

左乙拉西坦片健康人体药动学

马涛¹, 钱江华¹, 祝晓光¹, 童旭辉¹, 高署², 蒋志文¹ (1. 安徽省蚌埠医学院药理学系, 安徽 蚌埠 233000; 2. 合肥合源医药科技有限公司, 安徽 合肥 230088)

[摘要] 目的: 建立检测人血清中左乙拉西坦浓度的高效液相色谱(HPLC)法, 并研究健康受试者单剂量及多剂量口服左乙拉西坦片后的药动学特征。方法: 32 名健康志愿者按体质指数随机分组, 每组 8 人, 男女各半, 分别单次口服左乙拉西坦片 250、500、750 mg 和多次口服左乙拉西坦片 bid, 每次 250 mg, 连续 6 d, 用 HPLC 法测定血清中药物的浓度, 并计算药动学参数。结果: 经 DAS 2.0 软件拟合计算, 单次给药低、中、高剂量组主要药动学参数 t_{max} 、 C_{max} 、 AUC_{0-36} 、 $t_{1/2}$ 分别为 (1.4 ± 1.2) 、 (1.2 ± 1.2) 和 (1.8 ± 1.1) h, (7.2 ± 1.7) 、 (14.6 ± 3.2) 和 (20.2 ± 4.9) mg \cdot L⁻¹, (61 ± 11) 、 (138 ± 28) 、 (202 ± 35) mg \cdot L⁻¹ \cdot h, (5.5 ± 0.8) 、 (6.1 ± 0.8) 、 (6.0 ± 1.6) h, 多次给药组的 t_{max} 、 C_{max} 、 C_{min} 、 $t_{1/2}$ 、 V_d 、 CL 、 AUC_{ss} 、 C_{av} 分别是 (0.9 ± 0.5) h, (21.3 ± 1.8) mg \cdot L⁻¹, (7.5 ± 1.7) mg \cdot L⁻¹, (5.8 ± 0.9) h, (0.38 ± 0.04) L \cdot Kg⁻¹, $(0.046 0 \pm 0.000 5)$ L \cdot h⁻¹ \cdot Kg⁻¹, (138 ± 9) mg \cdot L⁻¹ \cdot h, (11.5 ± 0.8) mg \cdot L⁻¹。结论: 左乙拉西坦片口服给药符合一级药动学房室模型, 服用剂量和 AUC_{0-36} 间有良好的线性关系; 多次给药与相同剂量单次给药后的药动学参数差异无显著性, 左乙拉西坦片多次给药无明显蓄积。

[关键词] 左乙拉西坦; 高效液相色谱法; 药动学

[中图分类号] R969.1 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)07-0858-04

Pharmacokinetics of levetiracetam in healthy volunteers

MA Tao¹, QIAN Jiang-hua¹, ZHU Xiao-guang¹, TONG Xu-hui¹, GAO Shu², JIANG Zhi-wen¹ (1. Faculty of Pharmacy, Bengbu Medical College, Anhui Bengbu 233000, China; 2. Hefei Heyuan Parma Sci & Tec Co Ltd, Anhui Hefei 230088, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC method for determination of serum concentration of levetiracetam and to study the pharmacokinetics of the drug in healthy volunteers after single dose and multiple dose administration. **METHODS** Thirty-two volunteers were divided into four groups randomly, each group included four men and four women. In the single dose design, the volunteers of three groups received either a single dose of 250, 500, 750 mg levetiracetam. The volunteers of another group received 250 mg levetiracetam twice daily for 6 days. The serum concentrations were determined by HPLC method and the pharmacokinetic parameters of levetiracetam were calculated. **RESULTS** The main pharmacokinetics parameters of the drug after single oral dose of 250, 500, 750 mg were t_{max} : (1.4 ± 1.2) , (1.2 ± 1.2) , (1.8 ± 1.1) h; C_{max} : (7.2 ± 1.7) , (14.6 ± 3.2) , (20.2 ± 4.9) mg \cdot L⁻¹; AUC_{0-36} : (61 ± 11) , (138 ± 28) , (202 ± 35) mg \cdot L⁻¹ \cdot h; $t_{1/2}$: (5.5 ± 0.8) , (6.1 ± 0.8) and (6.0 ± 1.6) h. After oral dosing of 250mg twice daily for 6 days, the main pharmacokinetics parameters of the drug were t_{max} : (0.9 ± 0.5) h, C_{max} : (21.3 ± 1.8) mg \cdot L⁻¹, C_{min} : (7.5 ± 1.7) mg \cdot L⁻¹, $t_{1/2}$: (5.8 ± 0.9) h, V_d : (0.38 ± 0.04) L \cdot Kg⁻¹, CL : $(0.046 0 \pm 0.000 5)$ L \cdot h⁻¹ \cdot Kg⁻¹, AUC_{ss} : (138 ± 9) mg \cdot L⁻¹ \cdot h, C_{av} : (11.5 ± 0.8) mg \cdot L⁻¹. **CONCLUSION** The pharmacokinetic results show that levetiracetam exhibits first order kinetic characteristics. The pharmacokinetic parameters of levetiracetam do not differ remarkably after 500mg single and multiple doses and there is no accumulation in serum after oral dosing of 250 mg twice daily for 6days.

KEY WORDS levetiracetam; HPLC; pharmacokinetics

左乙拉西坦 [(S)-2-乙基-2-氧合-1-乙酰胺吡咯烷] (levetiracetam) 是一种新型抗癫痫药物, 美国于 1999 年 12 月正式批准使用。左乙拉西坦的结构和作用机制均与已上市的其他抗癫痫药物不同, 本药具有较强的抗癫痫作用, 尤对成人难治性部分性癫痫疗效较好, 具有理想的药动学特征, 并

具有较好的安全性和耐受性^[1]。目前国内尚未有左乙拉西坦体内药物检测方法和药动学的文献报道。本实验的目的是研究抗癫痫新药左乙拉西坦在健康中国人体内的药动学, 为临床用药的有效性和安全性提供依据。

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究计划项目 (编号: 2006 KJ099C) [作者简介] 马涛, 男, 硕士, 讲师, 电话: 0552-3175233, E-mail: matao1992@ah163.com [通讯作者] 蒋志文, 电话: 0552-3175228

1 材料

LC-10A Tvp 高效液相色谱仪,配有 SPD-10A vp 紫外检测器和 LC-10A Tvp 输液泵(日本岛津公司);N2000 色谱数据工作站软件(浙江大学智达信息工程有限公司);ALC 4239R 型高速冷冻离心机(意大利 ALC 公司);左乙拉西坦片(珠海联邦制药厂有限公司中山分厂,规格 250 mg/片,批号 050502);左乙拉西坦对照品(珠海联邦制药厂有限公司中山分厂,含量 99.6%);盐酸伪麻黄碱(中国药品生物制品检定所,批号 1237-200002);乙腈为色谱纯;磷酸为特级纯;高氯酸为分析纯;水为纯化水;空白血清(蚌埠市血液中心)。

2 方法与结果

2.1 研究对象 32 名健康受试者均为在校学生,平均年龄(21.0 ± 1.4)岁,平均体质量(58.8 ± 6.5) kg,体质量指数均在 19~24 之间,均无药物过敏史和既往史,常规体检及生化体检结果证明肝、肾功能均正常,心电图正常,精神状态良好。受试者按照体质量随机分为 4 组(A、B、C、D 组),每组 8 人,男女各半。受试者在受试前 2 周内未服过任何药物,试验期间禁烟禁酒,并于试验前一天住院。本实验经医学伦理委员会批准,各受试者在被告知所有与药物有关可能的不良反应后,自愿签署知情同意书。临床试验在蚌埠医学院附属医院进行,由临床医生进行监护以保证受试者安全,受试者服药后 2 h 可饮水,4 h 进统一清淡饮食。

2.2 试验方案

2.2.1 单剂量研究 A、B、C 组受试者禁食过夜 10 h 以上,分别于次日早晨 7:00 空腹口服左乙拉西坦片 250, 500 和 750 mg 一次,用 200 mL 温开水送服,并分别于服药前和服药后 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36 h 从静脉采血 3 mL,置离心试管中 3 000 r·min⁻¹ 离心,取血清于 -20℃ 储存待测。

2.2.2 多剂量研究 D 组受试者口服左乙拉西坦片 bid,每次 250 mg,连续 6 d,并于第 1 次给药前取空白血,从第 4 天起,每次给药前取血 1 次,检测血药浓度,连续测定 3~5 次,确认已达稳态,在末次用药时,按单次给药采血时间点采样。

2.3 血样本测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(8.5:91.5),水相中含 0.6% 磷酸;流速:1.1 mL·min⁻¹;柱温:40℃;进样量:20 μL;检测波长:205 nm;AUFs = 0.005 0。

2.3.2 血清样品处理 精密量取 0.2 mL 血清样品,加入 17 mg·L⁻¹ 盐酸伪麻黄碱内标溶液 20 μL,振荡混匀 1 min 后加入 0.4 mL 6% 高氯酸,再次涡旋振荡 1 min 后 14 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 20 μL 进样测定。

2.3.3 方法的专属性 本方法具有较好的特异性,左乙拉西坦的保留时间约 8.6 min,内标盐酸伪麻黄碱的保留时间约 10.1 min,空白血清中内源性物质不干扰左乙拉西坦及内标的测定,见图 1。

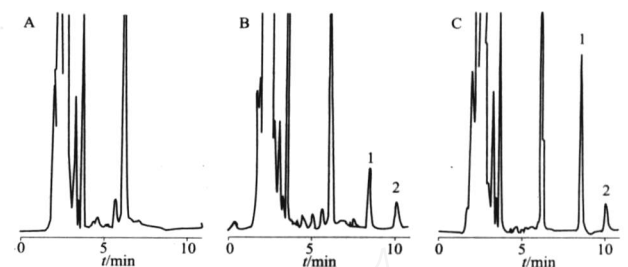


图 1 左乙拉西坦专属性色谱图

A. 空白血清; B. 空白血清 + 标准品 + 内标; C. 服药后血清样品; 1-左乙拉西坦; 2-内标

Fig 1 Typical HPLC chromatogram of levetiracetam

A. blank serum; B. blank serum with the internal standard and levetiracetam; C. the serum obtained from a volunteer after single oral administration; 1-levetiracetam; 2-internal standard

2.3.4 线性范围及最低检测限 取空白试管分别加入不同量的左乙拉西坦标准溶液,用氮气吹干后加入 0.2 mL 空白血清,使质量浓度分别为 0.22, 0.55, 1.1, 2.2, 5.5, 11.0, 22.0, 33.0 mg·L⁻¹,按“2.3.2”项下自“加入 17 mg·L⁻¹ 盐酸伪麻黄碱内标溶液 20 μL”起同法操作进行分析,建立左乙拉西坦的标准曲线。以待测物质量浓度(X , mg·L⁻¹)为横坐标,待测物与内标物的峰面积比值(Y)为纵坐标,用加权($W = 1/x$)最小二乘法进行线性回归,求得回归方程: $Y = 0.3277X - 0.0269$, $r = 0.9996$ ($n = 8$),结果表明左乙拉西坦在 0.22~33.0 mg·L⁻¹ 范围内线性关系良好,最低限量质量浓度为 0.22 mg·L⁻¹,RSD 为 3.05% ($n = 5$)。

2.3.5 回收率测定 按照标准曲线测定方法配制成低、中、高 3 个质量浓度(0.55, 5.5, 27.5 mg·L⁻¹)的血清样品各 3 份,按“2.3.2”项下自“加入 17 mg·L⁻¹ 盐酸伪麻黄碱内标溶液 20 μL”起同法操作进行分析,计算左乙拉西坦与内标峰面积之比值;与未经样品预处理的标准品直接进样测得的比值进行比较,计算回收率,结果见表 1。

2.3.6 日内、日间精密度测定 按“2.3.5”项下配制低、中、高 3 个质量浓度(0.55, 5.5, 27.5 mg·L⁻¹)的血清样品,每一浓度进行 5 样本分析,连续

测定 3 d, 根据当日的标准曲线, 计算样品的测得浓度, 并计算日内和日间的相对标准差, 结果见表 1。

表 1 血清中左乙拉西坦测定方法的日内、日间精密度和回收率

Tab 1 Precision and recovery of HPLC method levetiracetam determination

质量浓度 / mg L ⁻¹	日内 (n=5)		日间		回收率 (n=3)	
	$\bar{x} \pm s$	RSD/ %	$\bar{x} \pm s$	RSD/ %	$\bar{x} \pm s$	RSD/ %
0.55	0.58 ± 0.04	7.43	0.54 ± 0.05	9.08	84.8 ± 7.7	9.10
5.5	5.47 ± 0.24	4.30	5.43 ± 0.16	2.88	91.5 ± 1.5	1.65
27.5	27.50 ± 0.2	0.62	27.30 ± 0.9	3.35	109.0 ± 0.8	0.74

2.4 血药浓度-时间数据和药动学参数的估算 32 名健康志愿者口服左乙拉西坦片的平均血药浓度-时间曲线见图 2, 图 3, 利用 DAS 2.0 软件计算出的各主要药动学参数, 见表 2。

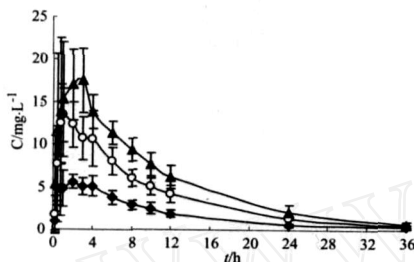


图 2 单剂量口服左乙拉西坦片 250, 500, 750 mg 的药-时曲线
- - 250 mg; - - 500 mg; - - 750 mg

Fig 2 Mean serum concentration-time curve of levetiracetam in healthy volunteers after single oral administration of 250, 500 and 750 mg

- - 250 mg; - - 500 mg; - - 750 mg

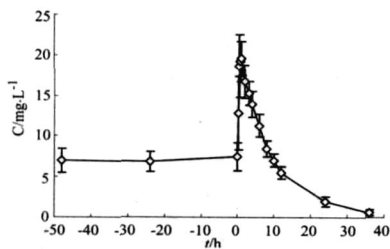


图 3 多剂量口服左乙拉西坦片的药-时曲线

Fig 3 Mean serum concentration-time curve of levetiracetam in healthy volunteers after oral administration of 250 mg twice daily for 6 d

表 2 左乙拉西坦片的主要药动学参数

Tab 2 Main pharmacokinetics parameters of levetiracetam tablets

参数	A	B	C	D
V/L · Kg ⁻¹	0.54 ± 0.08	0.56 ± 0.13	0.56 ± 0.13	0.38 ± 0.04
t _{1/2} /h	5.5 ± 0.8	6.1 ± 0.8	6.0 ± 1.6	5.8 ± 0.9
t _{max} /h	1.4 ± 1.2	1.2 ± 1.2	1.8 ± 1.1	0.9 ± 0.5
C _{max} /mg L ⁻¹	7.2 ± 1.7	14.6 ± 3.2	20.2 ± 4.9	21.3 ± 1.8
CL/a	0.065 ± 0.009	0.059 ± 0.011	0.061 ± 0.011	0.046 ± 0.005
AUC ₀₋₃₆ /b	61 ± 11	138 ± 28	202 ± 35	-
AUC _{0-∞} /b	66 ± 11	145 ± 27	209 ± 38	-
C _{min} /mg L ⁻¹	-	-	-	7.5 ± 1.7
DF	-	-	-	1.21 ± 0.28
C _{av}	-	-	-	11.5 ± 0.8
AUC _{SS} /mg L ⁻¹ · h ⁻¹	-	-	-	138 ± 9

注: a 为 L · h⁻¹ · Kg⁻¹, b 为 mg L⁻¹ · h

2.5 药动学参数的估算 采用 DAS 2.0 软件进行计算, 单次给药组进行房室模型和非房室模型分析, 计算各受试者的 t_{max}、C_{max}、AUC、V_d、t_{1/2}、CL 等药动学参数, 同时计算各参数的均数和标准差, 低、中、高剂量 AUC 进行相关性分析。多次给药组进行房室模型和非房室模型分析, 计算各受试者最后一次用药后的 t_{max}、C_{max}、C_{min}、V_d、t_{1/2}、CL、AUC_{SS}、C_{av}、DF 等药动学参数。

2.6 统计分析

2.6.1 单次给药低、中、高不同剂量间相关性分析 通过 DAS 2.0 软件对左乙拉西坦不同剂量与 AUC₀₋₃₆ 进行散点相关性分析, 结果表明受试者单次服用不同剂量的左乙拉西坦, AUC₀₋₃₆ 和服用剂量间有良好的线性关系。

2.6.2 多次给药与相同剂量单次给药主要药动学参数统计分析 多次给药 (D 组) 与相同剂量单次给药 (B 组) 主要药动学参数, AUC、t_{1/2} 经双向单侧 t 检验, t_{max} 经非参数检验, 两者之间差异无显著性; 波动度 DF 为 1.21 ± 0.28, C_{max} 双向单侧 t 检验差异有极显著性。

3 讨论

本试验样品处理方法采用高氯酸直接沉淀蛋白, 利用高效液相色谱法直接进样检测人血清中的左乙拉西坦浓度, 获得满意的结果。与文献报道的毛细管电泳法^[2]、微滴乳状液电泳法^[3]、气相色谱法^[4-5]、气-质联用法^[6]、HPLC 法^[7-8] 相比, 具有处理方法简便、灵敏度高、专属性强等优点, 可用于左乙拉西坦的药动学研究, 也适用于大量生物样品的分析, 如治疗药物检测等。

本试验中 32 名健康受试者随机分组口服不同剂量的左乙拉西坦片, 试验结果表明左乙拉西坦片口服给药符合一级药动学房室模型; 左乙拉西坦片不同剂量与 AUC₀₋₃₆ 间有良好的线性关系; 多次给药组与相同剂量单次给药组的药动学参数, AUC、t_{1/2} 之间差异无显著性, 多次给药无明显蓄积; 多次给药的稳态时峰浓度大于单次给药的峰浓度符合稳态时的特点。

据文献报道^[5], 比利时 UCB 公司在欧洲志愿者中进行的临床试验, 单次口服 750 mg 左乙拉西坦片主要药动学参数与本实验中单剂量口服左乙拉西坦片 750 mg 组的主要药动学参数经双向单侧 t 检验, 两者之间差异无显著性, 说明左乙拉西坦片口服给药的药物动力学在种族和个体间可能差异较小。

左乙拉西坦片具有口服吸收迅速、达稳态时间短、药动学呈线性等特点, 符合理想抗癫痫药物应具备

备的药动学特征^[9]。

参考文献:

[1] Emily M,N,Kiranpal S,Sangha. Levetiracetam [J]. Am J Health Syst Pharm,2001,58:1195-1199.

[2] Shihabi ZK,Oles K,Hinsdale M. Analysis of the antiepileptic drug keppra by capillary electrophoresis [J]. J Chromatogr A,2003,1004(1-2):9-12.

[3] Ivanova M,Piunti A,Marziali E, et al. Microemulsion electrokinetic chromatography applied for separation of levetiracetam from other antiepileptic drugs in polypharmacy [J]. Electrophoresis,2003,24(6):992-998.

[4] Perucca E,Gidal BE,Baltes E. Effects of antiepileptic medication on levetiracetam pharmacokinetics: a pooled analysis of data from randomized adjunctive therapy trials [J]. Epilepsy Res,2003,53(1-2):47-56.

[5] Coupez R,Straetemans R,Sehgal G, et al. Levetiracetam: relative bioavailability and bioequivalence of a 10% oral solution (750 mg) and 750 mg tablets [J]. J Clin Pharmacol,

2003,43(12):1370-1376.

[6] Isoherranen N,Roeder M,Soback S, et al. Enantioselective analysis of levetiracetam and its enantiomer R-alpha-ethyl-2-oxo-pyrrolidine acetamide using gas chromatography and ion trap mass spectrometric detection [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl,2000,745(2):325-332.

[7] Martens-Lobenhoffer J,Bode-Boger SM. Determination of levetiracetam in human plasma with minimal sample pretreatment [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2005,819(1):197-200.

[8] Pucci V,Bugamelli F,Mandrioli R, et al. High-performance liquid chromatographic determination of Levetiracetam in human plasma: comparison of different sample clean-up procedures [J]. Biomed Chromatogr,2004,18(1):37-44.

[9] Browne TR. Pharmacokinetics of antiepileptic drugs [J]. Neurology,1998,51(suppl.4):S2-S7.

[收稿日期]2006-05-29

复方黄毛豆腐柴搽剂抗软组织损伤及抗炎止痛的实验研究

潘洪平,陈英,荆树汉,路玫,张国宏 (广西壮族自治区人民医院,广西南宁 530021)

[摘要] 目的:研究复方黄毛豆腐柴搽剂保护软组织损伤及抗炎止痛的作用。方法:用蛋清致大鼠足肿胀,落物致小鼠软组织损伤和小鼠热板致痛,观察复方黄毛豆腐柴搽剂对其的对抗作用。结果:复方黄毛豆腐柴搽剂能明显对抗蛋清致大鼠足肿胀,减轻小鼠软组织损伤和热板致痛作用。结论:复方黄毛豆腐柴搽剂具有显著的抗炎、止痛和保护软组织损伤的作用,且呈现一定的量效关系。

[关键词] 复方黄毛豆腐柴搽剂;抗炎;止痛;软组织损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)07-0861-04

Experimental study on releasing injury soft tissue anti-inflammatory and acesodyne effects of compound Huangmaodaofuchai liniment

PAN Hong-ping, CHEN Ying, JING Shu-han, LU Mei, ZHANG Guo-hong (People's Hospital of Guangxi Autonomous Region, Guangxi Nanning 530021, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study the soft tissue injury protection as well as anti-inflammatory and acesodyne effects of compound Huangmaodaofuchai liniment. **METHODS** Inflammation and swelling in the feet of rats were caused by egg white protein, soft tissue injury in mice caused by falling object, the pains of mice resulted from heat stimulation, these oppositional effects of compound Huangmaodaofuchai liniment were observed. **RESULTS** Compound Huangmaodaofuchai liniment could resist the inflammation and swelling caused by egg white protein in rats, release the injury of soft tissue and the pains caused by heat stimulation in mice. **CONCLUSION** Compound Huangmaodaofuchai liniment has significant anti-inflammatory and acesodyne effect and can release soft tissue injury, with a dose-response relationship.

KEY WORDS: compound Huangmaodaofuchai liniment; anti-inflammatory; acesodyne; soft tissue injury

黄毛豆腐柴来源于马鞭草科豆腐柴属植物黄毛豆腐柴 (*Premna fulva Craib*) 的干燥茎,列为广西壮族药^[1],具有活血散淤、强筋健骨、祛风止痛之功效,

主治腰腿痛、跌打扭伤、风湿性和类风湿性关节炎、肥大性脊椎炎、肩周炎等症。主要成分含有柚皮素、木栓酮、木栓醇、-谷甾醇和黄酮类化物^[2]。具有抗炎

[基金项目] 广西壮族自治区卫生厅科研发立项课题(编号:Z2006172) [作者简介] 潘洪平,男,硕士,副主任药师,电话:0771-2928842, E-mail:php1968@126.com