



李 强, 谢 顺, 曾松情, 等. 盐酸氯苯胍在兔体内的药动学及生物利用度研究[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(2): 18-21.

盐酸氯苯胍在兔体内的药动学及生物利用度研究

李 强, 谢 顺, 曾松情, 李 洁, 徐尤发, 张 申, 黄显会
(华南农业大学 兽医学院/国家残留基准实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】研究抗球虫药盐酸氯苯胍在家兔体内的药物代谢动力学特征及内服给药的生物利用度。【方法】16只健康新西兰大白兔, 公母各半, 分为2组, 一组以 $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 单次静脉注射给药, 另一组以 $100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 单次内服给药, 通过耳部静脉采血, 并用 HPLC-UV 法检测血浆中的盐酸氯苯胍浓度。使用 Winnonlin™ 药动学软件非房室模型计算相关药动学参数, 采用 SPSS 16.0 软件得到药时曲线图。【结果】兔静脉注射盐酸氯苯胍 ($2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后, 药-时曲线下面积为 $1.72 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 血浆清除率为 $1.17 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, 表观分布容积为 $2.87 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, 消除半衰期为 1.72 h; 内服盐酸氯苯胍 ($100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后, 药-时曲线下面积为 $6.33 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 消除半衰期为 8.94 h。盐酸氯苯胍 2 种给药方式的药动学参数均存在显著差异 ($P < 0.05$), 内服给药的生物利用度较低, 仅为 7.36%。【结论】盐酸氯苯胍静脉注射给药的表观分布容积较大, 药物在兔组织中分布广泛, 并且消除迅速; 内服盐酸氯苯胍后, 药物经肠道吸收的量较少, 体内药物残留较低。

关键词: 盐酸氯苯胍; 药物代谢动力学; 生物利用度; 新西兰大白兔

中图分类号: S859.7

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2017)02-0018-04

Studies on pharmacokinetic and bioavailability of robenidine hydrochloride in rabbits

LI Qiang, XIE Shun, ZENG Songqing, LI Jie, XU Youfa, ZHANG Shen, HUANG Xianhui
(College of Veterinary Medicine/National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues,
South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To investigate the pharmacokinetics and bioavailability after oral administration of the coccidiostat, robenidine hydrochloride in rabbits. 【Method】A total of 16 healthy New Zealand white rabbits were allotted to two groups and received single intravenous administration of robenidine hydrochloride at the dose of $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and single oral administration at the dose of $100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively. Blood samples were collected and analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) using UV. Pharmacokinetic parameters were estimated using the Winnonlin™ software package and the curve of time and concentration was obtained using SPSS 16.0. 【Result】After i. v. injection, area under the concentration-time curve (AUC) was $1.72 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, plasma clearance (CI) was $1.17 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, the volume of distribution was $2.87 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ and the half-life of elimination ($t_{1/2}$) was 1.72 h. After oral administration, $t_{1/2}$ was 8.94 h and AUC was $6.33 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$. Statistical analysis showed that there were significant differences between pharmacokinetic parameters of intravenous and oral administration ($P < 0.05$), and the bioavailability following oral administration was low (7.36%).

收稿日期: 2016-04-29 优先出版时间: 2017-01-10

优先出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170110.1423.004.html>

作者简介: 李 强 (1989—), 男, 硕士研究生, E-mail: 382971516@qq.com; 通信作者: 黄显会 (1969—), 男, 高级兽医师, 博士, E-mail: xhhuang@scau.edu.cn

基金项目: 农业行业标准制定与修订项目 (2013091194)

<http://xuebao.scau.edu.cn>

【Conclusion】The volume of distribution following robenidine hydrochloride was high, suggesting that the drug was widely distributed in rabbits and eliminated rapidly; Robenidine hydrochloride for oral administration was rarely absorbed into the blood or blood circulation, and the residues *in vivo* was low.

Key words: robenidine hydrochloride; pharmacokinetic; bioavailability; rabbit

盐酸氯苯胍(Robenidine hydrochloride)是一种人工合成抗球虫药^[1],分子式为 $C_{15}H_{13}Cl_2N_5 \cdot HCl$,相对分子质量为370.66,在结构上属于胍基衍生物^[2]。该药于20世纪70年代初在美国上市并作为饲料添加剂被广泛使用,主要用于预防和治疗鸡的急球虫感染,对柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫、布氏艾美耳球虫、变位艾美耳球虫等均有效果^[3],具有毒性低、疗效高^[4]、抗虫谱广、成本低等优点。同时,该药物被证明具有轻微的促进营养吸收作用^[5]。我国批准用于禽、危球虫病的预防和治疗^[1]。目前该药物的研究集中于药物残留检测方法^[6-7]和提取方法^[8-9],靶动物的药动学及生物利用度鲜见报道。本文对健康兔内服与静脉注射盐酸氯苯胍的药动学进行研究,以期丰富相关研究数据,并为盐酸氯苯胍残留的相关标准制定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 16只健康新西兰大白兔,公母各半,购自南方医科大学实验动物中心,体质量为 (2.00 ± 0.20) kg。试验前于代谢笼中饲养观察7 d,自由饮水采食。将16只兔随机分为2组,每组8只,第1组于左耳静脉注射给药,剂量为 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;第2组单次内服给药,剂量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (兽药使用指南内服推荐剂量为 $10 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。给药前12 h及给药后3 h禁食,仅可饮水。

1.1.2 药品与试剂 盐酸氯苯胍标准品(w 为99.8%,批号H0041110,对照),购自中国兽医药品监察所;盐酸氯苯胍原料药(经测定 w 为90.30%),由广州绿洲生物技术有限公司提供;乙酸、乙酸乙酯、三氯甲烷、三乙胺和磷酸二氢铵,均为分析纯(天津市大茂化学试剂厂);甲醇、乙腈和甲酸,均为色谱纯(Sigma公司)。

1.1.3 试验仪器 高效液相色谱仪:含二联泵、脱气泵、色谱工作站、紫外检测器、自动进样器,LC-20A型,日本岛津公司;电子分析天平:岛津AUW120D型,精度0.001 mg,日本岛津公司,超纯水系统:Milli-Q型,美国Millipore公司;高速冷冻离心机:Avanti®

J-26 XP型,美国Beckman-Coulter公司;台式冷冻离心机:LEGEND Mach1.6R型,ThermoFisher德国Sorvall公司;pH计:pHs-25型,上海精科雷磁仪器厂;漩涡振荡器:HS250 Basic型,马来西亚IKA公司。

1.2 方法

1.2.1 溶液的配制 1)储备液:精密称取11.11 mg的盐酸氯苯胍标准品于10 mL棕色容量瓶中,用色谱甲醇溶解,制成含氯苯胍 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准储备液。放入4℃冰箱保存。2)注射液:定量称取盐酸氯苯胍原料药,用体积分数为40%的N,N-二甲基乙酰胺水溶液稀释成 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的注射液,现配现用。3) $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢铵缓冲液:称取磷酸二氢铵5.75 g,于1000 mL的容量瓶定容,用三乙胺调节pH至6.8。

1.2.2 给药及采样 静脉注射组于左耳耳缘静脉注射给药,在给药前(0 h)采集空白样品并在给药后的0.167、0.250、0.5、1.0、1.5、2、3、4、6、8、12、16、24 h分别从右耳采集血液样品。内服组混饲给药,在给药前(0 h)采集空白样品并在给药后的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、16、24、36、48、72、96 h分别从双耳采集血液样品。采集血液置于肝素钠抗凝管中,混匀, $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min,分离血浆, $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2.3 血浆样品前处理 吸取血浆样品0.5 mL,置于5 mL的离心管中,加入体积分数为1%的乙酸乙酯3 mL,涡旋1 min, $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min($4 \text{ }^{\circ}\text{C}$)。吸取上清液置于15 mL玻璃管中,于 $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干,后用1 mL色谱甲醇复溶,0.22 μm 滤膜过滤,装入进样瓶供HPLC进样分析。

1.2.4 色谱条件 色谱柱为Gemini 5u C18 100A(250 mm × 4.0 mm × 5 μm),美国Penomenex公司。紫外检测波长为312 nm;流动相为磷酸二氢铵溶液-乙腈(体积比30:70)溶液;柱温 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$,流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量为20 μL 。

1.2.5 数据处理 使用IBM公司的SPSS16.0统计分析软件计算血浆中盐酸氯苯胍浓度的平均值和标准差,同时以血药浓度平均值和时间作药-时曲线图。使用美国Pharsight公司的Winnonlin™非房室模

型计算试验动物的药动学参数,

2 结果与分析

2.1 静脉注射盐酸氯苯胍的药动学特征

兔耳缘静脉注射盐酸氯苯胍($2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后,不同时间的血药浓度见表1,绘制的药-时曲线见图1。采用非房室模型对血药浓度进行分析,得到的药动学参数见表2。结果表明,静注给药后的药时曲线下面积 AUC_{0-t} 为 $1.72 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 血浆清除率为 $1.17 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, 表观分布容积(V_d)为 $2.87 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$, $t_{1/2}$ 为 1.72 h 。该药静脉注射后表观分布容积较大,表示药物大部分分布于组织,且消除迅速,在给药剂量为 $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的情况下,血浆内的药物 6 h 即可基本消除。

2.2 内服盐酸氯苯胍的药动学特征

兔内服盐酸氯苯胍($100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后,不同时间的血药浓度见表1,绘制的药-时曲线见图1。采用非房室模型对血药浓度进行分析,得到的药动学参数见表2。结果表明,盐酸氯苯胍内服给药吸收非常缓慢,达到高峰时间(t_{max})为 20 h , 并且吸收较差,表现为 C_{max} 较低,仅为 $0.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-t} 为 $6.33 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$, 表明药物进入体内的总量很低; $t_{1/2}$ 为 8.94 h , 说明药物排泄缓慢,在体内保留时间较长;经计算,该药物的绝对生物利用度仅为 7.36% , 说明内服盐酸氯苯胍后,药物基本不吸收,而是主要以原型排出体外,这与田苗苗等^[10]的试验结果相符。此外,盐酸氯苯胍2种给药方式的各药动学参数均存在极显著的差异($P < 0.01$)。

表1 兔静脉注射盐酸氯苯胍($2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与内服盐酸氯苯胍($100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的血药浓度¹⁾

Tab.1 The plasma drug concentrations in rabbits treated by intravenous and oral administration of robenidine hydrochloride at 2.00 and $100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively

静脉注射		内服	
$t_{\text{采血}}/\text{h}$	$\rho(\text{盐酸氯苯胍}) / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	$t_{\text{采血}}/\text{h}$	$\rho(\text{盐酸氯苯胍}) / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
0.167	1.57 ± 0.12	1	ND
0.25	0.99 ± 0.11	2	< LOQ
0.5	0.66 ± 0.05	3	0.05 ± 0.01
1	0.27 ± 0.05	4	0.07 ± 0.01
1.5	0.23 ± 0.07	5	0.08 ± 0.02
2	0.14 ± 0.06	6	0.11 ± 0.02
3	0.11 ± 0.06	7	0.14 ± 0.02
4	0.07 ± 0.03	8	0.16 ± 0.03
6	0.05 ± 0.02	9	0.23 ± 0.03
8	< LOQ	10	0.08 ± 0.02
12	< LOQ	11	0.11 ± 0.01
16	< LOQ	12	0.16 ± 0.02
24	ND	16	0.18 ± 0.03
		24	0.17 ± 0.02
		36	0.08 ± 0.01
		48	0.06 ± 0.01
		72	< LOQ
		96	ND

1) “< LOQ”表示浓度低于定量限,“ND”表示未检测到, $n = 8$ 。

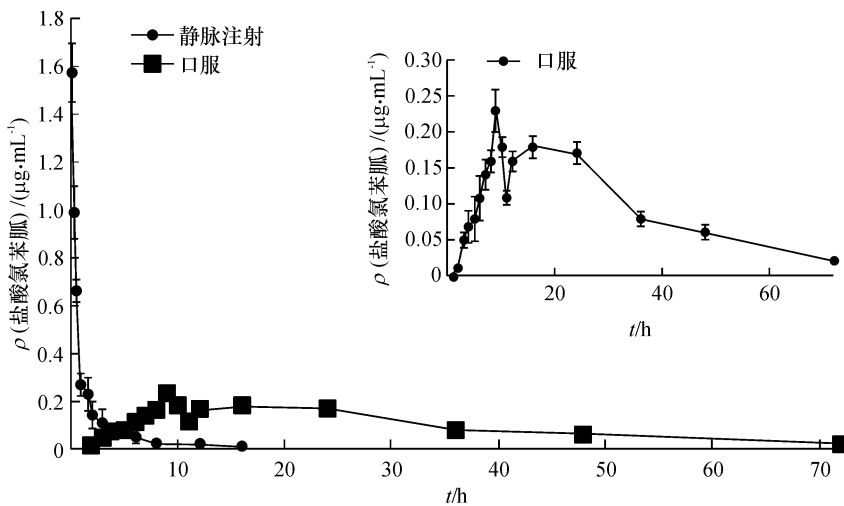


图1 兔内服($100.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与静脉注射($2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)盐酸氯苯胍的药-时曲线图

Fig.1 Concentration-time curve of robenidine hydrochloride in rabbits treated by oral administration and intravenous administration at 100.00 and $2.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively

表2 兔静脉注射和内服盐酸氯苯胍的药动学参数¹⁾

Tab.2 The plasma pharmacokinetic parameters in rabbits treated by intravenous and oral administration of robenidine hydrochloride

药动学参数	静脉注射组	内服给药组
K_{el}/h^{-1}	0.42 ± 0.10	0.09 ± 0.03 *
$t_{1/2}/h$	1.72 ± 0.39	8.94 ± 3.45 *
t_{max}/h		20.00 ± 8.81
$C_{max}/(\mu g \cdot mL^{-1})$		0.32 ± 0.09
$AUC_{0-t}/(\mu g \cdot h \cdot mL^{-1})$	1.72 ± 0.44	6.33 ± 2.38 *
$V_d/(L \cdot kg^{-1})$	2.87 ± 0.67	
$CL/(L \cdot h^{-1} \cdot kg^{-1})$	1.17 ± 0.25	
MRT/h	1.08 ± 0.48	23.28 ± 6.07 *
F/%		7.36

1) * 表示内服给药组与静脉注射组比较差异极显著($P < 0.01, n = 8, t$ 检验)。

3 讨论与结论

对于具有肝肠循环的药物来说,其静脉注射的药-时曲线往往具有再吸收的特点^[11-12]。从静脉注射盐酸氯苯胍的药动学参数可以看出,静脉注射给药时表观分布容积大,药物分布广泛,消除速度较快,血药中的药物浓度在6 h后便低于定量限,且在0~24 h的药-时曲线没有显示该药物具有再吸收的特点。一方面是由于药物的表观分布容积大,且在血浆中消除速度较快;另一方面可能与盐酸氯苯胍的在兔体内主要由肾脏代谢有关。该药物是否具有肝肠循环,还需进一步的试验验证。

观察内服盐酸氯苯胍的药-时曲线可知,该药物内服给药的药时曲线明显具有2个吸收过程,第1个吸收时段为0~8 h,为内服给药的常规吸收过程;第2个吸收时段为给药后12~24 h,且在此过程中到达最高浓度。本试验中,大白兔使用代谢笼进行饲喂,尿液与粪便及时分离回收,排除了动物因食粪造成药物再吸收的可能。药物在肠道内环境以及肠道微生物的作用下,代谢成水溶性强更易被肠道吸收的化合物。

在生产实践中,盐酸氯苯胍主要用于防治鸡、兔的球虫感染,作用部位在肠道,不需要吸收后发挥全身治疗作用,造成动物性食品中的药物残留。本研究中,内服给药的末端消除半衰期较长,生物利用度低表明内服给药消除缓慢,体内存留时间较长,进入动物体内的氯苯胍量较低。Zulalian等^[13]采用¹⁴C标记法对氯苯胍在鸡体内的代谢和残留规律研究发现,单剂量内服用¹⁴C标记的盐酸氯苯胍,鸡在24 h内排出标记放射性化合物为82%,144 h后盐酸氯

苯胍排出量达99%。田苗苗等^[10]的研究表明,兔内服氯苯胍后主要以原药的形式排出体外,随粪便排出的氯苯胍占内服总量的87.17%,尿液中氯苯胍占内服总量的0.56%。这与本试验的结果相符,也符合盐酸氯苯胍的临床用药目的。

参考文献:

- [1] 陈杖榴. 兽医药理学[M]. 北京:中国农业出版社, 2010: 373.
- [2] 范本伦. 氯苯胍:一种新的高效球虫药[J]. 国外畜牧科技,1979(3): 43-48.
- [3] SORRIBAS V, ARRUEBO M P, ALVARADO F, et al. Action of robenidine on the intestinal transport and digestion of nutrients in rabbit[J]. Eur J Pharmacol,1993, 248(2): 137-144.
- [4] KENNETT R L, KANTOR S, GALLO A. Efficacy studies with robenidine, a new type of anticoccidial, in the diet[J]. Poult Sci,1974, 53(3): 978-986.
- [5] European Food Safety Authority (EFSA). Scientific opinion on safety and efficacy of cycostat 66G (robenidine hydrochloride) for rabbits for breeding and fattening: Panel on additives and products or substances used in animal feed [J]. EFSA J,2011,9(3):1-32.
- [6] YEOM H, YANG D H, SUH J H, et al. Determination of robenidine residues in chicken muscle by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. Arch Pharm Res,2013, 36(3): 359-365.
- [7] 刘勇军,吴银良,姜艳彬. 高效液相色谱法测定鸡组织与鸡蛋中氯苯胍的残留量[J]. 色谱, 2010, 28(9): 905-907.
- [8] WILGA J, WASIK A K, NAMIESNIK J. Comparison of extraction techniques of robenidine from poultry feed samples[J]. Talanta,2007, 73(5): 812-819.
- [9] 汤菊芬,蔡佳,廖建萌,等. HPLC-MS/MS法同时测定水产品中的诺氟沙星、盐酸小檗碱、盐酸氯苯胍残留[J]. 中国兽药杂志,2014(8): 55-60.
- [10] 田苗苗,郭春娜,怀彬彬,等. 盐酸氯苯胍灌服后在兔尿液和粪便中的排泄规律[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(3): 8-12.
- [11] 程娟. A771726在大鼠体内肝肠循环的研究[D]. 合肥:安徽医科大学,2010.
- [12] 郑培良. 药物肝肠循环对其药理作用的影响[J]. 中级医刊,1987(7): 43-44.
- [13] ZULALIAN J, CHAMPAGNE D A, WAYNE R S, et al. Absorption, excretion, and metabolism of 1,3-bis(p-chlorobenzylideneamino) guanidine hydrochloride (robenidine hydrochloride) in the chicken[J]. J Agric Food Chem,1975, 23(4): 724-730.

【责任编辑 周志红】