

克立硼罗软膏在健康受试者中的生物等效性研究

刘伟¹, 赖建明¹, 于文雪¹, 焦育红¹, 陈桂玲², 张晶波^{1*}

1. 江西科睿药业有限公司, 江西 赣州 341008

2. 树兰(杭州)医院, 浙江 杭州 330000

摘要: **目的** 比较克立硼罗软膏受试制剂与参比制剂在健康受试者中单次局部外用后的生物等效性。**方法** 采用随机、开放、两制剂、单次给药、双交叉设计。受试者于每周期在空腹状态下单次局部外用克立硼罗软膏受试制剂或参比制剂 4 g (约 5 mg/cm²), 清洗期为 4 d。采用高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 测定人血浆中克立硼罗的血药浓度, 使用 Phoenix WinNonlin 软件 (8.3 版本) 中的非房室模型 (NCA) 模块计算克立硼罗的药动力学参数。**结果** 单次给药后, 克立硼罗的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-4} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比 (受试制剂/参比制剂) 的 90% 置信区间均在 80.00%~125.00%。**结论** 克立硼罗软膏受试制剂与参比制剂在健康受试者空腹条件下单次局部外用 4 g (约 5 mg/cm²) 后具有生物等效性。

关键词: 克立硼罗软膏; 克立硼罗; 药动学; 生物等效性; HPLC-MS/MS

中图分类号: R986 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)12-3086-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.12.011

Bioequivalence study of Crisaborole Ointments in healthy subjects

LIU Wei¹, LAI Jianming¹, YU Wenxue¹, JIAO Yuhong¹, CHEN Guiling², ZHANG Jingbo¹

1. Jiangxi Kerui Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Ganzhou 341008, China

2. Shulan (Hang Zhou) Hospital, Hangzhou 330000, China

Abstract: Objective To compare the bioequivalence of the test formulation and the reference formulation of Crisaborole Ointments in healthy subjects after single topical dosage. **Methods** A randomized, open-label, two-treatment, single-dose, and two-way crossover design was adopted. Subjects were locally applied with 4 g (5 mg/cm²) Crisaborole Ointments test or reference preparation under fasting condition in each period, and the washout period was 4 d. The concentrations of crisaborole in human plasma were determined by HPLC-MS/MS method, and the pharmacokinetic parameters of crisaborole were calculated using noncompartmental analysis model (NCA) in Phoenix WinNonlin software (version 8.3). **Results** After a single fasting administration, the 90% confidence intervals of the geometric mean ratios (the test formulation / reference formulation) of $C_{\max}$, AUC_{0-4} , and $AUC_{0-\infty}$ of crisaborole fell within the bioequivalent range of 80.00% to 125.00%. **Conclusion** The test and reference preparations of Crisaborole Ointments are bioequivalent in healthy subjects after single topical dosage of 4 g (5 mg/cm²) under fasting condition.

Key words: Crisaborole Ointments; crisaborole; pharmacokinetics; bioequivalence; HPLC-MS/MS

克立硼罗是一种局部用的高选择性磷酸二酯酶 4 (PDE4) 抑制剂, 通过抑制 PDE4 可以有效防止环磷腺苷降解, 减少促炎因子肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1、白细胞介素-4、白细胞介素-5、干扰素 γ 的产生, 从而抑制炎症反应^[1]。克立硼罗软膏于 2016 年在美国获批上市, 于 2020 年 7 月 29 日获得国家药品监督管理局批准上市, 最新说明书显示适应证为 3 月龄及以上轻度至中度特应性皮炎患者局部外用治疗^[2]。局部给药后克立硼罗可迅速被

皮肤吸收, 并在血浆中被检测到, 特应性皮炎/牛皮癣患者单次或多次给药后达峰时间 ($t_{\max}$) 为 3.0 h, 甚至更短^[3]; 健康受试者中 $t_{\max}$ 为 2~6.5 h。人血红蛋白结合率为 97%。主要由细胞色素 P450 (CYP) 3A4 和 CYP1A1/2 代谢, 基本上代谢为无活性代谢物^[2]。主要经肾脏排泄, 很小部分经粪便排泄。克立硼罗的终末消除半衰期约为 8.03 h。本试验比较克立硼罗软膏受试制剂和参比制剂在健康受试者空腹状态下单次局部外用后克立硼罗的药动学特

收稿日期: 2024-09-09

作者简介: 刘伟 (1989—), 女, 助理工程师, 硕士, 从事临床研究。E-mail: liuwei@kryy.com.cn

*通信作者: 张晶波 (1993—), 男, 助理工程师, 硕士, 从事临床研究。E-mail: zhangjingbo@kryy.com.cn

征,进而评价两种制剂的生物等效性。

1 材料与对象

1.1 药品

克立硼罗软膏受试制剂(T),华益泰康药业股份有限公司生产,江西科睿药业有限公司提供,规格为30 g/支,2%,批号为202301;克立硼罗软膏参比制剂(R),商品名为舒坦明®,持证商为Anacor Pharmaceuticals, Inc.,规格为30 g/支,2%,批号GC8916。克立硼罗对照品,批号为0922-RC-0022,质量分数为92.2%,Cato Research Chemicals Inc.;内标为克立硼罗-d₄,批号3074-009A3,质量分数为98.8%,TLC Pharmaceutical Standards Ltd.。

1.2 仪器

LC-30AD 高效液相色谱仪、LC-30AD 高效液相色谱泵、SIL-30AC 自动进样器、CTO-20A 柱温箱(日本岛津公司);Sciex Triple Quad™ 6500+型三重四极杆串联质谱仪、电喷雾离子源、Analyst 1.6.3 分析软件(加拿大Sciex公司);SECURA225D-1CN、MSA6.6S-0CE-DW 型分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);Z216MK、Z326MK 型台式离心机(德国Hermle公司),5424R 小型高速冷冻离心机、5810R 多功能台式离心机(德国Eppendorf公司);DMT-2500 多管涡旋混合仪(上海百典仪器设备有限公司),H-101 多功能涡旋混合仪(上海康禾光电仪器有限公司)。

1.3 研究对象

本试验获得树兰(杭州)医院临床试验伦理委员会批准,批件编号为2023 伦审第(17)号,并已在国家药品监督管理局药品审评中心药物临床试验登记与信息公示平台登记,临床试验登记号为CTR20231457。所有受试者在开始筛选前自愿签订知情同意书。

本试验假设 $\alpha=0.05$, $\beta=0.2$,受试制剂与参比制剂主要药动学参数的几何均值比(GMR)=95%,个体内变异系数(RSD)为23%,生物等效范围为80.00%~125.00%,采用PASS 15 软件估计,并考虑可能的脱落后,样本量为28例。

本试验共筛选受试者75例,入组28例健康受试者。将入组的受试者按照1:1的比例随机分入TR(T表示受试制剂,R表示参比制剂)组或RT组。试验过程中,3例受试者提前退出试验,其中首次给药前TR组有1例受试者因发生上呼吸道感染退出试验,不纳入全分析集(FAS);首次给药后

有2例受试者脱落,包括TR组1例受试者完成第1周期采血后因出现皮肤过敏反应不良事件退出试验,RT组1例受试者第2周期给药前出现腰痛不良事件,经研究者判断退出试验。因此,27例受试者数据纳入FAS和药动学参数集(PKPS)。由于TR组1例受试者发生皮肤过敏,可能影响药动学参数,符合方案预设的剔除标准,不纳入生物等效性集(BES);最终26例受试者数据纳入BES。

纳入FAS的受试者中,男性20例,女性7例;汉族17例,其他民族10例(仫佬族、苗族各3例,布依族2例,土家族、壮族各1例);年龄为(28.7±4.8)岁,身高为(165.48±8.96)cm,体质量为(66.51±9.33)kg,身体质量指数(BMI)为(24.24±2.42)kg/m²。

2 方法与结果

2.1 给药和样本采集

参考《皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则(试行)》^[4]、《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》^[5]和《Draft Guidance on Crisaborole》^[6]开展本试验。本试验采用随机、开放、两制剂、单次给药、双交叉设计,筛选合格的健康成年受试者随机进入TR组或RT组,并于首次给药前1d入住。两个周期给药间隔时间(清洗期)为4d。

每个周期受试者在隔夜禁食不禁水至少10h后,于给药当天早上按随机表单次涂抹克立硼罗软膏受试制剂或参比制剂4g(约5 mg/cm²)。每个周期用药前后1h内禁止饮水,用药后禁食4h或以上,至少4h后进食标准午餐,至少10h后进食标准晚餐。每个周期于给药前0h(给药前60 min内)和给药后1、2、3、4、5、6、6.5、7、7.5、8、9、10、12、13、14、15、16、24h共19个时间点分别采集约4 mL 上肢静脉血,将其置于提前预冷且贴好标签的含乙二胺四乙酸二钾的真空采血管中,颠倒混匀,直立于试管架上。采集后1h内把全血样品放入离心机离心10 min(2~8℃,1 700×g),离心结束后分离得到血浆样品,分装为两份,一份取约0.8 mL 血浆放入检测冻存管,另一份将剩余血浆样品放入备份冻存管。离心完成后1h内将分装后的血浆样品转移至-80℃冰箱保存。在冰水浴、避光或黄光条件下进行血样采集和处理。

2.2 HPLC-MS/MS 法测定克立硼罗的血药浓度

2.2.1 色谱条件 Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱

(50 mm×4.6 mm, 1.8 μm); 流动相为水 (A) - 乙腈 (B); 体积流量为 0.7 mL/min; 自动进样器温度为 4 °C, 进样体积为 5.00 μL; 柱温箱为 40 °C。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源, 多反应监测负离子模式扫描, 电喷雾电压为 -4 500 V, 离子源温度为 550 °C, 气帘气为 40 psi (1 psi=6 895 Pa), 喷雾气为 60 psi, 辅助气为 60 psi。克立硼罗离子对 m/z 为 250.0→118.0, 碰撞能量为 43 eV, 去簇电压为 50 V; 克立硼罗- d_4 离子对 m/z 254.1→122.0, 碰撞能量为 45 eV, 去簇电压为 80 V。

2.2.3 溶液的制备

(1) 标准曲线工作溶液的制备: 黄光、室温条件下, 精密称取一定量的克立硼罗对照品, 置棕色玻璃瓶中, 用甲醇溶解并定容, 混匀, 配制质量浓度为 0.501 mg/mL 的标准曲线储备液。黄光、室温条件下, 精密量取适量标准曲线储备液, 加入适量的 50% 甲醇溶液进行稀释, 配制质量浓度分别为 4.00、8.00、20.00、60.00、200.00、600.00、1 080.00、1 200.00 ng/mL 的标准曲线工作溶液。

(2) 标准曲线样品溶液的制备: 黄光、冰水浴条件下, 精密量取适量相应质量浓度的标准曲线工作溶液, 加入人空白血浆适量, 混匀, 制成质量浓度分别为 0.200、0.400、1.00、3.00、10.00、30.00、54.00、60.00 ng/mL 的标准曲线样品溶液。

(3) 内标工作溶液的制备: 黄光、室温条件下, 精密称取一定量的克立硼罗- d_4 对照品, 置棕色玻璃瓶, 用甲醇溶解并定容, 混匀, 配制质量浓度为 98.8 μg/mL 的内标储备液。黄光、室温条件下, 精密量取适量内标储备液, 加入一定量的 50% 甲醇溶液进行稀释, 配制质量浓度分别为 30.0、3 000.0 ng/mL 的内标工作溶液。

(4) 质控工作溶液和质控样品溶液的制备: 黄光条件下, 精密称取适量的克立硼罗对照品, 用甲醇溶解并定容后储存于棕色玻璃瓶中, 配制质量浓度为 0.50 mg/mL 的质控储备液。精密吸取适量的质控储备液, 用 50% 甲醇溶液稀释, 配制质量浓度为 10.00 μg/mL 的质控工作溶液 1。精密吸取适量的质控工作溶液 1, 用 50% 甲醇溶液稀释, 配制质量浓度分别为 4.00、12.00、80.00、480.00、960.00、4 800.00 ng/mL 的质控工作溶液。以人空白血浆稀释质控工作溶液, 得到质量浓度分别为 0.20 (定量下限, LLOQ)、0.60 (低质量浓度质控)、4.00 (次中质量浓度质控)、24.00 (中质量浓度质控)、48.00

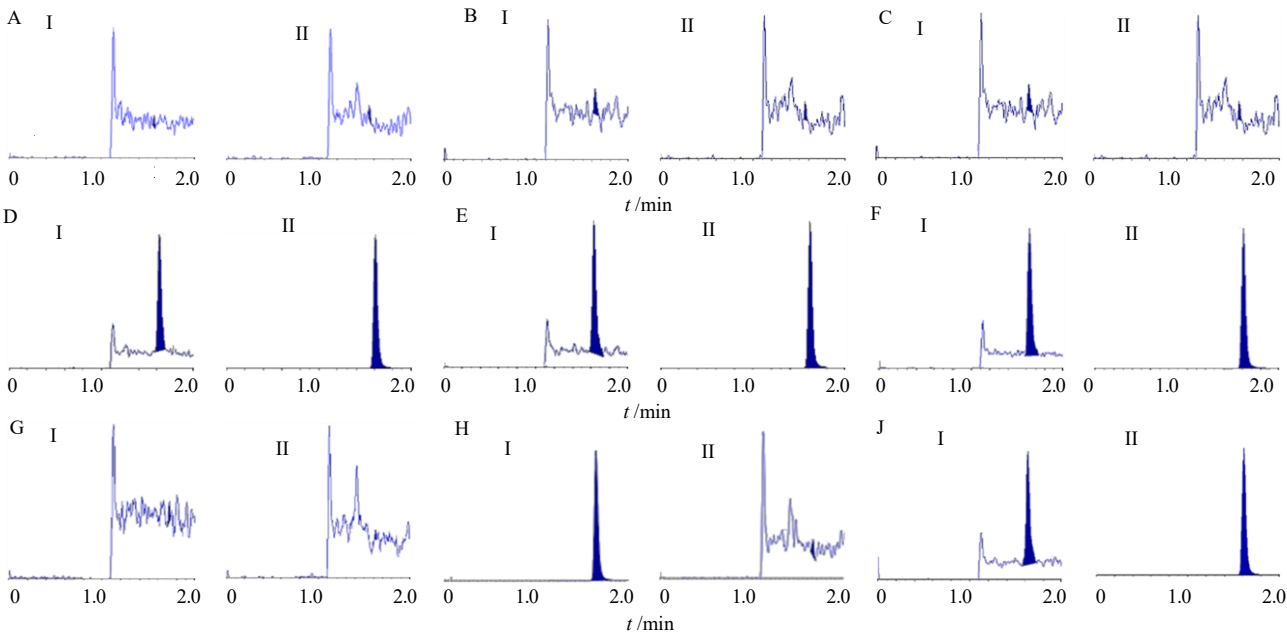
(高质量浓度质控)、240.00 (稀释质量浓度质控) ng/mL 的质控样品溶液。

2.2.4 血浆样品处理 采用液液萃取法对血浆样品进行预处理。向 2 mL EP 管加入 50.0 μL 血浆样品, 30.0 ng/mL 克立硼罗- d_4 内标溶液 50.0 μL, 100 μL 超纯水, 600 μL 甲基叔丁基醚。涡流 2 min, 离心 5 min (4 °C、14 000 r/min)。取 500 μL 上层有机相置另一干净 96 孔板中, 40 °C 氮气吹干。加入 200 μL 乙腈-水 (50:50) 复溶, 涡流 10 min。取 5.00 μL 进样分析。

2.2.5 选择性试验 取 6 个不同来源的空白正常血浆和相应空白血浆配制的 LLOQ 样品进行测定, 每个来源进行 3 个样本分析, 比较两种样品中的平均色谱峰面积。取 1 份溶血空白血浆 (加入红细胞破裂的全血至体积比 2%) 和 1 份高脂空白血浆以及相应空白血浆配制的 LLOQ 样品进行分析, 每个样品进行 3 个样本分析。评估待测物对内标的干扰时, 取混合空白基质制备 3 个样本零质量浓度样品 (空白基质+内标), 同时制备 3 个样本定量上限 (不加内标) 样品, 内标以空白溶剂代替, 比较定量上限 (不加内标) 样品与零质量浓度样品 (空白基质+内标) 的内标的平均色谱峰面积。评估内标对待测物的干扰时, 另制备 3 个样本定量下限 (不加内标) 样品, 比较零质量浓度样品 (空白基质+内标) 与定量下限 (不加内标) 样品待测物的平均色谱峰面积。6 个不同来源的空白正常血浆、1 个来源的空白高脂血浆、1 个来源的空白溶血血浆、混合来源的空白血浆、空白试剂溶液对分析物和内标的检测均无明显干扰。内标对分析物、分析物对内标的检测无明显干扰。选择性满足方法学可接受标准。典型图谱见图 1。

2.2.6 标准曲线与定量下限 以待测样品中待测物的质量浓度为横坐标, 以待测物与内标的峰面积比为纵坐标, 用加权 ($W=1/x^2$) 最小二乘法进行线性回归, 得到标准曲线的回归方程为 $Y=0.027\ 9\ X$ ($r=0.999\ 2$), 线性范围为 0.20~60.00 ng/mL, 定量下限为 0.20 ng/mL。

2.2.7 准确度和精密度试验 配制质量浓度分别为 0.20、0.60、4.00、24.00、48.00 ng/mL 的质控样品, 每个质量浓度进行 6 个样品分析, 评价每个质量浓度质控样品的准确度和精密度。在至少 2 d 内进行 3 个分析批的测定, 结果见表 1。结果表明批内、批间准确度和精密度均符合方法学接受标准。



A-空白正常血浆, B-空白高脂血浆, C-空白溶血血浆, D-LLOQ 空白血浆, E-LLOQ 高脂血浆, F-LLOQ 溶血血浆, G-零质量浓度样品, H-不加内标的定量上限样品, J-不加内标的定量下限样品, I - 克立硼罗, II - 克立硼罗-*d*₄。
A-blank normal plasma, B-blank high fat plasma, C-blank hemolytic plasma, D-LLOQ blank normal plasma, E-LLOQ high fat plasma, F-LLOQ hemolytic plasma, G-zero concentration sample, H-upper limit of quantification sample without internal standard, J-LLOQ sample without internal standard, I-crisaborole, II-crisaborole-*d*₄.

图 1 克立硼罗和克立硼罗-*d*₄ 的 HPLC-MS/MS 典型色谱图
Fig. 1 Typical HPLC-MS/MS chromatograms of crisaborole and crisaborole-*d*₄

表 1 精密度和准确度试验结果

Table 1 Results of precision and accuracy validations

理论质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	批次	批内精密度 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)		批间精密度 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)		平均准确 度偏差/%
		测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	测定值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	
0.20	1	0.21 ± 0.01	4.8	0.20 ± 0.01	5.0	3.4
	2	0.19 ± 0.01	5.3			-2.6
	3	0.21 ± 0.02	9.5			5.2
0.60	1	0.62 ± 0.03	4.8	0.62 ± 0.02	3.7	2.4
	2	0.62 ± 0.03	4.8			3.8
	3	0.61 ± 0.01	1.6			1.5
4.00	1	4.11 ± 0.08	1.9	4.10 ± 0.09	2.3	2.7
	2	4.16 ± 0.03	0.7			4.1
	3	4.01 ± 0.09	2.2			0.3
24.00	1	24.60 ± 0.20	0.8	24.70 ± 0.40	1.6	2.4
	2	25.10 ± 0.30	1.2			4.5
	3	24.50 ± 0.40	1.6			2.2
48.00	1	48.60 ± 1.00	2.1	49.20 ± 1.20	2.5	1.2
	2	50.30 ± 0.60	1.2			4.8
	3	48.70 ± 1.30	2.7			1.5

2.2.8 稳定性试验 采用低质量浓度 (0.60 ng/mL) 质控样品和高质量浓度 (48.00 ng/mL) 质控样品分别考察稳定性。样品离心分离前, 全血样品中克立硼罗在黄光、冰水浴下放置 2 h 稳定。在样品前处理过程中, 血浆中克立硼罗在黄光、冰水浴下放置 23 h 稳定; 处理过的样品在自动进样器 4 °C 下储存

95 h 稳定; 血浆中克立硼罗在-80 °C 条件下冷冻, 黄光、冰水浴下解冻, 经过 4 次冻融稳定; 血浆中克立硼罗储存在-20 °C 条件下 4 d, 在-80 °C 条件下 40 d 稳定; 分析批在 4 °C 放置 69 h 重新进样稳定。结果见表 2。可见稳定性结果符合方法学接受标准。

表 2 稳定性试验结果
Table 2 Results of stability validations

条件	理论值/(ng·mL ⁻¹)	实测值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	平均准确度偏差/%
离心分离前全血样品黄光冰水浴放置 2 h(结果数据为全血样品的峰面积比)	0.60	0.007 62±0.000 258	3.4	2.6
	48.00	0.62±0.02	3.2	-0.5
样品前处理中血浆样品黄光冰水浴下放置 23 h	0.60	0.60±0.03	5.0	0.0
	48.00	48.00±0.70	1.5	0.0
自动进样器 4 °C 下储存 95 h	0.60	0.65±0.03	4.6	7.5
	48.00	53.40±0.40	0.7	11.1
4 次循环冻融 (-80 °C)	0.60	0.62±0.03	4.8	0.9
	48.00	49.80±2.70	5.4	3.8
-20 °C、4 d	0.60	0.60±0.03	5.0	0.1
	48.00	48.90±1.50	3.1	1.9
-80 °C、40 d	0.60	0.62±0.02	3.2	3.1
	48.00	47.40±0.50	1.1	-1.2

2.2.9 提取回收率试验 取低质量浓度 (0.60 ng/mL)、中质量浓度 (24.00 ng/mL)、高质量浓度 (48.00 ng/mL) 质控样品, 配制回收率样品, 每个质量浓度进行 6 个样本分析, 计算提取回收率。低、中、高质量浓度质控样品的平均提取回收率分别为 75.1%、85.8%、80.7%, 提取后峰面积的 RSD 值分别为 1.9%、1.9%、2.7%, 3 个质量浓度下, 提取回收率的总体 RSD 值为 6.6%; 内标提取回收率为 82.8%, 提取后质控样品内标峰面积的 RSD 值为 4.0%。

2.2.10 基质效应 取 6 个不同来源的空白正常血浆、1 个来源的空白高脂血浆、1 个来源的空白溶血血浆, 分别配制低、高质量浓度的质控样品, 每个质量浓度进行 3 个样本分析, 并以正常血浆配制的标准曲线测定。不同来源的低质量浓度和高质量浓度的质控样品测定值的 RSD 值最大值分别为 7.3%、2.5%, 平均准确度偏差范围分别为-3.7%~3.8%、2.1%~5.1%。溶血效应中, 低质量浓度和高质量浓度的质控样品的 RSD 值分别为 1.9%、0.8%, 平均准确度偏差分别为 1.3%、3.6%, 无明显溶血效应。

高脂效应中, 低质量浓度和高质量浓度的质控样品的 RSD 值分别为 8.6%、1.4%, 平均准确度偏差分别为 3.4%、4.3%, 无明显高脂效应。

2.2.11 残留 空白基质中待测物平均峰面积与定量下限样品相应平均峰面积的比例不大于 5.6%, 空白基质中内标平均峰面积与定量下限样品相应平均峰面积的比例均为 0, 符合方法学接受标准。

2.2.12 稀释可靠性 用空白基质将稀释质量浓度的质控样品稀释 5 倍, 进行 6 个样本分析, RSD 值为 2.4%, 平均准确度偏差为 1.1%, 范围为-2.9%~4.3%, 稀释 5 倍以内符合方法学接受标准。

2.3 数据处理

采用 Analyst 1.6.3 分析软件对生物样品检测数据进行采集、积分和待测样品质量浓度计算。以待测物与内标的峰面积比值为纵坐标, 待测物质量浓度为横坐标, 用加权 ($W=1/x^2$) 最小二乘法进行回归运算, 计算得直线回归方程。

2.4 统计分析

根据每例受试者的实际血药浓度和实际采血时间, 使用 Phoenix WinNonlin 软件 (8.3 版本) 中

的非房室模型（NCA）模块计算克立硼罗的药动学参数。基于 BES，采用 SAS 软件（9.4 版本）将受试制剂和参比制剂的主要指标 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 对数转换后，使用混合效应模型进行方差分析（ANOVA），给药周期、给药序列、制剂因素为固定效应，受试者（序列）为随机效应。计算各主要指标的 GMR（T/R）的 90% 置信区间（CI）。当受试制剂与参比制剂的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 GMR 的 90%CI 均在 80.00%~125.00%，认为受试制剂与参比制剂生物等效。

2.5 药动学数据

受试者空腹单次涂抹克立硼罗软膏的受试制剂或参比制剂 4 g 后，克立硼罗的平均血药浓度-时间曲线见图 2，药动学参数见表 3。

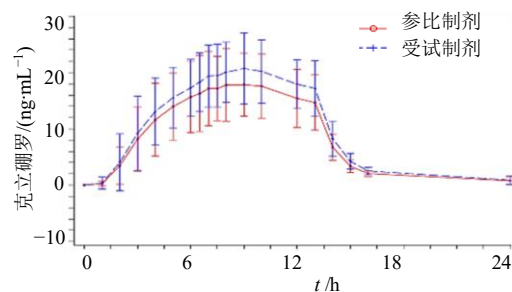


图 2 空腹单次局部外用受试制剂和参比制剂后克立硼罗的平均血药浓度-时间曲线

Fig. 2 Mean plasma concentration-time curves of crisaborole after single topical application of test formulation and reference formulation under fasting condition

表 3 空腹单次局部外用受试制剂和参比制剂后克立硼罗的药动学参数

Table 3 Pharmacokinetic parameters of crisaborole after single topical application of test formulation and reference formulation under fasting condition

参数	单位	受试制剂 (n = 26)	参比制剂 (n = 26)
$t_{\max}$	h	9.000 (3.000, 13.038)	9.500 (7.000, 13.038)
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	23.12 ± 6.71	19.54 ± 6.34
AUC_{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	221.13 ± 55.04	192.09 ± 64.64
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL ⁻¹	227.06 ± 53.95	197.30 ± 62.94
λ_z	h ⁻¹	0.206 5 ± 0.052 8	0.187 7 ± 0.049 6
$t_{1/2}$	h	3.736 ± 1.847	4.163 ± 2.212
$AUC_{\%} \text{Extrap}$	%	2.83 ± 4.91	3.39 ± 6.12

2.6 生物等效性评价

基于 BES，受试制剂和参比制剂单次给药后克立硼罗的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后进行生物等效性评价，结果见表 4。1 例受试者（K003）由于发生皮肤过敏，可能影响药动学参数，不纳入 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。对受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 进行非参数检验，结果见表 6。生物等效性评价

结果显示，单次涂抹克立硼罗软膏受试制剂和参比制剂后，克立硼罗的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 GMR 的 90%CI 均在 80.00%~125.00%。基于 BES，纳入 K003 第 1 周期数据后敏感性分析，受试制剂和参比制剂的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 GMR 的 90%CI 仍均在 80.00%~125.00%，故本试验的等效性评价结果稳健。 $t_{\max}$ 非参数检验结果显示，受试制剂和参比制剂的 $t_{\max}$ 无统计学显著差异。

表 4 健康受试者空腹单次涂抹克立硼罗软膏后克立硼罗的主要药动学参数生物等效性评价结果（BES）

Table 4 Bioequivalence evaluation results of main pharmacokinetic parameters of crisaborole in plasma of healthy subjects after single application of Crisaborole Ointment under fasting condition (BES)

参数	单位	受试制剂 (T)		参比制剂 (R)		GMR (T/R) /%	个体内 RSD/%	90% CI/%
		n	几何均值	n	几何均值			
$C_{\max}$	ng·mL ⁻¹	25	21.02	26	18.63	112.81	15.49	[104.68, 121.56]
AUC_{0-t}	h·ng·mL ⁻¹	25	203.39	26	182.42	111.49	14.15	[104.12, 119.37]
$AUC_{0-\infty}$	h·ng·mL ⁻¹	25	212.24	26	188.95	112.33	13.83	[105.07, 120.08]

表 5 敏感性分析结果
Table 5 Sensitivity analysis results

参数	单位	几何均值		GMR (T/R)/%	个体内 RSD/%	90%CI/%
		受试制剂 (T)	参比制剂 (R)			
$C_{\max}$	$\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	21.45	18.95	113.21	15.51	[105.06, 121.99]
AUC_{0-t}	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	206.49	184.76	111.76	14.15	[104.39, 119.65]
$\text{AUC}_{0-\infty}$	$\text{h}\cdot\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	215.18	191.06	112.62	13.84	[105.36, 120.38]

表 6 克立硼罗的 $t_{\max}$ 非参数检验 (BES, $n = 25$)
Table 6 Non-parametric test of $t_{\max}$ of crisaborole (BES, $n = 25$)

参数	单位	受试制剂 (T)	参比制剂 (R)	R 药-T 药
均值	h	9.383	9.363	-0.020
SD	h	2.690	2.000	-0.680
中位数	h	9.000	9.000	0.000
P 值				0.813 7

3 讨论

特应性皮炎是一种复杂的慢性炎症性皮肤病，临床上有多种表现，最基本的特征为皮肤干燥、慢性湿疹样皮损和明显瘙痒反复发作^[1,7]，不但有碍外观，甚至引发睡眠障碍或影响户外运动和生活，对患者的心理造成不良影响，严重影响患者的生活质量^[8]。特应性皮炎在全球的患病率为 10%~20%，是非致命性皮肤病负担的主要原因^[8]。特应性皮炎常用的局部外用药物包括外用糖皮质激素、钙调神经磷酸酶抑制剂和磷酸二酯酶 4 抑制剂^[9]。长期使用糖皮质激素或使用不当，可诱发皮肤不良事件（特别是皮肤变薄），增加肾上腺抑制的风险。局部使用钙调神经磷酸酶抑制剂可能与罕见的恶性肿瘤（皮肤癌、淋巴瘤）有关^[10]。磷酸二酯酶 4 抑制剂是非激素类非甾体抗炎药，具有皮肤局部吸收更少，安全性更好的特点。

克立硼罗软膏是一种作用于特应性皮炎新靶点磷酸二酯酶 4 的小分子选择性抑制剂，原研药品已在国内上市。江西科睿药业有限公司研制的克立硼罗软膏（规格为 30 g/支，2%）为化学药品注册分类 4 类，按照相关规定，以 Anacor Pharmaceuticals, Inc. 的舒坦明®作为参比制剂，开展人体生物等效性试验。

本试验采用随机、开放、两制剂、单次给药、双交叉设计，采用 HPLC-MS/MS 法测定人血浆中克立硼罗的质量浓度。试验期间，发生 1 例次血样

采集时间超窗，计算药动学参数时采用实际采血时间；2 例受试者出现 3 例次合并用药，但合并用药均发生于第 1 周期末次采血后，第 2 周期均未给药，故合并用药对已有药动学参数无影响。

结果表明，健康受试者单次局部使用 4 g（约 5 mg/cm^2 ）克立硼罗软膏受试制剂后，血浆中克立硼罗的质量浓度于给药后 9.0 h（中位值）达到峰值，平均 $C_{\max}$ 为 23.12 ng/mL ，平均 $t_{1/2}$ 为 3.736 h；参比制剂 $t_{\max}$ 为 9.5 h，平均 $C_{\max}$ 为 19.54 ng/mL ，平均 $t_{1/2}$ 为 4.163 h；受试制剂与参比制剂的药动学参数相近。结果与文献报道的参比制剂的药动学参数相比（给药剂量为 9.5 g）^[11]，剂量校正后峰质量浓度相近（参比制剂文献报道峰质量浓度 36.49 ng/mL ，按照线性剂量校正后为 15.36 ng/mL ）， $t_{\max}$ 延长了约 3 h，可能由个体差异导致。

综上所述，克立硼罗软膏的受试制剂与参比制剂在健康受试者空腹条件下单次局部外用 4 g（约 5 mg/cm^2 ）后具有生物等效性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 广东省药学会. 特应性皮炎的合理用药指引 [J]. 今日药学, 2022, 32(3): 161-175.
- [2] 药智网. 克立硼罗软膏说明书 [EB/OL]. (2024-03-27) [2024-07-16]. https://zy.yaosh.com/instruct/sms20240418/xy20240418_5308.pdf.
- [3] Ono R, Yagi M, Shoji A, et al. Phase 1 study of crisaborole in Japanese healthy volunteers and patients with atopic dermatitis [J]. *J Dermatol*, 2020, 47(1): 25-32.
- [4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 皮肤外用化学仿制药研究技术指导原则（试行）[EB/OL]. (2021-03-16) [2024-07-16]. <https://www.cde.org.cn/zdyz/downloadAtt?idCODE=9b34d270f754b8dcbd16198ab4ef830c>.
- [5] 国家药品监督管理局药品审评中心. 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]. (2016-03-16) [2024-07-16]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/>

- qtggtg/2016031821000172 5.html.
- [6] 美国食品药品监督管理局(FDA). Draft Guidance on Crisaborole [EB/OL]. (2022-10-21) [2024-07-16]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_207695.pdf.
- [7] 周杰, 陈曙光, 宋志强. 特异性免疫疗法治疗特应性皮炎 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2021, 15(1): 76-81.
- [8] 邹瑞, 李娟, 李劲松. 特应性皮炎治疗药物的研究进展 [J]. 药物流行病学杂志, 2024, 33(4): 449-460.
- [9] 中华医学会皮肤性病学分会免疫学组. 特应性皮炎的全程管理共识 [J]. 中华皮肤科杂志, 2023, 56(1): 5-15.
- [10] 美国食品药品监督管理局(FDA). 他克莫司乳膏美国说明书 [EB/OL]. (2019-02-25) [2024-07-16]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/050777s021lbl.pdf.
- [11] Feng X, Deng Z, Chen J, *et al.* A validated UHPLC-MS/MS assay for rapid and sensitive determination of crisaborole in human plasma and its clinico-pharmacokinetic application [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 223: 115129.

【责任编辑 解学星】