甘草提取物对左氧氟沙星在大鼠体内药动学及组织分布的影响

杨 锐[1,2],李金良[1,2],王 斌[1,2],李思聪[1,2],李旭廷[1,2*]

(1. 四川省畜牧科学研究院,四川,成都,610066;2. 动物遗传育种四川省重点实验室,成都,610066)

[收稿日期] 2016-01-22 [文献标识码]A [文章编号]1002-1280(2016)03-0035-04 [中图分类号]S853.7

[摘 要] 为了研究甘草提取物对左氧氟沙星在大鼠体内的药动学及组织分布的影响,将SD大鼠随机分成单用组和联用组,单用组和联用组分别予0.9%氯化钠溶液和甘草提取物(0.5 g/kg,qd×7 d),灌胃给予左氧沙氟星(20 mg/kg)后按时间点连续采样,采用HPLC法测定给药后血浆以及组织中的左氧氟沙星浓度。结果表明,与单用组相比,联用组的左氧氟沙星主要药动学参数 t_{max}、$t_{1/2}$、MRT_{0-36h}、$MRT_{0-\infty}$ 均显著增大($P<0.05$);左氧氟沙星在各组织中浓度水平,呈现出先降低后增加的特点,但分布特征没有改变。甘草提取物能减慢左氧氟沙星在体内的吸收和消除速度,促进其向组织中转运和分布,延长药物在体内的作用时间。

[关键词] 甘草提取物;左氧氟沙星;药动学;组织分布;中西药相互作用

Effect of Licorice Extract on Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Levofloxacin in Rats

YANG Rui[1,2], LI Jin-liang[1,2], WANG Bin[1,2], LI Si-cong[1,2], LI Xu-ting[1,2*]

(1. *Sichuan Academy of Animal Sciences*, *Chengdu* 610066, *China*; 2. *Sichuan Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding*, *Chengdu* 610066, *China*)

Abstract: To study the effect of licorice extract on the pharmacokinetics and tissue distribution of levofloxacin in rats. The SD rats were randomly divided into the single group and the combined group, that were administrated respectively with normal saline and extract of licorice. After pretreated with extract of licorice (0.5 g/kg, qd) for 7 d, levofloxacin was given to the rats by intragastric administration at the dose of 20 mg/kg. The concentrations of levofloxacin in plasma and tissue after administration were determined by HPLC. Pharmacokinetic data were calculated by DAS 2.0. Comparision with the single administration group, the main pharmacokinetic parameters ($t_{1/2}$, t_{max}, MRT_{0-36h}, $MRT_{0-\infty}$) were significantly increased ($P<0.01$), the concentration level of levofloxacin in tissuet showed a feature of first decreasing followed by increasing, but the characteristic of tissue distribution was not changed. The metabolic characteristics of levofloxacin were influenced by licorice extract in rats significantly, including decreasing the speed of absorption, retarding the speed of elimination, accelerating the distribution from blood to tissue and lengthening the time of drug action.

基金项目: 四川省基本科研项目(SASA2013A08)

作者简介: 杨 锐,硕士,从事新兽药的开发与应用工作。

通讯作者: 李旭廷。E-mail: 676049640@qq.com

Key words: licorice extract; levofloxacin; pharmacokinetics; tissue distribution; herb – western drug interactions

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis Fisch* 或同属植物胀果甘草 *G. inflata Bata.* 和光果甘草 *G. Glabra L.* 等的干燥根或根状茎。甘草味甘,性平,通行十二经,具有益气补中、润肺止咳、调和药性、引药归经等多种功效,药理作用广泛,是临床最常用的中药之一。研究显示,甘草对机体代谢酶系统的影响较为复杂,可影响 CYP3A 和 P – gp 的调控和表达,与其他药物联用后,可能改变药物代谢行为[1]。基于甘草对机体代谢酶系统影响的角度,陈江飞等[2-4]研究了甘草提取物连对抗心律失常药物胺碘酮、抗癫痫药物卡马西平、抗焦虑药物阿普唑仑在大鼠体内药动学的影响,发现均不影响其药动学特征,但关于甘草与抗生素药物(抗菌药)相互作用的报道几乎没有。

左氧氟沙星是第三代氟喹诺酮类药物,抗菌谱广、抗菌作用强,临床应用广泛[5]。曾建涛等[6]临床观察复方甘草制剂联合左氧氟沙星治疗社区性肺炎发现疗效显著。与此同时像黄连素、川芎嗪等中药单体与西药联合应用也十分常见,其有效性已经为临床、实验所证实,但这种配伍应用尚属经验性联合用药。为探索抗感染性疾病的中西药物合用的相互作用,本文研究甘草提取物对左氧氟沙星在大鼠体内药动学及组织分布的影响,探讨可能发生的药动学相互作用及其机制,促进对甘草的全面认识,为临床用药提供参考,也为推动中西结合药动学发展提供实践依据。

1 材料和方法

1.1 *主要仪器* UltiMate3000 高效液相色谱仪,美国戴安公司;CQ250 超声洗涤器,上海超声仪器厂;800B 台式离心机,上海安亭科学仪器厂;WH – 3 微型旋涡混合仪,上海泸西分析仪器厂;MiniSpin Plus 个人型高速离心机,德国 Eppendorf 公司;FSH – 2A 可调高速匀浆机,常州朗越仪器制造有限公司。

1.2 *药物与试剂* 甘草提取物,四川省广汉三星堆植物化工有限责任公司,含甘草酸(C42H62O16)为 7.3%,批号 140210。左氧氟沙星标准品,中国食品药品检定研究院,纯度为 97.1%,编号 130455 – 201106。左氧氟沙星原料药,四川鼎尖动物药业有限责任公司,纯度为 86.1%,批号 20140313。左氧氟沙星标准品及原料药在 105 ℃下烘干至恒重备用。

甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。

1.3 *实验动物* 健康清洁级 SD 雄性大鼠,体重(200 ± 20)g,成都达硕实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(川)2013 – 24。试验开始前,于实验室饲养数日以适应本实验室环境。整个试验期间,两组大鼠的活动、饮食情况均无明显异常。

1.4 *药代动力学试验方案及样品采集* 健康 SD 雄性大鼠共 12 只,随机分成单独用药组与联合用药组两个组,每组 6 只。联用组每日给予 0.1 g/mL 甘草提取物(0.5 g/kg,ig,qd)[2],单用组给予相应体积的生理盐水,共 7 d。禁食 12 h 后于第 8 天,4 mg/mL左氧氟沙星药液单剂量 20 mg/kg,ig,分别于给药前(0 h)和给药后 0.17、0.33、0.5、1、2、4、6、8、10、12、24 h 断尾取血约 0.5 mL,肝素抗凝,4000 r/min离心 5 min,分离血浆,置 – 20 ℃冰箱中保存待用。

1.5 *组织分布试验方案及样品采集* 健康 SD 雄性大鼠共 36 只,随机分成单独用药组与联合用药组两个组,每组再分成 3 个小组,每组 6 只。给药方式同 1.4 项下操作。给药后,0.5、2、6 h 断头处死后,取心、肝、脾、肺、肾、脑各组织样品,用生理盐水洗去表面浮血,并去脂肪,用滤试吸干残余血液,称重,置 –20 ℃冰箱中保存待用。

1.6 *血浆样品的处理* 参考文献方法[7],取血浆 0.2 mL于试管中,加入甲醇 0.2 mL,涡旋混合 60 s,13000 r/min离心 5 min,超声振荡 60 s,再以13000 r/min离心 10 min 后,取 20 μL 上清液直接上机进样。

1.7 *组织样品的处理* 参考文献方法[8],取组织样品(心、肝、脾、肺、肾、脑),精密称定,按组织:蒸馏水(1 g:2 mL)加入蒸馏水进行匀浆。充分匀浆后,取 0.5 mL 匀浆液于试管中,加入色谱级甲醇、5% 三氯乙酸各 0.25 mL,漩涡混合 60 s,超声波振荡60 s,以 13000 r/min 离心 15 min 后,取 20 μL 上清液直接上机进样。

1.8 *色谱条件* 色谱柱:Agilen HC – C18(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇 – 乙腈 –0.01 mol/L KH_2PO_4 – 0.5 mol/L 四丁基溴化铵(30:30:430:10,V/V/V/V),磷酸调 pH 至 3.0;流速1.0 mL/min;检测波长 295 nm;柱温30 ℃;进样量 20 μL。在上述色谱条件下,左氧氟沙星与溶剂峰、血浆及各组织中其他组分能完全分离开。该方

法血浆和组织样品的定量下限分别为0.025 μg/mL和0.01 μg/g。

血浆和组织样品标准曲线的范围分别为0.025~10 μg/mL和0.01~5 μg/g之间,线性关系良好。在标准曲线范围内,回收率为76.2%~84.3%,批内和批间变异系数分别为3.5%~6.4%和3.8%~6.8%。

1.9 *数据处理与统计分析* 由DAS2.0软件以非房室模型分析方法计算药代动力学参数,所有数据以平均数±标准差 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据采用SPSS11.0统计软件进行t检验。

2 结 果

2.1 *药物动力学结果* 单独用药组和联合用药组在大鼠体内的左氧氟沙星血药浓度-时间曲线见图1,主要药物动力学参数结果见表1。

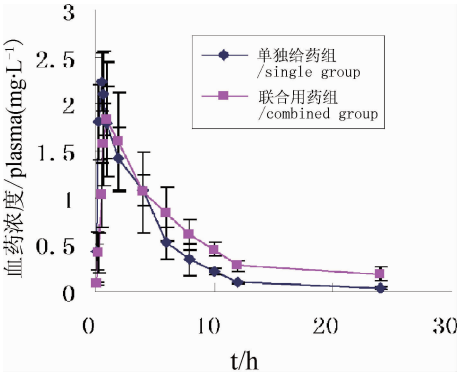

图1 单用组和联用组在大鼠体内的左氧氟沙星的血药浓度-时间曲线($\bar{x} \pm s$,n=6)

表1 单用组和联用组在大鼠体内的左氧氟沙星药动学参数($\bar{x} \pm s$,n=6)

参数	单用组	联用组
ρ_{max}/(mg·L^{-1})	2.255±0.350	1.745±0.529
t_{max}/h	0.583±0.144	1.188±0.554*
AUC_{0-24h}/(mg·h·L^{-1})	9.910±2.166	12.845±2.405
$AUC_{0-\infty}$/(mg·h·L^{-1})	10.151±2.207	14.650±2.424
$t_{1/2}$/h	4.882±0.686	8.204±1.764*
MRT_{0-24h}/h	4.355±0.116	7.389±1.129**
$MRT_{0-\infty}$/h	4.998±0.055	10.983±2.570**
Vz/F/(L·kg^{-1})	14.470±4.547	16.527±4.227

*表示差异显著($P<0.05$);**表示差异极显著($P<0.01$);"-"表示低于检测下限;下同。

结果表明:与单用组相比,联用组大鼠体内左氧氟沙星的药动学参数有如下变化:C_{max}降低,AUC_{0-24h}、AUC_{0-36h}、Vz/F增大,但没有显著性差异($P>0.05$);t_{max}、$t_{1/2}$、MRT_{0-36h}、$MRT_{0-\infty}$组间差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 *组织分布结果* 根据血药浓度-时间曲线,选取分别代表吸收相、分布相、消除相3个时间点0.5、2、6 h,测定单用组和联用组在大鼠各组织的左氧氟沙星浓度,结果见表2。

表2 单用组和联用组在大鼠体内的左氧氟沙星组织分布

组织		浓度/(μg·g^{-1})		
		0.5 h	2 h	6 h
肝	单用组	2.727±0.182**	0.743±0.129	0.289±0.08
	联用组	1.808±0.202	0.809±0.226*	0.38±0.021*
心	单用组	1.089±0.042**	0.218±0.071	0.136±0.017
	联用组	0.584±0.061	0.324±0.064*	0.184±0.018*
脾	单用组	1.417±0.075**	0.303±0.072	0.128±0.007
	联用组	1.087±0.034	0.416±0.065*	0.152±0.013
肺	单用组	1.226±0.019**	0.261±0.033	0.114±0.003
	联用组	0.819±0.207	0.337±0.111*	0.138±0.013
肾	单用组	3.085±0.51**	0.719±0.305	0.155±0.046
	联用组	1.974±0.216	0.781±0.217*	0.223±0.029*
脑	单用组	0.132±0.012	-	-
	联用组	0.117±0.009	-	-

试验结果表明,单用组左氧氟沙星在大鼠各组织器官中浓度的排序为:给药0.5 h后,肾>肝>脾>肺>心>脑;给药2 h后,肝>肾>脾>肺>心;给药6 h后,肝>肾>心>脾>肺。与单用组相比,联合组左氧氟沙星在3个时间点各组织器官中浓度水平呈现出先降低后增加的

特点,但左氧氟沙星在组织中的分布特征并没有改变。

3 讨论与小结

3.1 *药动学分析* 影响药物吸收过程的相互作用主要有胃肠道 pH、螯合作用、吸附作用、胃肠运动、削弱肠吸收功能、改变肠道菌群、P-糖蛋白等方面[9]。本次试验,联用后左氧氟沙星的 t_{max} 延后,C_{max} 降低,提示甘草提取物延缓了左氧氟沙星的吸收,可能是甘草提取物在胃酸的作用下释放出少量金属离子从而与左氧氟沙星形成了部分螯合物,影响了左氧氟沙星的吸收入血;但是 AUC_{0-24h},$AUC_{0-\infty}$ 比单用组有所增加($P>0.05$),说明甘草提取物对左氧氟沙星在大鼠体内总的吸收程度并没有显著影响。联用后,左氧氟沙星的 Vz/F 有所增加($P>0.05$),$t_{1/2}$ 和 $MRT_{0-24\,h}$ 值均显著大于单用组($P<0.05$),提示说明联合后甘草提取物加速了左氧氟沙星向组织中的转运,减慢了左氧氟沙星的消除速度,使左氧氟沙星在体内作用更加持久。

3.2 *组织分布分析* 药物分布过程中相互作用可表现为竞争血浆蛋白结合部位,改变游离型药物比例,或改变药物在某些组织的分布量。药物向组织的转运主要决定于血液中游离型药物浓度以及该药物与组织的亲和力[9]。本试验中甘草提取物与左氧氟沙星联合用药后,左氧氟沙星在组织中浓度水平发生了一定变化。从给药到给药后 2 h 内,联合组的左氧氟沙星在各组织中浓度明显低于单用组,说明甘草提取物抑制了左氧氟沙星入血的过程,直接影响了其在组织中分布速度。但是给药 2 h开始至 6 h,所测得左氧氟沙星浓度是高于单用组,证实了甘草提取物促进了左氧氟沙星向组织的转运,这可能由于甘草酸与血浆蛋白结合率高达 95.4% ±2.0%,最大结合分子数为 9.64,血浆中甘草酸绝大部分呈结合状态存在[10],引起甘草与左氧氟沙星在血浆蛋白结合位点发生了竞争性作用,增加了游离型左氧氟沙星比例,使之更易通过生物膜,促进左氧氟沙星向组织的转运和分布;另一方面甘草提取物主要成分甘草酸对大鼠有抗利尿作用[11],增加了肾小管的重吸收,也可能导致左氧氟沙星排泄的减慢。就其具体的作用机制有待进一步验证。

本试验立足于抗感染疾病的中西药物相互作用的角度,发现甘草提取物和左氧氟沙星二者联用应用,可以促进左氧氟沙星向组织中转运和分布,延长其在体内的作用时间,从药动学角度分析有其积极的意义,值得从更多药效学方面进行验证,全面指导临床合理用药。

参考文献:

[1] 朱素燕,胡毅坚,陈江飞,等. 甘草提取物对大鼠体内环孢素药代动力学的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2011,16(9):971-974.

[2] 陈江飞,朱素燕,徐萍华,等. 甘草提取物对胺碘酮在大鼠体内药动学的影响[J]. 中国临床药学杂志,2011,20(4):216-219.

[3] 陈江飞,徐 萍,朱素燕,等. 甘草对大鼠体内卡马西平药代动力学的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学,2010,15(9):1046-1050.

[4] 陈江飞,朱素燕,胡毅坚. 甘草对阿普唑仑在大鼠体内药动学特征的影响[J]. 中国临床药学杂志,2012,21(3):153-156.

[5] 王晓霞,梅 青,黄维胜. 国内左氧氟沙星制剂的开发与临床应用[J]. 中国药师,2007,10(3):279-280.

[6] 曾建涛,宋 杨,叶定村. 复方甘草合剂联合左氧氟沙星治疗社区获得性肺炎的疗效及安全性分析[J]. 现代中西医结合杂志,2014,23(15):1641-1642.

[7] 李英伦,蒋智钢,何晓俐. 桔梗对左氧氟沙星在健康鸡体内药动学影响的研究[J]. 畜牧兽医学报,2006,37(2):183-186.

[8] 李英伦,蒋智钢,何晓俐. 桔梗的"引经"作用对左氧氟沙星在鸡体内药物分布的影响[J]. 中国兽医学报,2006,26(5):541-543.

[9] 蒋新国. 现代药物动力学[M]. 北京:人民出版社,2011:199-205.

[10] 贺 平,贾随旺,吴孟超,等. 小鼠甘草酸的药代动力学及其与人血浆蛋白结合率[J]. 中国抗生素杂志,1998,14(1):89.

[11] 陈 红. 甘草药理作用概述[J]. 海峡药学,2005,17(4):37-41.

(编 辑:陈 希)