

# 克林沙星在大鼠体内的药代动力学和生物利用度

周梅华<sup>1\*</sup>, 郁韵秋<sup>1</sup>, 段更利<sup>1</sup>, 程务本<sup>1</sup>, 许长江<sup>2</sup>, 刘 骁<sup>2</sup>

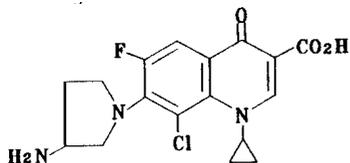
(1. 上海医科大学药学院分析化学教研室; 2. 药理学教研室, 上海 200032)

**摘要:** 目的 研究克林沙星在大鼠体内的药代动力学和生物利用度。方法 HPLC 法测定大鼠 ig 和 iv 克林沙星后的血药浓度, 计算药代动力学参数和生物利用度。色谱柱为 C<sub>18</sub> 柱(5 μm), 流动相为乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸三乙胺液 (pH 2.5) (20: 80), 流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 300 nm。结果 克林沙星 0.1 - 20 μg·mL<sup>-1</sup> 呈良好线性关系, 在大鼠体内的药代动力学过程符合一室模型, 大鼠 ig 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup> 后, C<sub>max</sub> 和 AUC 均与剂量呈正比, T<sub>1/2</sub> 与剂量无关; 绝对生物利用度 (F) 为 42%。结论 克林沙星 50 - 100 mg·kg<sup>-1</sup> 的吸收和消除呈一级动力学特征, 在大鼠体内的生物利用度低。

**关键词:** 克林沙星; 高效液相色谱法; 药代动力学; 生物利用度

中图分类号: R969.1; R278.1 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2001)02 - 0134 - 03

克林沙星 (clinafloxacin) 是目前正在研制的第 4 代喹诺酮类抗菌药, 能抑制细胞的 DNA 促旋酶, 疗效比环丙沙星、左氧氟沙星、司帕沙星好; 另外, 克林沙星与其他抗菌药物有较强的协同作用, 因而在临床上具有较高的使用价值<sup>[1]</sup>。其结构式为:



国外有报道用反相离子对色谱法<sup>[2,3]</sup>、手性高效液相色谱法<sup>[3,4]</sup>和微生物法<sup>[5]</sup>进行克林沙星在人体内的药代动力学研究, 国内对克林沙星药物动力学的研究未见报道。本文建立了以固相萃取为前处理的反相高效液相色谱法, 并测定克林沙星在大鼠体内的药代动力学参数和生物利用度。

## 材 料 与 方 法

**药品与试剂** 克林沙星标准品由上海医科大学药学院药理学教研室提供。内标物: 环丙沙星 (ciprofloxacin), 由上海医科大学生物药剂教研室提供。乙腈 (HPLC 级); 甲醇 (HPLC 级); 柠檬酸 (分析纯); 三乙胺 (分析纯); 水 (三蒸水)。

**实验动物** Sprague-Dawley (SD) 大鼠, ♀ ♂ 兼

用, 体重 200 - 250 g。由上海医科大学实验动物中心提供。

**试验仪器和 HPLC 条件** Waters 高效液相色谱仪, 包括 Waters 600E 泵, Waters 991 二极管阵列检测器, 7725i 型进样阀。Waters 公司 Oasis 预处理小柱 (HPL 1cc)。色谱条件: Lichrosorb C<sub>18</sub> (5 μm) 色谱柱, 150 mm × 4.6 mm (L × ID); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸三乙胺 (pH 2.5) (20: 80); 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 300 nm; 内标物: 环丙沙星。

**标准液的配制** 用甲醇配制 100 μg·mL<sup>-1</sup> 克林沙星标准贮备液, 精密稀释成 10 μg·mL<sup>-1</sup> 克林沙星标准液; 内标配成 40 μg·mL<sup>-1</sup>。以上溶液均用棕色瓶配制, 4℃ 冷藏备用。

**大鼠血浆中样品的处理** 取大鼠血浆样品 0.2 mL (iv 血样取 0.1 mL, 加 0.1 mL 水稀释), 加入 50% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 10 μL 和内标溶液 (环丙沙星 40 μg·mL<sup>-1</sup>) 10 μL 混匀, 然后加在活化后的 Oasis 小柱上 (Oasis 柱活化: 分别用甲醇 1 mL、水 1 mL 及 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸 1 mL 过柱), 待样品全部流入柱内后, 加压滤出母液, 用 0.05 mol·L<sup>-1</sup> 柠檬酸 0.6 mL 过柱, 加压尽量使柱中的水流干, 用甲醇 1 mL 过柱, 收集甲醇, 在 60℃ 水浴下氮气吹干, 残渣用 30% 甲醇 (水) 50 μL 溶解, 进样 20 μL。以样品与内标物峰面积比 (Y) 和样品浓度 (C) 求出回归方程, 计算血浆中的药物含量。

**实验安排** 选取 18 只大鼠禁食过夜, 随机分成

收稿日期: 2000-07-11

作者简介: 周梅华, 女, 讲师。

\* Tel: (021) 64041900 - 2012, Fax: (021) 65439800,

E-mail: mhzhou@eastday.com

3组,每组6只,其中一组体重为(227.2±6.8)g按50 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃克林沙星;一组体重为(247.1±4.1)g按100 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃;另一组体重为(219.0±5.8)g按100 mg·kg<sup>-1</sup>股静脉注射。分别于给药前及给药后0.25,0.5,0.75,1.0,1.5,2,4,6,8和10h取大鼠尾部静脉血0.5 mL,收集于加有肝素钠的离心管内,离心(3 000 r·min<sup>-1</sup>)10 min,分离得血浆,按前述方法提取和测定血浆药物浓度。

**数据分析** 所有试验数据的测定值均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。血药浓度-时间数据用3P87软件处理,得出主要的药代动力学参数。

## 结 果

### 1 血浆中克林沙星测定方法的认证

**1.1 方法专属性考察** 按上述方法处理含药血浆和空白血浆样品后,进样20 μL,得HPLC色谱图(图1),克林沙星和内标的保留时间分别为7.1和4.5 min,分离情况良好,无杂质峰干扰。

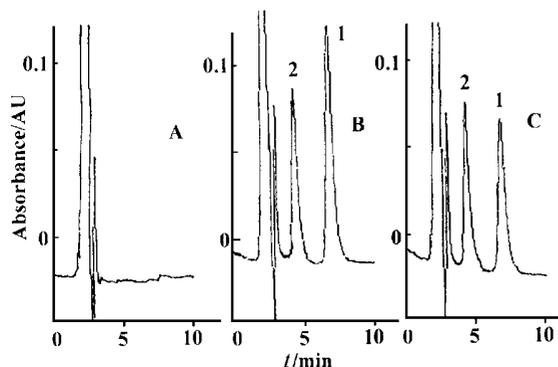


Fig 1 HPLC chromatogram of clinafloxacin and internal standard (IS) (ciprofloxacin) in rat plasma A. Blank plasma; B. Spiked plasma; C. Sampling plasma (3.0 h after a single ig dose of 50 mg·kg<sup>-1</sup>). 1. Clinafloxacin; 2. IS

**1.2 标准曲线与检测限** 于空白血浆中加入克林沙星标准溶液,使药物浓度分别为0.00,0.03,0.10,0.50,1.00,2.00,6.00,10.00,15.00和20.00 μg·mL<sup>-1</sup>,按前述方法提取测定。以克林沙星与内标的峰面积比(Y)对克林沙星血浆浓度(C)作图,得回归方程:  $Y = 1.2748 C - 0.0427$ ,  $r = 0.9998$ 。克林沙星的最低检测限为2 ng,血浆最低检测浓度为0.03 μg·mL<sup>-1</sup>(血浆体积0.2 mL)。

**1.3 回收率和精密度试验** 于空白血浆中加入高、中、低(20.0,10.0,0.10 μg·mL<sup>-1</sup>,  $n = 5$ ) 3个浓度的克林沙星标准液,同前法提取测定。3个浓度水平血浆中药物的平均回收率为102.9%,平均RSD

为3.2%。此法的日内和日间RSD均小于7%。

### 2 药代动力学研究

大鼠分别iv和ig克林沙星后测得血药浓度-时间曲线。用3P87药代动力学计算机程序进行处理,经模型拟合,以AIC值最小原则结合相关指数、相关系数等指标确定克林沙星在大鼠体内过程符合一室模型。药动学参数见表1和表2。结果表明,血浆中克林沙星的消除半衰期不随剂量增加而变化,峰浓度( $C_{max}$ )和血药浓度-时间曲线下的面积(AUC)均与剂量呈正比关系;以iv为对照,计算得克林沙星的生物利用度( $F$ ) =  $AUC_{0-10}(ig) / AUC_{0-10}(iv)$  (%) = 42%。

Tab 1 Main pharmacokinetic parameters of clinafloxacin after single iv dose of 100 mg·kg<sup>-1</sup> in rats ( $n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Parameter	Value
$C_0 / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	46.6 ± 2.8
$K_e / \text{h}^{-1}$	0.75 ± 0.25
$V_c / \text{L}$	0.47 ± 0.04
$T_{1/2(K_e)} / \text{h}$	0.99 ± 0.28
$AUC / \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	65 ± 16
$CL / \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$	0.35 ± 0.08

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of clinafloxacin after single ig dose of 50 mg·kg<sup>-1</sup> and 100 mg·kg<sup>-1</sup> in rats ( $n = 6$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Parameter	50 mg·kg <sup>-1</sup>	100 mg·kg <sup>-1</sup>
$K_e / \text{h}^{-1}$	0.69 ± 0.14	0.57 ± 0.11
$K_a / \text{h}^{-1}$	1.9 ± 0.6	1.15 ± 0.17
$T_{1/2(K_a)} / \text{h}$	0.39 ± 0.11	0.62 ± 0.10
$T_{1/2(K_e)} / \text{h}$	1.03 ± 0.18	1.25 ± 0.26
$T_{max} / \text{h}$	0.96 ± 0.13	1.31 ± 0.10
$C_{max} / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.7 ± 1.0	7.8 ± 1.6
$AUC / \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$	9.9 ± 2.7	27 ± 4
$CL / \text{L} \cdot \text{h}^{-1}$	1.21 ± 0.29	0.92 ± 0.13
$VC / \text{L}$	1.8 ± 0.7	1.7 ± 0.4
$F / \%$		42

## 讨 论

国内对克林沙星血药浓度及药物动力学的研究尚未见报道。克林沙星是极性大的两性化合物,如何对生物样品进行预处理是应用HPLC法的关键,国外文献报道的样品预处理方法为沉淀蛋白法<sup>[2,3]</sup>,沉淀剂为乙腈-高氯酸(4:1),本文曾试过该法,发现在300 nm处检测有内源性物质干扰,且灵敏度低。文献报道的检测波长有380 nm<sup>[2]</sup>和340

nm<sup>[3]</sup>,而不是使用克林沙星的 λ<sub>max</sub>(300 nm)作检测波长,其目的可能是消除内源性物质的干扰。本文采用固相萃取,300 nm 检测,获得了较好的结果。

文献报道的流动相为乙腈-缓冲液(pH 4.0, 50 mmol·L<sup>-1</sup>柠檬酸, 1.15 mmol·L<sup>-1</sup>四丁基氢氧化铵, 8.85 mmol·L<sup>-1</sup>高氯酸铵)为 21:79<sup>[2]</sup>或 20:80<sup>[3]</sup>,本文曾试用该流动相,发现克林沙星的色谱峰拖尾比较严重,且前 5 次进样的保留时间不恒定,会逐步提前。本文采用乙腈-50 mmol·L<sup>-1</sup>柠檬酸三乙胺(pH 2.5)(20:80),配制简单,克林沙星的峰形好,重现性也好。

克林沙星见光易分解,故配制的克林沙星溶液应贮存在棕色瓶中,避光,4℃冷藏保存,每 4 周重配。

从克林沙星 ig 50 mg·kg<sup>-1</sup>和 100 mg·kg<sup>-1</sup>的药动学参数发现 C<sub>max</sub>和 AUC 与剂量均呈正比关系, T<sub>1/2</sub>基本不变,表明在此剂量范围内,克林沙星在大鼠体内的药代动力学呈一级动力学特征,与文献报道<sup>[2]</sup>基本一致。本文测定的克林沙星在大鼠体内的生物利用度为 42%,低于文献<sup>[4]</sup>报道的 87%。其原因可能是实验对象和给药剂量不同,本

文的实验对象是大鼠, ig 和 iv 的剂量是 100 mg·kg<sup>-1</sup>,且 ig 和 iv 的不是同一组大鼠作对照,因而可比性差;文献报道的试验对象是人, po 和 iv 的剂量是 400 mg,且 po 和 iv 的是同一组人作对照,因而有可比性。

REFERENCES:

- [1] Li M. Progress on the research of quinolones [J]. *Chin New Drugs J* (in Chinese), 1999, 8(1):11 - 14.
- [2] Bron NJ, Dorr MB, Mant TG, et al. The tolerance and pharmacokinetics of clinafloxacin (CI-960) in health subjects [J]. *J Anti microb Chemother*, 1996, 38(6):1023 - 1029.
- [3] Brodfuehrer JI, Priebe S, Guttendorf R. Archiral and chiral high performance liquid chromatographic method for clinafloxacin, a fluoroquinolone antibacterial, in human plasma [J]. *J Chromatogr B*, 1998, 109(2):265 - 275.
- [4] Humphrey GH, Shapiro MA, Randinitis EJ, et al. Pharmacokinetics of clinafloxacin enantiomers in humans [J]. *J Clin Pharmacol*, 1999, 39(11):1143 - 1150.
- [5] Wise R, Jones S, Das I, et al. Pharmacokinetics and inflammatory fluid penetration of clinafloxacin [J]. *Anti microb Agents Chemother*, 1998, 42(2):428 - 430.

## PHARMACOKINETICS AND BIOAVAILABILITY OF CLINAFLOXACIN IN RATS

ZHOU Mei-hua<sup>1</sup>, YU Yun-qiu<sup>1</sup>, DUAN Geng-li<sup>1</sup>, CHENG Wu-ben<sup>1</sup>, XU Chang-jiang<sup>2</sup>, LIU Xiao<sup>2</sup>

(1. Department of Analytical Chemistry, School of Pharmacy; 2. Department of Pharmacology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China)

**ABSTRACT: AIM** To study the pharmacokinetics and bioavailability of clinafloxacin in rats. **METHODS** The drug concentration was determined by HPLC. The main pharmacokinetic parameters were obtained by 3P87 program. An RP-C<sub>18</sub> was used as the stationary phase. The mobile phase was a mixture of acetonitrile-0.05 mol·L<sup>-1</sup> citric acid triethylamine (pH 2.5) (20:80). The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The UV absorbance detector was set at 300 nm. **RESULTS** A good linearity was obtained from 0.03 - 20 μg·mL<sup>-1</sup> of clinafloxacin in rat plasma with r=0.9998. The plasma concentration-time curve of clinafloxacin conformed to one compartment open model. After ig administration of 50 mg·kg<sup>-1</sup> and 100 mg·kg<sup>-1</sup> dose of clinafloxacin in six rats, mean C<sub>max</sub> and AUC values increased in proportion to dose. Mean T<sub>1/2</sub> appeared to be independent of dose. Mean AUC was 65 ±6 and 27 ±4 μg·h·mL<sup>-1</sup> respectively after iv and ig administration of 100 mg·kg<sup>-1</sup> dose. The extent of bioavailability (F) of clinafloxacin was 42%. **CONCLUSION** The results of the pharmacokinetic study of clinafloxacin showed that it exhibited first order kinetic characteristics and the bioavailability is low.

**KEY WORDS:** clinafloxacin; RP-HPLC; pharmacokinetics; bioavailability