

温度、流速对恩诺沙星在虹鳟体内吸收、分布的影响

潘浩^{1,2}, 王荻¹, 卢彤岩^{1*}

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 环境因素会对药物在动物机体内的代谢产生不同的影响, 为研究温度和水流速度对药物在虹鳟体内药物代谢的影响, 以虹鳟为实验对象, 设置3个温度(5、10、15 °C)和流速(8、16、24 cm/s), 水温由自动循环水族缸的控温系统调控, 流速由鱼类生态测量仪调控, 高效液相色谱法(HPLC)检测组织中恩诺沙星含量。结果发现, 在5、10、15 °C时, 血浆 T_{max} 分别是8.67、4.78、2.39 h; $T_{1/2\alpha}$ 分别是0.86、0.80、0.77 h; $T_{1/2\beta}$ 分别是49.18、45.81、38.35 h; AUC 分别是140.49、130.40、112.78 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。实验温度下, 表现为温度升高会加快药物的吸收和分布, 即吸收分布速率增大, 达峰时间缩短。在8、16、24 m/s 3个实验流速下, 血浆 T_{max} 分别是8.57、6.03、4.04 h; $T_{1/2\alpha}$ 分别是5.47、2.16、0.27 h; $T_{1/2\beta}$ 分别是26.54、6.93、2.13 h; $T_{1/2ka}$ 分别是7.68、5.00、2.01 h。实验流速下, 表现为流速增大会加快药物的吸收和分布, 即吸收分布速率增大, 达峰时间缩短。研究表明, 在一定范围内温度的升高及水流速度的增加会加速恩诺沙星在虹鳟体内的吸收与分布。

关键词: 虹鳟; 恩诺沙星; 温度; 流速

中图分类号: S 948

文献标志码: A

鱼类属于变温动物, 水温度的变化会直接影响到鱼类体温的变化, 进而影响其新陈代谢, 包括药物在水产动物体内吸收、分布、代谢及排泄速率。已有研究表明, 水温的变化对药物在水产动物体内的代谢有显著影响^[1-5]。在一定温度范围内, 药物的代谢强度与水温成正比, 水温越高, 代谢速率越快^[6]。Björklund等^[7]的研究表明, 水温每升高10 °C, 鱼类的代谢和消除速率将提高10%。

水流是鱼类生活环境中的一个重要生态因子, 能够刺激鱼类的感觉器官, 使其产生相应的活动方式及反应机制, 如逆流运动。水流可以通过刺激鱼类的感觉器官, 进而影响鱼类的摄食、生长、代谢等生命活动^[8-11]。近年来, 有关养殖鱼类水流速度对代谢的影响已有一些研究^[12-14], 宋波澜等^[15-16]研究了水流速度对盐酸诺氟沙星在多鳞四须鲃(*Barbodes schwanenfeldi*)幼鱼

体内残留的影响, 以及流速对盐酸恩诺沙星在西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)体内残留的影响, 结果表明水流速度的增大加速了药物残留的排除。而有关水流速度对鱼体内药物代谢的影响尚未见报道。

恩诺沙星(enrofloxacin, ENR)是第3代人工合成的喹诺酮类广谱抗菌药物, 又名乙基环丙氟哌酸、乙基环丙沙星或恩氟沙星^[17]。目前恩诺沙星在水产动物药物代谢动力学方面的研究已有诸多报道, 环境因素对恩诺沙星在水产动物体内药物代谢动力学影响的方面也有所研究^[2, 6], 但关于环境因素对恩诺沙星在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)体内吸收、分布的影响尚未见报道。本实验以养殖虹鳟为研究对象, 探讨了温度、流速两个环境因素对恩诺沙星在虹鳟体内吸收、分布的影响, 了解环境因素在药物代谢过程中的

收稿日期: 2016-10-24 修回日期: 2016-12-26

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(20120385); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-46)

通信作者: 卢彤岩, E-mail: lutongyan@hotmail.com

作用, 以期为实际养殖中不同养殖条件下的用药提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

虹鳟(50±5) g, 购于辽宁本溪; 实验在室内水族缸中进行, 实验期间正常投喂, 水体溶解氧保持在6.00 mg/L以上。实验鱼在自动循环水族缸(0.6 m×0.6 m×1.8 m)中暂养, 水温实验期间保持恒定, 暂养期间正常喂养不含任何药物的全价饲料, 给药前停饲24 h。

1.2 主要实验药品与仪器

恩诺沙星(纯度≥99.0%)和环丙沙星(ciprofloxacin)标准品(纯度≥94.0%), 购于德国Dr.Ehrenstorfer公司, 恩诺沙星原粉(纯度≥98.5%), 购于浙江国邦药业有限公司。戴安U-3000高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher公司), 色谱柱: TM-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm); 紫外检测波长: 279 nm; 流速: 1.0 mL/min; 柱温40 °C, 进样量: 20 μL。鱼类生态测量仪。

1.3 实验方法

温度对恩诺沙星在虹鳟体内吸收、分布的影响 随机挑选健康、大小相近的虹鳟300尾, 随机分为3组, 水温以每天上调(下调)1 °C渐次调至实验温度5、10、15 °C, 调至实验温度后暂养驯化7 d使其适应实验环境, 实验期间水温保持在(5±0.5), (10±0.5)和(15±0.5) °C, 分别进行实验。选取暂养实验鱼, 以30.0 mg/kg体质量的剂量, 将恩诺沙星灌服液灌入实验鱼的前肠, 无回吐者保留实验。分别于给药后0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、4、6、8、12、24、36、48、72 h进行采样, 采集实验鱼的血液、肝脏、肾脏, 每个时间点采样6尾。

流速对恩诺沙星在虹鳟体内吸收、分布的影响 随机挑选健康暂养实验鱼300尾, 每次6尾, 放入鱼类生态测量仪已调成一致水温的环形水道内, 在实验流速下暂养驯化3 d使其适应实验环境, 实验期间水温保持在(10±0.5) °C。给药及采样同温度实验的方法。

1.4 样品的前处理

血浆 将血浆从-20 °C取出置于冰上自

然解冻, 精确吸取1 mL血浆样品置于加入5 mL乙腈的20 mL离心管中, 漩涡混匀5 min后, 转入离心机中以转速10 000 r/min高速离心5 min, 吸取其上清液。重复提取2次, 合并上清液于第二支20 mL离心管中。45 °C氮吹吹干后向管内加入2 mL流动相溶液, 漩涡振荡器高速振荡6 min直至残留物完全溶解。吸取2 mL正己烷加入离心管中, 再漩涡高速振荡4 min, 充分混匀后10 000 r/min高速离心10 min, 弃上层正己烷, 吸取试管底层液体经0.45 μm有机相一次性针头过滤器过滤后, 储存于进样瓶中4 °C保存待测。

组织 准确称取1 g组织于50 mL离心管中, 吸取5 mL乙腈加入离心管后用分散均质机匀浆1 min, 剩余处理同血浆处理的方法。

1.5 标准曲线的制备与回收率的测定

配制浓度分别为0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 μg/mL的恩诺沙星、环丙沙星标准液, 过0.45 μm的微孔滤器于进样瓶, 进行HPLC测定。以检测峰面积为纵坐标, 药物浓度为横坐标绘制标准曲线, 求出回归方程和相关系数。

取0.5 mL系列浓度的恩诺沙星、环丙沙星标准混合使用液(0.05、0.10、0.5、1 μg/mL), 分别加入到空白的0.3 mL血浆、0.15 g肌肉和0.5 g肝脏中, 进行HPLC测定, 每个药物浓度3个重复, 计算恩诺沙星的相对回收率。

1.6 数据处理

数据采用SPSS 11.5 进行平均值和标准差的计算, 标准曲线及标准曲线回归分析由高效液相色谱检测报告所得, 药一时曲线与药动学模型拟合及参数计算均由DAS 3.0药动学分析软件处理。

2 结果

2.1 标准品色谱图

以Y为恩诺沙星和环丙沙星峰面积, X为恩诺沙星和环丙沙星浓度, 在0.05~10 μg/mL浓度范围内, 线性回归方程分别为 $Y=1.58X+0.1232$ 、 $Y=1.4649X+0.1144$, 相关系数分别为0.999 99和0.999 98(图1, 图2)。以引起3倍基线噪音的药物浓度为最低检测限, 本方法的最低检测限恩诺沙星为0.008 μg/mL, 环丙沙星为0.0076 μg/mL。

表 1 恩诺沙星、环丙沙星在虹鳉各组织中的相对回收率

Tab. 1 Recovery of enrofloxacin and ciprofloxacin in plasma and tissues of *O. mykiss*

药物添加浓度/(μg/mL) concentration	相对回收率/% relative recovery					
	恩诺沙星 enrofloxacin			环丙沙星 ciprofloxacin		
	血浆 plasma	肝脏 liver	肌肉 muscle	血浆 plasma	肝脏 liver	肌肉 muscle
0.05	88.01	88.91	88.68	87.21	89.89	85.90
0.10	87.89	87.79	91.62	89.09	88.12	88.89
0.50	91.37	91.40	91.50	91.87	93.87	92.96
1.00	94.45	96.25	95.21	93.65	94.87	95.43
平均回收率/% average recovery	90.43±3.12	91.08±3.75	91.75±2.67	90.45±2.86	91.68±3.21	90.79±4.23

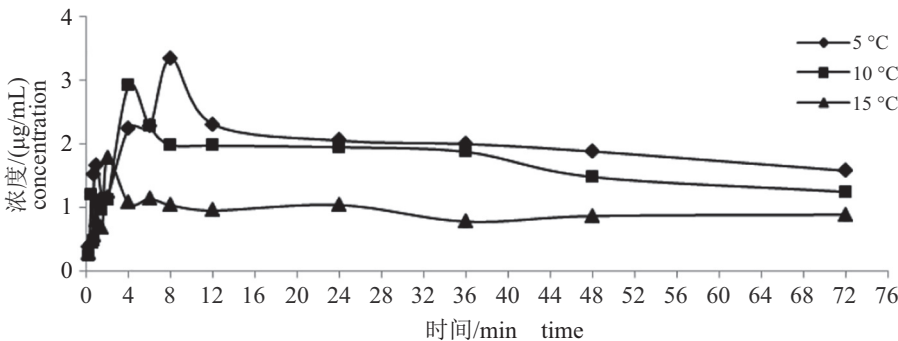


图 5 三种水温下恩诺沙星在虹鳉血浆中的药时曲线

Fig. 5 Enrofloxacin concentration-time curves in plasma of *O. mykiss* at three temperature

到峰值后浓度随时间迅速降低, ENR的峰值在肝脏中明显高于血浆及肌肉, 这也与肝脏是药物代谢的主要器官相符。相比5、10、15 °C实验组中, 肌肉和肝脏中ENR的吸收速率明显加快。

温度对恩诺沙星在虹鳉体内代谢的影响
采用药动力学软件DAS 3.0对所得药时数据进行药动力学参数计算和模型拟合。结果表明, 3个温度下, ENR在虹鳉血浆、肌肉和肝脏中的代谢过程皆符合药物的一级吸收二室开放模型。5、10和15 °C时ENR在虹鳉血浆中药代动力学代谢方程:
 $C=2.50e^{-0.01t}+1.96e^{-0.90t}-4.46e^{-0.52t}$ 、 $C=2.01e^{-8.55t}+2.75e^{-0.02t}-4.76e^{-0.39t}$ 、 $C=10.41e^{-2.06t}+1.05e^{-0.03t}-11.46e^{-0.89t}$

在虹鳉血浆中, 5、10和15 °C水温条件下, ENR的分布半衰期 $T_{1/2\alpha}$ 分别为0.86、0.80和0.77 h; 消除相半衰期 $T_{1/2\beta}$ 分别为49.18、45.81和38.35 h; 吸收相半衰期 $T_{1/2ka}$ 分别为1.78、1.35和1.04 h; 药时曲线下面积AUC分别为140.49、130.40和112.78 μg/(L·h); 达峰时间 T_{max} 分别为8.67、4.78和2.39 h; 峰浓度 C_{max} 分别为3.34、2.91和1.78 μg/L (表2)。

表明温度越高(15 °C)药物在血浆中的吸收越快, 药物峰浓度越低; 水温越高药物的达峰时间越短, 消除速率越快。肝脏、肌肉中ENR的具体药代学参数如表2所示。

2.5 流速对恩诺沙星在虹鳉体内吸收、分布的影响

流速对恩诺沙星在虹鳉体内药物浓度的影响
3个流速条件下的药物浓度随时间变化趋势基本一致, 药物在血浆中的浓度于给药后迅速上升, 并分别在8、6和4 h到达峰值2.90、2.83和2.61 μg/mL。12 h后, 由于机体代谢ENR浓度迅速降低, 最终在72 h时分别代谢至浓度为1.47、1.28和1.07 μg/mL。在本实验条件下, ENR浓度在虹鳉体内到达峰值的时间随流速的增大而缩短(图6)。

在3个流速条件下, 肝脏与肌肉中ENR药时曲线与血浆中的药时曲线相比有较大差异。肝脏中, 在8和16 cm/s的流速条件下药时曲线基本一致, ENR浓度在8 h到达峰值26.19和24.14 μg/g, 而流速为24 cm/s时则于4 h时迅速到达峰值20.15 μg/g;

表 2 三种水温条件下恩诺沙星在虹鳉体内的主要药动学参数

Tab. 2 Pharmacokinetics parameters of enrofloxacin in *O. mykiss* at three temperatures

参数 parameters	单位 unit	血浆 plasma			肝脏 liver			肌肉 muscle		
		5 °C	10 °C	15 °C	5 °C	10 °C	15 °C	5 °C	10 °C	15 °C
<i>A</i>	μg/L	2.50	2.01	10.41	4.27	2.33	2.10	1.10	4.53	0.15
<i>α</i>	1/h	0.01	8.55	2.06	16.78	1.33	7.84	0.20	0.04	27.04
<i>B</i>	μg/L	1.96	2.75	1.05	1.74	8.84	4.07	2.97	3.25	26.37
<i>β</i>	1/h	0.90	0.02	0.03	0.58	0.04	0.03	0.01	0.05	0.05
<i>ka</i>	1/h	0.52	0.39	0.89	29.25	13.71	8.03	0.13	0.07	0.13
<i>T</i> _{1/2α}	h	0.86	0.80	0.77	25.16	17.74	1.27	23.54	16.09	13.36
<i>T</i> _{1/2β}	h	49.18	45.81	38.35	172.70	42.60	50.68	98.09	84.14	20.41
<i>T</i> _{1/2ka}	h	1.78	1.35	1.04	1.84	1.48	0.29	9.47	7.71	6.93
<i>K</i> ₁₀	1/h	0.01	0.02	0.04	0.01	0.11	1.88	0.02	0.04	0.05
<i>K</i> ₁₂	1/h	0.03	0.58	1.83	0.02	1.42	8.07	0.05	0.00	0.15
<i>K</i> ₂₁	1/h	8.21	7.97	0.19	0.01	0.48	0.17	0.15	0.21	0.08
<i>AUC</i>	μg/(L·h)	140.49	130.40	112.78	202.60	98.83	75.49	121.22	87.08	78.80
<i>T</i> _{max}	h	8.67	4.78	2.39	8.78	4.62	4.26	8.07	6.17	4.13
<i>C</i> _{max}	μg/L	3.34	2.91	1.78	23.33	14.96	13.69	8.86	7.46	6.73

注: *A*. 分布相的零时截距; *α*. 分布速率常数; *B*. 消除相的零时截距; *β*. 消除速率常数; *ka*. 药物吸收速率常数; *T*_{1/2α}. 分布相半衰期; *T*_{1/2β}. 消除相半衰期; *T*_{1/2ka}. 吸收相半衰期; *K*₂₁. 药物自周边室到中央室的一级转运速率; *K*₁₂. 药物自中央室到周边室的一级转运速率; *K*₁₀. 药物自中央室的消除速率; *AUC*. 药时曲线下总面积; *C*_{max}. 峰浓度; *T*_{max}. 达峰时间; 表4注释同此

Notes: *A*. zero-time intercept of a distribution phase; *α*. distribution rate constant; *B*. zero-time intercept of a elimination phase; *β*. elimination rate constant; *ka*. drug absorption rate constant; *T*_{1/2α}. distribution half-life; *T*_{1/2β}. elimination half-life; *T*_{1/2ka}. absorption half-life; *K*₂₁. a rate constant of drug from peripheral compartment to central compartment transporter; *K*₁₂. a rate constant of drug from central compartment to the peripheral compartment transporter; *K*₁₀. a rate constant of drug elimination from the central compartment; *AUC*. the area under concentration-time curve; *C*_{max}. the peak concentration; *T*_{max}. time to peak. The same below the notes of Tab.4

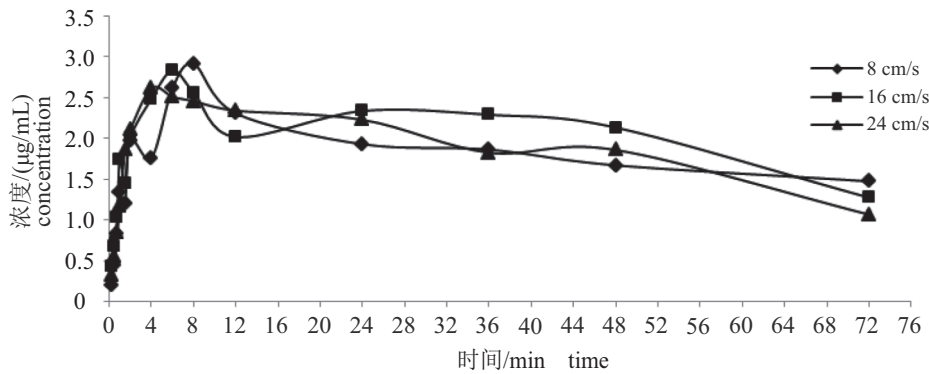


图 6 三种流速下恩诺沙星在虹鳉血浆中的药时曲线

Fig. 6 Enrofloxacin concentration-time curves in plasma of *O. mykiss* at three water velocity

72 h时, 3个流速条件下的药物终浓度分别为 4.39、4.63和2.22 μg/g。肌肉中, 3个流速条件下 ENR浓度到达峰值的时间均为 8 h, 峰值为 20.48、18.48和13.93 μg/g; 并且在流速为 8 cm/s, 72 h时ENR在肌肉中的终浓度 5.90 μg/g, 远高于

两个高流速的终浓度(表3)。

流速对恩诺沙星在虹鳉体内的药动学常数的影响 3种流速下, ENR在虹鳉血浆、肌肉和肝脏中的代谢过程皆符合药物的一级吸收二室开放模型。血浆中药代动力学代谢方程分别

表 3 三种流速下恩诺沙星在虹鳉组织中的浓度变化
Tab. 3 Enrofloxacin concentration in tissue of *O. mykiss* at three water velocity

时间/h time	恩诺沙星浓度/[μg/(mL·g)] enrofloxacin concentration								
	血浆 plasma			肝脏 liver			肌肉 muscle		
	8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s	8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s	8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s
0.25	0.20	0.43	0.33	1.80	6.07	2.50	0.17	0.50	0.50
0.5	0.45	0.68	0.55	6.28	9.56	3.26	0.58	0.61	0.32
0.75	0.84	1.04	0.86	4.95	13.28	4.36	0.23	0.63	0.66
1	1.34	1.74	1.17	7.51	13.15	12.25	0.99	0.72	1.09
1.5	1.21	1.46	1.87	7.92	13.57	15.99	0.71	5.85	1.89
2	1.97	2.01	2.11	10.91	13.11	16.23	0.83	3.64	3.44
4	1.76	2.48	2.61	15.04	14.39	20.15	3.80	5.92	8.36
6	2.61	2.83	2.51	17.67	17.26	13.16	6.25	9.41	10.13
8	2.90	2.56	2.45	26.19	24.14	14.50	20.48	18.48	13.93
12	2.31	2.02	2.34	10.13	14.80	10.77	11.92	12.35	9.47
24	1.93	2.33	2.23	11.33	15.89	12.14	10.94	9.73	9.33
36	1.86	2.29	1.82	6.22	8.48	11.57	9.70	5.91	2.47
48	1.67	2.13	1.86	5.63	6.22	8.48	8.98	2.47	1.89
72	1.47	1.28	1.07	4.39	4.63	2.22	5.90	1.89	0.83

为 $C=2.69e^{-0.01t}+0.83e^{-0.84t}-3.52e^{-2.05t}$ 、 $C=6.75e^{-0.06t}+0.55e^{-0.79t}-7.3e^{-2.65t}$ 、 $C=0.93e^{-0.32t}+5.44e^{-0.03t}-6.37e^{-1.59t}$ 。

在虹鳉血浆中，8、16和24 cm/s 流速条件下 ENR 的分布半衰期 $T_{1/2\alpha}$ 分别为5.47、2.16和0.27 h；消除相半衰期 $T_{1/2\beta}$ 分别为26.54、6.93和2.13 h；吸收相半衰期 $T_{1/2ka}$ 分别为7.68、5.00 和2.01 h；药时曲线下面积AUC分别为119.18、139.86和142.45 μg/(L·h)；达峰时间 T_{max} 分别为8.57、6.03和4.04 h；峰浓度 C_{max} 分别为2.91、2.83和2.61 μg/L (表4)。表明流速越快药物在血浆中的吸收分布速率越大，药物峰浓度越低，药物吸收量越小；但流速越快药物的达峰时间越短，消除速率越快。

2.6 环丙沙星在虹鳉体内的浓度变化情况

在本实验中，以30.0 mg/kg体质量的剂量对虹鳉单次口灌ENR灌服液后，只在肝脏中检测到微量环丙沙星，血浆、肌肉中未检测到环丙沙星存在。

3 讨论

结果显示，口灌ENR后，血药、肌肉和肝

药浓度-时间数据均用一级吸收二室开放模型描述较好，模型拟和的理论值和实际值相差较少，这与以往的^[18-23]研究结果相一致。

3.1 温度对恩诺沙星在虹鳉体内吸收分布的影响

T_{max} 和 $T_{1/2\alpha}$ 是反映药物在体内吸收分布速率的重要指标。5、10、15 °C实验组ENR在虹鳉体内的 T_{max} 和 $T_{1/2\alpha}$ 均随温度的升高而变小，表明水温较高时ENR的吸收分布速率较快。Björklund等^[24]的研究表明，通常水温每升高1 °C，鱼类的代谢速率将提高10%左右。杨洪生等^[5]的研究表明，随着水温的升高(17、23、和29 °C)，中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)肝脏中ENR的 $T_{1/2\alpha}$ (1.81、0.97和0.14 h)缩短，与水温呈负相关，这可能是由于研究对象的不同造成。18和28 °C水温下磺胺甲噁唑(pharmacokinetic)在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)体内的 T_{max} 分别为3.41和1.14 h， $T_{1/2\alpha}$ 分别为3.09和1.93 h，温度降低会明显导致药物代谢速率降低^[25]，这也与本实验结果相一致。Rigos等^[26]发现不同水温下，22 °C时土

表 4 三种流速下恩诺沙星在虹鳟体内的主要药动学参数

Tab. 4 Pharmacokinetics parameters of enrofloxacin in rainbow trout at three water velocity

参数 parameters	单位 unit	血浆 plasma			肝脏 liver			肌肉 muscle		
		8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s	8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s	8 cm/s	16 cm/s	24 cm/s
A	$\mu\text{g/L}$	2.69	6.75	0.93	1.29	9.27	13.09	6.29	2.27	9.22
α	1/h	0.01	0.06	0.32	0.08	0.81	0.11	0.20	0.73	0.07
B	$\mu\text{g/L}$	0.83	0.55	5.44	1.15	4.73	0.66	34.95	1.98	0.12
β	1/h	0.84	0.79	0.03	0.00	0.04	0.98	0.06	0.05	0.28
ka	1/h	2.05	2.65	1.59	0.58	6.78	13.85	0.09	0.44	0.13
$T_{1/2\alpha}$	h	5.47	2.16	0.27	7.47	6.15	0.65	11.44	10.48	5.14
$T_{1/2\beta}$	h	26.54	6.93	2.13	45.56	28.84	22.36	78.25	16.77	7.75
$T_{1/2ka}$	h	7.68	5.00	2.01	6.16	3.28	2.89	12.89	9.21	1.60
K_{10}	1/h	0.00	0.02	0.03	0.03	0.10	0.00	0.06	0.10	0.01
K_{12}	1/h	10.01	0.11	0.04	0.02	0.45	0.09	0.05	0.32	0.08
K_{21}	1/h	0.03	0.01	0.28	1.04	0.30	0.00	0.98	0.37	0.01
AUC	$\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$	119.18	139.86	142.45	161.58	171.16	207.71	23.43	33.60	62.81
$T_{\max}$	h	8.57	6.03	4.04	8.08	4.18	7.18	8.35	8.42	8.35
$C_{\max}$	$\mu\text{g/L}$	2.91	2.83	2.61	20.19	20.14	20.18	20.48	19.48	19.93

霉素在舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)体内吸收分布速率大于在13.5 °C时。Björklund等^[7]的研究表明,不同水温下虹鳟体内土霉素和恶喹酸达到峰值的时间与温度呈负相关。在虹鳟体内,土霉素、恶喹酸和恩诺沙星间的差异可能是由于药物种类及其代谢机理的不同造成的。在水温为16和25 °C时对中华绒螯蟹口灌ENR,其 $T_{1/2\alpha}$ 分别为0.85和0.58 h,随着温度的升高,ENR在中华绒螯蟹体内的分布有加快的趋势^[27],说明在不同的物种中ENR的分布均会受到温度的影响。在14和24 °C时水温下对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)静注奥喹酸,发现两个水温下药物的 $T_{1/2\alpha}$ 相差达20倍,这种显著的差异,可能与药物种类和实验对象有关^[28]。鲫(*Carassius auratus*)口灌达氟沙星时10 °C水温下 $T_{\max}$ 和 $T_{1/2\alpha}$ 明显长于20 °C水温下^[29]。Lee等^[30]在两个不同水温条件下研究磺胺甲氧嘧啶在鳊鱼体内的代谢规律也发现低温组的 $T_{\max}$ 和 $T_{1/2\alpha}$ 明显高于高温组,这种差异可能是药物种类不同导致的。

$C_{\max}$ 和 AUC 可反映药物在体内的吸收和分布程度。杨洪生等^[5]的研究表明,不同水温(17、23和29 °C)下恩诺沙星在中华绒螯蟹肝脏中的

AUC 分别为2148.66、324.17和264.47 $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{h})$,水温越高 AUC 值越低,与水温呈负相关。Lermen等^[31]研究不同温度(3和13 °C)下氟喹酸在克林雷氏鲶(*Rhamdia quelen*)体内的吸收和消除规律,结果表明高温组的氟喹酸的达峰时间($T_{\max}$)和峰浓度($C_{\max}$)分别为1.07和0.91 $\mu\text{g}/\text{mL}$,温度的升高降低了氟喹酸的达峰浓度。

3.2 流速对恩诺沙星在虹鳟体内吸收分布的影响

流速的变化能刺激鱼的逆流游泳运动,其摆尾频率也随之加大,从而使代谢速率提高。因而水流的刺激和温度变化效果一样影响到药物在鱼体内的代谢和排泄。本实验流速条件下(8、16和24 cm/s),恩诺沙星在虹鳟体内的达峰时间($T_{\max}$)和分布相半衰期($T_{1/2\alpha}$)以及吸收相半衰期($T_{1/2ka}$)均随流速的升高而变小,表明流速较快时药物的吸收分布速率较快。宋波澜等^[10]对多鳞四须鲃(*Barbodes schwanenfeldi*)的研究表明:流速的增大促进了鱼体代谢并且加速诺氟沙星残留的排除;宋波澜等^[16]研究盐酸恩诺沙星在西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)体内的残留实验中也得出了相同的结论。在以不同的实验对象与药物的实

验中, 流速均对药物的吸收、分布有影响。反映药物在体内的吸收和分布程度的药时曲线下总面积(AUC)随流速的升高变大, 呈正相关; 而峰浓度($C_{\max}$)几乎不受流速变化的影响, 在3个流速条件下均维持在稳定的水平上。

综上所述, 实验条件、实验药物、实验鱼均会对药物在鱼体内的代谢产生较大的影响。本实验中, 相同给药剂量下, 在一定的范围内温度和流速的增大促进了ENR在虹鳟体内的吸收和分布, ENR的吸收分布速率增大、达峰时间缩短, 但峰浓度会相对降低。

参考文献:

- [1] 冯敬宾, 贾晓平. 渔用抗菌药物代谢动力学及残留研究进展[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(1): 80-84.
Feng J B, Jia X P. Progress in pharmacokinetics and residues resistance of fishery drugs[J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 2005, 25(1): 80-84(in Chinese).
- [2] 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.
Wu G H, Zhang J B, Meng Y, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in the Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*, at three water temperatures[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2008, 31(2): 105-110(in Chinese).
- [3] 周群兰, 尹文林, 何义进, 等. 不同温度下氟苯尼考在罗氏沼虾体内的药物代谢比较[J]. 湖州师范学院学报, 2009, 31(2): 48-53.
Zhou Q L, Yin W L, He Y J, *et al.* The pharmacokinetics of florfenicol in *Macrobrachium rosenbergii* following intramuscular injection[J]. Journal of Huzhou Teachers College, 2009, 31(2): 48-53(in Chinese).
- [4] 李在建, 李静, 何斌, 等. 不同温度下甲砒霉素在鲫体内的药物动力学及残留研究[J]. 畜牧与兽医, 2016, 48(3): 84-88.
Li Z J, Li J, He B, *et al.* Pharmacokinetics and residue determination of thiamphenicol under different temperatures in crucian[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2016, 48(3): 84-88(in Chinese).
- [5] 杨洪生, 陈玲珍, 吴光红, 等. 水温对氟苯尼考在中华绒螯蟹体内的药物代谢动力学影响[J]. 福建水产, 2014, 36(5): 359-365.
Yang H S, Chen L Z, Wu G H, *et al.* Pharmacokinetics of florfenicol in the Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) at two water temperature[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2014, 36(5): 359-365(in Chinese).
- [6] 汪文选, 卢彤岩, 王荻, 等. 两种水温条件下恩诺沙星在鲫鱼体内的药动学比较[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2010(2): 129-131.
Wang W X, Lu T Y, Wang D, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in crucian carp at two water temperatures[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2010(2): 129-131(in Chinese).
- [7] Björklund H, Bylund G. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.)[J]. Aquaculture, 1990, 84(3-4): 363-372.
- [8] Ogata H Y, Oku H. Effects of water velocity on growth performance of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2000, 31(2): 225-231.
- [9] Merino G E, Piedrahita R H, Conklin D E. Effect of water velocity on the growth of California halibut (*Paralichthys californicus*) juveniles[J]. Aquaculture, 2007, 271(1-4): 206-215.
- [10] 宋波澜, 林小涛, 许忠能. 逆流运动训练对多鳞四须鲃摄食、生长和体营养成分的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(1): 106-114.
Song B L, Lin X T, Xu Z N. Effects of upstream exercise training on feeding efficiency, growth and nutritional components of juvenile tinfoil barbs (*Barbodes schwanenfeldi*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(1): 106-114(in Chinese).
- [11] 李想, 林小涛, 宋波澜, 等. 流速对红鳍银鲫幼鱼游泳状态的影响[J]. 动物学杂志, 2010, 45(2): 126-133.
Li X, Lin X T, Song B L, *et al.* Effects of water velocities on swimming performances of juvenile tinfoil barbs *Barbodes schwanenfeldi*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2010, 45(2): 126-133(in Chinese).
- [12] Herskin J, Steffensen J F. Energy savings in sea bass swimming in a school: measurements of tail beat frequency and oxygen consumption at different swimming speeds[J]. Journal of Fish Biology, 1998, 53(2): 366-376.
- [13] 宋波澜, 林小涛, 王伟军, 等. 不同流速下红鳍银鲫趋流行为与耗氧率的变化[J]. 动物学报, 2008, 54(4): 686-694.

- Song B L, Lin X T, Wang W J, *et al.* Effects of water velocities on rheotaxis behaviour and oxygen consumption rate of tinfoil barbs *Barbodes schwanenfeldi*[J]. Acta Zoologica Sinica, 2008, 54(4): 686-694(in Chinese).
- [14] 李丹, 林小涛, 李想, 等. 水流对杂交鲟幼鱼游泳行为的影响[J]. 淡水渔业, 2008, 38(6): 46-51.
- Li D, Lin X T, Li X, *et al.* Effects of water current on swimming performance of juvenile hybrid sturgeon (*Huso duricus* Georgi ♂×*Acipenser schrencki* Brandt ♀)[J]. Freshwater Fisheries, 2008, 38(6): 46-51(in Chinese).
- [15] 宋波澜, 林小涛, 许忠能. 逆流运动对多鳞四须鲃幼鱼活动代谢及体内盐酸诺氟沙星残留的影响[J]. 淡水渔业, 2012, 42(6): 3-7.
- Song B L, Lin X T, Xu Z N. Effects of upstream locomotion training on metabolism and norfloxacin hydrochloride residues of juvenile tinfoil barbs *Barbodes schwanenfeldi*[J]. Freshwater Fisheries, 2012, 42(6): 3-7(in Chinese).
- [16] 宋波澜, 许忠能, 王占全. 流速对西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)行为特性、抗氧化酶及体内盐酸恩诺沙星残留的影响[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(5): 1109-1114.
- Song B L, Xu Z N, Wang Z Q. Effect of water velocity on behavior, antioxidant enzyme and residues of enrofloxacin-HCl in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2014, 36(5): 1109-1114(in Chinese).
- [17] Xu H Y, Wang T Y, Zhao Q, *et al.* Analysis of fluoroquinolones in animal feed based on microwave-assisted extraction by LC-MS-MS determination[J]. Chromatographia, 2011, 74(3-4): 267-274.
- [18] 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.
- Fang W H, Yu H J, Cai Y Q, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in European eel (*Anguilla anguilla*) after a single oral gavage[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(4): 622-629(in Chinese).
- [19] 汪文选. 不同温度下两种氟喹诺酮类药物在鲫鱼体内的药动学比较研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- Wang W X. Pharmacokinetics of two quinolones in crucian carp at three water temperature[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010 (in Chinese).
- [20] 马寅. 氟苯尼考和恩诺沙星在大黄鱼体内的代谢动力学研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2012.
- Ma Y. Pharmacokinetics of florfenicol and enrofloxacin in healthy and *Vibrio alginolyticus* infected *Pseudosciaena crocea*[D]. Ningbo: Ningbo University, 2012 (in Chinese).
- [21] 梁俊平, 李健, 张喆, 等. 肌注和口服恩诺沙星在大菱鲂体内的药代动力学比较[J]. 水生生物学报, 2010, 34(6): 1122-1129.
- Liang J P, Li J, Zhang Z, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in turbot (*Scophthalmus maximus*) after a single intramuscular and oral administration[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(6): 1122-1129(in Chinese).
- [22] 钱云云, 唐俊, 郑宗林, 等. 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.
- Qian Y Y, Tang J, Zheng Z L, *et al.* Pharmacokinetics of enrofloxacin in *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2007, 42(5): 62-69(in Chinese).
- [23] 陈文银, 印春华. 诺氟沙星在中华鳖体内的药代动力学研究[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 434-437.
- Chen W Y, Yin C H. Pharmacokinetic studies on norfloxacin in *Trionyx sinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 1997, 21(4): 434-437(in Chinese).
- [24] Björklund H V, Eriksson A, Bylund G. Temperature-related absorption and excretion of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1992, 102(1-2): 17-27.
- [25] 艾晓辉, 刘长征, 周运涛. 不同水温 and 给药方式下磺胺甲噁唑在草鱼体内的药动学研究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(2): 210-214.
- Ai X H, Liu C Z, Zhou Y T. A study on pharmacokinetic of sulphamethoxazole in grass carp at different temperatures and administration regimes[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(2): 210-214(in Chinese).
- [26] Rigos G, Alexis M, Andriopoulou A, *et al.* Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, at two water temperatures[J]. Aquaculture, 2002, 210(1-4): 59-67.
- [27] 郑宗林, 叶金明, 李代金, 等. 恩诺沙星及其代谢产物在中华绒螯蟹血淋巴中的比较药代动力学[J]. 海洋渔业, 2011, 33(1): 74-82.

- Zheng Z L, Ye J M, Li D J, *et al.* On comparative pharmacokinetic of enrofloxacin in hemolymph of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Marine Fisheries, 2011, 33(1): 74-82(in Chinese).
- [28] Kleinow K M, Jarboe H H, Shoemaker K E, *et al.* Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxolinic acid in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1994, 51(5): 1205-1211.
- [29] 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.
- [30] Lee M J, Kou G H. Absorption of sulfamonomethoxine by eels in medicated bath[J]. JCRF Fish Series, 1978, 34: 69-75.
- [31] Lermen C L, Lappe R, Crestani M, *et al.* Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*[J]. Aquaculture, 2004, 239(1-4): 497-507.

Effects of temperature and water velocity on pharmacokinetics and the expression CYP3A-27 of enrofloxacin in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*)

PAN Hao^{1,2}, WANG Di¹, LU Tongyan^{1*}

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The pharmacokinetics of drug in animal was influenced by different environmental factors. In order to explore the effect of temperature and water velocity on pharmacokinetics of drug in rainbow trout, three temperature (5 °C, 10 °C, 15 °C) and three water velocity (8 cm/s, 16 cm/s 24 cm/s) were studied. The temperature and water velocity were controlled by the control system, samples were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). Results showed that at temperatures of 5 °C, 10 °C and 15 °C, $T_{\max}$ was 8.67 h, 4.78 h and 2.39 h; $T_{1/2\alpha}$ was 0.86 h, 0.80 h and 0.77 h; $T_{1/2\beta}$ was 49.18 h, 45.81 h and 38.35 h; AUC was 140.49 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$, 130.4 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ and 112.78 $\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$, respectively. Metabolism of enrofloxacin in rainbow trout showed: in a certain temperature range, the rate of drug absorption and distribution at higher temperature is greater than that at lower temperature; the time to peak was shorter at higher temperature. At water velocity of 8 cm/s, 16 cm/s and 24 cm/s, $T_{\max}$ was 8.57 h, 6.03 h and 4.04 h; $T_{1/2\alpha}$ was 5.47 h, 2.16 h and 0.27 h; $T_{1/2\beta}$ was 26.54 h, 6.93 h and 2.13 h; $T_{1/2ka}$ was 7.68 h, 5.00 h and 2.01 h. The rate of drug absorption and distribution at higher water velocity is greater than that at lower water velocity; the time to peak was shorter at higher water velocity. In conclusion, the results from the present study indicated that in a certain range, the increase of temperature and water velocity improved the rate of drug absorption and distribution of enrofloxacin in rainbow trout.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; enrofloxacin; temperature; water velocity

Corresponding author: LU Tongyan. E-mail: lutongyan@hotmail.com

Funding projects: Special Fund for Agri-scientific Research in the Public Interest(20120385); Special Funds of National Modern Agricultural Industry Technology System(CARS-46)