

## 恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星在拟穴青蟹体内的药代动力学

周帅, 胡琳琳, 房文红\*, 周凯, 于慧娟

(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资源及生态重点开放实验室,上海 200090)

**摘要:**采用高效液相色谱法,研究盐度33条件下恩诺沙星口灌和肌肉注射给药(剂量10 mg/kg)后,恩诺沙星及其代谢物环丙沙星在拟穴青蟹体内的药代动力学和组织分布。血淋巴和组织中药代动力学参数采用基于统计矩原理的非房室模型进行计算。恩诺沙星口灌和肌肉注射拟穴青蟹给药后,血药达峰快,分别为0.5 h和1 min,达峰浓度分别为12.90和31.86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,曲线下面积(AUC)分别为216.1和816.8  $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$ 。恩诺沙星在拟穴青蟹组织中分布较广,口灌给药下肌肉和肝胰腺AUC分别为445.9和817.6  $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ ,肌肉注射给药下的AUC分别为554.7和2573.7  $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。与其它水产动物相比,恩诺沙星在拟穴青蟹体内消除速度为中等水平,口灌和肌肉注射恩诺沙星后血药消除半衰期( $t_{1/2z}$ )分别为26.45和57.02 h,总体清除率( $\text{CL}_z$ )分别为0.054和0.012  $\text{L}/(\text{h}\cdot\text{kg})$ 。恩诺沙星在拟穴青蟹体内代谢生成环丙沙星的量较少,口灌给药下血淋巴、肌肉和肝胰腺的 $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$ 分别为6.66%、3.66%和4.73%,肌肉注射给药下,其相应值分别为4.16%、7.24%和1.48%,在拟穴青蟹体内起药效作用仍是以恩诺沙星为主。以 $C_{\text{max}}/\text{MIC}$ 、 $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$ 评价恩诺沙星在青蟹体内的药效作用,建议给拟穴青蟹以10 mg/kg剂量每隔24小时投喂一次恩诺沙星,对弧菌引起的细菌性疾病具有较好的防治效果。

**关键词:**拟穴青蟹;恩诺沙星;代谢产物环丙沙星;口灌给药;肌肉注射给药;药代动力学  
**中图分类号:**R 969.1; S 917.4 **文献标志码:**A

拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)是我国主要海水养殖蟹类之一,在浙江、福建、广东、广西和海南等沿海广泛养殖。然而,随着拟穴青蟹养殖的规模化发展,其病害发生情况日趋严重,弧菌病、黄水病、黑斑病等细菌性疾病现已危害到该品种的健康养殖与发展<sup>[1-2]</sup>。恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)作为动物专用的喹诺酮类抗菌药物,已被广泛用于水产养殖动物感染性疾病的预防与治疗<sup>[3]</sup>,不过有关恩诺沙星的药代动力学研究还是主要集中在鱼类<sup>[4-7]</sup>,在甲壳动物中仅见肌肉注射下恩诺沙星在中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)<sup>[8]</sup>、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)<sup>[9]</sup>、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[10]</sup>和中国明对虾(*Fenneropenaeus*

*chinensis*)<sup>[11]</sup>的药代动力学报道。恩诺沙星在许多动物体内发生脱乙基反应代谢生成具有活性作用的环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)<sup>[12]</sup>,其代谢程度存在着明显的种属差异<sup>[13]</sup>。因此,了解代谢产物环丙沙星的代谢和消除规律同样重要。本实验主要研究口灌和肌肉注射给药后,恩诺沙星及其代谢产物环丙沙星在拟穴青蟹体内药代动力学,有助于了解它们在拟穴青蟹组织中的代谢和消除规律,为科学、合理使用恩诺沙星防治青蟹细菌性疾病提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验试剂

恩诺沙星原料药(含量98%以上)由浙江新

收稿日期:2011-02-24 修回日期:2011-04-19

资助项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所2007M06);上海市科技兴农推广项目[沪农科推字(2008)第2-1号]

通讯作者:房文红, E-mail:whfang06@yahoo.com.cn

昌制药有限公司提供;恩诺沙星标准品(含量 $\geq 99.9\%$ ,批号 H040798),由中国兽药监察所提供。甲醇、乙腈和正己烷均为 HPLC 级,德国 SIGMA-ALDRICH 生产;盐酸、磷酸、无水硫酸钠等试剂为上海化学试剂公司产品,分析纯。

### 1.2 试验动物及试验设计

试验用拟穴青蟹(简称青蟹)购自海南琼海市某养殖场,挑选体表无伤、附肢齐全、体质健康的青蟹用于口灌和肌肉注射给药试验,体质量 160~210 g,试验用海水为经过沙滤的天然海水,盐度为 33,水温控制在 $(26.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ ,24 h 不间断充氧。暂养 10 d 后用于试验,试验期间投喂适量牡蛎肉,并及时排出残饵和污物。试验期间青蟹成活率为 100%。

### 1.3 试验仪器

高效液相色谱仪采用美国安捷伦公司的 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 ZORBAX SB-C<sub>18</sub>, $4.6 \times 250$  mm。 $-80^\circ\text{C}$ 低温冰箱(SANYO,日本),微量移液器(eppendorf,德国),电子天平(Mettler Toledoab 204,瑞士),超纯水仪(Milli-Q Advantage, Millipore 公司),高速冷冻离心机(TGL-16G,上海安亭科学仪器厂),高速组织捣碎机(IKA 18,德国), $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜(Millipore,美国)等。

### 1.4 口灌和肌注给药

口灌和肌注给药剂量均为 10 mg/kg,所使用的恩诺沙星药液浓度为 2%,根据蟹体重计算给予药液的体积,如蟹体质量 200 g,计算所得的给药量为 0.10 mL。口灌给药,使用 0.5 mL 注射器(7#针头磨成钝圆)从蟹的口器插入约 1.5 cm 深将药液注入,插入深度事先经解剖试验确证达到胃部,口灌给药后不漏液的蟹用于样品采集试验。肌肉注射给药,使用 0.5 mL 注射器插入到青蟹第三步足基部的腹部肌肉中,插入深度 1 cm 左右。

### 1.5 样品采集

口灌给药组 采样时间点为给药后 0.25、0.5、1、2、4、6、12 h 和 1、2、4、8、12、16、20、25 d,肌肉注射组采样时间点为给药后 1、2、5、10 min,0.5、1、2、6、12 h,1、2、4、6、8、10、15 d,每个时间点采样 5 只。

血淋巴采样 先用纱布擦干蟹体,用 1 mL 注射器插入第二步足的长节和腕节之间的关节膜,

抽取血淋巴 0.8 mL 以上,转移到离心管中,然后加入等体积的 ACD 抗凝剂<sup>[14]</sup>,在震荡器上震荡 1 min,于 5 000 r/min 转速下离心 5 min,取出上层液贮存于 $-80^\circ\text{C}$ 低温冰箱中,直至药物浓度分析。

肝胰脏采样 蟹血淋巴样品采集后立即将头胸甲和腹部分开,取出肝胰脏装入塑料离心管中密封,于 $-80^\circ\text{C}$ 保存直至使用。

肌肉采样 用镊子和剪刀剔除甲壳,采集肌肉装入塑料密封袋,于 $-80^\circ\text{C}$ 保存直至使用。

### 1.6 样品前处理

拟穴青蟹血淋巴、肌肉、肝胰脏和性腺样品前处理参照房文红等<sup>[6]</sup>方法进行。

### 1.7 样品中恩诺沙星和环丙沙星分析

拟穴青蟹血淋巴、肌肉和肝胰脏样品中恩诺沙星和环丙沙星浓度分析采用反相高效液相色谱法。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 12.0) = 10:20:70(体积百分比, V/V/V)。柱温: $30^\circ\text{C}$ 。流速:1.0 mL/min。荧光检测器,检测波长: $E_x = 280$  nm,  $E_m = 450$  nm。

在该条件下,恩诺沙星和环丙沙星保留时间分别为 9.26 min 和 7.13 min。血淋巴中恩诺沙星回收率为 94%,其它组织样品中的回收率为 82%~86%,日内精密度和日间精密度相对标准偏差小于 5%。血淋巴中环丙沙星回收率为 88%,其它组织中的回收率为 80%~83%,日内精密度和日间精密度相对标准偏差小于 7%。血淋巴恩诺沙星和环丙沙星检测限分别均为 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,肌肉、肝胰脏和性腺样品中的检测限为 0.02  $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

### 1.8 数据处理

青蟹血淋巴、肌肉和肝胰脏等组织中药物浓度与时间关系药代动力学参数采用统计矩原理来推算,分析软件为上海中医药大学药物临床研究中心的 DAS 2.0 药物与统计软件。

## 2 结果

### 2.1 恩诺沙星在拟穴青蟹体内药代动力学

恩诺沙星以 10 mg/kg 剂量口灌和肌肉注射给药后,拟穴青蟹血淋巴中恩诺沙星浓度随时间的变化曲线分别见图 1 和图 2。口灌给药后,青蟹血淋巴中的恩诺沙星浓度迅速上升,仅 0.5 h 即达最高峰( $C_{\text{max}}$  为 12.90  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),随后立即下

降,4~6 h下降速度较快,6 h后下降速度明显变慢。肌肉注射给药后,第一个采样时间点( $T_{max} = 1 \text{ min}$ )即为药峰浓度, $C_{max}$ 为 $31.86 \mu\text{g/mL}$ ;给药后2 h内血药浓度下降速度很快,2 h后下降速度明显变慢,6 h后进入缓慢的消除阶段。

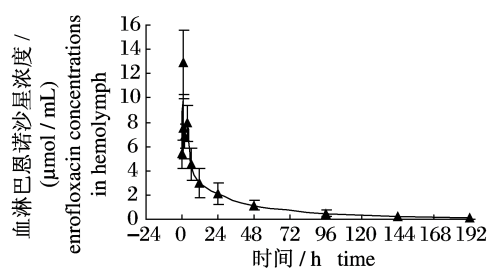


图1 口灌给药下拟穴青蟹  
血淋巴恩诺沙星浓度与时间关系

Fig. 1 Hemolymph enrofloxacin concentration-time profile following oral administration

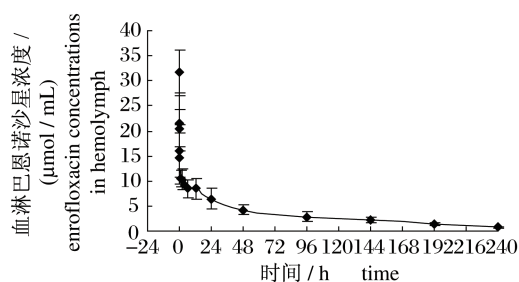


图2 肌肉注射给药下拟穴青蟹  
血淋巴恩诺沙星浓度与时间关系

Fig. 2 Hemolymph enrofloxacin concentration-time profile following intramuscular injection

以 $10 \text{ mg/kg}$ 剂量口灌给药后,青蟹肌肉和肝胰腺中恩诺沙星浓度随时间的变化关系见图3。给药后,肌肉中恩诺沙星表现为迅速上升,第0.5小时即达最高峰( $C_{max}$ 为 $6.05 \mu\text{g/g}$ ),随后立即下降,6 h后下降速度明显变慢。给药后肝胰腺中药物浓度也表现为迅速上升趋势,1 h即达到药峰, $C_{max}$ 为 $22.30 \mu\text{g/g}$ ,随后即以较快的速度下降,至24 h后肝胰腺中恩诺沙星浓度呈现出缓慢下降趋势。

以 $10 \text{ mg/kg}$ 剂量肌肉注射给药后,青蟹肌肉和肝胰腺中恩诺沙星浓度随时间的变化关系分别见图4和图5。在第一个采样时间点(1 min),肌肉中恩诺沙星浓度最高为( $13.14 \pm 1.50 \mu\text{g/g}$ ),随即几乎成垂直下降,1 h后下降速率明显趋于平

缓(图4)。肝胰腺中的恩诺沙星浓度则首先表现出上升趋势,2 h到达最高药峰为( $18.09 \pm 0.97 \mu\text{g/g}$ ),随后开始下降,但下降过程十分缓慢,给药后96 h肝胰腺中恩诺沙星浓度仍高达( $13.77 \pm 0.42 \mu\text{g/g}$ ),远高于同采样时间点的肌肉中药物浓度( $2.89 \pm 1.03 \mu\text{g/g}$ ),96 h后肝胰腺中恩诺沙星下降速率开始增大(图5)。

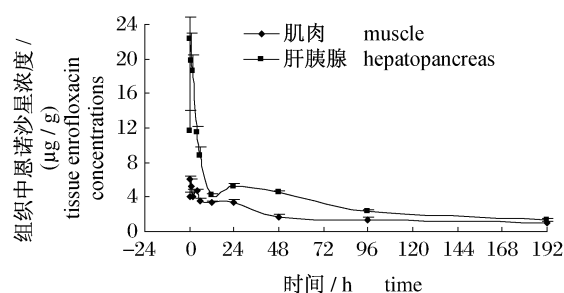


图3 口灌给药下拟穴青蟹组织中  
恩诺沙星浓度与时间关系

Fig. 3 Tissue enrofloxacin concentration-time profile of mud crab following oral administration

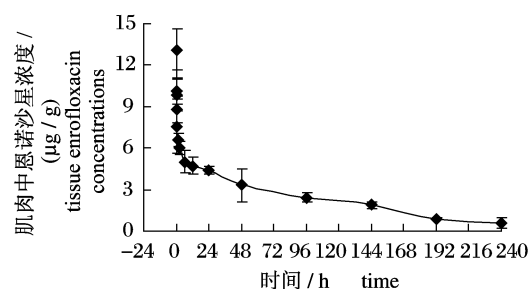


图4 肌肉注射给药下拟穴青蟹肌肉中  
恩诺沙星浓度与时间关系

Fig. 4 Muscle enrofloxacin concentration-time profile of mud crab following intramuscular injection

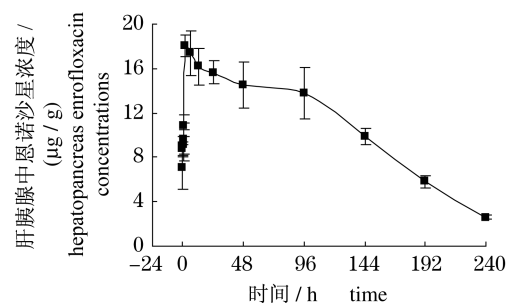


图5 肌肉注射给药下拟穴青蟹肝胰腺  
恩诺沙星浓度与时间关系

Fig. 5 Hepatopancreas enrofloxacin concentration-time profile of mud crab following intramuscular injection

采用统计矩原理推算所得的药动学参数见表 1。从同一给药途径的不同组织来看,恩诺沙星在肝胰腺中的达峰浓度、曲线下面积(AUC)高于肌肉,在肝胰腺中的平均驻留时间(MRT)长于肌肉,总体清除率( $CL_z$ )小于肌肉,但相反地恩诺沙星在肌肉中的消除半衰期( $t_{1/2z}$ )却长于肝胰腺。

从不同给药途径来看,肌注给药下青蟹血淋巴中恩诺沙星的 AUC 值是口灌给药的近 3 倍,但消除比口灌给药慢,总体清除率低于口灌给药。肌注给药下肌肉和肝胰腺 AUC 均高于口灌给药,药物在组织中的平均驻留时间(MRT)长于口灌给药,且肌肉注射的总体清除率亦低于口灌给药。

表 1 口灌和肌肉注射下拟穴青蟹组织中恩诺沙星药代动力学参数  
Tab. 1 Pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in tissues from mud crab following oral gavage and intramuscular injection

药动学参数 pharmacokinetic parameters	口灌给药 oral gavage			肌肉注射 intramuscular injection		
	血淋巴 hemolymph	肌肉 muscle	肝胰腺 hepatopancreas	血淋巴 hemolymph	肌肉 muscle	肝胰腺 hepatopancreas
$C_{max}/(\mu\text{g}/\text{mL}; \mu\text{g}/\text{g})$	12.90 ± 2.65	6.05 ± 0.45	22.30 ± 2.51	31.86 ± 4.27	13.14 ± 1.50	18.09 ± 0.97
$T_{max}/\text{h}$	0.50	0.50	0.50	0.017	0.017	2.00
$AUC_{0-t}/[\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h}); \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})]$	216.1	445.9	817.6	816.8	554.7	2 573.7
$AUC_{0-\infty}/[\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h}); \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})]$	255.7	448.1	835.0	830.8	606.9	2 769.2
$MRT_{0-t}/\text{h}$	25.87	36.36	53.29	86.98	79.08	91.16
$MRT_{0-\infty}/\text{h}$	33.11	93.28	96.16	92.96	101.16	106.74
$t_{1/2z}/\text{h}$	26.45	65.50	47.74	57.02	66.53	49.79
$V_d/(\text{L}/\text{kg})$	2.062	-	-	0.990	-	-
$CL_z/[\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg}); \text{kg}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$	0.054	0.029	0.016	0.012	0.016	0.004

注:  $C_{max}$  表示组织中药物峰浓度;  $T_{max}$  表示药物达峰时间;  $AUC_{0-t}$ 、 $AUC_{0-\infty}$  分别表示曲线下面积(0-t)和曲线下面积(0-∞);  $MRT_{0-t}$  和  $MRT_{0-\infty}$  分别表示平均驻留时间;  $t_{1/2z}$  表示消除半衰期;  $V_d$  表示表观分布容积;  $CL_z$  表示总体清除率。

Notes:  $C_{max}$ . Maximum concentration in tissues;  $T_{max}$ . Time when maximum concentration was obtained;  $AUC_{0-t}$  ( $AUC_{0-\infty}$ ). Area under the drug concentration-time curve from the time zero to 240 h (from the time zero to infinity);  $MRT_{0-t}$  ( $MRT_{0-\infty}$ ). Mean residue time of drug in body from zero to 240 h (from zero to infinity);  $t_{1/2z}$ . Elimination half-life of drug;  $V_d$ . Apparent volume of distribution;  $CL_z$ . Total body clearance.

## 2.2 代谢产物环丙沙星在拟穴青蟹组织中的代谢和消除规律

口灌给药下,拟穴青蟹不同组织中的恩诺沙星主要代谢产物环丙沙星浓度—时间关系曲线见图 6。从图中可以看出,血淋巴、肌肉和肝胰腺中代谢产物环丙沙星浓度变化比较复杂,呈现多峰现象,但总的趋势是先上升后下降。这 3 组织中代谢产物环丙沙星峰浓度出现时间分别为 48、48

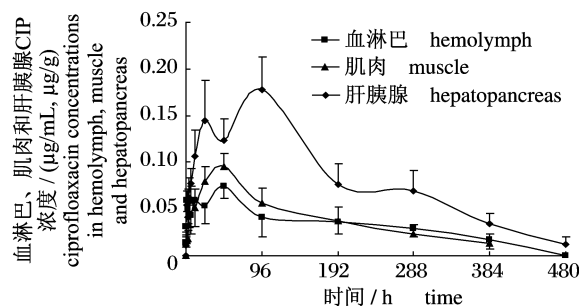


图 6 口灌给药下拟穴青蟹组织中代谢产物环丙沙星浓度与时间关系

Fig. 6 The hemolymph, muscle and hepatopancreas concentrations of metabolite ciprofloxacin in mud crab following oral gavage of enrofloxacin

和 96 h,峰浓度分别为 0.07、0.10 和 0.18  $\mu\text{g}/\text{g}$ ,远低于相应组织中恩诺沙星的达峰浓度。采用统计矩原理推算拟穴青蟹组织中代谢物环丙沙星的药动学参数(表 2)。

肌肉注射给药下,拟穴青蟹不同组织中的恩诺沙星主要代谢产物环丙沙星浓度—时间关系曲线见图 7。从图中可以看出,血淋巴、肌肉和肝胰

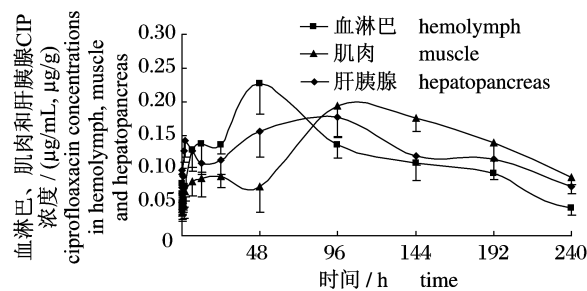


图 7 肌肉注射给药下拟穴青蟹组织中代谢产物环丙沙星浓度与时间关系

Fig. 7 The hemolymph, muscle and hepatopancreas concentrations of metabolite ciprofloxacin in mud crab following intramuscular injection of enrofloxacin

脏中代谢产物环丙沙星浓度变化比较复杂,呈现多峰现象;且在3组织中药峰浓度出现时间并不一致,分别为48、96和96h,峰浓度分别为0.23、

0.19和0.18  $\mu\text{g/g}$ ,同样远低于相应组织中恩诺沙星的达峰浓度。采用统计矩原理推算锯缘青蟹组织中代谢物环丙沙星的药动学参数(表2)。

表2 拟穴青蟹口灌和肌肉注射恩诺沙星后代谢物环丙沙星的药动学参数  
Tab.2 Pharmacokinetic parameters of metabolite ciprofloxacin in tissues from mud crab following oral gavage and intramuscular injection

药动学参数 pharmacokinetic parameter	口灌给药 oral gavage			肌肉注射 intramuscular injection		
	血淋巴 hemolymph	肌肉 muscle	肝胰脏 hepatopancreas	血淋巴 hemolymph	肌肉 muscle	肝胰脏 hepatopancreas
$C_{\max}/(\mu\text{g/mL}; \mu\text{g/g})$	0.07 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.04	0.19 $\pm$ 0.05	0.18 $\pm$ 0.03
$T_{\max}/\text{h}$	48	48	96	48	96	96
$\text{CL}_z/[\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})]$	0.503	0.540	0.245	0.259	0.205	0.214
$\text{AUC}_{(0-t)}/[\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h}); \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})]$	14.4	16.3	39.1	34.0	40.2	38.1
$\text{AUC}_{(0-\infty)}/[\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h}); \mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})]$	19.9	18.5	40.8	38.7	48.8	46.7
$\text{MRT}_{(0-t)}/\text{h}$	148.60	125.38	162.57	121.38	157.66	141.83
$\text{MRT}_{(0-\infty)}/\text{h}$	299.86	176.20	181.82	169.66	227.50	221.60

注:  $C_{\max}$  表示组织中药物峰浓度;  $T_{\max}$  表示药物达峰时间;  $\text{CL}_z$  表示总体清除率;  $\text{AUC}_{0-t}$  和  $\text{AUC}_{0-\infty}$  分别表示曲线下面积(0-t)和曲线下面积(0- $\infty$ );  $\text{MRT}_{0-t}$  和  $\text{MRT}_{0-\infty}$  分别表示平均驻留时间。

Notes:  $C_{\max}$ . Maximum concentration in tissues;  $T_{\max}$ . Time when maximum concentration was obtained;  $\text{CL}_z$ . Total body clearance;  $\text{AUC}_{0-t}$  ( $\text{AUC}_{0-\infty}$ ). Area under the drug concentration-time curve from the time zero to 240 h (from the time zero to infinity);  $\text{MRT}_{0-t}$  ( $\text{MRT}_{0-\infty}$ ). Mean residue time of drug in body from zero to 240 h (from zero to infinity).

### 3 讨论

#### 3.1 恩诺沙星在拟穴青蟹体内药动学特征

尽管采用房室模型可以推算得到较多的药动学参数,但房室模型的选择也往往会影响到药动学参数<sup>[15]</sup>。因此本研究中,采用统计矩原理推算了口灌和肌肉注射给药下恩诺沙星在拟穴青蟹血淋巴、肌肉和肝胰脏组织中的药动学参数,可以不受模型选择的限制,分析药物的吸收、分布和消除等处置过程。

血药  $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$  和 AUC 是反映药物在体内吸收快慢和程度的重要参数<sup>[15]</sup>。恩诺沙星以 10 mg/kg 剂量混饲口灌鲤 (*Cyprinus carpio* L.)<sup>[16]</sup>, 其血药峰浓度达 2.147  $\mu\text{g/mL}$ , 达峰时间为 1 h, AUC 为 45.055  $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 。舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 口服 5 mg/kg 恩诺沙星, 吸收较慢,  $T_{\max}$  为 8 h,  $C_{\max}$  为 1.39  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[17]</sup>, AUC 为 65.93  $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 。短盖巨脂鲤 (*Colossoma brachypomum*) 口服 5 mg/kg 剂量的恩诺沙星, 其吸收尤为缓慢,  $t_{\max}$  为 36 h,  $C_{\max}$  为 0.80  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[18]</sup>, AUC 仅为 26.5  $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ 。本研究中, 拟穴青蟹口灌恩诺沙星的血药达峰快 ( $T_{\max}$  为 0.5 h),  $C_{\max}$  和 AUC 均明显高于上述几种水生脊椎动物。在肌肉注射给药下, 青蟹对恩诺沙星的吸收更为迅速, 在给药后的 1

min(第1个采样时间点)即达到最高值,且吸收效果好;这一结果与氟喹诺酮类药物在其他甲壳动物中相一致。中华绒螯蟹肌肉注射环丙沙星(雄蟹给药剂量为 8.17  $\mu\text{g/kg}$ 、雌蟹 6.25  $\mu\text{g/kg}$ )时,血药达峰时间均为 1 min,峰浓度分别为 37.13  $\mu\text{g/mL}$ 、16.47  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[19]</sup>; 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 肌肉注射 10 mg/kg 诺氟沙星,达峰浓度为 2 min,血药峰浓度为 29.33 ~ 30.27  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[20]</sup>。大西洋鲑 (*Salmo salar*) 幼鱼肌注 10 mg/kg 恩诺沙星,0.41 h 才达到峰浓度<sup>[21]</sup>。猪和鸡肌肉注射恩诺沙星,其达峰时间更长,分别为 0.75 ~ 1 h,峰浓度分别仅为 0.77 ~ 0.79  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[12]</sup> 和 1.33  $\mu\text{g/mL}$ <sup>[22]</sup>。由此可见,恩诺沙星在甲壳类动物体内不仅吸收快,而且吸收程度高,其原因可能主要是: 虾蟹等甲壳动物血液循环系统为开放式循环系统,血管末端开放,没有微血管相连,血淋巴由身体各部分的组织间隙逐渐汇集到混合体腔,肌肉注射给药类似于血窦内或血管注射给药<sup>[23]</sup>。

组织中  $C_{\max}$  和 AUC 是反映药物在组织中分布的主要药动学参数。恩诺沙星以 10 mg/kg 剂量肌肉注射后,罗氏沼虾<sup>[9]</sup>肌肉和肝胰脏的  $C_{\max}$  分别为 6.635 和 9.465  $\mu\text{g/g}$ , AUC 分别为 207.04 和 308.07  $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ ; 中国明对虾肌肉和肝胰脏的  $C_{\max}$  分别为 6.29  $\mu\text{g/g}$  和 11.82  $\mu\text{g/g}$ , AUC 分别为 73 和 320

$\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})^{[10]}$ 。本研究中,同是肌肉注射相同给药剂量下,青蟹肌肉和肝胰腺的  $C_{\text{max}}$  和 AUC 均远大于上述的对虾和沼虾,这说明恩诺沙星在青蟹组织中分布广泛。

$t_{1/2\beta}$ 、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消除差别较大,在此将恩诺沙星在水产动物体内消除速度分为快、中、慢。眼斑拟石首鱼 (*Sciaenps ocellatus*) 灌服 5 mg/kg 恩诺沙星,其血浆药物  $t_{1/2\beta}$  为 4.989 h,CLs 为 0.288 L/(h·kg)<sup>[5]</sup>;中国明对虾血淋巴  $t_{1/2\beta}$  为 7.03 h,CLs 为 0.25 L/(h·kg)<sup>[10]</sup>,这两种动物体内恩诺沙星消除较快。本研究的恩诺沙星在青蟹体内的消除速度属于中等速度,青蟹口灌和肌肉注射恩诺沙星后,血药消除半衰期( $t_{1/2z}$ )分别为 26.45 和 57.02 h,总体清除率( $CL_z$ )分别为 0.054 和 0.012 L/(h·kg);与虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 幼鱼 ( $t_{1/2\beta}$  为 29.5 h)<sup>[24]</sup> 和罗氏沼虾 [ $t_{1/2\beta}$  为 69.315 h,CLs 为 0.035 L/(h·kg)]<sup>[9]</sup> 接近,青蟹口灌给药的 MRT 与虹鳟幼鱼 (10 mg/kg 剂量下 MRT 为 35.3 h) 相近。而恩诺沙星在欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 和大西洋鲑体内消除较慢,欧洲鳗鲡口灌给药恩诺沙星的血浆  $t_{1/2\beta}$  为 161.10 h,MRT 为 267.3 h<sup>[6]</sup>;大西洋鲑口灌 10 mg/kg 的血浆消除半衰期为 105.1 h,MRT 为 151.7 h<sup>[21]</sup>。众所周知,水产动物种类多,形态和解剖学结构差别大,还受着生存环境的影响。药物在不同种类之间的消除上的差异可能是由于解剖学上的体积差异、药物与血浆蛋白和组织结合的差异<sup>[25-26]</sup>,以及生存环境温度的差异所致<sup>[27]</sup>。由此可见,药物在水产动物体内代谢与消除规律十分复杂,针对特定药物开展其在不同养殖动物体内的药代动力学研究非常重要。

### 3.2 拟穴青蟹体内恩诺沙星及其代谢物环丙沙星的关系

恩诺沙星在动物体内脱去乙基代谢成为具有活性作用的环丙沙星,在陆生哺乳动物体内可较多地代谢为环丙沙星。山羊肌肉注射恩诺沙星后,其血浆中代谢产物环丙沙星与恩诺沙星的曲线下面积之百分比 ( $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$ ) 为 34%<sup>[11]</sup>,绵羊、猪、狗和马的  $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$  分别为 55%<sup>[28]</sup>、51.5%<sup>[29]</sup>、43%<sup>[30]</sup> 和 20%~35%<sup>[31]</sup>。由此可见,在陆生哺乳动物体内,代谢产物环丙沙星和原形药物恩诺沙星共同起着药效作用。

在水产动物中,恩诺沙星代谢生成环丙沙星的量差异较大。乌贼 (*Sepia officinalis*) 血管注射和药浴浸泡恩诺沙星时,所有实验样品中均未检测到代谢产物环丙沙星 (检测限为 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$  或者  $\mu\text{g}/\text{g}$ )<sup>[32]</sup>;舌齿鲈口灌和药浴给药恩诺沙星时,在肝脏中可经常检测到环丙沙星,血液中偶尔检测到,而在皮肤和肌肉中则从未检测到 (检测限为 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$  或者  $\mu\text{g}/\text{g}$ )<sup>[17]</sup>;罗非鱼 (*Tilapia*) 投喂 50 mg/kg 剂量恩诺沙星药饵,肌肉中环丙沙星代谢产物最高含量为 0.22  $\mu\text{g}/\text{g}$ <sup>[4]</sup>;欧洲鳗鲡口灌给药恩诺沙星,其血浆、肌肉和肝脏等组织中均可检测到环丙沙星,且最高浓度分别为 0.123、0.388 和 1.212 mg/kg,但与相应组织中的恩诺沙星最高浓度相比,仅分别约为 1/40、1/15 和 1/7.5,但与相应组织中的恩诺沙星最高浓度相比,仅分别约为 1/40、1/15 和 1/7.5,血浆中  $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$  为 6.24%<sup>[6]</sup>。在甲壳动物中,罗氏沼虾肌肉注射恩诺沙星后,在血淋巴、肌肉和肝胰腺等 3 种组织中均可检测到环丙沙星,但含量处于较低水平,肝胰腺内浓度最高,为 0.198  $\mu\text{g}/\text{g}$ <sup>[9]</sup>;中国明对虾肌肉注射剂量 10 mg/kg 恩诺沙星,其血药环丙沙星代谢产物最高浓度为 0.024  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,其血药  $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$  仅为 1.2%<sup>[10]</sup>。本研究中,肌肉注射给药下,青蟹血淋巴、肌肉和肝胰腺 3 种组织  $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$  分别为 4.16%、7.24% 和 1.48%;口灌给药下 3 种组织  $\text{AUC}_{\text{CIP}}/\text{AUC}_{\text{ENR}}$  分别为 6.66%、3.66% 和 4.78%。由此可见,无论是水生脊椎动物,还是甲壳类无脊椎动物,恩诺沙星代谢生成环丙沙星的量都明显少于陆生哺乳动物,且在水生动物中起抑(杀)菌作用的以恩诺沙星为主,代谢产物环丙沙星所起的药效作用甚微。

### 3.3 恩诺沙星的疗效及给药方案

ROQUE 等<sup>[33]</sup>从墨西哥养殖的凡纳滨对虾群体分离到 144 株弧菌,并进行了 15 种抗生素对所分离弧菌的敏感性试验。结果表明,所分离的 144 株弧菌中只有 3 株对恩诺沙星不敏感,恩诺沙星对余下 141 株菌的平均最小抑菌浓度 (MIC) 为 0.45  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,而氟甲砜霉素的平均 MIC 为 1.79  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,土霉素平均 MIC 为 304.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,说明恩诺沙星对弧菌具有较强的抗菌能力,且效果优于其它抗生素<sup>[33]</sup>。氟喹诺酮类药物属于典型的浓度依赖性药物,其临床药效既受最高血药

浓度还受曲线下面积(AUC)的影响,当  $C_{\max}/MIC$  为 8~10、 $AUC_{0-24}/MIC$  为 30~55 时,氟喹诺酮类药物显现出很好的临床药效<sup>[34]</sup>。弧菌是海水养殖动物的主要病原菌,毛芝娟等<sup>[1]</sup>从养殖发病青蟹体内分离到具有致病性的辛辛那提弧菌、溶藻弧菌和副溶血弧菌,虽然未对这些病原菌作药敏测试,但可以参考上述的 MIC 结果,假设上述几株青蟹病原弧菌的 MIC 为 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,那么其  $C_{\max}/MIC$  为 12.9、 $AUC_{0-24}/MIC$  为 95.3,均达到氟喹诺酮类药物临床治疗要求,这说明给拟穴青蟹以 10 mg/kg 剂量每隔 24 小时口服投喂恩诺沙星,能够较好地防治弧菌引起的青蟹细菌性疾病。

#### 参考文献:

- [1] 毛芝娟. 养殖青蟹的主要病害与防治[J]. 科学养鱼, 2000, 7: 30-30.
- [2] 冯振飞, 王国良, 倪海儿. 养殖锯缘青蟹黄水病流行病学及其预报模型[J]. 水产科学, 2009, 28(12): 713-716.
- [3] 刘开永, 汪开毓. 恩诺沙星在水产中的应用与研究[J]. 中国兽药杂志, 2004, 38(10): 32-34.
- [4] 徐维海, 林黎明, 朱校斌, 等. 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.
- [5] 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.
- [6] 房文红, 于慧娟, 蔡友琼, 等. 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[J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 622-629.
- [7] 刘玉林, 王翔凌, 杨先乐, 等. 诺氟沙星在大黄鱼体内的药代动力学及残留研究[J]. 水产学报, 2007, 31(5): 655-660.
- [8] 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.
- [9] 宋维彦, 苏永全, 潘滢, 等. 磺胺甲基恶唑和恩诺沙星在日本囊对虾体内的药代动力学研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(7): 22-27.
- [10] 钱云云. 恩诺沙星在罗氏沼虾体内的药物代谢动力学[J]. 动物学杂志, 2007, 42(5): 62-69.
- [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] TYCZKOWSKA K, HEDEEN K M, AUCCOIN 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]. *Journal of Chromatography*, 1989, 493: 337-346.
- [13] 曾振灵, 冯淇辉. 恩诺沙星在猪体内的生物利用度及药动力学研究[J]. 中国兽医学报, 1996, 16(6): 605-612.
- [14] 杨先乐, 刘至治, 孙文钦, 等. 中华绒螯蟹血淋巴内盐酸环丙沙星的反相高效液相色谱法的建立[J]. 水产学报, 2001, 25(4): 348-355.
- [15] 王广基. 药物代谢动力学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 64-85, 315-318.
- [16] 张雅斌, 刘艳辉, 张祚新, 等. 恩诺沙星在鲤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.
- [17] INTORRE L S, CECCHINI S, BERTINI A M, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in the seabass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 182: 49-59.
- [18] LEWBART G, VADEN S, DEEN J, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in the red pacu *Colossoma brachypomum* after intramuscular, oral and bath administration [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997, 20: 124-128.
- [19] 杨先乐, 刘至治, 横山雅仁. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究[J]. 水生生物学报, 2003, 27(1): 18-22.
- [20] 房文红, 郑国兴. 肌注和药饵给药下诺氟沙星在南美白对虾血淋巴中药代动力学[J]. 水生生物学报, 2006, 30(5): 541-546.
- [21] STOFFREGEN D A, WOOSTER G A, BUSTOS P S. Multiple route and dose pharmacokinetics of enrofloxacin in juvenile Atlantic salmon [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1997, 20(2): 111-123.
- [22] 应翔宇, 李冬郊, 田惠英, 等. 恩诺沙星在健康及巴氏杆菌感染鸡体内的药物代谢动力学研究[J]. 中国兽医杂志, 2002, 36(1): 3-6.
- [23] BLISS D E. The biology of crustacea [J]. *Internal Anatomy and Physiological Regulation*, 1983, 5: 3-19.
- [24] BOWSER P R, WOOSTER G A, STLEGER J, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in fingerling, rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1992, 15:

- 62 - 71.
- [25] BARRON M G, GEDUTIS C, JAMES M O. Pharmacokinetics of sulphadimethoxine in the lobster, *Homerus americanus*, following intrapericardial administration [ J ]. *Xenobiotica*, 1988, 18(3):269 - 277.
- [26] OIE S, TOZER T N. Effect of altered plasma protein binding on the apparent volume of distribution [ J ]. *Journal of Pharmacology Science*, 1979, 68: 1203 - 1208.
- [27] RIGOS G, ALEXIS M, ANDRIOPOULOU A, *et al.* Temperature-dependent pharmacokinetics and tissue distribution of oxolinic acid in sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. , after a single intravascular injection [ J ]. *Aquaculture Research*, 2002, 33: 1175 - 1181.
- [28] MENGOZZI G, INTORRE L, BERTINI S, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin after intravenous and intramuscular administration in sheep [ J ]. *American Journal of Veterinary Research*, 1996, 57: 1040 - 1043.
- [29] ANADON A, MARTINEZ-LARRANAGA M R, DIAZ M J, *et al.* Pharmacokinetic variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs [ J ]. *American Journal of Veterinary Research*, 1999, 60: 1377 - 1382.
- [30] KUNG K L, RIOND J L, WANNER M. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite, ciprofloxacin after intravenous and oral administration of enrofloxacin in dogs [ J ]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1993, 16: 462 - 468.
- [31] KAARTINEN L, PAM S, PYÖRÄLÄ S. Pharmacokinetics of enrofloxacin in horses after single intravenous and intramuscular administration [ J ]. *Equine Veterinary Journal*, 1997, 29: 378 - 381.
- [32] 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 ]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2005, 28 (5): 433 - 439.
- [33] ROQUE A, GOMEZ-GIL B. Therapeutic effects of enrofloxacin in an experimental infection with a luminescent *Vibrio harveyi* in *Artemia franciscana* Kellogg 1906 [ J ]. *Aquaculture*, 2003, 220: 37 - 42.
- [34] LACY M K, LU W, XU X W, *et al.* Pharmacodynamic comparisons of levofloxacin, ciprofloxacin and Ampicillin against *Streptococcus pneumoniae* in an *in vitro* model of infection [ J ]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1999, 43 (3): 672 - 677.



## Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in mud crab (*Scylla paramamosain*)

ZHOU Shuai, HU Lin-lin, FANG Wen-hong\*, ZHOU Kai, YU Hui-juan  
(Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** The pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin were investigated in the mud crab (*Scylla paramamosain*) kept at a salinity of 33 after a single oral gavage and intramuscular injection (10 mg/kg). The concentrations of enrofloxacin and ciprofloxacin in the main tissues (hemolymph, muscle and hepatopancreas) were simultaneously detected by HPLC. The parameters in hemolymph and tissues were calculated by non-compartment model based on statistic moment theory. The peak plasma enrofloxacin was fast reached after oral gavage and intramuscular injection. The peak time were 0.5 h and 1 min for oral gavage and intramuscular injection, respectively and the peak concentration of enrofloxacin was 12.90 and 31.86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. Area under the concentration-time curve (AUC) in hemolymph was 216.1 and 816.8  $\mu\text{g}/(\text{mL} \cdot \text{h})$ , respectively. Enrofloxacin was widely distributed in mud crab tissues. AUC of muscle and hepatopancreas were 445.9 and 817.6  $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , respectively, following oral gavage and AUC of muscle and hepatopancreas were 554.7 and 2573.7  $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$ , respectively, after intramuscular injection. Compared with other aquatic animals, enrofloxacin was eliminated at a medium level. Half-life of elimination ( $t_{1/2z}$ ) and body clearance ( $\text{CL}_z$ ) were 26.45 h and 0.054  $\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})$ , respectively, for oral gavage, and 57.02 h and 0.012  $\text{L}/(\text{h} \cdot \text{kg})$ , respectively, for intramuscular injection. The AUC ratios of ciprofloxacin and enrofloxacin in mud crab hemolymph, muscle and hepatopancreas were 6.68%, 3.60% and 4.78%, respectively, following oral gavage, and the corresponding values were 4.16%, 7.24% and 1.48%, respectively, after intramuscular injection. Enrofloxacin in mud crab metabolized less ciprofloxacin and enrofloxacin played a main role in the efficacy in the mud crab. The efficacy of enrofloxacin in mud crab was evaluated with  $C_{\text{max}}/\text{MIC}$  ratio and  $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$  ratio. Oral gavage of enrofloxacin at a single dosage of 10 mg/kg once every 24 h could yield good therapeutic efficacy on vibrio diseases.

**Key words:** *Scylla paramamosain*; enrofloxacin; metabolite ciprofloxacin; oral gavage; intramuscular injection; pharmacokinetics

**Corresponding author:** FANG Wen-hong. E-mail: whfang06@yahoo.com.cn