

# 喹赛多及其两种代谢产物在大鼠体内消除规律研究

斯琴朝克图<sup>1,2</sup>, 黄玲利<sup>2</sup>, 袁宗辉<sup>2\*</sup>

(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] 2016-11-09 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 04-0042-08 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 通过喹赛多(Cyadox, CYX)在大鼠体内消除规律研究, 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, 研究建立了喹赛多及其两种主要代谢产物脱二氧喹赛多(BDCYX)和喹噁啉-2-羧酸(QCA)的提取和HPLC检测方法, 并以大鼠作为研究载体, 按推荐剂量连续混饲给药7 d后, 研究喹赛多及其两种代谢物在血浆、肌肉、肝脏中消除规律; 一次性灌胃给药后研究喹赛多及其两种代谢物在排泄物中的消除规律特点。结果表明, CYX和BDCYX在0~24 h和24~48 h时间段的粪便中可大量检出, 在血浆、肌肉、肝脏和尿液中未检出; QCA在6 h的肌肉中有少量残留, 在肝脏中一直到72 h还有一定的残留, 在血浆和粪便中未发现其存在。本研究结果为今后喹赛多在体内处置研究提供了可直接借鉴的技术手段和理论基础。

**[关键词]** 喹赛多; 脱二氧喹赛多; 喹噁啉-2-羧酸; 消除规律

## The Elimination of Cyadox and Its Two Major Metabolites in Rats

HARNUD Sechenchogt<sup>1,2</sup>, HUANG Ling-li<sup>2</sup>, YUAN Zong-hui<sup>2\*</sup>

(1. College of Plant Science and Technology of Hubei Engineering University, The Hubei Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, 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)

**Abstract:** The elimination characteristic of cyadox (CYX) and its two major metabolites, 1,4-bisdesoxycyadox (BDCYX) and quinoxaline-2-carboxylic acid (QCA) were investigated in rats for its study on pharmacology, toxicology and food safety concerns. In this study, established a HPLC method for the determination of CYX, BDCYX and QCA. Following a five groups of Wistar rats (20 rats/group/sex) were fed with the diets containing CYX (100 mg/kg) 7 consecutive days and another group was a single oral gavage of CYX (10 mg/kg bw). The results showed that CYX and BDCYX were non-detectable in plasma, muscle, liver and urine, while detectable at 0~24 h and 24~48 h in feces. QCA was detected in muscle for 6h, and detected to 72h in liver while no detectable in plasma and feces. These results provide comprehensive information for the food safety evaluation of

**基金项目:** 国家重点基础研究发展“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方面研究。

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

CYX and will improve the understanding of the pharmacology and toxicology of CYX in animals.

**Key words:** CYX; BDCYX; QCA; Elimination

喹赛多(Cyadox, CYX),化学名为2-喹噁啉亚甲胍基氨基乙酸-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<sup>[1]</sup>,是一种新型的具有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<sup>[2]</sup>。卡巴氧和喹乙醇等同类药物已经被不同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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4-6]</sup>,且与同类药物相比毒性小,安全性好<sup>[7-9]</sup>,是一种比较理想的抗菌药物促生长剂。目前CYX在动物体内吸收、分布、代谢和排泄特点不明确,对食用其可食性组织的人体产生的药理学毒理学相关研究亦不完整,其食品动物中的合理应用方面的参考数据不充分。本文以大鼠作为研究载体,针对CYX原形及其已经拥有权威对照品的两种重要代谢产物脱氧喹赛多(BDCYX)和喹噁啉-2-羧酸(QCA)建立定量分析方法,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,研究喹赛多及其代谢产物在大鼠血浆、肌肉、肝脏和排泄物中消除规律。旨在为CYX药理学和毒理学评价提供可以借鉴的检测方法和相关消除规律特性的研究数据。

## 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 Photodiode Array detector 组成(美国 Waters 公司);高速冷冻离心机,HITACHI CR21G 型(日本日立公司);固相萃取装置(美国安捷伦公司)。

1.2 药物与试剂 CYX(纯度 99.8%;批号 20070806),由华中农业大学兽药研究所合成;BD-CYX(纯度 99.8%;批号 20080721),由华中农业大学兽药研究所合成;QCA(纯度 97%;批号 2010CJ)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 成年 Wistar 大鼠 30 只(购自湖北省疾病预防控制中心,中国武汉),公母各半,开始给药时的大鼠体重为  $202 \pm 18.10$  g。每只大鼠分别在不锈钢代谢笼内适应饲养一周,环境温度控制在  $20 \sim 26$  °C,相对湿度  $40 \sim 70\%$ ,维持 12 h 光照,非给药期间自由采食不含药物的全价日粮,观察大鼠每日健康状况。

### 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 rpm 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 rpm,4 °C 离心 10 min,取上清液 20  $\mu$ L 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、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 rpm 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 °C 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 °C 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 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 °C 下 6000 rpm 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 rpm 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(血浆和尿液 2 mL,粪便 2 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 °C 下 6000 rpm 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 rpm 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 °C 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  $\mu\text{m}$ , 250 mm $\times$ 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  $\mu\text{L}$ , QCA 为 40  $\mu\text{L}$ ,柱温:30 °C。

**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 只大鼠分成 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 只大鼠,公母各半,每只大鼠单独放入代谢笼内,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 等时间点随机放血

宰杀一组动物,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 只大鼠,公母各半,每只大鼠单独放入代谢笼内,用 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC)将 CYX 配制成 2 mg/mL 的混悬液,按每只大鼠 10 mg/kg bw(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 时间段收集尿液和粪便,每次收集后称重,立即用上述方法制样,检测。另 3 只大鼠不给药,分别收集未给药大鼠粪便和尿液作为空白样。

## 2 结果

### 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,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 的最大吸收波长分别为 305、280 和 320 nm;保留时间分别为 6.8、22.2 和 6.6 min。其标准溶液色谱图见图 1。

### 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 0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32、0.64、1.00、2.00  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作液,进行 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  $\mu\text{g/mL}$  时,其线性方程分别为: $y = 122100x + 1978.8(r = 0.9996)$ 、 $y = 81486x + 1415.2(r = 0.9996)$ 、 $y = 82807x - 1831.1(r = 0.9997)$ 。

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、肌肉和肝脏中的最低检测限均为 10  $\mu\text{g/kg}$ ,最低定量限分别为 20、25、20  $\mu\text{g/kg}$ ;三种化合物在尿液和粪便样

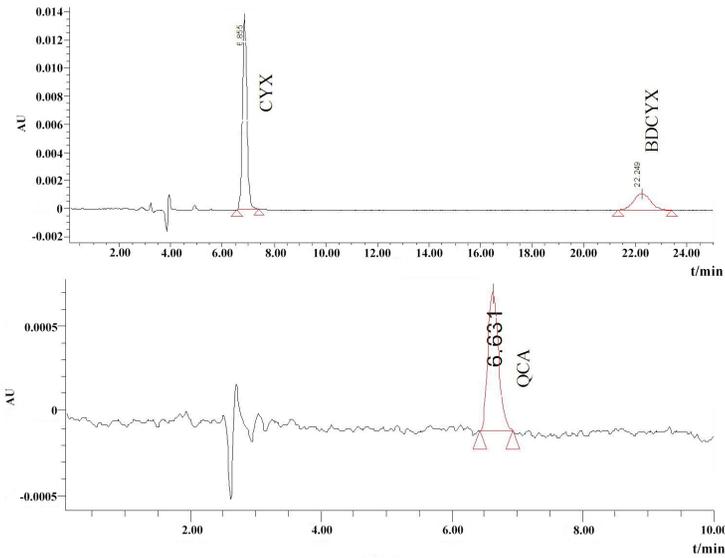


图1 CYX(1.00  $\mu\text{g/mL}$ )、BDCYX(1.00  $\mu\text{g/mL}$ )和QCA(0.10  $\mu\text{g/mL}$ )标准溶液色谱图

品中的最低检测限均为100  $\mu\text{g/kg}$ ,最低定量限分别为250、250、200  $\mu\text{g/kg}$ 。

**2.1.3 回收率与精密度** 向空白组织样品中加入适量标准溶液,使三种化合物在血浆、肌肉、肝脏中的浓度分别为20、40、80  $\mu\text{g/kg}$ ,尿液和粪便中的浓度分别为250、500、1000  $\mu\text{g/kg}$ ,按照样品制备方法处理后经HPLC检测。回收率采用单点校正法计算。同一天内每个浓度5个平行,取平均值,计算日内相对标准偏差;每种组织重复5 d,计算日间相对偏差。CYX、BDCYX和QCA在大鼠血浆、肌肉、肝脏、尿液和粪便中的添加回收率和日间相对标准偏差见表1。当QCA的回收率在72%~106%,批内标准偏差为3.64%~10.23%,批间标准偏差为4.67%~9.57%;CYX的回收率范围在72%至85%之间,批内标准偏差为2.94%~8.56%,批间标准偏差为4.60%~10.23%;BDCYX的回收率范围在73%~88%之间,批内标准偏差为2.99%~9.51%,批间标准偏差为3.94%~11.04%;均满足定量分析方法需要。

**2.2 连续混饲给药7 d 停药后血浆和组织中三种化合物消除规律** 大鼠连续混饲给药7 d,停药后CYX、BDCYX和QCA在血浆肌肉和肝脏中的浓度见表2。检测结果表明,大鼠连续混饲CYX 7 d停

药后,血浆、肌肉和肝脏中未检测到CYX原形,BDCYX浓度低于检测限。停药后6 h的肌肉中检测到微量QCA(16.68  $\mu\text{g/kg}$ ),其含量在定量限以下(图2);肝脏中一直能检测到72 h(图3);在血浆中未检测到QCA。

**2.3 一次性灌服CYX后排泄物中三种化合物的消除规律** 大鼠一次性灌服CYX后CYX、BDCYX和QCA在排泄物中的浓度见表3。检测结果表明,给药后0~24 h和24~48 h时间段的尿液中大量检出QCA(图4),之后时间段的QCA含量均在检测限以下。尿液中始终未检测到CYX原形,BDCYX的含量在检测限以下。粪便中0~24 h和24~48 h均能检测到大量CYX和BDCYX(图5),之后,CYX和BDCYX均在检测限以下。粪便中未检测到QCA。

### 3 讨论

**3.1 代谢产物检测方法的确定** 本研究的主要研究对象为CYX原形及其两种主要代谢产物BDCYX及QCA。CYX原形及其脱氧代谢产物的提取检测方法相关报道都基本相似<sup>[2,5,10]</sup>。血浆提取方法是加入同体积甲醇,离心沉淀蛋白,取上清液直接用HPLC检测。可食性组织用乙酸乙酯或乙腈提取,正己烷去脂。粪便用乙酸乙酯或乙腈提取,

表1 CYX、BDCYX 和 QCA 在大鼠血浆、肌肉、肝脏和排泄物中的添加回收率 (n=5)

样品	添加浓度/( $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	CYX/%	BDCYX/%	QCA/%
血浆	20	80.22±4.60	78.65±9.61	93.04±7.21
	40	76.68±4.89	88.12±6.83	80.25±8.41
	80	75.83±7.18	80.88±7.92	76.26±7.11
肌肉	20	77.29±8.27	88.40±8.03	106.36±9.14
	40	83.37±7.24	82.92±3.94	99.38±4.67
	80	80.79±5.23	78.41±5.53	80.11±7.13
肝脏	20	85.42±5.87	77.69±7.38	97.43±7.66
	40	72.57±9.58	85.15±6.78	87.59±8.34
	80	74.44±6.21	76.26±6.65	78.56±5.90
粪便	250	81.18±8.33	77.69±11.04	105.25±8.39
	500	72.41±10.23	80.11±8.29	88.35±7.19
	1000	72.92±9.91	72.93±7.76	89.21±6.27
尿液	250	75.67±6.63	81.26±10.18	102.27±9.57
	500	72.68±6.78	76.43±8.91	88.79±8.22
	1000	73.31±9.04	71.44±9.23	71.83±5.81

表2 大鼠连续混饲给药 7 d 停药后 CYX、BDCYX 和 QCA 在血浆、肌肉和肝脏中的浓度 (n=6)

化合物	组织	浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )				
		6 h	24 h	3 d	7 d	14d
CYX	肌肉	ND	ND	ND	ND	ND
	肝脏	ND	ND	ND	ND	ND
	血浆	ND	ND	ND	ND	ND
BDCYX	肌肉	ND	ND	ND	ND	ND
	肝脏	ND	ND	ND	ND	ND
	血浆	ND	ND	ND	ND	ND
QCA	肌肉	16.68±1.31	ND	ND	ND	ND
	肝脏	162.60±8.43	64.3±4.89	25.55±1.90	ND	ND
	血浆	ND	ND	ND	ND	ND

ND: 低于检测限或未检出

表3 大鼠一次性灌服 CYX 后 CYX、BDCYX 和 QCA 在排泄物中的浓度 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

样本	时间/h	CYX	BDCYX	QCA
粪便	0~24	41377.82±1310.31	25450.96±873.13	ND
	24~48	468.58±26.06	395.65±11.81	ND
	48~72	ND	ND	ND
尿液	0~24h	ND	ND	16210.58±791.42
	24~48	ND	ND	559.75±32.54
	48~72	ND	ND	ND

ND: 低于检测限或未检出

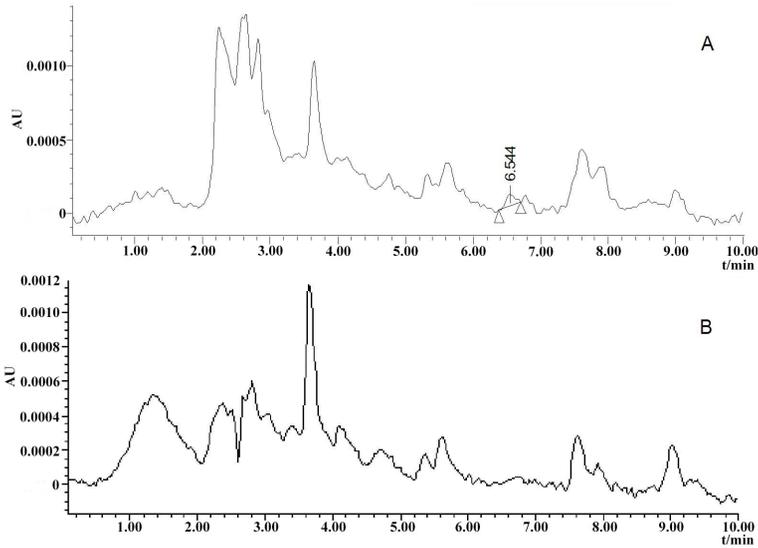


图2 在停药后6 h 宰杀的大鼠肌肉中 QCA 色谱图(A:6 h;B:空白)

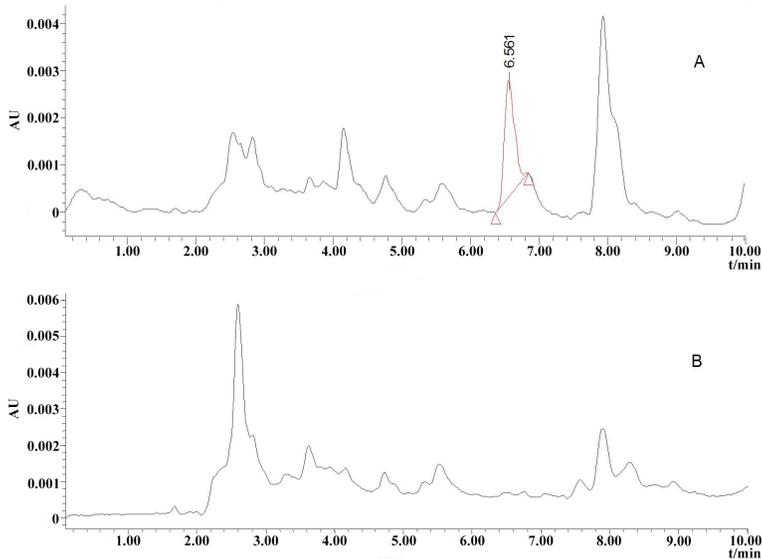


图3 在停药后6 h 宰杀的大鼠肝脏中 QCA 色谱图(A:6 h;B:空白)

薄层板分离纯化。如黄丽娜<sup>[11]</sup>建立了鸡蛋中 CYX 和 BDCYX 的提取方法。匀浆鸡蛋中依次加入浓盐酸溶液混合,用乙腈/氯仿(1:4, V/V)提取,正己烷去脂。在已有报道的基础上,本研究综合 CYX 和 BDCYX 等化合物的性质,建立了大鼠体内代谢产物的提取检测方法。血浆中的提取方法仍采取已有方法,加入同体积甲醇,离心沉淀蛋白,取上清液直接检测。采用此方法的样品中,包涵了与蛋白质紧密结合的代谢产物之外的所有游离代谢产物,可在后期利用放射性示踪方法进行 CYX 在体内的处置研究。其它组织采取乙酸乙酯提取,正己烷去

脂的方法。尿液和粪便中加入同重量的甲醇/水(1:1, V/V)混合,乙酸乙酯提取,用正己烷去脂,适当稀释后直接用乙腈-水(20:80 V/V)作为流动相,分离 CYX 和 BDCYX,可省去薄层板分离纯化步骤,方法简便,而且得到了很好的检测效果。

对于 QCA 的提取和检测方法, Sestakova 等<sup>[12]</sup>采用极谱法分析猪体内喹赛多及其代谢产物,未直接检测到 QCA,却检测到了喹噁啉-2-甲酰基-甘氨酸。说明 QCA 是以结合态存在。因此,之后的研究方法中先水解结合态物质,再针对 QCA 建立提取净化和检测方法。如,2002 年 Hutchinson

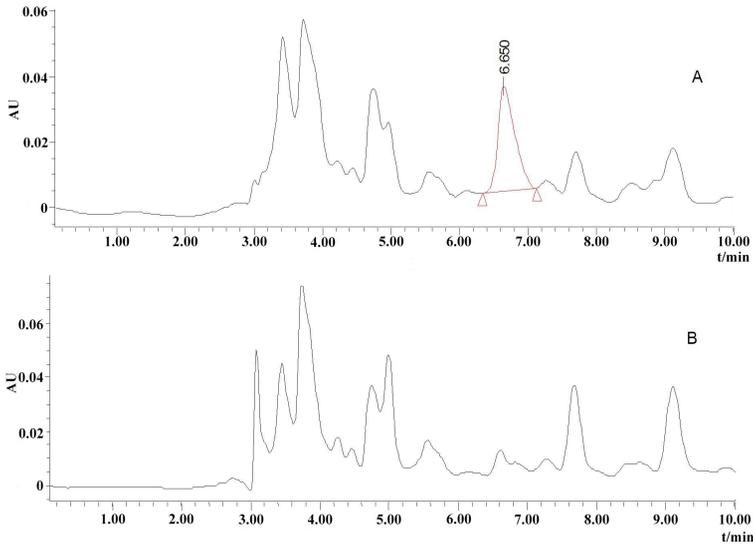


图4 在给药后0~24 h的大鼠尿液中QCA 色谱图(A:6 h;B:空白)

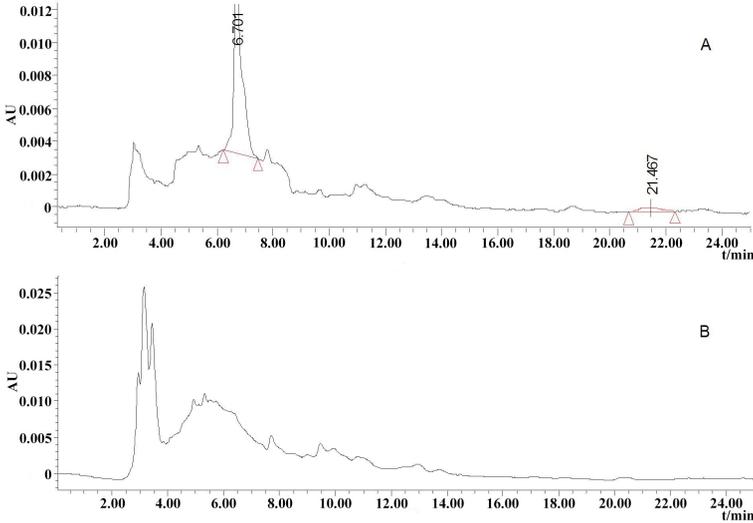


图5 在给药后0~24 h的大鼠粪便中CYX 和 BDCYX 色谱图(A:6 h;B:空白)

等<sup>[13]</sup>采用热碱性条件下水解样品 45 min 以上,然后经浓盐酸酸化后,用乙酸乙酯可提取到猪肝脏中的 QCA。2004 年 Sin 等<sup>[14]</sup>建立了猪肝脏组织中 QCA 的 GC-MS 分析方法,采用偏磷酸甲醇溶剂在酸性环境下水解,乙酸乙酯提取,耗时较短。2003 年邱银生<sup>[10]</sup>,2005 年黄玲利<sup>[5]</sup>均采用浓 NaOH 水解,浓盐酸酸化后,用乙酸乙酯提取,离子交换层析柱纯化的方法,此方法耗时,步骤复杂。2005 年 Hutchinson 等<sup>[15]</sup>采用酶解方法,破坏组织样品中氨基酸与 QCA 的结合,再用乙酸乙酯提取样品,但耗时长,一般需要 16 h 以上。Wu Y 等<sup>[16]</sup>采用了 5% 偏磷酸 10% 甲醇提取方法提取了 QCA。

试验证明,5%偏磷酸 10%甲醇提取 QCA 方法操作简便,回收率稳定。综合上述提取方法的优缺点和本文研究目的,用 5%偏磷酸 10%甲醇提取,MAX 柱分离杂质,采用与 CYX 和 BDCYX 基本相同的色谱系统,用乙腈-1%甲酸水溶液(20 : 80 V/V)分离 QCA。在后期用放射性示踪方法研究 CYX 在体内处置特点时,相关结合产物的分离和检测均可借鉴此方法。

当排泄物前处理方法与血浆、组织前处理方法不同时,造成多种样品的批量处理过程耗时又耗料。因此,为了尽量避免繁琐的前处理方法,CYX 和 BDCYX 还是沿用了组织中的提取检测方法。对于排泄物中 QCA 的提取和检测方法,采取了与肝

脏组织相同的提取程序和检测条件,且能够满足本研究要求。

### 3.2 CYX, BDCYX 和 QCA 消除规律

邱银生<sup>[10]</sup>给猪单次灌服 CYX(40 mg/kg bw),用 HPLC 法测定。粪便中可检出原形药物,未检出任何其它代谢产物,尿中未检出原形药物及其脱二氧代谢产物,却检出 QCA 的结合物。仔猪连续混饲 CYX(100 g/1000 kg) 2 个月,停药后 12 h 肝脏、肾脏、肌肉和脂肪等组织中未检出 CYX 和 BDCYX,可检出 QCA,且体内残留时间最长。黄玲利<sup>[5]</sup>研究表明,30 日龄艾维茵商品肉鸡连续混饲 100 mg/kg CYX 10 d 后,采用 HPLC 法检测,停药后 6 h 各组织中 CYX 和 BDCYX 消除至检测限量(0.025 μg/kg)以下,肝、肾组织中仅检出 QCA。

本研究采用连续混饲给药 7 d,检测大鼠体内血浆、肌肉和肝脏,以及一次性灌胃给药后的尿液和粪便中 CYX、BDCYX 和 QCA 的消除规律。检测结果表明,连续混饲给药 7 d 后的血浆、肌肉和肝脏中未检测到 CYX 和 BDCYX。停药后 6 h 的肌肉中检测到微量 QCA,肝脏 72 h 内均可检测到 QCA,血浆中未检测到 QCA。一次性灌胃给药后的尿液中 0~24 h 大量检出 QCA,48 h 以后无法检测到 QCA。粪便中检测不到 QCA,却在 24 h 检测到大量 CYX 和 BDCYX。本研究建立了 CYX 及其两种代谢产物 BDCYX 和 QCA 的提取净化和 HPLC 检测方法,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,并通过研究喹赛多及其代谢产物在大鼠血浆、肌肉、肝脏和排泄物中消除规律,为后期体内外处置研究提供了初步理论基础。

### 参考文献:

- [1] Vries H D, Bojarski J, Donker A A, *et al.* Photochemical reactions of quinoxin, olaquinox, carbadox and cyadox with protein, indicating photoallergic properties [J]. *Toxicology*, 1990, 63(1):85-95.
- [2] 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 quinoxin, carbadox and olaquinox 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, *et al.* 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其安全性研究[D]. 华中农业大学, 2005.
- [6] Ding M X, Yuan Z H, Wang Y L, *et al.* Olaquinox 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):100-104.
- [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):324-333.
- [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] 邱银生. 喹赛多在猪体内的药理学和残留研究[D]. 华中农业大学, 2003.
- [11] 黄丽娜. 喹赛多在蛋鸡的有效性与其安全性研究[D]. 华中农业大学, 2008.
- [12] Sestakova I, Skarka P, Manousek O. Determination of QCA in porcine liver by polar-graphic. [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1988, 16:29-32.
- [13] Hutchinson M J, Young P Y, Hewitt S A, *et al.* Development and validation of an improved method for confirmation of the carbadox metabolite, quinoxaline-2-carboxylic acid, in porcine liver using LC-electrospray MS-MS according to revised EU criteria for veterinary drug residue analysis. [J]. *Analyst*, 2002, 127(3):342-346.
- [14] Sin D W M, Chung L P K, Lai M M C, *et al.* Determination of quinoxaline-2-carboxylic acid, the major metabolite of carbadox, in porcine liver by isotope dilution gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 508(2):147-158.
- [15] Hutchinson M J, Young P B, Kennedy D G. Confirmation of carbadox and olaquinox metabolites in porcine liver using liquid chromatography-electrospray, tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 2005, 816(1-2):15-20.
- [16] 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.