

研究简报

氧氟沙星在鲤体内的药物动力学和残留研究

操继跃¹ 葛建¹ 方之平¹ 潘黔生² 彭玉芬¹

(华中农业大学 1. 动物医学院, 2. 水产学院, 武汉 430070)

STUDY ON PHARMACOKINETICS AND RESIDUES OF OFLOXACIN IN COMMON CARP, *CYPRINUS CARPIO*

CAO Ji-Yue¹, GE Jian¹, FANG Zhi-Ping¹, PAN Qian-Sheng² and PENG Yu-Fen¹

(1. College of Veterinary Medicine; 2. College of Fisheries Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

关键词: 氧氟沙星; 鲤鱼; 药物动力学; 残留

Key words: Ofloxacin; Common carp (*Cyprinus carpio*); Pharmacokinetics; Residue

中图分类号: S948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2005)02-0227-03

氧氟沙星(Ofloxacin)是氟喹诺酮类药物之一,由日本第一制药株式会社于 1982 年开发的,由于分子的基本结构中引入了疏水性的氟原子及亲水性的哌嗪环,其抗菌活性得到了增强、细菌耐药性大大降低。其杀菌机理是通过与细菌复制所必须的脱氧核糖核酸回旋酶(DNA-gyrase)的亚基 A 结合,使此酶失活来抑制 DNA 的合成而达到杀菌目的^[1-2]。由于该药具有吸收完全、分布广、半衰期长、抗菌谱广及毒副作用小等优点而引起国内外医药界的高度重视,已在人医临床上得到了广泛应用^[3-9]。在防治家畜细菌感染中也有应用的报道^[6-7],但有关该药在鱼体内的药物动力学和残留方面的研究却未见报道。对该药进行药物动力学和残留研究可为水产养殖上合理用药提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼 健康鲤,体重 500±93g,饲养在 0.5m×0.5m×0.8m 水箱内,空气增氧机充氧,每天换水 3 次,水温 24±2℃。试验前一周投不含抗生素的全价鱼饲料。

1.2 试剂及药品 氧氟沙星标准品(纯度 99.3%,批号 20030101),郑州瑞康制药有限公司提供;甲醇、二氯甲烷、正己烷等均为分析纯,武汉博康有限公司提供。

1.3 给药、样品采集及处理 采用一端稍钝且有一定硬度的细塑料管,缓慢插入鲤前肠,按 20.0mg/kg 剂量灌入,无回吐者保留试验。药物动力学组(简称为药动组,下同)于给药后不同时间(表 3)自尾静脉采血,分离血浆,于冰箱保存。每

个时间点采样 5 尾,每尾采血一次。药物残留组于给药后不同时间(表 5)分别剖杀,取其肝胰脏、肌肉和皮肤于-20℃冰箱中保存至测定,每组各剖杀 5 尾。样品进样前处理:取 0.6mL 血浆,加入 0.6mL pH7.0 磷酸盐缓冲液,旋涡混匀,加入 5.0mL 二氯甲烷振荡、离心,准确取出有机相,残渣重复萃取,合并有机相,50℃水浴中氮气流吹干,流动相溶解后取 20μL 进样。称取组织 2.0g,以 12000r/min 匀浆,清洗工作头,将清洗液转入匀浆液中,加入 2.0mL pH7.0 磷酸盐缓冲液混匀,加入 10mL 二氯甲烷,混旋、超声萃取、离心,以下操作同血浆处理,流动相溶解(肝胰脏和皮肤组织分别用 1.0mL 正己烷各去脂 2 次),取 20μL 进样。

1.4 色谱条件选择 流动相 甲醇:0.05mol/L 磷酸二氢钾缓冲液:0.5mol/L 四丁基溴化铵(v/v=10:90:4),流速 1.0mL/min,灵敏度 0.01AUFS,检测波长 294nm,柱温 25℃。

1.5 标准曲线制备 血浆标准曲线制备:分别加入 0.6mL 空白血浆于具塞离心管中,依次加入标准液制成含药浓度 0.01, 0.25, 0.63, 1.58, 3.58, 10, 25μg/mL 血样,按 1.3 方法处理,0.6mL 流动相溶解后进样,以测得的各峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标作标准曲线,求出回归方程和相关系数。

组织标准曲线制备:分别称取 2g 空白组织于具塞离心管中,依次加标准液制成含药浓度 0.01, 0.25, 0.63, 1.58, 3.58, 10μg/g 的组织样品,按 1.3 方法处理,2mL 流动相溶解后进样分析。

1.6 回收率和变异系数 制得含药物 0.1, 1.58, 10μg/mL 的

收稿日期: 2004-08-25; 修订日期: 2004-10-06

基金项目: 国家自然科学基金(30271013)资助

作者简介: 操继跃(1961—), 男, 汉族, 湖北武汉人; 教授, 博士; 主要从事兽医药理学及药剂学研究

血浆和0.1、0.63、1.58 μ g/g的组织,然后按1.3方法处理后作HPLC测定,每个浓度重复5次,以样品药物峰面积和溶于流动相药物峰面积之比,计算高、中、低3种浓度下的回收率。比较以上样品日内5次和日间5次测定的峰面积变化幅度,计算变异系数。

1.7 药动学和残留样品测定 将冷冻保存的血浆和组织自然解冻,按1.3方法处理后分别用0.3mL和0.4mL流动相溶解,进样测得血浆和组织样品峰面积,代入标准曲线方程计算样品含量。

2 结果

2.1 检测限、回收率及精密度

在设定的色谱条件下,峰形较好,其保留时间为7.5min,无干扰峰出现(图1)。本方法的检测限为0.05 μ g/mL,回收率和变异系数见表1和表2。

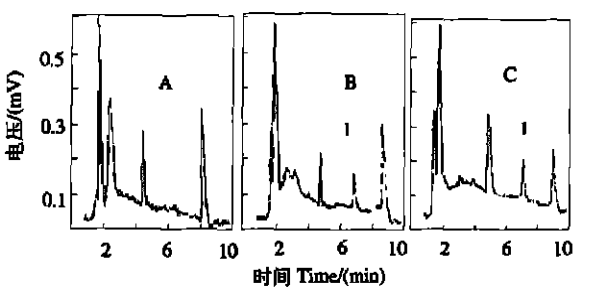


图1 肌肉中氧氟沙星色谱图
Fig.1 Chromatogram of Ofloxacin in muscle

A. 空白肌肉组织 Chromatogram of blank muscle;
B. 加药(0.1 μ g/g)肌肉组织 Chromatogram of spiked muscle (0.1 μ g/g);
C. 给药后5d肌肉组织峰1为氧氟沙星(7.5min) Chromatogram of muscle after 5 days Peak 1. Ofloxacin

表1 组织中的回收率(%) (n=5)
Tab.1 The recoveries of several tissues

| 组织 Tissue | 高浓度 High concentration | 中浓度 Middle concentration | 低浓度 Low concentration |
|---------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 血浆 Plasma | 97.59 \pm 1.96 | 90.22 \pm 1.75 | 88.81 \pm 6.72 |
| 肝胰脏 Hepato-pancreas | 94.72 \pm 8.54 | 94.56 \pm 2.85 | 92.93 \pm 7.72 |
| 肌肉 Muscle | 95.06 \pm 5.42 | 90.35 \pm 8.46 | 86.46 \pm 3.35 |
| 皮肤 Skin | 97.48 \pm 2.66 | 90.45 \pm 4.93 | 88.65 \pm 7.48 |

表2 组织中的变异系数(%) (n=5)
Tab.2 The coefficients of variation in several tissues

| 组织 Tissue | 高浓度 High concentration | | 中浓度 Middle concentration | | 低浓度 Low concentration | |
|---------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| | 日内 Within-day | 日间 Between-day | 日内 Within-day | 日间 Between-day | 日内 Within-day | 日间 Between-day |
| | | | | | | |
| 血浆 Plasma | 1.88 | 3.76 | 1.81 | 6.52 | 1.95 | 8.49 |
| 肝胰脏 Hepato-pancreas | 3.01 | 7.69 | 2.56 | 8.94 | 3.17 | 9.39 |
| 肌肉 Muscle | 3.82 | 4.63 | 4.15 | 6.86 | 4.85 | 9.75 |
| 皮肤 Skin | 3.20 | 5.53 | 3.80 | 2.83 | 3.01 | 6.06 |

2.2 药物动力学研究

将分析所得血浆样品峰面积代入曲线方程求出血药浓度,采用残数剥离法对药动学模型及参数进行分析^[8],该模

型为有吸收二室模型,药物动力学方程为: $C = 2.834e^{-0.0286t} + 50.234e^{-2.314t} - 53.258e^{-2.901t}$; 血药浓度和药物动力学参数分别见表3和表4。

表3 鲤单次口服(20mg/kg)后血浆中的氧氟沙星浓度(n=5)

Tab.3 The plasma ofloxacin concentrations after a single oral administration of 20mg/kg(n=5)

| 采样时间(h) Sampling time | 平均血药浓度(μ g/mL) Average concentration in plasma | 采样时间(h) Sampling time | 平均血药浓度(μ g/mL) Average concentration in plasma |
|--------------------------|---|--------------------------|---|
| 0.083 | 0.361 \pm 0.039 | 6.0 | 2.776 \pm 0.163 |
| 0.17 | 0.582 \pm 0.088 | 12.0 | 1.783 \pm 0.315 |
| 0.5 | 3.402 \pm 0.643 | 24.0 | 1.106 \pm 0.234 |
| 0.75 | 12.676 \pm 0.443 | 48.0 | 0.415 \pm 0.085 |
| 1.0 | 6.952 \pm 0.135 | 96.0 | 0.283 \pm 0.055 |
| 1.5 | 4.363 \pm 0.345 | 120.0 | 0.088 \pm 0.009 |
| 3.0 | 3.834 \pm 0.336 | | |

表 4 单次口灌给药后氧氟沙星的药动学参数
Tab. 4 The pharmacokinetic parameters of ofloxacin after a single oral administration of 20mg/kg

| 参数 Parameter | 名称 name | 单位 Unit | 数值 Value |
|--------------------|------------|-----------------|-------------|
| Ka | 吸收速率常数 | h ⁻¹ | 2. 90 |
| α | 分布速率常数 | h ⁻¹ | 2. 31 |
| β | 消除速率常数 | h ⁻¹ | 0. 028 |
| AUC | 曲线下面积 | μg·h/mL | 120. 85 |
| t _{1/2ka} | 吸收半衰期 | h | 0. 24 |
| t _{1/2α} | 分布半衰期 | h | 0. 30 |
| t _{1/2β} | 消除半衰期 | h | 24. 27 |
| Vd/F | 表观分布容积 | L/kg | 5. 79 |

2.3 鲤组织中氧氟沙星的残留量(表 5)

表 5 鲤单次口灌(20mg/kg)后组织中的氧氟沙星残留量(n=5)
Tab.5 The tissue residue of ofloxacin after a single oral administration of 20mg/kg(n=5)

| 采样时间(d) Sampling time | 肌肉(μg/g) Muscle | 皮肤(μg/g) Skin | 肝胰脏(μg/g) Hepato-pancreas |
|--------------------------|--------------------|------------------|------------------------------|
| 1 | 1. 767±0. 102 | 1. 080±0. 115 | 2. 579±0. 719 |
| 3 | 0. 590±0. 368 | 0. 703±0. 384 | 1. 416±0. 399 |
| 5 | 0. 145±0. 039 | 0. 529±0. 071 | 0. 826±0. 228 |
| 7 | 0. 054±0. 002 | 0. 078±0. 011 | 0. 156±0. 102 |
| 9 | 0. 035±0. 004 | 0. 033±0. 002 | 0. 041±0. 003 |

3 讨论

氧氟沙星具有两性基团,而采用十八烷基键合相硅胶为填充剂的色谱柱分离该化合物,必须考虑到填充剂中未硅烷化羟基对碱性基团的吸附,同时又必须考虑到羟基对分离的影响,因此在流动相中加入四丁基溴化铵可显著改善色谱行为。药物动力学研究结果显示,氧氟沙星在鲤体内口服吸收半衰期(t_{1/2ka})为 0. 24h,分布半衰期(t_{1/2α})为 0. 30h,表观分布容积(Vd/F)为 5. 79L/Kg,消除半衰期(t_{1/2β})为 24. 27h。与氧氟沙星在鸡、兔体内研究结果相比^[9],其消除半衰期明显延长,表观分布容积明显增大,表明氧氟沙星在鲤体内分布广泛、消除较缓慢,在药物动力学参数方面存在较大的种属差异性,提示人们不可将其他种属的给药方案直接移植到水产

养殖上。与诺氟沙星和喹乙醇在鲤体内研究结果相比,氧氟沙星在鲤体内吸收较快、消除半衰期明显延长。本研究结果表明氧氟沙星适合鱼类疾病的防治,在水产养殖中具有极大的开发应用前景。

通过残留研究可见,该分析方法在鲤组织中回收率均大于 80%,日内和日间变异系数分别小于 5% 和 10%,检测限为 0. 05μg/g,保留时间稳定,表明该方法适合氧氟沙星在鲤鱼体内的残留检测。氧氟沙星用药后在鲤鱼体内的组织残留量由高至低依次为肝胰脏、肌肉和皮肤,于给药 9 日后,肝胰脏、肌肉和皮肤中残留药物浓度分别为 41μg/kg、33μg/kg 和 33μg/kg,结果表明氧氟沙星在鲤肝胰脏中的残留大于其他两种组织中的残留,这就将为人们在研究残留靶器官时提供理论参考。

参考文献:

[1] Han X P, Liu S M, Li B L. General situation of fluoroquinolones[J] . *HeiLongJiang Medical Journal*, 1999, 12(1): 28—29[韩晓非, 刘淑敏, 李滨兰. 氟喹诺酮类药物研究概况[J] . 黑龙江医药, 1999, 12(1): 28—29]

[2] Piddock L J V. Mechanisms of resistance to quinolones: anclinical perspectives[J] . *J. Antimicrob. chemother.* 1989, 23: 475

[3] Zhuo H T, Lu J Z, Xia X R *et al.* Pharmacokinetics of ofloxacin through three administration routes[J] . *Acta Pharmacologica Sinica*, 1994, 15(5): 411—413

[4] Chen Q, Lu H, Xu X Y *et al.* Pharmacokinetic and relative bioavailability of ofloxacin after a single oral administration in Chinese healthy volunteers[J] . *Chin J Clin Pharmacol* 1992, 8: 193—197

[5] Sun C H, Li K X, Tan L. Pharmacokinetics of ofloxacin injection in healthy volunteers[J] . *Chinese Journal of Antibiotics*, 1995, 20(1): 59—62[孙春华, 李可欣, 谭玲. 氧氟沙星注射液的人体药动力学[J] . 中国抗生素杂志, 1995, 20(1): 59—62]

[6] Marangos M N, Zhu Z, Nicolau D P. . Disposition of ofloxacin in female New Zealand White rabbits[J] . *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 1997, 20: 17—20

[7] Son D S, Ikenoue N, Tagawa Y. Non-linear pharmacokinetics of ofloxacin after a single intravenous bolus dose in pigs[J] . *J. Vet. Pharmacol. Therap*, 2000, 23: 311—315

[8] Feng Q H, Wang T X, Zhang F H, *et al.* Veterinary pharmacokinetics [M] . Beijing: Science Press, 1987, 87—160[冯淇辉, 王天行, 张福华, 等. 兽医药物代谢动力学. 北京: 科学出版社, 1987, 87—160]