那他霉素在新西兰白兔眼组织中的浓度测定及眼组织分布考察

孙璐瑶[1,2,3]，缪 峰[2]，季金凤[2]，宋 鑫[1,2,3]，赵利媛[1,2,3]，邱云良[4*]

（1. 安徽中医药大学药学院，安徽合肥 230012；2. 益诺思生物技术南通有限公司，江苏南通 226133；3. 长三角药物高等研究院，江苏南通 226133；4. 上海益诺思生物技术股份有限公司，上海 201203）

摘要：该研究建立了那他霉素（**1**）的LC-MS/MS分析方法，并测量了**1**在新西兰白兔眼部不同组织中的分布情况。结果显示，新西兰白兔经玻璃体腔注射给予**1**后，**1**在眼组织中广泛分布，且更多分布在眼后节。**1**在视网膜和玻璃体中的c_{max}（分别为46 400和4 620 ng/g）、$AUC_{0\to24}$（分别为232 000和29 300 h·ng·g^{-1}）均高于其他眼组织。给药24 h后，**1**在眼部各组织中的浓度依然较高，提示其保留时间较长。该研究建立的LC-MS/MS方法专属性高，结果可靠，可用于**1**的眼组织分布研究，为拓宽**1**用于眼部疾病的治疗提供了思路。

关键词：那他霉素；LC-MS/MS；定量分析；组织分布；玻璃体腔注射

中图分类号：R978.5；R917 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2024)04-0533-07

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.04.014

Investigation on Concentration Determination and Tissue Distribution of Natamycin in New Zealand White Rabbit Eyes

SUN Luyao[1,2,3], MIAO Feng[2], JI Jinfeng[2], SONG Xin[1,2,3], ZHAO Liyuan[1,2,3], QIU Yunliang[4*]

(*1. School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012; 2. InnoStar Biotechnology Nantong Co., Ltd., Nantong 226133; 3. Yangtze Delta Drug Advanced Research Institute, Nantong 226133; 4. Shanghai Innostar Biotech Co., Ltd., Shanghai 201203*)

ABSTRACT: In this study, a LC-MS/MS analytical method was developed for determination of natamycin (**1**) to assess its distribution in various ocular tissues of New Zealand white rabbits. The results revealed that , after intravitreal administration of **1** to New Zealand white rabbits, **1** was widely distributed in various ocular tissues, particularly in the posterior segment of the eye. The c_{max} and $AUC_{0\to24}$ of **1** in retina and vitreous were 46 400 and 4 620 ng/g, 232 000 and 29 300 h·ng·g^{-1}, respectively. The results demonstrated that the **1** amounts were higher in both retina and vitreous than in other ocular tissues. After 24 hours post-dosing, the drug concentration remained high level in all ocular tissues, indicating a longer retention of **1**. Given this high specificity and reliable results, this established LC-MS/MS method is suitable for investigating distribution of **1** in ocular tissues and can be used to explore further potential treatments for ocular diseases with **1**.

Key Words: natamycin; LC-MS/MS; quantitative analysis; tissue distribution; intravitreal injection

外因性真菌性眼内炎（exogenous fungal endophthalmitis，EFE）是一种严重威胁视力的眼部真菌感染[1]。真菌性角膜炎连续扩散会引起严重角膜炎，表现为角膜溃疡并同时累及眼后段，引起EFE的发生[2]。

那他霉素（natamycin，**1**），又称匹马霉素，属于多烯类抗真菌药物，是纳塔尔链霉菌、恰塔努加链霉菌或褐黄孢链霉菌等微生物的次级代谢产物[3]。**1**的作用机制是与真菌细胞膜上的麦角甾醇相互作用，通过抑制氨基酸和葡萄糖的转运来抑制真菌生长[4]。研究[5—6]显示，**1**具有广泛的抗菌活性，对青霉菌、镰刀菌属和黄曲霉的MIC分别为8、3～16和8～32 μg/mL，患者耐受性

收稿日期：2023-08-31

作者简介：孙璐瑶（1999—），女，硕士研究生，专业方向：药物分析。

通信作者：邱云良（1978—），男，博士，研究员，从事药物毒理学与药物临床前安全性评价的研究。

E-mail：lyqiu@innostar.cn

好，不良反应少，眼毒性反应低，是治疗真菌性角膜炎的推荐用药。然而，**1** 具有两亲性结构和两性离子特性，在水中的溶解度仅为 30 ～ 50 mg/mL，且由于角膜和巩膜的屏障作用以及泪膜的稀释和消除作用，局部使用 **1** 眼用滴眼液（5%）的生物利用度仅为 2%[7—8]。并且，**1** 相对分子质量较高（665.73），角膜渗透有限，房水、角膜的渗透率仅为 0.02 ～ 0.23[9]，导致 **1** 在眼后段无法达到治疗浓度，不能用于严重角膜炎以及眼内炎的治疗。因此，开发 **1** 的新型给药方式对严重角膜炎以及眼后段疾病的治疗有重要意义。

生物分析方法的建立对开发新制剂非常重要。**1** 作为常用眼科用药，目前只有文献[9—11]描述其在眼泪液中的浓度测定，仍缺乏相应的眼组织分布以及药动学研究。并且，目前的方法存在灵敏度低、运行时间长、样本需求量大等缺点，不适用于眼组织这种样品量较少的组织分布研究。本研究旨在采用 LC-MS/MS 方法，建立并验证一种稳定、灵敏的 **1** 在眼部不同组织中的分析方法，进而研究新西兰白兔经玻璃体腔注射给药后眼部各组织中 **1** 的浓度变化。

1　仪器与试药

Exion HPLC™ AD 型高效液相色谱、Triple Quad™ 4500 型检测器 - 串联质谱仪（美国 Sciex 公司）；XPE56 型百万分之一分析天平（瑞士 Mettler Toleto 公司）；Multifuge X3R 型高速冷冻离心机（美国 Thermo Fisher 公司）；MS 3 型数显型圆周振荡器（德国 IKA 公司）；Milli-Q IQ7000 型超纯水系统（美国 Millipore 公司）；Fast Prep-24™ 5G 型样品制备仪（美国 MP Biomedicals 公司）。

1 对照品（中国食品药品检定研究院，纯度 92.4%，批号 130785-202001）；**1** 滴眼液（华北制药股份有限公司，规格 250 mg/5 mL，批号 FRE1204003）；甲苯磺丁脲［内标（internal standard，IS），美国 Sigma-Aldrich 公司，纯度 99.9%，批号 SLB24843］；乙腈、DMSO、异丙醇、甲醇、甲酸为色谱纯，试验用水为纯化水。

普通级雄性新西兰白兔 28 只，体质量 3.0 ～ 4.0 kg，购自青岛康大爱博生物科技有限公司，动物生产许可证号为 SCXK（鲁）2021-0003，试验动物使用许可证号为 SYXK（苏）2018-0033。本研究获得益诺思生物技术南通有限公司伦理委员会批准。

2　方法与结果

2.1　色谱和质谱条件

色谱条件：色谱柱 YMC-Triart C_{18} 柱（2.1 mm×50 mm，1.9 μm）；流动相 A 为含有 0.1% 甲酸的水溶液，B 为含有 0.1% 甲酸的乙腈溶液，梯度洗脱如表 1 所示；运行时间 2.5 min；柱温 40 ℃；流速 0.5 mL/min；进样量 2 μL。

表 1　洗脱程序

Tab.1　The Elution Procedure

时间 /min	A/%	B/%
0	80	20
0.20	80	20
1.50	10	90
2.00	10	90
2.01	80	20
2.50	80	20

质谱条件：离子源电喷雾电离（ESI）源，正离子模式；扫描模式多反应检测（MRM）；离子喷雾电压 5 500 V；气帘气压 0.241 3 MPa；喷雾气压 0.344 7 MPa；辅助加热气压 0.344 7 MPa；喷雾气温度 500 ℃；监测离子对 *m/z* 666.3→*m/z* 503.3（**1**），*m/z* 271.1→*m/z* 154.8（IS）；去簇电压 70 V（**1**），50 V（IS）；碰撞能量 15 eV（**1**），25 eV（IS）；数据采集和处理 Analyst® 1.7.0 软件。

2.2　贮备液和标准溶液的配制

精密称量 **1** 1 mg，加入甲醇充分溶解并配制成浓度为 1 mg/mL 的 **1** 贮备液；**1** 贮备液用 50%（体积分数）甲醇进行梯度稀释，配制成 4、10、50、100、200、500、1 000、2 000 ng/mL 的标准曲线工作液，以及 1 500、750、12、4 ng/mL 的质控工作液。精密称量 IS 1 mg，加乙腈溶解并配制成 1 mg/mL 的 IS 贮备液，用乙腈稀释，配制 50 ng/mL 的 IS 工作液。

2.3　动物试验与组织样品处理

2.3.1　动物试验

将 28 只雄性新西兰白兔随机分为 7 组，在试验开始前进行常规眼科检查，排除眼前节和眼底疾

病。**1** 滴眼液用 0.9%的氯化钠溶液稀释成 0.5 mg/L 的 **1** 注射液。每只兔子左眼玻璃体腔注射给药 50 μL；对侧眼为对照眼，不做任何处理。各组动物分别在给药后 0.5、1、2、4、8、16 和 24 h 时进行安乐死处死，迅速取双侧眼球置 0.9%氯化钠溶液中反复冲洗。随后，在湿冰上将眼球各组织（房水、角膜、虹膜、结膜、玻璃体、晶状体、脉络膜、视网膜以及巩膜）快速分离、取出，分别置不同试管中，于 －70 ～ －90 ℃冰箱中保存备用。

2.3.2 组织样品前处理

采用 50%（体积分数）甲醇浸泡各组织，以提取各组织中的 **1**。根据不同眼组织的结构特点设置不同提取条件如下。

角膜、巩膜、虹膜、结膜、脉络膜和视网膜样品前处理：用滤纸将组织样品表面液体吸干；称取组织样品 100 mg，按 1 g 组织中加入匀浆液（即体积分数 50%的甲醇）10 mL 的比例加入匀浆液，匀浆（转速 8 m/s）60 s，离心（3 354×*g*）10 min，取上清液，待用。

房水、玻璃体和晶状体样品前处理：称取组织样品 100 mg，按 1 g 组织中加入匀浆液 10 mL 的比例加入匀浆液，匀浆（转速 6 m·s^{-1}）30 s，离心（3 354×*g*）10 min，取上清液，待用。

分别取各组织匀浆上清液 50 μL，置 96 孔板中，加入 IS 工作液 250 μL（蛋白沉淀法）。涡旋（1 000 r/min）10 min 后于 4 ℃离心（4 700×*g*）10 min。移取上清液 100 μL，置新的 96 孔板中，再涡旋（1 000 r/min）10 min，即得各组织样品溶液。

2.4 方法学验证

2.4.1 样品制备

取 **1** 标准曲线工作液 10 μL 移至离心管中，分别加入各空白组织匀浆液 190 μL 配制标准曲线样品溶液，得到质量浓度分别为 0.2［定量下限（lower limit of quantitation，LLOQ）］、0.5、2.5、5、10、25、50、100［定量上限（upper limit of quantitation，ULOQ）］ ng/mL 的样品溶液，涡旋（2 000 r/min）10 min。以同样的方法制备 LLOQ 及低、中、高质量浓度（0.6、37.5、75 ng/mL）的 QC 样品溶液。

2.4.2 基质选择性试验

分别取自 6 只兔子的空白眼组织，分为 2 组，按“**2.3.2**”项下方法处理；空白组的组织样品中不加 IS，内标组的组织样品中含 IS。另外，取上述 LLOQ 的 QC 样品溶液和给药 2 h 的各组织样品溶液，按“**2.1**”项下条件进行 LC-MS/MS 分析，以评价基质选择性。

空白玻璃体样品的色谱图结果如图 1 所示（其他组织样品的色谱图于编辑部保存），6 只兔子的色谱图均未见分析物和内标在各自保留时间（**1** 和 IS 的保留时间分别为 1.28 和 1.56 min）内的洗脱峰；**1** 和 IS 之间没有干扰；也未见内源性成分的干扰。结果表明，该方法选择性良好。

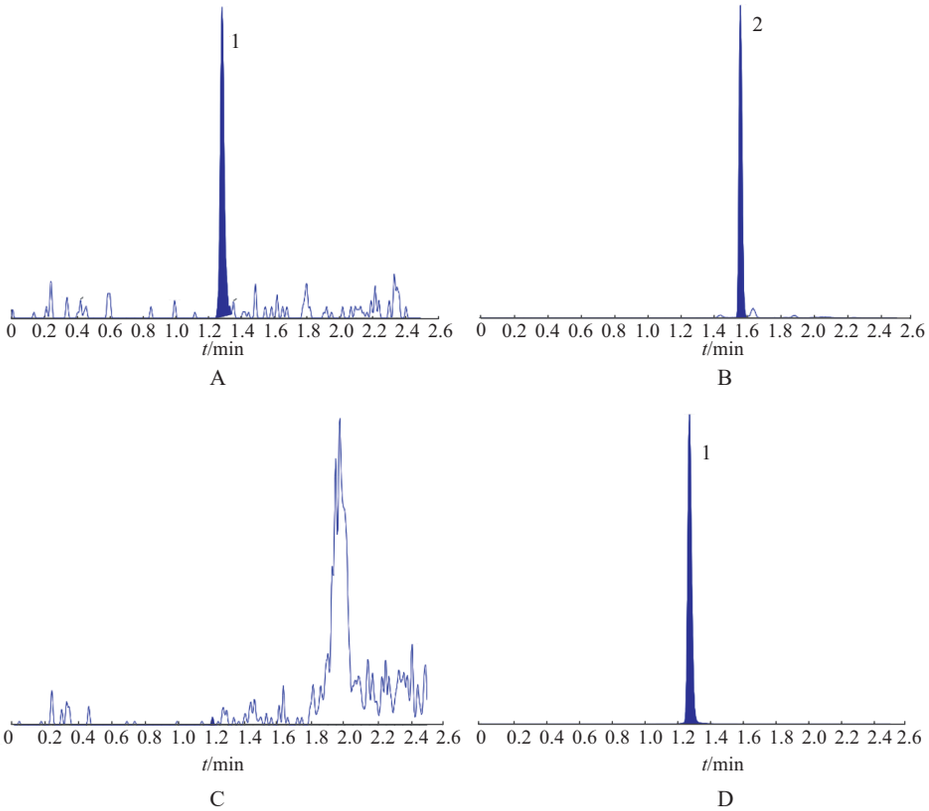
2.4.3 标准曲线与定量限试验

取各组织标准曲线样品溶液，按“**2.1**”项下条件进行 LC-MS/MS 分析，以 **1** 峰面积（*y*）为纵坐标、**1** 质量浓度（*c*）为横坐标进行线性回归。眼部各组织的回归方程和线性范围如表 2 所示，

表 2 眼部不同组织中 1 的回归方程及线性范围

Tab.2 Regression Equations and Linear Ranges of **1** in Various Ocular Tissues

组织	回归方程	*R*	R^2	线性范围 /(ng·mL^{-1})
角膜	*y*=0.006 7*c* － 0.000 34	0.996 3	0.992 6	0.2 ～ 100
巩膜	*y*=0.005 7*c* － 0.000 031	0.996 3	0.992 6	0.2 ～ 100
结膜	*y*=0.002 97*c*+0.000 29	0.997 9	0.995 8	0.2 ～ 100
虹膜	*y*=0.005 48*c* － 0.000 227	0.997 0	0.994 0	0.2 ～ 100
脉络膜	*y*=0.005 31*c* － 0.000 142	0.997 2	0.994 4	0.2 ～ 100
视网膜	*y*=0.004 98*c* － 0.000 006	0.996 7	0.993 4	0.2 ～ 100
房水	*y*=0.001 66*c*+0.000 112	0.998 8	0.997 6	0.2 ～ 100
晶状体	*y*=0.004 93*c* － 0.000 435	0.998 2	0.996 4	0.2 ～ 100
玻璃体	*y*=0.004 75*c* － 0.000 274	0.996 8	0.993 6	0.2 ～ 100



A—LLOQ 的 QC 样品溶液；B—内标组样品；C—空白组样品；D—给药 2 h 的组织样品。

1—**1**；2—IS。

图 1　新西兰白兔玻璃体组织样本中 1 的 LC-MS/MS 色谱图

Fig.1　LC-MS/MS Chromatograms of **1** in New Zealand White Rabbit Vitreum Tissue Samples

当 **1** 质量浓度为 0.2 ～ 100 ng/mL 时，与峰面积呈良好的线性关系，定量下限为 0.2 ng/mL。本研究中，LLOQ 可在 ±20% 的准确度和精密度内定量测定。

2.4.4　提取回收率试验

以玻璃体组织高、中、低水平的 QC 样品作为提取组样品；使用混合空白基质（将不同空白个体的玻璃体组织匀浆液混合制得），按“**2.4.1**”项下方法处理，制成浓度相同的溶液，作为未提取组（对照）。2 组样品分别进行 LC-MS/MS 分析，重复测定 6 次，并测定高浓度下样品中 IS 的提取回收率。通过比较提取前加入 IS 和分析物的组织样品与提取后再加入 IS 和分析物的对照的峰面积比值，确定提取过程中 **1** 和 IS 的回收率。

结果如表 3 所示，IS 平均回收率为 83.1%；**1** 平均回收率为 100.4%，RSD 为 2.7%，各质量浓度样品中 **1** 的回收率均在 97.0% ～ 104.0%，说明本法回收率良好。

2.4.5　基质效应试验

取 6 个不同个体的空白玻璃体、房水基质以及纯水，按“**2.4.1**”项下方法配制高、低浓度 QC 样品，按“**2.1**”项下条件进样测定，通过比较空白基质经处理后加入 **1** 的样品与纯水溶液中测得的 **1** 峰面积比值，评估 **1** 和 IS 的基质效应。

结果显示，在高、低浓度下，玻璃体和房水中 **1** 的基质效应 RSD 值均小于 15%（表 4），说明运用该检测方法对眼组织样品中的 **1** 进行定量可以忽略基质效应的影响。

2.4.6　精密度和准确度试验

取高、中、低及 LLOQ 的 QC 样品，连续 3 d

按“**2.1**”项下条件进样分析，平行测试 6 次，计算批内和批间精密度。

结果如表 5 所示，批内准确度为 103.6 %～ 105.3 %，批内 RSD ≤ 10.8 %（n=6）；批间准确度为 101.3 %～ 103.7 %，批间精密度 RSD ≤ 11.0 %（n=18）。上述结果显示，本法可满足生物样品定量分析要求。

2.4.7 稳定性试验

QC 样品稳定性考察：配制高、低水平的 QC 样品（玻璃体）溶液各 3 份，分别用于考察室温放置 24 h、－70 ～ －90 ℃放置 49 d、反复冻融（－70 ～ －90 ℃ / 室温，4 次）以及在自动进样器（2 ～ 8 ℃）中放置 27 h 的稳定性；各个浓度平行测定 6 份。

结果显示，各样品测得平均值的准确度均不超过 ±15.0 %（表 6），即 **1** 的新西兰白兔空白玻璃体样品可在室温条件下稳定至少 24 h，在 －70 ～ －90 ℃ / 室温冻融循环条件下可稳定至少 4 次，在自动进样器中至少稳定 27 h，在 －70 ～ －90 ℃条件下稳定至少 49 d。

溶液稳定性考察：取 **1** 贮备液和 **1** 工作液（0.2、100 ng/mL）、IS 贮备液和内标工作液（50 ng/mL）各 2 份，1 份在室温放置 25 h，1 份于 －70 ～ －90 ℃放置 75 d，平行测定 6 份，与相应新配制的 **1** 贮备液、**1** 工作液、IS 贮备液、IS 工作液比较峰面积比。

结果显示，各质量浓度稳定性样品与参比样品的峰面积比均值的 RSD 值及差异均不超过 ±10 %（表 7），即上述 4 种溶液可在室温条件下稳定至少 25 h，在 －70 ～ －90 ℃条件下稳定至少 75 d。

表 3 玻璃体中 1 标准品和 IS 的回收率（n=6）

Tab.3 Recovery Rates of **1** Standard and IS in Vitreous Body（n=6）

浓度 /（ng·mL^{-1}）	峰面积比		回收率 /%	RSD/%
	提取组	未提取组		
0.6	0.001 401	0.001 394	100.5	10.1
37.5	0.099 113	0.099 450	103.1	9.5
75.0	0.216 075	0.221 481	97.6	5.7
50.0（IS）	0.110 464	0.132 901	83.1	4.9

表 4 玻璃体和房水样品中低、高浓度的基质效应（n=6）

Tab.4 Matrix Effects of Samples with Low and High Concentrations in Vitreous Body and Aqueous Humor（n=6）

组织	**1** 质量浓度 /（ng·mL^{-1}）	内标归一化基质效应因子（$\bar{x}$±s）	RSD/%
玻璃体	0.6	0.92±0.13	14.1
	75.0	0.83±0.08	9.6
房水	0.6	0.91±0.07	7.7
	75.0	1.09±0.04	3.7

表 5 1 的批内、批间精密度和准确度

Tab.5 Intra- and Inter-batch Precision and Accuracy of **1**

理论质量浓度 /（ng·mL^{-1}）	批内（n=6）		批间（n=18）	
	准确度 /%	精密度 /%	准确度 /%	精密度 /%
0.2	104.5	10.8	101.3	11.0
0.6	105.3	4.8	103.7	8.7
37.5	105.2	2.8	101.3	7.1
75.0	103.6	3.6	101.6	5.1

表 6 1 样品的稳定性（n=6）

Tab.6 Stability of **1** Samples（n=6）

质量浓度 /（ng·mL^{-1}）	稳定性	准确度 /%	精密度 /%
0.6	室温 24 h	7.5	3.7
	自动进样器 27 h	7.3	13.0
	反复冻融	14.9	9.7
	－70 ～ －90 ℃，49 d	4.3	5.3
75.0	室温 24 h	3.5	9.0
	自动进样器 27 h	3.0	6.0
	反复冻融	10.2	7.7
	－70 ～ －90 ℃，49 d	3.8	3.4

2.4.8 稀释可靠性试验

若研究样品的浓度高于 ULOQ，则需要对样品进行稀释，在 500 ng/L 条件进行性试验。向溶液中加入 10 倍体积的空白玻璃体匀浆液，检测其浓度，计算所得的浓度偏差应不超过 15%。试验结果表明，**1** 稀释 10 倍的样品平均测量浓度为 90.7 %，RSD 为 4.3 %；可见其符合接受标准，对超出定量上限的样品可以稀释后进行测定。

2.5 药物在眼组织中的分布

新西兰白兔给药后的角膜、虹膜、房水、玻璃体、晶状体、视网膜、脉络膜、巩膜和结膜样本按“**2.3.2**”项下方法处理，用 LC-MS/MS 法测定 **1** 的浓度，并采用 WinNonlin 8.1 软件计算药动学参数。

玻璃体腔注射 **1** 后，药物在新西兰白兔眼部不

同组织中的浓度 - 时间分布如图 2 所示，药代动力学参数如表 8 所示。0.5 mg/mL 的 **1** 经玻璃体腔注射后，逐渐扩散到其他眼组织，巩膜和视网膜内的 **1** 浓度在 2 h 时达到峰值；房水和角膜内的 **1** 浓度在 16 h 时达到峰值；**1** 主要分布在视网膜、脉络膜以及玻璃体中，由此推测 **1** 主要在眼后段分布，且在 24 h 仍有较高的浓度，提示 **1** 经玻璃体腔注射后可以在眼组织中保留较长时间。

3　讨论

本研究建立了 LC-MS/MS 眼组织中 **1** 质量浓度的方法，利用浸泡提取法和蛋白沉淀法进行样品处理。经过验证，该方法在 **1** 浓度为 0.2 ～ 100 ng/mL 时与峰面积线性关系良好，在灵敏度和选择性、运行时间短（2.5 min）以及样品量小（2 μL）方面还具有显著优势。并且，该方法专属性高，无基质效应影响，结果可靠，可用于 **1** 的眼组织分布研究。从组织分布结果来看，**1** 经玻璃体腔注射后，逐步分布在各个组织中，且在视网膜中含量最高，其次是玻璃体、脉络膜和结膜。由此可知，**1** 经玻璃体腔注射后分布在眼后段，适于治疗眼后段疾病。

1 滴眼液作为美国 FDA 唯一批准的眼部局部抗真菌制剂，对于多种真菌都有抑制作用，是角膜炎的主要治疗药物之一。但由于 **1** 的用药缺陷，其治疗深层角膜炎及眼内炎的效果不佳。而通过玻璃体腔注射直接将药物递送到眼后段组织，可减少药物的损耗，延长药物作用时间，提高药物的生物利用度，对眼后段疾病有更好的治疗作用。本研究结果佐证了这一结果，为拓宽 **1** 眼部疾病的治疗提供了思路。

表 7　1 和内标的溶液稳定性 /%（*n*=6）

Tab.7　Solution Stability of **1** and IS/%（*n*=6）

样品	室温，25 h			－70 ～ －90 ℃，75 d		
	峰面积比的 RSD/%		差异	峰面积比的 RSD/%		差异
	稳定性样品	参考样品		稳定性样品	参考样品	
1 贮备液（1 mg/mL）	3.3	2.7	9.7	3.1	2.7	1.6
1 工作液（100 ng/mL）	1.5	2.7	0.9	1.9	2.7	－0.4
1 工作液（0.2 ng/mL）	2.7	9.8	－9.6	4	9.8	8.8
内标贮备液（1 mg/mL）	6.8	4.7	1.3	4.9	4.7	－1.2
内标工作液（50 ng/mL）	1.5	4.7	9.6	6.4	4.7	4.7

表 8　1 的药代动力学参数

Tab.8　Pharmacokinetic Parameters of **1**

参数	组织名称 [1)]								
	巩膜	房水	晶状体	玻璃体	结膜	脉络膜	虹膜	视网膜	角膜
$AUC_{0\to24\,h}$/（h·ng·mL^{-1} 或 h·ng·g^{-1}）	13 500	590	2 650	29 300	1 680	25 500	9 120	232 000	7 940
c_{max}/（ng·mL^{-1} 或 ng·g^{-1}）	824	30.2	279	4 620	982	2 390	459	46 400	540
t_{max}/h	2	16	0.5	0.5	1	24	8	2	16

注：[1)] 房水、玻璃体是液态组织，$AUC_{0\to24\,h}$ 和 c_{max} 单位为 h·ng·mL^{-1} 和 ng/mL。

参考文献：

［1］ DURAND M L. Bacterial and fungal endophthalmitis［J］. *Clin Microbiol Rev*, 2017, **30**(3): 597-613.

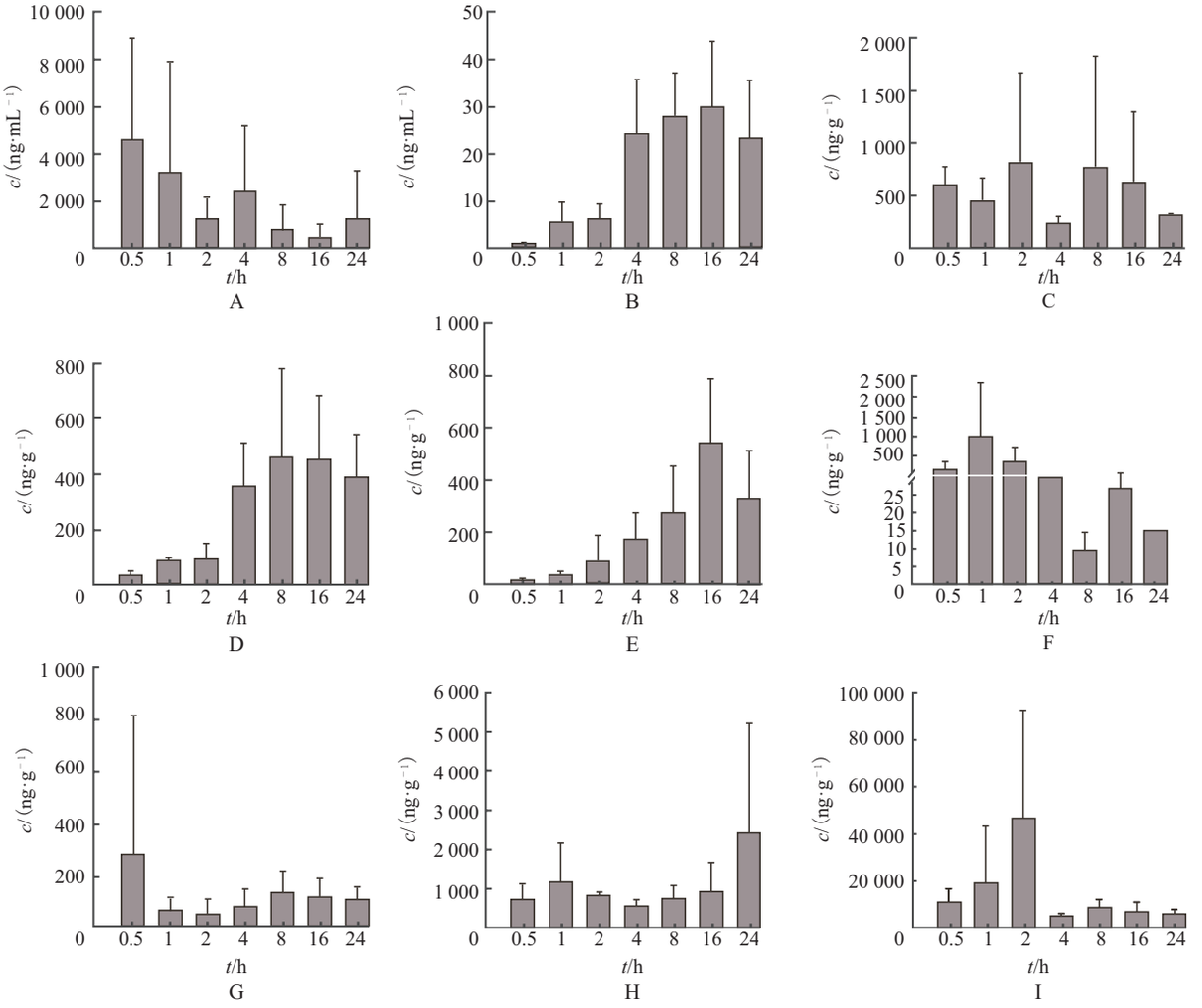
［2］ GAO Y, CHEN N, DONG X G, *et al*. Surgical management of fungal endophthalmitis resulting from fungal keratitis［J］. *Int J Ophthalmol*, 2016, **9**(6): 848-853.

［3］ QIU S, ZHAO G Q, LIN J, *et al*. Natamycin in the treatment of fungal keratitis: a systematic review and meta-analysis［J］. *Int J Ophthalmol*, 2015, **8**(3): 597-602.

［4］ TE WELSCHER Y M, TEN NAPEL H H, BALAGUÉ M M, *et al*. Natamycin blocks fungal growth by binding specifically to ergosterol without permeabilizing the membrane［J］. *J Biol Chem*, 2008, **283**(10): 6393-6401.

［5］ VANATHI M, NAIK R, SIDHU N, *et al*. Evaluation of antifungal susceptibility and clinical characteristics in fungal keratitis in a tertiary care center in north India［J］. *Indian J Ophthalmol*, 2022, **70**(12): 4270-4283.

［6］ SUN C Q, LALITHA P, PRAJNA N V, *et al*. Association



A—玻璃体；B—房水；C—巩膜；D—虹膜；E—角膜；F—结膜；G—晶状体；H—脉络膜；I—视网膜。

图 2　1 在不同时间点眼不同组织中的浓度（*n*=4）

Fig.2　Concentration of **1** in Different Eye tissues at Different Time Points (*n*=4)

between *in vitro* susceptibility to natamycin and voriconazole and clinical outcomes in fungal keratitis [J]. *Ophthalmology*, 2014, **121**(8): 1495-1500.

[7] SWETLEDGE S, JUNG J P, CARTER R, *et al*. Distribution of polymeric nanoparticles in the eye: implications in ocular disease therapy [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, **19**(1): 10.

[8] SHA X Y, CHAN L, FAN X Y, *et al*. Thermosensitive tri-block polymer nanoparticle-hydrogel composites as payloads of natamycin for antifungal therapy against *Fusarium Solani* [J]. *Int J Nanomed*, 2022, **17**: 1463-1478.

[9] ZHAO X, TONG Y, WANG X T, *et al*. Comparison of the ocular penetration and pharmacokinetics between natamycin and voriconazole after topical instillation in rabbits [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2018, **34**(6): 460-467.

[10] BHATTA R S, CHANDASANA H, RATHI C, *et al*. Bioanalytical method development and validation of natamycin in rabbit tears and its application to ocular pharmacokinetic studies [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, **54**(5): 1096-1100.

[11] CHHONKER Y S, KUMAR D, SHRIVASTAVA P, *et al*. LC-MS/MS assay for the determination of natamycin in rabbit and human plasma: application to a pharmacokinetics and protein binding study [J]. *J Pharm Anal*, 2013, **3**(2): 144-148.