doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.01.06

喹赛多及其两种代谢产物在鸡体内消除规律研究

斯琴朝克图[1,2],章爱群[1],毛清黎[1],杨新河[1],袁宗辉[2*]

(1.湖北工程学院生命科学技术学院,湖北省植物功能成分利用工程技术研究中心,湖北孝感 432000;2.国家兽药残留基准实验室(HZAU)/农业部食品安全评价重点开放实验室,国家兽药安全评价实验室,华中农业大学动物医学院,武汉 430070)

[收稿日期] 2017-06-05　[文献标识码]A　[文章编号]1002-1280 (2018) 01-0035-11　[中图分类号]S859.83

[摘　要] 通过喹赛多(Cyadox, CYX)的不同给药方式,研究 CYX 及其两种重要代谢产物在鸡体内消除规律,了解其对食品安全的影响,并为今后的药理学和毒理学研究提供较为详细的数据基础。建立并优化了喹赛多、脱二氧喹赛多(BDCYX)和喹噁啉-2-羧酸(QCA)在鸡血浆、胆汁、可食性组织和粪便中的提取、纯化及 HPLC 检测方法,并通过按推荐剂量连续混饲给药 7 d 和一次性灌胃给药两种不同给药方式,研究喹赛多及其两种代谢产物在鸡体内消除规律。结果表明,连续混饲给药 7 天后在血浆、肝脏、肾脏、肌肉、脂肪中均未检测到 CYX,停药后 6 h 和 24 h 的肝脏样品中检测到 BDCYX。除了胆汁以外,所检测的其它上述 5 种组织中均检测到 QCA,肝脏和肾脏中持续检测到 72 h。一次性灌服 CYX 后的鸡排泄物中 CYX 原形和 BDCYX 在给药后 2 d 便无法检出,QCA 可检测到第 3 天。研究结果为喹赛多药理学和毒理学研究提供了可直接借鉴的参考数据。

[关键词] 喹赛多;脱二氧喹赛多;喹噁啉-2-羧酸;消除规律;鸡

The Elimination of Cyadox and Its Two Major Metabolites in Chickens

HARNUD Sechenchogt[1,2], ZHANG Ai-qun[1], MAO Qing-li[1], YANG Xin-he[1], YUAN Zong-hui[2*]

(1. *College of Plant Science and Technology of Hubei Engineering University, The Hubei Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Hubei, Xiaogan* 432000, *China*; 2. *National Reference Laboratory of Veterinary Drug Residues (HZAU) and MOA Key Laboratory for the Detection of Veterinary Drug Residues in Foods, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070, *China*)

Corresponding author: *YUAN Zong-hui*, *E-mail*: *zonghuiyuan@sina.com*

Abstract: The elimination characteristic of Cyadox (CYX) and its two major metabolites, 1,4-bisdesoxycyadox (BDCYX) and Quinoxalie-2-carboxylic acid (QCA) were investigated in chickens for its study on pharmacology, toxicology and food safety concerns. In this study, a simple HPLC method was developed and validated for determination of CYX, BDCYX and QCA, following a group of 6 chickens (3 male and 3 female) were administered a single oral dose of CYX (10 mg/kg b.w.), and feces were collected every 24 h after dose for the excretion studies. For the tissue elimination studies, 20 chickens were divided into five groups. Each groups consisted of 4 chickens, were fed with the diets containing CYX (100 mg/kg) for 7 consecutive days. One group

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

作者简介: 斯琴朝克图,博士,从事兽医药理学与毒理学,兽药残留与食品安全研究。

通讯作者: 袁宗辉。E-mail: zonghuiyuan@sina.com

of two male and two female chickens were randomly selected to be slaughtered at each time point (6 h, 1 d, 3 d, 7 d, 14 d) after withdrawal period. The results showed that CYX was non-detectable in plasma, liver, muscle, kidney and fat, while BDCYX was detectable at 6 h and 24 h in liver. QCA was detected in all selected four tissues and plasma, and detected to 72 h in liver and kidney. The CYX and BDCYX were detected to 2 d, and QCA was detected to 72 h in feces of chickens after a single oral gavage of CYX. These results provide comprehensive information for the food safety evaluation of CYX and will improve the understanding of the pharmacology and toxicology of CYX in animals.

Key words: CYX; BDCYX; QCA; elimination; chicken

喹赛多(Cyadox, CYX),化学名为 2-喹噁啉亚甲肼基氰基乙酸-1,4-二氧化物,卡巴氧、喹乙醇等同属于喹噁啉-N-1,4-二氧化物的衍生物[1],是一种新型的抗菌促生长类饲料添加剂,是喹乙醇的换代产品,用于猪、牛、禽类养殖生产[2]。卡巴氧和喹乙醇等同类药物已经有文献报道证明有较强的毒副作用,已被不同国家和地区限制和禁止使用[3]。喹赛多是喹噁啉类药物的新品种,大量研究证明,喹赛多可以促进畜禽的生长[4-6],且与同类药物相比毒性小,安全性好[7-9],是一种比较理想的抗菌药物促生长剂。CYX 的上述研究表明其对家禽具有促生长作用,提示 CYX 存在应用于家禽生产的潜能。CYX 作为食品生产动物用药,食品安全性是其开发应用前景重要指标。兽药残留是影响食品安全性的主要因素之一,药物代谢与残留消除规律研究则是避免残留的科技基础。CYX 在其重要靶动物之一的鸡体内分布、消除、代谢和排泄研究报道较少,研究内容不成系统,残留消除规律和代谢过程不明确。为了丰富和完善 CYX 在鸡体内药理学和毒理学研究数据,用于食品安全风险评估,本文以肉用鸡作为研究载体,针对 CYX、BDCYX 和 QCA 建立并优化了高效液相色谱定量分析方法,并采用推荐剂量连续混饲给药 7 d 和一次性灌胃给药的方法,研究 CYX 及其代谢产物在鸡血浆、胆汁、可食性组织和排泄物中的消除规律,探讨了三种化合物在鸡体内动态变化规律。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备 Waters 高效液相色谱系统:由 Waters 600 controller, 717plus Autosampler 和 2996 Photodiod Array detector 组成(购自美国 Waters 公司);高速冷冻离心机,HITACHI CR21G 型(购自日本日立公司);Agilent 20 管固相萃取装置(购自美国安捷伦公司);JHD-002 全自动氮吹仪(上海极恒实业有限公司)等。

1.2 药物与试剂 CYX(纯度 99.8%;批号 20110315),由华中农业大学兽药研究所合成;BDCYX(纯度 99.8%;批号 20110108),由华中农业大学兽药研究所合成;QCA(纯度 97%;批号 2010CJ)购自美国 SIGMA-ALDRICH 公司。偏磷酸甲醇溶液:称取偏磷酸 100 g,加入水,加热沸腾至溶解,冷却后加入甲醇 200 mL,然后再加水定容至 1000 mL,混匀,配置成 5%偏磷酸 10%甲醇水溶液。磷酸缓冲液(0.01 mol/L):称取磷酸氢二钾($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$)2.28 g,置于 1000 mL 容量瓶中,加入 900 mL 水溶解,浓磷酸调 pH 值至 7.0,加水定容至 1000 mL。

1.3 试验动物 AA 肉鸡 30 羽(购自武汉正大有限公司,中国武汉,1 日龄),公母各半。给药时体重为 1.62±0.10 kg。分别在不锈钢鸡笼内适应饲养一周,环境温度控制在 20~26 ℃,相对湿度 40%~70%,维持 12 h 光照,非给药期间饲喂不含药物的全价日粮,自由采食和饮水,观察鸡每日健康状况。

1.4 样品提取与净化

1.4.1 血浆中 CYX 和 BDCYX 的提取与净化 血样 4000 r/min 离心 10 min,取上层血浆 0.3 mL,加入甲醇 0.3 mL,旋涡混合 3 min,10000 r/min,4 ℃离心 10 min,取上清液 20 μL 供 HPLC 检测。

1.4.2 组织样品和排泄物中 CYX 和 BDCYX 的提

取与净化　精密称取匀浆后的组织样品和粪便 2 g(精确到 0.01 g)、尿液 2 mL,加蒸馏水 1 mL 后混匀。另加入乙酸乙酯 4 mL,旋涡混合 3 min,超声约 1 min,静置 10 min,10000 r/min 离心 10 min,取上清液。残渣用上述提取步骤重复两次,合并三次抽提液,在 50 ℃水浴中氮气吹干。加入乙腈 2 mL 溶解残渣,旋涡混合 1~2 min,分别加正己烷 3 mL,旋涡混合 1~2 min,静置 5 min,去脂肪层,重复去脂 2~3 次。乙腈层 50 ℃水浴中氮气吹干,20%乙腈/水 1.0 mL 溶解残渣,旋涡混合 1~2 min,静置。上清液供 HPLC 检测。

1.4.3　血浆、组织样品和排泄物中 QCA 的提取与净化　称取匀浆肌肉组织 2 g(精确到 0.01 g)置于具塞离心管中,加 5%偏磷酸 10%甲醇溶液 8 mL,旋涡混合 2~3 min,在 25 ℃下 6000 r/min 离心 15 min,取出上清液,然后再向组织样品中加 5%偏磷酸 10%甲醇溶液 8 mL 重复提取一次,合并 2 次上清液。上清液中加乙酸乙酯 8 mL,旋涡混合 1 min,8000 r/min 离心 10 min,取有机相层,再加乙酸乙酯 8 mL 重复提取,合并 2 次有机相。有机相中加磷酸盐缓冲液 6 mL,旋涡混和 2~3 min,放置 10 min,使下层清晰,收集水相。另用磷酸盐缓冲液 6 mL 提取乙酸乙酯相一次。使水相清晰,合并 2 次水提取液。

称取匀浆肝脏样品 2 g(血浆 2 mL,粪便 2 g,精确到 0.01 g)置于具塞离心管中,加 5%偏磷酸 10%甲醇溶液 8 mL,旋涡混合 2~3 min,在 25 ℃下 6000 r/min 离心 15 min,取出上清液,然后再向组织样品中加 5%偏磷酸 10%甲醇溶液 8 mL 重复提取一次,合并 2 次上清液。于上清液中加乙酸乙酯 8 mL,旋涡混合 2~3 min,8000 r/min 离心 10 min,取有机相层,再加乙酸乙酯 8 mL 重复提取,合并 2 次有机相。其余步骤同肌肉样品处理方法。

MAX 柱依次用甲醇 3 mL、水 3 mL 活化。加样品提取液至 MAX 柱中,控制流速小于 3 mL/min,先后用 0.05 mol/L NaOH 3 mL,甲醇 3 mL 淋洗,抽干,2%甲酸甲醇溶液 3 mL 洗脱,洗脱液置 45~50 ℃水浴氮气吹干,加 20%乙腈/水 1.0 mL 溶解残渣,旋涡混匀,待测。

1.5　色谱条件　色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C18,5 μm,250 mm×4.6 mm。流动相为乙腈-水(20∶80 *V/V*)分离 CYX 和 BDCYX。乙腈-1%甲酸水溶液(20∶80 *V/V*)分离 QCA。波长为 CYX 305 nm,BDCYX 280 nm,QCA 320 nm。流速为 1.0 mL/min。进样量 CYX 和 BDCYX 为 20 μL,QCA 为 40 μL。柱温 30 ℃。

1.6　喹赛多,脱二氧喹赛多和喹噁啉-2-羧酸的消除规律研究

1.6.1　血浆、肌肉和肝脏中消除规律研究　20 羽鸡分成 5 组,每组 4 只,公母各半,按促生长作用最大推荐剂量混饲(100 mg/kg)连续给药 7 d。另设空白组 4 羽鸡,公母各半,每羽单独放入代谢笼内,同法给空白饲料,饲养条件同上。停药后,在 6 h,1 d,3 d,7 d 和 14 d 等时间点随机颈静脉放血宰杀一组,血液收集于含有 1%肝素生理盐溶液 0.1 mL 的 10 mL 离心管内,称重,离心,取血浆,动物解剖后收集其肌肉和肝脏,称重后立即用 HPLC 检测。

1.6.2　排泄规律研究　6 羽鸡,公母各半,单独置于代谢笼内,适应 3 d,给药前在肛门缝合接收排泄物的软塑料瓶,每羽鸡按 10 mg/kg b.w.(相当于按促生长最大推荐剂量混饲给药 100 mg/kg 的一日药物摄入量)分别一次性灌胃给药。给药后,分别在 0~12、12~24、24~48、48~72、72~96、96~120、120~144 和 144~168 h 时间段收集粪便,每次收集后称重,立即用上述方法制样,检测。另 3 羽鸡不给药,分别收集粪便作为空白样。

2　结果与分析

2.1　定量分析方法确定

2.1.1　色谱分离　经流动相的组成,比例、柱温、检测波长等进行筛选和优化(1.5 项),确定了 CYX、BDCYX 和 QCA 的色谱分离条件,均以二极管阵列方法扫描,结果显示,CYX,BDCYX 和 QCA 保留时间分别为 6.8 min,22.2 min 和 6.6 min。其标准溶液色谱图见图 1 和图 2。

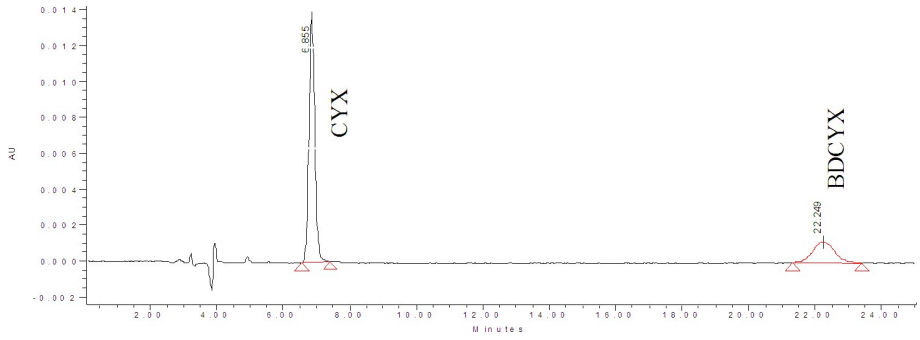

图 1　CYX、BDCYX 标准溶液色谱图

Fig 1　Chromatograms of CYX and BDCYX in standard solutions

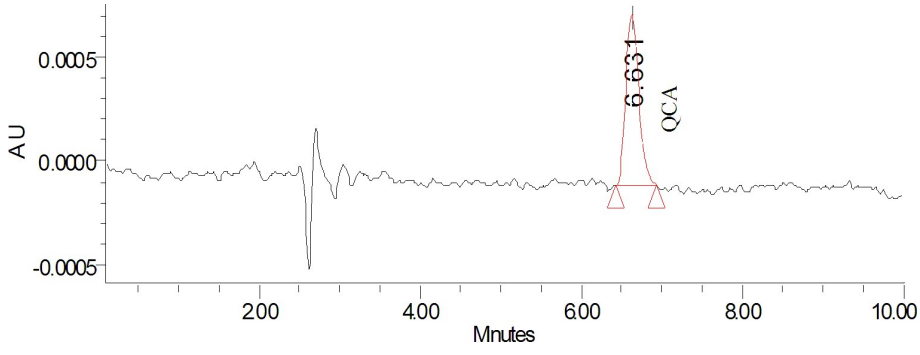

图 2　QCA 标准溶液色谱图

Fig 2　Chromatograms of QCA in standard solutions

2.1.2　线性范围、回归方程、检测限及定量限　分别取 CYX,BDCYX,QCA 标准贮备液适量,用流动相稀释成浓度为 0.02、0.04、0.08、0.16、0.32、0.64、1.00、2.00 μg/mL 的标准工作液,进 HPLC 测定,每个浓度的标准工作液测定 3 次。不同时间内重复上述操作 3 次。将各浓度与对应峰面积均值作线性回归,即得线性方程。结果表明,CYX、BDCYX 和 QCA 标准溶液线性范围为 0.02 ~ 2.00 μg/mL 时,其线性方程分别为 $y = 122100x + 1978.8$ ($r = 0.9996$)、$y = 81486x + 1415.2$ ($r = 0.9996$) 和 $y = 82807x - 1831.1$ ($r = 0.9997$)。

通过测定不同浓度三种化合物的信噪比(S/N),确定其检测限(S/N = 3)和定量限(S/N = 10)。CYX、BDCYX 和 QCA 在血浆、肌肉、脂肪、肝脏、肾脏、胆汁中的最低检测限均为 10 μg/kg,最低定量限分别为 20、25、25 μg/kg;三种化合物在粪便样品中的最低检测限均为 100 μg/kg,最低定量限分别为 250、500、500 μg/kg。

2.1.3　回收率与精密度　未给药鸡相应组织和粪便作为空白样品,加入适量标准溶液,使三种化合物在血浆、肌肉、脂肪、肝脏、肾脏、胆汁中的浓度分别为 20、40、80 μg/kg,粪便中的浓度分别为 250、500、1000 μg/kg,按照样品制备方法处理后经 HPLC 检测。结果表明,当 QCA 的回收率在 71.31% ~ 106.55%,CYX 的回收率范围在 71.43% ~ 90.41% 之间,BDCYX 的回收率范围在 70.44% ~ 92.39% 之间,回收率和标准偏差均满足定量分析方法需要。CYX、BDCYX 和 QCA 在鸡血浆、胆汁、组织和和粪便中的添加回收率见表 1。

表 1　CYX、BDCYX 和 QCA 在鸡血浆、胆汁、组织和粪便中的添加回收率(n=5)

Tab 1　Recoveries of CYX, BDCYX and QCA added to plasma, bile, tissues and feces of chickens (n=5)

组织 Tissues	添加浓度 /(μg · kg^{-1}) Concentration /(μg · kg^{-1})	CYX /%	BDCYX /%	QCA /%
血浆 Plasma	20	77.12 ± 6.43	74.43 ± 9.87	94.44 ± 8.32
	40	71.68 ± 8.90	86.76 ± 8.92	77.78 ± 8.89
	80	76.26 ± 7.48	73.44 ± 7.24	71.31 ± 6.72
肌肉 Muscle	20	75.61 ± 8.14	78.69 ± 7.94	106.55 ± 9.13
	40	71.77 ± 8.82	75.41 ± 8.13	92.32 ± 6.67
	80	77.06 ± 6.89	70.44 ± 9.31	72.41 ± 7.78
肝脏 Liver	20	75.01 ± 9.35	90.05 ± 7.78	101.03 ± 9.78
	40	71.42 ± 9.13	84.05 ± 6.73	79.21 ± 7.89
	80	76.08 ± 7.88	78.89 ± 9.12	95.29 ± 8.85
肾脏 Kidney	20	76.32 ± 5.21	75.33 ± 7.11	98.26 ± 7.75
	40	71.43 ± 6.85	78.40 ± 9.20	90.22 ± 9.71
	80	81.92 ± 7.84	92.39 ± 9.16	81.43 ± 8.66
脂肪 Fat	20	73.22 ± 9.85	77.09 ± 7.71	101.84 ± 8.77
		73.34 ± 7.63	84.36 ± 6.81	96.09 ± 8.42
		82.09 ± 8.23	86.74 ± 9.13	82.18 ± 7.12
胆汁 Bile	20	82.24 ± 6.56	84.42 ± 7.39	95.28 ± 7.31
	40	86.33 ± 6.81	79.21 ± 6.90	92.58 ± 8.14
	80	90.41 ± 8.11	83.91 ± 7.45	86.34 ± 7.50
粪便 Feces	250	77.96 ± 6.72	80.35 ± 7.19	98.79 ± 8.86
	500	79.07 ± 7.47	80.32 ± 5.85	81.34 ± 6.63
	1000	83.33 ± 8.92	76.68 ± 9.37	72.41 ± 7.13

2.2　连续混饲给药 7 d 停药后血浆、胆汁和组织中三种化合物消除规律　鸡连续混饲给药 7 d,停药后 CYX、BDCYX 和 QCA 在血浆、胆汁和组织中的浓度见表 2。鸡连续混饲给药 7 d,停药后 CYX 原形在血浆、肝脏、肌肉、脂肪、肾脏中未检出,只有在胆汁内 6 h 内检测到少量 CYX 原形(图 3)。BDCYX只在肝脏内 6 h 和 24h 时间点能够检测到少量残留(图 4)。QCA 在停药后 6 h 的血浆、肌肉和脂肪(图 5)中检到微量残留,其含量在定量限以下;肝脏和肾脏中可一直检测到 72 h(图 6 和图 7);在胆汁中未检测到 QCA。结果表明,CYX 代谢速度快,除 6 h 胆汁内检测到微量原形外其余血浆和组织中未发现其残留。CYX 重要代谢产物 BDCYX只在肝脏内残留至 24 h。另一代谢产物 QCA 的分布较为广泛,血浆、肝脏、肌肉、脂肪和肾脏内均有一定残留,肝脏和肾脏中残留量较大,维持时间长,直至 72 h。胆汁内未发现 QCA 残留。

2.3　一次性灌服 CYX 后排泄物中三种化合物的消除规律　鸡一次性灌服 CYX 后 CYX、BDCYX 和 QCA 的排泄规律见表 3。试验结果表明,鸡一次性最大推荐剂量灌服 CYX 后,在粪便中均能检测到三种化合物(图 8),CYX 和 BDCYX 能检测到 24~48 h,而 QCA 可一直检测到 48~72 h,72 h 之后三种化合物均无法检出。

表 2　鸡连续混饲给药 7 d 停药后 CYX、BDCYX 和 QCA 在血浆、胆汁、组织中浓度(μg/kg)(n=4)

Tab 2　Concentrations (μg/kg) of CYX, BDCYX and QCA in samples of chicken administered CYX at 10 mg/kg bw for 7 consecutive days (n=4)

化合物 Compounds	时间/h Time/h	血浆 Plasma	肝脏 Liver	肌肉 Muscle	脂肪 Fat	肾脏 Kidney	胆汁 Bile
CYX	6	ND	ND	ND	ND	ND	48.68 ± 5.08
	24	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	72	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	168	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BDCYX	6	ND	85.19 ± 7.29	ND	ND	ND	ND
	24	ND	25.45 ± 2.01	ND	ND	ND	ND
	72	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	168	ND	ND	ND	ND	ND	ND
QCA	6	16.36 ± 1.32	172.39 ± 12.87	18.20 ± 1.46	20.27 ± 21.13	339.42 ± 26.45	ND
	24	ND	82.94 ± 6.67	ND	ND	89.54 ± 5.92	ND
	72	ND	30.22 ± 3.15	ND	ND	37.14 ± 3.33	ND
	168	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND–低于检测限或未检出

ND – Lower than LOD or no detectable.

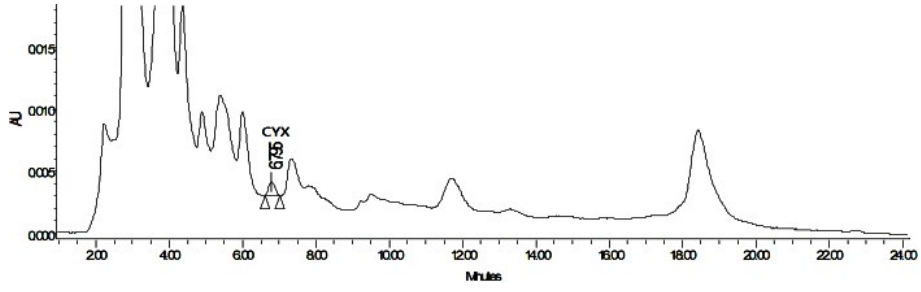

图 3　停药后 6 h 鸡胆汁中 CYX 色谱图

Fig 3　Chromatograms of CYX in chicken bile of slaughtered at 6 h

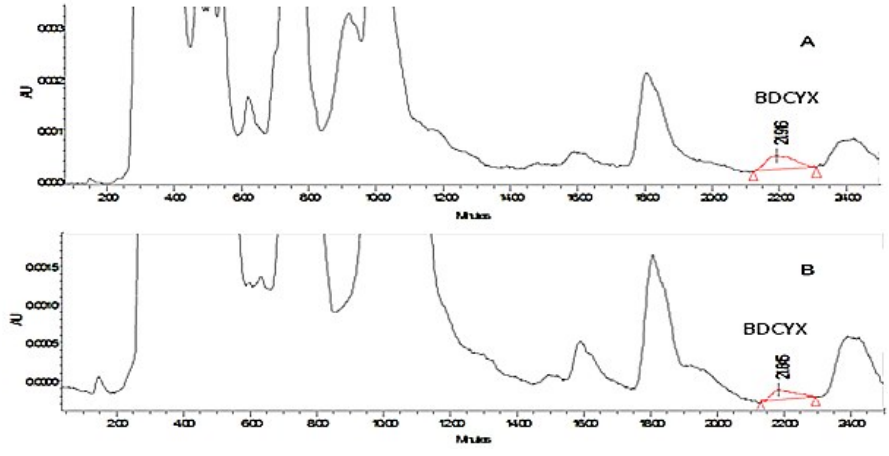

图 4　停药后 6 h(A)和 24 h(B)鸡肝脏中 BDCYX 的色谱图

Fig 4　Chromatograms of CYX and BDCYX in chicken liver of slaughtered at 6h

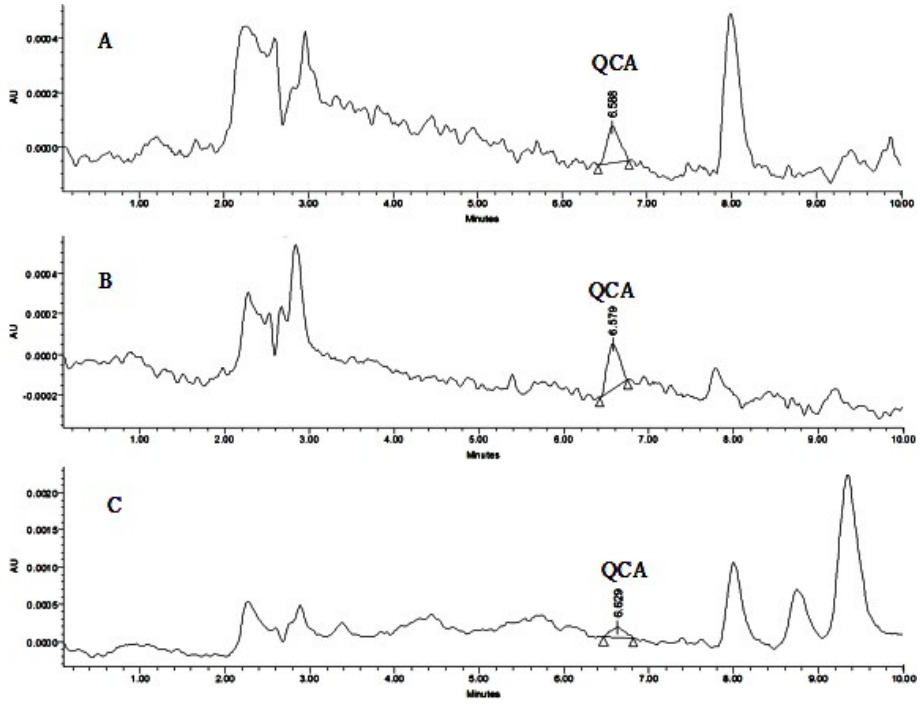

图 5　停药后 6 h 鸡血浆(A)、肌肉(B)和脂肪(C)中提取 QCA 的色谱图

Fig 5　Chromatograms of QCA in chicken plasma(A), muscle(B) and fat(C) of slaughtered at 6 h

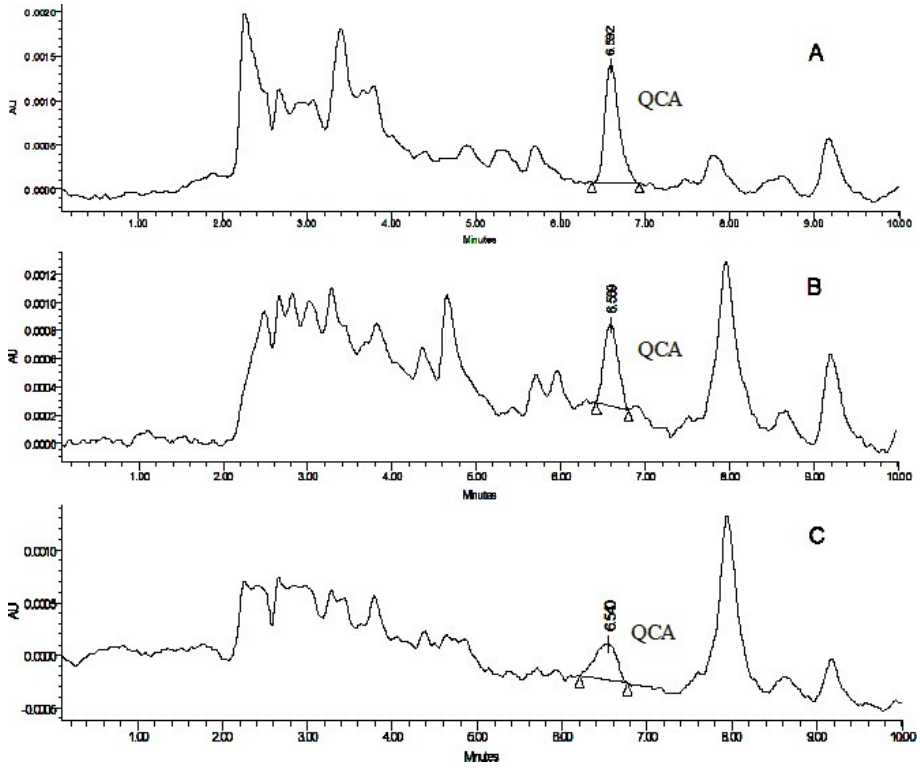

图 6　停药后 6 h(A)、24 h (B)和 72 h(C)鸡肝脏中 QCA 的色谱图

Fig 6　Chromatograms of QCA in chicken liver of slaughtered at 6 h (A), 24 h (B) and 72 h (C)

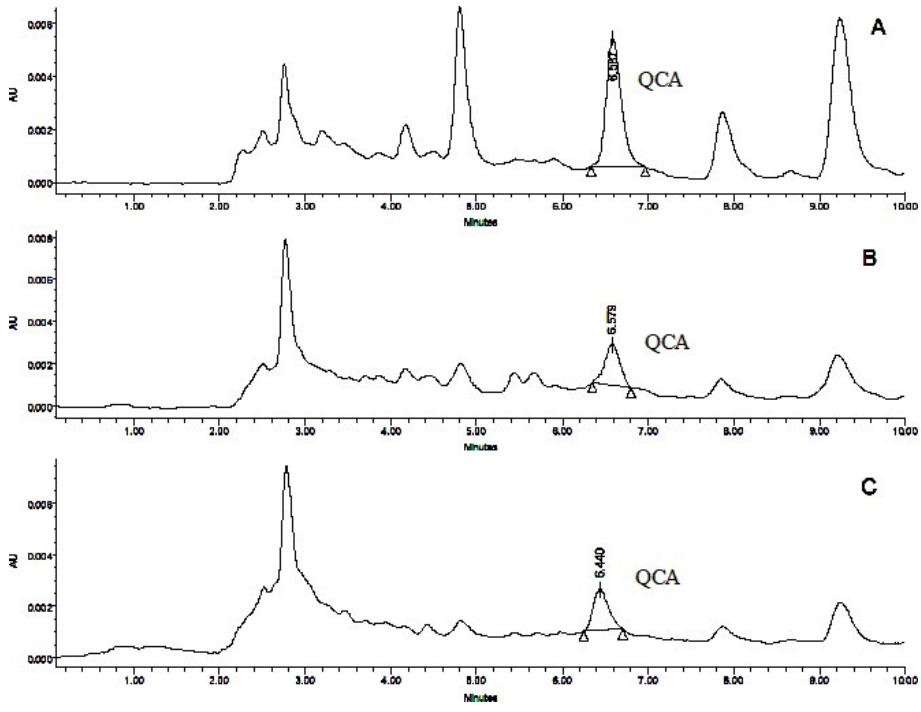

图 7　停药后 6 h(A)、24 h (B)和 72 h(C)鸡肾脏中 QCA 的色谱图

Fig 7　Chromatograms of QCA in chicken kidney of slaughtered at 6 h (A), 24 h (B) and 72 h (C)

表 3　鸡一次性灌服 CYX(10 mg/kg bw)后 CYX、BDCYX 和 QCA 的排泄规律(n=6)

Tab 3　Excretion of CYX, BDCYX and QCA in feces of chickens administered a single dose of CYX at 10 mg/kg bw(n=6)

时间 Time	CYX /(μg · kg^{-1})	BDCYX /(μg · kg^{-1})	QCA /(μg · kg^{-1})
0~12 h	23486.01±7.36	40822.64±9.31	14417.40±8.43
12~24 h	1373.69±6.22	2295.21±7.14	1146.81±6.35
24~48 h	74.64±4.67	124.60±8.47	493.20±9.68
48~72 h	ND	ND	29.78±6.79
72~96 h	ND	ND	ND

ND-低于检测限或未检出

ND-Lower than LOD or no detectable.

3　讨论与小结

建立更简便快速的检测方法,适应基层单位和相关研究者的应用需求是本文目的之一。此前 CYX 及其代谢产物的检测方法较多,如黄伶俐[5]和 Wu Y 等[10]建立了 CYX 及其两种已经拥有权威对照品的两种重要代谢产物脱二氧喹赛多(BDCYX)和喹噁啉-2-羧酸(QCA)在不同动物和介质中的检测方法,并以不同研究目的进行鸡体内跟踪和定量分析研究。杨雪等[11]建立了 BDCYX 在大鼠体内血浆及组织中的检测方法并进一步完成了药代动力学研究。另外还有用 HPLC/MS/MS、超高效液相色谱串联四级杆-飞行时间质谱等方法检测鸡体内或其他动物源性食品中 CYX 残留的方法报道[12-14]。尽管 LC/MS 联用方法有其检测限低,灵敏度高,流动相消耗少等优点,但 HPLC 检测方法使用简便,完全可以满足现有的食品残留检测要求,而且在基层检测单位普及率高,方法利用率高等优点。已报道的 HPLC 方法中检测方法、给药方式和研究重点不尽相同,缺少部分重要组织和排泄物中提取、纯化和检测方法,已有的方法步骤繁琐,但这些结果也为本研究提供了很多可以借鉴的思路和数据。

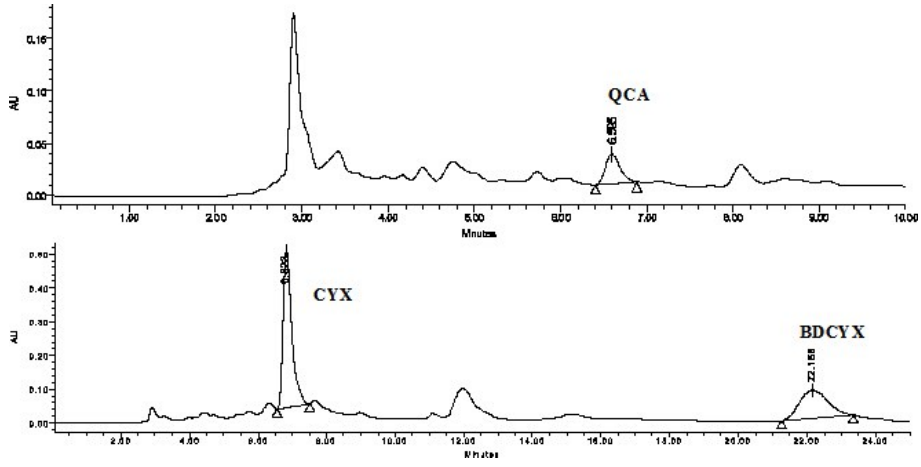

图 8　鸡粪便中 CYX,BDCYX 和 QCA 色谱图

Fig 8　Chromatograms of CYX , BDCYX and QCA in chicken feces

关于喹赛多在鸡体内残留消除研究报道,因为其研究目的和意义不同,其给药方式、鸡的种类、日龄、检测对象及其检测方法都有很大的不同,结果也不尽相同。如黄伶俐[5]进行的 CYX 在鸡体内残留消除研究中,检测方法、给药方式、研究目的和结果与本研究存在较大差别,但有一定互补性。给药时间长短、肉鸡日龄不同等是导致三种化合物残留时间和含量等消除规律不同的主要原因。邱玉敏[16]对科宝肉鸡连续饲喂 CYX 150 mg/kg 的加药饲料 40 d,在停药后不同时间段随机宰杀一组动物,取肝脏、肾脏、肌肉和皮脂进行了检测。结果显示,肝脏和肾脏中均检测到一定量的 CYX、BDCYX 和 QCA,但本研究所检测的时间段未能检出 CYX,BDCYX 和 QCA 在 24 h 后无法检出。QCA 在肝脏和肾脏中均可检测到 72 h,BDCYX 在肾脏中未检出,肝脏中 24 h 后即未检出。此报道中肌肉和脂肪中在 6 h 时还检测到少量 QCA。颜丹丹[17]采用高效液相色谱-串联质谱法建立了喹赛多及其主要代谢物在鸡肝脏、肾脏、皮脂和肌肉中的残留检测方法,研究了上述三种化合物在鸡体内的残留消除规律。科宝-500 白羽鸡,按 50 mg/kg b.w.剂量灌服喹赛多,一天两次,连续给药 7 d。分别于停药后 4、12、24、48、72、120、168 h 随机宰杀一组取样、检测。结果显示,喹赛多及其 2 种代谢物在肌肉、肾脏和皮脂中均能检出,肝脏中除喹赛多原形外,其余均能检出。CYX、BDCYX 在各组织中的残留量均显著低于 QCA,而 QCA 在肝脏和肾脏中的残留时间较皮脂与肌肉中长。总结本文研究方法和结果表明,CYX 连续混饲给药 7 d(血药浓度达到稳态浓度的最低时限),在停药后 6 h 除了胆汁中检测到微量 CYX 以外,在所检测的血浆、肝脏、肾脏、肌肉、脂肪中均未检测到 CYX,只在胆汁中少量检出。此前未见胆汁中 CYX 及其代谢产物报道;停药后 6 h 和 24 h 的肝脏样品中检测到 BDCYX,而在其他组织中在任何时间段都未能检测出BDCYX。除了胆汁以外,其他上述 5 种组织中均检测到 CYX 重要代谢产物 QCA。肝脏和肾脏中一直检测到 72 h还有一定量的 QCA 残留可检出。经分析认为,连续混饲给药达到血药浓度稳态后,上述三种重要代谢产物中 QCA 的残留时间较长,其肝脏中回归方程为 $y=-0.0278x+5.245$,相关系数为0.9956,其半衰期($t_{1/2}$)为 24.93 h;肾脏中回归方程 $y=-0.0328x+6.404$,相关系数为 0.9454,半衰期($t_{1/2}$)为 21.13 h。说明鸡体内肝脏中的 QCA 残留时间最长,而且其放射性示踪研究[18]表明,与两种组织中的总残留消除规律存在高度相关性。此前方桂杰相关研究[19]证明,CYX 肌肉安全浓度为30 μg/g,肝脏安全浓度为 90 μg/g,肾脏和脂肪安全浓度为 180 μg/g。而本试验零休药期(6 h)的鸡肝脏、肌肉、肾脏和脂肪中总残留浓度分别为 3.08、0.65、

3.67、0.26 μg/g。表明在零休药期及之后在可食性组织中的 CYX 残留量均远低于安全浓度。

关于 CYX 及其代谢产物在粪便和胆汁等排泄相关研究比较少见。研究报道主要以放射性总残留研究为主[17-18]。本文中胆汁和粪便排泄规律研究是鸡体内物料平衡研究(氚标记 CYX)的一部分[18]。本文研究结果显示,排泄物中 CYX 原形和 BDCYX 在给药后 2 d 即无法检出,QCA 可检测到第 3 天,与黄伶俐[5]等研究相比给药量少,但三种化合物从粪便中消除时间均更长。

研究改进了 CXA 原形及其两种重要代谢产物 BDCYX 和 QCA 的提取、纯化和检测方法,为今后进行相关研究提供了直接采用的简单方法,为确证体内生成的多种代谢产物的存在形式提供了提取方法和色谱分离技术,并通过不同给药方式研究 CYX 及其代谢产物在鸡血浆、胆汁、可食性组织和排泄物中消除规律,为后期体内外处置和鸡可食性组织中的残留研究提供了可借鉴的参考数据。

参考文献:

[1] Vries H D, Bojarski J, Donker A A, *et al*. Photochemical reactions of quindoxin, olaquindox, carbadox and cyadox with protein, indicating photoallergic properties[J]. Toxicology, 1990, 63(1):85-95.

[2] De Graaf G J, Spierenburg T J. Liquid chromatographic determination of cyadox in medicated feeds and in the contents of the porcine gastrointestinal tract with fluorescence detection.[J]. Journal of Chromatography A, 1988, 447(1):244-248.

[3] Qian C, Tang S S, Xi J, *et al*. Investigation of the genotoxicity of quinocetone, carbadox and olaquindox in vitro using Vero cells.[J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2008, 47(2):328-334.

[4] Wang Y, Yuan Z, Zhu H, Ding M, Fan S. Effect of cyadox on growth and nutrient digestibility in weanling pigs.[J]. South African Journal of Animal Science, 2005,35(2):117-125.

[5] 黄玲利. 喹赛多在肉鸡的有效性与安全性研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2005.

HUANG L L. Effectiveness and safety studies of Cyadox in broilers[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2005.

[6] Ding M X, Yuan Z H, Wang Y L, *et al*. Olaquindox and cyadox stimulate growth and decrease intestinal mucosal immunity of piglets orally inoculated with Escherichia coli.[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2006, 90(5-6):238-243.

[7] He Q, Fang G, Wang Y, *et al*. Experimental evaluation of cyadox phototoxicity to Balb/c mouse skin.[J]. Photodermatology Photoimmunology & Photomedicine, 2006, 22(2):100-4.

[8] Wang X, He Q H, Wang Y L, *et al*. A chronic toxicity study of cyadox in Wistar rats.[J]. Regulatory Toxicology & Pharmacology, 2010, 59(2):324-33.

[9] Fang G, He Q, Zhou S, *et al*. Subchronic oral toxicity study with cyadox in Wistar rats.[J].Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2006, 44(1):36-41.

[10] Wu Y, Huan Yu, Wang Y, *et al*. Development of a high-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of quinoxaline-2-carboxylic acid and methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid in animal tissues.[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1146:1-7.

[11] 杨 雪, 赵东豪, 于 洋,等. 脱二氧喹赛多在大鼠血浆及组织的药代动力学研究[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(6):97-99.

YANG X, ZHAO D H, YU Y, *et al*. Plasma and Tissue Pharmacokinetics of 1,4-bisdesoxycyadox in Rats[J]. Chinese Journalof Veterinary Medicine,2015, 51(6):97-99.

[12] 杨 方, 刘正才, 叶松生,等. HPLC-MS/MS 法测定动物源性食品中喹赛多的残留量[J]. 药物分析杂志, 2008,(4):630-633.

YANG F, LIU Z C, YE S S, *et al*. HPLC 一 MS/MS Determination of Cyadox Residues in Animal Origin of Foodstuffs[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008,(4):630-633.

[13] 杨术鹏, 王 莹, 李彦伸,等. 超高效液相色谱串联四级杆/飞行时间质谱仪鉴定喹赛多在鸡体内代谢研究[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(3):11-19.

YANG S P, WANG Y, LI Y S, *et al*. Identification of Metabolites Cyadox in vivo Produced by Chicken Using Ultra Performance Liquid Chromatography/Quadruple Time of Flight Tandem Mass Spectrometry[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2013, 40(3):11-19.

[14] 叶松生, 吴德峰, 刘正才,等. 高效液相串联质谱法测定动物源食品中喹赛多、卡巴氧残留[J]. 福建农林大学学报(自然版), 2008, 37(3):307-311.

YE S S, WU D F, LIU Z C, *et al*. Determination of Cyadox, Carbadox in Animal Origin Foodstuffs by Liquid Chromatography-electrospray Tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition),

2008, 37(3):307-311.

[15] 斯琴朝克图, 黄玲利, 袁宗辉. 喹赛多及其两种代谢产物在大鼠体内消除规律研究[J]. 中国兽药杂志,2017,51(4):42-49.

HARNUD S, HUANG L L, YUAN Z H. The use of radiolabeled drugs in drug metabolism and disposition studies[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2017,51(4):42-49.

[16] 邱玉敏. 喹赛多在猪、鸡和鱼体内的残留消除研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2012.

QIU Y M. The Residue Depletion Studies of Cyadox in Swine, Chicken and Fish[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2012.

[17] 颜丹丹. 喹赛多及其主要代谢物在鸡组织中的残留检测方法及消除规律研究[D]. 广州:华南农业大学, 2012.

YAN D D. Determination Method and Residue Depletion of Cyadox and its Main Metabolites in Chicken Tissues[D].Guangzhou: South China Agricultural University, 2012.

[18] 斯琴朝克图. 氚标记喹赛多的制备及其在大鼠和鸡体内处置研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2011.

HARNUD S. The Synthesis of Tritium Labeled Cyadox and its Disposition in Rats and Chicken[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2011.

[19] 方桂杰. 喹赛多临床前毒理学安全性评价[D]. 武汉:华中农业大学, 2006.

FANG G J. Safety Evaluation of Preclinical Toxicology of the Patients With Multiple Clinical Trials[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011.

(编 辑:侯向辉)