

多西环素注射液在猪体内的药动学及生物利用度研究

李伟¹, 段新华¹, 杨阳², 朱许强¹, 钟家林¹, 沈祥广¹, 丁焕中¹

(1 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642; 2 广州市科虎生物技术研究开发中心, 广东 广州 510540)

摘要:健康猪7头,按拉丁方设计进行单剂量静注多西环素普通注射液、肌注10%和20%多西环素注射液的药动学试验,给药剂量根据体质量以多西环素计均为20 mg/kg.以高效液相色谱法测定血药浓度,血药浓度-时间数据用WinNonlin计算机程序分析处理.猪静注多西环素注射液的主要药物动力学参数:药时曲线下面积(AUC)为(141.76±20.38) mg·h·L⁻¹,体清除率(Cl)为(0.14±0.02) L·kg⁻¹·h⁻¹,表观分布容积(V_{ss})为(1.36±0.17) L·kg⁻¹,消除半衰期(*t*_{1/2β})为(9.44±2.60) h;肌注10%和20%多西环素注射液的主要药物动力学参数分别为:AUC为(75.74±21.22)和(90.86±12.11) mg·h·L⁻¹,达峰时间(*t*_{max})为(1.05±0.24)和(1.30±0.30) h,峰浓度(*C*_{max})为(2.55±0.65)和(2.28±0.26) μg·mL⁻¹,*t*_{1/2β}为(32.74±8.66)和(58.36±7.33) h,生物利用度(*F*)为(52.42±8.97)%和(64.49±6.22)%.结果表明10%和20%多西环素注射液肌注后吸收较快,消除缓慢,消除半衰期延长,给药后72 h仍能达到对常见病原菌的有效血药浓度.

关键词:多西环素; 药物动力学; 猪

中图分类号:S859.7

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2010)04-0121-04

Pharmacokinetics and Bioavailability of Doxycycline Injection in Pigs

LI Wei¹, DUAN Xin-hua¹, YANG Yang², ZHU Xu-qiang¹,
ZHONG Jia-lin¹, SHEN Xiang-guang¹, DING Huan-zhong¹

(1 College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Guangzhou CooHo Biotechnology Research and Development Centers, Guangzhou 510540, China)

Abstract: The pharmacokinetics and bioavailability of doxycycline injection were investigated in 7 healthy pigs in a latine square experimental design following the single intravenous administration of doxycycline injection, intramuscular administration of 10% and 20% doxycycline injection, all at the dose of 20 mg/kg body mass. The plasma concentrations of doxycycline were determined by HPLC methods. The plasma concentration-time data obtained from experiments were analyzed using WinNonlin program. The main pharmacokinetic parameters after intravenous administration were as follows: AUC (141.76 ± 20.38) mg·h·L⁻¹, Cl (0.14 ± 0.02) L·kg⁻¹·h⁻¹, V_{ss} (1.36 ± 0.17) L·kg⁻¹, *t*_{1/2β} (9.44 ± 2.60) h. The main pharmacokinetic parameters for 10% and 20% doxycycline injection administration were as follows, respectively: AUC (75.74 ± 21.22) and (90.86 ± 12.11) mg·h·L⁻¹, *t*_{max} (1.05 ± 0.24) h and (1.30 ± 0.30) h, *C*_{max} (2.55 ± 0.65) and (2.28 ± 0.26) μg·mL⁻¹, *t*_{1/2β} (32.74 ± 8.66) and (58.36 ± 7.33) h, *F* (52.42 ± 8.97)% and (64.49 ± 6.22)%. These results showed that the 10% and 20% doxycycline hydrochloride injection were absorbed quickly, but eliminated slowly. The minimum effect concentration for some pathogenic bacteria could still be attained 72 h after the intramuscular administration of 10% or 20% doxycycline injection.

Key words: doxycycline; pharmacokinetics; pigs

收稿日期:2010-01-04

作者简介:李伟(1984—),女,硕士研究生;通信作者:丁焕中(1969—),男,副教授,博士, E-mail:hzding@scau.edu.cn

多西环素(Doxycycline)又名强力霉素、脱氧土霉素,是半合成的四环素类抗菌药,与天然四环素类药物如四环素相比,其具有抗菌活性和组织穿透力强、体内分布广等优点。目前,多西环素在我国兽医临床已广泛用于畜禽细菌性疾病的防治,尤其在大肠杆菌、支原体感染等疾病上效果显著。尽管国内已有关于多西环素普通制剂在猪体内药动学的研究报道^[1-2],但多西环素长效注射液在猪体内的药动学研究还较少。本研究旨在探讨多西环素长效注射液和多西环素普通注射液在猪体内单剂量给药的药动学规律,为其临床合理用药提供参考资料。

1 材料与方 法

1.1 药品及试剂

10%及20%多西环素注射液(批号:081108及090716),均由上海公谊兽药厂提供;盐酸多西环素原料药,纯度97.40%,批号0803006,开封制药有限公司;盐酸多西环素对照品,纯度83.2%(以多西环素计),批号K0130604,中国兽医药品监察所提供。EDTA·2Na等均为国产分析纯试剂,甲醇、乙腈,色谱纯级。

1.2 试液的配制

1 mg/mL多西环素标准贮备液配制:准确称取一定量(按多西环素效价计算)的盐酸多西环素标准品,以流动相定容至10 mL。

EDTA-McIlvaine缓冲液:称取6.0 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$,5.2 g 柠檬酸一水物,1.5 g EDTA·2Na,加400 mL水溶解。

提取液(EDTA-McIlvaine缓冲液和高氯酸的混合液):EDTA-McIlvaine缓冲液与高氯酸按体积比4:1混合均匀。

1.3 试验动物

健康长白×大白×杜洛克三元杂交猪7头,体质量(26.5±2.3)kg。自由采食,饮水,饲喂不加任何抗菌药物的全价配合饲料。

1.4 给药及采样

动物按拉丁方试验设计分别进行静脉注射自制5%的多西环素注射液和肌肉注射10%及20%多西环素注射液。给药前测定3种制剂的药物含量。根据体质量按20 mg/kg单次耳缘静脉注射及颈部肌肉注射给药。给药前采空白血浆,给药后15、30 min及1、2、4、6、8、12、24、36、48、60、72、96、120 h分别经前腔静脉采集血浆样品,每次采血5 mL左右,分离血

浆,-20℃保存待测。

1.5 血药浓度测定

1.5.1 血浆样品前处理方法 血浆样品解冻,摇匀。准确吸取1.0 mL血浆,加入200 μL的提取液,漩涡30 s,混匀,静置5 min。然后以12 000 r·min⁻¹离心15 min,吸取上清液经0.2 μm针式滤膜过滤,取50 μL滤液进行高效液相色谱(HPLC,Agilent 1100型系列)分析。

1.5.2 标准曲线和线性范围 在2 mL离心管中各加入1 mL空白血浆,再依次加入20 μL多西环素系列浓度,漩涡混匀,使得各样品中血浆的药物质量浓度为0.05~5.00 μg/mL,按“1.5.1”方法处理测定,以多西环素的色谱峰面积作横坐标,药物质量浓度(C)作纵坐标,求得标准曲线回归方程和相关系数。

1.5.3 准确度和精密度测定 将定量标准液加入猪空白血浆中,制得低(0.1 μg/mL)、中(0.5 μg/mL)和高(2.0 μg/mL)3个样品质量浓度,按“1.5.1”方法处理样品,测定;同时分别取0.1、0.5、2.0 μg/mL多西环素标准系列溶液1 mL进行HPLC分析,每一质量浓度样品重复5次,以峰面积比计算求其回收率。

按上述方法在空白血浆另设立质量浓度0.1、0.5和2.0 μg/mL进行精密度(批内与批间变异系数)测定,每批内作5次重复,共作5个批次。计算批内和批间浓度测定值的变异系数。

1.6 血浆中药物浓度测定

血浆样品按1.5方法处理后,作HPLC分析,记录多西环素色谱峰面积,以标准曲线回归方程计算血浆中多西环素的浓度。若样品中药物质量浓度超出标准曲线线性范围,则样品进样前以流动相适当稀释。

1.7 色谱条件

流动相为pH 3.0的EDTA-2Na缓冲液:乙腈:甲醇按体积比50:35:15配制,色谱柱为Hypersil BDS C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)不锈钢柱(大连依利特公司),流速1.0 mL/min,柱温30℃,检测波长350 nm,进样量50 μL。

1.8 药-时数据处理

采用WinNonlin计算机程序处理药-时数据,计算出每头动物的药物动力学参数。

2 结果与分析

2.1 血浆中多西环素的检测方法

在本试验条件下多西环素与血浆中内源性物质

达到基线分离效果,峰形尖锐,保留时间为4.5 min左右.本方法测定血浆中多西环素的检测限为 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,定量限为 $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.在 $0.02 \sim 5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,标准曲线线性关系良好($r > 0.99$).血浆中添加 0.05 、 0.10 和 $2.00 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的多西环素回收率均高于 82% ,批内和批间变异系数均小于 6% .

2.2 静注盐酸多西环素普通注射液和肌注多西环素长效注射液后的药物动力学特征

由图1可见,肌肉注射 10% 及 20% 多西环素注射液 72 h 后,其平均血药质量浓度分别为 0.265 和 $0.385 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.药物浓度-时间数据拟合结果表明,静注多西环素普通注射液的药物动力学最佳模型为无吸收二室模型,肌注多西环素长效注射液的

药物动力学最佳模型为一级吸收二室开放模型,其药物动力学参数见表1.

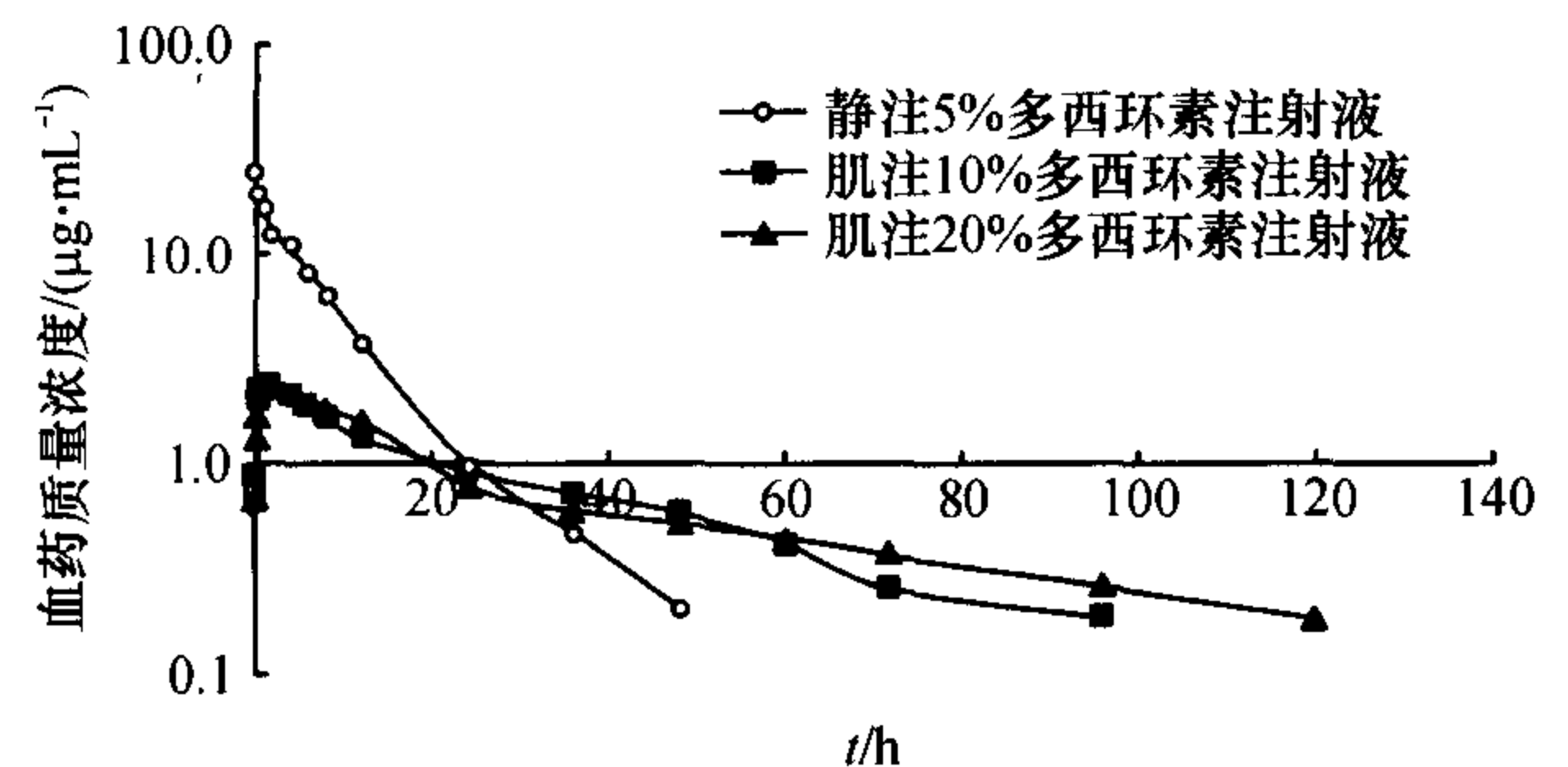


图1 多西环素注射液静脉注射和肌肉注射给药后药-时曲线图

Fig. 1 Concentration-time curve of doxycycline after single i. v. and i. m. administration in pigs

表1 猪单剂量($20 \text{ mg}/\text{kg}$)静注、肌注多西环素的药物动力学参数

Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of doxycycline after single i. v. and i. m. administration in pigs at a dose of $20 \text{ mg}/\text{kg}$ ($n = 7, \bar{x} \pm \text{SE}$)

参数	静脉注射5%溶液	肌肉注射10%注射液	肌肉注射20%注射液
药时曲线下面积(AUC)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$)	141.76 ± 20.38	75.74 ± 21.22	90.86 ± 12.11
$t_{1/2\text{Ka}}$ /h		0.21 ± 0.07	0.22 ± 0.07
$t_{1/2\alpha}$ /h	2.01 ± 0.24	3.71 ± 2.49	9.41 ± 1.95
消除半衰期($t_{1/2\beta}$)/h	9.44 ± 2.60	32.74 ± 8.66	58.36 ± 7.33
达峰时间(t_{max})/h		1.05 ± 0.24	1.30 ± 0.30
峰浓度(C_{max})/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)		2.55 ± 0.65	2.28 ± 0.26
体清除率(Cl)/($\text{L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	0.14 ± 0.02		
表观分布容积(V_{ss})/($\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$)	1.36 ± 0.17		
生物利用度(F)/%		52.42 ± 8.97	64.49 ± 6.22

3 讨论

猪静脉注射多西环素注射液后的AUC为 $141.76 \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$,与已报道^[1]的 $108.15 \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$ 较为相似, V_{ss} 为 $1.36 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与文献^[1]的 $1.04 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 相近,表明药物在猪体内分布较为广泛.其在猪体内消除较缓慢, $t_{1/2\beta}$ 9.44 h ,与其他报道的 4.04 、 4.07 h ^[1,3]有差异,与该药在其他种属动物体内的 $t_{1/2\beta}$ 比较也有一定区别:犬和猫分别为 6.99 、 4.56 h ^[4],母牛和母羊为 24.75 h ^[5].多西环素在猪体内的Cl较小,为 $0.140 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,与Baert等^[6]报道的 $0.169 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 相一致.

猪肌注 10% 和 20% 多西环素注射液后, t_{max} 分别为 1.05 和 1.30 h , C_{max} 分别为 2.28 和 $2.55 \mu\text{g}/\text{mL}$,表明多西环素吸收迅速,达峰快,峰浓度高,可以起到速效作用.消除速度较慢, $t_{1/2\beta}$ 分别为 32.74 和 58.36 h ,与其他报道的 9.53 h ^[2]及本试验中静注给

药途径的 $t_{1/2\beta}$ 差别较大.导致其 $t_{1/2\beta}$ 延长的原因可能是由于在消除相内仍有药物持续吸收,这样可达到延长有效作用时间的目的.肌肉注射 10% 及 20% 多西环素注射液 F 分别为 52.42% 和 64.49% ,与何家康等^[1]报道的 57.66% 相近,但低于山羊体内(99.4%)的报道^[7].表明不同种属的动物,或不同制剂可能导致生物利用度的差异.

本试验肌注2种多西环素注射液血药浓度升高较快,给药 5 min 后血药质量浓度均超过 $0.8 \mu\text{g}/\text{mL}$,给药后 72 h 仍然能够维持在 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上,具有明显的长效作用.根据报道^[8-10]多西环素对猪肺炎支原体的最小抑菌浓度(MIC)为 $0.219 \mu\text{g}/\text{mL}$,对鸡败血霉形体的MIC为 $0.125 \mu\text{g}/\text{mL}$;本试验中按 $20 \text{ mg}/\text{kg}$ 给药后 48 h 的血药质量浓度约为 $0.6 \mu\text{g}/\text{mL}$,高于猪的常见敏感菌的MIC,因此建议多西环素缓释注射液用于治疗猪的常见细菌感染的临床给药剂量为 $20 \text{ mg}/\text{kg}$, $2 \sim 3 \text{ d}$ 给药1次,重症酌情加倍.

参考文献:

- [1] 何家康,祝万菊,周丽光,等. 盐酸多西环素缓释注射液在猪体内的药物动力学[J]. 中国兽医学报,2008,28(2):175-180.
- [2] 王金花,操继跃,翟克影,等. 盐酸多西环素在猪体内的药物动力学及其残留[J]. 中国兽医学报,2008,28(11):1313-1316.
- [3] RIOND J L, RIVIERE J E. Pharmacokinetics and metabolic inertness of doxycycline in young pigs[J]. Am J Vet Res,1990,51(8):1271-1275.
- [4] RIOND J L, VADEN S L, RIVIERE J E. Comparative pharmacokinetics of doxycycline in cats and dogs[J]. J Vet Pharmacol Therap,1990,13:415-424.
- [5] OLE-MAPENAY I M, MITEMA E S, MATHIO T E. Aspects of pharmacokinetics of doxycycline given to healthy and pneumonic east African dwarf goats by intramuscular injection[J]. Vet Res Commun,1997,21:453-462.
- [6] BAERT K, CROUBELS S. Pharmacokinetics and oral bioavailability of a doxycycline formulation (doxycycline 75%) in nonfasted young pigs[J]. J Ver Pharmacol Therap,2000,23:45-48.
- [7] ABD EI-ATY A M, GOUDAH A, ZHOU H H. Pharmacokinetics of doxycycline after administration as a single intravenous bolus and intramuscular doses to non-lactating Egyptian goats[J]. Pharmacol Res,2004,49:487-491.
- [8] 韦建强,王志强. 替米考星及其他抗菌药对猪肺炎支原体的体外联合抑菌试验[J]. 兽药与饲料添加剂,2006,11(6):3-4.
- [9] 刘聚祥,林密,孙继国,等. 八种抗菌药物对绵羊肺炎霉形体的体外敏感性研究[J]. 河北农业大学学报,2003,26(3):7-10.
- [10] 陈方文,万蔚. 六种抗菌药对鸡败血霉形体的体外抑菌试验[J]. 江西畜牧兽医杂志,2005,5:13.

【责任编辑 柴 焰】

欢迎订阅 2011 年《华南农业大学学报》

《华南农业大学学报》是华南农业大学主办的综合性农业科学学术刊物。本刊主要报道农业各学科的科研学术论文、研究简报、综述等,设有农学·园艺·土壤肥料、植物保护、生物学、林业科学、动物科学与兽医学、农业工程与食品科学、信息科学、基础科学、综述、简报等栏目。本刊附英文目录和英文摘要。读者对象主要是农业院校师生、农业科研人员和有关部门的专业干部。

本刊为《中国科学引文数据库》、《中国科技论文统计源(中国科技核心期刊)》及《中国学术期刊综合评价数据库》等固定刊源,并排列在中国科学引文数据库被引频次最高的中国科技期刊500名以内。被《中文核心期刊要目总览》遴选为综合性农业科学核心期刊、植物保护类核心期刊。为美国《化学文摘》、美国《剑桥科学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、英国《CABI》、英国《动物学记录》、《中国生物学文摘》及国内农业类文摘期刊等国内外多家著名文摘固定刊源。

国内外公开发行人、季刊、A4幅面。每期124页,定价10.00元,全年40.00元。自办发行,参加全国非邮发报刊联合征订发行,非邮发代号:6573。

订阅办法:订阅款邮汇至:300385 天津市大寺泉集北里别墅17号,全国非邮发报刊联合征订服务部。

《华南农业大学学报》编辑部