

硫酸阿米卡星在鳗鲡体内的药动学和残留研究

尹文林¹, 何平², 姚嘉赞¹, 沈锦玉^{1*}, 徐洋¹, 郝贵杰¹, 潘晓艺¹ (1. 浙江省淡水水产研究所, 浙江湖州 313001; 2. 浙江省三门县食品检验检测中心, 浙江三门 317100)

摘要 [目的]研究硫酸阿米卡星在鳗鲡体内的药物代谢动力学及其在组织中的残留。[方法]利用高氯酸提取、固相萃取净化组织, 2,4,6-三硝基苯磺酸-吡啶、4-二甲氨基吡啶、三氟乙酸柱前衍生后, 采用高效液相色谱法测定硫酸阿米卡星在鳗鲡体内药代动力学和残留。[结果]利用衍生法所得药物在0.05~50 μg/ml浓度范围内线性关系良好($R=0.9995$), 最低检测限为0.05 μg/ml。血液和肌肉中的平均回收率分别为75.9%和76.9%。鳗鲡在(26±1)℃以50 mg/kg单剂量肌肉注射给药后, 鳗鲡血液中的药-时曲线符合一级吸收二室模型。达峰时间为0.597 h, 分布半衰期为3.52 h, 表明硫酸阿米卡星在鳗鲡体内吸收分布迅速。峰浓度为22.229 μg/ml, 消除半衰期为46.945 h, 推测该药物可能残留时间较长。鳗鲡在(26±1)℃下50 mg/kg单剂量肌肉注射硫酸阿米卡星后, 5 d后在肌肉组织中未检出, 19 d后血液中未检出。[结论]鳗鲡肌肉注射阿米卡星后, 停药期为475~513 d。

关键词 硫酸阿米卡星; 鳗鲡; 药代动力学; 残留; 柱前衍生; 固相萃取

中图分类号 S965.233 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)24-10012-05

Studies on the Pharmacokinetics and Residue of Amikacin Sulfate in *Anguilla japonica*

YIN Wen-lin et al (Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou, Zhejiang 313001)

Abstract [Objective] The aim of the research was to study the pharmacokinetics of amikacin sulfate in *Anguilla japonica* and its residue in tissues. [Method] The tissues were extracted with perchloric acid and purified by using solid-phase extraction. After pre-column derivatization with 2,4,6-trinitro-benzenesulfonic acid(TNBS), pyridine, 4-dimethylaminopyridine and trifluoroacetic acid, the pharmacokinetics and residue of amikacin sulfate were determined by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection method. [Result] The obtained medicine by derivative method showed a good linear relationship in the range of 0.05~50 μg/ml ($R=0.9995$) and the lowest detection limit was 0.05 μg/ml. The average recovery rate in blood and muscle was 75.9% and 76.9%. After 50 mg/kg amikacin sulfate was administered by single-dose intramuscular injection at (26±1)℃, the drug concentration and time curve was accordant with a two-compartment open model. The peak time was 0.597 h and distribution half-life was 3.52 h, which showed the absorption and distribution of amikacin sulfate in *Anguilla japonica* was rapid. The peak concentration was 22.229 μg/ml and elimination half-time was 46.945 h, it was deduced that the residual time of drug was longer. After 50 mg/kg amikacin sulfate was injected in muscle of *Anguilla japonica* at (26±1)℃, amikacin sulfate wasn't detected in muscle tissues after 5 d, and amikacin sulfate wasn't detected in blood after 19 days. [Conclusion] The withdrawal time of amikacin sulfate in muscle of *Anguilla japonica* was 475~513 d after intramuscular injection.

Key words Amikacin sulfate; *Anguilla japonica*; Pharmacokinetics; Residue; Pre-column derivatization; Solid-phase extraction

阿米卡星(俗称丁胺卡那霉素、阿米卡霉素)是在卡那霉素的基础上半合成氨基糖甙类抗生素, 对许多革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及结核菌均具有抗菌作用。它的作用机制主要是抑制细菌蛋白的合成, 作用位点在细胞30S核糖体亚单位的16S rRNA 解码区的A部位。虽然阿米卡星不是我国批准使用的兽药, 但是由于硫酸阿米卡星的水溶性好和抗菌谱广等优点, 一些养殖生产者将硫酸阿米卡星作为治疗药物滥用于水产养殖生产中, 如将硫酸阿米卡星作为龟鳖等水产动物的治疗药物等^[1]。

阿米卡星副作用较大, 对耳蜗神经的损害表现为听力减退或耳聋; 肾毒性即可损害肾小管上皮细胞; 神经肌肉阻断作用, 发生肌肉麻痹、呼吸暂停、过敏反应等^[2], 但目前硫酸阿米卡星在水生动物体内的药动学和残留研究明显滞后, 导致水产上对该药使用的盲目性, 缺乏硫酸阿米卡星的残留技术和方法, 因此不能有效监控水产品中硫酸阿米卡星的残留状况^[1]。

鳗鲡营养丰富, 具有多种药用价值。我国的鳗鲡养殖始于20世纪80年代中期, 到20世纪90年代中期产量已居世界首

位, 并出口日本和欧美国家, 但药残问题已经成为制约我国鳗鲡出口的重要因素。特别是日本实行肯定列表制度给我国鳗鲡产业造成了巨大的损失^[3]。基于此, 笔者通过测定阿米卡星在鳗鲡体内药代动力学和中长期残留, 旨在水产养殖上科学合理使用阿米卡星, 有效监控水产品阿米卡星残留状况, 确保水产品安全, 以提高水产品在国内市场中的竞争力。

1 材料与方法

1.1 仪器设备 Varian 高效液相色谱仪、SANYO 超低温冰箱、移液器、KQ-250B 超声波清洗机、SigmaTGL-16G 高速冷冻离心机、华利达 WH-861 漩涡混合器、固相萃取装置、恒温水浴锅、Thermo SPD111V SPE 真空浓缩干燥系统、OASIS HLB 固相萃取柱等。

1.2 试验试剂与溶液

(1) 硫酸阿米卡星标准品购自中国药品生物制品检定所, 规格为每毫克相当于655单位, 批号130335-200204; 硫酸阿米卡星注射液由江苏吴中医药有限公司苏州第六制药厂生产, 20万IU/瓶; 2,4,6-三硝基苯磺酸溶液为Sigma公司产品, 规格为10 ml, 浓度为5% (W/V); 吡啶、冰乙酸、磷酸二氢钾、氢氧化钾、高氯酸均为分析纯; 甲醇、乙腈、三氟乙酸、4-二甲氨基吡啶、庚烷磺酸钠均为色谱纯。

(2) 衍生化试剂: 取2,4,6-三硝基苯磺酸溶液(5%) 10 ml 置于100 ml 容量瓶中, 用水稀释到刻度, 混匀并过滤。

(3) 阿米卡星标准储备液: 精确称取硫酸阿米卡星标准

基金项目 公益性行业(农业)科研专项(201203085)。
作者简介 尹文林(1964-), 男, 浙江湖州人, 高级工程师, 从事鱼用药物残留检测, E-mail: wl.y@163.com。* 通讯作者, 研究员, 硕士, 从事水产动物病害防治, E-mail: sjinyu@126.com。
收稿日期 2013-07-24

品 0.015 3 g 置于 10 ml 的容量瓶中,用水定容到刻度,混匀并过滤,配成浓度为 1 mg/ml 的阿米卡星标准储备液。

1.3 色谱条件 色谱柱为 Agilent XDB-C₁₈ (5 μm, 4.6 mm × 250 mm), 流动相为 45% 0.02 mol/L 磷酸二氢钾:41% 乙腈:14% 甲醇,用 50% 氢氧化钾溶液调节 pH 至 7.7;流速为 1.5 ml/min;柱温为室温,检测波长为 340 nm。

1.4 衍生反应 将硫酸阿米卡星标准溶液 200 μl 置于 2 ml 离心管中,加入 2,4,6-三硝基苯磺酸 50 μl、吡啶 100 μl、0.9% 4-二甲氨基吡啶 (W/V) 50 μl,具塞振荡混匀 1 min。75 °C 水浴 45 min,凉水冷却 2 min,加 100 μl 20% 三氟乙酸 (V/V),振荡混匀 2 min,过滤后取 20 μl 进样。

1.5 标准曲线的绘制 取硫酸阿米卡星标准储备液依次稀释为 0.125、0.5、2.5、12.5、25、125 μg/ml 浓度的溶液,取各浓度的硫酸阿米卡星标准品溶液 200 μl,按照“1.4”中条件衍生后,膜过滤后,取 20 μl 体积进样检测,硫酸阿米卡星的终浓度为 0.05 ~ 50 μg/ml。以硫酸阿米卡星的浓度对峰面积进行回归分析,得出回归方程和相关系数。以引起两倍基线噪音的药物浓度定义为最低检测限。

1.6 组织的净化 取血液 1 ml 或匀浆的肌肉于 7 ml 离心管中,加入 pH 2.0 高氯酸 5 ml,涡旋振荡 3 min,静置 5 min,再振荡提取 5 min 后,10 000 r/min 离心 30 min,吸取上清。残渣重复提取 1 次,合并 2 次上清。

固相萃取小柱用 5 ml 甲醇和 5 ml 水平衡后,提取的上清用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 2.0,加入 4 ml 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠溶液,充分混匀,按照 1 滴/s 的流速过柱;抽至快干时,用 3 ml 5% 甲醇溶液洗柱;用 10 ml 甲醇洗脱,收集洗脱液,真空吹干。

向真空吹干的样品中加入水 200 μl,振荡 1 min 使其充分溶出,按照“1.4”中的衍生条件衍生,0.45 μm 膜过滤,取 20 μl 体积进样检测。

肌肉组织匀浆后,参照上述方法提取、净化与衍生。

1.7 提取回收率及试验精密度 取浓度为 1、5、10 μg/ml 硫酸阿米卡星标准品溶液 0.2 ml,分别加入 1 ml 空白的血液和肌肉组织中,按照“1.6”中方法组织净化,按照“1.4”中方法进行衍生反应后进行测定,各浓度重复测定 5 次,并与试验前加入量进行比较,计算血液和肌肉中的样品回收率和日内平均变异系数。按照以下公式计算样品回收率:

$$\text{回收率}(\%) = \frac{\text{实测硫酸阿米卡星浓液}}{\text{标准硫酸阿米卡星浓度}} \times 100.$$

以上 3 个浓度的样品,3 d 重新净化和衍生后,进样 3 次测定,计算日间平均变异系数。

1.8 材料鱼和给药 试验所用鳗鲡购自杭州余杭养鳗场,试验前将鳗鲡在水簇箱中暂养 7 d 后进行试验,试验期间水温为 (26 ± 1) °C, pH 为 (7.2 ± 0.1),溶氧量 > 5 mg/L。

试验时将鳗鲡从水池中捕出,称重后背鳍肌肉部位注射给药,给药剂量为 50 mg/kg。给药后鳗鲡继续养殖在 (26 ± 1) °C 水簇箱中。给药后的 0.05、0.167、0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48、96 h 随机选取 5 尾尾静脉取血进行药代动力学测

定。于 5、7、9、12、15、17、19 和 21 d 分别随机选取 5 尾鳗鲡的肌肉和血液,进行药物残留分析。所有样品均保存于超低温冰箱中。

1.9 数据处理 所有血液样品中的药-时浓度数据应用 3P97 药动学软件进行计算,拟合出最佳的药动学模型和药动学参数。

2 结果与分析

2.1 阿米卡星的色谱行为 在“1.3”色谱条件下,HPLC 基线走动平稳,阿米卡星的保留时间大约为 21.7 min,其中肌肉和血液组织通过固相萃取柱净化后,杂峰较少,杂峰与药峰分离较好(图 1)。

2.2 2,4,6-三硝基苯磺酸浓度的选择 按照“1.4”中方法进行硫酸阿米卡星标准溶液与 2,4,6-三硝基苯磺酸的衍生反应,但是其反应程度会受到 2,4,6-三硝基苯磺酸浓度的影响。

在 6 个 1 ml 试管中分别加入 50 μg/ml 硫酸阿米卡星溶液 200 μl,再分别添加 0.05%、0.1%、0.3%、0.5%、0.8% 和 1.0% 浓度的 2,4,6-三硝基苯磺酸,按照“1.4”中方法进行衍生反应。结果表明,衍生试剂 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 的浓度达到 0.5% (w/v) 时,已经完全衍生化,衍生试剂的浓度增加衍生产物的响应值不发生明显变化,所以衍生试剂 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 的最佳浓度为 0.5% (w/v) (图 2)。

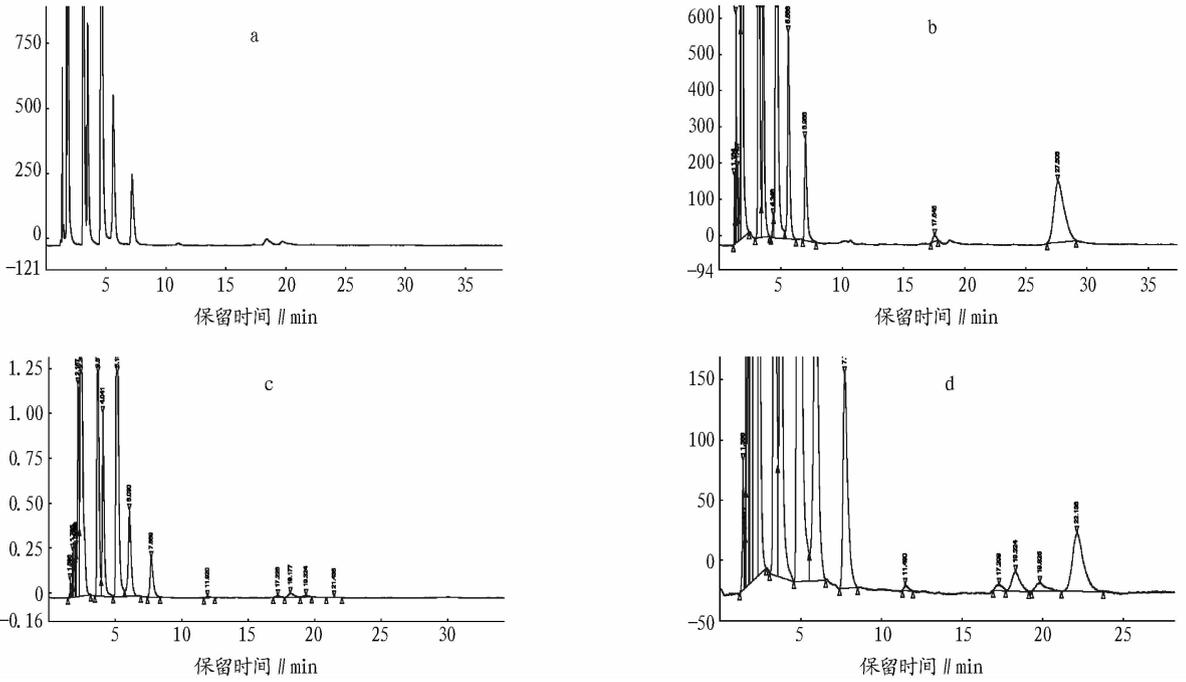
2.3 净化条件的优化 在用固相萃取柱来净化组织样品中硫酸阿米卡星的过程中离子对试剂 (庚烷磺酸钠) 是必须的,如果不添加庚烷磺酸钠溶液,固相萃取小柱几乎对阿米卡星没有保留,随着加入 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠体积的增加,阿米卡星的响应值也随之增加,在加入体积为 4 ml 时,硫酸阿米卡星的响应值不再随体积变化(图 3)。

当用固相萃取柱洗脱时,硫酸阿米卡星的响应值会随着甲醇的体积增加而增加,在甲醇的体积达到 10 ml 后,阿米卡星的响应值不会随着甲醇的体积增加而有所变化,表明硫酸阿米卡星已经完全洗脱。因此,样品中硫酸阿米卡星的净化时,为使硫酸阿米卡星完全保留在固相萃取柱,需加入 5 ml 的 0.2 mol/L 的庚烷磺酸钠,并用 10 ml 甲醇洗脱。

2.4 衍生产物的稳定性 在淬灭试剂的选择上对欧洲药典的方法进行了改进,用三氟乙酸代替乙酸。用三氟乙酸作为淬灭试剂,阿米卡星与 2,4,6-三硝基苯磺酸的反应后形成的衍生物,在 4 °C 冰箱中至少 48 h 内可以稳定地存在,而用乙酸作为淬灭试剂,衍生产物的稳定性却只能保持 8 h。

2.5 标准曲线 阿米卡星溶液浓度在 0.05 ~ 50 μg/ml 范围内线性关系良好。回归方程为 $y = 5 \times 10^{-6}x - 0.0129$,相关系数 R 为 0.999 5。在血液、肌肉中的最低检测限为 0.05 μg/ml (μg/g)。

2.6 提取回收率与精密度 由表 1 可知,血液、肌肉组织中分别添加 1、5、10 μg/ml 的硫酸阿米卡星标准品溶液 200 μl 后,血液中的平均样品回收率为 (75.9 ± 2.95)%,肌肉中的为 (76.9 ± 4.65)%。阿米卡星在血液中的日内精密密度为



注:a. 空白样品;b. 标准品色谱图;c. 空白血液色谱图;d. 血液添加硫酸阿米卡星色谱图。

图1 硫酸阿米卡星色谱图

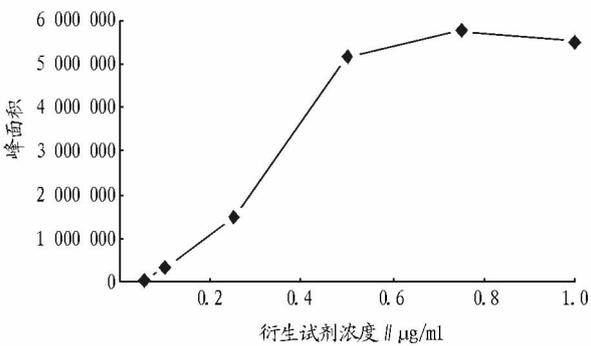


图2 衍生试剂与峰面积的关系

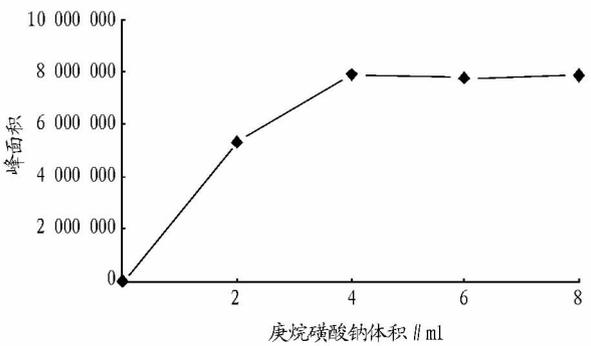


图3 庚烷磺酸钠浓度对硫酸阿米卡星峰面积影响

(2.5 ± 1.3)%, 日间精密度的为(1.7 ± 0.6)%; 肌肉组织中的日内精密度的为(2.4 ± 1.8)%, 日间精密度的为(3.1 ± 1.5)%。

表1 组织中提取回收率与精密度

组织	平均回收率//%	日内精密度//%	日间精密度//%
血液	75.9 ± 2.9	2.5 ± 1.3	1.7 ± 0.6
肌肉	76.9 ± 4.6	2.4 ± 1.8	3.1 ± 1.5

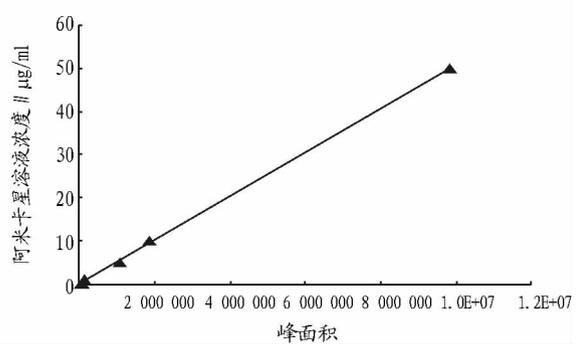


图4 阿米卡星的标准曲线

2.7 阿米卡星在鳗鲡体内的药物代谢动力学情况 在(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温条件下, 鳗鲡单剂量肌肉注射 50 mg/kg 硫酸阿米卡星后, 阿米卡星迅速在血液分布, 血药浓度快速升高, 0.25 ~ 4 h 内血药浓度维持在 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上。48 h 内维持在 10 $\mu\text{g/ml}$ 以上, 96 h 血药浓度仍高达 5.811 $\mu\text{g/ml}$ 。

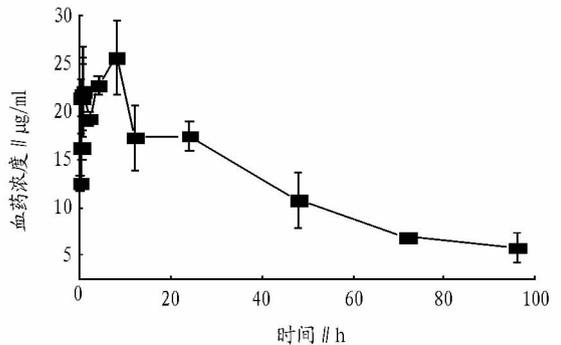


图5 鳗鲡血液中阿米卡星的药-时曲线

将鳗鲡血液的阿米卡星药-时数据使用 3P97 药动学软件分析, 结果表明鳗鲡血液的阿米卡星药时数据符合一级吸

收二室开放的药代动力学模型,其中拟合的权重为 $1/c$,相关性系数为 0.991 9,拟合度为 0.737 8。鳗鲡血液中的实测值与理论值见表 2。

由表 3 可知,其主要的药动学参数为:达峰时间 ($T(\text{peak})$) 为 0.597 h,分布半衰期 ($T_{1/2\alpha}$) 为 3.521 h,表明硫酸阿米卡星在鳗鲡体内吸收分布迅速。消除半衰期 ($T_{1/2\beta}$) 为 46.945 h,推测该药物可能残留时间较长。

表 2 鳗鲡血液中硫酸阿米卡星的实测浓度与理论浓度

时间//h	实际浓度// $\mu\text{g}/\text{ml}$	理论浓度// $\mu\text{g}/\text{ml}$
0.05	12.467	8.328
0.166 7	16.279	18.001
0.25	21.424	20.472
0.5	21.838	22.160
0.75	22.086	22.215
2	19.237	21.767
4	22.681	21.070
8	25.614	19.791
12	17.262	18.624
24	17.461	15.578
48	10.722	10.928
72	6.885	7.667
96	5.811	5.379

2.8 硫酸阿米卡星的残留量 鳗鲡在 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下 50 mg/kg 单剂量肌肉注射硫酸阿米卡星后,5 d 后在肌肉组织中未检出,19 d 后血液中未检出。因此,50 mg/kg 单剂量肌肉注射硫酸阿米卡星后,至少要在停药后 19 d 以上(表 4)。

表 4 硫酸阿米卡星在鳗鲡组织中的残留量

组织	不同时间硫酸阿米卡星的残留量											
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	7 d	9 d	12 d	15 d	17 d	19 d	21 d
肌肉	0.19	0.16	0.07	0.06	ND							
血液	17.46	10.72	6.89	5.81	6.64	2.82	1.31	1.02	0.22	0.17	ND	ND

注:ND 表示未检测到。

为稳定的是 2,4,6-三硝基苯磺酸,欧洲药典与美国药典在阿米卡星的质量控制中都采用了该衍生试剂。所以,笔者根据水产品的特点,在欧洲药典与美国药典基础上对色谱和衍生条件进行优化,在组织的处理上采用高氯酸沉淀蛋白、用固相萃取净化。试验结果表明衍生物稳定、结果可靠。

在反应条件的优化上面主要考察了在 TNBS 体积 (50 μl) 一定的情况下其浓度对反应程度的影响,结果表明最佳浓度为 0.5%。吡啶在该反应的过程中起到双重作用,首先是给衍生反应提供场所,是反应中的溶剂。其次,吡啶会有少量变成甲基吡啶和二甲基吡啶,可以起到反应的催化剂作用。使用不同厂家生产的吡啶以及不同批次的吡啶,峰面积会有较大的变化,为了克服吡啶的影响,在试验过程中添加催化剂 4-二甲基氨基吡啶,结果表明峰形明显改善,峰面积变化消除。K. Rick Lung 等^[6]研究表明用三氟乙酸代替药典中的乙酸可以提高稳定性,该试验也证实了这一点。

对比了王明娟等采用的流动相以及 K. Rick Lung 等采用的流动相对峰分离的影响。王明娟等的流动相在欧洲药

表 3 硫酸阿米卡星在鳗鲡血液中的药动学参数

参数名称	参数代码	单位	参数值
分布相为 0 时的截距	A	$\mu\text{g}/\text{ml}$	0.318
分布相的一级速率常数	α	1/h	0.197
消除相为 0 时的截距	B	$\mu\text{g}/\text{ml}$	22.197
消除相的一级速率常数	β	1/h	0.015
吸收相	K_a	1/h	9.924
分布容积	V	L/kg	2.225
分布相半衰期	$t_{1/2\alpha}$	h	3.521
消除相半衰期	$t_{1/2\beta}$	h	46.945
吸收相半衰期	$t_{1/2 K_a}$	h	0.067
药物从第 2 室转运到第 1 室的一级速率常数	K_{21}	1/h	0.194
药物从中央室消除的一级速率常数	K_{10}	1/h	0.015
药物从第 1 室转运到第 2 室的一级速率常数	K_{12}	1/h	0.002
曲线下面积	AUC	$\mu\text{g}/(\text{ml}\cdot\text{h})$	1 502.710
总体消除率	CLs	L/(kg·h)	0.033
达峰时间	T_{peak}	h	0.597
峰浓度	C_{max}	$\mu\text{g}/\text{ml}$	22.229

3 讨论

阿米卡星的检测方法有微生物法、放免测定法、免疫偏震荧光法、高效液相色谱法等,有的方法灵敏度低,有的方法操作比较繁琐^[4],而高效液相色谱法具有便捷、灵敏的优点^[5],适用于水产品中阿米卡星的检测。但由于阿米卡星缺乏生色基团,不能直接用紫外检测器进行检测,但其有活泼的基团,可以利用其特有性质给其接上生色基团,因此国内外学者对 30 多种衍生的试剂进行研究,其中研究和开发较

典的基础上提高了有机相的比例至 75%,并且有机相全用甲醇,结果表明该流动相出峰过早,与组织中的杂质峰难以分离,并且柱压过高,所以最后选择了参考 K. Rick. Lung 等^[6]的流动相,该流动相使出峰时间推后,与杂质峰分离良好,而且柱压合适,柱温对分离的影响不大。

氨基糖苷类药物的提取方法有许多,有人用混合提取液提取、衍生、直接进样分析,如 Sara Nicol 等^[4]在从皮肤组织中提取阿米卡星采用的是混合提取液(甲醇:水:0.05 mol/L 氢氧化钠),60 $^\circ\text{C}$ 水浴 1 h 后,直接过膜,衍生后进样检测;M. Santos 等^[7]在提取血液中的耐替米星时首先用三氯乙酸沉淀蛋白,然后用二氯甲烷液萃取。H. Abbasi^[8]在分析牛奶中的双氢硫酸阿米卡星更为简单,直接用三氯乙酸沉淀蛋白,浓缩、衍生后进行检测。但是上述方法都不适于鳗鲡组织样品的分析,因为不论是甲醇和氢氧化钠混合提取液还是乙腈和氢氧化钠混合液体,血液和肌肉样品中蛋白还大量存在,过膜困难,体积难以浓缩。采用高氯酸或三氯乙酸等强的变性剂,虽然蛋白可以最大程度地除去,但是需要大量的

变性试剂,也给浓缩带来了困难,其次仍有许多其他的杂质。用高氯酸或三氯乙酸去除蛋白,用液-液萃取的方法去除其他类型的杂质,但是试验结果表明还是有许多的杂质峰会给硫酸阿米卡星的峰造成较大的干扰。

采用高氯酸或三氯乙酸去除蛋白,用固相萃取法净化,是目前从组织中提取氨基糖苷类药物最成熟的、最有效的方法。其中,在固相萃取柱的选择上有人采用离子交换固相萃取柱,也有人选用反相固相萃取柱,有的采用二种柱联用^[9]。用离子交换柱步骤较多,比较繁琐。采用离子对试剂反相固相萃取法来净化浓缩组织,则操作简便,样品回收率高。结果表明,离子对试剂的量和甲醇的体积会对回收率造成较大的影响,对其优化后确定的最佳离子对试剂用 4 ml 0.2 mol/L 庚烷磺酸钠,洗脱体积为 10 ml 较为适宜,试验结果也与国内许多文献的报道是一致的。

硫酸阿米卡星在兽医上的药动学早期已有报道,已在猪、马、猫、奶山羊等动物上进行了药动学研究^[10]。杨建明等^[11]研究了硫酸阿米卡星在奶山羊体内的药动学,结果表明奶山羊以 7 mg/kg 单剂量肌肉注射硫酸阿米卡星后,血药浓度-时间数据可用一级吸收-一室模型来描述,其体内的药动学参数为:吸收半衰期为(0.16 ± 0.08)h,消除半衰期为(1.47 ± 0.26)h,峰时间和峰浓度分别为(0.57 ± 0.2)h 和(19.99 ± 3.99)μg/ml。李春雨等^[3]研究了复方硫酸阿米卡星在猪体内的代谢动力学,按照 5 mg/kg 的剂量给猪肌肉注射硫酸阿米卡星后,药动学模型同样符合一级吸收-一室模型,其体内的药动学参数为:吸收半衰期为(0.751 9 ± 0.078 5)h,消除半衰期为(1.143 6 ± 0.243 5)h,达峰时间为(1.468 2 ± 0.154 8)h,峰浓度为(20.121 4 ± 2.978 2)h。比较上述 2 种动物体内的药动学参数发现阿米卡星在 2 种动物体内的药动学有许多相似之处,首先其吸收和消除都特别迅速,特别是在奶山羊的体内达峰时间仅仅为(0.57 ± 0.2)h,消除半衰期大都在 1 h 左右;峰浓度都达到在 20 μg/ml,有效的血药维持时间较长,在猪和奶山羊体内的有效血药维持时间在 10 h 左右。硫酸阿米卡星在鳊鱼体内吸收和分布与猪和奶山羊较为相似,也比较迅速,达峰时间为 0.597 h,但是分布半衰期为 3.521 h。但硫酸阿米卡星在鳊鱼血液中的

消除半衰期为 46.944 756 h,明显比奶山羊和猪要长,因此阿米卡星在鳊鱼血液的残留时间可能较长。

鳊鱼在(26 ± 1)℃时 50 mg/kg 单剂量肌肉注射硫酸阿米卡星后,药物在血液中残留时间较长,这与在血液中药动学研究结果相一致。但是在肌肉中阿米卡星的浓度较低,消除速度比较快,这可能与阿米卡星的药理机制有关。血液中的阿米卡星 19 d 后未检出,因此肌肉注射阿米卡星后,停药期为 475 ~ 513 d。鳊鱼是我国主要出口水产品,对其药残的检测更加严格,阿米卡星是畜牧业上经常使用的药物之一,虽然在我国的国家渔药中目前没有批准使用,但建立该药在鳊鱼体内药代动力学及残留方法有利于有效监控水产品中阿米卡星的残留量,确保水产品安全,提高水产品在国内市场中的竞争力。

参考文献

- [1] 马德海,高士香,肖峻. 硫酸阿米卡星治疗鲟鱼肠炎试验[J]. 河北渔业, 2003(8):31-36.
- [2] 董洪新. 阿米卡星不良反应文献分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2008(2):145-146.
- [3] 郭国防. 肯定列表制度对我国鳊鱼业的影响及应对措施[J]. 科学养鱼, 2006(5):7.
- [4] SARA NICOLI, PATRIZIA SANTI. Assay of amikacin in the skin by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41:994-997.
- [5] 王明娟,胡昌勤,金少鸿. 硫酸阿米卡星注射液及有关物质的 HPLC 法分析[J]. 中国抗生素杂志, 2001, 26(5):345-347.
- [6] RICK LUNG K, KASSA K R, GREEN J S. catalytic precolumn derivatization of amikacin[J]. Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1998, 16:905-910.
- [7] SANTOS M, GARCIA E, LOPEZ F G, et al. Determination of netilmicin in plasma by HPLC[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1995, 13:1059.
- [8] ABBASI H, HELLENAS K E. Confirmation of spectinomycin in milk using ion-pair solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ion trap mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 1998, 718:95-102.
- [9] OVALLES J F, BRUNETTO M R, GALLIGNANI M. A new method for the analysis of amikacin using 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) derivatization and high-performance liquid chromatography with UV-detection[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005, 39:294-298.
- [10] 李春雨, 韩行敏, 李秀敏. 复方丁胺卡那霉素在猪体内的药代动力学研究[J]. 辽宁畜牧兽医, 2002(3):25-26.
- [11] 杨建明. 硫酸阿米卡星在奶山羊体内的药动学研究[J]. 中国兽医科技, 1989(10):7-9.
- [12] BUCHER P. Weight matrix descriptions of four eukaryotic RNA polymerase II promoter elements derived from 502 unrelated promoter sequence[J]. J Mol Biol, 1990, 212:563-578.
- [13] GUSMAROLI G, TONELLI C, MANTOVANI R. Regulation of novel members of the Arabidopsis thaliana CCAAT-binding nuclear factor Y subunits[J]. Gene, 2002, 283:41-48.
- [14] MEINKE D. A homeotic mutant of Arabidopsis thaliana with leafy cotyledons[J]. Science, 1992, 258:1647-1650.
- [15] 王霄汉, 罗昌, 程曦, 等. PGM-35SBar 玉米通用表达载体的构建及玉米转化研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(25):12367-12370.
- [16] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SEKI M. Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2003, 6:410-417.
- [17] STEPHENSON T J, MCINTYRE C L, COLLET C, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family of transcription factors in Triticum aestivum[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 65:77-92.
- [18] MANTOVANI R. The molecular biology of the CCAAT-binding factor NF-Y[J]. Gene, 1999, 239:15-27.
- [19] NELSON D E, REPETTI P P, ADAMS T R, et al. Plant nuclear factor Y (NF-Y) B subunits confer drought tolerance and lead to improved corn yields on water-limited acres[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104:16450-16455.
- [20] 张晓庆, 穆怀彬, 侯向阳, 等. 我国青贮玉米种植及其产量与品质研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2012, 34(1):54-557.
- [21] 常立兴. 玉米新品种试验示范结果初报[J]. 内蒙古农业科技, 2013(2):106.

(上接第 9920 页)