

恩诺沙星及其代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡体内的代谢动力学

房文红, 于慧娟, 蔡友琼, 周凯, 黄冬梅

(中国水产科学研究院 东海水产研究所 农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 上海 200090)

摘要:采用高效液相色谱法,研究药饵口灌给药途径下,恩诺沙星及其代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)体内的药代动力学。欧洲鳗鲡口灌给药恩诺沙星 10 mg/kg 后,其血浆、肌肉和肝脏中药物时量曲线关系符合一级吸收的二室开放动力学模型。恩诺沙星在欧洲鳗鲡不同组织中分布较广,血浆、肌肉和肝脏的 V_d 分别为 6.362 L/kg 、 8.081 L/kg 和 15.870 L/kg ;恩诺沙星在鳗鲡体内消除较慢,在血浆、肌肉和肝脏中的消除半衰期($t_{1/2}$)分别为 161.10 h 、 333.21 h 和 611.26 h ,总体清除率(CL_s)分别为 $27.4\text{ mL/(kg}\cdot\text{h)}$ 、 $16.8\text{ g/(kg}\cdot\text{h)}$ 和 $18.0\text{ g/(kg}\cdot\text{h)}$ 。代谢物环丙沙星在鳗鲡血浆、肌肉和肝脏中药物水平的变化趋势与恩诺沙星基本相似,呈现出多峰现象,但3种组织中环丙沙星出现第一个药峰时间分别为给药后第24小时、24小时和12小时,3种组织中环丙沙星峰值水平肝脏中最高、肌肉中次之、血浆中最低,环丙沙星在肌肉和肝脏中的消除速率比较缓慢。鉴于恩诺沙星和其代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡体内消除较慢,建议养成阶段使用其他药物。[中国水产科学,2007,14(4):622-629]

关键词:欧洲鳗鲡;恩诺沙星;代谢物;环丙沙星;药代动力学

中图分类号:S94

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)04-0622-08

恩诺沙星为第3代喹诺酮类药物,是畜禽和水产专用抗菌药物,对大多数革兰氏阴性菌、部分革兰氏阳性菌及某些支原体、衣原体、立克次氏体均有效^[1],对杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)、杀鲑气弧菌(*Vibrio salmonicida*)、鳗弧菌(*V. anguillarum*)和红色耶尔森菌(*Yersinia ruckeri*)等水产动物致病菌高度敏感^[2-3],广泛应用于水产动物细菌性疾病的防治^[4-5]。药物在动物体内代谢过程和消除规律是制定给药方案和休药期的理论基础,目前已开展恩诺沙星药代动力学研究的水产动物主要有鲤(*Cyprinus carpio*)^[6]、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[7]、菱羊鲷(*Sparus aurata*)^[8]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[9]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[10]和中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)^[11]等。但因水产养殖动物种类较多,药代动力学研究相对滞后,对鳗鲡的恩诺沙星药代动力学研究目前还没有开展。由于缺乏相应的理论基础,导致药物在水产品中残留超标,给中国养殖水产品出口带来了极大损失^[12]。鉴此,本研究探讨药饵口灌给药后,恩诺沙星及其主要代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡体内的药代动力学特征,以助于了解恩诺沙星和代谢物环丙沙

星在鳗鲡组织中的代谢过程和消除规律,并对恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内的残留监控进行指导,同时为恩诺沙星在其他水产动物中药代动力学比较研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试剂

恩诺沙星原料药(含量98%),由浙江新昌制药有限公司提供,恩诺沙星和环丙沙星标准品($\geq 99.0\%$)由中国兽药监察所提供。

甲醇和乙腈均为HPLC级,德国Sigma-Aldrich公司;正己烷,HPLC级,国药集团化学有限公司;盐酸、磷酸,分析纯,上海化学试剂公司。

酸化乙腈:乙腈+50%盐酸混合液(体积比2500:20);提取液: $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸(pH 12.0)+乙腈混合液(体积比1:3),充分搅拌混合,静置,待溶液澄清后用滤纸过滤。

1.2 仪器和设备

高效液相色谱仪(美国安捷伦公司Agilent1100),色谱柱为ZORBAX SB-C18, $4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$,检测器为与其相配套的荧光检测器。 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰

收稿日期:2006-08-08;修订日期:2007-01-26.

基金项目:科技部科技攻关计划(2002BA906A39-05)。

作者简介:房文红(1968-),男,副研究员,博士生,主要从事水产动物疾病与药理学研究。Tel:021-65699301;E-mail:whfang@sh163.net

箱(日本,SANYO公司);移液器(德国,eppendorf公司);电子天平(瑞士,Mettler Toledoab 204);高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂,TGL-16G-A),高速组织捣碎机(上海弗鲁克流体机械制造有限公司),以及振荡器和0.45 μm 微孔滤膜等。

1.3 实验动物

实验用欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*) (以下简称欧鳗),购自浙江省慈溪徐龙鳗业有限公司养鳗场,体质量180~250 g,抽样检查无恩诺沙星和环丙沙星残留,暂养在东海水产研究所室内生态试验室。暂养10天后用于实验,实验在5个水体分别为800 L的圆形玻璃缸中进行,每个缸放养欧鳗20尾,实验期间不断充气并对水体进行循环过滤,水温控制在23~25 $^{\circ}\text{C}$,实验期间每日早晚投喂适量糊状鳗鱼饲料各1次,及时排出残饵和粪便,每2日换水1/2体积。实验期间欧鳗成活率为100%。

1.4 药饵口灌给药

先采用少许5%冰醋酸溶解400 mg恩诺沙星,加入鳗饲料15 g左右,搅拌成糊状,体积定容至100 mL,此糊状饲料中恩诺沙星含量为4 mg/mL。药饵口灌给药剂量为10 mg/kg,根据欧鳗体质量计算每条鱼的口灌量。将糊状药物饲料用2 mL注射器接硅胶软管从欧鳗口中插入,注意插入深度,要求不漏饵,如出现饵料回吐现象此鱼即放弃。

1.5 样品采集

1.5.1 采样时间 分别于给药后0.5 h、1 h、2 h、6 h、12 h、1 d、2 d、5 d、10 d、15 d、20 d、25 d、30 d、40 d和50 d采样,每次采样5尾。

1.5.2 血液样品采集 欧鳗用抄网捞起,用干净纱布擦干鱼体,尾静脉取血,放入离心管(离心管事先放入0.3 mL 1%的肝素钠)至3 mL,混合均匀后离心,取上层血浆,置于-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.5.3 肌肉和肝脏样品采集 去除欧鳗内脏、皮和骨骼等,取肌肉,切成5 mm×5 mm小方块,装入密封袋;将整个肝脏取出,装入离心管。肌肉和肝脏均置于-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存,待药物残留分析。

1.6 样品处理

1.6.1 血液样品处理 从冰箱中取出血浆样品,恢复至4 $^{\circ}\text{C}$,取1 mL血浆加入2 mL甲醇,振荡混匀2 min, 5 000 r/min,离心5 min,吸取上清液经0.45 μm 微孔滤膜过滤后,用于高效液相色谱分析。

1.6.2 肝脏和肌肉样品处理 从冰箱中取出肌肉或肝脏样品置室温下自然解冻,样品剪成5 mm×

5 mm小方块,称取样品5 g,加入2倍体积提取液后于高速组织捣碎机匀浆2 min,将匀浆液离心5 min (3 000 r/min)后收集上清液。沉淀再加入2倍体积提取液,用玻棒搅匀,振荡5 min,离心收集上清液,按上述方法再重复1次。合并3次上清液,于旋转蒸发仪在50 $^{\circ}\text{C}$ 蒸干;蒸发烧瓶中加入2 mL流动相和2 mL正己烷,旋转洗涤后转移到离心管,在3 000 r/min下离心5 min,去除上层正己烷,再加入2 mL正己烷,剧烈振荡2 min,再次离心5 min,移去上层,下层经0.45 μm 微孔滤膜过滤后,用于高效液相色谱分析。

1.7 药物残留分析

用反相高效液相色谱法同时测定样品中恩诺沙星及其代谢物环丙沙星的含量。高效液相色谱仪采用美国艾捷伦公司的Agilent 1100系列,包括四元泵、自动进样器、柱温箱、荧光检测器及HP化学工作站。色谱柱为ZORBAXSB-C18。流动相为:乙腈+甲醇+磷酸盐缓冲液(含0.03 mmol/L乙酸铵和0.02 mmol/L柠檬酸,0.1 mol/L磷酸用1.0 mol/L NaOH调节pH至12.0),体积比10:20:70。柱温30 $^{\circ}\text{C}$ 。流速为1.0 mL/min。检测波长:荧光监测器,Ex280 nm,Em450 nm。上述条件下,恩诺沙星的保留时间为9.26 min;环丙沙星的保留时间为7.16 min。

1.8 数据分析

药物在欧洲鳗鲡体内处置过程采用房室模型分析,药动学参数同时采用房室模型和统计矩原理来推算。模型的拟合和参数的推算采用药物与统计软件DAS2.0。

2 结果与分析

2.1 药饵口灌给药后恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内吸收、分布和消除

欧洲鳗鲡口灌恩诺沙星药液后,血浆、肌肉和肝脏中恩诺沙星浓度-时间曲线分别如图1和图2所示。在给药后0.5~2 h,血浆中恩诺沙星药物质量浓度几乎成直线上升,2 h时血药质量浓度即达到最高($T_{\max}=2\text{ h}$, $C_{\max}$ 为4.839 $\mu\text{g/mL}$),随后血药质量浓度以较快速度下降,到第2天下降停止,进入一个平缓期直到第5天,而在第5天时血药质量浓度还略有升高,但不显著($P>0.05$),5 d后血药质量浓度又开始下降,第10天后血药质量浓度下降极其缓慢(图1),到第50天时血药质量浓度为0.037 $\mu\text{g/mL}$ 左右。

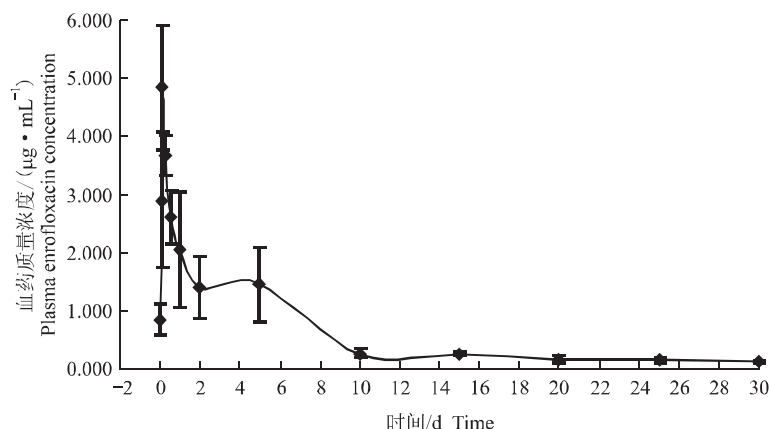


图1 口灌给药后恩诺沙星在欧洲鳗鲡血浆中时量曲线 (23~25 °C)

Fig.1 Enrofloxacin concentration-time profile of plasma following a single oral gavage at a dose of 10 mg/kg (23~25 °C)

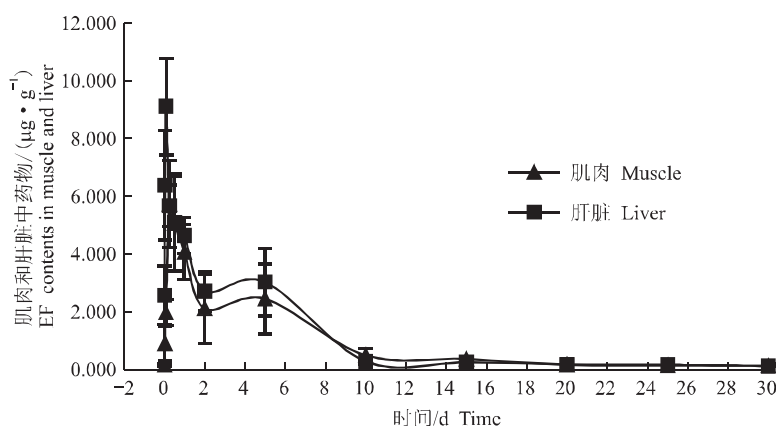


图2 口灌给药后恩诺沙星在欧洲鳗鲡肌肉和肝脏中药物时量曲线 (23~25 °C)

Fig.2 Enrofloxacin concentration-time profile of muscle and liver following a single oral gavage at a dose of 10 mg/kg (23~25 °C)

和血浆中恩诺沙星浓度一样,肌肉中恩诺沙星水平在给药后呈直线上升,与血药质量浓度不同的是,肌肉中药物水平达到最高值是在给药后第6小时, $T_{\max}=6\text{ h}$, $C_{\max}=5.730\text{ }\mu\text{g/g}$ 。随后迅速下降,到第2天时停止下降,第2~5天时肌肉中药物水平略有升高,5 d后又急剧下降,而第10天以后的下降极其缓慢(图2),到第50天时肌肉中恩诺沙星质量分数为 $0.039\text{ }\mu\text{g/g}$ 。

肝脏中恩诺沙星在给药后同样呈直线上升,2 h即达峰值 ($C_{\max}=9.121\text{ }\mu\text{g/g}$, $T_{\max}=2\text{ h}$)。在第2~5天肝脏中恩诺沙星浓度出现小幅度的升高,但第5天后仍继续下降。第10天后肝脏中恩诺沙星的消除特别缓慢(图2),第50天时肝脏中恩诺沙星质量分数仍为 $0.084\text{ }\mu\text{g/g}$ 。

2.2 恩诺沙星口灌给药后欧洲鳗鲡不同组织中药物代动力学参数

应用 DAS 软件对所测得的药物水平-时间关系进行一室、二室和三室模型的数据拟合,结果表明,鳗鲡口灌给药后,恩诺沙星在血浆、肌肉和肝脏中的代谢过程用一级吸收二室模型来描述较为合适,血浆和肌肉中恩诺沙星在吸收前带有时滞 (lag time)。

血浆中药物时量曲线方程为:

$$C = 6.661 \times e^{-0.0614(t-0.398)} + 2.263 \times e^{-0.0043(t-0.398)} - 8.924 \times e^{-0.1970(t-0.398)},$$

拟合度 $R^2=0.988$

肌肉中药物时量曲线方程为:

$$C = 4.439 \times e^{-0.0123(t-0.414)} + 0.460 \times e^{-0.0021(t-0.414)} - 4.899 \times e^{-0.368(t-0.414)},$$

拟合度 $R^2 = 0.989$

肝脏中药物时量曲线方程为:

$$C = 4.520 \times e^{-0.0134t} + 0.247 \times e^{-0.0011t} - 4.767 \times e^{-1.435t},$$

拟合度 $R^2 = 0.988$

表 1 为房室模型和统计矩原理推算所得的药动学参数。血浆、肌肉和肝脏的 V_d 分别为 6.362 L/kg、8.081 L/kg 和 15.870 L/kg,说明恩诺沙星在欧鳗体内分布较广;血浆、肌肉和肝脏中的消除半衰期($t_{1/2}$)分别为 161.10 h、333.21 h 和 611.26 h,总体清除率(CLS)分别为 27.4 mL/(kg·h)、16.8 g/(kg·h)和 18.0 g/(kg·h),表明恩诺沙星在欧鳗体内消除较慢。血浆、肌肉和肝脏的零阶矩曲线下面积(AUC)都分别大于房室模型的曲线下面积,恩诺沙星在 3 种组织中平均驻留时间(MRT)由大到小依次为肝脏、血浆和肌肉。

表 1 药饵口灌给药后恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内的药代动力学参数 (23~25 ℃)

药动学参数 Pharmacokinetic parameter	血浆 Plasma	肌肉 Muscle	肝脏 Liver
房室模型 Compartmental model			
C_{max}	$(4.839 \pm 1.065) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$(5.730 \pm 1.514) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	$(9.121 \pm 1.674) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
T_{max}	2 h	6 h	2 h
A	$3.438 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$4.439 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	$4.520 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
B	$1.331 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$0.486 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	$0.247 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
K_a	1.970 h^{-1}	0.368 h^{-1}	1.435 h^{-1}
α	0.0614 h^{-1}	0.0123 h^{-1}	0.0134 h^{-1}
β	0.0043 h^{-1}	0.0021 h^{-1}	0.0011 h^{-1}
$t_{1/2\alpha}$	11.28 h	56.39 h	51.82 h
$t_{1/2\beta}$	161.10 h	333.21 h	611.26 h
$t_{1/2ka}$	0.352 h	1.881 h	0.483 h
V_d	$6.362 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$	$8.081 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$	$15.870 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$
CLS	$27.4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$16.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$18.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
AUC_{0-1200}	$351.1 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$560.1 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$	$498.4 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$361.2 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$579.4 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$	$554.2 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$
Lag Time	0.398 h	0.414 h	0 h
统计矩原理 Statistical moment theory			
AUC_{0-1200}	$437.2 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$669.8 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$	$754.6 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$453.4 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	$688.4 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$	$834.4 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{g}^{-1}$
MRT	267.3 h	222.3 h	355.8 h
V_z	$9.781 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$	$6.857 \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$11.415 \text{ kg} \cdot \text{kg}^{-1}$
CL _z	$22.0 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$15.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	$12.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

2.3 代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡体内不同组织中处置和消除

恩诺沙星口灌给药后,其代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡血浆、肌肉和肝脏中药物水平-时间关系如图 3 和图 4 所示。代谢物环丙沙星在欧鳗血浆、肌肉和肝脏中水平的变化趋势与恩诺沙星基本相似,在给药后首先表现为上升趋势,到达峰值后下降,且都呈现出多峰现象。3 种组织中出现第一个药峰的时间不同,肝脏达峰时间早,在给药后第 12 小时,血浆和肌肉为第 24 小时;但出现第 2 个药峰时间都在给药后第 5 天,此时恰好是 3 种组织中恩诺沙星下降

缓慢(或略有升高)时期。血浆、肌肉和肝脏组织中环丙沙星水平分别为 0.123 mg/L、0.388 mg/kg 和 1.212 mg/kg,3 种组织中环丙沙星峰值分别约为恩诺沙星峰值的 1/40.1/15 和 1/7.5。值得注意的是肝脏中环丙沙星在给药后 0.5 h 即达到 0.8 mg/kg 左右,而血浆和肌肉分别是在给药后的 2 h 和 6 h 才检测到环丙沙星。尽管肝脏中环丙沙星水平最高,但下降速度也很快,到给药后 10 d,其水平已经接近肌肉和血浆中的水平;10 d 后,肌肉和肝脏中环丙沙星残留的消除速度缓慢,直到第 50 天都有检出,在肌肉中约为 0.015 mg/kg,肝脏中约为 0.025 mg/kg。

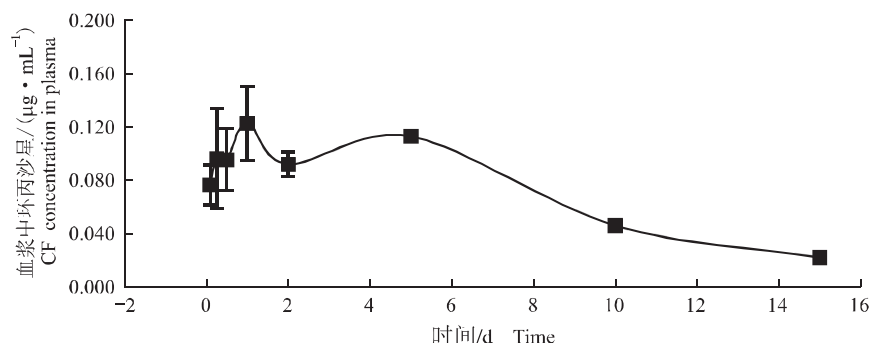


图3 恩诺沙星口灌给药后代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡血浆中的药物时量曲线 (23~25 °C)

Fig.3 Ciprofloxacin concentration-time profile of plasma following a single oral gavage of enrofloxacin at a dose of 10 mg/kg (23~25 °C)

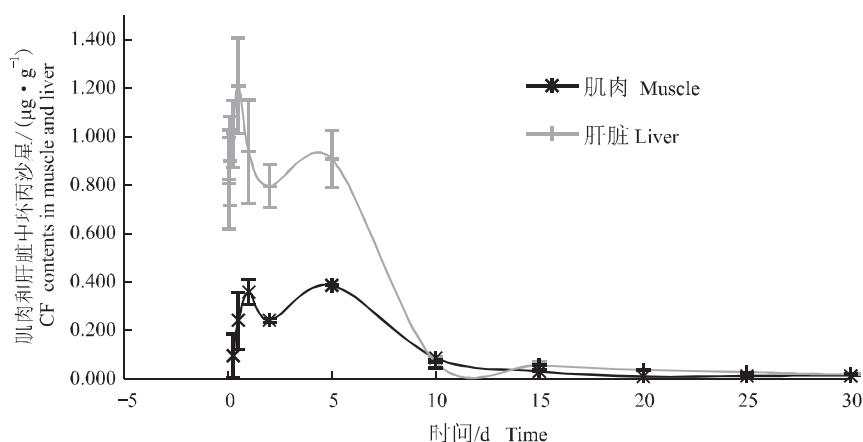


图4 恩诺沙星口灌给药后代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡肌肉和肝脏中的时量曲线 (23~25 °C)

Fig.4 Ciprofloxacin content-time profile of muscle and liver following a single oral gavage of enrofloxacin at a dose of 10 mg/kg (23~25 °C)

根据统计矩原理而得出的代谢物环丙沙星药动学参数如表2所示。血浆、肌肉和肝脏中环丙沙星的平均驻留时间 (MRT) 分别为 102.9 h、221.6 h 和

336.4 h, 总体清除率 (CLs) 分别为 559.0 mL/(kg·h)、96.0 g/(kg·h) 和 59.0 g/(kg·h)。

表2 药饵口灌恩诺沙星给药后代谢物环丙沙星在欧洲鳗鲡体内的药代动力学参数 (23~25 °C)

Tab.2 Pharmacokinetic parameters for metabolite ciprofloxacin following oral gavage of enrofloxacin to *Anguilla anguilla* (23~25 °C)

药动学参数 Pharmacokinetic parameter	血浆 Plasma	肌肉 Muscle	肝脏 Liver
T_{max}	24.0 h	120.0 h	12.0 h
C_{max}	0.123 mg·L ⁻¹	0.388 mg·kg ⁻¹	1.212 mg·kg ⁻¹
AUC_{0-1200}	21.9 μg·h·mL ⁻¹	83.3 μg·h·g ⁻¹	198.4 μg·h·g ⁻¹
$AUC_{0-\infty}$	35.8 μg·h·mL ⁻¹	104.6 μg·h·g ⁻¹	336.4 μg·h·g ⁻¹
MRT	102.9 h	221.6 h	173.8 h
V_z	167.7 mL·kg ⁻¹	95.1 mL·kg ⁻¹	313.3 mL·kg ⁻¹
CL_z	559.0 mL·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	96.0 g·kg ⁻¹ ·h ⁻¹	59.0 g·kg ⁻¹ ·h ⁻¹

3 讨论

3.1 欧洲鳗鲡组织中恩诺沙星药动学特征

本研究采用经典房室模型和非房室模型的统计矩原理分析恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内的动态变化规律。研究表明,以混饲口灌方式给药后,恩诺沙星在欧洲鳗鲡血浆、肌肉和肝脏中药物时量曲线关系符合一级吸收的二室开放模型。关于恩诺沙星药代动力学研究,已在多种水产动物中报道,同是药饵口服或者口灌给药方式下,其药物时量曲线关系有的为二室模型,如舌齿鲈^[7]、大西洋鲑幼鱼^[10]和眼斑拟石首鱼^[13];有的为一室模型,如鲤^[6]。

$C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 和 $t_{1/2ka}$ 是反映药物在体内吸收速率的重要指标^[14]。恩诺沙星以 10 mg/kg 剂量混饲口灌鲤^[6],其血浆 $t_{1/2ka}$ 为 0.202 h ,最高血药质量浓度 $C_{\max}$ 达 $2.147\text{ }\mu\text{g/mL}$,达峰时间 $T_{\max}$ 为 1 h 。短盖巨脂鲤(*Colossoma brachypomum*)口服 5 mg/kg 剂量的恩诺沙星,其 $C_{\max}$ 为 $0.80\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $t_{\max}$ 为 36 h ^[15]。舌齿鲈口服 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 恩诺沙星 $t_{\max}$ 为 8 h , $C_{\max}$ 为 $(1.39\pm0.67)\text{ }\mu\text{g/mL}$ ^[7]。虹鳟幼鱼在 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下口服剂量为 5 mg/kg 、 10 mg/kg 和 50 mg/kg 的恩诺沙星,其 $C_{\max}$ 分别为 $0.945\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $1.28\text{ }\mu\text{g/mL}$ 和 $4.43\text{ }\mu\text{g/mL}$, $t_{\max}$ 分别为 6 h 、 8 h 和 8 h ^[9]。本研究以 10 mg/kg 剂量混饲口灌欧洲鳗鲡,其血浆 $C_{\max}$ 达 $4.84\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $t_{\max}$ 为 2 h 、 $t_{1/2ka}$ 为 0.352 h 。欧鳗的 $C_{\max}$ 均明显高于前四者,除鲤外,欧鳗的达峰时间都快于短盖巨脂鲤、舌齿鲈和虹鳟,说明恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内吸收很好。

AUC和 V_d 是衡量药物在体内吸收和分布的主要药动学参数。菱羊鲷口服 10 mg/kg 剂量的恩诺沙星,其血药AUC为 $82\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$,肌肉组织中恩诺沙星AUC为 $17.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[8]。大西洋鲑幼鱼口服 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的恩诺沙星,其血药AUC分别为 $38.81\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $41.68\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[10]。Bowser等以 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量对虹鳟幼鱼进行口服给药,在 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下恩诺沙星在血浆中AUC分别为 $39.88\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mL})$ 和 $154.77\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mL})$ ^[9];Martinsen等^[16]在 $10.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下同样以 10 mg/kg 剂量对虹鳟(postmolt)口服给药,其血浆中恩诺沙星AUC为 $40.2\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mL})$,与 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下虹鳟幼鱼^[9]相近。本研究中,恩诺沙星以 10 mg/kg 剂量对欧鳗口灌给药,血浆、肌肉和肝脏的AUC分别

为 $437.4\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{mL})$ 、 $669.8\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$ 和 $755.1\text{ }\mu\text{g}/(\text{h}\cdot\text{g})$,均明显高于菱羊鲷、虹鳟或大西洋鲑。恩诺沙星在欧鳗血浆的 V_d 为 6.362 L/kg ,与大西洋鲑 (6.1 L/kg) ^[10]相近,显著高于虹鳟幼鱼 (2.9 L/kg) ^[9]、眼斑拟石首鱼 (2.072 L/kg) ^[13],充分体现了恩诺沙星在欧鳗体内的分布容积大的特征。

$t_{1/2\beta}$ 、CLs和MRT是反映药物在体内消除的主要参数。恩诺沙星在不同水产动物体内的消除药动学参数差别较大。眼斑拟石首鱼灌服 5 mg/kg 恩诺沙星,其血浆 V_d 为 0.288 L/h ^[13]。大西洋鲑血管给药 10 mg/kg , $t_{1/2\beta}$ 为 34.2 h ,血浆CLs为 $2.3\text{ mL}/(\text{min}\cdot\text{kg})$ 。虹鳟幼鱼以 5 mg/kg 剂量口服恩诺沙星,在 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下血浆恩诺沙星MRT分别为 68.8 h 和 35.3 h ^[9]。大西洋鲑幼鱼口服 5 mg/kg 和 10 mg/kg 剂量的恩诺沙星,其血浆恩诺沙星MRT分别为 70.2 h 和 151.7 h ^[10]。虹鳟在连续5日药饵 10 mg/kg 给药后,恩诺沙星在虹鳟肌肉中消除很慢,在第59天($708\text{ 度}\cdot\text{日}$)其残留约 0.10 mg/kg ^[17]。本研究的结果与后者相近,恩诺沙星在欧洲鳗鲡血浆、肌肉和肝脏中的消除速率都比较缓慢,消除半衰期($t_{1/2}$)分别为 161.10 h 、 333.21 h 和 611.26 h ,远远大于恩诺沙星在大西洋鲑、虹鳟幼鱼中的消除半衰期;恩诺沙星在血浆、肌肉和肝脏中的总体清除率(CLs)分别为 $27.4\text{ mL}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 、 $16.8\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 和 $18.0\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{h})$,也远远小于大西洋鲑和虹鳟体内的恩诺沙星总体清除率,这些数据说明了恩诺沙星在欧鳗体内的消除十分缓慢,进一步说明了在不同动物中药物的消除表现出明显的种间差异。

3.2 恩诺沙星主要代谢物环丙沙星的代谢情况

恩诺沙星在许多动物的肝脏中脱去乙基代谢成为具有活性作用的环丙沙星,但其代谢程度亦存在明显的种属差异^[18-19]。中国明对虾肌注恩诺沙星后,在血淋巴、肌肉和肝胰脏等3种组织中均可检测到环丙沙星,肝胰脏内残留最高,为 $0.198\text{ }\mu\text{g/g}$ ^[11]。罗非鱼(*Tilapia*)和中国明对虾投喂恩诺沙星药饵(剂量为 50 mg/kg),肌肉中环丙沙星最高残留分别为 $0.22\text{ }\mu\text{g/g}$ 和 $0.066\text{ }\mu\text{g/g}$ ^[20]。但Intorre等^[7]研究恩诺沙星在舌齿鲈体内代谢时发现,在舌齿鲈肝脏中可经常检测到环丙沙星,血液中可偶尔检测到,而在皮肤和肌肉中则从未检测到。乌贼(*Sepia officinalis*)经恩诺沙星血管注射和药浴浸泡后,在所有实验样品中均未检测到代谢物环丙沙星^[21]。而本研

究中,在血浆、肌肉和肝脏等3个组织中均检测到环丙沙星,最高残留值分别为0.123 mg/L、0.388 mg/kg和1.212 mg/kg,但与相应组织中的恩诺沙星相比,仅分别约为1/40、1/15和1/7.5,血浆中代谢物环丙沙星的AUC与恩诺沙星的AUC的比值仅为6.24%。由此看来,恩诺沙星代谢成环丙沙星的比例还是比较小的,在鳗鲡体内其杀菌活性的成分仍以恩诺沙星为主。

3.3 恩诺沙星在欧洲鳗鲡体内代谢特征与应用评价

以10 mg/kg剂量对欧鳗混饲口灌给药, $C_{\max}$ 和AUC能达到如此之高,可以起到较好杀菌和抑菌效果,且在体内能维持较长药效。从 $C_{\max}$ 、AUC等参数来看,可以认为该药是比较理想的药物。但是,该药在欧洲鳗鲡体内的消除缓慢,尤其在给药10 d后,恩诺沙星在欧鳗肌肉中消除相当缓慢。在给药后40 d血浆、肌肉和肝脏中恩诺沙星的残留量仍分别为0.063 $\mu\text{g/mL}$ 、0.065 $\mu\text{g/g}$ 和0.63 $\mu\text{g/g}$;给药后50 d肌肉中恩诺沙星残留量为0.039 $\mu\text{g/g}$;在第50天肌肉和肝脏中都能检测到恩诺沙星和代谢物环丙沙星,两者之和分别为0.052 $\mu\text{g/g}$ 和109 $\mu\text{g/g}$ 。

恩诺沙星在水产品中的最高残留限量,在不同国家和地区、在不同动物中是不同的。欧盟规定水产品中恩诺沙星残留量是以恩诺沙星和代谢物环丙沙星的总量来计算,两者之和不得超过0.1 mg/kg^[22];而日本规定鳗鲡中恩诺沙星的最高限量为0.05 mg/kg,在其他水产品为0.1 mg/kg^[23];中国的口岸检验标准也参照日本的规定,规定鳗鲡中恩诺沙星的最高限量为0.05 mg/kg,但目前的实际操作中规定为不得检出(按鳗出口商品技术指南的检测方法,其检出限在0.01 mg/kg以内)^[23],主要是考虑到日本禁止此药在鳗鲡养殖中应用。尽管恩诺沙星在鳗鲡体内有较好的生物利用度和药效,但考虑到水产养殖中药物的消除还受许多其他因素的影响,若要以0.05 mg/kg残留限量制定恩诺沙星在欧鳗体内的休药期,至少应在50 d以上;若以0.01 mg/kg残留限量为标准,其休药期将会更长。恩诺沙星在欧鳗体内的消除时间如此之长,一旦使用,则水产品药物残留的风险很大,本研究的结果为欧洲鳗鲡养成阶段禁止使用恩诺沙星提供了充分的理论依据。

参考文献:

- [1] 应翔宇,杨永胜.兽用新型抗菌药物—恩诺沙星[J].中国兽药杂志,1995,29(3):53-56.
- [2] Martinsen B, Oppegaard H, Wichstrom B, et al. Temperature-dependent in vitro antimicrobial activity of four 4-quinolones and oxytetracycline against bacteria pathogenic to fish[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1992, 36(8): 1738-1743.
- [3] Bowser P R, Babish J G. Enrofloxacin in salmonids[J]. Vet Hum Toxicol, 1991, 33(Suppl 1): 46-48.
- [4] Dalsgaard I, Bjerregaard J. Enrofloxacin as an antibiotic in fish[J]. Acta Vet Scand Suppl, 1991, 87: 300-302.
- [5] 农业部《新编渔药手册》编撰委员会.新编渔药手册[M].北京:中国农业出版社,2005:208-209.
- [6] 张雅斌,刘艳辉,张祚新,等.恩诺沙星在鲢体内的药效学及药动力学研究[J].大连水产学院学报,2004,19(4):239-242.
- [7] Intorre L S, Cecchini S, Bertini A M, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin in the seabass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 2000, 182: 49-59.
- [8] Della Rocca G, Di Salvo A, Malvisi J, et al. The disposition of enrofloxacin in seabream (*Sparus aurata* L.) after single intravenous injection or from medicated feed administration[J]. Aquaculture, 2004, 232: 53-62.
- [9] Bowser P R, Wooster G A, St Leger J, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin in fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. J Vet Pharmacol Therap, 1992, 15(1): 62-71.
- [10] Stoffregen D A, Wooster G A, Bustos P S, et al. Multiple route and dose pharmacokinetics of enrofloxacin in juvenile Atlantic salmon[J]. J Vet Pharmacol Therap, 1997, 20: 111-123.
- [11] 方星星,王群,李健.恩诺沙星及其代谢物环丙沙星在中国对虾体内的药代动力学[J].水产学报,2004,28(增刊):35-41.
- [12] 吴成业,刘兆钧.中国鳗业面临的问题与对策[J].福建水产,2004(4):16-19.
- [13] 简纪常,吴灶和,陈刚.恩诺沙星在眼斑拟石首鱼体内的药物代谢动力学[J].中国兽医学报,2005,25(2):195-197.
- [14] 王广基.药物代谢动力学[M].北京:化学工业出版社,2005:64-85.
- [15] Lewbart G, Vaden S, Deen J, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pike (*Colossoma brachypomum*) after intramuscular, oral and bath administration[J]. J Vet Pharmacol Therap, 1997, 20: 124-128.
- [16] Martinsen B, Horsberg T E. Comparative single-dose pharmacokinetics of four quinolones, oxolinic acid, flumequine, sarafloxacin, and enrofloxacin, in Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in seawater at 10 °C [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1995, 39(5): 1059-1064.
- [17] Lucchetti D, Fabrizi L, Guandalini E, et al. Long depletion time of enrofloxacin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(10): 3912-3917.
- [18] Tyczkowska K, Hedeon K M, Aucoin D P, et al. High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of enrofloxacin and its primary metabolite ciprofloxacin in canine serum and prostatic tissue[J]. J Chro-

- matogr, 1989, 493: 337–346.
- [19] 曾振灵, 冯洪辉. 恩诺沙星在猪体内的生物利用度及药动学研究[J]. 中国兽医学报, 1996, 16(6): 605–612.
- [20] 徐维海, 林黎明, 朱校斌. 恩诺沙星及其代谢产物在吉富罗非鱼、中国对虾体内的残留规律研究[J]. 水产科学, 2004, 23(7): 5–8.
- [21] Gore R S, Harms C A, Kukanich B, et al. Enrofloxacin pharmacokinetics in the European cuttlefish, *Sepia officinalis*, after a single i. v. injection and bath administration[J]. J Vet Pharmacol Ther, 2005, 28(5): 433–439.
- [22] EU. Commission Regulation (EC) No. 1181/2002. Council Regulation (EEC) No. 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official Journal Consleg, 2003, 1990R 2377–28/06/2003.
- [23] 国家商务部. 出口商品技术指南——鳗鱼[M]. 2005.

Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in European eel (*Anguilla anguilla*) after a single oral gavage

FANG Wen-hong, YU Hui-juan, CAI You-qiong, ZHOU Kai, HUANG Dong-mei

(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China)

Abstract: The pharmacokinetics, tissue metabolism and elimination of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin were investigated in European eel, *Anguilla anguilla*, after administration by oral gavage at a dosage of 10 mg/kg. Plasma and tissue concentrations of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin were simultaneously determined by HPLC. The concentrations versus time in plasma, muscle and liver from the eel were well described by a two-department open model with first-order absorption. The present results indicated that enrofloxacin in European eel after oral dosing demonstrated that enrofloxacin had the ability to widely distribute to diverse tissues. The apparent volume of distribution of enrofloxacin of plasma, muscle and liver was 6.362 L/kg, 8.081 L/kg and 15.870 L/kg, respectively. Enrofloxacin eliminated slowly. The elimination half-life ($t_{1/2}$) was 161.10 h, 333.21 h and 611.26 h, respectively, and the total body clearance (CLs) was 27.4 mL/(kg·h), 16.8 g/(kg·h) and 18.0 g/(kg·h), respectively. The metabolite ciprofloxacin concentration-time profiles of the plasma, muscle and liver presented similar trend. The multi-peak phenomenon were observed in the plasma, muscle and liver, but the first peak time was 24 h, 24 h and 12 h, respectively. The peak residue of metabolite ciprofloxacin was in liver, muscle and plasma, ordinally. The eliminating rate of ciprofloxacin from muscle and liver was very low. Considering that the eliminating rates of enrofloxacin and metabolite ciprofloxacin were very slow, we suggested that other antibacterial drugs used to prevent and treat bacterial diseases in the process of the eel's growing-up. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(4): 622–629]

Key words: *Anguilla anguilla*; Enrofloxacin; metabolite: ciprofloxacin; pharmacokinetics