

阿普斯特片在健康受试者中的生物等效性研究

程玲¹, 秦月雯¹, 杨艺茜¹, 王勇¹, 李剑², 徐满^{1*}

1. 江西青峰药业有限公司, 江西 赣州 341000

2. 南昌大学第二附属医院, 江西 南昌 330000

摘要: **目的** 评价阿普斯特片受试制剂和参比制剂在健康受试者中的生物等效性。**方法** 采用单中心、随机、开放、两制剂、两序列、两周期交叉设计。受试者空腹或餐后口服 30 mg 阿普斯特片受试制剂或参比制剂, 清洗期为 7 d。采用 HPLC-MS/MS 法测定人血浆中阿普斯特, 采用 Phoenix WinNonlin 软件 (8.2 版本) 进行药动学参数的计算, 根据每个受试者的个体血药浓度, 采用非房室模型计算阿普斯特的药动学参数。**结果** 阿普斯特片空腹和餐后试验受试制剂和参比制剂的主要药动学参数峰浓度 (C_{max})、药时曲线下面积 (AUC_{0-t})、 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90% 置信区间均落在 80.00%~125.00% 等效区间。**结论** 阿普斯特片受试制剂和参比制剂在健康受试者空腹和餐后状态下具有生物等效性。

关键词: 阿普斯特片; 阿普斯特; 药动学; 生物等效性; HPLC-MS/MS

中图分类号: R927.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)08-1935-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.08.017

Bioequivalence of Apremilast Tablets in healthy subjects

CHENG Ling¹, QIN Yue-wen¹, YANG Yi-xi¹, WANG Yong¹, LI Jian², XU Man¹

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

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

Abstract: **Objective** To evaluate the bioequivalence of test preparation and reference preparation of Apremilast Tablets in healthy subjects. **Methods** A single-center, randomized, open-label, two-treatment, two-sequence, two-period crossover design was used. Subjects were *po* administered with 30 mg Apremilast Tablets test or reference preparation on fasting or fed condition, and the washout period was 7 d. HPLC-MS/MS method was used to determine concentration of apremilast in human plasma. Phoenix WinNonlin software (version 8.2) was used to calculate the pharmacokinetic parameters. According to the individual plasma concentration of each subject, the pharmacokinetic parameters of apremilast were calculated by non-atrioventricular model (NCA). **Results** Under fasting and fed conditions, the 90% confidence intervals of the geometric mean ratios of the main pharmacokinetic parameters, such as C_{max} , AUC_{0-t} , and $AUC_{0-\infty}$ of test preparation and reference preparation were within the range of 80.00% to 125.00%. **Conclusion** The test and reference preparation of Apremilast Tablets are bioequivalent in healthy subjects on fasting or fed condition.

Key words: Apremilast Tablets; apremilast; pharmacokinetics; bioequivalence; HPLC-MS/MS

阿普斯特是一种新型的口服小分子磷酸二酯酶 4 (PDE4) 抑制剂, 可抑制 PDE4 活性, 提高细胞内环磷酸腺苷水平, 进一步调控肿瘤坏死因子和其他炎性细胞因子的表达, 最终抑制炎症反应^[1-2]。临床数据显示, 阿普斯特能够显著改善指甲、头皮、掌跖 (手足) 的银屑病, 有效治疗银屑病关节炎, 为银屑病患者群体提供了一种非常有价值的治疗

选择^[3]。2019 年 7 月, 阿普斯特获得了美国食品药品监督管理局批准, 用于治疗与白塞氏病相关的口腔溃疡^[4]。阿普斯特口服吸收良好, 绝对生物利用度为 73%^[5]。在约 2.5 h 的达峰时间 (t_{max}) 出现峰浓度 (C_{max}), C_{max} 约为 584 ng/mL^[6], 食物不影响阿普斯特的吸收。血浆蛋白结合率约为 68%, 平均表观分布容积 (V_d) 为 87 L^[5]。口服给药后, 阿普斯特

收稿日期: 2023-06-02

作者简介: 程玲 (1985—), 女, 工程师, 本科, 从事临床研究。E-mail: chengling@qfyy.com.cn

*通信作者: 徐满 (1991—), 女, 助理工程师, 本科, 从事临床研究。E-mail: xuman@qfyy.com.cn

(45%) 为体内循环主要成分, 其次为非活性代谢物 M12 (39%)。阿普斯特可在人体内广泛代谢, 在血浆、尿液和粪便中已发现 23 种代谢产物^[7]。阿普斯特通过细胞色素 (CYP) 氧化代谢、随后通过葡萄糖苷酸化和非 CYP 介导的水解作用进行代谢。在体外, 阿普斯特的 CYP 代谢主要由 CYP3A4 介导, CYP1A2、CYP2A6 的作用较小。在健康受试者中, 阿普斯特的血浆清除率约为 10 L/h, 终末消除半衰期为 6~9 h。放射性标记的阿普斯特经口给药后, 以阿普斯特形式存在的放射性剂量在尿液和粪便中分别占 3%、7%^[5]。本研究采用高效液相色谱-质谱 (HPLC-MS/MS) 法测定健康受试者在空腹和餐后状态下服用 30 mg 阿普斯特片后人血浆中阿普斯特的质量浓度, 考察国产阿普斯特片和原研药在健康受试者中的药动学特征和生物等效性。

1 材料与对象

1.1 药品

受试制剂 (T): 阿普斯特片, 江西青峰药业有限公司生产, 规格 30 mg/片, 批号 2020111003; 参比制剂 (R): 阿普斯特片, 商品名 Otezla®, Amgen Europe B.V. 生产, 规格 30 mg/片, 批号 H02445A。阿普斯特对照品, 质量分数 98.9%, 批号 2314-033A2, TLC Pharmaceutical Standards; 内标 Apremilast-*d*₅ 对照品, 质量分数 96.4%, 批号 2314-040A3, TLC Pharmaceutical Standards。

1.2 仪器

LC-20ADXR 高效液相色谱仪 (Shimadzu 公司), LC-20ADXR 高效液相色谱泵 (Shimadzu 公司), Turbo Spray 离子源 (AB Sciex), SIL-30ACMP 自动进样器 (Shimadzu 公司), CTO-20AC 柱温箱 (Shimadzu 公司); Triple Quad 4500 质谱仪 (AB Sciex 公司); XPR6UD5 千万分之五电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; Sorvall Legend Micro 17R 高速离心机 (Thermo Scientific); Multifuge X1R 高速离心机 (Thermo Fisher); MTV-100 涡旋混合仪 (杭州奥盛仪器有限公司), MX-M 涡旋混合仪 [大龙兴创实验仪器 (北京) 有限公司]; 移液站: OL7001-26-214, CyBi SELMA 96, 德国耶拿分析仪器股份公司; Analyst 1.6.3 分析软件 (AB Sciex)。

1.3 受试者的选择

根据研究报道^[8-9], 阿普斯特片参比制剂空腹 C_{max} 个体内变异度小于 30%, 为 22.5%。假设 $\alpha=$

0.05, $\beta=0.2$, 几何均值比 GMR=95%、100%、105%, CV 为 24%, 脱落率为 20%, 生物等效区间为 80.00%~125.00%, 采用 SAS 9.4 软件估计空腹和餐后样本量分别为 32 例。

本研究经南昌大学第二附属医院医学伦理委员会批准, 批件号: 药临审[2021]第 (22) 号。所有受试者均自愿签订知情同意书。空腹试验和餐后试验分别入组 32 例合格健康受试者, 随机分为 T-R (受试制剂/参比制剂) 和 R-T (参比制剂/受试制剂) 组, 每组各 16 例受试者。

入选标准: 18~50 周岁男性和女性健康受试者, BMI 在 19.0~26.0 kg/m², 男性受试者 ≥ 50.0 kg, 女性受试者 ≥ 45.0 kg。

排除标准: 3 个月内参加过其他的药物临床试验者或接受外科手术; 有药片吞咽困难者; 采血困难者; 对阿普斯特、辅料中成分过敏者或过敏体质; 嗜烟嗜酒者; 3 个月内献血或大量失血者; 胃肠疾病史者; 既往出现过心律失常状况者; 30 d 内使用过与阿普斯特有相互作用的药物; 哺乳期或妊娠期女性; 有药物滥用史或药物滥用筛查阳性者; 30 d 内使用过抑制或诱导肝脏对药物代谢的药物。

空腹试验组共筛选受试者 64 例, 成功入组 32 例。空腹试验入组男性 24 例, 女性 8 例, 年龄为 (25.94 $\pm$ 4.66) 岁, 平均身高为 (167.81 $\pm$ 7.33) cm, 平均体质量为 (62.42 $\pm$ 6.36) kg, 平均体质量指数 (BMI) 为 (22.15 $\pm$ 1.62) kg/m²。空腹试验过程中, 2 例受试者脱落, 另 1 例受试者第 2 周期数据被剔除 (给药后首个样品为 C_{max} , 且未采集给药后 5~15 min 的早期样品)。餐后试验组共筛选 79 例, 成功入组 32 例。餐后试验入组男性 24 例, 女性 8 例, 年龄为 (20.78 $\pm$ 2.52) 岁, 平均身高为 (168.58 $\pm$ 7.00) cm, 平均体质量为 (63.37 $\pm$ 7.92) kg, 平均 BMI 为 (22.24 $\pm$ 1.87) kg/m²。餐后试验过程中, 1 例受试者发生脱落, 无受试者被剔除。空腹试验 32 例受试者均纳入安全性分析集, 31 例纳入药动学参数集, 30 例纳入生物等效性分析集。餐后试验 32 例受试者全部纳入安全性分析集、药动学参数集和生物等效性分析集。

2 方法与结果

2.1 给药和样本采集

本研究采用单中心、随机、开放、两制剂、两序列、两周期交叉的生物等效性试验设计。筛选期选择合格的健康成年受试者随机至 T-R 组和 R-T

组,按顺序交叉给药。参照《以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则》^[10]的要求,设置清洗期 7 d。筛选合格的受试者于试验前 1 d 入住。服药前 1 h 至服药后 1 h 内禁止饮水,给药后禁食 4 h,4 h 后进食标准午餐,10 h 后进食标准晚餐。

空腹试验受试者隔夜空腹至少 10 h 以上,给药当天早上按随机表服用受试制剂或参比制剂,每次 1 片,30 mg/片,以 240 mL 温水送服。每个周期分别于给药前 0 h (给药前 1.0 h 内)和给药后 20、40 min 以及 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、6.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h 采集上肢静脉血约 4 mL。

餐后试验受试者隔夜空腹至少 10 h 后,在给药前 30 min 开始进食高脂餐,控制进餐速度,要在 30 min 内吃完,药物要在进餐后且以开始进餐时间计的第 30 分钟服用,按随机表服用受试制剂或参比制剂,1 片/次,30 mg/片,以 240 mL 温水送服。受试者于给药前 0 h (给药前 1.0 h 内)和给药后 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0、6.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h 采集上肢静脉血,每次取血 4 mL。

所得全血样品在采血后 1 h 内放进 4 °C 低温离心机(2~8 °C,1700×g)离心 10 min,,然后分离血浆样品。所有离心后血浆样品分成两份,至少取 0.8 mL 血浆加入到检测冻存管中,剩余血浆样品放入到备份冻存管中,血浆样品分装在冰浴下进行。血浆样品需在采集后 2 h 内置于-20 °C 冰箱暂存,并在采血后 24 h 内转运至-80 °C 超低温冰箱(-60~-90 °C)进行冻存,或在样本离心操作完成 2 h 内将分装后的血浆直接转移至温度-80 °C 超低温冰箱(-60~-90 °C)保存。

2.2 HPLC-MS/MS 法测定阿普斯特

2.2.1 色谱条件 Ultimate XB C₁₈ 色谱柱(50.0 mm×2.1 mm,5 μm);流动相:含 0.01%甲酸的水溶液(A)-乙腈(B);梯度洗脱,0~0.10 min 35.0% B,0.10~1.20 min 35.0%~55.0% B,1.20~1.30 min 55.0%~90.0% B,1.30~2.00 min 90.0% B,2.00~2.10 min 90.0%~35.0% B;体积流量 1.0 mL/min;进样体积 7.00 μL;柱温 35 °C。

2.2.2 质谱条件 ESI 电喷雾离子源,正离子模式,MRM 多反应监测扫描,涡旋离子喷雾温度 600.00 °C,电喷雾电压 5 500.00 V,气帘气 30.00 psi(1 psi=6 895 Pa),雾化气 50.00 psi,辅助气 50.00 psi,入口电压:10.00 V,碰撞室出口电压:10.00 V。

阿普斯特 m/z 461.1→257.1,去簇电压 100.00 V,碰撞能量 15 eV,阿普斯特-d₅ 466.2→262.1,去簇电压 90.00 V,碰撞能量 16.00 eV。

2.2.3 溶液的制备

(1)阿普斯特储备液的制备:取一定量的阿普斯特 2 份,置于透明玻璃瓶中,记录质量。根据其质量分数、水分、是否成盐等信息计算该分析物的真实质量,加入适量的甲醇-二甲基亚砜(95:5),涡旋混合,配制 0.500 mg/mL 的储备液。

(2)标准曲线工作溶液的制备:在透明玻璃瓶中加入一定量 90%甲醇溶液,然后加入阿普斯特储备液,涡旋混合,配制成最终质量浓度分别为 50、100、400、2 000、5 000、10 000、18 000、20 000 ng/mL 的工作液。

(3)内标储备液的制备:根据阿普斯特-d₅ 质量分数、水分、是否成盐等信息,将 1.04 mg 内标对照品加入 0.997 mL 甲醇-二甲基亚砜(95:5),涡旋混合,配制成阿普斯特-d₅ 最终质量浓度为 1.00 mg/mL 的储备液。

(4)内标工作溶液的制备:在透明玻璃瓶中将内标储备液用 90%甲醇溶液稀释为 5 000 ng/mL 的内标工作溶液,将 5 000 ng/mL 内标工作溶液用 90%甲醇溶液稀释为 100 ng/mL 内标工作溶液。

(5)标准曲线溶液的制备:在透明聚丙烯离心管中加入适量的混合空白血浆(高脂效应所在分析批使用混合空白正常血浆),然后加入相应质量浓度的标准曲线工作溶液,涡旋混匀,制成质量浓度分别为 2.00、4.00、16.00、80.00、200.00、400.00、720.00、800.00 ng/mL 的校正标样。

(6)质控工作溶液和质控样品溶液的制备:在透明玻璃瓶中加入一定量 90%甲醇溶液,然后加入一定体积阿普斯特储备液,涡旋混合,制成 50、150、1 500、6 000、15 000、80 000 ng/mL 的质控工作溶液。在透明聚丙烯离心管中加入适量的混合空白血浆,加入相应质量浓度工作溶液,涡旋混匀,得 2.00(LLOQ QC)、6.00(LQC)、60.00(MQC2)、240.00(MQC)、600.00(HQC)、3 200.00(DQC) ng/mL 的质控样品溶液。

2.2.4 血浆样品处理 采用乙腈蛋白沉淀法。在一块 96 孔深孔板中分别往空白基质样品、零浓度样品的孔位中加入 50.0 μL 空白血浆,空白试剂样品的孔位中加入同等体积的超纯水,校正标样的孔位中加入同等体积的校正标样,质控样品的孔位中加

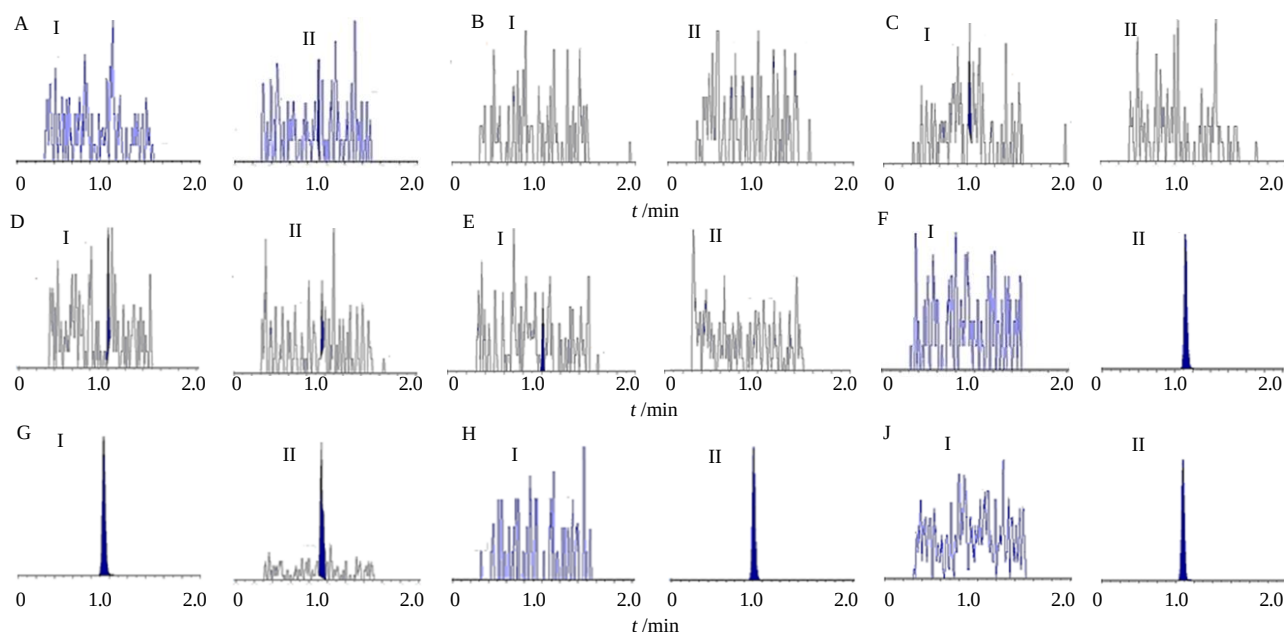
入同等体积的质控样品,不加内标的定量上限样品(ULOQ-no IS)样品的孔位中加入同等体积的定量上限样品(其中稀释质控样品先用适量的混合空白血浆稀释);往空白基质样品[包括基质效应评价样品(MER)和回收率评价样品(REC)]、空白试剂样品(包括基质效应评价的纯溶液样品(MEP)]和ULOQ-no IS样品的孔位中分别加入 25.0 μL 90%甲醇溶液,往其他样品的孔位中加入同等体积的内标工作溶液,涡旋混合 3 min;以上操作全程需在湿冰上进行。使用移液器/移液站给每个样品加入 400 μL 乙腈,涡旋混合 5 min;在 4 $^{\circ}\text{C}$ 的高速冷冻离心机以 1 700 $\times g$ 离心 15 min;转移 100 μL 上清液至另一块 200 μL 含 1%甲酸的 50%甲醇溶液的 96 孔深孔板中,REC、MEP、MER 样品加入 200 μL 低(LRS)、中(MRS)、高浓度(HRS)回收率样品溶液,涡旋混合 5 min。在进样分析前将样品处理后的提取物保存在自动进样器的温度下或 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中。

2.2.5 选择性试验 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无明显干扰,不影响定量分析。混合来源的空白基质(MTX-BLK)对分析物和内标的检测无明显干扰,不影响定量分析。空白试剂溶液(RCT-BLK)对分析物和内标的检测无明显干扰,不影响定量分析。内标对分析物、分析物对内标的检测无明显干扰,不影响定量分析。同位素内标短期室温放置 24 h 对分析物的检测无明显干扰,不影响定量分析。同位素内标在 4 $^{\circ}\text{C}$ 储存条件下放置 38 d 对分析物的检测无明显干扰,不影响定量分析。见图 1。

2.2.6 标准曲线方程和定量下限 对理论质量浓度与响应值进行线性回归,采用最小二乘法对标准曲线所有质量浓度点进行拟合,得方程 $Y=0.025\ 6\ X-0.000\ 367$ ($R^2=0.998\ 1$)。阿普斯特的线性范围为 0.20~200.00 ng/mL,定量下限为 0.200 ng/mL。

2.2.7 准确度和精密度试验 配制质量浓度分别为 2.00、6.00、60.00、240.00、600.00 ng/mL 的质控样品 LLOQ QC、LQC、MQC2、MQC 和 HQC,进样测定,结果见表 1。结果表明批内、批间准确度和精密度良好。



A-不同来源的空白基质 B-高脂基质 C-溶血基质 D-混合来源的空白基质样品 E-空白试剂 F-零浓度样品 G-不加内标的定量上限样品 H-室温放置 24 h 的同位素内标工作溶液配制零浓度样品 J-4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 38 d 的同位素内标工作溶液配制零浓度样品 I -阿普斯特 II -阿普斯特- d_5
A-blank matrix from different sources B-high fat matrix C-hemolytic matrix D-blank matrix sample from mixed sources E- blank reagent F- zero concentration sample G-upper limit of quantification sample without internal standard H-isotopic internal standard working solution at room temperature for 24 h to prepared zero concentration sample J- prepared zero concentration samples with isotope internal standard working solution at 4 $^{\circ}\text{C}$ for 38 d I-apremilast II-apremilast- d_5

图 1 HPLC-MS/MS 色谱图
Fig. 1 HPLC-MS/MS chromatograms

表 1 精密度和准确度试验结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Table 1 Results of precision and accuracy tests ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	批内精密性		批间精密性		平均准确度偏差度/%
	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	
2.00	1.97±0.13	6.7	1.93±0.11	5.9	-3.7
6.00	5.73±0.15	2.5	5.72±0.25	4.3	-4.7
60.00	58.10±2.05	3.5	61.20±2.97	4.8	2.1
240.00	232.00±3.06	1.3	234.00±7.85	3.4	-2.5
600.00	597.00±10.80	1.8	632.00±27.90	4.4	5.3

2.2.8 稳定性试验 采用低浓度质控样品 (6.00 ng/mL) 和高浓度质控样品 (600.00 ng/mL) 分别测定稳定性。血浆中分析物在湿冰放置 24 h; 处理过的样品在自动进样器 4℃ 下存储 100 h; 在-20、-80℃ 条件下经过 5 次冻融; 血浆中分析物储存在-20℃ 条件下 26 d; 在-80℃ 条件下 59 d, 结果见表 2。

表 2 稳定性试验结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)Table 2 Results of stability test ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

条件	理论值/ (ng·mL ⁻¹)	平均实测值/ (ng·mL ⁻¹)	RSD/ %
湿冰放置 24 h	6.00	5.95±0.32	5.3
	600.00	611.00±7.28	1.2
自动进样器 4℃ 下 存储 100 h	6.00	5.80±0.20	3.5
	600.00	622.00±15.00	2.4
5 次循环冻融 (-20℃)	6.00	5.81±0.383	6.6
	600.00	602.00±24.10	4.0
5 次循环冻融 (-80℃)	6.00	5.64±0.15	2.7
	600.00	616.00±20.30	3.3
-20℃ 26 d	6.00	5.24±0.17	3.2
	600.00	563.00±7.01	1.2
-80℃ 59 d	6.00	5.28±0.17	3.1
	600.00	571.00±14.30	2.5

2.2.9 提取回收率试验 用混合空白基质配制 6.00、240.00、600.00 ng/mL 3 个质量浓度的质控样品, 混合空白基质处理后加入与 6.00、240.00、600.00 ng/mL 相同质量浓度的分析物溶液, 配制成回收率评价样品, 每一个质量浓度平行操作 6 份, 进行测定, 计算提取回收率, 结果平均提取回收率分别为 101.6%、101.2%、101.6%, RSD 值分别为 2.1%、2.5%、1.8%; 内标平均提取回收率分别为 108.9%、105.2%、107.7%, RSD 值分别为 1.3%、1.5%、1.4%。

2.2.10 基质效应 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。低 (LQC)、高 (HQC) 质量浓度的样品经内标归一化的基质因子的平均值分别为 0.986、1.010, RSD 值分别为 5.8%、1.4%。溶血效应中 LQC 和 HQC 的 RSD 值分别为 6.3%、3.3%, 平均准确度偏差为-5.4%、3.4%, 无明显溶血效应, 不影响定量分析。高脂效应中 LQC、HQC 的 RSD 值分别为 2.2%、2.3%, 平均准确度偏差为-3.8%、3.4%, 无明显高脂效应, 不影响定量分析。

2.2.11 残留 批量样品检测结果发现分析物残留率为 0~3.0%, 内标无残留, 分析物、内标残留均可忽略。

2.2.12 稀释可靠性 用空白基质将 DQC 样品稀释 5 倍, 平行操作 6 份, RSD 值为 2.2%, 表明当稀释度不大于 1:5 时, 用空白基质稀释样品对测定结果影响不大。

2.3 药动学数据和统计分析

血药浓度数据采用 Phoenix WinNonlin 软件 (8.2 版本) 进行药动学参数的计算, 根据每个受试者的个体血药浓度, 采用非房室模型 (NCA) 计算阿普斯特的药动学参数, 包括 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 t_{max} 、 $t_{1/2}$ 、 λ_z 、 $AUC\%Extrap$ 。采用 BES, 将受试制剂和参比制剂 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行方差分析 (ANOVA)。方差分析模型中给药顺序、药物、周期作为固定效应, 受试者 (顺序) 作为随机效应。计算主要指标的几何均值比率 (受试制剂/参比制剂) 的 90% 置信区间, 并进行等效性比较, 若 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 几何均值比的 90% 置信区间落在 80.00%~125.00%, 则认为两种制剂生物等效。

空腹和餐后试验受试者口服受试制剂和参比制剂的血药浓度-时间曲线见图 2。

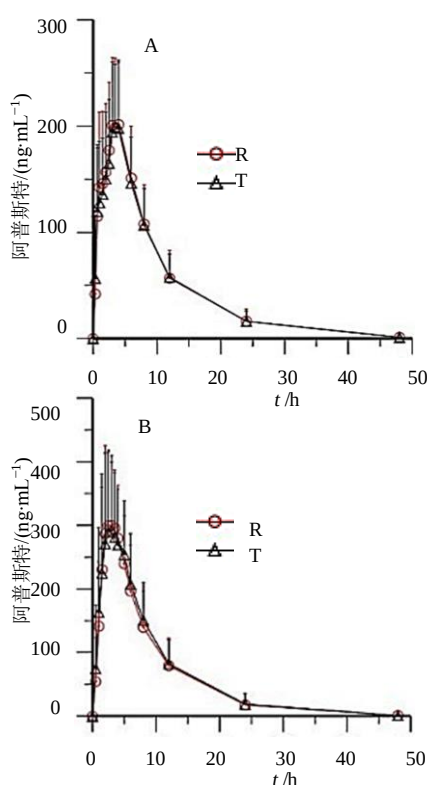


图 2 空腹 (A) 和餐后 (B) 口服受试制剂和参比制剂后阿普斯特的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Mean blood concentration-time curve of Apremilast Tablets after po administration of test and reference preparation under fasting (A) and fed (B) condition

受试者在空腹和餐后单次口服 30 mg 阿普斯特片受试制剂和参比制剂的药动学参数结果见表 3。

$C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 在进行对数转换后, 采用交叉试验设计的方差分析, 结果空腹和餐后阿普斯特的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 给药顺序间、给药周期间、制剂间的差异无统计学意义, 受试者 (顺

序) 间的差异有统计学意义。

2.4 生物等效性评价

$C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 在进行对数转换后进行双向单侧 t 检验, 计算受试制剂和参比制剂血浆中阿普斯特 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90% 置信区间。当受试制剂与参比制剂的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90% 置信区间在 80.00%~125.00% 等效区间内, 即可判定两种制剂的人体生物等效。阿普斯特片的生物等效性结果见表 4。空腹试验 1 例受试者 (K016) 由于隐瞒高血压病史, 在筛选前两周服用了降血压药物, 不确定是否对后续血药浓度是否产生影响, 不纳入生物等效性集 (BES), 但纳入该例受试者第 1 周期的数据后进行敏感性分析, 结果见表 5。受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 进行两配对样本的非参数 Wilcoxon 符号秩和检验, 结果见表 6。

生物等效性评价结果显示阿普斯特片空腹和餐后试验受试制剂与参比制剂的主要药动学参数 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90% 置信区间均落在 80.00%~125.00% 等效区间内。敏感性分析基于空腹研究中 BES, 纳入 K016 第 1 周期数据后, 受试制剂和参比制剂的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比的 90% 置信区间均在 80.00%~125.00% 等效区间内, 故其等效性评价结果稳定。 $t_{\max}$ 非参数检验结果显示受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 差异无统计学意义。故认为上述给药顺序的差异可能来源于系统误差, 是可以接受的。

综上所述, 空腹和餐后条件下阿普斯特片受试制剂和参比制剂在 90% 的置信区间上 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 等效, 由此支持两种制剂在空腹和餐后条件均具有生物等效性。

表 3 阿普斯特片受试制剂和参比制剂的药动学参数

Table 3 Pharmacokinetic parameters of test and reference preparations of Apremilast Tablets

参数	单位	空腹		餐后	
		受试制剂 (n=31)	参比制剂 (n=30)	受试制剂 (n=32)	参比制剂 (n=31)
$t_{\max}$	h	3.50 (0.33, 6.00)	3.25 (1.00, 6.00)	3.00 (1.00, 8.00)	2.50 (1.50, 5.00)
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	232±56.8	246±54.0	371±91.8	374±80.3
AUC_{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	2 045.28±616.55	2 074.22±668.17	2 904.69±849.44	2 842.28±922.72
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL ⁻¹	2 150.84±617.97	2 166.88±695.61	3 006.89±864.29	2 914.29±942.21
λ_z	h ⁻¹	0.11±0.03	0.12±0.03	0.14±0.04	0.14±0.04
$t_{1/2}$	h	6.64±2.15	6.10±1.84	5.32±1.54	5.34±1.57
$AUC_{\%} \text{Extrap}$	%	5.13±4.28	4.26±2.56	2.93±1.74	2.51±1.56

表 4 健康受试者空腹和餐后单次口服阿普斯特片后血中阿普斯特的主要药动学参数生物等效性评价 (BES)

Table 4 Bioequivalence evaluation of main pharmacokinetic parameters in blood of healthy subjects after a single oral administration of Apremilast Tablets under fasting condition and fed condition

参数	单位	受试制剂		参比制剂		几何均数比值（受 试/参比）/%	个体内变异 系数/%	90%置信区间/%
		<i>n</i>	几何均数	<i>n</i>	几何均数			
空腹								
<i>C</i> _{max}	ng·mL ⁻¹	29	230.73	30	239.93	96.17	17.23	[89.12, 103.77]
AUC _{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	29	1 995.96	30	1 983.80	100.61	12.86	[95.02, 106.53]
AUC _{0-∞}	h·ng·mL ⁻¹	29	2 086.93	30	2 072.84	100.68	13.01	[95.02, 106.68]
餐后								
<i>C</i> _{max}	ng·mL ⁻¹	32	360.55	31	366.33	98.42	16.90	[91.58, 105.78]
AUC _{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	32	2 793.29	31	2 702.75	103.35	10.99	[98.58, 108.35]
AUC _{0-∞}	h·ng·mL ⁻¹	32	2 888.61	31	2 774.88	104.10	11.04	[99.20, 109.24]

表 5 敏感性分析结果

Table 5 Sensitivity analysis result

参数	单位	几何均数		几何均数比值 (受 试/参比) /%	个体内变异 系数/%	90%置信区间/%
		受试制剂	参比制剂			
$C_{\max}$	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	230.48	239.81	96.11	17.14	[89.14, 103.63]
AUC_{0-t}	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	1 984.60	1 974.73	100.50	12.84	[94.93, 106.40]
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	2 079.71	2 067.13	100.61	12.99	[94.97, 106.58]

表 6 阿普斯特 $t_{\max}$ 非参数检验Table 6 Non-parametric test of $t_{\max}$ of apremilast

参数	空腹			餐后		
	受试制剂 (T)	参比制剂 (R)	R-T	受试制剂 (T)	参比制剂 (R)	R-T
Mean	3.42	3.08	-0.33	3.22	2.87	-0.34
SD	1.10	1.32	1.18	1.52	1.18	1.50
Median	3.50	3.25	0.00	3.00	2.50	0.00
P 值			0.133 2			0.246 6

3 讨论

阿普斯特片是一种治疗银屑病、白塞病相关性口腔溃疡等的磷酸二酯酶 4 小分子抑制剂^[2]。参考《以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则》^[10]和《Draft Guidance on Apremilast》^[11], 采用单中心、随机、开放、两制剂、两序列、两周期交叉设计开展阿普斯特片 30 mg 的生物等效性研究, 检测分析人血浆中的阿普斯特。

本实验建立了一个灵敏、专属、可靠的用于人血浆中阿普斯特浓度测定的 HPLC-MS/MS 分析方法。该分析方法的线性范围为 2.00~800 ng/mL。对该分析方法的选择性、基质效应、稳定性、回收率、

残留、标准曲线、定量下限等进行了方法验证。结果表明, 应用 HPLC-MS/MS 法测定人血浆中阿普斯特均符合要求, 可用于阿普斯特的试验样品分析。

空腹试验表明健康受试者单次口服阿普斯特片 30 mg 受试制剂的血浆药物浓度于给药后 3.5 h 达到峰值, 峰浓度为 232 ng/mL。血药浓度达峰后, 快速消除, 半衰期为 6.64 h。结果与参比制剂报道的药动学参数相比^[5, 8], 峰浓度约低 31% 左右 (参比制剂文献报道峰浓度 339.86 ng/mL), 达峰时间约延长了 1 h, 推测可能是由于人种或纳入人群 (文献中均纳入为男性受试者) 导致的差异。餐后试验受试制剂的血浆药物浓度于给药后 3 h 达到峰值, 峰浓度为 371 ng/mL, 半衰期为 5.32 h。结果与参比制剂

报道的药动学参数相比^[5, 8], 峰浓度约高 10%左右 (参比制剂文献报道的峰浓度为 333.85 ng/mL), 达峰时间相同, 药动学参数基本一致。餐后结果与空腹结果相比, 峰浓度约增加 30%左右, AUC 增加约 29%左右, 说明与食物同时给药可能轻微影响阿普斯特的吸收程度, 与文献报道^[8]的食物影响略有差异, 如文献报道阿普斯特平均峰浓度 $C_{\max}$ 无增加, 且对 AUC 的影响不具显著性 (增加约 10%)。

综上所述, 阿普斯特片受试制剂和参比制剂在空腹和餐后状态下单次服用后在健康受试者体内的药动学相似, 吸收程度和吸收速度相当, 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] Schafer P H, Parton A, Gandhi A K, *et al.* Apremilast, a cAMP phosphodiesterase-4 inhibitor, demonstrates anti-inflammatory activity *in vitro* and in a model of psoriasis [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(4): 842-855.
- [2] Torres T, Puig L. Apremilast: A novel oral treatment for psoriasis and psoriatic arthritis [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2018, 19(1): 23-32.
- [3] Keating G M. Apremilast: A review in psoriasis and psoriatic arthritis [J]. *Drugs*, 2017, 77: 459-472.
- [4] Suzuki N. Behcet's disease [J]. *Clin Exp Med*, 2004, 4(1): 10-20.
- [5] FDA. OTEZLA® (apremilast) tablets: Prescribing Information. [EB/OL]. (2021-12-20)[2023-02-16]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2021/205437s011bl.pdf.
- [6] Liu Y, Zhou S, Nissel J, *et al.* The pharmacokinetic effect of coadministration of apremilast and methotrexate in individuals with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis [J]. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 2014, 3(6): 456-465.
- [7] Hoffmann M, Kumar G, Schafer P, *et al.* Disposition, metabolism and mass balance of [14C] apremilast following oral administration [J]. *Xenobiotica*, 2011, 41(12): 1063-1075.
- [8] FDA. OTEZLA: Clinical Pharmacology Biopharmaceutics Review(s). [EB/OL]. (2013-04-28)[2022-11-28]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/205437Orig1s000ClinPharmR.pdf.
- [9] EMA, CHMP. Otezla (apremilast): Assessment report. [EB/OL]. (2014-12-20)[2022-10-02]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/otezla-epar-public-assessment-report_en.pdf.
- [10] 国家药品监督管理局. 《以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则》[EB/OL]. (2016-03-18) [2022-03-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/qtggtg/20160318210001725.html>.
- [11] FDA. Draft Guidance on Apremilast. [EB/OL]. (2015-09-18)[2022-10-18]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/Apremilast_Oral%20tablet_205437_RC09-15.pdf.

[责任编辑 解学星]