

## 中国健康人群西布曲明的群体药动学模型的建立

陈晓晶<sup>1</sup>, 李中东<sup>2</sup>, 丁俊杰<sup>3</sup>, 施孝金<sup>2</sup>, 徐一新<sup>1</sup> (1. 上海健康职业技术学院药学教研室, 上海 200237; 2. 复旦大学附属华山医院药剂科, 上海 200040; 3. 复旦大学附属儿科医院, 上海 201102)

**[摘要]** **目的** 建立中国人群中西布曲明的群体药动学模型。**方法** 20例男性健康志愿者口服10 mg西布曲明,于服药后0~24 h采集13个采样点采血,采用已验证的HPLC法测定血药浓度。采用非线性混合效应模型(NONMEM)进行群体药动学分析,估算药动学参数。以直观预测检验(Visual predictive check, VPC)和正态预测分布误差(Normalized predictive distribution error, NPDE), Bootstrap法进行模型性能评估。**结果** 以有吸收时滞的一级吸收和消除的二房室模型为西布曲明的基础药动学模型。协变量筛选未见体重、年龄可显著影响模型参数。残差模型选择指数模型。西布曲明群体药动学参数 $V_1$ ,  $V_2$ ,  $CL$ ,  $Q$ ,  $K_a$ ,  $Tlag$ 的典型值分别为: 7.85 L, 2.03 L, 1.08 L/h, 0.289 L/h, 1.95/h, 0.187 h; 个体间变异分别为42.8%、48.2%、38.5%、27.1%、56.8%和17.8%。Bootstrap、拟合优度、VPC和NPDE的评价结果均表明模型稳定, 预测结果可靠。**结论** 用非线性混合效应模型法建立的中国人群中西布曲明的群体药动学模型, 结果稳定。

**[关键词]** 西布曲明; 群体药动学; 非线性混合效应模型

**[中图分类号]** R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2012)04-0283-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2012.04.010

## Establishment of the population pharmacokinetics model of sibutramine in Chinese healthy volunteers

CHEN Xiao-jin<sup>1</sup>, LI Zhong-dong<sup>2</sup>, DING Jun-jie<sup>3</sup>, SHI Xiao-jin<sup>2</sup>, XU Yi-xin<sup>1</sup> (1. Pharmacy Department, Shanghai Healthy Vocational & Technical College, Shanghai 200237, China; 2. Pharmacy Department, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 3. Children's Hospital, Fudan University, Shanghai 201102, China)

**[Abstract]** **Objective** To develop the population pharmacokinetics model of sibutramine (SIB) in Chinese healthy volunteers. **Methods** Twenty male healthy volunteers were enrolled into the study. 13 blood sampling were drawn after administration of 10 mg SIB within 24 h. The plasma samples for SIB concentration were analyzed using validated HPLC/MS method. The population pharmacokinetics was characterized by non-linear mixed effects model (NONMEM). Visual predictive check (VPC) and normalized predictive distribution error (NPDE) were used to evaluate the predictive ability of the model. The reliability and stability of the population pharmacokinetic model developed was further assessed by a nonparametric bootstrap procedure. **Results** A two-compartment pharmacokinetic model with first-order absorption and elimination was used to describe the concentration-time data. The weight and age had no significant impact on the model parameters. The population typical values (inter-individual variability) of  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $CL$ ,  $Q$ ,  $K_a$  and  $Tlag$  were 7.85 (42.8%) L, 2.03 (48.2%) L, 1.08 (38.5%) L/h, 0.289 (27.1%) L/h, 1.95 (56.8%) h<sup>-1</sup> and 0.187 (17.8%) h respectively. Most of parameter estimates from non-parametric bootstrap procedure were comparable and within 10% of the estimates from NONMEM. The stability and the predictive performance were accepted by Bootstrapping, the goodness-of-fit, VPC and NPDE. **Conclusion** The final population pharmacokinetics model of SIB in Chinese healthy was established by NONMEM. The model was steady and reliable.

**[Key words]** sibutramine; population pharmacokinetics; nonlinear mixed effects model

西布曲明(sibutramine, SIB)是一种新型减肥药, 化学名为N-[1-[1-(4-氯苯基)环丁基]-3-甲基丁基]-N,N'-二甲胺。SIB属5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂, 有抑制食欲和增强代谢的作用, 能明显降低体质量, 减肥作用较长; 但可能增加受试者严重

心血管风险(包括非致死性心梗, 非致死性卒中, 可致复苏的心脏骤停, 心血管死亡等)。目前该药的群体药动学尚未见文献报道, 为此本研究建立SIB的群体药动学模型, 以期为个体化给药提供参考。

### 1 方法

**1.1 受试者选择** 经体格检查(病史、心功能), 选择健康男性志愿者20名, 年龄为(22.3 ± 1.0)岁,

**[作者简介]** 陈晓晶(1978-), 女, 硕士. Tel: 13636656045, E-mail: cxj6164@sina.com.

**[通讯作者]** 李中东. Tel: (021)52889307.

体重为(67.1±8.3) kg,身高为(173.5±5.7) cm。肝肾功能、血尿常规和 EEG 检查均未见异常。参加研究者自愿签署知情同意书。本试验方案经复旦大学附属华山医院医学伦理委员会批准。

**1.2 样本采集** 在受试者服药前取空白血,在服药后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12、24、36、48、60 和 72 h 共 15 个时间点取静脉血 5 ml,收集于加有肝素试管内,3 000 r/min 离心,分离出血浆,于 -20 °C 冷冻保存待测定。

### 1.3 LC-MS/MS 色谱条件和血样测定

**1.3.1 色谱条件** 流动相: A 泵, 0.1% 三氟醋酸水溶液; B 泵, 0.1% 三氟醋酸乙腈, 梯度方式; 分析柱 X Terra C<sub>18</sub> (3.5 μm, 50 mm × 2.1 mm); 预柱 Symmetry C<sub>18</sub>; 柱温: 20 °C; 总流量: 0.3 ml/min (梯度方式: 0~3 min, 55% 的 A 泵; 3~3.2 min, 90% 的 A 泵; 3.2~4.2 min, 10% 的 A 泵; 4.2~4.3 min, 55% 的 0.1% 三氟醋酸水溶液)。

**1.3.2 质谱条件** 电喷雾离子源 (ESI) 的电离电压: 3.46 kV; 离子源温度: 100 °C; 干燥气温度: 450 °C; 电子倍增器电压: 650 V; 碰撞能量: 20 eV; 检测方式: 正离子, MRM; 检测通道 1: (IS, 普罗帕酮)  $m/z$  342.0 →  $m/z$  116.0; 检测通道 2: (M<sub>2</sub>)  $m/z$  252.0 →  $m/z$  125.0; 进样量 10 μl; 典型保留时间: IS 为 1.67 min, M<sub>2</sub> 为 1.92 min。

**1.3.3 SIB 代谢物 M<sub>2</sub> 的血药浓度测定** 取 1.0 ml 血浆,加适量内标液,经氨水碱化后,用叔丁基甲醚提取 2 次。有机相抽干后,用甲醇-0.2 mol/L 醋酸铵溶液 (pH=9) (70:30, v/v) 重组,重组液离心后取 10 μl 进 LC-MS/MS 分析。标准曲线的线性范围为 0.2497~15.97 ng/ml,要求高、中、低质控样品的准确度不低于 85%,精密度不大于 15%,平均提取回收率大于 75%。

**1.4 数据分析程序** NONMEM (Version 7.1.2, Globomax Corp., USA); Intel Fortran (Version 11.1.054, Intel Corp., USA); Xpose (Version 4.2.1, Uppsala University, Sweden); Wings for NONMEM (WFN, Version 6.1, Nick Holford, University of Auckland, New Zealand); R for NONMEM (RfN, Version 2008a, Saik Urien, U. R. C. Paris Centre, Hopital Tarnier, France)。

### 1.5 群体药动学模型建立

**1.5.1 结构模型** 本研究采用非线性混合效应模型软件包 (NONMEM) 对 SIB 活性代谢物 M<sub>2</sub> 的药动学数据进行房室模型拟合和药动学参数估算。采用的算法为含个体间变异和残差变异交互作用的一阶条件估算法 (first order conditional estimation with  $\eta$ - $\varepsilon$

interaction, FOCE-I)。

**1.5.2 统计学模型** 个体间变异模型采用指数模型,见公式 1。

$$P_{i,pt} = P_{pop} + e^{\eta_i} \quad (1)$$

上式中  $P_{i,pt}$  为第  $i$  个受试者的药动学参数值,  $P_{pop}$  为该群体药动学参数的典型值,  $\eta_i$  是呈正态分布、均数为 0、方差为  $\omega^2$  的个体间变异。

残差模型分别用加法 (式 2)、指数 (式 3) 或混合模型 (式 4) 进行拟合,取最佳者。

$$C_{i,obs} = C_{i,pt} + \varepsilon_{i,obs} \quad (2)$$

$$C_{i,obs} = C_{i,pt} + e^{\varepsilon_{i,obs}} \quad (3)$$

$$C_{i,obs} = C_{i,pt} + e^{\varepsilon_{i,obs}} + \varepsilon_{i,obs} \quad (4)$$

上式中  $C_{i,obs}$  是第  $i$  个受试者的血药浓度观测值,  $C_{i,pt}$  是第  $i$  个受试者的血药浓度模型预测值,  $\varepsilon_{i,obs}$  是呈正态分布、均数为 0、方差为  $\sigma^2$  的残差变异。残差变异指无法解释的变异,包括个体内变异、取样和分析方法等造成的误差。取目标函数值和变异值最小的模型为最终统计学模型。

**1.5.3 协变量筛选** 用加法、乘法或指数模型等逐一加入身高、年龄、体重和肝肾功能等因素。设检验水平设为 0.01,若加入某一固定效应因素后,目标函数值的改变大于 6.63 (自由度为 1),则将该因素加入模型,反之予以剔除。反复该过程直至目标函数值无显著改变,得全量回归模型。然后用向后剔除法考察各影响因素。将检验水平定为 0.001,逐一剔除各影响因素 (即将该因素参数固定为 0 或 1),若目标函数值的改变大于 10.83,则视该因素有显著性意义,模型中予以保留。

**1.5.4 模型评价及验证** 模型的评价采用图形法和统计学检验。图形法即通过绘制模型预测值和观测值、预测值和个体权重残差 (individual weighted residual error, iWRES)、权重残差 (weighted residual error, WRES) 和时间等散点图,观察散点图是否分布均匀和有无趋势性来评判模型拟合的优劣。上述绘图采用 Xpose 软件完成。统计学方法采用非参数自举法 (bootstrap) 考察模型的稳定性和参数估算的准确度<sup>[1,2]</sup>。本研究采用 1 000 次自举对最终模型进行验证,比较自举法和原 NONMEM 法的计算结果值。上述过程由 WFN 和 RfN 软件包完成。

模型的预测性能通过直观预测检验 (Visual predictive check, VPC)<sup>[3]</sup> 和正态预测分布误差 (Normalized predictive distribution error, NPDE)<sup>[4]</sup> 完成。

首先根据模型的最终估算结果,以原数据集为模板,用蒙特卡罗(Monte Carlo)法产生1000套模拟数据集。蒙特卡罗模拟数据集用NONMEM软件(SIMULATION模块)产生。VPC通过直观比较各时相的预测值与实测值的重合程度来评估模型的预测能力。NPDE法用作图和统计学检验考察标准化预测误差的分布。若模型的预测能力良好,NPDE的均值为0(Wilcoxon符号秩和检验),方差为1(Fisher方差检验),且符合正态分布(Shapiro-Wilks正态分布检验)。上述过程均用Rn软件包实现。

## 2 结果

以有吸收时滞的一级吸收和消除的二房室模型为SIB的基础药理学模型。协变量筛选未见体重、身高、年龄可显著影响模型参数。残差模型选择指数模型。最终模型的群体药理学参数值结果见表1,基本拟合优度图见图1,未见有显著意义的趋势性变化。

1000次自举法中891次运行均获成功,结果见表1,与原NONMEM计算结果相比,各参数估算值均较接近,进一步证明了模型的稳定性和准确度。

表1 1000次非参数自举法获得的西布曲明群体参数估算值

| 参数                                | NONMEM 均值<br>(标准误%) | 自举法   |             | 偏差<br>% |
|-----------------------------------|---------------------|-------|-------------|---------|
|                                   |                     | 中位数   | 95%置信区间     |         |
| <b>药理学参数</b>                      |                     |       |             |         |
| V1(L)                             | 7.85(10.3)          | 7.73  | 6.28~9.65   | -1.5    |
| V2(L)                             | 2.03(29.2)          | 2.23  | 1.43~175    | 9.9     |
| CL(h <sup>-1</sup> )              | 1.08(9.5)           | 1.06  | 0.04~1.51   | -1.9    |
| Q(h <sup>-1</sup> )               | 0.289(27.8)         | 0.363 | 0.21~1.00   | 25.6    |
| K <sub>a</sub> (h <sup>-1</sup> ) | 1.95(15.0)          | 1.93  | 1.39~2.69   | -1.0    |
| t <sub>lag</sub> (h)              | 0.187(6.5)          | 0.187 | 0.158~0.636 | 0.0     |
| <b>个体内变异</b>                      |                     |       |             |         |
| ω <sub>v2</sub> (%)               | 42.8(47.4)          | 42.8  | 22.9~63.6   | 0.0     |
| ω <sub>v3</sub> (%)               | 48.2(178.4)         | 30.3  | 0.71~0.636  | -37.1   |
| ω <sub>CL</sub> (%)               | 38.5(43.6)          | 39.0  | 22.0~200.0  | 1.3     |
| ω <sub>Q</sub> (%)                | 27.1(76.5)          | 8.0   | 0.71~74.3   | -70.5   |
| ω <sub>Ka</sub> (%)               | 56.8(32.2)          | 55.1  | 33.8~79.2   | -3.0    |
| ω <sub>lag</sub> (%)              | 17.8(62.6)          | 17.3  | 7.0~36.2    | -2.8    |
| <b>残差变异</b>                       |                     |       |             |         |
| σ(%)                              | 16.7(23.1)          | 16.6  | 13.0~20.0   | -0.6    |

VPC结果见图2,如图所示有17个实测值(7.1%)在模型的90%预测区间之外。NPDE结果见图3,其中QQ图和分布图显示NPDE符合正态分布。Wilcoxon符号秩和检验 $P=0.843$ 、Fisher方差检验 $P=0.276$ 、Shapiro-Wilks正态分布检验 $P=0.218$ 、总的调整 $P$ 值为0.653,提示NPDE方差齐性且符合正态分布。此外,NPDE对时间和群体预

测值作图显示未见明显趋势性变化。

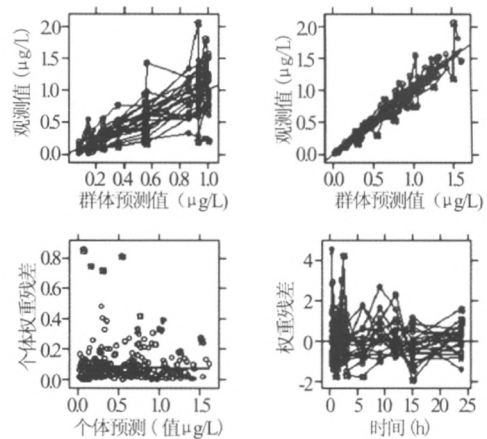


图1 西布曲明最终群体药理学模型的基本拟合优度图

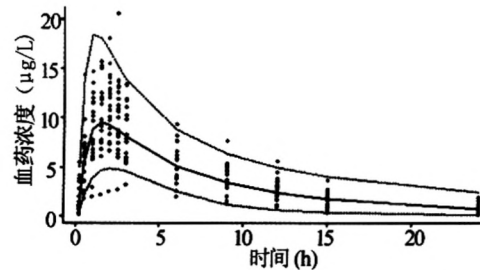


图2 西布曲明群体药理学模型的直观预测检验

圆圈表示观测值,虚线表示模拟数据的第5、50和95百分位数( $n=1000$ )

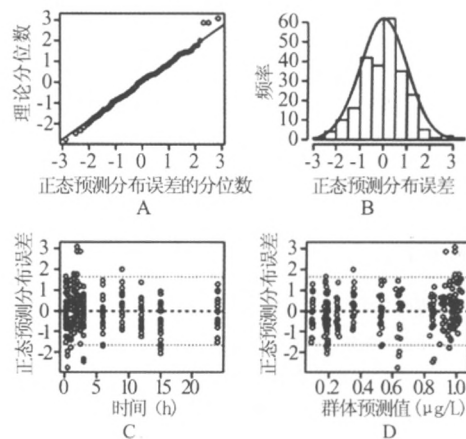


图3 西布曲明群体动力学的正态预测分布误差图

A-NPDE与正态分布相应分位数的QQ图;

B-正态预测分布误差直方图;

C-正态预测分布误差与时间散点图;

D-正态预测分布误差与群体预测值的散点图

## 3 讨论

SIB为中枢神经作用的减肥药,其体内代谢产

物可抑制去甲肾上腺素、5-羟色胺和多巴胺的再摄取,增加饱食感并加速能量消耗。SIB口服后吸收迅速,可被肝脏的CYP3A4代谢为具有药理活性的代谢物单和双去甲基的 $M_1$ 与 $M_2$ , $M_1$ 与 $M_2$ 进一步羟基化和结合代谢为非药理活性代谢物 $M_3$ 与 $M_6$ 。本研究结果显示,SIB代谢物 $M_2$ 的群体药动学参数 $V_1$ 和 $CL$ 的典型值分别为:7.85 L和1.08 L/h;个体间变异分别为42.8%,38.5%,提示SIB代谢物 $M_2$ 药动学的个体间变异较大。同时,协变量筛选未见体重、身高和年龄对模型参数有显著影响,初步提示在肥胖人群中的药物动力学,对于实际应用的肥胖人群的体内处置过程可能影响不大。由于纳入的是健康志愿者,经过筛选肝肾功能均在正常范围,没有肝肾不正常的结果,所以最终没有考察肝肾功能对模型参数的影响。

本研究采用了Bootstrap法进行模型验证,结果显示Bootstrap法结果和NONMEM结果较为接近,模型稳定性好。Bootstrap法通过对原样本有放回的再抽样,可较为准确地估算样本总体的分布特征,较基于参数的置信区间估算方法更可靠。一般认为,Bootstrap结果与抽样次数密切相关,抽样次数高于样本量的20倍以上,置信区间的估计方可趋于稳定<sup>[5]</sup>。为此本研究进行了1 000次Bootstrap以获得较为准确的参数估计。

本研究采用了VPC和NPDE对模型的预测性

能进行评估。VPC是目前评估模型预测性能最为常用的工具,评估模拟数据与实际数据的符合程度以及是否存在趋势性,如符合度不佳或存在趋势性可能提示模型误设,对结构模型需要进行修正。本研究显示,17个实测值(7.1%)在模型的90%预测区间外,未见显著趋势性,提示模型的预测性能较好。NPDE法计算正态预测分布误差,评估分布特征,并评估群体预测值、时间与NPDE的趋势性;若NPDE服从正态分布,群体预测值、时间与NPDE不存在趋势性分布,则提示模型预测性能较好。

### 【参考文献】

- [1] Efron B, Gong G. A leisurely look at the bootstrap, the jack-knife, and cross-validation[J]. Am Stat, 1983, 37: 36.
- [2] Ette EI, Williams PJ, Kim YH, et al. Model appropriateness and population pharmacokinetic modeling[J]. J Clin Pharmacol, 2003, 43: 610.
- [3] Yano Y, Beal SL, Sheiner LB. Evaluating pharmacokinetic/pharmacodynamic models using the posterior predictive check[J]. J Pharmacokinet Pharmacodyn, 2001, 28: 171.
- [4] Brendel K, Comets E, Laffont CM, et al. Metrics for external model evaluation with an application to the population pharmacokinetics of gliclazide[J]. Pharma Res, 2006, 23: 2036.
- [5] Singh K. Breakdown theory for Bootstrap quantiles[J]. Ann Stat, 1998, 28: 1719.

[收稿日期]2011-10-17

[修回日期]2012-05-23

(上接第282页)

加入法测定中药材中挥发性成分的含量<sup>[15]</sup>。随着顶空进样在中药挥发性成分分析中越来越多的应用,相信在含量测定方面也会得到更多的肯定。

### 【参考文献】

- [1] 中国药典2010版.一部[S]. 2010:82.
- [2] 周峰,秦路平,连佳芳.艾叶的化学成分生物活性和植物资源[J]. 药学实践杂志, 2000, 18(2):96.
- [3] 梅全喜,高玉桥.艾叶化学及药理研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(7):1030.
- [4] 徐巧萍,王砚,唐法娣,等.1,8-桉油精对卵白蛋白致哮喘豚鼠的气道高反应性和炎症的抑制作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2010, 24(1):35.
- [5] 韩轶,戴璨,汤璐瑛.艾叶挥发油抗病毒作用的初步研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2005, 27(2):14.
- [6] 鲁争,鲁玉,左杰,等.艾叶挥发油提取工艺研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(2):389.
- [7] 兰美兵,余永莉,李啸红.贵州产艾叶挥发油的化学成分分析

[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(8):1305.

- [8] 钱伟,韩乐,刘训红,等.野艾叶与艾叶的挥发性成分HS-GC-MS比较分析[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(8):1766.
- [9] 何正有,张艳红,魏冬,等.湖北产鲜艾与陈艾挥发油的化学成分[J]. 中成药, 2009, 31(7):1079.
- [10] 温莉莉,王海英,蒋乃翔.小蓬草鲜叶正己烷提取物化学组分分析[J]. 中国林副特产, 2009, (3):8.
- [11] 刘向前,陈素珍,倪娜.湖南产艾叶挥发油成分的GC-MS研究[J]. 中药材, 2005, 28(12):1069.
- [12] 郭承军.山东艾叶与野艾叶的挥发油比较研究[J]. 中草药, 2001, 32(6):500.
- [13] 吴怀恩,韦志英,朱小勇,等.超临界CO<sub>2</sub>流体萃取法提取艾叶与五月艾挥发油成分的研究[J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(4):31.
- [14] 徐新建,宋海,韩玉琦,等.艾叶挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11):2657.
- [15] 张小溪,郭星,吴雪缘,等.顶空气相色谱法测定砂仁中樟脑、龙脑、乙酸龙脑酯的含量[J]. 中药材, 2009, 32(6):904.

[收稿日期]2012-05-08

[修回日期]2012-05-29