



ФАРМАКОКИНЕТИКА НА ЕНРОФЛОКСАЦИН СЛЕД ВЕНОЗНО И МУСКУЛНО ИНЖЕКТИРАНЕ НА ОВЦЕ

Д. Й. ДИМИТРОВА, Д. С. ДИМИТРОВ,
Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Ст. Загора
Д. М. ЦОНЕВА
Изпълнителна агенция по лекарствата, София

PHARMACOKINETICS OF ENROFLOXACIN AFTER INTRAVENOUS AND INTRAMUSCULAR INJECTION IN SHEEP

D. J. DIMNITROVA, D. S. DIMITROV
Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, St. Zagora
D. M. TZONEVA
Bulgarian Drug Agency, Sofia

Abstract

The aim of the present study is to investigate the pharmacokinetics of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin after single intravenous and muscle injection in healthy sheep. There were used 6 Stara Zagora sheep (equal count from both sexes), with body weight between 40 and 42 kg. The enrofloxacin as a hydrochloride salt was applied at a dose of 5 mg/kg for the both ways of administration. Blood samples were collected before and after the injection of the quinolone at 0.08, 0.17, 0.25, 0.50, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, and the 24th h. The plasma concentrations of and its metabolite were determined using a high efficiency liquid chromatograph (HPLC). The pharmacokinetic parameters were determined with the use of a computer software TopFit v. 2.0 following the compartment and noncompartment method.

Увод

Флуорохинолоните са нов клас антибактериални лекарства, ефективни в лекуването на широк набор от бактериални инфекции в хуманната и ветеринарната медицина [2]. Enrofloxacin, Difloxacin, Danofloxacin, Marbofloxacin и Orbifloxacin са антибактериални лекарства от групата на флуорохинолоните, които блокират бактериите топоизомеразы II и IV (гирази) [7]. Енрофлоксацинът е много употребяван във ветеринарната медицина антимикробен лекарствен продукт. Той има широк спектър на действие срещу патогенни микроорганизми, резистентни спрямо много други антибактериални субстанции, като β -лактамни антибиотици, аминогликозиди, цефалоспорици, сулфаниламиди и макролиди [16]. Публикуваните данни относно фармакокинетиката на енрофлоксацина при дребни преживни животни (овце и кози) са малко и

недостатъчни или трудно сравними, поради употребата на различни породи, различни лекарствени форми или различни дозировки.

Целта на настоящото научно изследване е да се определи фармакокинетиката на субстанция енрофлоксацин при местни породи овце след венозно и мускулно инжектиране.

Материали и методи

Животни

Изследванията бяха проведени с 6 овце, порода „Старозагорска“, на 3-4 години, с телесно тегло 40-42 kg. Всички животни бяха клинично здрави, по равен брой от двата пола. Те бяха отглеждани групово, под навес и бяха хранени с зелен и концентриран фураж. Животните имаха свободен достъп до вода.

Манипулации

Овцете бяха подложени на два експеримента – първоначално бяха инжектирани венозно, в дясната *v. jugularis*, а след 20-дневен период на „очистване“ – мускулно, в областта на шията. Енрофлоксацинът, във вид на хидрохлоридна сол (Xinchang Guobang Chemical Co., Ltd, Китай). Използваната лекарствена субстанция енрофлоксацин и при двата начина на инжектиране прилагаме в една и съща доза – 5 mg/kg т.

Взимане на проби

Кръвни проби бяха взимани (по 1,5 ml всяка) след *i.v.* инжектиране от лявата *v. jugularis* и след *i.m.* аплициране, преди прилагането на хинолона и след това на 0.08, 0.17, 0.25, 0.50, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 и 24 h.

Лекарствен анализ

Концентрациите на енрофлоксацина и неговия метаболит бяха определяни чрез високоефективен течен хроматограф с UV-детектор. Използваният метод [8] беше предварително валидиран. Определени бяха границите на откриваемост (LOD) и границите на количествено определяне (LOQ) на енрофлоксацина и на неговия метаболит – ципрофлоксацин, съответно за LOD на 0,025 и 0,030 $\mu\text{g/ml}$, а тези за LOQ – на 0,05 и 0,05 $\mu\text{g/ml}$.

Фармакокинетичен анализ

Фармакокинетичният анализ на използвания от нас хинолон и на неговия метаболит и при двата начина на въвеждане определяхме по компартиментния метод и по некомпартиментния фармакокинетичен анализ [6], като за целта беше използвана фармакокинетична програма TopFit, v. 2.0. И при двата пътя на въвеждане (*i.v.* и *i.m.*) определените серумни криви отговаряха на двупростратвен фармакокинетичен модел, като при симулирането им се ръководехме от Акайке-критерия (AIC) [17].

Резултати и обсъждане

Ефективни серумни концентрации от енрофлоксацин срещу патогенните микроорганизми ($\text{MIC} \geq 0,02 \mu\text{g/ml}$), причиняващи много инфекциозни заболявания при овцете, бяха установявани до 12^{ия} h след инжектирането на хинолона. Данните от серумните концентрации на енрофлоксацина и при двата начина на инжектиране най-добре се отнасяха към двупростратвен отворен

фармакокинетичен модел, а тези за метаболита ципрофлоксацин – към еднопространствен отворен, с метаболитно формиране.

Фармакокинетичните параметри на енрофлоксацина и на метаболита му, след *i.v.* инжектиране на овцете, са представени на Таблица 1. Установените концентрации от енрофлоксацина в кръвния серум след *i.v.* прилагане при овце обозначаваха първоначално бърза фаза на разпределение, с време на полуразпределение $t_{1/2\alpha} = 0,25 \pm 0,14$ h. Фазата на разпределение (α) беше последвана от по-дълга фаза на елиминиране (β), с биологичен полуживот $t_{1/2\beta} = 2,26 \pm 0,21$ h. Времето за полуразпределение на енрофлоксацина при *i.v.* въвеждане е индикатор за лесното и добро разпределение на енрофлоксацина в телесните тъкани и течности на овцете. Получените от нас резултати са сходни и близки с тези при овце [5] и по-къси от тези при кози [4].

Времето за полуетиминиране на енрофлоксацина, определено и по двата фармакокинетични метода е по-кратко от това, което се съобщава при овце [11] и при кози [1, 3].

Бързото разпределение и бавното елиминиране при овцете водят до поддържане на терапевтични концентрации от енрофлоксацина ($> 0,02 \mu\text{g/ml}$) за много по-продължителен период (12 h) в сравнение с установените при кози (до 7 h) [13].

Площта под кривата серумни концентрации-време ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$) при *i.v.* инжектиране на енрофлоксацин, определена по двата фармакокинетични метода е по-висока от тази установена при овце [11], както и при кози [1, 13, 15], установени от различни колективи.

Резорбцията на енрофлоксацина от мястото на апликацията беше забавена, доказателство за което са стойностите за средното време на резорбцията (MAT) и тези на времето за полурезорбция ($t_{1/2\text{abs.}}$). Сравнявайки получените стойности на $t_{1/2\text{abs.}}$ при овцете (от настоящото проучване) с тези на други автори, то те са близки с тези при други породи овце [9] и по-високи от тези установени при кози [1, 4].

Максималните серумни концентрации (C_{max}) на енрофлоксацина след *i.m.* прилагане са много по-високи от тези при овце [9, 10], но по-ниски от тези при кози [4, 15].

Абсолютната бионаличност на енрофлоксацина (F) определена по двата метода при *i.m.* му прилагане на овце е значително по-ниска от тази, при овце [10] и при кози [1].

В това изследване, кръвните концентрации от активния метаболит (ципрофлоксацин) и при двата начина на инжектиране се установяват много бързо, още при първото вземане на кръвните проби (на 0,08 h), като достигнаха своя максимум на 2 h при *i.v.* прилагане на енрофлоксацина и на 3 h при *i.m.* апликация. Необходимо е да отбележим, че времето (T_{max}) за достигане на максимални серумни концентрации от метаболита е по-дълго от това на родителската субстанция, с 1 h при венозното и с 2 h – при мускулното въвеждане на енрофлоксацина. Времето на метаболитно формиране ($t_{1/2\text{kf}}$) на ципрофлоксацина, установено в настоящото изследване, е еднакво или сходно с това при овце [11] и при кози [15].

Таблица 1.

Фармакокинетични параметри на enrofloxacin и на неговия метаболит ciprofloxacin след еднократно *i.v.* инжектиране на овце

Параметри	Единици	Enrofloxacin		Ciprofloxacin	
		Компарт. метод	Некомпарт. анализ	Компарт. метод	Некомпарт. анализ
$t_{1/2\alpha}$	h	0,249	–	–	–
$t_{1/2\beta}$	h	2,26	1,69	4,00	4,07
MRT	h	2,95	2,49	6,20	6,31
V_{ss}	l/kg	–	0,880	4,57	4,63
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$	$\mu\text{g.h/ml}$	14,30	14,12	6,31	6,35
MR	%	–	–	44,13	44,9

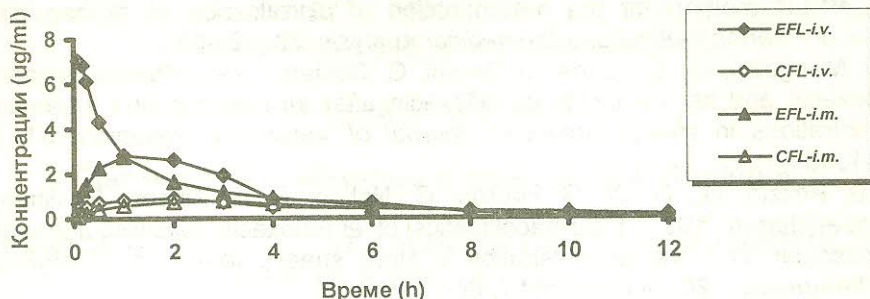
Таблица 2.

Фармакокинетични параметри на enrofloxacin и на неговия активен метаболит ciprofloxacin след еднократно *i.m.* инжектиране на овце

Параметри	Единици	Enrofloxacin		Ciprofloxacin	
		Компарт. метод	Некомпарт. анализ	Компарт. метод	Некомпарт. анализ
$t_{1/2\alpha}$	h	0,444	–	–	–
$t_{1/2\beta}$	h	3,17	2,38	3,37	3,41
$t_{1/2\text{abs.}}$	h	0,444	–	–	–
$t_{1/2\text{kf}}$	h	–	–	0,780	±
MRT	h	4,15	3,66	5,99	5,82
MAT	h	1,20	1,17	–	–
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$	$\mu\text{g.h/ml}$	10,31	10,06	5,74	5,62
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	2,610	2,744	0,760	0,780
T_{max}	h	0,806	1,082	2,14	2,83
F	%	72,09	71,25	–	–
MR	%	–	–	55,67	55,86

$t_{1/2\alpha}$ – half-life of distribution; $t_{1/2\beta}$ – half-life of elimination; $t_{1/2\text{abs.}}$ – half-life of absorption; $t_{1/2\text{kf}}$ – half-life of metabolite formation; MRT – mean residence time; MAT – mean absorption time; V_{ss} – steady-state volume of distribution; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ – area under the concentration-time curve from 0 to last detected concentration; V_{ss} – steady-state volume of distribution; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ – area under the concentration-time curve from 0 to ∞ ; C_{max} – maximum serum concentration; T_{max} – time needed to reach peak serum concentrations; F – absolute bioavailability; MR – metabolite ratio.

Фигура 1. Серумни концентрации от енрофлоксацин (EFL) и неговия активен метаболит ципрофлоксацин (CFL) след еднократно i.v. и i.m. инжектиране на овце, в доза 5 mg/kg т.



В настоящото изследване трябва да отбележим, че конверсията на енрофлоксацина при *i.v.* и *i.m.* въвеждане е добра, в резултат на което е добро и метаболитното съотношение (MR) между родителската субстанция и нейния активен метаболит, възлизащо на $\approx 44-45\%$. Намерените стойности на MR при венозния начин на въвеждане на хинолона, са по-високи от тези, установени при овце и кози [9, 11, 13]. Стойностите за същия фармакокинетичен параметър определен при *i.m.* въвеждане на енрофлоксацина са еднакви с тези при овце [9], но значително по-високи от тези, които се представят от други автори [11, 12].

Литература

1. Al-Nazawi, M. H., 2005. Kinetics of enrofloxacin in goats following intravenous and intramuscular administration, *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, **6**, № 1, 1426, 153-162.
2. Cross, T. J., 2001. Fluoroquinolones, *Seminar in Pediatric Infectious Diseases*, **12**, № 3, 211-223.
3. Elmas, M., E. Yazar, B. Traş, A. L. Baş, A. Eryavuz, 2000. Pharmacokinetics and oral bioavailability of enrofloxacin in faunated and defaunated Angora goats, *Revue Médecine Vétérinaire*, **151**, № 6, 507-510.
4. Elmas, M., B. Traş, S. Kaya, E. Yazar, E. Yarsan, 2001. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intramuscular administration in Angora goats, *The Canadian Journal of Veterinary Research*, **65**, 64-67.
5. El-Sooud, A. K., 2003. Influence of albendazole on the disposition kinetics and milk antimicrobial equivalent activity of enrofloxacin in lactating goats, *Pharmacological Research*, **48**, № 4, 389-395.
6. Gibaldi, M., D. Perrier, 1982. Pharmacokinetics, Second edn., Merceel Dekker, New York, USA.

7. Giguère, S., J. F. Prescott, J. D. Baggot, R. D. Walker, P. M. Dowling, 2006. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*, Fourth edition, Blackwell Publishing, USA.
8. Imre, S., M. T. Dogaru, C. E. Vari, T. Muntean, L. Kelemen, 2003. Validation of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin in human plasma, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **33**, 125-130.
9. Mengozzi, G., L. Intorre, S. Bertini, G. Soldani, 1996. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administrations in sheep, *American Journal of Veterinary Research*, **57**, № 7, 1040-1043.
10. Pozzin, O., D. W. G. Harron, G. Nation, A. H. Tinson, R. Sheen, S. Dhanasekharan, 1997. Pharmacokinetics of enrofloxacin following intravenous, intramuscular, and oral administration in Nedji sheep, *Journal of Pharmacology and Therapeutics*, **20**, Supplement 1, 60.
11. Rahal, A., A. Kumar, A. H. Ahmad, J. K. Malik, V. Ahuja, 2006. Pharmacokinetics of enrofloxacin in sheep following intravenous and subcutaneous administration, *Journal of Pharmacology and Therapeutics*, **29**, 321-324.
12. Ramash, S., G. S. Rao, J. K. Malik, 2002. Pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered enrofloxacin in goats, *Veterinary Research Communications*, **26**, № 7, 536-569.
13. Rao, G. S., S. Ramesh, A. H. Ahmed, H. C. Tripathi, L. D. Sharma, J. K. Malik, 2000. Effects of endotoxin-induced fever and probenecid on disposition of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intravascular administration of enrofloxacin in goats, *Journal of Pharmacology and Therapeutics*, **22**, № 6, 365-372.
14. Rao, G. S., S. Ramesh, A. H. Ahmed, H. C. Tripathi, L. D. Sharma, J. K. Malik, 2001. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin after intramuscular administration of enrofloxacin in goats, *Veterinary Research Communications*, **25**, № 3, 197-204.
15. Rao, G. S., S. Ramesh, A. H. Ahmed, H. C. Tripathi, L. D. Sharma, J. K. Malik, 2002. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in goats had given enrofloxacin alone and in combination with probenecid, *The Veterinary Journal*, **163**, 85-93.
16. Spoo, J. W., J. E. Riviere, 1995. Chloramphenicol, macrolides, lincosamides, fluoroquinolones and miscellaneous antibiotics. In: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 7th edn, Ed. Adams, H. R. Ames, Iowa State University Press, 820-854.
17. Yamaoka, K., T. Nakagawa, T. Uno, 1978. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetics equations, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmacology*, **6**, 165-175.