

注射用盐酸米诺环素在健康人体的药物动力学

高守红, 温燕, 邬蓉, 金晓玲, 恽芸蕾, 李静娴, 缪海均 (第二军医大学附属长征医院药材料, 上海 200003)

摘要 目的:研究注射用盐酸米诺环素在健康人体内的药物动力学。方法:10名健康志愿者单剂量静脉滴注 200 mg注射用盐酸米诺环素,采用 HPLC测定血浆中米诺环素浓度,计算药动学参数。结果:10例健康受试者单剂量静脉滴注 200 mg盐酸米诺环素,主要药动学参数 $t_{1/2}$ 为 (18.1 ± 4.07) h; C_{max} 为 (4.744 ± 0.887) mg/L; t_{max} 为 2.0 h; AUC_{0-72h} 为 (75.71 ± 10.68) mg · h/L; AUC_0 为 (79.90 ± 12.81) mg · h/L。结论:受试制剂注射用盐酸米诺环素在人体内的药代动力学特征与文献报道一致。

关键词 盐酸米诺环素; HPLC; 药代动力学

中图分类号: R945

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2009)03-0193-03

Pharmacokinetics of minocycline hydrochloride in Chinese healthy volunteers

GAO Shou-hong, WEN Yan, WU Rong, JIN Xiao-ling, YUN Yun-lei, LI Jing-xian, MAO Hai-jun (Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second military medical university, Shanghai 200003, China)

ABSTRACT Objective: To study the pharmacokinetics of minocycline hydrochloride in 10 Chinese healthy volunteers after a single intravenous administration of 200mg minocycline. **Methods:** Minocycline hydrochloride concentration in plasma was measured by an improved HPLC method, and the pharmacokinetic parameters were calculated. **Results:** After single dose administration of 200 mg minocycline, the main pharmacokinetic parameters $t_{1/2}$, C_{max} , t_{max} , AUC_{0-72h} , AUC_0 were (18.1 ± 4.07) h, (4.744 ± 0.887) mg/L, 2.0 h, (75.71 ± 10.68) mg · h/L, (79.90 ± 12.81) mg · h/L, respectively. **Conclusion:** The main pharmacokinetic parameters of minocycline are consistent with those reported previously.

KEY WORDS minocycline hydrochloride; HPLC; pharmacokinetics

盐酸米诺环素 (minocycline hydrochloride) 是一种高效、长效和低毒的半合成四环素类抗菌药,因在四环素的第 7 位上引进 2 个甲基,使其脂溶性有所提高,增加了对细菌细胞膜的通透性,因而抗菌作用增强,耐药性降低,盐酸米诺环素是目前临床使用最广泛的一种四环素类抗生素,主要对革兰阳性菌,包括四环素耐药株的金黄色葡萄球菌、链球菌、脑膜炎双球菌等均高度敏感,对革兰阴性的淋球菌作用亦很强;对沙眼衣原体和溶脲支原体亦有较好的抑菌作用,优于目前上市的 β-内酰胺类药和大环内酯类药。现临床上主要用于尿路感染、胃肠道感染、妇科感染、脓皮病、眼及耳鼻咽喉感染、骨髓炎等。本试验采用高效液相色谱法研究 10 名中国健康志愿者注射用盐酸米诺环素人体药代动力学特点,为临床安全、合理用药提供参考依据。

1 材料和方法

作者简介:高守红 (1975-),女,药师。Tel: (021) 81871347, E-mail: shouhonggao@hotmail.com

通讯作者:缪海均。E-mail: mhaijun@yahoo.com.cn.

1.1 仪器和试剂 Agilent-1200 series 高效液相色谱仪,包括 G1322A 在线脱气, G1311A 四元低压泵, G1329A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1314B VWD 检测器, ChemStation 化学工作站; XW-01 定时可调速旋涡混合器 (上海医科大学仪器厂); TGL-16G 台式高速离心机和 80-2B 台式离心机 (上海安亭科学仪器厂); Sartorius BP211D (德国赛多利斯)。注射用盐酸米诺环素 (规格: 50 mg 瓶,批号 20050602, 湖北潜龙药业有限公司), 米诺环素对照品 (含量: 85.1%, 130514-200401, 中国药品生物制品检定所); 内标土霉素 (每 mg 相当于 912 单位, 3059617, 中国药品生物制品检定所); 乙腈、乙酸乙酯为色谱纯试剂 (德国 Merck 公司); 抗坏血酸、磷酸二氢钠、亚硫酸钠 (无水); 盐酸和三氟乙酸均为分析纯, L-半胱氨酸为生化试剂, 水为纯净水。

1.2 受试者与试验设计 本临床试验方案经上海长征医院医学伦理委员会审核批准,在试验过程中受伦理委员会指导。10 名男性健康志愿者,年龄为 21 ~ 24 (22.4 ± 0.97) 岁,身高 174 ~ 181 (176.4 ± 2.32) cm,体重 60 ~ 70 (65.8 ± 2.82) kg,肝肾功能

及心电图正常,试验前 1 周及试验期间禁用其他药物,试验期间禁烟、酒、茶并签署知情同意书。在禁食 12 h 后,于次日晨单剂量静脉滴注 200 mg 注射用盐酸米诺环素,用 500 mL 生理盐水稀释后静脉滴注给药,120 min 滴注完毕。于给药前 (0 h) 及给药后 0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24、48 和 72 h 由前臂静脉取血 3 mL,并立即移入经肝素处理的离心试管中,3 500 r/min 离心 10 min,分离血浆后置 -20 冰箱保存。

1.3 色谱条件 色谱柱: Diamonsil™ C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) (迪马公司),流动相:乙腈-水-三氟乙酸 (17 : 83 : 0.1),流速:1.0 mL/min;检测波长:350 nm;柱温:35 °C;进样量 40 μL。

1.4 血浆样品预处理 取血浆 0.5 mL,加入内标土霉素 50 μL (50 μg/mL),涡旋振荡 30 s,再加入 pH 6.5 缓冲液 1 mL,涡旋振荡 30 s,加入 6 mL 乙酸乙酯涡旋振荡 3 min,于 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液加入 100 μL 稳定剂涡旋 15 s,30 °C 水浴通 N₂ 吹干,残渣用 400 μL 的溶解液溶解,涡旋振荡 1 min,于 12 000 r/min 高速离心 5 min 后吸取上清液 40 μL 进样,峰面积内标法定量分析。稳定剂的配制:称取 51.45 mg 抗坏血酸与 27.05 mg L 半胱氨酸,加甲醇溶解,定容于 50 mL。溶解液的配制:乙腈-0.1 mol/L 盐酸 (18 : 82)。

酸,加甲醇溶解,定容于 50 mL。溶解液的配制:乙腈-0.1 mol/L 盐酸 (18 : 82)。

1.5 体内分析方法学评价 用健康空白血浆精密配制成 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 和 10.0 μg/mL 浓度的米诺环素标准血浆样品,按 1.4 项下方法操作,制备血浆标准曲线。配制浓度为 0.05 μg/mL 的标准血浆样品 6 份,进行最低定量限考察。配制浓度为 0.2、1.0、5.0 μg/mL 标准血浆样品,按 1.4 项下方法操作,进行回收率及日内、日间精密度考察。

1.6 药代动力学参数计算 采用梯形面积法计算 AUC_{0-t} 值 AUC_{0-∞} 值;以半对数作图法,由消除相的浓度点计算 k_e 和 t_{1/2}; t_{max} 和 C_{max} 采用实测值。z 为末端相消除速率常数,用末端相浓度对数与时间回归直线求得; t_{1/2} = 0.693 / z。

2 结果

2.1 方法专属性 在上述色谱条件下,米诺环素和内标土霉素峰形良好,米诺环素和内标土霉素的保留时间分别为 3.07 min 和 6.78 min (见图 1)。血浆中内源性杂质均不干扰米诺环素和内标土霉素的测定。

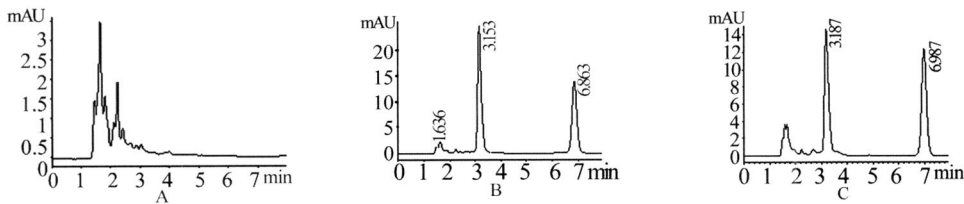


图 1 血浆中米诺环素的色谱分析典型谱图

A 空白血浆; B 空白血浆添加标准品; C 实测血浆样品

2.2 标准曲线及最低定量限测定 在空白血浆中加入米诺环素对照品,分别配制成浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 和 10.0 μg/mL。以对照品峰面积与内标峰面积的比值对浓度作标准曲线,结果表明米诺环素在 0.05 ~ 10.0 μg/mL 浓度范围内线性关系良好,回归方程为 $A = 0.243 2C -$

0.002 1 (r = 0.999 7)。按以上条件得到米诺环素在血浆中最低定量限为 0.05 μg/mL, RSD 为 9.0%。

2.3 精密度及回收率试验 配制低、中、高不同浓度标准血浆样品,按“1.4 项下操作,测定日内和日间 RSD,结果见表 1 ~ 2。

表 1 血浆中盐酸米诺环素精密度考察

加入浓度 (μg/mL)	日内 (n=5)			日间 (n=5)		
	测定浓度 (mean ±SD, μg/mL)	精密度 RSD %	准确度 RME %	测定浓度 (mean ±SD, μg/mL)	精密度 RSD %	准确度 RME %
0.20	0.21 ±0.01	5.3	5.0	0.21 ±0.02	4.4	5.0
1.0	0.98 ±0.05	5.4	-2.0	0.96 ±0.02	2.5	-4.0
5.0	5.19 ±0.01	0.1	3.8	5.27 ±0.04	0.7	5.4

表 6 3批样品含量测定结果 (mg/mL)

批号	盐酸精氨酸	亮氨酸
050301	24.9	8.1
050302	25.1	7.8
050903	24.7	7.9

3 讨论

3.1 衍生化反应为氨基酸与 DNFB 在碱性条件下的缩合反应,过量的 DNFB 及反应副产物的色谱峰对测定无干扰;

3.2 因人纤维蛋白粘合剂蛋白含量高,粘度大,不去除蛋白影响含量测定,故采用 1.5% 磺基水杨酸

去除,方法简单,方便;

3.3 衍生化产品在室温条件下 24 h 内能保持较好的稳定性;

3.4 本法分离效果、重现性、稳定性均好,专属性强,可用于监控氨基酸的含量。

参考文献:

- [1] 板蓝根中 L 精氨酸的柱前衍生化法 HPLC 分析 [J]. 西北药学杂志, 2004, 19 (4): 157.
- [2] 中国药典 2005 版 [S]. 二部, 2005: 588.
- [3] 丁建, 王玲娜, 苏丹. RP-HPLC 法测定眼氨肽滴眼液中 6 种氨基酸的含量 [J]. 江苏药学与临床研究, 2004, 12 (5): 29.

收稿日期: 2008-12-31

(上接第 194 页)

表 2 血浆中盐酸米诺环素回收率考察 (n=5)

加入浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 (mean \pm SD, ng/mL)	RSD (%)
0.20	101.15 \pm 5.36	5.3
1.0	92.66 \pm 5.02	5.4
5.0	105.94 \pm 0.12	0.1

2.4 稳定性考察 本试验考察了米诺环素血浆样品经历 3 次冷冻-解冻循环的稳定性以及血浆样品经样品处理后室温放置 24 h 的稳定性。配制米诺环素浓度为 0.2、1.0、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的血浆质控样品,按“1.4 项下方法操作,每一浓度水平进行 3 样本分析,结果显示替米沙坦血浆样品经历 3 次冷冻-解冻循环后稳定, RSD 为 8.8%; 血浆样品经样品处理后室温放置 24 h 的稳定, RSD 为 7.1%。

2.5 药物动力学研究 10 例健康志愿者单剂量静脉滴注 200 mg 盐酸米诺环素,结果平均血药浓度-时间曲线见图 2。主要药代动力学参数见表 3。

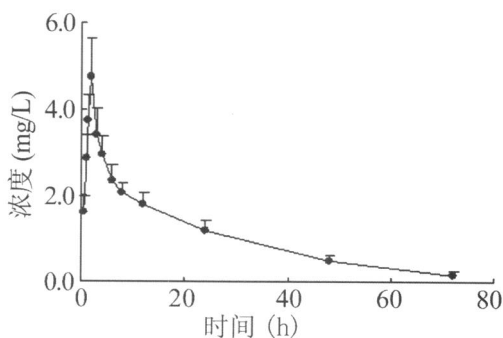


图 2 10 名健康受试者单剂量静脉滴注 200 mg 盐酸米诺环素后的药-时曲线

表 3 10 名健康志愿者单剂量静脉滴注 200 mg 盐酸米诺环素后主要药代动力学参数

参数	静脉滴注 (200 mg)
$t_{1/2}$ (h)	18.10 \pm 4.07
C_{\max} (mg/L)	4.744 \pm 0.887
t_{\max} (min)	2
AUC_{0-72} (mg \cdot h/L)	75.71 \pm 10.68
AUC_{0-} (mg \cdot h/L)	79.90 \pm 12.81

3 讨论

本实验中用 HPLC 测定志愿者体内血浆中盐酸米诺环素浓度,结果表明,该方法灵敏、精确、可靠,可满足盐酸米诺环素药代动力学研究需要,为临床设计给药方案提供实验依据。

盐酸米诺环素极易被氧化,血浆样品提取过程中加少量抗坏血酸、L-半胱氨酸等稳定剂,可减少被氧化破坏。同时在提取挥发过程中,需控制水浴温度,以防氧化破坏。采用加少量三氟乙酸流动相体系,样品色谱分离峰形对称,出峰时间短。

10 例健康受试者单剂量静脉滴注 200 mg 盐酸米诺环素,2 h 滴注完毕,主要药动学参数 $t_{1/2}$ 为 18.1 h; C_{\max} 为 4.744 mg/L 与文献报道一致^[1-3]。

参考文献:

- [1] 何菊英, 刘松青, 夏培元, 等. 单次与多次静脉滴注盐酸米诺环素在健康志愿者的药动学 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15 (10): 824.
- [2] Orti V, Audran M, Gibert P, et al. High-performance liquid chromatographic assay for minocycline in human plasma and parotid saliva [J]. Journal of Chromatography B, 2000, 738 (2): 357.
- [3] 周玲洁, 顾丽华, 王以俭, 等. 米诺环素注射剂的药动学 [J]. 中国新药与临床杂志, 2005, 24 (10): 798.

收稿日期: 2008-12-25