

伊布替尼胶囊在健康受试者中的生物等效性研究

徐桥¹, 李亚娟¹, 陈路路¹, 李剑², 张嫣红^{3*}

1. 江西科睿药业有限公司, 江西 赣州 341000

2. 南昌大学第二附属医院, 江西 南昌 330000

3. 苏州必宜生物科技有限公司, 江苏 苏州 215000

摘要: **目的** 评价伊布替尼胶囊受试制剂、参比制剂在空腹、餐后条件下的生物等效性。**方法** 本研究为空腹和餐后条件下、单中心、随机、开放、两制剂、两序列、四周期、完全重复交叉试验设计生物等效性试验。空腹和餐后分别入组 40、32 例健康受试者, 每周口服 140 mg 伊布替尼胶囊受试制剂、参比制剂。采用 LC-MS/MS 法分析伊布替尼的血药浓度, 药动学参数计算由 Phoenix WinNonlin 8.3 版本软件完成, 其他统计分析使用 SAS 9.4 版本软件完成。**结果** 健康受试者空腹、餐后状态下药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后点估计值均完全落入 [80.00%, 125.00%]。**结论** 健康受试者空腹、餐后状态下口服伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂具有生物等效性。

关键词: 伊布替尼胶囊; 伊布替尼; 药动学; LC-MS/MS 法; 生物等效

中图分类号: R969.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)11-2815-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.11.010

Bioequivalence study of Ibrutinib Capsules in healthy volunteers

XU Qiao¹, LI Yajuan¹, CHEN Lulu¹, LI Jian², ZHANG Yanhong²

1. Jiangxi Kerui Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Ganzhou 341000, China

2. The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, China

3. Suzhou Biyi Biotechnology Co., Ltd., Suzhou 215000, China

Abstract: Objective To evaluate the bioequivalence of test and reference preparation of Ibrutinib Capsules under fasting and fed condition. **Methods** A single center, randomized, open label, two-formulation, two-sequence, four-period and completely repeated crossover trial under fasting and fed condition. 40 Cases and 32 healthy subjects were enrolled under fasting and fed condition, respectively, and 140 mg test and reference preparation of Ibrutinib Capsules were taken orally every cycle. The plasma concentration of ibrutinib was analyzed by LC-MS/MS method. Pharmacokinetic parameters were calculated by Phoenix WinNonlin 8.3, and other statistical analysis was performed by SAS 9.4. **Results** The pharmacokinetic parameters C_{max} , AUC_{0-t} , and $AUC_{0-\infty}$ of healthy subjects under fasting and fed condition all fell within the range of [80.00%, 125.00%] after logarithmic transformation. **Conclusion** The test or reference product of Ibrutinib Capsules is bioequivalent in healthy volunteers under fasting and fed condition after a single oral administration.

Key words: Ibrutinib Capsules; ibrutinib; pharmacokinetics; LC-MS/MS; bioequivalence

伊布替尼为小分子布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK) 抑制剂, 可抑制 BTK 的酶活性, 达到对肿瘤发生产生抑制、诱导以及调节免疫等作用^[1]。伊布替尼胶囊由法莫斯利医药公司和杨森公司研发, 并于 2013 年在美国批准上市, 用于既往接受过至少 1 次来那度胺或其他药物治疗的套细胞淋巴瘤的治疗^[2]。伊

布替尼是首个每天 1 次且单一制剂的口服 BTK 抑制剂。2017 年 8 月伊布替尼胶囊被国家药品监督管理局批准用于治疗复发难治慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤, 随后又于 2018 年增加了复发难治慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤一线治疗和华氏巨球蛋白血症新适应证,

收稿日期: 2024-07-12

作者简介: 徐桥 (1989—), 男, 工程师, 硕士, 从事临床研究。E-mail: xuqiao@kryy.com.cn

*通信作者: 张嫣红 (1993—), 女, 工程师, 硕士, 从事临床研究。E-mail: zyh@szbiyi.com

临床用药需求广泛^[3]。本研究评价了伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂在健康受试者中的生物等效性,为药物临床用药提供依据。

1 材料与对象

伊布替尼胶囊受试制剂(T):规格 140 mg,批号 230201,由江西科睿药业有限公司生产。参比制剂(R):商品名:亿珂,规格 140 mg,批号 1885793, Catalent CTS LLC 生产。甲醇、乙腈、醋酸铵(色谱纯,美国 Sigma 公司),甲酸(色谱纯,日本 TCI 公司)。伊布替尼对照品购自中国食品药品检定研究院,质量分数 99.5%;伊布替尼-*d*₅对照品购自 Artis Biotech Co. Ltd.,质量分数 98.06%。

岛津液相色谱系统,包括 DGU-20A5R 脱气机, LC-30AD 液相色谱泵, SIL-30AC 自动进样器, CTO-20A 柱温箱(日本岛津公司)。质谱系统为 Triple Quad™ 5500 型三重四极杆串联质谱仪,配备电喷雾离子源(ESI 源)(加拿大 Sciex 公司)。

本试验经南昌大学第二附属医院伦理委员会审查批准,伦理审查批件编号:药临审[2023]第(33)号,批件结果为同意。研究计划入组 72 例 18~65 岁的健康受试者,计算方法依据文献结果^[4],伊布替尼空腹试验给药后受试者血药峰浓度(C_{max})个体内变异度约为 65%。假设检验的显著性水平设置为 0.05,检出受试制剂与参比制剂生物等效的把握度(power)为 90%,假设 T/R 几何均值比(geometric mean ratio, GMR)为 0.95,同时考虑受试者脱落风险,空腹试验计划入组 40 例健康受试者。参考原研制剂临床药理学审评资料^[5],伊布替尼餐后 C_{max} 个体内变异度约为 39%,以上其他预设条件不变,餐后试验计划入组 32 例受试者。

最终完成情况与计划一致。空腹试验随机入组 40 例,接受用药 40 例,其中 TRTR 组 20 例, RTRT 组 20 例;完成试验 39 例,其中 TRTR 组 19 例, RTRT 组 20 例。空腹试验未发生影响药动力学参数的方案偏离、不良事件。空腹试验纳入 FAS 的 40 例受试者中,男性 32 例,女性 8 例;汉族 36 例,其他民族 4 例;平均年龄(28.8 ± 7.3)岁;平均身高(166.18 ± 7.49)cm;平均体质量(62.09 ± 6.81)kg;平均身体质量指数(22.47 ± 1.660)kg/m²。餐后试验计划入组 32 例,实际随机入组 32 例,接受用药 32 例,其中 TRTR 组 16 例, RTRT 组 16 例;完成试验 30 例,其中 TRTR 组 16 例, RTRT 组 14 例(C020 完成第一周期、C025 完成第二周期后退出,

退出原因均为“受试者主动退出”)。餐后试验纳入 FAS 的 32 例受试者中,男性 24 例,女性 8 例;汉族 29 例,其他民族 3 例;平均年龄(27.9 ± 6.0)岁;平均身高为(165.23 ± 8.51)cm;平均体质量(60.22 ± 6.74)kg;平均身体质量指数(22.04 ± 1.61)kg/m²。

2 方法与结果

2.1 试验方案和样本采集

本研究为空腹和餐后条件下、单中心、随机、开放、两制剂、两序列、四周期、完全重复交叉试验设计生物等效性试验。

筛选合格的受试者按 1:1 的比例根据随机表随机分配到 A、B 两组。A 组给药顺序为 T-R-T-R, B 组给药顺序为 R-T-R-T。受试者于给药当天早晨空腹/餐后状态下给予受试制剂或参比制剂 140 mg,空腹试验给药前夜受试者禁食不禁水至少 10 h,餐后试验高脂餐前受试者禁食不禁水至少 10 h,并于给药前后 1 h 内禁止饮水。每个周期用餐保持一致,周期间清洗期为 3 d。

空腹试验受试者于每个周期给药前 0 h(给药前 1 h 内)和给药后 10、20、30、45 min, 1 h、1 h 20 min、1 h 40 min, 2、2.5、3、3.5、4、5、6、8、10、14、24、36 h 共 20 个采血点采集约 4 mL 静脉血;餐后试验受试者于每个周期给药前 0 h(给药前 1 h 内)和给药后 1、1.5、2、2.5、3 h, 3 h 20 min、3 h 40 min、4 h、4 h 20 min、4 h 40 min, 5、5.5、6、8、10、12、24、36 h 共 19 个采血点采集约 4 mL 静脉血。采集的血样置于事先已经贴好标签的 EDTA-K₂ 抗凝采血管内,上下颠倒混匀至少 5 次后,于冰浴条件下竖直放置。全血样品在 4 °C 低温离心机(2~8 °C, 1 700×g)条件下离心 10 min,分离的血浆分装为 2 管(检测管和备分管),检测管约 0.8 mL,剩余的分装至备分管,分装过程全程在冰浴中操作。血样采集完成 2 h 内置于-20 °C 冰箱暂存,并在采血后 24 h 内转运至超低温冰箱(≤-60 °C)进行冻存,或直接转移至超低温冰箱(≤-60 °C)保存。

2.2 LC-MS/MS 法分析伊布替尼的血药浓度

2.2.1 色谱条件 Venusil MP C₁₈ (2) 色谱柱(100 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:5 mmol/L 醋酸铵水溶液含 0.2%甲酸(A)-乙腈含 0.2%甲酸(B)(15:85);体积流量:0.7 mL/min;进样量:5 μL;自动进样器温度:4 °C;柱温:40 °C。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 采用正离子方式检测, 离子源温度为 500 °C; 喷雾气: 60 psi (1 psi=6 895 Pa); 辅助气: 60 psi; 气帘气: 35 psi; 喷射电压为 5 500 V, 去簇电压为 100 V。用于定量分析的离子对为: 伊布替尼 m/z 441.3 $\rightarrow$ 138.1, 碰撞能量 36 eV; 伊布替尼- d_5 m/z 446.3 $\rightarrow$ 138.1, 碰撞能量 36 eV。

2.2.3 溶液的制备

(1) 内标溶液: 定量转移伊布替尼- d_5 对照品, 用甲醇溶解并定容, 储存于棕色玻璃瓶, 获得内标储备液。取内标储备液适量, 用乙腈-水 (50:50) 稀释, 得 3.00 ng/mL 内标溶液。内标溶液置于 4 °C 冰箱中保存。以上配制过程均在室温条件下进行, 配制方法可根据实际试验情况进行调整。

(2) 5 mmol/L 醋酸铵水溶液含 0.2% 甲酸 (流动相 A): 取 400 mL 超纯水, 加入约 15.4 g 醋酸铵, 充分溶解, 混合均匀, 即得 500 mmol/L 醋酸铵溶液; 取 1 000 mL 超纯水, 加入 10.0 mL 500 mmol/L 醋酸铵溶液, 再加入 2.00 mL 甲酸, 混匀, 即得含 0.2% 甲酸的 5 mmol/L 醋酸铵水溶液。

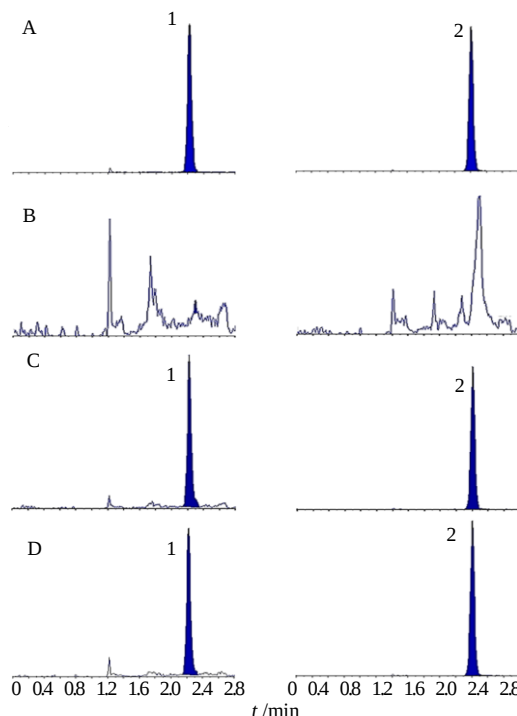
(3) 乙腈含 0.2% 甲酸 (流动相 B): 取 1 600 mL 乙腈, 加入 3.20 mL 甲酸, 混匀, 即得含 0.2% 甲酸的乙腈。

(4) 质控 (QC) 样品和定量下限 (LLOQ) 溶液的配制: 精密称取伊布替尼对照品适量, 用甲醇溶解并定容, 储存于棕色玻璃瓶, 获得储备液, 4 °C 冰箱储存。精密吸取上述储备液适量, 以乙腈-水 (50:50) 稀释得 15.0 μ g/mL 的工作液。以乙腈-水 (50:50) 稀释上述工作液, 得 4.00、12.0、100、1 000、2 400、5 000 ng/mL 的 QC 和 LLOQ 系列溶液, 置于 4 °C 冰箱中保存。以人空白血浆稀释工作液配制 QC、LLOQ 样品, 得 0.200、0.600、5.00、50.0、120、250 ng/mL 的样品, 并分装于 1.5 mL 试管中, 置于-80 °C 冰箱中保存。

2.2.4 血浆样品预处理 向 96 孔板中加入血浆样品 50.0 μ L, 3.00 ng/mL 内标溶液 50.0 μ L, 乙腈 300 μ L; 涡流 10 min, 离心 10 min (4 °C、3 900 r/min); 取 200 μ L 上清液置另一个干净的 96 孔板中。以上操作均在冰浴条件下进行。

2.2.5 选择性试验 取 6 个不同来源的空白基质和相应空白基质配制的 LLOQ 样品, 每个来源进行至少 1 样本分析, 比较两种样品中的色谱峰面积。要求空白基质中待测物保留时间处色谱峰面积不高

于相应空白基质制备的 LLOQ 中待测物色谱峰面积的 20.0%; 空白基质中内标保留时间处色谱峰面积不高于相应空白基质制备的 LLOQ 中内标色谱峰面积的 5.0%; 每一个来源单独评价; 若一批失败, 增加至 10 个来源, 至少 90% 的来源合格。结果显示, 空白基质中内源性物质对待测物干扰最大值为 5.2%, 空白基质中内源性物质对内标干扰最大值为 0.6%, 待测物对内标的干扰最大值为 0.3%, 内标对待测物的干扰最大值为 12.2%。见图 1。



A-伊布替尼及内标工作液, B-空白基质, C-正常血浆定量下限样品, D-高脂血浆定量下限样品, 1-伊布替尼, 2-伊布替尼- d_5 。
A-ibrutinib and ibrutinib- d_5 , sample, B- blank plasma, C-LLOQ in normal plasma, D-LLOQ in hyperlipidemia, 1-ibrutinib, 2-ibrutinib- d_5 .

图1 伊布替尼胶囊的 HPLC-MS/MS 图谱

Fig.1 HPLC-MS/MS chromatograms of Ibrutinib Capsules

2.2.6 基质效应试验 取 6 个不同来源空白血浆, 分别配制 0.6、120.0 ng/mL 2 个质量浓度质控血浆样品, 每个质量浓度进行 3 个样本分析, 并以常规血浆配制的标准曲线测定, 见表 1。结果显示, 6 个不同来源的空白正常基质、1 个来源的空白高脂基质、1 个来源的空白溶血基质对分析物和内标的基质效应接近, 不影响分析物的定量分析。

2.2.7 标准曲线和定量下限 标准曲线设计 8 个点, 伊布替尼的血浆质量浓度分别为 0.200、0.400、2.00、10.00、30.00、90.00、130.00、150.00 ng/mL。连续进行 3 个分析批的方法验证, 每个分析批、每

表 1 基质效应试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 1 Results of matrix effect ($\bar{x} \pm s, n=3$)

质量浓度/(ng mL ⁻¹)	测定值/(ng mL ⁻¹)	基质效应/%
0.6	0.6±0.01	100.5±2.5
120.0	119.7±2.9	99.7±2.4

个质量浓度进行双样本分析, 同时进行 2 个空白样品(空白基质样品不加内标)、2 个零浓度样品(空白基质样品加内标, STD0)分析, 并且两条标准曲线分别位于分析批的开始和结束位置。空白和零浓度样品用于判断是否有内源性干扰或样品污染, 不参与标准曲线计算。以非零浓度样品中待测物质量浓度为横坐标, 待测物与内标的峰面积比值为纵坐标, 用加权最小二乘法进行线性回归, 得标准曲线拟合方程 $Y=0.391\ 00\ X-0.005\ 68$ ($r=0.999\ 4$),

线性范围为 0.200~150.00 ng/mL。

2.2.8 准确度、精密度试验 批内精密度、准确度分析至少 4 个质量浓度质控样品(伊布替尼血浆质量浓度分别为 0.60、5.00、50.00、120.00 ng/mL)和 LLOQ 样品(伊布替尼血浆质量浓度为 0.20 ng/mL), 每个质量浓度进行 6 个样本分析。评估每个质量浓度水平质控样品的准确度和精密度, 结果见表 2。批间精密度、准确度通过至少 3 个分析批, 且至少 2 d 内进行。每个分析批至少 4 个质量浓度质控样品(伊布替尼血浆质量浓度分别为 0.60、5.00、50.00、120.00 ng/mL)和 LLOQ 样品(伊布替尼血浆质量浓度为 0.20 ng/mL), 每个质量浓度进行 6 个样本分析。评估每个质量浓度水平质控样品的准确度和精密度, 结果见表 2。

表 2 精密度和准确度试验结果 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Results of accuracy and precision ($\bar{x} \pm s$)

理论质量浓度/ (ng mL ⁻¹)	批内精密度 ($n=6$)		批间精密度 ($n=18$)		准确度 (RE) /%
	测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	
0.20	0.21±0.01	2.9	0.20±0.01	7.0	6.4
0.60	0.60±0.01	1.7	0.62±0.02	3.2	0.5
5.00	4.83±0.15	3.2	4.98±0.16	3.2	-3.5
50.00	49.40±1.10	2.3	50.60±1.60	3.2	-1.2
120.00	116.00±2.00	1.8	119.00±4.00	3.4	-3.6

2.2.9 稳定性试验 生物样品前处理过程中在冰浴条件下放置 23 h、制备后样品在 4 °C 条件下放置 73 h、生物基质中血浆在 -20、-80、-80 °C 条件下分别存放 31、31、73 d 稳定性均良好; 样品离心分离前基质中全血在冰浴条件下存放 2 h、血浆样本在 -20、-70 °C 条件下, 冻融循环 5 次的稳定性均良好。见表 3。

2.2.10 回收率试验 取 0.60、50.00、120.00 ng/mL 低、中、高 3 个质量浓度 QC 血浆样品, 每个质量浓度进行 6 个样本分析。取混合来源空白基质, 按照与制备标准曲线空白样品相同的方法处理, 获得空白基质提取液, 在提取液中加入内标溶液和 0.60、50.00、120.00 ng/mL 待测物的溶液(外加溶液体积不超过总体积的 5%), 使提取液最终质量浓度与 QC 样品提取液最终理论质量浓度一致, 每个质量浓度进行 6 个样本分析, 见表 4。结果显示, 内标溶液和低、中、高质量浓度下的待测物溶液的提取回收率均值均接近 100%, 且变异系数小, 满足生物

样本定量分析的测定要求。

2.3 药动学参数

按计划采血时间对各时间点时间窗内的血药浓度进行描述性统计, 绘制受试制剂和参比制剂的平均血药浓度-时间曲线, 见图 2。由非房室模型计算各受试者的药动学参数。若受试者某周期的 $AUC_{\%Extrap} > 20\%$, 则其该周期的 $AUC_{0-\infty}$ 、 $t_{1/2}$ 、 λ_z 、 $AUC_{\%Extrap}$ 不纳入描述性统计分析。药动学参数计算由 Phoenix WinNonlin 8.3 版本软件完成, 其他统计分析使用 SAS 9.4 版本软件完成。

2.4 生物等效性分析

2.4.1 主要指标分析 采用生物等效性评价, 将主要药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后使用混合效应模型进行方差分析, 方差分析模型中给药顺序、制剂、周期作为固定效应, 不同受试者的制剂因素作为随机效应, 并考虑受试者内制剂的重复测量(即重复服用受试制剂 T、参比制剂 R)效应。

表 3 稳定性结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 3 Results of stability ($\bar{x} \pm s, n=6$)

条件	理论质量浓度/(ng mL ⁻¹)	实测质量浓度/(ng mL ⁻¹)	RSD/%	RE/%
冰浴放置 23 h	0.60	0.57±0.04	6.4	-4.5
	120.00	110.00±4.00	3.5	-8.6
制备后 4 ℃放置 73 h	0.60	0.62±0.02	3.0	3.1
	120.00	121.00±4.00	3.2	0.6
-20 ℃放置 31 d	0.60	0.59±0.02	3.4	-1.4
	120.00	111.00±5.00	4.1	-7.8
-80 ℃放置 31 d	0.60	0.67±0.02	3.7	2.7
	120.00	118.00±5.00	4.5	-1.8
-80 ℃放置 73 d	0.60	0.61±0.02	3.5	2.0
	120.00	120.00±3.00	2.3	0.3
-20 ℃冻融 5 次	0.60	0.60±0.02	2.5	-0.9
	120.00	114.00±5.00	4.0	-5.3
-80 ℃冻融 5 次	0.60	0.61±0.03	4.7	2.0
	120.00	117.00±4.00	3.7	-2.5

表 4 回收率试验结果 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 4 Results of recovery ($\bar{x} \pm s, n=6$)

理论质量浓度/(ng mL ⁻¹)	提取后峰面积	未提取的峰面积	提取回收率/%
0.60	22 365±777	22 072±1 503	101.6±6.7
50.00	1 830 050±103 355	1 788 430±46 555	102.3±4.9
120.00	4 340 178±127 147	4 272 945±95 922	101.6±2.0

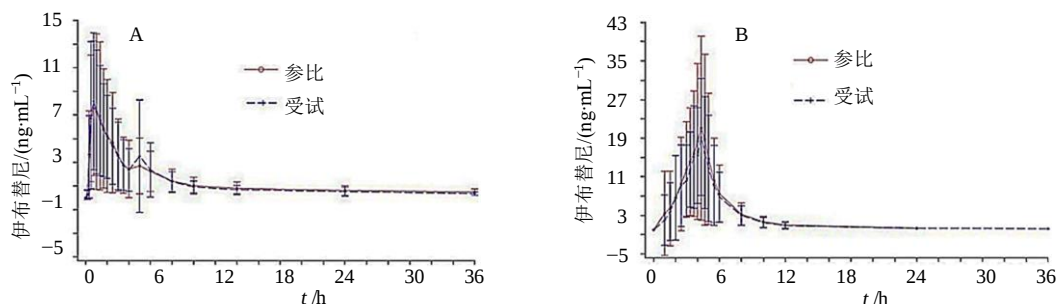


图 2 空腹 (A) 和餐后 (B) 口服受试制剂和参比制剂后伊布替尼的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Mean concentration-time curves of ibrutinib after po administered with test and reference preparation under fasting (A) and fed condition (B)

若 $S_{WR} < 0.294$ (即 $CV_{WR} < 30\%$), 则应采用平均生物等效性方法评价生物等效性。当受试制剂和参比制剂主要药动学参数 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90%置信区间完全落在 80.00%~125.00% (包括边界值), 则证明两种制剂生物等效。

若 $S_{WR} \geq 0.294$ (即 $CV_{WR} \geq 30\%$), 采用参比制剂校正的平均生物等效性的统计方法进行生物等效性评价。受试制剂、参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和

$AUC_{0-\infty}$ 同时满足以下条件可认为受试制剂与参比制剂具有生物等效: ①受试制剂与参比制剂 ($Y_T - Y_R$)² - θS_{WR}^2 的 95%置信区间上限小于等于 0 (Y_T 、 Y_R 分别为受试制剂和参比制剂该药动学参数自然对数变形后的均值, $\theta = \{[\ln(1.25)]^2 / 0.252\}$, S_{WR} 为参比制剂药动学参数自然对数变形后的个体内标准差); ②受试制剂和参比制剂 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 几何均值比落在 80.00%~125.00% (包括边

界值)。受试制剂主要药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 均符合生物等效的标准, 则认为受试制剂与参比制剂之间生物等效。

健康受试者在空腹、餐后状态下单次口服伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂 140 mg 后的药动学参数见表 5。

表 5 健康受试者单次口服受试制剂、参比制剂后伊布替尼的主要药动学参数
Table 5 Main pharmacokinetic parameters of ibrutinib after a single oral administration of Ibrutinib Capsules test and reference product in healthy subjects

参数	单位	空腹		餐后	
		受试制剂 ($n=40$)	参比制剂 ($n=39$)	受试制剂 ($n=31$)	参比制剂 ($n=32$)
$t_{\max}$	h	1.000 (0.333~6.000)	1.000 (0.333~8.000)	4.333 (1.500~6.000)	4.000 (1.500~5.500)
$C_{\max}$	ng mL ⁻¹	11.58±7.24	10.73±7.69	24.82±14.36	29.43±21.33
AUC_{0-t}	h ng mL ⁻¹	39.528±20.226	42.352±25.046	71.19±35.25	80.06±46.62
$AUC_{0-\infty}$	h ng mL ⁻¹	47.36±20.29	51.14±29.03	73.25±35.74	82.31±47.01
$t_{1/2}$	h	7.115±3.668	8.040±4.051	2.224±0.789	2.396±0.794
λ_z	h ⁻¹	0.133 4±0.086 1	0.117 3±0.076 8	0.3376±0.081 4	0.314 9±0.082 2

2.4.2 次要指标分析 $t_{\max}$ 进行配对 Wilcoxon 符号秩检验。

2.4.3 空腹生物等效性 健康受试者在空腹状态下口服 140 mg 伊布替尼胶囊受试制剂或参比制剂, 3 个主要药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经过对数转换后进行生物等效性评价, 其中 $C_{\max}$ 的 S_{WR} 为 0.381 4, >0.294, 采用参比制剂标度的平均生物等效性方法进行等效性评价, $(Y_T - Y_R)^2 - \theta S^2_{WR}$ 的单侧 95% 置信区间上限为 -0.071 0, 小于 0, 几何均值比的点估计为 105.99%, 落入 [80.00%, 125.00%]。 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 S_{WR} 分别为 0.268 2、0.256 0, 均小于 0.294, 采用平均生物等效性方法进行等效性评价, 几何均值的比值分别为 94.33%、93.04%, 90% 置信区间分别为 (87.41%~101.80%)、(84.83%~102.03%), 完全落入 [80.00%, 125.00%], 结果见表 6。可见其中的伊布替尼 $t_{\max}$ 的配对秩和检验的 P 值为 0.660 6, 表明伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 差异无统计学意义。

表 6 空腹和餐后状态下伊布替尼胶囊主要药动学参数的生物等效性评价
Table 6 Bioequivalence evaluation of key pharmacokinetic parameters of Ibrutinib Capsules under fasting condition and fed condition

参数	单位	n/例	几何均数		几何均数比值	几何均数比值	S _{WR}	个体内变异/%	把握度/%
			受试制剂	参比制剂	(受试/参比)/%	90% CI/%			
空腹									
C _{max}	ng mL ⁻¹	40	9.22	8.67	106.26	94.66~119.27	0.381 4	39.57	94.12
AUC _{0-t}	h ng mL ⁻¹	39	34.17	36.22	94.33	87.41~101.80	0.268 2	27.31	97.36
AUC _{0-∞}	h ng mL ⁻¹	38	40.39	43.41	93.04	84.83~102.03	0.256 0	26.02	84.88
餐后									
C _{max}	ng mL ⁻¹	32	21.32	23.71	89.92	80.50~100.44	0.441 6	46.40	81.47
AUC _{0-t}	h ng mL ⁻¹	32	62.66	68.53	91.43	84.85~98.51	0.273 4	27.86	89.69
AUC _{0-∞}	h ng mL ⁻¹	32	64.52	70.70	91.27	84.89~98.12	0.266 0	27.08	90.52

根据数据审核决议的要求: 受试者 K036 于第二周期 24 h 采血点后发生合并用药 (布洛芬胶囊), 将第二周期的 AUC 从药动学参数中剔除后进行敏感性分析 1; 鉴于试验存在受试者单周期的 $AUC_{\%Extrap} > 20\%$ 情况, 将生物等效性评价内所有受试者的 $AUC_{0-\infty}$ 均纳入进行敏感性分析 2, 两次敏

感性分析结果显示两种制剂具有生物等效性。

2.4.4 餐后生物等效性 健康受试者餐后口服伊布替尼胶囊受试制剂或参比制剂 140 mg, 药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行生物等效性评价, $C_{\max}$ 的 S_{WR} 为 0.441 6, 大于 0.294, 采用参比制剂标度的平均生物等效性方法进行等效性评价, $(Y_T - Y_R)^2 - \theta S_{WR}^2$ 的单侧 95% 置信区间上限为 -0.080 7, 小于零, 几何均值比的点估计为 89.77%, 在 [80.00%, 125.00%]。 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的 S_{WR} 分别为 0.273 4、0.266 0, 均小于 0.294, 采用平均生物等效性方法, 几何均值的比值分别为 91.43%、92.27%, 90% 置信区间分别为 (84.85~98.51)%、(84.89~98.12)%, 均完全落入 [80.00%, 125.00%], 结果见表 6。伊布替尼 $t_{\max}$ 的配对秩和检验的 P 值为 0.021 9, 表明受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究建立了测定人血浆中伊布替尼的 LC-MS/MS 法。在流动相中添加一定量的酸和盐可以促进离子化, 可以得到更好的保留、更好的响应和更好的峰型, 因此选用 5 mmol/L 醋酸铵水溶液含 0.2% 甲酸作为水相, 乙腈含 0.2% 甲酸作为有机相。本方法预处理简单、快速、血浆用量仅为 50.0 μ L, 且色谱峰和响应良好, 生物基质无干扰。通过优化色谱条件和质谱条件, 伊布替尼保留时间约为 2.22 min, 内标伊布替尼- d_5 保留时间约为 2.20 min, 分析时长为 3.00 min。在试验分析方法建立的过程中同时考察了室温、冰浴放置血浆样品稳定性, 发现伊布替尼在室温放置条件下有明显降解, 因此室温放置对伊布替尼血浆样本稳定性的影响较大, 在冰浴条件下放置 23 h 仍稳定。本实验血浆样本分析过程中在冰浴下操作, 确保伊布替尼测定的准确性。方法学验证符合《中国药典》2015 年版《9012 生物样品定量分析方法学建立指导原则》要求, 该方法的残留效应、选择性、基质效应、准确度和精密度、回收率、稀释可靠性、耐用性、稳定性等指标均符合接受标准规定, 表明本法可用于受试者血浆样品的常规测定。

生物等效性研究结果显示, 健康受试者空腹、餐后状态下口服伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂, 药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后点估计值均完全落入 [80.00%, 125.00%], 两种制剂具有生物等效性。空腹试验时 K036 于第二周期

24 h 采血点后发生合并用药 (布洛芬胶囊), 将第二周期的 AUC 从药动学参数中剔除后进行第一次敏感性分析。此外, 根据方案和统计分析计划要求, 若受试者某周期的 $AUC_{\%Extrap} > 20\%$, 则其该周期的 $AUC_{0-\infty}$ 不纳入生物等效性分析, 但鉴于试验存在受试者每个周期的 $AUC_{\%Extrap} > 20\%$ 情况, 将生物等效性评价内所有受试者的 $AUC_{0-\infty}$ 均纳入后进行第二次敏感性分析。以上两次敏感性分析结果均显示两种制剂具有生物等效性。

空腹试验中, 参比制剂 $C_{\max}$ 的算数均值和几何均值分别为 10.73、8.62 ng/mL, AUC_{0-t} 的算数均值和几何均值分别为 42.352、36.201 h·ng/mL, $AUC_{0-\infty}$ 的算数均值和几何均值分别为 51.14、44.24 h·ng/mL, $t_{\max}$ 中位值 (最小值, 最大值) 为 1.000 (0.333~8.000) h。一项国外研究结果显示, 参比制剂 $C_{\max}$ 的均值为 6.93 ng/mL, AUC_{0-t} 的均值为 37.61 h·ng/mL, $AUC_{0-\infty}$ 的均值为 45.00 h·ng/mL^[6], 与本研究结果基本一致。本制剂餐后试验研究结果与空腹试验结果相比, $C_{\max}$ 增加约 2~4 倍, AUC 增加约不到 2 倍, 与原研制剂说明书中伊布替尼的药动力学特征接近^[7]。

空腹试验中, 伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 配对秩和检验结果显示, 两种制剂达峰时间无明显差异。餐后试验中, 两种制剂达峰时间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 考虑到文献报道伊布替尼属于 BCS II 类化合物, API 的粒径对伊布替尼的生物利用度影响较大, 需要对 API 进行微粉化增加溶出从而提高生物利用度。在禁食条件下, 晶型 A 的绝对口服生物利用度仅为 2.9%。另外有研究表明, 伊布替尼有显著的食物效应, 此外, 由于本研究中采血点设计出现小偏差, 导致有部分受试者第 1 个采血点达峰, $t_{\max}$ 也依赖取样时间设计; 因此, 推测认为两种制剂的 $t_{\max}$ 差异可能是食物和采血点设计导致, 出现了统计学差异, 但对药物的吸收和代谢无重大影响。

综上, 健康受试者空腹、餐后状态下口服伊布替尼胶囊受试制剂和参比制剂, 药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后点估计值均完全落入 [80.00%, 125.00%], 两种制剂具有生物等效性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李艳玲, 王振磊, 张梅, 等. 靶向酪氨酸激酶小分子抑制剂伊布替尼的临床研究进展 [J]. 中国新药杂志,

- 2019, 28(18): 2232-2239.
- [2] Burger J A, Tedeschi A, Barr P M, *et al.* Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(25): 2425-2437.
- [3] 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 抗白血病联盟, 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 抗淋巴瘤联盟. 伊布替尼治疗 B 细胞恶性肿瘤中国专家共识 (2019 年版) [J]. 白血病 淋巴瘤, 2019, 28(8): 449-456.
- [4] Hunzicker G A, Rodríguez M P. Bioequivalence study of Binap[®], ibrutinib 140 mg capsules manufactured by Laboratorio Varifarma S. A., compared to the reference product Imbruvica[®] [J]. *Articulo Original*, 2020, 24(3): 25-37.
- [5] Pharmacyclics LLC. Clinical pharmacology and biopharmaceutics review (S) [R]. US.FOOD & DRUG. (2013-11-13) [2024-06-21]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2018/210563Orig1s000,210563Orig2s000ClinPharmR.pdf.
- [6] 张冉, 辛然, 窦立萍, 等. 慢性淋巴细胞白血病治疗研究最新进展 [J]. 中国实验血液学杂志, 2023, 31(6): 1910-1915.
- [7] 伊布替尼胶囊 (亿珂) 中文说明书. https://mp.weixin.qq.com/s?__biz=MjM5ODY0MTU0NA==&mid=2447553542&idx=1&sn=62d3b5697569a14b499b1b8b8d4907a5&chksm=b2d1bee185a637f7778dfdf6608f760381f88ab71b4493934e3e619d47575f201aa409de1f0c&scene=27.

[责任编辑 解学星]