

李江, 姚学强, 代国年, 等. 4种酒石酸泰万菌素预混剂在猪体内的对比药代动力学研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57(4): 51-59.

LI J, YAO X Q, DAI G N, et al. Comparative pharmacokinetic study of four tylosin tartrate premixes in pigs [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57(4): 51-59.

4种酒石酸泰万菌素预混剂在猪体内的对比药代动力学研究

李江¹, 姚学强¹, 代国年¹, 程富胜¹, 李冰¹, 周雅馨¹, 白玉彬¹,
王玮玮¹, 翟斌涛¹, 魏小娟¹, 郭丽华², 张继瑜¹, 周绪正^{1*}

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 甘肃 兰州 730050;

2. 山东德州神牛药业有限公司, 山东 德州 253034)

摘要: 旨在比较4种国内自研的酒石酸泰万菌素预混剂(受试制剂)和爱乐新(参比制剂)在猪体内的药代动力学特征,根据药代动力学参数评价5种制剂间的相对生物利用度,遴选出生物利用度更高的制剂。采用平行试验设计方法,选取30头杜长大三元杂交猪,随机分为5组,公母各半,按25 mg/kg剂量,以经口灌胃单次给药的方式,分别给予受试制剂和参比制剂。采用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)方法测定血药浓度,使用WinNonlin软件中非房室模型进行分析,计算5种制剂的药代动力学参数和相对生物利用度。药代动力学结果显示:受试制剂1~4号药和参比制剂爱乐新的消除半衰期($T_{1/2}$)分别为(4.40±1.98)、(5.03±1.39)、(4.73±1.42)、(1.26±0.32)和(3.52±0.86)h;达峰时间(T_{max})分别为(4.00±0.00)、(0.50±0.00)、(0.90±0.22)、(0.56±0.13)和(0.50±0.00)h;达峰浓度(C_{max})分别为(51.86±8.95)、(111.00±4.51)、(37.95±5.28)、(92.13±2.65)和(147.71±29.47)ng/mL;药时曲线下面积(AUC_{last})分别为(260.15±29.63)、(336.68±9.41)、(227.93±11.56)、(204.33±4.83)和(300.48±32.09)h·ng/mL;1~4号药相对生物利用度(F)分别为86.58%、112.05%、75.85%、68.00%。综上,本试验建立的泰万菌素UPLC-MS/MS检测方法高效、准确、可靠,可用于泰万菌素在动物体内的药物动力学分析;药代动力学参数结果表明,酒石酸泰万菌素预混剂在猪体内具有吸收迅速、达峰时间短、消除较快、血液中平均滞留时间较短等特征;对比4种国内自研酒石酸泰万菌素预混剂和进口药爱乐新药代动力学参数,以国产酒石酸泰万菌素预混剂2号药 $T_{1/2}$ 最长、 T_{max} 最短、 AUC_{last} 最大、 F 最高,综合评价最佳,具有临床应用价值和进一步开发潜力。

关键词: 泰万菌素; 对比药代动力学; 猪; 超高效液相色谱-串联质谱; 相对生物利用度

中图分类号: S859.79+6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)04-0051-09

Comparative pharmacokinetic study of four tylosin tartrate premixes in pigs

LI Jiang¹, YAO Xueqiang¹, DAI Guonian¹, CHENG Fusheng¹, LI Bing¹, ZHOU Yaxin¹, BAI Yubin¹,
WANG Weiwei¹, ZHAI Bintao¹, WEI Xiaojuan¹, GUO Lihua², ZHANG Jiyu¹, ZHOU Xuzheng^{1*}

(1. Lanzhou Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050, China;

2. Shandong Dezhou Shenniu Pharmaceutical Co., Ltd., Dezhou 253034, China)

Abstract: This study aimed to compare the pharmacokinetic characteristics of four domestically developed tylosin tartrate premixes (tested formulations) and the imported drug aioxin (reference formulation) in pigs. The relative bioavailability of the five formulations was evaluated based on pharmacokinetic parameters to select the formulation with higher bioavailability. Using a parallel experimental design method, 30 ternary crossbred pigs (Duroc×Landrace×Yorkshire) were selected and randomly divided into 5 groups, with an equal distribution of males and females in each group. The test formulations and the reference formulation were administered as a single dose via oral gavage at a dose of 25 mg/kg. Then, the blood concentration in the pigs was determined using the UPLC-MS/MS method and analyzed by a non-atrial model using the WinNonlin software to calculate the pharmacokinetic parameters and relative bioavailability of the five formulations. The pharmacokinetic results showed that the elimination half-lives ($T_{1/2}$) of the subjected formulations 1 to 4 and the reference formulation of Aioxin were (4.40±1.98), (5.03±1.39), (4.73±1.42), (1.26±0.32), and (3.52±0.86) h, respectively; that the time points to reach the

收稿日期: 2024-04-18; 修回日期: 2025-02-13

基金项目: 甘肃省重点研发计划项目(23YFNA0001); 舟曲县黑土猪产业质量标准体系建设项目(ZQJY-ZC-2023-048)

第一作者: 李江, 男, 硕士研究生

*通信作者: 周绪正, 研究员, 研究方向: 药理学与毒理学, E-mail: zhouxuzheng@caas.cn.

peak values (T_{max}) were (4.00±0.00), (0.50±0.00), (0.90±0.22), (0.56±0.13), and (0.50±0.00) h, respectively; that the peak concentrations (C_{max}) were (51.86±8.95), (111.00±4.51), (37.95±5.28), (92.13±2.65), and (147.71±29.47) ng/mL, respectively; that the areas under the curve (AUC_{last}) at time of administration were (260.15±29.63), (336.68±9.41), (227.93±11.56), (204.33±4.83), and (300.48±32.09) h·ng/mL, respectively; and that the relative bioavailability (F) was 86.58%, 112.05%, 75.85%, and 68.00%, respectively. These results indicated that the UPLC-MS/MS method established in this experiment was highly efficient, accurate and reliable, and could be used for the determination of the concentration of tylvalosin. The parameter results showed that tylvalosin tartrate premix possessed the characteristics of rapid absorption, short time to reach peak values, faster elimination, and shorter average retention time in the blood in the pig. Comparing the kinetic parameters of four domestic tylvalosin tartrate premixes with those of the imported Ailoxin, the elimination half-life of domestic tartrate premix No. 2 drug ($T_{1/2}$) was the largest, the time to reach the peak value (T_{max}) was the shortest, the area under the curve (AUC_{last}) was the largest, and the relative bioavailability (F) was the highest. This premix possessed the best performance, and it promised a value of clinical application and a potential for further development.

Keywords: tylvalosin; comparative pharmacokinetics; swine; UPLC-MS/MS; relative bioavailability

泰万菌素属于畜禽专用第三代大环内酯类抗生素,由英国伊科拜克动物保健品有限公司研发并商品化,临床常应用其酒石酸盐,称为酒石酸乙酰异戊酰泰乐菌素^[1]。泰万菌素因其具有高效、低毒、低残留,能够杀灭革兰阳性菌和部分阴性菌,且不会产生大环内酯类药物间的耐药性等优点,克服了其他大环内酯类药物的不足,在兽医临床上应用比较广泛^[2]。泰万菌素在临床上主要用于预防和治疗由猪肺炎支原体引起的猪气喘病、由猪痢疾短螺旋体引起的猪痢疾、由胞内劳森菌引起的猪增生性肠炎和由鸡毒支原体引起的鸡支气管感染^[3]。关于泰万菌素的药代动力学研究主要采用高效液相色谱(HPLC)和超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)方法,而UPLC-MS/MS法相比于传统的HPLC法具有检测时间短、精度高、分离度好等优点^[4]。本试验旨在建立泰万菌素UPLC-MS/MS检测方法,通过研究不同制备工艺下的4种国产酒石酸泰万菌素预混剂在猪体内的药物代谢动力学特征,并将其作为受试制剂与市售进口泰万菌素制剂“爱乐新”进行对比分析,根据药代动力学参数评价4种制剂间的相对生物利用度,遴选生物利用度高的制剂进一步研究,以加快国内泰万菌素制剂研发的速率,也为酒石酸泰万菌素预混剂的临床用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验地点位于甘肃省临洮县朱家庄养殖农民专业合作社,选择身体健康、状态良好的杜长大三元杂交猪30头,3月龄,平均体重为(33.45±4.69) kg,公母各半,采用耳号标记,编号为1~30号。在清洁、安静的环境中预饲7 d,每天定量饲喂不含任何药物的全价日粮,自由饮水。

1.2 试验药品及试剂

酒石酸泰万菌素预混剂1~4号药(批号:20230418、20230418、20230418、20220610,含量:102%、106%、107%、97.86%),来自山东德州神牛药业有限公司;爱乐新(批号:230207,含量:102%),来自浙江伊科拜耳动物保健品有限公司;泰万菌素标准品(批号:K0691908,1 mg相当于822泰万菌素单位),购自中国兽医药品监察所;非那雄胺标准品(批号:A16CS145548,含量:≥98%),购自北京中科质检生物技术有限公司;质谱甲醇(批号:203398,含量:99.9%),购自Merck公司;质谱甲酸(批号:214911,含量:99.9%),购自赛默飞世尔科技有限公司;超纯水(批号:120212TS,含量:100%),购自娃哈哈集团有限公司;肝素钠溶液(批号:0828A23,含量:0.1%),购自北京雷根生物技术有限公司。

1.3 仪器与设备

LC-30AD超高效液相色谱仪,购自日本岛津仪器有限公司;QTRAP5500三重四极杆质谱仪,购自美国AB Sciex公司;Multifuge×3R台式离心机,购自美国赛默飞世尔科技有限公司;QUINTIX655-ICN分析天平,购自北京赛多利斯天平科学仪器有限公司;Vortex-2 Genie涡旋混合器,购自美国Scientific Industries公司。

1.4 试验设计

采用平行试验设计,将30头猪随机分为5组,每组6头,公母各半,根据给药前1 d的体重称量结果和相应的耳号,按每千克体重25 mg计算给药量,称量分装到自封袋中并按耳号记录,禁食12 h。第2天一组人员按对应耳号将称量好的酒石酸泰万菌素预混剂倒入烧杯中,加入30 mL水,用玻璃棒充分搅拌均匀;另一组人员使用开口器将灌胃器塞入猪嘴中直

至胃里，倒入搅拌均匀的预混剂溶液，并用水反复冲洗烧杯和玻璃棒倒入灌胃器中，直至无药物残留^[5]。

1.5 采样

分别于给药前 (0 h) 和给药后 0.083、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24、36、48 h，从猪的前腔静脉采集 5 mL 血液于一次性肝素钠采血管中，室温下静置 2 h，3 000 r/min 离心 10 min，分离血浆后，置于 -20 ℃ 保存备用。

1.6 色谱条件

色谱柱：安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18，(2.1 mm×50 mm，1.8 μm)，进样体积：2 μL，流速：0.5 mL/min。流动相 A：0.1% 甲酸的水溶液，流动相 B：含有 0.1% 甲酸的甲醇溶液。进样器温度：4 ℃，柱温 40 ℃，梯度洗脱条件见表 1。

1.7 质谱条件

离子源为电喷雾离子源 (ESI)，采用多反应监测模式 (MRM) 进行扫描，正离子检测模式，电喷雾电压 (IS)：+5 500 V，离子源温度 (TEM)：

550 ℃，雾化器压力 (GS1)：50 psi，辅助器压力 (GS2)：55 psi，气帘器压力：35 psi，滞留时间：150 ms。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.5	90	10
0.5	0.5	90	10
1.5	0.5	10	90
3.0	0.5	10	90
3.1	0.5	90	10
4.5	0.5	90	10

酒石酸泰万菌素预混剂的活性代谢物为泰万菌素，内标为非那雄胺，泰万菌素质谱检测离子对的选择参考文献 [6] 的方法。泰万菌素和非那雄胺 MRM 参数如表 2 所示。

表 2 泰万菌素及其内标非那雄胺的质谱条件

分析物	极性	母离子/(m·z ⁻¹)	子离子/(m·z ⁻¹)	去簇电压/(DP·V ⁻¹)	碰撞能量/(CE·eV ⁻¹)
泰万菌素定量离子对	+	1 042.7	814.6	27	44
泰万菌素定性离子对	+	1 042.7	174	25	52
非那雄胺定量离子对	+	373.3	305.3	67	40

1.8 储备母液和工作溶液配制

泰万菌素标准品储备母液配制：精密称取泰万菌素标准品，置于棕色量瓶中，用质谱甲醇溶解并定量稀释成浓度为 1 mg/mL 的溶液，作为泰万菌素标准品储备母液，置于 4 ℃ 冰箱储存备用。

内标非那雄胺标准品储备母液配制：精密称取非那雄胺标准品，置于棕色量瓶中，用质谱甲醇溶解并定量稀释成浓度为 1 mg/mL 的溶液，作为非那雄胺标准品储备母液，置于 4 ℃ 冰箱储存备用。

标准曲线工作溶液的配制：精密吸取泰万菌素储备母液，用质谱甲醇将其依次稀释，配制浓度为 20 000、16 000、12 000、8 000、4 000、2 000、1 000、100 ng/mL 的一系列标准曲线工作液。

质量控制工作溶液 (QC) 配制：另外精密吸取泰万菌素储备母液，用质谱甲醇将其配制为高、中、低浓度的质控溶液，分别为 18 000、10 000、300 ng/mL。

1.9 血浆样品前处理

将血浆样品从 -20 ℃ 冰箱中取出，室温下自然解冻，取 10 μL 的泰万菌素溶液于干净的 1.5 mL EP 管中，加入 190 μL 空白猪血浆，涡旋 0.5 min 混匀后，加入 500 μL 内标溶液 (4 ng/mL 非那雄胺甲醇溶液) 沉淀蛋白，涡旋 1 min 混匀后，在 4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜，分装入进样小瓶中，密封，上机测定。

1.10 标准曲线建立

将血浆样品从 -20 ℃ 冰箱中取出，室温下自然解冻，分别取 10 μL 泰万菌素标曲系列溶液于干净的 1.5 mL EP 管中，加入 190 μL 空白猪血浆，涡旋 0.5 min 混匀后，制备成浓度分别为 1 000、800、600、400、200、100、50、5 ng/mL 的标准曲线的血浆。加入 500 μL 内标溶液 (4 ng/mL 非那雄胺甲醇溶液) 沉淀蛋白，涡旋 1 min 混匀后，在 4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 5 min，取上清液过 0.22 μm 有机系滤膜，分装入进样小瓶中，密封，上机测定。

1.11 方法学验证

1.11.1 选择性和残留

分别取 6 头猪的空白血浆经前处理后, 分析并评价干扰, 记录分析物色谱图。在注射高浓度样品或校正标液后进样, 空白样品分别进行残留分析, 记录目标分析物色谱图。

1.11.2 标准曲线和线性范围

按照储备母液和工作溶液配制的方法来制备 100、1 000、2 000、4 000、8 000、12 000、16 000、20 000 ng/mL 的泰万菌素标准曲线工作液, 将 10 μ L 标准曲线工作液添加到 190 μ L 空白血浆中, 经过血浆样品前处理的方法处理后, 在 UPLC-MS/MS 条件下进行测定, 以目标化合物泰万菌素和内标非那雄胺色谱峰面积的比值为纵坐标, 泰万菌素的浓度为横坐标, 采用加权 ($W=1/x$) 最小二乘法回归计算, 计算回归方程和相关系数 R^2 , 绘制标准曲线。

1.11.3 准确度与精密度

通过添加回收试验验证方法的准确度与精密度, 分别用回收率和变异系数 (CV) 表示准确度和精密度。以定量下限及低浓度、中浓度、高浓度 4 个浓度进行添加回收。在 190 μ L 空白血浆中加入 10 μ L 泰万菌素质量控制标准工作液, 制成含泰万菌素为定量下限 (5 ng/mL)、低浓度 (15 ng/mL)、中浓度 (500 ng/mL)、高浓度 (900 ng/mL) 4 个浓度的质量控制样品 (QC), 按照血浆样品前处理方法处理样品后进样分析, 每个浓度重复 6 次, 持续 3 d, 以样品中药物峰面积与内标峰面积之比, 计算 QC 样品中待测物的浓度, 得到批内、批间精密度和准确度, 精密度用 RSD 表示, 范围应小于 15%, 在定量下限附近 RSD 应小于 20%。准确度一般用提取回收率表示, 范围在 85%~115% 之间。

1.11.4 基质效应

用至少 6 批来自不同供体的空白基质, 通过计算基质存在下的峰面积 (由空白基质提取后加入分析物和内标测得), 与不含基质的相应峰面积 (分析物和内标的纯溶液) 比值, 计算每一分析物和内标的基质因子。进一步通过分析物的基质因子除以内标的基质因子, 计算经内标归一化的基质因子。从 6 批基质计算的内标归一化的基质因子的变异系数不得大于 15%, 该测定分别在低浓度和高浓度下进行。

1.11.5 稳定性

采用低和高浓度 QC 溶液, 每个浓度水平设置 6

个重复, 前处理后以及在储存条件下立即分析考察其稳定性: 基质中分析物室温稳定性、反复冻融 3 次稳定性、冰冻稳定性、处理后样品室温稳定性、4 $^{\circ}$ C 储存条件 (自动进样器温度) 下稳定性。

1.12 数据处理和分析

采用 WinNonlin 8.1 软件中非房室模型进行血浆药代动力学参数分析, 计算包括半衰期 ($T_{1/2}$)、达峰时间 (T_{max})、峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 (AUC_{last}) 和平均滞留时间 (MRT_{last}) 等药代动力学参数, 结果均以“平均值 \pm 标准差”表示, 使用 SPSS Statistics 26 对相关数据进行显著差异性统计分析, 按下列公式计算各受试制剂的相对生物利用度 (F)。

$$F = (AUC_T/D_T) / (AUC_R/D_R) \times 100\%$$

式中: AUC_T 为受试制剂的药时曲线下面积, D_T 为受试制剂的给药剂量, AUC_R 为参比制剂的药时曲线下面积, D_R 为参比制剂的给药剂量。本试验中 D_R 、 D_T 均为 25 mg/kg, 因此计算公式简化为:

$$F = AUC_T/AUC_R \times 100\%$$

2 结果

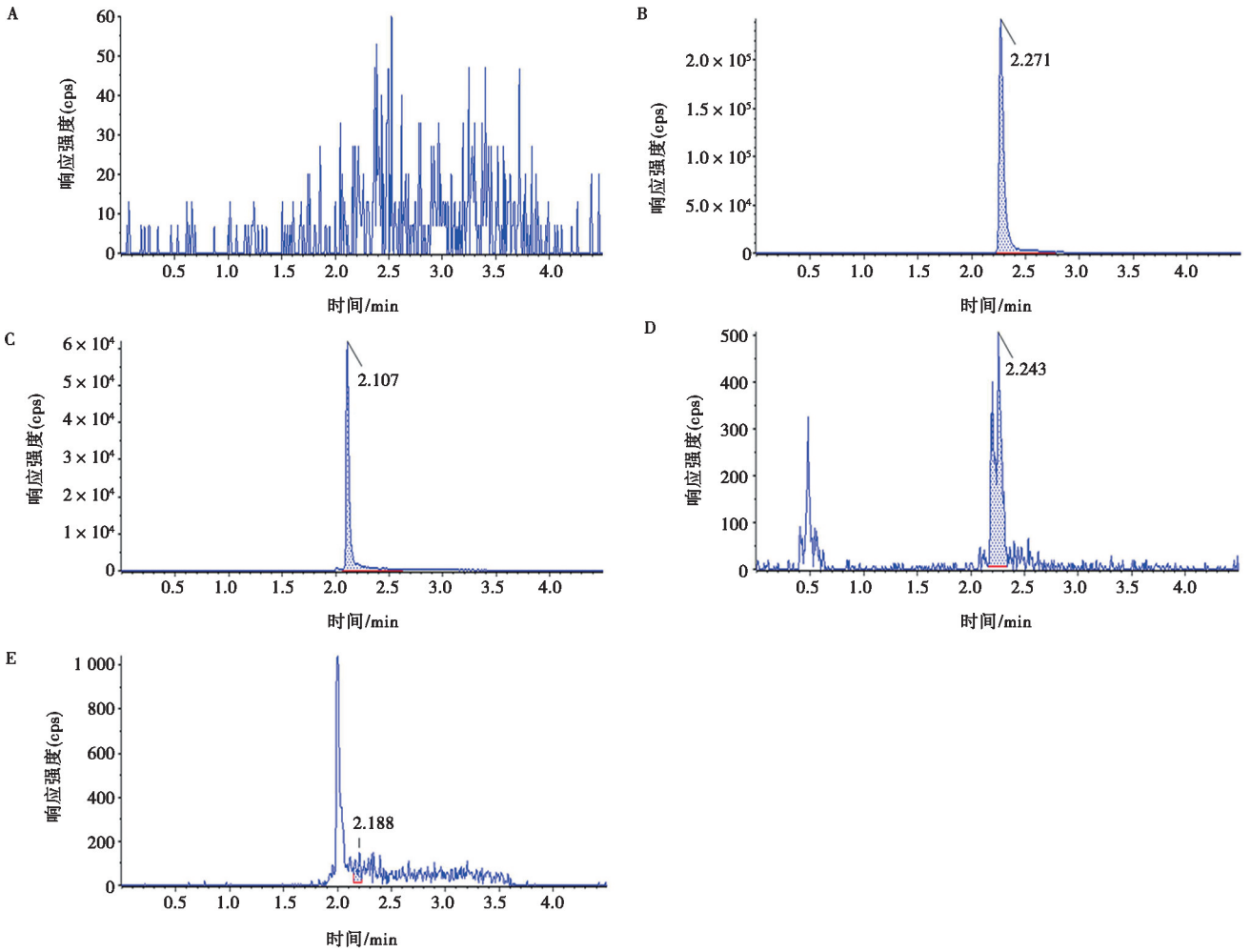
2.1 方法学验证

2.1.1 选择性与残留

在本研究所建立的检测方法下, 泰万菌素的检测限 (LOD) 为 0.25 ng/mL, 定量限为 (LOQ) 1 ng/mL, 出峰保留时间为 2.2 min 左右, 在此时间分析物峰形对称性极佳、基线平稳, 且在分析物保留时间附近并未检测出影响泰万菌素的干扰峰, 不存在内源性物质干扰, 以上结果说明该方法用于泰万菌素检测特异性良好。通过注射高浓度样品后注射空白样品基质响应如图 1, 残留超过定量下限的 20%, 说明高浓度的样品对泰万菌素检测存在干扰情况, 因此在每次注射高浓度样品后注射 3~5 次甲醇用于清洗管路, 降低残留。空白血浆、空白血浆中添加标准品、给药后血浆中样品、定量下限和高浓度样品后注射空白样品色谱如图 1A~E。

2.1.2 标准曲线和线性范围

评价了 3 条标准曲线, 结果显示泰万菌素在 5~1 000 ng/mL 的浓度范围内相关系数 R^2 均大于 0.999, 说明线性关系良好, 评价的 3 条标准曲线见表 3, 标准曲线见图 2。



A. 空白血浆; B. 空白血浆中添加标准品; C. 给药后血浆中样品; D. 定量下限; E. 高浓度样品后注射空白样品。

图1 泰万菌素色谱

表3 空白血浆中添加泰万菌素的标准曲线和线性范围

批次	线性范围/(ng · mL ⁻¹)	标准曲线	相关系数 R ²
1	5~1 000	$y=1\ 869.488\ 29x+4\ 191.952\ 58$	0.999 8
2	5~1 000	$y=1\ 726.769\ 22x+3\ 040.332\ 72$	0.999 3
3	5~1 000	$y=1\ 744.730\ 57x+1\ 973.867\ 56$	0.999 2

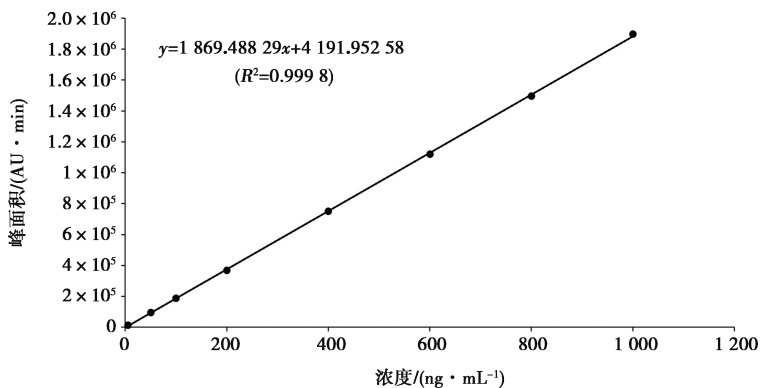


图2 泰万菌素在血浆中的标准曲线

2.1.3 准确度和精密度

对添加不同浓度泰万菌素的血浆样品测定其准确度和精密度。由表 4 可知, 回收率均值在 QC 样品标示量的±15% 以内, 在定量下限的±20% 范围内。批

内、批间 *RSD* 的变异系数不超过 15%, 定量下限的批内、批间变异系数不超过 20%, 表明检测方法的精密度与准确度良好, 符合分析要求。

表 4 泰万菌素在猪血浆基质中的精密度与准确度

添加浓度/ (ng · mL ⁻¹)	批内			批间		
	实测浓度/ (ng · mL ⁻¹)	回收率/%	CV/%	实测浓度/ (ng · mL ⁻¹)	回收率/%	CV/%
5	5.12±0.34	102.4	6.7	5.09±0.25	101.9	4.9
	5.33±0.40	106.5	7.5			
	4.83±0.37	96.7	7.7			
15	14.75±1.02	98.3	6.9	14.77±0.07	98.5	0.5
	14.71±1.06	98.1	7.2			
	14.85±0.77	99.0	5.2			
500	522.05±13.66	104.4	2.6	497.12±24.79	99.4	5.0
	472.47±16.29	94.5	3.4			
	496.83±29.43	99.4	5.9			
900	875.43±45.21	97.3	5.2	857.29±27.48	95.3	3.2
	825.67±25.26	91.7	3.1			
	870.77±25.87	96.8	3.0			

2.1.4 基质效应

按照基质效应的测定方法, 泰万菌素低、高两个浓度的血浆 QC 样品的峰面积结果见表 5。通过计算

经内标归一化的基质因子可知, 从 6 批基质计算的内标归一化基质因子的变异系数均不大于 15%, 说明基质效应不影响泰万菌素样品的准确度与精密度。

表 5 泰万菌素在猪血浆基质中的基质效应

添加浓度/ (ng · mL ⁻¹)	峰面积/ (AU · min)				CV/%
	含基质化合物	含基质内标	不含基质化合物	不含基质内标	
15	31 958.33±1 447.49	216 883.33±17 156.04	19 888.33±996.22	208 766.67±7 147.77	9.66
900	2 063 666.67±48 164.99	215 050.00±12 149.86	1 513 000.00±139 490.50	203 866.67±13 390.69	10.14

2.1.7 稳定性

在稳定性分析条件下, 考察了 4 个不同处理条件对泰万菌素的稳定性影响, 结果见表 6, *RSD* 值均小

于 15%, 表明泰万菌素在上述条件下稳定性良好, 满足测定条件。

表 6 猪血浆中泰万菌素在不同储存条件下的稳定性

添加浓度/ (ng · mL ⁻¹)	反复冻融		长期冻存		室温		自动进样器	
	稳定性	CV/%	稳定性	CV/%	稳定性	CV/%	稳定性	CV/%
15	12.89±0.73	5.63	13.05±0.41	3.17	12.80±0.71	5.53	12.89±0.88	6.79
900	855.00±52.07	6.09	779.65±14.03	1.8	791.52±14.90	1.88	776.12±18.11	2.33

2.2 药代动力学参数

2.2.1 血药浓度-时间曲线

试验猪以 25 mg/kg 单次口服灌胃酒石酸泰万菌素预混剂后, 在 0~48 h 不同时间点测得不同酒石酸

泰万菌素预混剂平均血药浓度随时间变化。从图 3 和表 7 可以看出, 1~4 号药和爱乐新血药浓度的变化趋势、达峰时间和达峰浓度, 1 号药达峰时间最迟为 4 h, 3 号药达峰时间稍迟为 1 h, 但 3 号药血药浓度

最低只有 (36.60±3.06) ng/mL; 2号药、4号药和爱乐新血药浓度变化趋势一致, 血药浓度都在0.5 h达到了峰值, 其中爱乐新 C_{max} 最高, 为 (147.71±

29.47) ng/mL, 随后快速消除; 在24 h时4号药就已经检测不到血药浓度了, 其他4种药也仅有些许残留。

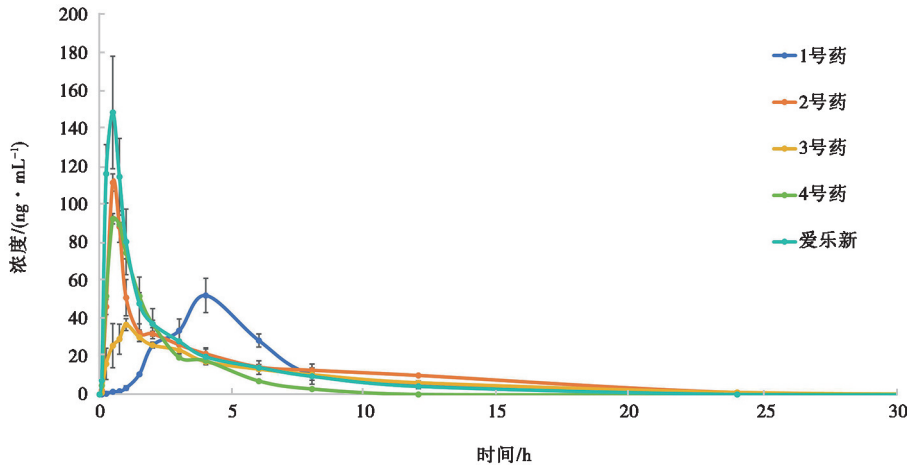


图3 不同酒石酸泰万菌素预混剂药时曲线

表7 不同酒石酸泰万菌素预混剂血药浓度随时间变化情况

ng/mL

时间/h	受试制剂				参比制剂爱乐新
	1号药	2号药	3号药	4号药	
0	ND	ND	ND	ND	ND
0.083	ND	2.18±0.65	0.96±0.40	4.63±0.36	7.44±4.64
0.25	0.47±1.05	46.03±4.06	16.01±8.16	51.57±1.79	115.63±15.32
0.5	1.50±0.51	111.00±4.51	25.59±11.61	92.06±2.73	147.71±29.47
0.75	1.68±0.43	87.96±8.28	29.01±7.92	89.12±0.97	114.08±20.05
1	3.43±1.09	50.77±9.45	36.60±3.06	74.16±3.08	79.97±17.16
1.5	10.61±0.65	32.37±4.62	30.02±2.23	51.57±1.79	47.61±13.88
2	25.62±1.23	31.84±1.35	25.87±1.53	37.06±1.94	37.12±7.83
3	33.45±6.08	26.08±2.56	23.25±1.97	19.44±0.85	27.87±6.48
4	51.86±8.95	21.30±3.17	17.19±0.96	17.67±0.55	19.72±4.13
6	28.29±3.39	14.38±1.29	13.31±0.76	7.07±0.17	14.14±3.54
8	10.65±5.30	12.70±1.27	10.40±1.37	2.90±0.54	9.54±2.08
12	4.44±0.61	9.98±0.06	6.17±0.92	0.05±0.07	4.26±1.24
24	0.63±0.49	1.04±0.56	1.07±0.69	ND	0.05±0.12
36	ND	0.39±0.52	ND	ND	ND
48	ND	ND	ND	ND	ND

注: ND 表示未检出。

2.2.2 主要药代动力学参数

实测的血药浓度时间数据采用 WinNonlin 8.1 软件中非房室模型进行血浆药代动力学参数分析, 表8为不同酒石酸泰万菌素预混剂主要药代动力学参数。将受试制剂与1~4号药与参比制剂爱乐新进行比较分析, 可以看出2号药 $T_{1/2}$ 最大, 达到 (5.03±1.39) h, 但1、2和3号药与爱乐新相比 $T_{1/2}$ 差异不显著 ($P>$

0.05), 4号药 $T_{1/2}$ 最小, 为 (1.26±0.32) h, 并且与爱乐新相比差异显著 ($P<0.05$), 说明1、2、3号药和爱乐新消除慢, 4号药消除快; 对 T_{max} 进行比较, 其中2号药、4号药与爱乐新相比 T_{max} 差异不显著 ($P>0.05$), 1号药和3号药 T_{max} 都高于爱乐新并且差异极显著 ($P<0.01$), 说明2号药、4号药与爱乐新吸收快, 其次是3号药, 1号药吸收最慢; C_{max}

和 AUC_{last} 都是反映药物吸收程度的参数, 1~4 号药与爱乐新相比 C_{max} 均低于爱乐新且差异都极显著 ($P < 0.01$), 但吸收程度还应结合 AUC_{last} 进行综合对比分析, 而 2 号药 AUC_{last} 是要高于爱乐新的, 且差异显著 ($P < 0.05$), 说明整体吸收程度 2 号药是高于参比制剂爱乐新; 在 MRT_{last} 方面, 2 号药的平均滞留时间最

长, 且与爱乐新相比差异极显著 ($P < 0.01$), 说明 2 号药在机体内存在时间长、消除慢; 以爱乐新为参比制剂, 则 1~4 号药的相对生物利用度 F 值为 86.58%、112.05%、75.85%、68.00%, 以 2 号药的相对生物利用度最高。

表 8 不同酒石酸泰万菌素预混剂主要药代动力学参数

参数	受试制剂				参比制剂爱乐新
	1 号药	2 号药	3 号药	4 号药	
$T_{1/2}/h$	4.40±1.98	5.03±1.39	4.73±1.42	1.26±0.32*	3.52±0.86
T_{max}/h	4.00±0.00**	0.50±0.00	0.90±0.22**	0.56±0.13	0.50±0.00
$C_{max}/(ng \cdot mL^{-1})$	51.86±8.95**	111.00±4.51**	37.95±5.28**	92.13±2.65**	147.71±29.47
$AUC_{last}/(h \cdot ng \cdot mL^{-1})$	260.15±29.63**	336.68±9.41*	227.93±11.56**	204.33±4.83**	300.48±32.09
MRT_{last}/h	5.76±0.35**	6.26±0.67**	6.20±0.50**	2.21±0.13*	3.11±0.54
$F/\%$	86.58	112.05	75.85	68.00	100

注: 与参比制剂相比, * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

随着我国养殖业的逐年发展, 专业化、规模化、自动化、智能化的全产业链日渐成熟, 但规模化养殖也为各种疾病的快速传播创造了有利条件^[7]。自从农业农村部第 194 公告颁布以后^[8], 我国就进入了全面“减抗、限抗”时代, 这一政策的实施, 也导致了规模化养殖场面临疾病难以治疗、治疗效果下降、畜禽生长缓慢等问题^[9]。因此健康养殖成为养殖业的必然发展趋势, 除了通过提高动物免疫力来预防疫病, 健康养殖也是提高畜牧产品品质、保障食品安全的重要举措^[10]。想要达到健康养殖的目的, 关键之一就是科学合理地用药, 健康养殖不代表“无抗”养殖, 而是科学、合理、精准地使用兽用抗菌药^[11]。泰万菌素作为新型的大环内酯类抗生素, 在兽医临床应用广泛, 尤其在畜禽呼吸道疾病、肠道感染、支原体感染等方面有显著的治疗效果^[12]。除此之外, 泰万菌素对猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS) 也有很好的防治效果, PRRS 又称猪蓝耳病, 该病具有致死率高、传染性强、发病突然等特点, 对生猪养殖业危害较大^[13], 泰万菌素可增强非特异性免疫, 抑制 PRRS 病毒在巨噬细胞中的复制, 加快 PRRS 抗体的生成, 改善猪体内的白细胞介素 2 (IL-2) 和 γ 干扰素 (IFN- γ) 等细胞因子水平, 对 PRRS 具有明显的防治效果^[14-16], 因此针对泰万菌素的药代动力学研究、制剂工艺研发具有重要的现实意义。

本研究建立了 UPLC-MS/MS 测定猪血浆中泰万菌素的定量分析方法, 该方法相较于朱晓娟等^[17]报

道的传统液相检测方法, 具有缩短样品处理时间, 准确度、精密度、回收率更高且没有杂峰干扰, 线性范围宽等优点^[18]。该试验流动相选择了 0.1% 甲酸的水溶液和 0.1% 甲酸的甲醇溶液, 事实证明在该流动相下样品出峰时间稳定、峰形对称性良好, 能够对血浆中的泰万菌素达到很好的检测效果。在样品处理过程中, 选择了甲醇作为蛋白沉淀剂^[19], 甲醇能够充分沉淀血浆中的蛋白杂质, 保证了样品提取的回收率, 有效地提高了检测方法的准确度, 减少试验误差, 使结果更加准确, 能够很好地应用于泰万菌素在猪血浆中药物代谢动力学检测。泰万菌素属于时间依赖型抗菌药物, 提高泰万菌素血药浓度和平均滞留时间, 可以大大提高泰万菌素临床药效, 这也是泰万菌素新制剂开发的现实需要^[20]。本试验实测的血药浓度时间数据采用 WinNonlin 8.1 软件中非房室模型进行血浆药物代谢动力学参数分析, 结果表明 2 号药 $T_{1/2}$ 最大, 说明 2 号药具有消除慢、药效时间长的特点; 2 号药和 5 号药的 T_{max} 最小, 均为 0.5 h, 说明 2 号药和爱乐新具有吸收速率快的特点; 参比制剂爱乐新的 C_{max} 高于 4 个受试制剂, 但具体的吸收程度还应结合 AUC_{last} 进行综合评价; 2 号药的 AUC_{last} 最大, 尽管参比制剂爱乐新的 C_{max} 最大, 但 AUC_{last} 却低于 2 号药, 说明整体的吸收程度 2 号药最佳; 2 号药相对生物利用度最大。因此本研究评价的 4 种酒石酸泰万菌素预混剂中以 2 号药整体药代参数表现显著, 平均滞留时间是参比制剂爱乐新的 2 倍, 但血药达峰浓度低于爱乐新, 因此 2 号药后续开发工作应围绕如何提高制剂吸收程度进行, 这也是如今泰万菌素新制剂研发需要

重点攻克的难题。朱迪等^[9]按 125 mg/kg 口服沈阳伟嘉生物技术有限公司酒石酸泰万菌素预混剂,测得 T_{\max} 为 1 h, C_{\max} 为 247.3 ng/mL, AUC_{last} 为 1 899 h · ng/mL; 口服英国伊科拜克动物保健品有限公司的酒石酸泰万菌素预混剂测得 T_{\max} 为 1.5 h, C_{\max} 为 159.8 ng/mL, AUC_{last} 为 986 h · ng/mL。与该文献相比, AUC_{last} 差别较大, 这可能与给药剂量不同有关。

4 结论

本试验建立的猪血浆中泰万菌素 UPLC-MS/MS 检测方法, 样品前处理方法简单、回收率高, 检测结果准确、可靠, 可用于泰万菌素在动物体内的药物动力学分析; 药代动力学参数结果表明: 酒石酸泰万菌素预混剂在猪体内具有吸收迅速、达峰时间短、消除较快、血液中平均滞留时间较短等特征; 对比国内 4 种自研酒石酸泰万菌素预混剂和进口酒石酸泰万菌素预混剂爱乐新药代动力学参数, 以国产酒石酸泰万菌素预混剂 2 号药 $T_{1/2}$ 最大、 T_{\max} 最小、 AUC_{last} 最大、 F 最大。综上, 受试制剂 2 号药具有吸收快、吸收程度好、消除慢、相对生物利用度高等特点, 具有临床应用价值和进一步开发潜力。

参考文献:

- [1] 冯言言, 田伟. 大环内酯类药物泰万菌素的研究进展 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2015, 40 (6): 5-6.
- [2] TANG X Z, WANG C, SUN W F, et al. Evaluating anti-viral effect of tylvalosin tartrate on porcine reproductive and respiratory syndrome virus and analyzing the related gene regulation by transcriptomics [J]. Virology Journal, 2023, 20 (1): 79.
- [3] ZHAO Z Z, TANG X F, ZHAO X H, et al. Tylvalosin exhibits anti-inflammatory property and attenuates acute lung injury in different models possibly through suppression of NF- κ B activation [J]. Biochemical Pharmacology, 2014, 90 (1): 73-87.
- [4] 杨宇欣, 赵富华, 刘羽, 等. 2 种头孢氨苄片在比格犬体内的药代动力学及生物等效性试验 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49 (1): 386-394.
- [5] 张乐, 张广峰, 朱崇森, 等. 环糊精包合氟苯尼考在猪体内的药代动力学研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2020, 47 (6): 1934-1941.
- [6] 吴家鑫, 尚飞, 张国栋, 等. UPLC-Q-TOF-MS 测定酒石酸泰万菌素可溶性粉中的泰万菌素 [J]. 中国兽医杂志, 2016, 52 (9): 108-110.
- [7] 孟景. 微探减抗与限抗对生猪养殖行业的影响 [J]. 今日养猪业, 2021 (1): 7-8.
- [8] 中华人民共和国农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公告第 194 号 [EB/OL]. (2019-07-10) [2024-05-24]. http://www.xmsyj.moa.gov.cn/zcjd/201907/t20190710_6320678.htm.
- [9] 王冲. 现代健康养殖生物安全建设新关注 [J]. 中国畜牧杂志, 2023, 59 (4): 329-332.
- [10] PAN W X, ZHAO Z J, WU J H, et al. LACpG10-HL functions effectively in antibiotic-free and healthy husbandry by improving the innate immunity [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23 (19): 11466.
- [11] 顾欣, 张鑫, 李丹妮, 等. 我国兽用抗菌药物使用现状及“无抗”饲养的探讨 [J]. 中国兽药杂志, 2013, 47 (8): 54-57.
- [12] SHI H, LUO W T, WANG S Y, et al. Therapeutic efficacy of tylvalosin combined with *Poria cocos* polysaccharides against porcine reproductive and respiratory syndrome [J]. Frontiers in Veterinary Science, 2023, 10: 1242146.
- [13] 任文慧, 阮胜男, 库旭刚, 等. 不同猪繁殖与呼吸综合征疫苗组合体液免疫效果评估 [J]. 中国兽医杂志, 2024, 60 (1): 21-28.
- [14] 洪波, 马燕强, 刘益钱. 泰万菌素对母猪群蓝耳病的治疗试验 [J]. 中国动物保健, 2024, 26 (1): 122-123.
- [15] 万进, 戴银娣, 马妮妮, 等. 泰万菌素对 PRRSV 感染的临床调节作用及对猪瘟和口蹄疫疫苗免疫效果的影响 [J]. 中国动物检疫, 2022, 39 (6): 119-124.
- [16] RODRIGUEZ A L, FOWLER V L, HUETHER M, et al. Effects of a water-soluble formulation of tylvalosin on disease caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus alone in sows or in combination with *Mycoplasma hyopneumoniae* in piglets [J]. BMC Veterinary Research, 2023, 19 (1): 31.
- [17] 朱晓娟, 王华丽, 齐鹏, 等. 酒石酸乙酰异戊酰泰乐菌素在猪体内的药代动力学研究 [J]. 中国兽医杂志, 2013, 49 (2): 73-75.
- [18] 徐玉珍, 刘希望, 秦哲, 等. 液相色谱-串联质谱法检测猪血浆中除虫脲的方法学研究 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49 (7): 2746-2756.
- [19] 卢迪, 羿岩, 赵宝凯, 等. 酒石酸泰万菌素预混剂在仔猪体内的药代动力学研究 [J]. 中国兽药杂志, 2022, 56 (2): 60-69.
- [20] ABU-BASHA E A, ISMAIL Z B, IDKAIDEK N M, et al. Comparison of pharmacokinetics of two tylvalosin oral formulations in broiler chickens [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2023, 46 (3): 165-169.