

iv 盐酸左氧氟沙星注射液 Beagle 犬毒动学及毒性研究

张 娜, 房 城, 刘永武, 朴成玉, 董婉茹, 安柏松, 吴修红*

黑龙江中医药大学 药物安全性评价中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要: 目的 评价盐酸左氧氟沙星注射液在 Beagle 犬体内的暴露情况及其对动物的长期毒性研究。方法 建立 Beagle 犬血浆样品中左氧氟沙星的高效液相色谱 (HPLC) 检测方法; Beagle 犬按分层随机法分为对照组和盐酸左氧氟沙星注射液低、高剂量 (20、40 mg/kg, 分别为人临床拟用剂量的 2.33、4.67 倍) 组, 每组 8 只。iv 给药, 对照组 iv 生理盐水, 1 次/d, 给药期 4 周, 恢复期 4 周。对 Beagle 犬首、末次给药后血浆样品进行分析测定, 采用 Winnolin 6.2.1 采用非房室模型法 (NCA) 判定盐酸左氧氟沙星注射液对受试动物体内毒动学的影响。观察动物一般状态; 采用生物机能实验系统, 以 II 导联记录 Beagle 犬给药前、给药期结束、恢复期结束 Beagle 犬在清醒状态下的心电图。结果 首次给药后, 雄性 Beagle 犬低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-4} 比值分别为 1:1.86 和 1:2.19, MRT 比值为 1:1.16, CL_F 比值为 1:0.77, $t_{1/2}$ 比值为 1:1.44; 末次给药后, 低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-4} 比值分别为 1:3.73 和 1:2.24, MRT 比值为 1:0.87, CL_F 比值为 1:0.92, $t_{1/2}$ 比值为 1:0.94。首次给药后, 雌性 Beagle 犬低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-4} 比值分别为 1:2.10 和 1:2.12, MRT 比值为 1:1.02, CL_F 比值为 1:0.63, $t_{1/2}$ 比值为 1:1.05; 末次给药后, 低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-4} 比值分别为 1:1.88 和 1:1.53, MRT 比值为 1:0.67, CL_F 比值为 1:1.47, $t_{1/2}$ 比值为 1:0.66。盐酸左氧氟沙星注射液低剂量组动物给药第 1 周内出现困倦 (2/8), 皮肤水肿、发红 (2/8), 上睑松弛 (1/8), 唾液分泌过多 (1/8), 呕吐 (1/8); 给药第 2~4 周出现皮肤水肿 (1/8)、发红 (1/8); 恢复期症状消失; 高剂量组动物给药第 1、2 天出现上睑松弛 (1/8), 部分动物出现短期或长期的皮肤水肿 (4/8)、困倦 (5/8)、呕吐或干呕 (6/8)、唾液分泌过多 (7/8)、鼻有分泌物 (2/8)、皮肤发红 (2/8); 给药第 2、3 周开始出现肌张力降低 (2/8), 偶尔出现大小便失禁 (4/8); 恢复期症状消失。给药前各组心电图指标无明显差异。给药结束盐酸左氧氟沙星注射液低、高剂量组心率显著高于对照组 ($P<0.05$ 、 0.01), 低、高剂量组 PR 间期显著低于对照组 ($P<0.05$ 、 0.01); 高剂量组 QT 间期显著低于对照组 ($P<0.05$); 恢复期结束高剂量组心率显著高于对照组 ($P<0.05$), 且作用均呈剂量相关性。结论 不同剂量的盐酸左氧氟沙星注射液在 Beagle 犬体内存在暴露和蓄积差异; 高剂量组雌性 Beagle 犬药物代谢加快, 可能诱导了肝药酶活性, 致使药物在体内的暴露减少; 供试品高于临床等效剂量给药在给药期间可能发生过敏反应、消化系统损害、全身性损害、神经系统毒性和心血管系统损害, 恢复期症状消失。

关键词: 左氧氟沙星; 毒动学; 毒性; 一般状态; 心电图

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2021) 05-0964-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.008

Toxicokinetics and toxicity study of Levofloxacin Hydrochloride Injection administered intravenously in Beagle dogs

ZHANG Na, FANG Cheng, LIU Yongwu, PIAO Chengyu, DONG Wanru, AN Baisong, WU Xiuhong

Drug Safety Evaluation Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: **Objective** To analyze and determine plasma samples of Levofloxacin Hydrochloride Injection administered iv around Beagle dogs in order to evaluate its exposure in Beagle dogs and to provide reference for clinical studies on the toxicity of the donor to animals. **Method** An HPLC method was established for the determination of levofloxacin in plasma samples of Beagle dogs.

收稿日期: 2020-11-05

基金项目: 国家自然科学基金 (81803995, 82004243); 黑龙江省博士后资助 (LBH-Z16196); 黑龙江中医药大学博士创新科研基金项目 (051761); 黑龙江省中医药学会青年科技创新基金 (ZHY19-013); 黑龙江省自然科学基金 (LH2020H081)

第一作者: 张 娜 (1987—), 女, 助理研究员, 中药学博士, 黑龙江中医药大学中医博士 (在站人员), 研究方向为毒理学及中药药性理论研究。Tel: (0451) 82193279 E-mail: zhang101na@126.com

*通信作者: 吴修红 (1978—), 女, 博士后, 教授, 主要从事中药药效物质基础及作用机制研究工作。Tel: (0451) 82193278 E-mail: wxh8088@163.com

Beagle dogs were randomly divided into control group and levofloxacin hydrochloride injection low and high dose (20 and 40 mg/kg, respectively, 2.33 and 4.67 times of human clinical dose) groups, with eight dogs in each group. The control group was given normal saline, once a day, seven days a week. The administration period was four weeks and the recovery period was four weeks. Plasma samples were analyzed and measured after the first and last iv injections of levofloxacin hydrochloride injection in Beagle dogs, and Winnolin 6.2.1 was used to determine the effect of levofloxacin hydrochloride injection on the body of the test animals using the non-compartmental model (NCA) method. The general state of the animals was observed, and the ECG of beagle dogs in awake state was recorded with lead II before administration, at the beginning and end of administration period and at the end of recovery period. **Results** After the first administration, the $C_{\max}$ and AUC_{0-4} ratios of male Beagle dogs in the low and medium dose groups were 1:1.86 and 1:2.19 respectively, the MRT ratios was 1:1.16, the CL_F ratio was 1:0.77, The $t_{1/2}$ ratio was 1:1.44; After the last administration, the $C_{\max}$ and AUC_{0-4} ratio of low and medium dose groups were 1:3.73 and 1:2.24 respectively. the MRT ratio was 1:0.87, the CL_F ratio was 1:0.92, the $t_{1/2}$ ratio was 1:0.94; After the first administration, the $C_{\max}$ and AUC_{0-4} ratios of female Beagle dogs were 1:2.10 and 1:2.12, respectively between the low and medium dose group. The MRT ratio was 1:1.02, the ratio of CL_F was 1:0.63, the $t_{1/2}$ ratio was 1:1.05; After the last administration, the $C_{\max}$ and AUC_{0-4} ratios of low and medium dose groups were 1:1.88 and 1:1.53 respectively. The MRT ratio was 1:0.67, the CL_F ratio was 1:1.47, the $t_{1/2}$ ratio was 1:0.66. Drowsiness (2/8), Skin edema and redness (2/8), upper eyelid relaxation (1/8), saliva secretion excessive (1/8), vomiting (1/8) occurred in the low-dose group of levofloxacin hydrochloride injection within the first week. Skin edema (1/8) and red (1/8) occurred in the low-dose group in 2—4 week. The symptoms disappeared in the recovery period. In the high-dose group, upper eyelid relaxation occurred on the first and second day (1/8). Some animals developed short-term or long-term skin edema (4/8), drowsiness (5/8), vomiting or retching (6/8), salivary hypersecretion (7/8), nasal secretion (2/8), and red skin (2/8); At the second and third week of administration, the muscle tone began to decrease (2/8), occasionally incontinence (4/8); The symptoms disappeared in the recovery period. There was no significant difference in ECG before administration. At the end of administration, the heart rate of low-dose and high-dose levofloxacin hydrochloride injection groups was significantly higher than that of control group ($P < 0.05$ or 0.01). The PR interval of low and high dose groups was significantly lower than that of control group ($P < 0.05$ or 0.01), QT interval of high dose group was significantly lower than that of control group ($P < 0.05$). At the end of the recovery period, the heart rate of the high-dose group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). The effects were dose-dependent. **Conclusion** There are differences in exposure and accumulation of levofloxacin hydrochloride injection in beagle dogs at different doses; the drug metabolism of female beagle dogs in the middle dose group is accelerated, which may induce the activity of liver drug enzymes. The exposure of the drug in the body is reduced. The test product may have allergic reactions, digestive system damage, systemic damage, nervous system toxicity and cardiovascular system damage during the administration period when the dose higher than clinical equivalent dose. Symptoms disappear during convalescence.

Key words: Levofloxacin Hydrochloride Injection; toxicokinetics; toxicity; general state; ECG

左氧氟沙星是新一代氟喹诺酮类抗生素,具有广谱抗菌作用,抗菌作用强,临床上主要用于革兰阴性和阳性菌引起的各类感染。由于吸收后能广泛分布于机体大多数组织,因此,左氧氟沙星能够用于大部分组织器官的抗感染治疗,临床上使用广泛,治疗获得性肺炎^[1]、幽门螺杆菌感染^[2]、尿路感染^[3-4]、肾盂肾炎^[5]、慢性阻塞性肺疾病^[6]、细菌性前列腺炎^[7]等疾病效果显著,是宝贵的第三代喹诺酮类代表药物。但近年来,关于喹诺酮类抗菌药物治疗的临床不良反应(ADR)备受关注^[8-9],有学者认为,美国FDA和欧洲EMA根据流行病学支持左氧氟沙星等常用喹诺酮类抗生素与神经毒性、长期残疾和主动脉夹层瘤发生3种毒性之间有很强的相关性^[10],ADR的发生与临床不合理使用有一定关系,因此亟待了解左氧氟沙星在体内的代谢行为,开展

其在Beagle犬的毒动学研究。毒动学是药动学和毒理学相结合的新兴交叉学科,运用药动学的原理和方法,结合毒理研究,定量地研究毒性剂量下药物及外源性化学物在动物体内的吸收、分布、代谢和排泄过程^[11]。本研究旨在探讨盐酸左氧氟沙星注射液4周iv给药在Beagle犬体内的毒动学性质,描述动态变化和排泄过程,评价不同浓度供试品在Beagle犬内的暴露情况,及对Beagle犬毒理学研究,为临床合理用药提供参考。

1 材料

1.1 实验仪器

HPLC(Waters 2489-2695); Empower3 工作站; Winnonlin 6.2.1 毒代处理软件;生物机能实验系统(泰盟科技 BL-420S);超低温冰箱(海尔 DW-86L338J);超低温离心机(Beckman Avanti);涡旋混

匀仪(SCILOGEX MS3);移液器(Eppendorf);精密电子天平(Mettler XS105)。

1.2 药品和主要试剂

供试品:盐酸左氧氟沙星注射液(邯郸康业制药有限公司,规格2 mL:0.2 g,批号190606);对照品:左氧氟沙星(中国食品药品检定研究院,批号130455-201607,质量分数92.5%);乙腈(Fisher);甲醇(Fisher);磷酸(天津市科密欧化学试剂有限公司);纯净水(娃哈哈集团有限公司);磷酸二氢钾(国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 实验动物

Beagle犬24只,体重(雄5.4~8.0 kg,雌5.6~7.5 kg),购自沈阳康平实验动物研究所,动物合格证号0001444,动物生产许可证号SCXK(辽)2019-0002。单笼饲养,自由饮食、饮水,实验室温度18~20℃,相对湿度60%~85%,实验前驯化观察2周。

2 方法

2.1 剂量选择及分组

根据急性毒性试验,近似致死剂量为88~132 mg/kg,88 mg/kg给药时,动物出现大便失禁、腹泻、抽搐等严重不良反应。Beagle犬按分层随机法分为对照组和盐酸左氧氟沙星注射液低、高剂量组,每组8只。低剂量为20 mg/kg,为人临床拟用剂量(8.57 mg/kg)的2.33倍;高剂量为40 mg/kg,为人临床拟用剂量的4.67倍。根据临床拟用给药途径,iv给药,对照组iv生理盐水,给药量随动物每周体重变化进行调整;给药频率为1次/d,7 d/周;给药期4周,恢复期4周;给药容积2 mL/kg。

2.2 心电测定

应用泰盟科技BL-420S生物机能实验系统,以II导联记录Beagle犬给药前、给药期结束、恢复期结束在清醒状态下的心电图。

2.3 色谱条件

色谱柱 Phenomenex C₁₈ (250 mm×2.1 mm, 1.7 μm),体积流量1 mL/min,进样体积10 μL,柱温30℃,进样器温度15℃,流动相A(0.05 mol/L磷酸二氢钾),流动相B(乙腈),梯度洗脱见表1。

表1 HPLC色谱梯度洗脱程序

Table 1 HPLC chromatographic gradient elution table

t/min	A/%	B/%
0	82	18
4	82	18
6	75	25
8	82	18

2.4 血浆样品采集与制备

2.4.1 血浆样品采集 给药前与给药后3、8、15、30 min及1、2、4、8、12 h,前肢内侧头静脉采血,给药前约5 mL、给药后约3 mL,置于有肝素钠的离心管中,于4℃、13 000 r/min离心10 min,取上清,分装于EP管中,−20℃冷冻保存待分析。

2.4.2 样品制备 取100 μL Beagle犬血浆至离心管中,加入200 μL甲醇,涡旋30 s,4℃、13 000 r/min离心10 min。取100 μL上清,进行HPLC分析。

2.5 溶液配制

2.5.1 左氧氟沙星对照品系列工作液配制 精密称取对照品粉末10 mg,置于100 mL容量瓶中,用甲醇溶解、定容,配成质量浓度为100 μg/mL的储备液。用甲醇将储备液进一步稀释,得到系列工作液的质量浓度为0.25、0.50、1.00、2.50、5.00、6.00 μg/mL。

2.5.2 线性样品的制备方法 取Beagle犬空白血浆100 μL,置于1.5 mL EP管中,加入左氧氟沙星系列工作液100 μL,加入甲醇溶液100 μL,涡旋充分震荡混匀30 s,制备质量浓度为0.083、0.170、0.330、0.830、1.670、2.000 μg/mL的标准曲线样品。于4℃、13 000 r/min离心10 min,取上清液100 μL进行HPLC分析。

2.5.3 质控(QC)溶液配制 按“2.5.1”项下配制质量浓度为100 μg/mL的左氧氟沙星储备液。使用甲醇进行系列稀释,得到QC溶液:5.00(HOQ)、1.00(MOQ)、0.50(LOQ)、0.25(LLOQ) μg/mL。

2.5.4 质控样品制备 将4个不同质量浓度的左氧氟沙星对照品QC工作液100 μL加入Beagle犬空白血浆100 μL,加入甲醇溶液100 μL,涡旋充分震荡混匀30 s,制备质量浓度为1.670(QC-H)、0.330(QC-M)、0.170(QC-L)、0.083(QC-LL) μg/mL的质控样品,于4℃、13 000 r/min条件下离心10 min,取上清液100 μL进行HPLC分析。

2.6 方法学考察

2.6.1 定量下限(LLOQ) 以标准曲线的最低浓度点(0.083 μg/mL)为LLOQ。在1个分析批中考察(平行6个样品)定量下限的准确度和精密度,进行HPLC分析,测得定量下限的RSD为4.8%,RE为101%。

2.6.2 专属性考察 取Beagle犬空白血浆样品,按照“2.4.2”项处理后进行HPLC分析,结果见图1-A,测得干扰组分的响应是分析物LLOQ的19.65%,见图1-D;另取左氧氟沙星2 μg/mL对照品工作液进行HPLC分析,结果见图1-B;取给药后3 min的血

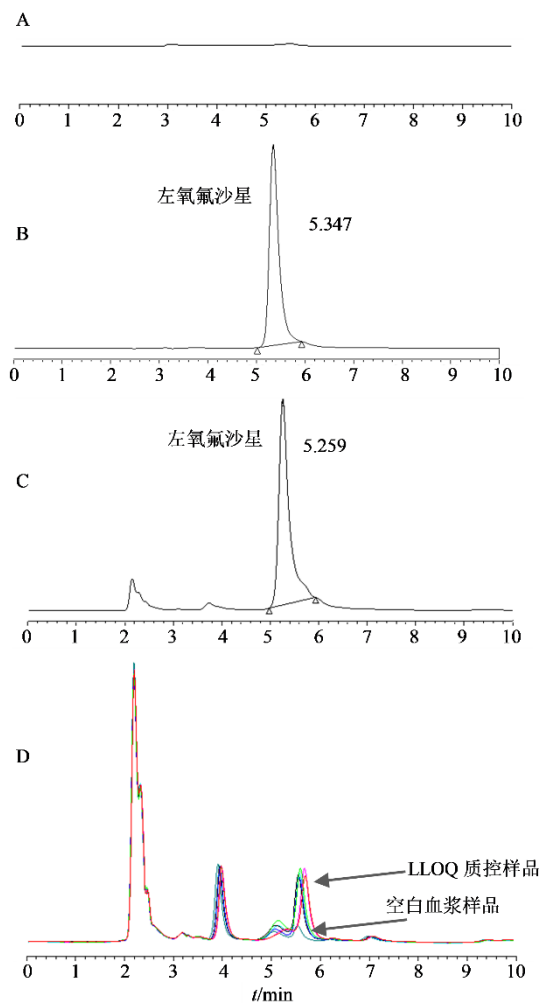


图1 空白溶剂(A)、左氧氟沙星对照品(B)、给药后3 min 血浆样品(C)、空白血浆样品+定量下限LLOQ质控样品(D)色谱图

Fig. 1 Chromatogram of Blank solvent (A), levofloxacin reference substance (B), plasma sample 3 min after administration (C), blank plasma sample + LLOQ quality control sample (D)

浆样品经“2.4.2”项方法处理,进行HPLC分析,结果见图1-C。方法专属性良好。

2.6.3 系统残留考察 取空白血浆样品按照“2.4.1”项下操作,QC-H样品之后再进空白样品中的残留是定量下限的19.77%,符合要求。

2.6.4 线性范围考察 取“2.5.2”项下线性样品,进行HPLC分析,以对照品峰面积为纵坐标,以质量浓度为横坐标,进行线性拟合,得到标准曲线回归方程及相关系数(根据“9012 生物样品定量分析方法验证指导原则”考察3个分析批,对应3条标准曲线),见表2。

2.6.5 精密度与准确度 (1)准确度:取LOQ、MOQ、HOQ溶液进样,RE在90%~108%,方法准确度良好;(2)批内精密度:取LOQ、MOQ、HOQ溶液,

表2 左氧氟沙星在Beagle犬中线性关系考察

Table 2 Investigation of linear relationship of levofloxacin in Beagle dogs

编号	标准曲线方程	r^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
1	$Y=141\,176X-3\,000.3$	0.998 1	0.25~6.00
2	$Y=131\,395X+20\,884$	0.998 7	0.25~6.00
3	$Y=133\,927X+5\,957.4$	0.998 2	0.25~6.00

每浓度6个样品进样,RSD<6.4%,批内精密度良好;(3)批间精密度:考察不同的3个分析批,每个批内设置3个浓度(LOQ、MOQ、HOQ),每浓度各6个样本,RSD<9.2%,批间精密度良好。结果见表3。

表3 精密度和准确度考察结果($n=6$)

Table 3 Investigation result of precision and accuracy ($n=6$)

批次	质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$		精密度(RSD)/%		准确度(RE)/%
	配制	测得	批间	批内	
1	5.0	5.1±0.1	1.2		102
	1.0	1.0±0.0	1.4		98
	0.5	0.5±0.0	6.4		108
2	5.0	5.3±0.1	1.1		105
	1.0	0.9±0.0	1.5		91
	0.5	0.4±0.0	9.2		90
3	5.0	5.1±0.1	1.2		101
	1.0	2.0±0.1	3.2		101
	0.5	0.5±0.0	3.0		101
批内	5.0			2.4	
	1.0			4.0	
	0.5			6.4	

2.6.6 基质效应考察 取大鼠空白血浆按“2.4.2”项方法处理,取上清后配制LOQ、MOQ、HOQ溶液进样分析(每个浓度平行操作6份),记为峰面积I;取对应浓度的QC液直接进样,进行6样本分析,记为峰面积II。基质效应=峰面积I/峰面积II。LOQ、MOQ、HOQ溶液的基质效应分别为82.8%、84.6%、85.9%。

2.6.7 稳定性考察 (1)生物样品稳定性:取新鲜配制的模拟血浆样品(HOQ和MOQ 2个浓度),分别进行室温放置稳定性(48 h)、-20℃反复冻融稳定性(3次)考察,每浓度平行操作至少3份;(2)储备液样品稳定性:取新鲜配制的QC溶液(HOQ和MOQ 2个浓度)和储备液,分别进行室温放置稳定性(48 h)考察,每个浓度平行操作至少3份。通过峰面积的变化率来反映稳定性,生物样品峰面积变化率在-2.8%~-1.8%,储备液样品峰面积变化率在

-6.9%~-4.0%。稳定性良好。

2.7 盐酸左氧氟沙星注射液毒动学研究

利用药动学统计软件 Winnolin 6.2.1 采用非房室模型法(NCA)计算不同性别受试动物给药后的 AUC_{0-t} 、 C_{max} 、 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 CL_F 、 MRT_{last} , 采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述。绘制各试验阶段下不同性别不同给药剂量的药时曲线图, 并计算低、高剂量各参数的比值, 考察蓄积情况。结果见图2、3和表4。

2.7.1 雄性 Beagle 犬药物暴露与蓄积情况 首次给药后, 低、高剂量组雄性 Beagle 犬的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 比值分别为 1:1.86 和 1:2.19, MRT 比值为 1:1.16,

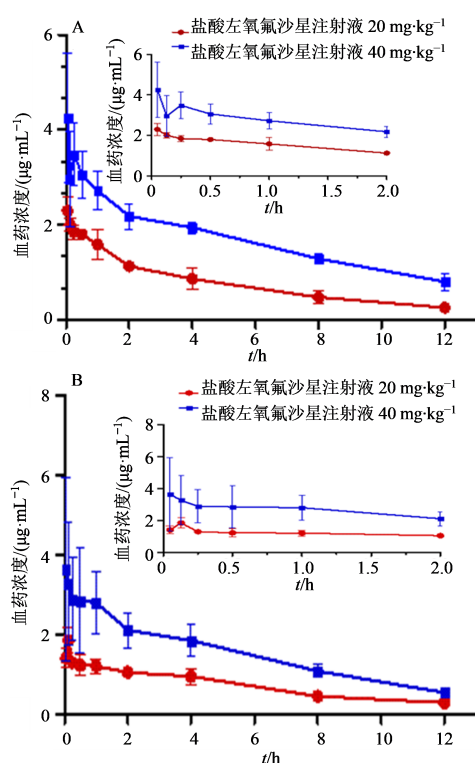


图2 首次给药各剂量组雄性(A)、雌性(B)Beagle犬平均药时曲线($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 2 Average drug-time curve of male (A) and female (B) Beagle dogs in each dose group for first administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

CL_F 比值为 1:0.77; $t_{1/2}$ 比值为 1:1.44。末次给药后, 呈相同的趋势, 低、高剂量组雄性 Beagle 犬的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 比值分别为 1:3.73 和 1:2.24, MRT 比值为 1:0.87, CL_F 比值为 1:0.94, $t_{1/2}$ 比值为 1:0.94。

由此可知, 盐酸左氧氟沙星注射液在雄性 Beagle 犬体内的暴露呈随剂量增加而增加的趋势, 首次给药后 C_{max} 、 AUC_{0-t} 增加的倍数接近剂量的倍数, 但末次给药后高于剂量倍数; 首次给药低、高剂量组的 MRT 、 CL_F 、 $t_{1/2}$ 比值相近, 末次给药低、高剂

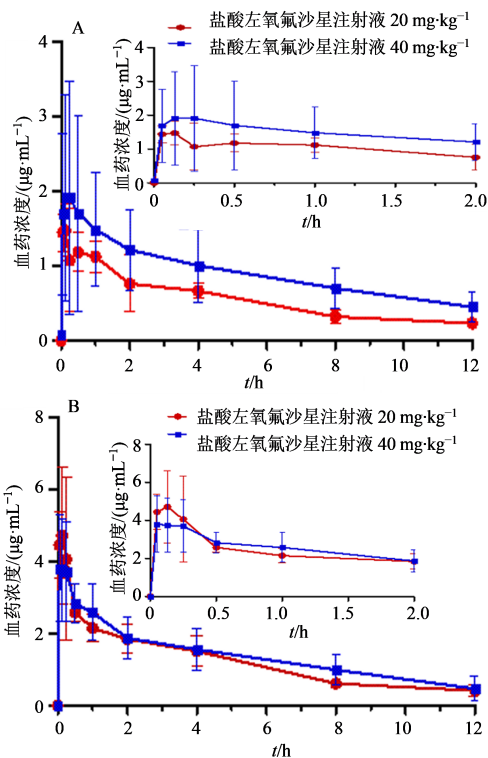


图3 末次给药各剂量组雄(A)、雌(B)性Beagle犬平均药时曲线($\bar{x} \pm s, n=8$)

Fig. 3 Average drug-time curve of male (A) and female (B) Beagle dogs in each dose group for last administration ($\bar{x} \pm s, n=8$)

量组的 MRT 、 CL_F 、 $t_{1/2}$ 数值有所增加, 但两组比值也呈相近趋势。结果提示, 不同剂量的左氧氟沙星在雄性 Beagle 犬体内存在暴露和蓄积差异。

2.7.2 雌性 Beagle 犬药物暴露与蓄积情况 低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-t} 比值分别为 1:2.10 和 1:2.12, MRT 比值为 1:1.02, CL_F 比值为 1:0.63, $t_{1/2}$ 比值为 1:1.05; 末次给药后, 低、高剂量组 C_{max} 、 AUC_{0-t} 比值分别为 1:1.88 和 1:1.53, MRT 比值为 1:0.67; CL_F 比值为 1:1.47; $t_{1/2}$ 比值为 1:0.66。

由此可知, 盐酸左氧氟沙星注射液在雌性 Beagle 犬体内的暴露呈随剂量增加而增加的趋势, 首次给药后 C_{max} 、 AUC_{0-t} 增加的倍数接近剂量的倍数, 但末次给药略低于剂量倍数; 首次给药低、高剂量组的 MRT 、 $t_{1/2}$ 值相近, 高剂量组 CL_F 比低剂量值略有减少, 末次给药低、高剂量组的 MRT 、 CL_F 、 $t_{1/2}$ 数值有所增加, 但两组 CL_F 比值减小, MRT 、 $t_{1/2}$ 比值增加。

2.8 一般临床症状观察

对照组动物给药初期被毛光洁、反应机敏、活

表4 各剂量组雌、雄Beagle犬各给药阶段毒动学参数($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 4 Toxicity parameters of female and male Beagle dogs in each dose group($\bar{x} \pm s, n=8$)

参数	单位	供试品 20 mg·kg ⁻¹ (雄)		供试品 40 mg·kg ⁻¹ (雄)		供试品 20 mg·kg ⁻¹ (雌)		供试品 40 mg·kg ⁻¹ (雌)	
		D1	D28	D1	D28	D1	D28	D1	D28
$t_{\max}$	h	0.07±0.04	0.09±0.05	0.10±0.10	0.12±0.09	0.11±0.04	0.36±0.44	0.34±0.45	0.12±0.09
$C_{\max}$	μg·mL ⁻¹	2.31±0.28	1.58±0.32	4.30±1.30	5.90±1.22	1.85±0.31	2.48±1.51	3.88±2.02	4.66±1.43
AUC _{0-t}	h·μg·mL ⁻¹	9.25±1.39	6.54±1.30	20.28±1.62	14.65±2.26	8.68±1.40	10.91±5.20	18.36±3.16	16.68±5.67
$t_{1/2}$	h	4.71±1.30	4.59±0.43	6.77±2.11	4.30±0.51	5.05±1.14	7.14±0.75	5.31±1.86	4.73±1.35
CL _F	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	1.86±0.34	2.63±0.55	1.44±0.18	2.42±0.48	2.88±0.64	1.55±0.55	1.80±0.21	2.28±0.96
MRT _{last}	h	3.96±0.34	6.89±0.83	4.60±0.22	5.97±1.09	4.25±0.20	9.92±0.99	4.34±0.52	6.61±1.84

动自如,未发现步态、睡眠异常及震颤、痉挛等神经反应;眼睛明亮有神、叫声宏亮、呼吸平稳,无呕吐,粪便形状及颜色正常。盐酸左氧氟沙星注射液低剂量组动物给药第1周内出现困倦(2/8),皮肤水肿、发红(2/8),上睑松弛(1/8),唾液分泌过多(1/8),呕吐(1/8);给药第2~4周出现皮肤水肿(1/8)、发红(1/8);恢复期症状消失。高剂量组动物给药第1、2天出现上睑松弛(1/8),部分动物出现短期或长期的皮肤水肿(4/8)、困倦(5/8)、呕吐或干呕(6/8)、唾液分泌过多(7/8)、鼻有分泌物(2/8)、皮肤发红(2/8);给药第2、3周开始出现肌张力降低(2/8),偶尔出现大小便失禁(4/8);恢复期症状消失。综合每日给药时动物状态认为,皮肤水肿、发红、上睑松弛、困倦考虑药物可能有一定的过敏性,需要过敏试验配合

判定,呕吐症状考虑药物具有一定的消化系统损害,唾液分泌过多症状考虑药物具有一定的全身性损害,大小便失禁、肌张力降低考虑药物具有神经系统毒性的可能。

2.9 对心电图的影响

给药前各组心电图指标无明显差异。给药结束盐酸左氧氟沙星注射液低、高剂量组心率显著高于对照组($P<0.05, 0.01$),低、高剂量组PR间期显著低于对照组($P<0.05, 0.01$);高剂量组QT间期显著低于对照组($P<0.05$)。恢复期结束高剂量组心率显著高于对照组($P<0.05$)。且作用均呈剂量相关性,见表5。

3 讨论

综合在给药过程中动物状态认为,皮肤水肿、发红、上睑松弛、困倦考虑药物可能有一定的过敏

表5 盐酸左氧氟沙星注射液对Beagle犬心电图的影响($\bar{x} \pm s$)Table 5 Effects of levofloxacin injection on electrocardiogram of Beagle dogs ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药前($n=8$)			
		心率/(次·min ⁻¹)	PR间期/ms	QT间期/ms	QRS间期/ms
对照	—	140.75±24.88	91.25±10.61	203.75±12.17	100.00±11.02
盐酸左氧氟沙星注射液	20	122.50±23.12	84.38±10.16	211.88±17.92	103.75±15.29
	40	122.25±35.04	88.13±8.43	216.25±16.64	100.00±11.65
组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	给药结束($n=8$)			
		心率/(次·min ⁻¹)	PR间期/ms	QT间期/ms	QRS间期/ms
对照	—	106.50±25.06	85.63±7.76	235.00±16.04	105.63±12.37
盐酸左氧氟沙星注射液	20	135.13±28.17*	75.00±10.69*	220.63±20.95	103.75±13.30
	40	164.00±27.13**	70.00±11.65**	213.75±20.31*	110.00±13.89
组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	恢复期结束($n=4$)			
		心率/(次·min ⁻¹)	PR间期/ms	QT间期/ms	QRS间期/ms
对照	—	111.25±13.72	81.25±13.15	238.75±22.87	107.50±2.89
盐酸左氧氟沙星注射液	20	119.50±17.60	85.00±10.80	218.75±6.29	115.00±14.72
	40	133.75±11.15*	86.25±8.54	225.00±10.80	108.75±23.23

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

性,可能与药品中的杂质及药品氧化、分解、聚合、降解产物在体内的作用有关,也可能是特异质反应^[12]。呕吐症状考虑药物具有一定的消化系统损害,唾液分泌过多症状考虑药物具有一定的全身性损害,大小便失禁、肌张力降低考虑药物具有神经系统毒性,可能是与分子结构上疏水性的氟原子具有一定的脂溶性,能够通过血脑屏障,从而产生神经系统症状。

心电图结果显示,供试品在给药期间能使实验动物心率加快、PR间期和QT间期缩短,停药后作用有转归迹象,表明左氧氟沙星会产生一定的心血管系统损害,在使用过程中应注意用药剂量,有心律失常病史或患有严重心血管疾病的患者应慎用^[13-14]。

毒动学结果提示,不同剂量的盐酸左氧氟沙星在Beagle犬体内存在暴露和蓄积差异,高剂量组雌性Beagle犬体内药物代谢加快,药物在体内的暴露程度低于给药倍数,可能诱导了肝药酶活性,致使药物在体内的清除率增加,半衰期和滞留时间减少。

本实验研究了盐酸左氧氟沙星注射液在犬体内的毒动学性质,不同剂量的盐酸左氧氟沙星在Beagle犬体内存在暴露和蓄积差异;高剂量组雌性Beagle犬药物代谢加快,可能诱导了肝药酶活性,致使药物在体内的暴露减少。供试品高于临床等效剂量给药在给药期间可能发生过敏反应、消化系统损害、全身性损害、神经系统毒性和心血管系统损害,恢复期症状消失。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 洪艳杰. 阿奇霉素联合左氧氟沙星治疗社区获得性肺炎的临床效果评价 [J]. 中国医药指南, 2020, 18(14): 119-120.
Hong Y J. Clinical evaluation of azithromycin combined with levofloxacin in the treatment of community acquired pneumonia [J]. Guid Chin Med, 2020, 18(14): 119-120.
- [2] 刘文忠, 谢勇, 陆红, 等. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告 [J]. 胃肠病学, 2017, 22(6): 346-359.
Liu W Z, Xie Y, Lu H, et al. Fifth Chinese national consensus report on the management on helicobacter pylori infection [J]. Chin J Gastroenterol, 2017, 22(6): 346-359.
- [3] 刘旭, 蔡芸, 朱亚萍, 等. 莫西沙星与左氧氟沙星治疗尿路感染有效性与安全性Meta分析 [J]. 中国药物应用与监测, 2014, 11(2): 71-76.
Liu X, Cai Y, Zhu Y P, et al. Meta-analysis on the efficacy and safety of moxifloxacin and levofloxacin in the treatment of urinary tract infections [J]. Chin J Drug Appl Monit, 2014, 11(2): 71-76.
- [4] Armstrong E S, Mikulca J A, Cloutier D J, et al. Outcomes of high-dose levofloxacin therapy remain bound to the levofloxacin minimum inhibitory concentration in complicated urinary tract infections [J]. BMC Infect Dis, 2016, 16(1): 710-716.
- [5] Rafat C, Debrix I, Hertig A. Levofloxacin for the treatment of pyelonephritis [J]. Expert Opin Pharmacol, 2013, 14(9): 1241-1253.
- [6] 王小虎, 刘晓菊. 莫西沙星与左氧氟沙星治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效及安全性比较的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2012, 12(6): 694-699.
Wang X H, Liu X J. Moxifloxacin versus Levofloxacin for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary diseases: a systematic review [J]. Chin J Evid-based Med, 2012, 12(6): 694-699.
- [7] 杨彩云, 齐进春, 薛文勇. 前列舒通联合左氧氟沙星治疗慢性细菌性前列腺炎的临床疗效及安全性评价 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(22): 2187-2189.
Yang C Y, Qi J C, Xue W Y. Clinical efficacy and safety of Qianlieshutong capsule combined with levofloxacin in treatment of chronic bacteritic prostatitis [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2015, 31(22): 2187-2189.
- [8] 温爱萍, 贾国强. 101例环丙沙星不良反应报告回顾性分析 [J]. 中国药物应用与监测, 2014, 11(1): 34-36.
Wen A P, Jia G Q. Retrospective analysis of 101 ADR reports associated with ciprofloxacin [J]. Chin J Drug Appl Monit, 2014, 11(1): 34-36.
- [9] 孟庆纯. 环丙沙星的临床应用及不良反应分析研究 [J]. 中国卫生标准管理, 2015, 6(17): 97-99.
Meng Q C. Clinical application and adverse reaction analysis of ciprofloxacin [J]. China Health Standard Management, 2015, 6(17): 97-99.
- [10] Bennett A C, Bennett C L, Witherspoon Bartlett J, et al. An evaluation of reports of ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin-association neuropsychiatric toxicities, long-term disability, and aortic aneurysms/dissections disseminated by the Food and Drug Administration and the European Medicines Agency [J]. Expert Opin Drug Saf, 2019, 18(11): 1055-1063.
- [11] 王石金, 游璐, 邓明菊. 药物毒代动力学研究进展 [J]. 中国药事, 2015, 29(8): 814-819.
Wang S J, You L, Deng M J. Progress in drug toxicokinetics [J]. Chin Pharm Aff, 2015, 29(8): 814-819.

(下转第983页)

- using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2010, 1217(45): 7109-7122.
- [13] Wang D D, Wang S, Chen X, et al. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of four alkaloids isolated from Bulbus of *Fritillaria wabuensis* [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(1): 189-193.
- [14] 陈泓竹, 张世洋, 黄雅彬, 等. 平贝母和川贝母总生物碱含量及其镇咳、抗炎作用比较研究 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(15): 63-67.
- Chen H Z, Zhang S Y, Huang Y B, et al. Comparative study on the content determination and the anti-tussive and anti-inflammatory effects of the total alkaloids of Pingbeimu and Chuanbeimu [J]. Sci Tech Food Ind, 2017, 38(15): 63-67.
- [15] 邓亚玲, 任洪民, 叶先文, 等. 桔梗的炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 190-202.
- Deng Y L, Ren H M, Ye X W, et al. Progress of historical evolution of processing, chemical composition and pharmacological effect of *Platycodonis Radix* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(2): 190-202.
- [16] 程晓华, 马新换. 桔梗科中药特性及化学成分和药理活性的研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2020, 13(6): 175-177.
- Cheng X H, Ma X H. Research Progress on characteristics, chemical constituents and pharmacological activities of platycodoniaceae [J]. Chin J Clin Rat Drug Use, 2020, 13(6): 175-177.
- [17] 蔡申燕, 石佳勇, 骆天炯. 基于网络药理学探究杏仁-桔梗药对治疗急性支气管炎的作用机制研究 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(4): 294-301, 306.
- Cai S Y, Shi J Y, Luo T J. Utilising network pharmacology to explore the underlying mechanism of almond and platycodon treating acute bronchitis [J]. J Hainan Med Univ, 2021, 27(4): 294-301, 306.
- [18] 方永奇. 痰证研究思路探讨 [J]. 中国中医基础医学杂志, 1996, 2(6): 20-23.
- Fang Y Q. Discussion on the research ideas of phlegm syndrome [J]. J Bas Chin Med, 1996, 2(6): 20-23.
- [19] 李铎, 李佳, 刘悦, 等. 基于中医基础理论探讨痰证现代生物学基础 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(2): 93-95.
- Li D, Li J, Liu R, et al. Discussion on modern biological basis of phlegm syndrome based on basic theory of chinese medicine [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2020, 47(2): 93-95.
- [20] Okuda K, Chen G, Subramani D B, et al. Localization of secretory mucins MUC5AC and MUC5B in normal/healthy human airways [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(6): 715-727.

[责任编辑 兰新新]

(上接第970页)

- [12] 管玫, 金朝辉. 282例左氧氟沙星不良反应报告分析 [J]. 药物警戒, 2007, 4(3): 158-161.
- Guan M, Jin Z H. Analysis of 282 ADR cases report of levofloxacin [J]. Chin J Pharmacovig, 2007, 4(3): 158-161.
- [13] 刘芳, 乔蕾, 陈文超, 等. 环丙沙星和左氧氟沙星对豚鼠右心室乳头肌动作电位的影响 [J]. 郑州大学学报: 医学版, 2017, 52(1): 17-20.
- Liu F, Qiao L, Chen W C, et al. Effect of ciprofloxacin and levofloxacin on cardiac action potential in right ventricle papillary muscles of guinea pigs [J]. J Zhengzhou Univ: Med Sci, 2017, 52(1): 17-20.
- [14] Stahlmann R, Lode H M. Risks associated with the therapeutic use of fluoroquinolones [J]. Expert Opin Drug Saf, 2013, 12(4): 497-451.

[责任编辑 兰新新]