

喹烯酮的食品安全性研究进展

黄玲利, 李娟, 王旭, 潘源虎, 袁宗辉*

(国家兽药残留基准实验室(HZAU)/农业部兽药残留检测重点实验室, 华中农业大学动物医学院, 武汉 430070)

[收稿日期] 2013-01-22 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2013)06-0056-04 [中图分类号] S859.8

[摘要] 概述了喹烯酮的临床前毒理学研究进展及代谢与残留研究现状, 分析了存在的问题, 提出了开展深入研究的内容与方法, 为进一步完善喹烯酮的食品安全性评价, 建立科学的食品安全性标准提供参考。

[关键词] 喹烯酮; 毒理学; 代谢; 残留; 食品安全性评价

Progress on Food Safety Evaluation for Quinocetone

HUANG Ling-li, LI Juan, WANG Xu, PAN Yuan-hu, YUAN Zong-hui*

(National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues (HZAU)/ MOA Key Laboratory for the Detection of Veterinary Drug Residues, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: In this paper the progress of toxicology, metabolism and residue depletion of quinocetone in animals were reviewed, and the unsolved issues were proposed followed by suggesting the contents and approaches for further studies, which would improve the establishment of scientific food safety standards for quinocetone in animals.

Key words: quinocetone; toxicology; metabolism; residue; food safety evaluation

喹烯酮是我国自主研发的喹噁啉类一类新兽药(结构如图1), 农业部于2003年批准其作为抗菌促生长剂用于猪饲料中, 推荐饲料添加量为50~75 mg/kg。该药抗菌及促生长效果与喹乙醇相当, 已作为喹乙醇的替代产品广泛应用于畜牧业生产。国内现有多家药厂生产, 年产量3000多吨, 可用于近2亿头生猪。尽管国家批准喹烯酮仅用于猪, 但实际生产中喹烯酮也被非法用于家禽和水产动物, 在养猪生产中也存在超量添加的现象, 给食品安全带来很大隐患。由于缺乏系统研究, 迄今无喹烯酮在食品动物的残留靶组织、残留标志物和休药期等食品安全性标准。本文系统综述了国内外有关喹烯酮的毒理与代谢研究进展, 以期对喹烯酮食品安全性标准与监控措施的制定提供科学依据。

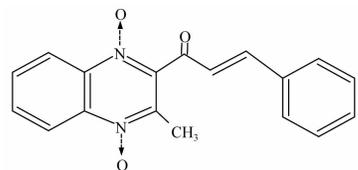


图1 喹烯酮结构式

1 毒理学研究

喹烯酮的毒理学已开展急性毒性、蓄积性、遗传毒性、亚慢性、喂养繁殖与致畸毒性及致癌毒性试验。

1.1 急性及蓄积性毒性 喹烯酮对Wistar大鼠和昆明系小鼠的急性及蓄积性毒性较低, 大鼠的半数致死量(LD₅₀)为8178.99~8687.31 mg/kg bw, 小鼠的LD₅₀为14397.928~15848.93 mg/kg bw。剖检发现胃内有黄色药物硬块, 肠内有黄色药物, 肠

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目资助(2009CB118800)

作者简介: 黄玲利, 博士, 副教授, 从事兽药残留与食品安全的教学与科研。

通讯作者: 袁宗辉。E-mail: yuan5802@mail.hzau.edu.cn

壁充血,其他器官未见异常^[1-2]。按照急性毒性分级标准喹烯酮为实际无毒物质。小白鼠用 1/20、1/10、1/5、1/2 LD₅₀ 的剂量连续灌胃 20 d,1/20~1/5 LD₅₀ 剂量组小白鼠全部存活,生长正常,剖检无异常,证明喹烯酮对小白鼠无明显的蓄积毒性作用^[3]。

1.2 遗传毒性 Ames 试验中,喹烯酮对 TAm 102 和 TA₁₅₃₅ 加与不加 S₉ 时都为阴性,对 TA₉₇、TA₉₈、TA₁₀₀ 和 TA₁₅₃₇ 加和不加 S₉ 在一定剂量下均为阳性。结果提示,喹烯酮存在一定致突变毒性^[4]。

小鼠骨髓细胞微核试验中,昆明种小鼠经口灌胃给药喹烯酮 1700~7200 mg/kg bw 2 次,间隔 24 h,于末次给药后 6 h 采样检查。结果证明,喹烯酮微核试验结果为阴性^[4]。以中国仓鼠肺成纤维细胞 V79 株为测试系统,考察喹烯酮在 1.25~10.0 μg/mL 剂量范围内对哺乳动物细胞染色体畸变的影响,并设溶剂对照组(DMSO)和阳性对照组。结果表明,喹烯酮各剂量组在加与不加 S₉ 时均为阴性^[4]。

小鼠精子畸形试验中,以 1/30、1/10 和 1/5 LD₅₀ 的剂量连续 5 d 灌胃给药,喹烯酮未能引起小鼠精子畸形率明显增加,判定试验结果为阴性^[5]。在加与不加 S₉ 代谢活化系统条件下,考察了喹烯酮在 1.25~10 μg/mL 范围内对体外哺乳细胞 V79 细胞的致突变作用。结果发现不论加与不加 S₉ 代谢活化系统,喹烯酮对 V79 细胞无诱变作用^[6]。

程序外 DNA 合成试验中,在加与不加 S₉ 代谢活化系统条件下,观察不同剂量喹烯酮在 2.5~20 μg/mL 剂量下对人外周血淋巴细胞 DNA 损伤修复的影响。结果发现,喹烯酮 10~20 μg/mL 能引起人外周血淋巴细胞程序外 DNA 合成显著增加,呈现剂量反应关系,表明喹烯酮能引起人外周血淋巴细胞 DNA 损伤。上述结果提示,喹烯酮具有一定遗传毒性。

1.3 亚慢性毒性 SPF 级 Wistar 大鼠连续饲喂含喹烯酮 50、300、1800 mg/kg 饲料 14 周,在 50 mg/kg 和 300 mg/kg 剂量组各项指标均正常。1800 mg/kg 喹烯酮组大鼠的平均体重显著降低,血清丙氨酸氨基转移酶活性显著降低,肾、肝、睾丸的脏器系数显著升高^[2],提示喹烯酮亚慢性最大未观察的有害作用剂量(NOEL)为 300 mg/kg 饲料,对 Wistar 大鼠亚慢性毒作用的靶器官为肝脏。

1.4 两代喂养致畸与繁殖毒性 Wistar 大鼠连续饲喂含喹烯酮 50、300、1800 mg/kg 饲料 12 周后进行交配,妊娠第 20 d 剖腹进行畸胎检查。1800 mg/kg

组胎鼠体重、体长、尾长和窝重极显著降低,死胎数极显著升高,各组均未出现明显外观和内脏畸形^[7],提示喹烯酮在饲料中长期添加 1800 mg/kg 时对大鼠存在一定致畸毒性,其致畸毒性的 NOEL 为 300 mg/kg 饲料。

SPF 级 Wistar 大鼠连续饲喂含喹烯酮 50、300、1800 mg/kg 的加药饲料 10 周后进行交配,发现 F0 代和 F1 喹烯酮 1800 mg/kg 组胎鼠体重、饲料利用率、窝平均活崽数和第 21 d 平均仔重显著降低,组织病理学检查未见各组大鼠生殖器官受到损伤^[7-8],提示喹烯酮在饲料中长期添加 1800 mg/kg 时对大鼠生殖发育性能有一定影响,其繁殖毒性的 NOEL 为 300 mg/kg 饲料。

1.5 致癌毒性 王玉春等分别以 0、75、150、300 mg/kg 的剂量喂养昆明系小鼠 20 个月,经过临床检查、血液学检查、血液生化检查和病理组织检查,并未发现喹烯酮的致癌作用^[9],提示喹烯酮对大鼠致癌毒性的 NOEL 为 300 mg/kg 饲料。

2 代谢研究

喹烯酮在大鼠肝微粒体可代谢成 27 种代谢物(Q1-Q27),鸡肝微粒体中能代谢成 23 种,猪肝微粒体代谢成 25 种。N→O 基团和羰基的还原是喹烯酮在肝微粒体中的主要代谢途径。喹烯酮的代谢存在种属差异,大鼠对其 N→O 基团还原、羟化和烯醇式转化的能力最强,猪对其羰基还原能力最强^[10]。猪尿液中发现鉴定出喹烯酮的 31~42 种代谢产物,大量为 N1-脱氧喹烯酮及其羟化物,肠道中尤为明显,猪体内的主要代谢途径为:N→O 基团、羰基、双键还原及甲基、侧链、苯环的羟化^[11-12]。鸡静脉注射喹烯酮(2.5 mg/kg)后,血浆中检测到喹烯酮和 1-脱氧喹烯酮,口服喹烯酮(30 mg/kg)后,血浆中检测到喹烯酮和 3-甲基喹噁啉-2-羧酸(MQCA),推测喹烯酮在鸡体内的主要代谢途径可能为脱氧,最后氧化水解生成 MQCA^[13]。利用液相色谱联用三重四极杆串联质谱法对大鼠和鸡粪中喹烯酮及其代谢物进行鉴定,鸡粪中除了存在喹烯酮、脱二氧喹烯酮和 3-甲基喹噁啉-2-羧酸外,还发现 1-单氧喹烯酮和 4-单氧喹烯酮^[14-15]。大鼠粪便中有 5 种代谢产物,分别为双键还原产物、羰基还原产物、苯环羟基化产物、双键还原羟基化产物和水解产物^[16]。

3 残留研究

动物可食性组织中喹烯酮及其代谢物的残留

检测方法已有大量研究。定量分析方法主要分析对象为喹烯酮原形^[17-19], 动物样品涉及猪、鸡和鱼的可食性组织。样品处理方法主要采用液-液萃取, 常用溶剂包括乙酸乙酯、乙腈、正己烷、氯仿等, 方法的灵敏度为 10 ~ 50 ng/g。少量文献报道了动物血液与尿液中喹烯酮、脱二氧代谢物及 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的定量分析方法^[20-22], 灵敏度为 20 ~ 50 ng/g。利用超声辅助液液微萃取技术, 可使灵敏度提高至 0.06 ~ 0.12 ng/mL^[21]。确证分析方法研究较少, 主要集中于采用 HPLC-MS/MS 方法检测水产品中 3-甲基喹噁啉-2-羧酸, 方法的定量限为 1.0 ~ 5.0 μg/kg^[23-25]。

喹烯酮在动物体内的残留消除已开展了部分研究, 主要采用定量分析方法检测动物饲喂喹烯酮后组织中喹烯酮原形及部分代谢物的含量。猪 50 mg/kg 饲料添加量饲喂喹烯酮 2.5 月, 分别于停药后不同时间检测各可食性组织中喹烯酮的浓度, 发现喹烯酮在肌肉、脂肪、肾脏中均无残留, 在肝脏中的残留量也很低, 4 d 后无残留^[17]。猪连续混饲 100 mg/kg 的喹烯酮 10 d, 采用 HPLC 法检测各组织中喹烯酮、脱二氧和 3-甲基喹噁啉-2-羧酸的含量。结果发现停药后四种组织中均未检出喹烯酮与脱二氧喹烯酮, 肝脏和肾脏中可检出 3-甲基喹噁啉-2-羧酸, 停药 5 ~ 7 d 后不可检出^[26]。

鸡按 75 mg/kg 饲料添加量饲喂喹烯酮 2.5 月, 停药 1 d 后在肌肉皮脂中均未检出喹烯酮, 肝脏和肾脏中 2 d 后未检出喹烯酮^[18]。蛋鸡口服喹烯酮 4 h 后, 蛋鸡肉组织中均未发现喹烯酮及其代谢物残留, 血浆和肝脏组织中有喹烯酮及其代谢物残留, 且残留量随着给药剂量的增加而增加, 呈明显的剂量效应关系^[15]。

健康鲤连续 12 周混饲喹烯酮 75 mg/kg, 采用 HPLC 检测喹烯酮及其代谢物在组织中的残留量。鲤组织中停药 48 h 后不可检出脱二氧喹烯酮, 72 h 后不可检出喹烯酮, 10 d 后不可检出 3-甲基喹噁啉-2-羧酸^[22]。

4 展 望

兽药的安全性评价包括毒理学评价和化学评价, 前者帮助揭示药物的毒性大小与性质, 寻找毒性靶器官, 确定最大无作用剂量和安全浓度。后者揭示药物在动物体内代谢的特征, 残留物的组成、性质、分布及动态变化规律, 帮助确定残留标志物和靶组织, 制定最高残留限量、休药期和残留检

测方法等食品安全标准。喹烯酮的食品安全性研究已完成较系统的毒理学评价, 但在化学评价方面仅开展了非常有限的研究。目前的研究仅集中于动物组织中原形或个别代谢物的定性定量分析, 未能全面揭示喹烯酮在动物体内的代谢、分布及残留消除特征, 无法确定残留标志物及靶组织、最高残留限量与休药期等食品安全性标准。

放射性示踪分析方法通过放射性同位素的定量分析, 可全面分析药物在动物体内的代谢、分布与消除等动态变化过程, 与现代理化分析技术结合可实现代谢物的定性定量分析, 最终帮助确定残留标志物与靶组织。FDA 已推荐放射性示踪分析方法作为研究兽药的吸收、代谢、分布和排泄的金标方法^[27]。为全面系统揭示喹烯酮在动物体内的变化规律, 科学评价喹烯酮的食品安全性, 最终制定科学可靠的食品安全性标准, 建议采用放射性示踪分析方法深入开展喹烯酮的食品安全性评价。

参考文献:

- [1] 王玉春, 严相林, 赵荣材, 等. 新型药物饲料添加剂喹烯酮的一般毒性研究 I. 急性毒性试验[J]. 中兽医医药杂志, 1992, 4: 13-14.
- [2] Xu Wang, Wei Zhang, Yulian Wang, *et al.* Acute and subchronic oral toxicological evaluation of quinocetone in Wistar rats [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2010, 58: 421-427.
- [3] 王玉春, 严相林, 赵荣材, 等. 新型饲料药物添加剂喹烯酮一般毒性研究 II. 蓄积毒性试验[J]. 中兽医医药杂志, 1993, 2: 14.
- [4] 张 伟. 喹烯酮临床前毒理学研究[D]. 华中农业大学硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学图书馆, 2007.
- [5] 严相林, 李金善, 王玉春, 等. 喹烯酮对小白鼠精子的畸变试验[J]. 中兽医医药杂志, 1997, 5: 13-14.
- [6] 涂宏刚. 喹噁啉类药物对哺乳动物细胞的遗传毒性研究[D]. 武汉: 华中农业大学图书馆, 2007.
- [7] Xu Wang, Wei Zhang, Yulian Wang, *et al.* Two generation reproduction and teratogenicity studies of feeding quinocetone in Wistar rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2012, 50: 1600-1609.
- [8] 王玉春, 赵荣材, 严相林, 等. 新型饲料药物添加剂喹烯酮的毒性研究——繁殖及致畸试验[J]. 中国兽医科技, 1993, 23(4): 25-26.
- [9] 王玉春, 赵荣材, 严相林, 等. 喹烯酮对小白鼠的致癌试验[J]. 中国兽医科技, 1995, 25(3): 24-25.
- [10] Zhaoying Liu, Lingli Huang, Dongmei Chen, *et al.* Application of electrospray ionization hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry in the rapid characterization of quinocetone metabolites formed *in vitro* [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 396(3): 1259-1271.

我国兽用基因工程疫苗商品化进展

邓秋红, 丁春宇*, 刘玉倩, 王占锋, 郑杰

(北京华都诗华生物制品有限公司, 北京 102600)

[收稿日期] 2012-12-25 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2013)06-0059-05 [中图分类号] S859.797

[摘要] 对1991-2012年在我国获得注册并取得产品批准文号的兽用基因工程疫苗进行了分类总结, 分析了我国兽用基因工程疫苗商品化现状和存在的主要问题, 展望了兽用基因工程疫苗的发展前景。

[关键词] 兽用基因工程疫苗; 商品化; 进展

Advance in Commercialization of Animal - use Gene Engineering Vaccines in China

DENG Qing - hong, DING Chun - yu*, LIU Yu - qian WANG Zhan - feng, ZHENG Jie

(Beijing Ceva Huadu Biological Co., Ltd, Beijing 102600, China)

Abstract: All animal - use gene engineering vaccines which had been registered and authorized to be manufactured between 1991 and 2012 in China were classified and summarized in this article. The current situation

作者简介: 邓秋红, 执业兽医师, 从事兽用生物制品新产品注册工作。

通讯作者: 丁春宇。E-mail: David.Ding@ceva-huadu.com

- [11] Shen J Z, Yang C Y, Wu C M, *et al.* Identification of the major metabolites of quinocetone in swine urine using ultra - performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time - of - flight tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24: 375 - 383.
- [12] Wu H X, Yang C Y, Wang Z H, *et al.* Metabolism profile of quinocetone in swine by ultra - performance liquid chromatography quadrupole time - of - flight mass spectrometry [J]. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 2012, 37(2): 141 - 154.
- [13] 张桂君, 贺利民, 颜丹丹, 等. 喹烯酮在鸡体内的代谢及药物动力学研究[J]. *动物医学进展*, 2011, 32(6): 64 - 67.
- [14] 张丽芳. 饲料中喹烯酮的检测方法与鸡粪中喹烯酮及其代谢物的鉴定研究. 硕士学位论文[D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
- [15] 李勇. 鸡体内兽药喹烯酮代谢组学方法建立及应用[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [16] 杨春燕, 冯培生, 张素霞. 喹烯酮在大鼠体内代谢产物的研究[C]//中国畜牧兽医学会兽医药理学分会第十次研讨会论文集摘要集, 2009: 71.
- [17] 李剑勇, 李金善, 徐忠赞, 等. 喹烯酮在猪组织中的残留研究[J]. *动物医学进展*, 2004, 25(4): 117 - 120.
- [18] 李剑勇, 李金善, 赵荣材, 等. 喹烯酮在鸡食用组织中的残留研究[J]. *动物医学进展*, 2008, 29(4): 34 - 37.
- [19] 杨莉, 艾晓辉, 袁科平, 等. 高效液相色谱法对鱼体肌肉组织中喹烯酮及其代谢物残留量的同时检测[J]. *分析测试学报*, 2010, 29(4): 372 - 375.
- [20] 王林, 丁煊中, 钟家林, 等. HPLC 检测猪血浆和尿液中的喹烯酮及其主要代谢物[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(12): 52 - 56.
- [21] Zhang J H, Li M, Li L X, *et al.* Investigation of the ultrasound effect and target analyte selectivity of dispersive liquid - liquid microextraction and its application to a quinocetone pharmacokinetic study[J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1268: 1 - 8.
- [22] 胡桂敏. 喹烯酮在鲤体内的药代动力学及残留研究[D]. 武汉: 华中农业大学图书馆, 2008.
- [23] 张丽芳, 薛飞群, 刘元元, 等. 高效液相色谱 - 串联质谱法测定鸡组织中的喹烯酮残留标示物[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(5): 63 - 65.
- [24] 徐英江, 任传博, 田秀慧, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱测定水产品中的卡巴氧、喹烯酮、乙酰甲喹及其代谢物[J]. *分析测试学报*, 2011, 30(10): 1133 - 1137.
- [25] 王霄阳, 张丽芳, 薛飞群, 等. 采用高效液相色谱 - 串联质谱法检测鲫鱼组织 3 - 甲基喹噁啉 - 2 - 羧酸残留量[J]. *中国兽医学*, 2007, 37(08): 718 - 720.
- [26] 黄玲利, 范盛先, 肖爱国, 等. 喹烯酮在猪体内的残留研究[C]. *中国畜牧兽医学会 2004 学术年会暨第五届全国畜牧兽医青年科技工作者学术研讨会论文集(下册)*, 2004: 23 - 26.
- [27] FDA. Guidance for industry: Studies to evaluate the metabolism and residue kinetics of veterinary drugs in food - producing animals: Metabolism study to determine the quantity and identify the nature of residues(mrk) [S]. *VICH GL46*, 2011.

(责任编辑: 李文平)