

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20170705001

http://www.yykxjz.cn/

潘明轩, 李兆新, 邢丽红, 孙晓杰, 彭吉星, 董晓. 甲砒霉素在鲤鱼中的药代动力学研究. 渔业科学进展, 2018, 39(5): 166-172

Pan MX, Li ZX, Xing LH, Sun XJ, Peng JX, Dong X. Drug pharmacokinetic study of thiamphenicol in *Cyprinus carpio*. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(5): 166-172

甲砒霉素在鲤鱼中的药代动力学研究*

潘明轩^{1,2,3} 李兆新^{1,3①} 邢丽红^{1,3} 孙晓杰^{1,3} 彭吉星^{1,3} 董晓^{1,2,3}

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学食品学院 上海 201306;

3. 农业农村部水产品质量安全风险评估实验室 青岛 266071)

摘要 本实验在(26±2)°C的养殖水温下,采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)研究了以 30 mg/(kg·bw)的剂量对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)进行单次投喂药饵后甲砒霉素(Thiamphenicol, TAP)在鲤鱼体内的药物代谢动力学。通过 DAS 2.0 动力学软件分析 TAP 在鲤鱼体内的药-时数据,结果表明符合一级吸收二室模型。TAP 在肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃、脾脏和血浆各组织的药物达峰时间(T_{peak})分别为 16、2、16、8、0、2 和 16 h, 达峰浓度(C_{max})分别为 15.6、35.3、12.4、9.0、33.0、11.6 mg/kg 和 21.0 mg/L; 药-时曲线下面积(AUC)分别为 1084.5、1578.1、777.3、541.1、0.1、478.1 mg/(kg·h)和 485.1 mg/(L·h), 消除半衰期($t_{1/2\beta}$)分别为 11.4、100.2、54.2、41.1、69.5、38.0 和 71.9 h。TAP 在鲤鱼体内各组织的分布和消除速率相差较大;在肾脏中的药物达峰时间短且达峰浓度高于其他组织,其消除半衰期也明显高于其他组织,推测肾脏是鲤鱼体内 TAP 蓄积和代谢的主要器官。按照农业部《动物性食品中兽药最高残留限量》文件规定,TAP 在水产动物中最高残留限量(MRL)不得高于 50 μg/kg,本研究中,肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、脾脏和血浆的 TAP 残留量低于 MRL 的时间分别从第 16、16、12、12、12、10 和 12 天开始,将肌肉和肾脏作为 TAP 药物残留的靶组织,建议休药期不得低于 16 d。

关键词 甲砒霉素; 代谢残留; 鲤鱼; 药代动力学

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2018)05-0166-07

甲砒霉素(Thiamphenicol, TAP)又称为甲砒氯霉素、硫霉素等,是氯霉素类第二代广谱抗菌药。其抗菌机理与抗菌谱、氯霉素基本相似,对革兰氏阳性菌和阴性菌均有较强的抑制作用,但毒性有所降低(Yoo *et al*, 2003; Park *et al*, 2004)。TAP 作为氯霉素替代物,抗菌效果佳且物美价廉,常用于治疗细菌性烂鳃病、白皮病、白头白嘴病等水产养殖病害(陈玉露, 2009)。

目前,国内外对甲砒霉素药物代谢动力学研究已有开展,畜禽动物主要集中在牛(*Bovine*)、羊(*Caprinae*)、猪(*Sus scrofa domestica*)和鸡(*Gallus domestica*)等动物中(AI-Nazawi, 2005; Gamez *et al*, 1992; Mestorino *et al*, 1993; Haritova *et al*, 2002; 唐海蓉等, 2013);在水产动物中,对松浦镜鲤(*Songpu mirror carp*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)、鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)、红

* 中国水产科学研究院基本科研业务费(2016HY-ZD1204)和 2017 国家水产品质量安全风险评估(GJFP201700901)共同资助 [This work was supported by Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2016HY-ZD1204), and 2017 National Risk Assessment Program of Aquatic Products for Quality and Safety (GJFP201700901)]. 潘明轩, E-mail: 1054410846@qq.com

① 通讯作者: 李兆新, 研究员, E-mail: lizx@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2017-07-05, 收修改稿日期: 2017-08-14

笛鯛(*Lutjanus sanguineus*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)、罗非鱼(*Oreochromis* spp)等均有报道(杨洪波等, 2013a、b; Castells *et al*, 2000; 秦青英等, 2013; 陈玉露, 2009; 黄郁葱等, 2017; 冯敬宾等, 2005)。鲤鱼(*Cyprinus carpio*), 别称鲤拐子、鲤子和红鱼等, 是我国重要的经济鱼类。近年来, 鲤鱼的高密度养殖在带来高经济效益的同时也引发多种鱼类病害问题, 致使养殖户在养殖过程中存在过度使用或滥用甲砒霉素和其他抗生素药物现象(蔡林宏, 2016), 对环境污染和人类健康都有很大影响。因此, 进行有关 TAP 在鲤鱼体内的药物代谢动力学研究十分有必要。然而, 目前有关 TAP 在鲤鱼体内的药代动力学研究尚未见报道, 仅杨洪波等(2013a)对鲤鱼的杂交亚种松浦镜鲤进行了口灌 TAP 的代谢动力学研究。不同于其他研究学者对水产动物的口灌和肌注给药方法, 本实验采用投喂药饵方法模拟实际养殖中的用药过程。实验在(26±2)℃的养殖水温下, 以 30 mg/(kg·bw)的投喂剂量对鲤鱼进行单次投喂药饵给药, 研究了 TAP 在鲤鱼体内的组织分布和药物代谢随时间的变化规律, 以期为水生动物疾病防治和药物休药期制定提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 TAP 标准品的纯度为 99.0% (Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 德国); TAP 原料药纯度 98.0%(Macklin 公司), 氘代氯霉素(d5-氯霉素)纯度为 99.0%(Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司, 德国)。乙酸乙酯(色谱纯, CNW 公司); 氨水(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司); 正己烷(色谱纯, CNW 公司); 甲醇(色谱纯, Merck 公司); 无水硫酸钠(分析纯, 天津博迪化工股份有限公司); 水为超纯水。

1.1.2 仪器设备 TSQ Endura 液相色谱-串联质谱仪(Thermo Fisher), CR 22G 冷冻离心机(日立), 小型高速离心机(1-14, Sigma), GHG-9203J 干燥箱(上海三发科学仪器有限公司), HR2014 均质机(珠海经济特区飞利浦家庭电器有限公司), KQ-600DE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 涡旋混合器(TAIBOYS), N-EVAP 氮吹仪(24 孔, Organomation 公司), Gradient A10Mill-Q 超纯水器(Millipore)。

1.1.3 实验动物 健康鲤鱼 150 条, 平均规格为(1000±50) g, 由赣榆佳信水产开发有限公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 本实验 2016 年 8 月 1 日~9 月

7 日于江苏省连云港市赣榆佳信水产开发有限公司进行。实验以体重为(1000±50) g 的健康鲤鱼为对象, 实验前经检测无 TAP 残留, 暂养在内设淡水循环设备的水池中, 池长 7 m、宽 5 m、水深 1.5 m, 养殖密度为 150 尾/池。实验期间的水温保持在(26±2)℃, 每天换水 1 次, 持续充氧。以 30 mg/(kg·bw)的剂量对鲤鱼进行单次投喂药饵。正式投喂前 1 d 禁食并采集鲤鱼肌肉、肝脏、肾脏、脾脏、血浆和鳃的空白组织样品。药饵停喂后分别在 1、2、4、6、8、12、16、20、24、36、48、96、144、192、240、288、384、480、576、672 和 768 h 采样。每个时间点各采集鲤鱼 6 尾作为 1 组平行样, 取鲤鱼尾静脉血 5 ml, 放置预先涂抹肝素钠的玻璃离心管中, 4500 r/min 离心 8 min, 取上层血浆, 保存于 4℃冷藏箱中, 取血后快速取鲤鱼躯体两侧背鳍处的肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃和脾脏放入样品袋中, 保存于-20℃的冰箱中。

1.2.2 标准储备液制备 称取 10.0 mg 甲砒霉素标准品, 用甲醇溶液溶解并定容至 100 ml 的棕色容量瓶中, 浓度为 100 μg/ml, -20℃冰箱中避光冷冻保存, 有效期 1 年。

1.2.3 氘代内标标准储备液制备 称取 10.0 mg 内标物 d5-氯霉素, 用甲醇溶液溶解并定容至 100 ml 的棕色容量瓶中, 浓度为 100 μg/ml, -20℃冰箱中避光冷冻保存, 有效期 1 年。

1.2.4 标准工作曲线制备 移取 1.2.2 中的标准储备液, 用流动相稀释成 10 ng/ml、100 ng/ml 和 1 μg/ml 标准液, 待用。在 6 个进样瓶中分别加入适量工作液, 并分别加 1.0 μg/ml 氘代内标工作液 50 μl, 用流动相定容至 1.0 ml, 配制成流动相空白溶液、2、5、10、20、50 和 100 ng/ml 的标准液。系列标准液用液相色谱-串联质谱检测, 以外标标准物质浓度作为横坐标(X), 以外、内标物的峰面积(响应值)比值作为纵坐标(Y), 得出标准曲线, 并计算回归方程和相关系数。

1.3 样品处理

1.3.1 样品制备和提取 将血浆和各组织样品放置室温解冻, 用均质机将各组织部位均质, 待用。称取各组织样品[(1.0±0.1) g]和血浆[(1.0±0.1) ml]于 15 ml 聚丙烯离心管中, 加入 1.2.3 中氘代内标工作液 50 μl, 再加入 5 ml 乙酸乙酯, 1 g 无水硫酸钠, 100 μl 氨水, 涡旋提取 5 min, 超声提取 5 min, 以 4500 r/min 离心 5 min, 上清液转移至 15 ml 比色管中。残渣中再分别加入 3 ml 的乙酸乙酯, 重复上述操作, 合并上清液至 15 ml 的比色管中, 在温度为 40℃下氮吹至干。

1.3.2 净化 将比色管中的残渣用 3 ml 的超纯水溶解, 超声 5 min, 加入 3 ml 正己烷, 涡旋混合 1 min,

静置分层, 弃掉上层的正己烷, 再加入 3 ml 的正己烷, 涡旋混合 30 s, 静置分层。最后移取 1 ml 的水相于 1.5 ml 的聚丙烯离心管中, 以 12000 r/min 离心 10 min, 取上清液过 0.22 μm 水相滤膜, 供液相色谱-串联质谱测定。

1.4 仪器条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱: MG II C₁₈(2.0 mm \times 100 mm, 3 μm); 流动相: 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为超纯水; 流速: 200 $\mu\text{l}/\text{min}$, 柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量: 10 μl ; 梯度洗脱条件见表 1。

1.4.2 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源(ESI); 扫描方式: 负离子模式; 电喷雾电压: 2500 V; 鞘气压力: 40 Arb; 辅助气压力: 25 Arb; 碰撞气压: 2 mTorr; 离子传输毛细管温度: 340 $^{\circ}\text{C}$; 检测方式: 选择反应监测(SRM); 选择反应监测母离子、子离子和碰撞能见表 2。

表 2 SRM 监测模式下目标物质谱参数

Tab.2 Spectral parameters of target material under SRM monitoring model

目标化合物 Target compound	定性离子对 Qualitative ion pair (m/z)	定量离子对 Quantitative ion pair (m/z)	碰撞能 Collision energy (V)
TAP	353.9/290.0	353.9/185.1	11.6
	353.9/185.1		19.8
氘代氯霉素 d ₅ -chloramphenicol	326.00/157.0	326.0/157.0	17.0

1.6 数据分析

数据采用 Excel 2007 和 DAS 2.0 数据分析软件对 TAP 在鲤鱼体内各组织药物浓度进行药-时数据处理。

2 结果

2.1 标准曲线和最低检测限

采用内标法定量, 以 TAP 浓度(X)为横坐标, 以 TAP 标准物和氘代内标物峰面积的比值(Y)为纵坐标作图, 如图 1 所示。TAP 标准液在 2.0~100.0 ng/ml 浓度范围内线性关系良好, 相关系数(R^2)为 0.99703, 线性回归方程为 $Y=0.03X+0.09$, 该法最低检测限为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (信噪比 $S/N=3$)。结果表明, 该方法灵敏度高, 能够满足实验要求。

2.2 回收率与精密度

取鲤鱼的肌肉、鱼皮、肾脏、肝脏、鳃、脾脏和血浆为测回收率与精密度的组织, 每份称取 (1.00 \pm 0.05) g/ml, 加入 TAP 标准液, 使其药物浓度为 20.0、50.0 和 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 每个水平 5 个平行, 连续进行 3 d, 结果见表 3。

表 1 流动相梯度洗脱条件

Tab.1 Gradient elution conditions of mobile phase

时间 Time (min)	流速 Flow rate ($\mu\text{l}/\text{min}$)	甲醇 Methanol (%)	水 Water (%)
0.0	0.3	10.0	90.0
0.5	0.3	10.0	90.0
2.0	0.3	90.0	10.0
3.0	0.3	90.0	10.0
3.1	0.3	10.0	90.0
5.0	0.3	10.0	90.0

1.5 回收率和精密度

实验用各组织空白样进行加标回收, 在空白样中加入 TAP 标准液, 使其药物浓度为 20.0、50.0 和 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 3 个添加水平, 每个水平 5 个平行, 连续 3 d, 计算回收率、日内和日间精密度。

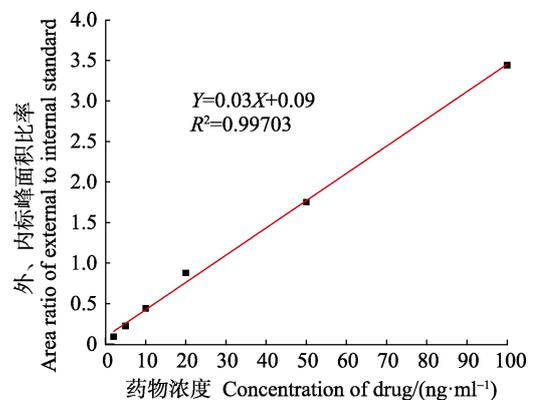


图 1 TAP 标准品标准曲线

Fig.1 Standard curve of TAP standard

2.3 TAP 在鲤鱼体内的药-时曲线(C_i - T_i)

本实验在(26 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 的养殖水温下, 以 30 mg/(kg-bw) 的剂量对鲤鱼进行模拟投饵给药, 研究 TAP 在鲤鱼体内的药代动力学。采用高效液相色谱-串联质谱法分析 TAP 在鲤鱼体内各组织的残留量随时间变化的药-时曲线, 见图 2(内嵌 0~50 h 药时曲线图)。如图 2 显示, 鲤鱼肾脏和鳃中的 TAP 残留达峰浓度分别为 35300.1 和 33009.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 且明显高于其他组织;

表 3 回收率与精密度
Tab.3 Recovery and precision

组织 Tissue	添加水平 Addition level (ng/g)	回收率 Rate of recovery (%)	日内相对标准偏差 Within-day RSD (%)	日间相对标准偏差 Intra-day RSD (%)
肌肉 Muscle	20	95.0±2.5; 93.2±1.3; 90.2±1.9	3.7; 1.9; 0.4	2.6
	50	90.7±3.7; 89.0±3.2; 89.1±1.2	5.8; 5.1; 1.7	1.1
	100	88.7±1.5; 89.1±2.0; 89.2±1.8	0.8; 1.5; 1.1	1.3
血浆 Plasma	20	95.0±2.5; 116.5±4.0; 96.5±5.5	3.7; 4.9; 8.1	11.4
	50	90.7±3.7; 87.0±2.9; 95.1±7.1	5.8; 2.0; 10.6	6.9
	100	84.7±4.6; 89.2±1.0; 86.8±1.7	7.6; 1.5; 2.8	4.3
鱼皮 Fish skin	20	86.8±5.6; 90.0±0.5; 93.5±2.5	9.4; 0.4; 3.8	5.5
	50	83.8±3.2; 87.0±1.2; 92.2±4.2	5.4; 2.0; 6.0	5.8
	100	78.2±2.0; 87.7±0.5; 86.8±1.7	3.5; 0.8; 2.8	5.9
肾脏 Kidney	20	91.0±3.5; 93.2±4.3; 90.2±5.9	4.1; 5.2; 6.1	7.1
	50	91.7±3.1; 87.0±2.2; 89.1±2.2	3.9; 2.8; 2.7	4.1
	100	91.7±1.5; 89.1±3.0; 89.2±1.8	1.2; 4.1; 1.8	3.8
肝脏 Liver	20	86.8±5.6; 90.0±6.5; 93.5±4.5	4.6; 6.1; 5.9	7.2
	50	83.8±3.2; 87.0±1.2; 92.2±4.2	3.9; 1.5; 5.1	4.8
	100	88.2±2.0; 87.7±0.5; 90.8±1.7	2.1; 0.9; 1.5	2.9
鳃 Gill	20	95.0±5.5; 106.5±4.9; 96.5±5.5	6.1; 5.9; 5.6	9.2
	50	87.7±3.7; 89.5±4.2; 89.1±1.2	3.9; 4.3; 2.1	5.9
	100	87.7±3.6; 89.2±2.0; 89.8±2.7	2.9; 2.8; 3.5	4.2
脾脏 Spleen	20	86.8±5.6; 93.0±9.5; 90.5±4.5	6.1; 7.1; 4.9	10.1
	50	92.7±3.7; 89.9±3.4; 89.1±4.2	3.9; 2.9; 4.2	5.3
	100	88.7±3.5; 88.1±2.8; 87.2±3.8	3.0; 2.9; 4.5	5.9

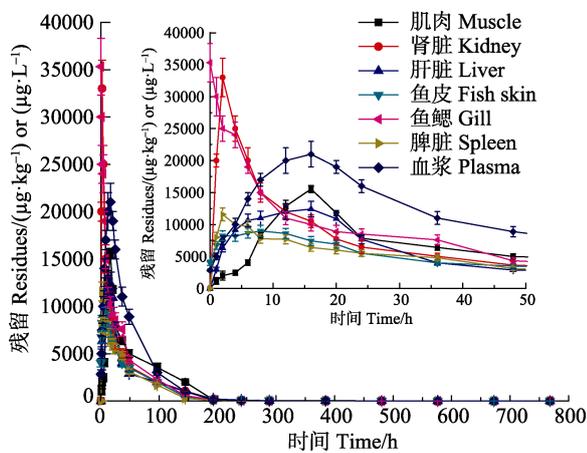


图 2 TAP 药-时曲线
Fig.2 TAP drug-time curve

脾脏和肾脏中药物达峰时间一致,均在给药后 2 h 达到峰值,后随着时间变化逐渐降低;肌肉、肝脏和血浆的药物达峰时间较接近,在给药后 16 h 达到峰值,随后 TAP 浓度持续下降;鱼鳃中药物浓度给药后即达到峰值,分析可能是由于鳃是鲤鱼主要呼吸器官,血液灌流量较大,且鳃丝表面布满微细血管,部分溶解于水中的药物极易在短时间内通过微血管进入鳃

中,双重效果下出现鳃中的即时药物浓度达最大值。

2.4 TAP 在鲤鱼体内各组织的主要药代动力学参数

TAP 在鲤鱼各组织中的药-时残留数据通过 DAS 2.0 软件分析及房室模型嵌和计算得出符合动力学最佳模型:一级吸收二室模型,TAP 在鲤鱼各组织的残留浓度随时间变化的主要药代动力学参数见表 4。

3 讨论

3.1 TAP 在鲤鱼体内的药代动力学特征

在(26±2)℃的养殖水温下,对鲤鱼进行模拟投饵给药 30 mg/(kg·bw)的剂量,体内各组织药-时数据经 DAS 2.0 软件和 Excel 软件拟合,符合一级吸收二室模型。此结果与红笛鲷、鲫鱼、凡纳滨对虾、大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)、中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 和日本鳗鲡 (*Anguilla japonica Temminck et Schlegel*) (秦青英等, 2013; 杨洪波等, 2013a、b; 陈玲珍等, 2010; 林茂等, 2011; 梁俊平等, 2015) 等动物的房室模型基本一致,但与肉鸡、家兔 (*Oryctolagus cuniculus f. domesticus*)、牛和羊 (郭桂芳等, 2010;

表4 TAP在鲤鱼体内药动学参数
Tab.4 Pharmacokinetic parameters of TAP in carp

参数 Parameter	单位 Unit	肌肉 Muscle	肾脏 Kidney	肝脏 Liver	鱼皮 Fish Skin	鳃 Gill	脾脏 Spleen	血浆 Plasma
α	1/h	0.01	6.25	0.01	0.40	0.02	0.05	0.01
β	1/h	0.01	0.06	0.013	0.02	0	0.02	0.01
K_a	1/h	15.00	26.12	16.50	83.98	0.03	4.25	26.31
$t_{1/2\alpha}$	h	99.96	0.11	54.17	1.72	35.60	13.58	71.88
$t_{1/2\beta}$	h	11.36	100.24	54.25	41.13	69.47	38.02	71.90
$t_{1/2K_a}$	h	0.05	0.03	0.04	0.01	23.93	0.16	0.03
K_{10}	1/h	0.01	0.06	0.01	0.02	184732.30	0.02	0.01
K_{12}	1/h	0.01	6.243	0	0.39	0	0.03	0
K_{21}	1/h	0.01	6.25	0.01	0.40	0.02	0.04	0.01
$V_{1/F}$	L/kg	0.004	0.001	0.003	0.003	0.002	0.003	0.002
$C_{L/F}$	L/(h·kg)	0	0	0	0	410.03	0	0
AUC(0-t)	$\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$	1084503.54	1578125.26	777334.27	541064.82	0.07	478146.83	485097.86
AUC(0- ∞)	$\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$	1111708.31	495097.86	778918.58	541069.50	0.07	482152.64	1580110.43
T_{peak}	h	16	2	16	8	0	2	16
C_{max}	$\mu\text{g}/\text{kg}$ or $\mu\text{g}/\text{L}$	15556.3	35300.1	12418.3	9007.5	33009.5	11571.8	21000.6

注： α 为分布速率常数； β 为消除速率常数； K_a 为药物吸收速率常数； $t_{1/2\alpha}$ 为分布相半衰期； $t_{1/2\beta}$ 为消除相半衰期； $t_{1/2K_a}$ 为吸收相半衰期； K_{10} 为药物在中央室的消除速率； K_{12} 为药物自中央室到周边室的一级转运速率； K_{21} 为药物自周边室到中央室的一级转运速率； $V_{1/F}$ 为表观分布容积； $C_{L/F}$ 为药物自体内消除的总清除率，AUC_(0-t)为0~t时的药时曲线下总面积；AUC_(0- ∞)为0~ ∞ 时的药时曲线下总面积； T_{peak} 为最大达峰时间； C_{max} 为药物最大达峰浓度

Note: α denoted distribution rate constant; β denoted elimination rate constant; K_a denoted the drug absorption rate constant; $t_{1/2}$ denoted alpha phase half-life; $t_{1/2\beta}$ denoted elimination half-life; $t_{1/2K_a}$ denoted absorption half-life; K_{10} denoted drugs from the central chamber of the towel eliminating rate; K_{12} denoted transport rate for the drugs from the central compartment to the surrounding room; K_{21} denoted the drug from the periphery room to a central compartment; $V_{1/F}$ denoted transport rate; $C_{L/F}$ denoted apparent volume of distribution; AUC_(0-t) denoted total area under the time curve of 0~t; AUC_(0- ∞) denoted the total area under the curve of 0~ ∞ ; T_{peak} denoted peak time; C_{max} denoted drug peak concentration

邢晓玲等, 2009; Mengozzi *et al*, 2002; Abdennebi *et al*, 1994)等动物的研究结果存在差异, 这可能和研究动物的种属、给药方式、给药剂量和实验环境的差异有关。

3.2 吸收和分布特征

本实验数据采用经典房室模型和统计矩原理分析 TAP 在鲤鱼体内各组织的药时动态变化规律。达峰时间 T_{peak} 和达峰浓度 C_{max} 是衡量药物吸收速度和程度的重要参数。本实验中, TAP 在鲤鱼的肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃、脾脏和血浆的达峰时间 T_{peak} 分别为 16、2、16、8、0、2 和 16 h, 达峰浓度 C_{max} 分别为 15.6、35.3、12.4、9.0、33.0、11.6 mg/kg 和 21.0 mg/L。实验结果表明, TAP 进入鲤鱼体内后迅速在各组织扩散并在短时间内达到峰值; 鱼鳃的 T_{peak} 最短, 为零, 但不符合实际, 分析可能是由于鳃是鲤鱼主要呼吸器官且表面布满微细血管, 因此, 部分溶解于水中的药物在极短时间内极易通过微血管进入鳃中; 肾脏中 TAP 含量达峰时间短且峰值明显高于其他组织, TAP 在血管丰富、渗透性好的组织中吸收量

较大(Wu *et al*, 2006), 因此, 推测 TAP 在组织中分布速率与残留浓度和血流量有关。

药-时曲线下面积(AUC)是反应药物进入循环系统药量的多少, 是衡量药物在实验动物体内各组织器官吸收的重要指标。结果显示, TAP 在鲤鱼体内肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃、脾脏和血浆的 AUC 分别为 1084.5、1578.1、777.3、541.1、0.1、478.1 mg/(kg·h) 和 485.1 mg/(L·h)。结果表明, TAP 在肾脏中的吸收量明显高于在肌肉、肝脏、鱼皮、鳃和脾脏中的吸收量。此结果与杨洪波(2013a)以 30 mg/(kg·bw)的剂量单次口灌松浦镜鲤的药代动力学研究结果一致。

3.3 消除特征

结果表明, 停药后前期 TAP 在鲤鱼各组织的下降速度较快, 后期的消除速率较为缓慢。消除半衰期 ($t_{1/2\beta}$)是衡量药物在研究对象体内消除速率的一个重要动力学参数。TAP 在不同研究对象中的消除半衰期差异较大。本研究 TAP 在鲤鱼体内肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃、脾脏和血浆各组织的 $t_{1/2\beta}$ 分别为 11.4、100.2、54.2、41.1、69.5、38.0 和 71.9 h。结果表明,

TAP 在肾脏中的消除半衰期较长, 推测 TAP 可能是通过血液吸收分布在各组织中, 再经肾脏代谢排出。另外, 消除相速率常数 β 宏观体现从中央室向外消除的浓度变化速率。TAP 各组织在鲤鱼体内各组织消除速率常数大小为 $\beta_{\text{肾脏}} 0.061 > \beta_{\text{脾脏}} 0.018 > \beta_{\text{鱼皮}} 0.017 > \beta_{\text{肝脏}} 0.013 > \beta_{\text{血浆}} 0.01 > \beta_{\text{肌肉}} 0.007 > \beta_{\text{鳃}} 0$, 本实验符合 Ingebrigtsen(1991)的研究结果。Ingebrigtsen(1991)在研究影响鱼药药效中提出药物在鱼肾脏的消除相速率常数高于其他组织, 这可能与肾脏血液灌流量较大有关(Ingebrigtsen *et al*, 1991; Kowalski, 2007)。

综上所述, TAP 在鲤鱼体内吸收迅速且分布广泛, 不同组织间的差异较大。按照农业部《动物性食品中兽药最高残留限量》文件规定 TAP 在水产动物中最高残留限量(MRL)不得高于 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。休药期通常以代谢较为缓慢的组织作为残留靶组织, 以此来确定休药期。本研究中肌肉、肾脏、肝脏、鱼皮、鳃、脾脏和血浆的 TAP 残留量低于 MRL 的时间分别从 16、16、12、12、12、10 和 12 d 开始, 因此, 建议以鲤鱼肌肉和肾脏作为靶组织确定休药期。在 $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$ 养殖水温下, 以 30 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{bw})$ 剂量对鲤鱼进行单次投喂 TAP 药饵时, 建议休药期不低于 16 d。

参 考 文 献

- A1-Nazawi MH. Pharmacokinetics and tolerance of thiamphenicol in camels and sheep. *International Journal of Pharmacology*, 2005, 1(1): 25–28
- Abdennebi EH, Khales N, Sawchuk RJ, *et al*. Thiamphenicol pharmacokinetics in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1994, 17(1): 12–16
- Cai LH. Carp breeding industry is in decline? Might just need a change. *Ocean and Fishery*, 2016(8): 13 [蔡林宏. 鲤鱼养殖产业正在衰退?需要的也许仅仅是一种转变. *海洋与渔业·水产前沿*, 2016(8): 13]
- Castells G, Intorre L, Bertini S, *et al*. Oral single-dose pharmacokinetics of thiamphenicol in the sea-bass (*Dieiontrarchus labrax*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2000, 23(1): 53–54
- Chen LZ, Yang HS, Wu GH, *et al*. Pharmacokinetics of florfenicol in the Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*): Dose effect. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, 45(4): 102–109 [陈玲珍, 杨洪生, 吴光红, 等. 给药剂量对氟苯尼考在中华绒螯蟹体内的药代动力学影响. *动物学杂志*, 2010, 45(4): 102–109]
- Chen YL. Studies on pharmacokinetics and impact to drug metabolic enzyme of thiamphenicol and florfenicol in *Litopenaeus vannamei*. Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2009 [陈玉露. 甲砒霉素和氟甲砒霉素在凡纳滨对虾体内的药代动力学和对药酶影响的研究. 四川农业大学硕士研究生学位论文, 2009]
- Feng JB, Jia XP, Li LD, *et al*. High-performance liquid chromatographic determination of florfenicol in tilapia. *South China Fisheries Science*, 2005, 1(1): 35–42 [冯敬宾, 贾晓平, 李刘冬, 等. 罗非鱼体内氟甲砒霉素的高效液相色谱测定方法研究. *南方水产*, 2005, 1(1): 35–42]
- Gamez A, Perez Y, Marti G, *et al*. Pharmacokinetics of thiamphenicol in veal calves. *British Veterinary Journal*, 1992, 148(6): 535–539
- Guo GF, Yang DW, Li YJ, *et al*. Pharmacokinetics of thiamphenicol in experimentally infected chickens with *Pasteurella multocida*. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2010, 30(6): 815–817 [郭桂芳, 杨大伟, 李勇军, 等. 甲砒霉素在感染多杀性巴氏杆菌鸡体内的药物动力学. *中国兽医学报*, 2010, 30(6): 815–817]
- Haritova A, Lashev L, Pashov D. Phamlacokinetics of thiamphenicol in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2002, 25(6): 464–466
- Huang YC, Tang JF, Qing QY, *et al*. Pharmacokinetics of thiamphenicol in *Sciaenops ocellatus*. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 2017, 37(1): 52–57 [黄郁葱, 汤菊芬, 秦青英, 等. 甲砒霉素在眼斑拟石首鱼体内的药代动力学研究. *广东海洋大学学报*, 2017, 37(1): 52–57]
- Ingebrigtsen K. Factors affecting drug disposition in fish. *Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum*, 1991, 87: 44–56
- Kowalski P. Capillary electrophoretic determination of thiamphenicol in turkeys serum and its phamacokinetic application. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 2007, 43(1): 222–227
- Liang JP, Duan YF, Li J, *et al*. Pharmacokinetics of difloxacin in turbot (*Scophthalmus maximus*) following intravenous and oral administration. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(3): 131–136 [梁俊平, 段亚飞, 李健, 等. 二氟沙星在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)体内的药代动力学特征. *渔业科学进展*, 2015, 36(3): 131–136]
- Lin M, Ji RX, Chen ZQ, *et al*. Pharmacokinetics of florfenicol in *A. japonica* and *A. anguilla*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(36): 22341–22343, 22517 [林茂, 纪荣兴, 陈政强, 等. 氟苯尼考在日本鳗鲡和欧洲鳗鲡体内的药代动力学. *安徽农业科学*, 2011, 39(36): 22341–22343, 22517]
- Mengozi G, Intorre L, Bertini S, *et al*. A comparative kinetic study of thiamphenicol in preruminant lambs and calves. *Research in Veterinary Science*, 2002, 73(3): 291–295
- Mestorino N, Landoni MF, Ah M, *et al*. The pharmacokinetics of thiamphenicol in lactating cows. *Veterinary Research Communications*, 1993, 17(4): 295–303
- Park IS, Kim DK, Adanyi N, *et al*. Development of a direct-binding chloramphenicol sensor based on thiol or sulfide mediated self-assembled antibody monolayers. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, (19): 667–674
- Qin QY, Tang JF, Huang YC, *et al*. The distribution and pharmacokinetics of thiamphenicol in tissues of *Luthjanus sanguineus*. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2013, 47(11): 31–36 [秦青英, 汤菊芬, 黄郁葱, 等. 甲砒霉素在红笛鲷体内的组织分布和药代动力学研究. *中国兽药杂*

- 志, 2013, 47(11): 31–36]
- Tang HR, Chen SJ, Liu XY, *et al.* Poisoning effect of thiamphenicol on testis morphology in broilers. *Hubei Agricultural Sciences*, 2013, 52(8): 1880–1882 [唐海蓉, 陈仕均, 刘兴友, 等. 甲砒霉素对肉鸡睾丸组织结构的影响. *湖北农业科学*, 2013, 52(8): 1880–1882]
- Wu YB, Wang ZS, Liao XT, *et al.* Effects of enrofloxacin on microorganisms in wet lands. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(8): 2640–2645
- Xing XL, Wang DD, Yuan XQ, *et al.* The pharmacokinetic comparison between thiamphenicol and HP- β -CD thiamphenicol in rabbit. *Hunan Agricultural Sciences*, 2009, 12:5 [邢晓玲, 王姐姐, 袁小秋, 等. 甲砒霉素及HP- β -CD甲砒霉素在家兔体内的药代动力学比较研究. *湖南农业科学*, 2009, 12: 5]
- Yang HB, Wang D, Lu TY, *et al.* Pharmacokinetics of thiamphenicol in Songpu common carp *Cyprinus carpio*. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2013a, 28(3): 298–302 [杨洪波, 王荻, 卢彤岩, 等. 甲砒霉素在松浦镜鲤体内的药物代谢动力学研究. *大连海洋大学学报*, 2013a, 28(3): 298–302]
- Yang HB, Wang D, Lu TY, *et al.* Pharmacokinetics of thiamphenicol in *Carassius auratus*. *Freshwater Fisheries*, 2013b, 43(3): 72–76 [杨洪波, 王荻, 卢彤岩, 等. 甲砒霉素在鲫体内的药物代谢动力学研究. *淡水渔业*, 2013b, 43(3): 72–76]
- Yang XL, Zhen J, Hu K. The comparative pharmacokinetics of chloramphenicol in *Oreochromis niloticus*. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(1): 60–65 [杨先乐, 湛嘉, 胡鲲. 氯霉素在尼罗罗非鱼血浆中的药代动力学研究. *水产学报*, 2005, 29(1): 60–65]
- Yoo MH, Huh MD, Kim E, *et al.* Characterization of chloramphenicol acetyltransferase gene by multiplex polymerase chain reaction in multiplex polymerase chain reaction in multidrug-resistant strains isolated from aquatic environments. *Aquaculture*, 2003, 217(1): 11–21

(编辑 冯小花)

Drug Pharmacokinetic Study of Thiamphenicol in *Cyprinus carpio*

PAN Mingxuan^{1,2,3}, LI Zhaoxin^{1,3}①, XING Lihong^{1,3}, SUN Xiaojie^{1,3}, PENG Jixing^{1,3}, DONG Xiao^{1,2,3}

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

3. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao 266071)

Abstract In this experiment, the water temperature was raised at (26±2)°C. The experiment used high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry(HPLC-MS/MS) to study thiamphenicol in pharmacokinetics of carp with 30 mg/(kg·bw) single dose of carp feed. Data were analyzed using DAS 2 dynamics software, and the experimental results suggest a two-compartment model of primary absorption. The peak of thiamphenicol (TAP) in muscles, kidneys, liver, skin, gills, spleen, and plasma were 16, 2, 16, 8, 0, 2, 16 h; the C_{max} were 15.6, 35.3, 12.4, 9.0, 33.0, 11.6 mg/kg, and 21.0 mg/L; the area under curve (AUC) was 1084.5, 1578.1, 777.3, 541.1, 0.1, 478.1 mg/(kg·h), and 485.1 mg/(L·h); the $t_{1/2\beta}$ was 11.4, 100.2, 54.2, 41.1, 69.5, 38.0, and 71.9 h. The results showed that the distribution and elimination rate of TAP in carp tissues varied greatly; the peak time of renal drugs is shorter; the peak concentration is higher than in other tissues, and the elimination half-life is higher than that in other tissues, which suggested that kidneys are the main organ of TAP accumulation and metabolism. In accordance with the Ministry of Agriculture, Animal Food in Veterinary Drugs Maximum Residue Limit document provides that the maximum of TAP in aquatic animal residue limit (MRL) shall not be higher than 50 μ g/kg. In this experiment, the amounts of TAP residues in muscle, kidney, liver, skin, spleen, and plasma were lower than MRL, starting from 16, 16, 12, 12, 12, 10, and 12 d respectively. It is recommended that the period of withdrawal should be no less than 16 d.

Key words Thiamphenicol; Metabolic residue; Carp; Pharmacokinetics

① Corresponding author: LI Zhaoxin, E-mail: lizx@ysfri.ac.cn