

# 兩種 Cephalexin 膠囊劑在國人之生體可用率比較研究

中國醫藥學院 藥物化學研究所\*

朱純逸\*\*

## 第一章 緒言

隨著世界各國醫藥水準的進步，對於藥品的標準亦大為提昇，用藥的安全、可靠、有效是大家所期許的。為確保國人健康及上市藥品之品質，藥品在開發過程必須通過衛生署規定之藥理試驗、安全性試驗及人體臨床試驗為依據。藥品之生體可用率和生體相等性試驗是確保藥物品質的必要研究。

由於藥物分析技術的進步，儀器的改良，大大提昇藥物的藥物動力學與生體可用率研究的發展。高效液相層析法(High performance liquid chromatography)是偵測血中藥物濃度最普遍的方法。經由適當的確效(Validation)步驟，對於體液中藥物濃度的分析可以提供相當準確的結果。

---

\* 台中市學士路 91 號

\*\* 中國醫藥學院 藥物化學研究所 研究生

高效液相層析法的特點是檢品量少、靈敏度與準確性高，亦是近年來常用的抗生素血中濃度定量法。高效液相層析分析法須有完整的設備，但檢品必須經適當處理且分析時間較長。

本實驗即利用高效液相層析分析法，對於 cephalexin 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：台灣 Lilly 公司生產的 Keflex<sup>®</sup>膠囊劑及永信藥廠生產的 Cephnamycin<sup>®</sup>膠囊劑，在國人健康受試者之生體可用率及生體相等性。

此外，由於 cephalexin 幾乎完全以原型經由尿液排出<sup>(1-6)</sup>，所以本實驗亦探討 cephalexin 在口服給藥後，原型藥物尿液中排泄數據及藥動學，以印證吸收率與清除率等問題。

## 第二章 總 論

### 第一節 藥物的生體可用率研究

我國自七十六年十一月二十七日由衛生署公告"藥品生體可用率(Bioavailability, BA)及生體相等性(Bioequivalence, BE)試驗基準"並自公告日起實施以來,藥界進入了自實施 GMP 後的另一個新的境界,藥品品質自人體外檢驗標準,進入了人體內的檢驗標準,與世界各先進國家並駕齊驅的境界。長久以來,我國學名藥品(generic drug)於實驗室品管化驗合格後,並經審查核准即可上市。至於不同藥廠,使用不同配方製成的各種製劑,其在體內的吸收是否和原廠藥品相同(似),則不得而知。生體可用率/生體相等性試驗基準公告實施後,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,學名藥品的療效品質也進一步獲得保障,及提昇藥廠國際競爭力,同時也使國人用藥能獲得保障。

## 第二節 在生體可用率研究常用的定量法

### 一、微生物定量法(Bioassay)

一般抗生素類的藥品，常以微生物定量法(Bioassay)之圓筒平碟法(Cylinder-plate method)，以抗生素的抑菌或制菌作用所產生的抗菌直徑與藥物濃度之關係來測定，並定量血中或尿液中的藥物濃度。此方法敏感度為  $10^{-4}$   $10^{-3}$  g/ml。此法優點：是利用抗生素的抑菌作用的特性，所以具有專一性；缺點：準確性與菌種的選擇和操作者的技巧有關。

### 二、高效液相層析法 (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC)

高效液相層析法是將移動相以高壓打入層析管柱，再靠管柱的吸附、分配、離子交換及分子排斥等理論將不同化學成分分離，然後以 Ultraviolet-Visible Spectrophotometry (紫外光-可見光分光)、Refractive (折光)、Fluorescence (螢光) 或 Electrochemistry Detector (電化學檢測器)等作為檢測器，再經積分紀錄器以偵測標準濃度待測物之積分面積，將積分面積依據校正濃度作成檢量線，把未知濃度待測物的積分面積導入檢量線，即可算出其濃度。HPLC 靈敏度可到 ng/ml，是目前藥品定量最常用的方法。此法敏感度為  $10^{-6}$   $10^{-4}$  g/ml。現今仍以逆相層析管柱，經 HPLC 系統來分析有機化合物最為合適，優點為適用於大多數藥物，所需檢品量少及在實驗室容易取得之方法。缺點：前處理複雜易造成誤差。

### 三、氣相層析分析法 (Gas-Chromatography, GC)

此一方法是將檢品以氣體(例如:氫、氫)作為移動相，利用管柱吸附或分配原理將其分離，以 Electron Capture (電子捕捉)、Flame Ionization (火焰離子化)、及 Thermal Conductivity (熱傳導)及 Flame Photometers Detector (火焰光度檢測計)再經積分紀錄器以偵測標準濃度待測物之積分面積，將積分面積依據校正濃度作成檢量線，把未知濃度待測物的積分面積導入檢量線，即可算出其濃度。此法靈敏度為  $10^{-6}$  -  $10^{-4}$  g/ml。此一方法受限於檢品的種類，檢品對熱安定或是容易氯化者才建議用此一方法，否則，檢品要事先處理成衍生物以利氯化來分析。

### 四、液相層析串連質譜儀 (Liquid Chromatography-Mass-Mass Spectrometry, LC/MS/MS)

藥物檢品經高效液相層析法(HPLC)做初步分離，將收集的檢品部分以氮氣快速去除溶媒使之霧化蒸發，以電子撞擊(Electron impact, EI)、化學解離(Chemical ionization, CI)、電場解離(Field ionization, FI)或快速原子轟擊(Fast atom bombardment, FAB)的方式將霧化蒸發的檢品變成破碎帶電檢品後，由質譜儀探針偵測掃描破碎片段分子量及含量百分比，選擇欲測定之檢品片段分子，再次經過一質譜儀系統，即可篩選出特定分子量的藥物結構。此法專一度和選擇性極高、再現性良好、靈敏度更是 UV 的  $10^2$  倍或更多倍，多用於活性成分或蛋白質胺基酸的篩選分離、低濃度藥物偵測及藥物代謝產物的定性、定量分析。機器昂貴和檢品處理及分析時間較長為美中不足的地方。

## 五、放射性免疫法(Radioimmunoassay; RIA)

將藥品先以放射性的同位素標記成為有標記的抗原，而血漿檢品即是未標記抗原，將定量有標記的抗原、定量檢品與定量抗體置於同一反應管，藉由抗體抗原反應，將抗原-抗體所形成的複合物以化學藥品沉澱和去除，然後藉由偵測與抗體結合的有標記抗原，或偵測與抗體未結合的有標記抗原，藉以定量出血漿及尿液檢品中所含藥品的量。此法靈敏度很高為  $10^{-10}$   $10^{-8}$  g/ml，但因為有放射性，所以廢棄物處理不易，實驗場所要有完善的設備及技術，所花的經費也相對的較高。

## 六、酵素免疫法(Enzyme Immunoassay; EIA)

將藥品以酵素(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PDH)標記，再將此一酵素標記藥品與專一性的 Cephalexin 抗體結合，如此造成酵素-基質複合物失去活性，不能使 NAD 變成 NADH。將定量酵素標記藥品、定量檢品(含未標記 Cephalexin)與定量抗體置於同一反應管，未標記藥品與酵素標記藥品產生競爭結合抗體的反應，如此減少了酵素-基質(glucose-6-phosphate)複合體無活性的情形，有活性的酵素-基質複合體會將 NAD 變成 NADH，藉由分光光度計偵測變化，以定量出血漿及尿液檢品所含 Cephalexin 的量。此法靈敏度很高為  $10^{-10}$   $10^{-8}$  g/ml，此法操作容易，但易受檢品內因性物質的干擾，造成分析誤差。

## 七、螢光偏極免疫分析法 (Fluorescence Polarization Immunoassay, FPIA)

螢光偏極免疫分析法在 1926 年發明這項理論，直到 1961 年由 Dandliker 及 Feigen 發展出完整的專一性抗原 - 抗體的反應 (Specific antigen-antibody reaction)。這方法是將藥品(為一抗原)用螢光標記的作為追蹤劑，而在血漿檢品中待測的藥品是未標記的，將定量的追蹤劑試劑、定量的檢品與定量抗體放在同一個反應管中，此時追蹤劑和未標記藥品會與抗體產生競爭性的結合，抗體與追蹤劑所形成複合體，用一偏極光來照射，藉由偵測器以偵測光的強弱，抗體-追蹤劑所形成之複合體越多，偵測器所偵測的光線就越強，代表血漿所含之藥品越少。相反的，偵測器所偵測的光線就越弱，代表血漿所含之藥品越多，藉此以定量血漿及尿液檢品中藥品的含量。此法靈敏度為  $10^{-7}$  -  $10^{-4}$  g/ml，可快速獲得實驗結果，但易受週遭環境溫度影響，造成實驗的不準確。

### 第三節 Cephalexin 簡介

1945 年 7 月，藥物學家 Brotzu 發現，在地中海撒丁島 Cagliari 城的下水道中，存在某種會產生抗菌物質的微生物 *Cephalosporium acremonium*。在 1953 年，Newton 和 Abraham 從 cephalosporin 中分離出三種抗生素 cephalosporin N<sup>(7)</sup> (青黴素之一種)，cephalosporin P<sup>(8,9)</sup> (一系列的抗菌類固醇) 及 cephalosporin C<sup>(10)</sup> (新的抗生素)。

Cephalosporin C 因側鏈極性大，故難以分離及純化，且效價約 penicillin G 之千分之一，口服不易吸收，所以臨床利用價值低，但是由合成 cephalosporin C 類似物建立起的構效關係 (Structure Activity Relationships) 得知，7-ACA (7-aminocephalosporinic acid) 具有更高的抗菌活性<sup>(11)</sup>。cephalosporin C 並不會經由發酵或酵素水解成 7-ACA，所以，可以用化學性水解 cephalosporin C 來得到 7-ACA<sup>(11)</sup>。

Cephalexin 與其他 cephalosporin 一樣具有 7-ACA 母核，在第七位側鏈上連有 D-phenylglycyl 基團，且在第三位為甲基與其他 cephalosporin 不同<sup>(12)</sup>。1997 年，由 Snyder 等人研究指出，cephalexin C<sub>3</sub>-methyl 適合口服後經由腸道吸收。雖然活性會因此降低 (對於 *S. aureus*，MIC (μg/ml): C<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>/C<sub>3</sub>-Cl=4/0.5)，但因有 7-acylamino 基團，故仍可保留活性<sup>(13)</sup>。

Cephalexin 的口服劑型中，單結晶水化合物 (monohydrate) 比無水化合物 (anhydrous) 吸收更快，血中濃度更高。故市面上的口服劑型皆含一分子結晶水<sup>(14)</sup>。



Cephalexin 對抗 Gram(+)的活性比注射用的 cephalosporin 小，但對抗 G(-)卻與注射用的 cephalosporin 相當<sup>(11)</sup>。

成人的劑量範圍？每天 1 到 4 克分次服用。通常成人的劑量？每 6 小時 250mg (1 粒)。用於以下感染，可能需要每 12 小時服用 500mg (2 粒)：葡萄球菌性咽炎(streptococcal pharyngitis)、皮膚及皮膚結構感染及 15 歲以上的未有併發症的膀胱炎病人。膀胱炎應連續治療 7 到 14 天。一些嚴重感染及較少感受性的微生物，應該需要比較大的劑量。如果 cephalexin 的每天劑量需要大於 4 克時，應該考慮腸外投與頭孢子菌類適當劑量<sup>(15)</sup>。

小孩的每天建議劑量？每公斤體重 25 到 50mg 分次服用。若是超過一歲的葡萄球菌性咽炎的 patient 與皮膚及皮膚結構感染時，可改？每 12 小時服用一次。嚴重感染時，劑量可以加倍<sup>(15)</sup>。

## 第四節 Cephalexin 的理化特性

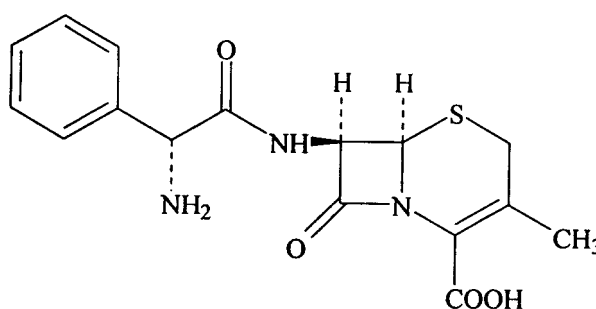
### 一、化學名：

(1) 7-(D-α-amino-α-phenylacetamido)-3-methylcephem-4-carboxylic acid <sup>(1,2,14)</sup>

(2) [6R-[6a,7β(R<sup>+</sup>)]]-7-[(Aminophenylacetyl)amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid <sup>(16)</sup>

(3) 7-(D-2-amino-2-phenylacetamido)-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid <sup>(17)</sup>

### 二、化學結構：



### 三、分子式及分子量：

(1) C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S (anhydrous)                      分子量：347.39 <sup>(16)</sup>

(2) C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S · H<sub>2</sub>O                      分子量：365.40 <sup>(18)</sup>

#### 四、物理性質：

本品為白色至微黃色之結晶或結晶性粉末，有輕度硫磺臭，略帶苦味。略溶於水，微溶於丙酮，極微溶於無水乙醇，幾不溶於乙醚及氯仿<sup>(18)</sup>。UV  $\lambda_{max}$ : 260nm ( $\epsilon$ 7750)，pKa:5.2，7.3<sup>(16)</sup>。

水溶液(5? 100)之 pH 值為 3.0~5.5<sup>(18)</sup>。在 pH<3 或>8 時，溶解度快速增加<sup>(19)</sup>。37 $^{\circ}$ C，1 ml 的水中，可溶解 1~2mg，但 pH 調至 2.8 時，溶解度增加 100~120 mg<sup>(17)</sup>。

取 125 mg 置於 25 ml 容量瓶內，加水溶解後並稀釋至容量。將此溶液置於 200 mm 液管中，於 20 $^{\circ}$ C 比旋光度為+144 $^{\circ}$ X +158 $^{\circ}$ X<sup>(18)</sup>。

#### 五、安定性：

據 Spahr 之研究<sup>(14)</sup>，cephalexin 在體液中的安定性，如下表：

Temp( $^{\circ}$ C)	$T_{1/2}$ in Serum (day)		$T_{1/2}$ in Urine (day)	
	10 $\mu$ g/ml	100 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml	100 $\mu$ g/ml
37	1.4	1.1	1.7	1.7
25	2.9	2.5	6.3	4.4
5	23	28.8	54	52
-20	> 90	> 90	> 90	> 90

乾燥粉末：在 25 $^{\circ}$ C，3 年，效價不變，甚至 37 $^{\circ}$ C 亦然<sup>(14)</sup>。

水溶液：在 pH4.5(等電點)，25 $^{\circ}$ C 的緩衝液中 7 天，以微生物定量法得知效價幾乎不變<sup>(14)</sup>。

## 六、製劑含量：

依中華藥典第五版<sup>(18)</sup>之規定：

- (1) 標準品，每 mg 所含  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  之效價按乾品計算在 900  $\mu g$  以上。
- (2) 膠囊、錠劑，本品所含  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  應為標誌含量之 90.0% 120.0%。
- (3) 口服懸液，本品每 ml 所含  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  應為標誌含量之 90.0% 120.0%。

## 第五節 Cephalexin 藥理與臨床作用

### 一、抗菌作用：

Cephalexin 為半合成的口服頭孢菌素類(cephalosporins)抗生素，因它對酸穩定，所以可以口服。Cephalexin 顯示在體外可以抑制下列微生物的大部份菌株<sup>(20)</sup>：革蘭氏陽性需氧菌：Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes。革蘭氏陰性需氧菌：Escherichia coli、Haemophilus influenzae、Klebsiella pneumoniae、Moraxella (Branhamella) catarrhalis、Proteus mirabilis。

Meyers 等人於 1969 年報告指出<sup>(21)</sup>，對 Methicillin 有抗藥性的葡萄球菌及大部份腸球菌菌株 (Enterococcus faecalis, 糞腸球菌，以前稱？ Streptococcus faecalis) 對大部份的頭孢子菌類，包括 cephalexin 已有抗藥性。所以本藥並不能對抗大部份腸球菌屬、Morganella morganii (Morgan 氏菌) 及 Proteus vulgaris (普通變形桿菌) 菌株。對 Pseudomonas 屬及 Acinetobacter calcoaceticus 也沒有作用。

1970 年，Kunin 等人<sup>(22)</sup>，比較口服 cephalexin 與 ampicillin 之活性指出對 Proteus 殺菌活性小於 ampicillin；對 Klebsiella 殺菌活性大於 ampicillin；對 E. coli 殺菌活性與 ampicillin 相等。

口服 penicillin 及 cephalexin 相等劑量，比較其完全殺滅 A 群溶血性鏈球菌 (Group A Hemolytic Streptococci) 的能力時，cephalexin 相等或甚至優於 penicillin V 或 ampicillin<sup>(14)</sup>。

茲將文獻中 cephalixin 最低抑菌濃度 (MIC ,  $\mu\text{g/ml}$ )整理如下：

	Perkins <sup>(2)</sup>	Wick <sup>(23)</sup>	Thornhill <sup>(24)</sup>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.78	0.5	3.1
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	3.13	3.51	3.1
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.90	3.12~6.25	12.5
<i>Escherichia coli</i>	7.8	12.5	25
<i>Klebsiella</i>	-	12.5	25
<i>Shigella</i>	-	6.25	-
<i>Salmonella</i>	-	12.5	-
<i>Proteus</i>	-	50.0	Resistant
<i>Pseudomonas</i>	-	-	Resistant

## 二、Cephalexin 抗菌機轉：

據 Katzung 之述<sup>(20)</sup>，理想的抗生素必須具有選擇性毒性(Selective Toxicity)。細菌與動物細胞最大不同點之一就是細菌具有細胞壁。Cephalexin 的抗菌機轉為：

- (1) 接在細菌的 PBPs(Penicillin-Binding Proteins)。
- (2) 阻斷 peptidoglycan 的 transpeptidation 以抑制細胞壁的合成
- (3) 活化細胞壁的 autolytic enzyme 造成細菌的死亡。

## 三、細菌產生抗藥性的機轉：

據 Katzung 之述<sup>(20)</sup>，某一抗生物質，原本對一種微生物具有抗生作用，但由於普通培養基裡，平均每  $10^8$  個菌種中便有一個突變菌種的出現，即使抑制多數正常細菌生長，產生抗藥性的突變菌種仍會繼續生長、增殖，此抗生物質便失去療效。

細菌對 cephalexin 產生抗藥性的機轉有：

- (1) 特殊藥物 (如 methicillin) 造成 PBPs 缺乏。
- (2) 某些細菌 (Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae) 及 G(-)桿菌 (Enterobacter, Pseudomonas) 療程中產生特殊的  $\beta$ -Lactamase 打開  $\beta$ -Lactam ring, 造成藥物分解, 失去活性。
- (3) 某些 Staphylococci, Streptococci, Listeria 細胞壁內的 autolytic enzyme 活化作用中斷。

#### 四、Cephalexin 之動物毒性：

據 Welles 之研究<sup>(25)</sup>, cephalexin 之動物毒性如下表：

實驗動物	口服給藥 LD <sub>50</sub> (g/kg)	腹腔給藥 LD <sub>50</sub> (g/kg)	中毒症狀
小白鼠	1.6~4.5	0.4~1.3	暫時性生長抑制, 輕度腹瀉, 巨腸症。
大白鼠	> 5	> 3.7	
貓	> 0.5	> 1.0	
狗	> 0.5	> 1.0	暫時性厭食, 流, 嘔吐, 腹瀉。
猴	> 1.0	-	流, 中度腹瀉。
兔	-	> 4.0	腹瀉。

## 五、藥物交互作用：

依文獻所載，與 cephalexin 產生交互作用的藥物有：

### 1. Cholestyramine

Cephalexin 主要吸收部位在小腸，降血藥 cholestyramine 會與 cephalexin 結合，而降低其生體可用率<sup>(26)</sup>。

### 2. Antacid

因 cephalexin 在酸性環境中安定，且在小腸(pH6~8)吸收，故制酸劑並不影響其吸收，但尿液回收率只有 74.2%<sup>(27)</sup>。這與早餐後 1 小時服用 cephalexin 的尿液回收率結果相似<sup>(21)</sup>。

### 3. Quinapril

ACEI 降壓藥 quinapril 競爭性抑制 cephalexin 的腎小管分泌作用，增加 cephalexin AUC 30%，降低肌酐酸清除率(0.81? 0.64 1/hr/kg)；競爭性抑制小腸主動運輸，降低吸收速率常數(0.249? 0.177 hr<sup>-1</sup>)，說明了 β-lactam 及 ACEI 共享人體或動物體內載體(carrier)<sup>(28)</sup>。

### 4. Probenecid

250 mg cephalexin 與 500mg probenecid 併服，probenecid 會降低腎小管排除 cephalexin 的能力，因此 cephalexin 最高血中濃度上升<sup>(1)</sup>。



## 六、臨床應用：

Cephalexin 常用於治療呼吸道、中耳炎、生殖泌尿系統、皮膚、軟組織、骨髓及關節等之細菌感染。

Cephalexin 對葡萄球菌、鏈球菌造成的皮膚及柔軟組織感染 (Skin and Soft Tissue Infection) 治癒率高達 90% 以上，且口服懸液用於小孩時，不良反應較少，且易被接受，所以，用青黴素治療葡萄球菌、鏈球菌感染而效果不佳的病人，cephalexin 將是不錯的替代用藥，甚至可當作第一線用藥<sup>(29)</sup>。

## 七、不良反應與過量：

臨床使用的不良反應包括<sup>(25)</sup>： 1 消化道：腹瀉、噁心、嘔吐、消化不良、胃炎及腹痛。 2 過敏：發疹、蕁麻疹、血管水腫。 3 其他反應包括生殖器及肛門搔癢、陰道炎、眩暈、疲倦、頭痛、精神激動、精神紊亂、幻覺、關節痛、關節炎。也有嗜酸性紅血球增多、嗜中性白血球減少、血小板減少及 AST(SGOT)、ALT(SGPT) 輕微上升的報告。

口服過量的症狀可能包括噁心、嘔吐、上腹部痛、腹瀉及血尿。除非服用 cephalexin 正常劑量的 5 到 10 倍，否則消化道排空是不必要的<sup>(15)</sup>。

## 八、注意事項：

1.尿毒症 (uremia)的病人，其血液及尿液中，約有正常人 2~3 倍的初劑量濃度。在連續治療中具有中度的蓄積性，但血中濃度不再上升，且在最後一次給藥後，血液、尿液可維持抗菌濃度達 24 小時<sup>(30)</sup>。

2.患短腸症 (short-bowel syndrome) 的小孩,口服 cephalexin 吸收率降低 10~50%，但仍在治療血中濃度範圍，故治療短腸症小孩的細菌性感染，仍可安全地使用 cephalexin<sup>(31)</sup>。

3.腎功能不好的病人，口服給藥後最高血中濃度、排除半衰期皆會上升，且有紅疹、搔癢、發燒、嘔吐及腹瀉等副作用之報告；血液透析病患，血中濃度比正常人低 5 倍<sup>(30)</sup>。

4.懷孕：懷孕分類？ B。Cephalexin 在人類懷孕時的安全性並未被確立。Cephalexin 對於斷奶及新生大白鼠與成鼠比較，毒性並不會被加強。雖然如此，由於在人體的研究不能排除有損傷的可能性，所以，cephalexin 只能在明確需要時才可用于懷孕時<sup>(15)</sup>。

5.授乳婦：口服一次 500mg 劑量後最多 4 小時，cephalexin 在乳汁中的排除就會增加；在達到最大濃度 4 μg/ml 後就逐漸減少，而在口服後 8 小時即未發現。當 cephalexin 用於授乳婦時應小心使用<sup>(15)</sup>。

## 第六節 Cephalexin 藥物動力學研究

Cephalexin 不被胃酸分解，在小腸完全被吸收，吸收後血漿蛋白結合率不到 10~15%。不被肝臟代謝分解掉，幾乎完全隨尿液以原型排出體外。

### 一、吸收

禁食後，口服單一劑量 cephalexin，在 1 小時後達到最高血中濃度且血中濃度可偵測到 6~8 小時；與食物併服，減緩吸收速率，最高血中濃度變低且達到最高血中濃度的時間延長<sup>(1)</sup>。

Cephalexin 血中濃度與劑量有關。Griffith<sup>(1)</sup>等人研究發現，口服 125, 250, 500, 1000 mg 膠囊，最高血中濃度出現在 1.0 小時且分別為 4.5, 9, 18, 32  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ；而 Perkins<sup>(2)</sup>等人研究之口服 250, 500, 1000 mg 膠囊的結果也出現在 1.0 小時且分別為 6.8, 17.6, 25.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

食物會降低 cephalexin 最高血中濃度，增加最高血中濃度時間<sup>(1,36)</sup>。高碳水化合物、高蛋白質、高 質食物三者之間動力學參數並無不同<sup>(4)</sup>。

1997 年 Sawamoto 等人<sup>(43)</sup>給大白鼠口服 cephalexin 後，計算出消化道各段吸收速率常數 (Ka) 空腸 ( $2.206 \text{ hr}^{-1}$ ) > 十二指腸 ( $2.105 \text{ hr}^{-1}$ ) > 迴腸 ( $0.574 \text{ hr}^{-1}$ )，而胃、盲腸及大腸並不吸收。

大白鼠動脈給藥，其肝門靜脈與動脈之血漿濃度、曲線下面積及 MRT 並無不同，口服給藥時，肝門靜脈血漿濃度明顯高於動脈之血漿濃度，證明 cephalexin 主要由腸道吸收後進入門脈系統 (Portal system)<sup>(44)</sup>。

Sodium salt 製劑肌肉注射吸收並不好，而 L-lysine 製劑肌肉注射不僅比 sodium salt 吸收佳，且最高血中濃度、尿中回收率、最高血中濃度時間也比口服同劑量之 monohydrate 製劑大<sup>(46)</sup>。

## 二、分佈

Cephalexin 廣佈於身體各組織，蛋白質結合率 (Protein binding) 約 6~10%<sup>(47)</sup>，大白鼠口服 cephalexin 1 小時後在腎臟及肝臟濃度最高。此外，像肺 脾 肪 心肌及骨髓都有微量 cephalexin 存在<sup>(48)</sup>。Cephalexin 並不會穿透腦脊髓液，所以口服或靜脈注射對腦膜炎無效。

## 三、代謝及排泄

Cephalexin 在體內並不會代謝，且快速以原型由腎臟排出。測量禁食後，平均尿液排除量，約單一口服劑量的 75~100%；與食物併服，收集服藥後 8 小時內的尿液，約有口服劑量的 50~100%<sup>(1-6)</sup>。其尿液回收率比 cephradine，cefaclor，cefadroxil 高<sup>(5,6,48)</sup>。

Cephalexin 經由腎小球 (glomeruli) 及腎小管 (tubules) 排除，所以，與 Probenecid 併服，會降低腎小管排除作用 (excretion)，造成更高、更久的血中濃度，並且減緩腎臟的清除速率 (clearance rate)<sup>(1,35,46,50)</sup>。

茲將相關動力學參數（二室開放模式）之文獻整理如下：

<u>動力學參數</u>	Deppermann <sup>(27)</sup>	Finkelstein <sup>(5)</sup>	Lode <sup>(6)</sup>
Oral Dose	1000 mg $\times$ <sup>#</sup>	500 mg $\times$ <sup>#</sup>	250 mg $\times$ <sup>#</sup>
C <sub>max</sub> ( $\mu$ g/ml)	29.8 $\pm$ 0.2	30.6 $\pm$ 3.6	38.8 $\pm$ 8.1
T <sub>max</sub> (min)	85.1 $\pm$ 9.8	60.4 $\pm$ 11.5	55.5 $\pm$ 21.8
T <sub>1/2</sub> (min)	60.6 $\pm$ 2.4	46.2 $\pm$ 6.0	62.5 $\pm$ 5.4
AUC(mg·hr/l)	56.1 $\pm$ 4.0	52.8 $\pm$ 9.4	93.0 $\pm$ 4.8
Recovery(%)	90.2	90.6 $\pm$ 8.7	91.2 $\pm$ 8.5

<u>動力學參數</u>	Perkins <sup>(2)</sup>	Meyers <sup>(21)</sup>	Thornhill <sup>(24)</sup>
Oral Dose	500 mg $\times$ <sup>#</sup>	500 mg $\times$ <sup>#</sup>	500 mg $\times$ <sup>#</sup>
Cl <sub>p</sub> ( $\mu$ g/ml)	17.81	11.93	15.59
-Z(hr <sup>-1</sup> )	0.97	0.58	0.75
T <sub>1/2</sub> (hr)	0.72	1.20	0.92
VD <sub>ss</sub> (l)	30.94	27.22	29.26
MRT(hr)	1.74	2.28	1.88
VRT(hr)	0.91	3.01	1.54
Cp <sub>ext</sub> ( $\mu$ g/ml)	1.00	1.30	0.40
AUC(mg·hr/l)	28.07	41.91	32.08

動力學參數	口服給藥		靜脈注射給藥		
	Nicholas <sup>(51)</sup>	Perkins <sup>(2)</sup>	Nicholas <sup>(51)</sup>	Davies <sup>(52)</sup>	Solberg <sup>(53)</sup>
a(hr <sup>-1</sup> )	3.609	4.247	4.327	4.382	3.710
β(hr <sup>-1</sup> )	0.661	0.989	0.976	0.671	0.646
Ka(hr <sup>-1</sup> )	2.388	1.493	-	-	-
K <sub>12</sub> (hr <sup>-1</sup> )	1.173	1.000	1.151	1.546	1.211
K <sub>21</sub> (hr <sup>-1</sup> )	1.652	2.496	2.369	1.791	1.846
K <sub>e1</sub> (hr <sup>-1</sup> )	1.445	1.740	1.783	1.716	1.299
Lag time(hr)	0.422	0.280	-	-	-
T <sub>1/2a</sub> (hr)	0.192	0.167	0.160	0.159	0.187
T <sub>1/2β</sub> (hr)	1.048	0.724	0.710	1.095	1.072
Vc(l)	16.800	10.442	14.544	8.902	10.681
Vd <sub>ss</sub> (l)	28.734	15.213	21.612	17.355	17.687
Vd <sub>β</sub> (l)	36.702	19.030	26.568	23.301	21.462
Vd <sub>ext</sub> (l)	49.989	26.023	34.997	33.760	27.271
T <sub>1/2</sub> (hr)	1.1	-	0.7	1.1	0.61

## 第七節 體液中 cephalixin 濃度的定量方法

早期對於 cephalosporins 類抗生素的定量法皆以微生物定量法 (Bioassay) 之圓筒平碟法 (Cup-plate method) 又稱圓柱擴散法 (Cylinder-plate method) 來測量血漿或尿液中的藥物濃度。而試驗用菌種又以下列三種最為常見：

1. *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)<sup>(5,6,18)</sup>
2. *Sarcina lutea* (ATCC 9341)<sup>(1,2,6,21,24,30,33-37)</sup>
3. *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P)<sup>(22)</sup>

近年來，分析儀器不斷改良，具有自動化，快速，靈敏度高等優點。所以，也有相當多的高效液相層析儀分析法的報告<sup>(3,4,38-45)</sup>。茲就過去被研究之分析條件整理如下：

研究者	波長	流速	移動相	(V/V)
R.M.Jung <sup>(38)</sup>	262	1.5	甲醇：0.01M 醋酸銨(? pH3.2)	(15/85)
P.Gortazar <sup>(3)</sup>	-	-	甲醇：0.01M 醋酸緩衝液(pH4.8)	(15/85)
H.Saitoh <sup>(39)</sup>	200	0.8	甲醇：0.05M 磷酸二氫鉀(pH2.5)	(36/64)
胡昌勤 <sup>(40)</sup>	260	1.0	甲醇：0.01M 磷酸二氫鈉緩衝液	Variable
J.Haginaka <sup>(4)</sup>	254	1.2	甲醇：0.75% 0.5N 鹽酸水溶液	(2/5)
J.A.McAteer <sup>(41)</sup>	240	2.0	甲醇：磷酸二氫鈉緩衝液(pH2.6)	(20/80)
P.Leroy <sup>(42)</sup>	260	1.0	甲醇：0.01M 磷酸緩衝液(pH3.0)	(15/85)
T.J. Sawamoto <sup>(43)</sup>	260	0.8	甲醇：0.01M 醋酸銨	(1/4)
T.S. Ito <sup>(44)</sup>	264	1.0	甲醇：0.1M 磷酸二氫鈉(NaOH? pH6.2)	(1/4)
			甲醇：水(醋酸? pH3.05)	(2/7)
D.Agbaba <sup>(45)</sup>	265	-	甲醇：乙酸乙酯：醋酸：水	(5/2.5/ 2.5/1.5)

1995 年西班牙 Gortazar 等人的研究中指出<sup>(3)</sup>，利用圓二色光譜儀(Circular Dichroism)與高效液相層析儀做比較，測試尿液中 cephalixin 的含量，發現其分析結果相似。圓二色光譜儀經濟、快速、便宜、簡單、不需做衍生物(derivatization)或層析分離(chromatographic separation)等步驟，利用 cephalixin 旋光性(+144°X~+158°X)即可作定量分析。此外，精確性(precision)及準確性(accuracy)佳。

茲將文獻中測定 cephalixin 的幾種方法整理如下：

研究者	方法
EH.Kachab <sup>(66)</sup>	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
SA.Coran <sup>(67)</sup>	HPTLC-densitometric method
D.Agbaba <sup>(45)</sup>	HPTLC assay
P.Gortazar <sup>(3)</sup>	Circular dichroism spectroscopy
P.Leroy <sup>(42)</sup>	Microbiological methods
F.Plavsic <sup>(68)</sup>	Fluorimetric methods

又據 Schneider 等人<sup>(37)</sup>溶離性試驗曾記載，以 37°C，槳葉轉速 120 rpm，150 ml 溶媒中，開始一小時以 0.1N HCl 當溶媒，後一小時置於 0.01N HCl 中，之後三到四小時置於 pH7 之磷酸緩衝液中測 cephalixin 濃度。

根據中華藥典的方法，將 cephalixin 置於 900 ml 水中，槳葉轉速 100 rpm，時程 45 分鐘，且於試驗過程中，容器中溫度維持 37°C。於 45 分鐘時程內所溶離 C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 不得少於標誌含量之 75%。



## 第八節 研究動機及目的

近年來我國已擠身開發國家之林，日漸重視智慧財產權及專利法，新藥研究發展工作勢在必行，目前衛生署已先後完成「優良藥品製造標準(GMP)」及「藥品優良臨床試驗規範(GCP)」，另民國 87 年 6 月行政院衛生署也完成「藥品非臨床試驗安全性規範」。

民國 84 年 3 月 8 日為確保藥品調劑的品質，行政院衛生署頒佈「優良藥品調劑作業規範」中「第七項藥品調劑作業-藥品配方」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相同成分同劑型，同單位含量的學名藥代替」。基於這項法令，國內藥廠紛紛研發與原廠藥品同成分、同劑型、同劑量的藥品，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。

民國 76 年 11 月公告了「藥品生體可用率及生體相等性試驗基準」，開始對於藥廠申請製造監視中新藥須做生體相等性試驗。對於非監視中新藥也鼓勵進行此？試驗，不但可以增加在市場的競爭能力，而且最重要的，對於藥物產品的製造及改良，可做好有效的技術提昇。

由文獻整理得知，cephalexin 分析以微生物定量法與高效液相層析法分析為主，但這兩種最常用的分析方法並未有相互比較其差異性的文獻。唯一的定量性比較研究只有一篇比較圓二色光譜儀與高效液相層析儀的結果而已<sup>(3)</sup>。

研究目的：

- (1) 探討一個方便且準確的 HPLC 定量法供分析血中及尿中 cephalixin 濃度。
- (2) 探討健康國人服用 cephalixin 膠囊後, cephalixin 在體內的藥物動力學行為。
- (3) 比較兩種產品 Keflex<sup>®</sup>與 Cephalexin<sup>®</sup>的相對生體可用率。

## 第三章 實驗材料與方法

### 第一節 實驗材料

#### 一、實驗藥品：

藥	品	廠 商
Keflex <sup>®</sup>	250mg 膠囊劑 (Lot. A0053A)	Lilly.台灣
Cephanmycin <sup>®</sup>	250mg 膠囊劑 (Lot. M001)	YSP.永信
Cephalexin	標準品 (Lot. 21K1044)	SIGMA
Cephradine	內部標準品 (Lot. 12K1174)	SIGMA

#### 二、實驗試劑：

試	藥	廠 商
肝素鈉(Heparin sodium Inj.	5000i.u./ml)	Braun
生理食鹽水注射液(NaCl Inj.	0.9%)	永豐化學工業
甲醇(Methanol, Chrom AR <sup>®</sup>	HPLC)	MERCK
過氯酸(Perchloric acid, PCA)		MERCK
磷酸(orotho-phosphoric acid	85% )	MERCK
磷酸二氫鉀(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 試藥特級)		MERCK
氫氧化鈉(NaOH, EP)		MERCK
藥用酒精(Alcohol 95%)		台灣菸酒公賣局

### 三、高效液相層析儀之設備：

自動取樣器(Autosampler)：As-4000 Intelligent, HITACHI.

幫浦(Pump)：Model L-6000, HITACHI.

偵測器(Detector)：Model L-4200H UV/Vis Detector, HITACHI.

積分儀(Data processor)：Model D-7000 Chromato-Data Station,  
HITACHI.

層析管柱(Column)：PurospherR STAR RP-18e, 250 x 4mm (5  $\mu$ m),  
MERCK.

保護管柱(Pre-column)：PurospherR STAR RP-18e (5  $\mu$ m), MERCK.

### 四、實驗室設備：

電子天平(Electronic Balance)：Sartorius Type 1801.

水壓抽氣機(Aspirator)：Eyla, Aspirator A-2S, Rikakai.

微量移液管(Micropipette)：Socorex Transferpette.

0.5-10  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l, 100-1000  $\mu$ l.

觸動式震盪器(Vortex)：Maxi Mix Thermolyene 37600 Mixer.

高速離心機(Centrifuge)：Hettich Zentrifugen D-7200  
Tuttlingen.

酸鹼測定儀(pH meter)：Suntex SP-2200.

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

超音波震盪器(Ultrasonic Cleaner)：Branson 5510. 弘宇儀器股份  
有限公司.

烘箱(Drying Oven)：台製.華興.

冷凍冰櫃(Low-Temp Freezer)：CHIN HSIN.

## 五、電腦/軟體設備：

個人電腦：Intel Pentium IV 1.5G.

雷射印表機：Laser Jet 1200.

微軟視窗 98：Microsoft®98 SE.

微軟文書：Microsoft®(R) Word 2000.

微軟式計算表：Microsoft® (R)Excel 2000.

藥物動力學計算軟體：Pharsight WinNolin 3.1® standard.

統計軟體：SPSS®8.0/WinNolin 3.1®professional.

圖形軟體：SigmaPlot2000 for Windows Version 6.0.

## 六、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)：22<sub>G</sub>×1", Terumo.

針塞(Injection Plug)：0.2ml, Terumo.

玻璃試管(Culture Tube)：16×100mm, Kimble.

玻璃試管(Culture Tube)：12×75mm, Kimble.

無菌真空採血試管(10ml)、3M 膠帶、酒精棉、棉花球

檢體瓶(2ml)、塑膠吸管(3ml)

電子血壓計、試管架

## 七、溶液製備：

### 1. Cephalexin 標準溶液 (血漿 HPLC 分析)

精確稱取相當於 16.0 mg 之 cephalexin 標準品置入 100 ml 定量瓶中，加磷酸鉀鹽緩衝液至定量瓶刻度，即得濃度為 160.0  $\mu\text{g/ml}$  cephalexin 標準溶液，再以磷酸鉀鹽緩衝液等比稀釋成 80.0、40.0、20.0、10.0、5.0、0.5  $\mu\text{g/ml}$  不同濃度之標準溶液。

### 2. Cephalexin 標準溶液 (尿液 HPLC 分析)

精確稱取相當於 40.0 mg 之 cephalexin 標準品置入 100 ml 定量瓶中，加磷酸鉀鹽緩衝液至定量瓶刻度，即得濃度為 400.0  $\mu\text{g/ml}$  cephalexin 標準溶液，再以磷酸鉀鹽緩衝液等比稀釋成 200.0、100.0、40.0、20.0、10.0、4.0  $\mu\text{g/ml}$  不同濃度之標準溶液。

### 3. Cephadrine 內部標準溶液 (血漿 HPLC 分析)

精確稱取相當於 16.0 mg 的 cephadrine 標準品置入 100 ml 定量瓶中，加磷酸鉀鹽緩衝液至定量瓶刻度，即得濃度為 160.0  $\mu\text{g/ml}$  cephadrine 內部標準溶液。

### 4. Cephadrine 內部標準溶液 (尿液 HPLC 分析)

精確稱取相當於 40.0 mg 的 cephadrine 標準品置入 100 ml 定量瓶中，加磷酸鉀鹽緩衝液至定量瓶刻度，即得濃度為 400.0

µg/ml cephadrine 內部標準溶液。

#### 5. 肝素鈉溶液

精確抽取肝素鈉注射液(5000 i.u./ml) 2.5 ml 加於 500 ml 生理食鹽水中，即得 25 i.u./ml 抗凝血肝素鈉溶液。

#### 6. 0.05 M 磷酸鉀鹽緩衝液(pH 4.5)

精確秤取磷酸二氫鉀 6.805 g 置入容量為 1000ml 的容量瓶中先用少量水溶解，加蒸餾水至刻度，以 18 N 磷酸或 10 N 氫氧化鉀液調整至 pH 4.50。±0.01。

#### 7. 4%過氯酸(Perchloric acid, PCA) 溶液

取濃度為70% Perchloric acid 溶液10ml置入容量為100 ml 定量瓶中，加純水至定量瓶之刻度，即得濃度為 7 % Perchloric acid，再以純水稀釋成濃度為 4 % Perchloric acid 溶液。

### 八、溶離試驗：

本實驗所使用的 cephalexin 膠囊劑溶離試驗，是由永信藥品公司執行 Keflex<sup>®</sup>與 Cepharmycin<sup>®</sup> 膠囊劑於 0.1N HCl、pH=4.5 和 pH=6.8 之緩衝溶液中的溶離率比對試驗(圖 1-1、1-2、1-3)。

## 第二節 實驗方法

### 一、受試者

挑選十二位 20 35 歲，體重 55 85 公斤、自願及健康無抽煙習慣之成年男性，至中國醫藥學院附設醫院進行身體健康檢查，包括：身高、體重、血液、尿液、生化檢查等十三項目。此外，亦無心血管、腎、胃腸道、泌尿道疾病的病史且應遵守下列規定：

- (1) 經過面談、體檢、驗血、及驗尿等篩選過程，確定健康合格方可參與本實驗。
- (2) 最近三個月內未參加過其他臨床研究，且實驗期間及實驗後一個月內不至捐血中心捐血。
- (3) 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。
- (4) 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。

### 二、實驗設計

本實驗為開放、隨機、雙向交叉試驗(Open randomized two-way crossover design)。12 名受試者依下表設計每次服用一種產品一粒膠囊。

Period	Subject											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
?	Y	L	Y	L	L	Y	Y	L	Y	L	L	Y
	L	Y	L	Y	Y	L	L	Y	L	Y	Y	L



實驗前至少需連續禁食 10 小時。一早到實驗試驗場後，便於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 0.2ml 之肝素鈉溶液，以防止血液凝集於靜脈留置針內。其中兩次投藥間隔為一星期。

待所有受試者固定好靜脈留置針後，十二位受試者分為兩組，一組服用 Cepharmycin<sup>®</sup> 250 mg 膠囊劑一顆，另一組則服用 Keflex<sup>®</sup> 250 mg 膠囊劑一顆，兩組同時併服 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，10 小時抽血完畢。

給藥前先抽取 20 ml 對照用空白血漿，給藥後分別於第 0.33、0.66、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0 小時，抽取 10 ml 血液置於含肝素鈉結晶之無菌真空採血管中，輕輕搖晃使其混合均勻。隨後，對稱放入離心機以 3000 rpm 離心 20 分鐘後，以塑膠吸管吸取上層血漿分裝於 3 個褐色檢體瓶，並立即放入 -30°C 之冷凍櫃中保存。

此外，於給藥前及給藥後第 1、2、4、6、8、10 小時收集尿液並喝 200 ml 開水，並以量筒記錄尿液體積，取 10 ml 尿液分裝兩瓶，立刻置於 -30 °C 之冷凍櫃中保存。

一週後，兩組受試者交換服用另一藥物，重複抽血集尿等步驟。隨後，於安定儲存期間以 HPLC 定量法分析 cephalixin 濃度。

人體實驗服藥、採血、集尿情形：

小時	時間	服藥	採血	集尿	進食
	07 : 30		+	+	
0.0	08 : 00	+			
0.33	08 : 20		+		
0.66	08 : 40		+		
1.0	09 : 00		+	+	
1.5	09 : 30		+		
2.0	10 : 00		+	+	
2.5	10 : 30		+		
3.0	11 : 00		+		
4.0	12 : 00		+	+	+
5.0	13 : 00		+		
6.0	14 : 00		+	+	
8.0	16 : 00		+	+	
10.0	18 : 00		+	+	

註：+ 號表示執行。

### 三、溶離試驗

利用槳式溶離法 (paddle method) , 依照中華藥典第五版規定 , 以轉速 50 rpm 測定 Keflex 及 Cepharmycin 於  $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  的溶離速率。各取 6 粒待測膠囊分別置於 pH 6.8 phosphate buffer、pH 4.5 buffer 及 0.1N HCl (pH1.2) 中 , 檢品液依設定的時間間隔 5、10、15、30、45、60、120 分鐘 , 每次抽取 5 ml 於 UV 260 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 , pH 4.5 buffer 的配製為 5.04 g 的  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  和 3.01 g 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  , 加水到 1000 ml , 以醋酸調至 pH 4.5 ; 而 pH 6.8 phosphate buffer 為 6.805 g 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  和 0.896 g 的 NaOH , 加水至 1000 ml , 以 0.2 N NaOH 調至 pH 6.8。

#### 四、HPLC 定量分析方法

HPLC 定量分析條件：

層析管柱：Purospher<sup>®</sup> STAR RP-18e, 250×4mm(5 μm), MERCK.

保護管柱：Purospher<sup>®</sup> STAR RP-18e (5 μm), MERCK.

移動相：0.05 M 磷酸鉀鹽緩衝液/甲醇=73/27(v/v) (pH3.0)

內部標準品：Cephadrine

流速：1.0 ml/min

偵測波長：260 nm

注入量：20.0 μl

分析時間：21.0 min

#### 五、血漿中 cephalexin 之 HPLC 定量分析

##### 1. 血漿檢品的前處理：

將血漿檢體由冷凍櫃取出，待其回室溫，以觸動式震盪器將檢品混合均勻，用微量移液管精取血漿檢品 200 μl 置於玻璃試管中，加入 10.0 μl 之 cephadrine 內標準液，再加入 200 μl Perchloric acid，以震盪器震盪 30 秒，使血漿中蛋白質沉澱，再以 4000rpm 離心 20 分鐘。隨後以微量吸管吸取上清液置於小瓶(vial)中，注入 20 μl 於高效液相層析儀分析。

## 2. 檢量線(Calibration curve)之製作：

以微量移液管精取空白血漿 180.0  $\mu\text{l}$  加入 20.0  $\mu\text{l}$  濃度 160 至 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之 cephalexin 溶液混合均勻，配製成濃度為 16.0 至 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之標準血漿檢品液(如下表)。加入 10.0  $\mu\text{l}$  之 cephradine 內標準液，再加入 200  $\mu\text{l}$  Perchloric acid 以震盪器震盪 30 秒，使血漿中蛋白質沉澱，再以 4000rpm 離心 20 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中分析。將 cephalexin 和 cephradine 的波峰面積比與對照標準血漿檢品濃度作線性迴歸以製作檢量線。

對照標準血漿檢品之製備：

標準溶液		加入空白血漿體積 ( $\mu\text{l}$ )	標準血漿溶液濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
原濃度( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	取用體積( $\mu\text{l}$ )		
160.0	20 $\mu\text{l}$	180 $\mu\text{l}$	16.0
80.0			8.0
40.0			4.0
20.0			2.0
10.0			1.0
5.0			0.5
0.5			0.05

## 3. 相對回收率(Relative Recovery)試驗：

Cephalexin 溶液分別添加在等體積的空白血漿和空白溶液(移動相)中，經「標準曲線製作」步驟處理後，比較經「血漿檢品之前處理」步驟，其檢出量之差異。由下列公式求得回收率。

$$\text{相對回收率(\%)} = \frac{\text{標準濃度與內標在血漿中積分面積比}}{\text{標準濃度與內標在溶媒中積分面積比}} \times 100\%$$

#### 4. 精確性 (Accuracy) 試驗：

同日 (Intraday) 精確性，是於同一日的早上、中午及晚上各做兩條檢量線；異日 (Interday) 精確性，則是連續六天的早上各做一條檢量線。計算各個校正濃度之變異係數 (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：

最低偵測極限試驗 (Limit of Detection, LOD)，是不斷稀釋 cephalexin 至三種低濃度 0.02、0.03、0.04  $\mu\text{g/ml}$ ，以 HPLC 分析求得三組偵測分析物訊號波峰高度，將紀錄得三組波峰高度數據與對照的三種低濃度作線性迴歸，可得各組迴歸方程式截距之標準偏差 (s) 和總迴歸方程式之斜率 (S)，依 ICH 計算求得最低偵測極限 ( $\text{LOD}=3.3\times s/S$ ) 與最低準確測量濃度 (Limit of Quantitation,  $\text{LOQ}=10\times s/S$ )，最後再將計算求得的 LOQ 依「檢量線之製作」，採標準濃度血漿檢品製備方法分析之。

#### 6. 安定性 (Stability) 試驗：

##### (1) 25°C 下 cephalexin 在血漿中之安定性試驗：

取濃度為 160.0、20.0、0.5  $\mu\text{g/ml}$  之標準溶液 500  $\mu\text{l}$  加入 4500.0  $\mu\text{l}$  之空白血漿中，震盪一分鐘以混合均勻，即得濃度 16.0、2.0、0.05  $\mu\text{g/ml}$  之血漿檢品，依「血漿檢品之前處理方法」處理後，分裝後置於 25 °C 室溫自動取樣機中，於第 0、3、6、9、12、18、24 小時分別注入 HPLC 中分析之，然後記錄濃度變化之情形。

(2)  $-30^{\circ}\text{C}$  下 cephalexin 在血漿中之安定性試驗：

取濃度為 160.0 20.0 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之標準溶液 500  $\mu\text{l}$  加入 4500.0  $\mu\text{l}$  之空白血漿中，震盪一分鐘以混合均勻，即得濃度 16.0 2.0 0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之血漿檢品，分裝後置於  $-30^{\circ}\text{C}$  冷凍櫃中，於第 0、10、15、30、45、60、90 天分別取出檢品解凍後，依「血漿檢品之前處理方法」處理後，注入 HPLC 中分析之，然後記錄濃度變化之情形。

(3) Cephalexin 貯備溶液於室溫之安定性試驗：

取濃度為 160.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之貯備溶液 500.0  $\mu\text{l}$  加入 4500.0  $\mu\text{l}$  之移動相，震盪 30 秒以混合均勻，即得濃度為 16.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之貯備檢品，在室溫下連續六小時(0、1、2、4、6 小時)取出檢品以 HPLC 分析。再將貯備液檢品冷凍於  $-30^{\circ}\text{C}$  一週後，取出檢品解凍回溫後分析之，記錄濃度變化之情形。

(4) Cephalexin 在血漿中連續解凍之安定性試驗：

取濃度為 160.0 20.0 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之標準溶液 500  $\mu\text{l}$  加入 4500.0  $\mu\text{l}$  之空白血漿中，震盪一分鐘以混合均勻，即得濃度 16.0、2.0、0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之血漿檢品，分裝後置於  $-30^{\circ}\text{C}$  冷凍櫃中，解凍回溫後依「血漿檢品之前處理方法」處理分析連續三次，注入 HPLC 中分析之，然後記錄濃度變化之情形。

## 7. 檢品之品質管制試驗：

以微量移液管精取空白血漿 180  $\mu\text{l}$  加入 20  $\mu\text{l}$  濃度 160.0、20.0、0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之 cephalexin 溶液混合均勻，配製成濃度為高、中、低之 16.0、2.0、0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$  標準血漿管制品質液。依「檢量線製作法」處理後，平均穿插於每批受試者血漿檢品分析之，記錄管制品質濃度變化情形。

## 六、尿液中 cephalexin 之定量分析

### 1. 尿液檢品的前處理：

將尿液檢體由冷凍櫃取出，待其回室溫，以觸動式震盪器將檢品混合均勻，用微量移液管精取尿液檢品 1.0 ml 置於 10 ml 容量瓶中，加入 pH 4.5 磷酸鉀鹽緩衝液至刻度。再從容量瓶中精取稀釋之尿液檢品 200.0  $\mu\text{l}$  置入玻璃試管中，加入 10.0  $\mu\text{l}$  之 cephradine 內標準液，以震盪器震盪 30 秒混合均勻。再以 4000 rpm 離心 20 分鐘。隨後以微量吸管吸取上清液置於小瓶(vial)中，注入 20  $\mu\text{l}$  於高效液相層析儀分析。

### 2. 檢量線 (Calibration curve) 之製作：

以微量移液管精取空白尿液 150.0  $\mu\text{l}$  加入 50.0  $\mu\text{l}$  濃度 400 至 4.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之 cephalexin 溶液混合均勻，配製成濃度為 100.0 至 1.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$  之標準尿液檢品液(如下表)。加入 10.0  $\mu\text{l}$  之 cephradine 內標準液，以震盪器震盪 30 秒混合均勻。再以 4000 rpm 離心 20 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中分析。將 cephalexin 和 cephradine 的波峰面積比與對照標準尿液檢品濃度作線性迴歸以製作檢量線。

對照標準尿液檢品之製備：

標準溶液		加入空白尿液體積 ( $\mu\text{l}$ )	標準尿液溶液濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )
原濃度( $\mu\text{g/ml}$ )	取用體積( $\mu\text{l}$ )		
400.0	50 $\mu\text{l}$	150 $\mu\text{l}$	100.0
200.0			50.0
100.0			25.0
40.0			10.0
20.0			5.0
10.0			2.5
4.0			1.0

3. 精確性 (Accuracy) 試驗：

同日 (Intraday) 精確性，是於同一日的早上、中午及晚上各做兩條檢量線；異日 (Interday) 精確性，則是連續六天的早上各做一條檢量線。計算各個校正濃度之變異係數 (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。

4. 靈敏度 (Sensitivity) 試驗：

最低偵測極限試驗 (Limit of Detection, LOD)，是不斷稀釋 cephalixin 濃度以求得偵測分析物與背景雜訊相區分之濃度；偵測極量試驗 (LOQ)，將依 u 檢量線之製作。v，採標準濃度尿液檢品製備方法分析之。



## 5. 安定性(Stability)試驗：

### (1) 25°C 下 cephalexin 在尿液中之安定性試驗：

取濃度為 400.0、40.0、4.0 µg/ml 之標準溶液 1000 µl，加入 3000.0 µl 之空白尿液中，震盪一分鐘以混合均勻，即得濃度 100.0、10.0、1.0 µg/ml 之尿液檢品，分裝後置於 25 °C 室溫自動取樣機中，於第 0、3、6、9、12、18、24 小時分別注入 HPLC 中分析之，然後記錄濃度變化之情形。

### (2) -30°C 下 cephalexin 在尿液中之安定性試驗：

取濃度為 400.0、40.0、4.0 µg/ml 之標準溶液 1000 µl，加入 3000.0 µl 之空白尿液中，震盪一分鐘以混合均勻，即得濃度 100.0、10.0、1.0 µg/ml 之尿液檢品，分裝後置於 -30 °C 冷凍櫃中，於第 0、10、15、30、45、60、90 天分別取出檢品解凍後，依「尿液檢品之前處理方法」處理後，注入 HPLC 中分析之，然後記錄濃度變化之情形。

## 七、數據處理及統計方法

以 HPLC 定量分析所得血漿檢品中 cephalexin 濃度數據，利用電腦程式 WinNolin<sup>®</sup> standard 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，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<sub>0-10</sub>、AUC<sub>0-</sub>、CI/F、K、T<sub>1/2</sub>、V<sub>DSS</sub>/F、MRT、T<sub>max</sub>、C<sub>max</sub> 等進行生體相等性評估。

## 第四章 結果與討論

### 第一節 結果

#### 一、溶離度試驗

此試驗是利用槳式溶離法 (paddle method)，每次取 6 粒待測膠囊分別置於 pH 6.8 phosphate buffer、pH 4.5 phosphate buffer 及 0.1 N HCl (pH 1.2) 中，溶離機的溫度維持於 37 °C、攪拌速率為 50 rpm、檢品液依設定的時間間隔 5、10、15、30、45、60、120 分鐘每次抽取 5 ml，經適當稀釋後於 UV 260 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。

永信藥品公司所生產的 Cephalexin<sup>®</sup> 與台灣 Lilly 公司 Keflex<sup>®</sup>，均有達到中華藥典第五版對溶離度的容許範圍規定，即於 45 鐘之內所溶離 cephalixin 之量，不得少於標誌含量之 75% (表 6)。

#### 二、血漿、尿液定量分析法之確效

##### 1、血漿濃度高效液相層析定量法之確效

本實驗之高效液相層析法，在 RP-18 層析管、移動相 pH 3.0 (甲醇：0.05 M 磷酸鹽緩衝液=27：73)、流速為 1 ml/min 及紫外線偵測波長為 260 nm 之分析條件下，cephalexin 與內部標準品 cephradine 在血漿層析圖中並無明顯之干擾物質出現，且具有良好的專一性及解析度 (圖 2)。本分析方法所得 cephalixin 之標準校正曲線，其決定係數大於 0.999，顯示具有良好線性關係 (圖 3)。且根據表 4-4 標準血漿檢品濃度與標準溶液之平均相對回收率為 95.77 %。

靈敏度試驗分析中，本實驗中配製三種低濃度標準檢品 (0.02、0.03、0.04  $\mu\text{g/ml}$ )，每種濃度測三次後取得低濃度下 peak 的高度，得到平均值後利用 ICH 法回歸計算得  $\text{LOD}=0.0171 \mu\text{g/ml}$ ， $\text{LOQ}=0.0518 \mu\text{g/ml}$ ，本實驗以  $0.05 \mu\text{g/ml}$  為 LOQ 即可測得受試者血漿中最低濃度，依此濃度作為檢量標準曲線的最低濃度(表 4-1)。

在精密度及準確度試驗中，同日精密度及準確度試驗是以同日之上午、中午及晚上，各取標準品之 7 種濃度進行含量測定。而異日精密度及準確度試驗，是以連續六日的上午，取標準品之 7 種濃度各進行含量測定，並計算其變異係數及標準偏差，其變異係數皆在 10.0 % 以下，顯示本分析方法之精密度及準確度均在可接受範圍內(表 4-2、4-3)。

於相對回收率試驗中，依「標準曲線製作」步驟處理後的相對回收率可高達 95.77 %，顯示以 PCA 去蛋白的處理方式，對於分析低濃度之血漿檢品亦可以減少其誤差(表 4-4)。

在  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、室溫下標準溶液之母液及連續解凍之安定性試驗中，血漿中 cephalexin 濃度均無明顯的差異(表 4-5、4-6、4-7、4-8)。

分析檢品時安插高、中、低三種標準濃度檢品於分析檢品中，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，計算標準誤差。本實驗於受試者血漿檢品之品質管制試驗中，高濃度( $16 \mu\text{g/ml}$ )標準血漿管制品質液之誤差小於 10 % 中濃度( $2 \mu\text{g/ml}$ )之誤差小於 15 % 低濃度( $0.05 \mu\text{g/ml}$ )之誤差小於 20 % 內，可知血漿中 cephalexin 濃度於 HPLC 系統下能穩定準確的分析(表 4-9)。

## 2、尿液濃度高效液相層析定量法之確效

本實驗之高效液相層析法，在 RP-18 層析管、移動相 pH 3.0(甲醇：0.05 M 磷酸鹽緩衝液=25：75 )、流速為 1ml/min 及紫外線偵測波長為 260 nm 之分析條件下，cephalexin 與內部標準品 cephadrine 在血漿層析圖中並無明顯之干擾物質出現，且具有良好的專一性及解析度(圖 2)。本分析方法所得 cephalexin 之標準校正曲線，其決定係數大於 0.999，顯示具有良好線性關係。且根據表 5-4 標準尿液檢品濃度與標準溶液之平均相對回收率為 97.27 %。

靈敏度試驗分析中，本實驗分析條件之最低可定量濃度 (LOQ) 為 1.0 µg/ml。最低準確定量極限之變異係數均小於 15.0 % (表 5-3)。

在精密度及準確度試驗中，同血漿之精密度及準確度試驗，並計算其變異係數及標準偏差，其變異係數皆在 10.0 % 以下，顯示本分析方法之精密度及準確度均在可接受範圍內 (表 5-1、5-2)。

在 25 °C 與 -30 °C 安定性試驗中，其結果並無明顯差異 (表 5-5、5-6)。

### 三、藥物動力學分析結果

十二位受試者平均年齡為 24.25 歲(21-30 歲);平均身高 173.26 cm(159.2-186.0 cm);平均體重 70.1 kg(54.3-82.1 kg)且均通過中國醫藥學院附設醫院之體檢確定為健康、成年之男性受試者(表 1)。

十二位受試者口服 Keflex<sup>®</sup>膠囊劑後，發現服藥後平均約 0.87 小時達到最高的血中濃度，此平均之最高血中濃度為 10.86  $\mu\text{g/ml}$ ，曲線下面積大約為 19.03  $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ (表 11)。

而同樣十二位受試者口服 Cephalexin<sup>®</sup>膠囊劑後，發現服藥後平均約 0.84 小時達到最高的血中濃度，此平均之最高血中濃度為 11.11  $\mu\text{g/ml}$ ，曲線下面積大約為 18.93  $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$  (表 12)。

綜合上述之結果與經過計算藥物動力學參數後，可得知 Keflex<sup>®</sup>與 Cephalexin<sup>®</sup>此兩種 cephalosporin 膠囊劑於 12 位受試者血漿分析的結果，分別為平均曲線下面積( $\text{AUC}_{0-\infty}$ ) 19.53 $\pm$ 3.90 及 19.14 $\pm$ 3.41  $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$ ；平均清除率( $\text{Cl}/F$ )為 13.27 $\pm$ 2.65 及 13.40 $\pm$ 2.10 L/hr；平均血漿中濃度半衰期 1.27 $\pm$ 0.32 及 1.18 $\pm$ 0.23 小時；平均分布體積( $V_{\text{dss}}/F$ )為 23.57 $\pm$ 4.70 及 22.42 $\pm$ 3.94 L；平均滯留時間(MRT)為 2.02 $\pm$ 0.28 及 1.97 $\pm$ 0.36 小時；平均達到最高血中濃度的時間為 0.87 $\pm$ 0.26 及 0.84 $\pm$ 0.26 小時；平均最高血中濃度為 10.86 $\pm$ 2.01 及 11.11 $\pm$ 1.85  $\mu\text{g/ml}$ (表 11、12)。根據統計上( $P > 0.05$ ，ANOVA  $\alpha = 0.05$  及 90 % Confidence Interval)之計算，證明沒有顯著差異。顯示兩種膠囊劑有生體相等性(表 13)。

## 第二節 討論

### 一、溶離度試驗

Keflex<sup>®</sup>及 Cephalexin<sup>®</sup>膠囊分別置於 0.1N HCl、pH 4.5 及 pH 6.8 之模擬胃液及腸液中，藥典規定溶離度試驗容許範圍。u 於 45 分鐘時程內所溶離 C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S 不得少於標誌含量之 75 %。y 本試驗結果得知，在 0.1N HCl 的環境中，Keflex<sup>®</sup>膠囊在 15 分鐘內可溶離 85 % 以上；Cephalexin<sup>®</sup>膠囊在 10 分鐘內可溶離 85 % 以上，在 pH 4.5 的環境中，Keflex<sup>®</sup>膠囊在 30 分鐘內可溶離 85 % 以上；Cephalexin<sup>®</sup>膠囊在 10 分鐘內可溶離 85 % 以上，在 pH 6.8 的環境中，Keflex<sup>®</sup>膠囊在 45 分鐘內可溶離 85 % 以上；Cephalexin<sup>®</sup>膠囊在 10 分鐘內可溶離 85 % 以上，完全符合於 45 分鐘時程內溶離 75 % 以上之規定。

Cephalexin<sup>®</sup>膠囊在 0.1N HCl、pH 4.5 及 pH 6.8 之溶離曲線皆比 Keflex<sup>®</sup>來的偏高。此溶離度差異，可能由於永信藥廠製劑與原開發藥廠禮來(Lilly)的膠囊外殼溶解速率、藥粉顆粒大小、緊密度及賦型劑相異所致。但在 45 分鐘內幾乎都有 90 % 以上的 cephalexin 溶離出來，故在人體腸胃中應有相近的溶離及吸收作用。

## 二、血漿之定量分析

本實驗之血漿前處理步驟，是採用過氯酸(Perchloric acid, PCA)來沉澱蛋白，和一般使用 Acetonitrile 配合吹氮氣的去蛋白或反覆萃取的方式相比的話，較為快速且步驟單一，可免除較繁雜反覆步驟所帶來的誤差。因為從文獻中整理出非常多的檢品前處理方法，其中大多需經過繁雜的步驟，且過程通常需耗費相當多的時間，因而所需要的成本與材料更為多，所以本人嘗試使用文獻中快速且簡易的方法並在材料上稍加改變，結果所得的結果證實此方法並不遜色於其他方法。

但使用 PCA 去蛋白需慮及此化學藥品為強酸性，我使用的為濃度為 4 % 的 PCA 水溶液(pH 約為 1.0)，而一般市面上常用的 RP-18e column 是耐受於 pH 2-8，所以我改用默克公司所出產的 Purospher<sup>®</sup> STAR RP-18e 可耐受於 pH 1-9。不僅如此，本人因為對於 PCA 的顧慮對於 column 的清洗也特別的留意。

由於本實驗所使用的移動相為 0.05 M Potassium dihydrogen phosphate buffer : Methanol = 73 : 27(v/v) ，因其為鹽類 buffer 易造成結晶，故在 column 清洗上需特別留意，我採用三步驟：? 0.1 % 醋酸水洗 2 hr ? MeOH : H<sub>2</sub>O = 1 : 1 洗 1 hr ? 100 % MeOH 洗 1 hr。

### 三、Keflex 與 Cephalexin 之藥物動力學分析

在血液分析結果中，受試者服用 Keflex<sup>®</sup>和 Cephalexin<sup>®</sup>後出現最高血中濃度時間，除了 Subject E (1.50 hr) 受試者外，均出現在 0.66 1.00 hr，濃度為 8 14  $\mu\text{g/ml}$ ，且在 10 小時後濃度均降至 0.1  $\mu\text{g/ml}$  以下(表 8、9)。而又從表 10 將服用此二種不同 cephalexin 膠囊劑的平均血漿濃度作比較都很接近，而且整個實驗期間的濃度曲線變化也非常相似(圖 5、6)。

再者把兩種 cephalexin 膠囊劑於 12 位受試者的血中濃度利用軟體算出的藥動學參數，再使用 ANOVA 軟體去做運算，所得統計之 90 %CI 值皆介於 89 % 108 %之間，Power 值皆 > 0.9，而 P-value 皆 < 0.05 (表 14)，因此可判斷此兩種 cephalexin 膠囊劑 (Keflex<sup>®</sup>和 Cephalexin<sup>®</sup>)是具生體相等性的。

茲就本實驗結果與 Perkins<sup>(2)</sup>、Meyers<sup>(21)</sup>與 Thornhill<sup>(24)</sup>等人之研究文獻做一比較：

動力學參數	Perkins <sup>(2)</sup>	Meyers <sup>(21)</sup>	Thornhill <sup>(24)</sup>	Keflex / Cephalexin
Cl/F(L/hr)	17.81	11.93	15.59	13.27 / 13.40
K(hr <sup>-1</sup> )	0.97	0.58	0.75	0.58 / 0.61
T <sub>1/2</sub> (hr)	0.72	1.20	0.92	1.27 / 1.18
V <sub>DSS</sub> /F(L)	30.94	27.22	29.26	23.57 / 22.42
MRT(hr)	1.74	2.28	1.88	2.02 / 1.97

本實驗除了穩定期分佈體積(V<sub>DSS</sub>/F)較三者小之外，其餘各項參數皆與 Meyers 相似。穩定期分佈體積較小的原因，判斷應該是國人體型較外國人嬌小之緣故。



12 位受試者於實驗當天，固定於服藥後第 0、1、2、4、6、8、10 小時收集尿液且飲用 200 ml 開水。應由 HPLC 分析方法求得尿液濃度，再與尿液體積相乘，即得尿中 cephalexin 含量。將 10 小時內收集之總量除以口服劑量，得到尿液中 cephalexin 原型回收率 Keflex<sup>®</sup> 平均為 95.78 ± 2.70 %，Cephanmycin<sup>®</sup> 平均為 94.63 ± 3.69 % (表 17)。

表 19 中的腎清除率( $Cl_R$ )是經由公式： $Cl_R = Du / [AUC]_0$  計算而得，而總清除率( $Cl_T$ )是經由公式： $Cl_T = D_0 / [AUC]_0$  計算而得，結果發現腎臟為 cephalexin 的主要排除途徑。

圖 10 為使用公式： $Cl_R = dDu/dt / C_p$  算出腎清除率後，對時間所作的圖。

## 第五章 結 論

本實驗是以方便、快速、簡單的 HPLC 條件來定量血漿中 cephalexin 濃度，此定量法需消耗大量溶媒，但可得到相當高的回收率及相關係數之檢量線，其同日內及異日間之精密度及準確度也相當高。本實驗不採用一般文獻記載傳統的萃取方式來進行血漿檢品的前處理，也不以 Acetonitrile 等需經繁雜步驟的去蛋白方法，而是用操作簡便迅速的酸(Perchloric acid, PCA)來沉澱蛋白，作為血漿檢品之前處理，此法可減低其他方法反覆移液所造成的誤差，而經實驗後顯示此法並不比其他方法遜色。

口服 Keflex<sup>®</sup>膠囊劑 250 mg 後，約  $0.87 \pm 0.26$  小時達到血中最高濃度  $10.86 \pm 0.01$   $\mu\text{g/ml}$ ；而服用 Cephalexin<sup>®</sup>膠囊劑 250 mg 後，經過  $0.84 \pm 0.26$  小時，達到血中最高濃度  $11.11 \pm 0.85$   $\mu\text{g/ml}$ ；排除半衰期則分別為  $1.27 \pm 0.32$  小時和  $1.18 \pm 0.23$  小時；曲線下面積則為  $19.53 \pm 0.90$   $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$  和  $19.14 \pm 0.41$   $\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$ 。國人服用 Keflex<sup>®</sup> 和 Cephalexin<sup>®</sup>後，測得的血中濃度及藥物動力學數據與國外相關文獻比較並無很大差異。

尿液之 cephalexin 原型回收率、腎臟排除速率等藥品動力學數據與國外文獻之研究結果相似，在服藥 2 小時內排除 50 %以上，6 小時內排除 90 %以上。

以統計學 ANOVA 比較藥物動力學參數，包括  $AUC_{0-10}$ 、 $AUC_{0-}$ 、 $C_{\text{max}}$ 、 $T_{\text{max}}$ 、MRT 及  $T_{1/2}$  等均無統計上的差異 ( $P > 0.05$ )，因此可證實 Cephalexin<sup>®</sup>膠囊劑(永信藥廠)與 Keflex<sup>®</sup>膠囊劑(台灣 Lilly 藥廠)具有生體相等性。