

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.01032

异育银鲫体内阿维菌素血脑屏障渗透性及组织残留

阮记明^{1,2}, 胡鲲¹, 杨先乐¹, 章海鑫³, 王伟¹, 周爱玲¹, 赵依妮¹

1. 上海海洋大学 国家水生动物病原库, 上海 201306;
2. 江西农业大学 动物科学技术学院, 江西 南昌 330045;
3. 江西省水产科学研究所, 江西 南昌 330039

摘要: 采用脑组织匀浆法和高效液相色谱法(HPLC), 检测异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)体内不同浓度下阿维菌素(Avermectin, AVM)血脑屏障渗透性及其组织残留情况。结果显示, AVM 在其 3 个半数致死浓度(24 h LC₅₀: 0.127 mg/L、48 h LC₅₀: 0.071 mg/L、96 h LC₅₀: 0.039 mg/L)及其安全用药浓度(0.003 9 mg/L)下, 均能从异育银鲫脑组织中检测出 AVM; 其中 24 h LC₅₀ 浓度下脑中 AVM 含量最高, 为(0.292±0.005) μg/g; 并且各半数致死浓度之间脑中 AVM 含量差异均极显著($P<0.05$)。结果表明, 不同浓度条件下 AVM 均能渗透通过血脑屏障进入异育银鲫脑组织, 其含量与 AVM 用药浓度呈正相关。另外, 在安全用药浓度(0.003 9 mg/L)条件下, AVM 在各组织中的浓度-时间数据经 DAS 3.0 药物代谢动力学软件拟合后发现均符合非房室模型, 其主要药代动力学参数大小关系表现为: (1)达峰时间(T_{max}): 肌肉<脑<肝<肾; (2)峰浓度(C_{max}): 肝>肾>肌肉>脑; (3)末端消除半衰期($T_{1/2Z}$): 肝>脑>肾>肌肉; (4)药时曲线下面积(AUC): 肝>肾>脑>肌肉。本研究结果可为研究鱼类血脑屏障、AVM 神经毒性及其在水产养殖上的应用提供参考。

关键词: 阿维菌素; 组织匀浆法; 高效液相色谱法; 血脑屏障; 异育银鲫

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)05-1032-07

阿维菌素(Avermectin, AVM)是阿维链霉菌素通过自然发酵得到的产物, 包括阿维菌素 B_{1a} 和 B_{1b} 两种成分, 由于其具有优良、广谱抗寄生虫作用而被广泛应用。AVM 同时也是一种神经毒剂, 动物发生 AVM 急性中毒时, 主要表现为中枢和外周神经症状^[1]。徐颖等^[2]研究表明, 大鼠阿维菌素经口给药后, 急性中毒发生后可见神经毒性症状, 轻者表现为中枢抑制, 重者表现为中枢兴奋, 出现特征性毒性症状和震颤。崔雅莉等^[3]对体外培养王鸽脑神经细胞进行 AVM 染毒后也有相似结果。Kokoz 等^[4]用大鼠脑片进行 AVM 体外毒性实验, 结果也证实 AVM 对哺乳动物有选择性的细胞毒性和神经毒性。另外, 王鸽在阿维菌素半

数致死浓度(537.03 mg/kg)下, 其小脑病理变化主要表现为水肿、充血和出血等^[5]。周帅等^[6]在研究阿维菌素水乳剂、乳油对鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)的急性毒性时发现, 以上 3 种鱼均表现为神经性中毒症状。徐文彦等^[7]研究阿维菌素对黄河鲤(*Cyprinus carpio* Linnaeus)急性毒性时推断, AVM 作用于中枢神经和外周神经而导致中毒初期兴奋, 后期反应迟钝。另外, AVM 还被报道能降低雄鱼金鱼生殖腺指数、抑制精巢 γ-谷氨酰转移酶活性等^[8], 表明 AVM 对鱼类具有潜在的生殖毒性。

AVM 是水产养殖中最为常用的寄生虫性疾

收稿日期: 2013-01-06; 修订日期: 2013-03-20.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172430); 科技部 863 计划项目(2011AA10A216); 农业部公益性行业专项(201203085); 上海市高校知识服务平台项目; 国家科技基础条件平台项目.

作者简介: 阮记明(1974-), 男, 在读博士, 从事水产病害、水质调控等研究. E-mail: rjm903@163.com.

通信作者: 杨先乐(1949-), 教授. E-mail: xlyang@shfu.edu.cn.

病防治药物之一。目前, 许多研究表明, AVM 对水产动物具有毒性^[9-11], 而引起中毒, 特别是神经毒性的机制方面缺乏研究。脑组织匀浆法是考察药物血脑屏障(Blood-Brain Barrier, BBB)通透性的体内评价方法之一^[12]。本研究拟以异育银鲫(*Carassais auratus gibeio*)为研究对象, 采用脑组织匀浆法和高效液相色谱法, 通过检测脑组织中是否含有 AVM 以判断 AVM 血脑屏障通透性; 研究不同浓度下 AVM 在脑组织及其外周组织中的残留情况, 拟为鱼类血脑屏障研究、AVM 神经毒性及其在水产养殖上的临床应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 体质量为 (60.04 ± 5.02) g 的健康异育银鲫, 购自江苏省南通市某农场, 暂养 2 周后开始。暂养及实验期间水温为 $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$; 自然光照; 实验用水为充分曝气的自来水; 24 h 连续充气; 实验用水族箱规格为 100 cm $\times$ 80 cm $\times$ 80 cm。

1.1.2 主要仪器、药品和试剂 Agilent-1100 型高效液相色谱仪(四元泵、自动进样器、柱温箱、G1321A 荧光检测器)、超纯水系统(purelab prima120)、漩涡混合器、精密电子天平(Mettler AB104-N)、氮气吹干仪和高速冷冻离心机(Allegrax-15R)等。

AVM 标准品、N-甲基咪唑、三氟乙酸酐购自 Sigma 公司。AVM 由武汉科洋生物工程有限公司提供。正己烷、乙腈、甲醇、四丁基溴化铵为 HPLC 级(由国药集团化学有限公司购进)。其中, AVM 检测衍生化试剂 A: N-甲基咪唑: 乙腈=1:1(V/V); 衍生化试剂 B: 三氟乙酸酐: 乙腈=1:2(V/V)。

1.2 方法

1.2.1 给药方式 AVM 根据前期实验所得到的 24 h、48 h 及 96 h LC_{50} 及安全浓度(Safe Concentration, SC)(0.127、0.071、0.039、0.0039 mg/L)泼洒用药。泼洒用药前先将 AVM 配制标准储备液, 然后根据实验时水族缸中的实际水体积, 结合所需达到的实验终浓度, 计算各组相应所需 AVM 标准储备液用量, 然后泼洒用药并充

分混匀。

1.2.2 样品采集

(1)用于测定半数致死浓度的组织样品 AVM 根据 1.2.1 中相应半数致死浓度泼洒用药。在每个半数致死浓度试验中, 将实验鱼分为 3 组, 每组 20 尾; 并于用药后对应的时间点(第 24、48、96 小时)采集脑、肝、肾、肌肉这 4 种组织样品, 用于药物血脑屏障渗透性及组织残留检测。

(2)用于测定 AVM 安全浓度的组织样品 选择 300 尾经过暂养的健康异育银鲫随机分成 6 组, 每组 50 尾; 按照安全浓度(0.003 9 mg/L)泼洒用药, 分别于给药后 0.083、0.25、0.5、1、2、3、6、12、24、48、72、96、120、144、192 h 这 15 个时间点随机采集 18 尾异育银鲫脑、肝、肾和肌肉样品, 其中每 6 尾的相同组织样品混合为 1 个液相检测样品, 即每个时间点可以得到 3 个液相检测样品, 放入 -20°C 冷冻以用于 AVM 药物残留检测。给药前采取同一批实验鱼对应空白组织样品。

1.2.3 组织样品处理 参照文献[13]的方法, 准确称取鲫脑、肝、肾及肌肉 (1.00 ± 0.05) g 组织匀浆, 置于离心管中, 再加入乙腈 5 mL, 涡旋 4 min; 超声 5 min, 再 4 000 r/min 离心 10 min 后将上层有机相转至另一离心管中; 残渣用乙腈 4 mL 重复提取 1 次; 合并上清液, 以相同转速再离心 10 min, 然后将上清液转至另一离心管中, 置 55°C 水浴锅中氮气吹干, 再向残余物中加入乙腈 1 mL 和正己烷 4 mL, 涡旋 1 min, 超声 1 min, 相同转速离心 10 min, 吸取下层有机相于另一离心管中, 置 55°C 水浴锅中氮气吹干。

向离心管中加入衍生化试剂 A 液 100 μL , 涡旋 30 s, 再加入衍生化试剂 B 液 150 μL , 涡旋 30 s, 密闭, 室温下避光反应 30 min, 加入甲醇 750 μL 至 1 mL, 水解 30 min, 经 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤, HPLC 分析。

1.2.4 色谱条件 参照文献[14]的方法, 色谱柱: ZORBAX SB2C-18 分析柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈: 水=98: 2(V/V); 检测器: 荧光检测器; 检测波长: 激发波长 365 nm, 发射波长 475 nm; 流速: 1.5 mL/min; 柱温: 室温; 进样

量: 20 μL 。

1.2.5 标准曲线绘制及回收率和精密度测定

(1)标准曲线 将 AVM 标准品分别配制成 0.01、0.025、0.05、0.25、0.5、2.5、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准液, 经 0.45 μm 滤膜过滤后进行 HPLC 分析。以峰面积(A_i)为纵坐标, 质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线。

(2)回收率和精密度 将 0.25、0.5、2.5 $\mu\text{g/g}$ 的 AVM 标准品添加到脑、肝、肾及肌肉空白组织样品中, 每个浓度 3 个平行, 每个平行设 1 个空白对照, 按照 1.2.3 中组织样品处理方法操作, 以测定回收率、日内及日间精密度。

回收率(%)=样品实测浓度/样品理论浓度 $\times 100\%$ 。

1.2.6 数据处理 采用 Microsoft Excel 绘制药物标准曲线; 利用 DAS 3.0 药代动力学软件计算药物代谢动力学参数。

2 结果与分析

2.1 AVM 检测方法学确证

高效液相色谱图显示, AVM 保留时间为 4.08 min(图 1), AVM 能较好地与杂质分离, 基线平稳; 其最低检测限为 0.01 $\mu\text{g/mL}$, 且在 0.01~5 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈线性关系(图 2), AVM 回归方程及相关系数分别为 $y=258.31x+11.118$, $R^2=0.996$ 。

组织样品按 1.2.3 处理方法操作后, 测得脑、肝、肾及肌肉组织中 AVM 的平均回收率处于 85.75%~97.48%; 其日内精密度系数均不大于 5%; 日间精密度系数均不大于 5.8%; 以上数据提示本方法符合本实验药代动力学研究的技术要求。

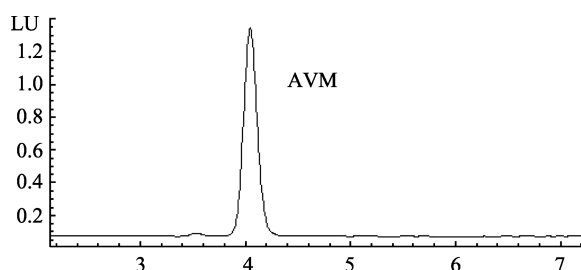


图 1 阿维菌素标准色谱图

Fig.1 Standard HPLC chromatogram of Avermectin

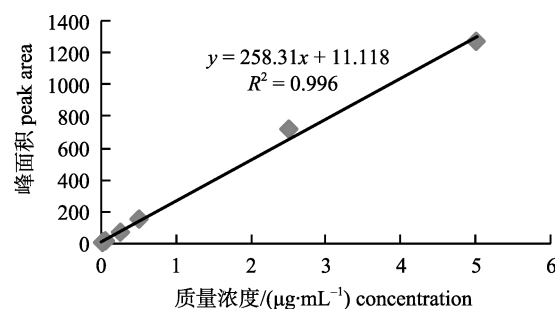


图 2 阿维菌素标准曲线

Fig.2 Standard curve of Avermectin

2.2 AVM 血脑屏障渗透性

2.2.1 半数致死浓度下 AVM 血脑屏障渗透性

AVM 根据前期实验所得到的 24 h、48 h 及 96 h LC_{50} (0.127、0.071、0.039 mg/L)泼洒用药, 依据 1.2 中的相关方法检测脑组织中 AVM 的含量。结果显示, 在上述 3 个 LC_{50} 浓度下, 均能在异育银鲫脑组织中检测到 AVM 存在(表 1); 24 h LC_{50} 浓度下脑中 AVM 含量最高, 为 $(0.292 \pm 0.005) \mu\text{g/g}$, 并且各半数致死浓度之间脑中 AVM 含量差异均极显著($P < 0.01$)。结果表明脑组织中 AVM 含量与其用药浓度呈正相关。

表 1 半数致死浓度下脑组织阿维菌素含量测定结果

Tab.1 Contents of Avermectin in brain under LC_{50}

时间/h time	半数致死浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) LC_{50}	含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) content in brain
24	0.127	0.292 ± 0.005^E
48	0.071	0.118 ± 0.001^C
96	0.039	0.069 ± 0.004^A

注: 同一列上标字母不同者差异显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

Note: Values with different letter superscripts in the same column are significantly different at 0.05 or 0.01 level.

2.2.2 安全浓度下脑组织中 AVM 含量 根据前期实验所得到的安全浓度(0.003 9 mg/L)泼洒用药后, 其脑中 AVM 的药时曲线如图 3 所示。结果显示, 在整个实验过程中, 除在用药后第 1 小时出现 1 个最低值 ($0.005 1 \mu\text{g/g}$)和用药后第 2 小时出现峰值($0.020 0 \mu\text{g/g}$)之外, 在整个实验期间, 特别是用药后第 12 小时之后的时间点, 脑中 AVM 含量变化幅度不大。

2.3 AVM 组织残留结果

2.3.1 半数致死浓度下组织残留 以 AVM 24 h、

48 h 及 96 h 半数致死浓度(0.127、0.071、0.039 mg/L)泼洒用药后, 肝、肾及肌肉组织中 AVM 残留结果如表 2 所示。结果显示, 在 3 种组织中, 均以 24 h LC_{50} 浓度下 AVM 残留量最大, 且均极显著高于在 96 h LC_{50} 下的残留量($P<0.05$); 而在 3 个 LC_{50} 下, 均以肝组织 AVM 残留量最大, 肾次之, 肌肉中残留量最小。其结果显示各组织中 AVM 残留量与其用药浓度也呈正相关。

2.3.2 AVM 安全浓度下组织残留结果 以 AVM 安全浓度(0.003 9 mg/L)泼洒用药后, 其药物代谢动力学参数如表 3 所示, 肝、肾及肌肉 3 个组织中 AVM 残留结果如图 4。AVM 在各组织(包括脑

组织)中的浓度-时间数据经 DAS 3.0 药物代谢动力学软件拟合后发现, 符合非房室模型, 其主要药代动力学参数大小关系表现为: (1)达峰时间(T_{max}): 肌肉<脑<肝<肾; (2)峰浓度(C_{max}): 肝>肾>肌肉>脑; (3)末端消除半衰期($T_{1/2Z}$): 肝>脑>肾>肌肉; (4)药时曲线下面积(AUC): 肝>肾>脑>肌肉。

3 讨论

3.1 AVM 血脑屏障渗透性

目前, 关于药物透过机体血脑屏障、血乳屏障、血辜屏障的现象已经有大量的报道。在药物透过血脑屏障研究方面, 丁明玉等^[15]采用反相高

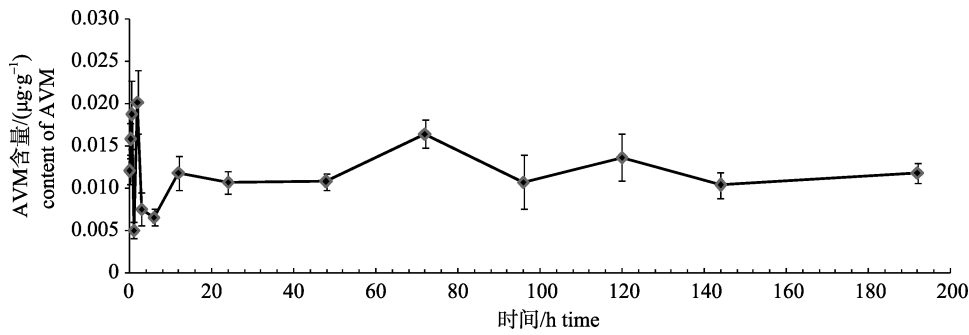


图 3 安全浓度下脑组织阿维菌素药时曲线

Tab.3 The concentration-time curve of Avermectin in brain under the safe concentration

表 2 半数致死浓度下阿维菌素在各组织中的含量

Tab.2 Tissue residual of Avermectin under LC_{50} of 24 h, 48 h and 96 h

时间/h time	半数致死浓度 /(mg·L ⁻¹) LC_{50}	肝含量/(μg·g ⁻¹) content in liver	肾含量/(μg·g ⁻¹) content in kidney	肌肉含量/(μg·g ⁻¹) content in muscle
24	0.127	0.940±0.146 ^{Cd}	0.339±0.015 ^{Cb}	0.126±0.013 ^{Ca}
48	0.071	0.275±0.062 ^{Ac}	0.302±0.027 ^{Cc}	0.073±0.005 ^{Aa}
96	0.039	0.160±0.041 ^{Ad}	0.139±0.016 ^{Ac}	0.065±0.003 ^{Aa}

注: 同一行上标小写字母不同者差异显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 同一列上标大写字母不同者差异显著($P<0.05$ 或 $P<0.01$).
Note: Values with different lowercase letter superscripts in the same row are significantly different at 0.05 or 0.01 level. Values with different capital letter superscripts in the same column are significantly different at 0.05 or 0.01 level.

表 3 阿维菌素安全浓度下各组织药物代谢动力学参数

Tab.3 Pharmacokinetic parameters of Avermectin in different tissues under safe concentration

药代动力学参数 parameter	脑 brain	肝 liver	肾 kidney	肌肉 muscle
达峰时间/h T_{max}	2	3	96	0.5
峰浓度/(μg·g ⁻¹) C_{max}	0.0202	0.1392	0.0510	0.0270
末端消除半衰期/h $T_{1/2Z}$	114.882	428.038	39.849	38.873
表观分布容积/(L·kg ⁻¹) Vz/F	186.615	130.493	43.713	70.353
清除率/(kg ⁻¹ ·h ⁻¹) CLz/F	1.126	0.211	0.760	1.254
药时曲线下面积/(μg·mL ⁻¹ ·h ⁻¹) AUC	3.553	18.933	5.262	3.189

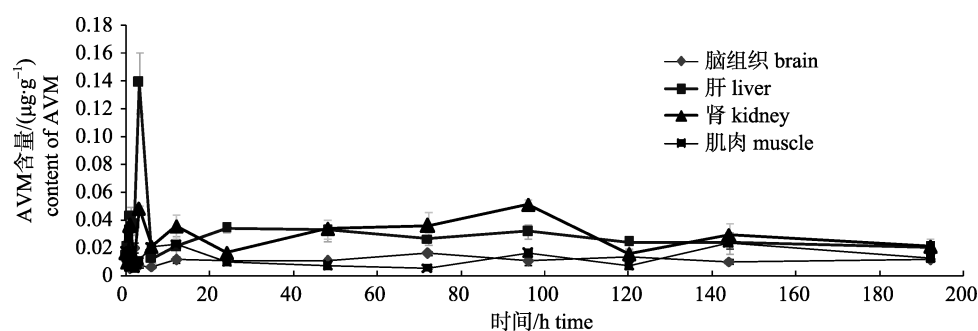


图 4 安全浓度下肝、肾、肌肉阿维菌素药时曲线

Tab.4 The concentration-time curves in liver, kidney and muscle following the safe concentration of Avermectin

效液相色谱法测定了实验动物脑匀浆中的川芎嗪, 结论认为川芎嗪能够透过血脑屏障。大鼠动脉灌注培氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、氟罗沙星和司帕沙星等氟喹诺酮类药物后, 在其脑组织中可以检测到相应药物的存在^[16]。在体外研究方面, 也有关于氟喹诺酮类药物透过血脑屏障的报道^[17]。在药物透过血乳屏障研究上, 在克罗地亚, 从牛初乳中检测出了包括阿莫西林在内的多种兽药^[18]。Escudero 等^[19]从哺乳山羊的乳中检测到双氟沙星, 表明其能透过血乳屏障。血脑屏障方面, Hoy 等^[20]研究表明 AVM 能透过大西洋鲑血脑屏障而产生毒性效应。目前, 还未见有关于 AVM 是否能通过鱼类血脑屏障的报道。

药物会因机体血脑屏障的存在使其难以进入脑组织, 因此, 药物是否具有对血脑屏障的穿透力是考核其脑部治疗效果或判断其神经毒性的重要指标。目前用于评价药物血脑屏障通透性的方法主要有体内评价、体外评价以及数学模型法等。药物血脑屏障通透性的体内评价方法主要是测定实验动物脑组织及脑脊液中的药物成分, 脑组织匀浆法是考察药物血脑屏障通透性的体内评价方法之一^[12]。本研究采用脑组织匀浆法, 测定了异育银鲫体内 AVM 对血脑屏障通透性, 及投放不同浓度 AVM 后脑组织中 AVM 的含量变化。结果显示, 在 AVM 24 h、48 h 及 96 h LC_{50} (0.127、0.071、0.039 mg/L)及安全浓度(0.003 9 mg/L)条件下, 异育银鲫脑中均检测到 AVM 存在(表 1、图 3), 说明 AVM 能渗透通过异育银鲫的血脑屏障

而进入脑组织。另外, 3 个不同浓度 AVM 暴露组银鲫脑组织中的 AVM 残留量差异均极显著(表 1), 其中 24 h LC_{50} 浓度下脑中 AVM 含量最高, 为 $(0.292 \pm 0.005) \mu\text{g/g}$, 结合安全浓度(0.003 9 mg/L)条件下的脑组织的测定结果(峰值: $0.02 \mu\text{g/g}$), 说明异育银鲫脑组织中 AVM 的含量与其用药浓度呈正相关。

阿维菌素属高毒类物质, 其毒性主要表现为神经毒性。李术等^[5]研究阿维菌素对体外培养王鸽脑神经细胞的影响时也有类似发现, 阿维菌素诱导的神经细胞凋亡和细胞坏死有随着阿维菌素剂量递增而增加的趋势。程广东^[21]通过体内研究发现, 王鸽 AVM 亚急性中毒时脑组织存在细胞凋亡现象, 随着染毒剂量的升高, 凋亡细胞的数量亦增加。Jenčič 等^[22]研究发现, 阿维菌素能对虹鳟的肾、肝、脾、肠和脑组织等造成损害。本研究在不同浓度 AVM 暴露下的异育银鲫脑组织中均检出 AVM 的存在, 这是证明 AVM 具有神经毒性的有力佐证。

据倪彩霞等^[23]的研究提示, 药物的脂溶性部位可能是其作用于脑组织的物质基础。有研究表明, 强力霉素作为一种半合成的四环素类抗生素, 由于其脂溶性高而容易透过血脑屏障^[24]。目前, 对于 AVM 进入异育银鲫脑组织的机制尚不清楚, 这可能与脂溶性性质有关。AVM 是由链霉菌发酵菌丝产生的一组大环内酯类物质, 具有高度的脂溶性^[25], 由此推断该类物质能较好地透过血脑屏障的原因在于其具有脂溶性。

3.2 组织中 AVM 残留

AVM 作为一种新型、高效的鱼类抗寄生虫药剂, 在国内外水产养殖中已被广泛使用。目前, 虽然在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)^[13]、南美白对虾(*Penaeus vannamei*)^[14]、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)^[14]、鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[26]等水产动物中有许多关于 AVM 残留的报道, 但对于 AVM 在水产动物中的药物代谢动力学还鲜有研究。本研究不但探讨了 3 个半数致死浓度下肝、肾及肌肉组织中的 AVM 残留情况(表 2), 而且还研究了 AVM 安全浓度(0.003 9 mg/L)下肝、肾及肌肉 3 个组织中 AVM 的代谢消除过程(图 4)。半数致死浓度下各组织 AVM 残留结果显示, 在 3 种组织中, 均以 24 h LC_{50} 浓度下的 AVM 残留量最大, 且均极显著高于 96 h LC_{50} 浓度下对应组织的残留量; 另外在 3 个 LC_{50} 浓度下, 均以肝组织残留量最大, 肾次之, 肌肉中残留量最小。结果显示各组织中 AVM 残留量与其用药浓度也呈正相关。另外, AVM 在各组织(包括脑组织)中的浓度-时间数据经 DAS 3.0 药物代谢动力学软件拟合后发现符合非房室模型, 这可能与 AVM 泼洒用药方式有关(AVM 泼洒用药时, 药物可以通过经皮肤、鳃、黏膜及肠道等多种途径吸收)。各组织间达峰时间(T_{max})由低到高依次为肌肉、脑、肝、肾, 肌肉组织中的达峰时间最短, 这可能因为 AVM 经泼洒用药后, 药物可以通过经皮肤、鳃、黏膜及肠道等多种途径吸收, 而皮肤吸收面积最大且和肌肉接触紧密。各组织间末端消除半衰期($T_{1/2Z}$)由高到低依次为肝、脑、肾、肌肉, 同时已知 AVM 具有高度的脂溶性^[25], 因此这可能与肝、脑组织中脂肪含量较高有关,

本研究运用脑组织匀浆法, 首次从异育银鲫的脑组织中检测到了 AVM 的存在, 说明 AVM 能透过血脑屏障进入异育银鲫脑组织, 这一方面预示 AVM 可以应用于异育银鲫或其他水产动物脑部寄生虫疾病的治疗, 另一方面也提示在临床使用 AVM 时应考虑其中潜在的风险(例如神经毒性)。本研究从异育银鲫脑组织中检测出 AVM 的存在, 这为进一步研究阿维菌素类药物对鱼类的

神经毒性机理奠定了基础。

参考文献:

- [1] 扈洪波, 朱蓓蕾, 李俊锁. 阿维菌素类药物的研究进展[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(6): 520-529.
- [2] 徐颖, 陈淑芬, 姜红, 等. 阿维菌素原药对大鼠脑细胞毒性的初步研究[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(3): 226-228.
- [3] 崔雅莉, 王敏, 黄蔚, 等. 线粒体损伤在阿维菌素致体外培养神经细胞凋亡中的作用[J]. 中国兽医科学, 2007, 37(11): 969-973.
- [4] Kokoz Y M, Tsyganova V G, Korystova A F, et al. Selective cytostatic and neurotoxic effects of avermectins and activation of the GABA α receptor[J]. Biosci Rep, 1999, 6(19): 535-546.
- [5] 李术, 沈建忠, 徐世文. 阿维菌素对鸽半数致死浓度的实验[J]. 中国兽医科技, 2003, 33(6): 48-50.
- [6] 周帅, 房文红, 吴淑勤. 渔用阿维菌素水乳剂的安全性和药效评价[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 3: 327-331.
- [7] 徐文彦, 郭国军, 齐子鑫, 等. 阿维菌素和甲苯咪唑对黄河鲤的急性毒性研究[J]. 淡水渔业, 2011, 41(2): 88-91.
- [8] 邴欣, 汝少国, 周文礼, 等. 阿维菌素的环境雌激素活性和生殖毒性评价[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2008, 54(6): 745-750.
- [9] 严海娟, 于莉, 夏锦瑜, 等. 阿维菌素和氟虫腈对锦鲤的急慢性毒性效应[J]. 江苏农业科学, 2011, 4: 363-365.
- [10] 王锡珍, 陆宏达. 关于阿维菌素对异育银鲫的急性毒性和组织病理研究[J]. 大连水产学院学报, 2010, 25(1): 66-70.
- [11] 郑燕, 蔡雷鸣. 阿维菌素对南美白对虾的急性毒性试验[J]. 现代农业科技, 2009, 23: 326-327.
- [12] 吴雪, 欧阳丽娜, 向大位, 等. 药物血脑屏障通透性评价方法的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 10: 862-864.
- [13] 陈静, 罗永煌, 付利芝. HPLC 检测草鱼组织中阿维菌素和伊维菌素的多残留[J]. 中国兽药杂志, 2009, 12: 17-20.
- [14] 秦改晓, 袁科平, 艾晓辉. 高效液相色谱法测定水产品中阿维菌素的残留量[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(1): 84-88.
- [15] 丁明玉, 罗施中, 刘海, 等. 反相高效液相色谱法测定实验动物血液和脑组织中川芎嗪[J]. 色谱, 2000, 1: 48-50.
- [16] De Lange E C M, Marchand S, van den Berg D, et al. *In vitro* and *in vivo* investigations on fluoroquinolones: Effects of the P-glycoprotein efflux transporter on brain distribution of sparfloxacin[J]. Eur J Pharm Sci, 2000, 12(2): 85-93.
- [17] Jaehde U, Goto T, de Boer A G, et al. Blood-brain barrier transport rate of quinoline antibacterials evaluated in cerebrovascular endothelial cell cultures[J]. Eur J Pharm Sci,

- 1993, 1(1): 49–55.
- [18] Bilandžić N, Kolanović B S, Varenina I, et al. Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia[J]. Food Control, 2011, 22(12): 1941–1948.
- [19] Escudero E, Marín P, Cárcelos C M, et al. Pharmacokinetic and milk penetration of a difloxacin long-acting poloxamer gel formulation with carboxy-methylcellulose in lactating goats [J]. Vet J, 2011, 188(1): 92–95.
- [20] Hoy T, Horsberg T E, Nafstad I. The Disposition of ivermectin in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) [J]. Pharmacol Toxicol, 1990(67): 307–312.
- [21] 程广东. 阿维菌素致王鸽脑组织损伤机理的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2005: 32–33.
- [22] Jenčič V, Černe M, Eržen N K, et al. Abamectin effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Ecotoxicology, 2006, 3(15): 249–257.
- [23] 倪彩霞, 曾南, 汤奇, 等. 芳香开窍药对脑缺血再灌注损伤小鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2639–2640.
- [24] 蒋国会, 李光, 勤朱洁. 强力霉素对溶栓脑缺血大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2009, 16(1): 30–33.
- [25] Roth M, Richards R H, Sommerville C. Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture—A review[J]. J Fish Dis, 1993(16): 1–26.
- [26] 邢丽红, 冷凯良, 翟毓秀, 等. 鲈鱼组织中阿维菌素、伊维菌素残留的高效液相色谱荧光检测法研究[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(4): 52–57.

Blood-brain barrier permeability and residual tissue characteristics of Avermectin(AVM) in *Carassius auratus gibelio*

RUAN Jiming^{1,2}, HU Kun¹, YANG Xianle¹, ZHANG Haixin³, WANG Yi¹, ZHOU Ailing¹, ZHAO Yini¹

1. Shanghai Ocean University, National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai 201306, China;

2. College of Animal Sciences and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

3. Jiangxi Fisheries Research Institute, Jiangxi, Nanchang 330039, China

Abstract: Using tissue homogenate and high performance liquid chromatography(HPLC) methods, the blood-brain barrier permeability and residual tissue characteristics in *Carassius auratus gibelio* were examined under different Avermectin (AVM) concentrations. AVM was detected in the *C. auratus gibelio* brain under the median lethal concentrations (LC_{50} = 0.127 mg/L, 0.071 mg/L, and 0.039 mg/L) at 24 h, 48 h, and 96 h, respectively and the safety concentration (SC: 0.003 9 mg/L). Significant differences in the brain AVM contents among the three median lethal concentrations were observed($P<0.05$). The brain AVM content was highest at 24 h LC_{50} [(0.292±0.005) µg/g]. The above results show that AVM can penetrate the blood-brain barrier into the *C. auratus gibelio* brain under different concentrations. Furthermore, the brain AVM contents were positively correlated with initial drug concentration. In addition, the AVM concentration-time data in the brain, liver, kidney, and muscle were all in line with the non-compartmental method in the DAS 3.0 pharmacokinetics software under the safe concentration (0.0039 mg/L). The main pharmacokinetic parameters were as follows: (1) T_{max} : muscle<brain< liver<kidney;(2) C_{max} : liver>kidney>muscle>brain; (3) $T_{1/2\alpha}$: liver>brain>kidney>muscle; (4) AUC: liver>kidney> brain>muscles. The results of this paper provide references for future fish blood-brain barrier research, and AVM nerve toxicity mechanism investigations and its application in aquaculture.

Key words: Avermectin; tissue homogenate method; HPLC; blood-brain barrier; *Carassius auratus gibelio*

Corresponding author: YANG Xianle. E-mail: xlyang@shfu.edu.cn