

五水头孢唑林钠与头孢唑林钠在兔体内的药动学比较

郝好华^{1*}, 陈坤林², 宋金春^{1#}(1. 武汉大学人民医院, 武汉 430060; 2. 武汉大学药学院, 武汉 430072)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)41-3872-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.41.11

摘要 目的: 比较五水头孢唑林钠和头孢唑林钠在兔体内的药动学差异。方法: 取兔随机分为两组, 每组6只, 分别耳缘静脉注射五水头孢唑林钠和头孢唑林钠 200 mg/kg (以头孢唑林钠计), 分别于给药前和给药后 5、15、25、35、65、95、125、155、215、275、335 min 耳缘静脉取血甲醇沉淀血浆蛋白后, 高效液相色谱法测定血药浓度, 间隔1周后进行交叉实验; 采用 3p97 软件计算药动学参数。结果: 五水头孢唑林钠和头孢唑林钠在兔体内的药动学特征均符合二室模型, 主要药动学参数分别为 $t_{1/2\alpha}$: 18.46、16.06 min, $t_{1/2\beta}$: 40.85、55.12 min, $AUC_{0-335 \text{ min}}$: 20 635.30、35 056.86 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$, CL : 0.009 7、0.005 7 $\text{L}\cdot\text{kg}/\text{h}$; 五水头孢唑林钠的相对生物利用度为 58.86%, 五水头孢唑林钠的 $AUC_{0-335 \text{ min}}$ 对数 90% 置信区间为头孢唑林钠相应参数的 95.47%~106.55%。结论: 与头孢唑林钠比较, 五水头孢唑林钠在兔体内的消除更快、生物利用度较低, 二者生物学不等效。

关键词 头孢唑林钠; 五水头孢唑林钠; 高效液相色谱法; 药动学; 兔

Comparison of the Pharmacokinetics of Cefazolin Sodium Pentahydrate vs. Cefazolin Sodium in Rabbits

HAO Hao-hua¹, CHEN Kun-lin², SONG Jin-chun¹ (1. Wuhan University People's Hospital, Wuhan 430060, China; 2. School of Pharmacy, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare the pharmacokinetics of cefazolin sodium and cefazolin sodium pentahydrate in rabbits. METHODS: Rabbits were randomized into 2 groups with 6 rabbits. The rabbit ear vein were injected with cefazolin sodium pentahydrate or cefazolin sodium 200 mg/kg (by cefazolin sodium). The blood sample was collected before medication and 5, 15, 25, 35, 65, 95, 125, 155, 215, 275 and 335 min after medication respectively. After the plasma sample deproteinized with methanol, the plasma concentration was determined by HPLC. Cross test was performed every 1 week. 3p97 software was used to calculate pharmacokinetic parameters. RESULTS: Cefazolin sodium pentahydrate and cefazolin sodium are both two-compartment models. Pharmacokinetic parameters of them were as follows: $t_{1/2\alpha}$ of 18.46 min vs. 16.06 min, $t_{1/2\beta}$ of 40.85 min vs. 55.12 min, $AUC_{0-335 \text{ min}}$ of 20 635.30 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$ vs. 35 056.86 $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{ml}$; CL of 0.009 7 $\text{L}\cdot\text{kg}/\text{min}$ vs. 0.005 7 $\text{L}\cdot\text{kg}/\text{h}$. Relative bioavailability of cefazolin sodium pentahydrate was 58.86%. 90% CI of $AUC_{0-335 \text{ min}}$ logarithmic of cefazolin sodium pentahydrate was 95.47%-106.55% of that of cefazolin sodium. CONCLUSIONS: Compared with cefazolin sodium, cefazolin sodium pentahydrate removes more rapidly in rabbits and has lower bioavailability. Cefazolin sodium and cefazolin sodium pentahydrate are not bioequivalent.

KEYWORDS Cefazolin sodium; Cefazolin sodium pentahydrate; HPLC; Pharmacokinetics; Rabbits

头孢唑林钠是第一代头孢类广谱抗生素, 尤其对肺炎杆菌有很强的抗菌作用。五水头孢唑林钠 2005 年在中国上市, 是头孢唑林钠螯合剂, 其晶型与头孢唑林钠有些差异^[1-2]; 与头孢唑林钠一样, 其也用于治疗敏感细菌所致的呼吸道感染、尿路感染、皮肤软组织感染等^[3-4]。目前, 关于头孢唑林钠药动学相关实验已有报道^[5], 但尚未有文献报道头孢唑林钠与五水头孢唑林钠药动学数据是否有差异。五水头孢唑林钠与头孢唑林钠价格悬殊, 为了科学地评价这两种头孢菌素的差异, 本研究对五水头孢唑林钠与头孢唑林钠在兔体内的药动学特征进行了研究, 报道如下。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); TG328A 型电子分析天平 (上海天平仪器厂); XW-80A 型涡旋仪 (上海医科大学仪器厂); Sorvall Fresco (冷冻型) 微量台式离心机 (德国贺利氏公司); YXJ-1 型高速离心机 (深圳天南海北实业有限公司)。

1.2 药品与试剂

头孢唑林钠对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 0421-9603, 纯度: 99.3%); 注射用头孢唑林钠 (海口奇力制药股份有限公司, 批号: 20130601, 规格: 每支 1 g); 注射用五水头孢唑林钠 (深圳九新药业有限公司, 批号: 1301433, 规格: 按头孢唑林钠计每支 1 g); 乙腈、甲醇为色谱纯; 磷酸氢二钾、柠檬酸为分析纯。

1.3 动物

普通级 δ 新西兰兔 12 只, 体质量 (2 ± 0.2) kg, 均由武汉大学动物实验中心提供, 许可证号: SCXK(鄂)2008-0004。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

参考文献^[6-7]及《中国药典》^[8], 改进色谱条件为: 色谱柱 Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 柱温 37 $^{\circ}\text{C}$, 流动相磷酸盐缓冲液-乙腈 (取三水合磷酸氢二钾 2.138 g、柠檬酸 1.12 g, 加蒸馏水稀释至 1 000 ml) (86:14, V/V), 流速 1 ml/min, 检测波长 272 nm, 进样量 20 μl 。

2.2 对照品贮备液的制备

精密称取头孢唑林钠对照品 25.00 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 加蒸馏水溶解并定容至刻度, 即得 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品贮备液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用; 临用前稀释至相应质量浓度。

* 硕士研究生。研究方向: 药剂学。E-mail: 970419981@qq.com

通信作者: 主任药师, 硕士研究生导师。研究方向: 临床药学。电话: 027-88047471。E-mail: songjc1234@126.com

2.3 血浆样品的处理

取4℃解冻后的血浆0.5 ml,置于离心管中,加入等体积的甲醇,涡旋混合1 min,沉淀蛋白质,4℃下12 000 r/min(离心半径:6 cm)离心15 min,取上清液进样20 μl测定。

2.4 方法专属性研究

分别取对照品溶液、空白血浆、空白血浆+对照品、血浆样品(注射用头孢唑林钠或注射用五水头孢唑林钠给药后65 min取样),按“2.3”项下方法处理后,进样测定,记录色谱。结果在该色谱条件下,血浆中杂质峰不干扰头孢唑林钠的测定,基线平稳,头孢唑林保留时间为12 min左右,表明该方法专属性较好,色谱图见图1。

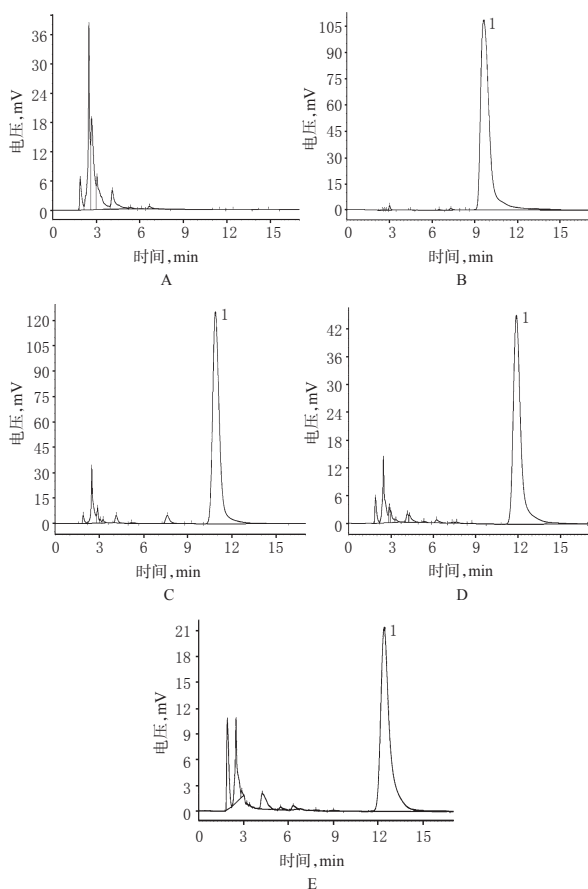


图1 高效液相色谱图

A.空白血浆;B.对照品;C.空白血浆+对照品;D.头孢唑林钠血浆样品;E.五水头孢唑林钠血浆样品;1.头孢唑林

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank plasma; B. substance control; C. blank plasma+substance control; D. cefazolin sodium plasma sample; E. cefazolin sodium pentahydrate plasma sample; 1. cefazolin

2.5 标准曲线的绘制

用蒸馏水将头孢唑林钠贮备液稀释至系列所需的质量浓度,用氮气将溶剂吹干,加入空白血浆500 μl,涡旋混合1 min,配制成血浆中含头孢唑林钠质量浓度分别为1、3、10、70、130、190、250、310、430、550、670 μg/ml的血浆样品,按“2.3”项下方法处理后,进样测定,记录色谱。以头孢唑林钠峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行线性回归分析,得回归方程为: $y=9\ 352.1x+32\ 057$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,头孢唑林钠检测质量浓度的线性范围为1~670 μg/ml。

2.6 回收率试验

按“2.5”项下方法配制血浆中含头孢唑林钠质量浓度分别为高、中、低质量浓度(550、280、10 μg/ml)的血浆样品,每一质量浓度平行制备5份,按“2.3”项下方法处理后,进样测定,计算方法回收率。另取头孢唑林钠溶液直接进样测定,计算提取回收率。回收率试验结果见表1。

表1 回收率试验结果(n=5)

加入量, μg/ml	测得量, μg/ml	平均方法回收率, % (RSD, %)	平均提取回收率, % (RSD, %)
10	9.87	98.31(3.50)	93.95(1.08)
10	9.29		
10	9.54		
10	10.13		
10	9.46		
280	280.02	99.91(0.89)	93.25(0.43)
280	277.10		
280	279.41		
280	283.74		
280	278.46		
550	550.87	99.47(0.97)	91.55(0.68)
550	541.30		
550	553.95		
550	561.03		
550	559.88		

2.7 精密度的试验

按“2.5”项下方法配制血浆中含头孢唑林钠质量浓度分别为高、中、低质量浓度(550、280、10 μg/ml)的血浆样品,每一质量浓度平行制备5份,按“2.3”项下方法处理后,进样测定。同日内不同时间点测定5次,考察日内精密度的;连续测定5 d,考察日间精密度的。精密度的试验结果见表2。

表2 精密度的试验结果(n=5)

加入量, μg/ml	日内精密度		日间精密度	
	测得量, μg/ml	RSD, %	测得量, μg/ml	RSD, %
10	9.83±0.37	2.54	9.67±0.17	0.93
280	279.52±3.99	0.88	274.84±4.68	1.36
550	546.87±6.53	0.96	538.79±10.08	3.65

2.8 稳定性的试验

2.8.1 对照品贮备液稳定性。配制质量浓度分别为550、280、10 μg/ml的对照品贮备液,每一质量浓度平行制备5份,分别测定新鲜贮备液及其在4℃下放置3、7、14 d后头孢唑林钠的含量,考察稳定性。结果表明,与新鲜贮备液比较,对照品贮备液在4℃下放置3、7、14 d后头孢唑林钠的含量下降0.04%~0.57%、0.3%~2.1%、3.1%~3.6%,RSD分别为1.64%、1.63%、1.42%(n=5)。

2.8.2 血浆样品稳定性。配制血浆中含头孢唑林钠质量浓度分别为550、280、10 μg/ml的血浆样品,每一质量浓度平行制备5份,按“2.3”项下方法处理后,分别测定新鲜血浆样品,室温[(18±2)℃]放置2、8 h,-20℃下放置3、7 d,反复冻融3次的血浆样品中头孢唑林钠含量,考察稳定性。结果表明,与新鲜血浆样品比较,室温放置2、8 h后的血浆样品含量下降0.5%~1.5%、1.2%~4.0%,RSD分别为1.02%、1.18%、2.98%(n=5);-20℃下放置3、7 d后的血浆样品含量下降0.3%~0.7%、1.8%~3.1%,RSD分别为1.27%、1.62%、2.28%(n=5);反复冻融3次后的血浆样品含量下降0.8%~2.2%,RSD分别为1.19%、1.36%、2.26%(n=5)。

2.9 药动力学实验

采用双周期交叉实验设计,将12只新西兰兔随机分为两组,每组6只,实验前禁食12 h。交叉耳缘静脉注射头孢唑林钠或五水头孢唑林钠,剂量按头孢唑林钠计均为200 mg/kg,同一动物交叉给药时间间隔1周。分别于给药前和给药后5、15、25、35、65、95、125、155、215、275、335 min时耳缘静脉取血0.5 ml,置肝素化离心管中,分离血浆,按“2.3”项下方法处理后,进样测定,计算血药浓度,绘制药-时曲线,结果见图2。

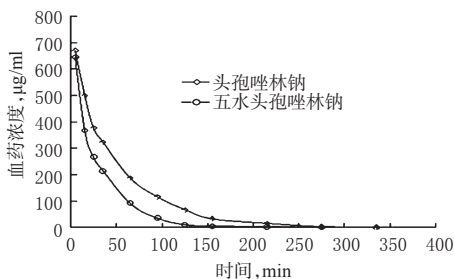


图2 两种药物在兔体内的药-时曲线

Fig 2 Drug concentration-time curves of 2 kinds of drugs in rabbits

将各时间点血药浓度代入3p97软件,选择最佳权重及房室模型。头孢唑林钠与五水头孢唑林钠权重系数与拟合优度值见表3。

表3 权重系数与拟合优度值

Tab 3 Weight coefficient and goodness of fit

权重系数	头孢唑林钠			五水头孢唑林钠		
	一室模型	二室模型	三室模型	一室模型	二室模型	三室模型
1/C			0.88			0.84
1/C ²	0.10	0.089	0.095	0.48	0.20	0.24

根据拟合优度值(Goodness of fit)最小原则选择权重系数,即头孢唑林钠与五水头孢唑林钠最佳权重系数均为1/C²。根据F检验和偏差分析方法(AIC:AKaike's information criterion)结果选择房室数。对于相同的权重,当F检验有统计学意义(P<0.05或P<0.01)时,应取AIC值较小的房室数,对比一、二、三房室模型AIC值,二室模型最小。不同房室的AIC值结果见表4。

表4 不同房室的AIC值

Tab 4 AIC of different compartments

样品	AIC值		
	一室模型	二室模型	三室模型
头孢唑林钠	-22.01	-23.75	-22.10
五水头孢唑林钠	12.24	-6.19	-2.01

根据AIC最小原则选择最佳房室模型和权重,确定药动学参数,结果见表5,权重系数为1/C²,最低检测限为0.001 µg/ml。

参考文献^[9],由表5可知,头孢唑林钠与五水头孢唑林钠的AUC_{0-335 min}/AUC_{0-∞}分别为99.12%和96.37%,表明采血时间准确,远高于实验要求。由t_{1/2β}和CL可知,与头孢唑林钠比较,五水头孢唑林钠在兔体内的消除更快、清除更容易。

由于头孢唑林钠与五水头孢唑林钠给药剂量相当,头孢唑林钠的AUC_{0-335 min}明显高于五水头孢唑林钠的AUC_{0-335 min}。以头孢唑林钠为参比,五水头孢唑林钠的相对生物利用度为58.86%。

取头孢唑林钠与五水头孢唑林钠AUC_{0-335 min}的对数,以头孢唑林钠为参比,采用SPSS 17.0软件进行双单侧t检验,结果差异有统计学意义(P<0.05),AUC_{0-335 min}对数的90%置信区间分别为参比制剂相应参数的95.47%~106.55%,表明头孢唑林钠与五水头孢唑林钠生物学不等效。

表5 两种药物在兔体内的药动学参数

Tab 5 Pharmacokinetic parameters of 2 kinds of drugs in rabbits

主要参数	单位	头孢唑林钠	五水头孢唑林钠
A	µg/ml	196.76	688.06
α	min ⁻¹	0.043	0.038
B	µg/ml	517.47	29.12
β	min ⁻¹	0.017	0.013
V(c)	L/kg	0.28	0.18
t _{1/2α}	min	16.06	18.46
t _{1/2β}	min	55.12	40.85
K ₂₁	min ⁻¹	0.036	0.014
K ₁₀	min ⁻¹	0.020	0.035
K ₁₂	min ⁻¹	0.003 8	0.001 8
AUC _{0-335 min}	µg·min/ml	35 056.86	20 635.30
AUC _{0-∞}	µg·min/ml	35 368.93	21 413.18
CL	L·kg/h	0.005 7	0.009 7
MRT	min	52.96	34.12
VRT	min	2 838.01	1 572.51

3 讨论

有文献指出,五水头孢唑林钠中的杂质含量明显低于头孢唑林钠^[10]。本文采用高效液相色谱法测定头孢唑林钠与五水头孢唑林钠在兔体内的血药浓度,该方法生物样品使用量少、专属性强、灵敏度高,适用于药动学实验。与头孢唑林钠比较,五水头孢唑林钠在兔体内的消除更快、生物利用度较低,二者生物学不等效。

参考文献

- [1] 赵欣,宋毅斐.头孢唑林钠与五水头孢唑林钠[J].中外医疗,2012(16):189.
- [2] 钱昱昕.治疗革兰阳性菌感染的新型抗生素:素螯合新泰林(注射用五水头孢唑林钠)新药介绍[J].中国处方药,2005,11(44):30.
- [3] 杨俊玲,马忠森,邱晨,等.五水头孢唑林钠(新泰林)治疗下呼吸道急性细菌性感染的临床研究[J].中国临床药理学杂志,2006,22(5):326.
- [4] 托合提·阿吉木.五水头孢唑林钠在普外科临床应用疗效的观察[J].中国现代药物应用,2008,2(23):76.
- [5] Allegaert K, van Mieghem T, Verbesselt R, et al. Cefazolin pharmacokinetics in maternal plasma and amniotic fluid during pregnancy[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2009, 200(2):170.
- [6] Kunicki PK, Was J. Simple HPLC method for cefazolin determination in human serum-validation and stability testing[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, doi: 10.1016/j.jchromb.2012.11.002.
- [7] McWhinney BC, Wallis SC, Hillister T, et al. Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with ultraviolet detection[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2010, doi: 10.1016/j.jchromb.2010.05.027.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:206-208.
- [9] 梁文权.生物药剂学与药物动力学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2007:90.
- [10] 陈永刚,马传学,杨青,等.五水头孢唑林钠与头孢唑林钠中杂质含量的比较研究[J].中国药房,2013,24(25):2 383. (收稿日期:2013-12-06 修回日期:2014-01-15)