

第一章 緒言

由於世界各國醫藥科技的進步，為確保上市藥品之安全性與有效性，許多國家的衛生主管機關要求藥物應有完整之藥理試驗、安全性試驗及人體臨床試驗為依據，證明該藥品安全性及有效性後，才可上市。

我國自七十六年十一月二十七日公告"藥品生體可用率及生體相等性試驗基準"後，則自七十二年一月廿八日起列入新藥監視後之藥品，其學名藥品 (generic drug) 除了需於實驗室品管化驗合格外，在上市前，必須有生體相等性在人體內的研究報告，證明此學名藥品不但在體外與原廠藥品有相同的化學成分，在人體的吸收量及吸收速率也與原廠藥品相當。如此一來，學名藥品雖來自不同藥廠，不同配方，但其療效品質可進一步獲得保障，及提昇藥廠國際競爭力，同時也使國人用藥更加安全。

由於抗生素之主要作用是抑制或殺死細菌，因此，早期抗生素的定量方法就是測定其抑菌或殺菌作用之活性。即一般所謂的微生物定量法 (Bioassay)，這是一個簡易分析方法。但是，微生物定量法須有相當熟練的操作技巧，因此，實驗室分析結果差異性也較大。

隨著藥物分析技術的進步，儀器的改良，大大的提昇藥物生體可用率的研究發展。高效液相層析分析法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 在偵測血中藥物濃度上提供很大的幫助，是一個準確的定量方法，為目前醫藥界廣泛接受。

本實驗即利用高效液相層析分析法，對於 Minocycline

hydrochloride 的定量找出快速簡單且準確的分析條件，進行研究二種產品 Minocin 膠囊劑 (台灣氰胺公司) 與 Borymycin 膠囊劑 (永信藥廠) 在國人健康受試者之生體可用率及生體相等性。

第二章 總論

第一節 Minocycline hydrochloride 簡介

1944 年，從 *Streptomyces aurefaciens* 分離出一種無毒性的抗菌物質，該物擁有四環結構，即 chlortetracycline，而後，為了提高抗菌活性，改善吸收，增長半衰期，陸續有四環素類抗生素的研發推出⁽¹⁾。經過了十幾年的努力，產生了兩個新的第二代四環素衍生物，即 Doxycycline (1962 年製得) 及 Minocycline (首見於 1967 年的科學文獻)⁽²⁾，其中 Minocycline 為目前治療效果最好、制菌範圍最廣的四環素，美國於 1971 年開始使用。

Minocycline 為一半合成四環素，取自 7-nitro-6-demethyl-6-deoxytetracycline 的還原性甲基化⁽²⁾，幾乎已完全取代了舊有四環素的治療地位，它在結構上移除了傳統四環素 C-6 上的 hydroxyl group，使其對酸對鹼均穩定，在 C-7 加入 dimethylamine group，改善脂溶性，增加腸道吸收，使其更容易擴散到體液中^(3,4)。

Minocycline 在所有的四環素中具有最高的生物活性，為一廣效型抗生素^(3,5)，對革蘭式陽性菌及革蘭式陰性菌均有效^(5,6)，一般對 Tetracycline 已產生耐藥性的菌種，例如：*Staphylococci*^(2,7,8)、*Streptococci*、*E.coli*、*H.influenzae* 等 Minocycline 都有良好的效果。

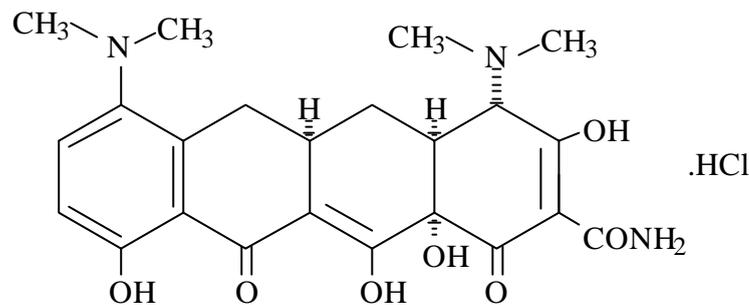
目前臨床上提供的製劑有⁽⁹⁾：膠囊劑 (10, 50, 100, 250 mg)、糖衣錠 (10, 50, 100, 250 mg)、糖漿 (10 mg/ml)、小瓶 (100 mg)、顆粒劑 (20 mg/g) 等。

第二節 理化性質

一. 化學名

7-Dimethyl-amino-6-demethyl-6-deoxytetracycline
hydrochloride ^(10,11,12)

二. 化學結構 ⁽¹³⁾



三. 分子式及分子量

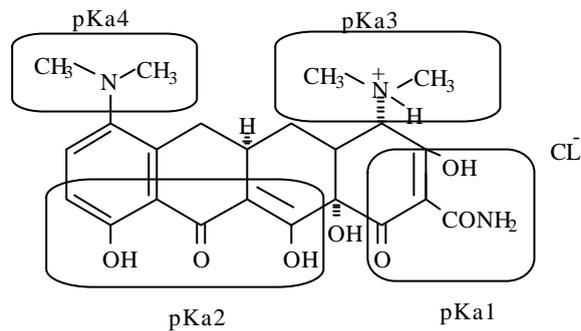
$C_{23}H_{27}N_3O_7 \cdot HCl$ 分子量 493.95 ^(12,13)

四. 物理性質

黃色結晶粉末，無臭，苦味 ⁽¹³⁾，輕微吸濕性，對光敏感，會氧化 ⁽¹¹⁾，可溶於水及鹼性氫氧化物及碳酸鹽溶液，微溶於乙醇，幾不溶於氯仿及乙醚，本品 1%溶液 pH=3.5-4.5，需貯存於不透氣緊密容器，避光貯存 ^(12,13)。

Minocycline 亮黃橘色無定型結晶，旋光度 -166° ($C=0.524$)，UV max (0.1N HCl) : 352, 263 nm, UV max (0.1N NaOH) : 380, 243 nm ($\log \epsilon=4.16, 4.23$)⁽¹⁾。

四環素特有的結構性機團，使得 Minocycline HCl 在水溶液中產生四個酸解離常數，其中 $pK_{a1}=2.8$ ， $pK_{a2}=7.8$ ， $pK_{a3}=9.3$ ， $pK_{a4}=5.0$ 。



五. 製劑含量

1. USP 規定 Minocycline HCl 每毫克無水樣品須含相當 890-950 μg 的 Minocycline。
2. Minocycline HCl 108 mg 樣品幾乎相等於 100 mg 的 Minocycline。

第三節 藥理活性與臨床應用

一. 機轉

抑制細菌蛋白質的生合成；Minocycline 可與 30s ribosomal subunit 結合，預防 amino-acry transfer RNA 與 messenger R NA-ribosome complex 結合，但也有學者認為可能與改變破壞細菌細胞膜，引起菌體破裂，造成內容物外漏有關^(14,15)。

高劑量下也可抑制細胞膜中 DNA 的複製⁽⁹⁾。

二. 臨床應用

1. 抗菌範圍

廣效型抗菌劑，包括嗜氧性，厭氧性革蘭氏陽性及陰性菌種，甚至包括 Mycoplasma、Chlamydia、Rickettsia、Spirchaetes、Nocardia、Legionella^(1,7,16)。

1971 年，Kuck 等人，針對 101 種臨床分離 Staphylococcus aureus，其中 48 種已對 $>4 \mu\text{g/ml}$ Tetracycline 產生耐受性，但卻可被 Minocycline $4 \mu\text{g/ml}$ 的濃度抑制⁽¹⁷⁾。

1968 年，Steigbigel 等人，針對 56 種 coagulase(+) Staphylococcus aureus 進行實驗，其中 35% 的菌種對一般四環素衍生物出現耐受性，但使用 $0.8 \mu\text{g/ml}$ Minocycline，便可抑制 2/3 的菌種，剩下的 1/3 菌種也只需要 $3-13 \mu\text{g/ml}$ 即有抑制效果⁽⁷⁾。

2. 療效

包括：肺炎（尤其 H.influenzae , D.pneumoniae)⁽¹⁸⁾，下呼吸道感染、扁桃腺炎、中耳炎^(19,20)、鼻咽炎、粉刺、痤瘡、脂腺炎⁽²¹⁾、淋病^(22,23)、泌尿生殖器感染、尿道炎、梅毒、腦膜炎球菌攜帶者⁽⁹⁾、急慢性膀胱炎、腎盂腎炎等⁽²⁴⁾。

3. 用法用量⁽⁹⁾

- a. 口服：成人--開始時 200 mg，後每 12 小時 100 mg，或 1 天 4 次，一次 50 mg；孩童--開始時 4 mg/kg 然後每 12 小時 2 mg/kg
- b. 淋病：開始時 200 mg，然後每 12 小時 100 mg，至少 5 天。
- c. 梅毒：每 12 小時 100 mg，連續 10-15 天。
- d. 腦膜炎球菌攜帶者：每 12 小時 100 mg，連續 5 天。
- e. 靜脈注射：開始時 200 mg，然後每 12 小時 100 mg，（每日最大量 400 mg）。
- f. 痤瘡：每天 2 次，每次 50 mg。
- g. 牙週病：每天 2 次，每次 50 mg。

三. 不良反應

前庭功能障礙，導致運動功能失調，頭昏眼花⁽¹⁾，不可駕車或操作機械⁽¹²⁾，一般在停藥後症狀會消失，Minocycline 是四環素中唯一造成前庭功能障礙的抗生素，這與 Minocycline 的高脂溶及易進入中樞有關。

四環素類易沉積於骨骼、牙齒等鈣化區域，造成長期牙齒變色，骨骼生長受到抑制，所以，孕婦及 8 歲前小孩禁止使用^(3,25)。

使用四環素類藥物，有些人會有光敏感的不良反應，出現曬

黑、囊泡、發疹、水腫等現象，但 Minocycline 卻罕有此種不良反應的報告^(3,26)。噁心、嘔吐、腸炎等腸胃症狀，重複感染(Super-infection)，頭痛、眩暈等中樞神經副作用；大劑量注射可能造成肝臟損壞、腎毒等⁽⁹⁾。肝毒⁽²⁷⁾，另外，較少見的如：藥物誘導狼瘡 (drug-induced lupus)⁽²⁸⁾、類血清病 (serum sickness-like reaction)⁽²⁹⁾、高敏感症狀反應 (hypersensitiveity syndrom reaction)⁽³⁰⁾。

四. 交互作用

1. 四環素的口服吸收，受食物，制酸劑，鐵或其他多價陽離子（如 Calcium，Magnesium，Aluminum）和鹼（如 sodium bicarbonate）的影響而破壞。

2. 由於四環素為制菌劑，所以會受 penicillin 和其他的殺菌性抗生素降低其效果。

3. 四環素藉干擾腸內微生物合成維他命 K，因而加強口服抗凝血劑的作用。

4. 腸胃外的四環素和 methoxyflurane 麻醉劑合併使用，將嚴重損傷腎功能。

以上為一般四環素常見之交互作用⁽⁹⁾。至於單獨研究 Minocycline 的藥物交互作用相關文獻並不多，但制酸劑的確會使 Minocycline 吸收下降⁽³¹⁾。

第四節 藥物動力學

一. 吸收

Minocycline 口服吸收完全，吸收達到 95%-100%，吸收部位主要在上腸胃道 (胃，十二指腸，空腸)^(10,32,33,34,35)。

Fourtillan 等人研究分別給予受試者 150、300 mg 的 Minocycline，尖峰血中濃度分別為 2 和 4 μ g/ml，出現在給藥後 2 和 3 小時^(10,36,37,38)。口服給予 200 mg Loading dose，1 小時後血清濃度到達 95%，2 小時出現尖峰濃度 2-4 μ g/ml^(39,40,41)。在此 Loading dose 後每 12 小時給予 100 mg，可維持血中濃度 2.3-3.5 μ g/ml⁽¹⁰⁾。

含金屬離子物 (例如： Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、制酸劑、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 等)，常與四環素類化物形成不溶性化合物，干擾吸收。Meyer 認為食物會下降 Minocycline 的生體可用率約 14% (比其它四環素來得小)，所以建議應於用餐前 1 小時服用^(44,45)，而牛奶也會下降 Minocycline 的生體可用率約 27% (亦比其它四環素來得小)^(44,46)。但 James C.Allen 等人認為食物及牛奶對 Minocycline 血中濃度影響不是很大^(1,42,43)。

過去發表的藥動學參數整理如下：

Mean values for pharmacokinetic parameters of minocycline

	Dosage	Route	C _{max}	T _{max}	AUC	V _d	T _{1/2}	CL(T)	CL(R)	Excretion%		Area
	(mg)		(mg/L)	(h)	(mg/L.h)	(L)	(h)	(L/h)	(L/h)	urine	Faeces	
Carney et al.1974 ⁽⁴⁷⁾	200	IV(6h)	6.2		54.6	67.5	12.6		0.16	5		Europe
	100	Oral	2--6	2								
Fourtillan & Saux 1978 ⁽⁸⁶⁾	150	Oral ^(a)	2.1	2--4			16		0.54	10--12	20	Europe
	300	Oral ^(b)	4.01	2--4			16			10	21-34	Europe
Fourtillan 1983 ⁽⁸⁵⁾	100	Oral	1.6	1.9	31.6	89	18.4	3.42	0.6	19.5		
	200	Oral	3.1	2.5	48.3	84	13.6	4.4	0.5	11.3		
	200	IV(1h)	3.5			115	15.7	5.7				
	200	IV(5min) ^(c)			62	78.6	16	3.36	0.31	4.5		
Heaney &Eknoyan 1978 ⁽⁶⁾	200	IV(1h)	6.1		67		14.6			11		United States
Macdonald et al. 1973 ⁽¹⁰⁾	200	IV ^(d)	3.5				16			9		United States
sklenar et al. 1977 ⁽⁴⁸⁾	200	IV(1h)	3		85.7					5		Europe

(a). 95% absorbed and 76% protein bound

(b). 95% absorbed

(c). 76% protein bound

(d). 76% protein bound

	Dosage	C _{max}	T _{max}	AUC ₀₋₂₄	AUC ₀₋	T _{1/2}	Area	
								(mg)
A.C.Cartwright 1975 ⁽⁴⁰⁾	Tablets	100*2	3.52	2--4	47.58	71.33	12.6	Europe
	Capsules	100*2	3.64	2--4	46.72	68.58	13.1	

	Dosage	C _{max}	T _{max}	AUC	V _d	T _{1/2}	T _{1/2}	Cl	Area
	(mg)	(mg/L)	(h)	(mg/L.h)	(L/Kg)	(h)	(h)	(L/h)	
何海霞等人 1997 ⁽⁴⁹⁾	200 Capsules	3.42 ± 0.63	2.40 ± 0.53	77.12 ± 16.89	0.70 ± 0.02	1.99 ± 0.78	20.61 ± 3.22	2.69 ± 0.51	China

二. 分佈

藥物滲透進入組織的能力與其脂溶性有很大的關係，高脂溶性物易穿透細胞膜進入組織⁽⁵⁰⁾，Minocycline 有比其它四環素還

要好的組織穿透分佈能力⁽¹⁰⁾，主要與它的高脂溶性有關。也因為它的高脂溶性使得它擁有四環素類中最佳穿透血腦障壁 (Blood-brain-barrier) 的能力⁽³³⁾，在 CSF 中的濃度自然比其他四環素還要來的高⁽⁵¹⁾。

Minocycline 在身體濃度最高的地方被發現在膽汁，相當於血清的 30 倍，在肺則約為血清的 3-4 倍^(10,33,34)，在子宮、卵巢、輸卵管約為血清濃度的 2 倍⁽³⁴⁾，大約為 1.8-2.2 $\mu\text{g/g}$ ⁽¹⁰⁾，前列腺及精液約為血清濃度的 40-100%^(33,52,53,54)，在膀胱約為 1.36 $\mu\text{g/g}$ ⁽¹⁰⁾。

另外，在痰⁽⁵⁵⁾、唾液⁽³³⁾、扁桃腺⁽⁵⁶⁾，皮膚、精液、汗^(10,57)，贅生物、膿、骨頭牙齒、甲狀腺均有之⁽¹⁰⁾。

再則於橫紋肌、脂肪組織⁽⁵²⁾，淋巴結、癌瘤、腦、乳汁、羊水、臍帶血亦有之^(33,34)。

Minocycline 在腸胃道擴散的情況也很好^(10,33)。

Minocycline 血漿蛋白結合率相當於 70-80%^(10,33,36,38,52)。

Minocycline 於人體分布體積相當於 80-115L⁽³⁵⁾。

Minocycline 分佈於人體各組織的情形⁽¹⁰⁾：

	No. of samples	Average concentration in μ g/gm or ml (range)	Average tissue:serum ratio (range)	Average tissue:blood ratio (range)
Gastrointestinal tract				
Stomach	1	0.97	ND	2.26
Duodenum	2	1.39(1.05,1.73)	9.55	4.02
Jejunum	1	2.43	ND	4.58
Appendix	3	4.63(0.43,11.9)	2.55(0.88,4.22)	1
Colon	4	2.03(0.51,4.45)	1.58	3.31(0.75-7.47)
Rectrum	1	2.31	ND	7.2
Excretory organs				
Liver	1	5.14	12.24	ND
Gallbladder	6	9.65(2.79,19.3)	6.5	17.14(4.73-39.4)
Bile	1	76	38	ND
Bladder	3	1.36(1.08,1.59)	0.78(0.61,0.91)	ND
Preproductive organs				
Prostate	3	2.27(1.68,3.34)	1.30(0.94-1.92)	ND
Ovary	3	1.83(0.78,2.46)	2.06(1.39,1.72)	1.7
Uterus	2	2.02(1.83,2.21)	1.85(1.03,2.66)	ND
Fallopian tube	2	2.24(0.78,3.70)	2.09	1.7
Other				
Muscle	5	1.21(0.3,1.87)	ND	2.52(0.51-5.78)
Thyroid	6	4.56(1.55,8.24)	6.97(6.7,7.24)	13.57(0.84-39.7)
Lung	3	5.31(4.67,6.17)	3.80(3.13,4.47)	6.46
Breast	6	1.67(0.3,3.57)	1.58(0.93,2.22)	2.3
Skin	3	2.44(2.05,3.07)	1.05(0.84,1.36)	ND
Carcinoma	2	2.75(2.06,3.43)	1.49	4.34
Lymph nodes	1	2.97	1.79	ND
Veins	2	1.77(1.71,1.83)	1.72(1.31,2.13)	ND
Blood	21	0.65(0.07,1.85)		
Serum	22	1.66(0.11,3.85)		

ND:Not determined.

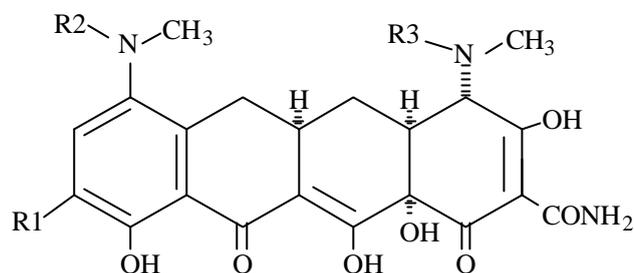
Patients received an initial oral dose of 200mg followed by 100 mg twice daily for 2to 7 days.

三. 代謝排除

Minocycline 主要在肝臟進行生物轉換^(33,35,58)，一部份由微生物代謝為不活性物質⁽¹⁰⁾。

在糞便及尿液中發現 3 個無活性代謝物，包括:主代謝物為 9-hydroxy minocycline，其次為 4-位 demethylation 及 7-位 demethylation 代謝物⁽⁵⁸⁾。

代謝結構如下：



	R1	R2	R3
9-Hydroxyminocycline	OH	CH3	CH3
N7-Demethylminocycline	H	H	CH3
N4- Demethylminocycline	H	CH3	H

由於 Minocycline 有高的油水分配係數，使得它有較低的腎臟清除率，該藥即擁有四環素類最低的腎臟清除率⁽¹⁰⁾，約 0.54 L/hr (9ml/min)，總清除率 3.6-5.7 L/hr⁽³⁵⁾，約為給藥劑量的 8-12% 被排除於尿中^(10,33,34,35,36)，20-35 % 被排除於糞便中。

Minocycline 的半衰期約為 16 小時^(10,33,34,35,59)。

雖然 Minocycline 口服後在膽汁有高的濃度，所以，對膽囊炎及膽管炎有不錯的效果，但是它是否有腸肝循環仍未被證實。

四環素類藥物排除主要與腎絲球體的過濾有關⁽⁶⁰⁾，Bernard 發現腎損傷患者將半衰期由 18 小時延長到 68 小時⁽⁶¹⁾，Welling 等人發現腎機能不全者血清中 Minocycline 濃度有輕微上升的現象⁽⁶⁶⁾，但也有學者認為 Minocycline 血中濃度及半衰期的變化，與腎功能並無太大關係⁽⁴⁷⁾。

口服給予 150 mg 的 Minocycline 後，尿液與糞便的藥物回收百分率⁽¹⁰⁾：

Percent recovery of antibiotic activity after a single oral dose of 150mg in a crossover

Collection interval in hours	Minocycline		
	Urine	Feces	Total
0-6	1.3		
6-12	1.2		
12-24	2.3	4.6	9.4
24-48	4.3	5.9	10.2
48-72	1.8	5.3	7.1
72-96	0.7	3.5	4.2
Total	11.6	19.3	30.9
Range	10.3-13.5	9.5-28.2	23.0-38.5

第五節 定量方法

Minocycline 的定量方法由文獻整理出來有微生物定量法 (Bioassay) 和 高效液相層析法 (High performance Liquid Chromatography) 兩種為主：

一. 微生物定量法 (Bioassay)

Minocycline 此一抗生素，早期以微生物定量法 (Bioassay)來定量，依其抗菌反應所產生的抗菌直徑來測量及定量血漿或尿液中的藥物濃度。下列菌種為文獻中常用來試驗之菌種：

- (1). *Bacillus subtilis* PCI-219 ⁽⁶²⁾
- (2). *Bacillus cereus* NCIMB 8849 ⁽⁶³⁾
- (3). *Sarcina lutea* NCIB 8853 ⁽⁶⁴⁾
- (4). *Bacillus cereus* ⁽⁶⁵⁾
- (5). *Staphylococcus* 6538P ⁽⁶⁶⁾
- (6). *Bacillus cereus* ⁽⁶⁾
- (7). *Bacillus cereus* ATCC 11778 ⁽⁴⁰⁾

二. 高效液相層析法 (High-performance Liquid Chromatography , HPLC)

高效層析液相儀用於分析 Minocycline 的報告分析條件整理如下：

作者	内標準品	波長(nm)	層吸管柱	移動相	檢品前處理
Friederike ⁽⁶⁷⁾		340	RP-Phenyl 150*3.9mm (Water Associates)	10ml 0.1M(NH ₄) ₄ EDTA,50ml 1.0M diethanolamine(pH7.3 with 85% H ₃ PO ₄)x ml isopropanol,and distilled water to 1000ml A:x=185ml B:x=400ml t ₀ :A=100% t ₆ min:=100% step-gradient Flow rate:2.0 (ml/min)	Acidic (Trifluoro acid;TFA) precipitation of plasma protein
R.H.BOCER ⁽⁶⁸⁾		352	RP-C18 250*4.6 mm(Macherey&Nagel)	Gradient fom 10 to 40% acetonitrile Flow rate:1.2 (ml/min)	Serum developed on C18 column(pre-treated consecutively 1ml methanol and 1ml 1%formic acid),then extracted from the column by 1ml methanol ,organic solvent nitrogen dry,and the residue dissolved in water
Hermann J . Mascher ⁽⁶⁹⁾		350	5-CN 125*4.0 mm (Nucleosil)	methanol,20mM perchloric acid/4mM triethylamine in water pH approx.2 20:80 ,V/V Flow rate:1.0 (ml/min)	Extraction(0.4ml 0.5M KH ₂ PO ₄ and 5ml ethyl acetate,then upper organic phase into 0.5ml 0.02M HCL,then lower water phase were taken and analyzed.)
Khalid F. Tabbara ⁽³⁾	Tetracycline	357	C-18 150*3.9mm (NOVAPAK)	ACN,Water,monoethanolamine, N,N-dimethylformamide, diammonium hydrogen phosphate 35ml:320ml:2ml:20ml:2g Flow rate:1.0 (ml/min)	Extraction(1ml of phosphate-sulfite buffer and extracted with 500 μ l mixture of methyl alcohol and water 50:50 ,then organic phase into100 μ l ascorbic acid and cysteine in methanol)
A.P.De Leenheer ⁽⁷⁰⁾	Oxytetracycline	352	C-8 150*3.2mm (Lichrospher 100)	ACN, in 0.1m citric acid 9% (v/v) Flow rate:1.0 (ml/min)	Extraction(1ml of phosphate-sulfite buffer and extracted with 6ml ethyl acetate,then organic phase into100 μ l ascorbic acid and cysteine in methanol)
Karen Birmingham ⁽⁵⁾	Oxytetracycline	350	RP- phenyl (Nova-Pak)	0.1M oxalic acid,ACN,methanol 80:11:9 titrated with 1N HCL to pH2.7 Flow rate:2.0 (ml/min)	Acidic (Trichloro acid;TCA) precipitation of plasma protein
何海霞 ⁽⁴⁹⁾	Oxytetracycline	353	C-18	CAN,0.1 mol/L citric acid 15:85 PH=2.65 Flow rate:1.2 (ml/min)	Extraction(同A.P.De Leenheer)

第六節 研究動機及目的

民國 84 年 3 月 8 日衛生署為了確保藥品調劑的品質，頒布「優良藥品調劑作業規範」其中「第七項藥品調劑作業-藥品調配」規定『若醫師未註明處方藥品不得替代，藥事人員得以與原處方藥品之相同成分同劑型，同單位含量的學名藥代替。』

但相同成分、劑型及劑量的藥品，由於不同藥廠的製造過程或賦型劑不同在同組病人可能產生不同的吸收或生體可用率，因而可能產生不同的療效，造成醫療上的困擾。

Minocycline 有良好的廣效抗菌效果，可謂一般四環素類所不及^(5.3)，其相關製劑 Minocin 在市場應用已有相當長時間，而由台灣永信藥廠出產的 Borymycin 在市場的應用亦有一段時間。在本研究中，將利用高效液相層析法分析檢品以比較 Minocin 膠囊劑與 Borymycin 膠囊劑之生體相等性。

第三章 實驗材料與方法

第一節 實驗材料

一. 實驗藥品

Minocin 100mg膠囊劑 (Lot.491)	台灣氰胺公司
Borymycin 100mg膠囊劑 (Lot.J008)	永信公司
Minocycline HCl (84.73%) 標準品	永信公司
Oxytetracycline (98.6 %) 內標準品	Acros Organics

二. 實驗試劑

肝素鈉 (Heparin sodium Inj. 5000 i.u./ml)	Braun
生理食鹽水注射液 (NaCl Inj. 0.9%)	永豐化學公司
氰甲烷 (Acetonitrile. Lichrosolv [®])	Merck
甲醇 (Methanol, ChromAR [®] HPLC)	Mallinckrodt U.S.A
磷酸 (ortho-phosphoric acid KGaA64271) 85%	Merck
藥用酒精 (Alcohol 95%)	台灣菸酒公賣局
三氯醋酸 (Trichloroacetic acid , TCA)	Merck

三. 高效相液相層析儀之設備

自動取樣機 (Autosampler) : Hitachi Model L-7200 Autosampler

紫外光偵測器 (Detector) : Hitachi Model L-7400 Detector

幫浦 (Pump) : Hitachi Model L-7100 Pump

除氣機 (Degaser) : Hitachi Model L-7610 Degaser

印表機 (Printer) : HEWLETT PACKARD 695C

層析管 (Column) : LiChroCART® 125*4mm LiChrospher®RP-18e
(5µm)

保護管柱 (Guard- Column) : LiChroCART®4-4 LiChrospher® RP-
18e (5µm)

四. 實驗室設備

電子天平 : Sartorius Type 1801

水壓抽氣機 : Eyla, Aspirator A-2S, Rikakai

微量移液管 : Socorex Transferpette

觸動式震盪器 : Maxi Mix Thermolyene 37600 Mixer

高速離心機 : Hettich Zentrifugen D-7200 Tuttlingen

酸鹼測定儀 (pH meter) : Model 2002 Good Digital

純水製造裝置 (Water Purification) : Milli-60, Millipore

超音波震盪器 : Branson 5510. 弘宇儀器股份有限公司

烘箱 (Drying Oven) : 華興, 台製

五. 人體抽血實驗所用器材

注射針及針筒 (Syringe with needle) : 10ml, Terumo

靜脈留置針 (IV Catheter) : 22G × 1, Terumo

針塞 (Injection Plug) : 0.2ml, Terumo

無菌真空採血管 (10ml)、3M 膠帶、酒精棉、棉花球、褐色避光
檢體瓶 (2ml)、塑膠吸管 (3ml) 、電子血壓計、試管架

六. 溶液製備

1. 肝素鈉溶液的配製 (Heparin Sodium)

肝素鈉溶液注射液 2.5 ml 加入 500 ml 生理食鹽水中, 即得 25 i.u./ml 抗凝血肝素鈉溶液。

2. Minocycline hydrochloride 標準溶液

精確稱取相當於 10.0 mg Minocycline 標準品置於 100 ml 定量瓶中, 加純水至刻度得濃度為 100 μ g/ml Amikacin 標準溶液, 再加蒸餾水等比稀釋成 50, 25, 10, 5, 2.5, 1 μ g/ml 等不同濃度之標準溶液。

3. Oxytetracycline 內標準溶液

精確稱取相當於 10.0 mg Oxytetracycline 標準品於 100 ml 定量瓶中, 加蒸餾水至刻度, 即得濃度為 100.0 μ g/ml 標準溶液, 再以純水等比例稀釋成 20 μ g/ml 即可。

4. 0.5 N 三氯醋酸 (Trichloroacetic acid, TCA) 溶液

精確稱取 81.695 g 的 Trichloroacetic acid 加純水到 1000 ml 即可。

第二節 實驗方法

挑選十四位 20-40 歲，體重 55-85 公斤、自願及健康之成年男性 (表 1)，至中國醫藥學院附設醫院進行身體健康檢查，其中包括：身高、體重、血液、尿液、生化檢查等項目。此外，亦無抗生素過敏或心、血管、腎、胃腸道、泌尿道疾病的病史且應遵守下列規定：

(1). 最近三個月內未參加過其他的臨床研究，實驗期間及實驗後一個月內不至捐血中心捐血。

(2). 服藥當天，可在實驗空檔時隨意走動，看書報、雜誌及聽收音機等，但不可擅自離開試驗場所。

(3). 實驗開始前一週，不得吸煙、喝酒、飲用含咖啡因飲料或服用維他命和成藥等。

一. 實驗設計

本實驗為開放、隨機、雙向交叉試驗 (Open randomized two-way crossover design)。實驗前至少需連續禁食十小時。一早到實驗室後，護理人員於受試者的前臂靜脈插入靜脈留置針將針塞注滿肝素鈉溶液後固定於靜脈留置針上，每次採血後均由針塞注入 0.2 ml 之肝素鈉溶液，以防止血液凝集於靜脈留置針內。其中兩次投藥時間間隔為兩個星期。

十四位受試者分為兩組，將所有受試者固定好靜脈留置針後，一組服用 Minocin 100 mg 膠囊劑一粒，另一組服用 Borymycin 100 mg 膠囊劑一粒，兩組同時服用 200 ml 開水，實驗當天不吃

早餐，於投藥後第 4 小時之抽血點抽血完畢後，方可進食相同的午餐，十小時後吃晚餐。第二、三、四天的早、中、晚餐均由我方提供。

本實驗一次四天，共二個循環，給藥前先抽取 10 ml 對照用的空白血清，給藥後分別於第 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 60, 72 小時抽取 10 ml 置於無菌真空採血管。隨後，置於離心機中，設定 3000 rpm、20 分鐘，離心後，以塑膠吸管吸取上層血清分裝於四個褐色避光檢體瓶，立刻放入-30 之冷凍櫃中保存。

二週後，兩組受試者交換服藥重複抽血步驟。

二. 溶離試驗

利用槳式溶離法 (paddle method)，依照中華藥典第四版規定，以轉速 50 rpm，測定 Minocin[®]及 Borymycin[®]於 37 ± 0.5 的溶離速率。各取 6 粒待測膠囊分別至於 pH6.8 phosphate buffer 0.1N HCl (pH1.2) 及 pH4.5 buffer 中，檢品液依設定的時間間隔每次抽取 5ml，於 UV 348 nm 測其吸光值作定量，取其平均值，所得數據計算藥物的溶出百分率。

其中，pH4.5 buffer 的配製為 5.04 g 的 Na_2HPO_4 和 3.01 g 的 KH_2PO_4 ，加水到 1000ml，以醋酸調到 pH4.5；而 pH6.8 phosphate buffer 為 6.805 g 的 KH_2PO_4 和 0.896 g 的 NaOH，加水到 1000ml，以 0.2N NaOH 調到 pH6.8。

三. 高效液相層析定量分析方法 (HPLC)

高效液相層析分析條件：

層析管 (Column) : LiChroCART[®]125*4mm LiChrospher[®] RP-18e
(5 μ m)

保護管柱 (Guard- Column) : LiChroCART[®] 4-4 LiChrospher[®] RP-18e
(5 μ m)

紫外光偵測波長 : 348 nm

內標準品 : Oxytetracycline

移動相 : 甲醇 : 氘甲烷 : 酸水 (1/1000 磷酸) , 8:8:84 (v/v/v) ; pH
約 2.3

流速 : 1.2 ml/min

注入量 : 40 μ l

分析時間 : 15 min

四. 血清中 Minocycline 之 HPLC 定量分析:

1. 血清檢體之前處理

從冷凍櫃中取出血清檢體瓶，待其回到室溫，以觸動式震盪器將檢品混合均勻後，用微量移液管精取血清檢品 200.0 μ l 置於玻璃試管中，加入 20 μ l Oxytetracycline，再加入 150 μ l Trichloroacetic acid 以震盪器震盪 30 秒，使血清中蛋白質沉澱，再以 3000 rpm 離心 25 分鐘。以微量移液管吸取上清液置於小瓶 (vial) 中，注入 40 μ l 於高效液相層析儀分析。

2. 標準曲線 (Standard curve) 之製作

微量移液管精取空白血清 180.0 μ l 加入 20.0 μ l 濃度 50 至 1 μ g/ml 之 Minocycline hydrochloride 溶液混合均勻，配製成濃度為 5.0 至 0.1 μ g/ml 之標準血清檢品液 (見下表)。加入濃度 20 μ g/ml 的 Oxytetracycline 20 μ l，再加入 150 μ l Trichloroacetic acid 以震盪器震盪 30 秒，使血清中蛋白質沉澱，再以 3000 rpm 離心

25 分鐘。以微量移液管吸取上清液置於小瓶 (vial) 中，注入高效液相層析儀分析。將 Minocycline hydrochloride 與 Oxytetracycline 的波峰面積比與對照標準血清檢品濃度作線性迴歸以製作標準曲線 (表 2、圖 3)。

HPLC 對照標準檢品之製備:

標準溶液濃度 ($\mu\text{g/ml}$, 取量 20 μl)	空白血清取量 (μl)	標準血清檢品濃度 ($\mu\text{g/ml}$)
50	180.0	5.0
25	180.0	2.5
10	180.0	1.0
5	180.0	0.5
2.5	180.0	0.25
1	180.0	0.1

3. 相對回收率 (Relative Recovery)

Minocycline hydrochloride 溶液分別加在等體積的空白血清和空白溶液 (純水) 中，經「標準曲線製作」步驟處理後，比較經「血清檢品之前處理」步驟，其檢出量之差異，由下列公式求得回收率。

$$\text{回收率} = \frac{\text{標準濃度之血清檢品溶液}}{\text{標準濃度之純水檢品溶液}} \times 100\%$$

4. 精密度及準確度試驗

同日 (Intraday) 精確性試驗，是於同一日的上午及下午各做三條標準曲線；異日 (Interday) 精確性試驗，則是連續六天中午各作一條標準曲線。計算各個校正濃度之平均值 (Mean)、變異係數 (C.V.) 及標準誤差 (Error)。以確定 HPLC 定量分析方法之精密度及準確度。

5. 靈敏度 (Sensitivity) 試驗

靈敏度試驗項目有二項，一為偵測極限試驗 (LOD, Limit of detection)；另一為定量極限試驗 (LOQ, Limit of Quantitation)。

a. 低濃度 Minocycline Calibration Curve

Peak High			
Minocycline Conc.	Sample A Peak (mm)	Sample B Peak (mm)	Sample C Peak (mm)
0.02 μ g/ml	4.1	3.2	2.3
0.04 μ g/ml	8.2	4.4	6.2
0.06 μ g/ml	10.1	10.9	7.9

b. 回歸

Sample A 之回歸方程式： $Y=150X+1.467$

Sample B 之回歸方程式： $Y=192.5X-1.533$

Sample C 之回歸方程式： $Y=140X-0.133$

總回歸方程式： $Y=160.8X-0.199$

c. 計算

取 Peak A、B、C calibration curve 截距之 $=1.501$

總回歸方程式之斜率為 160.8 (Slope)

依 ICH 之方程式得

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= 3.3 \times \quad / S \\ &= 3.3 \times 1.501/160.8 \\ &= 0.0308 \mu \text{ g/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LOQ} &= 10 \times \quad / S \\ &= 10 \times 1.501/160.8 \end{aligned}$$

= 0.0933 μ g/ml

d. LOQ

1. 以 0.1 μ g/ml 為儀器 HPLC 之 LOQ。
2. 實驗上以 0.1 μ g/ml 為標準曲線之 LOQ ,
即可測得的 Serum sample 最低濃度。

6. 25 下 Minocycline hydrochloride 在血清中之安定性試驗

取濃度為 25, 10, 1.0 μ g/ml 之標準溶液 500.0 μ l 加入 4500.0 μ l 之空白血清中 , 震盪一分鐘以混合均勻 , 即得濃度 2.5 , 1.0 , 0.1 μ g /ml 之血清檢品 , 分裝後依「血清檢品之前處理」方法處理 , 將這些檢品置於 25 室溫中 , 於第 0 , 3 , 6 , 8 , 10 , 12 , 14 小時 (每次實驗約需 13.3 小時內完成) 分別注入檢品於 HPLC 中分析之 , 然後記錄濃度變化之情形。

7. -30 下 Minocycline hydrochloride 在血清中之安定性試驗

取濃度為 25, 10, 1.0 μ g/ml 之標準溶液 500.0 μ l 加入 4500.0 μ l 之空白血清中 , 震盪一分鐘以混合均勻 , 即得濃度 2.5 , 1.0 , 0.1 μ g /ml 為之血清檢品 , 分裝後置於-30 冷凍櫃中 , 於第 0 , 3 , 6 , 9 , 12 , 15 , 30 , 60 , 90 天 (本實驗計劃於三個月內完成) 分別取出檢品解凍後 , 依「血清檢品之前處理」方法處理後 , 注入檢品於 HPLC 中分析之 , 然後記錄濃度變化之情形。

8. 分析檢品時 , 安插高、中、低三種標準濃度檢品於分析檢品中

分析每批檢品時 , 分別於個人標準曲線後 , 安插一點低濃度標準檢品 (0.1 μ g/m) , 於第一期抽血檢品 (台廠藥或原廠藥) 後 , 安插一點中濃度標準檢品 (1 μ g/m) , 於第二期抽血檢品 (原廠藥或台廠藥) 後 , 安插一點高濃度標準檢品 (2.5 μ g/m) , 再回歸個人檢量線 , 計算得相對濃度。最後 , 比較每位受試者高、中、低三種標準檢品濃度的相對濃度 , 計算其標準偏差及變異係

數。

9. 數據處理及統計方法

以 HPLC 定量之血中 Minocycline hydrochloride 之濃度，由濃度依時間變化之數據 (表 5、6、7、8)，利用電腦程式 WinNonlin 非分室理論來分析相關藥動學參數，利用 Sigma Plot 繪出血中濃度曲線圖 (圖 4、5)，再以統計學程式 two-way ANOVA ($\alpha=0.05$ ；及 90% Confidence Interval)，處理兩種產品之比較參數包括 AUC_{0-} 、 AUC_{0-72} 、 C_{max} 、MRT、 T_{max} 及 $T_{1/2}$ 進行生體相等性評估。

第四章 結果與討論

一. 溶離度試驗

利用槳式溶離法 (paddle method), 每次取 6 粒待測膠囊分別至於 pH6.8 phosphate buffer、0.1N HCl (pH1.2) 及 pH4.5 buffer 中, 於溫度 37 °C, 攪拌速率 50 rpm, 檢品液依設定的時間間隔每次抽取 5 ml, 經適當稀釋後, 於 UV348 nm 測其吸光值作定量, 所得數據計算藥物的溶出百分率, 6 個樣品之平均值用於數據分析。

永信藥廠所生產的 Borymycin 與台灣氰胺公司 Minocin, 均有達到中華藥典第四版對溶離度的容許範圍規定, 即於 45 鐘之內, 所溶離 Minocycline 之量, 不得少於標誌含量之 75%。

兩種產品溶離度比較上, Borymycin 在 pH1.2 及 4.5 時, 溶離度有略為偏高的現象, 這可能是因為永信藥廠所生產的製劑與原廠膠囊的重量差異分別在合格範圍的上限與下限, 或者與外殼溶解速率、pellets 顆粒大小、緊密度及賦型劑不同所致, 至於 pH6.8 時的溶離曲線, 二者則幾乎一致。大體看來, 二者的溶離情形是相似的 (表 4、圖 2)。

二. 血清定量分析之確效

本實驗以高效液相層析法為定量方法, 在 RP-18 層析管, 移動相為甲醇: 氘甲烷: 酸水 (1/1000 磷酸), 8:8:84 (v/v/v), pH 約 2.3, 流速 1.2 ml/min 及紫外光偵測波長 348 nm 之分析條件下, 在血清層析圖中, Minocycline hydrochloride 與內部標準品

(Oxytetracycline) 並無受到代謝產物雜質的干擾，具有良好之專一性及解析度 (圖 1)，Minocycline 的滯留時間約需 3.4 分鐘，與過去文獻上層析方法比較並不遜色^(5,49,67-70)，但須注意此藥會受到光的破壞及分解，所以處理時，要注意避光的技術，動作要迅速精確。本分析方法之標準校正曲線，其 $r^2=0.9998$ ($y=0.652098x-0.02655$)，顯示此法具有良好線性關係 (表 2-1、圖 3-1)。標準血清檢品濃度與標準溶液濃度之平均相對回收率為 $92.98 \pm 2.91\%$ ，且除了 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 的相對回收率為 89.49% 外，其餘各濃度均有 90% 以上之回收率 (表 3-1)。

由於含 Minocycline hydrochloride 血清檢品以一般 Acetonitrile 配合吹氮氣的去蛋白方式，在低濃度的血清檢品下，發現回收率及線性均不理想；一般文獻記載對此藥又多以步驟繁雜反覆萃取的方式為之^(3,49,69,70)，一些學者提出了解決的辦法。學者 Friederike 就認為萃取法造成時間的消耗且影響實驗的準確性，所以，選擇了三氟醋酸 (Trifluoroacetic acid, TFA) 沉澱蛋白的方法⁽⁶⁷⁾；過去，曾有人用 Perchloric acid 來沉澱蛋白，但 Hermansson 認為 TFA 比 Perchloric acid 更適合做為沉澱劑⁽⁷¹⁾；而學者 Karen- Birmingham 亦提到了三氯醋酸 (Trichloroacetic acid, TCA) 沉澱蛋白的方法，他認為以 0.5N 的 TCA 來沉澱蛋白可排除繁雜的萃取及乾燥過程，效果快速且不影響回收率⁽⁵⁾。

故吾人亦考慮以酸來沉澱蛋白，但因為 TFA 酸性太強，故選擇 TCA，操做步驟快速簡單，唯 TCA 酸性仍不弱，要注意 column 的清洗。實驗結果顯示吾人所採用的方法，回收率 92.98% ，並不遜色於萃取法 (此藥以萃取法操做回收率約 76.4% ⁽⁶⁹⁾- 92.84% ⁽⁴⁹⁾)；比 Friederike 以 TFA 沉澱蛋白 (約 83.5%) 好，而與 Karen-Birmingham (約 99%) 相當。

在精確性試驗中，同日精確性試驗是以同日之上午、下午各

取標準品之六種濃度進行含量測定。而異日精確性試驗，是以連續六日取標準品之 6 種濃度進行含量測定，並計算其變異係數及標準偏差，其變異係數除同日精確性試驗在 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 為 10.71% 及異日精確性試驗在 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 為 12.89% 外，皆在 10.0 % 以下，而 error 值均在 10% 以內，顯示本分析方法之精密度及準確度均在可接受範圍內 (表 3-2、3-3)。

靈敏度試驗分析中，本實驗中配製三種低濃度標準檢品，包括： 0.02 、 0.04 、 $0.06 \mu\text{g/ml}$ 等，每種濃度各三個，利用 ICH 法取 3 個低濃度下 peak 的高度，取得平均值後，回歸計算得 $\text{LOD}=0.0308 \mu\text{g/ml}$ ， $\text{LOQ}=0.093 \mu\text{g/ml}$ ，為了實驗上方便，將 LOQ 定為 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 。為了測試所使用的 HPLC 對此 LOQ 的精確性，我們製作一條標準曲線，以 6 個 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 標準濃度檢品 (在此以同日精確性的 6 點 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 標準濃度檢品為之) 來回歸其相對濃度，在計算其變異係數及標準偏差，結果均小於 10%，證明所使用的 HPLC 對此 LOQ 的精確性良好 (表 3-4)。

在 25 安定性試驗中，14 小時內血清 Minocycline hydrochloride 濃度均無明顯的降低 (每批檢品分析約需 13.3 小時)，在 -30 安定性試驗中，90 天內血清藥品亦無效價降低的顧慮 (總檢品分析可於 90 天內完成) (表 3-5、3-6)。

分析檢品時，安插高、中、低三種標準濃度檢品於分析檢品中，再回歸個人標準曲線，計算得相對濃度。最後，比較每位受試者高、中、低三種標準檢品濃度的相對濃度，計算其標準偏差及變異係數。本實驗的結果除了 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 的變異係數為 13.17% 外，其於均在 10% 以下，並且三者的 error 值都在 10% 以下，顯示此分析方法即使在不同受試者，不同批次的檢品，仍有很好的精確性 (表 3-7)。

三. Minocin 與 Borymycin 之藥物動力學分析

本實驗挑選 14 位健康男性受試者平均年齡為 23.2 歲 (21-29 歲); 平均身高 175.1 cm (169-182 cm); 體重 68.5 kg (55-82.4 kg) 且均通過中國醫藥附設醫院之體檢確定為健康。

14 位受試者口服 Minocin 膠囊劑發現在服藥後約 1.6 小時達到血中最高濃度, 約 $1.8 \mu\text{g/ml}$, 曲線下面積為 $34.72 \pm 5.59 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 。部分受試者在服藥後 72 小時便測不到濃度, 其中有一位 (編號 F) 於 60 小時就測不到濃度了 (表 5、9)。

14 位受試者口服 Borymycin 膠囊劑發現在服藥後 1.7 小時達到血中最高濃度, 約 $1.8 \mu\text{g/ml}$, 曲線下面積為 $35.19 \pm 5.54 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 。部分受試者在服藥後 72 小時便測不到濃度, 其中有一位 (編號 F) 於 60 小時就測不到濃度了 (表 6、9), 編號 F 的受試者藥物血中濃度比其他快消失, 但本身服用 Minocin 及 Borymycin 膠囊劑血中濃度變化差異性並不大, 可能是因為個體代謝排除的能力或胃排空速率不同所造成。

對於同劑量、同給藥途徑的研究的研究, Carney 等人⁽⁴⁷⁾提出於第 2 小時; Fourtillan⁽³⁵⁾則提出於第 1.9 小時出現最高濃度 $1.6 \mu\text{g/ml}$, 曲線下面積為 $31.6 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$, 分佈體積 89L, 半衰期 18.4 小時, 清除率 3.42 L/hr。Carney 等人的最高血中濃度時間 (2 小時) 略大於本實驗, 但吾人認為此差異意義並不大, 可能是因為受試者不同所致; Fourtillan 的數據則與本實驗相近。

14 位受試者血清分析的結果, 經過計算藥物動力學參數後得到分別為平均曲線下面積 AUC_0 34.72 ± 5.59 及 $35.19 \pm 5.54 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$; 平均清除率 (CL/F) 為 2.95 ± 0.48 及 $2.91 \pm 0.45 \text{ L/hr}$; 平均血中濃度半衰期 19.68 ± 3.96 及 19.28 ± 3.94 小時; 平均分布

體積 (V_{DSS}/F) 為 82.07 ± 12.51 及 78.92 ± 9.01 L ; 藥物平均滯留時間 (MRT) 為 27.18 ± 5.00 及 26.83 ± 4.99 小時 ; 平均最高血中濃度時間為 1.57 ± 0.47 及 1.71 ± 0.43 小時 ; 平均最高血中濃度為 1.78 ± 0.26 及 $1.80 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ (表 9、 10)。根據統計上 (ANOVA $=0.05$; 及 90% Confidence Interval) 之計算 , 證明沒有差異 , 顯示兩種膠囊劑有身體相等性。

第五章 結論

本實驗不採用一般文獻所記載傳統的萃取方式來進行血清檢品前處理，也排除以 Acetonitrile 進行去蛋白的方法，而已操作簡便迅速的酸 (Trichloroacetic acid, TCA) 沉澱蛋白法來進行血清檢品前處理，此法可減低 Acetonitrile 去蛋白或萃取法中反覆移液所造成的誤差，結果顯示此法並不比 Acetonitrile 去蛋白或萃取法差。

血清檢品前處理後，以高效液相層析 (HPLC) 定量分析之可得到相很好的相關係數標準曲線，其同日內及異日間精確度及準確度也相當高，實驗方法所得到的回收率也很理想。

口服 Minocin 膠囊劑 100 mg 後，約 1.57 ± 0.48 小時達到血中最高濃度 $1.78 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ ，而服用 Borymycin 100 mg 後，經過 1.71 ± 0.43 小時，達到血中最高濃度 $1.80 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$ ；排除半衰期則分別為 19.68 ± 3.96 小時和 19.28 ± 3.94 小時；曲線下面積則為 $34.72 \pm 5.59 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 和 $35.19 \pm 5.54 \mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ 。國人服用 Minocycline hydrochloride 後，測得的血中藥物濃度及藥物動力學數據與國外相關文獻比較，並無很大的差異。

以統計學 ANOVA 比較藥物動力學參數，包括 AUC_{0-72} 、 AUC_{0-} 、 C_{\max} 、MRT、 T_{\max} 及 $T_{1/2}$ 等均無統計上的差異 ($p>0.05$) (表 11)，因此，可以證實 Borymycin 膠囊劑 (永信藥廠) 與 Minocin 膠囊劑 (台灣氰氨公司) 具有生體相等性。

表 1 受試者資料

	年齡 (yrs)	身高 (cm)	體重 (kg)	給藥次序		性別
A	22	172	77.9	Y	L	M
B	22	170	74.5	L	Y	M
C	22	173	59.7	Y	L	M
D	22	169	64	L	Y	M
E	22	172	55	L	Y	M
F	22	177.7	65.75	Y	L	M
G	23	172	78	Y	L	M
H	29	175.5	55.6	L	Y	M
I	24	180	82.4	Y	L	M
J	25	180	79	L	Y	M
K	22	176.5	62.1	L	Y	M
L	21	182	71.35	Y	L	M
M	27	175.5	68	Y	L	M
N	22	176	65	L	Y	M
Mean	23.214	175.086	68.45			
S.D.	2.293	3.941	8.916			

Y: Borymycin

L: Minocin

SD: Standard Derivation

CV: Coefficient Variation

表 2 血清中 Minocycline hydrochloride 分析之標準曲線

表 2-1 Minocycline hydrochloride 分析方法之標準曲線

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	85712	26380	5.023	0.47%
2.5	41002	25995	2.460	-1.62%
1.0	15594	25544	0.977	-2.31%
0.5	7535	24998	0.503	0.59%
0.25	3595	24301	0.268	7.03%
0.1	1299	25199	0.120	19.77%

表2-2 個別受試之標準曲線

Calibration curve of subject A

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	81155	24074	4.990	-0.21%
2.5	38303	22613	2.526	1.03%
1.0	15887	24224	1.001	0.07%
0.5	7103	23863	0.474	-5.11%
0.25	3348	24150	0.241	-3.68%
0.1	1293	23272	0.119	18.77%

Calibration curve of subject B

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	87016	25750	5.018	0.36%
2.5	46803	28665	2.437	-2.51%
1.0	19605	27440	1.080	8.01%
0.5	7892	25439	0.483	-3.45%
0.25	3708	27273	0.225	-9.92%
0.1	1534	27563	0.107	6.53%

Calibration curve of subject C

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	81611	24799	5.018	0.36%
2.5	41347	25671	2.465	-1.41%
1.0	17083	26510	0.997	-0.34%
0.5	8021	25446	0.496	-0.72%
0.25	3959	24637	0.262	4.65%
0.1	1628	25943	0.113	12.81%

Calibration curve of subject D

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	84614	25826	4.968	-0.63%
2.5	42600	25133	2.571	2.84%
1.0	16913	25846	0.993	-0.66%
0.5	7959	25183	0.480	-3.91%
0.25	3619	23395	0.236	-5.67%
0.1	1571	23921	0.101	0.86%

Calibration curve of subject E

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	90227	26500	4.977	-0.47%
2.5	46736	26724	2.554	2.18%
1.0	17733	26243	0.985	-1.52%
0.5	9004	26631	0.491	-1.80%
0.25	4679	26493	0.255	1.91%
0.1	1678	26744	0.088	-11.78%

Calibration curve of subject F

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	91140	27178	4.952	-0.95%
2.5	45216	25548	2.603	4.11%
1.0	18001	26389	0.989	-1.10%
0.5	8996	25409	0.502	0.43%
0.25	4443	26741	0.223	-10.64%
0.1	1782	25542	0.080	-19.61%

Calibration curve of subject G

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	81956	24906	5.014	0.28%
2.5	38516	23842	2.465	-1.42%
1.0	15647	23496	1.020	1.95%
0.5	8093	25018	0.498	-0.33%
0.25	3802	23718	0.250	-0.01%
0.1	1531	23856	0.104	3.70%

Calibration curve of subject H

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	82482	24715	5.006	0.12%
2.5	41347	24885	2.497	-0.13%
1.0	17154	26536	0.977	-2.30%
0.5	8654	26811	0.492	-1.53%
0.25	4024	23390	0.267	6.67%
0.1	1642	24065	0.111	11.25%

Calibration curve of subject I

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	80322	23589	5.015	0.30%
2.5	43743	26455	2.446	-2.17%
1.0	18526	25789	1.074	7.41%
0.5	7377	23355	0.484	-3.27%
0.25	3599	25469	0.228	-8.96%
0.1	1470	25789	0.104	3.94%

Calibration curve of subject J

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	78333	24479	5.021	0.42%
2.5	38503	24884	2.442	-2.30%
1.0	15244	23410	1.044	4.43%
0.5	7033	23701	0.491	-1.74%
0.25	3395	25049	0.240	-4.09%
0.1	1253	23616	0.111	11.10%

Calibration curve of subject K

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	88102	26801	5.014	0.28%
2.5	41935	25939	2.481	-0.75%
1.0	16460	26501	0.972	-2.83%
0.5	7905	25500	0.500	0.01%
0.25	3893	25220	0.264	5.62%
0.1	1499	25522	0.119	19.07%

Calibration curve of subject L

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	89787	26468	5.010	0.20%
2.5	48076	28880	2.473	-1.07%
1.0	17703	25909	1.032	3.22%
0.5	8549	28609	0.468	-6.47%
0.25	4446	29769	0.248	-0.72%
0.1	1570	25623	0.119	18.87%

Calibration curve of subject M

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	75043	23419	5.021	0.41%
2.5	37770	24245	2.454	-1.83%
1.0	14221	22486	1.012	1.17%
0.5	6893	22769	0.498	-0.43%
0.25	3307	23366	0.247	-1.38%
0.1	1308	21880	0.119	19.13%

Calibration curve of subject N

Spike conc. (μ g/ml)	Peak area of Minlcycline hydrochloride	Peak area of Oxytetracycline	Measure conc. (μ g/ml)	Error
5.0	85725	26480	5.022	0.43%
2.5	40998	26058	2.460	-1.59%
1.0	15704	25545	0.985	-1.52%
0.5	7515	25004	0.501	0.23%
0.25	3598	24295	0.266	6.59%
0.1	1235	24650	0.116	15.65%

