

复方左炔诺孕酮片在健康人体中的药动学及生物等效性研究

夏伟*,朱长虹[#](华中科技大学同济医学院计划生育研究所,武汉 430030)

中图分类号 R969.1;R984 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)42-3976-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.42.15

摘要 目的:比较两种复方左炔诺孕酮片的人体生物等效性。方法:20例健康受试者随机交叉单剂量口服复方左炔诺孕酮片[含左炔诺孕酮(LNG)0.15 mg,炔雌醇(EE)0.03 mg]受试制剂或参比制剂1片。采用放射免疫法测定血浆中LNG和EE的浓度,并计算药动学参数,考察生物等效性。结果:LNG受试制剂与参比制剂的主要药动学参数分别为: t_{\max} (1.40 ± 0.13)、(1.45 ± 0.50)h, c_{\max} (11.35 ± 0.71)、(11.18 ± 0.75)nmol/L, $t_{1/2}$ (15.85 ± 0.90)、(15.53 ± 1.18)h, AUC_{0-72h} (102.50 ± 16.00)、(104.27 ± 18.19)nmol·h/L, 人体相对生物利用度为(101.1 ± 24.0)%;EE受试制剂与参比制剂的主要药动学参数分别为: t_{\max} (1.400 ± 0.170)、(1.425 ± 0.118)h, c_{\max} (0.088 ± 0.005)、(0.087 ± 0.004)ng/ml, $t_{1/2}$ (5.646 ± 0.740)、(5.583 ± 0.426)h, AUC_{0-72h} (0.445 ± 0.021)、(0.444 ± 0.019)ng·h/ml, 人体相对生物利用度为(100.5 ± 5.9)%。受试制剂的 AUC_{0-72h} 、 c_{\max} 和 t_{\max} 与参比制剂比较无显著差异。结论:LNG和EE的人体相对生物利用度在正常范围内,两种复方左炔诺孕酮片生物等效。

关键词 左炔诺孕酮;炔雌醇;药动学;生物等效性

Pharmacokinetics and Bioequivalence of Compound Levonorgestrel Tablets in Healthy Subjects

XIA Wei, ZHU Chang-hong (Family Planning Research Institute, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the bioequivalence between two kinds of Compound levonorgestrel tablets. METHODS: A single dose of test tablet or reference tablet of 0.15 mg Compound levonorgestrel (LNG) tablet and 0.03 mg ethinylestradiol (EE) were administered by randomized crossover way in 20 healthy volunteers. The plasma concentrations of LNG and EE were determined by radioimmunoassay. The pharmacokinetic parameters were calculated and bioequivalability was investigated. RESULTS: Main pharmacokinetic parameters of test tablet vs. reference tablet of LNG were as follows: t_{\max} were (1.40 ± 0.13)h vs. (1.45 ± 0.50)h; c_{\max} were (11.35 ± 0.71)nmol/L vs. (11.18 ± 0.75) nmol/L; $t_{1/2}$ were (15.85 ± 0.90)h vs. (15.53 ± 1.18) h; AUC_{0-72h} were (102.50 ± 16.00) nmol·h/L vs. (104.27 ± 18.19) nmol·h/L. The relative bioavailability of LNG was (101.1 ± 24.0)%. Main pharmacokinetic parameters of test tablet vs. reference tablet of EE were as follows: t_{\max} were (1.400 ± 0.170)h vs. (1.425 ± 0.118)h; c_{\max} were (0.088 ± 0.005)ng/ml vs. (0.087 ± 0.004)ng/ml; $t_{1/2}$ were (5.646 ± 0.740)h vs. (5.583 ± 0.426)h; AUC_{0-72h} were (0.445 ± 0.021) ng·h/ml vs. (0.444 ± 0.019) ng·h/ml. The relative bioavailability of EE was (100.5 ± 5.9)%. There was no significant difference in AUC_{0-72h} , c_{\max} and t_{\max} of test tablet and reference tablet. CONCLUSIONS: In normal range of relative bioavailability of LNG and EE, 2 kinds of Compound levonorgestrel tablet are bioequivalent.

KEY WORDS Levonorgestrel; Ethinylestradiol; Pharmacokinetics; Bioequivalence

复方左炔诺孕酮片是女性短效口服避孕非处方药品,用于女性口服避孕。复方组分之一左炔诺孕酮(Levonorgestrel, LNG)能阻止孕卵着床,并使宫颈黏液稠度增加,阻止精子穿透;另一主要成分炔雌醇(Ethinylestradiol, EE)能抑制促性腺激素分泌,从而抑制卵巢排卵。两种成分配伍,既增强避孕作用,又可减少不良反应^[1]。本试验采用放射免疫法检测血浆中LNG和EE浓度,研究复方左炔诺孕酮片在我国健康志愿者体内的药动学和相对生物利用度,评价生物等效性,同时为临床用药提供参考。

1 材料

1.1 仪器

放射免疫分析法使用仪器为1450MicroBeta计数仪(美国

Perkin Elmer公司)法。

1.2 药品与试剂

受试制剂(T):复方左炔诺孕酮片(湖北葛店人福药业有限责任公司,规格:每片含LNG 0.15 mg,EE 0.03 mg,批号:100601);参比药物(R):复方左炔诺孕酮片(北京紫竹药业有限公司产品,规格:每片含LNG 0.15 mg,EE 0.03 mg,批号:20100415);LNG和EE放射免疫试剂盒(英国Immunometrics公司),内含抗血清、标准品、示踪剂、活性炭、明胶、右旋糖酐以及质量控制标准品。无水乙醚(上海喜润化学工业有限公司),临用前经蒸馏处理,以除去残留过氧化物。

2 方法与结果

2.1 受试对象及给药方案

448.

[13] van Luin M, Colbers A, van Ewijk-Beneken Kolmer EW, et al. Drug-drug interactions between raltegravir and pravastatin in healthy volunteers[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010, 55(1):82.

(收稿日期:2013-06-18 修回日期:2013-08-13)

fruit juice on pharmacokinetics of atorvastatin and pravastatin in Japanese[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2004, 57(4):

* 讲师,博士。研究方向:生殖医学。电话:027-83650607。E-mail:tjxiawei@126.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:生殖医学。电话:027-83693057。E-mail:reprodcentre@163.com

本试验采用双周期交叉试验设计。20例受试者按随机数字表简单随机分为甲乙两组,每组受试者10例。每次试验单剂量口服受试制剂或参比制剂1片,两次试验间的清洗期为2周。给药剂量为1片,含LNG 0.15 mg、EE 0.03 mg;给药途径为口服给药。入选的20例健康女性志愿受试者在被告知所有与药物有关的可能不良反应后,签署知情同意书。受试者全面体格检查(包括肝、肾功能、血常规及尿常规等指标)均正常。

2.2 试验过程

临床试验在国家药物临床试验机构华中科技大学同济医学院计划生育研究所进行,并经医学伦理委员会审批通过。于试验前一日晚8:00开始禁食,于次日早晨空腹给药,服药后2 h方能饮水,4 h后进食统一的标准餐。服药后受试者在室内休息,采血期间禁烟酒和含咖啡因类饮料,避免剧烈运动。由两名医药专业人员严格掌握采血时间,两名护士负责采血,医师负责临床监护,以保证受试者的安全。试验结束后进行体检。

2.3 血样采集与处理

服药前(0 h)及服药后0.5、1、1.25、1.5、1.75、2、3、4、6、8、12、24、48、72 h时由前臂静脉取血5 ml,置肝素化离心试管中。采集的血液样品立即离心(3 500 r/min,离心半径8 cm,10 min),分离血浆,于-20℃冷冻保存。

2.4 复方左炔诺孕酮片血药浓度测定

2.4.1 样品抽提。血浆1.0 ml加乙醚10 ml,充分振荡2 min,静置片刻后将抽提管置于-80℃,10 min后收集乙醚层。重复抽提1次,将2次收集的乙醚合并。将乙醚收集管置于40℃水浴蒸发干燥,残留乙醚用氮气吹干,残留物用放射免疫缓冲液溶解,并定容至300 μl,待测。

2.4.2 特异性。LNG试剂盒具有良好的特异性,交叉反应率为:5α-二氢化左炔诺孕酮27%;3β,5α-四氢化左炔诺孕酮13%,3α,5β-四氢化左炔诺孕酮1.2%。EE试剂盒具有良好的特异性,交叉反应率为:EE 13%,17β-雌二醇0.5%,雌酮0.3%。

2.4.3 标准曲线的制备。LNG标准曲线浓度点为0.117、0.234、0.468、0.937、1.875、3.75、7.5 nmol/L,每200个样品制作标准曲线1条,以logit样品管计数值/空白管计数值(B/B₀)为纵坐标,log标准品浓度为横坐标作图绘制标准曲线。EE标准曲线浓度点为0.078、0.156、0.313、0.625、1.25、2.5、5 ng/ml,每200个样品制作标准曲线1条,以logit B/B₀为纵坐标,log标准品浓度为横坐标作图绘制标准曲线。标准曲线范围LNG为0.117~7.5 nmol/L,EE为0.078~5 ng/ml。如果取血量为1 ml血浆,计算LNG最低定量限为0.117 nmol/L,EE最低定量限为0.078 ng/ml。

2.4.4 回收率试验。LNG以0.75、2、4 nmol/L作为回收率测定浓度(试剂盒提供),每管加空白血浆1 ml,充分混匀过夜,依血样处理方法进行抽提,加缓冲液200 μl,放射免疫法测定LNG含量,并计算回收率;EE以0.2、0.75、2 ng/ml作为回收率测定浓度(试剂盒提供),每管加空白血浆1 ml,充分混匀过夜,依血样处理方法进行抽提,加缓冲液200 μl,放射免疫法测定EE含量,并计算回收率。浓度为0.75、2、4 nmol/L的LNG提取回收率分别为(95.58±2.10)%、(91.13±4.09)%、(91.39±2.50)%;浓度为0.2、0.75、2 ng/ml的EE提取回收率分别为(94.75±2.58)%、(92.56±1.54)%、(90.60±3.03)%。

2.4.5 精密度与准确度试验。将低、中、高3种浓度的质控(QC)样品(各6个样本),分不同时间、批次进行检测。计算QC品的浓度,求得日间和日内的精密度和准确度,结果见表1。

2.4.6 重复测定试验。将低、中、高3种浓度的QC样品(各1

表1 精密度试验结果

Tab 1 Results of precision tests

理论值		实测值($\bar{x} \pm s$)		日内RSD, %		日间RSD, %		RE, %	
LNG, nmol/L	EE, ng/ml	LNG, nmol/L	EE, ng/ml	LNG	EE	LNG	EE	LNG	EE
0.2	0.75	0.20±0.01	0.75±0.03	7.48	4.69	3.70	1.58	2.08	-0.30
0.75	2	0.75±0.04	2.13±0.13	5.38	6.69	1.40	2.67	0.07	6.26
2	4	2.03±0.13	4.05±0.21	6.49	5.30	4.19	3.08	1.70	1.31

个样本),每个样品重复进样6次,计算QC样品的浓度,求得重复进样的准确度和精密度。配制低、中、高3种浓度LNG(0.75、2、4 nmol/L)及EE(0.2、0.75、2 ng/ml)标准系列血样各6份,重复测定结果RSD均<10%,符合方法学标准。

2.4.7 样品稳定性试验。用空白血浆配制0.75、2、4 nmol/L的LNG血样各54份,0.2、0.75、2 ng/ml的EE血样各54份。其中每一浓度水平每6份样品在室温条件下放置24 h;另每一浓度水平每6份样品在-20℃冰箱中放置、取出3次,反复冻融;另每一浓度水平每6份样品在-20℃冰箱中放置30 d。按上述方法测定LNG和EE的浓度。结果在上述3种稳定性考察条件下的RSD均<15%,表明样品在室温放置24 h内、在冷冻条件下放置30 d内以及在3次冻融过程中均稳定。

2.4.8 样品检测。按试剂盒说明书进行测定。每200个测定管设总放射管(1~2)、非特异管(3~4)、总结合管(5~6)、标准曲线管(7~20)、质量控制管(21~26)、待测样品管(27~194)、回收管(195~200)。样品测定时,控制稀释倍数,使其浓度落在标准曲线范围内。

2.5 数据分析与处理

采用中国数学药理学会编制的3p97药动学程序包,进行药动学数据处理和统计分析。生物等效性评价:LNG和EE主要药动学参数(AUC和 c_{max})对数转换后进行方差分析,并进一步采用双单侧 t 检验和置信区间法进行生物等效性评价。如受试制剂AUC_{0-t}的90%置信区间在参比制剂相应参数的80%~125%范围内, c_{max} 的90%置信区间在参比制剂相应参数的75%~133%范围内,即可判断两制剂生物等效^[2]。

2.6 人体药动学参数和生物等效性评价

检测20例受试者口服受试制剂和参比制剂后各时间点血浆中LNG和EE的浓度。20例受试者LNG和EE的平均药-时曲线见图1,计算所得药动学参数和相对生物利用度结果见表2。

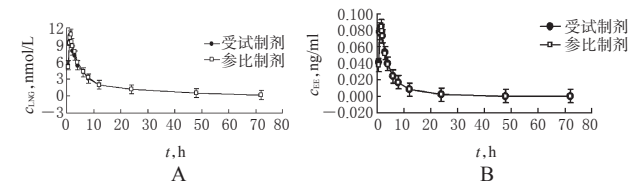


图1 平均药-时曲线

A.LNG; B.EE

Fig 1 Main plasma concentration-time curves

A.LNG; B.EE

表2 LNG与EE的主要药动学参数($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Main pharmacokinetic parameters of LNG and EE($\bar{x} \pm s$)

参数	受试制剂		参比制剂	
	LNG	EE	LNG	EE
c_{max} , nmol/L或ng/ml	11.35±0.71	0.088±0.005	11.18±0.75	0.087±0.004
t_{max} , h	1.40±0.13	1.400±0.170	1.45±0.50	1.425±0.118
AUC ₀₋₇₂ , nmol/L或ng/ml	102.50±16.00	0.445±0.021	104.27±18.19	0.444±0.019
$t_{1/2}$, h	15.85±0.90	5.646±0.740	15.53±1.18	5.583±0.426
F, %	101.1±24.0	100.5±5.9		

2010—2012年某院抗菌药物整治前后铜绿假单胞菌耐药率比较

李晓霞^{1*}, 宋艳², 段金菊^{2#}(1.山西医科大学药学院,太原 030001;2.山西医科大学第二医院,太原 030001)

中图分类号 R378.2;R446.5;R969.3

文献标志码 A

文章编号 1001-0408(2013)42-3978-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.42.16

摘要 目的:分析抗菌药物整治前后铜绿假单胞菌耐药率的变化,为有效治疗和控制该菌引起的感染提供参考。方法:用WHONET 5.4软件分析某院2010—2012年共12个季度的铜绿假单胞菌耐药率,以2010年1月—2011年6月为抗菌药物整治前,2011年7月—2012年12月为抗菌药物整治后。用SPSS 16.0对抗菌药物专项整治前后的耐药率进行统计分析。结果:铜绿假单胞菌的耐药率总体呈下降趋势。铜绿假单胞菌对呋喃妥因、环丙沙星、美罗培南、哌拉西林、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、头孢哌酮、头孢哌酮/舒巴坦、头孢曲松、头孢噻肟、头孢他啶、妥布霉素、左氧氟沙星的耐药率在整治前后比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:抗菌药物的合理使用有利于降低细菌对抗菌药物的耐药率;该院抗菌药物专项整治效果显著。

关键词 抗菌药物专项整治;铜绿假单胞菌;耐药率

Comparison of Resistance Rate of *Pseudomonas aeruginosa* in a Hospital after Specific Rectification of Antibiotics during 2010—2012

LI Xiao-xia¹, SONG Yan², DUAN Jin-ju²(1. College of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2. The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the resistance rate of *Pseudomonas aeruginosa* before and after specific rectifications of antibiotics, and to provide reference for effective treatment and control of infection induced by *P. aeruginosa*. METHODS: The resistance rate of *P. aeruginosa* was collected and organized for 12 quarters during 2010—2012 by WHONET 5.4 software. The resistance rates of *P. aeruginosa* were statistically analyzed before and after specific rectifications of antibiotics by SPSS 16.0 software during Jan. 2010—Jun. 2012 (before rectification) and Jul. 2011—Dec. 2012 (after rectification). RESULTS: The resistance rate of *P. aeruginosa* was decreased on the whole. The resistance rate of *P. aeruginosa* to 13 antibiotics had statistical significance before and after specific rectifications of antibiotics, such as nitrofurantoin, ciprofloxacin, meropenem, minocycline, piperacillin, piperazine piperacillin/tazobactam, cefepime, cefoperazone, cefoperazone/sulbactam, ceftriaxone, cefotaxime, ceftazidime, tobramycin, levofloxacin ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: Rational use of antibiotics is helpful to reduce resistance rate of bacterial to antibiotics. In the hospital the effect of specific rectifications of antibiotics is significant.

KEY WORDS Specific rectifications of antibiotics; *Pseudomonas aeruginosa*; Resistance rate

LNG和EE生物等效性统计结果经双单侧 t 检验表明,LNG的 AUC_{0-t} 和 c_{max} 均拒绝生物不等效假设,受试制剂 AUC_{0-t} 的90%置信区间为参比制剂相应参数的90.3%~107.8%, c_{max} 的90%置信区间为参比制剂相应参数的97.5%~105.7%, t_{max} 无显著性差异;EE的 AUC_{0-t} 和 c_{max} 均拒绝生物不等效假设,受试制剂 AUC_{0-t} 的90%置信区间为参比制剂相应参数的98.1%~102.7%, c_{max} 的90%置信区间为参比制剂相应参数的97.9%~103.5%, t_{max} 无显著性差异。以上结果表明,两种制剂具有生物等效性。

3 讨论

本试验所测受试制剂和参比制剂的LNG和EE主要药动学参数与国外文献^[9]报道基本一致。本药物临床试验采血点的选取主要是根据LNG和EE的达峰时间和半衰期来制定的。按照国家食品药品监督管理局关于I期药物临床试验的要求,达峰时间前必须至少有4个检测点,达峰时间后必须延续3~5个半衰期时长,至少6个点,因此本试验选取总共14个时间点来进行检测。

本试验采用放射免疫分析法进行检测,相比其他检测方法,主要优点在于这种方法的灵敏度高,一般化学分析法的检出极限为 10^{-3} ~ 10^{-6} g,而放射免疫法通常为 10^{-9} ~ 10^{-18} g;另外此方法特异性强,多用于激素类的检测;操作相对比较简便,有相应的检测试剂盒。

目前关于单一成分左炔诺孕酮片的药动学资料已有诸多报道,但国内还未见复方左炔诺孕酮片的药动学和生物等效性报道。本研究关于复方左炔诺孕酮片的两种成分的药动学检测,提供了中国人群关于此药的代谢数据,为今后开发新的含有LNG和EE成分的避孕药物奠定了基础。

参考文献

- [1] Edelman AB, Cherala G, Munar MY, et al. Prolonged monitoring of ethinyl estradiol and levonorgestrel levels confirms an altered pharmacokinetic profile in obese oral contraceptives users[J]. *Contraception*, 2013, 87(2):220.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京:化学工业出版社, 2010:附录X IX B
- [3] Goebelmann U, Hoffman D, Chiang S, et al. The relative bioavailability of levonorgestrel and ethinyl estradiol administered as a low-dose combination oral contraceptive[J]. *Contraception*, 1986, 34(4):341.

(收稿日期:2013-04-24 修回日期:2013-05-20)

* 硕士研究生。研究方向:细菌耐药。电话:0351-3365665。E-mail: lxxlillian@163.com

通信作者:硕士研究生导师,博士。研究方向:细菌耐药。电话:0351-3365665。E-mail: duanjingu@163.com