

## 盐酸沙拉沙星在鲫体内的残留及消除规律研究

王翔凌 方之平 操继跃 潘玉善 方 浩

(华中农业大学动物医学院,武汉 430070)

**摘要:**采用高效液相色谱法测定鲫组织中沙拉沙星并初步研究了盐酸沙拉沙星在鲫组织中的残留及消除规律。在  $21 \pm 2$  下,以  $20\text{mg}/\text{kg}$  的剂量单次口灌给药,取血浆和肌肉、皮肤、肝胰脏、肾脏、卵巢 5 种组织,各样品中加入甲磺酸达氟沙星作内标,用二氯甲烷提取组织中的药物,正己烷去脂,反相高效液相色谱法测定其中盐酸沙拉沙星的浓度。此方法平均回收率均大于 82.97%,日间变异系数小于 8.41%,最低检测限可达  $0.0125\mu\text{g}/\text{g}$ 。研究结果表明盐酸沙拉沙星在血浆和 5 种组织中消除速率快慢不一,肾脏为盐酸沙拉沙星残留的靶组织。若规定可食用组织中的盐酸沙拉沙星在最大残留限量为  $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ,由休药期(WDT)公式可得出盐酸沙拉沙星在鲫体内的 WDT 为 14d。

**关键词:**盐酸沙拉沙星;鲫;反相高效液相色谱法;残留;消除规律

中图分类号:S948 文献标识码:A 文章编号:1000-3207(2006)02-0198-06

沙拉沙星(Sarafloxacin)是第一个被美国 FDA 批准用于食品动物的氟喹诺酮类药物,具有抗菌谱广、抗菌活性强、与其他抗菌药无交叉耐药性、吸收快、生物利用度高、组织分布广、半衰期长等特点<sup>[1]</sup>。沙拉沙星对大多数细菌(尤其是革兰氏阴性菌)和霉形体均表现出良好的抗菌作用<sup>[2]</sup>。目前,在水产养殖方面多使用盐酸沙拉沙星(Sarafloxacin Hydrochloride)治疗鮰的某些疾病,并对由气单胞菌感染的鮰有良好的疗效<sup>[3,4]</sup>。

有报道表明<sup>[5]</sup>,此类药物在食品动物中的残留会引起人类病原菌对其产生耐药性,并且其产生的毒副作用还会对人体产生直接的危害,因而其在可食性动物组织中的残留问题已经日益引起人们的关注。目前已有关于沙拉沙星在家禽及海洋动物体内残留的相关报道<sup>[6,7]</sup>,但对其在淡水鱼体内残留及消除规律的研究在国内外尚未见报道,而且同一种药物在不同动物种类、不同温度等条件下其残留及消除规律有差别<sup>[8,9]</sup>。因此本试验选用来源广泛、适应性强的淡水养殖鱼类鲫作为研究对象,建立了反相高效液相色谱法检测鲫组织中盐酸沙拉沙星的方法,并且模拟实际养殖条件,研究了在水温  $21 \pm 2$  时,单剂量口灌给药后盐酸沙拉沙星在鲫体内的残留及消除特点,提出了临床休药期的建议,为规范

鱼药的合理应用,保证食品卫生安全提供参考。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 健康雌性鲫,体重  $280 \pm 20\text{g}$ ,由武汉梅家山渔场提供。试验前在水族箱( $0.8\text{m} \times 0.5\text{m} \times 0.4\text{m}$ )中暂养一周,水温控制在  $21 \pm 2$ ,增氧泵充氧。饲喂不含任何药物的全价饲料。所有试验鲫经抽查表明血浆和组织中均不含盐酸沙拉沙星。

**1.2 药品及试剂** 沙拉沙星标准品,批号 H061200,含量 99.6%,甲磺酸达氟沙星标准品,批号 H050401,含量 99.7%,以上两种均由中兽医药品监察所提供;盐酸沙拉沙星原料药,批号 030901,含量 98.7%,由浙江新昌国邦兽药厂提供;二氯甲烷、正己烷、四丁基溴化铵、氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸、肝素钠等均为国产分析纯,由中国医药集团上海化学试剂有限公司提供;乙腈为美国 Fisher 色谱纯。

**1.3 高效液相色谱仪及色谱条件** Agilent 1100 型高效液相色谱(HPLC)仪(色谱柱类型:ZORBAX SB-C<sub>18</sub>, $4.6 \times 150\text{mm}, 5\mu\text{m}$ );可变波长紫外检测器;流动相 乙腈:pH 7.4 磷酸钠缓冲液(含 0.5% 四丁基溴化铵)=10:90(V/V),用 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 调 pH 至 3.0,过滤脱气后现用;流速 1.0 mL/min;柱温 30;紫外检测波长 280 nm;进样量 20 μL。

收稿日期:2005-02-01;修订日期:2005-06-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271031)

作者简介:王翔凌(1979—),女,山东省临沂人;硕士;现为上海水产大学在读博士生

通讯作者:方之平,教授,E-mail:panfang@public.wh.hb.cn

**1.4 动物分组、给药与采样** 试验用鲫 35 尾,随机分为 7 组,每组 5 尾,每一时间点各取一组鱼,另取数尾未给药的鲫作空白对照。给药时将原料药用三蒸水溶解,并用 0.5mol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 助溶,配成浓度为 5mg/mL 的药物。每组以 20mg/kg 的单剂量采用插入导管法灌入前肠,无回吐者保留试验。给药前 4h 禁食,给药后 4h 投料,并于给药后 1、2、3、4、5、7、9d 自尾静脉采血,放入到滴有少量 0.5% 肝素溶液的小离心管中,以 4000r/min 离心 10min,取血浆。采血后,迅速钝击头部致死,去鳞,剖杀,取鱼皮、背脊两侧肌肉、肝胰脏、肾脏、卵巢,依次放入标记好的样品袋中。全部样品 -20℃ 冷冻保存用于药物分析。

**1.5 制样方法** 取各时间点所取血浆(0.8mL)和剪碎匀浆后的组织(皮肤和肌肉各 2g,肾脏 0.5g,肝胰脏和卵巢各 1g),各样品中加入不同量的同一浓度的甲磺酸达氟沙星标准液作内标,制得含内标浓度为 1μg/mL 的血浆样品和 1μg/g 的组织样品,于漩涡混合器上混合 2min,再根据所取样品量(V/V 或 M/V)1:1 分别加入 1mol/L NaCl 和 PBS(pH 7.4),按 1:5 (V/V 或 M/V) 分别加入二氯甲烷,混合 2min,液体快速混合器上中速混合 10min,12000r/min 离心 10min,弃去上层水相,将下层有机相倒入 15mL 具塞离心管中,将残渣再次加入以上试剂,试剂量减半,重复以上操作步骤,进行第二次萃取,合并两次有机相,在 60℃ 恒温水浴锅中,用氮气流吹干。蒸残物用流动相(血浆用 0.4mL,组织用 0.5mL)溶解,漩涡混合器上混匀 2min,加入 2mL 正己烷去脂,液体快速混合器上混匀 10min,12000r/min 离心 10min,弃去上层液体,下层再次加入相同体积的正己烷进行第二次去脂,混匀、离心之后吸取下层液体 20μL 进样,进行 HPLC 测定。

**1.6 标准曲线的制备及线性范围的测定** 将一系列不同浓度的沙拉沙星标准液依次加入到各空白样品中,制得含药物浓度为 0.0125、0.025、0.05、0.1、0.5、1、5、10、20μg/g (mL) 的组织样品,加入一定量的内标,按 1.5 中所述方法制样,进行 HPLC 检测。以药物峰面积与内标物峰面积的比值(A<sub>i</sub>)为横坐标,以药物标准品在空白样品中的浓度(G<sub>i</sub>)为纵坐标,绘制血浆和各组织标准曲线并且得出回归方程,根据各样品标准曲线的相关系数估计样品中沙拉沙星定量的线性范围。

**1.7 最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ)的测定** 将各样品标准曲线范围内的最低浓度的沙拉沙

星标准液依次稀释成呈梯度降低的一系列沙拉沙星标准液加入到各样品中,按 1.5 中所述方法制样,进行 HPLC 检测。以信噪比 3 的最低浓度作为样品中沙拉沙星的最低检测限(LOD)。

空白样品中加入已知浓度的沙拉沙星标准液,按 1.5 中所述方法制样,以高于或等于最低检测限、变异系数和回收率均符合残留检测要求的最低浓度作为各样品中沙拉沙星的最低定量限(LOQ)。

**1.8 回收率和变异系数的测定** 取空白样品,添加适量沙拉沙星标准液,配制成含沙拉沙星浓度为 0.05、1、10μg/mL 的血浆样品和 0.5MRL、1MRL、2MRL 的组织样品,即皮肤和肌肉样品的浓度为 0.015、0.03、0.06μg/g (MRL 为 30μg/kg<sup>[10]</sup>),肝胰脏、肾脏和卵巢样品浓度为 0.04、0.08、0.16μg/g (MRL 为 80μg/kg<sup>[11]</sup>),加入一定量的内标,按 1.5 中所述方法制样,日内每个浓度设置 5 个样品(日内),在不同时间重复以上操作 5 次(日间),进行 HPLC 检测。求得血浆和各组织样品中沙拉沙星与内标的峰面积比值(A),可得日内变异系数(intra-day CV)和日间变异系数(inter-day CV)。同时将一定量的标准液及内标用流动相配成对应的水平做 HPLC 分析,可得以上六种浓度的沙拉沙星标准液与内标甲磺酸达氟沙星的峰面积的比值(B)。将各样品的 A/B × 100% 即可得各空白样品中添加沙拉沙星的回收率(recovery)。

**1.9 血浆和组织中盐酸沙拉沙星的定量** 将不同时间点所取的样品按 1.5 中所述方法制样,经 HPLC 测得各取样时间点的沙拉沙星与内标峰面积的比值代入各样品标准曲线回归方程求得盐酸沙拉沙星的残留量。

**1.10 休药期(WDT)的确定** 盐酸沙拉沙星是按一级动力学过程从体内消除的,即在消除后期服从指数消除:  $C_i = C_0 e^{-K_{et} t}$ , 可以根据消除后期测定的组织药物浓度及规定的 MRL, 计算各组织药物浓度降至规定水平(MRL)所需的时间(WDT):

$$WDT = \frac{\ln(C_0/MRL)}{K_{et}}$$

其中 WDT —— 休药期 (d)  
MRL —— 最高残留限量 (μg/kg)  
C<sub>0</sub> —— 残留消除半对数曲线的纵截距  
(μg/kg)  
K<sub>et</sub> —— 残留消除曲线速率常数

**1.11 数据处理** 本试验采用 Excel 和 SPSS(12.0)以及 SAS (8.1) 统计软件对数据进行处理。

## 2 结果

### 2.1 色谱条件的优化

优化流动相组成、pH 和流速等条件后,药物峰与内标峰峰形较好且能完全分离,并且与杂质峰完全分开。内标峰保留时间在 4.9min 左右,药物峰保留时间在 8.9min 左右,两峰间隔时间约 4min,空白样品提取液在上述保留时间无干扰峰出现。

### 2.2 定量方法

**2.2.1 标准曲线及线性范围** 本试验条件下,各种样品标准曲线的药物浓度线性范围、回归方程及相关系数如下(Ai 表示沙拉沙星峰面积与内标物峰面积的比值,Ci 表示药物标准品在各空白组织中的浓度):血浆 0.025—20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $C_i = 2.3903Ai + 0.0224$ ,  $r = 0.9999$ ; 肌肉 0.0125—5.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,  $C_i = 1.1655Ai + 0.0352$ ,  $r = 0.9998$ ; 皮肤 0.0125—5.0 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,  $C_i = 12.098Ai - 0.1536$ ,  $r = 0.9999$ ; 肝胰脏 0.05—20 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,  $C_i = 2.0267Ai + 0.0056$ ,  $r = 0.9999$ ; 肾脏 0.05—20 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,

$C_i = 8.2983Ai - 0.1287$ ,  $r = 0.9999$ ; 卵巢 0.05—5 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,  $C_i = 7.6941Ai - 0.0891$ ,  $r = 0.9997$ 。

**2.2.2 最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ)** 经测得血浆的 LOD 和 LOQ 均为 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 肌肉和皮肤的 LOD 和 LOQ 均为 0.0125 $\mu\text{g}/\text{g}$ , 肝胰脏、肾脏、卵巢的 LOD 均为 0.025 $\mu\text{g}/\text{g}$ , 该三种组织的 LOQ 均为 0.04 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。以上 LOD 和 LOQ 均能达到 MRL 的要求。

**2.2.3 回收率和变异系数** 按 1.5 制样方法操作后, 测得各样品中平均回收率在 (93.01  $\pm$  3.36) %—(81.97  $\pm$  6.10) % 之间, 测得的日内变异系数不大于 7.99 %, 日间变异系数不大于 8.41 %。所得数据表明此方法的重现性好, 精密度高。

**2.2.4 盐酸沙拉沙星在鲫体内残留及消除** 鲫经单次口灌盐酸沙拉沙星(20mg/kg)后, 该药在鲫血液及各组织中的残留浓度随时间变化的规律见图 1。

数据经回归处理得到血浆和 5 种组织中药物浓度(C)与时间(t)关系的消除曲线方程、相关指数( $r^2$ )及消除半衰期( $T_{1/2}$ )参见表 1。

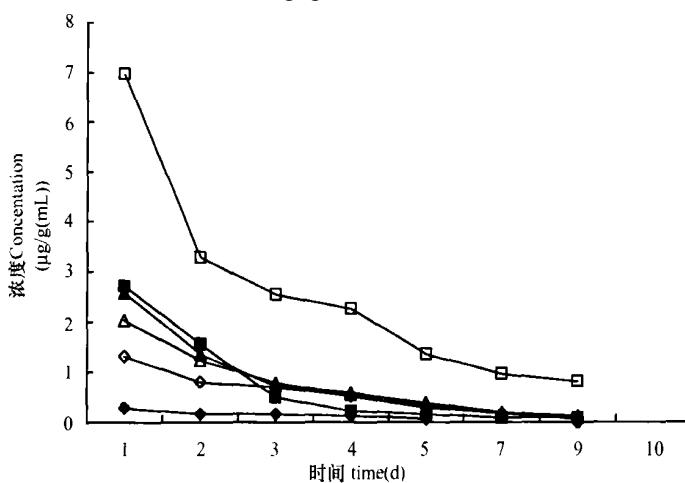


图 1 鲫单剂量口服盐酸沙拉沙星(20mg/kg)后药物消除曲线,

血浆, 肌肉, 皮肤, 肝胰脏, 肾脏,  $\triangle$  卵巢

Fig. 1 Elimination curve of sarafloxacin hydrochloride in goldfish after single oral administration at a dose of 20mg/kg  
Plasma, Muscle, Skin, Hepatopancreas, Kidney,  $\triangle$ Ovary

表 1 鲫单剂量口灌盐酸沙拉沙星后血浆和组织消除曲线方程及参数

Tab. 1 The equation of elimination curve and parameters of sarafloxacin hydrochloride in plasma and tissues after single oral administration (20mg/kg) in goldfish ( $\mu\text{g}/\text{g}(\text{mL})$ )

组织 Tissue	方程 Equation	相关指数 $r^2$	消除半衰期 $T_{1/2}(\text{h})$
血浆 Plasma	$C_{\text{血}} = 0.3691e^{-0.0130t}$	0.92	53.31
肌肉 Muscle	$C_{\text{肌}} = 4.3831e^{-0.0230t}$	0.99	30.13
皮肤 Skin	$C_{\text{皮}} = 1.8239e^{-0.0143t}$	0.98	48.46
肝胰脏 Hepatopancreas	$C_{\text{肝}} = 5.6541e^{-0.0297t}$	0.99	23.33
肾脏 Kidney	$C_{\text{肾}} = 9.7351e^{-0.0172t}$	0.93	40.29
卵巢 Ovary	$C_{\text{卵}} = 3.0678e^{-0.0179t}$	0.99	38.72

### 3 讨论

#### 3.1 组织中沙拉沙星的分离提取及检测

试验过程中曾参考文献报道用甲醇、乙腈或三氯醋酸直接提取,回收率均不够理想且杂质较多。本试验采用了二氯甲烷作为萃取剂,去除组织中的蛋白效果较好且回收率均能符合要求,二氯甲烷沸点较低(40℃),极易用氮气流吹干,因此二氯甲烷是较理想的萃取剂。另外由于样品处理步骤较多,但各步操作及各份样品又难于做到完全平行一致,因此本试验采用内标法定量,选用与沙拉沙星有较好的分离效果的甲磺酸达氟沙星作为内标,有助于提高分析结果的精密度和准确度。由于鲫体内不同组织其重量差别较大,因此在试验中,按各组织取材量的难易,称取不同量的各组织,然后将其浓缩不同的倍数以满足最低药物浓度残留检测的需要。流动相中加入四丁基溴化铵能消除硅羟基的作用,通过对色谱条件的优化,药物峰与内标峰峰形较佳,能完全分开,并且与杂质峰也有很好的分离。各组织的标准曲线线性范围良好,完全满足药物残留检测的要求。

#### 3.2 残留及消除规律

盐酸沙拉沙星在鲫血浆的消除半衰期为53.31h,远大于猪(6.72h)、兔(5.94h)和鸡(3.89h),因此,能够在较长时间内维持血药浓度,有效达到治疗疾病的目的。5种组织的消除半衰期为23.33—48.46h,残留量1d时,其药物浓度在6.976—1.327μg/g,可以看出各个组织的分布量以及消除速度差异较大。盐酸沙拉沙星在鲫体内的肝胰脏和肾脏的残留量较明显,该研究结果与所报道的鳗鲡口服沙拉沙星后结果相符<sup>[12]</sup>,可能是因为药物在肝脏代谢经肾脏排泄而在其蓄积的结果。但是在鲫肝胰脏中的消除比在鳗鲡中的消除要快得多,可能是由于种属及环境等因素的差异。据报道,喹诺酮类药物因与骨中的二价离子和皮肤中的黑色素有亲和性<sup>[13]</sup>,故这两种组织可作为鱼体内残留药物的储存组织,并在停药后很长一段时间慢慢释放到其他组织中造成潜在危害,Martinsen等<sup>[14]</sup>和Malwisi等<sup>[15]</sup>也分别在虹鳟和海鲷内证实了以上观点。鲫皮肤中的药物消除很慢,消除半衰期为48.46h,显著长于其他组织,同样也证实了这一点。关于该药在鲫骨内的消除有待验证。残留消除研究的文献报道中未见把卵巢作为取样组织,故缺少卵巢对药物代谢影响的研究,试验结果证明盐酸沙拉沙星在卵巢体内的消除相对较慢,残留量高于皮肤,该结果对研究服用盐酸沙拉沙星

后鲫的卵巢的可食性安全以及卵巢中的药物残留对后代的繁殖发育是否有影响提供了很好的参考。另外本试验中由空白色谱图和给药后所取样品的色谱图比较可知未见盐酸沙拉沙星在鲫体内的代谢产物,该药在其他动物体内的残留消除中也未见该药物的代谢产物。药物在鱼体内的残留量,一般随药物剂量的增高而增加,随水温的降低而减慢<sup>[16]</sup>,因此不同温度及不同剂量时药物消除规律差异较大。方星星等研究了在22±3℃、16±2℃两种水温条件下,复方新诺明在花鲈体内的残留及消除规律,研究表明,两种温度下其残留及消除情况差异较大,较高温度下药物吸收率高且消除速度快。本试验研究的是21±2℃下,盐酸沙拉沙星在鲫体内的残留及消除状况,而Martinsen等研究的是在10℃下的沙拉沙星在大西洋鲑中的药物消除,二者研究结果有较大差别,除种属之间的差异外温度也可能是其主要原因。另外,Martinsen等<sup>[17]</sup>采用的是多剂量给药方式,有学者<sup>[12]</sup>采用了单剂量给药方式分别研究了沙拉沙星在大西洋鲑中的药物消除规律,二者结果差别较大,也证明了这一点。因此影响药物消除规律的因素很多,应多方面考虑。

#### 3.3 休药期

欧盟<sup>[10]</sup>规定沙拉沙星在鱼肌肉和皮肤的MRL30μg/kg,本试验以此作为盐酸沙拉沙星在鲫肌肉和皮肤的MRL标准,但关于此药在鱼体内其他组织的MRL无明确规定,因而在本试验中鲫体内的其他组织的MRL参考JECFA<sup>[11]</sup>在鸡和火鸡体内的同种组织的MRL80μg/kg为标准。通过WDT公式计算可知各组织的理论WDT为:肌肉9.21d,皮肤11.97d,肝胰脏5.97d,肾脏11.63d,卵巢8.49d。

若根据WDT的定义,仅根据食用组织中残留浓度来确定WDT。人们在食用时往往将肾脏也做为可食性组织,则可以肾脏WDT值为准,得出在该试验条件下理论休药期12d。但是考虑到理论WDT和实测值之间会有一定的差距,为了充分保证食用者的安全,可将WDT延长至14d。

因此作者建议在水温21±2℃时,鲫以20mg/kg剂量单次口服盐酸沙拉沙星时的休药期至少为14d。残留量高、消除最慢的组织可看成是残留分析的靶组织,因此肾脏是本试验中残留分析的靶组织。个别食用者也把肾脏作为可食性组织,人们在食用时,如果能有意识地除去肾脏和残留量较高的肝胰脏,则能在很大程度上减少残留药物摄入量,对保证食用者健康具有实际意义。

## 参考文献:

- [ 1 ] Fang B H , Wang Z Q , Chen Z L , et al. Pharmacodynamical studies of sarafloxacin against experimentally induced streptococcosis and edema disease in pigs [ J ]. *Chin J Vet Sci* , 2002 , **22** (2) :165 —167 [ 方炳虎 , 王志强 , 陈杖榴 , 等 . 沙拉沙星对实验性猪链球菌病及猪水肿病的药效学 . 中国兽医学报 . 2002 , **22** (2) :165 —167 ]
- [ 2 ] Prabbarathi B F , Daniel T W C , Robert R B , et al. In vivo evaluation of difloxacin (A-56619 and A-56620) new aryl-fluoroquinolones [ J ]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 1986 , **29** (2) :201 —208
- [ 3 ] Duis K , Hammer C , Beveridge C M , et al. Delivery of quinolone antibacterial to turbot , *Scophthalmus maximus* (L.) via bioencapsulation: quantification and efficacy trial [ J ]. *Journal of Fish Diseases* , 1995 , **18** (3) :229 —238
- [ 4 ] Johnson M R , Smith K L , Boyle C R. Field efficacy trials of the antibacterial sarafloxacin hydrochloride (A-56620) for treatment of *Edwardsiella ictaluri* infections in channel catfish [ J ]. *Journal of Aquatic Animal Health* , 1992 , **4** :244 —251
- [ 5 ] Sherri B T , Calvin C W , Jose E R , et al. Confirmation of fluoroquinolones in catfish muscle by electrospray liquid chromatography Mass Spectrometry. *J. AOAC Int.* 1998 , **8** (3) :554 —562
- [ 6 ] Qiu Y S , CAO J Y , Wang D J , et al. Tissue residues of sarafloxacin hydrochloride in broiler chickens [ J ]. *Chinese journal of veterinary science* , 2001 , **21** (5) :515 —518 [ 邱银生 , 操继跃 , 王大菊 , 等 . 盐酸沙拉沙星在肉鸡组织中的残留 . 中国兽医学报 , 2001 , **21** (5) :515 —518 ]
- [ 7 ] Martinsen B , Horsberg T E. Comparative single dose pharmacokinetics of four quinolones , oxolinic acid , flumequine , sarafloxacin and enrofloxacin , in Atlantic Salmon ( *Salmo salar* ) held in seawater at 10 °C [ J ]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 1995 , **39** (5) :1059 —1064
- [ 8 ] Grondel J L , Nouws J F M , Schutte A R , et al. Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in rainbow trout ( *Salmo gairdneri* ) and African catfish ( *Clarias gariepinus* ) [ J ]. *Journal of Veterinary Pharmacology & Therapeutics* . 1989 , **12** (2) :157 —162
- [ 9 ] Fang X X , Li J , Wang Q , et al. Residual characteristics of sulfamethoxazole and trimethoprim in *Lateolabrax japonicus* at different water temperature [ J ]. *Marine Science* , 2003 , **27** (9) :16 —20 [ 方星星 , 李健 , 王群 , 等 . 复方新诺明在花鲈体内的残留及消除规律 . 海洋科学 , 2003 , **27** (9) :16 —20 ]
- [ 10 ] EU. Commission Regulation ( EC ) No. 1181/2002. Council Regulation ( EEC ) No. 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official Journal Consleg , 2003 , 1990R 2377 —28/06/2003
- [ 11 ] FAO Food and Nutrition Paper , 41/10. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Rome , 1998 , 23
- [ 12 ] Shu Peng HO , Chin Fu CHENG , Way Shyan WANG. Pharmacokinetic and depletion studies of sarafloxacin after oral administration to eel ( *Anguilla anguilla* ) [ J ]. *Journal of Veterinary Medical Science* , 1999 , **61** (5) :459 —463
- [ 13 ] Steffenak L , Hormazabal V , Yndestad M. Reservoir of quinolone residues in fish [ J ]. *Food Additives & Contaminants* , 1991 , **8** :777 —780
- [ 14 ] Martinsen B , Horsberg T E , Ingebrigtsen K , et al. Disposition of <sup>14</sup>C sarafloxacin in Atlantic salmon *Salmo salar* , rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* , cod *Gadus morhua* and turbot *Scophthalmus maximus* , as demonstrated by means of whole-body auto radiography and scintillation counting [ J ]. *Diseases of Aquatic organisms* , 1994 , **17** :37 —44
- [ 15 ] Malwisi J , Rocca G D , Anfossi P , et al. Tissue distribution and depletion of flumequine after in feed administration in sea bream [ J ]. *Aquaculture* , 1997 , **157** :197 —204
- [ 16 ] Bjorklund H V , Bylund G. Temperature related absorption and excretion of oxytetracycline in Rainbow trout [ J ]. *Aquaculture* , 1990 , **84** :363 —372
- [ 17 ] Martinsen B , Horsberg T E , Burke M. Multiple-dose pharmacokinetic and depletion studies of sarafloxacin in Atlantic salmon ( *Salmo salar* ) [ J ]. *Journal of Fish Diseases* , 1994 , **17** (2) :111 —121

## STUDIES ON RESIDUE AND DEPLETION OF SARAFLOXACIN HYDROCHLORIDE IN Goldfish, CARASSIUS AURATUS

WANG XiangLing, FANG Zhi-Ping, CAO Ji-Yue, PAN Yu-Shan and FANG Hao

(College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

**Abstract :** This study developed a method to detect sarafloxacin in goldfish (*Carassius auratus*) plasma and tissues using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). Plasma, muscle, skin, hepatopancreas, kidney and ovary were sampled at different intervals after oral administration of sarafloxacin hydrochloride at single dose of 20mg/kg under 21 ± 2. Joining danofloxacin mesylate as inner standard, the medicine was extracted by dichloromethane from plasma and tissues, and the extracts were evaporated to dryness with N<sub>2</sub> flow in water bath of 60 °C then dissolved in mobile phase. The fat of the solute was degreased by hexane. Sarafloxacin hydrochloride and danofloxacin mesylate analyses were performed by RP-HPLC. The mobile phase was acetonitrile and 0.2mol/L phosphate buffer (pH7.4) (including 0.5% tetrabutyl ammonium bromide) (10/90, V/V) adjusted to pH 3.0 with phosphoric acid. Sarafloxacin hydrochloride and danofloxacin mesylate were quantitated by using ZORAX SB-C<sub>18</sub> column and ultraviolet detector was set at 280nm. The mean recoveries were all higher than 82.97% for samples and inter-day CV for plasma and tissues were all under 8.41%, The lowest limit of detection was 0.0125μg/g for muscle. Both limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) met the requirement of the residual detection.

The results showed that the elimination rate was markedly different in plasma and five tissues of healthy female goldfish. The drug was slowly eliminated in plasma, the concentration of sarafloxacin hydrochloride in kidney and hepatopancreas was higher than other tissues and skin showed the slowest depletion among five tissues. Kidney was the main reservoir of sarafloxacin hydrochloride in goldfish. Withdrawal time was 14d when the maximum residue is 30μg/kg for edible tissues after single oral administration of sarafloxacin hydrochloride in healthy female goldfish.

**Key words :** Sarafloxacin hydrochloride; Goldfish (*Carassius auratus*); RP-HPLC Residues; Depletion