

药代动力学与
生物等效性研究Pharmacokinetics and
Bioequivalence Study罗替高汀贴片在中国健康受试者中的
生物等效性研究

Bioequivalence study of rotigotine patches in healthy Chinese subjects

姜敏生^{1,2}, 尹咸森^{1,2}, 朱琦涛^{1,2},
华玉^{1,2}, 宋欢^{1,2}, 丁峰^{1,2},
郭东生¹, 甘方良¹

(1. 咸宁市中心医院 临床药理机构办公室, 湖北
咸宁 437100; 2. 湖北科技学院 医学部 药学院,
湖北 咸宁 437100)

JIANG Min - sheng^{1,2},
YIN Xian - miao^{1,2},
ZHU Qi - tao^{1,2}, HUA Yu^{1,2},
SONG Huan^{1,2}, DING Feng^{1,2},
GUO Dong - sheng¹,
GAN Fang - liang¹

(1. Office of Clinical Pharmacology,
Xianning Central Hospital, Xianning
437100, Hubei Province, China;
2. School of Pharmacy, Faculty of
Medicine, Hubei University of Science and
Technology, Xianning 437100, Hubei
Province, China)

作者简介: 姜敏生(1998 -), 女, 硕士研究生, 主
要从事临床药代动力学方面的研究

通信作者: 甘方良, 主任药师, 硕士生导师
MP: 13387170096
E - mail: ganfang9876@163.com

摘要:目的 评价罗替高汀贴片在中国健康受试者体内单次给药后的生物等效性。**方法** 用随机、开放、空腹、单剂量、两制剂、四周期、两序列完全重复交叉设计, 24例健康受试者于腹部皮肤贴用 $4.5 \text{ mg} \cdot 10 \text{ cm}^{-2}$ 受试制剂或参比制剂。用液相色谱 - 串联质谱法测定人血浆中药物浓度, 用药代动力学软件计算相关药代动力学参数, 并对其进行生物等效性评价。**结果** 罗替高汀贴片的受试制剂和参比制剂的 $C_{\max}$ 分别为 (275.04 ± 98.93) 和 $(277.11 \pm 96.78) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, AUC_{0-1} 分别为 (5011.91 ± 2015.32) 和 $(4934.28 \pm 2095.76) \text{ h} \cdot \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{AUC}_{0-\infty}$ 分别为 (5092.68 ± 2033.23) 和 $(5160.61 \pm 2052.04) \text{ h} \cdot \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $C_{\max}$ 、 AUC_{0-1} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 几何均值均在 $80.00\% \sim 125.00\%$ 等效区间。**结论** 罗替高汀贴片受试制剂和参比制剂在中国健康受试者体内具有生物等效性。

关键词: 罗替高汀贴片; 液相色谱 - 串联质谱法; 药代动力学; 生物等效性

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.06.019

中图分类号: R971 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)06-0852-05

Abstract: Objective To evaluate the bioequivalence of rotigotine patches after a single dose in healthy Chinese subjects. **Methods** Using randomized, open, fasting, single-dose, two-preparation, four-cycle, two-sequence exact repeat crossover design, 24 healthy subjects applied one of the test preparation or reference preparation ($4.5 \text{ mg} \cdot 10 \text{ cm}^{-2}$) to the abdominal skin. To determine the drug concentration in human plasma by liquid chromatography - tandem mass spectrometry. Pharmacokinetic software was used to calculate the relevant pharmacokinetic parameters, and the bioequivalence evaluation was carried out. **Results** The $C_{\max}$ of the test preparation and the reference preparation of rotigotine patches were (275.04 ± 98.93) and $(277.11 \pm 96.78) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the AUC_{0-1} were (5011.91 ± 2015.32) and $(4934.28 \pm 2095.76) \text{ h} \cdot \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the $\text{AUC}_{0-\infty}$ were (5092.68 ± 2033.23) and $(5160.61 \pm 2052.04) \text{ h} \cdot \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. $C_{\max}$, AUC_{0-1} and $\text{AUC}_{0-\infty}$ geometric mean (90% confidence interval) were all in the equivalent interval of $80.00\% - 125.00\%$. **Conclusion** The test preparation and reference preparation of rotigotine patches are bioequivalent in healthy Chinese subjects.

Key words: rotigotine patches; liquid chromatography - tandem mass spectrometry; pharmacokinetic; bioequivalence

罗替高汀是一种非麦角碱多巴胺受体激动药, 通过兴奋纹状体

的多巴胺受体以减轻帕金森病患者的运动障碍^[1]。动物研究表明,罗替高汀具有高脂溶性,可适用于透皮应用^[2]。透皮贴剂一般由背衬膜层、含药骨架、压敏胶和离型膜层等数层组成^[3]。贴剂中平均约45%的罗替高汀在24 h内被连续释放,可维持稳定的血药浓度^[4-5],解决了不能口服给药的患者临床合理用药的问题^[6]。本研究依据《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》^[7]评价罗替高汀贴片受试制剂与参比制剂的生物等效性,以期对相关仿制药申报提供参考。

材料、对象与方法

1 材料

药品与试剂 受试制剂:罗替高汀贴片,规格:每片4.5 mg/10 cm²,批号:GQ2211005S,四川科伦药业股份有限公司生产;参比制剂:罗替高汀贴片,规格:每片4.5 mg/10 cm²,批号:58103209,加拿大LTS Lohmann Therapie-Systeme AG生产。

仪器 UPLC I-Class液相色谱仪、Xevo TQ-S质谱仪、UNIFI 1.8.0.0数据处理软件,均为美国Waters公司产品;ST16R离心机、ST16离心机,均为美国Thermo Fisher公司产品;YMT-2500涡旋振荡器,上海熙扬公司产品。

2 受试者选择

本试验经咸宁市中心医院医学伦理委员会批准(伦理批号:咸医伦字-Y【2023】013号,临床试验平台登记号:CTR20232132)。所有受试者均签署知情同意书。本研究共纳入24例受试者(男20例,女4例),年龄为(30.12±8.12)岁,体质量为(63.12±10.21)kg,身高为(167.83±8.42)cm,体质量指数为(22.36±3.12)kg·m⁻²。

入选标准 ①年龄≥18岁,男女均可;②男性受试者的体质量≥50.00 kg,女性受试者的体质量≥45.00 kg,体质量指数在19.00~26.00 kg·m⁻²(含边界值)等。

排除标准 ①用药部位异常(如皮疹、毛发过多、伤疤、纹身、皮肤颜色异常等),可能影响药物粘贴、吸收、安全性评估者;②有药品、食物过敏史,有任何严重疾病或者干扰试验结果的其他疾病;③受试者有直立性低血压;④生命体征异常有临床意义者,或体格检查、心电图、实验室检查等结果经研究医师判断为异常有临床意义者;⑤因为其他原因不能完成本试验或研究者认为不应纳入者等。

3 分组、给药方法与血样采集

本研究按照单中心、随机、开放、空腹、单剂量、两制剂、四周期、两序列完全重复交叉设计。将24例入组受试者随机分成2组,每组12例(给药顺序分别为T-R-T-R和R-T-R-T)。在每周期中,每例受试者在腹部单次使用试验制剂或参比制剂之一,清洗期为7 d。

每周期采血时间点为用药之前(0 h)和用药之后0.5、1、2、3、4、6、8、9、10、12、14、15、16、17、18、20、24、25、26、28、30、36、48、60、72 h,每个采血点采集静脉血约3 mL。生物样本的采集处理全程在白光、室温条件下进行,在完成采集后60 min内完成低温离心,以4 000 r·min⁻¹离心10 min,分离上层血浆,储存于-70℃的超低温冰箱内。

4 测定方法

色谱条件 色谱柱:Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×50.0 mm,1.8 μm);自动进样器温度:12℃;柱温:35℃;流速:0.35 mL·min⁻¹;进样量:10 μL;流动相:5 mmol·L⁻¹甲酸铵水溶液(0.05%甲酸)(A)-80%乙腈甲醇(B);梯度洗脱:0~0.5 min,35% B;0.5~1.5 min,35% B→50% B;1.5~2.0 min,50% B;2.0~3.0 min,50% B→35% B。

质谱条件 离子源(150℃的电喷雾离子源);毛细管电压:1.00 kV;锥孔气气流:150 L·h⁻¹;脱溶剂气流:100 L·h⁻¹;脱溶剂温度:600℃;为正离子电离模式;信号采集模式:质谱多反应监测;峰宽:4 s;12个单个峰采集点数。用于定量分析的离子对分别为m/z 316.09→147.05(罗替高汀)和m/z 323.11→147.08(罗替高汀-d7);锥孔电压分别为49和35 V;碰撞能量均为22 eV;滞留时间均为0.15 s。

样品处理 取待测样品100 μL,加入内标工作液50 μL和乙腈200 μL,在4℃下,以4 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液150 μL,加入超纯水300 μL,振荡30 s后进样。

黏附性及皮肤刺激性分析 在给药后0、4、8、12、16、20、24 h观察贴片的黏附情况并进行彩色拍照,此后由5个独立的观察人员根据5点黏附量表进行评分。在移除贴片后0、6、12、24、48 h观察贴片使用部位皮肤刺激性情况并进行评分。将受试制剂与参比制剂的黏附性评分和皮肤刺激性评分使用混合线性模型进行多因素方差分析,并进一步用置信区间(confidence interval, CI)法计算受试制剂与参比制剂黏附性评分最小二乘均值及其95% CI。

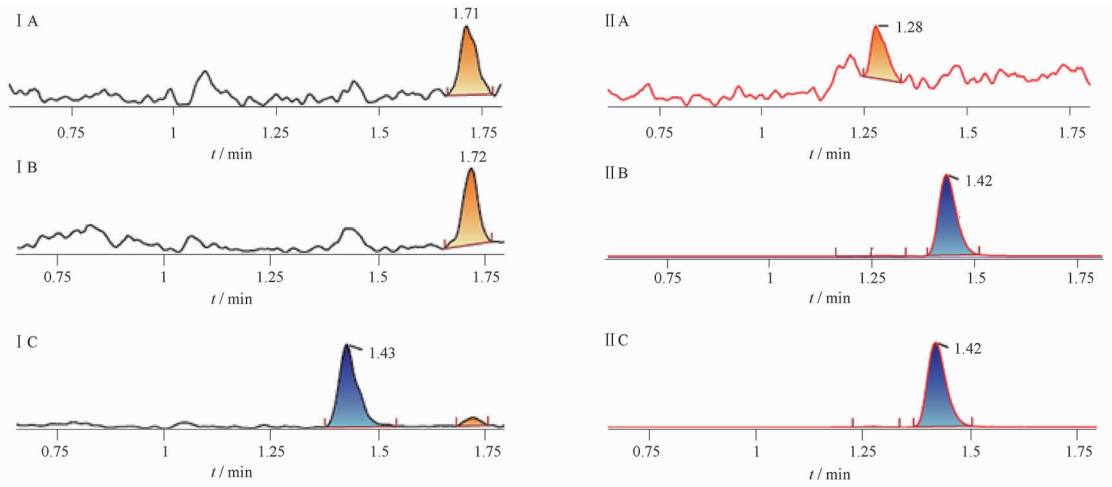


图1 血浆中罗替高汀(I)和内标罗替高汀 - d7(II)的典型色谱图

Figure 1 Typical chromatograms of rotigotine (I) and the internal standard rotigotine - d7 (II) in plasma

A: Blank sample; B: Blank sample + internal standard; C: Lower limit of quantitation.

5 方法学考察与评价

专属性 分别取6个不同来源的空白基质,按照“样品处理”方法操作,其罗替高汀的典型的色谱图见图1。结果表明,罗替高汀与罗替高汀 - d7 保留时间分别为1.43 和 1.42 min,分析物与内标保留时间无干扰,本法具有较高的专属性。

标准曲线与定量下限 (lower limit of quantitation, LLOQ) 用加权 ($w = 1/x^2$) 最小二乘法进行回归计算,以标准全血样品浓度 (x) 为横坐标,罗替高汀与内标的色谱响应比值 (y) 为纵坐标,所得直线回归方程: $y = 6.60 \times 10^{-3} x + 1.35 \times 10^{-3}$ ($r^2 = 0.9994$),罗替高汀的线性范围为 $6.00 \sim 800.00 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, LLOQ 为 $6.00 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

精密度与回收率 配制质控样品,质量浓度分别为 6.00 、 15.00 、 80.00 、 256.00 、 $640.00 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$,且每个质量浓度同时测定6个样品,连续测定3批,比较批内、批间精密度。通过比较质控样品中待测

物或内标响应值与空白血浆提取后加入待测物、内标的响应值,比较峰面积来评价回收率。如表1所示,所有来源的基质样品的准确度偏差均在 $\pm 15\%$ 以内,且同一类基质中同一浓度样品的测得浓度的变异系数不超过 15% ,罗替高汀提取过程对结果影响小。

基质效应 取不含内标的8个受试者的空白血浆进行处理得到空白血浆上清液,选择低、高2个质量浓度 (15.00 和 $640.00 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的分析物和内标,同时配制对照样品 (不含基质提取物),用含基质样品的响应与溶液样品的响应比值计算分析物和内标的基质因子。结果显示,罗替高汀低、高质量浓度内标归一化的基质因子的 CV 分别为 3.79% 和 3.06% ,均低于 15% ,表明所有来源的基质样品的准确度偏差均在 $\pm 15\%$ 以内,且同一类基质中同一浓度样品的测得浓度的变异系数不超过 15% ,符合接受标准。

表1 用液相色谱 - 串联质谱 (LC - MS/MS) 法分析罗替高汀在人血浆中的精密度与回收率

Table 1 Determination of intra - and inter batch precision and accuracy in human plasma by liquid chromatography/mass spectrometry (LC - MS/MS)

Concentration ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Intra - day ($n = 6$)			Inter - day ($n = 18$)			Relative recovery (%)
	Measured	RSD	RE	Measured	RSD	RE	
	($\bar{x} \pm s, \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	(%)	(%)	($\bar{x} \pm s, \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	(%)	(%)	
6.00	6.09 $\pm$ 0.31	5.08	1.56	5.99 $\pm$ 0.29	4.79	-0.16	-
15.00	14.71 $\pm$ 0.24	1.60	-1.97	14.27 $\pm$ 0.67	4.71	-4.84	106.91
80.00	77.82 $\pm$ 0.88	1.14	-2.72	77.50 $\pm$ 1.53	1.98	-3.13	-
256.00	247.73 $\pm$ 3.91	1.58	-3.23	251.60 $\pm$ 6.83	2.71	-1.72	99.79
640.00	617.30 $\pm$ 8.12	1.31	-3.55	625.87 $\pm$ 9.81	1.57	-2.21	107.18

RE: Relative error; RSD: Relative standard deviation.

稳定性 方法学验证结果表明罗替高汀人血浆样品在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 71 d 稳定,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 10 d 稳定,室温下放置 24 h 稳定。处理后的血浆样品在进样条件下($12\text{ }^{\circ}\text{C}$)可放置 46 h 稳定,室温下放置 2 h 稳定。罗替高汀储备液在室温下放置 23 h 稳定,在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下可放置 57 d 稳定,罗替高汀工作液在室温下可放置 28 h 稳定。血浆样品储存过程符合方法学验证中的稳定性条件。结果均显示罗替高汀的稳定性良好。

6 统计学处理

$C_{\max}$ 、 AUC_{0-1} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 参数用 CI 法进行检验,以判断受试制剂与参比制剂的生物等效性。 $t_{\max}$ 用 Wilcoxon 符号秩和检验法进行检验。实验数据用 Microsoft Office Excel 2013 进行计算,计算过程经过审核。

结 果

1 受试者入组及完成情况

本研究共筛选了 74 例受试者,入组了 24 例受试者,最终有 23 例受试者完成 4 周期试验。K019 的受试者(T-R-T-R)于第 2 周期给药后采集 15 h 血样后脱落,脱落原因为“受试者自行退出研究”。

2 血药浓度测定结果及药代动力学参数

两制剂在空腹状态下的平均血药浓度时间曲线见图 2,主要药代动力学参数见表 2。结果表明,受试制剂与参比制剂的药代动力学特征相似。

3 生物等效性评价

本试验中,受试制剂与参比制剂 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-1} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 药代动力学参数的个体内标准差均小于 0.29,用平均生物等效性评价方法评价受试制剂和参比制剂的生物等效性。受试制剂与参比制剂 $C_{\max}$ 、

AUC_{0-1} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 药代动力学参数最小二乘几何均值的 90% CI 分别为 89.00% ~ 105.29%、90.65% ~ 104.07% 和 90.47 ~ 103.58%,均落在 80.00% ~ 125.00%,两制剂在吸收速度和吸收程度上生物等效。

4 黏附性与皮肤刺激性分析结果

受试制剂黏附性评分最小二乘均值为 0.17,参比制剂黏附性评分最小二乘均值为 0.31,受试制剂与参比制剂平均黏附性评分差值为 -0.14 ,95% CI 为 $(-0.17, -0.10)$ 。试制剂皮肤刺激性评分最小二乘均值为 0.73,参比制剂皮肤刺激性评分最小二乘均值为 0.67,受试制剂与参比制剂平均皮肤刺激性评分差值为 0.06,95% CI 为 $(-0.02, 0.13)$ 。

5 安全性评价

受试制剂组中,12.50% (3 例/24 例) 的受试者发生与研究药物相关的不良事件。参比制剂组中,20.83% (5 例/24 例) 的受试者发生与研究药物相关的不良事件。未发生与研究药物相关的严重不良事件,也未发生导致脱落的与研究药物相关的不良事件。

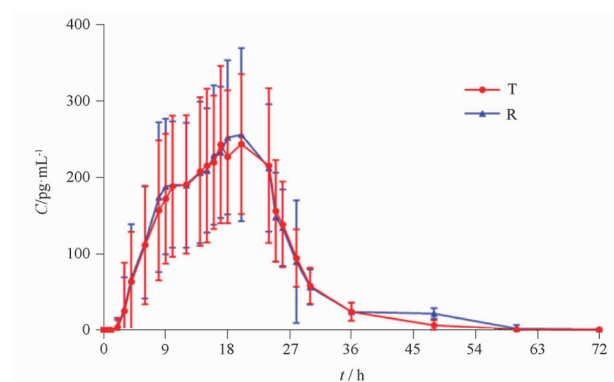


图 2 单次给药受试制剂(T)和参比制剂(R)后平均血药浓度-时间曲线图

Figure 2 Mean plasma concentration-time curve after a single dose of the test preparation (T) and the reference preparation (R)

表 2 空腹受试者经皮给药受试制剂和参比制剂罗替高汀后的主要药代动力学参数($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The main pharmacokinetic parameters after dermal administration of the test preparation and the reference preparation rotigotine in fasting subjects ($\bar{x} \pm s$)

Parameter	Test ($n=24$)	Reference ($n=23$)	Test ($n=24$)	Reference ($n=23$)
$C_{\max}$ (pg · mL ⁻¹)	275.04 ± 98.93	301.03 ± 133.67	277.11 ± 96.78	312.28 ± 133.70
$t_{\max}$ (h) *	20.00 (8.00, 25.00)	17.00 (10.00, 26.00)	16.50 (4.00, 24.04)	18.00 (10.00, 24.01)
AUC_{0-1} (h · pg · mL ⁻¹)	5 011.91 ± 2 015.32	5 054.72 ± 2 207.48	4 934.28 ± 2 095.76	5 221.08 ± 2 161.32
$\text{AUC}_{0-\infty}$ (h · pg · mL ⁻¹)	5 092.68 ± 2 033.23	5 139.51 ± 2 218.14	5 160.61 ± 2 052.04	5 318.02 ± 2 179.04
λ_z (1 · h ⁻¹)	0.14 ± 0.05	0.15 ± 0.05	0.14 ± 0.05	0.13 ± 0.05
$t_{1/2}$ (h)	5.77 ± 2.60	5.15 ± 1.90	6.05 ± 3.11	6.48 ± 4.08

* : Median (min, max).

讨 论

罗替高汀口服给药因首过效应失活,不宜简单口服。作为长期治疗药物,每日1次或多次的注射给药将增加患者的痛苦与不适,患者依从性差。有研究表明,搏动式给药会导致“异动症”的临床表现^[8]。透皮贴片制剂更方便患者用药,且提高药物治疗水平,根据药时曲线, $t_{\max}$ 为20 h,血浆浓度在24 h保持稳定,可见用透皮贴剂($4.5 \text{ mg} \cdot 10 \text{ cm}^{-2}$)每天给药1次即可维持血药浓度,进一步提高患者的依从性。

透皮贴剂在评价仿制药与原研药的一致性是要考虑黏附性和对皮肤的刺激性^[9-11]。根据黏附性及皮肤刺激性分析结果,没有出现24 h内贴片脱落的情况,有1例受试者出现给药部位皮肤瘙痒,受试制剂与参比制剂评分差值小,表明贴片黏附性良好,对皮肤刺激性小。

国家药品监督管理局最新颁布的《高变异药物生物等效性研究技术指导原则》关于罗替高汀是否是高变异药物未作说明,据相关文献研究^[12],以药代动力学参数(AUC , $C_{\max}$)为主要分析指标,设定检验水准 $\alpha=0.05$,Ⅱ类错误率 $\beta=0.1$,经参比制剂个体内变异调整后的等效界值 $\delta=\ln(0.77)$,点估计 $\theta=\ln(0.95)$,所以保守估计参比制剂个体内变异系数为30.00%。计算出所需受试者数为18例,考虑20%的脱落率,最终本研究确定受试者例数为24例。

本次试验中受试制剂组药物不良事件发生率低于参比制剂组,两制剂均未发生严重不良事件,也未发生与研究药物相关的严重不良事件,所有发生的不良事件均转归为痊愈或好转,表明中国健康受试者单次使用罗替高汀贴片安全性良好。

参考文献:

- [1] 姜迪. 罗替高汀对比普拉克索治疗帕金森病的经济学评价[D]. 湖北 武汉:华中科技大学, 2020.
- [2] LIU Y, TOMLINSON B, GUO J, *et al.* Pharmacokinetics, tolerability, and bioequivalence of two formulations of rotigotine in healthy Chinese subjects[J]. *Clin Ther*, 2018, 40(7): 1108—1121.
- [3] 全丹毅,赵慧芳,刘羽恩,等. 透皮贴剂特性质量研究方法及控制标准[J]. 中国药品标准, 2024, 25(2): 126—133.
- [4] 胡海冰,董来宾,李小琳,等. 罗替高汀贴片联合多巴丝肼治疗帕金森病的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2022, 37(3): 526—530.
- [5] SUN W, WANG Q, YANG T, *et al.* A meta-analysis evaluating effects of the rotigotine in Parkinson's disease, focusing on sleep disturbances and activities of daily living[J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(10): 5821—5837.
- [6] 丁姝月,秦娜,段丽. 罗替高汀贴片联合金刚烷胺治疗帕金森病的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(12): 3010—3015.
- [7] 国家药品监督管理局 药品审评中心. 以药理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 [2023-09-01]. <https://www.cde.org.cn/zdyz//domesticinfopage?zdyzldcODE=1e218f70d9b7c99c2663de9f6655bc5b>.
- [8] TIGRAN K, JESSICA D S, TRACY M J, *et al.* Critical appraisal of rotigotine transdermal system in management of Parkinson's disease and restless legs syndrome - patient considerations[J/OL]. *Degener Neurol Neuromuscul Dis*, 2015, 5: 63—72. 2015-07-03 [2023-09-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32669913/>.
- [9] 李金洲,马文艳,米璇,等. 美欧关于透皮贴剂临床研究要求的探究与思考[J]. 中国药事, 2022, 36(6): 713—722.
- [10] 孙华,梁大虎,李相鸿,等. 透皮贴剂生物等效性研究的评价方法与实施要点[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(24): 2276—2282.
- [11] 朱凤昌,江翊国,郑稳生,等. FDA化学仿制药透皮贴剂生物等效性指导原则研究与分析[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(15): 1265—1272.
- [12] 梅和坤,王瑾,柴栋,等. 仿制药生物等效性试验样本量估算探讨[J]. 中国新药杂志, 2017, 26(24): 2898—2902.

(收稿日期 2024-10-10)