·新药述评与论坛·

内源性药物生物等效性试验规程管理

刘　静[1],徐　明[1],刘红娇[2],周发俊[2],刘　川[2]
(1 中国药科大学,南京 210009;2 北京科林利康医学研究有限公司,北京 100024)

[摘要] 作为机体内原有的物质,因自身调节机制,外源性成分、机体内源性物质水平等多种干扰因素,内源性药物生物等效性试验方案设计复杂,增加试验实施难度。本文从受试者的选择和管理、饮食饮水的控制、样本采集、安全监护方面,对试验实施的难点及特殊性进行分析,总结和探讨质量控制措施,对内源性药物生物等效性临床试验执行管理提供参考。

[关键词] 生物等效性;临床管理;内源性药物;受试者管理
[中图分类号] R969.3　[文献标志码] A　[文章编号] 1003-3734(2021)03-0205-04

Management of bioequivalence trials for endogenous agents

LIU Jing[1], XU Ming[1], LIU Hong-jiao[2], ZHOU Fa-jun[2], LIU Chuan[2]
(1 *China Pharmaceutical University*, *Nanjing* 210009, *China*; 2 *Beijing Clinical Service Center*, *Beijing* 100024, *China*)

[**Abstract**] Endogenous substances naturally exist in biological bodies. Due to self-regulation mechanism, exogenous substances and the level of endogenous substances, the design of endogenous drugs bioequivalence test becomes complicated and the trails are difficult to implement. From perspectives of good clinical practice, this article analyzes the difficulties and particularities in the aspects of subject selection and management, diet and drinking water management, sample collection and safety management. This paper also summarizes and discusses quality control measures, providing reference for execution management of endogenous drugs bioequivalence trial.

[**Key words**] bioequivalence; clinical management; endogenous drug; subject management

内源性物质(endogenous agents)属于人体内本身存在的物质,诸如体内各种电解质和矿物质、维生素、氨基酸、葡萄糖、脂肪酸和激素等[1]。由于人体自身反馈调节、昼夜节律、食物影响等原因,内源性药物生物等效性试验难以准确区分药源性物质、内源性成分、外源性成分,直接测定生物基质中内源性物质的浓度不能有效反映内源性药物自身的生物利用度特征,使生物等效性的判断复杂化[2-3]。

国内外有关内源性药物生物等效性研究大多集中在包括检测方法在内的方案设计和统计方法等,从临床试验实施操作管理的角度探讨比较少。内源性药物生物等效性试验不仅需要明确内源性物质的特性,如基线内源性水平、昼夜节律特点、机体调节机制,从试验设计角度选择合适的评价方法,如使用抑制剂、饮食平衡期、基线校正、服用超治疗剂量的药物,采用尿药法、同位素标记法等[4-5]。同时也需要在试验实施过程中严格控制实际操作造成的偏差,如环境、饮食、饮水、依从性、样本处理和安全性事件的管理等。

1　内源性药物生物等效性试验的实施管理

1.1　受试者的选择　生物等效性试验通常纳入健康志愿者,但对于一些内源性药物可能需考虑纳入

[基金项目] 广州市民生科技攻关计划资助研究课题(201803010036)
[作者简介] 刘静,女,主要从事药学临床试验方法学研究。E-mail:liujing0632@126.com。
[通讯作者] 徐明,男,副教授,主要从事临床药物的研究。E-mail:mingxu2016@163.com。周发俊,男,主要从事临床试验方法学的研究。E-mail:fajun.zhou@vip.163.com。刘川,男,首席科学官,主要从事药学临床试验方法学研究。联系电话:(010)53822552,E-mail:danielliu@clinicalservice.cn。

内源性成分水平较低的特定群体参与试验。纳入特定群体常见药物和受试者类型见表 1。如雌激素类药物,通常受生理周期影响较大,且常用于治疗更年期综合征,所以建议选择健康的生理或术后绝经女性。该类特定群体,激素基线水平比较稳定保持在较低水平,可以很大限度降低机体内源性成分对内源性药物生物利用度测定的影响。如绝经期内,女性体内雌二醇和雌激素酮显著降低。若选择普通健康受试者,其体内内源性物质浓度通常在正常值范围波动,入排标准界定不仅较为困难,基线校正也比较困难。

表 1 纳入特殊类型受试者的常见内源性药物列表

药物名称	受试者类型
睾酮	睾酮缺陷(性腺发育不良)的男性受试者
异维甲酸	健康男性
维 A 酸	健康男性,女性不应该处于或将处于妊娠期
孕酮	健康男性和生理正常健康的绝经后女性
地诺孕素、戊酸雌二醇	生理正常健康的绝经后女性
合成共轭雌激素 A	生理正常健康的绝经后女性
屈螺酮、雌二醇	生理正常健康的绝经后女性
炔雌醇、醋酸炔诺酮	生理正常健康的绝经后女性
雌二醇	生理正常健康的绝经后或手术不育的女性
共轭雌激素	生理正常健康的绝经后或手术不育的女性
酯化雌激素	生理正常健康的绝经后或手术不育的女性

为确保在规定的时间内纳入足够的符合入组标准的受试者可以采取的策略如下:① 可行性调查。可以根据受试群体特征及试验方案要求进行可行性调查,评估受试群体的来源和具体招募形式和场所、有无竞争项目以及完成的时间,制定合理的招募计划,保证足够的筛选人数。② 为保证招募的效率可考虑委托第三方招募单位。③ 在筛选过程中,须强调说明试验周期及特殊要求,区别于健康志愿者的一般入选标准,该类临床试验需注意核查确认受试者的健康状态、相关特殊检查以及影响安全性评价及药动学试验结果的药物或食物。如戊酸雌二醇的生物等效性试验,需纳入基线雌二醇 <20 pg·mL^{-1}和促卵泡激素 >30 ~40 mIU·mL^{-1}的绝经后或双侧卵巢切除术后的女性为受试者,除常规检查外,可能还需要进行妇科 B 超、宫颈刮片检查等[6-7]。琥珀酸亚铁试验纳入血清铁浓度在 1 000 ~2 000 μg·L^{-1}的受试者[8]。氯化钾等效性试验 FDA 建议,纳入的受试者在 20 ~40 岁,并且体重为理想体重的 ±10% 范围内,且要求肌酐清除率在实验室正常值范围内。受试者从试验开始前 7 d 不得进行剧烈的体育活动,直至出院。受试者从试验开始前 48 h 不得饮用含酒精的饮料,直至试验完成等[2]。胆钙化醇试验前和试验期不能长时间强烈接触阳光。骨化三醇软胶囊试验需要排除前 2 周内服用任何药物的群体,尤其是维生素 D 及其衍生物制剂、含钙制剂、含磷制剂、含镁制剂(如抗酸剂)、噻嗪类利尿剂、胆汁酸螯合剂和洋地黄类药物等。

1.2 随访管理策略 内源性药物生物等效性试验一般采取二周期或四周期重复试验,不连续住院及需回访次数多,长半衰期药物如甲状腺素($t_{1/2}$为 6 ~9 d)洗脱期较长。建议应加强受试者管理和教育,如胆钙化醇(vitamin D3,VD_3)试验洗脱期受试者应避免摄入活性维生素 D 化合物以及含有维生素 D 的食物,还应避免长时间直射阳光。不同周期试验前,研究者需评估受试者是否可以继续参加临床试验,如是否服用禁用药物等;同时建议制作受试者联络信息表及访视时间表,按时提醒受试者回访,避免脱落。同时需要试验前使受试者充分了解试验内容,充分知情,增强受试者的信任感和完成试验的责任感,提高依从性[9-10]。

1.3 饮食平衡管理 许多食品中有微量内源性药物成分或类似物质。设计方案时应包括饮食平衡期,并需在整个试验过程中严格控制或避免含有内源性或其类似物质的食物摄入,以减少受试者间的个体饮食差异及食物对生物等效性评价的影响,常见内源性药物及饮食控制种类见表 2。试验开展前根据热量和特殊成分要求,制定标准饮食,必须明确要求食物中内源性成分的含量,试验期间需多次核查确认和严格执行,尽可能做到不同周期的基线期和试验观察期饮食、饮水的标准应保持一致,受试者在不同周期尽量严格定时定量统一标准,如同时间点同等食物量。由于人体自身调节机制对外源性摄入钠、钾反应比较敏感,氯化钾/枸橼酸钾生物等效性评价会产生较大的偏差,试验过程应严格控制钾:50 ~60 mEq(mEq,毫克当量),钠:160 ~180 mEq,热量:2 500 ~3 500 kcal[11]。一项琥珀酸亚铁生物等效性试验要求受试者提前 4 d 入住病房,摄入的铁元素每天控制在 30 ~60 mg,洗脱期受试者继续留住病房接受统一饮食[8]。一般试验液体的摄入量保持在 1 300 ~2 500 mL·d^{-1}即可,氯化钾/枸橼酸钾等效性试验采集尿样为样本,统计分析尿药动力学参数评价生物等效性,需要严格控制饮水量及饮水

时间,为保证足够尿排泄量,液体的摄入量需要维持在 3 000 ~ 5 000 mL·d^{-1}。同时受试者应处于比较适宜的环境温度,避免剧烈运动大量出汗导致钾离子的流失,故试验也不能纳入过度出汗体质者[12]。如其他内源性物质 VD_3 主要来源于动物性食物,如肝类。广泛用于心血管等疾病辅助治疗的辅酶 Q10,在动物脏器、牛肉、豆油、沙丁鱼和花生等食物中含量相对较高。试验过程中应严格控制以上种类食物的摄入和营养均衡配比。ω-3 羧酸、ω-3 脂肪酸乙酯和 ω-3 脂肪酸乙酯 A 是从鱼体油中提取的天然内源性药物,试验过程中不仅需要严格控制摄入鱼类食物,还需排除试验前服用很可能干扰药物浓度测定以及安全性的药物,如非处方药鱼油胶囊或其他含有二十碳五烯酸(EPA)和/或二十二碳六烯酸(DHA)的补充剂,还要排除对鱼类海鲜产品等过敏的受试者。

表 2 必须严格控制饮食饮水标准的常见内源性药物列表

药物名称	饮食饮水条件
胆钙化醇(VD_3)	服药前及试验期间控制饮食,限制摄入维生素 D 化合物以及含有维生素 D 的食物
ω-3 羧酸	服药前及试验期间控制饮食,限制摄入 EPA 和 DHA 含量
ω-3 脂肪酸乙酯	服药前及试验期间控制饮食,限制摄入 EPA 和 DHA 含量
ω-3 脂肪酸乙酯 A 类型	服药前及试验期间控制饮食,限制摄入 EPA 和 DHA 含量
二十碳五烯酸乙酯	服药前及试验期间控制饮食,限制摄入 EPA 含量
氯化钾	服药前及试验期间控制饮食,制定标准餐饮,必须明确钾、钠、热量含量;试验期间控制饮水次数及饮水量
亚叶酸钙	服药前及试验期间规避食用富含叶酸的食物

EPA:二十碳五烯酸;DHA:二十二碳六烯酸

1.4 内源性药物浓度的基线校正 通常情况下,很难完全消除受试者体内的内源性物质成分或外来摄入的内源性物质的干扰,因而基线校正对于获取服用内源性药物后的净增加值十分关键。具体操作为:先测服用药物前体内内源性药物的基线水平;服用药物后,再测量内源性药物的浓度。服药后的浓度减去基线水平,则为服用药物产生的浓度。药动学参数可以通过校正后的血药浓度-时间曲线来计算。为避免基线测量的偶然性,通常可以测 3 次或更多的基线期内源性药物浓度。例如,异维甲酸等效性试验至少采集 3 个给药前血浆中异维甲酸浓度,如给药前 10,2,0 h,亚叶酸钙等效性试验采集给药前 0,0.5,1.0 h 基线浓度,并取平均值用于基线校正。左甲状腺素钠等效性试验推荐在给药前的 -0.5, -0.25, -0 h 测定基线值;熊去氧胆酸、维生素 K 等效性试验推荐 -48, -42, -36, -30, -24, -18, -12, -6 和 0 h 测定基线。若基线校正后内源性药物浓度出现负值,一般可记为零(若负值很小)。基线校正法适用于体内内源性物质变化幅度较小的情况。具有周期性规律的制剂需每例受试者、每周期都需要进行基线校正,如钾制剂。内源性药物的生物利用度具有昼夜节律变化的特点,其生物等效性研究需要设计为 24 h 连续采集样本,且需要获取基线期 24 h 内的基线水平,进行点对点的校正。如胆酸等效性试验试验推荐 -48, -42, -36, -30, -24, -18, -12, -6 和 0 h 测定基线。此外,如果采用超剂量服用内源性药物以增大净增加值,则需要考虑药物体内饱和度及超剂量的安全性[13-14]。

1.5 样本管理 内源性药物试验样本量多,待测物可能为原形药物或其代谢产物浓度低、干扰成分多、检测难度大,其生物样本的质量及内源性药物浓度的测定准确性对试验结果影响十分关键。生物样本的质量受样品采集、运输、处理与储存、测定方法和测定过程中诸多因素的影响。为保证生物样本的质量和试验结果的可靠性,从样本分析前的临床试验操作角度,应对临床试验人员加强培训或预演,需要严格执行生物样本采集管理流程和样本处理标准操作规程,应尽量避免以下问题:如样本采集超窗、漏采、样本量多采或偏少、预处理条件不符合试验要求、样本溶血、储存运输温度超温等情况[15-16]。整个试验过程中需避免和严格控制非药物因素的影响,如需要采集尿样的试验,应保证足够的饮水量,严格控制和记录饮水量,避免剧烈运动,样本需及时处理、冻存。人体的皮肤中含有一种胆固醇,经阳光照射后,会转变为 VD_3。阿仑膦酸钠、VD_3、麦角钙化醇试验研究期间需要将窗户遮挡起来,避免阳光直射。

1.6 安全监护 有些内源性药物可能通过服用超

治疗剂量药物,增加样本中药物浓度,如左甲腺素等效性试验[17],或通过服用抑制剂消除或抑制内源性物质的分泌,如生长激素等效性试验[18],该类试验应注意大剂量对受试者带来的毒性和药物引起的其他安全性问题。在受试者样本采集期间,研究者应该对其进行 24 h 的医学监护。在试验开展前更应该应充分了解药物可能产生的不良事件和可以采取的干预措施,在试验过程中随时观察和记录受试者的耐受性和可能发生的不良事件,始终坚持保护受试者安全的原则[19-20]。另外需注意内源性药物阿仑膦酸钠,其对食管具有严重的刺激作用,为防止溃疡性食管炎的发生,受试者在服药后应保持直立体位 30 min,不能卧床,且不能纳入有直立性低血压史的受试者。内源性药物氯化钾生物等效性试验需观察询问受试者是否有腹泻的症状,若有需要收集粪便进行检测分析。

2 进行预试验

内源性药物生物等效性试验建议先进行小样本预试验,获取内源性物质的水平、节律性和外源饮食的控制效果,通过比较分析不同调节内源性成分、基线校正的方式,优化试验方法,调整样本采集时间点、清洗期、受试者例数等,发现试验实施的难点采取优化管理和质量控制措施。

3 小结

内源性药物生物等效性试验评价难度较大,降低或排除因非药物因素对试验结果的影响,也是保障生物等效性试验结果可靠的关键。不同药物具有个性化的设计方案和要求,在试验实施过程中应严格按照标准操作规程和试验方案执行,增强风险管理意识,降低不确定因素对等效性的干扰,严格把控筛选饮食饮水、环境、样本采集、安全性事件等环节,提高生物等效性试验的质量,保证试验数据真实准确。

[参 考 文 献]

[1] 施孝金.《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》解读[J].上海医药,2016,37(7):16-17.

[2] Guidance for industry: bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products general considerations[P/OL]. [2003]. http://www.fda.gov/cder/guidance/index.html.

[3] 曹国颖,朱孔彩,胡欣. 内源性物质药物生物等效性评价的探讨[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(13):1558-1561.

[4] 张煊,谢小青,刘婷立,等.内源性物质药物的定量测定及生物等效性评价研究进展[J].中国新药杂志,2011,20(22):2221-2228.

[5] SANJEEVA D. Assessing the bioequivalence of analogues of endogenous substances ('endogenous drugs'): considerations to optimize study design[J]. *Br J Clin Pharmacol*,2010, 69(3):238-244.

[6] PICARD M,ROSSIER C, PAPASOULIOTIS O, *et al*. Bioequivalence of recombinant human FSH and recombinant human LH in a fixed 2:1 combination: two phase I, randomized, crossover studies[J]. *Curr Med Res Opin*, 2008, 24(4): 1199-1208.

[7] 张弼,翟所迪.复方雌二醇片在健康绝经妇女体内的生物等效性[J].中国临床药理学杂志,2009,25(1):38-43.

[8] 岳向阳,金鹏飞,曹国颖, 等. ICP-MS 研究琥珀酸亚铁片剂的人体药动学及生物等效性[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(2): 326-329.

[9] 汤洁,元唯安,胡惹慧, 等. 研究型中医院药物临床试验中受试者依从性的影响因素及应对措施[J]. 上海中医药杂志,2016,(Suppl 1):S80-S83.

[10] 米博,李艳芬,孙金霞,等. Ⅰ期临床试验病房的管理及体会[J].天津中医药,2016,33(12):736-739.

[11] Food and Drug Administration. Guidance for industry: potassium chloride modified-relaase tablets and capsules-*in vivo* Bioequivalence and *in vitro* dissolution testing[EB/OL].[2005].https://www.federalregister.gov/documents/2005/10/26/05-21347/guidance-for-industry-on-potassium-chloride-modified-release-tablets-and-capsules-in-vivo.

[12] 陈修贵,樊慧蓉,陈丽珍,等. 氯化钾缓释片的人体生物等效性研究[J].中国药学杂志,2008,43(12):933-936.

[13] FDA. Draft guidance on potassium citrate[EB/OL].[2010-08]. https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidance Compliance Regulatory Information/Guidances/UCM224224.Pdf.

[14] 刘倩,南楠,李涛,等. FDA《特定药物的生物等效性指导原则》内源性物质药物生物等效性指导原则介绍[J].中国新药杂志,2018,27(5):509-514.

[15] BAKER M. Biorepositories: Building better biobanks[J]. *Nature*,2012,486(7401):141-146.

[16] 朱园园,王思扬,任健,等.临床试验生物样本的处理与保存规范[J].中国药物与临床,2019,19(16):2846-2847.

[17] US Dept of Health and Human Services,Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: levothyroxine sodium tablets-*in vivo* pharmacokinetic and bioavailability studies and *in vitro* dissolution testing[EB/OL].[2000-12-01]. http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm.

[18] JACOBSEN LV, ROLAN P, CHRISTENSEN MS, *et al*. Bioequivalence between ready-to-use recombinant human growth hormone (rhGH) in liquid formulation and rhGH for reconstitution[J]. *Growth Horm IGF Res*,2000,10(2):93-98.

[19] 汪旻晖, 江思艳, 胡骅,等. 生物等效性研究数据管理质量控制体系的建立及应用[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(22):2602-2606.

[20] 强桂芬,杨漫,张娅喃,等.对提高人体生物等效性试验安全性策略的探讨[J].中国新药杂志,2011,20(14):1261-1265.

编辑:杨青/接受日期:2020-07-29