

邹湘霖, 刘梦婷, 胡南希, 等. 博普总碱在肉鸡体内的药代动力学及残留研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 72-79.

ZOU X L, LIU M T, HU N X, et al. Study on pharmacokinetics and residue of Bopu total alkaloids in broilers [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 72-79.

博普总碱在肉鸡体内的药代动力学及残留研究

邹湘霖¹, 刘梦婷¹, 胡南希¹, 李长虹², 武毅³, 杨子辉¹, 曾建国^{1*}

(1. 湖南农业大学动物医学院, 中兽药湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128;

2. 湖南美可达生物资源股份有限公司, 湖南长沙 410331;

3. 云南农业大学, 云南昆明 650500)

摘要: 旨在分析兽用中药新药博普总碱散中主要活性成分在肉鸡体内的药代动力学及残留消除规律。将 200 只 1 日龄隐性白羽肉鸡分为 4 组, 即空白组和 50 (推荐剂量)、200 和 800 mg/kg 博普总碱散添加组, 连续给药 36 d 后, 随机挑选各剂量组 8 只肉鸡在不同时间点静脉采血, 使用超高效液相色谱-串联质谱技术 (UPLC-MS) 对肉鸡血浆中博普总碱散主要成分别隐品碱 (ALL) 和原阿片碱 (PRO) 进行定量分析; 连续给药 43 d 后, 在停药第 1、3、5 和 7 天分别随机宰杀 8 只肉鸡, 采集肝脏、肾脏、胸肌、腿肌、心脏样品, 使用 UPLC-MS 的多反应监测 (MRM) 模式测定肉鸡各组织中 PRO 和 ALL 残留量。药代动力学结果显示: 50、200 和 800 mg/kg 组的 PRO 在肉鸡体内峰浓度 (C_{max}) 分别为 (4.26±2.96)、(18.33±9.72) 和 (35.04±27.77) $\mu\text{g/L}$; 外推药时曲线下面积 ($AUC_{0-\infty}$) 分别为 (3.60±1.81)、(50.48±51.07) 和 (87.89±15.17) $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$; 50、200 和 800 mg/kg 组的 ALL 在肉鸡体内达峰时间 (T_{max}) 分别为 (0.37±0.40)、(0.68±2.52) 和 (0.84±0.27) h, $AUC_{0-\infty}$ 分别为 0、(47.51±15.57) 和 (72.94±92.04) $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, 表明 PRO 和 ALL 在肉鸡体内代谢迅速。在给药 10 h 后血药浓度即低于定量限 (0.78 ng/mL), PRO 和 ALL 的 T_{max} 、 AUC 、 C_{max} 均呈现剂量相关性, 随给药剂量增加而增大。残留检测结果显示, 3 个剂量组均在停药第 1 天的组织残留浓度最高, 50 mg/kg 组 PRO 最高残留量在胸肌组织中 (1.90 $\mu\text{g/kg}$), 200 mg/kg 组仅在肝脏、肾脏中有微量残留; 200 mg/kg 组停药第 7 天, 在肝脏、肾脏、胸肌、腿肌和心脏均未检测到 PRO 和 ALL, 而 800 mg/kg 组仅在心脏和肾脏中仍有少量残留 (0.6~1.16 $\mu\text{g/kg}$)。综上, 博普总碱散活性成分在肉鸡体内吸收较为迅速, 残留消除快速, 残留量极低, 高剂量长期添加使用有一定的蓄积性, 在按照 50 mg/kg 推荐剂量使用时显示出无残留和高安全性的优势, 同时在肉鸡饲料中长期添加使用相对安全。

关键词: 博普总碱散; 原阿片碱; 别隐品碱; 肉鸡; 药代动力学; 残留消除

中图分类号: S859.84 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)07-0072-08

Study on pharmacokinetics and residue of Bopu total alkaloids in broilers

ZOU Xianglin¹, LIU Mengting¹, HU Nanxi¹, LI Changhong², WU Yi³, YANG Zihui¹, ZENG Jianguo^{1*}

(1. Hunan Province Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine, College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Hunan Micolta Bioresource Inc. Ltd., Changsha 410331, China;

3. Yunnan Agricultural University, Kunming 650500, China)

Abstract: In order to analyze the residue elimination rule of the main active ingredient in Bopu Zongjian San in broilers, 200 recessive white-feathered 1-day-old broilers were used and randomly divided into 4 groups: the blank control group and the groups treated with 50 (recommended dose), 200, and 800 mg/kg of Bopu Zongjian San, respectively. Eight broilers were randomly selected for venous blood sampling in each treatment group at different time points after 36 days of continuous administration. Then, ALL and PRO were determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS). The eight broilers were randomly sacrificed at 1, 3, 5 and 7 d after 43 d continuous administration to collect pectoral muscle, leg muscle, heart, liver and kidney samples. Finally, UPLC-MS was used to determine the residues of allocryptine (ALL) and protopine (PRO). Following 36 days administration, the main pharmacokinetic parameters of PRO in the 50, 200 and 800 mg/kg groups were as follows: C_{max} was (4.26±2.96), (18.33±9.72) and (35.04±27.77) $\mu\text{g/L}$, respectively. $AUC_{0-\infty}$ was (3.60±1.81), (50.48±51.07) and (87.89±15.17) $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, respectively. The parameters of ALL in the 50,

收稿日期: 2025-03-17; 修回日期: 2025-05-08

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1801105)

第一作者: 邹湘霖, 男, 硕士生

* 通信作者: 曾建国, 教授, 研究方向为中药资源研究与植物提取物、饲料添加剂与中兽药创制, E-mail: zengjianguo@hunau.edu.cn.

200 and 800 mg/kg groups were as follows: T_{max} was (0.37±0.40), (0.68±2.52) and (0.84±0.27) h, respectively; and $AUC_{0-\infty}$ was 0, (47.51±15.57) and (72.94±92.04) $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$, respectively. The results showed that PRO and ALL were rapidly absorbed and eliminated in the broilers, and the concentration was lower than the limit of quantification (0.78 ng/mL) 10 h after administration, and T_{max} , AUC , C_{max} of PRO and ALL were positively correlated with the dosage of the drug. The residual results showed that no ALL and PRO were detected in the pectoral muscle, leg muscle, heart, liver and kidney on the 7th day of drug withdrawal in the 50 and 200 mg/kg groups. However, there was a small amount of residue (0.6–1.16 $\mu\text{g/kg}$) remained in the heart, kidney and breast muscle in the 800 mg/kg dose group. The results showed that the active ingredients of Bopu Zongjian San were absorbed rapidly in the broilers, and the residues were eliminated quickly. The residues were extremely low and had a certain accumulation. In summary, when used in accordance with the recommended dosage, Bopu Zongjian San showed advantages of no residues and high safety. This drug is also safe for medium and long-term use in broiler feed.

Keywords: Bopu Zongjian San; allocryptine; protopine; broiler; pharmacokinetic; residue elimination

博普总碱 (PE50) 及其制剂博普总碱散 [(2019) 新兽药证字 62 号] 是国家二类兽用中药新药, 该产品在家禽饲养领域中得到广泛应用。博普总碱散用法与用量为: 混饲, 按每 kg 饲料 0.4 g 饲喂鸡, 连用 7 d; 其功能为抗炎, 主要用于治疗鸡大肠杆菌性腹泻^[1]。PE50 主要活性成分为原阿片碱 (protopine, PRO) 和别隐品碱 (allocryptopine, ALL), 是罂粟科植物博落回 (*Macleaya cordata* (Willd.) R. Br.) 中除血根碱与白屈菜红碱外的另外 2 种含量较高的生物碱成分。现代药理研究表明, PRO 和 ALL 都具有良好的抗炎^[2-3] 和抗氧化^[4] 活性, 将低剂量博普总碱散长期添加在肉鸡与蛋鸡饲料中, 可以较好地改善肉鸡与蛋鸡的生长性能^[5-6], 并且降低了炎症反应, 增强了抗氧化能力^[7], 提高了鸡蛋质量^[6], 这些研究结果为将博普总碱进一步开发成为饲用抗生素的潜在替代品提供了技术支撑。

目前, PE50 活性成分在肉鸡组织中的蓄积和残留特征尚未阐明。肉鸡是世界上主要的肉类来源之一, 测定组织中的药物残留对确保食品安全十分必要。目前兽用中药暂未设残留安全性评价要求, 本研究的目的是参照兽用化药残留相关指导原则, 采用超高效液相色谱-串联质谱技术 (UPLC-MS) 测定博普总碱散的活性成分 ALL 和 PRO 在肉鸡肝脏、肾脏、胸肌、腿肌、心脏中的残留量, 探索性地研究长期添加博普总碱散在肉鸡组织中的残留及消除规律, 研究结果可为博普总碱散的残留安全性提供数据参考, 为博普总碱散作为可长期添加的中兽药提供技术支撑, 同时也为兽用中药基于活性物质的残留及消除和安全性评价提供前瞻性示范。

1 材料与方法

1.1 供试药物与化学试剂

博普总碱散 (PRO+ALL $\geq 1.5\%$, 其中 PRO $\geq 1\%$, 批号: 170501), 别隐品碱标准品 (纯度 $\geq 98\%$, 批号: 090201), 均由湖南美可达生物资源有限公司提供; 原阿片碱标准品 (纯度 $\geq 99.7\%$, 批

号: 110853-201404), 延胡索乙素标准品 (内标, 纯度 $\geq 99.8\%$, 批号: 110726-201213), 均购自中国食品药品检定研究院; 质谱级甲酸购自 Anaqua 化学品供应公司; 色谱纯甲醇和乙腈分别购自 TEDIA 和 Sigma-Aldrich 公司; 分析纯正己烷购自国药集团化学试剂有限公司; 超纯水使用 Milli-Q Millipore 水系统制取。

1.2 主要仪器

Agilent 1290 超高效液相色谱系统串联 6460 三重四级杆质谱仪, Agilent ZORBAX SB-C18 色谱柱 (2.1 mm×50 mm i. d., 1.8 μm) 和 Agilent ZORBAX SB-C18 预柱 (2.1 mm×5 mm i. d., 1.8 μm) 均来源于美国安捷伦科技有限公司; Sigma1-14 型台式高速离心机, 产自美国 Thermo 公司; KQ5200DE 型超声波清洗器, 产自昆山市超声仪器有限公司; AUW220D 型分析天平, 产自日本岛津公司; WH-12 水浴氮吹仪, 产自青岛聚创美家环保技术有限公司; Vortex-genie[®] 2 型旋涡混合仪, 产自 Scientific Industries 公司; Milli-Q Advantage A10 系统, 产自美国 Millipore 公司。

1.3 试验动物及分组

选取湖南省畜牧兽医研究所提供的健康 1 日龄隐性白羽肉鸡 200 只, 平均分成 4 组, 每组 50 只, 分别为空白组 (无任何药物添加) 和 3 组博普总碱散添加组, 添加剂量分别为 800、200 和 50 mg/kg (推荐剂量)。试验鸡被安置在双层铁架的动物笼里, 采用标准化饲养模式, 相对湿度: 40%~70%; 通风次数: ≥ 8 次/h; 人工照明: 200 lx, 12L:12D 光周期。除添加博普总碱散外, 动物每天饲喂标准化的全价饲料, 每天 3 次, 自由饮水。

1.4 样品采集

药代动力学样品采集: 各试验组肉鸡从 1 日龄饲养至 36 日龄。饲喂至 36 d 时, 观察并记录每只鸡采食时间, 根据药代动力学预试验结果, 以吸收相 4 个点、平衡相 4 个点、消除相 6 个点, 采样时间持续 3~5 个半衰期为原则设计采血时间点。各组随机选

取 8 只肉鸡于采食后 0.083、0.16、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12 和 24 h, 于右翼下静脉采血约 0.3 mL 至一次性肝素钠采血管中, 以 4 ℃、3 200 r/min 离心 10 min, 分离出血浆, -80 ℃ 冻存。

残留样品采集: 药动学样品采集完成后, 剩余肉鸡按原饲养方案继续饲养 3 d, 观察肉鸡情况, 待所有肉鸡消除应激反应后再连续饲养至 43 日龄。分别于停药 1、3、5 和 7 d 各组随机选取 8 只鸡采血 0.3 mL, 然后放血宰杀, 取心脏、肝脏、肾脏、胸肌、腿肌和盲肠内容物, 所有采集组织样品擦干血迹、除去表明脂肪后搅碎, -80 ℃ 冻存。动物尸体经掩埋无害化处理。

1.5 博普总碱散活性物质含量检测

基于本试验目的需求, 参考本实验室已建立好的方法^[8], 对合规博普总碱散产品中的活性成分 PRO 和 ALL 含量进行检测。在安捷伦 1260 高效液相色谱仪上对 6 份样品进行检测, 用标准曲线进行含量计算。

1.6 样品处理与检测

1.6.1 血浆药代动力学分析

取出血浆样品解冻, 恢复至室温后, 取 80 μL 置于离心管中, 依次加入 10 μL 甲醇和 10 μL 新配制的 400 μg/L 延胡索乙素 (作为内标溶液), 随后加入 400 μL 10% 三氯乙酸-乙腈混合液。涡旋混合 30 s 后离心, 取上清液经滤膜过滤后进样分析。上机检测过程中同步检测标准曲线及质控样本。色谱条件: Agilent Zorbax SB-C18 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 柱温 35 ℃; 流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液; 流速 0.3 mL/min; 进样体积 2 μL。梯度洗脱程序如下: 0~4 min, A 相: 85%~83%; 4~6 min, A 相: 83%~65%; 6~8 min, A 相保持 65%。质谱参数: 电喷雾离子源 (ESI), 正离子多反应监测 (MRM) 扫描, 雾化气压力 30 psi, 毛细管电压 4 kV, 干燥气温度 350 ℃, 干燥气流速 13 L/min。氮气 (纯度 99.9%) 作为干燥气, 高纯氮气 (纯度 99.999%) 作为碰撞气。目标物 PRO (定量离子对 354.1→189.1) 和 ALL (定量离子对 370.2→188.1) 的保留时间分别为 3.5 min 和 4.5 min。

1.6.2 组织残留检测

参照团队已经开发的方法进行处理^[9], 具体操作如下: 组织样本解冻后准确称取约 2 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 20 mg/L 内标 (IS) 溶液和 1 mL 生理盐水 20 μL (现配现用), 使用高速匀浆机匀浆 30 s, 制成组织匀浆液。向匀浆液中加入 20 mL

1% 甲酸乙腈-水 (95:5), 涡旋振荡 1 min, 放入超声机超声提取 20 min 后, 4 ℃ 条件下以 3 200 g 离心 10 min。移取 5 mL 上清液至新离心管, 加入 2 mL 正己烷脱脂, 涡旋混匀 30 s 后于 4 ℃、3 200 g 条件下离心 5 min, 弃去上层有机相, 取 1 mL 下层清液 35 ℃ 水浴下氮吹干, 加入 1 mL 1% 甲酸甲醇复溶, 涡旋振荡 30 s 后以 4 ℃、3 200 g 离心 10 min。经 0.22 μm 滤膜过滤后, 进行 LC-MS 分析。色谱柱使用 Agilent Zorbax SB-C18, 柱温 35 ℃, 流动相为 A 相: 0.1% 甲酸水, B 相: 0.1% 甲酸乙腈, 流速 0.3 mL/min。采用梯度洗脱: 0~4 min, A 相: 85%~83%; 4~5 min, A 相: 83%~80%; 5~6 min, A 相保持 80%; 6~12 min, A 相: 80%~65%, 进样量 1 μL。质谱参数: ESI, MRM 扫描; 雾化气压力 30 psi, 毛细管电压 4 kV, 氮气 (纯度 99.9%) 作为干燥气, 高纯氮气 (纯度 99.999%) 作为碰撞气, 干燥气温度 350 ℃, 干燥气流速 13 L/min。PRO 和 ALL 的保留时间分别为 3.8 和 5.0 min, 定量离子对分别为 354.1→189.0 和 370.2→188.1。

1.7 数据分析

质谱数据处理采用 Agilent MassHunter 分析平台, 样品定量浓度由系统自动计算生成。数据处理遵循“四舍六入五留双”的修约原则, 最终数值保留至小数点后 2 位。试验数据以“平均数±标准差”形式呈现, 其中峰浓度 (C_{max}) 及达峰时间 (T_{max}) 直接采用实测值计算平均值。药代动力学分析使用 Phoenix WinNonlin 8.0 专业软件完成, 采用非房室模型 (Non-compartmental Analysis) 进行数据处理。绘制平均药时曲线图, 主要计算参数包括: 药时曲线下面积 (AUC_{0-t})、外推药时曲线下面积 ($AUC_{0-\infty}$)、消除半衰期 ($t_{1/2}$)、平均驻留时间 (MRT_{0-t}) 和清除率 (Cl) 等关键指标。所有药动学参数均通过 SPSS 16.0 统计软件进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 博普总碱散中活性成分含量

对受试药物博普总碱散中的活性成分 PRO 和 ALL 进行了精确定量, 测定各生物碱的出峰时间分别是 PRO: 6.2 min; ALL: 7.1 min。其中 20 μg/mL 标准品以及博普总碱散样品的色谱如图 1 所示。该方法在 1~100 μg/mL 浓度范围内具有良好的线性关系, 标准曲线相关系数 $R^2 > 0.99$ 。最终测得 6 份样品中各生物碱的具体浓度以及百分含量如表 1 所示。通过换算后, 不同剂量组每千克饲料中 PRO 和 ALL 的具体含量见表 2。

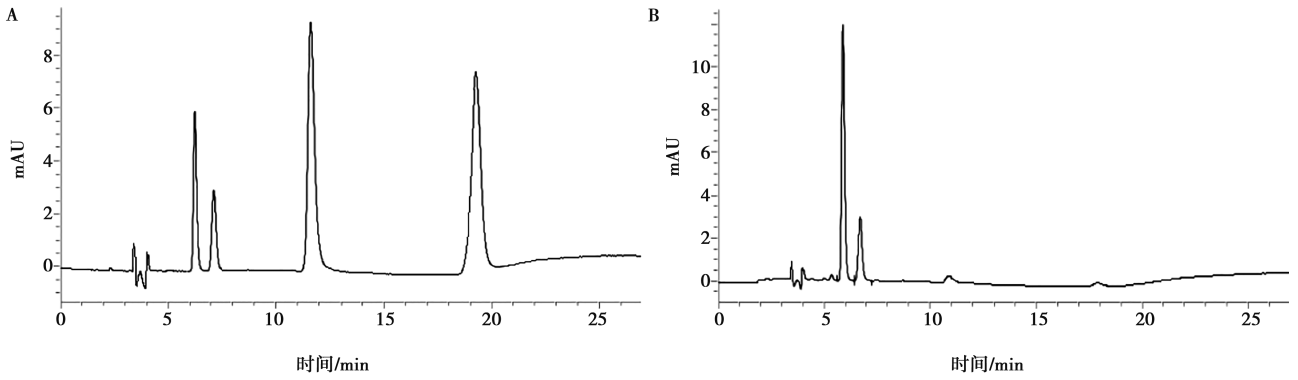


图1 标准品色谱 (A) 与博普总碱散色谱 (B)

表1 博普总碱散中 PRO 和 ALL 的百分含量 %

样品编号	PRO	ALL	总生物碱
博普总碱散-1	1.18	0.38	1.56
博普总碱散-2	1.23	0.40	1.63
博普总碱散-3	1.27	0.42	1.69
博普总碱散-4	1.26	0.42	1.68
博普总碱散-5	1.15	0.38	1.53
博普总碱散-6	1.25	0.41	1.66
平均	1.22	0.40	1.62

2.2 血浆药代动力学分析

50 mg/kg 的博普总碱散混饲给药后, PRO 在血浆中的最高浓度为 3.46 $\mu\text{g/L}$, 而 ALL 的大部分数据均低于定量限 (0.78 $\mu\text{g/L}$), 因此无法绘制药时曲线图, 仅绘制 PRO 的柱状图 (图 2A)。200 和 800 mg/kg 的博普总碱散混饲给药后, ALL 和 PRO 在鸡血浆中的浓度-时间曲线如图 2B 所示。药代动力学参数如表 3 所示, 200 mg/kg 组的 PRO 和 ALL 的 C_{max} 分别为 (18.33 \pm 9.72) 和 (9.67 \pm 4.79) $\mu\text{g/L}$ 。800 mg/kg 组的 PRO 和 ALL 的 C_{max} 分别为 (35.04 \pm 27.77) 和 (15.99 \pm 12.45) $\mu\text{g/L}$ 。给药后 12 h, 鸡血浆中 PRO 和 ALL 的残留浓度均低于定量限, 表明这 2 种化合物在鸡血浆中基本代谢完全。800 mg/kg 组 PRO 与 ALL 的半衰期分别为 (10.70 \pm 3.80) 和 (25.43 \pm 39.72) h, 远大于 200 mg/kg 的半衰期, 即分别为 (5.63 \pm 15.26) 和 (5.09 \pm 7.14) h。

表2 各组每千克饲料中 PRO 和 ALL 的具体含量 mg

组别	PRO	ALL
50 mg/kg	0.61	0.20
200 mg/kg	2.44	0.80
800 mg/kg	9.76	3.20

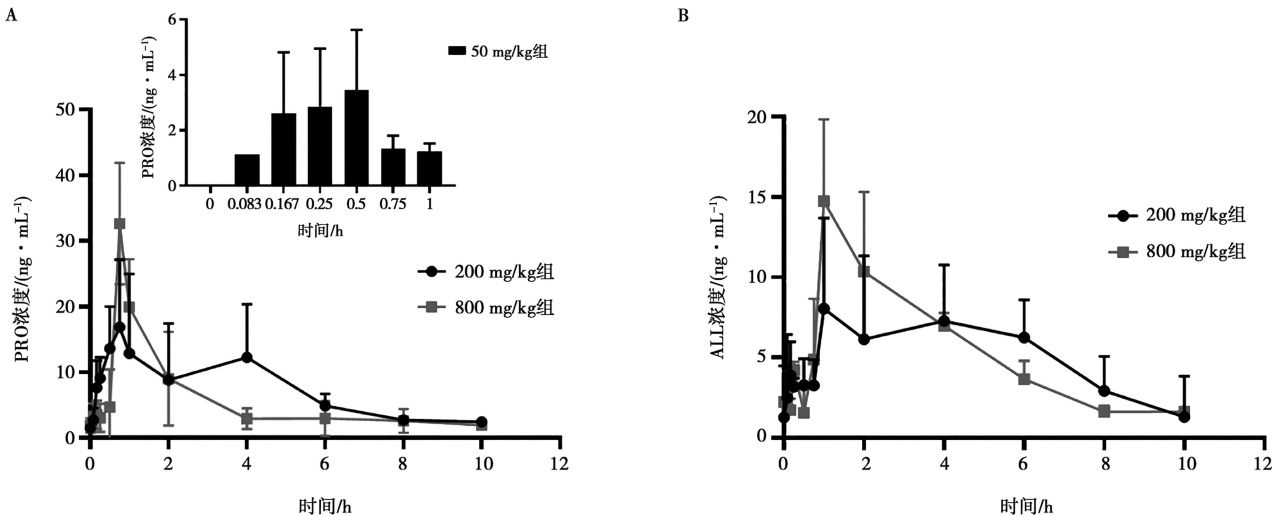


图2 肉鸡给药不同剂量博普总碱散后 PRO (A) 和 ALL (B) 的药时曲线

表3 不同剂量博普总碱散经口服给药肉鸡后 PRO 和 ALL 的药代动力学参数

药时参数	PRO		ALL	
	200 mg/kg 组	800 mg/kg 组	200 mg/kg 组	800 mg/kg 组
$C_{max}/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	18.33±9.72	35.04±27.77	9.67±4.79	15.99±12.45
T_{max}/h	0.78±1.28	0.85±0.09	0.67±2.52	0.84±0.27
$V/(\text{L} \cdot \text{kg}^{-1})$	32.39±35.29	120.33±66.60	36.26±49.14	310.12±156.55
$AUC_{0-1}/(\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1})$	41.25±38.39	48.14±20.40	21.26±18.85	31.41±5.95
$AUC_{0-\infty}/(\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1})$	50.48±51.07	87.89±15.17	47.51±15.57	72.94±92.04
MRT_{0-1}/h	2.84±1.48	3.23±0.97	3.20±1.42	3.88±1.24
$t_{1/2}/\text{h}$	5.63±15.26	10.70±3.80	5.09±7.14	25.43±39.72
$CL/(\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1})$	4.08±4.41	16.93±4.35	4.59±1.59	20.79±11.42

2.3 组织残留消除

结果表明, PRO 与 ALL 不相互干扰, 分离良好。采用的检测方法在 0.5~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内具有良好的线性关系, 标准曲线相关系数 $R^2 > 0.999$, 以

大于等于 10 倍信噪比 (S/N) 为方法的定量限, 当 PRO 与 ALL 浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时 S/N 符合要求, 因此 PRO 与 ALL 的定量限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。PRO 与 ALL 的提取离子色谱及其定量离子对如图 3 所示。

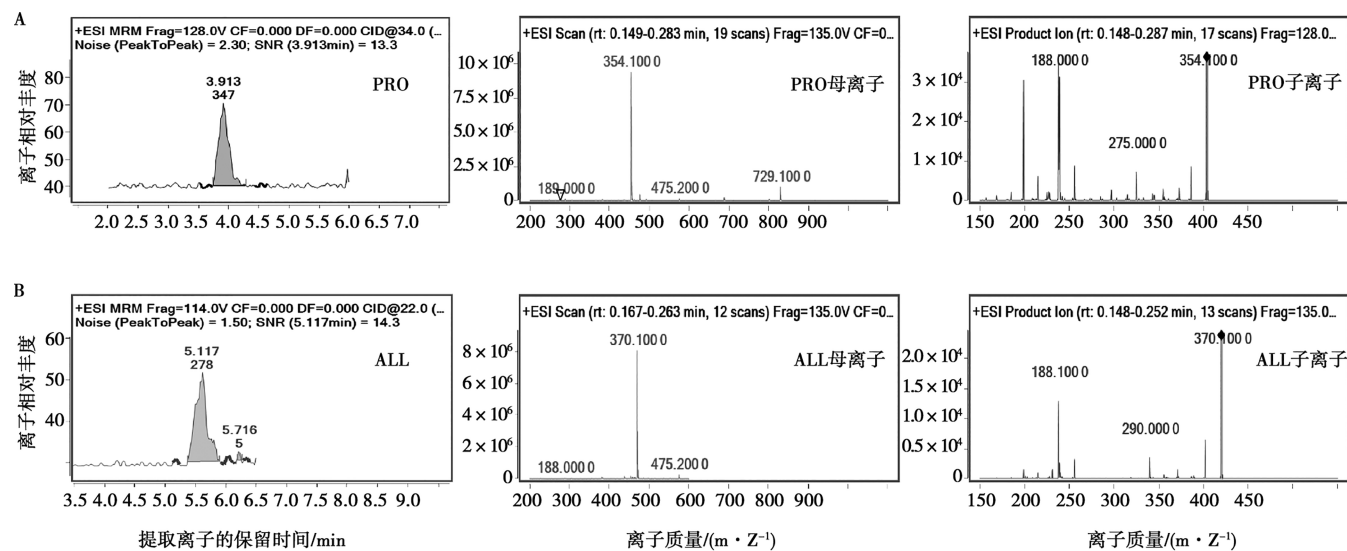


图3 PRO (A) 与 ALL (B) 提取离子流图和离子对结果

由表 4 可见, 试验组鸡分别饲喂不同剂量博普总碱散饲料 43 d 后, 50 mg/kg 组肉鸡心脏、肝脏和大腿肌肉中 PRO 和 ALL 的残留浓度均低于定量限值 (0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$); PRO 在肾脏和胸肌中检测到, 而 ALL 只在肾脏中检测到。停药第 5 天, 肾脏组织中 PRO 和 ALL 的残留浓度分别为 (0.86±0.15) 和 (0.71±0.11) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。停药第 7 天, 50 mg/kg 组所有组织样本残留量均低于定量限。

由表 5 可知, 200 mg/kg 组肉鸡肝脏中未检测到 PRO 和 ALL, 在停药 1 d 后的心脏样本中检测到, 之后浓度低于检测限, PRO 和 ALL 的最高残留浓度是在停药第 1 天的胸肌样品中检测到的; 与 50 mg/kg 剂量组相似, 停药后 5 天内可在胸肌、腿肌和肾脏中

检测到 PRO。与 50 mg/kg 剂量组相比, 除肝脏外, 其他组织中均可检测到 PRO 和/或 ALL。

由表 6 可知, 当以推荐的可长期添加建议剂量的 16 倍, 即 800 mg/kg 的剂量连续喂养 43 d 时, PRO 在所有测试的组织样本中都可以被检测到, 其中在停药第 7 天的心脏、肾脏样本中仍然可以检测到。而 ALL 在停药 1~3 d 的除腿肌外的所有组织中都能被检测, 在停药第 5~7 天的胸肌、心脏和肾脏能检测到微量残留。PRO 和 ALL 均在停药第 1 天的肝脏中残留浓度最高, 分别为 (9.98±1.45) 和 (4.84±1.54) $\mu\text{g}/\text{kg}$, PRO 和 ALL 在肉鸡组织中的残留量均随给药剂量的增加而增大。

表 4 50 mg/kg 组肉鸡组织样本中 PRO 和 ALL 的残留量 (n=8)

μg/kg

分析物	组织	停药第 1 天	停药第 3 天	停药第 5 天	停药第 7 天
PRO	肝脏	-	-	-	-
	肾脏	0.97±0.39	1.65±0.65	0.86±0.15	-
	胸肌	1.90±0.65	1.81±1.38	1.09±1.00	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	-	-	-	-
ALL	肝脏	-	-	-	-
	肾脏	1.89±0.86	1.56±0.16	0.71±0.11	-
	胸肌	-	-	-	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	-	-	-	-

注：-表示未测到。下同。

表 5 200 mg/kg 组肉鸡组织样本中 PRO 和 ALL 的残留量 (n=8)

μg/kg

分析物	组织	停药第 1 天	停药第 3 天	停药第 5 天	停药第 7 天
PRO	肝脏	-	-	-	-
	肾脏	2.25±1.05	1.21±0.63	0.64±0.08	-
	胸肌	2.76±1.15	1.69±0.68	1.49±0.73	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	0.77±0.11	-	-	-
ALL	肝脏	-	-	-	-
	肾脏	2.21±0.41	1.79±0.06	0.74±0.11	-
	胸肌	3.68±1.91	3.06±1.88	1.72±0.74	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	1.21±0.43	-	-	-

表 6 800 mg/kg 组肉鸡组织样本中 PRO 和 ALL 的残留量 (n=8)

μg/kg

分析物	组织	停药第 1 天	停药第 3 天	停药第 5 天	停药第 7 天
PRO	肝脏	9.98±1.45	2.19±1.16	-	-
	肾脏	3.39±0.96	1.08±0.24	0.87±0.41	0.64±0.17
	胸肌	1.91±0.58	1.81±1.38	1.41±0.66	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	4.07±1.21	2.61±0.34	1.58±0.43	1.16±0.43
ALL	肝脏	4.84±1.54	1.15±0.84	-	-
	肾脏	4.74±0.80	2.06±0.55	1.37±0.73	0.69±0.16
	胸肌	4.67±2.81	3.97±3.45	2.32±1.79	-
	腿肌	-	-	-	-
	心脏	3.84±0.81	3.10±0.51	2.20±0.87	1.06±0.61

3 讨论

3.1 剂量设计

博普总碱散作为治疗药物的临床推荐剂量为 400 mg/kg, 根据《兽药残留试验指导原则》规定, 给药

方案应参照说明书标注的最大推荐剂量和最长用药周期进行设置, 按规定应该需要用 400 mg/kg 博普总碱散连续给药 7 d 来开展研究。然而本试验主要是为博普总碱散作为长期添加的中兽药提供研究基础, 因此预设 50 mg/kg 为长期添加的剂量, 但经前期预试验

结果显示博普总碱散添加 50 mg/kg, 其活性物质在体内残留已在检测限附近, 不具有统计学意义, 故设计残留安全评价方案时, 用 50、200 和 800 mg/kg 剂量来研究。

3.2 PRO 与 ALL 在肉鸡体内的药动学特征

PRO 和 ALL 经口服给药后均能快速吸收, 给药 1 h 即达药峰浓度, 表明其在鸡体内具有较高的吸收速率。给药后 12 h, PRO 和 ALL 的血药浓度均降至定量限以下, 提示其消除速率较快。PRO 和 ALL 的药动学参数 T_{max} 、 AUC 、 C_{max} 及 $t_{1/2}$ 等均呈现剂量相关性, 即随着给药剂量增加, 参数增大。这表明剂量的增加会导致药物在体内的作用时间延长, 且存在一定的药物蓄积现象, 这种正相关关系为临床给药方案的制定提供了依据。PRO 和 ALL 的药时曲线呈现多峰特征, 这是口服给药的常见现象。在王萍等^[10]、Ma 等^[11]对于口服给药 PRO 的药动学研究中也报道了多峰特征, 分析其可能原因包括: 鸡个体差异因素、每只鸡的采食速度和饮水量以及个体健康状况的差异等, 这些均影响药物在鸡体内的吸收速率; 肝肠循环和肠道菌群对药物的代谢转化也会引起多峰现象^[12], 肝脏中的药物经胆汁排泄进入肠道后又被重新吸收到肝脏中, 从而产生了多峰。

3.3 PRO 与 ALL 在肉鸡体内的残留消除

本试验中, 博普总碱散以 3 种不同的剂量喂养隐性白羽肉鸡, 肉鸡在连续饲喂 43 d 后, 50 mg/kg 组 PRO 与 ALL 均在肾脏有微量残留, 其中 PRO 在胸肌中也有微量残留, 以上残留均在停药第 5 天消除完全。200 mg/kg 组 PRO 在除肝脏的其余组织均有残留, 而 ALL 在除腿肌和肝脏的其余组织有残留, 但以上组织残留浓度均于休药 7 d 后低于定量限。与 50 mg/kg 组相比, 200 mg/kg 组的残留分布更广, 残留量也更多, 但最高残留量在心脏组织中, PRO 和 ALL 分别仅为 (2.22 ± 0.41) 和 (3.19 ± 0.40) μg/kg, 说明博普总碱散在 200 mg/kg 剂量以下时, 长期添加饲喂肉鸡无药物残留蓄积等毒副作用, 安全可靠。而 800 mg/kg 组在停药 1 d 时肝脏中的 PRO 和 ALL 最高残留量分别为 (9.98 ± 1.45) 和 (4.84 ± 1.54) μg/kg, 说明高剂量的博普总碱散长期添加在饲料中可能会对肉鸡产生一定的危害, 可能会损伤肝脏和心脏; 在停药 7 d 后的心脏、肾脏、胸肌组织中残留浓度在 0.6~1.16 μg/kg 范围, 浓度很低, 说明在肉鸡饲料中即使长期添加 800 mg/kg 的博普总碱散, 残留浓度极其微量。在 800 mg/kg 添加剂量下, 博普总碱散的主要活性成分 PRO 呈现明显的肝脏富集特性, 肝脏残留量显著高于其他组织, 停药 5 d 后肝脏残留即低于定量限 (0.5 μg/kg), 说明 PRO 主

要在肝脏中进行代谢, 因为口服药物在胃肠道内被吸收后先进入肝脏经首过效应后进入体循环到达全身。PRO 和 ALL 在肾脏组织中表现出独特的残留特征, 残留量在停药 5 d 和 7 d 时相差很近, 提示药物在肾脏中消除速率最慢, 停留时间最长, 推测 PRO 和 ALL 在鸡体内的主要排泄途径可能是肾脏, 在排泄过程中可能产生一定的药物蓄积, 因此可以将肾脏作为检测 PRO 和 ALL 的残留靶组织。PRO 在肌肉中的消除规律与其他组织不同, 分析原因可能是由于组织中的待测物质含量极低, 初步推测可能是检测出现了偏差, 导致结果异常。参照《兽药残留试验指导原则》, 本试验没有对肉鸡的脂肪进行检测, 是本试验的一个缺陷, 后期在博普总碱散正式申报成可长期添加的中兽药后, 会按照标准要求重新设计试验, 来对本试验进行补充与完善。

3.4 残留安全推定

研究数据显示, PRO 和 ALL 在停药 7 d 后, 心脏组织中的残留量分别为 (1.16 ± 0.43) 和 (1.06 ± 0.61) μg/kg, 高于其他组织, 但现行农业农村部颁布的兽药残留标准中, 尚未制定针对兽用中药也包括这 2 个生物碱 (PRO 和 ALL) 的最高残留限量 (MRL), 参照已有残留限量要求的抗生素, 如土霉素/金霉素/四环素^[13]在所有食品动物肌肉中 MRL 为 200 μg/kg, 肝脏中 MRL 为 600 μg/kg^[14], 在博普总碱散暂无 MRL 值的前提下, 初步通过比较小鼠单次经口急性毒性试验结果可知, 各药物的半数致死量 (LD₅₀) 分别为: 土霉素 2 240 mg/kg^[15]、金霉素 1 500 mg/kg^[16]、四环素 678 mg/kg^[16]和 PE50 (PRO 与 ALL 总量 ≥ 50%, 其中 PRO ≥ 35%) 426.1 mg/kg^[17], 由于 PRO 毒性较 ALL 更强^[18], 因此在进行后续推定时, 权且将 PE50 活性成分全部视为 PRO。若 PE50 全部为 PRO, 则 PE50 (100% PRO) 的 LD₅₀ 大约为 213 mg/kg。根据以上数据, 博普总碱对小鼠的 LD₅₀ 是土霉素的 1/10 左右, 参照农业农村部规定的土霉素在食品动物组织中的 MRL, 博普总碱 (100% PRO) MRL 也视为土霉素 MRL 的 1/10, 即肌肉中约 20 μg/kg, 肝脏中约 60 μg/kg。若以毒性更强的四环素来进行推定, 那么博普总碱 (100% PRO) MRL 可视为四环素 MRL 的 1/3, 即肌肉中约 67 μg/kg, 肝脏中约 200 μg/kg。综合整个残留消除试验结果可见, 即使在连续 43 d 饲喂 800 mg/kg 博普总碱预混剂条件下, 白羽肉鸡各组织中检测到的药物残留量仍显著低于常规抗生素的残留限量标准。任一组织在任一休药时期中 PRO 和 ALL 的最高残留浓度在零休药期的肝脏中均远小于以上推定的 MRL。更何况最高剂量组 800 mg/kg 的给药剂量为可长期添

加建议剂量的16倍,因此,初步得出,博普总碱散无论是治疗剂量还是可长期添加建议剂量,均具有很高的残留食品安全性。

虽然本试验已经用大量数据推证了中兽药博普总碱散的活性物质残留安全性,但鉴于缺失多组分兽用中药残留安全评价方法,其结论依据肯定还存在缺陷。应结合考虑各组分的毒代动力学、毒性当量、组分权重,而不能简单换算。建议适时推进适合兽用中药特点的残留安全评价体系构建,制定中药复杂成分的MRL来更科学地保证使用兽用中药的动物源食品安全,保障人类健康。

4 结论

以不同剂量(50、400和800 mg/kg)博普总碱散长期添加饲喂肉鸡后,其效用成分吸收迅速,在血浆中消除速率高;在体内残留消除较为快速,残留量极低,有一定的蓄积性,并与给药剂量相关;以800 mg/kg(相当于临床推荐剂量的2倍)长期添加饲喂肉鸡,尽管在组织中有微量残留(0.6~1.16 μg/kg),还是显示出较高的安全性,说明治疗剂量400 mg/kg是安全的;以50和200 mg/kg长期添加在肉鸡饲料中使用,残留食品安全性均很高,其中以50 mg/kg建议推荐剂量开发为可长期添加在饲料中的兽用中药则安全性更高。本试验为博普总碱散的临床安全使用和中兽药残留安全性评价提供了技术指导和前瞻性研究策略。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业农村部公告 第214号 [A]. 北京: 中华人民共和国农业农村部, 2019-09-23.
- [2] 沈静, 周玉, 李琰, 等. 129种植物丙酮提取物杀虫活性筛选 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2017, 45(10): 101-110.
- [3] 张晓宁. 博落回生物碱对麦蚜杀虫活性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [4] 陆国寿, 蒋珍藕, 黄周锋, 等. 两面针果壳的化学成分分析及活性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(11): 154-160.
- [5] LIU Y, LI Y, NIU J X, et al. Effects of dietary *Macleaya cordata* extract containing isoquinoline alkaloids supplementation as an alternative to antibiotics in the diets on growth performance and liver health of broiler chickens [J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, 9: 950174.
- [6] LIU H, LIN Q, LIU X, et al. Effects of dietary Bopu powder supplementation on serum antioxidant capacity, egg quality, and intestinal microbiota of laying hens [J]. *Frontiers in Physiology*, 2022, 13: 902784.
- [7] LIU Y, WANG Q J, LIU H, et al. Effects of dietary Bopu powder supplementation on intestinal development and microbiota in broiler chickens [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1019130.
- [8] 郭宇鸽, 曾建国, 谈满良, 等. 博落回叶与小果博落回叶中4种生物碱的含量比较 [J]. 中南药学, 2011, 9(11): 829-832.
- [9] 刘梦婷, 胡南希, 邹湘霖, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时检测肉鸡组织中4种异喹啉类生物碱 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(12): 4843-4853.
- [10] 王萍, 窦志英, 曹柳. 延胡索炮制品在大鼠血浆中的药动学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(13): 1013-1018.
- [11] MA H, WANG Y, GUO T, et al. Simultaneous determination of tetrahydropalmatine, protopine, and palmatine in rat plasma by LC-ESI-MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2009, 49(2): 440-446.
- [12] NOH K, KANG Y, NEPAL M, et al. Impact of gut microbiota on drug metabolism: an update for safe and effective use of drugs. [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2017, 40(12): 1345-55.
- [13] 贾先春, 周嘉明, 智军海, 等. 胶体金免疫层析法高通量测定动物肌肉组织中多兽药残留 [J]. 南京农业大学学报, 2024, 47(5): 967-978.
- [14] 中华人民共和国农业农村部, 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量: GB 31650—2019 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2020.
- [15] CHEYMOL J. Accidents due to antibiotic therapy: accidents and side-manifestations after administration of 5 great antibiotics; penicillin, streptomycin, chloramphenicol, aureomycin and terramycin [J]. *Arzneimittel Forschung*, 1955, 5(1): 1-9.
- [16] HEWITT R, WALLACE W, GUMBLE A, et al. Experimental chemotherapy of trypanosomiasis. III. Effect of achromycin against *Trypanosoma equiperdum* and *Trypanosoma cruzi* [J]. *American Journal of Tropical Medicine & Hygiene*, 1953, 2(2): 254-266.
- [17] DONG Z, TANG S S, LI C H, et al. Safety assessment of MPTA: an oral acute and 90-day sub-chronic toxicity study in Sprague-Dawley rats [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2022, 133: 105188.
- [18] HU W J, YANG F, LIU W X, et al. Potential toxicity evaluation of protopine in *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br.: a bioactivity guided approach [J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, 8: 752767.