

[文章编号] 1000-2200(2008)01-0028-03

· 大学生科技园地 ·

阿奇霉素分散片人体生物等效性评价

耿新辉¹, 陈方剑¹, 陈建国¹, 于晶晶¹, 马涛¹, 李见春²

[摘要]目的:评价阿奇霉素分散片的人体生物等效性。方法:20名男性健康志愿者随机交叉口服阿奇霉素分散片受试制剂和参比制剂各500 mg,采用高效液相色谱-质谱法(LC-MS)测定血药浓度。以DAS 2.0软件计算其药动学参数,考察其生物等效性。结果:阿奇霉素分散片受试制剂和参比制剂的差异均无统计学意义($P > 0.05$)。以 AUC_{0-120h} 计算,受试阿奇霉素分散片相对生物利用度为 $(119.6 \pm 52.9)\%$ 。结论:阿奇霉素分散片受试制剂和参比制剂具有生物等效性。

[关键词] 生物学效用;阿奇霉素;高效液相色谱-质谱法

[中国图书资料分类法分类号] R 969.4; R 978.15 **[文献标识码]** A

Pharmacokinetics and bioequivalent of azithromycin dispersible tablets in healthy volunteers

GENG Xin-hui¹, CHEN Fang-jian¹, CHEN Jian-guo¹, YU Jing-jing¹, MA Tao¹, LI Jian-chun²

(1. 2003 Grade, Faculty of Pharmacy, 2. Department of Pharmaceutics, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] Objective: To evaluate the bioequivalence of two domestic preparations of azithromycin in healthy volunteers. Methods: A single oral dose of 500 mg test or reference formulations were given to 20 male healthy volunteers in a randomized cross-over design. The serum concentration of azithromycin was determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. Pharmacokinetic parameters and relative bioavailability were calculated by DAS program. Results: Pharmacokinetic parameters of test and reference were not statistically different ($P > 0.05$). The relative bioavailability of test was $(119.6 \pm 52.9)\%$. Conclusions: The test and reference formulations were bioequivalent.

[Key words] biological availability; azithromycin; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

阿奇霉素是新一代大环内酯类抗生素,其通过阻碍细菌转肽过程,从而抑制细菌蛋白质的合成,作用机制与红霉素相同,主要与细菌核糖体的50S亚单位结合,抑制依赖于RNA的蛋白合成^[1]。临床用于化脓性链球菌引起的急性咽炎、急性扁桃体炎;敏感细菌引起的鼻窦炎、中耳炎、急性支气管炎、慢性支气管炎急性发作等。本试验采用高效液相色谱-质谱法(LC-MS)对江苏苏中药业集团股份有限公司研制生产的阿奇霉素进行药代动力学研究,评价其与市售制剂是否生物等效。

1 材料与方 法

1.1 药品与试剂 受试制剂:阿奇霉素分散片,每片250 mg,批号:041123,江苏苏中药业集团股份有限公司研制;参比制剂:阿奇霉素分散片,每片250 mg,批号:20050922,江苏黄河药业股份有限公司;阿奇霉素对照品(每1 mg含阿奇霉素964 u),中国药品生物制品检定所;内标:红霉素对照品(每1 mg含红霉素946 u),中国药品生物制品检定所;甲醇、

异丙醇由MERCK公司生产;色谱纯;甲酸由宜兴市化学试剂三厂生产,分析纯;水:三重蒸馏水,自制。

1.2 仪器 美国Finnigan公司LCQ Advantage MAX(包括:ESI离子源, Surveyor LC pump, Surveyor Autosample, Xcalibur 1.3软件);ALC4239R型高速大容量台式离心机,意大利产。

1.3 研究对象 20名男性健康志愿者均为在校学生,体重 (65.2 ± 5.6) kg,年龄 (22.3 ± 1.9) 岁,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(其中包括肺部听诊、肝脾触诊、心电图、心率、血压、肾功能、肝功能、血常规及尿常规等)。受试者在被告知所有与药物有关可能的不良反应后,自愿签署知情同意书。受试者在受试前两周至整个试验过程未服用别的药物,禁烟酒。

1.4 试验设计 20名受试者根据体重系数随机分成两组,每组10名,服药前禁食10 h以上,于次日早晨7:30分别空腹服用阿奇霉素分散片500 mg,用200 ml温开水送服。分别在给药前及给药后0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24、48、72、96、120 h从受试者肘静脉采血约3 ml。血样经离心取血清,置-20℃冰箱中保存待测。测试者服药后在观察室中停留12 h,服药2 h后方可适量饮水,4 h后统一进标准餐。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。受试者在服药后避免剧烈活动,亦不得长时间卧床。2周后两组交叉给

[收稿日期] 2007-06-04

[作者单位] 蚌埠医学院 1. 药系 2003 级; 2. 药剂学教研室, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 耿新辉(1985-),男,学生。

[通讯作者] 李见春, 硕士, 讲师。

药,方法同前。

1.5 血药浓度测定

1.5.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Luna CN 柱,2.0 mm × 100 mm,3 μm(广州菲罗门科学仪器有限公司);流动相:甲醇:异丙醇:水(含 0.1% 甲酸) = 65:5:30;流速 0.2 ml/min;柱温为 20 °C。

1.5.2 质谱条件 离子源为 ESI 源;电喷雾电压 4.5 kV;加热毛细管温度 270 °C;正离子方式检测,扫描方式为选择反应监测(SRM),用于定量的离子为阿奇霉素 m/z 749.4 和内标红霉素 m/z 734.3。

1.5.3 血清样品处理 精确吸取 0.1 ml 血清加入带盖 5 ml 试管中,精密加入 1.5 μg/ml 红霉素内标溶液 10 μl,涡旋 1 min 混匀,再加入 0.3 ml 甲醇,涡旋 3 min,16 000 r/min 离心 10 min,取上清液 10 μl 进样 LC-MS 测定。

1.6 方法的专属性 将空白血清、空白血清加阿奇霉素对照品和内标对照品溶液及服药后血清样品按“血清样品处理”项下处理后,用 LC-MS 测定,所得图谱见图 1。阿奇霉素的保留时间为 3.98 min,内标红霉素的保留时间为 2.88 min,空白血清中内源性物质不干扰阿奇霉素及内标的测定。

1.7 标准曲线 分别精密吸取不同浓度的阿奇霉素对照品溶液 20 μl 于离心管中,氮气吹干后加入 200 μl 空白血清配成相当于阿奇霉素血清浓度为 4.7、9.4、18.8、37.5、75.0、150.0、300.0 和 600.0 μg/L 的样品,按“血清样品处理”项下依法操作,以待测物浓度为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值为纵坐标用加权($W = 1/X$)最小二乘法进行线性回归,求得直线回归方程即为标准曲线: $\hat{Y} = 0.0097X + 0.0119$, $r = 0.9998$ ($n = 5$),结果表明阿奇霉素在 4.7 ~ 600 μg/L 范围内线性良好。

1.8 精密度与回收率 取空白血清,配制阿奇霉素低、中、高三个浓度(9.4、37.5 和 150.0 μg/L)的样品,每一浓度进行 5 样本分析,连续测定 3 天,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、日间相对标准差(RSD%)低浓度 < 20%,中、高浓度 < 15%,低、中、高三个浓度的平均回收率为 70.20% ~ 86.63%。

1.9 稳定性实验 按标准曲线配制方法配制阿奇霉素浓度为高、中、低三个浓度(9.4、37.5 和 150.0 μg/L)各 4 份样本,分别立即处理(0 h)、24 h 室温放置、24 h 反复冻溶及 7 天冷冻等不同条件下考查样品的稳定性。放置不同时间段 RSD% < 15%,表明血清样品在室温放置和冷冻储存等情况下稳定。

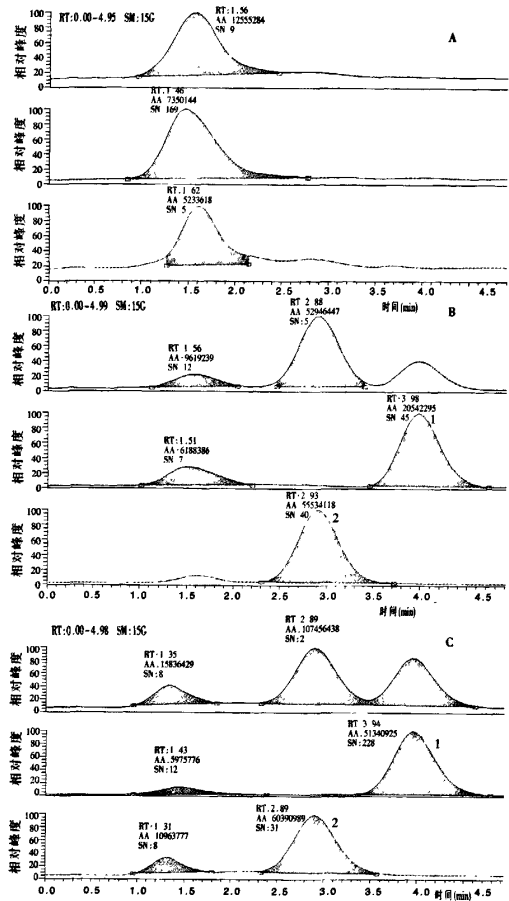


图 1 测定血清中阿奇霉素及内标红霉素的典型 SRM 色谱图

1.10 统计学方法 血药浓度经 DAS 2.0 软件处理,计算药动学参数及相对生物利用度。 T_{max} 、 C_{max} 为实测值,AUC 用梯形法计算。受试制剂与参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后采用交叉试验设计的方差分析,分析药剂间、个体间和周期间变异的统计学意义。 C_{max} 、 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行双向单侧 t 检验,受试制剂 AUC 在参比制剂的 80% ~ 125% 作为等效标准, C_{max} 在参比制剂的 70% ~ 143% 作为等效标准,对 T_{max} 采用非参数法检验进行考察,以此来评价受试制剂与参比制剂是否生物等效。

2 结果

2.1 血药浓度-时间曲线 20 名健康志愿受试者交叉口服试验制剂阿奇霉素分散片和参比制剂阿奇霉素分散片后血药浓度-时间曲线见图 2。

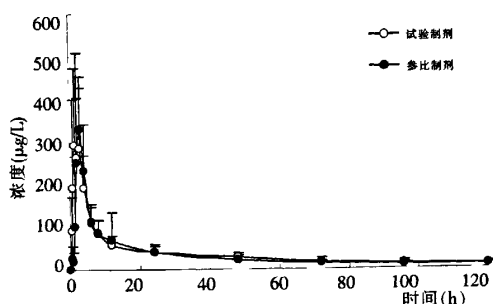


图2 20名健康受试者交叉口服阿奇霉素分散片试验制剂和参比制剂500 mg后的平均血药浓度-时间曲线

2.2 主要药动学参数 受试者口服阿奇霉素分散片试验制剂和参比制剂500 mg后的主要药动学参数见表1。

表1 健康受试者口服阿奇霉素分散片的主要药动学参数比较 ($n_i = 20; \bar{x} \pm s$)

制剂类型	C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	T_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{0-120h} ($\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$)	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$)
受试制剂	433.5 ± 138.1	2.1 ± 0.8	2.96 ± 2.36	4231 ± 1198	4609 ± 1207
参比制剂	425.7 ± 184.3	3.1 ± 2.2	2.21 ± 1.83	3881 ± 1154	4287 ± 1268
t	0.15	1.91	1.12	0.94	0.82
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

2.3 生物利用度和生物等效性评价 20名完成试验的男性健康受试者口服试验制剂与参比制剂血药浓度经时过程,经药代动力学参数计算,阿奇霉素分散片试验制剂和参比制剂之间 $\ln(AUC_{0-120h})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 、 $\ln(C_{max})$ 间差异均无统计学意义 ($F = 1.755, 1.355$ 和 $0.203, P > 0.05, MS_{组内} = 0.052, 0.068$ 和 0.203); 经双向单侧 t 检验, $\ln(AUC_{0-120h})$ 、 $\ln(AUC_{0-\infty})$ 的置信区间在 $80\% \sim 125\%$ 范围内, $\ln(C_{max})$ 的置信区间在 $70\% \sim 143\%$ 范围内,表明两种制剂在吸收程度和达峰浓度上具

有生物等效性。 T_{max} 经非参数法检验差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

有关血样中阿奇霉素的测定方法,有文献报道采用微生物检定法^[2,3],但是阿奇霉素的原形药物和代谢物都有活性,所以此法的缺点是专属性差。阿奇霉素为大环内酯类抗生素,其结构决定了紫外线吸收较弱,如取其末端吸收 210 nm 波长处测定,响应值较低,难以满足药物动力学测定要求^[4-6]。本文采用的 LC-MS 法测定人血清的阿奇霉素含量,血清中内源性物质不干扰阿奇霉素和内标的测定,在 $4.7 \sim 600.0 \mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好,最低检测浓度为 $4.7 \mu\text{g/L}$,检测方法稳定可靠,适用于阿奇霉素的药动学和生物等效性研究。

本文结果表明,20名健康受试者口服阿奇霉素分散片受试制剂和参比制剂各500 mg,主要药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-120h} 、 $AUC_{0-\infty}$ 差异均无统计学意义,两制剂具有生物等效性。以参比制剂阿奇霉素分散片为标准对照,受试制剂阿奇霉素分散片的相对生物利用度为 $(119.6 \pm 52.9)\%$ ($n = 20$, 以 AUC_{0-120h} 计)。

[参考文献]

- [1] 王佩,李玉珍. 新大环内酯类抗生素-阿奇霉素[J]. 中国新药杂志, 1996, 5(3): 180-183.
- [2] 石晶,宋洪杰,李珍,等. 阿奇霉素的人体药物动力学及相对生物利用度[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(5): 215-217.
- [3] 陈炜,来彩霞,刘党生,等. 阿奇霉素分散片的人体相对生物利用度[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(5): 316-318.
- [4] 刘晓云,公方美. HPLC法测定阿奇霉素分散片的含量[J]. 齐鲁药事, 2005, 25(11): 668-669.
- [5] 黄健浩. 高效液相色谱法测定阿奇霉素颗粒的含量[J]. 海峡药学, 2006, 18(2): 73-74.
- [6] 韩金霞,杨昆,董伟林. 高效液相色谱法测定血液中阿奇霉素浓度[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(8): 632-633.

医学论文中常用标点符号的正确使用(三):冒号

常用于提示性词语(如原因、方法、材料、措施等)或诸如“说、想、认为、指出、证明”等词之后以提示下文,也可用来表示后面的话是前面意思的概括,过去尚用于文内小标题之后。

在医学论文中,冒号的用法有了诸多的改进与引申,比如:(1)文章题名与副题名间应用冒号(不能再用破折号),冒号后的副题名,对题名有引申、解释及更加吸引读者的作用;(2)采用“阿拉伯数字分级编号”法之后,文内各级标题后不再加冒号,而采用空一格的方式移行或接写有关内容;(3)科技文稿中在诸如发现、指出、证明等动词后多用逗号,而不用冒号。