·重大新药创制专项巡礼·

硫酸氨基葡萄糖胶囊在中国健康人体内的生物等效性试验

杨克旭[1],荆　珊[1],刘文芳[1],鲁春艳[1],王　欣[2],林　阳[1]
(1 首都医科大学附属北京安贞医院,北京 100029;2 浙江海正药业股份有限公司,台州 318000)

[摘要]　**目的**:评价空腹单剂量口服硫酸氨基葡萄糖胶囊受试制剂与参比制剂在中国健康人体中的生物等效性。**方法**:本研究采用随机、开放、单剂量、三周期、部分重复、三交叉试验设计,共入组健康男性和女性30例,单剂量空腹口服受试制剂和参比制剂硫酸氨基葡萄糖胶囊0.25 g。采用LC-MS/MS测定给药后血浆氨基葡萄糖药物浓度。使用WinNonlin 6.3软件计算非房室模型药动学(PK)参数,采用参比制剂标度的平均生物等效性(RSABE)方法,使用SAS企业版7.1版软件进行等效性评价。**结果**:经基线校正后的受试制剂和参比制剂中氨基葡萄糖 C_{max} 分别为(585.0±282.2)和(641.0±293.6) ng·mL^{-1},T_{max} 分别为1.5 h(0.5,5.0 h)和1.5 h(0.5,5.0 h),$t_{1/2}$ 分别为(1.8±1.4)和(1.5±0.5) h,$AUC_{0\sim t}$ 分别为(2 089.2±749.5)和(2 298.2±928.4) ng·h·mL^{-1},$AUC_{0\sim\infty}$ 分别为(2 095.3±749.7)和(2 303.1±929.0) ng·h·mL^{-1}。受试制剂和参比制剂的 $AUC_{0\sim t}$,$AUC_{0\sim\infty}$ 和 C_{max} 的几何均数比值(受试制剂/参比制剂)的90%置信区间介于拓宽的等效范围74.9%~133.6%和70.1%~142.7%,同时介于未拓宽的等效范围80.0%~125.0%。**结论**:硫酸氨基葡萄糖胶囊受试制剂与参比制剂在空腹服用的情况下生物等效。

[关键词]　硫酸氨基葡萄糖;高变异药物;内源性药物;生物等效性;参比制剂标度的平均生物等效性
[中图分类号]　R969.4　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003-3734(2021)05-0399-04

Bioequivalence of glucosamine sulfate capsules after single dose in healthy volunteers

YANG Ke-xu[1], JING Shan[1], LIU Wen-fang[1], LU Chun-yan[1], WANG Xin[2], LIN Yang[1]
(1 *Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing* 100029, *China*; 2 *Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou* 318000, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To evaluate the bioequivalence of reference and test formulations of glucosamine sulfate capsules after single dose in healthy Chinese volunteers under fasting condition. **Methods**: A total of 30 healthy human volunteers participated in a randomized, open, single-dose, three-cycle, partial repeated, three-crossover study. Volunteers were given single dose (0.25 g) of tested and reference formulations of glucosamine sulfate capsules under fasting state. Plasma concentration of glucosamine after administration was analyzed by LC-MS/MS method. Non-compartmental pharmacokinetics parameters were calculated by WinNonlin 6.3, and bioequivalence was evaluated using reference-scaled average bioequivalence (RSABE) method by SAS 7.1. **Results**: For test and reference formulations, C_{max} of glucamine (after baseline correction) were (585.0±282.2) and (641.0±293.6) ng·mL^{-1}, T_{max} were 1.5 (0.5,5.0) and 1.5 (0.5, 5.0) h, $t_{1/2}$ were (1.8±1.4) and (1.5±0.5) h, $AUC_{0\sim t}$ were (2 089.2±749.5) and (2 298.2±928.4), $AUC_{0\sim\infty}$ were (2 095.3±749.7) and (2 303.1±929.0), respectively. The geometric mean ratios (GMR) of $AUC_{0\sim t}$, $AUC_{0\sim\infty}$ and C_{max} between test and reference formulations were both within 90% confidence interval broadened bioequivalent rage 74.9% to 133.6% and 70.1% to 142.7%, and

[基金项目]　国家"重大新药创制"科技重大专项资助项目:心血管疾病药物临床研究示范性平台(2017XZ09304017)
[作者简介]　杨克旭,女,主管药师,主要从事Ⅰ期临床试验工作。联系电话:(010)64426153,E-mail:yangkexu@anzhengcp.com。
[通讯作者]　林阳,女,主任药师,主要从事临床药学、临床药理及临床试验研究。联系电话:(010)64456045,E-mail:linyang3623@163.com。

regular bioequivalent range (80% to 125%). **Conclusion**: Two formulations were equivalent under fasting condition.

[**Key words**] glucosamine sulfate; highly variable drug; endogenous; bioequivalence; reference-scaled average bioequivalence (RSABE)

骨性关节炎又名退行性关节病,是一种常见的老年人的关节病。关节软骨由 1 ~ 2 mm 厚度的胶原纤维、糖蛋白、透明质酸酯聚集而成,软骨基质内糖蛋白合成异常或糖蛋白丢失使关节表层的软骨软化,长期承受压力后,软骨层逐渐呈片状脱落使软骨层变薄甚至消失。氨基葡萄糖是存在于机体内尤其是关节软骨中的氨基单糖,它能刺激软骨细胞产生具有正常多聚体结构的蛋白多糖,亦可抑制胶原酶及磷脂酶 A_2 活性,阻止关节软骨的退行性变而防止骨性关节炎的进展,减轻关节肿痛等症状,促进关节活动能力的恢复。

本研究中试验药物为浙江海正药业股份有限公司研制的硫酸氨基葡萄糖胶囊,参比药物为 Rottapharm Ltd. 生产的硫酸氨基葡萄糖胶囊(商品名:维固力®)。根据 Persiani 等[1]报道及预试验结果,研究药物的主要药动学(PK)参数最大血药浓度(C_{max})、0 ~ t 的血药浓度-时间曲线下面积($AUC_{0\sim t}$)和 0 到无限时间的血药浓度-时间曲线下面积($AUC_{0\sim\infty}$)的受试者个体内变异较大,提示该药物可能为高变异药物。氨基葡萄糖在美国作为非处方膳食补充剂销售,美国 FDA《特定药物的生物等效性指导原则》[2]中没有此种药物的指南。根据文献,临床每日服用 1 500 mg 氨基葡萄糖,最长服用 3 年,未见安全性问题[3-4],符合安全性好、治疗窗宽的特点。综上,硫酸氨基葡萄糖是一种内源性、高变异药物,本文采用扣除基线后的血药浓度数值,以参比制剂标度的平均生物等效性(reference-scaled average bioequivalence,RSABE)方法[5],评价硫酸氨基葡萄糖胶囊受试制剂和参比制剂的人体生物等效性,为临床用药提供参考。

资料与方法

1 受试者选择

入组受试者为健康成年男性和女性共 30 例,除一般健康标准外,应排除对有壳水生动物(螺类、贝壳类、虾蟹等)过敏的受试者。其中 19 例男性(63.3%),11 例女性(36.7%),年龄 19 ~ 50 岁,年龄中位数为 28.5 岁,体重 62.9 kg(50.0 ~ 80.1 kg),身体质量指数(BMI)23.2 kg·m^{-2}(20.3 ~ 25.9 kg·m^{-2})。30 例受试者均按照规定完成研究。本研究方案和知情同意书均经过北京安贞医院临床研究伦理委员会的审查和批准,所有受试者均自愿参加试验并签署知情同意书。

2 试验药物

受试制剂(T)为硫酸氨基葡萄糖胶囊,浙江海正药业股份有限公司生产,批号:71606161,规格 0.314 g·粒$^{-1}$(相当于硫酸氨基葡萄糖 0.250 g),纯度 97.8%;参比制剂(R)为硫酸氨基葡萄糖胶囊,商品名:维固力®,Rottapharm Ltd. 生产,批号:1501996,规格 0.25 g·粒$^{-1}$(以硫酸氨基葡萄糖计),纯度 99.3%。

3 给药方法

试验设计采用单中心、随机、开放、单剂量、三周期、部分重复、三交叉设计生物等效性研究。使用 SAS Enterprise Guide(7.1)统计学软件区组随机方法生成随机分组列表。所有入选合格的受试者依从随机化表,按 3 种不同顺序服药(表 1),分别接受 1 次受试制剂(T),2 次参比制剂(R)。受试制剂和参比制剂的剂量均为 2 粒(均相当于硫酸氨基葡萄糖 0.50 g)。各周期之间洗脱期为 72 h,其间受试者不出院。

表 1 服药顺序表

给药组别	第一周期	第二周期	第三周期
TRR 组	受试制剂	参比制剂	参比制剂
RTR 组	参比制剂	受试制剂	参比制剂
RRT 组	参比制剂	参比制剂	受试制剂

4 血浆样本采集及处理

受试者分别于各周期用药前 1 d 早 8:00,用药前 1 h,用药后 15,30,45 min 以及 1,1.5,2,2.5,3,4,5,6,8,10,14,16 h 采集静脉血,每次取血 4 mL 至含肝素锂抗凝剂真空采血管中。全血 4 ℃下 1 800 g 离心 15 min,离心后取血浆样品。

5 药物浓度检测

采用一项验证过的高效液相色谱串联质谱(HPLC-MS/MS)法检测血浆样本中氨基葡萄糖的浓度,检测过程为盲态。同一受试者同一周期的所有

样品尽可能在同一批次中分析。

6 统计分析及等效性评价

血药浓度数据采用 WinNonlin 6.3 软件,以非房室模型计算药动学参数,包括但不限于 C_{max},$AUC_{0\sim t}$,$AUC_{0\sim\infty}$,T_{max},$t_{1/2}$。采用 SAS 企业版 7.1 版本,针对基线校正后的主要药动学参数 C_{max},$AUC_{0\sim t}$ 和 $AUC_{0\sim\infty}$ 进行等效性评价。如果 $AUC_{0\sim t}$,$AUC_{0\sim\infty}$ 和 C_{max} 的几何均数比值(GMR)(受试/参比)的 90% 置信区间(CI)介于 FDA 放宽标准的等效限范围内,则可认为受试制剂和参比制剂等效。

7 安全性评价

安全性分析观察所有受试者在临床研究期间发生的任何不良事件(AE),包括临床症状及生命体征异常、实验室检查中出现的异常,记录其临床表现特征、严重程度、发生时间、结束时间、持续时间、处理措施及转归并判定其与研究药物之间的相关性。

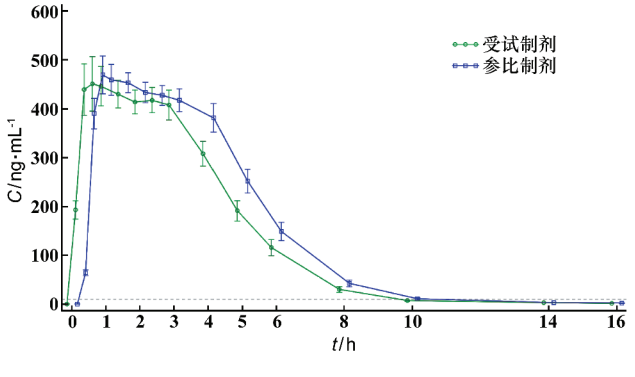
结　果

1 方法学考察结果

线性范围为 10.0 ~ 1 000 ng·mL^{-1} 通过方法学验证。该方法具有足够的灵敏性,能够满足氨基葡萄糖的基线浓度的检测需求,达到准确评价氨基葡萄糖药动学特征的目的。

2 平均血浆氨基葡萄糖浓度-时间曲线

结果见图 1。



虚线代表氨基葡萄糖浓度定量下限,10.0 ng·mL^{-1}

图 1 经基线校正后的平均血浆氨基葡萄糖浓度-时间曲线

3 药动学参数

经基线校正后受试制剂 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 分别为(2 095.3 ± 749.7) ng·h·mL^{-1},(2 089.2 ± 749.5) ng·h·mL^{-1} 和(585.0 ± 282.2) ng·L^{-1},相应的变异系数分别为 35.8%,35.9%,48.2%;参比制剂的 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 分别为(2 303.1 ± 929.0) ng·h·mL^{-1},(2 298.2 ± 928.4) ng·h·mL^{-1} 和(641.0 ± 293.6) ng·mL^{-1},相应变异系数分别为 40.3%,40.4%,45.8%,药动学参数详见表 2。

表 2 经基线校正后的受试制剂和参比制剂中氨基葡萄糖药动学参数

药动学参数	$\bar{x}\pm s$(%CV)	
	受试制剂(n = 30)	参比制剂(n = 60)
$AUC_{0\sim\infty}$/ng·h·mL^{-1}	2 095.3 ± 749.7 (35.8)	2 303.1 ± 929.0 (40.3)
$AUC_{0\sim t}$/ng·h·mL^{-1}	2 089.2 ± 749.5 (35.9)	2 298.2 ± 928.4 (40.4)
C_{max}/ng·mL^{-1}	585.0 ± 282.2 (48.2)	641.0 ± 293.6 (45.8)
T_{max}/h	1.50 (0.50,5.00)	1.500 (0.50,5.00)
λ_z/1·h^{-1}	0.474 6 ± 0.160 5 (33.8)	0.494 9 ± 0.130 7 (26.4)
$t_{1/2}$/h	1.8 ± 1.4 (78.4)	1.5 ± 0.5 (29.9)

4 生物等效性评价

研究药物的主要药动学参数 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 的受试者个体内变异均大于 30%,该研究药物为高变异药物,可以采用 RSABE 方法进行生物等效性评价,适当放宽等效性判定标准[5]。经基线校正后,受试制剂与参比制剂 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 的 GMR 及其 90% CI 分别为 0.93(0.83,1.05),0.93(0.83,1.05),0.93(0.82,1.05),各参数个体内变异均大于 30%。$AUC_{0\sim\infty}$ 和 $AUC_{0\sim t}$ 的 90% CI 落在拓宽的等效范围内(74.9% ~ 133.6%),C_{max} 的 90% CI 落在拓宽的等效范围内(70.1% ~ 142.7%,根据 FDA 放宽标准的等效范围[6]);同时,主要药动学参数的 90% CI 均落在未拓宽的等效范围内(80.0% ~ 125.0%),结果证明硫酸氨基葡萄糖胶囊受试制剂与参比制剂在空腹服用情况下生物等效。

5 安全性评价

空腹试验 30 例受试者都接受了研究药物,共 2 例(6.7%)受试者发生 2 例次 AE,包括 TRR 组 1 例(10.0%)受试者发生 1 例次高尿酸血症,RRT 组 1 例(10.0%)受试者发生 1 例次高尿酸血症。

2 例次 AE 均为治疗期不良事件(TEAE),严重

程度均为 1 级,判断为与研究药物可能无关,均于末次随访时恢复正常,无后遗症。AE 和 TEAE 发生率在 3 组之间比较均无显著性差异($P>0.05$)。安全性分析结果表明,国产硫酸氨基葡萄糖胶囊在健康成年受试者中的安全性良好。

讨　论

1　内源性药物

内源性物质是体内存在的物质,包括维生素、激素、蛋白质及电解质等。血浆浓度测定得到的数据包括人体内本身已有的待测物,会产生结果偏倚,应采用基线浓度校正的方法来纠正因此产生的偏差[7]。氨基葡萄糖为内源性物质,血浆、鼻液等体液中都含有与氨基葡萄糖结构类似的物质,如葡萄糖、半乳糖及其他糖和氨基糖类[8]。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》,建议给药前根据药动学特征多点测定基线值[7],统计分析采用扣除基线后的血药浓度数值,若经过基线校正后出现负值,则设为零。

文献[1]显示,人体内源性氨基葡萄糖血浆浓度个体间变异性高,但个体内变异性相对较低,故本试验设置 2 个给药前采血点,取平均值作为基线值。给药前采血点分别为用药前 1 d 和用药前 1 h。本研究为空腹服用研究药物,因此基线值采血点设为服药前 1 d 早餐前及服药当天空腹给药前。

同时,临床实施中为准确获得药源性物质的含量,其他来源(如饮食来源)氨基葡萄糖需严格控制。螺类、贝壳类、虾蟹等有壳水生动物中含有较多氨基葡萄糖,因此受试者食用的标准餐需严格避免使用此类食材。

2　高变异药物

根据文献及预试验的药动学参数统计分析结果,该药物 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 个体内变异较大,尤其是 C_{max} 变异大[9-10]。根据预试验经基线值调整的数据计算,受试者 C_{max} 的个体内变异为 46.11%,GMR 为 0.95,双单侧 $\alpha=0.05$,检验效能 $\beta=80\%$,按照 3×3 部分重复设计,达到测算的等效区间需要至少 24 例受试者,假定脱落率为 20%,正式试验空腹试验入组 30 例受试者。

正式试验结果参比制剂的主要药动学参数 $AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$,C_{max} 个体内变异均大于 30%,根据《高变异药物生物等效性研究技术指导原则》,适用 RSABE 方法进行生物等效性评价。统计分析方法采用 RSABE 方法,根据 FDA 放宽标准的等效范围,$AUC_{0\sim\infty}$,$AUC_{0\sim t}$ GMR 的 90% 置信限落在拓宽 74.9% ~133.6% 的等效范围内,C_{max} GMR 的 90% 置信限落在拓宽的 70.1% ~142.7% 等效范围内,同时均落在未拓宽的等效范围内(80.0% ~125.0%),可以证明受试制剂与参比制剂等效。

对于高变异药物,在临床研究实施过程中,应避免临床实施质量对个体内变异的估计引入偏倚。研究最好在同一个研究中心开展,需控制引起各周期间个体内差异的试验条件,如应在 2 个周期过程中使用完全相同的餐饮食谱,尽量保证同一受试者两周期每餐的食用量接近;控制受试者在临床研究中心按要求的时间作息生活等。

[参 考 文 献]

[1] PERSIANI S, RODA E, ROVATI LC, *et al*. Glucosamine oral bioavailability and plasma pharmacokinetics after increasing doses of crystalline glucosamine sulfate in man[J]. *Osteoarthr Cartilage*, 2005, 13(12):1041-1049.

[2] FDA. Product-Specific Guidances for Generic Drug Development [EB/OL]. (2020-04-03). https://www.fda.gov/drugs/guidances-drugs/product-specific-guidances-generic-drug-development.

[3] PUJALTE JM, LLAVORE EP, YLESCUPIDEZ FR. Double-blind clinical evaluation of oral glucosamine sulphate in the basic treatment of osteoarthritis[J]. *Curr Med Res Opin*, 1980, 7(2):110-114.

[4] PAVELKA K, GATTEROVA J, OLEJAROVA M, *et al*. Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis[J]. *Arch Intern Med*, 2002, 162(18):2113-2123.

[5] 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[EB/OL]. (2018-10-17). http://www.cde.org.cn/news.do?method=largeInfo&id=314799.

[6] FDA. Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA[EB/OL]. (2013-12). https://www.fda.gov/media/87219/download.

[7] 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). https://www.nmpa.gov.cn/zhuanti/ypqxgg/ggzhcfg/20160318210001633.html.

[8] 王玉. 硫酸氨基葡萄糖胶囊生物等效性研究基本考虑[J]. 中国新药杂志,2018, 27(6):634-636.

[9] ZHU Y, ZOU J, XIAO D, *et al*. Bioequivalence of two formulations of glucosamine sulfate 500-mg capsules in healthy male chinese volunteers: an open-lable, randomized-sequences, single-dose, fasting, two-way cross over study[J]. *Clin Ther*, 2009,7(31):1551-1559.

[10] AKARASEREENONT P, CHATSIRICHAROENKUL S, PONGNARIN P, *et al*. Bioequivalence study of 500 mg glucosamine sulfate in Thai healthy volunteers[J]. *J Med Assoc Thai*, 2009, 92(9):1234-1239.

编辑:杨青/接受日期:2020-05-23