

奥硝唑对大鼠血胰屏障通透性的研究

祁金文^{1*}, 马珂¹, 吴远航² (1. 浙江省人民医院药剂科, 杭州 310014; 2. 浙江大学城市学院, 杭州 310015)

摘要:目的 研究奥硝唑对大鼠血胰屏障的通透性, 为选择合适的抗微生物药物预防和治疗胰腺组织感染提供理论依据。方法 给予大鼠口服奥硝唑 20 mg/kg, 在规定时间内取样, 用反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 测定胰腺组织和血清中药物的浓度。结果 血清、胰腺组织中奥硝唑浓度在 20 min 时最高, 分别为 (13.24 ± 2.01) mg/L, (18.34 ± 3.26) mg/L。药物对血胰屏障的通透率 (PR) 在 20 min 以后一直 >1。结论 口服奥硝唑后, 药物在胰腺中有良好的分布, 对血胰屏障具有良好的通透性, 值得向临床推荐用于预防和治疗胰腺感染。

关键词:奥硝唑; 血胰屏障; 通透率; 胰腺炎

中图分类号: R699.11

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2006)05-0425-04

Permeability of ornidazole through blood-pancreatic barrier in rats

QI Jin-wen¹, MA Ke¹, WU Yuan-hang² (1. Department of Pharmacy, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 2. City College, Zhejiang University, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the permeability of ornidazole through blood-pancreatic barrier in rats. **METHODS** Ornidazole (20 mg/kg body weight) were fed to rats. At the given time points, the serum and pancreatic tissue samples were collected. The concentrations of ornidazole in the serum and pancreatic tissue were measured by HPLC. **RESULTS** The concentration-time profiles of ornidazole could be described as two-compartment model in rats; The peak concentrations in serum and pancreatic tissue

作者简介: 祁金文 (1975 -), 男, 主管药师, 华西医科大学临床药学专业毕业, 从事临床药学工作。

were 13.24 ±2.01 mg/L, 18.34 ±3.26 mg/L at 20 min respectively. Then the concentrations decreased quickly in all of them. Concentrations in pancreatic tissue were higher than those in serum after 20 min and even at 360 min. The permeation ratio (PR) through blood - pancreatic barrier was higher continuously than 1 after 20 min. **CONCLUSION** Omidazole can permeate blood -pancreatic barrier satisfactory, therefore it is worthy of being recommended for prevention and treatment of pancreatic infections.

KEY WORDS: omidazole; blood-pancreas barrier; permeation ratio; pancreatitis

急性胰腺炎是常见的急腹症之一,死亡的原因 80%以上是由于急性胰腺炎继发性感染所致^[1]。抗菌药物治疗是急性胰腺炎治疗中重要的一环。但 20 世纪 70 年代以前,无论是应用抗菌药物预防还是治疗急性胰腺炎继发感染,结果都使人失望。1986 年, Burns 等描述了“血胰屏障”,即抗生素从血液进入胰腺组织要依次透过腺泡周围的毛细血管内皮细胞层、基底层、腺泡细胞层、泡心细胞层、闰管等结构。由于血胰屏障的存在,使许多抗生素在胰腺分布太少以致不能发挥抗菌作用。血胰屏障概念的确立,使针对胰腺感染的选择用药有了明确的方向。胰腺感染的致病菌主要为革兰阴性菌和厌氧菌等肠道常驻菌。有文献^[2-6]推荐使用甲(替)硝唑及喹诺酮类药物。而国内外对奥硝唑(omidazole, ONZ)能否透过血胰屏障的研究尚未见报道,为此,我们通过测定 ONZ 对血胰屏障的通透率,来探讨其在治疗继发性胰腺感染中的作用,为临床选择用药提供参考。

1 材料

1.1 仪器

惠普—1100HPLC 色谱仪 G1322A 四元泵、G1313A 自动进样器、G1316A 柱温箱, G1321A DAD 检测器, G1601A 色谱工作站(德国惠普公司)、XW—80A 型涡旋混合器(上海医科大学仪器厂)、离心机: Anke GL—16G—II (上海安淳科学仪器厂)、电子天平: METTLER AE 200(梅特勒 托利仪器上海有限公司)、三洋低温冰箱。

1.2 药品与试剂

替硝唑(tinidazole, TNZ, 湖北潜江药业有限公司); ONZ(南京圣和制药有限公司); 甲醇(色谱纯); 二氯甲烷、异丙醇、冰醋酸皆为分析纯。水为重蒸馏水。

1.3 实验动物

SD 健康大鼠 65 只, 浙江省人民医院动物实验室提供, 雌雄不限, 体重 170~230g, 随机分成 13 组, 每组 5 只。实验前禁食 12h, 不禁水。

2 方法与结果

2.1 给药方法

每一时间点随机取 1 组大鼠, 取 ONZ 溶液(重蒸水溶解, 浓度为 2.436g/L), 以 20mg/kg 的剂量灌胃, 共设 13 个时间点, 即 0, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min, 表 1 精密度和回收率试验 (n=5)

Tab 1 Recovery and precision of omidazole (n=5)

样本 mg/L	方法回收率 /%	萃取回收率 /%	日内精密度		日间精密度	
			测定值	RSD%	测定值	RSD%
2.5	80.77	72.72	2.50 ±0.14	5.63	2.50 ±0.17	6.69
10	89.61	82.75	9.74 ±0.25	2.57	10.03 ±0.62	6.20
20	93.09	83.22	20.25 ±0.45	2.25	19.88 ±0.81	4.06

在上述时间点分别摘大鼠眼球取血约 4mL, 静置 30min, 凝固后, 3 500 r/min 离心 15min, 取血清密封、避光、-30℃冰冻保存; 剖腹, 取胰腺, 剔除主血管, 脱脂称重, 加 0.9% 氯化钠注射液匀浆至 5mL。密封、避光、冰冻保存。

2.2 标本处理

取 0.5mL 血清或组织匀浆液, 加浓度为 50mg/L TNZ 甲醇溶液 50μL 作内标, 混匀, 加 pH6.86 的磷酸盐缓冲液 200μL, 混匀; 再加二氯甲烷-异丙醇(9:1)混合液 5mL, 涡旋震荡 3min, 7 500 r/min 离心 20min, 取有机层, N₂ 气挥干, 残渣用 300μL 甲醇涡旋溶解, 9 500 r/min 离心 10min, 取上清液 200μL, 置含 200μL 内衬管的 2mL 具盖广口瓶待测。

2.3 ONZ 的含量测定

参考文献^[7-8], 采用反相 HPLC 法, 流动相: 甲醇-水(含 0.1% 冰醋酸) = 27: 73; 流速: 1.0mL/min; 进样 20μL; 检测波长: 317nm; 柱温: 40℃。惠普化学工作站自动收集数据, TNZ 和 ONZ 出峰时间分别为 4.2min 和 7.3min。

2.4 标准曲线的绘制

将 ONZ 储备液适量精密加入到大鼠空白血清中, 使浓度分别为 0, 1.25, 2.50, 5.00, 7.50, 10.00, 20.00, 40.00mg/L。5 管重复操作, 分别取 0.5mL 按“2.2”和“2.3”项下操作, 记录不同浓度标准液的 H_{TNZ} 和 H_{ONZ}, 计算 R = H_{ONZ} / H_{TNZ}, 以 R 值为纵坐标, 已知 ONZ 浓度为横坐标, 直线回归, 标准曲线方程为: R = 0.2216C - 0.0354, r = 0.9997, n = 5。结果表明: 浓度在 1.25~40.00mg/L 范围内, 浓度与峰高比有良好的线性关系。血清中最低检测浓度为 0.625mg/L。

2.5 精密度与回收率

将 ONZ 储备液适量精密加入到大鼠空白血清中, 使浓度分别为 2.5, 10, 20mg/L 3 个浓度各 5 份, 分别取 0.5mL 按“2.2”和“2.3”项下操作, 分别于同 1d 连续测定或分 5d 测定, 记录药物和内标峰高积及其比值, 计算日内及日间精密度, 并以标准曲线方程计算其检出量与加入量的比值, 得其方法回收率。另配制相应浓度的标准溶液, 分别测其色谱峰高比值, 计算血浆中药物萃取回收率。

3 种浓度的日内精密度均 <6%, 日间精密度均 <7%, 结果见表 1。

2.6 样品稳定性

2.6.1 提取后的稳定性 将 ONZ储备液适量精密加入到大鼠空白血清中,使浓度分别为 2.5,10,20 mg/L 3个浓度各5份,分别取 0.5mL按“2.2”项下操作,室温(约 20℃)下放表 2 ONZ提取后的稳定性试验 (n=5)

Tab 2 Stability of omidazole after withdrawing from serum (n=5)

样本 mg/L	0h		24h		48h	
	测定值	RSD%	测定值	RSD%	测定值	RSD%
2.5	2.50 ±0.14	5.63	2.44 ±0.19	5.95	2.32 ±0.34	6.35
10	9.84 ±0.25	2.57	9.75 ±0.25	5.67	9.44 ±0.29	6.78
20	20.25 ±0.45	2.25	19.44 ±0.35	4.82	19.38 ±0.43	4.23

2.6.2 冻融后的稳定性 将 ONZ储备液适量精密加入到大鼠空白血清中,使浓度分别为 2.5,10,20 mg/L 3个浓度各5份,分别于冻融前、冻融(-30℃冷冻至少 24h后取出,室温表 3 ONZ样品冻融后的稳定性试验 (n=5)

Tab 3 Stability of Omidazole after freezing and thawing(n=5)

样本 mg/L	冻融前		冻融 1次		冻融 2次	
	测定值	RSD%	测定值	RSD%	测定值	RSD%
2.5	2.50 ±0.14	5.63	2.47 ±0.18	5.77	2.48 ±0.24	6.35
10	9.84 ±0.25	2.57	9.82 ±0.22	4.50	9.44 ±0.38	6.78
20	20.25 ±0.45	2.25	20.30 ±0.32	4.12	19.8 ±0.39	4.23

2.7 血清和胰腺组织中药物浓度及血胰屏障通透率

根据测量值计算 ONZ对血胰屏障的通透率^[4-6](penetration ratio, PR_胰 = C_胰/C_血, C_胰、C_血分别为胰腺组织和血清药物的浓度)。用 DASve1.0软件(孙瑞元、陈志杨、郑青山,皖南医学院)、Microsoft Excel程序进行数据处理。分析表明:ONZ在大鼠体内的过程总体符合二室模型 C_t = Ae^{-αt} + Be^{-βt}(P<0.05)。其中 A=4.298, α=0.018, B=3.326, β=0.002, t_{1/2α}=39.025 min, t_{1/2β}=283.028 min, t_{max}=20.000 min, C_{max}=13.240 mg/L, AUC₀₋₃₆₀=1032.809 (mg/L)·min, AUC_{0-∞}=1598.134 (mg/L)·min, MRT₀₋₃₆₀=126.068 min, MRT_{0-∞}=300.935 min, CL/F=0.013 L/(min/kg), Vd/F=5.110 L/kg。ONZ在大鼠胰腺内的过程符合一室模型 C_t = Ae^{-αt},其中 A=14.176, α=0.011, t_{1/2}=64.623 min, t_{max}=20.000 min, C_{max}=18.340 mg/L, AUC₀₋₃₆₀=1149.051 (mg/L)·min, AUC_{0-∞}=1176.857 (mg/L)·min, MRT₀₋₃₆₀=134.012 min, MRT_{0-∞}=341.803 min, Vd/F=0.023 L/kg, CL/F=0.017 L/(min·kg)。口服 ONZ后血清和胰腺组织中药物浓度及通透率结果见表 4。由表 4可见,血清、胰腺组织的药物浓度都在口服后 20 min达到最高, PR_胰在 20 min后一直>1。也就是说,大鼠口服 ONZ20 min后,药物在胰腺组织的浓度一直高于血药浓度(P<0.01)。

3 讨论

3.1 本实验所得的大鼠 ONZ房室模型与人的一致,半衰期 t_{1/2α}、t_{1/2β}明显比人的短^[9-10],这符合体表面积比值(即体表面积/体重的比值)大的动物对药物的代谢率要高于比值低的一般药物代谢规律。

3.2 ONZ是第三代硝基咪唑类药物,对绝大多数厌氧菌均

置 0, 24, 48 h,按“2.3”项下操作,比较不同时间样品浓度的变化,考察提取后样品在室温下的稳定性。测定结果表明提取后药物在 48 h内稳定,见表 2。

解冻)1次、冻融 2次后,取 0.5 mL按“2.2”和“2.3”项下操作测定,考察经冻融后样品的稳定性。测定结果见表 3,表明血样经 2次冻融后药物无明显降解,是基本稳定的。

表 4 口服 ONZ后血清和胰腺组织中药物浓度及通透率 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 The permeation ratio and the concentration of omidazole in the serum and pancreatic tissue (n=5, $\bar{x} \pm s$)

时间 min	血药浓度 mg/L	胰组织浓度 mg/kg	PR _胰
5	5.76 ±1.04	4.11 ±1.22	0.71 ±0.22
10	6.77 ±1.23	4.85 ±0.98	0.72 ±0.31
15	7.65 ±1.05	5.78 ±1.11	0.76 ±0.18
20	13.24 ±2.01	18.34 ±3.26	1.39 ±0.55
30	6.51 ±1.02	8.48 ±2.05	1.30 ±0.52
60	3.92 ±0.89	4.84 ±1.10	1.23 ±0.38
90	3.35 ±1.43	4.05 ±1.16	1.21 ±0.44
120	2.87 ±1.25	3.68 ±0.86	1.28 ±0.32
180	2.32 ±0.69	3.18 ±0.97	1.37 ±0.34
240	2.05 ±0.78	2.84 ±0.58	1.39 ±0.25
300	1.73 ±0.46	2.32 ±0.78	1.34 ±0.46
360	1.30 ±0.45	1.81 ±0.69	1.39 ±0.29

有较强的抑制杀灭作用^[11]。ONZ具有良好的脂溶性,体内分布广泛,但在胎盘浓度较低^[12]。本试验中,ONZ对血胰屏障的通透率虽不及 TNZ^[4],但其通透率在达峰以后一直大于1,仍体现了良好的分布能力,表明对血胰屏障具有良好的通透性。文献^[2]认为针对胰腺感染“抗生素的应用应遵循:抗菌谱为革兰阴性菌和厌氧菌为主、脂溶性强、有效通过血胰屏障等三大原则”。ONZ在人体内消除较慢, t_{1/2}约 16 h^[9-10]。综上,从药动学和药物抗菌作用的角度来看, ONZ用于治疗 and 预防胰腺继发感染应该有较理想的疗效。

4 结论

本实验提示: ONZ与甲硝唑^[13]、TNZ^[4]一样对血胰屏障具有良好的穿透性,在胰腺组织中具有很好的分布,值得向临床推广用于预防和治疗由厌氧菌所致的急性胰腺炎和胰腺肿瘤的继发感染。

参考文献

- [1] 王国品.急性胰腺炎胰腺感染及抗生素使用[J].中国实用内科杂志,2003,23(3):180.
- [2] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组.中国急性胰腺炎诊治指南(草案)[J].中华内科杂志,2004,43(3):236.
- [3] 《应用抗菌药物防治外科感染指导意见》撰写协作组.应用抗菌药物防治外科感染的指导意见(草案)X[J].中华外科杂志,2004,42(6):374.
- [4] 李功华,祁金文,马珂.替硝唑对大鼠血胰屏障通透性的研究[J].医药导报,2004,23(8):525.
- [5] 马珂,祁金文,俞佳,等.左旋氧氟沙星对大鼠血胰屏障的通透性[J].中国现代应用药学杂志,2002(19)3:237.
- [6] 马珂,祁金文,俞佳,等.洛美沙星对大鼠血胰屏障通透性的研究[J].中国药房,2002,13(5):271.
- [7] 李芹,王本杰,郭瑞臣.奥硝唑胶囊人体药代动力学及生物等效性研究[J].中国临床药理学杂志,2002,18(2):119.
- [8] 温清,李俊生,董瑞谦,等.奥硝唑片、奥硝唑胶囊人体生物等效性研究[J].中国药师,2003,6(5):259.
- [9] 李芹,赵焰,梁永广,等.奥硝唑血药浓度的高效液相色谱法测定及其药动力学研究[J].中国药理学杂志,2003,38(9):690.
- [10] 李芹,陈建中,郭瑞臣.奥硝唑血药浓度的高效液相色谱法测定及其国产和进口片剂的药动力学和生物等效性研究[J].中国现代应用药学杂志,2004,21(2):129.
- [11] 田怀平,王美纳.奥硝唑的药理作用及临床应用[J].中国药房,2003,14(1):50.
- [12] Boungnet P, Dechelette N, Fernandez H, et al. Disposition of ornidazole and its metabolites during pregnancy[J]. J Antimicrob Chemother, 1995, 35(5):691.
- [13] 朱忠伟.基层医院重症急性胰腺炎治疗体会[J].中华急诊医学杂志,2005,14(5):434.

收稿日期:2005-08-11