

附录 X I X B 药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则

生物利用度是指制剂中的药物被吸收进入血液的速率和程度。生物等效性是指一种药物的不同制剂在相同的试验条件下，给以相同的剂量，反映其吸收速率和程度的主要动力学参数没有明显的统计学差异。

口服或其他非脉管内给药的制剂，其活性成分的吸收受多种因素的影响。包括制剂工艺、药物粒径、晶型或多晶型，处方中的赋形剂、黏合剂、崩解剂、润滑剂、包衣材料、溶剂、助悬剂等。生物利用度是保证药品内在质量的重要指标，而生物等效性则是保证含同一药物的不同制剂质量一致性的主要依据。生物利用度与生物等效性概念虽不完全相同，但试验方法基本一致。为了控制药品质量，保证药品的有效性和安全性，特制定本指导原则。何种药物制剂需要进行生物等效性或生物利用度试验，可根据有关部门颁布的法规要求进行。

进行药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验的临床实验室和分析实验室，应提供机构名称以及医学、科学或分析负责人的姓名、职称和简历。

一、生物样品分析方法的基本要求

生物样品中药物及其代谢产物定量分析方法的专属性和灵敏度，是生物利用度和生物等效性试验成功的关键。首选色谱法，如 HPLC、GC 以及 GC-MS、LC-MS、LC-MS-MS 联用技术，一般应采用内标法定量。必要时也可采用生物学方法或生物化学方法。

由于生物样品取样量少、药物浓度低、内源性物质（如无机盐、脂质、蛋白质、代谢物）及个体差异等多种因素影响生物样品测定，所以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分析方法，并对方法进行验证。

1. 专属性

必须证明所测定的物质是原形药物或特定的活性代谢物，内源性物质和相应的代谢物不得干扰样品的测定。对于色谱法至少需提供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。对于复方制剂应特别加强专属性研究，以排除可能的干扰。**对于 LC/MS 和 LC/MS/MS 方法，应着重考察基质效应。**

2. 标准曲线与线性范围

根据所测定物质的浓度与响应的相关性，用回归分析方法获得标准曲线。标准曲

线高低浓度范围为线性范围，在线性范围内浓度测定结果应达到试验要求的精密度和准确度。

必须用至少 6 个浓度建立标准曲线，应使用与待测样品相同的生物介质，线性范围要能覆盖全部待测浓度，不允许将线性范围外推求算未知样品的浓度。标准曲线不包括零点。

3. 精密度与准确度

要求选择 3 个浓度的质控样品同时进行方法的精密度和准确度考察。低浓度接近定量下限（LLOQ），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。每一浓度至少测定 5 个样品。

精密度用质控样品的日内和日间相对标准差（RSD）表示，RSD 一般应小于 15%，在 LLOQ 附近 RSD 应小于 20%。

准确度是指用特定方法测得的生物样品浓度与真实浓度的接近程度，一般应在 85%~115% 范围内，在 LLOQ 附近应在 80%~120% 范围内。

4. 定量下限

定量下限是标准曲线上的最低浓度点，要求至少能满足测定 3~5 个半衰期时样品中的药物浓度，或 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，RSD 应小于 20%，信噪比应大于 5。

5. 样品稳定性

根据具体情况，对含药生物样品在室温、冰冻和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。

6. 提取回收率

应考察高、中、低 3 个浓度的提取回收率，其结果应一致、精密和可重现。

7. 质控样品

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，用于质量控制。

8. 质量控制

应在生物样品分析方法验证完成之后开始测试未知样品。每个未知样品一般测定一次，必要时可进行复测。生物样品每个分析批测定时应建立新的标准曲线，并随行测定高、中、低 3 个浓度的质控样品，每个浓度多重样本。每个分析批质控样品数不得少于未知样品数的 5%，且不得少于 6 个。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 33%的质控样品结果超限，且不得均在同一浓度。**如不合格，则该分析批样品测试结果作废。

9. 测试结果

应详细描述所用的分析方法，引用已有的参考文献，提供每天的标准曲线、质控样品及未知样品的结果计算过程。还应提供全部未知样品分析的色谱图，包括全部相关的标准曲线和质控样品的色谱图，以供审查。

二、普通制剂

（一）受试者的选择

对参加生物利用度和生物等效性研究的受试者有一些特殊的要求。

1. 受试者条件

一般情况选健康男性，特殊情况说明原因，如妇科用药。儿童用药应在成人中进行。具体要求如下。

（1）性别为男性。

（2）年龄一般要求 18~40 岁；同一批试验受试者年龄不宜相差 10 岁或以上。

（3）体重与标准体重相差 $\pm 10\%$ ，同一批试验受试者体重应相近，体重单位以千克（kg）计。

（4）身体健康，无心、肝、肾、消化道、神经系统疾病及代谢异常等病史，并进行健康体检（如检查心电图、血压、心率、肝功能、肾功能、肺功能和血象等），应无异常。特殊药物还需要检查相应的其他指标，如降血糖药物应检查血糖水平。

（5）无过敏史，无体位性低血压史。

（6）两周前至试验期间不服用其他任何药物，试验期间禁烟、酒及含咖啡因的饮料。

（7）试验单位应与志愿受试者签署知情同意书。

2. 受试者的例数

受试者必须具有足够的例数，按有关规定要求 18~24 例，必要时可增加受试者人数。

（二）参比制剂

生物利用度和生物等效性研究，必须有参比制剂作对照。参比制剂的安全性和有效性应该合格，参比制剂选择的原则如下：进行绝对生物利用度研究时选用上市的静

脉注射剂为参比制剂；进行相对生物利用度或生物等效性研究时，应选择国内外同类上市主导产品作为参比制剂。

（三）受试制剂

受试制剂应为符合临床应用质量标准的放大试验产品，提供体外溶出度、稳定性、含量或效价等数据。个别药物尚需提供多晶型及光学异构体资料。

应提供受试制剂和参比制剂的体外溶出度比较（ $n \geq 12$ ）数据。

（四）试验设计

对于两个制剂，即一个为受试制剂，另一个为参比制剂，通常采用双周期两制剂交叉试验设计，以抵消试验周期和个体差异对试验结果的影响。即将受试者随机分成两组，一组先服用受试制剂，后服用参比制剂；另一组先服用参比制剂，后服用受试制剂。两个试验周期之间为洗净期，洗净期应不少于药物的 10 个半衰期，通常为 1 周或 2 周。

对于 3 个制剂，即两个受试制剂和一个参比制剂，此时宜采用 3 制剂、3 周期的二重 3×3 拉丁方式试验设计。每个周期之间的洗净期通常为 1 周或 2 周。

取样点对试验的可靠性起着重要作用。服药前取空白血样。一个完整的血药浓度—时间曲线应包括吸收相、分布相、消除相，总采样（不包括空白）不少于 12 个点。取样一般持续到 3~5 个半衰期或血药浓度为 C_{max} 的 $1/10 \sim 1/20$ 。

在不能用血药浓度测定时，可采用其他生物样品进行测定，如尿液，但试验药品与试验方案应符合生物利用度测定要求。

（五）服药剂量确定

进行生物利用度与生物等效性研究时，药物剂量一般应与临床用药剂量一致（**实测含量差异应在 5% 之内**）。受试制剂和参比制剂最好应用等剂量。如需使用不相等剂量时，应说明原因，若药物在此剂量范围内符合线性动力学规律，则计算生物利用度时应以剂量校正。

（六）研究过程

受试者禁食过夜（10 小时以上），于次日早晨空腹服用受试制剂或参比制剂，用 250ml 温开水送服。服药 2 小时后方可饮水，4 小时后进统一标准餐。受试者于服药后，按要求在不同时间取静脉血。根据需要取血样（血浆、血清或全血），并冷冻贮存，备测。受试者服药后避免剧烈活动。取血样在临床监护室中进行。如受试者有不

不良反应时应有应急措施，必要时应停止试验。

生物等效性首选在禁食状态下进行，但对于空腹给药生物利用度非常低或者易出现胃肠道功能紊乱等强烈副作用的药物，可改为餐后给药进行生物等效性试验。

（七）药物动力学分析

将所得的各受试者不同时间样品的血药浓度数据及平均值与标准差列表并作图，然后分别对各受试者进行有关药物动力学参数求算，并求出参数的平均值和标准差。主要的药物动力学参数为消除半衰期（ $t_{1/2}$ ）、峰浓度（ C_{max} ）、峰时间（ t_{max} ）和血药浓度—时间曲线下面积 AUC。 C_{max} 、 t_{max} 用实测值表示，不得内推。 $AUC_{0 \rightarrow t_n}$ （零到 t 时间的血药浓度—时间曲线下面积）用梯形法或对数梯形法计算， t_n 是最后一次可测浓度的取样时间。 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ （零到无限大时间的血药浓度—时间曲线下面积）按下式计算， $AUC_{0 \rightarrow \infty} = AUC_{0 \rightarrow t_n} + c_{tn} / \lambda_z$ 。 c_{tn} 是最后一点的血药浓度， λ_z 是末端消除速度常数。 λ_z 用对数血药浓度—时间曲线末端直线部分的斜率求得， $t_{1/2} = 0.693 / \lambda_z$ 求出。

对于人体生物利用度试验，要求从零时间至最终采血点（ $AUC_{0 \rightarrow t_n} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ） $\times 100\% > 80\%$ 。

（八）生物利用度计算

1. 单次给药

生物利用度 F 应用各个受试者的 $AUC_{0 \rightarrow t_n}$ 和 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 分别计算，并求其均值与标准差。受试制剂（T）和参比制剂（R）剂量相同时

$$F = (AUC_{0 \rightarrow t_n})_T / (AUC_{0 \rightarrow t_n})_R \times 100\%,$$

$$F = (AUC_{0 \rightarrow \infty})_T / (AUC_{0 \rightarrow \infty})_R \times 100\%$$

若受试药物具有线性药物动力学特征时，受试制剂和参比制剂也可采用不同剂量，并按下式予以校正。

$$F = (AUC_{0 \rightarrow t_n})_T \times DR / [(AUC_{0 \rightarrow t_n})_R \times DT] \times 100\%,$$

$$F = (AUC_{0 \rightarrow \infty})_T \times DR / [(AUC_{0 \rightarrow \infty})_R \times DT] \times 100\%$$

式中 DR 为参比制剂的给药剂量；

DT 为受试制剂的给药剂量。

受试制剂和参比制剂中药物的剂量，应按实测含量计算。

代谢产物数据：对于前体药物，或由于药物在体内代谢极快，无法测定血中原形

药物，此时可采用相应的活性代谢物进行生物利用度研究。

生物利用度计算以 $AUC_{0 \rightarrow t_n}$ 为主，参考 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 。

2. 多次给药

在下列情况下，可考虑多次给药达稳态后，用稳态血药浓度估算生物利用度：（1）药物吸收程度相差不大，但吸收速度有较大差异；（2）生物利用度个体差异大；（3）缓释、控释制剂；（4）当单次给药后原药或代谢产物浓度很低，不能用相应的分析方法准确测得。

多次给药，经等间隔（ τ ）给药至稳态后，在某一给药间隔时间内，多次采集样品，分析药物浓度，计算在稳态剂量间隔期间从 $0 \sim \tau$ 时间的血药浓度—时间曲线下的面积（AUCSS）。当受试制剂和参比制剂剂量相等时，即可用下式求得相对生物利用度。

$$F = AUC_{SS,T} / AUC_{SS,R} \times 100\%$$

式中， $AUC_{SS,T}$ 和 $AUC_{SS,R}$ 分别代表受试制剂与参比制剂稳态条件下的 AUC。

（九）生物等效性评价（药物动力学数据统计分析）

应对药物动力学主要参数（如 AUC、 C_{max} ）进行统计分析，作出生物等效性评价。统计分析先将 AUC 和 C_{max} 数据进行对数转换，然后进行方差分析与双单侧 t 检验处理，若受试制剂和参比制剂 AUC 几何均值比的 90% 置信区间在 80%~125% 范围内，且 C_{max} 几何均值比的 90% 置信区间在 75%~133% 范围内，则判定受试制剂与参比制剂生物等效。 t_{max} 可用非参数法进行检验。

为了便于生物等效性比较，每一受试者服用不同制剂的药物动力学参数（AUC 和 C_{max} ）应平行列表，还要列出受试制剂（T）和参比制剂（R）参数之间的比值（T/R）和比值的对数。除了计算它们的算术均值外，还应该计算几何均值，都应该包括在报告中。

（十）临床报告、副作用和不良反应

受试者病史、身体检查和化验结果，以及与研究相关的可能副作用和不良反应，均应报告。

三、缓释、控释制剂

缓释、控释制剂的生物利用度与生物等效性试验应在单次给药与多次给药两种条件下进行。进行该类制剂生物等效性试验的前提是应进行至少 3 种溶出介质的两者体

外溶出行为同等性研究。

（一）单次给药双周期交叉试验

本试验目的是在受试者空腹条件下，比较受试制剂与参比制剂的吸收速率和吸收程度，确认受试缓释、控释制剂与参比制剂是否为生物等效，并具有缓释、控释特征。

1. 受试者要求与选择标准

同普通制剂。

2. 参比制剂

一般应选用国内外上市的同类缓释、控释制剂主导产品为参比制剂。若系创新的缓释、控释制剂，则应选择国内外上市的同类普通制剂主导产品为参比制剂。

3. 试验过程

同普通制剂单次给药。

4. 提供数据

（1）列出各受试者的血药浓度—时间数据、血药浓度平均值与标准差，列表并作图。

（2）计算各受试者药物动力学参数并求平均值与标准差。 C_{max} 、 t_{max} 、 $AUC_{0 \rightarrow t_n}$ 、 $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ 和 F ；尽可能提供其他参数如平均滞留时间（MRT）等。

（3）临床报告、副作用和不良反应与普通制剂的要求相同。

5. 生物等效性评价

若受试缓释、控释制剂与参比缓释、控释制剂比较， AUC 、 C_{max} 符合生物等效性要求， t_{max} 统计上应无显著差异，则认为两种制剂生物等效。若受试缓释、控释制剂与普通制剂比较， AUC 符合生物等效性要求（同普通制剂 AUC 生物等效性评价），则认为吸收程度生物等效；若 C_{max} 有所降低， t_{max} 有所延长，并按“二、普通制剂（九）”进行统计分析，其结果至少有一项指标不符合生物等效时，则表明受试制剂有缓释或控释特征。

（二）多次给药双周期交叉试验

本试验目的是研究受试缓释、控释制剂与参比制剂多次给药达稳态的速率与程度以及稳态血药浓度的波动情况。

1. 受试者要求及选择标准

同单剂量项下，可继续用单剂量的受试者。受试者至少为18~24例，必要时可

以适当增加。参比制剂同单次给药。

2. 试验设计及过程

采用随机交叉试验设计方法，多次服用受试制剂与参比制剂。对于受试制剂，用拟定的用药剂量和方案。每日 1 次用药的制剂，受试者应在空腹 10 小时以后晨间服药，服药后继续禁食 2~4 小时；每日 2 次的制剂，首剂应空腹 10 小时以后服药，服药后继续禁食 2~4 小时，第二次应在餐前或餐后 2 小时服药，服药后继续禁食 2 小时。每次用 250ml 温开水送服，一般要求服药 1~2 小时后，方可再饮水。以普通制剂为参比制剂时，按常规用药剂量与方法，但应与缓释、控释受试制剂每日总剂量相等。

3. 取样点的设计

连续服药时间至少经过 7 个消除半衰期后，连续测定 3 天的谷浓度（ c_{min} ），以确定血药浓度是否达稳态。取样点最好安排在不同天的同一时间（一般清晨），以抵消时辰对药代动力学的影响，且便于比较。达稳态后，在最后一剂量间隔内，参照单次给药采样时间点设计，采取足够血样点，测定该间隔内稳态血药浓度—时间数据，计算有关的药物动力学参数如峰浓度、峰时间、稳态平均血药浓度（ c_{av} ）和 AUCSS 等。

4. 药物动力学数据处理

（1）列出各受试者的血药浓度—时间数据、血药浓度平均值与标准差，列表并作图。

（2）求出各受试者的 C_{max} 、 c_{min} 、 t_{max} 、 c_{av} 、AUCSS 及各参数的平均值与标准差。 C_{max} 、 t_{max} 按实测值， c_{min} 一般按最后一剂量间隔服药前与 τ 时间实测谷浓度的平均值计算，AUCSS 按梯形法计算。

稳态平均血药浓度可用下式求出：

$$c_{av} = AUCSS / \tau$$

式中，AUCSS 是在稳态剂量间隔期间从 0~ τ 时间的血药浓度—时间曲线下的面积； τ 是服药间隔时间。

（3）计算稳态时的生物利用度

$$F = (AUCSS)_T / (AUCSS)_R \times 100\%, \quad F = (AUCSS)_T \times DR / [(AUCSS)_R \times DT] \times 100\%$$

（4）血药浓度的波动度 DF（%）可用下式计算

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

式中， $C_{\max}$ 是稳态给药期间最后一个给药剂量的实测药物峰浓度值； $c_{\min}$ 是稳态给药期间最后一个给药剂量实测的谷浓度。当参比制剂亦为相同剂型的缓释制剂时，则受试制剂的 DF/τ 值应不大于参比制剂 DF/τ 值的 143%，当参比制剂为普通制剂时，受试制剂的 DF/τ 值应显著小于普通制剂。

(5) 统计学分析和生物等效性评价

与缓释、控释制剂单次给药的方法和要求相同。

(6) 临床报告、副作用和不良反应

与普通制剂的要求相同。