

## 吡喹酮及其主要代谢产物在草鱼体内代谢动力学研究

朱凤娇, 张洪玉, 谢欣燕, 胡 鲲\* (上海海洋大学, 国家水生动物病原库, 上海 201306)

**摘要** [目的]研究吡喹酮及其主要代谢产物在草鱼体内的代谢动力学规律。[方法]运用高效液相色谱法(HPLC),研究淡水草鱼在单次口服给药 10 mg/kg 剂量条件下,鱼体各组织中吡喹酮(PZQ)及吡喹酮一羟基代谢物(M1)的药动学差异。[结果]草鱼血浆、肠道、肝脏和肾脏内 PZQ 在各个时间点的药物浓度存在极显著差异( $P < 0.01$ );PZQ 在血浆、肠道、肝脏和肾脏的达峰时间分别为 1.0、0.5、1.0 和 1.0 h,而药物峰浓度为 0.41、0.45、0.72 和 0.44 mg/L,M1 在血浆、肠道、肝脏和肾脏的达峰时间分别为 48.0、0.5、6.0 和 48.0 h,而药物峰浓度为 0.72、0.45、0.42 和 0.42 mg/g。这表明 PZQ 在草鱼体内吸收分布快,M1 的达峰时间滞后于 PZQ。二者达峰浓度相似表明 M1 是 PZQ 在草鱼体内主要代谢物。PZQ 在血浆、肠道、肝脏和肾脏的消除半衰期( $t_{1/2}$ )分别为 16.41、4.77、37.16 和 8.74 h,M1 在血浆、肠道、肝脏和肾脏的消除半衰期( $t_{1/2}$ )分别为 124、71、246 和 162 h,其消除半衰期明显比 PZQ 长,说明在鱼体中 M1 的残留时间比 PZQ 更长。[结论]在实际生产中,应注意对 M1 的检测。

**关键词** 吡喹酮及其代谢产物;草鱼;吸收;残留;消除

中图分类号 S941 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)06-0088-04

## Pharmacokinetics Study on Praziquantel and Its Major Metabolites in Grass Carp

ZHU Feng-jiao, ZHANG Hong-yu, XIE Xin-yan, HU Kun\* (National Pathogen Collection Centre for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

**Abstract** [Objective] To study the pharmacokinetics laws of praziquantel (PZQ) and its major metabolites in grass carp. [Method] Using high performance liquid chromatography (HPLC), the pharmacokinetics differences of PZQ and its major metabolite (M1) in each tissue of freshwater grass carp after oral administration with the dosage of 10 mg/kg were studied. [Result] There were significant differences of PZQ concentration in the plasma, intestinal tracts, liver and kidney of grass carp at different time points ( $P < 0.01$ ). The peak concentration of PZQ in the plasma, intestinal tracts, liver, kidney of grass carp were 0.41, 0.45, 0.72 and 0.44 mg/L respectively and it reached peak concentrations at 1.0, 0.5, 1.0 and 1.0 h respectively. The peak concentration of M1 in the plasma, intestinal tracts, liver, kidney of grass carp were 0.72, 0.45, 0.42 and 0.42 mg/L respectively and it reached peak concentrations at 48.0, 0.5, 6.0 and 48.0 h respectively. These results showed that the absorption and distribution of PZQ was faster in grass carp and its peak time was earlier than M1. The peak concentration of PZQ and M1 were similar, which showed that M1 was major metabolite of PZQ in grass carp. The elimination half-life ( $t_{1/2}$ ) of PZQ in the plasma, intestinal tracts, liver, kidney of grass carp were 16.41, 4.77, 37.16 and 8.74 h respectively. And the elimination half-life of M1 in the plasma, intestinal tracts, liver, kidney of grass carp were 124, 71, 246 and 162 h respectively, which was significant longer than that of PZQ. These results indicated that the residual time of M1 in grass carp was longer than that of PZQ. [Conclusion] The residues of M1 should be detected in the actual production.

**Key words** Praziquantel and its metabolites; Grass carp; Absorption; Residue; Elimination

吡喹酮(Praziquantel, PZQ)是我国 20 世纪 80 年代初人工合成的吡嗪并异喹啉化合物,为无色或白色结晶性粉末,微溶于水,可溶于氯仿、乙醇、乙酸乙酯等有机溶剂<sup>[1]</sup>。目前,吡喹酮主要作为人和动物日本血吸虫、曼氏血吸虫、埃及血吸虫、东毕血吸虫病的首选药物<sup>[1-3]</sup>,同时吡喹酮作为一种新型广谱抗寄生虫病药物,对三代虫、指环虫、拟指环虫都有很强的杀灭作用,且能有效治疗由单殖吸虫感染引起的鱼体皮肤和鳃疾病<sup>[4-7]</sup>。由于其杀虫效果显著,吡喹酮已被广泛应用于国内外水产养殖寄生虫疾病的治疗。目前,国内外关于吡喹酮的药物代谢动力学研究主要集中于其在大鼠<sup>[8]</sup>、家兔<sup>[9]</sup>、绒山羊<sup>[10]</sup>、人体内的药代动力学研究等<sup>[11]</sup>。在水产动物上的药物代谢动力学研究并不多,集中于吡喹酮原型药在虹鳟<sup>[12-13]</sup>、石斑鱼<sup>[14]</sup>、草鱼<sup>[15]</sup>中的药物代谢动力学研究,而关于吡喹酮在水产动物体内的代谢产物的药物代谢动力学研究较少。Diekmann 等<sup>[16]</sup>对吡喹酮在小鼠肝脏代谢后的代谢产物进行了研究,发现吡喹酮代谢后被氧化成几种不同的羟化产物。其中,一羟基代谢物(1 个羟基环己基甲酰胺取代吡喹酮胺)(简称 M1)的含量最高。

草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)是我国重要的淡水经济鱼,其养殖分布范围极广。笔者以草鱼为研究对象,以单次口服 10 mg/kg 给药的方式,研究给药后不同时间草鱼各组织中吡喹酮及其代谢产物的药动学变化,旨在为指导其临床应用提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与设备** Agilent-1100 型高效液相色谱仪配自动进样器和荧光检测器,为美国 Agilent 公司产品;漩涡混合器,为美国 Thermo fisher 公司产品;旋转蒸发仪,为德国 Eppendorf 公司产品;精密电子天平(METTLER AB104-N);高速冷冻离心机,为德国 Eppendorf 公司产品。

**1.2 药品与试剂** 吡喹酮一羟基代谢物(M1)标准品(纯度 96.5%),由里海生物技术公司合成;吡喹酮标准品(纯度为 99.9%),购自 Sigma-aldrich 公司;吡喹酮原料药(纯度为 98%),购自河北峰华制药有限公司;色谱纯乙腈,购自德国默克公司;乙酸乙酯、乙醇、异丙醇和正己烷均为分析纯,购自国药化学试剂有限公司。

**1.3 试验动物** 试验所用草鱼购自江苏省南通国营农场,平均体重(80.0±6.8)g,对鱼体表进行观察,并进行解剖观察。60 条草鱼暂养在水族箱(100 cm×80 cm×80 cm),试验用水为充分曝气的自来水,水温控制在(15±1)℃,并使用增氧泵 24 h 充氧,暂养 7 d。暂养期间每 2 d 换水 1 次,每次

基金项目 公益性农业行业专项(201203085)。

作者简介 朱凤娇(1992—),女,山东临沂人,硕士研究生,研究方向:鱼类药代动力学。\*通讯作者,副教授,博士,硕士生导师,从事水产动物医学研究。

收稿日期 2017-01-12

换水量 1/3,早晚饲喂全价饲料,灌药前 1 d 停止饲喂。

## 1.4 试验方法

**1.4.1 给药和取样。**试验用鲫鱼共 50 尾,每个时间点取 5 尾。用少量乙醇预溶吡喹酮原料药,再用超纯水定容配制 2 g/L 口灌溶液,并加入少量食用色素使溶液呈红色,以便观察回吐情况。将试验鱼用套有塑料软管的注射器以 10 mg/kg 的给药剂量单次口灌吡喹酮溶液,无回吐者保留试验。给药前禁食 24 h,给药后 6 h 投饵,并在给药后 15 和 30 min 以及 1、3、6、12、24、48、96 h 分别取血浆、肝脏、肠道、肾脏样品,将取得样品置于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  下保存。

**1.4.2 样品前处理方法。**将样品从低温冰箱取出,室温解冻。取 1 mL 血浆或 1 g 组织匀浆置于 15 mL 离心管中,加入 3 mL 乙酸乙酯,漩涡振荡 3 min 后 4 500 r/min 离心 10 min,取上清液置于另一干净 10 mL 离心管;用 3 mL 乙酸乙酯重复提取 1 次后,合并上清液; $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温条件下旋转蒸干,加 1 mL 流动相振荡溶解 3 min;再用 1 mL 正己烷去脂 2 次,取下清液经  $0.22\text{ }\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后置于进样瓶中,用高效液相色谱进行检测。

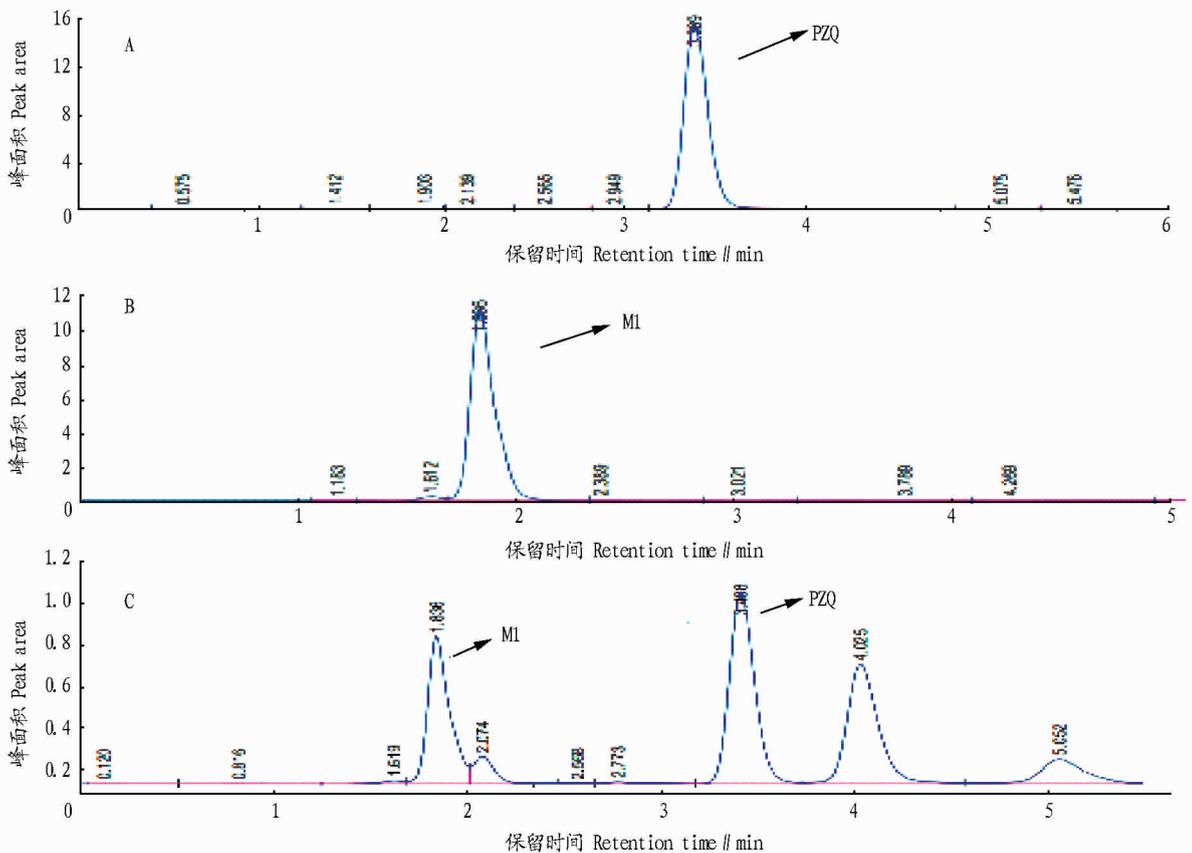
**1.4.3 色谱条件。**色谱柱为 Agilent Zorbax XDB-C18 分析柱( $4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}\times 5\text{ }\mu\text{m}$ )。流动相为乙腈:水( $V/V=50:50$ );激发波长为 265 nm,发射波长为 280 nm;流速 1 mL/min;柱温  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;进样量为  $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

**1.4.4 吡喹酮及其代谢物标准溶液的配制和标准曲线的制备。**准确称取吡喹酮标准品和吡喹酮一羟基代谢物(M1)标准品各 0.01 g,分别用少量乙腈溶解后,用超纯水定容至 100 mL,配制成  $100\text{ }\mu\text{g/mL}$  标准储备液,然后再用流动相分别稀释成质量浓度为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、20.00  $\mu\text{g/mL}$  共 9 个质量浓度梯度的标准溶液,使用 HPLC 仪分别测定其峰面积,然后分别绘制 2 种标准品的标准曲线,并求出回归方程和相关系数。

**1.4.5 数据处理。**使用药动学程序软件 DAS 3.0 进行各组织中药代动力学模型拟合及参数计算,药物消除的药时曲线及药物标准曲线使用 Microsoft Excel 2013 软件绘制,使用 SPSS 13.0 统计软件进行数据统计与分析。

## 2 结果与分析

**2.1 标准曲线及检测限** 在设定的色谱条件下,使用高效液相色谱仪测定血浆和组织中吡喹酮及其一羟基代谢物(M1)的含量,色谱图基线走动平稳,特异性强,重现性好(图 1)。吡喹酮(PZQ)及 M1 的标准溶液在  $0.05\sim 20.00\text{ }\mu\text{g/mL}$  质量浓度范围内呈线性关系,且线性关系良好,其回归方程分别为  $y=0.1424x+0.1047(R^2=0.9999)$  和  $y=0.0876x+0.1779(R^2=0.9999)$ 。以引起 3 倍极限噪音的量为最低检测限,该方法的最低检测限为  $0.05\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。



注:A.吡喹酮原型药(PZQ);B.吡喹酮一羟基代谢物(M1);C.吡喹酮原型药(PZQ)及代谢物(M1)标准品的混合物。

Note:A. Standard PZQ; B. M1; C. mixture

图1 吡喹酮及其主要代谢产物(M1)的高效液相色谱图谱

Fig.1 HPLC chromatogram of PZQ and its major metabolite(M1)

**2.2 回收率和精密度** 吡喹酮在草鱼血浆、肝脏、肠道和肾脏内的回收率分别为 81.4% ~ 84.1%、80.8% ~ 82.6%、85.5% ~ 86.7% 和 84.4% ~ 85.8%，均能达到检测要求。测得的血浆和样品的日内相对标准偏差小于 5.07%，日间相对标准偏差小于 5.68%，均小于 10%，符合精密度的测定要求。

表 1 单次口服剂量 10 mg/kg 吡喹酮在淡水草鱼体内的药代动力学参数

Table 1 The pharmacokinetics parameters of praziquantel (PZQ) in freshwater grass carp after single oral administration at the dosage of 10 mg/kg

组织 Tissues	药物 Drugs	$C_{max}$ mg/g	$T_{max}$ h	$t_{1/2}$ h	$Ka$ 1/h	$V_1/F$ L/kg	$CL/L$ h · kg	$AUC_{(0-\infty)}$ mg/(L · h)
血浆 Plasma	PZQ	0.41	1.0	16.41	1.040	22.82	0.43	46.39
	M1	0.72	48.0	127.00	0.060	3.32	0.32	62.87
肠道 Intestinal tracts	PZQ	0.45	0.5	4.77	7.642	31.54	0.19	105.60
	M1	0.45	0.5	71.00	0.040	21.11	0.30	67.10
肝脏 Liver	PZQ	0.72	1.0	37.16	3.140	26.47	0.70	28.70
	M1	0.42	6.0	249.00	0.003	20.50	0.06	50.97
肾脏 Kidney	PZQ	0.44	1.0	8.74	3.239	39.50	0.95	21.04
	M1	0.42	48.0	162.00	33.880	62.97	0.30	67.01

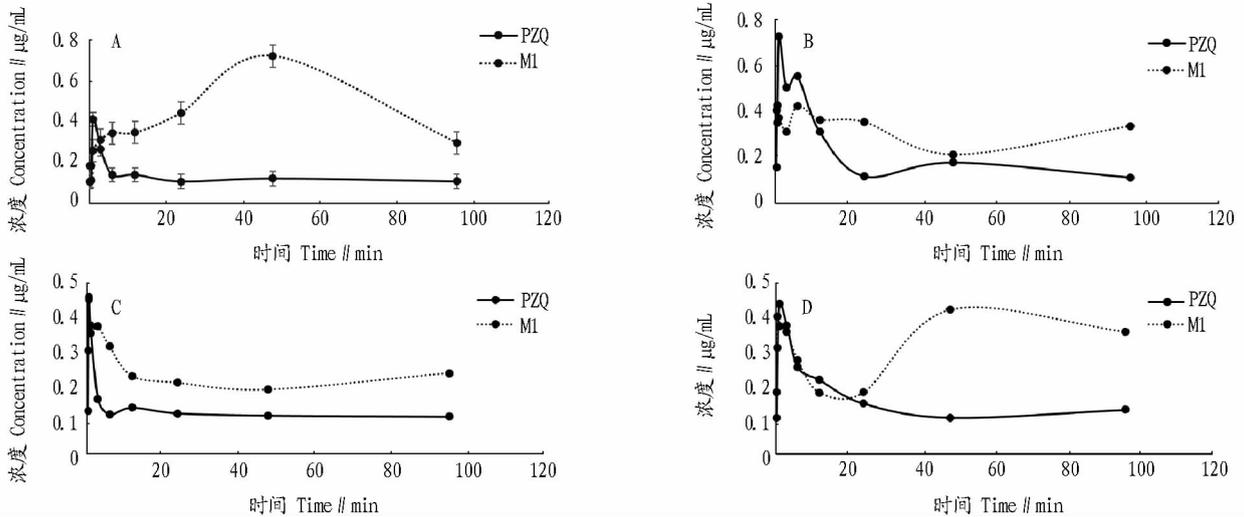
注： $C_{max}$ ：给药后的最大药物质量浓度或质量分数； $T_{max}$ ：给药后出现最大药物质量浓度的时间； $t_{1/2}$ ：药物消除半衰期； $CL/L$ ：总体消除率； $Ka$ ：吸收速率常数； $V_1/F$ ：表观分布容积； $AUC_{(0-\infty)}$ ：药时曲线下总面积

Note:  $C_{max}$ : the maximum mass concentration or mass fraction after drug administration;  $T_{max}$ : the time point of the maximum concentration after drug administration;  $t_{1/2}$ : elimination half-life of drug;  $CL/L$ : total elimination rate;  $Ka$ : absorption rate constant;  $V_1/F$ : apparent volume of distribution;  $AUC_{(0-\infty)}$ : Area under the concentration-time curve from 0 h to  $\infty$

**2.4 吡喹酮及吡喹酮一羟基代谢产物在草鱼体内的浓度及分布特征** 对草鱼以 10 mg/kg 的剂量单次口服吡喹酮后，吡喹酮(PZQ)及其一羟基代谢物(M1)在草鱼体内各组织的药时曲线见图 2。在草鱼血浆中，PZQ 和 M1 的达峰时间分别为 1 和 48 h，肠道中 PZQ 和 M1 的达峰时间分别为 0.5 和 0.5 h，肝脏中吡喹酮和 M1 的达峰时间分别为 1 和 6 h，肾脏

**2.3 吡喹酮及吡喹酮一羟基代谢产物在草鱼体内的药代动力学规律** 在 20 °C 水温条件下，对草鱼以 10 mg/kg 的剂量单次口服吡喹酮后，吡喹酮(PZQ)及吡喹酮一羟基代谢产物(M1)在各组织中的药时曲线见图 2，主要的药物代谢动力学参数见表 1。吡喹酮及吡喹酮一羟基代谢产物在淡水草鱼血浆、肠道、肝脏和肾脏中符合一级吸收二室开放模型。

中 PZQ 和 M1 的达峰时间分别为 1 和 48 h，说明吡喹酮代谢物的达峰时间几乎都有所延迟。从图 2 可以看出，草鱼血浆中 M1 含量较其他组织高，血浆和肾脏的 M1 浓度在后段时间维持在较高水平，肠道的 M1 浓度在前几个时间点维持在较高水平，此后的消除规律与吡喹酮相似。



注：A. 血浆；B. 肝脏；C. 肠道；D. 肾脏

Note: A. plasma; B. liver; C. intestinal tracts; D. kidney

图 2 单次口服剂量 10 mg/kg 吡喹酮后吡喹酮及其代谢产物 M1 在草鱼各组织中的药时曲线

Fig. 2 The concentration-time curve of PZQ and M1 in tissues of grass carp after single oral administration with PZQ at the dosage of 10 mg/kg

### 3 讨论与结论

吡喹酮在水产养殖业中主要用作杀虫剂，用于治疗鱼的寄生虫疾病。由于该药在水生生物体内吸收快、疗效好、使

用方便，其应用范围被不断拓宽，正逐渐成为一种常用的鱼用杀虫剂。为了规范养殖技术，控制因乱用杀虫剂给水产品带来的食用不安全性，吡喹酮在水产品残留检测中尤为重

要。笔者在 20 ℃ 条件下以 10 mg/kg 的剂量对淡水草鱼单次口服吡喹酮预混剂,对比吡喹酮及吡喹酮一羟基代谢产物的药理学差异。结果表明,吡喹酮及吡喹酮一羟基代谢产物在草鱼血浆、肌肉、肝脏和肾脏在各个时间点的药物浓度存在极显著差异( $P < 0.01$ )。

**3.1 吡喹酮在草鱼体内的药理学特征** 在对草鱼口服单剂量 10 mg/kg 吡喹酮后,吡喹酮在鱼体内各组织的药时数据均符合一级吸收二室开放模型,其血浆、肠道、肝脏和肾脏的达峰时间分别为 1.0、0.5、1.0 和 1.0 h,而药物峰浓度为 0.41、0.45、0.72 和 0.44 mg/L,消除半衰期( $t_{1/2}$ )分别为 16.41、4.77、37.16 和 8.74 h,表观分布容积( $V_1/F$ )分别为 22.82、31.54、26.47 和 39.50 L/kg,说明吡喹酮在草鱼体内吸收快且分布广泛。在对草鱼口服单剂量 10 mg/kg 吡喹酮后,吡喹酮一羟基代谢物 M1 在鱼体血浆、肠道、肝脏、肾脏内的药时数据均符合一级吸收二室开放模型,其达峰时间分别为 48.0、0.5、6.0 和 48.0 h,而药物峰浓度为 0.72、0.45、0.42 和 0.42 mg/g。谢欣燕等<sup>[15]</sup>在对草鱼口服单剂量 500 mg/kg 吡喹酮,草鱼血浆的药时数据符合二室模型,血浆中药物在 1 h 时达到峰值(1.13  $\mu\text{g/mL}$ ),表明吡喹酮口服后吸收迅速且分布快,在体内有效浓度维持时间较长。该试验结果与前人研究报道相一致,但是由于试验的给药剂量的不同,鱼体内的药物浓度水平也有一定差异。

**3.2 吡喹酮在草鱼体内的代谢情况** 曾有学者运用放射性同位素技术研究吡喹酮在人体及实验动物体内的代谢,结果发现吡喹酮会迅速被机体吸收,且大多数药物在 24 h 后经尿液排出,以原药形式从尿液排泄的不足口服剂量的 0.1%<sup>[16-18]</sup>。Bühning 等<sup>[19]</sup>对吡喹酮在小鼠肝脏代谢后的代谢产物进行了研究,发现吡喹酮代谢后是被氧化成几种不同的羟化产物,经过质谱分析,得到其结构式。其中,一羟基代谢物(M1)的含量最高。

在对草鱼口服单剂量 10 mg/kg 吡喹酮后,在草鱼血浆中,吡喹酮及 M1 的达峰时间分别为 1 和 48 h,肝脏中吡喹酮及 M1 的达峰时间分别为 1 和 6 h,肠道中吡喹酮及 M1 的达峰时间分别为 0.5 和 0.5 h,肾脏中吡喹酮及 M1 的达峰时间分别为 1 和 48 h。除肠道外,吡喹酮代谢物在其他内脏内的达峰时间都延迟,可能是因为吡喹酮在组织中代谢需要经过一段时间,而肠道里药物容易被排空,所以肠道的药物滞留时间没有其他组织长且浓度高。

吡喹酮及其代谢物在草鱼血浆、肝脏、肠道和肾脏组织中均有分布,总残留量从大到小依次为肝脏、肾脏、血浆、肠道,吡喹酮及其代谢物在肝脏中残留量最高,消除速度最慢,因此初步推断出肝脏是其残留靶组织。草鱼血浆中吡喹酮的

峰浓度为 0.41  $\mu\text{g/mL}$ ,代谢物 M1 的峰浓度为 0.72  $\mu\text{g/mL}$ ,说明吡喹酮在草鱼体内代谢成 M1 的能力很强,除肠道外,吡喹酮一羟基代谢产物在血浆、肝脏和肾脏各组织中的残留量均大于吡喹酮。这说明吡喹酮原型药可能不是吡喹酮在鱼体内的残留标示物。

## 参考文献

- [1] 李涛,关天颖,于连智,等. 兽医药理学[M]. 北京:北京农业大学出版社,1993:384-385.
- [2] 阎继业. 畜禽药物手册[M]. 北京:金盾出版社,1997:191-192.
- [3] 徐军,汪文娟,金若敏,等. 药物大全[M]. 北京:人民出版社,1997:536-537.
- [4] CHISHOLM L, WHITTINGTON I D. Efficacy of praziquantel bath treatments for monogenean infections of the *Rhinobatos typus*[J]. J Aquat Anim Health, 2002, 14:230-234.
- [5] STEPHENS F J, CLEARY J J, JENKINS G, et al. Treatments to control *Haliotrema abaddon* in the West Australian dhufish, *Glaucosoma heptraicum*[J]. Aquaculture, 2003, 215(1/2/3/4):1-10.
- [6] SHARP N, DIGGLES B K, POORTENAAR C W, et al. Efficacy of Aqu-i-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* in New Zealand[J]. Aquaculture, 2004, 236(1/2/3/4):67-83.
- [7] HIRAZAWA N, MITSUBOSHI T, HIRATA T, et al. Susceptibility of spotted halibut *Verasper variegatus* (Pleuronectidae) to infection by the monogenean *Neobenedenia girellae* (Capsalidae) and oral therapy trials using praziquantel[J]. Aquaculture, 2004, 234(1/2/3/4):83-95.
- [8] 黄永,全钰珠,涂植光. 吡喹酮不同途径给药在大鼠体内药代动力学及自胆汁中的排泄[J]. 中国药理学通报, 1991, 7(3):205-209.
- [9] 徐佩佩,任中鲁,李咏雪,等. 高压液相法测定家兔用吡喹酮后的血药浓度及药代动力学参数[J]. 药学报, 1983, 18(6):401-405.
- [10] 贾冬舒,韩继福,马成林,等. 吡喹酮在绒山羊体内药代动力学的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(2):84-88.
- [11] 陈名刚. 国外吡喹酮临床研究的一些进展[J]. 寄生虫学与寄生虫病杂志, 1984, 2(2):193-195.
- [12] ROGSTAD A, HORMAZABAL V, YNDESTAD M. Extraction of praziquantel from fish tissue and its determination by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of chromatogr, 1987, 391(1):328-333.
- [13] BJÖRKLUND H, BYLUND G. Absorption, distribution and excretion of the anthelmintic praziquantel (Droncit) in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) [J]. Parasitology research, 1983, 18(6):240-244.
- [14] KIM K H, PARK S I, JEE B Y. Efficacy of oral administration of praziquantel and mebendazole against *Microcotyle sebastis* (Monogenea) infestations of cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. Fish Pathol, 1998, 33(5):467-471.
- [15] 谢欣燕,赵依妮,杨先乐,等. 盐度对吡喹酮预混剂在草鱼体内吸收及其残留消除规律的影响[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(7):102-107.
- [16] DIEKMANN H W, BUHRING K U. The fate of praziquantel in the organism. III. Metabolism in rat, beagle dog and rhesus monkey[J]. European J Drug Metab Pharmacokinetics, 1976, 1(2):107-112.
- [17] PATZSCHKE K, PÜTTER J, WEGNER L A, et al. Serum concentrations and renal excretion in humans after oral administration of praziquantel—results of three determination methods[J]. European J Drug Metab Pharmacokinetics, 1979, 4(3):149-156.
- [18] STEINER K, GARBE A, DIEKMANN H W, et al. The fate of praziquantel in the organism. I. Pharmacokinetics in animals [J]. European J Drug Metab Pharmacokinetics, 1976, 1(2):85-95.
- [19] BÜHRING K U, DIEKMANN H W, MÜLLER H, et al. Metabolism of praziquantel in man [J]. European J Drug Metab Pharmacokinetics, 1978, 3(3):179-190.