

乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性研究设计的一般考虑

General considerations for the design of bioequivalence studies of acetylcysteine granules

刘力力, 李 芳, 哈莉莉,
李 栋, 任曼茹, 周 誉

(国家药品监督管理局 药品审评中心, 北京
100076)

LIU Li-li, LI Fang,
HA Li-li, LI Dong,
REN Man-ru, ZHOU Yu

(Center for Drug Evaluation, National
Medical Products Administration, Beijing
100076, China)

作者简介: 刘力力(1986-), 女, 助理研究员, 主
要从事临床药理学技术审评工作

通信作者: 周誉, 女, 副主任药师

Tel: (010) 80995812

E-mail: zhoyu@cde.org.cn

摘要: 乙酰半胱氨酸分子中的游离巯基能使痰液中糖蛋白多肽链中的二硫键(S-S)断裂, 从而降低痰液粘度, 促进痰液排出, 属于临床常用药物。它是半胱氨酸的衍生物, 也是谷胱甘肽的前体, 是可由机体产生的一种内源性物质。在开展生物等效性研究时需对研究类型、给药剂量、采血点设计、生物等效性(BE)评价等方面进行充分考虑与合理设计, 充分评估内源性乙酰半胱氨酸对于生物等效性评价的影响。本文结合乙酰半胱氨酸颗粒的药代动力学(PK)特征, 并基于其仿制药在国内上市前所开展的生物等效性研究情况, 系统探讨了本品生物等效性研究的设计要求及相关考虑。

关键词: 乙酰半胱氨酸; 仿制药; 生物等效性研究; 内源性物质

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.23.018

中图分类号: R969 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)23-3426-04

Abstract: Acetylcysteine is a commonly used clinical drug, and its free thiol group can break the disulfide bond (S-S) in the glycoprotein peptide chain in sputum, thereby reducing sputum viscosity and promoting sputum excretion. It is an endogenous substance. When conducting bioequivalence studies, it is necessary to fully consider and design aspects such as the research type, dosage, blood collection point design, bioequivalence evaluation, etc., and fully evaluate the impact of endogenous acetylcysteine on bioequivalence evaluation. This article integrates the pharmacokinetic (PK) characteristics of acetylcysteine granules along with the bioequivalence research conducted on its generic version prior to domestic marketing. Through this approach, it comprehensively explores the general design requirements and key considerations for conducting bioequivalence studies on this product.

Key words: acetylcysteine; generic drugs; bioequivalence studies; endogenous substance

乙酰半胱氨酸(Acetylcysteine)是一种内源性物质, 是半胱氨酸和谷胱甘肽的前体^[1]。其分子中的游离巯基(亲核的-SH)能使痰液中糖蛋白多肽链中的二硫键(S-S)断裂, 从而降低痰液粘度, 促进痰液排出^[2-3], 临床上用于慢性支气管炎等咳嗽有粘痰而不易咳出的患者。

乙酰半胱氨酸于1968年由意大利赞邦(Zambon)开发, 包括片剂、泡腾片、颗粒剂以及吸入用溶液剂等多种剂型。其中, Zambon Italia S. R. L. 公司的乙酰半胱氨酸颗粒剂于1973年6月获准在意大利上市, 商品名: Fluimucil[®], 规格: 0.1 g(含糖型), 随后0.2 g(含糖型)、0.2 g(不含糖)与0.1 g(不含糖)规格也先后获准在意大利上

市。由海南赞邦制药地产化的乙酰半胱氨酸颗粒于2000年在中国获批上市,商品名:富露施,规格0.1 g和0.2 g。截至2024年11月30日,经检索国家药品监督管理局(NMPA)网站,国内上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂包括普通片剂、泡腾片和颗粒剂,其中乙酰半胱氨酸颗粒仿制药批准文号(规格0.1 g和0.2 g)有20个,包括17个通过或视同通过化学仿制药一致性评价的批准文号。

乙酰半胱氨酸口服给药后,可迅速完全吸收,但由于明显的首过效应,生物利用度非常低(大约10%)。摄入600 mg乙酰半胱氨酸片剂后,总乙酰半胱氨酸(游离和结合)的最大血浆浓度($C_{\max}$)为 $3.40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($20.83 \text{ nmol} \cdot \text{mL}^{-1}$), $t_{\max}$ 为0.71 h (43 min)。曲线下面积(area under the curve, AUC)为 $10.06 \mu\text{g} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

本文结合乙酰半胱氨酸的药代动力学(pharmacokinetics, PK)特征,以及乙酰半胱氨酸颗粒仿制药在国内上市前所进行的生物等效性研究(bioequivalence, BE)情况^[5-7],对乙酰半胱氨酸的生物等效性研究进行了全面的总结和概述,并对研究和审评过程中的关注问题进行了探讨和分析,以期为该品种仿制药研发中的生物等效性试验提供依据与参考。

1 乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性试验的要点

1.1 参比制剂的选择

截至2024年11月30日,经检索NMPA已发布《化学仿制药参比制剂目录》,已发布乙酰半胱氨酸颗粒参比制剂累计6条,规格0.1 g和0.2 g,包括瑞士上市、意大利上市的原研产品以及赞邦制药在国内的地产化产品。乙酰半胱氨酸颗粒的生物等效性研究应选择NMPA已发布的参比制剂,开展相关研究。

1.2 研究设计和受试人群

乙酰半胱氨酸颗粒为普通口服固体速释制剂,通常采用两制剂、两周期、两序列交叉设计,进行空腹和餐后条件下单次给药的生物等效性研究。一般选择健康受试者进行生物等效性研究,以尽量减少其他因素对PK结果的干扰。一般情况下,研究入选的受试者应有适当的性别比例,需满足相关指导原则的要求。

1.3 给药剂量

乙酰半胱氨酸颗粒原研地产化产品的说明书中指出,成人用量为一次2包(规格:0.1 g),一日3次;一次1包(规格:0.2 g),一日3次。即日最大给药剂量为0.6 g。

进行生物等效性研究时,给药剂量通常选用拟上市制剂最高规格作为一个给药单位。根据相关文献^[8]及国内已申报品种的情况来看,在本品的生物等效性研究中,

可采用本品日最大给药剂量0.6 g。当然在灵敏度满足要求情况下,也可采用申报的最高规格开展研究。

1.4 清洗期和采血点

参考NMPA发布的《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》^[5]相关要求,建议每位受试者每个周期采样12~18个采血点,采样时间不短于3个末端消除半衰期,末端消除相应至少采集3~4个样品以确保准确估算末端消除相斜率, AUC_{0-t} 至少覆盖 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 的80%。瑞士Zambon Svizzera SA公司生产的乙酰半胱氨酸颗粒(商品名:Fluimucil®)说明书^[4]明确“还原形式乙酰半胱氨酸消除半衰期为1.95(0.95~3.57) h,总乙酰半胱氨酸消除半衰期为5.58(4.1~9.5) h,结合已申报品种情况,两周期间清洗期一般选择7天,采血点方面,基本覆盖乙酰半胱氨酸在人体内的吸收相、分布相和消除相。

1.5 生物样本的检测

乙酰半胱氨酸可由机体产生,是半胱氨酸的衍生物,也是谷胱甘肽前体,是机体产生的一种内源性物质^[1]。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》^[5]中关于内源性物质的相关要求,“若内源性化合物由机体产生:建议给药前根据PK特征多点测定基线值,从给药后的血药浓度中减去相应的基线值。”建议在本品开展生物等效性研究时,首先对受试者给药前血浆中内源性乙酰半胱氨酸基线浓度进行测定。基于现有申报品种的数据分析,通常在给药前设置3~5个采血点,以全面评估内源性乙酰半胱氨酸的基线浓度。根据文献资料^[1],内源性乙酰半胱氨酸的浓度通常低于 $33 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结合已申报的数据看乙酰半胱氨酸的基线浓度介于约20至 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,表现出较低且稳定的浓度水平。在0.6 g的给药剂量下,基线浓度一般不会超过血药浓度峰值($C_{\max}$)的5%。研究表明^[9],口服给药后乙酰半胱氨酸在0.2至0.6 mg剂量范围内呈线性PK特征,若选用上市制剂的最高规格0.2 g进行给药时,基线浓度可能会对吸收相早期及消除相末期的血药浓度产生影响。

1.6 生物等效性评价的一般要求

由我国已发布的《乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性研究指导原则》可知^[10],本品种的生物等效性评价采用平均生物等效性(average bioequivalence, ABE)方法进行评价。即受试制剂与参比制剂血浆中乙酰半胱氨酸的 $C_{\max}$ 、 AUC_{0-t} 和 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 的几何均值比的90%置信区间在80.00%~125.00%范围内。本品为内源性物质,在给药前已采集基线样品,应分别对未

进行基线校正和进行基线校正的数据开展 PK 和 BE 统计分析,并根据基线校正数据进行生物等效性评价。对于试验过程中出现的部分受试者 $AUC_{\% \text{ Extrap}} > 20.0\%$ 的情形,可不纳入相应周期的生物等效性数据集,但同时需要提供纳入该受试者的生物等效性评价结果以支持研究的稳健性。此外,受试制剂与参比制剂在生物等效性研究中药动学参数 $t_{\max}$ 能在一定程度上反映两制剂在体内的达峰时间,一般要求申请人在提交统计分析结果时同时提交 $t_{\max}$ 非参数检验结果,从而进一步保障受试制剂与参比制剂的临床等效。

关于规格豁免,一般应满足(1)生物等效性试验规格制剂符合生物等效性要求,(2)所有制剂规格的处方比例相似,(3)所有规格的体外溶出试验结果可接受,上述3个条件。

2 美国、欧盟和中国上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂生物等效性研究情况

2.1 美国上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂生物等效性研究情况

美国上市的乙酰半胱氨酸制剂有注射剂、吸入用溶液剂、泡腾片、口服溶液剂等剂型,目前仅注射剂和吸入用溶液剂仍在销售状态。FDA 于 2017 年发布了乙酰半胱氨酸泡腾片的生物等效性个药指南^[11],并于 2024 年 10 月 31 日进行了更新。该指南提供了两种研究方案供选择:一项是以 PK 为终点的生物等效性研究:研究类型:空腹试验,试验设计:单剂量、两制剂、交叉给药的体内研究;给药剂量:在 300 mL 水中加入 5 g (2.5 g × 2 片);受试者:健康男性和非孕、非哺乳期女性;待测物:血浆中的乙酰半胱氨酸;基于乙酰半胱氨酸的 90% 置信区间进行生物等效性判定。一项是体外崩解研究:给药时活性成分应完全溶解在 200 mL 水中,不能含有任何显著影响吸收或生物利用度的辅料。规格豁免:500 mg 规格可基于以下条件豁免体内试验(i) 2.5 g 规格的生物等效性研究结果可以接受;(ii) 所有规格的体外溶出试验可接受;(iii) 所有规格的处方比例相似。本次更新主要基于 ICH M13A 在 FDA 的落地实施,生物等效性研究的试验条件变更为仅开展空腹研究。

2.2 欧盟上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂生物等效性研究情况

欧盟上市的乙酰半胱氨酸制剂种类较为丰富,包括泡腾片、颗粒剂、粉剂等。对于本品的监管要求也不尽相同,根据笔者调研到的 HMA 网站刊载的乙酰半胱氨酸颗粒审评报告^[12,13],绝大多数泡腾片以及颗粒剂均未开展生物等效性研究,豁免生物等效性研究的主要依据是欧盟发布的《生物等效性研究指南》(CPMP/

EWP/QWP/1401/98Rev. 1/Corr) 中溶液剂的相关要求豁免,即试验药物在给药时是口服溶液,并且含有与已批准的口服溶液浓度相同的活性物质,则可以豁免生物等效性研究。但如果辅料可能影响胃肠道渗透、吸收、体内溶解度或活性物质的体内稳定性,则应进行生物等效性研究。此外,笔者也调研到也有品种开展了生物等效性研究,如:Sandoz B. V 公司的乙酰半胱氨酸口服粉剂的仿制申报^[14],开展了与原研意大利赞帮公司乙酰半胱氨酸片的生物等效性研究,详细设计见表 1。

综上,笔者认为两种监管要求的差异主要源于不同的给药方式。在欧盟,不同乙酰半胱氨酸口服固体制剂的给药方法对比详见表 2。可以看到,以溶液形式服用的制剂均免除了生物等效性研究的要求,而以固体形式直接服用的制剂则需要进行生物等效性研究。

2.3 中国上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂生物等效性研究情况

在我国,乙酰半胱氨酸的口服固体制剂主要包括颗粒剂、普通片剂和泡腾片。经统计药物临床试验登记与信息公示平台对于乙酰半胱氨酸的生物等效性试验情况,乙酰半胱氨酸颗粒的生物等效性研究公示信息有 27 条,乙酰半胱氨酸泡腾片的生物等效性研究公示信息有 13 条,乙酰半胱氨酸片的生物等效性研究公示信息有 9 条,生物等效性试验设计基本与 NMPA 已发布的《乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性研究指导原则》^[10]一致。目前,国内尚无乙酰半胱氨酸颗粒通过豁免生物等效性研究获批上市的案例。笔者分析了可能的原因:(1) 国内批准的颗粒剂服用方法中包含了可直接口服的使用方法与欧盟上市用法不同,因此无法参照欧盟以溶液剂的豁免要求豁免生

表 1 欧盟上市的乙酰半胱氨酸口服粉末剂生物等效性试验设计

Table 1 Bioequivalence study design of acetylcysteine oral powder listed in the European Union

项目	生物等效性具体要求
研究类型	空腹研究
研究设计	随机、单剂量、两制剂、交叉给药的体内研究
受试者	42 例健康男性和女性受试者
制剂规格	600 mg
给药方式	每位受试者在禁食至少 10 h 后,接受受试制剂乙酰半胱氨酸口服粉末 600 mg (1 袋),无需饮水;或者用 150 mL 水服用参比制剂乙酰半胱氨酸片 600 mg (1 片)
血样采集	给药前及给药后 12 内的 16 个采血点
生物等效性评价	受试制剂和参比制剂乙酰半胱氨酸 $C_{\max}$ 和 AUC_{0-12} 几何均值比的 90% 置信区间在 80.00% ~ 125.00% 范围内

表2 欧盟上市的乙酰半胱氨酸口服固体制剂给药方式对比
Table 2 Comparison of administration methods for oral solid forms of acetylcysteine marketed in the European Union

剂型	说明书中的给药方法
乙酰半胱氨酸泡腾片	将泡腾片溶解在半杯水中,并立即饮用该溶液。
乙酰半胱氨酸颗粒	将小袋内容物溶解于少量水中,用勺子搅拌直至完全溶解。立即饮用该溶液。
乙酰半胱氨酸口服粉末剂	将1包口服粉末直接置于舌面,该粉末可刺激唾液分泌,从而便于吞咽。服用前不应咀嚼粉末,且无需用水送服。

物等效性研究。(2)关于乙酰半胱氨酸的BCS分类,尚无直接的数据支持乙酰半胱氨酸为高渗透性药物,如说明书中的绝对生物利用度等信息,原研地产化乙酰半胱氨酸片剂说明书中指出“口服乙酰半胱氨酸的生物利用度约为10%,不同药物剂型未报告差异。”

3 小结

2024年7月ICH发布《M13A:口服固体速释制剂的生物等效性》(含问答文件)的正式稿^[6],根据指导原则的相关要求“对于口服固体速释制剂,在空腹条件下进行的单剂量生物等效性研究相较于餐后条件通常能更好地区分两种制剂PK特征的差异。因此,对于大多数此类制剂,可进行单个空腹条件下研究以证明生物等效”,待其在我国落地实施后,多数仿制药的餐后试验将会进行调整。对于仿制药企业而言,这将带来显著的成本节约和效率提升。

仿制药的研发是实现药物可及性、降低医疗成本、促进医药产业发展的重要途径。生物等效性研究作为仿制药上市的关键环节^[15],其科学性和严谨性至关重要。本文系统总结了乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性研究的设计要求及相关考虑,包括研究类型、受试人群、给药剂量、血样采集、检测物质、生物等效性评价等内容,同时通过深入调研本品在欧盟、美国以及中国的上市经验,为仿制药研发中的生物等效性试验提供了科学参考。需要说明的是,本文所提出的建议,是基于当前科学认知、检测技术以及背景调研的综合考量,不代表监管机构的要求。随着研究技术的不断革新,相应的评价理念与方法亦面临日益严峻的挑战,这也促使我们要不断探索新的评价方法和标准,以适应仿制药研发的需求。

参考文献:

- [1] 李杰,刘明周,黎维勇,等. 乙酰半胱氨酸颗粒在健康人体的生物等效性研究[J]. 医药导报,2015,34(8):1014—1018.
- [2] 杨中澜,王敏,周莉莉,等. 乙酰半胱氨酸的药理作用与临床应用[J]. 中国临床药理学杂志,2021,37(14):1932—1936.
- [3] 宋金涛,赵永,戴红臣,等. N-乙酰半胱氨酸治疗儿童呼吸道感染疾病的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(20):2915—2919.
- [4] Switzerland: Agency for Therapeutic Products. Flumucil – Granulat zur Herstellung einer Lösung zum Einnehmen/ Brausetabletten Information for healthcare professionals [EB/OL]. Switzerland: Agency for Therapeutic Products, 2020 – 08 – 27 [2024 – 12 – 02], <https://www.swissmedinfo.ch/ViewMonographie>.
- [5] 国家药品监督管理局药品审评中心. 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]. 北京: 国家药品监督管理局药品审评中心, 2016 – 03 – 08 [2024 – 12 – 02] <https://www.cde.org.cn/zdlyz/domesticinfopage? zdlyzIdCODE = bd48d9ea178b60d6d100848ca5a87b35>.
- [6] ICH 办公室 国家药品监督管理局. 关于公开征求 ICH《M13A: 口服固体速释制剂的生物等效性》(含问答文件)实施建议和中文版意见的通知 [EB/OL]. (2024 – 09 – 12) [2024 – 12 – 02]. <https://www.cde.org.cn/ichWeb/news>
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典,四部[S]. 北京: 化学工业出版社,2020:9012.
- [8] 康精粉,许博灿,睦紫薇,等. 乙酰半胱氨酸颗粒在健康受试者中的生物等效性研究[J]. 中国科技论文在线精品论文,2024,17(3):376—381.
- [9] 国家药品监督管理局药品审评中心. 乙酰半胱氨酸片说明书 [EB/OL]. 北京: 国家药品监督管理局药品审评中心,2020 – 06 – 20 [2024 – 12 – 02], <http://172.16.0.34/cdcss/zbsms/view? dcid = 7740488cf733a701d3aee053c5f2188e>.
- [10] 国家药品监督管理局药品审评中心. 乙酰半胱氨酸颗粒生物等效性研究指导原则 [EB/OL]. 北京: 国家药品监督管理局药品审评中心, 2024 – 05 – 10 [2024 – 12 – 02], <https://www.cde.org.cn/zdlyz/domesticinfopage? zdlyzIdCODE = c47d82399b14063231889ccd053d3ee1>.
- [11] FDA. Draft Guidance on Acetylcysteine [EB/OL]. USA: FDA 2024 – 10 – 30 [2024 – 12 – 20]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/psg/PSG_207916.pdf
- [12] HMA. Decentralised Procedure Public assessment report: Acetylcystein AbZ 200 mg Brausetabletten Acetylcystein AbZ Husten? ser 600 mg [EB/OL]. European Economic Area: HMA, 2019 – 03 – 14 [2024 – 12 – 02]. https://zy.yaozh.com/hma/026260a5bbb5fdbdf5faa5200a99e0b_PAR.pdf
- [13] HMA. Decentralised Procedure Public assessment report: Acetylcyste? ne Birchwood 600 mg, effervescent tablets [EB/OL]. European Economic Area: HMA, 2018 – 10 – 30 [2024 – 12 – 02]. https://zy.yaozh.com/hma/7ccd026022cd38f32867bf63b939b9ff_PAR.pdf
- [14] HMA. Decentralised Procedure Public assessment report: ACC direkt 600 mg Pulver zum Einnehmen im Beutel [EB/OL]. European Economic Area: HMA, 2018 – 1 – 29 [2024 – 12 – 02]. https://zy.yaozh.com/hma/ef8ae8d1845a537c457e857ae1abb3f0_PAR.pdf
- [15] 李敏,李芳,杨进波. 生物等效性研究的审评考虑 [J]. 中国食品药品监管,2020,(10):18—21.

(收稿日期 2025 – 04 – 28)