

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)16-0073-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.16.013



健康人群地诺孕素片生物等效性研究

王丹杰, 汪洋, 刘诚, 王灿, 朱小珊[△]

(武汉九珑人福药业有限责任公司, 湖北 武汉 430206)

摘要:目的 探讨地诺孕素片在健康人群中的生物等效性。方法 选取武汉市传染病医院2023年2月6日至5月9日征集的健康女性受试者61例,随机分为空腹组(30例)和餐后组(32例),受试者进行2个周期的随机开放临床试验,分别在空腹或餐后状态下口服受试制剂或参比制剂,清洗期5 d。采用高效液相色谱串联质谱法检测人血浆中地诺孕素的质量浓度。用Phoenix[®] inNonlin[®]软件(Pharsight[®] Corporation, 8.3版本)分别计算受试者空腹和餐后服用地诺孕素片的药物代谢动力学参数,并评估2种制剂的生物等效性和安全性。结果 2种制剂的峰浓度(C_{max})、 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 经对数转换后90%置信区间分别为,空腹状态下(90.15%, 103.24%), (98.39%, 104.86%), (98.50%, 105.56%), 餐后状态下(90.58%, 102.38%), (98.59%, 103.73%), (98.87%, 104.31%), 均在80.00%~125.00%范围内。空腹组和餐后组的不良事件发生率分别为26.67%和35.48%,未发生严重不良事件。结论 该研究中地诺孕素片的受试制剂与参比制剂在健康人群中具有生物等效性。

关键词:地诺孕素片;高效液相色谱串联质谱法;药物代谢动力学;生物等效性;安全性;健康人群

Bioequivalence of Dienogest Tablets in Healthy Volunteers

WANG Danjie, WANG Yang, LIU Cheng, WANG Can, ZHU Xiaoshan

(Wuhan Jiulong Humanwell Pharmaceutical Co., Ltd, Wuhan, Hubei, China 430206)

Abstract: Objective To investigate the bioequivalence of Dienogest Tablets in healthy volunteers. **Methods** A total of 61 healthy female volunteers admitted to Wuhan Infectious Disease Hospital from February 6 to May 9, 2023 were enrolled and randomly divided into the fasted group (30 cases) and the fed group (32 cases). The participants were given two cycles of randomized open-label clinical trial, and the test formulation or reference formulation were taken orally in the fasted or fed state, with a cleaning period of 5 d. The mass concentration of dienogest in human plasma was detected using the high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The pharmacokinetic parameters of Dienogest Tablets of participants who took them in the fasted or fed state were calculated by Phoenix[®] inNonlin[®] software (Pharsight[®] Corporation, version 8.3), and the bioequivalence and safety of the two formulations were evaluated. **Results** The peak concentration (C_{max}), AUC_{0-1} , and $AUC_{0-\infty}$ of the two formulations were log transformed with 90% confidence intervals as follows: in the fasted state (90.15%, 103.24%), (98.39%, 104.86%), (98.50%, 105.56%); in the fed state (90.58%, 102.38%), (98.59%, 103.73%), (98.87%, 104.31%), all falling within the range of 80.00% to 125.00%. The incidence of adverse events in the fasted group and the fed group was 26.67% and 35.48%, respectively, with no serious adverse events occurring. **Conclusion** The test formulation of Dienogest Tablets is bioequivalent to the reference formulation in healthy volunteers.

Key words: Dienogest Tablets; HPLC-MS; pharmacokinetics; bioequivalence; safety; healthy volunteers

地诺孕素片被相关指南推荐为子宫内膜异位症(EMT)长期管理的首选药物^[1],2019年在我国获批上市。地诺孕素属人工合成孕激素,可通过降低雌激素水平抑制卵泡发育排卵,从而有效治疗EMT^[2-4]。地诺孕素口服吸收迅速、完全,生物利用度高,给药24 h内其代谢物可从尿中消除^[5],且其无雄激素、糖皮质激素或盐皮质激素活性,对雌激素、糖、盐、脂代谢的影响较小^[6-9]。有研究表明,地诺孕素代谢迅速,重复给药后无蓄积且耐受性良好,副作用小,可长期使用^[10-13];高剂量下同样具有高疗效、低副作用的临床表现^[14]。因此,地诺孕素片具有广阔的市场前景,目前国内多个厂家

进行了其仿制药研发。本研究中通过空腹及餐后条件下的健康人群生物等效性试验,考察某地诺孕素片仿制药与原研药的等效性与安全性,为仿制药上市审评及药品质量评价提供数据支持。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器:LC-20ADXR型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司);Turbo Spray[®]离子源、Triple Quad 4500型质谱检测仪,均购自AB Sciex公司。

试剂:地诺孕素片(受试制剂,武汉九珑人福药业有限责任公司,批号为60220603);地诺孕素片(商品名

第一作者:王丹杰,女,大学本科,研究方向为药物临床试验,(电子信箱)wangdanjie@renfu.com.cn。

[△]通信作者:朱小珊,男,硕士,工程师,研究方向为药物临床试验,(电子信箱)zhuxiaoshan@renfu.com.cn。

唯散宁[®], 参比制剂, 德国 Bayer Weimar GmbH und Co. KG, 批号为 WEU8S1); 地诺孕素对照品(批号为 2249 - 036A1)、内标地诺孕素 - d₆(批号为 1818 - 055A4), 均购自加拿大 TLC Pharmaceutical Standards。

1.2 研究对象

2023年2月6日至5月9日于武汉市传染病医院征集健康女性受试者62例, 分为空腹组(30例)和餐后组(32例)。空腹组受试者年龄(34.6 ± 6.67)岁, 身高(157.20 ± 4.665)cm, 体质量(58.24 ± 5.741)kg, 体质量指数(23.54 ± 1.781)kg/m²; 餐后组受试者年龄(32.0 ± 8.11)岁, 身高(159.11 ± 5.972)cm, 体质量(57.95 ± 4.798)kg, 体质量指数(22.90 ± 1.586)kg/m²。入组受试者3个月内均无吸烟史、饮酒史、献血史、失血史; 均无过敏史、无用药史; 体格检查、生命体征检查、临床实验室检查等结果正常。本研究方案经武汉市传染病医院医学伦理委员会批准(批件号: GCP - ICT - 2022 - 34.01), 受试者均签署知情同意书。餐后组1例受试者首次给药前退出试验, 实际纳入等效性评价31例。本研究中专属性考察所用空白血浆来源于天津市职业病防治院及泓泰广场医院。

1.3 给药方案与血样采集

2组受试者均进行2个周期的随机开放临床试验, 每周均在空腹或餐后状态下, 以240 mL温开水送服1片受试制剂或参比制剂, 给药清洗期为5 d。空腹组试验血样采集时间点为0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.33, 1.67, 2.0, 2.33, 2.67, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 h; 餐后组试验血样采集时间点为0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.33, 1.67, 2.0, 2.33, 2.67, 3.0, 3.33, 3.67, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 8.0, 12.0, 24.0, 36.0, 48.0 h。每个采血点采集上肢静脉血4 mL, 于乙二胺四乙酸(EDTA) - K₂采血管中。血样采集1 h内在4 °C下、1 700 × g离心10 min, 离心后的血浆样品在室温下分为2份, 1份(约1 mL)用于血样分析, 剩余备份。血浆样品于-90 ~ -60 °C冰箱中储存。

1.4 试验条件

色谱条件: 色谱柱为 Welch Ultimate XB C₁₈ 柱(50 mm × 2.1 mm, 5 μm); 流动相为10 mmol/L甲酸铵水溶液(A) - 乙腈(B), 梯度洗脱(0 ~ 1.2 min时30%B → 50%B, 1.2 ~ 1.3 min时50%B → 95%B, 1.2 ~ 2.0 min时95%B, 2.0 ~ 2.1 min时95%B → 30%B); 流速为1.0 mL/min; 进样量为15 μL; 柱温为30 °C; 自动进样器温度为4 °C。

质谱条件: 采用电喷雾离子源(ESI)、正离子及多重反应监测(MRM)模式; 电喷雾电压为5 500 V; 涡旋离子喷雾温度为600 °C; 入口电压为10 V; 碰撞室出口电

压为10 V; 数据采集时间为2.8 min; 地诺孕素和内标地诺孕素 - d₆去簇电压分别为50 V和50 V; 碰撞能量分别为38 V和42 V, 停留时间分别为0.930 min和0.920 min; 监测离子对分别为地诺孕素 *m/z* 312.1 → 135.1 和地诺孕素 - d₆ *m/z* 318.3 → 139.1。

1.5 溶液制备和血浆样品处理

溶液制备: 1) 对照品溶液。取对照品适量, 共2份, 置透明玻璃瓶中, 分别标记为S01 - 1、S01 - 2。根据其纯度、水分、是否成盐等信息计算该分析物的真实质量, 加50%甲醇适量, 涡旋混合, 制成地诺孕素质量浓度为0.200 mg/mL的对照品溶液。2) 内标工作液。于内标原装瓶(1.03 mg/瓶)中加入0.948 mL甲醇, 涡旋混合, 制成地诺孕素 - d₆质量浓度为1.00 mg/mL的内标贮备液。取适量, 加50%甲醇适量, 涡旋混合, 制成质量浓度为10,200的内标工作液。

血浆样品处理: 取血浆样品100 μL, 加入96孔板中, 加入内标工作溶液25 μL, 涡旋混合3 min, 加入超纯水50 μL, 涡旋混合3 min, 加入甲基叔丁基醚600 μL, 涡旋混合10 min; 在4 °C下、1 700 × g离心15 min, 取上清液300 μL, 至另一96孔板, 氮气吹干, 加入甲醇 - 水(50:50, V/V)200 μL, 涡旋混合5 min。于4 °C下储存。

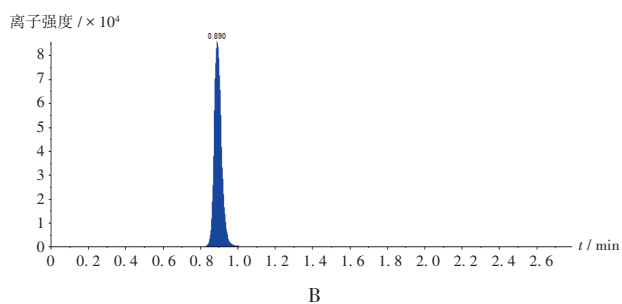
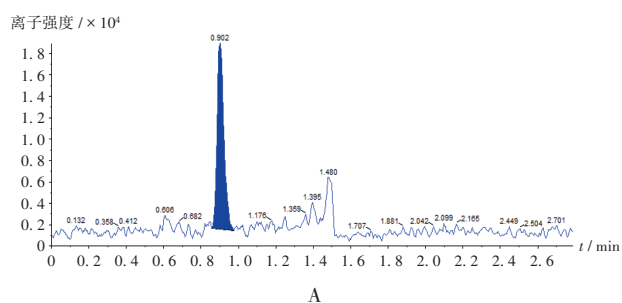
1.6 方法学考察

专属性考察: 取6份空白血浆, 1份餐后血浆, 1份含5%全血细胞裂解物的血浆, 以及多份混合血浆各适量, 按1.5项下方法处理, 按1.4项下试验条件进样测定, 记录色谱。结果待测成分与内标的色谱峰无干扰方法适用性良好。离子色谱图见图1(图中仅展示有效物质特征图谱)。

线性关系考察: 精密量取地诺孕素对照品适量, 加入血浆样品和内标地诺孕素 - d₆, 按1.5项下方法处理, 制成系列工作溶液。按1.4项下试验条件进样测定, 记录峰面积。以地诺孕素质量浓度(*X*, ng/mL)为横坐标、地诺孕素与内标的峰面积响应值之比(*Y*)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 3.98 \times 10^{-2}X + 2.24 \times 10^{-4}$ ($R^2 = 0.9986$)。结果表明, 地诺孕素质量浓度在0.5 ~ 100 ng/mL范围内与地诺孕素与内标的峰面积响应值之比线性关系良好。

定量下限考察: 精密量取线性关系考察项下最高质量浓度的系列工作溶液适量, 倍比稀释, 并按1.4项下试验条件进样测定, 以信噪比10:1时的进样量分别记作定量下限。结果地诺孕素定量下限为0.5 ng/mL。

精密度、提取回收、准确度试验: 取质量浓度为0.500, 1.50, 10, 30.0, 75.0 ng/mL的对照品溶液, 加入血浆样品和内标, 按1.5项下方法处理, 按1.4项下试验条件进样测定, 记录峰面积。结果见表1(NA为未检测)。



A. 地诺孕素 B. 地诺孕素 - d₆

图1 离子色谱图

A. Dienogest B. Dienogest - d₆

Fig. 1 Ion chromatograms

表1 精密度、提取回收、准确度试验结果

Tab. 1 Results of precision, extraction recovery, and accuracy tests

质量浓度 (ng/mL)	批内精密度		批间精密度		回收率(%)		准确(%)	
	数值 ($\bar{X} \pm s, \text{ng/mL}$)	RSD (%)	数值 ($\bar{X} \pm s, \text{ng/mL}$)	RSD (%)	地诺孕素	地诺孕素 - d ₆	批内 RSD	批间 RSD
0.500	0.517 ± 0.037	7.27					3.30	
	0.513 ± 0.021	4.13	0.52 ± 0.03	5.13	NA	NA	2.57	3.80
	0.527 ± 0.020	3.81					5.47	
1.50	1.60 ± 0.070	4.39					6.55	
	1.53 ± 0.038	2.50	1.58 ± 0.06	3.93	101.75	95.13	2.23	5.33
	1.61 ± 0.052	3.25					7.23	
10.0	10.8 ± 0.210	1.94					8.00	
	10.6 ± 0.204	1.92	10.70 ± 0.25	2.35	NA	NA	6.17	6.73
	10.6 ± 0.316	2.98					6.00	
30.0	32.6 ± 0.505	1.55					8.48	
	32.0 ± 0.752	2.35	32.10 ± 0.74	2.32	100.35	97.99	6.62	6.87
	31.7 ± 0.750	2.37					5.50	
75.0	76.6 ± 1.62	2.11					2.13	
	74.0 ± 1.33	1.79	75.90 ± 2.40	3.16	96.58	94.18	-1.35	1.13
	77.0 ± 2.96	3.84					2.68	

稳定性试验:取给药后血浆样品适量,分别于室温下放置不同时间后按1.4项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,分析物贮备液室温放置24 h内,4 °C储存条件下放置29 d稳定;全血中分析物在室温和湿冰条件下放置3 h稳定;分析物工作液在4 °C储存条件下放置28 d稳定;血浆中分析物在室温放置25 h稳定,储存在-20 °C条件下80 d稳定,在-80 °C条件下80 d稳定,

在-20 °C(-10 °C~30 °C)和-80 °C(-90 °C~-60 °C)条件下经过5次冻融后稳定;处理过的样品在自动进样器温度下存储146 h稳定,存储143 h分析结果可重现。

基质效应:取6份不同来源的空白正常基质、1份空白高脂基质和1份空白溶血基质各适量,加入75.0 ng/mL和1.50 ng/mL的分析物和内标,配制基质效应样品,按1.4项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果地诺孕素及地诺孕素-d₆经内标归一化的基质因子的平均值分别为1.02,0.998;分析物经内标归一化的基质因子的RSD分别为1.30%,2.20%,均低于15%,表明分析物受内源性物质影响较小。

1.7 数据处理

非房室模型药物代谢动力学计算采用Phoenix® WinNonlin®统计学软件(Pharsight®Corporation, 8.3版本),其他使用SAS 9.4软件。将评价指标[峰浓度(C_{max})、AUC_{0-t}和AUC_{0-∞}]经对数转换后,采用平均生物等效性方法(ABE)评价等效性。数据均纳入全分析集(FAS)、安全性分析集(SS)、药物代谢动力学参数集(PKCS)、药物代谢动力学浓度集(PKPS)、生物等效性分析集(BES)。

1.8 安全性评估

以不良事件、严重不良事件、伴随用药、实验室检查结果的变化(血常规、血生化、尿常规等)、临床症状、生命体征测定结果、12导联心电图和体格检查结果等为指标,评价受试者服用地诺孕素片受试制剂和参比制剂后的安全性。

2 结果

2.1 血药浓度-时间曲线

餐后组1例受试者首次给药前退出试验。血药浓度-时间曲线见图2。

2.2 药物代谢动力学参数

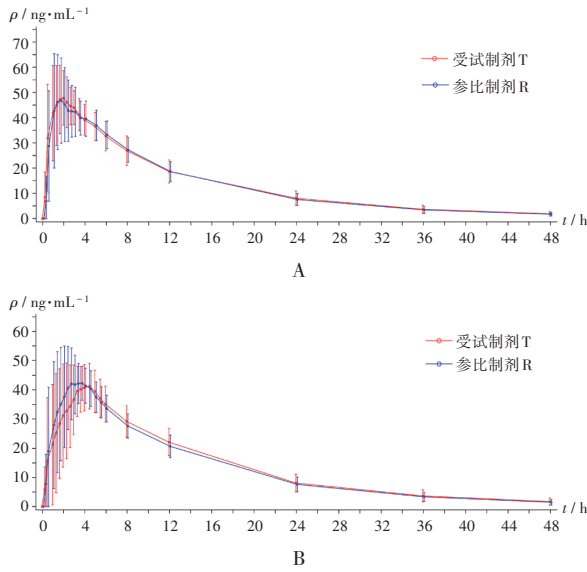
除给药前采血时间以0 h计外,其余时间以实际采样时间计算受试制剂和参比制剂的药物代谢动力学参数,结果表明各参数置信区间均在80.00%~125.00%范围内。详见表2。

2.3 生物等效性评价

空腹试验基于纳入BES的30例受试者,对地诺孕素的主要指标进行分析,2种制剂的C_{max}、AUC_{0-t}、AUC_{0-∞}经对数转换后90%置信区间分别为,空腹状态下(90.15%, 103.24%), (98.39%, 104.86%), (98.50%, 105.56%),餐后状态下(90.58%, 102.38%), (98.59%, 103.73%), (98.87%, 104.31%),均在80.00%~125.00%范围内。

2.4 安全性评价

空腹组8例受试者(26.67%)共发生不良事件14例



A. 空腹 B. 餐后
图2 血药浓度 - 时间曲线
A. Fasted state B. Fed state

Fig. 2 Blood drug concentration - time curve

表2 药物代谢动力学参数

Tab. 2 Pharmacokinetic parameters

参数	空腹(n=30)		餐后(n=31)	
	受试制剂	参比制剂	受试制剂	参比制剂
$t_{max} [M(P_{25}, P_{75}), h]$	1.67(0.50, 3.50)	1.67(0.50, 5.00)	3.33(0.50, 5.51)	2.34(0.50, 4.51)
$C_{max} (\bar{X} \pm s, ng/mL)$	55.94 ± 9.97	58.53 ± 12.56	51.82 ± 12.41	53.55 ± 10.38
$AUC_{0-1} (\bar{X} \pm s, (ng \cdot h) / mL)$	628.40 ± 143.54	614.90 ± 121.50	618.69 ± 123.25	609.59 ± 100.44
$AUC_{0-\infty} (\bar{X} \pm s, (ng \cdot h) / mL)$	658.55 ± 158.29	640.89 ± 131.53	644.36 ± 146.68	631.38 ± 116.82
$t_{1/2} (\bar{X} \pm s, h)$	10.46 ± 1.96	10.15 ± 1.66	9.51 ± 1.94	9.39 ± 1.57

次,包括轻度10例次,中度4例次;转归情况为完全恢复11例次、恢复达稳定3例次。餐后组11例受试者(35.48%)共发生不良事件15例次,包括轻度13例次、中度2例次;转归情况为完全恢复13例次、恢复达稳定2例次。两组均未发生严重不良事件或由于不良事件而退出试验的情况。

3 讨论

根据《以药动学参数为终点评价指标的生物等效性指导原则》^[15],本研究中全部入选女性受试者,单次给予地诺孕素片2mg,进行空腹和餐后状态下的生物等效性试验。结果在健康女性受试者单剂服用地诺孕素片受试制剂和参比制剂后,两制剂的药-时曲线相似,药物代谢动力学参数 C_{max} 、 AUC_{0-1} 和 $AUC_{0-\infty}$ 几何均值比的90%置信区间均在80%~125%范围内,表明受试制剂和参比制剂吸收程度和速度相似,且消除半衰期相近,两制剂消除相似。本研究中空腹及餐后试验均无严重不良事件发生。本研究中发生的药品不良反应如腹泻、不规则出血、白细胞计数降低等,均与说明书

描述相符。提示在进行同类型药物临床试验时,需做好受试者管理与宣教,同时对说明书提及的药品不良反应做好预案。

综上所述,该研究中地诺孕素片的受试制剂与参比制剂具有生物等效性,且安全性可接受。

参考文献

- [1] 中国医师协会妇产科医师分会,中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症诊治指南(第三版)[J]. 中华妇产科杂志,2021,56(12):812-824.
- [2] 符梅,黄玺玥,莫婷,等. 地诺孕素的临床应用进展[J]. 中国药物与临床,2021,21(22):3687-3690.
- [3] 王温馨,王树瑜,赵焯,等. 地诺孕素治疗子宫内膜异位症的安全性研究进展[J]. 实用药物与临床,2023,26(2):167-171.
- [4] 吕梦奕,王素霞. 地诺孕素治疗子宫内膜异位症研究进展[J]. 浙江临床医学,2021,23(11):1685-1688.
- [5] BARRA F, SCALA C, FERRERO S. Current understanding on pharmacokinetics, clinical efficacy and safety of progestins for treating pain associated to endometriosis[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2018, 14(4):399-415.
- [6] 唐春艳,邓珊. 地诺孕素治疗期间卵巢巧克力囊肿增大伴急性腹痛[J]. 生殖医学杂志,2021,30(7):946-948.
- [7] 李尚瑾,张冰,岳雅洁,等. 口服GnRH-A—子宫内膜异位症治疗的新尝试[J]. 现代妇产科进展,2024,33(5):389-392.
- [8] 段利利,李志斌,张焯,等. 地诺孕素在子宫内膜异位症中的治疗效果[J]. 中国妇幼健康研究,2021,32(6):909-913.
- [9] 朱焰,孙祖越,曹霖. 第四代孕激素研究进展[J]. 中国药理学杂志,2006,41(8):572-576.
- [10] 郭华,刘兰兰,黄春芝,等. 地诺孕素治疗子宫内膜异位症的快速卫生技术评估[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2024,29(5):512-519.
- [11] 金秋,韩旭. 地诺孕素治疗子宫内膜异位症的临床研究进展[J]. 医学综述,2021,27(17):3483-3487.
- [12] 王真,李玲敏,李红霞,等. 地诺孕素应用于子宫内膜异位症治疗中的临床效果研究[J]. 中外医学研究,2021,19(9):122-124.
- [13] 王温馨,王树瑜,赵焯,等. 地诺孕素治疗子宫内膜异位症的安全性研究进展[J]. 实用药物与临床,2023,26(2):167-171.
- [14] 袁艳艳,陈惠惠. 子宫内膜异位症患者应用不同剂量地诺孕素治疗的临床效果[J]. 北方药学,2021,18(2):54-55.
- [15] 国家食品药品监督管理总局. 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[A/OL]. (2016-03-18)[2024-08-22]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20160318210001725.html>.

(收稿日期:2024-08-27;修回日期:2025-03-09)