

喹乙醇在鸡体内的毒物动力学 及其生化毒性和病理学研究

I 喹乙醇在鸡体内的毒物动力学研究

孙永学 冯淇辉 董漓波 陈杖榴

(华南农业大学动物医学系, 广州 510642)

摘要 本文对 13 只健康 AA 鸡单次内服喹乙醇中毒剂量(120 mg/kg)作了毒物动力学分析。用乙腈-乙酸乙酯混合溶剂提取血浆中的喹乙醇,反相高效液相色谱法(HPLC 法)测定浓度。喹乙醇内服给药的药时数据适合一级吸收二室开放模型。毒物动力学主要参数为: $t_{1/2\alpha}$ 0.63 ± 0.26 h, $t_{1/2\beta}$ 1.12 ± 0.34 h, $t_{1/2\beta}$ 7.26 ± 3.02 h, K_e 0.59 ± 0.15 h⁻¹, T_{max} 1.19 ± 0.31 h, C_{max} 71.40 ± 12.81 μg/ml, AUC 258.12 ± 36.11 mg/L·h。本试验表明,内服中毒剂量的喹乙醇在 AA 鸡体内的吸收、分布均很迅速,但消除缓慢;给药后 24h,血药浓度均高于 0.2 μg/ml。

关键词 喹乙醇,鸡,毒物动力学,高效液相色谱法

喹乙醇(Olaquinox)是一种较理想的喹啉类畜禽添加剂,具有促进畜禽生长和提高饲料转化率的作用^[1],还有广谱抗菌效能^[2],已广泛用于防治禽巴氏杆菌病等疾病^[3]。家禽对喹乙醇较敏感,董漓波等测定石岐杂中鸡内服 LD₅₀为 304.9 mg/kg^[4],其它有关鸡、鸭发生喹乙醇中毒的报道较多。周志敏等指出喹乙醇单剂量 50mg/kg 体重,给予雏鸡是危险的,50 日龄以上鸡内服 75 mg/kg 可引起中毒^[5]。关于喹乙醇常规剂量在鸡体内的药物动力学研究已有报道^[6-8],而中毒剂量下的毒物动力学研究尚未见报道。因此,了解中毒剂量的喹乙醇在鸡体内的吸收、分布、转化和排泄情况,对于进一步探讨喹乙醇对家禽较敏感易中毒的原因具有实际意义,并能临床防治中毒提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 动物

13 只 AA 鸡,5~6 周龄,体重为 1.35 ± 0.09 kg,雌雄兼有,购自广州市郊区某养鸡场,饲料为不含喹乙醇的全价日粮。

1.2 药品和试剂

喹乙醇标准品,含量 99.6%,批号 935,中国兽药监察所提供。喹乙醇原料药,含量 98.0%,批号 940153,江苏南通醋酸厂兽药分厂生产。甲醇、乙酸乙酯、乙腈、磷酸二氢钾均为国产分析纯试剂。

1.3 主要仪器

高效液相色谱仪,岛津 LC-6A 型;紫外可见光检测器,SPD-6A 型;数据处理机,C-R6A

型,均为日本岛津制作所生产。THZ-84 型台式恒温振荡器,FZQ-2 型旋涡混合器等为国产。

1.4 方法

1.4.1 给药:按 120 mg/kg 体重将喹乙醇原料药粉装于胶囊中,给鸡一次内服。

1.4.2 采样:将鸡翼下静脉分离、结扎,于给药前采一次空白血(0h),内服给药后分别于 0.167、0.5、1、2、3、4、6、8、14、24 h 采血,肝素抗凝,分离血浆,-20℃保存待用。

1.4.3 血浆预处理:按朱柱振方法^[6]并稍作改进:准确吸取 0.5 ml 血浆,加入 0.5 ml 1mol/L KH_2PO_4 溶液混匀,加入 4 ml 乙腈-乙酸乙酯(3:2,v/v)提取液,振荡 20 min(38℃),离心 10 min(4 000r/min),静置,取上层有机相于棕色离心管中,余液按同样操作重复一次,合并有机相,60℃水浴中氮气流下吹干,-20℃保存待测。整个过程避光操作。

1.4.4 线性范围和标准曲线制备:采用外标法,建立低浓度(0.2~10 $\mu\text{g/ml}$)和高浓度(10~100 $\mu\text{g/ml}$)两组线性范围。标准曲线线性关系良好 $r=0.9972\sim 0.9993$ 。回收率分别为 85.23 $\pm 1.00\%$ 和 95.87 $\pm 3.99\%$ ($n=4$)。批间变异系数分别为 7.75% 和 3.57% ($n=4$)。

1.4.5 血浆中喹乙醇浓度的测定:HPLC 测定条件:色谱柱为 Nova-pak C18(4 μm , 4.6 \times 250mm),流动相为甲醇-水(12:88,v/v),检测波长为 356 nm。给药后 0.5、1、2、3、4、6 h 样品按高浓度线性范围处理方法测定,其它时间点样品按低浓度线性范围处理方法测定。

1.5 数据处理

药时数据采用 MCPKP 药物代谢动力学参数计算程序^[9]。由微机程序自动选择最佳药物动力学模型,再算出有关动力学参数。

2 结果

13 只 AA 鸡的血药浓度实测值见表 1,药时半对数图见图 1。药时数据最佳拟合模型为一级吸收二室开放模型。毒物动力学参数见表 2。理论方程为:

$$C = 257.95e^{-0.67t} + 2.86e^{-0.11t} - 260.80e^{-1.37t}$$

表 1 鸡内服喹乙醇(120 mg/kg)的血药浓度值($n=13$)
Table 1 The concentration of olaquinox in plasma after oral administration (120 mg/kg) in broilers ($n=13$)

时间(h)Time	0.167	0.5	1	2	3	4	6	8	14	24
浓度 Concentration $\mu\text{g/ml}$	21.28 ± 8.74	51.71 ± 15.01	72.93 ± 16.06	58.90 ± 8.54	39.98 ± 8.18	25.88 ± 7.17	9.98 ± 3.53	3.79 ± 2.34	0.57 ± 0.36	0.22 ± 0.04

3 讨论

3.1 中毒剂量的选择 一般临床上表现明显中毒症状的剂量可作为研究毒物动力学的中毒剂量。本研究预试中,3 只 AA 鸡均一次内服喹乙醇 120 mg/kg 进行观察,第 3d 后已有 1 只鸡发生中毒;在正式试验中,13 只 AA 鸡均一次内服喹乙醇 120 mg/kg 后,第 2 至 4d 间共有 5 只鸡出现明显的中毒症状,表现为精神不振、羽毛松乱、卧地不起、鸡冠呈紫黑色、排绿色或淡黄色稀粪、后衰竭死亡,其中 3 只鸡在第 4 至 5d 死亡,其剖检变化主要为十二指肠和盲肠处出

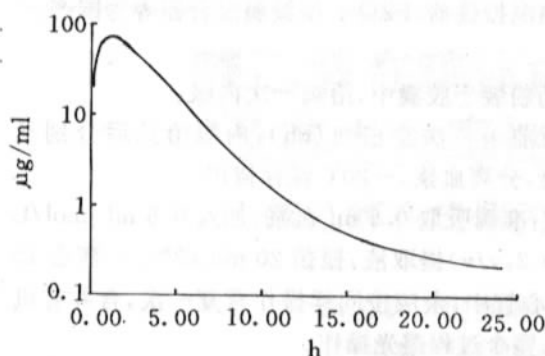


图1 喹乙醇在鸡体内的半对数血药—时间曲线图
(n=13)

Fig. 1 Semilogarithmic plot of mean plasma concentration of olaquinox vs time after oral administration in broilers (n=13)

血、腺胃粘膜糜烂、肝肿大和质脆、肾肿大并有出血点、心冠脂肪有出血点。董漓波等也认为鸡一次内服喹乙醇 120 mg/kg 为其中毒剂量^[4]。因此,根据本研究实验设计的需要和中毒情况,可以认为对 AA 鸡以一次内服喹乙醇 120 mg/kg 进行毒物动力学试验是合适的。

表2 鸡内服喹乙醇(120 mg/kg)的毒物动力学参数(n=13)

Table 2 Toxicokinetic parameters of olaquinox after oral administration of 120 mg/kg in broilers (n=13)

参 数 Parameters	单 位 Unit	参数值(X±SD) Values
α	h^{-1}	0.67 ± 0.19
β	h^{-1}	0.11 ± 0.04
Ka	h^{-1}	1.37 ± 0.78
K_{12}	h^{-1}	0.05 ± 0.05
K_{21}	h^{-1}	0.13 ± 0.06
Ke	h^{-1}	0.59 ± 0.15
$t_{1/2Ka}$	h	0.63 ± 0.26
$t_{1/2\alpha}$	h	1.12 ± 0.34
$t_{1/2\beta}$	h	7.26 ± 3.02
AUC	mg/L·h	258.12 ± 36.11
T_{max}	h	1.19 ± 0.31
C_{max}	ug/ml	71.40 ± 12.81

3.2 关于模型问题 研究已表明,常规剂量喹乙醇在不同品种鸡体内的药物动力学的最佳模型一般适合一级吸收二室开放模型,见表3。按非线性动力学理论,一般高剂量药物或毒物由于易使机体内降解酶或转运载体达到饱和,其多属于受酶活力限制的非线性动力学模型。但本试验喹乙醇在鸡体内的毒物动力学模型与常规剂量下药物动力学模型一致,均属于一级速率过程的线性动力学模型,说明中毒剂量下喹乙醇的降解酶或转运载体可能仍未达到饱和,这与大多数毒物属于非线性动力学模型不同。关于更高剂量喹乙醇的动力学模型有待进一步探讨。

表3 不同剂量下喹乙醇内服在鸡体内药动学模型及参数比较

Table 3 Comparison of pharmacokinetic models and parameters of olaquinox after oral administration under different doses in chickens

剂量 Dose (mg/kg)	品种 Species	周龄 Week	最佳模型 Optimum model	参 数 Parameters							
				k_a (h^{-1})	k_{12} (h^{-1})	k_{21} (h^{-1})	k_e (h^{-1})	$t_{1/2ka}$ (h)	$t_{1/2\alpha}$ (h)	$t_{1/2\beta}$ (h)	AUC (mg/L·h)
20 ^[7]	Hubbard	6~7	一级吸收 二室开放							5.13	55.32
30 ^[6]	石岐杂	中鸡	非房室	1.11			0.55	0.64		1.72	68.84
50 ^[8]	AA鸡	8~9	一级吸收 二室开放	1.14	0.019	0.376	0.324	0.61	1.55	2.53	218.7
120*	AA鸡	5~6	一级吸收 二室开放	1.37	0.052	0.126	0.593	0.63	1.12	7.26	258.12

* 本次试验结果

3.3 喹乙醇在鸡体内的毒物动力学特征 本研究喹乙醇(120 mg/kg)的吸收半衰期($t_{1/2ka}$)为 0.63 ± 0.26 h, 分布半衰期($t_{1/2\alpha}$)为 1.12 ± 0.34 h, 平均达峰时间(T_{max})为 1.19 ± 0.31 h, 说明药物的吸收、分布均较快, 这与常规剂量下喹乙醇的动力学特征相似, 见表3。但消除半衰期($t_{1/2\beta}$)达 7.26 ± 3.02 h, 与郭文欣等报道的消除半衰期比较, 消除明显减慢^[8]。主要原因可能是: (1) 中毒剂量使喹乙醇在鸡体内的分布状况发生了改变。喹乙醇从中央室至周边室的转运速率常数(K_{12})和周边室至中央室的转运速率常数(K_{21}), 与郭文欣等的研究结果有较大差异^[8]。转运速率常数 K_{21}/K_{12} 比值减少, 说明中毒剂量使喹乙醇从中央室向周边室分布更广泛更快, 延长了喹乙醇在鸡体内的滞留时间; (2) 喹乙醇中毒对鸡的肝脏代谢和肾脏排泄功能造成损害, 因为喹乙醇主要是在肝脏代谢后其原形和约 85% 代谢物通过肾脏排泄。至于与半衰期有关的血浆蛋白结合率有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 德国拜耳兽药部. 倍育诺技术简报. 1978, 16~22
- 2 夏式阶. 19种病原菌对喹乙醇敏感性试验. 畜牧与兽医, 1985, 4: 151~153
- 3 雷元勋. 喹乙醇在兽医临床上的应用初步探索. 上海畜牧兽医通讯, 1987, 2: 9~10
- 4 董滴波, 等. 喹乙醇对鸡的毒性及组织药物浓度的研究. 华南农业大学学报, 1993, 14(4): 53~58
- 5 周志敏. 对喹乙醇防治禽病中毒剂量的探讨. 吉林畜牧兽医, 1986, 5: 10~11
- 6 朱柱振, 等. 喹乙醇在鸡体内的药动学和组织浓度研究. 畜牧兽医学报, 1993, 24(3): 259~264
- 7 Anadon A, et al. Pharmacokinetic and residue studies of quinolone compounds and olaquinox in poultry. ANN-RECH-VET, 1990, 21/suppl: 137~144
- 8 郭文欣, 等. 喹乙醇在肉鸡体内的代谢动力学研究. 黑龙江畜牧兽医, 1991, 7: 1
- 9 夏文江, 等. MCPKP-药物动力学室分析的一种微机程序. 中国药理学报, 1988, 2: 188~192

STUDIES ON TOXICOKINETICS OF OLAQUINDOX IN BROILERS

Sun Yongxue, Feng Qihui, Dong Libo, Chen Zhangliu

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

Abstract

The toxicokinetic characteristics of olaquindox were investigated after administering a single oral toxic dose (120 mg/kg. b. w.) to 13 healthy AA broilers. Olaquindox in plasma was extracted with acetonitrile-ethyl acetate (3:2, v/v) and determined by HPLC. The drug concentration vs time was fitted to a two-compartment open model with first-order absorption rate. The main toxicokinetic parameters were as follows: $t_{1/2Ka}$ 0.63 ± 0.26 h, $t_{1/2a}$ 1.12 ± 0.34 h, $t_{1/2\beta}$ 7.26 ± 3.02 h, ke $0.59 \pm 0.15 h^{-1}$, T_{max} 1.19 ± 0.31 h, C_{max} $71.40 \pm 12.81 \mu g/ml$, AUC 258.12 ± 36.11 mg/L.h. The results suggested that the absorption and distribution processes of olaquindox were rapid while the elimination was very slow with a single oral toxic dose of 120 mg/kg.

Key words Olaquindox, Broilers, Toxicokinetics, High performance liquid chromatogram

《畜牧兽医学报》编辑委员会

名誉主编:王和民 陈耀春

主编:陈幼春

副主编:孔繁瑶 郭玉璞

编委:(以姓氏笔划为序)

于汝梁	王洪章	王和民	王丕建	王瑞祥	孔繁瑶	冯洪辉	冯仰廉	冯泽光	卢德勋
刘忠贵	齐顺章	朱裕鼎	朱蓓蕾	任继周	戎易	吴克谦	吴常信	邱振远	陈北亨
陈幼春	陈耀春	陈永佃	狄伯雄	郑友民	郑丕留	郑行	林继煌	林藩平	周毓平
周鼎年	郭玉璞	郭铁	韩正康	蒋次升	蒋金书	谭淑琴			

EDITORIAL COMMITTEE

Chairman: Chen Youchun

Vice-Chairmen: Kong Fanyao Guo Yupu

Members: Chen Beiheng

Di Boxiong

Guo Tie

Jiang Jinshu

Lin Jihuang

Ren Jizhou

Wang Ruixiang

Wu Keqian

Zheng Xing

Zhu Beilei

Chen Yaochun

Feng Zeguang

Guo Yupu

Kong Fanyao

Lu Dexun

Rong Yi

Wang Hongzhang

Yu Ruliang

Zhou Yuping

Chen Youchun

Feng Qihui

Han Zhengkang

Liu Zhonggui

Qi Shunzhang

Tan Shuqin

Wang Peijan

Zheng Youmin

Zhou Dingnian

Chen Yongjian

Feng Yanglian

Jiang Cisheng

Lin Fanping

Qiu Zhenyuan

Wang Hemin

Wu Changxin

Zheng Peiliu

Zhu Yuding