

达氟沙星在史氏鲟体内药物代谢动力学比较研究

卢彤岩 杨雨辉 徐连伟 孙大江

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

摘要: 采用高效液相色谱法测定以 10mg/kg 体重剂量静脉注射和口服给药后史氏鲟血浆中达氟沙星的浓度。该法采用 C_{18} 色谱柱, 流动相为乙腈-水相 (15:85), 荧光激发波长和发射波长分别为 280nm 和 450nm, 样品用甲醇沉淀蛋白, 离心取上清液进样。达氟沙星在 0.005—1.04g/mL 范围内线性关系良好, 本方法的最低检测限为 0.005 μ g/mL。健康鱼单剂量静注达氟沙星 (10mg/kg), 其药时数据符合无吸收的三室开放模型, 方程为 $C = 5.830e^{-5.582t} + 4.162e^{-1.157t} + 0.852e^{-0.029t}$, 主要动力学参数如下: $t_{1/2\alpha}$ 0.552h; $t_{1/2\beta}$ 22.186h; AUC₀₋₂₄ 226mg/(L·h); V_d 10.922L/kg; V_b 10.144L/kg; k_e 10.317h。Ah 感染组的 V_d 减小至 0.290L/kg, 静注感染组鱼体内达氟沙星的消除没有显著的改变。健康口服组数据结果符合一级吸收二室开放模型, 血药浓度和时间方程为 $C = 1.278e^{-0.073t} + 0.177e^{-0.089t} - 1.455e^{-0.329t}$ 。药动学常数分别为: $t_{1/2ka}$ 9.491h, $t_{1/2\beta}$ 78.267h, T_{max} 6.284h, C_{max} 0.791mg/mL; α 0.073h。但 Ah 感染改变达氟沙星口服给药后在史氏鲟体内的吸收、分布和消除。分布速率常数降低为 0.050/h。消除减慢, 消除半衰期延长为 93.988h, 达峰时间延长为至 9.060h, 峰浓度降低为 0.585mg/mL。口服达氟沙星水溶液, 健康及感染组史氏鲟对达氟沙星生物利用度分别为 96.503% 和 94.435%。本实验结果表明达氟沙星在健康史氏鲟体内分布广泛、吸收较完全。感染 Ah 对达氟沙星在史氏鲟体内的吸收、分布及消除规律均有不同程度的影响, 其中口服给药的影响更为显著。达氟沙星可用于史氏鲟感染 Ah 的治疗。

关键词: 达氟沙星; 史氏鲟; 药物代谢动力学

中图分类号: S948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2006)03-0349-07

达氟沙星 (Danofloxin) 是继恩诺沙星后又一动物专用氟喹诺酮类药物, 由于具有水溶性好、可多种途径给药、抗菌谱广、抗菌活性强、药动学特性优良、不良反应小及与其他抗菌药无交叉耐药性等优点, 目前已被广泛用于兽医临床^[1]。

嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila* 简称 Ah) 是一种重要的致病菌, 可以感染多种鱼类并造成大量死亡, 随着鲟鱼养殖业的兴起, 由 Ah 引起养殖鲟鱼的病害日趋严重^[2]。在水产养殖生产中, 抗菌药物的实际给药方案主要是根据健康鱼类的实验数据提出的, 由此提出的方案假定药量和药效变化在患病和健康鱼类体内的反应是相同的, 而未考虑疾病对药物量效关系的影响。事实上各种疾病均会导致动物机体的生理状况如器官组织的血流量和通透性、血液蛋白含量、药物的蛋白结合率、代谢能力等的变化, 这些变化可能会影响药物在体内的吸收、分布、

代谢和排泄, 从而影响药物的效应^[3]。

本研究探讨达氟沙星通过静注和口服在健康及实验室嗜水气单胞菌感染的史氏鲟体内代谢规律的影响。实验把疾病模型与药物动力学研究结合起来, 为阐明达氟沙星在史氏鲟体内的吸收分布、消除规律和生物利用度以及 Ah 对达氟沙星在史氏鲟体内药物代谢动力学特征的影响提供重要的理论依据, 从而为临床使用该药物提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物 史氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 购自中国水产科学研究院鲟鱼繁育基地, 体重范围 75—95g, 暂养于室内玻璃水族箱中 7d 后进行实验。水族箱有效水体积为 180L, 试验期间以经过充分曝气的自来水作为水源, 水温在 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 持续以曝气的形式进行充氧。暂养期间每天投喂两次颗粒饵料。

收稿日期: 2004-12-17; 修订日期: 2006-01-30

基金项目: 科技部“十五”攻关计划 2001BA505B0506 黑龙江省自然科学基金 No: C0322

作者简介: 卢彤岩 (1967—), 女, 黑龙江依兰县人; 博士; 副研究员; 主要从事鱼类病害研究

通讯作者: 孙大江 (1955—), 男, 黑龙江哈尔滨市人; 研究员; 主要从事鲟鱼类繁殖研究

1.2 药品和试剂 达氟沙星(甲磺酸达氟沙星)为河南郑州兽药厂生产,批号 990415,含量为 99.5%。乙腈为国产 HPLC 试剂,四丁基溴化铵、甲醇、磷酸、柠檬酸等均为国产分析纯试剂。

1.3 菌种 嗜水气单胞菌菌株由珠江水产研究所鱼病研究室馈赠,并经鉴定和保存。

1.4 仪器 分析仪器为自动进样的 Waters 2695 型配有 474 型荧光检测器的高效液相色谱仪,分离柱为 Waters C₁₈反相分离柱。BF2000 氮气吹干仪(BFC 八方世纪公司)。

1.5 疾病模型的复制 经过预实验确定嗜水气单胞菌对史氏鲟的半数致死剂量(LD₅₀),从暂养池中选择健康的史氏鲟,腹腔注射经培养 24h 的嗜水气单胞菌培养液,注射体积为 2mL/kg(约 10⁶CFU/mL),选择具有明显发病特征的史氏鲟作为实验用感染鱼。

1.6 实验分组及给药 实验分为健康口服组、健康静脉注射组、感染口服组和感染静脉注射组。取 150 尾健康鲟用于健康口服和静注达氟沙星药动学研究。选择感染症状明显的史氏鲟用于疾病模型组口服和静注药动学试验。配制 5mg/mL 达氟沙星灭菌水溶液供静注和口服给药,单剂量给药剂量均为 10mg/kg。口服给药时用医用静滴软管一端固定于 1mL 注射器上,一端轻插入实验鱼胃部,并按体重大小推入相应体积的药液。静注时注射入史氏鲟尾静脉,注射成功与否通过观察注射前回抽尾静脉血的方法进行确定。

1.7 样品采集 实验用史氏鲟,分别于静注给药后 0.017、0.125、0.25、0.5、0.75、1、2、4、8、12、24、48、72 和 120h 及口服给药后 0.125、0.25、0.5、0.75、1、2、4、8、12、24、48、72 和 120h 各时间点于尾部采血,1%肝素抗凝后离心吸取血浆保存于-24℃备用,每一时间点采集 5 尾史氏鲟血液用于药物浓度分析。

1.8 样品处理 取出血浆样品,于室温下自然解冻摇匀后取出 0.5mL 血浆,加入 0.5mL 甲醇,旋涡快速混匀器上混合 1min,于 4000r/min 转速离心 8min。取全部上清液在 BF2000 氮气吹干仪 70℃下吹干,再加入 0.5mL 流动相混匀后经 0.45μm 微孔滤膜过滤后,用于 HPLC 分析。

1.9 色谱条件 流动相中乙腈:水相为 15:85(V/V),每 1000mL 水相中含 12.4mL 0.2mol/L 磷酸氢二钠和 187.6mL 0.1mol/L 柠檬酸,每 1000mL 流动相中含 2.7g 溴化四丁基铵,流动相 pH 为 3。柱温为 18℃,进样体积为 10μL,荧光检测器激发和发射波

长分别为 280nm 和 450nm。流速为 0.8mL/min。

1.10 达氟沙星标准曲线的制备 采用外标法进行试验样品的测定,在 100mL 棕色容量瓶中配制成 100μg/mL 的达氟沙星标准品母液,在 4℃冰箱中避光保存备用,用流动相分别稀释成 0.005、0.01、0.025、0.05、0.1、0.25、0.5 和 1μg/mL 达氟沙星水溶液。以峰面积为横坐标,药物浓度为纵坐标做标准曲线,用最小二乘法求出回归方程和相关系数。

1.11 回收率的测定 将 0.1、1、10μg/mL 标准品分别加入 0.5mL 的血浆中,使其终浓度分别为 0.01、0.1 和 1μg/mL,按 1.8 方法进行处理后进行测定,各浓度重复测定 5 次,获得各浓度的峰面积,再按标准曲线回归方程计算达氟沙星的浓度,并与实验前加入量进行比较,回收率=实际测定量/初始加入量×100%。

1.12 数据处理 药时数据用 MCPKP 药物代谢动力学参数程序计算,由程序自动拟合最佳模型。最后得出两种给药途径下健康及疾病模型史氏鲟体内药物代谢动力学参数、模型指数和系数,确定理论方程。

2 结果

2.1 感染嗜水气单胞菌疾病模型的复制

史氏鲟感染嗜水气单胞菌 8h 后,出现典型的感染症状。感染鱼腹部、嘴四周、眼睛、腹部出血,肛门红肿,随机选择的感染鱼有淡红色腹水,无菌操作挑取患病鲟鱼肝脏,进行细菌分离,28℃培养 24h 挑取单一菌落,在斜面上划线纯化,根据《发酵性革兰氏阴性杆菌分类鉴定编码手册》细菌鉴定方法,证实为嗜水气单胞菌。同时取未感染鱼作对照细菌培养,结果未感染鱼腹腔内无腹水,肝脏未分离培养出任何细菌。感染实验表明已成功复制出感染嗜水气单胞菌的疾病模型。

2.2 标准曲线及变异系数

标准曲线为 $y = 6521.906 + 59617810x$ ($R = 0.9999$),达氟沙星在 0.005—1.0μg/mL 范围内线性关系良好,当所测定的血浆的药物浓度大于线性范围的上限,则用流动相稀释后再进行测定,本方法的最低检测限为 0.005μg/mL。

高、中、低 3 个浓度的回收率均在 84% 以上,批内、批间、日内、日间变异系数均在 10% 以内,可满足达氟沙星药物代谢动力学研究要求。

2.3 史氏鲟体内的血药浓度

史氏鲟健康及疾病状态下静注和口服达氟沙星水溶液后,不同时间理论及实际测定值见图 1—4。

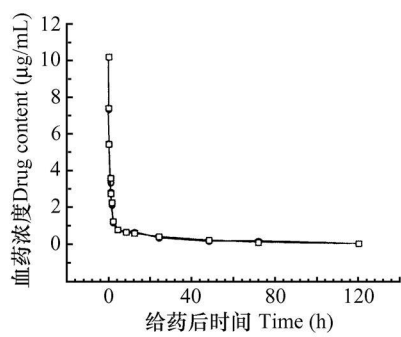


图 1 健康静注达氟沙星后血药浓度的
实测值和理论值

Fig. 1 Theoretic and observed concentration of danofloxacin in plasma of healthy Amur sturgeon after IV administration

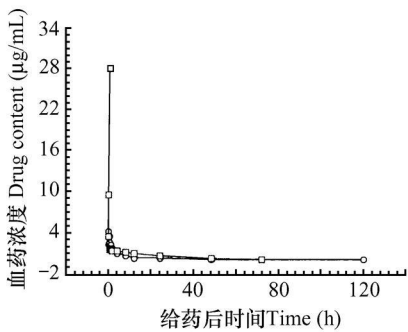


图 2 感染后史氏鲟静注达氟沙星后血药浓度的
实测值和理论值

Fig. 2 Theoretic and observed concentration of danofloxacin in plasma of infected Amur sturgeon after IV administration

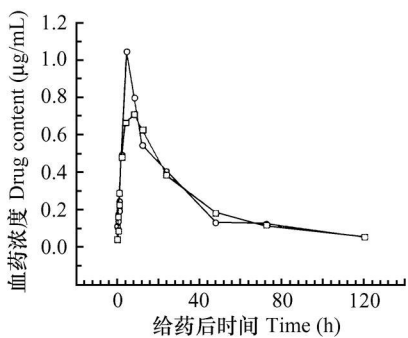


图 3 健康口服达氟沙星后血药浓度的
实测值和理论值

Fig. 3 Theoretic and observed concentration of danofloxacin in plasma of healthy after oral administration

通过处理血药浓度-时间数据表明, 史氏鲟口服达氟沙星的药时数据结果符合一级吸收二室开放模型, 健康组的血药浓度和时间方程为 $C = 1.278e^{-0.073t} + 0.177e^{-0.089t} - 1.455e^{-0.329t}$ 。感染组口服给药的血药浓度和时间方程为 $C = 1.038e^{-0.050t}$

+ $0.079e^{-0.074t} - 1.117e^{-0.221t}$, 相关系数分别为 0.842 及 0.877。

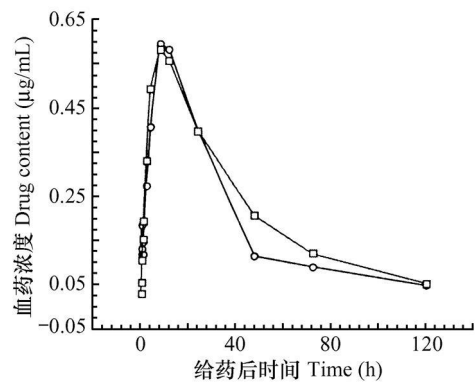


图 4 感染 Ah 后口服达氟沙星后血药浓度的
实测值和理论值

Fig. 4 Theoretic and observed concentration of danofloxacin in plasma of infected fish after oral administration

史氏鲟静注达氟沙星药时数据结果符合无吸收三室开放模型, 健康组的方程为 $C = 5.830e^{-5.582t} + 4.162e^{-1.157t} + 0.852e^{-0.0289t}$, 疾病组的方程为 $C = 31.035e^{-13.4548t} + 2.830e^{-0.433t} + 0.648e^{-0.0336t}$, 相关系数分别为 0.999 和 0.991。

2.4 生物利用度

达氟沙星在健康及感染 Ah 史氏鲟体内药物代谢动力学参数见表 1。口服达氟沙星水溶液, 健康组生物利用度 96.5027%, 感染组生物利用度为 94.4348%。

3 讨论

3.1 静注给药的药动学特征

大量的药物代谢动力学试验表明, 由于动物种属间的生理代谢特点不同, 不同动物及同种动物不同年龄之间达氟沙星的药物代谢动力学特点均有所不同^[3-7]。但有关达氟沙星在鱼类体内的药物代谢动力学规律尚未见报道。Shojaee Aliabadi F 试验结果证明小牛静注达氟沙星有较高的分布容积和相对较快的清除率, 半衰期为 2.65h, 清除半衰期分别为 10.2h。山羊静注达氟沙星, 血浆清除半衰期分别为 4.67h, 表观分布容积较高^[4]。Atef M^[5] 等人试验证实以 1.25mg/kg 达氟沙星静注和健康的成年雌性山羊, 血浆药物时间曲线符合二室开放模型, 药物迅速分布和消除, 半衰期分别为 17.71h。药物在中央室分布率高, K_{12}/K_{21} 比率为 0.67, 表观分布容积为 1.42L/kg。研究证实以 1.25mg/kg 在绵羊静注达氟沙星, 表观分布容积为 2.766L/kg, 消除半衰期

表 1 达氟沙星在健康和感染嗜水气单胞菌史氏鲟体内的药动学参数
Tab 1 The pharmacokinetics parameters of danofloxacin lactate in Amur sturgeon by intravenous and oral admistration

参数 Parameters		口服 oral administration		静注 intravenous administration	
		健康组	感染组	健康组	感染组
		Control	Infected group	Control	Infected group
D	mg/ kg	10.000	10.000	10.000	10.000
Co	mg/mL	1.167	0.881	10.844	34.512
A	mg/mL	1.278	1.038	4.162	2.830
B	mg/mL	0.177	0.079	0.852	0.648
P	mg/mL	—	—	5.830	31.035
α	h^{-1}	0.073	0.050	1.157	0.433
β	h^{-1}	0.089	0.074	0.029	0.034
π	h^{-1}	—	—	5.582	13.455
$t_{1/2\pi}$	h	—	—	0.114	0.049
$t_{1/2\alpha}$	h	9.491	13.959	0.552	1.479
$t_{1/2\beta}$	h	78.267	93.987	22.186	19.004
K_{12}	h^{-1}	0.028	0.013	1.628	8.826
K_{21}	h^{-1}	0.183	0.110	3.133	1.662
K_{13}	h^{-1}	—	—	1.502	1.814
K_{31}	h^{-1}	—	—	0.187	0.094
AUC	mg/ L/h	33.029	26.591	34.226	28.157
Vl	L/kg	—	—	0.922	0.290
Vb	L/kg	—	—	10.144	10.562
Cl _b	L/ kg/ h	—	—	0.292	0.355
TCP	h	142.490	62.554	98.452	76.176
$t_{1/2ka}$	h	2.104	3.142	—	—
$t_{\max}$	h	6.284	9.060	—	—
$C_{\max}$	mg/ mL	0.791	0.584	—	—
K_a	h^{-1}	0.329	0.220	—	—

注: D 为给药剂量; Co 为初始浓度; A 为分布相的零时截距; B 为消除相的零时截距; P 为深室分布相的零时截距; α 为分布速率常数; β 为消除速率常数; π 为深室分布速度常数; K_a 为药物吸收速率常数; $t_{1/2\pi}$ 为深室分布相半衰期; $t_{1/2\alpha}$ 为浅室分布相半衰期; $t_{1/2\beta}$ 为消除相半衰期; K_{12} 为药物由中央室到周边室内的一级运转速率常数; K_{21} 为药物自周边室到中央室的一级运转速率; K_{13} 为药物由中央室到周边室的一级运转速率常数; K_{31} 为药物由深室到中央室的一级运转速率常数; AUC 为血药浓度-时间曲线下面积; Vl 为中央室表观分布容积; Vb 为表观分布容积; Cl_b 为清除率; $t_{1/2ka}$ 为吸收相半衰期; $t_{\max}$ 为达峰时间; $C_{\max}$ 为峰浓度; K_a 为药物吸收速率常数。

($t_{1/2\beta}$) 为 3.32h, 清除速率为 0.63L/(kg·h)^[6]。也有试验表明雏鸡静脉注射达氟沙星后, 达氟沙星在鸡体内分布广泛、迅速, 且消除较慢, 因此达氟沙星适合于临床上治疗全身感染和深部组织感染^[7]。本试验结果表明, 健康及感染组史氏鲟以 10mg/kg 静脉注射达氟沙星后, 最佳药物代谢动力学模型符合无吸收三室开放模型, 达氟沙星在浅室分布较快, 在深室分布较慢, 中央室表观分布较小, 表观分布较大, 表明达氟沙星在健康史氏鲟体内分布广泛, 组织中

的药物浓度较高。这与达氟沙星在其他动物体内的药物代谢动力学特征基本一致。

3.2 口服给药的药动学特征

史氏鲟口服达氟沙星的药时数据结果符合二室开放模型, 健康史氏鲟以 10mg/kg 剂量口服达氟沙星水溶液后表现为吸收速度较慢, 吸收半衰期为 9.49h, 消除半衰期为 78.27h, 达峰时间为 6.28h, 峰浓度为 0.791g/mL。实验表明口服 喹酸、氟甲喹、恩诺沙星和沙拉沙星的大西洋鲑, 这 4 种药物的达

峰时间均高于 6h^[8], 而口服诺氟沙星和环丙沙星的鲤鱼达峰时间分别为 0.44h 和 0.73h^[8,9]。笔者认为由于大西洋鲑属于冷水性鱼类(适温 15—18℃), 而鲤鱼属温水性鱼类(适温 23—28℃), 二者的基础体温和环境温度差异很大, 由于温度的作用而药物的代谢速度有明显的差别, 因而药物在冷水性鱼体内的达峰时间均长于温水性鱼类。史氏鲟的生长适温为 21℃ 左右, 介于温水性鱼类和冷水性鱼类之间^[11], 本实验的试验水温为 23±1℃, 达峰时间也介于温水性鱼和冷水性鱼类之间。

3.3 Ah 感染对静注给药的药动学的影响

动物机体的健康状况有时会对药物在体内的分布、代谢及吸收有一定的影响。有文献报道支原体与大肠杆菌合并感染能使司帕沙星在鸡体内的消除半衰期略有延长, 机体消除率减少, 药时曲线下面积增大, 但影响不如口服给药明显^[10]。认为是由于静注给药时药物直接入血, 不需要吸收过程有关。研究表明猪大肠杆菌感染可使恩诺沙星的清除率显著下降、消除半衰期延长, 从而导致曲线下面积显著增大, 表明大肠杆菌感染能显著改变恩诺沙星在猪体内的分布和消除, 使中央室分布容积显著减小。本实验 Ah 感染明显改变达氟沙星在史氏鲟体内的中央室分布容积。但染组鱼体内达氟沙星的消除规律没有显著的改变。由于嗜水气单胞菌感染属全身性感染, 会导致包括动物体肝脏、肾脏及其他器官组织生理状况及代谢功能的改变。而郑伟文等研究表明, 嗜水气单胞菌感染后的中华鳖血清中肌酐的含量也由健康组的 21.8 显著升高至 394μm/L。本试验结果表明 Ah 感染对达氟沙星在史氏鲟体内的分布规律有一定的影响。

3.4 Ah 感染对口服给药的药动学的影响

研究表明, 由于不同药物的结构不同, 药物代谢情况受实验动物感染情况的影响是不同的。研究表明雏鸡口服达氟沙星水溶液, 支原体与大肠杆菌合并感染能改变药物在体内的动力学特征, 使达氟沙星在感染鸡体内的吸收、分布和消除均减慢, 达峰时间、有效浓度维持时间延长, 药物在中央室与周边室的转运速度也减慢。刘雅红^[11]则证明感染霉形体与大肠杆菌感染鸡内服给药氧氟沙星药动学参数没有显著改变。也有报道霉形体与大肠杆菌合并感染鸡内服司帕沙星, 吸收减慢, 达峰时间推迟, 峰浓度增加, 消除减慢。本实验中嗜水气单胞菌感染明显改变达氟沙星口服给药后在史氏鲟体内的吸收、分布和消除。分布速率常数降低, 分布减慢。同

时药物的消除也减慢, 消除半衰期延长。达峰时间延长, 峰浓度降低。可见在口服给药方式下嗜水气单胞菌感染对达氟沙星在史氏鲟体内的代谢规律有较大的影响。

3.5 达氟沙星在史氏鲟体内生物利用度的评价

生物利用度是确定药物剂量与作用强度之间关系的重要因素, 也是进行药物动力学评价时的主要参数之一^[14-17]。本实验结果表明, 健康及感染组鱼生物利用度均较高, 说明该药在史氏鲟体内吸收较完全。张秀英等证明达氟沙星内服给药的生物利用度为 90.08%。Aliabadi 证明山羊肌注达氟沙星的生物利用度为 100%。El-Gendi^[12]实验表明火鸡肌注和口服达氟沙星的生物利用度分别为 96.56% 和 81.4%。Atef^[5]则发现健康山羊肌注达氟沙星生物利用度为 65.70%±10.28%。Shen-Tov^[13]证明哺乳奶牛静注达氟沙星生物利用度大于 100%。McKellar^[6]等发现奶牛肌注达氟沙星的生物利用度为 95.71%。表明达氟沙星在动物体内的吸收过程虽然存在着种属的差异, 但生物利用度均较高。同时嗜水气单胞菌感染并未使达氟沙星在史氏鲟体内的生物利用度发生明显的改变。

体外抑菌实验结果表明达氟沙星对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度(MIC)为 0.05μg/mL, 结合本实验结果达氟沙星可用于史氏鲟嗜水气单胞菌感染的治疗, 建议给药方式以间隔 2d、给药剂量为 10mg/kg 为宜。

参考文献:

- [1] Wang J Y, Liu Y N. The application of fluoroquinolones on the animal[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*. 1996, 16(3): 304—309[王建元, 刘五年. 氟喹诺酮类抗菌药在动物中的应用. 中国兽医学报, 1996, 16(3): 304—309]
- [2] Chu W H, Yu Y. The detection of *Aeromonas hydrophila* of Sturgeon[J]. *Freshwater Fisheries*, 2003, 33(2): 16—17[储卫华, 于勇. 鲟鱼嗜水气单胞菌的分离与鉴定. 淡水渔业, 2003, 33(2): 16—17]
- [3] Shojaei Aliabadi F, Lees P. Pharmacokinetic-pharmacodynamic integration of danofloxacin in the calf[J]. *Res Vet Sci*, 2003, 74(3): 247—259
- [4] Aliabadi FS, Lees P. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of danofloxacin in serum and tissue fluids of goats following intravenous and intramuscular administration[J]. *Am J Vet*, 62(12): 1979—1989
- [5] Atef M, El-Gendi A Y, Aziza, et al. Some pharmacokinetic data for danofloxacin in healthy goats[J]. *Vet Res Commun*, 2001, 25(5): 367—377
- [6] McKellar Q A, Gibson I F, McCormack R Z. Pharmacokinetics and

- pharmacodynamics of danofloxacin in serum and tissue fluids of goats following intravenous and intramuscular administration[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1998, **19**(2):123—129
- [7] Martinsen B, Horsberg T E, Vama K J, *et al.* Single dose pharmacokinetic study of florfenicol in Atlantic salmon in seawater at 11 °C [J]. *Aquaculture*, 1993, **112**:1—11
- [8] Zhang Y B, Zhang Z X, Zheng W, *et al.* Study on pharmacokinetics of Norfloxacin in carp following different forms administration[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(6):559—563[张雅斌, 张祚新, 郑伟, 等. 不同给药方式下鲤对诺氟沙星的药代动力学研究, 水产学报, 2000, **24**(6):559—563]
- [9] Yang Y H, Tong H M, Lu T Y, *et al.* Absorbing elimination and bioavailability of ciprofloxacin lactate in *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2003, **27**(6):582—589[杨雨辉, 佟恒敏, 卢彤岩, 等. 环丙沙星在鲤鱼体内吸收、代谢和生物利用度的研究, 水产学报, 2003, **27**(6):582—589]
- [10] Sun D J, Qu Q Z, Ma G J, *et al.* The expectation of artificial culture of *Acipenser schrenckii* Journal of Fishery Sciences of China, 1998, **5**(3):108—111[孙大江, 曲秋芝, 马国军, 等. 史氏鲟人工养殖研究现状与展望, 中国水产科学, 1998, **5**(3):108—111]
- [11] Liu Y H, Feng Q H. Pharmacokinetic Studies of ofloxacin in healthy and diseased chickens infected with mycoplasma gallisepticum and E-Coli[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1998, **29**(6):536—540[刘雅红, 冯淇辉. 氧氟沙星在健康和霉形体与大肠杆菌感染鸡的药动学研究, 畜牧兽医学报, 1998, **29**(6):536—540]
- [12] el-Gendi AY, el-Banna HA, Abo Norag M, *et al.* Disposition kinetics of danofloxacin and ciprofloxacin in broiler chickens[J]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2001, **108**(10):429—434
- [13] Shen-Tov M, Rav-Hon O, Ziv G, *et al.* Pharmacokinetics and penetration of danofloxacin from the blood into the milk of cows[J]. *J Vet Pharmacol Ther*, 1998, **21**(3):209—213
- [14] Ai X H, Chen Z W. Studies on pharmacokinetics and tissue concentration of olaquinoxon common carps[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, **27**(3):273—277[艾晓辉, 陈正望. 喹乙醇在鲤鱼体内的药物代谢动力学及组织浓度. 水生生物学报, 2003, **27**(3):273—277]
- [15] Yang X L, Liu Z Z. Pharmacokinetics of ciprofloxacinum in Chinese mitten-handed crab. *Eriochelone sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*. 2003, **27**(1):18—22[杨先乐, 刘至治. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究. 水生生物学报, 2003, **27**(1):18—22]
- [16] WANG X L, FANG Z P, CAO J Y, *et al.* Studies on residue and depletion of sarafloxacin hydrochloride in Goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(2):196—201[王翔凌, 方之平, 操继跃, 等. 盐酸沙拉沙星在鲫鱼体内的残留及消除规律研究. 水生生物学报, 2006, **30**(2):196—201]

THE PHARMACOKINETIC OF DANOFLOXACIN IN HEALTHY AND DISEASED ACIPENSER SCHRENCKII INFECTED BY *AEROMONAS HYDROPHILA*

LU Tong-Yan, YANG Yu-Hui, XU Lian-Wei and SUN Da-Jiang

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070)

Abstract: The pharmacokinetics of danofloxacin in healthy and *Aeromonas hydrophila* infected *Acipenser schrenckii* were investigated, so as to provide scientific basis for the application of danofloxacin in aquaculture. About 10^6 CFU per mL was inoculated to Amur sturgeon to induce the disease model. The 150 healthy fish and over 200 infected fish randomly divided into two groups according to different routes of administration. The Amur sturgeon are divided into 4 groups for the experiment, the healthy group for intravenous, the healthy group for oral administration, the diseased group for intravenous and the diseased group for oral administration. The dose for intravenous and oral administration were all 10mg/kg. At different times after administration the blood were collected. High-performance liquid Chromatography (HPLC) was used to determine the concentration of danofloxacin in plasma of Amur Sturgeon and the MCPKP pharmacokinetic software was used to analyze the medicinal concentration-time courses. Using a C_{18} column, the mobile phase consisted of Acetonitrile/tridistilled water (15: 85). The fluorescence acceleration and emission wavelength were 280 nm and 450 nm. The protein of samples were deprived with methyl alcohol. The precipitated mixture was shaken and then centrifuged, the filtrate was evaporated to dryness with Nitrogen fumes. Within the range of 0.005 — 1.0Lg/mL, danofloxacin had a good linearity. The lowest detectability was $0.005\text{Lg}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the average recovery of danofloxacin was above 84%. The within day and day-to-day precision expressed by RSD was less than 10% at three drug levels (0.005, 0.11 and 1Lg/mL). The pharmacokinetics and bioavailability of danofloxacin in healthy and diseased Amur sturgeon infected with *Aeromonas hydrophila* were studied. The pharmacokinetic characteristics of danofloxacin in healthy group is described by the three compartment open model by intravenous. The data is $C = 51830e^{-51582t} + 41162e^{-11157t} + 01852e^{-01029t}$, the main pharmacokinetic parameters of danofloxacin; distribution half time ($t_{1/2\alpha}$) 0155 h; elimination half time ($t_{1/2\beta}$) 22119 h; area under the plasma drug concentration-time curve (AUC) 34123 mg/(L#h), apparent volume of the central compartment (V_l) 0192L/kg, apparent volume of a drug distribution in body (V_b) is 10114L/kg, k_{el} is 0132/h. The V_l of diseased sturgeon by single intravenous danofloxacin decreased to 0129L/kg. The elimination of danofloxacin between healthy and diseased sturgeon by intravenous is same. The pharmacokinetic characteristics of danofloxacin by oral administration in healthy sturgeon is described by the two compartment open model with first order absorb, the data is described with $C = 11278e^{-01073t} + 01177e^{-01089t} - 11455e^{-01329t}$, the main pharmacokinetic parameters of danofloxacin $t_{1/2\alpha}$ 9149h, $t_{1/2\beta}$ 78127h, time of reaching maximum drug concentration after a single i. m. injection of a drug (T_{max}) 6128h, maximum drug concentration after a drug (C_{max}) 0179mg/mL, slopes of distribution phase (A) 0107/h. The result showed that the absorption distribution and elimination of danofloxacin changed markedly. The A decreased to 0105/h. Meanwhile the rate of elimination slowed, $t_{1/2\beta}$ increased to 93199h, t_{max} prolonged to 9106h, the C_{max} decreased to 0159mg/mL. the bioavailability of danofloxacin in healthy and diseased sturgeon is 96150% and 94144% by oral administration. The high bioavailability in healthy and diseased group showed that danofloxacin is suitable to cure the bacterial infection Amur sturgeon. Danofloxacin can be given by oral administration at dose of 10mg/kg interval 2 days to prevent infected Ah Amur sturgeon.

Key words: Danofloxacin; Amur Sturgeon; Pharmacokinetic; *A. hydrophila*