

文章编号:1000-0615(2000)06-0559-05

不同给药方式下鲤对诺氟沙星的药代动力学研究

张雅斌¹, 张祚新², 郑伟¹, 刘艳辉¹, 杨永胜², 张锦霞², 吴永魁²

(1. 吉林省水产科学研究所, 吉林 长春 130033; 2. 解放军军需大学军事兽医研究所, 吉林 长春 130062)

摘要:通过不同给药方式鲤对诺氟沙星的药代动力学研究,建立相关的吸收、分布与消除等药动学参数及生物利用度资料。结果以 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 鱼体重单剂量肌注、口灌诺氟沙星的药时数据符合开放性二室模型,以 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 鱼体重药物剂量单次混饲给药的药时数据符合开放性一室模型。肌注给药的主要药代动力学参数为: $\text{AUC } 24.9481\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 16.8992\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2\alpha} 0.1279\text{ h}$, $t_{1/2\beta} 3.4032\text{ h}$; 口灌给药的主要药代动力学参数为: $\text{AUC } 150.6029\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 5.7998\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2\alpha} 3.4071\text{ h}$, $t_{1/2\beta} 77.1239\text{ h}$; 混饲口灌给药的主要药代动力学参数为: $\text{AUC } 6.8183\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 1.7217\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2ka} 0.22643\text{ h}$, $t_{1/2ke} 2.0213\text{ h}$ 。不同给药方式的主要药代动力学参数差异显著 ($P < 0.01$)。

关键词:诺氟沙星; 鲤; 药代动力学

中图分类号: S948

文献标识码: A

Study on pharmacokinetics of Norfloxacin in carp following different forms administration

ZHANG Ya-bin¹, ZHANG Zuo-xin², ZHENG Wei¹,

LIU Yan-hui¹, YANG Yong-sheng², ZHANG Jin-xia², WU Yong-kui²

(1. Aquatic Scientific Institute of Jilin Province, Changchun 130033, China;

2. The Military Veterinary Institute, University of Agriculture and Animal Sciences, Changchun 130062, China)

Abstract: Several pharmacokinetics relative datas such as absorption, distribution, elimination and bioavailability have been set up in this study on pharmacokinetics of Norfloxacin in carp following different forms administration. Following single muscular injection and oral administration, the serum concentration time data of Norfloxacin in carp were best described by a two-compartment open model for dose of 10 mg Norfloxacin /kg body weight. Following single mixed in diet oral administration, the serum concentration-time data for Norfloxacin were best described as a one-compartment open model. The main pharmacokinetics parameters by muscular injection administration: $\text{AUC } 24.9481\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 16.8992\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2\alpha} 0.1279\text{ h}$, $t_{1/2\beta} 3.4032\text{ h}$. The main pharmacokinetics parameters by orally administration: $\text{AUC } 150.6029\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 5.7998\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2\alpha} 3.4071\text{ h}$, $t_{1/2\beta} 77.1239\text{ h}$. The chief pharmacokinetics parameters by mixed in diet oral administered: $\text{AUC } 6.8183\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$, $C_{\text{max}} 1.7217\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $t_{1/2ka} 0.22643\text{ h}$, $t_{1/2ke} 2.0213\text{ h}$. The results showed that the main pharmacokinetic parameters following different forms administration were significantly different ($P < 0.01$).

Key words: Norfloxacin; carp; pharmacokinetics

收稿日期: 1999-11-12

资助项目: 农业部“九五”重点科研资助项目(渔-95-B-96-03-02)

作者简介: 张雅斌(1956-), 女, 辽宁大连人, 高级工程师, 主要从事鱼类病害研究。Tel: 0431-4656846, E-mail: wzhaoj@public.cc.jl.cn

诺氟沙星是氟喹诺酮类药物代表之一,因为分子的基本结构中引入疏水性的氟原子及亲水性的吡嗪环,使其抗菌活性得到增强,与早期喹诺酮类药物相比,细菌耐药性也降低了^[1]。诺氟沙星抗菌活性在于它可作用于细菌的DNA旋转酶,干扰DNA复制等^[2]。由于该药抗菌谱广、抗菌力强、体内分布广、安全性高、价格低廉^[3],已被广泛应用于人医、兽医临床,其在人体、家畜体内的药代动力学研究也较深入^[4-7],而且在防治水产养殖动物细菌性感染症中也已有应用^[8],但有关诺氟沙星在鱼类体内的药代动力学研究未见报道。由于近年来养殖鱼类频发细菌性疾病,为有效、迅速地进行防治,并避免药物残留问题,进行抗菌药物的药动学研究是十分重要的。通过研究,可以建立不同给药方式的药物吸收、分布、消除及生物利用度等药动学资料,据此制定正确的给药方案,确立休药期,为广泛应用诺氟沙星防治养殖鱼类细菌性感染症提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验鲤

由吉林省水产科学研究所实验站提供,平均体重为 (90 ± 26) g,试验前一周暂养在 $0.4\text{m} \times 0.5\text{m} \times 0.8\text{m}$ 水族箱内,不投饵,水温 $(17 \pm 1)^\circ\text{C}$,pH 7.2 ± 0.1 。

1.1.2 试剂及药品

诺氟沙星标准品(纯度99.50%),由中国兽药监察所提供;诺氟沙星原料药(含量97.8%),由军事兽医研究所提供;乙氰(色谱纯),由中科院上海脑研究所提供。

1.1.3 仪器

高效液相色谱(HPLC)仪,Waters Baseline-810, u-Boxdapck-C18 $3.9 \times 300\text{mmI} \cdot \text{D}$ 柱,484紫外检测器,美国产品。

1.2 方 法

1.2.1 肌肉注射给药及血样采集

先以少量醋酸溶解诺氟沙星,加入生理盐水制成所需浓度。按 $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量由鱼体肌肉注射给药,于给药后的0.017, 0.042, 0.083, 0.17, 0.75, 2, 4, 8, 36, 72, 120 h,自心腔采血1mL,置于含1%肝素离心管中混匀, $3500\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15min,分离血浆, -28°C 保存至测定。每次采样5尾。

1.2.2 口灌给药及血样采集

按1.2.1方法把诺氟沙星制成水剂,以相同剂量灌入实验鱼前肠,无回吐者保留试验。于给药后的0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 4, 6, 10, 20, 50, 80, 100 h自心腔采血1mL,后处理同上。每次采样5尾。

1.2.3 混饲口灌给药及血样采集

将诺氟沙星溶解后混入鲤饲料中,加水使成糊状,加热 80°C 后自然冷却,加水至所需浓度。按 $10\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量灌入实验鱼前肠,无回吐者保留试验。于给药后的0.17, 0.75, 2, 4, 6, 10, 24, 80, 120 h自心腔采血1mL,后处理同上。每次采样5尾。

1.2.4 血样处理及HPLC测定

将冷冻保存的血浆自然解冻,摇匀后吸取0.250mL置5mL具塞试管中,加入3.0mL乙氰,旋涡快速混匀器上振荡2min,以 $3500\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15min,吸取全部上清液于另一5mL离心管中。残渣再加乙氰2mL,离心10min,吸取全部上清液与上液混合, 70°C 水浴中氮气流下吹干,用流动相溶解,取20 μL 进行HPLC分析。色谱条件:流动相为柠檬酸 $0.05\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$:乙酸铵 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$:乙氰为89.45:1.12:9.43(v/v);pH3.0;流速 $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;灵敏度0.01AUFS;检测波278nm。

1.2.5 标准曲线制备

对照品标准曲线制备:以干燥恒重的诺氟沙星标准品制成0, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00,

6.00, 8.00, 16.00, 32.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 标准浓度系列,以 HPLC 仪分别测定其峰面积,然后以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标作标准曲线,并求出回归方程和相关系数。

诺氟沙星血浆标准曲线制备:在 11 支 5mL 具塞试管中分别加入 0.25mL 空白血浆,再依次加入标准液 (0.25 ~ 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),制成含药物浓度为 0, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 6.00, 8.00, 16.00, 32.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的血浆,按“血样处理”方法处理后,准确加入流动相 0.2mL 溶解,再以 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10min,取上清液 20 μL 作 HPLC 分析,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,并求出回归方程和相关系数。

1.2.6 回收率测定

将 0.50, 1.50, 3.00, 6.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 药物标准液各 0.2mL 加入空白血浆 0.25mL,按“血浆标准曲线制备”方法处理后作 HPLC 测定。每个浓度重复 5 次。获得各样品峰面积平均值,再依血浆标准曲线回归方程计算得到诺氟沙星浓度,并与原来加入量比较计算相对回收率。即:

$$\text{相对回收率}(\%) = \frac{\text{样品的实测药物浓度}}{\text{样品的实际药物浓度}} \times 100$$

同时将不同浓度药物标准液直接用流动相稀释,每个浓度做 5 次重复测定,获得溶于流动相的各样品峰面积平均值,可计算得绝对回收率。即:

$$\text{绝对回收率}(\%) = \frac{\text{样品的药物峰面积}}{\text{溶于流动相的药品峰面积}} \times 100\%$$

1.2.7 方法精密度测定

取不同浓度诺氟沙星标准液,加入空白血浆,处理后经 HPLC 测定,比较每个浓度日内 5 次(1 次/2h)测定的峰面积变化幅度,依上法比较日间(5 次/周)测定的峰面积变化幅度。

2 结果

2.1 线性范围及回收率

在设定的色谱条件下,以高效液相色谱仪测定血液诺氟沙星含量,基线走动平稳,其滞留时间(Retention time)为 6.3min,无干扰峰出现。血浆中诺氟沙星在 0.25 ~ 32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内线性关系良好($r=0.9992$),以引起两倍基线噪音的药量为最低检测限,本法最低检测限为 0.06 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。本法相对回收率为 93.16%,绝对回收率为 85.96%;日内与日间精密度均小于 10%。

2.2 肌肉注射给药

诺氟沙星以 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量肌肉注射单次给药,其在鱼体血液中的吸收、分布与消除的动态如图 1 所示。有关动力学数据经 9000 3P87 实用药代动力学软件分析,药物浓度与时间关系数据符合开放性二室模型(Two-compartment open model),动力学方程为: $C = 15.6135e^{-5.4185t} + 4.5334e^{-0.2037t}$,以此动力学模式计算的药动学参数见表 1。

该模型药物以一级吸收过程进入体内,并按二室模型分布,即诺氟沙星经肌肉注射进入鱼体后,迅速进入吸收部位,血药浓度达峰时间 $T_{(\text{peak})}$ 为 0.0322 h,吸收速率常数(k_a)高达 103.4994/h,分布相极小,分布半衰期($t_{1/2\alpha}$)仅为 0.1279 h,可见容易被鱼体吸收。其消除半衰期($t_{1/2\beta}$)为 3.4032h,鱼体对药物的总清除率 $CL_{(s)}$ 为 0.4008 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,肌注给药时鱼体对该药消除较快。曲线下面积(AUC)为 24.9481 $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3 单纯口灌给药

诺氟沙星以 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重剂量单次口灌给药,其在血液中的吸收、分布与消除情况如图 2 所示。有关动力学数据分析结果,药物浓度与时间关系模式属于开放性二室模型,其动力学方程为:

$$C = 15.6135e^{-5.7091t} + 1.1145e^{-0.00899t}$$

口灌给药的药动学参数见表2。

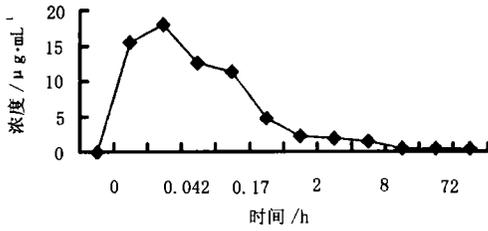


图1 肌注诺氟沙星的药时曲线

Fig.1 Serum concentration time curve following muscular injection administration

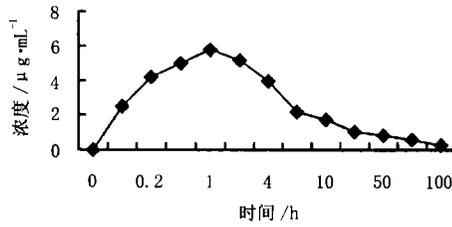


图2 口灌诺氟沙星的药时曲线

Fig.2 Serum concentration time curve following oral administration

表1 肌注给药后诺氟沙星
在鲤血液中的药动学参数(n=55)

Tab.1 Pharmacokinetic values(n=55) for Norfloxacin
in blood of carp after inject administration

参数	数值(x ± SE)
AUC(μg·h·mL ⁻¹)	24.9481 ± 16.3146
t _{1/2α} (h)	0.1279 ± 0.0130
t _{1/2β} (h)	3.4032 ± 0.5873
T _{1/2ka} (h)	0.0067 ± 0.0008
Ka(h ⁻¹)	103.4994 ± 35.4120
C _{max} (μg·mL ⁻¹)	16.8992 ± 4.3726
CL _(s) (mg·mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹ ·μg ⁻¹)	0.4008 ± 0.1035
T _(peak) (h)	0.0322 ± 0.0035

表2 口灌给药后诺氟沙星
在鲤血液中的药动学参数(n=60)

Tab.2 Pharmacokinetic values(n=60) for Norfloxacin
in blood of carp after oral administration

参数	数值(x ± SE)
AUC(μg·h·mL ⁻¹)	150.6029 ± 35.4278
t _{1/2α} (h)	3.4071 ± 1.0698
t _{1/2β} (h)	77.1239 ± 21.3875
t _{1/2ka} (h)	0.1491 ± 0.0130
Ka(h ⁻¹)	4.6505 ± 1.0345
C _{max} (μg·mL ⁻¹)	5.7998 ± 1.3675
T _(peak) (h)	0.7300 ± 0.0102
CL _(s) (mg·mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹ ·μg ⁻¹)	0.0664 ± 0.0021

诺氟沙星口灌进入鱼体后,经消化道进入血流,其分布和消除情形是,血药浓度达峰时间为0.7300 h,此时药物浓度为5.7998μg·mL⁻¹,吸收速率为4.6505/h,分布半衰期为3.4071 h,没有肌注给药吸收快。消除半衰期较长(77.1239 h),与代表药物分布量的曲线下面积(AUC)较大(150.6029μg·h·mL⁻¹)是相关的。和肌注给药的曲线下面积相比,二者差异显著($P < 0.01$)。

2.4 混饲口灌给药

诺氟沙星混饲后单次给药的药动学数据符合开放性一室模型(One-compartment open model)。药物的吸收是通过胃肠道进入血液循环,具有一级输入和输出的速率过程^[9]。其动力学方程为: $C = 2.6898(e^{-0.3429t} - e^{-2.6228t})$ 吸收、分布与消除情况及主要药动学参数见图3与表3。

混饲口灌给药后血药浓度在1.4519 h达到高峰,C_{max}为1.7217μg·mL⁻¹,药时曲线下面积为6.8183μg·h·mL⁻¹。上述药动学参数与肌注给药、口灌给药的相关参数比较,均有较大差异。

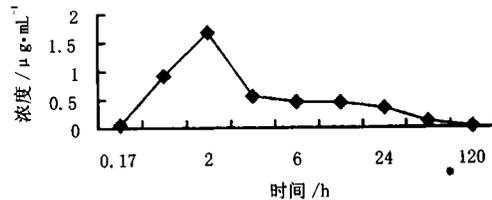


图3 诺氟沙星混饲口灌给药的药时曲线

Fig.3 Serum concentration time curve following mixed in diet oral administration

3 讨论

以不同给药方式进行的药动力学研究表明,肌注给药时鱼体对诺氟沙星吸收最快,可在给药后的2min左右达到吸收高峰,药物在体内的维持时间较短,消除半衰期为3.4h,该给药方式适合急性感染的特殊群体,如亲鱼的细菌性疾病的治疗。口灌给药时鱼体对药物的吸收较慢,约44min达到吸收高峰并迅速分布,消除半衰期达77h以上,该给药方式药物在体内滞留时间长,可减少给药次数或降低给药量,适合较小的养殖群体。混饲口灌给药与上述两种给药方式比较,吸收速度慢,约1.45h出现最高血药浓度,该浓度明显小于其他两种给药方式,至于表示药物在鱼体内吸收与分布量的药物浓度与时间的曲线下面积,混饲给药只是肌注、口灌给药的27.3%和4.5%,可能是混饲给药对吸收效果产生了影响。尽管如此,混饲给药方式适合大面积饲养群体的细菌性疾病预防,更具有实际意义。

在制定一个合理的给药方案时,应首先考虑体内药物有效的治疗浓度,维持有效浓度的时间,即给药剂量的大小和给药间隔时间。当然,还应考虑病原菌对某种抗生素的MIC及感染程度。诺氟沙星对鲤细菌出血性败血症致病菌的 $MIC < 0.2 \times 10^{-6}$,根据混饲给药的药动力学研究,给药24h时,血药浓度仍维持在 $0.34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。因此,按 $10 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量,间隔24h混饲投喂诺氟沙星,对敏感细菌具有确切杀灭能力。

由于三种不同给药方式的绝对生物利用度未知,在相同给药剂量下,对药时曲线下面积进行比较,可知口灌诺氟沙星吸收程度最好,生物利用度较大,混饲口灌的生物利用度最小。给药120h时仍有微量诺氟沙星检出,建议用药后至少一周才能食用。

参考文献:

- [1] 肖永红. 喹诺酮类药物抗菌和细菌耐药机制[J]. 国外医药:抗生素分册,1994,15(4):291-295.
- [2] 张永信. 5种喹诺酮抗菌药对金黄色葡萄球菌DNA旋转酶的抑制作用[J]. 中国抗生素杂志,1992,17(3):188-191.
- [3] Vancutsem P M, Babish J G, Scward W S. The fluoroquinolones antimicrobial: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity[J]. Cornell Vet, 1990,80(2):173-186.
- [4] 顾慧儿,陶珍,赵淑敏,等. 诺氟沙星的HPLC测定[J]. 中国医药工业杂志,1996,27(2):71-72.
- [5] 曹瑞敏,刘昕,周小平,等. 新抗菌药烟酸诺氟沙星含量测定方法研究[J]. 白求恩医科大学学报,1996,22(3):245-246.
- [6] 陈杖榴,方炳虎,龚建文,等. 氟哌酸、环丙氟哌酸、泰妙灵治疗鸡败血症形体与大肠杆菌合并感染的疗效比较[J]. 华南农业大学学报,1994,15(3):101-105.
- [7] 宋治平,陈杖榴. 鸡静注、肌注及内服氟哌酸的药动力学研究[J]. 畜牧兽医学报,1995,26(1):65-70.
- [8] 严雪芬,王杏明,张黎明. 团头鲂、鲫等鱼类暴发性疾病的药物防治研究[A]. 鱼病学研究论文集[C]. 北京:海洋出版社,1995,2:40-46.
- [9] 冯淇辉. 兽医药物代谢动力学[M]. 北京:科学出版社,1987.3-5.

表3 混饲口灌给药后诺氟沙星

在鲤血液中的药动力学参数(n=45)

Tab.3 Pharmacokinetic values for Norfloxacin in blood of carp after mixed in diet oral administration

参数	数值(x±SE)
AUC($\mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$)	6.8183 ± 2.3646
Ke(h^{-1})	0.3429 ± 0.0458
Ka(h^{-1})	2.6223 ± 0.1957
t _{1/2ke} (h)	2.0213 ± 0.6324
T _{1/2ka} (h)	0.2264 ± 0.0348
C _{max} ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	1.7217 ± 0.3726
T _(peak) (h)	1.4519 ± 0.7639
CL(s)($\text{mg} \cdot \text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{n}^{-1} \cdot \mu\text{g}^{-1}$)	1.4666 ± 0.3035