The pharmacokinetics of roxarsone was investigated by following single intravenous (i. v.) and oral administration both at a dosage of 10 mg/kg in healthy chickens. 24 chickens were randomly divided into two groups for experiments. Blood samples were collected at different intervals after administration of roxarsone. The concentrations of roxarsone in plasma were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Plasma concentration-time profiles of roxarsone were analyzed by using non-compartmental analysis WinNonlin 5.2 software. The main pharmacokinetic parameters of i. v. administration were as follows: $t_{1/2\beta} = (2.37 \pm 0.11)\text{ h}$, $V_z = (5.29 \pm 0.37)\text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty} = (6.55 \pm 0.28)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{CL} = (1.56 \pm 0.07)\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}\text{kg}^{-1}$. The main pharmacokinetic parameters of oral administration were as follows: $t_{1/2\beta} = (3.02 \pm 0.08)\text{ h}$, $t_{\max} = (1.0 \pm 0.07)\text{ h}$, $C_{\max} = (1.09 \pm 0.08)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty} = (2.30 \pm 0.10)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}$, $\text{MRT} = (2.44 \pm 0.13)\text{ h}$, $F = (35.28 \pm 1.0)\%$. The results showed that the pharmacokinetic characteristics of roxarsone in healthy chicken manifested wide distribution, rapid elimination as well as incomplete absorption and low oral bioavailability.

Key words: chicken; roxarsone; pharmacokinetics; HPLC

洛克沙肿(Roxarsone, 化学名3-硝基-4-羟基苯酚)作为一种有机砷类饲料添加剂已被广泛应用于

收稿日期: 2011-09-09

作者简介: 邹梦佳(1989—), 女, 硕士研究生; 通信作者: 孙永学(1969—), 男, 副教授, 博士, E-mail: sunyx@scau.edu.cn

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903055)

养禽业,能促进生长、降低料体质量比、提高肉产品色素沉着、控制球虫病以及肠道寄生虫病的流行^[1-2]。由于其可引起鸭脂肪肝等严重毒性而不用于鸭饲料中^[3]。我国农业部于1996年批准了该类砷制剂的使用。美国FDA规定洛克沙肿在鸡饲料中的添加量为 $25 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。然而长期使用或过量添加有机砷制剂对动物有毒性作用,砷在动物体内的残留也直接危害到人类的健康^[4]。陈杖榴等^[5]已提出应加强对有机砷类添加剂的生态环境影响及对人体潜在危害方面的风险评估研究并已引起人们的关注。国外已有文献报道了有机砷(洛克沙肿和阿散酸)在鸡的组织 and 粪便中砷的消除规律研究^[6-7]及水样中洛克沙肿残留的检测^[8]。国内对饲料中洛克沙肿原形药物的检测报道较多^[9-10],亦有关于鸡肝组织中洛克沙肿的HPLC检测报道^[11]。本试验采用HPLC法测定血浆中洛克沙肿质量浓度,对洛克沙肿经单剂量静注和内服在鸡体内的药物动力学(简称药动学)特征及生物利用度进行了研究,通过获取洛克沙肿经内服在鸡体内的药动学参数及生物利用度,可为洛克沙肿应用后的残留监控及其动物性食品安全评价提供实际参考依据,尤其对有机砷类饲料添加剂在畜禽饲喂后的生态环境风险评估具有一定的理论和实际意义。

1 材料与方法

1.1 试验动物

健康岭南三黄肉鸡24只,50日龄,雌雄各半,体质量(2.0 ± 0.3) kg。试验前预饲1周,饲料为不含抗菌药物的全价日粮。给药前后均禁食12 h,但自由饮水。

1.2 药品和试剂

洛克沙肿对照品,质量分数为97.5%,批号80502,德国Dr. Ehrenstorfer公司;洛克沙肿原料药,质量分数为98.5%,生产批号200911406,广州惠华动物保健品有限公司提供;乙腈、甲醇,色谱纯,韩国SK Chemicals公司;磷酸二氢钾、磷酸、正己烷等为国产分析纯试剂。

1.3 给药与采样

按照体质量,单次给药剂量均为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,给药前采空白血。静注给药为单侧翼下静脉注射给药,内服给药采用胃管将药物直接投入食道内,均分别于给药后5、10、15、30、45 min及1、1.5、2、3、4、6、8和10 h采血。每时间点均采集血样约1.5 mL(肝素抗凝),分离血浆, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件保存。

在采样过程中因间隔时间较密集,为避免采血

过多影响鸡的正常生理功能,在给药前2 h内(绑定采血)每次采血后,用胃管灌服3~5 mL灭菌生理盐水,2 h后(设置针)即让其自由活动和饮水。

1.4 样品预处理

样品解冻,摇匀。准确吸取0.5 mL至离心管内,沿壁缓慢加入1 mL甲醇与乙腈混合提取液(体积比1:1),漩涡1 min,10 000 r/min离心10 min,上清液移至玻璃管中,45 $^{\circ}\text{C}$ 吹干,用1 mL流动相溶解样品残渣后转移,加入0.2 mL正己烷,13 000 r/min离心5 min,吸取下层清液经0.22 μm 针筒式滤膜过滤后,上机检测。

1.5 鸡血浆中洛克沙肿药物浓度的测定

色谱条件:紫外检测波长224 nm;色谱柱为Thermo C_{18} (5 μm ,4.6 mm \times 250 mm);柱温25 $^{\circ}\text{C}$;流动相0.05 mol/L pH 2.50 磷酸二氢钾溶液-乙腈(体积比91:9),测样前经0.22 μm 滤膜抽滤;流速为1.0 mL/min;进样体积为20 μL 。

1.6 数据处理

将血浆中实测药物质量浓度-时间数据采用WinNonlin 5.2药动学软件进行非房室模型统计矩原理处理,分别计算每只鸡的各个药动学参数。

2 结果与分析

2.1 洛克沙肿的HPLC检测的方法学

在上述HPLC检测条件下,能将血浆中洛克沙肿与其他组分分开,洛克沙肿的出峰时间为6.2 min左右(图1)。本方法检测限为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,定量限为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,洛克沙肿在血浆中的平均回收率为 $(89.20 \pm 3.14)\%$,标准曲线在 $0.01 \sim 20.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性范围内的回归曲线方程为 $C = 0.2 \times 10^{-4} S + 7.5 \times 10^{-3}$, $R^2 = 0.9999$ 。批内变异系数 $\leq 3.52\%$,批间变异系数 $\leq 3.51\%$ 。药物质量浓度对数-时间曲线图见图2。

2.2 洛克沙肿在鸡体内的药动学参数

采用WinNonlin 5.2药动学软件,对血浆中药物质量浓度-时间数据进行非房室模型统计矩原理处理。鸡经静注和内服洛克沙肿后的药动学参数见表1。

由表1可见,洛克沙肿经静注和内服在鸡体内的消除半衰期($t_{1/2\beta}$)分别为2.37和3.02 h,表明洛克沙肿在鸡体内的消除较快,静注给药后8 h已测不出药物。内服给药在1.0 h时达到药峰,质量浓度为 $1.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。静注给药的药时曲线下面积($\text{AUC}_{0-\infty}$)为内服给药的2.85倍,这也与洛克沙肿内服给药的生物利用度仅为35.28%相一致。

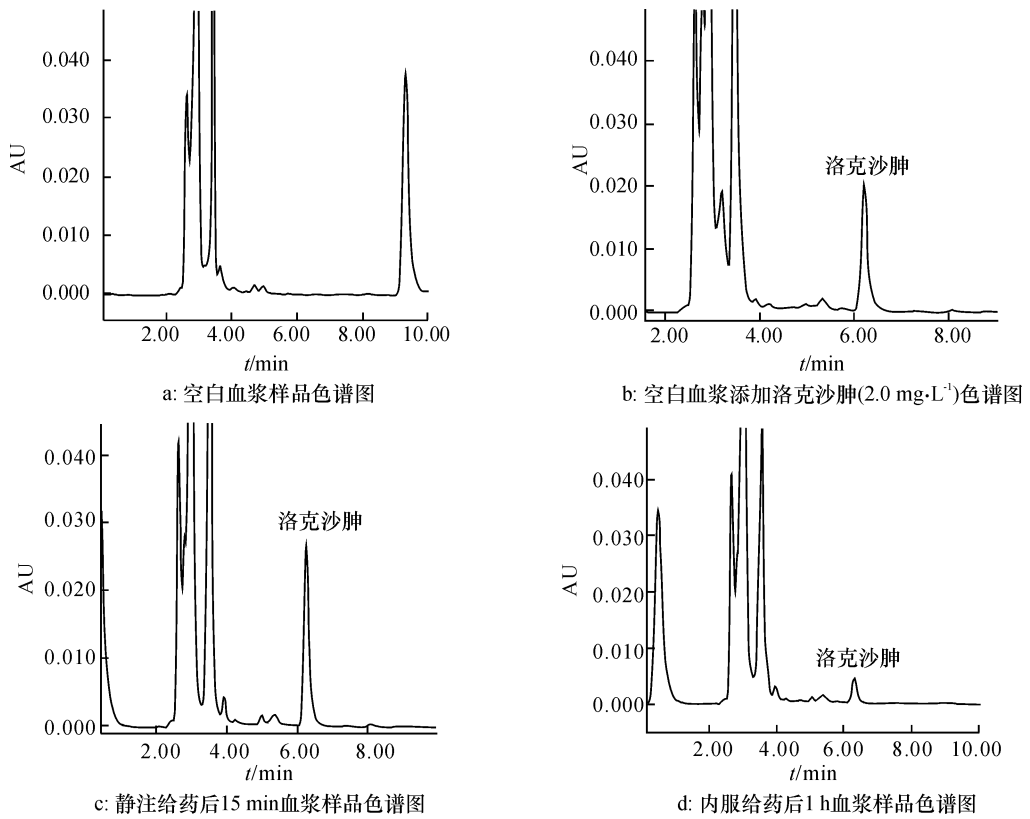


图1 各血浆样品中洛克沙肿色谱图

Fig. 1 Chromatographs of roxarsone in different plasma samples

表1 鸡单剂量(10 mg · kg⁻¹) 静注和内服洛克沙肿后的药动学参数

Tab. 1 The pharmacokinetic parameters of roxarsone in chickens after i. v. and oral administration at a single dosage of 10 mg · kg⁻¹ (X ± SE, n = 12)

给药方式	<i>h</i> / (h ⁻¹)	<i>t</i> _{1/2} / h	<i>t</i> _{max} / h	<i>C</i> _{max} / (mg · L ⁻¹)	<i>V</i> _z / (L · kg ⁻¹)	CL / (L · h ⁻¹ · kg ⁻¹)	AUC _{0-∞} / (mg · L ⁻¹ · h)	AUMC _{0-∞} / (mg · L ⁻¹ · h ²)	MRT/h	<i>F</i> /%
静注	0.30 ± 0.01	2.37 ± 0.11			5.29 ± 0.37	1.56 ± 0.07	6.55 ± 0.28	3.91 ± 0.28	0.45 ± 0.04	
内服	0.23 ± 0.01	3.02 ± 0.08	1.00 ± 0.07	1.09 ± 0.08			2.30 ± 0.10	7.17 ± 0.25	2.44 ± 0.13	35.28 ± 1.00

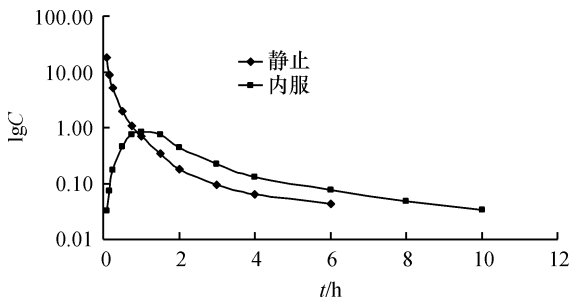


图2 鸡单剂量(10 mg · kg⁻¹) 静注、内服洛克沙肿后血浆药物质量浓度对数-时间曲线

Fig. 2 Logarithm of plasma concentration-time curve of roxarsone in chickens after single i. v. and oral administration at a dosage of 10 mg · kg⁻¹

3 讨论

3.1 鸡血浆中洛克沙肿 HPLC 检测方法的建立

已有文献报道洛克沙肿在饲料和动物组织中的

检测方法有 HPLC 法^[2,9-11] 和 HPLC-ICP-MS(高效液相-电感耦合-等离子体质谱法)等^[12]. 本试验通过二极管阵列全波长扫描,发现洛克沙肿的最大紫外检测波长主峰为 224 nm,其次峰为 266 nm. 由于血浆样品有机质及蛋白质含量高的特点,在波长 266 nm 处杂峰干扰较严重,且药物响应值也不够 224 nm 波长处高. 因此,本试验选择 224 nm 作为最佳检测波长. 经多次试验证明,甲醇-乙腈混合液(体积比 1:1)提取效果较单纯使用乙腈或甲醇好,沉淀完全,杂质少,回收率高. 本试验分别将甲醇和乙腈作为流动相,经比较后发现用乙腈作为流动相效果更好,出峰时间较早,且杂峰干扰少. 本试验建立的检测方法回收率高、精密度好、灵敏度高,可满足鸡血浆中洛克沙肿的检测要求.

3.2 洛克沙肿在鸡体内的药动学特征

本试验分别对鸡单剂量(10 mg · kg⁻¹) 静注和

内服洛克沙肿后在其体内的药动学特征进行了研究. 采用 WinNonlin 5.2 药动学软件的非房室模型统计矩原理处理血浆中药物质量浓度-时间数据.

由本研究结果显示, 鸡单次静注和内服洛克沙肿后血浆中 $t_{1/2\beta}$ 分别为 (2.37 ± 0.11) h 和 (3.02 ± 0.08) h. 孙永学^[13]报道了洛克沙肿在鲫鱼肌肉、血清和内脏中 $t_{1/2\beta}$ 为 2.5~2.8 h, 消除较快, 这与本试验在鸡体内的消除结果相似. 本试验中洛克沙肿静注给药在鸡体内的 V_z 为 (5.29 ± 0.37) L · kg⁻¹, 表明洛克沙肿在鸡体内的分布较广泛, 可广泛分布至组织间液中^[14-15], 由此提示我们应重视洛克沙肿在鸡组织中的残留状况. 静注给药的血浆中 $AUC_{0-\infty}$ 达到 (6.55 ± 0.28) mg · L⁻¹ · h 亦提示在体内分布较广泛, CL 为 (1.56 ± 0.07) L · h⁻¹ · kg⁻¹, 表明洛克沙肿在血浆中消除较迅速, 但也有可能部分洛克沙肿转化为其他代谢产物(如砷酸盐、亚砷酸盐、一甲基砷酸、二甲基砷酸等)^[16]. 鸡静注洛克沙肿在体内的 MRT 为 (0.45 ± 0.04) h, 较内服的 MRT 少 (2.44 ± 0.13) h, 由于 MRT 与给药方法有关, 一般非瞬时给药的 MRT 值总是大于静注时的 MRT^[13], 且由于内服给药达峰时间较长, MRT 值也会相应增大.

鸡内服洛克沙肿后在 1.0 h 时达血药质量浓度峰值, 但达峰血药质量浓度仅为 1.09 mg · L⁻¹, 表明鸡内服洛克沙肿后吸收较少, 血药质量浓度均较低. 洛克沙肿经内服的生物利用度较低, 仅为 35.28%. 洛克沙肿作为一种有机砷制剂, 其吸收后在鸡体内的代谢方式、残留分布状况及消除规律尚需进一步研究. 本结果亦同时提示我们: 在养殖过程中洛克沙肿经拌料给药在鸡长期使用, 由于大部分洛克沙肿在鸡消化道中不被吸收, 其将不可避免地以原形或其他代谢物形式(可能在消化道中经微生物代谢)经粪便排至环境中^[17], 其引起的环境行为与生态毒性应引起人们的重视和关注^[5]. 本文为目前洛克沙肿在畜禽养殖业上广泛而大剂量应用的背景下, 通过研究洛克沙肿在鸡体内的药动学特征, 将为有机砷添加剂应用后的残留监控和食品安全评价提供实际参考依据, 尤其对其环境生态毒性的风险评估具有一定的理论和实际意义.

参考文献:

[1] BASU P, GHOSH R N, GROVE L E, et al. Angiogenic potential of 3-nitro-4-hydroxy benzene arsenic acid (roxarsone) [J]. Environ Health Perspect, 2008, 116(4): 520-523.

[2] 赵兵. 猪粪便中洛克沙肿的 HPLC 检测及消除规律

[D]. 扬州: 扬州大学, 2007.

- [3] CHEN K L, CHIOU P W. Oral treatment of mule ducks with arsenicals for inducing fatty liver [J]. Poul Sci, 2001, 80(3): 295-301.
- [4] 李银生, 曾振灵, 陈杖榴, 等. 洛克沙肿的作用、毒性及环境行为[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2003(1): 10-12.
- [5] 陈杖榴, 杨桂香, 孙永学, 等. 兽药残留的毒性与生态毒理研究进展[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(1): 88-91.
- [6] CHIOU W S, CHEN K L, YU B. Effects of roxarsone on performance, toxicity, tissue accumulation and residue of eggs and excreta in laying hens [J]. J Sci Food Agric, 1997, 74: 229-236.
- [7] WANG Chia-chi, WU Hsin-ying, JAN Tong-rong. The effect on animal growth and the Impact on the environment by roxarsone, an organic arsenic veterinary drug [J]. Taiwan Vet J, 2010, 36(2): 115-123.
- [8] CATHUM S J, BROWN C E, OBENAU F A, et al. Speciation of arsenic using chelation solvent extraction and high performance liquid chromatography [J]. Clean, 2007, 35(1): 71-80.
- [9] 王金荣, 张丽英, 马永喜. 饲料中洛克沙肿的固相萃取-高效液相色谱法检测技术研究[J]. 饲料工业, 2005, 26(14): 38-41.
- [10] 杨永嘉, 王国忠, 王雷. 高效液相色谱法测定洛克沙肿预混剂含量方法的研究[J]. 中国兽药杂志, 2001, 35(6): 23-26.
- [11] 曹庆云, 颜惜玲, 周武艺, 等. 高效液相色谱测定鸡肝中洛克沙肿的方法研究[J]. 应用化工, 2005, 34(10): 640-643.
- [12] 肖亚兵, 高健会, 曾宇, 等. HPLC-ICP-MS 法对动物源性食品中阿散酸、硝苯砷酸与洛克沙肿残留量的同时测定[J]. 分析测试学报, 2008, 27(11): 1206-1209.
- [13] 孙永学. 有机砷添加剂的生态毒性及毒性机理研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2003.
- [14] 梁文权. 生物药剂学与药物动力学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 178, 272-276.
- [15] 杨宝峰. 药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 32-34.
- [16] ROSAL C G, MOMPLAISIR G M, HEITHMAR E M. Roxarsone and transformation products in chicken manure; determination by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma-mass spectrometry [J]. Electrophoresis, 2005, 26(7/8): 1606-1614.
- [17] 卓家珍. 鸡饲喂洛克沙肿后排泄物中砷形态分析及其降解规律的初步研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2008.

【责任编辑 柴 焰】