

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.08.03

# UPLC-MS/MS 测定牛血浆中加米霉素方法的建立

孙晨明<sup>1</sup>, 高嫣璐<sup>2</sup>, 徐亚亚<sup>1</sup>, 聂雅<sup>2</sup>, 张思微<sup>2</sup>, 刘瑜<sup>2</sup>, 卜仕金<sup>2\*</sup>

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300;

2. 扬州大学兽医学院, 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏扬州 225009)

[收稿日期] 2023-02-07 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 08-0019-07 [中图分类号] S859.83

**[摘要]** 建立牛血浆中加米霉素含量的 UPLC-MS/MS 检测方法。血浆样品经甲醇沉淀蛋白, 外标法定量, 使用 Waters ACQUITY UPLC® HSS T3 色谱柱, 以甲醇:10 mM 乙酸铵缓冲液为流动相, 流速 0.3 mL/min; 柱温:50 °C; 进样量:10 μL。三重四级杆质谱仪电喷雾离子源 (ESI), 正离子扫描、多反应监测 (MRM)。考察方法的线性范围、准确度与精密度、稳定性和稀释可靠性。结果显示, 加米霉素出峰时间在 1 min 左右, 本方法在 1~100 ng/mL 浓度范围内呈良好的线性关系, 相关系数  $r \geq 0.999$ , 检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 0.5 ng/mL 和 1 ng/mL。3 个浓度 (1、50 和 100 ng/mL) 的空白血浆添加样品批内和批间平均回收率分别在 85.23%~95.63% 和 87.73%~93.97% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 分别在 1.402%~13.92% 和 2.903%~8.680% 之间。准确度和精密度、稳定性及稀释可靠性均符合生物样品分析的相关要求。本方法可用于牛的血浆中加米霉素的浓度测定及药代动力学研究。

**[关键词]** 加米霉素; 超高效液相色谱-串联质谱; 牛血浆

## Establishment of Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Determination of Gamithromycin in Cattle Plasma

SUN Chen-ming<sup>1</sup>, GAO Yan-jun<sup>2</sup>, XU Ya-ya<sup>1</sup>, NIE Ya<sup>2</sup>, ZHANG Si-wei<sup>2</sup>, LIU Yu<sup>2</sup>, BU Shi-jin<sup>2\*</sup>

(1. Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou, Jiangsu 225300, China; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Corresponding author: BU Shi-jin, E-mail: sjbo@yzu.edu.cn

**Abstract:** To establish a UPLC-MS/MS method for the determination of gamithromycin in bovine plasma, the protein in the plasma samples was precipitated by methanol, and the gamithromycin concentration was quantified by external standard method. Using methanol:10 mM ammonium acetate buffer as mobile phase, and the quantitative analysis is carried out by triple quadrupole mass spectrometer with positive electrospray ionization (ESI) mode with multiple reaction monitoring (MRM) mode. The linear range, accuracy and precision, stability

基金项目: 中国特色高水平高职学校和专业建设项目建设(教职成函[2019]14号)

作者简介: 孙晨明, 讲师, 硕士研究生, 从事兽医药理与毒理学研究。

通讯作者: 卜仕金。E-mail: sjbo@yzu.edu.cn

and dilution reliability of the method were investigated. The results show that the linear relationship in the concentration range of 1 ~ 100 ng/mL was illustrious, correlation coefficient ( $r$ ) was greater than 0.999, and the LOD and LOQ was 0.5 ng/mL and 1 ng/mL, respectively. At the added concentration of 1 ng/mL, 50 ng/mL, and 100 ng/mL, the within-run and between-run mean recovery rate of gamithromycin were ranged from 85.23% to 95.63% and 87.73% to 93.97%, respectively, and the relative standard deviation ( $RSD$ ) were ranged from 1.402% to 13.92% and 2.903% to 8.680%, respectively. The accuracy, precision, stability, and dilution reliability all meet the relevant requirements of biological sample analysis. The method is simple, sensitive, rapid, and accurate, which is appropriate for determine the concentration of gamithromycin in bovine plasma and use in pharmacokinetics study.

**Key words:** gamithromycin; UPLC-MS/MS; bovine plasma

加米霉素为动物专用的十五元环半合成大环内酯类抗生素,属于大环内酯类的氮杂内酯(Azalide)亚类<sup>[1]</sup>。其药理作用的发挥主要通过与原核生物核糖体 50S 亚基的 23S 核糖体结合,使原核生物蛋白质的合成受到抑制,这一点是大环内酯类抗生素的共同特点<sup>[2-3]</sup>。加米霉素为时间依赖性抗菌药,高浓度时可杀灭细菌<sup>[4]</sup>,其具有氮杂内酯类抗生素的药理学和药理学特性<sup>[5]</sup>,对细胞膜穿透力较十四元大环内酯类抗生素显著增强,同时组织中药物浓度提高、半衰期延长<sup>[6]</sup>;与同类抗生素如阿奇霉素、罗红霉素等相比,加米霉素具有良好的抗菌效果,且对革兰氏阴性和阳性菌均有较强的抗菌活性<sup>[7]</sup>,在畜禽养殖生产和兽医临床具有广阔的应用前景。法国梅利亚公司将其开发为注射液(ZACTRAN<sup>®</sup>, Merial),在美国,ZACTRAN<sup>®</sup>批准用于治疗肉牛和干乳期奶牛由溶血性曼氏杆菌(*Mannheimia haemolytica*)、多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)、睡眠嗜组织菌(*Histophilus somni*)和牛支原体(*Mycoplasma bovis*)引起的牛呼吸道疾病(BRD)<sup>[8]</sup>。在我国加米霉素注射液批准用于治疗牛和猪的呼吸道疾病<sup>[9]</sup>,除已批准的适应症外,加米霉素还可用于治疗相关病原体引起的羊腐蹄病和跛行<sup>[10]</sup>。对于大环内酯类抗生素,固相萃取已成为多种基质样品前处理的常规技术<sup>[11]</sup>,然而此种样品制备程序耗时且昂贵,不利于需要分析大量样品的研究,如药代动力学研究。因此,本研究旨在建立和验证一种简单、灵敏、快速测定牛血浆加米霉素含量的 UPLC-MS/MS

检测方法,为加米霉素在牛的药代动力学(PK)等研究提供方法支持。

## 1 材料与方法

1.1 仪器和试剂 仪器:Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪;AB SCIEX 5500 三重四极杆质谱仪;Waters ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3 色谱柱(1.8  $\mu\text{m}$ , 2.1 mm  $\times$  100 mm);QUINTIX124-1CN 电子分析;Genius2 3010、ABN2ZA 氮气发生器;Organomation Nitrogen Evaporator 氮吹仪;Eppendorf Centrifuge 5810R 高速冷冻离心机。

试剂:由齐鲁动保生产的纯度为 98.2% 加米霉素对照品(批号:20110315);由扬州大学实验农牧场奶牛场提供的中国荷斯坦牛空白血浆;由德国默克公司生产的色谱级甲醇溶液;乙酸铵为阿拉丁试剂有限公司分析纯产品;冰醋酸购自国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 溶液的配制

1.2.1 流动相 首先配制 10 mM 乙酸铵溶液,准确称取乙酸铵 0.7708 g 于 1000 mL 容量瓶中,用超纯水溶解、定容并混合均匀后,用冰醋酸调节 pH 至 3.6。将甲醇溶液和 10 mM 乙酸铵缓冲液以 70:30 的比例混合即为流动相,流动相经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,超声脱气。

1.2.2 标准储备液及工作液 精密称定加米霉素对照品 10 mg 置于 25 mL 容量瓶中,甲醇溶解并定容,即配成浓度为 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  加米霉素标准储备液,小瓶分装后置 -20  $^{\circ}\text{C}$  下保存备用,有效期 6 个月。准确吸取适量加米霉素标准储备液用流动相稀释成系列标准工作液,现用现配。

1.3 方法

1.3.1 样品前处理 于 10 mL 离心管中加入 0.5 mL 新鲜或冻融的血浆,加入 4.0 mL 甲醇,涡旋 5 min,超声 5 min 后 10000 r/min 高速离心 12 min,分离上清液至另一 10 mL 离心管。上清液经 40 °C 氮吹至干后用 1.0 mL 流动相复溶,漩涡 5 min 后转移至 2 mL 离心管中, 13000 r/min 超高速离心 6 min 后,经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后收集于进样瓶中待检测。

1.3.2 UPLC 条件 Waters ACQUITY UPLC® HSS

T3(1.8 μm,2.1 mm × 100 mm) 色谱柱;流动相为 甲醇 : 10 mM 乙酸铵缓冲液 (V: V = 70: 30, pH = 3.6);流速:0.3 mL/min;柱温:50 °C;样品室温度: 4 °C;进样量:10 μL。

1.3.3 MS 条件 离子源为电喷雾离子源(ESI);扫描方式采用正离子扫描;采用多反应监测(MRM);使用串联(TQ)四级杆检测器;离子源温度为 550.0 °C;电喷雾电压为 5500.0 V;去簇电压为 101.94 U/V;气帘气压力为 20.0 Psi;碰撞室压力为 8 Psi。碰撞电压、摄入电压等见表 1。

表 1 特征离子质谱参数

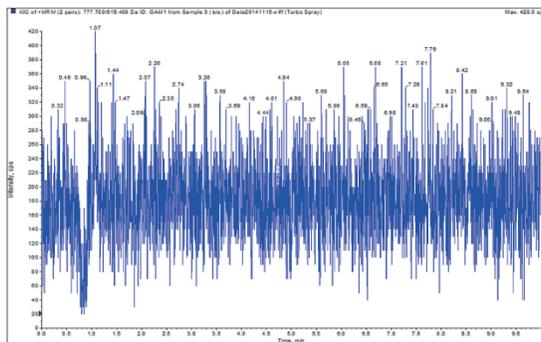
Tab 1 Mass spectrometry detection parameters of characteristic ion

检测物	定性离子对(m/z)	碰撞电压/V	定量离子对(m/z)	碰撞室射出电压/V	摄入电压/V
加米霉素	777.7 > 619.4	41.68	777.7 > 619.4	12.0	10.0
霉素	777.7 > 158.2	48.16			

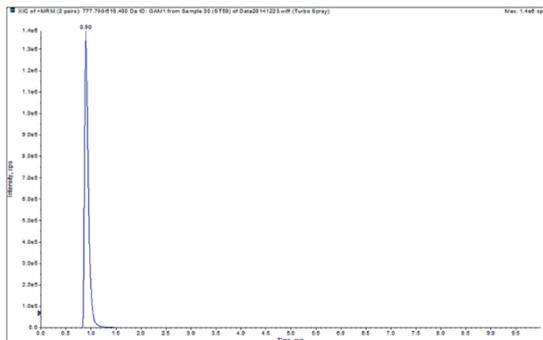
2 结果与分析

2.1 色谱行为 空白血浆离子流色谱图、加米霉素对照品和空白血浆添加加米霉素对照品总离子流色谱见图 1。加米霉素在试验建立的色谱检测条

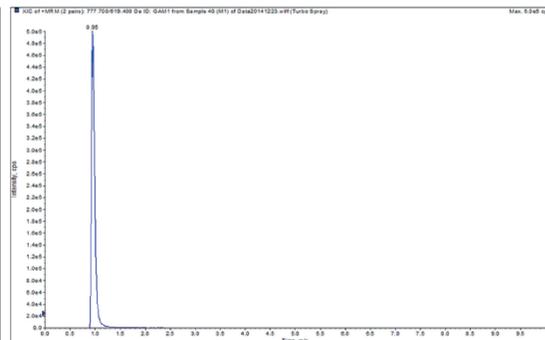
件下能与溶剂峰和血浆中其他杂质完全分离,色谱峰形良好且附近无杂质峰干扰,出峰时间在 1 min 左右,说明建立的色谱条件满足后期牛血浆中加米霉素的定量分析研究。



A



B



C

A 为空白血浆总离子流色谱图;B 为加米霉素对照品(50 ng/mL)总离子流色谱图;C 为空白血浆添加加米霉素(50 ng/mL)总离子流色谱图。

图 1 总离子流色谱图

Fig 1 Total ion flow chromatogram

2.2 标准曲线及线性范围 空白血浆中加入适量标准工作液配制浓度为 100、75、50、25、10、5、2.5 和 1 ng/mL 加米霉素空白血浆添加样品,按 1.3 项所述方法处理样品并检测,拟合标准曲线主要以检测的加米霉素特征离子峰面积为纵坐标,横坐标是对应的标准溶液浓度,每个浓度重复 3 次。结果显示,加米霉素在浓度 1 ~ 100 ng/mL 呈现良好线性关系,相关系数均大于 0.9990,见表 2。

表 2 加米霉素标准曲线方程

Tab 2 Standard curve equation of gamithromycin

批次	线性范围 /(ng · mL <sup>-1</sup> )	标准曲线回归方程	r
1	1 ~ 100	$y = 7.552e^4x + 2.316e^4$	0.9994
2	1 ~ 100	$y = 6.958e^4x + 2.454e^4$	0.9997
3	1 ~ 100	$y = 7.970e^4x + 2.532e^4$	0.9993

e<sup>4</sup> 指 10<sup>4</sup>,下同。

2.3 检测限和定量限 将适量标准工作液加入到空白血浆制成不同浓度的添加样品,每个浓度 5 个

平行,按 1.3 项所述方法进行样品处理和仪器检测,检测限(LOD)由信噪比(S/N) ≥ 3 确定,定量限(LOQ)由 S/N ≥ 10 时确定。结果显示,加米霉素对照品溶液浓度为 0.5 ng/mL 时 S/N ≥ 3,且相对离子丰度符合要求;加米霉素对照品溶液浓度为 1 ng/mL 时 S/N ≥ 10,且准确度和精密度满足定量分析要求,因此,本方法的 LOD 和 LOQ 分别为 0.5 ng/mL 和 1 ng/mL。

2.4 准确度和精密度 依据回收率考察准确度,批内和批间相对标准偏差(RSD)考察精密度。分别配制浓度为 100、50 和 1 ng/mL 的加米霉素空白血浆添加样品,按 1.3 项所述方法处理样品并检测,测定结果代入随行标准曲线计算实测值。每个浓度 5 个平行,共重复 3 批。结果显示上述添加浓度下的加米霉素批内回收率在 85.23% ~ 95.63% 之间,批间回收率在 87.73% ~ 93.97% 之间,批内和批间 RSD 均小于 14% (表 3)。

表 3 血浆中加米霉素添加回收率及相对标准偏差

Tab 3 Recovery rate and RSD of gamithromycin in plasma

添加浓度(ng/mL)	实测浓度/(ng · mL <sup>-1</sup> )					批内/%		批间/%	
	1	2	3	4	5	回收率	RSD	回收率	RSD
1	0.964	0.954	0.700	0.946	1.036	92.00	13.92	92.07	8.680
	0.866	0.895	0.884	0.916	0.940	90.02	3.187		
	0.889	0.865	0.988	0.953	1.014	94.18	6.749		
50	49.46	46.52	47.90	48.60	45.83	95.32	3.117	93.97	4.033
	49.08	46.56	49.15	48.41	45.87	95.63	3.154		
	48.53	45.52	45.40	44.75	43.20	90.96	4.264		
100	92.48	88.36	89.90	90.62	90.03	90.28	1.648	87.73	2.903
	90.31	86.18	86.26	88.67	87.04	87.69	2.022		
	87.21	85.38	84.77	84.70	84.10	85.23	1.402		

回收率均基于平均实测浓度计算。

## 2.5 稳定性考察

2.5.1 标准储备液的稳定性 用流动相稀释适量标准储备液使其浓度为 50 ng/mL,按 1.3 项下色谱与质谱条件检测得第 0 时检测结果。标准储备液

的储存条件为 -20 ℃,分别于第 30 天、90 天、180 天取出,配制浓度为 50 ng/mL 的标准工作液再次检测。试验结果见表 4,结果显示,不同放置时间平均实测峰面积于 0 时比较偏差均小于 5%,RSD

( $n = 10$ )均小于 5%,表明加米霉素标准储备液于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  放置 6 个月仍可保持稳定。

表 4 标准储备液稳定性试验结果

Tab 4 Stability of stock solution test results

工作液浓度 $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	放置 时间	平均实测峰面积 ( $e^5$ )	偏差 /%	RSD /%
50	0 时	77.9 ± 2.36	-	-
	1 个月	73.2 ± 2.08	1.07	2.84
	3 个月	75.3 ± 2.01	1.14	2.80
	6 个月	76.6 ± 2.93	0.01	3.31

偏差基于 0 时平均实测峰面积计算。

2.5.2 血浆样品反复冻融后的稳定性 制备三个浓度的空白血浆添加样品,分别为 1、50 和 100 ng/mL,三个浓度各 5 个平行,按 1.3 项所述方法处理上机检测,得到冻融 0 次检测结果,剩余空白血浆添加样品于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  下储存不少于 24 h 后取出,冻存样品解冻、冻存、解冻循环 3 次,两次冻融间隔时间至少 5 h,3 个冻融循环后按 1.3 项所述方法处理样品并检测,检测结果代入随行标准曲线计算实测浓度。试验结果见表 5,结果显示,0 次和 3 次冻融循环后平均实测值与标示值比较,偏差小于 15%, $RSD(n = 5)$  小于 10%,说明经 3 个循环冻融 ( $+22\text{ }^{\circ}\text{C}/-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 后牛血浆样品中的加米霉素仍可保持稳定。

表 5 血浆样品反复冻融后的稳定性试验结果

Tab 5 Freeze - thaw plasma stability test results

冻融循环次数	添加浓度 $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	平均实测值 $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	偏差 /%	RSD /%
0 次	1	0.93 ± 0.05	7.00	5.38
	50	46.7 ± 1.73	6.62	3.71
	100	86.1 ± 0.91	13.9	1.06
3 次	1	0.90 ± 0.04	10.0	4.44
	50	46.4 ± 0.74	7.22	1.60
	100	86.4 ± 1.58	13.6	1.83

偏差基于平均实测值与标示值计算。

2.5.3 血浆样品贮存期间的稳定性 制备三个浓

度的空白血浆添加样品,分别为 1、50、100 ng/mL,三个浓度各 5 个平行,按 1.3 项所述方法处理样品并上机检测,得到第 0 时检测结果,将上述空白血浆添加样品冻存 ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 1 周和 1 个月后再分别对各个浓度的血浆样品进行检测,检测结果代入随行标准曲线计算实测浓度。试验结果见表 6,结果显示,不同贮存时间平均实测浓度与标示值偏差均小于 15%, $RSD(n = 5)$  均小于 10%,表明血浆样品中加米霉素至少可在冻存条件下保持稳定 1 个月。

表 6 血浆样品贮存期间的稳定性试验结果

Tab 6 Stability of plasma samples during storage test results

贮存时间	添加浓度 $/(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$	平均实测浓度 ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	偏差 /%	RSD /%
0 时	1	0.93 ± 0.05	6.80	5.15
	50	46.7 ± 1.73	6.62	3.71
	100	86.1 ± 0.91	13.9	1.05
1 周	1	0.92 ± 0.04	8.20	4.14
	50	46.8 ± 0.38	6.36	0.82
	100	86.4 ± 1.02	13.6	1.18
1 个月	1	0.93 ± 0.02	7.20	1.83
	50	47.0 ± 0.91	6.00	1.93
	100	87.3 ± 2.17	12.7	2.48

偏差基于平均实测值与标示值计算。

2.6 稀释可靠性 准确吸取提前制备好的浓度为 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的加米霉素工作液 1 mL 与 9 mL 牛空白血浆充分混合,使其浓度为 3000 ng/mL。将上述空白血浆添加样品适量加入一定量的空白血浆中混匀稀释,分别按照稀释 100、50 和 20 倍制备成浓度为 150、60 和 30 ng/mL 的待检样品,三个稀释浓度各 6 个平行,按 1.3 项所述方法处理样品并检测,检测结果与空白血浆添加标准品比较。血浆样品稀释可靠性试验结果见表 7,3 个稀释倍数实测峰面积  $RSD(n = 11)$  均小于 5%。

表 7 稀释可靠性试验结果

Tab 7 Dilution reliability test results

稀释后浓度 ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	稀释倍数	配制方式	实测峰面积( $e^6$ )						RSD/%
			1	2	3	4	5	6	
30	100	加标	5.295	5.542	5.448	5.696	5.542		3.459
		稀释	5.620	5.704	5.613	5.588	5.703	6.078	
60	50	加标	9.867	9.518	9.944	9.852	9.152		4.099
		稀释	9.907	9.962	9.215	9.450	10.20	10.45	
150	20	加标	17.91	18.66	18.53	19.46	18.99		2.952
		稀释	17.80	18.67	19.53	19.13	18.76	19.05	

### 3 讨论与结论

3.1 血浆样品前处理 动物血浆中加米霉素含量的检测方法国内外均有丰富的报道, Huang 等<sup>[5]</sup>以加米霉素-d5 为内标, 0.1 M 磷酸二氢钾缓冲液沉淀蛋白后, 经 Oasis<sup>®</sup>MCX 96 孔 SPE 板净化, 该方法已用于加米霉素在牛、羊<sup>[10]</sup>及羊驼<sup>[11]</sup>的多项血浆药动学研究; 在国内, 王红霄等<sup>[12]</sup>使用乙腈沉淀蛋白后, 经 40 °C 氮气吹干, 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸溶液( $V/V = 1:4$ )复溶, 用于加米霉素在猪的药动学研究。相比于固相萃取法, 蛋白沉淀法有效节约了前处理的时间和成本, 在样品量大的情况下具有明显优势。乙腈可以有效的提取人血浆中的大环内酯类药物<sup>[11]</sup>, 同时甲醇也是血浆样品前处理常用的蛋白沉淀剂, 试验中分别考察了两者的提取效果, 结果显示, 甲醇沉淀蛋白能力强于乙腈, 且回收率更高。同时, 对前处理过程进行多种尝试后发现, 加入提取液涡旋震荡后超声 5 min、氮气吹干复溶后超高速离心均有利于提高回收率。

3.2 流动相的选择 流动相的组成、浓度和 pH 值对大环内酯类化合物的色谱分离至关重要。甲醇和乙腈是作为 UPLC 流动相最常见的两种有机溶剂, 同时甲酸(0.1%)或乙酸铵(10~20 mM)通常作为流动相的改性剂<sup>[13]</sup>。试验过程中, 尝试使用乙腈-磷酸盐缓冲液作为流动相, 但分离效果不佳, 且峰形宽。比较多种组合后, 最终确定甲醇:10 mM 乙酸铵( $V/V = 70:30$ , pH = 3.6)为流动相, 与以乙腈:10 mM 乙酸铵( $V/V = 50:50$ , pH = 3.6)为流动相的 HPLC-MS/MS 方法(LOQ 为 2

$\text{ng/mL}$ )<sup>[5]</sup>相比, 本方法 LOQ(1  $\text{ng/mL}$ )更低, 同时甲醇具有成本低, 试验后系统冲洗时间短等优势。

3.3 线性范围的确定 血浆中加米霉素添加浓度高于 100  $\text{ng/mL}$  时, 色谱图显示过载, 出现分叉峰, 且易在仪器内蓄积导致污染, 同时, 血浆添加浓度大于 100  $\text{ng/mL}$  后峰面积与浓度无线性关系。因此, 在本方法的线性范围确定为 1~100  $\text{ng/mL}$ , 加米霉素浓度高于 100  $\text{ng/mL}$  的血浆样品, 需稀释。

本试验建立的色谱和质谱条件下, 加米霉素峰形良好、灵敏度高, 保留时间约为 1.0 min。血浆中加米霉素在 1.0~100  $\text{ng/mL}$  范围与检测器响应值相关性良好( $r \geq 0.999$ ), LOD 为 0.5  $\text{ng/mL}$ , LOQ 为 1.0  $\text{ng/mL}$ , 批内和批间平均回收率均大于 85%, RSD 均小于 15%, 本试验建立方法适用于牛血浆中加米霉素含量的测定及加米霉素在牛体内的药动学研究。

### 参考文献:

- [1] Gordon E, Cebra C K, Stang B V, et al. Plasma Pharmacokinetics, Pulmonary Disposition, and Safety of Subcutaneous Gamithromycin in Alpacas [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2022, 45(3): 283-290.
- [2] Vazquez-Laslop N, Mankin A S. How Macrolide Antibiotics Work [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2018, 43(9): 668-684.
- [3] De Baere S, Devreese M, Watteyn A, et al. Development and Validation of a Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Quantitative Determination of Gamithromycin in Animal Plasma, Lung Tissue and Pulmonary

- Epithelial Lining Fluid [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1398: 73 – 82.
- [4] Tamaoki J. The Effects of Macrolides on Inflammatory Cells [J]. *Chest*, 2004, 125(2): 41S – 51S.
- [5] Huang R A, Letendre L T, Banav N, *et al.* Pharmacokinetics of Gamithromycin in Cattle with Comparison of Plasma and Lung Tissue Concentrations and Plasma Antibacterial Activity: Pharmacokinetics of Gamithromycin in Cattle [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2009, 33(3): 227 – 237.
- [6] 张涛, 姜凤超. 氮杂内酯类抗生素研究现状[J]. *药学进展*, 2006, 30(04): 150 – 157.  
Tao Z, Fengchao J. Development of Azalide Antibiotics [J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2006, 30(04): 150 – 157.
- [7] 王忠, 王小莺, 鲍光明, 等. 加米霉素的研究进展[J]. *中国兽医学报*, 2015, 35(10): 1708 – 1712.  
Zhong W, Xiaoying W, Guangming B, *et al.* A Review of Research Progress on Gamithromycin [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2015, 35(10): 1708 – 1712.
- [8] Forbes A B, Ramage C, Sales J, *et al.* Determination of the Duration of Antibacterial Efficacy following Administration of Gamithromycin Using a Bovine *Mannheimia haemolytica* Challenge Model [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011, 55(2): 831 – 835.
- [9] 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 296 号[S].  
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Announcement No. 296 of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China [S].
- [10] Hamel D, Knaus M, Richard – mazet A, *et al.* Gamithromycin in sheep: Pharmacokinetics and clinical evaluation against ovine footrot [J]. *Research in Veterinary Science*, 2022, 142: 94 – 100.
- [11] Wang J. Analysis of macrolide antibiotics, using liquid chromatography - mass spectrometry, in food, biological and environmental matrices [J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2009, 28(1): 50 – 92.
- [12] 王红霄, 邓菲. 加米霉素注射液的生物利用度及药动学研究[J]. *中国抗生素杂志*, 2018, 43(12): 1543 – 1547.  
Wang Hongxiao, Deng Fei. Study on the Bioavailability and Pharmacokinetics of Gamithromycin Injection [J]. *Chinese Journal of Antibiotics*, 2018, 43(12): 1543 – 1547.
- [13] Codony R, Compano R, Granados M, *et al.* Residue Analysis of Macrolides in Poultry Muscle by Liquid Chromatography – Electrospray Mass Spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 959(1 – 2): 131 – 141.

(编辑:侯向辉)