

盐酸左氧氟沙星胶囊人体药物动力学与生物利用度研究

李见春, 马 涛, 祝晓光, 蒋志文

[摘要]目的: 研究盐酸左氧氟沙星胶囊健康人体的药物动力学与生物利用度。方法: 高效液相色谱(HPLC)法测定 20名健康受试者单剂量口服两种盐酸左氧氟沙星胶囊(受试制剂和参比制剂)的药时数值, 以 DAS 1.0 软件拟合其药动学参数, 用方差分析和双侧 *t* 检验法检验其等效性。结果: 受试制剂与参比制剂的药动学参数分别为: $t_{1/2}$ (5.24 ± 1.58) h 和 (5.50 ± 2.05) h, C_{max} (2.75 ± 0.61) mg/L 和 (2.55 ± 0.61) mg/L, T_{max} (0.99 ± 0.56) h 和 (1.05 ± 0.54) h, AUC_{0-24} (21.53 ± 3.36) mg·L⁻¹·h⁻¹ 和 (20.61 ± 3.67) mg·L⁻¹·h⁻¹, $AUC_{0-∞}$ (23.87 ± 3.92) mg·L⁻¹·h⁻¹ 和 $AUC_{0-∞}$ (23.05 ± 4.45) mg·L⁻¹·h⁻¹。受试制剂的相对生物利用度为 (108.82 ± 30.75)%。结论: 两种不同厂家的盐酸左氧氟沙星胶囊具有生物等效性。

[关键词] 盐酸左氧氟沙星胶囊; 高效液相色谱法; 生物等效性

[中国图书资料分类号] R 969.1 [文献标识码] A

The pharmacokinetics and relative bioavailability of levofloxacin hydrochloride capsule in healthy volunteers

LI Jian chun MA Tao ZHU Xiao guang JIANG Zhi wen

(Department of Pharmaceutics Bengbu Medical College Bengbu 233030 China)

[Abstract] **Objective** To investigate the pharmacokinetics and bioequivalence of levofloxacin hydrochloric capsule. **Method** Twenty healthy subjects took oral levofloxacin hydrochloric capsule in the case. The high performance liquid chromatography (HPLC) method was established to determine blood serum concentration and the bioequivalence of the two formulations were evaluated by the analysis of variance and the two one-sided *t* test with DAS 1.0. **Results** The pharmacokinetic parameters of the testee and references were as follows: $t_{1/2}$ (5.24 ± 1.58) h and (5.50 ± 2.05) h, C_{max} (2.75 ± 0.61) mg/L and (2.55 ± 0.61) mg/L, T_{max} (0.99 ± 0.56) h and (1.05 ± 0.54) h, AUC_{0-24} (21.53 ± 3.36) mg·L⁻¹·h⁻¹ and (20.61 ± 3.67) mg·L⁻¹·h⁻¹, $AUC_{0-∞}$ (23.87 ± 3.92) mg·L⁻¹·h⁻¹ and (23.05 ± 4.45) mg·L⁻¹·h⁻¹, respectively. Relative bioavailability was (108.82 ± 30.75)%. **Conclusion** The two preparations are of bioequivalence.

[Key words] levofloxacin hydrochloric capsule; high performance liquid chromatography; bioequivalence

左旋氧氟沙星 (levofloxacin) 是氧氟沙星的 S (-) 对映体, 具有广谱高效的抗菌作用, 抗菌活性是氧氟沙星的 2 倍, 而毒副作用比氧氟沙星更小, 且口服吸收完全, 血药浓度较高^[1]。该药首先由日本研制开发, 在国内外已广泛用于临床。本文用高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 法^[2,3] 研究 20 名健康受试者交叉单剂量口服两个不同厂家生产的左旋氧氟沙星胶囊的药物动力学及其人体生物利用度, 并观察其等效性, 现作报道。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 受试制剂: 盐酸左氧氟沙星胶囊, 每粒 0.1 g 批号 030614 安徽丰原药业股份有

限公司研制。参比制剂: 盐酸左氧氟沙星胶囊 (左克), 每粒 0.1 g 批号 04052201, 扬子江药业集团有限公司; 盐酸左氧氟沙星对照品 (含量 99.4%) 由安徽丰原药业股份有限公司提供; 盐酸洛美沙星 (内标), 批号: 0142-9503 中国药品生物制品检定所。乙腈 (TEDA 公司), 色谱纯; 柠檬酸 (上海东懿化学试剂公司)、醋酸胺 (南京化学试剂厂)、三氯乙酸 (天津市大茂化学仪器供应站), 分析纯; 多蒸水自制。

1.2 仪器 液相色谱仪 LC-10ADvp 泵 LG-10ATvp, 紫外监测器 SPD-10ATvp, 保护柱套, 均为苏州岛津公司产品; N2000 色谱工作站, 浙江大学智达信息工程有限公司产品; 柱温箱 AT130 天津奥特公司产品; ALC4239R 型高速离心机, 意大利产。

1.3 研究对象 20 名健康志愿受试者均为在校学生, 体重 (65.1 ± 5.01) kg, 年龄 (22.1 ± 1.8) 岁。试验前被告知所有与药物可能有关的不良反应后, 自愿签署知情同意书。受试者均无药物过敏史, 无肝、肾疾病史, 精神状态良好, 全面体格检查均正常 (包括心电图、心率、血压、肾功能、肝功能、胸透、血常规

[收稿日期] 2005-09-23

[作者单位] 蚌埠医学院 药剂学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 李见春 (1973-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 药物新剂型及药物动力学。

[通讯作者] 蒋志文 (1951-), 男, 教授, 研究方向: 分子生化药理和药物动力学。

及尿常规等)。试验前 2 周内及试验期内无用药史并禁烟酒。

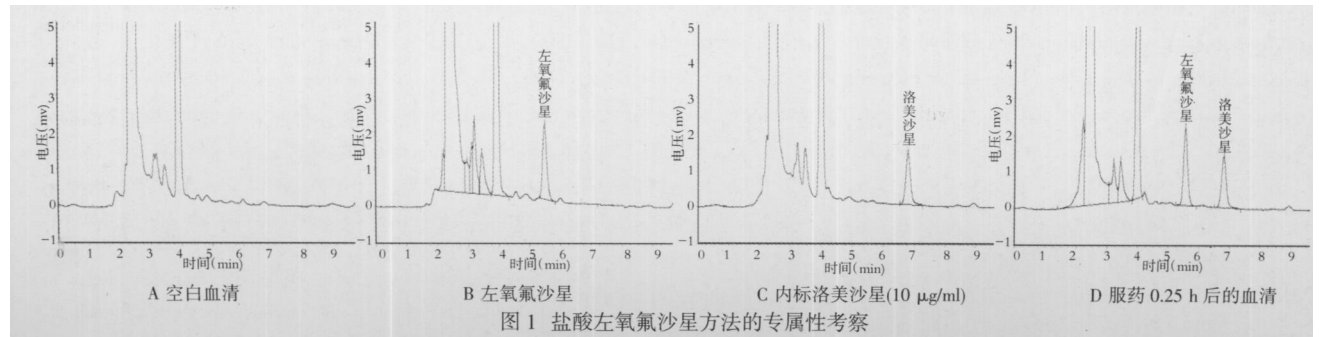
1.4 试验设计 20 名受试者根据体重系数,由 DAS 1.0 软件(孙瑞元教授编)随机分成两组,每组 10 名。服药前禁食过夜(10 h 以上),于次日早晨 7:30 空腹单剂量口服受试制剂(T)和参比制剂(R) 0.2 g 用 200 ml 温开水送服。分别在给药前(0)及给药后 0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、10、12、24 h 从志愿者肘静脉取血 3 ml 血样 4 000 r/min 离心,取血清 1 ml 置 1.5 ml 塑料离心管中, -20°C 储存。服药后 2 h 适量饮水, 4、10 h 统一进清淡饮食。受试者服药后在观察室停留 12 h。在临床医生的监护下,观察受试者不良反应发生情况以及一般情况。一旦出现严重的不良反应,应采取相应的急救措施,并及时记录。受试者在服药后避免剧烈活动,亦不得长时间卧床。1 周后两组交叉给药,方法同前。

1.5 色谱条件 色谱柱: KromasilTM C18 柱 250 mm

$\times 4.6\text{ mm } 5\ \mu\text{m}$; 保护柱: C18 柱(均为天津市特纳科学仪器有限公司产品); 流动相: 乙腈 : 50 mmol/L 柠檬酸水溶液 : 1 mol/L 醋酸铵溶液 (19 : 80 : 1), 流速 1.0 ml/min, 柱温: 50°C , 检测波长 295 nm, 灵敏度 0.01 AUFS

1.6 血清样品处理方法 精密吸取血清 0.5 ml 置于 1.5 ml 具塞离心管中, 精密加入洛美沙星内标溶液 (10 $\mu\text{g/ml}$) 20 μl 涡旋 1 min, 精密加入 100 mg/ml 的三氯乙酸提取液 0.2 ml 涡旋 2 min, 12 000 g 高速离心 10 min, 取上清液 20 μl 进样。

1.7 专属性考察 空白人血清、左氧氟沙星标准品、内标和口服左氧氟沙星片后的血清经 1.6 项下的方法处理后进样分析得到的色谱图见图 1。由图可见血清中杂质峰不干扰左氧氟沙星的测定。左氧氟沙星的保留时间约为 5.54 min, 内标(洛美沙星)的保留时间约为 6.72 min, 左氧氟沙星峰及内标峰与杂质峰可完全分离。本方法具有较高的专属性。



1.8 标准曲线的制备 精密吸取不同浓度的对照品溶液 0.5 ml 于 8 个带盖 1.5 ml 离心管中, 氮气吹干, 以空白血清配成每毫升含待测盐酸左氧氟沙星为 0.1、0.2、0.4、1、2、4、10、20 μg 的对照血清样本。按“血清样品处理方法”自“精密加入洛美沙星内标溶液 (10 $\mu\text{g/ml}$) 20 μl ”起同法操作进行分析, 建立标准曲线。以盐酸左氧氟沙星峰面积 (A_i) 与内标物峰面积 (A_s) 的比值 (A_i/A_s) 对浓度 ($C, \mu\text{g/ml}$) 进行线性回归。共测得三条标准曲线, 结果表明在 0.1 ~ 20 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性良好, 可包括盐酸左氧氟沙星在人体内的血药浓度, 其平均线性回归方程为: $Y = 2.3519X + 0.3709 (n=3, r=0.9974)$ 。最低定量浓度为 0.1 $\mu\text{g/ml}$ ($n=3$), 相对标准偏差 (RSD) = 11.94%。

1.9 精密度与回收率 以空白血清配制低、中、高 (0.4、2 和 10 $\mu\text{g/ml}$) 3 个不同浓度的左氧氟沙星标准系列, 每一浓度进行五样本分析, 按“1.6 样本处理”项下操作, 计算日内、日间变异系数、相对回收率, 评价方法的精密度。血清样品低、中、高三个浓

度日内及日间变异均 $< 15\%$, 低、中、高三个浓度的回收率在 65.58% ~ 66.40%。

1.10 稳定性考察 按标准曲线配制方法配制浓度分别为 0.2、2 和 10 $\mu\text{g/ml}$ 的血清质控样品, 每个浓度各三份, 一份立即按“血清样品处理”项操作; 第二份室温放置 12 h 后, 按“血清样品处理”项下操作, 考察样品在室温条件下的稳定性; 第三份于 -20°C 保存 7 天后, 用 37°C 水浴解冻, 按“血清样品处理”项操作, 测定血清中药物浓度, 考察样品在冷冻条件下的稳定性。结果显示 RSD 均 $< 15\%$, 表明血清样品在室温放置和冷冻储存情况下稳定。

1.11 样品测定过程中的随行标准曲线及质量控制 为减少系统误差, 每批样品分析时, 建立随行标准曲线计算血药浓度, 并每天测定质控样品。符合要求才可进行血药浓度的检测。

1.12 统计学方法 根据所测左氧氟沙星血药浓度-时间数据, 利用 DAS 1.0 药代动力学程序, 计算左氧氟沙星参比制剂和试验制剂的主要药动学参数, 并进行方差分析、双向单侧 t 检验法和 $(1-2\alpha)$ 置信区间分析, 评价两种制剂的生物等效性。

2 结果

2.1 血药浓度-时间数据 20名受试者口服受试制剂和参比制剂后盐酸左氧氟沙星平均血药浓度-时间曲线见图 2 可见两制剂的血药浓度随时间变化趋势相近。

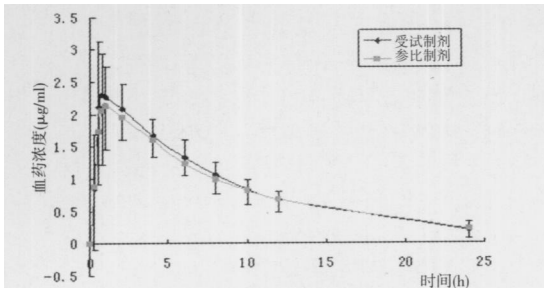


图 2 20名受试者口服盐酸左氧氟沙星胶囊试验药和参比药后的平均血药浓度-时间曲线

2.2 药动学参数计算 根据所测左氧氟沙星血药浓度-时间数据,利用 DAS 1.0 药动学程序计算主要药动学参数 $t_{1/2}$, AUC_{0-24} , $AUC_{0-\infty}$ 等(见表 1),其中 C_{max} 和 t_{max} 为实测值,相对生物利用度为根据 $AUC_{0-24}(T) / AUC_{0-24}(R) \times 100\%$ 计算,其结果为 $(108.82 \pm 30.75)\%$ 。

2.3 生物等效性评价 两种制剂的 $\ln(AUC_{0-24})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 、 $\ln(C_{max})$ 经方差分析显示药剂间、周期间、个体间差异均无统计学意义。经双侧 t 检验, AUC_{0-24} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 的 $(1-2\alpha)$ 置信区间在 $80\% \sim 125\%$ 范围内, T_{max} 非参数检验结果表明药剂间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 受试者口服两种盐酸左氧氟沙星胶囊后药动学参数比较 ($n_i = 10, \bar{x} \pm s$)

制剂类型	AUC_{0-24} ($mg \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($mg \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$)	T_{max} (h)	C_{max} (mg/L)	$t_{1/2}$ (h)
受试制剂	21.53 ± 3.36	23.87 ± 3.92	0.99 ± 0.56	2.75 ± 0.61	5.24 ± 1.58
参比制剂	20.61 ± 3.67	23.05 ± 4.45	1.05 ± 0.54	2.55 ± 0.61	5.5 ± 2.05
t	0.58	0.44	0.24	0.73	0.32
P	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

3 讨论

本实验采用 HPLC 法测定游离血清中盐酸左氧氟沙星的浓度,血清样品直接用乙腈处理较用有机溶剂萃取^[4-8] 样本制备过程简单,测定方法精密度高,重现性好,能满足生物样品检测的要求。在本实验的色谱条件下,盐酸左氧氟沙星 5.54 min 出峰,峰型良好,无杂质干扰,基线稳定,适用于大样本量生物样本的自动进样测定。

20名健康志愿受试者口服受试制剂和参比制剂盐酸左氧氟沙星胶囊 0.2 g 主要药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-24} 、 $AUC_{0-\infty}$, 两制剂间差异均无统计学意义,可认为两制剂具有生物等效性。受试制剂的相对生物利用度为 $(108.82 \pm 30.75)\%$ 。

20名受试者两周周期服药后,均未发生不良反应。

[参 考 文 献]

- [1] Davis R, Bryson HM. Levofloxacin: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic efficacy [J]. *Drugs* 1994; 47(4): 677-700
- [2] Fish DN, Chow AT. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin [J]. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32(2): 101-119.
- [3] Lyon DJ, Cheung SW, Chan CY, et al. Rapid HPLC assay of ciprofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin and tosufloxacin [J]. *J Antimicrob Chemother* 1994; 34(3): 446-448.
- [4] Veho M, Mäkelä V, Damm D, et al. Pharmacokinetics of levofloxacin in comparison to the racemic mixture of ofloxacin in man [J]. *Drug Metabol Drug Interact* 1996; 13(1): 57.
- [5] 俞佳, 祁金文, 金戈, 等. 左氧氟沙星胶囊与片剂的人体生物等效性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2004; 21(3): 199-200.
- [6] 张震宇, 李雪宁, 陈伟力, 等. 乳酸左氧氟沙星片人体生物等效性试验 [J]. 中医药学刊, 2004; 22(6): 1080.
- [7] 谈恒山, 韩一波, 蔡明虹, 等. 乳酸左旋氧氟沙星胶囊人体生物利用度及其药物动力学 [J]. 中国医院药学杂志, 2000; 20(4): 202-204.
- [8] 周文, 李朝武, 薛玉英, 等. 国产盐酸左旋氧氟沙星分散片药代动力学及生物利用度研究 [J]. 中国药房, 2000; 11(4): 173-174.

吡那地尔对缺血心肌保护作用的实验研究(正文见 343 页)

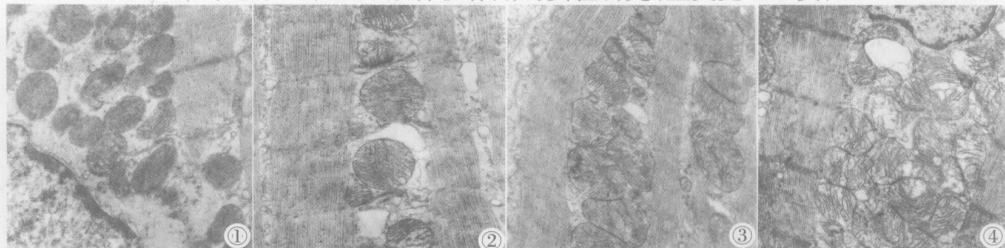


图 1 空白组心肌细胞的线粒体肿胀明显,嵴断裂,见空泡样变,核染色质凝聚明显 图 2 对照组线粒体肿胀较轻,肌节缩短,H带不明显,Z线模糊 图 3、4 实验组线粒体嵴清楚,染色质分布均匀,核膜完整糖元颗粒丰富