

池塘养殖模式下氟苯尼考及其代谢产物在 斑点叉尾鮰体内的药代动力学

刘崇万^{1,2}, 朱晓华^{1,2*}, 孟 勇^{1,2}, 徐志华^{1,2}, 沈美芳^{1,2}, 边文冀¹

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏省渔业产品质量安全重点实验室, 南京 210017;
2. 江苏省水产质量检测中心, 农业农村部渔业产品质量监督检验测试中心, 南京 210017)

摘 要: **目的** 在实际大池塘养殖模式下, 研究氟苯尼考(flornfenicol, FF)及其代谢产物在斑点叉尾鮰(*Letaurus punetaus*, 以下简称鮰)体内药代动力学。**方法** 选择 4 口标准化池塘(2300 m²/口), 养殖密度按每 666.67 m² 投放鱼苗 1000 尾投放, 设 3 个实验组和 1 个对照组。实验组分别以 1.25、2.50、5.00 g/kg 3 个剂量水平在鮰饲料中添加 FF, 每天投喂饲料 4 kg(一次投入), 对照组投喂不含 FF 的等量饲料。连续投喂 5 d 后, 分别于首次投药后的第 1、2、3、4、5、6、7、8、11、14、30、60、90 和 170 d 采集鮰肌肉、肝脏及血液, 采用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)检测 FF 及氟苯尼考胺(flornfenicol amine, FFA)含量, 采用 PKSolver 药动力学药效学数据处理软件 V2.0 的药动力学房室模型拟合方法分析药时数据。**结果** FF 在鮰血液中的药代动力学特征符合一级吸收一室模型, 而在肝脏及肌肉中均符合一级吸收二室模型, FFA 在不同组织中均符合一级吸收二室模型。**结论** FF 在鮰体内主要以原型的方式代谢消除, 分布广泛且 FF 消除速率远高于 FFA, 肝脏可作为残留分析的靶组织。

关键词: 斑点叉尾鮰; 氟苯尼考; 氟苯尼考胺; 药代动力学; 高效液相色谱-串联质谱法; 池塘养殖

Pharmacokinetics of flornfenicol and its metabolic residue in *Letaurus punetaus* under pond conditions

LIU Chong-Wan^{1,2}, ZHU Xiao-Hua^{1,2*}, MENG Yong^{1,2}, XV Zhi-Hua^{1,2}, SHEN Mei-Fang^{1,2}, BIAN Wen-Ji¹

(1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Key Laboratory for Fishery Product of Jiangsu, Quality and Safety, Nanjing 210017, China; 2. Fishery Analysis & Testing Center of Jiangsu Province, Quality Control & Inspection Center for Domestic Fishery Products, Agricultural and Rural Ministry, Nanjing 210017, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the pharmacokinetics of flornfenicol and its metabolic in *Letaurus Punetaus* under the actual large pond farming model. **Methods** The experiments were carried out in 4 standardized ponds (the area of each pond was 2300 m²) at a culture density of 1000 fishes per 666.67 m², and 3 experimental groups and 1 control group were set. The experimental groups were fed with FF at the dosage of 1.25, 2.50 and 5.00 g/kg respectively in 4 kg of daily diet, and the control group was fed with the same amount of daily diet without FF. After continuous feeding for 5 days, muscle, liver, and blood were collected on the 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 30, 60, 90,

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系建设项目(JATS[2019]354)、现代农业产业技术体系专项(CARS-46)

Fund: Supported by Jiangsu Modern Agricultural Industry Technology System Construction Project (JATS[2019]354), and Special Fund Support for Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-46)

*通讯作者: 朱晓华, 硕士, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全检测与研究。E-mail: xhz824@sina.com

*Corresponding author: ZHU Xiao-Hua, Master, Professor, Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Jiangsu Key Laboratory of Fishery Product Quality and Safety, Nanjing 210017, China. E-mail: xhz824@sina.com

and 170 days, respectively, and the FF and FFA content in them were detected by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) and the drug-time curves were analyzed by pharmacokinetics software PKSolver V2.0. **Results** The concentration-time course of FF was described by one-compartment model with first order absorption in the blood and two-compartment model with first order absorption in the muscle and liver, while the concentration-time course of FFA were both described by two-compartment model with first order absorption in the blood, muscle and liver. **Conclusion** FF is eliminated as the original type, with wide distribution and the elimination rate of FF is higher than FFA. The liver can be used as the target tissue for residue analysis.

KEY WORDS: *Letaurus punetaus*; florfenicol; florfenicol amine; pharmacokinetics; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; pond conditions

1 引言

氟苯尼考(flورfenicol, FF)又名氟甲砜霉素,作为氯霉素的替代品,其具有抗菌谱广、吸收良好、体内分布广泛且安全高效等优点^[1],被广泛应用于水产养殖业,已成为气单胞菌(*Aeromonas*)、链球菌(*Streptococcus*)、弧菌(*Vibrio*)和爱德华氏菌(*Edwardsiella*)等病原菌引起的鱼类疾病的主要治疗药物^[2],随着毒理学研究深入,发现FF对哺乳动物具有胚胎毒性,降低水产品中B细胞和T细胞的增殖^[3],还会抑制淋巴细胞中DNA 3H-胸腺嘧啶脱氧核苷的合成^[4],同时其半衰期较长,如果实际用药过程中存在药物滥用或是不合理用药等现象,易导致药物残留^[5]。氟苯尼考胺(flورfenicol amine, FFA)是FF的主要活性代谢产物,目前欧盟及中国均是以FF及FFA 2者残留值之和作为FF残留标示物^[6]。

目前关于FF在大西洋鲑(*Salmo*)^[7]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[8]、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[9]、黄鳊(*Monopterus albus*)^[10]、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[11]及鲟鱼(*Acipenser sturio*)^[12]等水产品中药动学研究已有开展,但多数研究是在实验室条件下通过药浴或口灌等方式进行,与实际大池塘养殖模式存在较大差别,且仅有少数学者同时研究了FF及FFA在大西洋鲑(*Salmo*)^[7]、斑点叉尾鲟(*Letaurus punetaus*,以下简称鲟)^[13]、鲫(*Carassius auratus*)^[14]及克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)^[11]体内的代谢情况。基于此,本研究以近年来产业迅猛发展的鲟作为研究对象,模拟实际池塘养殖模式中鱼体的生长环境、放养时间、养殖密度、饲料的投喂时间与重量及投喂方式等,研究FF及FFA在鲟体内的药代规律,以期在水产养殖中科学、合理使用FF提供参考资料。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 药品与试剂

FF、FFA及其氘代物内标标准品(纯度 $\geq 99.0\%$,德国

Dr. Ehrenstorfer公司, D5-CAP); FF原料药(纯度 $\geq 20.0\%$,浙江万方生物科技有限公司); 乙酸乙酯、正己烷、氨水、甲醇、乙腈(色谱纯,美国Tedia公司); 实验用水为Millipore系统纯化水。

2.1.2 仪器与设备

Qtrap 4500 高效液相串联质谱仪(美国SCIEX公司); T18 匀浆机(德国IKA公司); AllegraTM 高速冷冻离心机(美国Beckman公司); Turbo Vap 浓缩工作站(瑞典Biotage公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 实验苗种及养殖条件

实验所用的鲟鱼苗,平均体重为(50.9 \pm 13.4) g,于2018年5月10日由江苏省淡水水产研究所养殖基地提供。试验场所位于南通市海安华鑫水产有限公司养殖基地,选择四口标准化养殖池塘(2300 m²/口,分别标记为S1、S2、S3及S4),放养密度按实际生产模式进行,每666.67 m²投放鱼苗1000尾,配备专人管理及拌药。实验前鱼苗、饲料经检测无FF及FFA残留,对拟拌喂的FF药品进行了纯度检测,结果符合要求。

2.2.2 给药方式^[15]

参考养殖户实际用药浓度,分别按1.25、2.50和5.00 g/kg 3个水平,称取FF药品,用适量蒸馏水配制成FF悬浊液,添加至空白饲料中,通过拌饵机搅拌均匀,每天每个试验池塘投喂FF阳性饲料4 kg,连续投喂5 d, S4作为空白对照池塘投喂未拌药饵料。从实验第6 d开始,4组池塘全部投喂空白饲料。

2.2.3 样品采集

从开始投喂阳性饲料1 d后开始采集样品,采集时间点分别为1、2、3、4、5、6、7、8、11、14、30、60、90和170 d(实验期间池塘不换水),每组各取10尾健康鲟作为平行样,取肌肉,血液及肝脏组织。血液采取断尾法,移入采血管,肌肉和肝脏用匀浆机或剪刀制成均匀样品,装入样品袋,于-20℃贮存备检。

2.2.4 样品前处理与检测分析

(1) 样品前处理方法^[16]

称取适量样品(每次试验样品称样量根据药物的浓度

变化进行适当调整,下同),加入 50 μL D5-CAP 溶液、15 mL 乙酸乙酯、0.45 mL 氨水以及 5 g 无水硫酸钠,涡旋混匀,8000 r/min 离心 5 min,收集上层提取液,重复提取一次,合并提取液并混匀,在室温下用 N_2 吹干。加入 5 mL 纯水,涡旋混匀,再加入 5 mL 正己烷,涡旋 1 min,弃去上层,重复加正己烷,下层液体转移至 5 mL 离心管,4 000 r/min 离心 15 min,下清液过 0.2 μm 滤膜,待测。

(2) 色谱方法

色谱柱为 Infinity Lab Poroshell 120 EC-C₈(2.1 mm \times 100.0 mm, 2.7 μm , 美国 Agilent 公司); 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A 为纯水, B 为甲醇; 进样量 10 μL ; 流速 0.2 mL/min; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱条件
Table 1 Conditions of gradient elution

时间/min	流速/(mL/min)	流动相体积比/%	
		A	B
0	0.2	94	6
2.00	0.2	94	6
4.00	0.2	6	94
7.00	0.2	6	94
7.10	0.2	94	6
10.00	0.2	94	6

(3) 质谱方法

FF 及 FFA 检测均采用电喷雾离子源(ESI), 扫描方式分别采用负离子及正离子模式; 多反应监测(multiresponse

monitoring, MRM)方式; 离子化电压 4000 V; 源温 450 $^{\circ}\text{C}$; 气帘气 25.0 psi; 喷雾器 45.0 psi; 辅助加热器 45.0 psi。多反应监测母离子、子离子、去簇电压和碰撞能量等质谱参数见表 2。

2.2.5 数据分析

采用 Excel 进行基础数据处理与分析, 药物动力学模型拟合及参数计算采用 PkSolver 药动力学药效学数据处理软件 V2.0 处理并绘制。

3 结果与分析

3.1 分析方法验证

由图 1 可见, 在本实验条件下, 可较好地分离 FF 及 FFA, 基线走动平稳, 内源性杂质对实验测定无干扰, 具有较好的特异性。FF 和 FFA 保留时间分别为 5.04 min 和 1.81 min, 分离度良好。

在质量浓度范围为 1.0~500.0 ng/mL 时, 以各组分的内标与外标的峰面积比值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 进行线性回归分析, 并随检测批次绘制标准曲线(以提取液进行计算)。在一定加标水平下(1.0~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)进行加标回收试验, 每个质量浓度水平做 3 个平行试验, 计算 FF 及 FFA 的加标回收率及相对标准偏差(relative standard deviation, RSD), 以信噪比(S/N)为 3 时计算方法检出限(limit of determination, LOD)。具体结果如表 3 所示。

结果表明, FF 及 FFA 在 1.0~500.0 ng/mL 范围内线性关系良好, 个别加标回收率偏低, 但总体来看不同批次间回收率相对稳定, 精密性均小于 10%, 该方法能够满足检测残留分析的要求。

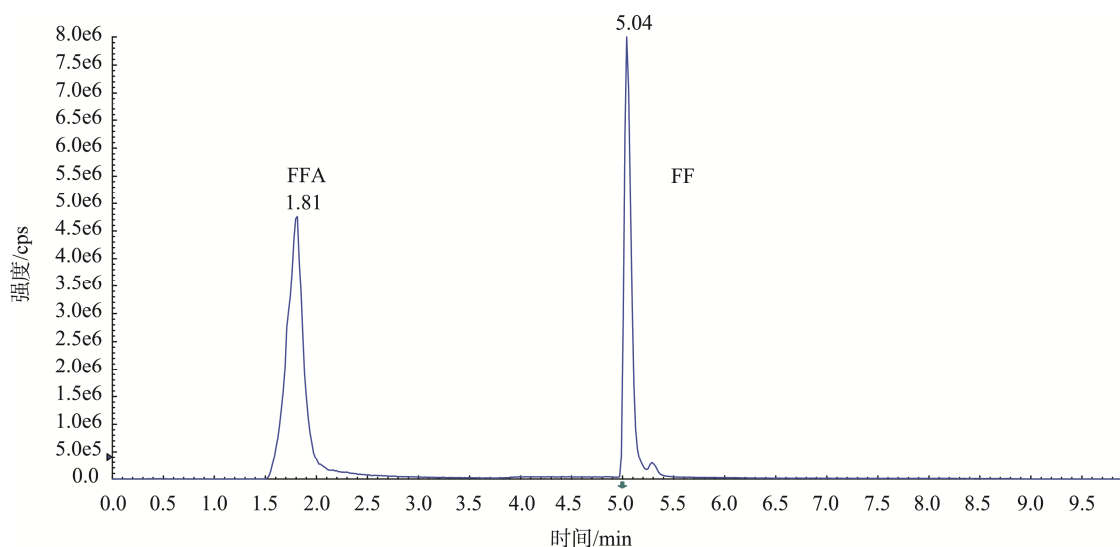


图 1 FF 及 FFA 标准色谱图

Fig.1 Chromatograms of FF and FFA

3.2 氟苯尼考及氟苯尼考胺在鲟鱼体内的药代动力学参数

应用 PKSolver 软件对不同剂量条件下的药时数据进行分析处理和房室模型拟合, 不同剂量条件下, 氟苯尼考及氟苯尼考胺在斑点叉尾鲟不同组织中药代动力学参数分

别如表 4 及表 5 所示, 药物浓度与时间关系动力学方程如表 6 所示。结果显示, 氟苯尼考在斑点叉尾鲟血液中的药代动力学特征符合一级吸收一室模型, 而在肝脏及肌肉中均符合一级吸收二室模型, 氟苯尼考胺在不同组织中均符合一级吸收二室模型。

表 2 质谱参数
Table 2 MS parameters

目标化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV	驻留时间/ms
FF	356.0	336.0*	-62	-14	100.0
		185.0	-62	-26	100.0
FFA	248.0	230.0*	62	17	100.0
		130.0	62	31	100.0
D5-CAP	326.0	156.9	-60	-24	100.0

注: 标“*”为定量离子。

表 3 FF 和 FFA 测定的线性范围、相关系数、平均回收率、检测限($n=3$)
Table 3 The ranges of linearity, relevant coefficients, average recoveries, RSDs, LODs of FF and FFA ($n=3$)

组织	目标化合物	线性范围/(ng/mL)	相关系数 r	回收率范围	相对标准偏差/%	检测限/($\mu\text{g/kg}$)
肌肉	FF	1.0~500.0	0.998	97.8%~107%	4.36	0.2
	FFA	1.0~500.0	0.997	75.9%~83.4%	4.77	0.3
肝脏	FF	1.0~500.0	0.999	87.5%~99.9%	6.63	0.2
	FFA	1.0~500.0	0.998	65.7%~79.1%	9.28	0.3
血液	FF	1.0~500.0	0.998	81.3%~88.8%	4.69	0.2
	FFA	1.0~500.0	0.997	61.3%~70.1%	6.88	0.3

表 4 不同剂量条件下氟苯尼考在斑点叉尾鲟体内药代动力学参数($n=10$)
Table 4 Pharmacokinetic parameters of FF at different doses in tissues of *Letaurus punetatus* ($n=10$)

参数	单位	低剂量(1.25 g/kg)			中剂量(2.50 g/kg)			高剂量(5.00 g/kg)		
		肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液
A	$\mu\text{g/mL}$	5.59	1.92	—	2.39	1.00	—	1.38	1.62	—
α	1/d	0.526	5.16	—	0.351	1.70	—	2.07	0.419	—
B	$\mu\text{g/mL}$	1.78	3.07	3.35	1.42	1.87	1.00	2.12	0.638	1.62
β	1/d	0.0452	2.41	0.427	0.0169	0.123	0.0592	0.0581	0.0967	0.108
ka	1/d	0.527	12.3	7.35	0.353	3.02	1.00	4.18	0.437	2.99
k_{10}	1/d	0.450	5.19	—	0.302	0.123	—	1.03	0.409	—
k_{12}	1/d	0.0683	1.49×10^{-7}	—	0.0466	3.57×10^{-11}	—	0.983	7.73×10^{-3}	—
k_{21}	1/d	0.0528	2.41	—	0.0197	1.70	—	0.117	0.0991	—
$t_{1/2\alpha}$	d	1.32	0.134	—	1.97	0.409	—	0.334	1.65	—
$t_{1/2\beta}$	d	0.288	15.3	1.62	5.65	41.0	11.7	7.17	11.9	6.39
$t_{1/2ka}$	d	1.31	0.0564	0.0943	1.96	0.229	0.691	0.166	1.59	0.232

续表 4

参数	单位	低剂量(1.25 g/kg)			中剂量(2.50 g/kg)			高剂量(5.00 g/kg)		
		肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液
<i>V/F</i>	(mg/kg)/(ng/mL)	2.43	4.70	2.32	3.07	2.78	2.85	1.39	1.50	1.32
<i>CL/F</i>	(mg/kg)/(ng/mL)/d	0.109	0.244	0.989	0.924	0.341	0.199	0.0144	0.0612	0.0188
<i>T</i> _{max}	d	5.24	3.12	3.48	4.25	3.52	3.93	4.41	3.22	3.28
<i>C</i> _{max}	ng/mL	3.82*10 ³	2.83*10 ³	6.06*10 ³	4.05*10 ³	1.57*10 ⁴	6.58*10 ³	5.65*10 ³	2.52*10 ⁴	7.60*10 ³
AUC 0-t	ng/mL*d	2.18*10 ⁴	1.03*10 ⁵	2.39*10 ⁴	4.90*10 ⁴	1.19*10 ⁵	2.14*10 ⁴	6.32*10 ³	1.59*10 ⁵	3.68*10 ⁴
AUC 0-inf	ng/mL*d	2.28*10 ⁴	1.03*10 ⁵	2.53*10 ⁴	5.41*10 ⁴	1.47*10 ⁵	2.52*10 ⁴	6.95*10 ³	1.63*10 ⁵	5.32*10 ⁴
AUMC	ng/mL*d ²	1.60*10 ⁵	2.81*10 ⁴	6.26*10 ⁴	7.57*10 ⁵	1.24*10 ⁶	1.79*10 ⁵	6.52*10 ⁴	8.05*10 ⁵	4.98*10 ⁵
MRT	d	5.67	0.274	2.40	12.6	8.07	6.22	9.05	4.06	8.95

注: *A* 表示分布相的零时截距; α 表示分布速率常数; *B* 表示消除相的零时截距; β 表示消除速率常数; *Ka* 表示药物吸收速率常数; *K10* 表示药物自中央室的消除速率; *K12* 表示药物自中央室到周边室的一级运转速率; *K21* 表示药物自周边室到中央室的一级运转速率; $t_{1/2\alpha}$ 表示分布相半衰期; $t_{1/2\beta}$ 消除相半衰期; $t_{1/2ka}$ 表示吸收半衰期; *V/F* 表示表观分布容积; *CL/F* 表示清除率; *T*_{max} 表示达峰时间; *C*_{max} 表示达峰浓度; AUC 0-t 表示药时曲线下面积; AUMC 表示 AUC 与时间的乘积; MRT 表示平均滞留时间。

表 5 不同剂量条件下氟苯尼考胺在斑点叉尾鲷体内药代动力学参数(*n*=10)
Table 5 Pharmacokinetic parameters of FFA at different doses in tissues of *Letaurus punetaus* (*n*=10)

参数	单位	低剂量(1.25 g/kg)			中剂量(2.50 g/kg)			高剂量(5.00 g/kg)		
		肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液	肌肉	肝脏	血液
<i>A</i>	μg/mL	0.132	0.0847	0.157	0.283	0.533	0.105	0.428	0.110	0.157
α	1/d	0.210	0.173	0.437	0.224	0.980	0.442	0.216	0.421	0.500
<i>B</i>	μg/mL	0.171	0.207	0.333	0.826	0.340	0.301	0.658	0.442	0.204
β	1/d	0.0592	0.0384	0.0112	0.00211	0.0145	0.0403	0.0105	0.0536	0.0321
<i>ka</i>	1/d	0.218	1.42	0.454	0.234	0.986	0.484	0.224	0.441	0.551
<i>k10</i>	1/d	0.101	0.173	0.146	1.46*10 ⁻⁴	0.131	0.0123	0.124	0.400	0.0274
<i>k12</i>	1/d	0.103	8.92*10 ⁻⁹	0.268	0.223	0.755	0.416	0.0840	0.0179	0.465
<i>k21</i>	1/d	0.0123	3.83*10 ⁻³	0.0333	1.53*10 ⁻³	0.109	0.0145	0.0183	0.0563	7.34*10 ⁻³
$t_{1/2\alpha}$	d	3.30	4.00	1.59	3.09	0.707	1.57	3.21	1.65	1.39
$t_{1/2\beta}$	d	11.7	18.1	62.0	49.3	47.9	87.2	65.7	82.9	172
$t_{1/2ka}$	d	3.18	0.0489	1.53	2.96	0.703	1.43	3.09	1.57	1.26
<i>V/F</i>	(mg/kg)/(ng/mL)	0.0475	0.0299	0.0401	0.0413	0.0146	0.0529	0.0604	0.0194	0.0681
<i>CL/F</i>	(mg/kg)/(ng/mL)/d	4.80*10 ⁻³	5.17*10 ⁻³	5.87*10 ⁻³	6.05*10 ⁻⁶	1.90*10 ⁻³	6.51*10 ⁻⁴	7.51*10 ⁻³	7.76*10 ⁻³	1.87*10 ⁻³
<i>T</i> _{max}	d	6.07	4.32	3.07	6.68	4.15	3.14	6.96	4.93	3.85
<i>C</i> _{max}	ng/mL	202	793	243	457	1.36*10 ³	371	637	1.95*10 ³	572
AUC 0-t	ng/mL*d	4.17*10 ³	4.81*10 ³	3.82*10 ³	6.73*10 ³	1.11*10 ⁴	4.67*10 ³	1.23*10 ⁴	1.27*10 ⁴	4.67*10 ³
AUC 0-inf	ng/mL*d	5.21*10 ³	4.83*10 ³	4.26*10 ³	8.26*10 ⁶	2.63*10 ⁴	7.69*10 ⁴	1.33*10 ⁴	1.29*10 ⁴	5.35*10 ⁴
AUMC	ng/mL*d ²	5.06*10 ⁵	2.83*10 ⁴	2.73*10 ⁵	8.26*10 ¹²	1.63*10 ⁶	1.86*10 ⁸	6.57*10 ⁵	7.17*10 ⁴	1.26*10 ⁸
MRT	d	95.7	5.85	63.3	9.99*10 ⁵	60.9	2.42*10 ³	48.1	4.96	2.35*10 ³

注: 各参数含义同表 4 所附注释。

表 6 不同剂量条件下 FF 和 FFA 在斑点叉尾鲷体内各组织中药物浓度和时间关系方程($n=10$)
Table 6 Equation of drug concentration and time of FF and FFA at different doses in tissues of *Letaurus punetaus* ($n=10$)

组织	剂量	药物浓度和时间关系方程	
		FF	FFA
肌肉	低剂量(1.25 g/kg)	$C=5.59e^{-0.526t}+1.78e^{-0.0452t}-e^{-0.527t}$	$C=0.132e^{-0.210t}+0.171e^{-0.0592t}-e^{-0.218t}$
	中剂量(2.50 g/kg)	$C=2.39e^{-0.351t}+1.42e^{-0.0169t}-e^{-0.353t}$	$C=0.283e^{-0.224t}+0.826e^{-0.00211t}-e^{-0.234t}$
	高剂量(5.00 g/kg)	$C=1.38e^{-2.07t}+2.12e^{-0.0581t}-e^{-4.18t}$	$C=0.428e^{-0.216t}+0.658e^{-0.0105t}-e^{-0.224t}$
肝脏	低剂量(1.25 g/kg)	$C=1.92e^{-5.16t}+3.07e^{-2.41t}-e^{-12.3t}$	$C=0.0847e^{-0.173t}+0.207e^{-0.0384t}-e^{-1.42t}$
	中剂量(2.50 g/kg)	$C=1.00e^{-1.70t}+1.87e^{-0.123t}-e^{-3.02t}$	$C=0.533e^{-0.980t}+0.340e^{-0.0145t}-e^{-0.986t}$
	高剂量(5.00 g/kg)	$C=1.62e^{-0.419t}+0.638e^{-0.0967t}-e^{-0.437t}$	$C=0.110e^{-0.421t}+0.442e^{-0.0536t}-e^{-0.441t}$
血液	低剂量(1.25 g/kg)	$C=3.35(e^{-0.427t}-e^{-7.35t})$	$C=0.157e^{-0.437t}+0.333e^{-0.0112t}-e^{-0.454t}$
	中剂量(2.50 g/kg)	$C=1.00(e^{-0.0592t}-e^{-1.00t})$	$C=0.105e^{-0.442t}+0.301e^{-0.0403t}-e^{-0.484t}$
	高剂量(5.00 g/kg)	$C=1.62(e^{-0.108t}-e^{-2.99t})$	$C=0.157e^{-0.500t}+0.204e^{-0.0321t}-e^{-0.551t}$

4 讨论

4.1 FF 及 FFA 在鲷鱼体内的药代动力学特征

本研究是在实际大池塘养殖模式下,采用拌喂投料的实际生产给药方式,研究 FF 及其代谢产物 FFA 在斑点叉尾鲷体内的药代动力学。研究发现血液中 FF 药代动力学特征符合一级吸收-一室开放模型,而肝脏及肌肉中则符合一级吸收-二室开放模型,这与秦方锦等^[11]在大黄鱼药动学,潘红艳等^[12]在鲟鱼药动学等研究中所得结论一致,不过余培建等^[17]在 50 cm×80 cm 的不锈钢水族箱中,采用口灌及肌肉注射 2 种给药方式研究 FF 在欧洲鳗体内药动学,研究发现口灌给药的数据符合二室开放模型,肌肉注射的数据符合一室开放模型,黄郁葱等^[18]在 1 m³玻璃钢桶中,采用单剂量腹注和口灌 2 种给药方式研究 FF 在红笛鲷体内的药动学,研究发现,2 种给药方式下血药代谢过程均符合一级吸收-二室模型与本研究所得结果存在差异,此差异可能是由于给药方式及种属,以及环境试验条件不同所造成。

FFA 是 FF 的主要活性代谢产物,对其药代动力学研究发现,在不同组织中,其药代动力学特征均符合一级吸收-二室开放模型,这与王瑞雪等^[6]在西伯利亚鲟体内的药动学研究结论一致。

4.2 FF 及 FFA 在鲷体内的吸收和分布特征

达峰时间(T_{max})和达峰浓度(C_{max})是衡量药物吸收速率及吸收程度的重要药动学参数^[19]。本研究中不同剂量条件下, T_{max} 在不同组织中介于 3.12~5.24 d 之间,同时,不同剂量之间 T_{max} 无显著区别, C_{max} 与给药剂量呈正相关。黄郁葱等^[18]在相关研究中,概括了在 10~30 mg/kg 剂量条件下,不同研究中报道的 T_{max} ,如大黄鱼

(*Pseudosciaena crocea*, 7.93 h)^[11]、罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*, 5.05~12 h)^[20-21]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*, 4 h)^[22]、鲫(*Carassius auratus*, 4.1~13.79 h)^[23,24],刘永涛等^[25]同样以鲷(*Letaurus punetaus*)为试验对象,研究得出 18 °C 和 28 °C 条件下,血浆中 T_{max} 分别为 11.136 h 及 5.953 h,血浆中 C_{max} 分别为 4.074 及 4.226 μg/mL,均与本研究中所得出结论差异较大,研究中采用了 122 cm×80 cm×80 cm 的水族箱进行试验,并且采用的是将投喂管强行插入到鱼的胃内的给药方式,同时在强饲后观察有无回吐现象,不回吐的才作为试验对象,其采用的强饲剂量为 10 mg/kg 鱼体重,而在本研究中低剂量条件(25 mg/kg 鱼体重)下,血浆中 C_{max} 为 6.06 μg/mL,可能是因为这样的养殖模式及给药方式可以保证药物被大量吸收,达峰时间极大缩短,而本试验采用的实际生产给药方式由于池塘水面面积较大,投饵机投出的药物首先大量散失到池塘水中,造成药物在投药的第一时间并不能保证被鱼体大量吸收,造成达峰时间较晚。可见,不同的养殖模式及给药方式对 T_{max} 和 C_{max} 影响较大,即药物在鱼体内吸收速率和吸收程度受养殖模式及给药方式的影响。

表观分布容积(V/F)是反映药物在动物体内分布的范围大小和特性的药动学参数^[19],目前研究显示,FF 在水产品体内的 V/F 大多都在 1.0 L/kg 以上^[12]。本研究中低剂量条件下肌肉、肝脏及血液中 V/F 分别为 2.43、4.70 及 2.32 L/kg,常规剂量条件下分别为 3.07、2.78 及 2.85 L/kg,高剂量条件下分别为 1.39、1.50 及 1.32 L/kg,说明 FF 在鲷各组织中分布广泛,但对比发现高剂量条件下的 V/F 明显小于低剂量及常规剂量,分析原因可能是由于一般情况下 V/F 值越大,药物穿入组织越多,分布越广,血液中药物浓度越低^[12],高浓度条件下,仍有大量药物穿入组织中,但同时药物部分药物保留在血液中,造成 FF 在组织

和血液中的分布更为平均,所以高剂量条件下的 V/F 值相对较小。

消除半衰期($t_{1/2\beta}$)是表示药物在体内消除快慢的药理学参数^[12]。本研究中低剂量条件下肌肉、肝脏及血液中 $t_{1/2\beta}$ 分别为 0.288、15.3、1.62 d, 常规剂量条件下分别为 5.65、41.0、11.7 d, 高剂量条件下分别为 7.17、11.9 及 6.39 d, 说明不同剂量组的消除半衰期长短与组织的关系一致, FF 在不同组织中消除快慢顺序为肌肉 > 血液 > 肝脏, 说明肝脏是消除最慢的组织, 因此, 可将肝脏作为 FF 残留分析的靶组织。

FFA 是 FF 的主要活性代谢产物, 本研究中不同剂量条件下, FFA 的 T_{max} 在不同组织中介于 3.07~6.96 d 之间, 肌肉和肝脏 2 种组织中 T_{max} 明显高于 FF, 血液中 2 者无显著区别; 而对比 FFA 及 FF 的 C_{max} 发现, 不同组织中, FF 的 C_{max} 显著高于 FFA 对 V/F 分析发现; 不同剂量组中 V/F 均小于 0.1, 远远低于 FF 的 V/F , 说明了 FFA 在鲷体内分布不够均匀, 第一可能是由于 FFA 在鲷体内浓度较低, 穿入组织中药物较少, 第二可能是由于 FFA 本身脂溶性较低; 但对其 $t_{1/2\beta}$ 研究发现, 远远高于 FF 的 $t_{1/2\beta}$, 显示 FFA 在鲷体内虽然浓度较低, 但不易降解, 消除速度较慢, 综上所述 FF 在鲷体内主要是以原型的方式代谢消除且 FF 的消除速率要远远高于 FFA, 但 FFA 消除较慢, 持续性存在于鱼体内, 建议以 FF 和 FFA 的浓度之和作为 FF 的标示残留物的指示值。

5 结论

综合以上论述, 在实际大池塘养殖模式下, FF 在鲷血液中的药代动力学特征符合一级吸收一室模型, 而在肝脏及肌肉中均符合一级吸收二室模型, FFA 在不同组织中均符合一级吸收二室模型。FF 在鲷体内主要以原型的方式代谢消除, 分布广泛且 FF 消除速率远高于 FFA, 肝脏可作为残留分析的靶组织。

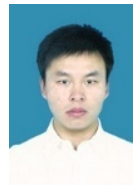
参考文献

- [1] 岳刚毅, 吴志新, 杨倩, 等. 氟苯尼考及氟苯尼考胺在克氏原螯虾体内药物代谢动力学[J]. 水生生物学报, 2011, 35(2): 307-312.
Yue GY, Wu ZX, Yang Q, et al. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite florfenicol amine, in red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. [J]. Acta Hydrobiol Sinica, 2011, 35(2): 307-312.
- [2] 陈钊, 罗强, 常志强. 不同温度下氟苯尼考在大菱鲆体内的药代动力学研究[J]. 中国海洋大学学报, 2018, 48(12): 32-38.
Chen Z, Luo Q, Chang ZQ. Pharmacokinetics of florfenicol in turbot (*Scophthalmus maximus*) at two water temperatures [J]. J Ocean Univ China, 2018, 48(12): 32-38.
- [3] Siereslawska A, Studnicka M, Siwicki AK, et al. Antibiotics and cell-mediated immunity in fish in vitro study [J]. Acta Vet Brno, 1998, 67(4): 329-334.
- [4] 卢运战, 祁克宗, 朱良强. 动物源食品中氟苯尼考残留分析[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2006, 5: 44-46.
Lu YZ, Qi KZ, Zhu LQ. Analysis of florfenicol residues in animal food [J]. Shanghai J Animal Husbandry Veter, 2006, 5: 44-46.
- [5] Tao Y, Zhu F, Chen D, et al. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multifenicol determination in shrimp and fish by liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2014, (150): 500-506.
- [6] 王瑞雪, 王获, 李绍戊, 等. 氟苯尼考及氟苯尼考胺在西伯利亚鲟体内的药代动力学及组织分布[J]. 中国海洋大学学报, 2012, 21(4): 568-574.
Wang RX, Wang D, Li SW, et al. Pharmacokinetics and tissue distribution of florfenicol and florfenicol amine in *Acipenser baeri* [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2012, 21(4): 568-574.
- [7] Horsberg TE, Hoff K A, Nordmo R. Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in atlantic salmon [J]. J Aquatic Animal Health, 1996, 8(4): 292-301.
- [8] Lim JH, Kim MS, Hwang YH, et al. Plasma and tissue depletion of florfenicol in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) after oral administration [J]. Aquaculture, 2010, 307(1-2): 71-74.
- [9] Lim JH, Kim MS, HWang YH, et al. Pharmacokinetics of florfenicol following intramuscular and intravenous administration in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. J Vet Pharmacol Ther, 2011, 34(2): 206-208.
- [10] 谢玲玲, 吴志新, 袁娟, 等. 口灌氟苯尼考在黄鳝体内的药物代谢动力学及其残留[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(1): 97-102.
Xie LL, Wu ZX, Yuan J, et al. Pharmacokinetics and elimination regularity of florfenicol and florfenicol amine, in rice field eel *Monopterus albus*. [J]. J Huazhong Agric Univ, 2013, 32(1): 97-102.
- [11] 秦方锦, 金珊, 邢晨光, 等. 氟苯尼考在大黄鱼体内的药代动力学及组织分布研究[J]. 水生态学杂志, 2010, 3(1): 102-106.
Qin FJ, Jin S, Xing CG, et al. Study on pharmacokinetics and tissue distribution of flufenicol in large yellow croaker [J]. J Hydroecol, 2010, 3(1): 102-106.
- [12] 潘红艳, 郭娇娇, 杨虎, 等. 氟苯尼考在鲟鱼体内的药物代谢动力学研究[J]. 水产科学, 2011, 30(7): 374-377.
Pan HY, Guo JJ, Yang H, et al. Pharmacokinetics of a chemical florfenicol in sturgeon [J]. Fish Sci, 2011, 30(7): 374-377.
- [13] 刘永涛. 氟苯尼考体外药效及在斑点叉尾鲷体内药代动力学与残留研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
Liu YT. Study on the *in vitro* efficacy and pharmacokinetics and residue of fosfomycin in channel catfish [D]. WuHan: Huazhong Agricultural University, 2007.
- [14] 张收元. 氟苯尼考在鲟体内的药物动力学及残留研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
Zhang SY. Pharmacokinetics and residue of florfenicol in *Carassius auratus* [D]. WuHan: Huazhong Agricultural University, 2007.
- [15] 刘崇万, 孟勇, 朱晓华, 等. 池塘养殖模式下氟苯尼考及其代谢产物在斑点叉尾鲷体内及养殖环境中残留消除及迁移行为[J]. 中国渔业质量与标准, 2019, 9(5): 30-40.
Liu CW, Meng Y, Zhu XH, et al. Elimination and migration of florfenicol and its metabolic residues in *Letaurus punetaus* and aquaculture environment under pond conditions [J]. Chin Fish Qual Standards, 2019, 9(5): 30-40.
- [16] GB/T 20756-2006 可食动物肌肉、肝脏和水产品中氯霉素、甲氧霉素和氟苯尼考残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].

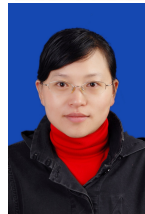
- GB/T 20756-2006 Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol residues in edible animal muscle, liver and aquatic products by liquid chromatography tandem mass spectrometry [S].
- [17] 余培建, 翁祖彤, 樊海平, 等. 氟苯尼考在欧洲鳗鲡体内的药物代谢动力学的研究[J]. 福建水产, 2005, (7): 52-57.
Yu PJ, Weng ZT, Fan HP, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in European eel [J]. *J Fujian Fish*, 2005, (7): 52-57.
- [18] 黄郁葱, 汤菊芬, 秦青英, 等. 氟苯尼考在红笛鲷体内的药代动力学的研究[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(11): 58-64.
Huang YC, Tang JF, Qin QY, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in *Lutjanus sanguineus* [J]. *Chin J Veter Drug*, 2016, 50(11): 58-64.
- [19] 黄聚杰, 林茂, 鄢庆祺, 等. 氟苯尼考在花鲈体内的代谢及残留消除规律[J]. 中国渔业质量与标准, 2016, 6(3): 6-13.
Huang JJ, Lin M, Yan QP, *et al.* Pharmacokinetics and rules of residue elimination of florfenicol in *Lateolabrax japonicus* [J]. *Chin Fish Qual Standards*, 2016, 6(3): 6-13.
- [20] 王伟利, 罗理, 姜兰, 等. 室温条件下氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学[J]. 大连海洋大学学报, 2010, 25(4): 285-288.
Wang WL, Luo L, Jiang L, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in tilapia fed diet containing the drug [J]. *J Dalian Ocean Univ*, 2010, 25(4): 285-288.
- [21] 冯敬宾, 李刘冬, 贾晓平, 等. 氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学[J]. 南方水产, 2006, 2(5): 25-29.
Feng JB, Li LD, Jia XP, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in Tilapia [J]. *South China Fish Sci*, 2006, 2(5): 25-29.
- [22] 崔毅, 周明莹, 陈碧鹃, 等. 氟苯尼考在牙鲆体内残留的消除规律[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(5): 48-52.
Cui Y, Zhou MY, Chen BJ, *et al.* Elimination of florfenicol residues in *Paralichthys olivaceus* [J]. *Progress Fish Sci*, 2012, 33(5): 48-52.
- [23] 刘海侠, 刘晓强, 张振龙, 等. 氟苯尼考单剂量腹腔注射和灌服后在鲫体内的药代动力学[J]. 西北农业学报, 2011, 5: 54-58.
Liu HX, Liu XQ, Zhang ZL, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in *Carassius auratus* after single dose intraperitoneal injection and administration [J]. *J Northwest Agric*, 2011, 5: 54-58.
- [24] 张收元, 操继跃, 罗宇良, 等. 氟苯尼考在鲫鱼体内的药理学研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(3): 97-99.
Zhang SY, Cao JY, Luo YL, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in *Carassius auratus* [J]. *Res Fish*, 2007, 27(3): 97-99.
- [25] 刘永涛, 艾晓辉, 杨红, 等. 不同水温下氟甲砜霉素在斑点叉尾鲷体内的药代动力学研究[J]. 水生生物学报, 2009, 33(1): 1-6.
Liu YT, Ai XH, Yang H, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) at different water temperatures [J]. *Acta Hydrobiol Sinica*, 2009, 33(1): 1-6.

(责任编辑: 王 欣)

作者简介



刘崇万, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为水产品质量安全检测与研究。
E-mail: liuchongwanujs@126.com



朱晓华, 硕士, 研究员, 主要研究方向为水产品质量安全检测与研究。
E-mail: xhz824@sina.com