

文章编号: 1674-5566(2013)02-225-07

不同温度下氟苯尼考在鳗鲡体内药代动力学的比较

林 茂^{1,2}, 陈政强¹, 纪荣兴¹, 杨先乐³, 王 见¹

(1. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021; 3. 上海海洋大学 国家水生动物病原库, 上海 201306)

摘要: 采用对个体连续采血的方法, 研究了不同水温条件下氟苯尼考以 30 mg/kg 的单剂量混饲口灌给药后在日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 体内的药代动力学特征。利用 DAS 软件的统计矩原理计算每个个体的药时曲线关系, 获得药动学参数, 单因素方差分析结果表明, 不同温度实验组间多个药动学参数存在显著性差异 ($P < 0.05$)。20 °C、24 °C 和 28 °C 实验组药物峰浓度 (C_{max}) 分别为 (7.839 ± 1.125) 、 (13.010 ± 2.334) 和 (18.267 ± 3.717) $\mu\text{g}/\text{mL}$, 达峰时间 (T_{max}) 分别为 (6.500 ± 2.070) 、 (4.500 ± 1.414) 和 (3.429 ± 0.926) h, 这表明温度越高吸收越多越快。表观分布容积 (V_{zF}) 分别为 (3.964 ± 0.594) 、 (2.466 ± 0.672) 和 (1.841 ± 0.485) L/kg, 表明温度较高时氟苯尼考与血浆蛋白的结合更多。平均滞留时间 ($MRT_{0-\infty}$) 分别为 (31.503 ± 7.117) 、 (22.881 ± 4.940) 和 (22.134 ± 6.204) h, 消除半衰期 ($t_{1/2z}$) 分别为 (21.243 ± 5.166) 、 (14.994 ± 4.293) 和 (14.656 ± 5.061) h, 24 °C 和 28 °C 水温下的消除速率显著快于 20 °C 实验组。药时曲线下面积 ($AUC_{0-\infty}$) 分别为 (235.580 ± 62.013) 、 (271.983 ± 75.023) 和 (353.192 ± 92.491) $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$, 表明水温对相对生物利用度有显著影响。

研究亮点: 本文在水产动物药动学的研究中采用了单个个体连续采血的“二步法”, 获得不同水温实验组中每一个体的药动学参数, 进而利用统计软件对各组间个体的药动学参数进行显著性差异分析, 能更为充分地阐明水温对氟苯尼考在鳗鲡体内药动学的影响程度。

关键词: 氟苯尼考; 鳗鲡; 药代动力学; 温度
中图分类号: S 948
文献标志码: A

氟苯尼考 (florfenicol, FFL) 作为新一代氯霉素类抗生素常用于动物细菌性疾病的治疗, 与氯霉素 (chloramphenicol, CAP) 相比, 它的化学结构中以磺酰甲基取代了氯霉素的 $-\text{NO}_2$ 基团, 因此避免了潜在的骨髓抑制或再生障碍性贫血等危害^[1]。而且氟苯尼考对多种革兰氏阳性、阴性细菌和支原体等具有广谱的抗菌作用, 尤其对水生动物致病菌包括嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)、鳗弧菌 (*Vibrio anguillarum*)、迟缓爱德华菌 (*Edwardsiella tarda*) 等表现出强效的抗菌活性^[2]。目前, 氟苯尼考以其安全、广谱、高效、吸收迅速和分布广泛等特点在水产养殖中广泛用于细菌性疾病的治疗。

近年来, 氟苯尼考在多种水产动物中的药动

学研究多有报道, 如罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)、鲫 (*Carassius auratus gibelio*)、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)、韩国鲇鱼 (*Silurus asotus*)、锦鲤 (*Cyprinus carpio*)、大西洋鲑 (*Salmo salar*)、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、鳕鱼 (*Gadus morhua*)、西伯利亚鲟 (*Acipenser baeri*)、中华鳖 (*Trionyx sinensis*)、中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 等^[3-15], 给药方式多采用混饲口灌, 有的也同时研究了肌肉注射或静脉注射给药后的药动学^[5,8,13], 给药剂量大多采用 10、20 或 30 mg/kg, 个别研究也采用 50 mg/kg 等其它剂量^[8]。氟苯尼考在鳗鲡中的药动学研究也有过报道, 余培建等^[16]研究了 27 °C 水温下氟苯尼考以 100 mg/kg

收稿日期: 2012-03-31

修回日期: 2012-05-28

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201203085); 福建省自然科学基金项目 (2008J0069)

作者简介: 林 茂 (1977—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为水产动物疾病与药理学。E-mail: linmao@jmu.edu.cn

的单剂量口灌或肌注给药后在欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)体内的药动学,笔者之前以制订休药期为目的也探讨过25℃水温下氟苯尼考以30 mg/kg的多剂量口灌给药后在日本鳗鲡和欧洲鳗鲡体内的残留消除规律^[17]。本文则主要是为制订给药方案提供科学依据,比较研究了在20℃、24℃和28℃的水温下氟苯尼考以30 mg/kg的单剂量口灌给药后在日本鳗鲡体内的药动学特征。

1 材料与方法

1.1 试剂

氟苯尼考标准品(质量分数≥99.7%)为Dr. Ehrenstorfer产品;氟苯尼考原料药(质量分数≥99.0%)为张家港市恒盛药用化学有限公司产品;氯霉素标准品(质量分数≥99.4%)由上海药品检验所提供;乙腈(色谱纯)为Tedia产品。

1.2 色谱条件

高效液相色谱仪为Agilent-1100;色谱柱为Agilent C18 Hypersil ODS(4.0 mm × 250 mm, 5 μm),柱温40℃;紫外检测波长为223 nm;流动相为V(乙腈):V(水) = 23:77,流速为0.8 mL/min;进样量10 μL。

1.3 实验动物

日本鳗鲡经抽样检测血液和肌肉组织无氟苯尼考残留,选取30尾健康鳗鲡分为3组,每组10尾,每尾鳗鲡单独置于使用水循环系统的水族箱(68 cm × 38 cm × 38 cm)中暂养。3组水体分别逐渐调温至20℃、24℃和28℃,各组温度稳定1周后给药。暂养期间早晚投饵,灌药前一天停饵,给药12 h后继续投饵。

1.4 给药

配制含15 mg/mL氟苯尼考原料药的糊状饲料^[17],每尾鳗鲡给药前称重,实验鳗鲡体重为(516 ± 37)g。然后分别以30 mg/kg体重的剂量通过导管灌胃给药,放回水中观察无回吐的鳗鲡继续实验。

1.5 采血

分别于给药后0.5、1、2、4、8、12、24、36 h采集鳗鲡血样,从水中捞出鳗鲡,并以湿纱布束缚后从尾静脉抽血,抽完血以酒精棉按压针眼片刻后放回原水箱。每次采集约0.3 mL血液于1%肝素钠事先润湿风干的1.5 mL离心管中,5 000 r/min离心10 min,取0.2 mL上层血浆移入10

mL离心管,加入0.5 mL浓度为10 μg/mL的氯霉素内标,漩涡振荡混匀后保存在-80℃冰箱中。完成36 h血样采集后放回水箱继续喂养观察,如在之后的48 h内死亡则放弃该个体之前所取的血样。

1.6 样品的处理与检测

含内标血浆样品参考文献[17]所用方法以乙酸乙酯和正己烷进行液相萃取。萃取后样品经0.45 μm微孔滤膜过滤,储存于进样瓶中,通过高效液相色谱法进行检测。

1.7 标准液与标准曲线

配制氟苯尼考浓度为25.000、12.500、6.250、3.125、1.563、0.781、0.391、0.195 μg/mL的含内标(5 μg/mL氯霉素)标准液^[17]。以氟苯尼考与氯霉素的色谱峰面积比值为横坐标,氟苯尼考浓度为纵坐标,得到标准曲线的回归方程,样品以当日绘制的标准曲线计算浓度。每日所绘标准曲线均有细微差别,但相关系数(R^2)均大于0.99。

1.8 回收率与精密度测定

氟苯尼考标准溶液(终浓度为0.1、1、10 μg/mL)和氯霉素内标(终浓度为5 μg/mL)分别加入空白血浆样品,各做4个重复,样品以1.6中方法进行处理和检测后计算回收率^[17]。上述3个浓度的血浆样品,在一日内的4个时间点重复测定,计算日内精密度;在一周内的4个时间点(不同日)重复测定,计算日间精密度。

1.9 数据的处理与分析

利用药物与统计软件DAS 2.1的统计矩原理分别对每个鳗鲡个体的药时数据进行分析,通过统计学软件SPSS 11.5对各实验组的药动学参数进行差异显著性分析,采用单向方差分析(One-Way ANOVA)中的Duncan氏检验进行多重比较。各组参数值右上角以英文字母标记,含相同字母表明组间无显著性差异,不含相同字母则表明组间有显著性差异($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 液相色谱法的准确性和精密度

在上述色谱条件下,氟苯尼考、内标物与血浆中的杂质物都能被有效地分离,而且氟苯尼考和内标氯霉素的液相色谱峰形尖锐且对称,二者的保留时间分别为8.2 min和10.7 min(图1)。

根据 3 倍信噪比,该方法的最低检测限为 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。添加氟苯尼考终浓度为 0.1、1、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的空白血浆样品,测得的回收率分别为

93.3% \pm 4.8%、95.2% \pm 6.7%、97.5% \pm 6.4%。测得的日内变异系数为 4.55% \pm 0.62%; 日间变异系数为 5.36% \pm 0.71%。

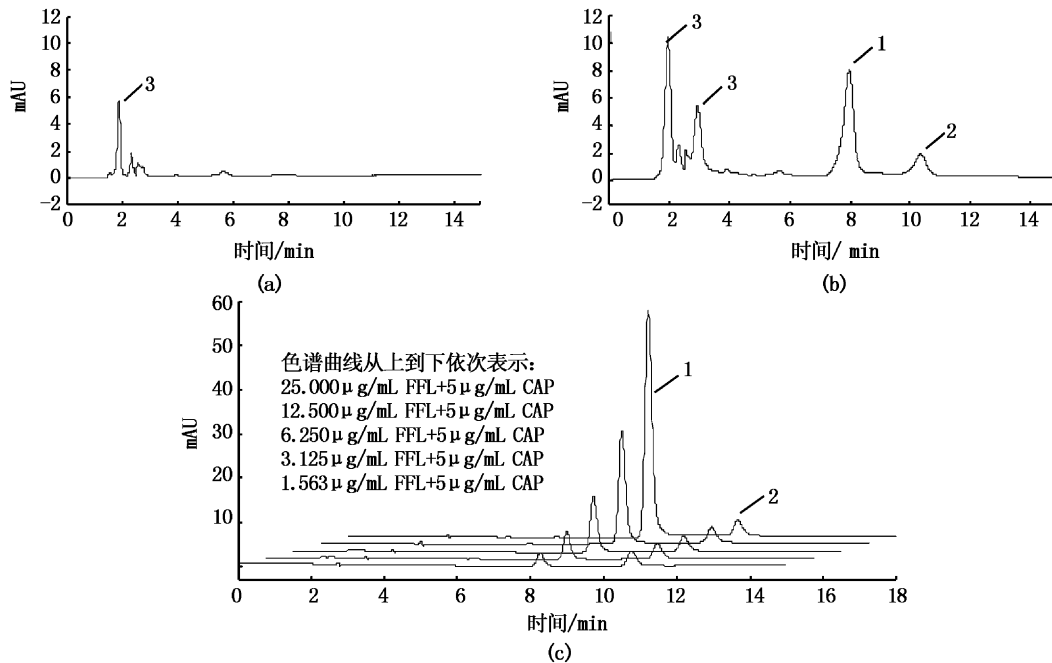


图 1 氟苯尼考的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of florfenicol

(a). 空白血浆; (b). 空白血浆加氟苯尼考(FFL)和内标氯霉素(CAP); (c). 梯度稀释标准品; 1. 氟苯尼考色谱峰; 2. 氯霉素色谱峰; 3. 杂质。

2.2 不同水温下氟苯尼考在鳗鲡血浆中的药-时曲线关系

放弃疑似灌药回吐鳗鲡 5 尾和最后抽血后 48 h 观察濒死鳗鲡 2 尾, 20 $^{\circ}\text{C}$ 、24 $^{\circ}\text{C}$ 和 28 $^{\circ}\text{C}$ 实验组的鳗鲡尾数分别为 8、8 和 7, 根据各实验组每个鳗鲡个体在不同时间点上的血药浓度绘制散点图, 以及平均浓度-时间的药时曲线(图 2)。

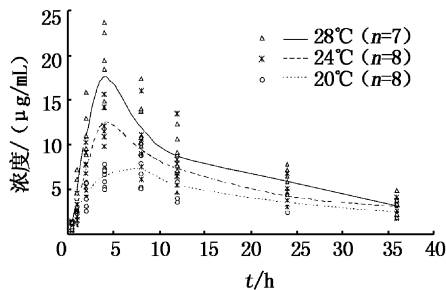


图 2 不同水温下氟苯尼考在日本鳗鲡中的血药浓度-时间的散点和曲线图

Fig. 2 Scatterplot and curve of florfenicol concentration versus time in plasma of Japanese eels at different temperature

平均浓度-药时数据(表 1)表明, 20 $^{\circ}\text{C}$ 、24 $^{\circ}\text{C}$ 和 28 $^{\circ}\text{C}$ 实验组, 给药后 0.5 h 鳗鲡血浆中测得氟苯尼考的平均浓度分别为 0.71、0.86、0.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 随后血浆中药物浓度呈快速上升趋势, 20 $^{\circ}\text{C}$ 水温下于 8 h 点达峰值, 而 24 $^{\circ}\text{C}$ 和 28 $^{\circ}\text{C}$ 水温下在 4 h 点即达峰值, 三者平均峰浓度分别为 7.24、12.44 和 17.63 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 其后血药浓度快速下降, 至 36 h 时浓度分别为 2.51、3.09 和 3.18 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 分别是峰浓度的 34.7%、24.8% 和 18.0%。

表 1 不同水温下鳗鲡血浆中氟苯尼考的平均浓度-时间数据

Tab. 1 Data of average florfenicol concentration versus time in plasma of eels at different temperature

时间/h	20 $^{\circ}\text{C}$ (n = 8)	24 $^{\circ}\text{C}$ (n = 8)	28 $^{\circ}\text{C}$ (n = 7)
0.5	0.71 \pm 0.35	0.86 \pm 0.43	0.86 \pm 0.35
1	2.73 \pm 1.11	2.82 \pm 1.27	5.08 \pm 1.87
2	4.39 \pm 1.11	7.14 \pm 2.01	11.09 \pm 2.53
4	6.51 \pm 1.04	12.44 \pm 2.02	17.63 \pm 4.92
8	7.24 \pm 1.73	9.48 \pm 3.15	11.98 \pm 3.3
12	5.51 \pm 1.54	7.33 \pm 2.78	8.77 \pm 2.27
24	3.50 \pm 0.85	4.29 \pm 1.24	5.94 \pm 1.6
36	2.51 \pm 0.62	3.09 \pm 0.83	3.18 \pm 1.03

2.3 不同水温下氟苯尼考在鳗鲡血浆中的药动学参数

利用 DAS 软件的统计矩原理计算氟苯尼考在每个日本鳗鲡个体中的药-时曲线关系,获得药动学参数(表 2),而 Duncan 氏检验结果表明,不同温度实验组间多个药动学参数存在显著性差异($P < 0.05$)。20 °C、24 °C 和 28 °C 实验组药物达峰时间(T_{max})分别为 6.500、4.500 和 3.429 h,峰浓度(C_{max})分别为 7.839、13.010 和 18.267

$\mu\text{g}/\text{mL}$,这表明温度越高吸收越多越快。表观分布容积(V_z/F)分别为 3.964、2.466 和 1.841 L/kg,表明水温越低氟苯尼考在鳗鲡组织中的分布越多。平均滞留时间($\text{MRT}_{0-\infty}$)分别为 31.503、22.881 和 22.134 h,消除半衰期($t_{1/2z}$)分别为 21.243、14.994 和 14.656 h,24 °C 和 28 °C 水温下的消除速率显著快于 20 °C 实验组。药时曲线下面积($\text{AUC}_{0-\infty}$)分别为 235.580、271.983 和 353.192 $\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$,较高温度组生物利用度显著较高。

表 2 不同水温下鳗鲡血浆中氟苯尼考的药动学参数

Tab.2 Pharmacokinetics parameters of florfenicol in plasma of eels at different temperature $\bar{x} \pm s$

参数	单位	20 °C ($n=8$)		24 °C ($n=8$)		28 °C ($n=7$)	
		平均值 \pm 标准差	变异系数/ %	平均值 \pm 标准差	变异系数/ %	平均值 \pm 标准差	变异系数/ %
AUC_{0-t}	$\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$	158.934 \pm 30.427 ^a	19.1	217.339 \pm 53.751 ^b	24.7	283.062 \pm 59.057 ^c	20.9
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{mL}$	235.580 \pm 62.013 ^a	26.3	271.983 \pm 75.023 ^{ab}	27.6	353.192 \pm 92.491 ^{bc}	26.2
MRT_{0-t}	h	15.054 \pm 0.778 ^a	5.2	14.127 \pm 0.549 ^b	3.9	13.631 \pm 0.644 ^{bc}	4.7
$\text{MRT}_{0-\infty}$	h	31.503 \pm 7.117 ^a	22.6	22.881 \pm 4.940 ^b	21.6	22.134 \pm 6.204 ^{bc}	28.0
$t_{1/2z}$	h	21.243 \pm 5.166 ^a	24.3	14.994 \pm 4.293 ^b	28.6	14.656 \pm 5.061 ^{bc}	34.5
CL_z/F	L/h/kg	0.136 \pm 0.039 ^a	28.7	0.117 \pm 0.029 ^{ab}	24.8	0.092 \pm 0.026 ^{bc}	28.3
V_z/F	L/kg	3.964 \pm 0.594 ^a	15.0	2.466 \pm 0.672 ^b	27.3	1.841 \pm 0.485 ^{bc}	26.3
C_{max}	$\mu\text{g}/\text{mL}$	7.839 \pm 1.125 ^a	14.4	13.010 \pm 2.334 ^b	17.9	18.267 \pm 3.717 ^c	20.3
T_{max}	h	6.500 \pm 2.070 ^a	31.8	4.500 \pm 1.414 ^b	31.4	3.429 \pm 0.926 ^{bc}	27.0

3 讨论

3.1 单纯聚集法与二步法

水生动物一般个体较小,应激性较大,因此其药动学研究多采用单纯聚集法^[18],即将同一时间点上的多个个体的药物浓度数据聚集起来取平均值后,进行分析得到药动学参数,这种方法的缺点是忽视了个体间药动学特征的差异。畜禽动物的药动学研究则通常采用二步法^[18],即连续采集研究群体中每个个体的时间-血药浓度数据,然后获得每个个体的药动学参数,再计算平均值和标准差。二步法因为可获得组内每个个体的药动学参数值,因而同样的重复数所需的样本量少,在统计学的显著性分析方面具有一定的优势。国外也有个别学者采用二步法对赤蠵龟(*Caretta caretta*)^[19]、淡水白鲳(*Piaractus brachypomus*)^[20]等水生动物的药动学进行了研究和报道,本研究也采用此方法充分地阐明了水温对氟苯尼考在鳗鲡体内药动学的影响。在水生动物的药动学研究中运用二步法必须注意实验动物个体不能太小(应在 400 g 以上),取血量不

宜过多(每次 0.2 ~ 0.5 mL),实验重复数宜多,对每个个体须严格要求,对任何疑似有给药回吐,或者在连续采血后濒临死亡的实验动物均应无条件弃用。

3.2 房室模型与非房室模型

药动学数据的分析方法中,房室模型使用时带有较多主观的假设和判定,目前存在不少滥用和错误,而非房室模型的限制性假设较少,有利于不同研究之间的比较,目前已成为国际上药动学研究的主流方法,也是美国食品药品监督管理局与中国食品药品监督管理局等许多国家的药品注册审批机构推荐采用的方法^[18]。本文表 2 中的药动学参数均采用非房室的统计矩方法分析获得,表中所有参数值的变异系数在 4.7% ~ 34.5% 之间。而实际上,对本实验获得的药时数据笔者同时也采用房室模型进行了分析,全部 23 个个体的药时数据利用拟合效果指标(AIC、R²和 SBC 等)判断,以二室模型($W = 1/C^2$)进行批量分析,所得的各实验组的主要房室参数($t_{1/2\alpha}$ 、 $t_{1/2\beta}$ 、 V_1/F 、 CL/F 、 AUC_{0-t} 、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 、 K_{10} 、 K_{12} 、 K_{21} 、 K_a 、 $t_{1/2K_a}$)值的变异系数为 19.02% ~ 280.7%。

其中 V_1/F 、 CL/F 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 K_{10} 等参数值的个体偏差较小,变异系数范围在 19.02% ~ 39.1% 之间;其他参数值的变异系数较高,特别 $t_{1/2\beta}$ 值在 20 °C、24 °C 和 28 °C 实验组中的范围分别为 12.2 ~ 218 071.1 h、11.7 ~ 75 040.7 h 和 11.9 ~ 382.8 h,变异系数高达 180.2%、280.7% 和 167.6%,这意味着个体的差异有可能造成房室参数值的巨大偏差。此外,分析还发现房室模型选用不同的权重系数所得到的参数值差别也很大,仅以 20 °C 组的 No. 2 个体为例,其药时数据以 $W = 1/C^2$ 拟合时 ($AIC = -16.934$, $R^2 = 0.999$), $t_{1/2\beta}$ 为 5 865.8 h,,而如果以 $W = 1$ 进行拟合 ($AIC = 3.288$, $R^2 = 0.979$), $t_{1/2\beta}$ 为 27.4 h, 如果从 AIC 和 R^2 判断,二者的拟合效果均算理想(前者略优),但获得的参数除 CL/F 、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 外均有极大的差异,这说明权重系数的不同选择有可能得到迥然不同的参数值。由此可见,运用房室模型分析所得到的某些药动学参数,尤其是 $t_{1/2\beta}$ 存在很大的个体偏差,而且在权重系数和房室模型的选择时受主观因素影响较大。

3.3 温度对药动学的影响

由于水产动物的体温通常都会随水温的变化而变化,因此研究温度对药物在水产动物体内代谢动力学的影响情况是非常必要和有意义的。刘永涛等^[6]比较了在 18 °C 和 28 °C 下氟苯尼考以 10 mg/kg 的剂量口服后在斑点叉尾鲃体内的药动学,其药动学参数 T_{max} 分别为 11.136 和 5.953 h, $t_{1/2}$ 分别为 19.118 和 8.519 h, 这表明较高温度下药物的吸收快,消除也快,与本文的结论一致;其结果中不同温度下的 C_{max} (4.074 和 4.226 $\mu\text{g/mL}$) 接近,而本文中较高温度组的 C_{max} 显著高于低温组 ($P < 0.05$),而且高温组有显著较高的 AUC ,这说明鳊鲃在低温下肠道对氟苯尼考的吸收利用能力显著下降。FANG 等^[21]比较了在 19 °C 和 26 °C 水温下恩诺沙星在锯缘青蟹体内的药动学,得到的药动学参数 T_{max} 分别为 6 和 2 h, C_{max} 分别是 7.26 和 11.03 $\mu\text{g/mL}$, 同样表明了高温下机体对药物的吸收更多更快。此外冯敬宾和贾晓平^[22]、阮记明等^[23]分别比较了不同温度下氟苯尼考在罗非鱼、双氟沙星在异育银鲫体内的药动学差异,结果均表明温度对药物在体内的吸收和消除有较大的影响,因此实际用药时应该考虑水温对药动学以及药物治疗效果的影响。

3.4 给药方案

确定药物的给药间隔主要根据药物的半衰期和最低有效浓度,而本文分析表明在 20 °C、24 °C 和 28 °C 温度下氟苯尼考在鳊鲃体内的消除半衰期($t_{1/2\alpha}$)分别为 21.243、14.994 和 14.656 h。HO 等^[2]检测过氟苯尼考对 41 株嗜水气单胞菌、76 株迟缓爱德华菌、32 株荧光假单胞菌和 58 株弧菌等的抗菌活性,结果表明可抑制 50% 菌株生长的最小浓度 (MIC_{50}) 分别为 0.78、6.25、1.56 和 3.125 $\mu\text{g/mL}$ 。本实验中 20 °C 温度下,鳊鲃血浆中氟苯尼考的 C_{max} 仅为 7.839 $\mu\text{g/mL}$, 血药浓度保持在上述 MIC_{50} (与最大的 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 比较)之上的有效治疗量的时间太短。因此,虽然水温较低时一般不易发病,可是一旦发病应考虑使用更高的剂量(如 50 mg/kg),而低温下消除半衰期较长,给药间隔可适当延长(建议一日一次)。24 °C 和 28 °C 温度下的 C_{max} 较大(13.010 和 18.267 $\mu\text{g/mL}$), 经过一个半衰期后血药浓度仍大于 6.25 $\mu\text{g/mL}$, 因此建议给药剂量为 30 mg/kg, 一日两次。当然,药动学分析的结果如果能结合临床时病原菌的药敏实验制定给药方案,治疗效果应当会更理想。

参考文献:

- [1] EMILY M. Florfenicol [J]. Journal of Exotic Pet Medicine, 2007, 16 (1): 52-54.
- [2] HO S P, HSU T Y, CHEN M H, et al. Antibacterial effect of chloramphenicol, thiamphenicol, and florfenicol against aquatic animal bacteria [J]. Journal of Veterinary Science, 2000, 62 (5): 479-485.
- [3] FENG J B, JIA X P, LI L D. Tissue distribution and elimination of florfenicol in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. caureus*) after a single oral administration in freshwater and seawater at 28 °C [J]. Aquaculture, 2008, 276: 29-35.
- [4] FENG J B, JIA X P. Single dose pharmacokinetic study of ofenicol in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) held in freshwater at 22 °C [J]. Aquaculture, 2009, 289: 129-133.
- [5] 张收元, 操继跃, 罗宇良. 氟苯尼考在鲢体内的药动学研究[J]. 水利渔业, 2007, 27 (3): 97-99.
- [6] 刘永涛, 艾晓辉, 杨红. 不同水温下氟甲砜霉素在斑点叉尾鲃体内的药代动力学研究[J]. 水生生物学报, 2009, 33(1): 1-6.
- [7] PARK B K, LIM J H, KIM M S, et al. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite, florfenicol amine, in the Korean catfish (*Silurus asotus*) [J]. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2006, 29: 37-40.

- [8] ROY P E, YANONG, ERIC W C. Pharmacokinetic studies of florfenicol in koi carp and threespot gourami *Trichogaster trichopterus* after oral and intramuscular treatment [J]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 2005, 17: 129 - 137.
- [9] MARTINSEN B, HORSBERG T E, VARMA K J, et al. Single dose pharmacokinetic study of florfenicol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater at 11 °C [J]. *Aquaculture*, 1993, 112 (1): 1 - 11.
- [10] LIM J H, KIM M S, HWANG Y H, et al. Plasma and tissue depletion of florfenicol in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) after oral administration [J]. *Aquaculture*, 2010, 307: 71 - 74.
- [11] SAMUELSEN O B, BERGH O, ERVIK A. Pharmacokinetics of florfenicol in cod *Gadus morhua* and in vitro antibacterial activity against *Vibrio anguillarum* [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2003, 56: 127 - 133.
- [12] 王瑞雪, 王荻, 李绍戊, 等. 氟苯尼考及氟苯尼考胺在西伯利亚鲟体内的药动学及组织分布[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(4): 568 - 574.
- [13] 朱丽敏, 杨先乐, 林启存, 等. 肌注和口服氟苯尼考在中华鳖体内残留分析及药代动力学[J]. *水产学报*, 2006, 30 (4): 515 - 519.
- [14] 李静云, 李健, 王群, 等. 氟苯尼考 3 种不同给药方式在中国明对虾体内的药代动力学研究 [J]. *海洋科学*, 2006, 30 (7): 64 - 68.
- [15] TANG J, YANG X L, ZHENG Z L, et al. Pharmacokinetics and the active metabolite of enrofloxacin in Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 260: 69 - 76.
- [16] 余培建, 翁祖桐, 樊海平, 等. 氟苯尼考在欧洲鳗鲡体内的药物代谢动力学研究[J]. *福建水产*, 2005, 12 (4): 52 - 57.
- [17] 林茂, 王雪虹, 姚志贤. 氟苯尼考在两种鳗鲡体内残留及消除规律的研究[J]. *集美大学学报: 自然科学版*, 2011, 16 (2): 92 - 96.
- [18] 王广基. *药物代谢动力学* [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 97 - 136.
- [19] STAMPER M A, PAPICH M G, LEWBART G A, et al. Pharmacokinetics of florfenicol in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after single intravenous and intramuscular injections [J]. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 2003, 34 (1): 3 - 8.
- [20] LEWBART G A, PAPICH M G, WHITT-SMITH D. Pharmacokinetics of orfenicol in the red pacu (*Piaractus brachipomus*) after single dose intramuscular administration [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2005, 28: 317 - 319.
- [21] FANG W H, HU L L, YANG X L, et al. Effect of temperature on pharmacokinetics of enrofloxacin in mud crab, *Scylla serrata* (Forsskal), following oral administration [J]. *Journal of Fish Disease*, 2008, 31: 171 - 176.
- [22] 冯敬宾, 贾晓平. 2 种水温条件下罗非鱼体内氟苯尼考的药代动力学比较[J]. *南方水产*, 2008, 4(4): 49 - 64.
- [23] 阮记明, 胡鲲, 章海鑫, 等. 两种水温条件下异育银鲫体内双氟沙星药代动力学比较[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(6): 858 - 865.

Comparative pharmacokinetics of florfenicol in Japanese eels at different temperature

LIN Mao^{1,2}, CHEN Zhen-qiang¹, JI Rong-xing¹, YANG Xian-le³, WANG Jian¹

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Xiamen 361021, Fujian, China; 3. National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The present study provides a comparative understanding of florfenicol deposition kinetics following oral administration at a single dose of 30 mg/kg body weight to Japanese eel (*Anguilla japonica*) at the temperature of 20, 24 and 28 °C, respectively. Approximate 0.3 mL of blood sample from each eel in these three groups was collected in a row at the time 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 and 36 h after medicated-feed gavage. The concentrations of florfenicol in eel plasma were detected by reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The plasma concentration-time data of each eel were analyzed by non-compartmental methods based on statistical moment theory using DAS software. Pharmacokinetics parameters of different groups were tested by one-way analysis of variance using SPSS software. It was found that most of parameters were different significantly between groups ($P < 0.05$). In the three groups at 20, 24 and 28 °C, pharmacokinetics parameters of peak plasma concentration (C_{\max}) were (7.839 ± 1.125), (13.010 ± 2.334) and (18.267 ± 3.717) $\mu\text{g/mL}$, and the time to reach the C_{\max} (T_{\max}) were (6.500 ± 2.070), (4.500 ± 1.414) and (3.429 ± 0.926) h, respectively. These suggested that eels at higher temperature absorbed more drug and more quickly. The volumes of distribution (V_z/F) were (3.964 ± 0.594), (2.466 ± 0.672) and (1.841 ± 0.485) L/kg, respectively. The difference deduced that more florfenicol was bound to tissue in eels at lower temperature. The mean residence time ($\text{MRT}_{0-\infty}$) and the half-life of drug ($t_{1/2z}$) in the three respective groups were (31.503 ± 7.117), (22.881 ± 4.940) and (22.134 ± 6.204) h, and (21.243 ± 5.166), (14.994 ± 4.293) and (14.656 ± 5.061) h. These parameters showed that the elimination rate of florfenicol in eels at 24 °C or 28 °C was more quickly than that at 20 °C. The areas under the concentration-time curve ($\text{AUC}_{0-\infty}$) were (235.580 ± 62.013), (271.983 ± 75.023) and (353.192 ± 92.491) $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$, respectively. It indicated that the relative bioavailability of florfenicol was higher significantly in eels at higher temperature.

Key words: florfenicol; eel; pharmacokinetics; temperature