

乳酸左氧氟沙星分散片健康人体生物等效性研究

赵秀丽,武峰,王淑民,李嘉静,周辉,崔艳丽,郭韶洁,纪M峰(首都医科大学附属北京同仁医院临床药理基地,北京 100730)

摘要:目的 对乳酸左氧氟沙星分散片和左氧氟沙星片进行生物利用度比较,判定两种制剂是否为等效制剂。方法 20名男性健康受试者随机交叉给药,分别口服单剂量乳酸左氧氟沙星分散片(试验制剂)及乳酸左氧氟沙星片(参比制剂)200 mg,采用HPLC法测定血药浓度,计算两者的药动学参数及相对生物利用度,并求证两种制剂的生物等效性。结果 口服200 mg试验制剂或参比制剂的主要药动学参数 $t_{1/2\beta}$ 分别为 (5.68 ± 1.79) 和 (5.38 ± 1.52) h; $t_{\max}$ 分别为 (0.84 ± 0.79) 和 (0.95 ± 0.47) h; $c_{\max}$ 分别为 (2.27 ± 0.47) 和 $(2.26 \pm 0.58) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; AUC_{0-1} 分别为 (14.90 ± 2.14) 和 $(15.62 \pm 2.49) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 (15.17 ± 2.34) 和 $(15.87 \pm 2.67) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$ 。试验制剂对于参比制剂的平均相对生物利用度 F 值: AUC_{0-1} 为 $(97.23 \pm 17.71)\%$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(97.43 \pm 17.76)\%$ 。两种制剂的 AUC_{0-1} , $\text{AUC}_{0-\infty}$ 及 $c_{\max}$ 经对数转换后双单侧 t 检验,结果接受两种制剂生物等效的假设。 $c_{\max}$ 的90%置信区间结果为 $88.1\% \sim 117.3\%$, AUC_{0-1} 为 $89.2\% \sim 102.5\%$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $89.3\% \sim 102.9\%$, $t_{\max}$ 经秩和检验无显著性差异。整个试验期间,受试者均未发生药物不良反应。结论 按照生物等效性判定标准,可判定两种制剂生物等效。

关键词:左氧氟沙星;HPLC;生物等效性

中图分类号:R945 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2007)07-0604-03

Bioequivalent Study of Lactate Levofloxacin Dispersible Tablets in Healthy Volunteers

ZHAO Xiu-li, WU Feng, WANG Shu-min, LI Jia-jing, ZHOU Hui, CUI Yan-li, GUO Shao-lie, JI Jing-feng (Base for Drug Clinical Trial, Beijing Tongren Hospital, Affiliated to Capital University of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

作者简介:赵秀丽,女,主任药师 E-mail: xiuhezhaol@medmail.com.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE Compare the bioavailability of lactate levofloxacin dispersible tablets and levofloxacin tablets, and determine whether these two formulations were bioequivalent. **METHODS** A single oral dose 200 mg of lactate levofloxacin dispersible tablets (test formulation) or levofloxacin tablets (reference formulation) were given to 20 male healthy volunteers in a randomized crossover study. The concentrations of levofloxacin in serum were determined by HPLC. **RESULTS** The main pharmacokinetic parameters respectively in test or reference formulations were as follows: $t_{1/2\beta}$ (5.68 ± 1.79) and (5.38 ± 1.52) h; $t_{\max}$ (0.84 ± 0.79) and (0.95 ± 0.47) h; $c_{\max}$ (2.27 ± 0.47) and (2.26 ± 0.58) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; AUC_{0-1} (14.90 ± 2.14) and (15.62 ± 2.49) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$; $\text{AUC}_{0-\infty}$ (15.17 ± 2.34) and (15.87 ± 2.67) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$. The average relative bioavailability of AUC_{0-1} and $\text{AUC}_{0-\infty}$ were (97.23 ± 17.71)% and (97.43 ± 17.76)%. The two one-sided t-test of AUC_{0-1} , $\text{AUC}_{0-\infty}$ and $c_{\max}$ after logarithmic transformation showed that these two formulations were bioequivalent. The 90% confidence interval of $c_{\max}$, AUC_{0-1} and $\text{AUC}_{0-\infty}$ were 88.1% ~ 117.3%, 89.2% ~ 102.5% and 89.3% ~ 102.9%. No significance was found about $t_{\max}$ by rank sum test. No adverse events occurred through the whole trial. **CONCLUSION** These two formulations were bioequivalent according to the standards.

KEY WORDS: levofloxacin; HPLC; bioequivalence

乳酸左氧氟沙星分散片的主要成分是左氧氟沙星。左氧氟沙星为氧氟沙星的左旋体,其体外抗菌活性约为氧氟沙星的两倍。其主要作用机制是通过抑制细菌的 DNA 旋转酶(细菌拓扑异构酶 II)的活性,阻止细菌 DNA 的复制。本品具有抗菌谱广、抗菌作用强的特点,对多数肠杆菌科细菌及革兰阴性菌有较强的抗菌活性,临床上主要用于敏感菌所引起的中、重度感染,包括呼吸系统、泌尿生殖系统、皮肤软组织、肠道、腹腔、骨与关节感染等等。

本研究以乳酸左氧氟沙星片(来立信)为对照,考察杭州国光药业有限公司研制的乳酸左氧氟沙星分散片的生物利用度,判定两种制剂是否为等效制剂,为该剂的临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 受试者的选择

筛选 20 名健康男性志愿者参加试验,要求年龄 21 ~ 30 岁之间;体重指数在正常范围内;既往无肝肾疾病、心脑血管疾病、神经系统疾病史;经查体及实验室检查证实身体健康;给药前 3 周内未使用过任何药物;签署书面知情同意书。

1.2 给药方案

将受试者按体重指数分层随机分为 2 组,分别交叉口服 200 mg 试验药及对照药。每次给药间隔为 7 d。受试者于给药前一天晚饭后禁食至给药后 4 h,试验当天给予标准餐。受试期间饮水适量。于晨 8 时左右服药,于服药前及服药后 0.25、0.5、0.75、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、36.0 h 于上肢肘窝静脉取血 4 mL,分离血清后置于冰柜待测。给药当天和第二天观察一般情况并进行常规体格检查,试验中严格进行不良事件的记录并备齐抢救物品。

1.3 药品及试剂

试验制剂:乳酸左氧氟沙星分散片,规格:100 mg/片(以左氧氟沙星计),批号:050701,杭州国光药业有限公司;参比制剂:乳酸左氧氟沙星片,规格:100 mg/片(以左氧氟沙星计),批号:051111,浙江医药股份有限公司新昌制药厂;左氧氟沙星标准品:含量 97.2%,购自中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯,磷酸二氢钾、高氯酸为分析纯。

1.4 仪器

Waters 高效液相色谱仪及 Waters 色谱工作站,美国 Wa-

ters 公司。Alltima C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm),美国 Alltech 公司。

1.5 标本测定

1.5.1 样品处理 取血清标本 0.35 mL,加入 0.7 mL 0.33 mol·L⁻¹ 高氯酸沉淀蛋白,充分振荡,离心 5 min,取上清液进样。

1.5.2 色谱条件 流动相为乙腈-0.04 mol·L⁻¹ K₂HPO₄-三乙胺=210:40:1,检测波长 294.6 nm,流速 1 mL·min⁻¹。

1.6 方法学考察

专属性:空白血清同法处理后,在样品峰处无干扰,说明本试验条件对左氧氟沙星具有良好的专属性。

标准曲线:左氧氟沙星在 4.0 ~ 0.0625 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的测定浓度范围内呈现良好的线性。线性方程为: $\text{Asam} = 92197.39C - 852.91$, $r = 0.9999$ 。

灵敏度:以标准曲线最低浓度为最低检测限,本研究中血清左氧氟沙星的最低定量限为 0.0625 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,可满足药动学要求。

日内差与日间差:取血清样品高、中、低三个浓度进行考察,每个浓度测定 5 份,连续测定 5 d,日内和日间的变异系数均小于 10%,见表 1。

表 1 血清左氧氟沙星的日内差与日间差 ($n=5$, $\bar{x} \pm s$)

浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	日内差	RSD/%	日间差	RSD/%
2	2.035 ± 0.095	4.69	1.946 ± 0.086	4.42
0.5	0.460 ± 0.003	0.70	0.503 ± 0.020	4.06
0.125	0.126 ± 0.006	4.53	0.126 ± 0.005	3.61

回收率:本试验高、中、低浓度血清样品的平均相对回收率在 85 ~ 115% 之间,符合试验要求。另配制相应浓度的左氧氟沙星标准溶液,稀释 3 倍后进样,将两组峰面积进行比较求得绝对回收率,本试验高、中、低浓度样品的平均绝对回收率均在 80% 以上,符合试验要求。见表 2。

稳定性及质控:样本 - 40℃ 保存,经考察在测定周期内、反复冻融后均稳定。配制高、中、低三个浓度的质控样与待测样本同时保存及测定,只有质控样的测定结果符合要求,该批样本测定结果才能认为有效。

表 2 血清左氧氟沙星的回收率 ($n = 5 \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Recovery of levofloxacin in Serum ($n = 5 \bar{x} \pm s$)

浓度 / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	相对回收率 %	RSD %	绝对回收率 %	RSD %
2	101.74 ± 4.77	4.69	98.13 ± 4.62	4.71
0.5	92.09 ± 0.65	0.70	96.02 ± 0.69	0.72
0.125	100.87 ± 4.56	4.52	113.76 ± 5.56	4.89

1.7 数据处理

主要参数 c_{max} , t_{max} 采用实测值, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 采用梯形法计算, 其余药动学参数用 3P97 模拟求得。对 AUC 及 c_{max} 经对数转换后进行方差分析、双单侧 t 检验及 90% 置信区间计算, t_{max} 用非参数法统计。

2 结果

2.1 一般情况

20 名受试者均完成试验, 试验期间无不良事件发生。

2.2 血药浓度测定结果

受试者交叉给予试验制剂及参比制剂后的血药浓度均值-时间曲线见图 1, 从图中可见两组曲线的变化趋势基本一致。

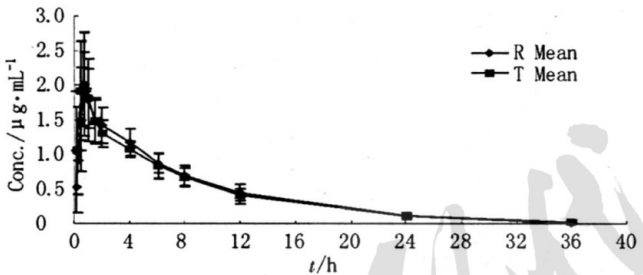


图 1 左氧氟沙星的平均血药浓度-时间曲线

R Mean 参比制剂平均血药浓度; T Mean 试验制剂平均血药浓度

Fig 1 Mean serum concentration-time curves of levofloxacin

R Mean Mean serum concentration of reference formulation; T Mean

Mean serum concentration of test formulation

2.3 药动学参数

口服左氧氟沙星试验制剂与参比制剂的主要药动学参数见表 3。经计算试验制剂对于参比制剂的平均相对生物利用度 F 值: AUC_{0-t} 为 $(97.23 \pm 17.71)\%$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 $(97.43 \pm 17.76)\%$ 。两种制剂的平均相对生物利用度 (AUC_{0-t} , $\text{AUC}_{0-\infty}$) 均大于 90%。

表 3 两种制剂的主要药动学参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Main pharmacokinetic parameters of the two formulations ($\bar{x} \pm s$)

参数	试验制剂	参比制剂
$\text{AUC}_{0-t} / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	14.90 ± 2.14	15.62 ± 2.49
$\text{AUC}_{0-\infty} / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	15.17 ± 2.34	15.87 ± 2.67
$c_{\text{max}} / \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	2.27 ± 0.47	2.26 ± 0.58
$t_{\text{max}} / \text{h}$	0.84 ± 0.79	0.95 ± 0.47
$\text{MRT}_{0-t} / \text{h}$	7.81 ± 0.96	8.01 ± 0.95
$t_{1/2\beta} / \text{h}$	5.68 ± 1.79	5.38 ± 1.52
$\text{MRT}_{0-\infty} / \text{h}$	8.43 ± 1.64	8.54 ± 1.51

2.4 生物等效性评价

双单侧 t 检验表明, 两种制剂经对数转换的 c_{max} , AUC_{0-t}

及 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 的检验统计量 t_1 , t_2 均大于 $t_{0.05(18)} = 1.734$, 故接受两种制剂的生物等效的假设; 90% 置信区间的计算结果, c_{max} 为 88.1% ~ 117.3%, AUC_{0-t} 为 89.2% ~ 102.5%, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 为 89.3% ~ 102.9%, 按照生物等效性判定标准^[1], 试验制剂 c_{max} 的 90% 置信区间落在参比制剂的 70% ~ 143% 之间, AUC 的 90% 置信区间落在标准参比制剂的 80% ~ 125% 之间, 即可判定两种制剂为生物等效; t_{max} 经非参数秩和检验无显著性差异。根据本试验结果, 可判定两种制剂生物等效。

3 讨论

有关左氧氟沙星血清浓度测定方法在国内外已有多篇文献报道^[2-6], 测定方法主要有微生物法和 HPLC 法, 其中 HPLC 法的检测波长约为 294 nm, 具有快速、准确、重复性好、灵敏度高优点, 可满足药动学和生物等效性研究的需要。本研究使用二极管阵列检测器进行光谱扫描, 确定检测波长为 294.6 nm。

本研究对血清标本只进行简单的前处理, 即用 0.33 mol · L⁻¹ 的高氯酸溶液沉淀蛋白后直接进样, 适合于大批血清样品的处理和测定; 具有操作简单、精密度好的优点; 经方法学考察本研究测定方法的专属性、灵敏度、线性、精密度及回收率等均符合要求。

左氧氟沙星的临床用药剂量为 200~400 mg, 本次试验的给药剂量为 200 mg, 在临床用药的安全范围内, 与国内外文献报道一致。本试验得到的结果与国内文献报道结果进行比较^[6]: 单次口服 200 mg 左氧氟沙星, c_{max} 为 $(2.76 \pm 0.47) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; t_{max} 为 $(0.92 \pm 0.40) \text{h}$; $t_{1/2\beta}$ 为 $(6.14 \pm 0.46) \text{h}$, 结果非常接近。乳酸左氧氟沙星分散片 (试验制剂) 与乳酸左氧氟沙星片 (参比制剂) 的主要药动学参数经统计学检验无显著性差异, 说明两种制剂在人体内药动学过程相似。试验制剂的平均相对生物利用度均 > 90%, 经生物等效性统计分析, 两种制剂具有生物等效性。

参考文献

[1] Ch P (2000) Vol II (中国药典 2000 年版, 二部) [S]. 2000 附录 193-197.
[2] 赵秀丽, 王淑民, 李嘉静. 进食对甲磺酸左氧氟沙星的药代动力学的影响 [J]. 中国药房, 2006, 17: 119-120.
[3] 张贵军, 孙春华, 李可欣, 等. 甲磺酸左氧氟沙星血、尿浓度测定及人体内的药代动力学 [J]. 中国抗生素杂志, 1999, 24: 77-80.
[4] AIMEIDA S, FILIPE A, AIMEIDA A, et al. Comparative bioavailability of two formulations of levofloxacin and effect of sex on bioequivalence analysis: Data from a randomised 2 x 2 crossover trial in healthy volunteers. Arzneimittel-forschung 2005; 55: 414-419.
[5] AMSDEN G W, WHITAKER A M, JOHNSON P W. Lack of bioequivalence of levofloxacin when coadministered with a mineral-fortified breakfast of juice and cereal [J]. J Clin Pharmacol 2003; 43: 990-995.
[6] 张莉, 李家泰, 赵彩云, 等. 国产左氧氟沙星片剂健康人体生物等效性研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2001, 17: 199-202.

收稿日期: 2006-12-09