

妥曲珠利在健康和球虫感染肉鸡体内的药动学研究*

郭永刚, 冯秀娟, 万荣峰, 江善祥*

(南京农业大学动物医学院兽医药理研究室, 南京 210095)

摘要:以高压液相色谱 (HPLC) 法为定量手段研究了妥曲珠利在健康和柔嫩艾美耳球虫感染肉鸡体内的药动学特征。30日龄艾维茵肉鸡 30只, 随机分为健康组和柔嫩艾美耳球虫感染组和感染对照组。健康组和柔嫩艾美耳球虫感染组灌服 2.5% 妥曲珠利溶液 ($8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后, 血浆药物浓度-时间数据符合一级吸收二室开放模型, 健康组和感染组主要动力学参数分别为: $t_{1/2}$ 为 (4.31 ± 0.85) 和 (4.29 ± 1.03) h, $t_{1/2}$ 为 (23.81 ± 2.81) 和 (23.76 ± 3.31) h, V_d 为 (0.39 ± 0.09) 和 (0.40 ± 0.07) $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$, $CL(s)$ 为 (0.05 ± 0.01) 和 (0.05 ± 0.01) $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, AUC 为 (174.15 ± 34.09) 和 (165.14 ± 23.71) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。该结果表明球虫感染肉鸡单次灌服 2.5% 妥曲珠利溶液后药动学特征与健康鸡比较无显著差异, 说明柔嫩艾美耳球虫感染对妥曲珠利在肉鸡体内的药动学过程无明显影响。

关键词:妥曲珠利; 柔嫩艾美耳球虫; 药动学; 肉鸡

中图分类号: S855.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2007)01-0079-03

Pharmacokinetic studies of toltrazuril in healthy and *Eimeria tenella* coccidia-infected chickens

GUO Yong-gang, FENG Xiu-juan, WAN Rong-feng, JIANG Shan-xiang

(Laboratory of Veterinary Pharmacology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: The pharmacokinetics of toltrazuril were investigated in 10 healthy and 10 *E. tenella* coccidia-infected Avian broiler chickens by HPLC method. The pharmacokinetic characteristics of toltrazuril in healthy and infected chickens after single oral administration of $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ were best described by an open two-compartment model with first order absorption rate. The main pharmacokinetics parameters were as follows: $t_{1/2}$ (4.31 ± 0.85) and (4.29 ± 1.03) h, $t_{1/2}$ (23.81 ± 2.81) and (23.76 ± 3.31) h, V_d (0.39 ± 0.09) and (0.40 ± 0.07) $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$, $CL(s)$ (0.05 ± 0.01) and (0.05 ± 0.01) $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, AUC (174.15 ± 34.09) and (165.14 ± 23.71) $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$. The results showed that the main pharmacokinetics parameters of chickens were not significantly effected by *E. tenella* coccidia infection.

Key words: toltrazuril; *Eimeria tenella* coccidian; pharmacokinetics; chickens

妥曲珠利 (toltrazuril, 商品名 baycox) 是德国拜耳公司 20 世纪 80 年代开发的三嗪酮类抗球虫药物^[1], 国内称为百球清, 可有效杀灭包括球虫在内的多种原虫^[2], 其杀灭球虫效果好, 毒性低, 产生耐药性较慢, 且不影响鸡对球虫产生免疫力, 已经在欧洲、加拿大、日本等广泛应用^[3-5]。目前妥曲珠利在

国内禽类球虫病防治已有应用, 但迄今国内尚未有关于妥曲珠利在健康和球虫感染肉鸡体内的药动学研究的报道。本研究分析比较了健康和球虫感染肉鸡内服妥曲珠利溶液剂的药物动力学特征, 旨在为临床制订合理的给药方案提供依据。

* 收稿日期: 2006-09-04

基金项目: 南京市科技局项目 (U200302) 资助。

作者简介: 郭永刚 (1979 -), 男, 硕士。* 通讯作者 (Corresponding author) E-mail: nauvy@sina.com

1 材料与方法

1.1 动物

30日龄艾维茵肉鸡30只,体重 (0.85 ± 0.06) kg,雌雄各半,临床观察表现健康,随机均分为3组,分别为健康给药组、球虫感染给药组和球虫感染对照组,笼养,饲喂全价不含抗球虫药物日粮。健康组临床观察2 d,均表现健康后给药;球虫感染组30日龄灌服柔嫩艾美耳球虫卵囊,球虫感染后第3 d给药。试验前16 h禁食(自由饮水),试验期间正常饲养。

1.2 药品和试剂

2.5%妥曲珠利溶液为南京农业大学动物医学院药理组自制;妥曲珠利对照品由南京农业大学新兽药开发工程中心提供;肝素为上海试剂公司产品(F20011122);磷酸二氢钾、磷酸为国产分析纯试剂;乙腈为德国默克公司产色谱纯试剂;鸡柔嫩艾美耳球虫卵囊由南京农业大学动物医学院寄生虫组赠。

1.3 仪器

高效液相色谱系统(Waters), Waters 2487紫外吸收检测器, Millennium32色谱工作站;低温高速离心机(德国 Beckman);电子分析天平、微型混合器、可调微量移液器等。

1.4 球虫感染模型的建立

感染组每只鸡口服鸡柔嫩艾美耳球虫卵囊 1×10^5 个,每天观察鸡的临床表现并检测粪便,第7 d剖解球虫感染对照组观察盲肠病变。

1.5 给药和血样采集

2.5%妥曲珠利溶液给药剂量为 $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。鸡只侧卧保定,分离翼下静脉采血。给药前采1次空白血。鸡内服(胃管直接注入喙囊)给药后,分别于10、30、45 min及1、1.5、2、3、4、6、10、16、24、48、72 h采血。每次采静脉血约1 mL,置于含肝素的离心管中,混匀, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min,分离血浆, -20℃冰箱保存。

1.6 血浆中妥曲珠利浓度的测定

准确吸取0.2 mL血浆样品于1.5 mL的离心管中,加入0.3 mL乙腈,于漩涡混合器上混合2 min,高速离心10 min($12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),吸取上清液20 μL 作HPLC分析。色谱条件: Waters Nova-PakC18 (3.9 \times 150 mm, 4 μm)不锈钢色谱柱,流动相为磷酸二氢钾缓冲液(pH 3) - 乙腈(47:53),流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长为240 nm,进样量为20 μL ,柱温30℃。

1.7 数据分析处理

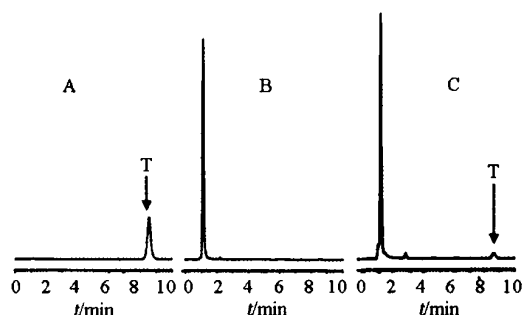
血药浓度 - 时间数据分别按一室、二室、三室模

型运用 Marquadt法迭代拟合,通过对模型拟合评价,利用F检验法及根据AIC最小的原则选出最佳模型,计算药代动力学参数。计算过程采用中国药理学学会编3P97程序运行。参数间比较采用整组的t检验。

2 结果与分析

2.1 色谱行为

由图1可见,本试验所选用的分析条件可较好地分离妥曲珠利,内源性杂质对测定无干扰,具有较好的特异性。妥曲珠利在 $0.1 \sim 25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,线性关系良好,最低检测浓度为 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,血浆中的相对回收率为 $(93.25 \pm 2.68)\%$,日内变异系数2.46%,日间变异系数3.45%。妥曲珠利的保留时间为8.6 min,分离度好。



A. 妥曲珠利标准品 Toltrazuril standard; B. 空白血浆 CK; C. 含妥曲珠利血浆 B lod plasma with toltrazuril; T. 妥曲珠利 Toltrazuril

图1 HPLC色谱图

Figure 1 Chromatogram of HPLC

2.2 球虫感染模型的复制

感染组和感染对照组每只肉鸡口服鸡柔嫩艾美耳球虫卵囊 1×10^5 个,从第3 d开始出现精神萎靡,采食量下降,第4~5 d鸡开始有血便排出,第7 d剖检感染对照组,盲肠均出现不同程度肿胀出血,粪便经镜检有大量球虫卵囊。结果表明临床症状明显,病变典型,由此可判定感染组和感染对照组鸡感染鸡柔嫩艾美耳球虫。

2.3 给药后健康和球虫感染肉鸡体内药动学特征

健康和球虫感染肉鸡单剂量内服2.5%妥曲珠利溶液后,不同时间血药浓度见表1。该药物在健康鸡和球虫感染鸡体内的药动学最佳数学模型为一级吸收的二房室模型,即血药浓度与时间的关系可用下列方程式表示: $C = Ae^{-t} + Be^{-t} - (A + B)e^{-Kat}$ 。妥曲珠利在健康和球虫感染肉鸡体内的主要药动学参数(表2)均无显著差异($P > 0.05$)。

表 1 灌服 2.5%妥曲珠利溶液不同时间血药浓度 (n=10)

Table 1 Blood plasma drug concentration of 2.5% perfusive toltrazuril

采血时间 /h Sampling time	血药浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ Blood plasma drug concentration	
	健康组 Health group	球虫感染组 Infective group
0.17	4.51 \pm 1.57	4.34 \pm 1.94
0.50	9.34 \pm 2.48	8.45 \pm 2.05
0.75	11.83 \pm 2.70	11.42 \pm 2.93
1.00	14.01 \pm 3.18	13.53 \pm 3.22
1.50	15.91 \pm 3.37	16.03 \pm 3.75
2.00	17.10 \pm 3.16	16.82 \pm 2.72
3.00	15.96 \pm 3.35	15.31 \pm 2.77
4.00	12.76 \pm 2.92	12.70 \pm 2.34
6.00	9.72 \pm 2.55	8.60 \pm 2.18
10.00	5.48 \pm 1.59	5.06 \pm 1.39
16.00	2.97 \pm 0.87	2.70 \pm 0.68
24.00	1.31 \pm 0.34	1.66 \pm 0.44
48.00	0.37 \pm 0.04	0.33 \pm 0.05
72.00	0.19 \pm 0.02	0.18 \pm 0.03

表 2 灌服 2.5%妥曲珠利溶液的药代动力学参数 (n=10)

Table 2 Pharmacokinetics parameters of 2.5% perfusive toltrazuril

药代动力学参数 Parameters	健康组 Health group	球虫感染组 Infective group
A / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	24.07 \pm 8.14	22.22 \pm 5.88
/L \cdot h $^{-1}$	0.17 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05
B / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.58 \pm 0.37	1.64 \pm 0.64
/L \cdot h $^{-1}$	0.03 \pm 0.004	0.03 \pm 0.01
Ka /L \cdot h $^{-1}$	1.34 \pm 0.42	1.29 \pm 0.38
V/F /L \cdot kg $^{-1}$	0.39 \pm 0.09	0.40 \pm 0.07
t $_{1/2}$ /h	4.31 \pm 0.85	4.29 \pm 1.03
t $_{1/2}$ /h	23.81 \pm 2.81	23.76 \pm 6.31
AUC / $\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	174.15 \pm 34.09	165.14 \pm 23.71
CL (s) /L \cdot h $^{-1}$	0.05 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01
T $_{\text{max}}$ /h	1.90 \pm 0.31	1.92 \pm 0.28
C $_{\text{max}}$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	15.82 \pm 3.51	15.00 \pm 2.39

3 讨论

3.1 疾病模型的复制

疾病模型复制成功与否直接关系到治疗效果与试验的结果。为了能成功复制出这一常发疾病,经查阅文献 [6]和反复多次试验后确定每只鸡接种球虫卵囊 1 $\times 10^5$ 个,结果表明感染鸡临床症状明显,病变典型,感染后第 7 d 从感染鸡粪便中镜检到大量球虫卵囊,由此可以判断人工感染是成功的。

3.2 妥曲珠利在健康和球虫感染肉鸡体内的药动学特征

本试验中健康肉鸡灌服治疗剂量 2.5%妥曲珠利溶液后吸收较快,在 1.9 h 血药浓度达峰值,血浆

中的消除半衰期为 23.81 h,根据半衰期判断,妥曲珠利属于慢速消除药物^[7]。欧洲药品审评局 (EMA)报道,鸡口服 8 mg \cdot kg $^{-1}$ 的¹⁴C妥曲珠利,每日 1 次,服用 2 d,结果在第 1 次给药后 4.5 d,降解了 50%,15.5 d 后降解了 90%^[8]。该结果也表明妥曲珠利在鸡体内消除较慢,且消除时间长于本试验所得结果,可能是由于本试验采用高效液相色谱法检测,以血浆中妥曲珠利原形药物为检测指标,妥曲珠利在体内的代谢产物没有包括在内,因此所得该药的消除半衰期小于通过放射性同位素检测方法得到的数据。

临床上给药方案主要是以健康动物的试验数据并参考患病动物拟出的,这种假设由于设定体内的药量和药效变化在患病和健康畜禽体内是相同的,而未考虑疾病对药物量效关系的影响。本试验中健康鸡和球虫感染鸡内服自制 2.5%妥曲珠利溶液 (8 mg \cdot kg $^{-1}$)后,各主要药动参数均差异不显著 ($P > 0.05$),说明肉鸡的柔嫩艾美耳感染对妥曲珠利在其体内的药动学过程无显著影响。究其原因,可能是由于该药的吸收主要集中在肉鸡的小肠段,而柔嫩艾美耳球虫的感染部位主要在盲肠段,该部位病变对药物的吸收影响不大。该试验结果表明妥曲珠利按健康鸡饮水给药的药动学参数制定给药方案是合理的。在肉鸡体内良好的药动学特征表明,妥曲珠利适宜在兽医临床推广,对鸡球虫病防治具有重要的应用价值。

参考文献:

[1] Susan B, Maryadele J, O neil, et al The merck index (Twelfth edition) [M]. New Jersey: Merck & Co Inc, 1996: 1625.

[2] Mehlhom H, Schmahl G, Haberkom A. Toltrazuril effective against a broad spectrum of protozoan parasites[J]. Parasitol Research, 1988, 75 (1): 64-66

[3] Mathis G F, Froyman R, Irion T, Kennedy T. Coccidiosis control with toltrazuril in conjunction with anticoccidial medicated or nonmedicated feed[J]. Avian Dis, 2003, 47: 463-469.

[4] Mathis G F, Froyman R, Kennedy T. Coccidiosis control by administering toltrazuril in the drinking water for a 2-day period[J]. Veterinary Parasitology, 2004, 121: 1-9.

[5] Greif G. Immunity to coccidiosis after treatment with toltrazuril[J]. Parasitol Research, 2000, 86: 787-790.

[6] 索勋,李国清.鸡球虫病学 [M]. 北京:中国农业大学出版社, 1998: 24-36

[7] 郭涛.新编药物动力学 [M]. 北京:中国科学技术出版社, 2004: 458

[8] EMA. Veterinary Medicines Evaluation Unit. Toltrazuril Summary Report (1, 2) [DB/OL]. 1999.