



# 金霉素微囊颗粒在猪体内的比较药动力学研究

许颖, 严常燕, 杨伟聪, 张云晓, 于洋, 黄显会

(华南农业大学兽医学院, 广州 510642)

**摘要:**【目的】采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)建立了金霉素在猪血浆中的药动力学检测方法,以三元健康杂交猪为对象,研究了10%和15%金霉素微囊颗粒在猪体内的药物代谢动力学,为金霉素的临床应用提供依据。【方法】16头大长白三元杂交猪,体重( $20 \pm 2.5$ ) kg,随机分为禁食组和非禁食组2组,采用三药剂三周期三交叉试验设计,分别按 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ 静注盐酸金霉素溶液、 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ 灌服10%和15%金霉素微囊颗粒。每次给药间隔为7 d,根据试验前设定好的时间点采集血样,分离血浆,进行HPLC-MS/MS测定,血药浓度-时间数据采用WinNonlin5.2.1软件非房室模型处理,计算主要药动力学参数。血浆样品用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{EDTA-McIlvaine}$ 缓冲液超声提取,HLB固相萃取柱净化, $35^\circ\text{C}$ 水浴吹干后用甲醇定容,进行HPLC-MS/MS分析测定。色谱柱为CNW  $\text{C}_{18}$ 柱;流动相为乙腈-0.1%甲酸,梯度洗脱,流速为 $0.25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;电喷雾离子源,多级反应监测正离子模式,外标法定量。猪血浆中金霉素的检测限为 $5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,定量限为 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,在 $5\text{--}500 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,方法的线性关系良好,低、中、高三个添加水平下,金霉素的平均回收率为 $76.90\%\text{--}89.25\%$ ,批内、批间变异系数分别为 $2.97\%\text{--}9.45\%$ 、 $6.16\%\text{--}13.39\%$ 。该方法准确、灵敏,适用于金霉素在猪血浆中的测定。【结果】禁食组静注盐酸金霉素溶液主要药动力学参数: $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(57.42 \pm 23.53) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{V/F}$ 为 $(5.67 \pm 2.12) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\text{MRT}$ 为 $(13.87 \pm 2.00) \text{ h}$ ,  $t_{1/2}$ 为 $(19.93 \pm 5.26) \text{ h}$ ;分别灌服10%金霉素微囊颗粒和15%金霉素微囊颗粒后主要药动力学参数: $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 $(34.46 \pm 10.28) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(33.15 \pm 12.76) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{C}_{\text{max}}$ 分别为 $(2.48 \pm 1.05) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(2.97 \pm 1.88) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{T}_{\text{max}}$ 分别为 $(4.88 \pm 1.25) \text{ h}$ 和 $(3.13 \pm 1.55) \text{ h}$ ,  $\text{V/F}$ 分别为 $(31.53 \pm 15.98) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $(32.30 \pm 9.69) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\text{MRT}$ 分别为 $(19.93 \pm 3.83) \text{ h}$ 和 $(17.41 \pm 1.80) \text{ h}$ ,  $t_{1/2}$ 分别为 $(16.87 \pm 3.49) \text{ h}$ 和 $(17.13 \pm 3.58) \text{ h}$ ,  $\text{F}$ 分别为 $(17.03 \pm 0.08)\%$ 和 $(15.82 \pm 5.16)\%$ 。非禁食组静注盐酸金霉素后药动力学参数: $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(37.58 \pm 21.30) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{V/F}$ 为 $(12.59 \pm 6.43) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\text{MRT}$ 为 $(22.17 \pm 14.47) \text{ h}$ ,  $t_{1/2}$ 为 $(27.79 \pm 12.82) \text{ h}$ ;分别灌服10%金霉素微囊颗粒和15%金霉素微囊颗粒后药动力学参数: $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 $(20.81 \pm 7.46) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(19.72 \pm 5.69) \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{C}_{\text{max}}$ 分别为 $(1.02 \pm 0.38) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $(0.95 \pm 0.32) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,  $\text{T}_{\text{max}}$ 分别为 $(6.38 \pm 4.44) \text{ h}$ 和 $(8.00 \pm 5.24) \text{ h}$ ,  $\text{V/F}$ 分别为 $(52.40 \pm 22.90) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $(52.47 \pm 19.69) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $\text{MRT}$ 分别为 $(24.67 \pm 9.52) \text{ h}$ 和 $(23.37 \pm 4.21) \text{ h}$ ,  $t_{1/2}$ 分别为 $(18.57 \pm 10.67) \text{ h}$ 和 $(16.64 \pm 5.12) \text{ h}$ ,  $\text{F}$ 分别为 $(16.07 \pm 6.78)\%$ 和 $(15.26 \pm 5.26)\%$ 。【结论】灌服10%金霉素微囊颗粒( $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ b.w.}$ )及15%金霉素微囊颗粒( $40 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ b.w.}$ )后,药物在猪体内吸收缓慢,分布广,消除较慢,生物利用度低。与禁食组相比,非禁食组10%和15%金霉素微囊颗粒达峰时间更慢、峰浓度更低,但表观分布容积更大,生物利用度偏低,但统计学差异不显著。表明饲料不影响金霉素在猪胃肠道中的吸收,但会改变金霉素进入体内的药代动力学过程。

**关键词:** 金霉素; 药动力学; HPLC-MS/MS; 猪

收稿日期: 2019-10-30; 接受日期: 2020-06-30

基金项目: 国家重点研发计划专项(2016YFD0501306)、国家科技支撑计划(2015BAD11B03-06)

联系方式: 许颖, E-mail: 971238309@qq.com. 通信作者黄显会, E-mail: xhhuang@scau.edu.cn

# Pharmacokinetics of Chlortetracycline Microspheres in Pigs

XU Ying, YAN ChangYan, YANG WeiCong, ZHANG YunXiao, YU Yang, HUANG XianHui

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642)

**Abstract:** 【Objective】A method was developed for the determination of chlortetracycline in swine plasma with high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The pharmacokinetics of chlortetracycline in pigs, including chlortetracycline hydrochloride, 10% chlortetracycline microspheres and 15% chlortetracycline microspheres were studied.

【Method】Pharmacokinetics of chlortetracycline were investigated after intravenous and oral administration to pigs. Sixteen cross-bred pigs(Duroc×Landrace×Yorkshire) weighing  $(20\pm 2.5)$  kg received a dose of  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  of chlortetracycline hydrochloride intravenously and  $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  of 10% chlortetracycline microspheres and 15% chlortetracycline microspheres orally in both the fasted and the feeding condition in a three-way crossover design with one week washout period between each administration. Blood samples were collected in different time set before the experiment. The swine plasma samples were ultrasonic extracted with  $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -McIlvaine buffer. Then the extract was loaded on the HLB solid phase extraction (SPE) cartridge. After evaporation by nitrogen with water bath at  $35^\circ\text{C}$ , the extract was redissolved with methanol. Chlortetracycline was separated using a CNW C18 column with a mobile phase of acetonitrile -0.1% formic acid. The mobile phase was gradient elution at the flow rate of  $0.25\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Chlortetracycline was analyzed by mass spectrometry equipped with electrospray ionization in the multiple reaction monitoring and positive ion mode and determined by an external standard quantitation. In the range of  $5\text{--}500\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , the calibration curves of chlortetracycline from swine plasma showed good linearity ( $r>0.9990$ ). The limit of detection (LOD) was  $5\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  and the limit of quantification (LOQ) was  $10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The average recovery of chlortetracycline was 76.90%-89.25% at low, medium and high concentration while the inter-day and intra-day coefficient of variations were 2.97%-9.45% and 6.16%-13.39%, respectively. The method was accurate, sensitive and suitable for the determination of chlortetracycline in swine plasma.【Result】Chlortetracycline concentration-time data fitted to a non-compartment model were analyzed by WinNonlin5.2.1 pharmacokinetic program after intravenous and oral administration in both fasted and fed pigs. The main pharmacokinetic parameters for chlortetracycline hydrochloride in fasted pigs and feeding pigs were follows:  $\text{AUC}_{0-\infty}$  ( $57.42\pm 23.53$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ( $37.58\pm 21.30$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $\text{V/F}$  ( $5.67\pm 2.12$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , ( $12.59\pm 6.43$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $\text{MRT}$  ( $13.87\pm 2.00$ ) h, ( $22.17\pm 14.47$ ) h;  $t_{1/2}$  ( $19.93\pm 5.26$ ) h, ( $27.79\pm 12.82$ ) h, respectively. After receiving 10% chlortetracycline microspheres and 15% chlortetracycline microspheres without feeding, the parameters were as follows:  $\text{AUC}_{0-\infty}$  ( $34.46\pm 10.28$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ( $33.15\pm 12.76$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $C_{\max}$  ( $2.48\pm 1.05$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ( $2.97\pm 1.88$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $T_{\max}$  ( $4.88\pm 1.25$ ) h, ( $3.13\pm 1.55$ ) h;  $\text{V/F}$  ( $31.53\pm 15.98$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , ( $32.30\pm 9.69$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $\text{MRT}$  ( $19.93\pm 3.83$ ) h, ( $17.41\pm 1.80$ ) h;  $t_{1/2}$  ( $16.87\pm 3.49$ ) h, ( $17.13\pm 3.58$ ) h;  $F$  ( $17.03\pm 0.08$ ) %, ( $15.82\pm 5.16$ ) %, respectively. In feeding group, after receiving 10% chlortetracycline microspheres and 15% chlortetracycline microspheres, the parameters were as follows:  $\text{AUC}_{0-\infty}$  ( $20.81\pm 7.46$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ( $19.72\pm 5.69$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $C_{\max}$  ( $1.02\pm 0.38$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , ( $0.95\pm 0.32$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $T_{\max}$  ( $6.38\pm 4.44$ ) h, ( $8.00\pm 5.24$ ) h;  $\text{V/F}$  ( $52.40\pm 22.90$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , ( $52.47\pm 19.69$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ ;  $\text{MRT}$  ( $24.67\pm 9.52$ ) h, ( $23.37\pm 4.21$ ) h;  $t_{1/2}$  ( $18.57\pm 10.67$ ) h, ( $16.64\pm 5.12$ ) h;  $F$  ( $16.07\pm 6.78$ ) %, ( $15.26\pm 5.26$ ) %, respectively.

【Conclusion】The results of studies showed that chlortetracycline was absorbed slowly, distributed widely and had slow elimination and low bioavailability in pigs after receiving chlortetracycline microspheres orally. Compared with the fasting group, 10% and 15% chlortetracycline microspheres in the feeding group reached a slower peak time and a lower peak concentration, while the apparent distribution volume was larger and the bioavailability was lower, but the difference was not significant. This result indicated the feed did not affect the absorption of chlortetracycline in the gastrointestinal tract of pigs, but changed the pharmacokinetic process of chlortetracycline entering the body.

**Key words:** chlortetracycline; pharmacokinetics; HPLC-MS/MS; pig

## 0 引言

【研究意义】金霉素(chlortetracycline, CTC), 又称氯西霉素, 是由美国氰胺公司于 1949 年开发的四环素类广谱抗生素, 它通过与细菌核糖体 30s 亚基不可

逆的结合抑制细菌蛋白质的合成, 对革兰阳性菌、阴性菌、支原体和立克次体等有广泛的抑制作用, 自发现以来被广泛用于畜牧养殖业<sup>[1-4]</sup>。【前人研究进展】金霉素被 FDA 批准用于鸡、猪、牛、羊等动物多种疾病的预防与治疗, 国内主要用于治疗断奶仔猪腹泻、

猪气喘病、增生性肠炎等。对于增生性肠炎、猪痢疾等仔猪腹泻性疾病, 金霉素有很好的治疗效果, 它可以影响肠道炎症因子的表达, 改善断奶仔猪肠道黏膜的形态和结构, 降低腹泻率, 相比于泰妙菌素和林可霉素, 金霉素的使用成本更低<sup>[5-6]</sup>。金霉素能够有效减轻猪肺炎支原体感染引起的损伤, 治疗支原体肺炎<sup>[7-8]</sup>, 改善呼吸道症状, 降低病变<sup>[9]</sup>, 在饲料中定期添加金霉素还可以控制衣原体和钩端螺旋体感染, 改善母猪的健康状况, 提高种猪的繁殖性能<sup>[10-12]</sup>。金霉素虽在猪、鸡、牛、羊等动物上已有相关药动力学报道<sup>[13-20]</sup>, 但剂型多为盐酸金霉素和普通金霉素预混剂。研究表明, 盐酸金霉素或普通金霉素预混剂给药后吸收迅速, 达峰时间短, 分布广泛而且消除缓慢, 生物利用度低, 但在不同动物种属之间有较大的差异。目前, 随着兽药制剂技术的发展, 微囊化制剂由于掩味、能够减少胃酸对药物的破坏、肠溶缓释等优点<sup>[21-22]</sup>, 在兽医临床使用越来越普遍。金霉素微囊化后, 能够减少药物与饲料中其他物质的接触、减少在胃液中崩解、释放, 还能够调节在肠道内的释药速度, 但国内尚未见金霉素微囊颗粒在猪体内的药动力学研究报道。【本研究切入点】本研究探讨了金霉素微囊颗粒在猪体内的药动力学过程, 比较了禁食与非禁食对金霉素生物利用度的影响, 为金霉素微囊颗粒临床使用制定合理的给药方案提供依据。【拟解决的关键问题】本研究旨在通过静脉注射和灌胃口服的给药方式, 探讨金霉素微囊颗粒在猪体内的比较药动力学, 通过相关药动力学参数的比较, 为金霉素的进一步开发和临床应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 药品与试剂 盐酸金霉素对照品, 含量 92.1%, 批号 K0011209, 由中国兽医药品监察所提供; 盐酸金霉素原料药, 含量 93.2%, 批号 H20130112, 10%金霉素微囊颗粒, 规格 100 g: 10 g, 批号 WN20130702, 15%金霉素微囊颗粒: 规格 100 g: 15 g, 批号 WN20130703, 均由金河生物科技股份有限公司提供。乙腈、甲醇、甲酸为 HPLC 级, 德国 CNW 公司; 氢氧化钠、盐酸、十二水磷酸氢二钠、一水合柠檬酸、EDTA 二钠均为国产分析纯; 水为符合 GB/T6682 规定的二级水。

1.1.2 仪器与设备 高效液相色谱仪: Agilent 1200 型液相色谱仪, 美国安捷伦公司, 配备四元泵, 自

动进样器, 柱温箱等; 电喷雾-串联四级杆质谱仪: API 4000 MS/MS, 美国应用生物系统公司, 配 Analyst4.1.5 软件; 色谱柱: CNW Athena C18 WP (150 mm×2.1 mm, 5  $\mu$ m), 上海安谱公司; Mach 1.6 R 冷冻型离心机: 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Milli Q 去离子水发生器: 美国 Millipore 公司; 轨道式摇床: HS250, 马来西亚 IKA 公司; pH 计: pHs-25 型, 上海精科雷磁仪器厂; 电子分析天平: AE 160 型, 瑞士 Mettler 公司; 移液器: Eppendorf Research 型, 德国 EPPENDORF 公司; 氮吹仪: D10-24 型, 杭州奥盛仪器有限公司; 固相萃取小柱: Poly-Sery HLB SPE, 60 mg/3mL, 德国 CNW 科技公司; 有机针式尼龙微孔滤膜, 13 mm×0.22  $\mu$ m, 上海安谱科学仪器有限公司。

### 1.1.3 试液配制

0.1%甲酸水溶液: 取 1.0 mL 甲酸, 加水稀释至 1 000 mL, 混匀, 超声脱气;

1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠溶液: 称取氢氧化钠 4 g, 加水溶解并稀释至 100 mL;

McIlvaine 缓冲液: 将 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸溶液 1 000 mL 与 0.2 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸氢二钠溶液 652 mL 混合, 摇匀即可。必要时用氢氧化钠溶液或盐酸溶液调 pH 至 4.0±0.05;

0.1 mol·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>EDTA-McIlvaine 缓冲液: 称取 60.5 g 乙二胺四乙酸二钠倒入 1 625 mL McIlvaine 缓冲溶液中, 超声使其溶解, 摇匀。

1.1.4 试验动物 本试验于 2013 年 6—12 月于华南农业大学兽医学院进行, 试验选取 16 头健康的杜洛克×长白×约克夏杂交猪, 公母各半, 7 周龄左右, (20±2.5) kg, 按常规饲养, 自由饮水和采食, 饲料为全价日粮, 不含抗菌药物。试验前观察 1 周, 临床表现健康。

### 1.2 试验方法

1.2.1 给药 16 头健康猪随机分为 2 组, A 组为非禁食组, B 组为禁食组, 每组 8 头。临床观察健康后, 采用自身对照随机三药剂、三周期、三交叉试验设计方法, 将每组的 8 头猪随机编号, 给药方案见表 1。A 组在给药 0.5 h 前正常饲喂, B 组试验前 16 h 起及给药后 3 h 期间禁食, 仅自由饮水。一个药动采血周期结束, 经过 7 d 的清洗期后, 给药制剂互换。试验猪只采用单剂量给药, 静脉注射和灌胃口服给药剂量分别为 10 mg·kg<sup>-1</sup> b.w. 和 40 mg·kg<sup>-1</sup> b.w. (以金霉素计)。

表 1 金霉素制剂给药方案

Table 1 Animals and experimental design

组别 Group	A 组（非禁食组） A group (feeding condition)			B 组（禁食组） B group (fasted condition)		
	1、2、3	4、5、6	7、8	10、11、12	13、14、15	16、17
周期 1 Period 1	药剂 1 Drug1	药剂 2 Drug2	药剂 3 Drug3	药剂 1 Drug1	药剂 2 Drug2	药剂 3 Drug3
周期 2 Period 2	药剂 3 Drug3	药剂 1 Drug1	药剂 2 Drug2	药剂 3 Drug3	药剂 1 Drug1	药剂 2 Drug2
周期 3 Period 3	药剂 2 Drug2	药剂 3 Drug3	药剂 1 Drug1	药剂 2 Drug2	药剂 3 Drug3	药剂 1 Drug1

1.2.2 样品采集 猪只仰卧保定，从前腔静脉采血。给药前采一次空白血。给药后分别于 5、10、15、20、30、45 min 及 1、1.5、2、3、4、6、8、12、16、24、36、48、72 h 采集血样。每次采血 3 mL 左右，置于含肝素的离心管中，4 000 r/min 离心 10 min，分离血浆，-20℃冰箱保存，待测。

1.2.3 血浆中金霉素测定

（1）样品前处理 血浆样品自然解冻后摇匀，准确吸取 0.5 mL 血浆于 15 mL 塑料离心管中，加入 5 mL EDTA-McIlvaine 缓冲液，旋涡混匀 1 min，水浴超声 10 min，摇床振荡 10 min 后，于 4℃下 8 000 r/min 离心 10 min，上清液待净化。

分别用 3 mL 甲醇和纯水活化 HLB SPE 小柱，上清液过柱，自然流速。上清液流出后，3 mL 纯水淋洗，负压抽干后用（2+2）mL 甲醇洗脱，收集洗脱液，于 35℃水浴下氮气吹干，残渣用 1 mL 甲醇溶解，转至 2 mL 离心管，于 4℃下 12 000 r/min 离心 10 min，上清过 0.22 μm 滤膜，供 LC-MS/MS 测定。

（2）液相色谱条件

色谱柱：CNW Athena C18 WP（150 mm×2.1 mm，5 μm），上海安谱公司；

流动相：A 相为 0.1%甲酸水溶液，B 相为乙腈；梯度洗脱程序见表 2：

流速：0.25 mL·min<sup>-1</sup>；

柱温：35℃；

进样量：5 μL。

表 2 液相色谱梯度洗脱条件

Table 2 Mobile phase gradient elution procedure

时间	流速	A	B
Time (min)	Flow (mL·min <sup>-1</sup> )	(%)	(%)
0.0	0.25	90.0	10.0
1.0	0.25	30.0	70.0
4.0	0.25	30.0	70.0
4.5	0.25	90.0	10.0
13.0	0.25	90.0	10.0

（3）质谱条件 采用多反应监测（MRM）扫描模式；电喷雾离子源（ESI）：正离子扫描；喷雾电压（ionspray voltage，IS）：4 000.0 V；离子源温度：700.0℃；气帘气压力（curtain gas，CUR）15 psi；雾化气压力（nebulizer gas，GS1）55 psi；辅助气流速（ion source gas2，GS2）35 L·min<sup>-1</sup>；碰撞室压力（CAD）6 psi；定量离子 m/z= 444.1，辅助定性离子 m/z= 154.2。

1.2.4 检测限与定量限 以最低检出浓度计算，信噪比 S/N≥3 为检测限（LOD），S/N≥10 为定量限（LOQ）。

1.2.5 标准曲线与线性范围 空白猪血浆按照 1.2.3 中“（1）样品前处理”方法进行处理。洗脱液在氮吹浓缩后，用 1.00 mL 相应浓度的标准工作液复溶，其中第一管加入 1.00 mL 色谱甲醇做空白对照，其余各管基质加标样品浓度分别为 5、10、20、50、150、500 ng·mL<sup>-1</sup>，进行 LC-MS/MS 测定，将金霉素的药物浓度（C）对色谱峰面积（A）作线性回归，求得回归方程和相关系数（r）。

1.2.6 回收率与精密度 准确移取 0.49 mL 空白猪血浆，分别加入低、中、高不同浓度的标准工作液 0.01 mL，制得 10 ng·mL<sup>-1</sup>、50 ng·mL<sup>-1</sup>、100 ng·mL<sup>-1</sup> 3 个浓度水平的空白加标样品，按 1.2.3 中“（1）样品前处理”方法处理。每个浓度做 5 个重复，共做 4 个批次，不同批次隔一天或者数天。同时，取空白血浆 0.5 mL 按 1.2.3 中“（1）样品前处理”方法处理，洗脱液经氮气吹干后，残渣加入 1.00 mL 低、中、高 3 个浓度的金霉素标准工作液，使得基质加标样品的浓度与空白加标样品的上机浓度一致。将处理后的样品进行 LC-MS/MS 测定，以测得的药物峰面积计算回收率和批内、批间的平均值及标准差和变异系数。

1.2.7 血药样品浓度测定 给药后不同时间采集的血浆，按 1.2.3 中“（1）样品前处理”方法处理样品后进行 LC-MS/MS 测定，以标准曲线回归方程计算血浆中金霉素的浓度。如样品血药浓度超出线性范围，

需将样品用空白基质稀释至线性范围内, 然后再进行血药浓度测定。

**1.2.8 数据处理与分析** 使用 Analyst1.5 软件处理实测血浆中金霉素浓度-时间数据, 采用美国 Pharsight 公司药动力学软件 Winnonlin5.2.1 的非房室模型来处理药动数据, 拟合时选择消除相后 4—5 个点, 计算出每头试验猪的药动力学参数, 求出关键药动力学参数 ( $F$ 、 $AUC$ 、 $T_{max}$ 、 $C_{max}$  等), 然后计算平均值 ( $\bar{x}$ ) 及标准差 ( $SD$ ), 同时以血药浓度平均值对时间作药-时曲线。

## 2 结果

### 2.1 方法学验证

按照 1.2.3 中“(1)样品前处理”方法处理样品, 再按(2)、(3)色谱工作条件进行 LC-MS/MS 分析测定, 测得猪血浆中金霉素的检测限 (LOD) 为  $5 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 定量限 (LOQ) 为  $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 在  $5\text{—}500 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  范围内, 猪血浆中添加金霉素的线性关系良好, 相关系数均在 0.9990 以上, 金霉素在 10、50、100  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  3 个浓度水平的平均回收率为 76.90%—89.25%, 批内变异系数为 2.97%—9.45%, 批间变异系数为 6.16%—13.39%, 均满足兽药临床药代动力学研究要求。

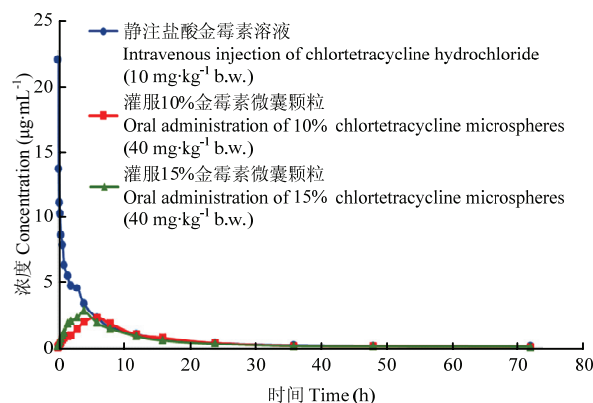
### 2.2 金霉素微囊颗粒在猪体内的药动力学特征

本试验的动物分为两组, 禁食组 (试验前禁食 16 h 以上, 给药后禁食 3 h) 和非禁食组 (给药前 0.5 h 饲喂, 给药后自由饮食), 每组通过自身对照随机三药剂、三周期、三交叉方法设计, 采用非房室模型分析给药后的药动力学数据, 探索金霉素微囊颗粒在猪体内的吸收、分布和消除规律, 通过药动力学主要参数的比较分析, 从而得知金霉素微囊颗粒在猪体内的动力学特征。禁食组和非禁食组猪的药时曲线分别见图 1、图 2, 血药浓度-时间数据见表 3, 药动力学参数见表 4。

禁食组猪静注盐酸金霉素溶液 ( $10.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、灌服 10%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 和 15%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 后, 金霉素静注给药后表观分布容积 ( $V/F$ ) 为 ( $5.67\pm 2.12$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 消除半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 为 ( $19.93\pm 5.26$ ) h; 灌服 10%金霉素微囊颗粒和 15%金霉素微囊颗粒后表观分布容积 ( $V/F$ ) 分别为 ( $31.53\pm 15.98$ ) 和 ( $32.30\pm 9.69$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 消除半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 分别为 ( $16.87\pm 3.49$ ) 和 ( $17.13\pm 3.58$ ) h, 达峰浓度 ( $C_{max}$ ) 分别为 ( $2.48\pm 1.05$ ) 和 ( $2.97\pm 1.88$ )  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 达峰时间 ( $T_{max}$ ) 分别为 ( $4.88\pm 1.25$ ) 和 ( $3.13\pm 1.55$ ) h, 生物

利用度 ( $F$ ) 分别为 ( $17.03\pm 0.08$ ) %和 ( $15.82\pm 5.16$ ) %。

非禁食组猪静注盐酸金霉素溶液 ( $10.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 及灌服 10%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 和 15%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 后, 金霉素静注给药后表观分布容积 ( $V/F$ ) 为 ( $12.59\pm 6.43$ )  $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 消除半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 为 ( $27.79\pm 12.82$ ) h; 灌服 10%金霉素微囊颗粒和 15%金霉素微囊颗粒后表观分布容积 ( $V/F$ )

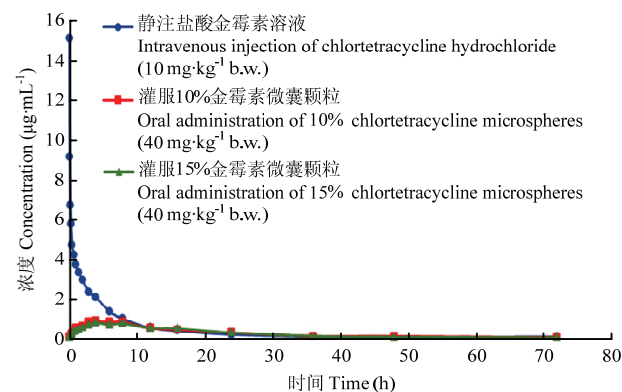


静注盐酸金霉素 ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )、灌服 10%和 15%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )

Intravenous injection of chlortetracycline hydrochloride ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ ) and oral administration of 10% and 15% chlortetracycline microspheres ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )

图 1 金霉素对禁食组猪的血浆药时曲线

Fig. 1 Plasma concentration-time curves of pigs in the fasting group with chlortetracycline



静注盐酸金霉素 ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )、灌服 10%和 15%金霉素微囊颗粒 ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )

Intravenous injection of chlortetracycline hydrochloride ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ ) and oral administration of 10% and 15% chlortetracycline microspheres ( $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ b.w.}$ )

图 2 金霉素对非禁食组猪的血浆药时曲线

Fig. 2 Plasma concentration-time curves of pigs in the feeding group with chlortetracycline

表 3 禁食组、非禁食组猪单剂量静注盐酸金霉素溶液（10.0 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.）与灌服金霉素微囊颗粒（40.0 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.）后平均血药浓度（μg·mL<sup>-1</sup>， $\bar{X} \pm SD$ , n=8）

Table 3 Mean plasma concentrations of ivermectin after receiving single-dose intravenous injection of chlortetracycline hydrochloride (10 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.) and oral administration of chlortetracycline microspheres (40 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.) ( μg·mL<sup>-1</sup>,  $\bar{X} \pm SD$ , n=8)

采血时间 Time (h)	禁食组 Fasting group			非禁食组 Feeding group		
	静注盐酸 金霉素溶液 CTC, i.v.	灌服 10%金霉素 微囊颗粒 10% CTC Microspheres, p.o.	灌服 15%金霉素 微囊颗粒 15% CTC Microspheres, p.o.	静注盐酸 金霉素溶液 CTC, i.v.	灌服 10%金霉素 微囊颗粒 10% CTC Microspheres, p.o.	灌服 15%金霉素 微囊颗粒 15% CTC Microspheres, p.o.
0.083	21.96±10.25	0.05±0.03	0.08±0.06	15.07±9.43	0.06±0.03	0.06±0.04
0.167	13.60±6.41	0.09±0.04	0.22±0.16	9.12±5.88	0.08±0.06	0.09±0.07
0.25	11.03±5.02	0.15±0.09	0.34±0.27	6.72±3.65	0.12±0.07	0.12±0.09
0.333	10.23±4.42	0.28±0.21	0.44±0.41	5.78±2.91	0.16±0.10	0.17±0.17
0.5	8.62±3.67	0.40±0.32	0.73±0.56	4.68±2.22	0.24±0.12	0.23±0.20
0.75	7.84±3.60	0.64±0.44	0.94±0.62	4.23±1.82	0.38±0.19	0.34±0.31
1	6.28±2.82	0.75±0.48	1.16±0.89	3.70±1.83	0.53±0.23	0.42±0.37
1.5	5.42±2.80	0.92±0.56	1.83±0.85	3.30±1.57	0.53±0.17	0.48±0.30
2	4.71±2.99	0.99±0.71	2.04±1.09	2.95±1.47	0.63±0.21	0.58±0.32
3	4.55±2.72	1.44±0.91	2.27±1.04	2.32±0.90	0.83±0.28	0.72±0.33
4	3.33±1.01	1.96±0.85	2.80±1.93	2.09±1.07	0.88±0.34	0.82±0.37
6	2.26±0.93	2.32±1.07	1.87±0.75	1.35±0.76	0.84±0.46	0.73±0.36
8	1.58±0.75	1.81±0.77	1.46±0.56	1.00±0.69	0.84±0.49	0.78±0.31
12	1.02±0.63	1.00±0.36	0.91±0.27	0.56±0.29	0.53±0.26	0.55±0.22
16	0.73±0.44	0.78±0.25	0.56±0.17	0.39±0.23	0.46±0.21	0.52±0.27
24	0.35±0.23	0.36±0.08	0.29±0.07	0.20±0.20	0.30±0.15	0.31±0.12
36	0.18±0.13	0.14±0.01	0.12±0.04	0.10±0.07	0.12±0.05	0.12±0.07
48	0.12±0.06	0.10±0.03	0.09±0.04	0.07±0.03	0.12±0.08	0.08±0.05
72	0.08±0.04	0.07±0.03	0.06±0.04	0.10±0.10	0.05±0.03	0.04±0.02

表 4 禁食组、非禁食组猪单剂量静注盐酸金霉素溶液（10.0 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.）与灌服金霉素微囊颗粒（40.0 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.）后的主要药动学参数（ $\bar{X} \pm SD$ , n=8）

Table 4 Ivermectin kinetic parameters after receiving single-dose intravenous injection of chlortetracycline hydrochloride (10 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.) and oral administration of chlortetracycline microspheres (40 mg·kg<sup>-1</sup> b.w.) (  $\bar{X} \pm SD$ , n=8)

药动参数 Parameter	禁食组 Fasting Group			非禁食组 Feeding Group		
	静注盐酸 金霉素溶液 CTC, i.v.	灌服 10%金霉素 微囊颗粒 10%CTC Microspheres, p.o.	灌服 15%金霉素 微囊颗粒 15%CTC Microspheres, p.o.	静注盐酸 金霉素溶液 CTC, i.v.	灌服 10%金霉素 微囊颗粒 10%CTC Microspheres, p.o.	灌服 15%金霉素 微囊颗粒 15%CTC Microspheres, p.o.
Kel (1/h)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01	0.03±0.01	0.04±0.01	0.05±0.01
t <sub>1/2</sub> (h)	19.93±5.26	16.87±3.49	17.13±3.58	27.79±12.82	18.57±10.67	16.64±5.21
T <sub>max</sub> (h)	—	4.88±1.25	3.13±1.55	—	6.38±4.44	8.00±5.24
C <sub>max</sub> (μg·mL <sup>-1</sup> )	21.96±10.25	2.48±1.05	2.97±1.88	15.07±9.43	1.02±0.38	0.95±0.32
AUC <sub>0-∞</sub> (h·μg·mL <sup>-1</sup> )	57.42±23.53	34.46±10.28	33.15±12.76	37.58±21.30	20.81±7.46	19.72±5.69
V/F (L·kg <sup>-1</sup> )	5.67±2.12	31.53±15.98	32.30±9.69	12.59±6.43	52.40±22.90	52.47±19.69
MRT (h)	13.87±2.00	19.93±3.83	17.41±1.80	22.17±14.47	24.67±9.52	23.37±4.21
F (%)	—	17.03±0.08	15.82±5.16	—	16.07±6.78	15.26±5.26

分别为 $(52.40 \pm 22.90)$ 和 $(52.47 \pm 19.69)$   $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 消除半衰期( $t_{1/2}$ )分别为 $(18.57 \pm 10.67)$ 和 $(16.64 \pm 5.12)$  h, 达峰浓度( $C_{\max}$ )分别为 $(1.02 \pm 0.38)$ 和 $(0.95 \pm 0.32)$   $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 达峰时间( $T_{\max}$ )分别为 $(6.38 \pm 4.44)$ 和 $(8.00 \pm 5.24)$  h, 生物利用度( $F$ )分别为 $(16.07 \pm 6.78)$ %和 $(15.26 \pm 5.26)$ %。禁食组与非禁食组中 10%和 15%金霉素微囊颗粒吸收、消除均较慢, 表观分布容积较高, 在两组中 10%金霉素微囊颗粒在猪体内均表现出更高的生物利用度, 但无统计学差异( $P > 0.05$ )。与禁食组相比, 非禁食组 10%和 15%金霉素微囊颗粒均表现出达峰时间更慢, 峰浓度更低, 但表观分布容积更大, 生物利用度稍低, 但无统计学差异( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

在禁食和非禁食的情况下, V/F 结果表明: 金霉素分布广泛, 与猪禁食和非禁食情况下静注盐酸金霉素( $11 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )后 V/F 分别为 0.97 和  $1.39 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$  比较<sup>[16]</sup>, 显示出相似的分布特征。在其他动物亦可见相似的特征, 但存在一定的种属差异, 如荷斯坦牛、育肥鸡的 V/F 分别为 40.9、 $1.63 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[15, 23]</sup>。 $t_{1/2}$ 结果表明: 金霉素在猪体内消除慢, 高于方炳虎等报道的金霉素在鸡体内的消除半衰期<sup>[17]</sup>, 也显著高于金霉素在育肥鸡(静注 7.96 h, 口服 13.15 h)<sup>[14]</sup>的半衰期, 与 REINBOLD 报道的荷斯坦牛(灌服 16.2 h)<sup>[15]</sup>的消除半衰期近似。金霉素通过胆汁排泄, 部分可以在肠内被重新吸收<sup>[24]</sup>, 这可能是导致金霉素在动物体内半衰期较长的原因。禁食组和非禁食组猪灌服药物后, 禁食组达峰浓度和达峰时间与 NIELSEN 等报道的 $(2.4 \pm 1.1) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $(3.7 \pm 1.9)$  h 相似, 非禁食组达峰浓度与报道的 $0.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 相似, 但达峰时间比 3.2 h 明显延迟<sup>[13]</sup>。试验中金霉素在禁食组和非禁食组猪中的生物利用度均较低, 金霉素通过肠道少部分吸收, 禁食组生物利用度稍高于非禁食组, 但两者无统计学差异, 与 KILROY 等报道盐酸金霉素在禁食组和非禁食组猪中的  $F[(19.12 \pm 8.3)\%、(17.88 \pm 5.32)\%]$ 相似<sup>[16]</sup>, 但高于 NIELSEN 等报道的猪灌服盐酸金霉素后的  $F[(11 \pm 5)\%、(6 \pm 2)\%]$ <sup>[13]</sup>。JEROME 通过对金霉素在猪体内的药动力学数据进行 Mantel Haenszel 分析发现猪对金霉素的生物利用度随饲料中钙含量的增高而降低, 由 17%降至 9%<sup>[25]</sup>。而本研究  $C_{\max}$  和  $F$  说明饲料虽然可以影响金霉素的吸收速率, 但对金霉素在猪胃肠道中的吸收量未表现显著影响, 这可能与金霉素微囊化后, 药物以分子状态在肠道缓慢释放、

被吸收, 从而减少饲料对药物的影响有关。

金霉素抗菌作用较广, 对革兰氏阳性菌(链球菌、炭疽杆菌、葡萄球菌、破伤风杆菌)、革兰氏阴性菌(巴氏杆菌、沙门氏菌、嗜血杆菌)及一些衣原体、支原体、立克次体、螺旋体具有一定的抗菌活性。非禁食组中,  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  b.w. 单剂量给猪灌服 15%微囊金霉素后, 约 8 h 后达到最高血药浓度  $0.95 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 至 12、24 h 血浆中药物浓度仍可维持 0.55、0.31  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同样单剂量灌服 10%金霉素微囊颗粒后, 约 6 h 后达到最高血药浓度  $1.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、至 12、24 h 血浆中药物浓度仍可维持 0.53、0.30  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。金霉素对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、猪霍乱沙门氏菌和铜绿假单胞菌等临床分离菌的 MIC 分别为 4、0.0625、4 和 2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ <sup>[26]</sup>, 对猪肺炎支原体的 MIC 为  $1.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ <sup>[27]</sup>, HAYER 评估美国 2006 至 2016 年副猪嗜血杆菌对 13 种抗菌素的耐药率变化, 其中金霉素对副猪嗜血杆菌的 MIC<sub>90</sub> 为 1  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ <sup>[28]</sup>。无论禁食组还是非禁食组, 金霉素在体内的表观分布容积远远大于  $1 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 有报道金霉素在胆汁中的浓度是在血清中观测到的浓度的 8 至 16 倍<sup>[29]</sup>, 药物的组织浓度要高于血浆浓度, 药物在体内分布广泛<sup>[30]</sup>。此外, 日粮中添加 75 和 150  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的金霉素, 腹泻率下降 22.1%和 52.23%<sup>[6]</sup>。对此, 按  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  添加金霉素微囊颗粒, 可用于预防敏感菌导致的猪肠道和呼吸道疾病。

### 4 结论

猪灌服金霉素微囊颗粒后, 药物在体内吸收缓慢、分布广、消除较慢、生物利用度较低, 与禁食组相比, 非禁食组生物利用度偏低, 但无统计学差异。表明饲料不影响金霉素微囊颗粒在猪胃肠道中的吸收, 但会改变金霉素进入体内的药代动力学过程。

### References

- [1] CHOPRA I, ROBERTS M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2001, 65(2): 232-260.
- [2] DEWEY C E, COX B D, STRAW B E, BUSH E J, HURD S. Use of antimicrobials in swine feeds in the United States. *Swine Health Production*, 1999, 7: 19-25.
- [3] APLEY M D, BUSH E J, MORRISON R B, SINGER R S, SNELSON H. Use estimates of in-feed antimicrobials in swine production in the United States. *Foodborne Pathog*, 2012, 9: 272-279.



- [4] JACELA J Y, DEROCHEY J M, TOKACH M D, GOODBAND R D, NELSEN J L, RENTER D G, DRITZ S S. Feed additives for swine: fact sheets-acidifiers and antibiotics. *Swine Health Production*, 2009,17:270-275.
- [5] WINKELMAN N, GEBHART C, WOLFF T, SKINNER J. An evaluation of BMD (R) plus Aureomycin(R) chlortetracycline (CTC), Tylan(R) or Lincomix(R) for control of challenge-induced porcine proliferative enteropathy (PPE or ileitis) in swine//*Annual Meeting of the American-Association-of-Swine-Veterinarians*. ORLANDO, FL: 2003:175-179.
- [6] 卢建军, 许梓荣. 日粮添加金霉素对断奶仔猪肠道核因子 NF- $\kappa$ B 活化的影响. 畜牧兽医学报, 2006(9):933-939.
- LU J J, XU Z R. Effects of chlortetracycline on the activity of intestinal nuclear factor NF- $\kappa$ B in weaning piglets. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2006(9):933-939. (in Chinese)
- [7] DEL POZO SACRISTÁN R, RODRÍGUEZ A L, SIERENS A, VRANCKX K, BOYEN F, DEREU A, HAESBROUCK F, MAES D G D. Efficacy of in-feed medication with chlortetracycline in a farrow-to-finish herd against a clinical outbreak of respiratory disease in fattening pigs. *Veterinary Record*, 2012,171(25):645.
- [8] THACKER E L, THACKER B J, WOLFF T. Efficacy of a chlortetracycline feed additive in reducing pneumonia and clinical signs induced by experimental *Mycoplasma hyopneumoniae* challenge. *Journal of Swine Health and Production*, 2006,14(3): 140-144.
- [9] DEL POZO SACRISTÁN R, RODRÍGUEZ A L, SIERENS A, VRANCKX K, BOYEN F, DEREU A, HAESBROUCK F, MAES D G D. Efficacy of in-feed medication with chlortetracycline in a farrow-to-finish herd against a clinical outbreak of respiratory disease in fattening pigs. *Veterinary Record*, 2012,171(25):645.
- [10] 卢文勇, 邓子伟, 李琼华. 空怀母猪饲喂金霉素对繁殖性能的影响研究. 养猪, 2001(1):19.
- LU W Y, DENG Z W, LI Q H. Study on the effect of feeding chlortetracycline in empty pregnant sows on reproductive performance. *Swine Production*, 2001(1):19. (in Chinese)
- [11] WASINSKI B, WALACHOWSKI M, PEJSKAK Z. Efficacy of chlortetracycline in controlling the epidemiological situation of a swine head infected with *Leptospira*. *Medycyna Weterynaryjna*, 2005,61(5):518-521.
- [12] ALEXOPOULOS C, FTHENAKIS G C, BURRIEL A, BOURTZI HATZOPOULOU E, KRITAS S K, SBIRAKI A, KYRIAKIS S C. The effects of the periodical use of in-feed chlortetracycline on the reproductive performance of gilts and sows of a commercial pig farm with a history of clinical and subclinical viral and bacterial infections. *Reproduction in Domestic Animals*, 2003, 38(3):187-192.
- [13] NIELSEN P, GYRD-HANSEN N. Bioavailability of oxytetracycline, tetracycline and chlortetracycline after oral administration to fed and fasted pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1996,19(4):305-311.
- [14] ANADÓN A, GAMBOA F, MARTÍNEZ M A, CASTELLANO V, MARTÍNEZ M, ARES I, RAMOS E, SUAREZ F H, MARTÍNEZ-LARRAÑAGA M R. Plasma disposition and tissue depletion of chlortetracycline in the food producing animals, chickens for fattening. *Food and Chemical Toxicology*, 2012,50(8):2714-2721.
- [15] REINBOLD J B, COETZEE J F, GEHRING R, HAVEL J A, HOLLIS L C, OLSON K C, APLEY M D. Plasma pharmacokinetics of oral chlortetracycline in group fed, ruminating, Holstein steers in a feedlot setting. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2010,33(1):76-83.
- [16] KILROY C R, HALL W F, BANE D P, BEVILL R F, KORITZ G D. Chlortetracycline in swine - bioavailability and pharmacokinetics in fasted and fed pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1990,13(1):49-58.
- [17] 方炳虎, 陈杖榴, 冯洪辉. 金霉素、氯霉素联合应用在健康和霉形体病鸡的药动学. 畜牧兽医学报, 1995(1):53-58.
- FANG B H, CHEN Z L, FENG Q H. Pharmacokinetic studies of chlortetracycline and chloramphenicol combination in healthy and diseased broilers infected with *mycoplasma gallisepticum*. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1995(1):53-58. (in Chinese)
- [18] WASHBURN K, FAJT V R, PLUMMER P, COETZEE J F, WULF L W, WASHBURN S. Pharmacokinetics of oral chlortetracycline in nonpregnant adult ewes. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2014, 37(6): 607-610.
- [19] DYER D C. Pharmacokinetics of chlortetracycline in the turkey: evaluation of biliary secretion. *American Journal of Veterinary Research*, 1988, 49(1):36-37.
- [20] POLLET R A, GLATZ C E, DYER D C. The pharmacokinetics of chlortetracycline orally administered to turkeys: influence of citric acid and *Pasteurella multocida* infection. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 1985,13(3):243.
- [21] 易金娥, 袁慧. 兽用微囊制剂的研究进展. 中兽医医药杂志, 2007(5):28-30.
- YI J E, YUAN H. Research and development of veterinary microcapsule preparations. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2007(5):28-30. (in Chinese)
- [22] 刘辉, 汤初, 聂淑芳, 杨星钢, 潘卫三. 药物制剂新技术在中药制剂现代化中的应用. 医药导报, 2007(10):1198-1201.



- LIU H, TANG R, NIE S F, YANG X G, PAN W S. Application of new technology of pharmaceutical preparations in modernization of traditional Chinese medicine preparations. *Herald of Medicine*, 2007(10):1198-1201. (in Chinese)
- [23] 刘志国, 梁敦素, 甘崎峰, 杨灿宇. 金霉素在鸡体内的药代动力学研究. 武汉粮食工业学院学报, 1993(1):10-13.
- LIU Z G, LIANG D S, GAN Q F, YANG C Y. A study of the pharmacokinetics of chlorotetracycline in hens. *Journal of Wuhan Food Industry Institute*, 1993(1):10-13. (in Chinese)
- [24] 高强, 庞茂达, 裴燕, 王冉, 王波, 张杨杨, 谢恺舟, 张跟喜, 戴国俊, 王金玉. 金霉素和代谢物差向金霉素在肉鸡肌肉和肝脏中的残留分布. 中国兽药杂志, 2016, 50(1):24-30.
- GAO Q, PANG M D, PEI Y, WANG R, WANG B, ZHANG Y Y, XIE K Z, ZHANG G X, DAI G J, WANG J Y. Residue distribution of chlortetracycline and its metabolite 4-epi- chlortetracycline in broiler chicken muscle and liver. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2016, 50(1):24-30. (in Chinese)
- [25] CASTILLO J R, ELSENER J, MARTINEAU G P. Pharmacokinetic modeling of in-feed tetracyclines in pigs using a meta-analytic compartmental approach. *Journal of Swine Health and Production*, 1998, 5(6):189-202.
- [26] 刘倚帆, 徐良, 朱海燕, 张立可, 汪以真. 抗菌肽与抗生素对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的体外协同抗菌效果研究. 动物营养学报, 2010, 22(5):1457-1463.
- LIU Y F, XU L, ZHU H Y, ZHANG L K, WANG Y Z. An in vitro study on combination of antimicrobial peptides and antibiotics against gram-negative and gram-positive bacteria. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(5):1457-1463. (in Chinese)
- [27] 韦建强, 王志强. 替米考星及其他抗菌药对猪肺炎支原体的体外联合抑菌试验. 兽药与饲料添加剂, 2006(6):3-4.
- WEI J Q, WANG Z Q. In vitro combined bacteriostatic test of tilmicosin and other antibacterial drugs against *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Medicine and Feed Additives*, 2006(6):3-4. (in Chinese)
- [28] HAYER S S, ROVIRA A, OLSEN K, JOHNSON T J, VANNUCCI F, RENDAHL A, PEREZ A, ALVAREZ J. Prevalence and time trend analysis of antimicrobial resistance in respiratory bacterial pathogens collected from diseased pigs in USA between 2006–2016. *Research in Veterinary Science*, 2020, 128:135-144.
- [29] KUNIN C M, FINLAND M. Clinical pharmacology of the tetracycline antibiotics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1961, 2:51.
- [30] 陈杖榴. 兽医药理学. 第三. 北京: 中国农业出版社, 2010.
- CHEN Z L. *Veterinary Pharmacology*. 3rd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2010. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)