

缬沙坦氨氯地平片在中国健康人体内的生物等效性研究

魏筱华^{1a}, 王可莉², 刘红^{1a}, 朱万^{1a}, 彭洪薇^{1a}, 贺彦娜³, 曹端文^{1b*} (1.南昌大学第一附属医院, a.药学部, b.GCP中心, 南昌 330006; 2.南京科利泰医药科技有限公司, 南京 210000; 3.江苏恒瑞医药股份有限公司, 江苏 连云港 222047)

摘要: 目的 评价缬沙坦氨氯地平片受试制剂与参比制剂在中国健康人体内的生物等效性。方法 采用单中心、随机、开放、3周期、部分重复交叉设计。受试者经高脂高热餐后/空腹单剂量口服 80/5 mg 缬沙坦氨氯地平片受试制剂或参比制剂, 采血至给药后 72 h, 周期间的清洗期为 14 d。采用经方法学验证的 LC-MS/MS 检测血浆中缬沙坦和氨氯地平的浓度。选择 Phoenix WinNonlin 软件(8.0 版本), 以非房室模型计算缬沙坦、氨氯地平的药动学参数。采用参比制剂校正的平均生物等效性(reference-scaled average bioequivalence, RSABE)和平均生物等效性(average bioequivalence, ABE)方法评价缬沙坦的生物等效性, ABE 方法评价氨氯地平的生物等效性。结果 缬沙坦在空腹条件下 C_{max} 、 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 和在餐后条件下 C_{max} 的个体内变异系数均 >0.294 , 采用 RSABE 方法, 计算得到单侧 95%置信上限 <0 和几何均值比估计值为 80.00%~125.00%。缬沙坦餐后条件下的 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的个体内变异系数 <0.294 , 采用 ABE 方法, 受试制剂与参比制剂的 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后的几何均值比值的 90%置信区间均在 80.00%~125.00%。综上, 两制剂中的缬沙坦具有生物等效性。氨氯地平的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的个体内变异系数 <0.294 , 采用 ABE 方法, 受试制剂与参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后的几何均值比值的 90%置信区间均在 80.00%~125.00%, 表明两制剂中的氨氯地平具有生物等效性。结论 缬沙坦氨氯地平片受试制剂和参比制剂在中国健康人体内具有生物等效性。

关键词: 缬沙坦; 氨氯地平; 液相色谱-串联质谱法; 生物等效性

中图分类号: R969.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2020)12-1483-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.12.015

引用本文: 魏筱华, 王可莉, 刘红, 等. 缬沙坦氨氯地平片在中国健康人体内的生物等效性研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(12): 1483-1488.

Bioequivalence Study of Valsartan/Amlodipine Combination Tablets in Healthy Chinese Volunteers

WEI Xiaohua^{1a}, WANG Keli², LIU Hong^{1a}, ZHU Wan^{1a}, PENG Hongwei^{1a}, HE Yanna³, CAO Duanwen^{1b*} (1.The First Affiliated Hospital of Nanchang University, a.Department of Pharmacy, b.GCP Clinical Trial Institution, Nanchang 330006, China; 2.Nanjing Kelitai Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Nanjing 210000, China; 3.Jiangsu Hengrui Medicine Co., Ltd., Lianyungang 222047, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the bioequivalence of generic formulation of valsartan/amlodipine combination tablets(test) and the original brand Exforge®(reference). **METHODS** This study was designed as single-center, randomized, open-label, single-dose, three-period partially repeating crossover. Subjects were randomized to receive a single oral dose of 80/5 mg of test or reference valsartan/amlodipine tablets according to randomized schedule under fasting or fed states. A 2-week washout period was applied. Blood samples were collected up to 72 h following drug administrations. Plasma valsartan and amlodipine concentrations were determined by LC-MS/MS. The pharmacokinetic parameters were calculated with the Phoenix WinNonlin software(version 8.0) based on non-compartmental analysis. Due to high variability, the bioequivalence of valsartan was evaluated using the reference-scaled average bioequivalence(RSABE) and average bioequivalence(ABE) method. The bioequivalence of amlodipine was evaluated by ABE method. **RESULTS** The within-subject standard deviations(S_{WR}) of valsartan of the reference product for C_{max} , AUC_{0-t} , and $AUC_{0-\infty}$ under fasting states, and S_{WR} for C_{max} during fed were all >0.294 , permitting use of RSABE. The 95% upper confidence limit was <0 for all these parameters, and the geometric mean ratio(GMR) values of generic/reference product for the point estimates of C_{max} , AUC_{0-t} , and $AUC_{0-\infty}$ were within the range of 80.00%–125.00%. S_{WR} (valsartan) for AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ under fed states were all <0.294 , permitting use of ABE. The 90% confidence intervals for the GMR of AUC_{0-t} and $AUC_{0-\infty}$ of valsartan were within the range of 80.00%–125.00%. In summary, valsartan in the two formulations was bioequivalent. The S_{WR} (amlodipine) for C_{max} , AUC_{0-t} , and $AUC_{0-\infty}$ were all <0.294 , permitting use of ABE. The 90% confidence intervals for the GMR of these parameters were within the range of 80.00%–125.00%, indicating bioequivalence. **CONCLUSION** The generic formulation of valsartan/amlodipine combination tablets is bioequivalent to the reference marketed brand. Both valsartan/amlodipine formulations were well tolerated.

KEYWORDS: valsartan; amlodipine; LC-MS/MS; bioequivalence

作者简介: 魏筱华, 女, 硕导, 主任药师 Tel: (0791)88692155 E-mail: wxh-hello@163.com *通信作者: 曹端文, 男, 博士, 主管药师 Tel: (0791)88695125 E-mail: dwysss66@163.com

高血压是常见的心血管疾病之一,可并发一系列心脑血管或肾脏等器官损害。中国高血压存在发病率高、死亡率高和致残率高的“三高”,同时还具有知晓率低、治疗率低、控制率低的“三低”特点^[1],被人们称之为“无声杀手”。卫计委公布的4次国家卫生服务调查显示,中国15岁以上人群高血压患病率呈明显增长形势^[2]。因此,加强高血压的有效药物治疗和重视早期预防对保证人民群众健康具有重要意义。

根据第二十届美国高血压学会定义,高血压是一类渐进性,由复杂的和相互关联着的病因引起的心血管症状,单用一种药物抑制一个系统,体内的反馈机制会抵消一部分降压作用,仅有约1/3的患者血压被控制在理想范围内。多数患者需要服用2种及以上药物,联合用药已成为高血压临床治疗的主流模式^[3],不仅可以降低不良反应,还可提高降压效果和患者服药依从性。缬沙坦氨氯地平片(Exforge[®])是临床上广泛使用的一种新型复方降压药,由瑞士诺华研制,于2009年被NMPA批准在中国上市。据报道,与单独给予氨氯地平或缬沙坦相比,氨氯地平和缬沙坦的联合治疗更有效地降低了收缩压和舒张压,而同时具有良好的耐受性,与单一疗法相比,表现出较少的不良事件^[4]。因此,仿制缬沙坦氨氯地平片对增加中国高血压患者用药选择和降低长期用药经济负担具有重要意义。

缬沙坦氨氯地平片为高变异药物,仿制难度较大且目前暂无其生物等效性研究报道。因此,本研究根据《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》《高变异药物生物等效性研究技术指导原则》和文献报道^[5-7],拟通过健康受试者在空腹及餐后的条件下口服缬沙坦/氨氯地平片(80/5 mg)受试制剂和原研药品以评价两制剂是否具有生物等效性。

1 材料、对象和方法

1.1 药品、试剂与仪器

受试制剂(T):缬沙坦氨氯地平片[江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:16111251;规格:80/5 mg(每片含缬沙坦80 mg、氨氯地平5 mg)];参比制剂(R):缬沙坦氨氯地平片[商品名:Exforge[®];瑞士诺华制药有限公司,批号:B1138;规格:80/5 mg(每片含缬沙坦80 mg、氨氯地平5 mg),每盒7片]。内标物:缬沙坦-d₃、氨氯地平-d₄。

甲醇为分析纯,试验用水为超纯水。Exion LC AD pump液相色谱仪(美国AB SCIEX),搭配ESI离子源, Triple Quad[™] 6500⁺检测器。

1.2 研究对象

本研究采用单中心、随机、开放、3周期、部分重复交叉设计,经南昌大学第一附属医院医学伦理委员会批准后实施(伦理批件号:【2017】临伦审第017、【2017】临伦审第017017-1号)。所有参与研究的受试者均已自愿签署知情同意书。

入选标准:①年龄≥18周岁的男性和女性,男性要求体质量≥50 kg,女性要求体质量≥45 kg, BMI:19.0~26.0;②体格检查、生命体征、心电图检查和临床实验室检查结果正常或异常无临床意义;③3个月内无妊娠或生育计划、无捐献精或捐卵计划,并且自愿采取有效物理避孕措施的受试者(包括男性受试者)。排除标准:①对本品及其辅料过敏,或过敏体质;②有临床严重疾病史且在近3年内未完全治愈者;③试验前血压收缩压≤90 mmHg或≥140 mmHg,舒张压≤60 mmHg或≥90 mmHg者;④首次服用研究药物前28 d内服用了任何改变肝酶活性的药物;⑤首次服用研究药物前14 d内服用了任何药物;⑥患传染病者;⑦试验前3个月内参加过其他临床试验者;⑧试验前3个月献血或大量失血超450 mL;⑨试验前1年内有药物滥用史和/或酗酒史。经过筛选,本研究共入选108例中国健康男性和女性受试者,其中空腹和餐后给药试验各54例。

1.3 给药方法与血样本采集

筛选合格的受试者于试验前1 d办理入住,晚餐后禁食不禁水。按照给药随机表,次日早晨用240 mL温开水送服T或R药1片[餐后组受试者在给药前半小时开始进食由火腿肠、鸡蛋、黄油、吐司及牛奶组成的高脂高热餐(热量为900千卡),给药前食完],给药前后1 h禁止饮水,服药4 h后进食。每周期服药前1 h内采集0 h血,服药后0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 15.0, 24.0, 36.0, 48.0, 72.0 h采集肘静脉血4 mL,然后于3 500 r·min⁻¹, 2~8 °C离心10 min,所得血浆存放于-70 °C冰箱保存待测。清洗期14 d后进行下一周期给药,流程同上。

1.4 色谱/质谱条件与血样预处理^[8]

色谱条件:Ultimate[®] XB-C₁₈色谱柱(2.1 mm×50 mm, 3 μm), Welch(序列号:111701721,

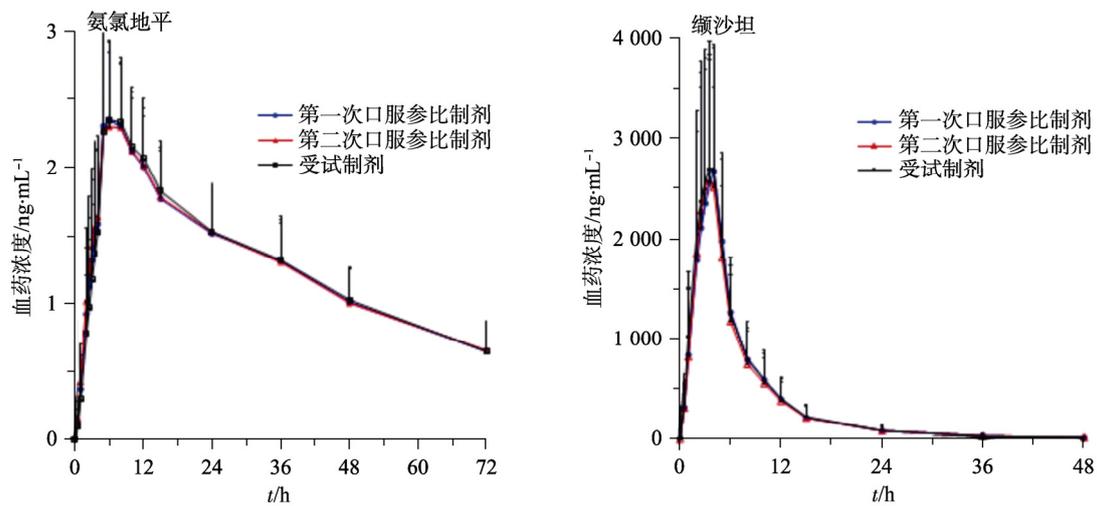


图1 受试者单次空腹口服 80/5 mg 缬沙坦氨氯地平片后缬沙坦和氨氯地平均血药浓度-时间图($\bar{x} \pm s, n=53$)

Fig. 1 Plasma concentration-time curves of valsartan and amlodipine after a single oral dose of 80/5 mg of the test product under fast condition($\bar{x} \pm s, n=53$)

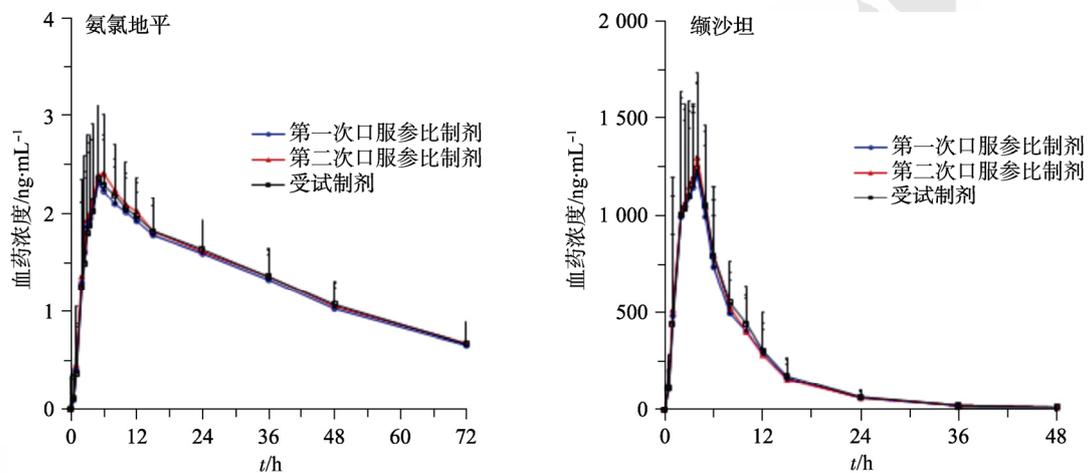


图2 受试者单次餐后口服 80/5 mg 缬沙坦氨氯地平片后缬沙坦和氨氯地平均血药浓度-时间图($\bar{x} \pm s, n=51$)

Fig. 2 Plasma concentration-time curves of valsartan and amlodipine after a single oral dose of 80/5 mg of the test product under fed condition($\bar{x} \pm s, n=51$)

表2 健康受试者经单剂量空腹、餐后口服缬沙坦氨氯地平片后缬沙坦、氨氯地平的主要药动学参数[$\bar{x} \pm s$ (CV)]

Tab. 2 Pharmacokinetic parameters of valsartan and amlodipine after a single dose under fasted or fed conditions in healthy Chinese subjects[$\bar{x} \pm s$ (CV)]

参数	空腹给药组(n=53)		餐后给药组(n=51)	
	受试制剂	参比制剂	受试制剂	参比制剂
缬沙坦				
T_{max}/h	3.29±1.07 (32.55)	3.34±0.86 (25.72)	3.10±1.09 (35.21)	3.23±1.49 (46.05)
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	3 140±1270 (40.4)	2 960±1350 (45.6)	1 490±451 (30.3)	1 520±537 (35.3)
$AUC_{0-t}/h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	18 481.44±6 895.57 (37.31)	17 552.47±7 523.72 (42.86)	10 732.54±3 205.62 (29.87)	10 377.61±3 416.53 (32.92)
$AUC_{0-\infty}/h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	18 664.37±6 930.10 (37.13)	17 743.79±7 564.25 (42.63)	10 879.97±3 277.22 (30.12)	10 518.78±3 473.59 (33.02)
$t_{1/2}/h$	9.07±4.65 (51.30)	9.33±3.81 (40.78)	7.97±2.07 (25.99)	8.51±2.37 (27.87)
氨氯地平				
T_{max}/h	6.96±1.90 (27.30)	6.35±1.63 (25.64)	5.75±2.76 (48.03)	5.50±2.78(50.63)
$C_{max}/ng \cdot mL^{-1}$	2.55±0.548 (21.5)	2.51±0.553 (22.0)	2.62±0.563 (21.5)	2.62±0.593 (22.6)
$AUC_{0-t}/h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	92.56±18.29 (19.76)	92.08±20.12 (21.85)	92.92±17.05 (17.78)	94.96±17.49 (18.42)
$AUC_{0-\infty}/h \cdot ng \cdot mL^{-1}$	127.14±32.55 (25.60)	128.99±39.12 (30.33)	132.11±33.28 (25.19)	131.98±35.27 (26.72)
$t_{1/2}/h$	35.76±7.95 (22.23)	37.17±8.97 (24.12)	36.17±6.98 (19.30)	36.84±8.13 (22.06)

试验的 C_{max} 、空腹试验的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 等效性评价采用 RSABE 方法,餐后试验的 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的等效性评价采用 ABE 方法,结果分析见表 3。餐后组受试制剂与参比制剂的 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 GMR 的 90% 置信区间分别为 97.71%~110.50% 和 97.71%~110.48%, C_{max} 的 95% 置信上限为 -0.059 0, GMR 点估计值为 0.991 4, 符合等效要求。空腹组受试制剂与参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 95% 置信上限为 -0.089 6, -0.044 9, -0.043 9, GMR 点估计值为 1.082 5, 1.077 5, 1.076 7, 符合 FDA 生物等效性标准的 95% 置信上限 < 0 和 GMR 点估计落在 80.00%~125.00% 的要求, 具有生物等效性。

氨氯地平的主要药动学参数的 S_{WR} 均 < 0.294, 不属于高变异药物, 拟采用 ABE 评价其生物等效性, 分析结果见表 4。[1-2 α] 置信区间法计算得出餐后组氨氯地平受试制剂与参比制剂的 C_{max} 的 GMR 的 90% 置信区间为 96.50%~104.42%, AUC_{0-t}

的 90% 置信区间为 98.37%~102.69%, $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 置信区间为 97.62%~102.32%, 说明氨氯地平受试制剂与参比制剂等效; 空腹组氨氯地平受试制剂与参比制剂的 C_{max} 的 GMR 的 90% 置信区间为 98.61%~105.16%, AUC_{0-t} 的 90% 置信区间为 99.50%~102.91%, $AUC_{0-\infty}$ 的 90% 置信区间为 97.33%~102.56%, 说明氨氯地平受试制剂与参比制剂等效。

2.4 安全性评价

本研究中空腹纳入 SS 集的受试者, 共有 9 例受试者发生不良事件, 不良事件发生率为 16.7% (9/54), 共发生 11 例次不良事件, 其中 10 例次判定为与药物可能有关, 1 例次判定为与药物可能无关。不良事件的结果: 完全恢复率 90.9% (10/11 例次)、症状依然存在率 9.1% (1/11 例次)。3 个给药序列均有不良事件发生。本研究未发生严重不良事件。餐后纳入 SS 集的受试者, 共有 10 例受试者发生不良事件, 不良事件发生率为 18.5% (10/54),

表 3 餐后和空腹口服缬沙坦氨氯地平片后缬沙坦的生物等效性结果

Tab. 3 Bioequivalence analysis of valsartan after a single oral dose of 80/5 mg of the test or reference product under fast and fed conditions

参数	评价方法	ABE		S_{WR}	RSABE	
		GMR/%	90%置信区间/%		GMR 点估计	95%置信上限
餐后(n=51)						
$\ln C_{max}$	RSABE	/	/	0.317	0.991 4	-0.059 0
$\ln AUC_{0-t}$	ABE	103.91	97.71~110.50	0.230	/	/
$\ln AUC_{0-\infty}$	ABE	103.90	97.71~110.48	0.228	/	/
空腹(n=53)						
$\ln C_{max}$	RSABE	/	/	0.415	1.082 5	-0.089 6
$\ln AUC_{0-t}$	RSABE	/	/	0.306	1.077 5	-0.044 9
$\ln AUC_{0-\infty}$	RSABE	/	/	0.303	1.076 7	-0.043 9

表 4 餐后和空腹口服缬沙坦氨氯地平片后氨氯地平的生物等效性结果

Tab. 4 Bioequivalence analysis of amlodipine after a single oral dose of 80/5 mg of the test or reference product under fast and fed conditions

参数	几何均值及比值			受试者个体内变异(CV)%*	90%置信区间/%	把握度/%
	受试制剂	参比制剂	受试制剂/参比制剂/%			
餐后(n=51)						
$\ln C_{max}$	2.57	2.56	100.38	13.55	96.50~104.42	100.00
$\ln AUC_{0-t}$	94.42	93.95	100.51	8.64	98.37~102.69	100.00
$\ln AUC_{0-\infty}$	128.63	128.70	99.94	10.32	97.62~102.32	100.00
空腹(n=53)						
$\ln C_{max}$	2.50	2.45	101.83	10.99	98.61~105.16	100.00
$\ln AUC_{0-t}$	90.94	89.87	101.19	6.81	99.50~102.91	100.00
$\ln AUC_{0-\infty}$	123.66	123.77	99.91	10.95	97.33~102.56	100.00

注: *参比制剂的个体内变异。

Note: *Intra-subject variation of reference product.

共发生 10 次不良事件, 其中 2 例次判定为与药物很可能有关, 8 例次判定为与药物可能有关。不良事件的结果: 完全恢复率 90.0%(9/10 例次), 未获得相关数据率 10.0%(1/10 例次)。本研究所有不良事件严重程度均为 I 级轻度。3 个给药序列均有不良事件发生。本研究未发生严重不良事件。

3 讨论

瑞士诺华研制缬沙坦氨氯地平片(80/5 mg, 每片含缬沙坦 80 mg、氨氯地平 5 mg; 商品名: Exforge[®]) 是一种新型复方降压药, 于 2009 年被 NMPA (原 CFDA) 批准在中国上市。其中, 组分中的缬沙坦属于 BCS II 分类且属于高变异药物, 故本生物等效性研究采用 3 周期部分重复交叉设计。依据说明书中缬沙坦氨氯地平的临床用药剂量, 本次临床研究采用的给药剂量为 1 片(含缬沙坦 80 mg、氨氯地平 5 mg), 在空腹和餐后状态下单次服用。样本量计算通过假定单侧 $\alpha=0.05$, $\beta=0.1$, Intra-CV=35%, 受试制剂和参比制剂几何均值 0.90~1.10, 通过查表法^[10], 空腹和餐后受试者例数为 51 例。考虑到受试者有可能发生脱落, 本次研究计划入选 54 例。缬沙坦和氨氯地平原型药物均为活性物质, 通过经方法学验证的 LC-MS/MS 测定受试者服药后血浆中的血浆浓度, 采用 Phoenix WinNonlin 软件(8.0 版本)计算缬沙坦、氨氯地平的主要药动学参数。

RSABE 方法计算得出缬沙坦空腹条件下的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 和餐后条件下的 C_{max} 的 S_{WR} 均 >0.294 , 需采用 RSABE 评价其生物等效性和采用 ABE 评价其餐后条件下的 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的等效性。结果表明, 缬沙坦符合生物指导原则规定的生物等效性评价标准, 具有生物等效性。氨氯地平餐后和空腹条件下的主要药动学参数的 S_{WR} 均 <0.294 , 采用 ABE 评价其生物等效性。结果

表明, 氨氯地平受试制剂与参比制剂的 C_{max} 、 AUC_{0-t} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的 GMR 均落在 80.00%~125.00%, 具有生物等效性。因此, 缬沙坦氨氯地平片受试制剂和参比制剂在中国健康人体内具有生物等效性。

REFERENCES

- [1] 陆舒婷, 张雪芳. 高血压慢病管理研究现状[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(20): 2974-2977.
- [2] WANG H. Research of health service demand on patients with hypertension in Tianjin [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2017.
- [3] 刘颖, 张萍, 徐凤芹, 等. 老年高血压药物治疗临床研究进展[J]. 医学研究杂志, 2018, 47(12): 5-8.
- [4] FRAMPTON J E, SCOTT L J. Amlodipine/valsartan single-pill combination: a review of its use in the management of hypertension [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2009, 9(5): 309-330.
- [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[S]. 2016.
- [6] 国家药品监督管理局. 高变异药物生物等效性研究技术指导原则[S]. 2018.
- [7] KIM Y, SON M, LEE D, et al. Pharmacokinetic comparison of 2 fixed-dose combination tablets of amlodipine and valsartan in healthy male Korean volunteers: a randomized, open-label, 2-period, single-dose, crossover study [J]. Clin Ther, 2013, 35(7): 934-940.
- [8] SHAH J V, PAREKH J M, SHAH P A, et al. Application of an LC-MS/MS method for the analysis of amlodipine, valsartan and hydrochlorothiazide in polypill for a bioequivalence study [J]. J Pharm Anal, 2017, 7 (5): 309-316.
- [9] REZK M R, BADR K A. Quantification of amlodipine and atorvastatin in human plasma by UPLC-MS/MS method and its application to a bioequivalence study [J]. Biomed Chromatogr, 2018, 32 (7): e4224.
- [10] TOTHFALUSI L, ENDRENYI L. Sample sizes for designing bioequivalence studies for highly variable drugs [J]. J Pharm Pharm Sci, 2012, 15(1): 73-84.

收稿日期: 2019-05-15

(本文责编: 曹粤锋)