

不同海水浸泡时间对左氧氟沙星在腹部开放伤比格犬体内的药动学影响

王强^a, 张沂^a, 尚利群^b, 虞积耀^c, 于春令^a, 王大鹏^c (解放军海军总医院: a 药剂科, b 胸外科, c 海战伤救治研究中心 北京 100048)

[摘要] 目的 建立腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬动物模型, 研究左氧氟沙星 (LVFX) 在腹部开放性损伤合并海水浸泡比格犬与正常比格犬中的药动学变化。方法 12只比格犬随机分为3组, 每组4只。A组为正常对照组, B组为腹部开放性创伤合并海水浸泡45 min组, C组为腹部开放性创伤合并海水浸泡90 min组。3组动物给药方案为: 静脉输注 LVFX 25 mg/kg 60 min输注完毕。实验进程中监测实验动物体温。采用 HPLC测定 LVFX 浓度; 3P97计算药动学参数。结果 腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬在浸泡过程中和出水后体温显著下降, 且随浸泡时间增加而下降幅度增加。LVFX在比格犬体内呈二室模型, A、B和C组药动学参数分别为: C_{max} (30.05±1.75)、(36.10±4.74)和(42.34±4.19) mg/L, $t_{1/2\beta}$ (8.23±0.65)、(11.02±0.54)和(13.19±3.87) h, AUC (247.00±14.10)、(345.22±56.68)和(417.79±83.32) mgoh/L, V_c (6.97±2.02)、(6.68±1.67)和(7.82±1.62) L, Cl_c (1.20±0.15)、(1.06±0.12)和(0.92±0.15) L/h。与A组比较, B组 $t_{1/2\beta}$ 和 AUC显著增加 ($P < 0.05$); C组 $t_{1/2\beta}$ 、 C_{max} 和 AUC ($t_{1/2\beta}$, $P < 0.01$; C_{max} , AUC, $P < 0.05$)显著增加。与B组比较, C组 $t_{1/2\beta}$ ($P < 0.05$)差异明显。结论 腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬体内 LVFX 代谢消除随浸泡时间延长而明显减慢, 其机制可能与浸泡导致的低体温状况有关。

[关键词] 左氧氟沙星; 药动学; 腹部开放性损伤; 海水浸泡; 比格犬

[中图分类号] R978.1⁺9.R965.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2010)03-0177-04

Pharmacokinetics of levofloxacin in beagle dogs with open abdominal wound by different seawater immersion process

WANG Qiang^a, ZHANG Yi^a, SHANG Liqun^b, YU Jiyao^c, YU Chunling^a, WANG Dapeng^b (Navy General Hospital of PLA, a Department of pharmacy, b Thoracic Surgery, c Research Centre of Sea War Wound, Beijing 100048, China)

[Abstract] **Objective** To compare the pharmacokinetics of levofloxacin (LVFX) between beagle dogs with open abdominal wound by seawater immersion for different time and normal dogs. **Methods** Twelve healthy beagle dogs were randomly divided into control group (A group, $n = 4$), open abdominal wound and immersion for 45 min group (B group, $n = 4$) and open abdominal wound and immersion for 90 min group (C group, $n = 4$). The beagle dogs in B group and C group were immersed into artificial seawater for 45 or 90 min before administered, respectively. All the animals were administered a single dose of LVFX (25 mg/kg) by infusion into saphenous vein for 90 min. LVFX in plasma at different sampling time was determined by HPLC, at the same time the temperature of animal was monitored. The pharmacokinetic parameters were calculated by 3P97 software and examined by SPSS 12.1 program. **Results** The temperature of animal in B and C group dropped significantly compared with A group in immersion process and after immersion, and these drops temperature were increased along with the extension of immersion process. The plasma concentration-time curve of three groups were fit to a two-compartment model with the main pharmacokinetic parameters as follows: C_{max} were (30.05±1.75), (36.10±4.74) and (42.34±4.19) mg/L, $t_{1/2\beta}$ were (8.23±0.65), (11.02±0.54) and (13.19±3.87) h, AUC were (247.00±14.10), (345.22±56.68) and (417.79±83.32) mgoh/L, V_c (6.97±2.02), (6.68±1.67) and (7.82±1.62) L, Cl_c (1.20±0.15), (1.06±0.12) and (0.92±0.15) L/h, respectively. In comparison to A group, $t_{1/2\beta}$ and AUC of B group was increased remarkably ($P < 0.05$, respectively), and $t_{1/2\beta}$, C_{max} and AUC of C group was also increased remarkably, respectively ($t_{1/2\beta}$, $P < 0.01$; C_{max} , AUC, $P < 0.05$). At the same time, there was significantly difference in $t_{1/2\beta}$ between B group and C group ($P < 0.05$). **Conclusion** Metabolism and elimination of LVFX in open abdominal wound by seawater immersion was obviously decreased when the immersion process was increased, and hypothesis in beagle that immersion led to might be involved in these events.

[Key words] levofloxacin; pharmacokinetics; open abdominal wound; seawater immersion; Beagle dogs

[基金项目] 全军医药卫生科研基金课题 (06D004)。
[作者简介] 王强 (1980-), 男, 硕士研究生。Tel (010) 66958228
E-mail wangqiangnavy@163.com。
[通讯作者] 张沂。E-mail phamacynavy@163.com。

开放性创伤合并海水浸泡伤情在海上作业、军事作训及海上冲突事件伤员中发生率较高^[1]。创伤合并海水浸泡后可能导致机体产生不同于普通伤

情的一系列变化,如低温、高渗性脱水、进而导致高钠高氯血症、代谢性酸中毒、继发组织感染性坏死、急性肾衰竭及凝血障碍等^[2]。这种新的伤情特点不仅使医疗救治方案大大改变,同时也可能使药物在其机体内的 ADME 过程发生改变。故本研究选取在目前临床常用的抗菌药物左氧氟沙星 (Levofloxacin, LVFX) 作为模型药物,通过 HPLC 测定血浆中 LVFX 浓度,研究在腹部开放性创伤合并海水浸泡不同时间比格犬体内的 LVFX 药动学变化,为探讨 LVFX 在海水浸泡伤治疗性应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 美国 Waters 高效液相色谱仪 (含 1525 二元泵, 2487 紫外检测器, SPD3101-1 柱温箱, Empower 工作站); MDFU 52V 超低温保存箱 (日本三洋公司); SK-600100572 型输液泵 (深圳市深科医疗器械技术开发有限公司)。

LVFX 粉针 (0.10 g/支, 山东罗欣药业公司, 批号 051119); LVFX 标准品 (纯度 98.16%, 北京双鹤药业有限公司, 批号 LRS-65); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水 (Milli-Q A10 超纯水器自制), NaCl, MgCl₂, MgSO₄, CaCl₂, KCl, NaHCO₃ 和 NaBr 为化学纯 (人工海水配制用), 其余试剂均为分析纯。

1.2 人工海水配制 按国家海洋局第三研究所海洋化学研究室提供的《我国东南沿海海水主要成分配方》进行配制,其主要成分 Na⁺ (630.00 ± 5.33) mmol/L, K⁺ (10.88 ± 0.68) mmol/L, Cl⁻ (658.80 ± 5.25) mmol/L。配制后控制水温 (21 ± 1) °C, 渗透压 1.250 ~ 1.350 mmol/L, pH 为 8.2 相对密度 1.05 ~ 1.06^[3]。

1.3 实验动物分组与造模 健康比格犬 12 只, ♂ 体质量 (11.6 ± 3.7) kg 由北京市兴隆实验动物养殖中心提供,动物合格证号 SCXK(京)2006-0001。所有比格犬在实验前禁食过夜,自由饮水,准确称重后随机均分为 3 组: A 组为正常对照组, B 组比格犬在剑突下约 3 cm 处,沿中心线纵切 8 cm 切口暴露腹腔,用自制网具缝在切口上防止脏器脱出,浸入人工海水池中浸泡 45 min 后捞出, C 组比格犬同 B 组方法在腹部创伤造模后,浸入人工海水池中浸泡 90 min 后捞出。所有动物实验均在海军总医院实验动物中心进行。实验过程中实验室温度保持室温 (25 ± 2) °C。

1.4 给药方案与血浆样品的制备 B 组和 C 组比格犬浸泡到规定时间后捞出,同 A 组比格犬经自动输液泵匀速输注给予 LVFX (25 mg/kg), 60 min 输注完毕。分别在给药前和给药后 0.33, 0.67, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72 h 于静脉取血 2 ml 置

肝素管中,离心 5 min (离心半径 15 cm, 速率 3 000 r/min), 分取上层清液,于 -60 °C 保存待测。3 组动物在实验进程中记录肛温。

1.5 血浆样品中 LVFX 的浓度测定 按文献^[4]方法测定处理血浆样品,测定血药浓度。其中色谱柱: Symmetry™ C₁₈ (3.9 mm × 150 mm, 5 μm) (美国 Waters 公司); 流动相: 乙腈-7.7% 醋酸铵缓冲液 (8:92 冰醋酸调 pH 值至 3.5); 流速 0.7 ml/min; 柱温 35 °C; 检测波长 294 nm; 进样量 20 μl; 保留时间为 13.5 min, 回归方程为 $A = 1.0114 \times 10^4 C - 5.3279 \times 10^3$, $r = 0.9993$ 。线性范围为 0.5 ~ 100 mg/L。最低定量浓度为 0.5 mg/L; 方法学研究结果均合乎生物样品检测要求。

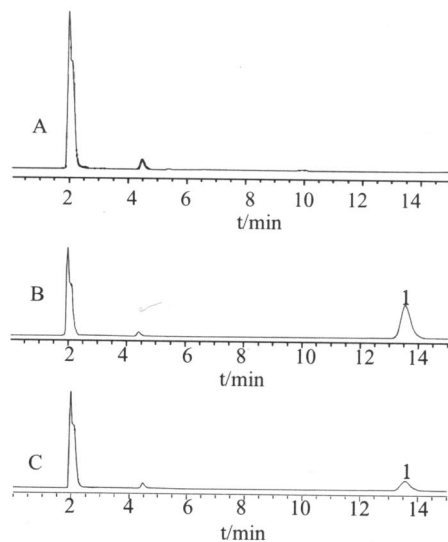


图 1 LVFX 色谱图

A 空白血浆; B-空白血浆 + LVFX 对照品;
C 给药后的血浆样品; 1-LVFX

1.6 数据处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用中国药理学学会编制的 3P97 程序处理 LVFX 药时数据, SPSS 12.1 软件包对数据进行统计分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 比格犬体温变化情况 3 组比格犬在实验进程中体温变化情况见表 1。B 组和 C 组动物在浸泡过程中体温快速下降, 并在出水后一定时间内继续下降, 在部分时间点监测的体温不仅显著低于 A 组动物体温 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 同组内动物实验前比较亦有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。C 组与 B 组动物相比, 出水后体温继续下

降时
后 0

组动物在出水 0.05), 说明 90 min 内, 海水浸泡时间的长短与腹
学差异 ($P <$ 部创伤比格犬体温下降呈正相关。

1 比格犬体温测定结果 ($^{\circ}\text{C}$, $\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

	A组	B组	C组
实验前	37.19 ± 0.19	37.70 ± 1.41	37.14 ± 0.88
致伤后		37.75 ± 0.58	37.05 ± 1.16
浸泡 4h		36.33 ± 0.21	34.24 ± 0.53
浸泡 90min			30.55 ± 1.10 ¹⁾
移出海水			
0.1h	37.42 ± 0.42	30.00 ± 1.12 ^{2) 4)}	27.85 ± 1.13 ^{2) 3) 5)}
1h	37.30 ± 0.30	30.13 ± 1.41 ^{1) 4)}	28.56 ± 0.92 ^{1) 4)}
2h	37.17 ± 0.17	32.28 ± 2.20 ^{1) 4)}	28.26 ± 1.72 ^{2) 3) 4)}
4h	37.08 ± 0.08	32.95 ± 2.29	30.66 ± 1.25 ^{1) 4)}
6h	37.20 ± 0.20	34.75 ± 0.78	32.75 ± 1.35 ^{1) 4)}
12h	37.11 ± 0.26	35.30 ± 0.59	33.58 ± 2.23
24h	37.05 ± 0.26	35.70 ± 0.55	35.44 ± 1.60
48h	37.34 ± 0.22	36.40 ± 0.46	36.52 ± 1.28
72h	37.18 ± 0.17	37.30 ± 0.38	36.82 ± 1.15

注: 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$, 与 A 组比较; 3) $P < 0.05$, 与 B 组比较; 4) $P < 0.05$; 5) $P < 0.01$ 与实验前比较

2.2 药理学研究结果 LVFX 在 3 组动物体内药时曲线见图 2; LVFX 在比格犬体内的过程经 3SP7 软件拟合符合二室开放模型, 药动学参数见表 3 其中 C_{max} 为实测值。

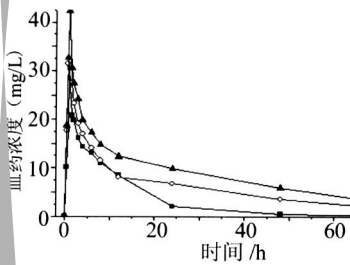


图 2 比格犬静脉输注 LVFX 后的体内药物浓度的时间曲线 ($n = 4$)

结果显示, C 组动物体内 LVFX 在体内消除半衰期 ($t_{1/2\beta}$) 延长, 最大峰浓度增加, 药时曲线下面积 (AUC) 增加, 与 A 组比较有统计学意义 ($t_{1/2\beta}$, $P < 0.01$; C_{max} , AUC, $P < 0.05$); 而表观分布容积 (V_c) 无显著变化; B 组动物同 A 组比较, $t_{1/2\beta}$ 和 AUC 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬体内, LVFX 较正常代谢时间显著延长。

C 组与 B 组动物比较, $t_{1/2\beta}$ 显著延长 ($P < 0.05$), AUC, C_{max} 增加, V_c , CL_s 减小, 但都没有统计学意义。说明在 90 min 浸泡时间内随海水浸泡时间的延长, LVFX 在腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬体内代谢过程明显趋缓。

3 比格犬静注 LVFX 后的主要药动学参数

组别	$t_{1/2\alpha}$ (h)	$t_{1/2\beta}$ (h)	C_{max} (mg/L)	V_c (L)
A 组	3.39 ± 0.20	8.23 ± 0.54 ¹⁾	30.05 ± 1.75	7.47 ± 3.13
B 组	4.1 ± 0.25	11.02 ± 0.54 ²⁾	36.10 ± 4.74	6.97 ± 2.02
C 组	4.6 ± 0.16	13.19 ± 3.87 ²⁾	42.34 ± 4.19 ¹⁾	6.68 ± 1.67

注: 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.01$, 与 A 组比较; 3) $P < 0.05$, 与 B 组比较

3 讨论

本课题前期研究表明, 在选取的革兰氏阳性菌中以弧菌和肺炎球菌为优势菌群^[2]。氟喹诺酮类左氧氟沙星目前临床应用最广泛, 其通过抑制细菌 DNA 回旋酶发挥对多种革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抗菌作用, 在体内吸收快、分布广, 且

不须皮试^[5], 可作为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌病员抗感染治疗的药物。本研究以比格犬为动物模型, 探讨海水浸泡对体温的影响及相应药物代谢的影响。结果表明, 腹部开放性创伤合并海水浸泡比格犬体内 LVFX 代谢过程明显趋缓, 说明 LVFX 在腹部开放性创伤并海水浸泡比格犬体内的 $t_{1/2\beta}$ 延长, C_{max}

和 AUC 值增加, CL_s 减小, 与正常对照组比较具有统计学差异; 并且随浸泡时间增加, 体温进一步降低, LVFX 代谢亦进一步减慢。说明比格犬在腹部开放性创伤并海水浸泡致持续低体温状况下, 其 LVFX 的体内过程发生明显改变, 药物体内代谢明显减慢, 这与文献报道一致^[6]。但与单纯海水浸泡致低体温的比格犬相比, 腹部开放性创伤犬不仅体温降低程度更剧烈, 恢复时间更缓慢, 更由于海水中高浓度的 Na⁺、K⁺、Cl⁻ 等离子通过腹膜交换进入机体而体内血液及细胞中水分则通过腹膜向外界丢失, 使机体有效循环血量减小、细胞供氧不足而呈代谢性酸中毒, 进而引起一系列的病理生理变化, 从而使机体持续处于低体温和血液动力学改变状态, 进一步导致药物在机体内转运减慢^[7-9]。

通过本研究得知, 比格犬在人工海水浸泡致低体温状况下对 LVFX 代谢减慢, 体内药物浓度升高, 这种结果使 LVFX 抗菌作用增强。但同时由于血药浓度高于预期和药除减慢, 导致药物不良反应可能增加。因此, 海水浸泡腹部开放性伤员救治时使用 LVFX, 应适当调整给药方案。

【参考文献】

[1] 路云, 曹诚意, 李甫. 海军勤务学[M]. 北京: 海潮出版

社, 1993. 442.

[2] 李昕, 周春华. 海战伤致急性肾衰的机制及救治研究进展[J]. 军医进修学院学报, 2006, 24(4): 312.

[3] 王育红, 鹿尔驯, 虞积耀, 等. 海水浸泡腹部开放性损伤对大鼠体液代谢的影响[J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(8): 786.

[4] 张沂, 王强, 虞积耀, 等. 左氧氟沙星静脉注射给药在 Beagle 犬体内的药物动力学[J]. 解放军药学学报, 2009, 25(3): 220.

[5] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药物学[M]. (第 16 版). 北京: 人民卫生出版社, 2007: 102.

[6] 张沂, 王强, 尚利群, 等. 人工海水浸泡致低体温比格犬体内左氧氟沙星的药动学研究[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(18): 1409.

[7] Tsuei BJ, Keamey P. Hypothermia in the trauma patient[J]. Injury, 2004, 35(1), 7.

[8] 王育红, 鹿尔驯, 虞积耀, 等. 腹部开放性损伤犬经海水浸泡后血液动力学及病理学的变化[J]. 中华外科杂志, 2000, 38(9): 700.

[9] Michael A, Patrick M, Robert R, et al. Therapeutic hypothermia induced pharmacokinetic alterations on CYP2E1 chlorzoxazone mediated metabolism in a cardiac arrest rat model[J]. Critical Care Medicine, 2006, 34(3): 785.

[收稿日期] 2010-01-07

[修回日期] 2010-02-11

(上接第 166 页)

[9] 李范珠, 康廷国, 吕佳, 等. 水飞蓟素 β-环糊精包合物的研究[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(3): 145.

[10] 肖莉, 翟所迪, 赵荣生, 等. 水飞蓟素羟丙基-β-环糊精包合物在大鼠体内的生物利用度[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(2): 140.

[11] Cui J, Yu B, Zhao Y, et al. Oral Bioavailability enhancement of examestane from self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) [J]. Int J Pharm, 2009, 371(1-2): 148.

[12] Kang BK, Lee JS, Chon SK, et al. Development of self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs [J]. Int J Pharm, 2004, 274(15): 65.

[13] Hong JK, Kim JK, Song YK, et al. A new self-emulsifying formulation of itraconazole with improved dissolution and oral absorption [J]. J Control Release, 2006, 110(2): 332.

[14] Wu W, Wang Y, Que L. Enhanced bioavailability of silymarin by self-microemulsifying drug delivery system [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2006, 63(3): 288.

[15] Woo JS, Kim TS, Park JH, et al. Formulation and biopharmaceutical evaluation of silymarin using SMEDDS [J]. Arch Pharm Res, 2007, 30(1): 82.

[16] El-Sanally MS, Afifi NN, Mahmoud EA. Increasing bioavailability of silymarin using a buccal liposomal delivery system:

Preparation and experimental design investigation [J]. Int J Pharm, 2006, 308(1-2): 140.

[17] El-Sanally MS, Afifi NN, Mahmoud EA. Evaluation of hybrid liposomes encapsulated silymarin regarding physical stability and in vivo performance [J]. Int J Pharm, 2006, 319(1-2): 121.

[18] Xiao YY, Song YM, Chen ZP, et al. Preparation of silymarin pro-liposomes: A new way to increase oral bioavailability of silymarin in beagle dogs [J]. Int J Pharm, 2006, 319(1-2): 162.

[19] Hu L, Tang X, Cui F. Solid lipid nanoparticles (SLNs) to improve oral bioavailability of poorly soluble drugs [J]. J Pharm Pharmacol, 2004, 56(12): 1527.

[20] 何军, 奉建芳, 张乐乐, 等. 水飞蓟素固体脂质纳米粒体内药代动力学研究 [J]. 中成药, 2005, 27(1): 19.

[21] 李向辉, 欧阳五庆, 杨雪峰, 等. 替米考星纳米乳的制备及其质量评价 [J]. 西北农林科技大学学报, 2009, 37(4): 42.

[22] 宋赞梅, 平其能, 吴正红. 水飞蓟素纳米乳的制备及家兔体内药动学 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(5): 427.

[23] 徐希明, 朱源, 李强, 等. 水飞蓟素纳米胶束的制备及鼠体内药物动力学研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(24): 1874.

[收稿日期] 2009-09-14

[修回日期] 2009-10-26