氟苯尼考 3 种不同给药方式在中国明对虾体内的药代动力学研究

李静云[1,2]，李　健[1]，王　群[1]，战文斌[2]

(1.中国水产科学研究院 黄海水产研究所，山东 青岛 266071；2.中国海洋大学 水产学院，山东 青岛 266003)

摘要：用高效液相色谱法研究静注、肌注和口服氟苯尼考在中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)体内的药代动力学特征，所得数据用 MCP-KP 程序分析。结果表明，3 种给药方式的血药经时过程均符合二室开放模型，符合一级吸收二项指数方程，血窦注射、肌肉注射、口服药饵的时间对药物质量浓度的理论方程分别是：$C_{血注}=16.38e^{-2.58t}+0.32e^{-0.1t}$，$C_{肌注}=18.7e^{-2.57t}+0.26e^{-0.12t}$，$C_{药饵}=15.08e^{-1.49t}+0.65e^{-0.09t}-15.74e^{-10.38t}$。主要药物代谢动力学参数分别是：吸收半衰期 ($t_{(1/2)\alpha}$)为 0.269,0.270 和 0.465 h，消除半衰期($t_{(1/2)\beta}$)为 6.921,6.494 和 7.903 h， 表观分布容积(V_β)为 1.287,1.293 和 2.421 L/kg，总体清除率(C_s)为 0.129,0.138 和 0.213 L/(h·kg)，药时曲线下总面积($A_{u,c}$)为 0.755,0.681 和 0.666 L/(h·kg)。肌肉注射和口服给药的生物利用度(F)分别是 90.20%和 97.58%。

关键词：氟苯尼考；中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)；药代动力学；高效液相色谱(HPLC)

中图分类号：S948　　文献标识码：A　　文章编号：1000-3096（2006）07-0064-05

氟苯尼考（florfenicol）是由美国 Schering-Plough 公司研制出的一种氯霉素类广谱抗菌药物，其化学名称为 D（+）-苏-1-对甲砜基苯基-2-二氯乙酰氨基-3-氟丙醇。自 1990 年首次在日本上市以来，氟苯尼考已在亚洲、美洲、欧洲等 20 多个国家上市，对于治疗敏感性细菌引起的呼吸系统感染和肠道感染有明显的效果，由于其无潜在致再生障碍性贫血的危险，所以目前仍是美国、加拿大及欧洲许多国家允许使用的药物之一。

氟苯尼考已成功地用于鱼类、牛、猪等动物细菌性疾病的防治[1]，国外有对该药在鸡、鸭、山羊、牛、马等禽畜类[2~6]及大西洋鲑、鳕鱼、虹鳟及淡水鱼种[7~10]等水产动物的研究报道。国内仅见蒋红霞等[11]报道了氟甲砜霉素在猪体内的代谢动力学；李秀波等[12]报道了氟苯尼考在绵羊体内的代谢情况；刘雅红等[13]报道了氟苯尼考在猪体内的群体药动学；吴先爱等[14]报道了静注与内服氟苯尼考在大肠杆菌感染的肉鸡体内的代谢情况。目前氟苯尼考在水产动物体内的药代动力学研究还比较少，在对虾体内药代动力学的研究国内外均未见报道，本试验首次研究了氟苯尼考在中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)体内的代谢情况，通过对中国明对虾血窦注射、肌肉注射、药饵投喂氟苯尼考，研究 3 种不同给药方式药物代谢的差异，探讨氟苯尼考在中国明对虾体内的药代动力学，为合理用药提供科学依据。

收稿日期：2004-10-18；修回日期：2005-03-11

基金项目：国家科技攻关计划资助项目（2002BA906A39）；国家农业科技跨越计划资助项目（2003-5）；山东省科技发展计划资助项目（2003-4-1）

作者简介：李静云(1981-)，女，山东莱阳人，硕士研究生，主要从事渔用药物方面的研究；李健，通讯作者，研究员，电话：0532－85830183，E-mail：lijian@ysfri.ac.cn

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂

氟苯尼考标准品（纯度≥99.5%，中国兽药监察所提供）；10%水溶性氟苯尼考药粉（由河南省大明实业有限责任公司生产，批号：110083）；乙酸乙酯（A.R）;乙腈（HPLC）;甲醇（HPLC）;正己烷（A.R）。

1.1.2 仪器

Agilent1100 高效液相色谱仪(HPLC)、高速台式离心机、组织匀浆机、旋转蒸发仪、漩涡振荡器等。HPLC 工作条件：紫外检测波长 223 nm，流动相乙腈-水（体积分数为 27/73），流速 0.9 mL/min，进样量 20 μL。

1.1.3 试验动物

健康中国明对虾，质量 5 g 左右，购于崂山沙子口养殖场，暂养于黄海水产研究所小麦岛实验基地。试验前检测表明对虾体内无氟苯尼考及其他药物残留。试验期间水温 19~22 ℃，连续充气，每天换水 2/3，人工投饲 2 次。

1.2 方法

1.2.1 药液的配置

准确称取 0.010 0 g 氟苯尼考标准品，以适量色谱纯乙腈溶解，加双蒸水配制成 100 mg/L 标准储备液，临用前用双蒸水稀释成 10 个系列质量浓度的标准溶液（0.01～50 mg/L）制备标准曲线。氟苯尼考水溶剂溶于生理盐水中，配成 100 mg/L 注射液。

1.2.2 给药及样品采集

中国明对虾随机分成 3 组：第 1 组一次性血窦注射氟苯尼考水溶液，剂量 15 mg/kg，给药部位为腹部血窦；第 2 组一次性肌肉注射氟苯尼考水溶液，剂量 15 mg/kg，给药部位为背部第 2，3 体节之间；第 3 组一次性投喂药饵，按照中国明对虾每千克体质量给药剂量为 30 mg，每千克体质量摄食量 20 g 计算，应按每千克饲料中添加 15 g 10%氟苯尼考水溶剂的比例配置药饵。

肌肉注射组与血窦注射组于给药后 0.083,0.25,0.5,1,2,4,7,11,16,24 h 采集对虾血淋巴样品，药饵投喂组于给药后 0.5,1,2,4,7,11,16,24 h 采集血淋巴样品，每个时间点取 8 个平行，血样分别放置于 1 mL 离心管内-20 ℃保存。同时取空白血淋巴样品作为对照。

1.2.3 血淋巴样品中药物质量浓度测定

准确称量血淋巴样品，置于 5 mL 离心管中，加入 2.0 mL 乙酸乙酯，用高速分散器匀散，再用 2 mL 乙酸乙酯清洗刀头，合并提取液，于振荡器上振荡 30s，4 800 r/min 高速离心 20 min，吸取上层乙酸乙酯提取液至 10mL 尖底玻璃管中。同法重复提取 1 次，合并 2 次提取液，在旋转蒸发仪内 40 ℃水浴中氮气吹干。尖底玻璃管中加 0.5 mL 流动相，漩涡振荡器上涡旋 1 min 溶解残存物，溶液经 0.45 μm 滤膜过滤后进样检测。将引起两倍基线噪音的药物质量浓度定义为最低检测限。

1.2.4 线性关系及检测限

氟苯尼考系列标准溶液用 HPLC 法进行检测，以药品峰面积对相应的质量浓度作线性回归，绘出标准曲线，并得回归方程和相关系数。氟苯尼考标准溶液稀释至低浓度进样检测，将两倍于基线噪音的药物质量浓度确定为最低检测限。

1.2.5 回收率和精密度

称取 0.5 g 血淋巴空白样品，氟苯尼考标准品以 0.1,1,10 mg/L 3 个质量浓度添加入样品中，混匀，静置 2 h 以上，按照样品处理方法进行提取和测定，根据结果计算回收率。以上 3 个质量浓度的氟苯尼考标准品于 1 d 内的 5 个不同时间重复进样测定，根据峰面积算出各质量浓度的日内变异系数；再将这 3 个浓度的标准品分 5 d 重复测定，算出日间变异系数。

1.2.6 数据处理

利用 MCP-KP 药代动力学程序软件对药时数据进行处理，得出各药代动力学参数及药代动力学模型。

2 结果

2.1 线性关系及检测限

氟苯尼考的液相色谱峰形尖锐且对称，血淋巴中杂质分离良好，无明显干扰峰。标准溶液质量浓度在 0.05～50 mg/L 之间具有良好的相关性，线性回归方程 y=50.937x,相关系数 r=1。该方法的最低检测限为 0.025 mg/L。

2.2 回收率和精密度

以 0.1,1,10 mg/L 3 个药物质量浓度添加到空白样品中测得回收率分别为 89.10%，83.89%，87.23%；日内变异系数分别为 6.40%，1.66%，0.42%；日间变异系数分别为 8.15%，1.40%，4.35%。

2.3 3 种方式单剂量给药后的药代动力学方程及参数

中国明对虾以 3 种方式给药后，均未见不良反应，其中投喂药饵组在吸除残饵后计算得实际给药量为 13.56 mg/kg。血窦注射、肌肉注射及口服药饵后的血药经时过程均符合二室开放模型，可分别用下列各方程表示：$C_{血注}=16.38e^{-2.58t}+0.32e^{-0.1t}$，$C_{肌注}=18.7e^{-2.57t}+0.26e^{-0.12t}$，$C_{药饵}=15.08e^{-1.49t}+0.65e^{-0.09t}-15.74e^{-10.38t}$。3 种方式给药后的药时曲线见图 1，药时数据经程序软件处理所得药代动力学参数见表 1。

中国明对虾投喂氟苯尼考药饵 30 min 后，吸出残饵，烘干称量，计算得出实际口服的剂量为 13.56 mg/kg，F 用以下公式计算：

$$F=(A_{u,c,口服}/A_{u,c,血注})\times(D_{血注}/D_{口服})$$

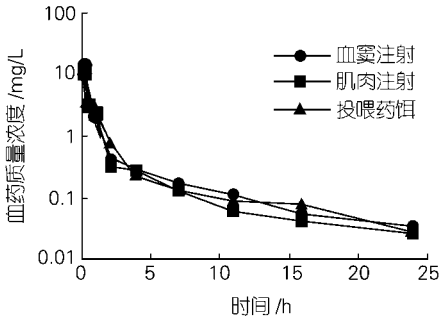

图 1 中国明对虾血窦注射、肌肉注射、药饵投喂氟苯尼考的药时曲线

Fig.1 Plasma concentration-time profile of florfenicol in *Fenneropenaeus chinensis* following a single intravenous, intramuscular and oral administration

3 讨论

3.1 3 种方式给药的药代动力学特征

由图 1 可以看出，以 15 mg/kg 的剂量血窦内注射给药后 5 min 时中国明对虾血淋巴中药物质量浓度已达到最高，然后开始下降；肌肉注射给药 5 min 时血药质量浓度也已达到很高，到 15 min 时基本上保持在相同的质量浓度水平，但都要略低于血窦注射给药后同时间点的质量浓度。药饵投喂给药 30 min 后开始取样，30 min 到 2 h 时血药质量浓度高于注射给药的血药质量浓度。2 h 后 3 种给药方式的药物质量浓度都已在 1 mg/ L 以下，说明氟苯尼考在对虾体内的代谢速度较快。

表 1 中国明对虾单剂量血窦注射、肌肉注射、药饵投喂氟苯尼考的药代动力学参数

Tab.1 Pharmacokinetic parameters of florfenicol in *Fennerope naeus chinensis* following a single intravenous, intramuscular and oral administration

给药方式	血窦注射	肌肉注射	药饵投喂
D (mg/kg)	15.00	15.00	13.56
C_0 (mg/L)	11.655	11.603	5.601
A (mg/L)	16.383	18.700	6.228
B (mg/L)	0.319	0.260	0.272
α (h^{-1})	2.576	2.567	1.491
β (h^{-1})	0.100	0.107	0.088
K_a (h^{-1})	8.370	6.530	10.357
K_{12} (h^{-1})	0.966	0.810	0.582
K_{21} (h^{-1})	0.167	0.161	0.155
K_{el} (h^{-1})	1.543	1.703	0.842
$t_{(1/2)Ka}$ (h)	0.083	0.106	0. 067
$T_{(1/2)\alpha}$ (h)	0.269	0.270	0. 465
$t_{(1/2)\beta}$ (h)	6.921	6.494	7.903
$A_{u,c}$ ((h·mg)/L)	0.755	0.681	0. 666
T_{max} (h)	0.206	0. 239	0.605
C_{max} (ng/L)	6.970	6.396	2.772
V_β(L/kg)	1.287	1.293	2.421
C_s (L/(h·kg))	0.129	0.138	0.213
F (%)		90.20	97.58

D 为给药剂量；C_0 为初始药物质量浓度；A,B 为药时曲线对数图上曲线在横轴和纵轴上的截距；α,β 分别为分布相、消除相的一级速率常数；K_a 为一级吸收速率常数；K_{12} 为药物从中央室转运到外周室的一级速率常数；K_{21} 为药物从外周室转运到中央室的一级速率常数；K_{el} 为一级消除速率常数；$t_{(1/2)Ka}$ 为药物在中央的吸收半衰期；$t_{(1/2)\alpha}$, $t_{(1/2)\beta}$ 分别为总的吸收和消除半衰期；$A_{u,c}$ 为药时曲线下总面积；T_{max} 为单剂量给药后出现最高血药质量浓度的时间；C_{max} 为单剂量给药后的最高血药质量浓度；V_β 为表观分布容积；C_s 为总体清除率；F 为生物利用度。

3 种给药方式的药代动力学比较，两种注射方式的药代动力学特征比较相似，而与药饵投喂之间的差别则较大。几种给药方式的 α 表明口服给药比注射给药在动物体内的吸收分布缓慢，从药时曲线上也可以看出投喂药饵的最高浓度出现的时间要延后一些。3 种给药方式的 β 差别不是很大。

V_β 的大小表明药物与组织蛋白的结合程度，V_β

大说明药物与组织蛋白结合多，主要分布于细胞内液与组织间液，V_β小说明药物与组织蛋白结合小，较集中于血浆。比较表 1 中不同给药方式的 V_β，说明注射给药在体内分布平衡后，药物在血淋巴中的浓度要高于在其他组织中的平均浓度，投喂药饵给药在体内的分布比注射方式广泛。表 1 中 C_s 的数据说明口服给药的清除速度要快于注射给药。

通过以上药代学的比较，可以看出氟苯尼考肌肉注射和血窦注射后在中国明对虾体内的差别不大，这可能与对虾的开放式循环系统有关，药物注射进肌肉后，很快被吸收进入血液循环，而后随着血液分布到各组织的过程与血窦内注射方式直接进入血循环后在体内分布的情况相似。中国明对虾肌肉注射氟苯尼考后药物吸收进入血循环的过程很快，以后的分布和消除过程又相近，所以无论从药时曲线还是从药代动力学参数上看，二者间的差别都不大。肌肉注射的 $A_{u,c}$ 比血窦注射的数值略小，生物利用度比所报道的氟苯尼考在绵羊（87.22%）[12]、山羊（65.72%）[2]、牛（78.5%）[3]、马（81%）[4]、鸭（73.03%）[5]等体内的生物利用度都要高，低于在鸡（96.6%）[6]、猪（96.89%）[11]体内的生物利用度，由此可见肌肉注射氟苯尼考在中国明对虾体内的生物利用度还是比较高的。

中国明对虾投喂氟苯尼考药饵的生物利用度比肌肉注射的生物利用度高，与所报道的大西洋鲑（96.5%）[7]和猪（108.51%）[11]口服氟苯尼考的生物利用度相近，说明氟苯尼考口服给药的生物利用度普遍较高。

3.2 对虾与其它动物在药代学上的比较

中国明对虾血窦内注射氟苯尼考后的药时数据符合二室开放模型，与该药在大西洋鲑[7]、肉鸡[14]等动物体内的研究结果一致。本试验中氟苯尼考血窦注射在对虾体内的消除半衰期短于 Bernt[7]报道氟苯尼考在大西洋鲑体内的消除半衰期 12.2 h。房文红[15]研究诺氟沙星在斑节对虾体内的代谢动力学得出其消除半衰期为 0.612 h，短于诺氟沙星在鲤体内的消除半衰期 3.403 h。说明对虾比鱼类的消除速度要快。

本次试验中，氟苯尼考以 13.56 mg/kg 的剂量口服后 C_{max} 及对应的时间 T_{max} 见表 1，Bernt 以 10 mg/kg 的剂量给大西洋鲑口服氟苯尼考时，其 C_{max} 为 4.0 mg/L，T_{max} 为 10.3 h[7]；蒋红霞等[11]以 20 mg/kg 的剂量给猪灌喂氟苯尼考后，C_{max} 和 T_{max} 分别为 7.45 mg/L 和 2 h；李秀波等[12]以 20 mg/kg 的剂量给绵羊肌注氟苯尼考后，C_{max} 和 T_{max} 分别为 7.45 mg/L 和 2 h。氟苯尼考在对虾体内的 α 远大于其在大西洋鲑体内的 0.22 h^{-1}，可见氟苯尼考在对虾体内的分布要比大西洋鲑及其他动物快得多。

本试验中所确定的氟苯尼考清除率较低，据报道氟苯尼考在大西洋鲑[7]、肉鸡[14]、猪[11]体内的清除率为 0.086,0.73 和 0.23 L/(h·kg)。Bretzlaff 认为，氟苯尼考在体内的清除率低，主要是由于其化学结构中的一个-OH 被-F 取代，阻遏了葡萄糖醛酸的结合，从而延缓了氟苯尼考在动物体内的排泄。

3.3 给药方式探讨

氟苯尼考在中国明对虾体内分布广泛，内服给药的分布优于注射给药，但是内服给药的血药初始浓度及达峰浓度均低于注射给药。肌肉注射对虾体的伤害比血窦注射要少，尤其是对于个体较小的虾，血窦注射时给药者或虾的忽然颤动就有可能会损伤甲壳，血液流出，使虾体活力下降，严重时可导致虾的死亡。所以比较 2 种注射方式，建议用肌肉注射，在科学研究中或者特别的情况下，可以血窦注射。药饵投喂方式方便省力，生物利用度较高，而且不会对动物造成机械伤害。但是投喂不便于定量的给药，尤其是一次性给药时，动物个体间摄食药饵的差异较大。用药时可以根据实际情况选择合适的给药方式。

参考文献：

[1] 李秀波,石波,梁萍.新型广谱抗菌药－氟苯尼考[J].**Animal Science Abroad**, 1999, **26**(3): 50–52.

[2] Atef M, EL-GENDI A Y, Amer A M M, *et al*. Pharmacokinetics properties of florfenicol in Egyptian goats [J]. **Deutsche Tierortliche Wochenschrift**, 2000,**107**(4): 147–150.

[3] Lobell R D, Varma F J, Johnson J C, *et al*. Pharmacokinetics of florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle [J]. **Journal of Pharmacology Therapeutics**, 1994,17:253–258.

[4] Mckelllller Q A,Varma K J. Pharmacokinetics and tolerance of florfenicol in Equidae [J]. **Equine Vet J**, 1996,**28**(3): 209–213.

[5] El Banna H A. Pharmacokinetics of florfenicol in normal and Pasteurella-infected Muscovy ducks [J]. **British Poultry Science**, 1998,39:492–496.

[6] Afifi N A, EI-Sooud K A. Tissue concentration and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens [J]. **British Poultry Science**, 1997, **38**(4): 425–428.

[7] Bernt M, Tor E H, Kanval J V, *et al*. Single dose pharmacokinetic study of florfenicol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater at 11℃[J]. **Aquaculture**,1993, 112:1–11.

[8] Ole B S, Øivind B. Efficacy of orally administered florfenicol and oxolinic acid for the treatment of vibriosis in cod (*Gadus morhua*) [J]. **Aquaculture**, 2004,235:27–35.

[9] Lundén T, Miettinen S, Lonnstrom L -G, *et al*. Effect of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Veterinary and Immunopathology**, 1999,67:317–325.

[10] Chue V, Larry J S, Guy R S, *et al.* Liquid chromatographic determination of florfenicol in the plasma of multiple species of fish [J]. **Journal of Chormatogrphy B**, 2002,780: 111–117.

[11] 蒋红霞，冯淇辉，曾振灵，等. 氟甲砜霉素在猪体内的药物动力学[J].中国兽医学报，2001，**21**（1）：86–89.

[12] 李秀波，沈建忠，胡顶飞. 氟苯尼考静注及肌注在绵羊体内的药代动力学研究[J].畜牧兽医学报，2003，**34**（6）：609–612.

[13] 刘雅红，丁焕中，冯淇辉，等.氟苯尼考在猪的群体药动学[J].中国兽医杂志，2003，**39**（10）：32–35.

[14] 吴先爱，沈建忠，胡顶飞，等. 静注与内服氟苯尼考在大肠杆菌感染鸡体内的药代动力学[J].中国兽医学报，2002，**22**（6）：609–611.

[15] 房文红,邵锦华,施兆鸿,等.斑节对虾血淋巴中诺氟沙星含量测定及药代动力学[J].水生生物学报,2003,**27**(1):13–17.

Single dose pharmacokinetics of florfenicol in *Fenneropenaeus chinensis*

LI Jing-yun[1,2] , LI Jian[1] , WANG Qun[1], ZHAN Wen-bin[2]

Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071,China; 2. Fishery College, Ocean University of China, Qingdao 266003,China)

Received：Oct.,18,2004

Key words: florfenicol；*Fenneropenaeus chinensis*；pharmacokinetics; high performance liquid chromatography（HPLC）

Abstract: The pharmacokinetics of intravenously , intramuscularly and orally administered florfenicol were determined in *Fenneropenaeus chinensis*.The study was performed at 19~22 ℃.A dose of 15mg/ kg body mass was administered either intravenously or intramuscularly. The oral dose was13.56 mg/kg body mass. At 8~10 time points, from 0.083 h to 24 h after administration, blood was sampled from 8 individual shrimps in each group. The plasma was assayed for florfenicol using an HPLC method. The pharmacokinetic modling of the results was performed using the computer program MCP-KP. Following the three administrations, the plasma concentration –time data of florfenicol were all best described by two-compartment open model. The important parameters of intravenous, intramuscular and oral administrations were listed. The volumes of distribution(V_β)were 1.287,1.293,2.421 L/kg, the total body clearance(C_s)was 0.129,0.138,0.213 L/(h·kg), the elimination halflives ($t_{(1/2)\beta}$) were 5.91,7.57,8.01 h, the peak plasma concentrations(C_{max}) were 6.970,6.396,2.772 mg/L,and were estimated to occur at 0.206,0.239,0.605 h (T_{max}) following dosing. The bioavailabilities (F) of intramuscular and oral administrations were 90.20% and 97.58%.

（本文编辑:刘珊珊）