

- 究进展[J].药物评价研究,2018,41(2):340-344.
- [25] HALL Z, AMENT Z, WILSON C H, et al. Myc expression drives aberrant lipid metabolism in lung cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(16):4608-4618.
- [26] 张海元. 藤黄酸引发结肠癌细胞脂代谢紊乱所产生的 ROS 诱导细胞内保护性自噬发生的机制研究[D]. 华中科技大学, 2014.
- [27] XU J, ZHOU M, OUYANG J, et al. Gambogic acid induces mitochondria-dependent apoptosis by modulation of Bcl-2 and Bax in mantle cell lymphoma JeKo-1 cells[J]. Chin J Cancer, 2013, 25(2):183-191.
- [28] JIANG S, YAN W. Succinate in the cancer-immune cycle[J]. Cancer Lett, 2017, 390:45-47.
- [29] WANG D, DUBOIS R N. Role of prostanoids in gastrointestinal cancer[J]. J Clin Invest, 2018, 128(7):2732-2742.

甲磺酸伊马替尼片在中国健康受试者中的餐后生物等效性研究

苏钰文^{1,2}, 徐玲燕², 徐延², 郑枫³, 肖大伟⁴

(1. 南京医科大学药学院, 南京 211166; 2. 南京医科大学附属逸夫医院临床药理研究中心, 南京 211166; 3. 中国药科大学药学院, 南京 211166; 4. 南京大学医学院附属鼓楼医院, 南京 210008)

摘要 目的 建立测定人体血浆中伊马替尼的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)。并评价甲磺酸伊马替尼片的相对生物利用度和生物等效性。方法 24 例健康受试者随机分为 2 组, 分别餐后口服甲磺酸伊马替尼片受试或参比制剂 400 mg, 采用 UPLC-MS/MS 测定入血浆伊马替尼浓度。采用 WinNonlin 6.4 版统计软件计算药代动力学参数, SAS 9.2 版软件评价两制剂的生物等效性。结果 受试者餐后口服受试或参比制剂后, 血浆中伊马替尼分别在 3.47 (1.98~5.98) 和 2.97 (1.98~6.00) h 达到峰浓度(2 308.3±873.59) 和 (2 119.6±597.20) ng·mL⁻¹; t_{1/2} 分别为 (14.23±1.45) 和 (14.01±1.99) h; AUC_{0-t} 分别为 (39 724.7±18 670.30) 和 (35 294.4±7 991.97) h·ng·mL⁻¹; AUC_{0-inf} 分别为 (40 111.0±19 014.95) 和 (35 595.0±8 048.28) h·ng·mL⁻¹。两种制剂的 C_{max}、AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 经对数转换后 90% 可信区间分别为 95.52%~119.59%、97.07%~119.35% 和 97.10%~119.39%。结论 甲磺酸伊马替尼片受试与参比制剂在餐后条件下具有生物等效性。

关键词 伊马替尼, 甲磺酸; 药理学; 生物等效性; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号 R969.1 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2020)04-0543-06

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2020.04.021

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Bioequivalence Study of Imatinib Mesylate Tablets in Post-prandial Conditions in Healthy Chinese Volunteers

SU Yuwen^{1,2}, XU Lingyan², XU Yan², ZHENG Feng³, XIAO Dawei⁴ (1. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 2. Department of Clinical Pharmacology, the Affiliated Sir Run Run Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; 3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211166, China; 4. The Drum Tower Hospital Affiliated to the Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

ABSTRACT Objective To establish an ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the determination of imatinib in human plasma, and to evaluate the relative bioavailability and bioequivalence of imatinib mesylate tablets in post-prandial conditions in Chinese healthy volunteers. **Methods** Twenty four healthy volunteers were randomly divided into two groups. Each group received a single oral dose of 400 mg imatinib mesylate tablet as a test or reference drug in post-prandial conditions. UPLC-MS/MS was used to determine the concentration of imatinib in plasma. The pharmacokinetic parameters were calculated by the WinNonlin 6.4 statistical software, and the bioequivalence of the two preparations was evaluated by the SAS 9.2 software. **Results** After oral administration of test or reference preparation, imatinib in plasma reached peak concentration (2 308.3±873.59) and (2 119.6±597.20) ng·mL⁻¹ at 3.47 (1.98-5.98) h and 2.97 (1.98-6.00) h, respectively. AUC_{0-t} were (39 724.7±18 670.30) and (35 294.4±7 991.97) h·ng·mL⁻¹; AUC_{0-inf} were (40 111.0±19 014.95) and (35 595.0±8 048.28) h·ng·mL⁻¹. The 90% confidence intervals of C_{max}, AUC_{0-t} and AUC_{0-inf} for two preparations after a logarithmic transformation were 95.52%-119.59%, 97.07%-119.35%, and 97.10%-119.39%, respectively, which were all within the limits of 80.00%-125.00%. **Conclusion** It could therefore be concluded that the test preparation of

imatinib mesylate tablets was bioequivalent to that of Gleevec tablets (reference).

KEY WORDS Imatinib mesylate; Pharmacokinetics; Bioequivalence; UPLC-MS/MS

甲磺酸伊马替尼是高度特异酪氨酸激酶抑制剂^[1],能选择性结合于 c-Kit 受体,血小板衍化生长因子受体, Bcr-Abl 受体及干细胞因子受体等的三磷酸腺苷结合位点,阻止磷酸基团从三磷酸腺苷向蛋白底物的转移,使之不能催化底物酪氨酸残基的磷酸化而激活下游效应分子的信号转导,进而阻止细胞的持续增殖,并恢复细胞的正常凋亡程序^[2]。

甲磺酸伊马替尼片商品名为格列卫[®](Gleevec),由瑞士诺华制药公司研发并于 2001 年经美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准在美国上市^[3-4],主要用于费城染色体阳性的慢性粒细胞白血病加速期、急变期或 α -干扰素治疗失败后的慢性期患者,以及不能手术切除或发生转移的恶性胃肠道间质肿瘤患者,是首个分子靶向型抗癌新药^[4-5]。该品种于 2002 年在中国上市销售。本研究以上市的甲磺酸伊马替尼片(格列卫[®])为参比制剂,考察餐后状态下,中国健康受试者单剂量口服国产甲磺酸伊马替尼片的生物利用度,评价两种制剂的人体生物等效性,为国产甲磺酸伊马替尼片在我国药品监管部门注册和临床用药提供依据。

文献报道人体血浆伊马替尼人体浓度测定方法较多,多为高效液相色谱(HPLC)或高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)方法,但血浆样本用量和预处理方法等方面有较大差异。如杨丽玲等^[6]建立了 HPLC 法同时测定人血浆中伊马替尼和伏立康唑浓度方法,300 μ L 血浆经高氯酸沉淀蛋白后 HPLC 进样分析,线性范围为 310~20 000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$,此方法定量下限远高于人体血浆伊马替尼浓度,难以达到人体血浆中伊马替尼药代动力学或生物等效性研究要求。韩勇等^[7]采用 HPLC-MS/MS 同时检测人血浆中伊马替尼及代谢物,200 μ L 血浆经甲醇沉淀蛋白后进样分析,线性范围达 50~10 000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。ZHANG 等^[8]建立了 HPLC-MS/MS 同时测定人血浆中伊马替尼及其活性代谢物 N-去甲基伊马替尼的方法,200 μ L 血浆经乙腈沉淀蛋白后经 Gemini-NX 3 μm C18 柱分离,线性范围达 10~2000 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。本研究借鉴上述方法并优

化,采用 UPLC-MS/MS,大大缩短了分析时间,同时提高了检测灵敏度;血浆样本以甲基叔丁基醚液液萃取,使用量减少至 50 μ L。本方法的建立和验证为考察甲磺酸伊马替尼片的人体药代动力学和生物等效性提供了分析基础和保证。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂和仪器 甲磺酸伊马替尼片受试制剂,中国某药企生产,规格:每片 100 mg,批号:20160601;甲磺酸伊马替尼片(格列卫[®])参比制剂,瑞士诺华制药有限公司生产,规格:每片 100 mg,批号:WC484。甲磺酸伊马替尼对照品,南京优科制药有限公司提供,批号:20160401,含量 99.9%;内标伊马替尼-d₈,由 TLC Pharmachem 提供,批号 1224-030A2,含量:99.2%;甲醇、乙腈(Merck,色谱纯);甲酸(Dikma,色谱纯);甲基叔丁基醚(Tedia,色谱纯);其他试剂均为色谱纯。Triple Quad-4500 三重四级杆质谱仪,美国 Applied Biosystems/Sciex 公司产品;UPLC 30-AC XR 超高效液相色谱,日本岛津公司产品;XS3DU 百万分之一电子天平, Mettler Toledo 公司。

1.2 受试者选择 本研究经南京大学医院附属鼓楼医院伦理委员会审查并批准,所有受试者对本研究内容知情并自愿签署知情同意书。受试者均进行全面身体检查未发现异常,排除药物依赖史、药物过敏史,受试者在入组前 3 个月内未服用过药品,入组后试验期间禁止饮酒。本研究共入组 24 例健康志愿者,评价餐后(清淡饮食)两种制剂的生物等效性。入住南京大学医院附属鼓楼医院 I 期病房试验期间,统一标准饮食。受试者入选标准:① ≥ 18 周岁男性或女性(女性 ≥ 8 例);② $19 \text{ kg} \cdot (\text{m}^2)^{-1} \leq$ 体质量指数 $< 26 \text{ kg} \cdot (\text{m}^2)^{-1}$;③ 经体格和生命体征检查、实验室检查、心电图及胸片检查,无异常或异常无临床意义者;④ 签署知情同意书。排除标准:① 对试验药物或其辅料过敏者;② 患有神经精神、心血管、消化、肾脏或血液系统疾病或有相应病史者;③ HIV 抗原/抗体阳性,乙肝阳性或丙肝抗体阳性,梅毒螺旋体阳性者;④ 烟酒嗜好者,药物滥用史者,吸毒史者;⑤ 过量饮用浓茶、咖啡及含咖啡因的饮品;⑥ 妊娠期或哺乳期妇女,3 个月内有生育计划者;⑦ 试验前 3 个月有入院史,或经历大型手术,有献血史或失血超过 400 mL,或参加过其他的药物临床试验;⑧ 试验前 14 d 内使用过药物;⑨ 研究者认为不适宜参加该临床试验的其他情况。

1.3 分组、给药方法与血样采集 考虑到甲磺酸伊马替尼片受食物影响较小,且与食物同服可以显著降低药

收稿日期 2019-08-24 修回日期 2019-10-16

作者简介 苏钰文(1984-),男,江苏高邮人,博士,研究方向:临床药理学。ORCID: 0000-0001-6730-8219。电话: 025-86868478, E-mail: suyuwen@njmu.edu.cn。

通信作者 肖大伟,男,主任药师,研究方向:临床药理学。E-mail: david_99_cool@126.com。

物胃肠道不良反应,因此本研究拟采用餐后(清淡饮食)条件下进行生物等效性研究。本试验为单中心、随机、开放、两周期交叉、餐后单次给药试验,采用 2×2 交叉试验设计,清洗期为 14 d。试验前 1 d,采用简单随机的方法将 24 例受试者分配到 TR 组和 RT 组,每组 12 例。受试者于给药前一天至少空腹 10 h 后,于给药前 0.5 h 进食标准餐(清淡饮食)后,以 240 mL 温水口服受试或参比制剂 4 片(每片 100 mg)。所有受试者于 0 h(给药前)和给药后 1, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72 和 96 h 臂静脉取血 4 mL 于 K_2 -EDTA 抗凝采血管,分离血浆 -80 °C 冰箱保存待测。

1.4 测定方法

1.4.1 色谱条件 色谱柱: ZIC[®]-HILIC (150 mm \times 4.6 mm, 5 μ m, 200 A, Merck 公司); 柱温 40 °C; 进样量: 5.0 μ L; 流速: 0.4 mL \cdot min⁻¹; 流动相 A 相: 0.4% 甲酸水溶液(氨水调节 pH 值至 3.2); B 相: 乙腈; 梯度洗脱(A 相: B 相): 30: 70, 0.0 ~ 2.0 min; 30: 70-50: 50, 2.0 ~ 2.1 min; 50: 50, 2.1 ~ 3.1 min; 50: 50-5: 95, 3.1 ~ 3.2 min; 5: 95, 3.2 ~ 4.1 min; 5: 95-30: 70, 4.1 ~ 4.2 min; 30: 70, 4.2 ~ 5.5 min。

1.4.2 质谱条件 采用正离子电喷雾离子源(ESI), 多反应监测模式。喷雾电压: 5000 V, 气帘气: 35 psi, 碰撞气: 8 psi, 电离温度: 500 °C, 雾化气(Gas 1): 50 psi, 辅助气(Gas 2): 50 psi。伊马替尼和内标伊马替尼-d₈检测离子对、去簇电压和碰撞能分别为 m/z 494.3 \rightarrow 217.3, m/z 502.3 \rightarrow 225.2; 170 V, 170 V; 35 eV, 35 eV。

1.4.3 血浆样本处理 精密量取血浆样本 50 μ L, 加入 20 μ L 伊马替尼-d₈内标溶液(1 μ g \cdot mL⁻¹), 混匀后加入 650 μ L 甲基叔丁基醚, 涡旋 3 min, 4 °C 条件下 10 000 r \cdot min⁻¹离心 5 min, 取上清液 200 μ L 至 96 孔板中, 35 °C 氮气流下吹干。300 μ L 乙腈水溶液(7 :

3)复溶, 4 000 r \cdot min⁻¹离心 5 min, 取上清液 5 μ L UPLC-MS/MS 进样分析。

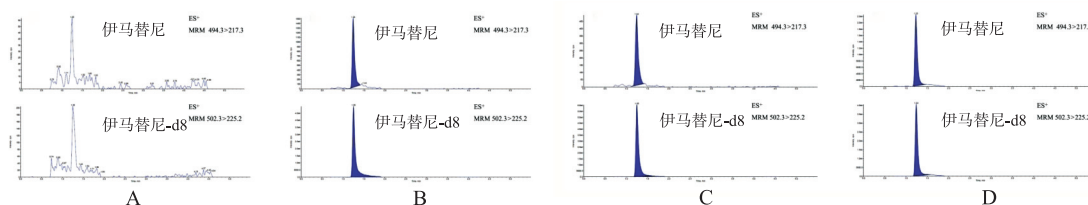
2 结果

2.1 方法学验证及结果

2.1.1 专属性 分别取 6 份不同来源的空白血浆; 伊马替尼(15.0 ng \cdot mL⁻¹) 和内标工作液以流动相稀释后; 空白血浆加入伊马替尼(5.00 ng \cdot mL⁻¹) 和内标工作液; 3 名受试者第一周期给药后 36 h 血浆样本按“1.4.3”项下处理后 UPLC-MS/MS 分析, 得色谱图 1。伊马替尼及内标伊马替尼-d₈保留时间分别为 1.24 min 和 1.25 min。空白血浆中伊马替尼和内标伊马替尼-d₈保留时间峰面积分别小于定量下限浓度水平伊马替尼峰面积的 20%, 伊马替尼-d₈峰面积的 5%。表明, 空白血浆中内源性物质不存在干扰。

2.1.2 标准曲线与定量下限 取浓度分别为 50.00, 100.00, 500. 0, 2 500, 5 000, 10 000, 15 000 和 25 000 ng \cdot mL⁻¹伊马替尼工作液各 5 μ L 于 eppendorf 离心管, 35 °C 氮气流下吹干后, 分别加入空白血浆 50 μ L, 涡旋混匀后, 配制成相当于伊马替尼血浓度分别为 5.00, 10. 0, 50.0, 250, 500, 1 000, 1 500 和 2 500 ng \cdot mL⁻¹的样品。每分析批 2 条标准曲线, 至少 3 个分析批, 按“1.4.3”项下操作, 内标法定量, 以待测物浓度(X)与待测物和内标峰面积比值(Y), 使用加权最小二乘法($1/X^2$)回归分析, 得回归方程: $Y = 0.00167 (\pm 0.00004) X - 0.000579 (\pm 0.000306)$, $r = 0.996 (\pm 0.001)$, 表明伊马替尼在 5.00 ~ 2500 ng \cdot mL⁻¹范围内线性关系良好。该法测定血浆中伊马替尼的定量下限(lower limit of quantitation, LLOQ)为 5.00 ng \cdot mL⁻¹。

2.1.3 准确度与精密度 取空白血浆 50 μ L, 按“2.1.2”项下的方法配置伊马替尼 LLOQ、低(QCL)、中(QCM)、高(QCH)浓度(5, 15, 150, 2 000 ng \cdot mL⁻¹)质控样品, 每一浓度各 6 份, 连续测定 3 个分析批, 根



A. 空白血浆; B. 流动相中加入伊马替尼和内标伊马替尼-d₈溶液; C. 定量下限样品; D. 3 号受试者给药 400 mg 甲磺酸伊马替尼片后 36 h 样品。

图 1 伊马替尼 UPLC-MS/MS 色谱图

A. blank plasma; B. mobile phase spiked with imatinib and internal standard(IS); C. sample of lower limit of quantitation; D. sample at 36 h after oral administration of 400 mg imatinib mesylate tablet.

Fig.1 Typical UPLC-MS/MS chromatograms of imatinib

据当日标准曲线计算 QC 样本的测得浓度,并与理论浓度对比。计算测定方法的准确度及日内和日间精密度的,结果表明,日内和日间方法的准确度偏差分别在-19.80%~10.50%和-19.80%~12.50%范围内,日内、日间 RSD 均<15%,符合生物等效性研究的方法学要求,结果见表 1。

表 1 伊马替尼的准确度和精密度

标示浓度/ (ng · mL ⁻¹)	准确度/%		精密度 RSD/%	
	日内	日间	日内	日间
	(n=6)	(n=18)	(n=6)	(n=18)
5(LLOQ)	4.17±0.19	4.57±0.55	4.62	11.99
15(QCL)	14.64±0.52	14.63±0.66	3.57	4.52
150(QCM)	146.33±6.25	139.39±8.07	4.27	5.79
2000(QCH)	2 031.67±100.08	2 036.67±96.04	4.93	4.72

2.1.4 提取回收率与基质效应 提取回收率考察中,取空白血浆 50 μL,按“2.1.2”项下的方法配置伊马替尼低、中、高(15.0,150,2 000 ng · mL⁻¹)浓度样本;另用流动相配置相同浓度的伊马替尼,每一浓度各 6 份。以血浆样品测定的峰面积除以同浓度标准溶液峰面积所得的百分率计算提取回收率。结果显示,伊马替尼低、中、高浓度提取回收率(%)分别为(101.70±5.03)%、(100.67±6.02)%和(94.30±3.86)%,内标提取回收率(%)为(100.98±10.87)%,且 RSD 均<15.0%。基质效应考察中,分别使用 6 份不同来源的空白血浆(空白血浆除不加内标外,按“1.4.3”项下处理后加入含伊马替尼和内标流动相复溶)与流动相配置相同浓度的伊马替尼 LQC、HQC(15.0,2 000 ng · mL⁻¹)质控样品,分别计算含基质与不含基质(待测物纯溶液)待测物和内标各自基质因子,并以此计算内标归一化后的基质因子,以归一化基质因子的变异程度评价分析方法的基质效应。结果见表 2,待测物经内标归一化的基质因子的 RSD%均小于 15%,表明无明显基质效应。

2.1.5 稳定性实验 伊马替尼溶液稳定性分别考察了伊马替尼储备液(1.00 mg · mL⁻¹)和工作液(250 ng · mL⁻¹)在室温下放置约 19 h 的稳定性(CV%,7.48%),于-20℃下放置约 32 d(CV%,-0.89%)和 61 d 的稳定性(CV%,3.32%)。结果表明,伊马替尼溶液稳定性良好。同时考察了伊马替尼-d₈内标工作溶液(1.00 μg · mL⁻¹)在室温下放置约 20 h 的稳定性(CV%,-4.41%)。结果表明,伊马替尼-d₈内标工作溶液室温稳定性良好。伊马替尼血浆基质稳定性分别考察了低、高浓度(15.0,2000 ng · mL⁻¹)血浆

样本在室温下放置约 19 h 稳定性,处理后样品在自动进样器放置 67 h 稳定性,血浆样品 3 次冻融循环(-20℃~室温和-80℃~室温)稳定性,血浆样品于-20℃和-80℃条件下长期存储约 32 d 和 60 d 的稳定性。结果表明,伊马替尼在血浆基质中各种储存条件下稳定性均良好。

表 2 伊马替尼的提取回收率与基质效应

待分析物与标示 浓度/(ng · mL ⁻¹)	提取回收率 (%,n=6)	基质效应(%,n=6)	
		基质因子	内标归一化后的 基质因子
伊马替尼			
15(QCL)	101.70±3.38	138.50±19.75	113.83±9.00
150(QCM)	100.67±6.32	-	-
2000(QCH)	94.30±4.08	115.47±12.81	103.22±5.77
伊马替尼-d ₈ (IS)			
400	100.98±11.10	116.84±12.35	-

2.2 人口学资料 本研究共入组 24 例健康受试者(男 15 例,女 9 例)。受试者年龄(24.7±4.5)岁,身高(166.04±8.37)cm,体质量(62.25±8.86)kg,BMI(22.48±1.68)kg · (m²)⁻¹。

2.3 血药浓度-时间曲线 24 例受试者餐后口服甲磺酸伊马替尼片受试制剂和参比制剂 400 mg 后血浆中伊马替尼的平均血药浓度-时间曲线见图 2。

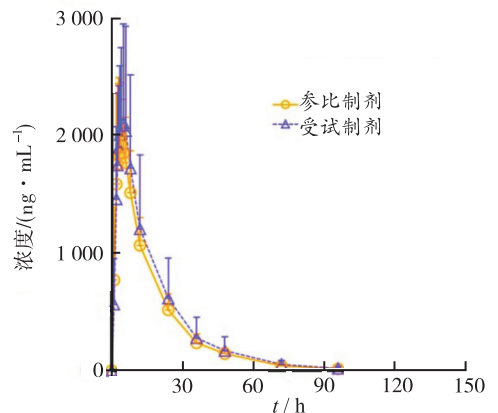


图 2 24 例受试者餐后口服甲磺酸伊马替尼片受试和参比制剂 400 mg 后伊马替尼平均血药浓度-时间曲线

Fig.2 Mean plasma concentration vs. time curves of imatinib after a single oral dose of test and reference formulations at 400 mg in 24 healthy volunteers under fed conditions

2.4 主要药动学参数 受试者餐后口服甲磺酸伊马替尼片受试和参比制剂 400 mg 后,血浆中伊马替尼主要药动学参数见表 3。以参比制剂为标准对照,受试

制剂的相对生物利用度为 107.44%。

2.5 生物等效性评价 甲磺酸伊马替尼片受试与参比制剂餐后给药后的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 的几何均值的比值分别为 106.88%, 107.64% 和 107.67%, 90% CI 分别为 95.52% ~ 119.59%, 97.07% ~ 119.35% 和 97.10% ~ 119.39%。受试和参比制剂血浆中伊马替尼的药代动力学参数 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 的几何均值比值的 90% CI 皆在生物等效性评价接受的 (80.00% ~ 125.00%) 范围内, 符合生物等效性判断标准, 说明受试制剂甲磺酸伊马替尼片 (规格: 100 mg) 与参比制剂甲磺酸伊马替尼片 (规格: 100 mg, 商品名: 格列卫®) 具有生物等效性, 见表 4。

2.6 不良反应观察 整个试验过程由研究医生和护士进行观察, 相关人员均经过 GCP 培训并考核合格。试验期间, 用药后受试制剂共有 7 例受试者发生不良事件 (29.17%, 7/24), 4 例受试者发生不良反应, 包括 1 例腹泻, 1 例头晕和恶心, 2 例恶心。服用参比制剂共有 7 例受试者发生不良事件 (29.17%, 7/24), 5 例受试者发生不良反应, 包括 1 例丙氨酸氨基转移酶升高, 2 例恶心, 1 例恶心、呕吐、腹泻和胃痛, 1 例头痛和恶心。受试和参比制剂不良事件严重程度多为 1 级, 未发生严重不良事件。受试制剂与参比制剂相比安全性相当, 总体耐受性良好。

3 讨论

本试验采用 UPLC-MS/MS 法测定人体血浆中伊

马替尼的浓度, UPLC 超高效液相分离系统使伊马替尼和内标伊马替尼- d_8 的保留时间分别为 1.24 和 1.25 min, 可快速、准确地测定人血浆中伊马替尼的浓度。血浆样本前处理采用甲基叔丁基醚液液萃取法简单快速, 且药物和内标的回收率高 (约 100%), 线性范围达 5 ~ 2 500 ng · mL⁻¹ (定量下限为 5 ng · mL⁻¹), 较文献报道检测方法^[6-8] 极大缩短了分析时间, 同时显著提高了检测灵敏度, 能满足人体血浆中伊马替尼浓度测定要求。伊马替尼结构中含吡啶环、哌啶环和氮原子等极性较大基团, 常规 C₁₈ 色谱柱不易保留, 文献报道有采用 Waters XTerra RP18 色谱柱^[8-9]、Hypersil Gold® PFP (五氟苯基) 色谱柱^[10], 其单价高且使用寿命较短, 增加了分析成本, 本文选用 ZIC®-HILIC 亲水作用色谱柱以梯度方式洗脱, 色谱柱使用寿命长且有效改善了基质效应, 同时采用伊马替尼- d_8 氘代内标, 极大提高了方法耐用性。在流动相选择上, 乙腈和 0.4% 甲酸水 (pH 值 3.2) 溶液作流动相以梯度方式洗脱, 具有更好的分离度和响应, 适用于伊马替尼人体血浆浓度测定, 也与 WOJNICZ 等^[11] 报道方法相似。

餐后状态下, 格列卫® (400 mg) 药动学参数已有较多报道, KIM 等^[12] 在韩国受试者中开展了等效性研究, 给予 400 mg 格列卫® 后药动学参数分别为 T_{max} : 3 (1.5 ~ 5) h, C_{max} : (1 792 ± 357) ng · mL⁻¹, AUC_{0-t} : (28 485 ± 6 274) h · ng · mL⁻¹, AUC_{0-inf} : (29 079 ± 6371) h · ng · mL⁻¹; OS-TROWICZ 等^[13] 比较了两种规格 (100 mg, 400 mg) 受试制

表 3 24 例受试者餐后口服甲磺酸伊马替尼片受试和参比制剂 400 mg 后伊马替尼的主要药动学参数

Tab.3 Main pharmacokinetic parameters of imatinib after a single oral dose of test and reference formulations at 400 mg in 24 healthy volunteers after dinner

项目	t_{max}		$t_{1/2}$	C_{max} / (ng · mL ⁻¹)	AUC_{0-t}		AUC_{0-inf}
	h				(h · ng · mL ⁻¹)		
受试制剂	3.47 (1.98, 5.98)		14.23 ± 1.45	2 308.3 ± 873.59	39 724.7 ± 18 670.30		40 111.0 ± 19 014.95
参比制剂	2.97 (1.98, 6.00)		14.01 ± 1.99	2 119.6 ± 597.20	35 294.4 ± 7 991.97		35 595.0 ± 8 048.28

备注: 除 T_{max} 以中位数 (最小值, 最大值) 表示外, 其他以均值 ± 标准差表示。

Note: T_{max} is expressed in median (minimum, maximum), Others are expressed as mean ± standard deviation.

表 4 甲磺酸伊马替尼片受试和参比制剂生物等效性评价结果

Tab.4 Bioequivalence assessment on test and reference formulation of imatinib mesylate tablets

参数值 (以 log 值计算)	几何均值 (n=23)		T/R 比值	90% CI	变异系数	Power 值
	受试制剂	参比制剂				
C_{max} / (ng · mL ⁻¹)	2 196.2	2 054.9	106.88	95.52 ~ 119.59	22.40	76.05
AUC_{0-t} / (h · ng · mL ⁻¹)	37 200.2	34 560.2	107.64	97.07 ~ 119.35	20.55	79.03
AUC_{0-inf} / (h · ng · mL ⁻¹)	37 528.8	34 856	107.67	97.10 ~ 119.39	20.56	78.89

有 1 例受试者在第 2 周期给药后 6 h 内呕吐, 未纳入等效性评价。

One subject vomitted within 6 hours after drug administration in the second cycle, and was not included in the bioequivalence analysis.

剂和格列卫®(100 mg,400 mg)在白种人中生物等效性,给予格列卫®400 mg 后药动学参数分别为 T_{max} : (4.0 ± 1.38) h, C_{max} : $(1\ 439\pm 459)$ ng·mL⁻¹, AUC_{0-1} : $(24\ 149\pm 778)$ h·ng·mL⁻¹, AUC_{0-inf} : $(24\ 304\pm 7\ 957)$ h·ng·mL⁻¹。本试验评价甲磺酸伊马替尼片受试制剂(400 mg,100 mg/片*4)和参比制剂(格列卫®,400 mg,100 mg/片*4,瑞士诺华制药有限公司)餐后条件下的生物等效性。结果表明,伊马替尼药动学参数与文献报道较为一致^[12-13]。

安全性评价方面,最常见的不良事件有胃肠道系统如:恶心、腹泻、口腔溃疡、呕吐和胃肠痛等;神经系统如头痛、头晕;及其他如丙氨酸氨基转移酶升高、尿蛋白酶、尿酮体和尿潜血阳性、穿刺部位反应等。受试制剂与参比制剂均无严重不良事件发生,未发生因不良事件而中止试验的情况,与文献报道基本一致^[13-15]。本试验安全性评价结果表明,餐后状态下给予 400 mg (100 mg/片*4)甲磺酸伊马替尼片受试与参比制剂的人体耐受性均良好,有较好的安全性,两制剂的不良事件发生情况也类似。本研究的结果可为我国甲磺酸伊马替尼片生物等效性和药代动力学研究提供参考依据。

参考文献

- [1] 彭敏,宋启斌.非小细胞肺癌表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂治疗的现状与挑战[J].医药导报,2018,37(5):536-541.
- [2] BUCHDUNGER E,CIOFFI C L,LAW N,et al.Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits *in vitro* signal transduction mediated by c-Kit and platelet-derived growth factor receptors[J].J Pharmacol Exp Ther,2000,295(1):139-145.
- [3] FDA approves Novartis' Gleevec.Expert Rev Anticancer Ther.2001 Jun;1(1):3.
- [4] FDA approves Gleevec for leukemia treatment. FDA Consun.2001 Jul-Aug;35(4):6.
- [5] COHEN M H,MOSES M L,PAZDUR R.Gleevec for the treatment of chronic myelogenous leukemia; US. Food and Drug Administration regulatory mechanisms, accelerated approval, and orphan drug status[J].Oncologist,2002,7(5):390-392.
- [6] 杨丽玲,黄卫娟,韦卓纯,等.HPLC 法同时测定人血浆中伊马替尼和伏立康唑浓度[J].今日药学,2018,28(4):242-245.

- [7] 韩勇,周红,张鹏,等.高效液相色谱串联质谱法同时检测人血浆伊马替尼及代谢物[J].中国医院药学杂志,2017,37(21):2122-2126.
- [8] ZHANG M,MOORE G A,FERNYHOUGH L J,et al.Determination of imatinib and its active metabolite N-desmethyl imatinib in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J].Anal Bioanal Chem,2012,404(6-7):2091-2096.
- [9] ZHUANG W, QIU H B, CHEN X M, et al. Simultaneous quantification of imatinib and its main metabolite N-demethyl-imatinib in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to therapeutic drug monitoring in patients with gastrointestinal stromal tumor[J].Biomed Chromatogr,2017,31(12):1-11.
- [10] ANDRIAMANANA I,GANA I,DURETZ B, et al. Simultaneous analysis of anticancer agents bortezomib, imatinib, nilotinib, dasatinib, erlotinib, lapatinib, sorafenib, sunitinib and vandetanib in human plasma using LC/MS/MS[J].J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2013,926:83-91.
- [11] WOJNICZ A,COLOM-FERNÁNDEZ B,STEEGMANN J L, et al. Simultaneous Determination of Imatinib, Dasatinib, and Nilotinib by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Its Application to Therapeutic Drug Monitoring[J].Ther Drug Monit,2017,39(3):252-262.
- [12] KIM K A,PARK S J,KIM C, et al. Single-dose, randomized crossover comparisons of different-strength imatinib mesylate formulations in healthy Korean male subjects[J].Clin Ther,2013,35(10):1595-1602.
- [13] OSTROWICZ A,MIKOŁAJCZAK P L,WIERZBICKA M, et al. Bioequivalence study of 400 and 100 mg imatinib film-coated tablets in healthy volunteers[J].Acta Pol Pharm,2014,71(5):843-854.
- [14] KIM K A,PARK S J,KIM C, et al. Single-dose, randomized crossover comparisons of different-strength imatinib mesylate formulations in healthy Korean male subjects[J].Clin Ther,2013,35(10):1595-1602.
- [15] PARRILLO-CAMPIGLIA S,ERCOLI M C, UMPIERREZ O, et al. Bioequivalence of two film-coated tablets of imatinib mesylate 400 mg: a randomized, open-label, single-dose, fasting, two-period, two-sequence crossover comparison in healthy male South American volunteers [J]. Clin Ther,2009,31(10):2224-2232.