

文章编号: 1674-5566(2011)06-0858-08

两种水温条件下异育银鲫体内双氟沙星药代动力学比较

阮记明^{1,2}, 胡 鲲¹, 章海鑫¹, 王会聪¹, 付乔芳¹, 杨先乐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)

摘要: 运用反相高效液相色谱法(RP-HPLC), 对比了单次口灌 20 mg/kg 鱼体重剂量条件下, 16℃和 25℃两种水温时双氟沙星(DIF)在异育银鲫体内代谢动力学差异。数据经过药代动力学软件(3P97)处理, 结果显示: 两种温度条件下, 双氟沙星药时规律均符合开放性二室模型且存在明显的差异。其中, 吸收半衰期($T_{1/2k_a}$)与水温呈正相关, 在两种温度条件下分别可达 0.010 h 和 0.122 h; 消除半衰期($T_{1/2\beta}$)、表观分布容积(Vd/F)、血浆和组织中药时曲线下总面积(AUC)等参数则与水温呈负相关, 16℃条件下血浆 $T_{1/2\beta}$ 、Vd/F 和 AUC 分别为 70.968 h、1.875/kg 和 763.761 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 25℃则为 18.322 h、0.676/kg 和 243.244 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$; 16℃条件下肝脏组织中 AUC 为 746.622 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 肾脏组织中 AUC 为 1 095.711 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 肌肉组织中 AUC 为 1 222.750 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$; 而 25℃条件下肝脏组织中 AUC 则为 294.857 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 肾脏组织中 AUC 为 258.587 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$, 肌肉组织中 AUC 为 344.630 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ 。另外, 在两种温度条件下, DIF 代谢产物沙拉沙星在血浆及肝脏、肾脏和肌肉组织中均能被检出, 且呈多峰现象。结果说明, 相对于 25℃的水温条件, 16℃水温时双氟沙星能较好地分布于异育银鲫体内。另外, 16℃时 DIF $C_{\text{max}}/\text{MIC}_{90} \geq 10$ 的保持时间可达 72 h, 而 25℃时 $C_{\text{max}}/\text{MIC}_{90} \geq 10$ 的保持时间仅为 4~6 h; 因此, 双氟沙星在较低水温时(16℃)具有更高的药效。

研究亮点: (1) 比较了不同水温条件下 DIF 在异育银鲫体内的药动学差异。在我国, 不同地域、不同季节的水温变化和差异均很大, 因此有必要对不同水温下的药动学进行比较研究, 以期不同水温下的用药提供理论参考; (2) 从药物本身及其代谢产物两个层面整体考虑药效及药残等。

关键词: 水温; 异育银鲫; 双氟沙星; 沙拉沙星; 药代动力学

中图分类号: S 948

文献标志码: A

双氟沙星(Difloxacin, DIF)为第三代氟喹诺酮类抗菌药物, 对多种水产致病菌具有良好的作用效果, 而且与其他抗菌药物无交叉耐药性^[1], 已被广泛应用于水产养殖细菌性疾病防治。目前, 关于双氟沙星的残留消除规律在人、畜禽^[2-3], 甚至在一些水产动物例如鲤^[4]、草鱼^[5]及甲壳类^[6]等均有相关报道。由于水温是影响药效及药物残留的重要环境因子之一, 而我国幅员辽阔, 水温随气候、季节等变化较大; 因此, 本文以我国大宗淡水鱼养殖的主要品种——异育银鲫(*Carassais auratus gibelio*)为研究对象, 模拟了

两个与早春及晚秋、盛夏相似的水温(16℃和 25℃), 比较在单次口灌为 20 mg/kg 鱼体重剂量时, 不同水温条件下双氟沙星及其代谢产物沙拉沙星(Sarafloxacin, SAR)药代动力学差异, 拟为生产实践中季节用药提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器及色谱条件

1.1.1 仪器

试验仪器包括 Agilent-1100 型高效液相色谱仪(四元泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检

收稿日期: 2011-04-11 修回日期: 2011-07-08

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2011A10A216); 淡水鱼类出血性疾病综合防治技术集成示范项目(200803013); 现代农业产业技术体系建设专项(nycytx-49-17)

作者简介: 阮记明(1974—), 男, 在读博士, 研究方向为水产病害。E-mail: rjm903@163.com

通讯作者: 杨先乐, E-mail: xlyang@shou.edu.cn

测器)、漩涡混合器、氮气吹干仪、精密电子天平(METTLER AB104-N)和高速冷冻离心机等。

1.1.2 色谱条件

色谱柱为:ZORBAX SB2C-18 分析柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相为: $V(\text{乙腈}):V(\text{四丁基溴化铵})(0.030 \text{ mol/L}, \text{pH}3.1) = 5:95$;检测波长为 276 nm;流速为 1.5 mL/min;柱温为 40 °C;进样量为 10 μL。

1.2 药品及试剂

双氟沙星(DIF)标准品(含量≥99.9%)和沙拉沙星(SAR)标准品(含量≥99.6%)购自 Sigma 公司;盐酸双氟沙星原料药(纯度为 98%)由浙江国邦药业有限公司提供。

乙腈、四丁基溴化铵为色谱级;二氯甲烷、正己烷、柠檬酸、柠檬酸三钠、氯化钠、磷酸氢二钠和磷酸二氢钠为分析纯。以上药品均购自国药集团化学有限公司。

1.3 实验动物

健康的异育银鲫购自南通某国营农场,体重为(80.5±5.3)g,运至实验室后,用 2% NaCl 溶液浸泡 10 min,然后放置于高锰酸钾消毒后的水族箱(100 cm×80 cm×80 cm)中暂养 1 周,试验用水为充分曝气的自来水。暂养结束后,选择个体均匀的个体分为 2 组,每组 120 尾。试验期间使用自动控温系统控制水温为(25±1)°C和(16±1)°C;自然光照,连续 24 h 充气;每两天换 1 次水,每次换水量 1/3;及时清除水体残饵和排泄物。

1.4 给药方式及样品采集

1.4.1 给药方式

盐酸双氟沙星原料药按 20 mg/kg 鱼体重标准,用细导管将双氟沙星水溶液灌入试验鱼前肠,无回吐现象的留作试验。

1.4.2 样品采集

分别于给药后 0.017 h、0.25 h、0.5 h、1 h、2 h、3 h、6 h、12 h、24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h、196 h 各取异育银鲫 6 条,分别取血样和肌肉、肝脏、肾脏组织样品,放入 -20 °C 冷冻保藏至样品处理;给药前采取同一批试验鱼血液及组织空白样品。

1.5 样品处理

1.5.1 血液样品

取 1 mL 血浆加入 5 mL 酸化乙腈, $V(\text{乙腈}):V(\text{盐酸}):V(\text{水}) = 250:1:1$,漩涡混合 10 min,4

°C 条件下 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液,45 °C 恒温氮气条件下吹干,加 1 mL 流动相溶解,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,HPLC 测定。

1.5.2 组织样品

各组织样品匀浆后精确称取 1.000 g,置于 10 mL 离心管中,同时加入 1 mol/L NaCl 和 0.2 mol/L PBS 缓冲溶液(pH 7.4)各 1 mL,再加入 5 mL 二氯甲烷进行药物萃取,漩涡混合振荡 10 min 后,4 °C 条件下 8 000 r/min 离心 10 min,取有机相;剩余残渣中再加入 5 mL 二氯甲烷,重复以上操作步骤进行第二次萃取,合并两次有机相,于 45 °C 恒温氮气条件下吹干,加 1 mL 流动相溶解后,加 5 mL 正己烷脱脂;混匀、离心后将下层液体经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,HPLC 分析。

1.6 标准曲线、回收率、精密度

将双氟沙星和沙拉沙星标准品分别配制成 0.01、0.02、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、5.00 和 10.00 μg/mL 标准液,经 0.45 μm 滤膜过滤后 HPLC 分析。分别以双氟沙星和沙拉沙星的峰面积(A_i)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线。

另外将不同浓度的双氟沙星和沙拉沙星添加到各空白血浆和组织样品中,每个浓度 3 个平行,每个平行设一个空白对照,以测定回收率、日内及日间精密度。

1.7 数据处理

标准曲线、药时曲线采用 Microsoft Excel 绘制;药物动力学模型拟合及参数计算使用 3P97 药代动力学软件处理。

2 结果与分析

2.1 色谱行为和标准曲线

色谱图显示双氟沙星和沙拉沙星药物及杂质均能较好地分离,基线平稳,特异性强,重现性好。图 1 为双氟沙星和沙拉沙星标准色谱图,其保留时间分别为 9.185 min 和 10.216 min。图 2 为血浆样品双氟沙星标准色谱图。

双氟沙星和沙拉沙星的标准溶液在 0.01 ~ 10 μg/mL 浓度范围内呈线性关系(图 3、图 4),其回归方程及相关系数分别为 $y = 31.173x - 3.275, R^2 = 0.9928$; $y = 27.643x - 2.9804, R^2 = 0.9982$ 。

2.2 回收率和精密度

按 1.5 样品处理方法操作后,测得各组织中双氟沙星平均回收率处于 90.2% ~ 102.3% 之

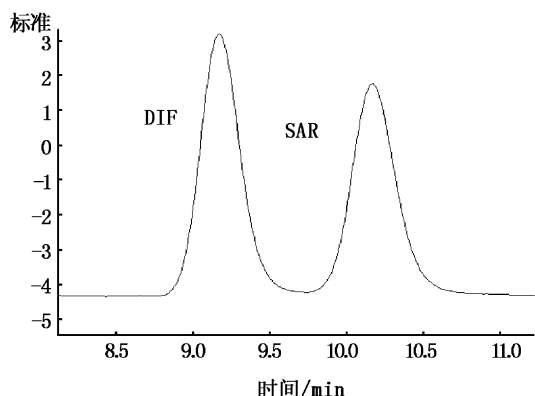


图 1 双氟沙星和沙拉沙星标准色谱图
Fig. 1 Standard HPLC chromatograms of DIF and SAR

间,日内精密度系数不大于 3%,日间精密度系数不大于 5.8%。实验数据表明此方法重现性较好,精密度较高。

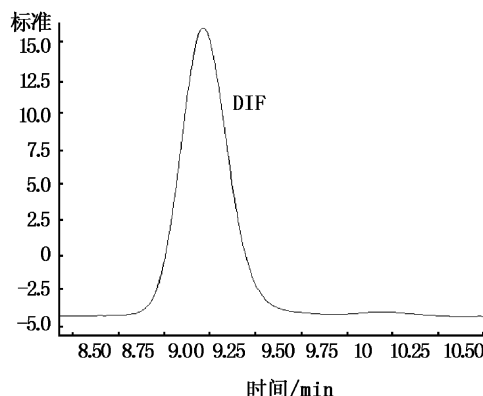


图 2 血浆双氟沙星色谱图
Fig. 2 HPLC chromatograms of DIF in plasma

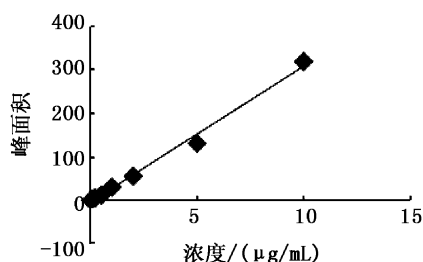


图 3 双氟沙星标准曲线
Fig. 3 Standard curve of DIF

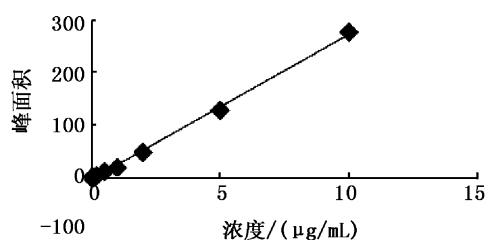


图 4 沙拉沙星标准曲线
Fig. 4 Standard curve of SAR

2.3 两种水温条件下双氟沙星及其代谢产物的药代动力学

2.3.1 两种水温条件下血浆中双氟沙星药代动力学规律

16 °C 和 25 °C 水温条件下,20 mg/mL 单剂量口服双氟沙星和沙拉沙星试验数据经 3P97 软件进行动力学模型拟合和参数计算,药时曲线见图 5,主要参数见表 1。结果显示:(1)两种温度条件下的药时数据均符合开放性二室模型;(2)两种水温下,双氟沙星的药物动力学参数相差很大,主要表现为药物的吸收、分布、排泄在 16 °C 时均明显滞后于 25 °C 时。如图 3 所示,16 °C、25 °C 两个温度下血浆中双氟沙星 T_{max} 均为 0.25 h; C_{max} 分别为 10.878 $\mu\text{g/mL}$ 和 15.739 $\mu\text{g/mL}$ 。16 °C 下血浆药物浓度在 0.25 ~ 0.5 h 时间段有一个下降的阶段,之后又回到一个较高的浓度水平;1 ~ 6 h 药物浓度保持在较高的水平,其药物浓度也比同

时段 25 °C 条件下的高;在 6 ~ 24 h 的下降趋势与 25 °C 组很相似,都有一个较快的下降期,然后在 24 ~ 72 h 阶段又有一个相对平缓的下降期,之后则快速下降,在 196 h 时药物浓度最低。相比较 16 °C 下的药时曲线,25 °C 时血浆药物浓度达峰后下降得比较快,在第 2 h 时又出现了第二个小的吸收峰;2 ~ 6 h 药物浓度下降得较缓慢,药物浓度保持在一个较高的水平上;而在 6 ~ 24 h 时药物浓度下降得相当迅速,之后则一直保持在一个较低的浓度水平缓慢下降,在 196 h 时血浆中药物浓度降到试验的最低值。

2.3.2 两种水温条件下血浆中双氟沙星代谢产物沙拉沙星分布与消除

图 6 为 16 °C 和 25 °C 两个水温条件下,20 mg/kg 单剂量口服双氟沙星,其代谢产物沙拉沙星在异育银鲫血浆中的药时曲线。结果显示,在两种温度条件下,代谢产物沙拉沙星都是在第 1

h 开始被检测到,且均呈多峰现象。16 °C 时代谢产物沙拉沙星在第 3 h 达到第一个峰(2.60 μg/mL),从第 3 h 到第 24 h 快速下降之后又开始上升,并在 72 h 出现第二个峰(2.230 μg/mL),然后快速下降,在 196 h 沙拉沙星的浓度达到试验

的最低值;25 °C 时代谢产物沙拉沙星浓度升高较慢,在第 2 h 达到第一个峰值(1.510 μg/mL),第 3 h 时稍微有点下降,之后又逐步上升,在第 120 h 时沙拉沙星浓度达到了峰值。

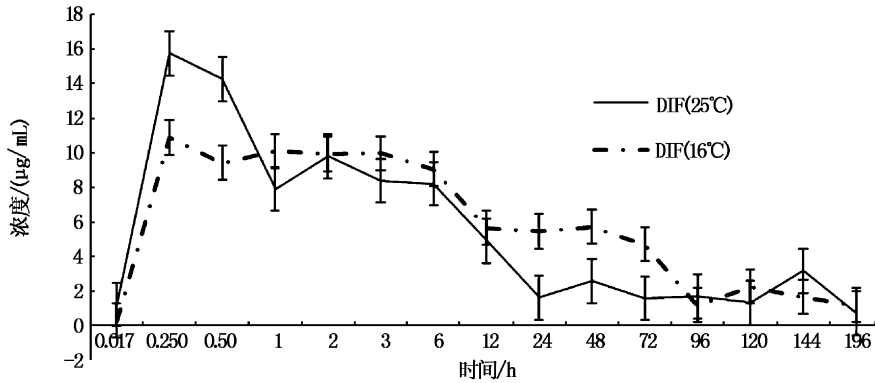


图 5 16 °C 和 25 °C 水温单次口服 20 mg/kg 双氟沙星后血浆药时曲线
Fig. 5 The concentration-time curves of DIF in plasma following a single oral administration of 20 mg/kg at 16 °C and 25 °C

表 1 16 °C 和 25 °C 水温单次口服 20 mg/kg 双氟沙星后血浆药代参数
Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of DIF in plasma following a single oral administration of 20 mg/kg at 16 °C and 25 °C

参 数	水 温/°C		参 数	水 温/°C	
	16	25		16	25
分布半衰期/h $T_{1/2\alpha}$	4.946	0.144	消除速率常数/h ⁻¹ β	0.010	0.038
消除半衰期/h $T_{1/2\beta}$	70.968	18.322	吸收速率常数/h ⁻¹ K_a	70.250	5.671
吸收半衰期/h $T_{1/2K_a}$	0.010	0.122	达峰时间/h T_{max}	0.250	0.250
表观分布容/kg ⁻¹ V_d/F	1.875	0.676	达峰浓度/(μg/mL) C_{max}	10.878	15.739
体内清除率/(h·kg) CL/F	0.026	0.082	药时曲线下面积 /[μg/(mL·h)]AUC	763.761	243.244

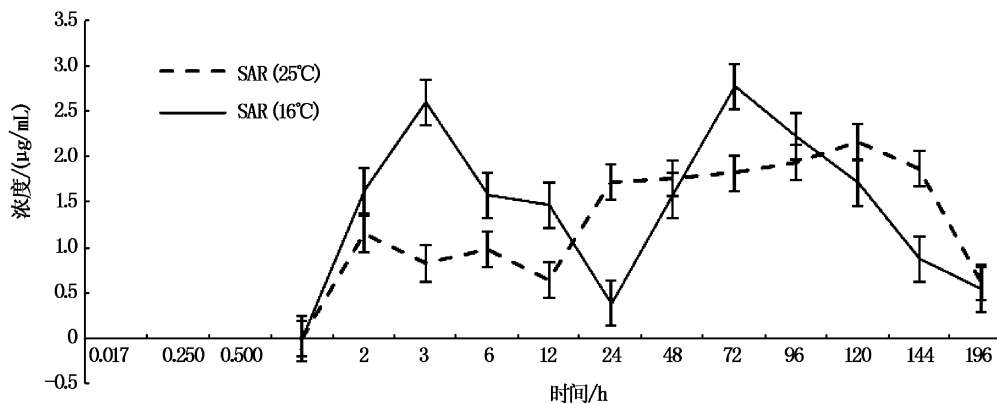


图 6 16 °C 和 25 °C 水温单次口服 20 mg/kg 双氟沙星后血浆代谢产物沙拉沙星药时曲线
Fig. 6 The concentration-time curves of SAR in plasma following a single oral administration of 20 mg/kg at 16 °C and 25 °C

2.3.3 两种水温条件下各组织中双氟沙星的分布和消除

两种水温条件下双氟沙星在各组织中的药代动力学参数如表2所示,16℃时DIF在肝脏组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为0.5 h、50.530 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和746.622 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,在肾脏组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为12 h、27.980 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和1 095.711 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 、在肌肉组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为6 h、16.540 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和1 222.750 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$;而

25℃时,DIF在肝脏组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为0.5 h、67.750 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和294.857 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,在肾脏组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为0.25 h、36.630 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和258.587 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,在肌肉组织中的 T_{\max} 、 C_{\max} 、AUC分别为3 h、17.870 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和344.630 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。16℃时肝脏、肾脏和肌肉组织中双氟沙星消除速度小于25℃各对应组织的消除速度,而在同种水温条件下,其组织中的消除速度均表现为肝脏>肾脏>肌肉。

表2 16℃和25℃水温单次口服20 mg/kg双氟沙星后各组织药代参数
Tab.2 Pharmacokinetic parameters of DIF in tissues following a single oral administration of 20 mg/kg at 16℃ and 25℃

参数	肝 脏		肾 脏		肌 肉	
	16℃	25℃	16℃	25℃	16℃	25℃
达峰时间/h T_{\max}	0.500	0.500	12.000	0.250	6.000	3.000
达峰浓度/ $(\mu\text{g}/\text{g})$ C_{\max}	50.530	67.750	27.980	36.630	16.540	17.870
分布半衰期/h $T_{1/2\alpha}$	0.442	0.274	23.805	0.137	25.686	8.636
消除半衰期/h $T_{1/2\beta}$	32.822	26.013	89.612	33.066	195.367	52.504
吸收半衰期/h $T_{1/2K_a}$	0.220	0.205	0.444	0.124	1.473	2.129
表观分布容/ kg^{-1} Vd/F	0.296	0.220	0.842	0.226	1.075	1.258
体内清除率/ $(\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1})$ CL/F	0.027	0.068	0.016	0.077	0.016	0.058
药时曲线下面积 AUC / $[\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})]$	746.622	294.857	1 095.711	258.587	1 222.750	344.630

3 讨论

3.1 水温对双氟沙星吸收和消除的影响

双氟沙星在不同动物、给药方式和温度下表现出的房室模型不一样。本实验双氟沙星浓度时间数据符合开放性二室模型。但是不同的水温、不同的用药方式、不同的研究动物,其代谢房室模型存在差异。DING等^[4]研究结果中20℃时DIF在鲫鱼体内的代谢房室模型与本文研究结果相同,但其10℃时的研究结果与本文相异,为开放性一室模型,说明水体温度对房室代谢模型存在影响。另外,李海迪等^[6]在中华绒螯蟹口服DIF、丁焕中等^[2]在健康鸡静脉注射DIF等研究中的房室代谢模型和本文研究结果一致。

本研究中DIF吸收半衰期($T_{1/2K_a}$)为0.122 h,均短于猪(口服量5 mg/kg)0.54 h、鸡(口服量

10 mg/kg)1.46 h和鲤(口服量20 mg/kg)0.54 h;其达峰浓度 C_{\max} 为15.739 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 均高于猪(2.29 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、鸡(1.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和鲤(10.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$);但是,DIF在中华绒螯蟹中的 $T_{1/2K_a}$ 为0.029 h短于异育银鲫, C_{\max} 为26.255 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 高于异育银鲫。HORSBERG等^[7]研究表明氟苯尼考在鲑鱼体内大部分器官和组织的放射活性在给药后12 h最大;MARTINSEN等^[8]也得到过相似的研究结果。在16℃和25℃两种水温条件下,DIF在血浆和肝脏达峰时间均相同,为0.25 h,但冯敬兵和贾晓平^[9]研究发现罗非鱼体内氟苯尼考在两个水温下则是血浆与肌肉达峰时间相同。肾脏和肌肉组织中双氟沙星的达峰时间则表现为25℃快于16℃,且各组织中,DIF在25℃时高于16℃时的达峰浓度。不同水温条件下,血浆和各组织(肝脏、肾脏、肌肉)中AUC趋

势相似,均为 16 °C 时普遍高于 25 °C 时的 AUC;除了肌肉组织外,16 °C 时的 Vd/F 值也高于 25 °C,说明温度能够影响双氟沙星在异育银鲫体内的吸收与分布。异育银鲫体内 Vd/F 值较小,可能是由于双氟沙星在异育银鲫体内有较高的蛋白结合率^[4];许多酸性药物与血浆蛋白的结合力较高,其 Vd/F 值较小^[10],或者由于温度对于药物在动物体内的吸收、分布和消除影响^[11]使药代动力学在鲤和异育银鲫中呈现一定差异。双氟沙星的主要代谢部位为肝脏和肾脏^[12]。参与双氟沙星代谢的主要代谢酶存在于肝脏和肾脏等组织中^[13];于灵芝等^[14]研究双氟沙星在体外肾细胞中代谢时,发现其代谢酶活性在肾细胞孵育 2 h 时达最高,双氟沙星代谢量最大,这从侧面佐证了本实验的结果。

以上结果说明 DIF 代谢存在种属差异性,并由此可以推测,双氟沙星的吸收在水生动物体内易于其他动物,其吸收程度为甲壳类易于鱼类,鱼类易于畜禽,这与谭超等^[15]研究单诺沙星在鲫鱼体内代谢动力学结果相似。分析这种差异性的原因可能是与水生动物所处的特殊水环境和比较低等的循环系统有关;或者是双氟沙星在水生动物体内吸收受到首过效应的影响比高等动物低。90% 抑菌范围 (MIC₉₀) 是描述药物抑菌能力大小的主要指标之一,且 C_{max}/MIC₉₀ 比值通常被用来评价药物剂量的临床效果。当 C_{max}/MIC₉₀ ≥ 10,说明药物剂量临床效果较好^[16]。本试验条件下 16 °C 时双氟沙星的 C_{max}/MIC₉₀ ≥ 10 保持时间可达 72 h,而 25 °C 时 C_{max}/MIC₉₀ ≥ 10 保持时间仅为 4 ~ 6 h;因此,双氟沙星在温度较低时用于水产动物疾病防治能够更好地发挥药效。

3.2 水温对双氟沙星代谢产物沙拉沙星分布和消除的影响

沙拉沙星(SAR)是第一个被美国 FDA 批准用于食品动物的氟喹诺酮类药物^[17],具有抗菌谱广、生物利用度高、组织分布广和半衰期长等特点^[18]。内源性沙拉沙星是双氟沙星的主要活性代谢产物,主要由 DIF 通过脱甲基作用代谢为具有活性的沙拉沙星,其主要的代谢场所为肝脏和肾脏。近年来,国内外已有关于沙拉沙星在动物体内药物动力学的报道^[19-21]。本实验研究发现 25 °C 水温条件下各组织中沙拉沙星的达峰浓度占各组织双氟沙星峰浓度的比例是不一样。

比例最高的是肝脏,其次为肾脏,最后是血浆和组织,这种代谢的组织差异在猪、鸡及中华绒螯蟹上都有报道,而其他的喹诺酮类药物也有过类似的结果^[22]。沙拉沙星在组织中的含量高低与其他的动物组织有一定的差异。这些可以得出双氟沙星的代谢不但存在着组织差异性而且存在着种属差异性。16 °C 水温条件下,除了血液,组织中检测到沙拉沙星的浓度较低,没有形成峰现象。说明双氟沙星除了存在组织代谢差异性外,温度也影响着其代谢作用,这可能与温度影响着双氟沙星代谢酶活性有关。

3.3 双氟沙星及其代谢产物沙拉沙星消除过程中的多峰现象

一个有趣的现象就是,在药物的消除阶段,两种温度条件下的双氟沙星及其代谢产物沙拉沙星的药时曲线均形成所谓的多峰现象。双氟沙星血浆药物浓度在 16 °C 和 25 °C 分别在 0.25 ~ 1 h 和 1 ~ 3 h,其代谢产物沙拉沙星血浆药物浓度 16 °C 和 25 °C 分别在 0.25 ~ 1 h 和 12 ~ 144 h 时间段内出现多峰现象。NTORRE 等^[23]研究恩诺沙星在舌齿鲈体内的药物动力学过程时,也报道了这种多峰现象;另外,李海迪等^[6]的研究结果中也报道了与本文相类似的多峰结果。引起药物代谢多峰现象的原因有很多,不同的给药方式是其中的原因之一。多峰现象多出现在灌胃或者口服给药时,而同一种药物采用静脉注射则无双峰现象^[24-25]。EZZET 等^[26]学者以 Ezetimibe 为模型药物,通过试验研究认为群体药动学模型能模拟描述肝肠循环引起的药时多峰现象。艾晓辉等^[27]对鲤的研究中认为出现这种现象可能与鱼体中某些脏器对药物存在再吸收有关。本文结果中双氟沙星出现的多峰现象可能与本试验采用口灌给药方式后在异育银鲫体内存在肝肠循环所致,而其代谢产物的多峰现象可能与双氟沙星本身的药时曲线多峰相关。

参考文献:

- [1] 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,2005:211-212.
- [2] 丁焕中,曾振灵,杨贵香,等. 二氟沙星在鸡体内的药物代谢动力学及生物利用度研究[J]. 中国兽医科技,2004,34(6):20-24.
- [3] CHU D T W, Grannerman G. Difloxacin metabolic and pharmacokinetics in some animals after single oral doses[J].

- J Vet Pharmacol Thera, 2001, 24(s2): 151-154.
- [4] DING F K, CAO J Y, MA L B, et al. Pharmacokinetics and tissue residues of difloxacin in crucian carp (*Carassius auratus*) after oral administration [J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1/4): 121-128.
- [5] YU L Z, YANG X L. Effects of fish cytochromes P450 inducers and inhibitors on difloxacin N-demethylation in kidney of Chinese idle (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2010, 29(3): 202-208.
- [6] 李海迪, 杨先乐, 胡鲲, 等. 双氟沙星及其代谢产物在中华绒螯蟹体内药物代谢及残留消除规律[J]. *动物学杂志*, 2009, 44(2): 12-20.
- [7] HORSBERG T E, MARTINSEN B, VARMA K J. The disposition of ¹⁴C-florfenicol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 1994, 122(2/3): 97-106.
- [8] MARTINSEN B, SIDSEL T H, SOHLBERG S, et al. Single does kinetic study of sarafloxacin after intravenous and oral administration to cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) held in sea water at 12°C [J]. *Aquaculture*, 1993, 118(1/2): 49-52.
- [9] 冯敬兵, 贾晓平. 2种水温条件下罗非鱼体内氟苯尼考的药动力学比较[J]. *南方水产*, 2008, 4(4): 49-53.
- [10] 魏敏吉, 赵明. 创新药物药代动力学研究与评价[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2008: 52-53.
- [11] 吴光红, 张静波, 孟勇, 等. 不同水温下恩诺沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学[J]. *南京农业大学学报*, 2008, 31(2): 105-110.
- [12] PESONEN M, CELANDER M, FORLIN L, et al. Comparison of xenobiotic biotransformation enzymes in kidney and liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1987, 91(1): 75-84.
- [13] LORENZANA R M, HEDSTROM O R, BUHLER D R. Localization of cytochrome P-450 in the head and trunk kidney of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1988, 96(1): 159-167.
- [14] 于灵芝, 杨先乐, 王翔凌, 等. 草鱼肾细胞中双氟沙星代谢酶的酶动力学[J]. *水产学报*, 2010, 34(3): 404-409.
- [15] 谭超, 李彩云, 刘湘新, 等. 单诺沙星在鲫鱼体内的药物代谢动力学研究[J]. *动物医学进展*, 2008, 29(4): 22-26.
- [16] WALKER R D. The use of fluoroquinolones for companion animal antimicrobial therapy [J]. *Australian Veterinary Journal*, 2000, 78(2): 84-90.
- [17] 邱银生, 吴佳. 动物专用氟喹诺酮类药物研究进展[J]. *中国兽药杂志*, 1998, 32(3): 46-48.
- [18] 方炳虎, 王志强, 陈杖榴, 等. 沙拉沙星对实验性猪链球菌病及猪水肿病的药效学[J]. *中国兽医学报*, 2002, 22(2): 165-167.
- [19] NAMDAR I R, ABEDIN I S, LAW F C P. Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in seawater chinook and coho salmon following medicated-feed treatment [J]. *Aquaculture*, 1996, 144(1/3): 27-38.
- [20] 操继跃, 邱银生, 王大菊. 鸡静注和口服盐酸沙拉沙星的药物动力学研究[J]. *华中农业大学学报*, 1999, 18(3): 248-251.
- [21] TYRPENOU A E, LOSSFIDOU E G, PSOMAS I E, et al. Tissue distribution and depletion of sarafloxacin hydrochloride after in feed administration in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) [J]. *Aquaculture*, 2003, 215(1/4): 291-300.
- [22] 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(1/4): 69-76.
- [23] NTORE L, CECHNI S, BERTNI S, et al. Pharmacokinetics of enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 182(1/2): 49-59.
- [24] ISSAR M, SINGH S K, MISHRA B, et al. Pharmacokinetics, in-situ absorption and protein binding studies of a new neuroleptic agent centbutindole in rats [J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2003, 19(2/3): 105-113.
- [25] 陈淑娟, 杨毅梅, 刘奕明, 等. 蝙蝠葛碱大鼠体内药物代谢动力学研究[J]. *中国药理学通报*, 2001, 17(2): 225-229.
- [26] EZZET F, KRISHNA G, WEXLER D B, et al. A population pharmacokinetic model that describes multiple peaks due to enterohepatic recirculation of ezetimibe [J]. *Clinical Therapeutics*, 2001, 23(6): 871-885.
- [27] 艾晓辉, 张正望, 张春光, 等. 喹乙醇在鲤鱼体内的药物代谢动力学及组织浓度[J]. *水生生物学报*, 2003, 27(3): 273-277.

Pharmacokinetics comparisons of difloxacin in crucian carp (*Carassais auratus gibelio*) at two different water temperatures

RUAN Ji-ming^{1,2}, HU Kun¹, ZHANG Hai-xin¹, WANG Hui-cong¹, FU Qiao-fang¹, YANG Xian-le¹

(1. National Pathogen Collection Center for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. College of Animal Sciences and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China)

Abstract: Using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC), the pharmacokinetic differences of difloxacin (DIF) with a single dose of 20 mg/kg body weight after oral administration were compared in crucian carp (*Carassais auratus gibelio*) at the water temperatures of 16 °C and 25 °C. Analyzed with Practical Pharmacokinetics Program (3P97), the results show that the kinetic profiles of DIF, which have significant differences within the two grades temperature, conformed to a two-compartment model, and the absorption half-times ($T_{1/2Ka}$) were 0.009 9 h and 0.122 2 h at 16 °C and 25 °C, which were found to have a positive relationship with water temperature, while the elimination half-times ($T_{1/2\beta}$: 70.968 and 18.322 h), the apparent distribution volumes (Vd/F: 1.875/kg and 0.676/kg), the area under the concentration-time curves [AUC, $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$] of plasma (763.761 and 243.244) and tissues (746.622, 1 095.711, 1 222.75 and 294.857, 258.587, 344.63 in liver, kidney and muscle, respectively) have negative relationships with water temperature. Besides the metabolite of DIF, sarafloxacin (SAR), all can be detected in the plasma and tissues (liver, kidney and muscle) at 16 °C and 25 °C, whose kinetic profiles have multimodal phenomenon. The results indicate that the distribution of DIF at 16 °C is wider than that at 25 °C. In addition, the time, when ratio of $C_{\text{max}}/\text{MIC}_{90}$ was greater than or equal to 10 at 16 °C, could reach 72 h, while it was 4–6 h at 25 °C; Therefore, DIF may have higher efficacy at low water temperature (16 °C).

Key words: water temperature; *Carassais auratus gibelio*; difloxacin; sarafloxacin; pharmacokinetics