

# 痰热清注射液对左氧氟沙星在小鼠肺组织分布的影响

张敏<sup>1</sup>, 刘晓君<sup>2#</sup>, 罗成<sup>1</sup>, 陈开杰<sup>3△</sup>, 孔令希<sup>1</sup>, 何海霞<sup>1</sup>, 周远大<sup>1</sup>

(1. 重庆医科大学附属第一医院药学部 400016; 2. 重庆市第九人民医院药剂科 400700;  
3. 重庆市肿瘤医院药剂科 400030)

**[摘要]** **目的** 探讨痰热清注射液对左氧氟沙星在小鼠肺组织中分布的影响。**方法** 将 144 只小鼠分为痰热清注射液联合左氧氟沙星实验组和左氧氟沙星对照组, 两组动物分别于 0.05、0.083、0.17、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 h 和 12.0 h 采集肺组织, 制为匀浆, 高效液相色谱法检测肺组织中左氧氟沙星药物浓度, 3P97 程序计算药动学参数。**结果** 实验组和对照组肺组织中药物-时间曲线呈二室模型, 实验组和对照组肺组织中  $V/Ft_{1/2\beta}$ 、CL、 $AUC_{0-t}$  分别为  $(1.37 \pm 0.30 \text{ vs. } 1.90 \pm 0.24) \text{ L}$ 、 $(5.21 \pm 1.96 \text{ vs. } 4.82 \pm 1.55) \text{ h}$ 、 $(0.81 \pm 0.12 \text{ vs. } 1.13 \pm 0.14) \text{ L/h}$  和  $(117.69 \pm 22.89 \text{ vs. } 84.91 \pm 11.33) \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。表明痰热清注射液能提高左氧氟沙星在小鼠肺组织中的分布量和滞留时间。**结论** 痰热清注射液联合左氧氟沙星可提高左氧氟沙星在小鼠肺组织中的药物浓度并延长滞留时间。

**[关键词]** 痰热清注射液; 左氧氟沙星; 高效液相色谱; 分布

**[中图分类号]** R969.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)15-2028-03

## Effect of Tanreqing Injection on distribution of levofloxacin in lung of mice

Zhang Min<sup>1</sup>, Liu Xiaojun<sup>2#</sup>, Luo Cheng<sup>1</sup>, Chen Kaijie<sup>3△</sup>, Kong Lingxi<sup>1</sup>, He Haixia<sup>1</sup>, Zhou Yuanda<sup>1</sup>

(1. Department of Clinical Pharmacy, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;  
2. Department of Pharmaceutical Preparation, Ninth People's Hospital of Chongqing City, Chongqing 400700, China;  
3. Department of Pharmacy, Chongqing Municipal Tumor Hospital, Chongqing 400030, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of Tanreqing Injection on the distribution of levofloxacin in the lung tissue of mice. **Methods** 144 mice were randomly divided into the levofloxacin experimental group and the levofloxacin control group, 72 cases in each group. The experimental group was injected by Tanreqing Injection 0.8 mg/kg and the control group was injected by the same volume of normal saline. The mice in the two groups were sacrificed for collecting the lung tissues at the time points of 0.05, 0.08, 0.17, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12 h and preparing the homogenate. The levofloxacin concentration in the lung tissue was determined by HPLC and the pharmacokinetic parameters were calculated by the 3P97 program. **Results** The concentration curves based on drug-time in the experimental group and the control group both fitted the two-compartments model. The main pharmacokinetic parameters in the lung tissue  $V/Ft_{1/2\beta}$ 、CL、 $AUC_{0-t}$  were  $(1.37 \pm 0.30 \text{ vs. } 1.90 \pm 0.24) \text{ L}$ 、 $(5.21 \pm 1.96 \text{ vs. } 4.82 \pm 1.55) \text{ h}$ 、 $(0.81 \pm 0.12 \text{ vs. } 1.13 \pm 0.14) \text{ L/h}$  and  $(117.69 \pm 22.89 \text{ vs. } 84.91 \pm 11.33) \text{ mg} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$  respectively, the differences between the two groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The results indicated that Tanreqing Injection increased the distribution amount of levofloxacin and residence time in the lung tissue of mice. **Conclusion** The combined of Tanreqing Injection and levofloxacin can increase the concentration and residence time of levofloxacin in the lung tissue of mice.

**[Key words]** Tanreqing Injection; levofloxacin; HPLC; distribution

呼吸道感染是常见病、多发病, 严重危害人们的健康。近年来由于社会人口的老齡化, 病原体变迁, 抗菌药物的耐药率上升, 临床治愈有所下降, 除应用抗菌药物外, 还常常采用联合使用相关中药治疗。有文献报道, 痰热清注射液联合左氧氟沙星注射液治疗上、下呼吸道感染临床效果显著, 能明显改善临床症状, 治愈率显著提高<sup>[1-4]</sup>。研究表明, 痰热清注射液对肺炎链球菌、嗜血流感杆菌、乙型溶血链球菌、金黄色葡萄球菌有抑制作用, 并能降低内毒素升高体温的作用<sup>[1-5]</sup>。此外, 有研究认为痰热清注射液可抑制炎症渗出和肺间质水肿, 抑制或减轻炎性细胞浸润, 阻止急性肺泡细胞炎症损伤, 改善低氧状态, 同时可以降低内毒素炎性细胞因子的表达水平, 以达到抗菌消炎的目的<sup>[6-7]</sup>。以上研究均表明, 痰热清注射液及左氧氟沙星在肺

部病变的临床疗效和产生作用的机制, 为此, 作者探讨了痰热清注射液对左氧氟沙星在小鼠肺组织内分布的影响, 现报道如下。

### 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 健康合格昆明种小鼠 144 只, SPF 级, 体质量 18~21 g, 雌雄各半, 由重庆医科大学实验动物中心提供, 动物使用合格证号: SCXK(渝)2012-0002。

**1.2 仪器与试剂** 日本岛津 LC-20 梯度高效液相色谱仪系统(泵系统, 可调波长紫外检测器、自动进样系统和 Labsolution 工作站)。痰热清注射液, 规格: 20 mL/瓶, 由上海凯宝药业股份有限公司提供, 批号 1205209。乳酸左氧氟沙星注射液由浙江医药股份有限公司新昌制药厂生产, 批号 140346。左

氧氟沙星标准对照品(L-fox),纯度 97.3%,批号 130455-200604,中国药品生物制品检定出品。环丙沙星(CF,内标即 IS)纯度 98.16%,批号 060402,重庆药友制药有限公司提供。甲醇、二氯甲烷为色谱纯;其他试剂为分析纯;水为双蒸水。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Amethyst C18-II 5 μm 粒径,100×4.6 mm ID,预柱;固定进样环 100 μL;流动相:甲醇-0.008 mol/L 磷酸盐缓冲液-0.5 mol/L 四丁基溴化铵为 25:75:4,流速 0.4 mL/min;紫外检测波长 290 nm;柱温 40 ℃。

1.3.2 血液和肺组织的收集 144 只小鼠分为实验组和对照组,每组 72 只,按实验时间分为 0.05、0.083、0.17、0.5、1、2、4、8 h 和 12 h 共 9 个小组,每组 8 只小鼠。实验前,实验组小鼠静脉注射痰热清注射液 0.8 mL/kg(痰热清注射液用 5%葡萄糖注射液按 1:3 稀释后缓慢注射),而对照组小鼠静脉注射等容量生理盐水,给药后 1 h,各组动物均静脉注射左氧氟沙星注射液 73.3 mg/kg。给药后分别于 0.05、0.083、0.17、0.5、1、2、4、8 h 和 12 h 处死相应组小鼠,收集肺组织,并将肺组织称重后制为匀浆,均置于-20 ℃低温冰箱待测。

1.3.3 样品处理 取肺组织匀浆 0.5 mL+IS 10 μL(CF:33.616 μg/mL)+3 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,旋摇 1 min,3 000 r/min 离心 2 min,取 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 存于 5 mL 离心管中,置于 40 ℃水浴中,氮气吹干。用 0.1 mL 流动相复溶,自动进样 40 μL。

1.4 统计学处理 采用中国药理数理学会编制的 3p97 计算机软件,计算各个体的药动学参数。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较行 t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 色谱行为 在本实验所采用的色谱条件下,血浆中左氧氟沙星的 tR 为 5 min 左右,CF 的 tR 为 7 min 左右,二者峰形良好,且不受血浆内源性物质的干扰。

2.2 方法学研究

2.2.1 标准曲线、线性关系与最低定量浓度 在空白肺组织匀浆中分别添加左氧氟沙星使血药浓度相当于 0.076 5、0.153、0.306、0.612、1.224、2.448、4.896 和 9.792 μg/mL,按“1.3.3”方法操作,将所得左氧氟沙星峰面积/CF 峰面积比(Y)与 L-fox 浓度(X)数据进行回归,得标准曲线方程 Y=3.968 0X-0.097 58;在 9.792~0.076 5 μg/mL 范围内线性关系良好,r=0.999 6(n=5);最低定量浓度为 0.076 5 μg/mL (RSD=17.44%,n=5)。

2.2.2 精密度和重复性 取高、中、低 3 种质控样本(9.792、1.224、0.153 μg/mL),每个浓度 5 份,考察批内和批间变异。批内误差(每个浓度同日内测定 5 次)、日内变异性结果及批间误差(每个浓度 2 周内测定 5 次)日间变异性结果,见表 1。

表 1 精密度及重复性试验结果

血浆浓度 (μg/mL)	日内		日间	
	测得浓度 (μg/mL)	RSD(%)	测得浓度 (μg/mL)	RSD(%)
9.792	9.692±0.427	4.40	9.736±0.58	5.96
1.224	1.194±0.026	2.18	1.201±0.062	5.16
0.153	0.153±0.008	5.23	0.142±0.012	8.45

2.2.3 回收率 取高、中、低 3 种浓度的肺组织匀浆质控样本(9.792、1.224、0.153 μg/mL),每个浓度 5 份,按规定方法评价本法的回收率。结果,高、中、低浓度的回收率分别为(99.16±3.24)%、(100.57±5.12)%和(104.02±5.88)%。

2.2.4 稳定性考察 取高、中、低 3 种肺组织匀浆质控样本(9.792、1.224、0.153 μg/mL),每个浓度 3 份,按“1.3.2”项方法操作并测定。室温 25 ℃左右,放置 24 h 测定 5 次;冷藏(4 ℃冰箱),10 d 内测定 5 次;低温(-20 ℃冰箱),反复冷冻、融化,3 周内测定 5 次。结果表明,在室温、冷藏、反复冻融条件下,血浆中左氧氟沙星的稳定性均良好,见表 2。

表 2 血浆中左氧氟沙星的稳定性试验测定结果(n=5)

处理条件	加入浓度	实测浓度	RSD(%)
室温	9.792	9.648±0.46	4.77
	1.224	1.223±0.064	5.23
	0.153	0.148±0.012	8.11
冷藏	9.792	4.882±0.21	4.30
	1.224	1.196±0.082	6.86
	0.153	0.154±0.009	5.84
反复冻融	9.792	9.696±0.28	2.98
	1.224	1.228±0.60	4.88
	0.153	0.154±0.014	9.09

2.3 药-时曲线 实验组与对照组左氧氟沙星的平均血药浓度-时间曲线见图 1。药时数据经 3p97 软件自动拟合,二组均数均符合二室模型。

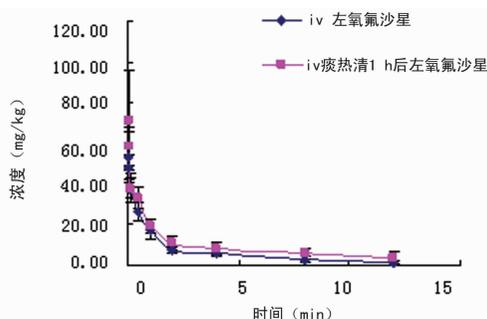


图 1 2 组平均肺组织药物浓度-时间曲线(n=8)

2.4 药动学参数 2 组受试小鼠肺组织药物浓度-时间数据采用计算机 3p97 程序自动拟合,结果表明左氧氟沙星的药-时数据均符合二室药动学模型。有关药动学参数,见表 3。

表 3 2 组主要药动学参数比较( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

参数	实验组	对照组
A(mg/kg)	74.28±8.69**	42.83±7.84
α(h)	5.51±2.82*	2.00±0.22
B(mg/kg)	17.04±7.22	10.56±2.80
β(h)	0.15±0.06	0.16±0.07
V/F(c)(L)	1.37±0.30*	1.90±0.24
t 1/2α(h)	0.24±0.19	0.35±0.04
t 1/2β(h)	5.21±1.96	4.82±1.55
K21(h)	1.12±0.74	0.53±0.17

续表 3 2 组主要药动学参数比较( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

参数	实验组	对照组
K10(h)	0.66±0.25	0.60±0.13
K12(h)	3.88±4.04	1.02±0.18
Cl/F(s)(L/h)	0.81±0.12*	1.13±0.14
AUC 0→t(mg·h <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> )	117.69±22.89*	84.91±11.33
AUC 0→∞(mg·h <sup>-1</sup> ·kg <sup>-1</sup> )	173.65±48.15**	97.53±21.76

\*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

### 3 讨论

有关左氧氟沙星的检测方法已有很多报道<sup>[8-10]</sup>, 如 HPLC-UV 法、HPLC-荧光法及 LC-MS/MS 法等; 因经济实惠实际采用最多的是 HPLC-UV 法。本文所建立的 HPLC-UV 法是作者长期多次用于人血浆、尿液, 动物血浆、尿液、胆汁及组织中左氧氟沙星浓度测定的方法; 本方法成熟、准确、可靠, 方法学研究指标均能达到和满足试验要求。

药物吸收入血液循环后, 向各器官组织转运分布, 且在在各器官组织中的浓度与其在该组织作用强度、速率、持续时间有密切的关系。左氧氟沙星是浓度依赖性抗菌药物, 其作用与其所在组织中的浓度与持续时间有密切关系, 换言之, 其临床效果与组织浓度有关。临床文献表明, 痰热清注射液与左氧氟沙星联合用于治疗上、下呼吸道感染、老年肺炎等均取得明显疗效<sup>[1-4]</sup>, 提示二者联合用药有协同作用。除文献报道抗菌作用有相加外, 作者认为与痰热清注射液提高左氧氟沙星在肺组织中浓度有密切关系。本研究选用小鼠行痰热清注射液与左氧氟沙星联用, 结果实验组小鼠肺组织中左氧氟沙星浓度远高于单用左氧氟沙星在对照组小鼠肺组织中的浓度, AUC 0→t 分别为(117.69±22.89)  $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$  与(84.91±11.33)  $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 组间比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。目前根据抗菌药物对细菌杀菌活性可分为时间依赖型, 属于此类抗菌药物为  $\beta$  内酰胺类、大环内酯类; 而浓度依赖型即药物的杀菌活力在很大范围内随药物浓度的增高增加, 属于此类者有氨基糖甙类、氟喹诺酮类和甲硝唑等。本研究中, 左氧氟沙星注射液与痰热清注射液联合使用致小鼠肺组织中左氧氟沙星无论 AUC 0→t 还是 AUC 0→∞, 均显著高于对照组, 提示其抗菌作用增强是极为相关的。此外, 实验组小鼠肺组织中左氧氟沙星消除速度  $t_{1/2\beta}$  和 Cl/F(s) 均显著低于对照组小鼠肺组织中左氧氟沙星的药动学参数, 进一步表明, 痰热清注射液除提高左氧氟沙星在小鼠肺组织中浓度外, 还可致代谢和清除减慢, 延缓左氧氟沙星的抗菌时间, 为提高疗效提高一定的条件。

至于痰热清注射液为何可使左氧氟沙星在肺组织中浓度提高, 可能与组方有关。其组方为黄芩、熊胆粉、上羊角、金银花和连翘五味中药组成<sup>[11]</sup>, 文献报道, 黄芩可通过阻断平滑肌细胞膜上电压依赖型钙通道和受体操纵型钙通道而抑制钙离子内流, 松弛血管平滑肌, 有益于左氧氟沙星分别到血管密集、血流丰富的肺组织中<sup>[12]</sup>。此外, 黄芩尚可减少左氧氟沙星的排泄<sup>[13]</sup>。

有文献报道, 肺部常感染菌株为耐甲氧西林金葡萄菌、肺炎球菌、铜绿假单胞菌等, 经临床分离对左氧氟沙星的敏感性 MIC<sub>50</sub> 分别为 0.31、0.62、1.25 mg/L, 而 MIC<sub>90</sub> 分别为 0.62、1.25 和 2.50 mg/L<sup>[13]</sup>, 本研究实验组和对照组中左氧氟沙星浓度如图 1 所示, 分别为 15~10 mg/kg, 持续 5 h 以上, 完全符合浓度依赖型抗菌药物特点。高浓度且持续时间长, 且实验组明显高于对照组, 故二者联用疗效明显增强。

综上所述, 本研究从药动学方面进一步阐明痰热清注射液对左氧氟沙星在小鼠组织中分布的影响, 增强了临床疗效, 为临床二者联用找到依据, 有利于临床医生的推广使用。

### 参考文献

- [1] 何力敏, 陈于, 李斌凯. 痰热清联合左氧氟沙星注射液治疗下呼吸道感染 67 例疗效分析[J]. 现代医院, 2012, 12(5): 72-73.
- [2] 路宏扬, 占忠. 痰热清联合左氧氟沙星注射液治疗重症肺炎的临床疗效观察[J]. 当代医学, 2012, 18(8): 158-159.
- [3] 刘智艳. 痰热清联合左氧氟沙星治疗老年肺炎 80 例临床疗效观察[J]. 中国医院指南, 2012, 18(28): 249-250.
- [4] 雷鸣, 覃华宏, 黎兵, 等. 痰热清联合左氧氟沙星治疗社区获得性肺炎的疗效分析[J]. 临床合理用药, 2012, 5(14): 1-2.
- [5] 熊旭东, 周孝燕, 雷康裕, 等. 痰热清联合左氧氟沙星治疗急性肺炎 60 例临床观察[J]. 中国中医急症, 2003, 12(2): 17.
- [6] 王琴, 潘静. 痰热清注射液的药理作用和临床应用[J]. 华国防医药, 2010, 22(1): 41-43.
- [7] 李富善, 黄晓玲. 痰热清注射液的作用机理和临床应用[J]. 青海医药杂志, 2011, 41(5): 78-79.
- [8] 刘芳群, 鲁虹. 高效液相色谱法测定人血浆中左氧氟沙星的浓度[J]. 中南药学, 2012, 10(10): 734-736.
- [9] 高淑丽, 刘丽华, 王川平, 等. 2 种盐酸左氧氟沙星胶囊的人体生物等效性研究[J]. 中国药房, 2007, 18(26): 2030-2032.
- [10] 施爱明, 潘杰, 华雯妍, 等. LC-MS/MS 法测定人血浆中左氧氟沙星浓度[J]. 药学进展, 2008, 32(5): 228-231.
- [11] 高益民, 王忠山. 对痰热清注射液临床药理学初步评价[J]. 首都医药, 2004, 11(12): 44-46.
- [12] 黑爱莲, 孙颂三. 黄芩黄芩苷对大鼠主动脉条收缩的影响[J]. 首都医科大学学报, 1997, 18(2): 114-117.
- [13] 徐庆, 姚彤彬, 梁天天. 左氧氟沙星与黄芪和黄芩配伍的体内药物代谢动力学[J]. 浙江大学学报, 2001, 30(6): 279-281.
- [14] 唐映红, 伍参荣, 魏云, 等. 盐酸左氧氟沙星体内内外抗菌作用研究[J]. 医药导报, 2007, 26(9): 983-986.

(收稿日期: 2014-11-26 修回日期: 2015-01-16)