

胥宁,郑全辉,刘永涛,等. 甲苯咪唑在团头鲂体内的物料平衡研究[J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(2): 185-190.
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.02.022

甲苯咪唑在团头鲂体内的物料平衡研究

胥宁^{1,2}, 郑全辉³, 刘永涛^{1,2}, 周顺^{1,2}, 杨移斌^{1,2},
董靖^{1,2}, 杨秋红^{1,2}, 艾晓辉^{1,2}

1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223;

2. 湖北省水产品质量安全工程技术研究中心, 武汉 430223; 3. 长江大学生命科学学院, 荆州 434025

摘要 为研究甲苯咪唑(mebendazole, MBZ)在团头鲂体内的分布和排泄规律, 将MBZ以20 mg/kg单次灌服给药, 在给药后的第0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、7和8天进行水样采集, 经固相萃取法提取净化后, 采用液质联用仪(LC-MS/MS)测定水样中MBZ及其代谢物羟基甲苯咪唑、氨基甲苯咪唑的浓度。于第8天水样采完后, 处死试验鱼, 采集血液和肝、肾、鳃、肌肉等组织并称质量, 用QuEChERS法进行提取净化, LC-MS/MS检测各组织中MBZ及其代谢物的浓度, 并计算出各组织中的回收量。结果显示, MBZ及代谢物在心、肝、脾、鳃、肾、肠等组织中回收的量可达3 332.26~5 345.52 μg , 占总给药量的13.74%~23.74%。其中, 在肠中的回收量最高, 可达1 248.29~2 892.77 μg , 占总给药量的5.18%~12.85%。剩余组织中的回收量为987.22~1 907.19 μg , 占总给药量的5.19%~11.40%。水中的回收量为1 561.95~4 623.15 μg , 占总给药量的6.44%~21.88%。总的回收量为6 295.50~10 983.41 μg , 总回收率为42.64%。以上结果显示, MBZ口服之后, 主要分布在肠、肝和剩余组织, 但是总回收率偏低。表明甲苯咪唑在团头鲂体内吸收较差, 代谢路径主要通过粪尿进行排泄。

关键词 甲苯咪唑; 团头鲂; 物料平衡; 药物残留; 回收率

中图分类号 S948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)02-0185-06

甲苯咪唑(mebendazole, MBZ)属于苯并咪唑类药物, 具有高效广谱杀虫性质, 对哺乳动物毒性低, 广泛应用于人和动物消化道寄生虫病的驱杀。1998年MBZ被发现对平鲈单殖吸虫具有良好的治疗效果^[1], 之后逐步应用于水产寄生虫的驱杀^[2]。MBZ进入鱼体之后, 在一定时间内会残留在鱼的可食性组织中, 通过食物链可能会进入人体之中。已有试验表明, 苯并咪唑类药物对人体具有一定的毒性作用, 在使用此类药物的过程中也曾出现过不良反应, 例如出现麻疹、过敏性休克和脑炎综合征^[3]。1994—2003年间, 我国报道了43例由MBZ引起的脑病综合症病例, 引起了社会的广泛关注^[4]。鉴于MBZ的毒性作用, 世界各国已经制定了MBZ在马、羊等动物各组织中最大残留限量(maximum residue limit, MRL)。我国规定MBZ在羊/马的肝脏、肾脏、肌肉和脂肪中的MRL分别为400、60、60和60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[5]。欧盟也制定了类似的MRL标准, 规定MBZ及代谢物在绵

羊、山羊和马属动物的肝脏、肾脏、肌肉和脂肪中的MRL为400、60、60和60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[6]。国际食品法典委员会(CAC)规定MBZ在畜产品肌肉中的MRL为60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[7]。

虽然MBZ已经在水产养殖中批准使用, 但是并没有相关规范限定其在水产品中的MRL。为了制定MBZ在鱼体的MRL, 必须明确其在鱼体的吸收、分布以及排泄物和组织中MBZ及代谢物回收量, 即物料平衡。通过物料平衡研究, 不仅可以深入了解药物在动物体内的处置过程^[8], 还能提供代谢物组成和消除路径等信息, 进而确定具有药理活性或毒性的代谢物^[9]。但是, 目前MBZ在鱼体中的物料平衡研究还未见相关报道。因此, 笔者选择我国主要养殖品种团头鲂作为研究对象, 开展MBZ的物料平衡研究, 旨在为兽药MBZ在鱼体中的MRL的制定提供理论依据。

收稿日期: 2021-11-29

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32173022)

胥宁, E-mail: xuning@yfi.ac.cn

通信作者: 艾晓辉, E-mail: aixh@yfi.ac.cn

1 材料与方法

1.1 试验动物

健康团头鲂24尾,体质量(461.5 ± 52.3) g,由中国水产科学研究院长江水产研究所试验基地提供。试验前在6个水族箱($100\text{ cm} \times 60\text{ cm} \times 80\text{ cm}$)内暂养1周,饲喂不加抗菌药物的全价饲料。试验用水为曝气48 h的自来水,连续充氧,保持水中溶氧大于 5.0 mg/L ,pH为 $7.5 \sim 8.0$,温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 药品和试剂

1)药品。10%的甲苯咪唑溶液购自武汉中博水产生物技术有限公司;MBZ、羟基甲苯咪唑(hydroxy mebendazole, MBZ-OH)、氨基甲苯咪唑(amino mebendazole, MBZ-NH₂)标准品(纯度均大于99%,购自德国Dr.Ehrenstorfer公司)。

2)化学试剂。乙腈、甲酸(纯度88%)、乙酸乙酯和正己烷均为色谱纯(购自美国J.T.Baker公司);二甲亚砜(色谱纯,美国Tedia公司);肝素钠(购自上海惠兴生化试剂有限公司);磷酸氢二钠(分析纯,购自上海国药集团)。

1.3 试验采样

6尾团头鲂分别饲养于6个40 L的玻璃容器中,固定每个容器中水的体积为20 L。MBZ以 20 mg/kg 剂量灌服给药,分别在给药后0.25、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8 d收集鱼体生活环境的水样1 L,每次收集完水样之后,弃去剩余的水,置换相同体积的干净水。在第8天水样采完之后,用经0.5%的肝素润洗的10 mL的注射器从背主动脉采集每尾鱼的血液,放入15 mL离心管中,称总质量,然后以 $4\,000\text{ r/min}$ 离心5 min,获得血浆。接着用剪刀采集所有的鳞片和鳃;随后用镊子和剪刀采集所有的皮肤;打开腹腔采集心、肝、脾、肾、肠、胆、鳔和性腺,之后用手术刀和镊子将背部的肌肉与骨骼分离,将腹部和尾部的肌肉从骨骼上剔下;最后采集完成之后,剩余的骨骼和头部为剩余组织。对每种组织分别称质量,并且记录,然后保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$,待检测。

1.4 样品处理

1)水中MBZ及代谢物的提取。水样20 mL,加入内标MBZ-d₃,终质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g/L}$,过经3 mL甲醇和3 mL水活化的60 mg HLB小柱(Waters公司,美国),3 mL去离子水洗,抽干。5 mL甲醇洗脱,氮气吹干,再加入1 mL体积比为1:1的甲醇和0.01%甲酸水的混合液进行复溶,经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的有机滤膜过滤,滤液供液质联用仪(LC-MS/MS)检测。

2)血浆和组织中MBZ及代谢物的提取。将匀浆冷冻的样品室温下自然解冻。称取组织约1 g或血浆1 mL(不足1 g的组织,以实际质量用于提取),于15 mL具塞离心管中,准确加入内标MBZ-d₃,涡旋振荡混合30 s,加入提取溶液乙腈10 mL,无水硫酸镁0.75 g,氯化钠0.25 g,涡旋振荡提取1 min, $7\,000\text{ r/min}$ 离心5 min。将上清液转移到另1个15 mL的离心管中,加入100 mg C₁₈和中性氧化铝粉($m:m=1:1$),涡旋振荡30 s, $10\,000\text{ r/min}$ 离心5 min。上清液转移到另1个15 mL的离心管中,在 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴下氮气吹干。残渣用1 mL 50%的甲醇水溶液(含0.1%的甲酸)复溶, $10\,000\text{ r/min}$ 离心5 min,过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的有机滤膜,放于1.5 mL的进样瓶中,待测。

1.5 LC-MS/MS测定MBZ及代谢物的浓度

本试验样品的测定都在LC-MS/MS(包括Suryeyor MS Pump Plus, Suryeyor Autosampler Plus, Thermo TSQ Quantum Access MAX)上完成,采用Thermo LCquan 2.6进行数据采集和处理。LC-MS/MS参数如下:

液相色谱流动相的水相为pH 3.9的 10 mmol/L 乙酸铵,有机相含 5 mmol/L 乙酸铵、甲醇及乙腈,甲醇与乙腈的体积比为1:9。

色谱柱为C₁₈柱, $150\text{ mm} \times 2.1\text{ mm}$,粒径 $3\text{ }\mu\text{m}$ 。流速为 0.2 mL/min ,进样量 $10\text{ }\mu\text{L}$,流动相梯度如下:0~1 min,水相比比例是10%;1~3 min,水相比比例上升至50%,5 min后上升至90%,维持到7 min,然后逐渐降低,到10 min时降到10%。优化的质谱条件为雾化气温度 $338\text{ }^{\circ}\text{C}$,鞘气 40 mL/min ,辅助气 5 mL/min ,离子传输管 $350\text{ }^{\circ}\text{C}$,各个化合物的定量离子和定性离子见表1。

表1 甲苯咪唑及其代谢物的质谱参数
Table 1 Mass spectrometric parameters of mebendazole and its metabolites

化合物 Chemicals	母离子(m/z) Precursor ion	子离子(m/z) Product ion	碰撞能量 E/eV Collision energy
MBZ-NH ₂	238.1	105.1 [*] , 77.2	26, 34
MBZ-OH	298.0	160.0 [*] , 266.0	33, 22
MBZ	296.1	105.0 [*] , 77.2	32, 21
MBZ-d ₃	299.0	105.1	34

注:*表示定量离子。Notes:* indicates quantitative ion.

1.6 检测方法的准确度和精密度

1)标准曲线的制定。配制MBZ、MBZ-NH₂和

MBZ-OH的质量浓度梯度均分别为1、2、5、10、20、50和100 $\mu\text{g/L}$, 内标 MBZ- d_3 的质量浓度均为10 $\mu\text{g/L}$, 进行 HPLC-MS-MS 分析。分别以各药物与同位素内标的峰面积之比为纵坐标(Y), 各药物与内标物的质量浓度之比为横坐标(X)绘制标准曲线。

2) 精密度和准确度的测定。药物设定高中低3个质量浓度(1、10、50 $\mu\text{g/L}$), 添加基质(肝、肾、肌肉、皮、血浆和鳃), 用本文“1.4”中2)方法处理后, 测定药物质量浓度, 与添加质量浓度相比获得回收率。基质添加样品分为5批, 连续3 d测定计算精密度。由于心、脾、肠、胆、鳃、鳞和性腺所得空白基质较少, 不能满足检测方法的建立要求。因此脾中药物浓度的定量采用肝脏中的标准曲线; 心、肠、鳃、鳞和性腺采用肌肉中的标准曲线; 胆中药物浓度采用血液中的标准曲线。

2 结果与分析

2.1 检测方法的适用性

水中 MBZ、MBZ-OH 和 MBZ-NH₂ 定量限均可达到 0.05 $\mu\text{g/L}$, 血浆和组织中 MBZ、MBZ-OH 和 MBZ-NH₂ 均可以达到 1 $\mu\text{g/kg}$ 。本试验获得的 MBZ、MBZ-OH 和 MBZ-NH₂ 的标准曲线分别为: $y=0.1596x+1.0756$, $y=0.4387x-0.5571$, $y=0.2023x-0.07911$ 。在 1~100 $\mu\text{g/kg}$ 线性良好, R 值大于 0.998。MBZ 及代谢产物在水中回收率在 92.1%~107.9%, 在团头鲂组织和血浆中回收率在 78.6%~103.1%, 日内和日间变异系数都在 10% 以内(表2)。在基质中各个化合物定量和定性离子均无干扰, 满足定量的要求。

2.2 MBZ 及代谢物在团头鲂各个组织中的回收量

本研究中, 由于未检测到其他代谢物, 故 MBZ 的回收量以 MBZ、MBZ-OH 和 MBZ-NH₂ 量的总和计。鱼处死之后, 从心、肝、脾、鳃、肾、肠、胆、鳃、鳞、肌肉、皮肤、血液和性腺中的回收量可达 3 332.26~5 345.52 μg , 占总回收量的 39.45%~52.84%, 占总给药量的 13.74%~23.74%(表3)。其中肠中的回收量最高, 可达 1 248.29~2 892.77 μg , 占总回收量的 17.99%~26.51%, 占总给药量的 5.18%~12.85%。剩余组织中的回收量为 987.22~1 907.19 μg , 占总回收量的 15.68%~25.50%, 占总给药量的 5.19%~11.40%。水中的回收量在 1 561.95~4 623.15 μg , 占总回收量的 23.78%~43.00%, 占总给药量的 6.44%~21.88%。总的回收量在 6 295.50~

10 983.41 μg , 回收率在 27.09%~51.24%, 平均为 42.64%(表3)。

3 讨论

3.1 MBZ 在团头鲂中的代谢规律

本研究结果表明, MBZ 经口服之后, 在团头鲂体内主要是以 MBZ、MBZ-OH 和 MBZ-NH₂ 形式存在。而对大鼠^[10]、狗^[11]和人^[12]的 MBZ 的代谢研究表明, MBZ 的主要代谢产物也为 2-氨基-1H-苯并咪唑-5-苯基甲酮(MBZ-NH₂)和甲基 5-[(1-羟基-1-苯基)甲基-1H-苯并咪唑-2-基]氨基甲酸酯(MBZ-OH), 其中, MBZ-NH₂ 为 MBZ 的氨基酸甲酯基水解之后的化合物, MBZ-OH 则是 MBZ 的酮基被还原产生的代谢产物。在 Meuldermans 等^[13]的体外研究中发现, MBZ 在猪、大鼠和狗的肝中主要代谢物为 MBZ-OH, 分别占总放射性活度的 50%、58% 和 93%, 代谢物 MBZ-NH₂ 也出现在猪肝的提取物中。另外 Baliharová 等^[14]在体外研究中也发现, MBZ 主要有 2 个代谢途径, 一是可以在大鼠、狗、山羊、绵羊、马和牛的肝组织亚细胞成分中生成 MBZ-OH; 二是可以在马和人的肝细胞中生成 MBZ-NH₂。这些研究表明, MBZ 在人和动物体内主要代谢产物为 MBZ-OH 和 MBZ-NH₂。在前期研究中, 我们发现 MBZ 经药浴给予团头鲂之后, 主要代谢物也为 MBZ-OH 和 MBZ-NH₂^[15]。由此表明 MBZ 在鱼体中的代谢物的生成与给药途径无关。

3.2 MBZ 在团头鲂中的分布和排泄规律

本研究中, MBZ 及代谢物主要分布于团头鲂的肠、肝及剩余组织, 在肠中回收药物以药物原形为主, 表明在给药之后大部分 MBZ 没有被吸收入体内。此结果与 MBZ 在大鼠中的代谢研究结果类似。大鼠口服 0.06~10 mg/kg 的 ¹⁴C-MBZ 之后, 大部分药物从胃肠道中回收, 主要由未代谢的药物原形组成, 另外只有 1% 的放射性活度可以在血液中检测到^[10]。鱼类的粪便和尿很难收集到, 且鱼的粪尿都排泄到水中, 所以我们以水中药物的回收量作为排泄物中的回收量。本研究中, MBZ 在水中的回收量为 1 561.95~4 623.15 μg , 占总回收量的 32.32%。在人类中, MBZ 主要通过粪便排泄, 只有 9% 的药物是通过尿液排泄。在给药后 2~4 h, 血液中药物的质量浓度只达到了 27~42 $\mu\text{g/L}$ ^[6]。在大鼠中, MBZ 主要也是通过粪便排泄, 回收量可达 70%~90%, 并且原形药物占绝大部分。在给药后 1 h, 大鼠

表 2 甲苯咪唑及其代谢产物在团头鲂血浆及组织中回收率、日内和日间变异系数
Table 2 The recoveries, inter-day RSD, and between-day RSD of mebendazole and its metabolites in plasma and tissues of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)

化合物 Chemicals	质量/ 分数/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) Concentration	水 Water			肝 Liver			肾 Kidney			肌肉 Muscle			皮 Skin			血浆 Plasma			鳃 Gill		
		回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD	回收 率/% Recovery	日内 变异 系数 Inter- day RSD	日间 变异 系数 Between- day RSD
1		98.7	4.3	6.3	95.1	5.1	5.2	96.2	5.0	2.9	98.2	4.1	3.5	95.3	3.5	5.6	102.3	3.3	4.2	99.2	2.5	4.5
MBZ	10	102.3	5.1	7.2	92.4	4.8	3.3	97.3	4.9	5.6	103.1	5.8	2.6	92.7	5.6	7.1	95.7	4.7	6.7	94.5	4.4	6.0
	50	95.1	3.2	5.5	98.3	2.2	4.5	100.2	5.5	6.3	99.2	6.2	6.7	98.1	7.8	7.8	96.8	4.2	5.3	97.3	5.2	6.3
MBZ	1	107.9	2.7	5.6	96.2	4.2	7.8	95.3	6.4	4.3	94.1	3.4	5.1	99.2	6.1	6.5	93.9	3.7	5.8	92.1	5.7	7.9
—OH	10	94.7	3.1	6.0	97.3	5.3	5.1	101.2	7.2	4.5	97.2	4.6	5.8	92.7	5.9	5.4	98.4	2.1	4.3	93.8	5.0	6.8
	50	96.8	3.8	4.9	102.1	6.2	3.8	98.1	3.8	7.2	100.5	7.2	4.2	97.8	4.8	5.9	101.3	5.5	7.0	96.7	4.3	4.9
MBZ	1	87.3	2.9	4.7	80.2	4.2	6.5	81.3	5.2	5.9	83.4	5.9	6.7	82.8	5.0	6.0	82.7	4.8	7.2	83.5	5.1	6.7
	10	92.1	4.0	7.2	78.6	5.5	2.3	87.2	4.8	4.2	80.8	5.3	7.3	93.0	5.3	5.2	83.2	5.0	6.7	90.2	4.8	6.3
—NH ₂	50	95.7	3.3	6.8	82.0	7.2	3.9	83.1	3.2	8.1	82.7	6.8	6.9	90.1	6.6	7.1	85.6	5.4	6.5	89.7	5.9	8.0

表 3 甲苯咪唑在团头鲂体内和水中的回收情况
Table 3 The recovery of mebendazole in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) and in water

编号 Number	心/ μg Heart	肝/ μg Liver	脾/ μg Spleen	鳃/ μg Gill	肾/ μg Kidney	肠/ μg Intestine	胆/ μg Bile	鳔/ μg Bladder	鳞/ μg Scales	肌肉/ μg Muscle	皮肤/ μg Skin	血液/ μg Blood	性腺/ μg Gonad	组织 Tissues			总回收量/ μg			回收率/%		
														剩余组织/ μg Reminder tissues	水/ μg Water	Total amount of recovery	给药量/ μg Dose	回收率/% Recovery	给药量/ μg Dose	回收率/% Recovery	给药量/ μg Dose	回收率/% Recovery
1	1.86	654.53	0.55	16.57	7.75	1 900.26	1.52	129.85	96.00	366.02	354.28	0.13	0.19	1 827.98	1 809.88	7 167.38	16 032.00	44.71	16 032.00	44.71		
2	0.12	753.72	0.03	40.00	0.10	1 248.29	0.30	63.31	72.40	718.83	434.22	0.84	0.10	1 673.89	1 561.95	6 568.10	24 248.00	27.09	24 248.00	27.09		
3	0.01	900.08	0.10	80.20	5.46	2 045.52	6.11	138.26	777.48	540.52	301.23	0.71	0.35	1 907.19	3 681.17	10 384.41	20 268.00	51.24	20 268.00	51.24		
4	2.04	709.75	0.33	58.78	3.23	1 573.69	2.34	107.36	477.65	251.36	138.56	1.24	0.26	987.22	1 981.71	6 295.50	19 004.00	33.13	19 004.00	33.13		
5	1.08	437.32	0.43	89.79	5.78	1 934.16	5.83	173.30	853.98	351.03	387.20	1.37	0.24	1 886.52	4 623.15	10 751.17	21 132.00	50.88	21 132.00	50.88		
6	0.01	455.17	0.35	94.37	2.78	2 892.77	3.01	87.33	1239.58	246.01	323.58	0.49	0.07	1792.58	3 845.31	10 983.41	22 520.00	48.77	22 520.00	48.77		

的肝脏中未代谢的MBZ占到了15%;4 h之后,原形药物的百分比下降到了1%^[10]。在绵羊体内,MBZ在粪便中的回收量可达73.1%,尿液中的回收量只有10.8%^[6]。由此可见,MBZ在人、大鼠和绵羊体内,绝大部分是通过粪便排出体外,且回收百分比明显高于团头鲂,这可能与动物间的不同排泄机制有关。

3.3 MBZ在动物体中的回收

本研究中,MBZ在团头鲂体内的回收率只有42.64%,明显低于其他动物^[6]。在其他动物中,研究者是采用放射性标记法对MBZ进行药物代谢和安全性评价,其物料平衡研究结果中的回收量都较高。这可能是由于,放射性同位素(¹⁴C和³H)标记的药物被用于试验,采用特定的仪器检测各个组织和排泄物中的放射性活度,从而达到了较高的回收率^[8]。但是,此方法涉及到放射性物质的安全管理等问题,需要特定的实验室和仪器才能完成,成本高昂,一般实验室无法完成。所以,我国农业农村部标准《动物性食品中兽药最大残留限量标准制定技术规范(试行)》中做出了相应的规定,对于已经确定每日容许摄入量的兽药,如果冷试验(采用非放射性标记的药物进行试验)证明药物的代谢行为与已知在其他靶动物的代谢行为(靶组织,残留标示物种类及含量与已知靶动物中类似)相同,只要将100%的每日容许摄入量按比例分配到全部组织+蛋/奶,根据WHO推荐的食物消费系数,推导出各种组织和蛋/奶的MRL即可。如果冷试验证明药物的代谢行为与已知在有关动物的代谢行为(靶组织,残留标示物种类及含量,残留标示物与总残留比率)不同,则应进行放射性标记药物在靶动物中的残留标示物消除试验,之后建立MRL。本研究发现,MBZ在鱼体中的主要代谢产物与人和畜牧动物相同,除MBZ-OH和MBZ-NH₂外没有检测到其他代谢产物。因此,可以用非放射性标记的MBZ进行物料平衡试验。虽然回收率比较低,但是明确了其在鱼体的吸收、分布和排泄情况,达到了实验的目的。

参考文献 References

[1] KIM K H, CHOI E S. Treatment of *Microcotyle sebastis* (Monogenea) on the gills of cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) with oral administration of mebendazole and bithionol [J]. Aquaculture, 1998, 167(1): 115-121.

[2] 贾成霞, 张清靖. 北京市市场冷水鱼药物残留情况调查分析与对策研究[J]. 中国水产, 2021(2): 101-103. JIA C X, ZHANG Q J. Investigation and analysis of drug residues in cold water fish in

Beijing market and research on countermeasures[J]. China fisheries, 2021(2): 101-103 (in Chinese).

[3] 白玲, 赵丕烈, 陈东平. 甲苯咪唑的不良反应[J]. 医药导报, 1999(2): 128. BAI L, ZHAO P L, CHEN D P. Adverse reactions of mebendazole [J]. Medical herald, 1999(2): 128 (in Chinese with English abstract).

[4] 郑荣远, 杨学志, 朱振国. 咪唑类驱虫药的严重不良反应: 上市后观察研究[J]. 药物流行病学杂志, 2004(6): 291-293. ZHENG R Y, YANG X Z, ZHU Z G. Severe adverse reactions of imidazole anthelmintics: post-marketing observational study [J]. Chinese journal of pharmacoepidemiology, 2004(6): 291-293 (in Chinese with English abstract).

[5] 中华人民共和国标准. 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, 2019. The standard of People's Republic of China. National food safety standard: maximum residue limits for veterinary drugs in animal derived food: GB 31650—2019 [S]. Beijing: China Standard Press, 2019 (in Chinese).

[6] EMA. Committee for veterinary medicinal products-mebendazole summary report (1)[R]. London: EMA, 1999.

[7] FAO. Food and nutrition paper 41/2. Residue of some veterinary drugs in animals and foods[R]. Geneva: FAO, 1989.

[8] PENNER N, KLUNK L J, PRAKASH C. Human radiolabeled mass balance studies: objectives, utilities and limitations[J]. Biopharmaceutics and drug disposition, 2009, 30(4): 185-203.

[9] PENNER N, XU L, PRAKASH C. Radiolabeled absorption, distribution, metabolism, and excretion studies in drug development: why, when, and how?[J]. Chemical research in toxicology, 2012, 25(3): 513-531.

[10] ALLAN R J, WATSON T R. The metabolic and pharmacokinetic disposition of mebendazole in the rat[J]. European journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 1983, 8(4): 373-381.

[11] ZIMMERMANN S C, TICHY T, VAVRA J, et al. N-substituted prodrugs of mebendazole provide improved aqueous solubility and oral bioavailability in mice and dogs[J]. Journal of medicinal chemistry, 2018, 61(9): 3918-3929.

[12] WITASSEK F, ALLAN R J, WATSON T R, et al. Preliminary observations on the biliary elimination of mebendazole and its metabolites in patients with echinococcosis[J]. European journal of clinical pharmacology, 1983, 25(1): 81-84.

[13] MEULDERMANS W E G, HURKMANS R M A, LAUWERS W F J, et al. The *in vitro* metabolism of mebendazole by pig, rat and dog liver fractions[J]. European journal of drug metabolism and pharmacokinetics, 1976, 1(1): 35-40.

[14] BALIHAROVÁ V, VELÍK J, SAVLÍK M, et al. The effects of fenbendazole, flubendazole and mebendazole on activities of hepatic cytochromes P450 in pig[J]. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 2004, 27(2): 85-90.

[15] 胥宁, 刘永涛, 艾晓辉, 等. 甲苯咪唑在团头鲂体内主要代谢物及其变化规律研究[J]. 淡水渔业, 2013, 43(6): 39-44. XU N, LIU Y T, AI X H, et al. The study of main metabolites of mebendazole and its variation in *Megalobrama amblycephala* [J]. Freshwater fishery, 2013, 43(6): 39-44 (in Chinese with English abstract).

Mass balance of mebendazole in body of blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*

XU Ning^{1,2}, ZHENG Quanhui³, LIU Yongtao^{1,2}, ZHOU Shun^{1,2},
YANG Yibin^{1,2}, DONG Jing^{1,2}, YANG Qihong^{1,2}, AI Xiaohui^{1,2}

1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences,
Wuhan 430223, China;

2. Hubei Province Engineering and Technology Research Center of Aquatic
Product Quality and Safety, Wuhan 430223, China;

3. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China

Abstract Mebendazole (MBZ) was administered to blunt snout breams (*Megalobrama amblycephala*) by oral gavage, and water samples were collected at corresponding time points of 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 d after drug administration to study the distribution and excretion of MBZ in the body of blunt snout bream. The liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) was used to determine the concentrations of MBZ and its metabolites in the water samples after extracted and purified by solid-phase extraction. The fish experimented were killed and its blood, liver, kidney, gill, muscle and other tissues were collected and weighed after the water samples were collected on the 8th day. QuEChERS method was used for extraction and purification, LC-MS/MS was used to detect the concentrations of MBZ and its metabolites in each tissue. The recovery amount in each tissue was calculated. Results showed that the recovery amount of MBZ and its metabolites in the heart, liver, spleen, gill, kidney, intestine etc. was ranged from 3 332.26 to 5 345.52 μg accounting for 13.74%-23.74% of the total dose, with the highest recovery amount in the intestine up to 5.18%-12.85% of the total dose. The recovered amount in other tissues was ranged from 987.22 to 1 907.19 μg accounting for 5.19%-11.40% of the total dose. The recovery amount in water was ranged from 1 561.95 to 4 623.15 μg accounting for 6.44%-21.88% of the total dose. The total recovery amount of MBZ was ranged from 6 295.50 to 10 983.41 μg , with the average recovery ratio of 42.64%. It is indicated that MBZ mainly exists in the form of mebendazole, hydroxybendazole and aminobendazole in the body of blunt snout breams, and no other metabolites were detected after oral gavage. MBZ and its metabolites were mainly distributed in the intestine, liver, other tissues, but the overall recovery ratio was low. It is indicated that mebendazole is poorly absorbed in the body of blunt snout breams, and its metabolic pathway is similar to other animals. Mebendazole is mainly excreted through feces and urine.

Keywords mebendazole; *Megalobrama amblycephala*; mass balance; drug residue; recovery ratio

(责任编辑:边书京)