

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2017.12.11

VICH 血药法生物等效性指导原则概述

苏富琴¹, 徐倩¹, 梁先明^{1*}, 曹兴元^{2*}

(1 中国兽药药品监察所 北京, 100081; 2 中国农业大学动物医学院 北京, 100193)

[收稿日期] 2017-00-00 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 12-0057-05 [中图分类号] S851.66

[摘要] VICH 是指兽药注册技术要求国际协调合作组织。血药法生物等效性试验是兽药等效性研究的重要方法。VICH 血药法生物等效性指导原则介绍了除多次采血困难的靶动物(如蜂、鱼)的动物血药法生物等效性的实验试验建议,使基本药代动力学试验、生物等效性试验设计和统计分析原则等在 VICH 地区得到互认。该指导原则 2016 年 8 月开始实施。

[关键词] 兽药注册技术要求国际协调合作组织; 药代动力学; 生物等效性; 兽药

Overview of VICH Guideline of Bioequivalence: Blood Level Bioequivalence Study for Veterinary Pharmaceutical Products

SU Fu-qin¹, XU Qian¹, LIANG Xian-ming^{1*}, CAO Xing-yuan^{2*}

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. China Agriculture University, Beijing 100084, China)

Corresponding author: LIANG Xian-ming, E-mail: lxm990@163.com; CAO Xing-yuan, E-mail: cxy@cau.edu.cn

Abstract: VICH is the abbreviation of International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products. Blood level bioequivalence study is one of the key method in veterinary medical comparison test. We summerized the key points of the VICH Guideline of Bioequivalence: blood level bioequivalence study for veterinary pharmaceutical products. The basic pharmacokinetics (PK), study design considerations and statistical principles have been described in detail in order to unify the harmonized guideline in the global veterinary community. Animal species from which multiple blood sampling is difficult (e.g., fish, honeybee etc.) are outside the scope of this guideline which is implemented from August 2016.

Key words: International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products (VICH); pharmacokinetics; bioequivalence (BE); veterinary pharmaceutical products

生物等效性 (bioequivalence, BE) 是指在相同试验条件下, 药学等效制剂或给予相同摩尔数的药物, 其活性成分吸收程度和速度的差异无统计学意义, 临床疗效相等, 临床应用上制剂可换。通常意

义的 BE 研究是指用生物利用度 (Bioavailability, BA) 研究方法, 以药代动力学参数为终点指标, 根据预先确定的等效标准和限度进行的比较研究。

为了避免不必要的重复试验, 统一兽药注册资

作者简介: 苏富琴, 副研究员, 从事药理学及毒理学方面研究。

通讯作者: 梁先明, E-mail: lxm990@163.com; 曹兴元, E-mail: cxy@cau.edu.cn。

料中生物等效性报告要求, VICH 于 2015 年 8 月通过兽药生物等效性(血药法)指导原则^[1], 2016 年 8 月起实施。该指导原则包括适用范围、制定 BE 试验方案的因素/变量、统计学分析和术语四部分。

1 适用范围

BE 不仅适用于仿制药与原研药的比较, 判断仿制药是否可与原创药替换使用, 还适用于新药不同研发阶段的桥接试验, 如处方工艺改变、剂型改变(如胶囊和片剂)、给药途径改变等的效果对比等。本指南不包括: ①BE 豁免情况; ②微生物发酵产品; ③治疗用预混剂; ④以药理学为终点的研究; ⑤以临床为终点的研究; ⑥体外溶出试验; ⑦食品安全; ⑧血药浓度与作用位点的药物浓度无相关性的药物(如乳房注入剂); ⑨支持性应用研究(如适口性); ⑩多次采血困难的靶动物(如蜂、鱼等)。

2 制定 BE 试验方案的因素/变量

VICH 要求 BE 的实施必须遵守良好实验室操作规范(Good Laboratory Practices, GLP)。而我国兽药将 BE 归为良好临床操作规范(Good Clinical Practices, GCP)。

试验设计根据药物和靶动物的不同特点而选择科学合理的设计方案。

2.1 试验设计方案要点 血药法 BE 设计首选双周期双序列交叉试验, 不满足首选条件时选择平行试验设计, 其他设计如重复试验设计、序贯试验设计、3-处理交叉试验设计或多个参比平行设计等。标准的双周期双序列交叉试验设计(2×2)见表 1。该试验设计可以消除试验变异的主要来源, 如不同个体的药物吸收速率差异、消除差异和分布容积差异。双序列可以消除潜在的周期效应干扰。两个周期之间要保证足够长的清洗期, 周期 1 和周期 2 的基线浓度应基本相同。

表 1 双周期双序列交叉试验表

Tab 1 Two-period, two-sequence, crossover test

	序列 A	序列 B
周期 1	受试制剂(T)	参比制剂(R)
清洗期	要足够长(至少>5个 $t_{1/2}$), pre-does 样本证明无药物残留	
周期 2	参比制剂(R)	受试制剂(T)

平行试验设计适用于①药物原形和/或其代谢物导致动物的生理学特征改变(如肝药酶被诱导, 血流量改变)进而导致周期 2 的制剂生物利用度发生改变; ②药物原形和/或代谢产物的消除半衰期很长, 或呈波动药动学特征(如 flip-flop 动力学); ③双周期交叉试验中清洗期过长导致动物生理状态显著改变; ④动物的循环血量较少, 采集血液检测药物浓度较难持续到周期 2。

如果标准 2×2 交叉试验设计较难实施, 可考虑采用 3 周期重复(部分重复, 如参比制剂在所有试验动物处理两次)或 4 周期重复(完全重复)试验设计方案。

序贯试验设计也适用于等效试验。在实施序贯试验时, 可以先对一定数量的试验动物进行一次 BE 试验并进行期中分析, 再采用一定数量的动物继续进行下一次 BE 试验, 最后汇总两次 BE 试验数据进行统计学分析并判定是否等效。序贯试验必须保证总的 I 类错误符合要求, 并在试验开始前确定终止试验的标准。在设计方案中需要预先定义每一阶段 BE 试验所用的动物数量及每次数据分析调整的显著性水平 α 值。

2.2 药物制剂的相关要点 药物制剂包括受试制剂和参比制剂, 均应为官方批准的合法生产的最终上市产品, 应含有相同的活性成分(API)。在实施 BE 前要进行含量测定, 不同批次间的受试制剂与参比制剂的含量差异应在 $\pm 5\%$ 之内。实施 BE 前, 应明确受试制剂的关键质量特征(如溶出度)。

2.2.1 给药途径及给药部位 受试制剂和参比制剂应采用相同的给药途径和给药部位。参比制剂如果存在多种给药途径, 应分别实施不同给药途径的 BE 试验。

2.2.2 给药剂量 在交叉试验中, 每个受试动物接受的受试制剂和参比制剂的总剂量是相同的, 极少数情况, 由于动物生长过快导致个体间药物的体内过程差异过大, 给药剂量也可调整。BE 试验中动物给药剂量不是采用 API 的含量实测值, 而是标签用量。一般采用标签最高剂量, 大多数药物即可确定受试制剂和参比制剂之间的差异。如果在标签

标示范围内药动学特征 (PK) 呈线性,也可采用标签低剂量。例外情况,如果某一批次的参比制剂与受试制剂含量差异超过 5%,给药剂量可以进行归一化,但归一化需要在试验方案中预先定义。血药浓度低的药物,为了达到有效的可测药物浓度,允许超过标签最高剂量给药,但一般不应超过 3 倍,前提是药物的安全范围较宽且 PK 呈线性。对于标签范围内 PK 不呈线性的参比制剂,应考虑:①如果有证据表明药物存在饱和和吸收过程,限制了 API 的吸收,则可能会出现标签高剂量等效而标签低剂量不等效,此时要优先选择标签低剂量,并提供低剂量选择依据和 PK 的线性范围。②如果 API 溶解性较低,超过标签剂量范围后存在非线性 PK,则标签高剂量和标签低剂量的 BE 试验均应实施。

2.2.3 单次给药 vs 多次给药 大多数情况,速释制剂(immediate-release drug products, IR)和控释制剂(modified-release drug products, MR),均可选择单次给药药动学试验方案,因为单次给药对于评价 API 从制剂中释放进入到循环系统的差异更为灵敏。对于重复给药的缓释制剂(extended release formulations, ER),如果每次给药无蓄积效应或蓄积效应可忽略不计,可进行单次给药的 BE 试验。如果存在蓄积效应(如稳态血药浓度超过单次给药的 2 倍),BE 试验应基于多次给药试验设计。存在衡量消除过程(即零级代谢动力学)的药物,单次给药血药浓度太低致使检测方法无法获得完整的 AUC 信息的药物,也要采用多次给药试验设计。除了评价 C_{max} 和 AUC,还要重点评价谷浓度(C_{trough})。单次和多次给药方案均可采用平行或交叉试验设计。由于较长的试验周期增加了试验的复杂性,因此不建议序贯试验设计和重复试验设计用于多次给药的试验。

2.3 试验动物和动物种属的相关要点 动物种属 BE 试验必须使用靶动物。为了注册单独用于特定靶动物的仿制药,必须根据参比制剂标签中的每一种主要靶动物单独进行 BE 试验,在主要种属动物证实生物等效的结果可以外推到标签中的次要种属动物,此时还应有科学数据支持外推结果,例如,

要考虑动物的解剖和生理特点,制剂 API 的性质和剂型等。

2.3.1 分组 动物应随机分组,每个序列(交叉设计)或每个处理组(平行设计)的动物数应相等。实施 BE 试验应采用健康动物。对于平行试验设计,试验动物潜在影响 API 药动学特征的因素尽可能均衡,如体重、性别、营养、生理状态、繁殖水平(如果相关)等。

2.3.2 膳食状态 所有种属动物的膳食状态和饲喂时间应符合动物福利(如反刍动物不能禁食)和 API 的药动学特征。犬猫用的内服制剂,均应禁食空腹进行 BE 试验,除非参比制剂标签中明确标示仅用于饲喂后动物。给药前至少禁食 8 h,给药后禁食 4 h。对于用于非反刍动物的口服速释制剂,正常情况下,BE 试验应在空腹和进食两种状态下进行,除非有其他证据。试验方案和报告应阐明在饲喂或禁食状态下开展 BE 试验的合理性,并且要描述饮食和饲料配方。

2.3.3 动物数量(样本容量) 预实验有助于估计正式 BE 试验所需的合适样本容量,样本容量应在试验方案中预先说明,所计算的样本容量是正式试验的最少动物数量。对于普遍接受的 BE 试验,每种制剂处理至少 12 只动物。对于交叉试验,每个序列最少为 6($n=6$)只动物,因此总的数量至少为 12($N \geq 12$)只。对于平行试验,每个处理组不少于 12 只,因此总数不少于 24 只。考虑动物的脱落风险(如呕吐、给药错误、受伤/死亡),需要增加动物数,以保证统计学分析有效。

2.4 分析中的数据剔除 多种情况下,可能且有必要剔除一个试验动物的全部或部分数据。如果剔除,要在报告中说明剔除的充分理由,实验方案应制定好数据剔除规则,以避免偏差,剔除样本可不进行血样分析。所有有效数据均应包含在统计学分析中,不能以统计学理由和药动学理由剔除数据。例如,某头动物周期 2 的数据被剔除后,周期 1 的数据不能对应剔除,也应进行统计学分析。

通常,试验方案中应有剔除标准,如内服制剂存在呕吐风险,因呕吐导致丢失的部分或全部给药

剂量,因此,试验方案中预先设定与呕吐有关的数据剔除标准。如剔除标准应写明①从给药到发生呕吐的可接受时间(如胃排空时间,动物的膳食状态等)。②可接受的因呕吐导致的药物损失量。此外,试验中可选择在动物呕吐后重复给药,其标准也应在试验方案中预先说明。

2.5 血样采集方案及 PK 参数 围绕 T_{max} 要有足够的采样点,以便对 C_{max} 进行可靠的估计。对于非静脉途径给药的药物,避免首个采样点为 C_{max} ,采样时间范围要保证 AUC_{0-last} 大于 $AUC_{0-\infty}$ 的 80%。消除相对数线性回归分析时要至少选择 3 个采样点,以准确估计 k_e ,并准确估计 $AUC_{0-\infty}$ 。对于具有较长终末消除半衰期的药物,BE 评价时的 AUC 值可能小于药物系统暴露总量 ($AUC_{0-\infty}$) 的 80% (C_{max} 除外),此时应保证在整个采样时间内,药物已吸收完全。对于多次给药的 BE 试验,pre-dose 样本应在给药前立即采集,并且建议最后一个采样点紧邻给药间隔末端,以便准确估计 AUC_{τ} ,采样必须证明血药浓度已达稳态。

生物等效性中的 PK 参数必须经非房室模型分析方法计算获得。在单次给药的 BE 试验中,应给出 C_{max} 、 T_{max} 、 AUC_{0-last} 和 $AUC_{0-\infty}$ 药动学参数。在多次给药的 BE 试验中,应给出 AUC_{τ} 、稳态 C_{max} ($C_{max ss}$)、稳态 C_{trough} 、稳态 T_{max} ($T_{max ss}$)。控释制剂也要分析 C_{trough} 。其他参数包括 k_e 、终末消除半衰期和 T_{lag} 。如果 API 为内源性物质,生物等效性 PK 参数的计算应包含基线浓度的修正。

2.6 检测物质

2.6.1 原形药/代谢物 一般推荐仅测定原形药物,因为原形药物的 C_{max} 比代谢产物能更灵敏地反映制剂间的差异。BE 的等效判定基于 API 的总药物浓度(游离药物+与蛋白结合的药物)。

2.6.2 非活性前药 前药的 BE 判定仍依据前药,而不是代谢物,除非前药在血浆中浓度过低几乎无法检测。如果前药无法测定,则测定代谢产物。

2.6.3 外消旋体/对映体 外消旋体通常推荐用非手性的检测方法进行生物样品测定。若同时满足以下条件,则需分别测定各对映体:①对映体药效

动力学特征不同;②对映体 PK 特征不同;③药效主要由含量较少的异构体产生;④至少有一个异构体在吸收过程呈现非线性特征(随着药物吸收速率的变化,对映体浓度比例发生改变)。手性辅料选择性地改变的一种或全部异构体的吸收过程,也必须采用手性分析方法。如果药物为单一构型,但在体内存在手性转化,也需要用手性分析方法。

2.7 生物分析方法的验证 BE 试验中的生物分析方法必须经过验证,方法学验证部分要包括:浓度范围和线性、基质效应、定量限、特异性(选择性)、准确度、精密度、分析物和内标物的稳定性。

3 统计分析要点和等效标准

统计模型和随机化过程应在试验方案中预先定义。根据不同的试验设计采用合适的统计学方法。PK 参数进行 LN 转换用于满足 ANOVA 的假设条件,ANOVA 用于分析变异差异有无统计学意义。BE 的最好评价方法为双向单侧 t 检验及 90% 置信区间法。提供 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 几何均值、算术均值、几何均值比值及其 90% 置信区间(CI)等。参数几何均值比值的 90% 置信区间数值, AUC 和 C_{max} 的接受标准为 80.00% ~ 125.00%,窄治疗窗药物应根据药物的特性适当缩小 90% 置信区间范围。缓释制剂的多次给药 BE 试验且存在药物蓄积时, C_{trough} 也适用 80.00% ~ 125.00% 的等效标准。

4 结语

VICH GL52(血药法生物等效性指导原则)给出了兽药血药法 BE 的基本建议,其基本原则与 WHO^[2]、FDA/EMA 等^[3-6]以及 CFDA^[7]的相同,如试验设计原则、数据剔除原则、生物样品采集及处理、统计学原则、等效性判定标准等。特殊特点药物的设计及要点可参考相关文献,如高变异性药物^[8]、长半衰期药物的截尾模型^[9]。所不同的是,兽药的复杂性在于靶动物的多样性,并且每种靶动物有其独特的解剖和生理特点,比如,反刍动物形成瘤胃前后生理差异明显,反刍动物不能禁食,蜂蚕鱼无法连续采血,这就使得动物 BE 因不同种属靶动物特点而不同。其次,人的 BE 试验认为药物

有效性和安全性均等效,动物的 BE 结果只能说明药物有效性等效,无法替代安全性,所以与食品安全有关的兽药残留消除试验需要单独实施。另外,支持性试验研究如适口性、耐受性试验也需要单独进行。再者, VICH 要求使用健康靶动物, FDA/EMA 和 CFDA 也要求首选健康志愿者,但在健康人群不能承受药物不良反应或者患者对药物的耐受性更好时,要选患者进行 BE 试验^[10]。最后,实施 BE 难度,兽药要相对简单,因为靶动物可以标准化管理,也无自主行为,而人群的不受控因素例如吸烟、饮酒、自主服用药物/保健品、使用避孕药等,数据脱落的几率更大。VICH 血药法生物等效性指导原则为我国兽药仿制药注册和比对试验的实施提供了参考。

参考文献:

- [1] GL52-st; Bioequivalence; blood level bioequivalence study for veterinary pharmaceutical products[EB/OL].2016.
- [2] WHO Working Document Multisource(Generic) Pharmaceutical Products: Guidelines on Registration Requirements to Establish Interchangeability[EB/OL]. 2005.
- [3] FDA Guidance for Industry: "Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations"[EB/OL]. 2000.
- [4] 张逸凡,钟大放. 欧美国家口服固体制剂生物等效性试验指导原则的要点和启示 [J]. 中国新药杂志,2014,23(13): 1501-1505.

- Zhang Y F, Zhong D F. Main points inspiration of guidance for Bioequivalence studies of oral solid products in european and american countries[J]. Chinese Journal of New Drugs. 2014,23(13):1501-1505.
- [5] Barbara D, April C B, Dale P C, *et al.* International guidelines for bioequivalence of systemically available orally administered generic drug products: a survey of similarities and differences [J]. AAPS J. 2013, 15(4): 974-990.
 - [6] Alfredo G, John G. Bioequivalence requirements in the European Union: Critical Discussion [J]. AAPS J. 2012, 14(4): 738-748.
 - [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版第四部[S]. 9011 药物制剂人体生物利用度和生物等效性指导原则. Chinese Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of China 2015 IV[S]. 9011 Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products.
 - [8] Barbara M D, Dale P C, Beth F, *et al.* Highly variable drugs: observations from bioequivalence data submitted to the FDA for new generic drug applications[J]. AAPS J. 2008, 10(1): 148-156.
 - [9] Ethan M S, Barbara M D, Parthaprati C, *et al.* Use of partial area under the curve metrics to assess bioequivalence of methylphenidate multiphasic modified release formulations. AAPS J. 2012, 14(4): 925-926.
 - [10] Woo Y S, Wang H R, Yoon B H, *et al.* Bioequivalence of generic and brand name clozapine in Korean schizophrenic patients: a randomized, two-period, crossover study[J]. Psychiatry Investig. 2015, 12(3): 356-360.

(编辑:陈希)