

左旋奥硝唑在人体内的构型转化及药动学研究

余鹏, 郭歆, 刘星菱, 罗茜, 陈婕, 程泽能*

(中南大学药学院, 长沙 410013)

摘要 目的: 研究左旋奥硝唑在健康人体内的构型转化及单次口服左旋奥硝唑的人体药代动力学。方法: 24名健康志愿者, 单剂量口服左旋奥硝唑片 500 mg 后 72 h 采集血浆样品, 用手性拆分色谱柱分离、检测血浆中左旋奥硝唑与右旋奥硝唑; 以高效液相色谱法测定血药浓度, 用 DAS ver 2.0 软件计算药动学参数。结果: 在给药后的健康志愿者体内未检出右旋奥硝唑。左旋奥硝唑人体内主要药动学参数分别为: $C_{\max} = (28.86 \pm 8.77) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-72} = (453.9 \pm 184.4) \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $T_{\max} = (0.57 \pm 0.36) \text{ h}$, $V_1/F = (31.7 \pm 15.4) \text{ L}$, $\text{CL}/F = (2.42 \pm 0.69) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$, $t_{1/2\beta} = (14.7 \pm 2.1) \text{ h}$, $\text{MRT} = (17.6 \pm 1.8) \text{ h}$ 。结论: 健康志愿者口服左旋奥硝唑后, 在体内未发生构型转化。因而在对左旋奥硝唑血浆样品进行检测时, 可以不必考虑消旋化带来的影响。

关键词: 奥硝唑; 手性拆分; 构型转化; 药动学

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)05-0847-04

Studies on chiral inversion and pharmacokinetics of laevo-ornidazole in human

YU Peng GUO Xin, LU Xinling LUO Xi CHEN Jie CHENG Zheneng*

(School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract Objective To study the chiral inversion and pharmacokinetics of laevo-ornidazole in human. **Methods** 24 Chinese volunteers were administered with an oral dose of 500 mg laevo-ornidazole. Then 3 mL blood was sampled after 72 h to detect the plasma concentrations of laevo-ornidazole and dextro-ornidazole on a chiral HPLC column. The pharmacokinetic parameters were measured by DAS ver 2.0 software. **Results** Dextro-ornidazole was not found in all 24 plasma samples from different volunteers. The pharmacokinetic parameters of laevo-ornidazole were as following: $C_{\max} = (28.86 \pm 8.77) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-72} = (453.9 \pm 184.4) \text{ mg} \cdot \text{h} \cdot \text{L}^{-1}$, $T_{\max} = (0.57 \pm 0.36) \text{ h}$, $V_1/F = (31.7 \pm 15.4) \text{ L}$, $\text{CL}/F = (2.42 \pm 0.69) \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$, $t_{1/2\beta} = (14.7 \pm 2.1) \text{ h}$, $\text{MRT} = (17.6 \pm 1.8) \text{ h}$. **Conclusion** The chiral inversion from laevo-ornidazole to dextro-ornidazole does not occur. So we can investigate the pharmacokinetics of laevo-ornidazole without consideration of its racemization.

Key words ornidazole; enantiomeric separation; chiral inversion; pharmacokinetics

奥硝唑 (ornidazole, ONZ) 是新一代硝基咪唑类衍生物, 是继替硝唑之后的一种疗效高、疗程短、耐受性好的硝基咪唑类新药^[1]。奥硝唑的化学结构式如图 1, 其分子结构中有 1 个手性碳原子。左旋奥硝唑是目前临床上使用的消旋奥硝唑的单一旋光异构体, 奥硝唑临床用于治疗毛滴虫、阿米巴、贾第虫及厌氧菌感染, 抗微生物实验表明左旋奥硝唑较消旋体奥硝唑和右旋奥硝唑具有更好的抗菌活性, 更优的药动学特性, 较少的不良事件和更加稳定的特点。根据我国有关药品注册的技术要求, 左旋奥

硝唑作为 1 对旋光异构体中的单一对映体, 也应按照一类新药的要求进行临床药代动力学的研究。

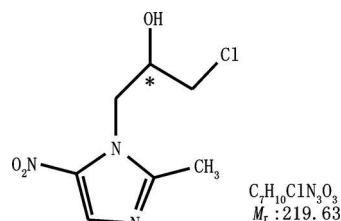


图 1 奥硝唑的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of ornidazole

* 通讯作者 Tel: (0731) 82650446 E-mail: chengzhenengcsu@yahoo.com.cn

据文献报道,狗静脉注射单一对映体左旋奥硝唑后,于不同时间点取狗血浆样品,经手性色谱柱分离后未见到消旋化产物右旋奥硝唑^[2]。据此,我们推测左旋奥硝唑口服后,在人体内可能也未发生消旋化。如果该推测能够得到试验证实,则左旋奥硝唑的药代动力学研究可沿用已有报道的消旋体血药浓度测定方法,而无需进行手性拆分。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A-HT 高效液相色谱仪;左旋奥硝唑对照品(纯度:99.8%)、奥硝唑消旋体对照品(纯度:99.9%)及左旋奥硝唑片(250 mg·片⁻¹)均由湖南华纳大药厂有限公司提供;甲醇、异丙醇和正己烷为色谱纯(美国 Tedia 公司),乙酸乙酯为分析纯(国药集团化学试剂有限公司),高氯酸为优级纯(北京南尚乐化工厂),水为纯净水(由杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 采用 Daicel Chiral OB-H (5 μ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm, 日本 Daicel 化学工业公司)色谱柱,流动相为正己烷-异丙醇-甲醇(90:2:8),流速 0.5 mL·min⁻¹,检测波长 316 nm,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 20 μ L。

2.2 对照品溶液及对照品人血浆的制备 精密称取左旋奥硝唑对照品 10 mg 置于 100 mL 量瓶中,以乙酸乙酯溶解并定容至刻度,得到浓度为 100 mg·L⁻¹的左旋奥硝唑对照品溶液。精密量取上述对照品溶液适量,于 40 $^{\circ}$ C 下以微弱氮气流吹干后,加入空白人血浆配制浓度为 40 mg·L⁻¹的左旋奥硝唑对照品人血浆,再以空白人血浆进行逐级稀释,得到浓度为 0.1~40 mg·L⁻¹的系列对照品人血浆。

2.3 血浆样品采集 健康受试者 24 名,男女各半,年龄为 18~24 岁,体重指数在 19~25 之间,志愿者于试验前在医院接受全面的体格检查,各项指标均属正常,2 周前至试验期间未服用任何药物。服药前禁食过夜(至少 10 h),于次日早晨 8:00 口服左旋奥硝唑片 2 片(每片含左旋奥硝唑 500 mg)。于服药后 24 h 由前臂静脉取血 3 mL,并立即移入涂有肝素的试管中,离心分离血浆,于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存。本实验经伦理委员会批准,临床试验在中南大学湘雅三医院进行。

2.4 血浆样品测试 取血浆样品 1.0 mL,置 10 mL 带塞玻璃离心试管中,加入乙酸乙酯 2 mL,漩涡振荡 3 min,离心 5 min (3500 r·min⁻¹),分取上层有机层,以 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后,取续滤液 20

μ L 进样到色谱系统。

2.5 方法专属性 取 6 份不同来源的空白人血浆,分别配制各 6 份加入了左旋奥硝唑或奥硝唑消旋体对照品的血浆,以及受试者服用左旋奥硝唑片 24 h 后的血浆样品,分别按照“2.4”项下所述方法处理,分析,并记录色谱图。典型色谱图如图 2 其中图 2-A~E 分别为左旋奥硝唑对照品溶液、奥硝唑消旋体对照品溶液、空白血浆、空白血浆中加入左旋奥硝唑对照品、空白血浆中加入奥硝唑消旋体对照品的色谱图。由图可见,右旋奥硝唑的保留时间为 28.2 min,左旋奥硝唑的保留时间约为 31.1 min,二者之间可获得良好拆分,血浆内源性杂质不干扰测定。

2.6 左旋奥硝唑构型转化 分别取 24 名健康受试者口服 500 mg 左旋奥硝唑片后 24 h 的血浆样品,按照“2.4”项下方法操作,记录色谱图。受试者血浆样品的典型色谱图见图 2-F。在 24 名健康受试者血浆样品中,右旋奥硝唑所对应保留时间均未见色谱峰。据此现象可以推断,左旋奥硝唑在人体内未发生构型转化。

2.7 左旋奥硝唑的人体药动学 12 名健康受试者,男女各半,随机分为 6 组。单次口服左旋奥硝唑 500 mg,服药前及服药后 15 min, 30 min, 1 h, 1.5 h, 2 h, 2.5 h, 3 h, 4 h, 6 h, 10 h, 14 h, 24 h, 36 h, 48 h, 72 h 采集血样 4 mL。血样采集后于肝素化离心管中,30 min 内离心(2500 r·min⁻¹)分离血浆,血浆于 -20 $^{\circ}$ C 保存待测。按“2.4”项下方法处理血浆样品。采用二室模型、权重 1/ C 对数据进行参数求算,各受试者口服 500 mg 左旋奥硝唑片后,平均血药浓度-时间曲线见图 3。应用 DAS ver 2.0 软件对各受试者体内左旋奥硝唑的血药浓度及对应的采血时间点进行模型拟合,通过比较不同房室模型以及不同权重计算得到的 AIC 值及 R^2 值,选取最佳的房室模型进行参数计算。根据软件运算所得的推荐结果结合样品测定高低浓度数据的精密度,二室模型为最佳拟合模型,即左旋奥硝唑在受试者体内呈二室模型特征。左旋奥硝唑的平均药物动力学参数见表 1。

3 讨论

据文献[3]报道,采用 Daicel Chiral OB-H 色谱柱对奥硝唑进行手性拆分时,分离的关键在于流动相中甲醇和异丙醇的量。通过多次比较试验,当其组成为正己烷-异丙醇-甲醇(90:2:8)时,可获得满意的分离度,样品分离时间也降低了一半。

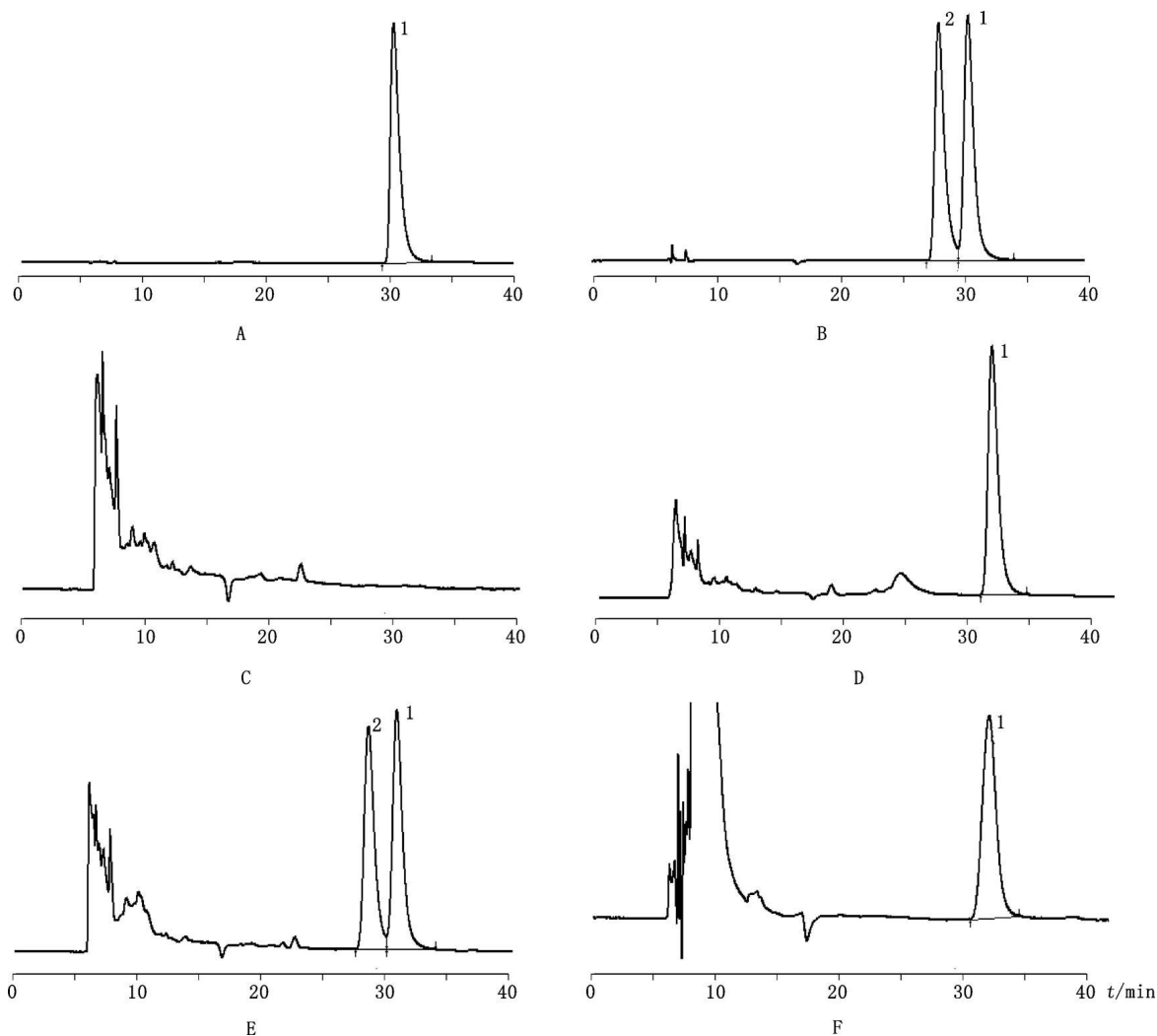


图 2 人血浆中奥硝唑消旋体手性拆分的典型色谱图

Fig 2 Typical chromatograms for chiral separation of omidazole racemate

A. 左旋奥硝唑对照品 (reference standard of laevo-omidazole) B. 奥硝唑消旋体对照品 (reference standard of omidazole racemate) C. 空白人血浆 (blank human plasma) D. 空白血浆中加入左旋奥硝唑对照品 (blank human plasma spiked with laevo-omidazole standard) E. 空白血浆中加入奥硝唑消旋体对照品 (blank human plasma spiked with racemic omidazole standard) F. 受试者服用左旋奥硝唑片后 24 h 典型样品 (plasma sample from a volunteer after drug administration for 24 h)

1 左旋奥硝唑 (laevo-omidazole) 2 右旋奥硝唑 (dextro-omidazole)

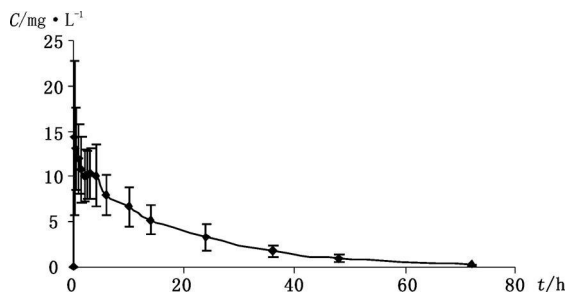


图 3 12 例受试者口服左旋奥硝唑 500 mg 后平均血药浓度-时间曲线

Fig 3 Plasma concentration-time curve of laevo-omidazole after a single oral dose of 500 mg for the 12 subjects

表 1 12 名受试者单次口服左旋奥硝唑 500 mg 后的主要药动学参数

Tab 1 Main pharmacokinetic parameters after a single oral dose of 500 mg laevo-ornidazole for the 12 subjects

参数 (parameters)	Mean ± SD
T_{max} / h	0.64 ± 0.82
$C_{max} / mg \cdot L^{-1}$	16.95 ± 6.21
$AUC_{0-t} / mg \cdot h \cdot L^{-1}$	214.9 ± 68.5
$(V_1 / F) / L$	27.0 ± 18.4
$(CL / F) / L \cdot h^{-1}$	2.44 ± 0.69
$t_{1/2\beta} / h$	13.2 ± 1.6

据文献 [4] 报道, 左旋和右旋奥硝唑在大鼠体内的吸收速度没有明显的立体选择性, 但在消除阶段存在明显的立体选择性差异, 左旋体的消除明显快于右旋体。已有文献报道^[2]显示左旋奥硝唑在体内未发生消旋化, 为进一步对其进行验证, 排除左旋奥硝唑消旋化对体内药动学研究的影响, 本研究进行了多步试验, 结果显示, 左旋奥硝唑口服进入人体后未发生消旋化。因而, 对其进行临床药代动力学研究时, 无需考虑构型转化所产生的影响。本研究的方法学考察将另文发表。

参考文献

- 1 Lamp KC, Freeman CD, Kluhman NE, *et al* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials *Clin Pharmacokinet*, 1999 36(5): 353
- 2 Chen Y, Liu XQ, Zhong J *et al* Stereoselective pharmacokinetics of omidazole after intravenous administration of individual enantiomers and the racemate *Chirality*, 2006 18(10): 799
- 3 HUANG Jian-quan(黄建权), XU Qiao-ling(徐巧玲), CAO Guo-ying(曹国颖), *et al* HPLC determination of dextro isomer in S-omidazole substances(高效液相色谱法测定左旋奥硝唑原料药中右旋异构体杂质). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, 27(4):

174

- 4 CHEN Yan(陈燕), SHI Tao(石涛), LIU Xiao-quan(柳晓泉), *et al* Pharmacokinetics of omidazole enantiomers in rats(左旋和右旋奥硝唑在大鼠体内的药代动力学). *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2006, 37(1): 41
- 5 Ranjane Poonan N, Gandhi Santosh V, Kadukar Sayali S, *et al* Simultaneous determination of cefuroxime axetil and omidazole in tablet dosage form using reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2008 26(6): 76
- 6 LI Q in(李芹), WANG Ben-jie(王本杰), GUO Rui-chen(郭瑞臣). Study of the pharmacokinetics and bioequivalence of omidazole capsules and imported omidazole tablets in healthy volunteers(奥硝唑胶囊人体药代动力学及生物等效性研究). *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2002 18(2): 119
- 7 Al Azama KM, Saad B, Adnan R, *et al* Enantioselective analysis of ofloxacin and omidazole in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis using single chiral selector and computational calculation of their inclusion complexes *Anal Chim Acta*, 2010 674(2): 249
- 8 Zhang LY, Zhang ZJ, Wu K. In vivo and real time determination of omidazole and tinidazole and pharmacokinetic study by capillary electrophoresis with microdialysis *J Pharm Biomed Anal* 2006 41(4): 1453

(本文于 2010年 6月 1日收到)

《药物分析杂志》编辑部电话变更通知

尊敬的作者 读者:

您好!

因《药物分析杂志》编辑部业务发展需要, 本编辑部将联络电话和传真进行了调整, 编辑部电话总机为 010- 67058427/010- 67012819。如您需要与负责稿件的编辑联系, 请拨分机号:

办公室拨 1, 栗晓黎副主任拨 2, 于宝珠拨 3, 陈唯真拨 5, 赵慧芳拨 6, 陈立亚拨 7, 刘小帅拨 8。

广告业务拨 3, 传真拨 4。

如需咨询缴费等财务事宜, 请拨 8 咨询刘小帅。

查询稿件进度请登录 <http://www.ywfxzz.cn> 自行查询。

特此通告, 感谢您对我们工作一如既往的支持。

《药物分析杂志》编辑部