

药代动力学与
生物等效性研究Pharmacokinetics and
Bioequivalence Study依非米替片(I)在中国健康受试者中的
生物等效性研究Bioequivalence of efavirenz, lamivudine and tenofovir disoproxil fumarate tablets
(I) in Chinese healthy participants周迪^{1,2}, 李银霞^{1,2}, 夏玉明³,
瞿惠娟^{1,2}, 杨昭毅^{1,2}(1. 中国科学技术大学 附属第一医院 I 期临床
试验研究室, 安徽 合肥 230001; 2. 精准药物制
剂与临床药学安徽省重点实验室, 安徽 合肥
230001; 3. 安徽贝克生物制药有限公司, 安徽
合肥 230088)ZHOU Di^{1,2}, LI Yin-xia^{1,2},
XIA Yu-ming³, QU Hui-juan^{1,2},
YANG Zhao-yi^{1,2}(1. Phase I Clinical Trials Laboratory,
The First Affiliated Hospital of USTC,
Division of Life Sciences and Medicine,
University of Science and Technology of
China, Hefei 230001, Anhui Province,
China; 2. Anhui Provincial Key
Laboratory of Precision Pharmaceutical
Preparations and Clinical Pharmacy,
Hefei 230001, Anhui Province, China; 3.
Anhui Beike Biopharmaceutical Co.,
Ltd., Hefei 230088, Anhui Province,
China)作者简介: 周迪(1993-), 男, 主管药师, 主要从
事药物临床试验相关工作通信作者: 杨昭毅, 副主任药师, 硕士生导师
Tel: 0551-62282724
E-mail: young2382@ustc.edu.cn

摘要:目的 研究空腹状态下口服2种不同厂家生产的依非米替片(I)在中国健康受试者体内的生物等效性。**方法** 本研究采用单中心、随机、开放、单剂量、两序列、两周期、双交叉的设计。共纳入42例合格的健康受试者, 受试者于每周期空腹状态下单次口服依非米替片(I)受试制剂或参比制剂1片, 每片含0.4 g 依非韦伦, 0.3 g 拉米夫定和0.3 g 富马酸替诺福韦二吡呋酯。采用经过验证的(LC-MS/MS)法测定血浆中3者的药物浓度, 计算药代动力学参数, 进行2种依非米替片(I)的生物等效性评价。**结果** 依非韦伦受试制剂和参比制剂主要PK参数: $C_{\max}$ 分别为(1 710.25 ± 430.44)和(1 851.26 ± 505.57) ng · mL⁻¹, AUC_{0-72h} 分别为(37 571.38 ± 8 747.34)和(39 391.65 ± 8 746.77) ng · mL⁻¹ · h, $t_{\max}$ 分别为[3.23 ± 1.13(1.00, 3.17, 5.00)和3.12 ± 1.30(1.25, 3.00, 6.03)] h, $t_{1/2}$ 分别为(77.08 ± 61.79)和(71.11 ± 39.45) h。拉米夫定受试制剂和参比制剂主要PK参数: $C_{\max}$ 分别为(2 397.22 ± 689.34)和(2 388.23 ± 618.71) ng · mL⁻¹, AUC_{0-1} 分别为(12 134.48 ± 2 526.28)和(12 324.11 ± 2 891.50) ng · mL⁻¹ · h, $t_{\max}$ 分别为[1.97 ± 0.70(0.67, 1.88, 4.00)]和[2.04 ± 0.90(0.67, 2.00, 4.51)] h, $t_{1/2}$ 分别为(11.07 ± 11.10)和(11.46 ± 11.90) h。替诺福韦片受试制剂和参比制剂主要PK参数: $C_{\max}$ 分别为(287.40 ± 86.07)和(304.71 ± 91.49) ng · mL⁻¹, AUC_{0-1} 分别为(2 516.91 ± 583.47)和(2 507.40 ± 573.45) ng · mL⁻¹ · h, $t_{\max}$ 分别为[1.40 ± 0.74(0.50, 1.13, 3.00)和1.39 ± 0.84(0.33, 1.25, 4.00)] h, $t_{1/2}$ 分别为(22.95 ± 4.26)和(21.88 ± 2.99) h。在空腹条件下, 2种制剂主要PK参数的90%置信区间均在80.00% ~ 125.00%。**结论** 受试制剂和参比制剂在空腹状态下生物等效。

关键词: 依非韦伦; 拉米夫定; 富马酸替诺福韦二吡呋酯; 生物等效性; 药动学; 液相色谱-串联质谱法

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.06.010

中图分类号: R969 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2026)06-0812-08

Abstract: Objective To study the bioequivalence of efavirenz, lamivudine and tenofovir disoproxil fumarate tablets (I) from two different manufacturers in healthy Chinese participants under fasting conditions. **Methods** A randomized, single-center, open-label, single-dose, two-sequence, two-period, two-way crossover design. Forty-two eligible healthy subjects were enrolled. In each period, subjects received a single oral dose of the test or reference formulation of efavirenz lamivudine tenofovir tablets (specification: each tablet contains 0.4 g efavirenz, 0.3 g lamivudine and 0.3 g tenofovir disoproxil

fumarate) under fasting conditions. The plasma concentrations of efavirenz, lamivudine and tenofovir was performed using a validated liquid chromatography – tandem mass spectrometry (LC – MS/MS) method that had been fully validated. Pharmacokinetic parameters were calculated and the bioequivalence and safety of the two efavirenz lamivudine tenofovir tablets were evaluated. **Results** For efavirenz, the key pharmacokinetic parameters derived from the test and reference formulations were as follows: $C_{\max}$ were $(1\,710.25 \pm 430.44)$ and $(1\,851.26 \pm 505.57)$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-72\text{h}}$ were $(37\,571.38 \pm 8\,747.34)$ and $(39\,391.65 \pm 8\,746.77)$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{\max}$ were $[3.23 \pm 1.13 (1.00, 3.17, 5.00)]$ and $[3.12 \pm 1.30 (1.25, 3.00, 6.03)]$ h, and $t_{1/2}$ were (77.08 ± 61.79) and (71.11 ± 39.45) h, respectively. For lamivudine: $C_{\max}$ were $(2\,397.22 \pm 689.34)$ and $(2\,388.23 \pm 618.71)$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-1} were $(12\,134.48 \pm 2\,526.28)$ and $(12\,324.11 \pm 2\,891.50)$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{\max}$ were $[1.97 \pm 0.70 (0.67, 1.88, 4.00)]$ and $[2.04 \pm 0.90 (0.67, 2.00, 4.51)]$ h, and $t_{1/2}$ were (11.07 ± 11.10) and (11.46 ± 11.90) h, respectively. For tenofovir: $C_{\max}$ were (287.40 ± 86.07) and (304.71 ± 91.49) $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-1} were $(2\,516.91 \pm 583.47)$ and $(2\,507.40 \pm 573.45)$ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$, $t_{\max}$ were $[1.40 \pm 0.74 (0.50, 1.13, 3.00)]$ and $[1.39 \pm 0.84 (0.33, 1.25, 4.00)]$ h, and $t_{1/2}$ were (22.95 ± 4.26) and (21.88 ± 2.99) h, respectively. Under fasting conditions, the 90% confidence intervals of the main PK parameters of the test and reference formulations were all within 80.00% to 125.00%. **Conclusion** The test and reference formulations are bioequivalent under fasting conditions.

Key words: efavirenz; lamivudine; tenofovir disoproxil fumarate; bioequivalence; pharmacokinetics; LC – MS/MS

依非米替片(I)由依非韦伦、拉米夫定、富马酸替诺福韦二吡呋酯三种主要成分构成。其中,依非韦伦是人类免疫缺陷病毒1型(human immunodeficiency virus – 1, HIV – 1)的非竞争性逆转录酶抑制剂,主要通过非竞争性抑制 HIV – 1 逆转录酶介导;拉米夫定是一种具有抗 HIV – 1 和 HBV 的活性的合成核苷类似物;替诺福韦二吡呋酯是一种无环核苷磷酸酯二酯类似物,对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)和乙型肝炎病毒均有较强抑制作用^[1]。适用于体重至少 35 kg 以上的成人及儿童 1 型人类免疫缺陷病毒感染患者的治疗。

本研究受试制剂为安徽贝康生物制药有限公司生产的依非米替片(I)片,参比制剂为原研公司生产的依非米替片(I)(SYMFI LO[®]),旨在探讨空腹状态下依非米替片(I)在中国健康受试者的药代动力学特征,并比较 2 者的生物等效性,为该药的临床应用提供依据^[2]。

材料、对象与方法

1 材料

药品与试剂 本研究所用受试制剂(T)与参比制剂(R)均为依非米替片(I),其规格相同:每片含依非韦伦 0.4 g、拉米夫定 0.3 g 及富马酸替诺福韦二吡呋酯 0.3 g。其中受试制剂批号为 2300508,由安徽贝康生物制药有限公司生产并提供;参比制剂商品名为 SYMFI LO[®],批号为 3166335,批准文号:国药准字

HJ20220093,由 Mylan Laboratories Limited 生产, Mylan Pharmaceuticals Inc 持证,安徽贝康生物制药有限公司提供。

依非韦伦(标准品),纯度:99.9%,批号:101441 – 202001;拉米夫定(标准品),纯度:99.9%,批号:101007 – 201803;替诺福韦(标准品),纯度:93.8%,批号:101450 – 201901,均来源于中国食品药品检定研究院;

依非韦伦 – d5(内标),纯度:94.6%,批号:1866 – 041A4;拉米夫定 – ¹³C – ¹⁵N2(内标),纯度:96.3%,批号:2797 – 067A5;替诺福韦 – d7(内标),纯度:99.8%,批号:2776 – 020A4;均购自于拿大 TLC Pharmaceutical Standards 公司。

Dionex Ultimate 3000 UHPLC 液相色谱仪, ThermoFisher Scientific 公司产品;AB 4000 质谱仪,美国 AB Sciex 公司产品;LC – 30A 液相色谱仪,岛津企业管理(中国)有限公司产品;AB 5500 质谱仪,美国 AB Sciex 公司产品。

2 受试者选择

本方案经中国科学技术大学附属第一医院医学研究伦理委员会批准(伦理批号:2023 – 211),并在临床试验平台登记(临床试验备案号:202301327 – 01;临床试验登记平台登记号:CTR20233172)。共纳入 42 例健康受试者,其中 37 例男性,5 例女性。年龄为 (28.43 ± 5.62) 岁,身高为 (168.38 ± 6.83) cm,体重为 (63.22 ± 6.98) kg,平均体质指数(body mass index, BMI)为 (22.28 ± 1.84) $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 。所有受试者

均签署知情同意书。

入选标准 ①中国健康男性或女性成年人(年龄 ≥ 18 周岁);②女性体质量 ≥ 45.0 kg,男性体质量 ≥ 50.0 kg,BMI在 $19.0 \sim 26.0$ $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$;③同意自筛选至末次给药后6个月内采取有效避孕措施,且无生育计划、捐精或捐卵计划。

排除标准 ①生命体征、体格检查、实验室检查、妊娠检查(女性)、12导联心电图等检查,经研究者判断异常有临床意义,药筛、酒精呼气检测阳性者;②在筛选前发生或正在发生有临床表现异常需排除的疾病;有胰腺炎病史或其他胰腺炎危险因素;有癫痫病史;有病理性骨折史或其他骨质疏松或骨质丢失风险因素;③食物、药物过敏史;④有烟酒嗜好或药物滥用史;⑤筛选前28天内使用过任何肝药酶抑制剂或诱导剂或艾尔巴韦/格拉瑞韦;⑥筛选前2周内使用过任何处方药、非处方药、中草药(或中成药)和维生素。

3 分组、给药方案与血样采集

采用随机、开放、单剂量、两序列、两周期、双交叉试验设计,试验各周期之间清洗期为35天,清洗期设定根据依非韦伦、拉米夫定、替诺福韦的药动学参数,依非韦伦: $t_{1/2} = 76.0$ h($46 \sim 105$ h), $t_{\max} = 1.8 \sim 8.0$ h;拉米夫定: $t_{1/2} = 5.0 \sim 7.0$ h, $t_{\max} = 0.4 \sim 3.3$ h;替诺福韦: $t_{1/2} = 13.0 \sim 17.0$ h, $t_{\max} = 0.5 \sim 1.7$ h,各周期间隔需大于7倍半衰期。

入选受试者于每周给药前一天入住I期临床研究病房,本研究采用空腹试验设计,禁食过夜至少10.0 h,次日早晨空腹以240 mL水送服1片依非韦替片(I)。

于给药前(给药前60 min内)及给药后0.17 h(10 min)、0.33 h(20 min)、0.50 h、0.67 h(40 min)、0.83 h(50 min)、1.00 h、1.25 h、1.50 h、1.75 h、2.00 h、2.33 h(140 min)、2.67 h(160 min)、3.00 h、3.33 h(200 min)、3.67 h(220 min)、4.00 h、4.50 h、5.00 h、6.00 h、7.00 h、8.00 h、10.00 h、12.00 h、24.00 h、48.00 h及72.00 h采集上肢静脉血约4 mL于预冷采血试管,采血后,立即将预冷采血管轻柔颠倒混匀4~8次,2~8℃,2 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心10 min。离心后于室温下操作,将血浆分装至2个预冷管中。采集完成后2.0 h内,将血浆样本置于 $-90^\circ\text{C} \sim -60^\circ\text{C}$ 超低温冰箱中保存,直到送往分析中心时取出。

4 测定方法与血浆样品处理

色谱条件 依非韦伦:色谱分离在40℃柱温下进行,使用Welch Ultimate XB-C₁₈柱(4.6 mm ×

50.0 mm,5.0 μm),以0.80 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速,将5.00 μL 样品注入由A(0.1%乙酸水溶液)和B(甲醇)组成的流动相体系中。洗脱梯度设定为:0~0.50 min,50%→90%B;0.50~2.00 min,维持90%B;2.00~2.01 min,90%→50%B;2.01~3.00 min,维持50%B。

拉米夫定 色谱分离在40.0℃柱温下进行,使用Welch Ultimate XB-Phenyl柱(2.1 mm × 100.0 mm,5.0 μm),以0.40 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速,将5.00 μL 样品注入由A(10 mmol·L⁻¹乙酸铵,含0.1%乙酸)和B(甲醇)组成的流动相体系中。洗脱梯度设定为:0~0.01 min,5%B;0.01~3.00 min,5%→90%B;3.00~3.01 min,90%→5%B;3.01~4.00 min,维持5%B。

替诺福韦 色谱分离在40.0℃柱温下进行,使用Welch Ultimate XB-C₁₈柱(2.1 mm × 150.0 mm,5.0 μm),以0.50 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速,将5.00 μL 样品注入由A(0.05%甲酸)和B(90%乙腈,含0.1%甲酸)组成的流动相体系中。洗脱梯度设定为:0~0.01 min,2%B;0.01~2.50 min,2%→5%B;2.50~2.51 min,5%→2%B;2.51~4.50 min,维持2%B。

质谱条件 依非韦伦的质谱分析在电喷雾电离(ESI)正离子、多反应监测(MRM)的条件下完成。依非韦伦和内标的去簇电压为74 V和86 V,碰撞能量均为20 V,定量分析离子对(Q1→Q3)分别为316.0→244.1和321.1→246.0。喷雾电压:5 000 V,气帘气:35 kPa,雾化气:50 kPa,辅助干燥气:45 kPa,碰撞气:8 kPa。

拉米夫定的质谱分析在ESI正离子、MRM的条件下完成。拉米夫定和内标的去簇电压为80 V和40 V,碰撞能量为48 V和45 V,定量分析离子对(Q1→Q3)分别为230.3→112.1和233.0→115.0。喷雾电压:5 500 V,气帘气:45 kPa,雾化气:50 kPa,辅助干燥气:55 kPa,碰撞气:Medium。

替诺福韦的质谱分析在ESI正离子、MRM的条件下完成。替诺福韦和内标的去簇电压均为100 V,碰撞能量均为35 V,定量分析离子对(Q1→Q3)分别为288.1→176.1和295.0→183.1。喷雾电压:5 500 V,气帘气:35 kPa,雾化气:40 kPa,辅助干燥气:50 kPa,碰撞气:Medium。

血浆样品处理 血浆样品经涡旋混匀后,各取50 μL 至96孔板。根据样品性质差异(双空白及ULOQ无内标样品加入50 μL 50%甲醇,其余加入50 μL 内标工作液)添加溶液并涡旋混匀。随后,每孔加入200 μL 乙腈进行蛋白沉淀,封板后振荡混匀

10 min, 再于 4 °C、2 623 r · min⁻¹ 条件下离心 10 min。最后, 取离心后上清液进行分析物特异性处理: 对于依非韦伦, 取 50 μL 上清加 150 μL 水稀释; 对于拉米夫定, 取 50 μL 上清加 400 μL 0.1% 甲酸稀释; 对于替诺福韦, 则取 50 μL 上清于 40 °C 氮气吹干, 用 250 μL 水复溶。所有处理后的样品均需封板混匀, 样品在 4 °C、2 623 r · min⁻¹ 离心 10 min, 待进样。

5 方法学考察与评价

由安徽万邦医药科技股份有限公司进行本研究方法学开发与验证及生物样本的检测分析。

专属性 依非韦伦、拉米夫定、替诺福韦与其内标的保留时间分别为 1.84 vs. 1.83 min, 1.83 vs. 1.83 min 和 1.96 vs. 1.91 min。所有测试的空白基质(包括 6 份不同来源的常规基质、3 份溶血基质及 3 份高脂基质)色谱图中, 目标物及内标保留时间处均未显示显著干扰峰, 表明方法专属性良好, 见图 1。

标准曲线与定量下限 将系列浓度的标准品工作液分别加入空白基质中, 制备得到 8 个不同浓度的标准曲线样品, 见表 1。标准曲线通过加权最小二乘回归构建, 用权重系数 $1/x^2$ 进行最小二乘法进计算出标准曲线方程。依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦的线性范围分别为 30.00 ~ 5 000.00 ng · mL⁻¹、10.00 ~ 6 000.00 ng · mL⁻¹、3.00 ~ 600.00 ng · mL⁻¹, 回归方程为 $y = 3.24 \times 10^{-3}x + 2.24 \times 10^{-3}$ ($R^2 = 0.9981$)、 $y = 7.26 \times 10^{-4}x + 8.58 \times 10^{-5}$ ($R^2 = 0.9974$)、 $y = 1.65 \times 10^{-2}x - 0.53 \times 10^{-3}$ ($R^2 = 0.9935$), 定量下限为 30.00 ng · mL⁻¹、10.00 ng · mL⁻¹、3.00 ng · mL⁻¹。

精密度与回收率 为评估批内、批间准确度和精密度, 分别配制依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦 5 个质量浓度的质控样品(分别 6 个重复)。为评价提取回收率, 分别配制依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦测定低、中、高 3 个质量浓度的质控样品(分别 6 个重

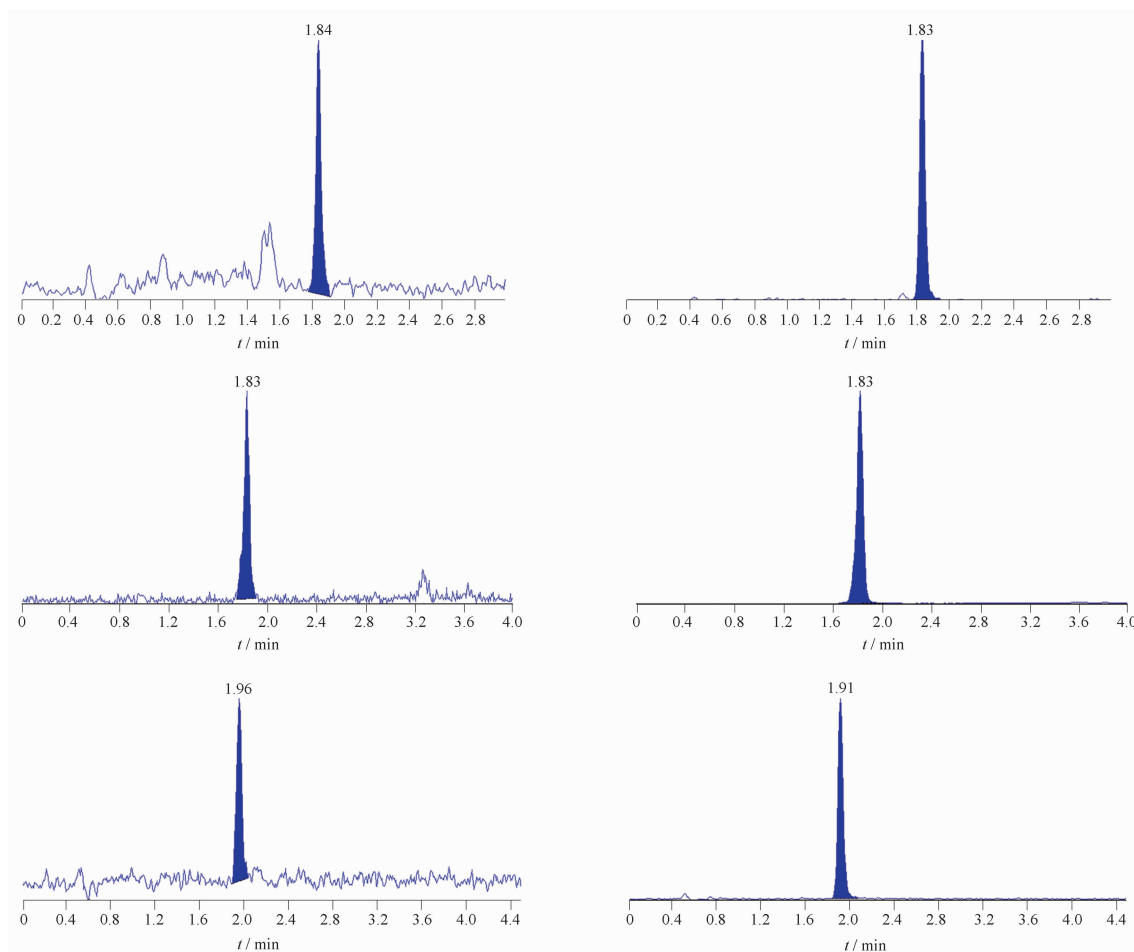


图 1 依非韦伦、拉米夫定、替诺福韦和内标的典型色谱图

Figure 1 Typical chromatogram of efavirenz, lamivudine, tenofovir and internal - standard.

The analyte sample is positioned on the left, and the internal standard is placed on the right. A: Left: Efavirenz, Right: Efavirenz - d5 B: Left: Lamivudine, Right: Lamivudine - 13C - 15N2; C: Left: Tenofovir, Right: Tenofovir - d7.

表1 依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦标准曲线样品血药浓度
Table 1 Blood drug concentration for standard curve samples of efavirenz, lamivudine and tenofovir

Test substance	Efavirenz	Lamivudine	Tenofovir
	30.00	10.00	3.00
	60.00	20.00	6.00
Setting of blood drug	180.00	80.00	15.00
concentration for standard	540.00	240.00	48.00
curve samples	1 000.00	960.00	96.00
($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	2 000.00	2400.00	240.00
	4 000.00	4800.00	480.00
	5 000.00	6000.00	600.00

表2 依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦的精密度及回收率

Table 2 Precision and recovery of efavirenz, lamivudine and tenofovir in human plasma

Drug	Concentration ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Intra-day ($n=6$)			Inter-day ($n=18$)			Recovery (%)
		Measured	RE	RSD	Measured	RE	RSD	
		($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}, \bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}, \bar{x} \pm s$)	(%)	(%)	
Efavirenz	30.00	30.31 $\pm$ 1.48	4.89	1.05	29.76 $\pm$ 2.26	7.58	-0.79	-
	90.00	85.29 $\pm$ 3.97	4.65	-5.24	86.89 $\pm$ 5.75	6.62	-3.46	96.33
	450.00	434.77 $\pm$ 23.57	5.42	-3.38	442.10 $\pm$ 19.72	4.46	-1.75	-
	1 500.00	1587.72 $\pm$ 26.98	1.70	5.85	1548.13 $\pm$ 70.89	4.58	3.21	97.13
	3 750.00	3699.65 $\pm$ 91.76	2.48	-1.34	3681.46 $\pm$ 139.41	3.79	-1.80	97.34
Lamivudine	10.00	9.84 $\pm$ 0.53	5.40	-1.57	9.95 $\pm$ 0.52	5.25	-0.49	-
	30.00	28.74 $\pm$ 1.11	3.87	-4.21	28.76 $\pm$ 1.08	3.76	-4.14	102.03
	150.00	144.16 $\pm$ 5.21	3.62	-3.89	146.37 $\pm$ 4.40	3.01	-2.42	-
	1 800.00	1910.37 $\pm$ 67.98	3.56	6.13	1840.78 $\pm$ 69.65	3.78	2.27	92.22
	4 500.00	4392.74 $\pm$ 89.46	2.04	-2.38	4285.60 $\pm$ 154.01	3.59	-4.76	98.36
Tenofovir	3.00	3.42 $\pm$ 0.42	12.23	14.15	3.27 $\pm$ 0.32	9.80	8.92	-
	9.00	8.93 $\pm$ 0.39	4.36	-0.81	8.77 $\pm$ 0.60	6.86	-2.58	75.74
	45.00	42.50 $\pm$ 2.69	6.33	-5.55	44.69 $\pm$ 4.20	9.40	-0.68	-
	180.00	189.99 $\pm$ 7.23	3.80	5.55	187.76 $\pm$ 9.40	5.00	4.31	76.19
	450.00	441.03 $\pm$ 9.28	2.10	-1.99	429.03 $\pm$ 33.39	7.78	-4.66	81.72

RSD: Relative standard deviation; RE: Relative error.

基质效应 通过6个不同来源的空白基质来评价方法的基质效应,使用每个不同来源的空白基质分别配制低(low quality control, LQC)、高浓度水平(high quality control, HQC)的质控样品。6个不同来源的基质的基质效应结果符合接受标准,无明显基质效应。其中依非韦伦的LQC平均准确度偏差为-5.0%~0.8%,%CV $\leq$ 6.7%;HQC平均准确度偏差为-1.3%~1.2%,%CV $\leq$ 7.8%;拉米夫定的LQC平均准确度偏差为-4.0%~1.7%,%CV $\leq$ 4.3%;HQC平均准确度偏差为-6.2%~0.0%,%CV $\leq$ 7.1%;替诺福韦的LQC平均准确度偏差为

复)。所有分析物(依非韦伦、拉米夫定、替诺福韦)在定量下限(LLOQ)及低、中、高浓度水平下,批内与批间精密度(RSD)均 $\leq$ 12.23%,准确度(相对误差,RE)在-5.24%至14.15%之间。其中,替诺福韦在定量下限($3 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)的RE(14.15%)和RSD(12.23%)略高,但仍符合生物分析方法验证的常规接受标准($\pm 20\%$ 和 $\leq 20\%$)。3个分析物在低、中、高浓度的提取回收率稳定在75.74%至102.03%之间,且RSD均小于15%。以上数据充分表明,该方法具有可靠的重复性、准确度及稳定的提取效率,具体精密度和回收率的结果见表2。

-7.9%~5.0%,%CV $\leq$ 4.9%;HQC平均准确度偏差为-4.2%~0.5%,%CV $\leq$ 7.3%。

溶血基质效应 使用溶血空白基质来配制低、高浓度水平的质控样品进行评估。溶血空白基质可以通过将全部溶血后的单个来源的全血加入到正常混合空白基质中得到,全血的体积比例5%,每个浓度设置6个重复。以正常混合空白基质配制的标准曲线样品测定上述溶血样品,并随行正常混合空白基质配制的质控样品。依非韦伦的LQC质控样品平均准确度偏差为-5.6%,%CV为5.3%;HQC的平均准确度偏差为-0.9%,%CV为5.3%。拉米夫定的LQC的

平均准确度偏差为 -4.3% , $\%CV$ 为 1.0% ;HQC的平均准确度偏差为 -4.8% , $\%CV$ 为 1.9% 。替诺福韦的LQC的平均准确度偏差为 -7.9% , $\%CV$ 为 2.7% ;HQC的平均准确度偏差为 -5.0% , $\%CV$ 为 2.0% 。

稳定性 3个成分药物血浆样品在室温白光条件下放置47 h平均准确度偏差范围为 $-4.8\% \sim 4.0\%$;以下为其他条件下的平均准确度偏差范围:在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 至室温5次冻融循环($-2.7\% \sim 5.2\%$);在 $-90\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 至室温5次冻融循环($-3.3\% \sim 2\%$);在室温白光条件下放置2 h($-5.8\% \sim -0.6\%$);对于待测物血浆样品处理后在 $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下放置不同时间(依非韦伦:146 h范围为 $-0.3\% \sim -0.2\%$;拉米夫定:172 h范围为 $0.3\% \sim 3.7\%$;替诺福韦:57 h范围为 $-5.1\% \sim 3.4\%$),以上条件下稳定性均良好。

对于待测物工作液在室温白光条件下放置57 h平均准确度偏差范围为 $-0.4\% \sim 2.2\%$,在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下放置51 d($-0.3\% \sim 2.0\%$),稳定性均为良好;另外,对于在室温白光条件下放置70 h及在 $-30\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下放置74 d的内标物工作液进行稳定性试验,结果现实对检测未产生干扰(所有测定点的干扰均为 0.0%),表明在该条件下内标物稳定,不影响检测的特异

性,稳定性良好。

6 统计学处理

使用Phoenix WinNonlin 8.1软件对药动学评价指标参数进行统计分析,依非韦伦 $C_{\max}$ 和 $AUC_{0-72\text{ h}}$ 、拉米夫定 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-1} 和 $AUC_{0-\infty}$ 及替诺福韦 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-1} 和 $AUC_{0-\infty}$ 经自然对数转换后进行方差分析(ANOVA),并计算 $C_{\max}$ 和AUC几何均值比率(受试制剂/参比制剂)的90%置信区间。采用SAS 9.4数据统计软件,对安全性评价指标进行统计分析。

结 果

1 血药浓度-时间曲线

空腹试验入组成功共42例受试者(男性37例,女性5例),其中40例完成试验,2例提前退出。42例受试者均纳入全分析集、安全性分析集。K011(TR)受试者因个人原因主动退出,第二周期未入住,试验第二周期未给药、未采血,故该受试者第二周期药动学参数均不纳入药代动力学参数集;K025(RT)因个人原因主动退出,试验第二周期采血至给药后48.00 h,根据数据集定义,无法计算 $AUC_{0-72\text{ h}}$,故该受试者第二周期 $AUC_{0-72\text{ h}}$ 不纳入药代动力学参数集和生物等效性集。

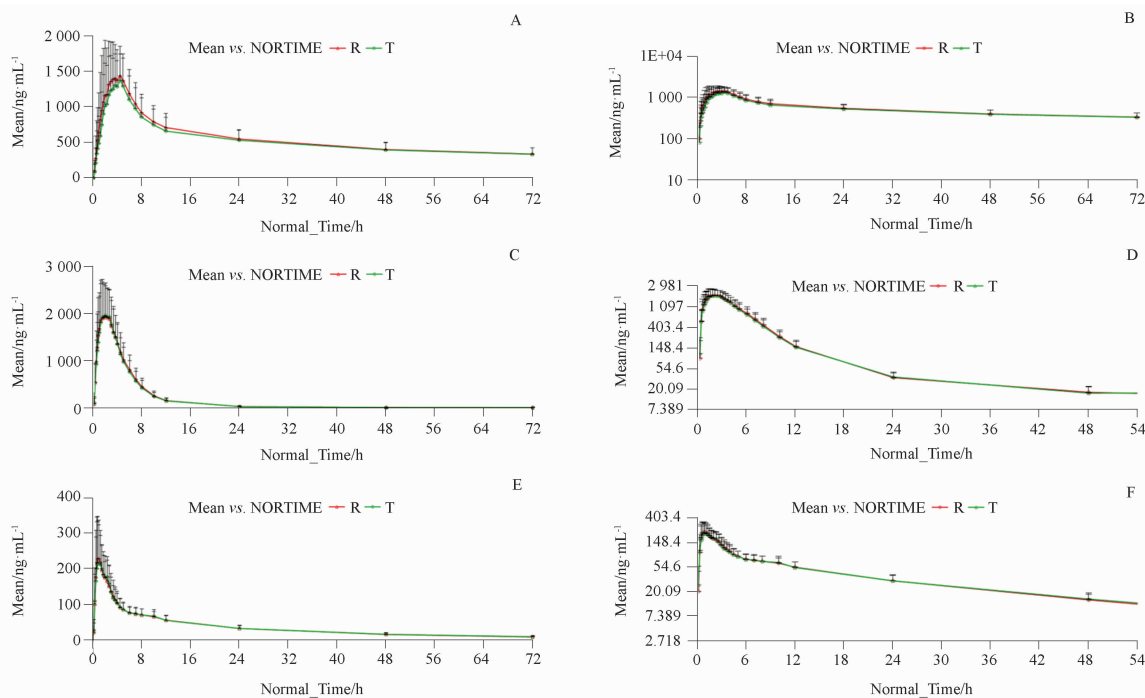


图2 口服受试制剂和参比制剂后的平均血药浓度-时间曲线及其半对数坐标图形

Figure 2 Mean plasma concentration - time curve (on both linear and semi - logarithmic scales) after single oral administration of test and reference drugs under fasting state.

A: Efavirenz linear plot; B: Efavirenz semi - log plot; C: Lamivudine linear plot; D: Lamivudine semi - log plot; E: Tenofovir linear plot; F: Tenofovir semi - log plot.

在空腹条件下 41 例受试者口服参比制剂和 42 例受试者口服受试制剂后的平均血药浓度-时间曲线以及其分别对应的半对数坐标图形,如图 2 所示。通过半对数坐标图可以更直观地评估药物在消除相的线性动力学特征。整体而言,受试制剂与参比制剂各组分的药-时曲线形态在两种坐标下均表现出高度相似性,初步提示两者的体内处置过程可能一致。

2 药代动力学参数

对血药浓度数据进行分析,计算得到受试制剂与参比制剂的主要药代动力学(pharmacokinetics, PK)参数,见表 3。

3 生物等效性评价

空腹给药条件下,依非韦伦的 C_{max} 、 AUC_{0-72h} 的几何均值比值及其 90% 置信区间分别为 93.02% (86.28% ~ 100.27%)、95.73% (90.87% ~ 100.85%), 拉米夫定的 C_{max} 、 AUC_{0-1} 和 $AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比值及其 90% 置信区间分别为 100.44% (95.44% ~ 105.71%)、99.59% (95.36% ~ 104.01%)、99.48% (95.19% ~ 103.96%), 替诺福韦的 C_{max} 、 AUC_{0-1} 和

$AUC_{0-\infty}$ 的几何均值比值及其 90% 置信区间分别为 94.89% (89.05% ~ 101.12%)、101.08% (96.62% ~ 105.75%)、102.46% (97.87% ~ 107.27%), 均在 80.00% ~ 125.00% 范围内。进一步的双单侧 t 检验统计结果也支持这一发现,拒绝了两种制剂生物不等效的假设。综上可以认为受试制剂和参比制剂在空腹状态下具有生物等效性。

4 安全性评价

本试验期间观察到的药物不良反应均为轻到中度(CTCAE 5.0 分级为 1 ~ 2 级),未报告严重不良事件/药物不良反应/导致退出的不良事件或不良反应发生,表明两种制剂在本试验条件下均具有良好的耐受性。从发生率看,不良反应发生率为 45.24% (19 例受试者发生 31 例次不良反应)。参比制剂不良反应发生率为 21.95% (9 例受试者发生 12 例次不良反应)。受试制剂不良反应发生率为 28.57% (12 例受试者发生 19 例次不良反应), P 值为 0.488,药物不良反应发生率差异在统计学上无统计学意义。

表 3 空腹口服受试制剂和参比制剂后药代动力学参数

Table 3 Main pharmacokinetic parameters after single oral test and reference preparations under fasting state

Parameters	Efavirenz		Lamivudine		Tenofovir	
	Test (n = 42)	Reference (n = 41)	Test (n = 42)	Reference (n = 41)	Test (n = 42)	Reference (n = 41)
t_{max} (h) *	3.23 ± 1.13 (1.00, 3.17, 5.00)	3.12 ± 1.30 (1.25, 3.00, 6.03)	1.97 ± 0.70 (0.67, 1.88, 4.00)	2.04 ± 0.90 (0.67, 2.00, 4.51)	1.40 ± 0.74 (0.50, 1.13, 3.00)	1.39 ± 0.84 (0.33, 1.25, 4.00)
C_{max} (ng · mL ⁻¹)	1 710.25 ± 430.44	1 851.26 ± 505.57	2 397.22 ± 689.34	2 388.23 ± 618.71	287.40 ± 86.07	304.71 ± 91.49
AUC_{0-72h} (ng · mL ⁻¹ · h)	37 571.38 ± 8 747.34 [#]	39 391.65 ± 8 746.77	-	-	-	-
AUC_{0-1} (ng · mL ⁻¹ · h)	-	-	12 134.48 ± 2 526.28	12 324.11 ± 2 891.50	2 516.91 ± 583.47	2 507.40 ± 573.45
$AUC_{0-\infty}$ (ng · mL ⁻¹ · h)	-	-	12 403.01 ± 2 468.24	12 610.62 ± 2 861.35	2 794.29 ± 673.04	2 742.23 ± 626.21
$t_{1/2}$ (h)	77.08 ± 61.79	71.11 ± 39.45	11.07 ± 11.10	11.46 ± 11.90	22.95 ± 4.26	21.88 ± 2.99

* : Mean ± SD (min, median, max);[#] n = 41

讨 论

艾滋病,即获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS),其病原体为 HIV,亦称艾滋病病毒,是全球高度关注的危及公共健康的一种传染性疾病^[3-4]。流行病学统计显示,全球现存 HIV/AIDS 患者约达 3 900 万例,其中当年新发 HIV 感染者 130 万例,有 2 980 万人正在接受抗反转录病毒治疗^[5]。

依非米替片(I)为中国艾滋病诊疗指南 2024 版推荐,为成人及青少年初治患者抗病毒治疗的推荐方

案^[3]。其为一款三合一 ART,为降低依非韦伦剂量的联合方案(即依非韦伦剂量从每日 600 mg 调整至每日 400 mg)。俗称“鸡尾酒疗法”,原通用名为“依非韦伦/拉米夫定/替诺福韦片”,该产品已经获得美国 FDA 批准^[6],2022 年 12 月 8 日获中国国家药品监督管理局批准^[7]。Trial 903 试验评估用依非韦伦、拉米夫定和富马酸替诺福韦二吡呋酯治疗 HIV-1 非常有效,<3% 的患者在 144 周内对 TDF 产生耐药^[8]。ENCORE1 试验比较三联药物中 400 mg 与 600 mg 依非韦伦的药代动力学和 HIV 抑制效果,试验结果显示,与使用 600 mg 依非韦伦的配方相比,400 mg 依非韦伦暴露量显著降低,但剂量之间的 HIV 抑制效果相

当^[9]。安徽贝克生物制药有限公司发明公开了一种由替诺福韦包衣微丸,拉米夫定包衣微丸,依非韦伦微丸共同制备的三联复方微丸片及其制备方法。本发明解决了三联复方组份间由于相互作用产生的有效成分降解、溶出迟滞现象及制备中不利于压片和患者吞咽等问题,采用微丸压片法制备三组分药物均无相互接触的单层片剂,以获得良好稳定性和快速溶出速率,保证自制样品与原研生物等效^[10]。

本研究设计采用空腹试验组,依据国家药品监督管理局指导原则^[2],常释口服制剂与调释口服制剂均建议开展空腹和餐后研究,其中对于常释口服制剂,若说明书明确仅空腹服用,则可不进行餐后研究,若说明书明确空腹服用有严重安全性问题时,则可不进行空腹研究。根据 FDA 指导原则建议,本品仅开展空腹试验。另外亦有文献报道采用同样的空腹研究。本研究采样点设计最长为 72 h,对于拉米夫定($t_{1/2}=5\sim7$ h)和替诺福韦($t_{1/2}=13.0\sim17.0$ h),72 h 的采样已超过其 3~5 个消除半衰期,符合 ICH 等指导原则的要求,足以准确计算其 $AUC_{0-\infty}$ 和终末半衰期。对于依非韦伦($t_{1/2}=52\sim76$ h),72 h 的采样虽未覆盖其完整的 3 个半衰期,但已能可靠地描述其在关键治疗窗口。在国外同类依非米替片研究中,针对依非韦伦这一长半衰期药物,也使用了 $AUC_{0-72\text{ h}}$ 作为主要暴露指标^[11]。本研究应用 LC-MS/MS 法分别测定了中国健康受试者空腹状态下交叉口服依非米替片(I)T 药与 R 药的血药浓度。生物等效性分析显示,依非米替片(I)受试制剂与参比制剂的 3 个组分依非韦伦、拉米夫定和替诺福韦的 AUC 和 $C_{\max}$ 几何均值比的 90% 置信区间均落在 80%~125%,表明受试制剂和参比制剂在体内的吸收、分布、消除过程无差异,具有生物等效性。

依非米替片(I)作为三联复方制剂,可以 1 片抵 4 片,患者服药更方便,每日 1 片,不易漏服,依从性高。该产品是国内首仿,研究表明依非米替片(I)受试制剂和参比制剂均具有良好的安全性和耐受性,且生物等效,临床治疗时可用受试制剂代替参比制剂,减轻患者经济负担,提高药物的可及性,使更多的临床患者受益。

参考文献:

- [1] 毛蕾,高果,樊彩萍. 拉米夫定、替诺福韦及依非韦伦抗病毒方案在艾滋病治疗中的应用[J]. 河南医学高等专科学校学报, 2023,35(5):509—512.
- [2] 国家药品监督管理局. 总局关于发布普通口服固体制剂参比制剂选择和确定等 3 个技术指导原则的通告(2016 年第 61 号)[EB/OL]. 2016-03-18 [2024-06-06]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqgtg/20160318210001725.html>.
- [3] 中华医学会感染病学分会艾滋病学组,中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2024 版)[J]. 中华传染病杂志, 2024,42(5):257—284.
- [4] OKAMOTO E E, ANAM F R, BATISTE S, et al. Ending AIDS as a public health threat: The imperative for clear messaging on U = U, viral suppression, and zero risk [J]. *Lancet HIV*, 2024,11(11): e783—e790.
- [5] UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics: Fact sheet [EB/OL]. (2023-11-02) [2024-02-16]. <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
- [6] FDA. Approves another fixed-dose HIV-1 treatment: Symfi Lo Tablets. Retrieved Feb 9, 2018. from <https://www.contagionlive.com/view/fda-approves-another-fixed-dose-hiv-1-treatment-symfi-lo-tablets>.
- [7] 2022 年 12 月 08 日药品批准证明文件送达信息发布. Retrieved Dec 8, 2022. From <https://www.nmpa.gov.cn/zlfw/sdxx/sdxxyp/ypjfb/20221208092804174.html>.
- [8] MARGOT NA, LU B, CHENG A, et al. Resistance development over 144 weeks in treatment-naïve patients receiving tenofovir disoproxil fumarate or stavudine with lamivudine and efavirenz in Study 903 [J]. *HIV Med*, 2006,7(7):442—450.
- [9] DICKINSON L, AMIN J, ELSE L, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of once-daily efavirenz (400 mg vs. 600 mg) in treatment-naïve HIV-infected patients: Results of the ENCORE1 study [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2015,98(4): 406—416.
- [10] 安徽贝克生物制药有限公司. 替诺福韦、拉米夫定和依非韦伦三联复方微丸片及其制备方法: CN201210598054.3 [P]. 2016-08-24.
- [11] ABHYANKAR D, SHEDAGE A, GOLE M, et al. Pharmacokinetics of fixed-dose combination of tenofovir disoproxil fumarate, lamivudine, and efavirenz: Results of a randomized, crossover, bioequivalence study [J]. *Int J STD AIDS*, 2017, 28(5): 491—498.

(本文编辑:冀希炜 收稿日期 2025-08-20)