

· 论 著 ·

比卡鲁胺片人体生物等效性研究

孙莹莹, 韦 阳, 王恪申, 邵庆翔

[摘要] 目的 研究国产比卡鲁胺片在健康人体的药代动力学特征,比较其与同规格进口片剂的生物等效性。方法 20名健康男性志愿者单剂量交叉口服两种比卡鲁胺片,在每次服药前,服药后1、3、4、6、9、12、16、20、24、28、32、36、40、48 h、3、7、14、21、28 d分别采集血样,用HPLC法测定血浆中药物浓度,用3P97软件拟合药代动力学参数,并用SAS软件进行等效性检验。结果 试验组口服国产比卡鲁胺片50 mg后,平均 C_{max} 为691.50 $\mu\text{g/L}$,平均 T_{max} 为20.65 h,平均 $AUC_{0-\infty}$ 为148 124 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$,平均消除半衰期为127.46 h;对照组口服进口比卡鲁胺片Casodex 50 mg后,平均 C_{max} 为697.30 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,平均 T_{max} 为24.10 h,平均 $AUC_{0-\infty}$ 为153 782 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$,平均消除半衰期为131.06 h。统计分析表明两种制剂生物等效,受试制剂与参比制剂的相对生物利用度为99.43%。结论 两种比卡鲁胺片剂具有生物等效性。

[关键词] 比卡鲁胺;生物等效性;高效液相色谱法

[中图分类号] R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-0440(2010)01-0043-04

Bioequivalence of bicalutamide tablet in healthy volunteers

SUN Ying-ying, WEI Yang, WANG Ke-shen, SHAO Qing-xiang

(Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

[Abstract] **Objective** To study the pharmacokinetic characteristics and bioequivalence of bicalutamide tablets in healthy volunteers. **Methods** A single oral dose of 50 mg bicalutamide test(domestic) or control(import) tablets was given to 20 healthy volunteers in an open randomized cross-over study. The concentrations of bicalutamide were determined with HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated with 3P97 and the bioequivalent test was performed with SAS. **Results** The main pharmacokinetic parameters of the test and control drug were as follows: C_{max} , 691.50 vs 697.30 $\mu\text{g/L}$; T_{max} , 20.65 vs 24.10 h; $AUC_{0-\infty}$, 148 124 vs 153 782 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$; $t_{1/2}$, 127.46 vs 131.06 h, respectively. The relative bioavailability was 99.43%. **Conclusion** The test bicalutamide tablet is bioequivalent to the control formulation.

[Key words] bicalutamide; bioequivalence; high performance of liquid chromatography

比卡鲁胺(bicalutamide)是一种单纯的非甾体抗雄激素药物,未观察到与其他类固醇激素受体具有亲和性,通过与二氢睾酮竞争性结合靶组织中胞液雄激素受体而抑制雄激素作用^[1]。本品是消旋体,仅(R)-对映体具有抗雄激素活性,(S)-对映体基本没有活性。比卡鲁胺可阻止雄激素作用和(或)消除雄激素的来源,临床上该药与促黄体激素释放激素(LHRH)类似物联合用药,LHRH类似物诱导的血清睾酮抑制不受影响。

本研究的目的是评价浙江海正药业股份有限公司的50 mg国产比卡鲁胺片和50 mg进口比卡鲁胺

片Casodex的生物等效性。

1 对象与方法

1.1 药品与试剂

试验药:国产比卡鲁胺片,规格50 mg/片,浙江海正制药股份有限公司,批号040301;对照药:Casodex片,规格50 mg/片,AstraZeneca公司,批号BM 294;比卡鲁胺对照品:浙江海正制药股份有限公司提供,纯度99.6%;乙腈、甲醇、甲基叔丁基醚:HPLC级,Tedia公司;双重蒸馏水自制。

1.2 仪器

HPLC系统:LC-10ADvp双泵、SPD-14A检测器、DGU-14A脱气仪、7125手动进样阀和Shim-pack VP ODS柱(150 mm×4.6 mm),日本岛津公司;AT-330柱温箱,天津奥特赛恩斯公司;浙江大学N2000色谱工作站,赛智科技杭州有限公司;GPR离心机,美国Beckman公司;AE100电子分析天平,瑞士梅特勒-托利多公司;4721-00多管涡旋器,美国Cole-Parmer公司;可调节加样器,芬兰Finnpipette公司;

基金项目:浙江省科技厅创新服务项目(2007F30013)

作者简介:孙莹莹,女,在读硕士研究生,研究方向:药代动力学,Tel:0571-88215617,E-mail:syy9291@163.com

作者单位:310013 杭州,浙江省医学科学院药物所药代动力学研究室(孙莹莹,韦 阳,王恪申,邵庆翔)

通讯作者:韦 阳,女,博士,副研究员,研究方向:主要从事临床药理学与药代动力学研究,E-mail:weiyang56@hotmail.com,Tel:0571-88215617

可调节连续加样器,德国 Eppendorf 公司。

1.3 研究对象

试验方案经浙江省医学科学院医学伦理委员会批准。受试对象为 20 名健康男性志愿者,平均年龄 (22.0 ± 1.1) 岁,平均体重为 (64.0 ± 8.1) kg,平均身高为 (170.8 ± 8.1) cm。志愿者在签署知情同意后,由医师询问一般病史并进行体检,并作临床血液学、血液生化和尿常规检查,合格者方可进入试验。

1.4 试验设计

采用随机、开放、双周期交叉设计。所有参试对象根据计算机产生的分组表分为 2 组,先后服药 2 次,两次服药的间隔洗净期为 5~8 周。受试对象在每次服药前 8 h 和服药后 3 h 禁食。在服药前 2 h 受试对象饮 250 ml 温开水。在上午 7:00 左右用 250 ml 温开水送服药物,记录确切的服药时间。在不同时间取血样(5 ml)置于抗凝试管内,30 min 内离心分离血浆。取血时间如下:给药前(空白),服药后 1、3、4、6、9、12、16、20、24、28、32、36、40、48 h, 3、7、14、21、28 d。在两次服药结束后做 1 次一般体检和血液学、血液生化及尿常规检查。所有受试对象都纳入安全性评价范围。

1.5 色谱条件

色谱柱:岛津 Shim-pack VP-ODS 色谱柱 $(5 \mu\text{m}, 150 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm})$,检测波长:270 nm;柱温:35°C;流速:1.0 ml/min;灵敏度:0.01 AUFS;流动相:乙腈:水(50:50, V/V)。

1.6 血浆样品的预处理方法

将冷冻血浆置于室温条件下使其融化,涡旋 20 s 混匀,2000 × g 离心 5 min,精密吸取 0.5 ml 至编号聚丙烯试管中,在试管中加入 5 ml 甲基叔丁基醚,涡旋 2 min,2000 × g 条件下离心 10 min,然后将试管置于 -70°C 条件下冷冻 5 min 使血浆层冻结,将上层有机相倾入 5 ml 玻璃小瓶中,40°C 水浴条件下氮气吹干,残渣用 200 μl 重组液(乙腈:水 = 1:4, V/V)重组,取 20 μl 进样。每批样品处理时均带高、中、低 3 种浓度的随行质控。

1.7 方法验证

1.7.1 方法专属性 取空白健康人血浆,按血浆样品处理方法项下操作,得色谱图 A;将一定浓度的比卡鲁胺标准溶液加入空白血浆,同法操作,得色谱图 B;取口服比卡鲁胺片后的血浆样品,依法操作,得色谱图 C。结果表明,空白血浆中内源性物质不干扰比卡鲁胺的测定。

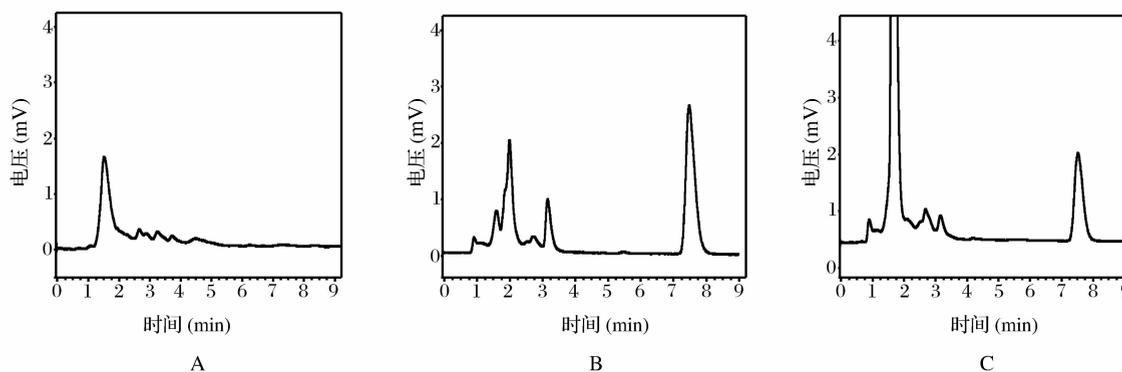


图1 比卡鲁胺的 HPLC 色谱图

Fig 1. HPLC chromatographs of bicalutamide. A: Blank plasma, B: Blank plasma + reference substance, C: Volunteer plasma sample after oral administration of bicalutamide. The figures show that the components of blank plasma don't interfere with the analysis of bicalutamide in optimized chromatographic condition

1.7.2 线性范围 配制比卡鲁胺标准血浆溶液 5.0、10.0、50.0、200.0、400.0、800.0、1200.0 μg/L 各 5 份,处理后进行分析,以样品的色谱峰面积为定量依据,以待测样品峰面积(Y)对样品浓度(X)进行线性回归,得线性方程。研究表明,在 5~1200 μg/L 范围内,比卡鲁胺样品峰面积与样品浓度呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = 198.4X + 9.47$ ($r = 0.9985$)。最低定量浓度为 5 μg/L。

1.7.3 回收率与精密度 日内精密度:在同一天内分别对线性范围内不同浓度标准血样进行测定,结果表明不同浓度平均回收率良好;日内变异系数均 < 10%。日间精密度:对 900、200、10 μg/L 3 种浓度比卡鲁胺标准质控在不同日期共进行 9 次测定,结果表明,对高、中、低 3 种浓度的平均回收率分别为 100.25%、92.28% 和 103.63%。日间变异系数均小于 10%。

1.7.4 稳定性 将含药血浆样品置 -20℃ 低温冰箱内冷冻保存,在 90 d 内不同时间(1、5、10、20、30、60、90 d)取样测定浓度,高、中、低 3 种浓度的测定变异系数均在 8% 以内,说明比卡鲁胺在 -20℃ 低温条件下放置 90 d 稳定。

2 数据处理和分析

2.1 药代动力学参数的计算

取可检测到药物的最后 3~5 个时间点浓度 C 的自然对数值 $\ln C$ 对相应时间 t 进行线性回归,分别求得在人体内的末端相消除速率常数 λ ; 用梯形法计算浓度时间曲线下面积 AUC_{0-t} 值; $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + Ct/\lambda$, 血药峰浓度 C_{max} 和达峰时间 T_{max} 取观测值。

2.2 生物等效性统计方法

评价两种制剂生物等效性的主要分析参数为经对数转换的 $AUC(\ln AUC)$, 其次是 $\ln C_{max}$ 和 T_{max} ; 采用适用于标准 2×2 交叉试验的方差分析方法分析 $\ln AUC$ 和 $\ln C_{max}$, 根据方差分析得出均方差, 参照 t -分布计算均值比率的 90% 可信区间; 生物等效标准是两制剂 AUC 比值的 90% 可信限范围为 0.8 ~ 1.25, C_{max} 比值的 90% 可信限范围为 0.7 ~ 1.43; 采用 Wilcoxon 秩和检验评价 T_{max} 。统计分析用 SAS 软件。

3 结果

3.1 血药浓度-时间数据

20 名受试对象单剂量口服浙江海正比卡鲁胺片和进口 Casodex 片后平均药物浓度-时间曲线见图 2。

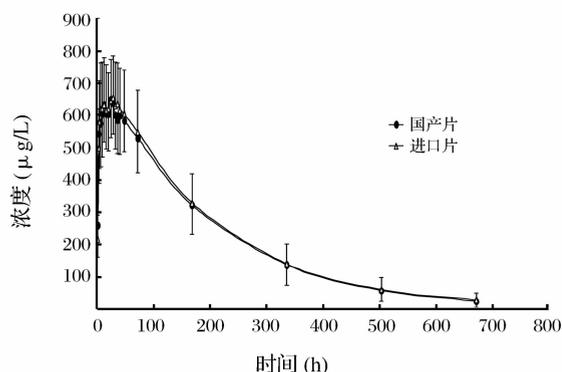


图 2 20 名健康受试者口服国产比卡鲁胺片和进口 Casodex 片后的平均血药浓度-时间曲线

Fig 2. Mean plasma concentration-time curves. The figure shows characteristics of absorption and metabolism after single oral dose of the test and control tablets in volunteers.

3.2 主要药代动力学参数和相对生物利用度

口服浙江海正产比卡鲁胺分散片 50 mg 后, C_{max} 为 691.50 $\mu\text{g/L}$, T_{max} 为 20.65 h, $AUC_{0-\infty}$ 为 148 124 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$, 平均消除半衰期为 127.46 h; 口服 Casodex 片 50 mg 后, 平均 C_{max} 为 697.30 $\mu\text{g/L}$, T_{max} 为 24.10 h, $AUC_{0-\infty}$ 为 153 782 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$, 平均消除半衰期为 131.06 h。口服浙江海正比卡鲁胺片相对于 Casodex 片的相对生物利用度为 99.43% (表 1)。

表 1 口服国产比卡鲁胺片和 Casodex 片的药代动力学参数
Tab1. Pharmacokinetic parameters after oral administration of the control or test tablets

药代动力学参数	国产比卡鲁胺	Casodex
C_{max} ($\mu\text{g/L}$)	691.5 \pm 122.6	697.3 \pm 138.2
T_{max} (h)	20.6 \pm 12.4	24.1 \pm 15.7
AUC_{0-t} ($\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$)	143 251 \pm 37 799	147 675 \pm 40 570
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$)	148 124 \pm 41 136	153 782 \pm 45 335
$t_{1/2}$ (h)	127.46 \pm 22.87	131.06 \pm 33.91
MRT(h)	184.86 \pm 37.02	189.96 \pm 46.22

3.3 生物等效性评价

单次口服浙江海正比卡鲁胺片 50 mg 和 Casodex 片 50 mg 后, 比卡鲁胺浓度时间曲线下面积 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值分别为 143 304 和 147 145 $\mu\text{g} \cdot \text{h/L}$, 比率为 0.97, 90% 可信限为 0.90 ~ 1.06, 在 0.8 ~ 1.25 等效范围内; 血药峰浓度 C_{max} 几何均值为 681.52 $\mu\text{g/L}$, 比率为 1.00, 90% 可信限为 0.93 ~ 1.08, 在 0.7 ~ 1.43 等效范围内; 非参数检验表明两制剂的 T_{max} 没有显著差异 ($Z = 0.5180$, $P = 0.6045$); 统计分析表明两种制剂生物等效。相对生物利用度为 (99.43 \pm 21.29)%。

3.4 安全性评价

研究过程中未发现与试验药物有关的临床不良反应, 实验室检查指标也未发现有临床意义的改变。

4 讨论

前列腺癌是一种雄激素依赖性肿瘤, 雄激素 (睾酮) 弥散到前列腺上皮细胞中, 迅速转变为高代谢活性的双氢睾酮, 与雄激素受体相结合后, 转移到前列腺细胞核内, 进而激活前列腺癌细胞分裂^[2]。临床上通过外科的阉割法或服用雌激素方法切断主要由睾丸产生的睾酮, 从而消除体循环中约 90% 以上的睾酮以达到治疗的目的。但是这些治疗方法无法抑制肾上腺产生的雄激素, 睾酮减少

还带来性欲减退和阳痿等不良反应,因此能抑制肾上腺产生雄激素和活性睾酮(即 5α -二氢睾酮)、与雄激素受体结合的竞争性抑制剂比卡鲁胺倍受瞩目^[3],临床应用显示比卡鲁胺耐受性良好,不良反应较少。

本文建立的测定血浆中比卡鲁胺浓度的 HPLC 方法,操作简便易行且灵敏度高、准确性好。研究表明,口服比卡鲁胺片后,药物在体内被较快地吸收,1 h 已经达到较高浓度,在服药后的 3 ~ 72 h 内,血浆比卡鲁胺浓度维持在较高水平,呈现一个药物浓度轻微波动的相对稳定的平台期,随后血浆药物浓度缓慢下降。在服药后 672 h,只有 009 号受试对象的血浆药物浓度低于检测限。口服后比卡鲁胺血浆浓度呈现明显平台期的原因可能是:(1)比卡鲁胺在胃肠道有较长的吸收过程。一项以大鼠离体肠道为吸收模型的研究表明,比卡鲁胺在小肠和大肠均有吸收;(2)可能存在肠肝循环。有报道在人体服用比卡鲁胺后,有相当比例的比卡鲁胺以原形药物或葡萄糖苷酸结合物的形式由胆汁排出^[4]。另外,(R)-异构体在体内具有消除较为缓慢的特征,也应该是口服比卡鲁胺后血浆浓度具有明显平台期的主要原因之一。

由上述可见比卡鲁胺在中国男性体内呈现出较快吸收、缓慢消除的特征,文献报道^[5] $t_{1/2}$ 、 C_{max} 、 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 5.78 d (138.72 h)、734 $\mu\text{g/L}$ 、153 $\text{mg} \cdot \text{h/L}$,本实验数据 $t_{1/2}$ 和 $AUC_{0-\infty}$ 与其相近,而 C_{max} 相对较低。Cockshott^[6]认为,比卡鲁胺 C_{max} 显著

高于对照组,可能是由于高脂饮食增加了自身溶解度比较差的比卡鲁胺在食物中的溶解。由此推断,本试验 C_{max} 偏低可能是由于中国和欧洲国家饮食习惯差异造成。

根据本研究的结果,分别单次口服国产比卡鲁胺片 50 mg 和 Cacodex 片 50 mg 后,AUC 的几何均值比为 0.97,90% 可信限为 0.90 ~ 1.06,平均相对生物利用度为 99.43%, C_{max} 的几何均值比为 1.00,90% 可信限为 0.93 ~ 1.08,而两制剂间 T_{max} 无显著差异,因此可认定两药等效。

【参考文献】

- [1] Denis L, Mahler C. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of bicalutamide: defining an active dosing regimen [J]. *Urology*, 1996, 47(Supplement 1A):29-32.
- [2] Kolvenbag GJ, Iversen P, Newling DW. Antiandrogen monotherapy: a new form of treatment for patients with prostate cancer [J]. *Urology*, 2001, 58(2 Suppl 1):16-23.
- [3] 刘雅茹, 丁勇. 抗雄激素药物比卡鲁胺 [J]. 中国执业药师, 2006, 11:31-32.
- [4] Cockshott ID, Sotaniemi EA, Cooper KJ, et al. The pharmacokinetics of Casodex enantiomers in subjects with impaired liver function [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1993, 36(4):339-343.
- [5] Cockshott ID, Oliver SD, Young JJ, et al. The effect of food on the pharmacokinetics of the bicalutamide (Casodex) enantiomers [J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1997, 18(6):499-507.
- [6] Cockshott ID. Bicalutamide: clinical pharmacokinetics and metabolism [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2004, 43(13):855-878.

(收稿日期:2009-07-14 修回日期:2009-10-14)

(上接第 15 页)

- [4] European Medicines Agency. EPARs for authorised medicinal products for human use [EB/OL]. (2010-1-1) [2010-1-1]. <http://www.emea.europa.eu/htms/human/epar/a.htm>
- [5] 国家食品药品监督管理局. 国产药品(含包材) [EB/OL]. (2003-4-17) [2010-1-1]. <http://app1.sfda.gov.cn/datasearch/face3/base.jsp?tableId=8&tableName=TABLE8&title=批准临床研究的新药&bcId=124356683643430217478147499292>
- [6] Niemann H, Kues WA. Transgenic farm animals: an update [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2007, 19(6):762-770.
- [7] Dixon MB, Lien YH. Tolvaptan and its potential in the treatment of hyponatremia [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2008, 4(6):1149-1155.

- [8] Rahe-Meyer N, Pichlmaier M, Haverich A, et al. Bleeding management with fibrinogen concentrate targeting a high-normal plasma fibrinogen level: a pilot study [J]. *Br J Anaesth*, 2009, 102(6):785-792.
- [9] Keating GM. Human C1-esterase inhibitor concentrate (Berinert) [J]. *Bio Drugs*, 2009, 23(6):399-406.
- [10] Berntorp E, Windyga J, European Wilate Study Group. Treatment and prevention of acute bleedings in von Willebrand disease: efficacy and safety of Wilate, a new generation von Willebrand factor/factor VIII concentrate [J]. *Haemophilia*, 2009, 15(1):122-130.

(收稿日期:2010-01-13 修回日期:2010-01-25)