第 29 卷 第 1 期　　华 中 农 业 大 学 学 报　　Vol. 29　No. 1
2010 年　2 月　　Journal of Huazhong Agricultural University　　Feb. 2010, 75～78

种剂型麻保沙星在健康家犬体内药物动力学比较

张玲玲　潘　安　赵　杰　莫　菲　金前跃　江善祥**

南京农业大学动物医学院, 南京 210095

摘要　选用健康家犬 6 只, 按随机交叉设计试验, 单剂量给药均为每千克体重 2.75 mg, 用高效液相色谱法测定血药浓度, 并应用 3P97 计算药物动力学参数。结果肌肉注射与口服麻保沙星的药时数据符合一级吸收一室开放模型, 主要药物动力学参数如下: $T_{1/2ka}$ (吸收半衰期) 分别为 (0.52 ±0.41) h 和 (0.41 ±0.13) h, $T_{1/2ke}$ (消除半衰期) 为 (4.40 ±1.86) h 和 (6.25 ±1.80) h, T_{peak} (峰时间) 为 (1.53 ±0.75) h 和 (1.68 ±0.39) h, C_{max} (峰浓度) 为 (1.36 ±0.38) μg/mL 和 (0.93 ±0.06) μg/mL, AUC (药时曲线下面积) 为 (10.64 ±2.66) (μg·h)/mL 和 (8.68 ±1.98) (μg·h)/mL。乳酸麻保沙星在健康家犬口服与注射给药吸收迅速, 表观分布容积大, 消除缓慢, 口服给药较肌肉注射吸收后分布的组织更深更广。

关键词　乳酸麻保沙星; 高效液相色谱法; 药物动力学; 家犬

中图法分类号　S 859.796　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2010)01-0075-04

麻保沙星 (mabrofloxacin, MBF) 为动物专用的第 3 代喹诺酮类药物, 通过抑制细菌复制中所需的 DNA 拓扑异构酶 II和 IV而表现杀菌作用[1], 其抗菌作用广, 对绝大多数革兰氏阳性菌具有较强的抗菌活性, 对链球菌和金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 0.5～2.0 mg/L 和 0.12～0.25 mg/L[2], 对革兰氏阴性菌、支原体均较敏感。而且, 其对大肠杆菌、溶血性不动杆菌、支气管败血菌素的抗菌活性远优于恩诺沙星[3]。临床上已被用于治疗犬的深部及浅表皮肤感染、尿道感染、胃肠道感染与上呼吸道感染。自 1995 年上市以来, 麻保沙星在牛[4]、羊[5]、猪[6]、比格犬[7]和禽类[8-9]的药物动力学已有报道, 在不同种属动物体内代谢差异较大, 但总体来说给药吸收迅速且完全, 分布广泛, 血浆浓度高, 消除半衰期长, 组织渗透力强, 生物利用度高 (接近 100 %)。笔者采用随机交叉法研究家犬肌肉注射与口服麻保沙星的药物动力学过程及药物动力学特征, 旨在为兽医临床制定合理的给药方案提供理论依据, 特别是为宠物犬用药提供参考。

材料与方法

药品与试剂

麻保沙星原料药、麻保沙星口服液、注射冻干粉为浙江国邦药业有限公司产品。氧氟沙星标准品, 中国药品生物制品检定所提供, 含量: 98.6 %, 批号: 130454-200604。乙腈、甲酸, 色谱级, 德国默克公司生产; Millpore 超纯水, 南京农业大学中心实验室提供。

试验仪器

低温高速离心机: L-55 型, 德国 Beckman 公司产品; 高效液相色谱仪: SPD-10AVP 紫外检测器, N2000 双通道色谱站, 日本岛津产品。

试验动物

健康家犬 6 只, 体重在 9.5～11.0 kg 之间, 南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供, 试验前未饲喂过其它药物, 购回后适应饲养 2 周。试验前限饲 10 h, 不限水。6 只家犬按随机交叉设计试验, 进行麻保沙星肌肉注射与口服给药的药代动力学研究, 同一只家犬给予不同剂型药物的时间间隔为 7 d。

给药方案与血样的采集

给药剂量均为每千克体重 2.75 mg, 家犬人工保定, 从前肢头静脉采血。给药前采 1 次空白血 (0 h), 给药后分别于 8 min、15 min、30 min、45 min、1 h、1.5 h、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h、36 h 采血约 2 mL, 置于含肝素的离心管中, 4 ℃, 3 000 r/min 离

收稿日期: 2008-10-29; 修回日期: 2009-03-06

*国家"十一五"科技支撑计划项目 (O200812) 资助

** 通讯作者. E-mail: nauvy@sina.com

张玲玲, 女, 1983 年生, 博士研究生. 研究方向: 新兽药研发. E-mail: zhll8309@yahoo.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

心 12 min,分离血浆,-20 ℃冰箱保存至测定。

血浆处理

取血浆 250 μL 与内标 0.5 μg/mL 的氧氟沙星溶液 250 μL,漩涡混匀,再加入 500 μL 乙腈,迅速混匀后,4 ℃ 12 000 r/min 离心 12 min。吸取上清液,在 50 ℃的水浴中氮气流吹干,加入 250 μL 流动相(乙腈、2%甲酸、1%三乙胺和水的体积比为 16∶38∶38∶8)溶解残留物,4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清于离心管中,取 20 μL 注入高效液相色谱仪分析。色谱条件:固定相为 Shim-pack CLC-ODSC_{18}(150 mm×6.0 mm,5 μm)柱;柱温为 35 ℃,流速 1.0 mL/min,紫外检测器波长为 295 nm。

数据处理

根据标准曲线计算血药浓度,采用中国药理学会编制的 3P97 药代动力学软件处理血药浓度-时间数据,拟合最佳药代动力学模型,计算药物动力学参数,用 SPSS 软件进行统计分析。

结果与分析

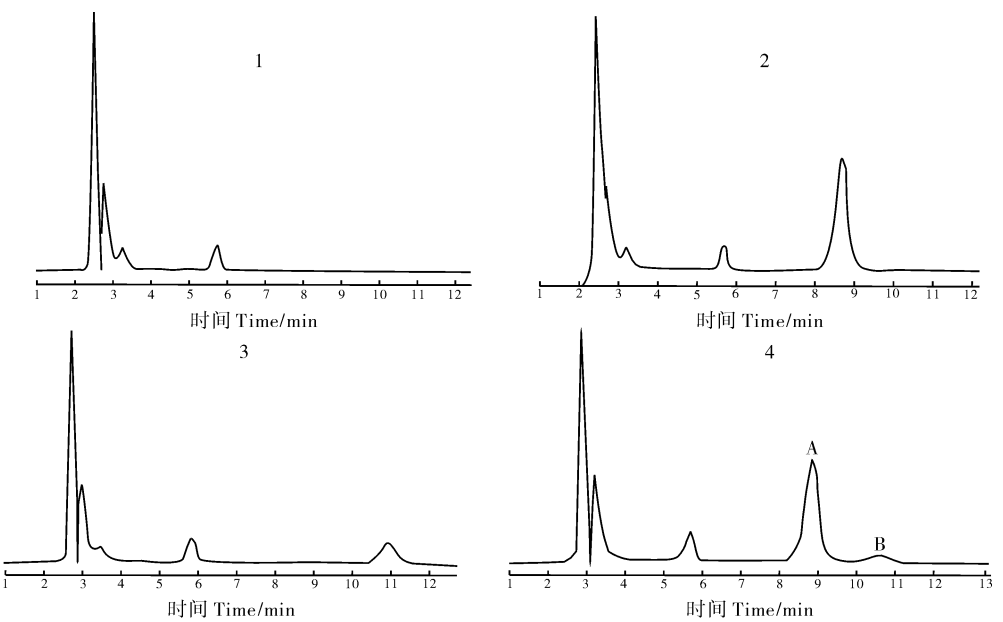
方法的评价

1)特异性。按选定的色谱条件,测得空白血浆、空白血浆加麻保沙星,空白血浆加内标氧氟沙星及血浆样品的色谱图,见图 1。结果显示血浆中内源性物质不干扰麻保沙星的分离,麻保沙星与氧氟沙星分离良好。麻保沙星和氧氟沙星的色谱峰平均保留时间分别为 8.95 min 和 10.71 min。

2)标准曲线的制备。取 12 只 5 mL 的离心管,每管加入 250 μL 的犬空白血浆,加入 250 μL 的氧氟沙星标准液,再分别加入一系列不同质量浓度的麻保沙星标准液,使得血浆中麻保沙星的质量浓度分别为 4、2.5、2、1、0.5、0.25、0.1、0.05、0.025、0.02、0.01 μg/mL,血浆处理方法同材料与方法 1.5。以麻保沙星和氧氟沙星的峰面积之比(X)为横坐标,麻保沙星的质量浓度(Y,μg/mL)为纵坐标,进行线性回归,得到标准曲线方程为:$Y = 0.524\,4X - 0.084\,9$,$r = 0.999\,9$。结果表明,血浆中麻保沙星质量浓度在 0.02～4.00 μg/mL 范围内,质量浓度与峰面积的线性关系良好。

3)最低检测浓度。在信噪比(S/N)为 3∶1 时,测定最低检测质量浓度为 0.02 μg/mL。

4)回收率和精密度的测定。按标准曲线的配置方法,配置含高、中、低 3 种不同质量浓度的麻保沙星血浆样品,依法测定回收率。结果高、中、低 3 种质量浓度的平均回收率分别为 106.3%±4.7%、107.6%±1.12%、114.7%±31.9%;日内相对标准差(RSD)高、中、低质量浓度分别为 0.9%、2.0%、2.6%;日间相对标准差(RSD)高、中、低质量浓度分别为 4.3%、2.2%、0.5%。



1.空白血浆 Blank plasma;2.空白血浆+麻保沙星 Blank plasma added with marbofloxacin;3.空白血浆+氧氟沙星 Blank plasma added with ofloxacin;4.血浆样品 Plasma sample:A;麻保沙星 Marbofloxacin;B:氧氟沙星 Ofloxacin.

图 1 麻保沙星的 HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of marbofloxacin

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

药-时曲线

健康家犬单剂量肌肉注射、口服麻保沙星后平均血药质量浓度-时间曲线见图 2。相同剂量的麻保沙星(每千克体重 2.75 mg)肌肉注射给药吸收优于口服给药,能达到的血药峰的质量浓度约为口服给药的 1.5 倍。

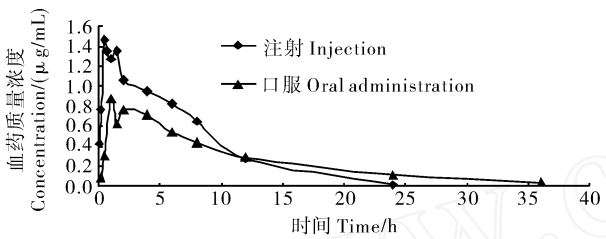


图 2　2 种剂型乳酸麻保沙星的平均血药质量浓度-时间曲线

Fig. 2　Concentration-time curve of two lactate marbofloxacin dosage forms

药物动力学参数

2 种剂型麻保沙星在家犬体内药物动力学最佳数学模型为开放式一室模型,所得药物动力学参数见表 1。肌肉注射的吸收与消除速率常数均大于口服给药,药-时曲线下面积大于口服给药;口服给药存在明显吸收滞后,但是此给药方式可以达到更大的表观分布容积。

表 1　2 种剂型乳酸麻保沙星在家犬的药代动力学参数

Table 1　Pharmacokinetic parameters of two lactate marbofloxacin dosage forms in dogs

参数 Parameters	肌肉注射 Injection	口服 Oral administration
K_e 1) / h^{-1}	0.19 ±0.11	0.12 ±0.04
K_a 2) / h^{-1}	3.18 ±1.77	1.70 ±0.64
滞后时间 3) / h	0.04 ±0.04	0.19 ±0.05
$t_{1/2ka}$ 4) / h	0.52 ±0.41	0.41 ±0.13
$t_{1/2ke}$ 5) / h	4.40 ±1.86	6.25 ±1.80
T_{peak} 6) / h	1.53 ±0.75	1.68 ±0.39
C_{max} 7) / (μg/ mL)	1.36 ±0.38	0.93 ±0.06
AUC 8) / (μg ·h/ mL)	10.64 ±2.66	8.68 ±1.98
$CL/F(s)$ 9) / (mg/ (kg ·h)) / (μg/ mL)	0.27 ±0.05	0.33 ±0.07
V/F 10) / (mg/ kg) / (μg/ mL)	1.69 ±0.75	2.83 ±0.28

1) 消除速率常数 Elimination rate constant; 2) 吸收速率常数 Absorption rate constant; 3) 滞后时间 Lag time; 4) 吸收半衰期 Absorption half-life; 5) 消除半衰期 Elimination half-life; 6) 峰时 Peak time; 7) 峰浓度 Peak concentration; 8) 药-时曲线下面积 Area under concentration-time curve; 9) CL:清除率 Clearance, F:吸收分数 Absorption rate; 10) 表观分布容积 Apparent volume of distribution.

讨　论

关于血液与组织中麻保沙星的测定方法文献报道很多[10-13],多为荧光检测,考虑到荧光检测的费用增加,设备要求增高,本研究参照李云峰等[14]报道的方法,并稍作改动,利用乙腈除蛋白,操作方便,各种指标的测定符合生物样品测定要求,且重复性好。

比较 2 种剂型的麻保沙星在家犬体内的药代动力学参数可以发现,口服给药比肌肉注射的 C_{max} 有明显减小($P > 0.05$),T_{peak} 与 $t_{1/2ke}$、V/F 增大,而 AUC 小于肌肉注射($P > 0.05$),说明麻保沙星在家犬口服与注射给药吸收迅速,表观分布容积大,口服给药较肌肉注射消除缓慢,可能在消除的时候还有吸收,吸收后分布的组织更深更广。药物吸收前有一释放过程,然后才能被吸收,即滞后时间,本试验中麻保沙星口服的滞后时间显著大于肌注($P < 0.05$)。

健康家犬肌注麻保沙星(2.75 mg/ kg)后,消除半衰期为 4.4 h,口服(2.75 mg/ kg)后,$t_{1/2ke}$ 为 6.25 h,T_{peak} 为 1.68 h,较比格犬的 9.5 h(肌注)、10.9 h(口服)要短,达峰浓度要早(比格犬为 1.8 h),这可能与所采用的药物动力学模型、所给剂量及动物品种有关,笔者分析血药浓度时间数据模型为一室模型,而文献[15]采用的是非房室模型。

麻保沙星在组织中的质量浓度超过血药质量浓度(肌注 $V/F = 1.69$;口服 $V/F = 2.83$),由于炎症部位的吞噬细胞引导喹诺酮类的药物到达炎症区域,因此麻保沙星较恩诺沙星、达氟沙星、氧氟沙星可以表现出更佳的抗微生物效应[1,16]。麻保沙星对犬常见的致病菌如葡萄球菌、粪肠球菌、大肠杆菌、巴氏杆菌、变形杆菌及假单胞菌的 MIC 为 0.008～1 μg/ mL 之间[15],只对链球菌达到了 4 μg/ mL,因此犬按每千克体重 2.75 mg 肌肉注射给药 1～2 次(高度敏感菌给药 1 次),口服给药 2 次可以达到有效的血药浓度,而病情较严重时建议肌肉注射给药。

参　考　文　献

[1] HEINEN E. Comparative serum pharmacokinetics of the fluoroquinolones enrofloxacin, difloxacin, marbofloxacin, and or bifloxacin in dogs after single oral administration[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2002, 25: 1-5.

[2] BOUSQUET M A, BERNARD S, SCHNEIDER M, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses[J]. Equine Veterinary Journal, 2002, 34(4): 366-372.

[3] GROBBEL M, LUBKE B A, WIELER L H, et al. Comparative quantifi cation of the in vitro activity of veterinary fluoroquinolones [J]. Veterinary Microbiology, 2007, 124: 73-81.

[4] THOMAS V, DE-LEFORGE J, BOISRAME B, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin healthy and sick preruminant

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

calves[C]. Proceedings of 6th EAVPT Congress. Edinburgh, Oxford:Blackwell Scientific Publications,1994:61.

[5] WAXMAN S,RODRIGUEZ C,GONZALEZ F,et al. Pharmacokinetic behavior of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in adult goats[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,2001,24:370-375.

[6] PETRACCA K,RIOND J L,GEASER T,et al. Pharmacokinetics of the grase inhibitor marbofloxacin:influence of pregnancy and lactation in sows[J]. Zentralbl Veterinarmed,1993,40(1):73-79.

[7] SCHNEIDER M,THOMAS V,BOISRAME B,et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in dogs after oral and parenteral administration[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,1996,19:56-61.

[8] DE-LUCAS J J,RODRIGUEZ C,WAXMAN S,et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin after intravenous and intramuscular administration to ostriches[J]. The Veterinary Journal,2005,170:364-368.

[9] 黄显会,陈杖榴,张淑婷,等. 禽多杀性巴氏杆菌感染对麻保沙星在鸡体内药动学特征的影响研究[J]. 畜牧兽医学报,2003,34(1):98-102.

[10] GARCIA M A,SOLANS C,ARAMAYONA J J,et al. Determination of marbofloxacin in plasma samples by high-performance liquid chromatography using fluorescence detection[J]. Chromatogrm B,1999,729:157-161.

[11] CESTER C C,SCHNEIDER M,TOUTAIN P L. Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog:enrofloxacin vs. marbofloxacin[J]. Revue de Medecine Veterinaire,1996,147:703-716.

[12] FRAZIER D L,THOMPSON L,TRETTIEN A,et al. Comparison of fluoroquinolone pharmacokinetic parameters after treatment with marbofloxacin,enrofloxacin,and difloxacin in dogs[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,2000,23:293-302.

[13] MARTINEZ M R,DIAZ M J,FERNANOLEZ-CRUZ M L,et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in broiler chickens after intravenous administration[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,1997,20(suppl 1):197.

[14] 李云峰,曾振灵,陈杖榴,等. 麻保沙星(marbofloxacin)在猪体内的药物动力学[J]. 中国兽医学报,2004,3,24(2):177-180.

[15] PRIFER Incorporation. Zeniquin (marbofloxacin tablets for dogs)[R]. New York: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines and Information Technology Unit,1996.

[16] HAWINS E C,BOOTHE D M,GUINN A,et al. Concentration of enrofloxacin and its active metabolite in alveolar macrophages and pulmonary lining fluid of dogs[J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,1998,21:18-23.

Comparision of Pharmacokinetics of Two Marbofloxacin Forms in Native Healthy Dogs

ZHANG Ling-ling PAN An ZHAO Jie MO Fei JIN Qian-yue JIANG Shan-xiang

College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, *China*

Abstract Pharmacokinetics of two different forms of marbofloxacin was investigated following intramuscular and oral administration methods to evaluate the safety for clinical use. Six healthy native dogs at a single dosage of 2.75 mg per kg body weight were chosen by this crossover design trial. Marbofloxacin concentration in plasma was determined by a high performance liquid chromatography with inner standard method. The parameters were concluded by 3P97 computer program. The concentration-time data were both fitted a one-compartment open model after intramuscular and oral administration of marbofloxacin. The main pharmacokinetic parameters were as follows: $T_{1/2ka}$ (0.52 ±0.41) h and (0.41 ± 0.13) h, $T_{1/2ke}$ (4.40 ±1.86) h and (6.25 ±1.80) h, T_{peak} (1.53 ±0.75) h and (1.68 ±0.39) h, C_{max} (1.36 ±0.38) μg/mL and (0.93 ±0.06) μg/mL, *AUC* (10.64 ±2.66) (μg ·h)/mL and (8.68 ± 1.98) (μg ·h)/mL, respectively for intramuscular and oral administration. The results showed that the pharmacokinetic characteristics of marbofloxacin in healthy dogs manifested the rapid absorption, big apparent volume of distribution, slow elimination. And oral adminstration showed more wide and deep tissue distribution than intramuscular adminstation.

Key words lactate marbofloxacin; high performance liquid chromatograph; pharmacokinetics; native dogs

(责任编辑:边书京)

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net