维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2007)01-0059-03

盐酸左氧氟沙星胶囊的人体生物等效性研究

钱 妍,赵春景,张桂蓉,姜成丽

(重庆医科大学附属第二医院药剂科,重庆 400010)

【摘 要】目的:评价盐酸左氧氟沙星胶囊与已上市的盐酸左氧氟沙星胶囊的人体生物等效性。方法:18 名健康男性志愿者双周期自身交叉单剂量口服受试药物和参比药物各 200mg,采用高效液相色谱 - 荧光检测法测定血清中药物浓度,用 DAS 软件计算药代动力学参数和相对生物利用度,并进行生物等效性评价。结果:盐酸左氧氟沙星胶囊的受试药物与参比药物的 Cmax 分别为(3.206 ± 0.498) μg/ml、(3.255 ± 0.436) μg/ml;t_{max} 分别为(0.931 ± 0.307)h、(0.903 ± 0.322)h;AUC_{0-36} 分别为(23.780 ± 4.986)(μg·h)/ml、(23.934 ± 5.625)(μg·h)/ml;$AUC_{0-\infty}$ 分别为(24.510 ± 5.189)(μg·h)/ml、(24.684 ± 5.973)(μg·h)/ml;受试药物的相对生物利用度为(103.9 ± 29.1)%。结论:经统计学分析,两种盐酸左氧氟沙星胶囊具有生物等效性。

【关键词】左氧氟沙星胶囊;生物等效性;生物利用度;高效液相色谱法

【中图图书分类法分类号】R969.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-06-13

Studies on bioequivalence of levofloxacin hydrochloride capsule in healthy volunteers

QIAN Yan, et al

(*Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the bioequivalence of two Levofloxacin capsules in healthy volunteers. *Methods*: A single oral dose of 200mg test or reference preparations was given to 18 healthy male volunteers in a randomized crossover study. The serum concentration of Levofloxacin was determined by HPLC with the fluorescence detector. The pharmacokinetic parameters and the relative bioavailability were calculated by DAS to evaluate the bioequivalence. *Results*: The main pharmacokinetic parameters of test and reference preparations were as follow: C_{max} (3.206 ± 0.498) μg/ml and (3.255 ± 0.436) μg/ml; t_{max} (0.931 ± 0.307)h and (0.903 ± 0.322)h; AUC_{0-36} (23.780 ± 4.986)(μg·h)/ml and (23.934 ± 5.625)(μg·h)/ml; $AUC_{0-\infty}$ (24.510 ± 5.189)(μg·h)/ml and (24.684 ± 5.973)(μg·h)/ml, respectively. The relative bioavailability of the test capsule to the reference one was (103.9 ± 29.1)%. *Conclusion*: The results of statistic analysis showed that the test and reference Levofloxacin hydrochloride capsules were bioequivalent.

【Key Words】Levofloxacin capsul; Bioequivalence; Bioavailability; HPLC

盐酸左氧氟沙星是喹诺酮类抗微生物药物,对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌有很强的抗菌作用,其对各种细菌抗菌活性较诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星强。其抗菌作用的机理为通过作用于细菌 DNA 旋转酶的 A 亚单位,而阻断细菌 DNA 包括质粒 DNA 的复制,从而产生强大的杀菌效力,并避免质粒介导的细菌耐药性的产生,与其他临床常用抗生素无交叉耐药性,具有极高的临床用药安全性。本实验以扬子江药业集团有限公司生产的盐酸左氧氟沙星胶囊为参比药物,对四川好医生制药有限公司研制生产的盐酸左氧氟沙星胶囊进行人体相对生物利用度研究,并作出生物等效性评价,为临床合理用药提供理论依据。

作者介绍:钱 妍(1976-),女,硕士,
主要研究方向:医院药学,临床药学。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

美国 Angilent 1100 高效液相色谱仪,荧光检测器及色谱数据处理系统。TGL-16 高速台式离心机。Sartorius BS210S 电子天平。QL-901 旋涡混匀器。试验药物:盐酸左氧氟沙星胶囊(0.1g),批号:041201,由四川好医生制药有限公司生产。参比药物:盐酸左氧氟沙星胶囊(0.1g),批号:05073002,由扬子江药业

维普资讯 http://www.cqvip.com

集团有限公司生产。盐酸左氧氟沙星对照品:含量 >98%,由四川好医生制药有限公司提供。甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司);三氯乙酸(成都化学试剂厂);三乙胺(成都化学试剂厂);磷酸(上海联合化工厂);双蒸水(经 0.45μm 滤膜过滤)。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱:美国 Angilent Eclipse XDB-C18 柱(4.5×150mm,5μm);柱温:30℃,流动相:甲醇:水:磷酸:三乙胺 (27:73:0.1:0.05); 流速:1ml/min; 检测波长:λ_{ex}=295nm, λ_{em}=480nm;进样量 20μl。

1.2.2 受试者选择 健康男性 18 名,年龄(22.9±1.3)岁,体重(61.1±3.1)kg,身高(170.2±2.6)cm,身体健康,无心、肝、肾、消化道、代谢异常、神经系统疾病等病史,无烟酒嗜好,健康体检(心电图、血压、心率、肝功能、肾功能、呼吸、脉搏、体温、血常规、尿常规等)无异常。所有志愿者充分了解试验内容后自愿受试并签署知情同意书。

1.2.3 分组、给药方法、剂量 本试验采用两药物双周期自身交叉单剂量口服给药。18 名受试者随机分为两组,每组 9 名,禁食 12h 后,于次日晨空腹口服 200mg 盐酸左氧氟沙星胶囊受试药物或参比药物(100mg×2 粒),均用 200ml 温开水口服,给药后 4h 统一进食低脂标准餐。间隔 1 周后交换服用另一种盐酸左氧氟沙星胶囊。

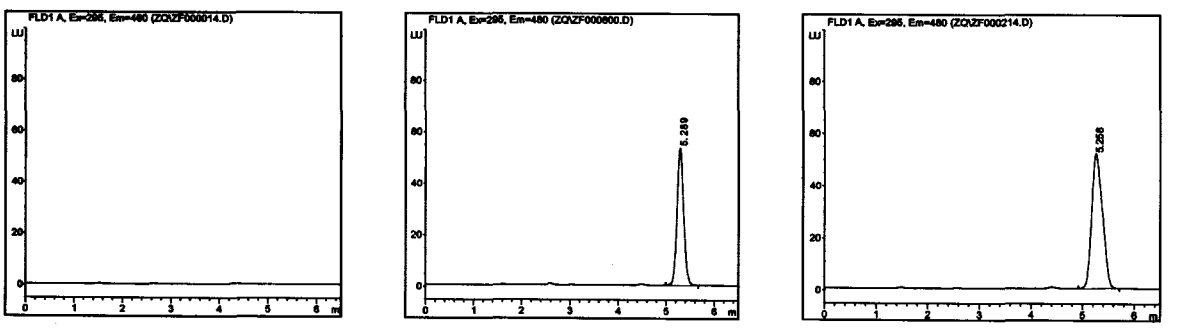
1.2.4 生物样本的采集 在给药前及给药后 0.25h、0.5h、0.75h、1.0h、1.5h、2.0h、3.0h、4.0h、8.0h、12.0h、24.0h、36.0h 抽取前臂静脉血 3ml,4000r/min 离心 3min 后分离血清,将样本低温(-20℃)保存,待测。

1.2.5 数据处理及统计分析 血药浓度—时间数据采用 DAS3.0 程序处理,计算每一个体的药动学参数。C_{max}、t_{max} 取实测值,AUC_{0-t} 采用梯形法计算,$AUC_{0-\infty}$ 按 $AUC_{0-\infty}=AUC_0-t+Ct/\lambda z$ 计算。C_{max}、AUC_{0-t}、$AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行方差分析和双单侧 t 检验,90% 可信限考察,对 T_{max} 采用非参数法检验。分别计算各个受试者的相对生物利用度 F 值,公式为 $F=(AUC_{0-t})T/(AUC_{0-t})R\times 100\%$,T 为受试药物,R 为参比药物。

2 结 果

2.1 色谱行为

本试验条件下所测得的色谱图见图 1。



A 空白血清　　B 左氧氟沙星对照品 + 空白血清　　C 受试者血清样品

图 1 HPLC 色谱图

由图 1 可见,左氧氟沙星的保留时间约为 5.2min,峰形良好,内源性物质不干扰测定。

2.2 血清标本处理方法

取血清 0.5ml,三氯乙酸溶液 (浓度为 20%) 0.20ml,旋涡震荡混匀 30s,15000r/min 离心 5min。上清液转入自动进样小瓶,进样量 20μl。

2.3 标准溶液配制

精密称取盐酸左氧氟沙星对照品适量,置于 10.0ml 的容量瓶中,用甲醇溶解并定容至 10ml,配成浓度为 1.0mg/ml 的标准液,置于 4℃冰箱中保存,使用时用流动相稀释至所需浓度。

2.4 线性关系及检测限

精密吸取空白血清 0.5ml 于塑料离心管中,加入盐酸左氧氟沙星标准溶液,制成浓度分别为 0.04345,0.13035,0.4345,0.869,1.738,2.607,3.476,4.345μg/ml(以左氧氟沙星计)的系列含药血清,漩涡振荡 30s,混匀,其余照"血清样品的处理"项下操作,记录峰面积。以左氧氟沙星峰面积(Y)与左氧氟沙星浓度(X)进行线性回归,得回归方程为:Y=151.11X+1.4313(r=0.9995)。血清中左氧氟沙星在 0.04345~4.345μg/ml 浓度范围内与峰面积线性关系良好,血清中左氧氟沙星最低定量浓度为 0.04345μg/ml。

2.5 回收率及精密度试验

维普资讯 http://www.cqvip.com

配制含盐酸左氧氟沙星浓度分别为 0.15μg/ml、1μg/ml、4μg/ml 的血清样品，按"血清样品的处理"项下操作，分别在同一天内测定 5 次，按回归方程计算浓度。以测得值与加入值(以左氧氟沙星计)的比值计算相对回收率，并计算日内精密度。对上述样品连续测定 5 天，考察方法日间精密度，另配制含盐酸左氧氟沙星浓度分别为 0.15μg/ml、1μg/ml、4μg/ml 的甲醇溶液，分别记录峰面积。以血清样品测得峰面积与甲醇溶液中测得的峰面积的比值计算绝对回收率，结果见表 1。

2.6 样品稳定性试验

用空白血清配制含盐酸左氧氟沙星浓度为 1μg/ml 的血清样品，在室温条件下放置，分别在 0、1、4、6、8、12h 按上述方法测定，计算左氧氟沙星的浓度，结果样品在室温放置 12h 内稳定。用空白血清配制含盐酸左氧氟沙星浓度为 1μg/ml 的血清样品，在 -20℃冰箱中放置，分别在 0、2、4、6、8、10 天取样，按上述方法测定，计算左氧氟沙星浓度的浓度，结果样品在冷冻条件下放置 10 天内稳定。

2.7 血药浓度 - 时间曲线

18 名健康受试者单剂量口服盐酸左氧氟沙星胶囊受试药物与参比药物 200mg 后，不同时间所测定的平均血药浓度 - 时间曲线详见图 2。

2.8 药动学参数

2 种药物的主要药动学参数详见表 2。受试药物的相对生物利用度为(103.9 ± 29.1)%。

2.9 生物等效性评价

两种制剂的药代动力学参数 AUC_{0-36} 和 Cmax，经对数转换后进行方差分析和双单侧 t 检验，90% 可信限考察。结果见表 3。

AUC_{0-36} 在 80%~125% 范围内，C_{max} 在 70%~143% 范围内，表明受试药物和参比药物在人体的吸收速度和吸收量差异无显著意义，两种药物具有生物等效性。

2.10 药品不良反应

整个试验过程由经 GCP 培训的临床医生和护士进行观察，受试者均未发生明显的与药物有关的不良反应，受试者无明显不适感。

表 1 回收率和精密度考察(n=5)

浓度(μg/ml)	相对回收率	绝对回收率	日内精密度 RSD	日间精密度 RSD
0.15	103.6%	95.4%	2.5%	1.3%
1	100.3%	96.4%	0.9%	1.8%
4	99.3%	99.2%	0.2%	0.9%

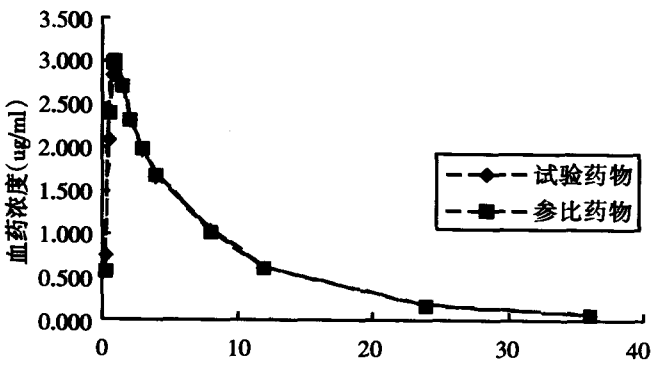


图 2 盐酸左氧氟沙星胶囊平均药 - 时曲线

—◆—tested preparation;—■—reference preparation

3 讨 论

本文参照文献[1,2]建立反相高效液相色谱荧光检测法测定人血清中左氧氟沙星的浓度，方法简便

表 2 受试药物与参比药物的药动学参数比较

参数	受试药物	参比药物
t_{max}(h)	0.931 ± 0.307	0.903 ± 0.322
C_{max}(μg/ml)	3.206 ± 0.498	3.255 ± 0.436
AUC_{0-36}((μg·h)/ml)	23.780 ± 4.986	23.934 ± 5.625
$AUC_{0-\infty}$((μg·h)/ml)	24.510 ± 5.189	24.684 ± 5.973
$t_{1/2}$(h)	7.256 ± 1.168	7.067 ± 1.529

表 3 生物等效性评价

参数	t_1	t_2	90%置信区间
ln AUC_{0-36}	8.314	8.347	95.4%~104.7%
ln $AUC_{0-\infty}$	7.703	7.714	95.1%~105.2%
ln C_{max}	12.697	14.104	93.7%~102.9%

(下转第 64 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

在吸入颗粒物后,肺泡巨噬细胞作为颗粒物作用的靶细胞,最初可以反应性的增多吞噬大量的颗粒物,但同时也受颗粒物刺激诱导可释放一些前炎性因子如细胞因子诱导的中性粒细胞趋化因子(CINC)等,诱使炎性细胞渗出,向肺组织浸润。此外,颗粒物还可导致气道上皮及血管内皮相关黏附分子如细胞间黏附分子(ICAM)-1 和白细胞内皮细胞黏附分子(ELAM)-1 的表达增加,从而进一步促进炎性细胞由血管向肺部聚集,加强气道的局部炎症反应[2,3]。由于扬尘中有机成份的复杂性,可能存在花粉、尘螨等致敏物质,故扬尘组部分动物的气道炎症显示出一定的过敏性特征。

MDA 反映机体受自由基损伤的程度,SOD 和 GSH-Px 是体内重要的抗氧化酶类。本研究结果显示扬尘组的 MDA 含量明显高于对照组,而 SOD 和 GSH-Px 含量低于对照组,说明扬尘进入大鼠体内造成机体脂质过氧化反应,使体内氧化和抗氧化失衡。据文献报道可吸入颗粒物能够催化活性氧的产生,激活对氧化刺激敏感的核转录因子 -κB (NF-κB),使其与多种炎症细胞因子及 ICAM-1 等黏附分子的启动子和增强子中的 κB 序列位点特异性结合,诱导其 mRNA 的表达,促成了炎症反应的发生[4,5]。本研究结果也印证了颗粒物激活呼吸道上皮细胞和肺泡巨噬细胞产生炎性细胞和细胞因子的途径之一是通过氧化应激作用。

参 考 文 献

[1] 梁绵英,林锦明,查永如,等.空调环境空气质量及其对作业人员健康影响的探讨[J].中国职业医学,2004;31(4):21-23.

[2] Knnedy T,Ghio AJ,Reed W,et al.Copper-dependent inflammation and nuclear factor-kB activation by particulate air pollution[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,1998;19:366-378.

[3] Mukae H,Vincent R,Quinlan K,et al.The effect of repeated exposure to particulate air pollution(PM10)on the bone marrow[J].Am J Respir Crit Care Med,2001;63:201-209.

[4] 周向东.大环内酯抗生素抑制气道粘液高分泌的研究[J].中国抗生素杂志,2002;27(6):354-355.

[5] Shukla A,Timblin C,BeruBe K,et al.Inhaled particulate matter causes expression of nuclear factor (NF)-kappaB-related genes and oxidant-dependent NF-kappaB activation in vitro[J].Am J Respir Cell Mol Biol,2000;23:182-187.

(上接第 61 页)

易行,特异性、重现性好,绝对回收率、相对回收率、精密度、灵敏度高。18 名志愿者从零时间至最终采血点的 AUC_{0-36} 均符合 $(AUC_{0-36}/AUC_{0-\infty})\times 100\% > 80\%$ 的要求。药动学参数与文献报道基本一致。

单剂量口服盐酸左氧氟沙星胶囊后,2 种药物的主要药动学参数 AUC_{0-36}、$AUC_{0-\infty}$、C_{max} 经对数转换后进行方差分析,药物间、周期间无统计学差异($P>0.05$),个体间差异有统计学意义($P<0.05$);双单侧 t 检验均 $P>0.05$;受试药物的 AUC_{0-36}、$AUC_{0-\infty}$ 90%可信限均在参比药物的 80%~125%内,C_{max} 90%可信限在 70%~143%内。说明 2 种药物在健康人体内的药动学过程及吸收、分布、排泄性质相似,但存在较大个体差异,同时表明 2 种药物具有生物等效性。

参 考 文 献

[1] 马越鸣,曾照宏,陈 波,等.盐酸左旋氧氟沙星胶囊人体生物利用度[J].中国临床药理学与治疗学,2000;5(4):333-335.

[2] 殷国真,李会林,金 鸥,等.乳酸左氧氟沙星片的人体生物利用度[J].中国临床药学杂志,1998;7(4):157.

[3] 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].中国现代应用药学杂志,2004;21(3):199.