

采用正葡萄糖钳夹技术评价联邦制药生产的门冬胰岛素 药代动力学、药效动力学及生物等效性

喻红玲, 刘辉, 李佳琦, 谭惠文, 余叶蓉[△]

四川大学华西医院内分泌代谢科(成都 610041)

【摘要】目的 在中国健康受试者中,对联邦制药公司生产的速效胰岛素——门冬胰岛素(作为受试制剂)进行人体药代动力学、药效动力学研究,并以丹麦诺和诺德公司生产的门冬胰岛素(商品名:诺和锐[®])为参比制剂,评价两种制剂的生物等效性。**方法** 招募24例男性健康受试者,对受试者采用自身前后对照、单次剂量、随机、双交叉研究。受试者分别在2个试验日接受试验观察,2次试验间隔时间为7~10 d。受试者按随机数字表法随机分为A、B两组,A组第1次用受试制剂门冬胰岛素,第2次用参比制剂诺和锐[®];B组则与A组给药顺序相反。采用正常血糖葡萄糖钳夹技术进行药代动力学和药效动力学研究。**结果** 受试制剂门冬胰岛素降糖作用的相对生物利用度(反映降糖作用的有效性)为98.3%±18.8%,反映血药浓度的相对生物利用度为97.3%±8.3%。药代动力学参数胰岛素峰浓度和0~10 h的血胰岛素浓度曲线下面积90%可信区间分别为88.8%~106%(等效范围70%~143%)和94.0%~100%(等效范围80%~125%),药效动力学参数最高葡萄糖输注率、0~10 h葡萄糖输注率曲线下面积90%可信区间分别为95.5%~113%(等效范围70%~143%)和89.9%~104%(等效范围80%~125%),两种制剂具有生物等效性。试验中1例受试者出现无症状高尿酸血症,余受试者试验前、后各安全性指标均无临床意义的异常值。试验过程中未见有低血糖、过敏反应及注射局部不良反应发生。**结论** 受试制剂联邦制药的门冬胰岛素和参比制剂诺和锐[®]具有生物等效性。

【关键词】 正常血糖葡萄糖钳夹 胰岛素制剂 药代动力学 药效动力学 生物等效性

The Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Bioequivalence of Insulin Aspart Produced by the United Laboratories Evaluated by Euglycemic Clamp Study YU Hong-ling, LIU Hui, LI Jia-qi, TAN Hui-wen, YU Ye-rong[△].
Department of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: yerongyu@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of a rapid-acting insulin analog—insulin aspart (the tested formulation) which was manufactured by The United Laboratories and to evaluate the bioequivalability to the reference formulation (NovoRapid[®]) produced by Novo Nordisk in Chinese healthy volunteers. **Methods** A total of 24 male healthy volunteers were recruited from February to April 2016 to participant in this before-after, single dose, and randomized crossover study. And the experimental observation was conducted on 2 test days respectively with a between-period from 7 to 10 d. According to a random number table, the volunteers were divided into group A or B, group A was administrated with tested insulin aspart (IASp) for the first time and reference NovoRapid[®] for the second time and group B had the revered order differed from group A. The PK/PD of these insulin analogs were estimated by euglycemic clamp study. **Results** The relative biological effectiveness (reflecting glucose-lowering effect) and bioavailability on behalf of plasma-drug concentration were 98.3±18.8% and 97.3%±8.3% respectively. For PK parameters, the 90% confidence interval (CI) of peak plasma insulin concentration (C_{max}) and area under the curve of insulin aspart concentration from 0 to 10 hours ($AUC_{IASp, 0-10h}$) of IASp were 88.8%-106% (equivalent range 70%-143%) and 94.0%-100% (equivalent range 80%-125%) respectively; for PD parameters, the 90%CI of the maximum glucose infusion rate (GIR_{max}) and $AUC_{GIR, 0-10h}$ were 95.5%-113% (equivalent range 70%-143%) and 89.9%-104% (equivalent range 80%-125%) respectively, which indicated that IASp and NovoRapid[®] was bioequivalent. One of the subjects discovered hyperuricemia without clinical symptoms and the rest had no clinically significant abnormalities in the safety indexes before and after the tests. No hypoglycemic events, allergic reactions, or local injection adverse reaction occurred in this trial. **Conclusion** The tested IASp has comparable relative bioavailability to the reference NovoRapid[®].

【Key words】 Euglycemic clamp Insulin analogs Pharmacokinetics Phannacodynamics Bioequivalence

胰岛素是治疗糖尿病的主要降糖药物之一。门冬胰

胰岛素是由门冬氨酸替代人胰岛素B28的脯氨酸而形成的生物合成人胰岛素类似物^[1]。相对于常规人胰岛素,门冬胰岛素具有起效早、达峰快、血药峰值浓度更高、且作用

[△] 通信作者, E-mail: yerongyu@scu.edu.cn

时间短等特点,临床上主要用于控制餐后血糖。门冬胰岛素原研药由丹麦诺和诺德公司开发,珠海联邦制药股份有限公司(简称联邦制药公司)研制的门冬胰岛素注射液与丹麦诺和诺德公司生产的门冬胰岛素注射液(商品名:诺和锐®)采用的生产方式相似(均是通过基因重组技术,利用酵母产生),该制剂已获得国家食品药品监督管理局批准进行临床试验(批件号:2013L00774)。本研究目的是以联邦制药公司生产的门冬胰岛素作为受试制剂,以丹麦诺和诺德公司生产的门冬胰岛素(诺和锐®)为参比制剂,评价受试制剂门冬胰岛素的药代动力学(pharmacokinetics, PK)及药效动力学(pharmacodynamics, PD)特征,以及与参比制剂诺和锐®相比的生物等效性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本项目成功入组24例中国健康男性受试者。受试者入选标准:年龄18~40岁(包含边界值)的男性;体质量大于50 kg,且体质量指数(body mass index, BMI)为19~24 kg/m²(保括边界值);无糖尿病家族史并经口服葡萄糖耐量试验证实无糖耐量异常;经一般体格检查、血常规、肝肾功能检查和心电图检查未见异常。排除标准:对本研究药物或其制剂成分过敏者;有心血管系统、内分泌系统、神经系统疾病或肺部、血液学、免疫学、精神病学疾病及代谢异常等病史者,有高血压及家族史者;曾经患有能够影响药物吸收或代谢的胃肠道及肝、肾疾病者;有恶性肿瘤病史者;有嗜烟、酗酒史及药物滥用史者;每天饮用过量茶、咖啡和/或含咖啡因的饮料者;试验前30 d内使用过任何其他药物(包括中药)者;试验前3个月献血或作为受试者被采样者。

本研究按照“赫尔辛基宣言”指导原则进行,研究方案和知情同意书均获得四川大学华西医院临床试验伦理委员会批准,并获得国家食品药品监督管理局批准(批准号:2013L00774)。药物临床试验登记号:CTR20160095。本研究获得所有受试者书面知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 试验设计 本研究是单中心、随机、开放、自身交叉对照、单剂量给药的试验设计。由筛选、双周期给药和末次随访三个阶段组成。受试制剂为珠海联邦制药股份有限公司生产的重组门冬胰岛素注射液,批号:D05201512001A,规格:100 U/mL, 3 mL/支;参比制剂为诺和诺德(中国)制药有限公司生产的门冬胰岛素制剂(商品名:诺和锐®),批号:EVG3382,规格:100 U/mL, 3 mL/支。受试者随机分为A、B组, A组第一周期给予受试制剂,第

二周期给予参比制剂; B组第一周期给予参比制剂,第二周期给予受试制剂。

1.2.2 正葡萄糖钳夹试验流程 试验日前3 d受试者每日至少进食200 g碳水化合物,试验前1 d为受试者提供统一的标准晚餐,并于20:00前入住我院I期临床试验病房,禁食过夜。试验日清晨受试者空腹排空大小便后测量并记录体质量,仰卧位行手背静脉穿刺置入留置导管以备采血测量血糖、C肽及门冬胰岛素。从肘正中静脉置入留置导管以备输注20%葡萄糖液。皮下注射门冬胰岛素前60 min内3次(分别为-60 min、-30 min及-15 min)采血测定血糖,并计算基线血糖平均值,以此作为本次钳夹试验的血糖目标值。腹部皮下注射门冬胰岛素(注射剂量为0.2 U/kg,按试验日清晨体质量计算)。注射门冬胰岛素后前6 h内每5 min一次,6~10 h每10 min一次检测血糖。试验中根据血糖检测结果调整20%葡萄糖液输注速率,使血糖水平维持在目标值±10%范围内,并计算葡萄糖输注率(glucose infusion rate, GIR)。若GIR减至0,并持续30 min无波动后,可停止采集血糖血样。

在整个钳夹试验过程中受试者卧位,禁食,密切观察并及时处理和记录试验期间发生的任何不良事件。给药后10 h正葡萄糖钳夹试验结束。

第一周期给药后洗脱期7~10 d,然后进入第二周期试验,程序同第一周期。

1.2.3 门冬胰岛素及C肽血样的采集及处理 本研究中检测血浆门冬胰岛素每次采静脉血4 mL,采样时间点分别为:给药前30、0 min,给药后10、20、30、40、50、60、75、90、105、120、150、180、210、240、270、300、330、360、420、480、600 min;检测血清C肽每次采静脉血2 mL,采样时间点分别为:给药前30、0 min,给药后10、20、30、40、50、60、90、120、150、180、210、240、270、300、360、420、480、600 min。采集的血液样本按实验室标准程序离心,分离血浆、血清后保存于-60℃至-80℃的冰箱中,用以测定血浆门冬胰岛素、血清C肽水平。

1.2.4 生物样本测定 血糖检测采用全自动血糖乳酸分析仪(EKF Industrie, Elektronik GmbH, Barleben, Germany)测定,分析方法为葡萄糖氧化酶法,其批内变异系数(coefficient of variation, CV)<1.5%,日间CV<2.95%,其测量范围为0.5~50 mmol/L。血浆门冬胰岛素水平由上海药明康德新药开发有限公司采用LC-MS/MS测定,此方法是根据混合物中各个组成成分在固定相和流动相之间的分配比例不同,实现成分之间的分离,经此方法可完整分离出试验需检测的门冬胰岛素,经过质谱法定量,相对于传统的胰岛素放免法等方法可排除内源

性胰岛素对测量的干扰,使结果可靠、方便、准确,其测量范围为0.1~20 ng/mL。血清C肽水平分析采用ELISA法[试剂盒由ALPCO公司提供,由科文斯医药研发(上海)有限公司检测],C肽的检测范围为30.0~2 400 pmol/L,C肽与人胰岛素的交叉反应<0.01%,同时与门冬胰岛素的交叉反应几乎探查不到,C肽检测的批内CV为2.87%~4.50%。

1.2.5 药代动力学、药效动力学及生物利用度参数的计算 本试验PK参数包括:血浆门冬胰岛素峰值浓度(maximum concentration of plasma insulin aspart, C_{max}),血浆胰岛素达峰时间(time to the C_{max} , T_{max}),血浆门冬胰岛素上升至峰值浓度一半的时间(time to the early 50% of C_{max} , $T_{IAsp, early50\%}$)以及达峰后下降至峰值浓度一半的时间(time to the late 50% of C_{max} , $T_{IAsp, late50\%}$),从0至0.5、1、2、4、6、8、10 h的门冬胰岛素的曲线下面积($AUC_{IAsp, 0-t}$),达5%、50%、95%的 $AUC_{IAsp, 0-10h}$ 的时间 $T_{IAsp, 5\%}$ 、 $T_{IAsp, 50\%}$ 、 $T_{IAsp, 95\%}$ 。

本实验PD参数包括:葡萄糖输注速率(GIR)的峰值(maximum concentration of GIR , GIR_{max}), GIR 达峰时间(time to the GIR_{max} , $t-GIR_{max}$), GIR 上升至峰值浓度一半的时间(time to the early 50% of GIR_{max} , $T_{GIR, early50\%}$)以及达峰后下降至峰值浓度一半的时间(time to the late 50% of GIR_{max} , $T_{GIR, late50\%}$)。从0至0.5、1、2、4、6、8、10 h的 GIR 的曲线下面积($AUC_{GIR, 0-t}$)。

计算受试制剂门冬胰岛素与参比制剂诺和锐®的相对生物利用度: $F=(AUC_{受试}/AUC_{参比})\times(剂量_{受试}/剂量_{参比})\times 100\%$ 。

1.3 统计学方法

符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,不符合正态分布的计量资料采用中位数(M)与四分位数(P_{25} 、 P_{75})表示。对实测 C_{max} 、 GIR_{max} 、 AUC 经自然对数转换后进行方差分析和 t 检验,并计算90%可信区间(90%CI);符合正态分布的数据采用双侧 t 检验,不符合正态分布的数据采用非参数检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者一般情况

24例中国健康男性志愿者全部完成了双周期正葡萄糖钳夹试验。所有研究数据完整,其中1例受试者在对照药物的研究周期中血浆门冬胰岛素检测出难以解释的异常高峰,故该受试者的双周期数据皆不纳入PK/PD统计分析,最终23例纳入PK/PD统计分析,24例数据皆纳入安全性分析。受试者年龄(24.6 ± 2.1)岁,体质量(65.2 ± 7.2)kg, BMI为(21.7 ± 1.6) kg/m^2 。受试制剂组与参比制剂组所接受的门冬胰岛素平均剂量完全一致[(13.1 ± 1.5)U vs. (13.1 ± 1.5)U, $P=1.00$],两组受试者在钳夹试验中的平均血糖水平及C肽水平基本一致,差异无统计学意义,见表1。

表1 两组受试者正葡萄糖钳夹试验中的血糖及C肽水平

Table 1 Blood glucose and C-peptide levels in euglycemic glucose clamps

Item	IAsp group (n=23)	NovoRapid® group (n=23)	P
Baseline of BG/(mmol/L)	4.40±0.30	4.40±0.31	0.96
Clamped BG/(mmol/L)	4.44±0.14	4.45±0.14	0.85
Baseline of CP/(pmol/L)	312±91	333±115	0.49
Mean postdosing CP/(pmol/L)	269±79	301±114	0.28
CV _{BG} /%	4.41±1.12	4.21±1.02	0.53

CP: C-peptide; CV: Coefficient of variation; BG: Blood glucose

2.2 钳夹试验质量评估

钳夹试验中血糖随时间的变化见图1A。受试制剂组与参比制剂组的基线血糖以及给药后血糖水平均接近,受试制剂组与参比制剂组给药前后其血糖波动幅度均在基线血糖值的10%以内。受试制剂组各受试者的血糖变异系数(CV_{BG})为2.27%~7.57%;参比制剂组各受试者的 CV_{BG} 为2.57%~6.54%,两组均值皆小于5%(4.41%±1.12% vs. 4.21%±1.02%, $P=0.53$),具有可比性。

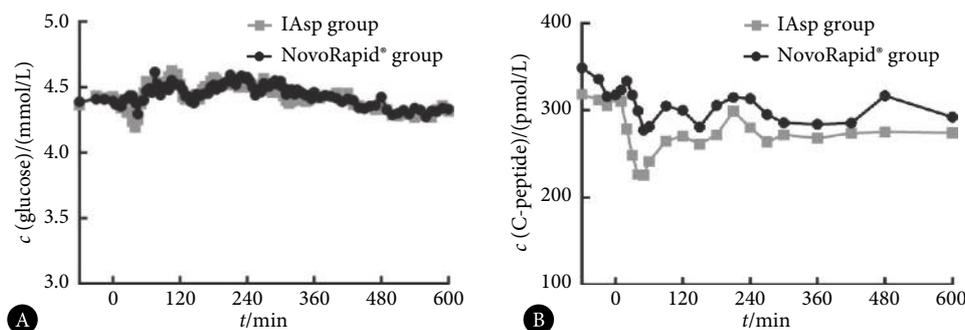


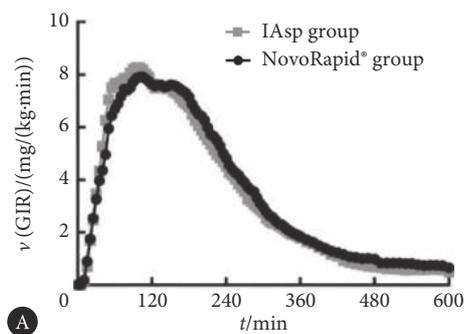
图1 IAsp组与NovoRapid®组血糖(A)及C肽(B)随时间变化($n=23$)

Fig 1 Time profiles of blood glucose (A) and C-peptide (B) levels in IAsp and NovoRapid® group ($n=23$)

钳夹试验中受试制剂组和参比制剂组血C肽的变化见图1B。两组的基线血清C肽水平基本一致($P=0.49$), 给药后平均C肽水平差异亦无统计学意义($P=0.28$)。两组给药后的C肽水平均较基线稍低, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 门冬胰岛素的PD及PK参数

2.3.1 PD参数 受试者注射门冬胰岛素后GIR随时间变



化曲线见图2A。如表2所示, 受试制剂门冬胰岛素注射液与参比制剂诺和锐®比较, 其起效时间、葡萄糖输注速率峰值及达峰时间、GIR从0开始上升至50%GIR_{max}的时间、GIR从峰值下降至50%峰值的时间、从0 h至0.5、1、2、4、6、8、10 h的GIR的曲线下面积差异均无统计学意义($P>0.05$), 说明具有可比性。

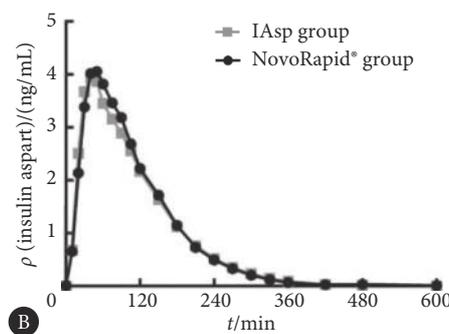


图2 IAsp组与NovoRapid®组GIR (A) 及门冬胰岛素 (B) 随时间变化 ($n=23$)

Fig 2 Time profiles of GIR (A) and insulin aspart levels (B) in IAsp and NovoRapid® group ($n=23$)

2.3.2 PK参数 给药后受试者血浆门冬胰岛素浓度随时间变化曲线见图2B。如表3所示, 受试制剂重组门冬胰岛素注射液与参比制剂诺和锐®比较, 除 T_{max} 的 $P<0.05$, 其余参数的 P 均 >0.05 , 包括血浆门冬胰岛素峰值(C_{max})、血门冬胰岛素浓度从0开始上升至50% C_{max} 峰值的时间、血门冬胰岛素从峰值下降至50%峰值的时间、从0 h至0.5、1、2、4、6、8、10 h的门冬胰岛素的曲线下面积、达5%/

50%/95%的 $AUC_{IAsp, 0-10h}$ 的时间差异均无统计学意义($P>0.05$), 说明具有可比性。

2.3.3 生物等效性分析 以诺和锐®为参比制剂, 以门冬胰岛素注射液为受试制剂, 对实测 T_{max} 、 C_{max} 和经自然对

表2 受试制剂与参比制剂药效动力学参数比较

Table 2 Parameters of pharmacodynamics

Item	IAsp group ($n=23$)	Novo Rapid® group ($n=23$)	P
T_{onset}/min	15 (15, 15)	15 (15, 15)	0.85
$GIR_{max}/(mg/(kg·min))$	9.07±2.27	8.62±1.87	0.47
$t-GIR_{max}/min$	95 (75, 105)*	100 (95, 130)*	0.28
$T_{GIR, early50\%}/min$	36.7±6.59	40.9±10.9	0.12
$T_{GIR, late50\%}/min$	235 (210, 279)*	253 (230, 287)*	0.19
$AUC_{GIR, 0-0.5h}/(mg/kg)$	30.0 (19.3, 46.2)*	31.2 (26.5, 39.2)*	0.67
$AUC_{GIR, 0-1h}/(mg/kg)$	213±72.9	188±65.4	0.22
$AUC_{GIR, 0-2h}/(mg/kg)$	692±201	641±187	0.38
$AUC_{GIR, 0-4h}/(mg/kg)$	1 463±351	1 451±318	0.90
$AUC_{GIR, 0-6h}/(mg/kg)$	1 807±428	1 822±374	0.90
$AUC_{GIR, 0-8h}/(mg/kg)$	1 942±486	1 977±422	0.80
$AUC_{GIR, 0-10h}/(mg/kg)$	2 014±526	2 072±461	0.69

T_{onset} : Onset time; GIR_{max} : Maximum of glucose infusion rate; $t-GIR_{max}$: Time to the GIR_{max} ; $T_{GIR, early50\%}$: Time to the early 50% of GIR_{max} ; $T_{GIR, late50\%}$: Time to the late 50% of GIR_{max} ; AUC : Area under curve; *Median (P_{25}, P_{75})

表3 受试制剂与参比制剂药代动力学参数比较

Table 3 Parameters of pharmacokinetics

Item	IAsp group ($n=23$)	NovoRapid® group ($n=23$)	P
$C_{max}/(ng/mL)$	4.26 (3.10, 4.91)*	4.43 (3.49, 5.27)*	0.54
T_{max}/min	40 (40, 50)*	50 (40, 60)*	0.03
$T_{IAsp, early50\%}/min$	19.1±4.24	21.2±4.73	0.12
$T_{IAsp, late50\%}/min$	143 (105, 166)*	127 (112, 171)*	0.81
$AUC_{IAsp, 0-0.5h}/(ng/mL·min)$	45.5 (27.9, 64.2)*	43.4 (34.0, 57.2)*	0.61
$AUC_{IAsp, 0-1h}/(ng/mL·min)$	164±55.8	162±48.2	0.88
$AUC_{IAsp, 0-2h}/(ng/mL·min)$	335±80.7	347±77.8	0.61
$AUC_{IAsp, 0-4h}/(ng/mL·min)$	481±96.2	495±86.5	0.59
$AUC_{IAsp, 0-6h}/(ng/mL·min)$	512±99.5	523±87.0	0.67
$AUC_{IAsp, 0-8h}/(ng/mL·min)$	516±100	528±87.5	0.67
$AUC_{IAsp, 0-10h}/(ng/mL·min)$	517±101	531±87.8	0.62
$T_{IAsp, 5\%}/min$	23.4±5.40	24.7±5.37	0.43
$T_{IAsp, 50\%}/min$	91.8 (74.1, 104)*	87.7 (76.6, 102)*	0.94
$T_{IAsp, 95\%}/min$	253 (214, 273)*	237 (208, 267)*	0.64

IAsp: Insulin aspart; C_{max} : Maximum concentration of IAsp; T_{max} : Time to the C_{max} ; $T_{IAsp, early50\%}$: Time to the early 50% of C_{max} ; $T_{IAsp, late50\%}$: Time to the late 50% of C_{max} ; AUC : Area under curve; $T_{IAsp, 5\%}$: Time to 5% of $AUC_{IAsp, 0-10h}$; $T_{IAsp, 50\%}$: Time to 50% of $AUC_{IAsp, 0-10h}$; $T_{IAsp, 95\%}$: Time to 95% of $AUC_{IAsp, 0-10h}$; *Median (P_{25}, P_{75})

数转换后的实测 AUC_{0-10h} 的血胰岛素浓度 AUC 进行统计分析,方差分析后进行双侧检验及90% CI 判断。对于药效动力学参数,受试制剂相对于参比制剂 GIR_{max} 的90% CI 为95.5%~113%, $t-GIR_{max}$ 的90% CI 为83.1%~104%,反映降糖作用的相对生物利用度为98.3%±18.8%,其90% CI 为89.9%~104%;对于药代动力学参数,受试制剂相对于参比制剂的 C_{max} 的90% CI 为88.8%~106%, T_{max} 的90% CI 为72.0%~96.8%,反映血药浓度的相对生物利用度为97.3%±8.3%,其90% CI 为94.0%~100%。

2.4 安全性分析

纳入安全性分析的24例受试者从入组到出组,其生命体征(包括体温、心率、呼吸、血压)、血常规、尿常规、血生化、心电图无明显异常,1例受试者出组时出现无症状高尿酸血症(血尿酸516 $\mu\text{mol/L}$)。整个试验过程中无低血糖、过敏反应及注射局部不良反应发生。

3 讨论

葡萄糖钳夹技术是目前公认的评价胰岛素及其类似物PK/PD参数的最好方法^[2]。本研究采用正葡萄糖钳夹技术,比较了珠海联邦制药股份有限公司生产的门冬胰岛素(受试制剂)与丹麦诺和诺德公司生产的门冬胰岛素注射液(参比制剂)的PK/PD参数,并对其生物等效性进行了评估。本研究钳夹试验的数据完整。给予受试者研究药物后,两组受试者血糖水平稳定在目标范围内,血糖CV值符合要求^[3],实测血糖值与目标血糖值的差距较小,C肽水平略低于给药前基础水平。提示本研究钳夹试验质量稳定,本研究中所获得的数据可用于分析研究药物的药效动力学与药代动力学特征。

本研究采用特异性检测门冬胰岛素的方法分析受试者血中门冬胰岛素浓度^[4-6],故研究中所获得的PK参数不受健康受试者体内内源性胰岛素的干扰,能较准确的反映皮下注射研究药物后其血药浓度随时间的变化。本研究结果显示,受试者皮下注射联邦制药公司生产的重组门冬胰岛素后约19 min血药浓度可达峰值浓度的1/2,而达0~10 h总药时曲线下面积5%的时间却比达峰值浓度1/2的时间稍晚(23.4 min vs. 19.1 min),显示给药后该门冬胰岛素从0上升至峰值浓度1/2的吸收入血所需时间很短,吸收速度快,致使这段时间的药时曲线下面积不及0~10 h总药时曲线下面积的5%。在给药后约40 min门冬胰岛素浓度达峰值,约92 min其血药浓度为0~10 h总血药浓度浓度的1/2,此外,在给药后约143 min血药浓度下降至峰值的1/2,至253 min时可达95% $AUC_{IAsp,0-10h}$,证实该门冬胰岛素在血中的清除时间较常规人胰岛素快^[7-9],与

常规人胰岛素相比起效更快,作用更强,清除更快。我们对联邦制药公司生产的重组门冬胰岛素与诺和诺德公司生产的诺和锐®的PK参数进行了生物等效性分析,结果显示其主要PK指标血门冬胰岛素峰值、0~10 h药时曲线下面积的相对生物利用度90% CI 分别为88.8%~106%、94.0~100%,均落在80%~125%范围内,提示该两种制剂的PK指标具有生物等效性。

在健康受试者中进行的胰岛素制剂PD参数分析必须要避免受试者内源性胰岛素分泌的干扰,即在正葡萄糖钳夹试验过程中受试者内源性胰岛素分泌需受到抑制,在此前提下所获得的葡萄糖输注速率方能真实反映外源性注射的门冬胰岛素降糖效率。本研究结果显示,受试制剂组及参比制剂组基线C肽水平基本一致,给药后血C肽水平与基线比较无明显变化,给药后两组的血清C肽水平亦无明显差异,提示两组受试者给药后的内源性胰岛素分泌无增加,且两组之间具有可比性,故本研究中所获得的PD数据葡萄糖输注速率可以较真实地反映门冬胰岛素的降糖效率。本研究结果显示,受试者皮下注射联邦制药公司生产的重组门冬胰岛素后15 min开始起效,约37 min达最大降糖效率的1/2,给药后95 min降糖效率达峰值。此后葡萄糖输注速率逐渐下降,至给药后235 min时降至 GIR_{max} 的1/2。本研究结果证实该门冬胰岛素的起效时间及达峰时间明显短于常规人胰岛素,且 GIR_{max} 高于常规人胰岛素^[7-9]。对受试制剂与参比制剂的PD参数所进行的生物等效性分析显示,联邦制药公司生产的重组门冬胰岛素起效时间与诺和锐®一致,但达峰时间稍早,且 GIR_{max} 稍高,给药后0~2 h的降糖作用稍强。与诺和锐比较,联邦制药公司生产的重组门冬胰岛素 GIR_{max} 、 $AUC_{GIR,0-10h}$ 相对生物度的90% CI 分别为95.5%~113%、89.9%~104%,均落在80%~125%范围内,提示这两种门冬胰岛素制剂的PD指标具有生物等效性。

在安全性方面,本试验过程中所有受试者均无低血糖发生,亦未观察到任何过敏反应及注射局部不良反应发生,仅有1例受试者出现怀疑与饮食相关的无症状高尿酸血症。

据我们所知,本研究是国内第一个采用不建立高胰岛素血症平台的正葡萄糖钳夹技术进行门冬胰岛素生物等效性的研究,采用自身前后对照、双交叉的设计,最大程度避免给药顺序及受试者自身对研究结果的影响,试验结果真实可靠。

综上所述,珠海联邦公司生产的重组门冬胰岛素与诺和诺德公司生产的诺和锐®在药代动力学指标与药效学指标等方面具有生物等效性,受试者注射受试药物后

未观察到与药物相关的不良反应。

参 考 文 献

- [1] HOWEY D C, BOWSER R R, BRUNELLE R L, *et al.* [Lys(B28), Pro (B29)]-human insulin: a rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes*, 1994, 43(3): 396–402.
- [2] Becker R H A. Pharmacodynamic evaluation: diabetes methodologies. *Method Clin Pharmacol*, 2011[2019-09-19]. https://doi.org/10.1007/978-3-540-89891-7_33.
- [3] 刘辉, 喻红玲, 韩丽娜, 等. 正葡萄糖钳夹试验的质量评价. *四川大学学报(医学版)*, 2019, 50(4): 588–593.
- [4] GUGTEN J G V D, WONG S, HOLMES D T. Quantitation of insulin analogues in serum using immunoaffinity extraction, liquid chromatography, and tandem mass spectrometry// *Clinical applications of mass spectrometry in biomolecular analysis*. New York: Springer, 2016: 119–130.
- [5] CHAMBERS E E, LEGIDO-QUIGLEY C, SMITH N, *et al.* Development of a fast method for direct analysis of intact synthetic insulins in human plasma: the large peptide challenge. *Bioanalysis*, 2013, 5(1): 65–81.
- [6] LEGG K M, LABAY L M, AIKEN S S, *et al.* Validation of a fully automated immunoaffinity workflow for the detection and quantification of insulin analogs by LC–MS–MS in postmortem vitreous humor. *J Anal Toxicol*, 2019, 43[2019-09-19]. <https://doi.org/10.1093/jat/bkz014>.
- [7] 袁涛, 赵维纲, 付勇, 等. 常规型重组人胰岛素重和林TMR的人体药代动力学、药效动力学及生物等效性. *中华临床营养杂志*, 2016, 24(1): 22–27.
- [8] MUDALIAR S R, LINDBERG F A, JOYCE M, *et al.* Insulin aspart (B28 asp-insulin): a fast-acting analog of human insulin: absorption kinetics and action profile compared with regular human insulin in healthy nondiabetic subjects. *Diabetes Care*, 1999, 22(9): 1501–1506.
- [9] KURLEMANN G, SCHREINER A. Comparison of the time-action profiles of U40- and U100-regular human insulin and the rapid-acting insulin analogue B28 Asp. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1997, 105(3): 140–144.

(2019 – 09 – 29收稿, 2020 – 02 – 16修回)

编辑 沈 进