

了以 pH 为 5. 0、5. 5、6. 0、6. 5、7. 0、7. 5、8. 0、8. 4 的盐酸柠檬酸钠作碱化剂时血清中 Cpfk 的荧光强度。pH5. 0~ 7. 0 时, 随 pH 增大, 荧光强度显著增强, pH7. 0~ 8. 0 时, 随 pH 增大, 荧光强度增强缓慢, pH 大于 8. 0 时, 荧光强度随之减弱。碱化剂 pH8. 0 时, 体系荧光强度最强, 故选用碱化剂 pH8. 0。

参考文献:

- [1] 丁国华, 丁磊如, 刘霞. 氟喹诺酮类药的神经毒性作用[J]. 中国医院药学杂志, 1995, 8(15): 380~ 381.
- [2] 伍治, 操继跃, 孔科, 等. 反相高效液相色谱法测定猪血清中的盐酸环丙沙星[J]. 中国兽药科技, 2000, 30(1): 22~ 24.
- [3] 张善堂, 胡巧华, 屈建, 等. 荧光分光光度法测定血清中环丙沙星浓度[J]. 现代应用药学, 1994, 11(3): 22~ 24

收稿日期: 2005- 10

血浆中左氧氟沙星浓度的测定及其人体药物动力学的研究

杨艳敏, 邱 枫, 肇丽梅, 孙亚欣

(中国医科大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110004)

摘要: 目的 建立测定血浆中左氧氟沙星的方法。方法 采用 HPLC 法。色谱柱为 Dimosail- C₁₈(150 mm×4. 6 mm, 5 μm), 以乙腈- 0. 05 mol•L⁻¹磷酸二氢钾(20: 80)为流动相, 替硝唑为内标物, 在 295 nm 对血浆样品进行分析。结果 左氧氟沙星在 0. 05~ 4. 00 μg•ml⁻¹范围内线性关系良好, 最低定量浓度为 50. 0 ng•ml⁻¹, 日内精密度< 7%, 日间精密度< 5%, 平均相对回收率为 97. 92%。结论 所建方法操作简单、快速、重复性好、准确可靠, 可于临床血药浓度监测及药物动力学的研究。

关键词: 高效液相色谱法; 左氧氟沙星; 血浆; 药物动力学

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2006)03- 0277- 02

Determination of Levofloxacin in plasma and its pharmacokinetics study

YANG Yan- min, QIU Feng, ZHAO Li- mei, SUN Ya- xin

(The Second Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract: OBJECTIVE To establish a method for the determination of Levofloxacin concentration in human plasma by HPLC. METHODS

The Diamonsil- C₁₈ column(150 mm×4. 6 mm, 5 μm) was used for analytical column, with the mobile phase consisting of acetonitrile- 0. 05 mol•L⁻¹ KH₂PO₄ (20: 80), the internal standard was tinidazole (20 μg•ml⁻¹ in methanol) with detection wavelength of 295 nm.

RESULTS The linear range of levofloxacin was 0. 05~ 4. 00 μg•ml⁻¹. The average recovery was 97. 92%. The RSD of intra- day precisions were < 5% and the RSD of inter- day precisions were< 7%. CONCLUSION The method was rapid, accurate, precise and good repeatable. It is applicable to determine the concentration of Levofloxacin in human plasma and for its pharmacokinetic studies.

Key words: HPLC; Levofloxacin; Plasma; Pharmacokinetics

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006- 0103(2006)03- 0277- 02

左氧氟沙星(Levofloxacin)是具有光学活性的氟喹诺酮类抗菌药, 抗菌强度是消旋体氧氟沙星的两倍, 对大多数 G⁺ 和 G⁻ 菌、部分厌氧菌及沙眼衣原体有强大的抗菌活性。临床主要用于治疗下呼吸道系统、泌尿系统、呼吸系统等感染^[1]。在文献^[2, 3]基础上, 采用 HPLC 法测定血浆中左氧氟沙星浓度, 并用于盐酸左氧氟沙星片在健康人体内的药物动力学的研究。

1 实验部分

1. 1 仪器与试剂

LC- 10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司)。左氧氟沙星对照品(中国药品生物制品检定所, 含量

为 99. 6%); 乙腈为色谱纯; 磷酸二氢钾为分析纯; 空白人血浆(医院输血科)。乐朗(盐酸左氧氟沙星, 江苏恒瑞医药股份有限公司, 每片 100 mg, 批号: 030616)。

1. 2 色谱条件

色谱柱为 Diamosail- C₁₈ 柱(150 mm×4. 6 mm, 5 μm, 北京迪马公司); 流动相为乙腈- 0. 05 mol•L⁻¹磷酸二氢钾(20: 80); 流速 1. 5 ml•min⁻¹; 检测波长 295 nm; 柱温 30℃。

1. 3 血浆样品的分析^[2]

取 0. 5 ml 血浆样品置具塞试管中, 加入 50 μl 内标溶液(20 μg•ml⁻¹的替硝唑甲醇溶液), 加 1 ml 乙腈, 混匀, 涡旋 30 s, 在 1×10⁴ r•min⁻¹下离心 5

min。吸取上清液,置 50℃~60℃水浴氮气流中吹干,残渣加 100 μl 流动相溶解,进样 20 μl,记录色谱图。按内标法由标准曲线方程计算出血浆样品中左氧氟沙星的浓度。

1.4 分析方法的验证

1.4.1 专属性 在“1.2”项条件下,空白血浆、空白血浆加左氧氟沙星对照品溶液和内标溶液及受试者服药后的血浆色谱图见图 1。从图 1 可见,血浆中内源性物质不干扰左氧氟沙星和替硝唑的测定,左氧氟沙星、替硝唑的保留时间分别为 2.6、4.0 min。

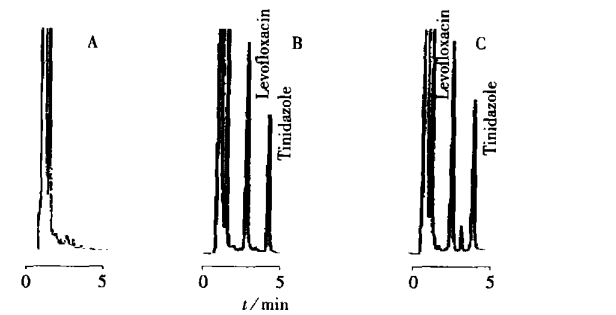


图 1 空白血浆(A)、空白血浆+ 左氧氟沙星和替硝唑(B)和血浆样品(C)溶液的色谱图

Fig 1 Chromatograms of blank plasma solution (A), blank plasma spiked with levofloxacin and tinidazole solution(B) and plasma sample solution(C)

1.4.2 标准曲线 取空白血浆 0.5 ml,依次加入左氧氟沙星的标准系列溶液 50 μl,配制 0.5、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 μg·ml⁻¹的血浆样品溶液。各加内标溶液 50 μl。按“1.3”项下操作,以血浆中待测物的浓度为横坐标,待测物与内标的峰高比为纵坐标,用最小二乘法进行线性回归,标准曲线方程为: $Y = 1.4 \times 10^{-3}X + 1.0 \times 10^{-3}$ ($r = 0.9991$)。根据标准曲线确定方法的线性范围为 0.05~4.00 μg·ml⁻¹,最低定量浓度为 0.05 μg·ml⁻¹。

1.4.3 精密度与相对回收率 按“1.4.2”项下操作,制备 0.1、0.5、2.0 μg·ml⁻¹的左氧氟沙星质量控制样品(QC),每个浓度同日内测定 6 次,并连续 3 d 测定 6 次(日间)。以当日的标准曲线计算 QC 样品的浓度,与配制的浓度对照,求得方法的精密度与相对回收率,其平均回收率为 97.92% (表 1)。

表 1 回收率和精密度实验结果(n = 6)

Table 1 The results of recovery and precision test(n = 6)

Added/ μg·ml ⁻¹	Found/ μg·ml ⁻¹	Recovery	RSD in a day	RSD between days
0.10	0.95	95%	6.3%	4.5%
0.50	0.48	96%	2.7%	0.8%
2.00	2.06	103%	3.1%	2.2%

1.5 在健康志愿者体内的药物动力学

20 名健康受试者空腹单剂量服用乐朗 2 片(盐

酸左氧氟沙星 200 mg),于服药前和服药后 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0、6.0、9.0、12.0、24.0 h,经静脉留置针取前臂静脉血 4 ml。肝素抗凝,离心后分离血浆。按“1.3”项下方法测定样品。结果表明,20 名受试者 po 盐酸左氧氟沙星片后, $C_{max} = 3.2284 \pm 0.7022 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$; $t_{max} = 0.7 \pm 0.2 \text{ h}$; $AUC_{0-\infty} = 19.7165 \pm 3.4509 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$; $AUC_{0-24} = 18.1803 \pm 2.9148 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{ml}^{-1}$; $Ke = 0.101 \pm 0.012 \text{ h}^{-1}$; $t_{1/2} = 7.0 \pm 0.8 \text{ h}$,其平均血药浓度-时间曲线见图 2。

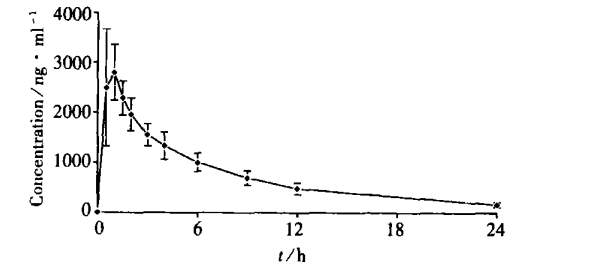


图 2 口服 200 mg 左氧氟沙星后平均血药浓度-时间曲线

Fig2 The mean plasma concentration- time curve of levofloxacin after administration of 200 mg Levofloxacin tablet

2 讨论

文中所建方法是在文献^[2]的基础上改进的,原方法采用非那西丁为内标样品,分析需 10 min,而文中方法采用替硝唑为内标单个样品分析仅需 5 min,且样品与内标在 0℃~4℃冰箱保存 24 h 内稳定。因此,适合高通量的样品分析。

试验测得的左氧氟沙星药动学参数与文献比较^[4-6],各个参数中 T_{max} 、 $t_{1/2}$ 较为相近, C_{max} 、 AUC_{0-24} 、 $AUC_{0-\infty}$ 略偏高,但无特殊性,其微小差异可能是个体对左氧氟沙星的消除代谢能力的差异所致。

参考文献:

[1] 曲静伟. 左旋氧氟沙星在下呼吸道感染中的应用[J]. 国外医药-合成药、生化药、制剂分册, 1998, 19(1): 49.

[2] 段旭, 肇丽梅, 张桂凤, 等. 左氧氟沙星的人体相对生物利用度研究[J]. 中国药业, 2000, 9(7): 19-20.

[3] 吴东方, 孙艳蓉, 张如鸿, 等. 荧光分光光度法测定人血浆中左氧氟沙星的浓度[J]. 华西药理学杂志, 2000, 15(2): 103-104.

[4] 谈恒山, 韩一波, 蔡明虹, 等. 乳酸左旋氧氟沙星胶囊人体生物利用度及其药物动力学[J]. 中国医院药学杂志, 2000, 20(4): 202-204.

[5] 单爱莲, 吕媛, 李家泰, 等. 左旋氧氟沙星和氧氟沙星的临床应用进展与评价[J]. 中国临床药理学杂志, 1997, 13(2): 115-119.

[6] Verho M, Malerczyk V, Damm D, et al. Pharmacokinetics of levofloxacin in comparison to the racemic mixture of ofloxacin in man [J]. Drug Metabol Drug Interact, 1996, 13(1): 57-67.

收稿日期: 2006-01