克拉霉素片剂人体生物利用度研究

高科攀,史振祺,蒋新国(复旦大学药学院药剂学教研室,上海 200032)

摘要:目的　对国产克拉霉素片进行相对生物利用度研究,评价其生物等效性,为临床用药有效性提供实验依据。方法　48 名健康志愿者随机交叉单剂量口服 500 mg 克拉霉素试验制剂和参比制剂,采用微生物检定法测定血药浓度,生物等效性采用三因素方差分析和双单侧 t 检验。结果　试验制剂和参比制剂的药物动力学参数 C_{max}, T_{max}, $T_{1/2}$, $AUC_{0-\infty}$ 分别为(3.16 ±0.71) μg/mL 和(3.01 ±0.87) μg/mL,(1.46 ±0.59) h 和(1.72 ±0.57) h,(5.45 ±0.98) h 和(5.49 ±1.28) h,(26.22 ±4.26) μg·h/mL 和(25.50 ±5.29) μg·h/mL。试验制剂的相对生物利用度为(106 ±20) %。结论　两种制剂具有生物等效性。

关键词:克拉霉素;生物利用度;生物等效性;微生物管碟检定法
中图分类号:R978.15;R945.1　　文献标识码:A　　文章编号:1007-7693(2004)01-0038-03

Studies on the bioavailibility of clarithromycin tablet in human

GAO Ke-pan, SHI Zhen-qi, JIANG Xin-guo(*Department of Pharmaceutical Science, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai* 200032, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE　To study the relative biovailibility of domestic clarithromycin tablet, evaluate its bioequivalence so as to make better clinical use of it. **METHOD**　Forty-eight healthy volunteers were orally given domestic clarithromycin tablet(test preparation) and imported tablet(reference preparation) with a single dosage of 500 mg in a randomized crossover study. The serum concentrations of clarithromycin were determined by microbioassay. The bioequivalence was evaluated by three factors analysis of variance and two one-side t test. **RESULTS**　The pharmacokinetic parameters of test or reference prepartion were as follows: C_{max}: (3.16 ±0.71) μg/mL or (3.01 ±0.87) μg/mL, T_{max}: (1.46 ±0.59) h or (1.72 ±0.57) h, $T_{1/2}$: (5.45 ±0.98) h or (5.49 ±1.28) h, $AUC_{0-\infty}$: (26.22 ±4.26) μg·h/mL or (25.50 ±5.29) μg·h/mL. The relative bioavailibility of test preparation was (106 ±20) %. **CONCLUSION**　The two preparations were bioequivalent.

KEY WORDS: clarithromycin; biovailibility; bioequivalence; microbioassay

克拉霉素为大环内酯类抗生素,具有类似红霉素的抗菌效果,对多种革兰阳性或革兰阴性,需氧或厌氧菌均具很高的抗菌效果,在国外已广泛应用于临床。本实验用微生物管碟检定法[1,2]测定 48 名健康志愿者单剂量口服国产克拉霉素片剂后的血药浓度,为临床安全有效用药提供实验依据。

1　材料和方法

1.1　仪器与试剂

Millipore simpli lab 超纯水净化器,NUAIRE 隔水式二氧化碳培养箱

pH7.8 磷酸盐缓冲液;短小芽孢杆菌[CMCC(B) 63202][中华人民共和国卫生部标准(试行) WS-279(X-241)-96]由上海市药品检验所提供;培养基 I(2000 年版药典附录);克拉霉素试验制剂(上海雅培制药有限公司,250 mg/片,批号:991017);克拉霉素参比制剂(意大利雅培药厂,250 mg/片,批号:010417);克拉霉素标准品(美国雅培制药有限公司提供,含量:99.0 %,批号:33386-255-3-B)

1.2　受试者

健康男性 48 名,年龄(21.2 ±1.2) 岁,身高(1.73 ±0.05) m,体重(65.19 ±5.86) kg。经病史询问,并经肝肾功能、血尿常规和心电图检查证实为健康受试者,志愿参加克拉霉素片剂的人体生物利用度试验,并于受试前签署受试者知情同意书。受试者在整个试验过程中精神状态良好。

1.3　给药方案

将 48 名受试者随机分成 2 组,进行自身交叉单剂量口服给药。给药前禁食 12h 后口服试验制剂或参比制剂 2 片(250 mg/片),用 250 mL 温开水送服,服药后 2h 方可饮水,4h 后进低脂肪统一午餐,晚上也给统一餐。受试者服药后避免剧烈运动。试验期间禁烟酒和含咖啡因的饮料,受试前两周至试验结束禁服任何其它药物。两次给药间隔为 7d。

1.4　血样采集与处理

血样采集前,埋置肝素留置针头,服药前取空白血,并分别在给药后 0.33,0.67,1,1.5,2,3,4,6,9,12,16,24h 共 12 个时间点取静脉血 3.0 mL,收集于聚丙烯离心管内,离心 15 min(3 000r/min)后分离得血清,于-20 ℃冰箱中放置,待作血药浓度分析。

1.5　血药浓度测定

1.5.1 标准血清样品配制　参考文献[3]方法,精密称取克拉霉素标准品 5.0 mg,10 mL 甲醇溶解后,用 pH7.8 的灭菌磷酸缓冲液定容至 50.0 mL 量瓶中,作为标准贮备液(浓度为 100μg/mL),置 4 ℃冰箱保存备用。取储备液适量,用血清稀释成 0.05,0.1,0.2,0.4,0.8,1.6,3.2,6.4μg/mL 系列浓度,作为标准血清样品,于 -20 ℃冰箱中放置。另配 1.0μg/mL 血清溶液作中心浓度样品用于校正碟内误差。

1.5.2 双碟的制备　取配制好的培养基适量,加热融化,待温度下降至 60 ℃,以 1∶5 000 的比例加入菌液,摇匀,在每个双碟中分别加入 10 mL,形成培养层。在每碟中以等距离均匀安放无菌不锈钢小管 6 个,备用。

1.5.3 标准曲线制备　将 **-20** ℃保存的系列标准血清样品和中心浓度样品于室温下融化,振摇 10s。在每个双碟中用移液枪将同浓度的 3 个标准血清样品和 3 个中心浓度样品滴入不锈钢小管中(两两间隔),加样量为 100μL,并以此平行操作 3 份。所有浓度的标准血清样品均照上述操作。将双碟置恒温箱内 37 ℃培养 15~16h,取出,用游标卡尺分别测量抑菌圈直径(精确至 0.02 mm)。先求中心浓度抑菌圈直径平均值 d_1,再求样品抑菌圈直径平均值 d_2。两者之差为 Δd。以平均 Δd 值为横坐标,标准血清浓度的对数为纵坐标作线性回归,作图即得标准曲线。

1.5.4 血药浓度测定

以受试者血清样品取代标准血清样品,按相同的方法测算平均 Δd 值,代入标准曲线方程算得受试者血清药物浓度。

1.5.5 数据处理

根据药时数据,用梯形法计算 AUC,以实测值表示 T_{max}和 C_{max},采用统计矩方法计算其它药动学参数。用 SPSS 软件将 C_{max},AUC_{0-T},$AUC_{0-\infty}$的值进行对数转换后再进行方差分析,并用双单侧 t 检验进行生物等效性判定,计算 90 %的置信区间。

2　结果

2.1 线性和灵敏度

标准曲线如图 1,标准曲线方程:$y = 0.3187x + 0.2721$ ($r = 0.9986$, $n = 8$),线性范围:0.05~6.4μg/mL,最低检测浓度为 0.05μg/mL。

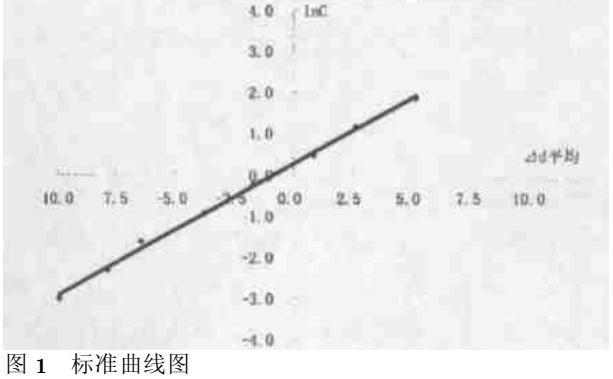

图 1　标准曲线图

Fig 1　Standard curve of lnC versus average Δd

2.2 回收率与精密度

取 0.1,0.8,3.2μg/mL 的标准血清样品,每一浓度取 5 份,按血药浓度测定方法重复测定,以测定浓度除以配置浓度得回收率,分别为(109.40±16.95) %,(104.60±11.15) %和(101.40±13.89) %;同 1d 内测定低、中、高浓度各 5 份样品,计算测定浓度的 RSD,即为 1d 内 RSD,分别是 19.12 %,10.02 %和 6.99 %;连续的 5d 测定低、中、高浓度各 5 份样品,测定浓度的 RSD,即为 1d 间 RSD,分别是 14.05 %,9.63 %和 7.03 %。

2.3 血药浓度测定

受试者血清样品按照上述方法测定,绘制药时曲线如图 2。

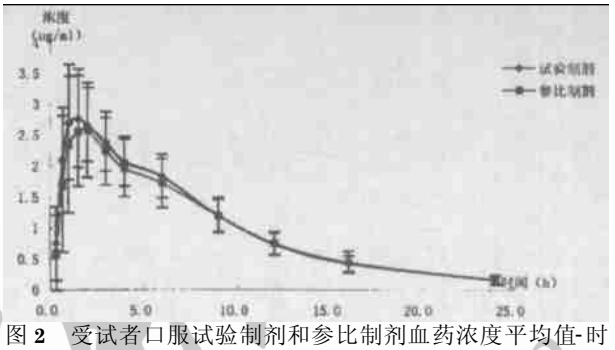

图 2　受试者口服试验制剂和参比制剂血药浓度平均值-时间曲线

Fig 2　Plasma concentration-time curve of clarithromycin after p.o. administration of test preparation and reference preparation

2.4 主要药动学参数及统计结果

结果见表 1。

表 1　主要药动学参数及统计结果($n = 48$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Main pharmacokinetic parameters and statistical results($n = 48$, $\bar{x} \pm s$)

参数	试验制剂	参比制剂	P 值
T_{max}(h)	1.46±0.59	1.72±0.57	>0.05
C_{max}(μg/mL)	3.16±0.71	3.01±0.87	>0.05
$t_{1/2}$(h)	5.45±0.98	5.49±1.28	>0.05
AUC_{0-t}(μg/mL·h)	24.92±4.04	24.08±4.91	>0.05
$AUC_{0-\infty}$(μg/mL·h)	26.22±4.26	25.50±5.29	>0.05
MRT(h)	6.99±0.69	7.28±0.92	>0.05
F	1.06±0.20		

3　结论

方差分析和双单侧 t 检验的结果表明:试验制剂的 AUC_{0-T},$AUC_{0-\infty}$,C_{max},T_{max},$T_{1/2}$与参比制剂相比,均无显著性差异。试验制剂的 AUC_{0-T}和 C_{max} 90 %置信区间分别落在参比制剂 100.01 %~109.18 %和 94.65 %~112.99 %的范围内,故试验制剂与参比制剂生物等效。试验制剂平均相对生物利用度为(106±20) %(以 AUC_{0-T}计算)。

4　讨论

微生物检定法双碟的制备通常是先铺 20 mL 无菌培养基作为底层,再在其上覆盖 5 mL 含菌培养基,但如此制备灵敏度往往较低。本实验仅以 10 mL 含菌培养基铺单层,同时控制培养基中短小芽孢杆菌含量,从而增加了方法灵

http://www.chinajmap.com

敏度。需要注意的是,先铺底层的方法可以克服由于培养皿底部不平整引起的碟内误差,而铺单层则无此效果。因此建议选择底部平整的优质培养皿用作铺单层。同时良好的恒温培养箱也是抑菌圈圆整清晰关键,尤其在低浓度测定中。

除上述双碟制备方法与相关文献报道有所不同以外,在数据统计分析中,由于受试者数量为 48 名,常用的 3P97 软件无法处理如此大量的数据,因此本实验使用 spss 软件,未对药时数据进行拟合,所有药动学参数均由实测数据得到,这些参数与文献报道基本一致。

致谢:感谢上海市药检所史晓晔、黄泓老师给予实验指导。

参考文献

[1] 宋洪杰,李珍,石晶,等. 克拉霉素胶囊和片剂的生物利用度比较[J]. 中国临床药学杂志. 1999,8(6):354.

[2] 魏倩萍,周兴华,何海霞,等. 克拉霉素胶囊人体相对生物利用度实验研究[J]. 重庆医科大学学报. 1999,24(2):161.

[3] 黄海华,钟大放,王爱民,等. 克拉霉素两种制剂的生物等效性研究[J]. 中国抗生素杂志. 1998,23(3):209.

收稿日期:2002-09-12