

[文章编号]1007-7669(2007)01-0017-06

自由基清除剂依达拉奉对脓毒性休克家兔的治疗作用

霍小萍¹, 殷晓进¹, 刘良明², 刁有芳², 陈家慧¹, 李萍², 刘建仓², 徐强³

(1.江苏先声药物研究有限公司, 江苏南京 210042; 2.中国人民解放军第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第二研究室, 重庆 400042; 3.南京大学生命科学院, 江苏南京 210093)

[关键词] 依达拉奉; 自由基清除剂; 休克, 脓毒性

[摘要] 目的: 观察依达拉奉(ED)对脓毒性休克家兔血气、血生化指标及动物存活率的影响。方法: 动物脓毒性休克后1 h用3个剂量ED(1.6, 0.8, 0.4 mg·kg⁻¹)治疗, 测定4个时相点动脉血气及酸碱度, 并测血乳酸(L)、乳酸脱氢酶(LDH)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、肌酐(Cr)及尿素氮(BUN)含量。观察24 h时动物存活情况。结果: 家兔脓毒性休克4 h后出现代谢性酸中毒合并呼吸性酸中毒, L、LDH、BUN明显升高, SOD活性明显降低, 动物死亡率为70%。不同剂量ED治疗后可改善血气、酸碱平衡紊乱, 增强SOD和CAT活性, 降低LD、MDA浓度及LDH活性。治疗后3个剂量组动物死亡率分别为0, 0和33%, 明显低于模型组($P < 0.05$)。结论: ED能增强脓毒性休克机体的抗氧化能力, 降低脓毒性休克死亡率。

[中图分类号] R965; R605.971; R982 [文献标识码] A

Therapeutical efficacy of free radical scavenger edaravone on septic shock rabbits

HUO Xiao-ping¹, YIN Xiao-jin¹, LIU Liang-ming², DIAO You-fang², CHEN Jia-hui¹, LI Ping², LIU Jian-cang², XU Qiang³

(1. Jiangsu Sincere Pharmaceutical Research Company LTD., Nanjing JIANGSU 210042, China; 2. The Second Department of Research Institute of Surgery, Daping Hospital, the Third Military Medical University of PLA, CHONGQING 400042, China; 3. The Academy of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing JIANGSU 210093, China)

[KEY WORDS] edaravone; free radical scavengers; shock, septic

[ABSTRACT] AIM: To investigate the effects of edaravone (ED), a novel free radical scavenger, on arterial blood gases, some plasma biochemical parameters, and survival rate in rabbits with septic shock. METHODS: After treatment with three different doses of ED (1.6, 0.8, 0.4 mg·kg⁻¹) to rabbits suffered septic shock, changes of arterial blood gases, blood acid-base scale, plasma levels of lactic acid, MDA, Cr and BUN; activities of LDH, CAT and SOD were determined in four different time phases. The mortality of animals in 24 h was

[收稿日期] 2006-02-20 [接受日期] 2006-09-04

[基金项目] 江苏省博士后科研资助计划 (No. 0401079B)

[作者简介] 霍小萍 (1963-), 河北邢台人, 副教授, 博士, 从事重症感染的药理学研究。

[联系人] 霍小萍。Phn: 86-25-8547-7000, ext 395。E-mail: hxp8998@hotmail.com

observed. RESULTS: Four hours after septic shock, metabolic acidosis and respiratory alkalosis occurred, the blood levels of lactic acid, BUN and activity of LDH increased significantly but the activity of SOD reduced markedly; with death rate up to 70%. However, following the treatment with different doses of ED, the degrees of the derangement of blood gases and acid-base equilibrium were improved with enhancement of the plasma activities of SOD and CAT and decrease of the plasma levels of LD, MDA and activity of LDH. The death rate in treated groups was significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$). CONCLUSION: ED can increase the protection that of organ and tissue against free radical-mediated injury, decrease the secondary damage of reactive oxygen species, and recover the metabolic derangement of septic shock.

活性氧物质 (reactive oxygen species, ROS) 是脓毒症导致周围细胞和组织损伤、造成大部分炎症和缺血再灌注损伤的主要原因^[1]。依达拉奉 (edaravone, ED) 是新型、强效的自由基清除剂及抗氧化剂, 为临床治疗急性脑梗死有效治疗药物^[2,3]。KONO 等^[4]在动物实验中发现, ED 可使内毒素 (endotoxin) 致急性肝损伤的大鼠死亡率下降, 抑制肝脏炎性细胞趋化及细胞因子的产生。由此提示, ED 对内毒素导致的器官损伤具有遏止效应。本研究观察了 ED 对脓毒性休克家兔血气和酸碱平衡、某些血生化指标及动物存活率的影响, 旨在评估其对脓毒性休克的治疗作用。本实验结果尚未见国内外文献报道。

材料和方法

实验材料 健康新西兰兔 70 只, 雌雄各半, 体重 ($2.5 \pm s 0.5$) kg (购自中国人民解放军第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所实验动物中心)。内毒素 (购自 Sigma 公司, 来源: Escherichia.coli O₁₁₁:B₄, 规格: 500 mg, 批号: 024K4077), 依达拉奉注射液 (南京先声东元制药有限公司, 规格: 5 mL: 10 mg, 批号: 040283), 2002 年美国 FDA 批准的唯一抗重症感染药屈曲可近 α (drotrecogin, XigrisTM) (购自美国 Eli Lilly, 规格: 每支 20 mg, 批号: 2H1552); 乳酸 (L)、乳酸脱氢酶 (LDH)、过氧化氢酶 (CAT)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、肌酐 (Cr) 及尿素氮 (BUN) 试剂盒 (购自南京建成生物技术工程研究所)。AVL OMN 型血气分析仪 (AVL OMN 公司); DU-7500 分光光度仪 (美国 Beckmen 公司) 及其他仪器等。

实验方法

1 动物分组及制模 将动物分为 2 批, 第 1 批 36 只分 6 组, 即对照组: 仅作手术对照及给予生理盐水; 模型组: 在内毒素致休克后, 单纯给予等

体积生理盐水; 阳性药对照组: 屈曲可近 α 为阳性药对照, 根据临床剂量换算为 $19.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。ED 高、中、低剂量组: 给予 ED 的剂量分别为 1.6, 0.8 和 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。每组 6 只。按刘世坤法^[5]注射内毒素复制脓毒性休克模型, 从兔耳缘静脉缓慢注射内毒素 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 导致 5 min 内血压下降, 15 min 后部分恢复, 60 min 后再度降低并不能恢复时为脓毒性休克, 对照组用同内毒素等容量的生理盐水复制假休克模型。另一批 34 只兔分 5 组: 模型组 10 只 (预实验 4 只加正式实验 6 只), 按下述“4”其他 4 组各 6 只测死亡率。

2 测定血气及酸碱平衡指标 将各组动物随机取 1 只, 在动物禁食 12 h 后, 按 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 静脉注射 3% 戊巴比妥钠, 麻醉后仰卧固定于手术台, 全身肝素化 ($800 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$), 行左股动、静脉无菌插管, 左股动脉导管接血压计检测平均动脉压 (MAP), 左股静脉导管接输液泵用于给药与输液。静脉注射内毒素 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 复制脓毒性休克模型, 1 h 后静脉注射 ED 或屈曲可近 α , $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 于 30 min 内注入。在内毒素注射前, 注射后 2, 4, 6 h 抽取股动脉血 $0.2 \sim 0.4 \text{ mL}$, 血气分析仪测定动脉血 pH, PO_2 及 PCO_2 并进行细胞外液碱剩余 (BE-ECF)、全血碱剩余 (BE-B) 和 HCO_3^- 等酸碱分析。每次采血后均补充等量生理盐水。

3 测定血生化指标 在内毒素注射前, 注射后 2, 4, 6 h 各取股静脉血 1 mL, 于 4°C , $2\ 000 \times g$ 离心 15 min, -70°C 冻存上清。测定前再置于冷水中复融。用分光光度仪按试剂盒说明书检验血浆 L, LDH, CAT, MDA, SOD, Cr 及 BUN 含量。每次采血后均补充等量生理盐水。

4 观察 ED 对脓毒性休克家兔存活率的影响 各组随机选取动物分为模型组 10 只: 在内毒素致休克后, 单纯给予等体积生理盐水; 阳性药对照组 6 只: 以屈曲可近 α 为阳性药对照, 剂量为 $19.34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。ED 高、中、低剂量组各 6 只: 给予 ED 的剂

量分别为 1.6, 0.8 和 0.4 mg·kg⁻¹。在注射内毒素 0.4 mg·kg⁻¹ 后 1 h 分别给予 ED 和屈曲可近 α, 放回笼中观察进食、进水、运动、排泄、皮毛及角膜等变化, 记录 24 h 后动物死亡数。

数据处理及统计学分析 计量资料表示为 $\bar{x} \pm s$, 用统计学软件 SPSS 11.0 的 ANOVA 法比较组间差异, 组间死亡率用 Fisher 直接几率法比较。

结 果

血气和酸碱平衡变化 兔动脉血 pH 在脓毒性休克后 2 h 逐渐下降, 4, 6 h 时明显低于对照组 ($P < 0.01$); ED 各剂量组可不同程度地升高休克后动脉血 pH, 在 6 h 时 ED 高、低剂量组的动脉血 pH 明

显高于模型组 ($P < 0.05$)。脓毒性休克后随时间延长, 动脉血 PO_2 呈下降趋势, 休克后 4 h 非常显著低于对照组 ($P < 0.01$); 2, 6 h 显著低于对照组 ($P < 0.05$); ED 各剂量组在休克 2 h 后的各时间点的动脉血 PO_2 显著高于模型组 ($P < 0.01$)。与对照组比较, 模型组动脉血 PCO_2 无明显变化; 休克后 2 h 的 ED 各组动脉血 PCO_2 降低, ED 高、中、低剂量组 PCO_2 明显低于对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$), 见表 1。

由表 1 可见脓毒性休克后 BE-B 和 BE-ECF 逐渐降低并低于对照组; ED 各剂量组的 BE-B 和 BE-ECF 也处于较低水平。与对照组比较, 休克后 2 h ED 高、低剂量组以及休克后 4 h ED 低剂量组 BE-B 降低显著 ($P < 0.05$)。休克后 2, 4 h ED

表 1 ED 对兔脓毒性休克后各时间点的动脉血 pH, PO_2 , PCO_2 , BE-B, BE-ECF, HCO_3^- 的影响 $n = 6, \bar{x} \pm s$

指 标	组 别	LPS后0 h	LPS后2 h	LPS后4 h	LPS后6 h
pH	对照	7.49 ± 0.04	7.42 ± 0.04	7.43 ± 0.03	7.42 ± 0.04
	模型	7.47 ± 0.04 ^a	7.40 ± 0.07 ^a	7.33 ± 0.04 ^a	7.27 ± 0.07 ^a
	高剂量	7.47 ± 0.04 ^{ad}	7.41 ± 0.06 ^{cd}	7.38 ± 0.02 ^{cd}	7.37 ± 0.03 ^{bc}
	中剂量	7.46 ± 0.04 ^{ad}	7.39 ± 0.05 ^{ad}	7.38 ± 0.07 ^{cd}	7.35 ± 0.06 ^{cd}
	低剂量	7.47 ± 0.04 ^{ad}	7.38 ± 0.06 ^{cd}	7.38 ± 0.05 ^{ad}	7.40 ± 0.06 ^{bc}
	阳性药	7.46 ± 0.04 ^{ad}	7.36 ± 0.07 ^{ad}	7.37 ± 0.07 ^{bd}	7.24 ± 0.17 ^{bc}
	PO_2 /kPa	对照	11.5 ± 1.0	16.3 ± 2.1	18.1 ± 1.6
模型		12.7 ± 0.8 ^a	12.3 ± 1.4 ^b	11.2 ± 0.9 ^a	11.90 ± 0.14 ^b
高剂量		13.0 ± 0.9 ^{ad}	17.7 ± 2.6 ^{ad}	17.2 ± 2.0 ^{af}	17.8 ± 2.5 ^{ef}
中剂量		14.3 ± 2.6 ^{ad}	17.8 ± 1.5 ^{af}	18.6 ± 2.8 ^{ef}	18.5 ± 1.9 ^{ef}
低剂量		13.4 ± 0.6 ^{ad}	18.3 ± 0.9 ^{af}	18.0 ± 1.5 ^{ef}	15.2 ± 1.6 ^{cd}
阳性药		14.3 ± 1.9 ^{ad}	16.4 ± 1.9 ^{af}	18.2 ± 2.2 ^{ef}	15.8 ± 2.0 ^{bc}
PO_2 /kPa		对照	3.4 ± 0.3	3.1 ± 0.4	2.20 ± 0.14
	模型	3.43 ± 0.1 ^a	2.81 ± 0.24 ^a	2.34 ± 0.29 ^a	2.01 ± 0.19 ^a
	高剂量	3.5 ± 0.3 ^{ad}	2.10 ± 0.3 ^{cd}	2.09 ± 0.25 ^{ad}	1.9 ± 0.4 ^{ad}
	中剂量	3.4 ± 0.4 ^{ad}	2.31 ± 0.20 ^{bd}	2.5 ± 0.3 ^{ad}	2.96 ± 0.19 ^{ad}
	低剂量	3.4 ± 0.4 ^{ad}	2.0 ± 0.3 ^{cd}	1.80 ± 0.21 ^{ad}	1.65 ± 0.22 ^{ad}
	阳性药	3.4 ± 0.4 ^{ad}	2.16 ± 0.23 ^{bd}	2.0 ± 0.4 ^{ad}	2.58 ± 0.20 ^{ad}
	BE-B/mmole · L ⁻¹	对照	-1.0 ± 0.6	-5.4 ± 0.4	-7.9 ± 0.5
模型		-2.13 ± 0.26 ^a	-8.9 ± 1.7 ^a	-13.0 ± 0.6 ^a	-11.2 ± 0.9 ^a
高剂量		-2.3 ± 0.8 ^{ad}	-11.5 ± 1.2 ^{bd}	-12.0 ± 4.0 ^{ad}	-11.6 ± 1.9 ^{ad}
中剂量		-1.8 ± 0.9 ^{ad}	-9.8 ± 1.4 ^{ad}	-12.0 ± 1.4 ^{ad}	-4.43 ± 0.15 ^{ad}
低剂量		-2.650 ± 0.010 ^{ad}	-12.8 ± 1.1 ^{bd}	-19.2 ± 1.0 ^{bd}	-15.0 ± 1.4 ^{ad}
阳性药		-1.8 ± 0.9 ^{ad}	-14.1 ± 1.7 ^{bd}	-14.1 ± 2.5 ^{ad}	-17.5 ± 1.3 ^{ad}
BE-ECF/mmole · L ⁻¹		对照	-3.63 ± 0.03	-9.1 ± 2.6	-11.6 ± 1.6
	模型	-4.85 ± 0.09 ^a	-12 ± 3 ^a	-16 ± 5 ^b	-16.2 ± 2.1 ^a
	高剂量	-4.2 ± 0.8 ^{ad}	-15.4 ± 2.4 ^{cd}	-17.2 ± 2.2 ^{cd}	-17.8 ± 2.3 ^{ad}
	中剂量	-4.5 ± 0.8 ^{ad}	-14.5 ± 1.9 ^{bd}	-16 ± 4 ^{bd}	-17.1 ± 1.3 ^{ad}
	低剂量	-3.8 ± 0.4 ^{ad}	-16.0 ± 1.0 ^{cd}	-17.6 ± 1.5 ^{cd}	-17.7 ± 2.8 ^{ad}
	阳性药	-4.5 ± 0.8 ^{ad}	-15.3 ± 2.4 ^{cd}	-16.8 ± 2.6 ^{bd}	-20 ± 4 ^{ad}
	HCO_3^- /mmole · L ⁻¹	对照	20.5 ± 0.9	15.6 ± 1.2	13 ± 4
模型		19.0 ± 1.7 ^a	12.9 ± 2.9 ^a	10.5 ± 2.6 ^a	11 ± 3 ^a
高剂量		19.5 ± 1.6 ^{ad}	9.5 ± 1.8 ^{bd}	8.7 ± 1.0 ^{bd}	8.3 ± 1.3 ^{ad}
中剂量		19.2 ± 2.4 ^{ad}	11.8 ± 1.6 ^{cd}	8.9 ± 0.8 ^{ad}	11 ± 4 ^{ad}
低剂量		19.1 ± 2.4 ^{ad}	9.1 ± 1.6 ^{bd}	7.6 ± 1.7 ^{bd}	7.5 ± 1.5 ^{bd}
阳性药		18.6 ± 1.0 ^{ad}	8.9 ± 1.8 ^{cd}	8.5 ± 1.2 ^{bd}	7.8 ± 1.8 ^{ad}

经方差分析, 两两比较: 模型组及治疗组与对照组比较, ^a $P > 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 治疗组与模型组比较, ^d $P > 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; 用药组间比较, $P > 0.05$

高、低剂量组 BE-ECF 降低非常显著 ($P < 0.01$), ED 中剂量组的 BE-ECF 也有下降 ($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组 HCO_3^- 浓度略有下降,而 ED 高剂量组在休克后 2, 4 h 的 HCO_3^- 浓度明显低于对照组 ($P < 0.05$)。

生化指标变化 各组生化指标变化如表 2 所示,模型组 SOD 活性在休克 2 h 后的各时间点均明显低于对照组 ($P < 0.01$); ED 各剂量组均可显著增强 SOD 活性 ($P < 0.01$)。休克后 MDA 升高,以 6 h

时增加明显 ($P < 0.05$), ED 高剂量组可使休克 2 h 后各时间点的 MDA 明显低于模型组 ($P < 0.05$),中剂量组仅使休克后 2 h 的 MDA 降低 ($P < 0.05$),低剂量组也可使 MDA 浓度降低但无统计学意义。模型组的 CAT 活性低于对照组,ED 各剂量均可升高 CAT 活性,以高剂量组在休克后 4 h 时的作用明显 ($P < 0.05$)。由表 2 可见模型组血 LD、LDH、BUN 和 Cr 随休克时间延长逐渐升高,在 6 h 时 LD 升高显著 ($P < 0.05$),ED 各剂量组在 6 h 均有

表 2 ED 对兔脓毒性休克各时间点血液 SOD, MDA, CAT, LD, LDH, BUN, Cr 的影响 $n = 6, \bar{x} \pm s$

指标	组别	LPS后0 h	LPS后2 h	LPS后4 h	LPS后6 h
SOD/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	57.1 ± 2.5	47.6 ± 1.9	50 ± 7	52 ± 3
	模型	56.5 ± 2.9 ^a	23.6 ± 2.8 ^c	27 ± 6 ^c	29.3 ± 2.0 ^c
	高剂量	58.4 ± 1.2 nd	53 ± 3 ^{af}	54 ± 3 ^{af}	52.3 ± 2.9 ^{af}
	中剂量	57.6 ± 2.2 nd	51.8 ± 1.4 ^{af}	47 ± 4 ^{af}	50 ± 6 ^{af}
	低剂量	55.2 ± 2.0 nd	50.1 ± 2.6 ^{af}	45.1 ± 1.5 ^{af}	44 ± 8 ^{ec}
	阳性药	55.2 ± 2.0 nd	51 ± 5 ^{af}	47 ± 7 ^{af}	41.1 ± 2.2 ^{ec}
MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	3.5 ± 0.7	5.2 ± 0.9	4.5 ± 0.6	2.7 ± 0.4
	模型	3.6 ± 1.6 ^a	13.6 ± 1.8 ^b	8.4 ± 0.9 ^a	9.0 ± 0.7 ^b
	高剂量	2.64 ± 0.03 nd	3.4 ± 0.8 ^{ec}	4.2 ± 1.6 ^{ec}	2.7 ± 2.0 ^{ec}
	中剂量	2.7 ± 1.0 nd	3.6 ± 0.5 ^{ec}	4.7 ± 0.6 nd	3.33 ± 0.18 nd
	低剂量	3.0 ± 1.0 nd	4.5 ± 0.5 nd	5.5 ± 1.0 nd	4.2 ± 0.6 nd
	阳性药	2.7 ± 1.0 nd	11.7 ± 1.4 nd	8.4 ± 0.8 nd	9.9 ± 1.5 ^{ec}
CAT/ $\mu\text{KU} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	32.3 ± 1.1	22 ± 3	27.2 ± 1.8	28 ± 6
	模型	20.0 ± 2.6 ^a	19 ± 4 ^a	14.6 ± 2.4 ^a	18.7 ± 1.4 ^c
	高剂量	30.6 ± 1.8 ^{ec}	27.8 ± 1.9 nd	30 ± 4 ^{ec}	33 ± 8 nd
	中剂量	22.4 ± 2.2 nd	27.3 ± 1.9 nd	29.1 ± 1.1 nd	31 ± 4 nd
	低剂量	22.3 ± 1.9 nd	23 ± 5 nd	27 ± 5 nd	29.3 ± 2.1 nd
	阳性药	18.7 ± 1.2 nd	21.0 ± 1.6 nd	34.7 ± 2.2 ^{ec}	37 ± 5 ^{ec}
LD/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	4.6 ± 0.5	6.4 ± 1.1	11.1 ± 0.7	9.4 ± 1.3
	模型	4.3 ± 1.6 ^a	8.2 ± 0.7 ^a	12.2 ± 1.8 ^b	13.7 ± 1.3 ^b
	高剂量	4.6 ± 1.8 nd	6.6 ± 1.4 nd	7.38 ± 0.14 nd	7.5 ± 0.6 ^{af}
	中剂量	5.0 ± 0.5 nd	7.5 ± 0.5 nd	8.5 ± 1.4 nd	9.2 ± 2.8 ^{ec}
	低剂量	3.51 ± 0.28 nd	8.9 ± 0.4 nd	9.8 ± 1.5 nd	10 ± 3 ^{ec}
	阳性药	5.0 ± 1.5 nd	7.0 ± 1.6 nd	7.2 ± 1.8 ^{ec}	9.7 ± 2.8 ^{ec}
LDH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	753 ± 26	763 ± 25	729 ± 53	742 ± 39
	模型	729 ± 65 ^a	1 515 ± 80 ^b	1 855 ± 123 ^b	2 397 ± 90 ^c
	高剂量	604 ± 24 nd	428 ± 55 ^{ec}	610 ± 80 ^{af}	672 ± 50 ^{af}
	中剂量	944 ± 55 nd	1 348 ± 177 nd	1 638 ± 130 nd	911 ± 67 ^{af}
	低剂量	672 ± 73 nd	1 749 ± 192 nd	1 848 ± 277 nd	1 707 ± 152 nd
	阳性药	608 ± 54 nd	1 010 ± 83 nd	1 547 ± 69 nd	1 241 ± 197 ^{af}
BUN/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	141 ± 8	123 ± 74	118 ± 18	164 ± 33
	模型	161.0 ± 2.0 ^a	207 ± 25 ^b	261 ± 36 ^c	282 ± 23 ^b
	高剂量	152 ± 12 nd	134 ± 9 nd	206 ± 30 ^{af}	233 ± 57 nd
	中剂量	166 ± 7 nd	168 ± 11 nd	178 ± 13 ^{af}	216 ± 40 nd
	低剂量	159 ± 21 nd	183 ± 10 nd	224 ± 30 ^{af}	197 ± 16 ^{ec}
	阳性药	166 ± 7 nd	202 ± 51 ^{bd}	242 ± 21 ^{ec}	217 ± 20 nd
Cr/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	对照	97 ± 13	126 ± 15	156 ± 29	140 ± 16
	模型	112 ± 9 ^a	119 ± 13 ^a	245 ± 12 ^b	217 ± 17 ^a
	高剂量	87 ± 10 nd	121 ± 13 nd	87 ± 9 ^{af}	171 ± 23 nd
	中剂量	107 ± 5 nd	142 ± 25 nd	109 ± 7 ^{af}	139 ± 19 nd
	低剂量	109 ± 14 nd	83 ± 19 nd	139 ± 12 ^{ec}	124 ± 14 ^{ec}
	阳性药	107 ± 5 nd	93 ± 17 nd	123 ± 18 ^{af}	161 ± 19 nd

经方差分析, 两两比较: 模型组、治疗组与对照组比较, ^a $P > 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 治疗组与模型组比较, ^d $P > 0.05$, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$; 用药组间比较, $P > 0.05$

不同程度降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); LDH 在休克后 4, 6 h 明显增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而 ED 高剂量组的 LDH 在休克后 2, 4, 6 h 明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 中剂量组的 LDH 在休克后 6 h 也有明显降低 ($P < 0.01$)。模型组 BUN 含量在 2 h 后各时间点显著高于对照组 ($P < 0.05$), ED 各剂量的 BUN 在休克后 4 h 降低非常明显 ($P < 0.01$), 休克后 6 h 时低剂量组 BUN 降低明显 ($P < 0.05$)。模型组 Cr 升高但未见明显差异, ED 各剂量组在休克后 4 h 时 Cr 明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。动物死亡率 在内毒素致休克后 24 h, 模型组死亡率为 70% (7/10), ED 高、中、低剂量组分别为 0 (0/6), 0 (0/6) 和 33% (2/6), 高、中剂量组与模型组比较差异非常显著 ($P < 0.01$)。屈曲可近 α 组的动物死亡率为 33% (2/6)。

讨 论

脓毒症的始动病因为菌体膜内毒素释放入血导致内毒素血症, 内毒素通过炎性细胞可引起一系列的级联放大反应, 使细胞因子生成增加、中性粒细胞呼吸爆发功能增强、微循环及凝血功能紊乱等, 从而造成全身性炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、脓毒性休克、多脏器功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) 和死亡。在此病理过程中, 中性粒细胞等吞噬细胞呼吸爆发产生的 ROS 分泌到细胞外, 造成周围细胞和组织损伤, 成为大部分炎症和缺血再灌注损伤的主要原因^[6]。临床研究发现, 脓毒症及 MODS 的生存率与体内抗氧化能力密切相关^[7], 动物实验也证实抗氧化剂如谷胱甘肽、*N*-乙酰半胱氨酸可提高内毒素血症动物生存率, 降低细胞因子和黏附分子表达, 减少活性氧生成并抑制细胞膜脂质过氧化, 保护细胞结构和功能, 抑制细胞核转录因子 NF- κ B 激活。临床治疗证实大剂量谷胱甘肽加 *N*-乙酰半胱氨酸可明显减少脓毒性休克病人血液中的活性氧浓度, 改善心功能指数及减少并发 ARDS 病人的肺损伤, 但是对减少死亡率作用不明显^[7-9]。

ED 是新型自由基清除剂及抗氧化剂, 可抑制 H_2O_2 和 Fe^{2+} 反应产生的细胞损伤因子 $\cdot OH$, 对水杨酸和 $\cdot OH$ 的反应产物 2, 3-DHBA 的生成具有抑制作用, 对 $\cdot OH$ 所致的亚油酸过氧化有抑制作用^[10], 并具有起效快、 $t_{1/2}$ 短、分布广、毒性小等特点。

本研究结果表明家兔脓毒性休克 4 h 后出现代谢性酸中毒合并呼吸性酸中毒, 血液中 SOD、CAT 活性明显降低, LD、LDH、BUN 和 MDA 显著升高, 死亡率明显升高, 提示家兔脓毒性休克后体内厌氧代谢增加, 组织、细胞受损, 其原因主要与脓毒性休克后机体 ROS 大量产生及机体抗氧化能力降低有关。单纯用生理盐水治疗效果不佳。而不同剂量 ED 治疗后, 可以升高血液 SOD, 降低 MDA 水平, 不同程度地改善血气、酸碱平衡紊乱, 并使脓毒性休克家兔血浆中 LD 和 LDH 浓度减少, 治疗后动物死亡率低于模型组。表明 ED 用于脓毒性休克的治疗后, 可以增强机体抗氧化能力, 减少脂质过氧化作用, 降低 SIRS 反应时 ROS 对机体组织和器官的再次损伤。本研究中 ED 对家兔脓毒性休克治疗的显效剂量为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。另有研究^[1]发现 ED 可减少自由基和炎症因子损伤毛细血管内皮细胞, 改善微循环功能, 提高组织有氧代谢, 因此缓解了代谢性酸中毒症状。

我们首次报道了新型自由基清除剂 ED 有改善家兔脓毒性休克后酸碱代谢平衡紊乱、降低死亡率等结果, 本文作者还作了该药对重要器官的功能和病理的影响等研究, 其结果也将发表。由于该药在临床应用中无严重的毒性作用, 表明这一新型药物在脓毒症、脓毒性休克及 MODS 的治疗中具有广阔的应用前景和研究价值。

[参考文献]

- [1] SMITH JA. Neutrophils, host defense, and inflammation: a double edged sword[J]. J Leu Biol, 1994, 56(6):672-686.
- [2] 阳清伟, 刘 鸣, 张世波, 等. 依达拉非治疗急性脑梗死的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2006, 6(1):26-30.
- [3] 顾学兰, 丁新生, 狄 晴, 等. 依达拉非注射液治疗急性脑梗死的临床疗效评价[J]. 中国新药与临床杂志, 2005, 24(2): 113-116.
- [4] KONO H, ASAKAWA M, FUJII H, *et al.* Edaravone, a novel free radical scavenger, prevents liver injury and mortality in rats administered endotoxin[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2003, 307(1):74-82.
- [5] 刘世坤, 尤家驷. 休克模型[M]//徐叔云, 卞如廉, 陈 修. 药理学实验方法学. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:961-963.
- [6] COWLEY HC, BACON PJ, GOODE HF, *et al.* Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors[J]. Crit Care Med, 1996, 24(7):1179-1183.
- [7] ORTOLANI O, CONTI A, de GAUDIO AR, *et al.* The effect of glutathione and *N*-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in

- patients with early septic shock[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(6):1907-1911.
- [8] PEAKE SL, MORAN JL, LEPPARD PI, *et al*. *N*-acetyl-*L*-cysteine depresses cardiac performance in patients with septic shock [J]. *Crit Care Med*, 1996, 24(8):1302-1310.
- [9] BERNARD GR, WHEELER AP, ARONS MM, *et al*. A trial of antioxidants *N*-acetylcysteine and procysteine in ARDS[J]. *Chest*, 1997, 112(1):164-172.
- [10] KONO H, FUJII H, MATSUDA M, *et al*. Gadolinium chloride prevents mortality in hepatectomized rats given endotoxin[J]. *J Surg Res*. 2001, 96(2): 204-210.

[文章编号]1007-7669(2007)01-0022-04

加替沙星软胶囊及分散片在犬体内的药动学特征和生物等效性研究

李 想¹, 鞠承乙¹, 郭 宏^{1,2}, 吴 衡¹, 聂淑芳¹, 潘卫三^{1*}

(1.沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016; 2.佳木斯大学 化学与药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

[关键词] 加替沙星; 狗; 药动学; 生物等效性; 软胶囊; 分散片

[摘要] 目的: 采用反相高效液相色谱法研究加替沙星软胶囊及分散片在 Beagle 犬体内的药动学特征, 评价各制剂间的生物等效性。方法: 6 只 Beagle 犬三周期交叉实验设计, 分别口服给予自制加替沙星软胶囊(受试制剂)、分散片(受试制剂)及加替沙星薄膜衣片(参比制剂)各 200 mg, 按时间点采集血样进行分析, 绘制血药质量浓度-时间曲线, 计算相关药动学参数。结果: 加替沙星软胶囊、分散片及参比制剂在 Beagle 犬体内符合一级吸收的一室代谢模型, 主要药动学参数 t_{\max} 分别为 (1.6 ± 1.0) , (1.5 ± 0.3) , (2.0 ± 0.3) h; c_{\max} 分别为 (10.6 ± 1.6) , (10.8 ± 1.5) , (11.1 ± 1.1) mg·L⁻¹; $t_{1/2}$ 分别为 (9.0 ± 2.2) , (9.2 ± 1.1) , (9.5 ± 1.2) h; AUC_{0-36} 分别为 (132 ± 30) , (138 ± 28) , (133 ± 32) mg·h·L⁻¹, 2 种受试制剂的相对生物利用度分别为 (104 ± 34) % 和 (104 ± 23) %。结论: 方差分析、双单测 *t* 检验和 90 % 置信区间检验结果显示, 自制加替沙星软胶囊和分散片与薄膜衣片之间生物等效。

[中图分类号] R943 [文献标识码] A

Study on pharmacokinetics and bioequivalence of gatifloxacin soft gelatin capsules and dispersed tablets in Beagle dogs

LI Xiang¹, JU Cheng-yi¹, GUO hong^{1,2}, WU heng¹, NIE Shu-fang¹, PAN Wei-san^{1*}

(1.School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang LIAONING 110016, China; 2.School of Chemistry & Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi HEILONGJIANG 154007, China)

[KEY WORDS] gatifloxacin; dogs; pharmacokinetics; bioequivalence; soft gelatin capsules; dispersed tab-lets

[收稿日期] 2006-04-18 [接受日期] 2006-09-29

[作者简介] 李 想 (1982-), 女, 辽宁沈阳人, 硕士研究生, 主要从事药物制剂的研究; 潘卫三 (1958-), 男, 教授, 博士生导师, 本刊编委, 主要从事药物制剂的研究。

[联系人] 潘卫三. Phn: 86-24-2395-3241. E-mail: ppwss@163.com

*通讯作者