

剂与进口片剂)200 mg 后的平均血药浓度-时间曲线见图 2。结果显示,血药中奈韦拉平实测浓度均在本试验线性范围内。

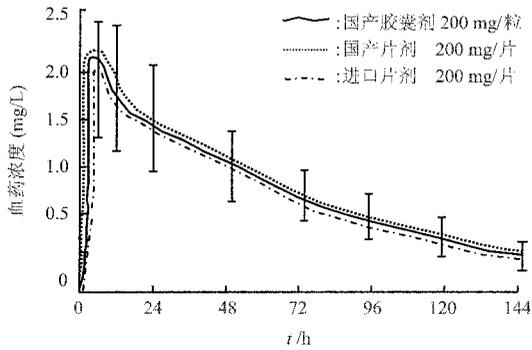


图2 奈韦拉平的平均血药浓度-时间曲线

3 讨论 测定人血浆中奈韦拉平浓度的方法有高效液相色谱法^[3-4]和离子对色谱法^[5]。我们采用高效液相色谱法,血浆内源性杂质不干扰药物的测定。采用磷酸盐缓冲溶液,调节 pH=5,以获得较好的分离度和较短的保留时间。该方法符合人体药代动力学研究生物样品测定的方法学要求。

本实验中,对于流动相的选择和药物的萃取进行了大量探索工作,固相萃取可得到较高和较稳定的回收率^[6],却代价昂贵,应用 500 mL/L 三氯乙酸作为萃取溶剂,回收率高而且稳定,以乙腈和磷酸盐溶液作为流动相^[7],药物峰受到血浆内源性杂质峰干扰,磷酸盐溶液中加入三乙胺,消除杂质峰的干扰,实验方法有较高专属性。

奈韦拉平是一种抗艾滋病新药,有较多不良反应,会引起肝毒性和耐受性^[8-9]。本次试验过程因志愿者出现不良反应而脱落 4 例。

【参考文献】

- [1] Tebas P, Yarasheski K, Henry K, et al. Evaluation of the virological and metabolic effects of switching protease inhibitor combination antiretroviral therapy to nevirapine-based therapy for the treatment of HIV infection [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2004, 20(6): 589-594.
- [2] Manosuthi W, Sungkanuparph S, Vibhagool A, et al. Nevirapine-versus efavirenz-based highly active antiretroviral therapy regimens in antiretroviral-naïve patients with advanced HIV infection [J]. *HIV Med*, 2004, 5(2): 105-109.
- [3] Laurito TL, Santagada V, Caliendo G, et al. Nevirapine quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. Application to bioequivalence study [J]. *J Mass Spectrom*, 2002, 37(4): 434-441.
- [4] Lopez RM, Pou L, Gomez MR, et al. Simple and rapid determination of nevirapine in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 2001, 751(2): 371-376.
- [5] Fan B, Stewart JT. Determination of zidovudine/lamivudine/nevirapine in human plasma using ion-pair HPLC [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2002, 28(5): 903-908.
- [6] Colombo S, Beguin A, Marzolini C, et al. Determination of the novel non-peptidic HIV-protease inhibitor tipranavir by HPLC-UV after solid-phase extraction [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 832(1): 138-143.
- [7] Notari S, Bocedi A, Ippolito G, et al. Simultaneous determination of 16 anti-HIV drugs in human plasma by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2006, 831(1-2): 258-266.
- [8] Gokengin D, Yamazhan T. Hepatic adverse events during highly active antiretroviral therapy containing nevirapine: A case report [J]. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2002, 1: 1.
- [9] Manosuthi W, Chumpathat N, Chaovavanich A, et al. Safety and tolerability of nevirapine-based antiretroviral therapy in HIV-infected patients receiving fluconazole for cryptococcal prophylaxis: A retrospective cohort study [J]. *BMC Infect Dis*, 2005, 5: 67.

编辑 袁天峰

· 研究快报 · 文章编号 1000-2790(2006)14-1336-02

健康人体内乳酸左氧氟沙星片的药代动力学及生物等效性研究

李清芳¹, 李国栋², 王 静³ (¹ 开封市食品药品检验所, 河南 开封 475402, ² 郑州大学医学实验中心, 河南 郑州 450052, ³ 郑州卓峰制药厂, 河南 郑州 451150)

【关键词】 乳酸左氧氟沙星片; 药代动力学; 色谱法; 高压液相; 生物等效性

【中图分类号】 R969.1 【文献标识码】 A

0 引言 乳酸左氧氟沙星是我国新研制的第三代喹诺酮类抗菌药,为氧氟沙星的旋光异构体,具有抗菌谱广、抗菌作用强等优点。其抗菌活性是光学对映体 D 型的 8-128 倍,外消旋体 OFLX 的 2 倍。参照文献 [1-3],我们建立了用反相高效

液相色谱法测定乳酸左氧氟沙星血药浓度的方法,对 18 名健康志愿者自身交叉口服两种乳酸左氧氟沙星片后的药代动力学和生物利用度进行了分析和比较。

1 材料和方法

1.1 材料 参比制剂:乳酸左氧氟沙星片(来立信片,浙江医药股份有限公司新昌制药厂生产,规格 0.1 g/粒,批号 040478);受试制剂:乳酸左氧氟沙星片(天津药业集团新郑股份有限公司提供,规格 0.1 g/粒,批号 030928);乳酸左氧氟沙星对照品:中国药品生物制品检定所提供,批号 130455-200202。甲醇(G.R. 北京化工厂,批号 20020629),四丁基溴化氮:分析纯,天津市科密欧化学试剂开发中心,批号 20040531,二氯甲烷(AR. 北京化工厂,批号 20030319)。

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪,包括 LC-10A 高压输液泵、LC-10AV 紫外可调检测器、CTO-10A 柱温箱、7125 手动进样阀、分析之星色谱工作站。

1.2 方法

1.2.1 分组和血样采集 18 名健康志愿者(为医学院校在校学生),男性,年龄 21~24 岁,体质量 51~70 kg,无烟酒嗜

收稿日期 2006-05-23; 接受日期 2006-06-10

作者简介 李清芳,主管药师。Tel: (0378) 2920600 Email: lqf@zzu.edu.cn

好。受试前经体格检查及心电图、肝、肾功能检查正常。给药前 2 wk 至整个试验过程结束未服任何其他药物, 试验期间禁忌烟酒及含咖啡饮料, 禁做剧烈活动, 用统一标准餐。18 名健康志愿者随机分成两组, 禁食 12 h, 于早晨服药前采空白血, 7:00 开始陆续服用参比制剂或供试制剂, 剂量均为 0.2 g, 250 mL 温开水送服, 3 h 后可以饮水, 4 h 后用统一标准低脂餐。于服药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6, 9, 12 和 24 h, 各采集静脉血 4 mL, 血样置标号塑料试管中, 室温放置 2 h, 3000 r/min 离心 20 min, 分取血清, 置 -30℃ 冰箱保存, 测定前自然解冻。间隔 1 wk, 自身交叉服用另一制剂。

1.2.2 样品处理与测定 取血清 0.5 mL, 加入 0.5 mol/L HCl 溶液 200 μ L 混匀, 加乙醚 5 mL 旋涡混匀器萃取 2 min, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液 3.5 mL 于另一尖底试管中, 40℃ 水浴中氮气吹干, 100 μ L 流动相复溶, 进样 30 μ L, 按前述色谱条件测定乳酸左氧氟沙星的峰面积, 以外标法进行定量。

1.2.3 方法学考察与评价

1.2.3.1 色谱条件 色谱柱 Sciencome C₁₈ ODS (ID 4.6 mm \times 200 mm, 填料粒度 5 μ m, 德国 Kromasil), 流动相: 0.01 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇-0.5 mol/L 四丁基溴化铵 (78:22:4, V/V/V) 流速: 1 mL/min, 柱温: 40℃, 检测波长 294 nm。

1.2.3.2 标准曲线的制备 取健康人混合血清 0.5 mL 分别加入乳酸左氧氟沙星系列标准液, 配成 0.025, 0.125, 0.25, 0.5, 1.5, 3.0 mg/L 的血清样品, 混匀, 以下操作同样品处理与测定项, 以峰面积 X 对浓度 C 作线性回归, 得方程: $C = 0.002645X + 2.782784$ ($r = 0.9997$)。乳酸左氧氟沙星在 0.025 ~ 3.0 mg/L 范围内, 线性关系良好。最低检出浓度为 0.01 mg/L。

1.2.3.3 精密度和回收率 用不同浓度的乳酸左氧氟沙星标准液加健康人混合血清配成 0.125, 0.5 和 3.0 mg/L 的血清样品, 每个浓度各 5 份, 按样品制备项下处理测定(表 1), 提示回收率符合要求。用不同浓度乳酸左氧氟沙星标准液加健康人混合血清配成 0.05, 0.5 和 1.5 mg/L 的血清样品, 按

样品制备项下, 于 1 d 内处理测定 5 次, 另按上述操作, 每日处理测定 1 次, 连续 5 d, 得日内和日间相对标准差(表 2), 提示方法精密度符合要求。

表 1 血清中乳酸左氧氟沙星的回收率 ($\bar{x} \pm s$)

加入量 (mg/L)	回收量 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
0.125	0.121 \pm 0.004	96.85 \pm 0.03	3.28
0.5	0.49 \pm 0.036	98.8 \pm 0.07	7.25
3.0	3.0 \pm 0.277	100.0 \pm 0.09	9.24

表 2 方法精密度 ($\bar{x} \pm s$)

浓度 (mg/L)	日间变异		日内变异	
	测得量 (mg/L)	RSD (%)	测得量 (mg/L)	RSD (%)
0.05	0.052 \pm 0.002	3.74	0.053 \pm 0.002	4.04
0.5	0.510 \pm 0.023	4.41	0.507 \pm 0.019	3.65
1.5	1.424 \pm 0.138	9.68	1.476 \pm 0.051	3.46

1.2.3.4 数据处理与统计分析 志愿者的血药浓度-时间数据, 用“生物利用度和等效性统计软件”求算有关药动学参数。AUC 按梯形面积法计算, 时间范围取 0 ~ 24 h。相对生物利用度分别由受试制剂与参比制剂的 $AUC_{(0-t)}$ 和 $AUC_{(0-\infty)}$ 相比而得。计算公式为: $F_1 = [AUC_{(0-t)}(\text{受试制剂}) / AUC_{(0-t)}(\text{参比制剂})] \times 100\%$; $F_2 = [AUC_{(0-\infty)}(\text{受试制剂}) / AUC_{(0-\infty)}(\text{参比制剂})] \times 100\%$ 。

2 结果 药代动力学参数 两种片剂的有关药代动力学参数及生物等效性见表 3。经统计学检验, 两者之间的差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。本研究过程中无严重不良反应事件发生, 也未发现与药物有关的不良反应事件。

表 3 乳酸左氧氟沙星的药动学参数及相对生物利用度

制剂	K_d (h)	$T_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (μ g/L)	$AUC_{(0-24h)}$ (μ g/L \cdot h)	$AUC_{(0-\infty)}$ (μ g/L \cdot h)
受试	0.12 \pm 0.02	6.03 \pm 1.05	1.14 \pm 0.27	1264 \pm 279	6638 \pm 1903	7070 \pm 2105
参比	0.11 \pm 0.02	6.42 \pm 1.26	1.14 \pm 0.36	1271 \pm 316	6832 \pm 1727	7325 \pm 1942

$F_1 = 99.98\%$ [1-2 α]置信区限 = 81.49% ~ 115.56% $F_2 = 99.17\%$ [1-2 α]置信区限 = 80.67% ~ 115.32%。

3 讨论 本实验使用反相高效液相法测定血清中的乳酸左氧氟沙星浓度, 其流动相的配制及血样的提取方法均较为简单、经济, 回收率较高, 峰形尖锐, 血清中杂质峰对药物峰无干扰。

本实验所有数据经对数转换和不转换后使用双单侧检验法, 检验对照药品和受试药品的等效性和置信区间, 检验所得结果一致。相对生物利用度为 $F_1 = 0.9998$, $F_2 = 0.9917$ 。两种片剂的两组参数中 C_{max} , t_{max} , $AUC_{(0-24h)}$, AUC_{inf} 均经对数转换后进行方差分析和双单侧 t 检验, 其差异无显著性, 即两种制剂生物等效。

【参考文献】

- [1] 张宏文, 邵志高. 反相高效液相色谱法测定左旋氧氟沙星血药浓度 [J]. 中国药房, 1998, 9(1): 28-29-31.
- [2] Verho M, Malerczyk V, Damm D, et al. Pharmacokinetics of ofloxacin in comparison to the racemic mixture of ofloxacin [J]. Drug Metabol Drug Interact, 1996, 13(1): 57-60.
- [3] 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): 1080-1084-1087.

编辑 袁天峰