

封面式樣

計畫編號：DOH90-DC-1015

行政院衛生署疾病管制局九十年年度委託研究計畫

抗愛滋病毒藥物的血中濃度監測系統之建立

## 委託研究成果報告

執行機構：國立台灣大學醫學院

研究主持人：謝思民, 余秀瑛

研究人員：蔡杏君

執行期間：90年2月7日至90年12月31日

## 目錄

	頁碼
封面	(1)
目錄	(2)
摘要	(3~4)
本文	
(1)前言	(5)
(2)材料與方法。	(6~8)
(3)結果。	(9~10)
(4)結論與建議。	(11)
(5)參考文獻	(12~14)
(6)圖、表。	(15~22)

共(22)頁

## 中文摘要：

高效液相層析法已經發展到用來研究三種得到許可的蛋白酶抑制劑，包括 indinavir、saquinavir 和 ritonavir。

500  $\mu$ l 的血漿，加入內標準品所形成的溶液再以 0.5ml 的 10% 氨水和 5ml methyl tert-butyl ether 萃取，去水後，將殘留物溶解在由 3ml hexane 和 acetonitrile - phosphate buffer, 60:40%, v/v 所組成的溶液中，層析法是利用  $C_{18}$  逆相層析管柱和移動相為 acetonitrile : 50mM  $KH_2PO_4$  緩衝液 (pH5.63, 以 50mM  $Na_2HPO_4$  滴定) = 45:55(v/v)，紫外光偵測波長為 215nm，而此分析方法可測得 0.2  $\mu$ g/ml ~ 2  $\mu$ g/ml 濃度的三種蛋白酶抑制劑。

這個方法可在多種不同條件下使用已被廣泛的認為是有效且穩定，現在這個方法已經開始被用來研究於使用 HIV 蛋白酶抑制劑患者的血漿中。

中文關鍵詞(至少三個)：蛋白酶抑制劑、高效液相層析法、抗愛滋病毒藥物

## Abstract

A sensitive high-performance liquid chromatographic method has been developed for the simultaneous determination of the three licensed HIV-protease inhibitors indinavir, saquinavir and ritonavir. An aliquot of 500  $\mu$ l plasma, spiked with internal standard, was extracted with 0.5ml 10%NH<sub>4</sub>OH and methyl tert-butyl ether. After evaporating, the residue was dissolved in eluent consisting of acetonitrile-50mM phosphate buffer (40:60,v/v). Subsequently, the eluent was washed with hexane. Chromatography was performed using a C<sub>18</sub> reverse-phase column and acetonitrile-50mM phosphate buffer (45:55,v/v) for analysis. The method was validated extensively and stably tests under various conditions were performed. The assay is now in use to analyze plasma samples from patients treated with HIV-protease inhibitors.

Keyword: Indinavir; Saquinavir; Ritonavir

## (1)前言：

抗愛滋病毒藥物有蛋白酶抑制劑、反轉錄酶抑制劑、非反轉錄酶抑制劑，將其組合成有效的抗愛滋病毒配方，其中的蛋白酶抑制劑是值得我們探討的一部份，因為在治療 HIV 陽性患者在 1996 年有一個重大的突破，那就是使用蛋白酶抑制劑，這種蛋白酶抑制劑通常是和反轉錄酶抑制劑一起組成的。最先被使用的蛋白酶抑制劑為 indinavir、saquinavir、ritonavir。

首先，以一種方法同時分析三種蛋白酶抑制劑的血中濃度，它是較為節省時間與成本的。我們也已經在研究室中開始使用依照標準操作程序的生化分析方法，這使得我們可以透過週期性地觀察患者血中濃度，來監測所有使用蛋白酶抑制劑治療 HIV 感染患者之情形，進而決定患者將來所使用的雞尾酒療法之配方及劑量。

## (2)材料與方法:

### 一、實驗材料與設備

1. indinavir-由 Merck 提供
2. saquinavir-由 Roche 提供
3. ritonavir-由 Abbott 提供
4. internal standard(I.S.)-propyl paraben
5. HPLC-Waters

①column(層析管)-LUNA 5u C18 150，150\*4.60mm

② mobile phase(移動相)-buffer:acetonitrile=55:45，其 buffer 是 50mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  以 50mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  滴定成 pH5.63，流速 1.5 cc/min

③detector(偵測器)-Waters 486，測定波長設為 215nm

6. Stock solution 的配製:indinavir、saquinavir、ritonavir、I.S.的 stock solution 是將這四種藥物各自以 methanol 溶解，再利用 buffer:acetonitrile=60:40 的 solution 稀釋成所需的濃度，儲存於 4°C 下

### 二、以高效液相層析法分析 indinavir、saquinavir、ritonavir

本實驗採用內標準法(internal standard method)

#### 1. 分析方法

移動相的組成為 acetonitrile:50mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  緩衝液(pH5.63，以 50mM

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$  滴定)=45:55(v/v)，移動相在使用前需先以過濾方式除氣，流速 1.5 cc/min，以注射器取大於 100  $\mu\text{l}$ (約 200  $\mu\text{l}$ )的檢品溶液，注入 100  $\mu\text{l}$  之 sample loop 中，所有分析在室溫下進行

## 2. 血漿檢品之處理步驟

取 500  $\mu\text{l}$  血漿檢品至玻璃管中，加入 25  $\mu\text{l}$ (占血漿體積的 5%)溶於 acetonitrile –phosphate buffer(60:40% , v/v)中的樣品溶液後，再加入濃度為 50  $\mu\text{g/ml}$  的內標準品 50  $\mu\text{l}$ 、0.5ml 的 10% 氨水、5ml methyl tert-butyl ether，劇烈震盪混合一分鐘，以轉速 3000g 離心五分鐘，再置於-70°C 之冰櫃中五分鐘，使水層冰凍固化，與有機層易與分離，取出試管後將有機層倒出至圓底試管，將圓底試管置於旋轉減壓濃縮機(rotary evaporator)，將其抽乾，再加入 0.5ml 的 eluent(acetonitrile –phosphate buffer, 60:40% , v/v)和 3ml hexane，劇烈震盪混合五分鐘，以轉速 3000g 離心五分鐘後，以注射針取下層液，以進行分析

## 三、以高效液相層析法分析 indinavir、saquinavir、ritonavir 之確效

本實驗中高效液相層析法的確效，是參考 Shah 等人於 1990 年在 Washington D.C.舉行的”Analytical Methods Validation: Bioavailability , Bioequivalence and Pharmacokinetic Studies”研討會中，所歸納的確效要求

### 1. 校正曲線(Calibration Curve)

校正曲線的製作，是將所製備，已知濃度的 indinavir、saquinavir、ritonavir 血漿檢品，依檢品步驟處理之後，經高效液相層析系統分析測定結果，以理論配製濃度(spiked concentration)為橫軸，測定濃度(measured concentration)為縱軸，利用最小平方線性迴歸(least-square linear regression)所求得。迴歸線之迴歸係數作為評估校正曲線的依據，校正曲線則可用於評估測定範圍內，各濃度點估計值與理論值間的差異。

## 2. 選擇性/專一性(Selectivity/Specificity)

若觀察空白檢品之層析圖譜，在藥物出現的位置沒有看到任何干擾，注入藥品後層析峰面積與檢品濃度約略成正比關係，則此方法之選擇性與專一性可以得到驗證

## 3. 精密度(precision)

精密度可經由校正曲線中，八個濃度點在同日內(within-day)分析三次及異日間(between-day)一天分析一次共四天所得之濃度值，計算其平均值(mean)、標準差(standard deviation, S.D)、和變異係數(coefficient of variation, C.V.%)得到驗證。



### (3)結果：

indinavir、saquinavir、ritonavir 在層析圖中之滯留時間約為  $3.54 \pm 0.5$ 、 $12.17 \pm 0.5$ 、 $13.55 \pm 0.5$  分鐘，內標準品之滯留時間約為  $4.48 \pm 0.54$ ，而檢品分析一次所需的時間為十五分鐘，本實驗採用內標準法(internal standard method)。圖一為含  $50 \mu\text{g/ml}$  內標準品的血漿檢品，圖二為含  $1 \mu\text{g/ml}$  indinavir、saquinavir、ritonavir 及  $50 \mu\text{g/ml}$  內標準品的血漿檢品，兩個圖相比較，可以觀察出 indinavir、saquinavir、ritonavir 的血漿檢品在此分析條件下，並不受血漿組成的干擾。圖三、四、五是以高效液相層析法分析未經處理之 indinavir、saquinavir、ritonavir 溶液檢品之校正曲線，在四個工作天分析檢品，其濃度範圍為  $0.2 \sim 2.0 \mu\text{g/ml}$ (共八點)，得到的線性迴歸係數( $R^2$ )皆大於 0.999。由表一可看出 indinavir 異日間分析的變異係數，最大為 5.25%，最小為 1.76%，由表二可看出 saquinavir 異日間分析的變異係數，最大為 5.59%，最小為 0.97%，由表三可看出 ritonavir 異日間分析的變異係數，最大為 5.95%，最小為 1.18%，皆在規定範圍內，再將所測得的相對面積帶回校正曲線中，可得回推濃度，進而利用此作準確度性試驗，可由表一、二、三中觀察出誤差值皆落在  $-5.82\% \sim 2.06\%$  的區間。則圖六、七、八為未經處理之 indinavir、saquinavir、ritonavir 在同日內的三個

不同時間點的校正曲線，其濃度範圍為 0.2~2.0  $\mu\text{g/ml}$ (共八點)，得到的線性迴歸係數( $R^2$ )皆大於 0.998，顯示此分析條件在所用的檢品濃度範圍內，線性關係良好，且從表四中得知 indinavir 變異係數，最大為 13.6%，最小為 2.4%，由表五中得知 saquinavir 變異係數，最大為 9.7%，最小為 3.3%，由表六中得知 ritonavir 變異係數，最大為 9.6%，最小為 2.1%，再將所測得的相對面積帶回校正曲線中，可得回推濃度，進而利用此作準確度性試驗，可由表四、五、六中觀察出誤差值皆落在-9.6%~6.0%的區間由這些數據可以證明此分析條件，有好的穩定性和再現性。從表七可以看出 indinavir、saquinavir、ritonavir 回復率的標準偏差皆在範圍內，顯示出檢品經萃取步驟處理後，有極良好的結果。

#### (4) 結論與建議：

精準的分析方法是藥物動力學研究的必備條件，我們利用逆向高效層析液相層析法，配合簡單的檢品處理步驟，建立一個穩定性與再現性良好的分析方法，可用於分析血漿中 indinavir、saquinavir、ritonavir 的濃度，進而應用於抗愛滋病毒藥物組合及劑量上，使患者有良好的藥物治療配方，且副作用控制在最低。

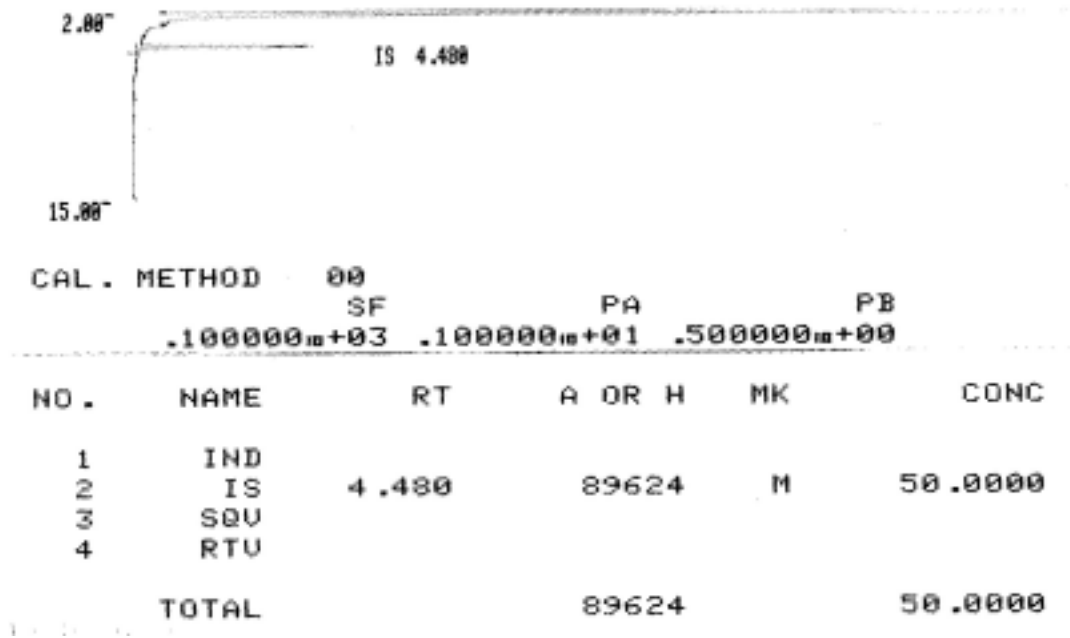
(5) 參考文獻：

1. Hugen PWH, Verweij-van Wissen CPW, Burger DM, et al. Simultaneous determination of the HIV-protease inhibitors indinavir, nelfinavir, saquinavir and ritonavir in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1999; 727: 139-149.
2. van Heeswijk RPG, Veldkamp AI, Mulder JW, et al. Once-daily dosing of saquinavir and low-dose ritonavir in HIV-1-infected individuals : a pharmacokinetic pilot study. *AIDS* 2000; 14: F103-F110.
3. Pallella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998; 338: 853-860.
4. Ledergerber B, Egger M, Opravil M, et al. Clinical progression and virologic failure on highly active antiretroviral therapy in HIV-1 patients: a prospective cohort study. *Lancet* 1999; 353: 863-868.
5. Staszewski S, Miller V, Sabin C, et al. Virologic response to protease inhibitor therapy in an HIV clinic cohort. *AIDS* 1999; 13: 367-373.
6. Hoetelmans RMW, Reijers MHE, Weverling GJ, et al. The effect of plasma drug concentrations on HIV-1 clearance rate during quadrupledrug therapy. *AIDS* 1998; 12: F111-115.
7. Gieschke R, Fotteler B, Buss N, Steiner JL. Relationship between exposure to Saquinavir monotherapy and antiviral response in HIV-positive patients. *Clin Pharmacokinet* 1999; 37: 75-86.
8. Murphy RL, Sommadossi JP, Lamson M, et al. Antiviral effect and

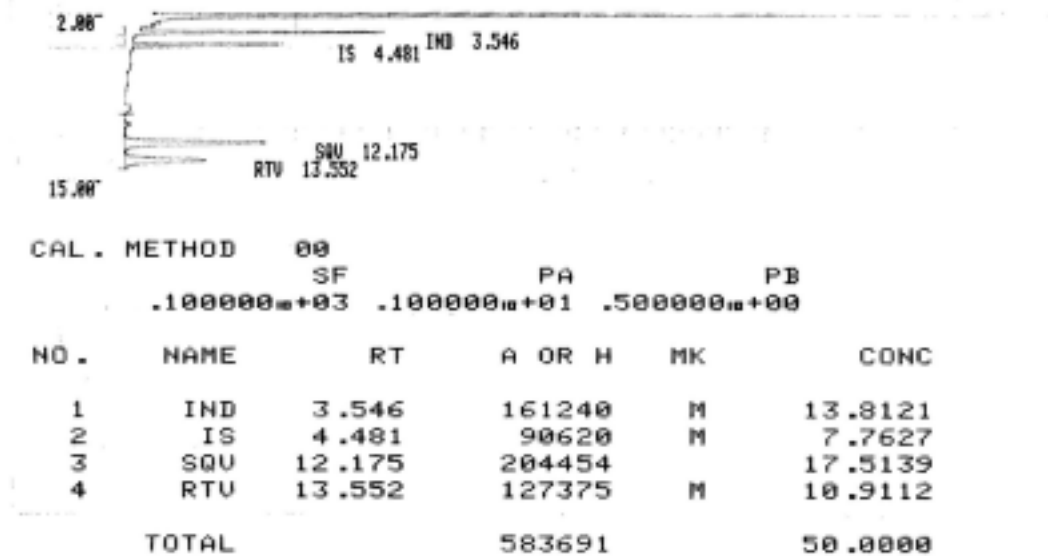
- pharmacokinetic interaction between nevirapine and indinavir in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 1999; 179: 1116-1123.
9. Descamps D, Flandre P, Calvez V, et al. Mechanisms of virologic failure in previously untreated HIV-infected patients from a trial of induction-maintenance therapy. *JAMA* 2000; 283: 205-211.
  10. Burger DM, Hoetelmans RMW, Hugen PWH, et al.: Low plasma concentrations of indinavir are related to virologic treatment failure in HIV-1 infected patients on indinavir-containing triple therapy. *Antiviral Ther* 1998; 3: 215-220.
  11. Back DJ, Gibbons SE, Khoo SH, et al. Therapeutic drug monitoring of antiretrovirals: ready for the clinic? *Journal of International Association of Physicians in AIDS Care* 2000; 6: 34-37.
  12. Dieleman JP, Gyssens IC, van der Ende M, et al. Urological complaints in relation to indinavir plasma concentrations in HIV-infected patients. *AIDS* 1999; 13: 473-478.
  13. Merry C, Barry MG, Gibbons S, et al. Improved tolerability of ritonavir derived from pharmacokinetic principles. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 42: 787.
  14. Churchill DR, Pym AS, Babiker AG, et al. Rate of onset of hyperlipidemia following treatment with ritonavir/saquinavir and correlation with drug levels. *AIDS* 1998; 12 (suppl 4): S9.
  15. Barry MG, Mulcahy F, Merry C, et al. Pharmacokinetics and potential interactions amongst antiretroviral agents used to treat patients with HIV infection. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: 289-304.

16. Barry MG, Merry C, Lloyd J, et al. Variability in trough plasma saquinavir concentrations in HIV patients: a case for therapeutic drug monitoring. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 45: 501-502.
17. Khaliq Y, Gallicano K, Seguin I, et al. Therapeutic drug monitoring of nelfinavir in HIV patients with liver disease. Presented at: 6<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; January 31-February 4, 1999; Chicago. Abstract 369.
18. Raffi F, Saves M, Le Moing V, et al. Serious adverse effects (SAE) in a prospective cohort of HIV-infected adults started on protease inhibitor therapy (ANRS EP11 Study). Presented at: 6<sup>th</sup> Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections; January 31-February 4, 1999; Chicago. Abstract 676.

(6)圖、表：

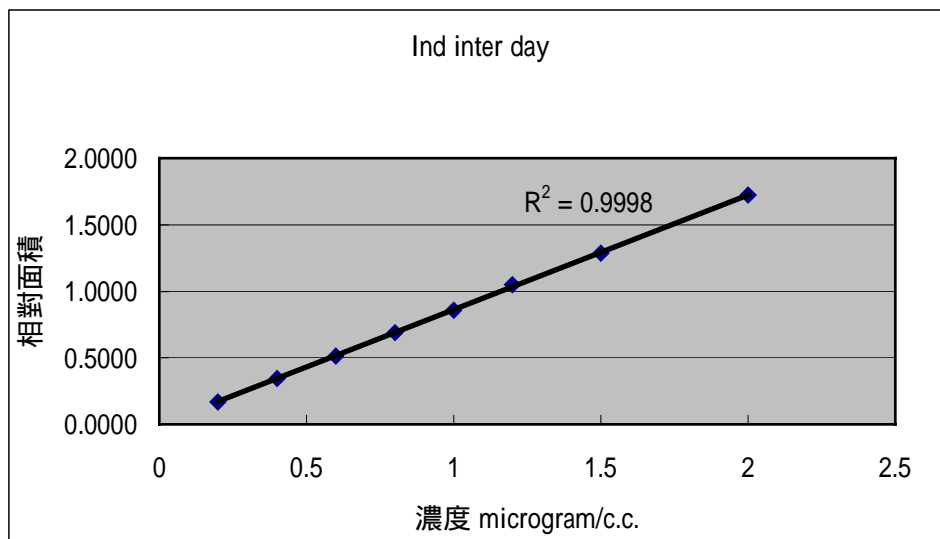


圖一、含 50  $\mu$ g/ml 內標準品的血漿檢品



圖二、含 1  $\mu$ g/ml indinavir、saquinavir、ritonavir 及 50  $\mu$ g/ml 內標準品的

血漿檢品

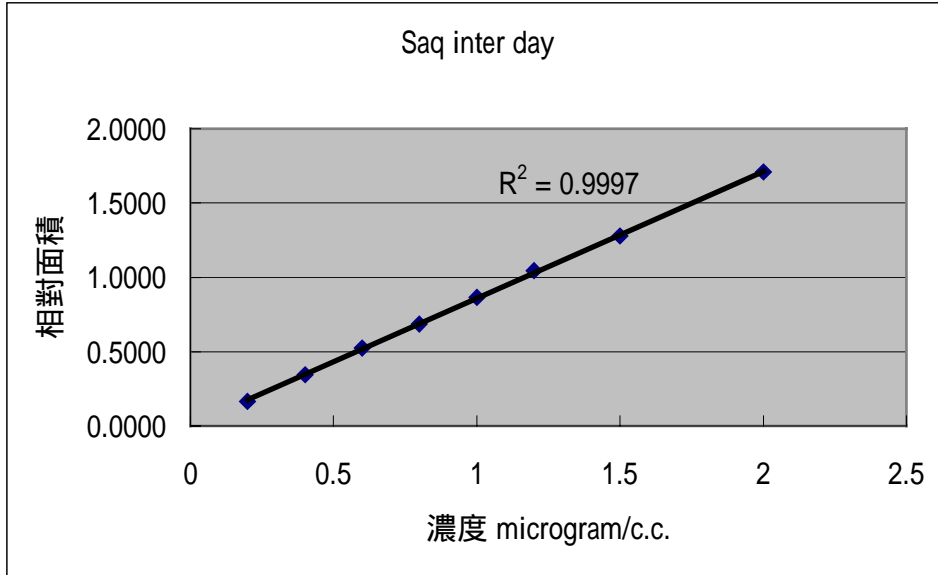


圖三、未經處理之 indinavir 溶液檢品之校正曲線(n=8)

Ind	8月27日	8月28日	8月29日	8月30日					
原濃度	1	2	3	4	Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%
0.2	0.279263643	0.299196759	0.291769589	0.287954342	0.28950	0.008293406	2.86%	0.203074696	1.54%
0.4	0.570842517	0.560934989	0.557694561	0.527405827	0.55420	0.018730293	3.38%	0.390321524	-2.42%
0.6	0.868128037	0.857940104	0.843139944	0.815934632	0.84630	0.022686236	2.68%	0.596947774	-0.51%
0.8	1.046626591	1.189106044	1.13673912	1.137744657	1.12760	0.059234324	5.25%	0.795934986	-0.51%
1	1.332878014	1.389486269	1.450390381	1.477128977	1.41250	0.064502906	4.57%	0.997503297	-0.25%
1.2	1.704664422	1.704086965	1.774598966	1.700485458	1.72100	0.035807777	2.08%	1.215747402	1.31%
1.5	2.115983751	2.195831109	2.120072796	2.162034676	2.14850	0.037810194	1.76%	1.518203455	1.21%
2	2.807895156	2.79629794	2.726142544	2.888249166	2.80460	0.066414178	2.37%	1.982416839	-0.88%

表一、未經處理之 indinavir 溶液檢品的變異係數及誤差(n=8)

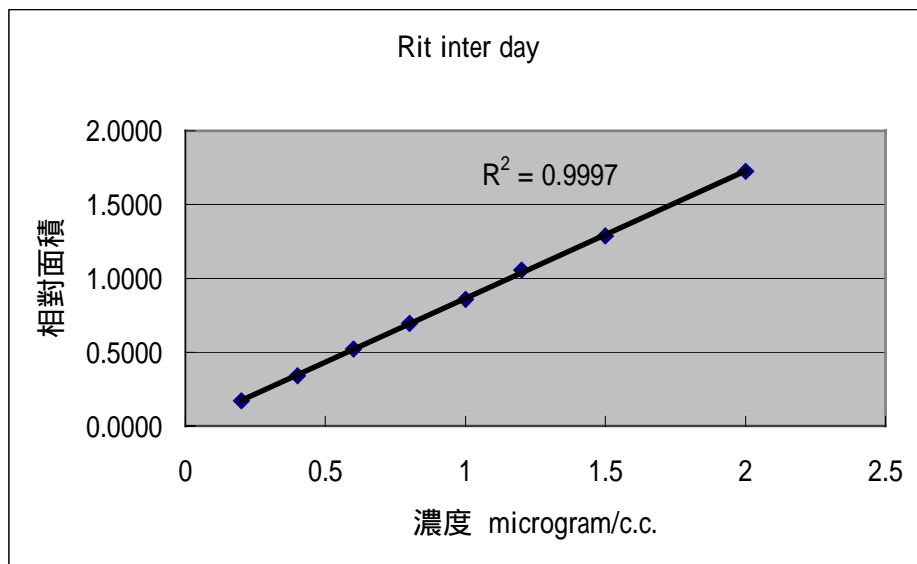




圖四、未經處理 saquinavir 之溶液檢品之校正曲線(n=8)

原濃度	8月27日 8月28日 八月29日 八月30日				4Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%
	1	2	3						
0.2	0.173182499	0.168430715	0.16185459	0.162645757	0.1665	0.0053	3.19%	0.1884	-5.82%
0.4	0.366881498	0.340335926	0.330549131	0.344925913	0.3457	0.0154	4.44%	0.3982	-0.45%
0.6	0.567402203	0.514054058	0.500359805	0.517344708	0.5248	0.0293	5.59%	0.6080	1.33%
0.8	0.691832668	0.705053816	0.654408219	0.698528624	0.6875	0.0227	3.30%	0.7985	-0.19%
1	0.895872515	0.878113768	0.802103562	0.8825994	0.8647	0.0424	4.90%	1.0061	0.61%
1.2	1.053730732	1.044099153	1.030294477	1.049365584	1.0444	0.0102	0.97%	1.2165	1.38%
1.5	1.29275649	1.338477693	1.218271944	1.263905551	1.2784	0.0505	3.95%	1.4906	-0.63%
2	1.742233622	1.719808309	1.683583413	1.68689758	1.7081	0.0280	1.64%	1.9939	-0.30%

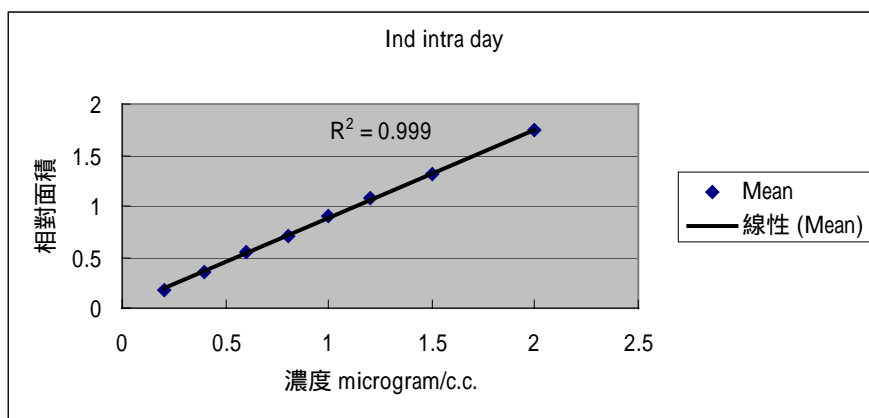
表二、未經處理之 saquinavir 溶液檢品的變異係數及誤差(n=8)



圖五、未經處理之 ritonavir 溶液檢品之校正曲線(n=8)

RIT	8月27日	8月28日	8月29日	8月30日					
原濃度	1	2	3	4	Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%
0.2	0.174632707	0.161468287	0.170070985	0.175120625	0.1703	0.0063	3.71%	0.1977	-1.16%
0.4	0.341791404	0.342574357	0.329774452	0.348966066	0.3408	0.0080	2.35%	0.3950	-1.26%
0.6	0.562854466	0.507587728	0.490798141	0.515119821	0.5191	0.0309	5.95%	0.6013	0.22%
0.8	0.736397407	0.699412495	0.641738425	0.693457944	0.6928	0.0390	5.62%	0.8023	0.29%
1	0.871828944	0.880830686	0.801550602	0.87618471	0.8576	0.0375	4.38%	0.9931	-0.69%
1.2	1.134363209	1.040299932	1.003959724	1.052538817	1.0578	0.0551	5.21%	1.2247	2.06%
1.5	1.343720927	1.319443957	1.204286381	1.276640261	1.2860	0.0611	4.75%	1.4889	-0.74%
2	1.738085394	1.745235162	1.701797683	1.714066886	1.7248	0.0203	1.18%	1.9966	-0.17%

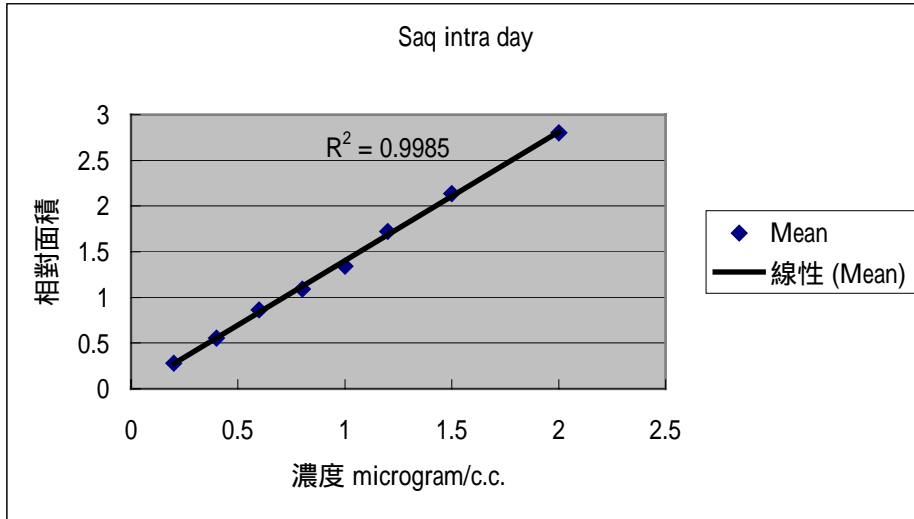
表三、未經處理之 ritonavir 溶液檢品的變異係數及誤差(n=8)



圖六、未經處理之 indinavir 在同日內的三個不同時間點的校正曲線(n=8)

Ind	早	中	晚					
原濃度	1	2	3Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%	
0.2	0.1765441	0.173182499	0.174632707	0.174786422	0.001686045	1.0%	0.180817002	-9.6%
0.4	0.350816	0.366881498	0.341791404	0.353162953	0.012708639	3.6%	0.386533217	-3.4%
0.6	0.5404165	0.567402203	0.562854466	0.556891048	0.014447461	2.6%	0.62148662	3.6%
0.8	0.6947494	0.691832668	0.736397407	0.707659828	0.024930166	3.5%	0.795363658	-0.6%
1	0.9205531	0.895872515	0.871828944	0.896084846	0.024362761	2.7%	1.012668488	1.3%
1.2	1.0619306	1.053730732	1.134363209	1.083341502	0.044375897	4.1%	1.228625882	2.4%
1.5	1.2998557	1.29275649	1.343720927	1.312111048	0.027604133	2.1%	1.492458826	-0.5%
2	1.7303089	1.742233622	1.738085394	1.736875969	0.006053664	0.3%	1.982327262	-0.9%

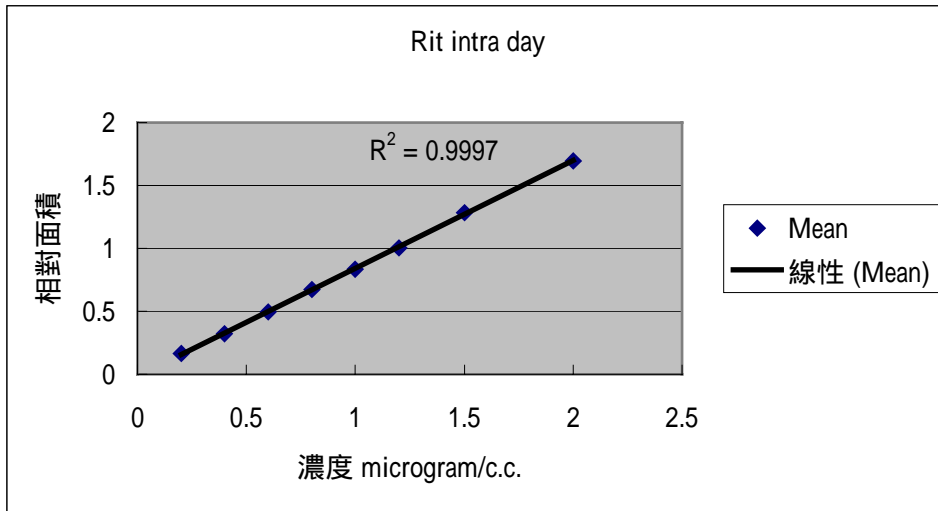
表四、未經處理之 indinavir 在同日內的三個不同時間點的變異係數及誤差 (n=8)



圖七、未經處理之 saquinavir 在同日內的三個不同時間點的校正曲線(n=8)

Saq	早	中	晚					
原濃度	1	2	3Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%	
0.2	0.279263643	0.280738935	0.27778847	0.279263683	0.001475232	0.5%	0.204424692	2.2%
0.4	0.570842517	0.537958671	0.557334258	0.555378482	0.016528933	3.0%	0.400098138	0.0%
0.6	0.868128037	0.856113002	0.872838708	0.865693249	0.008624585	1.0%	0.620007972	3.3%
0.8	1.046626591	1.107888492	1.123166654	1.092560579	0.040506839	3.7%	0.780781361	-2.4%
1	1.332878014	1.405391916	1.282408526	1.340226152	0.061820101	4.6%	0.956293779	-4.4%
1.2	1.704664422	1.718218904	1.738477967	1.720453764	0.017017194	1.0%	1.22574854	2.1%
1.5	2.115983751	2.145585646	2.144335089	2.135301495	0.016741338	0.8%	1.519737436	1.3%
2	2.807895156	2.818172314	2.781981312	2.802682927	0.018650004	0.7%	1.992688631	-0.4%

表五、未經處理之 saquinavir 在同日內的三個不同時間點的變異係數及誤差(n=8)



圖八、未經處理之 ritonavir 在同日內的三個不同時間點的校正曲線(n=8)

Rit	早	中	晚	3Mean	Std	CV%	回推濃度	誤差%
原濃度	1	2						
0.2	0.170255256	0.171395919	0.159484756	0.16704531	0.006572425	3.9%	0.211919307	6.0%
0.4	0.324741515	0.313278302	0.323045471	0.320355096	0.006187076	1.9%	0.390977688	-2.3%
0.6	0.494541651	0.493621693	0.495857146	0.494673497	0.001123544	0.2%	0.59457311	-0.9%
0.8	0.669774306	0.677256948	0.67558414	0.674205131	0.003927306	0.6%	0.804257336	0.5%
1	0.877247352	0.861939759	0.770033019	0.83640671	0.057988626	6.9%	0.993700899	-0.6%
1.2	0.990485824	1.005053357	1.020331743	1.005290308	0.01492437	1.5%	1.190948736	-0.8%
1.5	1.296591294	1.276855417	1.279807497	1.28441807	0.010645151	0.8%	1.5169564	1.1%
2	1.700563445	1.702748291	1.680641694	1.694651143	0.012181621	0.7%	1.996088698	-0.2%

表六、未經處理之 ritonavir 在同日內的三個不同時間點的變異係數及誤差 (n=8)

Ind/I.S.	recovery1	recovery2	recovery3	recovery4	mean	std
0.2	0.126607309	0.584239409	0.397780653	0.107655949	0.30407083	0.229018246
0.4	1.056705433	1.403465277	1.460614917	1.130229026	1.262753664	0.199137713
0.6	1.215486937	1.384491461	1.230585963	1.333681902	1.291061566	0.081474866
0.8	0.985319533	1.113047964	1.016827397	0.991473601	1.026667124	0.059179606
1	0.983503571	0.9150124	0.934239539	0.872798906	0.926388604	0.045916701
1.2	0.868681984	0.915810988	0.885603975	0.855221869	0.881329704	0.026133071
2	1.020046186	0.999114012	1.100252698	0.989205844	1.027154685	0.05039922
Saq/I.S.	recovery1	recovery2	recovery3	recovery4	mean	std
0.2	0.964184603	1.281732207	1.195773864	1.129203923	1.142723649	0.134408183
0.4	0.97318239	1.171707986	1.143002077	0.952863863	1.060189079	0.113112518
0.6	0.946376145	0.854424961	0.850450027	0.836781534	0.872008167	0.050151219
0.8	1.032308448	0.993840665	0.99902139	1.071819399	1.024247475	0.036004614
1	1.000075574	0.883478329	1.000674083	1.01970673	0.975983679	0.062340411
1.2	1.067680623	1.024301692	1.037519246	0.947306632	1.019202048	0.051253127
2	1.100044722	0.948101001	1.037250747	0.926178261	1.002893683	0.080635447
Rit/I.S.	recovery1	recovery2	recovery3	recovery4	mean	std
0.2	1.602508858	1.391474826	1.416371304	1.263899607	1.418563649	0.13963693
0.4	0.978913749	0.937226096	0.938162169	0.942038994	0.949085252	0.019994519
0.6	0.925823541	1.009193916	1.043719972	1.10540804	1.021036367	0.074919626
0.8	0.970878209	0.879190945	0.941665563	0.918162593	0.927474327	0.038743952
1	0.977526684	0.961280099	1.019838897	0.958123887	0.979192392	0.028399795
1.2	1.03605382	0.928420187	0.920769319	0.926647352	0.95297267	0.055483871
2	1.032389492	1.05457915	1.030720814	1.001333293	1.029755687	0.021847236

表七、indinavir、saquinavir、ritonavir 在血漿檢品中的回復率