

# 复方新诺明在鲈鱼体内的药物代谢动力学研究\*

王 群 孙修涛 刘德月 刘 琪 李 健

(中国水产科学研究院黄海水产研究所农业部海水增养殖与病害重点开放实验室 青岛 266071)

**提要** 首次报道了用高效液相色谱法研究鲈鱼口服复方新诺明的药物代谢动力学特征。结果表明, 鲈鱼单次口服剂量为  $200 \times 10^{-6}$  的复方新诺明后, 其血液药物浓度-时间数据符合一室开放动力学模型。药物代谢动力学参数: 吸收速率常数(  $k_a$ ) 为  $0.096 \text{ h}^{-1}$ 、达峰时间(  $T_{\max}$ ) 为 21.479 h, 峰浓度(  $C_{\max}$ ) 为  $50.768 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、吸收半衰期(  $T_{(1/2), k_a}$ ) 为 7.250 h、消除半衰期(  $T_{(1/2), k}$ ) 为 38.299 h, 药时曲线下面积(  $AUC$ ) 为  $4138.400(\text{mg} \cdot \text{h})/\text{L}$ 。鲈鱼口服药物 0.5 h 后在肌肉、血液、肝脏、肾脏 4 种组织中就可以检测到药物的存在。药物在 16 h 采样点 4 种组织里的浓度达最高。药物在肌肉、血液、肝脏中的平均回收率约 80%~90%, 该方法的检测限可达  $0.05 \times 10^{-6}$ 。

**关键词** 复方新诺明, 药物代谢动力学, 鲈鱼

常用磺胺类药物有十几种, 目前国外已研究了磺胺间甲氧嘧啶(SMM) 在养殖鳗鲡、磺胺-2, 6-二甲氧嘧啶(SDM) 在虹鳟、大鳞大马哈鱼、斑点叉尾鮰、大西洋鲑及对虾, 磺胺嘧啶(SDZ) 在大鳞大马哈鱼、鲑鱼体内的药物代谢动力学<sup>[1]</sup>, 国内尚未见有关磺胺类药物在水产动物体内药物代谢动力学的报道。复方新诺

明(SMZ: TMP = 5: 1, Sulfamethazine: Trimethoprim = 5: 1) 属于中效磺胺类药物与磺胺增效剂的复方制

\* 农业部科研项目“鱼用药物代谢动力学及药物残留的研究”。

收稿日期: 2000-07-13; 修回日期: 2000-08-25

剂,抗菌谱广,抗菌效果好,目前广泛地应用在国内外水产养殖上<sup>[2]</sup>,仅参考药效学数据或凭经验制定给药方案是不科学的,作者进行复方新诺明的药物代谢动力学研究,目的是了解该种药物在鲈鱼体内的药物代谢规律,为防治鱼类疾病的合理用药(药物的剂量、用药的次数和周期)提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 实验动物 健康鲈鱼,体重约 200 g,饲养于青岛麦岛实验基地。水温为 16±1 ℃,充气,流水,每日投喂新鲜杂鱼。

1.1.2 试验药品 复方新诺明标准品,纯度 ≥ 99.5%,中国兽药监察所生产;原药:复方新诺明药片,山东新华制药股份公司生产,批号:(1995)032081。

1.1.3 化学药品和试剂 无水硫酸钠(A.R)、二氯甲烷(A.R)、冰醋酸(A.R)、正己烷(A.R)、乙腈(HPLC)。

1.1.4 实验仪器 Waters 600 型高效液相色谱仪,包括 Waters 600 型控制器和 Waters™ 600 泵, Waters™ 486 型紫外吸收检测器; Waters™ 474 型扫描荧光检测器,486 微机数据处理系统,电子天平、冷冻离心机、漩涡振荡器、冰箱、氮气瓶、恒温水浴锅、匀浆机等。

### 1.2 方 法

1.2.1 标准溶液的配制 准确称取 20 mg 磺胺甲口恶唑(SMZ)和 20 mg 甲氧苄啶(TMP)溶于 100 ml 流动相中,配成 100 μg/ml 的母液,再依次稀释成 50, 25, 10, 5, 1 μg/ml 的标准溶液,于冰箱中 4 ℃ 保存。

1.2.2 样品的处理 准确称取 1 g 组织(肌肉、肝脏和肾脏)或准确吸取 1 ml 血液,加入少许无水硫酸钠,再加入 3 ml 二氯甲烷,16 000 r/min 匀浆 10s,再用 3 ml 二氯甲烷清洗刀头,合并两次提取液,振荡 1 min,5 000 r/min 离心 10 min,吸取全部上清液,在 40 ℃ 恒温水浴下用氮气吹干,残渣用 1 ml 流动相溶解,加入 1 ml 正己烷去脂肪,下层液过 0.22 μm 的微孔滤膜,过滤后的液体可进行高效液相色谱测定。

1.2.3 色谱条件 柱子: C<sub>18</sub> ODS 柱;柱温: 25 ℃;流动相: 乙腈: 水: 冰醋酸 = 20: 80: 0.5(V/V/V);流速: 1.0 ml/min;进样量: 10 μl;紫外检测: 波长 272 nm。

1.2.4 标准曲线的制备 将配制的 1, 2, 5, 10, 25, 50 μg/ml 的标准品溶液用 HPLC 仪测其峰面积,然后以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标做标准曲线,求出回归方程和相关系数。

1.2.5 回收率的确定 实验分两组,一组将空白组织(肌肉、肝脏和血液)按表加入标准液,然后按照样品的处理程序进行处理;另一组将未加入标准液的空白组织按照样品的处理程序进行处理,然后再按表 1 加入标准液。按照公式进行计算:回收率(%) = (处理前加入标准液样品的测定值/处理后加入标准液样品的测定值) × 100 %

表 1 复方新诺明回收率的测定所加试剂的量

Tab.1 Quantity of reagent in determining recovery of sulfamethazine

实验组	空白组织量 (g 或 ml)	标准液浓度 (μg/ml)	标准液体积 (ml)
1	1	1.0	1
2	1	5.0	1
3	1	10.0	1
4	1	50.0	1
空白	1	/	/

1.2.6 给药及取样 将实验用鱼随机分组,每组 5 尾,单次口服给药(将药物配成悬浊液,口灌)。按不同的时间间隔取样(肌肉、肝脏、肾脏和血液),每一时间点取一组鱼。复方新诺明的实验用鱼为鲈鱼,给药剂量为 200 × 10<sup>-6</sup>,取样的时间点为 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 48, 72 h。

1.2.7 数据处理 根据血液药物浓度-时间(C-T)数值,采用 MCPKP 药代动力学程序进行药代动力学分析和处理,该程序可自动选择最佳模型,并将其进行非线性最小二乘法拟合,计算出药代动力学参数。

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性范围及回收率

SMZ 和 TMP 在 1 ~ 50 μg/ml 浓度范围内线性关系良好,相关系数 *r* 分别为 0.996 642 和 0.999 337,回归方程:  $C = 3.126 25 \times 10^{-4} A - 0.479 301$  和  $C = 1.037 \times 10^{-3} A - 0.788 978$  (*C* 为浓度, *A* 为峰面积)。复方新诺明以 1 ~ 50 μg/ml 4 个水平,分别测其在肌肉、血液、肝脏中的回收。

表 2 SMZ/ TMP 在 3 种组织中的回收率

Tab.2 Recoveries of SMZ/ TMP in three tissues

浓度 (μg/ml)	回收率(%)		
	肌肉	血液	肝脏
1	92.23 ~ 97.85	94.70 ~ 98.60	90.46 ~ 95.82
5	89.35 ~ 94.87	92.17 ~ 96.98	87.68 ~ 90.11
10	83.39 ~ 91.15	90.16 ~ 90.76	85.83 ~ 86.84
50	79.69 ~ 82.02	84.99 ~ 85.03	77.12 ~ 81.07

## 2.2 复方新诺明在组织中的浓度

将高效液相色谱测得的复方新诺明的峰面积代入各自的标准曲线所绘制的回归方程, 就可以求出药物在各组织中浓度值。表 3 列出鲈鱼口服复方新诺明后, 4 种组织中的药物浓度。鲈鱼单次口服剂量为  $200 \times 10^{-6}$  的复方新诺明 0.5 h 后, SMZ 和 TMP 在肌肉、血液、肝脏、肾脏中的药物浓度分别为 3.60, 1.09, 1.21, 0.348  $\mu\text{g}/\text{ml}$  和 2.39, 1.79, 5.74, 1.48  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。SMZ 和 TMP 在复方新诺明中的比例为 5:1, 但在最初的采样点 TMP 的药物浓度却比 SMZ 高, 说明后者的吸收比前者迅速而且好, 两种成分在 16 h 的采样点测得浓度最高, 分别为 59.09, 60.83, 20.88, 29.75  $\mu\text{g}/\text{ml}$  和 29.32, 30.75, 38.07, 34.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 根据数据可知 TMP 在 4 种组织中的浓度差别不大, 而 SMZ 在血液和肌肉中的浓度却是肝脏和肾脏中的 2~3 倍, 这与一般的药物在肝脏和肾脏中的浓度比在肌肉和血液中的浓度大恰恰相反, 原因是磺胺类药物被组织吸收后, 在组织中有一个乙酰化的过程, 乙酰化率最高的部位是肝脏和肾脏, 所以 SMZ 在肝脏和肾脏中的浓度比在肌肉和血液中低。药物代谢到 72 h, SMZ 和 TMP 在组织中的浓度仍然很高, 分别为 26.06, 12.14, 7.86, 5.98  $\mu\text{g}/\text{ml}$  和 16.17, 22.49,

表 3 SMZ 在 4 种组织中的浓度

Tab.3 Concentrations of SMZ in four tissues

时间 (h)	浓度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )			
	肌肉	血液	肝脏	肾脏
0.5	3.60 $\pm$ 2.43	1.09 $\pm$ 0.67	1.21 $\pm$ 0.65	0.35 $\pm$ 0.05
1	9.96 $\pm$ 2.61	6.22 $\pm$ 1.56	13.02 $\pm$ 6.44	4.13 $\pm$ 0.89
2	12.47 $\pm$ 2.32	9.17 $\pm$ 4.38	14.41 $\pm$ 4.51	6.17 $\pm$ 1.86
4	19.82 $\pm$ 2.28	9.08 $\pm$ 5.22	15.71 $\pm$ 7.31	10.00 $\pm$ 2.39
8	34.35 $\pm$ 12.31	17.85 $\pm$ 7.73	19.67 $\pm$ 5.61	12.97 $\pm$ 6.43
16	59.09 $\pm$ 11.57	60.83 $\pm$ 12.42	20.88 $\pm$ 8.38	29.75 $\pm$ 16.11
32	43.99 $\pm$ 18.68	22.90 $\pm$ 4.53	12.29 $\pm$ 7.88	11.37 $\pm$ 2.95
48	36.77 $\pm$ 5.52	16.52 $\pm$ 4.58	9.55 $\pm$ 3.91	8.07 $\pm$ 2.26
72	26.06 $\pm$ 8.32	12.14 $\pm$ 4.54	7.86 $\pm$ 2.80	5.98 $\pm$ 2.10

表 4 TMP 在 4 种组织中的浓度

Tab.4 Concentrations of TMP in four tissues

时间 (h)	浓度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )			
	肌肉	血液	肝脏	肾脏
0.5	2.39 $\pm$ 0.39	1.79 $\pm$ 0.63	5.74 $\pm$ 1.44	1.48 $\pm$ 0.66
1	4.84 $\pm$ 1.85	2.65 $\pm$ 0.92	22.94 $\pm$ 8.37	2.47 $\pm$ 0.96
2	7.41 $\pm$ 2.60	15.75 $\pm$ 9.07	25.43 $\pm$ 8.60	9.01 $\pm$ 2.30
4	9.15 $\pm$ 3.49	22.81 $\pm$ 13.52	28.54 $\pm$ 11.46	15.83 $\pm$ 2.95
8	13.01 $\pm$ 2.54	27.52 $\pm$ 12.93	32.05 $\pm$ 10.99	22.08 $\pm$ 8.54
16	29.32 $\pm$ 4.18	30.75 $\pm$ 15.11	38.07 $\pm$ 11.21	34.10 $\pm$ 10.20
32	26.22 $\pm$ 9.08	30.19 $\pm$ 15.91	34.67 $\pm$ 19.12	42.22 $\pm$ 13.51
48	21.72 $\pm$ 9.68	25.39 $\pm$ 8.11	27.24 $\pm$ 10.14	31.85 $\pm$ 14.97
72	16.17 $\pm$ 6.07	22.49 $\pm$ 6.49	22.02 $\pm$ 8.15	22.84 $\pm$ 7.91

表 5 SMZ 的药物代谢动力学参数

Tab.5 Pharmacokinetic parameters of SMZ

参数	单位	SMZ
D	$\times 10^{-6}$	200.00
C <sub>0</sub>	$\mu\text{g}/\text{ml}$	74.882
K <sub>a</sub>	$\text{h}^{-1}$	0.096
K	$\text{h}^{-1}$	0.018
T <sub>(1/2) K<sub>a</sub></sub>	h	7.250
T <sub>(1/2) K</sub>	h	38.299
T <sub>max</sub>	h	21.479
C <sub>max</sub>	$\mu\text{g}/\text{ml}$	50.768
AUC	( $\text{mg}\cdot\text{h}$ )/L	4138.400

D:剂量, C<sub>0</sub>:初始药物浓度; T<sub>max</sub>:单剂量给药后出现最高血药浓度时间; K<sub>a</sub>:表观一级吸收速率常数; T<sub>(1/2) K<sub>a</sub></sub>:吸收半衰期; K:药物自体内消除一级速率常数; T<sub>(1/2) K</sub>:消除半衰期; C<sub>max</sub>:单剂量给药后的最高血药浓度; AUC:血药-时间曲线下总面积。

22.02, 22.84  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , TMP 在肝脏和肾脏中的浓度远大于 SMZ 在两种组织中的浓度, 这与 SMZ 在肝脏和肾脏中的乙酰化率有很大关系。

## 2.3 药动学模型及参数

SMZ 的血液药物浓度-时间数据符合一室开放药理学模型。表 5 列出了鲈鱼口服 SMZ 的药动学参数。鲈鱼单次口服剂量为  $200 \times 10^{-6}$  的复方新诺明, 其主要成分磺胺甲噁唑 (SMZ) 的血清 k<sub>a</sub>, T<sub>max</sub>, C<sub>max</sub> 分别为 0.096  $\text{h}^{-1}$ , 21.479 h, 50.768  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 血清 T<sub>(1/2) K<sub>a</sub></sub> 为 7.250 h, T<sub>(1/2) K</sub> 38.299 h, 说明复方新诺明的吸收、分布和消除速度都很慢。

## 2.4 复方新诺明的临床应用

本文所采用的方法为进出口商品检测所用的方法, 检测限可达 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。实验结果表明鲈鱼单次口服剂量  $200 \times 10^{-6}$  的复方新诺明 72 h 后, 其主要成分 SMZ 在肌肉、血液、肝脏和肾脏中的含量分别为 26.06, 12.14, 7.86, 5.98  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。根据本实验室的结果, SMZ 代谢 72 h 后, 组织中的药物浓度均超过海水养殖常见致病菌的最小抑菌浓度 (0.4~1.6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )。《渔药手册》规定在  $100 \times 10^{-6} \sim 200 \times 10^{-6}$  的剂量下连续服用 5 d 可治疗一般的细菌性疾病<sup>[4]</sup>, 根据本实验的结果, 建议减少药物使用的剂量或者隔 1 d 服用 1 次药物, 否则会使药物在鱼体内残留过大, 对食用者造成威胁。FDA 在 1985 年规定 SMZ 在可食性动物组织中的残留量不得超过 0.1

$\mu\text{g}/\text{ml}$  , Regist 1988 年报道 SMZ 能够导致人类的甲状腺癌 , 因此提高药物的检测水平、降低残留量标准具有重要的现实意义。🌸

参考文献

- 1 王 群。海洋科学。1999,6:33 ~ 36
- 2 黄琪琰。鱼病防治实用技术。北京:中国农业出版社, 1999。402 ~ 403
- 3 农业部《渔药手册》编撰委员会。渔药手册。北京:中国科学技术出版社,1998。183

## PHARMACOKINETICS STUDY OF SULFAMETHAZINE IN PERCH

WANG Qun SUN Xiu-tao LIU De-yue LIU Qi LI Jian

( Yellow Sea Fisheries Research Institute , Qingdao 266071)

Received : July , 13 , 2000

Key Words : Sulfamethazine , Perch , Pharmacokinetics

### Abstract

This article first reports Pharmacokinetic of Sulfamethazine in Perch after oral administration by high performance liquid chromatography . The result demonstrates : dates of SMZ concentrations versus time were conformed to one compartment open model after a single oral administration at a dose of  $200 \times 10^{-6}$  , and the primary parameters were shown bellow : Absorption rate constant (  $K_a$  ) was  $0.096 \text{ h}^{-1}$  . Time when maximum concentration was obtained(  $T_{\max}$  ) was 21 .479 h . Maximum concentration(  $C_{\max}$  ) was  $50.768 \mu\text{g}/\text{ml}$  , Absorption halfLife(  $T_{(1/2)Ka}$  ) was 7.250 h , Elimination halfLife(  $T_{(1/2)k}$  ) was 38.299 h , Area under serum concentration ( AUC ) was  $4138.400 (\text{mg} \cdot \text{h}) / \text{L}$  . We can determine the concentrations in four tissues ( muscle , blood , liver and kidney ) after 0.5 h for administration and the maximum concentration was determined at 16 h after administration , Average recoveries were 80 % - 90 % in muscle , blood and liver , and the limit of determination was  $0.05 \times 10^{-6}$  .

( 本文编辑 : 刘珊珊 )