

指导原则编号：【H】GCL2-1

化学药物制剂人体生物利用度和生物  
等效性研究技术指导原则

二〇〇五年三月

# 目 录

一、概述	1
二、生物利用度和生物等效性基本概念及应用	2
三、生物利用度和生物等效性研究方法	4
四、生物利用度和生物等效性研究具体要求	6
(一) 生物样本分析方法的建立和确证	6
(二) 实验设计与操作	11
(三) 数据处理及统计分析	17
(四) 结果的评价	20
(五) 临床报告内容	21
五、特殊制剂	22
(一) 口服缓控释制剂	22
(二) 特殊活性成分制剂	24
(三) 复方制剂	25
六、结语	25
七、名词解释	25
八、参考文献	26
九、著者	28

# 化学药物制剂人体生物利用度和生物等效性 研究技术指导原则

## 一、概述

药物制剂要产生最佳疗效，其药物活性成分应当在预期时间段内释放吸收并被转运到作用部位达到预期的有效浓度。大多数药物是进入血液循环后产生全身治疗效果的，作用部位的药物浓度和血液中药物浓度存在一定的比例关系，因此可以通过测定血液循环中的药物浓度来获得反映药物体内吸收程度和速度的主要药代动力学参数，间接预测药物制剂的临床治疗效果，以评价制剂的质量。允许这种预测的前提是制剂中活性成分进入体内的行为是一致并且可重现的。

生物利用度 (Bioavailability BA) 是反映药物活性成分吸收进入体内的程度和速度的指标。过去出现的一些由于制剂生物利用度不同而导致的不良事件，使人们认识到确有必要对制剂中活性成分生物利用度的一致性或可重现性进行验证，尤其是在含有相同活性成分的仿制产品要替代它的原创制剂进入临床使用的时候。鉴于药物浓度和治疗效果相关，假设在同一受试者，相同的血药浓度-时间曲线意味着在作用部位能达到相同的药物浓度，并产生相同的疗效，那么就可以药代动力学参数作为替代的终点指标来建立等效性，即生物等效性 (Bioequivalence BE)。

BA 和 BE 研究已经成为评价制剂质量的重要手段。本指导原则将重点阐述 BA 和 BE 研究的相关概念，应用范围和 BA 和 BE 研究的设计、操作和评价等。

本指导原则主要是针对化学药品口服制剂的 BA 和 BE 研究，也适用于其他需要吸收起全身作用的化学药品制剂。因为在具体应用过程中有可能面临多种情况，对于一些特殊问题，仍应遵循具体问题具体分析的原则。

## 二、BA 和 BE 基本概念及应用

1. 生物利用度：是指药物活性成分从制剂释放吸收进入全身循环的程度和速度。一般分为绝对生物利用度和相对生物利用度。绝对生物利用度是以静脉制剂（通常认为静脉制剂生物利用度为 100%）为参比制剂获得的药物活性成分吸收进入体内循环的相对量；相对生物利用度则是以其他非静脉途径给药的制剂（如片剂和口服溶液）为参比制剂获得的药物活性成分吸收进入体循环的相对量，

2. 生物等效性：是指药学等效制剂或可替换药物在相同试验条件下，服用相同剂量，其活性成分吸收程度和速度的差异无统计学意义。通常意义的 BE 研究是指用 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。在药代动力学方法确实不可行时，也可以考虑以临床综合疗效、药效学指标或体外试验指标等进行比较性研究，但需充分证实所采用的方法具有科学性和可行性。

了解以下几个概念将有助于理解 BA 和 BE：

原创药 (Innovator Product)：是指已经过全面的药学、药理学和毒理学研究以及临床研究数据证实其安全有效性并首次被批准上市的药品。

药学等效性(Pharmaceutical equivalence)：如果两制剂含等量的相同活性成分，具有相同的剂型，符合同样的或可比较的质量标准，则可以认为他们是药学等效的。药学等效不一定意味着生物等效，因为辅料的不同或生

产工艺差异等可能会导致药物溶出或吸收行为的改变。

治疗等效性(Therapeutic equivalence): 如果两制剂含有相同活性成分, 并且临床上显示具有相同的安全性和有效性, 可以认为两制剂具有治疗等效性。如果两制剂中所用辅料本身并不会导致有效性和安全性问题, 生物等效性研究证实两制剂治疗等效性最合适的办法。如果药物吸收速度与临床疗效无关, 吸收程度相同但吸收速度不同的药物也可能达到治疗等效。而含有相同的活性成分只是活性成分化学形式不同(如某一化合物的盐、酯等)或剂型不同(如片剂和胶囊剂)的药物制剂也可能治疗等效。

基本相似药物(Essentially similar product): 如果两个制剂具有等量且符合同一质量标准的药物活性成分, 具有相同剂型, 并且经过证明具有生物等效性, 则两个制剂可以认为是基本相似药物。从广义上讲, 这一概念也应适用于含同一活性成分的不同剂型, 如片剂和胶囊剂。与原创药基本相似药物是可以替换原创药使用的。

BA 和 BE 均是评价制剂质量的重要指标, BA 强调反映药物活性成分到达体内循环的相对量和速度, 是新药研究过程中选择合适给药途径和确定用药方案(如给药剂量和给药间隔)的重要依据之一。BE 则重点在于以预先确定的等效标准和限度进行的比较, 是保证含同一药物活性成分的不同制剂体内行为一致性的依据, 是判断后研发产品是否可替换已上市药品使用的依据。

BA 和 BE 研究在药品研发的不同阶段有不同作用:

在新药研究阶段, 为了确定新药处方、工艺合理性, 通常需要比较改变上述因素后制剂是否能达到预期的生物利用度; 开发了新剂型, 要对拟

上市剂型进行生物利用度研究以确定剂型的合理性，通过与原剂型比较的 BA 研究来确定新剂型的给药剂量，也可通过 BE 研究来证实新剂型与原剂型是否等效；在临床试验过程中，可通过 BE 研究来验证同一药物的不同时期产品的前后一致性，如：早期和晚期的临床试验用药品，临床试验用药品（尤其是用于确定剂量的试验药）和拟上市药品等。

在仿制生产已有国家标准药品时，可通过 BE 研究来证明仿制产品与原创药是否具有生物等效性，是否可与原创药替换使用。

药品批准上市后，如处方组成成分、比例以及工艺等出现一定程度的变更时，研究者需要根据产品变化的程度来确定是否进行 BE 研究，以考察变更后和变更前产品是否具有生物等效性。以提高生物利用度为目的研发的新制剂，需要进行 BA 研究，了解变更前后生物利用度的变化。

### 三、研究方法

BE 研究是在试验制剂和参比制剂生物利用度比较基础上建立等效性，BA 研究多数也是比较性研究，两者的研究方法步骤基本一致，只是研究目的不同，导致在某些设计和评价上有一些不同，故在这部分主要阐述 BE 研究方法，该方法同样适合于 BA 研究，建议研究者根据产品研究目的来进行适当调整。

目前推荐的生物等效性研究方法包括体内和体外的方法。按方法的优先考虑程度从高到低排列：药代动力学研究方法、药效动力学研究方法、临床比较试验方法、体外研究方法。具体如下：

#### 药代动力学研究

即采用人体生物利用度比较研究的方法。通过测量不同时间点的生物

样本（如全血、血浆、血清或尿液）中药物浓度，获得药物浓度-时间曲线（Concentration-Time curve,C-T）来反映药物从制剂中释放吸收到体循环中的动态过程。并经过适当的数据，得出与吸收程度和速度有关的药代动力学参数如曲线下面积（AUC）、达峰浓度（C<sub>max</sub>）、达峰时间（T<sub>max</sub>）等，通过统计学比较以上参数，判断两制剂是否生物等效。药效动力学研究在无可行的药代动力学研究方法建立生物等效性研究时（如无灵敏的血药浓度检测方法、浓度和效应之间不存在线性相关），可以考虑用明确的可分级定量的人体药效学指标通过效应-时间曲线（Effect-Time curve）与参比制剂比较来确定生物等效性。

### 临床比较试验

当无适宜的药物浓度检测方法，也缺乏明确的药效学指标时，也可以通过以参比制剂为对照的临床比较试验，以综合的疗效终点指标来验证两制剂的等效性。然而，作为生物等效研究方法，对照的临床试验可能因为样本量不足或检测指标不灵敏而缺乏足够的把握度去检验差异，故建议尽量采用药代动力学研究方法。通过增加样本量或严格的临床研究实施在一定程度上可以克服以上局限。

### 体外研究

一般不提倡用体外的方法来确定生物等效性，因为体外并不能完全代替体内行为，但在某些情况下，如能提供充分依据，也可以采用体外的方法来证实生物等效性。根据生物药剂学分类证明属于高溶解度，高渗透性，快速溶出的口服制剂可以采用体外溶出度比较研究的方法验证生物等效，因为该类药物的溶出、吸收已经不是药物进入体内的限速步骤。对于难溶

性但高渗透性的药物，如已建立良好的体内外相关关系，也可用体外溶出的研究来替代体内研究。

#### 四、BA 和 BE 研究具体要求

以药代动力学参数为终点指标的研究方法是目前普遍采用的生物等效性研究方法。一个完整的生物等效性研究包括生物样本分析、实验设计、统计分析、结果评价四个方面内容。

##### (一) 生物样本分析方法的建立和确证

生物样品一般来自全血、血清、血浆、尿液或其他组织，具有取样量少、药物浓度低、干扰物质多以及个体的差异大等特点，因此必须根据待测物的结构、生物介质和预期的浓度范围，建立适宜的生物样品定量分析方法，并对方法进行确证。

##### 1. 常用分析方法

目前常用的几种分析方法有：

(1) 色谱法：气相色谱法(GC)、高效液相色谱法(HPLC)、色谱-质谱联用法(LC-MS、LC-MS-MS、GC-MS、GC-MS-MS)等，可用于大多数药物的检测；(2) 免疫学方法：放射免疫分析法、酶免疫分析法、荧光免疫分析法等，多用于蛋白质多肽类物质检测；(3) 微生物学方法，可用于抗生素药物的测定。

生物样本分析方法的选择宜尽量选择可行的灵敏度高的方法。

##### 2. 方法学确证 (Method Validation)

建立可靠的和可重现的定量分析方法是进行生物等效性研究的关键之一。为了保证分析方法可靠，必须进行充分的方法确证，一般应进行以下



几方面的考察：

## 2.1 特异性(Specificity)

特异性是指样品中存在干扰成分的情况下，分析方法能够准确、专一地测定分析物的能力。必须提供证明所测定物质是受试药品的原形药物或特定活性代谢物，生物样品所含内源性物质和相应代谢物、降解产物不得干扰对样品的测定，如果有几个分析物，应保证每一个分析物都不被干扰。应确定保证分析方法特异性的最佳检测条件。对于色谱法至少要考察 6 个来自不同个体的空白生物样品色谱图、空白生物样品外加对照物质色谱图（注明浓度）及用药后的生物样品色谱图反映分析方法的特异性。对于以软电离质谱为基础的检测法（LC-MS、LC-MS-MS）应注意考察分析过程中的介质效应，如离子抑制等。

## 2.2 标准曲线和定量范围（Calibration Curve）

标准曲线反映了所测定物质浓度与仪器响应值之间的关系，一般用回归分析方法（如用加权最小二乘法）所得的回归方程来评价。应提供标准曲线的线性方程和相关系数，说明其线性相关程度。标准曲线高低浓度范围为定量范围，在定量范围内浓度测定结果应达到试验要求的精密度和准确度。

配制标准样品应使用与待测样品相同生物介质，不同生物样品应制备各自的标准曲线，用于建立标准曲线的标准浓度个数取决于分析物可能的浓度范围和分析物/响应值关系的性质。必须至少用 6 个浓度建立标准曲线，对于非线性相关可能需要更多浓度点。定量范围要能覆盖全部待测的生物样品浓度范围，不得用定量范围外推的方法求算未知样品的浓度。建立标

准曲线时应随行空白生物样品，但计算时不包括该点，仅用于评价干扰。标准曲线各浓度点的实测值与标示值之间的偏差\*在可接受的范围之内时，可判定标准曲线合格。可接受范围一般规定为最低浓度点的偏差在±20%以内，其余浓度点的偏差在±15%以内。只有合格的标准曲线才能对临床待测样品进行定量计算。当线性范围较宽的时候，推荐采用加权的方法对标准曲线进行计算，以使低浓度点计算得比较准确。

### 2.3 定量下限 (Lower Limit of quantitation, LLOQ)

定量下限是标准曲线上的最低浓度点，表示测定样品中符合准确度和精密度要求的最低药物浓度。LLOQ 应能满足测定 3~5 个消除半衰期时样品中的药物浓度或能检测出  $C_{max}$  的  $1/10 \sim 1/20$  时的药物浓度。其准确度应在真实浓度的 80%~120% 范围内，相对标准差(RSD)应小于 20%。应至少由 5 个标准样品测试结果证明。

### 2.4 精密度与准确度(Precision and Accuracy)

精密度是指在确定的分析条件下，相同介质中相同浓度样品的一系列测量值的分散程度。通常用质控样品的批内和批间 RSD 来考察方法的精确度。一般 RSD 应小于 15%，在 LLOQ 附近 RSD 应小于 20%。

准确度是指在确定的分析条件下，测得的生物样品浓度与真实浓度的接近程度(即质控样品的实测浓度与真实浓度的偏差)，重复测定已知浓度分析物样品可获得准确度。一般应 85%~115% 范围内，在 LLOQ 附近应在 80%~120% 范围内。

一般要求选择高、中、低 3 个浓度的质控样品同时进行方法的精密度

---

\*：偏差=【(实测值-标示值)/标示值】X100%

和准确度考察。低浓度选择在 LLOQ 的 3 倍以内，高浓度接近于标准曲线的上限，中间选一个浓度。在测定批内精密度时，每一浓度至少制备并测定 5 个样品。为获得批间精密度应至少在不同天连续制备并测定 3 个合格的分析批(Analytical run/Analytical batch)，至少 45 个样品。

## 2.5 样品稳定性(Stability)

根据具体情况，对含药生物样品在室温、冰冻或冻融条件下以及不同存放时间进行稳定性考察，以确定生物样品的存放条件和时间。还应注意考察储备液的稳定性以及样品处理后的溶液中分析物的稳定性，以保证检测结果的准确性和重现性。

## 2.6 提取回收率

从生物样本基质中回收得到分析物质的响应值除以纯标准品产生的响应值即为分析物的提取回收率。也可以说是将供试生物样品中分析物提取出来供分析的比例。应考察高、中、低 3 个浓度的提取回收率，其结果应当精密和可重现。

## 2.7 微生物学和免疫学方法确证

上述分析方法确证主要针对色谱法，很多参数和原则也适用于微生物学或免疫学分析，但在方法确证中应考虑到它们的一些特殊之处。微生物学或免疫学分析的标准曲线本质上是非线性的，所以应尽可能采用比化学分析更多的浓度点来建立标准曲线。结果的准确度是关键的因素，如果重复测定能够改善准确度，则应在方法确证和未知样品测定中采用同样的步骤。

## 3. 方法学质控

只有在生物样本分析方法确证完成之后才能开始测定未知样品。在测定生物样品中的药物浓度时应进行质量控制，以保证所建立的方法在实际应用中的可靠性。推荐由独立的人员配制不同浓度的质控样品对分析方法进行考核。

每个未知样品一般测定一次，必要时可进行复测。生物等效性试验中，来自同一个体的生物样品最好在同一批中测定。每个分析批生物样品测定时应建立新的标准曲线，并随行测定高、中、低三个浓度的质控样品。每个浓度至少双样本，并应均匀分布在未知样品测试顺序中。当一个分析批中未知样品数目较多时，应增加各浓度质控样品数，使质控样品数大于未知样品总数的 5%。质控样品测定结果的偏差一般应小于 15%，低浓度点偏差一般应小于 20%，最多允许 1/3 的质控样品结果超过上述限度，但不能出现在同一浓度质控样品中。如质控样品测定结果不符合上述要求，则该分析批样品测试结果作废。

浓度高于定量上限的样品，应采用相应的空白介质稀释后重新测定。对于浓度低于定量下限的样品，在进行药代动力学分析时，在达到  $C_{max}$  以前取样的样品应以零值计算，在达到  $C_{max}$  以后取样的样品应以无法定量 (Not detectable, ND) 计算，以减小零值对 AUC 计算的影响。

#### 4 分析数据的记录与保存

分析方法的有效性应通过实验证明。在临床报告中，应提供完成这些实验工作的相关的详细资料。建立一般性和特殊性标准操作规程、保存完整的实验记录是分析方法有效性的基本要素。生物分析方法建立中产生的数据和质控样品测试结果应全部记录并妥善保存，并提供足够的可供评价

的方法学建立和样品分析的数据。

至少应当提供的数据包括：

#### 4.1 方法建立的数据

分析方法的详细描述；仪器设备、分析条件；该方法所用对照品（被测药物、代谢物、内标物）的纯度和来源；描述测定特异性、准确度、精密度、回收率、定量限、标准曲线的实验并给出获得的主要数据列表；列出批内批间精密度和准确度的详细结果；描述稳定性考察及相关数据；根据具体情况提供代表性的色谱图或质谱图并加以说明。

#### 4.2 样品分析的数据

样品处理和保存的情况；分析样品时标准曲线列表；用于计算结果的回归方程；各分析批质控样品测定结果综合列表并计算批内和批间精密度、准确度；各分析批包括的未知样品浓度计算结果。

提供 20%受试者样品测试的色谱图复印件，包括相应分析批的标准曲线和质控样品的色谱图复印件。

注明缺失样品的原因，重复测试的结果。对舍弃任何分析数据和选择所报告的数据说明理由。

#### 4.3 其他相关信息

项目编号、分析方法编号、分析方法类型、分析方法确证进行简化的理由、以及相应的项目计划编号、标题等。

## （二）实验设计与操作

### 1. 交叉设计

交叉设计是目前应用最多最广的方法，因为多数药物吸收和清除在个

体之间均存在很大变异，个体间的变异系数远远大于个体内变异系数，因此生物等效性研究一般要求按自身交叉对照的方法设计。把受试对象随机分为几组，按一定顺序处理，一组受试者先服用受试制剂，后服用参比制剂；另一组受试者先服用参比制剂，后服用受试制剂。两顺序间应有足够长的间隔时间，为清洗期（Wash-out Period）。这样，对每位受试者都连续接受两次或更多次的处理，相当于自身对照，可以将制剂因素对药物吸收的影响与其他因素区分开来，减少了不同试验周期和个体间差异对试验结果的影响。

根据试验制剂数量不同一般采用  $2 \times 2$  交叉、 $3 \times 3$  交叉等设计。如果是两种制剂比较，双处理、双周期，两序列的交叉设计是较好的选择。如试验包括 3 个制剂（受试制剂 2 个和参比制剂 1 个）时，宜采用 3 制剂 3 周期二重  $3 \times 3$  拉丁方试验设计。各周期间也应有足够的清洗期。

设定清洗期是为了消除两制剂的互相干扰，避免上个周期内的处理影响到随后一周期的处理中。清洗期一般不应短于 7 个消除半衰期。

但有些药物或其活性代谢物半衰期很长时则难以按此方法设计实施，在此情况下可能需要考虑按平行组设计进行，但样本量可能要增加。

而对于某些高变异性药物（Highly Variable Drug），根据具体情况，除采用增加例数的办法外，可采用重复交叉设计，对同一受试者两次接受同一制剂时可能存在的个体内差异进行测定。

## 2. 受试者的选择

### 2.1 受试者入选条件：

受试者的选择应当尽量使个体间差异减到最小，以便能检测出制剂间

的差异。试验方案中应明确入选和剔除条件。

一般情况应选择男性健康受试者。特殊作用的药品，则应根据具体情况选择适当受试者。选择健康女性受试者应避免怀孕的可能性。如待测药物存在已知的不良反应，可能带来安全性担忧，也可考虑选择患者作为受试者。

年龄：一般 18~40 周岁，同一批受试者年龄不宜相差 10 岁以上。

体重：正常受试者的体重一般不应低于 50kg。按体质指数(Body Mass Index, BMI)=体重 (kg) / 身高<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>) 计算，一般应在标准体重范围内。同一批受试者体重 (kg) 不宜悬殊过大，因为受试者服用的药物剂量是相同的。

受试者应经过全面体检，身体健康，无心、肝、肾、消化道、神经系统、精神异常及代谢异常等病史；体格检查示血压、心率、心电图、呼吸状况、肝、肾功能和血象无异常，避免药物体内过程受到疾病干扰。根据药物类别和安全性情况，还应在试验前、试验期间、试验后进行特殊项目检查，如降糖药应检查血糖水平。

为避免其他药物干扰，试验前两周内及试验期间禁服任何其他药物。实验期间禁烟、酒及含咖啡因的饮料，或某些可能影响代谢的果汁等，以免干扰药物体内代谢。受试者应无烟、酒嗜好。如有吸烟史，在讨论结果时应考虑可能的影响。

如已知药物存在遗传多态性导致代谢差异，应考虑受试者由于慢代谢可能出现的安全性等问题。

## 2.2 受试者例数

受试者例数应当符合统计学要求,对于目前的统计方法,18-24 例可满足大多数药物对样本量的要求,但对某些变异性大的药物可能需要适当增加例数。

一个临床试验的例数多少是由三个基本因素决定的:(1)显著性水平:即  $\alpha$  值的大小,通常取 0.05 或 5%;(2)把握度:即  $1-\beta$  值的大小,一般定为不小于 80%,其中  $\beta$  是犯第 II 类错误的概率,也就是把实际有效误判为无效的概率;(3)变异性 (CV%) 和差别 ( $\theta$ ):两药等效性检验中检测指标的变异性 and 差别越大所需例数越多。在试验前并不知道  $\theta$  和 CV%,只能根据已有的参比制剂的上述参数来估算或进行预试验。另外,当一个生物利用度试验完成后,可以根据  $\theta$ 、CV%和把握度等参数来求 N 值,并与试验所选择例数进行对比,检验试验所采用例数是否合适。

### 2.3 受试者分组

必须采用随机方法分组,各组间应具有可比性。

### 3. 受试制剂和参比制剂(Test Product and Reference Product ,T and R)

参比制剂的质量直接影响生物等效性试验结果的可靠性,一般应选择国内已经批准上市相同剂型药物中的原创药。在无法获得原创药时,可考虑选用上市主导产品作为参比制剂,但须提供相关质量证明(如含量、溶出度等检查结果)及选择理由。若为完成特定研究目的,可选用相同药物的其它药剂学性质相近的上市剂型作为参比制剂,这类参比制剂亦应该是已上市的且质量合格的产品。参比制剂和受试制剂含量差别不能超过 5%。

对于受试制剂,应为符合临床应用质量标准的中试/生产规模的产品。应提供该制剂的体外溶出度、稳定性、含量或效价测定、批间一致性报告



等，供试验单位参考。个别药物尚需提供多晶型及光学异构体的资料。

参比制剂和受试制剂均应注明研制单位、批号、规格、保存条件、有效期。

试验结束后受试制剂和参比制剂应保留足够长时间直到产品批准上市以备查。

#### 4. 给药剂量

进行药物制剂生物利用度和生物等效性研究时，给药剂量一般应与临床单次用药剂量一致，不得超过临床推荐的单次最大剂量或已经证明的安全剂量。受试制剂和参比制剂一般应服用相等剂量，需要使用不相等剂量时，应说明理由并提供所用剂量范围内的线性药代动力学特征依据，结果可以剂量校正方式计算生物利用度。

一般情况下普通制剂仅进行单剂量给药研究即可，但在某些情况下可能需要考虑进行多次给药研究，如：（1）受试药单次服用后原形药或活性代谢物浓度很低，难以用相应分析方法精密测定血药浓度时；（2）受试药的生物利用度有较大个体差异；（3）药物吸收程度相差不大，但吸收速度有较大差异；（4）缓控释制剂。进行多次给药研究应按临床推荐的给药方案给药，至少连续 3 次测定谷浓度确定血药浓度达稳态后选择一个给药间隔取样进行测定，并据此计算生物利用度。

#### 5. 取样

取样点的设计对保证试验结果可靠性及药代动力学参数计算的合理性，均有十分重要的意义。通常应有预试验或参考国内外的药代文献，为合理设计采样点提供依据。应用血药浓度测定法时，一般应兼顾到吸收相、

平衡相（峰浓度）和消除相。在药物浓度—时间曲线各时相及预计达峰时间前后应有足够采样点，使浓度—时间曲线能全面反应药物在体内处置的全过程。服药前应先取空白血样。一般在吸收相部分取 2-3 个点，峰浓度附近至少需要 3 个点，消除相取 3-5 个点。尽量避免第一个点即为  $C_{max}$ ，预试验将有助于避免这个问题。采样持续到受试药原形或其活性代谢物 3~5 个半衰期时，或至血药浓度为  $C_{max}$  的  $1/10 \sim 1/20$ ,  $AUC_{0-t}/AUC_{0-\infty}$  通常应当大于 80%。对于长半衰期药物，应尽可能取样持续到足够比较完整的吸收过程，因为末端消除项对该类制剂吸收过程的评价影响不大。多次给药研究中，对于一些已知生物利用度受昼夜节律影响的药物，则应该连续 24 小时取样。

当受试药不能用血药浓度测定方法进行生物利用度检测时，若该药原形或活性代谢物主要由尿排泄（大于给药剂量的 70%），可以考虑尿药法测定，以尿样中药物的累积排泄量来反映药物摄入量。试验药品和试验方案应当符合生物利用度测定要求。尿样的收集采用分段收集法，其采集频度、间隔时间应满足估算受试药原形药或活性代谢物经尿的排泄程度。但该方法不能反映药物吸收速度，误差因素较多，一般不提倡采用。

某些药物在体内迅速代谢无法测定生物样品中原形药物，也可采用测定生物样品中主要代谢物浓度的方法，进行生物利用度和生物等效性试验。

## 6. 药代动力学参数计算

一般用非房室数学模型分析方法来估算药代动力学参数。用房室模型方法估算药代参数时，采用不同的方法或软件其值可能有较大差异。研究者可根据具体情况选择使用，但所用软件必须经确证并应在研究报告中注

明所用软件。在生物等效性研究中，其主要测量参数  $C_{max}$  和  $T_{max}$  均以实测值表示。 $AUC_{0 \rightarrow t}$  以梯形法计算，故受数据处理程序影响不大。

## 7. 研究过程标准化

整个研究过程应当标准化，以使得除制剂因素外，其他各种因素导致的体内药物释放吸收差异减少到最小，包括受试者的饮食、活动都应控制。试验工作应在 I 期临床试验观察室进行。受试者应得到医护人员的监护。受试期间发生的任何不良反应，均应及时处理和记录，必要时停止试验。

### (三) 数据处理及统计分析

#### 1. 数据表达

BA 和 BE 研究必须提供所有受试者各个时间点受试制剂和参比制剂的药物浓度测定数据、每一时间点的平均浓度 (Mean) 及其标准差 (SD) 和相对标准差 (RSD)，提供每个受试者的浓度—时间曲线 (C-T 曲线) 和平均 C-T 曲线以及 C-T 曲线各个时间点的标准差。不能随意剔除任何数据。脱落者的数据一般不可用其他数据替代。

#### 2. 药代动力学参数

2.1 单次给药的 BA 和 BE 研究, 提供所有受试者服用受试制剂和参比制剂的  $AUC_{0 \rightarrow t}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ,  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $t_{1/2}$ ,  $CL$ ,  $V_d$ ,  $F$  等参数及其平均值和标准差。

$C_{max}$  和  $T_{max}$  均以实测值表示。 $AUC_{0 \rightarrow t}$  以梯形法计算； $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  按公式计算： $AUC_{0 \rightarrow \infty} = AUC_{0 \rightarrow t} + C_t / \lambda_z$  ( $t$  为最后一次可实测血药浓度的采样时间； $C_t$  为末次可测定样本药物浓度； $\lambda_z$  系对数浓度-时间曲线末端直线部份求得的末端消除速率常数，可用对数浓度-时间曲线末端直线部分的斜率求

得； $t_{1/2}$ 用公式  $t_{1/2}=0.693/\lambda$  计算。

以各个受试者受试制剂 (T) 和参比制剂 (R) 的  $AUC_{0\rightarrow t}$  按下式分别计算其相对生物利用度 (F) 值：

当受试制剂和参比制剂剂量相同时： $F=AUC_T/AUC_R\times 100\%$

受试制剂和参比制剂剂量不同时，若受试药物具备线性药代动力学特征，可按下式以剂量予以校正： $F=【AUC_T\times D_R/AUC_R\times D_T】\times 100\%$  ( $AUC_T$ 、 $AUC_R$  分别为 T 和 R 的 AUC； $D_R$ 、 $D_T$  分别为 T 和 R 的剂量)。

3.2.2 对于多次给药的 BA 和 BE 研究，提供受试制剂和参比制剂的三次谷浓度数据 (Cmin)，达稳态后的  $AUC_{ss}$ 、 $C_{ss-max}$ 、 $C_{ss-min}$ 、 $T_{ss-max}$ 、 $t_{1/2}$ 、F、DF 等参数。当受试制剂与参比制剂剂量相等时，F 值按下式计算：

$F=AUC_{ss T}/AUC_{ss R}\times 100\%$  (式中  $AUC_{ss T}$  和  $AUC_{ss R}$  分别为 T 和 R 稳态条件下的 AUC)

### 3. 统计分析

#### 3.1 对数转换

评价 BE 的药代动力学参数  $AUC_{0\rightarrow t}$  和  $C_{max}$  在进行等效性检验前必须作对数转换。当数据有偏倚时经对数转换可校正其对称性。此外,统计中数据对比宜用比值法而不用差值法,通过对数转换,可实现将均值之比置信区间转换为对数形式的均值之差的计算。

#### 3.2 等效判断标准

当前普遍采用主要药代参数经对数转换后以多因素方差分析 (ANOVA) 进行显著性检验，然后用双单侧 t 检验和计算 90% 置信区间的统计分析方法来评价和判断药物间的生物等效性。

方差检验是显著性检验，设定的无效假设是两药无差异，检验方式是与否，在  $P < 0.05$  时认为两者差异有统计意义，但不一定不等效； $P > 0.05$  时认为两药差异无统计意义，但  $P > 0.05$  并不能认为两者相等或相近。在生物利用度试验中，采用多因素方差分析 (ANOVA) 进行统计分析，以判断药物制剂间、个体间、周期间和服药顺序间的差异。在生物等效性实验中，方差分析可提示误差来源，为双单侧  $t$  检验计算提供了误差值 (MSE)。

双单侧  $t$  检验及  $(1 - 2\alpha)$  % 置信区间法是目前生物等效检验的唯一标准。双向单侧  $t$  检验是等效性检验，设定的无效假设是两药不等效，受试制剂在参比制剂一定范围之外，在  $P < 0.05$  时说明受试制剂没有超过规定的参比制剂的高限和低限，拒绝无效假设，可认为两药等效。 $(1 - 2\alpha)$  % 置信区间是双单侧  $t$  检验另一种表达方式。其基本原理是在高、低 2 个方向对受试制剂的参数均值与高低界值之间的差异分别作单侧  $t$  检验，若受试制剂均数在高方向没有大于等于参比制剂均数的 125% ( $P < 0.05$ )，且在低方向也没有小于等于参比制剂均数的 80% ( $P < 0.05$ )，即在两个方向的单侧  $t$  检验，都能以 95% 的置信区间确认没有超出规定范围，则可认为受试制剂与参比制剂生物等效。

等效判断标准，一般规定，经对数转换后的受试制剂的  $AUC_{0 \rightarrow t}$  在参比制剂的 80%-125% 范围，受试制剂的  $C_{max}$  在参比制剂的 70%-143% 范围。根据双单侧检验的统计量，同时求得  $(1 - 2\alpha)$  % 置信区间，如在规定范围内，即可有  $1 - 2\alpha$  的概率判断两药生物等效。

如有必要时，应对  $T_{max}$  经非参数法检验，如无差异，可以认定受试制剂与参比制剂生物等效。

#### 4. 群体生物等效性和个体生物等效性

目前均采用平均生物等效性 (Average Bioequivalence, ABE) 评价方法, 药物生物等效性的统计推断是以受试制剂和参比制剂生物利用度参数平均值为考察指标的, 从他们的样本均数推断总体均数是否等效。由于平均生物等效性只考虑参数平均值, 未考虑变异及分布, 不能保证个体间生物利用度相近, 对低变异和高变异药物设置的生物等效性标准一样。因此也有提出群体等效性 (Population Bioequivalence, PBE) 和个体生物等效性 (Individual Bioequivalence, IBE) 的概念。

PBE 评价的目的是为了获得某仿制药应用于人群的效果, 不但要对被比较制剂均值的差别进行检验, 还要比较被比较制剂的群体变异。IBE 评价除了比较均值的差别, 还要比较个体内变异、个体和制剂间的交互作用, 从而判断患者换用其它药物后是否合适。

因为目前对 PBE 和 IBE 评价方法经验有限, 而且目前大多数药物运用 ABE 评价方法可以满足要求, 因此暂不对此提出要求。建议结合申报品种考虑, 参照相关文献选择适宜的评价方法。

#### (四) 结果评价

生物等效性是指一种药物的不同制剂在相同的实验条件下, 给予相同剂量, 其吸收程度和吸收速度没有明显差异。故对受试制剂与参比制剂的生物等效性评价, 应从药物吸收程度和吸收速度两方面进行, 评价反映这两方面的 3 个药代动力学参数即  $AUC_{0 \rightarrow t}$ 、 $C_{max}$  和  $T_{max}$  是否符合前述等效标准。

目前比较肯定 AUC 对药物吸收程度的衡量作用, 而  $C_{max}$ 、 $T_{max}$  依赖

取样时间的安排，用它们衡量吸收速率有时是不够准确的，不适合用于具有多峰现象的制剂及个体变异大的实验。故在评价时，若出现某些不等效特殊情况，需具体问题加以具体分析。

对于 AUC，一般要求 90% 可信区间在 80%—125% 范围内。对于治疗窗窄的药物，这个范围可能应适当缩小，而在极少数情况下，如果经临床证实合理的情况下，也可以适当放宽范围。对  $C_{max}$  也是如此。而对于  $T_{max}$ ，一般在释放快慢与临床疗效和安全性密切相关时需要统计评价，其等效范围可根据临床要求来确定。

对于出现受试制剂生物利用度高于参比制剂的情况，即所谓超生物利用度 (Suprabioavailability)，可以考虑两种情况：1) 参比制剂是否本身生物利用度低的产品，因而受试制剂表现出生物利用度相对较高；2) 参比制剂质量符合要求，受试制剂确实超生物利用度。

结果的评价应结合研究目的出发，进行生物等效性评价的目的提供两制剂可替换使用的依据；进行生物利用度研究，则主要分析获得的相对生物利用度数值进一步指导确定新剂型的临床使用剂量。

## (五) 临床报告内容

为了满足评价的需求，一份生物等效性研究临床报告内容至少应包括以下内容 (1) 实验目的；(2) 生物样本分析方法的建立和考察的数据，提供必要的图谱；(3) 详细的实验设计和操作方法，包括全部受试者的资料、样本例数、参比制剂、给药剂量、服药方法和采样时间安排；(4) 原始测定未知样品浓度全部数据，每个受试者药代参数和药时曲线；(5) 采用的数据处理程序和统计分析方法以及详细统计过程和结果；(6) 服药后的临

床不良反应观察结果，受试者中途退出和脱落记录及原因；(7) 生物利用度或生物等效性结果分析及讨论；(8) 参考文献。正文前应有简短摘要；正文末，应注明实验单位、研究负责人、参加实验人员，并签名盖章，以示对研究结果负责。

## 五、特殊制剂

以上研究方法主要针对普通口服制剂，在某些特殊剂型要求可能不同：

### (一) 口服缓（控）释制剂

缓（控）释制剂因为采用了新技术改变了其体内释放吸收过程，因此必须进行生物利用度比较研究以证实其缓（控）释特征，但在实验设计和评价时与普通制剂都有不同。一般要求应在单次给药和多次给药达稳态两种条件下进行。由于缓（控）释制剂释放时间长，可能受食物影响大，因此必要时还应考虑食物对吸收的影响。

1. 单次给药试验旨在比较受试者于空腹状态下服用缓（控）释受试制剂与参比制剂的吸收速度和吸收程度的生物等效性，确认受试制剂的缓（控）释药代动力学特征。实验设计基本同普通制剂，给药方式应与临床推荐用法用量一致。

1.1 参比制剂：若国内已有相同产品上市，应选用该缓（控）释制剂相同的国内上市的原创药或主导产品作为参比制剂；若系创新的缓（控）释制剂，则以该药物已上市同类普通制剂的原创药或主导产品作为参比制剂。

1.2 应提供药物代谢动力学参数：

同样应提供(1) 各受试者受试制剂与参比制剂的不同时间点生物样品



药物浓度，以列表和曲线图表示；(2) 计算各受试者的药代动力学参数并计算均值与标准差： $AUC_{0 \rightarrow t}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 、 $C_{max}$ 、 $T_{max}$ 、 $F$  值，并尽可能提供其它参数如平均滞留时间 (MRT) 等体现缓 (控) 释特征的指标。

### 1.3 结果评价：

缓 (控) 释受试制剂单次给药的相对生物利用度估算同普通制剂。如缓 (控) 释受试制剂与缓 (控) 释参比制剂比较，如  $AUC$ 、 $C_{max}$ 、 $T_{max}$  均符合生物等效性统计学要求，可认定两制剂于单次给药条件下生物等效；若缓 (控) 释受试制剂与普通制剂比较，一般要求  $AUC$  不低于普通制剂 80%，而  $C_{max}$  明显降低， $T_{max}$  明显延迟，即显示该制剂具缓释或控释动力学特征。

2. 多次给药试验旨在比较受试制剂与参比制剂多次连续用药达稳态时，药物的吸收程度、稳态血药浓度和波动情况。

2.1 给药方法：按临床推荐的给药方案连续服药的时间达 7 个消除半衰期后，通过连续测定至少 3 次谷浓度 (谷浓度采样时间应安排在不同日的同一时间内)，以证实受试者血药浓度已达稳态。达稳态后参照单次给药采样时间点设计，测定末次给药完整血药浓度-时间曲线。

以普通制剂为参比时，普通制剂与缓 (控) 释制剂应分别按推荐临床用药方法给药 (例如普通制剂每日 2 次，缓 (控) 释制剂每日 1 次)，达到稳态后，缓 (控) 释制剂选末次给药，参照单次给药采样时间点设计，然后计算各参数，而普通制剂仍按临床用法给药，按 2 次给药的药时曲线确定采样时间点，测得  $AUC$  是实际 2 次给药后的总和，稳态峰浓度、达峰时间及谷浓度可用 2 次给药的平均值。如用剂量调整公式计算  $AUC$  (如以 1

次给药 AUC 的 2 倍计), 将会使测得的 AUC 值不能准确反映实际 AUC 值。

## 2.2 应提供的药代动力学参数与数据:

(1) 各受试者缓(控)释受试制剂与参比制剂不同时间点的血药浓度数据以及均数和标准差;

(2) 各受试者末次给药前至少连续 3 次测定的谷浓度 ( $C_{min}$ );

(3) 各受试者在血药浓度达稳态后末次给药的血药浓度-时间曲线。稳态峰浓度 ( $C_{ss-max}$ )、达峰时间 ( $T_{max}$ ) 及谷浓度 ( $C_{ss-min}$ ) 的实测值。并计算末次剂量服药前与达  $\tau$  时间点实测  $C_{ss-min}$  的平均值;

(4) 各受试者的稳态药时曲线下面积 ( $AUC_{ss}$ )、平均稳态血药浓度 ( $C_{av}$ )。  
 $C_{av} = AUC_{ss} / \tau$  , 式中  $AUC_{ss}$  系稳态条件下用药间隔期  $0-\tau$  时间的 AUC,  $\tau$  是用药间隔时间;

(5) 各受试者血药浓度波动度 ( $DF_{ss}$ )。

$$DF = (C_{max} - C_{min}) / C_{av} \times 100\%$$

## 2.3 结果评价: 一般同缓(控)释制剂的单次给药试验的统计。

当缓释制剂与普通制剂比较时, 对于波动系数的评价, 应结合缓释制剂本身的特点具体分析。

另外, 对于不同的缓(控)释剂型, 如结肠定位片、延迟释放片等, 还应当考虑剂型的特殊性来设计试验, 增加相应考察指标以体现剂型特点。

## (二) 特殊活性成分制剂

如活性成分为蛋白质多肽、激素、维生素、电解质等, 因为存在内源性物质干扰问题以及体内降解问题, 所以生物样本分析方法的确定是其重点。同样建议参照国内外相关文献针对自身品种考虑。

### (三) 复方制剂

对复方化学药品制剂生物等效性研究，一般情况下某一成分的体内行为不能说明其它成分的体内行为，故原则上应证实每一个有效成分的生物等效性。试验设计时应尽量兼顾各个成分的特点。

## 六、结语

生物利用度和生物等效性研究只是作为一个验证制剂质量的方法学手段。受试制剂能否达到预期的生物利用度，受试制剂是否能达到与原创制剂或其他已经过临床试验证明了安全与有效药物的生物等效，都应该从最开始的处方筛选、生产工艺条件以及质量研究等方面着手，尽可能分析原创制剂或参比制剂的有关文献，以实现研究目的。

## 七、名词解释

介质效应:由于样品中存在干扰物质,对响应造成的直接或间接的影响。

标准样品(Standard Sample): 在生物介质中加入已知量分析物配制的样品, 用于建立标准曲线, 计算质控样品和未知样品中分析物浓度。

质控样品 (Quality Control Sample): 质控样品系将已知量的待测药物加入到生物介质中配制的样品, 用于监测生物分析方法的效能和评价每一分析批中未知样品分析结果的完整性和正确性。一般配制高、中、低三个浓度的质控样品。

分析批 (Analytical run/batch): 包括待测样品、适当数目的标准样品和质控样品的完整系列。由于仪器性能的改善和自动进样器的使用, 一天内可以完成几个分析批, 一个分析批也可以持续几天完成, 但连续测量不宜超过 3 天。

高溶解度 (Highly soluble): 若药物的最大剂量能溶解在 250ml 或更少的 pH1-7.5 的水溶液中, 此药物可被认为是高溶解度的药物。250 ml 的量来源于标准的生物等效性研究中受试者用于服药的一杯水的量。

高渗透性 (Highly permeable): 渗透性的分类标准以药物在人体内的吸收程度 (吸收剂量的分数, 而不是系统生物利用度) 为间接依据, 以测定通透人体肠壁膜量为直接依据。也可以选用能充分描述人体内的吸收程度 (如体外上皮组织细胞培养法) 的非人体系统。若没有资料证明药物在胃肠道内是不稳定的, 以质量平衡测定法为依据, 同静脉注射给药相比较为依据, 当药物的吸收程度达到 90% 时, 此药物可被认为是高渗透性的。

快速溶出 (Rapidly dissolving): 利用规定的第一法装置 100rpm (或二法装置 50rpm), 使用 900 ml 或少于 900 ml 的下列每种介质测定溶出度:

- 1) 0.1mol/L HCl 或符合药典规定的无酶人工胃液;
- 2) PH 4.5 的缓冲液;
- 3) PH 6.8 的缓冲液或符合药典规定的无酶人工肠液。

在上述条件下, 若一个口服制剂在 30 分钟内其标示量的 85% 以上完全溶出, 则此药物被认为是快速溶出的。

高变异性药物 (Highly variable drug): 当某一药物的个体内变异系数 (以 AUC 或 C<sub>max</sub> 计算的个体内变异系数) 大于或等于 30% 时, 称之为高变异药物。这种变异的增加使得对样本例数可能要求增加。

## 八、参考文献

1. SDA. 化学药品制剂人体生物利用度和生物等效性研究指导原则 (试行), 2002.

2. 中国药典 2000 版二部.药物人体生物利用度和生物等效性试验指导原则，附录 193-197.
- 3.中华人民共和国药品管理法，2002
- 4.国务院.中华人民共和国药品管理法实施条例，2002
- 5.SFDA.药品注册管理办法（试行），2002
6. 秦伯益主编.新药评价概论.人民卫生出版社，第二版（1998）.
7. 魏树礼主编.生物药剂学和药物动力学.北京医科大学出版社，第一版（2001）.
8. 赵香兰主编.临床药代动力学基础与应用.郑州大学出版社，第一版（2003）.
9. FDA.Guidance for industry bioavailability and bioequivalence studies for orally administered drug products-general considerations,March 2003.
10. EMEA.Notes for guidance on the investigation of bioavailability and bioequivalence,July 2001.
11. MHW.Guideline for bioequivalence studies of generics products,Dec 1997.
12. MALAYSIA.The conduct of bioavailability and bioequivalence studies.Sep 2000.
13. FDA.Guidance for industry ,statistical Approaches to estabalishing bioequivalence,January 2001.
14. FDA.Guidance for industry bioanalytical method validation ,May 2001.
15. FDA.Guidance for industry extended release oral dosage

forms:development,evaluation,and application of in vitro/in vivo correlation,Sep 1997.

16. Roger L.Williams,Md et al, Equivalence approaches,Clin Pharmacol Ther 2002;72:229-37

## 九、著者

《化学药物制剂人体生物利用度和生物等效性研究技术指导原则》课题  
研究组