

单 奇, 白 野, 范晶晶, 等. 马波沙星在罗非鱼体内的药物代谢动力学研究[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(1): 5-8.

马波沙星在罗非鱼体内的药物代谢动力学研究

单 奇[†], 白 野[†], 范晶晶, 刘书贵, 尹 伊, 李丽春, 郑光明
(中国水产科学研究院 珠江水产研究所/农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室/
农业部水产品质量安全风险评估实验室, 广东 广州 510380)

摘要:【目的】研究马波沙星在罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 体内的药物代谢动力学(简称药动学)特征,为临床合理用药提供参考。【方法】将罗非鱼随机分成2组,水温维持在30℃,以10 mg·kg⁻¹分别单剂量肌内注射和口服给药,高效液相色谱(HPLC)-荧光检测法测定血浆中马波沙星的质量浓度,用WinNonlin 6.1药动学软件的“非房室模型”分析药动学参数。【结果】肌内注射马波沙星后,药物吸收和消除均较口服快,体内分布广泛。达峰时间(t_{max})为0.25 h,峰质量浓度(ρ_{max})为4.31 μg·mL⁻¹,消除半衰期($t_{1/2\lambda z}$)为19.21 h,表观分布容积为3.94 L·kg⁻¹,药-时曲线下面积(AUC)为70.36 μg·mL⁻¹·h⁻¹。口服马波沙星后,药物吸收和消除均较慢,体内分布广泛。 t_{max} 为4.00 h, ρ_{max} 为2.45 μg·mL⁻¹, $t_{1/2\lambda z}$ 为22.67 h,表观分布容积为4.27 L·kg⁻¹,AUC为76.66 μg·mL⁻¹·h⁻¹。【结论】10 mg·kg⁻¹马波沙星能够有效治疗大多数敏感菌引起的罗非鱼感染。

关键词:马波沙星; 罗非鱼; 药物代谢动力学; 高效液相色谱
中图分类号:S859.79 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2017)01-0005-04

Pharmacokinetics of marbofloxacin in tilapia (*Oreochromis niloticus*)

SHAN Qi[†], BAI Ye[†], FAN Jingjing, LIU Shugui, YIN Yi, LI Lichun, ZHENG Guangming
(Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academic of Fishery Science/Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation of Ministry of Agriculture/Ministry of Agriculture Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Product, Guangzhou 510380, China)

Abstract:【Objective】To study the pharmacokinetics characteristics of marbofloxacin in tilapia (*Oreochromis niloticus*), and provide references for rational clinical drug usage. 【Method】The tilapia were divided into two groups for intramuscular (i. m.) and oral administrations, and each fish received marbofloxacin at a dosage of 10 mg·kg⁻¹ body mass. Water temperature was maintained at 30℃. The concentration of marbofloxacin in plasma was measured using high performance liquid chromatography (HPLC) combined with fluorescence detection. The plasma drug concentration-time data were analyzed by the non-compartment model of WinNonlin 6.1 software. 【Result】After i. m. administration, marbofloxacin absorption and elimination were relatively faster, and it was widely distributed throughout the body. Peak time of plasma concentration (t_{max}) was 0.25 h, the maximum plasma concentration (ρ_{max}) was 4.31 μg·mL⁻¹, the elimination half-life ($t_{1/2\lambda z}$) was 19.21 h, the volume of distribution was 3.94 L·kg⁻¹ and the area under the plasma concentration-time curve (AUC) was 70.36 μg·mL⁻¹·h⁻¹. Following oral administration, marbofloxacin absorption and elimination were relatively slower, and it was widely distributed throughout the body. t_{max} was 4.00 h, ρ_{max} was 2.45 μg·mL⁻¹, $t_{1/2\lambda z}$ was 22.67 h,

the volume of distribution was $4.27 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ and AUC was $76.66 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. 【Conclusion】 Using $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ marbofloxacin could effectively control susceptible micro-organisms involved in most common infections in tilapia.

Key words: marbofloxacin; *Oreochromis niloticus*; pharmacokinetics; HPLC

马波沙星 (Marbofloxacin) 是第 3 代喹诺酮类抗菌药物,最早由瑞士罗氏公司创制, Vetoquinol 公司进一步开发并于 1995 年在英国上市^[1],随后相继在法国、美国和欧洲上市并被列为动物专用药,其化学结构与氧氟沙星相似,对革兰阳性菌具有较强的抗菌活性,对革兰阴性菌也比较敏感,甚至对某些霉形体、厌氧菌也有效。在水产领域,马波沙星对嗜水气单孢菌 *Aeromonas hydrophila*、温和气单胞菌 *A. sobria*、海洋致病性弧菌 *Vibrio*^[2-3] 都显示出了较强的抗菌活性。马波沙星在多种动物体内的药物代谢动力学 (简称药动学) 研究表明,该药具有吸收迅速、组织渗透力强、消除半衰期长、生物利用度高等优良的药动学特性^[4],然而马波沙星在水产动物体内的药动学研究却较少,仅在鲫鱼、中华鳖和对虾体内有相关方面的报道。本试验研究了其在罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 体内的药动学特征,以为马波沙星在水产动物疾病防治方面的应用提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 马波沙星对照品 (质量分数为 99.0%) 为德国 Dr. Ehenstorfer GmbH 公司产品;氧氟沙星对照品 (质量分数为 98.2%) 为中国兽医药品监察所产品;马波沙星原料药 (质量分数为 98.0%) 为浙江国邦药业有限公司产品;氢氧化钠、四丁基溴化铵、磷酸氢二铵、磷酸、三氯甲烷均为分析纯,广州化学试剂厂产品;甲醇为色谱纯,德国 Merck 公司产品。

1.1.2 试验动物 罗非鱼由珠江水产研究所水产养殖基地提供,体质量 230 ~ 250 g,抽样检查无马波沙星和氧氟沙星残留,试验前暂养在珠江水产研究所水生试验动物房的水池内,每天投喂未加药物的空白饲料,10 d 后用于试验,试验期间用增氧泵充氧,水温维持在 $(30 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,每 2 天换水 1/2 体积。选择健康个体进行试验,给药前 24 h 停饲,试验期间不投喂饲料。

1.1.3 溶液的配制 马波沙星标准储备液:精密称取马波沙星对照品 50.50 mg 于 100 mL 棕色容量瓶,用少量 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液助溶,以超纯水定容至刻度,即得到 $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准储备液,分装后置 -20°C 冰箱保存 (有效期 1 个月)。

内标 (氧氟沙星) 溶液:精密称取氧氟沙星对照品 10.18 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中,以超纯水溶解并定容至刻度,摇匀即成 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准液,分装后置 -20°C 冰箱保存 (有效期 1 个月)。

马波沙星水溶液:称取一定量的马波沙星原料药,用少量 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶解后,用无菌生理盐水定容于 100 mL 棕色容量瓶内,使药物质量浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,现配现用。

磷酸氢二铵 - 四丁基溴化铵缓冲液:准确称取 4 g 四丁基溴化铵、4 g 磷酸氢二铵,用 800 mL 超纯水溶解,用磷酸调 pH 为 2.7,然后用超纯水定容至 1 L,经 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后,超声脱气 30 min,备用。

1.1.4 仪器 高效液相色谱仪 (Waters-e2695, Separations module)、2475 多波长荧光检测器、氮吹仪 (N-EPAP112)、高速冷冻离心机 (Allegra™ 64R)、涡旋仪 (IKA® MS 3 basic)、高速离心机 (Sigma, 1-15)、纯水机 (Synergy UV)。

1.2 方法

1.2.1 给药与采样 肌内注射给药:在背鳍与侧线中部鱼体最厚部位注射马波沙星,剂量按体质量 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。分别于肌内注射后 5、15、30、45 min 和 1、2、4、6、8、12、16、24、36、48、72、96、120 h 从尾静脉无菌采血,同一时间取 10 尾鱼,每尾鱼仅采 1 个样品,分别置于预先涂有质量分数为 1% 肝素钠的离心管中, $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,血浆置 -20°C 条件下冷冻保存,待进行血药质量浓度的测定。

口服给药:纱布绑定鱼体,用 1 mL 无菌注射器吸取马波沙星水溶液后,弃去针头,连接加长型大鼠灌胃针缓慢地插入罗非鱼前肠并灌入药物,灌药后将鱼体头朝上直立片刻,无回吐者保留试验,保证给药剂量的准确。给药剂量及取样方法同肌内注射给药。

1.2.2 血浆中马波沙星质量浓度的测定 参照 Aliabadi 等^[5] 方法略作改动。血浆样品自然解冻后,准确量取 500 μL 至 15 mL 塑料离心管中,加入 $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 氧氟沙星内标溶液 20 μL ,旋涡振荡混匀,加入 6 mL 三氯甲烷,置振荡器上水平振荡 30 min, $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,吸取下层全部有机相于玻璃离心管中,在 40°C 水浴中氮气吹干,残渣用 1 mL 流动相溶解, $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后,经 $0.22 \mu\text{m}$ 的一次性针式滤器过滤,取 50 μL 供 HPLC 测定。色谱条件:色谱柱为 Atlantis C₁₈ ($5 \mu\text{m}$, 4.6

mm×250 mm);流动相为甲醇与磷酸氢二铵-四丁基溴化铵缓冲液(体积比 25: 75);激发光波长 295 nm,发射光波长 500 nm;流速为 0.8 mL·min⁻¹;柱温 30 ℃,进样量为 50 μL。在上述色谱条件下能将马波沙星、氧氟沙星与血浆中的其他成分分开。马波沙星的最低检测限(LOD)为 0.003 μg·mL⁻¹,最低定量限(LOQ)为 0.01 μg·mL⁻¹。

1.2.3 数据分析 药动学数据采用 WinNonlin 6.1 药动学软件(Pharsight Corporation, Mountain view, CA, USA)提供的非房室模型进行分析。采用 SPSS 13.0 统计分析软件对试验结果进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 血浆中马波沙星质量浓度的测定

经本方法测定,马波沙星的绝对回收率为 85.73%~91.23%,批内、批间变异系数均小于 8%;氧氟沙星的绝对回收率为 83.26%~87.42%,批内、批间变异系数均小于 4%。标准曲线在 0.01~10.00 μg·mL⁻¹ 范围内,马波沙星与内标的色谱峰面积之比(S)与相对应的药物质量浓度(ρ)有良好的线性关系,线性回归方程为 ρ=0.560 4S+0.005,相关系数 R²=0.999 8。

2.2 马波沙星在罗非鱼体内的药动学

马波沙星以 10 mg·kg⁻¹ 剂量口服和肌内注射

表 1 罗非鱼单剂量肌内注射和口服 10 mg·kg⁻¹ 马波沙星的药代动力学参数¹⁾

Tab.1 Pharmacokinetic parameters of marbofloxacin in tilapia following a single intramuscular or oral administration of 10 mg·kg⁻¹ marbofloxacin

给药方式	λ _z / (h ⁻¹)	AUC/ (μg·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)	t _{max} / h	ρ _{max} / (μg·mL ⁻¹)	t _{1/2λ_z} / h	体清除率/ (L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	表观分布容积/ (L·kg ⁻¹)	t _{滞留} / h	AUMC/ (μg·mL ⁻¹ ·h ⁻¹)
肌内注射	0.036	70.36	0.25	4.31	19.21	0.14	3.94	21.12	1 485.66
口服	0.031	76.66	4.00	2.45	22.67	0.13	4.27	32.30	2 476.06

1) λ_z 为消除速率常数;AUC 为血药浓度-时间曲线下面积;t_{max} 为药物达峰时间;ρ_{max} 为药物峰质量浓度;t_{1/2λ_z} 为消除半衰期;t_{滞留} 为平均滞留时间;AUMC 为一阶矩时间曲线下面积。

3 讨论与结论

3.1 马波沙星在罗非鱼体内的药动学特征

马波沙星以 10 mg·kg⁻¹ 单剂量肌内注射或口服给药后,罗非鱼耐受性良好,试验期间没有出现鱼体死亡和其他明显的不良反应。罗非鱼肌内注射给药后,马波沙星吸收迅速,达峰时间为 0.25 h,快于报道中的中华鳖的 0.50 h^[6]。口服给药后,马波沙星吸收相对缓慢,达峰时间为 4.00 h,显著慢于氧氟沙星(0.41 h)^[7] 和诺氟沙星(0.75 h)^[8],也显著慢于鲫鱼的 0.78 h^[9],然而,据报道马波沙星在中华鳖血清中达峰时间长达 8.00 h^[6]。

肌内注射和口服给药后,马波沙星在罗非鱼血

浆中的药-时曲线见图 1。马波沙星在罗非鱼血浆中的药动学参数见表 1。肌内注射给药后,马波沙星吸收迅速,达峰时间(t_{max})为 0.25 h,峰质量浓度(ρ_{max})为 4.31 μg·mL⁻¹。口服给药后,马波沙星吸收比较缓慢,t_{max} 为 4.00 h,ρ_{max} 为 2.45 μg·mL⁻¹。肌内注射和口服给药后,马波沙星在罗非鱼体内分布广泛、清除缓慢,表观分布容积分别为 3.94 和 4.27 L·kg⁻¹,体清除率分别为 0.14 和 0.13 L·h⁻¹·kg⁻¹,较大的表观分布容积和较低的体清除率,使得肌内注射和口服给药后马波沙星在罗非鱼体内的消除半衰期分别长达 19.21 和 22.67 h。

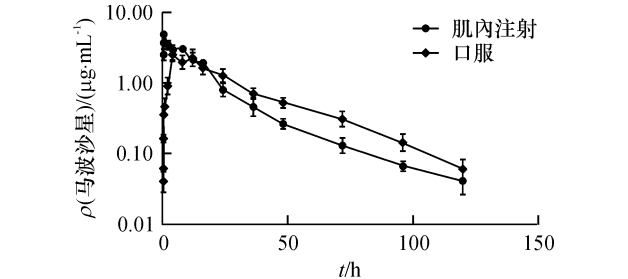


图 1 罗非鱼肌内注射和口服 10 mg·kg⁻¹ 马波沙星后血浆中的药-时曲线

Fig.1 The plasma drug concentration-time curve in tilapia following a single intramuscular or oral administration of 10 mg·kg⁻¹ marbofloxacin

浆中的消除半衰期分别为 19.21 和 22.67 h,相比其他水产动物及其他药物,其消除半衰期明显长于中华鳖(13.38 h)^[6],也明显长于恩诺沙星(17.19 h)^[10]、氧氟沙星(7.74 h)^[7] 和诺氟沙星(16.42 h)^[8],但明显短于鲫鱼(25.05 h)^[9]。药物在不同种类水产动物体内消除半衰期的差异,可能是由于水产动物解剖学上的体积差异、药物与血浆蛋白和组织结合的差异^[11-12] 以及生存环境温度的差异所致^[13-14]。药物在水产动物体内代谢与消除规律十分复杂,针对特定药物开展其不同养殖动物体内的药动学研究非常必要。

肌内注射和口服给药后,马波沙星在罗非鱼体内的表观分布容积高达 3.94 和 4.27 L·kg⁻¹,表明

马波沙星组织渗透能力很强,能够在罗非鱼体内广泛分布。这与之之前在中华鳖体内的报道比较一致,肌肉注射和口服给药后马波沙星在中华鳖体内的表现分布容积分别为 2.43 和 4.66 L · kg⁻¹[6]。

3.2 马波沙星临床给药方案的制定

合理给药方案的制定,需将药动学和药效学数据结合起来。本试验中马波沙星以 10 mg · kg⁻¹ 剂量肌肉注射和口服给药后,罗非鱼血浆中马波沙星的平均质量浓度在 24 h 内均超过了 0.5 μg · mL⁻¹,该浓度超过或接近大多数致病菌的 MIC₉₀ (MIC₉₀ 为抑制 90% 细菌所需要的最低药物浓度)。据报道,马波沙星对气单孢菌的 MIC₉₀ 为 0.2 μg · mL⁻¹[3];马波沙星对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 的 MIC₉₀ 为 0.21 μg · mL⁻¹,马波沙星对肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 细菌的最小抑菌浓度 (MIC) 为 0.008 ~ 0.030 μg · mL⁻¹[15];马波沙星对临床分离的鸡、猪大肠埃希菌 *Escherichia coli*, 鸭李氏杆菌 *Listeria*, 猪链球菌 *Streptococcus suis* 和金黄色葡萄球菌很敏感, MIC 均小于 0.5 μg · mL⁻¹[16]。和其他氟喹诺酮类药物一样,马波沙星是浓度依赖性药物,与马波沙星药效相关性最强的 PK/PD 参数为 AUC/MIC^[17]。为了达到治疗效果和避免耐药性的产生,氟喹诺酮类药物的 AUC/MIC 比值需在 125 ~ 250^[18]。本试验中,当 MIC = 0.5 μg · mL⁻¹,肌肉注射和口服给药后血浆中马波沙星 AUC/MIC 分别为 143.30 和 154.72。数据表明 10 mg · kg⁻¹ 马波沙星能够有效治疗大多数敏感菌引起的罗非鱼感染。

参考文献:

- [1] 邱银生,吴佳. 动物专用氟喹诺酮类药物研究进展简介[J]. 中国兽药杂志,1998, 32(3): 46-48.
- [2] 李晖,李健,张喆,等. 麻保沙星对主要海洋致病性弧菌的体外抗菌活性及抗菌后效应[J]. 中国水产科学,2010, 17(1): 97-102.
- [3] 王志强,朱琳. 动物专用氟喹诺酮类药物对嗜水气单胞菌与温和气单胞菌的抗菌活性[J]. 中兽医医药杂志,2005, 24(2): 34-36.
- [4] FITTON A. The quinolones: An overview of their pharmacology[J]. Clin Pharmacokinet, 1992, 22(S1): 1-11.
- [5] ALIABADI F S, LEES P. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of marbofloxacin in calf serum, exudate and transudate[J]. J Vet Pharmacol Ther, 2002, 25(3): 161-174.
- [6] SHAN Q, ZHENG G, LIU S, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of marbofloxacin against

Aeromonas hydrophila in Chinese soft-shelled turtles (*Trionyx sinensis*) [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2015, 38(6): 537-542.

- [7] 王贤玉,宋洁,王伟利,等. 氧氟沙星在吉富罗非鱼体内的药代动力学及残留的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(2): 144-148.
- [8] 朱泽尧,张其中,于相满,等. 盐酸诺氟沙星在奥尼罗非鱼体内的药动学研究[J]. 淡水渔业,2008, 38(1): 30-34.
- [9] ZHU Y L, TAN Y P, WANG C M, et al. Pharmacokinetics and tissue residues of marbofloxacin in crucian carp (*Carassius auratus*) after oral administration [J]. Aquac Res, 2009, 40(6): 696-709.
- [10] 徐维海,林黎明,宋朱斌,等. 恩诺沙星及其代谢产物在吉富罗非鱼、中国对虾体内的残留规律研究[J]. 水产科学,2004, 23(7): 5-8.
- [11] BARRON M G, GEDUTIS C, JAMES M O. Pharmacokinetics of sulphadimethoxine in the lobster, *Homarus americanus*, following intrapericardial administration [J]. Xenobiotica, 1988, 18(3): 269-276.
- [12] OIE S, TOZER T N. Effect of altered plasma protein binding on apparent volume of distribution [J]. J Pharm Sci, 1979, 68(9): 1203-1205.
- [13] GEORGE R, ALEXIS M, ANDRIOPOULOU A, et al. Temperature-dependent pharmacokinetics and tissue distribution of oxolinic acid in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., after a single intravascular injection [J]. Aquac Res, 2002, 33(14): 1175-1181.
- [14] 肖贺,王伟利,姜兰,等. 不同温度下复方磺胺嘧啶在罗非鱼体内的药代动力学 [J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(6): 13-18.
- [15] BOUSQUET-MELOU A, BERNARD S, SCHNEIDER M, et al. Pharmacokinetics of marbofloxacin in horses [J]. Equine Vet J, 2002, 34(4): 366-372.
- [16] 张玲玲,潘安,郭宽,等. 国产麻保沙星的毒性及体外抗菌活性研究 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2009, 37(7): 16-22.
- [17] CAO C, QU Y, SUN M, et al. In vivo antimicrobial activity of marbofloxacin against *Pasteurella multocida* in a tissue cage model in calves [J]. Front Microbiol, 2015, 6: 759.
- [18] MARTINEZ M, MCDERMOTT P, WALKER R. Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals [J]. Vet J, 2006, 172(1): 10-28.

【责任编辑 李晓卉】